

## บทที่ 2

### เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### 2.1 สุรากลั่น

มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมสุรากลั่น (กระทรวงอุตสาหกรรม, 2544) ให้นิยามไว้ว่า “สุรา” หมายถึง เครื่องดื่มที่มีแรงแอลกอฮอล์เกิน 0.5 ดีกรี แต่ไม่เกิน 80 ดีกรี (เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร) และตามพระราชบัญญัติสุรา 2493 ได้แบ่งสุราเป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ สุราแช่ และสุรากลั่น

1) สุราแช่ หมายถึง สุราที่ได้มาจากการหมักพืชผลทางการเกษตรทั้งผลไม้ และสมุนไพร มีแรงแอลกอฮอล์ไม่เกิน 15 ดีกรี หรือเปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร

สุราแช่และผลิตภัณฑ์ มีหลายชนิดทั้งที่เป็นสุราแช่ชนิดสุราผลไม้ สุราแช่พื้นเมือง อุ สาเก กระแช่ น้ำตาลเมา ผลิตภัณฑ์จากผลผลิตทางการเกษตรที่มีแรงแอลกอฮอล์ไม่เกิน 15 ดีกรี ก็จัดรวมอยู่ในกลุ่มนี้ด้วย ทั้งนี้ไม่รวมเบียร์ (ประดิษฐ์, 2544) ตัวอย่างของสุราแช่พื้นบ้านไทย ได้แก่

1.1) สาโท หรือ เหล้าโท ทำจากการหมักข้าวเหนียวขาวหรือข้าวเหนียวดำ (สาโทที่ได้เรียกว่า น้ำขาว และ น้ำแดง ตามลำดับ) นำมานึ่งให้สุกแล้วคลุกกับลูกแป้งเหล้า ช่วง 3 วันแรกจะหมักแบบไม่เติมน้ำ จะเติมน้ำในวันที่ 4 ของการผลิต ใช้เวลาในการหมัก 1-3 สัปดาห์ แล้วกรองผ่านผ้าขาวบาง มีสีขุ่น รสหวาน หอม เฝื่อนเล็กน้อย

1.2) อุ ทำจากการหมักข้าวเหนียวผสมเกลบหนึ่งด้วยลูกแป้งเหล้า หมักขึ้นๆไม่เติมน้ำในโอ่ง หรือไหที่ปิดฝาอ่อนข้างสนิทเป็นเวลา 2-3 สัปดาห์ เวลาจะดื่มให้เปิดฝาโอ่ง หรือไหเติมน้ำสะอาด 1-2 ครั้ง ใช้หลอดไม้ไผ่หรือไม้ซางดูด น้ำอุมีสีออกสีชาหรือน้ำตาลอ่อน รสหวานหอม เฝื่อนเล็กน้อย

1.3) น้ำตาลเมา ทำจากการหมักน้ำตาลสด น้ำตาลสดที่ใช้อาจได้จากต้นตาล หรือต้นมะพร้าว ใช้เวลาหมักไม่เกิน 7 วัน มีลักษณะขุ่น มีฟอง ต้มแล้วฆ่าลินเล็กน้อย รสหอมหวาน มีรสเฝื่อนเล็กน้อย เนื่องจากเติมเศษไม้มะเกลือเผาหรือไม้บางชนิดลงไปหมักด้วย บางท้องถิ่นที่เรียกน้ำตาลเมาเป็นกะแช่ บางแห่งเรียกกะแช่ว่าสาโทหรือน้ำขาว น้ำตาลเมาจากนิยมนิยมดื่มแบบสด

2) สุรากลั่น หมายถึง สุราที่ได้จากการกลั่นน้ำสำเป็นสุรา หรือกลั่นน้ำสำเป็นแอลกอฮอล์ ก่อนแล้วปรุงแต่งให้เป็นสุรา ทั้งนี้รวมถึงสุรากลั่นที่ผสมกับของอื่น หรือเครื่องดื่มชนิดอื่น แต่ถ้าผสมกับไวน์ต้องได้แรงแอลกอฮอล์เกิน 23 ดีกรี (กระทรวงอุตสาหกรรม, 2544)

สุรากลั่นชุมชน หมายถึง สุรากลั่นชนิดสุราขาว ซึ่งสุราขาว หมายถึง สุรากลั่นที่ได้จากน้ำสำที่ได้จากข้าว หรือน้ำตาล หรือผลไม้ หรือน้ำผลไม้ หรือจากวัตถุดิบทางการเกษตรใดๆ ที่มีแป้ง หรือน้ำตาล โดยปราศจากเครื่องย้อม หรือสิ่งปรุงผสมปรุงแต่งอื่นนอกจากน้ำ มีแรงแอลกอฮอล์เกิน 15 ดีกรี หรือเปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร แต่ไม่เกิน 40 ดีกรี หรือเปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร (กระทรวงอุตสาหกรรม, 2546)

นอกจากนี้การเรียกชื่อสุรากลั่นส่วนมากจะเรียกตามกรรมวิธีผลิต เช่น สุราผสม สุราผสมพิเศษ สุราปรุงพิเศษ วอดก้า ยิน วิสกี้ บรั่นดี และรัม เป็นต้น

มาตรฐานผลิตภัณฑ์สุรากลั่น (distilled liquor) ของสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กำหนดนิยามของสุรากลั่นชนิดต่างๆ ไว้ดังนี้ (ชาลิต, 2547)

สุราผสม สุราผสมพิเศษ สุราปรุงพิเศษ หมายถึง สุรากลั่นที่ได้จากการนำสุราขาวและหรือแอลกอฮอล์บริสุทธิ์มาปรุงแต่ง หรือแช่กับผลไม้ พืช หรือสมุนไพร เพื่อให้ได้กลิ่นรสตามที่ต้องการ แต่ไม่อ้างสรรพคุณว่าเป็นยา ทั้งนี้จะกลั่นใหม่หรือไม่ก็ได้ ในการบรรจุภาชนะเพื่อจำหน่ายต้องปรุงแต่งให้มีแรงแอลกอฮอล์ไม่เกิน 40 ดีกรี

สุราผลไม้ (Fruit spirit) หมายถึง สุรากลั่นที่ได้จากการกลั่นไวน์ที่ทำจากองุ่นหรือผลไม้ อื่น มีแรงแอลกอฮอล์ต่ำกว่า 95 ดีกรี ไม่มีการบ่ม ในการบรรจุภาชนะเพื่อจำหน่ายต้องปรุงแต่งให้มีแรงแอลกอฮอล์ไม่เกิน 50 ดีกรี

สุราที่มีสรรพคุณเป็นยา (Medicated liquor) หมายถึง สุรากลั่นซึ่งปรุงแต่งด้วยสารสกัดหรือหัวน้ำเชื้อหรือส่วนใดส่วนหนึ่งของพืชหรือสัตว์ซึ่งมีสรรพคุณเป็นยา แล้วปรุงแต่งกลิ่นรสให้ได้ตามต้องการ ในการบรรจุภาชนะเพื่อจำหน่ายต้องปรุงแต่งให้มีแรงแอลกอฮอล์ไม่ต่ำกว่า 28 ดีกรี

วอดก้า (Vodka) หมายถึง สุรากลั่นที่ได้จากการนำสุรากลั่นผ่านกระบวนการกำจัดกลิ่นเฉพาะตัวซึ่งเกิดจากวัตถุดิบ โดยวิธีการกลั่นซ้ำหรือกรองด้วยถ่าน ทั้งนี้อาจมีการปรุงแต่งกลิ่นรสอีกด้วย หรือไม่ก็ได้ และในการบรรจุภาชนะเพื่อจำหน่ายต้องปรุงให้มีแรงดีกรีแอลกอฮอล์ไม่ต่ำกว่า 38 ดีกรี

ยิน (Gin) หมายถึง สุรากลั่นที่ได้จากการกลั่นน้ำสำร่วมกับหรือผ่านผลจูนิเปอร์ หรือผสมสุรากลั่นกับสารสกัดของผลจูนิเปอร์เป็นส่วนใหญ่ และอาจมีสารสกัดของพืชชนิดอื่นๆ ร่วมด้วยการบรรจุภาชนะเพื่อจำหน่ายต้องปรุงให้มีแรงแอลกอฮอล์ไม่เกิน 45 ดีกรี

วิสกี้ (Whisky) หมายถึง สุรากลั่นที่ได้จากการกลั่นน้ำสาของธัญพืชชนิดต่างๆ เช่น ข้าวบาร์เลย์ ข้าวมอลต์ ข้าวโพด ข้าวเจ้า และข้าวเหนียว มีแรงคิกอรีแอลกอฮอล์ไม่เกิน 95 ดีกรี และเก็บบ่มในถังไม้ที่เหมาะสมเป็นเวลาไม่น้อยกว่า 2 ปี ในการบรรจุภาชนะเพื่อจำหน่ายต้องปรุงแต่งให้มีแรงแอลกอฮอล์ไม่ต่ำกว่า 40 ดีกรี และให้หมายความรวมถึงสุรากลั่นที่ได้จากการปรุงแต่งวิสกี้ไม่น้อยกว่า 25 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตรกับแอลกอฮอล์ที่กลั่นได้จากธัญพืช ในการบรรจุภาชนะเพื่อจำหน่ายต้องปรุงแต่งให้มีแรงแอลกอฮอล์ไม่ต่ำกว่า 40 ดีกรี

บรั่นดี (Brandy) หมายถึง สุรากลั่นที่ได้จากการกลั่นไวน์ที่ทำจากองุ่นหรือผลไม้อื่น มีแรงคิกอรีแอลกอฮอล์ไม่เกิน 95 ดีกรี และเก็บบ่มในถังไม้ที่เหมาะสมเป็นเวลาไม่น้อยกว่า 1 ปี ในการบรรจุภาชนะเพื่อจำหน่ายต้องปรุงแต่งให้มีแรงแอลกอฮอล์ไม่ต่ำกว่า 38 ดีกรี และให้ความหมายรวมถึงสุรากลั่นที่ได้จากการกลั่นไวน์ที่ทำจากองุ่นกับไวน์ที่ทำจากผลไม้อื่น มีแรงคิกอรีแอลกอฮอล์ไม่เกิน 95 ดีกรี และบ่มในถังไม้ที่เหมาะสมเป็นเวลาไม่น้อยกว่า 1 ปี หรือได้จากการผสมบรั่นดีจากองุ่นกับบรั่นดีผลไม้อื่น และให้รวมถึงที่ได้จากการผสมบรั่นดีไม่น้อยกว่า 25 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตรกับแอลกอฮอล์ที่กลั่นได้จากผลไม้หมักด้วย ในการบรรจุภาชนะเพื่อจำหน่ายต้องปรุงแต่งให้มีแรงแอลกอฮอล์ไม่ต่ำกว่า 38 ดีกรี

รัม (Rum) หมายถึง สุรากลั่นที่ได้จากการกลั่นน้ำสาจากน้ำอ้อย น้ำตาลอ้อย หรือกากน้ำตาลอ้อย แล้วบ่มที่แรงแอลกอฮอล์ไม่เกิน 80 ดีกรี ในถังไม้ที่เหมาะสมเป็นเวลาไม่น้อยกว่า 1 ปี ในการบรรจุภาชนะเพื่อจำหน่ายต้องปรุงแต่งให้มีแรงแอลกอฮอล์ไม่ต่ำกว่า 30 ดีกรี และให้หมายความรวมถึง สุรากลั่นที่ได้จากการปรุงแต่งรัมไม่น้อยกว่า 25 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตรกับปริมาณแอลกอฮอล์ที่กลั่นได้จากน้ำสาของผลิตภัณฑ์จากอ้อยด้วย ในการบรรจุภาชนะเพื่อจำหน่ายต้องปรุงแต่งให้มีแรงแอลกอฮอล์ไม่ต่ำกว่า 30 ดีกรี

เกาเหลียง (Sorghum spirit) หมายถึง สุรากลั่นที่ได้จากการกลั่นน้ำสาข้าวฟ่าง หรือน้ำสาข้าวฟ่างผสมกับน้ำสาของธัญพืชอื่น แล้วปรุงแต่งแรงแอลกอฮอล์ไม่เกิน 60 ดีกรี ในการบรรจุภาชนะเพื่อจำหน่าย

ไลต์รัม (Light rum) หมายถึง สุราที่กลั่นได้จากการกลั่นน้ำสาจากน้ำอ้อย น้ำตาลอ้อย หรือกากน้ำตาลอ้อยในการบรรจุภาชนะเพื่อจำหน่ายต้องปรุงแต่งให้มีแรงแอลกอฮอล์ไม่เกิน 40 ดีกรี

คอร์เดียล หรือลิเคียวร์ (Cordial or Liqueur) หมายถึง สุรากลั่นที่ได้จากการผสมสุรากลั่นหรือกลั่นสุราร่วมกับ หรือผ่านผลไม้ ดอกไม้ ต้นพืช น้ำผลไม้ หรือสารให้กลิ่นรสตามธรรมชาติ หรือที่สกัดได้ แล้วปรุงแต่งรสด้วยน้ำตาลหรือน้ำเชื่อมไม่น้อยกว่า 2.5 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก

คือค็อกเทลสำเร็จรูป หรือสุราที่มีแรงแอลกอฮอล์ต่ำ (Pre-mixed cocktail) หมายถึง สุรากลั่นที่ได้จากการนำสุรากลั่นมาปรุงแต่งกับของผสมอย่างอื่นเพื่อให้ได้สี กลิ่น รส และแรงแอลกอฮอล์ตามต้องการ

การผลิตสุรากลั่นผสมชนจากข้าว เป็นการสร้างความเป็นเอกลักษณ์ให้กับผลิตภัณฑ์สุรากลั่น ซึ่งขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของข้าวในแต่ละภูมิภาค เช่น ข้าวเหนียวขาว ข้าวเหนียวดำ และข้าวหอมมะลิ เป็นต้น นอกจากนี้ยังสามารถลดการใช้กากน้ำตาล ซึ่งเป็นวัตถุดิบที่ไม่สามารถคาดหวังกับคุณภาพ และราคาได้ (ยุพกนิษฐ์, 2548) สำหรับต้นทุนการผลิตสุรากลั่นจากข้าวจะสูงกว่ากากน้ำตาล แต่คุณภาพที่ได้นั้นดีกว่ากากน้ำตาลมาก เนื่องจากสุรากลั่นที่ได้มีความนุ่มนวล และให้กลิ่นหอมมากกว่า แต่กรรมวิธีการผลิตสุรากลั่นจากข้าวที่ใช้กันอยู่นี้ มักได้สุราที่มีกลิ่นรสที่ไม่ค่อยดี ผู้บริโภคไม่ค่อยยอมรับ โดยแหล่งที่มาของกลิ่นที่ไม่ดีนั้น คือลูกแป้ง ซึ่งประกอบด้วยสมุนไพร เชื้อรา ยีสต์ และแบคทีเรีย หากใช้วิธีอื่นในการย่อยแป้งข้าวเป็นน้ำตาล แทนการใช้ลูกแป้ง และเลือกสายพันธุ์ยีสต์บริสุทธิ์ที่เหมาะสมกับการหมักข้าว น่าจะเป็นวิธีที่ช่วยแก้ปัญหาสุรากลั่นนี้ได้ (คุณวุฒิ, 2548)

## 2.2 ข้าวที่ใช้เป็นวัตถุดิบหลักในการผลิตสุรากลั่น

### 2.2.1 วัตถุดิบทั่วไปที่ใช้ในการผลิตแอลกอฮอล์

แอลกอฮอล์ที่ได้จากการหมักนั้น ต้องใช้วัตถุดิบที่ให้น้ำตาล ซึ่งยีสต์สามารถหมักได้ในสภาวะที่เหมาะสม วัตถุดิบดังกล่าวจำแนกได้เป็น 4 ประเภท ได้แก่

1) วัตถุดิบที่เป็นน้ำตาล (Saccharide materials) เช่น น้ำตาล น้ำผลไม้ น้ำผึ้ง น้ำตาลสด และกากน้ำตาล เป็นต้น การผลิตสุราจากวัตถุดิบประเภทนี้จะได้จากการหมักด้วยจุลินทรีย์พวกยีสต์ซึ่งทำหน้าที่เปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ และเนื่องจากวัตถุดิบประเภทนี้มีน้ำตาลอยู่แล้ว การทำสุราจึงมีการปรับปริมาณน้ำตาลให้อยู่ในระดับที่เหมาะสม แล้วหมักได้เลยโดยการหมักจะใช้เวลาน้อยกว่าการหมักวัตถุดิบที่เป็นแป้ง เพราะจุลินทรีย์พวกยีสต์สามารถเปลี่ยนน้ำตาลที่มีอยู่ให้เป็นแอลกอฮอล์ได้ทันที (กล้าณรงค์ และคณะ, 2545)

2) วัตถุดิบที่เป็นแป้ง (Starchy materials) เป็นวัตถุดิบที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบอยู่สูง สามารถใช้เป็นแหล่งพลังงานของยีสต์ได้ แต่ต้องผ่านการย่อยแป้งเป็นน้ำตาลเสียก่อน โดยอาจใช้กรด หรือเอนไซม์จากเมล็ดพืชที่กำลังงอก (malt) หรือใช้จุลินทรีย์ชนิดที่สร้างเอนไซม์อะไมเลส หรือใช้เอนไซม์อะไมเลสทางการค้าที่สกัดจากจุลินทรีย์ ก็ได้ ซึ่งวัตถุดิบในกลุ่มนี้แบ่งได้เป็น 2 พวกใหญ่ๆ (ยุพกนิษฐ์, 2548) คือ

2.1) เมล็ดธัญพืช ได้แก่ ข้าวเหนียว ข้าวเจ้า ข้าวโพด ข้าวสาลี ข้าวบาเลย์ ข้าวโอ๊ต ข้าวไรย์ และข้าวฟ่าง เป็นต้น

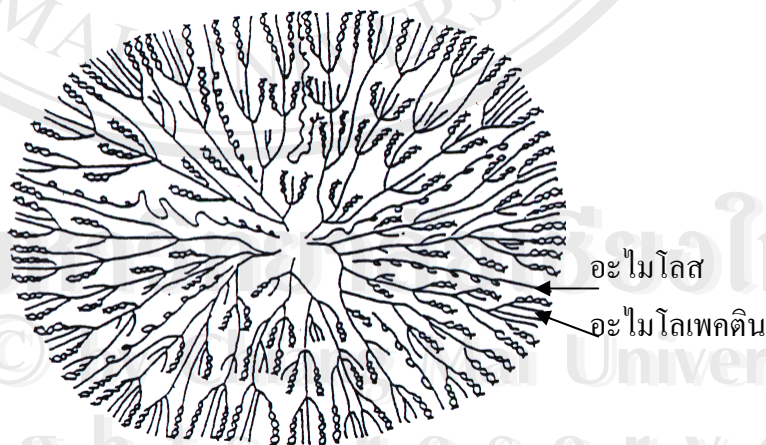
2.2) พืชที่เก็บแป้งไว้ในหัว และราก ได้แก่ มันสำปะหลัง มันฝรั่ง และมันเทศ เป็นต้น

3) วัสดุที่เป็นเซลลูโลส (Cellulosic materials) เช่น ไม้ ของเสียจากอุตสาหกรรมป่าไม้ (wood waste) และเศษวัสดุจากการเกษตร วัสดุเหล่านี้ย่อยสลายยากจำเป็นต้องผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส เพื่อเปลี่ยนเซลลูโลสให้เป็นน้ำตาลก่อนที่จะใช้ยีสต์หมักต่อให้เกิดแอลกอฮอล์

4) วัสดุจากผลพลอยได้จากกระบวนการทางอุตสาหกรรม เช่น หางนม (whey) และของเสียจากผลไม้ (fruit wastes) เป็นต้น ซึ่งมีน้ำตาลอยู่เมื่อนำไปหมักด้วยเชื้อยีสต์ ก็จะได้แอลกอฮอล์

#### 2.2.2 องค์ประกอบทางเคมีของข้าว

ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีผลผลิตทางการเกษตรสูงมาก ผลผลิตหลักของไทยคือ ข้าว (*Oryza sativa L.*) ซึ่งจัดอยู่ในจำพวก indica type มีอยู่ 2 ชนิด คือ ข้าวเจ้าและข้าวเหนียว โดยข้าวประกอบด้วยแป้งประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแป้งนี้มีส่วนประกอบ 2 ส่วน คือ อะไมโลส และอะไมโลเพคติน (อรรควุฒิ, 2528) (รูปที่ 2.1) ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

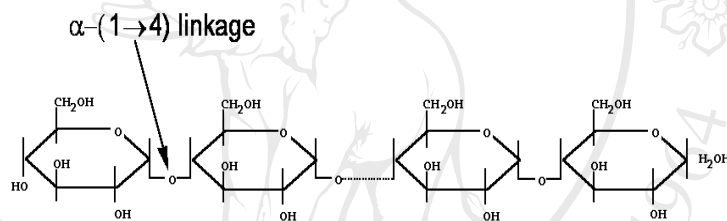


รูปที่ 2.1 แบบจำลองโครงสร้างอะไมโลสและอะไมโลเพคตินในแป้งจากธัญพืช

ที่มา : กล้าณรงค์ และเกื้อกุล (2546)



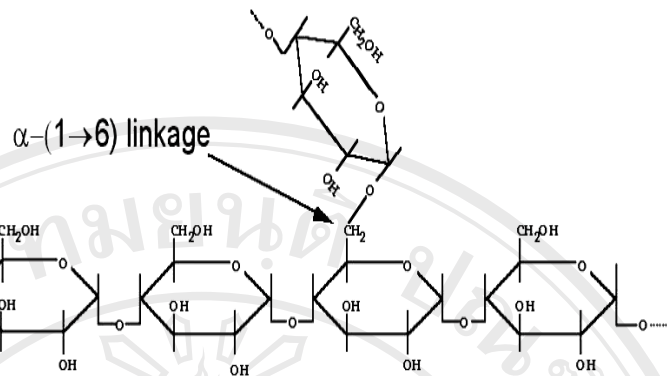
1) อะไมโลส (Amylose) เป็นโพลิเมอร์เชิงเส้นที่ประกอบด้วยกลูโคสประมาณ 2,000 หน่วย เชื่อมต่อกันด้วยพันธะกลูโคซิดิก (glucosidic linkage) ชนิด  $\alpha$ -1,4 (รูปที่ 2.2) แป้งจากธัญพืช เช่น แป้งข้าวโพด แป้งสาลี แป้งมันฝรั่ง และแป้งข้าวฟ่าง มีปริมาณอะไมโลสประมาณ 28 เปอร์เซ็นต์ แป้งจากรากและหัว เช่น แป้งมันสำปะหลัง แป้งมันฝรั่ง และแป้งสากุ มีปริมาณอะไมโลสต่ำประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ ส่วนแป้งข้าวเหนียวจะไม่มีอะไมโลสเลยหรือมีน้อยมาก น้ำหนักโมเลกุลของอะไมโลสอยู่ในช่วง  $10^7$  ถึง  $10^8$  ดาลตัน (Dalton) ซึ่งอะไมโลสในแป้งแต่ละชนิดจะมีน้ำหนักโมเลกุลที่แตกต่างกันไป อะไมโลสสามารถรวมตัวเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับไอโอดีนจะให้สีน้ำเงิน ซึ่งใช้เป็นลักษณะเฉพาะที่บ่งบอกถึงแป้งที่มีองค์ประกอบของอะไมโลส (กล้าณรงค์ และเกื้อกุล, 2546)



รูปที่ 2.2 โครงสร้างของอะไมโลสซึ่งเป็นเส้นตรง

ที่มา : Elfriede (1998)

2) อะไมโลเพคติน (Amylopectin) เป็นโพลิเมอร์เชิงกิ่งของกลูโคส ส่วนที่เป็นเส้นตรงของกลูโคสเชื่อมต่อกันด้วยพันธะกลูโคซิดิกชนิด  $\alpha$ -1,4 และส่วนที่เป็นกิ่งสาขาเป็นโพลิเมอร์กลูโคสสายสั้น เชื่อมต่อกันด้วยพันธะกลูโคซิดิกชนิด  $\alpha$ -1,6 (รูปที่ 2.3) อะไมโลเพคตินมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 1,000 เท่าของอะไมโลส คือ ประมาณ  $10^7$  ถึง  $10^8$  ดาลตัน (Dalton) (กล้าณรงค์ และเกื้อกุล, 2546) อะไมโลเพคตินถือว่ามีความสำคัญมากกว่าอะไมโลสทั้งด้านโครงสร้าง หน้าที่ และการนำไปใช้ ดังนั้นเมื่อมีอะไมโลเพคตินเพียงอย่างเดียวสามารถรวมตัวเพื่อสร้างเป็นเม็ดแป้งได้ปริมาณของอะไมโลสและอะไมโลเพคตินที่แตกต่างกันทำให้คุณสมบัติของแป้งแตกต่างกัน (Oates, 1997)



**รูปที่ 2.3** โครงสร้างของอะไมโลเพคตินซึ่งมีลักษณะเป็นกิ่งก้านสาขา  
ที่มา : Elfriede (1998)

สถาบันวิจัยข้าวนานาชาติ (The International Rice Research Institute) ได้แบ่งข้าวออกเป็นหมวดหมู่ตามปริมาณอะไมโลสเป็น 4 ชนิด ได้แก่ ข้าวที่มีอะไมโลสต่ำกว่า 20 เปอร์เซ็นต์ ข้าวที่มีอะไมโลสปานกลาง มีอะไมโลส 20-25 เปอร์เซ็นต์ และข้าวที่มีอะไมโลสค่อนข้างสูง มีอะไมโลส 26-27 เปอร์เซ็นต์ และข้าวที่มีอะไมโลสสูงกว่า 27 เปอร์เซ็นต์ (ปราณี, 2536)

### 2.2.3 ประเภทและพันธุ์ข้าวที่สำคัญ

ข้าวสามารถจำแนกประเภทได้ตามลักษณะการบริโภคหรือชนิดของแป้ง คือ (อรรควุฒิ, 2528)

1) ข้าวเหนียว (Glutinous rice หรือ Waxy rice) ประกอบด้วยอะไมโลเพคติน 95 เปอร์เซ็นต์ มีอะไมโลสน้อยมากถึงไม่มีเลย เมล็ดข้าวสารจะมีสีขาวขุ่น เมื่อนึ่งแล้วจะได้ข้าวสุกที่จับตัวติดกันเหนียวแน่นและมีลักษณะใส ประชาชนส่วนใหญ่ของภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือบริโภคข้าวเหนียวเป็นอาหารหลัก

2) ข้าวเจ้า (Non-glutinous rice) มีอะไมโลสอยู่ประมาณ 7-33 เปอร์เซ็นต์ ที่เหลือเป็นอะไมโลเพคติน เมล็ดข้าวสารจะมีสีขาวใส เมื่อบึ่งหรือนึ่งสุกแล้ว ข้าวสุกมีสีขาวขุ่นและร่วนกว่าข้าวเหนียว ข้าวเจ้าแต่ละพันธุ์เมื่อหุงสุกแล้ว มีความนุ่มเหนียวแตกต่างกัน ประชาชนส่วนใหญ่ในภาคกลางและภาคใต้ของประเทศไทยบริโภคข้าวเจ้าเป็นหลัก

ข้าวแบ่งตามลักษณะการเจริญเติบโตที่เกี่ยวกับแสงแดดหรือความไวต่อช่วงแสง แบ่งได้เป็น (ประสูติ, 2526)

1) ข้าวไวแสง (Photoperiod sensitive rice) ข้าวแต่ละพันธุ์ที่อยู่ในประเภทนี้มีกำหนดออกดอกที่แน่นอนหรือถ้าคลาดเคลื่อนก็เพียงเล็กน้อย แม้จะปลูกเวลาต่างกัน มักจะออกดอกในเวลาทีกลางวันสั้นกว่ากลางคืน จะปลูกในฤดูฝนเพื่อให้ออกดอกต้นฤดูหนาว หรือระหว่างฤดูหนาวซึ่งช่วงเวลากลางวันสั้นกว่า 12 ชั่วโมง ข้าวพันธุ์พื้นเมืองของไทยเกือบทุกพันธุ์จัดอยู่ในประเภทนี้

2) ข้าวไม่ไวแสง (Photoperiod insensitive rice) ออกดอกตามอายุจึงปลูกได้ตลอดปีถ้ามีน้ำเพียงพอ แต่จะให้ผลดีกว่าเมื่อปลูกฤดูร้อน เพราะมีแสงแดดมากกว่าฤดูอื่น มีอายุตั้งแต่ 110-150 วัน ส่วนมากเป็นพันธุ์ข้าวไทยผสมกับข้าวจากต่างประเทศ

ข้าวเหนียวเป็นข้าวที่นิยมบริโภคเป็นอาหารหลักของประชากรในภาคเหนือตอนบนและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย และเป็นวัตถุดิบสำคัญที่ใช้ในการผลิตสุราพื้นบ้าน (ณัฐกิตต์, 2546) แบ่งในข้าวประกอบด้วยอะไมโลสและอะไมโลเพคติน สัดส่วนขององค์ประกอบทั้ง 2 จะแตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ข้าว สำหรับบทบาทของอะไมโลสและอะไมโลเพคตินเกี่ยวข้องกับความร้อนและความเหนียวนุ่มของเมล็ดข้าวเมื่อนึ่งสุก และการเกาะกันของเมล็ดข้าว ซึ่งพบว่าองค์ประกอบในข้าวเหนียวจะเป็นอะไมโลเพคตินเกือบทั้งหมด มีปริมาณอะไมโลสต่ำ ประมาณ 0-7 เปอร์เซ็นต์ ส่วนข้าวเจ้ามีปริมาณอะไมโลส ประมาณ 16-17 เปอร์เซ็นต์ เช่น ปริมาณอะไมโลสในข้าวเหนียวสันป่าตอง ข้าวเหนียวดำไผ่ 41 ข้าวเหนียวดำมีร้อยละ 2.8, 5.2 และ 5.7 ตามลำดับ (อัมมาร และวิโรจน์, 2533) ปัจจัยสำคัญที่ทำให้ข้าวมีคุณสมบัติการหุงต้มและรับประทานแตกต่างกัน คือ ข้าวที่มีอะไมโลสสูงจะดูดน้ำ และขยายปริมาตรในระหว่างการหุงต้มได้มากกว่าข้าวที่มีอะไมโลสต่ำ ทำให้ข้าวสุกแข็งและร้อน มีลักษณะทึบแสงไม่เลื่อมมัน ส่วนข้าวเหนียวหรือข้าวที่มีปริมาณอะไมโลสต่ำจะดูดน้ำและขยายตัวได้น้อยกว่าข้าวเจ้าหรือข้าวที่มีอะไมโลสสูง ข้าวสุกจะเหนียวนุ่มกว่า (ประสูติ, 2526)

พันธุ์ข้าวเหนียวที่นิยมปลูกในภาคเหนือตอนบนได้แก่ ข้าวเหนียวพันธุ์ กข 6 กข 10 และสันป่าตอง 1 ข้าวเหนียวทั้ง 3 พันธุ์ มีลักษณะโดยทั่วไปดังนี้

1) ข้าวเหนียว กข 6 เป็นข้าวที่ได้จากการปรับปรุงพันธุ์โดยการนำข้าวขาวดอกมะลิ 105 ไปอาบรังสีแกมมาขนาด 20 กิโลแเรด เพื่อให้กลายเป็นข้าวเหนียว แล้วนำมาปลูกคัดเลือกที่สถานีทดลองข้าวบางเขนและสถานีทดลองข้าวพิมาย จากการคัดเลือกได้ข้าวเหนียวหลายสายพันธุ์ในข้าวช่วงที่ 2 แต่สายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงสุด คือ สายพันธุ์ KDML105'65-G2U-68-254 นับว่าเป็นข้าวพันธุ์ดีพันธุ์แรกของประเทศไทยที่ค้นคว้าได้โดยใช้วิธีชักนำพันธุ์พืชให้เปลี่ยนแปลงกรรมพันธุ์โดย



การใช้รังสี และคณะกรรมการวิจัยและพัฒนากรมวิชาการเกษตร มีมติให้เป็นพันธุ์รับรองเมื่อวันที่ 4 พฤษภาคม 2520 และให้ชื่อว่า กข 6 ซึ่งเป็นพันธุ์ข้าวชนิดไวต่อช่วงแสง ปลูกได้เฉพาะนาปี โดยเก็บเกี่ยวได้ประมาณ 21 พฤศจิกายน และมีระยะพักตัวของเมล็ดประมาณ 5 สัปดาห์ ขนาดของเมล็ดสั้นกว่าข้าวเหนียวสันป่าตองเล็กน้อย คือมีขนาดข้าวกล้องยาว 7.24 มิลลิเมตร กว้าง 2.28 มิลลิเมตร หนา 1.77 มิลลิเมตร รูปร่างเรียวย คุณภาพในการหุงต้มอ่อนนุ่มกว่าข้าวเหนียวสันป่าตองเล็กน้อยและมีกลิ่นหอม นอกจากนี้ยังให้ผลผลิตและทนแล้งได้ดีกว่าพันธุ์ข้าวเหนียวสันป่าตอง สำหรับพื้นที่ที่แนะนำให้ปลูก คือ ภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (สถาบันวิจัยข้าว, 2548 ; ศูนย์ขยายเมล็ดพันธุ์พืชที่ 7 เชียงใหม่, 2548)

2) ข้าวเหนียว กข 10 เป็นข้าวเหนียวที่ได้มาโดยการนำเอาเมล็ดพันธุ์ข้าว กข 1 ไปอาบรังสีนิวตรอนเร็ว ขนาด 10 กิโลแรม ที่สำนักงานปรมาณูเพื่อสันติแห่งประเทศไทย เมื่อปี พ.ศ. 2512 แล้วทำการปลูกและคัดเลือกที่สถานีทดลองข้าวบางเขน จนได้สายพันธุ์ RD1'69-NFIU-G6-6 หลังจากนั้นได้นำไปปลูกเปรียบเทียบผลผลิตที่สถานีทดลองข้าวในภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยคณะกรรมการวิจัยและพัฒนากรมวิชาการเกษตรให้เป็นพันธุ์รับรองเมื่อวันที่ 17 มิถุนายน 2524 และให้ชื่อว่า กข 10 ซึ่งเป็นพันธุ์ข้าวที่ไม่ไวต่อช่วงแสงสามารถปลูกได้ทั้งนาปีและนาปรัง อายุการเก็บเกี่ยวประมาณ 130 วัน และมีระยะพักตัวของเมล็ดประมาณ 5 สัปดาห์ ขนาดของข้าวกล้องยาว 7.6 มิลลิเมตร กว้าง 2.3 มิลลิเมตร หนา 1.8 มิลลิเมตร รูปร่างเรียวย คุณภาพข้าวสุกนุ่มปานกลาง (สถาบันวิจัยข้าว, 2548 ; ศูนย์ขยายเมล็ดพันธุ์พืชที่ 7 เชียงใหม่, 2548)

3) ข้าวเหนียวสันป่าตอง 1 ได้จากการผสมพันธุ์ระหว่างข้าวสายพันธุ์ BKNLR75001-B3-CNT-B4-RST-36-2 เป็นพันธุ์แม่ กับ กข 2 เป็นพันธุ์พ่อ ที่สถานีทดลองข้าวสันป่าตอง เมื่อ พ.ศ. 2527 แล้วทำการปลูกคัดเลือกพันธุ์แบบสืบตระกูลจนได้สายพันธุ์ SPTLR84051-32-2-2-4 ปลูกศึกษาพันธุ์และเปรียบเทียบภายในสถานี และทดสอบความสามารถในการให้ผลผลิตในนาเกษตรกรตั้งแต่ปี พ.ศ. 2535-2541 โดยคณะกรรมการวิจัยและพัฒนากรมวิชาการเกษตร มีมติให้เป็นพันธุ์รับรอง เมื่อวันที่ 19 มกราคม 2543 และให้ชื่อว่า สันป่าตอง 1 ซึ่งเป็นพันธุ์ข้าวที่ไม่ไวต่อช่วงแสงสามารถปลูกได้ตลอดปี อายุการเก็บเกี่ยวประมาณ 130-135 วัน และมีระยะพักตัวของเมล็ดประมาณ 8 สัปดาห์ ขนาดของข้าวกล้องยาว 7.1 มิลลิเมตร กว้าง 2.2 มิลลิเมตร หนา 1.8 มิลลิเมตร รูปร่างเรียวย คุณภาพข้าวสุกอ่อนนุ่มกว่าข้าวเหนียว กข 10 (สถาบันวิจัยข้าว, 2548 ; ศูนย์ขยายเมล็ดพันธุ์พืชที่ 7 เชียงใหม่, 2548)

สำหรับคุณสมบัติของพันธุ์ข้าวที่เหมาะสมในการผลิตเหล้าสาเก ต้องมีความนุ่มของเมล็ด ภายหลังจากนึ่งสุก และมีอัตราการดูดซึมน้ำได้มากและเร็ว เพื่อให้ง่ายต่อการแทงเส้นใยของเชื้อรา เข้าสู่ภายในเมล็ดข้าวและง่ายต่อการย่อยใน mash โดยเอนไซม์ในโคจิ และได้มีการศึกษาวิจัย โครงสร้างและองค์ประกอบของเมล็ดข้าวในรูปของความสามารถในการย่อยเป็นน้ำตาล การเจริญเติบโตของยีสต์ ขบวนการหมัก และการสร้างส่วนประกอบของกลั่นใน mash ในเรื่องของ คุณสมบัติทางกายภาพ เช่น ปริมาณโปรตีน (protein content) การดูดซึมน้ำ (water absorbability of grains) น้ำหนักเมล็ด 1,000 เมล็ด (weight of 1,000 grains) ความชื้น (moisture content) และความชุ่มชื้นที่ปรากฏในส่วนกลางของเมล็ดข้าว (white core) พบว่า ข้าวญี่ปุ่นเมล็ดสั้น เป็นข้าวที่เหมาะสมที่สุดต่อการผลิตสาเก สามารถให้ปริมาณน้ำตาลและกลั่นรสที่ดีแก่สาเก ในระหว่างพันธุ์ข้าวที่ผลิตในประเทศญี่ปุ่นนั้นจะมีพันธุ์พิเศษที่เหมาะสมสำหรับการผลิตสาเก คือ พันธุ์ Yamadanishiki ซึ่งจากการวิเคราะห์คุณสมบัติทางด้านเคมีและกายภาพมีความแตกต่างจากพันธุ์อื่น (Juliano, 1985)

#### 2.2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับคุณภาพของพันธุ์ข้าว

สุกมาส (2544) ได้ศึกษาคุณภาพทางเคมีและกายภาพของข้าวเหนียว 3 พันธุ์ คือ กข 6 กข 10 และเหนียวสันป่าตอง เพื่อมาทำการทดลองหมัก และผลิตสุรากลั่น พบว่า คุณภาพสมบัติทางเคมีของข้าวเหนียวทั้ง 3 พันธุ์ไม่มีความแตกต่างในทางสถิติ ส่วนคุณสมบัติทางกายภาพ คือน้ำหนักต่อ 1,000 เมล็ด ของข้าวเหนียวพันธุ์ กข 6 และเหนียวสันป่าตองมีน้ำหนักใกล้เคียงกัน ข้าวเหนียวกข 10 มีน้ำหนักต่อ 1,000 เมล็ดน้อยที่สุด

Yanagiuchi *et al.* (1996) ได้ทำการศึกษาอิทธิพลของชนิดเมล็ดต่อคุณภาพทางกายภาพ และทางเคมีของข้าวสำหรับการหมักสาเก โดยการใช้เมล็ดข้าว 2 ชนิด คือ ส่วนกลางของเมล็ดข้าว (white core) หรือที่เรียกว่า shinpaku และส่วนที่ไม่ใช่ส่วนกลางของเมล็ดข้าว หรือที่เรียกว่า mahaku พบว่า คุณสมบัติทางด้านกายภาพของเมล็ดข้าวทั้งสองชนิดมีความแตกต่างกัน ในด้านของน้ำหนัก 1,000 กรัม และคุณสมบัติด้าน viscoelasticity สำหรับคุณสมบัติทางด้านเคมีของเมล็ดข้าวทั้งสองชนิดไม่มีความแตกต่างกัน

Varavinit *et al.* (2003) ได้ศึกษาคุณสมบัติทางเคมีของแป้งจากข้าวเหนียวสันป่าตอง กข 6 และกข 10 ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า คาร์โบไฮเดรต และอะไมโลส ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 10.89-12.20, 7.99-11.7, 0.29-0.39, 0.31-0.40, 76.65-79.8 และ 4.47-5.28 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

## 2.3 กระบวนการเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล

การผลิตแอลกอฮอล์ หรือเอทานอลจากแป้งข้าว ประกอบด้วยการย่อยสลายแป้งไปเป็นน้ำตาลที่สามารถหมักได้ (fermentable sugars) ตามด้วยการหมักโดยยีสต์ ปกติยีสต์ไม่สามารถใช้แป้งได้โดยตรงในการหมักเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์ ดังนั้นแป้งต้องถูกย่อยให้เป็นน้ำตาล โดยการใช้น้ำเอนไซม์ 2 ชนิด คือ แอลฟาอะไมเลส ( $\alpha$ -amylase) และกลูโคอะไมเลส (glucoamylase) (Sheorain *et al.*, 2000)

### 2.3.1 วิธีการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล

ในการสลายแป้งให้เป็นน้ำตาลสามารถทำได้ 2 วิธี คือ วิธีการทางเคมีโดยใช้กรดเจือจางและความร้อน กับวิธีการสลายแป้งโดยใช้น้ำเอนไซม์

1) การสลายแป้งโดยวิธีการทางเคมี วิธีการนี้ใช้กรดเจือจางและความร้อนสูง ไม่เป็นที่นิยม เพราะผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยดังกล่าวจะไม่สะอาดและไม่บริสุทธิ์ หรือผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางโมเลกุล เช่น ในการสลายแป้งเป็นกลูโคส (เพื่อนำกลูโคสมาใช้ในการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์) โดยความร้อนมักจะทำให้เกิดการรวมตัวใหม่ของกลูโคสเป็น dimer หรือ polymer ซึ่งทนความร้อนมากขึ้น ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวนี้จะยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (ศิริลักษณ์, 2544)

2) การสลายแป้งโดยใช้น้ำเอนไซม์ วิธีนี้เป็นวิธีที่ดีกว่าและนิยมใช้ในอุตสาหกรรม เนื่องจากผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการสลายโดยวิธีนี้มีความสะอาดและบริสุทธิ์ และให้ผลิตภัณฑ์ที่สูงกว่ามาก นอกจากนี้ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นไม่รุนแรง คือ ไม่ต้องการความร้อนและกรดต่ำมากเท่ากับการใช้วิธีการทางเคมี กระบวนการสลายแป้งโดยใช้น้ำเอนไซม์นี้เกิดได้ 2 ขั้นตอน คือ

2.1) การทำให้เหลว (Liquefaction) ซึ่งเป็นขั้นตอนการย่อยครั้งแรกโดยใช้น้ำเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสในการย่อยแป้งเพื่อจะผลิตน้ำตาลกลูโคสนั้น จะต้องมีขั้นตอนที่ทำให้แป้งสุกแล้วเป็นของเหลวที่มีความหนืดต่ำก่อนที่จะนำไปทำการผลิตต่อไป ซึ่งถือว่าการย่อยครั้งแรกของกระบวนการย่อยสลายแป้ง โดยจะทำการย่อยภายในโมเลกุลแป้ง (endo-acting enzyme) โดยเอนไซม์จะตัดพันธะ  $\alpha$ -1,4 ระหว่างโมเลกุลของน้ำตาลกลูโคสที่จับอยู่เท่านั้น ไม่สามารถตัดพันธะ  $\alpha$ -1,6 ได้ ลักษณะการทำงานเป็นการสุมตัดภายใน เมื่อย่อยแล้วจะได้เป็นเดกซ์ทริน (dextrin) และโอลิโกแซคคาไรด์ (oligosaccharide) (Elfriede, 1998)

2.2) การทำให้หวาน (Saccharification) เป็นการย่อยครั้งสุดท้าย เอนไซม์นี้จะย่อยได้ทั้งพันธะ  $\alpha$ -1,4 และ  $\alpha$ -1,6 glucosidic ซึ่งอัตราเร็วในการย่อยนั้น เอนไซม์นี้สามารถย่อยพันธะ  $\alpha$ -1,4 ได้เร็วกว่าพันธะ  $\alpha$ -1,6 นอกจากนี้อัตราเร็วในการทำงานของเอนไซม์แล้ว ยังขึ้นกับขนาด

และโครงสร้างของสารตั้งต้นเพื่อเปลี่ยนให้เป็นน้ำตาลกลูโคส การย่อยในขั้นนี้จะทำให้ได้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสสูงขึ้น ทำให้น้ำแป้งเกิดรสหวานเป็นน้ำเชื่อม ซึ่งในการย่อยเพื่อให้ได้น้ำเชื่อมสำหรับเป็นอาหารของจุลินทรีย์ในการหมักเป็นแอลกอฮอล์ ควรเป็นน้ำเชื่อมที่ประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคสเป็นส่วนใหญ่ จึงจำเป็นต้องใช้เอนไซม์ประเภทย่อยจากข้างนอกเข้ามา (exo-acting enzyme) ก่อนที่จะถูกหมักโดยยีสต์เพื่อผลิตเป็นแอลกอฮอล์ (Elfriede, 1998)

เอนไซม์ที่นิยมใช้ในกระบวนการย่อยแป้งเป็นน้ำตาล คือ เอนไซม์อะไมเลสเป็นเอนไซม์ที่รู้จักกันอย่างกว้างขวางในทางการค้า เพราะเป็นเอนไซม์ที่มีความสำคัญในระดับอุตสาหกรรมหลายประเภท และเป็นที่ต้องการของตลาด อะไมเลสส่วนใหญ่เป็นเอนไซม์ที่ถูกขับออกมานอกเซลล์ (extracellular enzyme) สามารถพบได้ทั้งพืช เมล็ดพืชที่กำลังงอก สัตว์ ในมนุษย์พบได้จากต่อมน้ำลายและตับอ่อน รวมทั้งพบได้จากจุลินทรีย์หลายชนิดและหลายสายพันธุ์ เช่น แบคทีเรีย *Achromobacter*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Micrococcus* และเชื้อรา เช่น *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Fusarium* เป็นต้น (กัจจันทร, 2541)

เอนไซม์อะไมเลส แบ่งตามชนิดของพันธะที่ถูกย่อยสลาย สามารถแบ่งได้ดังนี้

1) แอลฟาอะไมเลส มีชื่อตามระบบสากลว่า  $\alpha(1,4)$ -glucan glucanohydrolase; E.C.3.2.1.1 เป็นเอนไซม์ชนิดย่อยภายในโดยการตัดพันธะ  $\alpha$ -1,4-glycosidic linkage ภายในโมเลกุลของแป้งแบบสุ่ม แต่ไม่สามารถตัดพันธะ  $\alpha$ -1,6-glycosidic linkage ได้ผลิตภัณฑ์เป็นเดกซ์ตริน (dextrin) ที่เป็นลูกโซ่ของกลูโคสขนาดแตกต่างกัน (รูปที่ 2.4) เอนไซม์กลุ่มนี้ สกัดจากจุลินทรีย์ ได้แก่ *Bacillus amyloliquefaciens* หรือมีชื่อเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า *Bacillus subtilis* (*Bacillus subtilis* var *amyloliquefaciens*), *Bacillus licheniformis* และ *Bacillus stearothermophilus* (Teague and Brumm, 1992) เอนไซม์ที่ผลิตจากจุลินทรีย์เหล่านี้จะทนความร้อนได้ดี ตั้งแต่อุณหภูมิประมาณ 70-105 องศาเซลเซียส ที่ความเป็นกรด-ด่าง ประมาณ 6 เหมาะสำหรับการย่อยในขั้นตอนการทำให้เหลือง นอกจากนี้ยังมีแอลฟาอะไมเลสที่สกัดจากเชื้อรา *Aspergillus* หรือ *Rhizopus* ซึ่งสามารถทำงานที่อุณหภูมิประมาณ 50-60 องศาเซลเซียส ความเป็นกรด-ด่าง 3-8 (ปกติใช้ความเป็นกรด-ด่างที่ 4-5) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เหมาะสมสำหรับการผลิตน้ำเชื่อมในขั้นตอนของการทำให้หวาน (กล้าณรงค์ และ เกื้อกุล, 2546) ตัวอย่างของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่จำหน่ายในเชิงการค้า เช่น Termamyl 120L และ Termamyl SC ที่ผลิตจากบริษัท Novozymes ประเทศเดนมาร์ก

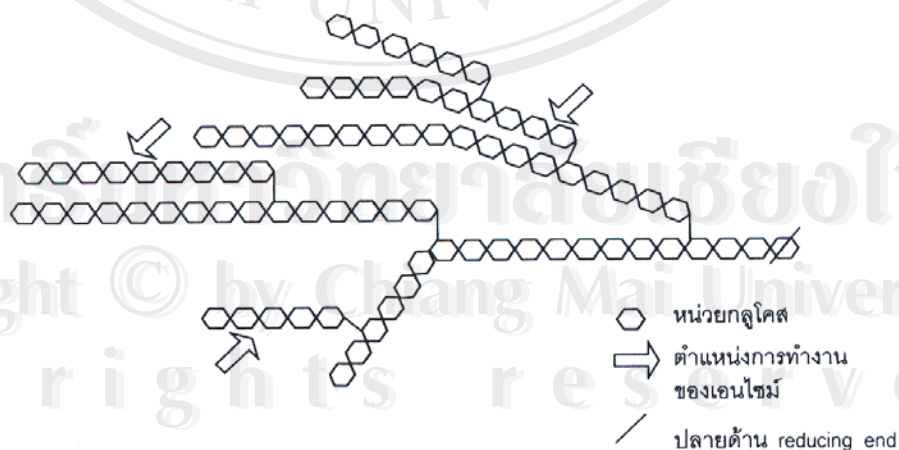


กิจกรรมของแอลฟาอะไมเลส ต่อการย่อยสับสเตรท (ศิริลักษณ์, 2544)

1.1) การย่อยอะไมโลส เอนไซม์สามารถสลาย  $\alpha$ -1,4-glucosidic linkage ในอะไมโลส ทั้งจากด้านในและด้านนอกของโมเลกุลได้อย่างรวดเร็ว การสลายพันธะจะเกิดขึ้นแบบสุ่มมีผลทำให้ได้ผลิตภัณฑ์เป็นเดกซ์ทริน มีขนาดเล็กกว่าเดิมและขนาดแตกต่างกัน จึงเกิดสีกับสารละลาย ไอโอดีนเป็นสีม่วงแดง โดยที่เอนไซม์ยังคงโมเลกุลของเดกซ์ทรินต่อไปได้อย่างช้าๆ จนกลายเป็น โอลิโกแซคคาไรด์ที่มีขนาดเล็กมากจนไม่เกิดสีกับสารละลายไอโอดีน และในที่สุดจะได้ผลิตภัณฑ์ เช่น มอลโตส และมอลโตไตรโอส

1.2) การย่อยอะไมโลเพคติน เอนไซม์สามารถย่อยโมเลกุลที่ตำแหน่ง  $\alpha$ -1,4-glucosidic linkage แต่ไม่สามารถย่อย  $\alpha$ -1,6-glucosidic linkage ของอะไมโลเพคติน สำหรับการสลาย  $\alpha$ -1,4-glucosidic linkage ของอะไมโลเพคติน จะเกิดขึ้นแบบสุ่ม แล้วได้เดกซ์ทรินที่มีแขนง ทำให้มีขนาดโมเลกุลปานกลาง เกิดสีกับไอโอดีนเป็นสีม่วงและสีม่วงแดง ตามลำดับ เอนไซม์จะยังคงความสามารถในการย่อยเดกซ์ทรินต่อไปอย่างช้าๆ จนในที่สุดกลายเป็นลิมิตเดกซ์ทริน (limit dextrin) (เดกซ์ทรินที่เหลือจากการย่อยโดยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและไม่สามารถย่อยสลายโดยเอนไซม์เดิมได้อีกต่อไป)

1.3) การย่อยแป้งและแป้งเปียก โมเลกุลของแป้งซึ่งประกอบด้วยโมเลกุลของอะไมโลส และอะไมโลเพคตินจับยึดกันเป็นผลึกอยู่ในส่วนที่เรียกว่า crystalline regions และมีบางส่วนอยู่ในบริเวณที่เป็น noncrystalline regions เกิดเป็นโมเลกุลที่ซับซ้อนขนาดใหญ่มาก การสลายพันธะ glucosidic ภายในโมเลกุลแป้งเพียงจำนวนเล็กน้อยก็สามารถลดขนาดโมเลกุลลงได้หลายเท่า ดังนั้นความหนืดของแป้งเปียกจึงลดลงอย่างรวดเร็ว



รูปที่ 2.4 ลักษณะการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสในการย่อยแป้ง

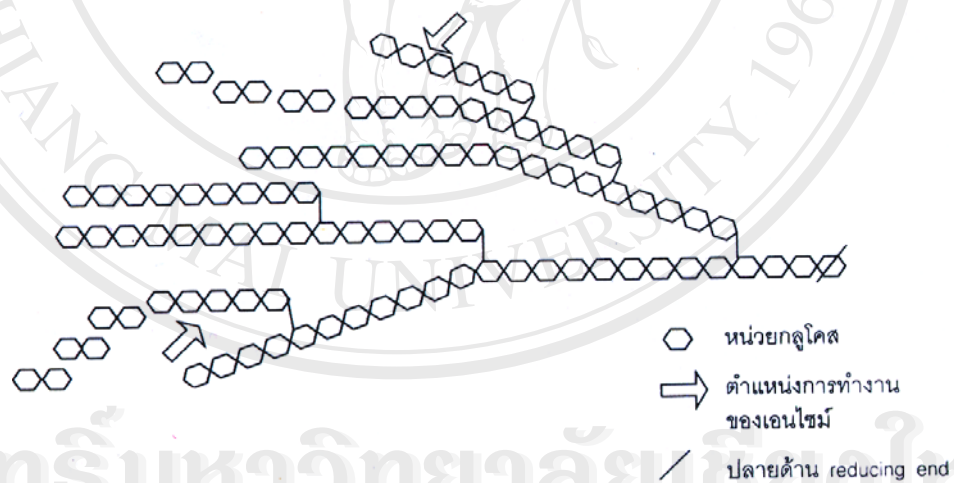
ที่มา : กวีณรงค์ และเกื้อกุล (2546)



2) เบตาอะไมเลส (Beta-amylase ;  $\beta$ -amylase) มีชื่อตามระบบสากลว่า  $\alpha(1,4)$ -glucan maltohydrolase; E.C3.2.1.2) เบตาอะไมเลส เป็นเอนไซม์ที่ทำงานภายนอกโมเลกุลของแป้ง (exo-enzyme) โดยค่อยๆตัดจากด้านนอกเข้ามาด้านในโดยเริ่มจากปลายของอะไมโลส หรือ อะไมโลเพกทิน (ปลายด้าน non-reducing end) เอนไซม์จะตัดพันธะ  $\alpha$ -1,4 ของโมเลกุลกลูโคส เป็นคู่ๆ ผลที่ได้จะได้เป็นน้ำตาลมอลโตส (รูปที่ 2.5) (กล้าณรงค์ และเกื้อกุล, 2546)

กิจกรรมของเบตาอะไมเลส ต่อการย่อยสับสเตรท

2.1) การย่อยอะไมโลส เอนไซม์สามารถย่อยโมเลกุลที่ตำแหน่ง  $\alpha$ -1,4-glycosidic linkage ในลักษณะการตัดสายพอลิเมอร์อย่างเป็นระเบียบจากปลายสายด้านไม่มีหมู่รีดิวซ์ (non-reducing) เข้าสู่ภายในสายไปที่ละ 2 หน่วยของกลูโคส ทำให้มอลโตสหลุดออกมาจากสายของ อะไมโลส พร้อมๆกับการเปลี่ยน configuration ของอะตอมคาร์บอนที่มีหมู่อัลดีไฮด์จาก  $\alpha$ -1,4-glycosidic configuration เป็น  $\beta$ -glucosidic configuraiton ดังนั้นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยสลาย แป้งจึงกลายเป็นเบตามอลโตส (ศิริลักษณ์, 2544)

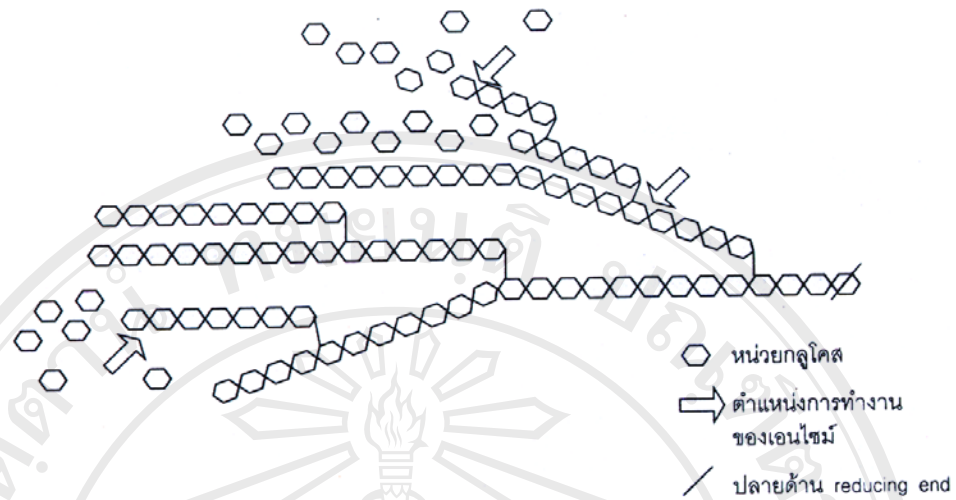


รูปที่ 2.5 ลักษณะการทำงานของเอนไซม์เบตาอะไมเลสในการย่อยแป้ง  
ที่มา : กล้าณรงค์ และเกื้อกุล (2546)

2.2) การย่อยอะไมโลเพคติน เอนไซม์จะย่อยสลายอะไมโลเพคตินลักษณะเดียวกับการย่อยอะไมโลส คือย่อยสลาย  $\alpha$ -1,4-glucosidic linkage ในลักษณะการตัดสายพอลิเมอร์อย่างเป็นระเบียบจากปลายสาย ด้านไม่มีหมู่รีดิวซ์ (non-reducing) เข้าสู่ภายในสายไปที่ละ 1 หน่วยของมอลโตส หรือที่ละ 2 หน่วยของกลูโคส เมื่อการสลายพันธะดำเนินจนกระทั่งถึงบริเวณแขนงของโมเลกุล หรือ  $\alpha$ -1,6-glucosidic linkage ดังนั้นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยสลายแป้ง เป็นลิมิตเดกซ์ทรินที่มีขนาดใหญ่ และมอลโตสที่มีโครงสร้างต่างไปจากเดิม คือ  $\beta$ -configuration หรือเบตามอลโตส (ปราณี, 2543)

2.3) การย่อยแป้งและแป้งเปียก การสลายขนาดโมเลกุลและลดความหนืดของแป้งและแป้งเปียก โดยเอนไซม์นี้เกิดขึ้นได้น้อย เนื่องจากเบต้าอะไมเลส ย่อยพันธะ  $\alpha$ -1,4-glucosidic linkage อย่างจำเพาะปลายสายของพอลิเมอร์เท่านั้น (ศิริลักษณ์, 2544)

3) กลูโคอะไมเลส (Glucoamylase) หรืออะไมโลกลูโคซิเดส (Amyloglucosidase) มีชื่อตามระบบสากลว่า  $\alpha$ (1,4)-glucan glucohydrolase; E.C. 3.2.1.3 ซึ่งสกัดจากเชื้อรา *Aspergillus* หรือ *Rhizopus* สามารถทำงานที่อุณหภูมิต่ำกว่า 60 องศาเซลเซียส (อุณหภูมิที่เหมาะสม 55 องศาเซลเซียส) ความเป็นกรด-ด่างโดยทั่วไปอยู่ระหว่าง 4-6 (ความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมคือ 5.5) จำเป็นต้องใช้ความร้อนเพื่อหยุดกิจกรรมก่อนที่จะดำเนินกระบวนการผลิตต่อไป (กล้าณรงค์ และเกื้อกุล, 2546) ตัวอย่างของเอนไซม์กลูโคอะไมเลสที่จำหน่ายในเชิงการค้า เช่น SAN super 240 L, SAN super 360 L ที่ผลิตจากบริษัท Novozymes ประเทศเดนมาร์ก สำหรับการทำงานของกลูโคอะไมเลส จะย่อยสลายพันธะที่จับกันของน้ำตาลกลูโคสทั้งพันธะ  $\alpha$ -1,4 และ พันธะกิ่ง  $\alpha$ -1,6 จากปลายด้าน non-reducing เช่นเดียวกับเบต้าอะไมเลส แต่จะตัดจากปลายเข้าไปครั้งละ 1 หน่วยกลูโคส โดยการย่อยสลายพันธะกิ่ง  $\alpha$ -1,6 จะเกิดขึ้นช้าๆ ดังนั้นเมื่อเอนไซม์กลูโคอะไมเลสย่อยแป้ง พบว่า สามารถเปลี่ยนแป้งเป็นกลูโคสได้อย่างสมบูรณ์ จนในที่สุดผลิตภัณฑ์ที่ได้ส่วนใหญ่จะเป็นกลูโคสที่มี configuration ต่างไปจากเดิม คือ  $\beta$ -configuration หรือ  $\beta$ -D-glucose กับลิมิตเดกซ์ทรินที่มีขนาดเล็ก (ปราณี, 2543) (รูปที่ 2.6)



รูปที่ 2.6 ลักษณะการทำงานของเอนไซม์กลูโคอะไมเลสในการย่อยแป้ง  
ที่มา : (กล้าณรงค์ และเกื้อกุล, 2546)

### 2.3.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล

มาลัย และคณะ (2524) ซึ่งศึกษาการย่อยแป้งข้าวเหนียวโดยใช้เอนไซม์ทางการค้า คือ แอลฟาอะไมเลส (BAN 120 L) และกลูโคอะไมเลส (SAN 150 L) พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นของ แป้ง 25 เปอร์เซ็นต์ ความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5.0 และอุณหภูมิ 55-60 องศาเซลเซียส จะให้ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 19.15 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งเป็นช่วงที่เหมาะสมที่จะใช้ใน กระบวนการหมักเป็นแอลกอฮอล์ต่อไป

หฤทัย (2534) ศึกษาการย่อยแป้งมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ผสมแอลฟาอะไมเลส (Termamyl 120 L) 0.03 กรัม ต่อ แป้ง 1 กิโลกรัม และกลูโคอะไมเลส (AMG 300 L) 0.044 กรัม ต่อ แป้ง 1 กิโลกรัม พบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายแป้งมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ผสม นี้ให้ค่าสมมูลเดกซ์โตรสสูงสุด คือ ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส และความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 5 และเมื่อเพิ่มปริมาณเอนไซม์ทั้งสองชนิดนี้ทำให้ค่าสมมูลเดกซ์โตรสเพิ่มขึ้นด้วย

Wind et al. (1994) รายงานว่า *Bacillus stearothermophilus* สายพันธุ์ใหม่ที่แยกได้จาก โรงงานมันฝรั่ง เมื่อเปรียบเทียบกับคุณสมบัติของแอลฟาอะไมเลสจาก สายพันธุ์อื่นๆ พบว่า สายพันธุ์ ใหม่นี้สามารถผลิตแอลฟาอะไมเลสที่ทนความร้อนได้สูง เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส และความเป็นกรด-ด่าง ที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 5.5-6.0

Elif *et al.* (2000) ศึกษาเปรียบเทียบความสามารถในการย่อยเม็ดแป้งดิบ (raw starch granule) ของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และเบต้าอะไมเลส โดยได้ทำการศึกษาเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส จาก *Bacillus amyloliquefaciens* และเบต้าอะไมเลส จาก *Bacillus cereus* และเบต้าอะไมเลสจากถั่วเหลือง โดยใช้เม็ดแป้งดิบจากพืชชนิดต่างๆ มาใช้เป็นสับสเตรทดังนี้ มันฝรั่ง มันฝรั่งหวาน ข้าวสาลี ข้าว และข้าวโพด พบว่าเอนไซม์ทุกชนิดมีภาพแบบการย่อยที่แตกต่างกัน แอลฟาอะไมเลสจะมีประสิทธิภาพในการย่อยดีกว่าเบต้าอะไมเลส ความสามารถในการย่อยซึ่งดูจากน้ำตาลรีดิวซ์ (มอลโตส) ที่ปลดปล่อยออกมา พบว่าเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ให้น้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุด รองลงมาคือ เบต้าอะไมเลส จาก *Bacillus cereus* และเบต้าอะไมเลสจากถั่วเหลืองเป็นอันดับสุดท้าย เอนไซม์อะไมเลสทุกชนิดที่ศึกษาสามารถใช้ข้าวเป็นสับสเตรทได้ดีที่สุด รองลงมาคือ มันฝรั่ง และข้าวสาลี ตามลำดับ

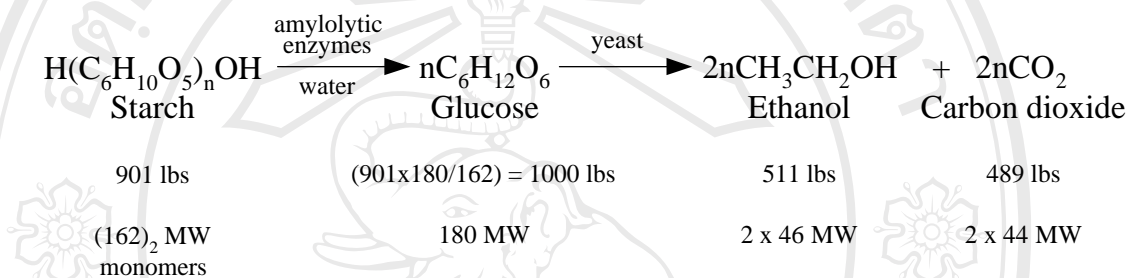
Belma and Semra (2001) ศึกษาการยับยั้งการทำงานของแอลฟาอะไมเลสขณะที่เกิดการย่อยแป้งจากข้าวสาลี โดยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ใช้ในการศึกษา คือ Gemsize 4A ซึ่งผลิตจาก *Bacillus subtilis* เปรียบเทียบระดับการย่อย (เปอร์เซ็นต์) และกิจกรรมของ เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่สภาวะต่างๆ กัน ได้แก่ อุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง ความหนืดของแป้ง ปริมาณเอนไซม์ที่เติมลงไปในการหมัก อัตราเร็วในการกวน และระยะเวลาในการผลิต พบว่า สภาวะที่เหมาะสม คือ อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ที่ความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6.5 และอัตราเร็วในการกวน 300 รอบต่อนาที ความเข้มข้นของแป้งที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ คือ 10 กรัมต่อลิตร พบว่าการย่อยจะมีผลแปรตามปริมาณเอนไซม์ที่เติมลงไปโดยจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จนกระทั่งมากที่สุดที่ปริมาณเอนไซม์ 2.5 มิลลิลิตรต่อลิตร และคงที่ไปจนถึง 10 มิลลิลิตรต่อลิตร

Soni *et al.* (2003) ศึกษาการหมักแบบ solid state fermentation ของรำข้าวสาลี สามารถแยกเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus sp.* AS-1 ซึ่งผลิตเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส เป็นเอนไซม์ที่ทนอุณหภูมิสูง และเชื้อรา *Aspergillus sp.* ผลิตเอนไซม์กลูโคอะไมเลส โดยที่เอนไซม์ทั้งสองชนิดนี้ทำงานภายใต้สภาวะของอุณหภูมิและความเป็นกรด-ด่างในช่วงกว้าง พบว่า เมื่อความเข้มข้นของสารละลายแป้งข้าวสาลี 15 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ประสิทธิภาพการทำงานของแอลฟาอะไมเลสในช่วงการทำให้เหลว คิดเป็น 96 เปอร์เซ็นต์ ส่วนประสิทธิภาพการทำงานของกลูโคอะไมเลสในช่วงการทำให้หวาน คิดเป็น 87 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อใช้เอนไซม์ทั้งสองชนิดร่วมกันปรากฏว่าประสิทธิภาพการย่อยสลายสูงถึง 96 เปอร์เซ็นต์

## 2.4 กระบวนการหมักให้เกิดแอลกอฮอล์

### 2.4.1 การหมักให้เกิดแอลกอฮอล์โดยยีสต์

เมื่อแป้งผ่านกระบวนการย่อยโดยใช้เอนไซม์ จากเชื้อจุลินทรีย์ หรือเอนไซม์ทางการค้า จะได้น้ำตาลกลูโคสที่สามารถเข้าสู่กระบวนการหมักโดยยีสต์จะหมักน้ำตาลกลูโคสเป็นแอลกอฮอล์ (เอทานอล) (รูปที่ 2.7)

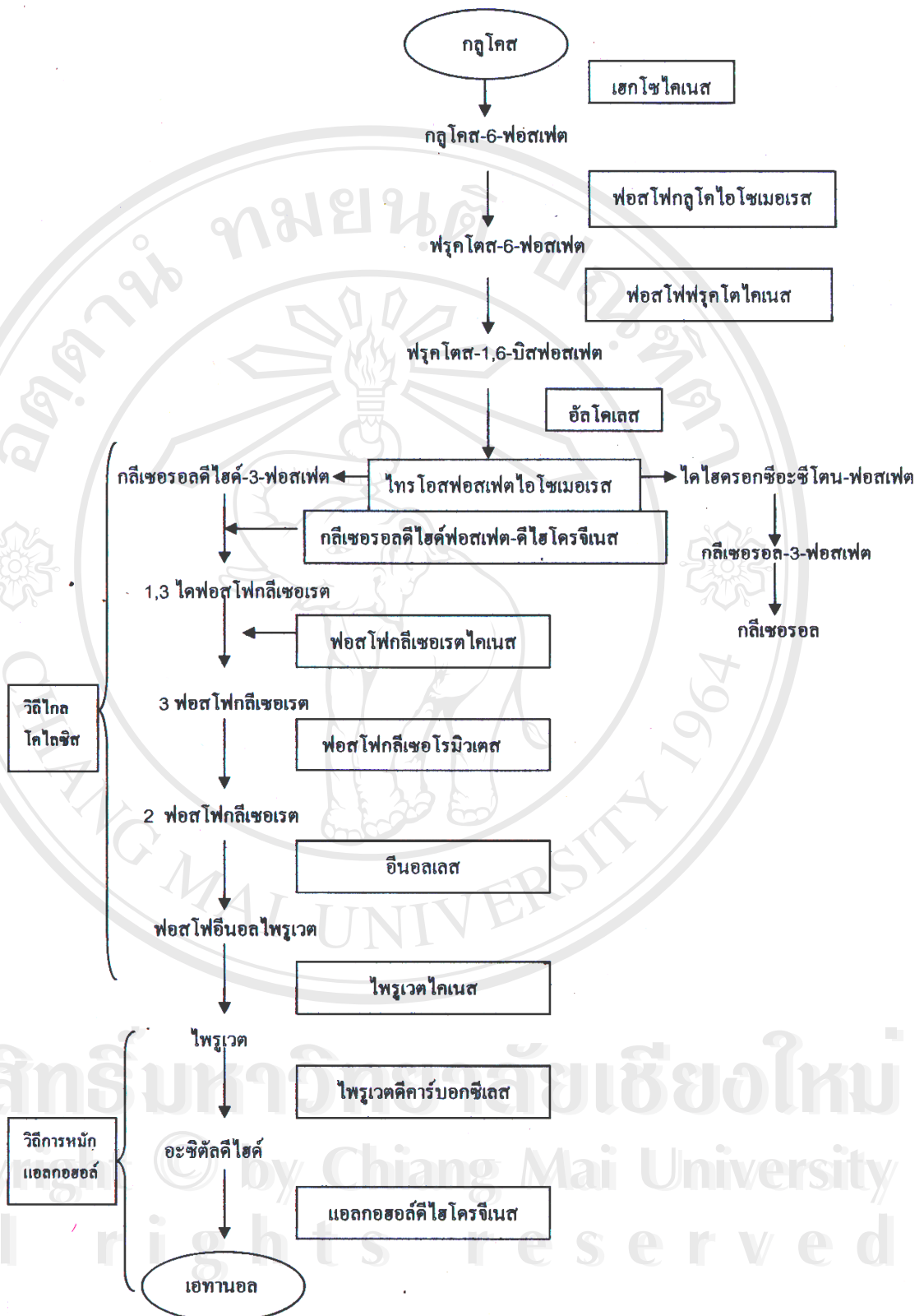


รูปที่ 2.7 สมการการเปลี่ยนแปลงให้เป็นเอทานอล  
ที่มา : Ingledew (1999)

ตามทฤษฎีน้ำตาลกลูโคส 100 เปอร์เซ็นต์ จะถูกเปลี่ยนเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ และเอทานอล เท่ากับ 48.89 เปอร์เซ็นต์ และ 51.11 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก ตามลำดับ ซึ่งในทางปฏิบัติแล้วจะได้เอทานอลประมาณ 48 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากเกิดการสูญเสียได้เป็นสารประกอบอื่นๆ เช่น methanol propanol butanol และ amyl alcohol หรือใช้ในการสร้างเซลล์ของยีสต์ นอกจากนี้ปริมาณแอลกอฮอล์ที่สูงมากเกินไปเซลล์ยีสต์จะไม่สามารถทนได้ (กล้าณรงค์ และคณะ, 2545 ; โชคชัย, 2546 ; Margalit, 1996)

การหมักแอลกอฮอล์ เป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นในสภาพที่ไม่มีอากาศ โดยทั่วไปแล้วการหมักมักจะใช้เชื้อยีสต์ในสกุล *Saccharomysis sp.* ซึ่งเอทานอลจะถูกสร้างขึ้นมาโดยอาศัย Embden-Meyerhof-Parnas Pathway หรือวิถีไกลโคไลซิส (glycolysis pathway) (ชรินทร์, 2546) โดยกลูโคสจะเปลี่ยนแปลงไปตามวิถีไกลโคไลซิสจนได้ไพรูเวต (รูปที่ 2.8) จากนั้นจะมีการสูญเสียคาร์บอนไดออกไซด์ในปฏิกิริยาที่เร่งด้วยเอนไซม์ไพรูเวตดีคาร์บอกซิเลส (pyruvate decarboxylase) กลายเป็นอะซีตัลดีไฮด์ (acetaldehyde) จากนั้นอะซีตัลดีไฮด์เปลี่ยนเป็นเอทานอลโดยเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส (สุนีย์, 2543)





รูปที่ 2.8 แผนภูมิขั้นตอนการเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ โดยกลุ่มแอนไซม์จากยีสต์ในสภาพไร้อากาศ  
ที่มา : ยุกกนิษฐ์ (2543)

ยีสต์ที่ใช้ในการผลิตแอลกอฮอล์จะอยู่ในสกุล *Saccharomyces sp.* ซึ่งมีหลายชนิดได้แก่ *S. cerevisia*, *S. bayanus*, *S. carlbergensis* และ *S. fermentati* ยีสต์เหล่านี้สามารถหมักได้อย่างรวดเร็ว ให้ปริมาณแอลกอฮอล์สูง และทนต่อสภาวะแวดล้อม เช่น ดิกรีแอลกอฮอล์ อุณหภูมิ และความเป็นกรด-ด่าง สำหรับการใช้น้ำตาลยีสต์ขนมปัง (baker's yeast) มาหมักแอลกอฮอล์นั้น ยีสต์ขนมปังจะใช้น้ำตาลมาก แต่ให้แอลกอฮอล์ต่ำ ประมาณ 14 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ยีสต์สำหรับทำไวน์สามารถให้แอลกอฮอล์ได้ถึง 20 เปอร์เซ็นต์ ใช้น้ำตาลน้อยกว่า และให้กลิ่นหอมที่ดีกว่า ยีสต์ขนมปังมาก นอกจากนี้ยีสต์ขนมปังยังทำให้เกิดฟองมากด้วย ยีสต์ที่มีจำหน่ายทั่วไปจะมี 2 ลักษณะ คือ แบบของเหลว หรืออยู่ในสารอาหารเหลว และแบบแห้ง ยีสต์เหลวมักไม่สะดวกต่อการขนส่ง การใช้งานและการจัดเก็บ เพราะอายุค่อนข้างสั้นและต้องเก็บในที่เย็น จึงมักนิยมใช้แบบแห้งมากกว่า สำหรับยีสต์แห้ง (active dry yeast) มักผลิตจากยีสต์สด โดยนำมาทำแห้งจนมีความชื้นลดลงเหลือประมาณ 8 เปอร์เซ็นต์ หรือต่ำกว่านี้ ยีสต์แห้งสามารถเก็บได้เป็นปี และมีความคงตัวในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิปกติ แต่การใช้งานต้องผ่านขั้นตอนการเติมน้ำ (Rehydration) เพื่อให้กลับมามีกิจกรรมตามเดิมในอุณหภูมิอุ่นประมาณ 37-41 องศาเซลเซียส เขย่าเล็กน้อย นานประมาณ 10-20 นาที ยีสต์แห้งมักจะบรรจุในภาชนะสุญญากาศหรือก๊าซเฉื่อย เพื่อยืดอายุให้เก็บได้นานขึ้น โดยที่ยังคงได้ยีสต์ที่มีอัตราการรอดชีวิตสูงในผลิตภัณฑ์ (โชคชัย และคณะ, 2546)

ยีสต์ที่ใช้ในการหมักไวน์นั้นมีหลายชนิดซึ่งจำแนกตามคุณสมบัติในการหมัก เช่น การผลิตแอลกอฮอล์ และสารให้กลิ่นรสต่างๆ เป็นต้น แต่ในปัจจุบันในทางวิชาการ จัดยีสต์อยู่ในสปีชีส์ *Saccharomyces cerevisiae* แต่เรียกเป็นสายพันธุ์ต่างๆ ตัวอย่างสายพันธุ์ยีสต์ที่มีจำหน่ายในทางการค้าในรูปของยีสต์ผง (ตารางที่ 2.1)

ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการทำงานของยีสต์ในกระบวนการหมักแอลกอฮอล์ คือ

1) ความเข้มข้นของน้ำตาล กรณีสารละลายของน้ำตาลสูงเกินไป คือ 22 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักต่อปริมาตรสารละลาย จะทำให้ยีสต์เติบโตได้ยาก การหมักเป็นไปอย่างช้าและไม่สมบูรณ์ ทำให้เกิดกรดแลกติก กรดน้ำส้ม และสารอินทรีย์ต่างๆ ขึ้นได้ โดยปกติกระบวนการหมักจะใช้น้ำหนักของน้ำตาลไม่เกิน 18 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักต่อปริมาตรสารละลาย เพื่อให้การเจริญเติบโตของยีสต์เป็นไปโดยปกติ และให้แอลกอฮอล์ในปริมาณที่สูงเหมาะแก่การนำไปกลั่น คือ ประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร ถ้าน้ำตาลเป็นแบบโมเลกุลเล็กๆ เช่น กลูโคส ฟรุคโตส อัตราการหมักจะเกิดได้เร็วกว่าพวกที่มีโมเลกุลใหญ่ๆ เช่น น้ำตาลซูโครส น้ำตาลมอลโตส ทั้งนี้เพราะว่ายีสต์สามารถนำน้ำตาลโมเลกุลเล็กไปใช้ได้ทันที (รัฐพงศ์, 2545)

2) อุณหภูมิ มีผลโดยตรงต่อการทำงานของยีสต์และมีผลทางอ้อมต่อปริมาณแอลกอฮอล์ และ aromatic compounds ต่างๆ ซึ่งถ้าอุณหภูมิสูงมากๆ จะทำให้เอนไซม์ในยีสต์เกิดการเสียสภาพธรรมชาติ (denature) อัตราการเจริญเติบโตของยีสต์จะลดลงในระหว่างที่อุณหภูมิอยู่ในช่วง 55-85 องศาเซลเซียส และอาจทำให้ยีสต์ตายได้ (รัฐพงศ์, 2545) สำหรับการหมักที่อุณหภูมิสูง จะมีการระเหยของแอลกอฮอล์ และเกิดฟองมากนอกจากนี้ยังทำให้เกิดฟิวเซลอยด์มาก มีผลทำให้เกิดอาการมึนศีรษะของผู้บริโภคได้ อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญและการหมักแอลกอฮอล์โดยยีสต์ โดยปกติอยู่ในช่วง 30-35 องศาเซลเซียส แต่ในสภาพที่มีแอลกอฮอล์ผลิตออกมาแล้วจะมีผลทำให้อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญและการหมักเปลี่ยนแปลงไป ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปริมาณแอลกอฮอล์และสายพันธุ์ยีสต์ (ชรินทร์, 2546)

3) ออกซิเจน ในสภาวะที่มีอากาศหรือออกซิเจนยีสต์จะสามารถแบ่งตัวเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่าได้ในเวลาไม่ถึงชั่วโมงในระยะเวลาการเจริญ และจะได้เซลล์ยีสต์เป็นล้านเซลล์เมื่อเวลาผ่านไปภายใน 24 ชั่วโมง การเจริญของยีสต์ในช่วงนี้จะให้ปริมาณแอลกอฮอล์น้อยมาก และเกิดการปนเปื้อนของแบคทีเรีย *Acetobacter* ซึ่งจะผลิตกรดน้ำส้มขึ้นมา กรดน้ำส้มมีผลทำให้การเจริญเติบโตของยีสต์ชะงัก ความเข้มข้นที่มีผลต่อการเจริญคือ 0.1-0.5 เปอร์เซ็นต์ ของกรดน้ำส้ม จะส่งผลกระทบต่อกลิ่นรสของสุรา ทำให้มีรสเปรี้ยวและมีกลิ่นบูด ในทางตรงกันข้าม สภาวะที่ไม่มีอากาศ หรือออกซิเจนยีสต์จะแบ่งเซลล์ได้น้อยกว่า แต่จะให้ปริมาณแอลกอฮอล์ได้ดีกว่า ในการหมักด้วยถังขนาดเล็ก จึงควรใช้อุปกรณ์ดักอากาศ หรือ air lock โดยการเติมน้ำสะอาดลงในอุปกรณ์เท่านั้นก็สามารถป้องกันไม่ให้อากาศจากภายนอกเข้าสู่ถังได้ แต่ยอมให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ผลิตจากยีสต์ออกมาจากถังได้ (โชคชัย และคณะ, 2546)

4) ความเป็นกรด-ด่าง ของน้ำหมักมีผลต่ออัตราการหมัก การสร้างผลผลิตพลอยได้ ตลอดจนการควบคุมเชื้อปนเปื้อนซึ่งล้วนแล้วแต่มีผลต่อการเจริญของยีสต์ โดยทั่วไปยีสต์ชอบเจริญในสภาพความเป็นกรดในระดับความเป็นกรด-ด่าง 3.5-5.5 ถ้าต่ำกว่า 3.5 ยีสต์จะมีอัตราการเจริญลดลง ถ้าพีเอชต่ำกว่า 3.0 เชื้อยีสต์ไม่สามารถเจริญได้ ดังนั้นจึงนิยมปรับความเป็นกรด-ด่างให้อยู่ในช่วง 4.0-4.5 เป็นช่วงยีสต์มีประสิทธิภาพในการเจริญได้ดี และยังสามารถยับยั้งพวกแบคทีเรียปนเปื้อนได้ด้วย เพราะแบคทีเรียส่วนใหญ่เจริญได้ดีในสภาพความเป็นกรด-ด่าง ที่เป็นกลาง ในระหว่างการหมักยีสต์จะมีการสร้างกรดปลดปล่อยออกมาจากเซลล์ยีสต์ ทำให้สภาพความเป็นกรดของน้ำหมักเพิ่มขึ้น ดังนั้นเมื่อกรดสะสมถึงค่าหนึ่งจะทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลง (ชรินทร์, 2546)

5) สารอาหาร กลีโคเร่ และวิตามินต่างๆ ที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโต และเมตาบอลิซึมต่างๆ ภายในเซลล์ยีสต์ ได้แก่

5.1) แหล่งไนโตรเจน นิยมเติมในรูปของกลีโคแอมโมเนียมซัลเฟตและยูเรีย เป็นต้น เชื้อยีสต์ *Saccharomyces* sp. สามารถใช้ยูเรียได้ดีเมื่อมีไบโอตินร่วมอยู่ด้วย (Rose and Harrison, 1970) นอกจากนี้ยีสต์ยังสามารถใช้กรดอะมิโนเป็นแหล่งไนโตรเจน โดยย่อยสลายกรดอะมิโนเป็นแอมโมเนีย คาร์บอนไดออกไซด์ และ higher alcohol โดยยีสต์จะใช้เฉพาะโมเลกุลของแอมโมเนีย (Paturau, 1969 ; Harrison and Graham, 1970)

5.2) กลีโคเร่และสารอนินทรีย์อื่นๆ ได้แก่ ฟอสฟอรัส ยีสต์จำเป็นต้องใช้ฟอสฟอรัสในการสร้าง ATP (Adenosine-5-triphosphate) สังเคราะห์นิวคลีโอโปรตีน และสารอื่นๆ ในเซลล์ในการเจริญเติบโต ซึ่งอาจเติมฟอสฟอรัสในภาพของกลีโคฟอสเฟต นอกจากนี้ยีสต์ยังต้องการแมกนีเซียม ซึ่งจำเป็นต่อการหมักแอลกอฮอล์ โดยเป็นโคแฟกเตอร์ของเอนไซม์หลายชนิดใน Embden-Meyerhof-Parnas Pathway (EPM) ส่วนสารอนินทรีย์อื่นๆ ที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของยีสต์ ได้แก่ โปตัสเซียม แคลเซียม เหล็ก ทองแดง สังกะสี เป็นต้น (Rose, 1977)

5.3) วิตามิน เป็นตัวควบคุมเมตาบอลิซึมของยีสต์โดยจะควบคุมเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องเพราะวิตามินเป็นโคเอนไซม์ หรือทำหน้าที่เป็นสารตั้งต้น ที่ทำให้เอนไซม์สามารถทำงานได้ดี ส่วนใหญ่พบในรูปของ กรดแพนโทธิก (ชรินทร์, 2546)

6) คาร์บอนไดออกไซด์ และความดัน คาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดจากปฏิกิริยาในการใช้น้ำตาลของยีสต์จะมีผลต่อการเจริญเติบโตของยีสต์ด้วย ถ้าไม่มีการระบายคาร์บอนไดออกไซด์ออกจากถังหมัก จะทำให้ความดันในถังหมักสูงขึ้น ซึ่งมีผลทำให้อัตราการเร็วการของหมักลดลง

7) ความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ ในกรณีที่ความเข้มข้นของแอลกอฮอล์สูงขึ้นถึงขีดจำกัด คือ 15 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร ต่อปริมาตร (ขีดจำกัดนี้อาจสูง หรือต่ำกว่านี้ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของยีสต์ แต่เท่าที่พบจะสูงไม่เกิน 18 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร ต่อปริมาตร) ปริมาณแอลกอฮอล์ที่สูงนี้จะขัดขวาง หรือยับยั้งการทำงานของยีสต์ และการหมักจะหยุดชะงักแม้จะยังคงมีน้ำตาลเหลืออยู่ในน้ำสำ (รัฐพงศ์, 2545)

ตารางที่ 2.1 ตัวอย่างยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ต่างๆที่ใช้ในอุตสาหกรรมไวน์

สายพันธุ์หรือรหัสทางการค้า	คุณสมบัติ
Lalvin EC-1118 ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> var. <i>bayanus</i> .)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- สำหรับไวน์ขาวและแดงที่ต้องการหมักอย่างรวดเร็วและรสชาติเป็นกลางๆ</li> <li>- หมักได้ระหว่าง 18-30 องศาเซลเซียส</li> <li>- ทนแอลกอฮอล์ 16%</li> </ul>
Lalvin K1-V1116 ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> )	<ul style="list-style-type: none"> <li>- สำหรับหมักไวน์แดง</li> <li>- ทนแอลกอฮอล์ได้ถึง 14 %</li> <li>- หมักได้ระหว่าง 15-35 องศาเซลเซียส</li> </ul>
Enoferm BDX ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> )	<ul style="list-style-type: none"> <li>- สำหรับหมักไวน์แดง</li> <li>- หมักได้ระหว่าง 18-30 องศาเซลเซียส</li> <li>- ทนแอลกอฮอล์ 16%</li> </ul>
Fermivin ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> )	<ul style="list-style-type: none"> <li>- สำหรับหมักไวน์ขาวและแดง</li> <li>- หมักได้ระหว่าง 15-35 องศาเซลเซียส</li> <li>- ทนแอลกอฮอล์ได้ถึง 14 %</li> <li>- ผลิตกรดระเหยต่ำกว่า 0.15 กรัมต่อลิตร</li> <li>- ผลิตอะซิติกไฮดรอกไซด์ต่ำกว่า 20 มิลลิกรัมต่อลิตร</li> <li>- ผลิตก๊าซซัลเฟอร์(<math>H_2S</math>) ต่ำ</li> </ul>
Fermivin PDM ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> var. <i>bayanus</i> )	<ul style="list-style-type: none"> <li>- สำหรับหมักไวน์ขาวและแดง</li> <li>- หมักได้ระหว่าง 14-28 องศาเซลเซียส</li> <li>- ทนแอลกอฮอล์ได้ถึง 16 %</li> <li>- ผลิตกรดระเหยต่ำกว่า 0.15 กรัมต่อลิตร</li> <li>- ผลิตอะซิติกไฮดรอกไซด์ต่ำกว่า 10 มิลลิกรัมต่อลิตร</li> <li>- ผลิตก๊าซซัลเฟอร์(<math>H_2S</math>) ต่ำ</li> </ul>

ที่มา : LALLEMAND INC. Inc. (2004) ; DSM Food Beverage Ingredients (2004)



สารเคมีอื่นที่สำคัญซึ่งเกิดขึ้นในกระบวนการหมักแอลกอฮอล์

1) เอสเทอร์ การหมักแอลกอฮอล์ประกอบด้วยสารระเหยหลายชนิด เช่น แอลกอฮอล์ กรดคาร์บอนิก เอสเทอร์ แอลดีไฮด์ และคีโตน เป็นต้น ซึ่งสารต่างๆเหล่านี้โดยมากมาจากกิจกรรมของยีสต์ในระหว่างการหมักแอลกอฮอล์ แต่สารระเหยบางตัว เช่น เอทิลลิควินเนต ที่เป็นสารที่ให้กลิ่นหอมเฉพาะของสาเก มาจากกิจกรรมของราขณะย่อยแป้ง มีปัจจัยหลายอย่างที่มีอิทธิพลต่อการสังเคราะห์สารระเหยได้ของยีสต์ในขณะหมัก เช่น องค์ประกอบของข้าว สายพันธุ์ เชื้อราและยีสต์ พบว่า สารเอสเทอร์และแอลกอฮอล์ที่มีโมเลกุลใหญ่ จะถูกผลิตขึ้นขณะที่ยีสต์อยู่ในระยะกำลังเจริญ และวิธีการสังเคราะห์เอสเทอร์โดยยีสต์ยังขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ และกรดที่มีอยู่ในสารละลายด้วย (นัยทัศน์, 2542)

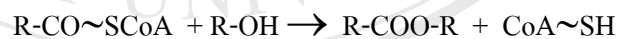
เอสเทอร์ เป็นสารหอมระเหย ที่มีความสำคัญในการให้กลิ่นรสแก่ผลิตภัณฑ์ เกิดจากปฏิกิริยาระหว่าง Acyl CoA และ Free Alcohols โดยการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ Esterase และ Alcohol acetyl transferase ทำให้เกิดกลิ่นหอมขึ้น นอกจากนี้การเกิดเอสเทอร์ยังเกี่ยวข้องกับความเข้มข้นของกรดในการเกิดปฏิกิริยา esterification ความเข้มข้นของ free acid ขึ้นอยู่กับขั้นตอนย่อยแป้งเป็นน้ำตาลของเชื้อรา ซึ่งจะเกิดการย่อยสลายกรดไขมันในข้าวได้เป็นกลีเซอรอลและกรดไขมันอิสระ (free fatty acid) (นัยทัศน์, 2542)

ปฏิกิริยาการเกิดเอสเทอร์ สามารถเกิดได้ 2 รูปแบบ ดังสมการ

แบบที่ 1 เกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่างเอทานอลกับกรดอะซิติก



แบบที่ 2 เกิดจากปฏิกิริยา Alcoholysis ของสารประกอบ Acyl CoA



2) แอลกอฮอล์ที่มีโมเลกุลใหญ่ (Higher alcohols) หรือแอลกอฮอล์ชั้นสูง มีที่มาจากกระบวนการสลายกลูโคส และกรดอะมิโน เกิดขึ้นในช่วงการเจริญเติบโตของยีสต์ ได้แก่ amylalcohol, isobutyl alcohol และ 2-phenyl ethanol ชนิดและปริมาณขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ยีสต์ และองค์ประกอบของสารอาหารเริ่มต้น (ชรินทร์, 2546)

3) แอลดีไฮด์ (Aldehyde) เป็นสารในกลุ่ม Carbonyl เป็นสารสำคัญที่มีบทบาทต่อกลิ่นรสของสาโท เกิดจากปฏิกิริยาการออกซิไดซ์แอลกอฮอล์เป็นแอลดีไฮด์ ปริมาณแอลดีไฮด์ที่ถูกสร้างขึ้นมาขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของยีสต์และสภาวะในการหมัก โดยทั่วไปแล้วปริมาณแอลดีไฮด์ควรมีค่าอยู่ในช่วง 60- 190 มิลลิกรัมต่อลิตร (พัฒนาพงษ์, 2543)

4) เอทิลคาร์บาเมต (Ethyl carbamate) เป็นสารประกอบที่สร้างขึ้นในระหว่างการหมักด้วยยีสต์ สร้างจากยูเรียซึ่งเป็นสารตั้งต้น (precursor) ที่จะถูกเอนไซม์ urease เปลี่ยนเป็นสารนี้ (พัฒนาพงษ์, 2543)

5) ฟูเซลอยล์ (Fusel oil) เกิดจากกระบวนการสลายกรดอะมิโน ชนิด valine, leucine, isoleucine และ phenylalanine และเกิดขึ้นจากกระบวนการสร้างกรดอะมิโน ชนิด threonine, glutamic acid, isoleucine และ valine ตัวอย่างของฟูเซลอยล์ ได้แก่ แอลกอฮอล์มวลโมเลกุลสูงๆ เช่น 1-propanol, 1-butanol, 2-butanol, 2-methyl-1-butanol, 3-methyl-1-butanol, 3-pentanol และ 1-hexanol (พัฒนาพงษ์, 2543)

6) เมทิลแอลกอฮอล์ (Methyl alcohol) ในกระบวนการหมักสุราแช่ประเภทต่างๆ ได้แก่ สาโท ไวน์ และไวน์ผลไม้ นั้น ยีสต์มีความสามารถในการเปลี่ยนน้ำตาล และคาร์โบไฮเดรตเป็นแอลกอฮอล์และสารอื่นๆได้ในชนิดและปริมาณต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาวะในการหมัก ในบางสภาวะที่ไม่เหมาะสม เช่น ในกระบวนการผลิตไวน์ผลไม้บางชนิดที่ใช้เอนไซม์เพคตินเอสในการเตรียมน้ำผลไม้ ก็ทำให้เกิดเมทิลแอลกอฮอล์ขึ้นได้ เป็นต้น (กิจชัย, 2535 ; มลิวรรณ, 2544 ; สมิ้ง, 2541)

#### 2.4.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการหมักแอลกอฮอล์

มาลัย และคณะ (2524) ซึ่งศึกษาการย่อยปลายข้าวเหนียวโดยใช้เอนไซม์ทางการค้า คือ แอลฟาอะไมเลส (BAN 120 L) และกลูโคสอะไมเลส (SAN 150 L) พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นของแป้ง 25 เปอร์เซ็นต์ ความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5.0 และอุณหภูมิ 55-60 องศาเซลเซียส จะให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 19.15 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 24 ชั่วโมง และหมักให้เกิดแอลกอฮอล์ได้ประมาณ 9-10 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร

ดาระณี (2533) ศึกษาการหมักแอลกอฮอล์จากแป้งดิบ 5 ชนิด คือ แป้งมันสำปะหลัง แป้งข้าวเหนียว แป้งข้าวเจ้า แป้งข้าวโพด และแป้งข้าวฟ่าง ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) โดยใช้โคจิเอนไซม์จากเชื้อรา *Aspergillus kawachi* และ *Rhizopus sp.* ร่วมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* SC 90 ในพลาสติกขนาด 1 ลิตร พบว่า โคจิเอนไซม์ของเชื้อ *A. kawachi* ร่วมกับเชื้อยีสต์ สามารถหมักแป้งมันสำปะหลัง แป้งข้าวเหนียว แป้งข้าวเจ้า แป้งข้าวโพด และแป้งข้าวฟ่าง ได้แอลกอฮอล์ 5.98, 6.38, 6.44, 5.18 และ 8.07 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ตามลำดับ ส่วนโคจิเอนไซม์ของ *Rhizopus sp.* ร่วมกับเชื้อยีสต์สามารถหมักได้แอลกอฮอล์สูงสุด ร้อยละ 2.44, 5.26, 4.62, 4.94 และ 7.20 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ตามลำดับ

กล้าณรงค์ และคณะ (2545) ศึกษาวิจัยกรรมวิธีการผลิตไวน์จากมันสำปะหลัง โดยทำการย่อยแป้งที่มีอยู่ในหัวมันซึ่งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (Termamyl 120L, Novo Nordisk ที่ความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 6,  $\text{Ca}^{2+}$  50 ppm, 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง) และทำการย่อยอีกครั้งเพื่อให้ได้น้ำตาลกลูโคสด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลส (AMG 300L, Novo Nordisk ที่ความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 4.5, 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง) หลังจากนั้นทำการหมักน้ำเชื่อมที่ได้ด้วยเชื้อยีสต์บริสุทธิ์ผสม 3 ตัวอย่าง คือ A, B และ C ซึ่งแยกได้จากลูกแป้ง 3 แหล่ง (ลูกแป้งแต่ละแหล่งจะมียีสต์หลายสายพันธุ์) เปรียบเทียบกับการหมักกับเชื้อยีสต์บริสุทธิ์ทางการค้า (*S. cerevisiae* Burgandy) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า เชื้อยีสต์บริสุทธิ์ผสมที่แยกได้จากลูกแป้ง 3 แหล่ง ให้ปริมาณแอลกอฮอล์สูงใกล้เคียงกับการใช้เชื้อบริสุทธิ์ทางการค้า ซึ่งปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้อยู่ในระหว่าง 9.87-11.33 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร ในวันสุดท้ายของการหมัก

Preez *et al.* (1985) ได้ทำการศึกษาการหมักแอลกอฮอล์จากสตาร์ชเมล็ดข้าวฟ่าง โดยใช้เอนไซม์ทางการค้า 2 ชนิด ในการย่อยแป้ง คือ แอลฟาอะไมเลส ในขั้นตอนการทำให้เหลวและอะไมโลกลูโคซิเดส ในขั้นตอนการทำให้หวาน และใช้ยีสต์ *S. cerevisiae* หลายสายพันธุ์ที่มีความสามารถในการหมักแอลกอฮอล์ โดยใช้น้ำตาลมอลโทสได้ ในการทดลองนี้ใช้ความเข้มข้นของสารละลาย 30 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักรวมเมล็ดข้าว และเมื่อใช้เอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสย่อยเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ก่อนการหมักแอลกอฮอล์ พบว่า แป้งเปลี่ยนเป็นกลูโคสและมอลโทส 75.9 เปอร์เซ็นต์ และแอลกอฮอล์ถูกผลิตขึ้นคิดเป็น 99.3 กรัมต่อลิตร (12.57 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรต่อปริมาตร) หลังจากระยะเวลาในการหมัก 36 ชั่วโมง

Nakamura *et al.* (1996) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากหัว Jerusalem Artichoke โดยกระบวนการหมักร่วมกับกระบวนการย่อยสลายด้วยเชื้อ *A. niger* 817 และ *S. cerevisiae* 1200 โดยใช้วัตถุดิบดังนี้ คือ แป้งจากหัว Jerusalem Artichoke ที่ผ่านการบดแล้ว ปริมาณเอทานอลที่ได้คิดเป็น 10.4 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร หลังจากหมัก 15 ชั่วโมง น้ำคั้นของ Jerusalem Artichoke เข้มข้น ปริมาณเอทานอลที่ได้คิดเป็น 15 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักต่อปริมาตร หลังจากหมัก 72 ชั่วโมง และแป้งจากหัว Jerusalem Artichoke ปริมาณเอทานอลที่ได้คิดเป็น 20.1 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักต่อปริมาตร หลังจากหมัก 120 ชั่วโมง ตามลำดับ

Kiran *et al.* (1998) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากการหมักในสภาพของแข็งโดยใช้เชื้อยีสต์ทนอุณหภูมิสูง การผลิตเอทานอลเป็นเชื้อเพลิงโดยการหมักในสภาพของแข็ง หรือ solid-state fermentation จากข้าวฟ่างหวานและมันฝรั่งหวาน พบว่า การหมักโดยใช้ร่วมระหว่างยีสต์ *S. cerevisiae* VS3 ซึ่งเป็นยีสต์ที่ทนอุณหภูมิสูง และเชื้อ *Bacillus sp.*(VB9) ซึ่งผลิตเอนไซม์อะไมเลส จะให้เอทานอลที่สูงกว่าการหมักโดยยีสต์ *S. cerevisiae* VS3 เพียงอย่างเดียว โดย

ปริมาณเอทานอลที่มากที่สุด คือ 5 กรัม ต่อสับเตรท 100 กรัม และ 3.5 กรัม ต่อสับเตรท 100 กรัม เมื่อบ่มนาน 72 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 และ 42 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

Suresh *et al.* (1999) ศึกษาการผลิตเอทานอลจากเมล็ดข้าวฟ่างและเมล็ดข้าวที่แตกหัก โดยกระบวนการหมักร่วมกับการย่อยสลายด้วยเชื้อจุลินทรีย์ 2 ชนิด คือ *A. niger* (NCIM 1248) และ *S. cerevisiae* VSJ1 พบว่า เอทานอลที่ผลิตจากเมล็ดข้าวฟ่างที่แตกหัก (2.90 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) มากกว่าเมล็ดข้าวที่แตกหัก (2.0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ภายใต้อุณหภูมิที่เหมาะสม

Sree *et al.* (1999) ศึกษาการผลิตแอลกอฮอล์โดยการหมักในสภาพของแข็งจากสับเตรทจำพวกแป้งหลายชนิด คือ ข้าวฟ่างหวาน มันฝรั่งหวาน แป้งสาลี แป้งข้าวเจ้า soluble starch และ แป้งมันฝรั่ง โดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* VS<sub>3</sub> ซึ่งทนอุณหภูมิสูง โดยให้เกิดกระบวนการหมักร่วมกับการย่อยสลายไปพร้อมๆ กัน และแอลกอฮอล์ที่ผลิตได้ ทำการตรวจเช็คหลังจากบ่มนาน 96 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 และ 42 องศาเซลเซียส พบว่า ผลิตเอทานอลมากที่สุดจากการใช้แป้งข้าวเจ้า และข้าวฟ่างหวานเป็นสับเตรท โดยได้เอทานอล 10 กรัม และ 3.5 กรัม ต่อสับเตรท 100 กรัม เมื่อใช้แป้งข้าวเจ้า และ 8.2 กรัม และ 7.5 กรัม ต่อสับเตรท 100 กรัม เมื่อใช้ข้าวฟ่างหวาน ที่อุณหภูมิ 37 และ 42 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

Thierry and Jean-Marie (2000) ศึกษาการผลิตแอลกอฮอล์จากแป้งสาลีดิบโดยใช้เอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสร่วมกับเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* โดยใช้ความเข้มข้นของสารละลาย 30 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแป้งสาลีดิบ พบว่า เมื่อทำให้เกิดกระบวนการสลายแป้งร่วมกับการหมัก (saccharificatio and fermentation) ไปพร้อมๆ กัน จะให้ผลดีกว่าการหมักทีละขั้นตอน คือใช้เอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส ในระดับ 270 หน่วยต่อแป้ง 1 กิโลกรัม ทำการย่อยแป้งก่อน 6 ชั่วโมง แล้วจึงหมักด้วยยีสต์ ให้แอลกอฮอล์สูงสุดที่ 60 ชั่วโมง แต่เมื่อทำการย่อยสลายแป้งร่วมกับการหมักไปพร้อมๆ กัน ให้แอลกอฮอล์สูงสุดที่ 31 ชั่วโมง และเมื่อเพิ่มปริมาณเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส เป็น 540 หน่วยต่อแป้ง 1 กิโลกรัม ใช้เวลาในการหมักเพียง 21 ชั่วโมง โดยให้แอลกอฮอล์ 67 กรัมต่อลิตร

## 2.5 กระบวนการหมักโดยใช้ลูกแป้งสุรา

ลูกแป้ง ตามพระราชบัญญัติ พ.ศ.2493 มาตรา 4 จัดเป็นเชื้อสุราอย่างหนึ่งตามนิยาม ดังนี้ "เชื้อสุรา" หมายถึง แป้งเชื้อสุรา แป้งข้าวหมาก หรือเชื้อใดๆเมื่อหมักกับวัตถุดิบหรือของเหลวอื่นๆแล้วสามารถทำให้เกิดแอลกอฮอล์ที่ใช้ทำสุราได้ ลูกแป้งมีหลายชนิด ผลิตขึ้นตามวัตถุประสงค์ที่จะนำไปใช้ เช่น ลูกแป้งเหล้า ลูกแป้งข้าวหมาก ลูกแป้งทำน้ำส้มสายชู และลูกแป้งที่ใช้ในการทำขนมด้วยฟู การผลิตลูกแป้งมักทำกันเป็นอุตสาหกรรมในครัวเรือน โดยมีกรรมวิธีที่คล้ายคลึงกัน แต่จะมีความแตกต่างกันขององค์ประกอบของวัตถุดิบ ขนาดรูปร่าง ตลอดจนชนิดและสายพันธุ์จุลินทรีย์ (มนตรี, 2521)

ในประเทศไทยการผลิตสุราขาวโดยวิธีพื้นเมือง ใช้ลูกแป้งเป็นสตาร์ทเตอร์ (starter) (ไพโรจน์, 2534) การผลิตลูกแป้งมีสูตรต่างกันหลายตำรับ ผู้ผลิตมักสงวนไว้เป็นความลับ แต่องค์ประกอบที่สำคัญก็คือ ปลายข้าวดิบ หรือข้าวสารบดละเอียด ซึ่งใช้ได้ทั้งข้าวเหนียว และข้าวเจ้า (หรืออาจใช้แป้งงุงสำเร็จรูปที่ขายในท้องตลาด ยี่ห้อที่นิยมคือแป้งข้าวเหนียวตราเหรียญทอง เนื่องจากไม่มีสารกันเสียรบกวนการเจริญของหัวเชื้อลูกแป้ง นำมาผสมกับเครื่องเทศสมุนไพรต่างๆ เครื่องเทศเหล่านี้บางตำรับใช้ในลักษณะเป็นผง แต่บางตำรับก็ใช้ในรูปของสารสกัดในน้ำเดือด ในเครื่องเทศสมุนไพรจะมีสารส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดจำเป็น เช่น เป็นแหล่งคาร์บอน ไนโตรเจน วิตามิน เกลือแร่ ที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโต และกระบวนการหมักของราและยีสต์ เช่น รากหวาย มีน้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอน อบเชย ต้นคุดหมา นอกจากจะให้กลิ่นหอมในสาโทแล้ว ยังเป็นแหล่งของแร่ธาตุสำคัญสำหรับการหมัก และสารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดไม่จำเป็น เช่น essential oil และสารระเหย เช่น กานพลู มีสารยับยั้งแบคทีเรียแลคติก และราหลายชนิดที่ไม่ต้องการ (ยุพกนิษฐ์, 2543)

สาเหตุที่ทำให้ลูกแป้งเหล้าของแต่ละท้องถิ่นและแต่ละคนที่ทำแตกต่างกันเนื่องจากปัจจัยต่าง ๆ ดังนี้ (ประดิษฐ์, 2544)

- 1) ความแตกต่างของชนิด ปริมาณและสัดส่วนของสมุนไพรและเครื่องเทศต่าง ๆ
- 2) ความแตกต่างของฤดูเก็บและแหล่งปลูกสมุนไพรเครื่องเทศ
- 3) ความแห้งหรือความชื้นของสมุนไพรเครื่องเทศ
- 4) คุณภาพของลูกแป้งเหล้าที่ใช้ต่อเชื้อทำลูกแป้งเหล้าครั้งต่อไป
- 5) ความเก่าหรือใหม่ของลูกแป้งเหล้า



### 2.5.1 องค์ประกอบของลูกแป้งสุรา

องค์ประกอบหลักที่ใช้ในการผลิตลูกแป้งสุรา ประกอบด้วย 3 ส่วน คือ ส่วนของแป้งข้าว สมุนไพร และเชื้อตั้งต้น

1) แป้งข้าว โดยทั่วไปแป้งข้าวที่ใช้ในการทำลูกแป้งใช้ได้ทั้งแป้งข้าวเหนียว และแป้งข้าวเจ้า แต่จากการศึกษาพบว่า ถ้าใช้แป้งข้าวเจ้าล้วนๆ จะมีคุณภาพดึกว่าใช้แป้งข้าวเหนียว หรือแป้งข้าวเจ้าผสมแป้งข้าวเหนียว (นภา, 2534) ปัจจุบันมีแป้งสำเร็จรูปบรรจุเป็นถุงขาย ซึ่งมีทั้งข้าวแป้งข้าวเหนียวและแป้งข้าวเจ้าทำให้สะดวกแก่การผลิต แป้งข้าวสำเร็จรูปมักมีการเติมสารยับยั้งการเจริญของเชื้อรา เช่น กรดโปรพิโอนิก ซึ่งสารนี้จะมีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผสมในขั้นตอนของการผลิตลูกแป้งอยู่บ้าง แต่ก็จะมีข้อดีตรงสามารถป้องกันเชื้อปนเปื้อนที่ไม่ต้องการได้ดี แต่ถ้าต้องการผลิตแป้งข้าวเองจะต้องเลือกข้าวที่สะอาดไม่เก่าเก็บ และไม่อับรา ขั้นตอนการแช่ข้าวจะต้องไม่แช่นานเกินไปโดยไม่เปลี่ยนน้ำ ซึ่งจะมีผลทำให้แบคทีเรียแลคติก และ *Bacillus sp.* เจริญเพิ่มในปริมาณมาก ทำให้ลูกแป้งที่ผลิตด้อยคุณภาพ เมื่อแช่ข้าวเสร็จแล้วนำไปโม่แล้วทับน้ำให้แห้ง หรือทำให้ข้าวสะเด็ดน้ำเสียก่อน แล้วนำไปปั่นด้วยเครื่องให้แตกละเอียด ร้อนด้วยแรง จะได้แป้งข้าวพร้อมใช้ แต่อย่างไรก็ตามปัจจุบันนิยมใช้แป้งข้าวสำเร็จรูปมากกว่าที่จะผลิตเองเนื่องจากสะดวกกว่า และประหยัดเวลาได้พอสมควร (สมบัติ, 2545)

2) สมุนไพร สมุนไพรและเครื่องเทศในลูกแป้งสุราทำหน้าที่คัดเลือกและยับยั้งจุลินทรีย์ต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องในการหมักสุราจากข้าว สมุนไพรจะยอมให้จุลินทรีย์ที่จำเป็นในการหมักสุราเจริญเติบโตได้ และยับยั้งจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ ที่ทำให้สุราที่ผลิตได้เสียหรือเปรี้ยวในขณะหมักสุราในการทำ ลูกแป้งเหล้ารวมทั้งลูกแป้งข้าวหมาก สมุนไพรเป็นองค์ประกอบที่สำคัญ ซึ่งแต่ละแหล่งผลิตจะมีสูตรการผลิตลูกแป้งที่ต่างกันหลายตำรับ และมักเก็บไว้เป็นความลับที่ถ่ายทอดกันเฉพาะในครัวเรือน (ตารางที่ 2.2) สมุนไพรที่ใช้ผสมในลูกแป้งสุรามีหลายชนิด เช่น กระเทียม จิงข่า ชะเอม พริกไทย หัวหอม และดีปลี เป็นต้น (สมบัติ, 2545)

สมุนไพรที่นำมาผลิตลูกแป้ง จะต้องแปรงสนิทปราศจากการเจริญของเชื้อรา สมุนไพรเหล่านี้ประกอบด้วยสารออกฤทธิ์ที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ปนเปื้อน ความเก่าของสมุนไพรที่ใช้จึงนับเป็นปัจจัยสำคัญประการหนึ่ง เนื่องจากสารออกฤทธิ์ส่วนใหญ่เป็นสารระเหย การเก็บสมุนไพรไว้เป็นเวลานานๆ สารเหล่านี้จะลดปริมาณลง โดยเฉพาะสมุนไพรที่เก็บไว้ในลักษณะเป็นผงละเอียด อัตราการระเหยจะยิ่งเป็นไปอย่างรวดเร็ว (สมบัติ, 2545)

ตารางที่ 2.2 ตัวอย่างตำรับลูกแป้งสุราโบราณ

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

ที่มา : วรชิน สถิตนิมานการ, 2493 (อ้างโดย นภา, 2534)

3) แป้งเชื้อ คือลูกแป้งสุราที่เลือกสรรมาอย่างดีแล้ว ใช้ผสมกับสมุนไพร และแป้งข้าว เพื่อเป็นเชื้อตั้งต้นของลูกแป้งสุรา การที่ผู้ผลิตลูกแป้งสุราแต่ละครั้งจะแบ่งลูกแป้งส่วนหนึ่งเก็บไว้เป็นสต็อกเชื้อ เมื่อจะผลิตครั้งต่อไปก็จะนำลูกแป้งในสต็อกเชื้อมาผสมทำลูกแป้งชุดต่อไป

กรรมวิธีการเตรียมลูกแป้ง นับเป็นภูมิปัญญาพื้นบ้านของไทย ซึ่งมีวิธีการผลิตที่แตกต่างกันไปในแต่ละท้องถิ่น โดยเริ่มจากการเตรียมเครื่องเทศสมุนไพร ซึ่งมีสูตรเฉพาะในแต่ละแหล่งที่ผลิต โดยทั่วไปจะประกอบด้วยสมุนไพรหลักประมาณ 10 ชนิด ได้แก่ ขิง ข่า กระเทียม ชะเอม พริกไทย ดีปลี กระวาน กานพลู เจดมูลเพลิง ดอกและลูกจันทน์เทศ เป็นต้น เครื่องเทศสมุนไพรจะทำหน้าที่คัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ในธรรมชาติที่ต้องการ และควบคุมยับยั้งจุลินทรีย์ตัวอื่น ๆ ที่ไม่ต้องการ ทั้งชนิดและปริมาณการใช้ขึ้นอยู่กับแต่ละสูตร เมื่อนำมาใช้จะมีการสับหรือตีป่นให้ละเอียด บางชนิดอาจต้องนำมาต้มเล็กน้อยกับน้ำก่อนเพื่อสกัดมาใช้ ในปัจจุบันนี้ มักนำแป้งข้าวเจ้าหรือแป้งข้าวเหนียวมาใช้เตรียมลูกแป้งเลย โดยนำมาผัดกับน้ำให้เป็นก้อน แล้วคลุกเคล้ากับสมุนไพรที่เตรียมไว้ โดยอาจมีการใช้ลูกแป้งเก่ามาบดแล้วผสมลงไปด้วย จากนั้นปั้นเป็นก้อนกลม และกดให้แบนตรงกลางแล้วเรียงบนกระด้งที่มีการฆ่าเชื้อแล้วด้วย แอลกอฮอล์ (โดยทั่วไปใช้เหล้าขาว) นำตาลลูกแป้งมาผึ่งในที่ร่ม และทำการบ่มโดยคลุมด้วยผ้า เพื่อป้องกันเชื้ออื่นที่ไม่ต้องการ และเป็นการรักษาอุณหภูมิขณะบ่ม บ่มทิ้งไว้จนกว่าจะมีเชื้อราสีขาวสร้างเส้นใยขึ้นมาปกคลุมแปลว่าใช้ได้ ในขั้นตอนนี้ใช้เวลาประมาณ 2-3 วัน ลูกแป้งจะประกอบด้วยเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ที่แตกต่างกันไปในแต่ละท้องถิ่นของประเทศ ซึ่งจุลินทรีย์

กลุ่มที่พบในลูกแป้งจะเป็นพวกเชื้อรา และยีสต์ โดยเชื้อราจะทำหน้าที่ย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล และยีสต์จะทำหน้าที่เปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ หลังจากนั้นจะนำลูกแป้งไปตากแดดจนแห้ง และบรรจุใส่ถุงเก็บไว้ใช้งาน การเก็บรักษาในสภาพที่แห้งและเย็นสามารถจะเก็บไว้ได้นานถึง 6 เดือน (กล้าณรงค์ และคณะ, 2545)

คุณภาพที่ดีของลูกแป้งในการเป็นแหล่งจุลินทรีย์ในการหมักสาโทนั้น ไม่ควรจะเก่าเก็บไว้นานเกินไป เนื่องจากจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตของจุลินทรีย์หลัก คือราและยีสต์จะลดลง แต่อาจเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ปนเปื้อน เนื่องจากประสิทธิภาพในการยับยั้งจากน้ำมันหอมระเหย (volatile oil) และสารยับยั้งประเภทอื่น ได้แก่ แอลกอฮอล์ (alcohol) กรดอินทรีย์ (organic acid) ฟีนอล (phenol) อัลคาลอยด์ (alcaloid) เอสเทอร์ (ester) และ เทอร์ปีน (terpene) จากส่วนประกอบที่เป็นสมุนไพรอาจสูญเสียขณะเก็บ โดยทั่วไปพบปริมาณราในลูกแป้ง  $10^4$  ถึง  $10^5$  เซลล์ต่อกรัม ลูกแป้ง และพบปริมาณยีสต์  $10^5$  ถึง  $10^6$  เซลล์ต่อกรัมลูกแป้ง ส่วนแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก พบในปริมาณ  $10^4$  ถึง  $10^7$  เซลล์ต่อกรัมลูกแป้ง (ลักขณา, 2546)

สำหรับลูกแป้งเก่าเก็บ การสูญเสียที่พบบ่อยคือ ยีสต์มากกว่ารา ทำให้การทำงานของลูกแป้งไม่สมบูรณ์ เพราะราเท่านั้นที่ทำหน้าที่ย่อยแป้งเป็นน้ำตาล แต่ขาดยีสต์ทำให้ไม่สามารถสร้างแอลกอฮอล์ได้หรือสร้างได้แต่น้อยลง ส่วนเหตุผลที่สูญเสียยีสต์ง่ายกว่ารา เนื่องจากยีสต์เป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่ต้องการอินทรีย์วัตถุขนาดเล็กที่ย่อยสลายได้ง่ายๆ แต่ในสภาพของลูกแป้งที่มีแต่แป้ง ซึ่งจัดเป็นสารอินทรีย์ที่มีโครงสร้างซับซ้อน มีขนาดโมเลกุลใหญ่ที่ยีสต์ ไม่มีความสามารถเข้าย่อยสลายได้เหมือนรา และโครงสร้างผนังเซลล์ของสปอร์ยีสต์ มีความใกล้เคียงกับโครงสร้างของเซลล์ปกติ ไม่ได้ช่วยให้มีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่แห้งได้ดีเหมือนกับผนังเซลล์ของสปอร์ราที่ได้รับการออกแบบให้มีโครงสร้างที่พิเศษ ทนต่อความแห้งขณะอยู่ในระยะพัก (ยุพกนิษฐ์, 2543)

## 2.5.2 จุลินทรีย์ที่พบในลูกแป้งสุรา

1) เชื้อราที่พบในลูกแป้งสุรา คือ เชื้อราในสกุล *Amylomyces rouxii* และ *R. oryzae* และยังพบราอีกหลายชนิดปะปนอยู่ เช่น *Penicillium* และ *Aspergillus* ดังนั้น หากมีราที่ไม่พึงประสงค์เกิดขึ้นอาจทำให้เกิดสารพิษอะฟลาทอกซินในสาโทได้ สำหรับเชื้อรา *A. rouxii* และ *R. oryzae* จะผลิตเอนไซม์อะไมเลส ชนิดที่เรียกว่า แอลฟาอะไมเลสและกลูโคอะไมเลส ดังนั้นกระบวนการหมักจึงมีบทบาทในการเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล เมื่อเชื้อราเหล่านี้เจริญบนเมล็ดข้าว จะสร้างเส้นใยจำนวนมากแผ่กระจายปกคลุมบนผิวเมล็ดข้าว และแทรกตัวเข้าไปในช่องว่างระหว่างเมล็ดข้าว บางส่วนแทงทะลุเข้าไปในเมล็ดข้าว ราจะสร้างเอนไซม์จำนวนมากออกมาย่อย

แป้งให้เป็นน้ำตาลเฟอร์เมนต์ (fermentable sugar) ได้แก่ มอลโตไตรโอส (maltotriose) มอลโตส (maltose) กลูโคส (glucose) และน้ำตาลนอนเฟอร์เมนต์ (non-fermentable sugar) ได้แก่ ลิมิต เดกซ์ตริน (limit dextrins) (ยูพกนิยฐ์, 2543) เมื่อแป้งในข้าวถูกย่อยกลายเป็นน้ำตาลจึงไม่สามารถ อุ่มน้ำเอาไว้ได้ และน้ำที่มีอยู่ก็จะซึมออกมาเป็นน้ำเชื่อมข้าว หรือที่เรียกว่า น้ำค้อย ในช่วงนี้รา จะสร้างกรดเกิดสภาพที่เหมาะสมกับการเจริญของยีสต์ และยับยั้งแบคทีเรียที่จะทำให้ข้าวบูดเน่า สำหรับเชื้อราที่เหมาะสมในการหมักสาโทที่สุดคือ *A. rouxii* เพราะมีประสิทธิภาพในการย่อยแป้ง ในเมล็ดข้าวให้เป็นน้ำตาลสูง และสร้างกรดในปริมาณที่เหมาะสม ในการปรับสภาพข้าวให้ เหมาะสมกับการเจริญของยีสต์ในการหมักช่วงต่อไป แต่ไม่เกิดรสเปรี้ยวในสาโท (มนชัย, 2547)

2) เชื้อยีสต์ ยีสต์หลักที่พบในลูกแป้งสุรา คือ *Saccharomyces fibuligera* ซึ่งเป็นยีสต์ที่มีความสามารถย่อยสลายแป้งเป็นน้ำตาลได้ โดยการสร้างเอนไซม์กลูโคอะไมเลสในปริมาณสูง ทำให้ผลผลิตที่ได้จากการย่อยแป้งส่วนใหญ่เป็นน้ำตาลกลูโคส ยีสต์ชนิดนี้ยังสามารถหมักน้ำตาล ให้ได้เป็นแอลกอฮอล์แต่ผลิตน้อยมากๆ ดังนั้นบทบาทของยีสต์ชนิดนี้ คือการย่อยแป้งไปเป็น น้ำตาลและสร้างแอลกอฮอล์ออกมาช่วยให้กลิ่นรสของสาโทดีขึ้น ส่วนยีสต์ *S. cerevisiae* จะพบ น้อยมากหรือไม่พบเลย ยีสต์ชนิดนี้เป็นยีสต์ที่ใช้ทำไวน์จึงทำให้ขัดกับความเชื่อเดิมที่ว่า ลูกแป้ง เป็นแหล่งของยีสต์นี้ ซึ่งทำให้เกิดการหมักเพราะผลิตแอลกอฮอล์ได้ดี แต่ในระหว่างการหมัก สาโท ยีสต์ *Saccharomyces* จะเจริญได้เพียงช่วงแรกของการหมัก จากนั้น *S. cerevisiae* จะ เป็นยีสต์ที่เพิ่มจำนวนสูงขึ้นในช่วงหลังของการหมัก เมื่อมีสภาวะที่เหมาะสม และจะเป็นตัวสร้าง แอลกอฮอล์ (มนชัย, 2548)

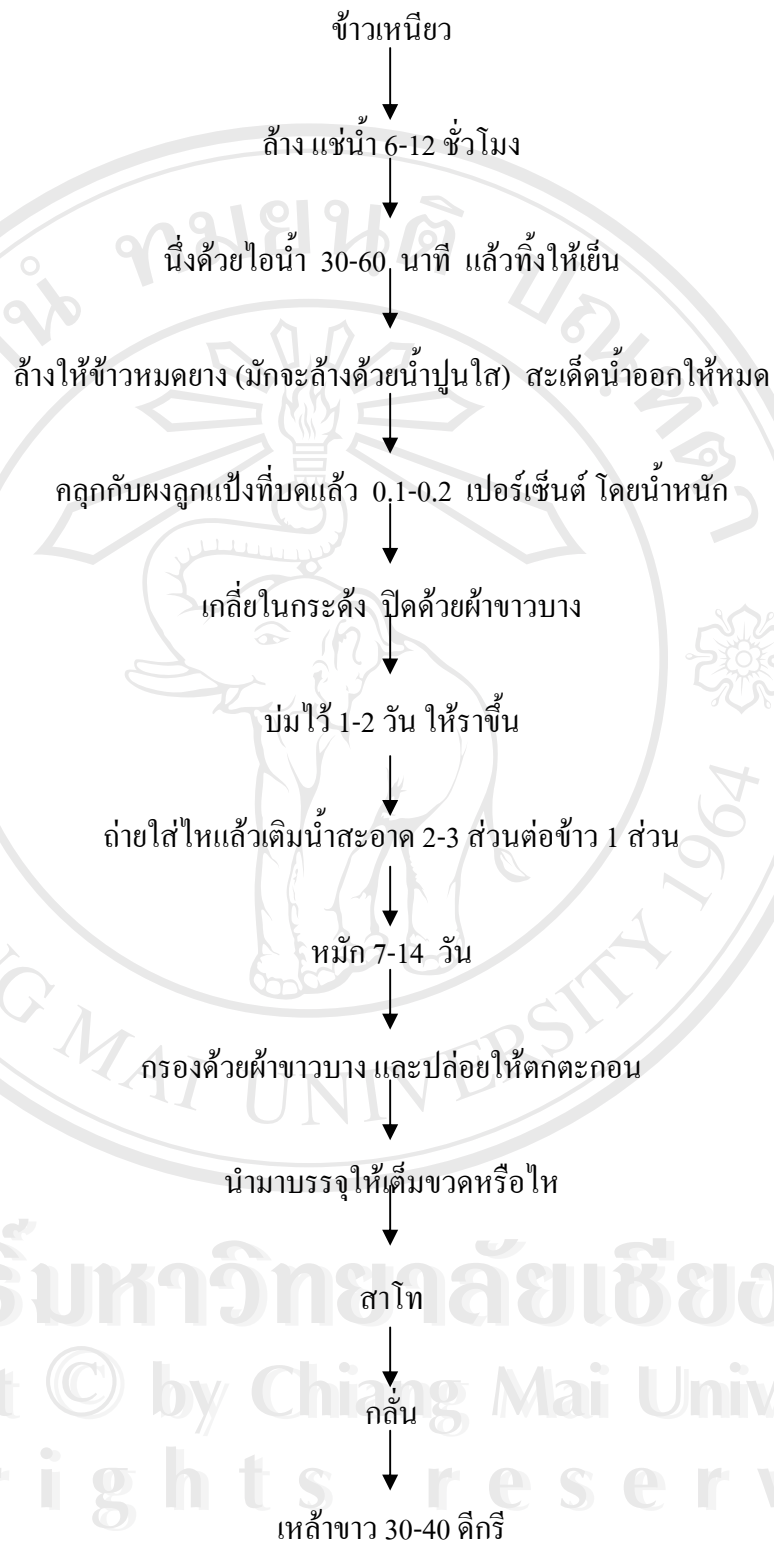
3) แบคทีเรีย ลูกแป้งสุราจะพบแบคทีเรียแลกติก ซึ่งส่วนใหญ่ ได้แก่ *Pediococcus pentosaceus* และบางท้องถิ่นจะพบ *Lactobacillus sp.* และเชื้อน้ำส้มสายชู *Acetobacter sp.* ซึ่ง แบคทีเรียเหล่านี้จะปนเปื้อนมากับวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตลูกแป้ง เช่น แป้ง และสมุนไพร แต่หาก ส่วนผสมของสมุนไพรเหมาะสมจะลดปริมาณแบคทีเรียเหล่านี้ได้มาก เช่น พบว่า จิง ชะเอม ออบเชย ดอกจันทร์ และลูกจันทร์ สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้อย่างมีประสิทธิภาพ (นภา, 2534)

### 2.5.3 ขั้นตอนการผลิตสุราจากข้าวเหนียว

การผลิตสุราจากข้าวเหนียว มักมีขั้นตอนเริ่มต้นจากการหมักสาโทหรือน้ำขาว ซึ่งเป็นเครื่องดื่มพื้นบ้านที่หมักจากข้าวเหนียวผสมกับลูกแป้ง โดยเชื้อราจะทำหน้าที่ย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล หลังจากครบกำหนดจะมีการเติมน้ำสะอาด เรียกกันทั่วไปว่า การผ่านน้ำ จะเป็นการเติมน้ำเพื่อให้เกิดกระบวนการหมัก ใช้เวลาอีกประมาณ 2 สัปดาห์ ในขั้นตอนนี้เชื้อยีสต์จะทำหน้าที่เปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ ในโรงงานผลิตสาโทปัจจุบันจะมีการติดตามการหมัก โดยการวัดความหวาน และดิกิริแอลกอฮอล์ด้วยเครื่องมืออย่างง่าย (กล้าณรงค์ และคณะ, 2545) เมื่อนำมากลั่นเรียกว่า เหล้าขาวหรือสุรากลั่น โดยทั่วไปจะมีแอลกอฮอล์ 30-40 ดีกรี สาโทและเหล้าขาวมีกรรมวิธีการผลิต (รูปที่ 2.9) จากกรรมวิธีการผลิตสาโท จะเห็นว่า มีการเติมน้ำลงไปในช่วงการหมัก เมล็ดข้าวจะลอยขึ้นมาที่ผิวหน้า ใช้เวลาประมาณ 2 สัปดาห์ ก็กรองเอามาต้ม น้ำที่ได้มีสีขาวขุ่น เรียกว่า น้ำขาว ปกติจะต้องรีบดื่มเพราะถ้าทิ้งไว้นานจะเปรี้ยว เนื่องจากแบคทีเรียที่ทำให้เกิดน้ำส้มสายชูเจริญขึ้นมา ทำให้เปรี้ยว ไม่อร่อย แต่ถ้านำมากลั่นจะได้สุรากลั่น หรือเหล้าขาว ที่มีแอลกอฮอล์ 30-40 ดีกรี ซึ่งสามารถเก็บไว้ได้นานขึ้น (จรรุญ, 2524)

ในการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์จากข้าวในต่างประเทศ มีการใช้หัวเชื้อ ที่มีลักษณะคล้ายลูกแป้งของไทย บางชนิดทำจากข้าวคิบ ซึ่ง *A. oryzae* ไม่สามารถเปลี่ยนแป้งคิบให้กลายเป็นน้ำตาล แต่แป้งคิบที่ถูกนึ่ง หรือ dextrinized จะสามารถเปลี่ยนเป็นน้ำตาลได้ หัวเชื้อที่มีรูปร่างคล้ายลูกแป้งของไทย เช่น nin-chu ทำจากข้าวคิบบดละเอียด ทำให้มีรูปร่างคล้ายแผ่นเค้กห่อด้วยใบไม้ ping-chu จากภาคเหนือของจีนทำด้วยข้าวสาลี Tsao-chu ทำจากใบไม้บางชนิด จุลินทรีย์ในลูกแป้งของจีนเป็น mucoraceous fungi และยีสต์ ในขณะที่โคจิจากญี่ปุ่นคือ *Aspergilli* ในประเทศอินโดนีเซียมีลูกแป้งคล้ายกับของจีนเรียกว่า Ragi ทำจากแป้งข้าว และน้ำตาลอ้อย และมีการเติมเชื้อ *Alpinia galanga* ซึ่งเป็นเชื้อราประเภท *Rhizomes* แล้วจึงทำการตากแห้งด้วยแสงแดด และนำไปบดจนละเอียดแล้วเติมน้ำคั้นจากพืชประเภท *Citrus limonellus* หลังจากนั้น 3 วัน รินน้ำที่มีอยู่ที่ทิ้ง นำสิ่งที่เหลือมาปั่นเป็นลูกกลม แล้วนำไปตากแห้งบนฟางข้าว มีการศึกษา พบว่า เชื้อจุลินทรีย์ที่พบใน Ragi คือ ยีสต์ *Monillia javanica* และ *S. cerevisea* เชื้อราที่พบคือ *R. oryzae* (Luh, 1980)





รูปที่ 2.9 แผนภูมิขั้นตอนการผลิตสาโทและเหล้าขาว  
ที่มา : ปรับปรุงจากจรูญ (2524)

#### 2.5.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสุราจากข้าวเหนียว

กฤติกานต์ (2523) ศึกษาการคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวที่มีความสามารถในการย่อยแป้ง โดยการทำการแยกเชื้อราจากลูกแป้งข้าวหมาก ลูกแป้งเหล้า ลูกแป้งน้ำส้มสายชู ข้าวหมาก อุ น้ำแช่ข้าว โคจิ ดินและแป้งในโรงงานผลิตแป้งต่างๆ ได้ทั้งหมด 854 ไอโซเลท คัดเลือกเชื้อที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการย่อยแป้ง 3 ชนิด คือ แป้งข้าวเหนียว แป้งข้าวเจ้า และแป้งมัน 10 ไอโซเลท เชื้อที่ดีที่สุดคือ *A. niger* V. tiegh p. 95 ผลิเอนไซม์อะไมเลสได้สูงที่สุดจากการย่อยแป้งทั้ง 3 ชนิด สภาพที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์อะไมเลส คือ ใช้อาหารที่มีส่วนผสมจากซังข้าวโพดป่น : แป้งถั่วเหลือง : แป้งมัน (5:3:2) ที่ความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 5.0 อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน

สุกมาศ (2544) ได้ศึกษาทดลองหมัก และผลิตสุรากลั่นจากข้าวเหนียว 3 พันธุ์ คือ กข6 กข 10 และเหนียวสันป่าตอง และลูกแป้งสุรา 3 ชนิด คือ ลูกแป้งสุราจากจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย และแพร่ เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของพันธุ์ข้าวและลูกแป้งในการหมักสุรากับกรรมวิธีการหมักแบบพื้นบ้าน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน พบว่า ข้าวพันธุ์เหนียวสันป่าตองและลูกแป้งจากจังหวัดแพร่เหมาะสมสำหรับการหมักด้วยกรรมวิธีนี้ ปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้จากการหมักร้อยละ 8.58-9.86 โดยปริมาตร

สมบัติ (2545) ทำการศึกษาทดลองผลิตและปรับปรุงสูตรสมุนไพรในการผลิตลูกแป้งเหล้าข้าว หรือสาโท พบว่า ลูกแป้งที่ผลิตตำรับใหม่นี้มีประสิทธิภาพการหมักไม่แตกต่างจากลูกแป้งตำรับเดิมเลย ซึ่งส่วนของสมุนไพรตำรับใหม่นี้มีดังนี้ ข้า 5 กรัม กระเทียม กระวาน กานพลู โกลูทั้ง 9 ชิง เจตมูลเพลิงแดง ชะเอมไทย ดีปลี ดอกจันทร์ เตยหอม เทพธำมรงค์ เทียนทั้ง 5 เปราะหอม โปยกี้ก ผักคราดหัวแหวน พริกขี้หนู พริกขี้ฟ้า พริกไทย มะเขือแจ้เครือ สะค้าน หอม อบเชย อย่างละ 1 กรัม นำสมุนไพรทั้งหมดตากให้แห้ง บดให้ละเอียด ชั่งน้ำหนักตามตำรับ คลุกให้เข้ากัน เก็บไว้เป็นสมุนไพรผสม เมื่อจะใช้ผลิตลูกแป้งให้ชั่งมา 6 กรัม ผสมกับแป้งข้าวเหนียว 1 กิโลกรัม

Dung et al. (2005) ศึกษาคุณสมบัติของสายพันธุ์ราและยีสต์ ที่คัดเลือกจากหัวเชื้อสำหรับผลิตไวน์ข้าวของประเทศเวียดนาม พบว่า เชื้อราที่แยกได้คือ *A. rouxii*, *R. oligosporus* และ *R. oryzae* เชื้อราเหล่านี้ผลิตเอนไซม์อะไมเลส โกลูโคซิเดส โดยทำหน้าที่เปลี่ยนแปลงเป็นน้ำตาลกลูโคส ซึ่งเกิดขึ้นในระหว่างการทำให้หวานของข้าวเหนียว เชื้อรา *A. rouxii* นี้สามารถย่อยสลายแป้งเป็นน้ำตาลกลูโคสถึง 25 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร สำหรับเชื้อยีสต์ที่คัดเลือกได้ 5 ไอโซเลท คือ *S. cerevisiae* ซึ่งทำหน้าที่เปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสเป็นเอทานอล เมื่อปรับน้ำตาล

กลูโคสเป็น 20 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จะได้ปริมาณเอทานอล 8.8 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

## 2.6 การกลั่นสุราขาว (Distillation)

การกลั่นแอลกอฮอล์ หมายถึง การแยกเอทิลแอลกอฮอล์ออกจากน้ำหมัก โดยอาศัยจุดเดือด (Boiling point) และความดันไอ (Vapor pressure) ของแอลกอฮอล์ กับสารระเหยที่ต่างกัน แอลกอฮอล์ที่ได้จะบริสุทธิ์มากขึ้นเพียงใดจะขึ้นกับปัจจัยหลักๆ คือ ชนิดของหม้อกลั่น ในกระบวนการหมักจะมีสารต่างๆสร้างขึ้นมามากมาย เช่น กรด เอสเทอร์ (esters) อัลดีไฮด์ (aldehydes) ฟูเซลอยล์ (fusel oil) และสารระเหยต่างๆ มากมาย โดยการกลั่นจะสามารถแยกสารที่ไม่ต้องการออกได้ แต่ก็มีสารระเหยบางอย่าง เช่น เอสเทอร์ อาจหลงเหลือได้ โดยจะมีกลิ่นเฉพาะในแต่ละชนิดของน้ำหมัก ซึ่งเป็นเอกลักษณ์ของสุราแต่ละชนิดที่ผลิตได้ (โชคชัย, 2546)

การกลั่นแอลกอฮอล์ค้นพบครั้งแรกโดยชาวจีนตั้งแต่สมัยโบราณ (พัฒนาพงษ์, 2543) เป็นการแยกส่วนประกอบของของเหลวที่ผสมผสมที่มีความสามารถในการระเหยกลายเป็นไอได้ที่อุณหภูมิต่างกัน ระบบการกลั่นแบ่งออกเป็น 2 ระบบ คือการกลั่นแบบเป็นครั้งใน pot still และการกลั่นต่อเนื่อง แบบลำดับส่วน จุดประสงค์การกลั่นคือ ต้องการแยกแอลกอฮอล์และสารให้กลิ่นที่ระเหยได้ออกจากน้ำหมักให้ได้ความเข้มข้นมากที่สุด (ชรินทร์, 2546)

เครื่องกลั่นสุราสามารถแยกได้เป็น 2 ประเภทใหญ่ๆ (โชคชัย, 2546) คือ

1) เครื่องกลั่นสุราแบบดั้งเดิม หมายถึงเครื่องกลั่นสุราที่ใช้กันมาแต่โบราณ ส่วนประกอบของเครื่องกลั่นจะเป็นหม้อที่ทำด้วยดินใช้ใส่น้ำหมักระหว่างต้ม เนื้อหม้อต้มขึ้นไปจะเป็นไหที่รองกันด้วยผ้าชุบน้ำจนเปียก ตัวไหจะออกแบบให้พิเศษ โดยการเจาะตรงกลางไว้เพื่อสำหรับให้น้ำสุราไหลออกมา ปลายท่อด้านในจะทำเป็นลักษณะคล้ายช้อนขนาดใหญ่ เพื่อให้ น้ำสุราที่ควบแน่นจากกันกระทะ ไหลลงที่ช้อนนี้แล้วไหลออกมาตามท่อสู่ภาชนะที่ใช้บรรจุสุรา ส่วนข้างบนไหจะมีกระทะวางทับภายในกระทะจะใส่น้ำเปล่าไว้ซึ่งน้ำนี้ต้องเป็นน้ำเย็น

วิธีการกลั่นและการทำงานของเครื่องกลั่นนี้เริ่มโดยการใส่น้ำหมักลงในหม้อต้ม ใช้ผ้าชุบน้ำพันรอบปากหม้อแล้ววางไหลดบนผ้า จัดปลายช้อนสำหรับรองน้ำสุราให้อยู่ตรงกลางไหลดกระทะลงบนปากไห เติมน้ำเย็นลงบนกระทะ ทำการต้ม เมื่อความร้อนถึงระดับหนึ่งจะมีไอระเหยเกิดขึ้น เมื่อไอร้อนนี้ลอยขึ้นไปกระทบกันกระทะที่มีความเย็น จึงเกิดการควบแน่นกลายเป็นหยดน้ำที่ก้นกระทะและตกลงบนช้อน แล้วไหลออกมาตามท่อสู่ภาชนะรองรับน้ำสุราที่อยู่ภายนอก

2) เครื่องกลั่นสมัยใหม่ ซึ่งได้รับการพัฒนาขึ้นจากเครื่องกลั่นแบบโบราณ เครื่องกลั่นแบบนี้สามารถแบ่งออกเป็น 3 ประเภท ได้แก่ เครื่องกลั่นแบบหม้อต้มธรรมดา (pot still) เครื่องกลั่นแบบไหลย้อนกลับ (reflux still) และเครื่องกลั่นแบบแยกลำดับส่วน (fractionating still หรือ fractionating column) ทั้งสามชนิดจะมีความแตกต่างกันดังนี้

2.1) หม้อกลั่นธรรมดา เป็นหม้อกลั่นที่ไอรระเหยๆ ขึ้นมากระทบกับความเย็นโดยตรง การแยกไอแอลกอฮอล์กับไอน้ำออกจากกันได้ไม่มากนัก การควบแน่นมักใช้ท่อยาวๆ มาขดในน้ำ โดยทั่วไปจะได้ความบริสุทธิ์ประมาณ 40-60 เปอร์เซ็นต์ หากต้องการเพิ่มดีกรีจำเป็นต้องกลั่นครั้งที่สอง ซึ่งมักจะได้อัตราประมาณ 70-85 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ความสามารถในการแยกสารระเหยต่างๆ จะไม่ได้ดีเท่ากับอีกสองชนิด

2.2) หม้อกลั่นแบบไหลย้อนกลับ ไอรระเหยจากหม้อต้มจะระเหยขึ้นไปทีละจุดควบแน่นของเหลวที่ได้จากการควบแน่นส่วนหนึ่งจะไหลย้อนกลับลงในหม้อต้ม อีกส่วนหนึ่งจะไหลย้อนออกมาสู่ถังเก็บสุราข้างนอก โดยทั่วไปสามารถได้อัตราประมาณ 75-85 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นอยู่กับความยาวท่อ ระบบหม้อนี้ยังสามารถกำจัดกลิ่นของสารปนเปื้อนในสุราได้ดีกว่าแบบแรก นิยมใช้กับการทำวอดก้า

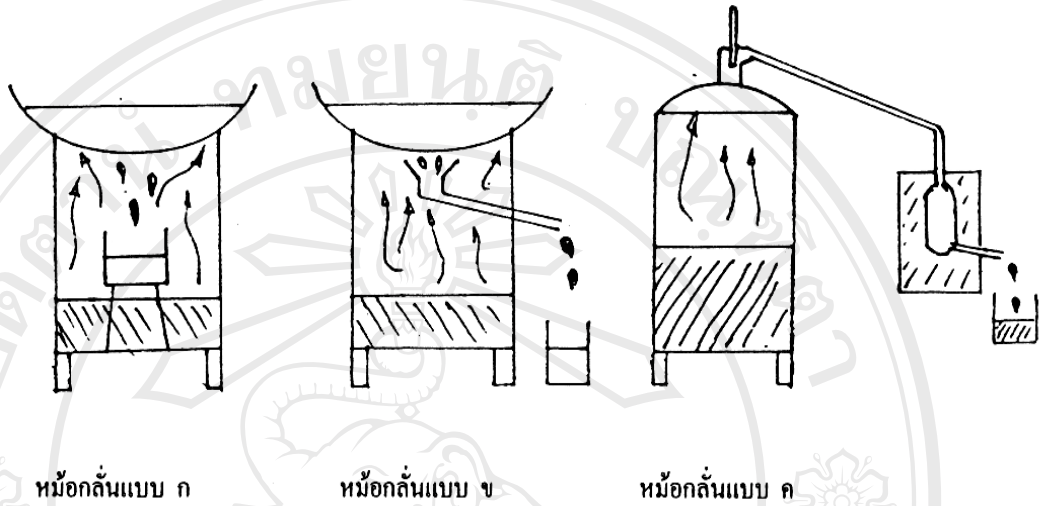
2.3) หม้อกลั่นแบบแยกลำดับส่วน เป็นหม้อที่ให้ความบริสุทธิ์มากที่สุด โดยท่อจะบรรจุวัสดุดูดซับ (scrubbers) หรือทำเป็นตะแกรงหรือถ้วยคว่ำขนาดเล็กๆ เพื่อให้ไอรระเหยไหลวนไปมา เหมือนเดินทางไกลๆ ประมาณ 9 ส่วน ใน 10 ส่วนจะไหลย้อนกลับลงมาที่หม้อต้ม โดยทั่วไปท่อจะสูงหลายเมตร สุรากลั่นที่ได้จะมีความบริสุทธิ์สูงมากถึง 95 เปอร์เซ็นต์ นิยมใช้ในการทำวิสกี้ และเหล้ารัมชนิดต่างๆ

เครื่องกลั่นที่ผู้ผลิตสุราขนาดเล็กใช้กลั่น (สมบัติ, 2546) (รูปที่ 2.10)

เครื่องกลั่นแบบ ก เป็นเครื่องกลั่นแบบชาวบ้าน หม้อกลั่นชนิดนี้มักใช้ถึงน้ำมันขนาด 200 ลิตรไม่สามารถแยกเมทิลแอลกอฮอล์และสารพิษต่างๆได้ ไม่เหมาะสมต่อการใช้งานเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค และสิ้นเปลืองค่าใช้จ่าย ปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้ค่อนข้างน้อย

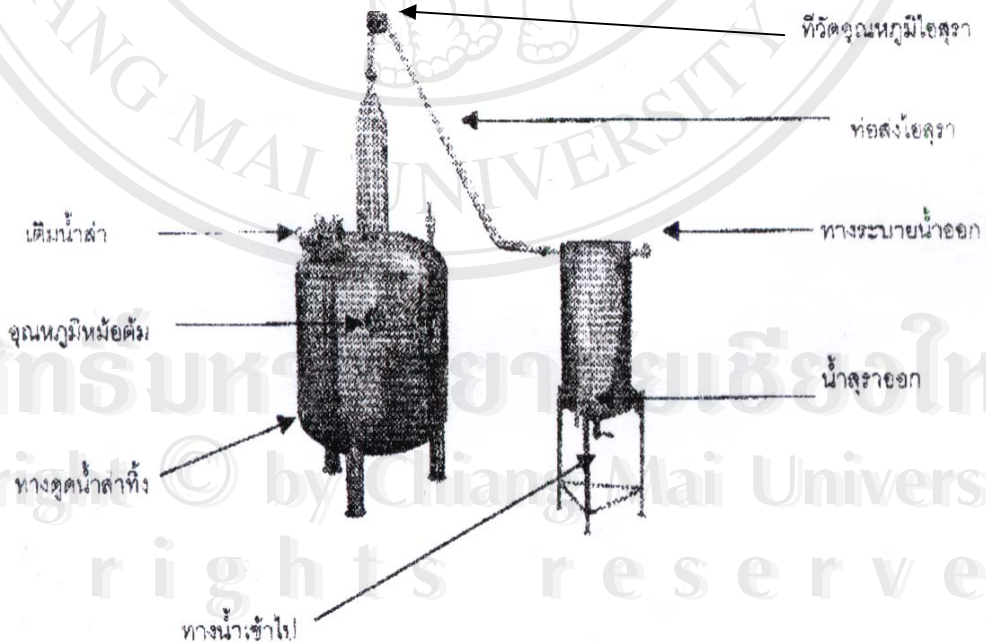
เครื่องกลั่นแบบ ข หม้อกลั่นคล้ายแบบ ก แต่มีการเจาะรูเพื่อให้ น้ำสุรากลั่นไหลออกมา นอกถัง มักได้แอลกอฮอล์ไม่เกิน 40 ดีกรี และสิ้นเปลืองด้านพลังงานสูง

เครื่องกลั่นแบบ ค มีความเหมาะสม ควรทำจากสแตนเลสสตีล (Stainless steel) สามารถทำการแยกสารพิษออกได้ระดับหนึ่ง การกลั่นสามารถกลั่นได้สูงถึง 40-60 ดีกรี



รูปที่ 2.10 หม้อกลั่นแบบต่างๆ

ที่มา : สมบัติ (2546)



รูปที่ 2.11 เครื่องกลั่นแบบ pot still

ที่มา : ห้างหุ้นส่วนจำกัด โคราช ทริท เคมีคอล (2548)



การกลั่นแบบหม้อธรรมดา (pot still) ที่ดี คือการควบคุมอุณหภูมิให้ได้ และต้องกลั่น 2 ครั้ง สำหรับเทคนิคที่ทำให้การกลั่นแบบหม้อมีกลิ่นรสที่ดี คือให้เพิ่มขึ้นตอนการกรองน้ำสำที่ จะนำไปกลั่นเพื่อแยกตะกอนจากวัตถุดิบที่ทำสุรา และเซลล์ยีสต์ออกจากน้ำสำ เพื่อลดปัญหาข้อ พกพร่องด้านกลิ่นรสจากเซลล์ยีสต์ที่แตกสลาย (yeast autolysis) และกลิ่นใหม่ที่เกิดขึ้นถึงขั้นให้ ความร้อนสูง นอกจากนี้การใช้เตาแก๊สต้มน้ำสำระบบหม้อต้องเผาระวังเรื่องของอุณหภูมิ มีความ จำเป็นต้องควบคุมให้เฉพาะเอทิลแอลกอฮอล์ออกมาโดยมีการปนเปื้อนจากสารประกอบหัวและ ทางชนิดอื่นให้น้อยที่สุด ไม่ควรไปเร่งอุณหภูมิให้น้ำออกมามาก เพราะอุณหภูมิที่สูงเกินไป นอกจากจะเร่งปฏิกิริยาการเกิดสารเพอร์ที่มีกลิ่นใหม่แล้ว ยังเกิดการควบแน่นของไอน้ำทำให้ ได้สุราที่เจือน้ำ (ยุพนิชฐ์, 2547)

การกลั่นสุรานั้น ใช้หลักของการแยกสารที่ผสมกันอยู่ โดยอาศัยความแตกต่างของจุด เดือด โดยต้มน้ำสุราเข้มข้นถึงจุดเดือดของแอลกอฮอล์ คือ 75 องศาเซลเซียส แอลกอฮอล์ก็จะระเหย ออกมา แล้วไอระเหยนี้เมื่อไปกระทบกับความเย็น ก็จะควบแน่นกลายเป็นหยดของเหลวที่นั่นคือ แอลกอฮอล์ที่มีดีกรีสูงขึ้น นอกจากจะได้เอทิลแอลกอฮอล์ซึ่งเป็นแอลกอฮอล์ที่กินได้แล้ว ยังมี เมทิลแอลกอฮอล์ ซึ่งเป็นแอลกอฮอล์ที่เป็นพิษ ซึ่งจะระเหยออกมาในการกลั่นด้วย แต่ เมทิลแอลกอฮอล์ มีจุดเดือดต่ำกว่าเอทิลแอลกอฮอล์ ดังนั้นจะระเหยออกมาก่อน ซึ่งสามารถแยก ส่วนนี้ทิ้งไปได้ ซึ่งเรียกว่า ส่วนหัว จึงต้องสังเกตอุณหภูมิขณะทำการกลั่น คือที่อุณหภูมิ 60-77 องศาเซลเซียส ให้เก็บส่วนหัวแยกออก และเมื่ออุณหภูมิ 78-90 องศาเซลเซียส ซึ่งจะเป็น แอลกอฮอล์บริสุทธิ์ให้เก็บไว้ เมื่อกลั่นไปจนกระทั่งอุณหภูมิเกิน 90 องศาเซลเซียส แอลกอฮอล์ที่ ได้จะเป็นส่วนของหาง มีสารพิษที่ทำให้ดื่มแล้วปวดหัว ตาแฉะ และสุรามักมีกลิ่นเหม็นฉุน หรือที่ ชาวบ้านเรียกว่า กลิ่นฉิว สารปนเปื้อนชนิดนี้มักจะเป็นมันวาว คือ ฟูลออยล์และเพอร์ฟิวรัล ซึ่งจะออกมาในส่วนหางของการกลั่น เพราะสารพวกนี้มีจุดเดือดสูงกว่าเอทิลแอลกอฮอล์ ดังนั้น จึงไม่ควรกลั่นเกิน 90 องศาเซลเซียส (ห้างหุ้นส่วนจำกัด โคราช ทรีท เคมิคอล, 2548) สำหรับผล ของสารเคมีปนเปื้อนในสุรากลั่น (ตารางที่ 2.3)

ตารางที่ 2.3 ผลของสารเคมีปนเปื้อนในสุรากลั่น

ชื่อสาร	จุดเดือด (°C)	ความเป็นพิษ
Acetone	56.5	ผิวหนัง ระบบประสาทส่วนกลางและ ประสาทตา ตับ ไต
Methanol	64.5	ผิวหนัง ระบบประสาทส่วนกลางและ ประสาทตา ตับ
Ethyl acetate	77.2	ระบบประสาทส่วนกลางและระบบหายใจ ตับ ไต
Ethanol	78	แอลกอฮอล์ที่ใช้เป็นน้ำสุรา
N-propylalcohol (1-propanol)	97	ผิวหนัง ระบบประสาทส่วนกลางและระบบ หายใจ ระบบทางเดินอาหาร
น้ำ	100	
Butanol	116	ผิวหนัง ระบบประสาทส่วนกลาง ระบบ หายใจ ไต
Butyl acetate	126	ผิวหนัง ระบบประสาทส่วนกลาง ระบบ หายใจ ไต เยื่อบุตา ระบบทางเดินอาหาร
Fusel oil (i-amyl alcohol)	130	ผิวหนัง ระบบประสาทส่วนกลาง ระบบ หายใจ ไต
Fusel oil (n-amyl alcohol)	134-138	ผิวหนัง ระบบประสาทส่วนกลาง ระบบ หายใจ ไต
Furfural	161	ระบบทางเดินอาหาร มะเร็งตับ
Ethylcarbamate (Urethane)	182-184	ตา ระบบทางเดินอาหาร มะเร็งตับ

ที่มา : โชคชัย (2546)

### 2.6.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการกลั่นสุรา

วิชัย (2520) ศึกษากระบวนการกลั่นเอทานอล 96 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร จากข้าวเหนียว และวัตถุดิบอื่นๆ ในท้องถิ่น ได้ทำการวิเคราะห์ที่สำคัญและผลิตผลที่ได้จากแต่ละส่วนของกระบวนการกลั่น พบว่า เอทานอลเปอร์เซ็นต์ 96 โดยปริมาตร ที่ได้จากข้าวเหนียว ไม่พบ 2-methyl-1-propanol (fusel oil) ประกอบด้วย ethyl alcohol เป็นส่วนใหญ่ นอกจากนี้พบ 1-propanol, 2-methyl-1-propanol, 1-butanol, 3-methyl-1-butanol ซึ่งเป็น higher alcohol (fusel oil) และ Acetaldehyde

สมบัติ (2546) ศึกษาและออกแบบเครื่องกลั่นสุราแบบหม้อต้ม ซึ่งจะติดตั้งเทอร์โมมิเตอร์ชนิดสแตนเลสบนหม้อต้มที่ทำด้วยสแตนเลส เพื่อใช้ควบคุมอุณหภูมิของน้ำหมักขณะทำการกลั่น และติดตั้งเทอร์โมมิเตอร์ชนิดแก้วที่ชุดควบแน่น เพื่อใช้ควบคุมไอระเหย โดยหลักการระเหยของสารเคมีที่อุณหภูมิต่างกัน ขณะทำการกลั่นจะควบคุมไม่ให้อุณหภูมิ น้ำหมักเกิน 95 องศาเซลเซียส และเก็บน้ำสุราที่อุณหภูมิไอระเหยระหว่าง 78-85 องศาเซลเซียส ควบคุมไม่ให้อุณหภูมิไอระเหยเกิน 85 องศาเซลเซียส ตลอดจนการกลั่น จะได้น้ำสุราที่มีคุณภาพ ส่วนระบบหล่อเย็นจะใช้อุปกรณ์ง่ายๆ ราคาถูก ซึ่งระบบน้ำหล่อเย็นนี้จะทำหน้าที่ระบายความร้อนจากชุดควบแน่น หลังจากน้ำหล่อเย็นไหลผ่านชุดควบแน่นน้ำจะมีอุณหภูมิสูงขึ้น ความร้อนนี้จะถูกระบายออกโดยชุดระบายความร้อนด้วยอากาศ แล้วตกลงในถังเก็บน้ำหล่อเย็น และจะถูกนำไปใช้งานได้อีกในลักษณะน้ำหมุนวน ซึ่งเครื่องกลั่นสุราแบบนี้เหมาะที่จะใช้เป็นตัวแบบแก่ผู้ประกอบการผลิตสุรากลั่นชุมชนได้เป็นอย่างดี

Gus'kova *et al.* (1995) ศึกษาสารพิษในวอดก้าและเครื่องดื่มสุรากลั่นชนิดอื่นๆ พบว่ามีประมาณเมทานอลและสารอื่นเช่น เอสเทอร์ อัลดีไฮด์และฟิวเชลอลอยด์มีความเข้มข้นไม่เกินที่อนุญาตเอาไว้ โดยเฉพาะจากมาตรฐานของรัสเซีย เช่น เมทานอล 0.03- 0.05 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร อัลดีไฮด์ 2-15 ppm และเอสเทอร์ 18-50 ppm

