สารเสริมการผลิตสุราจากแป้งข้าวเจ้า

Liquors Adjunct from Rice Flour

อังคณา น้อยสุวรรณ[1] ปราณี อ่านเปรื่อง[2]

Angkana Noisuwan[1] Pranee Anprung[2]

ABSTRACT

The conditions in the production of liquors adjunct from rice flour both of alpha amylase and glucoamylase were pH at 5.5 and temperature at 65°C. Liquors adjunct could be divided into 2 types. The first type was used for liquors adjunct by using rice flour as initial raw material. Hydrolysis time for rice flour with 0.15% v/w alpha amylase and 3% w/w glucoamylase was 60 minutes which had 58.27 DE and 58.90% fermented soluble solids including 55.00% glucose. The second type had DE above 80. The results showed that hydrolysis time with 0.1% v/w alpha amylase and 3% w/w glucoamylase concentration was 150 minutes. The product had 95.84 DE and 98.47 fermented soluble solids including 93.88% glucose. The protein contents both of them were zero.

Key words : Liquors adjunct, Rice flour, Alpha-amylase, Glucoamylase.

บทคัดย่อ

ภาวะในการผลิตสารเสริมการผลิตสุราจากแป้งข้าวเจ้าโดยใช้เอ็นไซม์ 2 ชนิดคือ แอลฟา-อะมิเลสและกลูโคอะมิเลสร่วมกันคือ ความเป็นกรดด่าง 5.5 และอุณหภูมิ 65 °ซ. สารเสริมการผลิตสุราที่ผลิตได้สามารถแบ่งเป็น 2 ผลิตภัณฑ์คือ สารเสริมการผลิตสุราสำหรับผลิตภัณฑ์สุราที่ใช้ข้าวเป็นวัตถุดิบตั้งต้น หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งคือ การย่อยสลายแป้งข้าวเจ้าด้วยเอ็นไซม์สองชนิดร่วมกันที่ความเข้มข้นของเอ็นไซม์แอลฟา-อะมิเลส 0.15 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรและกลูโคอะมิเลส 3 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักเทียบกับแป้ง โดยใช้เวลาการย่อยสลาย 60 นาที จะได้สารเสริมการผลิตสุราที่มีค่าสมดุลย์กลูโคส 58.27 และมีค่าของแข็งที่หมักได้ 58.90 เปอร์เซ็นต์ รวมทั้งมีกลูโคสเป็นองค์ประกอบเพียง 55.00 เปอร์เซ็นต์ สำหรับสารเสริมการผลิตสุราอีกประเภทหนึ่งคือ สารเสริมการผลิตสุราที่มีค่าสมมูลย์กลูโคสเกินกว่า 80 จากการทดลองพบว่า ภาวะที่ผลิตสารเสริมการผลิต

[1] ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหารและโภชนาศาสตร์ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม
Department of Food Technology and Nutrition, Faculty of Technology, Mahasarakham University.

[2] ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Department of Food Technology, Faculty of Science , Chulalongkorn University.

อังคณา น้อยสุวรรณ และ ปราณี อ่านเปรื่อง. "สารเสริมการผลิตสุราจากแป้งข้าวเจ้า" *อาหาร* 28, 4 (ต.ค.-ธ.ค. 2541) 277-288

สุราดังกล่าวได้จากการย่อยแป้งข้าวเจ้าด้วยเอ็นไซม์แอลฟา-อะมิเลสเข้มข้น 0.10 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตรเทียบกับแป้ง และกลูโคอะมิเลสเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักเทียบกับแป้งเป็นระยะเวลา 150 นาที จะได้สารเสริมการผลิตสุราที่มีค่าสมมูลย์กลูโคส 95.84 ค่าของแข็งที่หมักได้ 98.47 เปอร์เซ็นต์ และมีปริมาณกลูโคสสูงถึง 93.88 เปอร์เซ็นต์ จากผลการทดลองหาปริมาณโปรตีนในสารเสริมการผลิตสุราพบว่า โปรตีนทั้งสองชนิดมีค่าเป็น 0

บทนำ

สารเสริมการผลิตสุรา (liquors adjunct) คือ สารประกอบประเภทแป้งหรือน้ำตาลที่เติมเข้าไปในกระบวนการผลิตสุราเพื่อเพิ่มปริมาณคาร์โบไฮเดรตจากเดิมที่ได้จากวัตถุดิบหลักเพียงแหล่งเดียว ซึ่งช่วยลดต้นทุนในการผลิต และช่วยลดปริมาณไนโตรเจนของผลิตภัณฑ์สุรา รวมทั้งปรับปรุงองค์ประกอบคาร์โบไฮเดรต และคุณสมบัติในการหมักของผลิตภัณฑ์สุราได้ (Satyanarayana and Navasimham, 1975; Lloyd, 1986; Wilson, 1992) โดยเฉพาะอย่างยิ่งใช้เพื่อผลิตผลิตภัณฑ์สุราพิเศษ เช่น light beer สำหรับปริมาณการใช้สารเสริมการผลิตสุรานั้นขึ้นอยู่กับความต้องการของผู้ผลิต และชนิดของสุรานั้นๆ โดยมีรายงานว่าผู้ผลิตเบียร์ในสหรัฐอเมริกาและแคนาดาใช้สารเสริมการผลิตสุราสูงถึง 60 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณวัตถุดิบทั้งหมด (Pormeranz, 1991) และปริมาณการใช้จะสูงขึ้นเมื่อต้องการผลิตเบียร์ที่มีลักษณะพิเศษ เช่น light beer ซึ่งต้องการใช้สารเสริมการผลิตสุราต่อมอลท์สูงถึง 80 ต่อ 20 (Geiger, 1985)

สารเสริมการผลิตสุราแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ ชนิดแข็ง ได้แก่ เมล็ด เกล็ดและแป้งจากธัญชาติชนิดต่างๆ และชนิดเหลว ได้แก่ ไซรัปที่ได้จากการย่อยสลายแป้ง อาทิ มอลโตสไซรัป และกลูโคสไซรัป เป็นต้น (Pollock, 1979) สารเสริมการผลิตสุราชนิดเหลวมักจะมีผลให้ผลิตภัณฑ์สุรามีคุณภาพและความคงตัว รวมทั้งอายุการเก็บสูงกว่าเมื่อใช้สารเสริมการผลิตสุราที่เป็นชนิดแข็ง (Swain, 1975) วิธีการผลิตสารเสริมการผลิตสุราชนิดเหลวมี 3 วิธีคือ การใช้กรด การใช้กรดร่วมกับเอ็นไซม์ และ การใช้เอ็นไซม์อย่างเดียว สารเสริมการผลิตสุราที่ได้จากการย่อยด้วยกรดจะเกิดตะกอนมีลักษณะขุ่น (haze) และเกิดการกลับคืนตัวของแป้ง (retrogradation) ซึ่งเป็นลักษณะอันไม่พึงประสงค์ และยังไม่สามารถควบคุมองค์ประกอบของน้ำตาลได้ การผลิตสุราโดยใช้กรดร่วมกับเอ็นไซม์จะสามารถลดข้อเสียของการผลิตโดยใช้กรดเพียงอย่างเดียวได้ แต่ยังพบว่า มีการคืนตัวของแป้งสูง ดังนั้นในการผลิตสารเสริมดังกล่าวจึงนิยมใช้เอ็นไซม์ ซึ่งจะทำให้สารเสริมการผลิตสุราที่ได้มีคุณภาพและปริมาณสูงกว่า (Maule and Greenshields, 1970) ดังนั้นงานวิจัยในครั้งนี้จึงได้ศึกษากระบวนการผลิตรวมทั้งการประเมินผลลักษณะเฉพาะของสารเสริมการผลิตสุราจากแป้งข้าวเจ้าโดยใช้เอ็นไซม์แอลฟา-อะมิเลสและกลูโคอะมิเลสร่วมกันที่มีจำหน่ายเชิงการค้า

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

1. วัตถุดิบ สารเคมีและอุปกรณ์

1.1 วัตถุดิบและเอ็นไซม์

แป้งข้าวเจ้าตรานิวเกรดของบริษัทไทยวา จำกัด (มหาชน) เอ็นไซม์แอลฟา-อะมิเลส (A-3403 Sigma, 15,000 U/mL.) และ กลูโคอะมิเลส (A-7255 Sigma, 12,000 U/g)

1.2 สารเคมี

1.2.1 สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์กลูโคส (AR grade)

- แอนไฮโดรกลูโคส
- โอไดอะนิซิดินไดไฮโดรคลอไรด์
- PGO-enzyme (Sigma, หมายเลขแคตตาลอก 510-6)

1.2.2 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์น้ำตาล-รีดิวซ์ (AR grade)

- แอมโมเนียมโมลิบเดรต
- คอปเปอร์ซัลเฟต
- โปตัสเซียมโซเดียมทาร์เทท-เตตระไฮเดรต
- โซเดียมคาร์บอเนต
- โซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนต
- โซเดียมซัลเฟต (แอนไฮดัส)
- กรดซัลฟุริก

1.2.3 สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ของแข็งที่หมักได้ (AR grade)

- แอมโมเนียมฟอสเฟต
- bottom brewer's yeast
- โปตัสเซียมฟอสเฟต
- ยีสต์เอกซ์แทรก

1.2.4 สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ชนิดของน้ำตาลด้วยวิธี HPLC (HPLC grade)

- อะซิโตไนไตรล์

1.2.5 น้ำตาลมาตรฐาน 5 ชนิด คือ

- กลูโคส
- ซูโครส
- ฟรุกโตส
- มอลโตส
- มอลโตไตรโอส

1.3 อุปกรณ์

1.3.1 เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (Milton Roy, Spectonic 1021)

1.3.2 เครื่องระเหยความชื้นสุญญากาศ (Rotavapor, RE-111)

1.3.3 เครื่องปฏิกรณ์ (Biostat M)

1.3.4 ตู้อบ (Memmert 800)

1.3.5 เครื่องเขย่า (Forna Scientific 2569)

1.3.6 pH meter (Suntex 300)

1.3.7 HPLC (Shimadzu, LC-3 A)

1.3.8 เครื่องชั่งน้ำหนักชนิดหยาบ (Precisa, 180 A)

1.3.9 เครื่องชั่งน้ำหนักชนิดละเอียด (Sartorius, BA 21005)

2. ศึกษา pH และ อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการย่อยสลายแป้งข้าวเจ้าด้วยเอ็นไซม์

เตรียมสารละลายแป้งข้าวเจ้าที่ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ให้ความร้อนจนเกิดปฏิกิริยาเจลาตินไนเซชั่นปฏิกิริยาถูกย่อยสลายด้วยเอ็นไซม์เป็นเวลา 30 นาที และหยุดปฏิกิริยาของเอ็นไซม์โดยต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 20 นาที วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นในสารละลายปฏิกิริยา เอ็นไซม์ที่ศึกษามี 3 ประเภท คือ

2.1 แอลฟา-อะมิเลสความเข้มข้น 0.01 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก เมื่อศึกษา pH โดยกำหนดให้อุณหภูมิเป็น 30°ซ. และเมื่อศึกษาอุณหภูมิโดยกำหนด pH เป็น 6.0

2.2 กลูโคอะมิเลสความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก เมื่อศึกษา pH กำหนดให้อุณหภูมิเป็น 30°ซ. และเมื่อศึกษาอุณหภูมิโดยกำหนด pH เป็น 5.0

2.3 เอ็นไซม์ผสมของแอลฟา-อะมิเลสความเข้มข้น 0.01 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก และกลูโคอะมิเลสความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก โดยศึกษา pH และอุณหภูมิที่เอ็นไซม์ทั้งสองสามารถย่อยสลายแป้งข้าวเจ้าได้ดีที่สุด โดยพิจารณาจากช่วง pH และอุณหภูมิที่ได้จากข้อ 2.1 และ 2.2

3. ศึกษาการผลิตสารเสริมการผลิตสุรา

เตรียมน้ำแป้งข้าวเจ้าที่มีความเข้มข้น 40 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักปรับ pH เป็น 5.5 โดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80°ซ. เป็นเวลา 60 นาที และลดอุณหภูมิเหลือ 65°ซ. โดยเติมเอ็นไซม์แอลฟา-อะมิเลสที่ความเข้มข้น 3 ระดับคือ 0.05 0.10 และ 0.15 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตรต่อน้ำหนักสารละลายแป้งและเอ็นไซม์กลูโคอะมิเลสที่ระดับความเข้มข้น 3 ระดับ 2 3 และ 4 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักสารละลายแป้ง ศึกษาเวลาที่ใช้ในการย่อยสลาย 5 ระดับคือ 60 90 120 150 และ 180 นาที ยับยั้งปฏิกิริยาของเอ็นไซม์โดยต้มในน้ำเดือดเป็นเวลานาน 10 นาที ทำให้เย็น แล้วนำไปปั่นแยกโดยเครื่องหมุนเหวี่ยงแยกที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที และระเหยน้ำโดยใช้เครื่องระเหย (evaporator) ให้มีปริมาณของแข็งทั้งหมดประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก รายละเอียดดัง Figure 1.

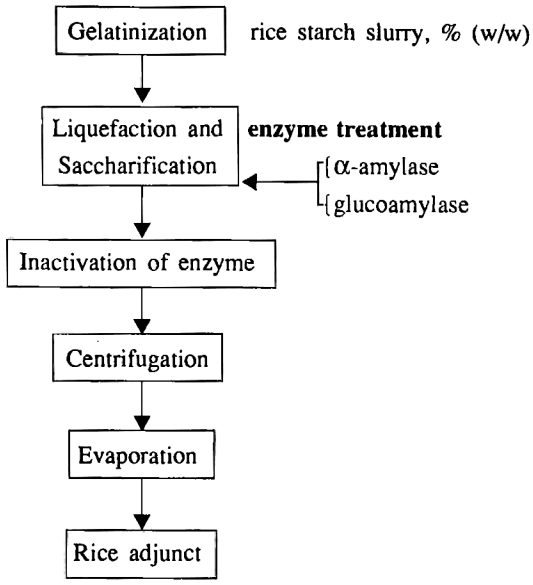

Figure 1. Flow chart of enzymic production of liquors adjunct from rice flour.

4. การวิเคราะห์

4.1 น้ำตาลรีดิวซ์และค่าสมมูลย์กลูโคส (dextrose equivalent, DE) โดย Somogyi method ใช้กราฟมาตรฐานของกลูโคสที่ความยาวคลื่น 748 nm (Nelson, 1944)

4.2 ของแข็ง (extract) ใช้วิธีของ ASBC (1958) โดยเตรียมสารละลายความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ชั่งตัวอย่าง 50 กรัม (±0.001 กรัม) ละลายในน้ำอุ่น ปรับปริมาตรทั้งหมดเป็น 500 มิลลิลิตร ในขณะที่สารละลายมีอุณหภูมิ 20°ซ. หาค่า specific gravity ของสารละลายที่ 20°ซ./20°ซ. ดังสูตร :

$$\% \text{ extract} = \frac{500\ (\% \text{ extract of 10\% solution})(\text{specific gravity})}{\text{weight of used sample}}$$

4.3 ของแข็งที่หมักได้ (fermentable extract) เตรียมสารละลายตัวอย่างที่ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 250 มิลลิลิตร วัดค่า extract ของสารละลายนั้น เติมอาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วย โปแตสเซียมฟอสเฟต 0.8 กรัม แอมโมเนียมฟอสเฟต 1 กรัม และ yeast extract 0.5 กรัม ผสมให้เข้ากับสารละลายตัวอย่าง วัดค่า extract และนำไปหมักด้วย bottom brewer's yeast 5 กรัม นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 15-25°ซ. เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำไปวัดค่า extract ดังสูตร :

$$\text{fermentable extract, \% dry basis} = \frac{100\ (p-n)}{P}$$

เมื่อ P = real extract of 10% solution before addition of any nutrient

p = real extract of 10% solution before fermentation

n = real extract of 10% solution after fermentation

4.4 โปรตีน ใช้วิธีของ ASBC (1958)

4.5 ชนิดและปริมาณของน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบของสารเสริมการผลิตสุรา (degree of polymerization, DP) วิเคราะห์โดยวิธี HPLC (Shimadzu model LC-3A)

สภาวะที่ดำเนินการวิเคราะห์ คือ

column : phenomener spherisorb-NH

detector : RID (LDC refracto monitor IV)

eluent : acetonitile : water = 75:25

flow rate : 1.8 mL/min

injection volume : 1μL

น้ำตาลมาตรฐานที่ใช้ คือ glucose fructose sucrose maltose และ maltotriose

ผลและการวิจารณ์

1. pH และ อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอ็นไซม์

Table 1. ผลของ pH ต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซิ่งของเอ็นไซม์แอลฟา-อะมิเลสและกลูโคอะมิเลส เมื่อย่อยแป้งข้าวเจ้าที่ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 30°ซ. เป็นเวลานาน 30 นาที พบว่า เอ็นไซม์แอลฟา-อะมิเลส มีกิจกรรมการย่อยสลายแป้งข้าวเจ้าได้น้ำตาลรีดิวซิ่งสูงสุด

Table 1. Effect of pH on reducing sugar (μg/mL) from 10 μg rice flour hydrolysis by using 0.1% v/w α - amylase and 2% w/w glucoamylase at temperature 30°C.

pH	Reducing sugar (μg/mL)	
	α - amylase	glucoamylase
3	0.106^{d} ±0.003	0.288^{b}± 0.18
4	0.136^{c} ±0.010	0.322^{a}±0.035
5	0.203^{b} ±0.070	0.341^{a}±0.007
6	0.237^{a} ±0.013	0.267^{b}±0.021
7	0.218^{ab}±0.016	0.174^{c}±0.007

1. a,b,c,..means with the different letters in the same column are signiticantly difference at $P \leq 0.05$
2. Hydrolysis time was 30 minutes

Table 2. Effect of temperature on reducing sugar (μg/mL) from 10 μg rice flour hydrolysis by using 0.1% v/w α - amylase at pH 6.0 and 2% w/w glucoamylase at pH 5.0

Temperature	Reducing sugar (μg/mL)	
(°c)	α - amylase	glucoamylase
30	0.237^{c} ±0.010	0.341^{c} ±0.170
40	0.304^{bc}±0.018	0.571^{ab}±0.046
50	0.312^{b} ±0.047	0.620^{a} ±0.008
60	0.334^{ab}±0.025	0.607^{b} ±0.028
70	0.363^{ab}±0.013	0.528^{b} ±0.027
80	0.385^{a} ±0.033	0.506^{b} ±0.028

1. a,b,c,..means with the different letters in the same column are signiticantly difference at $P \leq 0.05$
2. Hydrolysis time was 30 minutes

ที่ pH 6.0 กลูโคอะมิเลสมีกิจกรรมการย่อยสลายได้น้ำตาลรีดิวซิ่งสูงสุดที่ pH 4.0 และ 5.0 ดังนั้นหากนำเอ็นไซม์ทั้งสองทำงานร่วมกัน pH ที่เหมาะสมต่อการทำงานน่าจะอยู่ในช่วง 5.0-6.0 Table 2. แสดงผลของอุณหภูมิต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซิ่งของเอ็นไซม์แอลฟา-อะมิเลสและกลูโคอะมิเลส พบว่า แอลฟา-อะมิเลสมีกิจกรรมการย่อยสลายได้น้ำตาลรีดิวซิ่งสูงสุดที่ 80°ซ. กลูโคอะมิเลสมีกิจกรรมการย่อยสลายได้น้ำตาลรีดิวซิ่งสูงสุดที่ 50°ซ. ดังนั้นอุณหภูมิที่เอ็นไซม์ทั้งสองน่าจะทำงานร่วมกันได้ดีคือ 60°ซ. และศึกษาผลของ pH และอุณหภูมิต่อการทำงานร่วมกันของเอ็นไซม์มี 2 ชนิด แอลฟา-อะมิเลสและกลูโคอะมิเลส โดยแปรค่า pH และอุณหภูมิให้อยู่ในช่วงที่เอ็นไซม์ผสมน่าจะทำงานร่วมกันได้ดีคือ pH 4.5 5.0 5.5 และ 6.0 อุณหภูมิ 4 ระดับคือ 55 60 65 และ 70°ซ. ผลการทดลองดังแสดง Table 3. พบว่า เอ็นไซม์ผสมจะมีค่าน้ำตาลรีดิวซิ่งสูงสุดที่ pH 5.5 และอุณหภูมิ 65°ซ.

Table 3. Influence of reaction together between pH and temperature on 10 μg rice flour hydrolysis by using 0.1% v/w α - amylase at pH 6.0 and 2% w/w glucoamylase.

pH	Reducing sugar (μg/mL)			
	Temperature (°C)			
	55	60	65	70
4.5	1.832^{ef}	1.940^{e}	2.056^{d}	1.352^{i}
5.0	2.100^{d}	2.332^{c}	2.392^{c}	1.124^{j}
5.5	2.348^{c}	2.678^{b}	2.800^{a}	1.544^{h}
6.0	1.668^{g}	1.744^{fg}	1.872^{e}	0.988^{k}

a,b,c,..means with the different letters in the same column are signiticantly difference at $P \leq 0.05$

2. การผลิตสารเสริมการผลิตสุราโดยใช้แอลฟา-อะมิเลสร่วมกับกลูโคอะมิเลสในระบบไม่ต่อเนื่อง

เมื่อพิจารณาค่า DE และ fermentable extract ของสารเสริมการผลิตสุรา (Figure 2 และ 3 ตามลำดับ) คือ พบว่า เมื่อเวลาในการผลิตเพิ่มขึ้น ค่า DE และ fermetable extract จะเพิ่มตามไปด้วย และค่าเวลาเริ่มคงที่คือ 150 นาที ซึ่งค่าที่ได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้เวลา 180 นาที ความเข้มข้นของแอลฟา-อะมิเลส 0.1 และ 0.15 เปอร์เซ็นต์ ให้ค่าเฉลี่ย DE และ fermentable extract ไม่แตกต่างกันแต่ค่าที่ได้จะสูงกว่าที่ความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ เมื่อพิจารณาค่า DE เมื่อความเข้มข้นของกลูโคอะมิเลส 3 และ 4 เปอร์เซ็นต์ (Figure 2b และ 2c) ค่าที่ได้ไม่แตกต่างกันแต่จะสูงกว่าที่ความเข้มข้นของกลูโคอะมิเลส 2 เปอร์เซ็นต์ (Figure 2a) พิจารณาค่า fermentable extract ของสารเสริมการผลิตสุรา เมื่อความเข้มข้นของกลูโคอะมิเลส 3 และ 4 เปอร์เซ็นต์ (Figure 3b และ 3c) ค่าที่ได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่จะสูงกว่าที่ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ (Figure 3a) จากผลการวิจัยพบว่า ค่า DE และ fermetable extract ของสารเสริมการผลิตสุรามีแนวโน้มไปในทางเดียวกัน ทั้งนี้เนื่องจากค่า DE หาได้จากปริมาณ reducing sugar ขณะที่ fermentable extract หาได้จากปริมาณน้ำตาลที่ยีสต์สามารถนำไปใช้ได้ เพราะการทดลองนี้ศึกษาย่อยแป้งข้าวเจ้าด้วยเอ็นไซม์แอลฟา-อะมิเลสซึ่งจะตัดพันธะแอลฟา-1,4 ของสายพอลิเมอร์ ได้กลูแคนและมอลโตเด็กซ์ตรินที่มีกลูโคสประมาณ 2-6 หน่วย และจะถูกกลูโคอะมิเลสตัดพันธะแอลฟา-1,4 แอลฟา-1,6 และแอลฟา-1,3 ได้ผลผลิตเป็นกลูโคส ดังนั้นองค์ประกอบส่วนใหญ่ของสารเสริมการผลิตสุราจึงเป็นน้ำตาลกลูโคส และมีน้ำตาลชนิดอื่นๆ เช่น ฟรุคโตส พบในปริมาณที่น้อยมาก น้ำตาลที่ยีสต์นำไปใช้ส่วนมากจึงเป็นกลูโคส เพราะกลูโคสมีคุณสมบัติเป็น reducing sugar ฉะนั้นค่า DE และ fermentable extract ของสารเสริมการผลิตจึงมีแนวโน้มไปในทางเดียวกัน

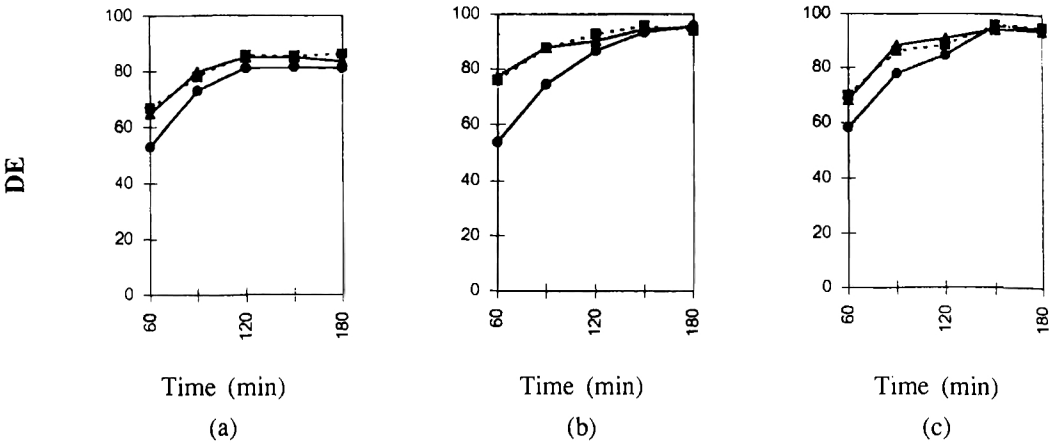

Figure 2. Effect of hydrolysis time using for liquor adjunct production from 40% by weight of rice flour slurry on dextrose equivalent value of the obtained products after hydrolysis with various ratio of α-amylase and glucoamylase at 65°C, pH 5.5

(a) 2% glucoamylase: 0.05% α-amylase(-▲-), 0.10% α-amylase(-■-), 0.15% α-amylase(-●-)

(b) 3% glucoamylase: 0.05% α-amylase(-▲-), 0.10% α-amylase(-■-), 0.15% α-amylase(-●-)

(c) 4% glucoamylase: 0.05% α-amylase(-▲-), 0.10% α-amylase(-■-), 0.15% α-amylase(-●-)

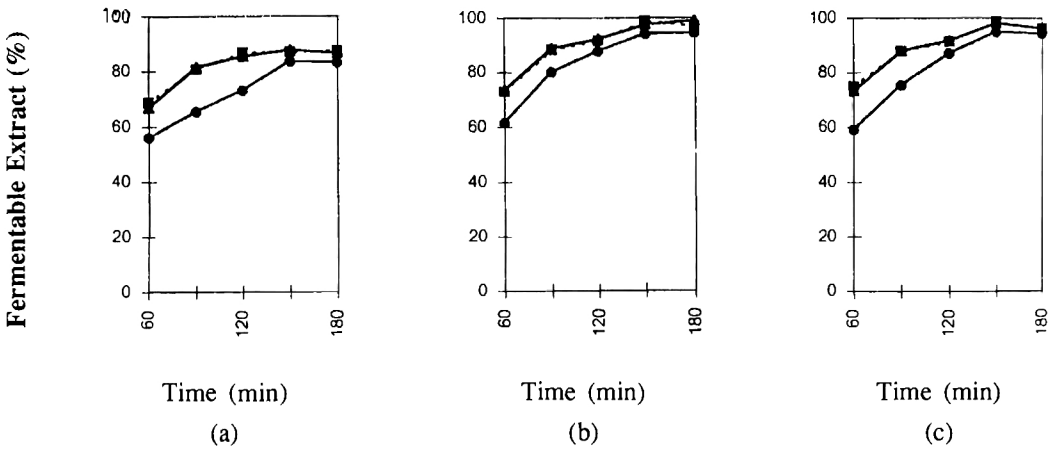

Figure 3. Effect of hydrolysis time using for liquor adjunct production from 40% by weight of rice flour slurry on fermentable extract value of the obtained products after hydrolysis with various ratio of α-amylase and glucoamylase at 65°C, pH 5.5

(a) 2% glucoamylase: 0.05% α-amylase(-▲-), 0.10% α-amylase(-■-), 0.15% α-amylase(-●-)

(b) 3% glucoamylase: 0.05% α-amylase(-▲-), 0.10% α-amylase(-■-), 0.15% α-amylase(-●-)

(c) 4% glucoamylase: 0.05% α-amylase(-▲-), 0.10% α-amylase(-■-), 0.15% α-amylase(-●-)

จากการวิเคราะห์ชนิดและองค์ประกอบของน้ำตาลที่ได้จากการผลิตสารเสริมการผลิตสุรา เมื่อเวลาความเข้มข้นของแอลฟา-อะมิเลสและกลูโคอะมิเลสที่ระดับต่างๆ ดัง Figure 4. พบว่ากลูโคส (ใช้สัญลักษณ์เป็น DP1) เป็นคาร์โบไฮเดรตที่มีมากที่สุดในสารเสริมการผลิตสุราที่ผลิตได้ ปริมาณกลูโคสจะแปรผกผันกับสารประกอบที่มี DP (degree of polymerization) สูงกว่า 3 พิจารณากลูโคสที่ผลิตได้จากภาวะในการทดลอง จะเห็นว่าการผลิตกลูโคสสูงมากอยู่ในช่วงแรกหรือที่ช่วงระยะเวลาทำปฏิกิริยา 0-120 นาที โดยปริมาณกลูโคสเพิ่มตามเวลาที่เพิ่มขึ้น และความเข้มข้นของแอลฟา-อะมิเลสที่เพิ่มจาก 0.05 เปอร์เซ็นต์ เป็น 0.10 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีผลให้จำนวนเอ็นไซม์ที่เข้ามาทำปฏิกิริยากับแป้งเพิ่มขึ้น การย่อยสลายจึงเพิ่มขึ้นด้วย แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของแอลฟา-อะมิเลสเป็น 0.15 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณกลูโคสไม่เพิ่มขึ้นอีก ทั้งนี้เนื่องจากความเข้มข้น 0.10 เปอร์เซ็นต์ สารตั้งต้นอิ่มตัวด้วยเอ็นไซม์แล้ว ดังนั้นการเพิ่มปริมาณเอ็นไซม์จึงไม่มีผลต่อการผลิตกลูโคส ส่วนเวลาในการผลิตที่เพิ่มขึ้นทำให้กลูโคสเพิ่มและทำให้ DP มากกว่า 3 ต่ำลงอย่างเห็นได้ชัด ในช่วงแรกของปฏิกิริยาการย่อยสลายนี้ ความเข้มข้นของกลูโคอะมิเลสไม่มีผลต่อปริมาณกลูโคส แต่ในช่วงหลังของการผลิตที่เวลา 120 นาที เป็นต้นไป ความเข้มข้นของแอลฟา-อะมิเลสไม่มีผลต่อปริมาณกลูโคส แต่ความเข้มข้นของกลูโคอะมิเลสจะมีผลโดยตรง เมื่อความเข้มข้นของกลูโคอะมิเลสเพิ่มขึ้นจาก 2 เปอร์เซ็นต์ เป็น 3 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณกลูโคสเพิ่มขึ้น แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นจาก 3 เปอร์เซ็นต์ เป็น 4 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณกลูโคสจะไม่เพิ่มขึ้นอีก เวลาที่เพิ่มขึ้นหลังนาทีที่ 150 นาที ไม่มีผลต่อการผลิตกลูโคส ดังจะเห็นจาก Figure 4. หลังจากเวลา 150 นาที ปริมาณกลูโคสเริ่มมีค่าคงที่ทั้งนี้เนื่องจาก ปริมาณกลูโคสที่เกิดมากขึ้นจะไปยับยั้งปฏิกิริยาการทำงานของเอ็นไซม์ส่งผลให้อัตราเร็วของปฏิกิริยาลดลง นอกจากนี้ยังมีสิ่งน่าสังเกตคือ เมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตจะพบโมเลกุลแปลกปลอมที่มีค่า retention time แตกต่างจากน้ำตาลมาตรฐานที่ใช้ในการวิเคราะห์ ปริมาณที่พบโดยเฉลี่ยคือ 3 เปอร์เซ็นต์ โมเลกุลที่พบนี้อาจเป็นผลผลิตที่เกิดจากการรวมตัวกันของกลูโคสที่มีความเข้มข้นสูง โมเลกุลที่เกิดขึ้นร่วมกับการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์โดยกลูโคสจะขัดขวางให้ปริมาณกลูโคสที่ได้จากการย่อยสลายแป้งข้าวเจ้าต่ำกว่า 100 เปอร์เซ็นต์ จากผลการทดลองภาวะที่ให้ปริมาณกลูโคสสูงสุดคือ ความเข้มข้นของแอลฟา-อะมิเลส 0.1 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้นของกลูโคสอะมิเลส 3 เปอร์เซ็นต์ และเวลา 150 นาที ซึ่งให้ปริมาณกลูโคส 93.88 เปอร์เซ็นต์

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบของสารเสริมการผลิตสุรานำมาหาความสัมพันธ์กับค่า DE ได้กราฟดัง Figure 5. ซึ่งทำให้สามารถแบ่งสารเสริมการผลิตสุราได้เป็น 2 กลุ่มตามค่า DE คือ กลุ่มที่มี DE ต่ำกว่า 80 และกลุ่มที่มี DE สูงกว่า 80 สารเสริมการผลิตสุราที่มี DE ต่ำกว่า 80 จะมีองค์ประกอบของน้ำตาลใกล้เคียงกับสารเสริม

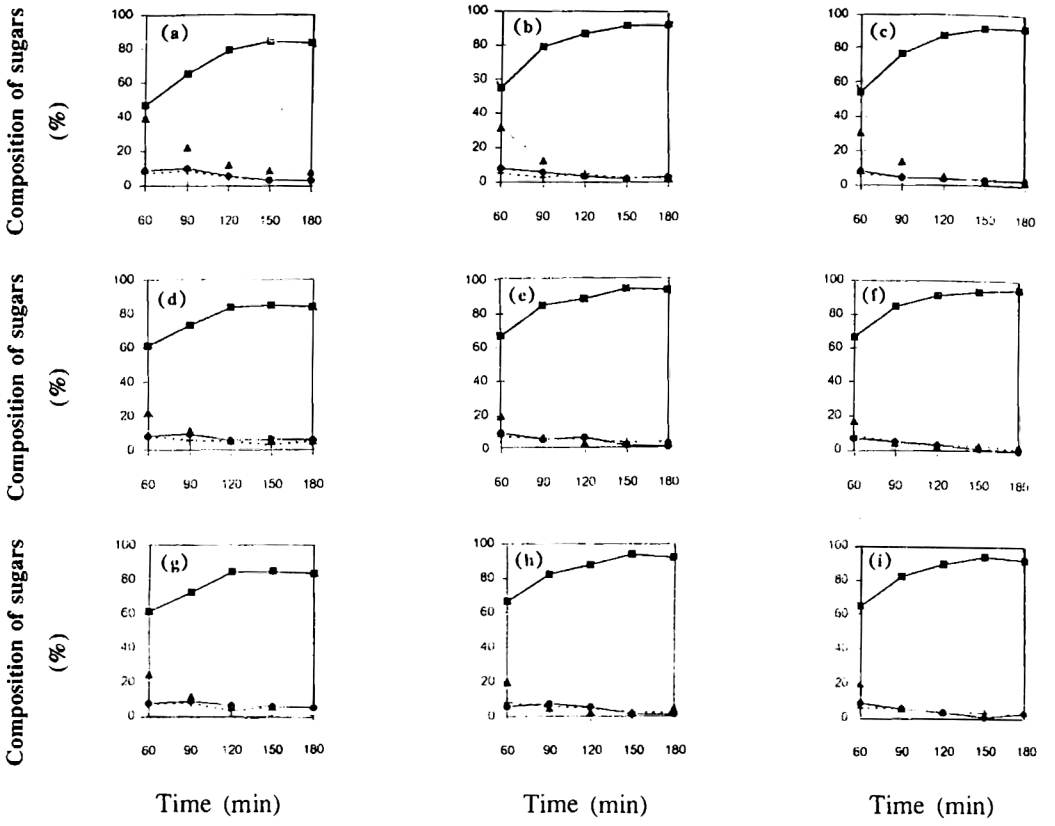

Figure 4. Profile of the hydrolysis times and sugar composition (-■- DP1,-●- DP2, -+- DP3, -▲- DP>3) in rice adjunct obtained after the hydrolysis of 40% by weight of rice flour slurry at the temperature of 65°C, pH 5.5 using the various amount of α-amylase and glucoamylase

(a) 0.05 % v/w of α-amylase, 2% w/w of glucoamylase
(b) 0.05 % v/w of α-amylase, 3% w/w of glucoamylase
(c) 0.05 % v/w of α-amylase, 4% w/w of glucoamylase
(d) 0.10 % v/w of α-amylase, 2% w/w of glucoamylase
(e) 0.10 % v/w of α-amylase, 3% w/w of glucoamylase
(f) 0.10 % v/w of α-amylase, 4% w/w of glucoamylase
(g) 0.15 % v/w of α-amylase, 2% w/w of glucoamylase
(h) 0.15 % v/w of α-amylase, 3% w/w of glucoamylase
(i) 0.15 % v/w of α-amylase, 4% w/w of glucoamylase

การผลิตสุราที่มีวัตถุดิบเริ่มต้นเป็นข้าว เช่น องค์ประกอบของน้ำตาลในน้ำหมักสาเก มีน้ำตาลที่หมักได้ 63.30 เปอร์เซ็นต์ (คิดเป็นกลูโคส 60.64 เปอร์เซ็นต์) และน้ำตาลที่หมักไม่ได้ 36.7 เปอร์เซ็นต์ (Kodayama and Yoshizawa, 1977) องค์ประกอบดังกล่าวจะใกล้เคียงกับสารเสริมการผลิตสุรามีค่า DE อยู่ในช่วง 60-70 ซึ่งมีกลูโคสเป็นองค์ประกอบ 53-65 เปอร์เซ็นต์ และน้ำตาลที่หมักไม่ได้ 20-30 เปอร์เซ็นต์ เพราะองค์ประกอบของน้ำตาลที่คล้ายคลึงกันจะทำให้ผลิตภัณฑ์สุราที่ได้มีกลิ่นรสคงเดิมและมีความสม่ำเสมอของผลิตภัณฑ์สูง สารเสริมการผลิตสุราที่มี DE สูงกว่า 80 น้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบหลักคือ กลูโคส ซึ่งมีปริมาณมากกว่า 75 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป เนื่องจากกลูโคสเป็นน้ำตาลที่มีความสามารถในการหมักสูงถึง 100 เปอร์เซ็นต์ จากคุณสมบัตินี้สามารถนำสารเสริมการผลิตสุราชนิดนี้ไปใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตสุราเพื่อเพิ่มความสามารถในการหมัก ปรับปรุงองค์ประกอบคาร์โบไฮเดรตของน้ำหมักสุรา และใช้ผลิตเบียร์ที่มีลักษณะพิเศษ เช่น light beer เป็นต้น จากการวิเคราะห์โปรตีนในสารเสริมการผลิตสุราพบว่า ปริมาณโปรตีนในทุกตัวอย่างมีค่าเท่ากับ 0 สารเสริมการผลิตสุราที่ผลิตได้นี้เมื่อนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์สุราจะช่วยเจือจางปริมาณโปรตีน ลดการตกตะกอนขุ่นและทำให้ผลิตภัณฑ์มีความคงตัวสูงขึ้น

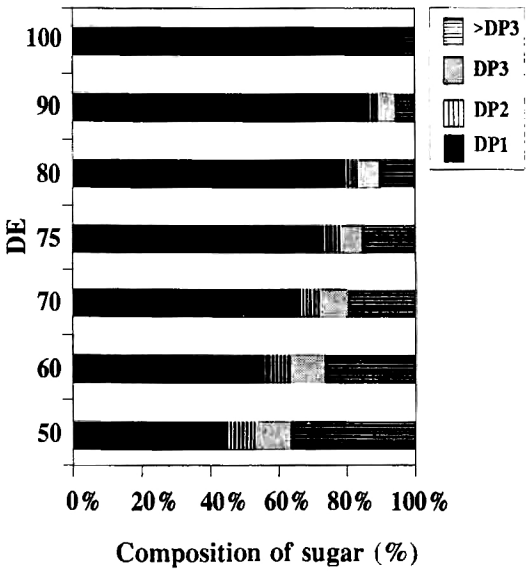

Figure 5. Composition of sugars in the prepared rice adjunct with various dextrose equivalent (DE) value.

บทสรุป

ภาวะที่เหมาะสมในการผลิตสารเสริมการผลิตสุราโดยใช้เอ็นไซม์แอลฟา-อะมิเลสและกลูโคอะมิเลสร่วมกันในการผลิตแบบไม่ต่อเนื่อง คือที่ pH 5.5 และอุณหภูมิ 65°ซ. ความเข้มข้นของเอ็นไซม์แอลฟา-อะมิเลส ในช่วง 0.05-0.10 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้นของกลูโคอะมิเลสในช่วง 2-3 เปอร์เซ็นต์ และช่วงเวลาในการย่อยสลาย 60-150 นาที พบว่า การเพิ่มความเข้มข้นของเอ็นไซม์และเวลาในการผลิตจะทำให้ค่า DE fermentable extract และปริมาณกลูโคสเพิ่มขึ้น สารเสริมการผลิตสุราที่ผลิตได้มีค่า DE และ fermentable extract อยู่ในช่วง 52.99-95.84

และ 55.81-98.91 ตามลำดับ และมีกลูโคสอยู่ในช่วงความเข้มข้น 52.99-93.88 เปอร์เซ็นต์ สามารถแบ่งสารเสริมการผลิตสุราได้เป็นสองกลุ่มตามค่า DE คือ กลุ่มที่มีค่า DE ต่ำกว่า 80 ซึ่งมีกลูโคสเป็นองค์-ประกอบน้ำตาลคล้ายคลึงกับผลิตภัณฑ์สุราที่มีวัตถุดิบเริ่มต้นเป็นข้าว และกลุ่มที่มีค่า DE สูงกว่า 80 ซึ่งมีกลูโคสเป็นองค์ประกอบสูงกว่า 75 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ภาวะการผลิตที่ให้สารเสริมการผลิตสุราซึ่งมีกลูโคสสูงสุดคือ ที่ความเข้มข้นของเอ็นไซม์แอลฟา-อะมิเลส 0.1 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้นของกลูโค-อะมิเลส 3 เปอร์เซ็นต์ และเวลาในการย่อยสลาย 150 นาที ซึ่งจะให้กลูโคสมีความเข้มข้น 93.88 เปอร์เซ็นต์ มีค่า DE 95.84 และ fermentable extract เป็น 98.74 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณโปรตีนที่พบในสารเสริมการผลิตสุราทั้งสองชนิดมีค่าเป็น 0

เอกสารอ้างอิง

American Society of Brewing Chemists. (ASBC). 1958. Methods of analysis of American society of brewing chemists. 6th ed. *Wisconsin: American Society of Brewing Chemists.*

Geiger, K.H. 1985. Process of brewing with an adjunct of highly fermentable sugar. *United State Patent* No. 4,507,325.

Kodayama, K. and Yoshizawa, K. 1977. Saka. *In :* Rose, A.H. (ed.), Economic microbiology Vol. 1 Alcoholic beverages. *London: Academic Press.*

Lloyd, W.J.W. 1986. Adjuncts. *J. Inst. Brew.* 92: 336-345.

Maule, A.P. and Greenshields, R.N. 1970. Technology to brewing carbohydrates. *Process Biochem.* 5: 39-44.

Nelson, N. 1944. A photometer adaptation of the Somogyi method for determination of glucose. *J. Biol Chem.* 153: 375-380.

Pollock, J.R.A. (Eds.) 1979. Brewing science: unmalted grains in brewing. *London: Academic Press.*

Pomeranz, Y. 1991. Functional properties of food component. 2nd ed. *New York: Academic Press.*

Satyanarayana, B.A. and Navasimham, V.V.L. 1975. Adjunct in brewing. *J. Food Sci. Tech.* 12(5) : 217-220.

Swain, E.F. 1975. The manufaction and use of liquid adjuncts. *Technical Quarterly. Master Brewing Association of America.* 13(2): 108-113.

Wilson, J. 1992. Brewing sugars: the versatile adjunct. *Food Manufacture.* 67(9): 30-34.