ชุดโครงการวิจัย : การเพิ่มมูลค่าผลิตผลทางการเกษตร

โครงการวิจัย : การเพิ่มมูลค่าผลิตผลทางการเกษตร

กิจกรรม : การวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์แปรรูปจากพืช

ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย) : การแปรรูปและยกระดับเครื่องดื่มแอลกอฮอล์จากผักและผลไม้

ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) : Elaboration of Alcohol Beverage from Vegetable and Fruit

คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าโครงการ นายโกเมศ สัตยาวุธ	สังกัดกองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร
ผู้ร่วมงาน นางสาวสุปรียา ศุขเกษม	สังกัดกองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร
ผู้ร่วมงาน นางสาววิมลวรรณ วัฒนวิจิตร	สังกัดกองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร
ผู้ร่วมงาน นางสาวอกนิษฐ์ พิศาลวัชรินทร์	สังกัดกองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร
ผู้ร่วมงาน นางสาวศิริพร เต็งรัง	สังกัดกองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร
ผู้ร่วมงาน นายกนกศักดิ์ ลอยเลิศ	สังกัดกองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร
ผู้ร่วมงาน นางสาวนภัสสร เลียบวัน	สังกัดกองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร
ผู้ร่วมงาน นางสุภัทรา เลิศวิวัฒนาเกียรติ	สังกัดสถาบันวิจัยพืชสวน
ผู้ร่วมงาน ผศ. ดร. ธีรเกียรติ เกิดเจริญ	ภาควิชานาโนเทคโนโลยี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
ผู้ร่วมงาน ผศ. ดร. รุจิกาญจน์ นาสนิท	ภาควิชาวิศกรรมอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

Abstracts

Fruits and vegetables stand the first raw material that has the potential to develop in high value-added in various forms of alcohol products. This experiment aimed to improve the process of alcohol production from fruits and vegetables to add value and build quality standards of alcohol products. Research conducted at the post-harvest and processing research and development division, department of agriculture between the years 2012 – 2016. Fruits and vegetables can divided in three groups with high-pectin contained (G1) with high-tannin contained (G2) and high-organic acids contained (G3), according to the statistics of the Principal Component Analysis 95.31%. Research found heat maceration is the best method to extract the color and flavor of G2 and G3 groups even though the stability of the color is inferior to cooling. The flavor of the 'cool extract' will develop in the Floral, Fruity note in comparative to the 'heat extract' which will develop to Woody, Smoked note.

Considering the effect of fermented fruits and vegetables, each group will compatible to different types of yeast. According to sources of raw materials, the G3 fruit produced in the eastern will bring the lower quality ferment than other sectors. These effect dues to the nitrogen accumulation in the fruit pulp. Secondary fermentation was testing by using brewery of G3. It gives the maximum potential following by their International Biterness Unit as well as for the carbonic fermentation. However, G1 group is more apt to the malo-lactic fermentation dued to the high tannin contained. Thus the desacidification of concentrated juice from the G3 could enhance to make low-acid products. G2 group has furthermore the potential for the most refined aging in oak in order to destine to the Cognac distillation and Whiskey, which constitutes to improve the Cogeners of G2 alcohol groups, particularly the sensory test.

The new six products has developed as well : Purple Collection, Duo Beer, Orange Collection, Greeny Collection, Light-acidity mocy, Transparency Spirit Collection and Tropo Cream Liquor and further development of new products, including alcoholic drinks, low alcoholic degree. (Desalcoolization), flavor extracted for cocktail business (Cocktail Aromatization), Cooking alcohol, Bakery and ice cream products and cosmetic.

Keywords: fruits and vegetables, production of alcohol, fermentation, distillation, new products.

บทคัดย่อ

ผักและผลไม้ในประเทศไทยถือเป็นวัตถุดิบต้นที่มีศักยภาพในการพัฒนาเพิ่มมูลค่าในหลายรูปแบบผ่านการพัฒนาเป็นเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ การทดลองมุ่งพัฒนากรรมวิธีการผลิตแอลกอฮอล์จากผักผลไม้ที่มีคุณภาพเพื่อเพิ่มมูลค่าและสร้างมาตรฐานผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ ดำเนินการวิจัยที่สำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร ระหว่างปี 2554 - 2558 โดยสามารถแบ่งผักและผลไม้ได้เป็น 3 กลุ่ม โดยเป็นกลุ่มที่มีเพคตินสูง(G1) กลุ่มที่มีแทนนินสูง(G2)และกลุ่มที่มีกรดอินทรีย์สูง(G3) ตามวิธีทางสถิติของ Principal Component Analysis 95.31% พบผลสกัดสีกลิ่นจากผักผลไม้กลุ่ม G2 และ G3 สามารถใช้ความร้อนสกัดสีได้เท่ากับที่ความเย็นที่ 4 องศาเซลเซียส แต่ความเสถียรของสีด้อยกว่าใช้ความเย็น และกลิ่นที่ใช้การสกัดด้วยความเย็นจะพัฒนาไปในทาง Floral, Fruity ส่วนความร้อนจะพัฒนาไปกลิ่นพวก Woody, Smoked ก่อนนำมาทำการหมักแอลกอฮอล์ เนื่องจากคุณภาพเทียบเคียงได้กับกระบวนการอื่นที่ต้นทุนสูง เมื่อพิจารณาผลของการหมักผักผลไม้ในแต่ละกลุ่มมีอัตราการหมักต่อชนิดของยีสต์ที่ต่างกัน ตามแหล่งผลิตวัตถุดิบของผลไม้โดยในกลุ่ม G3 ที่ผลิตในภาคตะวันออกมีคุณภาพการหมักต่ำกว่าวัตถุดิบภาคอื่นๆ และวัตถุดิบภาคใต้มีศักยภาพการหมักสูงสุด ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณไนโตรเจนสะสมในเนื้อผลไม้ต่ำกว่านั่นเอง การหมักต่อยอดได้ทดสอบการหมักเบียร์ พบ G3 เป็นกลุ่มที่มีศักยภาพสูงสุดเนื่องจากให้ค่าIBU สูงและคุณภาพการหมักดีสุดเช่นเดียวกับการหมักแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ที่กลุ่ม G3 มีศักยภาพในการหมักดีสุดจากผลคุณสมบัติของการวัดค่ากรดแลคติก กรดมาลิก ปริมาณจุลินทรีย์และแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ ส่วนการหมักกรดแลคติก กลุ่ม G1 ให้ปริมาณแทนนินสูงมีศักยภาพสูงสุด และสามารถใช้กระบวนการ acidification จากน้ำผลไม้เข้มข้นจากกลุ่ม G3 ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์กรดต่ำ สำหรับกลุ่ม G2 ถือเป็นผลไม้ที่มีศักยภาพในการกลั่นมากที่สุดโดยเฉพาะการ aging ในโอ๊ค พบว่าการกลั่นแบบ Cognac และ Whiskey ถือเป็นการพัฒนาคุณภาพค่า Cogeners ของแอลกอฮอล์กลุ่ม G2 โดยเฉพาะผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส

นอกจากนี้ยังสามารถพัฒนา ผลิตภัณฑ์ใหม่จากแอลกอฮอล์ได้ ๖ ชนิด ได้แก่ Purple Collection, Duo Beer, Orange Collection, Greeny Collection, Light-acidity mocy, Transparency Spirit Collection และ Tropo Cream Liquor และผลิตภัณฑ์ต่อยอดจากพัฒนาผลิตภัณฑ์แอลกอฮอล์ใหม่ ได้แก่ เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ดีกรีต่ำ (Desalcoolization) เครื่องดื่มแอลกอฮอล์แต่งกลิ่นเพื่อธุรกิจค้อกเทล (Cocktail Aromatization) เครื่องดื่มแอลกอฮอล์เพื่อใช้ในการปรุงอาหาร ผลิตภัณฑ์อาหารว่างจากเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ในรูปแบบผลิตภัณฑ์เบเกอรี่และไอศกรีมและการพัฒนาเครื่องดื่มแอลกอฮอล์เพื่อใช้ในการผลิตเวชภัณฑ์เพื่อความงาม

คำหลัก : ผักและผลไม้, การผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์, การหมัก, การกลั่น, ผลิตภัณฑ์ใหม่

คำนำ

ประเทศไทย ถือเป็นแหล่งผลิต ผลิตผลทางการเกษตรแหล่งสำคัญของโลก โดยเฉพาะอย่างยิ่งผักผลไม้ที่ทั่วโลกยอมรับในความหลากหลาย หากแต่การเก็บรักษาผลผลิตดังกล่าวมีช่วงเวลาที่สั้นจึงนำมาสู่การแปรรูปผักผลไม้ เป็นผลิตภัณฑ์ที่เพิ่มมูลค่าและเวลาในการกักเก็บ ดั่งเช่นเครื่องดื่มแอลกอฮอล์จากผักและผลไม้ ลักษณะเฉพาะของผักและผลไม้ของไทย ยังเป็นตัวสำคัญในการจัดรูปแบบในการผลิตไม่ว่าจะเป็น ลักษณะของกลิ่นที่เป็นลักษณะเฉพาะของผลไม้แต่ละชนิด ลักษณะของสีของเปลือกและเนื้อที่สามารถนำมาประยุกต์ใช้เพื่อเป็นจุดเด่น ลักษณะของรสชาติที่ส่งผลให้เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ที่ผลิตมามีความหลากหลาย หรือแม้แต่การคุณลักษณะทางสมุนไพรที่ส่งผลต่อการรักษาแทนยา งานวิจัยนี้จึงมีจุดประสงค์เพื่อกำหนดคุณลักษณะการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์จากผักและผลไม้ที่กำหนดไว้มาในรูปแบบที่ดึงเอาลักษณะเฉพาะของผักและผลไม้ดังกล่าวออกมาให้ได้มากที่สุดเพื่อการผลิตแอลกอฮอล์ที่ครบวงจรและการตอบรับที่ดีของผู้บริโภคและทางการตลาดอย่างมีประสิทธิภาพต่อไป โดยคนไทยผลิตและดื่มไวน์เป็นเวลาหลายร้อยปีแล้วซึ่งเป็นไวน์ทำเองครัวเรือน โดยจัดเป็นไวน์พื้นบ้านของไทย ทำจากข้าวเหนียวนึ่งคลุกกับลูกแป้งสุราหรือลูกแป้งเหล้าบดละเอียด เรียกไวน์ดังกล่าวว่า สาโท เหล้าโท น้ำขาว น้ำแดง กระแช่ หากมีแกลบเป็นส่วนผสมของวัตถุดิบด้วยจะเรียกไวน์ว่า อุ อุแตกต่างกับสาโทหรือน้ำขาวเพราะหมักโดยอัดส่วนผสมของข้าวเหนียวนึ่งคลุกผงลูกแป้งและแกลบลงในไหหรือภาชนะดิน เผา ปิดฝาค่อนข้างแน่น หมักไว้ 1 – 3 สัปดาห์ ก่อนดื่มจะเปิดฝาแล้วเติมน้ำสะอาดไป ช้าๆในไห ดื่มโดยใช้หลอดลวงทำด้วยไม้ซางหรือลำไผ่เล็กๆดูดน้ำอุที่ก้นไห เมื่อหมดหรืองวดแล้วจะเติมน้ำสะอาดลงในไหอีก 1 – 2 ครั้งหรือจนหมดกลิ่นรสของอุ ไวน์ พื้นบ้านอีกอย่างหนึ่งที่ลักลอบทำในครัวเรือนในชนบทหรือน้ำตาลเมาทำจากการหมัก น้ำตาลสดของต้นตาลหรือต้นมะพร้าว การหมักเป็นไปโดยเชื้อยีสต์จากธรรมชาติ หรือโดยการเติมเชื้อจากกระบอกไม้ไผ่ที่เกิดการหมักเป็นน้ำตาลเมา สำหรับการนำเอาสาโท น้ำขาวหรือกระแช่ไปกลั่นเป็นสุราขาวหรือเหล้าขาวมีแอลกอฮอล์สูง(บางครั้งจุดไฟ ติด) ก็เป็นที่นิยมดื่ม การลักลอบผลิตและดื่มไวน์พื้นบ้านของไทยมักทำในเทศกาล ต่างๆ เช่น งานบวช แต่งงาน ขึ้นบ้านใหม่ สงกรานต์ เป็นต้น ปัจจุบันการลักลอบผลิต และดื่มสุราพื้นบ้านของไทยลดน้อยลงมาก เนื่องจากมีการปราบปรามจับกุมอย่างเข้มงวด เยาวชนส่วนใหญ่หรือผู้มีการศึกษาหรือผู้อยู่ในตัวเมืองจะไม่รู้จัก ไม่เคยดื่ม อาจทำให้ภูมิปัญญาชาวบ้านในการผลิตสุราพื้นบ้านของไทยสูญหายไปจากประเทศไทยในอนาคต นอกจากนี้การพัฒนาอุตสาหกรรมการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์จากผักและผลไม้ ในปัจจุบันมีมากมายหลายชนิด โดยมีกระบวนการหลากหลายกรรมวิธีการดังนั้นเพื่อการจัดรูปแบบที่เหมาะสมของการแปรรูปผักผลไม้ชนิดต่างๆจำเป็นต้องมีหลักการและงานวิจัยที่รองรับเพื่อการพัฒนาสู่ระดับสากลและการเพิ่มมูลค่าในการพัฒนาด้านศักยภาพการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ของประเทศไทย

ทั้งนี้ประเทศไทยที่อุดมด้วยผลไม้นานาชนิดไม่ว่าจะเป็นผลไม้เมืองร้อน ผลไม้เมืองหนาว และผลไม้กึ่งหนาวจึงพบผลไม้ต่างๆในตลาดตลอดปี ราคาผลไม้ขึ้นกับคุณภาพผลผลิตและฤดูกาล การผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์จากผักและผลไม้จึงควรใช้ผลไม้ตามฤดูกาลและไม่จำเป็นต้องใช้ผักผลไม้ที่คุณภาพระดับชั้นหนึ่ง โดยในปัจจุบันเริ่มมีโรงงานผลิตไวน์ผลไม้บ้าง แต่เนื่องจากนโยบายของรัฐบาลไม่ชัดเจนใน

การอนุญาติให้นักลงทุนประกอบธุรกิจนี้ แม้คณะรัฐมนตรีให้เปิดเสรีในช่วงหนึ่ง แต่เงื่อนไขในการขออนุญาติผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ต่างๆยังไม่ประกาศ คงใช้เงื่อนไขในการขออนุญาติตั้งโรงงานไวน์จากองุ่น ซึ่งเป็นเงื่อนไขที่ยากต่อการปฏิบัติของผู้ประกอบการขนาดย่อมหรือขนาดกลาง ซึ่งสนใจจะลงทุน นอกจากนี้สถาบันอุดมศึกษาที่มีการเรียนการสอนและการวิจัยเกี่ยวกับไวน์ได้ทำการวิจัยและทดลองผลิตไวน์จากผลไม้ต่างๆทำให้ทราบเทคโนโลยีและคุณภาพของไวน์จากผลไม้บ้าง ผู้บริโภคมีความตื่นตัวมาก แต่การตั้งโรงงานต้นแบบเพื่อการทดลองผลิตไวน์เชิงธุรกิจ ยังไม่มีแน่นอน เนื่องจากข้อกำหนดของกรมสรรพสามิต ดังนั้นจึงก่อให้เกิดปัญหาต่างๆมาซึ่งรวบรวมมาได้

1.ปัญหาด้านพันธุ์ของผลไม้ ต้องมีข้อมูลแน่ชัดว่า ผลไม้อะไร พันธุ์อะไร เมื่อทำไวน์แล้วได้คุณภาพดี เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

2.ปัญหาด้านเทคนิคและอุปกรณ์เครื่องมือในการผลิตและควบคุมคุณภาพไวน์ผลไม้ การเตรียมน้ำผลไม้เป็นเรื่องสำคัญมาก ต้องใช้อุปกรณ์และเครื่องมือให้เหมาะสมกับผลไม้แต่ละชนิด ซึ่งมีรูปร่างภาพนอกลักษณะเนื้อ เมล็ด ปริมาณน้ำ ความหวานและปริมาณกรดแตกต่างกัน จำเป็นต้องใช้ผู้มีประสบการณ์ในกาผลิตไวน์ผลไม้และควบคุมให้สม่ำเสมอ เพื่อให้ได้มาตรฐาน

3.ปัญหาด้านของเสียหรือของเหลือทิ้ง การผลิตไวน์ผลไม้จะมีของเสียมาก โดยเฉพาะเปลือกและเมล็ดของผลไม้ ซึ่งจะก่อให้เกิดปัญหาทางสุขลักษณะหากไม่มีการจัดเก็บที่ถูกต้อง

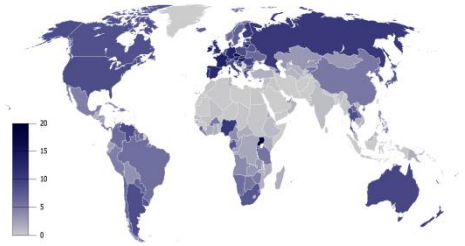
4.ปัญหาด้านการขอใบอนุญาติตั้งโรงงานผลิตและจำหน่ายไวน์ผลไม้ ควรสอบถามระเบียบและวิธีการในเรื่องนี้กับกรมสรรพสามิตก่อนลงทุน

5.ปัญหาด้านคุณภาพ ไวน์ผลไม้ส่วนใหญ่จะขาดเนื้อหนัง (body) มีรสอ่อนพร้อมใช้ดื่มกลิ่นสด เก็บบ่มนานคุณภาพไม่ดีขึ้น ซึ่งแตกต่างจากไวน์องุ่น ผู้นิยมดื่มไวน์อาจไม่คุ้นเคย

6.ปัญหาด้านการตลาด ควรมุ่งผลิตเพื่อจำหน่ายภานในประเทศ เนื่องจากชาวต่างประเทศไม่เคยชินกับกลิ่นรสไวน์ผลไม้ไทย ไม่มีข้อมูลงานวิจัยว่าไวน์ผลไม้อะไรใช้ดื่มคู่กับอาหารชนิดใด ทำให้เกิดความลำบากในการจำหน่ายไวน์ผลไม้

การพัฒนาคุณภาพเครื่องดื่มแอลกอฮอล์เพื่อสอดคล้องต่อการพัฒนาลักษณะเฉพาะตัวของผักผลไม้ในประเทศไทยนั้นจำเป็นต้องให้ความสำคัญในการพัฒนากรรมวิธีการผลิตโดยการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์นั้นจะเริ่มจากการหมัก(Fermentation Processing) ต่อเนื่องด้วยการกลั่น(Distillation Processing) หรือเพียงกรรมวิธีการบ่ม(Maceration Processing) หรือการแต่งกลิ่น (Aromatisation) โดยลักษณะทางกายภาพของผักผลไม้แต่ละชนิดที่จะพัฒนาขึ้นมาหลังจากกระบวนการแปรรูปเครื่องดื่มแอลกอฮอล์และจะเป็นจุดเริ่มต้นของกำหนดหลักการกำหนดการแปรรูปเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ประเภทไวน์ เบียร์ กระแช่ อุ เป็นต้น ต่อเนื่องมาถึงการพัฒนากรรมวิธีการกลั่นแอลกอฮอล์เพื่อการพัฒนาและเพิ่มความหลากหลายของผลิตภัณฑ์ที่ได้ในรูปแบบเหล้า ว้อดก้า เหล้าวิสกี้ ฯลฯ และการเพิ่มคุณภาพหรือเปลี่ยนแปลงผลิตภัณฑ์ใหม่โดยกรรมวิธีการบ่มหรือการผสมผสานโดยการพัฒนาลักษณะผลิตภัณฑ์เพื่อตอบรับความต้องการของกลุ่มผู้บริโภค

การเลือกชนิดของผลไม้ที่จะนำมาใช้ในการแปรรูปเป็นเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ในแต่ละชนิดนั้นจำเป็นต้องคำนึงถึงส่วนประกอบและกลิ่นเฉพาะรวมทั้งความเป็นไปได้ในการพัฒนาโดยส่วนมาผลไม้ชนิดที่มีความหวาน ความเป็นกรดสูงและทานินพอเหมาะจึงจะเหมาะสมแก่การแปรรูปเป็นไวน์ต่างกับผลไม้ที่มีปริมาณเพคตินสูง ความเป็นกรดมากและกลิ่นโดดเด่นจะนิยมนำไปทำเป็นเบียร์ หรือผักผลไม้ที่มีกลิ่นเฉพาะตัว รสชาติจัดจ้านและมีลักษณะโดดเด่นเช่นพริก สมุนไพร บ้วยจะนิยมใช้บ่ม และผลไม้ที่มีน้ำตาลสูงมากจะนิยมนำไปทำเหล้ากลั่นเพื่อการต่อยอดในรูปแบบการบ่มเพื่อเพิ่มมูลค่า เช่น ว้อดก้าจากมันสำปะหลัง รัมจากอ้อย เป็นต้น



ภาพที่ 1 แบบสำรวจปริมาณแอลกอฮอล์ต่อผู้บริโภค(15+ ปี)ต่อลิตรของแอลกออฮอล์ (WHO, 2007)

จะเห็นได้ว่าประเทศไทยถือเป็นหนึ่งในประเทศที่มีผู้บริโภคเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ในระดับสูงแม้กฎหมายจะมีการรัดกุมและประเทศคู่ค้าสำคัญในตลาดเครื่องดื่มแอลกอฮอล์นั้นล้วนเป็นประเทศที่พัฒนาแล้วและมีกำลังในการซื้อสูงธุรกิจการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์จึงถือเป็นกำลังสำคัญในการพัฒนาเศรษฐกิจของประเทศได้ โดยกรรมวิธีการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์นั้นจะเริ่มต้นด้วยกรรมวิธีการหมัก (Fermentation Processing) โดยการประยุกต์ใช้จุลลินทรีย์ในการพัฒนากลิ่นรสของวัตถุดิบต้นในหลากหลายรูปแบบไม่ว่าจะเป็นไวน์ซึ่งในยุโรปจะมีข้อกำหนดเพียงการแปรรูปจากน้ำองุ่นเท่านั้น [CEE 1622/2000, European Law] แต่ยังมีการพัฒนาเครื่องดื่มในรูปแบบไวน์จากผลไม้ชนิดอื่นๆ เช่น สับปะรด [พรทิพย์, 2524; ศิริวรรณ, 2527] ลิ้นจี่ [ประดิษฐ์, 2534] กล้วย [ประดิษฐ์, 2536] มังคุด [สุปราณี, 2543] มะยม [วันเพ็ญ, 2544] มะม่วง [วันเพ็ญ และคณะ, 2544; สมชาย และ ธีรวัลย์, 2544] มะเกี๋ยง [อังคณา, 2539] หว้า [สืบศักดิ์, 2538; เพิ่มพงษ์, 2544] หม่อน [ศิริพร, 2540; ภัทราภรณ์, 2542; อธิชิต, 2545] และ มะเม่า [กรองจันทร์; 2542] เป็นต้น ส่วนวัตถุดิบชนิดอื่นที่ไม่ใช่ผลไม้ เช่น ดอกกระเจี๊ยบ [ประดิษฐ์, 2532] และน้ำผึ้ง [สมบูรณ์ 2536] นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยที่มุ่งเน้นการพัฒนาคุณภาพไวน์ หลายๆ หน่วยงานให้ความสำคัญและมีการศึกษากันอย่างแพร่หลาย งานวิจัยเหล่านี้เน้นไปในทางการพัฒนากระบวนการหมักให้มีประสิทธิภาพดีขึ้น โดยการนำเทคโนโลยีด้านต่างๆ และหลักการพัฒนาผลิตภัณฑ์มาใช้ในการหมักไวน์ เช่น การใช้เทคโนโลยีเอนไซม์, เทคโนโลยการหมัก, เทคโนโลยีถังหมัก เทคโนโลยีตรึงเซลล์ และการพัฒนาเครื่องดื่มประเภทไวน์เป็นเครื่องดื่มชนิดใหม่ เป็นต้น ตัวอย่างงานวิจัย เช่น การนำเพคติค เอนไซม์ จากแอสเพอร์จิลลัส นิเกอร์มาใช้ประโยชน์ในการทำไวน์ [ปาริชาติ, 2519], การผลิต active dry yeast สำหรับใช้ทำไวน์ [อรววณ, 2529], การผลิตไวน์และไวน์เติมแอลกอฮอล์กลั่นจากลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวยและพันธุ์ไทย [ประดิษฐ์ และคณะ, 2534], การหมักพร้อมเปลือกที่มีต่อคุณภาพไวน์แดง และการให้อากาศน้ำองุ่นก่อนหมักที่มีต่อคุณภาพไวน์ขาว [สืบศักดิ์, 2534], เทคโนโลยีที่เหมาะสมในการผลิตไวน์และลิเคียวจากกล้วย [ประดิษฐ์, 2536], ผลของปริมาณกรดและ

เอนไซม์เพคติเนสต่อปริมาณเมทิลแอลกอฮอล์และองค์ประกอบทางเคมีของไวน์หม่อน(Morus alba L.) [ภัทราภรณ์ และคณะ, 2544], การพัฒนากระบวนการผลิตไวน์เม่าโดย หาอัตราส่วนของผลเม่าสีดำ : ผลเม่าสีแดงและปริมาณกรดเริ่มต้นของน้ำเม่าที่เหมาะสม [เสกสรร และคณะ, 2544] หรือ การหมักไวน์มะม่วงแก้ว [Mangifera indica L.] โดยการหมักแบบกะซ้ำ และแบบต่อเนื่องในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ Packed bed โดยเซลล์ตรึงรูป *Saccharomyces cerevisiae* [ศิริมา, 2545] จะเห็นได้ว่างานวิจัยด้านเครื่องดื่มแอลกอฮอล์มีการพัฒนาอย่างต่อเนื่องแต่จะมุ่งเน้นเฉพาะกรรมวิธีการผลิตไวน์ แต่งานด้านการแปรรูปแบบอื่นนั้นยังมีน้อยมากไม่ว่าจะเป็นงานวิจัยด้านเบียร์ เช่น การตรึงรูปยีสต์ทำเบียร์ที่มีอินเวอร์เทสบนทราย [กาญจนา, 2533], การศึกษาเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพไนลอนโปรติเอสตรึงรูปสำหรับป้องกันการเกิดตะกอนในเบียร์ [ประพันธ์, 2534], การหมักเบียร์โดยใช้เซลล์ยีสต์ตรึงรูปด้วยไคโตแซน [อัจฉรีย์, 2543], การศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้มอลต์ข้าวไทย SPR60 ผลิตเบียร์ [ยุพกนิษฐ์, 2545] ส่วนเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ชนิดอื่นที่มีการศึกษา เช่น การผลิตมอลท์วิสกี้จากธัญพืชที่ปลูกในประเทศไทย [ชรินทร์, 2542], การผลิตบรั่นดีมะขาม [ชาญณรงค์, 2543], การผลิตสุรากลั่นจากมะม่วงแก้ว [ไพบูลย์ และคณะ,2543] การผลิตสปาร์คลิงไวน์จากไวน์หม่อน [อธิชิต และคณะ, 2545] และการผลิตไซเดอร์สับปะรด [กรมวิทยาศาสตร์] เป็นต้น โดยจะเห็นได้ว่ายังไม่มีการพัฒนาความหลากหลายและได้รับความนิยมเท่าที่ควรในการผลิตโดยเฉพาะอย่างยิ่งคุณภาพของผลิตภัณฑ์ที่ได้ที่ต้องมีคุณภาพที่สม่ำเสมอและสมควรได้รับการสนับสนุนถึงระดับประเทศและส่งออกต่อไป การพัฒนากรรมวิธีการแปรรูปเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ที่เหมาะสมและกำหนดหลักการที่แน่นอนของผลไม้แต่ชนิดจึงเป็นสิ่งสำคัญเพื่อการพัฒนาธุรกิจดังกล่าวที่ยั้งยืน พร้อมทั้งเสนอช่องทางเลือกใหม่ให้เกษตรกร บุคคลากรทางอุตสาหกรรมไทยในการประยุกต์ใช้ในรูปแบบอื่นนอกจากเครื่องดื่ม ไม่ว่าจะเป็นเครื่องดื่มชูกำลัง(Energy Drink) เครื่องดื่มปรุงอาหาร(Assortment - Conditionment) เครื่องดื่มผสม (Mixed Drink) หรือแม้แต่การใช้ประโยชน์ในการแปรรูปอาหารชนิดอื่นเพื่อการเพิ่มมูลค่าและความหลากหลายของผลิตภัณฑ์ต่อไป

โครงการพัฒนายกระดับมาตรฐานแอลกอฮอล์จากผักและผลไม้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปรับปรุง พัฒนา กรรมวิธีการแปรรูปเครื่องดื่มแอลกอฮอล์จากผลไม้ในรูปแบบ ต่างๆเช่น ไวน์ เบียร์ เหล้ากลั่น เหล้าบรั่นดี ว้อดก้า แอลกอฮอล์ผสม เป็นต้น หรือในรูปแบบการแปรรูปโดยวิธีพื้นบ้านของไทย เช่น กระแช่ อุ สาโท โดยการมุ่งเน้นใช้พืชเศรษฐกิจ เช่น อ้อย ลิ้นจี่ มังคุด ฯลฯ และพืชพื้นบ้านอย่างจาก ตาลโตนด ฯลฯ เพื่อการนำลักษณะเฉพาะของผักผลไม้แต่ละชนิดออกมาให้มากที่สุดในรูปแบบเฉพาะตัว

วิธีดำเนินการและอุปกรณ์

อุปกรณ์

1.วัสดุทดลอง

1.1 ผักผลไม้ที่นำมาทดลองแบ่งเป็น 4 กลุ่ม จำนวนทั้งสิ้น 60 ชนิด ได้แก่

a. กลุ่มผลไม้เศรษฐกิจ เช่น มังคุด ทุเรียน เงาะ สัปปะรด กล้วย กาแฟ เป็นต้น

b. กลุ่มไม้ผลท้องถิ่น เช่น มะเม่า จาโบติกาบ้า ตาลโตนด จาก เป็นต้น

c. กลุ่มผัก เช่น แตงกวา มะนาว ฟักทอง ฟักเขียว พริก เป็นต้น

d. กลุ่มเมล็ดถั่ว เช่น ถั่วหรั่ง ถั่วเหลือง ถั่วเขียว มะม่วงหิมพาน เป็นต้น

2. ยีสต์ ในประเทศจำนวน 3 สายพันธุ์ซึ่งเป็นพันธุ์ยีสต์ที่พบทั่วไปในการใช้หมักแอลกอฮอล์ คัดเลือกจากห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีการหมัก สำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร รับรองโดยศูนย์วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ (Biotech) แบ่งออกเป็นสองสายพันธุ์หลัก และใช้เชื้อสด (Lyophilize)

2.1 สายพันธุ์ Saccharomyces ได้แก่

2.1.1 *Saccharomyces cerevisiae*

2.1.2 *Saccharomyces uvarum*

2.1.3 *Saccharomyces ludwidgii*

ทั้งนี้ทั้ง 3 สายพันธุ์จำเป็นต้องมีการทำ D-Glucose test เพื่อตรวจสอบการหมักก่อนจะนำมาทดลอง

3. สารเคมี

3.1 Potassium Monosulfate (HPLC grade, 99.8%, Prolabo)

3.2 Ammonium Sulfate (HPLC grade, 99.9%, Carlo Erba)

3.3 Methanol (HPLC grade, 99.9%, Carlo Erba)

4. เครื่องมือ

4.1 Electronic nose รุ่น TN100 ที่มีปั๊มแปรผันแรงดันต่ำเพื่อควบคุมอากาศอัตรา 6 มิลลิลิตรต่อนาที, เซนเซอร์ตรวจจับอุณหภูมิและความชื้น, เซนเซอร์ตรวจรับกลิ่น 8 ชนิดและโปรแกรมแปรผล E-Nose analysis ใช้ในการวิเคราะห์ 15 นาทีและโปรแกรมล้างหัวเซนเซอร์ 5 นาที ทั้งหมด 5 ซ้ำต่อครั้ง

4.2 ถังหมัก Fermenter (ENVI-18, 0.5g, 6ml)

4.3 ชุดวิเคราะห์สายพันธุ์ยีสต์โดยชุดทดสอบน้ำตาล ID-85 และ AP-20 และส่งรับรองผล ที่ศูนย์พันธุวิศกรรมแห่งประเทศไทย (Biotech)

4.4 Scent of Wine (Nez du VIN) จากปริษัท Aromes de VIN ประกอบไปด้วย 54 กลิ่นหลักในไวน์เพื่อใช้ในการฝึก และทดสอบ Panel list

4.5 High Performance Liquid Chromatography – Fluorescence ที่มีปั๊มแปรผันแรงดันต่ำ (Varian 9010) หัวฉีดชนิด (Rheodyne 7125) ที่แบ่งปริมาณฉีดที่ 20 ไมโครลิตร, การ์ดคอลัมน์ชนิด C18 Silica, คอลัมน์ชนิด C18 Silica (Supelcosil LC-PAH 20cm x 4.6 mm(5μm)), เตาอบชนิด Water Column Heater Module โดยใช้ตัวควบคุมอุณหภูมิชนิด Waters Temperature Control Module เพื่อควบคุมอุณหภูมิของคอลัมน์, ตัวตรวจจับสัญญาณชนิด Fluorescence (Thermo Quest FL 3000) มีโปรแกรมแปรผล(TC4 Navigator), ความเร็วของ Mobile Phase ที่ 1.5 $mL.min^{-1}$ โดยในช่วงแรกอุณหภูมิของคอลัมน์ยังไม่เสถียรดังนั้นการปรับ gradient จึงใช้ที่อุณหภูมิห้องและรอจนอุณหภูมิของคอลัมน์อยู่ที่ 35 องศาเซลเซียส และใช้เวลาในการวิเคราะห์ 55 นาที

4.6 High Performance Liquid Chromatography – Ultraviolet ที่มีปั๊มแปรผันแรงดันต่ำ (ยี่ห้อ Shimadzu LC-6A), หัวฉีดชนิด Manual injection ที่แบ่งปริมาณฉีดที่ 20 ไมโครลิตร, การ์ดคอลัมน์ชนิด C18 Silica, คอลัมน์ชนิด C18 Silica (EnviroSep-PP-PAH (EPA Method 610) 125 x 4.6 mm), ตัวตรวจจับสัญญาณชนิด DAD (Shimadzu SPD-SAV),เครื่องแปรผล (รุ่น SPD-SAV) และโปรแกรมแปรผล (LCanalysis), ความเร็วของ Mobile Phase ที่ 0.8 $mL.min^{-1}$ และใช้เวลาในการวิเคราะห์ 30 นาที

วิธีการทดลอง มี 6 ขั้นตอนได้แก่

<u>ขั้นตอนที่ 1 : ศึกษาคุณลักษณะของผักและผลไม้ที่เหมาะสมสำหรับการนำมาพัฒนาเป็นเครื่องดื่มแอลกอฮอล์</u> (Alcohol Potential of Fruit and Vegetable)

1. คัดเลือกผักและผลไม้ที่มีคุณภาพในการพัฒนาไปเป็นเครื่องดื่มแอลกฮอล์จาก 4 กลุ่ม
2. ทำการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของผักและผลไม้ที่เลือกมาใช้ในการทดลอง ได้แก่

หัวข้อวิเคราะห์ที่ 1 ปริมาณสารให้กลิ่นกลุ่มแอสเทอร์และกรดไขมันให้กลิ่น (Ester&Volatile Fatty acid)

หลักการ : การแยกสารหอมระเหยด้วยเครื่อง Gas Chromatography โดยวิธีสกัดแบบ liquid-liquid

Standard: octan-3-ol ความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อลิตรในสารละลายแอลกอฮอล์ 40%

Chromatography conditions:

Injector: Mode: *splitless/split*

Division: 30mL/mn Non division time: 0.5 min Temperature: 200 C

Detector: Type FID Injected Volume: 1 µL Temperature: 250 C

Column: Capillary ZB-5 from Zebron Length: 30 m Intern diameter: 0.25 mm

Film Thickness: 0.25mm

Gaz vector: Hydrogen N 50 – 100 kPa Temperature: 40 – 220 C at 3C/min, 220C 30min

Operation method:

ใช้วิธี Splitless โดยใช้ Division Vane ที่ 30 mL/min และ Septum roaming ที่ 1 mL ต่อนาที และจะปิดอัตโนมัติทุกสองนาทีตอนมีการ injection โดยปริมาตร inject อยู่ที่ **1 µL**

1. <u>Extract preparation</u> เพื่อการใช้วิธี Splitless ให้ได้ผลมากที่สุดจำเป็นต้องเลือกตัวทำละลายที่จุดเดือดสูงกว่าอุณหภูมิของคอลัมล์เล็กน้อย โดยในการนี้เราเลือกใช้ เฮคเซน ที่มีความเป็นขั้วเล็กน้อยเช่นเดียวกับสารที่เราสนใจในกลุ่มแอสเทอร์และกรดไขมัน ดังนั้นจึงทำให้แอลกอฮอล์และกรดอินทรีย์อื่นๆไม่ส่งผลต่อการวิเคราะห์ครั้งนี้โดยเราใช้ตัวทำละลายอีกตัวในการจัดการปัญหาดังกล่าวคือ Ethyl ether โดยผลการวิเคราะห์จะทำให้ได้ 99% ester, 50%hexanol และ 99% - 70% Fatty acid C6 – C16 โดยมีขั้นตอนดังนี้

2. นำน้ำผักผลไม้ที่จะใช้วิเคราะห์ปริมาตร 50 mL และเติมสารละลายมาตรฐาน 200 µL (octan-3-ol, 400 mg/L) จากนั้นเปลี่ยนใส่ใน flask ขนาด 100 mL แล้วเติมกรด H_3PO_4 0.3 mL เพื่อดึงกรดอินทรีย์ชนิดอื่นและเกลือออกแล้วผสมให้เข้ากัน

3. เติม isohexane ether (1:1, V/V) 4 mL แล้วผสมต่ออีก 5 นาทีโดยสารละลายต้องไม่แยกชั้นและเข้าเป็นเนื้อเดียวกันอย่างชัดเจน

4. ตกตะกอนโดยใช้ Funnel ประมาณ 5 นาทีแล้วแยกน้ำผลไม้ที่ตกตะกอนออกใน flask 100 mL จากส่วนแขวนลอยปริมาตรประมาณ 20 mL

5. เติม isohexane ether 2 mL ในน้ำผลไม้แล้วคนต่ออีก 5 นาที

6. ตกตะกอนอีกครั้งโดยใช้ Funnel แล้วแบ่งแยกส่วนแขวนลอยเช่นเดียวกับข้างต้นและทดลองสกัดอีกครั้งเป็นจำนวนทั้งสิ้น 3 ครั้ง โดยใช้ isohexane ether เท่าเดิม

7. จากนั้นคนให้ฟองในบีกเกอร์ 20 mL แตกโดยใช้ตัวหมุนแกนช้าๆ และเอาปิเปตดึงน้ำที่ตกอยู่ด้านล่างออกและสารละลายพร้อมฉีด โดยใช้เพียง 1 µL ในบีกเกอร์ 20 mL

8. <u>Concentration Calculated</u> ใช้สารมาตรฐานเป็นตัวคำนวนเพื่อเปรียบเทียบปริมาณที่พบในสารละสายที่ต้องการในแต่ละตัวอัตราส่วน 1 : 1

หัวข้อวิเคราะห์ที่ 2 ปริมาณแอลกอฮอล์ระดับสูง (Superior Alcohol analysis)

หลักการ: Direct injection กับ Gas Chromatography

Internal Standard: Methyl-4 pentan-2-ol ความเข้มข้น 15 g/L ในแอลกอฮอล์ 40%

Chromatography condition:

Injector:

Mode: *split* Division: 60mL/mn Injected Volume: 0.4 µL

Temperature: 250 C

Detector:

Type: FID Temperature: 250 C

Column

Type: Capillary ZB-5 from Zebron Length: 30 m Intern diameter: 0.25 mm

Film Thickness: 0.25mm

Gaz vector: Hydrogen N 50 – 100 kPa debit 2 mL/min

Temperature: 40 C isotherm 5 min and 40 – 100 C at 4C/min

Operation method:

ใช้ฉีด 2 ส่วนได้แก่

ส่วนที่ 1 Reference solution เพื่อคำนวณหา Reply Coefficient โดยใน Reference solution (Ethanol, Ethanal, Ethyl Acetate, Methanol, Butanol-2, Propanol-1, Methyl-2 propanol-1, butanol-1, methyl-2 butanol-1, methyl-3 butanol-1) ปริมาณ 5 mL เติม Internal standard 50 µL ผสมให้เข้ากันและฉีดเข้าเครื่อง 0.4 µL จากนั้นคำนวณหา K และ Rf ของแต่ละตัวที่สนใจ

ส่วนที่ 2 Sample เพื่อคำนวณหา Respective concentration ใช้ Sample ปริมาณ 5 mL และเติม Internal standard 50 µL โดยผสมเข้าให้ดีโดย Vortex และฉีดเข้าเครื่อง 0.4 µL แล้วนำไปเปรียบเทียบกับ Reference solution โดยหน่วยจะเป็น mg/L

หัวข้อวิเคราะห์ที่ 3 ปริมาณน้ำตาลและกลีเซอรอล (Sugar and Glycerol ฿ D-Glucose analysis)

3.1 การประเมินปริมาณน้ำตาลและกลีเซอรอล

หลักการ: Direct injection กับ High Performance Liquid Chromatography และ external standard โดยใช้คอลัมภ์ Silica ที่มีกลุ่ม NH_2 เคลือบอยู่แล้วแปรผลด้วยเครื่อง Refractometrie

External Standard: เตรียมในสารละลายแอลกอฮอล์ที่ 12% โดยใช้ปริมาณดังนี้

Glycerol 5 g/L; Glucose 2.32 g/L; Saccharose 2.10 g/L; Fructose 2.20 g/L

Chromatography Condition:

Injector: boucle 20 µL

Detector: refractmeter Jasco RI 530

Column:

Type: NH2 SGE Exsil Amino 250mm X 4.6 mm Temperature of column: Room temperature

Mobile Phase: 80% Acetonitrile/ 20% Water debit 1 mL/min Pressure 50 atm

Operation Method:

เตรียมตัวอย่างน้ำผักผลไม้ปริมาณ 5 mL กรองผ่านแผ่นกรองที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.45 ไมโครเมตร แล้วฉีดสารตัวอย่างปริมาณ 20 µL ระวังไม่ให้มีอากาศเข้าไปแล้วคำนวณหาพื้นที่ใต้กราฟเพื่อคำนวณปริมาณความเข้มข้นของแต่ละตัว

3.2 การคำนวณปริมาณ D-Glucose ในน้ำผักและผลไม้

หลักการ ใช้วิธี GOPOD format assay kit Megazyme

ตามปฏิกิริยาดังนี้

$$\text{D-Glucose} + O_2 + H_2O \rightarrow \text{D-Gluconate} + H_2O_2$$

$2H_2O_2$ + p-hydroxybenzoic acid + 4-aminoantipyrine ➔ Quinoneimine dye + 4 H_2O

Operation Method:

1. เตรียมสารละลาย Buffer: GOPOD Reagent ประกอบด้วย Potassium Phosphate Buffer (1 M, pH 7.4), p-hydroxybenzoic acid (0.22M) และ sodium azide (0.4% w/v) ผสมกันพร้อมละลายในน้ำกลั่นปริมาณ 1 ลิตร

2. ละลายเอนไซม์: GOPOD Enzyme ประกอบด้วย Glucose oxidase (>12 000U) , Peroxidase(> 650U) และ 4-aminoantipyrine (80mg) ในสารละลาย buffer ปริมาณ 20 mL แล้วเทใส่ขวดที่บรรจุสารละลายที่ 1 ทั้งหมดโดยต้องระวังไม่ให้โดนแสงเพราะสารละลายดังกล่าวไวต่อแสงมาก เราเรียกสารละลายนี้ว่า Glucose Determination Reagent(GDR) โดยจะมีสีเหลืองใสหรือชมพูใส แต่จะเปลี่ยนเป็นสีชมพูเข้มเมื่อเวลาผ่านไป 2 – 3 เดือนที่ 4 องศาเซลเซียสและ Absorbance จะน้อยกว่า 0.05 ในน้ำกลั่น

3. เตรียมน้ำผักผลไม้ตัวอย่างปริมาณ 0.1 mL แล้วเติมสารละลาย GDR ปริมาณ 3 mL แล้วอุ่นที่อุณหภูมิ 40 – 50C เป็นเวลา 20 นาที แล้วอ่านค่า Absorbance ที่ 510 nm โดยเปรียบเทียบกับ Blank และ D-glucose Standard ตามตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ตารางเปรียบเทียบการวิเคราะห์ปริมาณ GOPOD ในน้ำผลไม้

	Reagent Blank	Standard	Sample
GOPOD Reagent	3.0 mL	3.0 mL	3.0 mL
D-Glucose standard	-	0.1 mL	-
Sample	-	-	0.1 mL
Buffer or water	0.1 mL	-	--

4. คำนวณปริมาณ D- Glucose จากสูตรนี้

$$\text{D – Glucose (µg/ 0.1 mL)} = \frac{\Delta \text{ A (sample)}}{\Delta \text{ A (D-Glucose standard 100 µg)}} \times 100$$

หัวข้อวิเคราะห์ที่ 4 ปริมาณไนโตรเจนที่ยีสต์ใช้ในการหมัก (Primary Amino Nitrogen ฿ Formol index)

4.1 การคำนวณปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ยีสต์นำไปใช้ในการหมักในน้ำผักและผลไม้ (Formol index)

สามารถคำนวณหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่มีผลต่อการพัฒนายีสต์ในการหมักได้โดยปริมาณไนโตรเจนนั้นต้องมากกว่า 140 mg/L ซึ่งถ้าพบว่าน้อยกว่าจะส่งผลต่อปัญหาการหยุดหมักก่อนกำหนดได้

หลักการ ใช้วิธีการ Titration โดยใช้ Formaldehyde เป็น indicator โดยใช้ pH meter ในการตรวจสอบ

Reagents

- สารละลาย NaOH 1 M และ 0.1 M เพื่อใช้ในการปรับ pH
- Formaldehyde pH 7.0 โดยใช้สารละลาย NaOH 0.1 M ในการปรับ pH ข้างต้น

Operation Method

1. เตรียมน้ำผักผลไม้ตัวอย่างปริมาตร 20 mL ในบีกเกอร์ 50 mL แล้วใส่ magnetic stir bar ช่วยคน
2. ปรับ pH เป็น 7 โดยการเติม NaOH 1N เติม Formaldehyde 20 mL แล้วไตเตรตกับ NaOH 0.1N จน pH เป็น 7
3. บันทึกผลการไตเตรท(N) โดยคำนวณจาก

$$\text{ไนโตรเจนทั้งหมดที่ยีสต์นำไปใช้ได้} = \frac{N \times 14 \times 1000 \times [NaOH]}{\text{Standard Volume}} = N \times 70$$

เนื่องจาก [NaOH] = 0.1 M และ Standard Volume = 20 mL

4.2 การคำนวณปริมาณไนโตรเจนปฐมภูมิที่ยีสต์นำไปใช้ในการหมักน้ำผักและผลไม้ (Primary Amino Nitrogen)

เพื่อคำนวณหาปริมาณไนโตรเจนปฐมภูมิในน้ำผลไม้นี้เราสามารถนำค่าดังกล่าวไปใช้ประยุกต์กับปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ได้จากข้อ 1 เพื่อคำนวณหาปริมาณไนโตรเจนทุติยภูมิต่อไปเนื่องจากไนโตรเจนที่ยีสต์สสามารถนำไปใช้ได้นั้นมี 3 ประเภทได้แก่

a. ไนโตรเจนปฐมภูมิ ได้แก่ กรดอะมิโนสายเดี่ยว
b. ประจุแอมโมเนี่ยม
c. กรดอะมีโนสายซ้อนเช่น L-arginine ที่เกิดจากปฏิกิริยา hydrolysis จากเอนไซม์ในยีสต์ไปเป็น Ornithine และ ยูเรียที่อาจทำให้เกิดกลิ่นไม่พึงประสงค์ได้

การรับทราบถึงปริมาณสารดังกล่าวทำให้ได้ข้อมูลในการพัฒนากรรมวิธีการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์จากผักและผลไม้แต่ละชนิดเพื่อประยุกต์กระบวนการผลิตให้มีประสิทธิภาพสูงสุด

หลักการ ใช้ PAN (Primary Amino Nitrogen) Assay procedure ของ Megazyme

Amino nitrogen + N-acetyl-L-cysteine + o-phthaldialdehyde ➔ isoindole derivative

Operation Method

1. เตรียมสารละลายที่ประกอบไปด้วย บอแร็ค, N-acetyl-L-cysteine (NAC) ละลายในน้ำ 3 mL โดยอาจใช้เวลาละลายประมาณ 2 – 3 นาทีโดยจำเป็นต้องเขย่าและการคนเข้าช่วย โดยถือเป็น **Solution I**
2. เตรียมสารละลาย ortho-phthaldialdehyde (OPA 160 mg) ในเอทานอล 12 mL (96% v/v) ระวังไม่ให้โดนแสง โดยถือเป็น **Solution II**
3. นำสารละลายที่เตรียมพร้อมตัวอย่างไปความยาวคลื่นโดยเครื่อง Spectrophotometer โดยใช้ความยาวแสงที่ 340 nm กับหลอดขนาด 1 cm ที่อุณหภูมิห้อง 25 องศาเซลเซียส ปริมาตร 3.15 mL ต่อตัวอย่างดังนี้

ตารางที่ 2 การเตรียมตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ปริมาณ Primary Amino Nitrogen

ปิเปตในหลอดวัด	Blank	Sample
Solution I (NAC)	3.00 mL	3.00 mL
น้ำกลั่น	0.05 mL	-
Sample	-	0.05 mL
MIX แล้วอ่านค่าการดูดกลืนแสงค่าแรก (A1) หลังจากทำปฏิกิริยาประมาณ 2 นาทีแล้วเริ่มปฏิกิริยาต่อไปทันที		
Solution II (OPA)	0.10 mL	0.10 mL
MIX แล้วอ่านค่าการดูดกลืนแสงค่าท่าสอง (A2) หลังจากทำปฏิกิริยาประมาณ 15 นาที		

4. คำนวณค่าการดูดกลืนแสงของแต่ละตัวอย่างจาก ΔA_{PAN} = A2 – A1 แล้วนำไปคำนวณจากสูตรคำนวณดังนี้

ความเข้มข้นของ PAN = $\dfrac{V \times MW \times 1000}{\varepsilon \times d \times v} \times \Delta A_{PAN}$

V = ปริมาตรสุดท้าย = 3.15 mL

MW = มวลโมเลกุลของไนโตรเจน = 14.01 g/mol

1000 = เพื่อเปลี่ยนหน่วยจาก mg เป็น N/L

ε = extinction coefficient ของ isoindole ที่ 340 nm = 6803 l/mol/cm

d = ระยะของแสงผ่าน = 1 cm

v = ปริมาตรสารตัวอย่าง = 0.05 mL

ดังนั้น ความเข้มข้นของ PAN $= \frac{3.15 \times 14.01 \times 1000 \times \Delta A_{PAN}}{6803 \times 1.0 \times 0.05} = 129.74 \times \Delta A_{PAN}$

หัวข้อวิเคราะห์ที่ 5 ปริมาณซัลเฟอร์ในน้ำผักและผลไม้ที่ใช้ในการหมัก (Total Sulfites analysis)

หลักการ AOAC Official Method 990.28 Sulfites in Foods

Reagents

- สารละลายกรดไฮโดรคลอลิก 4M โดยเตรียมสารละลายปริมาตร 90 mL จากการเติมกรด HCl 30 mL ในน้ำ 60 mL
- Methyl Red โดยเตรียม methyl red 250 mg ในเอทานอล 100 mL
- สารละลาย NaOH 0.01M เพื่อใช้ในการไตเตรท
- สารละลายไฮโดรเจนเปอออกไซด์ 3% เตรียมโดยเติมน้ำ 30 mL ใน H_2O_2 30% ปริมาณ 3 mL
- ไนโตรเจนบริสุทธิ์

Operation Method

1. เตรียมนำผักหรือผลไม้ปริมาณ 50 mL แล้วเติมสารละลาย Ethanol:water (5:95) 100 mL ผสมให้เข้ากันแล้วใส่ใน flask
2. ใน flask ต้มเติมน้ำลงไป 400 mL ปิดก๊อกหลอดไตเตรทแล้วเติม 4M HCL ลงไป 90 mL เริ่มเป่าแก๊สไนโตรเจนที่ 200+/- 10 mL/min และระบบจะเย็นลงใส่ H_2O_2 3% ใน vassal อีกด้านปริมาณ 30 mL โดยได้ไตเตรทเป็นสีเหลืองกับ NaOH 0.01M รอประมาณ 15 นาทีจนน้ำใส่ออกซิเจนทั้งหมดแล้วเริ่มทำการวิเคราะห์
3. เติม HCl ลงไปช้าๆใน flaskแล้วค่อยๆเปลี่ยนจุกยางเพื่อไม่ให้อากาศออกไป ใช้ vassal ไตเตรทจนเปลี่ยนสีเป็นสีเหลือง
4. คำนวณหาตามสูตรดังนี้

$$SO_2\ \mu g/g\ (ppm) = \frac{32.03 \times VB \times M \times 1000}{weight}$$

32.03 = milliequivalent ของ SO_2

VB = ปริมาตร (mL) ของ NaOH ที่ไตเตรทจนจบ

1000 = Convert factor milliequivalent ไปเป็น microequivalent

Weight = น้ำหนักของตัวอย่างใน flask 1 ลิตร

หัวข้อวิเคราะห์ที่ 6 ปริมาณโพลีเฟนอลในน้ำผักและผลไม้ชนิดต่างๆ เน้นสีแดงม่วง (Polyphenolic potential)

หัวข้อวิเคราะห์ที่ 7 ปริมาณสารแทนนินโดยรวมโดยใช้ดัชนีเอทานอลและเจลาติน (Tannin index by Ethanol and Gelatin)

หัวข้อวิเคราะห์ที่ 8 ลักษณะทางกายภาพของน้ำผักผลไม้ก่อนการหมัก (Vegetable & Fruit Physiological Properties)

หัวข้อวิเคราะห์ที่ 9 ชนิดของรสชาติโดยการเปรียบเทียบกับสเกลต่างๆที่จัดทำขึ้น ได้แก่ สเกลรสหวาน/ สเกลรสเปรี้ยว/ สเกลรสเค็ม /สเกลรสขม (Organoleptic Scale)

3. วิเคราะห์ความเป็นไปได้ในการหมักแอลกอฮอล์ (Alcohol Potential) โดยแบ่งออกเป็น 2 ระยะ คือลักษณะผลไม้และลักษณะของผลไม้หลังหมัก ได้แก่
    a. ชนิดของสีของผักและผลไม้ (แดง/เหลือง/เขียว/ขาว)
    b. ชนิดของกลุ่มสารให้กลิ่นของผักและผลไม้ก่อนหมักและหลังหมัก (สารกลุ่มแอสเทอร์ หรือสารกลุ่มเทพีน)
    c. ชนิดของรสชาติโดยการเปรียบเทียบกับสเกลต่างๆที่จัดทำขึ้น ได้แก่ สเกลรสหวาน/ สเกลรสเปรี้ยว/ สเกลรสเค็ม /สเกลรสขม
4. ทดลองหมักในระดับห้องปฏิบัติการแล้วดำเนินกรรมวิธีการวิเคราะห์เพื่อประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสศึกษาตรวจสอบคุณภาพโดยวิธีการชิมและวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัสและใช้วิธีประเมินค่าทางสถิติ Principal Composant Analysis และ Partial Least Square จากกลุ่ม Panel list (Expert group) และประชาชนทั่วไป (Consumer group) คุณค่าทางโภชนาการและการความพอใจของผู้บริโภคจากกลุ่มตัวอย่างแอลกอฮอล์ต้นแบบตามท้องตลาด

<u>ขั้นตอนที่ 2 : การพัฒนาคุณภาพการสกัดสีและกลิ่นของผักและผลไม้ในกระบวนการเตรียมหมัก</u> (Maceration preferment to Color and Aroma extraction)

1. คัดเลือกผักและผลไม้ที่มีการยอมรับมากที่สุดจากกิจกรรมที่ 1 จากกลุ่มทั้ง 4 มาอย่างน้อย 2 ชนิดในการทดลองแต่ละปีปีละอย่างน้อยสองกลุ่มเพื่อเปรียบเทียบ
2. การพัฒนาการสกัดสีและกลิ่นโดยการสกัดตั้งแต่ยังเป็น « ผักและผลไม้สภาพหลังการเก็บเกี่ยว »และวิเคราะห์สารกลุ่มสีและกลิ่นในผลไม้ที่เลือก โดยการใช้ความเย็น (Cold Premaceration) /การใช้ความร้อน (Heat Premaceration) /การบ่มโดยใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (Carbo-premaceration)
3. การพัฒนาการสกัดสีและกลิ่นในรูปแบบ « ของเหลวสกัดจากผักและผลไม้ » และวิเคราะห์สารกลุ่มสีและกลิ่นในผลไม้ที่เลือก ไม่ว่าจะเป็นการใช้สเปย์ควบแน่น(Flash detent)/ การใช้จุด

เยือกแข็งควบแน่น (Freezing point)/ การใช้ความเย็น (Cold Maceration)/ การใช้ความร้อน (Heat Maceration)/ การใช้เทคนิครีเวอส์ออสโมซิส (Reverse Osmosis)

4. ทดลองการพัฒนาโดยการใช้เปลือกหรือวัสดุที่เหลือใช้จากการเตรียมผลไม้เพื่อการพัฒนาเครื่องดื่มแอลกอฮอล์มาใช้
    a. การใช้วิธีการสกัดสีจากเปลือกโดยใช้ความร้อน
    b. การใช้วิธีการเตรียมสกัดสีจากเปลือกโดยการใช้ Freeze Dryer
5. ทดลองหมักในระดับห้องปฏิบัติการและระดับอุตสาหกรรมแล้วดำเนินกรรมวิธีการวิเคราะห์เพื่อประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสศึกษาตรวจสอบคุณภาพโดยวิธีการชิมและวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัสและใช้วิธีประเมินค่าทางสถิติ Principal Composant Analysis และ Partial Least Square จากกลุ่ม Panel list (Expert group) และประชาชนทั่วไป (Consumer group) คุณค่าทางโภชนาการ และการความพอใจของผู้บริโภคจากกลุ่มตัวอย่างแอลกอฮอล์ต้นแบบตามท้องตลาด

ขั้นตอนที่ 3 : <u>การคัดเลือกเชื้อพันธุ์ยีสต์ที่เหมาะสมในการหมักเครื่องดื่มแอลกอฮอล์จากผักและผลไม้</u> (Oenolysat in Fruit and Vegetable Alcohol Fermentation)

1. คัดเลือกผักและผลไม้ที่มีการยอมรับมากที่สุดจากกิจกรรมที่ 1 จากกลุ่มทั้ง 4 มาอย่างน้อย 2 ชนิดในการทดลองแต่ละปีปีละอย่างน้อยสองกลุ่มเพื่อเปรียบเทียบ
2. คัดเลือกยีสต์สายพันธุ์ที่ได้มาจากห้องทดลอง 4 สายพันธุ์และยีสต์สายพันธุ์ธรรมชาติอย่างน้อย 1 สายพันธุ์ซึ่งเป็นชนิดที่ได้มาจากผักผลไม้ที่เลือกมา ได้แก่สายพันธุ์ *Saccharomyces* / สายพันธุ์ *Non-Saccharomyces/* สายพันธุ์ที่ได้มาจากธรรมชาติจากผลไม้ในประเทศไทย
3. ทดสอบประสิทธิภาพในการหมักแอลกอฮอล์ (Alcohol Fermentation Performance) โดยตรวจสอบ 2 วิธี ได้แก่ วิธีทางชีวเคมี (Glycerol test) และวิธีทางกลศาสตร์ (Enzyme Kenetic test)
4. ทดลองหมักในระดับห้องปฏิบัติการและระดับอุตสาหกรรมแล้วดำเนินกรรมวิธีการวิเคราะห์เพื่อประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสศึกษาตรวจสอบคุณภาพโดยวิธีการชิมและวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัสและใช้วิธีประเมินค่าทางสถิติ Principal Composant Analysis และ Partial Least Square จากกลุ่ม Panel list (Expert group) และประชาชนทั่วไป (Consumer group) คุณค่าทางโภชนาการ และการความพอใจของผู้บริโภคจากกลุ่มตัวอย่างแอลกอฮอล์ต้นแบบตามท้องตลาด

ขั้นตอนที่ 4 : <u>การพัฒนาการหมักต่อยอดและการกลั่นเพื่อการเพิ่มคุณภาพของเครื่องดื่มแอลกอฮอล์จากผักและผลไม้</u> (Secondary Fermentation and Distillation of Fruit and Vegetable Alcohol)

1. คัดเลือกผักและผลไม้ที่มีการยอมรับมากที่สุดจากกิจกรรมที่ 1 จากกลุ่มทั้ง 4 มาอย่างน้อย 2 ชนิดในการทดลองแต่ละปีปีละอย่างน้อยสองกลุ่มเพื่อเปรียบเทียบ

2. ประเมินคุณภาพแอลกอฮอล์ที่หมักได้ตามกิจกรรมที่ 3 เพื่อการทดลองหมักต่อยอด ได้แก่ การหมักกรดแลคติก/ การหมักกรดอาซิติก/ การหมักกรดซิตริก/ การหมักแก็สคาร์บอนไดออกไซด์/ การหมักโดยใช้ออกซิเจน
3. พัฒนาการกลั่นเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ที่ได้มาจากกิจกรรมที่ 3 ในรูปแบบการกลั่นลำดับส่วนโดยการประเมินประสิทธิภาพจาก : จำนวนครั้งการกลั่นต่อปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้ /ระยะเวลาในการกลั่น /การสูญเสียระหว่างการกลั่น
4. ทดลองหมักและกลั่นในระดับห้องปฏิบัติการและระดับอุตสาหกรรมแล้วดำเนินกรรมวิธีการวิเคราะห์เพื่อประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสศึกษาตรวจสอบคุณภาพโดยวิธีการชิมและวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัสและใช้วิธีประเมินค่าทางสถิติ Principal Composant Analysis และ Partial Least Square จากกลุ่ม Panel list (Expert group) และประชาชนทั่วไป (Consumer group) คุณค่าทางโภชนาการ และการความพอใจของผู้บริโภคจากกลุ่มตัวอย่างแอลกอฮอล์ต้นแบบตามท้องตลาด

ขั้นตอนที่ 5 : <u>การพัฒนาการปรับปรุงเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ในผลิตภัณฑ์ใหม่</u> (New Product from Alcohol Beverage)

1. คัดเลือกผลิตภัณฑ์แอลกอฮอล์ชนิดใหม่ที่ได้จากผักและผลไม้ที่มีการยอมรับมากที่สุดจากกิจกรรมที่ 1 - 4 จากกลุ่มทั้ง 4 มาเพื่อทดลองการพัฒนาแปรรูปเพิ่มมูลค่าในผลิตภัณฑ์ใหม่จากเครื่องดื่มแอลกอฮอล์
2. การพัฒนาการลดดีกรีเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ (Desalcoolization) ในการพัฒนาเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ต่ำ
3. การพัฒนาเครื่องดื่มแอลกอฮอล์แต่งกลิ่นเพื่อธุรกิจค้อกเทล (Cocktail Aromatization)
4. การพัฒนาเครื่องดื่มแอลกอฮอล์เพื่อการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ปรุงอาหาร (Seasoning)

ระยะเวลา ตุลาคม 2553 – กันยายน 2558

สถานที่ดำเนินการ กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรส่วนภูมิภาคกรมวิชาการเกษตร แปลงเกษตรกรส่วนภูมิภาคได้แก่จังหวัดเชียงใหม่,เชียงราย,น่าน, กำแพงเพชร, ตาก, ขอนแก่น, หนองคาย, นครราชสีมา, อุบลราชธานี, ศรีสะเกษ, ฉะเชิงเทรา, ระยอง, จันทบุรี, กาญจนบุรี, ประจวบคีรีขันธ์, ชุมพร, จังหวัดสุราษฎร์ธานี, จังหวัดนครศรีธรรมราชและจังหวัดตรัง

ผลการทดลองและวิจารณ์

1.ผลการศึกษาคุณลักษณะของผักและผลไม้ที่เหมาะสมสำหรับการนำมาพัฒนาเป็นเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ (Alcohol Potential of Fruit and Vegetable) สามารถแบ่งกลุ่มตามคุณสมบัติทางชีวเคมีหลัก(ปริมาณสารอาหาร)ต่อศักยภาพการผลิตแอลกอฮอล์

กลุ่มที่ 1 กลุ่มที่มี เพคตินเป็นส่วนประกอบหลัก แต่มีแร่ธาตุน้อยได้แก่ กล้วย, ทุเรียน, ขนุน, พุทรา, ลำไย, มะม่วง, ทับทิม, เงาะ, ละมุด, น้อยหน่า, ฟักทอง, ข้าวโพดหวาน, เผือก, อโวกาโด้ เป็นต้น

กลุ่มที่ 2 กลุ่มที่มีแทนนินเป็นส่วนประกอบหลัก และมีแร่ธาตุปานกลาง ได้แก่ แคนตาลูป, มะเฟือง , แก้วมังกร, ชมพู่มะเมี่ยว,แตงไทย, แตงโม, มะพร้าว, พลัม, สตอร์เบอร์รี่, มะเขือเทศ, มะเดื่อฝรั่ง, หัวไชเถ้า, มะนาว, ผักกาด, เมลอน, มะเม่า, หัวหอมใหญ่, ถั่วลันเตา, แก่นตะวัน, แครอท, พริก, แตงกวา เป็นต้น

กลุ่มที่ 3 กลุ่มที่มีกรดอินทรีย์เป็นส่วนประกอบหลัก (กรดแลคติก, กรดมาลิก, กรดซิตริก เป็นต้น) และมีแร่ธาตุอาหารสูง ได้แก่ องุ่น, ฝรั่ง, ชมพู่, ลองกอง, ลิ้นจี่, มะละกอ, เสาวรส, สัปปะรด, ส้มโอ, มะไฟ, สละ, กระท้อน, ส้มเช้ง, ส้มเขียวหวาน, ลูกตาล, มันฝรั่ง, กระเทียม, กีวี, แอปเปิ้ล เป็นต้น

รูปแบบที่ 2 การแบ่งกลุ่มตามคุณค่าทางอาหารโดยรวมต่อศักยภาพการผลิตแอลกอฮอล์

1.1. กลุ่มที่ 1 กลุ่มที่มีคุณค่าทางอาหารโดยรวมน้อย

ได้แก่ กล้วย, แก้วมังกร, องุ่น, ฝรั่ง, ลิ้นจี้, มะม่วงดิบ*, เสาวรส, ส้มโอ, ส้มเช้ง, ส้มเขียวหวาน, พลัม, มันฝรั่ง, ฟักทอง, สตอร์เบอร์รี่, ข้าวโพดหวาน, เผือก, มะเขือเทศ, มะเดื่อฝรั่ง, หัวไชเถ้าขาว, หัวไชเถ้าแดง, กระเทียม, กีวี, มะนาว, ผักกาด, เมลอน, มะเม่า, หัวหอมใหญ่, ถั่วลันเตา, แอปเปิ้ล, อโวกาโด้, แก่นตะวัน, แครอท, พริก, แตงกวา เป็นต้น

1.2. กลุ่มที่ 2 กลุ่มที่มีคุณค่าทางอาหารโดยรวมปานกลาง

ได้แก่ แคนตาลูป, มะเฟือง, ทุเรียน, ชมพู่, พุทรา, ลำไย, ลองกอง, มังคุด, ชมพู่มะเมี่ยว, สัปปะรด, ทับทิม, เงาะ, มะไฟ, สละ, กระท้อน, ละมุด, น้อยหน่า, มะขามหวาน, ลูกตาล, แตงโม, มะพร้าว เป็นต้น

1.3. กลุ่มที่ 3 กลุ่มที่มีคุณค่าทางอาหารโดยรวมมาก

ได้แก่ ขนุน, แตงไทย, มะละกอ เป็นต้น

1.4. กลุ่มที่ 4

ได้แก่ มะม่วงสุก*

ตารางที่ 3 แสดงผลการทดสอบคุณค่าทางอาหารของผลไม้ที่ทดลองนำมาวิเคราะห์

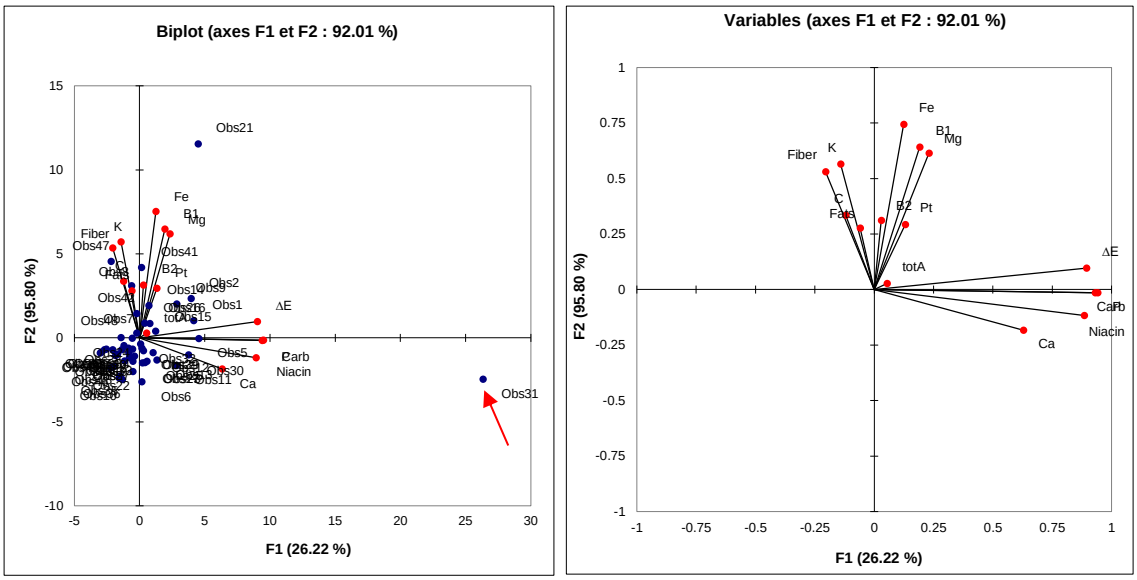
ผักผลไม้ (100 กรัม)	ปริมาณสารอาหาร					ปริมาณเกลือแร่					ปริมาณวิตามิน				
	ΔE (cal)	Pt (g)	Fats (g)	Carb (g)	Fiber (g)	Ca (mg)	P (mg)	Fe (mg)	K (mg)	Mg (mg)	totA (I.U.)	B1 (mg)	B2 (mg)	C (mg)	Niacin (mg)
กล้วยหอม	131	1	0.2	31.4	0.3	26	46	0.6	350	10	132	0.13	0.03	7	0.4
กล้วยไข่	145	1.5	0.2	34.4	0.4	24	22	0.5	380	18	-	0.02	0.09	16	0.4
แคนตาลูป	30	0.7	0.1	7.5	-	14	16	0.4	-	-	-	0.04	0.17	28	0.8
มะเฟือง	22	0.3	0.4	6.7	1	8	15	0.9	-	-	-	0.05	0.04	38	0.4
ทุเรียน	124	2.5	1.6	28.3	-	20	68	0.6	-	-	17	0.27	0.23	37	1.2
แก้วมังกร	-	0.53	-	-	0.71	134.5	8.7	-	212.2	-	-	-	-	9.4	-
องุ่น	50	0.5	0.3	12.8	0.9	9	20	0.6	183	9	-	0.1	0.06	4	0.2
ฝรั่ง	51	0.9	0.1	11.6	6	13	25	0.5	158	12	89	0.06	0.13	160	1
ขนุน	94	1.7	0.3	23.7	0.9	27	38	0.6	350	14	392	0.14	0.12	9	0.7
ชมพู่	49	0.6	0.2	12.6	-	-	-	-	-	-	-	0.01	-	18	-
พุทรา	82	1.6	0.4	20.5	-	37	49	0.8	-	-	67	-	-	6	0.7
ลำไย	71	1	1.4	15.6	0.3	23	36	0.4	-	-	-	0.03	0.14	56	0.3
ลองกอง	57	0.9	0.2	15.2	-	19	24	1.1	-	-	-	0.07	0.04	3	9
ลิ้นจี่	65	0.8	0.4	16.3	0.2	10	29	0.3	160	7	-	0.05	0.6	50	0.6
มะม่วงสุก	80	0.9	0.2	18.8	1.2	6	16	0.3	140	11	3133	0.11	0.06	5	1.8
มะม่วงดิบ	85	0.8	0.2	19.9	2.7	6	15	0.2	138	15	133	0.07	0.02	29	0.5

ผักผลไม้ (100 กรัม)	ปริมาณสารอาหาร					ปริมาณเกลือแร่					ปริมาณวิตามิน				
	ΔE	Pt	Fats	Carb	Fiber	Ca	P	Fe	K	Mg	totA	B1	B2	C	Niacin
	(cal)	(g)	(g)	(g)	(g)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)	(I.U.)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)
มังคุด	76	0.5	0.1	18.4	1.7	9	14	0.5	-	-	-	0.09	0.06	2	0.1
ชมพู่มะเหมี่ยว	28	0.3	-	6.5	-	2	8	0.6	-	-	-	0.01	0.04	20	-
แตงไทย	21	4.5	-	4.5	0.9	30	18	0.4	-	-	370	0.02	0.03	21	0.4
มะละกอ	41	0.5	0.1	9.5	1.3	15	15	1.1	-	-	333	0.04	0.05	43	0.4
เสาวรส	64	1.8	0.4	15.2	2.8	20	48	3.6	200	28	-	10	0.06	15	1.4
สัปปะรด	61	0.4	0.1	14.7	1.2	11	9	0.2	-	-	58	0.09	0.04	7	0.3
ทับทิม	72	1	-	14.7	1.1	13	23	0.7	-	-	-	0.07	0.01	7	0.3
ส้มโอ	46	0.7	0.4	9.9	0.7	15	20	0.6	128	6	-	0.04	0.02	52	0.4
เงาะ	76	1	0.2	17.6	2	20	19	0.4	-	-	-	0.01	0.01	37	1
มะไฟ	56	9	-	14.4	0.8	15	19	-	-	-	-	-	0.11	148	3.3
สละ	51	0.5	0.1	12.1	0.3	8	18	0.4	-	-	-	-	0.2	6	-
กระท้อน	57	0.4	0.7	13.9	1	9	-	1.2	-	-	83	0.05	-	14	0.9
ละมุด	92	0.6	0.5	21.2	8.1	15	10	0.2	-	-	-	0.03	0.02	19	0.4
น้อยหน่า	109	1.3	0.2	25.5	2.7	25	35	0.6	-	-	-	0.1	0.13	-	12
มะขามหวาน	333	2.9	-	80.4	-	141	165	0.9	-	-	-	0.46	0.01	1.3	75
ส้มเช้ง	63	1.2	-	14.2	2.4	26	23	0.3	250	9	-	0.08	0.03	34	0.5
ส้มเขียวหวาน	45	1	0.2	9.9	1.5	29	21	0.4	150	11	-	0.05	0.03	15	0.4

ผักผลไม้ (100 กรัม)	ปริมาณสารอาหาร					ปริมาณเกลือแร่					ปริมาณวิตามิน				
	ΔE	Pt	Fats	Carb	Fiber	Ca	P	Fe	K	Mg	totA	B1	B2	C	Niacin
	(cal)	(g)	(g)	(g)	(g)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)	(I.U.)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)
ลูกตาล	47	0.5	-	9	-	6	20	1.7	-	-	-	0.03	0.01	2	0.5
แตงโม	25	0.6	-	5.4	0.3	10	19	0.2	-	-	-	0.03	0.03	6	0.2
มะพร้าว	22	0.2	0.4	4.5	-	24	18	0.3	-	-	-	-	-	3	-
พลัม	37	3.6	0.1	5.5	2	6	ND	0.2	129	5	ND	0.03	0.05	4	0.4
มันฝรั่ง	59	2.1	0.1	12.5	2.2	3	ND	0.6	130	17	ND	0.03	0.03	10	1.3
ฟักทอง	90	2.2	0.3	19.6	1.3	22	ND	0.2	220	6	ND	0.05	0.01	12	1
สตอร์เบอร์รี่	19	1.7	0.1	2.8	1.4	13	ND	0.6	130	6	ND	0.01	0.03	25	0.4
ข้าวโพดหวาน	96	4.2	1.2	17	5.4	22	ND	2.1	510	13	ND	0.18	0.08	6	0.9
เผือก	99	1	0.2	23.4	9.3	12	ND	0.7	300	20	ND	0.06	0.02	10	0.3
มะเขือเทศ	13	1	0.1	1.9	1.6	8	ND	0.3	200	10	ND	0.02	0.02	18	0.7
มะเดื่อฝรั่ง	29.4	1.4	0.2	5.5	3.3	48	ND	0.5	180	8	ND	0.02	0.04	3	0.4
หัวไชเถ้าขาว	29.9	0.7	0.3	6.1	1.8	30	ND	0.3	211	13	ND	0.03	0.01	15	0.8
หัวไชเถ้าแดง	20.6	0.8	0.2	3.9	1.1	25	ND	0.1	80	9	ND	0.03	0.03	24	0.4
กระเทียม	70.4	6.1	2.8	5.2	16.9	10	ND	1.2	210	25	ND	0.03	0.06	11	0.6
กีวี	46.2	1.4	0.2	9.7	1.2	24	ND	0.4	283	15	ND	0.01	0.12	32	0.4
มะนาว	11.4	0.6	0.2	1.8	2.5	20	ND	0.3	137	9	ND	0.04	0.02	48	0.2
ผักกาด	10.6	0.9	0.6	0.4	1.3	23	ND	0.6	210	3	ND	0.05	0.03	4	0.4

ผักผลไม้ (100 กรัม)	ปริมาณสารอาหาร					ปริมาณเกลือแร่					ปริมาณวิตามิน				
	ΔE	Pt	Fats	Carb	Fiber	Ca	P	Fe	K	Mg	totA	B1	B2	C	Niacin
	(cal)	(g)	(g)	(g)	(g)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)	(I.U.)	(mg)	(mg)	(mg)	(mg)
เมลอน	28.3	0.7	0.3	5.7	1	38	ND	0.3	160	12	ND	0.02	0.02	16	0.2
มะเม่า	27.8	2.2	0.2	4.3	2.3	20	ND	0.3	310	12	ND	0.01	0.02	10	0.3
หัวหอมใหญ่	24.1	1.6	0.1	4.2	1.9	18	ND	0.4	160	8	ND	0.04	0.02	6	0.4
ถั่วลันเตา	34.8	3.1	0.4	4.7	5.6	31	ND	1.8	270	30	ND	0.31	0.14	37	2.3
แอปเปิ้ล	47.3	0.6	0.1	11	2.8	4	ND	0.2	100	4	ND	0.02	0.01	6	-
อโวกาโด้	126.2	2	13	0.3	3.5	3	ND	0.6	410	22	ND	0.03	0.13	8	1.7
แก่นตะวัน	18.2	2.8	0.2	1.3	6.1	10	ND	0.5	350	16	ND	0.06	0.09	16	0.6
แครอท	24.9	0.7	0.1	5.3	3.6	36	ND	0.4	243	20	ND	0.06	0.04	6	3.6
พริก	18.4	0.4	0.4	3.3	10.4	16	ND	3.1	330	28	ND	0.06	0.17	164	2.5
แตงกวา	21.7	0.8	0.1	4.4	1.2	13	ND	0.2	133	13	ND	0.02	0.02	10	0.16

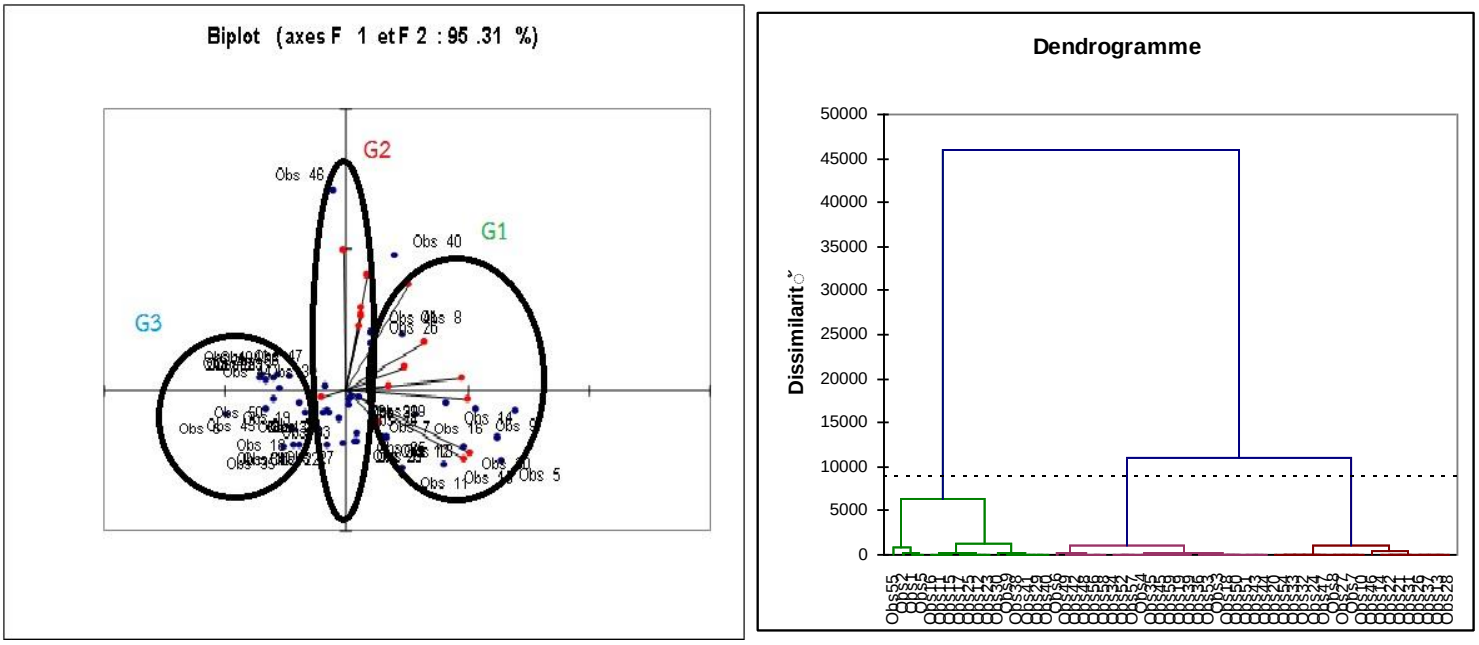
ND: No Data



* มะม่วงที่นำมาทดลองมีจำนวน 9 สายพันธุ์ ซึ่งเป็นพันธุ์การค้าได้แก่ แก้ว, เขียวเสวย, โชคอนันท์, น้ำดอกไม้, ทองดำ, ฟ้าลั่น, แรด, อกร่อง และหนองแซง และนำค่าเฉลี่ยมาคำนวณ

ภาพที่ 2 แสดงผลวิเคราะห์ Principal Component Analysis ของผลการแบ่งกลุ่มผักและผลไม้

ผู้ทดลองเลือกจากใช้การจัดกลุ่มรูปแบบที่ 1 เนื่องจากถือเป็นกลุ่มที่มีผลต่อการผลิตแอลกอฮอล์และคุณภาพเครื่องดื่มมากกว่า แต่เราจะสังเกตุได้ว่ามีตัวอย่างหนึ่งที่แยกกลุ่มออกไปนั่นคือมะขามหวาน โดยทางผู้ทดลองตั้งข้อสังเกตุว่าอาจเกิดจากผลวิเคราะห์ปริมาณ แร่ธาตุที่ผิดทำให้เกิดการจัดกลุ่มแยกออกไปดังนั้นทางผู้ทดลองจึงตัดตัวอย่างดังกล่าวทำให้ได้กลุ่มสนใจเป็น 3 กลุ่ม



ภาพที่ 3 แสดงกราฟวิเคราะห์ Principal Component Analysis (PCA) และ Ascendance Hierarchy Classification (AHC) ของผลการแบ่งกลุ่มผักและผลไม้

การแบ่งกลุ่มตามคุณสมบัติทางชีวเคมีหลัก(ปริมาณสารอาหาร)ต่อศักยภาพการผลิตแอลกอฮอล์ โดยใช้วิธี Ascendance Hierarchy Classification (AHC) โดยโปรแกรม XLSTAT กระบวนการ Euclidian distance ตามวิธีของ Ward

ตารางที่ 4 สรุปผลวิเคราะห์ทางสถิติตามหลักของ Ward แบ่งกลุ่มผักและผลไม้ออกเป็น 3 กลุ่ม

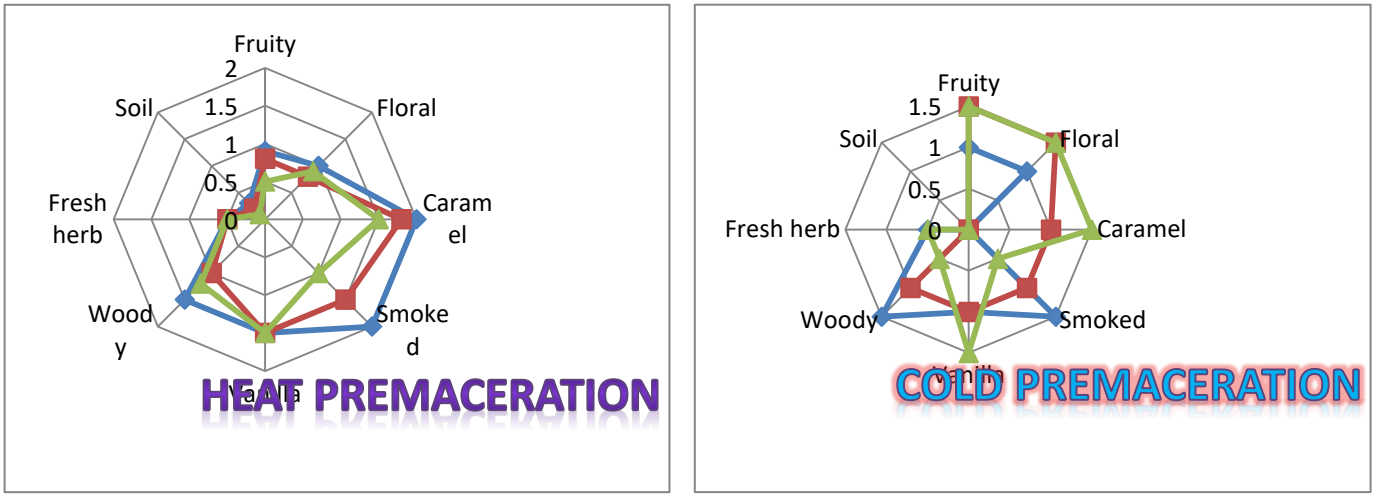
Class	G1	G2	G3
Objects	17	23	19
Weight	17	23	19
Variance intra-class	582.071	81.305	94.002
Barycentres minimum distance	4.627	1.371	3.724
Barycentres middle distance	19.784	7.238	8.311
Barycentres maximum distance	50.038	22.929	23.635

2. การพัฒนาคุณภาพการสกัดสีและกลิ่นของผักและผลไม้ในกระบวนการเตรียมหมัก (Maceration preferment to Color and Aroma extraction)

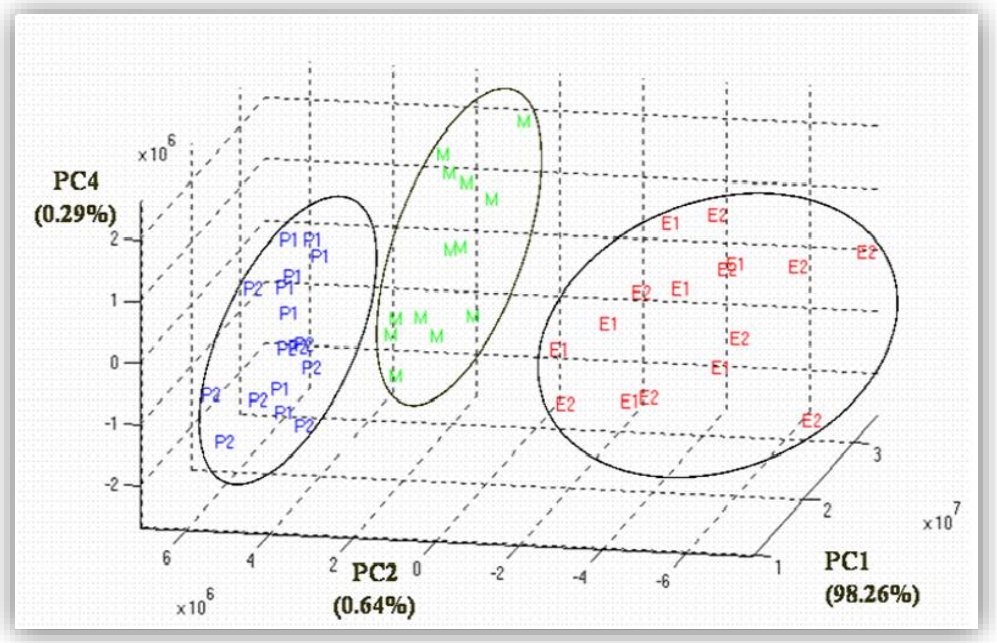
การพัฒนาการสกัดสีและกลิ่นโดยการสกัดตั้งแต่ยังเป็น « ผักและผลไม้สภาพหลังการเก็บเกี่ยว »และวิเคราะห์สารกลุ่มสีและกลิ่นในผลไม้ที่เลือกสามารถใช้ความเย็น (Cold Premaceration) ใช้ความร้อน (Heat Premaceration) และการบ่มโดยใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (Carbo-premaceration)

นอกจากนี้ยังสามารถพัฒนาการสกัดสีและกลิ่นในรูปแบบ « ของเหลวสกัดจากผักและผลไม้ » และวิเคราะห์สารกลุ่มสีและกลิ่นในผลไม้ ได้แก่ การใช้สเปย์ควบแน่น(Flash detent), การใช้จุดเยือกแข็งควบแน่น (Freezing point), การใช้ความเย็น (Cold Maceration), การใช้ความร้อน (Heat Maceration)และการใช้เทคนิครีเวอส์ออสโมซิส (Reverse Osmosis) โดยพบว่าการพัฒนาความหวาน สีและกลิ่นของ “ของเหลวสกัด” ในผลไม้ตัวอย่าง 30 ชนิดจาก 3 กลุ่ม(G1/G2/G3) ใน 5 กระบวนการนั้นหากเราประยุกต์ใช้กระบวนการ Flash detent หรือ Reverse osmosis ในของเหลวสกัดทั้ง 3 กลุ่มนั้นคุณภาพของของเหลวสกัดจะใกล้เคียงกับคุณภาพผลไม้ต้นแบบและเวลาสกัดสีและกลิ่นจะรวดเร็วกว่ามากอย่างไรก็ตามยังมีค่าใช้จ่ายสูงเมื่อเทียบกับอีก 3 วิธีโดยการใช้ความเย็นสกัดที่ 20 วันเราพบว่ามีคุณภาพดีกว่าใช้การสกัดโดยจุดเยือกแข็งที่ -40 องศาเซลเซียสและความร้อนที่ 40 องศาเซลเซียส ทั้งนี้ไม่ว่าจะเป็นสีหรือสารสำคัญของน้ำผลไม้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสจะคงคุณภาพไว้โดยจะมีปริมาณน้ำตาลเพิ่มขึ้นเช่นกัน ในเรื่องกลิ่นเน่าในการทดสอบวัดเปรียบเทียบปริมาณ Acetaldehyde พบว่าที่

อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสมีกลิ่นเน่าชัดเจนและกลิ่นรา(Geosmine) ออกมาด้วยส่วนที่ -40 นั้นเรายังพบกลิ่นเน่าเล็กน้อยแต่ไม่มีกลิ่นราดังนั้นการสกัดของเหลวสกัดจากผลไม้ทั้งสามกลุ่มจึงเหมาะสมในการประยุกต์ใช้ความเย็นที่ 4 องศาเซลเซียสก่อนนำมาทำการหมักแอลกอฮอล์ตามเวลาที่เหมาะสม



ภาพที่ 4 กราฟ**การพัฒนากลิ่น** (วิเคราะห์โดยจมูกอิเล็กทรอนิกส์ electronic nose) ในผลไม้ 30 ชนิดจาก 3 กลุ่ม(สามสีน้ำเงิน(G3) เขียว(G2) แดง(G1))โดย 2 กระบวนการได้แก่ 1 = cold premaceration, 2 = heat premaceration



ภาพที่ 5 กราฟ**การพัฒนากลิ่น** (วิเคราะห์โดยจมูกอิเล็กทรอนิกส์ electronic nose) ในผลไม้ 30 ชนิดจาก 3 กลุ่ม(สามสีน้ำเงิน(G3) เขียว(G2) แดง(G1))โดย 2 กระบวนการได้แก่ 1 = cold premaceration, 2 = heat premaceration

ตารางที่ 5 การพัฒนารงควัตถุสีม่วงโดยการสกัดต่างๆในผลไม้ตัวอย่าง 30 ชนิดจาก 3 กลุ่ม(G1/G2/G3) โดยพบว่าผลไม้เมืองร้อน (กลุ่ม G2-G3) สามารถใช้ความร้อนสกัดสีได้ดีพอๆกับความเย็นที่ 4 C แต่ความเสถียรใช้ความเย็นดีกว่าอย่างชัดเจน (ตารางแนบ ๑)

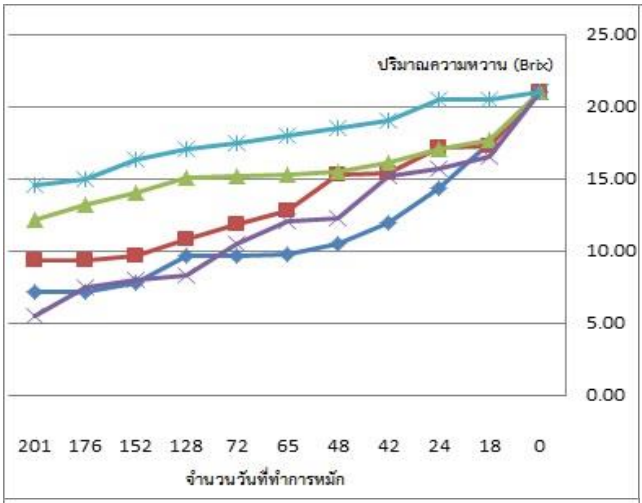
measurement		Treatment			
		Control	Carbonic maceration	4 C cold maceration	40 C heat maceration
Color Density	G1	0.86	0.76	0.77	0.74
	G2	2.38	2.05	3.68	4.56
	G3	5.55	3.93	5.24	5.65
Colour Hue	G1	0.75	0.86	1.02	1.23
	G2	0.39	0.76	0.21	0.23
	G3	0.46	0.68	0.39	0.38
Total Phenol (O.D. 280 nm)	G1	3.52	5.05	12.39	14.02
	G2	13.65	11.25	27.25	39.02
	G3	13.72	12.58	30.60	37.12
Total Monomeric Anthocyanins (mg/l)	G1	120.36	82.36	112.36	123.36
	G2	215.36	185.36	280.66	299.36
	G3	240.50	172.92	300.94	303.34
Polymeric pigments (Chemical age: 0.45 PTFE pH 3.60)	G1	0.136	0.125	0.088	0.012
	G2	0.101	0.135	0.095	0.009
	G3	0.155	0.265	0.105	0.085

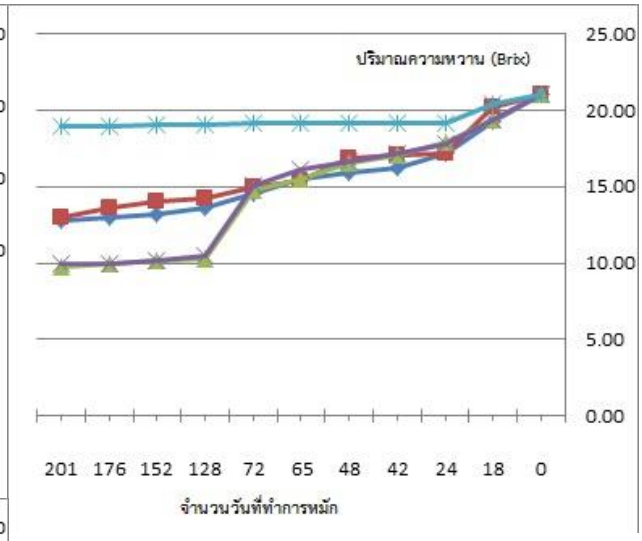
ตารางที่ 6 แสดงการพัฒนาความหวาน สีและกลิ่นของ “ของเหลวสกัด” ในผลไม้ตัวอย่าง 30 ชนิดจาก 3 กลุ่ม(G1/G2/G3) ใน 5 กระบวนการได้แก่ การใช้สเปย์ควบแน่น (Flash detent), การใช้เทคนิครีเวอส์ออสโมซิส (Reverse Osmosis) และ การใช้จุดเยือกแข็งควบแน่น (Freezing point), การใช้ความเย็น (Cold Maceration), การใช้ความร้อน (Heat Maceration), หลังจาก 20 วัน (ตารางแนบ ๓)

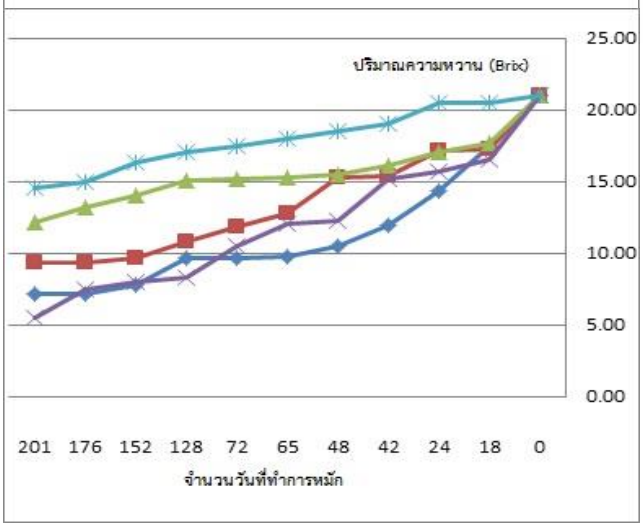
measurement		Treatment					
		Control	Flash detent	-40 C freezing point	4 C cold maceration	40 C heat maceration	Reverse Osmosis
Sweeteners (Brix)	G1	29.22	36.25	34.63	43.93	**30.31**	**35.25**
	G2	30.68	41.02	37.99	42.59	**31.97**	**45.52**
	G3	29.31	39.60	36.67	43.28	**29.99**	**37.89**
Colour density	G1 (0.20 – 0.48)	**0.75**	0.48	**0.21**	**0.54**	**0.14**	**0.58**
	G2 (2.15 – 2.56)	**2.08**	2.35	**1.96**	**2.96**	**1.78**	**2.36**
	G3 (5.12 – 5.56)	**4.89**	5.55	**4.01**	**5.26**	**4.12**	**5.36**
Total Phenol (O.D. 280 nm)	G1	**4.22**	**18.05**	**14.39**	**14.36**	**3.02**	**17.69**
	G2	**9.96**	**23.25**	**27.05**	**29.25**	**8.25**	**24.36**
	G3	**11.36**	**23.58**	**24.60**	**27.11**	**8.02**	**24.02**
E-nose Flavor (Acetaldehyde : Rotting-like)	G1	75%	7%	22%	41%	**54%**	**8%**
	G2	67%	8%	21%	42%	**56%**	**8%**
	G3	80%	12%	20%	58%	**68%**	**13%**
E-nose Flavor (Geosmine : Fugus-like)	G1	92%	3%	5%	15%	**56%**	**2%**
	G2	91%	2%	6%	13%	**52%**	**1%**
	G3	95%	2%	7%	18%	**61%**	**2%**

3. การคัดเลือกเชื้อพันธุ์ยีสต์ที่เหมาะสมในการหมักเครื่องดื่มแอลกอฮอล์จากผักและผลไม้ (Oenolysat in Fruit and Vegetable Alcohol Fermentation)

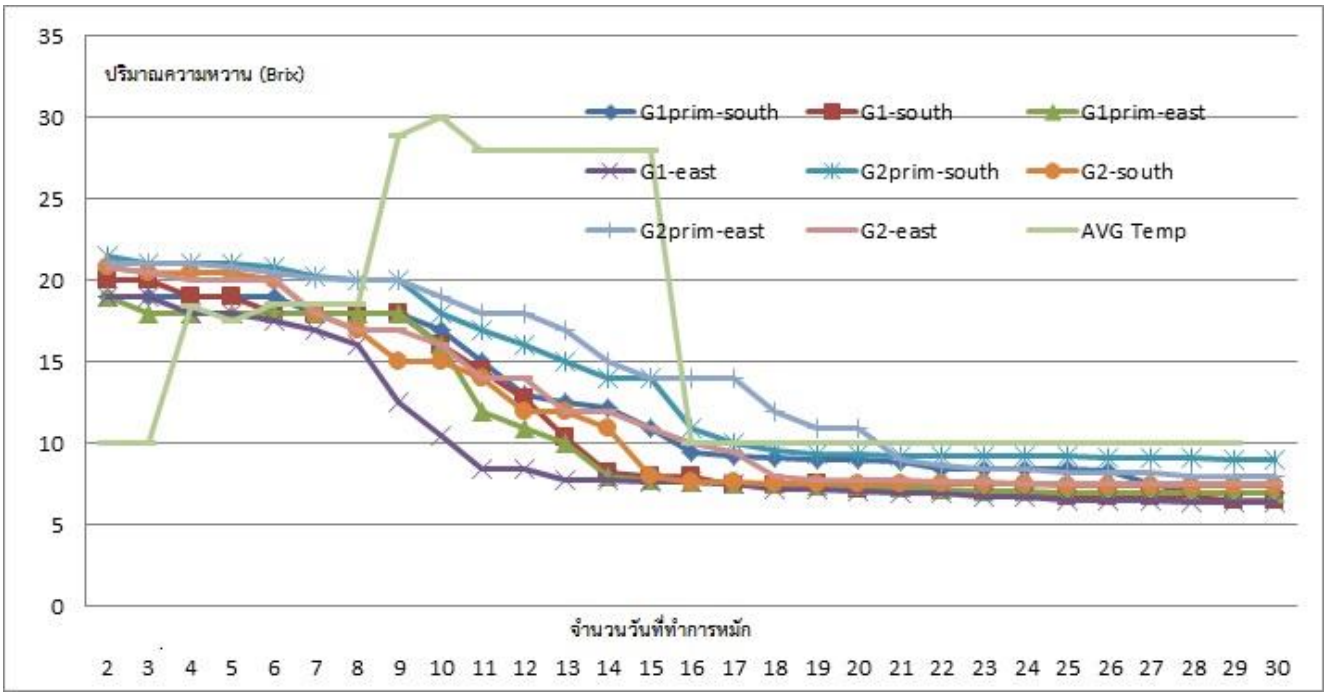
ผลการเปรียบเทียบการหมักแอลกอฮอล์จากผลไม้ที่ได้โดยยีสต์ ลูกผสมที่ได้จากห้องทดลอง โดยยีสต์สายพันธุ์ HHD1 [การทดลองเปรียบเทียบยีสต์สายพันธุ์ Saccharomyces และ Non-saccharomyces] และการเปรียบเทียบการหมักแอลกอฮอล์จากผลไม้ที่ได้โดยยีสต์ ลูกผสมที่ได้จากห้องทดลอง strain BAwine [การทดลองการผลิตอาหารเพื่อสุขภาพจากกล้วย] และ strain HHD1 [การทดลองเปรียบเทียบยีสต์สายพันธุ์ Saccharomyces และ Non-saccharomyces] กับยีสต์ใน Collection ของกลุ่มแปรรูปผลิตผลเกษตรจำนวนกว่า 30 สายพันธุ์ พบว่าจากการทดสอบเปรียบเทียบการหมักของยีสต์ทั้ง 4 สายพันธ์เปรียบเทียบประสิทธิภาพกับการหมักจากยีสต์ท้องถิ่นพบว่าผลไม้แต่ละกลุ่มมีอัตราการหมักต่อชนิดของยีสต์ที่ต่างกันในกลุ่ม G1 ซึ่งมีเพคตินสูงส่งผลต่อการหมักของยีสต์ชัดเจน โดยเฉพาะยีสต์ท้องถิ่นแต่สายพันธ์ BAwine และ Montrachet มีศักยภาพมากที่สุดในการหมักทั้งนี้การหมักก่อให้เกิดตะกอนหนาและขุ่น ในกลุ่มที่ 2 ยีสต์ HHD1 และ CDB มีศักยภาพดีกว่าทั้งนี้สันนิษฐานว่ายีสต์ดังกล่าวทำงานได้ดีในภาวะที่มีกรดทาทาริกสูงและปริมาณสารแหวนลอยในน้ำหมักสูงกว่ายีสต์ตัวอื่นซึ่งแยกกลุ่มออกไปชัดเจน กลุ่มสุดท้ายยีสต์สายพันธ์ BAwine ยังสามารถหมักได้ประสิทธิภาพดีกว่ายีสต์สายพันธ์อื่นและประสิทธิภาพสูสีได้กับยีสต์ HHD1 ทั้งนี้เนื่องจากน้ำหมักมีสภาพเป็นกรดสูง ดังนั้นเราจึงทราบชนิดของยีสต์ที่เหมาะกับผลไม้แต่ละกลุ่ม อย่างไรก็ตามยีสต์ท้องถิ่นใน 3 กลุ่มยังมีศักยภาพในการหมัก ผลการศึกษาต่อเนื่องถึงยีสต์สายพันธ์ท้องถิ่นดังกล่าวโดยทำการทดลอง เขี่ยเชื้อ unknown yeast จากนครศรีธรรมราชและจากจันทบุรี ลงเพลต เพื่อแยกเป็นโคโลนีเดี่ยว ทิ้งไว้ข้ามคืน จากนั้นจึงเขี่ยเชื้อลงใน API C Mediumเขย่าให้เข้า และทิ้งไว้15นาที นำ auto pipette มาดูดเชื้อ โดยปรับให้เป็น 135 ไมโครลิตร ดูดเชื้อที่ได้ลงใส่ชุดทดสอบAPI-20 ทุกช่องจนครบ ทิ้งไว้ 48-72ชั่วโมง แล้วบันทึกผลพบว่า unknown yeast ที่72ชั่วโมง ได้หมักน้ำตาลในช่อง GLU GLY 2KG SOR TRE จากการทดสอบพบว่า มีสายพันธุ์ที่น่าจะเป็นยีสต์พันธุ์เมืองคือ สายพันธุ์ ***Candida colliculosa , Candida famata*** และ ***Cryptococcus humicola*** ส่วน Unknown yeast ของจันทบุรี มีการหมักกับน้ำตาลในช่อง GLU GLY 2KG XYL XLT SOR NAG โดยมีสายพันธุ์ที่น่าจะเป็นยีสต์พื้นเมืองคือ ***Cryptococcus humicola*** และผู้ทำการทดลอง ได้ทดสอบID 32 C อีกครั้งหนึ่ง ซึ่งก็ให้ผลยืนยันได้ว่ายีสต์สายพันธุ์พื้นเมืองจากจันทบุรีเป็นสายพันธุ์ ***Cryptococcus humicola*** (ภาพที่ 5, 6) และผลการศึกษาการทำลูกแป้งและทำหัวเชื้อน้ำตาลเมาโดยพบว่าหมักผลไม้กลุ่ม G1 (เพคตินสูง)ให้ผลดีที่สุด



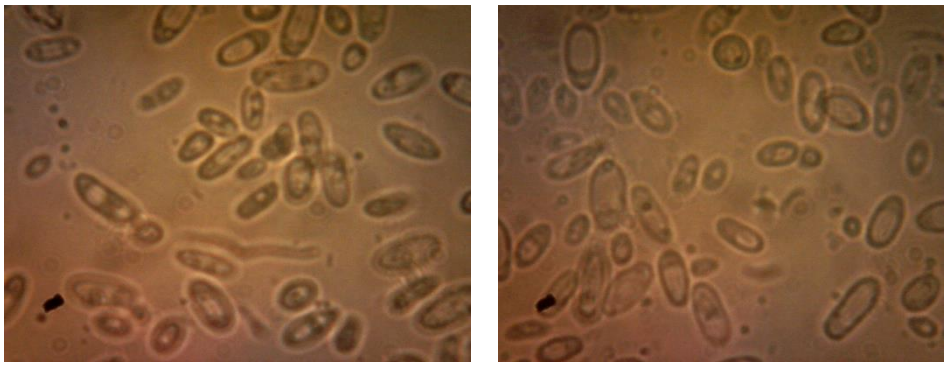




ภาพที่ 6 กราฟเปรียบเทียบอัตราการหมักของยีสต์แต่ละชนิดของผลไม้กลุ่ม G1 (ผลไม้เพคตินสูง), G2 (ผลไม้แทนนินสูง) และ G3 (ผลไม้ที่มีกรดสูง) ในยีสต์ 5 ชนิด ได้แก่ HHD1, CDB, Montrachet, Bawine และ indigenous yeast



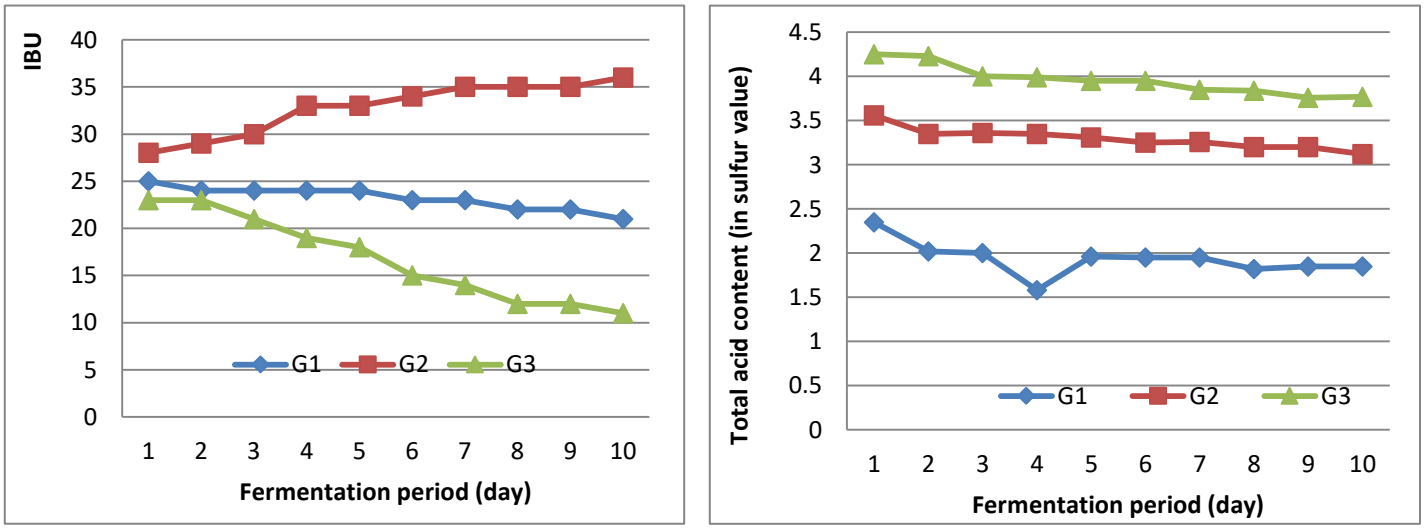
ภาพที่ 7 เปรียบเทียบแหล่งผลิตวัตถุดิบของผลไม้กลุ่ม G3 ในแหล่งผลิตภาคตะวันออก,ภาคใต้, ภาคเหนือและภาคตะวันตก



ภาพที่ 8 แสดงภาพถ่ายกล้องจุลทรรศน์ (x100) ของยีสต์สายพันธ์ท้องถิ่นที่เก็บได้จากกลุ่ม G2 และ G3 ทดสอบโดย API-20 ใกล้เคียงกับยีสต์สายพันธ์ *Cryptococcus humicola*

4. การพัฒนาการหมักต่อยอดและการกลั่นเพื่อการเพิ่มคุณภาพของเครื่องดื่มแอลกอฮอล์จากผักและผลไม้ (Secondary Fermentation and Distillation of Fruit and Vegetable Alcohol)

<u>ผลการทดลองการทดสอบการผลิตเบียร์</u>จากผลไม้ทั้งสามกลุ่ม (G1, G2, G3) พบการลดลงของปริมาณน้ำตาลอย่างต่อเนื่องทั้งสามกลุ่มชัดเจนทั้งนี้ในกลุ่ม G3 ที่มีความเป็นกรดสูงกว่ามีการหมักที่ดีกว่าและปริมาณน้ำตาล (Brix) สุดท้ายมีปริมาณน้อยมากกว่า 5 Brix ซึ่งทำให้ผลิตภัณฑ์ไม่มีความหวานเหลืออยู่เลยและทำให้ไม่น่าสนใจดังนั้นผลไม้ในกลุ่ม G3 จึงเป็นกลุ่มที่ไม่เหมาะสมในการนำมาผลิตเบียร์ และเมื่อพิจารณาค่า International Bitterness unit ของกลุ่ม G1 และ G2 พบความแตกต่างกันชัดเจน โดยในกลุ่ม G2 จะมีค่า IBU สูงมากเมื่อหมักนานขึ้นแตกต่างกับกลุ่ม G1 ที่มีแนวโน้มลดลง ทำให้เราสามารถกำหนดกระบวนการผลิตเบียร์ได้ผักและผลไม้ในสองรูปแบบโดยใช้ค่า IBU เป็นหลักของผลไม้กลุ่ม G1 ที่มีแนวโน้มในการพัฒนาเป็นเบียร์ Lager และกลุ่ม G2 ที่สามารถผลิตเป็นเบียร์กลุ่ม Amber หรือ Dark guiness ได้

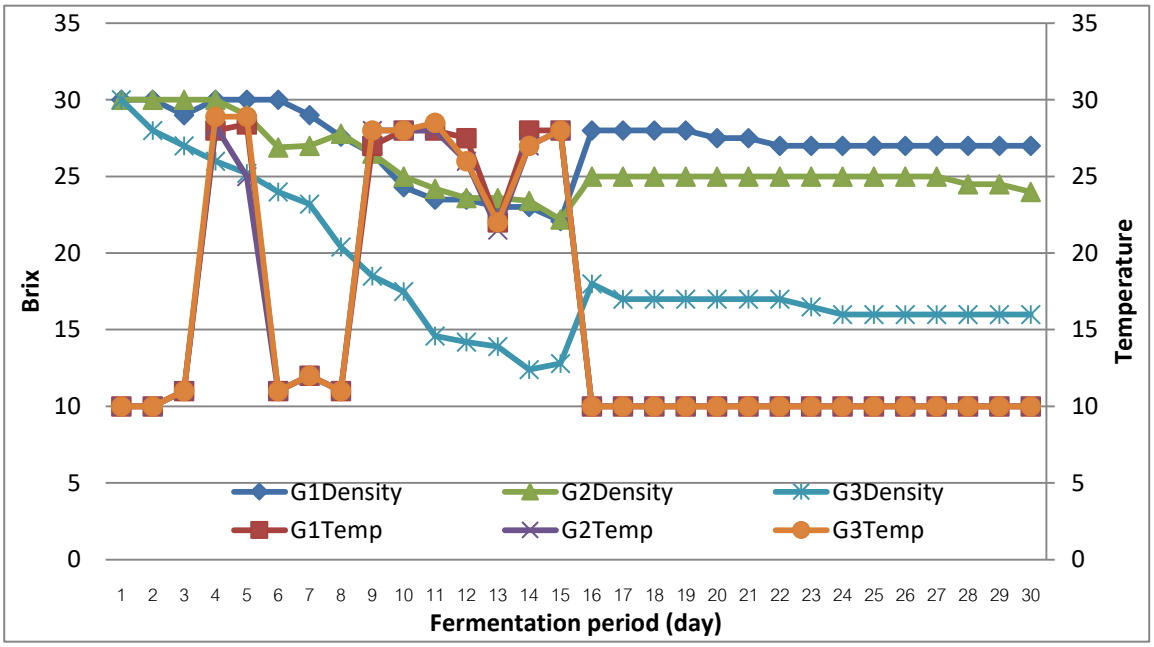


ภาพที่ 9 กราฟผลการทดสอบการหมักเบียร์จากผลไม้ทั้งสามกลุ่ม

ผลการทดสอบการหมักแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (Carbonic fermentation) ทดสอบโดยใช้กระบวนการหมักโดยวิธีแชมเปญ (Champagnes method) โดยเตรียมทดสอบในผลไม้ทั้ง 3 กลุ่มโดยใช้ Liqueur expedition (LE) ที่ผลิตจากน้ำตาลอ้อยความหวานที่ 10 – 15 องศาบริ๊กซ์ ติดตามการเกิดแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ โดยใช้การหมุนขวด 2 ครั้งต่อวันตลอดการหมักในอุณหภูมิต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15/30/45/60 วันซึ่งการหมักแบบดังกล่าวมีหลายกระบวนการที่ใช้ในการผลิตได้แก่

- วิธีพื้นเมือง ถือเป็นกระบวนการที่ทำกันมายาวนานโดยใช้การหมักไวน์ขาวปกติก่อนแต่หยุดหมักระหว่างยังมีน้ำตาลอยู่ แล้วเติม LE ที่ต้องเป็นน้ำตาลจากแหล่งอื่นลงไปก่อนจะกรองแล้วแช่เย็นไวน์ที่ 0 องศาเซลเซียสและเก็บไว้ 6 เดือน

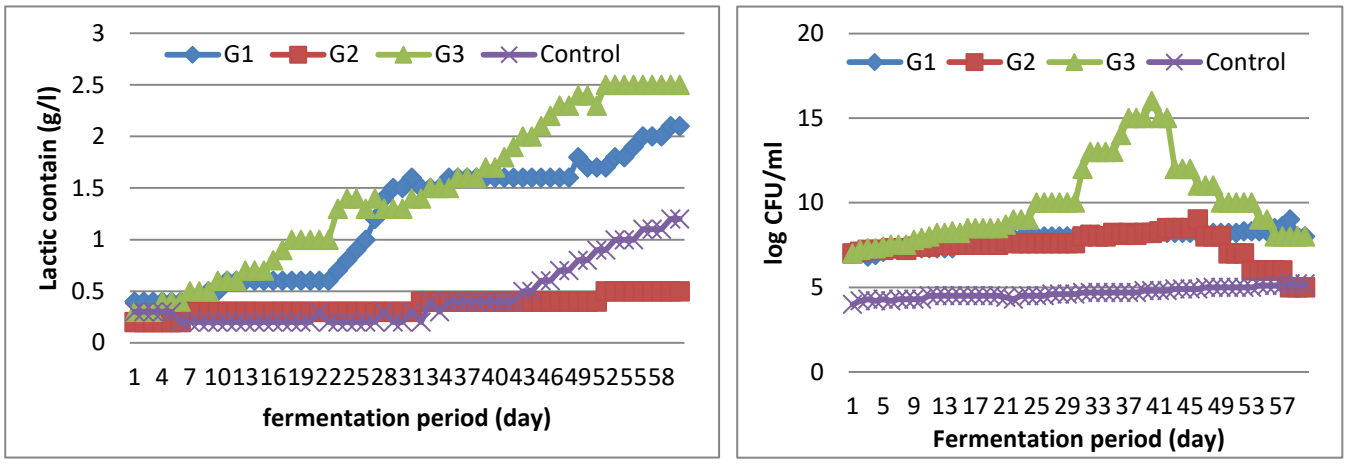
- วิธีพื้นฐานแชมเปญ โดยใช้กันแพร่หลายทั่วโลกเริ่มโดยการผลิตไวน์ปกติและระหว่างการหมักแอลกอฮอล์เราเติม LE ที่ประกอบไปด้วยน้ำตาล ยีสต์และสารอาหารที่สำคัญก่อนจะหมักในขวดเราเรียกขั้นตอนนี้ว่า “prise de mousse” หรือการก่อฟองโดยเก็บที่อุณหภูมิต่ำที่ 5 – 13 องศาเซลเซียสและต้องมีการทำ “remuage” คือการทำให้ไวน์ใสโดยการหมุนขวดที่วางแนวนอนให้ปากขวดคว่ำลงโดยปฏิบัติเช่นนี้เป็นเวลาหลายเดือนตามคุณภาพของไวน์



ภาพที่ 10 การหมักแก๊สคาร์บอนไดออกไซก์โดยใช้ผลไม้ทั้ง 3 กลุ่ม(G1,G2,G3)ทดสอบการหมักโดยใช้ยีสต์สายพันธ์ S. uvarum และสายพันธ์ที่คัดเลือกมาเพื่อทดสอบ 3 สายพันธ์ (Ef1, Ef2)

จากนั้นเพื่อกำจัดยีสต์ที่ตายแล้วเราจะนำปากขวดไปแช่ลงในน้ำเกลือที่ – 25 องศาเซลเซียสแล้วเปิดฝาออก จากนั้นเติม LEfinal ที่ประกอบไปด้วยน้ำตาลและไวน ตามระดับของแชมเปญที่ต้องการว่าเกรดใด Brut, Extra dry, Sec, Demi sec หรือ Doux

ผลการทดสอบคุณภาพของไวน์ระหว่างการทำ Remuage ใช้เวลาทดสอบ 6 เดือน โดยแบ่งเป็นการเก็บผลปริมาณกรดมาลิก กรดแลคติก ค่าความเป็นกรดด่างและปริมาณจุลลินทรีย์ พบว่า G3 มีศักยภาพในการพัฒนาสูงสุด



ภาพที่ 11 ผลการติดตามปริมาณกรดแลคติกและจุลินทรีย์ระหว่างการบ่มแชมเปญในผลไม้ 3 กลุ่ม

<u>ผลการหมักกรดแลคติก</u> (Malo-lactic fermentation) ในผลไม้บางชนิดที่มีการหมักยังมีความเปรี้ยวมากอยู่ โดยเฉพาะผลไม้ในกลุ่ม G3 การหมักเพื่อปรับระดับความเปรี้ยวจะทำให้ผลิตภัณฑ์มีความน่าสนใจมากขึ้นโดยจะทำการหมักกรดแลกติดโดยใช้แบคทีเรีย *Leuconostoc oeni* ในการทดสอบ โดยในเบื้องต้นในการทดสอบผลไม้สุ่มจากสามกลุ่ม ไม่พบการหมักกรดแลคติก เนื่องมากจากการศึกษาการหมักกรดแลคติกในเขตร้อนไม่มีข้อมูลเลย นอกจากนี้เรายังไม่สามารถกำหนดปัจจัยที่จำเป็นในการหมักกรดแลคติกได้ ในขั้นตอนแรกเราจึงจำเป็นต้องพัฒนาปัจจัยในการหมักโดยเราแบ่งการทดลองการเปรียบเทียบปัจจัยในผลไม้กลุ่ม G3 เป็นหลักใน 2 ปัจจัย วางแผนการทดลองแบบ CRB ได้แก่ ปัจจัยความเป็นกรดด่าง (ใช้ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดทาทาริกที่ความเข้มข้น 20/30/40/50/60 กรัมต่อเฮกโตลิตร) และปัจจัยปริมาณสารซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (ใช้ปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์อิสระ ที่ความเข้มข้น 0.5/1.0/1.5/2.0/3.0 กรัมต่อเฮกโตลิตร)

<u>ผลการทดสอบการหมักกรดซิตริก</u> (Citric Fermentation) การหมักให้เกิดปฏิกิริยาคู่ขนานของการหมักแอลกอฮอล์เพื่อการเพิ่มปริมาณกรดมาลิกและการลดปริมาณกรดอาซีติกอย่างไรก็ตามการศึกษาการหมักกรดซิตริก โดยใช้วัฏจักรเครปเป็นตัวแปรถือเป็นการศึกษาที่ค่อนข้างซับซ้อนที่จะทำให้เกิด by product เยอะมาก ดังนั้นทางผู้ทำการทดลองจึงไม่ได้ศึกษาการหมักกรดซิตริก

<u>ผลการพัฒนาการกลั่นเครื่องดื่มแอลกอฮอล์</u>ที่ได้มาจากกิจกรรมที่ 3 ในรูปแบบการกลั่นลำดับส่วน โดยการประเมินประสิทธิภาพจาก จำนวนครั้งการกลั่นต่อปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้ /ระยะเวลาในการกลั่น /การสูญเสียระหว่างการกลั่น(Distillation) แบ่งการทดสอบออกเป็น 3 ช่วงการทดลองได้แก่ การเติมเกลือในวัตถุดิบเพื่อการพัฒนาวัตถุดิบกลั่น (mashing process) การประเมินกระบวนการหมักก่อนกลั่นมีเพิ่มประสิทธิภาพในการกลั่นและการเปรียบเทียบการกลั่น โดยในเบื้องต้นได้ทดลองกลั่นผลไม้ที่ได้จาก 3 กลุ่ม

ตารางที่ 7 ผลการทดสอบกลั่นและคุณสมบัติของผลไม้ที่ได้จาก 3 กลุ่ม

ชนิดของผลไม้	มิลลิกรัมแอลกอฮอล์ต่อ 100 cc.					
	Total Acid	Aldehyde	Esters	Higher Alcohol	Furfural	Total
กลุ่ม G1	16.9	9.2	77.4	407.2	2.9	513.6
กลุ่ม G2	15	21.8	63.8	451.6	4.2	556.4
กลุ่ม G3	17	33.6	72.8	410.9	3.5	537.9

ตารางที่ 8 แสดงผลการทดลองกลั่นระดับห้องปฏิบัติการแบ่งตามการกลั่นลำดับส่วน (Fraction) ของผลไม้กลุ่ม G2

Fraction	Strength		Total Acid	Furfural	Ester	Aldehyde
	Term of Proof Spirit	Abs. Alc./ 100 cc.	Mg/100cc	Mg/100cc	Mg/100cc	Mg/100cc
Foreshot	5.75 o.p.	60.3	18.0	6.7	72.6	110
Spirit	4.5 o.p.	59.7	20	7.7	58.6	95
Spirit2	3.4 o.p.	59.0	12.3	9.7	75.6	66.7
Spirit3	3.8 o.p.	59.3	11.6	1	41	60
Spirit4	1.5 o.p.	58	15.7	1.6	41	63.3
Feints	0.3 o.p.	57.3	15.7	1.6	35.6	20
Feints2	7.5 u.p.	52.7	24	1.9	8.6	11.7
Feints3	27.6	41.3	29.3	2.3	23	3.3
Feints4	38.2	35.3	43.6	2.3	3.6	2.7
Feints5	44.2	31.7	37.3	2.3	7.6	1.0
Tailings	89.2	6	32.3	1.4	6	0.3
Tailing2	93.2	3	51.3	0.7	43	0.3
Tailing3	96.3	2	36	0.5	5.3	0.2
Tailing4	97.7	1.3	34	0.2	5.3	0.2
Tailing5	98.3	1	38.3	0	0	0.2

ทราบคุณสมบัติทางกลศาสตร์ของการกลั่นที่เหมาะสมของผลไม้กลุ่ม G2 เพื่อนำไปผลิตแอลกอฮอล์กลั่นทั้งนี้ผลไม้กลุ่มดังกล่าวที่จัดว่ามีปริมาณกรดทาทาริกสูงทำให้ผลิตผลจากการกลั่นสามารถนำไป Aging เพื่อเพิ่มมูลค่าได้เช่นเดียวกับการผลิต Whisky โดยได้มีการทดลอง Aging ต่อโดยใช้ชิ้นไม้โอ๊ค 2 ชนิดจากฝรั่งเศสและอเมริกาเพื่อเพิ่มคุณภาพ นอกจากนี้แอลกอฮอล์ที่ทดลองกลั่นได้มีปริมาณกรดผลไม้ที่สูงมากและสามารถนำไปแปรรูปผลิตภัณฑ์อื่นได้อีกจึงศึกษาการพัฒนาผลิตภัณฑ์ต่อเนื่องในรูปแบบอาหารและเวชภัณฑ์ ผลการศึกษากระบวนการกลั่นแบบต่อเนื่องเพื่อเพิ่มคุณภาพให้แอลกอฮอล์โดยเปรียบเทียบการกลั่น 4 รูปแบบได้แก่ การกลั่นแบบปกติ, การกลั่นต่อเนื่องแบบ 10-80-10 percentage compostion, การกลั่นแบบ cognac และการกลั่นแบบ whiskey โดยนำพืชกลุ่ม G2 มาทดสอบพบว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการกลั่นแบบปกติการกลั่นต่อเนื่องแบบ double distillation จะพัฒนาคุณภาพแอลกอฮอล์โดยเฉพาะปริมาณของสารประกอบทางเคมีที่ลดลงได้แก่ volatile acidity, aldehydes, esters, methanol, higher alcohols และดัชนีค่า congeners นอกจากนี้การกลั่นต่อเนื่องยังพัฒนาคุณสมบัติทางประสาทสัมผัสโดยเฉพาะการกลั่นแบบ Whiskey ดังแสดงในตาราง

ตารางที่ 9 สารประกอบทางเคมีที่ได้จากการกลั่นแบบปกติ (ครั้งเดียว)

Chemical compound	Spirit	Tail
Alcohol concentration[1]	43.31	15.33
Copper[2]	0.05	0.16
Volatile Acidity[3]	59.74	335.28
Furfural[3]	0.01	0.24
Aldehydes[3]	33.51	3.31
Esters[3]	34.29	1.01
Methanol[3]	11.30	7.68
High Alcohols[3]	680.60	73.59
Congeners[3]	808.15	413.43

[1]in % v/v 20 C; [2]in ppm; [3]mg.100mL^{-1} anhydrous alcohol

ตารางที่ 10 สารประกอบทางเคมีที่ได้จากการกลั่นและการกลั่นซ้ำ(double distillation)ตามหลักการ 10-80-10 percentage

Chemical compound	First Distillation	Second distillation		
		Head	Heart (spirit)	Tail
Alcohol concentration[1]	39.16	83.60	69.57	6.55
Copper[2]	0.07	0.12	0.11	0.10
Volatile Acidity[3]	31.33	7.23	25.45	323.63
Furfural[3]	0.16	0.04	0.31	0.91
Aldehydes[3]	23.71	57.33	14.02	0.00
Esters[3]	21.37	53.93	13.98	0.00
Methanol[3]	14.24	64.62	9.22	5.83
High Alcohols[3]	551.64	608.85	6.6.79	17.47
Congeners[3]	628.21	727.38	660.55	342.01

[1]in % v/v 20 C; [2]in ppm; [3]mg.100mL^{-1} anhydrous alcohol

ตารางที่ 11 สารประกอบทางเคมีที่ได้จากการกลั่นและการกลั่นซ้ำ(double distillation)ตามหลักการ Cognac production

Chemical compound	First distillation			Second distillation			
	Head	*Brouilli*	Tail	Head	Heart 1 (spirit)	Heart 2	Tail
Alcohol concentration[1]	81.10	41.39	1.85	84.15	80.32	31.86	3.25
Copper[2]	0.18	0.10	0.15	0.14	0.06	0.38	0.15
Volatile Acidity[3]	11.41	29.42	642.16	7.41	11.09	55.93	639.69
Furfural[3]	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Aldehydes[3]	101.17	19.25	0.00	88.01	9.42	0.00	0.00
Esters[3]	179.11	19.23	0.00	71.38	8.68	0.00	0.00
Methanol[3]	67.99	12.57	0.00	29.41	9.40	7.47	0.00
High Alcohols[3]	987.19	497.91	12.33	460.67	447.51	81.95	0.00
Congeners[3]	1278.88	565.81	654.49	627.47	477.7	137.88	639.69

[1]in % v/v 20 C; [2]in ppm; [3]mg.100mL^{-1} anhydrous alcohol

ตารางที่ 12 สารประกอบทางเคมีที่ได้จากการกลั่นและการกลั่นซ้ำ(double distillation)ตามหลักการ Whiskey production

Chemical compound	Low wines	Second distillation		
		Head	Heart (spirit)	Tail
Alcohol concentration[1]	39.84	84.19	78.55	35.09
Copper[2]	0.09	0.13	0.08	0.13
Volatile Acidity[3]	39.82	7.06	7.56	42.32
Furfural[3]	0.10	0.00	0.00	0.00
Aldehydes[3]	21.11	76.25	9.60	0.00
Esters[3]	20.84	75.24	10.39	0.00
Methanol[3]	14.60	92.32	9.45	6.06
High Alcohols[3]	548.19	455.87	401.90	180.79
Congeners[3]	630.06	614.42	429.45	223.11

[1]in % v/v 20 C; [2]in ppm; [3]mg.100mL^{-1} anhydrous alcohol

ตารางที่ 13 Reduction percentage สารประกอบทางเคมีชนิด secondary compound ที่ได้จากการกลั่นซ้ำ(double distillation) เมื่อเปรียบเทียบกับการกลั่นแบบดั่งเดิม(กลั่นครั้งเดียว)และการกลั่นครั้งแรกจาก 3 กรรมวิธีที่พัฒนา

Chemical compound	Compare with traditional distillation			Compare with first distillation		
	10-80-10	Cognac	Whiskey	10-80-10	Cognac	Whiskey
Volatile Acidity[1]	57b	81a	87a	19c	62b	81a
Aldehydes[1]	58b	72a	71a	41b	51ab	55a
Esters[1]	59b	75a	70a	35b	55a	50a
Methanol[1]	18ab	26a	16b	35a	33a	35a
High Alcohols[1]	11c	34b	41a	-10c	10b	27a
Congeners[1]	18b	41a	47a	5c	16b	32a

[1]mg.100mL^{-1} anhydrous alcohol Different letters in the same row indicate statistical difference by Turkey's test at 5% significance.

ตารางที่ 14 Average score ของการทดสอบทางประสาทสัมผัสของแอลกอฮอล์กลั่นจากกรรมวิธีทั้งสี่

Criteria	Simple distilled spirit	Spirit produced by double distillation according to methodology		
		10-80-10	Cognac	Whiskey
Flavor	5.8b	5.9b	6.0b	6.5a
Taste	5.3c	5.7bc	6.2b	6.85a
Preference[1]	2	4	8	16

[1]number of appraisers who preferred the respective spirit. Different letters in same row indicate statistical difference by Turkey's test at 5% significance.

5. การพัฒนาการปรับปรุงเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ในผลิตภัณฑ์ใหม่ (New Product from Alcohol Beverage)

5.1. ผลิตภัณฑ์ใหม่จากเครื่องดื่มแอลกอฮอล์

สามารถพัฒนากรรมวิธีการแปรรูปเครื่องดื่มแอลกอฮอล์แบบใหม่ๆที่มีประสิทธิภาพและเหมาะสมในการนำมาประยุกต์ใช้แปรรูปผักผลไม้ไทย ผลิตภัณฑ์ใหม่และ การรักษาคุณภาพผลิตภัณฑ์เพื่อการส่งเสริมโดยแบ่งออกเป็นกลุ่มผลิตภัณฑ์ใหม่ ๖ ชนิด ได้แก่

1. Purple Collection แอลกอฮอล์จากผลไม้สีม่วง 5 ชนิด ได้แก่ ข้าวโพดข้าวเหนียวดำ หัวบีท มะเม่า มังคุด องุ่นต้น
2. Duo Beer เบียร์จากผลไม้ 2 ชนิดได้แก่ เบียร์สัปปะรด และเบียร์กล้วย
3. Spirit Fair แอลกอฮอล์สูงจากผักและผลไม้ 3 ชนิด ได้แก่ กาแฟ มะนาวและแตงกวา
4. Orange Collection แอลกอฮอล์จากผลไม้สีเหลืองส้ม 5 ชนิดได้แก่ แครอท ฟักทอง ลูกพีช ลูกพลับและส้มเขียวหวาน
5. Greeny Collection แอลกอฮอล์กลั่นจากผัก 5 ชนิด ได้แก่ ลูกฟัก ตระไคร้ ผักกาดขาว มะเขือเทศและกลุ่มสมุนไพร(กระเพรา ชะอม) โดยใช้ส้มเป็นน้ำผลไม้พื้นฐานในการผลิต
6. Light-acidity mocy แอลกอฮอล์ลดกรดมาลิกและกรดซิตริก 3 ชนิด ได้แก่ มะขาม ทับทิม ส้มจี๊ด
7. Transparency Spirit Collection แอลกอฮอล์ใสที่ได้จากธัญพืชและสมุนไพรได้แก่ เหล้าลิ้นจี่ เหล้าข้าวโพด เหล้าถั่ว
8. Tropo Cream Liquor แอลกอฮอล์ชนิดครีมเพื่อการปรุงอาหารและค้อกเทลได้แก่ ลิเคียวมะพร้าว ลิเคียวกาแฟและลิเคียวส้มโอ

5.2. ผลิตภัณฑ์ต่อยอดจากพัฒนาผลิตภัณฑ์แอลกอฮอล์ใหม่ ตามหัวข้อดังนี้

5.2.1.เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ดีกรีต่ำ (Desalcoolization) ในการพัฒนาเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ต่ำ โดยกระบวนการระเหยแอลกอฮอล์โดยได้ผลิตในผลิตภัณฑ์จำนวน 2 ชนิดได้แก่

5.2.1.1. เบียร์ไร้แอลกอฮอล์ พัฒนาเบียร์กล้วยในรูปแบบ “butter beer” มีแอลกอฮอล์ 0%

5.2.1.2. แชมเปญไร้แอลกอฮอล์ พัฒนาเครื่องดื่มฟองโดยการระเหยแอลกอฮอล์ออกหมดในแชมเปญทับทิม

5.2.2.เครื่องดื่มแอลกอฮอล์แต่งกลิ่นเพื่อธุรกิจค้อกเทล (Cocktail Aromatization) ได้แก่ ทดลองผลิตสูตรค้อกเทลเพื่อสุขภาพ ได้แก่ ค้อกเทลโซดาท (SAUDADE), ค้อกเทลทรูสปิเนต (Trouspinette), ม้อกเทลบาโน 1, ค้อกเทลกล็อก (Glogg) , ค้อกเทลวิโนทีพ็อท (Vino Tea pot), ม้อกเทลบาโน 2

5.2.3.เครื่องดื่มแอลกอฮอล์เพื่อการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ปรุงอาหาร (Seasoning) ได้แก่ การทดลองประยุกต์ใช้เครื่องดื่มแอลกอฮอล์เพื่อใช้ในการปรุงอาหารดังต่อไปนี้ ได้แก่

5.2.4.ผลิตภัณฑ์ทางเลือกในการประกอบอาหาร ได้แก่ พุทราแช่แซนเต้ม, ออเรนท์ไวท์แซนเต้มูส , ส้มโอแช่อิ่มอบแห้งโดยใช้แอลกอฮอล์เก็บรสเปรี้ยวและเงาะดอง

5.2.5.ผลิตภัณฑ์เครื่องปรุงแต่งรสชาติ ได้แก่ ไวน์เพื่อประกอบอาหาร, ไวน์เพื่อใช้ในการหมักเนื้อสัตว์จากแอลกอฮอล์กลุ่ม G2, บาซามิกและน้ำส้มสายชูหมักเพื่อใช้ในการประกอบอาหาร

5.3. ผลิตภัณฑ์อาหารว่างจากเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ในรูปแบบผลิตภัณฑ์เบเกอรี่และไอศกรีม ได้พัฒนาสูตรเค้กแอลกอฮอล์ต่ำจากเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ชนิดใหม่ที่ผลิตเพื่อการพัฒนาสีและกลิ่น โดยลดการนำเข้ารัมจากต่างประเทศในอุตสาหกรรมอาหาร

5.3.1.ผลิตภัณฑ์เบเกอรี่จากเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ได้แก่ ขนมปังลดแครอรี่จากเครื่องดื่มแอลกอฮอล์, เค้กไม่ใส่ไขมันจากกากที่ได้จากการหมักแอลกอฮอล์และบัตเตอร์ครีมที่ปราศจากน้ำตาลเพื่อใช้ในการแต่งหน้าเค้ก

5.3.2.ผลิตภัณฑ์ไฮศกรีม ได้แก่ ไอศกรีมเบียร์กล้วยและเบียร์สัปปะรด, เชอร์เบทจากไซเดอร์ของแอลกอฮอล์กลุ่ม G3 ที่มีกรดมากและ ไอศกรีมเครปเค้กที่เก็บรสชาติได้ดีจากแทนนินโดยใช้แอลกอฮอล์กลุ่ม G2 ที่มีแทนนินสูง

5.4. การพัฒนาเครื่องดื่มแอลกอฮอล์เพื่อใช้ในการผลิตเวชภัณฑ์เพื่อความงาม ได้พัฒนาสูตรแอลกอฮอล์บ่มเพื่อใช้ในผลิตภัณฑ์เพื่อความงาม

5.4.1.ผลิตภัณฑ์บำรุงผิว ได้แก่ ผลิตภัณฑ์เกลือขัดผิวจากสารสกัดจากแอลกอฮอล์, ผลิตภัณฑ์ผงมาร์กหน้าจากสารสกัดจากไวน์, ผลิตภัณฑ์ลอกผิวโดยใช้กรด AHA และ BHAและผลิตภัณฑ์บำรุงผิวขาวจากแอลกอฮอล์จากผักได้แก่ กรด tumaric (ขมิ้น)และมะหาด

5.4.2.การพัฒนาผลไม้แอลกอฮอล์เพื่อการบริโภคและการนำไปใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหาร ได้ทดลองในแปลงพุทราที่จังหวัดฉะเชิงเทราและจังหวัดสระแก้ว หากแต่เกิดภาวะอุทกภัยทำให้ไม่ได้ผลการทดลองและผลไม้ในสวนพุทราเสียหายทั้งหมด โดยจะมีการทดลองซ้ำอีกครั้ง

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

ผลการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและประสิทธิภาพการหมักของผักและผลไม้ที่ใช้ในการผลิตแอลกอฮอล์สามารถแบ่งผักและผลไม้ได้เป็น 3 กลุ่ม โดยเป็นกลุ่มที่มีเพคตินสูง(G1) กลุ่มที่มีแทนนินสูง (G2)และกลุ่มที่มีกรดอินทรีย์สูง(G3) ตามวิธีทางสถิติของ PCA 95.31% โดยผลสกัดสี กลิ่นจากผักผลไม้กลุ่ม G2 และ G3 สามารถใช้ความร้อนสกัดสีได้เท่ากันที่ความเย็นที่ 4 องศาเซลเซียสแต่ความเสถียรของสีด้อยกว่าใช้ความเย็น และกลิ่นที่ใช้การสกัดด้วยความเย็นจะพัฒนาไปในทาง Floral, Fruity ส่วนความร้อนจะพัฒนาไปกลิ่นพวก Woody, Smoked สำหรับการสกัดสี กลิ่นในของเหลวสกัดจากผักผลไม้ทั้งสามกลุ่ม (G1, G2, G3) ให้ผลที่น่าพอใจเมื่อใช้ความเย็นที่ 4 องศาเซลเซียสก่อนนำมาทำการหมักแอลกอฮอล์ เนื่องจากคุณภาพเทียบเคียงได้กับกระบวนการ Flash detent และ Reverse osmosis แต่มีต้นทุนที่ถูกกว่ามาก

เมื่อพิจารณาผลของการหมักผักผลไม้ในแต่ละกลุ่มมีอัตราการหมักต่อชนิดของยีสต์ที่ต่างกัน โดยกลุ่ม G1 ซึ่งมีเพคตินสูงส่งผลดีต่อหมักด้วยยีสต์ BAwine และ Montrachet ให้ตะกอนหนาขุ่น กลุ่ม G2 ยีสต์ HHD1 และ CDB มีศักยภาพดีกว่าทั้งนี้สันนิษฐานว่ายีสต์ดังกล่าวทำงานได้ดีในภาวะที่มีกรดทาทาริกสูงและปริมาณสารแควนลอยในน้ำหมักสูงกว่ายีสต์ตัวอื่นซึ่งแยกกลุ่มออกไปชัดเจนและกลุ่ม G3 ยีสต์สายพันธ์ BAwine ยังสามารถหมักได้ประสิทธิภาพดีกว่ายีสต์สายพันธ์อื่นและประสิทธิภาพเทียบเคียงได้กับยีสต์ HHD1 ทั้งนี้เนื่องจากน้ำหมักมีสภาพเป็นกรดสูง หากเปรียบเทียบแหล่งผลิตวัตถุดิบของผลไม้กลุ่ม G1 และ G2 ในแหล่งผลิตภาคตะวันออกและภาคใต้ ไม่พบความแตกต่าง ส่วนกลุ่ม G3 ในแหล่งผลิตภาคตะวันออก, ภาคตะวันตก, ภาคเหนือและภาคใต้ พบว่าวัตถุดิบจากภาคตะวันออกมีคุณภาพการหมักต่ำกว่าวัตถุดิบภาคอื่นๆ และวัตถุดิบภาคใต้มีศักยภาพการหมักสูงสุดทั้งนี้เนื่องจากปริมาณ*ไนโตรเจน*สะสมในเนื้อผลไม้นั่นเอง

ในการหมักต่อยอดนั้นการหมักเบียร์ กลุ่ม G3 ถือเป็นกลุ่มที่มีศักยภาพสูงสุดเนื่องจากให้ค่าIBU และคุณภาพการหมักดีสุดเช่นเดียวกับการหมักแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ ที่กลุ่ม G3 ศักยภาพในการหมักแสได้ดีสุดจากผลคุณสมบัติของการวัดค่ากรดแลคติก กรดมาลิก ปริมาณจุลินทรีย์และแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ ส่วนการหมักกรดแลคติก กลุ่ม G1 ที่มีปริมาณแทนนินสูงมีศักยภาพในการหมักกรด

แลคติกดีที่สุดโดยการใช้กระบวนการ acidification จากน้ำผลไม้เข้มข้นจากกลุ่ม G3 ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์กรดต่ำ สำหรับกลุ่ม G2 ถือเป็นผลไม้ที่มีศักยภาพในการกลั่นมากที่สุดโดยเฉพาะการ aging ในโอ๊ค เมื่อเปรียบเทียบการกลั่นแบบต่อเนื่อง(double distillation) 4 รูปแบบได้แก่กลั่นปกติ, 10-80-10, cognac และ whiskey พบว่าการกลั่นแบบ Cognac และ Whiskey ถือเป็นการพัฒนาคุณภาพค่า Cogeners ของแอลกอฮอล์กลุ่ม G2 โดยเฉพาะผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส

นอกจากนี้ยังสามารถพัฒนากรรมวิธีการแปรรูปเครื่องดื่มแอลกอฮอล์แบบใหม่ๆที่มีประสิทธิภาพและเหมาะสมในการนำมาประยุกต์ใช้แปรรูปผักผลไม้ไทย ผลิตภัณฑ์ใหม่และ การรักษาคุณภาพผลิตภัณฑ์เพื่อการส่งเสริมโดยแบ่งออกเป็นกลุ่มผลิตภัณฑ์ใหม่ ๖ ชนิด ได้แก่ Purple Collection แอลกอฮอล์จากผลไม้สีม่วง 5 ชนิด ได้แก่ ข้าวโพดข้าวเหนียวดำ หัวบีท มะเม่า มังคุด องุ่นต้น Duo Beer เบียร์จากผลไม้ 2 ชนิดได้แก่ เบียร์สัปปะรด และเบียร์กล้วย Spirit Fair แอลกอฮอล์สูงจากผักและผลไม้ 3 ชนิด ได้แก่ กาแฟ มะนาวและแตงกวา Orange Collection แอลกอฮอล์จากผลไม้สีเหลืองส้ม 5 ชนิด ได้แก่ แครอท ฟักทอง ลูกพีช ลูกพลับและส้มเขียวหวาน Greeny Collection แอลกอฮอล์กลั่นจากผัก 5 ชนิด ได้แก่ ลูกฟัก ตระไคร้ ผักกาดขาว มะเขือเทศและกลุ่มสมุนไพร(กระเพรา ชะอม) โดยใช้ส้มเป็นน้ำผลไม้พื้นฐานในการผลิต Light-acidity mocy แอลกอฮอล์ลดกรดมาลิกและกรดซิตริก 3 ชนิด ได้แก่ มะขาม ทับทิม ส้มจี๊ด Transparency Spirit Collection แอลกอฮอล์ใสที่ได้จากธัญพืชและสมุนไพร ได้แก่ เหล้าลิ้นจี่ เหล้าข้าวโพด เหล้าถั่ว Tropo Cream Liquor แอลกอฮอล์ชนิดครีมเพื่อการปรุงอาหารและค้อกเทลได้แก่ ลิเคียวมะพร้าว ลิเคียวกาแฟและลิเคียวส้มโอ

โดยยังสามารถผลิตภัณฑ์ต่อยอดจากพัฒนาผลิตภัณฑ์แอลกอฮอล์ใหม่ ได้แก่ เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ดีกรีต่ำ (Desalcoolization) ในการพัฒนาเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ต่ำ โดยกระบวนการระเหยแอลกอฮอล์โดยได้ผลิตในผลิตภัณฑ์จำนวน 2 ชนิดได้แก่ เบียร์ไร้แอลกอฮอล์ พัฒนาเบียร์กล้วยในรูปแบบ “butter beer” มีแอลกอฮอล์ 0% และแชมเปญไร้แอลกอฮอล์ พัฒนาเครื่องดื่มฟองโดยการระเหยแอลกอฮอล์ออกหมดในแชมเปญทับทิม เครื่องดื่มแอลกอฮอล์แต่งกลิ่นเพื่อธุรกิจค้อกเทล (Cocktail Aromatization) ได้แก่ ทดลองผลิตสูตรค้อกเทลเพื่อสุขภาพ ได้แก่ ค้อกเทลโซดาท (SAUDADE), ค้อกเทลทรูสปิเนต (Trouspinette), ม้อกเทลบาโน 1, ค้อกเทลกล็อก (Glogg) , ค้อกเทลวิโนทีพ็อท (Vino Tea pot), ม้อกเทลบาโน 2 เครื่องดื่มแอลกอฮอล์เพื่อการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ปรุงอาหาร (Seasoning) ได้แก่ การทดลองประยุกต์ใช้เครื่องดื่มแอลกอฮอล์เพื่อใช้ในการปรุงอาหารดังต่อไปนี้ ได้แก่ ผลิตภัณฑ์ทางเลือกในการประกอบอาหาร ได้แก่ พุทราแช่แซนเต้ม, ออเรนท์ไวท์แซนเต้มูส, ส้มโอแช่อิ่มอบแห้งโดยใช้แอลกอฮอล์เก็บรสเปรี้ยวและเงาะดอง ผลิตภัณฑ์เครื่องปรุงแต่งรสชาติ ได้แก่ ไวน์เพื่อประกอบอาหาร, ไวน์เพื่อใช้ในการหมักเนื้อสัตว์จากแอลกอฮอล์กลุ่ม G2, บาซามิกและน้ำส้มสายชูหมัก

เพื่อใช้ในการประกอบอาหาร ผลิตภัณฑ์อาหารว่างจากเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ในรูปแบบผลิตภัณฑ์เบเกอรี่และไอศกรีม ได้พัฒนาสูตรเค้กแอลกอฮอล์ต่ำจากเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ชนิดใหม่ที่ผลิตเพื่อการพัฒนาสีและกลิ่นโดยลดการนำเข้ารัมจากต่างประเทศในอุตสาหกรรมอาหาร ผลิตภัณฑ์เบเกอรี่จากเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ได้แก่ ขนมปังลดแครอรี่จากเครื่องดื่มแอลกอฮอล์, เค้กไม่ใส่ไขมันจากกากที่ได้จากการหมักแอลกอฮอล์และบัตเตอร์ครีมที่ปราศจากน้ำตาลเพื่อใช้ในการแต่งหน้าเค้ก ผลิตภัณฑ์ไอศกรีม ได้แก่ ไอศกรีมเบียร์กล้วยและเบียร์สัปปะรด, เชอร์เบทจากไซเดอร์ของแอลกอฮอล์กลุ่ม G3 ที่มีกรดมากและไอศกรีมเครปเค้กที่เก็บรสชาติได้ดีจากแทนนินโดยใช้แอลกอฮอล์กลุ่ม G2 ที่มีแทนนินสูง และการพัฒนาเครื่องดื่มแอลกอฮอล์เพื่อใช้ในการผลิตเวชภัณฑ์เพื่อความงาม ได้พัฒนาสูตรแอลกอฮอล์บ่มเพื่อใช้ในผลิตภัณฑ์เพื่อความงาม ผลิตภัณฑ์บำรุงผิว ได้แก่ ผลิตภัณฑ์เกลือขัดผิวจากสารสกัดจากแอลกอฮอล์, ผลิตภัณฑ์ผงมาร์กหน้าจากสารสกัดจากไวน์, ผลิตภัณฑ์ลอกผิวโดยใช้กรด AHA และ BHAและ ผลิตภัณฑ์บำรุงผิวขาวจากแอลกอฮอล์จากผักได้แก่ กรด tumaric (ขมิ้น)และมะหาด

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1 การฝึกอบรมวิสาหกิจชุมชนเพื่อการพัฒนาแอลกอฮอล์ ได้แก่

1.1 ชุมชนผู้ผลิตแอลกอฮอล์ภาคเหนือตอนบน พื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ เชียงรายและแม่ฮ่องสอน ได้อบรมการผลิตแอลกอฮอล์เพื่อเป็นผลิตภัณฑ์ชุมชนได้แก่ บ๊วย พลัม พลับ

1.2 ชุมชนผู้ผลิตแอลกอฮอล์ภาคเหนือตอนล่าง พื้นที่จังหวัดสุโขทัยและอุตรดิตถ์ ได้อบรมการผลิตแอลกอฮอล์กลั่นจากข้าวโพดและธัญพืช

1.3 ชุมชนผู้ผลิตแอลกอฮอล์พื้นบ้านภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคกลาง ได้อบรมการผลิตลูกแป้งและโคจิเพื่อนำไปใช้ในการผลิตอุ สาโทและข้าวหมากและได้ขึ้นทะเบียน “โคจิ” กับกรมสรรพสามิต

2 การจัดฝึกอบรมศูนย์วิจัยและสถานศึกษา ได้แก่

2.1 ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ ได้อบรมเกษตรกรและนักวิชาการในการผลิตแอลกอฮอล์จากผักและผลไม้ในศูนย์ได้แก่ บ๊วย กีวี่ พลัม พลับ องุ่น

2.2 มหาวิทยาลัยราชมงคล ธัญบุรี ได้อบรมนักศึกษาเรื่องการแปรรูปแอลกอฮอล์จากผักและผลไม้ท้องถิ่นเพื่อการพัฒนาสู่ผลิตภัณฑ์ชุมชนที่ได้มาตรฐาน

2.3 สมาคมผู้ผลิตสุราพื้นบ้าน ได้อบรมการผลิตสุราพื้นบ้านและการผลิตคร์ฟเบียร์เพื่อการพัฒนาเป็นธุรกิจขนาดย่อม

2.4 สมาคมผู้ผลิตไวน์ในประเทศไทย ได้อบรมการพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตไวน์และพัฒนาคุณภาพไวน์สาสากลในงาน Food and Hotel Thailand 2013, 2014, 2015

3 การเผยแพร่เอกสาร

3.1 เอกสารประกอบการสัมมนา “การยกระดับมาตรฐานไวน์ไทยสู่สากล” จำนวน 50 หน้า

3.2 เอกสารประกอบการสอนและการฝึกอบรม

3.2.1 การผลิตแอลกอฮอล์และมาตรฐานแอลกฮอล์โลก ณ คณะคหกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชมงคลธัญบุรี

3.2.2 แอลกอฮอล์และสุขภาพ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, มหาวิทยาลัยศิลปากรและจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.3 หนังสือ “การแปรรูปแอลกอฮอล์จากผักและผลไม้” จำนวน 50 หน้า

เอกสารอ้างอิง

Barros P., 1991, *La technologie des vins de liqueur,* Office international de la vigne et du vin, Paris.

Blouin J. and Peynaud E., 2001, *Connaissance et travail du vin*, 3e édition, Dunod, Paris

Cardoso, D.R., Andrade-Sobrinho, Leite-Neto A.F., Reche R.V., Isique W.D.,

Ferreira M.M., Lima Neto B.S., Franco D.W., *Comparaison between cachaça and rum using pattern recognition methods,* J. Agric. Food Chem.,**52,** 2004

Casas Lucas J-F., 1967, *Fermentation et vinification,* Institut national de la recherché agronomique, Paris.

Fu J., *Technology of Chinese rice wine producing,* Chemical Industry Press: Beijing, 2005, **534**

Gonzalez Gordon M.M., 1990, *Sherry, the noble wine,* Quiller Press, London

Gonzalez-Arjona D., Gonzale-Gallero V., Pablos F., Gonzalez A.G., *Authentication and differentiation of Irish whiskeys by higher-alcohol congener analysis,* Anal. Chim. Acta, **381**, 1999

Harding G., *a wine miscellany*, Clarkson Potter publishing, **5-9**, New York, 2005

Heineken, *An Introduction to Beer Brewing,* Published by Heineken Technisch Beheer B.V., Zoeterwoude*:* The Netherlands, 1990

Hough, J.S., *The Biotechnology of Malting and Brewing,* Cambridge University Press: Cambridge, UK, 1985.

Hutter K-J, *A new tool for direct control of fermentation process,* Journal Inst. Brew., 2002, **108(1)**, 48-51

Janssens L., De Pooter H.L., Schamp N.M., Vandamme E.J., *Production of flavours by microorganisms*, Process Biochmeistry, **27**, 1992

Leygnier A., Torres P., Goyhexex J.M., 2000, *Les vins doux naturels de la Méditeranée,* Aubanel, Edition Minerva, Geneva.

Ribéreau-Gayon J., Peynaud E., Ribéreau-Gayon P., Sudraud P., 1976, *Sciences et techniques du vin, Tome III, Vinifications, Transformation du vin*, Dunod, Paris

Ribéreau-Gayon P., Dubourdieu D., Donèche B., Lonvaud A., 2004, *Traité d'œnologie, Tome I, Microbiologie du vin, Vinifications,*5e Dunod, Paris

Robinson J., *The Oxford Companion to Wine*, 3rd edition, **738**, Oxford University Press, 2006

Szambelan K., Nowak J., Jelén H., *The composition of Jerusalem artichoke (Helianthus tuberosus L.) Spirits obtained from fermentation with bacteria and yeasts,* Eng. Life Sci., **5**, 2005

Vallejo-Cordoba B., Gonzalez-Cordoba A.F., Estrada-Montoya M.C., *Latest advances in the characterization of Mexican distilled agave beverage: Tequilla, mescal and bacanora,* Proceedings of the 229th ACS Meeting, San Diego, CA, USA, 2005 AGFD-113

ประดิษฐ์ ครุวัณณา, 2525, สาโทและสาเก, อาหาร, สถาบันค้นคว้าและพัฒนา ผลิตภัณฑ์อาหาร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 14(1)

ประดิษฐ์ ครุวัณณา, มาลัย บุญรัตนกรกิจ, วิภา สุโรจนะเมธากุล และน้อย สาริกะภูติ, 2534, การเปรียบเทียบคุณภาพไวน์จากลิ้นจี่พันธุ์ต่างๆของประเทศไทย รายงานผลการวิจัย ทุนอุดหนุนการวิจัยทั่วไป ประจำปี 2533 สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ 12 หน้า

ศิวาพร จินตนาวงศ์, ประเทือง ลักษณะวิมล, สมชาญ เลิศปันณะพงษ์, ประดิษฐ์ ครุวัณณา, จงวัฒนา ตระกูลดิษฐ์ และวสันต์ ผ่องสมบูรณ์, 2525, อิทธิพลของพันธุ์สัปปะรดต่ออัตราการหมัก และคุณภาพของไวน์, วารสารชมรมผู้หมักแอลกอฮอล์แห่งประเทศไทย 1(2), 108-112

ภาคผนวก

เนื้อหาสำคัญในหนังสือเรื่อง “การแปรรูปเครื่องดื่มแอลกอฮอล์จากผักและผลไม้” จำนวน 50 หน้า มีการรวบรวมผลงานวิจัยเกี่ยวกับแอลกอฮอล์และสุราที่ได้ทำการทดลองระหว่างปีงบประมาณ 2554 – 2558 และงานวิจัยสุราในประเทศไทยแบ่งออกเป็นประเภทต่างๆดังนี้

<u>1. ไวน์และไวน์ผลไม้</u>

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม ที่อุดมไปด้วยผลไม้นานาพันธุ์ สามารถนำมาผลิตเป็นไวน์ผลไม้นอกเหนือไปจากองุ่น งานวิจัยไวน์ผลไม้ส่วนใหญ่ศึกษาตามฤดูของผลไม้นั้นๆ แต่ละงานวิจัยมีวัตถุประสงค์แตกต่างกัน จำแนกได้ดังนี้ 1) การผลิตไวน์จากผลไม้ หรือวัตถุดิบทางการเกษตรชนิดอื่น 2) การคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์ที่มีคุณสมบัติดีในการหมักไวน์ 3) งานวิจัยที่ศึกษาถึงสภาวะต่างๆ ตลอดจนสารอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์ และ 4) งานวิจัยที่มุ่งเน้นการพัฒนาคุณภาพไวน์ (การพัฒนากระบวนการหมัก, การนำเทคโนโลยีด้านต่างๆ มาใช้หมักไวน์ และการพัฒนาไวน์เป็นเครื่องดื่มชนิดใหม่ เป็นที่ทราบกันว่าไวน์ผลิตจากองุ่น ส่วนไวน์ที่ผลิตจากผลไม้ชนิดอื่นเรียกว่า “ไวน์ผลไม้” อย่างไรก็ตาม แม้ว่าประเทศไทยจะมีผลไม้ตามฤดูกาลมากมายหลายชนิด แต่องุ่นก็ยังเป็นหัวข้องานวิจัยที่นักวิจัยไทยให้ความสนใจอย่างมาก เช่น การคัดเลือกพันธุ์องุ่น ตลอดจนการหาเทคโนโลยีและพื้นที่ที่เหมาะสมสำหรับปลูกองุ่นทำไวน์ในประเทศไทย (ประดิษฐ์ และคณะ, 2531; บุณยนุช, 2542) ส่วนงานวิจันอื่น เช่น การพัฒนากระบวนการผลิต และกระบวนการหมักไวน์ ก็เป็นหัวข้อที่มีผู้ศึกษากันอย่างมาก (ศุภพงศ์ , 2531; สืบศักดิ์ , 2534) เป็นต้น

ผลไม้ชนิดอื่นที่มีการศึกษาที่เกี่ยวข้องกับไวน์ เช่น สับปะรด (พรทิพย์, 2524; ศิริวรรณ, 2527), ลิ้นจี่ (ประดิษฐ์, 2534), กล้วย (ประดิษฐ์, 2536), มังคุด (สุปราณี, 2543), มะยม (วันเพ็ญ, 2544), มะม่วง (วันเพ็ญ และคณะ, 2544; สมชาย และ ธีรวัลย์, 2544), มะเกี๋ยง (อังคณา, 2539), หว้า (สืบศักดิ์ , 2538; เพิ่มพงษ์, 2544), หม่อน (ศิริพร, 2540; ภัทราภรณ์, 2542; อธิชิต, 2545) และ มะเม่า (กรองจันทร์; 2542) เป็นต้น ส่วนวัตถุดิบชนิดอื่นที่ไม่ใช่ผลไม้ เช่น ดอกกระเจี๊ยบ (ประดิษฐ์, 2532) และน้ำผึ้ง (สมบูรณ์ 2536)

ตัวอย่างงานวิจัยที่คัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์ที่มีคุณสมบัติดีในการหมักไวน์ เช่น การคัดเลือกพันธุ์ยีสต์เพื่อใช้ในการทำเหล้าองุ่นในประเทศไทย (สุพจน์, 2516), การหาพันธุ์ยีสต์และปริมาณน้ำตาลที่เหมาะสมในการทำไวน์จากองุ่น (เสริมศรี, 2521), การศึกษาสายพันธุ์ยีสต์ที่เหมาะสมในการทำไวน์มังคุด (สุปราณี, 2543), สายพันธุ์ยีสต์ที่เหมาะสมในการผลิตสปาร์คลิงไวน์จากไวน์หม่อน *Morus alba* L. (อธิชิต ชื่นชูจิตต์ และคณะ, 2545) เป็นต้น งานวิจัยที่ศึกษาถึงสภาวะต่างๆ และสารอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์ และการหมักไวน์ เช่น การหาชนิดและปริมาณอาหารที่เหมาะสมในการเร่งการหมักไวน์กระเจี๊ยบ (ประดิษฐ์, 2532), ผลของการหมักพร้อมเปลือกที่มีต่อคุณภาพไวน์แดงและการให้อากาศน้ำองุ่นก่อนหมักที่มีต่อคุณภาพไวน์ขาว (สืบศักดิ์, 2534) และ ปัจจัยที่มีผลในการหมักและการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีระหว่างการบ่มไวน์หม่อน (ศิริพร, 2540) เป็นต้น

สำหรับงานวิจัยที่มุ่งเน้นการพัฒนาคุณภาพไวน์ หลายๆ หน่วยงานให้ความสำคัญและมีการศึกษากันอย่างแพร่หลาย งานวิจัยเหล่านี้เน้นไปในทางการพัฒนากระบวนการหมักให้มีประสิทธิภาพดีขึ้น โดยการนำเทคโนโลยีด้านต่างๆ และหลักการพัฒนาผลิตภัณฑ์มาใช้ในการหมักไวน์ เช่น การใช้เทคโนโลยีเอนไซม์, เทคโนโลยการหมัก, เทคโนโลยีถังหมัก เทคโนโลยีตรึงเซลล์ และการพัฒนาเครื่องดื่มประเภทไวน์เป็นเครื่องดื่มชนิดใหม่ เป็นต้น ตัวอย่างงานวิจัย เช่น การนำเพคติค เอนไซม์ จากแอสเพอร์จิลลัส นิเกอร์มาใช้ประโยชน์ในการทำไวน์ (ปาริชาติ, 2519), การผลิต active dry yeast สำหรับใช้ทำไวน์ (อรววณ, 2529), การผลิตไวน์และไวน์เติมแอลกอฮอล์กลั่นจากลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวยและพันธุ์ไทย (ประดิษฐ์ และคณะ, 2534), การหมักพร้อมเปลือกที่มีต่อคุณภาพไวน์แดง และการให้อากาศน้ำองุ่นก่อนหมักที่มีต่อคุณภาพไวน์ขาว (สืบศักดิ์, 2534), เทคโนโลยีที่เหมาะสมในการผลิตไวน์และลิเคียวจากกล้วย (ประดิษฐ์, 2536), ผลของปริมาณกรดและเอนไซม์เพคติเนสต่อปริมาณเมทิลแอลกอฮอล์และองค์ประกอบทางเคมีของไวน์หม่อน(Morus alba L.) (ภัทราภรณ์ และคณะ, 2544), การพัฒนากระบวนการผลิตไวน์เม่าโดย หาอัตราส่วนของผลเม่าสีดำ : ผลเม่าสีแดงและปริมาณกรดเริ่มต้นของน้ำเม่าที่เหมาะสม (เสกสรร และคณะ, 2544) หรือ การหมักไวน์มะม่วงแก้ว [Mangifera indica L.] โดยการหมักแบบกะซ้ำ และแบบต่อเนื่องในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ Packed bed โดยเซลล์ตรึงรูป Saccharomyces cerevisiae (ศิริมา, 2545) เป็นต้น

<u>2. ลูกแป้งและจุลินทรีย์ในลูกแป้ง</u>

ลูกแป้งเป็น “กล้าเชื้อผสม” ที่มีทั้งเชื้อรา ยีสต์ และแบคทีเรีย เนื่องจากเครื่องเทศและสมุนไพรมีผลต่อชนิดและปริมาณจุลินทรีย์จึงทำให้จุลินทรีย์ที่พบในลูกแป้งมีไม่กี่ชนิด โดยจะพบจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในลูกแป้งข้าวหมากและลูกแป้งเหล้าเป็นส่วนใหญ่ ลูกแป้งที่พบในประเทศไทยมีด้วยกัน 4 ชนิด แต่ละชนิดมีวัตถุประสงค์ในการใช้งานที่ต่างกันไป ได้แก่ ลูกแป้งข้าวหมาก ลูกแป้งเหล้า ลูกแป้งน้ำส้มสายบชู และลูกแป้งขนมถ้วยฟู งานวิจัยที่เกี่ยวกับลูกแป้งและจุลินทรีย์ที่แยกจากลูกแป้งสามารถจำแนกได้ทั้งหมด 5 ประเภทดังนี้

1) การแยก การจัดจำแนกและการคัดเลือกเชื้อราและยีสต์จากลูกแป้งข้าวหมากและลูกแป้งเหหล้า

งานวิจัยเหล่านี้มีวัตถุประสงค์เพื่อจัดจำแนกชนิดของจุลินทรีย์ที่พบในลูกแป้ง และคัดเลือกเชื้อราและยีสต์ที่มีบทบาทในการหมักข้าวสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยแป้งที่ดี หมักแอลกอฮอล์ได้สูง และให้กลิ่นรสที่ดีในผลิตภัณฑ์ ทั้งนี้เพื่อนำจุลินทรีย์ดังกล่าวไปใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์ (ข้าวหมากและสาโท) โดยใช้หัวเชื้อบริสุทธิ์ หรือนำไปปั้นเป็นลูกแป้งต่อไป ตัวอย่างงานวิจัยเช่น ชัยวัฒน์ (2520) และ พิไลพรรณ (2523) รายงานว่าราที่พบในลูกแป้งข้าวหมาก ได้แก่ รา order Mucorales ได้แก่ Amylomyces spp., Rhizopus sp., Mucor sp., Absidia sp. และพบ Imperfect fungi เช่น Aspergillus sp., Penicillium sp. และ Hyalodendion sp. ในลูกแป้งข้าวหมากอาจพบยีสต์ Saccharomyces cerevisiae ปนมาบ้าง ส่วนลูกแป้งเหล้าจะพบ S. cerevisiae ในปริมาณมากกว่า Endomycopsis spp.

(นภา, 2535) Saccharomyces เป็นยีสต์ที่เปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ ดังนั้นจึงมีบทบาทหลังจากเป็นข้าวหมากแล้ว เป็นตัวเพิ่มรสชาติให้กับข้าวหมาก

สมพร (2544) แยกราและยีสต์จากลูกแป้งข้าวหมาก และจากลูกแป้งเหล้า ราที่พบในลูกแป้งข้าวหมากส่วนใหญ่เป็นราในสกุล Amylomyces และ Rhizopus ที่เหลือเป็น Actinomucor, Aspergillus niger group, Monascus, Mucor และ Pennicillium ส่วนราที่แยกได้จากลูกแป้งเหล้าส่วนใหญ่เป็น Rhizopus, Amylomyces, Actinomucor, Aspergillus niger group และ Mucor Ragi ส่วนยีสต์ที่พบในลูกแป้งข้าวหมากส่วนใหญ่เป็นยีสต์ในสกุล Saccharomycopsis fibuligera ที่เหลือเป็น C. rhagii, Issatchenkia orientalis, P. anomala, P. burtonii, P. fabianii, Rhodotorula philyla, Tolulaspora delbrueckii และ T. globosa ส่วนยีสต์ที่แยกได้จากลูกแป้งเหล้า ส่วนใหญ่เป็น S. fibuligera ที่เหลือเป็น C. glabrata, C. rhagii, I. orientalis, P. anomala, P. burtonii, P. fabianii, P. heimii, P. mexicana, S. cerevisiae, T. globosa และ Trichosporon asahii เป็นต้น

2) ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ที่แยกจากลูกแป้ง

งานวิจัยด้านนี้จะศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อจุลินทรีย์ ในสภาพจริงของลูกแป้ง โดยเฉพาะเครื่องเทศและสมุนไพร ซึ่งมีหน้าที่ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์อื่น ๆ ที่ไม่ต้องการในลูกแป้ง (พวงน้อย, 2522) เครื่องเทศมีน้ำมันหอมระเหยซึ่งมีองค์ประกอบหลายชนิด สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์มากกว่าการฆ่า เนื่องจากมีปริมาณไม่เพียงพอที่จะทำลายจุลินทรีย์ได้ (ชัยวัฒน์, 2520) จากการปรับปรุงคุณภาพของลูกแป้งเชื้อพบว่า เครื่องเทศมีความสำคัญในการควบคุมชนิดและปริมาณของเชื้อในลูกแป้ง ในทางตรงกันข้ามเครื่องเทศเป็นตัวกำหนดสูตรของลูกแป้งเชื้อต่างๆ เพื่อให้มีจุลินทรีย์ครบตามต้องการ (สุราษฎ์ และ จรูญ, 2526) การใช้ในปริมาณที่เหมาะสมจะมีผลในการยับยั้งการเจริญจุลินทรีย์บางชนิดแต่ไม่มีผลในการยับยั้งการเจริญของยีสต์และราที่ต้องการ สมุนไพรแต่ละชนิดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้แตกต่างกัน (บัญญัติ, 2518; พิไลพรรณ, 2523) การใช้เครื่องเทศและสมุนไพรต่างกันทั้งชนิดและปริมาณ จะทำให้ความหลากหลายของจุลินทรีย์ในลูกแป้งต่างกัน โดยปัจจัยที่มีผลทำให้ประสิทธิภาพของเครื่องเทศในการทำลายจุลินทรีย์ขึ้นกับส่วนของเครื่องเทศที่ใช้, อายุเครื่องเทศ, ความเข้มข้นของเครื่องเทศ, ชนิดของเชื้อ, และสภาวะที่ใช้ในการทดสอบ เช่น อุณหภูมิ, ชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ และระยะเวลาที่จุลินทรีย์สัมผัสกับเครื่องเทศ (พุทธรินทร์, 2527)

3) การผลิตเอนไซม์กลุ่มอะมัยเลสจากราและยีสต์ที่แยกได้จากลูกแป้ง

งานวิจัยกลุ่มนี้จะแยกเชื้อจุลินทรีย์ออกมาจากลูกแป้ง ทั้งลูกแป้งข้าวหมากและลูกแป้งเหล้า จากนั้นคัดเลือกเชื้อราและยีสต์ที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยแป้งได้ ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นเชื้อรากลุ่ม Phycomycetes ได้แก่ Amylomyces (จตุรพร, 2528) และ Rhizopus (ไกรฤกษ์, 2525; ดวงกมล, 2530) และราในกลุ่ม Deuterommycetes ได้แก่ Aspergillus ส่วนยีสต์ได้แก่ Saccharomycopsis (สุรพงษ์, 2537; เบญจพร, 2542) จากนั้นจะมาทดลองเปรียบเทียบกิจกรรมของเอนไซม์โดยเพาะเลี้ยงในสภาวะต่างๆ กันที่ให้กิจกรรมของเอนไซม์สูงสุด (ชิดชม, 2528) โดยเอนไซม์อะมัยเลสที่นักวิจัยให้ความสำคัญคือ กลูโคอมัยเลส (glucoamylase) ซึ่งสามารถย่อยแป้งได้อย่างสมบูรณ์จากทางด้าน non-

reducing end ที่ตำแหน่ง α-D-(1,4) และ α-D-(1,6) glycosodic ทีละหนึ่งหน่วยกลูโคส ให้ผลผลิตสุดท้ายเป็นน้ำตาลกลูโคสเพียงอย่างเดียว บางงานวิจัยมุ่งเน้นในการปรับปรุงพันธุ์เชื้อราหรือยีสต์ให้มีประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์ดีขึ้น เช่น การเพิ่มปริมาณการผลิตเอนไซม์อะมัยเลสของ Aspergillus niger โดยใช้วิธีทางเคมี หรือทางกายภาพ (มณี และ จรูญ, 2523; วรพจน์, 2533) ผลที่ได้รับสามารถคัดเลือกจุลินทรีย์ที่เป็นแหล่งสำคัญของเอนไซม์สำหรับย่อยวัตถุดิบประเภทแป้งชนิดอื่นได้ และนำไปประยุกต์ใช้กับผลิตภัณฑ์ชนิดอื่นได้

4) คุณสมบัติทางการหมักของจุลินทรีย์

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับจุลินทรีย์ในลูกแป้ง มีการศึกษาถึงคุณสมบัติทางการหมักน้อยมาก (ส่วนใหญ่ศึกษาเกี่ยวกับคุณสมบัติการย่อยแป้ง) จากการสืบค้นพบงานวิจัยที่เกี่ยวข้องเพียง 2 งานวิจัยเท่านั้น ได้แก่ งานวิจัยของ เจริญ และคณะ (2544) ที่ศึกษาคุณสมบัติทางการหมักของยีสต์ที่แยกได้จากลูกแป้งข้าวหมากและลูกแป้งเหล้า จากผลการวิจัยสรุปว่ายีสต์ที่พบได้แก่ Endomycopsis fibuligera และ Saccharomyces cerevisiae โดยยีสต์ชนิดแรกเจริญได้ในช่วงแรกของการหมักสาโท และจะตายเมื่อแอลกอฮอล์เพิ่มมากขึ้น และสามารถหมักแอลกอฮอล์และผลิตสารอินทรีย์ต่างๆ ได้น้อยกว่า S. cerevisiae

มณชัย (2546) เลี้ยงเชื้อรา Amylomyces และ Rhizopus ในข้าวเหนียวนึ่ง ผลการศึกษาพบว่า Amylomyces spp. ผลิตกรดได้ต่ำประมาณ 0.88-1.29 เปอร์เซ็นต์ ส่วน Rhizopus spp. ผลิตกรดได้ประมาณ 3.7-4.3 เปอร์เซ็นต์ และรายงานว่า Rhizopus spp. ย่อยแป้งเป็นน้ำตาลได้ต่ำกว่า Amylomyces spp. ในการศึกษาคุณสมบัติของยีสต์ Saccharomycopsis fibuligera เปรียบเทียบกับ Saccharomyces cerevisiae RIT I (แยกได้ในระหว่างการหมักสาโท) พบว่า S. fibuligera เจริญได้ช้ากว่า S. cerevisiae RIT I ในทุกปัจจัยการทดลอง โดยที่อุณหภูมิ, พีเอช และความเข้มข้นของกลูโคส ที่เหมาะสมต่อการเจริญของ S. fibuligera คือ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส, พีเอช 4.0 และความเข้มข้นของกลูโคสเท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร การศึกษาผลของอุณหภูมิ (10, 20 และ 30 องศาเซลเซียส) ต่อการเจริญและการมีชีวิตของ S. fibuligera เมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีเอธานอลต่างกัน (0, 5, 10 และ15 เปอร์เซ็นต์) อุณหภูมิสูงช่วยให้ยีสต์มีอัตราการเจริญสูงขึ้น ส่วนอุณหภูมิต่ำช่วยให้ยีสต์ทนเอธานอลได้ดีขึ้น และจากการทดสอบความสามารถในการสรางเอนไซม์ S. fibuligera สามารถแสดงกิจกรรมของ อมัยเลส และโปรติเอสได้ แต่ไม่แสดงกิจกรรมของไลเปส

5) การทำลูกแป้งจากเชื้อราและยีสต์บริสุทธิ์

จากปัญหาการหมักแอลกอฮอล์ในแต่ละการผลิต คุณภาพของผลิตภัณฑ์ไม่มีความคงที่ เนื่องจากการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่ไม่จำเป็น เช่น เชื้อน้ำส้มสายชู (Acetobacter spp. และ Gluconobacter spp.) ปนอยู่ด้วยซึ่งจะทำให้เกิดกรดน้ำส้ม ทำให้คุณภาพของผลิตภัณฑ์ลดลงได้ (นภา, 2535) และประกอบกับการใช้ลูกแป้งมีข้อจำกัดคือ การผลิตต้องอาศัยความชำนาญและมีสูตรที่ตกทอดมาภายในครอบครัว ผู้ผลิตจึงต้องอาศัยซื้อลูกแป้งจากผู้ผลิตลูกแป้งโดยเฉพาะ ทำให้ไม่สามารถควบคุมคุณภาพของลูกแป้งให้เหมาะสมกับผลิตภัณฑ์ของตนได้ ดังนั้นจึงมีโจทย์วิจัยที่เกี่ยวกับการคัดเลือกจุลินทรีย์ทั้งเชื้อรา

และยีสต์ มาพัฒนาเป็นกล้าเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์เพื่อใช้ในการผลิตจะทำให้สามารถควบคุมกระบวนการผลิตและคุณภาพของผลิตภัณฑ์ได้ โดยไม่ต้องอาศัยลูกแป้งของผู้ผลิตเพียงไม่กี่ราย ตัวอย่างงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง เช่น การศึกษาของ สุราษฎ์ และจรูญ (2524) ทดลองการทำลูกแป้งเชื้อสำหรับใช้ผลิตแอลกอฮอล์ในชนบท และการผลิตลูกแป้งด้วยเชื้อบริสุทธิ์เพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อน้ำส้มสายชู (บรรจงจิต และคณะ, 2530) เป็นต้น

<u>3. สาโทและไวน์ข้าว</u>

งานวิจัยที่เกี่ยวกับการผลิตสาโทและไวน์ข้าวมีการศึกษาน้อยมากคิดเป็น 5.9 เปอร์เซ็นต์ จากงานวิจัยทั้งหมดที่สืบค้นได้ โดยภาพรวมแล้วงานวิจัยด้านนี้มุ่งเน้นในการพัฒนาคุณภาพของสาโทให้ดีขึ้น โดยกำหนดโจทย์วิจัยจากสาเหตุที่ทำให้คุณภาพของสาโทด้อยลง เช่น การใช้โคจิเป็นกล้าเชื้อการหมักสำหรับเป็นแหล่งของเอนไซม์ แร่ธาตุ และวิตามินหลายชนิด ที่จำเป็นต่อการหมักข้าวและการเจริญของยีสต์ แทนการใช้ลูกแป้งที่มีการผันแปรง่ายและควบคุมการผลิตยาก การนำโคจิมาใช้ในการพัฒนาการผลิตแอลกอฮอล์จากข้าวได้มีผู้ศึกษาอย่างแพร่หลาย เช่น ศุภพงศ์, (2529) ศึกษาการผลิตโคจิจากเชื้อรา 3 ชนิด ได้แก่ Aspergillus awarmori, Aspergillus niger และ Rhizopus sp. ร่วมกับยีสต์ สำหรับใช้เป็นแหล่งเอนไซม์กลูโคอะไมเลส ในการผลิตแอลกอฮฮล์จากแป้งมันสำปะหลังดิบ และสรุปว่า โคจิจาก Rhizopus sp. จะให้แอลกอฮอล์สูงสุดคือ 95 เปอร์เซ็นต์ (ในเวลา 72 ชั่วโมง) และสามารถแยกเซลล์ยีสต์และราออกมาใช้ซ้ำได้อีก จรัญ (2530) ทำโคจิโดยใช้ข้าวเจ้าและข้าวญี่ปุ่น พบว่าโคจิข้าวมีกิจกรรมของเอนไซม์ต่ำกว่าโคจิข้าวญี่ปุ่น เมื่อใช้โคจิทั้งสองชนิดไปหมักข้าวเจ้า ข้าวเหนียวและข้าวญี่ปุ่น แบบใช้ข้าวนึ่งและข้าวดิบ การหมักจะสมบูรณ์ที่ 20 องศาเซลเซียส ได้แอลกอฮอล์ 20 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในการศึกษาของ ประดิษฐ์ และคณะ (2530) ได้หมักแอลกอฮอล์จากข้าวเหนียวโดยใช้โคจิของเชื้อราผสมของ Aspergillus oryzae KM24 และ Rhizopus oryzae KM25 แทนการใช้ลูกแป้ง เมื่อนำมาหมักแอลกอฮอล์ด้วยยีสต์ ได้แอลกอฮอล์สูงสุด 15.87 เปอร์เซ็นต์ gxHo9ho

งานวิจัยอื่นๆ จะเน้นไปในทางผลิตสาโทจากข้าวชนิดต่างๆ เช่น การผลิตไวน์ข้าวแดงโดยใช้ลูกแป้ง หรือการผลิตไวน์ข้าวเหนียวดำโดยการหมักด้วยเชื้อบริสุทธิ์ โดยใช้เชื้อรา Rhizopus sp. และ Saccharomyces sp. ซึ่งพบว่าไวน์ข้าวเหนียวดำที่หมักด้วยเชื้อ บริสุทธิ์มีปริมาณแอลกอฮอล์ 16.90%, total soluble solid 7.10 degree Brix, pH 3.79 และ total acidity 0.58% ส่วนไวน์ข้าวเหนียวดำที่หมักด้วยลูกแป้งเหล้ามีปริมาณแอล กอฮอล์ต่ำกว่า คือ 12.75%, total soluble solid 10.10 degree Brix, pH 3.55 และ total acidity 0.92% ผลจากการทดสอบทางประสาทสัมผัส ด้านสี กลิ่นรส และการยอมรับรวม พบว่าไม่มีความแตกต่างกัน ทางสถิติ (P>0.05) (วรรัตน์, 2539) สุนันทา (2538) ศึกษาการใช้ประโยชน์จากข้าวสำหรับการผลิตไวน์ข้าว โดยศึกษาถึงพันธุ์ข้าวที่เหมาะสมในการ ผลิตสาเก ข้าวที่นำมาใช้ศึกษา คือ ข้าวญี่ปุ่นที่ปลูกในไทย จำนวน 2 พันธุ์ (TCC7 และ TCC12) และข้าวไทยจำนวน 8 พันธุ์ (ได้แก่ กข6, ขาวดอกมะลิ 105,กข21,กข7, สุพรรณบุรี60,กข23, เหลืองประทิว123 และ กข19) จากการศึกษาปริมาณอมิโลสของข้าว ทั้ง 10 พันธุ์ พบว่ามีปริมาณที่ต่างกัน เมื่อนำข้าวทั้ง 10 พันธุ์ มาทำการหมักสาเกเป็นเวลานาน 21 วัน พบว่าปริมาณแอลกอฮอล์ขึ้นอยู่กับอมิโลส โดย ข้าวเหนียว กข6 และ

ข้าวอมิโลสต่ำ TCC7,TCC12,ขาวดอกมะลิ 105 และ กข21 จะให้ปริมาณแอลกอฮอล์สูง คือ 19.42,19.21,19.11,18.51 และ 18.41% (โดยปริมาตร) ตามลำดับ ส่วนข้าวอมิโลสสูง ได้แก่ เหลืองประทิว123 และ กข19 จะให้ ปริมาณแอลกอฮอล์ต่ำที่สุดคือ 16.85 และ 16.15% ตามลำดับ นอกจากนี้ ข้าวเหนียว และข้าวอมิโลสต่ำ จะให้ปริมาตรของสาเกสูงสุด เท่ากับ 1.40,1.39, 1.33, 1.34 และ 1.30 ลิตรต่อข้าวสาร 1 กิโลกรัม ตามลำดับ

4. น้ำตาลเมา และอุ

น้ำตาลเมาและอุมีผู้ศึกษากันน้อยที่สุด ในบรรดางานวิจัยที่เกี่ยวกับไวน์และสุราพื้นบ้านคิดเป็น 2 เปอร์เซ็นต์ ของงานวิจัยทั้งหมดที่เกี่ยวข้อง งานวิจัยที่ศึกษาส่วนใหญ่ศึกษาถึงยีสต์ที่เกี่ยวข้องกับการหมักและผลของไม้พะยอมและไม้มะเกลือที่มีต่อการหมัก เช่น การศึกษายีสต์ในน้ำตาลสด น้ำตาลเมา และการคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพสูงเพื่อการหมักอัลกอฮอล์ (ปราโมทย์, 2521) มีผู้ทดลองเติมรากมะเกลือในระหว่างการหมักแอลกอฮอล์จากน้ำเชื่อมของน้ำตาลทรายขาวและน้ำตาลโตนด พบว่าการเติมรากมะเกลือจะมีผลช่วยในระยะสุดท้ายของการหมักทำให้ยีสต์หมักน้ำตาลต่อไปได้โดยไม่หยุดชะงัก (ณรงค์ และคณะ, 2530) ในการศึกษาของ อารี (2546) รายงานว่าจุลินทรีย์ที่พบระหว่างกระบวนการหมักน้ำตาลเมาได้แก่ ยีสต์ K. japonica, S. cerevisiae, C. tropicalis และ C. colliculosa (S. chevalieri) แบคทีเรียในกลุ่ม Acetic acid Bacteria 2 สายพันธุ์ และรายงานว่าไม้พะยอมและไม้มะเกลือส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลสดที่ต่างกัน โดยไม้พะยอมจะช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการบูดเปรี้ยว เนื่องจากแทนนินในไม้พะยอมส่งผลต่อผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวก และไม้มะเกลือช่วยเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ และหากใช้ร่วมกันไม้พะยอมจะช่วยให้น้ำตาลเมาใสขึ้นและมีความเป็นกรดลดลง (ไม้มะเกลืออาจมี growth factor ซึ่งมีความจำเพาะต่อจุลินทรีย์บางชนิดหรือมีสารบางชนิดที่ส่งผลต่อการสร้างกรด) สำหรับงานวิจัยที่เกี่ยวกับอุนั้นยังไม่มีรายงานวิจัยเผยแพร่ จากการสืบค้นมีเพียงโครงการวิจัย 1 โครงการซึ่งคาดว่าผู้วิจัยกำลังดำเนินการอยู่ รายละเอียดของโครงการได้กล่าวถึงการพัฒนาอุให้ได้มาตรฐานการผลิต ทั้งอุณหภูมิการหมักระดับต่างๆ ความสะอาด รสชาติ อายุ สมุนไพรที่ใช้ในการผลิตเหล้าไห (อุ) เพื่อสนองตอบนโยบายและกฎหมายคุ้มครองผู้บริโภค โดยใช้หลัก GHP ให้ได้กฎหมายที่รัฐบาลมีนโยบายส่งเสริม

5. การผลิตแอลกอฮอล์และสุรา

การผลิตแอลกอฮอล์ ยีสต์เป็นตัวการสำคัญในการเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นแอลกอฮอล์และสร้างกลิ่นรสในผลิตภัณฑ์ ปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้มีความสัมพันธ์กับสายพันธุ์ของยีสต์ ซึ่งแตกต่างกันไป ดังนั้นการคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพในการหมักจึงมีความจำเป็นอย่างมาก โดยยีสต์ที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมได้แก่ Saccharomyces cerevisiae ส่วนวัตถุดิบที่นักวิจัยนิยมศึกษากันมาก ได้แก่ กากน้ำตาล น้ำอ้อย ข้าว และ มันสำปะหลัง งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการผลิตแอลกอฮอล์และสุรา สามารถจำแนกได้หลายประเภทดังนี้

1) การคัดเลือกยีสต์จากแหล่งต่างๆ สำหรับใช้หมักแอลกอฮอล์

อรุณ (2499) รายงานว่า Saccharomyces cerevisiae Sc-90 ที่แยกจากกากน้ำตาลเมื่อนำมาหมักแอลกอฮอล์โดยเปรียบเทียบกับสายพันธุ์อื่นๆ พบว่า Sc-90 มีความสามารถเป็นเยี่ยมที่สุด (ปัจจุบันนี้โรงงานสุราส่วนใหญ่ใช้ยีสต์สายพันธุ์นี้) ต่อมา บุญเทียม (2523) คัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์ เพื่อใช้หมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลและน้ำอ้อย พบว่า บางไอโซเลทหมักแอลกอฮอล์ได้ใกล้เคียงกับ Sc-90 และมีคุณสมบัติตกตะกอนได้ดี บางไอโซเลทเจริญได้ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส (จำแนกได้เป็น S. cerevisiae) และ 45 องศาเซลเซียส (จำแนกได้เป็น Kluyveromyces marxianus, ประสิทธิภาพการหมักต่ำ) และรายงานว่าการหมักแอลกอฮอล์จากน้ำอ้อยจะเร็วกว่าการหมักจากกากน้ำตาลผสมน้ำอ้อยและกากน้ำตาลเพียงอย่างเดียว ตามลำดับ สมศรี (2524) รายงานว่าสามารถคัดเลือกยีสต์ยีสต์ที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเอทธิลแอลกอฮอล์จากน้ำอ้อยได้ ส่วน จรูญ และคณะ (2526) รายงานว่าสามารถคัดเลือกยีสต์สายพันธุ์ใหม่ที่หมักได้ดีที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และทนกรดได้ดีกว่ายีสต์ทั่วไป โดยหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลได้สูงถึง 14 ดีกรี ภายใน 2 วัน การค้นพบยีสต์สายพันธุ์นี้สามารถช่วยลดต้นทุนการผลิตและปริมาณน้ำเสียได้มาก

2) การสร้างยีสต์ลูกผสมโดยการทำโปรโตพลาสฟิวชั่น

ความรู้ทางพันธุศาสตร์และวิศวกรรมพันธุศาสตร์เป็นเครื่องมือสำคัญ ที่นักวิจัยไทยให้ความสนใจในการนำมาใช้ปรับปรุงสายพันธุ์ยีสต์สำหรับใช้หมักแอลกอฮอล์จากวัตถุดิบทางการเกษตร เช่น สาวิตรี และคณะ (2529) ได้สร้างยีสต์ลูกผสมระหว่างยีสต์ที่ผลิตแอลกอฮอล์ได้สูงและยีสต์ทนกรดได้ โดยการทำโปรโตพลาสฟิวชั่น เช่นเดียวกับ สุรินทร์ และคณะ (2531), สิรินทร์ และคณะ (2532) ก็รายงานว่าสามารถสร้างลูกผสมที่ผลิตแอลกอฮอล์ได้สูงให้ทนกรดได้ โดยการทำโปรโตพลาสฟิวชั่นเช่นกัน คุณสมบัติอื่นที่นักวิจัยให้ความสนใจ เช่น การสร้างยีสต์ลูกผสมที่สามารถตกตะกอนได้ดีและผลิตแอลกอฮอล์ได้สูงโดยการทำโปรโตพลาสฟิวชั่น ลูกผสมที่ได้ (AM12) ผลิตแอลกอฮอล์ได้สูง 16.3 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) และแสดงความสามารถตกตะกอนได้ดี (สาวิตรี และคณะ, 2529) โดยปัจจัยที่ทำให้ยีสต์ดังกล่าวตกตะกอนในระหว่างการเจริญ คือ เอธานอล แต่แอลกอฮอล์บางชนิด เช่น isopropanol, n-propanol, n-butanol หรือ n-amyl alcohol ไม่ชักนำให้เชื้อ AM12 ตกตะกอน แต่ในอาหารที่มีน้ำตาลฟรุคโตสและกลูโคสที่ความเข้มข้นสูงๆ (50 กรัมต่อลิตร) ยีสต์จะเกิดการตกตะกอนได้ดี ส่วนอาหารที่มีพีเอชต่ำกว่า 3.0 การตกตะกอนที่ถูกชักนำให้เกิดขึ้นโดยเอธานอลจะน้อยลง (ประพันธ์ , 2531) นอกจากนี้ นงพงา และคณะ (2532) รายงานว่าสามารถทำโปรโตพลาสฟิวชั่นระหว่างยีสต์ทนเค็มและยีสต์ผลิตเอธานอลได้สูง ลูกผสมที่ได้ (TA73) สามารถหมักแอลกอฮอล์ได้ 7.64 เปอร์เซ็นต์ เมื่อลี้ยงในกากน้ำตาลที่เติม NaCl 3 เปอร์เซ็นต์

3) การผลิตแอลกอฮอล์และสุราจากวัตถุดิบทางการเกษตร

วัตถุดิบในท้องถิ่นหลายชนิดสามารถนำมาใช้ในการหมักแอลกอฮอล์ได้ เช่น ปลายข้าวเหนียว น้ำตาลมะพร้าว น้ำอ้อย กากน้ำตาล น้ำจากต้นข้าวฟ่างหวาน ข้างฟ่างดิบ ข้าวฟ่างหวาน ข้าวโพด มันเส้น มันสำปะหลัง มันสำปะหลังดิบ เป็นต้น (ธาดา, 2523; ลาวัณย์ และคณะ, 2526; สมบูรณ์, 2526; สุวัฒนา และชอุ่ม, 2526; พูนสุข และคณะ, 2528; บุญเทียม, 2528; ลาวัณย์ และคณะ, 2529; สมควร และ พร

ทิพย์, 2529; มาลัย และคณะ, 2530; ไพบูลย์ และคณะ, 2530; พิสัย, 2530) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าสามารถผลิตแอลกอฮอล์จากเปลือกกล้วยสุก 3 ชนิด ได้แก่ เปลือกกล้วยไข่เปลือกกล้วยหอมและเปลือกกล้วยน้ำว้า เมื่อหมักสมบูรณ์และนำไปกลั่น วัดเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ ได้เท่ากับ 2.25 เปอร์เซ็นต์, 1.75 เปอร์เซ็นต์ และ 2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ฐิติรัตน์ และ วิมล, 2526)

4) การพัฒนาวิธีการผลิต และการเพิ่มประสิทธิภาพกระบวนการหมัก

จากสภาพปัญหาเกิดการปนเปื้อนของแบคทีเรีย และสภาวะการหมักที่ไม่เหมาะสมส่งผลเสียต่อการหมักแอลกอฮอล์อย่างรุนแรง โดยเฉพาะการหมักจากกากน้ำตาลทำให้นักวิจัยไทยกรีฑาทัพกันศึกษาวิจัยแก้ปัญหาดังกล่าว ในช่วงเพียงไม้กี่ปีมีงานวิจัยที่ศึกษาปัญหาดังกล่าวประมาณ 45 งานวิจัย ภายใต้วัตถุประสงค์เดียวกัน คือ แก้ปัญหาการหมักที่ด้อยประสิทธิภาพ และยกระดับผลผลิตแอลกอฮอล์ให้เพิ่มมากขึ้น ปัญหาผลผลิตตกต่ำของโรงงานแอลกอฮอล์และสุราในประเทศไทย มีสาเหตุมาจากการปนเปื้อนของ lactic acid bacteria ในกากน้ำตาล อุณหภูมิในถังหมักสูง และปัญหาน้ำทิ้ง (จรูญ และคณะ, 2530) โดยต้นเหตุสำคัญของการปนเปื้อนของแบคทีเรีย เกิดจากกากน้ำตาลที่ใช้ทำการหมักไม่มีการฆ่าเชื้อกากน้ำตาลก่อนการหมัก ประกอบกับการเก็บกากน้ำตาลในถังเก็บของโรงงานไม่มีการล้างทำความสะอาดติดต่อกันนับสิบปี แบคทีเรียจึงมีโอกาสปรับตัวเป็นเวลานานและเจริญสะสมอยู่ในกากน้ำตาลเก่าค้างปี โดยตรวจวัดปริมาณแบคทีเรียได้ 5.0×107 – 2.1× 108 เซลล์/มิลลิลิตร (ปราโมทย์ และคณะ, 2526) และพบว่าแบคที่เรียที่มีบทบาทในการหมักแอลกอฮอล์โดยทำหน้าที่สร้างกรดในปริมาณสูง ทำให้ผลผลิตของแอลกอฮอล์จากยีสต์ Sc-90 ต่ำลงคือ Lactobacillus (ณัฐดิษฐ์, 2527) ต่อมาเริ่มมีการศึกษานำสารสกัดจากเปลือกไม้เคี่ยมมาใช้ในการยับยั้งเชื้อยีสต์และแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในการหมักแอลกอออล์จากกากน้ำตาล พบว่าส่วนประกอบของสารสกัดจากเปลือกไม้เคี่ยมมีแทนนิน เป็นส่วนประกอบหลักและมีประสิทธิภาพในการยั้บยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีกว่าเชื้อยีสต์ โดยเฉพาะแบคทีเรียกลุ่มที่มีรูปร่างกลมอยู่เป็นคู่ แกรมบวก และสร้างกรดได้ (วราวุฒิ และคณะ, 2530) การแก้ไขปัญหาการเจริญของแบคทีเรียที่ติดมากับกากน้ำตาลและน้ำระหว่างการหมักโดยใช้เทคโนโลยีกระบวนการหมัก พบว่าวิธีการที่ดีและเหมาะสมที่สุดคือ การดัดแปลงวิธีการหมักแบบ Fed batch แบบธรรมดาเป็นแบบเพิ่มปริมาตรขึ้นเป็นทวีคูณ ซึ่งจะช่วยชะลอการเจริญของแบคทีเรียได้ และสามารถแก้ปัญหาการหมักหยุดชะงักจากความเข้มข้นของน้ำตาลที่มากเกินไปได้ (ปราโมทย์ และคณะ 2527)

การเพิ่มประสิทธิภาพการหมักก็เป็นโจทย์วิจัยที่ศึกษากันมาก เช่น จรูญ และคณะ (2526) ได้ใช้รำ 0.05 เปอร์เซ็นต์ ในการป้องกันและกำจัดฟองในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่เติมปุ๋ยแอมโมเนียมซัลเฟต 0.05 เปอร์เซ็นต์ พบว่าทำให้การหมักเร็วขึ้น และหมักแอลกอฮอล์ได้สูงกว่าเมื่อไม่เติมรำ สมศรี และคณะ (2531) ใช้วิธีเจือจางกากน้ำตาลด้วยน้ำมะพร้าวแทนการเจือจางด้วยน้ำและเติมสารอาหาร พบว่า ได้ปริมาณแอลกอฮอล์ใกล้เคียงกับวิธีแบบเดิม โดยประสิทธิภาพในการเพิ่มปริมาณเอธานอลขึ้นอยู่กับสภาวะที่เหมาะสมในการหมัก คือ ที่ปริมาณกล้าเชื้อ 5 เปอร์เซ็นต์ ความเร็วรอบของการเขย่า 100 รอบต่อนาที เวลาการหมัก 24 ชั่วโมง ส่วนสภาพการหมักที่มีต่อประสิทธิภาพการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล ได้แก่ ปริมาณกล้าเชื้อ อุณหภูมิขณะหมัก ความเข้มข้นของน้ำตาล และการ

ปรับพีเอชกากน้ำตาล (ปราโมทย์ และคณะ, 2530) อุทัย และ สุรีย์ (2531) ศึกษาการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์อย่างต่อเนื่อง เพื่อให้มีปริมาณเอธานอลตามต้องการ พบว่าต้องศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณเซล์ตรึงที่ใช้, ความเข้มข้นของสับสเตรท, และอัตราการไหลผ่านของสับเสตรทให้เหมาะสม

ชูศรี (2530), จุไรลักษณ์ (2530) และ กัลทิมา (2535) รายงานว่านอกจากยีสต์แล้วสามารถใช้แบคทีเรีย Zymomonas sp.ในการผลิตแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล และน้ำอ้อยได้ โดยในการหมักแอลกอฮอล์จากน้ำอ้อยด้วยเชื้อแบคทีเรีย Zymomonas sp. ที่อุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียส มีน้ำตาล 15 เปอร์เซ็นต์ และมีพีเอช 5.2 ไม่จำเป็นต้องเติมสารอาหารใดๆ และการนึ่งน้ำอ้อยที่ 70 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที เป็นวิธีที่ดีและให้ปริมาณแอลกอฮอล์สูงสุด (ศุภนิตย์ และคณะ, 2530) ส่วนการเตรียมน้ำอ้อยสำหรับหมักแอลกอฮอล์โดยยีสต์นั้น พบว่าการฆ่าเชื้อโดยวิธี ต้มเดือดนาน 20 นาที เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อที่ดีกว่า และได้แอลกอฮอล์สูงกว่า การฆ่าเชื้อโดยการนึ่งที่ความดัน 15 ปอนด์ นาน 15 นาที, การเติม KMS 200 ppm และ การนึ่งที่ 70 องศาเซลเซียส นาน 20 และน้ำอ้อยที่ไม่ได้ฆ่าเชื้อ (ศุภนิตย์ และคณะ, 2526)

<u>6. เบียร์และเครื่องดื่มชนิดอื่น</u>

งานวิจัยกลุ่มนี้เป็นการศึกษาเกี่ยวกับเครื่องแอลกอฮอล์ชนิดอื่นที่นอกเหนือไปจาก ไวน์ และสุราพื้นบ้าน ส่วนใหญ่ได้แก่ เบียร์ เช่น การตรึงรูปยีสต์ทำเบียร์ที่มีอินเวอร์เทสบนทราย (กาญจนา, 2533), การศึกษาเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพไนลอนโปรติเอสตรึงรูปสำหรับป้องกันการเกิดตะกอนในเบียร์ (ประพันธ์, 2534), การหมักเบียร์โดยใช้เซลล์ยีสต์ตรึงรูปด้วยไคโตแซน (อัจฉรีย์, 2543), การศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้มอลต์ข้าวไทย SPR60 ผลิตเบียร์ (ยุพกนิษฐ์, 2545) เป็นต้น ส่วนเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ชนิดอื่นที่มีการศึกษา เช่น การผลิตมอลท์วิสกี้จากธัญพืชที่ปลูกในประเทศไทย(ชรินทร์, 2542), การผลิตบรั่นดีมะขาม (ชาญณรงค์, 2543), การผลิตสุรากลั่นจากมะม่วงแก้ว (ไพบูลย์ และคณะ,2543) การผลิตสปาร์คลิงไวน์จากไวน์หม่อน (อธิชิต และคณะ, 2545) และการผลิตไซเดอร์สับปะรด (กรมวิทยาศาสตร์) เป็นต้น

<u>7. งานวิจัยสาขาเศรฐศาสตร์ สังคมศาสตร์ และ สุขภาพ</u>

งานวิจัยประเภทนี้จะเป็นงานวิจัยในสาขาอื่นที่ไม่ใช่สาขาวิทยาศาสตร์ ได้แก่ สาขาเศรษฐศาสตร์ สังคมศาสตร์ และ งานวิจัยที่เกี่ยวกับสุขภาพ แต่มีความเกี่ยวข้องกับไวน์และสุราพื้นบ้าน คิดเป็น 16.5 เปอร์เซ็นต์ จากงานวิจัยทั้งหมดที่สืบค้นได้ ตัวอย่างงานวิจัยในสาขาเศรษฐศาสตร์ เช่น การประเมินราคาต้นทุนการผลิตแอลกอฮอล์จากวัสดุเกษตร (ประดิษฐ์ และคณะ, 2530), การศึกษาโครงสร้างตลาดและปัจจัยที่มีผลต่ออุปสงค์ของเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ในประเทศไทย (ไพจิตต์,2544), ผลกระทบของภาษีต่ออุปสงค์สุราผลไม้ไทยและสุราผลไม้ต่างประเทศ (พรรณนภา , 2544) เป็นต้น งานวิจัยในสาขาสังคมศาสตร์ เช่น สุราในสังคมไทย : ผลการศึกษาโครงการศึกษาปัญหาที่เกี่ยวข้องกับการบริโภคเครื่องดื่มแอลกอฮอล์เพื่อหามาตรการทางเลือกป้องกันและแก้ไข (อดิศวร์ และคณะ, 2544) และ ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อพฤติกรรมการป้องกันตนเองจากการดื่มสุราของนิสิตชายในหอพักมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (นันท์ธิยา, 2545) เป็นต้น สำหรับตัวอย่างงานวิจัยที่เกี่ยวกับสุขภาพของผู้บริโภค เช่น ผลของสุราและ

เบียร์บางชนิดต่อการทำงานของไตในหนู (ธนูศร, 2530) เป็นต้น จากการสืบค้นงานวิจัยทั้งหมดที่เกี่ยวข้องกับไวน์ แอลกอฮอล์ และสุราพื้นบ้าน ตั้งแต่ปี 2499 จนถึงปี 2546 รวมระยะเวลา 47 ปี พบงานวิจัยที่เกี่ยวข้องทั้งสิ้น 290 งานวิจัย คิดโดยเฉลี่ยต่อปีมีงานวิจัยเผยแพร่ 6 งานวิจัย สำหรับสัดส่วนของประเภทงานวิจัยเหล่านี้ แสดงดังตาราง ที่ 1 โดยประเภทงานวิจัยที่มีการศึกษากันมากที่สุดคือ แอลกอฮอล์และสุรากลั่น คิดเป็น 36.2 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ งานวิจัยที่เกี่ยวกับไวน์และไวน์ผลไม้, งานวิจัยในสาขาเศรษฐศาสตร์ สังคม และสุขภาพ, ลูกแป้ง และจุลินทรีย์ในลูกแป้ง, สาโท และไวน์ข้าว, เบียร์และเครื่องดื่มชนิดอื่น และงานวิจัยที่เกี่ยวกับน้ำตาลเมา และอุ คิดเป็น 23.2, 16.5, 12.4, 5.9, 3.8 และ 2.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในแต่ละประเภทมีการศึกษาในลักษณะที่คล้ายคลึงกันหลายๆ งานวิจัยทำให้เกิดการวิจัยที่ซ้ำซ้อนกัน โดยไม่เกิดโจทย์วิจัยใหม่ๆขึ้น เช่น ในงานวิจัยประเภทลูกแป้ง และจุลินทรีย์ในลูกแป้งมีการศึกษา การแยก การจำแนก และการคัดเลือกเชื้อราและยีสต์มากถึง 14 งานวิจัย ในขณะที่งานวิจัยต่อยอดมีการศึกษากันน้อยมาก เช่น การศึกษาคุณสมบัติการหมักของยีสต์และรา มีเพียง 2 งานวิจัย หรือ การทำลูกแป้งจากเชื้อราและยีสต์บริสุทธิ์ จากการสืบค้นมี 4 งานวิจัย 1 งานวิจัยเป็นการทำลูกแป้งสำหรับใช้หมักแอลกอฮอล์จากข้าว ส่วนที่เหลือเป็นการผลิตลูกแป้งน้ำส้มสายชูจากเชื้อบริสุทธิ์ จากข้อมูลดังกล่าวทำให้เราสามารถรู้ทิศทางของการวิจัยด้านนี้ และทราบถึงจุดด้อยของงานวิจัยไทย ซึ่งยังมีค่านิยมในการวิจัยแบบ ย.ย.ก.ท. (ย่ำอยู่กับที่) ดังนั้นหากมีการศึกษาในโจทย์วิจัยใหม่ๆ ที่หลากหลายและนำไปประยุกต์ใช้ในระดับชุมชนอย่างจริงจัง จะทำให้สามารถพัฒนาอุตสาหกรรมเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ของไทยเราให้ทัดเทียมกับไวน์และสาเกของต่างชาติได้