บทที่ 2
เอกสารที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย

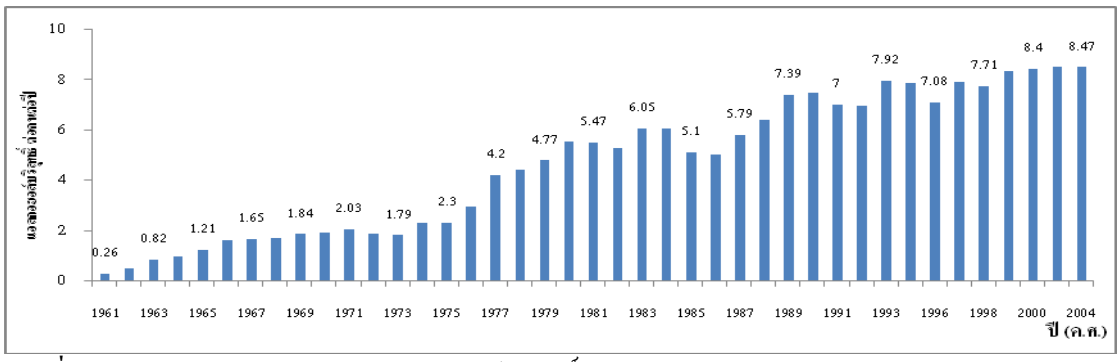
2.1 คนไทยกับการดื่มสุรา

คนไทยรู้จักการดื่ม “สุรา” มาตั้งแต่เมื่อไหร่ ไม่มีประวัติศาสตร์บันทึกไว้ แต่มีหลักฐานว่า สังคมไทยมีความผูกพันกับการดื่มสุรามานานแล้ว ดังเช่นสมัยพุทธกาล พระพุทธเจ้าทรงกำหนดบัญญัติเรื่องการดื่มสุราเอาไว้ในศีลข้อที่ 5 แม้ในยามศึกสงครามนักรบไทยในอดีตบางยุคบางสมัยมักจะดื่มเหล้าหรือดื่มน้ำจัณฑ์เพื่อเรียกขวัญและกำลังใจให้ฮึกเหิมก่อนออกศึกสงคราม นอกจากนี้ เหล้ายังถูกใช้เป็นภักษาหารชนิดหนึ่งที่นำมาถวายพระโคในพิธีแรกนาขวัญ ให้พระโคเลือกดื่มกิน ซึ่งเป็นพระราชพิธีที่สืบทอดกันมาตั้งแต่ครั้งกรุงสุโขทัยเป็นราชธานี ปีไหนที่ พระโคเลือกดื่มเหล้า ทำนายว่าปีนั้น ข้าวกล้าในนาจะอุดมสมบูรณ์ การคมนาคมสะดวกราบรื่น การค้าขายกับต่างประเทศจะดีขึ้น ทำให้เศรษฐกิจเจริญรุ่งเรือง หรือตามพิธีบายศรีสู่ขวัญของคนไทยก็มีเหล้าเป็นส่วนหนึ่งของเครื่องบายศรี (ภาคตะวันออกเฉียงเหนือเรียก พาขวัญ) ในปัจจุบันไม่ว่าจะเป็นประเพณี หรือพิธีกรรมตลอดจน เทศกาลรื่นเริงต่างๆของคนไทย มักจะต้องมีสุรา เป็นองค์ประกอบอยู่ด้วยเสมอ ดังตัวอย่างที่กล่าวมานั้น จะเห็นได้ว่า วิถีชีวิตของคนไทย และสังคมไทยมีความผูกพันกับ สุรา จนไม่สามารถแยกออกจากกันได้ นอกจากนี้ สุรายังเป็นที่แพร่หลายในบุคคลทุกเพศ ทุกวัย และทุกระดับชนชั้นในสังคมไทย ทั้งที่สุราจัดเป็นสารเสพติดชนิดหนึ่ง แต่ก็เป็นสารเสพติดที่สามารถดื่มกินได้โดยไม่ผิดกฎหมาย และเป็นสิ่งที่สังคมยอมรับโดยทั่วไป ดังนั้นจึงสามารถกล่าวได้ว่าสุรา หรือเครื่องดื่มแอลกอฮอล์มีบทบาทและอิทธิพลต่อชีวิตประจำวันของคนไทยเป็นอย่างมาก

2.2 สถิติการดื่มเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ของคนไทย

จากการศึกษาข้อมูลขององค์การอนามัยโลก (ปี พ.ศ. 2547) ระบุข้อมูลการบริโภคแอลกอฮอลล์ของประเทศไทยว่า คนไทยดื่มเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ 0.26 ลิตรต่อคนต่อปีในปี พ.ศ. 2504 (ค.ศ. 1961) (คิดเป็นปริมาณแอลกอฮอล์บริสุทธิ์) และเพิ่มขึ้นมาเรื่อยๆ จนถึง 8.47 ลิตรต่อคนต่อปีในปี พ.ศ. 2547 (ค.ศ. 2004) นั่นคือเพิ่มขึ้น 33 เท่า ในเวลา 43 ปี ดังภาพที่ 2.1

ในขณะเดียวกัน องค์การอนามัยโลกได้จัดอันดับปริมาณการบริโภคเครื่องดื่มแอลกอฮอลล์ของประเทศต่างๆ เพื่อเปรียบเทียบอันดับโลก ปรากฏว่า ประเทศไทยถูกจัดอันดับการดื่มเครื่องดื่มแอลกอฮอลล์ในภาพรวมอยู่ที่ อันดับที่ 40 ในปี พ.ศ. 2544 (ค.ศ. 2001) โดยมีปริมาณการบริโภคเครื่องดื่มแอลกอฮอล์บริสุทธิ์ 8.47 ลิตรแอลกอฮอล์บริสุทธิ์ต่อคนต่อปี ซึ่งหากแยกประเภทแล้วพบว่าคนไทยบริโภคสุรากลั่น (Spirit) มากกว่าเบียร์และไวน์ โดยคนไทยบริโภคสุรากลั่น 7.13 ลิตรแอลกอฮอล์บริสุทธิ์ต่อคนต่อปี จัดเป็นอันดับที่ 5 ของโลก รองลงมาคนไทยบริโภคเบียร์ปริมาณ 1.31 ลิตรแอลกอฮอล์บริสุทธิ์ต่อคนต่อปี จัดเป็นอันดับที่ 85 ของโลก และคนไทยบริโภคไวน์ปริมาณ 0.04 ลิตรแอลกอฮอล์บริสุทธิ์ต่อคนต่อปี ซึ่งจัดเป็นอันดับที่ 124 ของโลก



ภาพที่ 2.1 กราฟแสดงอัตราการบริโภคแอลกอฮอล์บริสุทธิ์ต่อคนต่อปีของประเทศไทยระหว่างปี ค.ศ. 1961-2004
ที่มา: บัณฑิต ศรไพศาล และคณะ (2549)

สำหรับแนวโน้มการผลิตและการนำเข้าเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ของประเทศไทยระหว่างปี พ.ศ. 2538 – 2551 พบว่า แนวโน้มผลิตและการนำเข้าเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ของประเทศไทยมีการขยายตัวเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยเบียร์มีส่วนแบ่งการตลาดมากที่สุด รองลงมาคือ ตลาดสุราขาวและสุรานำเข้าจากต่างประเทศ ในปี พ.ศ. 2551 โดยมีส่วนแบ่งการตลาดคิดเป็น 36, 31 และ 18 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งการขยายตัวของตลาดเบียร์และสุราต่างประเทศมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นดังแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ตารางแสดงปริมาณการผลิตและนำเข้าเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ในปริมาณแอลกอฮอล์บริสุทธิ์ต่อคนต่อปีระหว่าง พ.ศ. 2538 – 2552 จำแนกตามประเภทเครื่องดื่มแอลกอฮอล์

พ.ศ.	สุราขาว	สุราผสม	สุราปรุงพิเศษ	รวมสุราพิเศษ	บรั่นดี	ไวน์	สุราแช่พื้นเมือง	เบียร์	สุรานำเข้า	รวม
2538	3.071224	1.486790	0.698756	0.022707	0.058523	0.014593	-	0.818308	0.185432	6.3563
2539	2.560777	1.544899	0.816282	0.070503	0.066605	0.024540	-	0.948847	0.259839	6.2923
2540	3.708731	1.264504	0.739430	0.038085	0.060630	0.030000	-	1.088102	0.404286	7.3338
2541	3.524209	1.197476	0.629715	0.018961	0.046316	0.030253	0.000132	1.167407	0.155236	6.7697
2542	5.336962	1.903525	0.416702	0.334800	0.052743	0.055807	0.000523	1.261634	0.211520	9.5742
2543	0	0.039009	0.167659	0.302326	0.069462	0.066394	0.001294	1.364626	0.295497	2.3063
2544	0.418907	0.309655	0.165198	0.083080	0.079436	0.082570	0.003840	1.399399	0.457890	2.9999
2545	2.307504	0.234233	0.183835	0.210271	0.080708	0.079986	0.006569	1.460477	0.836359	5.3999
2546	2.521741	0.086359	0.003545	0.418211	0.084768	0.066001	0.005806	1.801480	1.133181	6.1211
2547	4.400476	0.167766	0.036497	0.909353	0.124134	0.107181	0.009052	1.779353	1.305476	8.8393
2548	2.463946	0.089310	0.043919	0.610813	0.083497	0.053359	0.000542	1.873634	1.408842	6.6279
2549	2.713359	0.263139	0.032142	0.330550	0.109995	0.053074	0.000658	2.150519	1.260637	6.9141
2550	2.471830	0.525828	0.015187	0.222147	0.115859	0.050082	0.000164	2.282845	1.188081	6.8720
2551	2.031110	0.618899	0.008913	0.182927	0.111276	0.051225	0.00027	2.235787	1.205868	6.5563
ส่วนแบ่งการตลาด (เปอร์เซ็นต์)										
2538	48	23	11	0.4	1	0.2	0	13	3	100
2541	52	18	9	0.3	1	0.4	0.002	17	2	100
2548	41	1	0.1	7	1	1	0	29	19	100
2551	31	9.4	0.1	2.8	1.7	0.8	0.004	36	18	100

ที่มา: บัณฑิต ศรไพศาล และคณะ (2553)

จากตารางที่ 2.1 พบว่าคนไทยบริโภคเบียร์ซึ่งอยู่ในกลุ่มสุราแช่ มากขึ้น จาก 0.8 ลิตรแอลกอฮอล์บริสุทธิ์ต่อคนต่อปีในปี พ.ศ. 2538 มาเป็น 2.3 ลิตรแอลกอฮอล์บริสุทธิ์ต่อคนต่อปี เพิ่มขึ้น 1.8 เท่าในระยะเวลา 14 ปี ในขณะเดียวกันคนไทยก็บริโภคสุรานำเข้าจากต่างประเทศเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เช่นกัน โดยเพิ่มขึ้นจาก 0.2 ลิตรแอลกอฮอล์บริสุทธิ์ต่อคนต่อปี ในปี พ.ศ.2538 เป็น 1.2 ลิตรแอลกอฮอล์บริสุทธิ์ต่อคนต่อปีในปี พ.ศ.2551 เพิ่มขึ้น 5 เท่าในระยะเวลา 14 ปี การบริโภคสุราขาวของคนไทยลดลงจาก 3 ลิตรแอลกอฮอล์บริสุทธิ์ต่อคนต่อปีในปี พ.ศ. 2538 เป็น 2 ลิตรแอลกอฮอล์บริสุทธิ์ต่อคนต่อปีในปี พ.ศ.2551 ลดลง 1 ใน 3 เท่าในระยะเวลา 14 ปี

ในทำนองเดียวกัน การบริโภคสุรากลั่นที่ผลิตในประเทศไทยลดลงจาก 2.3 ลิตรแอลกอฮอล์บริสุทธิ์ต่อคนต่อปีในปี พ.ศ. 2538 เป็น 0.9 ลิตรแอลกอฮอล์บริสุทธิ์ต่อคนต่อปี ลดลงถึง 41 เปอร์เซ็นต์ ในระยะเวลา 14 ปี

จากข้อมูลดังกล่าวจะเห็นได้ว่าคนไทยหันมาบริโภคเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ที่นำเข้าจากต่างประเทศกันมากขึ้น และบริโภคสุราพื้นเมืองลดลงอย่างมาก ทั้งที่คนไทยเองมีความรู้ และภูมิปัญญาชาวบ้านในการผลิตสุราพื้นเมืองได้หลากหลายชนิด และมีเอกลักษณ์เฉพาะตัว ถ้าได้มีการวิจัยพัฒนาเพื่อต่อยอดภูมิปัญญาชาวบ้านที่สืบทอดกันมาตั้งแต่บรรพบุรุษ โดยเฉพาะสาโทที่ผลิตจากข้าวเหนียวที่นิยมผลิตกันในภาคเหนือและภาคอีสานของประเทศไทย ให้เป็นสากลมีคุณภาพดี สม่ำเสมอ เป็นที่นิยมของผู้ดื่ม ก็จะสามารถลดการนำเข้าเครื่องดื่มแอลกอฮอล์จากต่างประเทศได้

2.3 นิยามและมาตรฐานของสาโท

ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน มผช. 3/2546 สาโท หมายถึง สุราแช่ชนิดหนึ่งที่ทำมาจากการนำข้าวมาผ่านกรรมวิธีการผลิตสาโท แล้วมีแรงแอลกอฮอล์ไม่เกิน 15 ดีกรี/เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร

สำหรับกรรมวิธีการผลิตสาโท หมายถึง การหมักข้าวด้วยราและยีสต์ หรือลูกแป้งเพื่อเปลี่ยนแป้งให้เป็นแอลกอฮอล์ซึ่งหมักไว้ระยะหนึ่งจากนั้นเติมน้ำสะอาดในอัตราส่วนที่เหมาะสม และอาจมีการเติมน้ำตาลทรายขาวให้เหมาะสมกับการหมักสาโท หมักต่ออีกระยะหนึ่งเพื่อให้ได้แรงแอลกอฮอล์ตามที่ต้องการ โดยคุณลักษณะทางเคมีของสาโทตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน มผช. 3/2546 มีดังนี้

1) แรงแอลกอฮอล์ไม่เกิน 15 ดีกรี/เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร และมีเกณฑ์ความคลาดเคลื่อนจากที่ระบุไว้ในฉลากได้ไม่เกิน 1 ดีกรี/เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร
2) ปริมาณเมทิลแอลกอฮอล์ไม่เกิน 420 มิลลิกรัมต่อลิตร
3) ปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์ทั้งหมดไม่เกิน 300 มิลลิกรัมต่อลิตร
4) ปริมาณกรดซอร์บิกหรือเกลือของกรดซอร์บิกไม่เกิน 2000 มิลลิกรัมต่อลิตร
5) ปริมาณกรดเบนโซอิกหรือเกลือของกรดเบนโซอิกไม่เกิน 250 มิลลิกรัมต่อลิตร
6) ปริมาณทองแดงไม่เกิน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร
7) ปริมาณเหล็กไม่เกิน 15 มิลลิกรัมต่อลิตร
8) ปริมาณตะกั่วไม่เกิน 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร
9) ปริมาณสารหนูไม่เกิน 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร
10) เฟอร์โรไซยาไนด์ ต้องไม่พบ

การผลิตสาโทโดยภูมิปัญญาชาวบ้านนิยมใช้ลูกแป้งในการผลิต คำจำกัดความของ “ลูกแป้ง” หมายถึง เชื้อสุรา แป้งเชื้อสุรา แป้งหมักข้าว หรือเชื้อใดๆ เมื่อนำมาหมักกับวัตถุหรือของเหลวอื่นๆแล้วสามารถทำให้เกิดแอลกอฮอล์ โดยลูกแป้งที่ใช้ทำสุราอาจผสมสมุนไพรหรือเครื่องเทศลงไปด้วย การผลิตลูกแป้งยังจัดเป็นภูมิปัญญาพื้นบ้านและวัฒนธรรมของชาวเอเชียใต้ เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และตะวันออกไกล ลูกแป้งที่ดีจะต้องมีคุณลักษณะโดยทั่วไป คือ โปร่งเบา สีขาวนวล ไม่มีรอยแตกร้าว ก้อนแป้งเป็นรูพรุน เมื่อขยี้จะยุ่ยเป็นผงละเอียด ไม่มีกลิ่นเหม็นเปรี้ยว มีรูปร่างและขนาดต่างๆกัน โดยลูกแป้งจัดเป็นวัฒนธรรมที่สืบทอดกันมาช้านาน และเป็นเอกลักษณ์ของประเทศในภูมิภาคเอเชีย โดยที่ลูกแป้งที่ใช้อาจมีชื่อเรียกต่างๆ กันไปดังแสดงในตารางที่ 2.2 (ไพบูลย์ ด่านวิรุทัย, 2549)

ตารางที่ 2.2 แสดงชื่อท้องถิ่นของลูกแป้งจากประเทศต่างๆ และผลิตภัณฑ์ที่ใช้ลูกแป้งจากแหล่งนั้นๆ

ประเทศ	ชื่อท้องถิ่น	ผลิตภัณฑ์ที่ใช้ลูกแป้ง
จีน	ชิชุ (ginjo), เอียโอ ควู (xiao qu)	ข้าวหมาก เครื่องดื่มประเภทกระแช่ สุราจากข้าว
ไต้หวัน	เพคค่า (pekka)	สุราจากข้าว
ธิเบต	พับ (phab)	เครื่องดื่มประเภทกระแช่ สุราจากข้าว
อินเดีย	บุคคาร์ (bukha)	เครื่องดื่มประเภทกระแช่ สุราจากข้าว
	เมอร์ช่า (murcha)	
	รามู (ramur)	
เกาหลี	นุรุก (nuruk) ชิชุ	สุราจากข้าว
อินโดนีเซีย	ราจิเทมเป้ (raji tempeh)	ข้าวหมาก
	ราจิเบราส (raji beras)	เครื่องดื่มประเภทกระแช่
	พอยยัม (peuyeum)	มันสำปะหลังหมักแบบข้าวหมาก (tape ketela)
	ราจิเทมเป้	เทมเป้
	ทาเพ คีแทน (tape ketan)	สุราจากข้าว
มาเลเซีย	ราจิทาไป (raji tapai)	เครื่องดื่มประเภทกระแช่
ไทย	ลูกแป้งข้าวหมาก	ข้าวหมาก
	ลูกแป้งเหล้า	กระแช่ สาโท อุ
	ลูกแป้งสุรา	สุราจากข้าว

ที่มา: ไพบูลย์ ด่านวิรุทัย (2549)

2.4 การผลิตสาโท

การผลิต “สาโท” จัดเป็นภูมิปัญญาท้องถิ่นของคนไทยที่สืบทอดกันมานาน เดิมทีแล้ว สาโทผลิตจากการหมักข้าวเหนียวขาวหรือข้าวเหนียวดำนึ่งสุกกับลูกแป้ง ซึ่งลูกแป้งเป็นแหล่งของจุลินทรีย์ผสมทั้ง ยีสต์ รา และแลคติกแอสิดแบคทีเรีย (Lactic Acid Bacteria) ประมาณ 3-4 วัน กลิ่นข้าวที่หมักจะหอมเป็นกลิ่นคล้ายข้าวหมากและมีน้ำเยิ้มออกมา เรียกว่า “น้ำต้อย” หมักต่อไปอีก จนมีน้ำเยิ้มมากพอที่ผ่าน้ำ จากนั้นหมักต่อเพื่อให้ได้สาโทที่มีแอลกอฮอล์เป็นองค์ประกอบต่อไป (แสงไทย เค้าภูไทย, 2545)

ลูกแป้ง ที่ใช้ในการหมักสาโทมีหลากหลายชนิด ตามแต่วัตถุดิบในแต่ละท้องถิ่น ซึ่งลูกแป้งที่แตกต่างกันนี้เอง ทำให้รสชาติของสาโทแต่ละท้องถิ่นมีความแตกต่างกันมาก รวมไปถึงคุณภาพของสาโทที่ผลิตได้ก็มีความแตกต่างเช่นเดียวกัน อย่างไรก็ตามคุณภาพของสาโทยังขึ้นอยู่กับปัจจัยหลักในการผลิต ได้แก่ คุณภาพของวัตถุดิบเริ่มต้น เทคนิคกระบวนการผลิตที่ดี และการควบคุมคุณภาพทุกขั้นตอนกระบวนการผลิตอย่างเป็นระบบเช่นเดียวกับผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมอื่นๆ กระบวนการผลิตสาโทจำเป็นต้องใช้เทคโนโลยีที่ถูกต้องและข้อมูลที่แม่นยำ โดยมีขั้นตอนหลักที่ควรพิจารณา ดังนี้

(1) การคัดเลือกชนิดของข้าวเหนียว เช่น สายพันธุ์ข้าวที่ใช้ในการหมัก ความเก่าหรือใหม่ของข้าวที่ใช้

(2) ระยะเวลาในการแช่ข้าวเหนียว

(3) ระยะเวลา อุณหภูมิไอน้ำ และความหนาของชั้นข้าวเหนียวในระหว่างการนึ่ง

(4) การเลือกชนิดลูกแป้งและวิธีการผลิตลูกแป้ง

(5) การหมักและการติดตามการเปลี่ยนแปลงระหว่างการหมัก

(6) การดำเนินการก่อนบรรจุขวด เช่น การตกตะกอน การกรอง หรือการพาสเจอร์ไรซ์

(7) การบรรจุขวดและปิดฉลาก

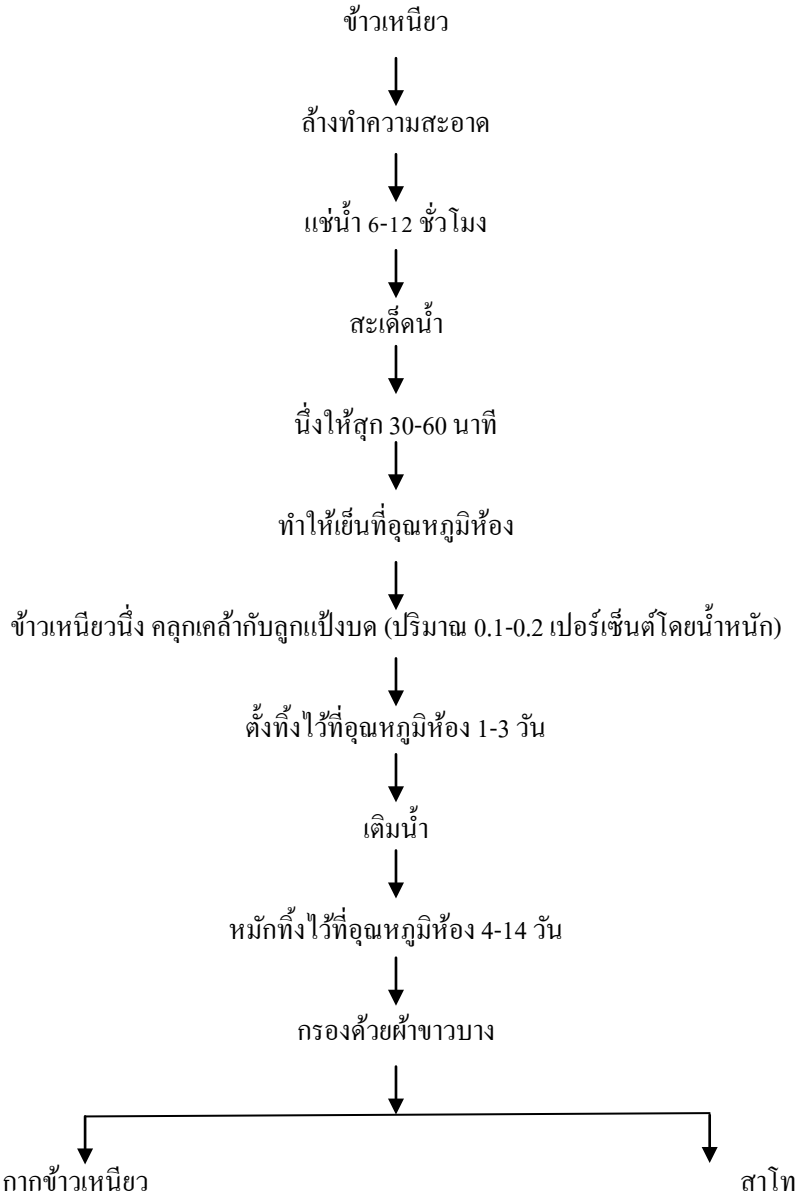
กระบวนการผลิตสาโทตามแบบภูมิปัญญาชาวบ้าน ที่ยังคงอนุรักษ์กรรมวิธีการผลิตตามรูปแบบดั้งเดิมที่สืบทอดกันมา ดังแสดงในภาพที่ 2.2 ซึ่งทำให้ไม่สามารถควบคุมคุณภาพของสาโทให้มีความคงที่ได้ ดังนั้นจึงมีการปรับปรุงกระบวนการผลิตสาโทขึ้น ดังแสดงในภาพที่ 2.3, 2.4 และ 2.5 เพื่อให้ได้สาโทที่มีคุณภาพ สามารถควบคุมกระบวนการผลิตได้ ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์สาโทที่มีคุณภาพ และมีอายุการเก็บรักษาได้ยาวนานขึ้น

จากภาพที่ 2.2 เป็นแผนภูมิกระบวนการผลิตสาโทแบบดั้งเดิม ที่มีการหมักข้าวเหนียวนึ่งสุก โดยการใช้ลูกแป้ง เมื่อกระบวนการหมักสิ้นสุดลง ก็เพียงแค่กรองด้วยผ้าขาวบาง แยกเอากากข้าวเหนียวออก ได้เป็นสาโทพร้อมดื่ม กระบวนการผลิตสาโทโดยใช้ลูกแป้งนี้ สาโทที่ได้จะมีความขุ่น และมักจะทำให้ได้สาโทที่มีคุณภาพไม่คงที่ สม่ำเสมอในแต่ละครั้งของการผลิต สาโทมีอายุการเก็บรักษาสั้น

ภาพที่ 2.3 เป็นแผนภูมิแสดงกระบวนการผลิตสาโทแบบขั้นตอนเดียว เช่นเดียวกับภาพที่ 2.2 แต่เปลี่ยนจากการใช้ลูกแป้ง มาใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์ (ราและยีสต์) ในกระบวนการผลิต และเมื่อกระบวนการผลิตสิ้นสุดลง มีการกรองสาโทผ่านเยื่อกรองขนาดต่างๆ เพื่อกรองกากและตะกอนออกจากสาโท และมีการพลาสเจอร์ไรซ์ฆ่าเชื้อก่อนการบรรจุลงขวดด้วย กระบวนการผลิตนี้จะทำให้ได้สาโทที่มีคุณภาพดี และมีความสำเสมอของสาโททุกครั้งที่ผลิต สาโทมีอายุการเก็บรักษายาวนานขึ้น

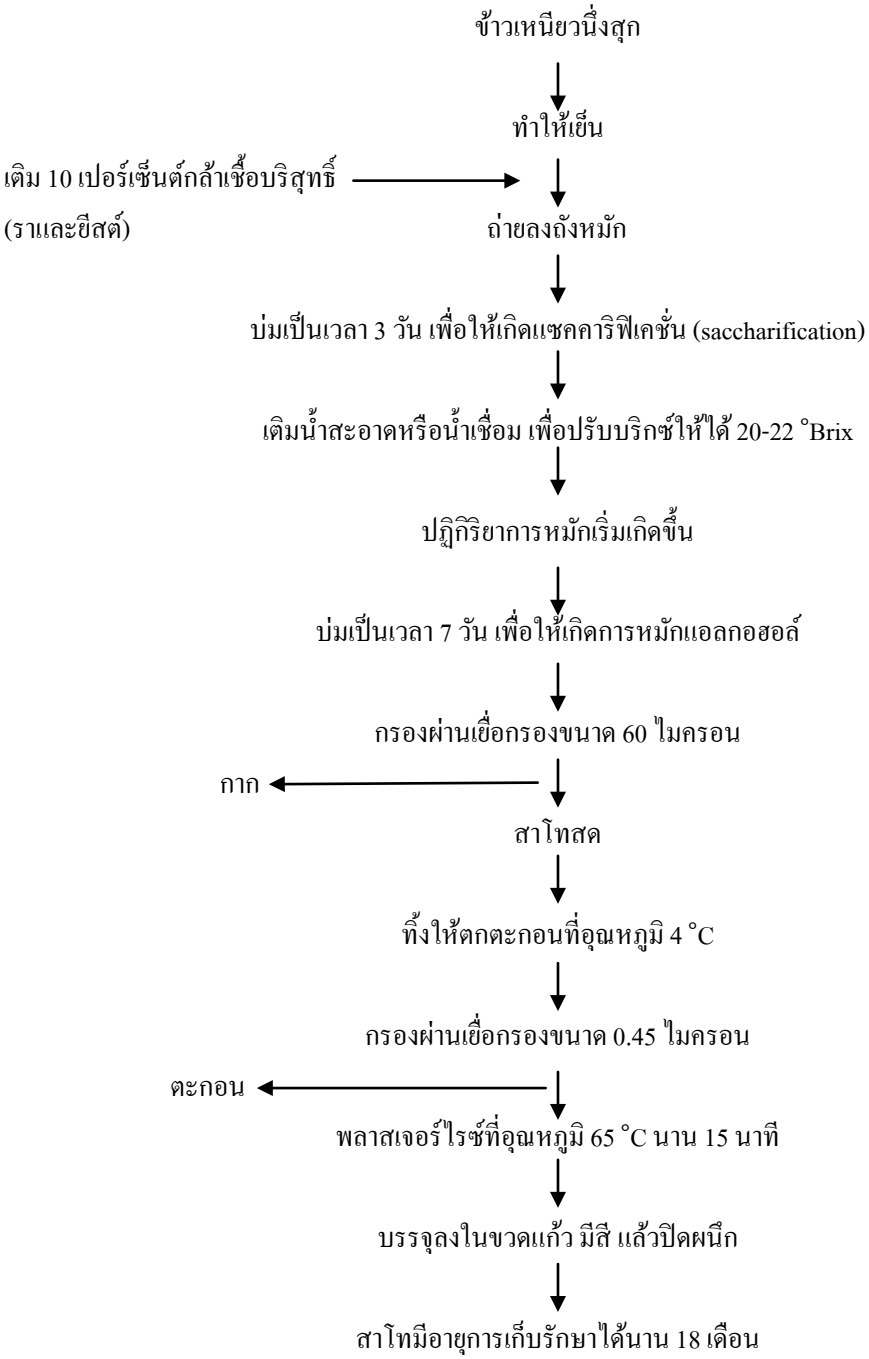
ภาพที่ 2.4 เป็นกระบวนการผลิตสาโทแบบ 2 ขั้นตอน คือใช้ราหมักข้าวเหนียวนึ่งสุกในขั้นตอนแรกเพื่อให้รา่อยแป้งจากข้าวเหนียวให้กลายเป็นน้ำตาล หลังจากนั้นเติมน้ำหรือน้ำเชื่อมลงไป เรียกว่า “การผ่าน้ำ”

แล้วจึงใช้ยีสต์เปลี่ยนน้ำตาลให้กลายเป็นแอลกอฮอล์ เมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมัก มีการเติมสารเคมีเพื่อฆ่าเชื้อ และอาจมีการปรุงแต่งรสชาดของสาโทอีกด้วย กระบวนการดังกล่าวทำให้สาโทที่ได้มีความคงที่มากขึ้นในการผลิตแต่ละครั้ง เช่นเดียวกับภาพที่ 2.5 ที่การใช้รา และยีสต์บริสุทธิ์ ในแต่ละขั้นตอนของการผลิตสาโท และเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักจะมีการทำให้สาโทคงตัว ไม่มีตะกอน ไม่มียีสต์และจุลินทรีย์อื่นหลงเหลืออยู่ โดยการบ่ม การตกตะกอน การกรอง หรือการการพาสเจอไรส์ ก่อนการบรรจุขวด ทำให้ผลิตภัณฑ์สาโทมีคุณภาพคงที่สม่ำเสมอในการผลิตแต่ละครั้ง อีกทั้งยังเป็นการยืดอายุการเก็บรักษาสาโทให้มีระยะเวลานานขึ้นอีกด้วย



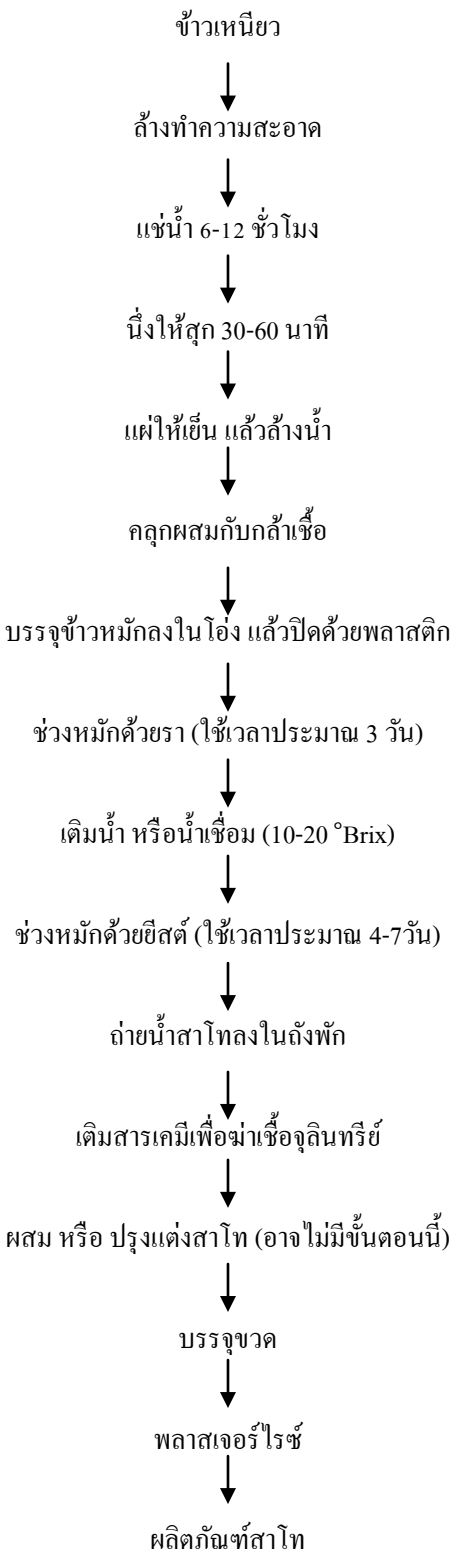
ภาพที่ 2.2 แผนภูมิกระบวนการผลิตสาโทแบบดั้งเดิม

ที่มา: ประดิษฐ์ ครุวัฒนา (2546)



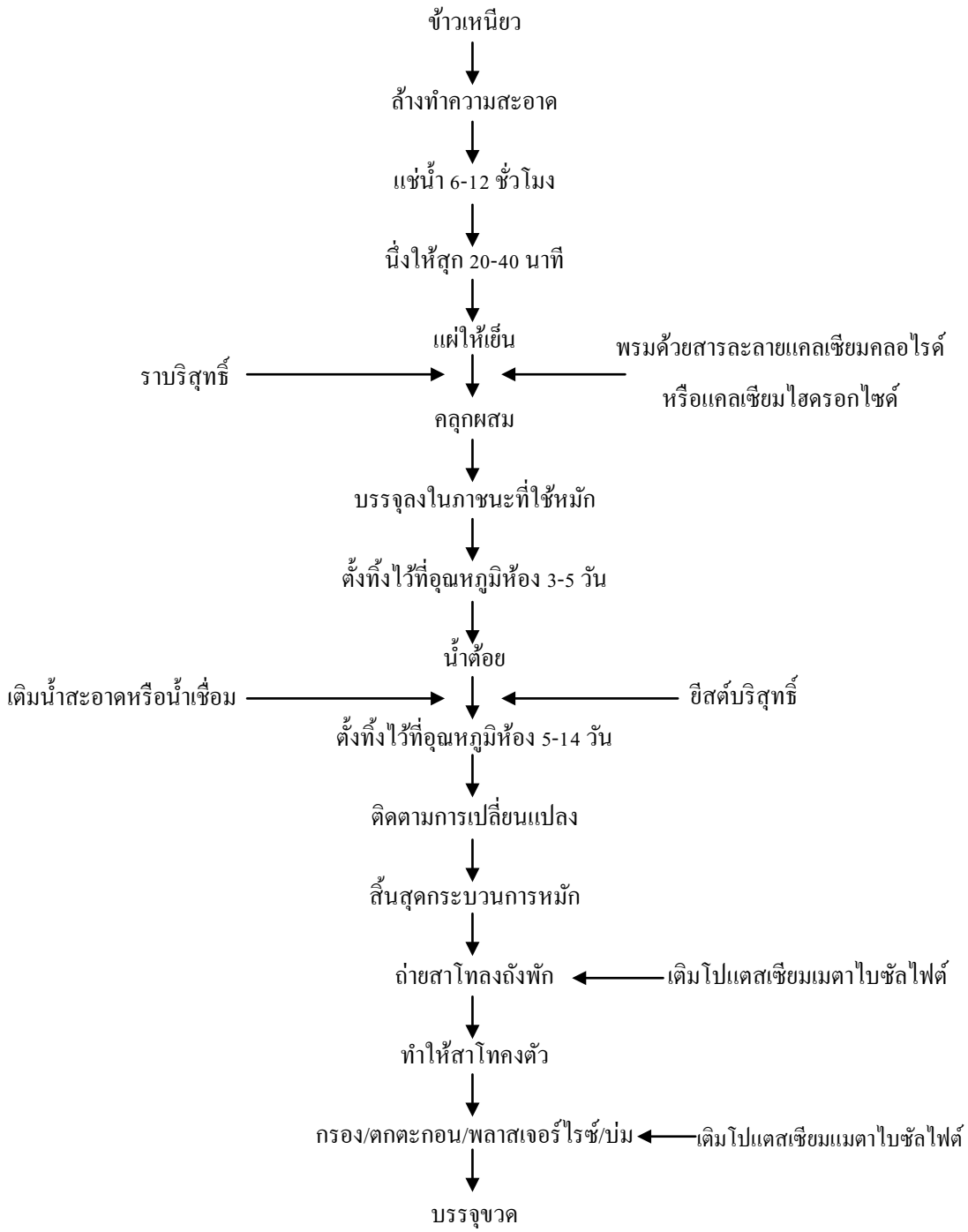
ภาพที่ 2.3 แผนภูมิแสดงการผลิตสาโทจากเชื้อบริสุทธิ์

ที่มา: ยุพกนิษฐ์ พ่วงวีรกุล และชลมาศ พ่วงวีรกุล (2545)



ภาพที่ 2.4 แผนภูมิการผลิตสาโทที่ดัดแปลงจากวิธีดั้งเดิม

ที่มา: ยุพกนิษฐ์ พ่วงวีรกุล (2546)



ภาพที่ 2.5 แผนภูมิกระบวนการผลิตสาโทโดยทั่วไป

2.5 วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตสาโท

ข้าวเหนียว (Glutinous Rice) หมายถึง ข้าวที่ได้จากการสี ข้าวเปลือกข้าวเหนียว เอาเปลือกออกและขัดเอารำออกจนมีสีขาว ทั้งที่เป็นข้าวเต็มเมล็ด ข้าวหัก และปลายข้าว เมื่อนำมานึ่งแล้ว เมล็ดข้าวติดกันแน่นและปั้นเป็นก้อนได้ง่าย โดยข้าวเหนียวที่พบจะสังเกตลักษณะทางกายภาพเป็นเมล็ดสีขาวดังแสดงในภาพที่ 2.6 (ก) ข้าวเหนียวดำ ภาษาพื้นเมืองของภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือเรียกว่า ข้าวก่ำ ตามลักษณะสีของเมล็ดที่มีสีแดงเข้ม หรือสีม่วงเข้ม ดังแสดงในภาพที่ 2.6 (ข) ซึ่งเกิดจากการสังเคราะห์สารรงควัตถุชนิดหนึ่ง เรียกว่า แอนโธไซยานิน ซึ่งเป็นสารสีแดง สีน้ำเงิน หรือสีม่วง การเกิดสีต่างๆ ในเยื่อหุ้มเมล็ดข้าวนั้น จะแตกต่างกันไปในแต่ละสายพันธุ์และสภาพแวดล้อม (อรอนงค์ นัยวิกุล, 2547)

ข้าวเหนียวดำ ได้รับความนิยมมากในประเทศจีน โดยถูกนำมาใช้ประกอบในงานพิธีเฉลิมฉลองต่างๆ เพื่อความเป็นสิริมงคล เช่นในเทศกาลปีใหม่มีการนำข้าวเหนียวดำมาใช้ในการประกอบอาหารและขนมต่างๆ เช่น ข้าวต้ม ขนมปังกรอบ บะหมี่ เป็นต้น และมีการเรียกชื่ออาหารที่มีข้าวเหนียวดำเป็นองค์ประกอบว่า “Black food” ซึ่งสอดคล้องกับสีดำของข้าวเหนียวดำ นอกจากนี้ยังมีการนำเอาข้าวเหนียวดำมาใช้เป็นส่วนประกอบในอาหารเสริมเพื่อสุขภาพ และผลิตภัณฑ์เครื่องใช้ในชีวิตประจำวัน เช่น เครื่องสำอาง อีกด้วย

สำหรับคุณค่าทางโภชนาการของข้าวเหนียวดำเมื่อเปรียบเทียบกับข้าวชนิดต่างๆ แสดงในตารางที่ 2.3 สามารถกล่าวได้ว่าข้าวเหนียวดำมีโปรตีน ไขมัน เส้นใย วิตามินบี1 และวิตามินบี2 สูงกว่าข้าวเหนียวขาว ข้าวหอมมะลิ ข้าวกล้อง (จ้าว) และข้าวมันปู ในส่วนของพลังงาน คาร์โบไฮเดรต แคลเซียม ฟอสฟอรัส เหล็ก และไนอาซีน พบว่ามีปริมาณต่ำกว่าหรือใกล้เคียงกับข้าวสายพันธุ์อื่นๆ นอกจากนี้ ข้าวเหนียวดำยังมีสารสำคัญอื่นๆ เป็นองค์ประกอบอยู่มาก เช่น สารแอนติออกซิแดนท์ แอนโธไซยานิน แกมมาโอไรซานอล และสารสีต่างๆ ทำให้ข้าวเหนียวดำเป็นข้าวที่มีคุณค่า และมีประโยชน์ต่อผู้บริโภค

(ก) (ข)

ภาพที่ 2.6 แสดงลักษณะเมล็ดข้าวเหนียวขาว (ก) และเมล็ดข้าวเหนียวดำ (ข)

ตารางที่ 2.3 คุณค่าทางโภชนาการของข้าวเหนียวดำ ข้าวเหนียวขาว ข้าวหอมมะลิ ข้าวกล้อง (จ้าว) และข้าวมันปู

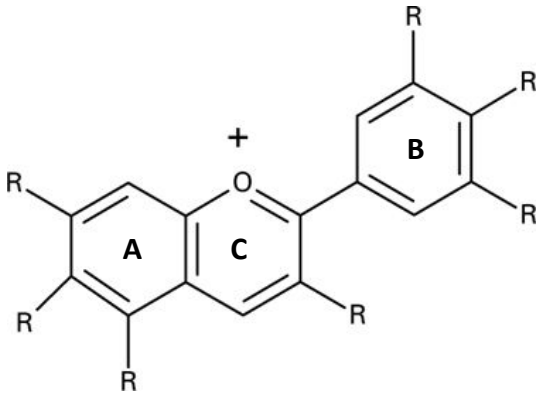
องค์ประกอบ	ปริมาณข้าว 100 กรัม				
	ข้าวเหนียวดำ	ข้าวเหนียวขาว	ข้าวหอมมะลิ	ข้าวกล้อง (จ้าว)	ข้าวมันปู
พลังงาน (กิโลแคลอรี่)	361.00	357.45	357.00	345.00	362.00
โปรตีน (กรัม)	8.20	6.64	5.40	7.60	6.50
ไขมัน (กรัม)	3.00	2.69	1.00	1.80	3.30
คาร์โบไฮเดรต (กรัม)	75.20	76.68	81.50	76.00	76.90
เส้นใย (กรัม)	0.90	0.87	0.10	0.70	0.90
แคลเซียม (มิลลิกรัม)	26.00	-	29.00	16.00	65.0
ฟอสฟอรัส (มิลลิกรัม)	65.00	-	74.00	246.00	99.00
เหล็ก (มิลลิกรัม)	2.30	0.26	0.60	2.80	0.20
วิตามินบี1 (มิลลิกรัม)	0.04	0.23	0.18	0.34	0.37
วิตามินบี2 (มิลลิกรัม)	0.83	0.01	0.27	0.07	0.96
ไนอาซีน (มิลลิกรัม)	0.60	6.65	1.20	5.00	2.20

หมายเหตุ: ปริมาณแคลเซียมและฟอสฟอรัส ในข้าวเหนียวขาว ไม่พบรายงาน

ที่มา: ดวงกมล เริ่มตระกูล (2551)

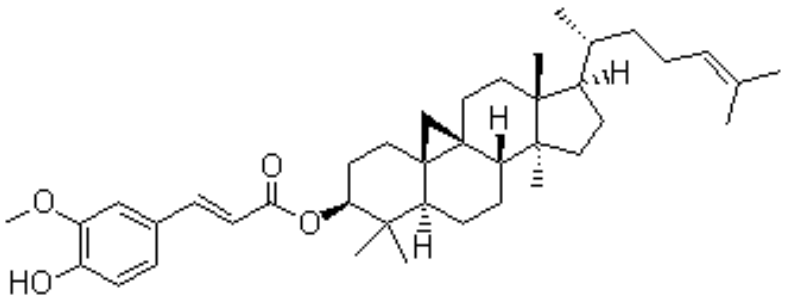
แอนโธไซยานิน เป็นสารประกอบจำพวกฟลาโวนอยด์ (Flavonoid) พบได้ในผัก ผลไม้ ธัญพืช และดอกไม้ เป็นสารที่มีสีแดง สีม่วง สีน้ำเงิน และสีดำ ซึ่งสีเหล่านี้สามารถละลายน้ำได้ แอนโธไซนานิน มีบทบาทสำคัญหลายด้าน เช่น สารสีเหล่านี้สามารถใช้บอกลักษณะของพืชและผลผลิตของ พืชได้ ใช้เป็นสีย้อมธรรมชาติ และเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ (นารีรัตน์ แสนเมืองซิน, 2553)

โครงสร้างของแอนโธไซยานิน เป็นโมเลกุลให้สีที่มีส่วนประกอบของสารแอนโธไซยานิดิน หรือ aglycons เกาะอยู่กับวงแหวน aromatic [A] จับกับวงแหวน heterocylic [C] ที่ประกอบด้วยออกซิเจน ที่จับกันด้วยพันธะคาร์บอน กับคาร์บอนในวงแหวนอโรมาติกวงที่สาม [B] แอนโธไซยานิดินเหล่านี้ส่วนใหญ่พบอยู่ในรูปของ glycoside (มีพันธะไกลโคซิดิกที่จับกับโมเลกุลน้ำตาล) โดยทั่วไปตามธรรมชาติมีแอนโธไซยานิดินประมาณ 19 ชนิด แต่สามารถพบได้ในพืชเพียง 6 ชนิด ซึ่งเรียกชื่อแตกต่างกันตามตำแหน่งของหมู่ hydroxyl และ methoxyl ที่จับอยู่กับวงแหวน B ดังภาพที่ 2.7 (Ovando et al., 2009) สารแอนโธไซยานินสามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายที่มีขั้ว เช่น น้ำ แอลกอฮอล์ โดยความสามารถในการละลายจะเพิ่มขึ้นเมื่อตัวทำละลายเป็นกรดมากขึ้น และสามารถละลายได้ดีในน้ำ โดยทั่วไปแล้วลักษณะการแสดงออกของสีในพืชจะเป็นการแสดงออกที่คงที่มากกว่าลักษณะพื้นฐานอื่นๆ ที่เป็นลักษณะทางคุณภาพ ถึงแม้ว่าสารแอนโธไซยานินจะกระจายตัวไปแทบทุกส่วนของพืช แต่ว่าความเข้มข้นของสีที่ปรากฏก็มีความแตกต่างกันไป เนื่องจากอิทธิพลของแสง อุณหภูมิ และอายุของพืช ที่ทำให้การสังเคราะห์และการสลายตัวของแอนโธไซยานินเปลี่ยนแปลง และแตกต่างกันไปในแต่ละส่วนของพืช



ภาพที่ 2.7 โครงสร้างทางเคมีของแอนโธไซยานิน
ที่มา: Anthocyanin (2011)

สารแกมมาโอไรซานอล ถูกค้นพบในปี ค.ศ. 1954 โดยนักวิทยาศาสตร์ชาวญี่ปุ่น เป็นสารประกอบที่พบในรำข้าว มีโครงสร้างดังแสดงในภาพที่ 2.8 สารแกมมาโอไรซานอลเป็นสารที่มีคุณสมบัติต่อต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดมะเร็ง (Dejian et al., 2002) และใช้ในการแก้ไขปัญหาสุขภาพ เช่น ลดการดูดซึมคอเลสเตอรอลจากอาหารสู่ร่างกาย ลดการสังเคราะห์คอเลสเตอรอลในตับ และใช้ในการปรับสมดุลของสภาพของสตรีวัยทอง (Menopause) ช่วยป้องกันโรคหัวใจ ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง ยับยั้งการหลั่งของกรดในกระเพาะอาหารและการรวมตัวของเกล็ดเลือด นอกจากนี้สารแกมมาโอไรซานอลที่พบในธรรมชาติยังจัดเป็นสมุนไพรท้องถิ่น ใช้เป็นสมุนไพรสำหรับหญิงที่ตกเลือดในขณะคลอดบุตร เป็นต้น (ดำเนิน กาละดี, 2551)



ภาพที่ 2.8 โครงสร้างทางเคมีของสารแกมมาโอไรซานอล
ที่มา: Luo (2011)

2.6 จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องในการผลิตสาโท

จุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการผลิตสาโทประกอบด้วยจุลินทรีย์ 3 ชนิดคือ รา ยีสต์และแบคทีเรีย

2.6.1 รา เป็นจุลินทรีย์พวกยูคาริโอต มีลักษณะเป็นเส้นใย แต่ละเส้นเรียกว่าไฮฟา ราส่วนใหญ่สืบพันธุ์โดยการสร้างสปอร์ ซึ่งมีขนาดเล็ก เบา และทนต่อความแห้ง แหล่งคาร์บอนของรานอกจากได้จากคาร์โบไฮเดรตอาจได้จากพวกไขมัน กรดอินทรีย์ ราต้องการไนโตรเจนเพื่อนำไปใช้ในการสร้างกรดอะมิโน ราส่วนใหญ่เป็นพวกต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต

2.6.1.1 สัณฐานวิทยาของรา

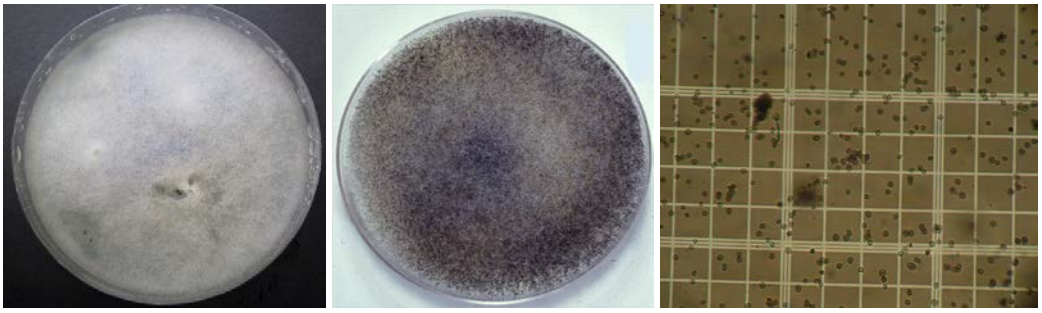
ราสายที่ชูขึ้นในอากาศ เรียกว่า สายราอากาศ (Aerial hypha) ทำหน้าที่สืบพันธุ์ และราที่งอกลงในอาหารเลี้ยงเชื้อหรืออินทรีย์สาร ทำหน้าที่ดูดอาหารเรียกว่า สายราดูดอาหาร (Vegetative hypha) ราสายมีการเจริญที่ปลายสายเป็นสำคัญ กลุ่มของราสาย (Hypha) เมื่อรวมกันแน่น เรียกว่า กลุ่มใยรา (Mycelium) ในทางปฏิบัติใช้ คำว่า ไฮฟา หรือใยรา และกลุ่มใยราหรือไมซีเรียมแทนกันได้

ราสามารถจำแนกตามขนาดและผนังกั้นได้เป็น 2 ชนิด คือ ราสายชนิดที่มีผนังกั้น (Septate hypha) ราชนิดนี้มีขนาดกว้างประมาณ 1-2 ไมโครเมตร มีผนังกั้นชัดเจน นิวเคลียส (Nucleus) และไซโทพลาสซึม (Cytoplasm) อยู่เป็นสัดส่วน แต่ถ้าใช้กล้องจุลทรรศน์ที่มีกำลังขยายมากส่องดูจะพบรู (Microscopic pore) ส่วนที่อยู่ภายในเซล์มีการเคลื่อนไหวได้ (Hyphal streaming) บางครั้งสายราอาจเปลี่ยนรูปได้ และราสายชนิดที่ไม่มีผนังกั้น (Non septate hypha) ราชนิดนี้มีขนาด 4-10 ไมโครเมตร ไม่มีผนังกั้น นิวเครียสและไซโทพลาสซึมเคลื่อนไหวปะปนกัน แต่จะเกิดผนังกั้นได้ เช่น เวลาสืบพันธุ์ หรือสายราขาด โดยปกติโคโลนีของราสายชนิดไม่มีผนังกั้นนี้มักฟูกว่าชนิดที่มีผนังกั้น ราสืบพันธุ์ได้ทั้งแบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ

จุลินทรีย์กลุ่มราในกระบวนการผลิตสาโท จะทำหน้าที่เปลี่ยนแป้งที่เป็นองค์ประกอบในเมล็ดข้าวให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว เรียก ปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงนี้ว่า แซคคาริฟิเคชั่น (Saccharification) โดยราจะสร้างเอนไซม์กลุ่มอะไมเลส (amylase) ซึ่งประกอบด้วยแอลฟาอะไมเลส (α-amylase) เบตาอะไมเลส (β-amylase) และกลูโคอะไมเลส (Glucoamylase) เพื่อย่อยสลายโครงสร้างของโมเลกุลแป้งให้เป็นน้ำตาล ราที่มีบทบาทสำคัญและสร้างเอนไซม์ในปริมาณมากได้แก่ราในกลุ่ม Zygomycetes ซึ่งราที่สำคัญในกลุ่มนี้ ได้แก่ *Rhizopus* sp., *Mucor* sp. และ *Amylomyces* sp. และราในกลุ่ม Deuteromycetes ซึ่งราที่สำคัญในกลุ่มนี้ได้แก่ *Aspergillus* sp. โดยราในกลุ่ม Zygomycetes สามารถสร้างเอนไซม์ที่มีกิจกรรมสูง และสร้างกรดอินทรีย์บางชนิดที่ทำให้เกิดรสเปรี้ยวในสาโท เช่น กรดซิตริก (Citric acid) กรดแลคติก (Lactic acid) และกรดฟูมาลิด (Flumalic acid) แต่ราในกลุ่มนี้มีข้อเสียคือ การย่อยแป้งจะเกิดไม่สมบูรณ์ นั่นคือเมื่อย่อยแป้งแล้วจะได้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวน้อยกว่าราในกลุ่ม Deuteromycetes ซึ่งเป็นรากลุ่มที่ไม่ทำให้เกิดรสเปรี้ยวในสาโท ราที่นำมาใช้ในงานวิจัยนี้ได้แก่ ราไรโซปัส (*Rhizopus* sp.) และราโมแนสคัส (*Monascus* spp.)

2.6.1.2 ราไรโซปัส (*Rhizopus* sp.) ถูกจัดอยู่ใน Class Zygomycetes, Order Mucorales และ Family Mucoraceae เป็นจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญและมีบทบาทในการสร้างเอนไซม์ปริมาณมาก เส้นใยเมื่ออายุอ่อนมีสีขาว ดังภาพที่ 2.9 (ก) เมื่ออายุมากขึ้นเส้นใยจะมีสีดำ และมองเห็นสปอร์สีน้ำตาล หรือสีดำได้ชัดเจน ดังภาพที่ 2.9 (ข) และลักษณะสปอร์ของรา *R. oryzae* แสดงดังภาพที่ 2.9 (ค) คุณสมบัติของราไรโซปัสคือ สร้าง

เอนไซม์ที่มีกิจกรรมสูง พร้อมกับสร้างกรดอินทรีย์ เช่นกรดฟูมาลิค กรดซิตริคและกรดแลคติค ทำให้เกิดรสเปรี้ยวในสาโท กรดที่เกิดขึ้นนี้จะเป็นตัวช่วยยับยั้งพวกจุลินทรีย์อื่นที่เป็นสาเหตุของการปนเปื้อนได้ ที่เรียกว่า Protected fermentation เชื้อราจะสร้างเส้นใยจำนวนมากแผ่กระจายปกคลุมบนผิวเมล็ดข้าว และแทรกตัวเข้าไปในช่องว่างระหว่างเมล็ดข้าว บางส่วนแทงทะลุเข้าไปในเมล็ดข้าว และสร้างเอนไซม์จำนวนมากออกมาย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล สร้างกรดอินทรีย์ และยังผลิตสารอาหารและวิตามินที่เป็นประโยชน์ต่อการเจริญของยีสต์



(ก) (ข) (ค)

ภาพที่ 2.9 ภาพแสดงลักษณะโคโลนีของรา *R. oryzae* เมื่ออายุอ่อนมีสีขาว (ก) เมื่ออายุมากขึ้นจะมีสีดำ (ข) และลักษณะสปอร์ของรา *R. oryzae* (ค)

(ก) (ข) (ค)

ภาพที่ 2.10 แสดงลักษณะโคโลนีของรา *M. purpureus* เมื่ออายุอ่อนมีสีขาว (ก) เมื่ออายุมากขึ้นจะมีสีเหลืองอมส้ม (ข) และลักษณะสปอร์ของรา *M. purpureus* (ค)

2.6.1.3 ราโมแนสคัส (*Monascus* spp.) จัดอยู่ใน Class Ascomycetes เส้นใยเมื่ออายุอ่อนมีสีขาว แสดงดังภาพที่ 2.10 (ก) เมื่ออายุมากขึ้นจะมีสีเหลือง สีส้ม หรือสีแดง ดังภาพที่ 2.10 (ข) และ ลักษณะสปอร์ของรา *M. purpureus* แสดงดังภาพที่ 2.10 (ค) เส้นใยมีผนังกั้น มีการแตกกิ่งก้านสาขามากมาย และมักเจริญแบบชิดเกาะแน่นบนผิวของอาหารแข็ง การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ การสืบพันธุ์แบบไม่มีเพศ มีการสร้างโคนิเดียเจริญมากจากโคนิดิโอฟอร์ (Conidiophore) โคนิเดียมีลักษณะกลมหรือรูปไข่ อาจมีอันเดียวหรือเกิดติดต่อกันเป็นลูกโซ่ โคนิเดียมักไม่มีสีแต่เมื่ออายุมากขึ้นจะเกิดสีแดงได้บ้าง โคนิดิโอฟอร์มีขนาดสั้นอาจมีผนังกั้น

หรือเซพเตต 0-1 ด้าน ถ้ามีขนาดยาวจะมีผนังกั้น 2-6 ด้าน เป็นสายตรงหรือขดเป็นเกลียว และเปลี่ยนเป็นสีแดงเมื่ออายุแก่ขึ้น การงอกของโคนิเดียจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับสูตรอาหาร นอกจากนั้นยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่นอีก เช่น อายุสปอร์ ความหนาแน่นของสปอร์ ความเป็นกรด-ด่าง แสง และอุณหภูมิ เช่น อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 35 ^{O}C โดยทั่วไปโคนิเดียจะงอกภายใน 4 ชั่วโมง เมื่อมีความชื้นและอุณหภูมิที่เหมาะสมด้วยการสร้าง germ tube ขึ้นมา 1-6 อัน ซึ่งการงอกของโคนิเดียกระตุ้นได้ด้วยคาร์โบไฮเดรตหลายชนิด

การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของราโมแนสคัสคล้ายกับเชื้อราใน Class Ascomycetes มีการสร้างเพอริทีเซียม ซึ่งเป็นแอสโคคาร์ป (Ascocarp) มีรูปร่างกลม โดยจะเกิดบนก้าน (Stalk) ที่มีหรือไม่มีผนังกั้นก็ได้ แอสโคคาร์ปเกิดขึ้นบนเส้นใยซึ่งเป็นแบบโฮโมแทลลิก (Homothallic) เกิดการฟิวชัน (Fusion) ที่ปลายแอสโกเนียมกับส่วนฐานหรือส่วนกลางของแอนเทอริเดียม แล้วจึงมีการวิวัฒนาการต่อไปคือ แบ่งเซลล์แบบไมโอซีส ตามมาด้วยไมโตซีส มี daughter nuclei จากการแบ่งตัว มีการขยายผนังเซลล์รวมออกเรียกว่า การสร้างแอสโคคาร์ป จนภายในเพอริทีเซียมมีแอสโคสปอร์ (Ascus) มากมาย แอสโคสปอร์มีลักษณะเป็นรูปไข่ อาจมีสีน้ำตาล สีแดง สีส้ม หรือไม่มีสี เมื่อผนังแอสโคคาร์ปแตกออกก็จะปล่อยแอสโคสปอร์องอกเป็นเส้นใหม่

Monascus sp. สามารถผลิตสารสี (pigment) ได้ 6 ชนิด ได้แก่ monascin, ankaflavin (สารสีเหลือง) monascorubrin, rubropunctatin (สารสีส้ม) corubramine และ rubropunctamine (สารสีแดง) (Jeun et al., 2008) นอกจากนี้ *Monascus* sp. ยังสามารถผลิตสารเมแทบอไลต์ ได้หลายชนิดที่น่าสนใจและมีคุณค่าทางเศรษฐศาสตร์ เช่นวิตามินบี 2 (รัตนา สุขสันต์, 2524) mevinolin และ citrinin (Endo, 1979) การใช้รา *Monascus* sp. ในอาหารและยาพื้นบ้านในประเทศแถบตะวันออกมีมานานกว่าหลายร้อยปีแล้ว เช่นเมื่อ 600 ปีก่อน มีการใช้ *Monascus* sp. ในการผลิตไวน์ สีผสมอาหาร ยาสามัญพื้นบ้าน และอาหารหมักดองต่าง ๆ โดยรา *Monascus* sp. นี้สามารถเจริญบนเมล็ดข้าวนึ่งได้ และเมื่อบ่มที่อุณหภูมิและความชื้นที่เหมาะสม จะสามารถย่อยข้าวให้นุ่ม และในขณะเดียวกันก็สร้างสารสีแดงเข้มขึ้นด้วยเรียกว่า “ข้าวแดง”

2.6.2 ยีสต์ จะทำหน้าที่เปลี่ยนน้ำตาลที่ได้จากการย่อยแป้งโดยราให้กลายเป็นแอลกอฮอล์โดยผ่านกระบวน การหมักที่เรียกว่า กระบวนการหมักแอลกอฮอล์ (Alcoholic fermentation) ซึ่งปฏิกิริยานี้จะเกิดได้ดีในสภาวะที่ไร้อากาศ (Anaerobic condition) ยีสต์ที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการหมักแอลกอฮอล์ได้แก่ ยีสต์ในกลุ่ม Ascomycetes ซึ่งยีสต์ที่สำคัญในกลุ่มนี้คือ *Saccharomyces* sp., *Endomycopsis* sp. และ *Hensenula* โดยยีสต์กลุ่มนี้เหมาะสำหรับใช้ในการหมักสาโท เพราะเจริญได้เร็ว ทนต่อความเป็นกรด ความเข้มข้นของน้ำตาล และแอลกอฮอล์ได้ดี (ลักขณา เหล่าไพบูลย์, 2549)

2.6.2.1 สัณฐานวิทยาของยีสต์

ยีสต์ เป็นจุลินทรีย์พวกยูคาริโอต เซลล์ส่วนใหญ่มีรูปร่างกลม หรือรี อาจมีรูปร่างเป็นรูปถั่ว รูป เลมอน ทรงกระบอก สามเหลี่ยม หรือยาวเป็นสาย ขนาดของยีสต์แตกต่างกันตามชนิด ลักษณะเด่นของยีสต์คือ เป็นพวกเซลล์เดี่ยวและมีหน่อ การแตกหน่อบางครั้งเซลล์ไม่หลุดออกจากกัน แต่เกาะกันเป็นกลุ่ม บางครั้งมีการเปลี่ยนแปลงโดยเซลล์ตรงกลางยาวต่อกันเป็นสาย เรียกซูโดไมซีเลียม ยีสต์บางชนิดมีการสร้างไมซีเลียมจริง

เซลล์ยีสต์มีรูปร่างได้หลายรูปแบบ ส่วนใหญ่เป็นรูปวงรี หรือเซลล์รูปยาวหัวท้ายตัดป้าน มีการสืบพันธุ์โดยการแตกหน่อ (Budding) สร้างบลาสโตโคนีเดีย (Blastoconidia) บางชนิดแบ่งเซลล์ภายใน

(Fission) โดยปกติเซลล์ที่แตกหน่อออกไป จะหลุดออกจากเซลล์แม่และมีการเจริญแตกหน่อต่อไปอีก ยีสต์บางชนิด เช่น ยีสต์ในจีนัส *Candida* นอกจากจะพบว่าเซลล์ที่มีการแตกหน่อตามปกติแล้ว ในบางสภาวะยังพบการสร้างสายราเทียม (Pseudohyphae) และสายราแท้ (True hyphae) สายราเทียมคือ เซลล์ยีสต์ที่ยืดยาวออกและเรียงต่อกันดูเหมือนกับสายราชนิดที่มีผนังกั้น แต่สังเกตได้จากการคอดของรอยต่อของเซลล์และจากรอยคอดต่อของเซลล์นี้จะพบเซลล์ยีสต์แตกหน่อเกิดขึ้นอีกนอกจากนี้เซลล์ยีสต์ที่ยืดยาวออกอาจมีการสร้างผนังกั้นเซลล์กลายเป็นสายราแท้ได้ด้วย สายราแท้ของยีสต์ยังเกิดการงอก (Germ tube) ของเซลล์ยีสต์และเจริญยืดยาว สร้างผนังกั้นเซลล์กลายเป็นสายราแท้ ยีสต์ชนิดที่สร้างสายราได้นี้เมื่อเจริญบนอาหารวุ้นจะให้ลักษณะโคโลนีที่เรียกว่า yeast like colony คือมีส่วนของสายราฝังอยู่ในอาหาร เซลล์ยีสต์เจริญกองอยู่บนผิวอาหารไม่พบสายราอากาศ (Aerial hypha) ส่วนยีสต์แท้ (True yeast) สร้างเฉพาะยีสต์เซลล์ เมื่อเจริญให้ yeast colony ที่มีลักษณะและสีแตกต่างกันไปแล้วแต่ชนิดของยีสต์

ยีสต์ที่ใช้ในการหมักเอทานอลโดยทั่วไปคือ *Sacharomyces* spp. เซลล์ของยีสต์กลุ่มนี้มีรูปร่างกลมถึงวงรี ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 5x10 ไมโครเมตร ขึ้นกับสปีชีส์ของเชื้อและอาหารที่ใช้ในการเจริญ สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการแตกหน่อ *Sacharomyces cerevisiae* ถือเป็นจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญที่สุดในการผลิตแอลกอฮอล์ ที่สภาวะที่เหมาะสม บางสปีชีส์สามารผลิตแอลกอฮอล์ได้สูงถึง 16 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) และในการหมักที่มีการเติมน้ำตาลไปเป็นช่วงๆ อาจทำให้ยีสต์สามารผลิตแอลกอฮอล์ได้สูงถึง 18 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) โดยมีปัจจัยที่ควบคุมการเจริญของยีสต์ได้แก่

(1) อาหาร โดยมากใช้คาร์บอนเป็นแหล่งพลังงาน จะมีบางส่วนที่จะถูกนำไปใช้เป็นส่วนประกอบของเซลล์ซึ่งขึ้นกับสภาวะการเจริญ แหล่งคาร์บอนที่ใช้พลังงานได้มาจากสารจำพวกคาร์โบไฮเดรตเป็นส่วนใหญ่ ความสามารถในการใช้คาร์โบไฮเดรตแต่ละชนิด ขึ้นอยู่กับความสามารถของยีสต์ในการนำสารอาหารไปใช้ เช่น น้ำตาลที่มีคาร์บอน 6 อะตอมที่ยีสต์สามารถใช้ได้แก่ กลูโคส ฟรุกโตส แมนโนส ยีสต์ส่วนใหญ่สามารถใช้น้ำตาลโมเลกุลคู่ได้ เช่น *S. cerevisiae* สามารถใช้ได้ในสภาวะที่มีอากาศ แต่จะไม่สามารนำน้ำตาลไปใช้ในการหมักได้ เมื่ออยู่ในสภาวะที่ไม่มีอากาศ

(2) ไนโตรเจน ยีสต์มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์(โดยน้ำหนักแห้ง) ดังนั้นไนโตรเจนจึงเป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อยีสต์ โดยทั่วไปยีสต์สามารถใช้ free ammonium ion เป็นแหล่งไนโตรเจนได้ ซึ่งมักจะอยู่ในรูปเกลือ แต่ยีสต์บางชนิดสามารถใช้ ยูเรีย หรือกรดอะมิโนในการเจริญได้ดีกว่า เพราะกรดอะมิโนจะช่วยควบคุมการทำงานของกลไกภายในเซลล์ยีสต์บางส่วนด้วย

(3) ฟอสฟอรัส โดยทั่วไปยีสต์มีฟอสฟอรัสเป็นองค์ประกอบประมาณ 3-5 เปอร์เซ็นต์ซึ่งเป็นองค์ประกอบของกรดนิวคลีอิกของสารพันธุกรรม และเป็นองค์ประกอบของฟอสโฟลิปิด อยู่ในรูปสารอินทรีย์เชิงซ้อน และสารอนินทรีย์ ที่ใช้เป็นตัวเข้าทำปฏิกิริยาและยังมีอิทธิพลต่อการทำงานของเอนไซม์ ยีสต์มักจะใช้ในรูปเกลือฟอสเฟต ในรูป $H_2PO_4^-$ (Orthophosphate) ซึ่งอาจจะอยู่ในรูปเกลือโซเดียมหรือเกลือโพแทสเซียม ฟอสเฟตมีความสำคัญในการเจริญเติบโตของเซลล์ยีสต์ เพราะเป็นตัวควบคุมการสังเคราะห์ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และเป็นตัวรักษาสภาพของผนัง

(4) สารที่ช่วยส่งเสริมการเจริญ สารที่ช่วยส่งเสริมการเจริญของยีสต์เป็นสารอินทรีย์เชิงซ้อน ยีสต์มีความต้องการในระดับความเข้มข้นที่ต่ำ มีความจำเพาะต่อปฏิกิริยา caboxylase-catalysed reaction

กรดแพนโตเทนิค มีหน้าที่เกี่ยวกับการจัดรูปร่างของโคเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยา acetylation กรดไนโคเทนิค จะอยู่ในรูปในโคตินาไมด์ ที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยารีดอกซ์ และไทเอมีนหรือวิตามินบี จะอยู่ในรูปไทเอมีนฟอสเฟตที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยา decarboxylation

2.6.3 แลคติกแอสิดแบคทีเรีย (Lactic acid bacteria) ประโยชน์ของแลคติกแอสิดแบคทีเรียในกระบวนการผลิตสาโทคือ ทำให้พีเอช (pH) ลดลง ซึ่งเป็นพีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตแอลกอฮอล์ของยีสต์ และทำให้จุลินทรีย์ปนเปื้อนอื่นๆ เจริญได้ช้าลง นอกจากนี้เครื่องดื่มประเภท สาโท ยังนิยมให้มีรสเปรี้ยวเล็กน้อย ดังนั้นแลคติกแอสิดแบคทีเรีย จึงมีความบทบาทสำคัญในกระบวนการผลิตสาโท

2.6.4 จุลินทรีย์อื่นๆ นอกเหนือจากจุลินทรีย์ดังกล่าวข้างต้นแล้ว ในบางครั้งอาจพบจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการหลายชนิดปนเปื้อนอยู่ในลูกแป้ง ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เกิดกลิ่นรสที่ไม่พึงประสงค์ในสาโท จุลินทรีย์เหล่านี้ได้แก่ *Acetobacter* sp., *Gluconobacter* sp., *Bacillus* sp., *Fusarium* sp. และ *Pichai* sp. เป็นต้น ดังนั้นมีความจำเป็นที่จะต้องตรวจสอบชนิดของจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในลูกแป้ง เพื่อให้แน่ใจว่าปริมาณของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ยังมีอยู่ในปริมาณมากเมื่อเปรียบเทียบกับจุลินทรีย์ปนเปื้อน ซึ่งคุณลักษณะของจุลินทรีย์ที่ดีและมีประโยชน์เมื่อเปรียบเทียบกับจุลินทรีย์ที่ไม่ดีและไม่มีประโยชน์ สามารถสรุปได้ดังตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 คุณลักษณะของจุลินทรีย์ที่ต้องการและไม่ต้องการในกระบวนการผลิตสาโท

คุณลักษณะจุลินทรีย์ที่ดี	คุณลักษณะจุลินทรีย์ที่ไม่ดี
รา 1. เจริญได้เร็ว และสร้างเส้นใยมาก 2. ย่อยแป้งให้กลายเป็นน้ำตาลและให้กลิ่นรสที่ดี ยีสต์ 1. สร้างและทนแอลกอฮอล์ได้สูง 2. ให้กลิ่นหอมในสาโท 3. ให้รสชาติและความฝาดที่ดีในสาโท 4. ให้ความเปรี้ยวในระดับพอดี 5. ให้สาโทที่มีตัวตน 6. สามารถหมักได้ดีที่อุณหภูมิห้อง 7. ภายหลังหมักเสร็จ เซลล์ตกตะกอนได้ดี 8. ไม่ให้กลิ่นรสที่ไม่พึงประสงค์ เช่น กลิ่นแก๊ส ไข่เน่า กลิ่นเหม็นเปรี้ยว	รา ยีสต์ และแบคทีเรียปนเปื้อน 1. สร้างกรดน้ำส้ม 2. หมักสาโทแล้วให้กลิ่นเหม็นบูด 3. สร้างความขุ่นในสาโท 4. สร้างสีที่ไม่พึงประสงค์ 5. สร้างเมือกหรือยางเหนียวในสาโท 6. สร้างแก๊สที่ไม่พึงประสงค์จำนวนมาก เช่น แก๊สไข่เน่า 7. สร้างเอนไซม์ที่เปลี่ยนกรดอะมิโนไปเป็นฟูเซลออยล์ 8. สร้างเอนไซม์ไลเปสในปริมาณมาก 9. สร้างและสะสมสารเอทิลคาร์บาเมต 10. ย่อยสลายแอลกอฮอล์ที่ได้ 11. ย่อยสลายกรดอินทรีย์ที่มีประโยชน์ให้กลายเป็นสารอื่นที่ไม่ต้องการ

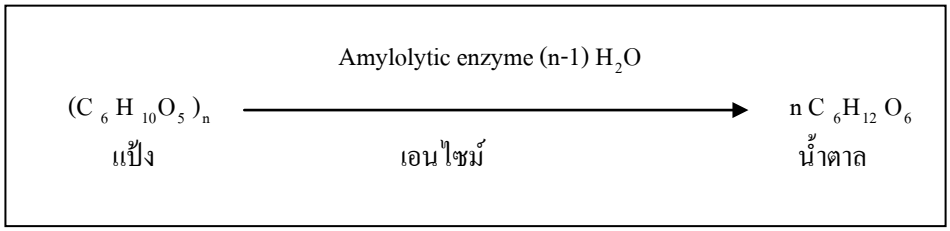
ที่มา: พรเทพ ถนนแก้ว (2549)

2.7 กระบวนการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและชีวเคมีที่สำคัญในการผลิตสาโท

ในกระบวนการผลิตสาโทนั้น การเปลี่ยนแปลงทางเคมีและชีวเคมีถือได้ว่าเป็นขั้นตอนที่มีความสำคัญต่อคุณภาพและคุณลักษณะสาโทเป็นอย่างมาก คุณภาพของวัตถุดิบที่ใช้และกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและชีวเคมีที่เหมาะสมในระหว่างกระบวนการผลิต จะทำให้ได้ผลิตภัณฑ์สาโทที่มีรสชาติ กลิ่น สี และเนื้อสัมผัสที่เป็นเอกลักษณ์ของสาโทได้

2.7.1 การเปลี่ยนแปลงทางเคมีและชีวเคมีโดยรา

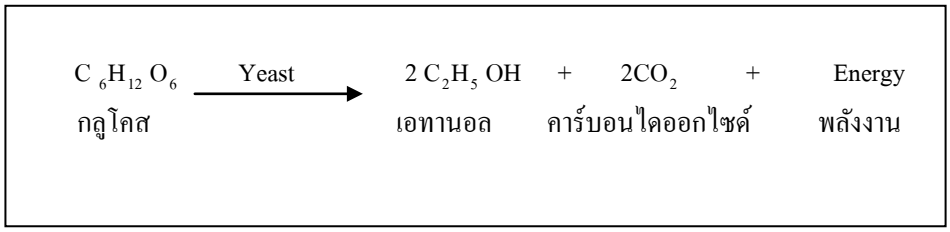
การเปลี่ยนแปลงในขั้นตอนนี้เป็นขั้นตอนแรกในกระบวนการหมักที่ใช้แป้งเป็นวัตถุดิบ ในกระบวนการผลิต ราที่เกี่ยวข้องเป็นกลุ่มที่สามารถสังเคราะห์เอนไซม์ในกลุ่มอะไมโลไลติกเอนไซม์ (Amylolytic enzyme) โดยเอนไซม์จะถูกส่งมานอกเซลล์เพื่อย่อยสลายแป้ง เอนไซม์หลักในกลุ่มอะไมโลไลติกเอนไซม์ได้แก่ แอลฟาอะไมเลส (α-amylase) และ อะไมโลกลูโคซิเดส (Amyloglucosidase) ซึ่งสามารถย่อยพันธะแอลฟา-1,4 และ พันธะแอลฟา -1,6-ไกลโคซิดิค (α-1,4 และ α-1,6-glycosidic bond) ของสายพอลิเมอร์ของแป้งได้เป็นน้ำตาลกลูโคส ดังภาพที่ 2.11 นอกจากราจะเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาลแล้วรายังสามารถผลิตสารประกอบที่ให้กลิ่นและรสชาติในผลิตภัณฑ์สาโทด้วย



ภาพที่ 2.11 การเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล
ที่มา: คณิต วิชิตพันธุ์ (2549)

2.7.2 การเปลี่ยนแปลงทางเคมีและชีวเคมีโดยยีสต์

ยีสต์ที่ใช้ส่วนใหญ่จะเป็นยีสต์ที่มีความสามารถในการผลิตแอลกอฮอล์ได้ดี และตกตะกอนจากผลิตภัณฑ์ ได้ง่าย โดยกิจกรรมหลักของยีสต์นั้น จะเปลี่ยนน้ำตาล 1 โมเลกุลให้ได้เป็นเอทานอล 2 โมเลกุล และพลังงาน ดังภาพที่ 2.12 ซึ่งปฏิกิริยาที่แสดงนี้เป็นปฏิกิริยาพื้นฐานในการเปลี่ยนแปลงในการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ทุกชนิด



ภาพที่ 2.12 การเปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทานอล
ที่มา: คณิต วิชิตพันธุ์ (2549)

(1) ชีวเคมีของการเกิดเอทานอล

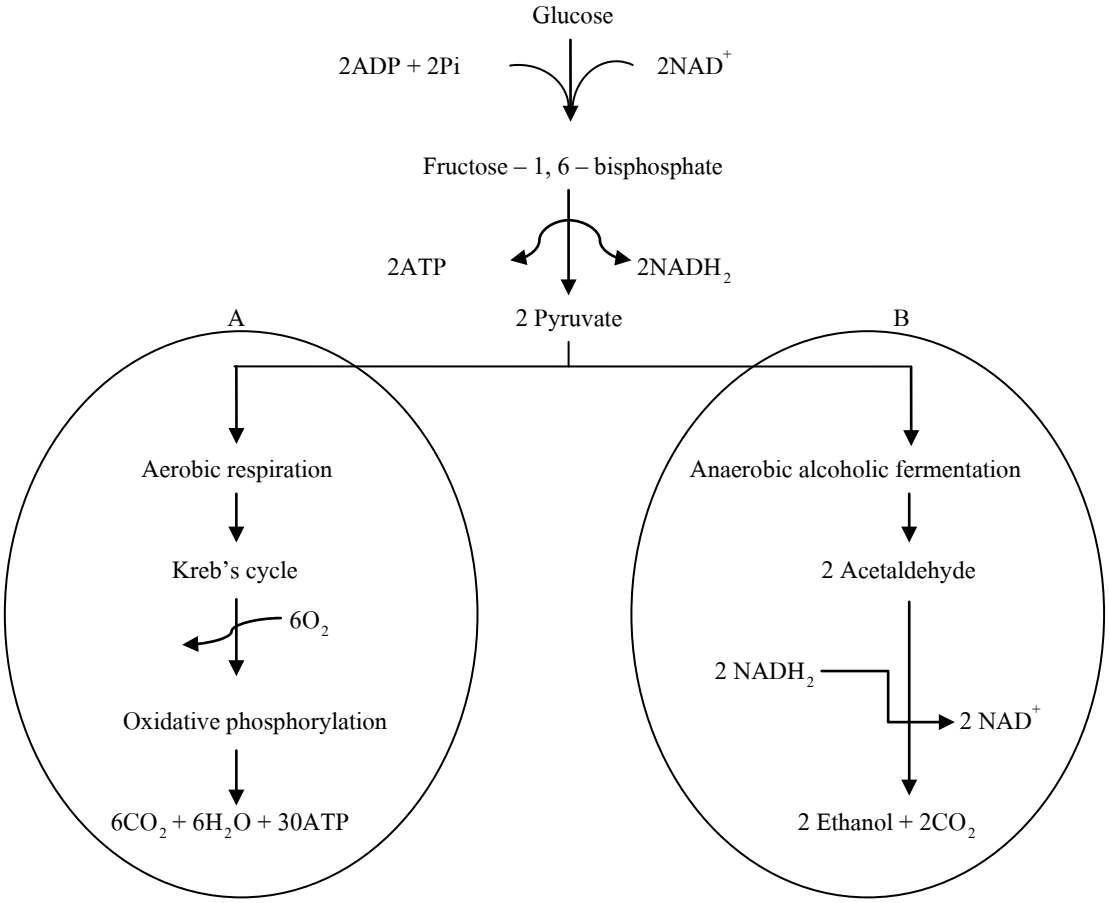
กระบวนการผลิตเอทานอลในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ ส่วนใหญ่จะเป็นการเปลี่ยนแปลงโดยกระบวนการ เมทาบอลิซึมของยีสต์ที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ทั้งในสภาวะที่มีอากาศและไม่มีอากาศขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงสรุปดังภาพที่ 2.13

ขั้นแรกคือ เมื่อยีสต์เจริญในอาหารที่มีน้ำตาล ยีสต์จะย่อยสลายน้ำตาลผ่านวิถีไกลโคไลซีส (Glycolysis pathway) โดยการเปลี่ยนจากกลูโคส 1 โมเลกุลเป็นไพรูเวท 2 โมเลกุลได้พลังงานในรูปของ ATP 2 โมเลกุล และ $NADH_2$ 2 โมเลกุล การเปลี่ยนในขั้นตอนนี้เกิดขึ้นไม่ว่ายีสต์จะเจริญในสภาวะที่มีออกซิเจนหรือไม่มีออกซิเจน

ขั้นตอนต่อมาไพรูเวทจะถูกเปลี่ยนต่อไปให้ผลผลิตสุดท้ายต่างกันตามชนิดของยีสต์และสภาวะแวดล้อมในระหว่างกระบวนการหมัก โดยจะแบ่งการเปลี่ยนแปลงเป็น 2 ประเภท คือ

(1.1) Oxidative metabolism (Aerobic respiration) ในสภาวะที่มีออกซิเจน ยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลเป็นไพรูเวท จากนั้นไพรูเวทจะถูกเปลี่ยนเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำโดยผ่านวัฏจักเครป (Kreb's cycle) และวิถีการหายใจ (Oxidative respiration) ได้พลังงาน 30 ATP รวมกับขั้นตอนแรก 6-8 ATP (2 ATP รวมกับ 4-6 ATP ที่ได้จากการเปลี่ยน $NADH_2$ 2 โมเลกุล) เป็น 36-38 ATP ในสภาวะนี้ยีสต์จะนำ ATP ที่ได้ไปใช้เป็นพลังงานในการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนของยีสต์ให้มากขึ้น ดังภาพที่ 2.13 (A)

(1.2) Fementative metabolism (Anaerobic fermentation)ในกรณีที่น้ำตาลกลูโคสมีความเข้มข้นสูงและ/หรือสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ไพรูเวทจะถูกเปลี่ยนเป็นเอทานอลและคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งจะเรียกว่าเกิดสภาวะ "การหมัก" (Fermentation) ขึ้น โดยสภาวะนี้จะมีจำนวนเซลล์ยีสต์เพิ่มเล็กน้อยและจะมีการเปลี่ยนไพรูเวทให้เป็นอะซีทัลดีไฮด์ แล้วถูกรีดิวซ์ต่อไปเป็นเอทานอล ส่วน 2 $NADH_2$ ที่ได้จากขั้นตอนแรกถูกเปลี่ยนเป็น NAD^+ ในขั้นตอนการเปลี่ยนเป็นเอทานอลเพื่อนำกลับไปใช้ในการสังเคราะห์ 2ATP อีกรอบหนึ่งทำให้วิถีการเจริญของยีสต์ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนดำเนินต่อไปได้โดยมี 2 NAD^+ เพียงพอในการใช้งาน สรุปดังภาพที่ 2.13 (B)



ภาพที่ 2.13 เมแทบอลิซึมของยีสต์ภายใต้สภาวะ (A) การหายใจโดยใช้อากาศ (aerobic respiration) และ (B) การหมักโดยไม่ใช้อากาศ (anaerobic fermentation)

ที่มา: Roehr (2001)

(2) สมดุลมวลและพลังงานในการเปลี่ยนกลูโคสเป็นเอทานอล

จากการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวข้างต้นสามารถเขียนสมการการเปลี่ยนแปลงน้ำตาลกลูโคสให้เป็นเอทานอลและคาร์บอนไดออกไซด์และสมดุลมวลได้ ดังภาพที่ 2.14

$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 2\,C_2H_5OH + 2CO_2 + ATP + \text{ความร้อน}$$

กลูโคส	เอทานอล	คาร์บอนไดออกไซด์
1 โมล	2 โมล	2 โมล
(1 x 180 กรัม)	(2 x 46 กรัม)	(2 x 44 กรัม)
1 กรัม	0.511 กรัม	0.489 กรัม
	51.1 เปอร์เซ็นต์	48.9 เปอร์เซ็นต์

ภาพที่ 2.14 สมดุลของการเปลี่ยนกลูโคสเป็นเอทานอลและคาร์บอนไดออกไซด์

จากสมการข้างต้นสามารถสรุปได้ว่า ในการหมักเอทานอลจากกลูโคส 1 กรัม จะได้เอทานอล 0.511 กรัม และคาร์บอนไดออกไซด์ 0.489 กรัม นั่นคือจากทฤษฎีต้องได้เอทานอล 51.1 เปอร์เซ็นต์ แต่เนื่องจากกลูโคสบางส่วนถูกยีสต์ใช้ไปเพื่อการเจริญเติบโตและบางส่วนถูกเปลี่ยนไปเป็นผลพลอยได้บางชนิดเช่น กลีเซอรอล ซัคซิเนท และแอลกอฮอล์โมเลกุลสูง (Higher alcohol) หรือฟลูเซลออยล์ (Fusel oil) เป็นต้น ทำให้ปริมาณเอทานอลได้ต่ำกว่าทฤษฎีเสมอ ในทางปฏิบัติเอทานอลที่ได้จะอยู่ในช่วงไม่เกิน 90-95 เปอร์เซ็นต์ ของผลผลิตทางทฤษฎีซึ่งจะได้เอทานอลประมาณ 47 เปอร์เซ็นต์ เท่านั้น

เมื่อคิดในแง่ของพลังงานที่ได้จากการที่ยีสต์เปลี่ยนน้ำตาลกลูโคส 1 โมล ให้ได้ 2 โมลของเอทานอล และ 2 โมลของคาร์บอนไดออกไซด์ ในสภาวะการหมักนั้นพลังงานที่ได้ออกมาทั้งหมดเท่ากับ 56 กิโลแคลอรี่ต่อโมล (kcal/mol) แต่พลังงานจะถูกเก็บไว้ในรูปของสารพลังงานสูงคือ ATP 2 โมล (1 ATP จะเก็บพลังงานได้ประมาณ 7 กิโลแคลอรี่ต่อโมล) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 14 กิโลแคลอรี่ต่อโมล คิดเป็นเปอร์เซ็นต์จะได้ประมาณ 25 เปอร์เซ็นต์ของพลังงานที่ให้ออกมาทั้งหมด พลังงานส่วนที่เหลือ 75 เปอร์เซ็นต์ จึงได้ออกมาในรูปของความร้อน จะเห็นได้ว่ากิจกรรมของยีสต์ในสภาวะการหมักนั้นมีความร้อนเกิดขึ้นมากมาย จึงควรคำนึงถึงอุณหภูมิที่สูงขึ้นในระหว่างการหมักด้วย

(3) กลไกการควบคุมเมแทบอลิซึมเพื่อสร้างเอทานอลของยีสต์

(3.1) Pasteur effect ยีสต์หลายชนิดสามารถย่อยสลายกลูโคสทั้งในสภาพที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน ทั้งนี้ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนกลูโคสถูกย่อยสลายโดยกระบวนการหมักเท่านั้น แต่ในสภาวะที่มีออกซิเจนน้ำตาลจะถูกเมแทบอไลซ์อย่างสมบูรณ์ได้เป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำโดยการหายใจ นั่นคือออกซิเจนส่งเสริมการหายใจแต่ไปยับยั้งกระบวนการหมัก ปรากฏการณ์นี้เรียกว่า Pasteur effect

(3.2) Reverse pasteur effect หรือ Crabtree หรือ glucose effect คือการที่กลูโคสในอาหารมีความเข้มข้นสูงเกินไปมีผลทำให้ความสามารถในการหายใจเสียไป reverse pasteur effect เป็นรูปแบบหนึ่งของ catabolite repression โดยที่กลูโคสที่เป็นซับสเตรท (substrate) ไปยับยั้งกระบวนการหายใจ ถึงแม้มีการเติมออกซิเจนให้อย่างเต็มที่ก็ยังพบว่าเกิดการหายใจได้เพียง 6-10 เปอร์เซ็นต์ ของอัตราการหายใจเมื่อมีกลูโคสต่ำๆ ความเข้มข้นของกลูโคสที่มีผลต่อการเกิด Reverse Pasteur effect ขึ้นอยู่กับชนิดของยีสต์ โดยทั่วไปจะมีความเข้มข้นของกลูโคสมากกว่า 3 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ขึ้นไป

2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Pattanagul et al. (2009) ได้ทำการ ศึกษาการผลิต Mevinolin, Citrinin และ Pigment จากข้าวแดงโดยใช้ *Monascus* sp. โดยทำการเพาะเลี้ยงรา *M. purpureus* 4 สายพันธุ์ (ATCC 16365, BCC 6131, DMKU, FTCMU) และ *Monascus ruber* 1 สายพันธุ์ (TISTR 3006) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) ที่อุณหภูมิ 32 °C เป็นเวลา 10 วัน หลังจากนั้นนำราไปเพาะเลี้ยงบนข้าวบาร์เลย์จีน (adlay) ที่อุณหภูมิห้อง (32-35 °C) เป็นเวลา 28 วัน หลังสิ้นสุดกระบวนการหมักแล้วนำไปทำแห้งที่อุณหภูมิ 55°C เป็นเวลา 3 วัน แล้วจึงนำไปทำให้เป็นผงขนาด 80 mesh แล้วจึงทำการวิเคราะห์ปริมาณ Mevinolin และ Citrinin ด้วยวิธี HPLC และ Pigment (สีเหลือง สีส้ม และสีแดง) โดย Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 400, 470, และ 500 nm ตามลำดับ จากผลการทดลอง พบว่า *M. purpureus* DMKU เป็นสายพันธุ์ที่สามารถผลิต mevinolin ได้สูงที่สุด โดยสามารถผลิต mevinolin ได้ 25.03

ppm ในขณะเดียวกันก็สามารถผลิต citrinin ได้น้อยที่สุด คือ 0.26 ppm และ *M. ruber* TISTR 3006 เป็นสายพันธุ์ที่ผลิต mevinolin ได้น้อยที่สุดคือ 15.33 ppm และผลิต citrinin ได้มากที่สุดคือ 14.64 ppm ดังนั้นจากรายงานการวิจัยดังกล่าว *M. purpureus* DMKU เป็นเป็นสายพันธุ์ที่เหมาะสมในการใช้ผลิตอาหารและเครื่องดื่มจาก *Monascus* sp. เนื่องจากสามารถผลิตสาร mevinolin ซึ่งเป็นสารที่มีประโยชน์ต่อผู้บริโภคได้สูงที่สุด และในขณะเดียวกันก็สามารถผลิต citrinin ซึ่งเป็นสารที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภคได้น้อยที่สุดเช่นเดียวกัน นอกจากนี้ *M. purpureus* ATCC 16365 และ *M. ruber* TISTR 3006 สามารถผลิตสารสีรวมทั้งสามชนิด (สีเหลือง สีส้ม และสีแดง) ได้เท่ากับ 24.89 และ 33.52 units ตามลำดับ ในขณะที่ *M. purpureus* DMKU สามารถผลิตสารสีรวมทั้งหมดได้น้อยกว่า คือสามารถผลิตสารสีรวมได้ 16.22 units และสายพันธุ์ที่สามารถผลิตสารสีรวมได้น้อยที่สุดคือ *M. purpureus* FTCMU และ *M. purpureus* BCC 6131 โดยสามารถผลิตได้เพียง 5.03 และ 3.84 units ตามลำดับ (units หมายถึง ความสามารถในการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 400 470 และ 500 นาโนเมตร สำหรับการวัดปริมาณสารสีเหลือง สีส้ม และสีแดง ตามลำดับ) จากรายงานการวิจัยดังกล่าวสามารถกล่าวได้ว่า *M. purpureus* ATCC 16365 และ *M. ruber* TISTR 3006 เป็นสายพันธุ์ที่เหมาะสมในการใช้ผลิตข้าวแดงที่มีปริมาณสารสีรวมได้มากที่สุด ในขณะที่ *M. purpureus* DMKU ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่เหมาะสมในการผลิตข้าวแดงที่มีปริมาณ mevinolin และ citrinin ในระดับที่เหมาะสม สามารถผลิตสารสีรวมได้เป็นอันดับสาม (จากรา 5 สายพันธุ์)

Kim et al. (2008) ได้ทำการศึกษาการประยุกต์ใช้ข้าวแดง (Monascal rice) ในการผลิตเครื่องดื่ม โดยทดลองผลิตเครื่องดื่มจากข้าวแดง 100 เปอร์เซ็นต์ เครื่องดื่มที่ผลิตมาจากข้าวแดง 50 เปอร์เซ็นต์ (ข้าวแดงต่อข้าวในอัตราส่วน 50:50) และเครื่องดื่มที่ผลิตมาจากข้าว 100 เปอร์เซ็นต์ โดยติดตามการเปลี่ยนแปลงระหว่างกระบวนการหมักของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ สารประกอบฟีนอลลิก และสารแอนติออกซิแดนท์ ผลการทดลองพบว่า เครื่องดื่มที่ผลิตจากข้าว100 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์หลังสิ้นสุดกระบวนการหมักสูงที่สุดคือ 69.8 mg/ml รองลงมาคือเครื่องดื่มที่ผลิตจากข้าวแดง 50 เปอร์เซ็นต์ และเครื่องดื่มที่ผลิตจากข้าวแดง 100 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์หลังสิ้นสุดกระบวนการหมักเท่ากับ 54.2 และ 44.2 mg/ml ตามลำดับ นอกจากนี้เครื่องดื่มที่ผลิตจากข้าวแดง 100 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลลิกสูงที่สุดเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักคือ 113.9 µg/ml รองลงมาคือเครื่องดื่มที่ผลิตจากข้าวแดง 50 เปอร์เซ็นต์ และเครื่องดื่มที่ผลิตจากข้าวแดง 0 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลลิกเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมัก 92.9 และ 69.7 µg/ml ตามลำดับ เมื่อพิจารณาปริมาณสารแอนติออกซิแดนท์เมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักพบว่า เครื่องดื่มที่ผลิตจากข้าวแดง 100 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณสารแอนติออกซิแดนท์สูงที่สุดคือ 75.6 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือเครื่องดื่มที่ผลิตจากข้าวแดง 50 เปอร์เซ็นต์ และเครื่องดื่มที่ผลิตจากข้าวแดง 0 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณสารสารแอนติออกซิแดนซ์ 65.7 และ 50.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากรายงานการวิจัยดังกล่าวสรุปว่า เครื่องดื่มที่ผลิตจากข้าวแดง 100 เปอร์เซ็นต์ เป็นเครื่องดื่มที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลลิก และสารแอนติออกซิแดนท์ สูงที่สุด คือ 113.9 µg/ml และ 75.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สามารถกล่าวได้ว่าข้าวแดงสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการทำเป็นเครื่องดื่มได้ โดยเป็นเครื่องดื่มมีสารสำคัญที่มีประโยชน์ต่อผู้บริโภคอยู่ในปริมาณสูง

Dung et al. (2006) ได้ทำการคัดแยกเชื้อจากหัวเชื้อสาโท (Vietnamese rice wine starters) จำนวน 6 ตัวอย่าง โดยสามารถคัดแยกราได้ทั้งหมด 53 ไอโซเลท แล้วทำการทดสอบประสิทธิภาพการย่อยแป้งของราแต่ละสายพันธุ์ โดยการถ่ายเชื้อราลงบน glutinous rice starch agar แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 30 ^{O}C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วใช้

สารละลาย 0.25 เปอร์เซ็นต์ ไอโอดีนเททับบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อสังเกตบริเวณโซนใสที่เกิดขึ้นจากการย่อยแป้งของราแต่ละสายพันธุ์ผลการทดลองพบว่า สามารถจำแนกราดังกล่าวได้เป็น 3 กลุ่มตามประสิทธิภาพการย่อยแป้ง ดังนี้ กลุ่มที่ 1 (จำนวน 8 ไอโซเลท) ย่อยแป้งได้ดีที่สุด โดยทำให้เกิดโซนใสรอบโคโลนีขนาด 7.1 - 9.0 เซนติเมตร กลุ่มที่ 2 (จำนวน 21 ไอโซเลท) สามารถทำให้เกิดโซนใสรอบโคโลนีขนาด 5.0 – 6.3 เซนติเมตร และกลุ่มที่ 3 (จำนวน 24 ไอโซเลท) มีประสิทธิภาพในการย่อยแป้งต่ำที่สุด โดยสามารถทำให้เกิดโซนใสรอบโคโลนีขนาด 2.1 – 4.7 เซนติเมตร