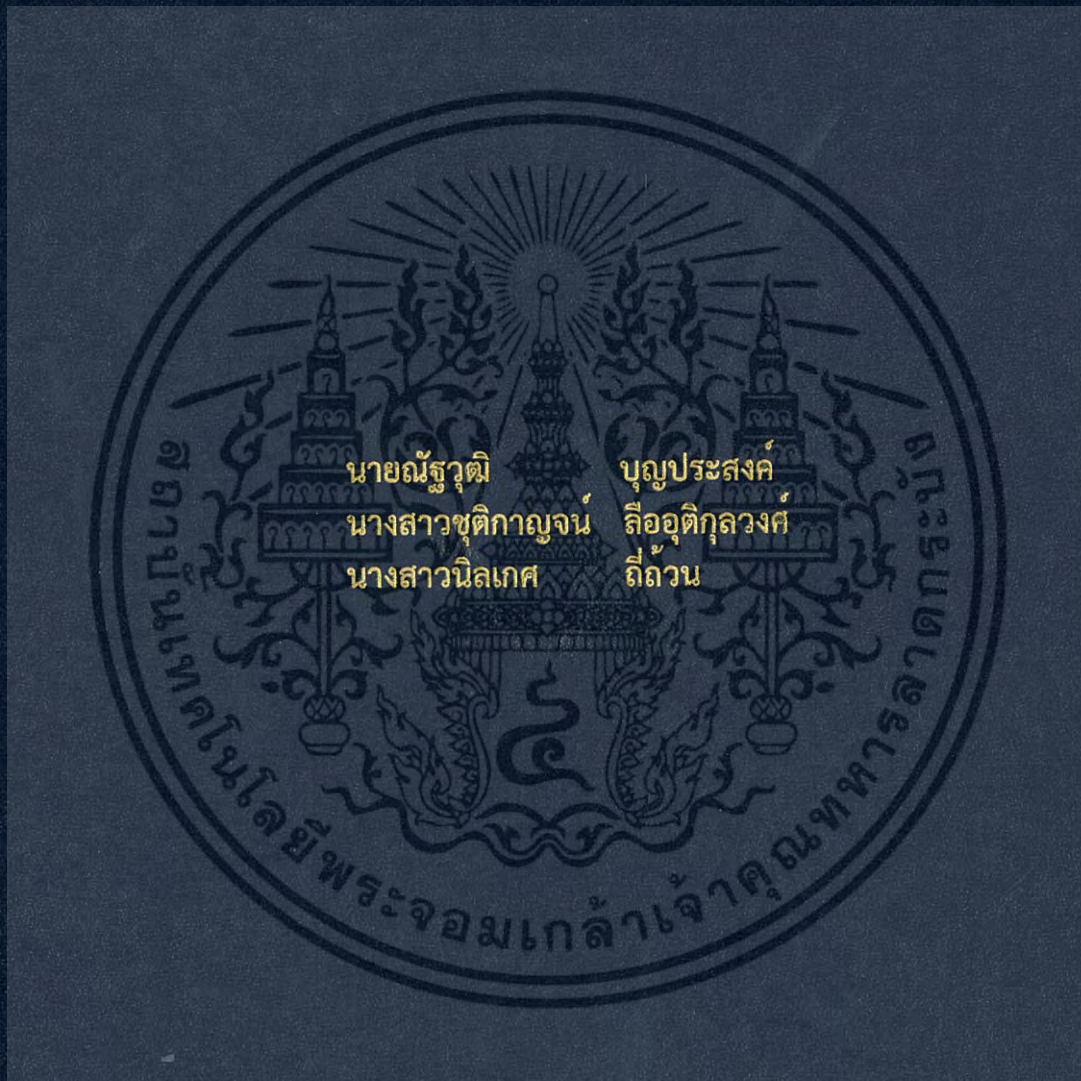


การผลิตลาเกอร์เบียร์โดยสายพันธุ์ยีสต์และอาหารเสริมที่แตกต่าง
Lager beer production by different yeast strains and nutritional
conditions



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2559

การผลิตลาเกอร์เบียร์โดยสายพันธุ์ยีสต์และอาหารเสริมที่แตกต่าง
Lager beer production by different yeast strains and nutritional
conditions



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2559

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lager beer production by different yeast strains and nutritional conditions



A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE
(INDUSTRIAL MICROBIOLOGY)

DEPARTMENT OF BIOLOGY FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT' S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2016

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	การผลิตลาเกอร์เบียร์โดยสายพันธุ์ยีสต์และอาหารเสริมที่แตกต่าง Lager beer production by different yeast strains and nutritional conditions		
ชื่อนักศึกษา	นายณัฐวุฒิ	บุญประสงค์	56050992
	นางสาวชุตติกาญจน์	ลืออุติกุลวงศ์	56050980
	นางสาวนิลเกศ	ถิ์ถ้วน	56051016
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)		
ภาควิชา	ชีววิทยา		
คณะ	วิทยาศาสตร์		
ปีการศึกษา	2559		
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.มงคล เพ็ญสายใจ		
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รศ.ดร.นवलพรรณ ณ ระนอง		

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้
โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิตสาขา
(จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2559

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.วินา ชูโชติ ประธานกรรมการ	
รศ.ดร.นवलพรรณ ณ ระนอง กรรมการ	
ผศ.มงคล เพ็ญสายใจ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	การผลิตลาเกอร์เบียร์โดยสายพันธุ์ยีสต์และอาหารเสริมที่แตกต่าง Lager beer production by different yeast strains and nutritional conditions		
ชื่อนักศึกษา	นายณัฐวุฒิ บุญประสงค์	56050992	
	นางสาวชุติกัญจน์ ลีอูติกุลวงศ์	56050980	
	นางสาวนิลเกศ ถีถ้วน	56051016	
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)		
ภาควิชา	ชีววิทยา		
คณะ	วิทยาศาสตร์		
ปีการศึกษา	2559		
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.มงคล เพ็ญสายใจ		
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง		

บทคัดย่อ

โครงการพิเศษนี้เป็นการศึกษาการผลิตเอทานอลของลาเกอร์เบียร์เพื่อเปรียบเทียบการเจริญของเซลล์ยีสต์ การใช้น้ำตาลของยีสต์ และการผลิตเอทานอลของยีสต์ โดยกำหนดให้เปรียบเทียบยีสต์ 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 และ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 ที่เติมอาหารเสริมและไม่เติมอาหารเสริม ได้แก่ ซิงค์ซัลเฟต ความเข้มข้น 0.2 0.8 และ 1.4 กรัมต่อลิตร แอล-ลิวซีนความเข้มข้น 0.5 1.0 และ 1.5 กรัมต่อลิตร ใบสะระแห่น 2 เปอร์เซ็นต์ และน้ำผึ้ง 2 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้เชื้อยีสต์เริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส หมักเป็นเวลา 15 วัน วิเคราะห์ปริมาณเอทานอลด้วยวิธี Gas Chromatography และ Ebulliometer วิเคราะห์ปริมาณการใช้น้ำตาลด้วยวิธี Dinitrosalicylic Acid Method วิเคราะห์จำนวนเซลล์ยีสต์ด้วยวิธี Haemocytometer และทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยวิธี Hedonic เพื่อหาสายพันธุ์ยีสต์และอาหารเสริมซิงค์ซัลเฟตและแอล-ลิวซีนระดับความเข้มข้นที่ผลิตเอทานอลได้สูงที่สุด จากการทดลองเบียร์ซึ่งเติมน้ำผึ้ง ยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* W-34/70 เติมซิงค์ซัลเฟตที่ความเข้มข้น 1.4 กรัมต่อลิตร ให้ปริมาณเอทานอลสูงที่สุด

คำสำคัญ : ซิงค์ซัลเฟต ลาเกอร์เบียร์ แอลลิวซีน *Saccharomyces cerevisiae*

Title	Lager beer production by different yeast strains and nutritional conditions		
Student	Mr. Nuttawut Boonprasong		56050992
	Miss Chutikan Lue-utikunwong		56050980
	Miss Ninlaket Theethuan		56051016
Degree	Bachelor of Science (Industrial of Microbiology)		
Department	Biology		
Faculty	Science		
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)		
Academic Year	2016		
Advisor	Asst. Prof.Mongkol Phensajjai		
Co Advisor	Assoc.Prof.Dr.Nuanphan Na Ranong		

Abstract

The aim of this special project is to study the ethanol production of Lager beer to compare the growth of yeast cells, reducing sugar and ethanol production of yeast. by comparing three yeasts: *Saccharomyces cerevisiae* S-23, *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 and *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 with and without nutritional supplements such as zinc sulphate (0.1,0.5,1 g/l) L-leucine (0.5,1,1.5 g/l) Mint 2 % and Honey 2 % at 13 degree Celsius for 15 days. Ethanol volume was analyzed by Gas Chromatography and Ebulliometer. Reducing sugar was analyzed by Dinitrosalicylic acid method. Total yeast cell density was analyzed by Haemacytometer. Sensory was tested by Hedonic method. The results were then compared for find best fermentation performance in yeast strains and and zinc sulphate, L-leucine concentration to produce highest ethanol. It was found that, Honey lager beer yeast strain *Saccharomyces cerevisiae* W-34/70 added zinc sulphate at a concentration of 1.4 g / l, giving the highest ethanol volume.

Key word: Bottom Fermentation; Ethanol; L-leucine; Zinc sulphate

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษนี้สำเร็จลงด้วยดี เนื่องจากความกรุณาอย่างสูงจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ มงคล เพ็ญสายใจ อาจารย์ที่ปรึกษางานวิจัย ที่กรุณาให้คำแนะนำปรึกษา ตลอดจนปรับปรุงแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ด้วยความเอาใจใส่เป็นอย่างดี ผู้วิจัยตระหนักความตั้งใจจริงและความทุ่มเทของอาจารย์ และขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้ด้วย

ขอขอบพระคุณคณะกรรมการสอบโครงการพิเศษทุกท่านคือ รศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง และ ผศ.วีณา ชูโชติ ที่ให้คำปรึกษา ให้แนวคิด และช่วยแก้ไขในส่วนที่บกพร่องต่างๆ

ขอขอบคุณ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้ทุนสนับสนุนโครงการพิเศษ และขอขอบคุณ ผู้บริหารสำนักหอสมุดกลาง บรรณารักษ์ ทุกท่านที่ให้ความร่วมมือและอำนวยความสะดวกในการค้นคว้าข้อมูลโครงการพิเศษเพิ่มเติม

ขอขอบคุณนักศึกษาคณะวิทยาศาสตร์ และคณะวิศวกรรมศาสตร์ ที่ให้ความช่วยเหลือ และร่วมมือในการทำแบบสอบถามทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส (Sensory) เป็นอย่างดี

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ควบคุมห้องปฏิบัติการ นักวิทยาศาสตร์ทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือ ในด้านอุปกรณ์ทางการทดลองทั้งหมด ตลอดจนการปฏิบัติงานวิจัยจนสำเร็จลุล่วง

ณัฐวุฒิ

ชุติกาลุจน์

นิลเกษ

บุญประสงค์

ลืออุติกุลวงศ์

ถิถ้วน

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการพิเศษ.....	1
1.3 ขอบเขตของโครงการพิเศษ.....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 เบียร์.....	3
2.2 น้ำผึ้ง.....	11
2.3 ไบโสระระแห่น.....	13
2.4 แอล-ลิวซีน.....	17
2.5 ซิงค์ซัลเฟต.....	18
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	20
3.1 วัสดุและอุปกรณ์และสารเคมี.....	20
3.2 วิธีการวิจัย.....	23
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล	31
4.1 การเปรียบเทียบตัวอย่างลาเกอร์เบียร์.....	32
4.2 การเปรียบเทียบความเป็นกรดต่างของตัวอย่างเบียร์.....	69
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	70
เอกสารอ้างอิง.....	72
ภาคผนวก ก.....	76
ภาคผนวก ข.....	81
ภาคผนวก ค.....	95
ภาคผนวก ง.....	100

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 2.1 แผนภาพแสดง Alcoholic Fermentation.....	10
รูปที่ 2.2 โครงสร้างแอล-ลิวซีน.....	17
รูปที่ 2.3 โครงสร้างซิงค์ซัลเฟต.....	18
รูปที่ 3.1 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> S-23.....	20
รูปที่ 3.2 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> BE-256.....	20
รูปที่ 3.3 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> W-34/70.....	21
รูปที่ 3.4 ขวดลีซาสำหรับหมักเบียร์และที่ตัดอากาศ.....	28
รูปที่ 3.5 เบียร์ในตู้ป่ม.....	28
รูปที่ 3.6 ตัวอย่างที่ทำปฏิกิริยากับสารละลาย Dinitrosalicylic Acid Method.....	30
รูปที่ 6.1 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> S-23.....	76
รูปที่ 6.2 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> BE-256.....	76
รูปที่ 6.3 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> W34/70.....	76
รูปที่ 6.4 มอลต์ชนิด Pale ale.....	77
รูปที่ 6.5 ฮีฟชนิด Czech Saaz pellet.....	77
รูปที่ 6.6 การเตรียมสารเคมี Dinitrosalicylic Acid Method.....	79
รูปที่ 6.7 เครื่อง Ebulliometer.....	81
รูปที่ 6.8 เครื่อง Gas Chromatography.....	82
รูปที่ 6.9 เครื่อง Spectrophotometer.....	86
รูปที่ 6.10 เครื่อง pH meter.....	88

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบของน้ำผึ้ง.....	12
ตารางที่ 2.2 สารอาหารที่มีประโยชน์ในน้ำผึ้ง.....	12
ตารางที่ 3.1 ปัจจัยในการวิจัย.....	23
ตารางที่ 6.1 ตารางแสดงมาตรฐานเอทานอล.....	95
ตารางที่ 6.2 ตารางค่าการดูดกลืนแสงมาตรฐานสารละลายกลูโคส.....	97
ตารางที่ 6.3 การวิเคราะห์ทางสถิติของสีเบียร์.....	99
ตารางที่ 6.4 การวิเคราะห์ทางสถิติของกลิ่นเบียร์.....	100
ตารางที่ 6.5 การวิเคราะห์ทางสถิติของรสชาติเบียร์.....	101
ตารางที่ 6.6 การวิเคราะห์ทางสถิติของความชอบโดยรวมของเบียร์.....	102
ตารางที่ 6.7 การวิเคราะห์ทางสถิติของเอทานอลในเบียร์ที่ไม่มีการเติมแต่งใดๆ.....	103
ตารางที่ 6.8 การวิเคราะห์ทางสถิติของเอทานอลในเบียร์ที่เติมใบสะระแหน่.....	103
ตารางที่ 6.9 การวิเคราะห์ทางสถิติของเอทานอลในเบียร์ที่เติมน้ำผึ้ง.....	104

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญกราฟ

	หน้า
เบียร์ที่ไม่เติมใบสะระแหน่และน้ำผึ้ง	32
กราฟที่ 4.1 แสดงการเจริญของเซลล์ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> S-23.....	32
กราฟที่ 4.2 แสดงการใช้น้ำตาลของเซลล์ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> S-23.....	33
กราฟที่ 4.3 แสดงปริมาณเอทานอลของเซลล์ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> S-23.....	33
กราฟที่ 4.4 แสดงการเจริญของเซลล์ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> BE-256.....	34
กราฟที่ 4.5 แสดงการใช้น้ำตาลของเซลล์ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> BE-256.....	34
กราฟที่ 4.6 แสดงปริมาณเอทานอลของเซลล์ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> BE-256.....	34
กราฟที่ 4.7 แสดงการเจริญของเซลล์ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> W34/70.....	36
กราฟที่ 4.8 แสดงการใช้น้ำตาลของเซลล์ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> W34/70.....	36
กราฟที่ 4.9 แสดงปริมาณเอทานอลของเซลล์ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> W34/70.....	36
กราฟที่ 4.10 แสดงการเจริญของเซลล์ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> S-23	38
กราฟที่ 4.11 แสดงการใช้น้ำตาลของเซลล์ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> S-23.....	38
กราฟที่ 4.12 แสดงปริมาณเอทานอลของเซลล์ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> S-23.....	38
กราฟที่ 4.13 แสดงการเจริญของเซลล์ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> BE-256.....	40
กราฟที่ 4.14 แสดงการใช้น้ำตาลของเซลล์ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> BE-256.....	40
กราฟที่ 4.15 แสดงปริมาณเอทานอลของเซลล์ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> BE-256.....	40
กราฟที่ 4.16 แสดงการเจริญของเซลล์ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> W34/70.....	42
กราฟที่ 4.17 แสดงการใช้น้ำตาลของเซลล์ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> W34/70.....	42
กราฟที่ 4.18 แสดงปริมาณเอทานอลของเซลล์ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> W34/70.....	42
เบียร์ที่เติมใบสะระแหน่	44
กราฟที่ 4.19 แสดงการเจริญของเซลล์ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> S-23.....	44
กราฟที่ 4.20 แสดงการใช้น้ำตาลของเซลล์ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> S-23.....	44
กราฟที่ 4.21 แสดงปริมาณเอทานอลของเซลล์ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> S-23.....	44
กราฟที่ 4.22 แสดงการเจริญของเซลล์ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> W34/70.....	46
กราฟที่ 4.23 แสดงการใช้น้ำตาลของเซลล์ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> W34/70.....	46
กราฟที่ 4.24 แสดงปริมาณเอทานอลของเซลล์ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> W34/70.....	46
กราฟที่ 4.25 แสดงการเจริญของเซลล์ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> BE-256.....	48

กราฟที่ 4.26 แสดงการใช้น้ำตาลของเซลล์ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> BE-256.....	48
กราฟที่ 4.27 แสดงปริมาณเอทานอลของเซลล์ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> BE-256.....	48
กราฟที่ 4.28 แสดงการเจริญของเซลล์ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> S-23.....	50
กราฟที่ 4.29 แสดงการใช้น้ำตาลของเซลล์ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> S-23.....	50
กราฟที่ 4.30 แสดงปริมาณเอทานอลของเซลล์ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> S-23.....	50
กราฟที่ 4.31 แสดงการเจริญของเซลล์ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> W34/70.....	52
กราฟที่ 4.32 แสดงการใช้น้ำตาลของเซลล์ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> W34/70.....	52
กราฟที่ 4.33 แสดงปริมาณเอทานอลของเซลล์ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> W34/70.....	52
กราฟที่ 4.34 แสดงการเจริญของเซลล์ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> BE-256.....	54
กราฟที่ 4.35 แสดงการใช้น้ำตาลของเซลล์ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> BE-256.....	54
กราฟที่ 4.36 แสดงปริมาณเอทานอลของเซลล์ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> BE-256.....	54
เบียร์ที่เติมน้ำผึ้ง.....	56
กราฟที่ 4.37 แสดงการเจริญของเซลล์ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> S-23.....	56
กราฟที่ 4.38 แสดงการใช้น้ำตาลของเซลล์ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> S-23.....	56
กราฟที่ 4.39 แสดงปริมาณเอทานอลของเซลล์ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> S-23.....	56
กราฟที่ 4.40 แสดงการเจริญของเซลล์ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> W34/70.....	58
กราฟที่ 4.41 แสดงการใช้น้ำตาลของเซลล์ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> W34/70.....	58
กราฟที่ 4.42 แสดงปริมาณเอทานอลของเซลล์ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> W34/70.....	58
กราฟที่ 4.43 แสดงการเจริญของเซลล์ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> BE-256.....	61
กราฟที่ 4.44 แสดงการใช้น้ำตาลของเซลล์ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> BE-256.....	61
กราฟที่ 4.45 แสดงปริมาณเอทานอลของเซลล์ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> BE-256.....	61
กราฟที่ 4.46 แสดงการเจริญของเซลล์ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> S-23.....	63
กราฟที่ 4.47 แสดงการใช้น้ำตาลของเซลล์ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> S-23.....	63
กราฟที่ 4.48 แสดงปริมาณเอทานอลของเซลล์ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> S-23.....	63
กราฟที่ 4.49 แสดงการเจริญของเซลล์ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> BE-256.....	65
กราฟที่ 4.50 แสดงการใช้น้ำตาลของเซลล์ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> BE-256.....	65
กราฟที่ 4.51 แสดงปริมาณเอทานอลของเซลล์ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> BE-256.....	65
กราฟที่ 4.52 แสดงการเจริญของเซลล์ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> W34/70.....	67
กราฟที่ 4.53 แสดงการใช้น้ำตาลของเซลล์ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> W34/70.....	67

กราฟที่ 4.54 แสดงปริมาณเอทานอลของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70.....67

กราฟที่ 4.55 แสดงความเป็นกรดต่างของเบียร์ที่ไม่เติมแต่งกลิ่นใดๆ.....69

กราฟที่ 4.56 แสดงความเป็นกรดต่างของเบียร์ที่เติมสระระหน.....69

กราฟที่ 4.57 แสดงแสดงความเป็นกรดต่างของเบียร์ที่เติมน้ำผึ้ง.....69

กราฟที่ 6.1 แสดงกราฟมาตรฐานเอทานอล.....96

กราฟที่ 6.2 แสดงกราฟมาตรฐานสารละลายกลูโคส.....97



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในปัจจุบัน มีผลิตภัณฑ์เบียร์ทางเลือกใหม่เกิดขึ้นมากมาย ทำให้โรงงานพิเศษนี้สนใจในการผลิตเบียร์ที่มีแอลกอฮอล์สูง เพื่อเป็นทางเลือกใหม่สำหรับผู้บริโภค

ปัจจุบันมีการใช้ยีสต์หลายสายพันธุ์ในการผลิตเบียร์และมีการเพิ่มเติมส่วนผสมลงไปเบียร์มากมายหลายชนิด ผู้วิจัยจึงได้ทดสอบยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* 3 สายพันธุ์ เพื่อดูความสามารถในการเจริญและผลิตเอทานอลของยีสต์ของแต่ละสายพันธุ์โดยยีสต์ที่ใช้ประกอบไปด้วย *Saccharomyces cerevisiae* S-23 *Saccharomyces cerevisiae* BE-365 และ *Saccharomyces cerevisiae* W-34/70 และได้เติมสารอาหารต่างๆลงไปเบียร์ เพื่อทดสอบว่าอาหารเสริมที่เติมลงไปมีการกระตุ้นหรือยับยั้งการเจริญหรือการสังเคราะห์เอทานอลของยีสต์หรือไม่ อาหารเสริมที่ใช้ทดสอบมีดังต่อไปนี้ ซิงค์ซัลเฟต แอล-ลิวซีน ไบโสะระแทน และน้ำผึ้ง

เบียร์เป็นเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ที่มีองค์ประกอบสำคัญเพียง 4 อย่างคือ มอลต์ ดอกฮ็อพ ยีสต์ และน้ำ ในการหมักยีสต์จะต้องใช้เอนไซม์ในการเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาลและสังเคราะห์เอทานอลจะต้องมีการย่อยแป้งในมอลต์ให้เป็นน้ำตาลโดยการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60–75 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และเบต้าอะไมเลส จนได้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวเช่นน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลมอลโตส ซึ่งยีสต์สามารถนำไปใช้ในกระบวนการเมตาบอลิซึมเพื่อสังเคราะห์เอทานอล

การศึกษาการผลิตเบียร์ครั้งนี้จะทดสอบความแตกต่างของรสชาติ สี กลิ่น และปริมาณเอทานอลของเบียร์แต่ละตัวอย่าง เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์และอาหารเสริมในการผลิตเบียร์ที่ให้แอลกอฮอล์สูง ทั้งนี้เพื่อประโยชน์ในการผลิตเบียร์ต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1) เพื่อศึกษาพิจารณาปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตเอทานอลของยีสต์ 3 สายพันธุ์
- 2) เพื่อศึกษาพิจารณาปัจจัยที่มีผลต่อการเพิ่มจำนวนของยีสต์
- 3) เพื่อศึกษาพิจารณาปัจจัยที่มีผลต่อการใช้น้ำตาลของยีสต์
- 4) เพื่อปรับปรุงเบียร์กลิ่นน้ำผึ้งและไบโสะระแทน

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

- 1) เปรียบเทียบเชื้อยีสต์ 3 สายพันธุ์ ได้แก่
Saccharomyces cerevisiae S-23
Saccharomyces cerevisiae BE-256
Saccharomyces cerevisiae W-34/70
- 2) เปรียบเทียบความเข้มข้นของซิงค์ซัลเฟตในการผลิตเอทานอลจากลาเกอร์เบียร์ 3 ความเข้มข้น
 ความเข้มข้น 0.2 กรัมต่อลิตร 0.8 กรัมต่อลิตร และ 1.4 กรัมต่อลิตร
- 3) เปรียบเทียบความเข้มข้นของแอล-ลิวซีนในการผลิตเอทานอลจากลาเกอร์เบียร์ 3 ความเข้มข้น
 ความเข้มข้น 0.5 กรัมต่อลิตร 1 กรัมต่อลิตร และ 1.5 กรัมต่อลิตร
- 4) เปรียบเทียบเบียร์ที่ไม่เติมแต่งวัตถุดิบอื่นๆ กับเบียร์ที่ใส่ไบสระระแห่น้ำผึ้ง

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1) ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีปริมาณเอทานอลสูง
- 2) ทำให้ทราบถึงผลกระทบของซิงค์ซัลเฟตต่อลาเกอร์เบียร์
- 3) ทำให้ทราบถึงผลกระทบของแอล-ลิวซีนต่อลาเกอร์เบียร์
- 4) ทำให้ทราบถึงผลกระทบของน้ำผึ้งต่อลาเกอร์เบียร์
- 5) ทำให้ทราบถึงผลกระทบของไบสระระแห่น้ำผึ้งต่อลาเกอร์เบียร์
- 6) ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีรสชาติและกลิ่นที่ดีจากน้ำผึ้งและไบสระระแห่น้ำผึ้ง

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 เบียร์

2.1.1 ประวัติความเป็นมาของเบียร์

พบการผลิตเบียร์ครั้งแรกในประเทศอียิปต์ ซึ่งเรียกว่า “barley wine” ในทวีปเอเชีย ประเทศจีนผลิตเบียร์จากข้าว ขณะที่ประเทศอินเดียผลิตเบียร์จากข้าวมอลต์ โดยยังไม่มีการนำดอกฮ็อพมาใช้ในการผลิตเบียร์ ขณะที่ประเทศจีนใส่ดอกฮ็อพลงไปเพื่อทำให้เกิดกลิ่นรสในเบียร์

การผลิตเบียร์แบบดั้งเดิมนิยมทำกันในครอบครัว และใช้แรงงานผู้หญิงเป็นส่วนใหญ่ ต่อมาการผลิตเบียร์เพิ่มมากขึ้นจนถึงศตวรรษที่ 10 และ 11 จึงมีการผลิตเบียร์เป็นการค้า

ในศตวรรษที่ 8 เบียร์เป็นเครื่องดื่มที่ได้รับความนิยมในประเทศอังกฤษ มีการเติมดอกฮ็อพโดยดอกฮ็อพนำเข้ามาจากประเทศฮอลแลนด์ ศตวรรษที่ 16 ประเทศเยอรมันมีการผลิตเบียร์มากขึ้นถึงระดับอุตสาหกรรม

ปี 1620 มีการนำเบียร์จากประเทศอังกฤษเข้ามายังสหรัฐอเมริกา และช่วงนั้นเบียร์ในสหรัฐอเมริกาส่วนใหญ่เป็นเอลเบียร์ (ale beer) ปี 1840 มีการนำลาเกอร์เบียร์ (lager beer) จากประเทศเยอรมันเข้ามายังสหรัฐอเมริกา โดยชาวเยอรมันที่อพยพเข้ามาอยู่ในสหรัฐอเมริกา ในช่วงแรกลาเกอร์เบียร์ (lager beer) ได้รับความนิยมน้อย ต่อมาได้มีการพัฒนา ลาเกอร์เบียร์ (lager beer) มากกว่าเอลเบียร์ (ale beer) เนื่องจาก มีความซ่ามากกว่า (ดวงใจ, 2558)

เบียร์ จัดเป็นเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ที่เรียกว่า สุราแช่ หมายถึงมีแอลกอฮอล์เป็นส่วนผสม โดยที่แอลกอฮอล์นั้น ได้มาจากการหมักบ่มโดยไม่มีการกลั่น เบียร์ต่างจากไวน์ที่วิธีการหมัก เบียร์เกิดจากการหมักน้ำตาลที่ได้จากการเปลี่ยนแปลงของแป้งจากเมล็ดธัญพืช ประเภทข้าวมอลต์ ส่วนไวน์จะเป็นการหมักน้ำตาลที่ได้จากผลองุ่น ที่เรียกว่า ไวน์องุ่น หรือการหมักน้ำตาลที่ได้จากน้ำผลไม้ ที่เรียกว่า ไวน์ผลไม้ ส่วนสุราประเภทเหล้า บรั่นดีนั้นจะได้รับการหมักน้ำตาลจากเมล็ดธัญพืช หรือผลองุ่น หรือผลไม้อื่นมาทำการกลั่นแยกเอาแอลกอฮอล์ออกมาอีกครั้งหนึ่ง จึงเรียกสุราประเภทนี้ว่า สุรากลั่น ดังนั้น เบียร์จึงเป็นเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์น้อยที่สุด เมื่อเทียบกับไวน์ และเหล้าวิสกี้ หรือบรั่นดี (โชคชัย, 2558)

2.1.2 ประเภทเบียร์

เบียร์สามารถจำแนกได้หลายวิธีหากจำแนกตามลักษณะการหมักประกอบด้วย

- ท็อปยีสต์ (Top yeast) หรือเอลเบียร์ (Ale Beer) ยีสต์จะลอยอยู่ในน้ำและสามารถดักจับฟองก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ส่วนบนของการหมัก มีความหลากหลายทางพันธุกรรมมากและหมักในอุณหภูมิที่สูง 18-24 องศาเซลเซียส เบียร์ที่ได้จากการหมักโดยใช้ยีสต์ประเภทนี้ เช่น วิทเบียร์ (Wheat beer) ไวท์เบียร์ (White beer) อัลท์เบียร์ (Alt beer) เคลิช (Koelsch) พอร์ทเทอร์ (Porter) และสเตาท์ (Stout)
- บอททอมยีสต์ (Bottom yeast) หรือลาเกอร์เบียร์ (Lager Beer) ยีสต์จะจมลงสู่ก้นถังหมัก เซลล์รวมตัวกันเป็นผลให้เกิดตะกอนและจมลงใต้ถังหมัก เป็นสายพันธุ์ดั้งเดิมและหมักในอุณหภูมิต่ำ 8-14 องศาเซลเซียส เบียร์ที่ได้จากการหมักโดยใช้ยีสต์ประเภทนี้ ได้แก่ พิลเซนเบียร์ (Pilsen beer) เบียร์ดำ (dark beer) บ็อคเบียร์ (Bock beer) ไอซ์เบียร์ (Ice beer) เบียร์ที่ปราศจากแอลกอฮอล์ (Alcohol free beer) ไดเอทเบียร์ (Diet beer)

นอกจากนี้ ยังจำแนกตามสีและรสชาติของเบียร์ เช่น เบียร์ดำ ซึ่งทำมาจาก มอลต์ดำ หรือคาราเมลมอลต์ ซึ่งทำให้เบียร์มีสีดำ ที่เรียกกันว่า เบียร์ดำ (Dark beer) เช่น เบียร์สเตาท์ และมีรสชาติตลอดจนกลิ่นหอมของน้ำตาลไหม้ บางชนิดมีรสชาติเฉพาะตัว เช่น วิทเบียร์ ซึ่งจะมีกลิ่นหอมของข้าวสาลี และมีคาร์บอนไดออกไซด์สูง (ปิยะ, 2557)

2.1.3 ส่วนประกอบของเบียร์

2.1.3.1 ข้าวมอลต์

มอลต์ (malt) เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากนำเมล็ดธัญพืช (cereal grain) มาเพาะให้งอก (germination) นิยมผลิตมาจากข้าวบาร์เลย์ (barley) (Briggs, 1998)

ข้าวบาร์เลย์ เป็นธัญพืชที่นิยมปลูกในประเทศที่มีภูมิอากาศเย็นปลูกกันมากในประเทศทางทวีปยุโรป เช่น ฝรั่งเศส เยอรมนี ออสเตรีย อังกฤษ ไอร์แลนด์ เป็นต้น นอกจากนี้ ยังนิยมปลูกในประเทศแคนาดา ออสเตรเลีย และนิวซีแลนด์ ประเทศทางทวีปเอเชียก็มีการปลูกกันมากในประเทศจีน ส่วนประเทศไทยมีการนำสายพันธุ์ข้าวบาร์เลย์เข้ามาปลูกในแถบภาคเหนือ ซึ่งมีภูมิอากาศเย็นมีการส่งเสริมการปลูกข้าวบาร์เลย์ แต่ยังมีปริมาณไม่มากและไม่แพร่หลายเหมือนในประเทศอื่นๆ ที่กล่าวข้างต้น

ในขั้นตอนแรกจะนำข้าวบาร์เลย์ไปแช่น้ำที่อุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส เพื่อให้เมล็ดได้รับความชื้นพร้อมกับได้รับออกซิเจน ซึ่งจะทำให้เซลล์ของเมล็ดได้รับการกระตุ้นเพื่อให้เกิดการงอกของรากอ่อนและใบอ่อน ทิ้งไว้ให้มีการงอกของรากอ่อนยาวประมาณ 2 ใน 3 ถึง 3 ใน 4 ของเมล็ด

ต่อจากนั้นจึงถ่ายน้ำออกแล้วนำเมล็ดข้าวบาร์เลย์ไปผึ่งบนตะแกรงให้แห้ง แล้วจึงนำไปอบจึงจะแล้วเสร็จ ข้าวที่อบเสร็จแล้วนี้เรียกว่า ข้าวมอลต์ ซึ่งจะนำไปขัดเอารากอ่อนและใบอ่อนออก การอบให้แห้งนั้น อุณหภูมิของการอบจะเป็นตัวชี้ว่า ข้าวมอลต์ที่อบแล้วจะเป็นข้าวมอลต์ประเภทใด เช่น ถ้าอบที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส จะทำให้เปลือกข้าวและเมล็ดเป็นสีดำ จึงเรียกข้าวมอลต์ชนิดนี้ว่า มอลต์ดำ (black malt) หรือ คาราเมลมอลต์ (caramel malt) เป็นต้น

ข้าวบาร์เลย์ที่เก็บเกี่ยวแล้วจะนำไปเปลี่ยนสภาพให้เป็นข้าวมอลต์ในโรงงานทำมอลต์ที่เรียกว่า มอลต์เทอร์รี่ (Maltery) ส่วนผู้ที่มีหน้าที่ในการทำข้าวบาร์เลย์เป็นข้าวมอลต์เรียกว่า มอลต์สเตอร์ (Maltster) (Procopio *et al.*, 2015)

2.1.3.2 น้ำ

เป็นวัตถุดิบที่สำคัญอีกตัวหนึ่งเนื่องจากเบียร์มีส่วนประกอบที่เป็นน้ำมากกว่า 9 เปอร์เซ็นต์ คุณภาพของน้ำที่ใช้สำหรับการผลิตเบียร์ขึ้นอยู่กับลักษณะของเบียร์ที่จะผลิตความอ่อน ความกระด้างของน้ำ มีผลต่อรสชาติของเบียร์ หรือมีผลต่อความเปลี่ยนแปลงที่จะเกิดขึ้นในกระบวนการผลิตเป็นต้นว่า สารที่ทำให้ความขมที่มีอยู่ในดอกฮ็อพ จะให้ความขมแก่เบียร์ได้มากน้อยแค่ไหน ขึ้นอยู่กับความกระด้างและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำ (ปิยะ, 2557)

2.1.3.3 ดอกฮ็อพ

เป็นพืชล้มลุกประเภทไม้เลื้อย มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Humulus lupulus* นิยมปลูกกันมากในประเทศแถบยุโรป เช่น เยอรมนี อังกฤษ สาธารณรัฐเชค นอกจากนี้มีในประเทศสหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย นิวซีแลนด์ ในแถบเอเชียจะมีการปลูกฮ็อพในประเทศจีนและญี่ปุ่น ในอดีตจะใส่ฮ็อพทั้งดอกลงไปในการทำเบียร์ ปัจจุบันมีการอัดให้เป็นเม็ดเล็กๆ หรือสกัดเอาความขม และน้ำมันหอมระเหยออกมาใช้ เพื่อสะดวกในการขนส่ง มีคุณสมบัติเป็นเสมือนสารกันบูดธรรมชาติ ให้รสขม และกลิ่นเฉพาะตัวในแต่ ละสายพันธุ์ นิยมเอาไปใส่ในเบียร์เพื่อไม่ให้เบียร์เสียหรือบูดเร็ว และรสขมยังช่วยตัดกับความหวานจากมอลต์ทำให้รสชาติคงตัวมากขึ้นอีกทั้งกลิ่นที่หลากหลายยังช่วยเพิ่มเสน่ห์ความหอมให้กับเบียร์อีกด้วย (Palmer, 1994)

2.1.3.3.1 ประเภทของดอกฮ็อพ

แบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ

- ดอกฮ็อพสด ซึ่งเก็บมาจากต้นสดๆ การใช้ดอกฮ็อพสดที่จริงจะทำให้ต้นทุนสูง เพราะดาดอกฮ็อพสดจะใช้ได้เฉพาะในตอนที่ยังเก็บมาจากต้นเท่านั้น ซึ่งโดยปกติจะทำในฤดูใบไม้ร่วง
- ดอกฮ็อพแห้ง ซึ่งก็คือดอกฮ็อพที่เก็บมาและปมให้แห้งในห้องพิเศษที่เรียกว่า

โอสต์ เฮาส์ เมื่อแห้งแล้วปกติจะนำมาอัดเป็นแท่ง จากนั้นก็สามารถเก็บไว้ได้จนกว่าจะต้องใช้ (Palmer, 1994)

2.1.3.3.2 ประโยชน์ของดอกฮ็อพ

- เพื่อให้ได้รสขมซึ่งเป็นเอกลักษณ์เฉพาะของเครื่องดื่มประเภทเบียร์ ที่โคนกลีบของดอกฮ็อพจะมีอับละอองเรณู ลักษณะสีเหลืองใสๆติดอยู่ เมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีจะสามารถให้ความขมออกมาได้
- เพื่อช่วยให้โปรตีนตกตะกอนเร็วขึ้น ในกลีบดอกของดอกฮ็อพจะมีสารที่เรียกว่า โพลีฟีนอล (Polyphenol) ซึ่งจะไปทำปฏิกิริยากับโปรตีนซึ่งมีอยู่ในเวอร์ททำให้โปรตีนตกตะกอนเร็วขึ้นและทำให้เบียร์ใส
- เพื่อช่วยให้เบียร์มีกลิ่นหอม บริเวณอับละอองเรณูของดอกฮ็อพ จะมีสารเหนียวๆ และให้กลิ่นหอมอยู่ด้วย เป็นพวกน้ำมันหอมระเหย (Volatile oil) ซึ่งจะให้กลิ่นหอมที่เป็นลักษณะเฉพาะตัวแก่เบียร์ (ปิยะ, 2557)

2.1.3.4 ยีสต์

ยีสต์เป็นสิ่งมีชีวิตในอาณาจักรเห็ดรา (Kingdom Fungi) เช่นเดียวกับเชื้อรา แต่มีลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยว (Unicellular) มีขนาด 5-10 ไมโครเมตร ยีสต์มีรูปร่างหลายแบบ ทั้งแบบกลม รูปไข่ รูปไข่ปลายแหลม ทรงกระบอก ส่วนใหญ่จะสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ โดยการแตกหน่อ (budding)

ชาวบ้านทั่วไปเรียกว่า ส่า จัดเป็นจุลินทรีย์ประเภทรา ที่สามารถใช้น้ำตาลเป็นอาหาร เพื่อการเจริญเติบโต และเพิ่มประชากร การใช้น้ำตาลเป็นอาหารของยีสต์ทำให้เกิดการเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นแอลกอฮอล์และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งเรียกว่า การหมัก ขณะเดียวกันก็จะเกิดการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีอื่นๆ ควบคู่กันไปด้วย

ปัจจุบัน มีการนำยีสต์มาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมหลายประเภท เช่น การผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ ชนิดต่างๆ เช่น เบียร์ ไวน์ และวิสกี้ การผลิตเอธิลแอลกอฮอล์เพื่อใช้เป็นสารเคมี เชื้อเพลิง และขนมปัง

ยีสต์ มีคุณสมบัติในการเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นคาร์บอนไดออกไซด์และแอลกอฮอล์ได้ "บริวเวอร์ ยีสต์" (Brewer yeast) ซึ่งเป็นยีสต์ที่นำมาหมักทำเบียร์และไวน์ มีรสชาติค่อนข้างรุนแรง บริวเวอร์ ยีสต์ ประกอบไปด้วยธาตุอาหารมากมีกรดอะมิโน 16 ชนิด เกลือแร่ 14 ชนิด วิตามิน 17 ชนิด นอกจากนี้ยังมีเกลือแร่สูง คือ โครเมียม สังกะสี เหล็ก ฟอสฟอรัส และเซเลเนียม โดยยีสต์ไม่ใช่ออกซิเจนในการหายใจ

ยีสต์จะทำหน้าที่ผลิตเอทานอลจากน้ำตาลและกรดอะมิโนในสภาวะไร้ออกซิเจน โดยยีสต์จะบริโภคน้ำตาลกลูโคส 1 โมเลกุลและเปลี่ยนเป็นกรดไพรูวิก 2 โมเลกุล ผ่านกระบวนการไกลโคไลซิส จากสภาวะไร้อากาศกรดไพรูวิกจะถูกเปลี่ยนเป็นเอทานอล คาร์บอนไดออกไซด์ น้ำ และ ATP (โชคชัย, 2558)

ยีสต์สามารถผลิตแอลกอฮอล์, สารประกอบEster, Aldehydes, Ketones, acids, Phenols และSulphur (Orte, 2006)

ยีสต์มีการใช้กรดอะมิโน เช่น Free amino nitrogen ซึ่งมีส่วนช่วยส่งเสริมอัตราการหมัก และการเจริญเติบโต โดยช่วยเปลี่ยนแปลงน้ำตาลให้เป็นเอทานอล (Kolothumannil and Ingledew, 1990)

2.1.3.4.1 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของยีสต์

- แหล่งคาร์บอนและพลังงาน

โดยทั่วไปได้จากน้ำตาลต่างๆ เช่น กลูโคส ฟรุคโตส ซูโครส และมอลโตส กลูโคสจะถูกหมักอย่างรวดเร็ว ในอาหารที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ร้อยละ 17-20 อาหารที่มีน้ำตาล 25 เปอร์เซ็นต์การหมักจะช้าลง และถ้าปริมาณน้ำตาลสูงกว่าประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์ยีสต์ ส่วนใหญ่จะไม่สามารถหมักได้เหตุผลหนึ่งเนื่องจากผลของการเกิดออสโมซิส (osmosis) ในเซลล์ยีสต์ (Amerine *et al.*, 1980)

แหล่งคาร์บอนเป็นธาตุที่มีความสำคัญในการสังเคราะห์เซลล์และพลังงานโดยทั่วไป จุลินทรีย์ที่เจริญในสภาวะไม่มีอากาศจะใช้แหล่งคาร์บอนประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ ในการสังเคราะห์เซลล์ ส่วนจุลินทรีย์ที่เจริญในสภาวะที่มีอากาศจะใช้แหล่งคาร์บอนประมาณ 50 -55 เปอร์เซ็นต์ ในการสังเคราะห์เซลล์

ในการสังเคราะห์เซลล์ คาร์บอนไดออกไซด์ปริมาณ 15 กรัมต่อลิตร จะทำให้ยีสต์หยุดการเจริญเติบโต และถ้าความดันของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ขึ้นสูงถึง 30 บรรยากาศ จะทำให้การหมักหยุดลง (Smith, 1988)

- ซัลเฟอร์ไดออกไซด์

การเติมซัลเฟอร์ไดออกไซด์เพื่อควบคุมปฏิกิริยาออกซิเดชัน และยับยั้งการเกิดระยะพักตัว (lag phase) ประมาณ 1-2 วัน ก่อนจะเริ่มเกิดการหมัก ซัลเฟอร์ไดออกไซด์จะยับยั้งยีสต์ธรรมชาติ แต่ปล่อยให้ *Saccharomyces cerevisiae* เจริญต่อไป การใช้ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ในปริมาณ 50 - 100 กรัมต่อลิตร แต่ยีสต์ *Kloeckera* และ *Candida* ก็ยังสามารถเจริญได้

- อุณหภูมิ

อุณหภูมิของการหมักมีผลต่ออัตราการเจริญของยีสต์ ระยะเวลาของการหมัก ปริมาณยีสต์ปฏิกิริยาชีวเคมีของยีสต์ และรสชาติของสุรา อัตราการเจริญของยีสต์จะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิ 10-25 องศาเซลเซียส ปัจจุบันการหมักสุรามีผู้ผลิตมักเลือกอุณหภูมิต่ำ เพื่อรักษาสารระเหยให้กลิ่นรสไว้ให้ได้มากที่สุด และมีการพัฒนายีสต์ที่สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิต่างๆ ในการหมักที่อุณหภูมิต่ำจะมีการผลิตแอลกอฮอล์โมเลกุลสูงมีการผลิตสารพวกเอสเทอร์ในปริมาณมาก ได้แก่ isoamyl acetate isobutyl acetate และ ethyl acetate เป็นต้น

- ปริมาณน้ำตาล

น้ำตาลปริมาณ 125 – 250 กรัมต่อลิตร เป็นน้ำตาลกลูโคสและฟรุคโตสอย่างละเท่ากัน บางชนิดอาจมีน้ำตาลสูงมากถึง 400 กรัมต่อลิตร อัตราการหมักของ *Saccharomyces cerevisiae* จะลดลงเมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลสูงเกิน 200 กรัมต่อลิตร (ประมาณ 20 บริกซ์) เนื่องจากแรงดันออสโมติกแต่ในการหัวเชื้อยีสต์ควรให้มีน้ำตาลเพียงครึ่งหนึ่งของการหมักคือประมาณ 100 กรัมต่อลิตร เพื่อให้ยีสต์เพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว เพราะถ้ามีน้ำตาลมากยีสต์จะเปลี่ยนการหายใจไปเป็นการหมัก และผลิตแอลกอฮอล์แทนการผลิตเซลล์

- ไนโตรเจน

กรดอะมิโนอิสระและไอออนของแอมโมเนียมเป็นแหล่งไนโตรเจนหลักที่ยีสต์ใช้ในการหมักแอลกอฮอล์ต่างๆไป ในปัจจุบันพบว่าอาจมีไม่เพียงพอโดยเฉพาะในสุราที่มีการทำให้ใสก่อนการหมัก การหมักสุราในปัจจุบันจึงมักมีการเติมสารไนโตรเจนลงในน้ำสุรา เช่น ไดแอมโมเนียมฟอสเฟต เพื่อให้แน่ใจว่าไนโตรเจนจะไม่เป็นตัวจำกัดการหมักหากไนโตรเจนไม่เพียงพอ นอกจากจะจำกัดการเจริญของยีสต์แล้วยีสต์ยังอาจผลิตก๊าซ-ไฮโดรเจนซัลไฟด์ (ก๊าซไข่เน่า) ทำให้เกิดกลิ่นเหม็นได้ (ฉัตรชัย และจิราภรณ์, 2547)

- ความเป็นกรด-ด่าง (pH)

ความเป็นกรด-ด่างในการหมักอยู่ในช่วง 3.0-4.0 ขึ้นกับปริมาณกรดทาร์ทริกและกรดมาลิกอัตราการเจริญของ *Saccharomyces cerevisiae* จะลดลงเมื่อ pH ลดลงจาก 3.5 เป็น 3.0 ในกรดคงสภาพความเป็นกรด-ด่างให้ต่ำลงจะส่งผลดีในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนทำให้ยีสต์เจริญได้ดีขึ้น ถ้าความเป็นกรด-ด่างต่ำกว่า 3.0 ทำให้การหมักลดลง ระดับความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมสำหรับการหมักควรอยู่ในช่วง 3.3-4.0 (Amerine *et al.*, 1980)

- แอลกอฮอล์

แอลกอฮอล์มีผลต่อการหมักขึ้นอยู่กับ การเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิที่อุณหภูมิต่ำยีสต์มีความสามารถทนต่อแอลกอฮอล์ดีกว่าที่อุณหภูมิสูง (Amerine *et al.*, 1980)

- เกลือแร่

ในกระบวนการหมักแอลกอฮอล์ ต้องการแร่ธาตุที่สำคัญคือ แมกนีเซียม โปแตสเซียม สังกะสี โคบอลท์ ไอโอดีน แคลเซียม เหล็ก ทองแดง ฟอสฟอรัส และซัลเฟอร์ แต่สำหรับ การเจริญของยีสต์เพียงอย่างเดียวแร่ธาตุที่ต้องการคือ ทองแดง เหล็ก แมกนีเซียม โปแตสเซียม ฟอสฟอรัส และซัลเฟอร์ (Amerine *et al.*, 1980)

เกลือฟอสเฟสมีความสำคัญในกระบวนการหมักแอลกอฮอล์ของยีสต์ เมื่อยีสต์เริ่มทำการหมักน้ำตาลยีสต์จะสร้างสารเอสเทอร์ที่มีฟอสเฟตเป็นองค์ประกอบ ดังนั้นการเติมสารอาหารเกลือแอมโมเนียม ฟอสเฟต ก็จะได้สารไนโตรเจนในกลุ่มแอมโมเนียม และฟอสเฟตอยู่ด้วย พบว่าถ้าในอาหารมีธาตุอะลูมิเนียมมากกว่า 25 มิลลิกรัมต่อลิตร จะมีผลในการยับยั้งการเจริญของยีสต์ได้ (Ward, 1992)

2.1.3.4.2 กระบวนการหมักแอลกอฮอล์ของยีสต์ (Alcoholic fermentation)

เริ่มจากไกลโคลิซิส สลายกลูโคสโดยใช้ออกซิเจนและได้กรดไพรูวิก 2 โมเลกุลพร้อมปล่อย ATP 2 โมเลกุล และ ไฮโดรเจน 4 อะตอมแต่ $\text{NADH} + \text{H}^+$ จะถ่ายทอดอะตอมของไฮโดรเจนไปยัง acetaldehyde ซึ่งเป็นสารประกอบที่มีคาร์บอน 2 อะตอม ทำให้ไม่สามารถใช้พลังงานจากอิเล็กตรอนที่มีอยู่ในอะตอมของไฮโดรเจนมาสร้าง ATP ได้อีก ดังนั้นการสลายกลูโคส 1 โมเลกุลจึงได้ ATP เพียง 2 โมเลกุล เอทิลแอลกอฮอล์เป็นสารพิษเป็นอันตรายต่อเซลล์ ถ้ามีเอทิลแอลกอฮอล์มากเกินไปยีสต์อาจทนไม่ได้และตายในที่สุด

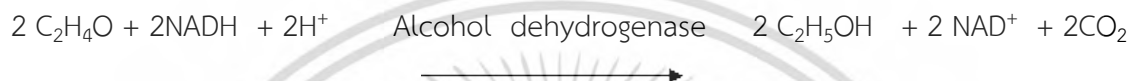
- สมการไกลโคลิซิส



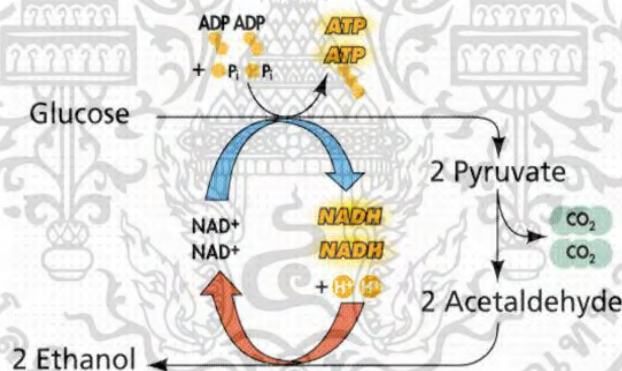
กรดไพรูวิกจะเปลี่ยนเป็นแอสिटัลดีไฮด์ (Acetaldehyde) เป็นสารประกอบที่มีคาร์บอน 2 อะตอม ได้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ โดยเอนไซม์ไพรูเวตดีคาร์บอกซีเลส (Pyruvate decarboxylase) ดังสมการ



แอลกอฮอล์ดีไฮด์จะถูกออกซิไดซ์ด้วย $\text{NADH} + \text{H}^+$ เป็นเอทิลแอลกอฮอล์หรือเอทานอล โดยเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส (Alcohol dehydrogenase)



การหมักเป็นการปลดปล่อยพลังงานแบบไม่ใช้ออกซิเจนเกิดขึ้นในไซโทพลาสซึมโดยใช้ไพรูเวตจากไกลโคไลซิสเป็นสารตั้งต้น ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในขั้นตอนการหมักจะมีการสร้าง NAD^+ ขึ้นมาใหม่แต่จะไม่มีการสร้าง ATP เพิ่มอีกดังนั้นการสลายกลูโคสแบบไม่ใช้ออกซิเจนจึงสร้าง ATP ได้เพียง 2 โมเลกุลจากไกลโคไลซิสเท่านั้น



รูปที่ 2.1 แผนภาพแสดง Alcoholic fermentation (David, 2014)

ในสภาวะที่ไม่มีแก๊สออกซิเจนหรือแก๊สออกซิเจนไม่เพียงพอจะทำให้ NADH และ FADH_2 ถ่ายทอดอิเล็กตรอนให้กับตัวรับอิเล็กตรอนต่างๆ ที่ฝังตัวอยู่ในเยื่อหุ้มชั้นในของไมโทคอนเดรียได้เนื่องจากขาดแก๊สออกซิเจนซึ่งเป็นตัวรับอิเล็กตรอนในขั้นตอนสุดท้ายจึงไม่สามารถสร้าง ATP ได้และมีการสะสม NADH และ FADH_2 มากขึ้นจึงทำให้ขาดแคลน NAD^+ และ FAD มีผลให้ปฏิกิริยาไกลโคไลซิสวัฏจักรเครบส์และการถ่ายทอดอิเล็กตรอนดำเนินต่อไปไม่ได้และยังทำให้เซลล์ขาด ATP เซลล์จึงมีกระบวนการผันกลับให้ NADH กลายเป็น NAD^+ เพื่อให้กระบวนการไกลโคไลซิสไม่หยุดชะงัก และสามารถสร้าง ATP ต่อไปได้ กระบวนการนี้ เรียกว่า กระบวนการหมัก (คณะครูสาระการเรียนรู้วิทยาศาสตร์ โรงเรียนปทุมวิไล, 2558)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 น้ำผึ้ง

น้ำผึ้งเป็นผลผลิตของน้ำหวานจากดอกไม้ และจากแหล่งน้ำหวานอื่นๆ เช่น น้ำหวานจากเพลี้ยที่ผึ้งไปเก็บมาและผ่านขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงทางเคมี และกายภาพบางประการ แล้วสะสมไว้ในรังผึ้ง

ตั้งแต่ยุคโบราณ ชาวกรีกจะดื่มน้ำผึ้งก่อนลงแข่งกีฬาโอลิมปิก เพราะเชื่อว่า น้ำผึ้งช่วยขจัดความเมื่อยล้าได้ แพทย์ชาวอียิปต์ได้ใช้น้ำผึ้งช่วยสมานแผลในการผ่าตัด เพื่อฆ่าเชื้อโรค ซึ่งในปัจจุบันเราทราบดีแล้วว่า คุณสมบัติของน้ำผึ้งในการป้องกันการเจริญเติบโตของเชื้อโรคนั้น เนื่องมาจากการที่น้ำผึ้งมีความเข้มข้น มีแรงดูดซึ่มสูง ดังนั้นจึงดูดซึ่มน้ำจากเซลล์จุลินทรีย์ต่างๆ ออกมาหมด ทำให้เชื้อโรคตายได้ด้วยเหตุนี้ แพทย์ในสมัยปัจจุบันจึงยอมรับในเรื่องการใช้น้ำผึ้งเป็นยารักษาแผลบางชนิดได้

น้ำผึ้งมีกลิ่นและลักษณะทางกายภาพแตกต่างกันขึ้นอยู่กับน้ำหวานของดอกไม้ที่ผึ้งเก็บมาสะสมเป็นอาหาร น้ำผึ้งตามธรรมชาติจะมีรสหวานจัด กลิ่นหอม มีสีเหลืองอ่อนๆ จนถึงน้ำตาลเข้ม แล้วแต่แหล่งหรือชนิดของพืชอาหารที่ได้มา ในบ้านเรายังมีน้ำผึ้งป่า ที่ได้จากผึ้งตามธรรมชาติ ได้แก่ ผึ้งโพรง ผึ้งมัม และผึ้งหลวง ซึ่งคนไทยโบราณรู้จักน้ำผึ้งในลักษณะของยามากกว่าอาหาร แต่ปัจจุบันมีผู้รู้คุณค่าของน้ำผึ้งกันอย่างกว้างขวาง จึงทำให้มีผู้นิยมรับประทานน้ำผึ้งกันมากขึ้น จนทำให้ผลผลิตตามธรรมชาติมีไม่เพียงพอ ดังนั้น จึงมีการเลี้ยงผึ้งเป็นอุตสาหกรรม

น้ำผึ้งที่ได้จากผึ้งเลี้ยงนี้มีคุณสมบัติเหมือนกับน้ำผึ้งที่ได้ตามธรรมชาติ และยังสามารถเจาะจงให้ได้น้ำผึ้งจากแหล่งของดอกไม้ตามความต้องการ เช่น น้ำผึ้งจากดอกกล้วย ดอกเงาะ และดอกลิ้นจี่ เป็นต้น ผึ้งเลี้ยงจะได้รับการดูแลเอาใจใส่ ด้วยวิธีการที่ดี ทำให้ได้น้ำผึ้งมากกว่าผึ้งป่าที่หาอาหารตามธรรมชาติ อย่างไรก็ตาม ปัจจุบันน้ำผึ้งยังมีราคาค่อนข้างสูง เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำตาล ดังนั้นจึงเกิดมีการปนปลอมน้ำผึ้งขึ้น โดยการนำน้ำเชื่อมมาแต่งกลิ่น และเติมแบะแซ เพื่อให้ดูขึ้น หรือนำน้ำเชื่อมมาย่อย ให้มีส่วนประกอบคล้ายน้ำผึ้ง แล้วแต่งกลิ่น ผู้บริโภคจึงควรพิจารณาให้ถี่ถ้วนก่อนซื้อ และควรอ่านสลากด้วยลักษณะน้ำผึ้งที่ดีควรมีลักษณะขุ่นหนืด ซึ่งแสดงว่า มีน้ำน้อย มีกลิ่นหอมของน้ำผึ้ง และดอกไม้ตามแหล่งที่ได้มา ไม่มีฟอง อันเนื่องมาจากการบูด สะอาด ไม่มีไขผึ้ง หรือเศษตัวผึ้งปะปน ใส มีสีเหลืองอ่อนๆ จนเป็นสีน้ำตาลเข้ม สำหรับผู้ที่คุ้นเคยกับการรับประทานน้ำผึ้ง สามารถพิสูจน์ได้ง่ายๆ จากการดมกลิ่น และชิม แต่ถ้าไม่คุ้นเคยก็เป็นการยาก นอกจากจะวินิจฉัยโดยการตรวจสอบทางเคมี (สิริวัฒน์, 2534)

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบของน้ำผึ้ง

องค์ประกอบน้ำผึ้ง	ร้อยละ
น้ำตาลฟรุกโตส	38.2
น้ำตาลกลูโคส	31.3
น้ำตาลมอลโตส	7.1
น้ำตาลซูโครส	1.3
น้ำ	17.2
น้ำตาลอื่นๆ	1.5
เถ้า	0.2
อื่นๆ	3.2

ตารางที่ 2.2 สารอาหารที่มีประโยชน์ในน้ำผึ้ง

สารอาหาร	ปริมาณ
น้ำตาล	82.12 กรัม
ใยอาหาร	0.2 กรัม
วิตามิน B2	0.038 มิลลิกรัม
วิตามิน B3	0.121 มิลลิกรัม
วิตามิน B5	0.068 มิลลิกรัม
วิตามิน B6	0.024 มิลลิกรัม
วิตามิน B9	0.5 มิลลิกรัม
เหล็ก	0.42 มิลลิกรัม
แมกนีเซียม	2 มิลลิกรัม
ฟอสฟอรัส	4 มิลลิกรัม
โปตัสเซียม	52 มิลลิกรัม
โซเดียม	4 มิลลิกรัม
สังกะสี	0.22 มิลลิกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีการนำน้ำผึ้งมาใช้ในเบียร์แล้วกว่า 100 ปีก่อนคริสต์ศักราช (Crane, 1999) และน้ำผึ้งนิยมมากในยุโรปโดยมักจะนำมาผลิตเบียร์เอล (Ale) (Patterson and Pullen, 2014) น้ำผึ้งประกอบด้วยน้ำตาลที่หนักได้ 95 เปอร์เซ็นต์นั้นคือฟรุกโทสและกลูโคส (Carr, 2016) น้ำผึ้งถือเป็นสารอาหารจากธรรมชาติที่เหมาะสมในการทำเบียร์ ควรนำน้ำผึ้งไปต้มจนเดือดก่อนเพื่อกำจัดแบคทีเรียในน้ำผึ้งและกำจัดขี้ผึ้ง น้ำผึ้งถือเป็นแหล่งคาร์บอนและเป็นอาหารที่ดีต่อยีสต์ทำให้ยีสต์ผลิตเอทานอลมากขึ้น ช่วยให้สีของเบียร์เป็นสีเหลืองสว่างทำให้เบียร์มีกลิ่นหอมและช่วยลดความขมของฮ็อพ (Joe and Fisher, 2002) น้ำผึ้งที่ใช้ในการผลิตเบียร์ควรอยู่ระหว่างประมาณ 2-10 เปอร์เซ็นต์ เพิ่มน้ำผึ้งมากเกินไปจะทำให้ระยะเวลาในการหมักนานขึ้น (Smith, 1988)

ตัวอย่างของเบียร์ที่นิยมใส่น้ำผึ้ง เช่น

- Big Rock Honey Brown Lager
- Bowen Island Brown Lager
- Canoe Summer Honey Wheat Ale
- Honey Pale Ale, Honey Bear Ale
- Yokon Discovery Ale
- Swans Smooth Sailing Honey Ale and Stout (Stott, 2011)

2.3 สะระแหน่

ชื่อสามัญเรียกว่า Menthe kitchen mint ชื่อวิทยาศาสตร์เรียกว่า *Metha cordifolia Opiz* (รุ่งรัตน์, 2540) แม้จะดูคุ้นเคยกับชีวิตคนไทยเป็นอย่างดี แต่สะระแหน่ก็ไม่ใช่พืชที่มีถิ่นกำเนิดอยู่ในเขตร้อนบ้านเรา แต่กลายเป็นพืชที่มีการนำเข้ามาจากยุโรป (เมฆ, 2541)

สะระแหน่เป็นพืชล้มลุกที่มีอายุหลายปี ลำต้นสี่เหลี่ยม สีเขียวแกมม่วงน้ำตาล มีกิ่งแตกแขนง ออกมามากมายเลื้อยคลานไปตามพื้นดิน ใบเป็นใบเดี่ยวออกเป็นคู่ตรงข้ามกันกว้าง 1.5-2.5 ซม. ยาว 2-3 ซม.

ลักษณะใบ ผิวใบย่น ขอบใบย่นหยัก ปลายใบแหลมมีรูปร่างลักษณะป้อมๆสีเขียว ดอก ช่อ ดอก สีชมพูอมม่วง ออกเป็นช่อที่ปลายดอกหรือกระจุกที่ซอกใบ ผล เป็นผลแห้ง ไม่แตก ลักษณะรากเป็นระบบ รากฝอยมีรากต้นและรากสั้น (สีตีมารียม, 2546) สะระแหน่ คือ มินต์สำหรับทำอาหารเป็นผักที่มีกลิ่นดีที่ ถ้าขาดไปอาหารหลายอย่างคงหมดคนนิยมไปเลย นิยมใช้รับประทาน หรือจะใช้เป็นยารักษาโรคก็ได้ และ ใช้เป็นส่วนประกอบของอาหารจำพวกลาบ น้ำตก ซุปซึ่งจะทำให้อาหารมีรสชาติดีขึ้น และเพิ่มกลิ่นให้ยิ่ง น่ารับประทาน (คณะทำงานรวบรวมความรู้เกี่ยวกับผักในโครงการอนุรักษ์ผักสีเขียว, 2540)

สะระแหน่อยู่ในวงศ์เดียวกันกับกะเพรา โหระพา และแมงลัก อยู่ในสกุลเบซิล (basils) แต่อยู่กันคนละสกุล (Genus) สะระแหน่อยู่ในสกุลมินต์ เพราะเป็นพืชที่มีน้ำมันหอมระเหยอันประกอบด้วยสาร เมนทอล (menthol) อยู่สูง (ทวีทอง, 2545)

2.3.1 ส่วนประกอบของใบสะระแหน่

สะระแหน่กลิ่นหอม เพราะมีน้ำมันหอมระเหยหรือ เอสเซนซ์ ออย์ ผสมอยู่ในใบและ ลำต้นมี ซึ่งประกอบด้วยสารเมนทอล (Menthol) ลิโมนีน (Limonene) นีโอเมนทอล (Neomenthol) เป็นต้น อยู่ในใบและลำต้น (ยุวดี, 2545)

พบว่า Menthol menthone และmenthyl acetate เป็นส่วนประกอบหลักของน้ำมัน สะระแหน่ที่มีการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของน้ำมันและค่าความเป็นกรดของสาร ระเหย (นิจศิริ, 2559; lirkin and Korukluoglu, 2009)

จากผลการวิเคราะห์จากสถาบันวิจัยโภชนาการมหาวิทยาลัยมหิดลว่าสะระแหน่ 100 กรัม ให้เบต้าแคโรทีน สูงถึง 538.35 ไมโครกรัม เทียบหน่วยเรตินัล ให้วิตามินซี 88 มิลลิกรัม และให้ แคลเซียม 40 มิลลิกรัม ให้พลังงาน 47 กิโลแคลอรี (เมฆ, 2541)

2.3.2 บทบาททางอาหาร

สระระแหงในอาหารไทยมักใช้เป็นใบสดและใส่ในอาหารเย็นที่ปรุงสุกมาแล้วใบสระระแหงใช้ในอาหารประเภทลาบและยำเท่านั้น ไม่นำใบสระระแหงไปผัดเหมือนใบกะเพรา หรือใส่ในแกงที่ปรุงมาร้อนๆ กลิ่นหอมเย็นของใบสระระแหงประสานคล่องจอบกับรสแซบจากพริกและรสเปรี้ยวจากมะนาว กลายเป็นนาฏกรรมอาหารไทยที่รสกลมกล่อมไม่เหมือนใคร ลาบทุกชนิดและยำส่วนใหญ่ขาดใบสระระแหงไม่ได้เลย หากขาดใบสระระแหง ลาบก็เหมือนขาดใจไปด้วย เพราะกลิ่นของสระระแหงที่มีรสฉุนเผ็ดกว่าผักปรุงรสทั่วไป คนไทยจึงนิยมใช้สระระแหงในฐานะเครื่องปรุงกลิ่นอาหารมากกว่าจะใช้กินเป็นผักโดยตรงใช้ดับกลิ่นคาวเนื้อหรือปลา อาหารจำพวกยำต่าง ๆ และจำพวกลาบต่าง ๆ (เมฆ, 2541)

เนื่องจากสระระแหงเป็นพืชในสกุลมินต์จึงมีกลิ่นคล้ายเมนทอล อันเป็นส่วนประกอบสำคัญของลูกอมประเภทรสเย็นทั้งหลาย จึงมีคนคิดทำทอฟฟี่สระระแหงขึ้น ประกอบอาหารบางอย่างรวมทั้งเครื่องดื่มบางชนิด (ยูวดี, 2545)

2.3.3 บทบาททางด้านยา

สระระแหงเข้ามาอยู่เมืองไทยได้ร้อยกว่าปีแล้ว จนปรับตัวเข้ากับสภาพดินฟ้าอากาศของเมืองไทยได้เป็นอย่างดี สระระแหงเป็นผักที่มีกลิ่นหอม ซึ่งสามารถนำความหอมมาใช้ในการบำบัดรักษาโรคได้ที่เรียกว่า อะโรมาเทอราปี (aromatherapy) นั้นเอง (นวลศรี, 2545)

แพทย์แผนไทยได้นำเอาสระระแหงมาปรุงเป็นยารักษาโรคหลายขนานโดยระบุสรรพคุณเอาไว้ว่า กลิ่นฉุน หอมร้อน สรรพคุณแก้ปวดท้อง แก้จุกเสียด ขับผายลม ขับเหงื่อขับลม ถอนพิษไข้ แก้แน่น แก้ไอ ขับเสมหะ แก้ปวดศีรษะ ดมแก้ลม ทาแก้ฟกบวม ฯลฯ กลิ่นหอมเย็นของใบสระระแหงช่วยให้สดชื่นปลอดโปร่ง สมองแจ่มใส แก้ปวดหัวและเป็นหวัดเป็นใช้ได้ โดยนำใบสระระแหงมาขยี้แล้วทาขมับ กลิ่น ของสระระแหงซึ่งจะช่วยให้เรารู้สึกผ่อนคลาย หายเครียด ได้ นอกจากนี้สระระแหงนำมารับประทาน หรือนำมาชงน้ำดื่มเพื่อช่วยย่อยอาหาร (ทวิทอง, 2545)

นอกจากนี้ยังใช้เป็นยาแก้โรคเด็ก เช่น ชางซึก และช่วยให้ผายลมได้ดี ลดอาการท้องขึ้นท้องเฟ้อ น้ำคั้นจากต้นและใบต้มแก้ปวดมวนในท้อง แก้ท้องอืด ท้องเฟ้อ ขับลม หรือกินสดเพื่อดับกลิ่นปาก ขับเหงื่อ นอกจากนี้ยังช่วยฆ่าเชื้อ ระวังอาการเกร็งของกระเพาะอาหารและลำไส้ ในสระระแหงประกอบด้วย วิตามินเอ วิตามินบี 2 วิตามินซี แคลเซียม และ ธาตุเหล็ก (เมฆ, 2541)

อาการเจ็บตาในช่วงฤดูร้อนก็ใช้ใบสระระแหง 2 ตำลึงต้มกับหมู เป็นน้ำซุ้ปรับปรุชาน (สีตีมารีย์ม, 2546)

ขับลม ฆ่าเชื้อโรค ระวังอาการเกร็งของกระเพาะอาหารและลำไส้ สกัดน้ำมันหอมระเหยที่ใช้ในวงการอุตสาหกรรม ใช้ปรุงอาหารช่วยแต่งกลิ่นให้อาหารน่ารับประทานยิ่งขึ้น (รุ่งรัตน์, 2540)

2.3.4 บทบาททางด้านเบียร์

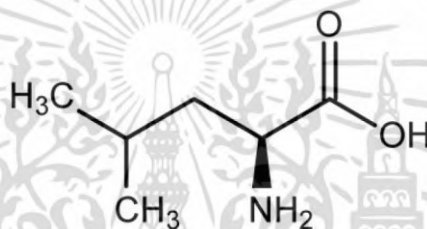
ไบสระแห่นเป็นพืชที่มีกลิ่นชัดเจนมากและน่าสนใจหากจะนำมาใส่ในเบียร์ โดยใช้ใบที่ยังสดอยู่ต้มร่วมกับเบียร์ในช่วงสุดท้ายของการต้มหรือจะช่วยให้รู้สึกสดชื่นเมื่อได้ดื่มหรือจะเติมในเครื่องดื่มกรอบที่สองจะช่วยให้กลิ่นชัดเจนมากขึ้น ประเภทของเบียร์ที่นิยมใส่ไบสระแห่นคือ Mojito style light mint weissbier และ Sweet ale aged นิยมในประเทศรัสเซีย (Loftus, 2014)

ไบสระแห่นมีส่วนประกอบของน้ำมันหอมระเหยที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (Iirkin and Korukluoglu, 2009)

น้ำมันจากสระแห่นมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์ในอาหาร (Çoşkun *et al.*, 2016)

2.4 แอล-ลิวซีน

L-leucine คือ กรดอะมิโนที่มีแขนงข้างหนึ่งเป็นอัลเคน หรือ หมู่อะลิฟาติก แขนงข้างของกรดอะมิโนประกอบด้วยอะตอมของคาร์บอนและไฮโดรเจนเท่านั้น และมีแขนงอีกข้างเป็นหมู่ไฮโดรคาร์บอน 4 คาร์บอนอะตอม จากโครงสร้างของแขนงข้างที่ประกอบด้วยไฮโดรคาร์บอนเพียงอย่างเดียว ทำให้กรดอะมิโนทุกตัวในกลุ่มนี้มีคุณสมบัติที่ไม่มีขั้วและยังมีคุณสมบัติเป็นกลาง เนื่องจากหมู่ของแขนงข้างไม่สามารถแตกตัวให้ประจุได้กรดอะมิโนที่แขนงข้างมีจำนวนคาร์บอนมากขึ้นจะมีคุณสมบัติของการมีขั้วน้อยลง ทำให้คุณสมบัติในการละลายน้ำลดลง (สร้อยญา, 2558)



รูปที่ 2.2 โครงสร้างแอล-ลิวซีน (Todd, 2016)

โดยยีสต์ต้องการสารประกอบไนโตรเจน เพื่อการเจริญเติบโตในรูปกรดอะมิโน เพื่อนำมาใช้ในการสังเคราะห์โปรตีนและส่วนประกอบของเซลล์ และกรดนิวคลีอิกและส่วนประกอบอื่นๆของเซลล์ได้มาจากกรดอะมิโน ซึ่งเกิดจากกระบวนการย่อยสลายโปรตีนของข้าวบาร์เลย์ และกรดอะมิโนต้องอยู่ในรูป L-form เท่านั้นที่ยีสต์จะสามารถนำมาใช้ได้ สิ่งที่สำคัญของการหมักคือ การมีปริมาณอะมิโนที่เพียงพอต่อการเจริญของยีสต์ (ดวงใจ, 2558)

การเติมแอล-ลิวซีนทำให้มีการผลิตแอลกอฮอล์ และสารระเหยเอสเทอร์เพิ่มขึ้น เพราะกรดอะมิโนมีความสำคัญต่อกลไกในการหมักและกระตุ้นเอนไซม์ Alcohol Acetyl Transferases ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการผลิตแอลกอฮอล์ (Procopio *et al.*, 2015)

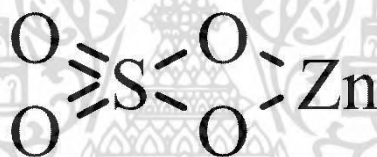
ยีสต์บางสายพันธุ์โดยเฉพาะสายพันธุ์กลายพันธุ์มีความต้านทานต่อแอล-ลิวซีน (Strejc *et al.*, 2013)

แอลลิวซีนยับยั้งเอนไซม์ α -isopropylmalate synthase และลดการสังเคราะห์enzyme isoamyl alcohol ในยีสต์สายพันธุ์กลายพันธุ์ (Cavalieri *et al.*, 1999; Ashida *et al.*, 1987)

เมื่อแอล-ลิวซีนมากเกินไป จนเลยจุดอิ่มตัวจะไม่ส่งผลให้ผลิตแอลกอฮอล์เพิ่มขึ้นหรือเมื่อเพิ่มปริมาณกรดอะมิโนมากเกินไปก็จะทำให้การสังเคราะห์เอทานอลลดลง (Bussey and Umbarger, 1969)

2.5 ซิงค์ซัลเฟต

ซิงค์ซัลเฟต คือการรวมกันของกำมะถันและสังกะสี ละลายน้ำได้ดี ใช้บ่อยที่สุดในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมเพราะดูดซึมได้ง่าย แต่อาจทำให้เกิดการระคายเคืองในกระเพาะอาหาร ทางกรแพทย์ใช้ในโรคทางดวงตาเพื่อลดอาการระคายเคือง เช่น ยาหยอดตา ใช้ในอุตสาหกรรมสิ่งทอ มีการผลิตเพื่อนำมาเป็นยารักษาโรค ทางเภสัชกรรมนำมาผลิตเป็นยารับประทานและยาใช้ภายนอก หลังการรับประทานซิงค์ซัลเฟต พบว่า ยานี้จะถูกกำจัดออกทางอุจจาระประมาณ 90% ที่เหลือจะขับออกทางปัสสาวะองค์การอนามัยโลกกำหนดให้เด็กที่อายุต่ำกว่า 5 ขวบ และป่วยด้วยโรคท้องร่วง ต้องได้รับแร่ธาตุสังกะสี เสริมการรักษาเป็นเวลา 10 - 14 วัน เพื่อลดอาการรุนแรงและป้องกันการกลับมาเป็นใหม่ กระทรวงสาธารณสุขของไทย บรรจุซิงค์ซัลเฟตลงในบัญชียาหลักแห่งชาติ โดยเป็นเกลือร่วมกับผู้ป่วยที่ร่างกายขาดแร่ธาตุสังกะสี ใช้สนับสนุนการรักษาอาการท้องเสียในเด็ก ยาทารักษาผิวน้ำ ยาหยอดตา เป็นต้น



รูปที่ 2.3 โครงสร้างซิงค์ซัลเฟต (Gunjkar, 2014)

ซิงค์ซัลเฟต มีไอออนของโลหะซึ่งเป็นส่วนประกอบของเอนไซม์โดยเฉพาะเอนไซม์โกลโคไลติก และโปรตีนซึ่งมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของเยื่อหุ้มเซลล์นำไปสู่การซึมผ่านของสารและทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ส่งสัญญาณได้ดีขึ้นซึ่งบางครั้งการดูดซึมของแร่ธาตุที่สำคัญบางอย่างอาจถูกจำกัดและอาจมีผลต่อกระบวนการหมัก (Walker *et al.*, 2010)

ระหว่างการหมักยีสต์จะดูดซึมซิงค์ซัลเฟตเข้าไปเพื่อใช้ในการสังเคราะห์โปรตีนของเซลล์ระหว่างการหมักอาจจะทำให้ค่า pH ต่ำ (Preedy, 2009)

ซิงค์ซัลเฟตทำให้ยีสต์มีการเผาผลาญพลังงานใช้น้ำตาลและอะมิโนได้ดีขึ้นเจริญเติบโตเร็วขึ้น เซลล์เพิ่มจำนวนมากขึ้นส่งผลให้มีการผลิตเอทานอลและกลิ่นหอมออกมาได้มาก (Hiralal *et al.*, 2014)

หากขาดซิงค์ซัลเฟตอาจทำให้การขยายพันธุ์ของยีสต์ (Budding) ดำเนินไปอย่างช้าๆ ซิงค์ซัลเฟตเป็นอาหารเสริมที่น่าสนใจสำหรับยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* แต่หากมีซิงค์ซัลเฟตมากเกินไปก็เป็นพิษต่อเยื่อหุ้มเซลล์ของยีสต์ด้วย (Brandberg *et al.*, 2004)

ซิงค์ซัลเฟตเป็นสารอาหารที่ติดต่อยีสต์ การเติมซิงค์ซัลเฟต 0.12 กรัมต่อลิตรจะทำให้มีปริมาณ isoamyl เพิ่มขึ้น 1.5 เท่า ในการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ แต่หากเพิ่มซิงค์ซัลเฟตเป็น 3 -15 กรัมต่อลิตร ทำให้ปริมาณ isoamyl น้อยส่งผลให้ไม่มีผลให้มีการผลิตเอทานอลเพิ่มขึ้น (Quilter *et al.*, 2003)

การใส่ซิงค์ซัลเฟตมากกว่า 0.3 mg/l ทำให้การเจริญของยีสต์ลดลง (Kai, 2012) การใส่ซิงค์ซัลเฟต 0.1-0.2 mg/l เป็นผลดีต่อการเจริญของยีสต์ทำให้เจริญได้เร็วและจำนวนมากขึ้น การเพิ่มซิงค์ซัลเฟต 0.1 g/l ในการหมักทำให้จำนวนยีสต์เพิ่มขึ้นแต่แอลกอฮอล์เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย เนื่องจากซิงค์ซัลเฟตมีส่วนช่วยในการสร้างเยื่อ-หุ้มเซลล์ (Tomas *et al.*, 2004)

การเพิ่มซิงค์ซัลเฟตมากทำให้การเจริญของยีสต์ยิ่งลดลง เนื่องจากยีสต์มีประสิทธิภาพการแบ่งเซลล์ที่น้อยลงความเข้มข้นของไอออนสังกะสีในสารอาหารสูงอาจเป็นพิษได้เนื่องจากสังกะสีมีผลต่อการซึมผ่านของโพแทสเซียมในเยื่อหุ้มเซลล์ (Shet *et al.*, 2011)

บทที่ 3

การดำเนินงานวิจัย

3.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

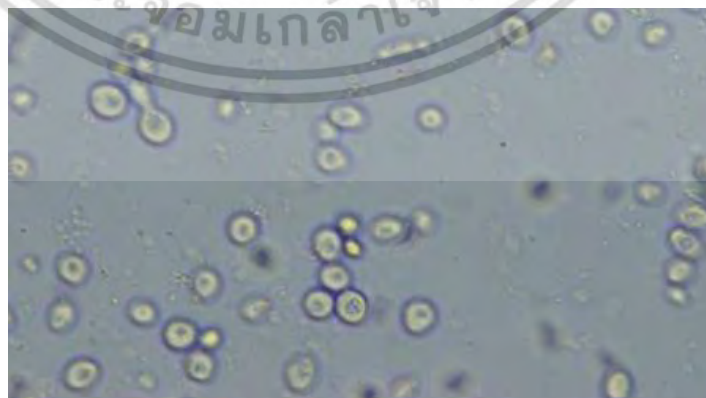
3.1.1 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง

- *Saccharomyces cerevisiae* S-23
- *Saccharomyces cerevisiae* BE-256
- *Saccharomyces cerevisiae* W-34/70

จากบริษัท Fementis lesassre for beverages ประเทศฝรั่งเศส

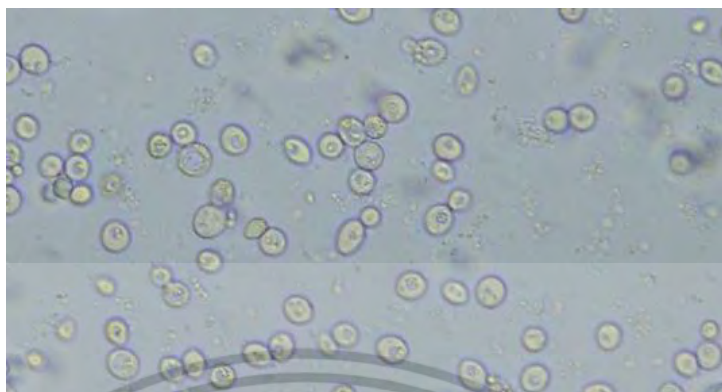


รูปที่ 3.1 *Saccharomyces cerevisiae* S-23 กำลังขยาย 400 เท่า



รูปที่ 3.2 *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 กำลังขยาย 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.3 *Saccharomyces cerevisiae* W-34/70 กำลังขยาย 400 เท่า

3.1.2 วัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง

- น้ำผึ้ง
- ไบโสะระแทนซิงค์
- มอลต์ชนิด Pale ale จากบริษัท Malterie du chateau ประเทศเบลเยียม
- ฮีธชนิด Czech Saaz pellet จากบริษัท U.S. Saaz ประเทศโปแลนด์

3.1.3 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

- ซิงค์ซัลเฟต
- แอล-ลิวซีน
- สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

3.1.4 อุปกรณ์

- หม้อต้มเวิร์ต
- ผ้าขาวบางกรองตะกอน
- กรวยกรอกน้ำ
- ขวดเลี้ยงเชื้อขนาด 325 มิลลิลิตร
- ขวดสีขาขนาด 1 ลิตร
- ที่ดักแก๊ส (Air lock)
- เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง
- หม้อนึ่งความดัน (Autoclave)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- เครื่องบ่มเขย่า (Shaker)
 - เครื่องวัดความเป็นกรดต่าง (pH Meter)
 - กล้องจุลทรรศน์ (Microscope)
 - Haemocytometer
 - ตู้ถ่ายเชื้อ (Laminar air flow)
 - เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (spectrophotometer)
 - ไมโครปิเปต (Micropipette)
 - เครื่อง Gas chromatography
 - เครื่องแก้วต่างๆ
 - อุปกรณ์อัดแก๊ส
 - อุปกรณ์ปิดฝาจิบ
- 3.1.5 อาหารเลี้ยงเชื้อ YM Broth
- อาหาร YM (ภาคผนวก ก)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 วิธีการวิจัย

3.2.1 ปัจจัยในการวิจัย

ตารางที่ 3.1 ปัจจัยในการวิจัย

ตัวอย่าง	สายพันธุ์ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	ความเข้มข้น สารเคมี (กรัมต่อลิตร)	วัตถุดิบอื่นๆ 2%
1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> S-23	ไม่มีการเติมสารเคมี	ไม่มีการเติมวัตถุดิบอื่นๆ
2	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> S-23	ซิงค์ซัลเฟต 0.2	ไม่มีการเติมวัตถุดิบอื่นๆ
3	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> S-23	ซิงค์ซัลเฟต 0.8	ไม่มีการเติมวัตถุดิบอื่นๆ
4	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> S-23	ซิงค์ซัลเฟต 1.4	ไม่มีการเติมวัตถุดิบอื่นๆ
5	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> S-23	แอล-ลิวซีน 0.5	ไม่มีการเติมวัตถุดิบอื่นๆ
6	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> S-23	แอล-ลิวซีน 1.0	ไม่มีการเติมวัตถุดิบอื่นๆ
7	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> S-23	แอล-ลิวซีน 1.5	ไม่มีการเติมวัตถุดิบอื่นๆ
8	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> BE-256	ไม่มีการเติมสารเคมี	ไม่มีการเติมวัตถุดิบอื่นๆ
9	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> BE-256	ซิงค์ซัลเฟต 0.2	ไม่มีการเติมวัตถุดิบอื่นๆ
10	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> BE-256	ซิงค์ซัลเฟต 0.8	ไม่มีการเติมวัตถุดิบอื่นๆ
11	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> BE-256	ซิงค์ซัลเฟต 1.4	ไม่มีการเติมวัตถุดิบอื่นๆ
12	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> BE-256	แอล-ลิวซีน 0.5	ไม่มีการเติมวัตถุดิบอื่นๆ
13	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> BE-256	แอล-ลิวซีน 1.0	ไม่มีการเติมวัตถุดิบอื่นๆ
14	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> BE-256	แอล-ลิวซีน 1.5	ไม่มีการเติมวัตถุดิบอื่นๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

15	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> W-34/70	ไม่มีการเติมสารเคมี	ไม่มีการเติมวัตถุดิบอื่นๆ
16	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> W-34/70	ซิงค์ซัลเฟต 0.2	ไม่มีการเติมวัตถุดิบอื่นๆ
17	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> W-34/70	ซิงค์ซัลเฟต 0.8	ไม่มีการเติมวัตถุดิบอื่นๆ
18	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> W-34/70	ซิงค์ซัลเฟต 1.4	ไม่มีการเติมวัตถุดิบอื่นๆ
19	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> W-34/70	แอล-ลิวซีน 0.5	ไม่มีการเติมวัตถุดิบอื่นๆ
20	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> W-34/70	แอล-ลิวซีน 1.0	ไม่มีการเติมวัตถุดิบอื่นๆ
21	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> W-34/70	แอล-ลิวซีน 1.5	ไม่มีการเติมวัตถุดิบอื่นๆ
22	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> S-23	ไม่มีการเติมสารเคมี	สระระแห่น
23	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> S-23	ซิงค์ซัลเฟต 0.2	สระระแห่น
24	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> S-23	ซิงค์ซัลเฟต 0.8	สระระแห่น
25	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> S-23	ซิงค์ซัลเฟต 1.4	สระระแห่น
26	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> S-23	แอล-ลิวซีน 0.5	สระระแห่น
27	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> S-23	แอล-ลิวซีน 1.0	สระระแห่น
28	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> S-23	แอล-ลิวซีน 1.5	สระระแห่น
29	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> BE-256	ไม่มีการเติมสารเคมี	สระระแห่น
30	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> BE-256	ซิงค์ซัลเฟต 0.2	สระระแห่น
31	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> BE-256	ซิงค์ซัลเฟต 0.8	สระระแห่น
32	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> BE-256	ซิงค์ซัลเฟต 1.4	สระระแห่น
33	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> BE-256	แอล-ลิวซีน 0.5	สระระแห่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

34	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> BE-256	แอล-ลิวซีน 1.0	สระระแห่น
35	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> BE-256	แอล-ลิวซีน 1.5	สระระแห่น
36	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> W-34/70	ไม่มีการเติมสารเคมี	สระระแห่น
37	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> W-34/70	ซิงค์ซัลเฟต 0.2	สระระแห่น
38	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> W-34/70	ซิงค์ซัลเฟต 0.8	สระระแห่น
39	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> W-34/70	ซิงค์ซัลเฟต 1.4	สระระแห่น
40	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> W-34/70	แอล-ลิวซีน 0.5	สระระแห่น
41	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> W-34/70	แอล-ลิวซีน 1.0	สระระแห่น
42	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> W-34/70	แอล-ลิวซีน 1.5	สระระแห่น
43	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> S-23	ไม่มีการเติมสารเคมี	น้ำฝิ่ง
44	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> S-23	ซิงค์ซัลเฟต 0.2	น้ำฝิ่ง
45	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> S-23	ซิงค์ซัลเฟต 0.8	น้ำฝิ่ง
46	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> S-23	ซิงค์ซัลเฟต 1.4	น้ำฝิ่ง
47	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> S-23	แอล-ลิวซีน 0.5	น้ำฝิ่ง
48	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> S-23	แอล-ลิวซีน 1.0	น้ำฝิ่ง
49	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> S-23	แอล-ลิวซีน 1.5	น้ำฝิ่ง
50	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> BE-256	ไม่มีการเติมสารเคมี	น้ำฝิ่ง
51	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> BE-256	ซิงค์ซัลเฟต 0.2	น้ำฝิ่ง
52	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> BE-256	ซิงค์ซัลเฟต 0.8	น้ำฝิ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

53	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> BE-256	ซิงค์ซัลเฟต 1.4	น้ำผึ้ง
54	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> BE-256	แอล-ลิวซีน 0.5	น้ำผึ้ง
55	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> BE-256	แอล-ลิวซีน 1.0	น้ำผึ้ง
56	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> BE-256	แอล-ลิวซีน 1.5	น้ำผึ้ง
57	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> W-34/70	ไม่มีการเติมสารเคมี	น้ำผึ้ง
58	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> W-34/70	ซิงค์ซัลเฟต 0.2	น้ำผึ้ง
59	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> W-34/70	ซิงค์ซัลเฟต 0.8	น้ำผึ้ง
60	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> W-34/70	ซิงค์ซัลเฟต 1.4	น้ำผึ้ง
61	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> W-34/70	แอล-ลิวซีน 0.5	น้ำผึ้ง
62	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> W-34/70	แอล-ลิวซีน 1.0	น้ำผึ้ง
63	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> W-34/70	แอล-ลิวซีน 1.5	น้ำผึ้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.2 วิธีการทดลอง

3.2.2.1 การเตรียมหัวเชื้อ (หัวเชื้อเริ่มต้น 1×10^8 เซลล์ต่อลิตร)

3.2.2.1 เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ YM Broth ขนาด 21 ลิตร

3.2.2.2 บรรจุใส่ขวดขวดละ 200 มิลลิลิตร ปิดจุกด้วยสำลี

3.2.2.3 นำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

3.2.2.4 นำอาหารเลี้ยงเชื้อมาใส่ยีสต์แห้งอัตราส่วน 1 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร

3.2.2.5 นำอาหารเลี้ยงเชื้อไปป่มในเครื่องเขย่า (Shaker) ที่อุณหภูมิห้อง (25-30 องศาเซลเซียส) ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

3.2.2.2 การเตรียมเวิร์ต (Wort) (Hiralal *et al.*, 2014)

3.2.2.2.1 นำมอลต์ 2 กิโลกรัม มาบดด้วยเครื่องบดมอลต์

3.2.2.2.2 นำมอลต์บดมาต้มอัตราส่วนน้ำ 4 ลิตรต่อมอลต์ 2 กิโลกรัม ที่อุณหภูมิ 65-70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

3.2.2.2.3 แยกกากมอลต์และน้ำเวิร์ตโดยการกรองด้วยผ้าขาวบาง

3.2.2.2.4 นำน้ำเวิร์ตที่ได้ ต้มรวมกับน้ำสะอาดปรับให้ได้ปริมาตรทั้งหมด 21 ลิตร เติมดอกฮ็อพ 2 กรัม และต้มต่อที่อุณหภูมิ 65-70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 นาที

3.2.2.2.5 เติมดอกฮ็อพ 2 กรัมอีกครั้ง ในน้ำเวิร์ต ต้มต่อไปที่อุณหภูมิ 65-70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที (ในกรณีเติมโบสสะระและน้ำผึ้งให้เติมในขั้นตอนนี้ อัตราส่วนโบสสะระแทน 420 กรัมต่อ 21 ลิตร น้ำผึ้ง 0.42 ลิตรต่อ 21 ลิตร หรือ 2 เปอร์เซ็นต์)

3.2.2.3 การหมักเบียร์ (Hiralal *et al.*, 2014)

3.2.2.3.1 นำน้ำเวิร์ตที่ผ่านการต้มมาทำให้เย็นลงและบรรจุลงในขวดหมักสีชาขนาด 1.5 ลิตร ในอัตราส่วน น้ำเวิร์ต 900 มิลลิลิตร ต่อยีสต์ 100 มิลลิลิตร

3.2.2.3.2 ถ่ายเชื้อยีสต์ลงในขวดหมักภายในตู้ถ่ายเชื้อ (Laminar air flow) และปิดจุกด้วยที่ตัดอากาศ (Air lock)

3.2.2.3.3 นำไปป่มในตู้ป่มที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน



รูปที่ 3.4 ขวดสีชาสำหรับหมักเบียร์และที่ดักอากาศ



รูปที่ 3.5 เบียร์ในตู้ปม

3.2.2.4 การบรรจุ

3.2.2.4.1 อัดแก๊สใส่เบียร์แล้วบรรจุเบียร์ใส่ขวดสีชาที่ทำความสะอาดแล้ว แล้วปิดฝาจับ

3.2.3 การวิเคราะห์คุณภาพเบียร์

3.2.3.1 การวิเคราะห์เอทานอลโดย Ebuliometer

3.2.3.1.1 ทำการ Calibrate เครื่อง Ebuliometer ก่อนโดยใช้การหาจุดเดือด

ของน้ำ

3.2.3.1.2 เตรียมตะกิ้งแอลกอฮอล์ให้เรียบร้อย

3.2.3.1.3 ล้างช่องใส่ตัวอย่าง (Boiler) ให้ทั่วแล้วเทน้ำออกทางท่อ

3.2.3.1.4 ใช้กระบอกตวงน้ำให้ได้ปริมาตร 50 มิลลิลิตร แล้วใส่เทอร์โมมิเตอร์

แล้วเติมน้ำเย็นในช่องน้ำหล่อเย็น

3.2.3.1.5 จุดตะเกียง จากนั้นปรอทจะสูงขึ้น สมมุติว่าอ่านได้ที่ 100.1 องศาเซลเซียส ให้หมุนแผ่นวงกลมชั้นบนที่มีอุณหภูมิ 100.1 องศาเซลเซียสไปที่ศูนย์ดีกรีแอลกอฮอล์ของแผ่นล่าง เมื่อทำดังนี้แล้วเครื่องมือก็จะพร้อมที่จะตรวจสอบ

3.2.3.1.6 เปิดก๊อกให้น้ำออกให้หมดใส่ตัวอย่างที่ละน้อยล้างกลั้วช่องใส่ตัวอย่าง (Boiler) แล้วเทออกให้หมด

3.2.3.1.7 เติมตัวอย่างที่จะทดสอบในช่องใส่ตัวอย่าง (Boiler) ให้ได้ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ใส่เทอร์มิเมตรแล้วเติมน้ำเย็นในช่องน้ำหล่อเย็น หลังจากนั้นจุดตะเกียงอุณหภูมิจะสูงขึ้นรอจนปรอทคงที่จึงอ่านอุณหภูมิสูงสุด

3.2.3.2 การวิเคราะห์เอทานอลโดยเครื่อง Gas Chromatography (Hiralal *et al.*, 2014)

3.2.3.2.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานเอทานอลความเข้มข้น 8 10 12 16 และ 24 เปอร์เซ็นต์ (ภาคผนวก ก)

3.2.3.2.2 ฉีดสารละลายแอลกอฮอล์มาตรฐานเข้าเครื่อง Gas Chromatography

3.2.3.2.3 สร้างกราฟสารละลายมาตรฐานเอทานอลคำนวณหาค่า R (ภาคผนวก ค)

3.2.3.2.4 เตรียมตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์เช่นเดียวกับสารละลายมาตรฐานเอทานอล

3.2.3.2.5 ฉีดตัวอย่างเข้าเครื่อง Gas Chromatography

3.2.3.2.6 คำนวณหาพื้นที่ใต้กราฟเทียบกับกราฟมาตรฐานเอทานอล

3.2.3.3 การวิเคราะห์จำนวนเซลล์ยีสต์โดย Hemacytometer (Hiralal *et al.*, 2014)

3.2.3.3.1 นำตัวอย่างมาหยดลงบนแผ่นสไลด์ Hemacytometer

3.2.3.3.2 มองผ่านเลนส์กล้องจุลทรรศน์ที่ปรับกำลังขยาย 400 เท่า

3.2.3.3.3 นับจำนวนเซลล์ยีสต์ในช่องที่กำหนดแล้วคำนวณ

3.2.3.3.4 ยีสต์เริ่มต้นที่ใช้ได้คือ 1×10^8 เซลล์ต่อลิตร

3.2.3.4 การวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Dinitrosalicylic Acid (Hiralal *et al.*, 2014)

3.2.3.4.1 เตรียมสารละลาย Dinitrosalicylic Acid ขนาด 1 ลิตร (ภาคผนวก ก)

3.2.3.4.2 เตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐานความเข้มข้น 200 400 600 800 1,000 และ 1,200 มิลลิลิตรต่อลิตร (ภาคผนวก ก)

3.2.3.4.3 ปิเปตสารละลายกลูโคสมาตรฐาน 1 มิลลิลิตร และ สารละลาย

Dinitrosalicylic Acid 1 มิลลิลิตร ในหลอดทดลอง ผสมให้เข้ากัน นำไปต้มในน้ำเดือด 10 นาทีจากนั้น
แช่ในน้ำเย็นทันที

3.2.3.4.4 นำตัวสารละลายกลูโคสมาตรฐานไปวัดค่าความเข้มข้นด้วยเครื่องวัด
การดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) ที่ค่าการดูดกลืนแสง 570 นาโนเมตร ให้เลือกใช้เฉพาะค่าการ
ดูดกลืนแสงในช่วง 0.2-0.8 หากค่าการดูดกลืนแสงมากกว่า 0.8 ให้เจือจางตัวอย่างด้วยน้ำกลั่นก่อน

3.2.3.4.5 สร้างกราฟมาตรฐานกลูโคส แล้วคำนวณหาค่า R (ภาคผนวก ค)

3.2.3.4.6 นำตัวอย่างมาวัดเช่นเดียวกับสารละลายกลูโคสมาตรฐานแล้ว
เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานกลูโคส



รูปที่ 3.6 ตัวอย่างที่ทำปฏิกิริยากับสารละลาย DNS (Dinitrosalicylic Acid Method)

3.2.3.5 การวิเคราะห์ความเป็นกรดต่างโดยpH Meter (ทิมพ์เพ็ญ และนิธิยา,2558)

3.2.3.5.1 ปรับเทียบค่ามาตรฐาน (calibration) โดยการปรับเทียบกับสารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐานระบบ two-point calibration ซึ่งจะปรับช่วง pH ที่ต้องการวัดด้วยสารบัฟเฟอร์ 2 ค่า เช่น pH 4 7 และ 10

3.2.3.5.2 ล้างอิเล็กโทรดด้วยน้ำปราศจากไอออน (deionized water) หรือน้ำกลั่น (distilled water) และซับด้วยกระดาษทิชชู แล้วรีบจุ่มอิเล็กโทรดลงในสารละลายที่ต้องการวัดอย่างรวดเร็ว

3.2.3.5.3 ล้างอิเล็กโทรดด้วยน้ำปราศจากไอออน (deionized water) หรือน้ำกลั่น (distilled water) และซับด้วยกระดาษทิชชูทุกครั้งเมื่อเปลี่ยนตัวอย่าง

3.2.3.6 การทดสอบด้วยวิธีทางประสาทสัมผัสทดสอบความชอบโดยวิธี (Hedonic)
(ไพโรจน์, 2545)

3.2.3.6.1 คัดเลือกตัวอย่างที่ใช้ทดสอบทางประสาทสัมผัสด้วยวิธีทางสถิติ

3.2.3.6.2 เตรียมตัวอย่างที่ผ่านการคัดเลือกแล้ว

3.2.3.6.3 จัดทำเอกสารสำหรับการทดสอบการชิม

3.2.3.6.4 กำหนดจำนวนผู้ทดสอบการชิม 20 คน

3.2.3.6.5 ทำให้การทดสอบ สี, กลิ่น, รส และความชอบโดยรวม

3.2.3.6.6 รวบรวมคะแนนจากการทดสอบแล้ววิเคราะห์ทางสถิติ

ตัวอย่างที่ผ่านการคัดเลือกใช้ในการทดสอบทางประสาทสัมผัส

ตัวอย่างที่ 1 เบียร์ไม่เติมแต่งใดๆ เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 ไม่ได้รับอาหารเสริมใดๆ

ตัวอย่างที่ 2 เบียร์ใสสะอาด เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 ไม่ได้รับอาหารเสริมใด

ตัวอย่างที่ 3 เบียร์น้ำผึ้ง เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* W-34/70 เติมซิงค์ซัลเฟต 1.4 กรัมต่อลิตร

ตัวอย่างที่ 4 เบียร์ไม่เติมแต่งใดๆ เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 เติมซิงค์ซัลเฟต 0.8 กรัมต่อลิตร

ตัวอย่างที่ 5 เบียร์ใสสะอาด เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 เติมซิงค์ซัลเฟต 1.4 กรัมต่อลิตร

ตัวอย่างที่ 6 เบียร์ที่เติมน้ำผึ้ง เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* W-34/70 เติมซิงค์ซัลเฟต 0.8 กรัมต่อลิตร

บทที่ 4

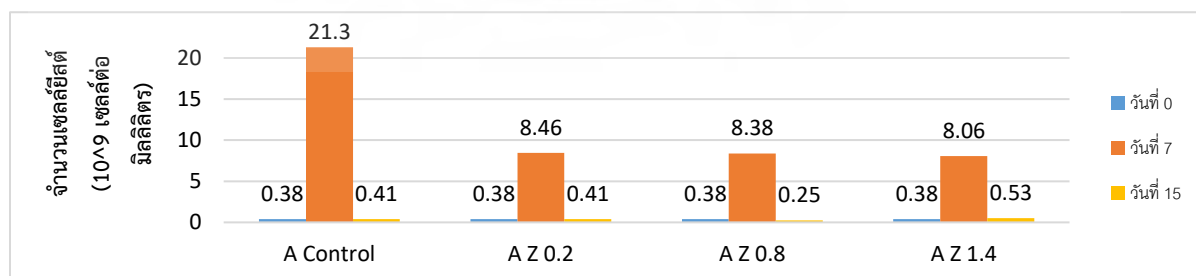
ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 การเปรียบเทียบตัวอย่างของลาเกอร์เบียร์

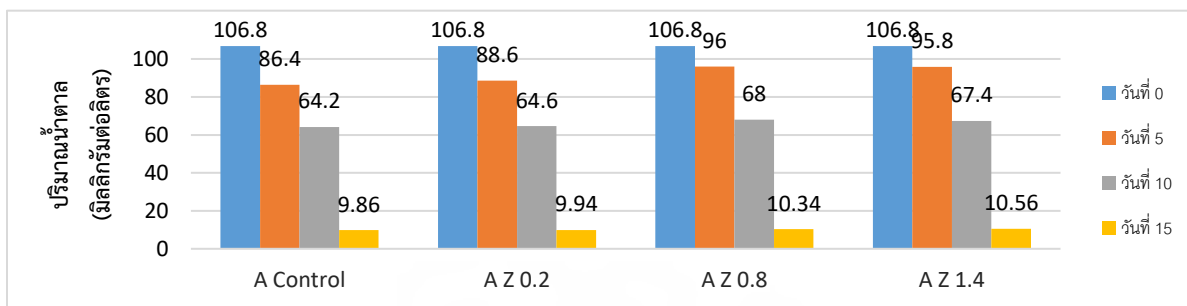
การเก็บตัวอย่างลาเกอร์เบียร์เพื่อเปรียบเทียบการเจริญของเซลล์ยีสต์ การใช้น้ำตาลของยีสต์และการผลิตเอทานอลของยีสต์ โดยกำหนดให้เปรียบเทียบยีสต์ 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 และ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 ที่เติมอาหารเสริมและไม่เติมอาหาร ได้แก่ ซิงค์ซัลเฟตความเข้มข้น 0.2 0.8 และ 1.4 กรัมต่อลิตร แอลลิซินความเข้มข้น 0.5 1.0 และ 1.5 กรัมต่อลิตร ไบโสะระแทนและน้ำผึ้ง โดยใช้เชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์ที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส หมักเป็นเวลา 15 วันพบว่าใน 7 วันแรกของการหมักมีจำนวนเซลล์ยีสต์เพิ่มสูงที่สุด แล้วลดลงหลังจากวันที่ 7 และต่ำที่สุดในวันที่ 15 ปริมาณน้ำตาลลดลงเรื่อยๆตั้งแต่วันที่ 0 และต่ำที่สุดในวันที่ 15 และพบว่าใน 10 วันแรกของการหมักยีสต์มีการผลิตเอทานอลอย่างรวดเร็วและสูงที่สุดในวันที่ 15

4.1.1 การเปรียบเทียบตัวอย่างเบียร์ที่มียีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 และซิงค์ซัลเฟตระดับความเข้มข้น 0.2 0.8 และ 1.4 กรัมต่อลิตร

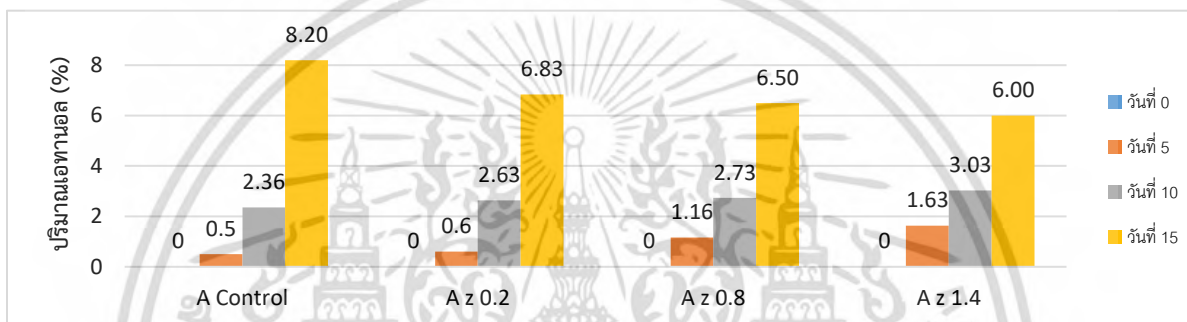
การทดลองการหมักลาเกอร์เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 ที่เติมซิงค์ซัลเฟต ระดับความเข้มข้น 0.2 0.8 และ 1.4 กรัมต่อลิตร และเบียร์ชุดควบคุมที่ไม่เติมซิงค์ซัลเฟต ใช้เชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์ความหนาแน่นของเซลล์ยีสต์ 0.38×10^9 เซลล์ต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส หมักเป็นเวลา 15 วัน แสดงผลเปรียบเทียบการเจริญของเซลล์ดังกราฟที่ 4.1 การใช้น้ำตาลของยีสต์ดังกราฟที่ 4.2 และการผลิตเอทานอลของยีสต์ดังกราฟที่ 4.3



กราฟที่ 4.1 แสดงการเจริญของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23



กราฟที่ 4.2 แสดงการใช้น้ำตาลของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23



กราฟที่ 4.3 แสดงปริมาณเอทานอลของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23

หมายเหตุ

A Control คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 (ชุดควบคุม)

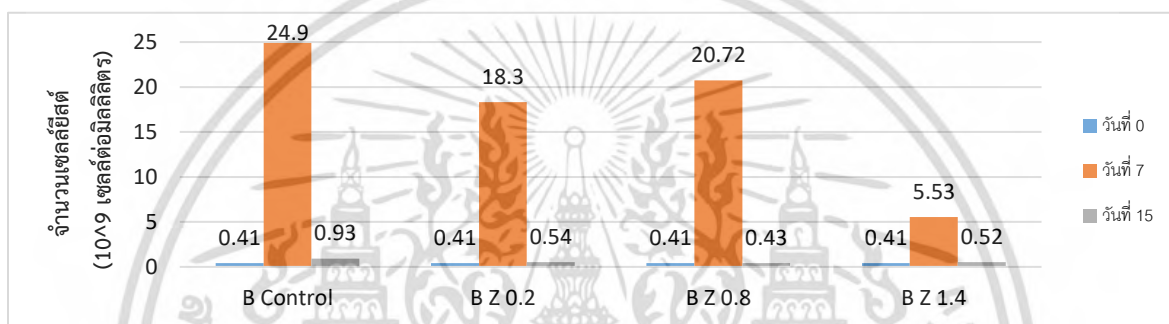
A Z 0.2 คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 ที่เติมซิงค์ซัลเฟตความเข้มข้น 0.2 กรัมต่อลิตร

A Z 0.8 คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 ที่เติมซิงค์ซัลเฟตความเข้มข้น 0.8 กรัมต่อลิตร

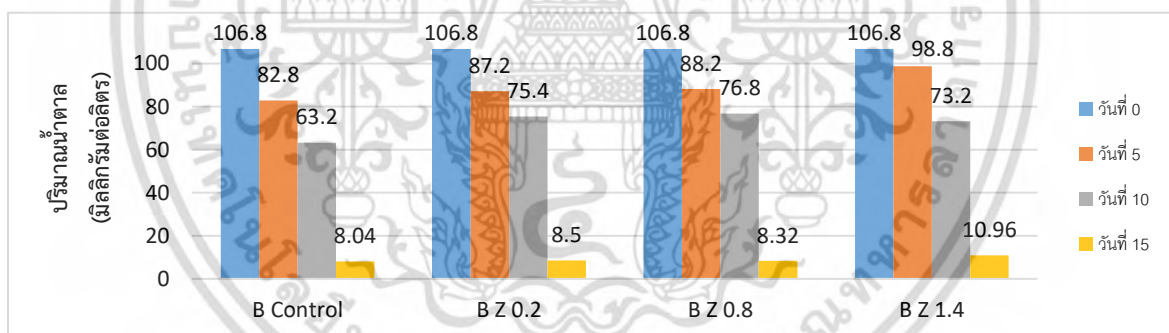
A Z 1.4 คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 ที่เติมซิงค์ซัลเฟตความเข้มข้น 1.4 กรัมต่อลิตร

4.1.2 การเปรียบเทียบตัวอย่างเบียร์ที่มียีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 และซิงค์ซัลเฟต ระดับความเข้มข้น 0.2 0.8 และ 1.4 กรัมต่อลิตร

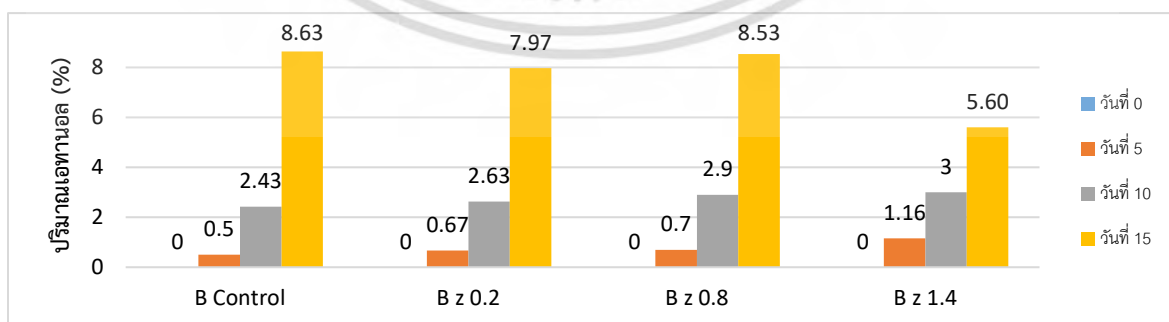
การทดลองการหมักลาเกอร์เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 ที่เติมซิงค์ซัลเฟต ระดับความเข้มข้น 0.2 0.8 และ 1.4 กรัมต่อลิตร และเบียร์ชุดควบคุมที่ไม่เติมซิงค์ซัลเฟต ใช้เชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์ความหนาแน่นของเซลล์ยีสต์ 0.41×10^9 เซลล์ต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส หมักเป็นเวลา 15 วัน แสดงผลเปรียบเทียบการเจริญของเซลล์ดังกราฟที่ 4.4 การใช้น้ำตาลของยีสต์ดังกราฟที่ 4.5 และการผลิตเอทานอลของยีสต์ดังกราฟที่ 4.6



กราฟที่ 4.4 แสดงการเจริญของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256



กราฟที่ 4.5 แสดงการใช้น้ำตาลของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256



กราฟที่ 4.6 แสดงปริมาณเอทานอลของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256

หมายเหตุ

B Control คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 (ชุดควบคุม)

B Z 0.2 คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 ที่เติมซิงค์ซัลเฟตความเข้มข้น 0.2 กรัมต่อลิตร

B Z 0.8 คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 ที่เติมซิงค์ซัลเฟตความเข้มข้น 0.8 กรัมต่อลิตร

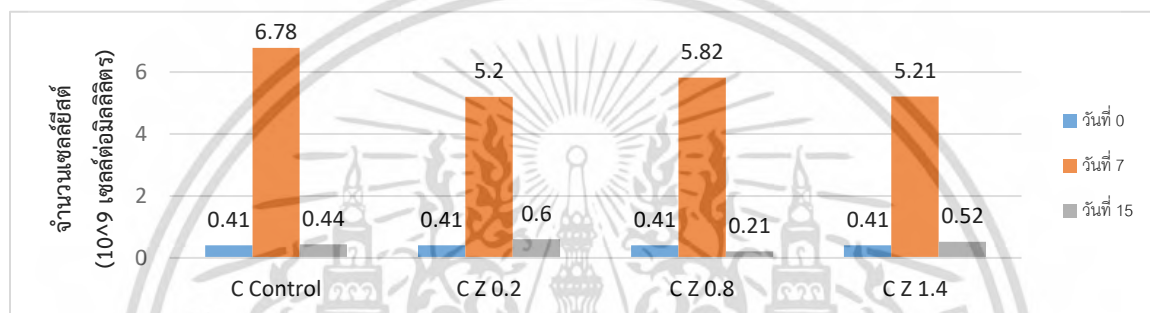
B Z 1.4 คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 ที่เติมซิงค์ซัลเฟตความเข้มข้น 1.4 กรัมต่อลิตร



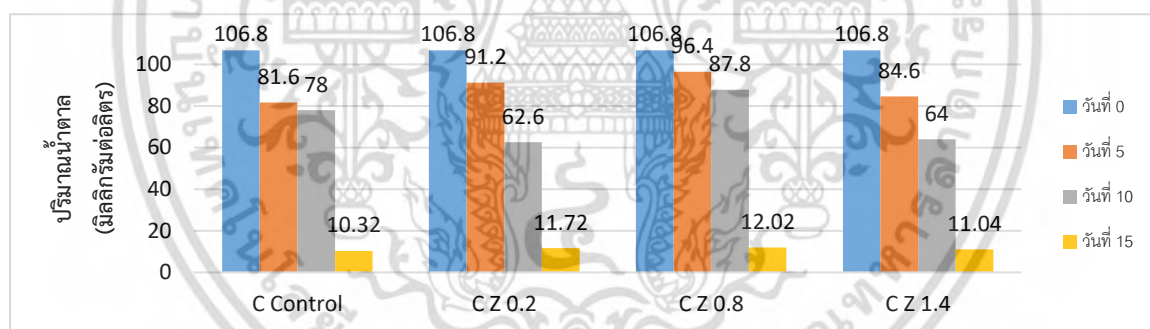
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.3 การเปรียบเทียบตัวอย่างเบียร์ที่มียีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 และซิงค์ซัลเฟต ระดับความเข้มข้น 0.2 0.8 และ 1.4 กรัมต่อลิตร

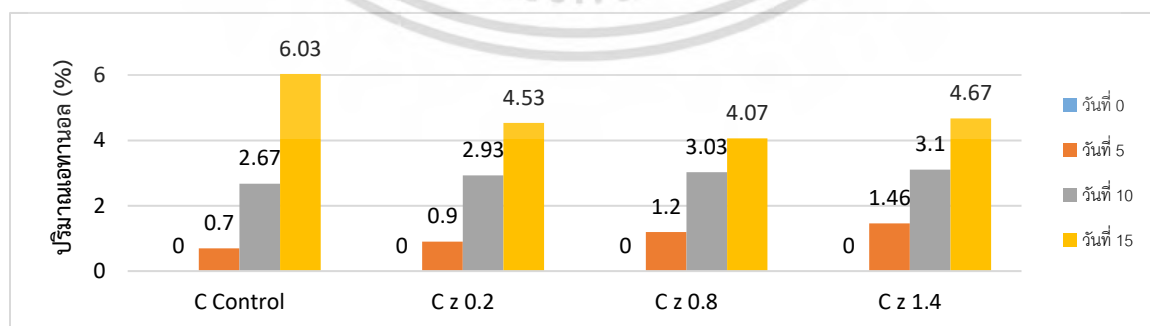
การทดลองการหมักลาเกอร์เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 ที่เติมซิงค์ซัลเฟต ระดับความเข้มข้น 0.2 0.8 และ 1.4 กรัมต่อลิตร และเบียร์ชุดควบคุมที่ไม่เติมซิงค์ซัลเฟต ใช้เชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์ความหนาแน่นของเซลล์ยีสต์ 0.41×10^9 เซลล์ต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส หมักเป็นเวลา 15 วัน แสดงผลเปรียบเทียบการเจริญของเซลล์ดังกราฟที่ 4.7 การใช้น้ำตาลของยีสต์ดังกราฟที่ 4.8 และการผลิตเอทานอลของยีสต์ดังกราฟที่ 4.9



กราฟที่ 4.7 แสดงการเจริญของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W 34/70



กราฟที่ 4.8 แสดงการใช้ น้ำตาลของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W 34/70



กราฟที่ 4.9 แสดงปริมาณเอทานอลของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W 34/70

หมายเหตุ

C Control คือเบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 (ชุดควบคุม)

C Z 0.2 คือเบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 ที่เติมซิงค์ซัลเฟตความเข้มข้น 0.2 กรัมต่อลิตร

C Z 0.8 คือเบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 ที่เติมซิงค์ซัลเฟตความเข้มข้น 0.8 กรัมต่อลิตร

C Z 1.4 คือเบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 ที่เติมซิงค์ซัลเฟตความเข้มข้น 1.4 กรัมต่อลิตร

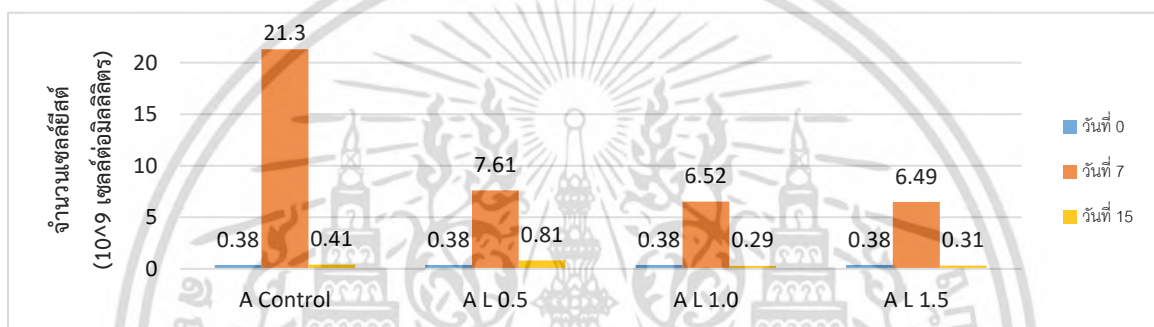
จากกราฟที่ 4.1 4.4 และ 4.7 จะเห็นได้ว่าเบียร์ชุดควบคุมของยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 และ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 ที่ไม่เติมซิงค์ซัลเฟตมีจำนวนเซลล์ยีสต์มากที่สุดในวันที่ 7 จากกราฟที่ 4.2 4.5 และ 4.8 ปริมาณน้ำตาล เหลือน้อยที่สุดในวันที่ 15 จากกราฟที่ 4.3 4.6 และ 4.9 มีปริมาณเอทานอลสูงที่สุดในวันที่ 15 ขณะที่เบียร์ที่เติมซิงค์ซัลเฟต ระดับความเข้มข้น 0.2 0.8 และ 1.4 กรัมต่อลิตร มีจำนวนของเซลล์ยีสต์ การใช้น้ำตาลและปริมาณเอทานอลต่ำ

การใส่ซิงค์ซัลเฟตมากกว่า 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร จะส่งผลให้การเจริญของยีสต์บางสายพันธุ์ลดลง (Kai, 2012) การเพิ่มซิงค์ซัลเฟตมากทำให้การเจริญของยีสต์ยิ่งลดลง เนื่องจากยีสต์มีประสิทธิภาพการแบ่งเซลล์ที่น้อยลงเพราะความเข้มข้นของไอออนสังกะสีในสารอาหารสูงเกินไปทำให้เป็นพิษได้เนื่องจากสังกะสีมีผลต่อการซึมผ่านของโพแทสเซียมในเยื่อหุ้มเซลล์ (Shet et al., 2011)

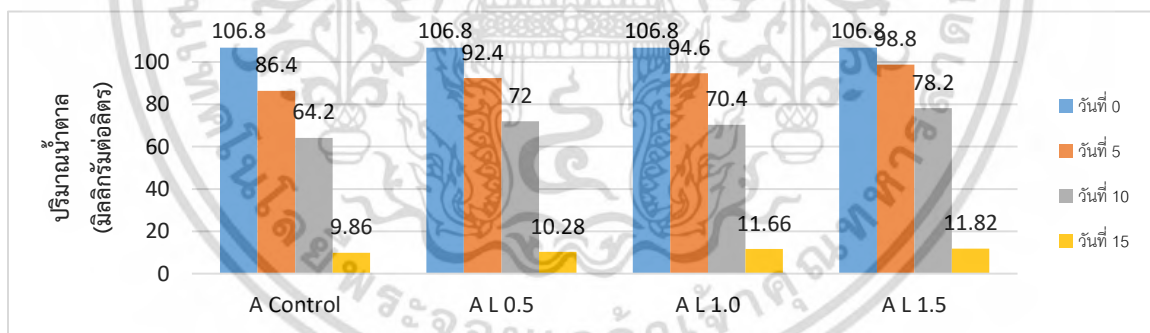
จากการศึกษานี้จึงพบว่าในการหมักลาเกอร์เบียร์ ยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 และ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 ไม่มีความต้องการซิงค์ซัลเฟต เนื่องจากเมื่อเติมซิงค์ซัลเฟตระดับความเข้มข้น 0.2 0.8 และ 1.4 กรัมต่อลิตร เข้าไปในการหมัก ซิงค์ซัลเฟตทำให้ยีสต์เจริญได้น้อย มีการใช้น้ำตาลน้อยและผลิตเอทานอลได้น้อยกว่า เมื่อเทียบกับเบียร์ชุดควบคุมที่ไม่เติมซิงค์ซัลเฟต

4.1.4 การเปรียบเทียบตัวอย่างเบียร์ที่มียีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 และแอล-ลิวซีน ระดับความเข้มข้น 0.5 1.0 และ 1.5 กรัมต่อลิตร

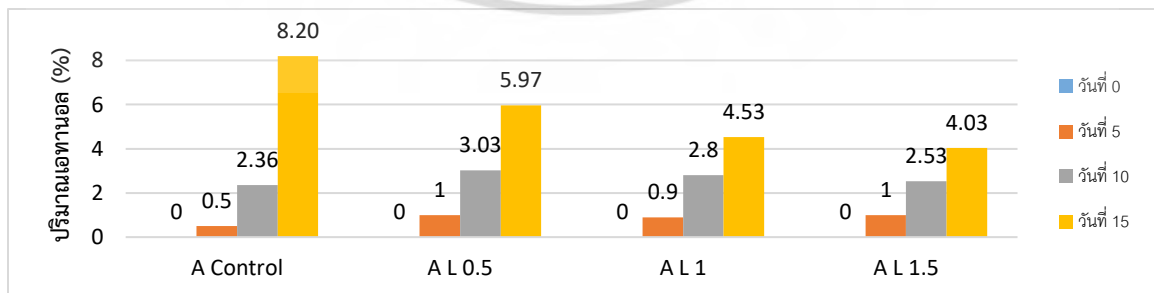
การทดลองการหมักลาเกอร์เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 ที่เติม แอล-ลิวซีนระดับความเข้มข้น 0.5 1.0 และ 1.5 กรัมต่อลิตร และเบียร์ชุดควบคุมที่ไม่เติมแอล-ลิวซีน ใช้ เชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์ความหนาแน่นของเซลล์ยีสต์ 0.38×10^9 เซลล์ต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส หมักเป็นเวลา 15 วัน แสดงผลเปรียบเทียบการเจริญของเซลล์ยีสต์ดังกราฟที่ 4.10 การใช้ น้ำตาลของยีสต์ดังกราฟที่ 4.11 และการผลิตเอทานอลของยีสต์ดังกราฟที่ 4.12



กราฟที่ 4.10 แสดงการเจริญของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23



กราฟที่ 4.11 แสดงการใช้น้ำตาลของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23



กราฟที่ 4.12 แสดงปริมาณเอทานอลของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23

หมายเหตุ

A Control คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 (ชุดควบคุม)

A L 0.5 คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 ที่เติมแอลกอฮอล์ขึ้นความเข้มข้น 0.5 กรัมต่อลิตร

A L 1.0 คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 ที่เติมแอลกอฮอล์ขึ้นความเข้มข้น 1.0 กรัมต่อลิตร

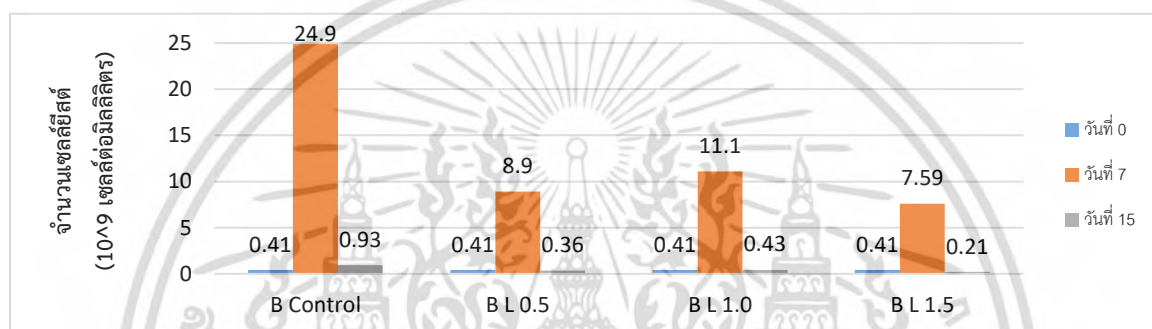
A L 1.5 คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 ที่เติมแอลกอฮอล์ขึ้นความเข้มข้น 1.5 กรัมต่อลิตร



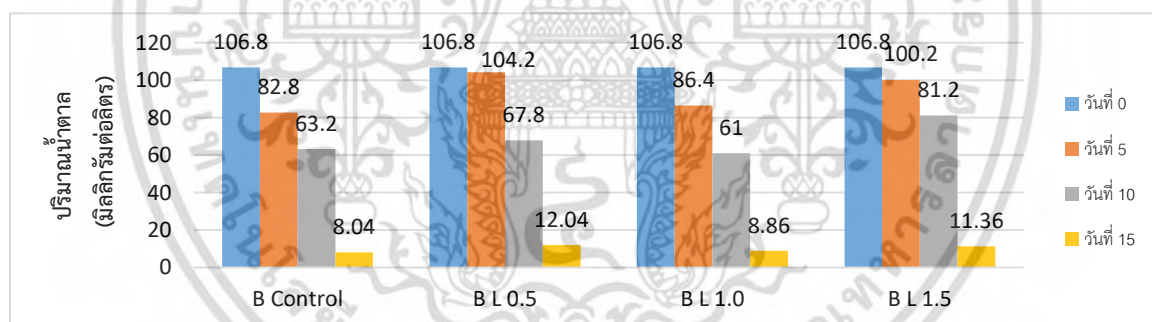
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.5 การเปรียบเทียบตัวอย่างเบียร์ที่มียีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 และแอล-ลิวซีน ระดับความเข้มข้น 0.5 1.0 และ 1.5 กรัมต่อลิตร

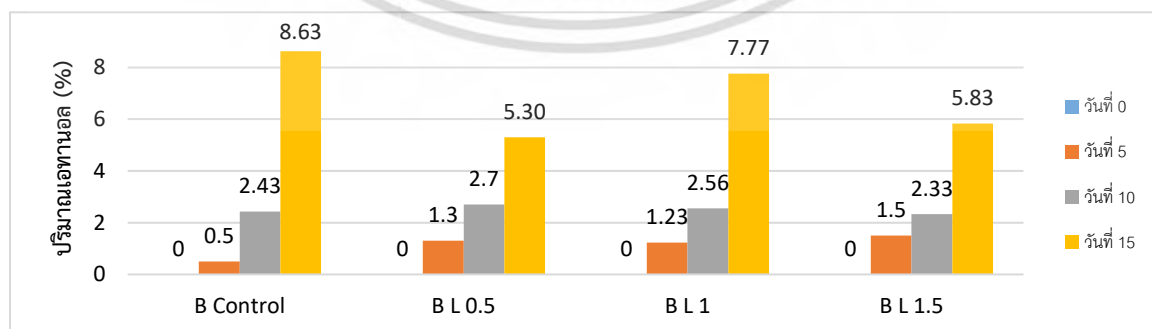
การทดลองการหมักลาเกอร์เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 ที่เติมแอล-ลิวซีนระดับความเข้มข้น 0.5 1.0 และ 1.5 กรัมต่อลิตร และเบียร์ชุดควบคุมที่ไม่เติมแอล-ลิวซีน ใช้เชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์ความหนาแน่นของเซลล์ยีสต์ 0.41×10^9 เซลล์ต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส หมักเป็นเวลา 15 วัน แสดงผลเปรียบเทียบการเจริญของเซลล์ยีสต์ดังกราฟที่ 4.13 การใช้น้ำตาลของยีสต์ดังกราฟที่ 4.14 และการผลิตเอทานอลของยีสต์ดังกราฟที่ 4.15



กราฟที่ 4.13 แสดงการเจริญของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256



กราฟที่ 4.14 แสดงการใช้น้ำตาลของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256



กราฟที่ 4.15 แสดงปริมาณเอทานอลของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256

หมายเหตุ

B Control คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 (ชุดควบคุม)

B L 0.5 คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 ที่เติมแอลกอฮอล์ขึ้นความเข้มข้น 0.5 กรัมต่อลิตร

B L 1.0 คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 ที่เติมแอลกอฮอล์ขึ้นความเข้มข้น 1.0 กรัมต่อลิตร

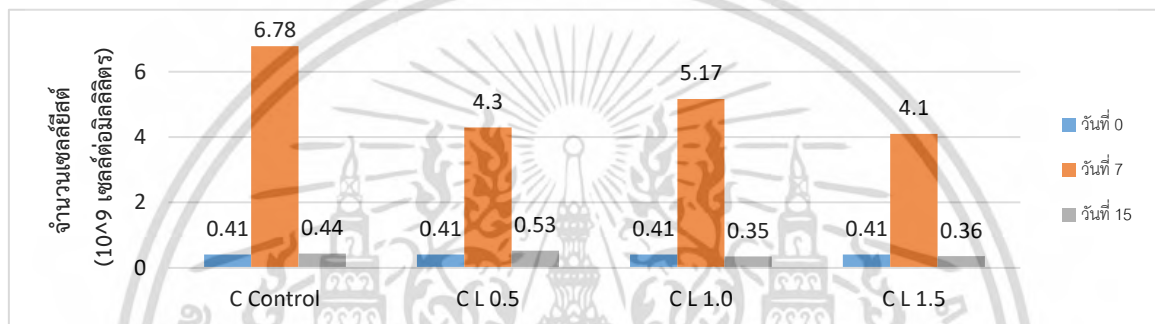
B L 1.5 คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 ที่เติมแอลกอฮอล์ขึ้นความเข้มข้น 1.5 กรัมต่อลิตร



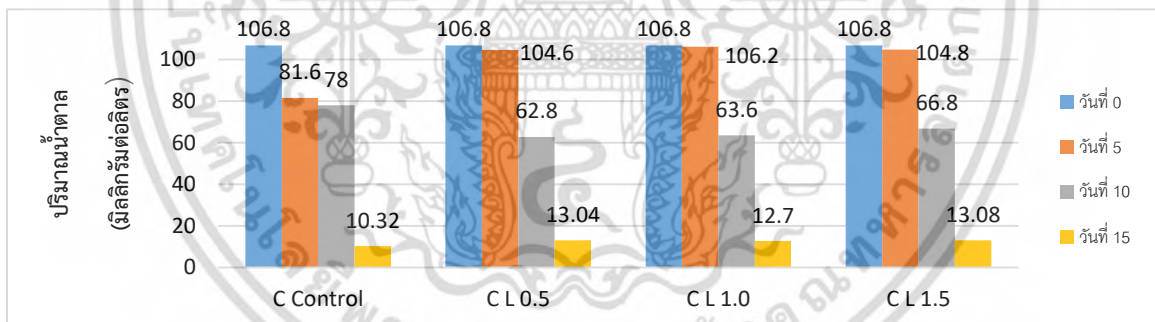
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.6 การเปรียบเทียบตัวอย่างเบียร์ที่มียีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W 34/70 และแอล-ลิวซีน ระดับความเข้มข้น 0.5 1.0 และ 1.5 กรัมต่อลิตร

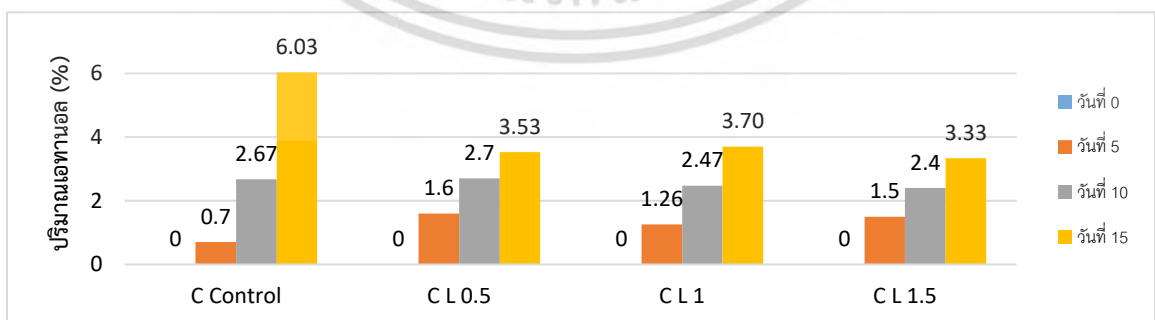
การทดลองการหมักลาเกอร์เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 ที่เติมแอล-ลิวซีนระดับความเข้มข้น 0.5 1.0 และ 1.5 กรัมต่อลิตร และเบียร์ชุดควบคุมที่ไม่เติมแอล-ลิวซีน ใช้เชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์ความหนาแน่นของเซลล์ยีสต์ 0.41×10^9 เซลล์ต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส หมักเป็นเวลา 15 วัน แสดงผลเปรียบเทียบการเจริญของเซลล์ยีสต์ดังกราฟที่ 4.16 การใช้น้ำตาลของยีสต์ดังกราฟที่ 4.17 และการผลิตเอทานอลของยีสต์ดังกราฟที่ 4.18



กราฟที่ 4.16 แสดงการเจริญของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W 34/70



กราฟที่ 4.17 แสดงการใช้น้ำตาลของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W 34/70



กราฟที่ 4.18 แสดงปริมาณเอทานอลของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W 34/70

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมายเหตุ

C Control คือเป็ยร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 (ชุดควบคุม)

C L 0.5 คือเป็ยร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70ที่เติมแอล-ลิวซีนความเข้มข้น 0.5 กรัมต่อลิตร

C L 1.0 คือเป็ยร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70ที่เติมแอล-ลิวซีนความเข้มข้น 1.0 กรัมต่อลิตร

C L 1.5 คือเป็ยร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70ที่เติมแอล-ลิวซีนความเข้มข้น 1.5 กรัมต่อลิตร

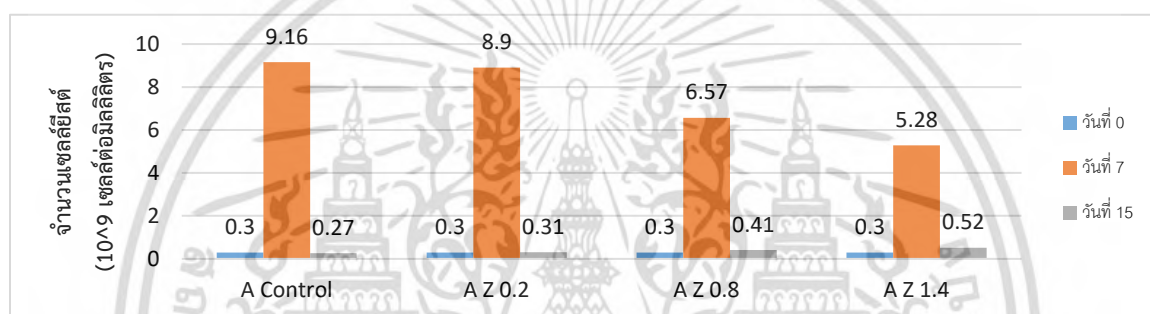
จากกราฟที่ 4.10 4.13 และ4.16 พบว่าเป็ยร์ชุดควบคุมของยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 และ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 ที่ไม่เติมแอล-ลิวซีนมีจำนวนเซลล์ยีสต์สูงชันมากที่สุดในวันที่ 7 จากกราฟที่ 4.11 4.14 และ4.17 ปริมาณน้ำตาลเหลือน้อยที่สุดในวันที่ 15 จากกราฟที่ 4.12 4.15 และ4.18 มีปริมาณเอทานอลสูงที่สุดในวันที่ 15 ขณะที่เป็ยร์ที่เติมแอล-ลิวซีน ระดับความเข้มข้น 0.5 1.0 และ 1.5 กรัมต่อลิตร มีจำนวนเซลล์ยีสต์ การใช้น้ำตาลและปริมาณเอทานอลต่ำ

ระหว่างการหมักยีสต์ได้ดูดซึมแอล-ลิวซีนเข้าไป ยีสต์บางสายพันธุ์โดยเฉพาะสายพันธุ์กลายพันธุ์ มีความต้านทานต่อแอล-ลิวซีน (Strejc *et al.*, 2013) ในสายพันธุ์กลายพันธุ์ แอล-ลิวซีนจะยับยั้งเอนไซม์ α -isopropylmalate synthase และลดการสังเคราะห์เอนไซม์ isoamyl alcohol ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการผลิตเอทานอลของยีสต์ (Cavalieri *et al.*, 1999; Ashida *et al.*, 1987) เมื่อแอล-ลิวซีนมากเกินไปจนถึงจุดอิ่มตัวจะไม่ส่งผลให้ผลิตแอลกอฮอล์เพิ่มขึ้น หรือเมื่อเพิ่มปริมาณกรดอะมิโนมากเกินไปจะทำให้การสังเคราะห์เอทานอลลดลง (Bussey and Umberger, 1969)

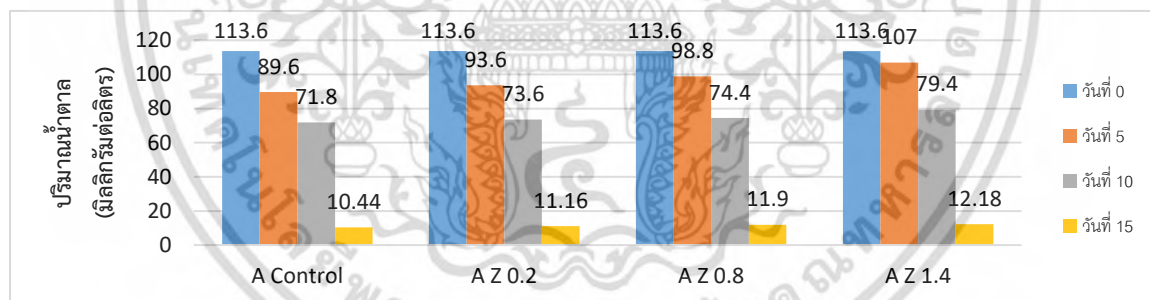
จากการศึกษาข้างนี้จึงพบว่าในการหมักลาเกอร์เป็ยร์ ยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 และ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 ไม่มีความต้องการแอล-ลิวซีน เนื่องจากเมื่อเติมแอล-ลิวซีนระดับความเข้มข้น 0.5 1.0 และ 1.5 กรัมต่อลิตร เข้าไปในการหมักแอล-ลิวซีนให้ยีสต์เจริญได้น้อย มีการใช้น้ำตาลน้อยและผลิตเอทานอลได้น้อยกว่า เมื่อเทียบกับเป็ยร์ชุดควบคุมที่ไม่เติมแอล-ลิวซีน

4.1.7 การเปรียบเทียบตัวอย่างเบียร์ที่มียีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 สาระแทน และ ซิงค์ซัลเฟต ระดับความเข้มข้น 0.2 0.8 และ 1.4 กรัมต่อลิตร

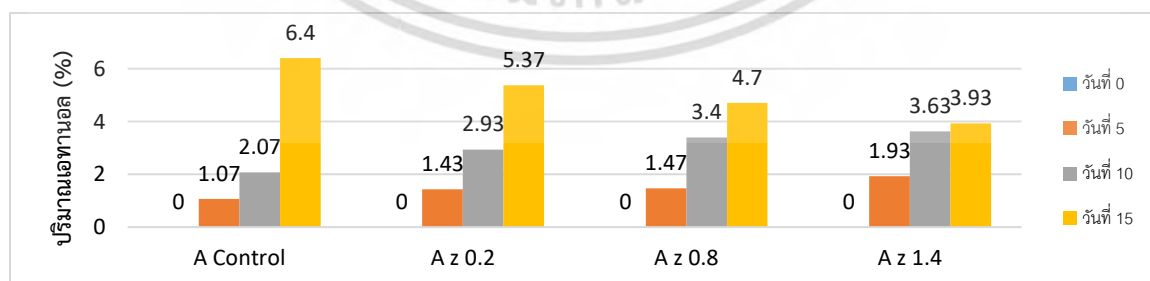
การทดลองการหมักลาเกอร์เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 ที่เติมสาระแทน 2 เปอร์เซ็นต์ และซิงค์ซัลเฟต ระดับความเข้มข้น 0.2 0.8 และ 1.4 กรัมต่อลิตร และเบียร์ชุดควบคุมที่เติมสาระแทนแต่ไม่เติมซิงค์ซัลเฟต ใช้เชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์ความหนาแน่นของเซลล์ยีสต์ 0.3×10^9 เซลล์ต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส หมักเป็นเวลา 15 วัน แสดงผลเปรียบเทียบการเจริญของเซลล์ดังกราฟที่ 4.19 การใช้น้ำตาลของยีสต์ดังกราฟที่ 4.20 และการผลิตเอทานอลของยีสต์ดังกราฟที่ 4.21



กราฟที่ 4.19 แสดงการเจริญของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 ที่เติมสาระแทน



กราฟที่ 4.20 แสดงการใช้น้ำตาลของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 ที่เติมสาระแทน



กราฟที่ 4.21 แสดงปริมาณเอทานอลของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 ที่เติมสาระแทน

หมายเหตุ

A Control คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 ที่เติมสระระแห่ (ชุดควบคุม)

A Z 0.2 คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 ที่เติมสระระแห่และ

ซิงค์ซัลเฟตความเข้มข้น 0.2 กรัมต่อลิตร

A Z 0.8 คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 ที่เติมสระระแห่และ

ซิงค์ซัลเฟตความเข้มข้น 0.8 กรัมต่อลิตร

A Z 1.4 คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 ที่เติมสระระแห่และ

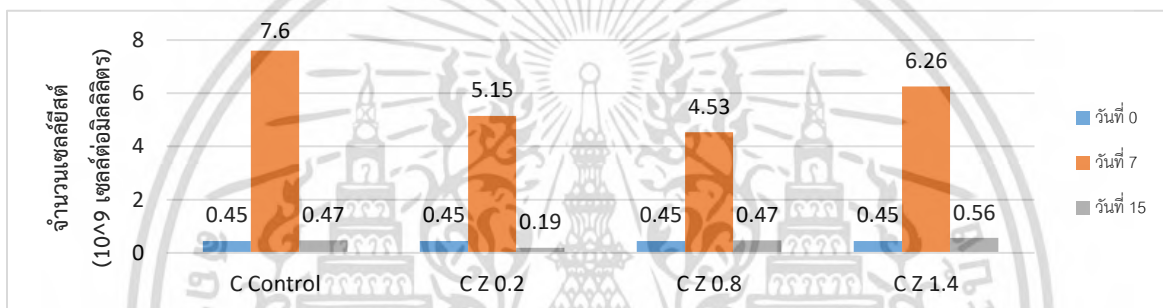
ซิงค์ซัลเฟตความเข้มข้น 1.4 กรัมต่อลิตร



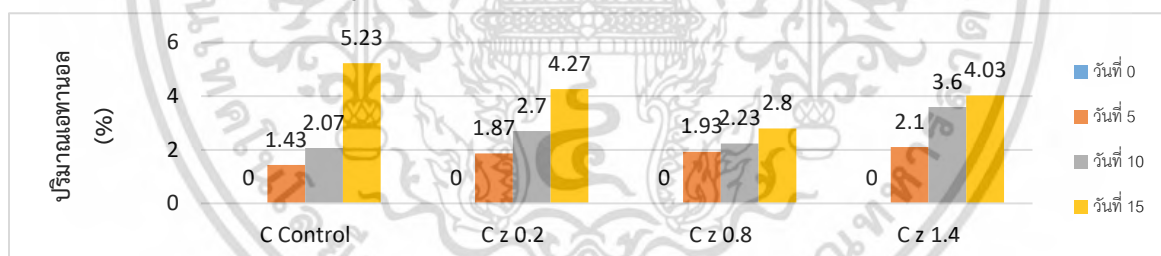
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.8 การเปรียบเทียบตัวอย่างเบียร์ที่มียีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 สาระแทน และซิงค์ซัลเฟต ระดับความเข้มข้น 0.2 0.8 และ 1.4 กรัมต่อลิตร

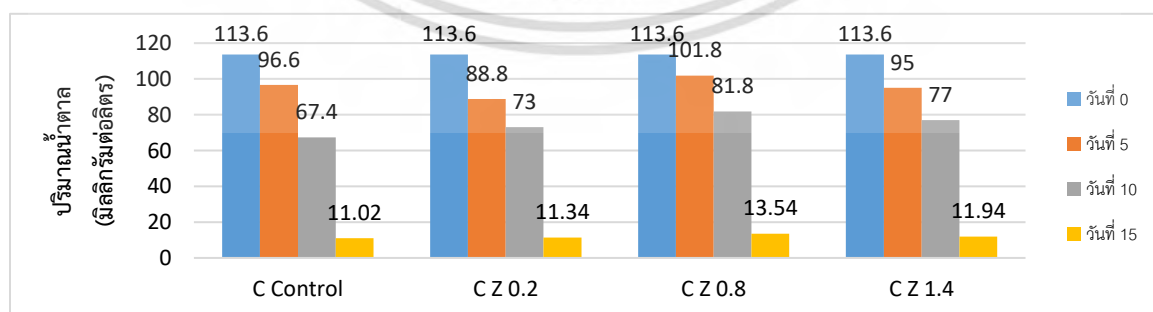
การทดลองการหมักลาเกอร์เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 ที่เติมสาระแทน 2 เปอร์เซ็นต์ และซิงค์ซัลเฟต ระดับความเข้มข้น 0.2 0.8 และ 1.4 กรัมต่อลิตร และเบียร์ชุดควบคุมที่เติมสาระแทนแต่ไม่เติมซิงค์ซัลเฟต ใช้เชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์ความหนาแน่นของเซลล์ยีสต์ 0.45×10^9 เซลล์ต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส หมักเป็นเวลา 15 วัน แสดงผลเปรียบเทียบการเจริญของเซลล์ดังกราฟที่ 4.22 การใช้น้ำตาลของยีสต์ดังกราฟที่ 4.23 และการผลิตเอทานอลของยีสต์ดังกราฟที่ 4.24



กราฟที่ 4.22 แสดงการเจริญของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 ที่เติมสาระแทน



กราฟที่ 4.23 แสดงการใช้น้ำตาลของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 ที่เติมสาระแทน



กราฟที่ 4.24 แสดงปริมาณเอทานอลของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 ที่เติมสาระแทน

หมายเหตุ

C Control คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 ที่เติมสระระแห่น (ชุดควบคุม)

C Z 0.2 คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 ที่เติมสระระแห่นและ

ซิงค์ซัลเฟตความเข้มข้น 0.2 กรัมต่อลิตร

C Z 0.8 คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 ที่เติมสระระแห่นและ

ซิงค์ซัลเฟตความเข้มข้น 0.8 กรัมต่อลิตร

C Z 1.4 คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 ที่เติมสระระแห่นและ

ซิงค์ซัลเฟตความเข้มข้น 1.4 กรัมต่อลิตร

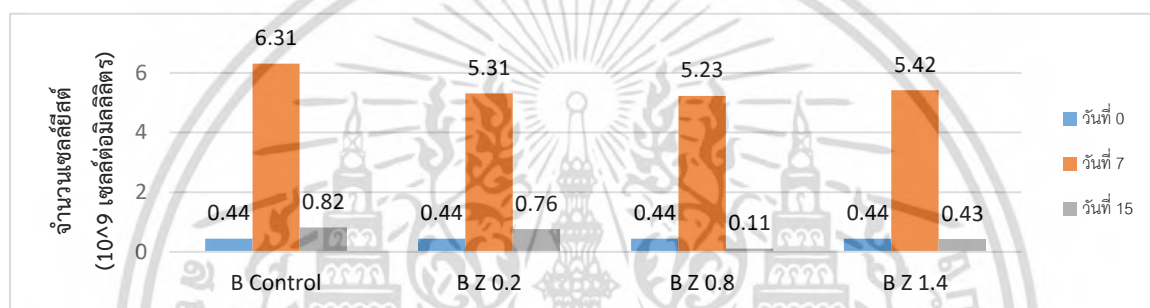
จากกราฟที่ 4.19 และ 4.22 พบว่าเบียร์ชุดควบคุมที่เติมสระระแห่น ยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 และ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 ที่ไม่เติมซิงค์ซัลเฟต มีจำนวนเซลล์ยีสต์มากที่สุดในวันที่ 7 จากกราฟที่ 4.20 และ 4.23 ปริมาณน้ำตาลเหลือน้อยที่สุดในวันที่ 15 จากกราฟที่ 4.21 และ 4.24 มีปริมาณเอทานอลสูงที่สุดในวันที่ 15 ขณะที่เบียร์ที่เติมสระระแห่นและซิงค์ซัลเฟต ระดับความเข้มข้น 0.2 0.8 และ 1.4 กรัมต่อลิตร มีจำนวนเซลล์ยีสต์ การใช้น้ำตาลและปริมาณเอทานอลต่ำ

การใส่ซิงค์ซัลเฟตมากกว่า 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร จะส่งผลให้การเจริญของยีสต์บางสายพันธุ์ลดลง (Kai, 2012) การเพิ่มซิงค์ซัลเฟตมากทำให้การเจริญของยีสต์ยิ่งลดลง เนื่องจากยีสต์มีประสิทธิภาพการแบ่งเซลล์ที่น้อยลงเพราะความเข้มข้นของไอออนสังกะสีในสารอาหารสูงเกินไปทำให้เป็นพิษได้เนื่องจากสังกะสีมีผลต่อการซึมผ่านของโพแทสเซียมในเยื่อหุ้มเซลล์ (Shet *et al.*, 2011)

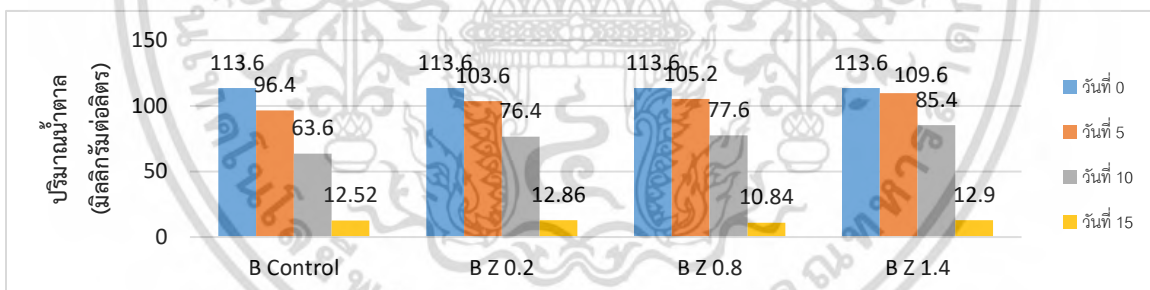
จากการศึกษาจึงพบว่าในการหมักลาเกอร์เบียร์ที่เติมสระระแห่นยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 และ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 ไม่มีความต้องการซิงค์ซัลเฟต เนื่องจากเมื่อเติมซิงค์ซัลเฟตระดับความเข้มข้น 0.2 0.8 และ 1.4 กรัมต่อลิตร เข้าไปในการหมัก ซิงค์ซัลเฟตทำให้ยีสต์เจริญได้น้อย มีการใช้น้ำตาลน้อยและผลิตเอทานอลได้น้อยกว่า สระระแห่นช่วยให้มีกลิ่นหอมที่เป็นเอกลักษณ์ของสระระแห่นและมีผลในการยับยั้งเจริญของเซลล์ยีสต์ การใช้น้ำตาลและการผลิตเอทานอลของเซลล์ยีสต์

4.1.9 การเปรียบเทียบตัวอย่างเบียร์ที่มียีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 สาระแทน และ ซิงค์ซัลเฟต ระดับความเข้มข้น 0.2 0.8 และ 1.4 กรัมต่อลิตร

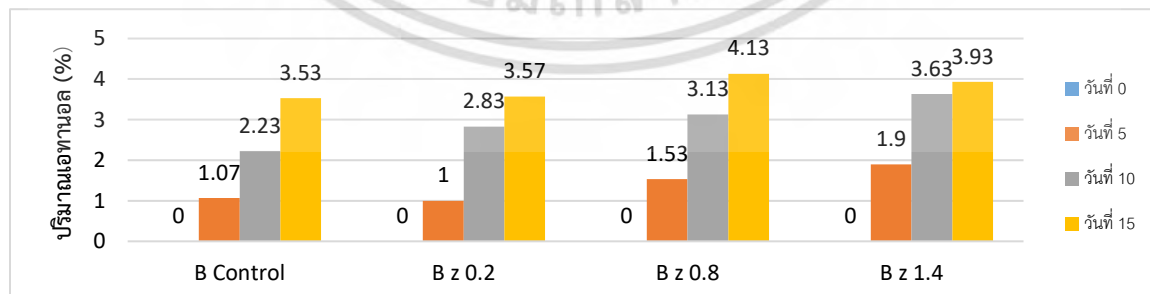
การทดลองการหมักลาเกอร์เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 ที่เติมสาระแทน 2 เปอร์เซ็นต์ และซิงค์ซัลเฟต ระดับความเข้มข้น 0.2 0.8 และ 1.4 กรัมต่อลิตร และเบียร์ชุดควบคุมที่เติมสาระแทนแต่ไม่เติมซิงค์ซัลเฟต ใช้เชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์ความหนาแน่นของเซลล์ยีสต์ 0.44×10^9 เซลล์ต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส หมักเป็นเวลา 15 วัน แสดงผลเพื่อเปรียบเทียบการเจริญของเซลล์ยีสต์ดังกราฟที่ 4.25 การใช้น้ำตาลของยีสต์ดังกราฟที่ 4.26 และการผลิตเอทานอลของยีสต์ดังกราฟที่ 4.27



กราฟที่ 4.25 แสดงการเจริญของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 ที่เติมสาระแทน



กราฟที่ 4.26 แสดงการใช้น้ำตาลของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 ที่เติมสาระแทน



กราฟที่ 4.27 แสดงปริมาณเอทานอลของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 ที่เติมสาระแทน

หมายเหตุ

B Control คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 ที่เติมสระระแห่น (ชุดควบคุม)

B Z 0.2 คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 ที่เติมสระระแห่นและ

ซิงค์ซัลเฟตความเข้มข้น 0.2 กรัมต่อลิตร

B Z 0.8 คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 ที่เติมสระระแห่นและ

ซิงค์ซัลเฟตความเข้มข้น 0.8 กรัมต่อลิตร

B Z 1.4 คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 ที่เติมสระระแห่นและ

ซิงค์ซัลเฟตความเข้มข้น 1.4 กรัมต่อลิตร

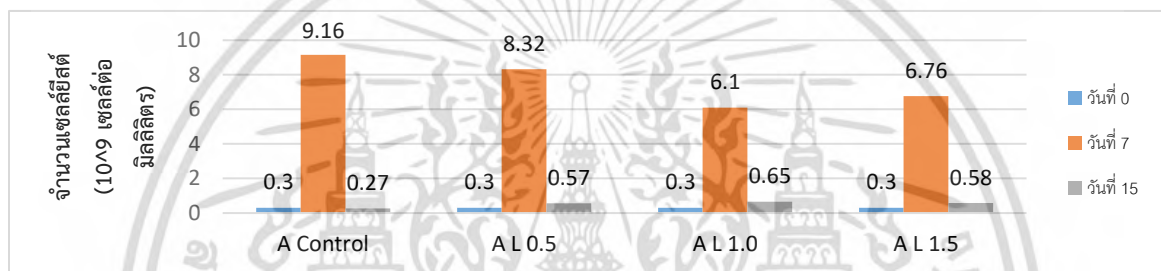
จากกราฟที่ 4.25 พบว่าเบียร์ชุดควบคุมที่เติมสระระแห่นยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 ที่ไม่เติมซิงค์ซัลเฟตมีจำนวนเซลล์ยีสต์มากที่สุดในวันที่ 7 จากกราฟที่ 4.26 พบว่าเบียร์ที่เติมสระระแห่นและซิงค์ซัลเฟต 0.8 กรัมต่อลิตร มีปริมาณน้ำตาลเหลือน้อยที่สุดในวันที่ 15 จากกราฟที่ 4.27 พบว่าเบียร์ที่เติมสระระแห่นและซิงค์ซัลเฟต 0.8 กรัมต่อลิตรมีปริมาณเอทานอลสูง ขณะที่เบียร์ชุดควบคุมที่ไม่เติมซิงค์ซัลเฟต และเบียร์ที่เติมซิงค์ซัลเฟต ระดับความเข้มข้น 0.2 และ 1.4 กรัมต่อลิตร มีการใช้น้ำตาลและผลิตเอทานอลต่ำ

ระหว่างการหมักเบียร์ยีสต์จะดูดซึมซิงค์ซัลเฟตในปริมาณที่น้อยเข้าไปเพื่อใช้ในการสังเคราะห์โปรตีนของเซลล์ (Preedy, 2009) แต่หากมีซิงค์ซัลเฟตมากเกินไปก็เป็นพิษต่อเยื่อหุ้มเซลล์ของยีสต์ด้วย (Brandberg *et al.*, 2004)

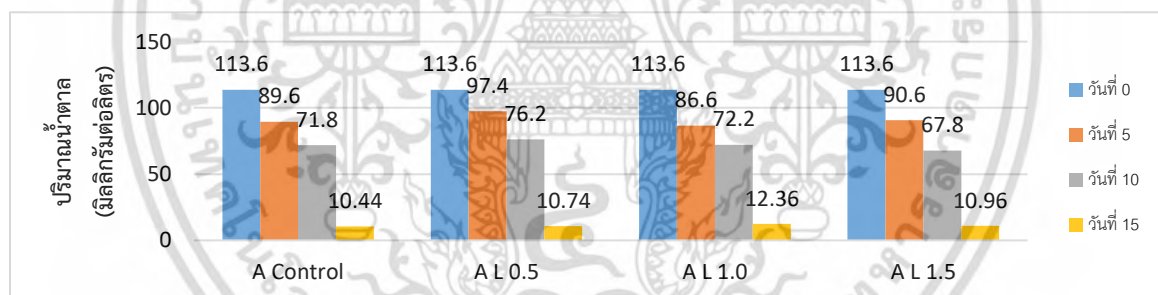
จากการศึกษานี้จึงพบว่าในการหมักลาเกอร์เบียร์ที่เติมสระระแห่น ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 มีความต้องการซิงค์ซัลเฟตระดับความเข้มข้น 0.8 กรัมต่อลิตร เนื่องจากเมื่อไม่เติมและเติมซิงค์ซัลเฟตระดับความเข้มข้น 0.2 และ 1.4 กรัมต่อลิตร เข้าไปในการหมักทำให้ยีสต์ มีการใช้น้ำตาลน้อยและผลิตเอทานอลได้ต่ำ

4.1.10 การเปรียบเทียบตัวอย่างเป็ร์ที่มียีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 สาระแทน และ แอล-ลิวซีน ระดับความเข้มข้น 0.5 1.0 และ 1.5 กรัมต่อลิตร

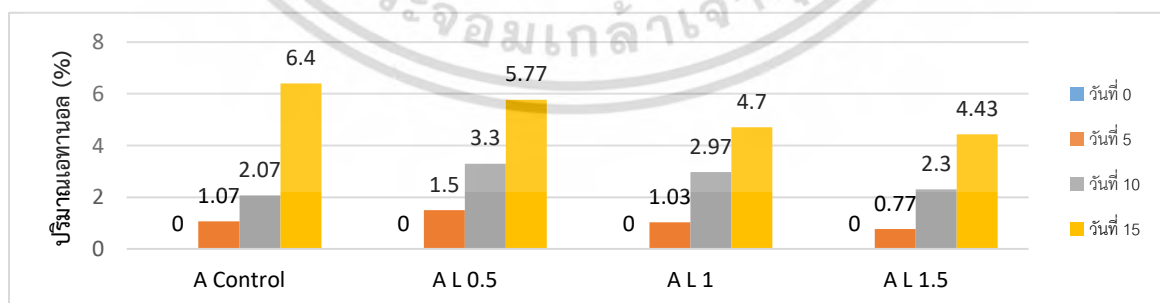
การทดลองการหมักกลาเกอร์เป็ร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 ที่เติมสาระแทน 2 เปอร์เซ็นต์ และแอล-ลิวซีนระดับความเข้มข้น 0.5 1.0 และ 1.5 กรัมต่อลิตร และเป็ร์ชุดควบคุมที่ไม่เติมแอล-ลิวซีน ใช้เชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์ความหนาแน่นของเซลล์ยีสต์ 0.3×10^9 เซลล์ต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส หมักเป็นเวลา 15 วัน แสดงผลเพื่อเปรียบเทียบการเจริญของเซลล์ยีสต์ดังกราฟที่ 4.28 การใช้น้ำตาลของยีสต์ดังกราฟที่ 4.29 และการผลิตเอทานอลของยีสต์ดังกราฟที่ 4.30



กราฟที่ 4.28 แสดงการเจริญของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 ที่เติมสาระแทน



กราฟที่ 4.29 แสดงการใช้น้ำตาลของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 ที่เติมสาระแทน



กราฟที่ 4.30 แสดงปริมาณเอทานอลของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 ที่เติมสาระแทน

หมายเหตุ

A Control คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 ที่เติมสระระแห่น (ชุดควบคุม)

A L 0.5 คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 ที่เติมสระระแห่นและ แอล-ลิวซีนความเข้มข้น 0.5 กรัมต่อลิตร

A L 1.0 คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 ที่เติมสระระแห่นและ แอล-ลิวซีนความเข้มข้น 1.0 กรัมต่อลิตร

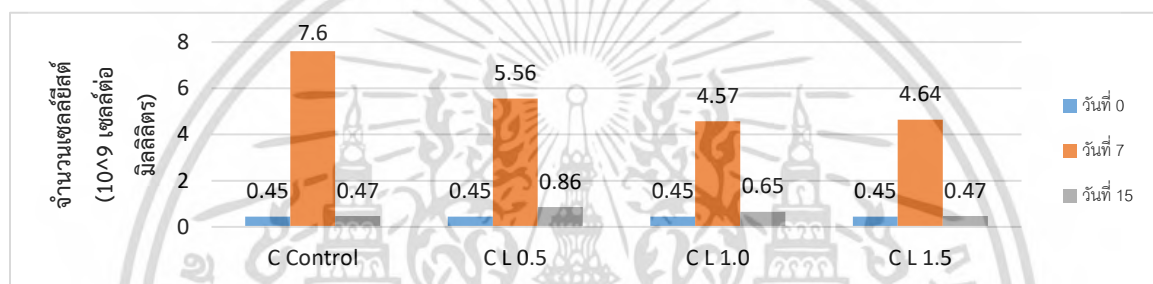
A L 1.5 คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 ที่เติมสระระแห่นและ แอล-ลิวซีนความเข้มข้น 1.5 กรัมต่อลิตร



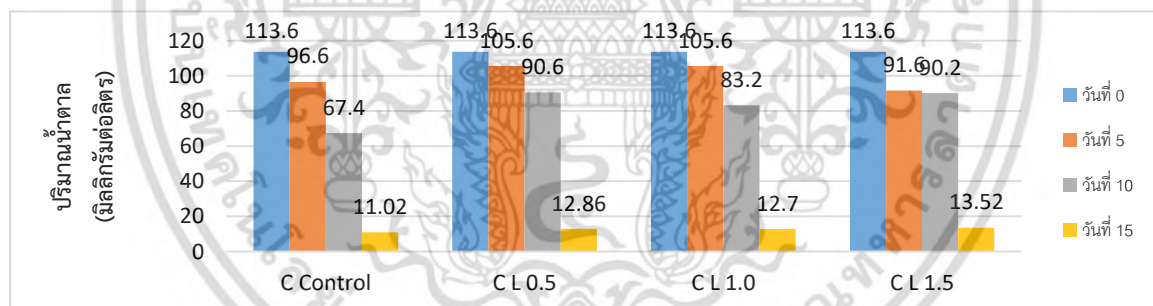
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.11 การเปรียบเทียบตัวอย่างเบียร์ที่มียีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 สาระแทน และแอล-ลิวซีน ระดับความเข้มข้น 0.5 1.0 และ 1.5 กรัมต่อลิตร

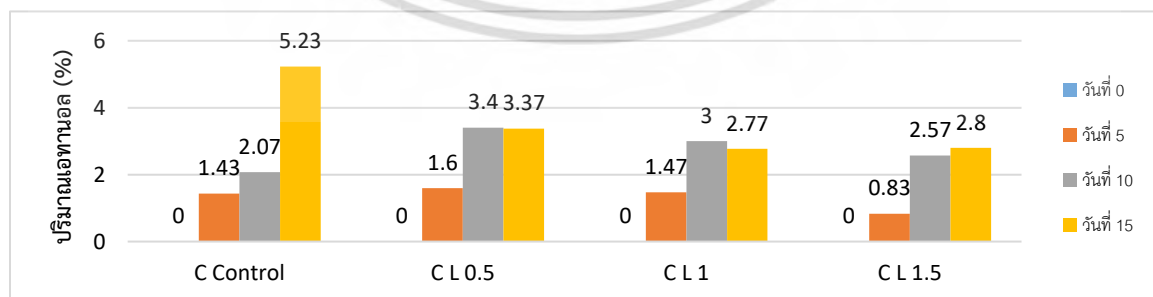
การทดลองการหมักกลาเกอร์เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 ที่เติมสาระแทน 2 เปอร์เซ็นต์ และแอล-ลิวซีนระดับความเข้มข้น 0.5 1.0 และ 1.5 กรัมต่อลิตร และเบียร์ชุดควบคุมที่ไม่เติมแอล-ลิวซีน ใช้เชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์ความหนาแน่นของเซลล์ยีสต์ 0.45×10^9 เซลล์ต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส หมักเป็นเวลา 15 วัน แสดงผลเปรียบเทียบการเจริญของเซลล์ยีสต์ ดังกราฟที่ 4.31 การใช้น้ำตาลของยีสต์ดังกราฟที่ 4.32 และการผลิตเอทานอลของยีสต์ดังกราฟที่ 4.33



กราฟที่ 4.31 แสดงการเจริญของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 ที่เติมสาระแทน



กราฟที่ 4.32 แสดงการใช้น้ำตาลของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 ที่เติมสาระแทน



กราฟที่ 4.33 แสดงปริมาณเอทานอลของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 ที่เติมสาระแทน

หมายเหตุ

C Control คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 ที่เติมสระแทน (ชุดควบคุม)

C L 0.5 คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 ที่เติมสระแทนและ

แอล-ลิวซีนความเข้มข้น 0.5 กรัมต่อลิตร

L 1.0 คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 ที่เติมสระแทนและ

แอล-ลิวซีนความเข้มข้น 1.0 กรัมต่อลิตร

C L 1.5 คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 ที่เติมสระแทนและ

แอล-ลิวซีนความเข้มข้น 1.5 กรัมต่อลิตร

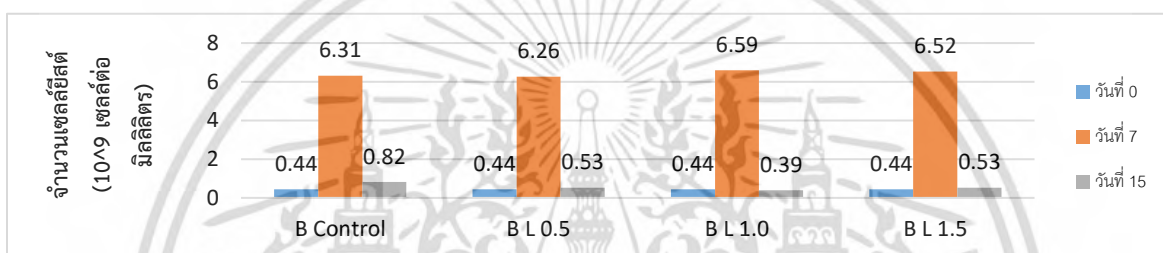
จากกราฟที่ 4.28 และ 4.31 พบว่าเบียร์ชุดควบคุมที่เติมสระแทนยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 และ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 ที่ไม่เติมแอล-ลิวซีน จำนวนเซลล์ยีสต์มากที่สุดในจากกราฟที่ 4.29 และ 4.32 พบว่าปริมาณน้ำตาลเหลือน้อยที่สุดในวันที่ 15 จากกราฟที่ 4.30 และ 4.33 พบว่ามีปริมาณเอทานอลสูงที่สุดในวันที่ 15 ขณะที่เบียร์ที่เติมสระแทนและเติมแอล-ลิวซีน ระดับความเข้มข้น 0.5 1.0 และ 1.5 กรัมต่อลิตร มีการเจริญของเซลล์ยีสต์ การใช้น้ำตาล และการผลิตเอทานอลต่ำ

ยีสต์ได้ดูดซึมแอล-ลิวซีนเข้าไประหว่างการหมัก ยีสต์บางสายพันธุ์โดยเฉพาะสายพันธุ์กลายพันธุ์ มีความต้านทานต่อแอล-ลิวซีน (Strejc *et al.*, 2013) ในสายพันธุ์กลายพันธุ์ แอล-ลิวซีนจะยับยั้งเอนไซม์ α -isopropylmalate synthase และลดการสังเคราะห์เอนไซม์ isoamyl alcohol ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการผลิตเอทานอลของยีสต์ (Cavalieri *et al.*, 1999; Ashida *et al.*, 1987) เมื่อแอล-ลิวซีนมากเกินไปจนจุดอิ่มตัวจะไม่ส่งผลให้ผลิตแอลกอฮอล์เพิ่มขึ้น หรือเมื่อเพิ่มปริมาณกรดอะมิโนมากเกินไปจะทำให้การสังเคราะห์เอทานอลลดลง (Bussey and Umbarger, 1969)

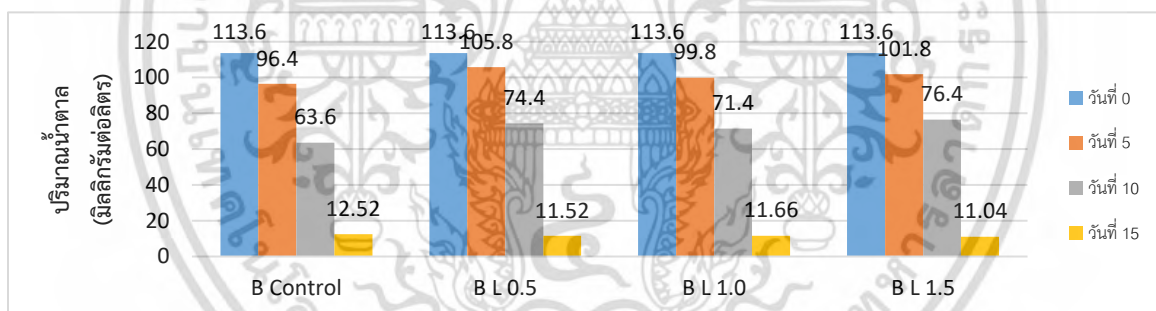
จากการศึกษาข้างต้นจึงพบว่าในการหมักลาเกอร์เบียร์ที่เติมสระแทน ยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 และ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 เติมสระแทน ไม่มีความต้องการแอล-ลิวซีน เนื่องจากเมื่อเติมแอล-ลิวซีนระดับความเข้มข้น 0.5 1.0 และ 1.5 กรัมต่อลิตร เข้าไปในการหมักแอล-ลิวซีนให้ยีสต์เจริญได้น้อย มีการใช้น้ำตาลน้อยและผลิตเอทานอลได้น้อย

4.1.12 การเปรียบเทียบตัวอย่างเบียร์ที่มียีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 สระระแหง และแอล-ลิวซีน ระดับความเข้มข้น 0.5 1.0 และ 1.5 กรัมต่อลิตร

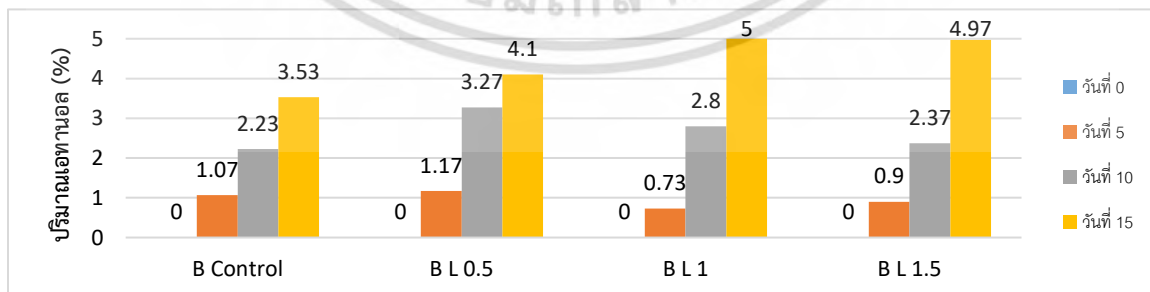
การทดลองการหมักลาเกอร์เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 ที่เติมสระระแหง 2 เปอร์เซ็นต์ และแอล-ลิวซีนระดับความเข้มข้น 0.5 1.0 และ 1.5 กรัมต่อลิตร และเบียร์ชุดควบคุมที่ไม่เติมแอล-ลิวซีน ใช้เชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์ความหนาแน่นของเซลล์ยีสต์ 0.44×10^9 เซลล์ต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส หมักเป็นเวลา 15 วัน แสดงผลเปรียบเทียบการเจริญของเซลล์ยีสต์ ดังกราฟที่ 4.34 การใช้น้ำตาลของยีสต์ดังกราฟที่ 4.35 และการผลิตเอทานอลของยีสต์ดังกราฟที่ 4.36



กราฟที่ 4.34 แสดงการเจริญของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 ที่เติมสระระแหง



กราฟที่ 4.35 แสดงการใช้น้ำตาลของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 ที่เติมสระระแหง



กราฟที่ 4.36 แสดงปริมาณเอทานอลของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 ที่เติมสระระแหง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมายเหตุ

B Control คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 ที่เติมสระระแห่น (ชุดควบคุม)

B L 0.5 คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 ที่เติมสระระแห่นและ

แอล-ลิวซีนความเข้มข้น 0.5 กรัมต่อลิตร

B L 1.0 คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 ที่เติมสระระแห่นและ

แอล-ลิวซีนความเข้มข้น 1.0 กรัมต่อลิตร

B L 1.5 คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 ที่เติมสระระแห่นและ

แอล-ลิวซีนความเข้มข้น 1.5 กรัมต่อลิตร

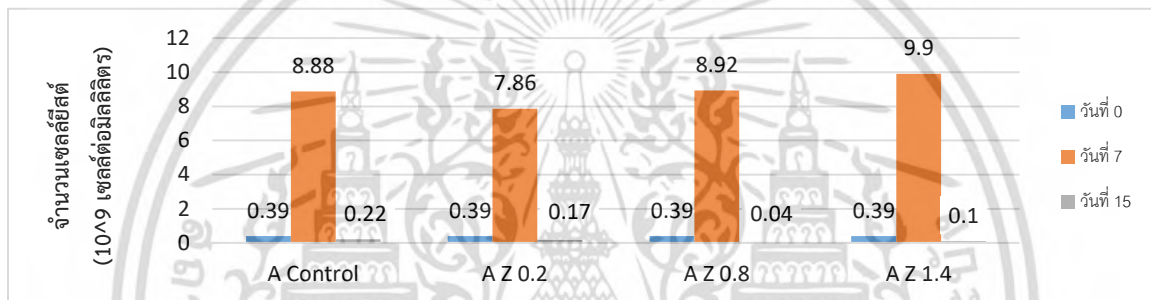
จากกราฟที่ 4.34 จะเห็นได้ว่าเบียร์ที่เติมสระระแห่นยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 ที่เติมแอล-ลิวซีน 1.0 กรัมต่อลิตร จำนวนเซลล์ยีสต์สูงชันมากที่สุดในวันที่ 7 จากกราฟที่ 4.35 พบว่ามีปริมาณน้ำตาลเหลือน้อยที่สุดในวันที่ 15 จากกราฟที่ 4.36 มีปริมาณเอทานอลสูงที่สุดในวันที่ 15 ขณะที่เบียร์ชุดควบคุมที่เติมสระระแห่นแต่ไม่เติมแอล-ลิวซีน และเบียร์ที่เติมสระระแห่นที่เติมแอล-ลิวซีน ระดับความเข้มข้น 0.5 และ 1.5 กรัมต่อลิตร มีการเจริญของเซลล์ยีสต์ การใช้น้ำตาลและการผลิตเอทานอลไม่แตกต่างกันมากและต่ำกว่า

ยีสต์มีความต้องการสารประกอบไนโตรเจน เพื่อการเจริญเติบโตในรูปกรดอะมิโน เช่นแอล-ลิวซีน เพื่อนำมาใช้ในการสังเคราะห์โปรตีนและส่วนประกอบของเซลล์ และกรดนิวคลีอิกและส่วนประกอบอื่นๆของเซลล์ (ดวงใจ, 2558) แต่เมื่อแอล-ลิวซีนมากเกินไปจนจุดอิ่มตัวจะไม่ส่งผลให้ผลิตแอลกอฮอล์เพิ่มขึ้น หรือเมื่อเพิ่มปริมาณกรดอะมิโนมากเกินไปก็จะทำให้การสังเคราะห์เอทานอลลดลง (Bussey and Umberger, 1969)

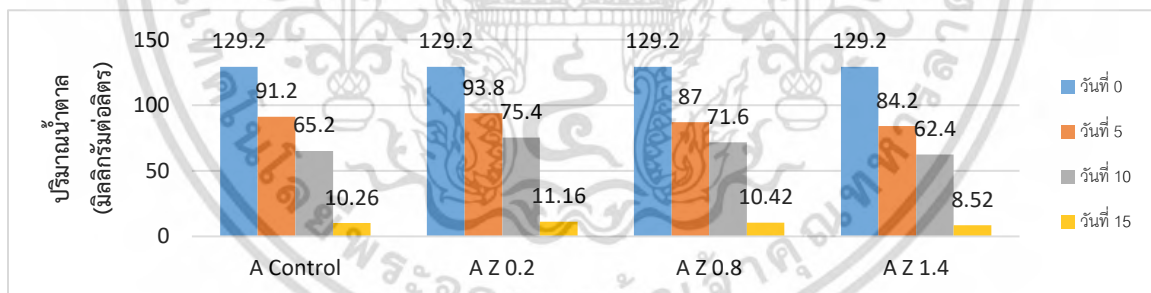
จากการศึกษาข้างต้นจึงพบว่าในการหมักลาเกอร์เบียร์ ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 เติมสระระแห่น มีความต้องการแอล-ลิวซีน และแอล-ลิวซีนระดับความเข้มข้น 1.0 กรัมต่อลิตร มีการผลิตเอทานอลสูงที่สุด

4.1.13 การเปรียบเทียบตัวอย่างเป็ร์ที่มียีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 น้ำผึ้ง และซิงค์ซัลเฟต ระดับความเข้มข้น 0.2 0.8 และ 1.4 กรัมต่อลิตร

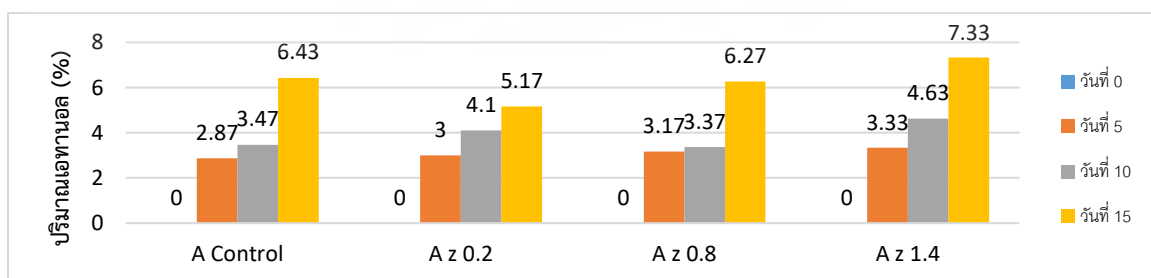
การทดลองการหมักกลาเกอร์เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 ที่เติมน้ำผึ้ง 2 เปอร์เซ็นต์ และซิงค์ซัลเฟต ระดับความเข้มข้น 0.2 0.8 และ 1.4 กรัมต่อลิตร และเป็ร์ชุดควบคุมที่เติมน้ำผึ้งแต่ไม่เติมซิงค์ซัลเฟต ใช้เชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์ความหนาแน่นของเซลล์ยีสต์ 0.39×10^9 เซลล์ต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส หมักเป็นเวลา 15 วัน แสดงผลเปรียบเทียบการเจริญของเซลล์ยีสต์ดังกราฟที่ 4.37 การใช้น้ำตาลของยีสต์ดังกราฟที่ 4.38 และการผลิตเอทานอลของยีสต์ดังกราฟที่ 4.39



กราฟที่ 4.37 แสดงการเจริญของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 ที่เติมน้ำผึ้ง



กราฟที่ 4.38 แสดงการใช้น้ำตาลของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 ที่เติมน้ำผึ้ง



กราฟที่ 4.39 แสดงปริมาณเอทานอลของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 ที่เติมน้ำผึ้ง

หมายเหตุ

A Control คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 ที่เติมน้ำผึ้ง (ชุดควบคุม)

A Z 0.2 คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 ที่เติมน้ำผึ้งและ

ซิงค์ซัลเฟตความเข้มข้น 0.2 กรัมต่อลิตร

A Z 0.8 คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 ที่เติมน้ำผึ้งและ

ซิงค์ซัลเฟตความเข้มข้น 0.8 กรัมต่อลิตร

A Z 1.4 คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 ที่เติมน้ำผึ้งและ

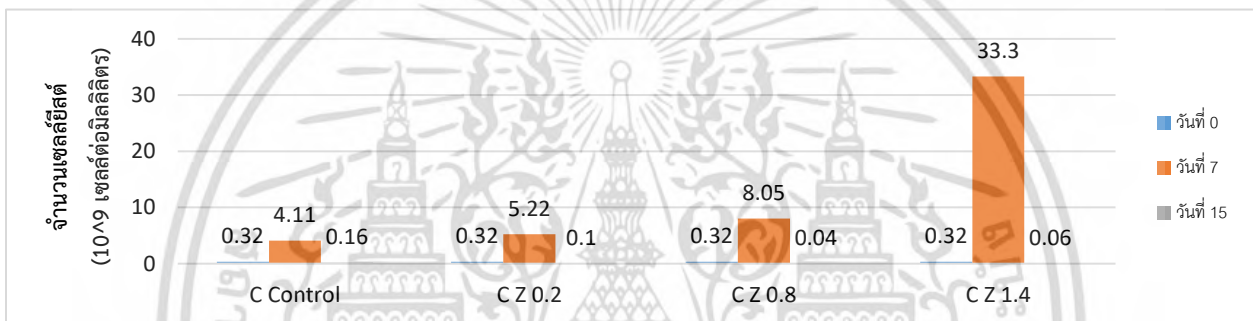
ซิงค์ซัลเฟตความเข้มข้น 1.4 กรัมต่อลิตร



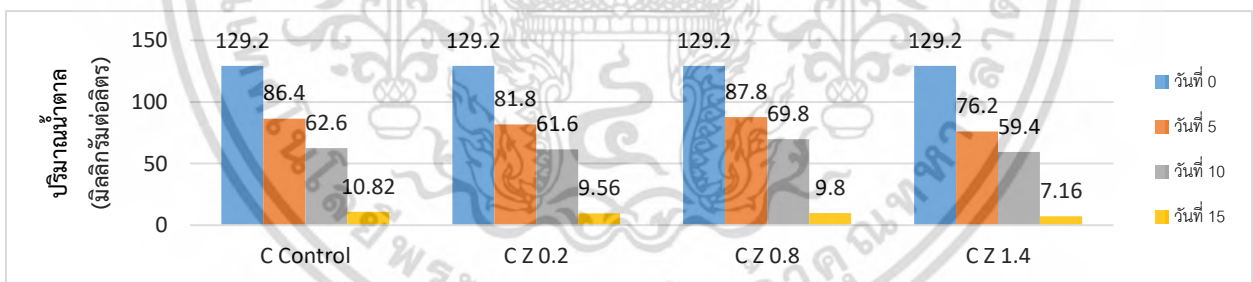
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.14 การเปรียบเทียบตัวอย่างเป็ร์ที่มียีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 น้ำผึ้ง และ ซิงค์ซัลเฟต ระดับความเข้มข้น 0.2 0.8 และ 1.4 กรัมต่อลิตร

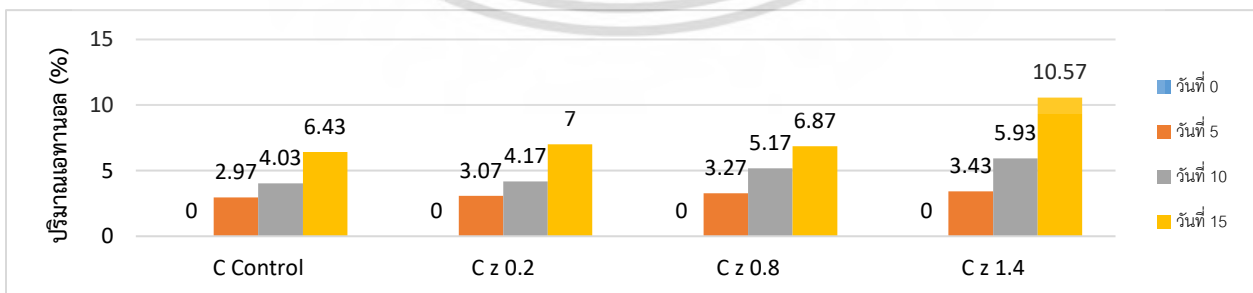
การทดลองการหมักกลาเกอร์เป็ร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 ที่เติมน้ำผึ้ง 2 เปอร์เซ็นต์ และซิงค์ซัลเฟต ระดับความเข้มข้น 0.2 0.8 และ 1.4 กรัมต่อลิตร และเป็ร์ชุดควบคุมที่เติมน้ำผึ้งแต่ไม่เติมซิงค์ซัลเฟต ใช้เชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์ความหนาแน่นของเซลล์ยีสต์ 0.32×10^9 เซลล์ต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส หมักเป็นเวลา 15 วัน แสดงผลเปรียบเทียบการเจริญของเซลล์ยีสต์ดังกราฟที่ 4.40 การใช้น้ำตาลของยีสต์ดังกราฟที่ 4.41 และการผลิตเอทานอลของยีสต์



กราฟที่ 4.40 แสดงการเจริญของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 ที่เติมน้ำผึ้ง



กราฟที่ 4.41 แสดงการใช้น้ำตาลของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 ที่เติมน้ำผึ้ง



กราฟที่ 4.42 แสดงปริมาณเอทานอลของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 ที่เติมน้ำผึ้ง

หมายเหตุ

C Control คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 ที่เติมน้ำผึ้ง (ชุดควบคุม)

C Z 0.2 คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 ที่เติมน้ำผึ้งและ

ซิงค์ซัลเฟตความเข้มข้น 0.2 กรัมต่อลิตร

C Z 0.8 คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 ที่เติมน้ำผึ้งและ

ซิงค์ซัลเฟตความเข้มข้น 0.8 กรัมต่อลิตร

C Z 1.4 คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 ที่เติมน้ำผึ้งและ

ซิงค์ซัลเฟตความเข้มข้น 1.4 กรัมต่อลิตร

จากกราฟที่ 4.37 และ 4.40 พบว่าใน 7 วันแรกของการหมักเซลล์ยีสต์มีจำนวนเพิ่มสูงที่สุด แล้วลดลงหลังจากวันที่ 7 และต่ำที่สุดในวันที่ 15 จากกราฟที่ 4.38 และ 4.41 พบว่า ปริมาณน้ำตาลลดลงเรื่อยๆ และต่ำที่สุดในวันที่ 15 จากกราฟที่ 4.39 และ 4.42 พบว่าใน 10 วันแรกของการหมักยีสต์มีการผลิตเอทานอลอย่างรวดเร็วและสูงที่สุดในวันที่ 15

จากกราฟที่ 4.37 และ 4.40 พบว่าเบียร์ที่เติมน้ำผึ้งยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 และ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 ที่เติมซิงค์ซัลเฟตความเข้มข้น 1.4 กรัมต่อลิตรมีจำนวนเซลล์ยีสต์สูงที่สุดในวันที่ 7 จากกราฟที่ 4.38 และ 4.41 พบว่าปริมาณน้ำตาลเหลือน้อยที่สุดในวันที่ 15 จากกราฟที่ 4.39 และ 4.42 มีปริมาณเอทานอลสูงที่สุด ขณะที่เบียร์ชุดควบคุมที่เติมน้ำผึ้งแต่ไม่เติมซิงค์ซัลเฟต และเบียร์ที่เติมน้ำผึ้งและเติมซิงค์ซัลเฟต ระดับความเข้มข้น 0.2 และ 0.8 กรัมต่อลิตร มีการเจริญของเซลล์ยีสต์ การใช้น้ำตาลและผลิตเอทานอลและต่ำ

ซิงค์ซัลเฟต มีไอออนของโลหะซึ่งเป็นส่วนประกอบของเอนไซม์โดยเฉพาะเอนไซม์ไกลโคไลติก และโปรตีนซึ่งมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของเยื่อหุ้มเซลล์นำไปสู่การซึมผ่านของสารและทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ส่งสัญญาณได้ดีขึ้นซึ่งบางครั้งการดูดซึมของแร่ธาตุที่สำคัญบางอย่างอาจถูกจำกัดและอาจมีผลต่อกระบวนการหมัก (Walker *et al.*, 2010) ซิงค์ซัลเฟตทำให้ยีสต์มีการเผาผลาญพลังงานใช้น้ำตาล และอะมิโนได้ดีขึ้นเจริญเติบโตเร็วขึ้น เซลล์เพิ่มจำนวนมากขึ้นส่งผลให้มีการผลิตเอทานอลและกลิ่นหอมออกมาได้มาก (Hiralal *et al.*, 2014)

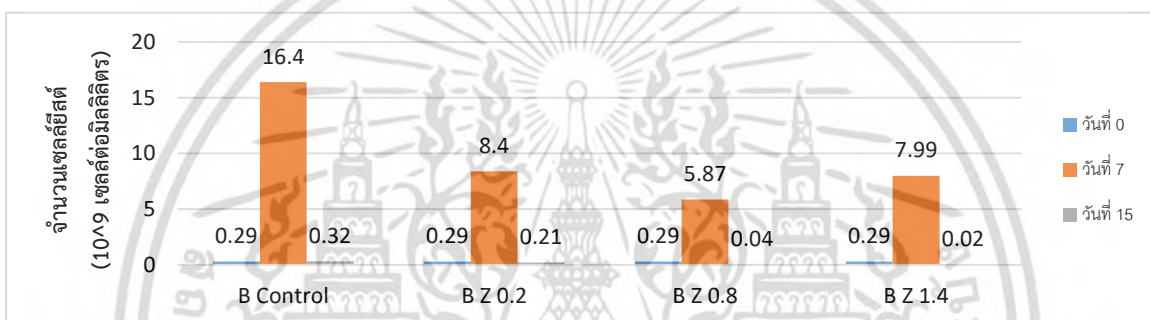
จากการศึกษาครั้งนี้จึงพบว่าในการหมักลาเกอร์เบียร์ที่เติมน้ำผึ้ง ยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 และ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 มีความต้องการซิงค์ซัลเฟต ระดับความเข้มข้น 1.4 กรัมต่อลิตร เนื่องจากทำให้มีการเจริญของเซลล์ยีสต์ มีการใช้น้ำตาลและผลิตเอทานอลได้สูงที่สุด



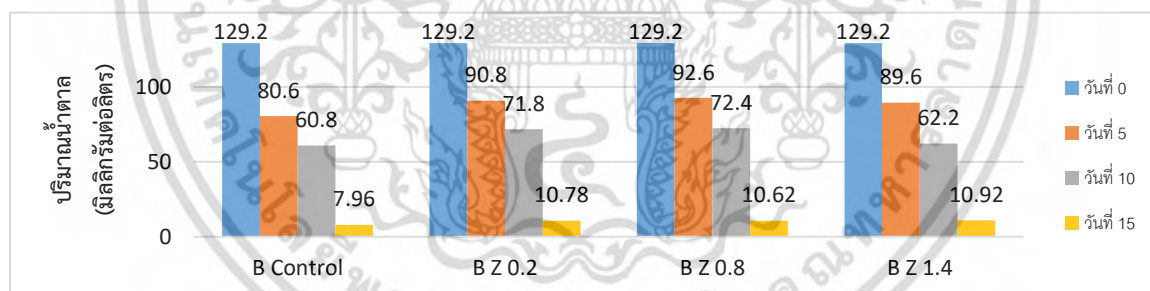
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.15 การเปรียบเทียบตัวอย่างเบียร์ที่มียีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 น้ำผึ้ง และ ซิงค์ซัลเฟต ระดับความเข้มข้น 0.2 0.8 และ 1.4 กรัมต่อลิตร

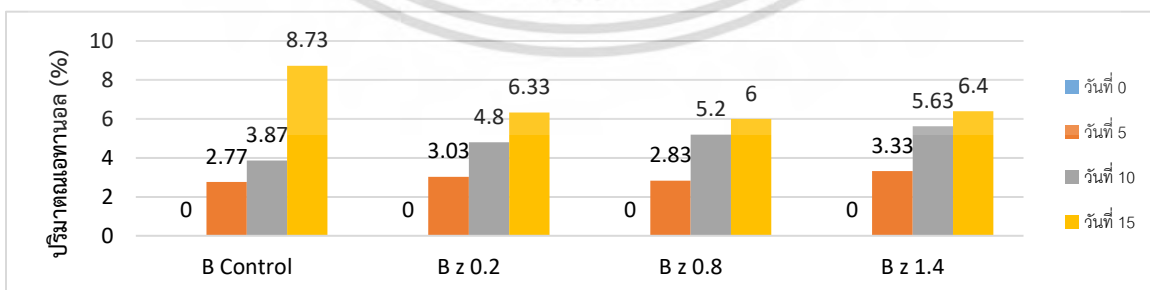
การทดลองการหมักลาเกอร์เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 ที่เติมน้ำผึ้ง 2 เปอร์เซ็นต์ และซิงค์ซัลเฟต ระดับความเข้มข้น 0.2 0.8 และ 1.4 กรัมต่อลิตร และเบียร์ชุดควบคุมที่เติมน้ำผึ้งแต่ไม่เติมซิงค์ซัลเฟต ใช้เชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์ความหนาแน่นของเซลล์ยีสต์ 0.29×10^9 เซลล์ต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส หมักเป็นเวลา 15 วัน แสดงผลเปรียบเทียบการเจริญของเซลล์ยีสต์ดังกราฟที่ 4.43 การใช้น้ำตาลของยีสต์ดังกราฟที่ 4.44 และการผลิตเอทานอลของยีสต์ดังกราฟที่ 4.45



กราฟที่ 4.43 แสดงการเจริญของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 ที่เติมน้ำผึ้ง



กราฟที่ 4.44 แสดงการใช้น้ำตาลของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 ที่เติมน้ำผึ้ง



กราฟที่ 4.45 แสดงปริมาณเอทานอลของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 ที่เติมน้ำผึ้ง

หมายเหตุ

B Control คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 ที่เติมน้ำผึ้ง (ชุดควบคุม)

B Z 0.2 คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 ที่เติมน้ำผึ้งและ

ซิงค์ซัลเฟตความเข้มข้น 0.2 กรัมต่อลิตร

B Z 0.8 คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 ที่เติมน้ำผึ้งและ

ซิงค์ซัลเฟตความเข้มข้น 0.8 กรัมต่อลิตร

B Z 1.4 คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 ที่เติมน้ำผึ้งและ

ซิงค์ซัลเฟตความเข้มข้น 1.4 กรัมต่อลิตร

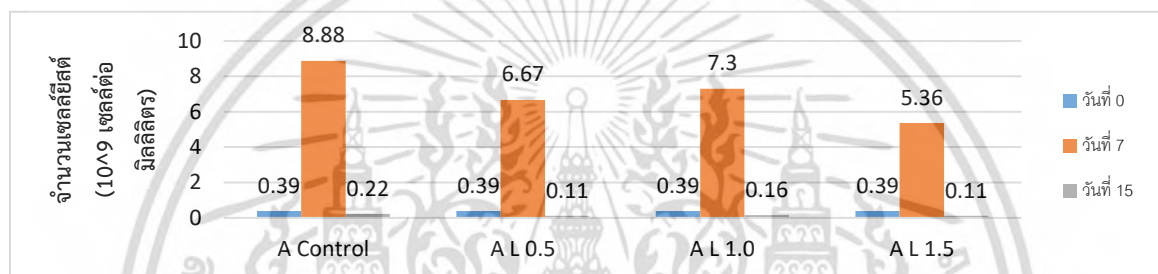
จากกราฟที่ 4.43 พบว่าเบียร์ชุดควบคุมที่เติมน้ำผึ้งยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 ที่ไม่เติมซิงค์ซัลเฟตจำนวนเซลล์ยีสต์เพิ่มสูงที่สุดในวันที่ 7 จากกราฟที่ 4.44 พบว่าปริมาณน้ำตาลเหลือน้อยที่สุดในวันที่ 15 จากกราฟที่ 4.45 พบว่ามีปริมาตรเอทานอลสูงที่สุดในวันที่ 15 ขณะที่เบียร์ที่เติมซิงค์ซัลเฟต ระดับความเข้มข้น 0.2 0.8 และ 1.4 กรัมต่อลิตร มีการเจริญของเซลล์ยีสต์ การใช้น้ำตาลและผลิตเอทานอลต่ำ

การใส่ซิงค์ซัลเฟตมากกว่า 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร จะส่งผลให้การเจริญของยีสต์บางสายพันธุ์ลดลง (Kai, 2012) การเพิ่มซิงค์ซัลเฟตมากทำให้การเจริญของยีสต์ยิ่งลดลง เนื่องจากยีสต์มีประสิทธิภาพการแบ่งเซลล์ที่น้อยลงเพราะความเข้มข้นของไอออนสังกะสีในสารอาหารสูงเกินไปทำให้เป็นพิษได้เนื่องจากสังกะสีมีผลต่อการซึมผ่านของโพแทสเซียมในเยื่อหุ้มเซลล์ (Shet *et al.*, 2011)

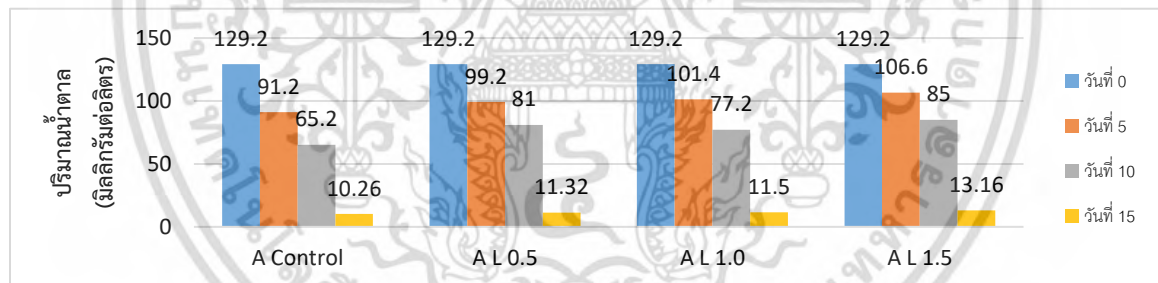
จากการศึกษานี้จึงพบว่าในการหมักลาเกอร์เบียร์ที่เติมน้ำผึ้ง ยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 ที่เติมน้ำผึ้ง ไม่มีความต้องการซิงค์ซัลเฟต เนื่องจากเมื่อเติมซิงค์ซัลเฟตระดับความเข้มข้น 0.2 0.8 และ 1.4 กรัมต่อลิตร เข้าไปในการหมัก ซิงค์ซัลเฟตทำให้ยีสต์เจริญได้น้อย มีการใช้น้ำตาลน้อยและผลิตเอทานอลได้ต่ำกว่า น้ำผึ้งมีผลต่อการเจริญของเซลล์ยีสต์ การใช้น้ำตาลและการผลิตเอทานอลของเซลล์ยีสต์

4.1.16 การเปรียบเทียบตัวอย่างเป็ร์ที่มียีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 น้ำผึ้ง และแอล-ลิวซีน ระดับความเข้มข้น 0.5 1.0 และ 1.5 กรัมต่อลิตร

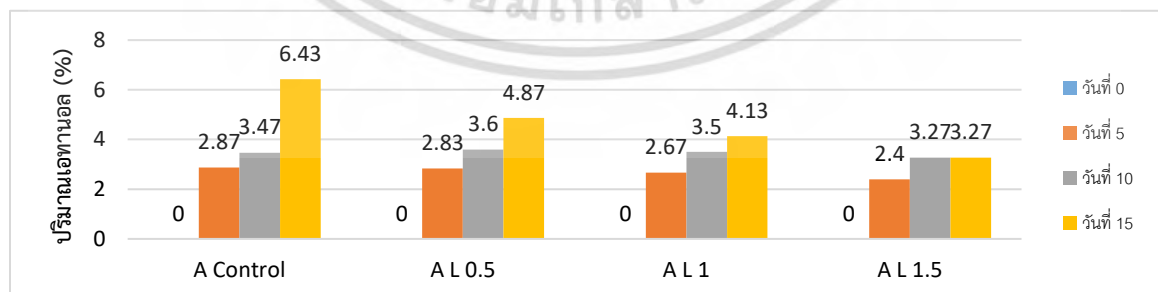
การทดลองการหมักกลาเกอร์เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 ที่เติมน้ำผึ้ง 2 เปอร์เซ็นต์ และแอล-ลิวซีนระดับความเข้มข้น 0.5 1.0 และ 1.5 กรัมต่อลิตร และเป็ร์ชุดควบคุมที่ไม่เติมแอล-ลิวซีน ใช้เชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์ ความหนาแน่นของเซลล์ยีสต์ 0.39×10^9 เซลล์ต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส หมักเป็นเวลา 15 วัน แสดงผลเปรียบเทียบการเจริญของเซลล์ยีสต์ ดังกราฟที่ 4.46 การใช้น้ำตาลของยีสต์ดังกราฟที่ 4.47 และการผลิตเอทานอลของยีสต์ดังกราฟที่ 4.48



กราฟที่ 4.46 แสดงการเจริญของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 ที่เติมน้ำผึ้ง



กราฟที่ 4.47 แสดงการใช้น้ำตาลของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 ที่เติมน้ำผึ้ง



กราฟที่ 4.48 แสดงปริมาณเอทานอลของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 ที่เติมน้ำผึ้ง

หมายเหตุ

A Control คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 ที่เติมน้ำผึ้ง (ชุดควบคุม)

A L 0.5 คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 ที่เติมน้ำผึ้งและ

แอลกอฮอล์ความเข้มข้น 0.5 กรัมต่อลิตร

A L 1.0 คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 ที่เติมน้ำผึ้งและ

แอลกอฮอล์ความเข้มข้น 1.0 กรัมต่อลิตร

A L 1.5 คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 ที่เติมน้ำผึ้งและ

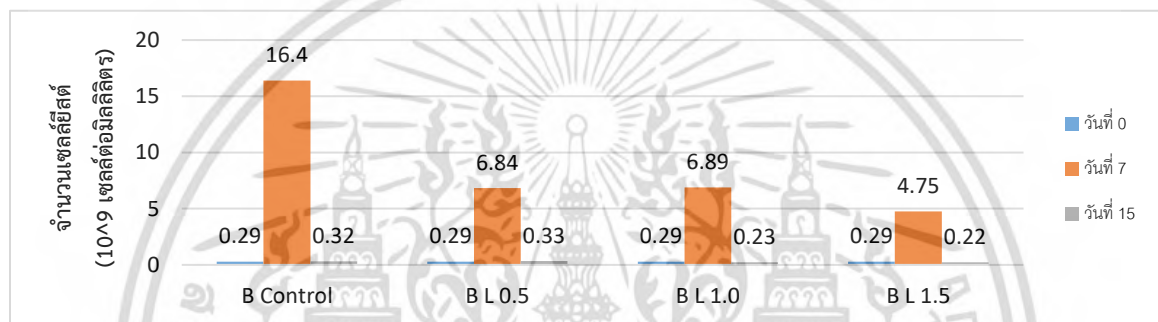
แอลกอฮอล์ความเข้มข้น 1.5 กรัมต่อลิตร



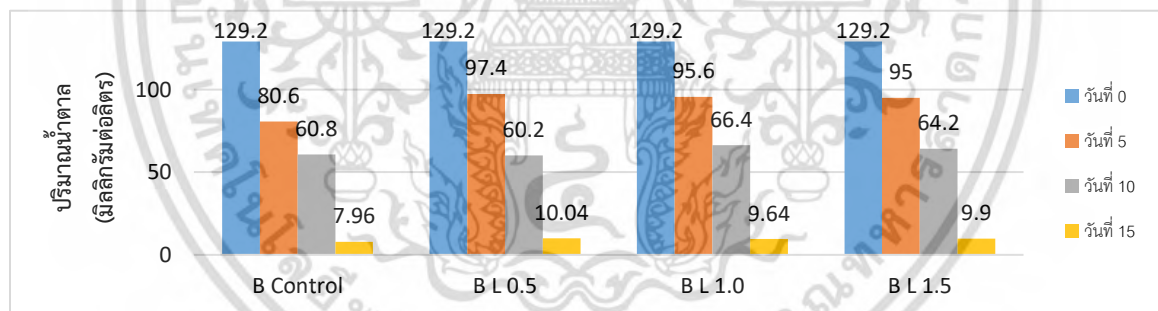
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.17 การเปรียบเทียบตัวอย่างเป็ร์ที่มียีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 น้ำผึ้ง และ แอล-ลิวซีน ระดับความเข้มข้น 0.5 1.0 และ 1.5 กรัมต่อลิตร

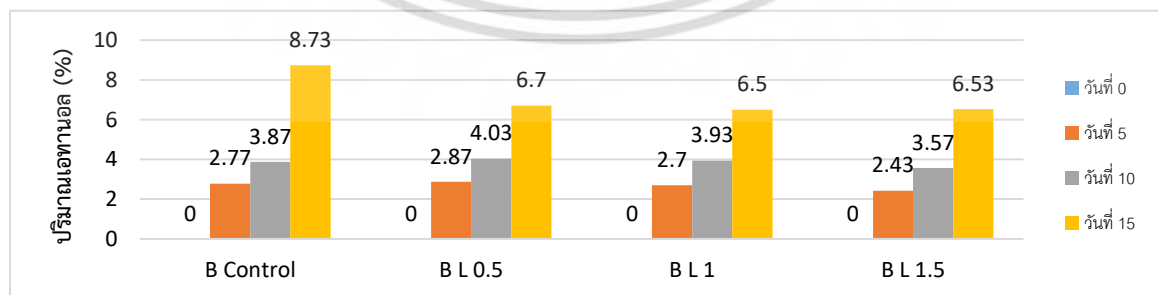
การทดลองการหมักกลาเกอร์เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 ที่เติมน้ำผึ้ง 2 เปอร์เซ็นต์ และแอล-ลิวซีนระดับความเข้มข้น 0.5 1.0 และ 1.5 กรัมต่อลิตร และเป็ร์ชูดควบคุมที่ไม่เติมแอล-ลิวซีน ใช้เชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์ ความหนาแน่นของเซลล์ยีสต์ 0.29×10^9 เซลล์ต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส หมักเป็นเวลา 15 วัน แสดงผลเปรียบเทียบการเจริญของเซลล์ยีสต์ ดังกราฟที่ 4.49 การใช้น้ำตาลของยีสต์ดังกราฟที่ 4.50 และการผลิตเอทานอลของยีสต์ดังกราฟที่ 4.51



กราฟที่ 4.49 แสดงการเจริญของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 ที่เติมน้ำผึ้ง



กราฟที่ 4.50 แสดงการใช้น้ำตาลของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 ที่เติมน้ำผึ้ง



กราฟที่ 4.51 แสดงปริมาณเอทานอลของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 ที่เติมน้ำผึ้ง

หมายเหตุ

B Control คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 ที่เติมน้ำผึ้ง (ชุดควบคุม)

B L 0.5 คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 ที่เติมน้ำผึ้งและ

แอล-ลิวซีนความเข้มข้น 0.5 กรัมต่อลิตร

B L 1.0 คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 ที่เติมน้ำผึ้งและ

แอล-ลิวซีนความเข้มข้น 1.0 กรัมต่อลิตร

B L 1.5 คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 ที่เติมน้ำผึ้งและ

แอล-ลิวซีนความเข้มข้น 1.5 กรัมต่อลิตร

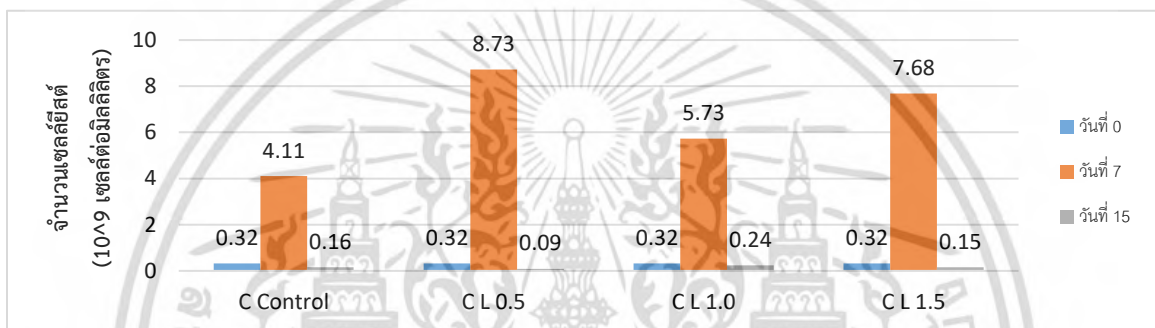
จากกราฟที่ 4.46 และ 4.49 พบว่าเบียร์ชุดควบคุมที่เติมน้ำผึ้งยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 และ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 ที่ไม่เติมแอล-ลิวซีนจำนวนเซลล์ยีสต์สูงมากที่สุดในวันที่ 7 จากกราฟที่ 4.47 และ 4.50 พบว่าปริมาณน้ำตาลเหลือน้อยที่สุดในวันที่ 15 จากกราฟที่ 4.48 และ 4.51 พบว่ามีปริมาตรเอทานอลสูงที่สุดในวันที่ 15 ขณะที่เบียร์ที่เติมแอล-ลิวซีน ระดับความเข้มข้น 0.5 1.0 และ 1.5 กรัมต่อลิตร มีจำนวนเซลล์ยีสต์ การใช้น้ำตาลและการผลิตเอทานอลต่ำ

ยีสต์ได้ดูดซึมแอล-ลิวซีนเข้าไประหว่างการหมัก ยีสต์บางสายพันธุ์โดยเฉพาะสายพันธุ์กลายพันธุ์ มีความต้านทานต่อแอล-ลิวซีน (Strejc *et al.*, 2013) ในสายพันธุ์กลายพันธุ์ แอล-ลิวซีนจะยับยั้งเอนไซม์ α -isopropylmalate synthase และลดการสังเคราะห์เอนไซม์ isoamyl alcohol ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการผลิตเอทานอลของยีสต์ (Cavaliere *et al.*, 1999; Ashida *et al.*, 1987) เมื่อแอล-ลิวซีนมากเกินไปจุดอิ่มตัวจะไม่ส่งผลให้ผลิตแอลกอฮอล์เพิ่มขึ้น หรือเมื่อเพิ่มปริมาณกรดอะมิโนมากเกินไปจะทำให้การสังเคราะห์เอทานอลลดลง (Bussey and Umberger, 1969)

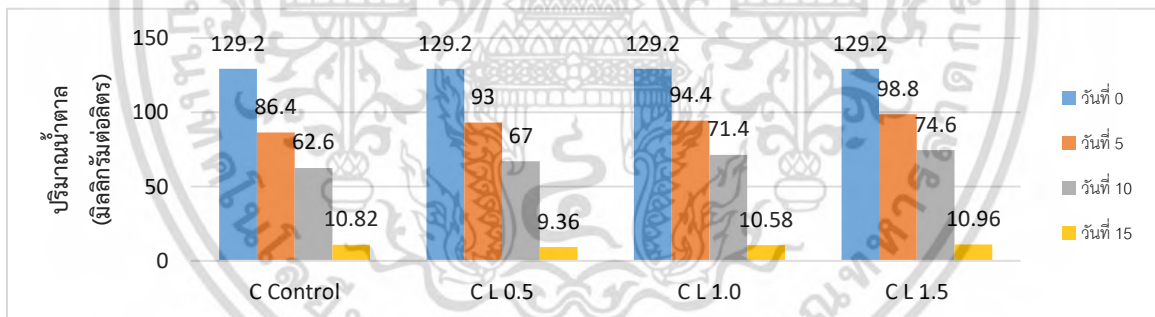
จากการศึกษาข้างต้นจึงพบว่าในการหมักลาเกอร์เบียร์ที่เติมน้ำผึ้ง ยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 และ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 ไม่มีความต้องการแอล-ลิวซีน เนื่องจากเมื่อเติมแอล-ลิวซีนระดับความเข้มข้น 0.5 1.0 และ 1.5 กรัมต่อลิตร เข้าไปในการหมักแอล-ลิวซีนให้ยีสต์เจริญได้น้อย มีการใช้น้ำตาลน้อยและผลิตเอทานอลได้ต่ำกว่า

4.1.18 การเปรียบเทียบตัวอย่างเบียร์ที่มียีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 น้ำผึ้ง และ แอล-ลิวซีน ระดับความเข้มข้น 0.5 1.0 และ 1.5 กรัมต่อลิตร

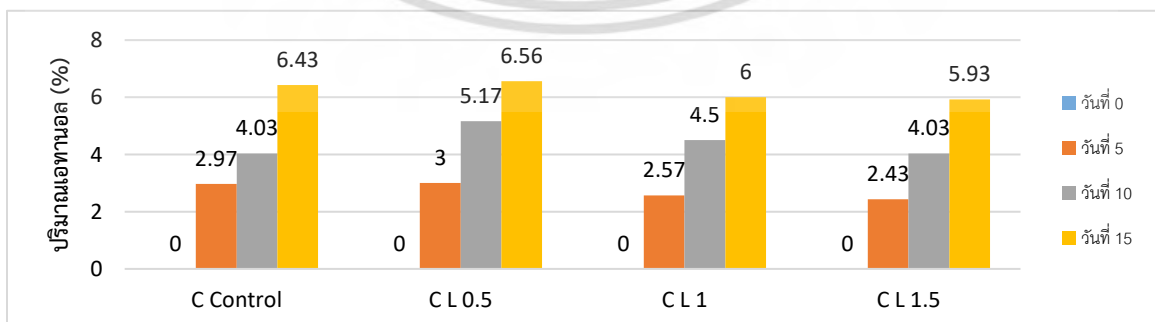
การทดลองการหมักกลาเกอร์เบียร์ ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 ที่เติมน้ำผึ้ง 2 เปอร์เซ็นต์ และแอล-ลิวซีนระดับความเข้มข้น 0.5 1.0 และ 1.5 กรัมต่อลิตร และเบียร์ชุดควบคุมที่ไม่เติมแอล-ลิวซีน ใช้เชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์ ความหนาแน่นของเซลล์ยีสต์ 0.32×10^9 เซลล์ต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส หมักเป็นเวลา 15 วัน แสดงผลเปรียบเทียบการเจริญของเซลล์ยีสต์ ดังกราฟที่ 4.52 การใช้น้ำตาลของยีสต์ดังกราฟที่ 4.53 และการผลิตเอทานอลของยีสต์ดังกราฟที่ 4.54



กราฟที่ 4.52 แสดงการเจริญของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 ที่เติมน้ำผึ้ง



กราฟที่ 4.53 แสดงการใช้น้ำตาลของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 ที่เติมน้ำผึ้ง



กราฟที่ 4.54 แสดงปริมาณเอทานอลของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 ที่เติมน้ำผึ้ง

หมายเหตุ

C Control คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 ที่เติมน้ำผึ้ง (ชุดควบคุม)

C L 0.5 คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 ที่เติมน้ำผึ้งและ

แอลกอฮอล์ความเข้มข้น 0.5 กรัมต่อลิตร

L 1.0 คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 ที่เติมน้ำผึ้งและ

แอลกอฮอล์ความเข้มข้น 1.0 กรัมต่อลิตร

C L 1.5 คือ เบียร์จากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 ที่เติมน้ำผึ้งและ

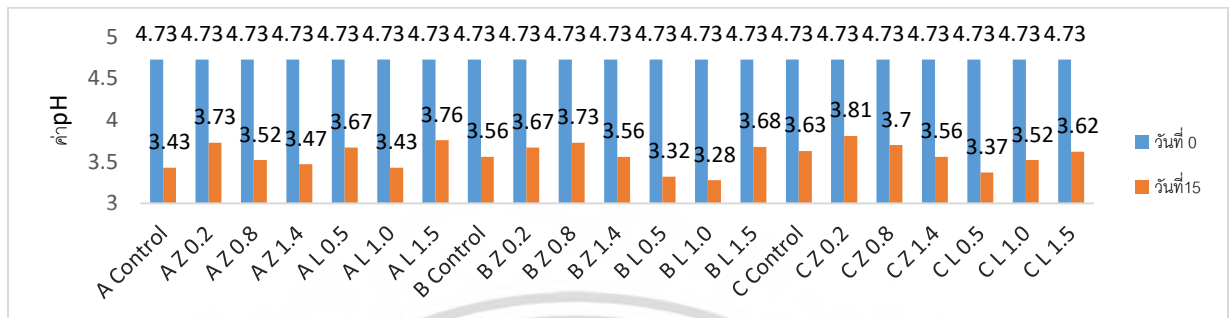
แอลกอฮอล์ความเข้มข้น 1.5 กรัมต่อลิตร

จากกราฟที่ 4.52 พบว่าเบียร์ที่เติมน้ำผึ้งยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 เติมแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 0.5 กรัมต่อลิตร จำนวนเซลล์ยีสต์สูงสุดในวันที่ 7 จากกราฟที่ 4.53 พบว่าปริมาณน้ำตาลเหลือน้อยที่สุดในวันที่ 15 จากกราฟที่ 4.54 พบว่ามีปริมาณเอทานอลสูงที่สุดในวันที่ 15 ขณะที่เบียร์ชุดควบคุมที่เติมน้ำผึ้งแต่ไม่เติมแอลกอฮอล์ และเบียร์ที่เติมน้ำผึ้งและเติมแอลกอฮอล์ ระดับความเข้มข้น 1.0 และ 1.5 กรัมต่อลิตร มีการเจริญของเซลล์ยีสต์ การใช้น้ำตาลและการผลิตเอทานอลต่ำ

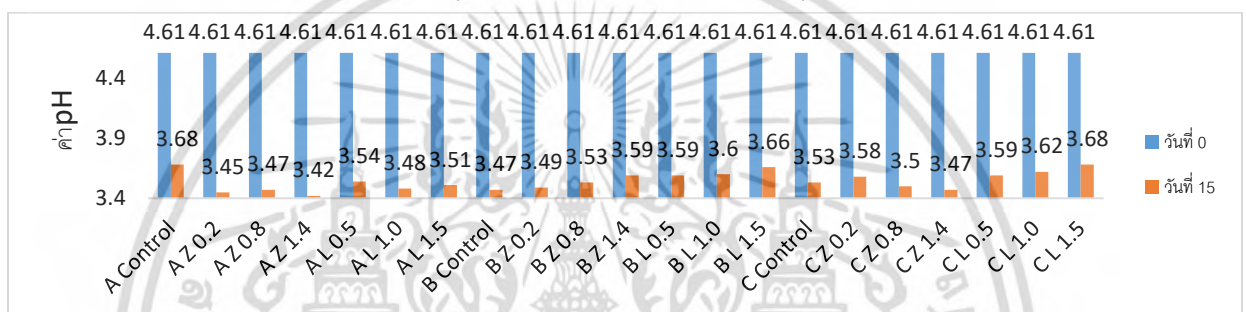
การเติมแอลกอฮอล์ทำให้มีการผลิตแอลกอฮอล์ และสารระเหยเอสเทอร์เพิ่มขึ้นเพราะกรดอะมิโนมีความสำคัญต่อกลไกในการหมักและกระตุ้นเอนไซม์ Alcohol Acetyl Transferases ซึ่งเป็นเอนไซม์ในการผลิตแอลกอฮอล์ (Procopio, 2015) เมื่อแอลกอฮอล์มากเกินไปจะส่งผลให้ผลิตแอลกอฮอล์เพิ่มขึ้น หรือเมื่อเพิ่มปริมาณกรดอะมิโนมากเกินไปก็จะทำให้การสังเคราะห์เอทานอลลดลง (Bussey and Umbarger, 1969)

จากการศึกษาข้างต้นพบว่าในการหมักลาเกอร์เบียร์ ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 ที่เติมน้ำผึ้ง มีความต้องการแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 0.5 กรัมต่อลิตร เนื่องจากเบียร์ชุดควบคุมซึ่งเติมน้ำผึ้งแต่ไม่เติมแอลกอฮอล์ และเบียร์ซึ่งเติมน้ำผึ้งและแอลกอฮอล์ระดับความเข้มข้น 1.0 และ 1.5 กรัมต่อลิตร เข้าไปในการหมักแอลกอฮอล์ให้ยีสต์เจริญได้น้อย มีการใช้น้ำตาลน้อยและผลิตเอทานอลได้น้อย

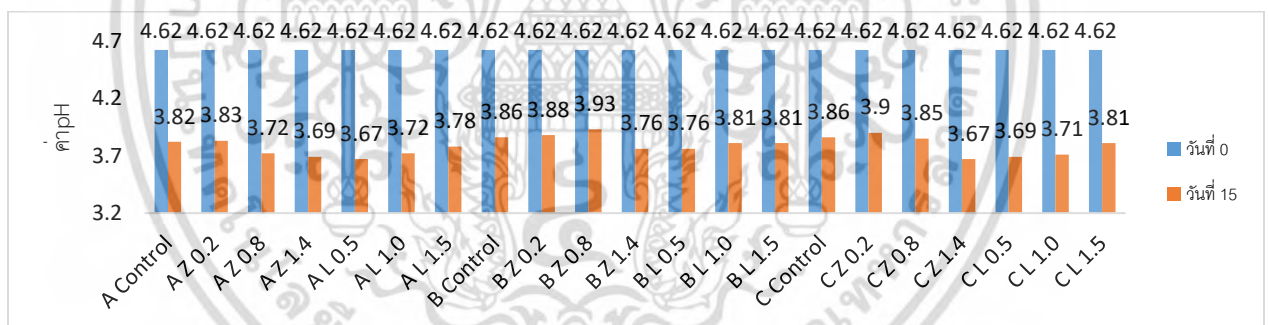
4.2 การเปรียบเทียบความเป็นกรดต่างตัวอย่างเบียร์



กราฟที่ 4.55 กราฟแสดงค่า pH ของเบียร์ที่ไม่ได้เติมแต่งใดๆวันที่ 0 และวันที่ 15



กราฟที่ 4.56 กราฟแสดงค่า pH ของเบียร์ที่เติมสระแทนวันที่ 0 และวันที่ 15



กราฟที่ 4.57 กราฟแสดงค่า pH ของเบียร์ที่เติมน้ำผึ้งวันที่ 0 และวันที่ 15

จากกราฟที่ 4.55 4.56 และ 4.57 พบว่าหลังจากการหมัก 15 วัน มีความเป็นกรดต่างลดลงเรื่อยๆ ทำให้มีความเป็นกรดเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับวันที่ 0 เนื่องจากเอทานอลมีฤทธิ์เป็นกรดเมื่อปริมาตรเอทานอลเพิ่มขึ้นจึงส่งผลให้มีความเป็นกรดเพิ่มขึ้นด้วย และระหว่างการหมักเบียร์ยีสต์จะดูดซึมซิงค์ซัลเฟตเข้าไปเพื่อใช้ในการสังเคราะห์โปรตีนของเซลล์ ระหว่างการหมักอาจจะทำให้ค่าความเป็นกรดต่างต่ำ (Preedy, 2009)

บทที่ 5

สรุปผลและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาลาเกอร์เบียร์เพื่อเปรียบเทียบการเจริญของเซลล์ยีสต์ การใช้น้ำตาลของยีสต์ และการผลิตเอทานอลของยีสต์ โดยกำหนดให้เปรียบเทียบยีสต์ 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 และ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 ที่เติมอาหารเสริมและไม่เติมอาหาร ได้แก่ ซิงค์ซัลเฟตความเข้มข้น 0.2 0.8 และ 1.4 กรัมต่อลิตร แอล-ลิวซีนความเข้มข้น 0.5 1.0 และ 1.5 กรัมต่อลิตร ไบโสระระแทนและน้ำผึ้ง โดยใช้เชื้อยีสต์ เริ่มต้น 10 เพอร์เซ็นต์ ความหนาแน่นของเซลล์ยีสต์ 0.38×10^9 เซลล์ต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส หมักเป็นเวลา 15 วัน พบว่าลาเกอร์เบียร์ชุดควบคุมยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* BE-256 ผลิตเอทานอล 8.63 เพอร์เซ็นต์ ลาเกอร์เบียร์ที่เติมสระระแทน ยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 ที่ไม่เติมซิงค์ซัลเฟตและแอล-ลิวซีน ผลิตเอทานอล 6.40 เพอร์เซ็นต์ และลาเกอร์เบียร์ที่เติมน้ำผึ้งยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 ที่เติมซิงค์ซัลเฟตความเข้มข้น 1.4 กรัมต่อลิตร ผลิตเอทานอลสูงที่สุด 10.57 เพอร์เซ็นต์

ลาเกอร์เบียร์ที่เติมน้ำผึ้งยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* W34/70 ที่เติมซิงค์ซัลเฟตความเข้มข้น 1.4 กรัมต่อลิตร มีการผลิตเอทานอลสูงที่สุด เนื่องจากซิงค์ซัลเฟต มีไอออนของโลหะซึ่งเป็นส่วนประกอบของเอนไซม์โดยเฉพาะเอนไซม์ไกลโคไลติก และโปรตีน ซึ่งมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของเยื่อหุ้มเซลล์นำไปสู่การซึมผ่านของสารและทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ส่งสัญญาณได้ดีขึ้นซึ่งบางครั้งการดูดซึมของแร่ธาตุที่สำคัญบางอย่างอาจถูกจำกัดและอาจมีผลต่อกระบวนการหมัก (Walker *et al.*, 2010) ซิงค์ซัลเฟตทำให้ยีสต์มีการเผาผลาญพลังงานใช้น้ำตาลและอะมิโนได้ดีขึ้นเจริญเติบโตเร็วขึ้น เซลล์เพิ่มจำนวนมากขึ้นส่งผลให้มีการผลิตเอทานอล (Hiralal *et al.*, 2014) และน้ำผึ้งประกอบด้วยน้ำตาลที่สามารถหมักได้ 95 เพอร์เซ็นต์นั้นคือฟรักโทสและกลูโคส (Carr, 2016) น้ำผึ้งถือเป็นสารอาหารจากธรรมชาติที่เหมาะสมในการทำเบียร์ น้ำผึ้งที่ใช้ในการผลิตเบียร์ควรอยู่ระหว่างประมาณ 2-10 เพอร์เซ็นต์ เติมน้ำผึ้งมากเกินไปจะทำให้ระยะเวลาในการหมักนานขึ้น (Smith, 1988)

ลาเกอร์เบียร์ที่เติมสระระแทนมีการผลิตเอทานอลปริมาณน้อยที่สุดเนื่องจากสระระแทนมีน้ำมันหอมระเหยหรือ เอสเซนซ์น้อย อยู่ในใบและลำต้นซึ่งประกอบด้วยสารเมนทอล (Menthol) ลิโมนีน (Limonene) นีโอเมนทอล (Neomenthol) เป็นต้น (ยุวดี, 2545) ซึ่งเป็นส่วนประกอบหลักของน้ำมันสระระแทนที่มีการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของน้ำมันและค่าความเป็นกรดของสารระเหย (Iirkin and Korukluoglu, 2009) ทำให้น้ำมันจากสระระแทนมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์ในอาหาร (Çoşkun, *et al.*, 2016)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อเสนอแนะ

จากโครงการพิเศษการผลิตลาเกอร์เบียร์โดยสายพันธุ์ยีสต์และอาหารเสริมที่แตกต่าง ผู้ทดลองมีข้อเสนอแนะที่อาจจะเป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาการผลิตลาเกอร์เบียร์ ดังนี้

1. ควรศึกษาการหมักเบียร์ร่วมกับสารอาหารหรือสารประกอบอื่นๆ
2. ควรศึกษาการใช้สารอาหารหรือสารประกอบร่วมกับการหมักประเภทอื่นๆ
3. ควรศึกษาการใช้สารอาหารหรือสารประกอบร่วมกับยีสต์สายพันธุ์อื่นๆ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

คณะทำงานรวบรวมความรู้เกี่ยวกับผักในโครงการอนุรักษ์ผักสีเขียว. 2540. มหัทศจรยัผัก 108.

กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยมหิดล.

ฉัตรชัย สังข์ผุด และ จีราภรณ์ สังข์ผุด. 2547. “เทคโนโลยีกล้าเชื้อลูกแบ่งยีสต์และกระบวนการหมักน้ำตาลจากสำหรับผลิตสุราขาว”. นครศรีธรรมราช. มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช.

ชูชาติ อารีจิตรานุสรณ์. 2559. “เครื่องวัดการดูดกลืนแสง”. เครื่องมือวิทยาศาสตร์. กรุงเทพฯ. หน้า 258-267.

โชคชัย วนภู. 2558. “การหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเบียร์จากข้าวไทยเป็นส่วนประกอบหลักโดยวิธีพื้นที่ผิวตอบสนองและการประยุกต์ใช้ในการผลิตเบียร์ระดับกิ่งอุตสาหกรรม.” สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตรมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. หน้า 4-7.

ทวีทอง หงษ์วิวัฒน์. 2545. สารานุกรมผัก, สำนักพิมพ์แสงแดด. เล่มที่20.

นิจศิริ เรืองรังษี. 2559. “ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับน้ำมันหอมระเหย”. ตำราวิชาการ สุคนธ์บำบัด.

นวลศรี รักอริยะธรรม. 2545. “แอนติออกซิเดนต์สารต้านมะเร็งในผักสมุนไพร.” เชียงใหม่ : นพบุรีการพิมพ์.

ปิยะ ภิรมย์ภักดี. 2557. “การผลิตเบียร์.” สารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน. เล่มที่23.

ไพโรจน์ วิริยจารี. 2545. “การประเมินทางประสาทสัมผัส.” ภาควิชาเทคโนโลยีการพัฒนามลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. พิมพ์ครั้งที่ 1.

ดวงใจ โอชัยกุล. 2558. “ยีสต์ที่ใช้ผลิตเบียร์.” เทคโนโลยีของยีสต์ สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. หน้า 18-19.

เมฆ จันทน์ประยูร. 2541. “ผักพื้นบ้าน.” สำนักพิมพ์คลื่นแก่น. ทำเนียบร้านผลิตภัณฑ์ปลอดสารพิษและสมุนไพรในประเทศไทย. กรุงเทพฯ : ไททรรศน์. พิมพ์ครั้งที่ 1.

ยุวดี จอมพิทักษ์. 2545. อาหารธรรมชาติผักพื้นเมืองโภชนาการสูงเหลือเชื่อ. พิมพ์ครั้งที่ 1.

รุ่งรัตน์ และคณะ. 2540. “พืชเครื่องเทศและสมุนไพร”. โอเดียนสโตร์.

สมชาย ไกรรักษ์, ดวงกมล เรือนงาม และวรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์. ปฏิบัติการวิชาการกระบวนการหมักในอุตสาหกรรม. คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.

สร้อยญา พันธุ์ฤกษ์. 2558. “กรดอะมิโน” ชิวเคมี 1 สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. หน้า 16.

สิริวัฒน์ วงษ์ศิริ. 2534. “น้ำผึ้ง” สารานุกรมไทย ฉบับที่15.

- สีตีมารี ยัม เจ๊ะแน. 2546. “สระระแห่น”. ชมรมสวนพฤกษศาสตร์โรงเรียนสาธิตแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- Amerine, M. A. Kunkee, R. E., Ough, C. S. Singleton, V. L. and Webb, A. 1980. The Technology of wine Making. 4th edn. The AVI Publishing Com. Inc. p512-518.
- Ashida, S. Ichdcawa, E. Suginami, K. and Imayasu, S. 1987. Isolation and Application of Mutants Producing Sufficient Isoamyl Acetate, a Sake Flavor Component. ikan Sake Company, Ltd., Research Laboratory, 25 Shimotoba Koyanagi-cho, Fushimi-ku, Kyoto 612, Japan.
- Briggs, D.E. 1998. “Malts and Malting”. p75-76
- Bussey, H. and Umbarger, H.E. 1969. Biosynthesis of Branched-Chain Amino Acids in Yeast: Regulation of Synthesis of the Enzymes of Isoleucine and Valine Biosynthesis. Department of Biological Sciences, Purdue University, Lafayette, Indiana 47907.
- Brandberg, T. Franzen, C.J. and Gustafsson, L. 2004. “The fermentation performance of nine strains of *Saccharomyces cerevisiae* in batch and fed-batch cultures in dilute-acid wood hydrolysate.” *Journal of Bioscience and Bioengineering*. p122-125.
- Cavalieri, D. Casalone, E. Bondoni, B. Fia, G. Polsinelli, M. and Barberio, C. 1999. Trifluoroleucine resistance and regulation of α -isopropyl malate synthase in *Saccharomyces cerevisiae*. Dipartimento di Scienze Biomediche, Università “G. D'Annunzio”, Chieti, Italy.
- Çoşkun, F. Sivri, G.T. Demirci, A.Ş. 2016. Anti-Yeast Effects of Some Commercial Essential Oils against Food-Related Yeasts. Food Engineering Department, Faculty of Agriculture, Namık Kemal University, TURKEY. p83-88.
- Crane, E.E. 1999. The World History of Beekeeping and Honey Hunting. Routledge 29 West 35th Street, New York, NY 10001. p509-513.
- Hiralal, L. Olaniran, A.O. and Pilly, B. 2014. “Aroma-active ester profile of ale beer produced under different fermentation and nutritional condition.” *Bioscience and Bioengineering*. p57-64.

- Iirkin, R. and Korukluoglu, M. 2009. Growth Inhibition of Pathogenic Bacteria and Some Yeasts by Selected Essential Oils and Survival of *L. monocytogenes* and *C. albicans* in Apple–Carrot Juice. *Foodborne pathogens and disease* volume 6, Number 3, a Mary Ann Liebert, Inc.
- Kolothumannil, C. Thomas and Ingledew, W.M. 1990. “Fuel Alcohol Production: Effects of Free Amino Nitrogen on Fermentation of Very-High-Gravity Wheat Mash.” *Applied and Environmental Microbiology*. p2046-2050.
- Loftus, A.S. 2014. *Sustainable Homebrewing: An All-Organic Approach to Crafting Great Beer*. 201 MASS MoCa Way. North Adams, MA 01247.
- Orte, H. 2006. Past and Future of Non-*Saccharomyces* Yeasts: From Spoilage Microorganisms to Biotechnological Tools for Improving Wine Aroma Complexity. *Int. J. Food Microbiol.* p178, 87–97.
- Palmer, J. 1994. “How To Brew: Everything You Need to Know to Brew Great Beer Every Time” p122-134
- Procopio, S. Sprung, P. and Becker, T. 2015. “Effect of amino acid supply on the transcription of flavor-related genes and aroma compound production during lager yeast.” *Food Science and Technology*. p63, 289-297.
- Preedy, V.R. 2009. *Beer in Health and Disease Prevention*. Department of Nutrition and Dietetics King’s College London. London, UK. p361-364.
- Quilter, M.G. Hurley, J.C. Lynch, J. and Murphy, M.G. 2003. The production of Acetate from amyl alcohol by *Saccharomyces cerevisiae*. Department of Applied Biology and Chemistry, Institute of Technology Carlow, Kilkenny Road, Carlow, Ireland.
- Sadasivam, S. 2005. *Biochemical Methods*. India: Chaman Offset.
- Smith, J. E. 1988. *Biotechnology*. 2nd ed. Edward Arnold, London.
- Stehlik, V. Zetic, V.G. Stanzer, D. Grba, S. and Vahcic, N. 2004. “Zinc, Copper and Manganese Enrichment in Yeast *Saccharomyces cerevisiae*.” *Food Technol Biotechnol*.
- Stott, J.C. 2011. *Beer Quest West: The Craft Brewers of Alberta and British Columbia*.

- Strejc, J. Sirištová, L. Karabin, M. Almeida e Silva, J.B. and Brányik, T. 2013. Production of alcohol-free beer with elevated amounts of flavouring compounds using lager yeast mutants. The Institute of Brewing & Distilling.
- Shet, A.R. Patil, L.R. Hombalimath, V.S. Yaraguppi, D.A. and Udupudi, B.B. 2011. Enrichment of *Saccharomyces cerevisiae* with zinc and their impact on cell growth. Department of Biotechnology, B.V. Bhoomaraddi College of Engineering and Technology, Hubli, Karnataka 580031, India.
- Tomas, V.S. Zetil, V.G. Stanzer, D. Grba, S. and Vahcic N. 2004. Zinc, copper and Manganese Enrichment in Yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Faculty of food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Pierottijeva 6, HR-10000 Zagreb, Croatia.
- Ward, O. P. 1992. Fermentation Biotechnology. Principles, Process and Products. John Wiley & Sons, Chichester.
- Walker, G.M. Nicola, R.D. Anthony, S. and Learmonth, R. 2010. "Yeast-metal interactions: Impact on brewing and distilling fermentations."
- คณะครุศาสตร์การเรือนรัฐวิจิตรวิทยาศาสตร์ โรงเรียนปทุมวิไล. 2558. จากเว็บไซต์ http://www.pw.ac.th/main/website/sci/7_data.htm. (23 พฤษภาคม, 2560).
- พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนปนนท์. pH meter/เครื่องวัดค่าพีเอช. (23 พฤษภาคม, 2560). จากเว็บไซต์ <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/3216/ph-meter>.
- Carr, N. 2016. How to Brew Beer With Honey. From <https://learn.kegerator.com/how-to-brew-beer-with-honey/>. (April 23, 2017)
- David, K. Levine 2014. Lactic Acid and Alcohol Fermentation in Humans. From: www.emc.maricopa.edu. (May 22, 2017).
- Gunjkar, P. 2014. Chemicals. From: <http://www.chemkart.com/>. (May 22, 2017).
- Joe and Fisher, D. 2002. Brewing with Honey. From <https://byo.com/mead/item/322-brewing-with-honey>. (April 23, 2017).
- Kai. 2012. The effect of zinc on fermentation performance. From <http://braukaiser.com/blog/blog/2012/06/22/the-effect-of-zinc-on-fermentation-performance/>. (May 22, 2017).

ภาคผนวก ก

1. วัตถุดิบ

1.1 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง

จากบริษัท Fementis lesasse for beverages ประเทศฝรั่งเศส



รูปที่ 6.1 *Saccharomyces cerevisiae* S-23



รูปที่ 6.2 *Saccharomyces cerevisiae* BE-365



รูปที่ 6.3 *Saccharomyces cerevisiae* W-34/70

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 มอลต์

มอลต์ชนิด Pale ale จากบริษัท Malterie du chateau ประเทศเบลเยียม



รูปที่ 6.4 มอลต์ชนิด Pale ale

1.3 ฮีฟ

ฮีฟชนิด Czech Saaz pellet จากบริษัท U.S. Saaz ประเทศโปแลนด์



รูปที่ 6.5 ฮีฟชนิด Czech Saaz pellet

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. อาหารเลี้ยงเชื้อ

2.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ YM Broth (สมชาย และคณะ, 2558)

ส่วนประกอบ

สารเคมี	ปริมาณ
เปปโตเน (Peptone)	5 กรัม
ยีสต์สกัด (Yeast extract)	3 กรัม
มอลต์สกัด (Malt extract)	3 กรัม
กลูโคส (D-glucose)	10 กรัม
น้ำกลั่น	1,000 มิลลิลิตร

วิธีการเตรียมอาหาร

1. ชั่งส่วนประกอบทั้งหมด
2. ต้มน้ำกลั่นแล้วเทส่วนประกอบลงไปคนกระทั่งส่วนผสมละลายหมด
3. เทใส่ขวดปิดจุกด้วยสำลี
4. นำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

3. สารเคมี

3.1 Dinitrosalicylic Acid (สมชาย และคณะ, 2558)

ส่วนประกอบ

สารเคมี	ปริมาณ
Dinitrosalicylic Acid	20 กรัม
โซเดียมออกไซด์ (NaOH)	32 กรัม
โพแทสเซียมโซเดียมทาร์เตรต (K, Na-tartrate)	600 กรัม
น้ำกลั่น	1,000 มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม

1. ชั่ง Dinitrosalicylic Acid มา 20 กรัมละลายในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร
2. เติมสารละลายโซเดียมออกไซด์ (NaOH) 32 กรัม ในน้ำ 350 มิลลิลิตร แล้วค่อยเติมคนให้เข้ากัน
3. นำไปอังในอ่างน้ำร้อนจนสารละลายใส แล้วจึงเติมโพแทสเซียมโซเดียมทาร์เตรต (K, Na-tartrate) ลงไปที่ละน้อยจนครบ 600 กรัม
4. จากนั้นเติมน้ำกลั่นลงไปในส่วนผสมทั้งหมดให้ครบ 2,000 มิลลิลิตร ใส่ขวดสีชาและเก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิห้อง



รูปที่ 6.6 การเตรียมสารเคมี Dinitrosalicylic Acid Method

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 สารละลายมาตรฐานกลูโคส (สมชาย และคณะ, 2558)

วิธีการเตรียม

1. ปิเปตกลูโคสบริสุทธิ์ 2 4 6 8 10 และ 12 มิลลิกรัม จากนั้นเติมน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิตร จะได้สารละลายมาตรฐานกลูโคสความเข้มข้น 200 400 600 800 1,000 และ 1,200 มิลลิตรต่อลิตร

3.3 สารละลายมาตรฐานเอทานอล (สมชาย และคณะ, 2558)

วิธีการเตรียม

1. ปิเปตเอทานอลบริสุทธิ์ปริมาณ 8 10 12 16 และ 24 มิลลิตร จากนั้นเติมน้ำกลั่นให้ได้ 10 มิลลิตร จะได้สารละลายมาตรฐานเอทานอลความเข้มข้น 8 10 12 16 และ 24 เปอร์เซ็นต์
2. ปิเปตสารละลายมาตรฐานเอทานอลแต่ละความเข้มข้นใส่ลงในขวดปรับ (volumetric flask) ปริมาตร 25 มิลลิตร เติมเอ็น-โพรพานอล ($n - \text{PrOH}$) เพื่อใช้เป็นสารมาตรฐาน (internal standard) ปิดฝาทันทีและ เขย่าเป็นเวลา 3 นาที จากนั้นทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที

ภาคผนวก ข

เครื่อง Ebulliometer รุ่น J.S Alleron Dujardin

เครื่อง Ebulliometer เป็นเครื่องมือที่ใช้วัดเอทานอลโดยการหาจุดเดือดของน้ำเทียบกับจุดเดือดของตัวอย่างที่วัดได้ ประกอบด้วยโลหะทรงกระบอก 2 ส่วนต่อกัน ส่วนล่างบรรจุสารละลายที่ต้องการหาปริมาณเอทานอล แล้วเสียบเทอร์โมมิเตอร์สำหรับวัดอุณหภูมิอีกส่วนใช้บรรจุน้ำเย็นเพื่อหล่อเย็นทรงกระบอกส่วนบน ทรงกระบอกส่วนบน และส่วนล่าง และมีตะเกียงให้ความร้อนแก่ตัวอย่าง



รูปที่ 6.7 เครื่อง Ebulliometer

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เครื่อง Gas Chromatography รุ่น GC-2014 Shimadzu

เป็นเครื่องมือที่ใช้สำหรับวิเคราะห์กลุ่มของสารประกอบอินทรีย์ระเหยได้ง่าย (Volatile Organic Compounds, VOCs) และกลุ่มสารประกอบอินทรีย์ที่สามารถระเหยได้ปานกลาง (Semi-Volatile Organic Compounds)

หลักการของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี ใช้เทคนิคการแยกองค์ประกอบของสารผสม โดยอาศัยความแตกต่างของอัตราการเคลื่อนที่ของแต่ละองค์ประกอบของสารผสมบนเฟสคงที่ (Stationary phase) ภายใต้การพาของเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) สำหรับเครื่อง GC เฟสคงที่ คือ สารที่อยู่ภายในคอลัมน์ ส่วนเฟสเคลื่อนที่ คือ แก๊สฮีเลียม เมื่อสารที่ต้องการวิเคราะห์ผ่านเข้าสู่เครื่อง GC สารดังกล่าวจะถูกเปลี่ยนสถานะจากของเหลว (Liquid) เป็นแก๊ส (Gas) และส่วนแก๊สของสารผสมจะถูกพาเข้าสู่คอลัมน์โดยแก๊สฮีเลียม ซึ่งภายในคอลัมน์จะเกิดการแยกสารผสม (Separation) โดยอาศัยการทำปฏิกิริยา (Interaction) ระหว่างสารที่อยู่ภายในคอลัมน์ (Stationary phase) และสารผสม

ทั้งนี้ในแยกสารผสมให้เป็นสารเชิงเดี่ยวนั้นอาศัยความแตกต่างของน้ำหนักโมเลกุล จุดเดือด โครงสร้างของสาร และสมบัติทางเคมีในการทำปฏิกิริยากับสารที่อยู่ภายในคอลัมน์ ซึ่งหลังจากที่สารแต่ละชนิดถูกแยกเป็นส่วนๆ จะเคลื่อนที่อยู่ภายในคอลัมน์ในเวลาที่แตกต่างกัน จากนั้นสารเชิงเดี่ยวแต่ละชนิดจะผ่านเข้าสู่อุปกรณ์วัดสัญญาณ (Detector) และ แปรผลออกมาเป็นโครมาโทแกรม (Chromatogram) ซึ่งสารเชิงเดี่ยว แต่ละสารจะมีระยะเวลาที่อยู่ในคอลัมน์ (Retention time, RT) เฉพาะตัว ในการวิเคราะห์ผลจะนำพื้นที่ใต้พีค (Peak) ของแต่ละสารมาคำนวณผลเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน (Calibration curve) ก็จะทราบปริมาณของสารตัวอย่างได้



รูปที่ 6.8 เครื่อง Gas Chromatography

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Hemocytometer

ฮีมาไซโตมิเตอร์ (Hemocytometer) เป็นอุปกรณ์ที่ใช้นับจำนวนเซลล์ ประกอบด้วยส่วนที่เป็นสไลด์ และแผ่นปิดสไลด์ ส่วนที่เป็นสไลด์ทำด้วยวัสดุที่แก้วหรือพลาสติกที่เคลือบด้วยฟิล์มบาง ลักษณะคล้ายสไลด์แก้วแต่มีความหนามากกว่า โดยแก้วนี้จะมีช่องว่างสำหรับใส่สารตัวอย่าง พร้อมด้วยส่วนที่เป็นพื้นที่นับเซลล์ขนาดเล็กมาก ถูกทำให้เป็นเส้นตั้งฉาก ตารางหรือกริด ด้วยเลเซอร์ การนับเซลล์ หรืออนุภาคที่อยู่ภายในตาราง และมีปริมาตรที่แน่นอนของของเหลวตัวอย่าง จะทำให้สามารถคำนวณความเข้มข้นของเซลล์ในของเหลวได้ การนับเซลล์จะใช้กล้องจุลทรรศน์ช่วยขยายขนาด แล้วนับได้โดยตรง หน่วยที่ใช้ในการนับเซลล์จะใช้หน่วย เซลล์ต่อปริมาตร ตารางหรือกริด จะมีหลายขนาดเช่น ขนาด 1x1 0.25x0.25 0.25x0.20 และ 0.20x0.20 มิลลิเมตรเป็นต้น การคำนวณปริมาตรทำได้ด้วย การใช้สมการ กว้างxยาวxสูง ตามปกติ หน่วยที่นับได้จะเป็น เซลล์ต่อมิลลิลิตรซึ่งเป็นหน่วยที่นิยมใช้กับความหนาแน่นของยีสต์ในห้องปฏิบัติการที่การเพาะเลี้ยงยีสต์ที่มีความหนาแน่นต่อหน่วยสูงมาก

การเพาะเลี้ยงเซลล์ยีสต์ที่มองผ่านเลนส์กล้องจุลทรรศน์ ที่ปรับกำลังขยาย 100x หรือ 100 เท่า เพื่อเจาะจงให้อยู่ใน ส่วนของ 25 ช่องเล็ก เพราะกำลังขยายในระดับนี้จะทำให้ มองเห็นจำนวน 25 ช่องเกือบพอดีและมีส่วนเกินเพียงเล็กน้อย เชื้อที่เพาะเลี้ยงจะ นับด้วยการใช้สายตามองโดยจะนับจำนวนกลุ่มหรือจุดสีดำ ที่มองเห็น ในช่องที่ 1, 5, 13, 21 และ 25 ซึ่งอยู่ในตำแหน่งสี่มุม และช่องตรงกลางของแต่ละช่อง ของตารางมีความกว้างและความยาว 0.2 มิลลิเมตรเท่ากัน เหตุผลที่นับเช่นนี้เนื่องจากการนับแบบสุ่มแบบกระจายพื้นที่ เพราะบางครั้งการเพาะจำนวนเชื้อเริ่มต้นอาจทำให้ เชื้อเกาะกลุ่มกันอยู่ตรงส่วนใดส่วนหนึ่งของแผ่นเพลต สมการคำนวณความหนาแน่นของจำนวนเชื้อในกรณีนี้แสดง ในสมการ

$$\text{density} = \frac{n\text{Colony}}{n\text{Grid}} \times \frac{1}{4} \times 10^5$$

โดยที่ nColony คือจำนวนยีสต์ที่นับได้บนแผ่นเพลต ในช่องที่สนใจทั้งหมด nGrid คือจำนวนช่องที่นับ โดย ปกติแล้วจะมีค่าเป็นห้า ซึ่งหมายถึงช่องที่ 1, 5, 13, 21 และ 25 ตามลำดับ โดยหน่วยของความหนาแน่นที่ได้คือ เซลล์ต่อมิลลิลิตร

เครื่อง Spectrophotometer (ชูชาติ, 2559)

การหาปริมาณสารใดสารหนึ่งโดยวิธีการทางห้องปฏิบัติการมีอยู่หลายวิธี แต่วิธีที่นิยมใช้มากคือ การวัดความเข้มของสี (colorimetry) หรือการวัดความเข้มของแสง โดยการเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐาน(standard solution) ที่ทราบค่าในระยะแรกๆ การเปรียบเทียบความเข้มของสีอาศัยสายตา (visual colorimetry) ซึ่งมีความถูกต้องและแม่นยำต่ำ ต่อมาได้มีการนำตัวไวแสง (photosensor) มาใช้แทนการเปรียบเทียบด้วยสายตา จึงเรียกเครื่องมือที่ใช้ตัวไวแสงว่า “photoelectric colorimeter” หรือ “photometer” เนื่องจากสารหรือสีที่จะวัดมีความสามารถในการดูดกลืนแสง หรือปล่อยแสงที่มีช่วงความยาวคลื่น(spectrum)ที่แตกต่างกัน ดังนั้นเพื่อให้การวัดมีความจำเพาะ (specificity) และความไว (sensitivity) สูง จึงได้พัฒนาเครื่องมือที่สามารถวัดความเข้มของแสงช่วงความยาวคลื่นแคบ ๆ ได้อย่างต่อเนื่องตามต้องการ และใช้ตัวไวแสงที่มีประสิทธิภาพสูง เครื่องมื่อดังกล่าวถูกเรียกว่า “สเปกโตรโฟโตมิเตอร์” (spectrophotometer) ซึ่งในปัจจุบันได้มีการพัฒนาไปมากมีทั้งแบบอะนาล็อก แบบดิจิทัล รวมถึงแบบดิจิทัลที่ทำงานโดยอัตโนมัติที่มีระบบไมโครโพรเซสเซอร์ควบคุมการทำงาน

เครื่องวัดความเข้มของแสง (spectrophotometer) แบ่งออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่คือ การวัดแสงที่เปล่งออกมา(emission light) การวัดแสงที่ถูกดูดกลืน(absorption light) และการวัดแสงฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence light) ที่เปล่งออกมา เครื่องวัดการดูดกลืนแสงและเครื่องวัดแสงฟลูออเรสเซนซ์ มีองค์ประกอบที่คล้ายกันแต่ตำแหน่งการวางอุปกรณ์ต่างกัน กล่าวคือ เครื่องวัดการดูดกลืนแสงมีหลอดไฟกำเนิดแสง(lightsource) ส่งแสงผ่านไปยังตัวแยกแสง (monochromator) ผ่านสารตัวอย่าง (sample) ผ่านตัวไวแสง (photo sensor) แล้วจึงอ่านค่าออกมา ส่วนเครื่องวัดแสงฟลูออเรสเซนซ์ หลอดไฟกำเนิดแสงจะส่งแสงผ่านสารตัวอย่างเพื่อทำให้เกิดแสงฟลูออเรสเซนซ์ แล้วให้แสงฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้นส่งผ่านไปสู่อุปกรณ์แยกแสงและอุปกรณ์อื่นๆ ตามลำดับ ส่วนเครื่องวัดการเปล่งแสงโดยเปลวไฟมีอุปกรณ์ต่างๆ เหมือนกับเครื่องวัดการดูดกลืนแสงแต่ต่างกันตรงที่ไม่มีหลอดไฟกำเนิดแสง

วิธีใช้เครื่องวัดการดูดกลืนแสง

เครื่องวัดการดูดกลืนแสงแต่ละแบบอาจมีเทคนิคการใช้และวิธีการใช้แตกต่างกันบ้าง ซึ่งผู้ใช้ควรศึกษาคู่มือการใช้งานโดยละเอียดก่อนใช้งาน สำหรับวิธีใช้เครื่องวัดการดูดกลืนแสงโดยทั่วไปมีดังนี้

1. ถอดถาดคลุมเครื่องมือออก
2. เปิดสวิตช์ไฟฟ้าเพื่ออุ่นเครื่องนาน 10-20 นาที
3. ปิดแสงจากภายในหรือภายนอกไม่ให้เกิดกระทบตัวไวแสง
4. ปรับ 0%T ด้วยปุ่มปรับศูนย์ ค่าความเข้มของแสงควรจะคงที่ ถ้าไม่คงที่อาจเกิดจากการ

อุ่นเครื่องไม่พอ หรือเครื่องมือมีความผิดปกติ

5. เลือกความยาวคลื่นแสงที่ต้องการวัดโดยหมุนปุ่มเลือกความยาวคลื่น
6. เลือกตัวกรองตัดแสงรบกวนที่เหมาะสม
7. ใส่รีเอเจนต์อ้างอิง (reagent blank) ลงในช่องในคิวเวทท์ ปิดฝาช่องใส่ คิวเวทท์
8. ปรับ 100%T หรือ OA ด้วยปุ่มควบคุมการปรับ ในขั้นตอนนี้ต้องกระทำทุกครั้งที่มีการ

เปลี่ยนความยาวคลื่นแสงที่ใช้วัด

9. ใส่สารตัวอย่างลงในช่องใส่คิวเวทท์ ปิดฝาช่องใส่คิวเวทท์
10. อ่านค่า %T หรือ A
11. ปิดสวิทช์ไฟฟ้า ปลดปล่อยให้เครื่องเย็นก่อนคลุมเครื่องด้วยถุงคลุมเครื่องมือ

ข้อควรปฏิบัติในการใช้งาน

เพื่อให้การใช้เครื่องวัดการดูดกลืนแสงมีความผิดพลาดน้อยที่สุดควรปฏิบัติดังนี้

1. เลือกใช้วิธีวิเคราะห์ที่เหมาะสม
2. เลือกสารตัวอย่างที่เหมาะสม (ไม่ขุ่นหรือมีสีอื่นๆ เจือปนมาก)
3. ปฏิบัติตามคำแนะนำในคู่มือการใช้งาน (operating manual) อย่างเคร่งครัด
4. ตั้งเครื่องมือในที่ที่มีฝุ่นน้อย ความชื้นต่ำอุณหภูมิไม่สูง และควรตั้งห่างจากผนังเพื่อให้

ความร้อนระบายออกได้ดี

5. ใช้เครื่องควบคุมโวลต์ (voltage stabilizer) ถ้าโวลต์ของกระแสไฟฟ้าที่จ่ายให้กับเครื่องมือมีค่าเปลี่ยนแปลงเกิน 10% (198-242 โวลต์)

6. อุ่นเครื่องให้พอเพียงก่อนใช้งาน
7. ตรวจสอบความเสื่อมสภาพของหลอดไฟกำเนิดแสงเป็นระยะ ๆ พร้อมกับดูตำแหน่งที่ถูกต้อง
8. ปิดหลอดไฟกำเนิดแสงเมื่อไม่ได้ใช้งาน
9. ปิดช่องแสงออกเมื่อไม่ได้วัดความเข้มของแสง เพื่อกันการล้า
10. ใช้ความกว้างของช่องแสงออกแคบ เพื่อสร้างแสงสีเดียวที่มีช่วงความยาวคลื่นแคบ
11. ควรอ่านค่าความเข้มของแสงในช่วง 15-80 %T เนื่องจากการตอบสนองของตัวไวแสง

ส่วนใหญ่เป็นเส้นตรง

12. ใช้คิวเวทท์ที่สะอาดและมีค่าความแตกต่างของ %T ต่ำ
13. ในกรณีที่มีคิวเวทท์น้อยจำเป็นต้องใช้ร่วมกัน ควรวัดสารละลายที่มีความเข้มข้นน้อย

ก่อนสารละลายที่มีความเข้มข้นมากตามลำดับ

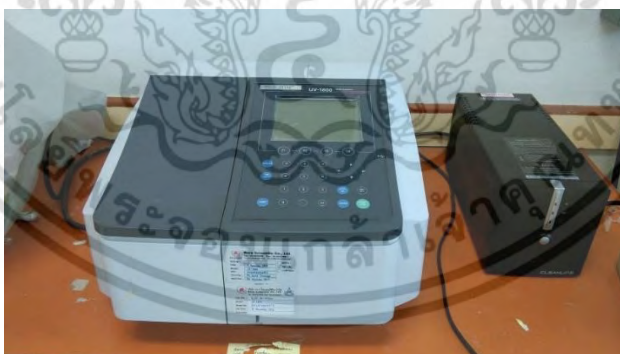
14. ตรวจสอบความไวของตัวไวแสงเป็นระยะ ๆ

15. ตรวจสอบการเปลี่ยนแปลง 100 %T หรือ 0A เป็นระยะๆ ในขณะที่ใช้งานเครื่องมือ

การบำรุงรักษา

จุดประสงค์ของการบำรุงรักษา คือ การทำให้เครื่องมือมีประสิทธิภาพดี พร้อมใช้งานอยู่เสมอ มีความปลอดภัยแก่ผู้ใช้ และช่วยยืดอายุของเครื่องมือ การบำรุงรักษาประกอบด้วยขั้นตอนของการทำความสะอาด การตรวจสอบประสิทธิภาพ การปรับให้ถูกต้อง และการทดสอบระบบความปลอดภัย ควรตรวจสอบทุก ๆ 6 เดือน

1. ความถูกต้องของความยาวคลื่น
2. ความแม่นยำของความยาวคลื่นแสง
3. ความถูกต้องของการวัดความเข้มของแสง (photometric accuracy)
4. ความแม่นยำของการวัดความเข้มของแสง (photometric repeatability)
5. เสถียรภาพของ 100%T(baseline stability หรือ drift)
6. ความเป็นเส้นตรงของการวัดความเข้มของแสง (photometric linearity)
7. ความกว้างของลำแสงที่ออกมาจากช่องแสงออก (band width)
8. แสงรบกวน (stray light) แสงรบกวน
9. เวลาการตอบสนอง (response time)



รูปที่ 6.9 เครื่อง Spectrophotometer

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เครื่อง pH meter (พิมพ์เพ็ญ และนิธิยา, 2556)

pH meter เป็นเครื่องมือที่ใช้วัดความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของสารละลายหลักการทํางานพีเอชมิเตอร์ (pH meter) เป็นเครื่องมือทางอิเล็กทรอนิกส์ มีส่วนประกอบหลัก 2 ส่วน ได้แก่ อิเล็กโทรด และเครื่องวัดศักย์ไฟฟ้า (volt meter) เครื่องวัดศักย์ไฟฟ้าจะเปลี่ยนค่าศักย์ไฟฟ้าที่วัดได้ให้เป็นค่า pH

การวัดค่า pH ของสารละลาย หรือน้ำ วัดได้ทั้งวิธี colorimetric และ electronic (ใช้เครื่องวัด pH) ในที่นี้ ขอกล่าวถึงการวัดค่า pH ด้วยวิธี electronic เนื่องจากเป็นวิธีที่นิยมกันในปัจจุบัน และเป็นวิธีที่มีความถูกต้องแม่นยำสูง

เครื่องวัด pH อาศัยหลักการวัดความต่างศักย์ไฟฟ้า (electrical potential) ที่เกิดขึ้นระหว่าง indicator electrode และ reference electrode ซึ่งจุ่มอยู่ในสารละลาย แล้วเปลี่ยนค่าความต่างศักย์ไฟฟ้า ให้เป็นค่า pH โดยการเทียบค่ากับสารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐาน แต่เนื่องจากความต่างศักย์ไฟฟ้าที่เกิดขึ้นนั้น เปลี่ยนแปลงตามอุณหภูมิ ซึ่งเป็นผลให้ค่า pH เปลี่ยนแปลงตามไปด้วย เครื่องวัด pH จึงต้องมีการชดเชยค่าของการวัด อันเนื่องมาจากอุณหภูมิ โดยใช้หัววัดวัดอุณหภูมิของตัวอย่าง ขณะทำการวัด แล้วปรับเปลี่ยนเป็นค่า pH ณ ขณะนั้น

ส่วนประกอบเครื่องวัด pH

1. ตัวเครื่อง เป็นส่วนที่ใช้ในการวัดสัญญาณไฟฟ้า และแปลงหน่วยของความต่างศักย์จากมิลลิโวลต์ (mV) เป็นหน่วย pH โดยอ้างอิงจากสมการทางไฟฟ้าเคมี แล้วแสดงผลที่ได้ทางจอภาพ หรือเครื่องพิมพ์

2. หัววัดค่า pH (electrode) หัววัดค่า pH เป็นหัวใจหลักของการวัดปัจจุบันนิยมใช้ combination electrode คือ มีทั้ง glass electrode และ reference electrode รวมอยู่ในอันเดียวกัน บริเวณปลายกระเปาะเป็นส่วนของ glass electrode ที่มีผิวเยื่อแก้วลักษณะเป็นเจลหนาประมาณ 10 มิลลิเมตร เป็นบริเวณที่เกิดการแลกเปลี่ยนไอออน ระหว่างโซเดียมไอออนในเยื่อแก้วกับไฮโดรเจนไอออนในสารละลาย

การ calibrate เทียบค่ามาตรฐานค่า pH

การ calibrate เป็นการวัดความสัมพันธ์ของกระแสสัญญาณของหัววัดกับค่ามาตรฐาน เมื่อนำความสัมพันธ์ที่ได้มาพล็อต (plott) กราฟ จะได้เป็นกราฟเส้นตรงซึ่งค่ามาตรฐานค่าแรกที่ต้องทำการ calibrate คือ pH 7.00 กับค่าที่ต้องการควบคุมคุณภาพ โดยมีอุณหภูมิเป็นตัวแปร

การดูแลรักษา

การเก็บอิเล็กโทรดห้ามเก็บแห้ง โดยทั่วไปเก็บในสารละลายกรดที่มีค่าพีเอชประมาณ 3 และไม่เก็บหรือแช่ในน้ำกลั่น เพราะว่าไอออนที่อยู่ในอิเล็กโทรดจะแพร่ออกมาทำให้ความเข้มข้นของไอออนภายในอิเล็กโทรดลดลง โดยปกติแล้วควรทำความสะอาดอิเล็กโทรดประมาณเดือนละครั้งโดยการแช่ด้วยกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ (M) (พิมพ์เพ็ญ และนิธิยา, 2560)



รูปที่ 6.10 เครื่อง pH meter

การทดสอบทางประสาทสัมผัสทดสอบความชอบโดยวิธี (Hedonic) (ไพโรจน์, 2545)

Hedonic scale scoring test (ทดสอบความชอบ) มีการพัฒนาการทดสอบประเภทนี้มีมากมายหลายชนิดเพื่อที่จะพยายามให้ระดับของความชอบและ ไม่ชอบผลิตภัณฑ์ที่ทดสอบเกิดขึ้นอย่างมีประสิทธิภาพ ในสเกลความชอบอาจจะมีการใช้คำต่างๆ เช่น ดีเลิศ (Excellent) ดีมาก (Very good) ดี (Good) หรือ ไม่ดี (Poor) เป็นต้น อย่างไรก็ตามสเกลความชอบที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวางในช่วง 10 ปีที่ผ่านมาคือ สเกลความชอบ 9 จุด (Nine-point hedonic scale) ซึ่งคำว่า Hedonic หมายถึง มีความพอใจในการกระทำ ผู้ทดสอบชิมจะสามารถให้ความพอใจของตนโดยการแสดงออกมาในรูประดับของความชอบและไม่ชอบผลิตภัณฑ์จากสเกลที่กำหนด ในการทดสอบความชอบโดยการใช้ Hedonic scale scoring test นี้ จะแปลระดับความรู้สึกของผู้ทดสอบเป็นตัวเลข เช่น ชอบมากที่สุด (Like extremely) มีคะแนนเป็น 9 และไม่ชอบมากที่สุด (Dislike extremely) มีคะแนนเป็น 1 ข้อมูลที่ได้จะถูกนำมาเปลี่ยนเป็นตัวเลข จาก 1 - 9 โดยผู้ที่ทำการวิเคราะห์ผล โดยที่ ชอบมากที่สุด (Like extremely) มีคะแนนเป็น 9 ชอบมาก (Like very much) มีคะแนนเป็น 8 ชอบปานกลาง (Like moderately) มีคะแนนเป็น 7 ชอบเล็กน้อย (Like slightly) มีคะแนนเป็น 6 เฉยๆ (Neither like nor dislike) มีคะแนนเป็น 5 ไม่ชอบเล็กน้อย (Dislike slightly) มีคะแนนเป็น 4 ไม่ชอบปานกลาง (Dislike moderately) มีคะแนนเป็น 3 ไม่ชอบมาก (Dislike very much) มีคะแนนเป็น 2 ไม่ชอบมากที่สุด (Dislike extremely) มีคะแนนเป็น 1

1. สี

สีที่ปรากฏเป็นส่วนประกอบหนึ่งของผลิตภัณฑ์อาหารที่สามารถรับรู้ได้ด้วยสายตา ความรู้สึก และอารมณ์ของมนุษย์ตลอดจนมีความสัมพันธ์กับความรู้สึกต่อการรับรสทางปากของ มนุษย์ด้วย รายงานว่าผู้บริโภคคาดหวังว่าอาหารควรจะมีสีที่ปรากฏที่เหมาะสม ความเบี่ยงเบนของสีที่ปรากฏจากสิ่งที่ผู้บริโภคคาดหวังไว้ว่าจะมีผลต่อการจำหน่ายผลิตภัณฑ์ในตลาดได้ เนื่องจากความสำคัญของสีที่ปรากฏของผลิตภัณฑ์เป็นปัจจัยทางด้านลักษณะที่ปรากฏลักษณะหนึ่ง ดังนั้นควรพิจารณาลักษณะดังกล่าวอย่างระมัดระวังในงานที่เกี่ยวข้องกับการพัฒนาผลิตภัณฑ์ การควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์และการศึกษาอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในส่วนที่เกี่ยวข้องกับอาหารสำเร็จรูป สีที่ปรากฏของผลิตภัณฑ์ดังกล่าวจะมีผลต่อการรับรสของผลิตภัณฑ์เช่นกัน เช่น ไอศกรีมสตอเบอรี่จะมีความสัมพันธ์กับช่วงสีชมพูถึงสีแดง น้ำมะม่วงจะมีสีตั้งแต่สีเขียวเหลืองถึงสีเหลืองส้ม ซอสมะเขือเทศจะมีสีตั้งแต่สีแดงส้มถึงสีแดง เป็นต้น ในขณะที่สตอเบอรี่สีเขียว มะม่วงเขียว และมะเขือเทศสีดำที่เป็นดำหินจะไม่เป็นที่พอใจและไม่เป็นที่ยอมรับสูงของผู้บริโภค ในส่วนที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมคุณภาพของวัตถุดิบ ความแก่อ่อนของผลไม้ จะคำนึงถึงสีผิวของวัตถุดิบหรือผลไม้ชิ้นๆ ซึ่งการวิเคราะห์คุณภาพที่เกิดตำหนิหรือปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ก็สามารถสังเกตจากการเปรียบเทียบสีที่ปรากฏของวัตถุดิบนั้นๆ ได้ในระหว่างกระบวนการผลิตไม่ว่าจะเป็นผักผลไม้ เนื้อสัตว์ ปลา และไก่ก็ตามจะเกิดการเปลี่ยนแปลงสีที่คาดหวังไว้ในวัตถุดิบระหว่างกระบวนการผลิต การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวอาจจะเป็นสิ่งที่ไม่ต้องการหรืออาจจะเป็นสิ่งที่ต้องการก็ได้ โดยทั่วไปลักษณะสีที่ปรากฏจะเป็นดัชนีของการเปลี่ยนแปลงคุณภาพผลิตภัณฑ์โดยเฉพาะระหว่างการขนส่งและการเก็บรักษา กล่าวคือลักษณะสีที่ปรากฏสามารถใช้เป็นเครื่องวิเคราะห์ในการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์หรือผลิตภัณฑ์เกิดการเน่าเสียได้เป็นอย่างดีระหว่างลักษณะต่างๆของอาหาร สีที่ปรากฏเป็นสิ่งที่มีการศึกษากันอย่างกว้างขวางเพราะว่าลักษณะดังกล่าวเป็นลักษณะที่สำคัญยิ่งของผลิตภัณฑ์ ซึ่งในปัจจุบันมีการพัฒนา เครื่องมือขึ้นมาเป็นใช้ในการวัดและควบคุมสีที่ปรากฏของผลิตภัณฑ์โดยเฉพาะประเทศที่มีการพัฒนาแล้ว การควบคุมสีที่ปรากฏของผลิตภัณฑ์เป็นหน้าที่หลักอันหนึ่งของการควบคุมคุณภาพทั้งหมดของผลิตภัณฑ์

2. กลิ่นและรสชาติ

กลิ่นและรสชาติมาจากคำว่า Flavor เป็นการรวมคำสองคำไว้ด้วยกันคือคำว่ากลิ่น(Odor) และรสชาติ (Taste) ซึ่งเป็นลักษณะที่สำคัญมากในผลิตภัณฑ์อาหารที่เป็นการวิเคราะห์ว่าผลิตภัณฑ์อาหารนั้นๆได้รับการยอมรับจากผู้บริโภคหรือถูกปฏิเสธจากผู้บริโภค

กลิ่น (Odor) การกระตุ้นของการรับรู้กลิ่นมีผลต่อพื้นที่เล็กๆของเซลล์ที่รับรู้ที่มีสีเหลืองน้ำตาลซึ่งอยู่บริเวณเพดานของจมูกด้านใน บริเวณนี้ประกอบด้วยปลายเส้นประสาทจำนวนมากของเส้นประสาทที่เรียกว่า Olfactory nerves ปลายเส้นประสาทแต่ละเส้นจะประกอบด้วยปุ่มเล็กๆจำนวนมากที่มีลักษณะ Cilialikehairs และประกอบด้วยส่วนรับรู้สุดท้ายของ Olfactory ส่วนชุมชนจะยื่นออกมาในชั้นของเมือก (Mucous layer) ซึ่งจะติดต่อกันเป็นแนวทั้งหมดของพื้นที่ผิวของจมูกด้านใน ส่วนของ Olfactory nerves จะส่งสัญญาณไปยังส่วนที่มีลักษณะเป็นกระเปาะเรียกว่า Olfactory bulb ที่บริเวณด้านหน้าและฐานของสมอง ที่ส่วนของกระเปาะเส้นใยจากจมูกสัมผัสกับประสาทอื่นๆซึ่งจะไปเชื่อมโยงกับส่วนต่างๆของสมอง

ในส่วนของสมองจะเชื่อมโยงกับสารประจุไฟฟ้าที่ละเอียดอ่อนเพื่อตรวจสอบวิถีทางของสัญญาณจากส่วนที่กระตุ้นการรับรู้กลิ่นในการประเมินทางด้านกลิ่นจำเป็นต้องมีสารที่สามารถระเหยได้เพียงพอที่จะกระจายในอากาศใกล้บริเวณที่รับรู้ สารดังกล่าวอย่างน้อยจะต้องสามารถละลายได้บางส่วน และสุดท้ายจำนวนที่น้อยที่สุดของอนุภาคที่มีกลิ่นจะสัมผัสกับส่วนรับรู้ในเวลาที่ยาวเหมาะสมช่วงหนึ่งเพื่อความแน่ใจต่อการสัมผัสกลิ่นของเซลล์ประสาท ผู้ประเมินควรสูดเต็มที่อยู่อย่างรวดเร็วเพื่อรับกลิ่นมากที่สุดเข้าไปในจมูก การสูดกลิ่นอาจส่งผลในการหักเหของไออากาศ ถ้าการทดสอบอยู่ในสภาพที่เย็นความสามารถในการดมกลิ่นอาจจะถูกขวางจากการพองตัวของแนวภายในของจมูกมนุษย์ กลิ่นบางชนิดสามารถบดบังกลิ่นอื่นๆได้บางส่วนหรืออาจจะบดบังทั้งหมดได้สารประกอบบางอย่างในจำพวกกลิ่นเดียวกันไม่สามารถถูกตรวจสอบได้ หลังจากที่มีผู้ที่ทดสอบได้ดมกลิ่นกลิ่นอื่นๆในกลุ่มเดียวกันมาก่อน ตัวอย่างที่สองที่ประกอบด้วยสารที่เหมือนกันจะไม่สามารถตรวจสอบได้ถ้าผู้ทดสอบดมกลิ่นตัวอย่างแรกนานเกินไป การทดสอบหลังจากสูญเสียความไวต่อกลิ่นหนึ่งในส่วนผสมหนึ่งอาจจะทำให้การทดสอบดีขึ้นต่อการประเมินกลิ่นอื่นๆในส่วนผสมดังกล่าวการตอบสนองต่อกลิ่นจะถูกบันทึกทางไฟฟ้าอย่างรวดเร็วและความไวในการรับรู้กลิ่นจะเกิดขึ้นได้อีกถ้าอากาศถูกปล่อยทิ้งไว้ 2-3 นาทีในระหว่างการประเมิน ถ้าการทดสอบมีความตั้งใจ และเป็นที่น่าสนใจของผู้ทดสอบ การทดสอบกลิ่นจำนวนมากกว่า 70 ชนิดสามารถถูกประเมินได้ภายในหนึ่งชั่วโมง

3. รสชาติ

รสชาติทั้ง 5 ของมนุษย์ มีรสหวาน รสเค็ม รสเปรี้ยว รสขม รสอูมามิ ซึ่งขณะนี้เป็นที่ยอมรับอย่างกว้างขวางว่าในการบริโภคอาหารของมนุษย์ สิ่งที่จะรับรู้รสชาติคือปุ่มรับรสชาติ (Taste buds) ซึ่งอยู่บริเวณของลิ้น อย่างไรก็ตามบริเวณที่ตอบสนองต่อรสชาติถูกพบว่าอยู่บริเวณเพดานปากในช่องที่ติดต่อกับปากและช่องคอ และอยู่บริเวณต่อม Tonsils และ Epiglottis และใน Mucosa ของริมฝีปากและกระพุ้งแก้มปาก บริเวณใต้ลิ้นและในบริเวณเพดานของปาก อย่างไรก็ตามบริเวณที่มีการตอบสนองที่ดีที่สุดจะอยู่บนผิวด้านบนของลิ้นที่บริเวณปลายลิ้นด้านข้างของลิ้น และด้านหลังของลิ้น ส่วนบริเวณกลางของลิ้นจะไม่มีสิ่งรับรสชาติเลย สิ่งที่รับรสชาติหรือ Taste buds

รสชาติหลัก 5 ประเภทได้แก่

- ความเปรี้ยว (Sourness) เป็นรสชาติที่ง่ายที่สุด สิ่งที่กระตุ้นรสชาตินี้คือกรด โดยเฉพาะไฮโดรเจนไอออน โดยทั่วไปถ้ามีปริมาณไฮโดรเจนไอออนมาก ยิ่งทำให้สารละลายมีความเปรี้ยวมากขึ้นด้วย อย่างไรก็ตามบัฟเฟอร์ในสารละลายที่มีความเปรี้ยว อาจเปลี่ยนความเข้มข้นของไฮโดรเจนไอออนอย่างเหมาะสมและทำให้เกิดรสชาติเปรี้ยวของตัวเอง
- ความหวาน (Sweetness) สิ่งกระตุ้นรสชาติหวานอย่างง่ายคือน้ำตาล อย่างไรก็ตาม สารประกอบมากมายที่มีส่วนประกอบทางเคมีที่แตกต่างกันจะมีรสหวาน ตัวอย่างเช่น Lead salt, Saccharine, Cyclamates และ D-asparagine เป็นต้น
- ความเค็ม (Saltiness) โซเดียมคลอไรด์หรือเกลือแกง เป็นสารที่ให้รสชาติเค็มและค่อนข้างสม่ำเสมอ เนื่องจากสารอนินทรีย์ที่ละลายได้เกือบทั้งหมดจะมีรสชาติหลากหลายเช่น ขม ด่าง หวาน และเค็มในสวนผสมที่แตกต่างกันความแรงของรสชาติของเกลือทางเคมีจะมีความแตกต่างกันขึ้นกับสวนของโครงสร้างโมเลกุล เช่นโดยทั่วไปลำดับที่ยอมรับของความแรงของไอออนบวกคือ NH_4 , K , Ca, Na, Li, และ Mg สวนลำดับสำหรับไอออนลบของโซเดียมคือ SO_4 , Cl , Br , I , HCO_3 , และ NO_3 ซึ่งไอออน Mg และ NO_3 เป็นไอออนที่อ่อนที่สุด
- ความขม (Bitterness) สารประกอบที่แตกต่างกันทางเคมีหลายชนิดจะมีรสชาติขม บางชนิดมีความขมมาก เช่น Alkaloids จำพวก Caffeine, Nicotine, Quinine และ Brucine เป็นต้น
- อูมามิ เป็นรสชาติที่มีลักษณะพิเศษ อูมามิเป็นตัวให้รสชาติและเป็นตัวกระตุ้นความอยากอาหาร อูมามิ เป็นรสชาติของกลูตาเมตอิสระ หนึ่งในกรดอะมิโนซึ่งเป็นองค์ประกอบของโปรตีนที่พบได้ในอาหารตามธรรมชาติ และ เครื่องปรุงรสต่างๆ รสชาติของกลูตาเมตอิสระนี้ว่า "อูมามิ" ซึ่งเป็นภาษาญี่ปุ่นที่มาจากรากศัพท์ 2 คำนั้นคือคำว่า umai ที่แปลว่าอร่อย (delicious) และคำว่า mi ที่แปลว่าแก่นแท้

(essence) อูมามิเป็นคำที่มาจากภาษาญี่ปุ่นซึ่งแปลว่ารสอร่อย รสอูมามิเป็นหนึ่งใน 5 รสชาติพื้นฐาน (basic taste) นอกเหนือไปจากรสเปรี้ยว หวาน เค็ม ขมที่ช่วยให้อาหารมีรสชาติโดยรวมดีขึ้น

การวิเคราะห์

Correction factor = (การรวมทั้งหมด) 2 /หน่วยทั้งหมดที่ทำให้เกิดการรวมทั้งหมด

Samples SS = (ผลรวมของการรวมของแต่ละตัวอย่างยกกำลังสอง)/(หน่วยที่ทำให้เกิดการรวมของแต่ละ

ตัวอย่าง) Panelists SS = (ผลรวมของการรวมของผู้ทดสอบชิมแต่ละท่านยกกำลังสอง)/(หน่วยที่ทำให้เกิดการรวมของผู้ชิมแต่ละท่าน)

Total SS = (ผลรวมของการประเมินในแต่ละตัวอย่างของแต่ละผู้ทดสอบชิมยกกำลังสอง)

Error SS = Total SS - SS Samples - SS panelists

ตัวอย่างเช่น

ANOVA					
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	60.542	5	12.108	3.499	.006
Within Groups	394.450	114	3.460		
Total	454.992	119			

a = จำนวนทรีทเมนต์ = 6

n = จำนวนซ้ำในทรีทเมนต์ = 20

dfTotal = (an-1) = (6x20-1) = 119

dfBetween Groups = a-1 = 6-1 = 5

dfWithin Group = a(n-1) = 6(20-1) = 114

$$ssTotal = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^n Y_{ij}^2 - \frac{Y^2 \dots}{an} = 454.992$$

$$ssBetween Groups = \sum_{i=1}^a \frac{Y_i^2}{n} - \frac{Y^2 \dots}{an} = 60.542$$

$$ssWithin Group = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^n (Y_{ij} - Y_i.)^2 = 394.450$$

$$msBetween Groups = \frac{SS_B}{df_B} = \frac{60.542}{5} = 12.108$$

$$msWithin Group = \frac{SS_W}{df_W} = \frac{394.450}{114} = 3.460$$

$$F = \frac{ms_B}{ms_W} = \frac{12.108}{3.460} = 3.499$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\text{Sig} = F_{0.05,5,114} = 0.006$$

ค่า F มีค่ามากกว่า Sig($F_{0.05,5,114}$) จึงปฏิเสธ H_0 นั่นคือตัวอย่างเปียร์ทั้ง 6 ชนิดมีสีที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 หรือมีสีของเปียร์ตัวอย่างหนึ่งที่มีความหวานที่แตกต่างจากตัวอย่างอื่น

ข้อควรปฏิบัติ

1. ไม่ควรให้ผู้ชิมมาทดสอบอาหารที่เขาไม่ชอบ
2. ต้องมั่นใจว่าได้เลือกผู้ทดสอบมาอย่างถูกต้องและแจ้งให้เขาทราบล่วงหน้าเมื่อต้องการเรียกมาทดสอบ
3. ควบคุมตัวแปรต่างๆ ในการทดสอบอย่างเข้มงวดและให้เหมือนกัน เช่น ขนาดของตัวอย่าง และอุณหภูมิของผลิตภัณฑ์ขณะทดสอบ
4. ทำสภาพแวดล้อมให้เหมาะสม เพื่อให้ผู้ทดสอบมีสมาธิในการทดสอบ บอกให้ผู้ทดสอบเงียบขณะทำการทดสอบ เพื่อป้องกันอิทธิพลแฝงจากผู้ทดสอบข้างเคียง
5. ทำให้การทดสอบผลิตภัณฑ์เป็นสิ่งที่น่าสนใจ หรือเป็นสิ่งจูงใจ จะทำให้ผู้ทดสอบเกิดความร่วมมือในการตอบคำถาม เช่น มีของรางวัลตอบแทนหลังการทดสอบที่เหมาะสม
6. ไม่ควรเปิดเผยข้อมูลที่ไม่จำเป็นให้ผู้ทดสอบทราบ เพราะจะมีอิทธิพลต่อค่าคะแนนที่ได้ เช่น ถ้าผู้ทดสอบรู้ว่าเป็นการทดสอบ shelf life ของอาหาร เขาก็คาดหวังว่าจะพบตัวอย่างอาหารเสื่อมเสีย
7. วางแผนการทดสอบไว้ล่วงหน้า ดูว่าจะใช้การทดสอบวิธีใดดีที่สุด โดยต้องมองไปถึงว่าเราต้องการข้อมูลอะไรในการทดสอบ ต้องการผล (ค่าสถิติ) อะไรในการทดสอบ และควรทำการทดสอบย่อยก่อนด้วยตัวเองหรือกับเพื่อนซี้ 4 - 5 คน ก่อนว่าเจอปัญหาอะไรบ้าง เพื่อจะได้เลือกวิธีการที่ดีที่สุดของ
 - ขนาดหรือปริมาณตัวอย่าง ต้องพอเพียงไม่มากเกินไป
 - อุณหภูมิในขณะทดสอบทุกตัวอย่างต้องทำให้เหมือนๆ กัน
 - ภาชนะที่ใช้เสิร์ฟ ต้องดูว่าควรใช้ภาชนะใดที่เหมาะสม
 - อุปกรณ์ที่จะนำพาอาหารเข้าปาก เช่น ช้อน ส้อม ช้อนชา ไม้จิ้ม หลอด
 - ภาชนะที่ต้องใช้ในการเตรียม และ นำเสนออาหาร เช่น ถ้วย จาน แก้ว
8. ให้เสิร์ฟตัวอย่างในทันทีที่เตรียมเสร็จให้แน่ใจว่ามีอุปกรณ์ที่ผู้ทดสอบจำเป็นต้องใช้ครบ เช่น ดินสอ กระดาษเช็ดปาก ถ้วยบัว
9. ปฏิบัติกับผู้ทดสอบให้ดีเหมือนกับที่เราคาดหวังจะได้รับบริการขณะไปทานอาหารในภัตตาคาร
10. การเตรียมตัวอย่างต้องมีการบันทึกวิธีการปรุง วิธีการเตรียมให้ถูกต้องเที่ยงตรง แม่นยำแน่นอน บันทึกอุณหภูมิของตัวอย่าง ขนาดตัวอย่างที่น่าเสนอ ปัจจัยพิเศษอื่นๆ เช่น ต้องมีการพร่างแสงหรือเปล้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

มาตรฐานเอทานอล

Shimadzu LabSolutions Calibration Curve

ID# : 1

Name : ethanol

Quantitative Method : Internal Standard

Rr1=0.09994288 Rr2=0.9988578 RSS = 1.105245e-003

MeanRF : 7.721724e-002 RFSD : 1.454064e-003 RFRSD : 1.883081

Fit Type : Linear

Zero Through : Through

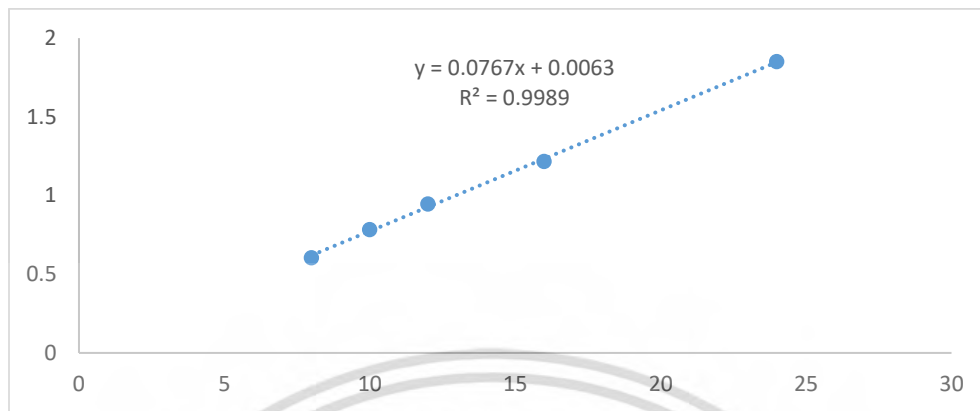
Weighted Regression : None

Detector Name : DFID1

ตารางที่ 6.1 ตารางแสดงมาตรฐานเอทานอล

	Conc.(Ratio)	Mean Area Ratio	Area
1	8	0.604861	911571
2	10	0.784072	1141429
3	12	0.947378	1415138
4	16	1.21626	1855447
5	24	1.85057	2802677

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



กราฟที่ 6.1 กราฟตารางมาตรฐานเอทานอล

สูตรคำนวณเอทานอล

$$\% \text{ EtOH} = \frac{\text{EtOH peak area}}{\text{n - PrOH peak area}} \times \frac{1.00}{\text{slope}} \times F$$

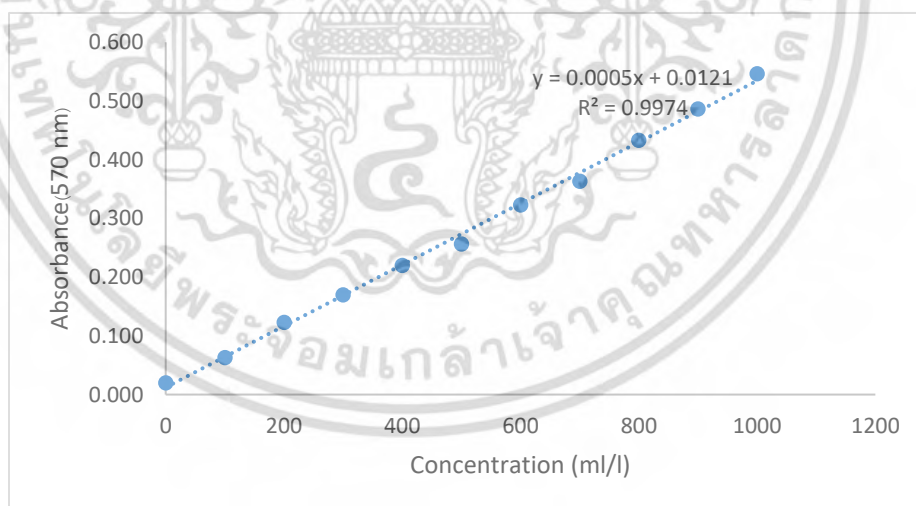
F = dilute sample

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มาตรฐานสารละลายกลูโคส

ตารางที่ 6.2 ตารางค่าการดูดกลืนแสงมาตรฐานสารละลายกลูโคส

ความเข้มข้น	ซ้ำที่1	ซ้ำที่2	ซ้ำที่3	เฉลี่ย
0	0.03	0.01	0.02	0.020
100	0.05	0.06	0.08	0.063
200	0.12	0.14	0.11	0.123
300	0.16	0.18	0.17	0.170
400	0.22	0.21	0.23	0.220
500	0.24	0.26	0.27	0.257
600	0.3	0.33	0.34	0.323
700	0.36	0.38	0.35	0.363
800	0.43	0.45	0.42	0.433
900	0.46	0.51	0.49	0.487
1000	0.55	0.56	0.53	0.547



กราฟที่ 6.2 กราฟมาตรฐานสารละลายกลูโคส

สูตรคำนวณหาน้ำตาลรีดิวซ์

$$Y = \frac{\text{ค่าการดูดกลืนแสงที่ } 570 \text{ นาโนเมตร}}{\text{ค่าความชัน}} \times \text{เงาจากเท่า}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส

ผลิตภัณฑ์ : เบียร์

ชื่อ..... วันที่.....

คำแนะนำ : กรุณาชิมตัวอย่าง 6 ตัวอย่างนี้ตามลำดับที่นำเสนอ และให้คะแนนลงในช่องว่างให้ตรงกับระดับความชอบของท่านระดับ 1-9 โดยคะแนนระดับ 1 คือชอบน้อยที่สุด และคะแนนระดับ 9 คือชอบมากที่สุด กรุณาบ้วนปากระหว่างตัวอย่างทุกครั้ง

คุณลักษณะ	รหัสตัวอย่าง					
สี						
กลิ่น						
รสชาติ						
ความชอบ โดยรวม						

หมายเหตุ : รสชาติ = ได้จากการชิมแล้วปล่อยให้กลืนนั้นระเหยขึ้นโพรงจมูก เช่น กลิ่น malt hops

ข้อเสนอแนะ

.....

.....

.....

ภาคผนวก ง

การทดสอบทางประสาทสัมผัสทดสอบความชอบโดยวิธี (Hedonic)

ตารางที่ 6.3 การวิเคราะห์ทางสถิติของสีเบียร์

ANOVA

สี

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	60.542	5	12.108	3.499	.006
Within Groups	394.450	114	3.460		
Total	454.992	119			

$$F = \frac{ms_B}{ms_w} = \frac{12.108}{3.460} = 3.499$$

$$\text{Sig} = F_{0.05,5,114} = 0.006$$

ค่า F มีค่ามากกว่า Sig($F_{0.05,5,114}$) จึงปฏิเสธ H_0 นั่นคือตัวอย่างเบียร์ทั้ง 6 ชนิดมีสีที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 หรือมีสีของเบียร์ตัวอย่างหนึ่งที่มีความหวานที่แตกต่างจากตัวอย่างอื่นตัวอย่างที่ 6 เบียร์ที่เติมน้ำผึ้ง เชื้อสายพันธุ์ C ที่ได้รับซิงค์ซัลเฟต 0.8 กรัมต่อลิตร ได้คะแนนมากที่สุด

ตารางที่ 6.4 การวิเคราะห์ทางสถิติของกลิ่นเปียร์

ANOVA

กลิ่น	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	24.667	5	4.933	1.660	.150
Within Groups	338.800	114	2.972		
Total	363.467	119			

$$F = \frac{ms_B}{ms_w} = \frac{4.933}{2.972} = 1.660$$

$$\text{Sig} = F_{0.05,5,114} = 0.150$$

ค่า F มีค่ามากกว่า Sig($F_{0.05,5,114}$) จึงปฏิเสธ H_0 นั่นคือตัวอย่างเปียร์ทั้ง 6 ชนิดมีกลิ่นที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 หรือมีกลิ่นของเปียร์ตัวอย่างหนึ่งที่มีกลิ่นที่แตกต่างจากตัวอย่างอื่น ตัวอย่างที่ 4 เปียร์ที่ไม่เติมแต่งใดๆ เชื้อสายพันธุ์ A ที่ได้รับซิงค์ซัลเฟต 0.8 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6.5 การวิเคราะห์ทางสถิติของรสชาติเบียร์

ANOVA

รสชาติ	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	12.500	5	2.500	.621	.684
Within Groups	459.200	114	4.028		
Total	471.700	119			

$$F = \frac{ms_B}{ms_W} = \frac{2.500}{4.028} = 0.621$$

$$\text{Sig} = F_{0.05,5,114} = 0.684$$

ค่า F มีค่าน้อยกว่า $\text{Sig}(F_{0.05,5,114})$ จึงยอมรับ H_0 นั่นคือตัวอย่างเบียร์ทั้ง 6 ชนิดมีรสชาติที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 หรือมีรสชาติของเบียร์ที่ไม่แตกต่างจากตัวอย่างอื่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6.6 การวิเคราะห์ทางสถิติของความชอบโดยรวมของเปียร์

ANOVA

ความชอบโดยรวม

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	18.742	5	3.748	.939	.459
Within Groups	455.250	114	3.993		
Total	473.992	119			

$$F = \frac{ms_B}{ms_w} = \frac{3.748}{3.993} = 0.939$$

$$\text{Sig} = F_{0.05,5,114} = 0.459$$

ค่า F มีค่ามากกว่า Sig($F_{0.05,5,114}$) จึงปฏิเสธ H_0 นั่นคือตัวอย่างเปียร์ทั้ง 6 ชนิดมีความชอบโดยรวมที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 หรือมีความชอบโดยรวมของเปียร์ตัวอย่างหนึ่งที่มีรสชาติที่ดีที่แตกต่างจากตัวอย่างอื่นตัวอย่างที่ 2 เปียร์ที่เติมใบสะระแหน่ เชื้อสายพันธุ์ B ที่ไม่ได้รับอาหารเสริมใด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวิเคราะห์ทางสถิติของเอทานอล

ตารางที่ 6.7 การวิเคราะห์ทางสถิติของเอทานอลในเปียร์ที่ไม่มีการเติมแต่งใดๆ

ANOVA

ethanol					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	195.989	20	9.799	8.536	.000
Within Groups	48.219	42	1.148		
Total	244.208	62			

$$F = \frac{ms_B}{ms_W} = \frac{9.799}{1.148} = 8.536$$

$$\text{Sig} = F_{0.05,20,42} = 0.000$$

ค่า F มีค่ามากกว่า Sig($F_{0.05,20,42}$) จึงปฏิเสธ H_0 นั่นคือตัวอย่างเปียร์ทั้ง 63 ชนิดมีค่าเอทานอลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 หรือมีเอทานอลของเปียร์ตัวอย่างหนึ่งที่มีความหวานที่แตกต่างจากตัวอย่างอื่น

ตารางที่ 6.8 การวิเคราะห์ทางสถิติของเอทานอลในเปียร์ที่เติมใบสะระแหน่

ANOVA

ethanol					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	59.814	20	2.991	2.825	.002
Within Groups	44.460	42	1.059		
Total	104.275	62			

$$F = \frac{ms_B}{ms_W} = \frac{2.991}{1.059} = 2.825$$

$$\text{Sig} = F_{0.05,20,42} = 0.002$$

ค่า F มีค่ามากกว่า Sig($F_{0.05,20,42}$) จึงปฏิเสธ H_0 นั่นคือตัวอย่างเปียร์ทั้ง 63 ชนิดมีค่าเอทานอลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 หรือมีเอทานอลของเปียร์ตัวอย่างหนึ่งที่มีความหวานที่แตกต่างจากตัวอย่างอื่น

ตารางที่ 6.9 การวิเคราะห์ทางสถิติของเอทานอลในเบียร์ที่เติมน้ำผึ้ง

ANOVA

ethanol					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	128.764	20	6.438	27.877	.000
Within Groups	9.700	42	.231		
Total	138.465	62			

$$F = \frac{ms_B}{ms_w} = \frac{6.438}{0.231} = 27.877$$

$$\text{Sig} = F_{0.05, 20, 42} = 0.000$$

ค่า F มีค่ามากกว่า Sig($F_{0.05, 20, 42}$) จึงปฏิเสธ H_0 นั่นคือตัวอย่างเบียร์ทั้ง 63 ชนิดมีค่าเอทานอลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 หรือมีเอทานอลของเบียร์ตัวอย่างหนึ่งที่มีความหวานที่แตกต่างจากตัวอย่างอื่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้