รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ประจำปีที่ 2 (2548)

(โครงการต่อเนื่อง 3 ปี)

ลงทะเบียนวันที่ 13 มิ.ย. 2549
เลขทะเบียน 060497
เลขหมู่ วพ
ทร
ก๓
หัวเรื่อง ...
...

เรื่อง

การออกแบบและสร้างอุปกรณ์ต้นแบบเพื่อการผลิตสาโทระดับอุตสาหกรรม

คณะผู้วิจัย

น.ส. ปุณิกา ภูวรรณตระกูล

นายเจริญ เจริญชัย

คณะวิศวกรรมและเทคโนโลยีการเกษตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
1. บทนำ	1
1.1 วัตถุประสงค์	1
2. ตรวจเอกสาร	2
2.1 กระบวนการผลิตสาโท	4
2.2 การทำลูกแป้ง	6
2.3 การหมัก	9
2.4 จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการหมักสาโท	15
2.5 ถังหมัก	20
2.6 กระบวนการหมัก	26
3. วิธีการวิจัย	30
4. ผลและวิจารณ์	44
5. สรุปผลการวิจัย	60
6. เอกสารอ้างอิง	61

1. บทนำ

สาโท เป็นเครื่องดื่มพื้นบ้านของไทยที่ได้จากการหมักข้าว โดยเฉพาะข้าวเหนียว โดยนำข้าวเหนียวมานึ่งให้สุกแล้ว คลุกกับลูกแป้ง ซึ่งเป็นแป้งที่มีส่วนผสมของสมุนไพร และเครื่องเทศ ซึ่งทำหน้าที่คัดเลือกจุลินทรีย์ที่เหมาะสมในการหมัก ได้แก่เชื้อรา ที่ทำหน้าที่ย่อยแป้งในข้าวให้เป็นน้ำตาล และยีสต์ที่เปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ และสารกลิ่นรสต่างๆ ปัจจุบันกระทรวงการคลังได้ประกาศวิธีการบริหารงานสุรา ปี 2543 และฉบับเพิ่มเติมที่ 2 และ 3 เปิดโอกาสให้สหกรณ์การเกษตร กลุ่มเกษตรกร และบริษัทเอกชน สามารถผลิตสุราพื้นบ้านจำหน่ายได้ แต่การผลิตทางอุตสาหกรรมนั้น จำเป็นต้องมีเครื่องมืออุปกรณ์ถังหมัก ถังบ่มและเครื่องผลิตโคจิ แต่การวิจัยและพัฒนาที่เกี่ยวกับสาโทหรือไวน์ข้าว มีเพียงการทดลองหมักสาโทในระดับห้องปฏิบัติการ และการผลิตขนาดเล็ก (ยุพกนิษฐ์และอำนวย, 2544; Ayap, 2000) ทำให้ในปัจจุบัน โรงงานอุตสาหกรรมขนาดเล็กที่ผลิตสุราแช่พื้นบ้านจำหน่าย ตามประกาศกระทรวงการคลังดังกล่าว ไม่สามารถขยายกำลังการผลิตให้เป็นระดับอุตสาหกรรมได้

การพัฒนากระบวนการผลิตและคุณภาพของสุราแช่พื้นบ้าน ในระดับอุตสาหกรรมให้เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค เพื่อให้เป็นเครื่องดื่มประจำชาติของไทย เช่นเดียวกับสาเกของญี่ปุ่น หรือว็อดก้าของรัสเซีย นั้น จำเป็นต้องมีการศึกษาวิจัยและพัฒนาระบบอุปกรณ์เครื่องจักรถังหมักในการผลิต โดยต้องศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้องในการออกแบบระบบถังหมัก แต่ยังไม่มีการศึกษาดังกล่าว

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องในการออกแบบระบบถังหมักและเครื่องผลิตโคจิ และถังบ่มสาโท
2. เพื่อออกแบบและสร้างโรงงานต้นแบบเพื่อการผลิตสาโท
3. เพื่อปรับปรุงประสิทธิภาพการผลิตและขยายกำลังการผลิตของอุตสาหกรรมสุราแช่

2. การตรวจเอกสาร

สาโท เป็นเครื่องดื่มพื้นบ้านที่หมักมาจากข้าวเหนียว (จรูญ, 2525) สาโทเป็นชื่อเรียกกันทางภาคอีสาน ภาคกลางเรียกน้ำขาวถ้าทำจากข้าวเหนียวขาว ถ้าทำจากข้าวเหนียวแดงเรียกว่า น้ำแดง บางท้องที่เรียกว่า กะแช่ แต่กะแช่ในบางท้องถิ่นที่หมายถึงน้ำตาลเมา ซึ่งทำมาจากน้ำตาลสดของต้นตาลโตนดหรือมะพร้าว บางท้องที่ก็เรียกว่าน้ำตาลเมาว่า ไอ้เป้ ดังนั้นคำที่ใช้จึงมักแตกต่างกันไปตามท้องที่ สาโทตามความหมายในพระราชบัญญัติสุรา พ.ศ. 2493 จัดรวมอยู่ในพวกสุราแช่ หมายถึงสุราที่ไม่ได้กลั่นและหมายรวมถึง สุราที่ได้ผสมกับสุรากลั่นแล้ว แต่ยังมีปริมาณแอลกอฮอล์ไม่เกิน 15 ดีกรีด้วย

ถึงแม้ว่าจะมีผู้พยายาม ผลิตสาโทออกมาเป็นทางการค้าแต่กรรมวิธีการผลิตและรสชาติไม่สามารถเปรียบเทียบได้กับสาโทที่หมักโดยชาวบ้าน ถึงแม้ว่าทางโรงงานจะนำเทคโนโลยีใหม่ๆมาทำการผลิต แต่ก็ได้ ผลิตภัณฑ์อะไรอย่างหนึ่งที่ไม่ใช่สาโท จึงไม่ได้รับความนิยมจากผู้ดื่ม

เครื่องดื่มที่ทำจากข้างคล้ายสาโท ได้แก่ Sake ของญี่ปุ่น Biityae ของจีน และ Prem ของบาหลีในอินโดนีเซีย การหมักในประเทศแถบตะวันออกไกลยังใช้ลูกแป้งเป็นแหล่งของจุลินทรีย์ที่เป็นเชื้อหมัก

จากวิธีการทำสาโท จะเห็นได้ว่า การทำสาโทหรือน้ำขาว มีการเติมน้ำลงไปในช่วงการหมัก เมล็ดข้าวจะลอยขึ้นมาที่ผิวหน้า ใช้เวลาการหมักราว 2 อาทิตย์ ก็รองเอามาดื่มน้ำที่ได้จึงมีสีขาวขุ่นเรียกว่าน้ำขาว ถ้าทำจากข้าวเหนียวแดง สีแดงจะสกัดออกมาในช่วงการหมักได้น้ำแดง เนื่องจากการกรองด้วยผ้าขางบางธรรมดา จึงไม่ใส การที่ไม่ได้พาสเจอไรส์จึงเก็บไม่ได้นาน ปกติจะต้องรีบรับประทานเพราะถ้าทิ้งไว้นานจะเปรี้ยว เนื่องจากแบคทีเรีย ที่ทำให้เกิดน้ำส้มสายชูเจริญขึ้นมา ทำให้เปรี้ยวไม่อร่อย ปกติถ้าเก็บไว้ดื่มวันต่อๆไปก็จะมีการเติมน้ำตาลไปเรื่อยๆ ให้เกิดการหมักเรียกการเติมน้ำตาลว่าเป็นการ ถ่วง ถ้ายีสต์ยังหมักต่อไปก็จะเกิดแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ ทำให้แบคทีเรียที่สร้างกรดอะซิติก เจริญไม่ได้ ทำให้เก็บได้นานขึ้น บางแห่งเติมน้ำลงไปให้พอท่วม ตรงกลางทำเป็นหลุมพอให้ขันเล็กๆตักน้ำข้าวมาดื่มแล้ว

เติมน้ำฝนลงไปเท่าเดิมเพื่อดื่มในวันรุ่งขึ้น จากการตรวจวัดปริมาณแอลกอฮอล์พบว่าสาโทที่มีคุณภาพดีจะมีแอลกอฮอล์ประมาณ 15 ดีกรี โดยทั่วๆไป จะมีปริมาณ 12 ดีกรี รสออกเปรี้ยวเล็กน้อย และบาดคอ ยังได้กลิ่นยีสต์ สีขุ่น ปกติสาโทมักจะดื่มโดยใช้กะลามะพร้าว หรือ ขันน้ำ

สาโท เมื่อได้ผ่านการนำไปกลั่นเป็นสุราเรียกว่า เหล้าขาว ซึ่งโดยทั่วไปจะมีแอลกอฮอล์ 30 – 45 ดีกรี ในบางแห่งที่ทำเหล้าเถื่อนก็อาจจะมีดีกรีสูงกว่านั้น กาสรกลั่นให้เป็นเหล้าจะเก็บได้นานขึ้น ปกติเก็บในไห เอาฝาไม้ปิดแล้วทับด้วยดินเหนียวหรือขี้เถ้า โดยมากมักจะฝังดินไว้เพื่อปิดบังเจ้าหน้าที่ การใส่ไหฝังดินไว้ดังกล่าวเป็นการบ่มที่ดี เพราะได้รับความเย็นใต้พื้นดิน ถ้าเก็บไว้หลายๆเดือนก็จะได้รับเหล้าเถื่อนที่มีคุณภาพที่ดีมาก กลิ่นหอมของแอลกอฮอล์ผสมกลิ่นข้าวเหนียวและกลิ่นจำพวกสารเอสเทอร์ รสชาตินิ่มนวลไม่บาดคอ

สำหรับจุลินทรีย์ในลูกแป้งสาโท เท่าที่สำรวจมาบ้างเล็กน้อยรู้สึกว่าจะไม่แตกต่างกัน ส่วนใหญ่เป็นเชื้อ *Rhisopus* โดยเฉพาะ *Rhisopus oryzae* ซึ่งมีประสิทธิภาพการย่อยแป้งอยู่ในเกณฑ์ นอกจากพบ *Rhizopus* จำนวนมากแล้ว *Mucor* พบมากรองลงมา เท่าที่ตรวจดูแล้วพบว่าประสิทธิภาพในการย่อยแป้งต่ำ แต่เชื้อพวก *Mucor* ให้กลิ่นดี เชื้อราอื่นๆ ที่พบบ้าง ได้แก่ *Amylomyus rouxii* และพบน้อยได้แก่ *Aspergillus* , *Penicillium* สำหรับเชื้อยีสต์ที่พบมากคือ *Saccharomyces cerevisiae* รองลงมาเป็น *Endomycopsis fibuligera* และ *Candida Torulopsis* พบบ้างเล็กน้อย ส่วนเชื้อแบคทีเรียส่วนใหญ่พบ *Pediococcus* ในช่วงสองสาม วันแรกของการหมัก หลังจากนั้นเป็นพวก *Lactobacillus*

จากการคัดเลือกเชื้อพบว่า เชื้อที่จำเป็นสำหรับการหมักสาโทคือ *Rizopus* , *Amylomyces rouxii* ชนิดใดชนิดหนึ่งก็ได้ สำหรับยีสต์ที่จำเป็นก็คือ *S. cerevisiae* สาโทที่หมักจากเชื้อ *Rhizopus* จะมีรสเปรี้ยวกว่าการหมักจาก *Amylomyces* เล็กน้อย การหมักได้เร็วกว่าลูกแป้งเล็กน้อย

ในห้องปฏิบัติการพบว่า ถ้าเติมเบนโทไนท์จะช่วยให้ตกตะกอนดีและได้น้ำใสเมื่อทิ้งไว้นาน สีจะเหลืองและเข้มมากขึ้นถ้าปล่อยให้ถูกแสง ซึ่งควรเก็บในขวดสีเขียวหรือสีชา สาโทจะถูกออกซิไดซ์ได้ง่าย ช่วงการดื่มที่พอประมาณ สามเดือนถึงหนึ่งปี ไม่ควรเก็บไว้นานกว่านั้นขวดที่ใช้เก็บจะต้องปิดจุกให้สนิท

การเก็บไว้ในอุณหภูมิตู้เย็นจะทำให้รสชาติดีขึ้น ถ้าหมักให้ได้แอลกอฮอล์ 15 ดีกรีให้น้ำตาลหมดแล้วตกตะกอนเอาน้ำใส่มาเก็บในสภาพที่ปิดจกในห้องเย็นแล้วเก็บได้นาน โดยไม่ต้องพาสเจอไรส์ปกติไม่ควรจะให้มีรสหวาน ถ้าจะมีการปรุงแต่งบ้างก็ควรเติมน้ำตาลให้น้อยที่สุด เพราะปกติสาโทที่ดีนั้นมาจากเชื้อรา ดังนั้น การที่จะใช้เอนไซม์โดยไม่ใช้เชื้อรานั้นย่อมสูญเสียรสชาติและความหอมของสาโทออกไป

นอกจากข้างแล้วสาโททำได้จากข้าวโพด ชาวเขานิยมทำเป็นเหล้าข้าวโพดหรือทำมาจากข้าวฟ่าง และทำเป็นเหล้าข้าวฟ่างคล้ายสุราเกาเหลียงของจีน สำหรับข้าวโพดนั้นข้าวโพดพื้นเมืองหรือข้าวโพดหวานเหมาะที่สุด ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ไม่เหมาะ แต่ในขณะที่เมล็ดยังอ่อนอยู่อาจจะเหมาะก็ได้

2.1 กระบวนการผลิตสาโท (จรูญ , 2525)

2.1.1 วัตถุดิบ

สาโท ผลิตจากข้าวเหนียว มีรายงานว่าหากใช้ข้าวจ้าวในการผลิต จะได้ผลไม่ดีเท่าข้าวเหนียวคือได้ปริมาณแอลกอฮอล์น้อยกว่า แต่มีปริมาณกรดมากกว่า แต่บ้างก็รายงานว่าสามารถใช้ข้าวทุกชนิดในการทำสาโทได้ ส่วนผู้ผลิตที่มีประสบการณ์รายงานว่าหากใช้ข้าวจ้าว จะทำให้สาโทขุ่น ทำให้ตกตะกอนยาก และอาจจะเปรี้ยวได้แต่ยังไม่มีผลการวิจัย ที่ชัดเจนแต่ทั้งนี้อาจเป็นเพราะองค์ประกอบทางเคมีของข้าวแต่ละชนิดที่แตกต่างกัน

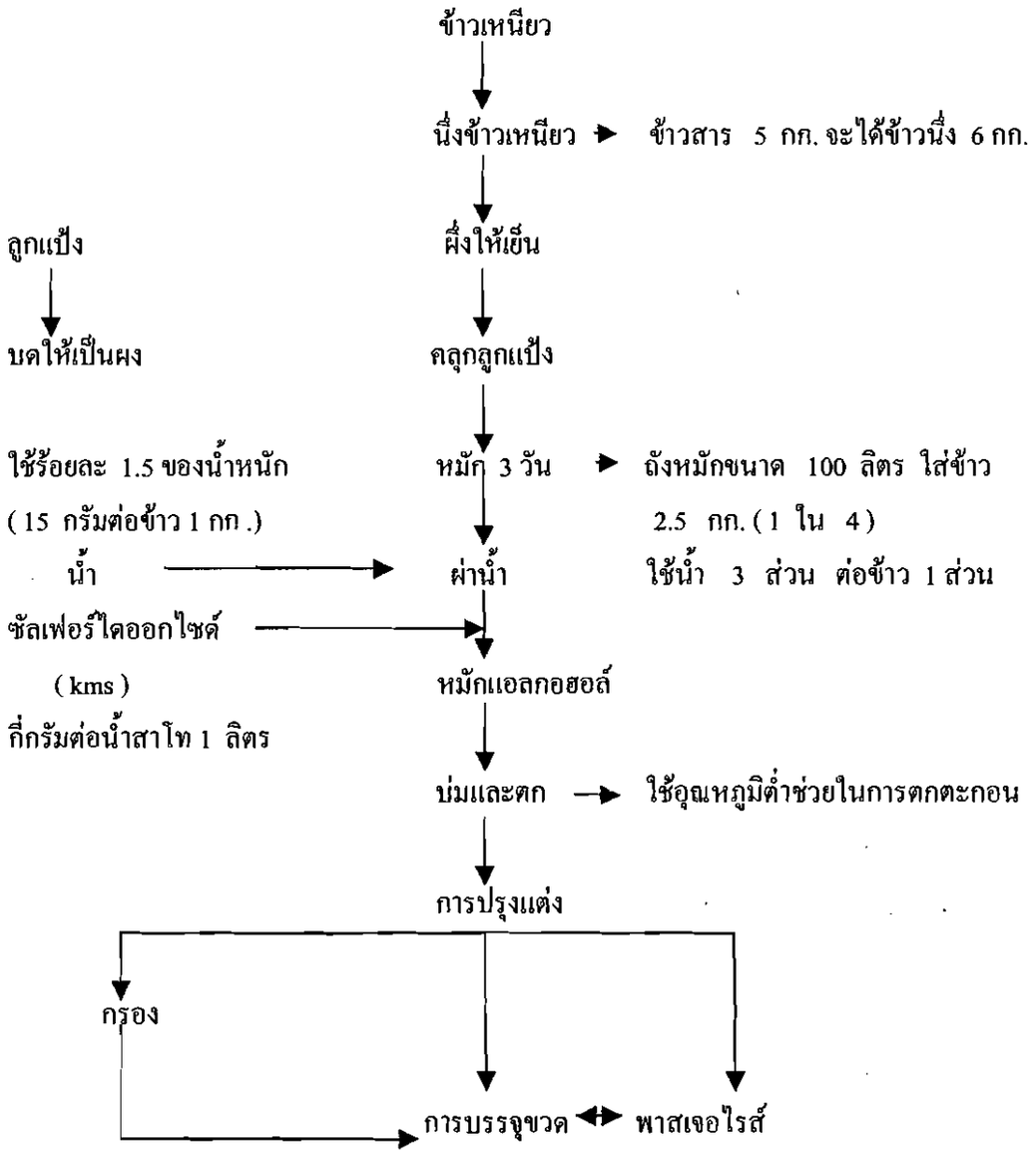
การขัดสีข้าวก็อาจมีผลต่อคุณภาพและการหมักสาโท หากใช้ข้าวที่ยังมีรำข้าวเหลืออยู่บ้างอาจช่วยให้การหมักดีขึ้น เนื่องจากมีสารอาหารให้จุลินทรีย์มากกว่าข้าวขัดขาวแต่ก็ยังไม่มีผลการวิจัยเพื่อยืนยัน ส่วนการใช้ปลายข้าวผสมกับข้าวเต็มเมล็ดเพื่อลดต้นทุนจะมีผลอย่างไรก็ยังไม่มีผลการศึกษา

2.1.2 การผลิตแบบพื้นบ้าน

กระบวนการผลิตสาโท ได้แสดงไว้ในภาพที่ 1 โดยเริ่มที่การนำข้าวเหนียว ไม่นึ่ง นำมาผึ่งให้เย็น แล้วนำไปคลุกกับลูกแป้งที่บดให้เป็นผงแล้ว โดยผสมน้ำลงไปเพื่อคลุกเคล้าได้ดี และช่วย

ให้จุลินทรีย์ได้เมื่อคลุกลูกแป้งแล้ว จึงนำไปใส่ในโอ่งหรือภาชนะปากกว้าง ทั้งนี้เพื่อให้ข้าวและเชื้อได้รับอากาศเพียงพอโดยใส่ข้างลงไปเพียงประมาณ 1 ใน 3 หรือ 1 ใน 4 ของปริมาตรโอ่ง ปิดฝาหลวมๆ เช่น ผ้าพลาสติกหรือเอาไม้ปิดไว้และหมักไว้ 3 วัน

เมื่อเวลาการหมักผ่านไปประมาณ 3 วัน เชื้อรากลูกแป้งจะเจริญและย่อยแป้งให้กลายเป็นน้ำตาล และเกิดน้ำซึมออกมา เรียกว่า น้ำต้อย แล้วจึงเติมน้ำลงไปเพื่อละลายน้ำตาลที่เกิดขึ้น และสร้างสภาพที่ไม่มีอากาศ ซึ่งเหมาะสมกับยีสต์และยีสต์ที่อยู่ในลูกแป้ง ก็จะหมักน้ำตาลให้กลายเป็นแอลกอฮอล์ และกลิ่นรสต่างๆ ต่อไป การเติมน้ำลงไปนี้เรียกว่า การ ผ่าน้ำ โดยปกติจะเติมเฉพาะน้ำ แต่บางรายอาจเติมน้ำตาลลงไปด้วย เพื่อเร่งการหมักแอลกอฮอล์ให้ได้ดีกรีแรงๆ เมื่อผ่าน้ำแล้วจึงหมักต่อไปในภาชนะเดิม จนกว่าจะได้ความแรงแอลกอฮอล์ตามต้องการ โดยทั่วไปใช้เวลา 1 – 2 สัปดาห์ หรืออาจหมักถึง 1 เดือน แล้วจึงนำไปบรรจุขวดจำหน่าย



ภาพที่ 1 กระบวนการผลิตสาโท

ที่มา : พิไลพรรณ (2523)

2.2 การทำลูกแป้ง (พิไลพรรณ , 2523)

ลูกแป้ง เป็นกล้าเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมักข้าวหมัก อุ และสาโท และแม้แต่น้ำส้มสายชู และขนมถ้วยฟู ในลูกแป้งสำหรับการหมักสาโท จะมีเชื้อราและเชื้อยีสต์ผสมกันอยู่ ทำหน้าที่ในการ

หมักข้าวให้เป็นน้ำตาลและเกิดแอลกอฮอล์ขึ้นตามลำดับ สูตรการทำลูกแป้ง เป็นสูตรที่ถ่ายทอดกันมาในครอบครัว และมักปิดเป็นความลับ อย่างไรก็ตาม ได้มีผู้ตีพิมพ์สูตรลูกแป้งไว้หลายแห่งและรวบรวมไว้โดยศาสตราจารย์ โล่ห์ทอง ในหนังสือกล้าเชื้ออาหารหมัก ดังตัวอย่างสูตรลูกแป้งต่อไปนี้

องค์ประกอบ	ปริมาณ (กรัม)
กระเทียม	40
ขิง	40
ข่า	20
ชะเอม	40
พริกไทย	6
ดีปลี	6
หัวหอม	20
ข้าวจ้าว	2500

สมุนไพรที่ใช้ทำลูกแป้งเหล่านี้ สามารถยับยั้งแบคทีเรียที่ใช้ทำลูกแป้งบูดเสียแต่ไม่ทำลายยีสต์และเชื้อราที่ใช้ในการหมัก สมุนไพรสูตรนี้ เพียงพอแล้วในการยับยั้งแบคทีเรียไม่จำเป็นต้องใช้สูตรสมุนไพรหลายชนิดเกินไป การทำลูกแป้งโดยผสมลูกแป้งกับสมุนไพรให้เข้ากันเติมน้ำให้ปั้นเป็นก้อนได้ (ประมาณ 80 มิลลิลิตรต่อน้ำ 100 กรัม) คือให้แป้งที่นวดมีความชื้นประมาณ 45 % เรียงลูกแป้งกระด้งหรือภาชนะก้นโปร่ง โรยผงลูกแป้ง 15 กรัม แป้ง 1 กก.
คลุมด้วยผ้าขาวบาง บ่มประมาณ 48 ชั่วโมง นำไปตากแดดให้แห้ง

2.2.1 การทำกล้าเชื้อบริสุทธิ์

ในการผลิตสาโทระดับอุตสาหกรรม จำเป็นต้องมีการใช้กล้าเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีความสม่ำเสมอ ลดความสูญเสียจากการปนเปื้อนจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการและช่วยให้สามารถผลิตในปริมาณมากได้ ในปัจจุบันยังไม่มีผู้ผลิตกล้าเชื้อสาโทจำหน่าย แต่เราสามารถเตรียมกล้าเชื้อจากเชื้อรา และยีสต์ ที่แยกได้จากลูกแป้ง นำมาทำให้เป็นเชื้อบริสุทธิ์ เพาะเลี้ยงตามหลักการ

เลี้ยงยีสต์และรา แล้วเติมลงในข้าวเพื่อให้เกิดการหมักได้ในขณะนี้ ห้องปฏิบัติการวิจัยสุราพื้นบ้านและคณะวิศวกรรมและเทคโนโลยีการเกษตร กำลังดำเนินการวิจัย เพื่อพัฒนากล้าเชื้อสาโทสำเร็จเพื่อให้แทนลูกแป้ง ซึ่งสามารถตอบสนองอุตสาหกรรมได้ในอนาคต

2.2.2 การผ่าน้ำ

ในการผ่าน้ำและการเติมน้ำลงไปในข้าวที่หมักเป็นลูกแป้ง จนเกิดน้ำซึมออกมาแล้วเพื่อไปละลายน้ำตาลออกจากข้าว ทำให้ยีสต์สามารถนำไปใช้หลักแอลกอฮอล์ได้ น้ำที่ใช้ควรเป็นน้ำสะอาดปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ โดยอาจใช้น้ำต้ม หรือเติมเคเอ็มเอส ทิ้งไว้ 1 วันให้ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ระเหยยากหากใช้น้ำที่ไม่สะอาด จะมีโอกาสที่จะทำให้สุราเปรี้ยวได้

2.2.3 การเติมสารอาหารให้กับเชื้อยีสต์

ในตอนเริ่มแรกของการหมัก ยีสต์จำเป็นต้องได้รับสารอาหาร พวกโปแตสเซียม แมกนีเซียม เหล็ก ฟอสฟอรัส ซัลเฟต ไนโตรเจน และไวตามินเป็นต้น เพื่อให้ยีสต์มีความแข็งแรง และแบ่งเซลล์ได้ในปริมาณที่เหมาะสมในการหมัก ดังนั้น ถ้าวัตถุดิบมีปริมาณสารอาหารเหล่านี้ต่ำ โดยเฉพาะถ้ามีการผ่าน้ำด้วยน้ำปริมาณมาก หรือใช้น้ำตาลจากอ้อยมันสำปะหลัง จำเป็นต้องเติมสารอาหารเหล่านี้ลงไป ไนโตรเจนเป็นสารอาหารหลักที่ยีสต์ต้องการ โดยจะใช้ในรูปของไดอะแกรมฟอสเฟต ($(NH_4)_2PO_4$)

2.2.4 ปริมาณสารอาหารที่ควรเติมให้ยีสต์

โปแตสเซียมฟอสเฟต ควรใช้ประมาณ ¼ - ½ ช้อนชา ต่อน้ำหมักประมาณ 5 ลิตร ซึ่งถ้าหากว่าใช้ปริมาณมากจะเป็นสาเหตุทำให้สุราขุ่น เนื่องจากการตกตะกอนของเกลือโปแตสเซียมทาร์เทรท

แอมโมเนียมฟอสเฟต ควรใช้ประมาณ ½ ช้อนชาต่อน้ำหมัก 5 ลิตร ซึ่งสารตัวนี้จะให้สารไนโตรเจน และฟอสเฟตกับยีสต์

ไวตามินบีหนึ่ง หรือ ไธอามีนไฮโดรคลอไรด์ ควรใช้สารละลายของไธอามีนและไฮโดรคลอไรด์ในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 ในปริมาณ 3 มล. ต่อน้ำหมัก 5 ลิตร (ในการหมักสาโทไม่จำเป็นต้องเติมไวตามิน โดยเฉพาะหากใช้ข้าวที่ขัดสีไม่ขาว ซึ่งจะมีไวตามินอยู่)

สารอาหารเหล่านี้ควรเติมในน้ำหมักก่อนการเติมยีสต์ เหตุเพื่อให้ยีสต์ใช้ในการเจริญเติบโตและการแบ่งเซลล์ในปริมาณที่สูงสุด ซึ่งจะอยู่ในช่วง 2 –3 วันแรกของการหมัก

2.3 การหมัก (Fermentation)

การหมัก เป็นกระบวนการเปลี่ยนน้ำตาลที่มีในน้ำหมักให้เป็นเอทธิลแอลกฮอล์และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ กระบวนการหมักแบ่งเป็น 2 ช่วง ช่วงแรกเป็นช่วงที่ยีสต์ทำการแบ่งเซลล์ให้มีปริมาณมากที่สุด ในช่วงนี้จำเป็นต้องให้อากาศกับยีสต์ ช่วงที่ 2 เป็นช่วงของการเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ ในช่วงนี้ยีสต์ไม่ต้องการอากาศ ดังนั้น ในการหมักจึงจำเป็นต้องมีจุกปิดถังหมักชนิดพิเศษที่ไม่ให้อากาศเข้า แต่สามารถปล่อยให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดจากการหมักออกได้ ซึ่งเรียกจุกนี้ว่า แอร์ล็อก การหมักสาโทในโอ่งดินที่หมักลูกแป้ง อาจเกิดการปนเปื้อนได้

การหมักสาโทสภาพที่มีอุณหภูมิสูง มากกว่า 28 องศาเซลเซียส จะทำให้เกิดการหมักอย่างรวดเร็ว ซึ่งเป็นสภาพการหมักที่ไม่ดี เพราะในระหว่างการหมักจะเกิดความร้อนขึ้นด้วย จึงทำให้ยีสต์ตายได้ ซึ่งจะมีผลต่อความสามารถในการทนต่อปริมาณแอลกอฮอล์ของยีสต์ลดลง และชักนำให้เกิดกรดและการระเหยของแอลกอฮอล์ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมักคือ 20 องศาเซลเซียส ดังนั้น ทันทีที่กระบวนการหมักสาโทเริ่มขึ้น ควรทำการลดอุณหภูมิการหมักลงเพื่อให้เกิดการหมักที่ช้าลง และใช้เวลานาน เพื่อให้ได้สุราที่มีคุณภาพดีและเมื่อกระบวนการหมักใกล้สิ้นสุดลง ควรเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้นเล็กน้อย ประมาณ 24 – 26 องศาเซลเซียส เพื่อช่วยให้ยีสต์ใช้น้ำตาลที่มีในน้ำหมักจนหมด การหมักในโอ่งขนาด 200 ลิตร ในวันที่อากาศร้อนอาจควบคุมอุณหภูมิการหมักไม่ได้

2.3.1 การเตรียมน้ำสาโทเพื่อการบรรจุ

น้ำสาโท ที่มีความแตกต่างจากไวน์ผลไม้โดยทั่วไป เนื่องจากมีเศษของตะกอนข้าว และเชื้อยีสต์ปะปนจนทำให้สาโท มีลักษณะขุ่นขาว และเนื่องจากมรการผ่าน้ำ แต่งน้ำตาล จึงทำให้มีรส

หวาน มีปริมาณน้ำตาลมาก ซึ่งเป็นอาหารของจุลินทรีย์ ทำให้สาโทมีโอกาสเกิดการหมักขึ้นใหม่ในขวด อันเป็นเหตุให้ขวดระเบิดได้ในอดีตเป็นเรื่องที่ไม่เป็นปัญหา แต่กลับเป็นเรื่องที่พึงปรารถนา แต่ในการผลิตสาโทระดับอุตสาหกรรม ตามประกาศกระทรวงการคลังผลิตภัณฑ์ต้องบรรจุในภาชนะปิดสนิท ดังนั้น เราจึงไม่สามารถให้มีการหมักอยู่ในขวดได้เพราะก๊าซที่เกิดขึ้น จะทำให้ขวดระเบิดได้ ดังนั้นจึงต้องทำให้น้ำสาโทมีความคงตัวไม่ตกตะกอน ไม่มียีสต์และจุลินทรีย์อื่นที่หลงเหลืออยู่ โดยการบ่ม การตกตะกอน การกรอง และการฆ่าเชื้อด้วยความร้อน

2.3.2 การแยกส่วนใส (Racking)

เป็นการแยกดูดส่วนของสุราออกจากตะกอนทันที หลังจากการหมักสิ้นสุดลงนี้จะช่วยป้องกันการเกิดกลิ่น และรสชาติที่ไม่ดีของสุรา ที่เกิดขึ้นเนื่องจากเซลล์ยีสต์ที่ตายแล้ว นอกจากนี้ยังเป็นการกำจัดยีสต์ที่หลงเหลือออกให้มากที่สุด เพื่อเป็นการป้องกันไม่ให้สุรามีปัญหาเรื่องยีสต์ที่หลงเหลือเมื่อเก็บสุราไว้ที่อุณหภูมิสูงจะเกิดการหมักอีกครั้ง การเปลี่ยนสุราไปใส่ถังใหม่ที่สะอาดจะช่วยให้ได้สุราที่บริสุทธิ์ และป้องกันการเกิดตะกอนหรือความขุ่นขึ้นภายหลัง

2.3.3 การบ่มหรือการเก็บ

ควรเก็บสาโทไว้ในอุณหภูมิต่ำ ประมาณ 0 – 15 องศาเซลเซียส ในระหว่างการเก็บจะยังคงมีตะกอนเกิดขึ้น จึงควรทำการแยกส่วนใสอีกครั้งหลังจากครั้งแรก 3 – 4 สัปดาห์ ซึ่งเป็นสิ่งที่ดีเพราะทำให้ไม่เกิดปัญหาการหมักอีกครั้งหลังการบรรจุสุราลงขวดแล้ว เมื่อเก็บไว้นานจะทำให้ขวดเกิดการระเบิดได้ ดังนั้นจึงต้องแน่ใจก่อนว่าการหมักได้สิ้นสุดลง ก่อนการบรรจุขวดควรเติมโปแตสเซียมเมตาไบซัลไฟท์อีก 0.05 กรัม/ลิตรเพื่อเป็นการป้องกันการเกิดออกซิเดชั่นของสาโท และการปนเปื้อนของแบคทีเรีย

ปัจจัยที่มีผลต่อระยะเวลาการบ่ม

1. ปริมาณออกซิเจน การทำให้เกิดกลิ่นหอมต้องการอากาศที่เพียงพอที่ทำให้เกิดการออกซิเดชั่น แต่ถ้ามากเกินไปจะทำให้สุรามีกลิ่น และรสชาติที่เสียไป
2. แสงแดด ทำให้เกิดปฏิกิริยาทางเคมีที่ไม่ต้องการและทำให้สุรามีสีซีดจาง

3. อุณหภูมิ ควรทำการบ่มที่ 7 องศาเซลเซียส
4. ภาชนะบรรจุ สุราที่เก็บในถังไม้โอ๊กจะให้สุราที่มีคุณภาพดี เพราะถังไม้โอ๊คมีคุณสมบัติที่ให้อากาศผ่านเข้าออกอย่างช้าๆและสม่ำเสมอ จึงทำให้ไม่เกิดปัญหาการที่สุราสัมผัสกับอากาศมากเกินไป

2.3.4 การทำให้สาโทใส

การทำให้สาโทใสปกติจะทิ้งให้สุราตกตะกอนโดยธรรมชาติ แต่ถ้าสุรานั้นไม่ใส จำเป็นต้องมีการเติมสารที่ช่วยในการตกตะกอน หรือการกรอง โดยปกติจะมีการเติมสารละลายซัลไฟต์หลังจากแยกส่วนใสออก เพราะซัลไฟต์ทำให้เกิดการรวมตัวของตะกอน และป้องกันไม่ให้มีการเจริญและพัฒนาของยีสต์ด้วย

2.3.5 สาเหตุและการกำจัดความขุ่นของสาโท

สาเหตุที่ทำให้สาโทขุ่นมักเกิดจากธรรมชาติของวัตถุดิบ เช่น

1. แป้ง ถ้าการหมักเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาลไม่หมด ถ้าความขุ่นเกิดจากแป้งสามารถกำจัดได้โดยการเอนไซม์ อะไมเลส สาโทที่ผ่านการหมักตามปกติจะไม่มีแป้งละลายอยู่ ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อรายีสต์จากลูกแป้งกลายเป็นน้ำตาลจนหมด
2. โปรตีน ในสาโท อาจมีโปรตีนจากในข้าวอยู่ ทำได้โดยการใช้เอนไซม์ย่อยโปรตีน

2.3.6 สารช่วยตกตะกอน

สารที่ช่วยในการตกตะกอนที่นิยมใช้คือ เบนโทไนท์ เตรียมสารละลาย 5% ในน้ำเพื่อให้เกิดการพองตัว โดยค่อยๆ เทผงลงในน้ำร้อน และกนตลอดเวลาเพื่อให้เกิดการกระจายตัว แล้วจึงเติมในสุราในปริมาณ 20 – 100 มล. ต่อสุรา 5 ลิตร ซึ่งขึ้นอยู่กับความขุ่นของสาโท สารเบนโทไนท์เป็นสารที่ช่วยในการตกตะกอนที่ดีและมีความปลอดภัยที่สุด

2.3.7 การปรุงแต่งรสชาติ

- การปรับปริมาณน้ำตาล

การปรับปริมาณน้ำตาลในสาโทไม่สามารถใช้เครื่องรีแฟรกโตมิเตอร์วัดได้ จึงอาจใช้วิธีการชิมและปรับปริมาณน้ำตาลตามต้องการ หรือหากต้องการวิเคราะห์อย่างแน่ชัด ต้องใช้วิธีการทางเคมี

- การเติมสี กลิ่น

ในมาตรฐานไวน์ มอก. 2089 – 2544 อนุญาตให้มีการปรับสีและกลิ่นของสุราได้แต่ในการ ผลิตจะต้องระบุส่วนผสมในการขออนุญาตกับกรมสรรพสามิต

- การเติมแอลกอฮอล์กลั่น

หากต้องการแอลกอฮอล์สูงกว่าที่หมักได้ ตามประกาศกระทรวงการคลังอนุญาตให้นำสุรากลั่นมาผสมได้ แต่เมื่อผสมแล้ว ต้องมีแอลกอฮอล์ไม่เกิน 15 ดีกรี

2.3.8 การกรองสาโท

การกรองสาโทมีหลายระดับ แต่สาโทที่ผ่านการตกตะกอนมาดีแล้ว สามารถนำมากรองเพียงขั้นตอนเดียว คือการกรองผ่านเครื่องกรองแบบฟิวเตอร์เพรส บางครั้งอาจมีการใช้แป้งช่วยกรอง เพื่อช่วยไม่ให้ผ้ากรองอุดตัน หากสาโทมีความขุ่นมาก จะกรองได้ช้า และทำให้เครื่องกรองอุดตัน ในระดับครัวเรือน การกรองแบบ มีแป้งกรองอาจประยุกต์ใช้เครื่องปั๊มสุญญากาศ ดูดน้ำสาโทให้ไหลผ่านแป้งกรองลงในขวด

2.3.9 การกรองละเอียด

การกรองละเอียด คือการกรองผ่านรูขนาดเล็กมาก ซึ่งทำโดยใช้เยื่อแผ่นเยื่อใยที่ผลิตจากการสังเคราะห์ ซึ่งมีรูพรุนที่มีขนาดของรูเล็กกว่าขนาดของเซลล์ยีสต์ การกรองแบบนี้ จะทำให้ได้ไวน์ที่เป็นประกาย แต่ต้องแลกด้วยการเปลี่ยนของกลิ่นรส ที่อาจถูกกรองออกไปด้วย และค่าใช้จ่ายสูง

2.3.10 การพาสเจอไรส์

หลักการของการพาสเจอไรส์คือ การให้ความร้อนที่เพียงพอในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่จะก่อให้เกิดปัญหา แต่ฆ่าเชื้อไม่ได้ทั้งหมด เพราะถ้าฆ่าเชื้อทั้งหมดต้องใช้ความร้อนที่สูงมาก ซึ่งจะทำให้ผลิตภัณฑ์เสื่อมเสียคุฟรภาพจากความร้อนได้แต่การพาสเจอร์ไรส์ จะทำให้น้ำสาโทร้อนที่อุณหภูมิเพียง 63 – 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วไปทำให้เย็นลงทันที โดยการแช่เย็น การฆ่าเชื้อแบบนี้อาจทำก่อนการบรรจุขวด โดยการส่งน้ำสุราไปตามท่อ ที่ได้รับความร้อนและไหลวนอยู่ในท่อ จนได้เวลาที่ต้องการแล้วจึงบรรจุขวดและนำไปแช่เย็น ข้อพึงระวังในการฆ่าเชื้อแบบนี้คือ น้ำสุราที่ผ่านความร้อน จะทำให้ปริมาณแอลกอฮอล์ลดลงเล็กน้อย และหากได้รับความร้อนมากเกินไปจะทำให้เสียกลิ่นรสเกิดรสไหม้ขึ้นซึ่งเป็นสิ่งที่ไม่พึงประสงค์

2.3.11 การบรรจุขวด

ก่อนการบรรจุขวดควรเติมโปแตสเซียมซอร์เบท เพื่อช่วยยืดอายุการเก็บสุราให้นานขึ้น ตามปริมาณแอลกอฮอล์ที่มีในสุรา ดังตาราง

ตารางที่ 1 แสดงปริมาณโปแตสเซียมซอร์เบทที่ใส่ในสุราก่อนการบรรจุขวด

ปริมาณแอลกอฮอล์ในสุรา (% v/v)	ปริมาณโปแตสเซียมซอร์เบท (มก. ต่อลิตร)
9	220
10	200
11	170
12	135
13	95
14	50

ที่มา : ธีรวัลย์

ข้อควรพิจารณาที่สำคัญในการบรรจุสุรา

1. การเลือกชนิดของขวด สีของขวดเป็นสิ่งที่สำคัญที่ควรคำนึง สุราที่อยู่ในขวดสีเข้มมีแนวโน้มที่จะเกิดการออกซิไดซ์น้อยกว่าสุราที่บรรจุในขวดสีจาง สุราแดงควรบรรจุในขวดสีน้ำตาลเข้ม หรือเขียวเข้ม เพื่อเป็นการป้องกันการเปลี่ยนสี
2. การล้างและฆ่าเชื้อโรค ทำได้โดยแช่ในสารละลายซัลเฟอร์ไดออกไซด์ 2% ทิ้งไว้นาน 15 นาที และรินออก จากนั้นใช้น้ำร้อนเขย่าอีกครั้ง และคว่ำให้สะเด็ดน้ำ ปิดฝาเก็บไว้จนกว่าจะใช้ หรืออาจฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำก็ได้ โดยการนึ่งประมาณ 10 นาที
3. จุกคอร์ก ควรเป็นของแข็ง และมีลักษณะความพรุนที่ละเอียด และยืดหยุ่นได้ ก่อนใช้ควรแช่ในสารละลายซัลเฟอร์ไดออกไซด์ 1% ที่เติมกลีเซอรีนเล็กน้อย ประมาณ 2 ชั่วโมง
4. การบรรจุสุราลงขวด ควรบรรจุโดยใช้ระบบท่อ หรือสายยาง ให้มีช่องว่างที่คอขวดเหลือประมาณ 1 – 1.5 นิ้ว และควรปิดจุกทันที เพื่อป้องกันการสัมผัสกับอากาศ ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดออกซิเดชั่น
5. การปิดจุกคอร์ก และฝาครอบ ควรปิดให้พอดีกับปากขวด แล้วตั้งทิ้งไว้ 2 –3 วันเพื่อให้จุกแห้ง หลังจากนั้นนอนขวดทิ้งไว้ 3 – 4 วัน เพื่อทดสอบว่าจกรั่วหรือไม่ หลังจากนั้นจึงทำการหุ้มพลาสติก เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดเชื้อราขึ้น

การเก็บสุรา อาจเก็บไว้โดยไม่ต้องหุ้มพลาสติก อาจเก็บไว้โดยการจุ่มขวดที่ปิดจุกคอร์กแล้วในสารละลายของไขผึ้ง 1 ส่วนกับพาราฟิน 1 ที่อุ่น ลึกประมาณ 0.5 – 1 นิ้ว

2.3.12 การปิดฉลาก

การปิดฉลากเพื่อให้ทราบว่าสุรานี้อายุการเก็บนานเท่าไร ทำจากอะไร หรือรายละเอียดอื่นๆ ในสุรา ฉลากควรปิดกลางขวด และปิดด้วยกาวที่ไม่ละลายน้ำ เพื่อให้ได้ข้อมูลที่สมบูรณ์ควรจดข้อมูลรายละเอียดเกี่ยวกับสุราที่เก็บไว้ในสมุดบันทึกด้วย

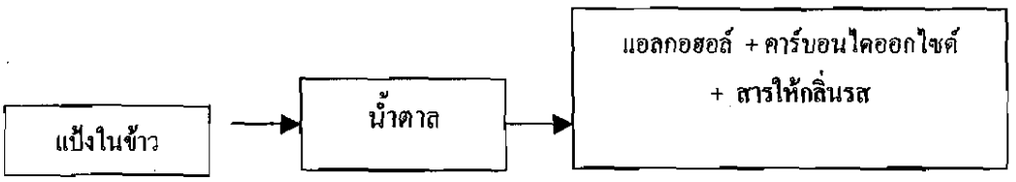
2.3.13 การเก็บสาโท

ควรเก็บไว้ที่อุณหภูมิไม่เกิน 25 องศาเซลเซียส เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการเปลี่ยนแปลง สี กลิ่น รสชาติ ถ้าเป็นสุราที่บรรจุและปิดขวดด้วยจุกคอร์ก ควรเก็บโดยการวางขวดในแนวนอน เพื่อให้จุกคอร์กเปียกตลอดเวลา ป้องกันไม่ให้อากาศเข้าไปในน้ำสุรามากเกินไป

2.4 จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการหมักสาโท

2.4.1 จุลินทรีย์ในลูกแป้ง

จุลินทรีย์ที่พบในลูกแป้งได้แก่ รา และยีสต์ ราเป็นสิ่งมีชีวิตที่ต้องการอากาศในการหายใจ และจะผลิตน้ำย่อย ออกมาย่อยแป้งในเมล็ดข้าวให้กลายเป็นน้ำตาล ส่วยยีสต์เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก เซลล์เดียว ที่มองด้วยตาเปล่าไม่เห็น ซึ่งจะสร้างน้ำย่อย เปลี่ยนน้ำตาลให้เป็น แอลกอฮอล์และทำให้กลิ่นรสชวนดื่ม ยีสต์ไม่ต้องการอากาศในการหายใจ ดังนั้นจึงสามารถหมักในภาชนะปิดได้



ราที่พบในลูกแป้ง ได้แก่ *Amylomyces rouxii* , *Rhizopus oryzae* ซึ่งเป็นราสีขาว ในการหมักแรก เชื้อราจะสร้างเส้นใย ชอนไชไปทั่ว และย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล แต่เนื่องจากราขาว จึงไม่ทำให้ข้าวเปลี่ยนสี เนื่องจากมองไม่เห็นเส้นใยที่ชัดเจน ต่างจากการหมักซีอิ๊วเต้าเจี้ยวที่ใช้ราสีเขียว เมื่อแป้งในข้าวถูกย่อยกลายเป็นน้ำตาล จึงไม่สามารถอุ้มน้ำไว้ได้ และน้ำที่มีอยู่ก็จะซึมออกมาเป็นน้ำที่เชื่อมสีขาว ในช่วงนี้ ราจะสร้างกรด ทำให้ข้าวมีความเป็นกรด คือมีค่า Ph ต่ำลง ทำให้เกิดสภาพที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของยีสต์ และยับยั้งการเจริญเติบโตแบคทีเรียที่ทำให้ข้าวบูดเน่า ยีสต์หลักที่พบในลูกแป้งคือ *Saccharomycopsis fibuligenra* ซึ่งเป็นยีสต์ที่มีความสามารถในหารผลิตน้ำย่อย ย่อยแป้งได้ด้วย แต่ในลูกแป้งไม่พบยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*

2.4.11 การเจริญของจุลินทรีย์ระหว่างการหมักสาโท

- รา

ในระหว่างการหมักสาโท เชื้อราจะเจริญในช่วง 2 – 3 วัน แรกของการหมัก ซึ่งเป็นสภาพการหมักที่ใช้อากาศ เนื่องจากบรรจุข้าวในถังหมัก จะบรรจุพียง 1 ใน 4 ของปริมาตร ทำให้ราได้

รับออกซิเจนจากอากาศอย่างทั่วถึง จากนั้นเมื่อเกิดน้ำเชื่อมข้าวขึ้น และยีสต์เริ่มการหมัก ทำให้ได้ปริมาณแอลกอฮอล์ และสภาพไร้ออกซิเจน ซึ่งเกิดจากการการที่ยีสต์ปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ออกมา ทำให้ราตายไป

- ยีสต์

แม้ว่ายีสต์ในลูกแป้งจะเป็นยีสต์ แซคคาโรไมคอบซีส แต่ในการหมักสาโท ยีสต์นี้จะเจริญเพียงช่วงระยะเวลาหนึ่งเท่านั้น แล้วยีสต์จะตายไป แต่จะเกิดจากเชื้อแซคคาโรไมซีสทำหน้าที่แทนในการหมัก ดังกราฟในภาพที่ 2 โดยยีสต์แซคคาโรไมซีส จะมีความสามารถในการหมักแอลกอฮอล์ได้ดีกว่า และทนปริมาณแอลกอฮอล์ได้สูงกว่าลูกแป้ง และสามารถเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วในสภาพที่เหมาะสมในการหมักสาโท

การที่ยีสต์แซคคาโรไมคอบซีส ซึ่งสามารถย่อยแป้งได้นั้น อาจเป็นเพราะน้ำย่อยของเชื้อราไม่สามารถย่อยแป้งได้หมด เพราะราตายไปหลังจากการหมักเพียง 3 วัน ดังนั้นจึงต้องอาศัยน้ำย่อยของยีสต์ช่วยการย่อยแป้งที่เหลือ เพื่อให้เกิดเป็นน้ำตาลเพื่อที่ยีสต์จะได้ใช้ในการผลิตแอลกอฮอล์ต่อไป

ในการพัฒนาการผลิตสาโทนั้นจำเป็นต้องใช้กล้าเชื้อที่บริสุทธิ์ เนื่องจากอาศัยยีสต์ธรรมชาตินั้น จะทำให้ยีสต์มีการเจริญเติบโตที่ไม่แน่นอน ในการหมักอาจเกิดยีสต์ที่มีคุณสมบัติที่ไม่ต้องการ และการหมักที่เกิดขึ้นช้า หรือเกิดรสเปรี้ยว ดังนั้นจึงควรมีการพัฒนากล้าเชื้อยีสต์ขึ้น เพื่อใช้ในการหมักสุราพื้นบ้านโดยเฉพาะ ในอุตสาหกรรมไวน์องุ่น ได้มีการคัดเลือกพันธุ์ยีสต์ที่เหมาะสมในการหมักสุรา คือผลิตแอลกอฮอล์และสารที่ให้กลิ่นรสที่ดีมีคุณสมบัติในการตกตะกอน และสามารถฆ่ายีสต์พันธุ์อื่นได้

ตารางที่ 2 ตังอย่างยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ต่างๆ ที่ใช้ในอุตสาหกรรม

สายพันธุ์หรือรหัสทางการค้า	คุณสมบัติ
Prise de Mousse	ยีสต์จาก Institute Pasteur champagne สายพันธุ์ bayanus
Lalvin K 1 – V1116	แยกจาก Montpellier ฝรั่งเศสเหมาะสำหรับไวน์แดงเป็น killer ทนแอลกอฮอล์ได้ถึง 14 5% หมักได้ดีที่อุณหภูมิ สูงเริ่มการหมักได้เร็ว เหมาะในการเริ่มการหมักที่หยุดชะงัก
Lalvin EC - 1118	สำหนับไวน์ขาวและแดงที่ต้องการหมักอย่างรวดเร็วและรสชาติกลางๆ เป็น killer และหมักได้ระหว่าง 8 – 10 องศาเซลเซียส และแอลกอฮอล์ 16 %
Red Star Moutrachet	หมักอย่างรวดเร็ว ทนต่อซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ให้กลิ่นรสที่ดีเป็นยีสต์สำหรับไวน์ทั่วไป
Enoferm BDX	ยีสต์จากฝรั่งเศสที่ใช้ทั่วโลกสำหรับไวน์แดงที่จะเก็บนานๆ ไม่ทน killer หมักได้ระหว่าง 18 - 30 องศาเซลเซียส ถึงแอลกอฮอล์ 16 %
Enoferm M1	จากมหาวิทยาลัยเมสซี่ ใช้ผลิตไวน์ขาวที่มีกลิ่นรสหรือความซับซ้อนให้กับไวน์แดงที่เก็บเป็น killer ผลิตเอสเทอร์ในปริมาณที่สูง ให้กลิ่นผลไม้ผสมกับที่หมักที่อุณหภูมิ

ที่มา : เจริญ

แต่ในอุตสาหกรรมสุราพื้นบ้านของไทย ยังไม่มีการคัดเลือกมาทำเป็นกล้าเชื้อที่บริสุทธิ์เพื่อจำหน่ายในทางอุตสาหกรรม

2.4.12 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของยีสต์

- ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (SO_2)

การเติมสารนี้ลงไปในน้ำหมักเพื่อเป็นการควบคุมปฏิกิริยาออกซิเดชั่น และยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ธรรมชาติโดยจะลดปริมาณจุลินทรีย์ในน้ำหมักลงประมาณ 10 เท่า และทำให้เกิดระยะการพักตัว ประมาณ 1 -2 วัน ก่อนเริ่มการหมัก

2.4.13 อุณหภูมิ

อุณหภูมิการหมักมีผลต่อการเจริญเติบโตของยีสต์ และระยะเวลาการหมัก ปริมาณของยีสต์สปีชีส์ต่างๆ ที่มีผลต่อการหมัก และปฏิกริยาทางเคมีของยีสต์ที่มีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีและรสชาติสุรา

อัตราการเจริญของยีสต์จะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิขึ้นจาก 10 - 25 องศาเซลเซียส สุราขาวมักจะหมัก อุณหภูมิ 10 -20 องศาเซลเซียส และสุราแดงจะหมักที่อุณหภูมิ 20 - 30 องศาเซลเซียส ปัจจุบันผู้ผลิตมักหมักสุราขาวที่อุณหภูมิต่ำเพื่อรักษาสารระเหยให้กลิ่นรส ไว้ให้ได้มากที่สุด และมีการพัฒนา ยีสต์ที่สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิต่ำ

- ปริมาณน้ำตาล

ในระหว่างการผลิตสาโท น้ำตาลค่อยๆ ปล่อยออกมาจากข้าว ทำให้ปริมาณน้ำตาลในระหว่างการหมักไม่สูงเกินไป อัตราการหมักของ *S. cerevisiae* จะลดลง เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลสูงเกิน 200 กรัมต่อลิตร (ประมาณ 20 บริกซ์) ดังนั้นการผ่าน้ำจึงไม่ควรเติมน้ำตาลลงไป

- ไนโตเจน

กรดอะมิโนอิสระ และอิออนของแอมโมเนียม เป็นแหล่งโนโตรเจนหลักที่ยีสต์ใช้ในระหว่างการหมักแอลกอฮอล์ ในน้ำหวานจากข้าว มีไนโตรเจนเหล่านี้อย่างเพียงพอ แต่ในการใช้วัตถุดิบทางการเกษตรเพื่อผลิตสุราบางชนิด อาจมีไนโตรเจนไม่เพียงพอ นอกจากนั้นยีสต์ยังต้องการไนโตรเจนมากขึ้นเมื่อน้ำหมักนั้นมีปริมาณน้ำตาลสูงจึงอาจมีการเติมสารไนโตรเจนลงในน้ำหมัก เช่น ไดแอมโมเนียมฟอสเฟต เพื่อให้แน่ใจว่าไนโตรเจนจะไม่เป็นตัวจำกัดการหมัก

- ความเป็นกรด - ด่าง

เมื่อราเจริญเติบโตในข้าวแล้ว จะทำให้เกิดกรด ทำให้ความเป็นกรด - ด่าง มีค่าในช่วง3.0 - .4.0 อัตราการเจริญของ *S. cerevisiae* จะลดลง เมื่อค่าเป็นกรดด่าง ลดลงจาก 3.5 เป็น 3.0 และยีสต์ชนิดอื่นๆ ก็มีแนวโน้มเช่นเดียวกัน

คุณสมบัติอื่นๆ ของยีสต์ที่เกี่ยวข้องกับการหมัก

- การหมักหยุดชะงัก

สาเหตุของการหมักหยุดชะงัก ได้แก่ การเจือจางน้ำในช่วงผ่าน้ำมากเกินไป การหมักที่อุณหภูมิสูงมากเกินไป หรือวัตถุดิบในการหมักมีสารอาหารที่ไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของยีสต์ และการใส่เคเอ็มเอสในการหมัก

การปนเปื้อนแบคทีเรียที่ผลิตกรดอะซิติก การควบคุมการหมักที่หยุดชะงักอาจทำ ได้โดยการควบคุมการให้อากาศในน้ำหมัก การเติมสารไนโตรเจน และการเติมผนังเซลล์ของยีสต์ เพื่อดูดซับกรดไขมันที่สร้างขึ้นโดยยีสต์ในระหว่างการหมัก ซึ่งอาจเป็นพิษต่อยีสต์ และเป็นการเพิ่มสารสเตอรอล ที่จำเป็นต่อยีสต์ในสภาพที่ไม่มีออกซิเจน

- ยีสต์เพชรฆาต

ยีสต์บางสายพันธุ์ สามารถผลิตโปรตีน ที่เป็นพิษต่อสปีชีส์เดียวกัน หรือคนละสปีชีส์ ยีสต์ธรรมชาติบางชนิดสามารถผลิตสารพิษและอาจทำให้การหมักหยุดชะงักลง ยีสต์ *S. cerevisiae* ที่ผลิตเพื่อการหมักไวน์หลายสายพันธุ์ เป็นยีสต์ที่มีคุณสมบัตินี้ เพื่อควบคุมยีสต์ที่ไม่พึงประสงค์ และเพื่อไม่ให้ถูกทำลายด้วยสารพิษจากยีสต์ในธรรมชาติ เรายังไม่ทราบว่ายีสต์แซคคาโรไมซีสที่เกิดขึ้นในการหมักสาโท มีคุณสมบัตินี้ด้วยหรือไม่

- *การย่อยสลายตัวเอง*

เมื่อสิ้นสุดการหมัก ยีสต์ที่ตกตะกอนอยู่จะเกิดการย่อยสลายตัวเองอย่างช้าๆอวัยวะภายในเซลล์ต่างๆ จะย่อยสลาย โปรตีน ไขมัน กรดนิวคลีอิก และโพลีแซคคาไรด์ จะถูกย่อยด้วยเอนไซม์และปลดปล่อยผลิตภัณฑ์ต่างๆ ออกมาสู่ภายนอกเซลล์ ได้แก่ เปปไทด์กรด อะมิโนกรดอะมิโน กรดไขมัน และกรดนิวโอไทต่างๆ ซึ่งจะมีผงต่อรสชาติของสุรา และอาจเป็นสารอาหารสำหรับจุลินทรีย์ต่างๆ ได้ การย่อยสลายตัวเองจะมีผลมากที่สุดกับสุราที่มีการบ่มกับตะกอนยีสต์ เพราะว่าสาโทแบบดั้งเดิมจะปล่อยให้น้ำสุรากับยีสต์โดยไม่แยกตะกอนออก

2.5 ถังหมัก

2.5.1 คุณสมบัติพื้นฐานของถังหมัก (สมใจ , 2537)

หน้าที่ที่สำคัญของถังหมัก คือ ทำให้เกิดสภาพแวดล้อมที่ควบคุมได้ สำหรับการเจริญของจุลินทรีย์เพื่อให้ได้ผลผลิตตามความต้องการ การออกแบบถังหมักเพื่อใช้ในกระบวนการหมักแต่ละชนิดอาจแตกต่างกันไปบ้าง แต่โดยทั่วไปจะต้องมีคุณสมบัติพื้นฐานดังนี้คือ

1. มีความแข็งแรง ทนความร้อนและความดันได้สูง
2. มีระบบการให้อากาศและระบบการกวนที่ดี
3. มีระบบควบคุมอุณหภูมิ
4. มีระบบควบคุม pH
5. มีระบบการควบคุมการเกิดฟอง
6. มีที่เก็บตัวอย่างจากถังหมักได้สะดวก โดยไม่เกิดการปนเปื้อน
7. มีการสูญเสียเนื่องจากการระเหยจากถังหมักได้น้อย
8. มีรูปแบบที่ควบคุมการทำงาน การเก็บเกี่ยวผลผลิต การทำความสะอาด และการบำรุงรักษาได้ง่ายและใช้แรงงานน้อย
9. ควรใช้กับกระบวนการหมักได้หลายชนิด
10. ด้านในของถังหมักควรมีผิวเรียบ
11. อยู่ในสภาพปลอดเชื้อในขณะใช้งานได้เป็นเวลานาน
12. ทนต่อการกัดกร่อน และไม่เป็นพิษ
13. ทำจากวัสดุราคาถูก

2.5.2 วัสดุที่ใช้ทำถังหมัก (Material and Component)

การเลือกใช้วัสดุที่เหมาะสมในการทำถังหมัก จะต้องพิจารณาถึงความจุของถังหมัก ประเภทของการหมัก ตลอดจนผลิตภัณฑ์ที่ได้ กรณีทำการหมักในห้องปฏิบัติการถังหมักมีความจุเพียง 1 – 10 ลิตร ก็สามารถใช้แก้วเป็นวัสดุในการทำตัวถังได้ แต่ในการหมักที่มีขนาดใหญ่กว่านี้จำต้องเลือกใช้วัสดุอื่นที่เหมาะสมกว่าวัสดุที่เป็นแก้ว ซึ่งต้องพิจารณาถึงความเหนียว ความแข็งแรง ความแข็งแกร่ง ตลอดจนการติดตั้งและการขนย้าย พบว่าการหมักบางชนิด เช่นการทำเบียร์ อาจจะ

ใช้ถังที่เป็นบ่อหรือคอนกรีตก็ได้ เพราะว่าการหมักแบบนี้ไม่ค่อยคำนึงถึงการปนเปื้อนของเชื้ออื่นมากนัก แต่มีการหมักบางชนิดจำเป็นต้องทำในถังที่ปิดมิดชิด และวัสดุที่ใช้ ก็ได้แก่เหล็กปลอดสนิม (stainless steel) ซึ่งเป็นที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในวงการอุตสาหกรรมหมักในปัจจุบัน

เหล็กปลอดสนิมมีองค์ประกอบต่างๆกันเพื่อให้ได้คุณสมบัติตามที่ต้องการ เช่น ป้องกันการกัดกร่อน การยืดตัวและหดตัว ตลอดจนหาได้ง่าย ปกติแล้วเหล็กปลอดสนิมจะมีราคาแพงกว่าเหล็กธรรมดาประมาณ 10 เท่า ตลอดจนการขึ้นรูปและการเชื่อมก็ยากกว่าเหล็กธรรมดา แต่ข้อดีของเหล็กปลอดสนิม คือ แข็งแรงกว่า ด้วยเหตุนี้ถังหมักขนาดใหญ่ที่ทำจากเหล็กปลอดสนิมจึงพยุงตัวเองได้ ในขณะที่ถังซึงทำจากเหล็กธรรมดาต้องอาศัยเครื่องค้ำจุนจะทรงตัวอยู่ได้

เหล็กปลอดสนิมทนทานกว่าการกัดกร่อนได้ เพราะเนื่องจากผิวหน้าเป็นโครเมียมออกไซด์ซึ่งทนทานต่อการออกซิเดชั่นได้ แต่ว่าไม่ทนทานต่อสารจำพวกริดิวซิ่งซ์ พวกคลอไรด์และการขัดสี

เมื่อเติมโบลิดีนัมลงไปในโลหะผสม 3 % จะช่วยป้องกันการกัดกร่อนของสารพวกคลอไรด์และซัลเฟอร์ไดออกไซด์ได้ดียิ่งขึ้นและเมื่อเติมไตตาเนียม กับ นิโอเบียมลงไปในโลหะผสมอีกเล็กน้อยจะทำให้การเชื่อมของเหล็กปลอดสนิมง่ายขึ้น

การใช้สารทำความสะอาดที่แรงๆ อาจทำลายฟิล์มที่ผิวหน้าของเหล็กปลอดสนิมได้ วิธีแก้ไขสามารถทำได้โดยการล้างซ้ำด้วยกรดบางชนิด ที่มีคุณสมบัติเป็นออกซิไดซิงซ์ เช่น กรดไนตริก แล้วจึงล้างซ้ำด้วยน้ำสะอาด ในบางครั้งอาหารผสมอาจมีของแข็งผสมอยู่ ซึ่งจะเกิดการขัดถูที่ผิวด้านในของถังหมักซึ่งเป็นการทำลายฟิมล์ที่ช่วยป้องกันการกัดกร่อนของเหล็กปลอดสนิมได้ เพื่อให้แน่ใจว่าฟิมล์ที่เคลือบผิวด้านในของถังเหล็กแข็งแรงและทนทานต่อการขัดสี จึงควรเติมโครเมียมลงไปในโลหะผสม 18 % และเหล็กปลอดสนิมจะทนทานต่อการกัดกร่อนได้ดียิ่งขึ้นเมื่อเติมด้วยนิเกิล อีก 8 % ดังนั้นโลหะผสมมักถูกกล่าวขานในรูป 18 / 8 stainless steel

ปกติในการสร้างถังหมัก จะมีการออกแบบและติดตั้งอุปกรณ์ควบคุมอุณหภูมิเข้าไว้ด้วย เนื่องจากในกระบวนการหมักจะมีความร้อนเกิดขึ้นจากกิจกรรมของจุลินทรีย์และการกวนผสมซึ่งทำให้อุณหภูมิภายในถังหมักไม่เหมาะสมต่อการผลิตสารที่ต้องการแล้วก็จำเป็นต้องมีการเพิ่มหรือลดความร้อนเพื่อให้ได้อุณหภูมิที่เหมาะสม โดยทั่วไปในระดับห้องปฏิบัติการ ความร้อนที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมักในถังหมักขนาดเล็กจะมีปริมาณน้อยการระบายความร้อนส่วนเกินออกจากถังหมัก ทำได้โดย

วางถังหมักในอ่างควบคุมอุณหภูมิ หรือถ้าต้องการเพิ่มอุณหภูมิก็ทำได้โดยใช้ขดลวดให้ความร้อนภายในถังหมัก แต่ในระดับอุตสาหกรรมซึ่งใช้ถังหมักขนาดใหญ่ ความร้อนที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมักมักจะมีปริมาณมาก การระบายความร้อนนิยมใช้แจคเกด หรือขดลวดหล่อเย็นภายในถังหมัก ซึ่งมีน้ำเย็นไหลหมุนเวียนเข้าไปควบคุมอุณหภูมิได้ตามที่ต้องการ ตามปกติจะนิยมใช้แจคเกดระบายความร้อนในถังหมัก ที่มีขนาดใหญ่ไม่เกิน 500 ลิตร ส่วนถังหมักที่มีขนาดใหญ่กว่านี้จะนิยมใช้ขดลวดหล่อเย็นภายใน

2.5.3 แบบของถังหมัก (Fermenter Type)

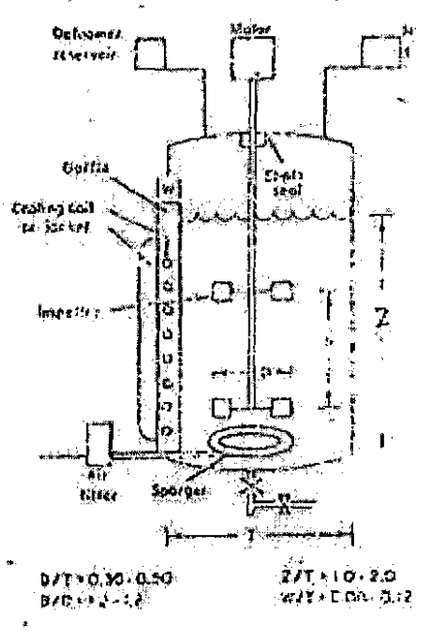
ถังหมักในโรงงานอุตสาหกรรม มักจะทำจากเหล็กปลอดสนิม ขนาดใหญ่มีอยู่หลายรูปแบบ ความซับซ้อนในการออกแบบ การสร้างและการใช้งานขึ้นอยู่กับ ความจำเป็นในการควบคุมสภาวะของการหมักและชนิดของผลิตภัณฑ์ กรณีการผลิตสาโท ถังหมัก อาจเป็นถังหรือบ่อเปิดก็เพียงพอแล้ว เพราะผลิตภัณฑ์ชนิดนี้ไม่ถึง การปนเปื้อนของเชื้ออื่นและขณะที่การหมักกำลังดำเนินอยู่กากจะลอยอยู่ที่ผิวหน้าของน้ำหมักรวมทั้งคาร์บอนไดออกไซด์ ไม่ว่าจะเป็นการหมักแบบใดก็ตาม วัตถุประสงค์ในการออกแบบก็เพื่อให้เกิดสภาพความเป็นเนื้อเดียวกันของสารที่บรรจุอยู่ในถังหมักนั้นๆ กรณีที่เป็นอาหารเหลวจุลินทรีย์จะแขวนลอยอยู่อย่างสม่ำเสมอ สารอาหารและออกซิเจนจะถูกใช้ไปในการเจริญเติบโตและผลิตภัณฑ์ ของเสียเช่น ความร้อน คาร์บอนไดออกไซด์ ตลอดจนสารเมตาบอไลท์ ต่างๆจะถูกขับออกจากเซลล์ปะปนอยู่ในน้ำหมัก

ในการหมักหนึ่งๆ นั้นจะมีลักษณะที่เรียกว่า พหูสภาพ ประกอบด้วยสภาวะที่เป็นก๊าซ เช่น ไนโตรเจน ออกซิเจน คาร์บอนไดออกไซด์ สภาพที่เป็นของเหลว เช่นน้ำที่ใช้ละลายสารอาหารตลอดจนของเหลวต่างๆทั้งที่เติมลงไปและที่จุลินทรีย์สร้างขึ้น และสภาพที่เป็นของแข็งเช่น จุลินทรีย์ หรือ อาหารแข็ง ของทุกๆอย่าง ที่ประกอบกันเป็นของผสมในถังหมัก ควรที่จะปะปนเป็นเนื้อเดียวกันเพื่อบรรลุถึงการถ่ายเทมวลและความร้อนที่ดีที่สุดเพื่อให้ได้สภาวะที่เหมาะสมกับการหมักนั้นๆ ถังหมักซึ่งเป็นสถานที่ๆปฏิกริยาต่างๆดำเนินอยู่ ต้องได้รับการออกแบบที่ดีและสามารถป้องกันการปนเปื้อนของเชื้ออื่นที่ลงไปในระหว่างการหมัก ขณะเดียวกันก็คอยป้องกันการฟุ้งกระจายของเชื้อออกจากถังหมักปริมาตรของน้ำหมักจะคงที่ไม่มีการรั่วไหลหรือระเหยออกไป กรณีที่การหมักนั้นต้องการอากาศปริมาณของออกซิเจนที่ละลายอยู่ต้องเกินจุดวิกฤติ อุณหภูมิ ความเป็นกรดด่าง และอื่นๆ จะต้องมีการควบคุมอย่างดี

รูปแบบและการใช้งานของถังหมัก

ลักษณะรูปแบบของถังหมัก

ถังหมัก ที่ใช้กันอยู่ทั่วไปมีลักษณะเป็นรูปทรงกระบอกตั้งตรงในแนวดิ่ง ซึ่งมีส่วนประกอบต่างๆ เพื่อใช้ในการให้ความร้อนและถ่ายเทความร้อน การให้อากาศปลอดเชื้อและสารอาหาร ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับธรรมชาติ ของการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมักลักษณะและส่วนต่างๆ ที่สำคัญของถังหมักที่ใช้กันอยู่ทั่วไปสามารถแสดงให้เห็นได้ ดังภาพที่ 1



ภาพที่ 2 ลักษณะและสัดส่วนต่างๆของถังหมักโดยทั่วๆไป

ที่มา : สมใจ, 2537

T = เส้นผ่าศูนย์กลางของถังหมัก

Z = ระดับความสูงของน้ำหมัก

D_1 = ระยะส้นผ่าศูนย์กลางในการหมุนของใบกวน

W = ความกว้างของ baffles

อัตราของสัดส่วนต่างๆ ของถังหมักดังแสดงในรูป สามารถแปรเปลี่ยนไปได้มากขึ้นอยู่กับชนิดของกระบวนการหมัก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการขยายถังหมัก

2.5.4 การออกแบบถังหมัก (ตระการ , 2540)

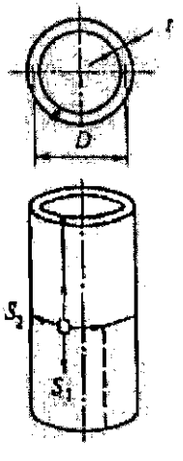
ความดันภายในหรือภายนอกที่กระจายอย่างสม่ำเสมอจะทำให้เกิดความเค้นตามแนวเส้นรอบวง มากกว่าความเค้นตามแนวยาวอยู่ 2 เท่า ทั้งนี้จากลักษณะรูปร่างของทรงกระบอกเอง

สำหรับความเค้นกดอันเนื่องจากความดันภายนอก และความเค้นดึง เนื่องจากความดันภายในสามารถหาได้จากสูตรต่อไปนี้

สูตร

ความเค้นตามแนวยาว : $S_1 = PD / 4t$ .....(1)

ความเค้นตามแนวเส้นรอบวง : $S_1 = PD / 2t$ .....(2)



ภาพที่ 3 ความเค้นภายในผนังทรงกระบอก

ที่มา : ตระการ , 2540

เมื่อ D = เส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยของถัง

P = ความดันภายในหรือภายนอก , kg / cm^2

S_1 = ความเค้นตามแนวยาว , kg/cm^2

S_2 = ความเค้นตามแนวเส้นรอบวง , kg/cm^2

เนื่องจากความเค้นตามแนวเส้นรอบวง มีค่าเป็น 2 เท่าของความเค้นตามแนวยาวดังนั้นในการคำนวณ จึงให้ค่าความเค้นตามแนวเส้นรอบวงเป็นค่าอนุญาตเพียงค่าเดียว

ในสูตรการหาความหนา และความดันที่ยอมให้ได้สูงสุด ของตัวถังทรงกระบอกที่เกิดขึ้นตามตะเข็บ ตามแนวเส้นรอบวง (ความเค้นที่เกิดขึ้นตามแนวยาว) เป็นดังนี้

$$t = PR/(2SE + 0.4P) \quad \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots (3)$$

$$p = 2SEt/(R - 0.4t) \quad \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots (4)$$

เมื่อ

P = ความดันภายในหรือภายนอก , kg/cm^2

R = รัศมีภายใน , mm

S = ค่าความเค้นของวัสดุ , kg/cm^2

E = ประสิทธิภาพรอยต่อ

t = ความหนาของผนัง , mm

ชัยสวัสดิ์ (2535) ในกรณีที่ของไหลบรรจุอยู่ในภาชนะ ที่ด้านหนึ่งเปิดสู่บรรยากาศจะได้ว่า

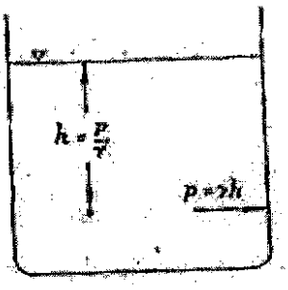
$$p = \gamma h \quad \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots (5)$$

เมื่อ

p = ความดันของของไหลที่จุดหนึ่ง

γ = น้ำหนักจำเพาะของของไหล

h = ระยะจากผิวของของไหล ถึงจุดที่คำนึงถึงความดัน



ภาพที่ 4 ความสัมพันธ์ของความดันและความสูง
ที่มา: ชัยสวัสดิ์, 2535

2.6 กระบวนการหมัก (สมใจ , 2535)

การหมัก เป็นค่าที่มีรากศัพท์มาจากภาษาลาติน แปลว่าเดือด ซึ่งในครั้งแรกใช้เพื่ออธิบายลักษณะที่เกิดขึ้นจากการกระทำของยีสต์ในน้ำสกัดจากผลไม้หรือเมล็ดข้าวมอลล์ เนื่องจากยีสต์ย่อยสลายน้ำตาลภายใต้สภาวะไม่มีออกซิเจน ทำให้เกิดฟองแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ผุดขึ้นมาเหมือนน้ำเดือด อย่างไรก็ตามในปัจจุบันการหมักนำมาใช้ในความหมายที่แตกต่างกันไปบ้างในทางชีวเคมี การหมัก คือการสร้างพลังงานจากกระบวนการย่อยสลายสารประกอบอินทรีย์ โดย มีสารอินทรีย์เป็นทั้งตัวให้และรับอิเล็กตรอน ส่วนการหมักในทางจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม หมายถึง กระบวนการผลิตผลผลิตใดๆก็ตาม ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์จำนวนมาก ซึ่งจะครอบคลุมทั้งกระบวนการแบบการใช้และไม่ใช้ออกซิเจน ในขณะที่การหมักทางชีวเคมีหมายถึงเฉพาะกระบวนการแบบไม่ใช้ออกซิเจนเท่านั้น

ชนิดการหมัก

การหมักที่มีความสำคัญทางการค้าสามารถแบ่งได้เป็น 4 ประเภทใหญ่ๆคือ

1. การหมักที่ให้ผลผลิตเป็นตัวเซลล์ ได้แก่ การผลิตเซลล์ยีสต์เพื่อใช้ในทางอุตสาหกรรม ตั้งแต่ต้นศตวรรษที่ 19 และการผลิตเซลล์จุลินทรีย์เพื่อใช้เป็นอาหารมนุษย์หรือสัตว์ ซึ่งเริ่มผลิตครั้งแรกในระหว่างสงครามโลกครั้งที่ 1 .ในประเทศเยอรมัน

2. การหมักที่ให้ผลผลิตเป็นเอนไซม์ การผลิตเอนไซม์สามารถผลิตได้ทั้งจากสัตว์ พืช และ จุลินทรีย์

อย่างไรก็ตามจุลินทรีย์จัดเป็นแหล่งผลิตเอนไซม์ที่มีความสำคัญมากที่สุด เนื่องจากสามารถผลิตได้ครั้งละมากๆ ในระยะเวลาอันสั้น โดยใช้เทคนิคการหมัก และสามารถปรับปรุงให้ได้ผลผลิตสูงขึ้นได้ง่ายกว่าการผลิตจากพืชหรือสัตว์สำหรับการใช้ประโยชน์ของเอนไซม์จากจุลินทรีย์ ส่วนใหญ่จะใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

3. การหมักที่ให้ผลผลิตเป็นสารเมแทบอไลน์ สารเมทาบอไลน์ที่ผลิตจากจุลินทรีย์ อาจแบ่งเป็น 2 ประเภทใหญ่ๆ คือ สารเมแทบอไลน์ปฐมภูมิ

สารเมแทบอไลท์ปฐมภูมิเป็นสารที่ความจำเป็นต่อการเจริญของจุลินทรีย์ เช่น กรดอะมิโน นิวคลีโอไทด์ โปรตีน กรดนิวคลีอิก ลิปิด และคาร์โบไฮเดรต จุลินทรีย์จะผลิตกรดนี้ในช่วง log phase ของการเจริญตัวอย่างของสารเมทาบอไลท์ปฐมภูมิที่มีความสำคัญทางการค้าและผลิตขึ้นโดยการหมัก ได้แก่ เอทานอล กรดซิตริก กรดกลูตามิค อะซิโตน บิวทานอล ไลซีน นิวคลีโอไทด์ โพลีแซคคาไรด์ และวิตามิน

สารเมทาบอไลท์ทุติยภูมิ เป็นสารที่เกิดขึ้นจากการเปลี่ยนแปลงของสารมัธยันตร์ หรือผลผลิตจากกระบวนการเมทาบอลิซึม ซึ่งพบในจุลินทรีย์บางชนิดบางช่วงของการเจริญ และอาจพบในการเพาะเลี้ยงเชื้อแบบต่อเนื่อง ที่มีอัตราการเจริญเติบโตต่ำ จุลินทรีย์ที่มักพบว่ามีการสังเคราะห์สารเมทาบอไลท์ทุติยภูมิได้แก่แบคทีเรียที่มีลักษณะคล้ายเส้นด้าย แบคทีเรียที่สร้างสปอร์ได้และฟังใจ ส่วนจุลินทรีย์ที่ยังไม่พบว่ามีการสังเคราะห์สารเมทาบอไลท์ทุติยภูมิได้แก่ แบคทีเรีย ในแฟมิลี Enterobactereaceae สำหรับบทบาททางสรีรวิทยาของสารเมทาบอไลท์ทุติยภูมิในเซลล์จุลินทรีย์ที่ผลิตสารนี้ขึ้นมานั้นยังไม่ทราบแน่ชัด แต่ไม่พบว่ามีหน้าที่ในกระบวนการเมทาบอลิซึมของเซลล์ อย่างไรก็ตามสารเหล่านี้ก็มีความสำคัญในอุตสาหกรรมการหมักเนื่องจากมีผลต่อ จุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ

เช่น ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆได้ ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์บางชนิด เป็นสารส่งเสริมการเจริญ หรือมีคุณสมบัติเป็นยารักษาโรค

4. การหมักที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนรูปของสารประกอบที่เติมลงไป เป็นกระบวนการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารประกอบให้อยู่ในสภาพที่คล้ายกันแต่มีราคาสูงขึ้น ซึ่งสามารถทำได้โดยใช้เอนไซม์จากจุลินทรีย์ หรือสารเคมีเป็นตัวเร่งทำให้เกิดปฏิกิริยา oxidation , amination, dehydrogenation , dehydrooxylation , dehydration , decarboxylation , deamination , condensation การใช้เอนไซม์จากจุลินทรีย์มีข้อดีกว่าการใช้สารเคมีคือ มีความจำเพาะมากกว่า และสามารถทำได้ที่อุณหภูมิต่ำ โดยไม่ต้องใช้โลหะหนักซึ่งเป็นสารมลพิษที่เป็นตัวเร่ง transformation process ที่ใช้จุลินทรีย์ที่รู้จักกันดีที่สุดได้แก่ กระบวนการผลิตน้ำส้มสายชู ซึ่งกระบวนการนี้ส่วนใหญ่จะเกี่ยวข้องกับการผลิตสารที่มีราคาแพง เช่นสารปฏิชีวนะ สเตอรอยด์ และ พรอสตาแกลนดิน

เนื่องจาก transformation process มีความแตกต่างจากกระบวนการหมักแบบอื่น คือ ใช้เซลล์จุลินทรีย์จำนวนมาก เพื่อเร่งการเปลี่ยนแปลงปฏิกิริยาเพียงขั้นตอนเดียว ดังนั้นโดยทั่วไป จึงนิยมใช้ระบบเซลล์หรือเอนไซม์ที่ถูกตรึง เพราะสามารถนำมาใช้ซ้ำได้หลายครั้ง ทำให้ประหยัดต้นทุนการผลิต นอกจากนี้อาจแบ่งตามความต้องการของอากาศได้เป็น 2 ชนิดคือ

1. Aerobic fermentation เป็นการหมักที่ต้องการอากาศ เช่น การหมักกรดอะซิติก และ กรดซิตริก
2. Anaerobic fermentation เป็นการหมักที่ไม่ต้องการอากาศ เช่น การหมักอะซิโตนและบิวทานอล

หรืออาจแบ่งตามสภาพการควบคุมการปนเปื้อนของเชื้อได้เป็น 3 ชนิด คือ

1. Seption fermention เป็นการหมักในสภาพปิด ซึ่งไม่จำเป็นต้องฆ่าเชื้อจุลินทรีย์จากภายนอกที่อาจปนเปื้อนมากับวัตถุดิบที่ใช้ในการหมัก หรือปนเปื้อนเข้ามาในระหว่างการหมัก แต่ใช้วิธีการปรับสภาพต่างๆ ให้เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ที่ต้องการ และไม่เหมาะสมหรือยับยั้งเจริญของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ เช่นการเติมเกลือในการหมักน้ำปลา และ ซีอิ้ว

2. Semi – septic fermention เป็นการหมักในสภาพปิด เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อจากภายนอก แต่ไม่จำเป็นต้องฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับวัตถุดิบที่ใช้หมัก และใช้วิธีการปรับสภาพต่างๆ ให้เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ที่ต้องการแต่ไม่เหมาะสมหรือยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์

069497

สถาบันวิทยบริการ

เช่น การหมัก แอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลไม่จำเป็นต้องฆ่าเชื้อในกากน้ำตาลและน้ำที่ใช้หมัก แต่ใช้วิธีปรับความเป็นกรดด่าง เป็น 3.5 เพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้ออื่น แต่ยีสต์ใช้ในการหมักสามารถเจริญได้ดี

3. Aseptic fermentation เป็นการหมักในสภาพปิด ที่ต้องทำให้วัตถุดิบที่ใช้ในการหมักปราศจากเชื้อปนเปื้อน และต้องระมัดระวังไม่ให้มีการปนเปื้อนของเชื้อระหว่างการหมัก มิฉะนั้นจะทำให้เกิดความเสียหายอย่างมาก เช่น การหมักสารปฏิชีวนะ

หรือแบ่งตามลักษณะหรือปริมาณน้ำในอาหารเลี้ยงเชื้อได้เป็น 2 ชนิดคือ

1. Solid state fermentation เป็นการหมักบนอาหารแข็ง ซึ่งมีการเติมน้ำเล็กน้อยเพื่อให้เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ต้องการเท่านั้น เช่น การหมักกรดซิตริกโดยใช้เชื้อราเป็นต้น

2. Submerged fermentation เป็นการหมักโดยเฉพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ ในอาหารที่มีลักษณะเหลว เช่น การหมักแอลกอฮอล์ และน้ำส้มสายชู

หรือแบ่งตามลักษณะของกระบวนการที่ใช้ได้เป็น 3 แบบ คือ

1. Batch fermentation เป็นการหมักแบบไม่ต่อเนื่อง ซึ่งทำในระบบที่ปิดที่มีสารอาหารเริ่มต้นปริมาณจำกัด เมื่อใส่จุลินทรีย์ที่ต้องการเพาะเลี้ยงไปในระบบแล้ว จะไม่มีการเติมสารอาหารใดๆเพิ่มลงไปอีก

2. Continuous fermentation เป็นการหมักแบบต่อเนื่อง โดยมีการเติมอาหารใหม่และถ่ายอาหารเก่าออกจากระบบในอัตราเดียวกันตลอดเวลา ทำให้จุลินทรีย์สามารถเจริญเพิ่มจำนวนได้อย่างต่อเนื่องโดยไม่มีข้อจำกัดในเรื่องอาหาร

3.Fed – batch fermentation เป็นการหมักที่มีการเติมสารอาหารบางอย่างลงไปในอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงจุลินทรีย์เป็นระยะๆ เพื่อให้จุลินทรีย์เจริญและใช้สารอาหารบางอย่างเต็มที่ โดยไม่มีการถ่ายอาหารเก่าออก การหมักแบบนี้ส่วนใหญ่ใช้เพื่อแก้ปัญหาเกี่ยวกับข้อจำกัดเรื่องความเข้มข้นของสารอาหารเริ่มต้น ซึ่งถ้าใช้มากเกินไปอาจมีผลยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์หรืออาจทำให้ มีปัญหาในการให้ออกซิเจนในปริมาณที่เพียงพอได้ยาก

3. วิธีการวิจัย

3.1 ศึกษามิติที่เหมาะสมของถังหมัก

ใช้เปรียบเทียบมาตราส่วนเพื่อใช้ในการทำถังหมัก เพราะว่าขนาดของถังมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเท่ากันหมดทุกถัง คือ 18 cm. เพราะฉะนั้น

ถังที่ 1 คือ สัดส่วน 1 : 1 (ความกว้าง : ความสูง)

ก็จะได้ว่า ที่สัดส่วน 1 : 1 ก็จะสร้างถังได้เป็นที่ความกว้าง 18 cm. ต่อ ความสูง 18 cm.

ถังที่ 2 คือ สัดส่วน 1 : 1.2 (ความกว้าง : ความสูง)

ก็จะเทียบมาตราส่วนจากถังแรกดังนี้

ถ้าที่สัดส่วน 1 : 1 ได้ความสูง 18 cm.

ดังนั้น สัดส่วน 1 : 1.2 ได้ความสูง 21.6 cm.

ดังนั้นที่สัดส่วน 1 : 1.2 ก็จะสร้างถังได้เป็นที่ความกว้าง 18 cm. ต่อความสูง 21.6 cm.

ถังที่ 3 คือ สัดส่วน 1 : 1.4 (ความกว้าง : ความสูง)

ก็จะเปรียบเทียบมาตราส่วนจากถังแรก ดังนี้

ถ้าที่สัดส่วน 1 : 1 ได้ความสูง 18 cm.

ดังนั้นที่สัดส่วน 1 : 1.4 ได้ความสูง 25.2 cm.

ดังนั้นที่สัดส่วน 1 : 1.4 ก็จะสร้างถังได้เป็นที่ความกว้าง 18 cm. ต่อความสูง 25.2 cm.

3.2 การออกแบบสร้างถังหมักแบบตะแกรงเด็กขนาด 100 ลิตร

ลักษณะโครงสร้างหลักของถังหมัก คือ ถังหมักจะแบ่งเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนที่ 1 เป็นถังชั้นนอก เพื่อใส่น้ำหล่อเย็นเพื่อลดอุณหภูมิให้กับกระบวนการที่อยู่ในถัง ส่วนที่ 2 คือ ถังหมักส่วนที่ใช้ใส่น้ำหมักช่วงกระบวนการนี้จะเกิดการเพิ่มอุณหภูมิจึงจำเป็นต้องมีน้ำหล่อเย็นด้านข้างเพื่อช่วยเพิ่มคุณภาพที่ดีของสาโท ส่วนที่ 3 ส่วนที่เป็นตระแกรงใช้ใสข้าวเหนียวเพื่อสะดวกต่อการถ่ายเทข้าวเหนียวที่หมักเสร็จทิ้งเพื่อเป็นการลดเวลาในการล้างทำความสะอาด สะดวกต่อผู้ปฏิบัติงาน และไม่เปลืองแรงงานมาก ตลอดระยะเวลาการหมักมีการตรวจสอบผลิตภัณฑ์ได้โดยที่ จะมีวาล์วน้ำซึ่งเป็นช่องตรวจเช็คผลิตภัณฑ์ได้ง่ายสะดวก มีวาล์วปล่อยน้ำสาโทที่หมักเสร็จไว้ด้านล่างของตัวถังหมัก ลักษณะจะเป็นแบบ Slope เพื่อสะดวกต่อการไหลของน้ำหมักและน้ำที่ใช้ล้างถัง ในส่วนของถังด้านนอกจะมีวาล์ว เพื่อระบายน้ำทิ้ง ส่วนด้านบนฝาถังจะมีเทอร์โมมิเตอร์ติดไว้เพื่อคอยเช็คอุณหภูมิในระหว่างการหมัก

ถังจะเป็นรูปทรงกระบอกตั้ง ด้านล่าง เป็นรูปทรงกรวยเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการถ่ายเทสาโทออก และป้องกันการตกค้างของเศษข้าวเหนียวที่ได้จากการหมัก ติดบริเวณด้านล่างถัง ถังเป็นระบบกึ่งปิด ซึ่งเป็นกระบวนการหมัก ที่ต้องการอากาศในช่วงแรกคือ ช่วงบ่มให้ราขึ้น 1 – 2 วัน และหลังจากนั้นจะไม่ต้องการอากาศเข้าไปในระบบคือช่วงการหมัก เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อที่ไม่ต้องการ ปริมาณในการหมักสูงสุด 100 ลิตร ถังประกอบด้วยกัน 2 ชั้น ชั้นในใช้บรรจุสาโท โดยมีตะแกรงสำหรับบรรจุข้าวเหนียวซึ่งทำจากตะแกรงสแตนเลส ขนาดบรรจุข้าวได้ 25 ลิตร ซึ่งใช้สำหรับการหมักในถังปริมาตรดังกล่าว ชั้นนอกจะเป็นชั้นสำหรับหล่อเย็น เพื่อใช้ระบายความร้อนในถังหมักถังทั้งสองชั้นทำขึ้นจากสแตนเลส หนา 1.0 มม.รอยต่อใช้การเชื่อมแบบเชื่อมแก๊ส ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของถังชั้นใน 45 ซม. และถังชั้นนอก 65 ซม. ความสูงของถังทั้งในและนอก 100 ซม. กรวยด้านล่างของถังมีมุมเอียง ประมาณ 60 องศา

ฝาปิด วางด้านบนของถัง

ส่วนของถังชั้นใน เป็นฝารูปวงกลมจะปิดสนิทกับถังขณะทำการหมัก ส่วนของถังชั้นนอกจะเปิดปิดได้โดยมีบานพับ ขนาด 3 นิ้ว ติดอยู่เพื่อสะดวกในการใช้งาน

การประกอบท่อ ข้อต่อ และวาล์ว

วาล์วนำตัวอย่างไปเช็ค ใช้แป๊ป STL ½ นิ้ว ยาว 6 นิ้ว ภายในกลึงเกลียวเพื่อต่อเข้ากับวาล์วขนาด ½ นิ้ว เจาะทะลุจากถังด้านใน มาด้านข้างของถังติดอยู่บริเวณ ด้านล่างของถังลักษณะการวางท่อเอียงลงเล็กน้อย เพื่อความสะดวกในการใช้งาน วาล์วระบายน้ำทิ้งของแจคเกต ใช้แป๊ป STL 1 ¼ นิ้ว ยาว 3 นิ้ว ภายในกลึงเกลียวเพื่อต่อเข้ากับวาล์วขนาด 1 ¼ นิ้วติดอยู่ด้านล่างของถัง บริเวณถังชั้นนอก วาล์วถ่ายสาโทออกใช้แป๊ป STL 2 ½ นิ้ว ภายในกลึงเกลียวเพื่อต่อเข้ากับวาล์วขนาด 2 ½ นิ้ว อยู่ทางด้านล่างสุดของถัง

การทำโครงสร้าง (ขาถัง)

นำแผ่นสแตนเลสหนา 2 มม. ยาว 1 ม. กว้าง 16 ซม. มาจำนวน 4 แผ่น พับงอเป็นรูปตัว ยู เพื่อเพิ่มความแข็งแรง เชื่อมติดกับถังชั้นนอก เพื่อยกถังให้สูงขึ้นจากพื้น 50 ซม.

3.2.1 แผนการทดสอบและการหมัก

1. การเตรียมวัตถุดิบเพื่อใช้ในการหมักสาโท

- การเตรียมลูกแป้ง

ในการทดลองนี้จะใช้ลูกแป้ง 2 % ต่อน้ำหนักข้าว 1 kg จากนั้นนำลูกแป้งที่ใช้ในการหมัก ซึ่งเป็นลูกๆ มาบดเป็นผงให้ละเอียด เก็บบรรจุใส่ถุงเพื่อรอการชั่งต่อน้ำหนักข้าวเพื่อใช้ในการหมัก

- การเตรียมข้าวที่ใช้ในการหมัก

นำข้าวเหนียวที่ได้แช่น้ำไว้ 8 – 10 ชั่วโมง มานึ่งให้สุกโดยการใช้ ซึ้ง ฮวด หรืออื่นๆ แต่สำหรับการทดลองนี้จะใช้ Autocave ที่อุณหภูมิ 115 $^{\circ}$c นาน 40 นาที จากนั้นนำข้าวที่นึ่งเสร็จแล้วมาผึ่งในถาดให้เย็น เมื่อข้าวเย็นได้ที่แล้วมาล้างกับน้ำพอให้เมือกที่ติดข้าวออก แล้วใช้ผ้าขาวบางบิดบีบน้ำออกหมาดๆ เพื่อสะเด็ดน้ำ เตรียมใส่ภาชนะที่จะนำมาคลุกเคล้าเพื่อผสมกับลูกแป้งที่เตรียมไว้

- การเตรียมถังหมัก

ก่อนจะทำการหมักทุกครั้ง จะต้องฆ่าเชื้อถังหมักก่อนโดยใช้ KMS 0.2 กรัม ต่อ น้ำ 1 ลิตร โดยใช้เวลาประมาณ 30 นาที เมื่อเสร็จแล้วจึงนำไปใช้ในการหมักต่อไป

2. ขั้นตอนการหมักสาโท

การเตรียมโคจิ

นำข้าวเหนียวที่นึ่งสุกแล้ว 50 kg มาแผ่ทิ้งไว้ให้เย็น และนำมาล้างน้ำเปล่าสะอาดจนข้าวเหนียวหมดยาง และเมล็ดไม่เกาะติดกันสะเด็ดน้ำออกจนหมด เมื่อข้าวสะเด็ดน้ำแล้วนำมาคลุกกับลูกแป้งที่ได้เตรียมเอาไว้ จากการคำนวณใช้มาตราส่วน ข้าวต่อลูกแป้ง (83 : 1) ฉนั้นใช้ข้าว 50 kg จึงใช้ลูกแป้ง 600 กรัม แยกข้าวที่ผ่านการคลุกลูกแป้งออกเป็น 2 ชุด ชุดละ 25 kg โดยชุดที่ 1 ใส่ในตะแกรงเพื่อทำการหมักกับถังที่ได้ทำการสร้างขึ้นแล้วปิดฝาทิ้งไว้ ชุดที่ 2 ใส่ในโอ่งดินเพื่อหมักโดยวิธีดั้งเดิม ทั้ง 2 วิธี ทดสอบโดยบ่มทิ้งไว้ให้ขึ้นราประมาณ 3 วัน หลังจากนั้นเติมน้ำเชื่อมประมาณ 15 $^{\circ}$ Brix ลงให้เต็มถังประมาณ 75 ลิตร

ในโอ่งดินก็เช่นเดียวกัน (ใช้อัตราส่วนข้าว 1 ส่วนต่อน้ำ 3 ส่วน) หมักทิ้งไว้จนได้เปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ตามที่ต้องการ ประมาณ 12 %

3. ขั้นตอนการวิเคราะห์และบันทึกผลการทดลอง

- การตรวจวัดความหวาน

นำตัวอย่างของน้ำหมัก มาตรวจวัดความหวานทุกๆวัน ตลอดระยะเวลาที่ทำการหมัก โดยใช้รีแฟรกโตมิเตอร์ ซึ่งเป็นเครื่องมือใช้วัดดรรชนีหักเหของสารละลาย และค่านี้จะถูกเปลี่ยนเป็นค่า $^{\circ}$ Brix ภายในเครื่องมือเลย เครื่องมือนี้เหมาะสำหรับหาปริมาณน้ำตาลอย่างรวดเร็ว และสามารถวัดค่าได้ทันที

ค่าองศาบริกซ์ สามารถทำให้เราทราบว่าน้ำตาลหรือความหวานของน้ำหนักมีอยู่เท่าใด สำหรับหมักสาโท ควรให้มีค่าความหวานประมาณ 12 $^{\circ}$ Brix

การหมักจะเกิดขึ้นช้าหรือเร็วแค่ไหนนั้น สามารถทราบได้โดยการติดตามการใช้น้ำตาลของยีสต์ ซึ่งดูได้จากปริมาณน้ำตาลที่หายไปทุกวัน ซึ่งถ้าได้ปริมาณความหวานที่ต้องการแล้ว หรือครบกำหนดวันที่ได้กำหนดเอาไว้ ก็จะสิ้นสุดการหมักลง

- การตรวจวัดความเป็นกรด

นำตัวอย่างของการหมักทั้งสองวิธีมาตรวจวัดโดยใช้ พีเอช มิเตอร์ ทุกๆวัน เพื่อสังเกตค่าความเป็นกรดของสาโททั้งสองวิธีที่ได้ทำการหมัก

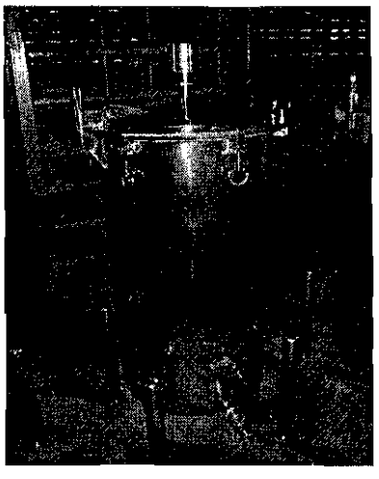
- การตรวจวัดปริมาณเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์

นำตัวอย่างของน้ำหมักทั้งสองวิธีมาตรวจวัดอย่างง่ายๆ โดยใช้ Hydrometer และนำมาวัดอย่างละเอียดอีกครั้งโดยใช้ ebuliometer เพื่อสังเกตว่า แอลกอฮอล์ที่เกิดขึ้นแล้วนำมาใช้ในการกำหนดไว้สิ้นสุดการหมัก สำหรับสาโทที่มีคุณภาพดีจะมีแอลกอฮอล์ประมาณ 15 ดีกรี

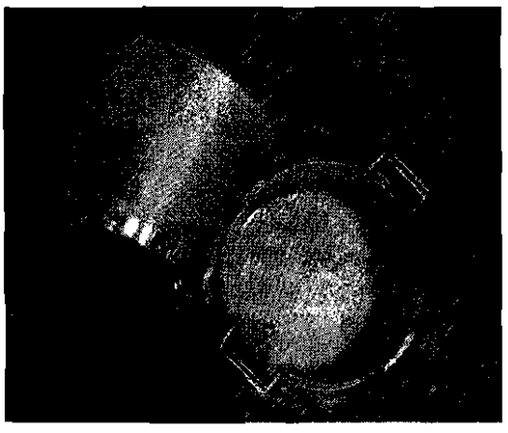
3.3 การออกแบบและสร้างถังหมักแบบแพคเบดขนาด 100 ลิตร

3.3.1 การสร้างตัวถังหมัก

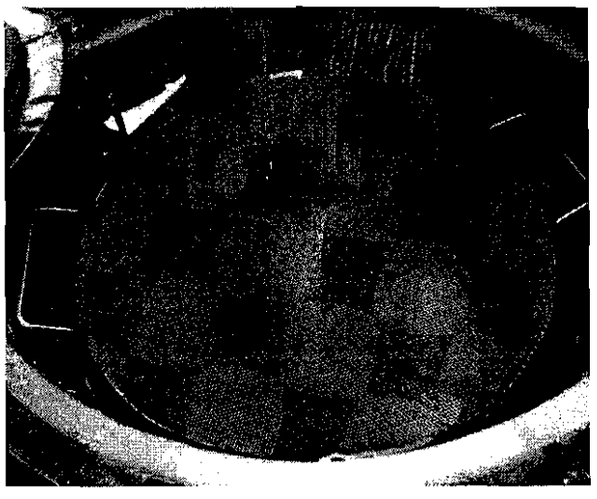
ถังหมักถูกออกแบบเป็นรูปทรงกระบอกตั้ง ด้านล่าง เป็นรูปทรงรี เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการเอาสาโทออก และป้องกันการตกค้างของเศษข้าวเหนียวที่ได้จากการหมัก ติดบริเวณด้านล่างถัง โดยจะสร้างถังหมัก 2 ถัง โดยลักษณะภายนอกของถังทุกอย่างเหมือนกันแต่ภายในตัวถังจะแตกต่างกัน ถังเป็นระบบกึ่งปิด ซึ่งเป็นกระบวนการหมัก ที่ต้องการอากาศในช่วงแรกคือช่วงบ่มให้ราขึ้น 1 – 2 วัน และหลังจากนั้นจะไม่ต้องการอากาศเข้าไปในระบบคือช่วงการหมัก เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อที่ไม่ต้องการ ปริมาณในการหมักสูงสุด 100 ลิตร ซึ่งภายในตัวถังที่แตกต่างกันประกอบด้วย ถังหมักแบบ packed – bed จะมีชั้นตะแกรง 3 ชั้น สำหรับบรรจุข้าวเหนียวซึ่งทำมาจากสแตนเลสขนาดบรรจุได้ชั้นละ 8-10 ลิตร ตะแกรงที่บรรจุข้าวแต่ละชิ้นสูง 23 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 41 เซนติเมตร ส่วนอีกถังซึ่งจำลองมาจำลองมาจากการหมักแบบโอ่ง ภายในจะมีตะแกรงที่บรรจุข้าวเหนียว 25 ลิตร ตะแกรงที่บรรจุข้าวเหนียวสูง 25 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 41 เซนติเมตร ซึ่งใช้สำหรับการหมักในถังดังกล่าว ขนาดของถังสูง 90 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางของตัวถัง 45 เซนติเมตร ขาของถังสูงจากพื้น 40 เซนติเมตร ด้านล่างตัวถังเป็นรูปทรงรี



ภาพที่ 3.1 ลักษณะภายนอกของถังหมักสาโทแบบ packed - bed



ภาพที่ 3.2 ตะแกรงสำหรับใส่ข้าวของถังหมักสาโทแบบ packed - bed



ภาพที่ 3.3 ลักษณะตะแกรงภายในถังหมักสาโทแบบ packed - bed

3.3.2 การทดสอบ

ทำการหมักโดยใช้ถังหมักที่ได้ทำการสร้างขึ้น มีถังหมัก 2 แบบ ที่เราได้สร้าง มีถังหมักสาโทแบบ packed – bed และถังหมักที่จำลองจากการหมักแบบโอ่ง เพื่อให้คุณสมบัติของถังเหมือนกันเราจึงสร้างและเลือกใช้วัสดุในการสร้างถังเหมือนกันจะได้ไม่มีผลต่อการหมักสาโท แต่ภายในตัวถังจะแตกต่างกัน โดยเราจะเริ่มหมักพร้อมกัน และสังเกตถังหมักทั้ง 2 แบบ แบบใดจะใช้ระยะเวลาในการหมักเร็วกว่ากัน และในช่วงของการหมักจะมีการตรวจวัดค่า พีเอช ค่าความหวาน วัดเปอร์เซนต์กรด เปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ ของถังหมักทั้ง 2 แบบ โดยเราไม่คำนึงถึงการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของทั้งสองถัง เมื่อหมักเสร็จก็นำสาโทที่หมักได้ไปทำการทดลองสุ่มตัวอย่างนักศึกษาจำนวน 15 คน แล้วนำข้อมูลที่เราทำการประเมินความชอบของนักศึกษาจำนวน 15 คน ของถังหมักทั้ง 2 แบบ มาเปรียบเทียบกัน

3.4 การออกแบบสร้างถังหมักต้นแบบขนาด 500 ลิตร

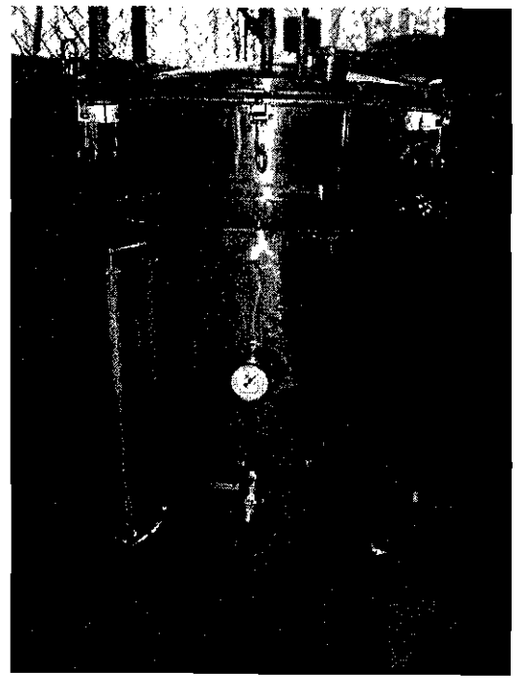
ลักษณะโครงสร้างของถังหมัก แบ่งเป็น 2 ส่วนหลัก คือ ตัวถังหมักและตะแกรงใส่ข้าวเหนียว ในส่วนของถังหมักออกแบบให้มี 2 ชั้น ชั้นในสำหรับใส่น้ำหมักซึ่งในช่วงกระบวนการหมักอุณหภูมิภายในถังจะสูงขึ้น จึงออกแบบให้มีถังชั้นนอกสำหรับใส่น้ำหล่อเย็นเพื่อควบคุมอุณหภูมิของถังหมักให้อยู่ในช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสม

ส่วนของตะแกรงใส่ข้าวเหนียว ออกแบบให้สะดวกในการยกตะแกรงเข้าและออกจากถังหมัก โดยแบ่งตะแกรงลักษณะเป็นชิ้นเค้ก 8 ชิ้น ประกอบกันเป็นทรงกระบอก

3.4.1 การออกแบบถังหมัก

ลักษณะของถังเป็นรูปทรงกระบอก ความสูงทรงกระบอก 1 m ปริมาตรสูงสุดในการหมักรวม 500 ลิตร แบ่งเป็นถังชั้นในและชั้นนอก ถังชั้นในขึ้นรูปจากแผ่นสแตนเลส 316L หนา 2.0 mm ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 80 cm ในส่วนของถังชั้นนอกขึ้นรูปจากแผ่นสแตนเลส 304 หนา 1.5 mm ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 94 cm

ตัวถังมีท่อวัดระดับเพื่อดูระดับน้ำสาโทในถัง และเกจวัดอุณหภูมิ (Thermometer) ติดไว้ที่ตัวถังเพื่อสะดวกในการตรวจเช็คอุณหภูมิในระหว่างการหมัก มีวาล์วสำหรับตรวจเช็คตัวอย่างน้ำหมักด้านล่างทรงกระบอกมีวาล์วสำหรับปล่อยน้ำหมักที่สิ้นสุดกระบวนการแล้ว ก้นถังมีลักษณะเป็นครึ่งทรงรี เพื่อให้สะดวกต่อการไหลของน้ำที่ใช้ล้างถัง โดยมีวาล์วปล่อยน้ำล้างถังอยู่ที่ก้นถัง นอกจากนี้ยังมีวาล์วสำหรับถ่ายเทน้ำหล่อเย็นในส่วนของถังชั้นนอกด้วย ดังภาพที่ 3.7 และแบบในภาคผนวก ค.



ภาพที่ 3.4 ลักษณะของถังหมัก

1. ขนาดของถัง

จากตารางภาคผนวก ก.1

ตัวถังทรงกระบอกยาว 1 m

เส้นผ่านศูนย์กลางภายในของถัง 800 mm

ปริมาตรบรรจุ 502.7 ลิตร

หัวถังครึ่งทรงรี 2:1

เส้นผ่านศูนย์กลางภายในของถัง 800 mm

ปริมาตรบรรจุ 67 ลิตร

$\therefore$ ปริมาตรบรรจุภายในถังทั้งหมด = ปริมาตรทรงกระบอก + ปริมาตรหัวถัง

$= 502.7 + 67$

$= 569.7$

$\approx$ 570 ลิตร

2. ความหนาของถัง (มานพ , 2542)

จากสมการที่ 2.3

$$t = \frac{PR}{(2SE + 0.4P)} + \nu$$

กำหนดให้

P = ความดัน

= 1.033 kg / cm^2 (ตารางภาคผนวกที่ ก.2)

R = รัศมีภายใน

= 400 mm

S = ค่าความเค้นสูงสุดของ Stanless SA- 240 เกรด 316L ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

= 1,174 kg / cm^2 (ตารางภาคผนวกที่ ก.3)

E = ประสิทธิภาพรอยเชื่อม

= 0.6 (ตารางภาคผนวกที่ ก.4)

ν = ค่าความปลอดภัยของสแตนเลส

= 1.3 (ตารางภาคผนวกที่ ก.5)

แทนค่า

$$t = \frac{1.033 \times 400}{[(2 \times 0.6 \times 1,174) + (0.4 \times 1.033)]} + 1.3$$

= 1.593 mm

∴ เลือกความหนาของสเตนเลส 2.0 mm

3. ความดัน (ชัยสวัสดิ์ , 2535)

จากสมการที่ 2.4

$P = \gamma h$

กำหนดให้

P = ความดันภายใน (kg / cm^2)

γ = น้ำหนักจำเพาะของน้ำ

= 9.777 kN / m^2

h = ความสูงของถังทรงกระบอก

= 1 m

แทนค่า

P = 9.777 x 1

= 9.777 kN / m^2

จากตารางภาคผนวก ก. 6

101.3 kN/m^2 = 1.033 kg / cm^2

$$9.777 \ kN / m^2 = \frac{1.033 \times 9.777}{101.3}$$

= 0.12 kg / cm^2

จากสมการที่ 2.1

ความเค้นแนวยาว S_1 = $PD / 4t$

กำหนดให้

t = ความหนาถัง

= 2 mm

D = เส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของถัง

= 870 mm

แทนค่า

$$S_1 = \frac{0.16 \times 870}{4 \times 2}$$

= 17.4 kg / cm^2

จากสมการที่ 2.2

ความเค้นแนวเส้นรอบวง S_2 = $PD / 2t$

แทนค่า

$$S_2 = 0.16 \times 870 \frac{}{2 \times 2}$$

$$= 34.8 \text{ kg / cm}^2$$

∴ เลือกใช้ Stanless SA- 240 เกรด 316L

3.4.2 การออกแบบตะแกรง

ในส่วนของตะแกรงบรรจุข้าวเหนียวทำการขึ้นรูปจากแผ่นตะแกรงสแตนเลส รูกลม ∅ 2.0 mm หนา 1.0 mm โดยการพับและเชื่อมขอบเพื่อเพิ่มความแข็งแรงในการรับ น้ำหนัก ตะแกรงแต่ละชิ้นบรรจุข้าวเหนียวน้ำหนัก 21 กิโลกรัม รวมข้าวเหนียวที่ใช้ในการหมักทั้งหมด 168 กิโลกรัม ซึ่งเป็นอัตราส่วนของปริมาตรต่อน้ำหนัก คือ น้ำ 2 ส่วน (332 ลิตร) ต่อ ข้าวเหนียว 1 ส่วน (168 กิโลกรัม) ปริมาตรรวม 500 กิโลกรัม

ตะแกรงทั้ง 8 ชิ้นจะวางลงในฐานรองรับทำจากเพลาสแตนเลส ∅ ½ นิ้ว โดยเชื่อมติดด้านล่างของถังหมัก ส่วนด้านบนของตะแกรงเชื่อมห่วงให้ตะขอภายในตัวถังหมักสามารถเกี่ยวตะแกรงทั้ง 8 ชิ้น รวมเป็นทรงกระบอกได้ ดังภาพที่ 3.8 และแบบในภาค ผนวก ค.

ภาพที่ 3.5 ลักษณะของตะแกรงบรรจุข้าวเหนียว

ความจุของตะแกรง 168 กิโลกรัม (เทียบจากขนาดถัง 500 ลิตร อัตราส่วน 1 : 2)

กำหนดให้

ปริมาตรของตะแกรง (V) 0.168 m^3

เส้นผ่านศูนย์กลางภายนอก (D) 0.6 m

เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน (d) 0.2 m

จาก

$V = \pi / 4 (D^2 - d^2) h$

$0.168\ m^3 = \pi / 4 (0.6^2 - 0.2^2) h$

$h = 0.67$

≈ 0.7 m

$\therefore$ ความสูงของตะแกรงเท่ากับ 0.7 เมตร

แบ่งตะแกรงออกเป็น 8 ส่วน

จาก

เส้นรอบวงของตะแกรงวงใหญ่ $= \pi D$

$= \pi (0.6)$

$= 1.884$ m

$\therefore$ แต่ละส่วนของตะแกรงวงใหญ่จะมีส่วนโค้ง $= 1.884 / 8$

$= 0.236$

≈ 0.24 m

เส้นรอบวงของตะแกรงวงเล็ก $= \pi d$

$= \pi (0.2)$

$= 0.628$ m

$\therefore$ แต่ละส่วนของตะแกรงวงเล็กจะมีส่วนโค้ง $= 0.628 / 8$

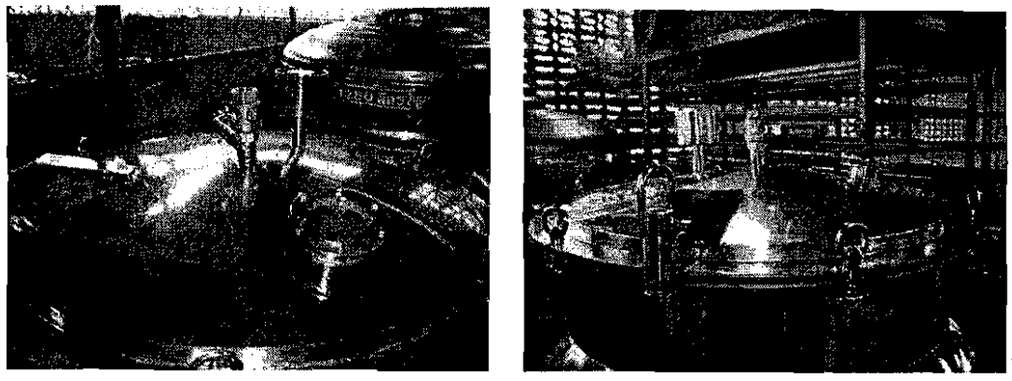
$= 0.079$

≈ 0.08 m

3.4.3 ฝาถัง

ฝาถังติดแอร์ล็อค (Air Lock) เพื่อใช้ในการระบายอากาศในระหว่างการหมักช่วงหลัง และมีท่อสำหรับใส่น้ำในขั้นตอนของการผ่าน้ำ เพื่อความสะดวกเนื่องจากไม่ต้องเปิดฝาถังซึ่งมีขนาดใหญ่ และป้องกันการปนเปื้อนจากการเปิดฝาถัง

การล็อคฝาถังใช้ Spin Lock 6 ตัวและขอบของฝาถังติดซีลยางให้ปิดได้สนิทเนื่องจากเป็นการหมักในระบบปิด ลักษณะการเปิดใช้ Swing Hang เป็นตัวล็อคระหว่างฝาถังกับตัวถัง เปิดโดยเลื่อนฝาถังออกในแนวระนาบ ดังภาพที่ 3.9



ภาพที่ 3.6 ลักษณะของฝาถัง

3.4.4 การประกอบท่อและวาล์ว

ท่อและวาล์วที่เชื่อมต่อกับถังชั้นในประกอบด้วย วาล์วเช็คตัวอย่าง วาล์วสำหรับปล่อยน้ำหมักและวาล์วปล่อยน้ำล้างถัง โดยใช้วาล์ว ∅ เท่ากับ ½ นิ้ว 1 นิ้วและ2 นิ้ว ตามลำดับ

ท่อและวาล์วที่เชื่อมต่อกับถังชั้นนอกประกอบด้วย วาล์วสำหรับถ่ายเทน้ำหล่อเย็น ซึ่งมี ∅ เท่ากับ 1 นิ้ว

3.4.5 การทำโครงสร้าง (ขาถัง)

ใช้ท่อสแตนเลส ∅ 3 นิ้ว เชื่อมติดกับตัวถังชั้นนอก เพื่อยกถังให้มีความสูงจากพื้น 30 เซนติเมตร

3.4.6 การวางแผนการทดสอบ

1. ทำการหมักโดยไม่มีการควบคุมอุณหภูมิ คือ ใช้น้ำหล่อเย็นในถังชั้นนอก แต่ไม่ใช้ระบบทำความเย็นเป็นตัวควบคุมอุณหภูมิ แล้วบันทึกอุณหภูมิที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมักว่าอยู่ในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 25 – 30 องศาเซลเซียส หรือไม่ นอกจากนี้ทำการตรวจวัดค่า % แอลกอฮอล์ด้วย Ebuliometer , ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (^{0}Brix) , pH และ % กรดโดยการไตเตรทกับ 0.1 N NaOH

2. ถ้าอุณหภูมิที่ได้จากการหมักในข้อ 1 อยู่ในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 25 – 30 องศาเซลเซียส นำสาโทที่ได้จากการหมักในข้อ 1 มาเปรียบเทียบความแตกต่างทางด้านสี กลิ่น รสชาติและความชอบรวมกับผลิตภัณฑ์สาโทอื่น โดยสุ่มนักศึกษา 15 คน ทำการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสแล้วนำผลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติ

3. ถ้าอุณหภูมิที่ได้จากการหมักในข้อ 1 ไม่อยู่ในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 25 – 30 องศาเซลเซียส ทำการหมักใหม่โดยมีการควบคุมอุณหภูมิคือ ใช้น้ำหล่อเย็นในส่วนของแจคเกต และต่อชุดระบบทำความเย็น เพื่อลดอุณหภูมิภายในถังหมักให้อยู่ในช่วงอุณหภูมิที่ต้องการ

4. นำน้ำสาโทที่ได้จากการหมักในข้อที่ 1 มาเปรียบเทียบความแตกต่างทางด้านสี กลิ่น รสชาติและความชอบรวมกับสาโทที่ได้จากการหมักในข้อที่ 4 โดยสุ่มนักศึกษา 15 คนทำการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสแล้วนำผลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติ

4. ผลและวิจารณ์

4.1 ศึกษาสัดส่วนของถังหมักที่แตกต่างกัน

เมื่อทดลองหมักข้าวในถังที่มีขนาดมิติต่างๆ กัน เป็นเวลา 5 วัน ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.1 โดยใช้ถังที่มีขนาดสัดส่วนความกว้างต่อความสูง คือ 1: 1 , 1: 1.2และ 1 : 1.4 โดยผลในตารางที่ 4.1 เป็นค่าเฉลี่ยจากผลการทดลอง 3 ครั้ง ครั้งละ 3 ซ้ำ

ตารางที่ 4.1 ผลการทดลองการหมักในระยะเวลา 5 วัน และไม่ผ่าน้ำ

สัดส่วนของถัง (cm)	อุณหภูมิ (^{o}c)	ค่า (TTS, ^{o}Brix)	pH	% แอลกอฮอล์	% กรดแลคติก (การไตเตรท)
1: 1	28.33	29.82	3.72	14.17	12.42
1 : 1.2	28.33	30.24	3.62	13.52	16.66
1 : 1.4	28.66	24.8	3.52	14.60	14.72

หมายเหตุ เป็นข้อมูลจากค่าเฉลี่ย 9 ซ้ำ

จากตารางที่ 4.1 ข้างต้นจะเห็นได้ว่า อุณหภูมิที่ตรวจวัดได้นั้นคือ ค่อนข้างจะใกล้เคียงกันที่เป็นเช่นนี้ก็เพราะว่า การทดลองนี้ทดลองอยู่ในสถานที่เดียวกัน และเมื่อมาเปรียบเทียบค่า (TTS, ^{o}Brix) ที่ออกมานั้นค่อนข้างสูง แต่ก็จะเห็นความแตกต่างของค่า (TTS, ^{o}Brix) ที่วัดได้ในแต่ละถัง คือถังที่มีสัดส่วน 1 : 1 ค่า (TTS, ^{o}Brix) ที่ตรวจวัดได้เฉลี่ยได้ 29 .82 ในส่วนของถังที่ สัดส่วน 1 : 1.2 ค่า (TTS, ^{o}Brix) ที่ตรวจวัดได้เฉลี่ย 28.33 และถังสุดท้าย ค่า (TTS, ^{o}Brix) ที่ตรวจวัดได้เฉลี่ยที่ออกมาจะได้ 24.80 ซึ่งนำมาเขียนกราฟแล้วจะเปรียบเทียบได้ชัดเจน โดยจะเห็นได้ว่าสัดส่วน 1 : 1.4 นั้นมีค่า (TTS, ^{o}Brix) ต่ำสุดเมื่อเทียบกับถังอื่นๆ

สำหรับในส่วนของการตรวจวัดค่า % แอลกอฮอล์ จากตารางที่ 4.1 จะเห็นได้ว่าค่า % แอลกอฮอล์ ในการหมักนี้ค่อนข้างสูง และใกล้เคียงกัน แต่ค่าเฉลี่ยที่เฉลี่ยออกมานั้นเห็นได้ชัดว่า % แอลกอฮอล์ ของถังสัดส่วน 1 : 1.4 นั้นสูงที่สุดคือ 14 .60 % และถัดมาคือถังที่มีสัดส่วน 1 : 1 คือ 14 .17 % และท้ายถังที่สัดส่วน 1 : 1. 2 ค่าที่ได้คือ 13 .52 โดยนำมาเขียนกราฟจะเห็นค่าที่ออกมาชัดเจน และเปรียบเทียบได้ง่ายและค่า % แอลกอฮอล์ ที่ได้ออกมานั้นจะสอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นและลดลงของค่า (TTS,^{o}Brix)

โดยจะเห็นว่าถ้าค่า (TTS,^{o}Brix) ที่วัดได้นั้นต่ำกว่า ค่า % แอลกอฮอล์ที่วัดได้นั้นจะสูงกว่า ซึ่งก็แสดงว่า เชื้อรามีการย่อยแป้งไปเป็นน้ำตาล และถ้าปริมาณน้ำตาลลดลง ก็แสดงว่ายีสต์จะทำงานโดยการเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นแอลกอฮอล์ และจากรูปกราฟที่ 4.1 และรูปกราฟ 4.2 จะเห็นความสัมพันธ์ดังกล่าวที่กล่าวมาข้างต้น

ค่า pH ที่ตรวจวัดได้นำมาเฉลี่ยแล้วนำมาเขียนกราฟ จะเห็นได้ชัดเจนว่า ค่า pH ของการหมักจะอยู่ในช่วง 3.5- 3.7 ซึ่งในการะบวนการหมักนี้ค่า ของการหมักจะพบว่าอยู่ในช่วง 3.3- 3.8 ซึ่งผลการทดลองที่ตรวจวัดออกมานั้นจะอยู่ในช่วงดังกล่าว

ในส่วนของการหา % กรดแลคติกนั้นดูจากตาราง %จะเห็นว่าค่าที่ตรวจวัด แล้วหาค่าเฉลี่ยที่วัดออกมาแล้วนั้นจะพบว่าค่า % กรดแลคติก ที่ตรวจวัดได้นั้นค่อยๆ เพิ่มขึ้นเหมือนค่า แอลกอฮอล์ คือถ้า % แอลกอฮอล์ที่ออกมานั้นสูง ค่า % กรดแลคติก ก็ค่อนข้างสูงด้วย แต่เมื่อหมักไปได้อีกระยะหนึ่ง ค่า % แอลกอฮอล์จะเริ่มคงที่และลดลง แต่ถ้าค่า % กรดแลคติก ยังจะเพิ่มขึ้นไปเรื่อยๆ และถ้ากระบวนการหมักนั้นยังคงดำเนินต่อไปค่า % กรดแลคติก ก็จะเปลี่ยนเป็นกรดน้ำส้ม ซึ่งจากรูป 4.4 จะแสดงให้เห็นค่า % กรดแลคติกของถังหมักที่สัดส่วนต่างกัน

4.2 ศึกษาสัดส่วนของข้าวที่แตกต่างกัน

คือ 1,2,3,4 kg และเติมน้ำลงไปเท่ากัน คือ 1 ลิตร ซึ่งได้จากการทดลองที่ 1 แล้วนำมา สร้างให้มี 4 ถัง

ตารางที่ 4.2 การทดลองหมักระยะเวลา7 วัน (วันที่ 3 ของการหมักจะเติมน้ำ) แล้วบันทึกผลทุกวัน

สัดส่วนข้าว (kg)	อุณหภูมิ ($^{\circ}$c)	ค่า (TTS,$^{\circ}$ Brix)	pH	% แอลกอฮอล์	% กรดแลคติก
1	26.64	9.37	3.50	13.66	11.39
2	26.85	12.86	3.71	14.28	9.44
3	27.07	18.96	3.51	12.28	15.48
4	27.07	22.46	3.45	10.10	17.68

หมายเหตุ เป็นข้อมูลจากค่าเฉลี่ย 7 ซ้ำ

สำหรับผลการทดลองที่ตรวจวัดได้ตามตาราง 4.2 นี้ ได้จากการตรวจวัดการหมัก ในระยะเวลา 7 วันโดยที่วันที่ 3 ของการหมักจะผ่าน้ำ และการหมักนี้จะได้ถังที่มีสัดส่วนเท่ากันคือ 1 : 1.4และในส่วนของตาราง 4.2 นี้ เป็นตารางผลการทดลองที่หาค่าเฉลี่ยแล้ว เมื่อดูตาราง 4.2 ข้างต้น ค่าอุณหภูมิที่ตรวจวัดได้ และแสดงผลตารางข้างต้นจะเห็นว่าอุณหภูมิค่อนข้างใกล้เคียงกัน ทั้งนี้เพราะว่าการทดลองนี้ทดลองอยู่ในสถานที่เดียวกัน ค่าอุณหภูมิที่ตรวจวัดออกมาได้นั้นจึงใกล้เคียงกัน

ค่า (TTS,$^{\circ}$ Brix) ที่ตรวจวัดเห็นได้อย่างชัดเจน เมื่อเปรียบเทียบจากกราฟจะเห็นค่าการตรวจวัดค่า (TTS,$^{\circ}$ Brix) ที่ได้ในแต่ละครั้งและเมื่อทำการหาค่าเฉลี่ยออกมาจะเห็นได้ตามตาราง 4.2 โดยค่า (TTS,$^{\circ}$ Brix) ที่ตรวจวัดได้นั้นจะเป็นดังนี้ คือ ที่สัดส่วนข้าว 1 kg ค่า (TTS,$^{\circ}$ Brix) คือ 9.37 ที่สัดส่วนข้าว 2 kg ค่า (TTS,$^{\circ}$ Brix) คือ 12.86 ที่สัดส่วนข้าว 3 kg ค่า (TTS,$^{\circ}$ Brix) คือ 18.96 และที่สัดส่วนข้าว 4 kg ค่า(TTS,$^{\circ}$ Brix) คือ 22.46

ค่า pH ที่ตรวจวัดได้ในแต่ละสัดส่วนของข้าว ที่ทำการหาค่าเฉลี่ยและค่าที่ได้จะแสดงในตาราง 4.2 และค่า pH ดังกล่าว จะอยู่ในช่วง 3.3 - 3.7 ซึ่งถือว่าเป็น pH ที่เหมาะสมสำหรับกระบวนการหมัก

ค่า % แอลกอฮอล์ที่ตรวจวัดได้ของแต่ละสัดส่วนข้าว พบว่าข้าวที่ 2 kg จะมีค่า % แอลกอฮอล์สูงที่สุดและต่อมาเป็นถังที่ 1 และถังที่ 3 และถังที่ 4 ตามลำดับ โดยถังที่มีค่า % แอลกอฮอล์ สูงสุด

คือถังที่ 2 และต่อมาคือถังที่ 1 และ 3 และ 4 ตามลำดับซึ่งจะสอดคล้องกับค่า (TTS,° Brix) ที่ตรวจวัดได้ คือค่า (TTS,° Brix) จะลดลงและค่าแอลกอฮอล์ทำให้ค่า (TTS,° Brix) ที่เห็นดังกล่าวจึงค่อนข้างน้อยและค่า % แอลกอฮอล์ สูง ถ้าดูจากตาราง 4.2 แล้วค่า (TTS,° Brix) และค่า % แอลกอฮอล์ ของถังที่ 1 และถังที่ 2 จะใกล้เคียงกัน แต่ถังที่ 2 อาจจะดีกว่าเล็กน้อยทั้งนี้จะเป็นเพราะปัจจัยอื่นๆ และสัดส่วนของข้าวที่ใช้แตกต่างกันจึงทำให้ค่า % แอลกอฮอล์ ของถังที่ 1

สำหรับในส่วนการหา % กรดแลคติก ค่า % กรดแลคติก ของถังที่ 2 จะน้อยกว่าถังอื่นๆ ทั้งนี้เนื่องมาจากการเติมน้ำช่วงวันที่ 3 ทำให้ % กรดแลคติก ที่วัดได้ในระยะเวลานี้น้อยและค่า % กรดแลคติกจะมีความสัมพันธ์กับค่า % แอลกอฮอล์ คือเมื่อ% แอลกอฮอล์ สูงจะทำให้เชื้อจุลินทรีย์ที่สร้างกรดแลคติกมีจำนวนน้อย หรือเจริญได้น้อยจึงทำให้ค่ากรดแลคติกมีค่าน้อย

4.3 การทดสอบถังหมักแบบตะแกรงเค็กขนาด 100 ลิตร

จากการทดสอบถังหมักขนาด 100 ลิตร แบบมีตะแกรงบรรจุข้าว พบว่า ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดจะลดลงเรื่อยๆ ในระหว่างการหมัก โดยปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดจะลดลงจากวันแรกเฉลี่ย 0.2 องศาบริกส์ จนวันสุดท้ายของการหมักในวันที่ 12 เหลือเพียง 12.8 องศาบริกส์ เนื่องจากยีสต์ใช้น้ำตาลที่มีในการหมักเปลี่ยนเป็นแอลกอฮอล์ ตลอดระยะเวลาปริมาณแอลกอฮอล์จะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เช่นกัน โดยในวันที่ 12 ที่เป็นวันสุดท้ายของการหมักสาโทมีปริมาณแอลกอฮอล์สูงสุดเฉลี่ยร้อยละ 12.5

การทดสอบการหมักโดยใช้ข้าวเหนียว 25 ลิตร คลุกลูกแป้งแล้วหมักไว้ 3 วัน เพื่อให้เชื้อราในลูกแป้งทำงานย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล หลังจากนั้นเติมน้ำตาลลงไป 12.5 กิโลกรัม ผสมกับน้ำ 75 ลิตร เพื่อทำให้น้ำหมักมีค่าความหวานเท่ากับ 15 องศาบริกส์ ทั้ง 2 วิธีของการหมัก (คือหมักด้วยถังที่ทดสอบและโอ่งมังกร) ปริมาณน้ำตาลจะลดลง ซึ่งเป็นผลจากการทำงานของยีสต์ที่เปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ โดยการหมักที่เกิดในถังหมักสแตนเลสที่ทำการสร้างขึ้น จะมีการลดปริมาณน้ำตาลลงอย่างช้าๆ ในช่วงแรก ในขณะที่โอ่งดินที่ทำการหมัก ปริมาณน้ำตาลจะลดลงเร็วกว่า และปริมาณแอลกอฮอล์จะสูงขึ้นเรื่อยๆ จนหยุดนิ่งที่ 12 % แต่แอลกอฮอล์ที่ได้จากการหมักในโอ่งดิน สูงขึ้นถึงประมาณ 11 % เท่านั้น ดังผลที่แสดงในตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 การเปรียบเทียบการหมักแบบดั้งเดิมกับถังหมักที่ควบคุมอุณหภูมิการหมัก

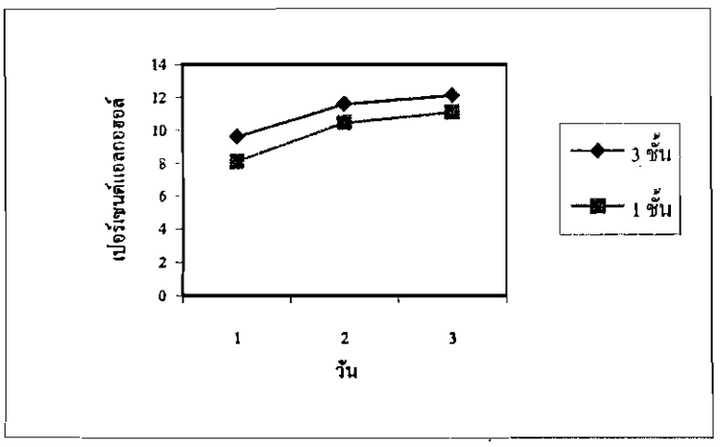
วัน	Alc		°Brix		pH		T °C	
	Tank	Jar	Tank	Jar	Tank	Jar	Tank	Jar
1	5.0	4.5	15.2	15.1	3.78	3.72	28	29.9
2	6.1	5.5	14.8	14.4	3.78	3.72	28	29.9
3	7.3	6.7	14.4	13.8	3.79	3.73	28	29.8
4	8.7	7.8	13.8	13.4	3.80	3.73	28	30.1
5	9.5	9.4	13.4	13.2	3.80	3.74	28	30.6
6	10.1	9.1	13.2	13.0	3.81	3.74	28	30.9
7	10.6	13.7	13.2	13.0	3.81	3.75	28	31.0
8	11.2	10.1	13.0	12.6	3.82	3.75	28	30.8
9	11.5	10.3	13.0	12.4	3.82	3.76	28	30.4
10	11.9	10.8	12.9	12.2	3.83	3.77	28	30.6
11	12.3	10.9	12.9	12.2	3.84	3.77	28	30.8
12	12.5	11.2	12.8	12.0	3.84	3.78	28	31.0

4.4 การทดสอบถังหมักแพคเบด

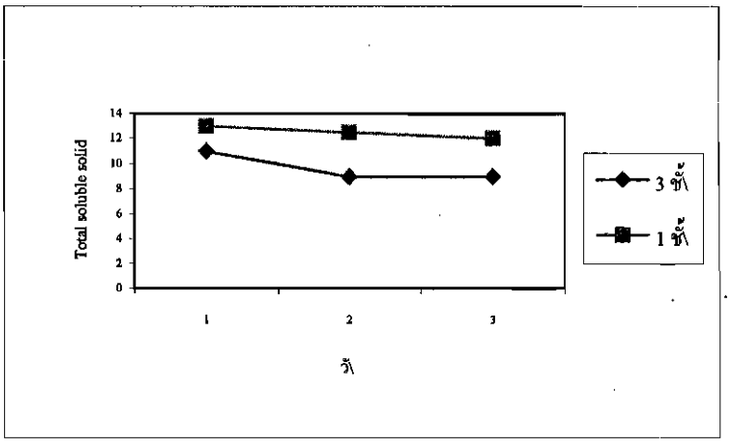
จากการทดสอบการถังหมักสาโทแบบ packed – bed กับถังหมักชั้นเดียวโดยไม่มีการควบคุมอุณหภูมิ มีผลการทดลองดังนี้

ตารางที่ 4.4 การเปรียบเทียบการหมักสาโทในถังหมักแบบ packed – bed กับถังหมักชั้นเดียวโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์

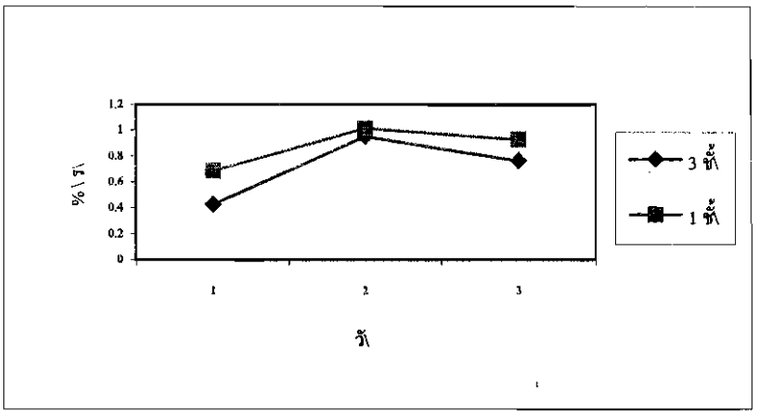
วัน	Alcohol (%)		Total soluble solid (^{o}Brix)		pH		% กรด	
	packed – bed	ชั้นเดียว	paeked – bed	ชั้นเดียว	packed – bed	ชั้นเดียว	packed – bed	ชั้นเดียว
1	9.6	8.1	11	13	3.18	2.95	0.427	0.686
2	11.6	10.45	9	12.5	3.29	3.11	0.952	1.015
3	12.1	11.1	9	12	3.36	3.12	0.763	0.931



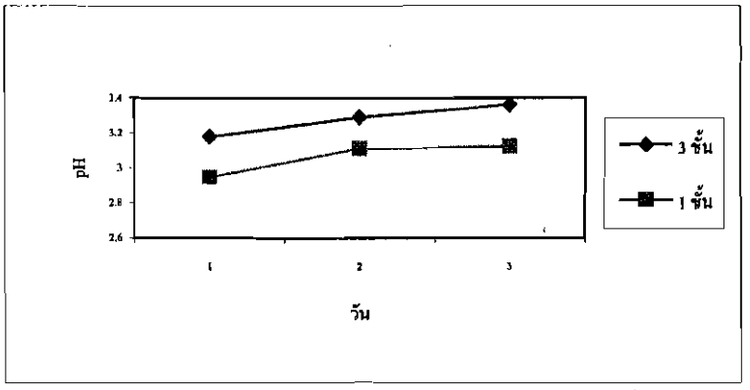
<u>ภาพที่ 4.1</u> การเปรียบเทียบค่า เปอร์เซ็นต์ แอลกอฮอล์ในถังหมัก 3ชั้นกับถังหมัก 1 ชั้น



ภาพที่ 4.2 การเปรียบเทียบค่า Total soluble solid ($^{\circ}$Brix) ในถังหมัก 3 ชั้น กับ 1ชั้น



ภาพที่ 4.3 การเปรียบเทียบค่า % กรด ในถังหมัก 3 ชั้น กับ 1ชั้น



ภาพที่ 4.4 การเปรียบเทียบค่า pH ในถังหมัก 3 ชั้น กับ 1ชั้น

จากการทดสอบการหมักแบบแยกรา – ยีสต์นี้ ใช้ เชื้อรา *Amylomycer rouxii* ในช่วงแรกเป็นราที่ต้องการอากาศในการเจริญ ดังนั้นในช่วง 2- 3 วันแรกของการหมัก ต้องให้อากาศถ่ายเทภายในถังหมักเพื่อให้ราได้รับอากาศอย่างทั่วถึง และเมื่อแป้งในข้าวถูกย่อยให้กลายเป็นน้ำตาลจึงไม่สามารถอุ้มน้ำเอาไว้ได้ และน้ำที่มีอยู่ก็จะซึมออกมาเป็นน้ำเชื่อมข้าว ราจะสร้างกรดทำให้ข้าวมีความเป็นกรด เกิดสภาวะที่เหมาะสมกับการเจริญของยีสต์และยับยั้งแบคทีเรียที่ทำให้ข้าวเน่าเสีย แต่เชื้อยีสต์ *Saccharomyces* ไม่สามารถย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลได้ แต่สามารถใช้น้ำตาลเป็นสารตั้งต้นและเปลี่ยนเป็นเอทานอล

ในกระบวนการหมักแบบแยกรา – ยีสต์นี้ใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces* ในรูปของ starter yeast เติมลงในถังหมักหลังจากที่ราย่อยแป้งได้แล้ว การใช้เชื้อยีสต์ในรูป starter yeast ก็เพื่อเพิ่มจำนวนของเชื้อยีสต์เริ่มต้น เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตแอลกอฮอล์ สาโทที่ได้จากกระบวนการหมักมีปริมาณแอลกอฮอล์เท่ากับ 12 % ลักษณะของสาโทมีกลิ่นข้าว , สีเหลืองใส , เปรี้ยวเล็กน้อย มีค่า pH และปริมาณกรด (%) อยู่ในช่วงที่กำหนด โดย pH จะไม่เกิน 3.6 และ % กรดจะไม่เกิน 0.9% จึงจะได้สาโทที่มีรสชาติดี ดังภาพ 4.3 กับ 4.4

และจากการทดสอบของถังหมัก 2 แบบ จากภาพที่ 4.1 พิจารณาถึงปริมาณแอลกอฮอล์พบว่าในช่วงแรกจะมีการสร้างแอลกอฮอล์อย่างรวดเร็ว ถังหมักแบบ packed – bed (3ชั้น) มีการสร้างแอลกอฮอล์ได้เร็วและสูงกว่าถังหมักชั้นเดียว จากนั้นปริมาณแอลกอฮอล์จะเพิ่มขึ้นช้า ๆและคงที่ในที่สุด และถ้าพิจารณาถึงปริมาณน้ำตาลจะเห็นว่าสอดคล้องกับปริมาณแอลกอฮอล์ คือปริมาณแอลกอฮอล์เพิ่ม ปริมาณน้ำตาลก็จะลดลงดังภาพที่ 4.2 แต่สิ่งที่ทำให้สาโทจากถังหมักทั้ง 2 แบบ แตกต่างกันคือ รสชาติและกลิ่น จากการทดสอบ

ทางประสาทสัมผัส พบว่าสาโทจากการหมักของถังหมัก 2 แบบ มีความแตกต่างกันในด้านความชอบของผลิตภัณฑ์ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 จากการทดลองสุ่มนักศึกษาจำนวน 15 คน

4.5 การทดสอบถังหมักแบบตะแกรงขนาด 500 ลิตร

จากการทดสอบถังหมักสาโทที่ได้ทำการสร้างขึ้น ทำการหมักโดยใช้น้ำหล่อเย็นแต่ไม่ใช้ระบบทำความเย็น ปรากฏว่าอุณหภูมิอยู่ในช่วง 25 – 30 องศาเซลเซียส ผลการเก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์โดยเก็บตัวอย่างวันเว้นวันให้ผลดังตารางที่ 4.5 และ 4.6

ตารางที่ 4.5 ผลการวิเคราะห์สาโทที่ได้จากการหมักโดยใช้ลูกแป้ง

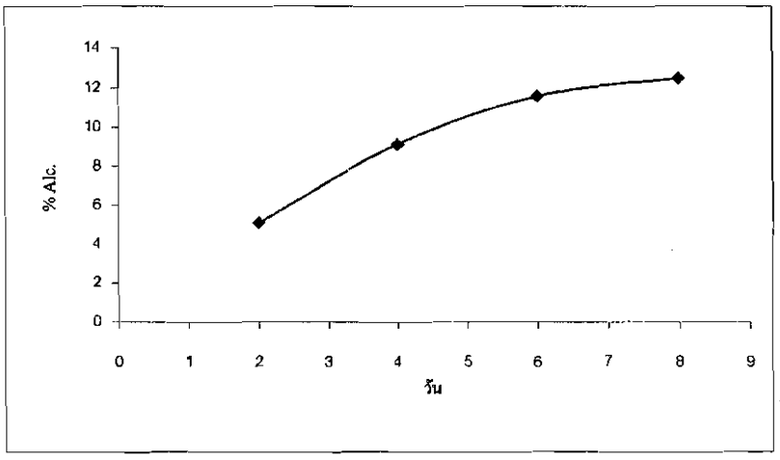
วันที่	% Alc.	°Brix	pH	% กรด	อุณหภูมิ (°C)
2	5.1	14	3.09	2.28	26
4	9.1	10	3.04	2.43	26
6	11.6	7	3.01	2.57	26
8	12.5	6	3.02	2.45	26

ตารางที่ 4.6 ผลการวิเคราะห์สาโทที่ได้จากการหมักแบบใช้เชื้อบริสุทธิ์

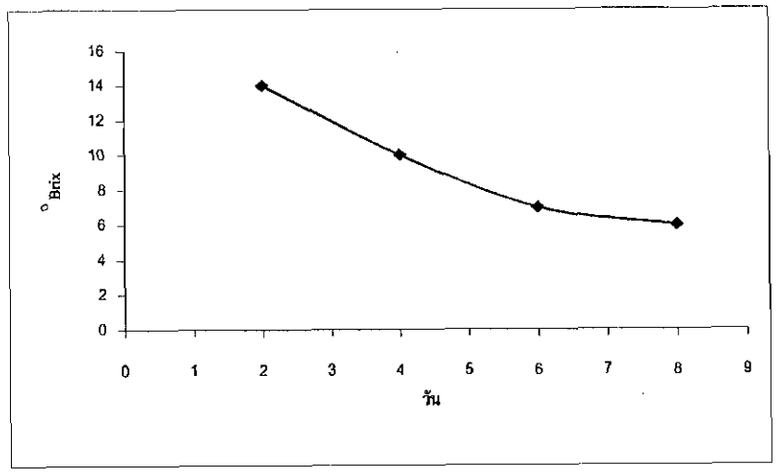
วันที่	% Alc.	°Brix	pH	% กรด	อุณหภูมิ (°C)
2	8.5	10	3.32	0.63	28
3	12.0	9	3.33	0.87	28
4	12.5	9	3.33	0.87	28

จากผลการวิเคราะห์ % Alc. และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ดังภาพที่ 4.5 และ 4.6 พบว่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดจะลดลงเรื่อยๆ และในทางกลับกัน % Alc. จะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จนกระทั่งเกือบคงที่ เนื่องจากในกระบวนการหมักในช่วงนี้เป็นช่วงที่เชื้อยีสต์ในลูกแป้งทำการเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ เมื่อสิ้นสุดการหมักปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเหลือเพียง 6 °Brix และมีปริมาณแอลกอฮอล์ 12.5 % อุณหภูมิในการหมักคงที่ที่ 26 องศาเซลเซียส ดังภาพที่ 4.5 รวมระยะเวลาในการหมัก 8 วัน

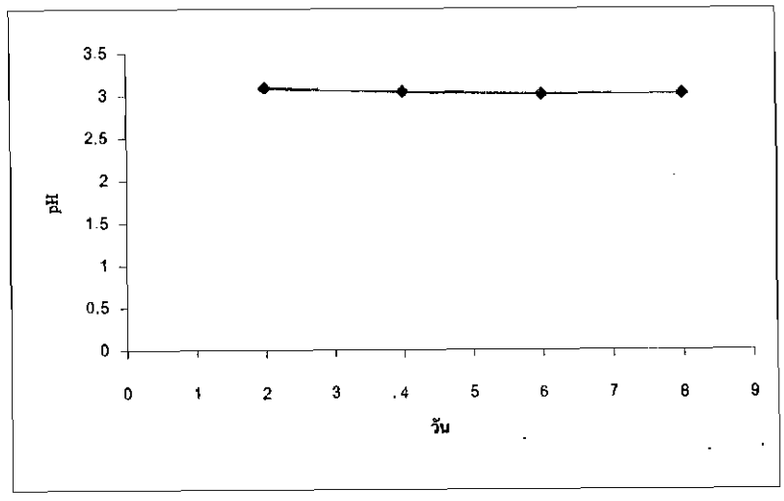
ในส่วนของการวิเคราะห์ค่า pH และ % กรด ดังภาพที่ 4.7 และ 4.8 พบว่าค่า pH ค่อนข้างต่ำ และ % กรดสูงถึง 2.45 % ซึ่งอาจเนื่องมาจากการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในลูกแป้งทำให้เกิดกรดน้ำส้ม ทำให้สาโทที่ได้จากการหมักมีรสเปรี้ยว (วิลาวัณย์ , 2535) จึงทำการหมักใหม่โดยใช้เชื้อบริสุทธิ์



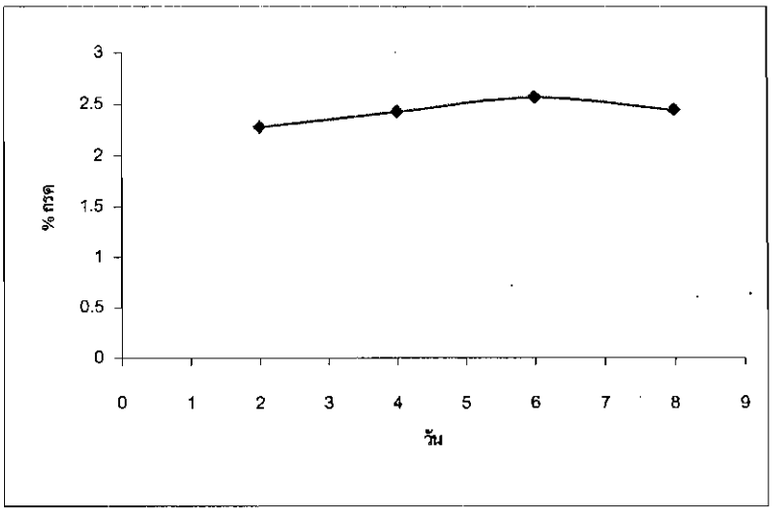
ภาพที่ 4.5 ผลการวิเคราะห์ % Alc. ของสาโทที่ได้จากการหมักโดยใช้ลูกแป้ง



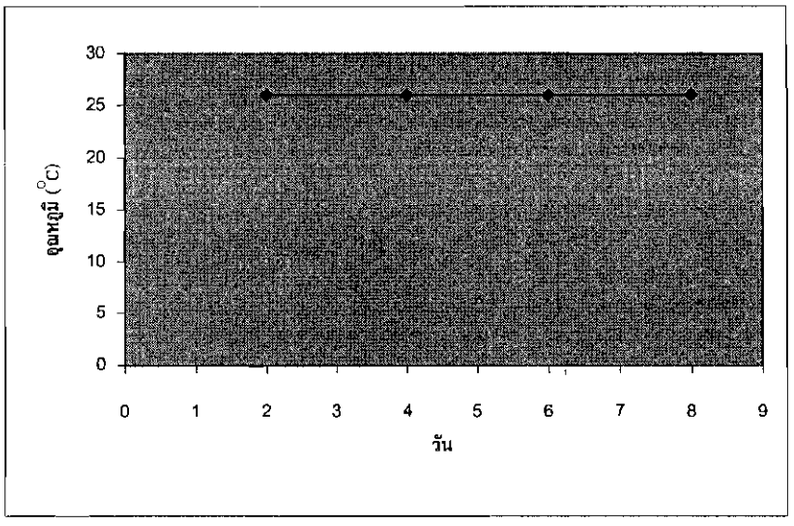
ภาพที่ 4.6 ผลการวิเคราะห์ ° Brix ของสาโทที่ได้จากการหมักโดยใช้ลูกแป้ง



ภาพที่ 4.7 ผลการวิเคราะห์ pH ของสาโทที่ได้จากการหมักโดยใช้ลูกแป้ง



ภาพที่ 4.8 ผลการวิเคราะห์ % กรดของสาโทที่ได้จากการหมักโดยใช้ลูกแป้ง

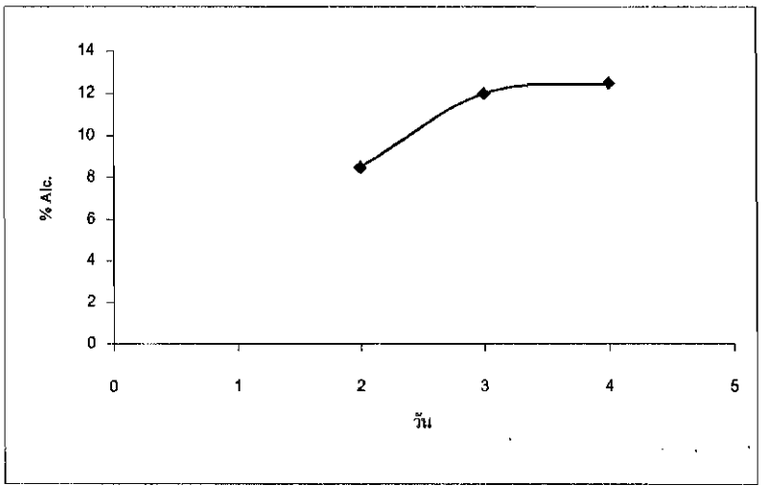


ภาพที่ 4.9 ผลของอุณหภูมิของสาโทที่ได้จากการหมักโดยใช้ลูกแป้ง

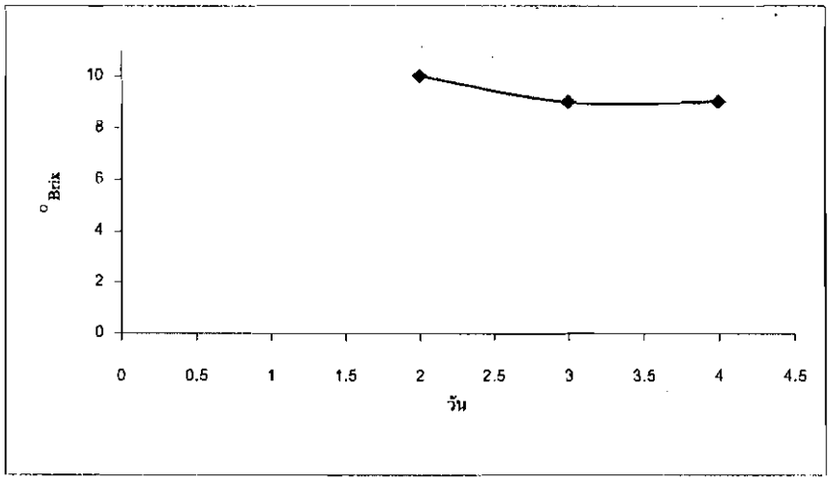
จากผลการวิเคราะห์ % Alc. และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ดังภาพที่ 4.10 และ 4.11 พบว่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดจะลดลงเรื่อยๆ และในทางกลับกัน % Alc. จะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จนกระทั่งเกือบคงที่ เนื่องจากในกระบวนการหมักในช่วงนี้เป็นช่วงที่เชื้อยีสต์ในลูกแป้งทำการเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ เมื่อสิ้นสุดการหมักปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเหลือเพียง 9 ° Brix และมีปริมาณแอลกอฮอล์ 12.5 % อุณหภูมิในการหมักคงที่ที่ 28 องศาเซลเซียส ดังภาพที่ 4.14 ซึ่งสูงกว่าการหมัก

โดยใช้ลูกแป้ง เนื่องจากการหมักโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์เกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว ทำให้เกิดความร้อนในการหมักมากกว่า เป็นผลให้เวลาที่ใช้ในการหมักสั้นกว่าคือ 4 วัน

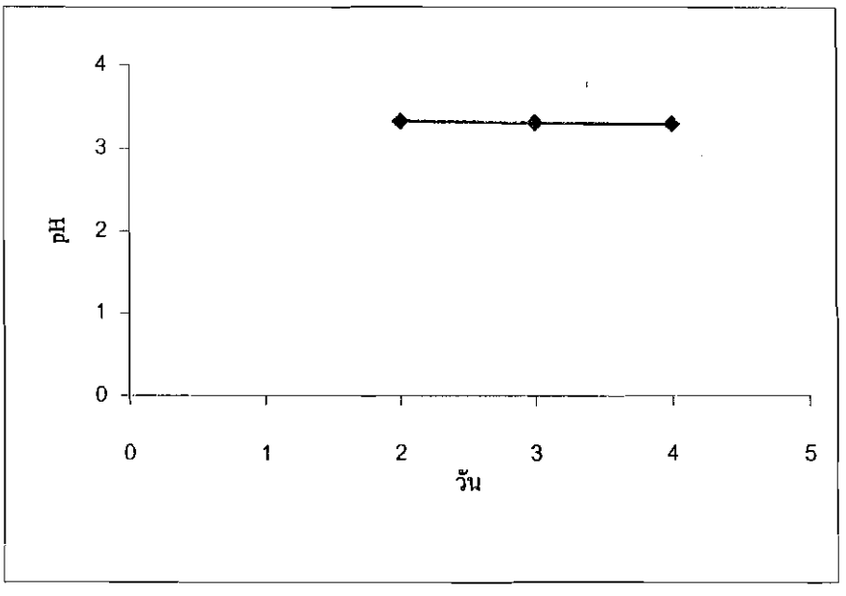
ในส่วนของการวิเคราะห์ค่า pH และ % กรด ดังภาพที่ 4.12 และ 4.13 พบว่าค่า pH และ % กรดที่ได้ อยู่ในช่วงที่เหมาะสม คือ pH อยู่ระหว่าง 3.3 - 3.6 และ % กรดไม่เกิน 0.9 % ทำให้สาโทที่ได้มีกลิ่นรสที่ดี



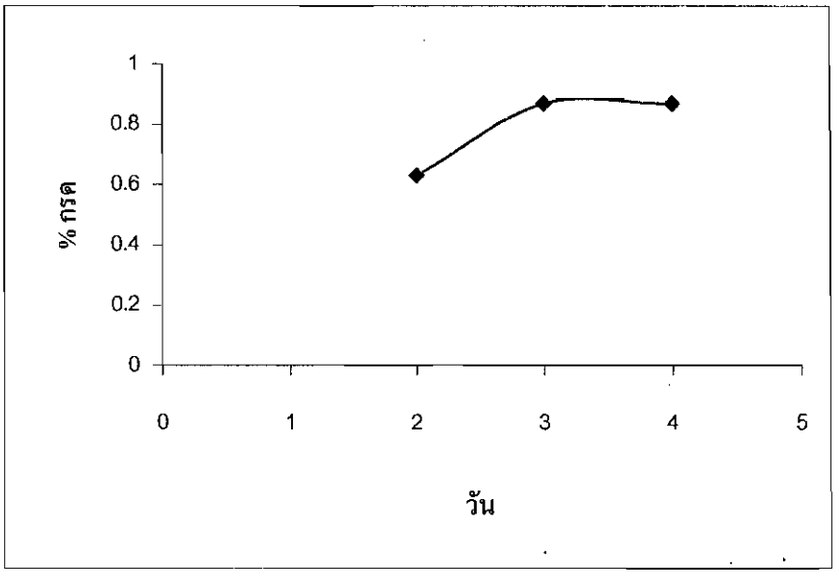
ภาพที่ 4.10 ผลการวิเคราะห์ % Alc. ของสาโทที่ได้จากการหมักโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์



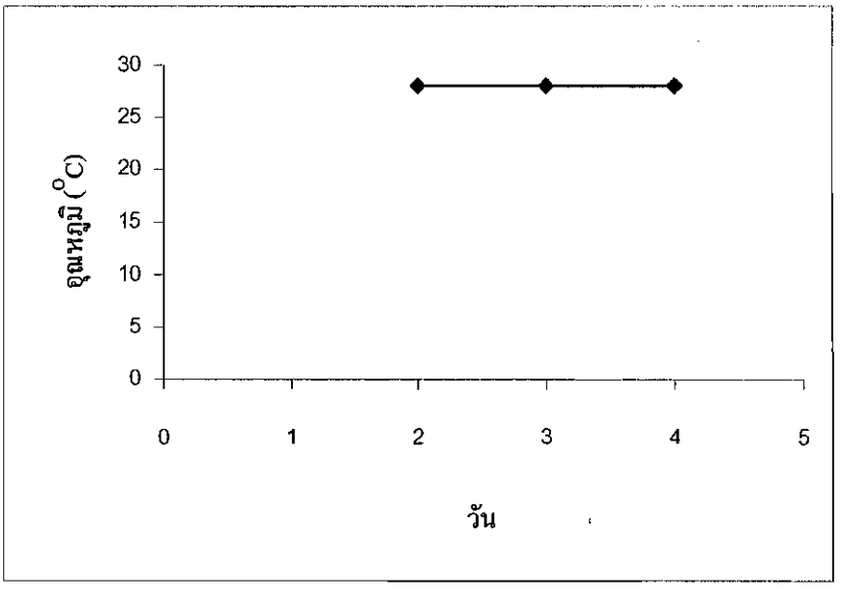
ภาพที่ 4.11 ผลการวิเคราะห์ °Brix ของสาโทที่ได้จากการหมักโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์



ภาพที่ 4.12 ผลการวิเคราะห์ pH ของสาโทที่ได้จากการหมักโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์



ภาพที่ 4.13 ผลการวิเคราะห์ % กรดของสาโทที่ได้จากการหมักโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์



ภาพที่ 4.14 ผลของอุณหภูมิของสาโทที่ได้จากการหมักโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์

การทดสอบทางประสาทสัมผัส

จากการทดสอบทางประสาทสัมผัสเปรียบเทียบสาโทที่ผลิตได้จากถังหมักกับสาโทของผู้ผลิต พบว่าสาโทที่ผลิตได้จากถังหมักมีคุณภาพเทียบเท่าสาโทของผู้ผลิตทั้งทางด้านสี กลิ่น รสชาติและความชอบรวม เนื่องจากผลคะแนนที่ได้จากการเปรียบเทียบไม่มีความแตกต่างที่ระดับความเชื่อมั่น 99 % ดังตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 คะแนนเฉลี่ยการทดสอบประสาทสัมผัส

ลักษณะทางประสาทสัมผัส	สาโทที่ผลิตได้จากถังหมัก	ผลิตภัณฑ์สาโทสยาม
สี	6.13^{ns}	6.53^{ns}
กลิ่น	6.8^{ns}	6.6^{ns}
รสชาติ	6.4^{ns}	6.67^{ns}
ความชอบรวม	7^{ns}	7.2^{ns}

5. สรุปผลการวิจัย

จากผลการวิจัยถึงอัตราส่วนของขนาดของถังหมัก เมื่อกำหนดให้น้ำหนักของข้าวและลูกแป้งเท่ากัน พบว่าถังที่เหมาะสมต่อการหมักสาโทมากที่สุดคือถังที่มีขนาดสัดส่วน 1:1.4 เพราะในกระบวนการหมักสาโท จะมีการหมัก 2 ช่วงคือ ช่วงแรก ราจะทำหน้าที่เปลี่ยนแป้งไปเป็นน้ำตาล ช่วงที่ 2 ยีสต์จะทำหน้าที่เปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นแอลกอฮอล์ สำหรับถังหมักที่เหมาะสม จะต้องเหมาะกับการเจริญของรา ซึ่งเจริญได้ดีเมื่อมีอากาศ และทำให้มีการย่อยแป้งเปลี่ยนเป็นน้ำตาล ส่งผลให้มีความแรงแอลกอฮอล์สูง และถังทั้ง 3 ขนาด ความสูงของถัง 1:1.4 มีความสูงมากที่สุด ทำให้มีช่องว่างในการรับอากาศได้มาก

เมื่อกำหนดให้สัดส่วนของขนาดถังเท่ากัน แต่ใช้ข้าวที่สัดส่วนต่างกัน พบว่าการใช้ถังที่มีสัดส่วน 1:14 ปริมาณข้าวที่เหมาะสมคือ 2 กิโลกรัม เนื่องจากมีช่องว่างในการรับอากาศมากกว่า

ถังหมักสาโทในระดับทดลอง 100 ลิตร ที่ได้ทำการทดสอบ สามารถหมักสาโทได้ครั้งละ 100 ลิตร ซึ่งใช้ระบบควบคุมอุณหภูมิภายในจากระบบแจกเก็ต ซึ่งอยู่รอบนอกตัวถัง สามารถควบคุมอุณหภูมิของการหมักสาโทไว้ให้คงที่ได้ในช่วงอุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส จากการใช้น้ำธรรมดาในการหล่อด้านข้าง โดยสามารถตรวจสอบอุณหภูมิการหมักภายในถังได้ โดยใช้เทอร์โมมิเตอร์ซึ่งติดอยู่ด้านบนของถังหมัก

ถังหมักสาโทแบบ packed – bed ที่ได้ทำการสร้างขึ้นสามารถหมักสาโทได้ครั้งละ 100 ลิตร ในช่วงการหมักโคจิอุณหภูมิภายในถังหมักประมาณ 34°C ซึ่งราสามารถเจริญ และหลังจากผ่านำ้อุณหภูมิถังหมักประมาณ 29°C - 31 °C ซึ่งไม่ทำให้เชื้อยีสต์ตายได้ ในการหมักสาโทจะเห็นว่าถังหมักสาโทแบบ packed – bed (3 ชั้น) สามารถหมักได้เร็วกว่าถังหมักแบบชั้นเดียว ใช้เวลาทำการหมัก 8 วัน ให้เปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ได้สูงและเร็วกว่าถังหมักชั้นเดียว

ถังหมักสาโทในระดับโรงงานต้นแบบที่ได้ทำการออกแบบและสร้างขึ้น สามารถหมักสาโทได้ในปริมาตร 500 ลิตร ควบคุมอุณหภูมิในการหมักโดยใช้น้ำหล่อเย็นในชั้นนอกของถังหมัก โดยอุณหภูมิในการหมักอยู่ในช่วงที่เหมาะสมคือ 25 – 30 องศาเซลเซียส และปรับปรุงกระบวนการหมักให้อยู่ในสภาพปิด โดยใช้แอร์ล็อคและฝาถังซีลยางป้องกันอากาศเข้าในระหว่างกระบวนการหมักในช่วงหลัง สาโทที่ได้จากการหมักเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์สาโทอื่นโดยการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส ให้ผลเป็นที่ยอมรับได้

เอกสารอ้างอิง

ชัยวัฒน์ จาติเสถียร . 2520 . การคัดเลือกสายพันธุ์เชื้อราและยีสต์ในลูกแป้งสำหรับการหมักข้าวหมาก. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ . กรุงเทพ.

พิไลพรรณ พงษ์พูล . 2523 . การศึกษาชีววิทยาของลูกแป้ง . สภาวิจัยแห่งชาติ . กรุงเทพ .

มนตรี เชาว์สังเกต . 2521 . การเลือกสายพันธุ์ยีสต์และรา เพื่อใช้ในการผลิตไวน์ข้าว . วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ . กรุงเทพ .

สุราษฎ์ กุฏอินทร์ และ จรูญ คำนวณตา . 2524 . การทำลูกแป้งเชื้อเพื่อผลิตแอลกอฮอล์ในชนบท . รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ เรื่องการปรับปรุงประสิทธิภาพของการหมัก เพื่อการผลิตแอลกอฮอล์

จรูญ คำนวณตา . 2530 . การสัมมนาเชิงวิชาการเรื่อง การพัฒนาการผลิตสุราและแอลกอฮอล์ . มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ .

จรูญ คำนวณตา และ มนตรี เชาว์สังเกต . การสัมมนาเชิงวิชาการเรื่อง สาโทและอุ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บริษัท ไทยเมจิ ฟาร์มาซูติคัล จำกัด

บรรจงจิต มหินทรเทพ และคณะ . 2530 . การผลิตลูกแป้งด้วยเชื้อบริสุทธิ์เพื่อใช้เป็นกล้าน้ำส้มสายชู . วารสารเกษตรศาตร์.

กฤษณามรวิสิฐ , ขุน 2490 การทำสุรา . สามิตสาร .

จรูญ คำนวณตา . 2525 . การควบคุมขบวนการหมักแอลกอฮอล์ . ภาควิชาจุลชีววิทยา . มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ .

พุทธรินทร์ วรรณิสสร . 2527 . ผลเครื่องเทศต่อจุลินทรีย์ในลูกแป้ง . วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ . กรุงเทพ .

เอกสารประกอบการอบรมฤดูร้อน . เรื่อง การควบคุมขบวนการหมักแอลกอฮอล์ . 26 – 30 เมษายน 2525 . ศูนย์ปฏิบัติการวิจัยและเรื่องปลูกพืช ทดลอง . วิทยาเขตกำแพงแสน. จังหวัดนครปฐม . ศูนย์ส่งเสริมและการฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ และชมรมผู้หมักแอลกอฮอล์แห่งประเทศไทย . มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

บุญเชียร์ ตระกูลโศภิษณ์ และ สรินยาพร เฉียงไธสง . 2524 . การผลิต Poly - β - hydroxylalkanoate โดยใช้ Alcalignes Alcalignices ร่วมกับ Lactobacillus Plantarum TISTR 926 : Special Project in Biotechnology . ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น

พิชิต เลี่ยมพิพัฒน์ . 2540 . พลาสติก พิมพ์ครั้งที่ 4

สมใจ ศิริโภค . 2537 . เทคโนโลยีการหมัก . ศูนย์ส่งเสริมกรุงเทพ : กรุงเทพ .

นัยทัศน์ ภู่ศรัญย์ . อุตสาหกรรมการหมักดอง . ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะทรัพยากรธรรมชาติ มอ .

ชัยสวัสดิ์ เทียนวิบูลย์ . 2535 . กลศาสตร์ของไหล . โรงพิมพ์ ก . วิวรรณ : กรุงเทพ .

สุนันท์ ศรัณยนิตย์ . 2542 . กลศาสตร์ของไหล . สมาคมส่งเสริมเทคโนโลยี (ไทย – ญี่ปุ่น) : กรุงเทพ .

ภาควิชาวิศวกรรมอาหาร คณะวิศวกรรมและเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล . 2545 . เอกสารประกอบการอบรมหลักสูตรการผลิตสุราพื้นบ้านสำหรับผู้ประกอบการ , สมาคมผู้ผลิตไวน์ผลไม้และสุราพื้นบ้านไทย : กรุงเทพ . 43 น.

ตระการ เก้ากสิกรรม . 2540 . คู่มือถังรับแรงดัน . กรุงเทพ .

http://www. Fao.org/docrep/x2184/x2184e09.htm.

Barid , Ronald . and David T . Industrial Plastic . South Holland , 1982 : The Goodheart Willcox Company , Inc .

Kosaric , N. , Wieczorek , A ., Cosention , G . P . , Magee , R . J . and Prenosil,. J . E . 1983 . Ethanol fermentation . In : Biotechnology , (Ed . H – J . Rehm and G. Reed) vol . 3 , pp . 257 – 358 , Verlag Chemie , Weisheim , Florida , Basel

De Souzza , L . J . , Heyes , R. H. , Abernethy , P. E. , Poosaran , N and Rogers , P . L 1984 . Pilot scale production of ethanol from cassava . Proceeding 6 th . Australian Biotechnology Conference : Brisbane , Australia . pp . 211 – 218

Finn , R , K . 1954 . Agitation – aeration in the laboratory and industry . Bact . Rev . 18 , 254 – 274

Maiorella , B . L., Blanch , H . W . and Wilke , C . R . 1984 . Biotechnology report : Economic evaluation of alternative ethanol fermentation process . Biotechnol . Bioeng . 26 , 1003 – 1025

Smith , J . E . 1981 . Biotechnology . lst ed . Edward Arnold Ltd . London . 77 p.