วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี USU. YRU Journal of Science and Technology
Print ISSN: 2539-5688, e-ISSN: 2672-9873

การผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากข้าวเหนียวโดยใช้เชื้อ *Acetobacter pasteurianus* TISTR 102

Glutinous rice Fermented Vinegar Production from *Acetobacter pasteurianus* TISTR 102

ประภาพันธ์ ศิริขันธ์แสง* เจษฎากร เกิดลาภ และวรรณวิมล นุกาศรัมย์
Prapaparn Sirikhansaeng*, Jetsadakorn koedlap and Wanwimon nukadram

สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์ อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์ 31000
Biology Program, Faculty of Science, Buriram Rajabhat University, Muang, Buriram, 31000. Thailand
*Corresponding author, e-mail: prapaparn.sk@bru.ac.th
(Recieived: May 3, 2020; Revised: Jun 17, 2020; Accepted: Oct 14, 2020)

บทคัดย่อ

ข้าวสามารถเพิ่มมูลค่าได้ด้วยการนำมาหมักเป็นน้ำส้มสายชู อีกทั้งยังสามารถพัฒนาเป็นน้ำส้มสายชูเพื่อสุขภาพได้ จึงทำการวิจัยเพื่อศึกษาการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากสาโทข้าวเหนียว (*Oryza sativa* var. *glutinosa*) 3 สายพันธุ์โดยใช้เชื้อ *Acetobacter pasteurianus* TISTR 102 ที่แปรผันปริมาณเชื้อเป็น 5.00 10.00 และ 15.00 เปอร์เซ็นต์ (v/v) โดยทำการวิเคราะห์ตัวอย่างตัวอย่างละ 3 ซ้ำภายใต้สภาวะนิ่ง โดยอันดับแรกจะทำการผลิตสาโทจากข้าวเหนียว กข.6 ข้าวเหนียวดำ และข้าวเหนียวลืมผัวที่แปรผันปริมาณลูกแป้งเป็น 0.50 1.00 และ 2.00 เปอร์เซ็นต์ (w/w) ผลการศึกษาพบว่าปริมาณลูกแป้งที่ใช้สำหรับการผลิตสาโทจากข้าวเหนียวทั้ง 3 สายพันธุ์ที่ 0.50 เปอร์เซ็นต์ (w/w) จะผลิตแอลกอฮอล์ได้สูงที่สุดคือ 4.00 6.20 และ 11.30 เปอร์เซ็นต์ (v/v) จากสาโทข้าวเหนียว กข.6 สาโทข้าวเหนียวดำ และสาโทข้าวเหนียวลืมผัวตามลำดับ เมื่อนำสาโทมาผลิตน้ำส้มสายชูหมักผลการทดลองพบว่าปริมาณกรดกรดอะซิติกที่ได้จากการหมักที่แปรผันเชื้อเป็น 5.00 เปอร์เซ็นต์ (v/v) จากสาโทข้าวเหนียวดำและสาโทข้าวเหนียวลืมผัวมีปริมาณสูงที่สุดเท่ากับ 9.37±0.12 และ 9.53±0.07 กรัม/ลิตรตามลำดับ ในขณะที่สาโทจากข้าวเหนียว กข.6 จะให้ปริมาณกรดสูงที่สุดเท่ากับ 4.76±0.07 กรัม/ลิตร จากการแปรผันเชื้อ 15.00 เปอร์เซ็นต์ (v/v) แต่อย่างไรก็ตามเมื่อนำผลการผลิตน้ำส้มสายชูในทุกสภาวะจากสาโทข้าวเหนียวทั้ง 3 สายพันธุ์ไปทำการทดสอบทางสถิติพบว่ามีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (p<0.05)

คำสำคัญ : น้ำส้มสายชูหมัก ข้าวเหนียว กข.6 ข้าวเหนียวดำ ข้าวเหนียวลืมผัว *A. pasteurianus* TISTR 102

Abstract

Value addition of rice can be processed through vinegar fermentation. Healthy vinegar can be developed as well. Therefore, this research was to study rice vinegar fermentation from glutinous rice (*Oryza sativa* var. *glutinosa*) wine (Sato) at various inoculation sizes of 5.00 10.00 and 15.00% (v/v) by analyzing the sample repeated 3 times under steady state conditions. A primary objective of the study sought to investigate Sato production from glutinous rice RD.6, Black glutinous rice and Leum Pua glutinous rice by Long-pang at various concentrations of 0.50 1.00 and 2.00% (w/w). The findings revealed that the optimum concentration of Long-pang was 0.50% (w/w) resulting in the highest content of alcohol at 4.00 6.20 and 11.30% (v/v) of Sato from glutinous rice RD.6, Black glutinous rice, and Leum Pua glutinous rice, respectively. Vinegar fermentation from Black glutinous rice and Leum Pua glutinous rice indicated an optimum inoculum with a size of 5.00% (v/v) and with an acetic acid concentration of 9.37±0.12 and 9.53±0.07 g/l, respectively while the acetic acid concentration from glutinous rice RD.6 was 4.76±0.07 g/l with the inoculum size of 15.00% (v/v). Nevertheless, the acetic acid concentration of overall conditions from glutinous rice RD.6, Black glutinous rice, and Leum Pua glutinous rice are not different at the 95% statistically significant confidence level (p<0.05).

วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี USU. YRU Journal of Science and Technology ISSN : 2539-5688

Keywords: vinegar, glutinous rice RD.6, Black glutinous rice, Leum Pua glutinous rice, *A. pasteurianus* TISTR 102

บทนำ

ข้าวเหนียว (Glutinous rice หรือ Sticky rice) ชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Oryza sativa* var. *glutinosa* จัดอยู่ในวงศ์ Poaceae ข้าวสารของข้าวเหนียวจะมีสีขุ่น ในเมล็ดข้าวเหนียวจะมีสารพอลิแซ็กคาไรด์พวกอะไมโลเพกตินเป็นองค์ประกอบอยู่ถึง 95 เปอร์เซ็นต์ (Setyaningsih *et al*., 2015, p. 27) ทำให้เมล็ดข้าวเหนียวที่สุกแล้วมีความเหนียวนุ่ม จับตัวติดแน่น เหนียวติดมือ ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกข้าวเหนียวประมาณ 16.7 ล้านไร่ และมีผลผลิต 5-8 ล้านตัน (ข้าวเปลือก) โดยมีพื้นที่ปลูกข้าวเหนียวมากที่สุดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ซึ่งประชากรในภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือจะนิยมบริโภคข้าวเหนียวเป็นอาหารหลัก นอกจากนี้ยังมีการนำข้าวเหนียวมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตสุราพื้นบ้านและขนมขบเคี้ยว เช่น ข้าวเกรียบว่าว ข้าวแต๋น และแครกเกอร์ข้าวเหนียว เป็นต้น ข้าวเหนียว มี 2 ชนิด คือ ข้าวเหนียวขาวและข้าวเหนียวดำ ซึ่งการที่ข้าวเหนียวมีสีที่แตกต่างกันเกิดจากสีของเยื่อหุ้มเมล็ด ข้าวเหนียวมีสารอาหารที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพหลายชนิด ได้แก่ โปรตีน แร่ธาตุ และเส้นใย โดยเฉพาะในข้าวเหนียวดำจะมีสารแอนโทไซยานิน ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และสาร Oligomeric proanthocyanidin complexes (OPC) ที่มีสรรพคุณช่วยในการชะลอการแก่ก่อนวัย (Sattasuwan *et al*., 2010, p. 165; Boonsupa *et al*., 2017, p. 70; Sattaka, 2017, pp. 1464-1465)

น้ำส้มสายชูหมัก (Fermented vinegar) เป็นผลิตภัณฑ์ที่พบได้ทั่วไปในท้องตลาด และเป็นผลิตภัณฑ์ที่มนุษย์ใช้บริโภคกันมาเป็นเวลาช้านาน โดยใช้เป็นสารเติมแต่งรสชาติ หรือใช้เป็นสารกันเสียและสารถนอมอาหารในซอสหรือซอสมะเขือเทศ ซึ่งโดยทั่วไปน้ำส้มสายชูหมักจะมี 2 ชนิด คือ ไซเดอร์ และน้ำส้มสายชู โดยไซเดอร์เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักน้ำผลไม้ เช่น น้ำแอปเปิล ส่วนน้ำส้มสายชูเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักจากวัตถุดิบโดยตรง เช่น เมล็ดธัญพืช ข้าว ข้าวโพด แอปเปิล องุ่น หรืออ้อย เป็นต้น ซึ่งกระบวนการหมักน้ำส้มสายชูประกอบด้วยกระบวนการ 2 กระบวนการคือ 1) กระบวนการหมักแอลกอฮอล์โดยใช้เชื้อยีสต์ ในขั้นตอนนี้จะมีการเปลี่ยนน้ำตาลให้กลายเป็นแอลกอฮอล์ และ 2) กระบวนหมักกรดอะซิติก ซึ่งจะมีการเปลี่ยนแอลกอฮอล์ให้กลายเป็นกรดอะซิติก ขั้นตอนนี้จะใช้เชื้อแบคทีเรียในกลุ่มแบคทีเรียอะซิติก (Acetic acid bacteria) ซึ่งสามารถเจริญเติบโตได้ดีในสภาวะที่มีออกซิเจนและสภาวะความเป็นกรด-ด่าง (pH) อยู่ในช่วง 5.5-6.5 โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตอยู่ระหว่าง 25-30 องศาเซลเซียส โดยทั่วไปแบคทีเรียอะซิติกจะประกอบไปด้วยแบคทีเรียที่อยู่ในสกุล *Acetobacter* sp., *Gluconobacter* sp., *Gluconacetobacter* sp., *Acidomonas* sp., *Asaia* sp., *Kozakia* sp., *Swaminathania* sp., *Saccharibacter* sp., *Neoasaia* sp., *Granulibacter* sp., *Ameyamaea* sp., *Tantic haroenia*, *Neokomagataea* sp. และ *Komagataeibacter* sp. ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่สามารถพบได้ทั่วไปในธรรมชาติ โดยน้ำส้มสายชูหมักที่ได้จะมีกลิ่นหอมตามธรรมชาติของวัตถุดิบนั้น ๆ และมีปริมาณกรดน้ำส้มไม่น้อยกว่า 4 เปอร์เซ็นต์ แต่อย่างไรก็ตามการหมักน้ำส้มสายชูจากวัตถุดิบที่มีแป้งสูง เช่น มันสำปะหลัง ข้าวโพด และข้าว จะเป็นการหมักแบบ 3 ขั้นตอน คือ เชื้อราจะเปลี่ยนแป้งหรือคาร์โบไฮเดรตโมเลกุลใหญ่ให้เหมาะสมต่อการหมักแอลกอฮอล์ จากนั้นจึงมีการหมักแอลกอฮอล์โดยเชื้อยีสต์ แล้วจึงทำการหมักน้ำส้มสายชูด้วยแบคทีเรียกลุ่ม *Acetobacter* ปัจจุบันมีการบริโภคน้ำส้มสายชูหมักเป็นเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพโดยนำไปชงผสมกับน้ำผึ้งและน้ำอุ่น โดยพบว่าประโยชน์ของน้ำส้มสายชูหมักมีหลายด้าน เช่น ช่วยให้ระบบย่อยอาหารทำงานดีขึ้น ลดระดับไขมันและความดันโลหิต กระตุ้นความอยากอาหาร ป้องกันการอักเสบ โดยเฉพาะในน้ำส้มสายชูหมักจากข้าวจะมีความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยา Angiotensin converting enzyme (ACE) ในหลอดทดลอง ซึ่งจะส่งผลทำให้ความดันเลือดลดลง และนอกจากนี้ยังสามารถลดระดับไขมันในเลือด ความดันโลหิต และโรคหลอดเลือดหัวใจในหนูได้อีกด้วย (Lapa *et al*., 2011, p. 794; Saichana, 2015, p. 76; Boonsupa *et al*., 2017, p. 70; Ho *et al*., 2017, pp. 1622-1628; Chancharoonpong *et al*., 2018, p. 131) งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากข้าวเหนียว กข.6 ข้าวเหนียวดำ และข้าวเหนียวลืมผัวโดยใช้เชื้อแบคทีเรียผลิตกรดอะซิติก *A. pasteurianus* TISTR 102 เพื่อใช้ประโยชน์จากข้าวและเป็นการแปรรูปผลผลิตทางการเกษตรเพื่อเพิ่มมูลค่า และเพื่อพัฒนาเป็นน้ำส้มสายชูหมักเพื่อสุขภาพต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

ศึกษาการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากข้าวเหนียว กข.6 ข้าวเหนียวดำ และข้าวเหนียวลืมผัว โดยใช้เชื้อ *A. pasteurianus* TISTR 102

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การผลิตสาโทจากข้าวเหนียว กข.6 ข้าวเหนียวดำ และข้าวเหนียวลืมผัว

นำลูกแป้งที่ซื้อจากร้านค้าในจังหวัดสุรินทร์ไปบดให้ละเอียดแล้วนำไปชั่งโดยแปรผันลูกแป้ง 0.50 1.00 และ 2.00 เปอร์เซ็นต์ (w/w) (Nuanpeng, 2018, p. 606) จากนั้นจึงทำการหมักสาโทโดยนำข้าวเหนียวทั้งสามสายพันธุ์มาแช่น้ำทิ้งไว้ประมาณ 6-12 ชั่วโมง แล้วนำมานึ่งให้สุก เมื่อข้าวสุกให้นำไปผึ่งจนเย็นแล้วจึงนำไปล้างยางข้าวออกด้วยน้ำสะอาดจนหมดยางข้าว จากนั้นนำลูกแป้งที่เตรียมไว้มาโรยลงบนข้าวเหนียว โดยแปรผันลูกแป้งเป็น 3 สภาวะ คือ 0.50 1.00 และ 2.00 เปอร์เซ็นต์ ต่อข้าวเหนียว 1 กิโลกรัม คลุกเคล้าให้เข้ากัน นำไปบรรจุลงในถังหมัก เมื่อหมักจนถึงวันที่ 3 จึงเติมน้ำสะอาดต้มสุกที่เย็นแล้วลงไปในอัตราส่วนข้าวเหนียว 1 กิโลกรัมต่อน้ำ 1.5 ลิตร โดยค่อย ๆ รินน้ำต้มสุกลงในถังหมักเบา ๆ เพื่อไม่ให้ก้อนข้าวแตก ปิดฝาและหมักทิ้งไว้เป็นเวลา 7 วัน (รวมระยะเวลาทั้งสิ้น 10 วัน)

2. การวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีระหว่างการหมักสาโท

ในระหว่างกระบวนการหมักสาโทจะทำการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีดังนี้

2.1 วิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Total soluble solid, TSS)

วิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดโดยใช้ Hand refractometer โดยดูดตัวอย่างสาโทที่ต้องการวัดหยดลงบนแผ่นปริซึม 1-2 หยด ปิดฝาครอบ และอ่านค่าตรงระดับเส้นรอยต่อที่ตัดกับพื้นสีฟ้า

2.2 วิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)

วิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) โดยใช้ pH meter

2.3 วิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์

วิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์โดยใช้เครื่อง Ebulliometer โดยการหาจุดเดือดของน้ำกลั่นเปรียบเทียบกับจุดเดือดของสาโท (Saelim *et al*., 2011, p. 613)

2.4 วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี Somogyi-Nelson

วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยเตรียมสารละลาย Somogyi I สารละลาย Somogyi II และสารละลาย Nelson จากนั้นจึงเจือจางตัวอย่างสาโทแต่ละชนิดโดยใช้น้ำกลั่น ดูดสารตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง เติมสารละลายผสม Somogyi (Somogyi I : Somogyi II ในอัตราส่วน 4 ต่อ 1) 2 มิลลิลิตร และใช้น้ำกลั่นเป็น Blank ปิดปากหลอดทดลองด้วยลูกแก้วเพื่อลดการระเหยของน้ำ นำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำสารละลายที่ได้จากการต้มไปแช่ในอ่างน้ำแข็ง เติมสารละลาย Nelson ลงไป 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันโดยใช้เครื่องผสมสารละลาย (Vortex mixer) ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที เติมน้ำกลั่น 4 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร โดยเทียบกับ Blank อ่านค่าความเข้มข้นของกลูโคสจากกราฟมาตรฐาน (Glucose anhydrous) โดยทำตัวอย่างละ 2 ซ้ำ (Nelson, 1944, pp. 376-380; Somogyi, 1952, pp. 19-23)

3. การผลิตน้ำส้มสายชูหมัก

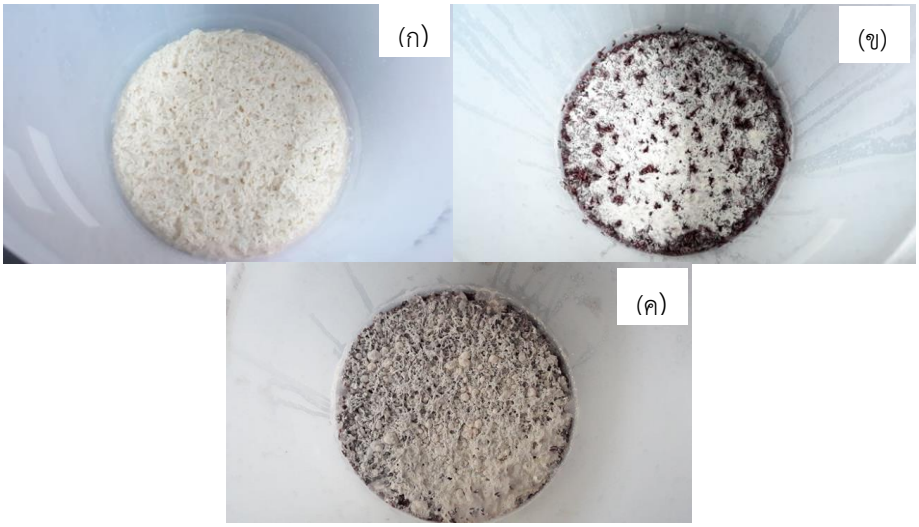
นำเชื้อแบคทีเรีย *A. pasteurianus* TISTR 102 มาเลี้ยงในอาหารเหลว Glucose yeast extract broth บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน (ดัดแปลงจาก Nuanpeng, 2018, p. 606) เมื่อเชื้อเจริญเติบโตเต็มที่จึงนำมาใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชูหมัก การหมักสาโทให้เป็นน้ำส้มสายชูจะนำสาโทที่มีปริมาณแอลกอฮอล์สูงที่สุดที่ได้จากกระบวนการหมักมาต้มที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำสาโทที่ผ่านการต้มปริมาตร 300 มิลลิลิตร ถ่ายลงขวด Laboratory bottle ขนาด 500 มิลลิลิตร เติมเชื้อแบคทีเรีย *A. pasteurianus* TISTR 102 โดยแปรผันปริมาณเชื้อเป็น 5.00 10.00 และ 15.00 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ทำการหมักที่สภาวะนิ่ง และเก็บตัวอย่างทุก ๆ 24 48 และ 72 ชั่วโมง ทำการวิเคราะห์ปริมาณกรดด้วยวิธีการไทเทรต (Nuanpeng, 2018, p. 606) แล้วจึงนำผลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้การทดสอบด้วยวิธีการ Duncan's multiple range tests (DMRT) ด้วยโปรแกรม SPSS version 15

วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี USU. YRU Journal of Science and Technology ISSN : 2539-5688

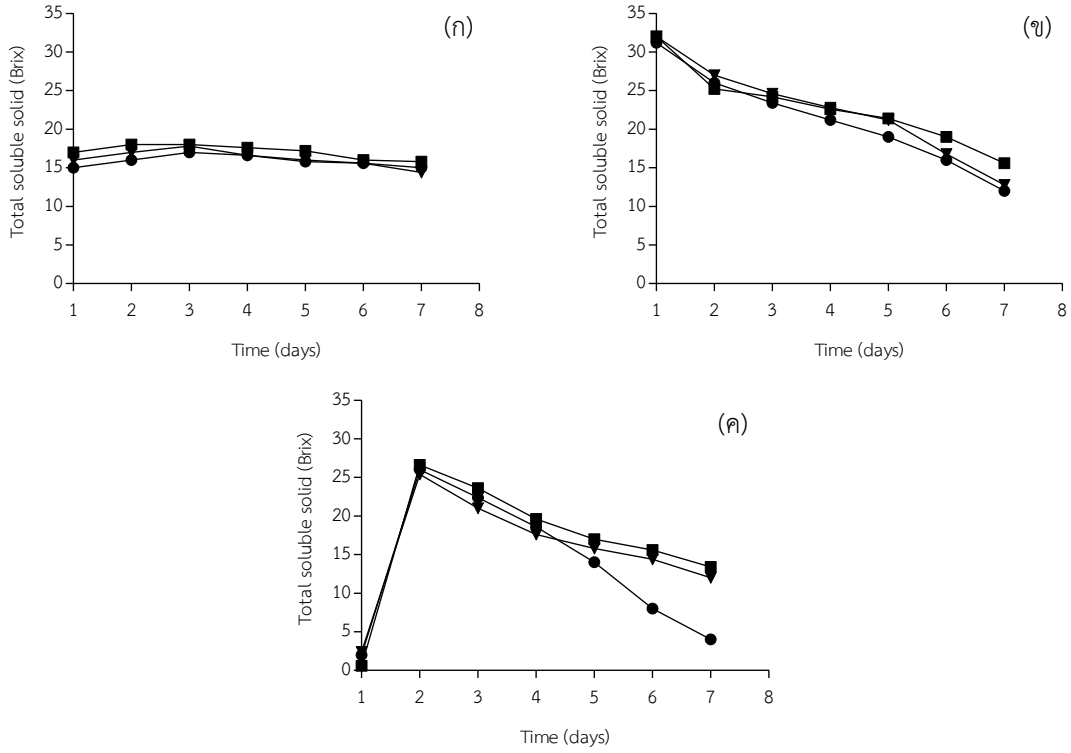
ผลและอภิปรายผลการวิจัย

1. การเปลี่ยนแปลงระหว่างกระบวนการผลิตสาโท

จากการผลิตสาโทข้าวเหนียวทั้ง 3 สายพันธุ์เป็นระยะเวลา 7 วัน โดยใช้ลูกแป้ง 0.50 1.00 และ 2.00 เปอร์เซ็นต์ (w/w) (ภาพที่ 1; ก-ค) พบว่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดมีค่าสูงในช่วงแรกของการหมัก เนื่องจากเชื้อราในกลุ่ม *Amylomyces* sp. *Mucor* sp. และ *Rhizopus* sp. (Chaijamrus & Mouthung, 2011, p.166) ที่อยู่ในลูกแป้งจะสร้างเอนไซม์อะไมโลไลติกย่อยแป้งให้กลายเป็นน้ำตาล (Kudpeng *et al*., 2016 as cited in Danvirutai & Laopaiboon, 2006, p. 12) จากนั้นจะลดลงตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลอง โดยในวันที่ 1 พบว่าสาโทข้าวเหนียว กข.6 ที่หมักด้วยลูกแป้ง 0.50 1.00 และ 2.00 เปอร์เซ็นต์ (w/w) มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ 15.00 17.00 และ 16.00 องศาบริกซ์ ตามลำดับ ในขณะที่สาโทข้าวเหนียวดำจะมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดมากกว่า คือ 31.20 32.00 และ 32.00 องศาบริกซ์ จากการหมักโดยใช้ลูกแป้ง 0.50 1.00 และ 2.00 เปอร์เซ็นต์ (w/w) ตามลำดับ (ภาพที่ 2) ส่วนสาโทข้าวเหนียวลืมผัวจะมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดสูงที่สุดในวันที่ 2 คือ 26.00 26.60 และ 25.40 องศาบริกซ์ จากการหมักโดยใช้ลูกแป้ง 0.50 1.00 และ 2.00 เปอร์เซ็นต์ (w/w) ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตามเมื่อสิ้นสุดการหมักในวันที่ 7 สาโทจากข้าวเหนียวทั้ง 3 สายพันธุ์จะมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดลดลง โดยในสาโทข้าวเหนียวลืมผัวที่หมักโดยใช้ลูกแป้ง 0.50 เปอร์เซ็นต์ (w/w) จะมีค่าน้อยที่สุด คือ 4.00 องศาบริกซ์ การวิเคราะห์ค่า pH ของสาโทพบว่าค่า pH ค่อนข้างคงที่ตลอดระยะเวลาที่ทำการหมัก ซึ่งสอดคล้องกับ Deesuth *et al*. (2010, p. 673) ที่ศึกษาการผลิตสาโทโดยใช้ *Rhizopus* sp. และยีสต์ผสมพบว่าค่า pH ค่อนข้างคงที่เช่นกัน และเมื่อสิ้นสุดการหมักพบว่าค่า pH ของสาโทข้าวเหนียวทั้ง3 สายพันธุ์มีค่าเท่ากับ 4.50 4.50 4.40 4.40 4.40 4.40 4.60 4.50 และ 4.40 ในสาโทข้าวเหนียว กข.6 สาโทข้าวเหนียวดำ และสาโทข้าวเหนียวลืมผัว (ภาพที่ 3) จากการหมักโดยใช้ลูกแป้ง 0.50 1.00 และ 2.00 เปอร์เซ็นต์ (w/w) ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตามในกระบวนการหมักสาโทค่า pH เป็นปัจจัยที่สำคัญที่ส่งผลต่อการหมัก โดยค่า pH ที่เหมาะสมต่อการหมักควรอยู่ในช่วง 2.8-3.8 ซึ่งจะเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อยีสต์ และเพื่อป้องกันไม่ให้เชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นเจริญเติบโต (Kudpeng *et al*., 2016, p. 377) ผลการวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ของสาโทข้าวเหนียวทั้ง 3 สายพันธุ์พบว่า ปริมาณแอลกอฮอล์จะเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องตลอดระยะเวลาที่ทำการหมัก (ภาพที่ 4; ก-ค) ซึ่งจะสอดคล้องกับการลดลงของปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ เนื่องจากมีการเปลี่ยนน้ำตาลให้กลายเป็นแอลกอฮอล์โดยเชื้อยีสต์ (Ho *et al*., 2017, p. 1622) ซึ่งจากการศึกษาพบว่าในลูกแป้งจะมีเชื้อยีสต์จำพวก *Saccharomyces cerevisiae, Saccharomycopsis fibuligera, Pichia anomala, P. burtonii, P. fabianii, P. Mexicana, P. heimii, Issatchenkia orientalis, Candida rhagii, C. glabrata, Torulaspora globosa, Rhodotorula philyla, Trichosporon asahii, T. delbrueckii* (Chaijamrus & Mouthung, 2011 as cited in Limtong *et al*., 2002, pp. 152-155) โดยผลการทดลองพบว่าลูกแป้งที่ใช้สำหรับการผลิตสาโทจากข้าวเหนียวทั้ง 3 สายพันธุ์ที่ 0.50 เปอร์เซ็นต์ (w/w) จะผลิตแอลกอฮอล์ได้สูงที่สุด คือ 4.00 6.20 และ 11.30 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ในสาโทสาโทข้าวเหนียว กข.6 สาโทข้าวเหนียวดำ และสาโทข้าวเหนียวลืมผัวตามลำดับ และเมื่อสิ้นสุดการทดลองในวันที่ 7 พบว่าปริมาณแอลกอฮอล์ของสาโทข้าวเหนียวดำและสาโทข้าวเหนียวลืมผัวมีค่าเท่ากับ 6.20 5.30 6.00 11.3 5.40 และ 5.40 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรจากการใช้ลูกแป้ง 0.50 1.00 และ 2.00 เปอร์เซ็นต์ (w/w) ตามลำดับ ส่วนปริมาณแอลกอฮอล์ของสาโทข้าวเหนียว กข.6 มีค่าน้อยที่สุด คือ 4.00 3.70 และ 4.00 เปอร์เซ็นต์ (v/v) จากการใช้ลูกแป้ง 0.50 1.00 และ 2.00 เปอร์เซ็นต์ (w/w) ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณลูกแป้งที่ใช้ทั้ง 3 สภาวะในการหมักสาโทจากข้าวเหนียวแต่ละสายพันธุ์ไม่มีผลต่อปริมาณแอลกอฮอล์เนื่องจากเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักปริมาณแอลกอฮอล์จะมีค่าค่อนข้างใกล้เคียงกัน ดังจะเห็นได้จากผลการทดลองของสาโทข้าวเหนียว กข.6 และสาโทข้าวเหนียวดำ การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์พบว่าจะสอดคล้องกับปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดและปริมาณแอลกอฮอล์ คือปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดจะลดลง ในขณะที่ปริมาณแอลกอฮอล์จะเพิ่มขึ้น โดยเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักในวันที่ 7 พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในสาโทข้าวเหนียว กข.6 สาโทข้าวเหนียวดำและสาโทข้าวเหนียวลืมผัวมีค่าเท่ากับ 42.05±0.82 132.09±4.93 และ 64.65±11.51 กรัม/ลิตรตามลำดับจากการใช้ลูกแป้ง 0.50 เปอร์เซ็นต์ (w/w)

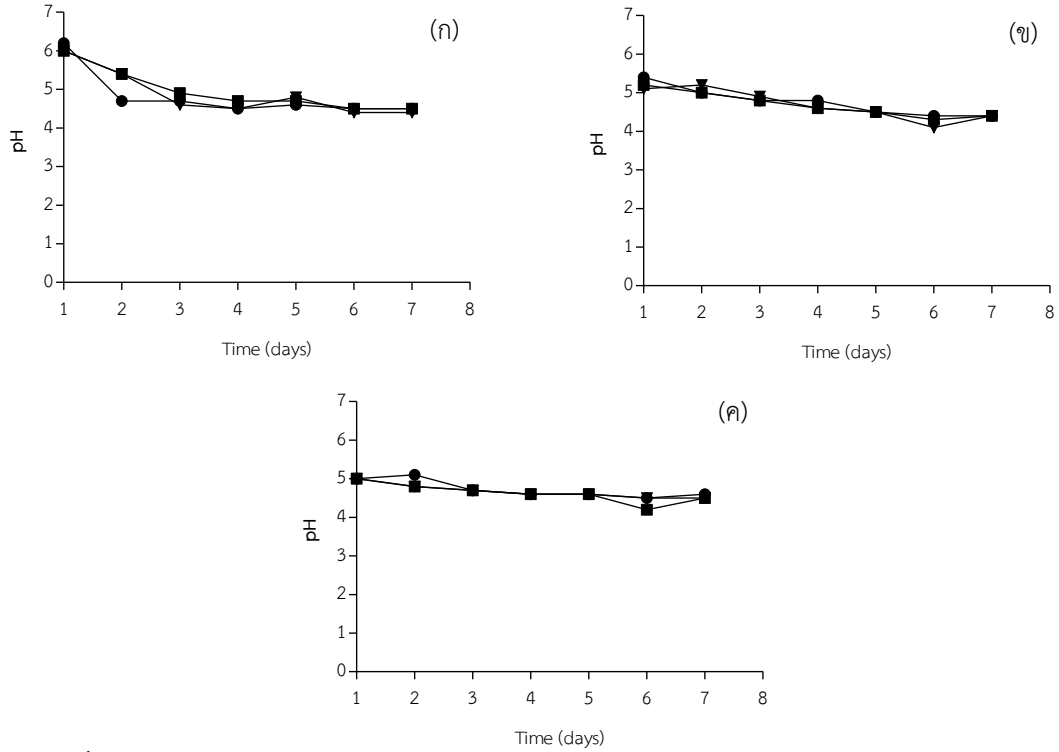


ภาพที่ 1 การหมักสาโทจาก (ก) ข้าวเหนียว กข.6, (ข) ข้าวเหนียวดำ และ (ค) ข้าวเหนียวลืมผัว

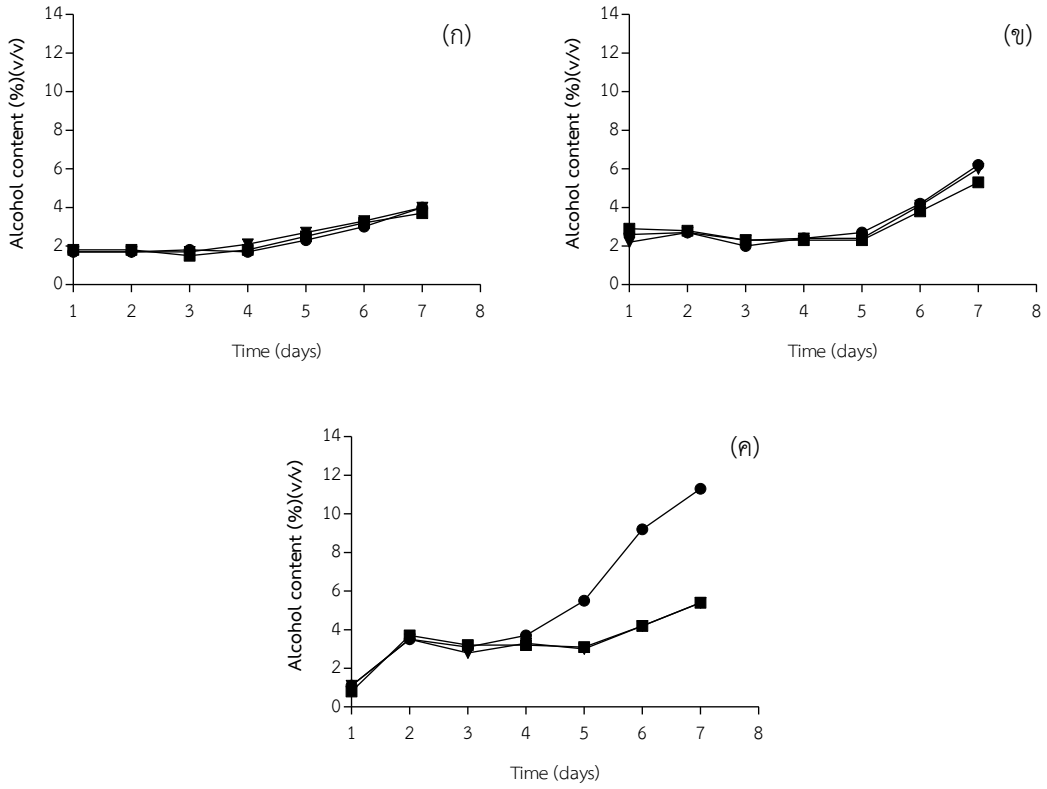


ภาพที่ 2 แสดงปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของสาโท (ก) ข้าวเหนียว กข.6, (ข) ข้าวเหนียวดำ และ (ค) ข้าวเหนียวลืมผัว โดยที่ (●) ลูกแป้ง 0.50 เปอร์เซ็นต์ (w/w); (■) ลูกแป้ง 1.00 เปอร์เซ็นต์ (w/w) และ (▼) ลูกแป้ง 2.00 เปอร์เซ็นต์ (w/w)

วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี YRU Journal of Science and Technology ISSN : 2539-5688



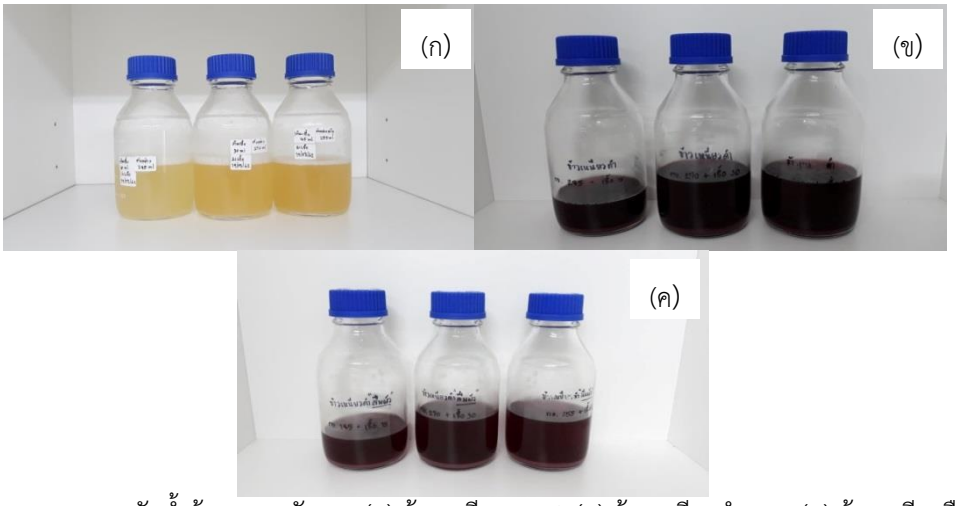
ภาพที่ 3 แสดงค่า pH ของของสาโท (ก) ข้าวเหนียว กข.6, (ข) ข้าวเหนียวดำ และ (ค) ข้าวเหนียวลืมผัว โดยที่ (●) ลูกแป้ง 0.50 เปอร์เซ็นต์ (w/w); (■) ลูกแป้ง 1.00 เปอร์เซ็นต์ (w/w) และ (▼) ลูกแป้ง 2.00 เปอร์เซ็นต์ (w/w)



ภาพที่ 4 แสดงปริมาณแอลกอฮอล์ของสาโท (ก) ข้าวเหนียว กข.6, (ข) ข้าวเหนียวดำ และ (ค) ข้าวเหนียวลืมผัว โดยที่ (●) ลูกแป้ง 0.50 เปอร์เซ็นต์ (w/w); (■) ลูกแป้ง 1.00 เปอร์เซ็นต์ (w/w) และ (▼) ลูกแป้ง 2.00 เปอร์เซ็นต์ (w/w)

2. การเปลี่ยนแปลงระหว่างกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมัก

การผลิตน้ำส้มสายชูหมักได้จากการนำสาโทที่มีปริมาณแอลกอฮอล์สูงที่สุดจากกระบวนการหมักที่แปรผันปริมาณลูกแป้งเป็น 0.5 เปอร์เซ็นต์ (w/w) ในแต่ละสายพันธุ์มาใช้ในการหมัก จากนั้นจึงเติมกล้าเชื้อ *A. pasteurianus* TISTR 102 ที่แปรผันเป็น 5.00 10.00 และ 15.00 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ลงไปในสาโทแล้วทำการหมักในสภาวะนิ่ง จากนั้นเก็บตัวอย่างทุก ๆ 24 48 และ72 ชั่วโมง (ภาพที่ 5; ก-ค) ในระหว่างกระบวนการหมักทำการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะซิติก ผลการทดลองพบว่าปริมาณกรดอะซิติกในข้าวเหนียวลืมผัวมีค่าสูงที่สุดเท่ากับ 9.53±0.07 กรัม/ลิตร โดยได้จากการแปรผันเชื้อที่ 5.00 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณแอลกอฮอล์จากการผลิตสาโทที่พบว่ามีค่าสูงที่สุดเช่นเดียวกัน การผลิตกรดอะซิติกเกิดจากเชื้อ *A. pasteurianus* TISTR 102 จะมีการเปลี่ยนแอลกอฮอล์ให้กลายไปเป็นกรดอะซิติก ดังนั้นหากมีแอลกอฮอล์ในปริมาณมากก็จะสามารถเปลี่ยนเป็นกรดอะซิติกได้มากเช่นเดียวกัน และพบว่าสาโทข้าวเหนียวดำและสาโทข้าวเหนียว กข.6 สามารถผลิตกรดอะซิติกได้เท่ากับ 9.37±0.12 และ 4.76±0.07 กรัม/ลิตร จากการแปรผันเชื้อเป็น 5.00 และ 15.00 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตามเมื่อนำผลการผลิตน้ำส้มสายชูหมักในทุกสภาวะจากสาโทข้าวเหนียวทั้ง 3 สายพันธุ์ไปทำการทดสอบด้วยวิธีการ Duncan's multiple range tests (DMRT) ด้วยโปรแกรม SPSS พบว่า มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p<0.05$) (ตารางที่ 1-3) ซึ่งอาจจะเกิดจากในการวิจัยในครั้งนี้ทำการทดลองในสภาวะนิ่ง ทำให้ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *A. pasteurianus* TISTR 102 เนื่องจากเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้เป็นเชื้อที่ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโตและการผลิตกรด (Saichana, 2015, p. 83; Nuanpeng, 2018, p. 607) ซึ่งจะแตกต่างจากการทดลองของ Nuanpeng (2018, p. 607) ที่ทำการศึกษาการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากข้าวหอมนิล โดยผลการศึกษาพบว่าที่ปริมาณกล้าเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์ (v/v) สามารถผลิตกรดอะซิติกได้สูงถึง 43.90 กรัม/ลิตร เนื่องจากทำการทดลองโดยใช้เครื่องเขย่าที่อัตราการกวน 200 รอบต่อนาที ดังนั้นในการทำการทดลองการผลิตน้ำส้มสายชูหมักในครั้งต่อไปควรจะทำการทดลองโดยใช้เครื่องเขย่าเพราะเชื้อแบคทีเรียจะสามารถผลิตกรดอะซิติกได้มากกว่า



ภาพที่ 5 แสดงการหมักน้ำส้มสายชูหมักจาก (ก) ข้าวเหนียว กข.6, (ข) ข้าวเหนียวดำ และ (ค) ข้าวเหนียวลืมผัว

ตารางที่ 1 แสดงปริมาณกรดอะซิติกของการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากข้าวเหนียว กข.6

วันที่	ปริมาณกรดอะซิติก (กรัม/ลิตร)		
	ปริมาณเชื้อ 5.00 เปอร์เซ็นต์ (v/v)	ปริมาณเชื้อ 10.00 เปอร์เซ็นต์ (v/v)	ปริมาณเชื้อ 15.00 เปอร์เซ็นต์ (v/v)
1	$4.48\pm0.07^{a,A}$	$4.24\pm0.06^{a,A}$	$4.12\pm0.07^{a,A}$
2	$4.56\pm0.12^{a,A}$	$4.68\pm0.12^{a,A}$	$4.64\pm0.07^{a,A}$
3	$4.52\pm0.06^{a,A}$	$4.64\pm0.07^{a,A}$	$4.76\pm0.07^{a,A}$

หมายเหตุ ตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กที่ต่างกันในแต่ละแถวแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p<0.05$) และตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์ใหญ่ที่ต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงว่ามี

วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี YRU Journal of Science and Technology ISSN : 2539-5688

ความแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ 5 (p<0.05) เมื่อนำมาทดสอบด้วยวิธีการ Duncan's Multiple Range Tests (DMRT)

ตารางที่ 2 แสดงปริมาณกรดอะซิติกของการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากข้าวเหนียวดำ

วันที่	ปริมาณกรดอะซิติก (กรัม/ลิตร)		
	ปริมาณเชื้อ 5.00 เปอร์เซ็นต์ (v/v)	ปริมาณเชื้อ 10.00 เปอร์เซ็นต์ (v/v)	ปริมาณเชื้อ 15.00 เปอร์เซ็นต์ (v/v)
1	8.00±0.14^{a,A}	7.33±0.21^{a,A}	7.21±0.12^{a,A}
2	8.53±0.12^{a,A}	8.21±0.18^{a,A}	7.77±0.07^{a,A}
3	9.37±0.12^{a,A}	8.89±0.21^{a,A}	8.57±0.18^{a,A}

หมายเหตุ ตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กที่ต่างกันในแต่ละแถวแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (p<0.05) และตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์ใหญ่ที่ต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงว่ามีความแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ 5 (p<0.05) เมื่อนำมาทดสอบด้วยวิธีการ Duncan's Multiple Range Tests (DMRT)

ตารางที่ 3 แสดงปริมาณกรดอะซิติกของการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากข้าวเหนียวลืมผัว

วันที่	ปริมาณกรดอะซิติก (กรัม/ลิตร)		
	ปริมาณเชื้อ 5.00 เปอร์เซ็นต์ (v/v)	ปริมาณเชื้อ 10.00 เปอร์เซ็นต์ (v/v)	ปริมาณเชื้อ 15.00 เปอร์เซ็นต์ (v/v)
1	9.29±0.14^{a,A}	9.05±0.14^{a,A}	8.45±0.14^{a,A}
2	9.37±0.00^{a,A}	9.13±0.12^{a,A}	8.57±0.18^{a,A}
3	9.53±0.07^{a,A}	9.29±0.07^{a,A}	9.09±0.14^{a,A}

หมายเหตุ ตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กที่ต่างกันในแต่ละแถวแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (p<0.05) และตัวเลขที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์ใหญ่ที่ต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงว่ามีความแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ 5 (p<0.05) เมื่อนำมาทดสอบด้วยวิธีการ Duncan's Multiple Range Tests (DMRT)

สรุปผลการวิจัย

กระบวนการผลิตสาโทจากข้าวเหนียวลืมผัวจะให้ปริมาณแอลกอฮอล์มากที่สุด คือ 11.30 เปอร์เซ็นต์ (v/v) รองลงมาคือสาโทข้าวเหนียวดำ และสาโทข้าวเหนียว กข.6 โดยมีปริมาณแอลกอฮอล์เท่ากับ 6.20 และ 4.00 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ตามลำดับจากการแปรผันปริมาณลูกแป้งที่ 0.50 เปอร์เซ็นต์ (w/w) และการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากข้าวเหนียวโดยใช้เชื้อ *A. pasteurianus* TISTR 102 จากการแปรผันเชื้อเป็น 5.00 10.00 และ 15.00 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ในข้าวเหนียวแต่ละสายพันธุ์มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (p<0.05) โดยเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักในวันที่ 3 พบว่าปริมาณกรดอะซิติกมีค่าเท่ากับ 4.52±0.06 4.64±0.07 4.76±0.07 9.37±0.12 8.89±0.21 8.57±0.18 9.53±0.07 9.29±0.07 และ 9.09±0.14 กรัม/ลิตร จากการแปรผันเชื้อเป็น 5.00 10.00 และ 15.00 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ในข้าวเหนียว กข.6 ข้าวเหนียวดำ และข้าวเหนียวลืมผัวตามลำดับ

เอกสารอ้างอิง

Boonsupa, W., Thongdonpriang, K. & Kaewmad, P. (2017). Chemical Property, Antioxidant Activity and Sensory Evaluation of Fermented Vinegar from 2 Type of Black Glutinous Rice. *NSRU Science and Technology Journal*, *9*(10), 69-78. (in Thai)

Chaijamrus, S. & Mouthung, B. (2011). Selection of Thai Starter Components for Ethanol Production Utilizing Malted Rice from Waste Paddy. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, *33* (2), 163-170.

Chancharoonpong, C., Rajniyom, N. & Polphan, N. (2018). Study of Fermented Vinegar from Glutinous Rice Koji. *Science and Technology RMUTT Journal*, *8*(1), 130-140. (in Thai)

Danvirutai, P. & Laopaiboon, P. (2006). *Fruit wine and Sato: How to produce with confidence?* (2nd Ed.). Khonkaen: Klungnana Printing. (in Thai)

Deesuth, O., Samneing, A., Laopaiboon, P., Wechgama, K., & Laopaiboon, L. (2010). Decrease in Ethanol Fermentation Time for Sato Making by *Rhizopus* sp. and Mixed Cultures of Yeasts. *KKU Research Journal*, *15*(7), 670-678. (in Thai)

Ho, C. W., Lazim, A. M., Fazry, S., Zaki, U. K. H. H. & Lim, S. J. (2017). Varieties, Production, Composition and Health Benefits of Vinegars: A Review. *Food Chemistry*, 221, 1621–1630.

Kudpeng, C., Soemphol, W. & Tanamool, V. (2016). Study on Production of Sato from Indigenous Rice Varieties in Nakhon Ratchasima. *The National and International Graduate Research Conference 2016*. January 15, 2016. Khon Kaen: Khon Kaen University. (in Thai)

Lapa, P., Chompreeda, P. & Haruthaithanasan, V. (2011). Development of Fermented Vinegar from Black Glutinous Brown Rice. *The 12Th Khon Kaen University Graduate Research Conference*, January 28, 2011. Khon Kaen: Khon Kaen University. (in Thai)

Limtong, S., Sintara, S., Suwanarit, P. and Lotong, N. 2002. Yeast Diversity in Thai Traditional Fermentation Starter (Loog-pang). *Kasetsart Journal (Nat Sci)*, *36*, 149-158.

Nelson, N. (1944). A Photometric Adaptation of the Somogyi Method for the Determination of Glucose. *Journal of Biological Chemistry*, *153*, 376-380.

Nuanpeng, S. (2018). Comparison Rice Vinegar Production from Hom-Nil Rice and Riceberry Rice. *Agricultural Science Journal*, *49*(2) (Suppl.), 605-608. (in Thai)

Saelim, K., Junmuen, S. & Lueanprasert, K. (2018). Chemical Change During Mulberry Wine Fermentation and Consumer's Satisfaction. *Agricultural Science Journal*, *49*:1(Suppl.), 612-616. (in Thai)

Saichana, N. (2015). Acetic Acid Bacteria: Physiology and Industrial Applications. *Huachiew Chalermprakiet Science and Technology Journal*, *1*(1), 75-89. (in Thai)

Sattaka, P. (2017). Glutinous Rice: Local Strategy Crop in Aortheastern Region of Thailand. *Khon Kaen Agriculture Journal*, *45*(Suppl.1), 1464-1469. (in Thai)

Sattasuwan, N., Nuengjamnong, N., & Suksomboon, A. (2010). Development of Rice Crackers (Arare) from Black Glutinous Rice. *Agricultural Science Journal*, *41*(3/1) (Suppl.), 165-168. (in Thai)

Setyaningsih, W., Hidayah, N., Saputro, I.E., Lovillo, M.P. & Barroso, C.G. (2015). Study of Glutinous and Non-Glutinous Rice (*Oryza sativa*) Varieties on Their Antioxidant Compounds. *International Conference on Plant, Marine and Environmental Sciences*, January 1-2, 2015. Kuala Lumpur: Malaysia.

Somogyi, M. (1952). Notes on Sugar Determination. *Journal of Biological Chemistry*, *195*, 19-23.