

การพัฒนากระบวนการกรองใสสุราแซ่



นางสาวสมพร เอี่ยมำ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2549

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

DEVELOPMENT OF THE FILTRATION PROCESS FOR TRADITIONAL ALCOHOLIC BEVERAGE
(SURACHAE)



Miss Sayomporn Iamkum

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Biotechnology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2006

หัวข้อวิทยานิพนธ์

การพัฒนากระบวนการกรองใต้อุโมงค์

โดย

นางสาวสมพร เอี่ยมขำ

สาขาวิชา

เทคโนโลยีชีวภาพ

อาจารย์ที่ปรึกษา

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุรพงศ์ นวังคสัตถุศาสน์

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

ดร. ศิริลักษณ์ ชีระดากร

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ศาสตราจารย์ ดร. เปี่ยมศักดิ์ เมณะเสวต)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. อมร เพชรสม)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุรพงศ์ นวังคสัตถุศาสน์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ดร. ศิริลักษณ์ ชีระดากร)

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. นาทยา งามโรจนวณิชย์)

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. พลกฤษณ์ แสงวนิช)

สยมพร เอี่ยมขำ : การพัฒนากระบวนการกรองใสสุราแช่. (DEVELOPMENT OF THE FILTRATION PROCESS FOR TRADITIONAL ALCOHOLIC BEVERAGE (SURACHAE))

อ. ที่ปรึกษา : ผศ. ดร. สุรพงศ์ นวังคสัตถุศาสน์ , อ. ที่ปรึกษาร่วม : ดร. ศิริลักษณ์ ชีระดากร, 120 หน้า.

งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาการผลิตสุราแช่ เพื่อพัฒนาและปรับปรุงกระบวนการผลิต โดยเฉพาะการกรองใสและปราศจากจุลินทรีย์ด้วยกระบวนการอัลตราฟิลเทรชัน ก่อนทำการบรรจุขวด เพื่อขจัดระดับสุราแช่ให้ทัดเทียมกับมาตรฐานสากล กระบวนการอัลตราฟิลเทรชัน (Ultrafiltration) หรือ UF เป็นกระบวนการแยกด้วยเมมเบรนที่มีขนาดรูพรุนเมมเบรนในช่วง 30-1,000 อังสตรอม ส่วนใหญ่ประยุกต์ใช้เพื่อแยกอนุภาคหรือตัวละลายที่มีน้ำหนักโมเลกุลในช่วง 1,000 – 500,000 ดัลตัน ไม่ให้ผ่านเมมเบรนออกไป โดยทำการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพของการกรองใสและปราศจากจุลินทรีย์ของสุราแช่ ด้วยกระบวนการอัลตราฟิลเทรชัน คือขนาดรูพรุนของเมมเบรน, ความดัน และอุณหภูมิต่างๆ พบว่าภาวะการทดลองที่เหมาะสมคือ ใช้เมมเบรนที่มีขนาดรูพรุน MWCO 100,000 ดัลตัน ความดัน 2.0 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร ที่อุณหภูมิห้อง เนื่องจากให้ค่าฟลักซ์สูงที่สุด จากนั้นทำการคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้สุราแช่เสียคุณภาพ คือเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus cereus* เพื่อบ่งชี้ถึงประสิทธิภาพในการกรอง ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการกรองผ่านเมมเบรนด้วยกระบวนการอัลตราฟิลเทรชันสามารถกรองเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุทำให้สุราแช่เสียคุณภาพออกได้ ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในส่วนเพอมีเอทเท่ากับ 0 cfu/ml และมีค่าความเป็นกรดค่า 3.54±0.01, ปริมาณของแข็งทั้งหมด 21.6±0.0 องศาบริกซ์, ปริมาณแอลกอฮอล์ 9.66±0.15 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร), ปริมาณกรดทั้งหมด 1.35±0.00 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 37.20 ±0.11 กรัมต่อลิตร มีคุณภาพที่ดีตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน สุราแช่ที่ผ่านการกรองปลอดเชื้อแล้วหลังจากทำการบรรจุ หากเกิดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดการเน่าเสีย (*Bacillus cereus*) หรือผลิตภัณฑ์มีการสัมผัสกับอากาศ เชื้อจุลินทรีย์จะไม่สามารถเจริญเติบโตได้

สาขาวิชา.....เทคโนโลยีชีวภาพ..... ลายมือชื่อนิสิต..... สยมพร เอี่ยมขำ
ปีการศึกษา.....2549..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา..... ศิริลักษณ์ ชีระดากร
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม..... ศิริลักษณ์ ชีระดากร

4672436523 : MAJOR BIOTECHNOLOGY

KEY WORD : ULTRAFILTRATION / TRADITIONAL ALCOHOLIC BEVERAGE / SURACHAE

SAYOMPORN IAMKUM : DEVELOPMENT OF THE FILTRATION PROCESS
FOR TRADITIONAL ALCOHOLIC BEVERAGE (SURACHAE). THESIS

ADVISOR : ASST. PROF. SURAPONG NAVANKASATTUSAS, Ph. D. THESIS

CO-ADVISOR : SIRILUK TEERADAKORN, Ph. D. 120 pp.

The purpose of this research was to investigate traditional alcoholic beverage (surachae) production and to improve the filtration process by using ultrafiltration prior to bottling. Ultrafiltration is a membrane separation technique with pore size range of 30-1000 angstrom. It is applied to separate molecules that have molecular weight in the range of 1000-500,000 dalton. The ultrafiltration process was investigated for various pore sizes, pressures and temperatures. The results showed that the appropriate molecular weight cut-offs (MWCO) of the used membrane was 100,000 dalton at 2.0 kg/cm² pressure and room temperature, giving the highest flux. *Bacillus cereus* was screened from the spoilage alcoholic beverage (surachae). It was used to indicate the efficiency of the membrane filtration. The results showed that ultrafiltration can separate microorganisms in the surachae. Permeate of the surachae had 0 cfu/ml, pH 3.54±0.01, total soluble solid of 21.6±0.0 °Brix, alcohol content of 9.66±0.15 %(v/v), total acidity of 1.35±0.00 g/ 100 ml and reducing sugar content of 37.20±0.11 g/l, meeting the standard of community products. Germs free ultrafiltered surachae in bottles was reinoculated with *Bacillus cereus* . The reinoculated microorganisms were observed to survive in the bottled product poorly.

Field of study.....Biotechnology.....Student's signature..... Sayomporn Iamkum

Academic year2006.....Advisor's signature..... Surapong Navankasattusas

Co-advisor's signature..... Siriluk Teeradakorn

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาระดับปริญญาโทและวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จด้วยความ
สมบูรณ์โดยได้รับความกรุณาจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุรพงศ์ นวังคสัตถุศาสน์ และ
ดร. ศิริลักษณ์ ชีระदार ที่กรุณาเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาและอาจารย์ที่ปรึกษาร่วมวิทยานิพนธ์
ตลอดจนให้คำแนะนำแนวทางการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณอย่างสูงไว้
 ณ ที่นี้

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. อมร เพชรสม, รองศาสตราจารย์
ดร. นาดยา งามโรจนวิชัย และ รองศาสตราจารย์ ดร. พลกฤษณ์ แสงวิช ที่กรุณาเป็น
ประธานกรรมการและกรรมการในการสอบป้องกันวิทยานิพนธ์ เพื่อความสมบูรณ์แห่ง
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิตในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณอาจารย์ชลมารค พ่วงวิระกุล คณะเทคโนโลยีชีวภาพ
มหาวิทยาลัยรังสิต และ ดร. เจริญ เจริญชัย ผู้อำนวยการสถาบันวิจัยไวน์และสุราพื้นบ้าน ที่ให้
คำแนะนำเกี่ยวกับการผลิตสุราแช่ที่ถูกต้อง

ขอขอบพระคุณบุคลากรทุกท่านในสถาบันเทคโนโลยีชีวภาพและวิศวกรรม
พันธุศาสตร์ แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความช่วยเหลือต่างๆในการทำวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณเพื่อนๆ พี่ๆ ของหลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ และภาควิชาจุล
ชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สำหรับการช่วยเหลือและคำแนะนำต่างๆ

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อและคุณแม่ และครอบครัวที่ให้การ
สนับสนุนและเป็นกำลังใจสำคัญในการทำวิทยานิพนธ์จนสำเร็จสมบูรณ์

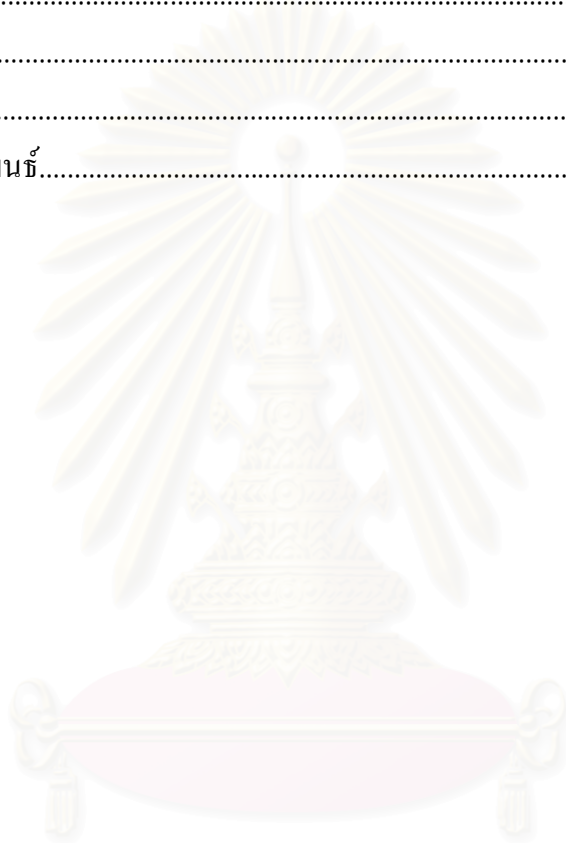
สถาบันวิจัยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญรูป.....	ฐ
บทที่	
1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	3
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	4
1.4 วิธีดำเนินการวิจัย.....	4
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
2.1 วัตถุประสงค์และกระบวนการผลิตสาโท.....	5
2.2 การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีในระหว่างการหมัก.....	12
2.3 จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการเสื่อมเสียของไวน์และไวน์ผลไม้.....	15
2.4 ปัจจัยวิกฤติในกระบวนการผลิตสาโท.....	18
2.5 ปัญหาหลักเกี่ยวกับการผลิตและคุณภาพสาโท.....	19
2.6 กระบวนการอัลตราฟิลเทรชัน.....	21
2.7 ผลของตัวแปรที่มีต่อสมรรถนะของกระบวนการอัลตราฟิลเทรชัน.....	28
2.8 วิธีการหลักเพื่อไม่ให้เกิดหรือวิธีการควบคุมการเกิดฟาวลิง.....	29
2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	30
3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	32
3.1 อุปกรณ์และสารเคมี.....	32
3.2 กระบวนการผลิตสุราแช่.....	34
3.3 ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพของการกรองใสและปราศจาก จุลินทรีย์ของสุราแช่ ด้วยกระบวนการอัลตราฟิลเทรชัน.....	35
3.3.1 ขนาดรูพรุน.....	35

บทที่	หน้า
3.3.2 ความดัน.....	36
3.3.3 อุณหภูมิ.....	36
3.4 การคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้สุราแช่เสื่อมคุณภาพ เพื่อบ่งชี้ถึง ประสิทธิภาพในการกรองของเมมเบรน.....	36
3.4.1 การคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้สุราแช่เสื่อมคุณภาพ.....	36
3.4.2 วัดการเจริญของเชื้อโดยวิธีหาค่านักเซลล์แห้ง.....	37
3.4.3 การเตรียมกล้าเชื้อ.....	37
3.4.4 การเก็บรักษาเชื้อ.....	37
3.5 ทดสอบประสิทธิภาพของเมมเบรนในการกรองใสและปราศจาก จุลินทรีย์ของสุราแช่ ด้วยกระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน.....	37
3.5.1 ปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้สุราแช่เสื่อมคุณภาพ.....	38
3.5.2 ปริมาณกลูโคส.....	38
3.5.3 ปริมาณออกซิเจนละลาย.....	38
3.6 ตรวจสอบและวิเคราะห์องค์ประกอบของสุราแช่ที่ผลิตได้.....	39
4 ผลการทดลองและอภิปรายผล.....	41
4.1 ผลการผลิตสุราแช่.....	41
4.2 ผลการทดสอบความสามารถในการกรองสุราแช่ ด้วยกระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน.....	44
4.2.1 ขนาดรูพรุนของเมมเบรน.....	44
4.2.2 ความดัน.....	47
4.2.3 อุณหภูมิ.....	49
4.3 ผลการคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้สุราแช่เสื่อมคุณภาพ เพื่อบ่งชี้ถึงประสิทธิภาพในการกรองของเมมเบรน.....	52
4.4 ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการกรองใสและปราศจากจุลินทรีย์ ของสุราแช่ ด้วยกระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน.....	54
4.4.1 ผลของปริมาณเชื้อจุลินทรีย์.....	54
4.4.2 ผลของปริมาณกลูโคส.....	59
4.4.3 ผลของปริมาณออกซิเจนละลาย.....	63
4.5 ผลการตรวจสอบและวิเคราะห์องค์ประกอบของสุราแช่ที่ผลิตได้.....	68
5 สรุปผลการทดลอง.....	70
รายการอ้างอิง.....	72

บทที่	หน้า
ภาคผนวก.....	77
ภาคผนวก ก.....	78
ภาคผนวก ข.....	80
ภาคผนวก ค.....	84
ภาคผนวก ง.....	85
ภาคผนวก จ.....	90
ภาคผนวก ฉ.....	117
ภาคผนวก ช.....	118
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	120



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
3.1 แสดงวิธีวิเคราะห์คุณลักษณะทางเคมีของสุราแช่.....	40
4.1 องค์ประกอบทางเคมีของสุราแช่.....	41
4.2 การเปรียบเทียบค่าฟลักซ์ในการกรองสุราแช่ผ่านเมมเบรนขนาดรูพรุน MWCO 30,000 100,000 และ 300,000 คัดตัน.....	46
4.3 องค์ประกอบทางเคมีของสุราแช่ที่กรองผ่านเมมเบรนขนาดรูพรุน MWCO 30,000 100,000 และ 300,000 คัดตัน.....	47
4.4 การเปรียบเทียบค่าฟลักซ์ในการกรองสุราแช่ผ่านเมมเบรนขนาดรูพรุน MWCO 100,000 คัดตัน ที่ความดัน 1.0, 1.5 และ 2.0 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร.....	48
4.5 องค์ประกอบทางเคมีของสุราแช่ที่กรองผ่านเมมเบรนขนาดรูพรุน MWCO 100,000 คัดตัน ที่ความดัน 1.0, 1.5 และ 2.0 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร.....	49
4.6 การเปรียบเทียบค่าฟลักซ์ในการกรองสุราแช่ผ่านเมมเบรนขนาดรูพรุน MWCO 100,000 คัดตัน ความดัน 2.0 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียสและอุณหภูมิห้อง.....	50
4.7 องค์ประกอบทางเคมีของสุราแช่ที่กรองผ่านเมมเบรนขนาดรูพรุน MWCO 100,000 คัดตัน ความดัน 2.0 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียสและอุณหภูมิห้อง.....	51
4.8 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของสุราแช่ที่ผลิตได้.....	68
4.9 องค์ประกอบทางเคมีของสุราแช่ที่กรองผ่านเมมเบรนด้วย กระบวนการอัลตราฟิลเทรชัน และเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เป็นระยะเวลา 1 ปี.....	69
ง.1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกลูโคสและ ค่าดูดกลืนแสงสำหรับสร้างกราฟมาตรฐาน.....	85
ง.2 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเอทานอลกับค่าสัดส่วนของพื้นที่ใต้กราฟ.....	87
จ.1 แสดงการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบต่างๆ ในการผลิตสุราแช่ (Lot 1).....	90
จ.2 แสดงการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบต่างๆ ในการผลิตสุราแช่ (Lot 2).....	91
จ.3 แสดงการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบต่างๆ ในการผลิตสุราแช่ (Lot 3).....	92
จ.4 แสดงค่าฟลักซ์ของเมมเบรนที่มีขนาดรูพรุน 30,000 Da ในการกรองตัวอย่างสาโท.....	93
จ.5 แสดงค่าฟลักซ์ของเมมเบรนที่มีขนาดรูพรุน 100,000 Da ในการกรองตัวอย่างสาโท.....	94

ตารางที่	หน้า
จ.6	แสดงค่าฟลักซ์ของเมมเบรนที่มีขนาดรูพรุน 300,000 Da ในการกรองตัวอย่างสาโท.....95
จ.7	แสดงค่าฟลักซ์ในการกรองสุราแช่ด้วยเมมเบรนขนาดรูพรุน MWCO 100,000 คัดตัน ที่ความดัน 1.0, 1.5 และ 2.0 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร.....96
จ.8	แสดงค่าฟลักซ์ของเมมเบรนในการกรองสุราแช่ด้วยเมมเบรนขนาดรูพรุน MWCO 100,000 คัดตัน ความดัน 2.0 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้อง.....97
จ.9	แสดงน้ำหนักเซลล์แห้งและค่าอัตราการเจริญจำเพาะของ เชื้อ <i>Bacillus cereus</i> ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร Nutrient broth.....98
จ.10	แสดงการเปลี่ยนแปลงของฟลักซ์ในการกรองสุราแช่ ที่มีเชื้อจุลินทรีย์ความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร).....99
จ.11	แสดงการเปลี่ยนแปลงของฟลักซ์ในการกรองสุราแช่ ที่มีเชื้อจุลินทรีย์ความเข้มข้น 5.0 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร).....100
จ.12	แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในตัวอย่างสุราแช่ ที่กรองผ่านเมมเบรน ด้วยกระบวนการอัลตราฟิลเทรชัน เป็นระยะเวลา 30 วัน.....101
จ.13	แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณของแข็งทั้งหมดในตัวอย่างสุราแช่ ที่กรองผ่านเมมเบรน ด้วยกระบวนการอัลตราฟิลเทรชัน เป็นระยะเวลา 30 วัน.....102
จ.14	แสดงการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรดต่างในตัวอย่างสุราแช่ ที่กรองผ่านเมมเบรน ด้วยกระบวนการอัลตราฟิลเทรชัน เป็นระยะเวลา 30 วัน.....103
จ.15	แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดทั้งหมดในตัวอย่างสุราแช่ ที่กรองผ่านเมมเบรน ด้วยกระบวนการอัลตราฟิลเทรชัน เป็นระยะเวลา 30 วัน.....104
จ.16	แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอลกอฮอล์ในตัวอย่างสุราแช่ ที่กรองผ่านเมมเบรน ด้วยกระบวนการอัลตราฟิลเทรชัน เป็นระยะเวลา 30 วัน.....105
จ.17	แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่างสุราแช่ ที่กรองผ่านเมมเบรน ด้วยกระบวนการอัลตราฟิลเทรชัน เป็นระยะเวลา 30 วัน.....106
จ.18	แสดงผลของปริมาณกลูโคสต่อการเปลี่ยนแปลงของเชื้อจุลินทรีย์ ในตัวอย่างสุราแช่ เป็นระยะเวลา 30 วัน.....107
จ.19	แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณของแข็งทั้งหมดในตัวอย่างสุราแช่ ที่เติมกลูโคสความเข้มข้น 3.0 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) เป็นระยะเวลา 30 วัน.....108

ตารางที่	หน้า
จ.20 แสดงการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรดต่างในตัวอย่างสุราแช่ ที่เติมกลูโคสความเข้มข้น 3.0 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) เป็นระยะเวลา 30 วัน.....	109
จ.21 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดทั้งหมดในตัวอย่างสุราแช่ ที่เติมกลูโคสความเข้มข้น 3.0 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) เป็นระยะเวลา 30 วัน.....	110
จ.22 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่างสุราแช่ ที่เติมกลูโคสความเข้มข้น 3.0 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) เป็นระยะเวลา 30 วัน.....	111
จ.23 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอลกอฮอล์ในตัวอย่างสุราแช่ ที่เติมกลูโคสความเข้มข้น 3.0 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) เป็นระยะเวลา 30 วัน.....	112
จ.24 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในตัวอย่างสุราแช่ ที่มีการเติมอากาศบริสุทธิ์.....	113
จ.25 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณของแข็งทั้งหมดในตัวอย่างสุราแช่ ที่มีการเติมอากาศบริสุทธิ์.....	113
จ.26 แสดงการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรดต่างในตัวอย่างสุราแช่ ที่มีการเติมอากาศบริสุทธิ์.....	114
จ.27 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดทั้งหมดในตัวอย่างสุราแช่ ที่มีการเติมอากาศบริสุทธิ์.....	114
จ.28 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่างสุราแช่ ที่มีการเติมอากาศบริสุทธิ์.....	115
จ.29 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณออกซิเจนละลายในตัวอย่างสุราแช่ ที่มีการเติมอากาศบริสุทธิ์.....	115
จ.30 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอลกอฮอล์ในตัวอย่างสุราแช่ ที่มีการเติมอากาศบริสุทธิ์.....	116

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1	วิธีการผลิตเหล้าสาโท.....10
2.2	การหมักแอลกอฮอล์โดยอาศัยกลไก The Embden-Meyerhof pathway.....13
2.3	ปฏิกิริยาระหว่างเกิดการหมักแอลกอฮอล์.....14
2.4	แสดงหลักการของกระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน.....21
2.5	แสดงการเกิดปรากฏการณ์ CP.....24
2.6	แสดงโปรไฟล์ความเข้มข้นของตัวถูกละลายในการเกิด CP.....25
2.7	แสดงการเกิดปรากฏการณ์ GP.....25
2.8	แสดงการเกิดฟาวลิงในเมมเบรนที่มีขนาดรูพรุนต่างกัน.....27
2.9	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าฟลักซ์กับความดัน.....28
2.10	แสดงผลการกักฟลักซ์ด้วยการล้างเมมเบรน.....30
4.1	การเปลี่ยนแปลงของปริมาณของแข็งทั้งหมดในช่วงระหว่างทำการหมักสุราแช่.....42
4.2	การเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรดต่างในช่วงระหว่างทำการหมักสุราแช่.....42
4.3	การเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอลกอฮอล์ในช่วงระหว่างทำการหมักสุราแช่.....43
4.4	การเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดทั้งหมดในช่วงระหว่างทำการหมักสุราแช่.....43
4.5	การเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในช่วงระหว่างทำการหมักสุราแช่.....44
4.6	แสดงการเปลี่ยนแปลงของฟลักซ์ในการกรองสุราแช่ด้วย เมมเบรนขนาดรูพรุน MWCO 30,000 คัดตัน.....45
4.7	แสดงการเปลี่ยนแปลงของฟลักซ์ในการกรองสุราแช่ด้วย เมมเบรนขนาดรูพรุน MWCO 100,000 คัดตัน.....45
4.8	แสดงการเปลี่ยนแปลงของฟลักซ์ในการกรองสุราแช่ด้วย เมมเบรนขนาดรูพรุน MWCO 300,000 คัดตัน.....46
4.9	แสดงการเปลี่ยนแปลงของฟลักซ์ในการกรองสุราแช่ด้วย เมมเบรนขนาดรูพรุน MWCO 100,000 คัดตัน ที่ความดัน 1.0, 1.5 และ 2.0 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร.....48
4.10	แสดงการเปลี่ยนแปลงของฟลักซ์ในการกรองสุราแช่ด้วย เมมเบรนขนาดรูพรุน MWCO 100,000 คัดตัน ความดัน 2.0 กิโลกรัม ต่อตารางเซนติเมตร ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียสและอุณหภูมิห้อง.....50

รูปที่	หน้า
4.11	แสดงสุราแช่ที่กรองปลอดเชื้อด้วยกระบวนการอัลตราฟิลเทรชัน ด้วยเมมเบรนขนาดรูพรุน MWCO 100,000 คัดตัน ความดัน 2.0 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร และอุณหภูมิห้อง.....51
4.12	เชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้จากสุราแช่ที่เสื่อมคุณภาพ.....53
	ก) จากกล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 100 เท่า
	ข) จากกล้อง Scanning electron microscope (SEM) กำลังขยาย 5,000 เท่า
4.13	รูปแบบการเจริญของเชื้อ <i>Bacillus cereus</i> ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient broth54
4.14	แสดงการเปลี่ยนแปลงของฟลักซ์ในการกรองสุราแช่ ที่มีเชื้อจุลินทรีย์ความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร).....55
4.15	แสดงการเปลี่ยนแปลงของฟลักซ์ในการกรองสุราแช่ ที่มีเชื้อจุลินทรีย์ความเข้มข้น 5.0 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร).....56
4.16	แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในตัวอย่างสุราแช่ ที่กรองผ่านเมมเบรน ด้วยกระบวนการอัลตราฟิลเทรชัน เป็นระยะเวลา 30 วัน.....56
4.17	แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณของแข็งทั้งหมดในตัวอย่างสุราแช่ ที่กรองผ่านเมมเบรน ด้วยกระบวนการอัลตราฟิลเทรชัน เป็นระยะเวลา 30 วัน.....57
4.18	แสดงการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรดต่างในตัวอย่างสุราแช่ ที่กรองผ่านเมมเบรน ด้วยกระบวนการอัลตราฟิลเทรชัน เป็นระยะเวลา 30 วัน.....57
4.19	แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดทั้งหมดในตัวอย่างสุราแช่ ที่กรองผ่านเมมเบรน ด้วยกระบวนการอัลตราฟิลเทรชัน เป็นระยะเวลา 30 วัน.....58
4.20	แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอลกอฮอล์ในตัวอย่างสุราแช่ ที่กรองผ่านเมมเบรน ด้วยกระบวนการอัลตราฟิลเทรชัน เป็นระยะเวลา 30 วัน.....58
4.21	แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่างสุราแช่ ที่กรองผ่านเมมเบรน ด้วยกระบวนการอัลตราฟิลเทรชัน เป็นระยะเวลา 30 วัน.....59
4.22	แสดงผลของปริมาณกลูโคสต่อการเปลี่ยนแปลงของเชื้อจุลินทรีย์ ในตัวอย่างสุราแช่ เป็นระยะเวลา 30 วัน.....60
4.23	แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณของแข็งทั้งหมดในตัวอย่างสุราแช่ ที่เติมกลูโคสความเข้มข้น 3.0 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) เป็นระยะเวลา 30 วัน.....61
4.24	แสดงการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรดต่างในตัวอย่างสุราแช่ ที่เติมกลูโคสความเข้มข้น 3.0 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) เป็นระยะเวลา 30 วัน.....61

รูปที่	หน้า
4.25 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดทั้งหมดในตัวอย่างสุราแช่ ที่เติมกลูโคสความเข้มข้น 3.0 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) เป็นระยะเวลา 30 วัน.....	62
4.26 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่างสุราแช่ ที่เติมกลูโคสความเข้มข้น 3.0 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) เป็นระยะเวลา 30 วัน.....	62
4.27 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอลกอฮอล์ในตัวอย่างสุราแช่ ที่เติมกลูโคสความเข้มข้น 3.0 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) เป็นระยะเวลา 30 วัน.....	63
4.28 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในตัวอย่างสุราแช่ ที่มีการเติมอากาศบริสุทธิ์.....	64
4.29 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณของแข็งทั้งหมดในตัวอย่างสุราแช่ ที่มีการเติมอากาศบริสุทธิ์.....	65
4.30 แสดงการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรดต่างในตัวอย่างสุราแช่ ที่มีการเติมอากาศบริสุทธิ์.....	65
4.31 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดทั้งหมดในตัวอย่างสุราแช่ ที่มีการเติมอากาศบริสุทธิ์.....	66
4.32 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่างสุราแช่ ที่มีการเติมอากาศบริสุทธิ์.....	66
4.33 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณออกซิเจนละลายในตัวอย่างสุราแช่ ที่มีการเติมอากาศบริสุทธิ์.....	67
4.34 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอลกอฮอล์ในตัวอย่างสุราแช่ ที่มีการเติมอากาศบริสุทธิ์.....	67
ค.1 แผนภาพโมดูลที่ใช้ในกระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน.....	84
ง.1 กราฟมาตรฐานสารละลายกลูโคสในช่วงความเข้มข้น 0 – 2.0 กรัมต่อลิตร.....	86
ง.2 กราฟมาตรฐานสารละลายเอทานอล ในช่วงความเข้มข้น 0-100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร.....	87
ง.3 ตัวอย่างโครมาโทแกรมของเอทานอลสัมบูรณ์ เมื่อใช้โพรพานอลเป็นสารมาตรฐาน เปรียบเทียบกับภายใน วิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี.....	88
ง.4 ตัวอย่างโครมาโทแกรมของสุราแช่ เมื่อใช้โพรพานอลเป็นสารมาตรฐาน เปรียบเทียบกับภายใน วิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี.....	89

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมที่มีการปลูกข้าวได้ประมาณปีละ 23.2 ล้านตัน ซึ่งข้าวที่ผลิตได้นอกจากใช้ในการบริโภคแล้ว ยังสามารถนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อื่นได้อีกมากมายหลายชนิดสำหรับการนำข้าวมาใช้ในการผลิตเป็นเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ ได้มีการผลิตหลายร้อยปีแล้ว ซึ่งเป็นภูมิปัญญาชาวบ้าน โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติมาใช้ในการผลิต การผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ กลิ่นและรสชาติที่มีความแตกต่างกันอันสืบเนื่องมาจากการใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในลูกแป้งเหล้าสาโท และวิธีการผลิตที่แตกต่างกัน (สุภาพ อัจฉริยศรีพงศ์, 2546)

มาตรา 4 พระราชบัญญัติสุรา พ.ศ. 2493 สุราแช่ คือ สุราที่ไม่ได้กลั่นและให้หมายความรวมถึงสุราแช่ที่ได้ผสมกับสุรากลั่นแล้ว แต่ยังมีแรงแอลกอฮอล์ไม่เกินสิบห้าดีกรี

สุราแช่และผลิตภัณฑ์ หมายความว่า สุราแช่ชนิดสุราผลไม้ สุราแช่พื้นเมือง และผลิตภัณฑ์จากผลผลิตทางการเกษตรที่มีแรงแอลกอฮอล์ไม่เกินสิบห้าดีกรี ซึ่งไม่รวมถึงสุราแช่ชนิดเบียร์ ทั้งนี้สุราแช่และผลิตภัณฑ์ตามหลักเกณฑ์นี้ จะต้องทำขึ้นโดยวิธีการดังต่อไปนี้

1. นำวัตถุดิบซึ่งเป็นผลไม้ หรือน้ำผลไม้ หรือผลผลิตทางการเกษตรใดๆ ไปหมักกับเชื้อสุราให้มีแรงแอลกอฮอล์ไม่เกินสิบห้าดีกรี
2. กรณีนำสุราแช่ที่ได้ตามข้อ 1. ไปผสมกับสุรากลั่นแล้วมีแอลกอฮอล์ไม่เกินสิบห้าดีกรี

หลังจากมีประกาศกระทรวงการคลังออกมา ประกาศอนุญาตให้ชุมชนสามารถผลิตสุราแช่ชนิดสุราผลไม้ สุราพื้นบ้านและผลิตภัณฑ์จากผลผลิตทางการเกษตรที่มีแรงแอลกอฮอล์ไม่เกินสิบห้าดีกรี ตามประกาศเมื่อวันที่ 12 ธันวาคม 2544 และให้ชุมชนสามารถกลั่นแอลกอฮอล์เป็นเครื่องดื่มที่มีแรงแอลกอฮอล์เกินกว่าสิบห้าดีกรี แต่ไม่เกินสี่สิบดีกรีได้โดยเสรี (มีใบอนุญาตในการผลิต) ตามประกาศเมื่อวันที่ 21 มกราคม 2546 (สุภาพ อัจฉริยศรีพงศ์, 2546) ก็เกิดการผลิตสุราแช่กันอย่างกว้างขวาง โดยเฉพาะไวน์ผลไม้และสาโท ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่ได้ยังไม่มีมาตรฐานเนื่องจากยังมีการใช้วิธีการผลิตแบบพื้นบ้าน ผลิตภัณฑ์บางรุ่นยังหมักไม่ได้ที่ ทำให้คุณภาพที่ได้ไม่คงที่ บ้างก็ขุ่นไปด้วยตะกอนของยีสต์และเศษข้าว มีฟองก๊าซเกิดการหมักอยู่ในขวดทำให้ขวดระเบิดเกิดความเสียหาย ไม่มีระบบการตรวจสอบคุณภาพในเรื่องสี กลิ่น รสชาติ ปริมาณแอลกอฮอล์ไม่คงที่ไม่สามารถควบคุมมาตรฐานการผลิตได้ การเก็บรักษาและบรรจุภัณฑ์เก็บไว้ได้ไม่นานเมื่อเปิดแล้วต้องดื่มให้หมด ไม่เช่นนั้นรสชาติและระดับแอลกอฮอล์จะเปลี่ยนไป ทำให้เกิดความไม่เชื่อมั่นในเรื่องของความสะอาดปลอดภัยในสายตาของผู้บริโภค และตลาดอาจไม่ยอมรับถ้าหากทำเป็น

อุตสาหกรรม ดังนั้นจึงต้องมีการควบคุมคุณภาพกระบวนการผลิตที่สะอาดและถูกสุขอนามัย มีคุณภาพตามมาตรฐานในระดับเชิงพาณิชย์ และเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคทั้งภายในและต่างประเทศ (จิราภรณ์ เชาวลิขิต, 2546)

สำหรับแนวทางการผลิตสาโทให้มีคุณภาพเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ต้องพัฒนาสาโทให้มีความคงที่ทุกขั้นตอนการผลิต มีคุณภาพทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์วิเคราะห์ที่ได้มาตรฐาน และมีความปลอดภัยต่อการบริโภค กระบวนการผลิตสาโทที่สำคัญ ได้แก่ การเตรียมหัวเชื้อ ขั้นตอนการหมัก การทำให้ใส การฆ่าเชื้อ การเก็บบ่มและการผสมปรุงแต่ง โดยเฉพาะการทำให้สาโทใสจะช่วยให้ลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์เป็นที่ยอมรับมากกว่า โดยทั่วไปสาโทที่ผ่านการหมักแล้วจะใสเองได้หากรอให้สิ้นสุดการหมักอย่างสมบูรณ์ แต่พบว่าจะต้องใช้เวลานานกว่าจะเกิดการตกตะกอนของแป้งและจุลินทรีย์ที่กั้นถึง รวมทั้งวิธีนี้อาจได้รับผลกระทบจากสารอินทรีย์วิตามิน และแร่ธาตุต่างๆ จากเซลล์ยีสต์ที่แตกสลายอยู่ในสาโท อันจะส่งผลกระทบต่อกลิ่นรสของสาโท ตลอดจนการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีต่อเนื่องจากกิจกรรมของเอนไซม์ในน้ำสาโท ซึ่งมีวิธีการทำให้ใสแตกต่างกันออกไป ได้แก่ การแยกสาโทไว้ในถังพัก เติมน้ำสะอาดและทิ้งให้การตกตะกอนเกิดขึ้นเองภายใน 3-7 วัน, การใช้เอนไซม์, การตกตะกอนที่อุณหภูมิต่ำ, การปั่นเหวี่ยง, การกรองผ่าน Activated carbon และการกรองผ่านเยื่อแผ่นกรอง วิธีนี้สาโทจะไม่สูญเสียกลิ่น รสชาติ เนื่องจากไม่เกี่ยวข้องกับความร้อน ประหยัดพลังงาน สามารถกรองใสและปราศจากจุลินทรีย์ได้ ผลิตภัณฑ์ไม่มีการเจือปนกับสารเคมีใดๆ จึงน่าจะเป็นวิธีที่ดีที่สุด แต่เนื่องจากข้อจำกัดด้านค่าใช้จ่ายของอุปกรณ์เครื่องมือ จึงยังไม่เป็นที่นิยมสำหรับผู้ผลิตที่มีทุนน้อย (ยุพกนิษฐ์ พวงวีระกุล, 2546)

การกรองด้วยเยื่อแผ่นเมมเบรน ได้แก่ กระบวนการ ไมโครฟิลเตรชัน (Microfiltration) กระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน (Ultrafiltration) กระบวนการนาโนฟิลเตรชัน (Nanofiltration) กระบวนการออสโมซิสผันกลับ (Reverse Osmosis) โดยสารป้อนและเพอเมียด (Permeate) อยู่ในเฟสของเหลว ใช้ความดันเป็นแรงขับเคลื่อนให้เกิดการถ่ายโอนมวลขึ้น กระบวนการทั้งหมดสามารถแยกโมเลกุลหรืออนุภาคของสารได้โดยใช้เมมเบรนที่มีรูพรุนคัตขนาดโมเลกุลสารที่มีขนาดแตกต่างกันออกได้ (ขันทอง สุนทรภา, 2547)

กระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน (Ultrafiltration) หรือ UF เป็นกระบวนการแยกด้วยเมมเบรนที่มีขนาดรูบนเมมเบรนในช่วง 30-1,000 อังสตรอม ส่วนใหญ่ประยุกต์ใช้เพื่อแยกอนุภาคหรือตัวละลายที่มีน้ำหนักโมเลกุลในช่วง 1,000 – 500,000 ดัลตัน ไม่ให้ผ่านเมมเบรนออกไป จึงไม่ค่อยมีความแตกต่างในความดันออสโมติกคร่อมเมมเบรน ดังนั้นจึงสามารถทำงานที่ความดันในช่วง 2 -10 บาร์ เมมเบรนอัลตราฟิลเตรชันมักทำให้มีโครงสร้างแบบไม่สมมาตร โดยมีขนาดรู 30 – 400 อังสตรอม อยู่ที่ผิวหน้าเพียง 0.1 – 1.5 ไมครอน ส่วนขนาดรูของชั้นรองรับมีขนาดใหญ่กว่าชั้นผิวอย่างมาก (ขันทอง สุนทรภา, 2547) หลังจากทำการหมักไวน์ ไวน์ที่ได้จะมีลักษณะขุ่นซึ่งไม่เป็นที่ยอมรับแก่ผู้บริโภค ซึ่งมีสาเหตุมาจากอนุภาคแขวนลอยคล้ายเศษเหลือของยีสต์และสาร

โมเลกุลใหญ่ลักษณะเป็นคอลลอยด์ จึงได้อาศัยการกรองใสแยกสารประกอบเหล่านี้ออกไป โดยวิธีดั้งเดิมใช้การกรองแบบ Diatomaceous earth แต่ในปัจจุบันได้มีการประยุกต์ใช้กระบวนการไมโครฟิลเตรชัน (Microfiltration) และอัลตราฟิลเตรชัน (Ultrafiltration) มาใช้ในการกรองใสไว้น การกรองใสไว้นด้วยกระบวนการไมโครฟิลเตรชัน (Microfiltration) เชื้อเมมเบรนจะเกิดการอุดตันได้ง่าย Goncalves และคณะ ศึกษาการกรองใสไว้นขาวด้วยกระบวนการไมโครฟิลเตรชันและอัลตราฟิลเตรชัน โดยเปรียบเทียบผลของการแยกสารโพลีแซคคาไรด์ที่มีผลต่อความเสถียรของกรดทาร์ทริกในไว้น พบว่ากระบวนการอัลตราฟิลเตรชันสามารถแยกสารโพลีแซคคาไรด์และให้ค่าฟลักซ์สูงกว่า (Goncalves และคณะ, 2001) ในปี ค.ศ. 2002 Palacios และคณะ ศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการกรองไว้นระหว่างกระบวนการไมโครฟิลเตรชันและวิธีการกรองแบบดั้งเดิม โดยเปรียบเทียบระหว่างปริมาณของแข็งทั้งหมด การเกิดฟาวลิง ปริมาณโปรตีน อนุภาคคอลลอยด์ที่มีผลต่อสีของไว้น และความเสถียรทางกายภาพและเคมี พบว่ากระบวนการไมโครฟิลเตรชัน มีประสิทธิภาพของการกรองไว้นสูงกว่าวิธีการกรองแบบดั้งเดิม (Palacios และคณะ, 2002) ในปี ค.ศ. 1989 Wang และคณะ ทดลองศึกษาการกำจัดเชื้อแบคทีเรียออกจากไว้นขาว โดยใช้กระบวนการอัลตราฟิลเตรชันแบบ thin-layer ultrafilter วัสดุที่ใช้ทำเมมเบรนคือ polysulphonamide (PSA) เปรียบเทียบกับวิธีการกรองแบบดั้งเดิม พบว่ากระบวนการอัลตราฟิลเตรชันเป็นกระบวนการที่ไม่ยุ่งยากและประหยัดแรงงาน ซึ่งช่วยลดต้นทุนการผลิต และให้ไว้นที่มีคุณภาพของความใส กลิ่น ลักษณะปรากฏที่ดีกว่า สูญเสียผลิตภัณฑ์ในระหว่างขั้นตอนการกรองน้อยลง สามารถละเว้นขั้นตอนการฆ่าเชื้อได้ เนื่องจากกำจัดเชื้อออกได้หมด จึงสามารถเก็บผลิตภัณฑ์ได้อายุมากกว่า 6 เดือน (Wang และคณะ, 1989)

เครื่องดื่มประเภทแอลกอฮอล์ที่ผลิตจากธัญพืชโดยเฉพาะไว้นขาว (สาโท) นั้นเริ่มจะมีการพัฒนาสู่ขั้นอุตสาหกรรม ดังนั้นถ้าเราหันมาสนับสนุนและให้ความสนใจในการพัฒนาสุราแช่ให้มีคุณภาพและเป็นที่ยอมรับทั้งในและต่างประเทศมากขึ้น ก็เป็นการเพิ่มมูลค่าการส่งออกและลดการนำเข้า ซึ่งจะช่วยลดการเสียดุลทางการค้าได้อีกวิธีหนึ่ง (วรนนท์ และคณะ, 2545)

ในงานวิจัยนี้จะศึกษาการผลิตสุราแช่ เพื่อพัฒนาและปรับปรุงกระบวนการผลิต โดยเฉพาะการกรองใสและปราศจากจุลินทรีย์ด้วยกระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน ก่อนทำการบรรจุขวด เพื่อยกระดับสุราแช่ให้ทัดเทียมกับมาตรฐานสากล

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

ศึกษาการผลิตสุราแช่ เพื่อพัฒนาและปรับปรุงกระบวนการผลิต โดยเฉพาะการกรองใสและปราศจากจุลินทรีย์ด้วยกระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน ก่อนทำการบรรจุขวด เพื่อยกระดับสุราแช่ให้ทัดเทียมกับมาตรฐานสากล

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

สามารถพัฒนากระบวนการกรองใสเพื่อผลิตสุราแช่ โดยใช้กระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพ ปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ และยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้นาน

1.4 วิธีดำเนินการวิจัย

1.4.1 ค้นคว้าและรวบรวมข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับการวิจัย

1.4.2 ศึกษากระบวนการผลิตสุราแช่

1.4.3 ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพของการกรองใสและปราศจากจุลินทรีย์ของสุราแช่ ด้วยกระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน

1.4.4 ตรวจสอบและวิเคราะห์องค์ประกอบของสุราแช่ที่ผลิตได้

1.4.5 วิเคราะห์สรุปผลการทดลองและเขียนวิทยานิพนธ์

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 วัตถุประสงค์และกระบวนการผลิตสาโท

2.1.1 ข้าว

การแบ่งประเภทของข้าว จำแนกตามลักษณะการบริโภค หรือชนิดของแป้ง (สุภมาศ ไช้คำ, 2544)

2.1.1.1. ข้าวเจ้า (non-glutinous rice) มีอะมัยโลส (amylase) อยู่ประมาณ 7-33 เปอร์เซ็นต์ ที่เหลือเป็นอะมัยโลเพคติน (amylpectin) เมล็ดข้าวจะมีสีขาวใสและเมื่อหุงสุกแล้วเมล็ดจะร่วนกว่าข้าวเหนียว ข้าวเจ้าแต่ละพันธุ์มีความนุ่มเหนียวแตกต่างกัน ประชาชนส่วนใหญ่ในภาคกลางและภาคใต้ของประเทศจะนิยมบริโภคข้าวเจ้าเป็นอาหารหลัก

2.1.1.2. ข้าวเหนียว (glutinous rice หรือ waxy rice) ประกอบด้วย อะมัยโลเพคติน 98 เปอร์เซ็นต์ มีอะมัยโลสอยู่น้อยมากเพียง 0-2 เปอร์เซ็นต์ เมล็ดข้าวสารจะมีสีขาวขุ่น เมื่อนึ่งแล้วจะได้ข้าวสุกที่จับตัวเหนียวติดกันและมีลักษณะใส ประชาชนส่วนใหญ่ของภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือบริโภคข้าวเหนียวเป็นอาหารหลัก

การทำสาโทนิยมใช้ข้าวเหนียวขาว หรือข้าวเหนียวดำเป็นวัตถุดิบมากกว่าข้าวเจ้า เนื่องจากองค์ประกอบภายในเมล็ดข้าว ส่วนใหญ่คือ สตาร์ช (starch) ซึ่งประกอบด้วย อะมัยโลสและอะมัยโลเพคตินเป็นองค์ประกอบหลัก และจะมีผลต่อคุณสมบัติของข้าวเมื่อนึ่งสุกแล้ว โดยข้าวที่มีอะมัยโลสต่ำดูดน้ำและขยายตัวได้มากกว่าข้าวที่มีอะมัยโลสสูง เมื่อนึ่งสุกข้าวจะเหนียวนุ่มกว่าจึงทำให้การแทงเส้นใยของเชื้อราเข้าสู่ภายในของเมล็ดข้าวง่าย (เชื้อราโตดี) และองค์ประกอบของข้าวเหนียวพบว่า มีอะมัยโลสน้อยมากจนแทบไม่มีเลย ดังนั้นข้าวเหนียวจึงเหมาะที่จะนำมาทำไวน์ข้าวมากกว่าข้าวเจ้า (สุภมาศ ไช้คำ, 2544)

2.1.2 การเตรียมหัวเชื้อ

จากกระบวนการผลิตในปัจจุบันสามารถแบ่งลักษณะของหัวเชื้อออกเป็น 2 รูปแบบ ได้แก่ การใช้ลูกแป้งแบบดั้งเดิม และการใช้จุลินทรีย์บริสุทธิ์

2.1.2.1 ลูกแป้ง

ลูกแป้ง (มนตรี เชาว์สังเกตุ, 2521) ตามพระราชบัญญัติ พ.ศ. 2493 มาตรา 4 จัดเป็นเชื้อสุราอย่างหนึ่งตามนิยาม ดังนี้ “เชื้อสุรา” หมายถึง แป้งเชื้อสุรา แป้งข้าวหมัก หรือเชื้อใดๆเมื่อหมักกับวัตถุดิบหรือของเหลวอื่นๆ แล้วสามารถทำให้เกิดแอลกอฮอล์ที่ใช้ทำสุราได้ การผลิตลูกแป้งมีสูตรต่างกันหลายตำรับ ผู้ผลิตมักสแกนไว้เป็นความลับ แต่องค์ประกอบที่สำคัญก็คือ ปลายข้าวดิบ หรือข้าวสารบดละเอียด ซึ่งใช้ได้ทั้งข้าวเหนียวและข้าวเจ้า (หรืออาจใช้แป้งสูงสำเร็จรูปที่ขายในท้องตลาด ยี่ห้อที่นิยมคือแป้งข้าวเหนียวตราเหรียญทอง เนื่องจากไม่มีสารกันเสีย ครอบคลุมการเจริญของหัวเชื้อลูกแป้ง (ยุพกนิษฐ์ พ่วงวิระกุล, 2546) นำมาผสมกับเครื่องเทศสมุนไพรต่างๆ เครื่องเทศเหล่านี้บางตำรับใช้ในลักษณะเป็นผง แต่บางตำรับก็ใช้ในรูปของสารสกัดในน้ำเดือด ในเครื่องเทศสมุนไพรจะมีสารส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดจำเพาะ เช่น เป็นแหล่งคาร์บอน ในโตรเจน วิตามิน เกลือแร่ ที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตและกระบวนการหมักของรา และยีสต์ เช่น รากหวาย มีน้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอน อบเชย ตดหมา นอกจากนี้ให้กลิ่นหอมในสาโทแล้ว ยังเป็นแหล่งของแร่ธาตุสำคัญสำหรับการหมัก และสารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดไม่จำเพาะ เช่น น้ำมันหอมระเหยและสารระเหย เช่น กานพลู มีสารยับยั้งแบคทีเรียแลคติกและราหลายชนิดที่ไม่ต้องการ บัญญัติ สุขศรีงาม (2527) ได้รายงานปริมาณการใช้และผลการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในเครื่องเทศสมุนไพรไทยไว้หลายชนิด เช่น กานพลู ปริมาณที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียแลคติกและราหลายชนิดให้ได้ผลนั้นจะต้องใช้ถึงร้อยละ 30 ฯลฯ ซึ่งในความเป็นจริง ผู้ผลิตลูกแป้งจะไม่ใช้เครื่องเทศสมุนไพรอย่างใดอย่างหนึ่งเพียงชนิดเดียวในปริมาณมากๆ แต่จะใช้หลายๆชนิดอย่างละนิดอย่างละหน่อยผสมกันเพื่อเสริมฤทธิ์ซึ่งกันและกัน (Synergistic effect) นับเป็นภูมิปัญญาที่น่าเคารพยกย่องอย่างที่สุด ดังนั้นการเก็บลูกแป้งไว้นานๆอาจทำให้สารเหล่านี้สูญเสียคุณสมบัติ เนื่องจากระเหยจนหมดไปได้ เมื่อผสมข้าวกับเครื่องเทศแล้วก็ปั้นเป็นก้อน โรยด้วยผงลูกแป้งเก่า บ่มในบรรยากาศที่ควบคุมระดับความชื้นสัมพัทธ์และอุณหภูมิ เป็นเวลา 2 วัน จะสังเกตเห็นการเจริญของเส้นใยราปกคลุมทั่วเห็นเป็นสีขาว จากนั้นลดระดับความชื้นสัมพัทธ์ ช่วงนี้ยีสต์จะกินน้ำตาลและสร้างก๊าซออกมา หลักการเกี่ยวกับการขึ้นฟูของโดขนมปัง (ชาวบ้านจะเปิดฝ้าที่คลุมออก และตากลมต่ออีก 1-2 วัน จากนั้นนำออกตากแดด 1-2 แดด) จนลูกแป้งแห้งและมีน้ำหนักเบา วัดค่าความชื้นสุดท้ายได้น้อยกว่าร้อยละ 20 หรือมีค่า a_w ไม่เกิน 0.85

จุลินทรีย์ในลูกแป้ง (มนตรี เชาว์สังเกตุ, 2521) เชื้อราที่ใช้ใน Amylo process ได้แก่ *Mucor rouxii* (Amylomyces α), *Rhizopus japonicus* (Amylomyces β), *R. tonkinensis* (Amylomyces γ) และเชื้อที่ใช้กันมากใน Amylo process คือ *R. delemar* ซึ่งมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายแป้งให้เป็นน้ำตาล (saccharify) ได้ดีและสร้างกรดน้อย มนตรียัง

ได้อ้างถึงรายงานการแยกเชื้อจุลินทรีย์จากลูกแป้งและไวน์ข้าวต่างๆ ที่มนตรีรวบรวมไว้ระหว่างปี ค.ศ. 1959-1977 มีดังนี้

พบเชื้อราสกุลไรโซปีสหลายชนิด ได้แก่ *Rhizopus niveus*, *R. delemar*, *R. formosaensis* var. *multiplicisporus*, *R. japonicus*, *R. chinensis*, *R. pseudochinensis*, *R.*

chlamydomucor, *R. rhizopodiformis*, *R. microsporus*, *R. arrhizus*, *R. cambodja*, *R. oryzae*

พบราสกุลคลาหมักโดมิวกอร์ 4-5 ชนิด ได้แก่ *Chlamydomucor rouxii*, *Ch. oryzae*, *Ch. rouxianus*, *Ch. japonicus*, *Ch. chlamydosporus*

พบราสกุลมิวกอร์ 2-3 ชนิด ได้แก่ *Mucor rouxii*, *M. fragillis*, *M. javanicus*

พบราสกุลแอสเพอร์จิลลัส 1-2 ชนิด ได้แก่ *Aspergillus oryzae*, *A. niger*

พบราสกุลเพนนิซิลเลียม ได้แก่ *Penicillium* sp.

พบราสกุลโมนิเลีย ได้แก่ *Monilia* sp.

ส่วนยีสต์ในลูกแป้ง พบเป็นสองกลุ่มใหญ่คือ ยีสต์หมักแป้ง กับยีสต์ไม่หมักแป้ง

ยีสต์หมักแป้งจัดอยู่ในกลุ่ม Filamentous type ได้แก่ยีสต์ในสกุลแซคคาโรมายซ์คอปซิส (*Saccharomycopsis* sp.) หรือ เอนโดมายซ์คอปซิส (*Endomycopsis* sp.) ได้แก่ *Endomycopsis fibuligera*, *E. burtonii*, *E. hordei*, *E. lindneri* และ *E. javanensis*

ยีสต์ไม่หมักแป้งจัดอยู่ใน *Saccharomyces* type ใน family *Saccharomycetaceae* ได้แก่ ยีสต์ในสกุล *Saccharomyces cerevisiae*, *S. diastaticus*, *Pichia acaciae*, *Pichia farinose*, *Pichia* sp. และ *Hansenula* sp.

ยีสต์ไม่หมักแป้งใน Family *Cryptococcaceae* ได้แก่ยีสต์ในสกุล *candida* sp., *Torulopsis magjii*, *Torulopsis* sp., *T. norvegica*, *Kloeckera* sp., *Rhodotorula* sp., *Trichosporon variable*, *Trichosporon* sp.

ยีสต์ไม่หมักแป้งใน Family *Sporobolomycetaceae* ได้แก่ยีสต์ในสกุล *Sporobolomyces* sp. การคัดเลือกเชื้อที่มีประสิทธิภาพในการหมักสาโท พบรา 3 จินัส ได้แก่ *Aspergillus* sp., *Mucor* sp. และ *Rhizopus* sp. และพบยีสต์ 2 จินัส คือ *Endomycopsis* sp. และ *Saccharomyces* sp. สำหรับการหมักสาเกของญี่ปุ่น จะใช้รา *Aspergillus oryzae* และยีสต์ *Saccharomyces sake*

และแม้ว่าเครื่องเทศสมุนไพรที่ใช้ทำลูกแป้ง จะไม่สามารถควบคุมการปนเปื้อนได้โดยสิ้นเชิง แต่หากกระบวนการผลิตนั้นได้กระทำอย่างระมัดระวัง และใช้พืชสมุนไพรที่อายุเหมาะสม คุณภาพดีแห้ง ก็จะมีจุลินทรีย์เพียงไม่กี่ชนิดเท่านั้น ที่สามารถเจริญและเพิ่มจำนวนได้มาก ส่วนจุลินทรีย์ปนเปื้อนนั้นเจริญได้น้อย

ลักษณะที่ดีของลูกแป้ง จากการสังเกตด้วยตา

- 1) มีน้ำหนักเบา ฟุ้ง มีโพรงอากาศข้างใน แสดงถึงกิจกรรมสร้างก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ดีของยีสต์
- 2) มีกลิ่นหอม แสดงถึงประสิทธิภาพของเครื่องเทศยังแรงอยู่
- 3) บีดูเห็นใยของรากระจายตัวดีเกาะกับผงแป้งปน แสดงถึงปริมาณราเริ่มต้นที่เหมาะสม
- 4) ชิมดูมีรสหวาน แสดงถึงประสิทธิภาพในการสร้างน้ำตาลของรา
- 5) ไม่เหม็นเปรี้ยว แสดงว่าไม่มีการปนเปื้อนของแบคทีเรียน้ำส้ม
- 6) มีสีขาวนวลเป็นสีเดียวกันทั้งลูก ไม่มีสีดำ หรือเขียวปะปน แสดงว่าไม่เกิดปนเปื้อนของราชนิดอื่น

ลักษณะที่ดีของลูกแป้ง จากการทดสอบการหมักข้าวเหนียว

- 1) หมักให้น้ำต้อย (น้ำเชื่อมข้าว) มากเร็ว
- 2) หมักแล้วให้กลิ่นหอม
- 3) หมักได้แอลกอฮอล์สูง
- 4) ภาวะการหมักไม่เกิดการปนเปื้อนได้ง่าย

2.1.2.2 เชื้อบริสุทธิ์

การเตรียม โคลจิ เป็นการเลี้ยงราบริสุทรีที่คัดเลือกคุณสมบัติ และมีความเหมาะสมต่อชนิดข้าวที่ใช้ทำสาโทบนข้าวหนึ่งสัปดาห์ ที่มีความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 50-60 (ขึ้นกับชนิดข้าวและ/พันธุ์ข้าวที่ใช้) เพื่อให้เป็นแหล่งผลิตเอนไซม์ เช่นเดียวกับการผลิตสาเก ทำโดยการถ่ายสปอร์และ/เส้นใย เชื้อราสายพันธุ์ที่ต้องการบนข้าวหนึ่ง ปล่อยให้เชื้อเจริญเติบโตประมาณ 5-6 วัน ที่อุณหภูมิ 34-36 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นทำการขยายขนาดโคลจิ โดยเตรียมข้าวหนึ่งสัปดาห์ตามปริมาณที่ต้องการแล้วทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ถ่ายสตาร์ทเตอร์ที่เตรียมไว้ลงไปบนข้าวหนึ่ง คลุกเคล้าให้เข้ากัน บ่มทิ้งไว้ประมาณ 2 วัน ในช่วงเวลานี้ให้คลุกเคล้าเป็นระยะๆ เมื่อสิ้นสุดการบ่มเชื้ออุณหภูมิจะขึ้นสูงจนถึง 42 องศาเซลเซียส และจะมีเส้นใยสีขาวปกคลุมอยู่เต็ม บางส่วนจะทะลุเข้าไปในเมล็ดโคลจิที่ได้นี้มีเอนไซม์ กรดอินทรีย์ วิตามิน และสารอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อการเจริญของยีสต์ในขั้นตอนการหมัก โดยการถ่ายเชื้อยีสต์ที่มีปริมาณเซลล์เริ่มต้น 10^6 เซลล์ต่อกรัม ลงไป ตั้งทิ้งไว้ 3 วัน ในระหว่างนี้ให้คนเป็นระยะๆ ยีสต์จะเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนมากขึ้น และเป็นระยะเริ่มต้นที่จะมีการหมักเกิดขึ้น โคลจิที่เตรียมขึ้นนี้ จะใช้เป็นสตาร์ทเตอร์สำหรับการหมักสาโทในถังหมักใหญ่ต่อไป

2.1.3 น้ำ

น้ำเป็นองค์ประกอบที่มีอยู่ในไวน์ขาวไม่ต่ำกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ น้ำจึงเป็นวัตถุดิบที่สำคัญเพราะมีผลต่อคุณภาพไวน์โดยตรง สมบัติของน้ำที่เหมาะสมในการทำสุราแช่คือ ไม่มีสี กลิ่น รส แร่ธาตุ และเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นอันตราย มีปริมาณธาตุเหล็กในน้ำไม่ควรเกิน 0.02 พีพีเอ็ม สำหรับประเทศไทย การผลิตส่วนใหญ่นิยมใช้น้ำฝน หรือน้ำประปาต้มสุก (วรรัตน์ โชติวรรณพร, 2539)

2.1.4. ขั้นตอนการหมัก

ขั้นตอนนี้เป็นการหมักในถังใหญ่ กระบวนการหมักเริ่มจากเติมข้าวหนึ่งสัปดาห์ และลูกแป้งหรือเชื้อบริสุทธิ์ลงในถังหมัก ทิ้งไว้ 3 วัน แสดงดังรูปที่ 2.1 เพื่อให้ราและยีสต์เจริญเติบโต ในระยะนี้นับจำนวนเซลล์ได้ประมาณ $10^8 - 10^{12}$ เซลล์ต่อกรัม ค่าความเป็นกรดต่างจะลดลงมาอยู่ที่ประมาณ 4.0 พบว่าเป็นระยะที่ได้น้ำตาลสูงที่สุด วัตถุประสงค์ได้ประมาณ 37-47 องศาบริกซ์ (ขึ้นกับชนิดของข้าว) จากนั้นเติมน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อและมีคุณภาพน้ำบริโภค เพื่อไปเจือจางความหวานหรือปรับค่าบริกซ์ให้มีค่าประมาณ 20-22 องศาบริกซ์ และปล่อยให้กระบวนการหมักดำเนินต่อไปอีก 4-7 วัน หรือเมื่อวัดระดับแอลกอฮอล์ได้ประมาณ 10-12 เปอร์เซ็นต์ ให้ถ่ายเอาเฉพาะส่วนน้ำสาโทออกจากถังหมักไปเก็บในถังพักที่เติมสารเพื่อฆ่าเชื้อและหยุดการทำงานของจุลินทรีย์

2.1.5. การทำให้ใส

โดยทั่วไปสาโทพื้นบ้าน หรือ “น้ำขาว” จัดเป็น Turbid wine เนื่องจากกระบวนการผลิตแบบดั้งเดิมไม่ต้องการอายุการเก็บรักษาที่ยาวนาน จะผลิตและบริโภคในขณะที่การหมักยังไม่สิ้นสุด ลักษณะปรากฏจึงมีความขุ่น มีความหวาน และมีรสซ่าปนเนื่องจากยีสต์ยังทำงานอยู่ มีการเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์และก๊าซ ดังนั้นการทำให้สาโทใสจะช่วยให้ลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์เป็นที่ยอมรับมากกว่า มีวิธีการทำให้สาโทใสที่แตกต่างกันไป ได้แก่

2.1.5.1 การแยกสาโทไว้ในถังพัก เติมน้ำฆ่าเชื้อ และทิ้งให้การตกตะกอนเกิดขึ้นเองภายใน 3-7 วัน

2.1.5.2 การใช้เอนไซม์อะมัยเลส และ โปรติเอส

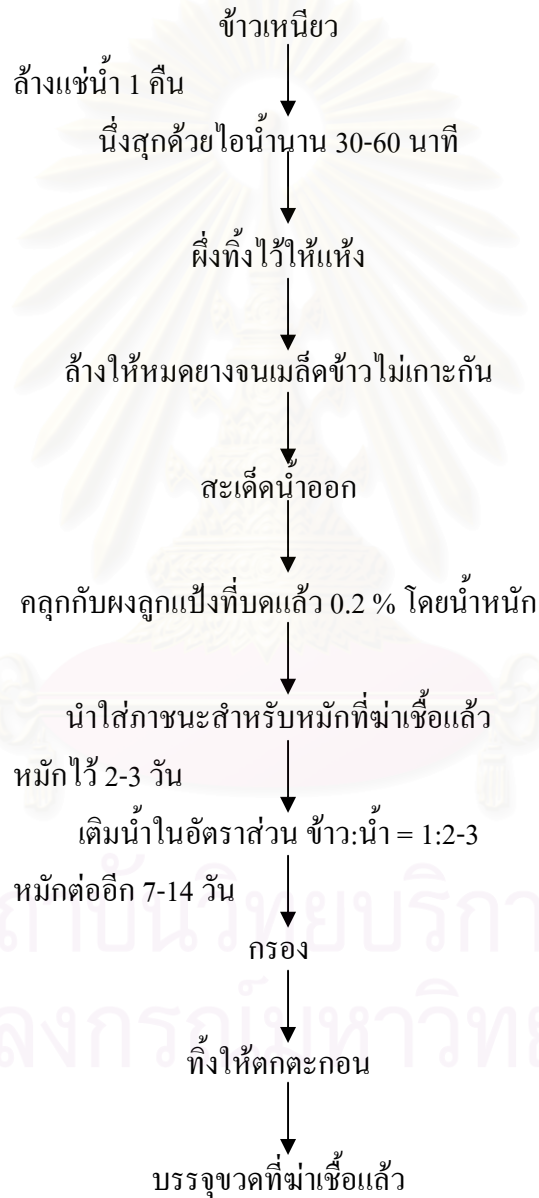
2.1.5.3 การตกตะกอนที่อุณหภูมิต่ำ

2.1.5.4 การปั่นเหวี่ยง เช่นเดียวกับอุตสาหกรรมเบียร์

2.1.5.5 การกรองผ่านเยื่อกรองขนาดรูพรุนปรับระดับ เช่น เริ่มต้นจาก 5 ตามด้วย 1 และ 0.2 ไมครอน

2.1.5.6 การกรองผ่าน Activated carbon

แต่ถ้าไม่ต้องการลงทุนในส่วนของเอนไซม์ หรืออุปกรณ์เครื่องมือข้างต้น สาโท จะใส่เองได้หากรอให้สิ้นสุดการหมักอย่างสมบูรณ์ (ใช้เวลานาน) จะเกิดการตกตะกอนของแป้ง และจุลินทรีย์ที่กั้นถัง แต่วิธีนี้อาจได้รับผลกระทบจากสารอินทรีย์ วิตามิน และแร่ธาตุต่างๆ จากเซลล์ยีสต์ที่แตกสลาย ที่ส่งผลกระทบต่อกลิ่นรสของสาโท ตลอดจนการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมี ต่อเนื่องจากกิจกรรมของเอนไซม์ในน้ำสาโท



รูปที่ 2.1 วิธีการผลิตเหล้าสาโท (นภา โฉ่ห่ทอง, 2535)

2.1.6 การฆ่าเชื้อ

การฆ่าเชื้อสาโททำได้ 3 วิธี คือ

2.1.6.1 การใช้สารเคมี

การเติมสารเคมีเพื่อ “น็อกเชื้อ” วิธีนี้เป็นที่นิยมมากจากผู้ผลิตสาโทในประเทศไทย เพราะเป็นวิธีที่สะดวกง่ายดาย รวดเร็วทันใจ และถูกที่สุด สารเคมีที่อนุญาตให้ใส่ได้มี 3 ชนิด โดยปริมาณที่ตกค้างในสาโทบรรจุขวดจำหน่ายจะต้องมีปริมาณสารเหล่านี้ไม่เกินค่ามาตรฐานของ มอก. ไลน์ 2089-2544 ได้แก่ ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ไม่เกิน 300 พีพีเอ็ม กรดซอร์บิก ไม่เกิน 200 พีพีเอ็ม และกรดเบนโซอิก ไม่เกิน 250 พีพีเอ็ม ซึ่งปัญหาที่พบในปัจจุบันคือผู้ผลิตบางรายใส่สารโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟด์ (KMS) ในปริมาณที่มากเกินไป และไม่รู้เทคนิควิธีใส่อย่างถูกต้อง เพราะไม่ต้องการถูกตีคืนสินค้าเนื่องจากการระเบิดของขวด ก่อให้เกิดอาการแพ้กำมะถันอย่างรุนแรงในผู้บริโภค

2.1.6.2 การใช้ความร้อนระดับพาสเจอร์ไรเซชัน

การใช้ความร้อนระดับพาสเจอร์ไรเซชันที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที หรือที่ 65 องศาเซลเซียส นาน 15-30 นาที วิธีนี้นอกจากจะฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ รา และยีสต์ในการหมักได้หมด รวมทั้งฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคและจุลินทรีย์ปนเปื้อนชนิดอื่นที่เป็นอันตรายแล้ว ยังสามารถหยุดปฏิกิริยาจากเอนไซม์ ไปจนถึงทำลายเอนไซม์ได้อีกด้วย อย่างไรก็ตาม การเลือกใช้อุณหภูมิและเวลาที่พาสเจอร์ไรเซชัน จะต้องแปรผันตามปริมาณของเซลล์จุลินทรีย์ที่อยู่ในน้ำสาโทด้วย เพราะประสิทธิภาพของลูกเบิ้งในแต่ละรุ่นก็ไม่เท่ากัน ปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้ก็ไม่มากพอที่จะยับยั้งการเจริญของยีสต์ ยังมีน้ำตาลเหลืออยู่ในน้ำสาโท อีกทั้งการปนเปื้อนซ้ำในแต่ละขั้นตอนก็ไม่สามารถจะควบคุมได้ จึงพบอยู่เสมอวิธีนี้ “น็อก” ไม่อยู่ มีการหมักต่อในขวด สร้างก๊าซจำนวนมากจนดันให้ขวดระเบิด (ยุพกนิษฐ์ พ่วงวีระกุล, 2546)

2.1.6.3 การกรองไร้เชื้อ (Sterile filtrate)

การใช้ขนาดของเยื่อกรอง 0.2 ไมครอน เพื่อแยกจับจุลินทรีย์ทุกชนิด วิธีนี้สาโทจะไม่สูญเสียกลิ่นรสเนื่องจากไม่เกี่ยวข้องกับความร้อน ผลิตภัณฑ์ไม่มีการเจ็บจากสารเคมีใดๆ จึงน่าจะเป็นวิธีที่ดีที่สุด แต่เนื่องจากข้อจำกัดด้านค่าใช้จ่ายของอุปกรณ์เครื่องมือจึงยังไม่เป็นที่นิยมสำหรับผู้ผลิตส่วนใหญ่ในประเทศไทยที่มีทุนน้อย

2.1.7 การเก็บบ่มและการผสมปรุงแต่ง

ผู้ผลิตสาโทส่วนใหญ่ต้องการทำเร็ว ขายเร็ว จึงไม่มีขั้นตอนการเก็บบ่มสาโทเหมือนในอุตสาหกรรมสาเกที่จำเป็นต้องเก็บสาเกไว้ระยะหนึ่ง (3-8 เดือน) ที่อุณหภูมิ 13-18 องศาเซลเซียส เพื่อช่วยบ่มรสชาติสาเกให้ดีขึ้นและมีสีเข้มขึ้น สาโทที่ผ่านการบ่มแล้วจะต้องนำมาปรับ/ผสมปรุงแต่ง (Blend) เพื่อให้มีความคงที่ของรสชาติ ได้แก่ ค่าความหวาน ปริมาณแอลกอฮอล์ และค่ากรดทั้งหมด ค่าสี/ความใส ฯลฯ เป็นครั้งสุดท้ายก่อนนำไปบรรจุขวด

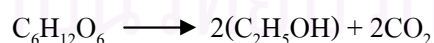
2.2 การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีในระหว่างการหมัก

กระบวนการหมักข้าวประกอบด้วยขั้นตอนสำคัญ 3 ขั้นตอน คือ

2.2.1 Gelatinization เป็นขั้นตอนการทำให้ข้าวสุก เม็ดแป้งในข้าว เมื่อสัมผัสความร้อนขึ้นจะเกิด gelatinization ทำให้ข้าวสุกมีลักษณะนุ่มเหนียวเหมาะสมต่อการทำกิจกรรมของจุลินทรีย์ (Tester และ Morrison, 1990)

2.2.2 Liquefaction และ Saccharification เป็นขั้นตอนที่ทำให้แป้งมีความหนืดลดลงและการย่อยแป้งเป็นน้ำตาลโดยจุลินทรีย์ที่สร้าง amylolytic enzyme ซึ่งได้แก่ *Amylomyces*, *Rhizopus* (Teramoto และคณะ, 1990) การย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลด้วยเอนไซม์อัลฟาอะมัยเลส จะได้ผลผลิตเป็น dextrins และ maltose สำหรับการย่อยด้วยเอนไซม์เบต้าอะมัยเลส จะได้ผลผลิตเป็น maltose และ limit dextrins ส่วนเอนไซม์ amyloglucosidase จะย่อยแป้งและ dextrins เหล่านั้นให้เป็นกลูโคสต่อไป (Weiser และคณะ, 1978)

2.2.3 Fermentation เป็นขั้นตอนการเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์มีดังนี้ (Amerine และคณะ, 1972)

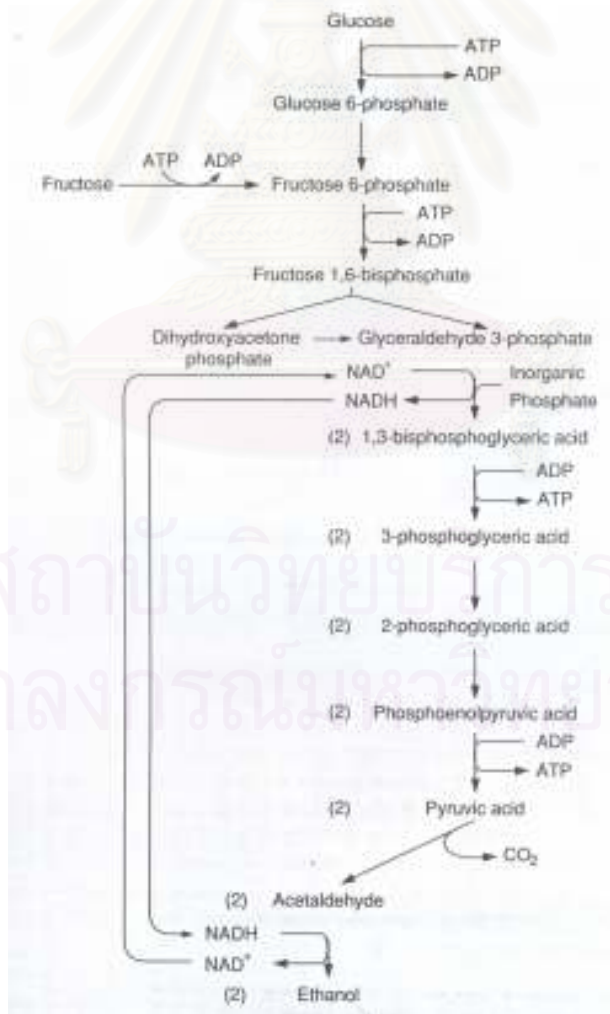


การหมักแอลกอฮอล์จากแป้งมีความจำเป็นที่ต้องใช้เชื้อราในการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล ปัจจุบันการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์นิยมใช้เอนไซม์อัลฟาอะมัยเลสและกลูโคอะมัยเลสจากรามาย่อยแป้งเพื่อผลิตแอลกอฮอล์ หรือที่เรียกว่า amylo process (Inui และคณะ, 1965) นั้นใช้เชื้อราในการย่อยแป้งเป็นน้ำตาลและเชื้อราเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ได้เล็กน้อย ดังนั้นการหมักแอลกอฮอล์จึงจำเป็นต้องเติมยีสต์ร่วมด้วย เพื่อเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์

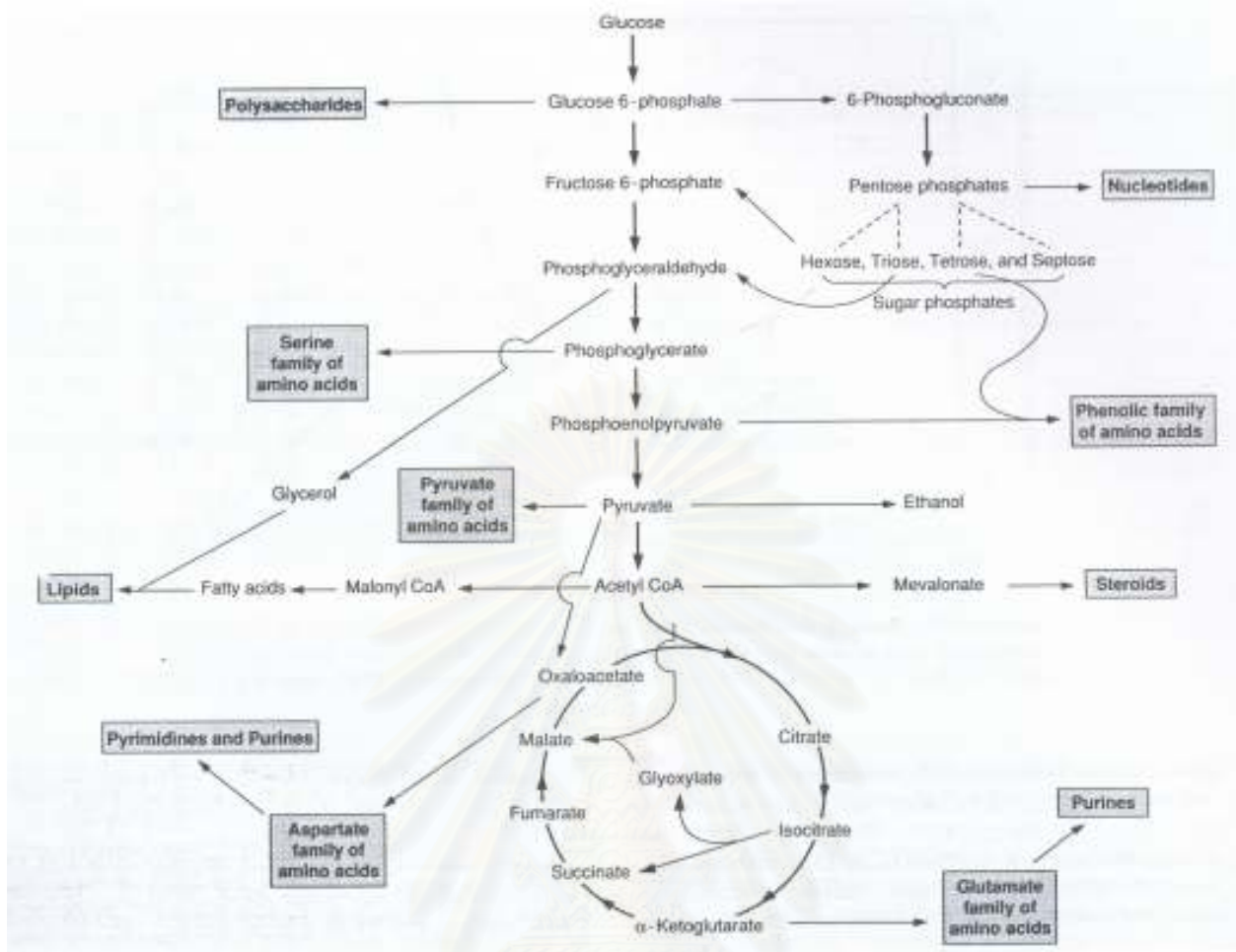
กระบวนการในการผลิตแอลกอฮอล์นั้นเป็นกระบวนการย่อยสลายน้ำตาลกลูโคสและฟรุคโตสไปเป็นเอทานอลและคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งเป็นกระบวนการที่อาศัยกลไกของ The

Embden-Meyerhof pathway ซึ่งประกอบไปด้วยขั้นตอนต่างๆ ดังแสดงในรูปที่ 2.2 และนอกจากนี้ ยีสต์ยังสามารถย่อยสลายได้สารประกอบหอมระเหย ที่สามารถพบในไวน์ได้ (Jackson, 2000)

การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีที่เกิดขึ้นของแป้งเป็นน้ำตาลชนิดต่างๆ และกลูโคส กรดแลคติก และกรดอินทรีย์ชนิดต่างๆ ฯลฯ โดยเอนไซม์อะไมเลสจากรา ตามด้วยยีสต์ที่จะเปลี่ยน น้ำตาลกลูโคสให้เป็นแอลกอฮอล์ และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (รูปที่ 2.3) พร้อมๆกับการผลิตกรดอินทรีย์ชนิดต่างๆ เช่น กรดซักซินิก กรดมาลิก ฯลฯ นอกจากนี้ยังพบกิจกรรมของเอนไซม์ชนิดอื่น อาทิ โปรติเอส ที่ย่อยสลายโปรตีนเป็นเปปไทด์เป็นกรดอะมิโน และ ไลเปส ที่เปลี่ยนไขมันเป็น กรดไขมันและกลีเซอรอล เกิดเป็นกลิ่นรสที่มีความซับซ้อน และยังไปกว่านั้นสารอินทรีย์ที่เกิดขึ้นนี้ยังสามารถทำปฏิกิริยากันเอง แล้วได้สารอินทรีย์ชนิดใหม่ๆ เป็นสารระเหย ที่ช่วยเพิ่มความซับซ้อนที่เป็นความหอมเฉพาะตัวในสาโท ที่บ่มเป็นเวลานาน เรียกว่าแอลกอฮอล์โมเลกุลสูง (higher alcohol) ได้แก่ กรดอะมิโนบางตัว เช่น ลิวซีน จะถูกยีสต์เปลี่ยนเป็นแอลกอฮอล์ประเภท ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ ซึ่งจะถูกเปลี่ยนต่อไปโดย อะซิทิล โคเอนไซม์เอ เป็น ไอโซเอมิลอะซิเตต ทำให้สาโทมีกลิ่นที่ดีขึ้น



รูปที่ 2.2 การหมักแอลกอฮอล์โดยอาศัยกลไก The Embden-Meyerhof pathway (Jackson, 2000)



รูปที่ 2.3 ปฏิกริยาระหว่างเกิดการหมักแอลกอฮอล์ (Jackson, 2000)

จากกระบวนการหมักแอลกอฮอล์ กรดอะมิโนบางชนิดจะถูกยีสต์เปลี่ยนเป็นสารระเหย เรียกว่าแอลกอฮอล์โมเลกุลสูง โดยผ่านกระบวนการ Decarboxylation โดยมีหมู่ α -keto acid เป็นสาร intermediate ตัวรับหมู่อะมิโนจากกรดอะมิโน ยกตัวอย่างแอลกอฮอล์โมเลกุลสูง เช่น *n*-propyl alcohol, isobutyl alcohol, active amyl alcohol และ isoamyl alcohol ที่ได้จาก α -keto butyrate, α -keto valerate, α -keto-isocaproate และ α -keto- β -methylvalerate ซึ่งได้มาจากกรดอะมิโน Threonine, Valine, Leucine และ Iso-leucine ตามลำดับ (Dickinson และคณะ, 1998; 2000)

ประโยชน์ของแอลกอฮอล์โมเลกุลสูง (higher alcohols) คือเป็นสารประกอบหอมระเหย (volatile compounds) ในไวน์ เป็น secondary products ที่ได้จากการหมักแอลกอฮอล์ ซึ่งเป็นปัจจัยหนึ่งในการกำหนดคุณภาพ และช่วยเพิ่มความซับซ้อนที่เป็นความหอมเฉพาะตัวให้กับผลิตภัณฑ์ การเกิดแอลกอฮอล์โมเลกุลสูง ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ต่อไปนี้ เช่น สายพันธุ์ยีสต์, การเจริญเติบโตของยีสต์, อุณหภูมิของการหมัก, ค่าความเป็นกรดของน้ำองุ่น, ระดับการเติมอากาศ, ปริมาณของแข็ง และในงานวิจัยของ Ancin และคณะ (1996) นี้จะเน้นศึกษาปริมาณของแข็งใน

กระบวนการผลิตไวน์ ซึ่งพบว่าน้ำองุ่นที่มีปริมาณของแข็งที่ไม่ละลายน้ำอยู่มาก ในระหว่างขั้นตอนการหมัก จะได้ไวน์ที่มีปริมาณแอลกอฮอล์โมเลกุลสูงและเอสเทอร์สูงกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับไวน์ที่ทำจากน้ำองุ่นที่กรองใสแล้ว ดังนั้นวิธีการกรองใส (การตกตะกอน หรือการกรอง) มีอิทธิพลต่อความเข้มข้นของแอลกอฮอล์โมเลกุลสูงในการหมักไวน์ และจากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของแอลกอฮอล์โมเลกุลสูง กับสารประกอบในโตรเจน พบว่าการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของแอลกอฮอล์โมเลกุลสูง ด้วยขั้นตอนทำใสก่อนทำการหมักของน้ำองุ่นนั้น ไม่สามารถอธิบายได้จากข้อมูลปริมาณการใช้ในโตรเจน ซึ่งจะเห็นได้ว่าระดับของการกรองใสของน้ำองุ่นเป็นปัจจัยกำหนดในการทำให้เกิดแอลกอฮอล์โมเลกุลสูงในไวน์มากกว่าปริมาณการใช้ในโตรเจน และในการหมักน้ำองุ่น เชื้อยีสต์จะมีอัตราการใช้กลูโคสอย่างช้าๆ จะทำให้เกิดปริมาณของแอลกอฮอล์โมเลกุลสูงในไวน์ต่ำ และงานวิจัยของ Valero และคณะ (2002) ทำการหมักน้ำองุ่นด้วยเชื้อสายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* จำพวก *cerevisiae* และ *capensis* ในภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจนเริ่มต้น เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงในการผลิตแอลกอฮอล์โมเลกุลสูง และเอสเทอร์ หลังจากหมักน้ำองุ่นที่ไม่มีออกซิเจนเริ่มต้นด้วยเชื้อยีสต์ทั้งสองชนิด พบว่ามีความเข้มข้นของสารประกอบต่างๆ น้อยกว่าการหมักน้ำองุ่นที่มีออกซิเจนเริ่มต้นด้วย อย่างไรก็ตาม ปริมาณออกซิเจนในน้ำองุ่นมีความสำคัญต่อกระบวนการหมัก ซึ่งมีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ และสามารถผลิตกลิ่นเฉพาะและรสชาติ ในไวน์ได้

2.3 จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการเสื่อมเสียของไวน์และไวน์ผลไม้

ไวน์และไวน์ผลไม้แม้จะมีแอลกอฮอล์และมีความเป็นกรดสูง ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญหรือการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ได้ อย่างไรก็ตาม ยังมีจุลินทรีย์บางกลุ่มที่สามารถเจริญในไวน์และไวน์ผลไม้ได้ และเป็นสาเหตุทำให้คุณลักษณะที่ดีของไวน์และไวน์ผลไม้เปลี่ยนไปจนไม่สามารถบริโภค หรือเกิดการเน่าเสียขึ้นได้ จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงคุณลักษณะของไวน์และไวน์ผลไม้ สามารถแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มหลัก คือ

2.3.1 ยีสต์ ปัญหาส่วนใหญ่ที่พบในไวน์และไวน์ผลไม้ที่บรรจุขวดแล้วคือ การหมักของยีสต์อีกครั้ง ในไวน์ที่มีน้ำตาลเหลืออยู่ ซึ่งอาจทำให้เกิดตะกอนยีสต์ที่ก้นขวด และทำให้ไวน์หรือไวน์ผลไม้ขุ่นได้ หรือถึงขั้นรุนแรงจนขวดระเบิด นอกจากนี้หากบรรจุไวน์และไวน์ผลไม้ไม่ดี ทำให้มีอากาศซึมผ่านได้ซึ่งอาจทำให้ยีสต์บางสายพันธุ์ที่กำลังงอกไม่หมดเจริญอย่างช้าๆ ในขวดเห็นเป็นฟิล์มที่ผิวหน้า ยีสต์ที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดลักษณะที่ไม่พึงประสงค์ในไวน์และไวน์ผลไม้ ได้แก่

2.3.1.1 *Brettanomyces* สามารถผลิตกรดอะซิติก กรดไอโซบิวทริก (isobutyric acid) และกรดไอโซวาเลอริก (isovaleric acid) ได้ในปริมาณที่สูงกว่ายีสต์ทั่วไป ซึ่งเป็น

สาเหตุทำให้เกิดกลิ่นคล้ายขี้ข้าว อย่างไรก็ตามผู้ผลิตไวน์บางคนชอบให้มี *Brettanomyces* จำนวนเล็กน้อยในการหมักไวน์เพื่อเพิ่มความซับซ้อนของกลิ่นรสในไวน์ นอกจากนี้เชื้อเสียอีกประการหนึ่งของการมี *Brettanomyces* ปนเปื้อนในการหมักไวน์และไวน์ผลไม้คือ ยีสต์นี้สามารถสร้าง 4-เอทิลฟีนอล (4-ethylphenol) ทำให้ไวน์และไวน์ผลไม้มีกลิ่นฟีนอล หรือกลิ่นคล้ายหนัง (Zoecklien และคณะ, 1995) ส่วนใหญ่มักพบการเจริญของยีสต์ในระหว่างการบ่มไวน์ในถังไม้

2.3.1.2 *Kloekera* และ *Hanseniaspora* สามารถผลิตกรดอะซิติก และเอทิลอะซิเตทได้สูง จนถึงระดับที่สามารถยับยั้งการเจริญของยีสต์ที่เกี่ยวข้องกับการหมักที่ทนต่อความเป็นกรดได้ต่ำ เช่น *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ที่พบมากและถือว่าเป็นสายพันธุ์มาตรฐาน ได้แก่ *H. uvarum*

2.3.1.3 *Saccharomyces bayanus* และ *Zygosaccharomyces bailii* (*Saccharomyces bailii*) เป็นยีสต์ที่สามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้สูงถึง 16-18 เปอร์เซ็นต์ ยีสต์ 2 สายพันธุ์นี้พบว่าทำให้เกิดการหมักช้าในไวน์หวาน ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้ขวดระเบิด ดังนั้นในไวน์หวานจึงนิยมเติมสารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ เช่น กรดซอร์บิก หรือกรดเบนโซอิก ร่วมกับการใช้ซัลเฟอร์ไดออกไซด์

2.3.1.4 फिल्मยีสต์อื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับการเน่าเสียของไวน์และไวน์ผลไม้ ได้แก่ *Hansenula* และ *Pichia* ซึ่งเป็นยีสต์ที่ทนต่อซัลเฟอร์ไดออกไซด์ได้สูง และ *Candida* ยีสต์เหล่านี้เจริญได้ดีเมื่อมีออกซิเจน เมื่อเขย่าไวน์และไวน์ผลไม้ที่ปนเปื้อนด้วยยีสต์เหล่านี้ फिल्मจะแตกง่ายและทำให้ไวน์และไวน์ผลไม้ขุ่น

ปัญหาของการเสื่อมเสียของไวน์และไวน์ผลไม้เนื่องจากเมตาบอลิซึมของยีสต์อีกประการหนึ่งคือการเกิดแก๊สไฮโดรเจนซัลไฟด์ ยีสต์เกือบทุกสายพันธุ์สามารถผลิตไฮโดรเจนซัลไฟด์ หรือแก๊สไข่เน่าซึ่งถือว่าเป็นผลพลอยได้ของการสังเคราะห์กรดอะมิโนที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบ ซึ่งจำเป็นสำหรับการสังเคราะห์โปรตีน หากเกิดไฮโดรเจนซัลไฟด์ในช่วงการหมักช้าจะมีคาร์บอนไดออกไซด์เกิดขึ้นไม่มากพอที่จะพาไฮโดรเจนซัลไฟด์ออกไปจากน้ำไวน์ และในภาวะที่มีไฮโดรเจนซัลไฟด์และเอทานอลอาจเกิดปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชัน ได้เป็นเอทิล เมอแคปแทน (ethyl mercaptan) ซึ่งสารประกอบเมอแคปแทนเป็นสารที่ค่อนข้างเสถียรและทำให้ไวน์มีกลิ่นและรสรุนแรงคล้ายกระเทียม

2.3.2 แบคทีเรีย

แบคทีเรียที่ทำให้คุณลักษณะของไวน์และไวน์ผลไม้เปลี่ยนไป สามารถแบ่งเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ ดังนี้

2.3.2.1 อะซิติกแอซิดแบคทีเรีย อะซิติกแอซิดแบคทีเรียเป็นแบคทีเรียที่ต้องการออกซิเจนในการเจริญ ดังนั้นจึงพบการเจริญของแบคทีเรียดังกล่าวบนผิวหน้าของไวน์และไวน์ผลไม้เป็นฟิล์ม ซึ่งเป็นสาเหตุให้ไวน์หรือไวน์ผลไม้ขุ่น การเน่าเสียเนื่องจากกรดอะซิติกทราบได้จากการมีกลิ่นน้ำส้มสายชูและมีฟิล์มที่เป็นเมือกบนผิวหน้าของไวน์หรือไวน์ผลไม้ ถ้าข้มแกรมจะเป็นแบคทีเรียแกรมลบ จุลินทรีย์ที่สำคัญในกลุ่มนี้คือ *A. aceti*, *A. pasteurianus* และ *A. peroxydans* (Vine และคณะ 1997) โดย *Acetobacter* สามารถออกซิไดซ์เอทานอล และกลูโคส ให้เป็นกรดอะซิติก และเอทิลอะซิเตท และยังสามารถออกซิไดซ์อะซิเตทและแลคเตทที่เกิดขึ้นให้เป็นคาร์บอนไดออกไซด์ และน้ำได้

2.3.2.2 แลคติกแอซิดแบคทีเรีย ในไวน์ที่มีพีเอชสูงหากเกิดการหมักแบบมาโลแลคติก (การเปลี่ยนกรดมาลิกให้เป็นกรดแลคติก โดยแลคติกแอซิดแบคทีเรีย) อาจมีผลต่อคุณสมบัติทางประสาทสัมผัสของไวน์ และอาจเป็นสาเหตุทำให้เกิดความไม่คงตัวทั้งทางเคมี และทางจุลชีววิทยา เนื่องมาจากพีเอชที่เพิ่มขึ้น (ลักษณะ เหล่าไพบูลย์, 2547) ในไวน์ที่บรรจุในขวดแล้วอาจพบการเจริญของแลคติกแอซิดแบคทีเรียได้ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้ไวน์ขุ่น แลคติกแอซิดแบคทีเรียชนิดอื่นที่สามารถเจริญได้ในไวน์และเกี่ยวข้องกับการเสื่อมเสียของไวน์ ได้แก่

2.3.2.2.1 *Pediococcus* ซึ่งอยู่ในตระกูล *Streptococcaceae* มีรูปร่างทรงกลม สามารถผลิตฮีสตามีน ได้ในปริมาณที่สูง ซึ่งฮีสตามีนเป็นสารกระตุ้นการไหลเวียนของเลือดและอาจมีผลทำให้หายใจไม่สะดวก ปวดหัว และอาจมีอาการแพ้บางอย่างสำหรับผู้บริโภคไวน์ (Vine และคณะ, 1997) *Pediococcus* สามารถสร้างสารประกอบเอมีนจากกระบวนการดีคาร์บอกซิเลชัน (Decarboxylation) ของฮีสติดีน (histidine) ซึ่งมีผลเชิงลบต่อสุขภาพผู้บริโภค (Delfini และ Formaca, 2001) นอกจากนี้ *Pediococcus* ยังสามารถสร้างโพลีแซคคาไรด์แล้วขับออกมานอกเซลล์ซึ่งมีลักษณะคล้ายวุ้นสามารถมองเห็นด้วยตาเปล่า มีผลทำให้ความหนืดของไวน์เพิ่มขึ้น และมีลักษณะเป็นมัน สายพันธุ์ของ *Pediococcus* ที่พบบ่อยในไวน์ ได้แก่ *P. cerevisiae*

2.3.2.2.2 *Lactobacillus* ซึ่งอยู่ในตระกูล *Lactobacillaceae* มีรูปร่างเซลล์เป็นแท่ง มีกิจกรรมของเอนไซม์ดีคาร์บอกซิเลส (decarboxylase) เป็นการเปลี่ยนฮีสติดีนเป็นเอมีนแต่จะถูกยับยั้งการทำงานในภาวะที่มีซัลเฟอร์ไดออกไซด์และเอทานอล สายพันธุ์ของ *Lactobacillus* ที่จะพบบ่อยในไวน์ ได้แก่ *L. brevis* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่สามารถลดความเป็นกรดทั้งหมดในไวน์ได้ดี และอาจเป็นสาเหตุให้ไวน์นั้นๆ ไม่มีรสชาติจัดชัดเจนหรือไม่มีชีวิตชีวา นอกจากนี้ *Lactobacillus* ยังสามารถเปลี่ยนกลีเซอรอลเป็นสารประกอบอะโครลีน (acrolein) ซึ่งเมื่อสารนี้ทำปฏิกิริยากับเมื่อดีสในไวน์ จะทำให้ไวน์มีความขมมากขึ้น *Lactobacillus* สามารถย่อย

กรดทาร์ทาริก หรือเกิด tartaric acid degradation ได้เป็นกรดอะซิติก โดย *L. brevis* จะย่อยกรดทาร์ทาริกเป็นกรดอะซิติกเพียงอย่างเดียว ส่วน *L. plantarum* จะย่อยกรดทาร์ทาริกเป็นกรดอะซิติกและกรดแลคติก โดยกิจกรรมนี้เกิดขึ้นได้เมื่อพีเอชสูงกว่า 3.5

2.3.2.2.3 *Leuconostoc* ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ

Leuconostoc จินัสนี้สามารถสร้างโพลีแซคคาไรด์ได้เช่นเดียวกับจินัส *Pediococcus*

ผู้ผลิตไวน์หรือไวน์ผลไม้สามารถหลีกเลี่ยงการเพิ่มขึ้นของปริมาณกรดที่ระเหยได้ในไวน์หรือไวน์ผลไม้ที่ปนเปื้อนด้วย *Lactobacillus* และ *Leuconostoc* โดยพยายามลดปริมาณน้ำตาลที่เหลืออยู่ในไวน์หรือไวน์ผลไม้ให้น้อยที่สุด อย่างไรก็ตามยังมีปัจจัยอื่นๆ ที่มีผลต่อการเจริญของแลคติกแอซิดแบคทีเรีย เช่น อุณหภูมิ ความเป็นกรด ปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์ และสารอาหารอื่นๆ ที่มีในไวน์และไวน์ผลไม้

2.3.3 รา ราไม่มีผลกับไวน์หรือไวน์ผลไม้โดยตรง เนื่องจากแอลกอฮอล์ในไวน์หรือไวน์ผลไม้จะยับยั้งการเจริญของรา เพราะราส่วนใหญ่ไม่ทนต่อปริมาณแอลกอฮอล์ที่สูง การปนเปื้อนเนื่องจากราในไวน์หรือไวน์ผลไม้ นอกเหนือจากอาจปนเปื้อนมากับผลไม้ที่ใช้ทำแล้ว ส่วนใหญ่เกิดจากสุขอนามัยที่ไม่ดี และลักษณะในการเก็บไม่สะอาด

Aspergillus, *Botrytis* และ *Penicillium sp.* สามารถออกซิไดซ์กลูโคสได้เป็นกรดกลูโคนิก (gluconic acid) แต่ยีสต์ไม่สามารถใช้กรดกลูโคนิกได้ ดังนั้นการมีกรดกลูโคนิกเกิดขึ้นจึงใช้เป็นตัวบ่งชี้ว่าการปนเปื้อนของราเหล่านี้ในไวน์ผลไม้

นอกจากนี้คุณลักษณะที่เปลี่ยนไปของไวน์หรือไวน์ผลไม้เนื่องจากรา อาจเกิดจากการใช้จุลินทรีย์ที่มีการปนเปื้อนของราโดยเฉพาะ *Penicillium expansum* ซึ่งรานี้สามารถทนต่อปริมาณแอลกอฮอล์ได้สูงถึง 16 เปอร์เซ็นต์ และสามารถเปลี่ยนสารประกอบ 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล (2,4,6-trichlorophenol, TCP) ที่ใช้เป็นสารฆ่าเชื้อ (disinfectant) สำหรับรักษาเนื้อไม้ให้เป็นสารประกอบ 2,4,6-ไตรคลอโรฟีนอล ซึ่งมีกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ (Vine และคณะ 1997)

2.4 ปัจจัยวิกฤติในกระบวนการผลิตสาโท

ในการผลิตสาโทให้มีคุณภาพดีและสม่ำเสมอ จำเป็นต้องมีการควบคุมปัจจัยวิกฤติในแต่ละขั้นตอนของกระบวนการผลิต ตั้งแต่ชนิดและคุณภาพของข้าวเหนียวที่ใช้เป็นวัตถุดิบ ลูกแป้งที่ใช้ตลอดจนคุณภาพการผลิตที่ปลอดภัย จุลินทรีย์ก่อโรค คุณภาพน้ำที่ใช้ การแช่ข้าว และการนึ่งข้าว การหมัก การวัดและติดตามการเปลี่ยนแปลงระหว่างการผลิต การทำให้สาโทคงตัวและใส่ตลอดจนการบรรจุขวดที่ถูกต้องลักษณะ ซึ่งอาจสรุปในภาพรวมของความเสี่ยงในการผลิตสาโทได้ดังนี้ (ไพบุลย์ ด่านวิรุทัย, 2548)

2.4.1 การด้อยการใช้หลักการและวิธีการทางวิทยาศาสตร์ที่แม่นยำในกระบวนการผลิต

2.4.2 การด้อยข้อมูลเกี่ยวกับลูกแป้งสาโท และวิธีการผลิตลูกแป้งที่ถูกสุขลักษณะ

2.4.3 การด้อยข้อมูลเกี่ยวกับชนิดและคุณภาพของข้าวที่เหมาะสมสำหรับการทำสาโท

2.4.4 การด้อยระเบียบปฏิบัติงานและการบันทึกข้อมูลอย่างเป็นระบบในการติดตาม การเปลี่ยนแปลงระหว่างกระบวนการหมักและการควบคุมคุณภาพในภาพรวม

2.4.5 การด้อยความรู้ความเข้าใจที่ถูกต้องเกี่ยวกับกระบวนการทำให้สาโทมีคุณภาพคงตัวก่อนการบรรจุขวด

2.4.6 การบรรจุขวดในสภาพที่ไม่ปลอดเชื้อ หรือไม่ถูกสุขลักษณะ

2.5 ปัญหาหลักเกี่ยวกับการผลิตและคุณภาพสาโท

การหมักสุราแช่ทุกชนิด ไม่ว่าจะเป็น ไวน์ อู กระเซ้ สาโท หรือเบียร์ จะมีการเปลี่ยนน้ำตาลให้กลายเป็นแอลกอฮอล์ แต่จะมีผลพลอยได้ คือ ฟองก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ สังเกตเวลาหมักสุราแช่ จะมีฟองพุ่งขึ้นมาจากในถังหมัก ทำให้เกิดเป็นฟองเหมือนน้ำเดือด สิ่งที่ทำให้เกิดการหมักน้ำตาลให้กลายเป็นแอลกอฮอล์ คือ เชื้อยีสต์ สุราแช่ที่ทำกันในปัจจุบัน มักจะรีบร้อนหมัก ไม่รอให้การหมักสิ้นสุดสมบูรณ์ นั่นคือไม่รอให้ยีสต์หมักน้ำตาลให้หมด จนได้แอลกอฮอล์ที่มีดีกรีสูงประมาณ 11-12 ดีกรี หรือแม้จะหมักนาน แต่รสชาติไทยๆ ขอบรสหวานจึงเติมน้ำตาลลงไปมาก และส่วนมากไม่มีการบ่มตกตะกอนยีสต์ ดังนั้นยีสต์กับน้ำตาลต่างยังอยู่ในขวด ก็ทำปฏิกิริยากันต่อ คือยีสต์จะกินน้ำตาลเพื่อสร้างแอลกอฮอล์ ทำให้มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เกิดขึ้น และตามกฎหมายสรรพสามิต ต้องทำการบรรจุในภาชนะที่ปิดสนิทตามประกาศกระทรวงการคลัง ดังนั้นเมื่อยังมีการหมักอยู่ในขวด ก็จะมีก๊าซสะสมมากขึ้นเรื่อยๆ จนเกิดความดันสูง ในที่สุดก็ดันให้ขวดระเบิด (เจริญ เจริญชัย, 2545)

การแก้ปัญหาวาดระเบิด สุราแช่ที่เป็นที่รู้จักกันแพร่หลายในสากล เช่น ไวน์ จะมีแอลกอฮอล์ประมาณ 11-12 ดีกรี ส่วนสาเกคือ ไวน์ข้าวของญี่ปุ่น จะมีแรงแอลกอฮอล์สูงได้ถึง 20 ดีกรี แต่กฎหมายไทยให้ผลิตสุราแช่ที่มีแอลกอฮอล์ไม่เกิน 15 ดีกรี ถ้าเราผลิตไวน์ข้าวหรือสาโทให้มีแอลกอฮอล์ได้อยู่ในช่วงนี้ และทำการตกตะกอนยีสต์ด้วยการบ่มในถังบ่มด้วยระยะเวลา หรือใช้การระบายความร้อนโดยการลดอุณหภูมิ จะทำให้ไม่มีปัญหาเรื่องขวดระเบิด เนื่องจากแอลกอฮอล์จะยับยั้งการเจริญของยีสต์ และน้ำตาลจะถูกยีสต์กินหมด ทำให้ได้สุราแช่ที่ใส่นำดื่ม และมีรสชาตินุ่มละมุนเนื่องจากการบ่ม

แต่สุราแช่ที่ผลิตกันส่วนมากในปัจจุบันนี้ มักรีบร้อนหมักเพื่อจะได้ขายเร็วๆ มีแรงแอลกอฮอล์น้อยประมาณ 4-7 ดีกรี และมักจะแต่งเติมน้ำตาลเพื่อให้มีรสหวาน ดังนั้นจึงทำให้มี

ปัจจัยให้ขวดระเบิดสองอย่าง อย่างแรกคือยังมียีสต์เหลืออยู่ ทำให้สุราแช่ขุ่นและตะกอนอยู่ในขวด อย่างที่สองคือมีน้ำตาลเหลืออยู่มากเพื่อให้มีรสหวาน เมื่อทั้งสองอย่างอยู่ด้วยกันทำให้เกิดการหมักต่อในขวด อาจมีการใช้สารโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ (KMS) เพื่อชะลอหรือหยุดการเจริญเชื้อยีสต์ แต่ยีสต์มักจะมีความทนทานต่อสาร KMS ดังนั้นจึงมีการนำความร้อนเข้ามาช่วย ซึ่งเรียกว่า การพาสเจอร์ไรส์ โดยให้น้ำสุราได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปทำให้เย็นลงทันที ทำให้สุราแช่สามารถเก็บไว้จำหน่ายได้ภายในระยะเวลา 3-6 เดือน แต่ก็ไม่ควรเก็บไว้นาน เพราะคุณภาพของสุราแช่จะลดลงเรื่อยๆ เพราะมีตะกอนอยู่ในขวด ซึ่งจะปล่อยซากยีสต์ที่ตายแล้วให้กลั่นรสแปลกๆ ออกมา และอาจมีเชื้อน้ำส้มสายชู หรือเชื้ออื่นๆ เจริญเติบโตได้ภายหลัง ทำให้สุราแช่มีคุณภาพเสื่อมลงในที่สุด

ถึงแม้ว่าการผลิตสาโทจัดอยู่ในประเภทของกระบวนการแบบกึ่งปลอดเชื้อ (semi-aseptic process) แต่การผลิตโดยทั่วไปยังมีปัญหาในด้านของสุขลักษณะ และยังขาดการปฏิบัติที่ดีในการผลิต (GMP) และอาจสรุปได้ดังต่อไปนี้ (ไพบูลย์ คำนวณวิทย์, 2548)

2.5.1 การขาดหลักการด้านสุขาภิบาลที่ดีในกระบวนการผลิต

2.5.2 ลูกแป้งที่นำมาใช้มีคุณภาพไม่สม่ำเสมอและมักมีจุลินทรีย์ปนเปื้อนที่ไม่พึงประสงค์

2.5.3 สาโทที่ผลิตขึ้นมักมีคุณภาพไม่คงตัว ในแง่ของความขุ่น การหมักซ้ำในขวด มีรสเปรี้ยว และกลิ่นไม่ดี มีสารเคมีเกินกำหนด

2.5.4 มีรสหวานเกินไป

2.5.5 มีจุลินทรีย์ก่อโรคปนเปื้อน

2.5.6 มีแอลกอฮอล์ค่อนข้างต่ำ

2.5.7 มีอายุการเก็บรักษาสั้น

คุณภาพของสาโทที่บรรจุขวดแล้วควรจะมีคุณภาพในแง่ของความคงตัว ดังนี้

1 ไม่มีการเจริญของยีสต์หรือจุลินทรีย์อื่นระหว่างเก็บรักษาและรอจำหน่าย

2 ไม่มีการตกตะกอนของโปรตีนหรือแป้ง

3 ไม่มีการเกิดออกซิเดชันรุนแรง จนกลิ่นรสเปลี่ยนไป

4 ไม่มีการเปลี่ยนสีจนเป็นสีน้ำตาลหรือคล้ำ

5 ไม่มีเพคตินโมเลกุลใหญ่ตกตะกอนลงมา

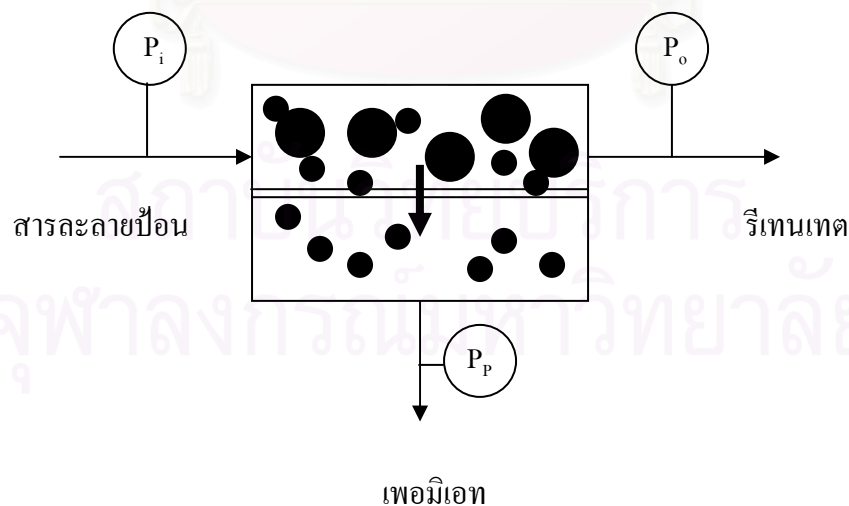
6 ไม่มีจุลินทรีย์ก่อโรค

ในอุตสาหกรรมการผลิตเครื่องดื่มจึงมีการพัฒนานำกระบวนการกรองผ่านเมมเบรนมาใช้ในการผลิตไวน์ เนื่องจากมีภาวะการทำงานที่อุณหภูมิห้อง ไม่ใช้สารเคมี จึงไม่ทำลายคุณภาพของผลิตภัณฑ์ เช่น กระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน เป็นต้น (Drioli และคณะ, 1981)

2.6 กระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน (Ultrafiltration)

กระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน (Ultrafiltration) หรือ UF เป็นกระบวนการแยกด้วยเมมเบรนที่มีขนาดรูบนเมมเบรนในช่วง 30-1,000 อังสตรอม ส่วนใหญ่ประยุกต์ใช้เพื่อแยกอนุภาคหรือตัวละลายที่มีน้ำหนักโมเลกุลในช่วง 1,000 – 500,000 ดัลตัน ไม่ให้ผ่านเมมเบรนออกไป จึงไม่ค่อยมีความแตกต่างในความดันออสโมติกคร่อมเมมเบรน ดังนั้นจึงสามารถทำงานที่ความดันในช่วง 2 -10 บาร์ เมมเบรนอัลตราฟิลเตรชันมักทำให้มีโครงสร้างแบบไม่สมมาตร โดยมีขนาดรู 30 – 400 อังสตรอม อยู่ที่ผิวหน้าเพียง 0.1 – 1.5 ไมครอน ส่วนขนาดรูของชั้นรองรับมีขนาดใหญ่กว่าชั้นผิวอย่างมาก (จันทอง สุนทรภา, 2547; Baker, 2004)

หลักการของกระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน (Cheryan, 1998) แสดงดังรูปที่ 2.4 เมื่อป้อนสารละลายเข้าสู่ระบบภายในความดันที่ใช้ คุณสมบัติของเมมเบรนซึ่งมีความสามารถในการเลือกผ่านสารจะทำให้เกิดการแยกขององค์ประกอบในสารละลายขึ้น ตัวทำละลายและสารโมเลกุลเล็กหรือสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำจะสามารถผ่านรูพรุนของเมมเบรนไปได้ ส่วนที่ผ่านเมมเบรนไปได้นี้เรียกว่า เพอมิเอท (permeate) ส่วนตัวถูกละลายที่มีขนาดใหญ่กว่าขนาดรูพรุน หรือมีน้ำหนักโมเลกุลสูงกว่าค่า Molecular Weight Cut-Off (MWCO) ของเมมเบรน จะไม่สามารถผ่านเมมเบรนได้ ส่วนที่ถูกกักไว้ดังกล่าวนี้เรียกว่า รีเทนเตท (retentate)



รูปที่ 2.4 แสดงหลักการของกระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน

ค่า MWCO ข้างต้นเป็นค่าที่นิยมใช้ในการบอกคุณลักษณะของเมมเบรนในแง่ของความสามารถในการกักกันตัวถูกละลายของกระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน แทนการบอกเป็นขนาดของรูพรุน ตัวอย่างเช่น เมมเบรนที่มี MWCO 40,000 หมายความว่า ตัวถูกละลายที่มีน้ำหนักโมเลกุลมากกว่า 40,000 คัดกัน จะถูกกักกันไว้ 90% ขึ้นไป ตัวถูกละลายที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่านี้จะผ่านเมมเบรนไปได้บ้าง หรือมีค่าการกักกันต่ำกว่า ผลึกภัณฑ์ที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้จากกระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน อาจเป็นส่วนรีเทนเตด หรือเพอมีเอท หรือทั้งสองส่วน

2.6.1 ฟลักซ์และค่าการกักกัน

ในกระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน ฟลักซ์ และค่าการกักกัน จะเป็นตัวบ่งบอกถึงสมรรถนะของระบบ โดยที่ค่าฟลักซ์จะแสดงถึงปริมาตรของเพอมีเอทที่ผ่านเมมเบรนต่อหน่วยพื้นที่ต่อหน่วยเวลา โดยอาศัยหลักการของ non-equilibrium thermodynamics ความสัมพันธ์ของฟลักซ์ สามารถเขียนได้ในเทอมของความต้านทานดังนี้

$$J_v = \frac{\Delta P - \Delta \pi}{\mu_v R_t} \quad (2.1)$$

เมื่อ J_v = ฟลักซ์ของสารละลายที่ผ่านเมมเบรน

ΔP = ผลต่างของความดันที่ผิวเมมเบรนด้านสารละลายป้อนกับเพอมีเอท

μ_v = ความหนืดของเพอมีเอท

$\Delta \pi$ = ผลต่างของความดันออสโมติกของสารละลายที่ผิวเมมเบรนกับ

เพอมีเอท

R_t = ความต้านทานรวม

จากรูปที่ 2.4 ผลต่างของความดัน, ΔP สามารถคำนวณได้จาก

$$\Delta P = \left(\frac{P_i + P_o}{2} \right) - P_p \quad (2.2)$$

เมื่อ P_i = ความดันของสารละลายป้อนก่อนเข้าโมดูล

P_o = ความดันของสารละลายรีเทนเตด

P_p = ความดันของเพอมีเอท

ΔP ตามสมการ (2.2) เรียกว่า transmembrane pressure หากไม่พิจารณาความดันลดในระบบ จะได้

$$\Delta P = P_i - P_p \quad (2.3)$$

ในกรณีที่มีสารโมเลกุลใหญ่อยู่ในสารละลาย ความดันออสโมติกมีค่าต่ำมากเมื่อเทียบกับความดันที่ให้กับระบบ, $\Delta\pi \ll \Delta P$ ดังนั้น สมการ (2.1) จึงลดรูปเหลือ

$$J_v = \frac{\Delta P}{\mu_v R_t} \quad (2.4)$$

ในกรณีที่สารป้อนไม่มีตัวถูกละลาย เช่น เป็นน้ำสะอาด ดังนั้นฟลักซ์ของน้ำสะอาด จึงเขียนได้ดังนี้

$$J_w = \frac{\Delta P}{\mu_w R_m} \quad (2.5)$$

เมื่อ J_w = ฟลักซ์ของน้ำ
 μ_w = ความหนืดของน้ำ
 R_m = ความต้านทานของเยื่อแผ่น ซึ่งขึ้นกับชนิดของเยื่อแผ่น ความหนาแน่นของรูพรุน ขนาดรูพรุน และความหนาของเยื่อแผ่น

ค่าการกักกันเป็นค่าที่แสดงถึงความสามารถในการกักกันสารของเยื่อแผ่นซึ่งหมายถึงเปอร์เซ็นต์ของตัวถูกละลายที่ไม่สามารถผ่านเยื่อแผ่นไปได้ ค่าการกักกันสามารถคำนวณได้จากการทดลองซึ่งโดยทั่วไปมักเป็นค่าการกักกันปรากฏ (observed rejection, R_{obs}) ซึ่งแสดงค่าเป็นเปอร์เซ็นต์ดังนี้

$$R_{obs} = \left(1 - \frac{C_p}{C_R} \right) \times 100 \quad (2.6)$$

เมื่อ C_p และ C_R คือ ความเข้มข้นของตัวถูกละลายในเพอเมอเท และรีเทนเทตตามลำดับ ส่วนค่าการกักกันจริง (intrinsic rejection, R_{int}) เป็นค่าที่คำนวณจากความเข้มข้นที่ผิวเมมเบรน ดังนี้

$$R_{int} = \left(1 - \frac{C_p}{C_w} \right) \times 100 \quad (2.7)$$

เมื่อ C_w คือ ความเข้มข้นของตัวถูกละลายที่ผิวเมมเบรน

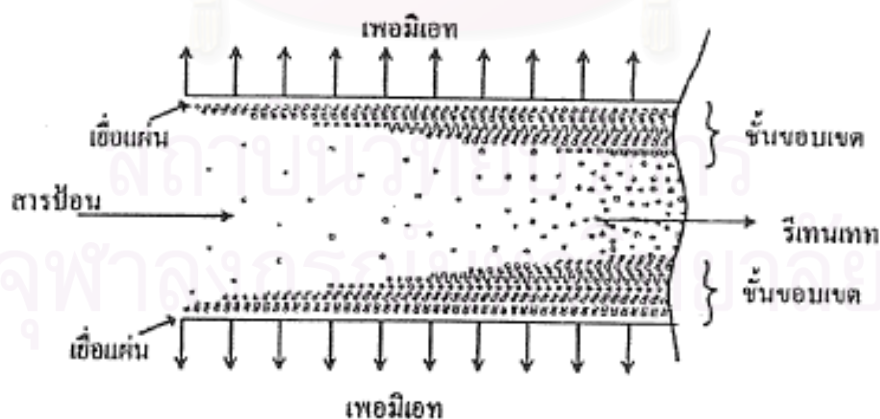
2.6.2 การลดลงของฟลักซ์

ในกระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน การลดลงของฟลักซ์ในระหว่างดำเนินการเป็นปรากฏการณ์ที่พบเห็นได้ตลอดเวลา และยิ่งไปกว่านั้นในบางกรณี ฟลักซ์ยังมีค่าต่ำมากเมื่อเทียบกับฟลักซ์ของน้ำ ดังนั้นอาจเป็นด้วยเหตุดังกล่าวนี้ จึงทำให้มีการใช้งานจำกัด การลดลงของฟลักซ์มีสาเหตุสำคัญมาจาก ปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นระหว่างดำเนินการ โดยเกิดขึ้นทั้งบนผิว ภายในรูพรุน และบริเวณใกล้ผิวเมมเบรน ซึ่งสามารถแยกเป็นสาเหตุใหญ่ๆ ได้ 2 ประการ คือ

1. การลดลงของฟลักซ์เนื่องมาจาก Concentration Polarization (CP)
2. การลดลงของฟลักซ์เนื่องมาจากฟาวลิง (fouling)

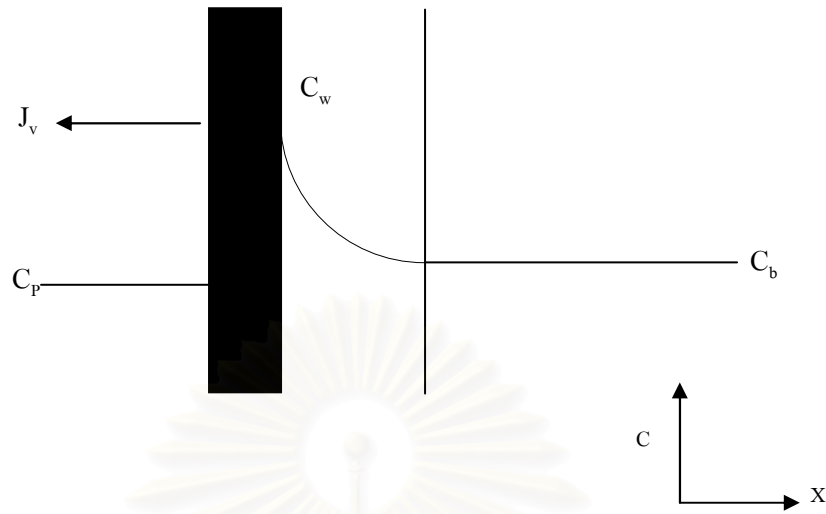
2.6.2.1 คอนเซนเตรชัน โพลาริเซชัน (CP)

CP เป็นปรากฏการณ์ที่อ้างถึงกันอยู่เสมอในการศึกษาวิจัยพื้นฐานของกระบวนการแยกด้วยเมมเบรน CP หมายถึง การสะสมของโมเลกุล หรืออนุภาคของตัวถูกละลายที่บริเวณผิวหน้าของเมมเบรน เนื่องจากโมเลกุลขนาดใหญ่ไม่สามารถผ่านเมมเบรนได้ ทำให้ความเข้มข้นของตัวถูกละลายบริเวณผิวหน้าเมมเบรน (C_w) สูงกว่าบริเวณที่อยู่ห่างออกไป ดังแสดงในรูปที่ 2.5 ตัวถูกละลายที่บริเวณ ใกล้ผิวเมมเบรนจึงเกิดการแพร่กลับไปยังบริเวณที่อยู่ห่างออกไป (bulk solution) เนื่องจากผลต่างของความเข้มข้น ดังรูปที่ 2.6 ซึ่งแสดงโปรไฟล์ความเข้มข้น จากการทดลองพบว่า CP จะเกิดขึ้นทันทีทันใดเมื่อเริ่มดำเนินการซึ่งจะส่งผลกระทบต่อสมรรถนะของกระบวนการในแง่ของฟลักซ์และการกักกัน



รูปที่ 2.5 แสดงการเกิดปรากฏการณ์ CP

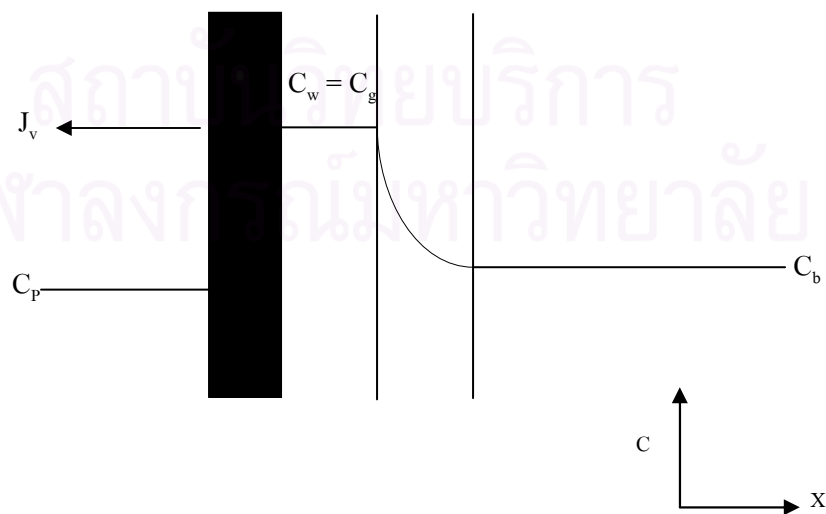
เพอมีเอท เมมเบรน ชั้นขอบเขต บริเวณที่อยู่ห่างออกไป



รูปที่ 2.6 แสดงโปรไฟล์ความเข้มข้นของตัวถูกละลายในการเกิด CP

หากความเข้มข้นของตัวถูกละลายที่บริเวณ ใกล้ผิวเมมเบรนมีค่าสูงมาก จนกระทั่งถึงขีดจำกัดของการละลาย (C_s) ของสารนั้น ตัวถูกละลายจะตกตะกอนมีลักษณะคล้าย เจลที่บริเวณใกล้ผิวหน้าของเมมเบรน ปรากฏการณ์เช่นนี้เรียกว่า เจลโพลาริเซชัน (GP) ดังแสดง ในรูปที่ 2.7 เจลที่เกิดขึ้นดังกล่าวจะปกคลุมผิวหน้าเมมเบรนเปรียบเสมือนมีเมมเบรนอีกชั้นหนึ่ง ประกอบอยู่ ทำให้ความต้านทานต่อการไหลของตัวทำละลายสูงขึ้น ฟลักซ์จึงมีค่าลดลง นอกจากนี้ ยังเชื่อกันว่า เจลจะทำให้ความสามารถในการกักกันของเมมเบรนเปลี่ยนแปลงไปจากเดิมขึ้นกับ สมบัติทางกลของเจล (รัตนา จิระรัตนานนท์, 2543)

เพอมีเอท เมมเบรน ชั้นเจล ชั้นขอบเขต บริเวณที่อยู่ห่างออกไป



รูปที่ 2.7 แสดงการเกิดปรากฏการณ์ GP

ถ้าตัวถูกละลายขนาดเล็กสามารถเคลื่อนที่ในชั้นเจลได้เร็วกว่าในเมมเบรน CP ของตัวถูกละลายจะเพิ่มขึ้น ขณะเดียวกันการกักกันจะลดลง ในทางตรงกันข้าม ถ้าตัวถูกละลายขนาดเล็กเคลื่อนที่ในชั้นเจลได้ช้า หรือรูพรุนในชั้นเจลเล็กและแน่นกว่าในเมมเบรน โอกาสที่ตัวถูกละลายขนาดเล็กจะเคลื่อนที่ผ่านชั้นเจลสู่เมมเบรนเดิมย่อมเป็นไปได้ยาก ทำให้การกักกันเพิ่มขึ้น

2.6.2.2 ฟาวลิง

การเกิดฟาวลิงของเมมเบรน หมายถึง การสะสมหรืออุดตันของตัวถูกละลายทั้งบนผิวหน้าเมมเบรนและภายในรูพรุน ขอบเขตความหมายของฟาวลิง มีความแตกต่างจากความหมายของ CP/เจล อย่างชัดเจน กล่าวคือ CP/เจล เป็นผลจากการที่ตัวถูกละลายมีความเข้มข้นสูงมากที่บริเวณผิวหน้าเมมเบรน โดยที่ตัวถูกละลายมิได้เกิดพันธะหรือแรงกระทำกับเมมเบรนแต่อย่างใด ดังนั้น CP/เจล จึงถูกกำจัดออกได้ง่ายด้วยการเปลี่ยนภาวะการดำเนินงาน เช่น เพิ่มอัตราการไหลให้สูงขึ้น หรือล้างออกด้วยน้ำ นั่นคือ สามารถทำให้ฟลักซ์ที่ลดลงอันเนื่องมาจาก CP/เจล กลับคืนมาได้หรืออาจกล่าวอีกนัยหนึ่งว่า CP/เจล เป็นกระบวนการที่ผันกลับได้

สำหรับกลไกการเกิดฟาวลิงนั้นมีความแตกต่างและซับซ้อนกว่าการเกิด CP/เจล กล่าวคือ ตัวถูกละลายจะเกิดพันธะอย่างใกล้ชิดกับเมมเบรน ทั้งบนผิวเมมเบรนและภายในรูพรุน โดยส่วนใหญ่จะพิจารณาว่าฟาวลิงเป็นสาเหตุที่ทำให้ฟลักซ์ลดลงในช่วงเวลายาวนาน และไม่สามารถกำจัดออกได้ด้วยการเปลี่ยนภาวะการทำงานหรือล้างออกด้วยน้ำได้ การกำจัดชั้นฟาวลิงจึงจำเป็นต้องใช้สารเคมีทำความสะอาด ซึ่งต่างกับการกำจัด CP/เจล ดังนั้นฟาวลิงจึงเป็นกระบวนการที่ผันกลับไม่ได้

แม้ว่าในเชิงความหมายข้างต้นฟาวลิงและ CP/เจล จะเป็นกระบวนการที่แตกต่างกันแต่ก็มีผลที่ทำให้ฟลักซ์ลดลงเช่นเดียวกัน และเป็นปรากฏการณ์ที่เกิดควบคู่กันเสมอในกระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน ยกที่จะแยกจากกันได้ เนื่องจาก CP นำไปสู่การเกิดเจลและฟาวลิง เพื่อให้เห็นภาพความสัมพันธ์ดังกล่าวได้ชัดเจนมากขึ้น ควรพิจารณาดำเนินการเกิดปรากฏการณ์เหล่านี้ โดยเริ่มจากสารละลายใน bulk สู่วิวเมมเบรน คือ CP เจล และฟาวลิง ตามลำดับ และจะแยกได้ว่า CP เป็นส่วนหนึ่งของชั้นขอบเขต และเจลเป็นส่วนหนึ่งของชั้น CP โดยทั้ง CP และเจลจะเกิดบริเวณผิวเมมเบรน ส่วนชั้นฟาวลิงจะเกิดจากการกักเก็บหรืออุดตันของตัวถูกละลายภายในรูพรุนและบนผิวหน้าเมมเบรน ซึ่งเห็นได้ชัดว่าฟาวลิงเกิดใกล้ชิดและยึดติดกับเมมเบรนแน่นมากกว่า CP/เจล

อย่างไรก็ตาม ความผันกลับได้หรือไม่ได้ก็ไม่สามารถแยก CP/เจล ออกจากฟาวลิงได้อย่างแท้จริง กล่าวคืออาจมีฟาวลิงจำนวนเล็กน้อยที่สามารถผันกลับได้ ทั้งนี้เป็นความจริงที่ว่าโดยทั่วไปเมมเบรนจะไม่สามารถกักกันตัวถูกละลายได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งส่วนนี้อาจแปลความหมายได้ว่าในระหว่างการดำเนินการของกระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน มีตัวถูกละลายหลุด

จากชั้นฟาวลิงสู่เพอมีเอตอย่างช้าๆ คาดว่ามีฟาวลิงประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ที่สามารถผันกลับได้ ในทำนองเดียวกันก็อาจมีเจลบางส่วนที่ไม่ผันกลับ โดยเฉพาะสำหรับตัวถูกละลายบางชนิดเช่น แป้ง เพคติน เจลาติน และ โปรตีนบางชนิด ซึ่งอาจเปลี่ยนสภาพที่ผิวเมมเบรนกลายเป็นเจลจริง แต่การที่ตัวถูกละลายจะเปลี่ยนสภาพเป็นเจลนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่นๆ อีก เช่น อุณหภูมิ ต้องสูงพอซึ่งโดยส่วนใหญ่แล้วจะดำเนินการที่อุณหภูมิไม่สูงนักเพื่อรักษาคุณภาพผลิตภัณฑ์

ถ้าสรุปจากแนวคิดและผลงานวิจัยที่ผ่านมา พบว่าฟาวลิงอาจเกิดขึ้นด้วยปรากฏการณ์ต่างๆ ต่อไปนี้ คือ 1) การดูดซับ 2) การเก็บกักพร้อมกับการหลุดออก 3) การเก็บกักโดยไม่มีการหลุดออก และ 4) การอุดตันหรือปิดกั้นรูพรุนของตัวถูกละลาย

ฟาวลิงนอกจากจะทำให้ฟลักซ์ลดลงแล้วยังทำให้สมบัติการกักกันสารเปลี่ยนแปลงด้วย รูปที่ 2.8 แสดงแผนภาพการเกิดฟาวลิงในเมมเบรนที่มีรูพรุนขนาดต่างๆ เทียบกับขนาดของตัวถูกละลาย สำหรับเมมเบรนที่มีรูพรุนแน่น (คือจำนวนรูพรุนต่อพื้นที่ผิวสูง) และมีขนาดเล็กกว่าตัวถูกละลาย การเกิดฟาวลิงจะเกิดบนผิวเมมเบรนเท่านั้น (รูปที่ 2.8 ก) สมบัติการกักกันสารของเมมเบรนจึงไม่เปลี่ยนแปลง การกักกันตัวถูกละลายจะถูกควบคุมโดยเมมเบรนเดิมแต่อย่างไรก็ตาม การต้านทานการไหลของตัวทำละลายจะเพิ่มขึ้น เนื่องจากการปิดรูพรุนของตัวถูกละลาย ฟลักซ์จึงลดลง ในกรณีที่เมมเบรนมีขนาดรูพรุนใหญ่กว่าตัวถูกละลายเล็กน้อย (รูปที่ 2.8 ข) ฟาวลิงจะเกิดขึ้นมากทั้งภายในรูพรุนและบนผิวเมมเบรน โดยจะเกิดบนผิวเมมเบรนเป็นส่วนใหญ่ ทำให้การกักกันตัวถูกละลายเปลี่ยนแปลง คือจะถูกควบคุมโดยโครงสร้างของฟาวลิงเป็นหลัก ส่วนเมมเบรนที่มีรูพรุนห่างและมีขนาดใหญ่กว่าตัวถูกละลายมาก (รูปที่ 2.8 ค) ฟาวลิงจะเกิดขึ้นมากทั้งภายในรูพรุนและบนผิวเมมเบรน ทำให้สมบัติการกักกันสารเปลี่ยนแปลงไปมากกว่าแบบอื่น

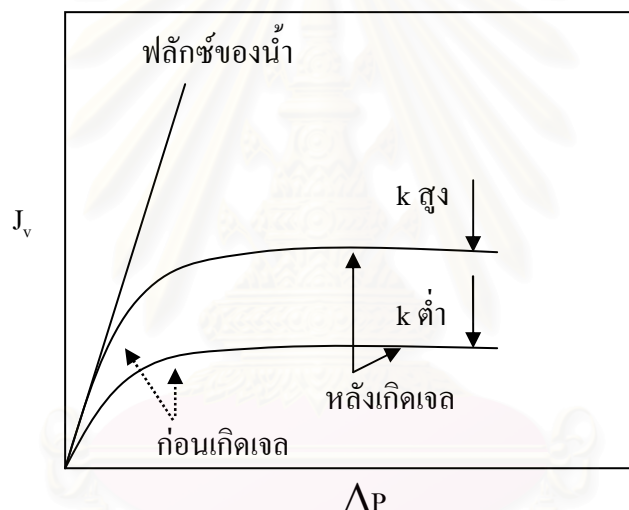


รูปที่ 2.8 แสดงการเกิดฟาวลิงในเมมเบรนที่มีขนาดรูพรุนต่างกัน

2.7 ผลของตัวแปรที่มีต่อสมรรถนะของกระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน

ผลของตัวแปรในการดำเนินการที่มีต่อฟลักซ์และการกักกัน พบว่ากระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน มีความซับซ้อนและแตกต่างกันสำหรับสารละลายและเมมเบรนหนึ่งๆ

2.7.1 ความดัน สำหรับสารละลายที่ประกอบด้วยสาร โมเลกุลใหญ่ที่สามารถเกิดเจลได้ที่มีความเข้มข้นสูง ผลของความดันต่อฟลักซ์จะมีลักษณะดังรูปที่ 2.9 คือฟลักซ์เพิ่มขึ้นกับความดันในช่วงแรกหรือก่อนการเกิดเจล และในช่วงเกิดเจล แรงขับดันที่เพิ่มขึ้นทำให้ชั้นเจลอัดแน่น ดังนั้นฟลักซ์จึงไม่เพิ่มขึ้นแต่มีแนวโน้มคงที่ ในส่วนของารกักกันจะขึ้นอยู่กับลักษณะของชั้นเจลและอาจขึ้นอยู่กับกาเกิดฟาวลิงด้วย สำหรับระบบที่ความเข้มข้นต่ำและตัวถูกละลายไม่สามารถเกิดเจลได้ การเพิ่มความดันทำให้ฟลักซ์เพิ่มขึ้นแต่อัตราการเพิ่มมักจะช้าลงในช่วงความดันสูงขึ้น ซึ่งเนื่องจากผลของการเกิด CP นั่นเอง



รูปที่ 2.9 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าฟลักซ์กับความดัน (รัตนา จิระรัตนานนท์, 2543)

2.7.2 อัตราการไหล การเพิ่มอัตราการไหลหรือความเร็วในการป้อนสารละลายจะช่วยลดการเกิด CP และฟาวลิง หรือลดค่าความต้านทานของชั้นโพลารไรซ์ จึงช่วยเพิ่มค่าฟลักซ์ การเพิ่มความเร็วเป็นการเพิ่มอัตราการเฉือนที่ผิวหน้าเมมเบรนทำให้ชั้นของตัวถูกละลายที่สะสมอยู่หลุดออกไปได้

2.7.3 อุณหภูมิ การเพิ่มอุณหภูมิทำให้ฟลักซ์สูงขึ้น แต่ในกระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน ตัวถูกละลายส่วนใหญ่เช่น โปรตีน หรือสารอินทรีย์ ไม่สามารถทนอุณหภูมิสูงได้ ดังนั้นจึงมีข้อจำกัดที่ควรระวังในทางปฏิบัติ

2.7.4 ความเข้มข้น ฟลักซ์แปรผกผันกับความเข้มข้นเพราะในระบบที่ความเข้มข้นสูง โอกาสที่จะเกิด CP ฟาวลิง และเจลสูงกว่าในระบบที่ความเข้มข้นต่ำ

2.7.5 ค่าความเป็นกรดต่าง ความเป็นกรดต่างของสารละลายมีผลต่อฟลักซ์และการกักกันของเมมเบรนอัลตราฟิลเตรชันได้อย่างมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งถ้าตัวถูกละลายเป็น โปรตีน ซึ่งสามารถแสดงประจุบวก ($-NH_3^+$) หรือประจุลบได้ ($-COO^-$) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับค่าความเป็นกรดต่างของสารละลาย ที่จุด iep (isoelectric point) โมเลกุลของ โปรตีนจะมีประจุสุทธิเป็นศูนย์ โปรตีนจึงละลายได้น้อยที่สุด ที่จุด iep จึงเกิดการจับตัวกัน ดังนั้นฟลักซ์ของสารละลายโปรตีนจึงมีค่าที่ค่าความเป็นกรดต่างใกล้เคียงหรือเท่ากับ iep การดูดซับของโปรตีนบนผิวเมมเบรนหรือการเกิดฟาวลิง จึงมีค่าสูงสุดที่จุดดังกล่าวด้วย

2.8 วิธีการหลักเพื่อไม่ให้เกิดหรือวิธีการควบคุมการเกิดฟาวลิง

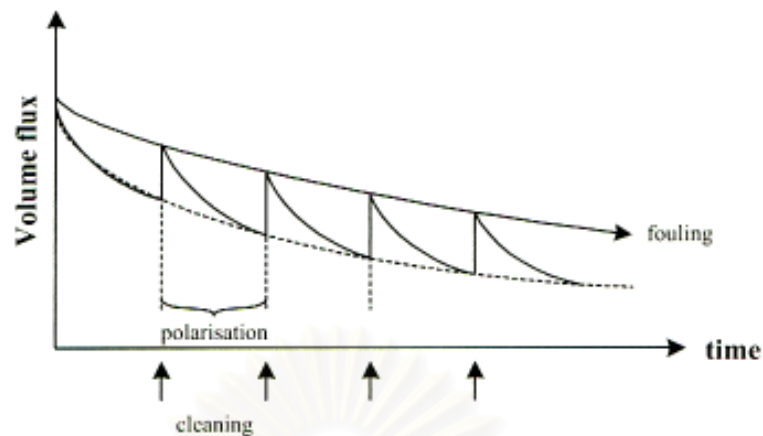
2.8.1 การบำบัดเบื้องต้น (Pretreatment) แก่สารละลายป้อน ด้วยการเติมสารตกตะกอน การกรองเบื้องต้น (Prefiltration) การปรับค่าพีเอช การเติมคลอรีน หรือการดูดซับด้วยคาร์บอน

2.8.2 การตัดแปลงผิวหน้าของเมมเบรน (Membrane surface modification) โดยการเติมหมู่ชอบน้ำ หรือหมู่ที่มีประจุ ที่ผิวหน้าของเมมเบรน

2.8.3 การออกแบบอุทกพลศาสตร์ของ โมดูลที่เหมาะสม (Hydrodynamic optimization of the membrane module) โดยออกแบบให้เกิดแรงเฉือนเนื่องจากการไหลของสารป้อนที่ผิวหน้าของเมมเบรนสูงๆ

2.8.4 การล้างเมมเบรน (Membrane cleaning) ด้วยสารเคมีที่เหมาะสม เมื่อฟลักซ์ลดลงจนถึงระดับหนึ่ง จำเป็นต้องล้างเมมเบรนเพื่อให้ได้ฟลักซ์กลับคืนมาบางส่วนหรือให้ได้เท่าเดิม สารเคมีที่ใช้ทำความสะอาด ได้แก่ กรดไนตริก (HNO_3) โซเดียมไฮดรอกไซด์ ($NaOH$) สารเชิงซ้อน EDTA (Ethylene-diamine-tetra-acetic-acid) เอนไซม์ (Enzyme) สารซักฟอก (Detergent) และสารฆ่าเชื้อ (Disinfectant) เป็นต้น รูปที่ 2.10 แสดงผลการกู้ฟลักซ์ด้วยการล้างเมมเบรน

กระบวนการแยกด้วยเมมเบรนมีจุดเด่นสำคัญในแง่ใช้พลังงานต่ำ เนื่องจากไม่มีการเปลี่ยนเฟสเกิดขึ้น (ยกเว้นกระบวนการเพอร์แวกเพอเรชัน ซึ่งใช้วิธีการลดความดันทำให้เกิดการเปลี่ยนเฟส) จึงไม่ต้องการความร้อนเพื่อการเปลี่ยนเฟส นอกจากนั้นยังสามารถใช้ในการแยกผลิตภัณฑ์ที่สูญเสียสมบัติหรือสภาพได้เมื่อได้รับความร้อน เนื่องจากกระบวนการแยกด้วยเมมเบรนส่วนใหญ่ดำเนินการที่ภาวะปกติ (อุณหภูมิห้องที่ความดัน 1 บรรยากาศ) เทคโนโลยีการแยกด้วยเมมเบรนสามารถทำให้ผลิตภัณฑ์เข้มข้นขึ้น (concentrate) แยกลำดับส่วน (fractionate) และทำให้บริสุทธิ์ (purify) ได้พร้อมกัน (จันทอง สุนทรภา, 2547)



รูปที่ 2.10 แสดงผลการกู้ฟลักซ์ด้วยการล้างเมมเบรน

2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในอุตสาหกรรมเครื่องดื่มน้ำได้มีการนำกระบวนการอัลตราฟิลเตรชันและกระบวนการไมโครฟิลเตรชันมาใช้ ในการเพิ่มปริมาณและคุณภาพของผลิตภัณฑ์

กระบวนการไมโครฟิลเตรชัน ประกอบด้วยเมมเบรนที่มีขนาดรูพรุนเล็ก (< 0.65 ไมครอน) ซึ่งสามารถกำจัดเชื้อยีสต์และแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุให้เกิดการหมักแบบ acid fermentation ในแอลกอฮอล์ซึ่งทำให้ไวน์เสียออกได้ ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีอายุการเก็บรักษานานขึ้น และกระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน สามารถกำจัด โปรตีน อนุภาคคอลลอยด์ สารประกอบ โพลีฟีนอลิก แป้ง เพคติน และเชื้อจุลินทรีย์ออกได้ หลังจากผ่านการกรองจะได้ผลิตภัณฑ์ที่มีความใส และสามารถเก็บรักษาไว้นาน กระบวนการอัลตราฟิลเตรชันสามารถลดปัญหาการเกิด oxidation และ browning ได้โดยการกำจัดสารประกอบ โพลีฟีนอลิกและไนโตรเจนในไวน์ได้ และสามารถลดการตกผลึกของทาร์เทรตในไวน์ในระหว่างการเก็บรักษา โดยการกำจัดสารโพแทสเซียมทาร์เทรตออกไป (Zeman และ Zydney, 1996)

หลังจากทำการหมักไวน์ ไวน์ที่ได้จะมีลักษณะขุ่นซึ่งไม่เป็นที่ยอมรับแก่ผู้บริโภค และความขุ่นของไวน์มีสาเหตุมาจากอนุภาคแขวนลอยคล้ายเศษเหลือของยีสต์และสารโมเลกุลใหญ่ลักษณะเป็นคอลลอยด์ จึงได้อาศัยการกรองใสแยกสารประกอบเหล่านี้ออกไป โดยวิธีดั้งเดิมใช้การกรองแบบ Diatomaceous earth แต่ในปัจจุบันได้มีการประยุกต์ใช้กระบวนการไมโครฟิลเตรชัน (Tangential microfiltration) และอัลตราฟิลเตรชัน มาใช้ในการกรองใสไวน์ งานวิจัยของ Goncalves และคณะ (2001) ศึกษาการกรองใสไวน์ขาวด้วยกระบวนการไมโครฟิลเตรชันและอัลตราฟิลเตรชัน โดยเปรียบเทียบผลของการแยกสารโพลิแซคคาไรด์ที่มีผลต่อความเสถียรของกรดทาร์ทาริกในไวน์ พบว่ากระบวนการอัลตราฟิลเตรชันสามารถแยกสารโพลิแซคคาไรด์และให้

ค่าฟลักซ์สูงกว่า เมมเบรนของกระบวนการอัลตราฟิลเตรชันสามารถทำความสะอาดได้ง่ายกว่า ดังนั้นกระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน โดยใช้เมมเบรนขนาดรูพรุน 100 กิโลดัลตัน เป็นทางเลือกที่ดี ทางหนึ่งสำหรับการกรองใสไวน์ที่มีผลต่อความสามารถในการผลิต คุณภาพของไวน์ และความสะดวกของกรดทาร์ทริก

Palacios และคณะ (2002) ศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการกรองไวน์ ระหว่างกระบวนการไมโครฟิลเตรชันและวิธีการกรองแบบดั้งเดิม โดยเปรียบเทียบระหว่างปริมาณของแข็งทั้งหมด การเกิดฟาวลิง ปริมาณโปรตีน อนุภาคคอลลอยด์ที่มีผลต่อสีของไวน์ และความสะดวกทางกายภาพและเคมี พบว่ากระบวนการไมโครฟิลเตรชัน มีประสิทธิภาพของการกรองไวน์ สูงกว่าวิธีการกรองแบบดั้งเดิม

Wang และคณะ (1989) ทดลองศึกษาการกำจัดเชื้อแบคทีเรียออกจากไวน์ขาว โดยใช้กระบวนการอัลตราฟิลเตรชันแบบ thin-layer ultrafilter วัสดุที่ใช้ทำเมมเบรนคือ polysulphonamide (PSA) เปรียบเทียบกับวิธีการกรองแบบดั้งเดิม พบว่ากระบวนการอัลตราฟิลเตรชันเป็นกระบวนการที่ไม่ยุ่งยากและประหยัดแรงงาน สูญเสียผลิตภัณฑ์ในระหว่างขั้นตอนการกรองน้อย ซึ่งช่วยลดต้นทุนการผลิต และให้ไวน์ที่มีคุณภาพของความใส กลิ่น ลักษณะปรากฏที่ดีกว่า สามารถกำจัดเชื้อแบคทีเรียออกได้ จึงสามารถลดขั้นตอนการฆ่าเชื้อได้ และมีอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้มากกว่า 6 เดือน

Arriagada-Carrzana และคณะ (2005) ศึกษาทดลองกรองไวน์ผ่านเมมเบรน โดยใช้เมมเบรนขนาดรูพรุน 1.2 ไมครอน ชนิด polypropylene และ 0.65 ไมครอน ชนิด polyvinylidene difluoride (PVDF) ตามลำดับ พบว่าปริมาณของสีและองค์ประกอบสารฟีนอลิกลดลงเล็กน้อย เนื่องจากการดูดซับด้วยเมมเบรน แต่คุณภาพของไวน์ยังคงเป็นที่ยอมรับตามมาตรฐานของไวน์ ดังนั้นการกรองผ่านเมมเบรนไม่ส่งผลต่อกลิ่นและคุณภาพของไวน์

Li และคณะ (2006) ศึกษาทดลองใช้กระบวนการอัลตราฟิลเตรชันในการกรอง cheese whey broth เมมเบรนที่ใช้มีขนาดรูพรุน MWCO 5,000 และ 20,000 ดัลตัน ความดันต่าง (70, 140, 210, 280 และ 420 kPa) , อุณหภูมิ (21 และ 37 องศาเซลเซียส) และอัตราการไหล (1 และ 2 เมตรต่อวินาที) เมื่อเวลาเพิ่มขึ้นค่าฟลักซ์ของเพอมีเอทจะลดลงเนื่องจากเกิดฟาวลิงของเมมเบรน และเมื่อขนาดรูพรุนของเมมเบรนเพิ่มขึ้นจะให้ค่าฟลักซ์ของเพอมีเอทเพิ่มขึ้นด้วย

Salazar และคณะ (2007) ศึกษาการประยุกต์ใช้การดูดซับผ่านคอลัมน์ (column adsorption) ร่วมกับกระบวนการ crossflow microfiltration ในการกรองอนุภาคของโปรตีนที่ไม่เสถียรในไวน์ และปรับปรุงค่าฟลักซ์ของเพอมีเอทในการกรองไวน์ผ่านกระบวนการไมโครฟิลเตรชัน พบว่าเมื่อนำไวน์ผ่านคอลัมน์ที่ประกอบด้วย zirconium oxide และนำมากรองผ่านเมมเบรน จะให้ค่าฟลักซ์สูงขึ้น 15-20 % และผลิตภัณฑ์ไวน์ที่ได้พบว่าอนุภาคโปรตีนมีความเสถียรเพิ่มขึ้น และไม่ส่งผลต่อสีและองค์ประกอบของสารฟีนอลิกในไวน์

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 วัสดุและเครื่องมือ

กระดาษกรอง Whatman GF/C เส้นผ่านศูนย์กลาง 47 มิลลิเมตร ของบริษัท Whatman ประเทศอังกฤษ

กล้องจุลทรรศน์ (Microscope) รุ่น ALPHAPHOT-2 YS2 ของบริษัท Nikon ประเทศญี่ปุ่น

กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope) รุ่น JSM-5410LV

เข็มฉีดยา (Microliter syringes) ปริมาตร 1-10 μ l ของบริษัท Hamilton ประเทศสหรัฐอเมริกา

เครื่องกวนควบคุมอุณหภูมิ (Hot plate stirrer) รุ่น PC-101 ของบริษัท CORNING

เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (Gas chromatography) รุ่น 163 พร้อมเครื่องตรวจวัดแบบ Flame Ionization Detector (FID) ของบริษัท Hitachi ประเทศญี่ปุ่น

เครื่องเขย่าผสม (Vortex mixer) รุ่น K-550-GE ของบริษัท Scientific Industries, Inc. ประเทศสหรัฐอเมริกา

เครื่องชั่งแบบละเอียด (Electronic balance) รุ่น FX-180 ของบริษัท A&D ประเทศญี่ปุ่น

เครื่องชั่งแบบหยาบ (Electronic balance) รุ่น FX-3000 ของบริษัท A&D ประเทศญี่ปุ่น

เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) รุ่น KR-20000T ของบริษัท Kubota Corporation ประเทศญี่ปุ่น

เครื่องปั่นเหวี่ยงอย่างง่าย (Centrifuge) ของสถาบันเทคโนโลยีชีวภาพและวิศวกรรมพันธุศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ประเทศไทย

เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) รุ่น Spectronic 21 ของบริษัท Bousch & Lomb ประเทศสหรัฐอเมริกา

เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (Hand refractometer) Brix 0-32% รุ่น N1 ของบริษัท ATAGO ประเทศญี่ปุ่น

เครื่องวัดปริมาณออกซิเจนละลาย (DO meter) รุ่น InoLab Oxi level 2 ของบริษัท Oximeter (ได้รับความอนุเคราะห์จากภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย)

ชุดกรองอัลตราฟิลเทรชัน (Amicon ultrafiltration cell) รุ่น 8200 และเมมเบรน amicon (MWCO 300,000 100,000 และ 30,000 คัดตัน) ของบริษัท W. R. Grace Co.-Conn., ประเทศสหรัฐอเมริกา

ชุดกรองแบคทีเรีย รุ่น AG. 37070 ของบริษัท Sartorius ประเทศเยอรมัน

ตู้อบเชื้อควบคุมอุณหภูมิ (Incubator) รุ่น MIR 152 ของบริษัท Sanyo Electronic Co., Ltd. ประเทศญี่ปุ่น

ตู้อบเชื้อควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า (Incubator shaker) รุ่น Innova™ 4330 ของบริษัท New Brunswick Scientific Co., Inc. ประเทศสหรัฐอเมริกา

ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar flow hood) รุ่น NK System Clean Bench ประเทศญี่ปุ่น

ตู้อบแห้ง (Hot air oven) รุ่น UL-80 ของบริษัท Memmert ประเทศเยอรมัน

โถบ่มไร้ออกซิเจน (Anaerobic jar) รุ่น 60465 ของบริษัท BDL Gaspak ประเทศแคนาดา

มาตรวัดความเป็นกรดต่าง (pH meter) รุ่น SevenEasy ของบริษัท Mettler Toledo ประเทศเยอรมัน

หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอน้ำ (Autoclave) รุ่น KT-30 SD ของบริษัท ALP Co., Ltd. ประเทศญี่ปุ่น

อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) รุ่น G-86 ของบริษัท New Brunswick Scientific Co., Inc. ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.1.2 สารเคมี

สารเคมี	บริษัทผู้ผลิต	ประเทศ	เกรด
กรดซัลฟูริก	Merck	เยอรมัน	Lab
กรดไดโนโตรซาลิไซลิก	Fluka	สวิสเซอร์แลนด์	Analytical
กลูโคส	Riedel-De Waen AG	ฝรั่งเศส	Lab
	Seelze-Hannover		
แคลเซียมคาร์บอเนต	Fluka	สวิสเซอร์แลนด์	Lab
โซเดียมอะซิเตท	Carlo Erba Reagenti	อิตาลี	Lab
โซเดียมไฮดรอกไซด์	Mallinckrodt	เม็กซิโก	Lab
ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต	Fluka	สวิสเซอร์แลนด์	Lab

ทวิน 80	Fluka	สวิสเซอร์แลนด์	Lab
บรอมครีซอล เพอเฟิล	BDH	อังกฤษ	Lab
เปปโตน	Difco	สหรัฐอเมริกา	Lab
โพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟด์	วิทยากรม	ไทย	Lab
แมกนีเซียมซัลเฟต เฮปตะไฮเดรต	Fluka	สวิสเซอร์แลนด์	Lab
แมงกานีสซัลเฟต เพนตะไฮเดรต	Mallinckrodt	เม็กซิโก	Lab
วุ้นผง	พัฒนสินเอ็นเตอร์ไพรส์	ไทย	Commercial
สารสกัดจากเนื้อวัว	Difco	สหรัฐอเมริกา	Lab
สารสกัดจากมอลต์	Difco	สหรัฐอเมริกา	Lab
สารสกัดจากยีสต์	IBGE	ไทย	Lab
แอมโมเนียมซัลเฟต	Mallinckrodt	เม็กซิโก	Lab
แอลกอฮอล์ 95%	กรมสรรพสามิต	ไทย	Commercial
แอลกอฮอล์สัมบูรณ์	Merck	เยอรมัน	Lab
ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์	Fluka	สวิสเซอร์แลนด์	Lab

หมายเหตุ IBGE = สถาบันเทคโนโลยีชีวภาพและวิศวกรรมพันธุศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.1.3 วัตถุดิบที่ใช้

ข้าวเหนียว ตราท็อปส์

น้ำตาลทราย ตรามิตรผล

ลูกแป้งขนหาญ จากจังหวัดศรีสะเกษ

3.2 กระบวนการผลิตสุราแช่

ขั้นตอนการหมักโดยนำข้าวเหนียวแช่ในน้ำนาน 6-12 ชั่วโมง และนึ่งสุกด้วยไอน้ำนาน 30 นาที เกลี่ยข้าวเหนียวแผ่ทิ้งไว้ให้เย็น ล้างเมือกข้าวด้วยน้ำปูนใส คลุกข้าวเหนียวด้วยลูกแป้งบดละเอียด 0.2-0.5 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนัก) ใส่ในภาชนะที่ล้างด้วยสารละลายโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟด์ (KMS) 200 พีพีเอ็ม และทิ้งไว้ 4-6 ชั่วโมงแล้ว ปิดฝาให้สนิท บ่มทิ้งไว้เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นเติมน้ำเชื่อมที่มีความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) และปรับค่าปริมาณของแข็งทั้งหมด (Total soluble solid) เป็น 20-22 องศาบริกซ์ บ่มต่ออีก 7-14 วัน เก็บตัวอย่างทุกๆ 24 ชั่วโมง และนำมาวิเคราะห์ (ภาคผนวก ข) วัดค่าความเป็นกรดด้วย pH meter, วัดปริมาณแอลกอฮอล์ที่เปลี่ยนแปลงโดยใช้วิธีแก๊สโครมาโทกราฟี (Gas chromatography), วัดปริมาณของแข็งทั้งหมดโดยใช้ Hand refractometer, วัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยใช้วิธี DNS-method และ

วัดปริมาณกรดทั้งหมดโดยการไทเทรต จากนั้นเมื่อหมักสุราแช่ได้ปริมาณแอลกอฮอล์ตามที่
ต้องการ จึงแยกสุราแช่ส่วนใสออกมา และนำมาปั่นเหวี่ยงอย่างง่ายเพื่อแยกตะกอนข้าวออก

3.3 ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพของการกรองใสและปราศจากจุลินทรีย์ของสุราแช่ ด้วย กระบวนการอัลตราฟิลเทรชัน

3.3.1 ขนาดรูพรุน

3.3.1.1 ก่อนทดสอบจะวิเคราะห์องค์ประกอบของสุราแช่ ได้แก่ ค่าความเป็นกรดต่าง, ปริมาณของแข็งที่ละลายได้, ปริมาณแอลกอฮอล์, ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์, ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ และปริมาณกรดทั้งหมด (ภาคผนวก ข)

3.3.1.2 จัดอุปกรณ์ชุดกรองอัลตราฟิลเทรชัน (ภาคผนวก ค) โดยใช้เมมเบรนขนาดรูพรุนที่มี MWCO 30,000 คัดตัน ใช้น้ำสะอาดเป็นสารป้อน ทดสอบหาฟลักซ์ของน้ำก่อนทดสอบกับตัวอย่างทุกครั้ง ภายใต้ภาวะการทดลองที่อุณหภูมิห้อง ความดัน 1.0 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร ความเร็วในการกวน 400 รอบต่อนาที จับเวลาและวัดปริมาตรของเพอมีเอท

3.3.1.3 ไล่น้ำออกจากระบบให้หมด เปลี่ยนสารป้อนจากน้ำสะอาดเป็นสุราแช่ ทดลองเช่นเดียวกับข้อ 3.3.1.2

3.3.1.4 เมื่อทดลองเสร็จ ไล่น้ำออกจากระบบให้หมด ถอดอุปกรณ์แล้วนำเมมเบรนออกมาล้างด้วยน้ำสะอาดโดยใช้กระบอกฉีดน้ำ จากนั้นประกอบอุปกรณ์ใหม่แล้ววัดฟลักซ์ของน้ำสะอาดภายใต้ภาวะการทดลองเช่นเดิม

3.3.1.5 ถอดอุปกรณ์ออก นำเมมเบรนแช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มัล เป็นเวลา 30 นาที ล้างทำความสะอาดเมมเบรนด้วยน้ำสะอาด และเก็บเมมเบรนในสารละลายเอทานอล 10 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3.3.1.6 นำเพอมีเอททั้งหมดที่ได้ มาวิเคราะห์องค์ประกอบเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ในข้อ 3.3.1.1

3.3.1.7 ทำการทดลองซ้ำอีกครั้ง และเปลี่ยนเมมเบรนเป็นขนาดรูพรุน ที่มี MWCO 100,000 และ 300,000 คัดตัน ตามลำดับ

3.3.2 ความดัน

ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 3.3.1.1 – 3.3.1.6 โดยใช้เมมเบรนขนาดรูพรุน MWCO 100,000 คัดตัน ภายใต้ภาวะการทดลองที่อุณหภูมิห้อง ความดัน 1.0 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร ความเร็วในการกวน 400 รอบต่อนาที จับเวลาและวัดปริมาตรของเพอมีเอท และทำการทดลองซ้ำอีกครั้ง เปลี่ยนความดันเป็น 1.5 และ 2.0 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร ตามลำดับ

3.3.3 อุณหภูมิ

ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 3.3.1.1 – 3.3.1.6 โดยใช้เมมเบรนขนาดรูพรุน MWCO 100,000 คัดตัน ภายใต้ภาวะการทดลองที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ความดัน 1.0 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร ความเร็วในการกวน 400 รอบต่อนาที จับเวลาและวัดปริมาตรของเพอมีเอท และทำการทดลองซ้ำอีกครั้ง เปลี่ยนภาวะเป็นอุณหภูมิห้อง

3.4 การคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้สุราแช่เสื่อมคุณภาพ เพื่อบ่งชี้ถึงประสิทธิภาพในการกรองของเมมเบรน

หลังจากที่ผลิตสุราแช่ได้และไม่ผ่านการกรองด้วยกระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน นำมาบรรจุขวดตั้งทิ้งไว้ให้สุราแช่เสีย จากนั้นนำตัวอย่างสุราแช่เสียมาทำการคัดแยกหาเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้สุราแช่เสีย เพื่อเป็นเชื้อจุลินทรีย์บ่งชี้ถึงประสิทธิภาพในการกรองของเมมเบรน

3.4.1 การคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้สุราแช่เสื่อมคุณภาพ

นำตัวอย่างสุราแช่เสีย มาทำการเจือจางด้วย 0.85 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) normal saline อัตราส่วนการเจือจาง 10^0-10^{-5} дукตัวอย่างปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ใส่จานเพาะเชื้อที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient agar (NA medium) (ภาคผนวก ก) เกลี่ยเชื้อ (spread plate) ให้ทั่วจานเพาะเชื้อ ทำ 2 ซ้ำ และนำไปบ่มที่ 30 องศาเซลเซียส ประมาณ 24 ชั่วโมง โดยคว่ำจานเพาะเชื้อ นำโคโลนีที่ได้ไปย้อมแกรมและดูลักษณะเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

เจียเชื้อจากโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ลงในอาหารเหลว MRS (ภาคผนวก ก) ซึ่งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรจำเพาะปริมาตร 50 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส หรือที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ทำการเจือจางด้วย 0.85 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) normal saline อัตราส่วนการเจือจาง 10^0-10^{-5} дукตัวอย่างปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร ใส่จานเพาะเชื้อ เทอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ที่มีอุณหภูมิประมาณ 47 องศาเซลเซียส ลงในจานเพาะเชื้อ จานละ 15 มิลลิลิตร หมุนจานให้อาหารเลี้ยงเชื้อและตัวอย่างสุราแช่ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน ทำการทดลอง 2 ซ้ำ เมื่ออาหารอุ่นแข็งตัว นำจานอาหารไปบ่มใน anaerobic jar ที่ 30 องศาเซลเซียส หรือที่

อุณหภูมิห้องประมาณ 72 ชั่วโมง โดยคว่ำจานเพาะเชื้อ สังเกตโคโลนีที่มีโซนใส (clear zone) ล้อมรอบ นำไปย้อมแกรมและดูลักษณะเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ นอกจากนั้นนำไปทดสอบคะตะเลส (catalase test) (ภาคผนวก ข) และนำเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้ไปทดสอบทางชีวเคมี

3.4.2 วัดการเจริญของเชื้อ โดยวิธีห่าน้ำหนักเซลล์แห้ง

ปิเปตน้ำหมักปริมาตร 10.0 มิลลิลิตร กรองผ่านกระดาษกรอง Whatman GF/C ที่ทราบน้ำหนักแห้งแน่นอน โดยใช้ชุดกรองแบคทีเรีย (Millipore filter) และเครื่องสุญญากาศล้างเซลล์ด้วยน้ำจืด ไอออนที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 20.0 มิลลิลิตร นำกระดาษกรองที่มีเซลล์ไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นในเคสิเคเตอร์แล้วชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งละเอียด หักน้ำหนักกระดาษกรองออกจะได้น้ำหนักเซลล์แห้งหน่วยเป็นกรัมต่อลิตร

3.4.3 การเตรียมกล้าเชื้อ

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียบนอาหารแข็งลาดเอียง สูตรอาหาร NA บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เติมน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และปิเปตเซลล์แขวนลอยปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ลงในอาหารเหลว NB ที่บรรจุในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร เลี้ยงเชื้อบนเครื่องบ่มเชื้อควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า (incubator shaker) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่าด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.4.4 การเก็บรักษาเชื้อ

เก็บเชื้อ โดยใช้เข็มเก็บเชื้อแล้วลวกบนอาหารแข็งลาดเอียง สูตรอาหาร NA บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส หรือที่อุณหภูมิห้องประมาณ 24 ชั่วโมง เก็บเชื้อในตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียส

3.5 ทดสอบประสิทธิภาพของเมมเบรนในการกรองใสและปราศจากจุลินทรีย์ของสุราแช่ ด้วย

กระบวนการอัลตราฟิลเทรชัน

นำสุราแช่ที่กรองผ่านเมมเบรนที่มีขนาดรูพรุน MWCO 100,000 ดัลดัน ภายใต้ภาวะการทดลองที่ความดัน 2.0 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร อุณหภูมิห้อง ปริมาตรขวดละ 200 มิลลิลิตร ทั้งหมด 9 ขวด (ชุดควบคุม 1 ขวด) ทดสอบดังนี้

3.5.1 ปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้สุราแช่เสื่อมคุณภาพ

3.5.1.1 นำกล้าเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้จากข้อ 3.4.3 เดิมลงในสุราแช่ที่กรองผ่านเมมเบรน ให้มีความเข้มข้น 1 และ 5 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) ความเข้มข้นละ 2 ขวด

3.5.1.2 นำสุราแช่จากข้อ 3.5.1.1 ความเข้มข้นละ 1 ขวด มากรองผ่านเมมเบรนอีกครั้ง ภายใต้ภาวะการทดลองเช่นเดิม

3.5.1.3 เก็บตัวอย่างทุกๆ 2 วัน เป็นระยะเวลา 30 วัน นำมาวิเคราะห์องค์ประกอบของสุราแช่ (ภาคผนวก ข) ได้แก่ ค่าความเป็นกรดต่าง, ปริมาณของแข็งที่ละลายได้, ปริมาณแอลกอฮอล์, ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ และปริมาณกรดทั้งหมด

3.5.2 ปริมาณกลูโคส

3.5.2.1 นำกล้าเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้จากข้อ 3.4.3 เดิมลงในสุราแช่ที่กรองผ่านเมมเบรน 2 ขวด ให้มีความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร)

3.5.2.2 นำสุราแช่จากข้อ 3.5.2.1 มา 1 ขวด กรองผ่านเมมเบรนอีกครั้ง ภายใต้ภาวะการทดลองเช่นเดิม

3.5.2.3 เดิมกลูโคส ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ลงในสุราแช่ทั้งสองขวด

3.5.2.4 เก็บตัวอย่างทุกๆ 2 วัน เป็นระยะเวลา 30 วัน นำมาวิเคราะห์องค์ประกอบของสุราแช่ ได้แก่ ค่าความเป็นกรดต่าง, ปริมาณของแข็งที่ละลายได้, ปริมาณแอลกอฮอล์, ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์, ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ และปริมาณกรดทั้งหมด

3.5.3 ปริมาณออกซิเจนละลาย (Dissolved oxygen)

3.5.3.1 นำกล้าเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้จากข้อ 3.4.3 เดิมลงในสุราแช่ที่กรองผ่านเมมเบรน 2 ขวด ให้มีความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร)

3.5.3.2 นำสุราแช่จากข้อ 3.5.3.1 มา 1 ขวด กรองผ่านเมมเบรนอีกครั้ง ภายใต้ภาวะการทดลองเช่นเดิม

3.5.3.3 เดิมอากาศ ที่อัตราการให้อากาศ 0.5 vvm เป็นเวลา 5 นาที ลงในสุราแช่ทั้งสองขวด

3.5.3.4 เก็บตัวอย่างทุกๆ 2 วัน เป็นระยะเวลา 30 วัน นำมาวิเคราะห์องค์ประกอบของสุราแช่ ได้แก่ ค่าความเป็นกรดต่าง, ปริมาณของแข็งที่ละลายได้, ปริมาณแอลกอฮอล์, ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์, ปริมาณออกซิเจนละลาย, ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ และปริมาณกรดทั้งหมด

3.6 ตรวจสอบและวิเคราะห์องค์ประกอบของสุราแช่ที่ผลิตได้ (มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน: สวท มพช.3/2546)

3.6.1 คุณลักษณะทางเคมี (วิธีวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 3.1)

3.6.1.1 มีแรงแอลกอฮอล์ไม่เกิน 15 ดีกรี/ร้อยละ โดยปริมาตร และมีเกณฑ์ความคลาดเคลื่อนจากที่ระบุไว้ที่นลากได้ ± 1 ดีกรี/ร้อยละ โดยปริมาตร

3.6.1.2 ปริมาณเมทิลแอลกอฮอล์ ไม่เกิน 420 มิลลิกรัมต่อลิตร

3.6.1.3 ปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์ทั้งหมด ไม่เกิน 300 มิลลิกรัมต่อลิตร

3.6.1.4 ปริมาณกรดซอร์บิกหรือเกลือของกรดนี้คำนวณเป็นกรดซอร์บิก ไม่เกิน 200 มิลลิกรัมต่อลิตร

3.6.1.5 ปริมาณกรดเบนโซอิกหรือเกลือของกรดนี้คำนวณเป็นกรดเบนโซอิก ไม่เกิน 250 มิลลิกรัมต่อลิตร

3.6.1.6 ปริมาณทองแดง ไม่เกิน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

3.6.1.7 ปริมาณเหล็ก ไม่เกิน 15 มิลลิกรัมต่อลิตร

3.6.1.8 ปริมาณตะกั่ว ไม่เกิน 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร

3.6.1.9 ปริมาณสารหนู ไม่เกิน 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร

3.6.1.10 ปริมาณเฟอร์โรไซยาไนด์ ต้องไม่พบ

3.6.2 คุณลักษณะทางกายภาพ

3.6.2.1 ความใส/ขุ่น ให้เป็นไปตามลักษณะการผลิตเฉพาะของสุราแช่ที่ผลิตได้

3.6.2.2 สี มีสีเป็นไปตามธรรมชาติของวัตถุดิบที่ใช้ทำ และเป็นไปตามที่
ระบุไว้ที่ฉลาก

3.6.2.3 กลิ่น มีกลิ่นหอม ตามธรรมชาติของวัตถุดิบที่ใช้ทำ

3.6.2.4 รสชาติ กลมกล่อม ตามธรรมชาติของวัตถุดิบที่ใช้ทำ

3.6.2.5 คุณภาพโดยรวมของสารโท มีความใส/ขุ่น สี กลิ่น รสชาติ เป็นที่
ยอมรับ

3.6.3 สิ่งแปลกปลอม ต้องไม่พบสิ่งแปลกปลอมที่ไม่ใช่วัตถุดิบที่ใช้ทำ

3.6.4 ความเสถียร ไม่มีการหมักซ้ำที่ทำให้เกิดฟองก๊าซในภาชนะบรรจุ

ตารางที่ 3.1 แสดงวิธีวิเคราะห์คุณลักษณะทางเคมีของสุราแช่

รายการวิเคราะห์	วิธีวิเคราะห์
เอทิลแอลกอฮอล์	AOAC 983.13, 2000
เมทิลแอลกอฮอล์	AOAC 983.13, 2000
ซัลเฟอร์ไดออกไซด์	AOAC 990.28, 2000
กรดเบนโซอิก	Compendium method analysis, Thailand 1 st ed. 2003, 1-12, 1-13, 1-14
กรดซอร์บิก	Compendium method analysis, Thailand 1 st ed. 2003, 1-12, 1-13, 1-14
ทองแดง (Cu)	ICP*
เหล็ก (Fe)	ICP
ตะกั่ว (Pb)	ICP
สารหนู (As)	ICP
เฟอร์โรไซยาไนด์	ICP

หมายเหตุ ICP = Inductively coupled plasma

บทที่ 4

ผลการทดลอง และอภิปรายผล

4.1 ผลการผลิตสุราแช่

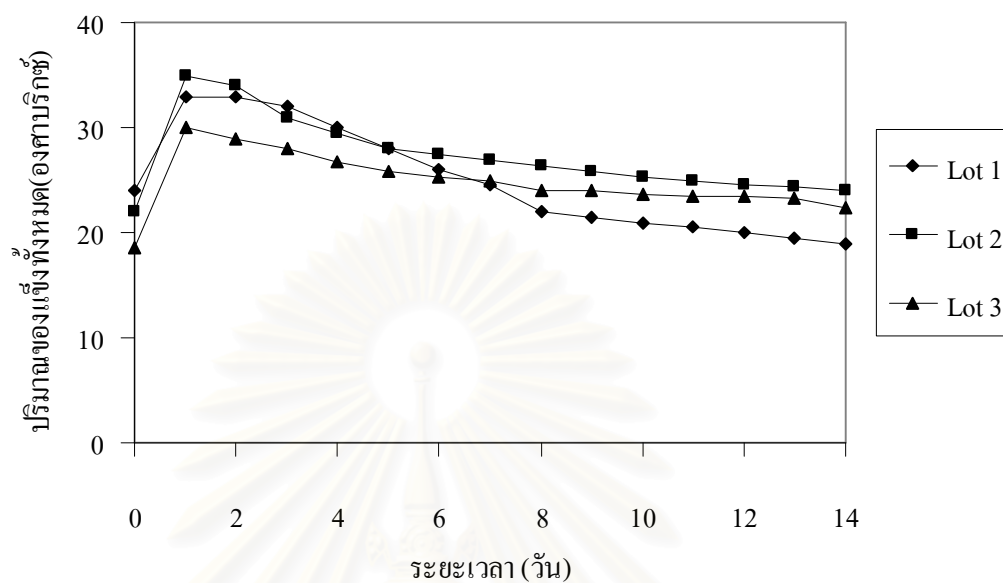
หลังจากที่ทำการหมักข้าวเหนียวด้วยลูกแป้งขุนหาญ (จังหวัดศรีสะเกษ) เป็นเวลา 14 วัน และทำการติดตามผลการเปลี่ยนแปลงค่าต่างๆ ในระหว่างการหมักสุราแช่ ได้ผลการทดลอง ตารางที่ 4.1-3 (ภาคผนวก จ) ซึ่งได้สุราแช่ที่มีปริมาณแอลกอฮอล์ประมาณ 8.80 ± 0.76 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) ค่าความเป็นกรดค่า 3.40 ± 0.03 ปริมาณของแข็งทั้งหมด 21.80 ± 2.55 องศาบริกซ์ ปริมาณกรดทั้งหมด 1.00 ± 0.23 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร และมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 34.9 ± 6.52 กรัมต่อลิตร แสดงผลดังรูปที่ 4.1-4.5 เปรียบเทียบกับรายงานของมนตรี เชาวน์สังเกต (2520) ซึ่งได้วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสุราแช่ในขณะที่ยังมีปฏิกิริยาการหมักจากบางแห่งในประเทศไทยจำนวน 11 ตัวอย่าง ดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบทางเคมีของสุราแช่ (มนตรี เชาวน์สังเกต, 2520)

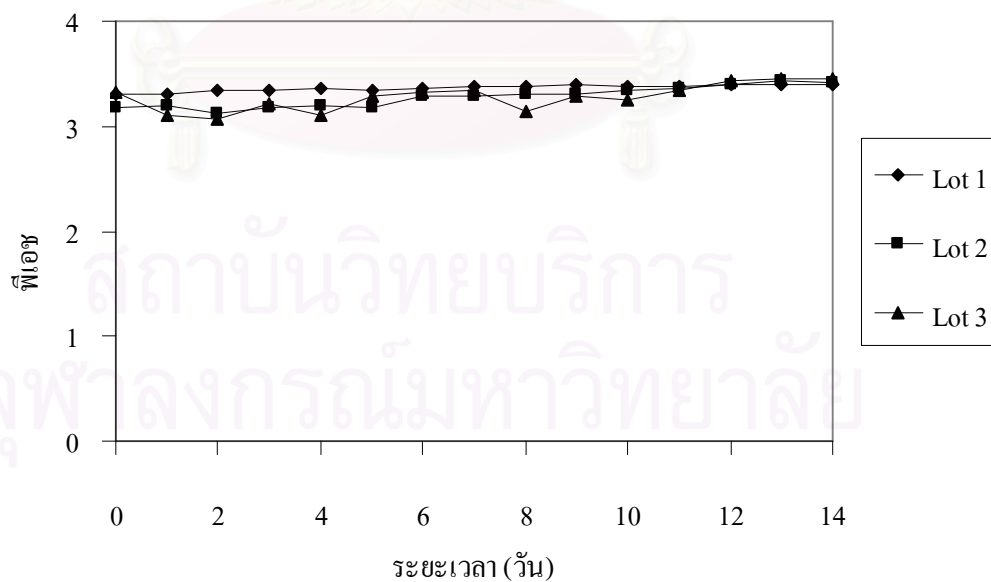
รายการ	ผลการวิเคราะห์ (มนตรี เชาวน์สังเกต, 2520)
ค่าความเป็นกรดค่า	3.40 – 4.70
ปริมาณของแข็งทั้งหมด (องศาบริกซ์)	5.2 – 13.8
ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละ)	0.29 – 0.93
ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (ร้อยละ)	0.15 – 5.95
ปริมาณแอลกอฮอล์ (ร้อยละโดยปริมาตร)	3.0 – 11.0

ในกระบวนการผลิตสุราแช่แต่ละครั้ง สุราแช่ที่ผลิตได้อาจแตกต่างกันได้ ทั้งนี้อาจขึ้นอยู่กับภาวะในการผลิต ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในลูกแป้ง ประสิทธิภาพของเชื้อในการย่อยสลายน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ น้ำบริสุทธิ์ เป็นต้น

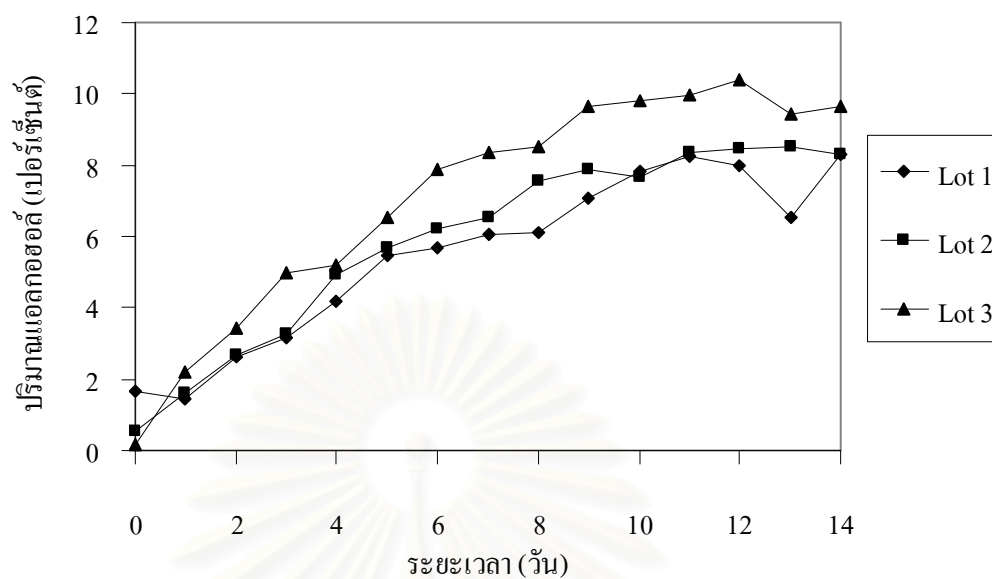
จากผลการทดลองพบว่าเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในลูกแป้ง มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายแป้งให้เป็นน้ำตาลและเปลี่ยนเป็นแอลกอฮอล์ได้ดี เมื่อระยะเวลาในการหมักสุราแช่เพิ่มขึ้น เชื้อราจะย่อยสลายแป้งให้เป็นน้ำตาล และเชื้อยีสต์เปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ โดยที่ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในสารละลายค่อยๆ ลดลงเมื่อระยะเวลาในการหมักเพิ่มขึ้น ให้เป็นแอลกอฮอล์เพิ่มขึ้น สุราแช่มีค่าความเป็นกรดเพิ่มขึ้นเล็กน้อย เนื่องจากในระหว่างเกิดกระบวนการหมักแอลกอฮอล์ นอกจากเชื้อราและยีสต์แล้ว ยังมีเชื้อแบคทีเรียที่สามารถเจริญเติบโตได้และผลิตกรดออกมาทำให้สุราแช่ที่ได้มีรสเปรี้ยวเล็กน้อย



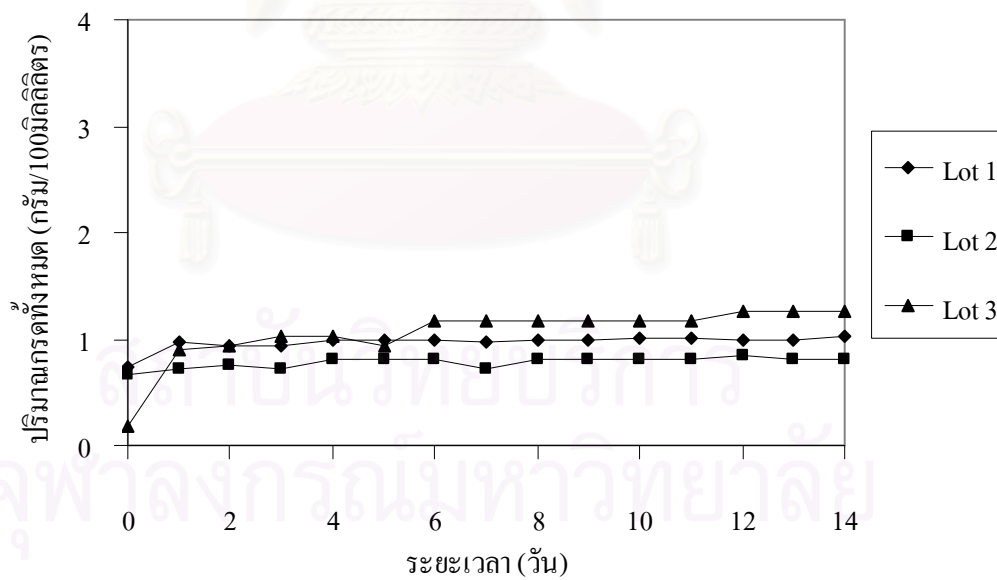
รูปที่ 4.1 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณของแข็งทั้งหมดในช่วงระหว่างทำการหมักสุราแช่



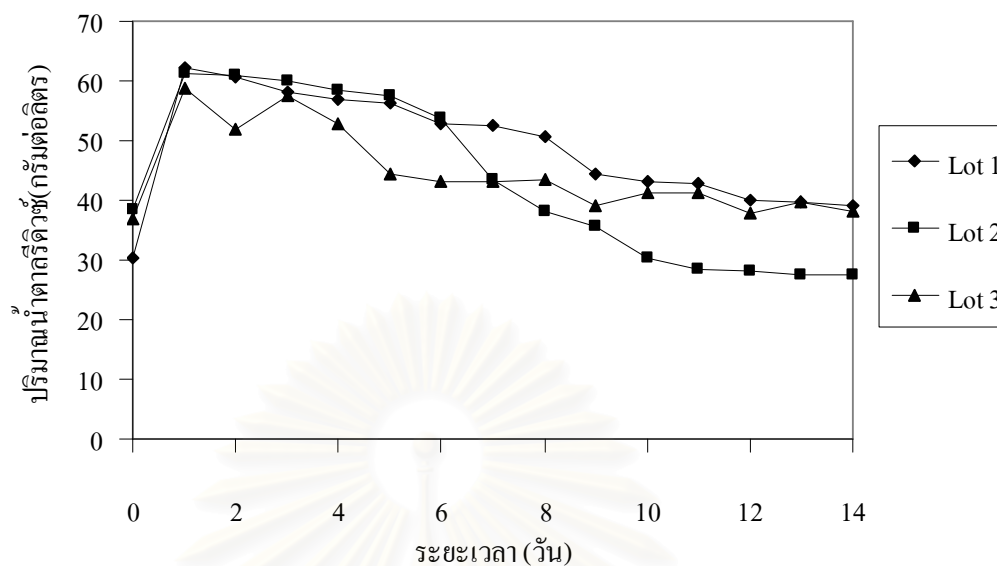
รูปที่ 4.2 การเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรดต่างในช่วงระหว่างทำการหมักสุราแช่



รูปที่ 4.3 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอลกอฮอล์ในช่วงระหว่างทำการหมักสุราแช่



รูปที่ 4.4 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดทั้งหมดในช่วงระหว่างทำการหมักสุราแช่

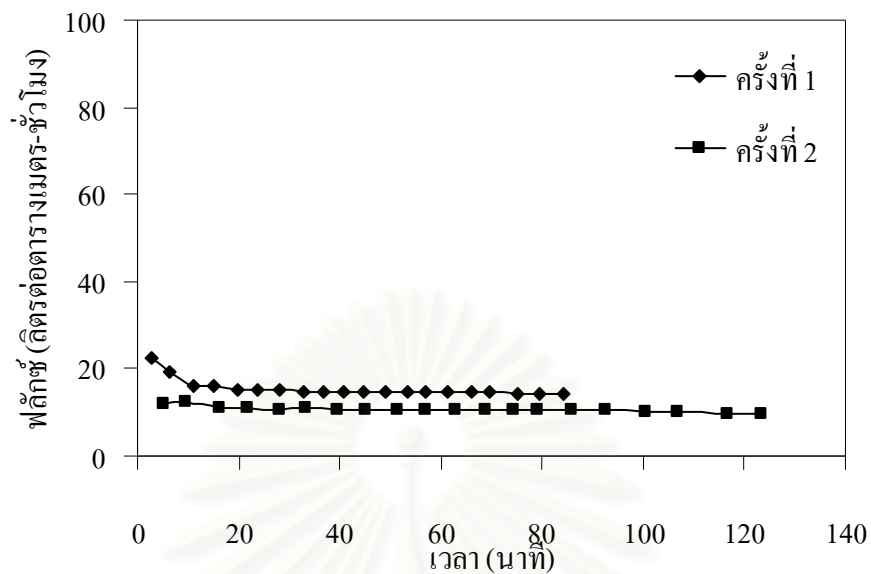


รูปที่ 4.5 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในช่วงระหว่างทำการหมักสุราแช่

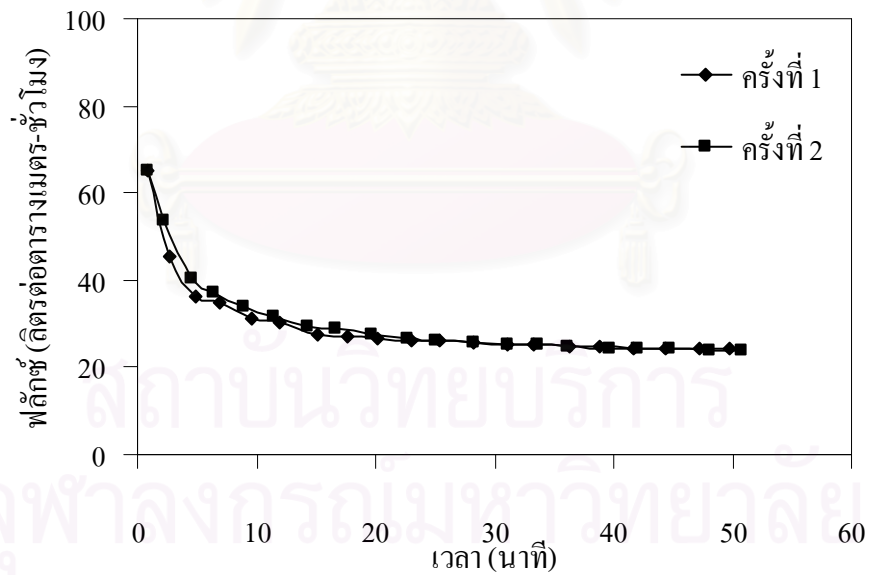
4.2 ผลการทดสอบความสามารถในการกรองสุราแช่ ด้วยกระบวนการอัลตราฟิลเทรชัน

4.2.1 ขนาดรูพรุนของเมมเบรน

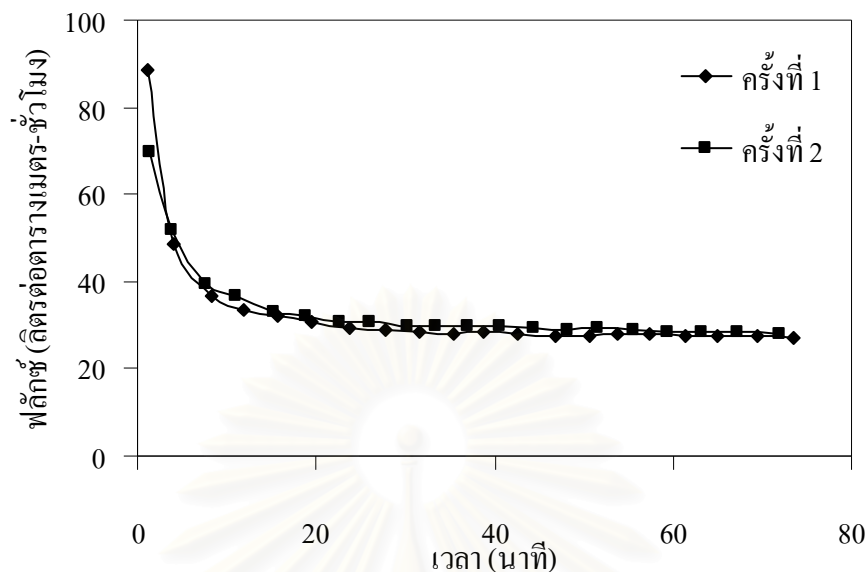
เมื่อทำการกรองสุราแช่โดยใช้เมมเบรนขนาดรูพรุน MWCO 30,000 100,000 และ 300,000 คัดค้น ติดตามการเปลี่ยนแปลงของค่าฟลักซ์ผ่านเมมเบรนในระหว่างการกรอง ได้ผลดังรูปที่ 4.6–4.8 พบว่า เมื่อขนาดรูพรุนของเมมเบรนสูงขึ้น ฟลักซ์จะมีค่าสูงขึ้นในช่วงแรกของการทดสอบ โดยเมื่อกรองสุราแช่ผ่านเมมเบรนขนาดรูพรุน MWCO 30,000 คัดค้น ให้ค่าฟลักซ์เฉลี่ย 13.61 ลิตรต่อตารางเมตร-ชั่วโมง, เมมเบรนขนาดรูพรุน MWCO 100,000 คัดค้น ให้ค่าฟลักซ์เฉลี่ย 28.58 ลิตรต่อตารางเมตร-ชั่วโมง และเมมเบรนขนาดรูพรุน MWCO 300,000 คัดค้น ให้ค่าฟลักซ์เฉลี่ย 32.81 ลิตรต่อตารางเมตร-ชั่วโมง (ตารางที่ 4.2) คาดว่าเป็นผลของการเกิด CP ฟลักซ์ในช่วงแรกลดลงเร็วกว่าฟลักซ์ในช่วงหลัง ซึ่งน่าจะเป็นผลมาจากการเกิดฟาวลิง เมื่อพิจารณาการลดลงของฟลักซ์ใน 10 นาทีแรก พบว่า ฟลักซ์มีอัตราการลดลงที่สูงขึ้นเมื่อค่า MWCO เพิ่มขึ้น ทั้งนี้ อาจมีสาเหตุมาจากการที่รูพรุนมีขนาดใหญ่จะทำให้ตัวถูกละลายมีโอกาสเข้าไปอุดขั้บอยู่ภายในรูพรุนได้มากขึ้น ฟาวลิงจึงเกิดได้เร็วขึ้น และส่งผลทำให้ฟลักซ์จึงลดลงได้เร็วมากขึ้น



รูปที่ 4.6 แสดงการเปลี่ยนแปลงของฟลักซ์ในการกรองสุราแช่ด้วยเมมเบรนขนาดรูพรุน MWCO 30,000 คัสตัน



รูปที่ 4.7 แสดงการเปลี่ยนแปลงของฟลักซ์ในการกรองสุราแช่ด้วยเมมเบรนขนาดรูพรุน MWCO 100,000 คัสตัน



รูปที่ 4.8 แสดงการเปลี่ยนแปลงของฟลักซ์ในการกรองสุราแช่ด้วยเมมเบรนขนาดรูพรุน MWCO 300,000 คัดตัน

ตารางที่ 4.2 การเปรียบเทียบค่าฟลักซ์ในการกรองสุราแช่ผ่านเมมเบรนขนาดรูพรุน MWCO 30,000 100,000 และ 300,000 คัดตัน

ขนาดรูพรุน (คัดตัน)	ฟลักซ์ (ลิตรต่อตารางเมตร-ชั่วโมง)		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	เฉลี่ย
30,000	16.11	11.11	13.61
100,000	27.69	29.47	28.58
300,000	33.56	32.05	32.81

การวิเคราะห์องค์ประกอบต่างๆ ของสุราแช่ ได้ผลตามตารางที่ 4.3 พบว่าสุราแช่ที่ผ่านเมมเบรนทั้ง 3 ขนาดรูพรุนมีคุณภาพดีขึ้น โดยเฉพาะค่าสีและความใส โดยที่หากพิจารณาความใสโดยการวัดค่าความขุ่น ที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร พบว่า ความขุ่นของสุราแช่มีค่าลดลงมาก เมื่อเทียบกับสุราแช่ก่อนกรอง ส่วนในด้านการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ที่มีในสุราแช่ พบว่า ไม่มีเชื้อจุลินทรีย์ในสุราแช่ที่กรองผ่านเมมเบรนทั้ง 3 ขนาดรูพรุน ด้วยกระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน

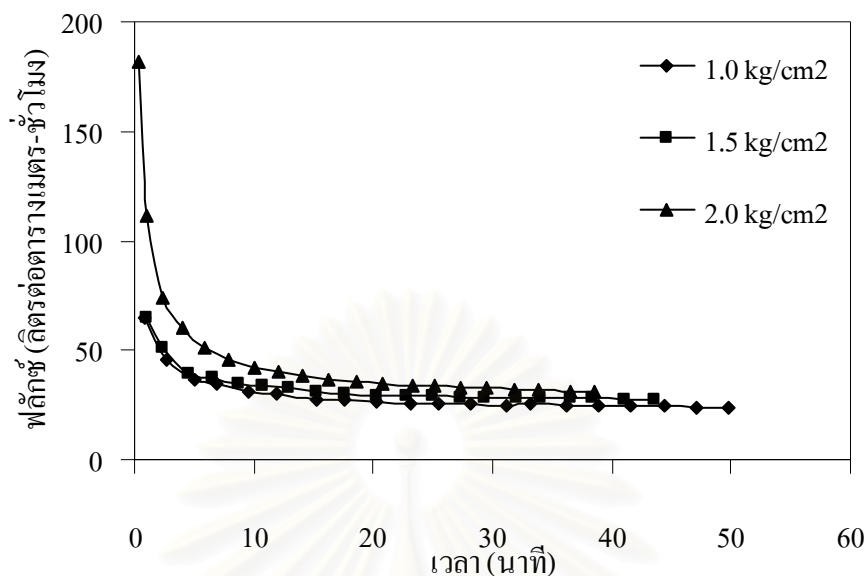
ตารางที่ 4.3 องค์ประกอบทางเคมีของสุราแช่ที่กรองผ่านเมมเบรนขนาดรูพรุน MWCO 30,000 100,000 และ 300,000 คัดค้น

รายการ	สุราแช่ ก่อนกรอง	สุราแช่หลังกรอง		
		ขนาดรูพรุน (คัดค้น)		
		300,000	100,000	30,000
1)ค่าความเป็นกรดต่าง	3.53 ±0.01	3.54±0.01	3.54±0.01	3.53±0.00
2)ปริมาณของแข็งทั้งหมด (^o Brix)	22.0 ±0.0	21.6±0.0	21.6±0.0	21.4±0.0
3)ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละ)	1.38 ±0.04	1.35±0.00	1.35±0.00	1.35±0.00
4)ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	37.90 ±1.23	37.90 ±0.37	36.34±0.98	36.67±0.73
5)ปริมาณแอลกอฮอล์ (ร้อยละโดยปริมาตร)	9.69 ±0.21	9.20±0.26	8.78±0.23	8.76±0.69
6)ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ (cfu/ml)	1.15 x 10 ⁴ ±2121	0	0	0
7)ความขุ่น (ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร)	0.032 ±0.004	0.004±0.001	0.003±0.001	0.002±0.000

จากการพิจารณาเบื้องต้นในด้านของฟลักซ์และราคาต้นทุน พบว่า เมมเบรนขนาดรูพรุน MWCO 100,000 คัดค้น มีศักยภาพดีที่สุดในการกรองสุราแช่ และจะใช้เมมเบรนขนาดรูพรุนดังกล่าวในการศึกษาต่อไปตลอดการทดลอง

4.2.2 ความดัน

เมื่อทำการกรองสุราแช่โดยใช้เมมเบรนขนาดรูพรุน MWCO 100,000 คัดค้น ที่ความดัน 1.0, 1.5 และ 2.0 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร ติดตามการเปลี่ยนแปลงของค่าฟลักซ์ผ่านเมมเบรนในระหว่างการกรองที่ค่าความดันต่างๆ ได้ผลดังรูปที่ 4.9 พบว่าที่ความดัน 1.0, 1.5 และ 2.0 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร มีค่าฟลักซ์ผ่านเมมเบรนเท่ากับ 31.41, 34.29 และ 41.67 ลิตรต่อตารางเมตร-ชั่วโมง ตามลำดับ (ตารางที่ 4.4) ดังนั้นเมื่อเพิ่มความดันสูงขึ้น ค่าฟลักซ์ก็จะเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามการเพิ่มความดัน ทำให้การเกิดฟาวลิงและการอัดตัวของเมมเบรน (compaction) สูงขึ้น (ชันทอง สุนทรภา, 2547) และจากการพิจารณาเบื้องต้นในด้านของฟลักซ์พบว่า เมมเบรนขนาดรูพรุน 100,000 คัดค้น ที่ความดัน 2.0 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร มีศักยภาพดีที่สุดในการกรองสุราแช่ และจะใช้ภาวะดังกล่าวในการศึกษาต่อไปตลอดการทดลอง



รูปที่ 4.9 แสดงการเปลี่ยนแปลงของฟลักซ์ในการกรองสุราแช่ด้วยเมมเบรนขนาดรูพรุน MWCO 100,000 คัดตัน ที่ความดัน 1.0, 1.5 และ 2.0 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร

ตารางที่ 4.4 การเปรียบเทียบค่าฟลักซ์ในการกรองสุราแช่ผ่านเมมเบรนขนาดรูพรุน MWCO 100,000 คัดตัน ที่ความดัน 1.0, 1.5 และ 2.0 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร

ความดัน (กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร)	ฟลักซ์ (ลิตรต่อตารางเมตร-ชั่วโมง)
1.0	31.41
1.5	34.29
2.0	41.67

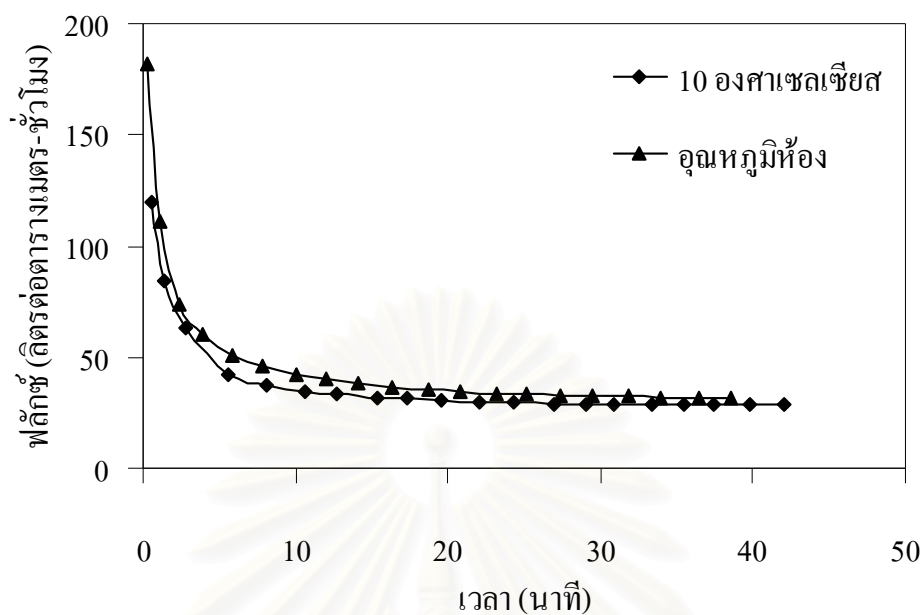
การวิเคราะห์ห้วงค์ประกอบต่างๆ ของสุราแช่ ได้ผลตามตารางที่ 4.5 พบว่าสุราแช่ที่ผ่านเมมเบรนขนาดรูพรุน MWCO 100,000 คัดตัน ที่ค่าความดันทั้ง 3 มีคุณภาพดีขึ้น โดยเฉพาะค่าสีและความใส โดยที่หากพิจารณาความใสในการวัดค่าความขุ่นแล้ว พบว่า ความขุ่นของสุราแช่มีค่าต่ำลงมาก เมื่อเทียบกับสุราแช่ก่อนกรอง ส่วนในด้านการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ พบว่า ไม่มีเชื้อจุลินทรีย์ในสุราแช่ที่กรองผ่านเมมเบรนด้วยกระบวนการอัลตราฟิลเทรชัน

ตารางที่ 4.5 องค์ประกอบทางเคมีของสุราแช่ที่กรองผ่านเมมเบรนขนาดรูพรุน MWCO 100,000 ดัลดัน ที่ความดัน 1.0, 1.5 และ 2.0 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร

รายการ	สุราแช่ ก่อนกรอง	สุราแช่หลังกรอง		
		ความดัน (kg/cm ²)		
		1.0	1.5	2.0
1)ค่าความเป็นกรดต่าง	3.53 ±0.01	3.54±0.01	3.54±0.01	3.55±0.00
2)ปริมาณของแข็งทั้งหมด (⁰ Brix)	22.0 ±0.0	21.6±0.0	21.6±0.0	21.6±0.0
3)ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละ)	1.38 ±0.04	1.35±0.00	1.35±0.00	1.35±0.00
4)ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (mg/ml)	37.90 ±1.23	36.34±0.98	35.92 ±0.04	37.03 ±0.36
5)ปริมาณแอลกอฮอล์ (ร้อยละโดย ปริมาตร)	9.69 ±0.21	8.78±0.23	9.09±0.34	9.68±0.18
6)ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ (cfu/ml)	1.15 x 10 ⁴ ±2121	0	0	0
7)ความขุ่น (ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร)	0.032 ±0.004	0.003±0.001	0.003±0.001	0.002±0.000

4.2.3 อุณหภูมิ

เมื่อทำการกรองสุราแช่โดยใช้เมมเบรนขนาดรูพรุน MWCO 100,000 ดัลดัน ที่ความดัน 2.0 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้อง ติดตามการเปลี่ยนแปลงของค่าฟลักซ์ผ่านเมมเบรนในระหว่างการกรองที่ค่าอุณหภูมิต่างๆ ได้ผลดังรูปที่ 4.10 พบว่าที่อุณหภูมิต่างกันคือ ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้อง ให้ค่าฟลักซ์ผ่านเมมเบรนเท่ากับ 34.03 และ 41.67 ลิตรต่อตารางเมตร-ชั่วโมง ตามลำดับ (ตารางที่ 4.6) โดยทั่วไปอุณหภูมิสูงขึ้นจะทำให้ฟลักซ์สูงขึ้น เนื่องจากการเพิ่มอุณหภูมิจะช่วยให้ความหนืดลดลงและสัมประสิทธิ์การแพร่มีค่าเพิ่มขึ้น (Cheryan, 1998) นอกจากนี้ Vigneswaran และ Kiat (1988) ทำการศึกษาถึงผลของการเพิ่มอุณหภูมิและขนาดรูพรุน MWCO ซึ่งพบว่าจะทำให้ฟลักซ์มีค่าสูงขึ้นในระหว่างการกรองผ่านกระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน และการวิเคราะห์องค์ประกอบต่างๆ ของสุราแช่ ได้ผลตามตารางที่ 4.7 พบว่าสุราแช่ที่ผ่านเมมเบรนที่ค่าอุณหภูมิต่างๆ กันมีคุณภาพดีขึ้น โดยเฉพาะค่าสีและความใส โดยที่หากพิจารณาความใสในเทอมของค่าความขุ่นแล้ว พบว่าความขุ่นของสุราแช่มีค่าต่ำลงมาก เมื่อเทียบกับสุราแช่ก่อนกรอง ส่วนในด้านการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์พบว่าไม่มีเชื้อจุลินทรีย์ในสุราแช่ที่กรองผ่านเมมเบรนด้วยกระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน



รูปที่ 4.10 แสดงการเปลี่ยนแปลงของฟลักซ์ในการกรองสุราแช่ด้วยเมมเบรนขนาดรูพรุน MWCO 100,000 คัดตัน ความดัน 2.0 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้อง

ตารางที่ 4.6 การเปรียบเทียบค่าฟลักซ์ในการกรองสุราแช่ผ่านเมมเบรนขนาดรูพรุน MWCO 100,000 คัดตัน ความดัน 2.0 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้อง

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ฟลักซ์ (ลิตรต่อตารางเมตร-ชั่วโมง)
10	34.03
อุณหภูมิห้อง	41.67

และจากการพิจารณาเบื้องต้นในด้านของฟลักซ์พบว่า เมมเบรนขนาดรูพรุน MWCO 100,000 คัดตัน ที่ความดัน 2.0 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร และที่อุณหภูมิห้อง มีศักยภาพดีที่สุดในการกรองสุราแช่ และจะใช้ภาวะดังกล่าวในการศึกษาต่อไปตลอดการทดลอง

ตารางที่ 4.7 องค์ประกอบทางเคมีของสุราแช่ที่กรองผ่านเมมเบรนขนาดรูพรุน MWCO 100,000 คัดค้น ความดัน 2.0 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียสและ อุณหภูมิห้อง

รายการ	สุราแช่ ก่อนกรอง	สุราแช่หลังกรอง	
		อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	
		10	อุณหภูมิห้อง
1)ค่าความเป็นกรดต่าง	3.53 ±0.01	3.54±0.01	3.54±0.01
2)ปริมาณของแข็งทั้งหมด (^o Brix)	22.0 ±0.0	21.6±0.0	21.6±0.0
3)ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละ)	1.38 ±0.04	1.35±0.0	1.35±0.00
4)ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (mg/ml)	37.90 ±1.23	37.52 ±0.37	37.20 ±0.11
5)ปริมาณแอลกอฮอล์ (ร้อยละ โดยปริมาตร)	9.69 ±0.21	9.07±0.41	9.66±0.15
6)ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ (cfu/ml)	1.15 x 10 ⁴ ±2121	0	0
7)ความขุ่น (ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร)	0.032 ±0.004	0.003±0.001	0.002±0.000

ดังนั้นสุราแช่ที่กรองผ่านเมมเบรนขนาดรูพรุน MWCO 100,000 คัดค้น ที่ความดัน 2.0 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร และที่อุณหภูมิห้อง ดังรูปที่ 4.11 สุราแช่ที่ได้จะมีลักษณะใส สีเหลืองอ่อน ไม่มีเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อน มีปริมาณแอลกอฮอล์ประมาณ 9.66±0.15 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) ค่าความเป็นกรดต่าง 3.54±0.01 ปริมาณของแข็งทั้งหมด 21.6±0.0 องศาบริกซ์ ปริมาณกรดทั้งหมด 1.35±0.00 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร และมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 37.20 ±0.11 กรัมต่อลิตร



รูปที่ 4.11 แสดงสุราแช่ที่กรองปลอดเชื้อด้วยกระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน ด้วยเมมเบรนขนาดรูพรุน MWCO 100,000 คัดค้น ความดัน 2.0 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร และ อุณหภูมิห้อง

4.3 ผลการคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้สุราแช่เสื่อมคุณภาพ เพื่อบ่งชี้ถึงประสิทธิภาพในการกรองของเมมเบรน

หลังจากที่ผลิตสุราแช่ได้และยังไม่ผ่านการกรองด้วยกระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน นำมาบรรจุขวดตั้งทิ้งไว้ให้สุราแช่เสีย จากนั้นนำตัวอย่างสุราแช่ที่เสื่อมคุณภาพแล้วมาทำการคัดแยกหาเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้สุราแช่เสีย เพื่อเป็นเชื้อจุลินทรีย์บ่งชี้ถึงประสิทธิภาพในการกรองของเมมเบรน

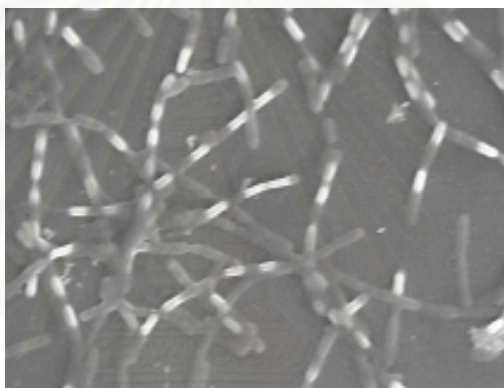
เชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้จากสุราแช่ที่เสื่อมคุณภาพ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar plate มีลักษณะ โคโลนี่เป็นสีขาวครีม ขอบไม่เรียบ และนำมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS พบว่าไม่มีวงใส (clear zone) ล้อมรอบโคโลนี่แสดงว่าเชื้อแบคทีเรียไม่ผลิตกรดออกมาออกเซลล์ และเมื่อส่องดูลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์หลังจากทำการย้อมแกรมแบคทีเรีย พบว่าเป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีลักษณะรูปร่างเป็นท่อนสั้นๆ (รูปที่ 4.12) และนำเชื้อแบคทีเรียที่ได้ไปทดสอบคะตะเลส (catalase test) พบว่าเชื้อไม่สามารถผลิตเอนไซม์คะตะเลสได้ จากนั้นทำการทดสอบทางชีวเคมี โดยส่งเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ไปตรวจหาสายพันธุ์ที่ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้เป็นเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus cereus* (ภาคผนวก ข.1)

Bacillus cereus เป็นแบคทีเรียที่มีลักษณะเป็นรูปท่อนตรง ขนาด 0.3-2.2 x 1.2-7.0 ไมโครเมตร ส่วนใหญ่เคลื่อนที่ได้ สร้างสปอร์และสร้างสารพิษ ซึ่งจะจับออกมาขณะปนเปื้อนอยู่ในอาหาร ช่วงอุณหภูมิในการเจริญเติบโตอยู่ระหว่าง 30-37 องศาเซลเซียส แต่บางสายพันธุ์เติบโตได้ที่อุณหภูมิ 4-5 องศาเซลเซียส สำหรับค่าความเป็นกรดค่าที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อชนิดนี้อยู่ระหว่าง 6-7 และสามารถเติบโตได้ดีในสภาพที่มีออกซิเจน และจะสร้างสารพิษเมื่ออยู่ภายใต้สภาพที่มีออกซิเจนน้อย (สถาบันอาหาร, 2547) เป็นสปิชีส์ที่สามารถย่อยโปรตีนได้เร็วทำให้เกิดเค็ด (curd) (สุมาลี เหลืองสกุล, 2541) หรือย่อยคาร์โบไฮเดรตที่ซับซ้อนได้ ซึ่งมีผลทำให้อาหารเน่าเสีย (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และ ปรีชา สุวรรณพินิจ, 2541) ดังนั้นเชื้อเหล่านี้จะเจริญบนผิวหน้าของสุราแช่ ทำให้สุราแช่มีกลิ่นและรสชาติเปลี่ยนไป ทำให้ผลิตภัณฑ์เสื่อมคุณภาพได้

ก)



ข)



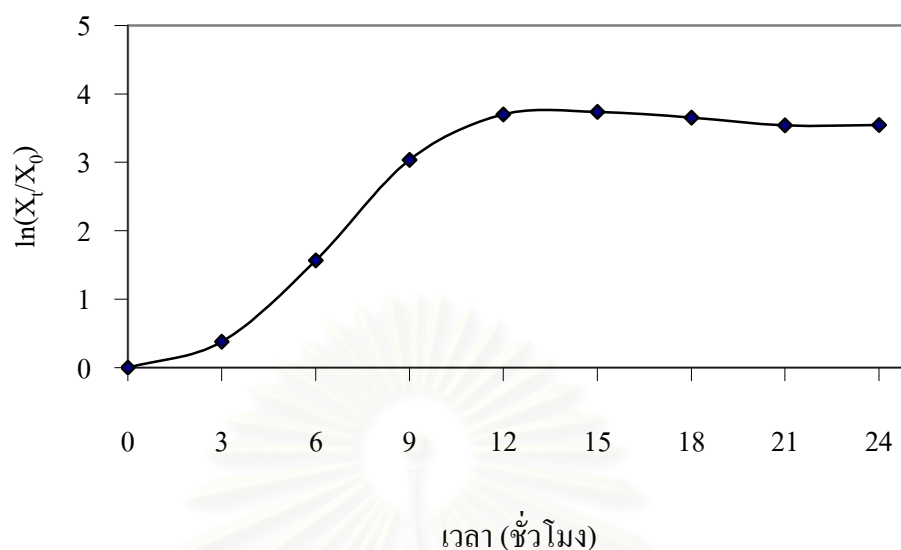
รูปที่ 4.12 เชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้จากสุราแช่ที่เสื่อมคุณภาพ

ก) จากกล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 100 เท่า

ข) จากกล้อง Scanning electron microscope (SEM)

กำลังขยาย 5,000 เท่า

วัดอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus cereus* ในอาหารเหลว Nutrient broth เก็บตัวอย่างทุกๆ 3 ชั่วโมง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วิเคราะห์น้ำหนักรเซลล์แห้งตามวิธีข้อ 3.4.2 ได้ผลดังตารางที่ จ.9 (ภาคผนวก จ) และรูปที่ 4.13 พบว่าเชื้ออยู่ในระยะพักตัว (lag phase) เป็นช่วงเวลาสั้นๆ และเริ่มเข้าสู่ระยะของการเจริญแบบทวีคูณ (log phase) ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 3 จนถึงชั่วโมงที่ 9 โดยเซลล์จะเพิ่มจำนวนขึ้นเรื่อยๆ จากนั้นเซลล์ไม่เจริญเพิ่มขึ้นอีก หลังจากชั่วโมงที่ 12 เป็นต้นไป



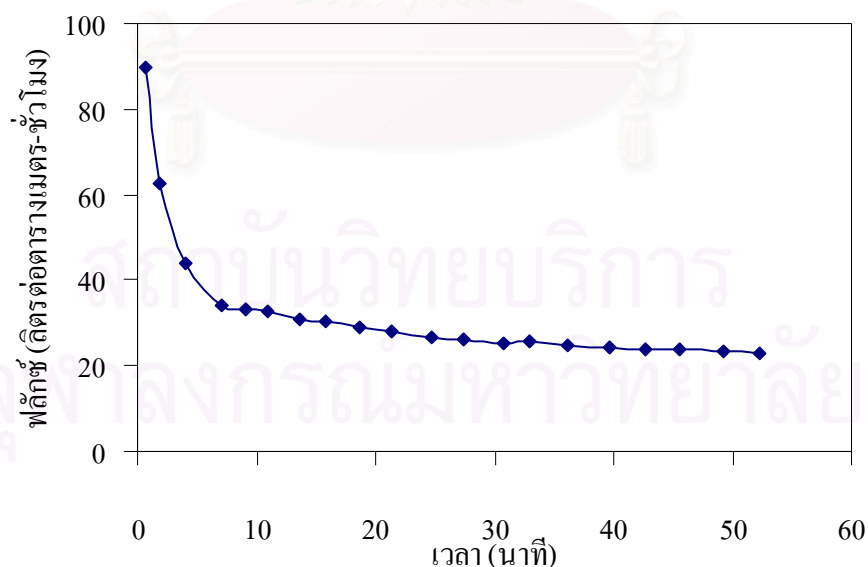
รูปที่ 4.13 รูปแบบการเจริญของเชื้อ *Bacillus cereus* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient broth

4.4 ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการกรองใสและปราศจากจุลินทรีย์ของสุราแช่ ด้วย กระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน

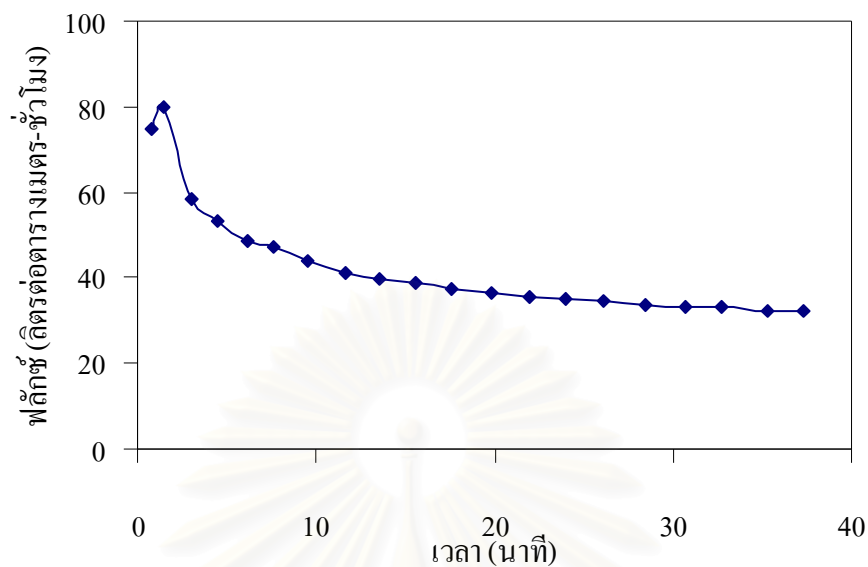
4.4.1 ผลของปริมาณเชื้อจุลินทรีย์

นำเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้จากสุราแช่ที่เสื่อมคุณภาพ คือเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus cereus* มาทำการทดสอบเพื่อบ่งชี้ถึงประสิทธิภาพของเมมเบรนในการกรองใสและปราศจากจุลินทรีย์ของสุราแช่ โดยใช้ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ความเข้มข้น 1.0 และ 5.0 เพอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) ถ่ายเชื้อลงในสุราแช่ที่ผ่านการกรองด้วยเมมเบรนขนาดรูพรุน MWCO 100,000 คัดตัน ความดัน 2.0 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร ที่อุณหภูมิห้อง และนำสุราแช่ดังกล่าวมากรองผ่านเมมเบรนในภาวะเดิมอีกครั้ง แสดงค่าฟลักซ์ผ่านเมมเบรน ดังรูปที่ 4.14 และ 4.15 (ตาราง จ.10- จ.11) พบว่าในการกรองผ่านเมมเบรน ของสุราแช่ที่มีเชื้อจุลินทรีย์ความเข้มข้น 1.0 เพอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) ให้ค่าฟลักซ์ผ่านเมมเบรน ประมาณ 22.93 ลิตรต่อตารางเมตร-ชั่วโมง ซึ่งน้อยกว่าการกรองสุราแช่ที่มีเชื้อจุลินทรีย์ 5.0 เพอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) ที่ให้ค่าฟลักซ์ผ่านเมมเบรนประมาณ 32.20 ลิตรต่อตารางเมตร-ชั่วโมง ทั้งนี้อาจเป็นเพราะเกิดฟองอากาศที่ออกมาจากเชื้อในระหว่างการกรอง หรือเกิดการอุดตันของอนุภาคในเมมเบรนทำให้ได้ค่าฟลักซ์ผ่านเมมเบรนน้อย จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างสุราแช่วิเคราะห์หองค์ประกอบทางเคมีต่างๆ เป็นระยะเวลา 30 วัน เปรียบเทียบผลกับสุราแช่ที่กรองปลอดเชื้อแล้ว (ชุดควบคุม) พบว่าจากรูปที่ 4.16 (ตาราง จ.12) จะไม่มีเชื้อจุลินทรีย์ในสุราแช่

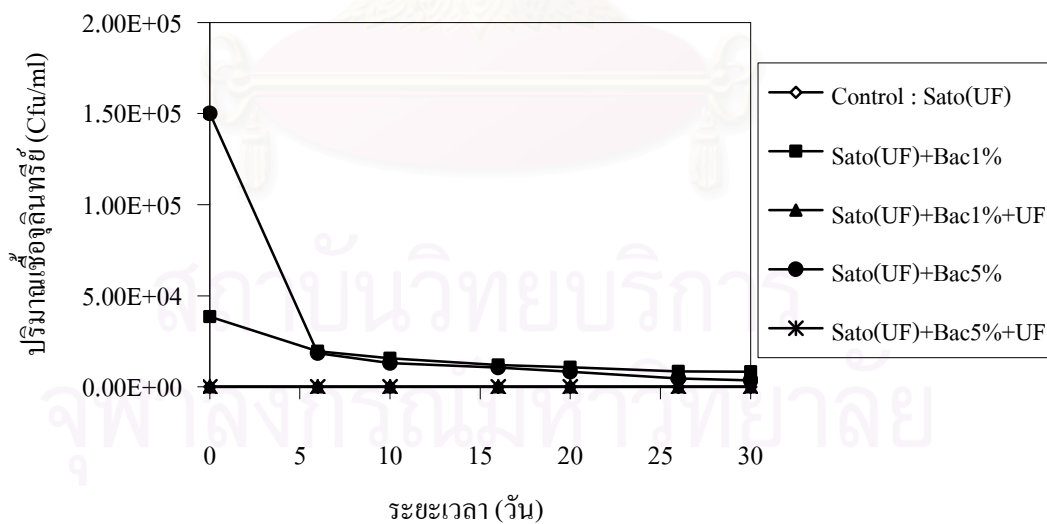
ที่กรองผ่านเมมเบรนแล้ว ส่วนสุราแช่ที่มีเชื้อจุลินทรีย์ความเข้มข้น 5.0 เพอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) จะมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้สุราแช่เสื่อมคุณภาพมากกว่าในสุราแช่ที่มีเชื้อจุลินทรีย์ความเข้มข้น 1.0 เพอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) ส่วนปริมาณของแข็งทั้งหมดในทุกตัวอย่างมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยประมาณ 21.37 ± 0.46 องศาบริกซ์ ค่าความเป็นกรดต่างในทุกตัวอย่างมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยประมาณ 3.53 ± 0.01 ทั้งนี้อาจเป็นเพราะค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้นมีค่าต่ำ ทำให้ภาวะในการเจริญเติบโตของเชื้อไม่เหมาะสม ส่งผลให้ปริมาณกรดทั้งหมดมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยด้วยเช่นกัน ประมาณ 1.27 ± 0.05 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 38.70 ± 0.89 กรัมต่อลิตร และมีการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอลกอฮอล์ในทุกตัวอย่างเล็กน้อย ประมาณ 7.73 ± 0.24 เพอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) เนื่องจากมีการบรรจุขวดที่ปิดสนิทปริมาณแอลกอฮอล์ของสุราแช่จึงไม่เปลี่ยนแปลง แสดงดังรูปที่ 4.17-4.21 (ตาราง จ.13-จ.17) ดังนั้นประสิทธิภาพของการกรองใสและปราศจากจุลินทรีย์ผ่านเมมเบรน ด้วยกระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน พบว่าเมมเบรนขนาดรูพรุน MWCO 100,000 คัดตัน สามารถกรองสุราแช่ให้ปลอดเชื้อได้ โดยไม่ทำให้ผลิตภัณฑ์เสื่อมคุณภาพ เนื่องจากเป็นกระบวนการที่ไม่เกี่ยวข้องกับสารเคมีและความร้อน เปรียบเทียบกับตัวอย่างสุราแช่ที่ไม่ได้กรองผ่านเมมเบรนและมีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุทำให้สุราแช่เสื่อมคุณภาพ พบว่าเมื่อระยะเวลาผ่านไปเชื้อจุลินทรีย์สามารถเจริญเติบโตได้ ลอยบนผิวหน้าของสุราแช่ทำให้เกิดความขุ่น มีกลิ่นและรสชาติของผลิตภัณฑ์เปลี่ยนแปลงไป



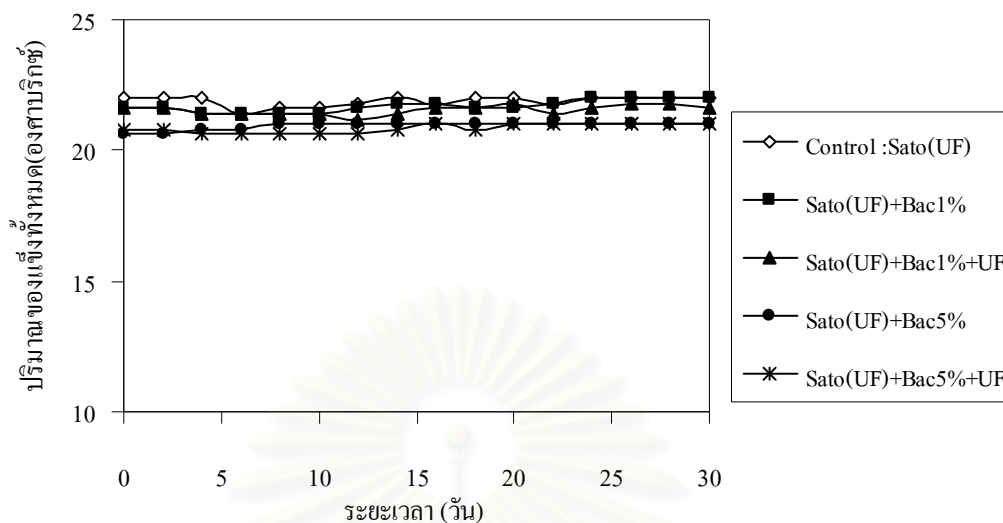
รูปที่ 4.14 แสดงการเปลี่ยนแปลงของฟลักซ์ในการกรองสุราแช่ ที่มีเชื้อจุลินทรีย์ความเข้มข้น 1.0 เพอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร)



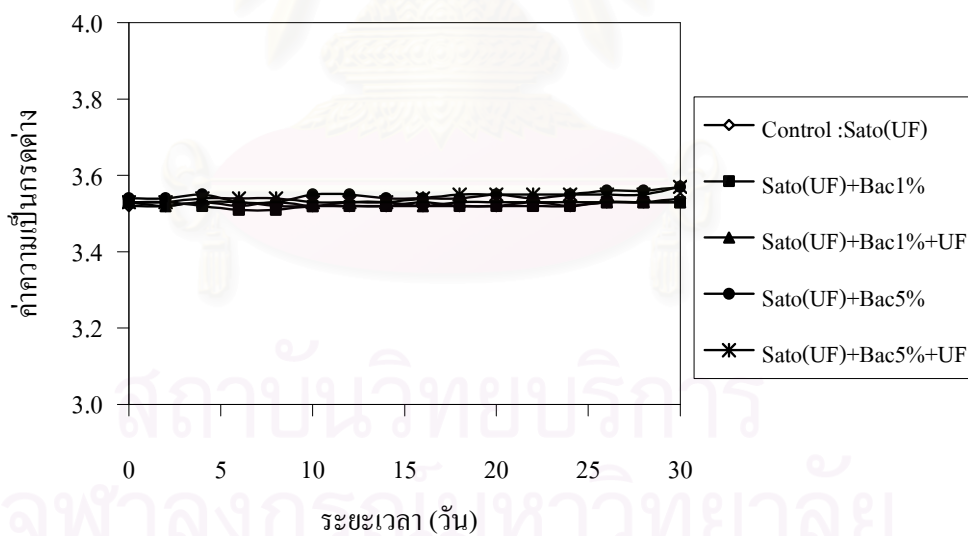
รูปที่ 4.15 แสดงการเปลี่ยนแปลงของฟลักซ์ในการกรองสุราแช่ ที่มีเชื้อจุลินทรีย์ความเข้มข้น 5.0 เพอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร)



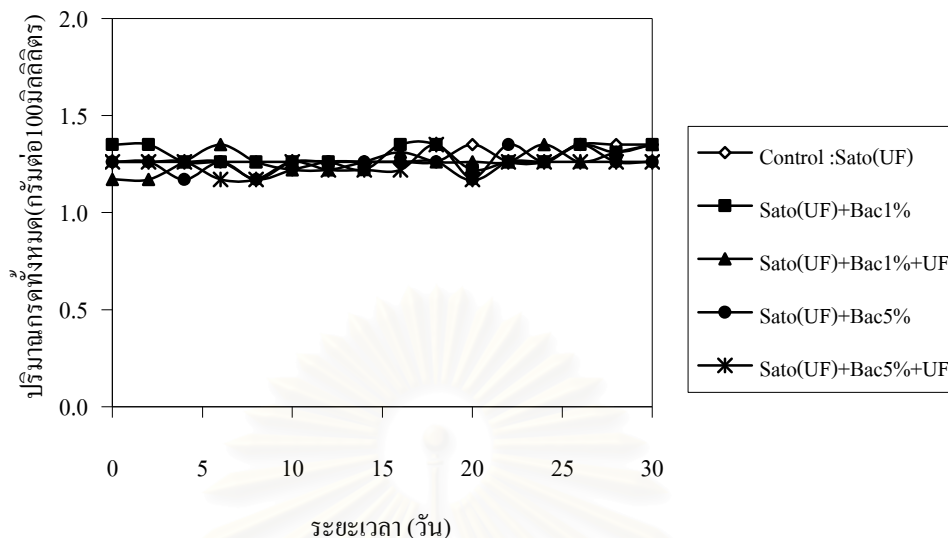
รูปที่ 4.16 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในตัวอย่างสุราแช่ที่กรองผ่านเมมเบรน ด้วยกระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน เป็นระยะเวลา 30 วัน



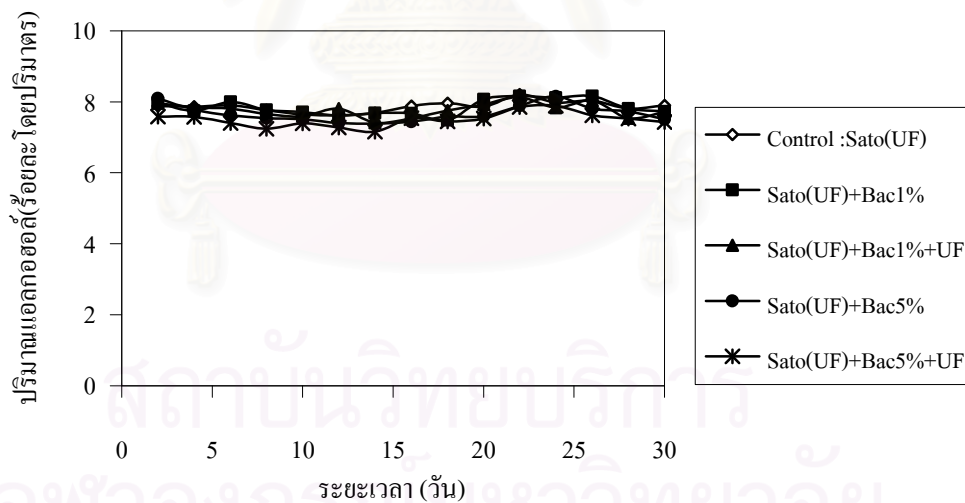
รูปที่ 4.17 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณของแข็งทั้งหมดในตัวอย่างสุราแช่ที่กรองผ่านเมมเบรน ด้วยกระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน เป็นระยะเวลา 30 วัน



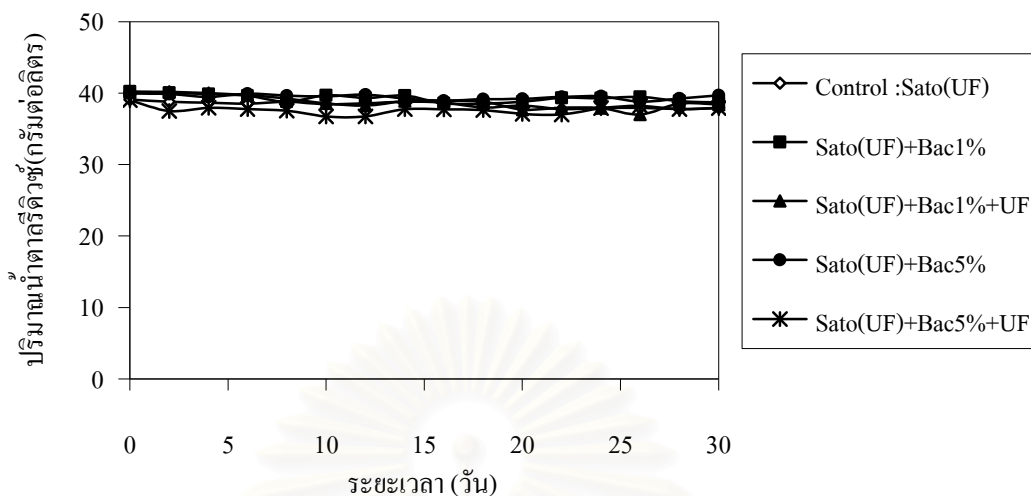
รูปที่ 4.18 แสดงการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรดต่างในตัวอย่างสุราแช่ที่กรองผ่านเมมเบรน ด้วยกระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน เป็นระยะเวลา 30 วัน



รูปที่ 4.19 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดทั้งหมดในตัวอย่างสุราแช่ที่กรองผ่านเมมเบรน ด้วยกระบวนการอัลตราฟิลเทรชัน เป็นระยะเวลา 30 วัน



รูปที่ 4.20 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอลกอฮอล์ในตัวอย่างสุราแช่ที่กรองผ่านเมมเบรน ด้วยกระบวนการอัลตราฟิลเทรชัน เป็นระยะเวลา 30 วัน

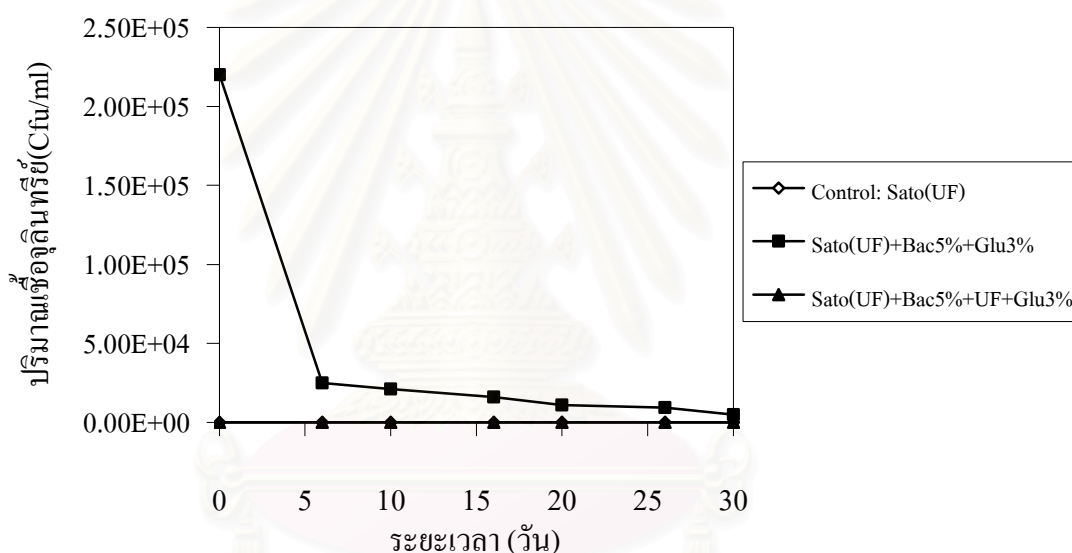


รูปที่ 4.21 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาเลรีดิวซ์ในตัวอย่างสุราแช่ที่กรองผ่านเมมเบรน ด้วยกระบวนการอัลตราฟิลเทรชัน เป็นระยะเวลา 30 วัน

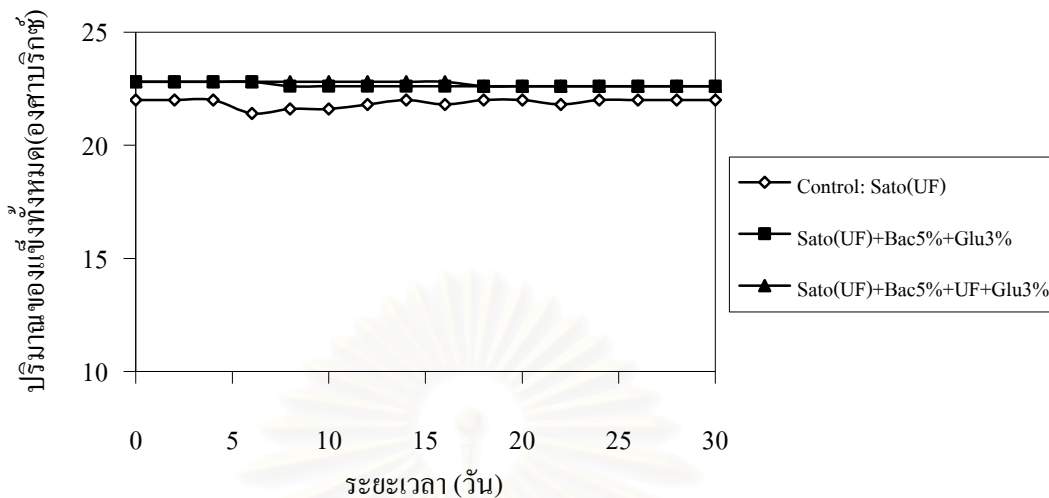
4.4.2 ผลของปริมาณกลูโคส

ทำการทดสอบผลของประสิทธิภาพของเมมเบรนในการกรองใสและปราศจากจุลินทรีย์ของสุราแช่ ด้วยกระบวนการอัลตราฟิลเทรชัน โดยการเติมเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้สุราแช่เสื่อมคุณภาพความเข้มข้น 5.0 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) ลงในสุราแช่ที่กรองผ่านเมมเบรนแล้ว พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ เนื่องจากมีภาวะไม่เหมาะสม จึงเติมกลูโคสความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ลงไปในสุราแช่ที่มีและไม่มีเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้สุราแช่เสื่อมคุณภาพ จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างสุราแช่วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีต่างๆ เป็นระยะเวลา 30 วัน เปรียบเทียบผลกับสุราแช่ที่กรองปลอดเชื้อแล้ว (ชุดควบคุม) พบว่าจากรูปที่ 4.22 (ตาราง จ.18) จะไม่มีเชื้อจุลินทรีย์ในสุราแช่ที่กรองผ่านเมมเบรนแล้ว ส่วนสุราแช่ที่มีเชื้อจุลินทรีย์ความเข้มข้น 5.0 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) และมีกลูโคสความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) มีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น 2.2×10^5 โคโลนีต่อมิลลิลิตร เมื่อระยะเวลาผ่านไปปริมาณเชื้อจุลินทรีย์จะลดลงอย่างมากจนถึงวันที่ 6 ของการทดลอง จากนั้นเชื้อจุลินทรีย์จะค่อยๆลดลง ทั้งนี้อาจเป็นเพราะองค์ประกอบของสุราแช่ที่กรองผ่านเมมเบรนแล้ว เป็นภาวะที่ไม่เหมาะสมแก่การเจริญเติบโตของเชื้อได้ ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยของปริมาณของแข็งทั้งหมดในทุกตัวอย่าง ประมาณ 22.41 ± 0.41 องศาบริกซ์ ค่าความเป็นกรดต่างในทุกตัวอย่างมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยประมาณ 3.55 ± 0.03 ทั้งนี้อาจเป็นเพราะค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้นมีค่าต่ำ ทำให้ภาวะในการเจริญเติบโต

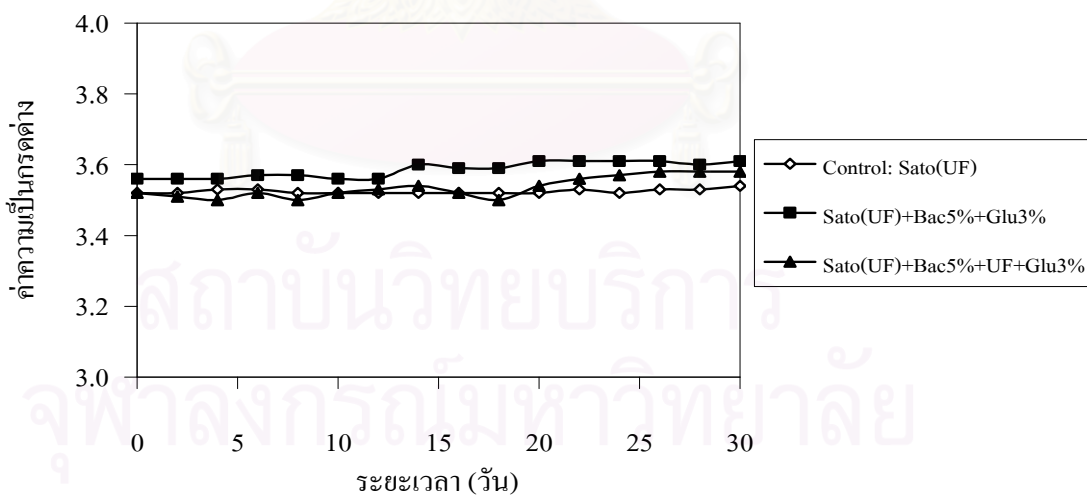
ของเชื้อไม่เหมาะสม ส่งผลให้ปริมาณกรดทั้งหมดเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยด้วยเช่นกัน มีค่าประมาณ 1.23 ± 0.07 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ประมาณ 61.47 ± 0.83 กรัมต่อลิตร ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์สามารถย่อยสลายกลูโคสได้ปริมาณเล็กน้อย ทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เกิดการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยในทุกตัวอย่าง และมีการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอลกอฮอล์ในทุกตัวอย่างเล็กน้อยประมาณ 7.88 ± 0.33 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) เนื่องจากมีการบรรจุขวดที่ปิดสนิท ปริมาณแอลกอฮอล์ของสุราแช่จึงเกิดการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย แสดงดังรูปที่ 4.23-4.27 ผลการทดลองดังตาราง จ.19-จ.23 ดังนั้นผลของปริมาณกลูโคสความเข้มข้น 3.0 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ไม่ส่งผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์สุราแช่ หากเกิดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุให้สุราแช่เสื่อมคุณภาพ



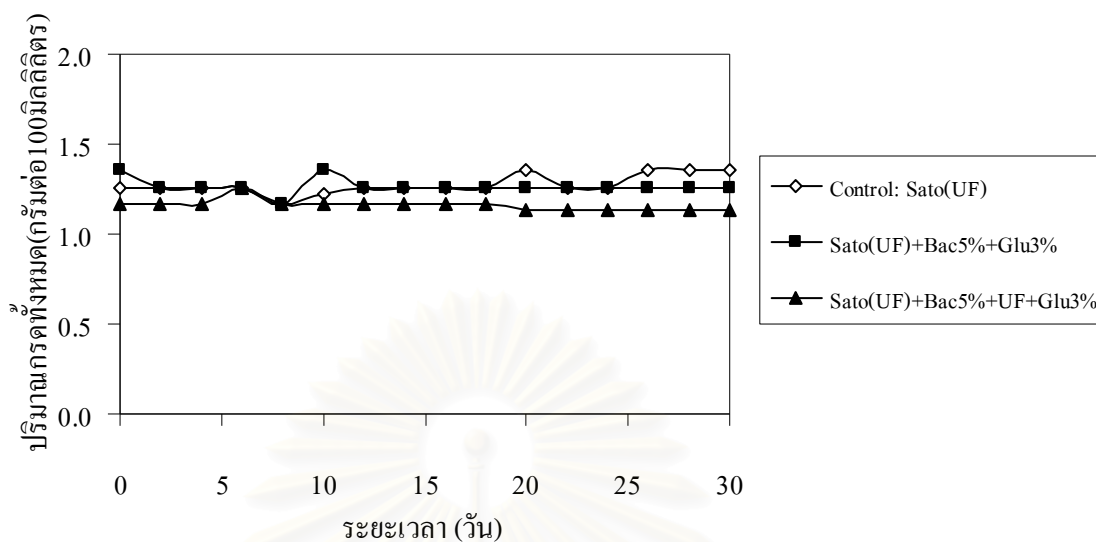
รูปที่ 4.22 แสดงผลของปริมาณกลูโคสต่อการเปลี่ยนแปลงของเชื้อจุลินทรีย์ในตัวอย่างสุราแช่ เป็นระยะเวลา 30 วัน



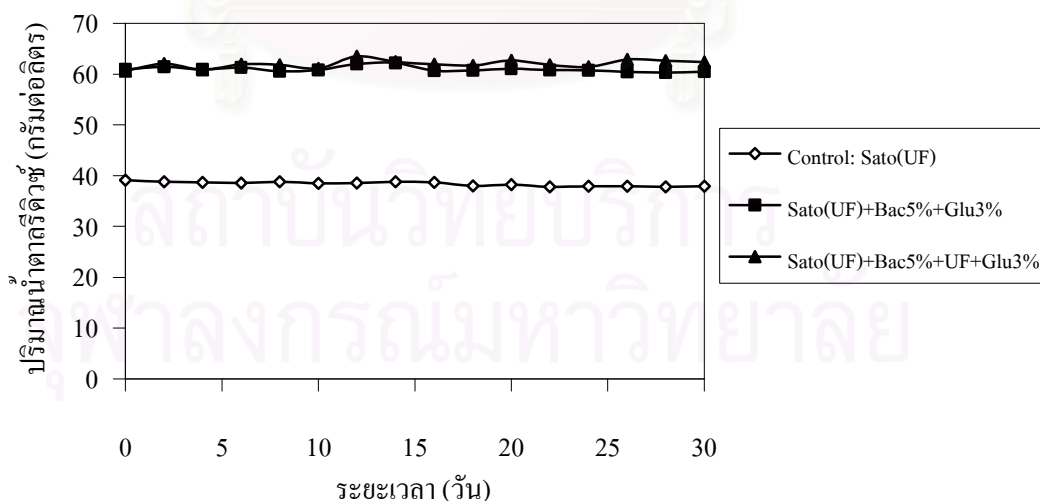
รูปที่ 4.23 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณของแข็งทั้งหมดในตัวอย่างสุราแช่ที่เติมกลูโคสความเข้มข้น 3.0 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) เป็นระยะเวลา 30 วัน



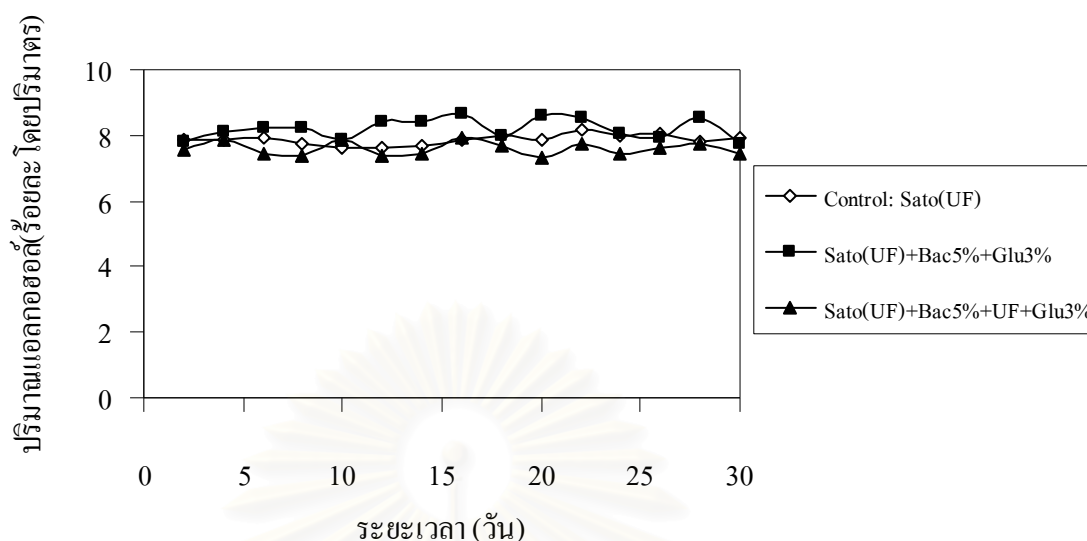
รูปที่ 4.24 แสดงการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรดต่างในตัวอย่างสุราแช่ที่เติมกลูโคสความเข้มข้น 3.0 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) เป็นระยะเวลา 30 วัน



รูปที่ 4.25 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดทั้งหมดในตัวอย่างสุราแช่ที่เติมกลูโคสความเข้มข้น 3.0 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) เป็นระยะเวลา 30 วัน



รูปที่ 4.26 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่างสุราแช่ที่เติมกลูโคสความเข้มข้น 3.0 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) เป็นระยะเวลา 30 วัน

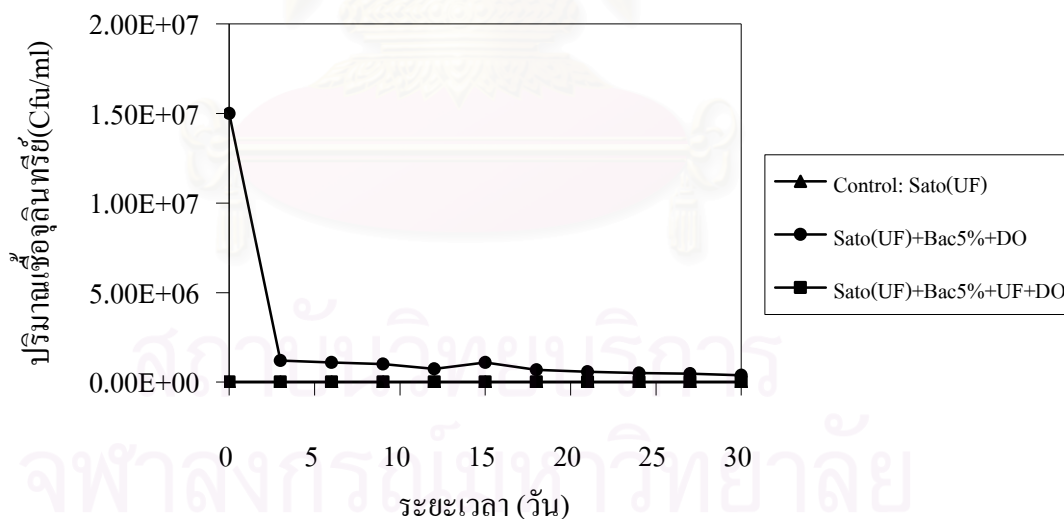


รูปที่ 4.27 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอลกอฮอล์ในตัวอย่างสุราแช่ที่เติมกลูโคสความเข้มข้น 3.0 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) เป็นระยะเวลา 30 วัน

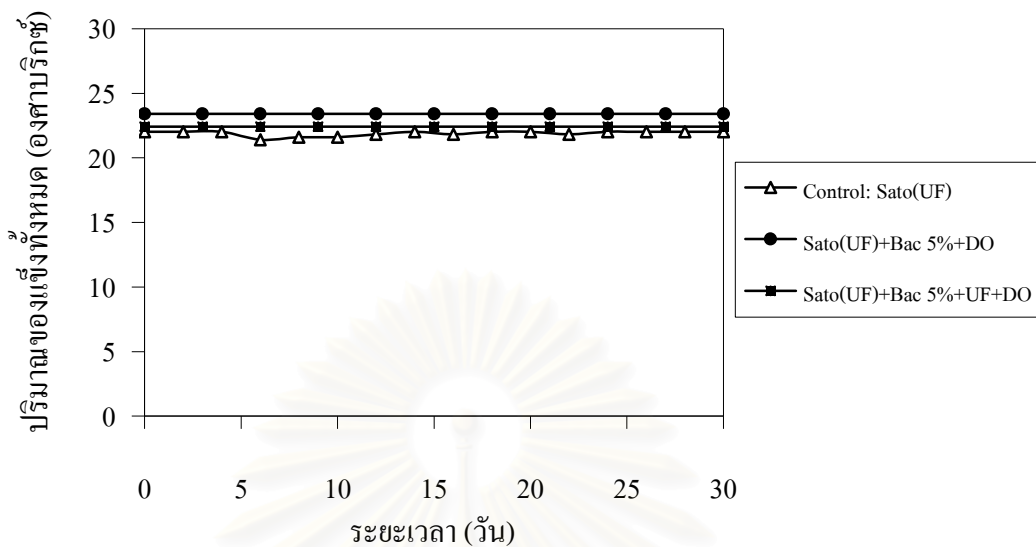
4.4.3 ผลของปริมาณออกซิเจนละลาย

ทำการทดสอบผลของประสิทธิภาพของเมมเบรนในการกรองใสและปราศจากจุลินทรีย์ของสุราแช่ ด้วยกระบวนการอัตราฟิลเตรชัน โดยการเติมเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้สุราแช่เสื่อมคุณภาพความเข้มข้น 5.0 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) ลงในสุราแช่ที่กรองผ่านเมมเบรนแล้วพบว่าเชื้อจุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ เนื่องจากมีภาวะไม่เหมาะสม จึงเติมอากาศบริสุทธิ์ลงไปในตัวอย่งสุราแช่ที่มีและไม่มีเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้สุราแช่เสื่อมคุณภาพ เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์คือสายพันธุ์ *Bacillus cereus* เป็นเชื้อที่ใช้ออกซิเจนในการเจริญเติบโต จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างสุราแช่วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีต่างๆ เป็นระยะเวลา 30 วัน เปรียบเทียบผลกับสุราแช่ที่กรองปลอดเชื้อแล้ว (ชุดควบคุม) พบว่าจากรูปที่ 4.28 (ตาราง จ.24) จะไม่มีเชื้อจุลินทรีย์ในสุราแช่ที่กรองผ่านเมมเบรนแล้ว ส่วนสุราแช่ที่มีเชื้อจุลินทรีย์ความเข้มข้น 5.0 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) และมีการเติมอากาศบริสุทธิ์ลงในสารละลาย มีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น 1.5×10^7 โคโลนีต่อมิลลิลิตร เมื่อระยะเวลาผ่านไปปริมาณเชื้อจุลินทรีย์จะลดลงอย่างมากจนถึงวันที่ 6 ของการทดลอง จากนั้นเชื้อจุลินทรีย์จะค่อยๆลดลง ทั้งนี้อาจเป็นเพราะองค์ประกอบของสุราแช่ที่กรองผ่านเมมเบรนแล้วเป็นภาวะที่ไม่เหมาะสมแก่การเจริญเติบโตของเชื้อได้ ซึ่งมีปริมาณของแข็งทั้งหมดในทุกตัวอย่างมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยประมาณ 22.47 ± 0.65 องศาบริกซ์ ค่าความเป็นกรดต่างในทุกตัวอย่างมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยประมาณ 3.53 ± 0.01 ทั้งนี้อาจเป็นเพราะค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้นมีค่าต่ำ

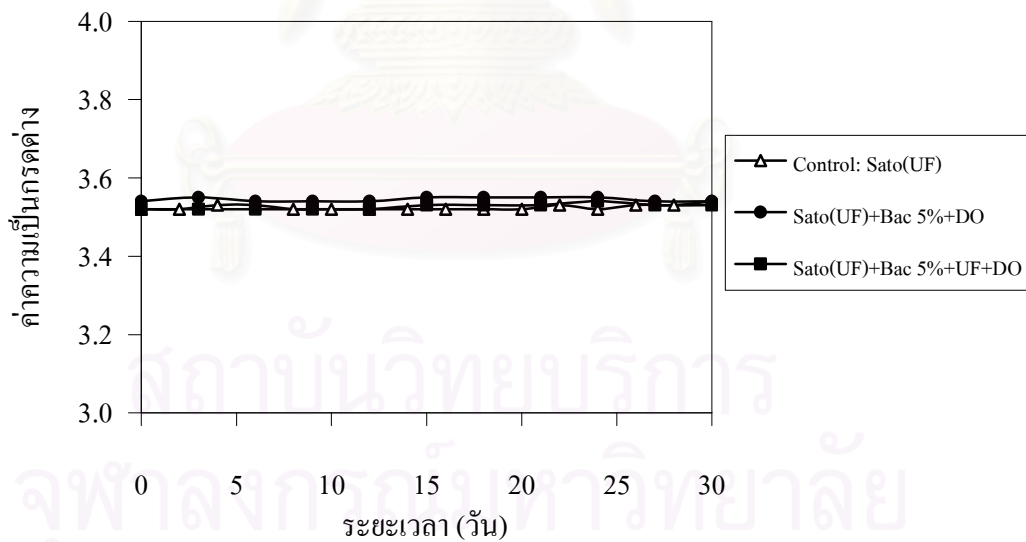
ทำให้ภาวะในการเจริญเติบโตของเชื้อไม่เหมาะสม ส่งผลให้ปริมาณกรดทั้งหมดเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยด้วยเช่นกัน มีค่าประมาณ 1.26 ± 0.05 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยประมาณ 38.98 ± 1.56 กรัมต่อลิตร ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์สามารถย่อยสลายกลูโคสได้ปริมาณเล็กน้อย ทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เกิดการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยในทุกตัวอย่าง ส่วนปริมาณออกซิเจนละลายในตัวอย่างพบว่าเมื่อระยะเวลาผ่านไปปริมาณออกซิเจนละลายในตัวอย่างสุราแช่ที่มีเชื้อจุลินทรีย์มีปริมาณลดลงอย่างต่อเนื่อง ส่วนในตัวอย่างสุราแช่ที่ปลอดเชื้อนั้นมีการเปลี่ยนแปลงของปริมาณออกซิเจนละลายเล็กน้อย ประมาณ 3.08 ± 0.35 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอลกอฮอล์ในทุกตัวอย่างเล็กน้อย ประมาณ 8.96 ± 0.56 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) ในช่วงท้ายของการทดลองปริมาณแอลกอฮอล์ค่อยๆลดลง ทั้งนี้เนื่องจากการบรรจุขวดที่ปิดสนิทปริมาณแอลกอฮอล์ของสุราแช่จึงไม่เปลี่ยนแปลง แต่ในระหว่างการเก็บตัวอย่างทดลองอาจมีการระเหยของแอลกอฮอล์ออกไปได้บ้าง แสดงดังรูปที่ 4.29-4.34 (ตาราง จ.25-จ.30) ดังนั้นผลของปริมาณออกซิเจนละลาย ไม่ส่งผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์สุราแช่ที่กรองผ่านเมมเบรนด้วยกระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน หากเกิดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุให้สุราแช่เสื่อมคุณภาพ



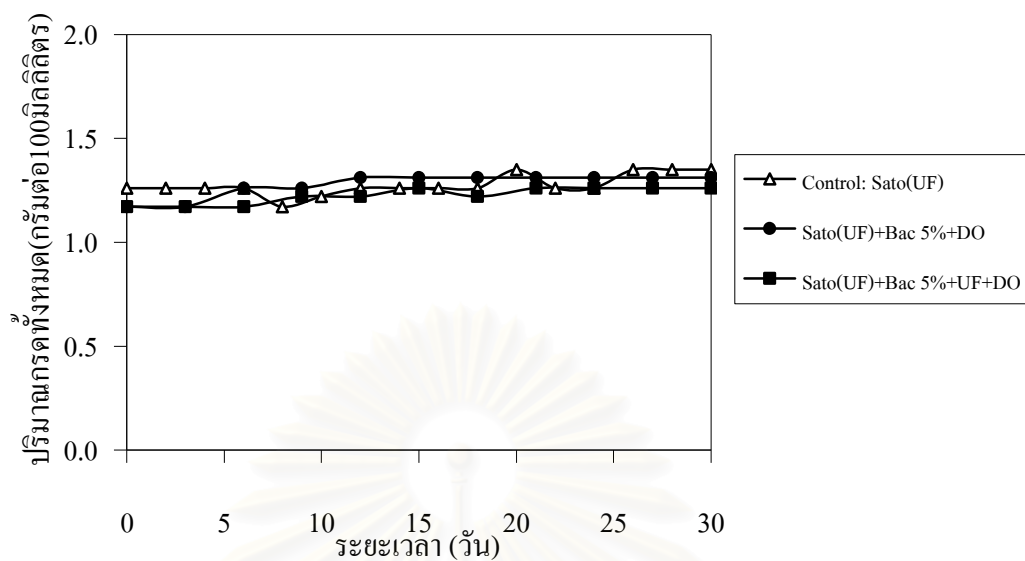
รูปที่ 4.28 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในตัวอย่างสุราแช่ ที่มีการเติมอากาศบริสุทธิ์



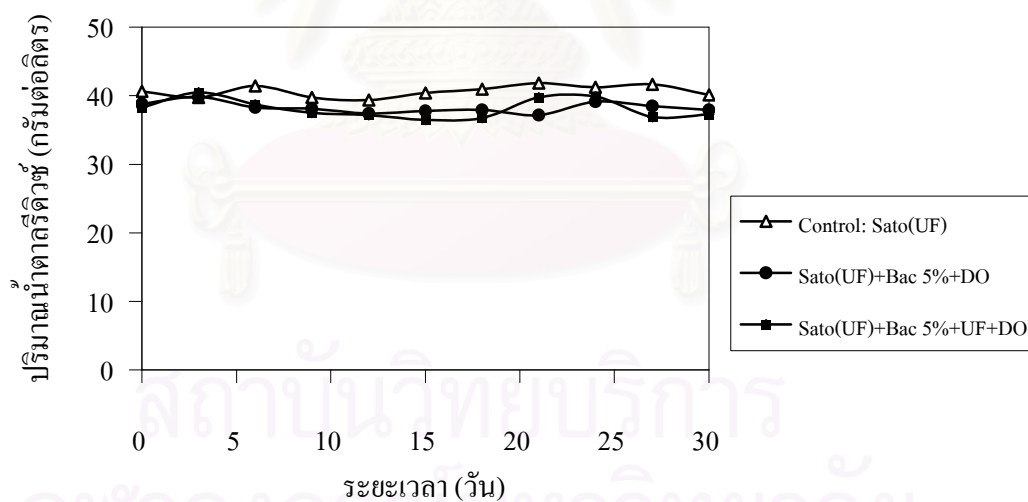
รูปที่ 4.29 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณของแข็งทั้งหมดในตัวอย่างสุราแช่ ที่มีการเติมอากาศบริสุทธิ์



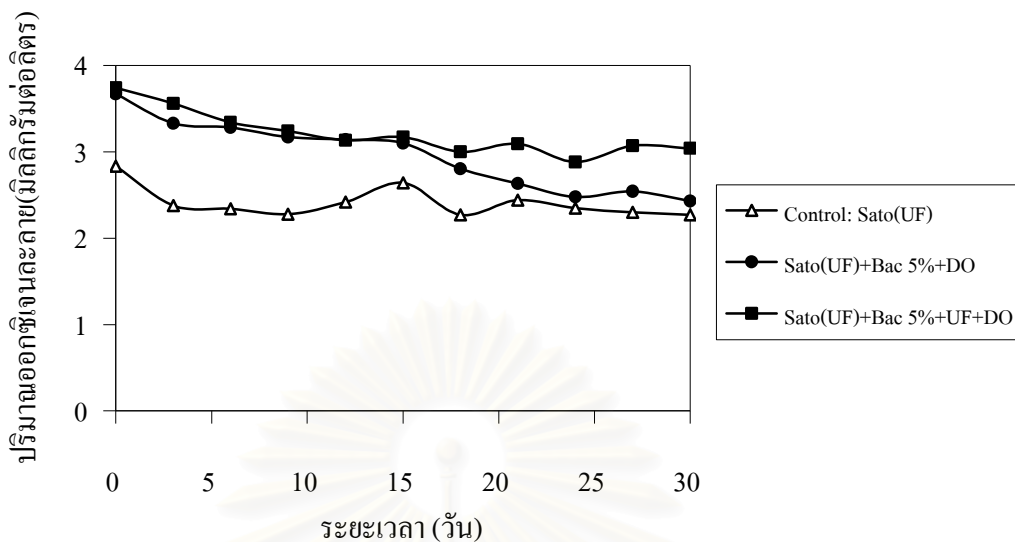
รูปที่ 4.30 แสดงการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรดต่างในตัวอย่างสุราแช่ ที่มีการเติมอากาศบริสุทธิ์



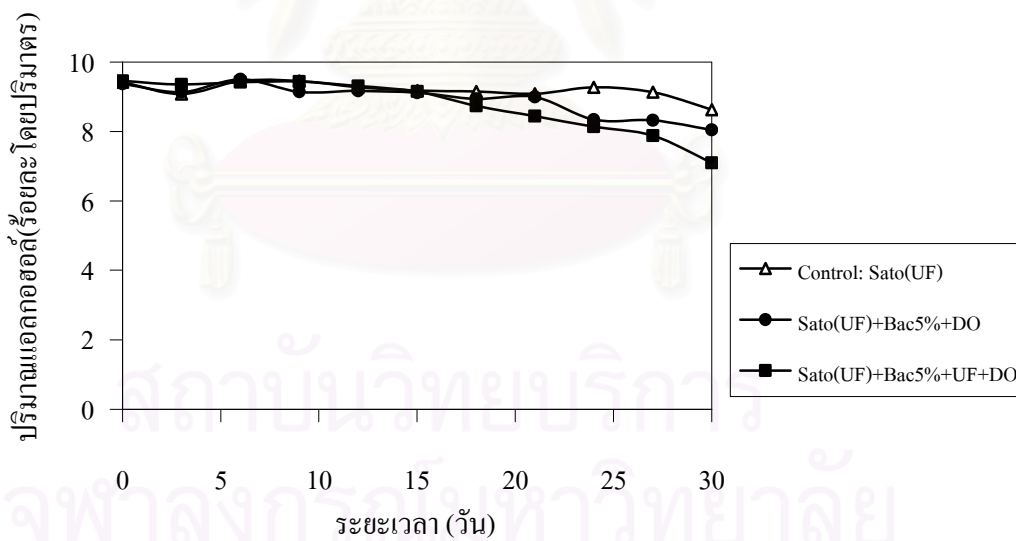
รูปที่ 4.31 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดทั้งหมดในตัวอย่างสุราแซ่ ที่มีการเติมอากาศบริสุทธิ์



รูปที่ 4.32 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่างสุราแซ่ ที่มีการเติมอากาศบริสุทธิ์



รูปที่ 4.33 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณออกซิเจนละลายในตัวอย่างสุราแช่ ที่มีการเติมอากาศบริสุทธิ์



รูปที่ 4.34 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอลกอฮอล์ในตัวอย่างสุราแช่ ที่มีการเติมอากาศบริสุทธิ์

4.5 ผลการตรวจสอบและวิเคราะห์องค์ประกอบของสุราแช่ที่ผลิตได้ (มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน: สาทโ มผช.3/2546)

ส่งตัวอย่างสุราแช่ที่ผลิตได้ และกรองผ่านเมมเบรนด้วยกระบวนการอัลตราฟิเตรชัน ที่มีขนาดรูพรุน MWCO 100,000 คัดค้น ตรวจสอบคุณลักษณะทางเคมีและทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ให้มีคุณภาพตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน: สาทโ (มผช.3/2546) ที่สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ (ภาคผนวก ข.2) พบว่าสุราแช่ที่ผลิตได้มีองค์ประกอบผ่านเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน: สาทโ (มผช.3/2546)

ผู้ประกอบการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ ต้องทำการตรวจสอบคุณลักษณะทางเคมีและทางกายภาพ ขนาดบรรจุของผลิตภัณฑ์ให้มีคุณภาพตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน: สาทโ (มผช.3/2546) เป็นประจำเพื่อความสะอาดและปลอดภัยของผู้บริโภค

ตารางที่ 4.8 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของสุราแช่ที่ผลิตได้ (ภาคผนวก ข.2)

รายการวิเคราะห์	ผลการวิเคราะห์	วิธีวิเคราะห์
เอทิลแอลกอฮอล์, % (v/v)	9.0	AOAC 983.13, 2000
เมทิลแอลกอฮอล์, % (v/v)	ไม่พบ	AOAC 983.13, 2000
ซัลเฟอร์ไดออกไซด์, mg/kg	ไม่พบ	AOAC 990.28, 2000
กรดเบนโซอิก, mg/kg	ไม่พบ	Compendium method analysis, Thailand 1 st ed. 2003, 1-12, 1-13, 1-14
กรดซอร์บิก, mg/kg	ไม่พบ	Compendium method analysis, Thailand 1 st ed. 2003, 1-12, 1-13, 1-14
ทองแดง (Cu), mg/kg	0.09	ICP
เหล็ก (Fe), mg/kg	1.64	ICP
ตะกั่ว (Pb), mg/kg	น้อยกว่า 0.10	ICP
สารหนู (As), mg/kg	น้อยกว่า 0.10	ICP
เฟอร์โรไซยาไนด์	ไม่พบ	ICP

หมายเหตุ ICP = Inductively coupled plasma

หลังจากที่ได้ทำการผลิตสุราแช่และกรองผ่านเมมเบรนด้วยกระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน โดยใช้เมมเบรนที่มีขนาดรูพรุน MWCO 100,000 คัดตัน ความดัน 2.0 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร ที่อุณหภูมิห้อง และนำผลิตภัณฑ์สุราแช่บรรจุขวดปิดสนิท อาจเป็นขวดสีชาหรือสีเขียว เพื่อป้องกันผลิตภัณฑ์จากแสงแดด เก็บรักษาภายใต้อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (ห้องเย็น) เป็นระยะเวลา 1 ปี จากนั้นทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีต่างๆ ของสุราแช่ พบว่าองค์ประกอบต่างๆ มีค่าการเปลี่ยนแปลงจากเดิมเล็กน้อย คือมีปริมาณของแข็งทั้งหมด 24.0 ± 1.4 องศาบริกซ์ ค่าความเป็นกรดต่าง 3.57 ± 0.01 ปริมาณกรดทั้งหมด 1.15 ± 0.03 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 37.39 ± 0.05 กรัมต่อลิตร มีปริมาณแอลกอฮอล์ 8.71 ± 0.37 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) และไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อน ดังแสดงในตารางที่ 4.9

ตารางที่ 4.9 องค์ประกอบทางเคมีของสุราแช่ที่กรองผ่านเมมเบรนด้วยกระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน และเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เป็นระยะเวลา 1 ปี

รายการ	ผลการวิเคราะห์
1)ค่าความเป็นกรดต่าง	3.57 ± 0.01
2)ปริมาณของแข็งทั้งหมด ($^{\circ}$ Brix)	24.0 ± 1.4
3)ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละ)	1.15 ± 0.03
4)ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (mg/ml)	37.39 ± 0.05
5)ปริมาณแอลกอฮอล์ (ร้อยละโดยปริมาตร)	8.71 ± 0.37
6)ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ (cfu/ml)	0
7)ความขุ่น (ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร)	0.070 ± 0.011

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

5.1 ทำการผลิตสุราแช่โดยใช้ข้าวเหนียวสุกหมักด้วยลูกแป้งขุนหาญเป็นเวลา 3 วัน และเติมน้ำเชื่อมความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ลงไปและทำการหมักต่อเป็นเวลา 14 วัน พบว่าสุราแช่ที่ผลิตได้มีองค์ประกอบทางเคมีดังนี้ คือ มีปริมาณแอลกอฮอล์ประมาณ 8.80 ± 0.76 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) ค่าความเป็นกรดต่าง 3.40 ± 0.03 ปริมาณของแข็งทั้งหมด 21.80 ± 2.55 องศาบริกซ์ ปริมาณกรดทั้งหมด 1.00 ± 0.23 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร และมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 34.9 ± 6.52 กรัมต่อลิตร

5.2 การกรองใสและปราศจากจุลินทรีย์ด้วยกระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน ในภาวะการทดลองด้วยเมมเบรนขนาดรูพรุน MWCO 100,000 ดัลตัน ที่ความดัน 2.0 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร และที่อุณหภูมิห้อง มีศักยภาพดีที่สุดในการกรองสุราแช่ ให้ค่าฟลักซ์ในระหว่างการกรองสุราแช่ผ่านเมมเบรนประมาณ 41.67 ลิตรต่อตารางเมตร-ชั่วโมง ซึ่งในการกรองสุราแช่แต่ละครั้งควรทำการบำบัดเบื้องต้น (pretreatment) ก่อนเข้าสู่กระบวนการอัลตราฟิลเตรชันโดยนำสุราแช่ผ่านการปั่นเหวี่ยงอย่างง่าย เพื่อแยกอนุภาคขนาดใหญ่ออกไปก่อน ลดการอุดตันของเมมเบรน

5.3 เชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้จากสุราแช่ที่เสื่อมคุณภาพ เป็นแบคทีเรียแกรมบวก เป็นเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus cereus* ซึ่งเป็นเชื้อแบคทีเรียที่เจริญเติบโตโดยใช้และไม่ใช้ออกซิเจน สามารถสร้างสปอร์ได้ เป็นสปิชีส์ที่สามารถย่อยโปรตีนได้เร็วทำให้เกิดเค็ด หรือย่อยคาร์โบไฮเดรตที่ซับซ้อนได้ ซึ่งมีผลทำให้อาหารเสื่อมคุณภาพ ดังนั้นเชื้อเหล่านี้จะเจริญบนผิวหน้าของสุราแช่ ทำให้อุณหภูมิและรสชาติเปลี่ยนไป ทำให้ผลิตภัณฑ์เสื่อมคุณภาพได้ เชื้อแบคทีเรียชนิดนี้สามารถเจริญเติบโตได้ดีในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 30-37 องศาเซลเซียส แต่บางสายพันธุ์เติบโตได้ที่อุณหภูมิ 4-5 องศาเซลเซียส สำหรับค่าความเป็นกรดต่างที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อชนิดนี้อยู่ระหว่าง 6-7

5.4 หลังจากนำสุราแช่ที่ผลิตได้ ทำการกรองใสและปราศจากจุลินทรีย์ผ่านเมมเบรน ด้วยกระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน สามารถกรองเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุทำให้อุณหภูมิของสุราแช่เสื่อมคุณภาพออกได้ สุราแช่ที่ได้จะมีลักษณะใส สีเหลืองอ่อน มีปริมาณแอลกอฮอล์ประมาณ 9.66 ± 0.15 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) ค่าความเป็นกรดต่าง 3.54 ± 0.01 ปริมาณของแข็งทั้งหมด 21.6 ± 0.0 องศาบริกซ์ ปริมาณกรดทั้งหมด 1.35 ± 0.00 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร และมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 37.20 ± 0.11 กรัมต่อลิตร ทำให้ได้สุราแช่ที่มีคุณภาพดีตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน และหากเกิดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดการเน่าเสีย หรือผลิตภัณฑ์มีการสัมผัสกับ

อากาศ เชื้อจุลินทรีย์จะไม่สามารถเจริญเติบโตได้เนื่องจากมีภาวะไม่เหมาะสมกับการเจริญเติบโต ทำให้ผลิตภัณฑ์คงตัว และสามารถยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไว้ได้นาน

5.5 หลังจากทำการบรรจุผลิตภัณฑ์สุราแช่ที่กรองผ่านเมมเบรนด้วย

กระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน ในสถานะสะอาดและปิดสนิท เก็บรักษาภายใต้อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (ห้องเย็น) เป็นระยะเวลา 1 ปี พบว่าสุราแช่มีการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบทางเคมีต่างๆ เล็กน้อย คือมีปริมาณของแข็งทั้งหมด 24.0 ± 1.4 องศาบริกซ์ ค่าความเป็นกรดต่าง 3.57 ± 0.01 ปริมาณกรดทั้งหมด 1.15 ± 0.03 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 37.39 ± 0.05 กรัมต่อลิตร มีปริมาณแอลกอฮอล์ 8.71 ± 0.37 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) และไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อน ดังนั้นการปรับปรุงและพัฒนากระบวนการผลิตสุราแช่ โดยเฉพาะการกรองใสและปราศจากจุลินทรีย์ด้วยกระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน ก่อนทำการบรรจุขวด ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่ดีมีคุณภาพตามมาตรฐาน



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

ชั้นทอง สุนทรภา. 2547. เทคโนโลยีการแยกด้วยเมมเบรน. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร:

สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

จิตปราณี ฤทธิผลง. 2547. การแยกและการจัดจำแนกยีสต์จากลูกแป้งในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย. รายงานการประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติครั้งที่ 4. ประเทศไทย.

จิราภรณ์ เชาวลิต. 2546. การควบคุมคุณภาพและมาตรฐานการผลิตสุราแช่. ภาควิชา

เทคโนโลยีชีวภาพอุตสาหกรรม คณะเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยรังสิต. หน้า 1-9.

เจริญ เจริญชัย. 2545. ขอระเบิดปัญหาของสุราพื้นบ้าน. เกษตรแปรรูป. ปีที่ 1 ฉบับที่ 4.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และ ปรีชา สุวรรณพินิจ. 2541. จุลชีววิทยาทั่วไป. พิมพ์ครั้งที่ 2.

กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

นภา โล่ห์ทอง. 2535. กล้าเชื้ออาหารหมักและเทคโนโลยีการผลิต. กรุงเทพมหานคร: พันนี พับลิชชิ่ง.

บรรจงจิต มหิทรเทพ. 2534. การผลิตลูกแป้งน้ำส้มสายชูและอิทธิพลของสมุนไพรต่อจุลินทรีย์ในลูกแป้ง. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

บัญญัติ สุขศรีงาม. 2527. ประสิทธิภาพของเครื่องเทศบางชนิดในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์. เครื่องเทศที่ใช้เป็นสมุนไพร เล่ม 2. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์อมรรкарพิมพ์.

ประดิษฐ์ ครัววัฒนา. 2545. ไวน์: ศาสตร์และศิลป์. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ไพบูลย์ ด่านวิรุฑ์ และพัฒนา เหล่าไพบูลย์. 2547. ไวน์ผลไม้และสาโท ผลิตด้วยความมั่นใจได้ อย่างไร. พิมพ์ครั้งที่ 1. ขอนแก่น: โรงพิมพ์คลังนานาวิทยา.

มนตรี เขาวนังเกต. 2521. การคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์และราเพื่อใช้ผลิตไวน์ข้าว. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน. 2546. มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน:สาโท มผช.3/2546. กรุงเทพมหานคร: สำนักงานมาตรฐานอุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม.

ขงยุทธ เถลิมาชาติ. 2543. การลดลงของฟลักซ์และการเกิดฟาวลิงในการทำน้ำอ้อยให้ใสโดยการใช้กระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

- ยุพกนิษฐ์ พ่วงวีระกุล. 2546. กระบวนการผลิตสาโทและจุลชีววิทยาของสาโท. เอกสารประกอบการบรรยายการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการเรื่องเทคนิคการผลิตและการตรวจวิเคราะห์คุณภาพไวน์และสาโท. สถาบันคั้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 11-13 ก.พ. 2546: 1-19.
- รัตนา จิระรัตนานนท์. 2543. กระบวนการแยกด้วยเยื่อแผ่นสังเคราะห์. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์ไทยเส็ง.
- ลักขณา เหล่าไพบุลย์. 2547. จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการเสื่อมเสียของไวน์. เอกสารประกอบการอบรมครั้งที่ 7 เรื่องการวิเคราะห์ไวน์ผลไม้. โครงการสร้างความสามารถด้านเทคนิคการผลิตและตรวจสอบคุณภาพผลิตภัณฑ์ไวน์ผลไม้และสาโท. ศูนย์วิจัยการหมักเพื่อเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร มหาวิทยาลัยขอนแก่น และศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ.
- วรรณัท บุญสำราญจิตต์, วรสรวย กลิ่นทอง และวิทยา วงศ์สุภาพ. 2545. การผลิตไวน์ข้าวจากข้าวเหนียวและข้าวเจ้า. โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- วรรัตน์ โชติวรณพร. 2539. การผลิตไวน์ข้าวเหนียวดำโดยการหมักด้วยเชื้อบริสุทธิ์. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สถาบันอาหาร ประเทศไทย. 2547. ภัยในอาหาร. สถาบันอาหาร. หน้า 20-21.
- สมพร สิ้นธารา. 2544. การแยก การจัดจำแนก การเก็บรักษายีสต์และราที่แยกได้จากลูกแป้งข้าวหมากและลูกแป้งเหล้าในประเทศ. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สุมาลี เหลืองสกุล. 2541. จุลชีววิทยาทางอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์ชัยเจริญ.
- สุกมาส ไขคำ. 2544. การศึกษาคุณภาพของสุรากลับพื้นบ้านที่ผลิตในเขตภาคเหนือตอนบน. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- สุภาพ อัจฉริยศรีพงศ์. 2546. วว. (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย) พัฒนาการผลิตหัวเชื้อลูกแป้งเหล้าสาโทให้ได้ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพมาตรฐาน. เกษตรกรรมธรรมชาติ. หน้า 33-45.

ภาษาอังกฤษ

- Amerine, M. A., Berg, H. W. and Cruess, W. V. 1972. The technology of wine making. 3rd ed. Westport, Connecticut: The AVI Publishing Company.
- Ancin, C., Ayestaran, B., Corroza, M., Garrido, J. & Gonzalez, A. 1996. Influence of prefermentation clarification on the higher alcohol contents of wines. Journal of Food Chemistry 55(3): 241-249.
- Arriagada-Carrazana, J. P., Saez-Navarrete, C. and Bordeu, E. 2005. Membrane filtration effects on aromatic and phenolic quality of Cabernet Sauvignon wines. Journal of Food Engineering 68: 363-368.
- Baker, R. W. 2004. Membrane technology and applications. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons.
- Bernfeld, P. 1955. Amylases, α and β In Colowick, S. P. and Kaplan, N. O. (eds.), Method in Enzymology. vol. 3. New York : Academic Press.
- Cheryan, M. 1998. Ultrafiltration and microfiltration handbook. Pennsylvania: Technomic.
- Delfini, C. and Formica, J. V. 2001. The microbiological control of wine during storage. In: Wine Microbiology Science and Technology. New York: Marcel Dekker.
- Dickinson, J. R., Harrison, S. J., Dickinson, J. A., Hewlins, M. J. E. 2000. An Investigation of the Metabolism of Isoleucine to Active Amyl Alcohol in *Saccharomyces cerevisiae*. Journal of Biological Chemistry 275(15): 10937-10942.
- Dickinson, J. R., Harrison, S. J., Dickinson, J. A., Hewlins, M. J. E. 1998. An Investigation of the Metabolism of Valine to Isobutyl Alcohol in *Saccharomyces cerevisiae*. Journal of Biological Chemistry 273(40): 25751-25756.
- Drioli, E., Orlando, G., D'ambra, S. and Amati, A. 1981. Membrane processes in must and wine treatment. American Chemical Society : 17-26.
- Goncalves, F., Fernandes, C. and Pinho, M. N. 2001. White wine clarification by micro/ultrafiltration : effect of colloids in tartaric stability. Separation and Purification Technology 22-23: 423-429.
- Harrison, R. G., Todd, P., Rudge, S. R. and Petrides, D. P. 2003. Bioseparations science and engineering. New York: Oxford University Press.
- Inui, T., Y. Takeda and H. Iizuka. 1965. Taxonomical studies on Genus *Rhizopus*. Journal of General and Applied Microbiology 11: 103-107.

- Jackson, R. S. 2000. Wine Science: Principles, Practice, Perception. 2nd ed. New York: Academic Press.
- Kiss, I., Vatai, G. and Bekassy-Molnar, E. 2004. Must concentrate using membrane technology. Desalination 162: 295-300.
- Li, Y., Shahbazi, A. and Kadzere, C. T. 2006. Separation of cells and proteins from fermentation broth using ultrafiltration. Journal of Food Engineering 75: 574-580.
- McCabe, W. L., Smith, J. C. and Harriott, P. 1993. Unit operations of chemical engineering. 5th ed. New York: McGraw-Hill.
- McKinnon, A. J. and Scollary, G. R. 1997. Size fractionation of metals in wine using ultrafiltration. Talanta 44: 1649-1658.
- Millipore. Technical publications [Online]. n.d. Available from :
<http://www.millipore.com/catalogue.nsf/docs/c3259> [2004, Aug 15]
- Palacios, V. M., Caro, I. and Perez, L. 2002. Comparative study of microfiltration with conventional filtration of sherry wines. Journal of Food Engineering 54: 95-102.
- Rektor, A., Pap, N., Kokai, Z., Szabo, R., Vatai, G. and Bekassy-Molnar, E. 2004. Application of membrane filtration methods for must processing and preservation. Desalination 162: 271-277.
- Sadr Ghayeni, S.B., Beatson, P. J., Fane, A. J. and Schneider, R. P. 1999. Bacterial passage through microfiltration membranes in wastewater applications. Journal of Membrane Science 153: 71-82.
- Santos, P. C., Goncalves, F. and Pinho, M. N. 2002. Optimisation of the method for determination of the temperature of saturation in wines. Analytica Chimica Acta 458: 257-261.
- Sakamoto, K. and Konings, W. N. 2003. Beer spoilage bacteria and hop resistance. Review article. International Journal of Food Microbiology 89:105-124.
- Salazar, F. N., Brujin, J. P. F., Seminario, L., Guell, C. and Lopez, F. 2007. Improvement of wine crossflow microfiltration by a new hybrid process. Journal of Food Engineering 79: 1329-1336.
- Teramoto, Y., Saigusa, N., Ueda, S. and Yoshisawa, K. 1990. Effects of cooking process on the characteristics of aromatic red wine. Journal of the Institute of Brewing 100(3): 155-157.
- Tester, R. F. and Morrison, W. A. 1990. Swelling and gelatinization of cereal starches. Effect of amylopectin, amylase and lipids. Cereal Chemistry 67: 551-557.

- Valero, E., Moyano, L., Millan, M. C., Medina, M. and Ortega, J. M. 2002. Higher alcohols and esters production by *Saccharomyces cerevisiae*. Influence of the initial oxygenation of the grape must. Food Chemistry 78: 57-61.
- Vigneswaran, S. and Kiat, W. Y. 1988. Detailed investigation of effects of operating parameters of ultrafiltration using laboratory-scale ultrafiltration unit. Desalination 70:299-316.
- Vine, R. P., Harkness, E. M., Browning, T. and Wagner, C. 1997. Wine microbiology. In: Winemaker from grape growing to marketplace. New York: Chapman & Hall.
- Wang, S., Ling, A., Wu, L. and Kang, D. 1989. Ultrafiltration of rice wine for removal of bacteria. Journal of Membrane Science 44: 245-252.
- Weiser, S. H., Mountney, G. J. and Gould, W. A. 1978. Food Microbiology. Connecticut: The AVI Publishing Company.
- Zeman, L. J. and Zydney, A. L. 1996. Microfiltration and ultrafiltration principles and applications. New York: Marcel Dekker.
- Zoecklein, B. W., Fugelsang, K. C., Gump, B. H. and Nury, F. S. 1995. Wine analysis and production. New York: Chapman & Hall.



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร Nutrient Agar (NA medium)

1.1 อาหารเหลว (Nutrient broth, NB)

ในอาหาร 1 ลิตร ประกอบด้วย

เปปโตน	5.0	กรัม
สารสกัดจากเนื้อ	3.0	กรัม

ละลายอาหารในน้ำจืดไอออน ใส่อาหารปริมาตร 50 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

1.2 อาหารวุ้นแข็งลาดเอียง

เตรียมโดยเติมวุ้นผง 15.0 กรัม ลงในอาหารเหลวข้อ 1.1 ต้มให้วุ้นละลาย จากนั้นเปิดอาหารลงในหลอดทดลองขนาด 16 x 150 มิลลิเมตร ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ปิดด้วยจุกสำลี นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำหลอดอาหารมาวางเอียงให้ผิวหน้าของอาหาร มีความยาวประมาณ 12 เซนติเมตร เมื่ออาหารแข็งตัวจึงเก็บเข้าตู้เย็นเพื่อไว้ใช้งานต่อไป

2. อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร MRS

2.1 อาหารเหลว

ในอาหาร 1 ลิตร ประกอบด้วย

กลูโคส	20.0	กรัม
สารสกัดจากเนื้อ	10.0	กรัม
เปปโตน	10.0	กรัม
โซเดียมอะซิเตท	5.0	กรัม
สารสกัดจากยีสต์	5.0	กรัม
แอมโมเนียมซัลเฟต	2.0	กรัม
ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต	2.0	กรัม

ทวีน 80	1.0	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต เฮปตะไฮเดรต	0.1	กรัม
แมงกานีสซัลเฟต เพนตะไฮเดรต	0.05	กรัม
แคลเซียมคาร์บอเนต	5.0	กรัม

ละลายอาหารในน้ำจืดไอออน ปรับพีเอช 6.5 ± 0.2 ใส่อาหารปริมาตร 50 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2.2 อาหารวุ้นแข็งลาดเอียง

เตรียมโดยเติมวุ้นผง 15.0 กรัม ลงในอาหารเหลวข้อ 2.1 ต้มให้วุ้นละลาย จากนั้น เปิดอาหารลงในหลอดทดลองขนาด 16 x 150 มิลลิเมตร ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ปิดด้วยจุกสำลี นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำหลอดอาหารมาวางเอียงให้ผิวหน้าของอาหาร มีความยาวประมาณ 12 เซนติเมตร เมื่ออาหารแข็งตัวจึงเก็บเข้าตู้เย็นเพื่อไว้ใช้งานต่อไป

ภาคผนวก ข

วิธีวิเคราะห์

1. การวัดค่าความเป็นกรดต่างโดยใช้มาตรวัดความเป็นกรดต่าง (pH meter)

1.1 calibrate pH meter และอิเล็กโทรดด้วย buffer solution

1.2 ล้างอิเล็กโทรดด้วยน้ำจืดไอออน และเช็ดให้แห้ง

1.3 จุ่มอิเล็กโทรดลงในตัวอย่าง อ่านค่าความเป็นกรดต่างที่ได้

2. การวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด โดยใช้ Hand refractrometer

2.1 ใช้หลอดหยดดูดตัวอย่าง หยดลงบน prism ของ Hand refractrometer

2.2 ปิดกระจกบน prism ทิ้งไว้ประมาณ 30 วินาที

2.3 อ่านค่าที่วัดได้ในระดับสายตาในหน่วยองศาบริกซ์ ($^{\circ}$ Brix) บันทึกผล

3. การวิเคราะห์หาปริมาณเอทานอล โดยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี (Gas chromatography)

3.1 ภาวะการทดลอง

Column	: Prorapak Q	
(CI) Temp column	: 190 $^{\circ}$ C	N ₂ flowrate = 1.0 -1.2 kg/cm ²
(C) Temp injection	: 220 $^{\circ}$ C	H ₂ flowrate = 1.0 kg/cm ²
Attenuation เครื่อง GC	: 32	Air flowrate = 1.0 kg/cm ²
Range เครื่อง GC	: 10 ²	Detection = 1
Attenuation computer	: 2	
Speed computer	: 3	

3.2 เตรียมสารละลายมาตรฐานเอทานอล ความเข้มข้น 0, 5, 10, 15, 20, 40, 60, 80 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ในขวดปริมาตร โดยนำสารละลายเอทานอล สัมบูรณ์มาเจือจางให้ได้ความเข้มข้นที่ต้องการ

ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ปริมาตรของเอทานอลสัมบูรณ์ (มิลลิลิตร)
0	0
5	0.16
10	0.32
15	0.47
20	0.63
40	1.26
60	1.89
80	2.53
100	3.16

3.3 เตรียมสารละลายโพพานอลความเข้มข้น 30 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใช้เป็นสารละลายมาตรฐานสารเปรียบเทียบภายใน (Internal standard) โดยนำสารละลายเอทานอลสัมบูรณ์ ปริมาตร 3.73 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำจืดไอออนในขวดปริมาตร

3.4 ทำกราฟมาตรฐานสารละลายเอทานอล ความเข้มข้น 0, 5, 10, 15, 20, 40, 60, 80 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยผสมสารละลายเอทานอล 0.5 มิลลิลิตร กับ Internal standard 0.5 มิลลิลิตร (อัตราส่วน 1:1)

3.5 ถัดสารละลายความเข้มข้นที่ต้องการวิเคราะห์ ปริมาตร 1 ไมโครลิตร เข้าเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี

3.6 นำตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ ปั่นเหยี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที, 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ทำเช่นเดียวกับข้อ 3.4 และ 3.5

4. การวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมด (Total acidity)

4.1 เตรียมสารละลาย 0.1 นอร์มัล โซเดียมไฮดรอกไซด์ โดยชั่งสารโซเดียมไฮดรอกไซด์ 4.0 กรัม ละลายในน้ำจืดไอออน และปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

4.2 เตรียมสารละลายฟีนอล์ฟทาลิน โดยชั่งสารฟีนอล์ฟทาลิน 0.1 กรัม ละลายในสารละลายเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร และปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตร

4.3 ปิเปตสารละลายตัวอย่าง 5 มิลลิลิตร เติมน้ำจืดไอออน 95 มิลลิลิตร

4.4 ไทเทรตกับสารละลาย 0.1 นอร์มัล โซเดียมไฮดรอกไซด์ โดยใช้สารละลายฟีนอล์ฟทาลีน 2-3 หยด เป็นอินดิเคเตอร์ จนสารละลายไม่มีสี เป็นสีชมพูอ่อน

4.5 การคำนวณปริมาณกรด

$$\text{Acidity as lactic acid (g/100ml)} = \frac{V \times N \times 90.01 \times 100}{1000 \times v}$$

เมื่อ V = ปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ใช้ neutralize กรดในตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

N = ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการไทเทรต (มิลลิลิตร)

v = ปริมาตรของสารละลายตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

5. การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugar) (Bernfeld, 1955)

5.1 เตรียมสารละลาย DNSA (3,5-dinitrosalicylic acid) โดยละลาย DNSA 1.0 กรัม ในสารละลาย 2 นอร์มัล โซเดียมไฮดรอกไซด์ 20 มิลลิลิตร ผสมสารโพแทสเซียมโซเดียมทาร์เทรต 30.0 กรัม และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำจืดไอออน

5.2 เตรียมสารละลาย 2 นอร์มัล โซเดียมไฮดรอกไซด์ โดยชั่งสารโซเดียมไฮดรอกไซด์ 8.0 กรัม ละลายในน้ำจืดไอออน และปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

5.3 การทำกราฟมาตรฐานสารละลายกลูโคส

5.3.1 ชั่งกลูโคส 0.25 กรัม ละลายในน้ำจืดไอออน และปรับปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตร และเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 0 - 2.0 กรัมต่อลิตร

5.3.3 ปิเปตสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่เตรียมไว้ ความเข้มข้นละ 1.0 มิลลิลิตร เติม DNSA reagent 1 มิลลิลิตร

5.3.4 ต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที

5.3.5 ทำให้เย็นในอ่างน้ำแข็ง และเติมน้ำกลั่นลงไปอีก 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

5.3.6 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร (ใช้ Blank เป็นน้ำกลั่น) และสร้างกราฟมาตรฐานสารละลายกลูโคสระหว่างความเข้มข้นของสารละลายกลูโคสกับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

5.4 การวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของตัวอย่าง

นำสารละลายตัวอย่าง ย่อยด้วยสารละลาย 10 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) กรดซัลฟูริก ทำเช่นเดียวกับสารละลายมาตรฐานกลูโคส และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร (ใช้ Blank เป็นน้ำกลั่น) เทียบกับกราฟมาตรฐานสารละลายกลูโคส แล้วคำนวณเป็นปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)

6. การย้อมแกรมแบคทีเรีย

- 6.1 เตรียมสไลด์ของเชื้อแบคทีเรียเพื่อนำมาย้อมสี โดยทำการ smear เชื้อ air dry และ heat fix
- 6.2 ย้อมด้วย Gram crystal violet เป็นเวลา 1 นาที ล้างด้วยน้ำ
- 6.3 ย้อมทับด้วย Gram iodine เป็นเวลา 1 นาที ล้างด้วยน้ำ
- 6.4 ล้างสี crystal violet ออก โดยการเอียงสไลด์แล้วเทรดด้วย 95% ethyl alcohol หยุดปฏิกิริยาโดยการจุ่มสไลด์ลงในน้ำ ตั้งเอียงสไลด์บนกระดาษทิชชู ให้พอแห้ง
- 6.5 ย้อมด้วย safranin O เป็นเวลา 20-30 วินาที ล้างน้ำ ตั้งเอียงสไลด์บนกระดาษทิชชู ให้แห้งสนิท
- 6.6 นำไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ (โดยใช้ oil immersion objective lens)

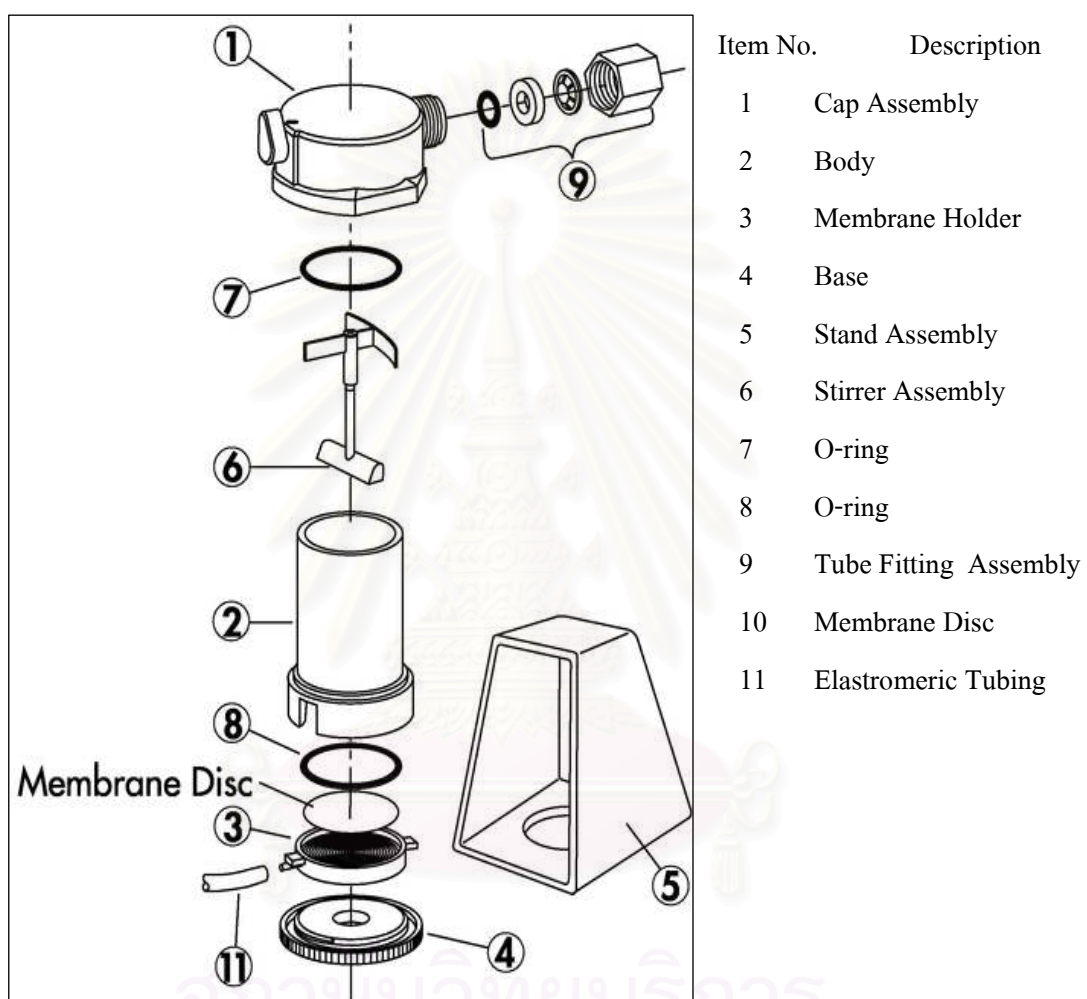
7. การทดสอบการสร้างเอนไซม์อะไมเลส

- 7.1 ใช้ลูป (loop) เขี่ยเชื้อแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบมาละเลงบนสไลด์ที่สะอาด หรือจะใช้จานเพาะเชื้อที่มีโคโลนีของแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบเลยก็ได้
- 7.2 หยด 3% ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ลงบนโคโลนีของแบคทีเรีย หรือบนสไลด์ที่ละเลงไว้
- 7.3 ถ้ามีฟองเกิดขึ้นแสดงว่าให้ผลเป็นบวก มีการสร้างเอนไซม์อะไมเลส

หมายเหตุ แลคติกแอซิดแบคทีเรีย ให้ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์อะไมเลสเป็นลบ
อะซิติกแอซิดแบคทีเรีย ให้ผลการทดสอบการสร้างเอนไซม์อะไมเลสเป็นบวก

ภาคผนวก ค

แผนภาพโมดูลที่ใช้ในกระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน



รูปที่ ค.1 แผนภาพโมดูลที่ใช้ในกระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน

(www.millipore.com/catalogue.nsf/docs/c3259)

ภาคผนวก ง

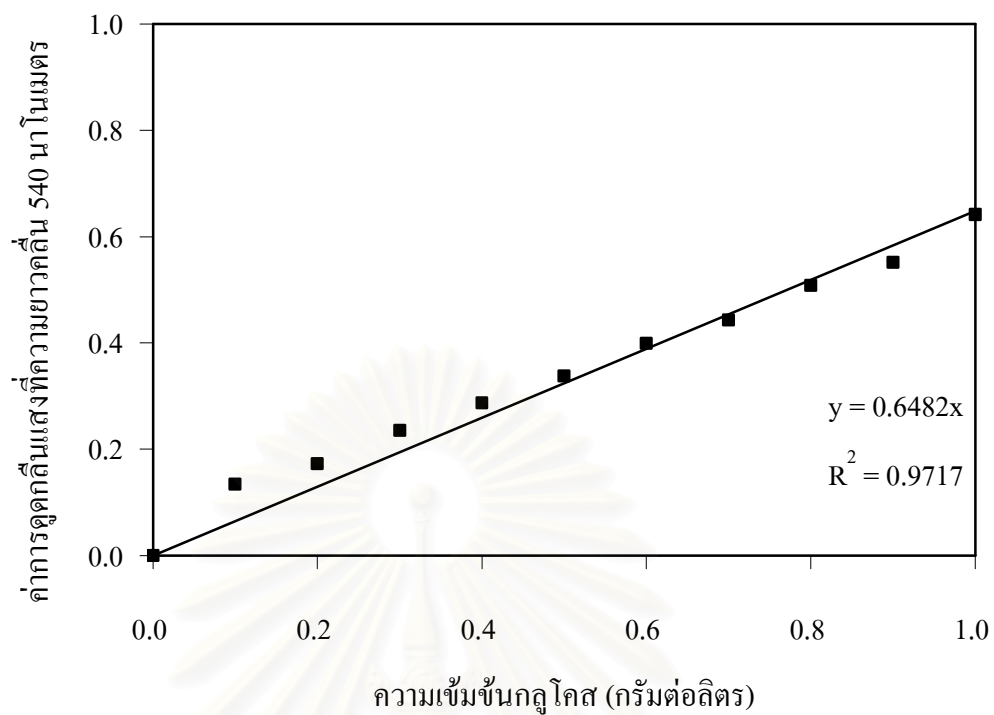
กราฟมาตรฐาน

1. กราฟมาตรฐานสารละลายกลูโคส

ตารางที่ ง.1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกลูโคสและค่าดูดกลืนแสงสำหรับสร้างกราฟมาตรฐาน

ความเข้มข้นกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 nm			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย
0	0	0	0	0
0.1	0.125	0.121	0.158	0.135
0.2	0.18	0.167	0.170	0.172
0.3	0.24	0.238	0.227	0.235
0.4	0.295	0.281	0.285	0.287
0.5	0.351	0.33	0.331	0.337
0.6	0.409	0.395	0.394	0.399
0.7	0.44	0.446	0.443	0.443
0.8	0.512	0.51	0.502	0.508
0.9	0.575	0.539	0.540	0.551
1.0	0.637	0.663	0.624	0.641

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 1.1 กราฟมาตรฐานสารละลายกลูโคสในช่วงความเข้มข้น 0 – 2.0 กรัมต่อลิตร

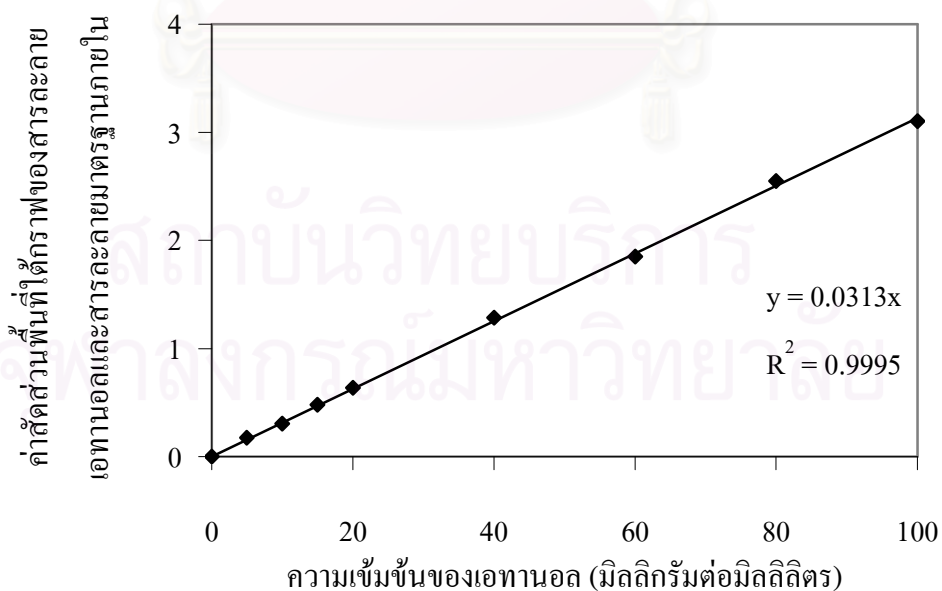
ปริมาณน้ำตาล = ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร x 1/ความชัน x ความเงิอง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2. กราฟมาตรฐานของสารละลายเอทานอล โดยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี (Gas Chromatography)

ตารางที่ ง.2 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเอทานอลกับค่าสัดส่วนของพื้นที่ใต้กราฟ

ความเข้มข้นของเอทานอล (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ค่าสัดส่วนพื้นที่ใต้กราฟของสารละลายเอทานอล ต่อพื้นที่ใต้กราฟของสารละลายมาตรฐานภายใน			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย
0	0	0	0	0
5	0.173	0.169	0.181	0.1743
10	0.309	0.309	0.302	0.3067
15	0.473	0.482	0.484	0.4797
20	0.637	0.637	0.641	0.6383
40	1.301	1.269	1.286	1.2853
60	1.862	1.828	1.858	1.8493
80	2.550	2.556	2.54	2.5487
100	3.097	3.096	3.111	3.1013



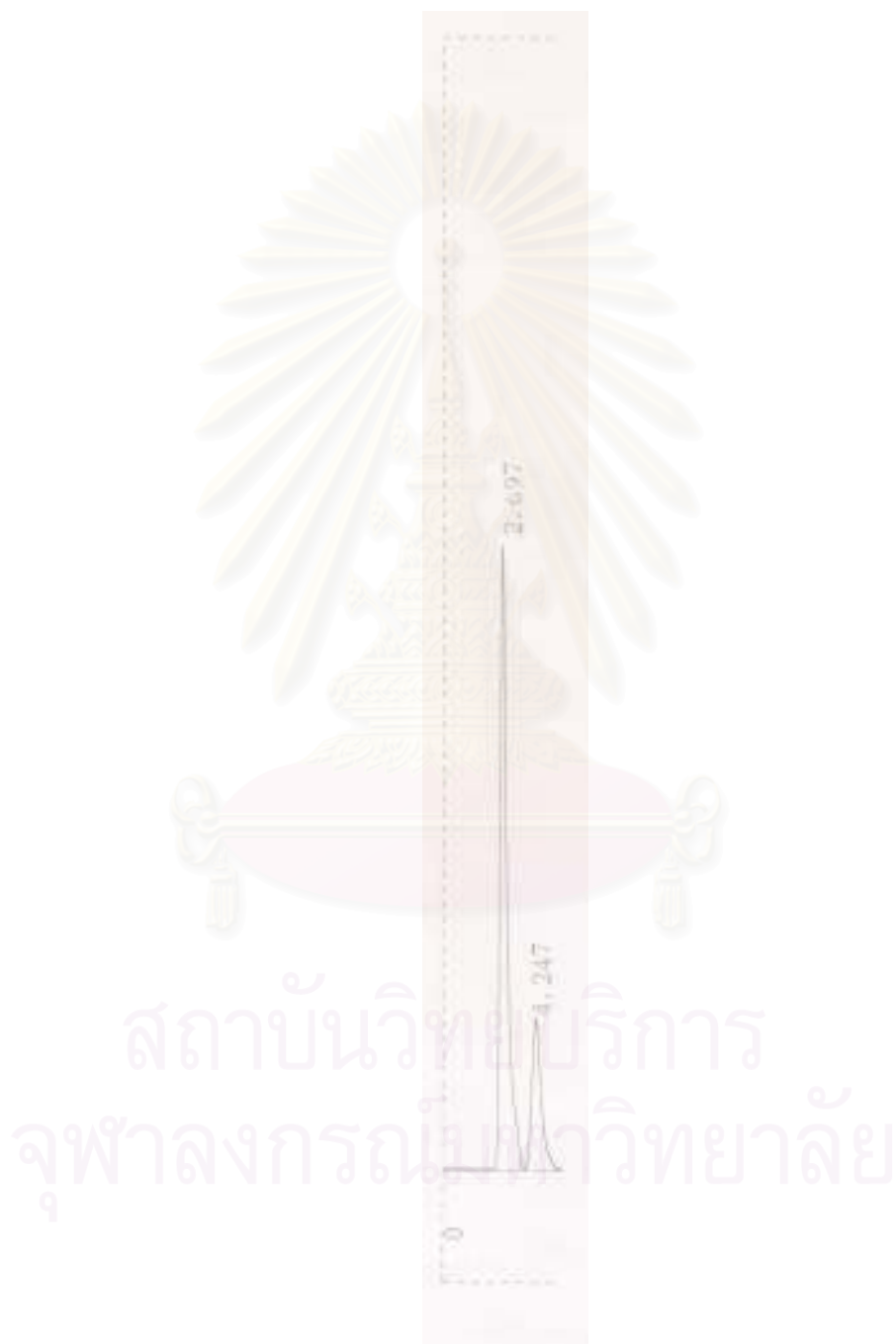
รูปที่ ง.2 กราฟมาตรฐานสารละลายเอทานอล ในช่วงความเข้มข้น 0-100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

จากกราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณเอทานอลมี

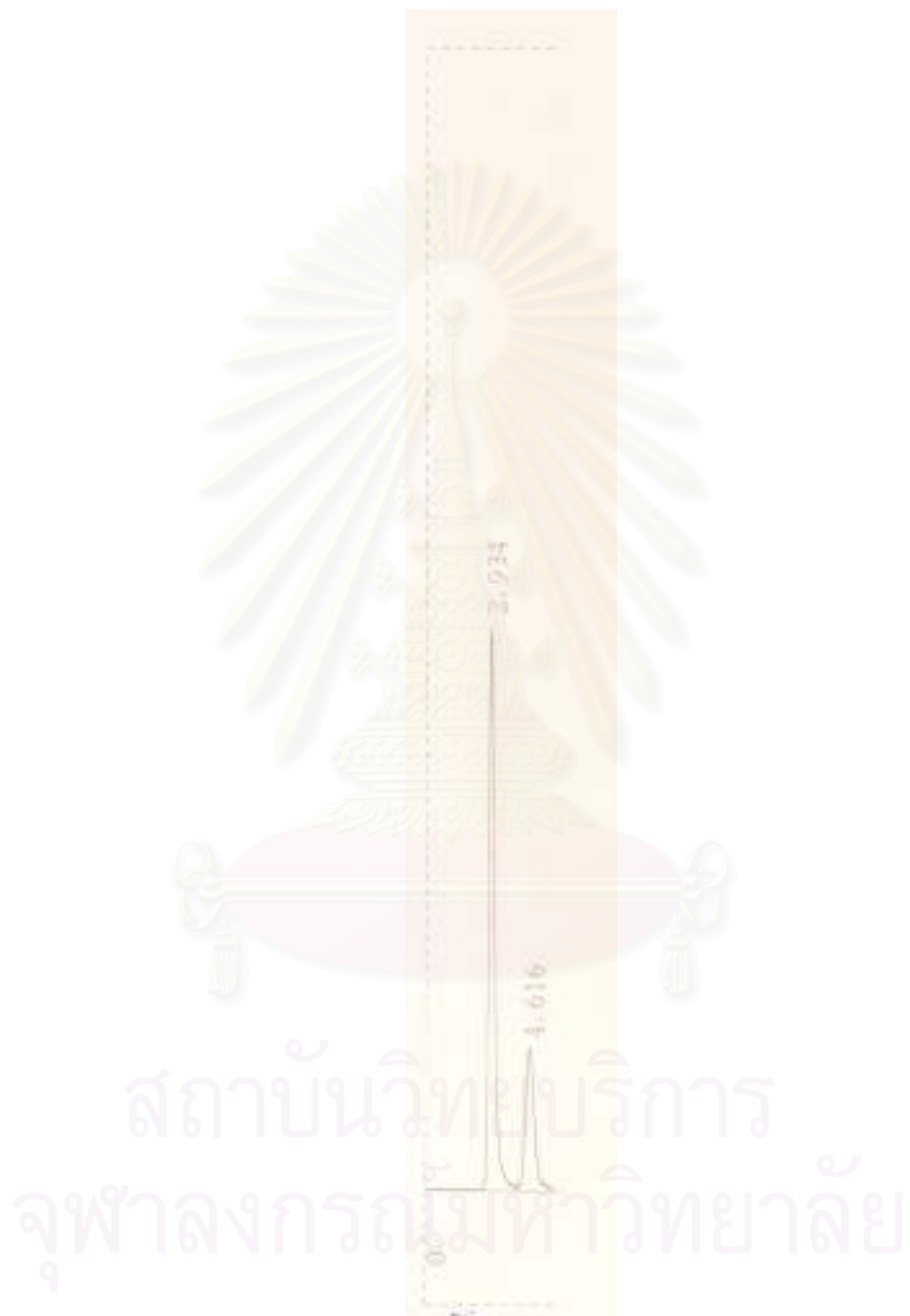
$$\text{ค่าสหสัมพันธ์ (R}^2\text{)} = 0.9995$$

$$\text{ค่าความชัน (slope)} = 0.0313$$

ดังนั้นปริมาณเอทานอล (กรัมต่อลิตร) = ค่าตัดส่วนพื้นที่ใต้กราฟ \times 1/ความชัน



รูปที่ 3.3 ตัวอย่างโครมาโทแกรมของเอทานอลสมบูรณ์ เมื่อใช้โพรพานอลเป็นสารมาตรฐาน เปรียบเทียบภายใน วิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี



รูปที่ ๔.4 ตัวอย่างโครมาโทแกรมของสุราแช่ เมื่อใช้โพรพานอลเป็นสารมาตรฐานเปรียบเทียบ
ภายใน วิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี

ภาคผนวก จ

ข้อมูลการทดลอง

ตารางที่ จ.1 แสดงการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบต่างๆ ในการผลิตสุราแช่ (Lot 1)

ระยะเวลา (วัน)	^o Brix	pH	%EtOH	Total acid (g/100 ml)	Reducing sugar (g/l)
0	24.0	3.31	1.64	0.743	30.27
1	33.0	3.31	1.42	0.968	62.24
2	33.0	3.34	2.62	0.945	60.72
3	32.0	3.34	3.16	0.945	58.25
4	30.0	3.36	4.20	0.990	56.95
5	28.0	3.35	5.48	0.990	56.37
6	26.0	3.36	5.66	0.990	52.96
7	24.5	3.37	6.03	0.968	52.48
8	22.0	3.37	6.11	0.990	50.71
9	21.5	3.39	7.08	0.990	44.36
10	21.0	3.38	7.81	1.013	42.98
11	20.5	3.37	8.27	1.013	42.83
12	20.0	3.39	7.97	0.990	40.05
13	19.5	3.39	6.51	0.990	39.77
14	19.0	3.40	8.28	1.035	39.12

ตารางที่ จ.2 แสดงการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบต่างๆ ในการผลิตสุราแช่ (Lot 2)

ระยะเวลา (วัน)	⁰ Brix	pH	%EtOH	Total acid (g/100 ml)	Reducing sugar (g/l)
0	22.0	3.17	0.54	0.675	38.45
1	35.0	3.19	1.62	0.720	61.22
2	34.0	3.12	2.67	0.765	60.97
3	31.0	3.18	3.27	0.720	59.86
4	29.5	3.19	4.92	0.810	58.52
5	28.0	3.18	5.66	0.810	57.61
6	27.5	3.28	6.23	0.810	53.72
7	27.0	3.28	6.53	0.720	43.30
8	26.4	3.30	7.54	0.810	38.26
9	25.8	3.31	7.87	0.810	35.73
10	25.2	3.34	7.65	0.810	30.24
11	25.0	3.36	8.34	0.810	28.53
12	24.5	3.39	8.45	0.855	28.04
13	24.4	3.43	8.50	0.810	27.42
14	24.0	3.42	8.32	0.810	27.35

ตารางที่ จ.3 แสดงการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบต่างๆ ในการผลิตสุราแช่ (Lot 3)

ระยะเวลา (วัน)	⁰ Brix	pH	%EtOH	Total acid (g/100 ml)	Reducing sugar (g/l)
0	18.5	3.33	0.18	0.180	36.93
1	30.0	3.10	2.18	0.900	58.72
2	29.0	3.07	3.41	0.945	51.73
3	28.0	3.22	4.99	1.035	57.61
4	26.8	3.11	5.18	1.035	52.84
5	25.8	3.28	6.55	0.945	44.39
6	25.2	3.32	7.86	1.170	42.98
7	25.0	3.34	8.38	1.170	43.06
8	24.0	3.15	8.54	1.170	43.35
9	24.0	3.29	9.66	1.170	39.02
10	23.6	3.25	9.83	1.170	41.22
11	23.4	3.35	9.98	1.170	41.37
12	23.4	3.44	10.39	1.260	37.84
13	23.2	3.45	9.41	1.260	39.60
14	22.4	3.46	9.66	1.260	38.13

ตารางที่ จ.4 แสดงค่าฟลักซ์ของเมมเบรนที่มีขนาดรูพรุน 30,000 Da ในการกรองตัวอย่างสาโท
 ภาวะการทดลอง Dead-end Ultrafiltration cell

เมมเบรน	:	Polysulfone (MWCO 30,000 Da)
เส้นผ่านศูนย์กลาง	:	0.076 m
พื้นที่	:	0.005 m ²
ความดัน	:	1.0 kg/cm ²
ความเร็วรอบ	:	400 rpm
อุณหภูมิห้อง		

ปริมาตร (มิลลิลิตร)	ครั้งที่ 1		ครั้งที่ 2	
	เวลา (นาที)	ฟลักซ์ (l/m ² -h)	เวลา (นาที)	ฟลักซ์ (l/m ² -h)
5	2.68	22.39	5.12	11.72
10	6.25	19.20	9.65	12.44
15	11.17	16.11	16.20	11.11
20	14.97	16.03	21.87	10.97
25	19.63	15.28	28.00	10.71
30	23.75	15.16	33.10	10.88
35	27.90	15.05	39.65	10.59
40	32.78	14.64	45.00	10.67
45	36.60	14.75	51.25	10.54
50	40.88	14.68	56.80	10.56
55	44.67	14.78	62.73	10.52
60	49.18	14.64	68.83	10.46
65	53.40	14.61	74.20	10.51
70	56.88	14.77	79.00	10.63
75	61.17	14.71	86.00	10.47
80	65.92	14.56	92.73	10.35
85	69.62	14.65	100.28	10.17
90	75.00	14.40	106.87	10.11
95	79.32	14.37	116.62	9.78
100	84.30	14.23	123.33	9.73

ตารางที่ จ.5 แสดงค่าฟลักซ์ของเมมเบรนที่มีขนาดรูพรุน 100,000 Da ในการกรองตัวอย่างสาโท
 ภาวะการทดลอง Dead-end Ultrafiltration cell

เมมเบรน	:	Polysulfone (MWCO 100,000 Da)
เส้นผ่านศูนย์กลาง	:	0.076 m
พื้นที่	:	0.005 m ²
ความดัน	:	1.0 kg/cm ²
ความเร็วรอบ	:	400 rpm
อุณหภูมิห้อง		

ปริมาตร (มิลลิลิตร)	ครั้งที่ 1		ครั้งที่ 2	
	เวลา (นาที)	ฟลักซ์ (l/m ² -h)	เวลา (นาที)	ฟลักซ์ (l/m ² -h)
5	0.92	65.22	0.92	65.22
10	2.65	45.28	2.23	53.81
15	4.95	36.36	4.47	40.27
20	6.90	34.78	6.45	37.21
25	9.55	31.41	8.87	33.82
30	11.90	30.25	11.38	31.63
35	15.17	27.69	14.25	29.47
40	17.60	27.27	16.70	28.74
45	20.20	26.73	19.67	27.45
50	23.10	25.97	22.62	26.53
55	25.45	25.93	25.12	26.27
60	28.23	25.50	28.22	25.51
65	31.17	25.02	31.05	25.12
70	33.20	25.30	33.57	25.02
75	36.25	24.83	36.17	24.88
80	38.90	24.68	39.65	24.21
85	41.62	24.51	42.00	24.29
90	44.37	24.34	44.65	24.19
95	47.15	24.18	48.07	23.72
100	49.72	24.14	50.75	23.65

ตารางที่ จ.6 แสดงค่าฟลักซ์ของเมมเบรนที่มีขนาดรูพรุน 300,000 Da ในการกรองตัวอย่างสาโท
 ภาวะการทดลอง Dead-end Ultrafiltration cell

เมมเบรน	:	Acrylic (MWCO 300,000 Da)
เส้นผ่านศูนย์กลาง	:	0.062 m
พื้นที่	:	0.003 m ²
ความดัน	:	1.0 kg/cm ²
ความเร็วรอบ	:	400 rpm
อุณหภูมิห้อง		

ปริมาตร (มิลลิลิตร)	ครั้งที่ 1		ครั้งที่ 2	
	เวลา (นาที)	ฟลักซ์ (l/m ² -h)	เวลา (นาที)	ฟลักซ์ (l/m ² -h)
5	1.13	88.50	1.43	69.93
10	4.10	48.78	3.85	51.95
15	8.22	36.50	7.63	39.32
20	11.92	33.56	10.92	36.63
25	15.58	32.09	15.15	33.00
30	19.50	30.77	18.72	32.05
35	23.83	29.37	22.65	30.91
40	27.83	28.75	26.00	30.77
45	31.55	28.53	30.28	29.72
50	35.47	28.19	33.47	29.88
55	38.75	28.39	37.07	29.67
60	42.68	28.12	40.53	29.61
65	46.85	27.75	44.43	29.26
70	50.67	27.63	48.28	29.00
75	53.83	27.87	51.45	29.15
80	57.30	27.92	55.50	28.83
85	61.50	27.64	59.42	28.61
90	65.00	27.69	63.28	28.45
95	69.40	27.38	67.33	28.22
100	73.58	27.18	72.00	27.78

ตารางที่ จ.7 แสดงค่าฟลักซ์ในการกรองสุราแช่ด้วยเมมเบรนขนาดรูพรุน MWCO 100,000 ดัลดัน
ที่ความดัน 1.0, 1.5 และ 2.0 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร

ภาวะการทดลอง Dead-end Ultrafiltration cell

เมมเบรน : Polysulfone (MWCO 100,000 Da)
เส้นผ่านศูนย์กลาง : 0.076 m
พื้นที่ : 0.005 m²
ความเร็วรอบ : 400 rpm
อุณหภูมิห้อง

ปริมาณ (มิลลิลิตร)	ความดัน					
	1.0 kg/cm ²		1.5 kg/cm ²		2.0 kg/cm ²	
	เวลา(นาที)	ฟลักซ์ (l/m ² -h)	เวลา (นาที)	ฟลักซ์ (l/m ² -h)	เวลา (นาที)	ฟลักซ์ (l/m ² -h)
5	0.92	65.22	0.93	64.52	0.33	181.82
10	2.65	45.28	2.33	51.50	1.08	111.11
15	4.95	36.36	4.58	39.30	2.43	74.07
20	6.90	34.78	6.47	37.09	3.97	60.45
25	9.55	31.41	8.75	34.29	5.90	50.85
30	11.90	30.25	10.67	33.74	7.82	46.04
35	15.17	27.69	12.95	32.43	10.08	41.67
40	17.60	27.27	15.30	31.37	12.08	39.74
45	20.20	26.73	17.68	30.54	14.05	38.43
50	23.10	25.97	20.22	29.67	16.32	36.76
55	25.45	25.93	22.77	28.99	18.67	35.35
60	28.23	25.50	24.97	28.83	20.78	34.65
65	31.17	25.02	27.38	28.49	23.25	33.55
70	33.20	25.30	29.38	28.59	25.12	33.44
75	36.25	24.83	32.08	28.05	27.33	32.93
80	38.90	24.68	34.03	28.21	29.47	32.58
85	41.62	24.51	36.55	27.91	31.80	32.08
90	44.37	24.34	38.37	28.15	33.88	31.88
95	47.15	24.18	41.07	27.76	36.52	31.22
100	49.72	24.14	43.50	27.59	38.50	31.17

ตารางที่ จ.8 แสดงค่าฟลักซ์ของเมมเบรนในการกรองสุราแช่ด้วยเมมเบรนขนาดรูพรุน MWCO 100,000 ดัลตัน ความดัน 2.0 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้อง

ภาวะการทดลอง Dead-end Ultrafiltration cell

เมมเบรน : Polysulfone (MWCO 100,000 Da)
 เส้นผ่านศูนย์กลาง : 0.076 m
 พื้นที่ : 0.005 m²
 ความดัน : 2.0 kg/cm²
 ความเร็วรอบ : 400 rpm

ปริมาตร (มิลลิลิตร)	อุณหภูมิห้อง		10 องศาเซลเซียส	
	เวลา (นาที)	ฟลักซ์ (l/m ² -h)	เวลา (นาที)	ฟลักซ์ (l/m ² -h)
5	0.33	181.82	0.50	120.00
10	1.08	111.11	1.42	84.51
15	2.43	74.07	2.83	63.60
20	3.97	60.45	5.65	42.48
25	5.90	50.85	8.07	37.17
30	7.82	46.04	10.58	34.03
35	10.08	41.67	12.67	33.15
40	12.08	39.74	15.30	31.37
45	14.05	38.43	17.35	31.12
50	16.32	36.76	19.58	30.64
55	18.67	35.35	22.05	29.93
60	20.78	34.65	24.25	29.69
65	23.25	33.55	27.00	28.89
70	25.12	33.44	29.00	28.97
75	27.33	32.93	30.93	29.10
80	29.47	32.58	33.38	28.76
85	31.80	32.08	35.45	28.77
90	33.88	31.88	37.42	28.86
95	36.52	31.22	39.75	28.68
100	38.50	31.17	42.00	28.57

ตารางที่ จ.9 แสดงน้ำหนักเซลล์แห้งและค่าอัตราการเจริญจำเพาะของเชื้อ *Bacillus cereus* ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร Nutrient broth

ชั่วโมงที่	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	อัตราการเจริญจำเพาะ (μ : ชั่วโมง ⁻¹)
0	0.13	0
3	0.19	0.126
6	0.62	0.260
9	2.70	0.337
12	5.25	0.308
15	5.45	0.249
18	5.00	0.203
21	4.48	0.169
24	4.50	0.148

ตารางที่ จ.10 แสดงการเปลี่ยนแปลงของฟลักซ์ในการกรองสุราแช่ ที่มีเชื้อจุลินทรีย์ความเข้มข้น
1.0 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร)

ภาวะการทดลอง Dead-end Ultrafiltration cell

เมมเบรน	:	Polysulfone (MWCO 100,000 Da)
เส้นผ่านศูนย์กลาง	:	0.076 m
พื้นที่	:	0.005 m ²
ความดัน	:	2.0 kg/cm ²
ความเร็วรอบ	:	400 rpm
อุณหภูมิห้อง		

ปริมาตร (มิลลิลิตร)	เวลา (นาที)	ฟลักซ์(l/m ² -h)
5	0.67	89.55
10	1.92	62.50
15	4.08	44.12
20	7.02	34.19
25	9.00	33.33
30	11.00	32.73
35	13.55	31.00
40	15.78	30.42
45	18.72	28.85
50	21.42	28.01
55	24.65	26.77
60	27.43	26.25
65	30.75	25.37
70	32.87	25.56
75	36.08	24.94
80	39.58	24.25
85	42.75	23.86
90	45.58	23.69
95	49.17	23.18
100	52.33	22.93

ตารางที่ จ.11 แสดงการเปลี่ยนแปลงของฟลักซ์ในการกรองสุราแช่ ที่มีเชื้อจุลินทรีย์ความเข้มข้น
5.0 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร)

ภาวะการทดลอง Dead-end Ultrafiltration cell

เมมเบรน	:	Polysulfone (MWCO 100,000 Da)
เส้นผ่านศูนย์กลาง	:	0.076 m
พื้นที่	:	0.005 m ²
ความดัน	:	2.0 kg/cm ²
ความเร็วรอบ	:	400 rpm
อุณหภูมิห้อง		

ปริมาตร (มิลลิลิตร)	เวลา (นาที)	ฟลักซ์(l/m ² -h)
5	0.80	75.00
10	1.50	80.00
15	3.08	58.44
20	4.50	53.33
25	6.17	48.62
30	7.63	47.18
35	9.57	43.89
40	11.62	41.31
45	13.60	39.71
50	15.53	38.63
55	17.63	37.44
60	19.87	36.24
65	21.95	35.54
70	23.97	35.04
75	26.10	34.48
80	28.50	33.68
85	30.75	33.17
90	32.67	33.06
95	35.25	32.34
100	37.27	32.20

ตารางที่ จ.12 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในตัวอย่างสุราแช่ที่กรองผ่านเมมเบรน ด้วยกระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน เป็นระยะเวลา 30 วัน

ระยะเวลา (วัน)	ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ (cfu/ml)				
	Control(Sato+UF)	Sato(UF)+Bac1%	Sato(UF)+ Bac1%+UF	Sato(UF)+Bac5%	Sato(UF)+Bac5%+UF
0	0	3.85E+04	0	1.03E+05	0
6	0	1.96E+04	0	7.20E+04	0
10	0	1.56E+04	0	1.11E+05	0
16	0	1.20E+04	0	1.50E+05	0
20	0	1.07E+04	0	1.15E+05	0
26	0	8.50E+03	0	4.20E+04	0
30	0	8.30E+03	0	3.45E+04	0

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ จ.13 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณของแข็งทั้งหมดในตัวอย่างสุราเซ่ ที่กรองผ่าน
เมมเบรน ด้วยกระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน เป็นระยะเวลา 30 วัน

ระยะเวลา (วัน)	ปริมาณของแข็งทั้งหมด (องศาบริกซ์)				
	Control(Sato+UF)	Sato(UF)+Bac1%	Sato(UF)+ Bac1%+UF	Sato(UF)+Bac5%	Sato(UF)+Bac5%+UF
0	22.0	21.6	21.6	20.6	20.8
2	22.0	21.6	21.6	20.6	20.8
4	22.0	21.4	21.4	20.8	20.6
6	21.4	21.4	21.4	20.8	20.6
8	21.6	21.4	21.4	21.0	20.6
10	21.6	21.4	21.4	21.0	20.6
12	21.8	21.6	21.2	21.0	20.6
14	22.0	21.8	21.4	21.0	20.8
16	21.8	21.8	21.6	21.0	21.0
18	22.0	21.6	21.6	21.0	20.8
20	22.0	21.6	21.8	21.0	21.0
22	21.8	21.8	21.4	21.0	21.0
24	22.0	22.0	21.6	21.0	21.0
26	22.0	22.0	21.8	21.0	21.0
28	22.0	22.0	21.8	21.0	21.0
30	22.0	22.0	21.6	21.0	21.0

ตารางที่ จ.14 แสดงการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรดค้างในตัวอย่างสุราแช่ที่กรองผ่านเมมเบรน ด้วยกระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน เป็นระยะเวลา 30 วัน

ระยะเวลา (วัน)	ค่าความเป็นกรดค้าง				
	Control(Sato+UF)	Sato(UF)+Bac1%	Sato(UF)+ Bac1%+UF	Sato(UF)+Bac5%	Sato(UF)+Bac5%+UF
0	3.52	3.53	3.53	3.54	3.53
2	3.52	3.53	3.52	3.54	3.53
4	3.53	3.52	3.53	3.55	3.54
6	3.53	3.51	3.52	3.53	3.54
8	3.52	3.51	3.53	3.53	3.54
10	3.52	3.52	3.52	3.55	3.53
12	3.52	3.52	3.53	3.55	3.53
14	3.52	3.52	3.53	3.54	3.53
16	3.52	3.53	3.52	3.54	3.54
18	3.52	3.52	3.53	3.54	3.55
20	3.52	3.52	3.53	3.55	3.55
22	3.53	3.52	3.53	3.54	3.55
24	3.52	3.52	3.53	3.55	3.55
26	3.53	3.53	3.53	3.56	3.55
28	3.53	3.53	3.53	3.56	3.55
30	3.54	3.53	3.53	3.57	3.57

ตารางที่ จ.15 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดทั้งหมดในตัวอย่างสุราแช่ที่กรองผ่านเมมเบรน ด้วยกระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน เป็นระยะเวลา 30 วัน

ระยะเวลา (วัน)	ปริมาณกรดทั้งหมด (กรัม/100 มิลลิลิตร)				
	Control(Sato+UF)	Sato(UF)+Bac1%	Sato(UF)+ Bac1%+UF	Sato(UF)+Bac5%	Sato(UF)+Bac5%+UF
0	1.26	1.35	1.17	1.26	1.26
2	1.26	1.35	1.17	1.26	1.26
4	1.26	1.26	1.26	1.17	1.26
6	1.26	1.26	1.35	1.26	1.17
8	1.17	1.26	1.26	1.17	1.17
10	1.22	1.26	1.22	1.26	1.26
12	1.26	1.26	1.22	1.26	1.22
14	1.26	1.22	1.26	1.26	1.22
16	1.26	1.35	1.31	1.26	1.22
18	1.26	1.35	1.26	1.26	1.35
20	1.35	1.22	1.26	1.17	1.17
22	1.26	1.26	1.26	1.35	1.26
24	1.26	1.26	1.35	1.26	1.26
26	1.35	1.35	1.26	1.35	1.26
28	1.35	1.31	1.31	1.26	1.26
30	1.35	1.35	1.35	1.26	1.26

ตารางที่ จ.16 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอลกอฮอล์ในตัวอย่างสุราแช่ที่กรองผ่านเมมเบรน
ด้วยกระบวนการอัลตราฟิลเทรชัน เป็นระยะเวลา 30 วัน

ระยะเวลา (วัน)	ปริมาณแอลกอฮอล์ (เปอร์เซ็นต์)				
	Control(Sato+UF)	Sato(UF)+Bac1%	Sato(UF)+ Bac1%+UF	Sato(UF)+Bac5%	Sato(UF)+Bac5%+UF
0	-	-	-	-	-
2	7.86	7.74	7.84	7.78	7.57
4	7.90	8.00	7.81	7.62	7.40
6	7.76	7.77	7.65	7.54	7.24
8	7.64	7.71	7.59	7.51	7.39
10	7.62	7.61	7.81	7.40	7.27
12	7.68	7.68	7.41	7.38	7.16
14	7.88	7.67	7.54	7.44	7.54
16	7.96	7.48	7.75	7.58	7.45
18	7.86	8.07	7.92	7.59	7.53
20	8.20	8.16	8.13	7.89	7.85
22	7.98	8.11	7.83	8.15	7.89
24	8.03	8.16	8.03	7.81	7.62
26	7.81	7.81	7.54	7.73	7.53
28	7.90	7.73	7.72	7.51	7.43
30	7.88	7.97	7.96	8.10	7.58

ตารางที่ จ.17 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่างสุราแช่ที่กรองผ่านเมมเบรน ด้วยกระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน เป็นระยะเวลา 30 วัน

ระยะเวลา (วัน)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)				
	Control(Sato+UF)	Sato(UF)+Bac1%	Sato(UF)+ Bac1%+UF	Sato(UF)+Bac5%	Sato(UF)+Bac5%+UF
0	39.12	40.23	40.12	39.97	39.03
2	38.78	40.03	40.20	39.85	37.48
4	38.65	39.87	39.98	39.47	37.95
6	38.52	39.63	39.72	39.90	37.76
8	38.77	38.78	39.22	39.64	37.53
10	38.45	39.67	38.56	39.55	36.72
12	38.56	39.34	38.23	39.78	36.72
14	38.78	39.66	38.87	39.23	37.76
16	38.64	38.56	38.94	38.93	37.70
18	37.98	38.54	38.77	39.13	37.61
20	38.24	38.78	37.67	39.21	37.07
22	37.78	39.34	37.93	39.45	37.01
24	37.90	39.28	37.87	39.56	37.87
26	37.92	39.47	37.00	38.78	38.19
28	37.78	38.89	38.50	39.22	37.76
30	37.92	38.72	38.39	39.70	37.87

ตารางที่ จ.18 แสดงผลของปริมาณกลูโคสต่อการเปลี่ยนแปลงของเชื้อจุลินทรีย์ในตัวอย่างสุราแช่
เป็นระยะเวลา 30 วัน

ระยะเวลา (วัน)	ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ (cfu/ml)		
	Control(Sato+UF)	Sato(UF)+Bac5%+Glucose 3%(w/v)	Sato(UF)+Bac5%+UF+Glucose 3%(w/v)
0	0	2.20E+05	0
6	0	2.50E+04	0
10	0	2.10E+04	0
16	0	1.60E+04	0
20	0	1.10E+04	0
26	0	9.30E+03	0
30	0	4.80E+03	0

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ จ.19 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณของแข็งทั้งหมดในตัวอย่างสุราแช่ที่เติมกลูโคส ความเข้มข้น 3.0 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) เป็นระยะเวลา 30 วัน

ระยะเวลา (วัน)	ปริมาณของแข็งทั้งหมด (องศาบริกซ์)		
	Control(Sato+UF)	Sato(UF)+Bac5%+Glucose 3%(w/v)	Sato(UF)+Bac5%+UF+Glucose 3%(w/v)
0	22.0	22.8	22.8
2	22.0	22.8	22.8
4	22.0	22.8	22.8
6	21.4	22.8	22.8
8	21.6	22.6	22.8
10	21.6	22.6	22.8
12	21.8	22.6	22.8
14	22.0	22.6	22.8
16	21.8	22.6	22.8
18	22.0	22.6	22.6
20	22.0	22.6	22.6
22	21.8	22.6	22.6
24	22.0	22.6	22.6
26	22.0	22.6	22.6
28	22.0	22.6	22.6
30	22.0	22.6	22.6

ตารางที่ จ.20 แสดงการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรดค้างในตัวอย่างสุราแช่ที่เติมกลูโคสความเข้มข้น 3.0 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) เป็นระยะเวลา 30 วัน

ระยะเวลา (วัน)	ค่าความเป็นกรดค้าง		
	Control(Sato+UF)	Sato(UF)+Bac5%+Glucose 3%(w/v)	Sato(UF)+Bac5%+UF+Glucose 3%(w/v)
0	3.52	3.56	3.52
2	3.52	3.56	3.51
4	3.53	3.56	3.50
6	3.53	3.57	3.52
8	3.52	3.57	3.50
10	3.52	3.56	3.52
12	3.52	3.56	3.53
14	3.52	3.60	3.54
16	3.52	3.59	3.52
18	3.52	3.59	3.50
20	3.52	3.61	3.54
22	3.53	3.61	3.56
24	3.52	3.61	3.57
26	3.53	3.61	3.58
28	3.53	3.60	3.58
30	3.54	3.61	3.58

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ จ.21 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดทั้งหมดในตัวอย่างสุราแช่ที่เติมกลูโคสความเข้มข้น 3.0 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) เป็นระยะเวลา 30 วัน

ระยะเวลา (วัน)	ปริมาณกรดทั้งหมด (กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร)		
	Control(Sato+UF)	Sato(UF)+Bac5%+Glucose 3%(w/v)	Sato(UF)+Bac5%+UF+Glucose 3%(w/v)
0	1.26	1.35	1.17
2	1.26	1.26	1.17
4	1.26	1.26	1.17
6	1.26	1.26	1.26
8	1.17	1.17	1.17
10	1.22	1.35	1.17
12	1.26	1.26	1.17
14	1.26	1.26	1.17
16	1.26	1.26	1.17
18	1.26	1.26	1.17
20	1.35	1.26	1.13
22	1.26	1.26	1.13
24	1.26	1.26	1.13
26	1.35	1.26	1.13
28	1.35	1.26	1.13
30	1.35	1.26	1.13

ตารางที่ จ.22 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่างสุราแช่ที่เติมกลูโคสความเข้มข้น 3.0 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) เป็นระยะเวลา 30 วัน

ระยะเวลา (วัน)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)		
	Control(Sato+UF)	Sato(UF)+Bac5%+Glucose 3%(w/v)	Sato(UF)+Bac5%+UF+Glucose 3%(w/v)
0	39.12	60.93	60.63
2	38.78	61.45	62.04
4	38.65	60.93	60.88
6	38.52	61.29	61.91
8	38.77	60.52	61.81
10	38.45	60.78	61.14
12	38.56	61.96	63.51
14	38.78	62.17	62.43
16	38.64	60.68	61.93
18	37.98	60.73	61.65
20	38.24	61.04	62.68
22	37.78	60.78	61.81
24	37.90	60.73	61.45
26	37.92	60.42	62.89
28	37.78	60.29	62.60
30	37.92	60.49	62.39

ตารางที่ จ.23 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอลกอฮอล์ในตัวอย่างสุราเซ่ที่เติมกลูโคสความเข้มข้น 3.0 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) เป็นระยะเวลา 30 วัน

ระยะเวลา (วัน)	ปริมาณแอลกอฮอล์ (เปอร์เซ็นต์)		
	Control(Sato+UF)	Sato(UF)+Bac5%+Glucose 3%(w/v)	Sato(UF)+Bac5%+UF+Glucose 3%(w/v)
0	-	-	-
2	7.86	8.10	7.87
4	7.90	8.21	7.42
6	7.76	8.23	7.39
8	7.64	7.86	7.84
10	7.62	8.41	7.38
12	7.68	8.43	7.46
14	7.88	8.64	7.95
16	7.96	7.99	7.7
18	7.86	8.61	7.33
20	8.20	8.51	7.74
22	7.98	8.03	7.43
24	8.03	7.94	7.6
26	7.81	8.55	7.72
28	7.90	7.83	7.55
30	7.88	7.74	7.43

ตารางที่ จ.24 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในตัวอย่างสุราแช่ ที่มีการเติมอากาศ
บริสุทธิ์

ระยะเวลา (วัน)	ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ (cfu/ml)		
	Control(Sato+UF)	Sato(UF)+Bac5%+DO	Sato(UF)+Bac5%+UF+DO
0	0	1.50E+07	0
3	0	1.20E+06	0
6	0	1.10E+06	0
9	0	1.00E+06	0
12	0	7.30E+05	0
15	0	1.10E+06	0
18	0	6.80E+05	0
21	0	5.70E+05	0
24	0	5.00E+05	0
27	0	4.70E+05	0
30	0	3.80E+05	0

ตารางที่ จ.25 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณของแข็งทั้งหมดในตัวอย่างสุราแช่ ที่มีการเติม
อากาศบริสุทธิ์

ระยะเวลา (วัน)	ปริมาณของแข็งทั้งหมด (องศาบริกซ์)	
	Sato(UF)+Bac5%+DO	Sato(UF)+Bac5%+UF+DO
0	23.4	22.4
3	23.4	22.4
6	23.4	22.4
9	23.4	22.4
12	23.4	22.4
15	23.4	22.4
18	23.4	22.4
21	23.4	22.4
24	23.4	22.4
27	23.4	22.4
30	23.4	22.4

ตารางที่ จ.26 แสดงการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรดค้างในตัวอย่างสุราแช่ ที่มีการเติมอากาศ
บริสุทธิ์

ระยะเวลา (วัน)	ค่าความเป็นกรดค้าง	
	Sato(UF)+Bac5%+DO	Sato(UF)+Bac5%+UF+DO
0	3.54	3.52
3	3.55	3.52
6	3.54	3.52
9	3.54	3.52
12	3.54	3.52
15	3.55	3.53
18	3.55	3.53
21	3.55	3.53
24	3.55	3.54
27	3.54	3.53
30	3.54	3.53

ตารางที่ จ.27 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดทั้งหมดในตัวอย่างสุราแช่ ที่มีการเติมอากาศ
บริสุทธิ์

ระยะเวลา (วัน)	ปริมาณกรดทั้งหมด (กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร)	
	Sato(UF)+Bac5%+DO	Sato(UF)+Bac5%+UF+DO
0	1.17	1.17
3	1.17	1.17
6	1.26	1.17
9	1.26	1.22
12	1.31	1.22
15	1.31	1.26
18	1.31	1.22
21	1.31	1.26
24	1.31	1.26
27	1.31	1.26
30	1.31	1.26

ตารางที่ จ.28 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่างสุราแช่ ที่มีการเติมอากาศ
บริสุทธิ์

ระยะเวลา (วัน)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	
	Sato(UF)+Bac5%+DO	Sato(UF)+Bac5%+UF+DO
0	38.77	38.21
3	39.80	40.45
6	38.28	38.67
9	38.10	37.49
12	37.36	37.17
15	37.75	36.45
18	37.89	36.72
21	37.14	39.73
24	39.11	39.85
27	38.47	36.87
30	37.92	37.23

ตารางที่ จ.29 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณออกซิเจนละลายในตัวอย่างสุราแช่ ที่มีการเติม
อากาศบริสุทธิ์

ระยะเวลา (วัน)	ปริมาณออกซิเจนละลาย (มิลลิกรัมต่อลิตร)		
	Control(Sato+UF)	Sato(UF)+Bac5%+DO	Sato(UF)+Bac5%+UF+DO
0	2.83	3.67	3.74
3	2.38	3.33	3.56
6	2.34	3.28	3.34
9	2.28	3.17	3.24
12	2.42	3.14	3.13
15	2.64	3.10	3.17
18	2.27	2.80	3.00
21	2.44	2.63	3.09
24	2.35	2.48	2.88
27	2.30	2.54	3.07
30	2.27	2.43	3.04

ตารางที่ จ.30 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอลกอฮอล์ในตัวอย่างสุราแช่ ที่มีการเติมอากาศ
บริสุทธิ์

ระยะเวลา (วัน)	ปริมาณแอลกอฮอล์ (เปอร์เซ็นต์)		
	Control(Sato+UF)	Sato(UF)+Bac5%+DO	Sato(UF)+Bac5%+UF+DO
0	9.42	9.37	9.46
3	9.08	9.13	9.35
6	9.46	9.50	9.42
9	9.46	9.14	9.44
12	9.27	9.17	9.31
15	9.18	9.11	9.15
18	9.15	8.94	8.74
21	9.09	8.99	8.44
24	9.27	8.34	8.14
27	9.13	8.32	7.88
30	8.63	8.04	7.09

ภาคผนวก จ

ตัวอย่างการคำนวณ

1. การคำนวณฟลักซ์ทั้งหมด

ฟลักซ์ทั้งหมด คือ ปริมาตรของเพอมีเอท (ลิตร) หารด้วยพื้นที่เมมเบรน (ตารางเมตร) หารด้วยเวลา (ชั่วโมง)

จากการทดลอง (ตารางที่ จ.4)

	ปริมาตรของเพอมีเอท	=	5.0/1000	=	0.005 ลิตร
	พื้นที่ของเมมเบรน	=	0.005 ตารางเมตร		
	เวลา	=	2.68 นาที		
ดังนั้น	ฟลักซ์ทั้งหมด	=	0.005 / (0.005 x (2.68/60))		
		=	22.39 ลิตร/ตารางเมตร-ชั่วโมง		

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ข

รายงานการตรวจวิเคราะห์สุราแช่

1. รายงานผลการตรวจเชื้อจุลินทรีย์

ลำดับที่ 49-7648
หน้าที่ 1 / 1

รายงานผลการตรวจวิเคราะห์
สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข
ถนนติวานนท์ อ.เมือง นนทบุรี 11000

วันที่รับตัวอย่าง : 31 มกราคม 2549 วันที่ทำการวิเคราะห์ : 31 มกราคม 2549
ผู้ส่งตรวจ : ตง เป็นทศ โนโตชีวภาพจุลสารลงกรณ์มหาวิทยาลัย
รายละเอียดสิ่งส่งตรวจ : เชื้อบริสุทธ์
วัตถุประสงค์ : เพื่อตรวจยืนยันการวินิจฉัยเชื้อ
วิธีทดสอบ : การเพาะเชื้อ และทดสอบทางชีวเคมี
วันที่รายงานผล : 17 กุมภาพันธ์ 2549
ผลการตรวจวิเคราะห์ :

หมายเลขที่วิเคราะห์	หมายเลขห้องปฏิบัติการ	รายละเอียดสิ่งส่งตรวจ	ผลการตรวจวิเคราะห์
13-49-02590	GP 450/49	เชื้อจุลินทรีย์จากสุราแช่ที่เสียแล้ว Lab No.2 เชื้อจุลินทรีย์	<i>Bacillus cereus</i>
13-49-02591	GP 469/49	เชื้อจุลินทรีย์จากสุราแช่ที่เสียแล้ว Lab No.3 เชื้อจุลินทรีย์	<i>Bacillus cereus</i>

..... ผู้วิเคราะห์ (นางสาวปวีณ พงษ์รัตน์)
ตำแหน่ง นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ 5
วันที่ .../... เดือน กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2549

..... ผู้รับรองรายงานผล (นางสาววันทนา ปวีณกิตติพร)
ตำแหน่ง นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ 8 ว
วันที่ .../... เดือน กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2549

สำเนาแนบที่เรียกทั่วไป

รายงานนี้รับรองเฉพาะตัวอย่างที่ได้ทดสอบ
ห้ามนำรายงานนี้ไปทำเพิ่มเติม นอกใจ ประกาศโฆษณา

2. รายงานการตรวจวิเคราะห์สุราแช่

ผลวิเคราะห์ (หมายเลขวิเคราะห์ที่ 490843)

รายการวิเคราะห์	ผลการวิเคราะห์	วิธีวิเคราะห์
Alcohol Content , % (v/v)	9.00	AOAC 983.13 , 2000
Methyl alcohol , % (v/v)	ไม่พบ	AOAC 983.13 , 2000
Sulphur dioxide , mg/kg	ไม่พบ	AOAC , 990.28 , 2000
Benzoic acid , mg/kg	ไม่พบ	Compendium method analysis, Thailand 1 st edition 2003 , 1-12 ,1-13 , 1-14
Sorbic acid , mg/kg	ไม่พบ	Compendium method analysis, Thailand 1 st edition 2003 , 1-12 ,1-13 , 1-14
Copper , mg/kg	0.09	In house method , ICP
Iron ; mg/kg	1.64	In house method , ICP
Lead , mg/kg	น้อยกว่า 0.10	In house method , ICP
Arsenic, mg/kg	น้อยกว่า 0.10	In house method , ICP
Ferrocyanide	ไม่พบ	In house method , ICP

ผู้วิเคราะห์

ลงชื่อ ปัทมาพร วัฒนวิจิตร

(นางจันทร์สุภา วัฒนวิจิตร)

นักวิจัย ระดับ 6

ผู้รับรอง

ลงชื่อ สอภ พงษ์ศิริ

(นางมาลัย บุญรัตนกรกิจ)

หัวหน้าศูนย์บริการประกันคุณภาพอาหาร



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2/2

รายงานผลการวิเคราะห์นี้รับรองเฉพาะตัวอย่างที่ได้รับเท่านั้น และห้ามนำไปใช้ประโยชน์ในการโฆษณา
เอกสารทุกฉบับ ต้องมีตราประทับของสถาบันฯ และลงนามกำกับโดยผู้มีอำนาจ

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาว สยมพร เอี่ยมขำ เกิดวันที่ 22 มิถุนายน พ.ศ. 2524 ที่จังหวัดราชบุรี สำเร็จ การศึกษาระดับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิศวกรรมศาสตร์และ เทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยศิลปากร เมื่อปีการศึกษา 2544 ต่อมาได้เข้าศึกษาต่อใน หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2546



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย