การพัฒนาผลิตภัณฑ์ตาลหมากโดยใช้ยีสต์จากน้ำตาลโตนด

DEVELOPMENT OF TANMAK USING YEAST ISOLATED FROM PALMYRA PALM SUGAR

วิภาพรรณ เหมะธุลิน

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาคหกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีคหกรรมศาสตร์
คณะเทคโนโลยีคหกรรมศาสตร์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี
ปีการศึกษา 2564
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

การพัฒนาผลิตภัณฑ์ตาลหมากโดยใช้ยีสต์จากน้ำตาลโตนด

วิภาพรรณ เหมะธุลิน

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาคหกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีคหกรรมศาสตร์
คณะเทคโนโลยีคหกรรมศาสตร์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี
ปีการศึกษา 2564
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นงานวิจัยที่เกิดจากการค้นคว้าและวิจัย ขณะที่ข้าพเจ้าศึกษาอยู่ในคณะเทคโนโลยีคหกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ดังนั้นงานวิจัยในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ถือเป็นลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี และข้อความต่าง ๆ ในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ข้าพเจ้าขอรับรองว่าไม่มีการคัดลอกหรือนำงานวิจัยของผู้อื่นมานำเสนอในชื่อของข้าพเจ้า

This thesis consists of research materials conducted at Faculty of Home Economics, Rajamangala University of Technology Thanyaburi and hence the copyright owner. I hereby certify that the thesis does not contain any forms of plagiarism.

วิภาพรรณ

.....

(นางสาววิภาพรรณ เหมะธุลิน)

COPYRIGHT © 2021
FACULTY OF HOME ECONOMICS TECHNOLOGY
RAJAMANGALA UNIVERSITY OF TECHNOLOGY THANYABURI

ลิขสิทธิ์ พ.ศ. 2564
คณะเทคโนโลยีคหกรรมศาสตร์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การพัฒนาผลิตภัณฑ์ตาลหมากโดยใช้ยีสต์จากน้ำตาลโตนด Development of Tan Mak using yeast isolated from Palmyra Palm Sugar
ชื่อ-นามสกุล	นางสาววิภาพรรณ เหมะธุลิน
สาขาวิชา	เทคโนโลยีคหกรรมศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์เจริญ เจริญชัย, Ph.D.
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ปาลิดา ตั้งอนุรัตน์, ป.ร.ด.
ปีการศึกษา	2564

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์อรวัลภ์ อุปถัมภานนท์, ป.ร.ด.)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ดวงใจ โอชัยกุล, วท.ม.)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ปาลิดา ตั้งอนุรัตน์, ป.ร.ด.)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์เจริญ เจริญชัย, Ph.D.)

คณะเทคโนโลยีคหกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี อนุมัติวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีคณะเทคโนโลยีคหกรรมศาสตร์
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์สาคร ชลสาคร, Ph.D.)
วันที่ 9 เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2565

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การพัฒนาผลิตภัณฑ์ตาลหมากโดยใช้ยีสต์จากน้ำตาลโตนด
ชื่อ - นามสกุล	นางสาววิภาพรรณ เหมะธุลิน
สาขาวิชา	เทคโนโลยีคหกรรมศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์เจริญ เจริญชัย, Ph.D.
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ปาลิดา ตั้งอนุรัตน์, ป.ร.ด.
ปีการศึกษา	2564

บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อแยกและระบุชนิดของยีสต์ที่พบในน้ำตาลโตนด เพื่อศึกษากระบวนการหมักน้ำตาลโตนดด้วยยีสต์ธรรมชาติ การเปลี่ยนแปลงทางเคมีระหว่างการหมัก และเพื่อศึกษาการยอมรับของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์ตาลหมาก

นำน้ำตาลโตนดมาแยกและระบุชนิดของยีสต์ที่พบ ด้วยวิธีการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ D1/D2 บน 26S rRNA นำยีสต์ที่แยกได้มาหมักน้ำตาลโตนดเป็นเวลา 10 วัน วิเคราะห์การเจริญของยีสต์และคุณภาพทางเคมี ได้แก่ ปริมาณแอลกอฮอล์ ค่าความเป็นกรดด่าง และปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ และประเมินทางประสาทสัมผัสโดยผู้ทดสอบชิมจำนวน 50 คน โดยวิธี 9-Point Hedonic Scale Test ด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่นของการหมัก รสหวาน และความชอบโดยรวม วางแผนการทดลองแบบสุ่มภายในบล็อคสมบูรณ์ คัดเลือกยีสต์ที่เหมาะสมจากผลการทดลองมาศึกษาอัตราส่วนของน้ำตาลเมาต่อลูกตาล โดยแบ่งการทดลองเป็น 4 สูตร คือน้ำตาลเมาต่อลูกตาล ร้อยละ 50 : 50, 40 : 60, 30 : 70 และ 20 : 80 ประเมินทางประสาทสัมผัสโดยผู้ทดสอบชิมจำนวน 50 คน เพื่อคัดเลือกสูตรที่เหมาะสมต่อการพัฒนาผลิตภัณฑ์ตาลหมาก จากนั้นนำผลิตภัณฑ์ที่ได้มาทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคจำนวน 100 คน ด้วยวิธี Central Location Test

ผลการวิจัย พบว่าสายพันธุ์ยีสต์ที่แยกได้จากน้ำตาลโตนดมี 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *Naganishia adeliensis*, *Saccharomyces cerevisiae, Aureobasidium melanogenum* และ *Hanseniaspora guilliermondii* การวิเคราะห์การเจริญและการเปลี่ยนแปลงทางเคมีระหว่างการหมักน้ำตาลโตนดโดยยีสต์แต่ละชนิด พบว่า *S. cerevisiae* มีการเจริญมากที่สุด เท่ากับ 10.45 Log (CFU/ml) ปริมาณแอลกอฮอล์ร้อยละ 3.4 โดยปริมาตร ค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 3.4 และปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด 13 องศาบริกซ์ ผลการประเมินทางประสาทสัมผัสพบว่า การหมักด้วยสายพันธุ์ *S. cerevisiae* ได้คะแนนความชอบมากที่สุดด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่นของการหมัก รสหวาน และความชอบโดยรวม ได้

ค่าเฉลี่ยคะแนน คือ 6.48 ± 1.15, 5.78 ± 1.55, 6.82 ± 2.01, 6.64 ± 1.80 และ 6.70 ± 1.58 ตามลำดับ ผลการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของน้ำตาลเมาต่อลูกตาลในการทำผลิตภัณฑ์ตาลหมาก พบว่า สูตรที่เหมาะสมคืออัตราส่วนของน้ำตาลเมาร้อยละ 20 ต่อลูกตาลร้อยละ 80 โดยมีคะแนนความชอบเฉลี่ยด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่นของการหมัก รสหวาน และความชอบโดยรวม คือ 7.52 ± 1.95, 6.12 ± 1.39, 4.86 ± 2.08, 6.98 ± 1.60 และ 6.58 ± 1.70 ตามลำดับ เมื่อนำไปทดสอบการยอมรับของผู้บริโภค พบว่า ผู้บริโภคส่วนใหญ่ (ร้อยละ 81) มีความสนใจต่อผลิตภัณฑ์ตาลหมาก โดยให้คะแนนด้านความชอบโดยรวมเท่ากับ 8.02 ± 0.91

คำสำคัญ : ตาลโตนด น้ำตาลเมา ลูกตาล ยีสต์

Thesis Title	Development of Tan Mak Using Yeast Isolated from Palmyra Palm Sugar
Name – Surname	Miss Wipaparn Hematulin
Program	Home Economics Technology
Thesis Advisor	Assistant Professor Charoen Charoenchai, Ph.D.
Thesis Co-advisor	Assistant Professor Palida Tanganurat, Ph.D.
Academic Year	2021

ABSTRACT

This research aimed to: 1) isolate and identify the strains of yeast found in palmyra palm sugar, 2) study the fermentation process of palmyra palm sugar with natural yeast and the chemical change during fermentation, and 3) explore consumer acceptance of tan mak.

Firstly, yeast was isolated from untreated palmyra palm sugar, and the strains of yeast were identified, using the nucleotide sequencing technique on the D1/D2 domain of 26S rRNA gene. Then, each strain was used to ferment untreated palmyra palm sugar for 10 days, and the growth of the yeast was analyzed. In addition, the chemical quality of the fermented palmyra palm sugar in terms of the quantity of alcohol, the pH value, and the quantity of total soluble solids was analyzed, using the completely randomized design. With 50 untrained tasters, sensory evaluation of the fermented palmyra palm sugar was conducted using the 9-point Hedonic Scale Test to evaluate appearance, color, odor, taste, and overall liking. With the complete block randomized design, the most appropriate yeast strain was selected to ferment palmyra palm sugar to make palm wine for further investigation. Four tan mak formulas with the ratio of palm wine to flesh of young palm fruits were 50 : 50, 40 : 60, 30 : 70, and 20 : 80. Sensory evaluation by 50 untrained tasters was conducted to determine the most appropriate formula to be developed as a product of tan mak. Then, the developed product was evaluated for acceptance by 100 consumers, using Central Location Test.

The research results revealed the followings: Four yeast strains were isolated from untreated palmyra palm sugar. They were *Naganishia adeliensis, Saccharomyces cerevisiae, Aureobasidium melanogenum,* and *Hanseniaspora guilliermondii.* The analyses of yeast growth and chemical change during fermentation of palmyra palm sugar by each strain showed that *S. cerevisiae* had the greatest growth at 10.45 Log (CFU/ml), with the alcohol content at 3.4% by volume, the pH value at 3.4. and the quantity of total soluble solids of 13 °Brix. Fermentation with *S.cerevisiae* strain received the highest liking scores of appearance, color, odor, sweetness and overall liking. The mean scores were 6.48 ± 1.15, 5.78 ± 1.55, 6.82 ± 2.01, 6.64 ± 1.80, and 6.70 ± 1.58, respectively. The optimum tan mak formula with the ratio of palm wine to flesh of young palm fruit was 20 : 80 with the mean scores of appearance, color, odor, sweetness and overall liking at 7.52 ± 1.95, 6.12 ± 1.39, 4.86 ± 2.08, 6.98. ± 1.60, and 6.58 ± 1.70, respectively. When tested for consumer acceptance, it was found that most consumers (81%) were interested in the tan mak product with a mean overall liking score of 8.02 ± 0.91.

Keywords: palmyra palm, palm wine, palm fruit, yeast

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดีได้รับความกรุณาและความช่วยเหลืออย่างดียิ่งจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เจริญ เจริญชัย อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปาลิดา ตั้งอนุรัตน์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ในการให้คำปรึกษาตั้งแต่หัวข้อวิทยานิพนธ์ข้อมูล และคำแนะนำต่างๆ ซึ่งเป็นประโยชน์อย่างยิ่ง แนวทางการเขียนเนื้อหาและการวิเคราะห์ของงานวิจัย ซึ่งเป็นแรงกระตุ้นได้อย่างดียิ่ง อีกทั้งยังได้สละเวลาอันมีค่าเพื่อตรวจสอบความถูกต้องของวิทยานิพนธ์ให้เป็นอย่างดี ผู้เขียนรู้สึกซาบซึ้งใจและสำนึกในพระคุณขอกราบขอบพระคุณไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อรวัลภ์ อุปถัมภานนท์ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และรองศาสตราจารย์ดวงใจ โอชัยกุล ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก ที่ได้กรุณาชี้แนะแนวทางและคำแนะนำตลอดจนข้อสังเกตต่าง ๆ ทำให้เกิดการพัฒนาแนวความคิดและไตร่ตรองปัญหา ได้อย่างรอบคอบ จนทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความสมบูรณ์ของเนื้อหาอย่างครบถ้วน

ขอขอบคุณ หมู่บ้านน้ำตาลสด ตำบลบางคล้า อำเภอปากน้ำ จังหวัดฉะเชิงเทรา ที่ให้ความอนุเคราะห์และให้ความรู้ในส่วนของตาลโตนด

ขอบคุณสถานที่และเจ้าหน้าที่คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ที่ได้เอื้อเฟื้อสถานที่ รวมถึงอุปกรณ์ต่าง ๆ ที่ใช้ในการทดลอง และความสะดวกระหว่างการดำเนินการวิจัย

ท้ายนี้ผู้เขียนขอขอบคุณบิดา มารดา ที่ให้การอุปการะอบรมเลี้ยงดู ตลอดจนส่งเสริมการศึกษาและให้กำลังใจเป็นอย่างดี อีกทั้งขอขอบคุณเพื่อน ๆ ที่ให้การสนับสนุนและช่วยเหลือด้วยดีเสมอมา และขอขอบคุณเจ้าของผลงาน เอกสารและงานวิจัยทุกท่าน ที่ได้ให้ผู้เขียนค้นคว้าได้นำมาอ้างอิงในการวิจัย จนกระทั่งงานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

วิภาพรรณ เหมะธุลิน

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... (3)

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... (5)

กิตติกรรมประกาศ..... (7)

สารบัญ..... (8)

สารบัญตาราง..... (10)

สารบัญรูป..... (11)

บทที่ 1 บทนำ..... 12

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา..... 12

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย..... 14

1.3 สมมติฐานงานวิจัย..... 14

1.4 ขอบเขตงานวิจัย..... 14

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... 14

บทที่ 2 วรรณกรรมหรืองานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 15

2.1 ต้นตาลโตนด..... 16

2.2 การผลิตเอทานอล..... 31

2.3 การระบุชนิดของยีสต์..... 42

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 45

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย..... 49

3.1 วัตถุดิบ..... 49

3.2 อุปกรณ์ และเครื่องมือ..... 50

3.3 สารเคมี..... 51

3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ..... 52

3.5 วิธีการทดลอง..... 52

3.6 สถานที่ทำการวิจัย..... 56

บทที่ 4 ผลการทดลองและการวิจารณ์..... 57

4.1 ผลระบุชนิดของยีสต์ที่พบในน้ำตาลโตนด..... 57

4.2 ผลศึกษาการหมักน้ำตาลโตนดด้วยยีสต์ธรรมชาติ..... 58

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.3 ผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผู้ทดสอบชิมที่มีต่อน้ำตาลเมา..... 65
4.4 ผลการศึกษาสูตรที่เหมาะสมในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ตาลหมาก..... 67
4.5 ผลการทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์ตาลหมาก..... 71
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ..... 75
5.1 สรุปผลการระบุชนิดของยีสต์ที่พบในน้ำตาลโตนด..... 75
5.2 สรุปผลการหมักน้ำตาลโตนดด้วยยีสต์ธรรมชาติ..... 75
5.3 สรุปผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผู้ทดสอบชิมที่มีต่อน้ำตาลเมา.. 76
5.4 สรุปผลการศึกษาสูตรที่เหมาะสมในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ตาลหมาก..... 76
5.5 สรุปผลการทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์ตาลหมาก..... 76
5.6 ข้อเสนอแนะ..... 77
บรรณานุกรม..... 78
ภาคผนวก..... 86
ภาคผนวก ก ผลการระบุสายพันธุ์ของยีสต์..... 87
ภาคผนวก ข แบบสอบถาม..... 91
ภาคผนวก ค แบบตอบรับการตีพิมพ์เผยแพร่..... 99
ประวัติผู้เขียน..... 114

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1 ชื่อต้นตาลโตนดของแต่ละประเทศ..... 16
ตารางที่ 2.2 ส่วนประกอบของผลตาลสุกตามขนาดของผลตาลที่มีน้ำหนักผลแตกต่างกัน..... 21
ตารางที่ 2.3 ข้อมูลองค์ประกอบทางเคมีของน้ำตาลโตนด..... 23
ตารางที่ 2.4 ข้อมูลองค์ประกอบทางเคมีของไวน์ปาล์ม..... 23
ตารางที่ 2.5 สายพันธุ์ยีสต์ที่พบในน้ำตาลสดและน้ำตาลเมาของประเทศต่าง ๆ..... 25
ตารางที่ 2.6 คุณค่าทางโภชนาการของเนื้อตาลสุก 100 กรัม..... 28
ตารางที่ 2.7 คุณค่าทางโภชนาการของลูกตาล 100 กรัม..... 29
ตารางที่ 2.8 การทำงานของสารอาหารและแร่ธาตุที่จำเป็นสำหรับยีสต์..... 40
ตารางที่ 3.1 อัตราส่วนของน้ำตาลเมาต่อลูกตาล..... 56
ตารางที่ 4.1 ผลการสำรวจข้อมูลทั่วไปของผู้ทดสอบชิม..... 65
ตารางที่ 4.2 ผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผู้ทดสอบชิมที่มีต่อน้ำตาลเมา..... 67
ตารางที่ 4.3 ผลการสำรวจข้อมูลทั่วไปของผู้ทดสอบชิม..... 68
ตารางที่ 4.4 ผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผู้ทดสอบชิมในการศึกษาสูตรที่เหมาะสมในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ตาลหมาก..... 70
ตารางที่ 4.5 ผลการสำรวจข้อมูลทั่วไปของผู้บริโภค..... 72

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 2.1 ต้นตาลโตนด..... 16
รูปที่ 2.2 ลำต้นตาลโตนด..... 18
รูปที่ 2.3 ใบตาลโตนด..... 19
รูปที่ 2.4 ดอกต้นตาลโตนด (ก) ดอกตัวผู้ และ (ข) ดอกตัวเมีย..... 20
รูปที่ 2.5 ผลตาลโตนด (ก) ผลตาลอ่อน และ (ข) ผลตาลสุก..... 21
รูปที่ 2.6 เมล็ดตาลหรือลอนตาลอ่อน (ก) เมล็ดหรือลอนตาลที่ยังไม่ปอกเปลือก และ (ข) เมล็ดหรือลอนตาลที่ปอกเปลือก..... 28
รูปที่ 2.7 ลูกตาลยี..... 30
รูปที่ 2.8 สูตรโครงสร้างเอทานอล..... 31
รูปที่ 2.9 *Saccharomyces cerevisiae* ภายใต้กล้อง Scanning Electron Microscopy..... 34
รูปที่ 2.10 การแตกหน่อร่วมกับการแบ่งเซลล์ ภายใต้กล้อง Scanning Electron Microscopy (ก) การแตกหน่อขั้วเดียว และ (ข) การแตกหน่อสองขั้ว..... 36
รูปที่ 2.11 การแตกหน่อหลายขั้ว ภายใต้กล้อง Scanning Electron Microscopy..... 36
รูปที่ 3.1 น้ำตาลโตนด..... 49
รูปที่ 3.2 ลูกตาล..... 49
รูปที่ 3.3 ขั้นตอนวิธีการวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์ตาลหมาก..... 53
รูปที่ 4.1 น้ำตาลเมาจากยีสต์ 4 สายพันธุ์ (ก) *N. adeliensis* (ข) *S. cerevisiae* (ค) *A. melanogenum* และ (ง) *H. guilliermondii*..... 58
รูปที่ 4.2 กราฟการเจริญและผลวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีของยีสต์ทั้ง 4 สายพันธุ์ ที่หมักในน้ำตาล โตนด ระยะเวลาการหมัก 10 วัน (ก) แสดงการเจริญของยีสต์ในน้ำตาลโตนด (ข) แสดงปริมาณแอลกอฮอล์ (%v/v) (ค) แสดงค่าความเป็นกรดด่าง (pH) (ง) แสดงปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (°Brix)..... 60
รูปที่ 4.3 อัตราส่วนของน้ำตาลเมาต่อลูกตาล 4 สูตร (ก) สูตรที่ 1 (ข) สูตรที่ 2 (ค) สูตรที่ 3 และ (ง) สูตรที่ 4..... 68
รูปที่ 4.4 ผลทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์ตาลหมาก..... 74

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ประเทศไทยจัดอยู่ในพื้นที่เขตร้อน (Tropical Zone) ได้รับอิทธิพลจากลมมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือและตะวันออกเฉียงใต้ ที่ทำให้เกิดฝน ซึ่งเหมาะสมต่อการเพาะปลูกอาชีพเกษตรกรรมจึงเป็นอาชีพหลักของคนไทย วิถีทางการเกษตรเป็นรากฐานการดำเนินชีวิตของคนไทยโดยเฉพาะการทำนาตามไร่นามีไม้ยืนต้นที่ขึ้นอยู่ตามคันนา และเกษตรกรได้อาศัยประโยชน์ทั้งในการบริโภคและอุปโภคมาตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน คือ ต้นตาลโตนด (Palmyra Palm) [1,2] เป็นพืชในตระกูลปาล์ม (Palmaceae) ชื่อทางพฤกษศาสตร์ *Borassus flabellifer* Linn. สามารถพบได้ในเขตร้อน เช่น ประเทศอินเดีย ไทย กัมพูชา พม่า และศรีลังกา เป็นต้น [5]

ตาลโตนดเป็นต้นไม้ที่ให้น้ำตาลได้สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ทุกส่วน เช่น ลำต้นนำไปทำเสาบ้าน เนื้อผลและน้ำตาล นำไปประกอบอาหาร (ลูกตาลเชื่อม น้ำตาลโตนดสด และน้ำตาลเมา) [3] ปัจจุบันวิถีชีวิตของสังคมไทยมีการเปลี่ยนแปลงไปจากอดีตแต่การผลิตน้ำตาลจากต้นไม้แบบพื้นบ้านยังคงอยู่ เนื่องจากน้ำตาลเป็นส่วนประกอบที่สำคัญในการประกอบอาหารทั้ง อาหารคาวและอาหารหวาน ส่งผลให้น้ำตาลเป็นตัวแปรสำคัญที่ทำให้ราคาสูงขึ้น จากการสำรวจจำนวนต้นตาลโตนด ในปีพ.ศ. 2545 พบว่าการปลูกต้นตาลโตนดมีจำนวนลดลงจากเดิมเมื่อปี พ.ศ. 2538 ประมาณ 200,000 ต้น [4] เมื่อปี พ.ศ. 2559 มีรายงานการปลูกต้น ตาลโตนดที่จังหวัดฉะเชิงเทราเป็นจำนวน 50 ไร่ ผลผลิตที่เก็บเกี่ยวได้ประมาณ 5,500 กิโลกรัม ราคาที่เกษตรกรขายได้ประมาณ 20 บาทต่อกิโลกรัม และจังหวัดฉะเชิงเทราเป็นพื้นที่ที่มีการปลูกต้นตาลโตนดมากที่สุดเป็นอันดับ 4 ของประเทศไทย [3] ทำให้มีชุมชนที่ส่งเสริมและอนุรักษ์ตาลโตนดเพื่อประโยชน์ในการดำรงชีวิตและเป็นการสร้างเศรษฐกิจต่อชุมชน ซึ่งตำบลปากน้ำ อำเภอบางคล้า จังหวัดฉะเชิงเทรา เป็นอีกหนึ่งชุมชนที่มีชื่อเสียงในด้านการผลิตน้ำตาลโตนดสดและน้ำตาลโตนดแปรรูปเข้มข้น ผลผลิตที่ได้จากชุมชนมีคุณภาพดีและมีชื่อเสียงจึงได้รับการขนานนามว่าน้ำตาลปากน้ำ

น้ำตาลโตนดเป็นน้ำหวานที่ได้จากช่อดอกของต้นตาลโตนด ทำได้โดยการรองน้ำตาลที่ช่อดอกมีระยะเวลาในการรองน้ำหวานประมาณ 8 - 10 ชั่วโมง ซึ่งเป็นระยะเวลาที่สามารถเกิดการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในสภาวะแวดล้อมตามธรรมชาติได้ เช่น แบคทีเรีย รา และยีสต์ทำให้น้ำตาลโตนดสดเสื่อมคุณภาพเร็ว มีรสเปรี้ยว และอายุการเก็บรักษาสั้น [6] ในอดีตผู้ที่ประกอบอาชีพค้าขายน้ำตาลโตนดสด นำน้ำตาลโตนดสดมาแปรรูปโดยการนำไปหมักเป็นกระแช่หรือน้ำตาลเมา ซึ่งเป็นเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ ประเภทสุราแช่ [7] ตามพระราชบัญญัติ พ.ศ. 2560 เล่ม 134 ตอนที่ 32 ก หมวด 2 ใบอนุญาตสำหรับสินค้า สุรา ยาสูบ และไพ่ ได้ให้ความหมาย “สุราแช่” ไว้ว่า สุราที่ไม่ได้กลั่น และหมายความรวมถึงสุราแช่ที่ได้ผสมกับสุรากลั่นแล้ว แต่ยังมีแอลกอฮอล์ไม่เกินสิบห้าดีกรีด้วย ซึ่งพระราชบัญญัติสุราตามมาตรา 153 ได้กล่าวไว้ว่า ผู้ใดประสงค์จะผลิตสุราหรือมีเครื่องกลั่นสำหรับผลิตสุราไว้ในครอบครองให้ยื่นขออนุญาตต่ออธิบดี และต้องปฏิบัติตามหลักเกณฑ์ วิธีการ และเงื่อนไขที่อธิบดีกำหนด [7] จึงทำให้ผู้ประกอบการต้องยกเลิกการขายน้ำตาลเมา ส่งผลต่อรายได้ภายในครัวเรือนที่ลดลง เนื่องจากน้ำตาลเมาเป็นเครื่องดื่มที่ผู้ประกอบการสามารถทำง่าย ต้นทุนต่ำ และขายได้ในราคาสูง

ลูกตาลหรือลอนตาลคือเมล็ดที่อยู่ภายในผลตาล มีลักษณะเป็นวุ้นใส [8] เป็นผลผลิตที่ได้จากต้นตาลโตนดซึ่งเป็นที่นิยมในการนำมาประกอบอาหารทั้งอาหารคาวและอาหารหวาน ให้ผลผลิตตลอดปี มีมากในเดือนมกราคม - กุมภาพันธ์ ระยะเวลาตั้งแต่ออกดอกจนกระทั่งเก็บผลอ่อนประมาณ 75 ถึง 80 วัน จึงสามารถนำมาบริโภคได้ [9] ส่วนใหญ่นิยมบริโภคในรูปแบบลูกตาลสด แต่มีนำไปแปรรูปทำลูกตาลลอยแก้ว เครื่องดื่มน้ำลูกตาล คุณค่าทางโภชนาการอาหารของลูกตาล100 กรัม ให้สารอาหารแก่ร่างกายได้ เช่น ฟอสฟอรัส คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และใยอาหาร [10] อีกทั้งยังมีคุณประโยชน์ที่สามารถลดอุณหภูมิภายในร่างกาย บรรเทาอาการไอเรื้อรัง ละลายเสมหะ และแก้ไขตัวร้อนได้ [11] สอดคล้องงานวิจัยของ Thammarutwasik et al., [36] เกี่ยวกับลูกตาลจัดเป็นส่วนของพืชที่มีปริมาณสารสำคัญที่มีสมบัติเป็นพรีไบโอติกโดยมีองค์ประกอบของ Indigestible Polysaccharides ที่มีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติกในปริมาณ 334.87 mg/g dry extract

ผู้วิจัยจึงมีแนวคิดในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ “ตาลหมาก” โดยนำองค์ความรู้ทางวิทยาศาสตร์เลือกวิธีการแปรรูปผลผลิตจากตาลโตนด เพื่อให้สามารถใช้งานได้จริงในชุมชน เป็นการเพิ่มมูลค่าให้แก่ผลิตภัณฑ์ นำไปสู่การค้าขายในรูปแบบใหม่ที่อาจส่งผลต่อการขยายผลิตภัณฑ์ให้เข้าสู่ระบบอุตสาหกรรมได้ อีกทั้งยังเป็นการอนุรักษ์ต้นตาลโตนดเพื่อให้อยู่คู่ชุมชนต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อแยกและระบุสายพันธุ์ของยีสต์ที่พบในน้ำตาลโตนด

1.2.2 เพื่อศึกษากระบวนการหมักน้ำตาลโตนดด้วยยีสต์ธรรมชาติ และวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

1.2.3 เพื่อทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์ตาลหมาก

1.3 สมมติฐานงานวิจัย

1.3.1 ยีสต์จากธรรมชาติสามารถหมักน้ำตาลโตนดให้ได้แอลกอฮอล์

1.3.2 ผลิตภัณฑ์ตาลหมากได้รับการยอมรับจากผู้บริโภคไม่น้อยกว่าร้อยละ 70

1.4 ขอบเขตงานวิจัย

หมักน้ำตาลโตนดด้วยยีสต์ที่คัดเลือกจากน้ำตาลโตนดได้น้ำตาลเมา นำไปประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส โดยผู้ทดสอบชิมที่ไม่ได้ผ่านการฝึกฝนจำนวน 50 คน โดยวิธี 9 Point Hedonic Scale Test จากนั้นศึกษาสูตรที่เหมาะสมในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ตาลหมาก และทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคด้วยวิธี Central Location Test โดยวิธี 9 Point Hedonic Scale Test จากผู้บริโภคที่ไม่ได้ผ่านการฝึกฝนจำนวน 100 คน

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 สร้างมูลค่าเพิ่มจากการแปรรูปตาลโตนดให้แก่เกษตรกร

1.5.2 ได้ผลิตภัณฑ์ใหม่ที่ผู้บริโภคให้การยอมรับ และสามารถจำหน่ายในท้องตลาดได้

บทที่ 2
วรรณกรรมหรืองานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การวิจัยเรื่องการพัฒนาผลิตภัณฑ์ตาลหมากโดยใช้ยีสต์จากน้ำตาลโตนด มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการแยกและระบุสายพันธุ์ของยีสต์ที่พบในน้ำตาลโตนด ศึกษากระบวนการหมักน้ำตาลโตนดด้วยยีสต์ธรรมชาติ และวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี และเพื่อทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์ตาลหมาก ผู้วิจัยได้ศึกษาเอกสารหรืองานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ดังสาระสำคัญต่อไปนี้

2.1 ต้นตาลโตนด

- 2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์
- 2.1.2 พันธุ์ของตาลโตนดในประเทศไทย
- 2.1.3 น้ำตาลโตนด
- 2.1.4 ลูกตาล

2.2 การผลิตเอทานอล

- 2.2.1 กระบวนการผลิตเอทานอล
- 2.2.2 ประเภทการหมักเอทานอล
- 2.2.3 ยีสต์
- 2.2.4 ปัจจัยที่เกี่ยวข้องต่อกระบวนการหมักเอทานอล

2.3 การระบุชนิดของยีสต์

- 2.3.1 วิธีทางเครื่องหมายสัณฐานวิทยา
- 2.3.2 วิธีทางเครื่องหมายโมเลกุล

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ต้นตาลโตนด

2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ต้นตาลโตนด (*Borassus flabellifer* Linn.) มีชื่อสามัญภาษาอังกฤษ Palmyra Palm หรือ Fan Palm จัดอยู่ในตระกูลปาล์มพัดชนิดหนึ่ง เช่นเดียวกับต้นมะพร้าว ต้นสละ ต้นสาคู และต้นอินทผาลัม เป็นไม้ยืนต้น ลำต้นแข็งแรง มีอายุประมาณ 80 - 100 ปี เป็นพืชที่โตได้บนดินทุกชนิด ทนต่อความแห้งแล้ง และน้ำท่วม มีรากลึกไม่แตกแขนง ดังแสดงในรูปที่ 2.1 [12] พบได้ในประเทศเขตร้อน เช่น ประเทศอินเดีย ไทย กัมพูชา พม่า และศรีลังกา [5] แต่ละพื้นที่มีชื่อเรียกที่แตกต่างกันออกไป ดังแสดงในตารางที่ 2.1

รูปที่ 2.1 ต้นตาลโตนด

ที่มา : [13]

ตารางที่ 2.1 ชื่อต้นตาลโตนดของแต่ละประเทศ

ลำดับ	ประเทศ / เมือง	ชื่อต้นตาลโตนด
1	Bugis	Ta
2	Makassar	Tala’
3	Madura	Tall Tarebung
4	Bengali	Tal
5	Lombok	Tal
6	Sailan	Tal Gaba
7	Jawa Island	Tal Ental Siwalan

ตารางที่ 2.1 ชื่อต้นตาลโตนดของแต่ละประเทศ (ต่อ)

ลำดับ	ประเทศ / เมือง	ชื่อต้นตาลโตนด
8	East Nusa Tenggara	Etal Ental
9	Sumbawa	Jantal Mangilu Ta'a
10	Sasak	Duntal
11	Bali	Rontal
12	Flores	Puukon Pohon kori Koli
13	Solor	Tuak poking
14	Sampit East Kalimantan	Lontar
15	Ambon	Lontaro
16	Seram Ambon	Kolir watan
17	Kei NTT	Koli
18	Rote NTT	Tua
19	Savu NTT	Duwa
20	Kambang	Pohon daun tala
21	Dayak	Pohon Tuak
22	Melayu	Pohon Siwalan
23	Sumba	Mangito Manggito
24	Kangean	Bhughana Kara - kara
25	India	Tal Brap - Tree Palmyra Palm
26	Tamil on General	Panay - maram
27	Telegu	Tete chuttu
28	Cambodia	Domthuot
29	Vietnamese	Cay thot lot
30	England	Palmyra - palm
31	Portugal	Palmeyra

ตารางที่ 2.1 ชื่อต้นตาลโตนดของแต่ละประเทศ (ต่อ)

ลำดับ	ประเทศ / เมือง	ชื่อต้นตาลโตนด
32	Thailand	Tanta note
33	Netherlands	Jagerboom
34	Africa	African borassus

ที่มา : [37]

ส่วนประกอบของต้นตาลโตนด มีดังต่อไปนี้

2.1.1.1 ราก มีลักษณะเป็นเสี้ยนกลมยาว รวมตัวเป็นกระจุกคล้ายรากของต้นมะพร้าวแต่ลึกลงดินมากกว่าและไม่แตกแขนง [20] สามารถยึดกับดินได้ดี ช่วยให้ลำต้นแข็งแรง โค่นล้มยาก จึงไม่ส่งผลต่อต้นข้าว ทำให้เป็นที่นิยมในการปลูกเพื่อเสริมความแข็งแรงให้กับดินในการทดน้ำเข้านา [12]

2.1.1.2 ลำต้น มีลักษณะเป็นลำต้นเดี่ยวสูงประมาณ 18 - 20 เมตร เมื่อโตเต็มที่สูงประมาณ 25 - 27 เมตร หรือมากกว่า และความสูงเพิ่มปีละประมาณ 30 - 40 เซนติเมตร [20] ลำต้นตรงหรือโค้งเล็กน้อย โคนต้นอวบใหญ่ประมาณ 1 เมตร และเริ่มเรียวลงเมื่อมีความสูงประมาณ 4 เมตร เส้นรอบวงประมาณ 40 เซนติเมตร เปลือกลำต้นมีผิวขรุขระสีเขียวถึงดำเป็นวงซ้อน เสี้ยนแข็ง เนื้อไม้ภายนอกแข็ง [12] ดังแสดงในรูปที่ 2.2 เมื่อต้นตาลมีอายุที่จัดประมาณ 50 ปีขึ้นไปสามารถนำเปลือกนอกมาแปรรูปได้ไม้กระดานขนาดหน้า 4 - 6 นิ้ว หรือนำมาทำเฟอร์นิเจอร์ได้ [20]

รูปที่ 2.2 ลำต้นตาลโตนด

ที่มา : [14]

2.1.1.3 ใบ มีขนาดใหญ่และหนา สีเขียวเข้ม คล้ายรูปพัด (Fan Leaf) ใบย่อยเรียกว่า Segment ซึ่งแตกออกจากปลายก้านใบ ตามขอบใบตาลหรือทางตาลมีหนามแหลมคมสีดำติดอยู่ยอดตาล 1 ยอด มีใบตาลประมาณ 25 - 40 ใบ ขึ้นอยู่กับอายุของตาลโตนด [20] ความกว้างของใบมีขนาดประมาณ 50 - 70 เซนติเมตร ส่วนก้านใบหรือทางตาลยาวประมาณ 1 - 2 เมตร ทางตาลจะมีลักษณะหนาโค้งตามความยาวมีหนามแหลมรอบทั้งสองด้าน ซึ่งลักษณะของหนามเป็นแบบฟันเลื่อยไม่สม่ำเสมอ ต้นตาล 1 ต้น ให้ใบตาลประมาณ 12 - 15 ใบต่อปี ผลิตใบ 1 ใบ ใช้เวลา 2 เดือนโดยประมาณ ใบแต่ละใบอายุไม่เกิน 3 ปี [12] ดังแสดงในรูปที่ 2.3 ใบตาลโตนดสามารถนำมาทำพัด โดยตัดเจียนใบแล้วเย็บเป็นพัดใบตาล อีกทั้งยังสามารถนำมาทำเป็นของที่ระลึก อาทิเช่น ทำเป็นงานสานรูปสัตว์ต่าง ๆ ขึ้นรูปเป็นกระเช้า หรือแม้กระทั่งนำมาเย็บกระทงสำหรับเพาะกล้ายาสูบ และยังนำมาทำหลังคามุงที่อยู่อาศัยได้อีกด้วย [20]

รูปที่ 2.3 ใบตาลโตนด
ที่มา : [13]

2.1.1.4 ดอก ตาลโตนดเป็นพืชที่มีดอกไม่สมบูรณ์เพศ ดอกมีลักษณะช่อ ดังแสดงในรูปที่ 2.4 ดอกตัวผู้และดอกตัวเมียอยู่คนละต้น ช่อดอกตัวผู้เรียกว่างวงตาล มีความยาว 30 - 40 เซนติเมตร แตกแขนงออกเป็น 2 - 4 งวงต่อก้านช่อ ต้นตาลตัวผู้ 1 ต้น มีช่อดอก 3 - 9 ช่อ ต้นตาลเพศเมียเรียกว่า ปลีตาลหรือกระโปง ลักษณะช่อดอกตัวเมียเป็นทะลายที่มีผลตาลเล็ก ๆ ติดอยู่ ถ้ากระโปง 1 ทะลายได้ทะลายที่มีผลใหญ่ เต้ามีขนาดใหญ่และสวย แต่ถ้าใน 1 กระโปงมีมากกว่า 1 ทะลาย ได้ผล

ขนาดเล็กคุณภาพไม่ดีเท่าที่ควร [20] ต้นตาลตัวเมียออกช่อดอกหลังต้นตาลตัวผู้ และมีจำนวนดอกน้อยกว่าตัวผู้ ต้นตาลตัวผู้และตัวเมียจะทยอยออกช่อดอกเรื่อย ๆ สามารถเก็บเก็บรองน้ำตาลได้ทั้งปี [12]

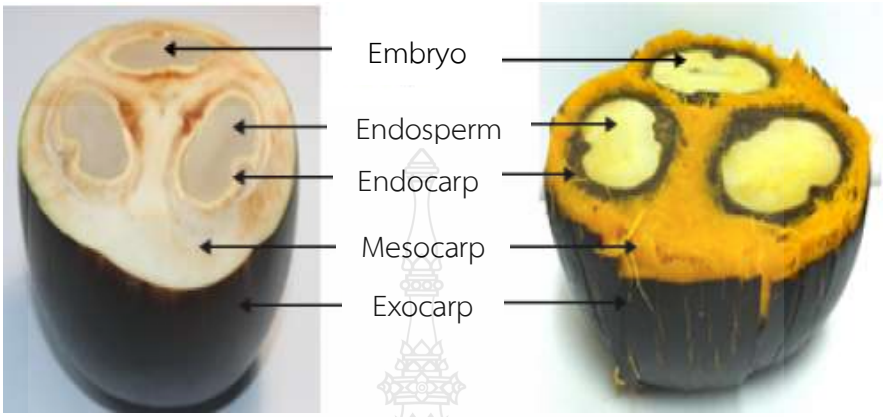
(ก) (ข)

รูปที่ 2.4 ดอกต้นตาลโตนด (ก) ดอกตัวผู้ และ (ข) ดอกตัวเมีย

ที่มา : [20]

2.1.1.5 ผล มีลักษณะเป็นผลรวม เส้นผ่าศูนย์กลาง 10 เซนติเมตร มีความยาวประมาณ 15 เซนติเมตร ระยะเก็บผลอ่อนประมาณ 75 - 80 วัน นับตั้งแต่ตาลโตนดออกดอก ผลออกรอบต้นตามใบแต่ละก้านใบออก 1 ปลี แต่ละ 1 ปลี ออกช่อดอกประมาณ 3 ช่อ 1 ช่อดอกให้ผล 1 ทะลาย แต่ละทะลายมี 10 - 20 ผล แต่ละผลมีเมล็ดตาล 3 เมล็ด ซึ่งเมล็ดนี้ถูกเรียกว่าลูกตาล มีลักษณะแบน ยาวประมาณ 4 นิ้ว หนาประมาณ 5 นิ้ว ผลอ่อนมีสีเขียว เมื่อแก่จัดเป็นสีน้ำตาลเข้มถึงดำ ผิวเป็นมัน เนื้อภายในเป็นเส้นใยละเอียด [12] เมื่อสุกเต็มที่จะเป็นสีเหลืองแก่และมีกลิ่นหอมในระยะนี้จะมีแป้งและน้ำตาลเป็นจำนวนมาก และยังมีส่วนผสมของแคโรทีนอยด์เป็นสีเหลืองที่เนื้อตาลสุกที่อยู่รวมกับเส้นใยลูกตาลนำไปใช้ในการแต่งสีขนมได้ [20] ซึ่งผลตาลโตนดแบ่งได้เป็น 5 ส่วน ได้แก่ ส่วนที่เป็นเปลือกชั้นนอกผิวเรียบมันเรียกว่า Exocarp ส่วนที่เป็นเส้นใย เรียกว่า Mesocarp ส่วนที่เป็นกะลาหุ้มเมล็ดเรียกว่า Endocarp ส่วนเนื้อเยื่อที่อยู่รอบ ๆ ต้นอ่อนในเมล็ดเพื่อสร้างอาหารเรียกว่า Endosperm และส่วนของต้นอ่อนเรียกว่า Embryo ดัง

แสดงในรูปที่ 2.5 ส่วนประกอบของผลตาลสุกตามขนาดของผลตาลที่น้ำหนักผลแตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 2.2



(ก) (ข)

รูปที่ 2.5 ผลตาลโตนด (ก) ผลตาลอ่อน และ (ข) ผลตาลสุก

ที่มา : [38]

ตารางที่ 2.2 ส่วนประกอบของผลตาลสุกตามขนาดของผลตาลที่น้ำหนักผลแตกต่างกัน

น้ำหนักตาลทั้งผล (กรัม)	ส่วนประกอบ (ร้อยละ)				
	ขั้วผล	เปลือก	เมล็ด	กากเส้นใย	เนื้อตาล
ต่ำกว่า 1,000	7.6	6.4	40.5	16.1	29.8
1,000 – 1,500	6.7	5.8	39.1	18.4	30.0
มากกว่า 3,000	4.6	5.1	39.8	19.3	31.2

ที่มา : [12]

ตาลโตนดสืบพันธุ์จากเมล็ดเพียงอย่างเดียว ทำโดยการนำเมล็ดแก่มาฝังลงในดินลึกประมาณ 10 เซนติเมตร หลังจาก 2 - 3 เดือน จะเริ่มงอกซึ่งในปีแรกมีการเจริญแบบช้า ๆ โดยเฉลี่ย 1 ปี มีใบเพียง 1 ใบเท่านั้น แต่เมื่อตาลอายุได้ประมาณ 5 - 6 ปี ลำต้น สูง 1 เมตร และสูงขึ้นเรื่อย ๆ ปีละ 1 เมตร หลังจากระยะนี้ลำต้นจะสูงขึ้นปีละ 30 เซนติเมตร เมื่อต้นตาลมีอายุ 10 - 15 ปี มีความสูงเพียง 4 - 5 เมตร และเริ่มมีการให้ดอก ตาลโตนดให้ผลครั้งแรกอายุประมาณ

15 - 20 ปี ขึ้นอยู่กับความสมบูรณ์ของดินที่ปลูก การงอกของเมล็ดหรือหน่อ (Oophoron) จะเจริญข้างล่าง ขณะที่ใบแรกของผลจะงอกมา จากนั้นส่วนที่สะสมอาหารภายในเมล็ดจะถูกย่อยเป็นคาร์โบไฮเดรต ซึ่งส่วนที่สะสมอาหารของใบเลี้ยงและคาร์โบไฮเดรตถูกนำไปสร้าง Plumule และรากแขนงให้เจริญ [20]

2.1.2 พันธุ์ของตาลโตนดในประเทศไทย

ตาลโตนดที่นิยมปลูกในประเทศไทย มี 3 พันธุ์ ได้แก่ [8]

2.1.2.1 ตาลหม้อ เป็นตาลที่มีลำต้นแข็งแรง แบ่งได้ 2 ชนิด ดังนี้

1) ตาลหม้อใหญ่ เป็นตาลที่ผลใหญ่ ผิวดำมัน มีรอยขีดตามแนวยางของผล เมล็ดหนา ซึ่ง 1 ผล มี 2 - 4 เมล็ด ใน 1 ทะลายมีประมาณ 1 - 10 ผล ให้ผลเมื่ออายุ 10 ปีขึ้นไปขึ้นอยู่ที่ความสมบูรณ์ของต้น

2) ตาลหม้อเล็ก ลักษณะคล้ายตาลหม้อใหญ่ ผลมีขนาดเล็กสีดำ ซึ่ง 1 ผล มี 2 - 4 เมล็ด ใน 1 ทะลายมีประมาณ 1 - 20 ผล ไม่เป็นที่นิยมเนื่องจากผลมีขนาดเล็ก

2.1.2.2 ตาลไข่ มีลำต้นแข็งแรง ผลขนาดเล็กสีค่อนข้างเหลืองแบ่งได้ 2 ชนิด ดังนี้

1) ตาลไข่ใหญ่ ผลมีขนาดใหญ่กว่าตาลไข่เล็ก สีค่อนข้างเหลือง 1 ทะลาย มี 1 - 10 ผล ใน 1 ผลมี 2 - 3 เต้า และออกผลเมื่ออายุ 10 ปีขึ้นไป

2) ตาลไข่เล็ก ลูกค่อนข้างเล็ก 1 ทะลายมี 1 - 20 ผล เนื่องจากผลเล็กทำให้ขนาดเต้าเล็ก และออกผลเมื่ออายุ 10 ปีขึ้นไป

2.1.2.3 ตาลพันธุ์ลูกผสม ลำต้นตรงใหญ่แข็งแรง ลูกค่อนข้างใหญ่เกือบเท่าตาล พันธุ์หม้อ สีดำผสมสีน้ำตาล ใน 1 ผลมี 2 - 3 เต้า ให้ผลประมาณ 1 - 20 ผลต่อทะลาย

2.1.3 น้ำตาลโตนด

น้ำตาลโตนดเป็นน้ำหวานที่ได้จากช่อดอกของต้นตาลโตนด [15] น้ำตาลโตนดส่วนมากนิยมนำมารับประทานในรูปแบบน้ำตาลสดพร้อมดื่ม หรือน้ำตาลสดสเตอริไลซ์ก็สามารถนำมาแปรรูปเป็นน้ำตาลโตนดเข้มข้นในรูปแบบต่าง ๆ เช่น น้ำตาลปึก น้ำตาลผงและน้ำตาลปี๊บ [8]

2.1.3.1 องค์ประกอบทางเคมี

องค์ประกอบทางเคมีของน้ำตาลโตนด ดังแสดงในตารางที่ 2.3 และองค์ประกอบทางเคมีของไวน์ปาล์ม ดังแสดงในตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.3 ข้อมูลองค์ประกอบทางเคมีของน้ำตาลโตนด

องค์ประกอบทางเคมี	ร้อยละ
วิตามินซี (Vitamin C)	13.250
น้ำตาลทั้งหมด (Total Sugar)	11.360
ค่าความเป็นกรดด่าง (pH)	7.250
Vitamin B1 (IU)	3.900
น้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing Sugar)	0.960
แร่ธาตุ (Mineral)	0.540
ไอรอน (Iron)	0.400
โปรตีน (Protein)	0.350
ฟอสฟอรัส (Phosphorus)	0.140
ไนโตรเจน (Nitrogen)	0.056

ที่มา : [39]

ตารางที่ 2.4 ข้อมูลองค์ประกอบทางเคมีของไวน์ปาล์ม

องค์ประกอบทางเคมี	ร้อยละ
แคลเซียม (Calcium)	82.300 - 101.100
โซเดียม (Sodium)	50.100 - 78.200
วิตามินซี (Vitamin C)	16.000 - 30.000
น้ำตาลซูโคส (Sucrose Sugar)	7.400 - 12.300
ทองแดง (Copper)	0.286 - 1.630
โปรตีน (Protein)	0.230 - 0.320
แมงกาเนส (Manganese)	0.140 - 0.166
แร่ธาตุ (Mineral)	0.110 - 0.410

หมายเหตุ : ปริมาณเอทานอลร้อยละ 0.54

ที่มา : [52]

2.1.3.2 การเก็บเกี่ยวน้ำตาลโตนด

น้ำตาลโตนดได้จากช่อดอกที่เรียกว่า งวงตาลและปลีตาล ที่ให้น้ำหวานได้ทั้ง 2 ชนิด มีวิธีการเก็บเกี่ยวที่คล้ายคลึงกัน แตกต่างเฉพาะไม้ที่ใช้นวดงวงและปลี ซึ่งต้นตัวผู้ใช้ไม้นวดที่แบนกว่าตัวเมีย ต้นตาลที่เหมาะสมต่อการเก็บน้ำหวาน คือ หลังจากที่ออกงวงยาว 50 เซนติเมตร สามารถเก็บเกี่ยวน้ำตาลโตนดสดด้วยการรวบงวงตาลเข้าด้วยกันโดยใช้ไม้คาบตาลบีบงวงตาลเบา ๆ วันละ 1 ครั้ง ทำติดต่อกัน 3 - 4 วัน หักปลายงวงทิ้ง 1 นิ้ว ใส่กระบอกแช่น้ำทิ้งตั้งไว้ 3 คืน จากนั้นนำกระบอกรองน้ำตาลสดแขวนรองรับน้ำตาลที่ไหลซึมออกจากงวงตาล โดยต้นตาลตัวเมียจะให้น้ำตาลวันละ 4 - 5 ลิตรต่อต้น ต้นตาลตัวผู้จะให้น้ำตาลวันละ 3 ลิตรต่อต้น [16]

2.1.3.3 จุลินทรีย์ที่พบในน้ำตาลโตนด เนื้อตาลโตนด และน้ำตาลเมา

จุลินทรีย์ที่พบในน้ำตาลโตนด เนื้อตาลโตนด และน้ำตาลเมา มีดังนี้

1) แบคทีเรีย (Bacteria)

พบแบคทีเรียในน้ำตาลเมาจากต้นปาล์ม มี 4 จีนัส คือ *Micrococcus, Leuconostoc, Lactobacillus* และ *Acetobacter* ในกลุ่มแบคทีเรียกรดแลคติก (Lactic Acid Bacteria) และแบคทีเรียแกรมลบ สามารถสร้างกรดทำให้ค่าความเป็นกรดด่างของน้ำตาลลดลงจากร้อยละ 7.0 เหลือประมาณร้อยละ 4.5 [40] จุลินทรีย์ที่แยกจากปาล์มน้ำมัน (Elaeis guineensis) พบยีสต์ 12 สายพันธุ์ แบคทีเรีย 18 สายพันธุ์ และเชื้อรา 6 สายพันธุ์ [42]

(1) แบคทีเรียกรดแลคติก (Lactic Acid Bacteria) ลักษณะเซลล์เป็นรูปร่างกลมหรือแท่ง (Cocci or Rods) เรียงตัวเป็น 4 เซลล์ ไม่เคลื่อนที่และไม่สร้างสปอร์ ย้อมติดสีแกรมบวก สร้างกรดแลคติกจากน้ำตาล ใช้ออกซิเจนในการเจริญ แบคทีเรียกรดแลคติกเป็นเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มใหญ่ที่สามารถพบได้ตามธรรมชาติ เช่น ลำไส้ ช่องปาก พืช แมลง ผัก ผลไม้ เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ และจัดเป็นจุลินทรีย์ที่ปลอดภัย GRAS (Generally Recognized as Safe) [42]

(2) แบคทีเรียกรดอะซิติก (Acetic Acid Bacteria) เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ลักษณะของเซลล์เป็นแท่งหรือกลมรี มีการเรียงตัวหลายลักษณะ เช่น อยู่เป็นคู่หรือเดี่ยว สายสั้นหรือสายยาว เคลื่อนที่โดยใช้แส้ชนิดรอบเซลล์หรือขั้วเซลล์ ไม่พบการสร้างสปอร์ ไม่สร้างรงควัตถุ (Pigment) ต้องการออกซิเจนในการเจริญ (Obligate Aerobic) เจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 15 - 34 องศาเซลเซียส และค่าความเป็นกรดด่างร้อยละ 5.4 - 6.3 [17] ปัจจุบันสามารถพบแบคทีเรีย

กรดอะซิติก 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *Acetobacter* spp., *Gluconobacter* spp., *Acidomonas* spp. และ *Gluconoacetobacter* spp. [43]

2) ยีสต์ (Yeast) มีความสำคัญที่ทำให้เกิดกระบวนการหมัก สามารถเปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทานอล (Ethanol) และแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) สายพันธุ์ยีสต์ที่พบในน้ำตาลโตนดเนื้อตาลโตนด [18]

(1) *Candida krusei* รูปร่างทรงกระบอกหรือทรงไข่ มีความกว้างประมาณ 3 – 5 ไมครอน และมีความยาวประมาณ 6 - 20 ไมครอน เซลล์มีขนาดเล็กและยาว สามารถสร้างไมซีเลียมเทียม (Pseudomycelium) เกิดกระบวนการหมักเมื่อมีกลูโคสเท่านั้น เจริญที่อุณหภูมิ 43 - 45 องศาเซลเซียส ไม่สร้างกรด และใช้เอทานอลเป็นแหล่งพลังงาน

(2) *Kloeckera apiculata* รูปร่างคล้ายมะนาว เซลล์เดี่ยวหรือจับเป็นคู่ มีความกว้างประมาณ 1.4 - 5.3 ไมครอน และมีความยาวประมาณ 2.6 - 12.2 ไมครอน ขยายพันธุ์ด้วยการแตกหน่อ สามารถหมักและดูดซึมได้เฉพาะกลูโคสเท่านั้น ไม่สร้างไมซีเลียมเทียม เจริญที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

(3) *Saccharomyces* spp. สามารถสร้างไมซีเลียมเทียม มีเยื่อหุ้มบาง (Pellicle) สร้างสปอร์ได้ (Ascospore) ประมาณ 1 - 4 สปอร์ เจริญที่อุณหภูมิ 15 - 25 องศาเซลเซียส

ปราโมทย์ ธรรมรัตน์ [19] รายงานสายพันธุ์ยีสต์ที่พบในน้ำตาลสดและน้ำตาลเมาของประเทศต่าง ๆ ดังแสดงในตารางที่ 2.5

ตารางที่ 2.5 สายพันธุ์ยีสต์ที่พบในน้ำตาลสดและน้ำตาลเมาของประเทศต่าง ๆ

ชนิดของยีสต์	ทวีปเอเชีย	ทวีปแอฟริกา
Candida sp.	ฟิลิปปินส์	ไนจีเรีย
Candida krusei	-	Gold coast
Candida nycoderma	-	ไนจีเรีย, Gold coast
Endomycopsis fibuligera var. monospora	ญี่ปุ่น	-
Endomycopsis vini	-	ไนจีเรีย

ตารางที่ 2.5 สายพันธุ์ยีสต์ที่พบในน้ำตาลสดและน้ำตาลเมาของประเทศต่าง ๆ (ต่อ)

ชนิดของยีสต์	ทวีปเอเชีย	ทวีปแอฟริกา
Saccharomyces farinosa	-	ไนจีเรีย
Saccharomyces laghbi	-	ลิเบีย
Hansenula sp.	-	Gold coast
Kloeckera apiculata	ญี่ปุ่น, ฟิลิปปินส์	ไนจีเรีย, Gold coast
Pichi spp.	-	ไนจีเรีย
Pichia vini var. vini	ญี่ปุ่น, ฟิลิปปินส์	-
Pichia farnose	ญี่ปุ่น	-
Pichia membranaefaciens	ญี่ปุ่น	ไนจีเรีย
Pichia pastoris	ญี่ปุ่น	ไนจีเรีย
Saccharomycodes ludwigii	ปากีสถาน,ญี่ปุ่น	-
Schizosaccharomyces pombe	ปากีสถาน,ญี่ปุ่น	ลิเบีย, ไนจีเรีย,Gold coast
Saccharomyces spp.	-	ไนจีเรีย
Saccharomyces bailii var. bailii	ฟิลิปปินส์	-
Saccharomyces carlsbergensis	-	ลิเบีย
Saccharomyces chevalieri	ฟิลิปปินส์, ปากีสถาน	คองโก
Saccharomyces pastorianus	-	คองโก
Saccharomyces rosei	-	ไนจีเรีย
Saccharomyces vafer	-	ไนจีเรีย
Saccharomyces cerevisiae	อินเดีย	กานา, ไนจีเรีย, Gold coast
Saccharomyces ellipsoideus	-	คองโก

ที่มา : [19]

3) เชื้อรา (Mold) ที่มีความสำคัญต่ออาหาร ได้แก่ สายพันธุ์ *Curvularia geotrihum, Aspergillus alternaria, Cladosporium fusarium, Helminthosporium mucor, Neurspora penicillium*, *Rhizopus trichoderma* และ *Thamnidium* เป็นต้น

2.1.3.4 การนำน้ำตาลโตนดมาประกอบอาหาร [21]

1) น้ำตาลสด เป็นน้ำหวานที่มาจากช่อดอกตัวผู้หรือที่เรียกว่างวงตาล และช่อดอกตัวเมียหรือที่เรียกว่าปลีตาล สามารถรองน้ำหวานจากช่อดอกและดื่มได้ทันที หรือสามารถนำน้ำหวานไปต้มก่อนประมาณ 10 - 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น เทใส่ขวดหรือแก้วเพื่อจำหน่าย

2) การผลิตน้ำตาลสเตอริไลซ์ ทำได้โดยนำน้ำตาลสดที่รองได้จากช่อดอกต้นตาลโตนด ปรับความหวานให้ได้ตามที่ต้องการนำไปต้มให้เดือด แล้วกรองเพื่อแยกตะกอน จากนั้นนำไปบรรจุลงขวดแล้วปิดฝา นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน วิธีนี้สามารถยืดอายุการเก็บรักษาน้ำตาลโตนดได้ประมาณ 2 ปี แต่มีค่าใช้จ่ายสูง

3) น้ำตาลปี๊บ ทำได้โดยการน้ำตาลสดมาเคี่ยวประมาณ 3 - 4 ชั่วโมง จนงวด ใช้ไม้กวนน้ำตาลให้เย็น ประมาณ 30 นาที จากนั้นใช้ไม้ติดสปริงเล็กตีน้ำตาลอีกประมาณ 10 - 15 นาทีและเทลงปี๊บ เป็นวิธีที่ถูกนิยมนำมาใช้ในช่วงที่น้ำตาลสดมีปริมาณมาก และเป็นวิธีการถนอมอาหารอีกด้วย

4) น้ำตาลปึก ทำได้โดยการน้ำตาลสดมาเคี่ยวประมาณ 3 - 4 ชั่วโมง จนงวด ใช้ไม้กวนน้ำตาลให้เย็น ประมาณ 30 นาที และใช้ไม้ติดสปริงเล็กตีน้ำตาลอีกประมาณ 10 - 15 นาที จากนั้นน้ำตาลเคี่ยวเทลงถ้วยหรือหยอดลงตามแม่พิมพ์ที่ต้องการ

5) น้ำส้มสายชูหมักจากตาลโตนด ทำได้โดยการนำน้ำตาลสดมาหมักไว้ในโอ่งหรือในไหดินเผาให้มีรสเปรี้ยว ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาการย่อยสลายของแบคทีเรียในอากาศ เป็นที่นิยมของทางภาคใต้ ที่ใช้ในการปรุงอาหารทั้งคาวและหวาน ให้รสชาติกลมกล่อม และมีกลิ่นหอม

2.1.4 ลูกตาล

ในผลตาลโตนดมีเมล็ดอยู่ภายใน เรียกว่า ลอนตาล ดังแสดงในรูปที่ 2.6 ซึ่งในช่วงการเจริญของผลตาล หากผลยังเป็นผลอ่อน เมล็ดหรือลอนตาลอ่อนเริ่มมีเนื้ออ่อน สามารถนำลอนตาลมาปรุงเป็นอาหารคาวได้แต่เมื่อผลตาลเริ่มแก่ขึ้นเปลือกภายนอกมีสีเขียวเข้มลอนตาลจะเปลี่ยนเป็นลูกตาล

สด หรือเรียกว่าลอนตาลสด สามารถนำมาบริโภคสดเหมือนผลไม้ทั่วไปหรือนำมาทำเป็นลูกตาลลอยแก้วได้ เมื่อผลสุกเนื้อภายในผลมีสีเหลืองส้ม ส่วนเมล็ดในผล เปลือกหุ้มเมล็ดจะแข็ง สีน้ำตาลดำ ลักษณะแบน ความหนาของเมล็ดมีความยาวประมาณ 9.0 เซนติเมตร กว้าง 8.0 เซนติเมตร มีน้ำหนักประมาณ 200 - 270 กรัม [9]

(ก) (ข)

รูปที่ 2.6 เมล็ดตาลหรือลอนตาลอ่อน (ก) เมล็ดหรือลอนตาลที่ยังไม่ปอกเปลือก และ (ข) เมล็ดหรือลอนตาลที่ปอกเปลือก

2.1.4.1 คุณค่าทางโภชนาการของลูกตาล

คุณค่าทางโภชนาการเนื้อตาลสุก 100 กรัม ดังแสดงในตารางที่ 2.6 ส่วนลอนตาลหรือลูกตาล 100 กรัม มีคุณค่าทางโภชนาการ ดังแสดงในตารางที่ 2.7

ตารางที่ 2.6 คุณค่าทางโภชนาการของเนื้อตาลสุก 100 กรัม

คุณค่าทางโภชนาการ	ร้อยละ
ความชื้น (Moisture)	93.00
โปรตีน (Protein)	0.14
ไขมัน (Fat)	0.32
เถ้า (Crude Ash)	0.38

ตารางที่ 2.6 คุณค่าทางโภชนาการของเนื้อตาลสุก 100 กรัม (ต่อ)

คุณค่าทางโภชนาการ	ร้อยละ
คาร์โบไฮเดรต (Carbohydrate)	3.43
ใยอาหาร (Fiber)	2.73
วิตามินซี (Vitamin C) (มิลลิกรัม)	41.84
แคลเซียม (Calcium) (มิลลิกรัม)	1.40
ฟอสฟอรัส (Phosphorus) (มิลลิกรัม)	11.20
เบต้าแคโรทีน (Beta Carotene)(ไมโครกรัม)	615.00

ที่มา : [22]

ตารางที่ 2.7 คุณค่าทางโภชนาการของลูกตาล 100 กรัม

คุณค่าทางโภชนาการ	ปริมาณที่วิเคราะห์ได้ (กรัม)
ความชื้น (Moisture)	89.400
ฟอสฟอรัส (Phosphorus)	22.000
คาร์โบไฮเดรต (Carbohydrate)	8.900
แคลเซียม (Calcium)	0.007
วิตามินซี (Vitamin C)	1.000
วิตามิน B1 (Thiamine)	0.020
วิตามิน B2 (Riboflavin)	0.010
เหล็ก (Iron)	0.900
โปรตีน (Protein)	0.700
ไขมัน (Fat)	0.600
ใยอาหาร (Fiber)	0.500
วิตามิน B3 (Niacinamide)	0.400

ที่มา : [10]

2.1.4.2 การนำลูกตาลมาประกอบอาหาร

ลูกตาลเป็นผลไม้ที่คนไทยรู้จักอย่างแพร่หลาย ใช้ได้ทั้งลูกตาลยี ลูกตาลเฉาะ และจาวตาล

1) ลูกตาลยี เมื่อลูกตาลโตเต็มที่เส้นผ่านศูนย์กลาง 10 - 20 เซนติเมตร ผิวสีเหลืองเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลถึงดำ ขั้วเขียวเข้มถึงสีน้ำตาล บริเวณก้นเป็นปุ่มเล็กน้อยมีสีเหลืองจนถึงสีส้มแสดงว่าเป็นลูกตาลที่สุกแล้ว สามารถดูการสุกของลูกตาลโดยใช้นิ้วมือกดลงบนผลตาล หากผลตาลยุบตัวลงตามแรงกดแสดงว่าลูกตาลสุกได้ที่แล้ว จากนั้นแกะเปลือกสีดำออกจะพบเส้นใยและเนื้อสีเหลืองจนถึงสีส้มที่หุ้มเมล็ดภายในไว้ประมาณ 3 - 4 เมล็ด ตรงกลางมีแกนกลางเป็นเส้นใยรวมกันที่ทำหน้าที่เชื่อมระหว่างขั้วและผล เรียกว่า ดีตาล มีรสชาติขม ต้องเอาออกก่อนใช้ [11]

วิธีการยีตาลหรือการสกัดเนื้อตาลสุก ทำได้ดังนี้นำผลตาลที่สุกงอมมาปอกเปลือก ล้างให้สะอาด แกะเนื้อตาลออกเป็นพู ดึงเอาเส้นที่อยู่สันเมล็ดออกให้หมด เพราะจะทำให้ขม นำใส่ภาชนะที่เป็นถัง หม้อ หรือชาม เติมน้ำสะอาดแช่เนื้อตาลไว้ จากนั้นใช้มือยีเนื้อตาลที่แช่อยู่ในน้ำเพื่อรีดเอาเนื้อตาลสีเหลืองออกจากเส้นใย นำไปกรองโดยใช้ผ้าขาวบางกรองเอาเฉพาะส่วนที่น้ำสีเหลืองมัดรวมกันไว้ใส่ตะกร้าพลาสติก ดังแสดงในรูปที่ 2.7 ใช้หินหรืออิฐที่สะอาดทับไว้ด้านบน เพื่อให้น้ำที่หลงเหลืออยู่สามารถไหลออกมา 3 - 4 ชั่วโมง นำไปแขวนไว้อีก 12 ชั่วโมง ซึ่งวิธีนี้เรียกว่า เกรอะตาล [9]

ในประเทศ ศรีลังกา และอินเดีย นิยมนำเนื้อตาลสุกไปทำอาหารทั้งอาหารคาวและอาหารหวาน เช่น ซุป เครื่องดื่ม เค้ก และแยม แต่สำหรับประเทศไทยนิยมนำเนื้อตาลสุกมาทำเป็นขนมตาล [11]

รูปที่ 2.7 ลูกตาลยี

ที่มา : [20]

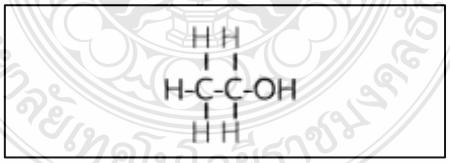
2) ลูกตาลเฉาะ ต้นตาลโตนดตัวเมียจะมี ลูกตาล ติดเป็นทะลาย เมื่อลูกตาลมีอายุมากขึ้นแต่ยังไม่แก่จัดจนสุก เกษตรกรจะตัดลูกตาลจากต้นโดยใช้เชื้อผูกทะลายตาลแล้วหย่อนลงดิน จากนั้นปอกเปลือกที่หุ้มเต้าตาลไว้และเฉาะเอาเต้าตาลออก ทำโดยการปาดหัวตาลแล้วใช้มีดเฉาะบริเวณก้นพูที่มีเต้าตาลอยู่ เมื่อลูกตาลมีอายุแก่ขึ้นมาอีกเปลือกจะมีลักษณะเป็นสีเขียว เนื้อลูกตาลอ่อนจะมีความแก่ขึ้น เนื้อเหนียว นุ่ม เหมาะสำหรับการนำไปทำไส้พายหรือลูกตาลลอยแก้ว [11,20]

3) จาวตาล เป็นผลผลิตจากผลของต้นตาลตัวเมียที่แก่จัด นิยมนำไปทำเป็นจาวตาลเชื่อม เริ่มจากการเพาะจาวตาล โดยนำเมล็ดแก่ที่ได้จากผลตาลสุกเต็มที่ แช่น้ำ 15 - 20 วัน นำมาเพาะบ่มประมาณ 1 เดือน โดยวางบนแคร่ไม้ไผ่ คลุมทับด้วยฟาง รดน้ำทุก 2 - 3 วัน จนกระทั่งรากงอกยาวประมาณ 20 เซนติเมตร จากนั้นเด็ดปลายรากทิ้ง แล้วปล่อยทิ้งไว้ประมาณ 1 เดือน จาวโตเต็มเมล็ด ซึ่งสังเกตได้จากรากตาล ถ้ารากเริ่มมีสีน้ำตาลและส่วนที่ติดกับเมล็ดเริ่มมีขนาดเล็กลง นำมากะเทาะเปลือกเลือกเฉพาะส่วนที่เป็นเนื้อภายในที่เรียกว่า จาวตาล นำจาวตาลที่ได้ไปปอกเปลือกแล้วล้างน้ำให้สะอาดแช่สารส้ม จากนั้นนำไปต้มในน้ำเดือดและนำไปเชื่อมกับน้ำตาลได้จาวตาลเชื่อม [8]

2.2 การผลิตเอทานอล

2.2.1 กระบวนการผลิตเอทานอล [25]

เอทิลแอลกอฮอล์ (Ethyl Alcohol) หรือเอทานอล (Ethanol) เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่ประกอบด้วย คาร์บอนไดออกไซด์ ไฮโดรเจน และออกซิเจน มีสูตรทางเคมี C_2H_5OH สูตรโครงสร้างเอทานอล



รูปที่ 2.8 สูตรโครงสร้างเอทานอล

ที่มา : [25]

กระบวนการผลิตเอทานอลแบ่งเป็น 2 ประเภท ดังนี้

2.2.1.1 เอทานอลสังเคราะห์ เป็นเอทานอลที่เกิดจากกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมีโดยการนำเอธิลีน (Ethylene) ที่เป็นผลพลอยได้จากน้ำมันดิบมาทำปฏิกิริยากับกรดกำมะถัน ได้

เป็นสารผสมของเอธิลซัลเฟต (Ethylsulphate) จากนั้นนำไปไฮโดรไลซ์ได้เป็นเอทานอลกับกรดกำมะถัน นำมากลั่นให้บริสุทธิ์ ดังแสดงในสมการที่ 2.1

$$CH_2= CH_2 + H_2O \xrightarrow{H_2PO_4} CH_3CH_2OH \qquad (2.1)$$

2.2.1.2 เอทานอลจากการหมัก คือกระบวนการทางชีวเคมีที่เกิดจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ทำให้เกิดปฏิกิริยาทางเคมี ซึ่งมี 2 ขั้นตอน ดังนี้

1) กระบวนการเปลี่ยนวัตถุดิบจำพวกแป้งและเซลลูโลสให้เป็นน้ำตาล โดยขั้นตอนนี้ต้องใช้เอนไซม์ในการเร่งปฏิกิริยา ดังแสดงในสมการที่ 2.2

$$\underset{\text{แป้ง}}{2C_6H_{12}O_5} + H_2O \xrightarrow{\text{เอนไซม์}} \underset{\text{น้ำตาล}}{C_6H_{12}O_6} \qquad (2.2)$$

2) กระบวนการเปลี่ยนน้ำตาลให้ได้เอทานอล โดยใช้ยีสต์ ผ่านกระบวนการไกลโคไลซิส ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ซึ่งน้ำตาลกลูโคส 1 โมเลกุลถูกเปลี่ยนเป็นเอทานอล 2 โมเลกุล และคาร์บอนไดออกไซด์ 2 โมเลกุล [46] ดังแสดงในสมการที่ 2.3

$$\underset{\text{น้ำตาล}}{C_6H_{12}O_6} \xrightarrow{\text{ยีสต์}} \underset{\text{เอทานอล + คาร์บอนไดออกไซด์}}{2C_2H_5OH + 2CO_2} \qquad (2.3)$$

2.2.2 ประเภทการหมักเอทานอล แบ่งเป็น 3 ประเภท ดังต่อไปนี้ [25]

2.2.2.1 การหมักแบบเฟดแบทช์ (Fed-Batch Fermentation) เป็นวิธีการที่เติมอาหารให้กับจุลินทรีย์ตลอดการหมัก เป็นวิธีที่ได้รับความนิยมในเชิงอุตสาหกรรม เนื่องจากการเติมน้ำตาลทีละน้อยจะทำให้จุลินทรีย์มีชีวิตรอดเพิ่มขึ้น ปริมาณเอทานอลเพิ่มขึ้นในถังหมัก นอกจากนี้วิธีนี้ต้องคำนึงความเข้มข้นของน้ำตาล เวลาการให้อาหาร และปริมาณของกล้าเชื้ออีกด้วย [66]

2.2.2.2 การหมักแบบแบทช์ (Batch Fermentation) เป็นวิธีที่พัฒนามาจากการหมักเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ในอดีต เป็นกระบวนการหมักที่เติมอาหารและยีสต์เข้าไปในถังหมักพร้อมกันและไม่มีการเติมสารใด ๆ ตลอดการหมัก เป็นวิธีที่ได้การนิยมใช้มากที่สุด ให้ปริมาณเอทานอลประมาณร้อยละ 10.00 – 16.00 ขึ้นกับสารตั้งต้นที่ใช้ในหารหมัก

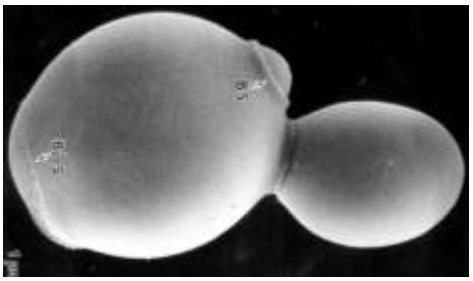
2.2.2.3 การหมักแบบรีพีทแบทช์ (Repeated Batch Fermentation) เป็นการหมักแบบแบทช์ แต่ในขั้นตอนสุดท้ายมีการถ่ายน้ำหมักออกส่วนหนึ่ง และส่วนที่เหลือใช้เป็นกล้าเชื้อในการหมักครั้งต่อไป เป็นวิธีที่ปริมาณกล้าเชื้อเริ่มต้นคงที่ทำให้ได้เอทานอลสูง

2.2.3 ยีสต์ (Yeast)

2.2.3.1 สัณฐานวิทยาของยีสต์

ยีสต์จัดเป็นสิ่งมีชีวิตจัดอยู่ในจำพวกราเซลล์เดียว มีความกว้างประมาณ 1 - 5 ไมโครเมตร ยาว 5 - 10 ไมโครเมตร มีรูปร่างหลายแบบ เช่น กลม (Round), รี (Oval), สามเหลี่ยม (Triangular), ยาวและปลายด้านหนึ่งแหลม (Ogival หรือ Boat), ทรงกระบอก (Cylinder), รูปมะนาวฝรั่ง (Apiculate) หรือเป็นสาย (Filamentous) ดำรงชีวิตแบบเฮเทโรทรอพ (Heterotroph) คือการใช้สารอินทรีย์เป็นแหล่งพลังงานและแหล่งคาร์บอน หรือดำรงแบบผู้ย่อยสลาย (Saprophyte) และแบบปรสิต (Parasite)

เมื่อต้องการศึกษายีสต์ผ่านกล้องจุลทรรศน์ต้องย้อมสีเช่นเดียวกับแบคทีเรีย แต่สีย้อมหลายชนิดปิดบังองค์ประกอบของเซลล์ ต้องใช้วิธีพิเศษเพื่อทำให้เห็นโครงสร้างบางอย่างชัดเจนขึ้น ด้วยวิธีการย้อมสีอะนิลีน เมื่อต้องการศึกษาโครงสร้างภายในเซลล์เฉพาะนิวเคลียสย้อมด้วยไอรอนฮีมาทอกไซลิน (Iron Hematoxylin) หรือฟอยล์เกน เทคนิค (Feulgen Technique) ศึกษาก้อนไขมันในเซลล์ใช้สีซูดาน III (Sudan III) ศึกษาแวคิวโอลใช้สีนิวทรัลเรด (Neutral Red) ทำให้เมทาโครมาติกแกรนูล (Metachromatic Granule) ติดสีชมพูอ่อนหรือสีแดงพอลิโครมเมทิลีนบลู (Polychrome Methylene Blue) ย้อมติดนิวคลิโอโปรตีน สีน้ำเงินซิงค์คลอไรด์-ไอโอดีน (Zinc Chloride-iodine) ศึกษาเซลลูโลสภายในเซลล์ สี โพแทสเซียมไดโอไดด์ย้อมติดเม็ดแป้งเป็นสีน้ำเงินและติดไกลโคลเจนเป็นสีน้ำตาลแดง นอกจากนี้ยังใช้กล้องจุลทรรศน์ชนิดเฟสคอนทรัสต์และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน เพื่อศึกษาสัณฐานวิทยาของยีสต์ที่ไม่สามารถตรวจดูด้วยการย้อมสี และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ดังแสดงในรูปที่ 2.9 [23]



รูปที่ 2.9 *Saccharomyces cerevisiae* ภายใต้กล้อง Scanning Electron Microscopy

ที่มา : [45]

2.2.3.2 การจัดลำดับชั้นอนุกรมวิธานของยีสต์ [23]

จำแนกยีสต์ในระดับชั้น (Taxa) แยกได้ 3 กลุ่มใหญ่ ดังนี้

1) ยีสต์ที่สร้างเอนโดสปอร์ (Ascosporogenous หรือ Ascomycetous Yeast) สปอร์เกิดจากการรวมตัวของนิวเคลียส (Karyogamy) แล้วแบ่งไมโอซิสภายในแอสคัส (Ascus) ซึ่งแอสคัสเกิดจากการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศโดยวิธี คอนจูเกชั่น (Conjugation) ของเซลล์ ยีสต์ที่จัดเป็น Ascomycetous Yeast มีทั้งหมด 33 จีนัส

Division : *Amastigomycotina*

Subdivision : *Ascomycotina*

Class : *Ascomycetes*

Subclass : *Hemiasomycetidae*

Order : *Endomycelaceae*

Family : *Saccharomycetacceae*

Family : *Spermophtheraceae*

2) ยีสต์ที่สร้างเบสิดิโอสปอร์ (Basidiomycerous Yeast) สปอร์เกิดจากการรวมตัวของนิวเคลียส (Karyogamy) และแบ่งไมโอซิสบนเบสิเดียม เป็นยีสต์ที่มีวัฏจักรแบบเดียวกับสมัท (Smut. Ustilago) มีทั้งหมด 10 จีนัส

Division : *Amastigomycotina*

Subdivision : *Basidiomycotina*

Class : *Basidiomycetes*

Subclass : *Teliomycetidae*

Order : *Ustilaginales*

Family : *Ustilaginnaeae*

3) ยีสต์ที่ไม่สร้างสปอร์ (Deteromycetous or Asporogenous) Yeast จัดอยู่ในฟังไจอิมเพอร์เฟคไท (Fungilmper-Fectideuteromycetes) มีทั้งหมด 17 จีนัส

Subdivision : *Deuteromycotina*

Class : *Deuteromycetes*

Subclass : *Blastomycetales*

Order : *Sporobolomycetidaw*

Family : *Cryptociccales*

สายพันธุ์ยีสต์ที่ใช้สำหรับการผลิตเอทานอลอยู่ในสกุล *Saccharomyces sp.* มีหลายสายพันธุ์ *S. cerevisiae, S. bayanus, S. carlsbergensis* และ *S. fermentati* หมักได้เร็ว ให้ปริมาณเอทานอลสูงและทนต่อสภาวะต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมัก ทนต่อปริมาณเอทานอลที่สูงขึ้น ทนต่อการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น และยีสต์สามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน

2.2.3.3 การสืบพันธุ์ของยีสต์ [25]

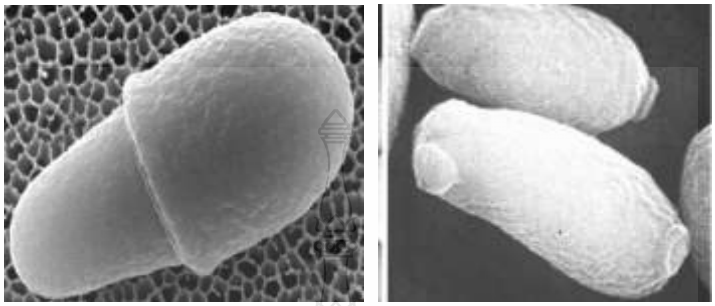
ยีสต์สามารถสืบพันธุ์ได้ 2 แบบ ดังนี้

1) การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ ได้แก่

(1) การแตกหน่อ (Budding) การแตกหน่อของยีสต์แบ่งได้ 2 แบบ ได้แก่ การแตกหน่อแบบโฮโลบลาสติก (Holoblastic Budding) ผนังเซลล์ยังคงสมบูรณ์ในระหว่างการแตกหน่อ และการแตกหน่อแบบเอนเทโรบลาสติก (Enteroblastic Budding) เกิดจากรอยแยกบนผนังเซลล์

(2) การแตกหน่อร่วมกับการแบ่งเซลล์ (Bud-Fission) แบ่งได้ 2 แบบ ได้แก่ 1) การแตกหน่อขั้วเดียว (Monopolar Budding) เป็นการแตกหน่อที่เกิดขึ้นจากขั้วหรือปลายเพียงด้านเดียว ซึ่งเกิดขึ้นซ้ำ ๆ ตรงบริเวณเดิมดังแสดงในรูปที่ 2.10 (ก) 2) การแตกหน่อสองขั้ว (Bipolar Budding) การแตกหน่อเกิดขึ้นทั้งที่ขั้วและปลายของเซลล์ สามารถเกิดทีละขั้วหรืออาจเกิดขึ้น

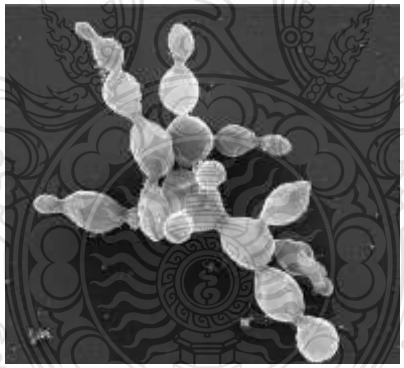
พร้อมกันทั้งสองขั้ว ดังแสดงในรูปที่ 2.10 (ข) 3) การแตกหน่อหลายขั้ว (Multipolar หรือ Multilateral Budding) เป็นการแตกหน่อรอบเซลล์ ดังแสดงในรูปที่ 2.11 ซึ่งยีสต์ส่วนใหญ่มีการแตกหน่อแบบนี้ เช่น *Saccharomyces*, *Zygosaccharomyces* และ *Hansenula* เป็นต้น



(ก) (ข)

รูปที่ 2.10 การแตกหน่อร่วมกับการแบ่งเซลล์ ภายใต้กล้อง Scanning Electron Microscopy
(ก) การแตกหน่อขั้วเดียว และ (ข) การแตกหน่อสองขั้ว

ที่มา : [44, 65]



รูปที่ 2.11 การแตกหน่อหลายขั้ว ภายใต้กล้อง Scanning Electron Microscopy

ที่มา : [64]

2) การแบ่งตัวแบบฟิสชัน (Fission) เซลล์ยีสต์มีการเพิ่มจำนวนและเพิ่มขนาดเซลล์ก่อน จากนั้นจะสร้างผนังเซลล์ออกเป็นสองเซลล์ พบเฉพาะในกลุ่ม *Scizosaccharomyces*

3) การสร้างคอนิเดียบนก้าน (Conidia on Stalk) เกิดจากการมีโครงสร้างลักษณะเป็นท่อโผล่ออกจากเซลล์ 1 ก้านหรือมากกว่า 1 ก้านที่ส่วนปลายจากนั้นจะแยกออกมาโดยสร้างผนังกั้นที่บริเวณตรงกลางก้าน และคอนิเดียจะถูกปล่อยออกไป พบในสกุล *Streigmatomyces*

4) การสร้างเส้นใยเทียมและแท้ เป็นการเพิ่มจำนวนของยีสต์โดยการแตกหน่อ เมื่อยังมีหน่อติดอยู่กับเซลล์แม่จะทำให้เกิดสายของเซลล์

2) การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ แบ่งได้ 2 กลุ่ม ดังต่อไปนี้ [25]

(1) กลุ่มแอสโคมัยซีตัสยีสต์ (Ascomycetous Yeast) เป็นกลุ่มที่สร้างแอสโคสปอร์ (Ascospore)

(2) กลุ่มแบสิดิโอมัยซีตัสยีสต์ (Bacidiomycetous Yeast) เป็นกลุ่มที่สร้างแบสิดิโอสปอร์ (Basidiospore)

2.2.3.4 นิเวศวิทยาของยีสต์ (Ecology of Yeast)

ยีสต์พบได้ทั่วไปตามธรรมชาติ และแพร่กระจายไปโดยอาศัยกระแสลม ยีสต์ส่วนใหญ่เป็นแซโพรไฟต์อาศัยอยู่บนสารอินทรีย์ที่ตายแล้ว บางชนิดเป็นปรสิตอาศัยโฮสต์ที่มีชีวิตและทำให้เกิดโรคต่าง ๆ ต่อมนุษย์ สัตว์ และพืช [23]

ดินเป็นแหล่งที่พบยีสต์หลายชนิด ทั้งดินที่ว่างเปล่าและดินที่มีการเพาะปลูก เช่น ป่า สวน เนื่องจากดินเป็นแหล่งที่ความหลากหลายทางนิเวศวิทยา เช่น แร่ธาตุ สารอาหารต่าง ๆ นอกจากนี้สามารถพบยีสต์ได้ในน้ำจืด น้ำเค็ม ปากอ่าว และพบมากที่สุดที่ชายฝั่งเนื่องจากมีสารอาหารสะสมมาก และพบยีสต์ที่กลางมหาสมุทรที่มีความลึก 4,000 เมตร ในน้ำทะเลดำพบยีสต์มากที่ระดับ 1,000 เมตร แต่เมื่อลึกลงไปพบยีสต์เพียงร้อยละ 25 เนื่องจากความเข้มข้นของออกซิเจนลดลงและไฮโดรเจนซัลไฟต์มีความเข้มข้นสูง ในทะเลสาบออนตาริโอพบยีสต์ได้ทั้งในน้ำและในตะกอนดิน ซึ่งจำนวนยีสต์จะแตกต่างไปตามความลึก [23]

2.2.3.5 การเจริญของยีสต์ระหว่างเการหมัก สามารถแบ่งได้ 3 ช่วง ดังนี้ [46]

1) ระยะเริ่มต้น (Lag Phase) เซลล์ปรับตัวให้เข้ากับสภาวะแวดล้อมใหม่ โดยเฉพาะสภาวะที่มีแรงดันออสโมติกสูงจากความเข้มข้นของน้ำตาลที่เป็นแหล่งของสารอาหาร แต่ไม่มีกิจกรรมเมตาบอลิซึม เนื่องจากมีการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีและทางกายภาพภายในเซลล์ เช่น การสร้างเอนไซม์ทำให้มีระบบเอนไซม์ใหม่ที่สังเคราะห์ขึ้นเพื่อให้ยีสต์เจริญได้ เมื่อยีสต์สามารถปรับตัวกับ

สภาวะแวดล้อมใหม่ได้ ยีสต์เริ่มเข้าสู่กระบวนการเมตาบอลิซึมอีกครั้ง เพื่อเริ่มการแบ่งตัว โดยวิธีแตกหน่อ (Budding)

2) ระยะที่สอง (Log Phase หรือ Logarithmic) เป็นช่วงที่ยีสต์มีการเจริญแบบ Exponential และมีการผลิตเอทานอลได้สูงสุด ซึ่งการเจริญของยีสต์ที่เกิดขึ้นจำเป็นต้องได้รับปริมาณออกซิเจนที่ละลายในสารอาหารอย่างเพียงพอเพื่อใช้ในกระบวนการสังเคราะห์ต่าง ๆ และเมื่อเริ่มเข้าสู่สภาวะไม่ใช้ออกซิเจน (Anaerobic Condition) ยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสและฟรุกโตสให้เป็นเอทานอล (Ethanol) และคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ผ่านวิถีไกลโคไลซิส (Glycolysis) ซึ่งกระบวนการไกลโคไลซิสเกิดขึ้นภายในไซโตพลาสซึมของยีสต์ เป็นขั้นตอนที่สร้างพลังงานให้ยีสต์พร้อมทั้ง Precursor และลดพลังงานในการสังเคราะห์สารชีวเคมี โดยเอนไซม์ Phosphofructokinase และ Pyruvate Kinase ซึ่งช่วยในการสร้าง ATP [43] มีการใช้พลังงาน 2 ATP และสร้างพลังงาน 4 ATP พลังงานที่เกิดขึ้นได้ 2 ATP โดยมี NAD เป็นตัวรับอะตอมไฮโดรเจน (H^+) ดังแสดงในสมการที่ 2.4 [43] จากนั้น Pyruvate ถูกเปลี่ยนเป็น Acetaldehyde ด้วยเอนไซม์ Pyruvate Decarboxylase และ Acetaldehyde เปลี่ยนเป็นเอทานอลด้วยเอนไซม์ Alcohol Hydrogenase ดังแสดงในสมการที่ 2.5 [46]

$$Glucose + 2ADP + 2Pi + 2NAD^+ \longrightarrow 2Pyruvate + 2ATP + 2NADH^+ + 2H^+ \quad (2.4)$$

$$CH_3COCOOH \xrightarrow{\text{Pyruvate Decarboxylase}} CH_3CHO + CO_2 \xrightarrow{\text{Alcohol dehydrogenase}} CH_3CH_2OH \quad (2.5)$$

Acetaldehyde + CO_2

3) ระยะสุดท้าย (End Phase) เมื่อปริมาณเอทานอลสูงขึ้น สารอาหารและวิถีไกลโคไลซิสลดลง ยีสต์ย่อยสลายตัวเอง (Autolysis) และปล่อยกรดอะมิโนออกมาหรือเกิดจากความเป็นพิษของเอทานอล มีรายงานวิจัยโดยการเติมเอทานอลลงในไวน์ที่หมักพบว่ามีการรั่วไหลของสารประกอบไนโตรเจนจากเซลล์ยีสต์ซึ่งสารประกอบไนโตรเจนส่งผลดีและผลเสียต่อไวน์ คือ สามารถยืดอายุการเก็บรักษาในขณะบ่มไวน์พร้อมกากยีสต์ และกรดอะมิโนที่แตกตัวจะได้ยูเรียซึ่งเป็นสารตั้งต้นของยูรีเทน (Urethane) ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็ง

2.2.3.6 คุณสมบัติของยีสต์ที่ใช้ในการหมักเอทานอล [20]

1) สายพันธุ์ยีสต์สามารถใช้สารตั้งต้นที่หลากหลาย

2) ทนต่อเอทานอล เนื่องจากระหว่างการหมักจะมีปริมาณเอทานอลที่เพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ส่งผลให้เซลล์ที่ใช้กระบวนการหมักแตกได้ หากใช้สายพันธุ์ที่ทนต่อเอทานอลจะส่งผลให้ผลิตภัณฑ์ที่ต้องการเอทานอลที่มีปริมาณเพิ่มขึ้นอีกด้วย

3) ยีสต์สามารถหมักเพื่อให้ผลผลิตได้เอทานอลสูงและเวลาการหมักสั้น

4) ทนต่ออุณหภูมิสูง เนื่องจากในระหว่างกระบวนการหมักยีสต์จะมีการปล่อยพลังงานความร้อนออกมาส่งผลให้สภาวะแวดล้อมของการหมักมีอุณหภูมิที่สูงขึ้น

5) ทนต่อความเป็นกรด เนื่องจากในการหมักจะเกิดกรดทำให้สภาวะแวดล้อมของการหมักมีค่าความเป็นกรดด่างต่ำ

6) ทนต่อแรงดันออสโมซิส สามารถใช้อาหารที่มีปริมาณน้ำตาลสูงได้ และช่วยลดการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ชนิดอื่น

7) ไม่เปลี่ยนแปลงต่อสภาวะต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมัก เช่น การกลายพันธุ์ เป็นต้น

2.2.4 ปัจจัยที่เกี่ยวข้องต่อกระบวนการหมักเอทานอล

ปัจจัยที่มีผลต่อการหมักเอทานอลของยีสต์มีหลายปัจจัย ดังนี้

2.2.4.1 แร่ธาตุและสารอาหาร

อาหารที่จำเป็นต่อการเจริญของยีสต์ในการหมักเอทานอล มีทั้งอาหารธาตุหลักและอาหารธาตุรอง ซึ่งอาหารธาตุหลักประกอบด้วย C, H, O, N, P และ S ซึ่งเป็นองค์ประกอบของสารโมเลกุลใหญ่ เช่น โปรตีน โพลีแซคคาไรด์ ไขมัน และกรดนิวคลีอิก อาหารธาตุรอง ได้แก่ สารประกอบอนินทรีย์ เช่น แมกนีเซียม (Mg^{+}) และโพแทสเซียม (K^{+}) โดยไนโตรเจนและคาร์บอนเป็นธาตุอาหารหลักที่สำคัญต่อการเจริญของยีสต์มีบทบาทต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมของยีสต์หน้าที่ของสารอาหารและแร่ธาตุที่จำเป็นสำหรับยีสต์ [47] ดังแสดงในตารางที่ 2.8

ตารางที่ 2.8 การทำงานของสารอาหารและแร่ธาตุที่จำเป็นสำหรับยีสต์

สารอาหาร	แหล่งอาหาร	การทำงาน
C	น้ำตาล	เป็นโครงสร้างหลักของยีสต์ โดยรวมกับ H,O และN ที่เกี่ยวข้องต่อกระบวนการสลายคาร์บอนให้ได้พลังงาน
H	โปรตอนจากสิ่งแวดล้อมในการหมัก	มีผลต่อกระบวนขนส่งโปรตอนของยีสต์เพื่อรักษาระดับค่าความเป็นกรดด่าง
O	อากาศ	เกี่ยวข้องต่อกระบวนการหายใจและการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการออกซิไดซ์ ที่มีความสำคัญต่อการสร้างกรดไขมันไม่อิ่มตัว
Mn	เกลือ Mn^{2+}	เกี่ยวข้องกับการทำงานของเอนไซม์
P	ฟอสเฟต	เกี่ยวข้องกับการส่งผ่านพลังงาน มีส่วนสำคัญต่อโครงสร้างของกรดนิวคลีอิก และเยื่อหุ้มเซลล์
K	เกลือ K^{+}	เกี่ยวข้องกับการทำงานของเอนไซม์
Mg	เกลือ Mg^{2+}	เกี่ยวข้องกับการทำงานของเอนไซม์
S	ซัลเฟตเมโทโอนีน	เป็นหมู่ Sulphydryl ให้กับกรดอะมิโนและวิตามิน
Ca	เกลือ Ca^{2+}	กระบวนการส่ง Signal Transduction
Cu	เกลือคอปเปอร์	Redox pigment
Fe	เกลือ	เป็นส่วนสำคัญของ Heam-Proteins และ Cytochromes
Zn	เกลือ Zn^{2+}	เกี่ยวข้องกับการทำงานของเอนไซม์
Ni	เกลือ Ni^{2+}	เกี่ยวข้องกับการทำงานของเอนไซม์ Urease
Mo	Na_2MoO_4	เกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึมของไนเตรตและวิตามิน B12

ที่มา : [47]

2.2.4.2 ปัจจัยการเจริญ

สารประกอบที่ยีสต์มีความต้องการเพียงเล็กน้อยสำหรับการเจริญ แต่ไม่เกี่ยวข้องต่อกระบวนการสร้างพลังงานของยีสต์ เช่น วิตามินพิวรีน (Vitamin Purine), ไพริไมดีน นิวคลีโอไซด์ (Pyrimidine Nucleoside), กรดอะมิโน (Amino Acid), กรดไขมัน(Fatty Acid), คลอรีน (Choline), สเตียรอล (Sterol), โพรีเอมีน (Polyamine) และเมโซ - อิโนซิทอล (Meso-Inositol) เป็นต้น [46]

2.2.4.3 อุณหภูมิ

มีความสำคัญต่อการเจริญและการผลิตเอทานอลของยีสต์ โดยทั่วไปอุณหภูมิที่เหมาะสมประมาณ 30 - 35 องศาเซลเซียส เมื่ออุณหภูมิสูง ผนังเซลล์ยีสต์แข็งตัว ทำให้ยีสต์หยุดการเจริญ การส่งผ่านของสารอาหารและกระบวนการหายใจของยีสต์ลดลง [48]

2.2.4.4 ค่าความเป็นกรดด่าง

ยีสต์สามารถเจริญได้ดีที่ค่าความเป็นกรดด่างประมาณร้อยละ 3.8 - 5.5 เมื่อเกิดกระบวนการหมักเอทานอล ค่าความเป็นกรดด่างลดลงเหลือร้อยละ 3.0 เนื่องจากยีสต์สร้างกรดระหว่างการหมัก และยีสต์บางสายพันธุ์หยุดการหมักทันที [24]

2.2.4.5 ความเข้มข้นของน้ำตาล

ความเข้มข้นของน้ำตาลที่ใช้ในการหมักมีมากกว่าร้อยละ 10.0 เมื่อแรงดันออสโมติก (Osmotic Pressure) สูงขึ้น ทำให้ยีสต์ยับยั้งการผลิตเอทานอลส่งผลให้การหมักไม่สมบูรณ์ ความเข้มข้นของน้ำตาลที่เหมาะสมสำหรับการหมักมีค่าประมาณร้อยละ 10.0 – 18.0 [48] มีรายงานผลการศึกษาของแรงดันออสโมติกต่อการหมักของยีสต์ในอาหารที่เปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของน้ำตาล พบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลการเจริญของยีสต์ และประสิทธิภาพการหมักของยีสต์ลดลง แรงดันออสโมติกที่สูงขึ้น ทำให้ปริมาณเอทานอลภายในเซลล์ยีสต์เข้มข้นขึ้น ส่งผลต่อการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการผลิตเอทานอลและวิถีไกลโคไลซิส [48]

2.2.4.6 ความเข้มข้นของเอทานอล

ความเข้มข้นของเอทานอลเกิดจากเอทานอลที่ได้จากการหมัก เมื่อเอทานอลเข้มข้นขึ้นร้อยละ 1 - 2 โดยน้ำหนัก ยีสต์เจริญช้าลงและหยุดการเจริญเมื่อเอทานอลเข้มข้นขึ้นร้อยละ 4.7 - 7.8 โดยน้ำหนัก เมื่อการเจริญของยีสต์ลดลงอัตราการหมักเอทานอลจึงลดลงไปด้วย [25]

2.3 การระบุชนิดของยีสต์

วิธีการที่ใช้ในการระบุชนิดของยีสต์ มี 2 วิธี คือ [26]

2.3.1 วิธีทางเครื่องหมายสัณฐานวิทยา (Morphological Marker)

อาศัยลักษณะสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา และทางชีวเคมี ซึ่งเป็นการตรวจฟีโนไทป์ (Phenotype) ของเชื้อเป็นวิธีที่ใช้แรงงานมาก ใช้เวลานาน ไม่แม่นยำ และไม่สามารถแยกชนิดได้อย่างชัดเจน

2.3.2 วิธีทางเครื่องหมายโมเลกุล (Molecular Marker)

ศึกษาองค์ประกอบของนิวคลีโอไทด์ (Nucleotide) ภายในดีเอ็นเอ (DNA) ปริมาณไซโทซีนกับกัวนีนในดีเอ็นเอ และศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างดีเอ็นเอในนิวเคลียส เครื่องหมายโมเลกุลมี 2 วิธี ดังต่อไปนี้

2.3.2.1 เครื่องหมายโปรตีน (Protein Marker)

เป็นการตรวจสอบสิ่งมีชีวิต โดยใช้ความแตกต่างโมเลกุลโปรตีนด้วยเทคนิคอิเล็กโทรโฟรีซิส (Electropholysis) ย้อมดูแถบของโปรตีนจำเพาะโดยใช้สารเคมี เช่น การตรวจสอบรูปแบบของโปรตีนในเลือด แต่มียีนจำนวนน้อยที่สามารถตรวจสอบได้ด้วยเครื่องหมายโปรตีนได้ เนื่องจากใช้เนื้อเยื่อเฉพาะการแสดงออกของยีน ทำให้พบความแตกต่างของสายพันธุ์น้อยกว่าการตรวจด้วยเครื่องหมายดีเอ็นเอ เนื่องจากโปรตีนเสียสภาพได้ง่ายและระยะการเก็บรักษาสั้น

2.3.2.2 เครื่องหมายดีเอ็นเอ (DNA Marker)

ดีเอ็นเอที่อยู่ตำแหน่งบนโครโมโซมหรือดีเอ็นเอในออร์แกแนล (Organal) สามารถบ่งชี้ความจำเพาะของสายพันธุ์ เนื่องจากเกิดความแปรปรวนของนิวคลีโอไทด์ในโมเลกุลของดีเอ็นเอ (Mutation) หรือเกิดความต่าง (Polymorphism) ของลำดับเบสในโมเลกุล

การตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นอ (DNA Fingerprinting) เป็นวิธีการที่ใช้เพื่อบ่งบอกลักษณะจำเพาะของสิ่งมีชีวิตสามารถตรวจสอบ Polymorphism โดยการนำดีเอ็นเอทั้งหมดในเซลล์ (Genomic DNA) มาตัดด้วยเอนไซม์จำเพาะและแยกขนาดด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิส ย้ายชิ้นดีเอ็นเอที่ผ่านการแยกทั้งหมดไปยังแผ่นเมมเบรนฟิลเตอร์ (Membrane Filter) ไฮบริไดซ์กับโพรบ (Probe) ซึ่งมาจากดีเอ็นเอส่วนที่เป็นมินิแซทเทลไลท์ สามารถตรวจสอบชิ้นดีเอ็นเอได้จากหลายตำแหน่ง (Multi-Locus) พร้อม ๆ กัน เกิดเป็นลายพิมพ์ที่จำเพาะ

วิธีการตรวจด้วยเครื่องหมายดีเอ็นเอทำได้ 2 วิธี ดังนี้

1) วิธีไฮบริไดเซชั่น (Hybridization-Based Marker)

เป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอที่ถูกพัฒนาจากหลักการเข้าคู่ของลำดับเบสดีเอ็นเอที่เป็นคู่สมกันระหว่างดีเอ็นเอตรวจสอบ (Probe) กับดีเอ็นเอที่ต้องการตรวจสอบ ซึ่งเครื่องหมายที่นิยมใช้ในวิธีไฮบริไดเซชั่น (Hybridization-Based Marker) คือ RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)

Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) หมายถึง ความแตกต่างของขนาดดีเอ็นเอที่เกิดจากการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ (Restriction Enzyme) เริ่มจากการตัดดีเอ็นเอด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ แล้วแยกขนาดของชิ้นดีเอ็นเอด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิส จากนั้นแยกดีเอ็นเอจากแผ่นเจลมาไว้แผ่นเมมเบรน ใช้โพรบ (Probe) หรือดีเอ็นเอตรวจสอบที่ติดฉลากสำหรับการติดตาม เพื่อบอกความต่างของจีโนม ซึ่งความต่างของชิ้นส่วนดีเอ็นเอเกิดจากดีเอ็นเอเปลี่ยนลำดับเบส เนื่องจากเกิด Point Mutation ทำให้ตำแหน่งจดจำเอนไซม์หายไปหรือเพิ่มเข้ามาทำให้ชิ้นส่วนดีเอ็นเอมีขนาดต่างไปจากเดิม และดีเอ็นเอในส่วนที่มีตำแหน่งบางส่วนหายทำให้จดจำหาย [27]

2) วิธีพีซีอาร์ (PCR-Based Marker) เป็นเครื่องหมายโมเลกุลที่ถูกพัฒนาขึ้นโดยอาศัยหลักการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยปฏิกิริยาลูกโซ่จำลองตัวดีเอ็นเอ ซึ่งปฏิกิริยา PCA มี 3 ขั้นตอน ดังนี้ 1) การทำให้ดีเอ็นเอสายคู่เสื่อสภาพ (Denature) 2) ลดอุณหภูมิลงอย่างรวดเร็วเพื่อให้ไพรเมอร์ที่มีเบสคู่สม (Complementary) กับส่วนปลายของดีเอ็นเอเป้าหมายเข้ามาจับคู่กับดีเอ็นเอนั้น (Annealing) 3) เปลี่ยนอุณหภูมิให้พอเหมาะกับการทำงานของเอนไซม์โพลีเมอร์เรส เพื่อสังเคราะห์ดีเอ็นเอต่อจากไพรเมอร์ (Extension) มีดีเอ็นเอเป้าหมายเป็นต้นแบบ เมื่อปฏิกิริยาครบทุกขั้นตอนโมเลกุลดีเอ็นเอเป้าหมายจะเพิ่มเป็น 2 เท่า (2^n) เทคนิคที่อาศัยหลักการของ PCR มีหลายวิธี ดังนี้

Amplified Fragment Length Polymorphisms (AFLP) เป็นวิธีการตรวจสอบดีเอ็นเอที่ตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ โดยการเพิ่มปริมาณด้วยปฏิกิริยา PCR โดยการเชื่อมต่อ Adapter เป็นดีเอ็นเอสายคู่ชิ้นสั้น ๆ ที่ปลายทั้ง 2 ด้านของชิ้นดีเอ็นเอต่อจากตำแหน่งตัดจำเพาะของเอนไซม์ เพื่อให้ไพรเมอร์เข้ามาเกาะ เพิ่มเบสอื่น จำนวน 1 - 4 นิวคลีโอไทป์ ด้านปลาย 3’ ของไพรเมอร์ เพื่อให้เกิดการเลือกจับคู่ของเบสคู่สม ทำให้สามารถสร้างแถบดีเอ็นเอได้แตกต่างกันจำนวนมาก

ข้อดีของ AFLP คือ ไม่ต้องทราบ ข้อมูลของลำดับเบส สามารถทำได้รวดเร็ว เกิด Polymorphism จำนวนมาก ใช้ปริมาณดีเอ็นเอเริ่มต้นน้อย ข้อจำกัด คือ ค่าใช้จ่ายสูง ต้องการดีเอ็นเอที่มีความบริสุทธิ์ ผลวิเคราะห์ยากเนื่องจากแอลลีลส่วนใหญ่เป็นแบบข่ม [49]

Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) เป็นการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแบบสุ่มโดยใช้ไพรเมอร์สายสั้นยาวประมาณ 10 เบส เข้าเกาะแบบสุ่มบนส่วนจีโนมที่ต้องการตรวจสอบ ข้อดี คือ สะดวก รวดเร็ว แต่ไม่สามารถแยกความแตกต่างของแอลลีลที่เป็นโฮโมไซกัส (Homozygous) และ เฮทเทอโรไซกัส (Heterozygous) ได้เนื่องจากแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นแสดงการข่ม (Dominant) ต่อการไม่เกิดแถบดีเอ็นเอ จึงทำให้มีการสังเคราะห์แอลลีลได้เฉพาะบางแอลลีลเท่านั้น [28]

Simple Sequence Repeat (SSR) หรือ Microsatellite DNA ใช้หลักการการกระจายตัวของเบสซ้ำความยาว 1 - 6 คู่เบสเรียงตัวต่อกันอยู่ในทิศทางเดียวกัน การเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในตำแหน่งจำเพาะเพียงตำแหน่งเดียว เนื่องจากคู่เบสมีการกระจายตัวอยู่ทั่วจีโนมส่วนใหญ่อยู่บริเวณที่ไม่ใช่ยีน (Non-Coding Region) โดยลำดับเบสไมโครแซทเทลไลท์เป็นเบสจำเพาะมีเพียงชุดเดียวในจีโนม และไมโครแซทเทลไลท์เป็นส่วนที่มีการกลายพันธุ์ได้ง่าย จึงมีโอกาสที่ดีเอ็นเอจะมีขนาดต่างกันเพราะจำนวนชุดซ้ำที่ไม่เท่ากัน วิธีนี้พบ Polymorphism ค่อนข้างสูง แสดงแถบดีเอ็นเอแบบข่มร่วมกัน (Co-Dominant) สามารถแยกโฮโมไซกัส (Homozygous) และ เฮทเทอโรไซกัส (Heterozygous) ได้ ซึ่งเทคนิค SSR เป็นเทคนิคที่มีความสำคัญต่อการศึกษาพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิต อีกทั้งจำนวนซ้ำของ SSR มีความแตกต่างกันในพืชหรือสัตว์ที่ต่างสายพันธุ์ในชนิดเดียวกัน จึงสามารถใช้โมเลกุลเครื่องหมายได้เป็นอย่างดีในการแยกความต่างของสิ่งมีชีวิต [28]

Sequence Characterized Amplified Region (SCAR) เครื่องหมายชนิดนี้พัฒนามาจากเทคนิค PCR แบบสุ่มหลายตำแหน่ง เช่น AFLP และ RAPD โดยการตัดแถบดีเอ็นเอจากการทำ AFLP และ RAPD แยกออกมา เพื่อนำมาโคลนและหาลำดับเบสออกแบบไพรเมอร์คู่ใหม่จากลำดับเบสที่ได้ และเพิ่มปริมาณด้วย PCR เมื่อตรวจสอบจะพบความแตกต่างในลักษณะการเกิดและไม่เกิดแถบดีเอ็นเอแบบเดียวกับเครื่องหมายเดิม แต่เป็นการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ เพียง 1 ตำแหน่งซึ่งมีความรวดเร็วและแม่นยำ [28]

Single Strand Conformational Polymorphism (SSCP) ในการที่ต้องการตรวจสอบความแตกต่างของลำดับเบสใน PCR Product ที่มีขนาดเท่ากัน เทคนิค SSCP สามารถตรวจสอบได้แม้มีความแตกต่างกันเพียง 1 เบส ทำโดยการนำ PCR Product มาทำให้เสียสภาพ (Denature) ให้อยู่ในสภาพเดี่ยวซึ่งแต่ละสายมีคุณสมบัติในการจัดเรียงตัวที่ต่างกัน จากนั้นนำไปแยกขนาดใน Nature Polyacrylamide Gel โดยจะแยกความแตกต่างจากการเคลื่อนที่ของชิ้นส่วนดีเอ็นเอ (DNA fragment) [29]

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.4.1 ปราโมทย์ ธรรมรัตน์ [19] ได้รวบรวมยีสต์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการหมักเอธิลแอลกอฮอล์จากต่างประเทศและประเทศไทย จำนวน 134 สายพันธุ์ และแยกยีสต์จากลูกแป้งเหล้า ลูกแป้งข้าวหมาก กากน้ำตาล น้ำอ้อย น้ำตาลสด น้ำตาลเมา และกระแช่ ได้ยีสต์จำนวน 407 สายพันธุ์ นำมาเปรียบเทียบ *S. cerevisiae* Sc90 ในการหมัก พบว่า สายพันธุ์ 191, 209 และ 237 สามารถหมักเอธิลแอลกอฮอล์ได้ดีที่สุด

2.4.2 จิราภรณ์ ยอดเถื่อน [30] ได้ศึกษาการคัดเลือกเชื้อบริสุทธิ์โดยทดสอบการย่อยแป้งและการผลิตแอลกอฮอล์เพื่อใช้ในการพัฒนาเครื่องดื่มน้ำข้าวหมาก พบว่าเชื้อบริสุทธิ์ที่มาใช้ในการศึกษาประกอบด้วย *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และ TISTR 3568 ซึ่งคัดได้จากลูกแป้งข้าวหมากและข้าวหมากตามลำดับ *Saccharomycopsis fibuligera* TISTR 5097 และ TISTR 5775 ที่คัดแยกได้จากลูกแป้ง และ *Hansenula anomala* TISTR 5113 ที่คัดแยกได้จากไวน์ข้าว จากการคัดเลือกประสิทธิภาพในการย่อยแป้งที่พิจารณาจากเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณใสเฉลี่ยที่สูงสุดพบว่า *A. rouxii* TISTR 3182 และ *S. fibuligera* TISTR 5775 มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณใสมากที่สุดของกลุ่มเชื้อราและเชื้อยีสต์ที่ใช้ทดสอบตามลำดับ ดังนั้นจึงคัดเลือกเชื้อดังกล่าวเพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป ส่วนการคัดเลือกประสิทธิภาพการผลิตแอลกอฮอล์ของยีสต์ พบว่ามีเชื้อยีสต์เพียง 2 ไอโซเลทเท่านั้นที่สามารถผลิตได้แอลกอฮอล์ไม่เกินร้อยละ 4 และอีก 1 ไอโซเลทไม่มีการผลิตแอลกอฮอล์

2.4.3 อารี แก้วกนกวิจิตร [31] ได้ศึกษาผลของไม้พะยอมและไม้มะเกลือที่มีต่อจุลินทรีย์ในน้ำตาลสดและน้ำตาลเมา จากการทดลองพบว่าการใช้ไม้พะยอมในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำตาลสด พบว่า การเพิ่มปริมาณไม้พะยอมทำให้ปริมาณของจุลินทรีย์ลดลง และสามารถยับยั้งการเจริญของ

แบคทีเรียแกรมบวกบางชนิด ได้แก่ *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* และ *Staphylococcus aureus* แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบและยีสต์ได้ ดังนั้นการใช้ไม้พะยอมเพียงอย่างเดียวจึงไม่เพียงพอต่อการถนอมน้ำตาลสด

2.4.4 อรวรรณ พึ่งคำ [32] การประยุกต์เทคโนโลยีกล้าเชื้อยีสต์สำหรับการผลิตขนมตาล โดยศึกษากระบวนการผลิตและต้นทุน พัฒนากระบวนการผลิตขนมตาลโดยใช้เทคโนโลยีกล้าเชื้อบริสุทธิ์ ศึกษาการยอมรับของผู้ผลิตและผู้บริโภค พบว่า ปริมาณกล้าเชื้อเหลวที่เหมาะสมในการผลิตขนมตาลคืออัตราร้อยละ 2 ยีสต์ไอโซเลท Y4 และ Y6 เป็นกล้าเชื้อเหลวที่มีค่าความขึ้นฟูสูงสุด คือ 0.92 และ 0.91 ตามลำดับ ยีสต์ไอโซเลท Y6 เป็นกล้าเชื้อเหลวที่ช่วยให้ขนมตาลมีความนุ่มมากที่สุด เพราะมีค่าความแข็งต่ำสุด คือ 487.94 กรัม ผู้ผลิตมีความพึงพอใจที่จะใช้เทคโนโลยีกล้าเชื้อยีสต์ ผู้บริโภคมีความชอบขนมตาลที่ทำด้วยวิธีการใช้กล้าเชื้อยีสต์มากกว่าขนมตาลแบบดั้งเดิม

2.4.5 ปาลิดา ตั้งอนุรัตน์ และคณะ [33] ได้ศึกษาการผลิตขนมตาลจากเชื้อยีสต์ที่แยกได้จากเนื้อตาลสุก และตรวจสอบคุณลักษณะทางเคมีกายภาพ และทางประสาทสัมผัส โดยนำยีสต์ที่แยกได้ 17 ไอโซเลทคัดเลือกหายีสต์ที่มีความสามารถในการหมักดีที่สุดโดยคัดเลือกได้ยีสต์ 7 ไอโซเลทที่สามารถหมักได้และนำมาจัดจำแนกหาลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ D1/D2 ของ 26S rDNA พบว่าเป็นสายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae, Hansenniaspora guilliermondii* และ *Metschnikowia agavea* โดยสายพันธุ์ *H. guilliermondii* มีความสามารถในการหมักแป้งสำหรับผลิตขนมตาลได้ดีที่สุด ซึ่งนำมาใช้เป็นกล้าเชื้อ โดยแบ่งสูตรการผลิตขนมตาลออกเป็น 4 สูตร พบว่า ขนมตาลควบคุมมีค่าความสว่าง (L*) มากกว่าสูตรอื่น ค่าความเป็นกรดด่างมีแนวโน้มลดลงจากร้อยละ 5.80 เป็นร้อยละ 5.17 – 5.56 เมื่อสิ้นสุดการหมัก KTB มีความจำเพาะมากที่สุด ส่งผลให้มีค่าแรงเฉือนสูงที่สุดเช่นกัน การวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัสพบว่า KTB ได้รับคะแนนความชอบมากที่สุด อย่างไรก็ตามขนมตาลที่เติมกล้าเชื้อร่วมกับผงฟูได้รับคะแนนความชอบในระดับปานกลางด้านกลิ่น รสชาติ และความชอบโดยรวม ($p \leq 0.05$)

2.4.6 Chandrasekhar Kathera et al., [50] ทำไวน์จากต้นปาล์ม โดยศึกษาปาล์ม 3 สายพันธุ์ คือ ต้นตาลโตนด ต้นอินทผาลัม และต้นมะพร้าว ไวน์ปาล์มเป็นเครื่องดื่มที่ถูกนำมาใช้ในงานสังสรรค์ เช่น งานแต่งงาน และงานสำเร็จการศึกษา ซึ่งไวน์ปาล์มได้จากการนำน้ำตาลปาล์มไปหมัก เมื่อนำไปวิเคราะห์ ด้วย Tenax GC ได้สารประกอบอินทรีย์ 47 ชนิด คือ แอลกอฮอล์ 9 ชนิด, กรด 5 ชนิด,

อะซิทอล 2 ชนิด, เทอร์พีน 4 ชนิด และไฮโดรคาร์บอน 9 ชนิด เชื้อจุลินทรีย์ที่ถูกพบในไวน์ปาล์มมีทั้งยีสต์ รา และแบคทีเรีย เช่น *Schizo, Saccharomyces pombe*, *Saccharomyces cerevisiae, Lactobacillus* และ *Leuconostoc* เป็นต้น การดื่มไวน์ปาล์มในปริมาณที่พอเหมาะจะช่วยให้มีประจำเดือน เพิ่มพลังให้แก่ร่างกาย สดชื่น อีกทั้งน้ำตาลปาล์มยังสามารถช่วยบรรเทาบาดแผลในกระเพาะอาหาร และลดไข้ได้อีกด้วย

2.4.7 Michael Ukwuru & Jane Awah [51] ได้ศึกษาคุณสมบัติของยีสต์ในไวน์ปาล์มและเส้นใยปาล์ม เพื่อวิเคราะห์คุณสมบัติของยีสต์และประสิทธิภาพในการทำไวน์ พบว่ายีสต์ที่แยกได้จากไวน์ปาล์มและเส้นใยปาล์ม คือ สายพันธุ์ *S. cerevisiae*, *S. globosus* และ *S. carlsbergensis* ทนต่อเอทานอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 15 – 18 โดยปริมาตร (v/v) เมื่อยีสต์มีการเจริญ ปริมาณเอทานอลและ TA เพิ่มขึ้น ส่งผลต่อค่าความเป็นกรดด่างที่ลดลงอีกด้วย ซึ่งประสิทธิภาพของยีสต์ในไวน์แสดงให้เห็นถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ .05 การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่ายีสต์ที่ได้จากไวน์ปาล์มมีคุณสมบัติในการผลิตไวน์จากผลไม้

2.4.8 Nduka Okafor [39] ได้ศึกษาการแยกยีสต์จากน้ำหมักที่ได้จากการหมักน้ำตาลสดของปาล์มในสกุล *Elaeis* และ *Raphia* ที่เก็บจากสถานที่ต่างกัน พบยีสต์ 17 สายพันธุ์ ซึ่งเป็นยีสต์ในสกุล *Saccharomyces* จำนวน 12 สายพันธุ์ *Candida* จำนวน 4 สายพันธุ์ และ *Endomycopsis* จำนวน 1 สายพันธุ์

2.4.9 Ronald Valder & Krishna Prasad Nooralabettu [52] ได้ศึกษาเชื้อจุลินทรีย์ที่มีในน้ำตาลโตนดสดจากต้นตาลโตนดที่ปลูกบริเวณชายฝั่ง Karnataka ในประเทศอินเดีย พบ rDNA ของยีสต์ที่แยกด้วยใช้ไพรเมอร์เชื้อรา ITS4, ITS5 และ 16S ribosomal RNA ของเชื้อแบคทีเรียที่ถูกแยกด้วยไพรเมอร์ fDD2 และ rPP2 พบยีสต์ที่สำคัญ 2 ชนิดคือ *Saccharomyces cerevisiae* YN3 และ *Lachancea fermentati* UCLM 17A และแบคทีเรียกรดแลคติกที่สำคัญ ได้แก่ *Leuconostoc mesenteroides* ATCC8293 (T) และ *Fructobacillus fructosus* KCTC3544 (T) การศึกษาครั้งนี้เป็นครั้งแรกในการศึกษาเชื้อจุลินทรีย์ของต้นปาล์มที่สมบูรณ์และเป็นข้อมูลสำคัญสำหรับการการหมักน้ำตาลสดในอนาคต

2.4.10 Savitree Limtong et al., [53] ได้สำรวจยีสต์จากน้ำตาลมะพร้าว น้ำตาลโตนด น้ำตาลต้นจาก และศึกษาความสามารถในการหมักเอทานอลของยีสต์ที่แยกได้ ทั้งหมด 90 ตัวอย่าง

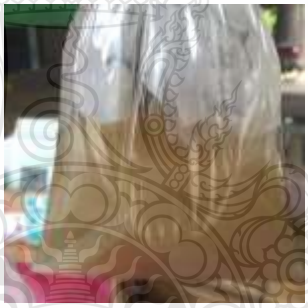
ยีสต์ 204 ไอโซเลท 15 สปีชี่ส์อยู่ในไฟลัม Ascomycota และ 1 สปีชี่ส์อยู่ในไฟลัม Basidiomycota ซึ่งสายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae*, *Hanseniaspora quilliermondii* และ *Lachancea thermotolerans* พบได้จากน้ำตาลทั้ง 3 ชนิด *Hanseniaspora vineae*, *Lachancea fermentati* และ *Pichia manshurica* พบจากน้ำตาลมะพร้าวและน้ำตาลจาก แต่ *Torulaspora delbrueckii* พบในน้ำตาลโตนดและน้ำตาลต้นจาก ซึ่งน้ำตาลมะพร้าว น้ำตาลโตนด น้ำตาลต้นจากพบยีสต์สายพันธุ์ *S. cerevisiae* มากที่สุดร้อยละ 76.67, ร้อยละ 86.70 และร้อยละ 100 ตามลำดับ เมื่อนำยีสต์ไปเลี้ยงในน้ำตาลกลูโคส 160 กรัม/ลิตร บ่มที่ 28 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมง พบยีสต์ 199 ไอโซเลทที่มีความสามารถในการหมักเอทานอล *L. fermentati* YSP-383 ที่ได้จากน้ำตาลต้นจากให้ปริมาณเอทานอลสูงที่สุด 76.74 g/L *Candida sanyaensis* 26 ไอโซเลท *Candida tropicalis*, *H. quilliermondii*, *L. fermentati*, *L. thermotolerans*, *Pichia kudriavzevii* และ *S. cerevisiae* ให้เอทานอลตั้งแต่ 69.57 - 76.74 g/L. ผลการศึกษาพบว่ายีสต์ที่แยกได้จากน้ำตาลมะพร้าว น้ำตาลโตนด น้ำตาลต้นจากมีความสามารถในการหมักเอทานอล

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

การวิจัยเรื่องการพัฒนาผลิตภัณฑ์ตาลหมากโดยใช้ยีสต์จากน้ำตาลโตนด มีวัตถุประสงค์เพื่อแยกและระบุสายพันธุ์ของยีสต์ที่พบในน้ำตาลโตนด เพื่อศึกษากระบวนการหมักน้ำตาลโตนดด้วยยีสต์ธรรมชาติ และวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี และเพื่อทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์ตาลหมาก มีวิธีดำเนินการวิจัย ดังต่อไปนี้

3.1 วัตถุดิบ

3.1.1 น้ำตาลโตนด จากหมู่บ้านน้ำตาลสด ตำบลปากน้ำ อำเภอบางคล้า จังหวัดฉะเชิงเทรา ดังแสดงในรูปที่ 3.1



รูปที่ 3.1 น้ำตาลโตนด

3.1.2 ลูกตาล จากหมู่บ้านน้ำตาลสด ตำบลปากน้ำ อำเภอบางคล้า จังหวัดฉะเชิงเทรา ดังแสดงในรูปที่ 3.2

รูปที่ 3.2 ลูกตาล

3.2 อุปกรณ์ และเครื่องมือ

3.2.1 เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge) ยี่ห้อ Eppendorf รุ่น 5810

3.2.2 เครื่องเขย่า (Vortex Mixer) ยี่ห้อ KK รุ่น VM300

3.2.3 ปิเปต (Pipette) (ขนาด 1 และ 10 มิลลิลิตร)

3.2.4 ไมโครปิเปตต์ทิป (Micropipette Tip) ยี่ห้อ Nichiryo รุ่น 00-CT-AGR, รุ่น 00-BMT-LRB

3.2.5 แท่งแก้วเขี่ยเชื้อ (Spreader)

3.2.6 ห่วงเขี่ยเชื้อ (Loop)

3.2.7 ขวดรูปชมพู่ (Flask) ขนาด 100, 250, 500 และ 1,000 มิลลิลิตร

3.2.8 เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (Shaking Incubator) ยี่ห้อ LabTech

3.2.9 เครื่องวัดดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) ยี่ห้อ Mapada Instruments รุ่น UV 120

3.2.10 ตู้บ่มเชื้อ (Incubator) ยี่ห้อ Memmert รุ่น IF55

3.2.11 เครื่องวัดปริมาณของแข็งทั้งหมด (Hand Refractometer) ยี่ห้อ Hanna

3.2.12 เครื่องวัดกรด-ด่าง (pH Meter) ยี่ห้อ Kedida รุ่น CT-6021A

3.2.13 ขวดแก้ว (Bottle Glass)

3.2.14 เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Precisa รุ่น xt220A

3.2.15 จานเพาะเชื้อ (Petri Dish)

3.2.16 ขวดใส่อาหารเลี้ยงเชื้อ

3.2.17 ชุดทดสอบทางเอนไซม์ (Megazyme)

3.2.18 อุปกรณ์เครื่องครัว (มีด เขียง ช้อน ส้อม หม้อ ฯลฯ)

3.2.19 เครื่องปั่นน้ำผลไม้ ฟิลิปส์ (Philips) รุ่น HR-2115

3.2.20 Bottle Duran ขนาด 250, 500 และ 1,000 มิลลิลิตร

3.2.21 หลอดทดลอง (Test Tube)

3.2.22 กระบอกตวง (Cylinder) ขนาด 100, 250, 500 และ 1,000 มิลลิลิตร

3.2.23 บีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 10, 50, 250 และ 1,000 มิลลิลิตร

3.2.24 ขวดวัดปริมาตร (Volumetric Flask)

3.2.25 แท่งแก้วคนสาร (Stirring Rod)

3.2.26 คิวเวทท์แก้ว (Glass Cuvette)

3.2.27 หลอดทดลองฝาเกลียว (Test Tube with Screw Cap)

3.2.28 แผ่นสไลด์ (Slide)

3.2.29 กระจกปิดสไลด์ (Cover Slide)

3.2.30 ลูกยางปิเปต

3.2.31 กรวยกรอง (Funnel)

3.3 สารเคมี

3.3.1 สารละลายเปปโตนร้อยละ 0.1

3.3.2 น้ำกลั่น

3.3.3 Buffer A

3.3.4 Buffer B (Lysis Buffer)

3.3.5 Chloroform

3.3.6 Isoamyl Alcohol

3.3.7 โซเดียมอะซิเตท (Sodium Acetate)

3.3.8 ไอโซโพรพานอล (Isopropanol)

3.3.9 เอทานอล (Ethanol)

3.3.10 TE RNase

3.3.11 Lyse-N-GoTM PCR Reagent

3.3.12 1XTrisborate Buffer (TBE)

3.3.13 Bromophenol Blue

3.3.14 Edthidium Bromide

3.3.15 Stock Solution A (3M CH_3COONA 2 µL + ร้อยละ 95 EtOH 50 µL)

3.3.16 น้ำดีไอออไนซ์

3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ

3.4.1 อาหาร Malt Extract Agar (MEA) จากบริษัท Merck ประเทศเยอรมนี

3.4.2 อาหาร Malt Extract Broth (MEB) จากบริษัท Merck ประเทศเยอรมนี

3.4.3 อาหาร Dicloran Rose Bengal Chloramphenicol Agar (DRBC) จากบริษัท Merck ประเทศเยอรมนี

3.5 วิธีการทดลอง

วิธีการทดลองในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ตาลหมากโดยใช้ยีสต์จากน้ำตาลโตนด ดังแสดงในรูปที่ 3.3

แยกยีสต์จากน้ำตาลโตนด

↓

ระบุสายพันธุ์ยีสต์ด้วยวิธีวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ บริเวณ D1/D2 บน 26S rRNA gene

↓

เลือก 4 สายพันธุ์

↓

นำยีสต์ทั้ง 4 สายพันธุ์ หมักน้ำตาลโตนดให้ได้น้ำตาลเมา

- วัดการเจริญของยีสต์ด้วยวิธี Total Plate Count วันที่ 0, 2, 4, 6, 8 และ 10
- วิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ด้วยการใช้ชุดทดสอบด้วยเอนไซม์ วันที่ 0, 2, 4, 6, 8 และ 10
- วิเคราะห์คุณภาพทางเคมี คือ ค่าความเป็นกรดด่าง, ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Total Soluble Solids) วันที่ 0, 2, 4, 6, 8 และ 10

↓

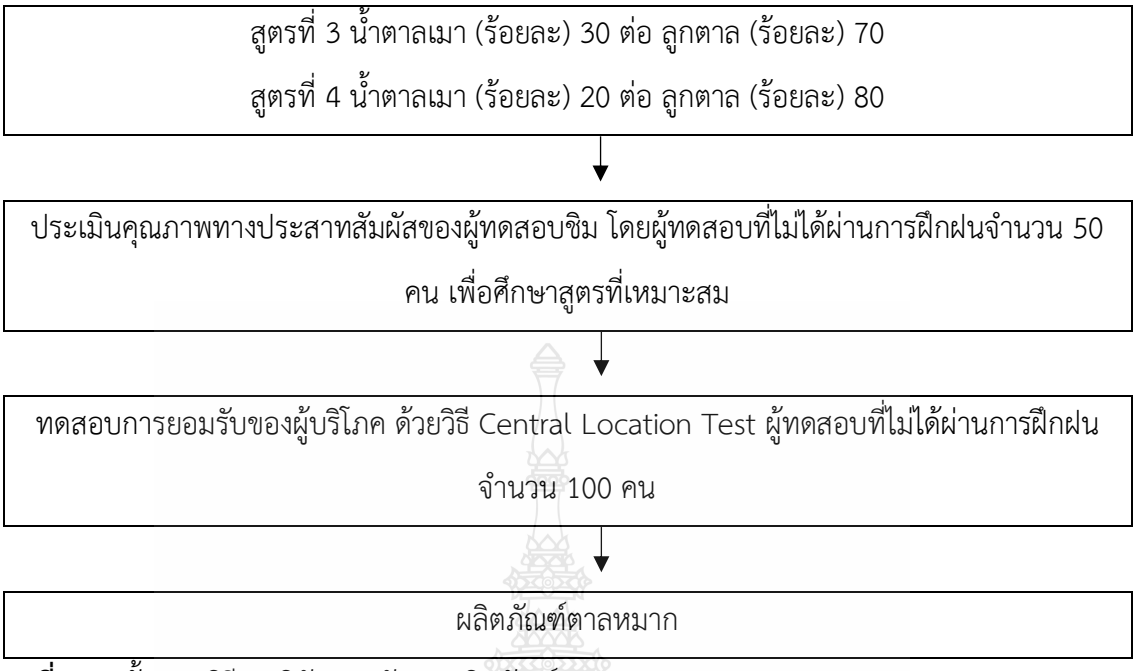
ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผู้ทดสอบชิม โดยผู้ทดสอบที่ไม่ได้ผ่านการฝึกฝนจำนวน 50 คน เพื่อศึกษาสายพันธุ์ยีสต์ที่เหมาะสมต่อการหมักน้ำตาลเมา

↓

ศึกษาสูตรในการทำผลิตภัณฑ์ตาลหมาก

สูตรที่ 1 น้ำตาลเมา (ร้อยละ) 50 ต่อ ลูกตาล (ร้อยละ) 50

สูตรที่ 2 น้ำตาลเมา (ร้อยละ) 40 ต่อ ลูกตาล (ร้อยละ) 60



รูปที่ 3.3 ขั้นตอนวิธีการวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์ตาลหมาก

3.5.1 การแยกยีสต์บริสุทธิ์จากน้ำตาลโตนด

นำน้ำตาลโตนดปริมาตร 1 มิลลิลิตร เจือจางด้วยสารละลายเปปโตนร้อยละ 0.1 ปริมาตร 9 มิลลิลิตร นำไปผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่า (Vortex Mixer) ได้ระดับการเจือจาง 10^{-1} ใช้ปิเปตดูดสารละลายที่ได้ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลายเปปโตนร้อยละ 0.1 ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่า (Vortex Mixer) ให้ได้ระดับสารละลายการเจือจาง 10^{-2} ทำการเจือจางต่อให้ได้ระดับการเจือจางที่ 10^{-5}

ใช้ไมโครปิเปตดูดสารละลายที่ระดับการเจือจางที่ 10^{-3}, 10^{-4} และ 10^{-5} ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร หยดลงบนจานเพาะเชื้อที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ Malt Extract Agar แล้วใช้แท่งแก้วเกลี่ยเชื้อ (Spreader) เกลี่ยสารละลายให้ทั่วบนจานเพาะเชื้อทำระดับการเจือจางละ 3 ซ้ำ จากนั้นนำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อ (Incubator) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำห่วงเขี่ยเชื้อ (Loop) ที่อยู่บนอาหาร Malt Extract Agar จำนวน 1 ลูป เพื่อนำไปเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อแบบเอียง

3.5.2 การระบุสายพันธุ์ยีสต์

ระบุสายพันธุ์ยีสต์ด้วยเทคนิคทางโมเลกุล ด้วยวิธีการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ D1/D2 บน 26S rRNA gene [26] เพื่อศึกษาสายพันธุ์ของยีสต์ธรรมชาติ

3.5.3 การคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์ที่ใช้สำหรับหมักน้ำตาลโตนด

3.5.3.1 การทำกล้าเชื้อเหลว

ถ่ายเชื้อยีสต์จากอาหารเลี้ยงเชื้อแบบเอียง หรือ Malt Extract Slant 1 ลูป โดยใช้ห่วงเขี่ยเชื้อลงในน้ำตาลโตนดที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปบ่มด้วยเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ความเร็วรอบ 150 รอบ ต่อนาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ให้ได้ความขุ่นที่ 0.5 เพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อเริ่มต้น

3.5.3.2 การคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์ที่มีความสามารถในหมักน้ำตาลโตนด

นำน้ำตาลโตนดปริมาตร 1000 มิลลิลิตร ไปฆ่าเชื้อวิธีพาสเจอร์ไรซ์ (Low Temperature Long Time) อุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เติมไดแอมโมเนียมฟอสเฟต ร้อยละ 0.5 เทใส่ขวดแก้วที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว (บรรจุขณะร้อน) ปิดจุกให้สนิทด้วยสำลี ทำให้เย็น จากนั้นนำสายพันธุ์ยีสต์ที่คัดเลือกได้จากข้อ 3.5.2 จำนวน 4 ไอโซเลท อัตราส่วนร้อยละ 2 เติมลงไปในน้ำตาลโตนดที่เตรียมไว้ ปิดแอร์ล็อค บ่มในตู้บ่มเชื้อ (Incubator) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน จากนั้นนำไปวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

1) วัดการเจริญเติบโตของเชื้อระหว่างการหมักวันที่ 0, 2, 4, 6, 8 และ 10 เตรียมสารละลายเชื้อโดยการนำน้ำตาลโตนดหมัก 25 มิลลิลิตร มาเจือจางในสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ที่ปราศจากเชื้อ ในปริมาณ 225 มิลลิลิตร ที่บรรจุอยู่ในขวด Duran ขนาด 250 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน จะได้สารละลายเชื้อเจือจาง 10^{-1} เท่า จากนั้นทำการเจือจางต่อ ให้ได้10^{-10}

นำสารละลายเชื้อที่เจือจางแล้วมาอย่างละ 1 มิลลิลิตร ทำการ Spread Plate บนหน้าอาหาร Malt Extract Agar (MEA) ที่อยู่ในจานเพาะเชื้อ (ทำ 3 ซ้ำ) แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน สังเกตการณ์เจริญของเชื้อและนับจำนวนโคโลนี 30 - 300 โคโลนี บันทึกผล

2) วิเคราะห์ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Total Soluble Solids) นำตัวอย่างเทใส่บีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร หยดลงบนปริซึมของเครื่อง Hand Refractometer อ่านค่าในหน่วยองศาบริกซ์ (°Brix) บันทึกผล

3) วิเคราะห์ค่าความเป็นกรดด่าง นำตัวอย่างเทใส่บีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร มาวัดค่าความเป็นกรดด่าง ด้วยเครื่อง pH Meter บันทึกผล

4) วิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ด้วยการใช้ชุดทดสอบด้วยเอนไซม์ (Megazyme) โดยการเตรียมสารละลาย A (Distilled Water 2000 ไมโครลิตร, ตัวอย่าง 100 ไมโครลิตร, Solution 1 (Buffer 200 ไมโครลิตร), Solution 2 (NAD^+ 200 ไมโครลิตร), Solution 3 (Aldehyde Dehydrogenase 50 ไมโครลิตร) ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 2 นาที นำไปวัดวัดค่าดูดกลืนแสง 340 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง เครื่อง Absorption Spectrophotometer จากนั้น เติม Suspension 4 (Alcohol Dehydrogenase 20 ไมโครลิตร) ทิ้งไว้ 5 นาที นำไปวัดวัดค่าดูดกลืนแสง 340 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง เครื่อง Absorption Spectrophotometer บันทึกผล

3.5.3.3 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

นำน้ำตาลโตนดที่ผ่านกระบวนการหมักจากข้อที่ 3.5.3.2 เป็นเวลา 10 วันทั้ง 4 ไอโซเลท นำไปฆ่าเชื้อด้วยวิธีพาสเจอร์ไรซ์ (Low Temperature Long Time) ที่อุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นทำให้เย็นและนำไปวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี วิเคราะห์ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด วิเคราะห์ค่าความเป็นกรดด่าง วิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ และประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อคสมบูรณ์ (Randomized Completely Block Design, RCBD) ด้วยวิธี 9 Point Hedonic Scale Test โดย 1 คะแนน หมายถึง ไม่ชอบมากที่สุด และ 9 คะแนน หมายถึง ชอบมากที่สุด โดยผู้ทดสอบที่ไม่ได้ผ่านการฝึกฝนจำนวน 50 คน วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติด้วยวิธีวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยโปรแกรม SPSS คัดเลือกสายพันธุ์ของยีสต์ที่เหมาะสมในการหมักน้ำตาลโตนดจำนวน 1 สายพันธุ์

3.5.4 ศึกษาสูตรที่เหมาะสมในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ตาลหมาก

นำน้ำตาลเมาที่ผลิตด้วยยีสต์จากการคัดเลือกจากข้อ 3.5.3.3 มาผสมกับลูกตาลปั่นหยาบด้วยเครื่องปั่นน้ำผลไม้ ฟิลิปส์ (Philips) รุ่น HR-2115 ที่ความเร็วระดับ 1 เป็นเวลา 30 วินาที ในอัตราส่วนต่างกันแบ่งได้ 4 สิ่งทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 อัตราส่วนของน้ำตาลเมาต่อลูกตาล

สูตร	น้ำตาลเมา (ร้อยละ)	ลูกตาล (ร้อยละ)
1	50	50
2	40	60
3	30	70
4	20	80

นำตัวอย่างทั้ง 4 สิ่งการทดลอง ฆ่าเชื้อด้วยวิธีพาสเจอร์ไรซ์ (Low Temperature Long Time) ที่อุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นทำให้เย็นและนำไปประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผู้ทดสอบชิม โดยวิธี 9 Point Hedonic Scale Test โดย 1 คะแนน หมายถึง ไม่ชอบมากที่สุด และ 9 คะแนน หมายถึง ชอบมากที่สุด วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยการวิเคราะห์หาความแปรปรวนทางเดียว (one-way ANOVA) และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยรายคู่ โดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test กำหนดนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยโปรแกรม SPSS

3.5.5 ทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคผลิตภัณฑ์ตาลหมาก

นำสูตรที่ได้จากการประเมินทางประสาทสัมผัส ในข้อที่ 3.5.4 มาทดสอบผู้บริโภคโดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อคสมบูรณ์ (Randomized Completely Block Design, RCBD) โดยผู้ทดสอบที่ไม่ได้ผ่านการฝึกฝนจำนวน 100 คน ด้วยวิธี Central Location Test (CLT) ที่ตลาดแจ้งวัฒนะ 6 ถนนแจ้งวัฒนะ แขวงอนุสาวรีย์ เขตบางเขน กรุงเทพมหานคร วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติด้วยวิธีวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยโปรแกรม SPSS

3.6 สถานที่ทำการวิจัย

ห้องปฏิบัติการคณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ในการทำวิจัย

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์

การวิจัยเรื่องการพัฒนาผลิตภัณฑ์ตาลหมากโดยใช้ยีสต์จากน้ำตาลโตนด มีวัตถุประสงค์เพื่อแยกและระบุสายพันธุ์ของยีสต์ที่พบในน้ำตาลโตนด เพื่อศึกษากระบวนการหมักน้ำตาลโตนดด้วยยีสต์ธรรมชาติ และวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี และเพื่อทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์ตาลหมาก ผู้วิจัยได้ผลการทดลองและวิจารณ์ดังต่อไปนี้

4.1 ผลระบุชนิดของยีสต์ที่พบในน้ำตาลโตนด

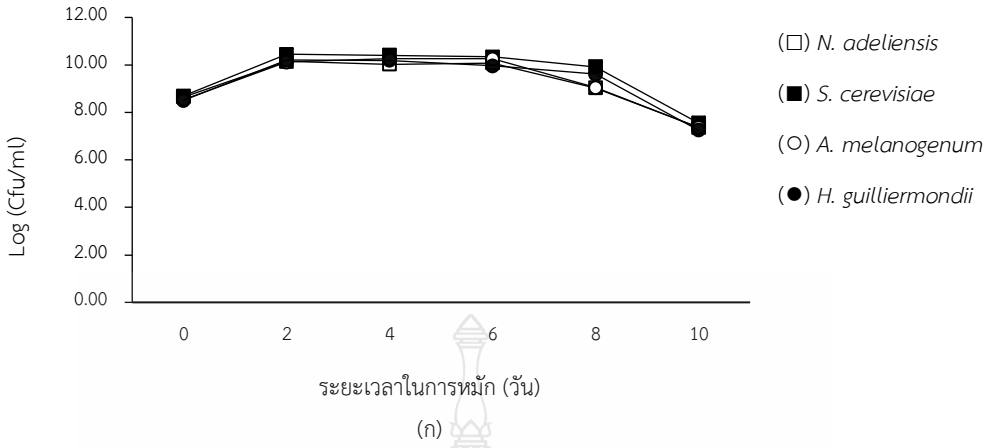
เมื่อนำน้ำตาลโตนดที่ไม่ได้ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความร้อน จากหมู่บ้านน้ำตาลสด ตำบลปากน้ำ อำเภอบางคล้า จังหวัดฉะเชิงเทรา แยกเชื้อยีสต์ด้วยการทำให้เชื้อกระจายในจานเพาะเชื้อ (Spread Plate) คัดเลือกโคโลนีที่มีลักษณะแตกต่างกันได้ยีสต์ 6 ไอโซเลท โดยกำหนดรหัสดังนี้ CS101 มีลักษณะโคโลนี สีขาว มันวาว กลมนูน ขอบเรียบ, CS102 มีลักษณะโคโลนี สีขาว ผิวด้าน กลมนูน, CS103 มีลักษณะโคโลนี สีขาว ผิวด้าน กลมนูน CS104 มีลักษณะโคโลนีสีขาว, CS105 และ CS106 ลักษณะโคโลนี สีขาว มันวาว กลมนูน หลังจากนั้นนำไประบุชนิดยีสต์ ด้วยวิธีวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ บริเวณ D1/D2 บน 26S rRNA gene พบว่า CS101 เป็นยีสต์สายพันธุ์ *Naganishia adeliensis*, CS102 และ CS103 เป็นยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae*, CS104 เป็นยีสต์สายพันธุ์ *Aureobasidium melanogenum*, CS105 และ CS106 เป็นยีสต์ *Hanseniaspora guilliermondii* ดังแสดงในภาคผนวก ก โดยยีสต์สายพันธุ์ *S. cerevisiae* และ *H. guilliermondi* มีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ สมศรี ลีปิพัมนาวิทย์ [18] ที่พบยีสต์ 2 สายพันธุ์นี้จากตาลโตนดเช่นกัน อีกทั้งยังเป็นยีสต์ที่มีความสำคัญต่อการหมัก สามารถเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ได้อีกด้วย และสอดคล้องกับงานวิจัย Savitree Limtong et al., [53] ที่พบสายพันธุ์ *S. cerevisiae* และ *H. guilliermondii* จากน้ำตาลโตนด น้ำตาลมะพร้าวและน้ำตาลจาก ส่วนยีสต์ *N. adeliensis* และ *A. melanogenum* ยังไม่มีรายงานการพบจากตาลโตนด แต่ในงานวิจัยของ Grijalva et al., [57] พบว่าสายพันธุ์ *N. adeliensis* มีกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสที่สูง

4.2 ผลศึกษาการหมักน้ำตาลโตนดด้วยยีสต์ธรรมชาติ

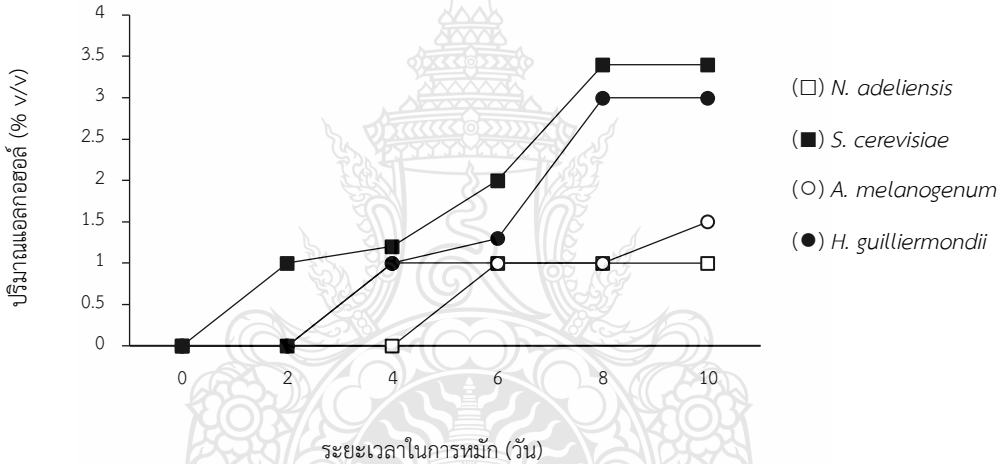
เลือกยีสต์ 4 สายพันธุ์ จากข้อ 4.1 คือ *N. adeliensis*, *S. cerevisiae*, *A. melanogenum* และ *H. guilliermondii* นำยีสต์ทั้ง 4 สายพันธุ์ หมักในน้ำตาลโตนดจากหมู่บ้านน้ำตาลสด ตำบลปากน้ำ อำเภอบางคล้า จังหวัดฉะเชิงเทรา ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ดังแสดงในรูปที่ 4.1 โดยมีค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นเท่ากับ 4.5 ค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (Total Soluble Solids) เริ่มต้นเท่ากับ 22 องศาบริกซ์ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในตู้บ่มเชื้อที่ควบคุมอุณหภูมิ เป็นเวลา 10 วัน วัดการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์และวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี ได้แก่ ปริมาณแอลกอฮอล์ , ความเป็นกรดด่าง และปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (Total Soluble Solids) ในระหว่างการหมักวันที่ 0, 2, 4, 6, 8 และวันที่ 10 ผลการทดลอง ดังแสดงในรูปที่ 4.2

(ก) (ข) (ค) (ง)

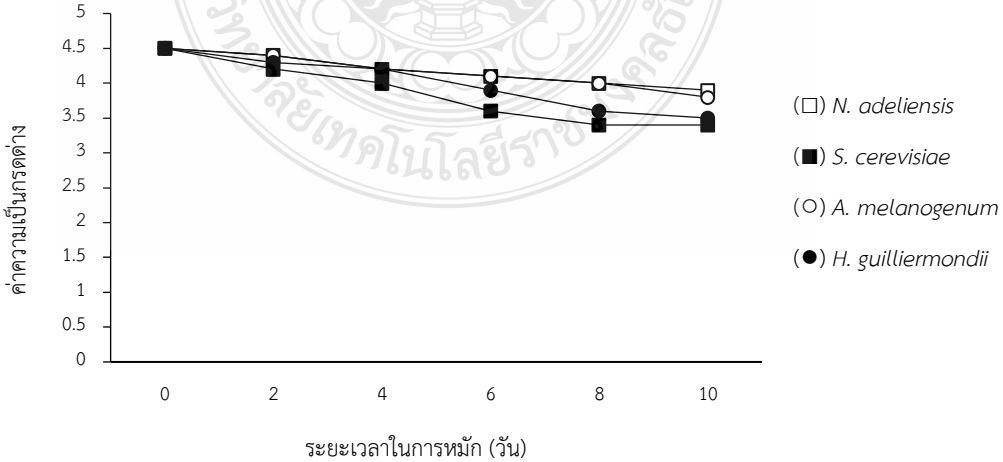
รูปที่ 4.1 น้ำตาลเมาจากยีสต์ 4 สายพันธุ์ (ก) *N. adeliensis* (ข) *S. cerevisiae* (ค) *A. melanogenum* และ (ง) *H. guilliermondii*


12.00
10.00
8.00
6.00
4.00
2.00
0.00
Log (Cfu/ml)
0
2
4
6
8
10
ระยะเวลาในการหมัก (วัน)
(□) N. adeliensis
(■) S. cerevisiae
(○) A. melanogenum
(●) H. guilliermondii

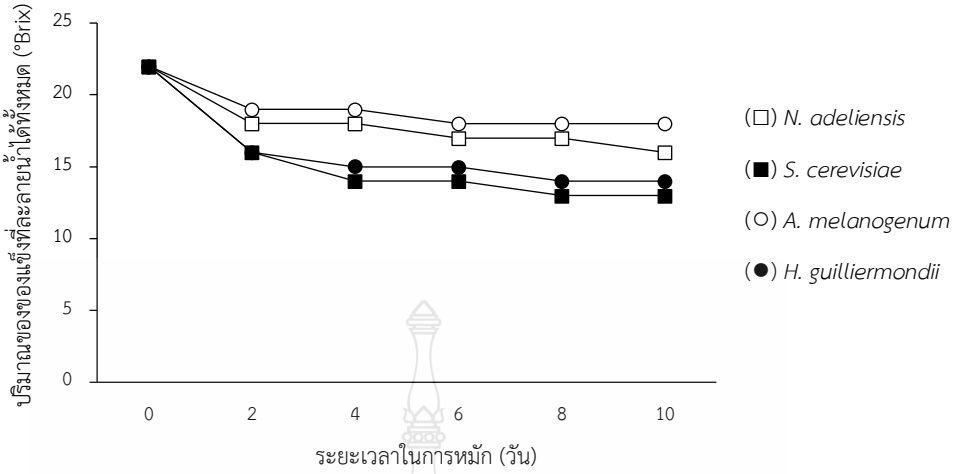
(ก)


4
3.5
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
ปริมาณแอลกอฮอล์ (% v/v)
0
2
4
6
8
10
ระยะเวลาในการหมัก (วัน)
(□) N. adeliensis
(■) S. cerevisiae
(○) A. melanogenum
(●) H. guilliermondii

(ข)


5
4.5
4
3.5
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
ค่าความเป็นกรดด่าง
0
2
4
6
8
10
ระยะเวลาในการหมัก (วัน)
(□) N. adeliensis
(■) S. cerevisiae
(○) A. melanogenum
(●) H. guilliermondii

(ค)



(ง)

รูปที่ 4.2 กราฟการเจริญและผลวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีของยีสต์ทั้ง 4 สายพันธุ์ ที่หมักในน้ำตาลโตนด ระยะเวลาการหมัก 10 วัน

(ก) แสดงการเจริญของยีสต์ในน้ำตาลโตนด

(ข) แสดงปริมาณแอลกอฮอล์ (%v/v)

(ค) แสดงค่าความเป็นกรดด่าง (pH)

(ง) แสดงปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (°Brix)

จากรูปที่ 4.2 กราฟ (ก) แสดงการเจริญของยีสต์ทั้ง 4 สายพันธุ์ *N. adeliensis*, *S. cerevisiae*, *A. melanogenum* และ *H. guilliermondii* จำนวนยีสต์เริ่มต้น 8.65, 8.69, 8.54 และ 8.51 Log (CFU/ml) ตามลำดับ เมื่อเข้าสู่วันที่ 2 ยีสต์ทั้ง 4 สายพันธุ์มีการเจริญมากขึ้นซึ่ง *S. cerevisiae* เจริญมากสุด คือ 10.45 Log (CFU/ml) รองลงมา *H. guilliermondii*, *N. adeliensis* และ *A. melanogenum* เท่ากับ 10.21, 10.15 และ 10.12 Log (CFU/ml) ตามลำดับ วันที่ 2 ถึงวันที่ 6 ยีสต์มีการเจริญแบบคงที่ แต่การของ *H. guilliermondii* ลดลงเล็กน้อยคือ 9.96 Log (CFU/ml) วันที่ 8 ยีสต์ทั้ง 4 สายพันธุ์ มีการเจริญลดลงแต่ *S. cerevisiae* ยังเจริญมากที่สุด คือ 9.92 Log (CFU/ml) รองลงมา *H. guilliermondii*, *A. melanogenum* และ *N. adeliensis* เท่ากับ 9.61, 9.05 และ 9.03 Log (CFU/ml) ตามลำดับ วันที่ 10 สิ้นสุดกระบวนการหมักสามารถเรียงลำดับสายพันธุ์ยีสต์ที่มีการเจริญมากที่สุดไปน้อยสุดได้ดังนี้ *S. cerevisiae, N. adeliensis, A. melanogenum* และ *H. guilliermondii* โดยมีจำนวนยีสต์เท่ากับ 7.55, 7.37, 7.36 และ7.25 Log (CFU/ml) ตามลำดับ ซึ่งการเจริญของยีสต์แบ่งออกเป็น 3 ช่วง [46] จากรูปที่ 4.2 กราฟ (ก) ตั้งแต่วันที่ 0 เป็นช่วง Lag Phase หรือ

ระยะเริ่มต้น ยีสต์ปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมใหม่โดยเฉพาะสภาวะที่มีแรงดันออสโมซิสสูง [46] จากความเข้มข้นของน้ำตาลที่มีในน้ำตาลโตนด เมื่อเข้าสู่วันที่ 2 เข้าสู่ระยะ Log Phase ยีสต์ใช้สารอาหารและออกซิเจนที่ละลายอยู่ในน้ำตาลโตนดเพื่อใช้ในการเจริญ เมื่อเข้าสู่สภาวะไร้ออกซิเจน ยีสต์เปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ผ่านวิถีไกลโคไลซิส [46] สอดคล้องกับกราฟ (ข) ที่เริ่มมีปริมาณแอลกอฮอล์เมื่อเข้าสู่วันที่ 2 สายพันธุ์ *A. melanogenum* และ *N. adeliensis* เข้าสู่ระยะสุดท้าย End Phase ในวันที่ 6 ซึ่งเร็วกว่า *S. cerevisiae* และ *H. guilliermondii* ที่เริ่มเข้าสู่ระยะสุดท้ายในวันที่ 8 อาจเนื่องมาจาก *A. melanogenum* และ *N. adeliensis* ไม่สามารถทนต่อสภาวะแวดล้อมที่มีแอลกอฮอล์และกรดที่เกิดขึ้นระหว่างการหมักได้ จึงทำให้การเจริญลดลงอย่างรวดเร็ว ระยะสุดท้ายนี้เป็นระยะที่ยีสต์ย่อยสลายตัวเองเนื่องจากปริมาณแอลกอฮอล์ที่สูงขึ้น สารอาหารลดลง โดยทั่วไปยีสต์ที่ได้จากธรรมชาติมีการเจริญสูงสุดในช่วง 4 วันแรก เพราะยีสต์จากธรรมชาติไม่สามารถทนต่อสภาวะที่มีแอลกอฮอล์สูงได้ [46]

จากรูปที่ 4.2 กราฟ (ข) แสดงปริมาณแอลกอฮอล์วิเคราะห์ด้วยชุดทดสอบด้วยเอนไซม์ Megazyme ในวันที่ 0 ปริมาณแอลกอฮอล์ของยีสต์ทั้ง 4 สายพันธุ์ เท่ากับร้อยละ 0 โดยปริมาตร (v/v) เนื่องจากยีสต์ยังไม่เกิดกระบวนการหมัก [46] เมื่อเข้าสู่วันที่ 2 *S. cerevisiae* ให้ปริมาณแอลกอฮอล์ร้อยละ 1.0 โดยปริมาตร (v/v) เพียงสายพันธุ์เดียว วันที่ 4 *S. cerevisiae* ให้ปริมาณแอลกอฮอล์ที่สูงขึ้นเป็นร้อยละ 1.2 โดยปริมาตร (v/v) รองลงมาคือ *A. melanogenum* และ *H. guilliermondii* ให้ปริมาณแอลกอฮอล์เท่ากันร้อยละ 1.0 โดยปริมาตร (v/v) *N. adeliensis* ไม่พบปริมาณแอลกอฮอล์ วันที่ 6 *S. cerevisiae* ให้ปริมาณแอลกอฮอล์ร้อยละ 2.0 โดยปริมาตร (v/v) รองลงมาคือ *H. guilliermondii* ร้อยละ 1.3 โดยปริมาตร (v/v) *N. adeliensis* และ *A. melanogenum* ให้ปริมาณแอลกอฮอล์เท่ากันร้อยละ 1.0 โดยปริมาตร (v/v) ในวันที่ 8 *S. cerevisiae* ให้ปริมาณแอลกอฮอล์สูงขึ้นเป็นร้อยละ 3.4 โดยปริมาตร (v/v) รองลงมาคือ *H. guilliermondii* ให้ปริมาณแอลกอฮอล์ร้อยละ 3.0 โดยปริมาตร (v/v) *N. adeliensis* และ *A. melanogenum* ให้ปริมาณแอลกอฮอล์เท่ากันร้อยละ 1.0 โดยปริมาตร (v/v) และวันที่ 10 *S. cerevisiae*, *H. guilliermondii* และ *N. adeliensis* มีปริมาณแอลกอฮอล์เท่าเดิม ในขณะที่ *A. melanogenum* มีปริมาณเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 1.5 โดยปริมาตร (v/v) จากผลการทดลองพบว่ายีสต์ที่ใช้ในการหมักน้ำตาลโตนดและให้ปริมาณแอลกอฮอล์สูงที่สุดคือ *S. cerevisiae* ให้ปริมาณแอลกอฮอล์ร้อยละ 3.4 โดยปริมาตร (v/v) รองลงมาคือ *H. guilliermondii*, *A. melanogenum* และ *N. adeliensis* เท่ากับร้อยละ 3.0, 1.5 และ 1.0 โดยปริมาตร (v/v) ตามลำดับ ซึ่งปริมาณแอลกอฮอล์ที่เกิดขึ้นเป็นกระบวนการทางชีวเคมีที่อาศัยปฏิกิริยาของเอนไซม์ของยีสต์ในการเปลี่ยนสารตั้งต้น คือ น้ำตาลที่มีอยู่ในน้ำตาลโตนด ภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจนให้เป็นแอลกอฮอล์ [46] สอดคล้องกับผลการทดลองของรูปที่ 4.2 กราฟ (ก) เมื่อยีสต์เริ่มมี

การเจริญปริมาณแอลกอฮอล์เริ่มสูงขึ้น ปริมาณแอลกอฮอล์ที่สูงขึ้นมีผลไปยับยั้งการเจริญของยีสต์ทำให้ยีสต์เจริญช้าลง และแอลกอฮอล์ถูกเปลี่ยนไปเป็นสารประกอบเอสเทอร์อื่น ๆ [46] จากผลการทดลอง *S. cerevisiae* ให้ปริมาณแอลกอฮอล์สูงที่สุด ทั้งยังเป็นยีสต์ที่ได้รับความนิยมในการนำมาใช้สำหรับการหมักแอลกอฮอล์ เพราะหมักได้เร็ว ทนต่อปริมาณแอลกอฮอล์ที่สูงขึ้นและทนต่อการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นในระหว่างการหมัก [23] *H. guilliermondii* ให้ปริมาณแอลกอฮอล์ที่รองลงมาร้อยละ 3 โดยปริมาตร (v/v) เป็นยีสต์ที่มีความไวต่อแอลกอฮอล์และอุณหภูมิที่สูง จึงทำให้เกิดการหมักเพียงเล็กน้อย สอดคล้องกับงานวิจัยของ Sandeep Kaur [55] ที่รายงานว่า ยีสต์สายพันธุ์ *H. guilliermondii* เมื่อนำไปใช้ในการหมัก พบว่าทนต่อสภาวะแวดล้อม เช่น อุณหภูมิที่สูงขึ้นในระหว่างการหมัก รวมทั้งยังผลิตสารเอสเทอร์ต่าง ๆ ที่เข้มข้นขึ้น เช่น อะซิเตต เอสเทอร์ และไอโซพรีนอยด์ อีกทั้งยังลดความเข้มข้นของกรดไขมันและเอทิลเอสเทอร์ ทำให้ผลผลิตที่ได้จากการหมักเกิดกลิ่นผลไม้ที่ชัดเจนยิ่งขึ้น ในส่วนของสายพันธุ์ *A. melanogenum* ให้ปริมาณแอลกอฮอล์ที่ค่อนข้างต่ำ และยังไม่มีรายงานการนำยีสต์สายพันธุ์นี้ไปใช้ในการหมักเครื่องดื่มแอลกอฮอล์แต่ถูกนิยมนำไปใช้ในส่วนเทคโนโลยีชีวภาพ เช่น ผลิตไซโลโอลิโกแซ็กคาไรด์ [34] และ *N. adeliensis* ผลิตแอลกอฮอล์เพียงร้อยละ 1 โดยปริมาตร (v/v) งานวิจัยของ Grijalva et al., [56] ได้ทดลองประเมินการใช้ยีสต์ที่แยกจากเครื่องดื่มชิชาของชาวเอกวาดอและนำไปใช้อุตสาหกรรมอาหารในการหมัก ได้กล่าวไว้ว่า สายพันธุ์ *N. adeliensis* มีกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสที่สูง เป็นไปได้ว่าสายพันธุ์ *N. adeliensis* จะสามารถย่อยหรือเกิดกระบวนการหมักในอาหารจำพวกแป้งได้ดีกว่าน้ำผลไม้ จากรูปที่ 4.2 กราฟ (ข) พบว่าปริมาณแอลกอฮอล์เริ่มเกิดขึ้นในวันที่ 2 สอดคล้องกับงานวิจัยของ Gan-Lin Chen et al., [57] รายงานว่ายีสต์เกิดกระบวนการหมักในวันที่ 2 และเพิ่มสูงขึ้นเรื่อย ๆ ในวันที่ 3 ถึงวันที่ 9 ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ยีสต์ที่ใช้ซึ่งเป็นช่วงที่ยีสต์เจริญและแข็งแรง ในช่วงนี้ปริมาณน้ำตาลมีการลดลงอย่างรวดเร็ว และปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้จากการหมักค่อนข้างต่ำกว่ายีสต์ทางการค้าเนื่องจากงานวิจัยใช้ยีสต์ที่คัดแยกได้จากตาลโตนดซึ่งจัดเป็นยีสต์ธรรมชาติ จากงานวิจัยของ Jennifer Molinet et al., [58] ได้ทำการศึกษายีสต์สายพันธุ์ *S. cerevisiae* จากธรรมชาติและทางการค้าเพื่อปรับปรุงการหมักไวน์และเบียร์ พบว่ายีสต์ทางการค้าผลิตสารประกอบอะโรมาติก (เช่น เบนโซเอต, 4-อะมิโนเบนโซเอตและนิโคติเนต) ได้ต่ำ แต่ผลิตแอลกอฮอล์ได้สูง ทนค่าความเป็นกรดด่างได้ ในทางตรงกันข้ามสายพันธุ์ที่ได้จากธรรมชาติมีกิจกรรมเมทาบอลิซึมภายนอกเซลล์ที่ค่อนข้างสูงสร้างสารอินทรีย์ (เช่น แอสโพรพิล อะซิเตต, ไอโซเอมิล อะซิเตต และเอธิล อะซิเตต) สังเคราะห์กรดไขมันได้สูง เมื่อพลังงานสูงทำให้นำไปสู่วัฏจักรกรดไตรคาร์บอกซิลิกอย่างรวดเร็ว ซึ่งวัฏจักรกรดไตรคาร์บอกซิลิกอยู่ในระยะที่สอง (Log phase) ในการเจริญของยีสต์ เป็นช่วงที่ยีสต์เปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ [46] เมื่อยีสต์จากธรรมชาติเข้าสู่ซึ่งวัฏจักรกรดไตรคาร์บอกซิลิกอย่างรวดเร็วจึงส่งผลให้ยีสต์ธรรมชาติมีการหมักแอลกอฮอล์ได้ปริมาณน้อยกว่ายีสต์ทางการค้า [59]

จากรูปที่ 4.2 กราฟ (ค) แสดงค่าความเป็นกรดด่าง ด้วยเครื่อง pH Meter ซึ่งค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นที่ 4.5 และมีแนวโน้มลดลงเล็กน้อยอย่างต่อเนื่อง วันที่ 2 ยีสต์ *S. cerevisiae* มีค่าความเป็นกรดด่างลดลง เท่ากับ 4.2 รองลงมา *H. guilliermondii* มีค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 4.3 *N. adeliensis* และ *A. melanogenum* มีค่าความเป็นกรดด่างเท่ากัน คือ 4.4 วันที่ 4 *S. cerevisiae* มีค่าความเป็นกรดด่างลดลง 4.0 *N. adeliensis, A. melanogenum* และ *H. guilliermondii* มีค่าความเป็นกรดด่างเท่ากันคือ 4.2 วันที่ 6 *S. cerevisiae* มีค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 3.6 รองลงมาเป็น *H. guilliermondii* มีค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 3.9 *N. adeliensis* และ *A. melanogenum* มีค่าความเป็นกรดด่าง ที่เท่ากันคือ 4.1 วันที่ 8 *S. cerevisiae* มีค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 3.4 รองลงมาเป็น *H. guilliermondii* มีค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 3.6 *N. adeliensis* และ *A. melanogenum* มีค่าความเป็นกรดด่างที่เท่ากันคือ 4.0 วันที่ 10 *S. cerevisiae* มีค่าความเป็นกรดด่างเท่าเดิม ในขณะที่ *H. guilliermondii, A. melanogenum* และ *N. adeliensis* มีค่าความเป็นกรดด่างลดลง เท่ากับ 3.5, 3.8 และ 3.9 ตามลำดับ จากผลการทดลองพบว่าสายพันธุ์ยีสต์ที่นำไปหมักในน้ำตาลโตนดและมีค่าความเป็นกรดมากที่สุด คือ สายพันธุ์ *S. cerevisiae* ให้ค่าความเป็นกรดด่าง เท่ากับ 3.4 รองลงมาคือ *H. guilliermondii, A. melanogenum*, *N. adeliensis* ให้ค่าความเป็นกรดด่าง เท่ากับ 3.5, 3.8 และ 3.9 ตามลำดับ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq .05$) จากผลการทดลองค่าความเป็นกรดด่าง มีผลสอดคล้องกับงานวิจัยของ Ogueri Nwaiwu & Paul C. Chikezie [59] การประเมินผลไวน์ปาล์มที่หมักด้วยยีสต์และบทบาทของไวน์ปาล์มที่มีผลต่อผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร *Sacoglottis gabonensis* พบว่า ค่าความเป็นกรดด่างลดลงจาก 4.5 เป็น 3.0 โดยประมาณตลอดระยะเวลาหมัก 10 วัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq .05$) และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Satyabrata Ghosh, Runu Chakraborty et al., [60] ในการศึกษาอิทธิพลของค่าความเป็นกรดด่างต่อการหมักไวน์จากน้ำตาลโตนด พบว่า การเจริญของยีสต์ได้รับผลกระทบจากค่าความเป็นกรดด่างของสภาวะแวดล้อมที่เกิดขึ้น เนื่องจากยีสต์ใช้น้ำตาลเป็นแหล่งอาหารในการเจริญเพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์ และน้ำตาลถูกเปลี่ยนเป็นแอลกอฮอล์และคาร์บอนไดออกไซด์ เป็นผลสอดคล้องกับผลการทดลองรูปที่ 4.2 กราฟ (ข) บางส่วนถูกนำไปใช้สังเคราะห์ เพื่อผลพลอยได้อื่น ๆ เช่น เอสเทอร์, กลีเซอรอล, แอลดีไฮด์, เอมิลแอลกอฮอล์, ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์, ฟูเซลออยล์ หรือแม้กระทั่งสารจำพวกกรดทั้งกรดอะซิติกและกรดแลกติก จึงทำให้ค่าความเป็นกรดด่างตลอดระยะเวลาการหมักมีค่าลดลงอย่างต่อเนื่อง [25]

จากรูปที่ 4.2 กราฟ (ง) วัดค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (Total Soluble Solids) วิเคราะห์ด้วยเครื่อง Hand Refractometer เริ่มต้นที่ 22 องศาบริกซ์ และมีแนวโน้มที่ลดลงอย่างต่อเนื่อง เริ่มจากวันที่ 2 *S. cerevisiae* และ *H. guilliermondii* มีค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (Total Soluble Solids) ลดลงที่สุด เท่ากับ 16 องศาบริกซ์ รองลงมาได้แก่ *N. adeliensis*

และ *A. melanogenum* เท่ากับ 18 และ 19 องศาบริกซ์ ตามลำดับ ในวันที่ 4 ค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (Total Soluble Solids) น้อยที่สุดได้แก่ *S. cerevisiae* เท่ากับ 14 องศาบริกซ์ รองลงมาได้แก่ *H. guilliermondii, N. adeliensis* และ *A. melanogenum* วัดค่าได้เท่ากับ 15, 18 และ 19 องศาบริกซ์ ตามลำดับ วันที่ 6 *S. cerevisiae* มีค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (Total Soluble Solids) เท่าเดิม ในขณะที่ *H. guilliermondii, N adeliensis* และ *A. melanogenum* วัดค่าได้ 15, 17 และ 18 องศาบริกซ์ ตามลำดับ วันที่ 8 *S. cerevisiae* วัดค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (Total Soluble Solids) เท่ากับ 13 องศาบริกซ์ ส่วน *H. guilliermondii, N. adeliensis* และ *A. melanogenum* วัดค่าได้ 14, 17 และ 18 องศาบริกซ์ ตามลำดับ วันที่ 10 ค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (Total Soluble Solids) ที่น้อยที่สุด คือ *S. cerevisiae* เท่ากับ 13 องศาบริกซ์ รองลงมาคือ *H. guilliermondii, N. adeliensis* และ *A. melanogenum* วัดค่าได้ 14, 16 และ 18 องศาบริกซ์ ตามลำดับ จากผลการทดลอง พบว่าสายพันธุ์ยีสต์ที่มีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (Total Soluble Solids) มีค่าน้อยที่สุด หลังการหมัก 10 วัน คือสายพันธุ์ *S. cerevisiae* เท่ากับ 13 องศาบริกซ์ รองลงมาเป็น *H. guilliermondii, N. adeliensis* และ *A. melanogenum* มีค่าเท่ากับ 14, 16 และ 18 องศาบริกซ์ ตามลำดับ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq .05$) ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (Total Soluble Solids) มีค่าลดลงอย่างรวดเร็วในช่วงแรกที่เกิดการหมัก จากนั้นลดลงอย่างช้า ๆ จนสิ้นสุดการหมัก 10 วัน ซึ่งมีความสัมพันธ์กับการเจริญในกราฟ (ก) และปริมาณแอลกอฮอล์ จากรูปที่ 4.2 กราฟ (ข) เมื่อเทียบกราฟ (ข) และ กราฟ (ง) เห็นได้ว่าค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (Total Soluble Solids) แปรผกผันกับปริมาณแอลกอฮอล์ที่ยีสต์ผลิตขึ้นมาในระหว่างการหมัก เมื่อค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (Total Soluble Solids) ลดลง อัตราการผลิตแอลกอฮอล์จะสูงขึ้น สอดคล้องกับงานวิจัยของไกรยศ แซ่ลิ้ม และคณะ [35] เรื่องการเปลี่ยนแปลงทางเคมีระหว่างการหมักไวน์ลูกหม่อน และความพึงพอใจของผู้บริโภค ซึ่งปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดนั้น ไม่ได้หมายถึงปริมาณของน้ำตาลเพียงอย่างเดียวแต่จะมีค่าของแข็งอื่น ๆ รวมอยู่ด้วย [25] ในงานวิจัยของ Rupesh Singh et al., [61] ได้รายงานว่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดของเครื่องดื่มหมักมีการลดลงอย่างต่อเนื่องหลังจากหมัก 7 วัน ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดต่ำสุดที่ 5.5 องศาบริกซ์ จากงานวิจัยของ O. U. Ezeronye [62] ได้รายงานการลดลงของปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดระหว่างการหมักไวน์แอปเปิ้ลจาก 24 องศาบริกซ์ ลดลงเหลือ 6.0 องศาบริกซ์ หลังการหมัก 14 วันที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

4.3 ผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผู้ทดสอบชิมที่มีต่อน้ำตาลเมา

หลังจากนำยีสต์ทั้ง 4 สายพันธุ์ หมักในน้ำตาลโตนดได้น้ำตาลเมา เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ของยีสต์ โดยวางแผนการทดลองแบบการทดลองแบบสุ่มภายในบล็อคสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design (RCBD)) และนำไปทดสอบความชอบด้วยวิธี 9 Point Hedonic Scale Test โดย 1 คะแนน หมายถึง ไม่ชอบมากที่สุด และ 9 คะแนน หมายถึง ชอบมากที่สุด โดยผู้ทดสอบที่ไม่ได้ผ่านการฝึกฝนจำนวน 50 คน วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยการวิเคราะห์หาความแปรปรวนทางเดียว (one-way ANOVA) และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยโปรแกรม SPSS ผู้วิจัยได้นำผลการวิเคราะห์มานำเสนอข้อมูล 2 ส่วน คือ ผลการสำรวจข้อมูลทั่วไปของผู้ทดสอบชิม ดังแสดงในตารางที่ 4.1 และผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผู้ทดสอบชิมที่มีต่อน้ำตาลเมา ดังแสดงในตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.1 ผลการสำรวจข้อมูลทั่วไปของผู้ทดสอบชิม

ข้อมูลทั่วไปผู้ทดสอบชิม	ความถี่	ร้อยละ
1. เพศ		
ชาย	27	54.00
หญิง	23	46.00
รวมทั้งสิ้น	50	100.00
2. อายุ (ปี)		
21 - 25	21	42.00
26 - 30	16	32.00
31 - 35	7	14.00
36 - 40	6	12.00
ตั้งแต่ 41 ปีขึ้นไป	0	0.00
รวมทั้งสิ้น	50	100.00
3. สถานภาพ		
โสด	37	74.00
สมรส	13	26.00
รวมทั้งสิ้น	50	100.00

ตารางที่ 4.1 ผลการสำรวจข้อมูลทั่วไปของผู้ทดสอบชิม (ต่อ)

ข้อมูลทั่วไปผู้ทดสอบชิม	ความถี่	ร้อยละ
4. ระดับการศึกษา		
ต่ำกว่าปริญญาตรี	9	18.00
ปริญญาตรี	31	62.00
ปริญญาโท	10	20.00
สูงกว่าปริญญาโท	0	0.00
รวมทั้งสิ้น	50	100.00
5. อาชีพ		
นักศึกษา	5	10.00
ข้าราชการ/พนักงานของรัฐ	4	8.00
พนักงานบริษัท	30	60.00
ธุรกิจส่วนตัว	0	0.00
อื่น ๆ (เช่น แม่บ้าน อาชีพอิสระ)	11	22.00
รวมทั้งสิ้น	50	100.00
6. รายได้ต่อเดือน (บาท)		
ต่ำกว่า 10,000	2	4.00
10,000 - 20,000	24	48.00
20,001 - 30,000	19	38.00
30,001 - 40,000	5	10.00
มากกว่า 40,001	0	0.00
รวมทั้งสิ้น	50	100.00

จากตารางที่ 4.1 ผลการสำรวจข้อมูลทั่วไปของผู้ทดสอบชิม จำนวน 50 คน ส่วนใหญ่เป็นเพศชาย จำนวน 27 คน คิดเป็นร้อยละ 54.00 อายุระหว่าง 21 - 25 ปี จำนวน 21 คน คิดเป็นร้อยละ 42.00 สถานภาพโสด จำนวน 37 คน คิดเป็นร้อยละ 74.00 ส่วนใหญ่จบการศึกษาระดับปริญญาตรี จำนวน 31 คน คิดเป็นร้อยละ 62.00 ประกอบอาชีพพนักงานบริษัท 30 คน คิดเป็นร้อยละ 60.00 รายได้ต่อเดือน 10,000 - 20,000 บาท จำนวน 24 คน คิดเป็นร้อยละ 48.00

ตารางที่ 4.2 ผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผู้ทดสอบชิมที่มีต่อน้ำตาลเมา

ยีสต์	ลักษณะปรากฏ	สี	กลิ่นของการหมัก	รสหวาน	ความชอบโดยรวม
N. adeliensis	4.46 ± 0.84^{c}	3.96 ± 0.92^{b}	3.84 ± 0.74^{c}	2.32 ± 0.91^{d}	3.20 ± 1.39^{c}
S. cerevisiae	6.48 ± 1.15^{a}	5.78 ± 1.55^{a}	6.82 ± 2.01^{a}	6.64 ± 1.80^{a}	6.70 ± 1.58^{a}
A. melanogenum	3.72 ± 1.10^{d}	3.34 ± 1.29^{c}	3.78 ± 1.31^{c}	3.64 ± 1.22^{c}	3.56 ± 1.30^{c}
H. guilliermondii	5.96 ± 1.26^{b}	4.08 ± 1.61^{b}	4.86 ± 2.08^{b}	4.76 ± 2.36^{b}	5.12 ± 1.92^{b}

หมายเหตุ : a,b,c หมายถึง ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq .05$)
± หมายถึง ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

จากตารางที่ 4.2 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผู้ทดสอบชิมที่มีต่อน้ำตาลเมา พบว่ายีสต์ *S. cerevisiae* ได้ค่าเฉลี่ยคะแนนมากที่สุดทั้ง 5 ด้าน ลักษณะปรากฏ, สี, กลิ่นของการหมัก, รสหวาน และความชอบโดยรวม ได้คะแนนเฉลี่ยเท่ากับ 6.48 ± 1.15, 5.78 ± 1.55, 6.82 ± 2.01, 6.64 ± 1.80 และ6.70 ± 1.58 ตามลำดับ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq .05$) ซึ่งสอดคล้องกับผลงานวิจัยของ Wei Yang et al., [54] ทำการศึกษาองค์ประกอบทางเคมี, ทดสอบผู้บริโภค และการต้านอนุมูลอิสระในเครื่องดื่มสตรอเบอร์รี่แอลกอฮอล์ต่ำที่หมักด้วย *S. cerevisiae* และ *Torulaspora delbrueckii* พบว่า *S. cerevisiae* ได้คะแนนคุณภาพทางประสาทสัมผัสมากกว่า *T. delbrueckii* แต่สามารถนำสต์ *S. cerevisiae* หมักร่วมกับสายพันธุ์อื่นได้ จากงานวิจัยของ Francesca Comitini et al., [63] นำยีสต์ที่ไม่ใช่ *S. cerevisiae* หมักร่วมกับสายพันธุ์ *S. cerevisiae* เพื่อเพิ่มสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ (Polysaccharide), กลีเซอรอล (Glycerol) และเพิ่มหรือลดความเป็นกรดให้แก่ผลิตภัณฑ์สุดท้ายแต่ก็ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ยีสต์และอัตราส่วนของหัวเชื้อที่ใช้ จึงเป็นไปได้ว่ายีสต์ที่ไม่ใช่ *S. cerevisiae* ส่งผลต่อลักษณะปรากฏ, สี, กลิ่น, รสชาติ และความชอบโดยรวม ที่ผู้บริโภคอาจไม่คุ้นเคยมากนัก เพราะโดยส่วนใหญ่ผลิตภัณฑ์จำพวกเครื่องดื่มแอลกอฮอล์มักเกี่ยวข้องกับยีสต์ที่เป็นสายพันธุ์ *S. cerevisiae* จึงทำให้สายพันธุ์ *S. cerevisiae* ได้รับความชอบจากผู้บริโภคมากที่สุด

4.4 ผลการศึกษาสูตรที่เหมาะสมในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ตาลหมาก

จากผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผู้ทดสอบชิมที่มีต่อน้ำตาลเมาได้สายพันธุ์ *S. cerevisiae* จากนั้นนำไปศึกษาสูตรที่เหมาะสมในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ตาลหมากโดยแบ่งเป็น 4 สูตร ดังนี้ สูตรที่ 1 อัตราส่วนของน้ำตาลเมาร้อยละ 50 ต่อลูกตาลร้อยละ 50, สูตรที่ 2 อัตราส่วนของน้ำตาลเมาร้อยละ 40 ต่อลูกตาลร้อยละ 60, สูตรที่ 3 อัตราส่วนของน้ำตาลเมาร้อยละ 70 ต่อลูกตาลร้อยละ

30 และสูตรที่ 4 อัตราส่วนของน้ำตาลเมาร้อยละ 20 ต่อลูกตาลร้อยละ 80 ดังแสดงในรูปที่ 4.3 วางแผนการทดลองแบบสุ่มภายในบล็อคสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design (RCBD)) และนำไปทดสอบความชอบของผู้ทดสอบชิมด้วยวิธี 9 Point Hedonic Scale Test โดย 1 คะแนน หมายถึง ไม่ชอบมากที่สุด และ 9 คะแนน หมายถึง ชอบมากที่สุด โดยผู้ทดสอบที่ไม่ได้ผ่านการฝึกฝน จำนวน 50 คน วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยการวิเคราะห์หาความแปรปรวนทางเดียว (one-way ANOVA) และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยโปรแกรม SPSS ผู้วิจัยได้นำผลการวิเคราะห์มานำเสนอข้อมูล 2 ส่วน คือ ผลการสำรวจข้อมูลทั่วไปของผู้ทดสอบชิม ดังแสดงในตารางที่ 4.3 และผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผู้ทดสอบชิมในการศึกษาสูตรที่เหมาะสมในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ตาลหมาก ดังแสดงในตารางที่ 4.4

(ก) (ข) (ค) (ง)

รูปที่ 4.3 อัตราส่วนของน้ำตาลเมาต่อลูกตาล 4 สูตร (ก) สูตรที่ 1 (ข) สูตรที่ 2 (ค) สูตรที่ 3 และ (ง) สูตรที่ 4

ตารางที่ 4.3 ผลการสำรวจข้อมูลทั่วไปของผู้ทดสอบชิม

ข้อมูลทั่วไปผู้ทดสอบชิม	ความถี่	ร้อยละ
1. เพศ		
ชาย	27	54.00
หญิง	23	46.00
รวมทั้งสิ้น	50	100.00

ตารางที่ 4.3 ผลการสำรวจข้อมูลทั่วไปของผู้ทดสอบชิม (ต่อ)

ข้อมูลทั่วไปผู้ทดสอบชิม	ความถี่	ร้อยละ
2. อายุ (ปี)		
21 - 25	12	24.00
26 - 30	19	38.00
31 - 35	10	20.00
36 - 40	9	18.00
ตั้งแต่ 41 ปีขึ้นไป	0	0.00
รวมทั้งสิ้น	50	100.00
3. สถานภาพ		
โสด	38	76.00
สมรส	12	24.00
รวมทั้งสิ้น	50	100.00
4. ระดับการศึกษา		
ต่ำกว่าปริญญาตรี	5	10.00
ปริญญาตรี	39	78.00
ปริญญาโท	6	12.00
สูงกว่าปริญญาโท	0	0.00
รวมทั้งสิ้น	50	100.00
5. อาชีพ		
นักศึกษา	4	8.00
ข้าราชการ/พนักงานของรัฐ	10	20.00
พนักงานบริษัท	27	54.00
ธุรกิจส่วนตัว	5	10.00
อื่น ๆ (เช่น แม่บ้าน อาชีพอิสระ)	4	8.00
รวมทั้งสิ้น	50	100.00

ตารางที่ 4.3 ผลการสำรวจข้อมูลทั่วไปของผู้ทดสอบชิม (ต่อ)

ข้อมูลทั่วไปผู้ทดสอบชิม	ความถี่	ร้อยละ
6. รายได้ต่อเดือน (บาท)		
ต่ำกว่า 10,000	1	2.00
10,000 - 20,000	17	34.00
20,001 - 30,000	30	60.00
30,001 - 40,000	2	4.00
มากกว่า 40,001	0	0.00
รวมทั้งสิ้น	50	100.00

จากตารางที่ 4.3 ผลการสำรวจข้อมูลทั่วไปของผู้ทดสอบชิมจำนวน 50 คน ส่วนใหญ่เป็นเพศหญิงจำนวน 30 คน คิดเป็นร้อยละ 60.00 อายุระหว่าง 26 - 30 ปี จำนวน 19 คน คิดเป็นร้อยละ 38.00 สถานภาพโสด จำนวน 38 คน คิดเป็นร้อยละ 76.00 จบการศึกษาระดับปริญญาตรี มี จำนวน 39 คน คิดเป็นร้อยละ 78.00 ประกอบอาชีพพนักงานบริษัท 27 คน คิดเป็นร้อยละ 54.00 มีรายได้ต่อเดือน 20,001 - 30,000 บาท จำนวน 30 คน คิดเป็นร้อยละ 60.00

ตารางที่ 4.4 ผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผู้ทดสอบชิมในการศึกษาสูตรที่เหมาะสมในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ตาลหมาก

สูตร	ลักษณะปรากฏ	สี	กลิ่นของการหมัก	รสหวาน	ความชอบโดยรวม
1	4.08 ± 0.63^{d}	3.88 ± 0.87^{c}	3.78 ± 0.68^{b}	3.98 ± 1.91^{c}	4.12 ± 1.86^{c}
2	4.94 ± 1.08^{c}	3.96 ± 1.05^{c}	3.78 ± 1.31^{b}	4.68 ± 1.28^{b}	5.40 ± 1.55^{b}
3	5.88 ± 1.42^{b}	4.74 ± 1.83^{b}	4.78 ± 1.83^{a}	5.24 ± 1.92^{b}	6.04 ± 2.16^{ab}
4	7.52 ± 1.95^{a}	6.12 ± 1.39^{a}	4.86 ± 2.08^{a}	6.98 ± 1.60^{a}	6.58 ± 1.70^{a}

หมายเหตุ : a,b,c หมายถึง ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq .05$)
± หมายถึง ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

จากตารางที่ 4.4 ผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผู้ทดสอบชิมในการศึกษาสูตรที่เหมาะสมในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ตาลหมาก พบว่า ด้านลักษณะปรากฏ สูตรที่ได้คะแนนมากที่สุด คือ สูตรที่ 4 ได้คะแนนเฉลี่ยเท่ากับ 7.52 ± 1.95 รองลงมาเป็นสูตรที่ 3, สูตรที่ 2 และสูตรที่ 1 ได้

คะแนนเฉลี่ยเท่ากับ 5.88 ± 1.42, 4.94 ± 1.08 และ 4.08 ± 0.63 ตามลำดับ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq .05$) ด้านสีสูตรที่ได้คะแนนมากที่สุด คือ สูตรที่ 4 ได้คะแนนเฉลี่ยเท่ากับ 6.12 ± 1.39 รองลงมาเป็นสูตรที่ 3, สูตรที่ 2 และสูตรที่ 1 ได้คะแนนเฉลี่ยเท่ากับ เท่ากับ 4.74 ± 1.83, 3.96 ± 1.05 และ 3.88 ± 0.87 ตามลำดับ ซึ่งสูตรที่ 4, สูตรที่ 3 และสูตรที่ 2 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq .05$) แต่ 40 : 60 และ 50 : 50 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq .05$) ด้านกลิ่นของการหมักพบว่า สูตรที่ 4 ได้รับคะแนนมากที่สุด เท่ากับ 4.86 ± 2.08 รองลงมาสูตรที่ 3, สูตรที่ 2 และสูตรที่ 1 ได้คะแนนเฉลี่ยเท่ากับ 4.78 ± 1.83, 3.78 ± 1.31 และ 3.78 ± 0.68 ตามลำดับ สูตรที่ 3 และ สูตรที่ 4 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq .05$) สูตรที่ 1 และ สูตรที่ 2 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq .05$) ด้านรสหวานสูตรที่ 4 ได้รับคะแนนมากที่สุด เท่ากับ 6.98 ± 1.60 รองลงมาเป็นสูตรที่ 3, สูตรที่ 2 และสูตรที่ 1 ได้คะแนนเฉลี่ยเท่ากับ 5.24 ± 1.92, 4.68 ± 1.28 และ 3.98 ± 1.91 ตามลำดับ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq .05$) และด้านความชอบโดยรวม สูตรที่ 4 ได้รับคะแนนมากที่สุด เท่ากับ 6.58 ± 1.70 รองลงมาเป็นสูตรที่ 3, สูตรที่ 2 และสูตรที่ 1 ได้คะแนนเฉลี่ยเท่ากับ เท่ากับ 6.04 ± 2.16, 5.40 ± 1.55 และ 4.12 ± 1.86 ตามลำดับ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq .05$) ผู้ทดสอบชิมให้คะแนนการยอมรับในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ตาลหมาก คือสูตรที่ 4 อัตราส่วนน้ำตาลเมาร้อยละ 20 ต่อลูกตาลร้อยละ 80 สาเหตุเนื่องจากกลิ่นของการหมักมีกลิ่นอ่อน ๆ ไม่ฉุน รสหวานกำลังดี สีไม่เข้มจนเกินไป ในสูตรอื่น ๆ ได้กลิ่นของการหมักชัดเจนทำให้ไปกลบกลิ่นของลูกตาล และได้รับรสแอลกอฮอล์มากกว่ารสหวาน

4.5 ผลการทดสอบความพึงพอใจของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์ตาลหมาก

จากแบบทดสอบความพึงพอใจของผู้บริโภคต่ออัตราส่วนของน้ำตาลเมาและลูกตาล ในข้อ 4.4 ได้อัตราส่วนของน้ำตาลเมาร้อยละ 20 ต่อลูกตาลร้อยละ 80 นำไปทดสอบผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์ตาลหมาก ด้วยวิธี Central Location Test ที่ตลาดแจ้งวัฒนะ 6 ถนนแจ้งวัฒนะ แขวงอนุสาวรีย์ เขตบางเขน กรุงเทพมหานคร โดยผู้บริโภคจำนวน 100 คน ที่ไม่ได้ผ่านการฝึกฝน วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยการวิเคราะห์หาความแปรปรวนทางเดียว (one-way ANOVA) และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยรายคู่โดยใช้ Duncan' s New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยโปรแกรม SPSS ผู้วิจัยได้นำผลการวิเคราะห์มานำเสนอข้อมูล 3 ส่วน คือ ผลการสำรวจข้อมูลทั่วไปของผู้บริโภค ดังแสดงในตารางที่ 4.5 ผลการสำรวจพฤติกรรมการบริโภคเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ และผลทดสอบความพึงพอใจของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์ตาลหมาก

ตารางที่ 4.5 ผลการสำรวจข้อมูลทั่วไปของผู้บริโภค

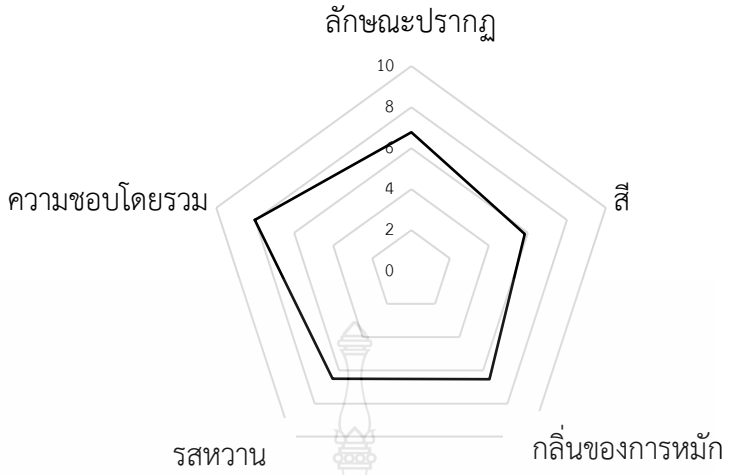
ข้อมูลทั่วไปของผู้บริโภค	ความถี่	ร้อยละ
1. เพศ		
ชาย	52	52.00
หญิง	48	48.00
รวมทั้งสิ้น	100	100.00
2. อายุ (ปี)		
21 - 25	41	41.00
26 - 30	30	30.00
31 - 35	13	13.00
36 - 40	14	14.00
ตั้งแต่ 41 ปีขึ้นไป	2	2.00
รวมทั้งสิ้น	100	100.00
3. สถานภาพ		
โสด	66	66.00
สมรส	34	34.00
รวมทั้งสิ้น	100	100.00
4. ระดับการศึกษา		
ต่ำกว่าปริญญาตรี	22	22.00
ปริญญาตรี	78	78.00
ปริญญาโท	0	0.00
สูงกว่าปริญญาโท	0	0.00
รวมทั้งสิ้น	100	100.00
5. อาชีพ		
นักศึกษา	6	6.00
ข้าราชการ/พนักงานของรัฐ	51	51.00
พนักงานบริษัท	23	23.00
ธุรกิจส่วนตัว	6	6.00
อื่น ๆ (เช่น แม่บ้าน อาชีพอิสระ)	14	14.00
รวมทั้งสิ้น	100	100.00

ตารางที่ 4.5 ผลการสำรวจข้อมูลทั่วไปของผู้บริโภค (ต่อ)

ข้อมูลทั่วไปของผู้บริโภค	ความถี่	ร้อยละ
6. รายได้ต่อเดือน (บาท)		
ต่ำกว่า 10,000	15	15.00
10,000 - 20,000	54	54.00
20,001 - 30,000	26	26.00
30,001 - 40,000	5	5.00
มากกว่า 40,001	0	0.00
รวมทั้งสิ้น	100	100.00

จากตารางที่ 4.5 ผลการสำรวจข้อมูลทั่วไปของผู้บริโภคจำนวน 100 คน ส่วนใหญ่เป็นเพศชายจำนวน 52 คน คิดเป็นร้อยละ 52.00 อายุระหว่าง 21 - 25 ปีจำนวน 41 คน คิดเป็นร้อยละ 41.00 มีสถานภาพโสด จำนวน 66 คน คิดเป็นร้อยละ 66.00 การศึกษาระดับปริญญาตรีมีจำนวน 78 คน คิดเป็นร้อยละ 78.00 ประกอบอาชีพข้าราชการ/พนักงานของรัฐ 51 คน คิดเป็นร้อยละ 51.00 มีรายได้ต่อเดือน 10,000 - 20,000 จำนวน 54 คน คิดเป็นร้อยละ 54.00

พฤติกรรมการบริโภคเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ผู้ตอบแบบสอบถามจำนวน 100 คน พบว่าความถี่ในการดื่มเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ต่อสัปดาห์ ส่วนใหญ่ตอบอื่น ๆ (น้อยกว่าสัปดาห์ละ 1 – 3 วัน) จำนวน 53 คน คิดเป็นร้อยละ 53 และให้เหตุผลว่าดื่ม 2 - 3 ครั้งต่อเดือน และดื่มเดือนละครั้ง ผู้ตอบแบบสอบถามรู้จักข้าวหมากจำนวน 78 คน คิดเป็นร้อยละ 78.00 และไม่รู้จัก 22 คน คิดเป็นร้อยละ 22.00 ความถี่ในการรับประทานข้าวหมากส่วนใหญ่ให้คำตอบอื่น ๆ (น้อยกว่าสัปดาห์ละ 1 – 3 วัน) จำนวน 78 คน ให้เหตุผลว่าแล้วแต่โอกาส เดือนละ 1 ครั้ง และปีละ 1 ครั้ง ผู้บริโภคส่วนใหญ่ไม่นิยมรับประทานข้าวหมากจำนวน 44 คน โดยให้เหตุผลว่าไม่ชอบรสชาติและกลิ่นของข้าวหมาก



รูปที่ 4.4 ผลทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์ตาลหมาก

จากรูปที่ 4.4 ผลทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์ตาลหมาก พบว่า ด้านลักษณะปรากฏ 6.77 ± 1.35 ด้านสีได้ 5.84 ± 0.55 ด้านกลิ่นของการหมัก 6.54 ± 1.16 ด้านรสหวานได้ 6.51 ± 0.95 และความชอบโดยรวมได้ 8.02 ± 0.91 คะแนน เมื่อสอบถามผู้บริโภค 100 คน เกี่ยวกับผลิตภัณฑ์ตาลหมาก พบว่า ผู้บริโภคให้ความสนใจที่จะซื้อผลิตภัณฑ์ตาลหมากจำนวน 81 คน คิดเป็นร้อยละ 81.00 สถานที่ที่ผู้บริโภคต้องการให้มีการวางขายพบว่าผู้บริโภคเลือกที่ร้านสะดวกซื้อมากที่สุดจำนวน 31 คน คิดเป็นร้อยละ 38.30 ราคาที่ผู้บริโภคส่วนใหญ่เลือกราคา 21 - 25 บาท ต่อปริมาณ 160 กรัม จำนวน 45 คน คิดเป็นร้อยละ 55.60 ปัจจัยที่มีผลต่อการซื้อผลิตภัณฑ์พบว่าผู้บริโภคให้คะแนนในส่วนของบรรจุภัณฑ์มากที่สุดเท่ากับ 53 คะแนน สำหรับผู้ที่ไม่สนใจซื้อผลิตภัณฑ์ตาลหมากจำนวน 21 คน พบว่าสาเหตุของการไม่ซื้อที่ผู้บริโภคส่วนใหญ่ตอบ คือ ไม่ทานตาลโตนด จำนวน 11 คน คิดเป็นร้อยละ 44.00 รองลงมาคือรสชาติของตาลหมากไม่อร่อยจำนวน 7 คน คิดเป็นร้อยละ 28.00 ผลิตภัณฑ์ตาลหมากไม่น่าสนใจ 4 คน คิดเป็นร้อยละ 16.00 และสาเหตุสุดท้ายคือ ผลิตภัณฑ์ตาลหมากไม่น่ารับประทาน จำนวน 12 คน คิดเป็นร้อยละ 12.00

จากผลทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์ตาลหมากส่วนใหญ่ให้ความสนใจต่อผลิตภัณฑ์ โดยให้เหตุผลว่าเป็นผลิตภัณฑ์ใหม่ที่ไม่มีในท้องตลาด เมื่อรับประทานรู้สึกสดชื่น ให้ความหวานต่อร่างกาย อีกทั้งยังเป็นการนำผลไม้ท้องถิ่นมาแปรรูปเพื่อให้เกิดความแปลกใหม่และมีความหลากหลายทางการค้า ซึ่งส่งผลให้ผู้บริโภคมีทางเลือกในการซื้อผลิตภัณฑ์เพิ่มมากขึ้น รวมถึงเป็นการสร้างองค์ความรู้ใหม่แก่ผู้ประกอบอาชีพทำตาลโตนดอีกด้วย

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การวิจัยเรื่องการพัฒนาผลิตภัณฑ์ตาลหมากโดยใช้ยีสต์จากน้ำตาลโตนด วัตถุประสงค์เพื่อแยกและระบุสายพันธุ์ของยีสต์ที่พบในน้ำตาลโตนด เพื่อศึกษากระบวนการหมักน้ำตาลโตนดด้วยยีสต์ธรรมชาติ และวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี และเพื่อทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์ตาลหมาก ผู้วิจัยได้สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ ดังสาระสำคัญดังต่อไปนี้

5.1 สรุปผลการระบุชนิดของยีสต์ที่พบในน้ำตาลโตนด

การศึกษายีสต์ที่มีในน้ำตาลโตนดจากหมู่บ้านน้ำตาลสด ตำบลปากน้ำ อำเภอบางคล้า จังหวัดฉะเชิงเทราพบยีสต์ 6 ไอโซเลท และระบุสายพันธุ์ยีสต์ด้วยวิธีวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ บริเวณ D1/D2 บน 26S rRNA gene พบ 4 สายพันธุ์ คือ *N. adeliensis*, *S. cerevisiae, A. melanogenum* และ *H. guilliermondii*

5.2 สรุปผลการหมักน้ำตาลโตนดด้วยยีสต์ธรรมชาติ

นำยีสต์ทั้ง 4 สายพันธุ์ ไปหมักในน้ำตาลโตนดที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นเท่ากับ 4.5 ค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (Total Soluble Solids) เริ่มต้นเท่ากับ 22 องศาบริกซ์ ระยะเวลาในการหมัก 10 วัน พบว่าในวันที่ 10 *S. cerevisiae* เจริญ เท่ากับ 7.55 Log (CFU/ml) รองลงมา *N. adeliensis* มีการเจริญ 7.37 Log (CFU/ml) *A. melanogenum* มีการเจริญ 7.36 Log (CFU/ml) และ *H. guilliermondii* ยีสต์เจริญ 7.25 Log (CFU/ml) ตามลำดับ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq .05$) ที่ผลิตแอลกอฮอล์ได้มากที่สุดคือสายพันธุ์ *S. cerevisiae* ให้ปริมาณแอลกอฮอล์เท่ากับร้อยละ 3.4 โดยปริมาตร (v/v) รองลงมาคือสายพันธุ์ *H. guilliermondii* ให้ปริมาณแอลกอฮอล์เท่ากับร้อยละ 3.0 โดยปริมาตร (v/v) *A. melanogenum* ให้ปริมาณแอลกอฮอล์เท่ากับร้อยละ 1.5 โดยปริมาตร (v/v) และ *N. adeliensis* ให้ปริมาณแอลกอฮอล์เท่ากับร้อยละ 1 โดยปริมาตร (v/v) ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq .05$) สายพันธุ์ยีสต์ที่ให้ค่าความเป็นกรดด่างที่น้อยที่สุด คือสายพันธุ์ *S. cerevisiae* มีเท่ากับ 3.4 รองลงมาคือสายพันธุ์ *H. guilliermondii* เท่ากับ 3.5 สายพันธุ์ *A. melanogenum* เท่ากับ 3.8 และสายพันธุ์ *N. adeliensis* เท่ากับ 3.9 ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq .05$) สายพันธุ์ยีสต์ที่ให้ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (Total Soluble Solids) น้อยที่สุด คือสายพันธุ์

S. cerevisiae ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (Total Soluble Solids) เท่ากับ 13 องศาบริกซ์ รองลงมาคือสายพันธุ์ *H. guilliermondii* เท่ากับ 14 องศาบริกซ์ *N. adeliensi* เท่ากับ 16 องศาบริกซ์ และ *A. melanogenum* เท่ากับ 18 องศาบริกซ์ จากการศึกษากระบวนการหมักน้ำตาลโตนดด้วยยีสต์ธรรมชาติ สรุปได้ว่ายีสต์ทั้ง 4 สายพันธุ์สามารถเจริญและเปลี่ยนน้ำตาลที่มีในน้ำตาลโตนดให้ได้แอลกอฮอล์ แต่สายพันธุ์ *S. cerevisiae* สามารถหมักแอลกอฮอล์ได้ดีที่สุด

5.3 สรุปผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผู้ทดสอบชิมที่มีต่อน้ำตาลเมา

จากผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผู้ทดสอบชิมที่มีต่อน้ำตาลเมาในการนำยีสต์ทั้ง 4 สายพันธุ์ คือ *N. adeliensis*, *S. cerevisiae, A. melanogenum* และ *H. guilliermondii* พบว่าสายพันธุ์ *S. cerevisiae* ได้คะแนนสูงสุดจากทั้ง 5 ด้าน ลักษณะปรากฏได้คะแนนเท่ากับ 6.48 ± 1.15 สีได้คะแนนเท่ากับ 5.78 ± 155 กลิ่นของการหมัก ได้คะแนนเท่ากับ 6.82 ± 2.01 รสหวานได้คะแนนเท่ากับ 6.64 ± 1.80 และความชอบโดยรวมได้คะแนนเท่ากับ 6.70 ± 1.58 ซึ่งคิดเป็นคะแนนเฉลี่ยทั้ง 5 ด้านเท่ากับ 6.48 จึงสามารถสรุปได้ว่าสายพันธุ์ *S. cerevisiae* เป็นสายพันธุ์ที่ถูกคัดเลือกจากผู้ทดสอบชิมเพื่อนำไปทำน้ำตาลเมา

5.4 สรุปผลการศึกษาสูตรที่เหมาะสมในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ตาลหมาก

จากผลการศึกษาสูตรที่เหมาะสมในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ตาลหมาก โดยการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผู้ทดสอบชิมจำนวน 50 คน พบว่า สูตรที่ 4 อัตราส่วนของน้ำตาลเมาร้อยละ 20 ต่อลูกตาลร้อยละ 80 ได้คะแนนเฉลี่ยสูงสุดทั้ง 5 ด้าน คือ ลักษณะปรากฏ สี กลิ่นของการหมัก รสหวาน และความชอบโดยรวม ได้คะแนนเฉลี่ยเท่ากับ 7.52 ± 1.95, 6.12 ± 1.39, 4.86 ± 2.08, 6.98 ± 1.60 และ 6.58 ± 1.70 ตามลำดับ

5.5 สรุปผลการทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์ตาลหมาก

จากผลการทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์ตาลหมาก โดยนำไปทดสอบผู้บริโภคจำนวน 100 คน ด้วยวิธี Central Location Test ที่ตลาดนัดแจ้งวัฒนะ 6 (หลักสี่) ให้คะแนนแบบ 9 Point Hedonic Scale Test โดย 1 คะแนน หมายถึง ไม่ชอบมากที่สุด และ 9 คะแนน หมายถึง ชอบมากที่สุด ซึ่งให้คะแนน 5 ด้าน คือ ลักษณะปรากฏ สี กลิ่นของการหมัก รสหวาน และความชอบโดยรวม ได้คะแนนเท่ากับ 6.77 ± 1.35, 5.84 ± 0.55, 6.54 ± 1.16, 6.51 ± 0.95 และ 8.02 ± 0.91 ตามลำดับ

5.6 ข้อเสนอแนะ

5.6.1 ข้อเสนอแนะในการทำวิจัยครั้งนี้

5.6.1.1 ควรวิเคราะห์คุณภาพลักษณะทางกายภาพและทางเคมี อาทิเช่น ความสว่าง สีของผลิตภัณฑ์ ความแข็งของลูกตาล คุณค่าทางโภชนาการอาหาร

5.6.1.2 พิจารณาขออนุญาตเลขสารบบอาหาร เพื่อจำหน่ายในทางตามกฎหมาย

5.6.2 ข้อเสนอแนะในการทำวิจัยครั้งต่อไป

5.6.2.1 เลือกสายพันธุ์ที่ไม่ใช่ *S. cerevisiae* มาพัฒนาและปรับปรุงกระบวนการหมัก

5.6.2.2 พัฒนาสายพันธุ์ยีสต์ให้ทนทานต่อสภาวะแวดล้อมในกระบวนการหมักเพื่อส่งต่อชุมชนสำหรับการนำยีสต์ไปใช้ในการแปรรูปเชิงอุตสาหกรรม

5.6.2.3 วิเคราะห์ในส่วนของการตลาดเพิ่มมากขึ้น อาทิเช่น วิเคราะห์ SWOT วิเคราะห์สถานที่สำหรับวางสินค้า วิเคราะห์กลุ่มเป้าหมาย เป็นต้น

5.6.2.4 พัฒนารูปแบบของบรรจุภัณฑ์ให้น่าสนใจยิ่งขึ้น

บรรณานุกรม

[1] ทรงศรี สนธิทรัพย์, “โอกาสในการจัดส่งผลไม้สดไทยไปต่างประเทศ,” คณะพาณิชยศาสตร์และการบัญชี, มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์, กรุงเทพมหานคร, 2533.

[2] ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร กรมส่งเสริมการเกษตร. “ตาลโตนด”. (ออนไลน์) 2560. สืบค้นได้จาก.https://www.doae.go.th/km_list.php?Cat=TERZZXJEVVQ5M05kUnh1ZE1ZTGw5UT09 (สืบค้นเมื่อวันที่ 3 มกราคม 2561).

[3] ลักษณาพร โรจน์พิทักษ์กุล, “การพัฒนารูปแบบการอนุรักษ์และส่งเสริมผลผลิตจากตาลโตนด กรณีศึกษาชุมชนตำบลปากน้ำ อำเภอบางคล้า จังหวัดฉะเชิงเทรา,” *วารสารศึกษาศาสตร์*, ปีที่ 18, ฉบับที่ 2, หน้า 49-61, เดือนพฤศจิกายน-มีนาคม, 2550.

[4] สำนักงานเกษตรจังหวัดเพชรบุรี, ตาลเมืองเพชร, เพชรบุรี : เพชรบุรีการพิมพ์, 2546.

[5] คณะกรรมการฝ่ายประมวลเอกสารและจดหมายเหตุ, วัฒนธรรมพัฒนาการทางประวัติศาสตร์ เอกลักษณ์และภูมิปัญญา จังหวัดเพชรบุรี, กรุงเทพมหานคร : โรงพิมพ์คุรุสภา ลาดพร้าว, 2544.

[6] ธมลวรรณ อารยพันธ์ และคณะ, “บทบาทของยีสต์ธรรมชาติต่อการหมักขนมตาล,” ปัญหาพิเศษปริญญาตรี, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี, 2550.

[7] พระราชบัญญัติ ภาษีสรรพสามิต พ.ศ. 2560. (2493, 6 มีนาคม). *ราชกิจจานุเบกษา*. เล่ม 67 ตอนที่ 16. หน้า 346/21.

[8] คณะกรรมการกำหนดรูปแบบโรงงานแปรรูปผลิตผลตาลโตนด. ตาลโตนด ผลิตภัณฑ์อาหารแปรรูปและรูปแบบโรงงานผลิต. กรุงเทพฯ : กรมส่งเสริมการเกษตร. 2544.

[9] นรินทร์ พูลเพิ่ม. ตาลโตนด. กรุงเทพมหานคร : กรมวิชาการเกษตร, 2550.

[10] กรมอนามัย. ตารางแสดงคุณค่าทางโภชนาการในส่วนที่กินได้ 100 กรัม. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพมหานคร : โรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก. 2530.

[11] บุญมา นิยมวิทย์ และพะยอม อัตถวิบูลย์กุล. “ผลิตภัณฑ์จากลูกตาล”. *วารสารอาหาร*. ฉบับที่ 34. ปีที่ 4. หน้า 272-276. 2547.

บรรณานุกรม (ต่อ)

[12] พิทักษ์ อุปัญญ์ และจันทร์เพ็ญ อุปัญญ์, “รายงานการวิจัยการใช้เส้นด้ายใยลูกตาลมาพัฒนาคุณภาพผ้าทอพื้นบ้าน” โครงการสนับสนุนการวิจัยขยายผลสู่การปฏิบัติและพัฒนาต่อยอดงานวิจัยและสิ่งประดิษฐ์สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, 2553.

[13] วันวิสา. ต้นตาลโตนดhttp://tntaltond.blogspot.com/2015/08/blog-post_31.html ออนไลน์) 2558, สืบค้นได้จาก,. (สืบค้นเมื่อวันที่ 3 มกราคม 2561).

[14] สำนักงานการเกษตรจังหวัดสงขลา. “ตาลโตนด”. (ออนไลน์) 2558. สืบค้นได้จาก. http://puechkaset.com/ตาลโตนด/,. (สืบค้นเมื่อวันที่ 3 มกราคม 2561).

[15] สุภารัตน์ เตี่ยไพบูลย์,“ผลการใช้ความดันสูงและความร้อนต่อคุณภาพของน้ำตาลโตนด,” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา, 2547.

[16] กรมส่งเสริมการเกษตร. ตาลโตนดผลิตภัณฑ์อาหารแปรรูปและรูปแบบโรงผลิต. กรมส่งเสริมการเกษตร, กรุงเทพมหานคร, 2544.

[17] อภิสิทธิ์ ศรีอรุณเรืองชัย, “การแยก การพิสูจน์เอกลักษณ์ และการใช้ประโยชน์ของอะซิติกแอซิดแบคทีเรียจากผลไม้,” วิทยานิพนธ์ปริญญาโท จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพมหานคร, 2541.

[18] สมศรี ลีปิพัมนาวิทย์, “จุลินทรีย์ในผลตาลสุก,” *วารสารครุศาสตร์อุตสาหกรรมและวิทยาศาสตร์,* ปีที่ 5, ฉบับที่1, หน้า 11-17, 2529.

[19] ปราโมทย์ ธรรมรัตน์, “การศึกษายีสต์ในน้ำตาลสด น้ำตาลเมา และการคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์ที่มีประสิทธิภาพสูงเพื่อการหมักแอลกอฮอล์,” วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร, 2521.

[20] เกษศิรินทร์ รัทจร, “การจำแนกเพศตาลโตนดโดยใช้ลักษณะพฤกษศาสตร์และเครื่องหมายเอเอฟแอลพี,” วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยทักษิณ, สงขลา, 2551.

[21] พระมหาประยุทธ แกนทรัพย. “ภูมิปญญาท้องถิ่นกับการพัฒนาผลิตภัณฑ์ตาลโตนดจังหวัดเพชรบุรี”. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยมหาสารคาม, มหาสารคาม, 2551.

บรรณานุกรม (ต่อ)

[22] มนัสนันท์ บุญทราพงษ์, กมลวรรณ แจ้งชัด, อนุวัตร แจ้งชัด และวิชัย หฤทัยธนาสันต์. การศึกษาคุณภาพของเนื้อตาลสุกและขนมตาลที่ผลิตจากเนื้อตาลสุกผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรเซชั่น. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. ครั้งที่ 39, หน้า 425-433. กรุงเทพมหานคร : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 2544.

[23] นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และปรีชา สุวรรณพินิจ. จุลชีววิทยาทั่วไป. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพมหานคร : บริษัท เท็กซ์ แอล เจอนัล พับลิเคชั่น จำกัด, 2544.

[24] จรูญ คำนวณตา และคณะ. “การคัดเลือกสายพันธุ์ราและยีสต์เพื่อหมักแอลกอฮอล์,” หน้า 1-50, รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์เรื่องการปรับปรุงประสิทธิภาพการหมักเพื่อผลิตแอลกอฮอล์. เสนอต่อสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. 2524.

[25] สาวิตรี ลิ่มทอง และมณี ตันติรุ่งกิจ. “โครงการวิจัยการศึกษาความหลากหลายของยีสต์ในเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าห้วยขาแข้ง.,” รายงานการวิจัยประจำปี ทุนอุดหนุนวิจัยปี 2539, เสนอต่อสถาบันวิจัยและพัฒนา แห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2539.

[26] เสาวลักษณ์ ด่านสกุล, “การระบุชนิดยีสต์ที่แยกจากข้าวหมาก และเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ของไทยโดยอาศัยข้อมูลลำดับเบสบริเวณ rDNA,”วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร, 2552.

[27] มะลิวัลย์ กอสกุล, “ความผันแปรของสัณฐานวิทยา กายวิภาควิทยาและรูปแบบดีเอ็นเอของหม่อน” วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร, 2546.

[28] สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. เครื่องหมายดีเอ็นเอ : จากพื้นฐานสู่การประยุกต์. กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2552.

[29] อรรัตน์ มงคลพร. เครื่องหมายโมเลกุลเพื่อการปรับปรุงพันธุ์. นครปฐม : ภาควิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, 2548.

[30] จิราภรณ์ ยอดเถื่อน, “การพัฒนาเครื่องดื่มน้ำข้าวหมาก,” วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร, 2554.

บรรณานุกรม (ต่อ)

[31] อารี แก้วกนกวิจิตร, “ผลของไม้พะยอมและไม้มะเกลือที่มีต่อจุลินทรีย์ในน้ำตาลสดและน้ำตาลเมา”, ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ), สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ, มหาวิทยาเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร, 2546.

[32] อรวรรณ พึ่งคำ, “การประยุกต์เทคโนโลยีกล้าเชื้อสำหรับผู้ผลิตขนมตาล,” วิทยานิพนธ์เทคโนโลยีคหกรรมศาสตร์. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี, กรุงเทพมหานคร, 2554.

[33] ปาลิดา ตั้งอนุรัตน์, ปริญญา ฝาระมี, ชลดา รุ่งเรือง, ธัญญารัตน์ ปัญญายิ่ง และเจริญ เจริญชัย, “การพัฒนาการผลิตขนมตาลโดยกล้าเชื้อที่แยกได้จากเนื้อตาลสุก,” *วารสารวิจัยและพัฒนาวไลยลงกรณ์ ในพระราชูปถัมภ์*, ปีที่ 10, ฉบับที่ 3, หน้า 95-103, เดือน กันยายน-ธันวาคม, 2558.

[34] เบญจวรรณ ยันต์เศษภักดี, “การผลิตไซโลโอลิโกแซ็กคาไรด์ (XOS) และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากธูปฤาษี (*Typha angustifolia L.*) ด้วยไซแลนเนสที่ผลิตโดย *Aureobasidium melanogenum* (Production of xylooligosaccharides (XOS) from cattail (*Typha angustifolia L.)* and their antioxidant activity usi”. *วารสารวิจัย มข*. ฉบับที่ 16. ปีที่ 1, 2559.

[35] ไกรยศ แซ่ลิ้ม, ศิริขวัญ จันทร์หมื่น, และ กัญญารัตน์ เหลืองประเสริฐ, “การเปลี่ยนแปลงทางเคมีระหว่างการหมักไวน์ลูกหม่อน และความพึงพอใจของผู้บริโภค”, *วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร*. ฉบับที่ 49 ปีที่ 1 (พิเศษ), หน้า 612-616. 2561.

[36] P. Thammarutwasik, T. Hongpattarakere, S. Chantachum, K. Kijroongrojana, A. Itharat, W. Reanmongkol, S. Tewtrakul and B. Ooraiku, “Prebiotics - A Review”, *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 31 (4), pp. 401-408, Jul.-Aug. 2009.

บรรณานุกรม (ต่อ)

[37] T.W. Nagodawithana, C. Castellano and K. H. Steinkraus, "Effect of dissolved oxygen, temperature, initial cell count and sugar concentration on the viability of *Saccharomyces cerevisiae* in rapid fermentations." *Applied Microbiology*, Vol 28, pp. 383, 1974.

[38] S. Artnarong's, M. Payap and M. Jaruwan, "Isolation of yeast and acetic acid bacteria from palmyra palm fruit pulp (*Borassus flabellifer* Linn.)". *International Food Research Journal*. Vol. 23, pp. 1308-1314, 2016.

[39] N. Okafor, "Palm-wine yeasts from parts of Nigeria." *Journal of Science Food and Agriculture*., pp. 399-1407, 1972.

[40] N. Okafor, "Preliminary microbiological studies on the preservative of palm wine." *J. Appl Bacterrriol.*, pp. 1-7, 1975.

[41] F. Si and B. O, "Effect of Extracts of the Bark of *Saccoglottis gabonensis* on the Microflora of Palm Wine." *J. Food Sci. Technol*., pp 206, 1971.

[42] F. SI, "Microorganisms from oil palm trees (*Elaeis guineensis*) tape holes." *J. Food Sci.,* pp. 755-757, 1974.

[43] Y. Yamada, K. ichiro Hoshino and T. Ishikawa, "The phylogeny of acetic acid bacteria based on the partial sequences of 16S ribosomal RNA : the elevation of the subgenus Gluconoacetobacter to the generic level". *Biosci Biotechnol Biochem*., pp. 1244-1251, 1997.

[44] E. Guého, D. Begerow and T. Boekhout, "Biodiversity, Phylogeny and Ultrastructure." Malassezia and the Skin, Springer Verlag Berlin Heidelberg., pp. 17-63, 2010.

[45] M. Osumi, "Visualization of yeast cells by electron microscopy." *Journal of Electron Microscopy.,* pp. 343-365, 2012.

บรรณานุกรม (ต่อ)

[46] S. Salgueiro, Isabel Sá-Correia and Júlio M. Novais, “Ethanol - induced leakage in *Saccharomyces cerivisiae*:kinetics and relationship to yeast ethanol tolerance and alcohol fermentation productivity.” *Appl Environ Microbiol*., pp. 903-909, 1988.

[47] G. M. Walker, “Yeast Physiology & Biotechnology.” *Chichester, UK; New York. NY.* USA, 1998.

[48] C. J. Panchal and F. Cesar Almeida Tavares, “Yeast strain selection for fuel ethanol production.” In C.J. Panchal (ed.), Yeast Strain Selection. New York : Marcel Dekker Inc, pp. 225-243, 1990.

[49] G. G. Stewart, C. J. Panchal, C. J. PanchalDepartment and I. Russell, “The Master Brewers' Association of the Americas Technical Quarterly.” Vol. 25, pp. 47, 1998.

[50] C. Kathera, S. S., S. P. and P. Kumari Jasti, “A Review 2016 on palm wine”. *International Journal of research in Biological Sciences*. Vol. 2, pp. 33-38, 2012.

[51] M. Ukwuru and J. Awah, “Properties of palm wine yeast and its performance in wine making.” *African Journal of Biotechnology.,* pp. 2671-2677, 2013.

[52] R. Valder and K. Prasad Nooralabettu, “Microbial characteristics of freshly tapped Palmyra Palm (*Borassus flabellifer*) sap.” *International journal of science & Engineering research*., Vol. 9, pp. 2229-5518, 2018.

[53] S. Limtong, S. Am-In, R. Kaewwichian, C. Kaewkrajay and S. Jindamorakot. “Exploration of yeast communities in fresh coconut, palmyra and nipa palm saps and ethanol-fermenting ability of isolated yeasts”, *Antonie van Leeuwenhoek Journal of Microbiology*, Vol. 113, pp. 2077-2095, 2020.

บรรณานุกรม (ต่อ)

[54] W. Yang, S.Liu, A. Marsol-Vall, R. Tähti, O. Laaksonen, S. Karhu, B. Yang, X. Ma, "Chemical composition, sensory profile and antioxidant capacity of low-alcohol strawberry beverages fermented with *Saccharomyces cerevisiae* and *Torulaspora delbrueckii*", *Lebensmittel-Wissenschaft + Technologie*, Vol. 149, pp. 111910, 2021.

[55] S. Kaur, "Non- *Saccharomyces* Yeast in Fermentation", *Advances in Agricultural Biotechnology-2*, pp. 33-45, 2022.

[56] N. Grijalva, K. Krogerus, J. Nikulin, F. Magalhães, A. Aranda, E. Matallana and B. R Gibson, "Potential application of yeasts from Ecuadorian chichas in controlled beer and chicha production", *Food Microbiology*, Vol. 98, pp. 103644, 2021.

[57] G. L. Chen, F.J. Zheng, B. Lin, T. S. Wang and Y. R. Li. "Preparation and Characteristics of Sugarcane Low Alcoholic Drink by Submerged Alcoholic Fermentation", *Sugar Tech*, Vol. 15, pp. 412-416, 2013.

[58] J. Molinet and F. A Cubillos. "Wild Yeast for the Future: Exploring the Use of Wild Strains for Wine and Beer Fermentation", *Frontiers in Genetics*, Vol. 11, pp. 1-8, 2020.

[59] O. Nwaiwu and P. C. Chikezie, "Suitability of Palm wine as a Multi Functional Beverage", MDPI Encyclopedia Scholarly Community Encyclopedia., 2020.

[60] S. Ghosh, R. Chakraborty and U. Raychaudhuri, "Optimizing process conditions for palm (*Borassus flabelliffer*) wine fermentation using Response Surface Methodology", *International Food Research Journal*, pp. 1633-1639, 2012.

บรรณานุกรม (ต่อ)

[61] R. Singh, B. K. Mishra, K. B. Shukla, N. K. Jain, K. C. Sharma, S. Kumar, K. Kant and J. K. Ranja, "Fermentation process for alcoholic beverage production from mahua (Madhuca indica J. F. Mel.) flowers", *African Journal of Biotechnology*, pp. 5771-5777, 2013.

[62] O. U. Ezeronye, "Nutrient utilization profile of *Saccharomyces cerevisiae* from palm wine in tropical fruit fermentation", *Antonie van Leeuwenhoek*, Vol. 86, pp. 235-240, 2004.

[63] F. Comitini, L. Canonico and M. Ciani, "Improving white wine aroma and structure by non-*Saccharomyces yeasts*", *White Wine Technology*, pp. 117-130, 2020.

[64] G.Gegembauer, A. Messias Rodrigues, E. Pereira and A. Paniago, "Serology of Paracoccidioidomycosis Due to *Paracoccidioides lutzii*", PLoS Neglected Tropical Diseases, Issue 7, Vol. 8, pp. 3, 2014.

[65] A. B. Herrero, M. Carmen López, L. Fernández-Lago and A. Domınguez, "*Candida albicans* and *Yarrowia lipolytica* as alternative models for analysing budding patterns and germ tube formation in dimorphic fungi", Microbiology (1999), Vol. 145, pp. 2727-2737, 2014.

[66] R., T., "Ethanol production from non-sterilized beet molasses by free and immobilized *Saccharomyces cerevisiae* cells using fed-batch culture", Journal of Food Engineering, Issue. 1, Vol. 2, pp 87-96, 1996.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
ผลการระบุสายพันธุ์ของยีสต์

BIOTEC
a member of NSTDA

ThailandBioresourceResearchCenter (TBRC)
NationalCenter for Genetic Engineering and Biotechnology
Innovation Cluster 2 (Tower B, 8th Floor, Room 817)
143 Thailand Science Park, Phahonyothin Road
KhlongNueng, KhlongLuang, PathumThani12120, Thailand
Tel: +66-2-1178000-1, Fax: +66-2-1178003

รายงานผลการจำแนกจุลินทรีย์ / IDENTIFICATION'S REPORT

☑ผู้ขอรับบริการส่งตัวอย่างเป็นเชื้อบริสุทธิ์เพื่อจำแนกชนิด/The customer sent pure isolate for identification

☐ผู้ขอรับบริการส่งเป็นตัวอย่างเพื่อคัดแยกจุลินทรีย์และได้คัดเลือกมาจำแนกชนิด/The customer sent specimen for isolation and chose isolate(s) identification

ลำดับที่ No.	รหัสตัวอย่าง Code	วิธีการจำแนกชนิด Method of identification	มีความใกล้เคียงกับ Closely related with	% ความเหมือน % similarity	หมายเหตุ Note
1	CS101	D1/D2 region sequencing	*Naganishia adeliensis*	100% (604/604 nt.)	เมื่อเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ D1/D2 บน 26S RNA gene ของยีสต์รหัส CS101 กับลำดับนิวคลีโอไทด์ของสิ่งมีชีวิตต่างๆ ที่อยู่ในฐานข้อมูลออนไลน์ โดยใช้โปรแกรม BLASTN พบว่าเหมือนกับ Type strain ของ *Naganishia adeliensis* CBS 8351^{T} (NG_042353) 100% จึงจำแนกยีสต์รหัส CS101 เป็น *Naganishia adeliensis*
2	CS102	D1/D2 region sequencing	*Saccharomyces cerevisiae*	100% (577/577 nt.)	เมื่อเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ D1/D2 บน 26S RNA gene ของยีสต์รหัส CS102 กับลำดับนิวคลีโอไทด์ของสิ่งมีชีวิตต่างๆ ที่อยู่ในฐานข้อมูลออนไลน์ โดยใช้โปรแกรม BLASTN พบว่าเหมือนกับ Type strain ของ *Saccharomyces cerevisiae* NRRL Y-12632^{T} (NG_042623) 100% จึงจำแนกยีสต์รหัส CS102 เป็น *Saccharomyces cerevisiae*
3	CS103	D1/D2 region sequencing	*Saccharomyces cerevisiae*	100% (577/577 nt.)	เมื่อเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ D1/D2 บน 26S RNA gene ของยีสต์รหัส CS103 กับลำดับนิวคลีโอไทด์ของสิ่งมีชีวิตต่างๆ ที่อยู่ในฐานข้อมูลออนไลน์ โดยใช้โปรแกรม BLASTN พบว่าเหมือนกับ Type strain ของ *Saccharomyces cerevisiae* NRRL Y-12632^{T} (NG_042623) 100% จึงจำแนกยีสต์รหัส CS103 เป็น *Saccharomyces cerevisiae*

เอกสารแนบ / Attachment:

☑ (1) วิธีการวิเคราะห์

☑ (2) ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ D1/D2 บน LSU rRNA gene

☑ (3) ผลการเปรียบเทียบความเหมือนของลำดับนิวคลีโอไทด์

☑ (4) Referent paper: Kurtzman & Robnett (1998)

ผู้จัดทำรายงาน
Report by:.....
(.....)

ผู้ตรวจรายงาน
Approve by:.....
(.....)

ThailandBioresourceResearchCenter (TBRC)
NationalCenter for Genetic Engineering and Biotechnolog
Innovation Cluster 2 (Tower B, 8th Floor, Room 817)
143 Thailand Science Park, Phahonyothin Road
KhlongNueng, KhlongLuang, PathumThani12120, Thailan
Tel: +66-2-1178000-1, Fax: +66-2-1178003

BIOTEC
a member of NSTDA

รายงานผลการจำแนกจุลินทรีย์ / IDENTIFICATION'S REPORT

☑ผู้ขอรับบริการส่งตัวอย่างเป็นเชื้อบริสุทธิ์เพื่อจำแนกชนิด/The customer sent pure isolate for identification
☐ผู้ขอรับบริการส่งเป็นตัวอย่างเพื่อคัดแยกจุลินทรีย์และได้คัดเลือกมาจำแนกชนิด/The customer sent specimen for isolation and chose isolate(s) identification

ลำดับที่ No.	รหัสตัวอย่าง Code	วิธีการจำแนกชนิด Method of identification	มีความใกล้เคียงกับ Closely related with	% ความเหมือน % similarity	หมายเหตุ Note
4	CS104	D1/D2 region sequencing	*Aureobasidium melanogenum*	100.0% (575/575 nt.)	เมื่อเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ D1/D2 บน 26S RNA gene ของยีสต์รหัส CS104 กับลำดับนิวคลีโอไทด์ของสิ่งมีชีวิตต่างๆ ที่อยู่ในฐานข้อมูลออนไลน์ โดยใช้โปรแกรม BLASTN พบว่าเหมือนกับ Type strain ของ *Aureobasidium melanogenum* CBS 621.80^{T} (FJ150921) 100% จึงจำแนกยีสต์รหัส CS104 เป็น *Aureobasidium melanogenum*

เอกสารแนบ / Attachment:
☑ (1) วิธีการวิเคราะห์
☑ (2) ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ D1/D2 บน LSU rRNA gene
☑ (3) ผลการเปรียบเทียบความเหมือนของลำดับนิวคลีโอไทด์
☑ (4) Referent paper: Kurtzman & Robnett (1998)

ผู้จัดทำรายงาน
Report by:.....
(.....)

ผู้ตรวจรายงาน
Approve by:.....
(.....)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

ThailandBioresourceResearchCenter (TBRC)
NationalCenter for Genetic Engineering and Biotechnology
Innovation Cluster 2 (Tower B, 8th Floor, Room 817)
143 Thailand Science Park, Phahonyothin Road
KhlongNueng, KhlongLuang, PathumThani12120, Thailand
Tel: +66-2-1178000-1, Fax: +66-2-1178003

BIOTEC
a member of NSTDA

รายงานผลการจำแนกจุลินทรีย์ / IDENTIFICATION'S REPORT

☑ ผู้ขอรับบริการส่งตัวอย่างเป็นเชื้อบริสุทธิ์เพื่อจำแนกชนิด/The customer sent pure isolate for identification
☐ ผู้ขอรับบริการส่งเป็นตัวอย่างเพื่อคัดแยกจุลินทรีย์และได้คัดเลือกมาจำแนกชนิด/The customer sent specimen for isolation and chose isolate(s) identification

ลำดับที่ No.	รหัสตัวอย่าง Code	วิธีการจำแนกชนิด Method of identification	มีความใกล้เคียงกับ Closely related with	% ความเหมือน % similarity	หมายเหตุ Note
5	CS105	D1/D2 region sequencing	*Hanseniaspora guilliermondii*	100% (580/580 nt.)	เมื่อเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ D1/D2 บน 26S rRNA gene ของยีสต์รหัส CS105 กับ CS106 พบว่ามีลำดับนิวคลีโอไทด์เหมือนกัน 100% แสดงว่ายีสต์รหัส CS105 และ CS 106 เป็นยีสต์ชนิดเดียวกัน และเมื่อเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของสิ่งมีชีวิตต่างๆ ที่อยู่ในฐานข้อมูลออนไลน์ โดยใช้โปรแกรม BLASTN พบว่าเหมือนกับ Type strain ของ *Hanseniaspora guilliermondii* CBS 465^{T} (KY107797) 100% จึงจำแนกยีสต์รหัส CS105 และ CS106 เป็น *Hanseniaspora guilliermondii*
6	CS106	D1/D2 region sequencing	*Hanseniaspora guilliermondii*	100% (580/580 nt.)	

เอกสารแนบ / Attachment:

☑ (1) วิธีการวิเคราะห์
☑ (2) ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ D1/D2 บน LSU rRNA gene
☑ (3) ผลการเปรียบเทียบความเหมือนของลำดับนิวคลีโอไทด์
☑ (4) Referent paper: Kurtzman & Robnett (1998)

ผู้จัดทำรายงาน
Report by:.....
(.....)

ผู้ตรวจสอบผล
Approved by:.....
(.....)

ภาคผนวก ข

แบบสอบถาม

แบบสอบถาม

เรื่อง การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผู้ทดสอบชิมที่มีต่อน้ำตาลเมา

โปรดให้คะแนน ดังนี้

ส่วนที่ 1 ข้อมูลทั่วไปของผู้ตอบแบบสอบถาม

โปรดทำเครื่องหมาย ✓ลงใน ☐ หน้าข้อความที่ตรงกับสภาพความเป็นจริงของท่าน

1. เพศ

☐ ชาย ☐ หญิง

2. อายุ

☐ 21-25 ปี ☐ 26-30 ปี ☐ 31-35 ปี ☐ 36-40 ปี ☐ ตั้งแต่ 41 ปีขึ้นไป

3. สถานภาพ

☐ โสด ☐ สมรส

4. ระดับการศึกษา

☐ ต่ำกว่าปริญญาตรี ☐ ระดับปริญญาตรี

☐ ระดับปริญญาโท ☐ สูงกว่าระดับปริญญาโท

5. อาชีพ

☐ นักศึกษา ☐ ข้าราชการ/พนักงานของรัฐ

☐ พนักงานบริษัท ☐ ธุรกิจส่วนตัว

☐ อื่น ๆ (เช่น แม่บ้าน อาชีพอิสระ)

6. รายได้ต่อเดือน

☐ ต่ำกว่า 10,000 บาท ☐ 10,000-20,000 บาท

☐ 20,001-30,000 บาท ☐ 30,001-40,000 บาท

☐ มากกว่า 40,001 บาท

ส่วนที่ 2 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผู้ทดสอบชิมที่มีต่อน้ำตาลเมา

โปรดให้คะแนน ดังนี้

1 = ไม่ชอบมากที่สุด	2 = ไม่ชอบมาก	3 = ไม่ชอบปานกลาง
4 = ไม่ชอบเล็กน้อย	5 = เฉยๆ	6 = ชอบเล็กน้อย
7 = ชอบปานกลาง	8 = ชอบมาก	9 = ชอบมากที่สุด

ตัวอย่าง	ลักษณะปรากฏ	สี	กลิ่นของการหมัก	รสหวาน	ความชอบโดยรวม
CBA					
BCA					
DCB					
ADC					

ข้อเสนอแนะเพิ่มเติม

.....

.....

.....

.....

แบบสอบถาม

เรื่อง การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสในการศึกษาสูตรเพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์ตาลหมาก

ส่วนที่ 1 ข้อมูลทั่วไปของผู้ตอบแบบสอบถาม

โปรดทำเครื่องหมาย ✓ลงใน ☐ หน้าข้อความที่ตรงกับสภาพความเป็นจริงของท่าน

1. เพศ

☐ ชาย ☐ หญิง

2. อายุ

☐ 21-25 ปี ☐ 26-30 ปี ☐ 31-35 ปี ☐ 36-40 ปี ☐ ตั้งแต่ 41 ปีขึ้นไป

3. สถานภาพ

☐ โสด ☐ สมรส

4. ระดับการศึกษา

☐ ต่ำกว่าปริญญาตรี ☐ ระดับปริญญาตรี

☐ ระดับปริญญาโท ☐ สูงกว่าระดับปริญญาโท

5. อาชีพ

☐ นักศึกษา ☐ ข้าราชการ/พนักงานของรัฐ

☐ พนักงานบริษัท ☐ ธุรกิจส่วนตัว

☐ อื่น ๆ (เช่น แม่บ้าน อาชีพอิสระ)

6. รายได้ต่อเดือน

☐ ต่ำกว่า 10,000 บาท ☐ 10,000-20,000 บาท

☐ 20,001-30,000 บาท ☐ 30,001-40,000 บาท

☐ มากกว่า 40,001 บาท

ส่วนที่ 2 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสในการศึกษาสูตรเพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์ตาลหมาก

โปรดให้คะแนน ดังนี้

1 = ไม่ชอบมากที่สุด 2 = ไม่ชอบมาก 3 = ไม่ชอบปานกลาง
4 = ไม่ชอบเล็กน้อย 5 = เฉยๆ 6 = ชอบเล็กน้อย
7 = ชอบปานกลาง 8 = ชอบมาก 9 = ชอบมากที่สุด

ตัวอย่าง	ลักษณะปรากฏ	สี	กลิ่นของการหมัก	รสหวาน	ความชอบโดยรวม
ACB					
CAB					
CBD					
DBA					

ข้อเสนอแนะเพิ่มเติม

.....

.....

.....

.....

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

แบบสอบถาม

เรื่อง แบบสอบถามการยอมรับของผู้บริโภคต่อตาลหมาก

ส่วนที่ 1 ข้อมูลทั่วไปของผู้ตอบแบบสอบถาม

โปรดทำเครื่องหมาย ✓ลงใน ☐ หน้าข้อความที่ตรงกับสภาพความเป็นจริงของท่าน

1. เพศ

☐ ชาย ☐ หญิง

2. อายุ

☐ 21-25 ปี ☐ 26-30 ปี ☐ 31-35 ปี ☐ 36-40 ปี ☐ ตั้งแต่ 41 ปีขึ้นไป

3. สถานภาพ

☐ โสด ☐ สมรส

4. ระดับการศึกษา

☐ ต่ำกว่าปริญญาตรี ☐ ระดับปริญญาตรี

☐ ระดับปริญญาโท ☐ สูงกว่าระดับปริญญาโท

5. อาชีพ

☐ นักศึกษา ☐ ข้าราชการ/พนักงานของรัฐ

☐ พนักงานบริษัท ☐ ธุรกิจส่วนตัว

☐ อื่น ๆ (เช่น แม่บ้าน อาชีพอิสระ)

6. รายได้ต่อเดือน

☐ ต่ำกว่า 10,000 บาท ☐ 10,000-20,000 บาท

☐ 20,001-30,000 บาท ☐ 30,001-40,000 บาท

☐ มากกว่า 40,001 บาท

ส่วนที่ 2 พฤติกรรมการบริโภคเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์

โปรดทำเครื่องหมาย ✓ลงใน ☐ หน้าข้อความที่ตรงกับสภาพความเป็นจริงของท่าน

1. ความถี่ในการดื่มเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ต่อสัปดาห์

☐ เป็นประจำทุกวัน ☐ สัปดาห์ละ 4-6 วัน

☐ สัปดาห์ละ 1-3 วัน ☐ อื่น ๆ (โปรดระบุ).....

2. คุณรู้จัก “ข้าวหมาก” หรือไม่

☐ รู้จัก (ทำต่อข้อ 3 - ข้อ 5) ☐ ไม่รู้จัก (ข้ามไปทำส่วนที่ 3)

3. ความถี่ในการรับประทาน ข้าวหมาก

☐ เป็นประจำทุกวัน ☐ สัปดาห์ละ 4-6 วัน

☐ สัปดาห์ละ 1-3 วัน ☐ อื่น ๆ (โปรดระบุ).....

4. คุณชอบรับประทานข้าวหมากหรือไม่

☐ ไม่ ☐ เฉยๆ ☐ ชอบ ☐ ชอบมาก

5. เพราะเหตุใดคุณถึงรับประทานข้าวหมาก (ตอบได้มากกว่า 1 ข้อ)

☐ อร่อย ☐ รู้สึกสดชื่น

☐ ชื่นใจ ☐ หาซื้อง่าย

☐ ราคาถูก ☐ สื่อ/โฆษณา

☐ อื่น ๆ (โปรดระบุ).....

ส่วนที่ 3 การประเมินความพึงพอใจของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์ตาลหมาก

โปรดให้คะแนน ดังนี้

1 = ไม่ชอบมากที่สุด 2 = ไม่ชอบมาก 3 = ไม่ชอบปานกลาง

4 = ไม่ชอบเล็กน้อย 5 = เฉยๆ 6 = ชอบเล็กน้อย

7 = ชอบปานกลาง 8 = ชอบมาก 9 = ชอบมากที่สุด

ตัวอย่าง	ลักษณะปรากฏ	สี	กลิ่นของการหมัก	รสหวาน	ความชอบโดยรวม
ตาลหมาก					

1. ถ้ามีผลิตภัณฑ์ “ตาลหมาก” วางขายคุณจะซื้อหรือไม่

☐ ซื้อ (ทำต่อข้อ 2-4) ☐ ไม่ซื้อ (ทำต่อข้อ 5)

2. หากคุณจะซื้อ “ตาลหมาก” คุณจะซื้อที่ไหน (ตอบได้มากกว่า 1 ข้อ)

☐ ร้านสะดวกซื้อ ☐ ห้างสรรพสินค้า

☐ ซุปเปอร์มาเก็ต ☐ ร้านขายของชำ

☐ ตลาด ☐ อื่น ๆ.....

3. คุณคิดว่าราคาที่เหมาะต่อผลิตภัณฑ์ “ตาลหมาก”อยู่ในราคาประมาณเท่าไร

☐ 10 – 15 บาท ☐ 16 – 20 บาท

☐ 21 – 25 บาท ☐ 26 – 30 บาท

☐ อื่น ๆ (โปรดระบุ).....

4. ปัจจัยมีผลต่อการซื้อของคุณ (ตอบได้มากกว่า 1 ข้อ)

☐ บรรจุภัณฑ์ ☐ ราคา

☐ รสชาติ ☐ หาซื้อง่าย

☐ อื่น ๆ (โปรดระบุ).....

5. สาเหตุที่คุณไม่ซื้อผลิตภัณฑ์ “ตาลหมาก” (ตอบได้มากกว่า 1 ข้อ)

☐ ไม่อร่อย ☐ ไม่น่ารับประทาน

☐ ผลิตภัณฑ์ไม่น่าสนใจ ☐ ไม่รับประทานตาลโตนด

☐ อื่น ๆ (โปรดระบุ).....

ข้อเสนอแนะเพิ่มเติม

.....

.....

.....

.....

ภาคผนวก ค
แบบตอบรับการตีพิมพ์เผยแพร่

มหาวิทยาลัยราชภัฏชัยภูมิ

ขอมอบเกียรติบัตรนี้เพื่อแสดงว่า

นางสาววิภาพรรณ เทมะธุลิน

ได้รับรางวัลนำเสนอผลงานวิจัยดีเยี่ยม ภาค บรรยาย

ในการประชุมวิชาการและเสนอผลงานวิจัยระดับชาติ ครั้งที่ 4

"วิจัย ยั่งยืน"

(The 4th National Research Conference- CPRU 2021: Research and Sustainability)

ในวันที่ 12 กรกฎาคม 2564

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุนันท์ สีพาย)
ผู้อำนวยการสถาบันวิจัยและพัฒนา

(รองศาสตราจารย์ ดร.ศิริวัฒน์ โพธิเวชกุล)
อธิการบดีมหาวิทยาลัยราชภัฏชัยภูมิ

การประชุมวิชาการและเสนอผลงานวิจัยระดับชาติ ครั้งที่ 4
"วิจัย ยั่งยืน"
(The 4th National Research Conference- CPRU 2021
: Research and Sustainability)
CPRU
Chaiyaphum Rajabhat University

รายนามผู้ทรงคุณวุฒิและคณะกรรมการภายนอกมหาวิทยาลัยราชภัฏชัยภูมิ
กลั่นกรองและวิพากษ์บทความวิจัยการประชุมวิชาการและเสนอผลงานวิจัยระดับชาติ ครั้งที่ 4

1.	รองศาสตราจารย์ ดร.สัญญา เคณาภูมิ	มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
2.	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ณาณุกรณ์ ทับทิมไสย	มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
3.	อาจารย์ ดร.อาทิตย์ อาจหาญ	มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม
4.	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เบญจมาพร เสนารัตน์	มหาวิทยาลัยราชภัฏร้อยเอ็ด
5.	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมประสงค์ เสนารัตน์	มหาวิทยาลัยราชภัฏร้อยเอ็ด
6.	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นฤมล แสนพรหม	มหาวิทยาลัยราชภัฏร้อยเอ็ด
7.	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เสกสรรค์ สนวา	มหาวิทยาลัยราชภัฏร้อยเอ็ด
8.	รองศาสตราจารย์ ดร.จำลอง วงษ์ประเสริฐ	มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี
9.	รองศาสตราจารย์ ดร.จิรายุ ทรัพย์สิน	มหาวิทยาลัยราชภัฏสุรินทร์
10.	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วันชัย สุขตาม	มหาวิทยาลัยราชภัฏสุรินทร์
11.	อาจารย์ ดร.สิริพัฒน์ ลาภจิตร	มหาวิทยาลัยราชภัฏสุรินทร์
12.	รองศาสตราจารย์ ดร.พรชัย หนูแก้ว	มหาวิทยาลัยราชภัฏกาญจนบุรี
13.	รองศาสตราจารย์ ดร.ศุภลักษณ์ สัตย์พรัสพราย	มหาวิทยาลัยราชภัฏกาญจนบุรี
14.	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พนิดา จารย์อุปการะ	มหาวิทยาลัยราชภัฏกาญจนบุรี
15.	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วีระพงศ์ จันหร่อสนาม	มหาวิทยาลัยขอนแก่น

รายนามผู้ทรงคุณวุฒิและคณะกรรมการภายในมหาวิทยาลัยราชภัฏชัยภูมิ
กลั่นกรองและวิพากษ์บทความวิจัยการประชุมวิชาการและเสนอผลงานวิจัยระดับชาติ ครั้งที่ 3

1.	รองศาสตราจารย์ ดร.สุนทร ปิญญะพงษ์	คณะรัฐศาสตร์
2.	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อนุสรณ์ พัฒนสานติ์	คณะรัฐศาสตร์
3.	อาจารย์ ดร.ฉัตรณรงค์ศักดิ์ สุธรรมดี	คณะรัฐศาสตร์
4.	อาจารย์เทอดศักดิ์ ไปจักทึก	คณะรัฐศาสตร์
5.	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุรินทร์ ภูสิงห์	คณะครุศาสตร์
6.	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุนันท์ สีพาย	คณะครุศาสตร์
7.	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เทิดศักดิ์ สุพันดี	คณะครุศาสตร์
8.	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สิริศักดิ์ อาจวิจัย	คณะครุศาสตร์
9.	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เพียงแข ภูเภยาง	คณะครุศาสตร์
10.	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นฤมล ภูสิงห์	คณะครุศาสตร์
11.	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ลักขณา สุทโส	คณะครุศาสตร์
12.	อาจารย์ ดร.จีราภรณ์ จันทร์เจียน	คณะครุศาสตร์
13.	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชวนพิศ รักษาพรม	คณะครุศาสตร์
14.	อาจารย์ ดร.จันทร์จิรา ตรีเพชร	คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์
15.	อาจารย์ ดร.อุมาวดี เดชอำรง	คณะบริหารธุรกิจ
16.	อาจารย์ ดร.ศักดิ์ชัย ดวดี	โครงการจัดตั้งคณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม
17.	อาจารย์วรเชษฐ์ แสงสีดา	โครงการจัดตั้งคณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
การพัฒนาผลิตภัณฑ์ตาลหมากโดยใช้ยีสต์จากน้ำตาลโตนด วิภาพรรณ เหมะธุลิน เจริญ เจริญชัย และ ปาลิตา ตั้งอนุรัตน์	588
ผลของแบคทีเรียรอบรากพืชต่อการเจริญของต้นกล้าข้าวภายใต้สภาวะเครียด กุลวดี คตขนะเลขา และ จันทร์จิรา ศรีเทพร	597
ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อพฤติกรรมการป้องกันโรคหลอดเลือดสมองสำหรับประชาชนกลุ่มเสี่ยงในท้องถิ่น อำเภอเมือง จังหวัดชัยภูมิ อณัญญา ลาลุน ทรัพย์ทวี หิรัญเกิด นารีรัตน์ ภักดีศิริวงษ์ และ มณฑล ทองนิตย์	610
ความเครียดในการเรียนรูปแบบใหม่ของนักศึกษาพยาบาล มหาวิทยาลัยราชภัฏชัยภูมิ พรภัทรา แสนเหลา ก้องไกล ชาดา จีรวรรณ หอมสมบัติ นันทนา อูสูงเนิน ศศิประภา ภิญโญยาง ศิริลักษณ์ เฮียงโยชา อรวรรณ พรสูงเนิน และ เอมวิกา ทิพย์สิงห์	619
ผลของโปรแกรมการเสริมสร้างทักษะชีวิตเพื่อป้องกันปัญหายาเสพติด ของนักเรียนระดับประถมศึกษาตอนปลาย สุภาวดี ศรีชัย วรรณพร พรมหลวงศรี และ ชีวัชญ์ เหล่าคมพฤฒาจารย์	631

กลุ่มบริหารธุรกิจและการบัญชี

การพัฒนาผลิตภัณฑ์จากทุนวัฒนธรรมพื้นถิ่น เพื่อการท่องเที่ยวโดยชุมชน ของกลุ่มทอเสื่อกกบ้านคลองเตยไน อำเภอคอนสาร จังหวัดชัยภูมิ อัญนวียา ภัชร์จรินท์ญา ประมุข ศรีชัยวงษ์ และ รัศมีเพ็ญ นาครินทร์	640
การท่องเที่ยวโดยชุมชนบ้านหนองหญ้าข้าวนก อำเภอจัตุรัส จังหวัดชัยภูมิ อัญชลี ชัยศรี รัศมีเพ็ญ นาครินทร์ และ กฤตเมธ นิติวัฒนะ	649
ปัจจัยด้านบรรจุภัณฑ์ที่มีต่อความพึงพอใจผลิตภัณฑ์ข้าวยางงอกของผู้ซื้อ อนงค์วรรณ ชิณศรี	657
การจัดการตลาดชุมชนของสินค้ากลุ่มสัมมาชีพและผลิตภัณฑ์ชุมชนโอทอป เป็นศูนย์กลางแบบกระจายสินค้าในจังหวัดชัยภูมิ รัศมีเพ็ญ นาครินทร์ อัญชลี ชัยศรี และ กฤตเมธ นิติวัฒนะ	664

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก รายนามหน่วยงานเข้าภาพร่วม	675
ภาคผนวก ข คณะผู้จัดทำ	676

การพัฒนาผลิตภัณฑ์ตาลหมากโดยใช้ยีสต์จากน้ำตาลโตนด

DEVELOPMENT OF TAN MAK PRODUCT USING YEAST ISOLATE FROM PALMYRA PALM

วิภาพรรณ เหมะธุลิน[1]* เจริญ เจริญชัย[2] และ ปาลิดา ตั้งอนุวัตน์[3]

บทคัดย่อ

การวิจัยมีวัตถุประสงค์ 1) แยกและระบุชนิดของยีสต์ที่พบในน้ำตาลโตนด 2) คัดเลือกยีสต์เพื่อการหมักน้ำตาลโตนด 3) ผลิตภัณฑ์ตาลหมากและทดสอบความพึงพอใจของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์ตาลหมาก

ผลการศึกษาพบยีสต์ที่แยกได้จากน้ำตาลโตนด 4 สายพันธุ์ คือ Naganishia adeliensis Saccharomyces cerevisiae Aureobasidium melanogenum และ Hanseniaspora guilliermondii นำยีสต์ 4 สายพันธุ์หมักในน้ำตาลโตนดเป็นระยะเวลา 10 วัน เพื่อให้ได้น้ำตาลเมา ทดสอบความชอบ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (RCBD) วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS พบว่า S. cerevisiae เป็นสายพันธุ์ที่ผู้ทดสอบชิมให้คะแนนความชอบมากที่สุด จึงนำไปศึกษาอัตราส่วนของน้ำตาลเมาต่อลูกตาลแบ่งเป็น 4 สิ่งทดลอง วางแผนการทดลองแบบสุ่มภายในบล็อกสมบูรณ์ (RCBD) พบว่าอัตราส่วนของน้ำตาลเมาต่อลูกตาลที่ผู้ทดสอบชิมให้คะแนนมากที่สุด คือ น้ำตาลเมาร้อยละ 20 ต่อลูกตาลร้อยละ 80 และผู้บริโภคให้คะแนนความชอบตาลหมาก ลักษณะปรากฏ 6.77 คะแนนด้านสี 5.84 คะแนน ด้านกลิ่น 6.54 คะแนน ด้านรสชาติ 6.51 คะแนนและด้านความชอบโดยรวม 8.02 คะแนน จึงสามารถสรุปได้ว่า ผู้บริโภครู้สึกเฉย ๆ ต่อด้านสี มีความชอบเล็กน้อยต่อด้านลักษณะปรากฏ กลิ่น รสชาติ และผู้บริโภคมีความชอบมากในด้านความชอบโดยรวม ผู้บริโภคร้อยละ 81 ให้ความสนใจซื้อผลิตภัณฑ์ตาลหมาก

คำสำคัญ: ตาลโตนด, น้ำตาลเมา, ตาลหมาก

Abstract

The objectives of this study were to 1) isolate and identify yeasts from palmyra palm toddy, 2) select suitable yeast for the fermentation of palmyra palm and 3) determine consumer acceptance for Tan Mak product.

Four strains of yeasts were isolated from palmyra toddy; Naganishia adeliensis Saccharomyces cerevisiae Aureobasidium melanogenum and Hanseniaspora guilliermondii. All the yeasts were used to ferment palmyra palm toddy for 10 days to obtain palmyra wines. Sensory evaluation of the resulting

[1] นักศึกษา สาขาอาหารและโภชนาการ คณะเทคโนโลยีคหกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี
[2] ที่ปรึกษาหลัก อาจารย์ประจำสาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี
[3] ที่ปรึกษาร่วม อาจารย์ประจำสาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหารคณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

wines was then performed using Randomized Complete Block Design (RCBD). The data was analyzed by using analysis of variance, (ANOVA) and compared the means among treatment by Duncan's new multiple range test (DMRT). The statistical program for analyzing the data was SPSS. It was found that wine fermented with S. cerevisiae received the highest liking scores. This yeast was selected to study suitable ratios of palmyra wine and palmyra flesh. The sensory experiment was carried out with four treatments using RCBD. The ratio of palmyra wine and palmyra flesh that gave the highest scores was 20:80. Consumer acceptance test gave scores for appearance, colour, odour, flavour and overall acceptance of 6.77, 5.84, 6.54, 6.51 and 8.02, respectively. It was concluded that the consumers were indifferent to colour. There was little or no preferences for appearance, odour and flavour but the consumers were highly inclined to overall acceptance. In addition, 81 % of the consumers were interested in buying Tan Mak product.

Keywords: Palmyra Palm, Toddy Drink, Tan Mak

บทนำ

ต้นตาลโตนด (Palmyra Palm) เป็นพืชในตระกูลปาล์ม (Palmaceae) ชื่อทางพฤกษศาสตร์ Borassus flabellifer Linn. พบได้ในเขตร้อน เช่น ประเทศอินเดีย ไทย กัมพูชา พม่า และศรีลังกา ตาลโตนดเป็นต้นไม้ที่สามารถให้น้ำตาลได้ และนำมาใช้ประโยชน์ได้ทุกส่วน เช่น ลำต้น นำไปทำเสาบ้าน เนื้อผลและน้ำตาล นำไปประกอบอาหาร (ลูกตาลเชื่อม น้ำตาลโตนดสด และน้ำตาลเมา) (ลักษณาพร โรจน์พิพักษ์กุล, 2550, หน้า 49-61)

จากการสำรวจจำนวนต้นตาลโตนด ในปีพ.ศ. 2545 พบว่า การปลูกต้นตาลโตนด มีจำนวนลดลงจากเดิมเมื่อปี พ.ศ. 2538 ประมาณ 200,000 ต้น เมื่อปี พ.ศ. 2559 มีรายงานการปลูกต้น ตาลโตนดที่จังหวัดฉะเชิงเทราเป็นจำนวน 50 ไร่ ผลผลิตที่เก็บเกี่ยวได้ประมาณ 5,500 กิโลกรัม ราคาที่เกษตรกรขายได้ประมาณ 20 บาทต่อกิโลกรัม และจังหวัดฉะเชิงเทราเป็นพื้นที่ที่มีการปลูกต้นตาลโตนดมากที่สุดเป็นอันดับ 4 ของประเทศไทย ทำให้มีชุมชนที่ส่งเสริมและอนุรักษ์ตาลโตนดเพื่อประโยชน์ในการดำรงชีวิตและเป็นการสร้างเศรษฐกิจต่อชุมชน ซึ่งตำบลปากน้ำ อำเภอบางคล้า จังหวัดฉะเชิงเทรา เป็นอีกหนึ่งชุมชนที่มีชื่อเสียงในด้านการผลิตน้ำตาลโตนดสด และน้ำตาลโตนดแปรรูปเข้มข้น ผลผลิต ที่ได้จากชุมชนมีคุณภาพดีและมีชื่อเสียงจึงได้รับการขนานนามว่า "น้ำตาลปากน้ำ" (ลักษณาพร โรจน์พิพักษ์กุล, 2550, หน้า 49-61)

น้ำตาลโตนดเป็นน้ำหวานที่ได้จากช่อดอกของต้นตาลโตนด ทำได้โดยการรองน้ำตาลที่ช่อดอกมีระยะเวลาในการรองน้ำหวานประมาณ 8 – 10 ชั่วโมง ซึ่งเป็นระยะเวลาที่สามารถเกิดการเปลี่ยนจากเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในสภาวะแวดล้อมตามธรรมชาติได้ เช่น แบคทีเรีย รา และยีสต์ ทำให้น้ำตาลโตนดสดเสื่อมคุณภาพเร็ว มีรสเปรี้ยว และอายุการเก็บรักษาสั้น (ธมลวรรณ อารยพันธ์ และคณะ, 2550) น้ำตาลโตนดได้รับความนิยมนำมาแปรรูปโดยการนำไปหมักเป็นกระแช่ หรือน้ำตาลเมา จัดเป็นเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ ประเภทสุราแช่ (พระราชบัญญัติ ภาษีสรรพสามิต, 2560, หน้า 346/21.) ตาลเป็นส่วนประกอบที่สำคัญอีกหนึ่งอย่างของต้นตาลโตนดซึ่งเป็นที่นิยมในการนำมาประกอบอาหารทั้งอาหารคาวและอาหารหวาน ส่วนใหญ่มักนำไปทำลูกตาลลอยแก้วหรือรับประทานแบบสดเหมือนผลไม้ทั่วไปได้ ลูกตาลหรือลอนตาล คือ เมล็ดที่อยู่ภายในผลตาล มีลักษณะเป็นวุ้นใส (คณะกรรมการกำหนดรูปแบบโรงงานแปรรูปผลิตผลตาลโตนด, 2544)

ผู้ปลูกตาลโตนดนิยมนำน้ำตาลโตนดมาแปรรูปโดยการนำไปหมักเป็นกระแช่หรือน้ำตาลเมาด้วยวิธีการดั้งเดิมที่มีการทำสืบต่อกันมาโดยไม่ได้มีการศึกษากระบวนการเปลี่ยนแปลงของผลิตภัณฑ์ ทางผู้วิจัยผู้วิจัยจึงมีแนวคิดในการนำวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเข้ามาประยุกต์กับผลผลิตภายในชุมชนด้วยการพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่มีชื่อว่า "ตาลหมาก" ที่สามารถควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์ ควบคุมการสภาวะการหมัก เพื่อให้ได้ผลผลิตที่มีคุณภาพที่ดียิ่งขึ้น

วิธีดำเนินการวิจัย

แยกและระบุชนิดของยีสต์ที่พบในน้ำตาลโตนด

นำน้ำตาลโตนดจากหมู่บ้านตาลโตนด ตำบลปากน้ำ อำเภอบางคล้า จังหวัดฉะเชิงเทรา ที่ไม่ได้ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนมาเจือจางด้วยสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 หยดลงบนจานเพาะเชื้อที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ Malt Extract Agar เพื่อดูโคโลนี จากนั้นนำโคโลนีไประบุสายพันธุ์ยีสต์ด้วยวิธีการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ D1/D2 บน 26s RNA gene ของเชื้อยีสต์

คัดเลือกยีสต์เพื่อทำน้ำตาลเมา

นำสายพันธุ์ยีสต์ที่แยกได้ 4 สายพันธุ์ หมักน้ำตาลโตนดเพื่อให้ได้น้ำตาลเมา โดยกำหนดค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นเท่ากับ 4.5 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (Total Soluble Solids) เริ่มต้นเท่ากับ 22 องศาบริกซ์ บ่มที่ตู้บ่มเชื้อ (Incubator) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน วัดการเจริญเติบโตของยีสต์และวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี ดังนี้ ปริมาณแอลกอฮอล์ (%v/v), ค่าความเป็นกรดด่าง ด้วยเครื่อง pH meter และค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (Total Soluble Solids) ด้วยเครื่อง Hand refractometer ในระหว่างการหมักวันที่ 0, 2, 4, 6, 8 และวันที่ 10

ทดสอบความชอบของผู้ทดสอบชิมที่มีต่อน้ำตาลเมา

นำน้ำตาลเมาจากยีสต์ 4 สายพันธุ์ ต้มฆ่าเชื้อด้วยวิธีพาสเจอร์ไรซ์ ที่อุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียส 15 นาที ทดสอบความชอบโดยผู้ทดสอบชิมที่ไม่ได้ผ่านการฝึกฝนจำนวน 50 คน โดยคัดเลือกจากเป็นผู้ที่ดื่มแอลกอฮอล์ ให้คะแนนด้วยวิธี 9 point Hedonic Scales เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์ในการนำไปทำน้ำตาลเมา

ทดสอบความชอบของผู้ทดสอบชิมในการศึกษาอัตราส่วนของน้ำตาลเมาต่อลูกตาล

เมื่อได้สายพันธุ์ยีสต์ที่ใช้ในการหมักน้ำตาลเมา นำไปศึกษาอัตราส่วนของน้ำตาลเมาต่อลูกตาลเพื่อทำผลิตภัณฑ์ตาลหมาก โดยแบ่งเป็น 4 สิ่งทดลอง ดังนี้

สิ่งทดลองที่ 1 น้ำตาลเมา (ร้อยละ) 50 ต่อ ลูกตาล (ร้อยละ) 50
สิ่งทดลองที่ 2 น้ำตาลเมา (ร้อยละ) 40 ต่อ ลูกตาล (ร้อยละ) 60
สิ่งทดลองที่ 3 น้ำตาลเมา (ร้อยละ) 30 ต่อ ลูกตาล (ร้อยละ) 70
สิ่งทดลองที่ 4 น้ำตาลเมา (ร้อยละ) 20 ต่อ ลูกตาล (ร้อยละ) 80

จากนั้นนำทั้ง 4 สิ่งทดลองไปทดสอบความชอบโดยผู้ทดสอบชิมที่ไม่ได้ผ่านการฝึกฝนจำนวน 50 คน โดยใช้ 9 point Hedonic Scales เพื่อคัดเลือกอัตราส่วนในการนำไปพัฒนาผลิตภัณฑ์ ตาลหมาก

ทดสอบผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์ตาลหมาก

นำผลิตภัณฑ์ตาลหมากไปทดสอบความพึงพอใจของผู้บริโภค จำนวน 100 คน ด้วยวิธี Central Location Test (อรวรรณ พึ่งคำ. 2554) ที่ตลาดแจ้งวัฒนะ 6 ถนนแจ้งวัฒนะ แขวงอนุสาวรีย์ เขตบางเขน กรุงเทพมหานคร

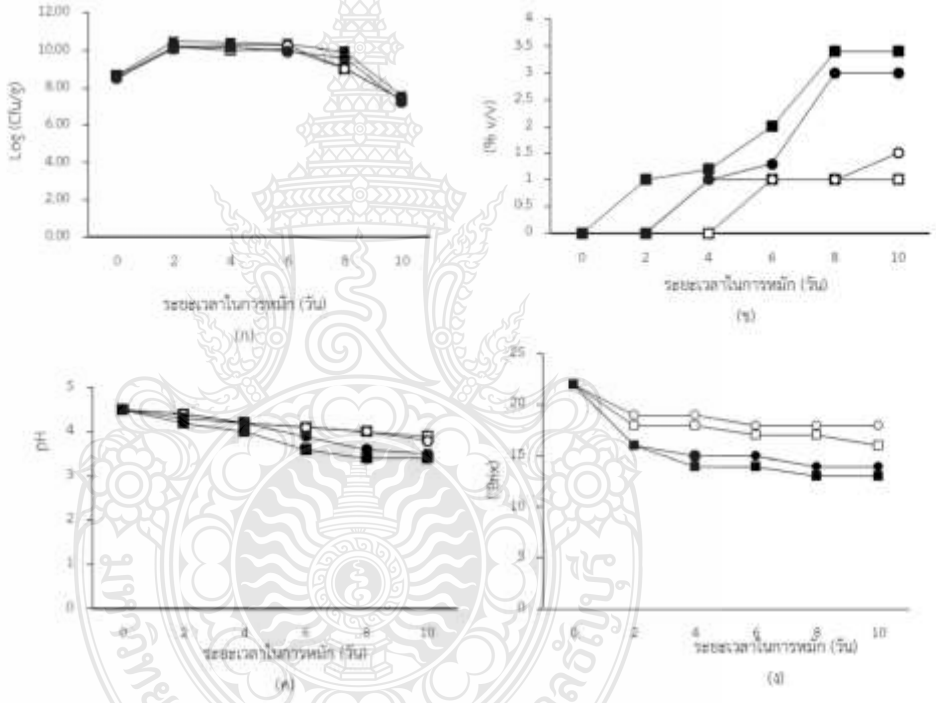
ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

ผลวิเคราะห์สายพันธุ์ยีสต์ที่พบในน้ำตาลโตนด

จากการวิเคราะห์ลำดับเบส ด้วยวิธีการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ D1/D2 บน 26s RNA gene ของเชื้อยีสต์ พบยีสต์ในน้ำตาลโตนดจำนวน 4 สายพันธุ์ คือ Naganishia adeliensis , Saccharomyces cerevisiae, Aureobasidium melanogenum และ Hanseniaspora guilliermondii

ผลวิเคราะห์การหมักน้ำตาลโตนดด้วยยีสต์ธรรมชาติ

จากการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีของยีสต์ 4 สายพันธุ์ที่ใช้ในการหมักน้ำตาลโตนด (ดังแสดงภาพที่ 1) พบว่า ยีสต์ 4 สายพันธุ์สามารถหมักน้ำตาลโตนดให้ได้แอลกอฮอล์ โดยการเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์



ภาพที่1 ผลวิเคราะห์กระบวนการหมักน้ำตาลโตนดด้วยยีสต์ธรรมชาติ ระยะเวลา 10 วัน
(ก) การเจริญของเชื้อยีสต์ในน้ำตาลโตนด (ข) ปริมาณแอลกอฮอล์ (%v/v)
(ค) ค่าความเป็นกรดด่าง (pH) (ง) ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (°Brix)
แทนสัญลักษณ์ ดังนี้ (□) Naganishia adeliensis (■) Saccharomyces cerevisiae
(○) Aureobasidium melanogenum (●) Hanseniaspora guilliermondii

สายพันธุ์ยีสต์ที่พบในน้ำตาลโตนด ทั้งหมด 4 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์ S.cerevisiae, H.guilliermondii, N. adeliensis และ A.melanogenum ซึ่งสายพันธุ์ S.cerevisiae และ H.guilliermondii มีความสำคัญต่อการหมักที่มีความสามารถในการเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (สมศรี สีปิฟัมนาวิทย์, 2529, หน้า 11-17) สายพันธุ์ N. adeliensis และ A. melanogenum ยังไม่มีรายงานการพบในตาลโตนด

จากการศึกษากระบวนการหมักน้ำตาลโตนดด้วยยีสต์ธรรมชาติ (ภาพที่ 1 (ก)) สรุปได้ว่ายีสต์ 4 สายพันธุ์สามารถเจริญและเปลี่ยนน้ำตาลที่มีในน้ำตาลโตนดให้เป็นแอลกอฮอล์ได้ อย่างไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แต่การวิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (Total Soluble Solids) มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 กระบวนการหมักยีสต์เริ่มจากวันที่ 0 จะเป็นช่วง Lag Phase หรือระยะเริ่มต้น ยีสต์ปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมใหม่โดยเฉพาะสภาวะที่มีแรงดันออสโมซิสสูงจากความเข้มข้นของน้ำตาลที่มีในน้ำตาลโตนด เมื่อเริ่มเข้าสู่วันที่ 2 ยีสต์เริ่มมีการเจริญเข้าสู่ระยะ Log Phase เริ่มสร้างแอลกอฮอล์และปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (Salgueiro, Sa-Correia and Novais, 1988, p 903-909) สายพันธุ์ A.melanogenum และ N. adeliensis เข้าสู่ระยะสุดท้าย End Phase ในวันที่ 6 ซึ่งเร็วกว่า สายพันธุ์ S.cerevisiae และ H.guilliermondii ที่เริ่มเข้าสู่ระยะสุดท้ายในวันที่ 8 อาจเนื่องมาจาก A.melanogenum และ N. adeliensis ไม่สามารถทนต่อสภาวะแวดล้อมที่มีแอลกอฮอล์และกรดที่เกิดขึ้นระหว่างการหมักได้ จึงทำให้การเจริญลดลงได้เร็วกว่าสายพันธุ์ S.cerevisiae และ H.guilliermondii

กระบวนการทางชีวเคมีที่อาศัยปฏิกิริยาของเอนไซม์ของยีสต์ในการเปลี่ยนสารตั้งต้น คือ น้ำตาล ที่มีอยู่ในน้ำตาลโตนด ภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจนให้เป็นแอลกอฮอล์ เมื่อยีสต์มีการเจริญปริมาณแอลกอฮอล์เริ่มสูงขึ้น (ภาพที่1 (ข)) ส่งผลให้ยีสต์เจริญช้าลง (ภาพที่ 1 (ก)) แอลกอฮอล์ถูกเปลี่ยนไปเป็นสารเอสเทอร์อื่น ๆ ซึ่งสายพันธุ์ S.cerevisiae ให้ปริมาณแอลกอฮอล์สูงที่สุด อีกทั้งยังเป็นยีสต์ที่ได้รับความนิยมในการนำมาใช้สำหรับการหมักแอลกอฮอล์ เนื่องจากหมักได้เร็ว ทนต่อปริมาณแอลกอฮอล์สูงและทนต่อการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นในระหว่างการหมัก (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และปรีชา สุวรรณพินิจ, 2544) สายพันธุ์ H.guilliermondii ให้ปริมาณแอลกอฮอล์ที่รองลงมาร้อยละ 3 (%v/v) เป็นยีสต์ที่มีความไวต่อแอลกอฮอล์และอุณหภูมิ จึงทำให้เกิดกระบวนหมักเพียงเล็กน้อย เป็นผลสอดคล้องกับงานวิจัยของ Wahauwouele ในงานวิจัยเรื่องการใช้ยีสต์พื้นเมืองที่ไม่ใช่ S.cerevisiae หมักน้ำมะม่วง (Wahauwouélé , 2020 P. 3) สายพันธุ์ A.melanogenum ให้ปริมาณแอลกอฮอล์ค่อนข้างต่ำ และยังไม่มีรายงานการนำยีสต์สายพันธุ์นี้ ไปใช้ในการหมักเครื่องดื่มแอลกอฮอล์แต่ถูกนิยมนำไปใช้ในส่วนเทคโนโลยีชีวภาพ เช่น ผลิตไซโลสิโกแซ็กคาไรด์ (เบญจวรรณ ยันต์เศษภักดี, 2559, หน้า 1) และสายพันธุ์ N. adeliensis ผลิตแอลกอฮอล์เพียงร้อยละ 1 (%v/v) จากงานวิจัยเรื่องการประเมินการใช้ยีสต์ที่แยกจากเครื่องดื่มซิซาของชาวเอกวาดอและนำไปใช้อุตสาหกรรมอาหารในการหมัก ได้กล่าวไว้ว่า สายพันธุ์ N. adeliensis มีกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสที่สูง เป็นไปได้ว่าสายพันธุ์ N. adeliensis จะสามารถย่อยหรือเกิดกระบวนการหมักในอาหารจำพวกแป้งได้ดีกว่าน้ำผลไม้ (Galjaiva, 2020, P.108462)

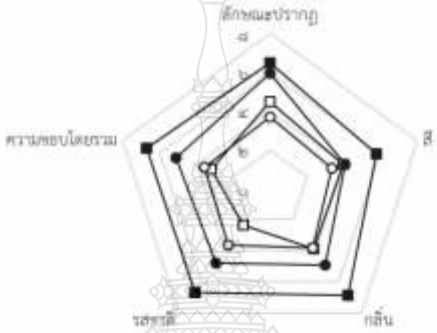
ค่าความเป็นกรดต่าง (ภาพที่1 (ค)) ลดลงตลอดระยะเวลาหมัก 10 วัน เกิดจากการเจริญของยีสต์ที่ใช้สารอาหารในน้ำตาลโตนด เพื่อให้เกิดกระบวนการหมัก และนำไปสู่การก่อตัวของ H^+ และกรดคาร์บอนิกจากปฏิกิริยาของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ จึงส่งผลให้ค่าความเป็นกรดด่างลดลง (มุจรี สอนละอาด, สุภาพร ลักขี และวิลาวัลย์ แกษ, 2563, หน้า 1)

เมื่อยีสต์มีการเจริญปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (Total Soluble Solids) มีค่าลดลง เนื่องจากในน้ำตาลโตนดมีสารอาหารที่ยีสต์สามารถนำไปใช้ในการเจริญเพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์ บางส่วนถูกนำไปใช้สังเคราะห์เพื่อผลพลอยได้อื่น ๆ เช่น เอสเทอร์, กลีเซอรอล, แอลดีไฮด์, เอทิลแอลกอฮอล์, ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์, ฟูเซลออยล์ และกรด (สาวิตรี ลิ่มทอง, 2549) ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (Total Soluble Solids) แปรผกผันกับปริมาณแอลกอฮอล์เมื่อยีสต์เกิดกระบวนการหมักปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (Total Soluble Solids) ลดลงอัตราการผลิตแอลกอฮอล์จะสูงขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยเรื่องการเปลี่ยนแปลงทางเคมีระหว่างการหมักไวน์ลูกหม่อน และความพึงพอใจของผู้บริโภค (ไกรยศ แซ่ลิ้ม, ศิริขวัญ จันทร์หมื่น, และกัญญารัตน์ เหลืองประเสริฐ, 2561, หน้า 612-616)

ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดนั้น ไม่ได้หมายถึงปริมาณของน้ำตาลเพียงอย่างเดียวแต่จะมีค่าของแข็งอื่น ๆ รวมอยู่ด้วย (สาวิตรี ลิ่มทอง, 2549)

ผลทดสอบความชอบของผู้ทดสอบชิมที่มีต่อน้ำตาลเมา

เมื่อนำน้ำตาลเมาที่ได้จากกระบวนการหมักด้วยยีสต์ 4 สายพันธุ์ ไปทดสอบชิมจำนวน 50 คน และให้คะแนนด้วยวิธี 9 point Hedonic Scales Test พบว่าสายพันธุ์ S.cerevisiae ได้คะแนนมากที่สุด รองลงมา H. guilliermondii, N. adeliensis และ A. Melanogenum ตามลำดับ



ภาพที่ 2 กราฟเรดาร์ (Radar Chart) ผลการทดสอบความชอบของผู้ทดสอบชิมที่มีต่อน้ำตาลเมา แทนสัญลักษณ์ ดังนี้ (□) Nagaishia adeliensis (■) Saccharomyces cerevisiae (O) Aureobasidium melanogenum (●) Hanseniaspora guilliermondii

จากภาพที่ 2 สายพันธุ์ S.cerevisiae ได้คะแนนสูงสุดจากทั้ง 5 ด้าน ลักษณะปรากฏ 6.48 คะแนน สี 5.78 คะแนน กลิ่น 6.82 คะแนน รสชาติ 6.64 คะแนน และความชอบโดยรวม 6.70 คะแนน ซึ่งคิดเป็นคะแนนเฉลี่ยทั้ง 5 ด้าน เท่ากับ 6.48 จากคะแนนเต็ม 9 จึงสามารถสรุปได้ว่าสายพันธุ์ S.cerevisiae เป็นสายพันธุ์ที่ถูกคัดเลือกจากผู้บริโภคในการนำไปหมักในน้ำตาลโตนดให้ได้น้ำตาลเมา เพื่อนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ตาลหมาก

ผลทดสอบความชอบของผู้ทดสอบชิมในการศึกษาอัตราส่วนของน้ำตาลเมาต่อลูกตาล

จากผลการทดสอบชิมในการศึกษาอัตราส่วนของน้ำตาลเมาต่อลูกตาลทั้งหมด 4 สิ่งทดลอง (ดังแสดงตารางที่ 1)

สิ่งทดลองที่ 1 น้ำตาลเมา (ร้อยละ) 50 ต่อ ลูกตาล (ร้อยละ) 50
สิ่งทดลองที่ 2 น้ำตาลเมา (ร้อยละ) 40 ต่อ ลูกตาล (ร้อยละ) 60
สิ่งทดลองที่ 3 น้ำตาลเมา (ร้อยละ) 30 ต่อ ลูกตาล (ร้อยละ) 70
สิ่งทดลองที่ 4 น้ำตาลเมา (ร้อยละ) 20 ต่อ ลูกตาล (ร้อยละ) 80

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบความชอบของผู้ทดสอบชิมในการศึกษาอัตราส่วนของน้ำตาลเมาต่อลูกตาล

สิ่งทดลอง	ลักษณะปรากฏ	สี	กลิ่น	รสชาติ	ความชอบโดยรวม
1	4.08±0.63^{d}	3.88±0.87^{c}	3.78±0.68^{b}	3.98±1.91^{c}	4.12±1.86^{c}
2	4.94±1.08^{c}	3.96±1.05^{c}	3.78±1.31^{b}	4.68±1.28^{b}	5.40±1.55^{b}
3	5.88±1.42^{b}	4.74±1.83^{b}	4.78±1.83^{a}	5.24±1.92^{b}	6.04±2.16^{ab}
4	7.52±1.95^{a}	6.12±1.39^{a}	4.86±2.08^{a}	6.98±1.60^{a}	6.58±1.70^{a}

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง แสดงว่ามีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

จากตารางที่ 1 พบว่า ด้านลักษณะปรากฏอัตราส่วนที่ได้คะแนนมากที่สุด คือ สิ่งทดลองที่ 4 น้ำตาลเมาร้อยละ 20 ต่อลูกตาลร้อยละ 80 ได้ 7.52±1.95 คะแนน รองลงมาสิ่งทดลองที่ 3, สิ่งทดลองที่ 2 และสิ่งทดลองที่ 1 เท่ากับ 5.88±1.42, 4.94±1.08 และ 4.08±0.63 คะแนน ตามลำดับ มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้านสีพบว่าสิ่งทดลองที่ 4 ได้รับคะแนนมากที่สุด คือ 6.12±1.39 รองลงมา สิ่งทดลองที่ 3, สิ่งทดลองที่ 2 และสิ่งทดลองที่ 1 เท่ากับ 4.74±1.83, 3.96±1.05 และ 3.88±0.87 ตามลำดับ ซึ่งสิ่งทดลองที่ 4, สิ่งทดลองที่ 3 และ สิ่งทดลองที่ 2 มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แต่ สิ่งทดลองที่ 2 และ สิ่งทดลองที่ 1 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้านกลิ่นพบว่าสิ่งทดลองที่ 1 ได้รับคะแนนมากที่สุด เท่ากับ 4.86±2.08 รองลงมา สิ่งทดลองที่ 3, สิ่งทดลองที่ 2 และสิ่งทดลองที่ 1 เท่ากับ 4.78±1.83, 3.78±1.31 และ 3.78±0.68 ตามลำดับ ด้านรสชาติสิ่งทดลองที่ 4ได้รับคะแนนมากที่สุด เท่ากับ 6.98±1.60 รองลงมาสิ่งทดลองที่ 3, สิ่งทดลองที่ 2 และสิ่งทดลองที่ 1 เท่ากับ 5.24±1.92, 4.68±1.28 และ 3.98±1.91 ตามลำดับ และด้านความชอบโดยรวมสิ่งทดลองที่ 1 ได้รับคะแนนมากที่สุด คือ 6.58±1.70 รองลงมาสิ่งทดลองที่ 3, สิ่งทดลองที่ 2 และสิ่งทดลองที่ 1 เท่ากับ 6.04±2.16, 5.40±1.55 และ 4.12±1.86 จึงสรุปได้ว่า สิ่งทดลองที่ 4 น้ำตาลเมา (ร้อยละ) 20 ต่อ ลูกตาล (ร้อยละ) 80 เป็นสิ่งทดลองที่ถูกคัดเลือกไปทำผลิตภัณฑ์ตาลหมาก

ผลทดสอบผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์ตาลหมาก

ผู้ตอบแบบสอบถามจำนวน 100 คน พบว่า ความถี่ในการดื่มเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ต่อสัปดาห์ ตอบอื่น ๆ จำนวน 53 คน คิดเป็นร้อยละ 53 ที่ดื่มเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ และให้เหตุผลว่า ดื่มเมื่อมีโอกาส ดื่ม 2-3 ครั้งต่อเดือน และดื่มเดือนละครั้ง รองลงมาสัปดาห์ละ 1-3 วัน จำนวน 46 คน คิดเป็นร้อยละ 46 ดื่มสัปดาห์ละ 4-6 วัน จำนวน 2 คน คิดเป็นร้อยละ 2 แต่ไม่พบผู้ที่ดื่มแอลกอฮอล์ทุกวัน ผู้ตอบแบบสอบถามรู้จักข้าวหมากจำนวน 78 คน คิดเป็นร้อยละ 78 และไม่รู้จัก 22 คน คิดเป็นร้อยละ 22 ความถี่ในการรับประทานข้าวหมากส่วนใหญ่ให้คำตอบอื่น ๆ จำนวน78 คน คิดเป็นร้อยละ 78 ให้เหตุผลว่าแล้วแต่โอกาส เดือนละ 1 ครั้ง และปีละ 1 ครั้ง ผู้บริโภคส่วนใหญ่ไม่นิยมรับประทานข้าวหมาก จำนวน 44 คน คิดเป็นร้อยละ 44 รองลงมารู้สึกเฉย ๆ จำนวน 35 คน คิดเป็นร้อยละ 35 รู้สึกชอบจำนวน 20 คน คิดเป็นร้อยละ 20 และมีผู้ชอบมาก 1 คน คน คิดเป็นร้อยละ 1

ข้อมูลเกี่ยวกับความพึงพอใจของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์ตาลหมากด้วยวิธี 9 Point Hedonic Scale Test โดย 1 คะแนน หมายถึง ไม่ชอบมากที่สุด และ9 คะแนน หมายถึง ชอบมากที่สุด

พบว่า คะแนนด้านลักษณะปรากฏเท่ากับ 6.77±1.35 แสดงว่าผู้บริโภคมีความชอบเล็กน้อย ด้านสีได้ 5.84±0.55 คะแนน แสดงว่าผู้บริโภคเฉยกับผลิตภัณฑ์ ด้านกลิ่น 6.54±1.16 คะแนน แสดงว่าผู้บริโภคมีความชอบเล็กน้อย ด้านรสชาติได้ 6.51±0.95 คะแนน แสดงว่าผู้บริโภคมีความชอบเล็กน้อย และความชอบโดยรวมได้ 8.02±0.91 คะแนน แสดงว่าผู้บริโภคมีความชอบมากต่อผลิตภัณฑ์ตาลหมาก เมื่อสอบถามผู้บริโภค 100 คน เกี่ยวกับผลิตภัณฑ์ตาลหมาก พบว่า ผู้บริโภคให้ความสนใจที่จะซื้อผลิตภัณฑ์ตาลหมากจำนวน 81 คน คิดเป็นร้อยละ 81 สถานที่ที่ผู้บริโภคต้องการให้มีการวางขายพบว่าผู้บริโภคเลือกที่ร้านสะดวกซื้อมากที่สุดจำนวน 31 คน คิดเป็นร้อยละ 38.3 รองลงมาคือที่ตลาดจำนวน 21 คน คิดเป็นร้อยละ 25.9 ซุปเปอร์มาเก็ต 20 คน คิดเป็นร้อยละ 24.7 ห้างสรรพสินค้า 9 คน คิดเป็นร้อยละ 11.1 ราคาที่ผู้บริโภคส่วนใหญ่เลือกราคา 21-25 บาท จำนวน 45 คน คิดเป็นร้อยละ 55.6 รองลงมา 26-30 บาท จำนวน 18 คน คิดเป็นร้อยละ 22.2 ราคา 16-20 บาท จำนวน 12 คน คิดเป็นร้อยละ 14.8 และราคา 10-15 บาท จำนวน 6 คน คิดเป็นร้อยละ 7.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการซื้อผลิตภัณฑ์พบว่าผู้บริโภคให้คะแนนในส่วนของบรรจุภัณฑ์มากที่สุด เท่ากับ 53 คะแนนคิดเป็นร้อยละ 40.77 รองลงมาคือ รสชาติ 30 คะแนน คิดเป็นร้อยละ 23.08 ซื้อสะดวก 24 คะแนน คิดเป็นร้อยละ 18.46 และปัจจัยสุดท้ายคือราคา 23 คะแนนคิดเป็นร้อยละ 17.69 สำหรับผู้ที่ไม่สนใจซื้อผลิตภัณฑ์ตาลหมากจำนวน 21 คน พบว่าสาเหตุของการไม่ซื้อที่ผู้บริโภคส่วนใหญ่ตอบ คือ ไม่ทานตาลโตนด จำนวน 11 คน คิดเป็นร้อยละ 44 รองลงมาคือรสชาติของตาลหมากไม่อร่อยจำนวน 7 คน คิดเป็นร้อยละ 28 ผลิตภัณฑ์ตาลหมากไม่น่าสนใจ 4 คน คิดเป็นร้อยละ 16 และสาเหตุสุดท้ายคือ ผลิตภัณฑ์ตาลหมากไม่น่ารับประทาน จำนวน 12 คน คิดเป็นร้อยละ 12

ภาพที่ 3 กราฟเรดาร์ (Radar Chart) ความพึงพอใจของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์ตาลหมากด้วยวิธี 9 Point Hedonic Scale Test ผู้บริโภคจำนวน 100 คน

จากผลการทดสอบผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์ตาลหมาก นำไปทดสอบผู้บริโภคจำนวน 100 คน ด้วยวิธี Central Location Test ที่ตลาดนัดแจ้งวัฒนะ 6 (หลักสี่) ให้คะแนนแบบ 9 Point Hedonic Scale Test โดย 1 คะแนน หมายถึง ไม่ชอบมากที่สุด และ 9 คะแนน หมายถึง ชอบมากที่สุด ซึ่งให้คะแนน 5 ด้าน คือ ลักษณะปรากฏ สี กลิ่นรสชาติ และความชอบโดยรวม พบว่า ลักษณะปรากฏได้คะแนนเท่ากับ 6.77 ด้านสีได้คะแนนเท่ากับ 5.84 ด้านกลิ่นได้คะแนนเท่ากับ 6.54 ด้านรสชาติได้คะแนนเท่ากับ 6.51 และด้านความชอบโดยรวมได้คะแนนเท่ากับ 8.02 จึงสามารถสรุปได้ว่า ผู้บริโภคเฉย ๆ ต่อด้านสี มีความชอบเล็กน้อยต่อด้านลักษณะปรากฏ กลิ่น รสชาติ และผู้บริโภคมีความชอบมากในด้านความชอบโดยรวม ผู้บริโภคส่วนใหญ่ให้ความสนใจต่อผลิตภัณฑ์เนื่องจากเป็นผลิตภัณฑ์ใหม่ที่ไม่มีในท้องตลาด เมื่อรับประทานรู้สึกสดชื่น ให้ความหวานต่อร่างกาย อีกทั้งยังเป็นการนำผลไม้ท้องถิ่นมาแปรรูปเพื่อให้เกิดความแปลกใหม่และมีความหลากหลายทางการค้า ซึ่งส่งผลให้ผู้บริโภคมีทางเลือกในการซื้อผลิตภัณฑ์เพิ่มมากขึ้น รวมถึงเป็นการสร้างองค์ความรู้ใหม่แก่ผู้ประกอบอาชีพทำตาลโตนดอีกด้วย

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี ได้รับความกรุณาและความช่วยเหลืออย่างดียิ่งจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จริญ เจริญชัย อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปาสิดา ตั้งอนุรัตน์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ในการให้คำปรึกษาตั้งแต่หัวข้อวิทยานิพนธ์ ข้อมูลและคำแนะนำต่าง ๆ ซึ่งเป็นประโยชน์อย่างยิ่ง โดยเฉพาะการวางเค้าโครง แนวทางการเขียนเนื้อหาและการวิเคราะห์ของงานวิจัย

ขอขอบคุณ หมู่บ้านน้ำตาลสด ตำบลบางคล้า อำเภอปากน้ำ จังหวัดฉะเชิงเทรา ที่ให้ความอนุเคราะห์และให้ความรู้ในส่วนของตาลโตนด

ขอบคุณสถานที่และเจ้าหน้าที่คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตัญบุรี ที่ได้เอื้อเฟื้อสถานที่ รวมถึงอุปกรณ์ต่าง ๆ ที่ใช้ในการทดลอง และความสะดวกระหว่างการดำเนินการวิจัย

ท้ายนี้ผู้เขียนขอขอบคุณบิดา มารดา ที่ให้การอุปการะอบรมเลี้ยงดู ตลอดจนส่งเสริมการศึกษา และให้กำลังใจเป็นอย่างดี

เอกสารอ้างอิง

ไกรยศ แซ่ลิ้ม, ศิริขวัญ จันทร์หมื่น และ กัญญารัตน์ เหลืองประเสริฐ. (2561). การเปลี่ยนแปลงทางเคมีระหว่างการหมักไวน์ลูกหม่อน และความพึงพอใจของผู้บริโภค. **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร.** ปีที่ 49(1(พิเศษ)), 612-616.

คณะกรรมการกำหนดรูปแบบโรงงานแปรรูปผลิตผลตาลโตนด. (2544). "ตาลโตนด ผลิตภัณฑ์อาหารแปรรูปและรูปแบบโรงงานผลิต". กรุงเทพฯ : กรมส่งเสริมการเกษตร.

ธมลวรรณ อารยพันธ์, อนันต์ บุญปาน, อภิญญา พุกสุขสกุล และปณิธาน เศรษฐบุตร. (2550). **บทบาทของยีสต์ธรรมชาติต่อการหมักขนมตาล**. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี, ปทุมธานี.

นุจรี สอนสะอาด, สุภาพร รผักชี, วิลาวัลย์ เกษ. (2563). สภาวะที่เหมาะสมในการหมักไวน์ลำดวนโดยใช้กล้าเชื้อแบบตรึงเซลล์ The optimum conditions for fermentation of Lamduan wine using immobilized cell culture. **วารสารเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี Agriculture and Technology Journal**, ปีที่ 1(1), 1.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และปรีชา สุวรรณพินิจ. (2544). "จุลชีววิทยาทั่วไป". พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพมหานคร : บริษัท เท็กซ์แอล เจอนัล พับลิเคชั่น จำกัด.

เบญจวรรณ ยันต์เศษภักดี.(2559). การผลิตไซโลโอลิโกแซ็กคาไรด์ (XOS) และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากธูปฤาษี (Typha angustifolia L.) ด้วยไซแลนเนสที่ผลิตโดย Aureobasidium melanogenum (Production of xylooligosaccharides (XOS) from cattail (Typha angustifolia L.) and their antioxidant activity. **วารสารวิจัย มข**, 2016(16), หน้า 1.

พระราชบัญญัติ ภาษีสรรพสามิต พ.ศ. 2560. (2493, 6 มีนาคม). **ราชกิจจานุเบกษา**. เล่ม 67 ตอนที่ 16. หน้า 346/21.

ลักษณาพร โรจน์พิทักษ์กุล. (2550). การพัฒนารูปแบบการอนุรักษ์และส่งเสริมผลผลิตจากตาลโตนด กรณีศึกษาชุมชนตำบลปากน้ำ อำเภอบางคล้า จังหวัดฉะเชิงเทรา. **วารสารศึกษาศาสตร์**, ปีที่ 18(2), หน้า 49-61.

สาวิตรี ลิ่มทอง. (2549). ยีสต์: ความหลากหลายและเทคโนโลยีชีวภาพ. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ

สมศรี สีปิฟัมณาวิทย์. (2529). จุลินทรีย์ในผลตาลสุก. **วารสารครุศาสตร์อุตสาหกรรมและวิทยาศาสตร์**, ปีที่ 5, ฉบับที่1, หน้า 11-17.

อรวรรณ พึ่งค้า. (2554). "การประยุกต์เทคโนโลยีกล้าเชื้อยีสต์สำหรับผู้ผลิตขนมตาล". ปริญญาคหกรรมศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี, ปทุมธานี.

Nubia Grijalva. (2020). Evaluation of yeasts from Ecuadorian chicha by their performance as starters for alcoholic fermentations in the food industry. **International Journal of food Microbiology**. 2020(317), Page 108462.

Sancha P. Salgueiro, Isabel Sa-Correia and Julio M Novais. (1988). Ethanol-induced leakage in Saccharomyces cerivisiae: kinetics and relationship to yeast ethanol tolerance and alcohol fermentation productivity. **Appl Environ Microbiol**. p 54, 903-909.

Wahauwouélé HermannCoulibaly (2020). Use of non- Saccharomyces yeast strains as starter cultures to enhance ferment mango juice production. **Scientific African. 2020(7)**, Page 3.

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	นางสาววิภาพรรณ เหมะธุลิน
วัน เดือน ปีเกิด	วันที่ 20 กรกฎาคม พ.ศ. 2535
ที่อยู่	144 หมู่ 2 ตำบลลำภู อำเภอเมือง จังหวัดหนองบัวลำภู 39000
การศึกษา	สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ในปีการศึกษา 2558
ประสบการณ์การทำงาน	- ปี พ.ศ. 2559 บริษัท เอสเธติค ซีเครท (แอท-ซี) จำกัด - ปี พ.ศ. 2560 บริษัท โควิก เคทท์ อินเตอร์เนชั่นแนล (ประเทศไทย) จำกัด
เบอร์โทรศัพท์	082-3312827
อีเมล์	wipaparn_h@mail.rmutt.ac.th