การผลิตเครื่องดื่มเบียร์จากข้าวเหนียวลืมผัว

BEER PRODUCTION FROM LEUM PUA STICKY RICE

คฑาธร ช่างเรือนกุล
พัชรพร เพ็ญศรี

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2560

การผลิตเครื่องดื่มเบียร์จากข้าวเหนียวลืมผัว

BEER PRODUCTION FROM LEUM PUA STICKY RICE

คฑาธร ช่างเรือนกุล
พัชรพร เพ็ญศรี

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2560

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

BEER PRODUCTION FROM LEUM PUA STICKY RICE

KATATORN CHANGRUNKUL
PATCHARAPORN PHENSRI

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE
(INDUSTRIAL MICROBIOLOGY)
DEPARTMENT OF BIOLOGY, FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2017

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การผลิตเครื่องดื่มเบียร์จากข้าวเหนียวลืมผัว Beer Production From Leum Pua Sticky Rice
ชื่อนักศึกษา	นาย คฑาธร ช่างเรือนกุล รหัสนักศึกษา 57050807 นางสาว พัชรพร เพ็ญศรี รหัสนักศึกษา 57050861
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชา	ชีววิทยา
ปีการศึกษา	2560
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.มงคล เพ็ญสายใจ

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2560

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.วีนา ชูโชติ ประธานกรรมการ	
รศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง กรรมการ	
ผศ.มงคล เพ็ญสายใจ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การผลิตเครื่องดื่มเบียร์จากข้าวเหนียวลืมผัว
ชื่อนักศึกษา นาย คฑาธร ช่างเรือนกุล รหัสนักศึกษา 57050807
นางสาว พัชรพร เพ็ญศรี รหัสนักศึกษา 57050861
ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชา ชีววิทยา
คณะ วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา 2560
อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.มงคล เพ็ญสายใจ

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาและผลิตเบียร์โดยใช้ข้าวเป็นส่วนประกอบ มีวัตถุประสงค์เพื่อลดต้นทุนการผลิตเบียร์และเพิ่มมูลค่าให้ข้าวไทย ซึ่งข้าวที่ใช้ในงานวิจัยนี้ คือ ข้าวเหนียวลืมผัว นำมาเพาะให้เป็นมอลต์โดยใช้เวลาในการทำให้งอกเป็นเวลา 4 วัน นำมาผลิตเบียร์ในถังขนาด 5 ลิตร พบว่า ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในน้ำเวิร์ตที่มีสัดส่วนของข้าวแตกต่างกับน้ำเวิร์ตที่มีมอลต์บาร์เลย์เพียงอย่างเดียว คือ มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มากกว่า การใช้สัดส่วนข้าว 50% ให้ปริมาณแอลกอฮอล์ 5.1% v/v เทียบเท่ากับปริมาณแอลกอฮอล์ที่พบในเบียร์ทางการค้า นอกจากนี้ปริมาณข้าวยังมีผลต่อค่า pH คือ เครื่องดื่มเบียร์ที่มีส่วนผสมของข้าวมากจะมีค่า pH ต่ำกว่าเบียร์ที่มีแต่มอลต์บาร์เลย์เพียงอย่างเดียว กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของเบียร์ที่มีส่วนผสมของข้าว 75% มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด การทดสอบทางประสาทสัมผัสของเบียร์กลิ่น พบว่า เบียร์ที่มีส่วนผสมของข้าว 25% และ75% ผู้ทดสอบพึงพอใจมากที่สุด ทางด้านสีเบียร์ที่มีส่วนผสมของข้าว 75% ผู้ทดสอบพึงพอใจมากที่สุด ทางด้านรสชาติและความชอบโดยรวม เบียร์ที่มีส่วนผสมของข้าว 25% ได้รับความพึงพอใจมากที่สุด

คำสำคัญ : กิจกรรมต้านอนุมูลอิสระ ข้าวเหนียวลืมผัว เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ เบียร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Beer Production From Leum Pua Sticky Rice
Students	Mr. Katatorn Changrunkul Student ID 57050807
	Miss Patcharaporn Phensri Student ID 57050861
Degree	Bachelor of Science (Industrial Microbiology)
Department	Biology
Faculty	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic Year	2017
Advisor	Asst.Prof.Mongkol Phensaijai

Abstract

In order to reduce the cost of beer production, using rice as major ingredient in brewing process was investigated and established. Productions of rice malt (Leum Pua) 4 day. Five-liters of beer productions, Reducing sugar of wort from 50% the ratio of rice malt a more than from malt barley, Alcohol content 5. 1% v/v is equal to the amount of alcohol found in commercial beers. Rice malt ratio influenced on the pH of beer. Antioxidant activity of beer from 75% the ratio of rice malt has the highest. Sensory score aroma of beer from 25% and 75% the ratio of rice malt has the highest, color is beer from 75% the ratio of rice malt has the highest, flovor and overall impression is beer from 25% the ratio of rice malt has the highest.

Keywords : Alcoholic beverages, Antioxidant activity, Beer, Black glutinous rice; Leum Pua

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษเรื่อง การผลิตเครื่องดื่มเบียร์จากข้าวเหนียวลืมผัว นี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องมาจากได้รับความกรุณาและความร่วมมือของทุกๆท่าน ขอขอบพระคุณ ผศ.มงคล เพ็ญสายใจ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษที่ให้ความช่วยเหลือตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ให้ข้อเสนอแนะ รวมถึงการติดตามความก้าวหน้าในการดำเนินการวิจัยเป็นอย่างดี ตลอดจนให้ความรู้ ให้คำรวมถึงคำแนะนำ ช่วยเหลือในการทำโครงงานพิเศษให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ผศ.วีนา ชูโชติ ประธานกรรมการ และ รศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง กรรมการสอบโครงงานพิเศษ ที่ให้ข้อคิดเห็นและคำแนะนำแก้ไขข้อบกพร่องเพื่อให้โครงงานพิเศษฉบับนี้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น ทางคณะผู้จัดทำขอขอบคุณมา ณ ที่นี้ด้วย

ขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ทุกท่านที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้เครื่องมือ อุปกรณ์และสารเคมี

ขอขอบพระคุณ บิดา-มารดา ที่คอยเลี้ยงดู อบรมสั่งสอน ให้คำแนะนำ สนับสนุนและคอยให้กำลังใจเป็นแรงผลักดันในการทำโครงงานพิเศษให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สุดท้ายนี้ทางคณะผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่าโครงงานพิเศษฉบับนี้จะเป็นประโยชน์แก่ผู้อ่าน หากโครงงานพิเศษฉบับนี้มีข้อผิดพลาดประการใดทางคณะผู้จัดทำต้องขออภัยมา ณ ที่นี้ด้วย

คฑาธร ช่างเรือนกุล
พัชรพร เพ็ญศรี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ข
กิตติกรรมประกาศ ..... ค
สารบัญ ..... ง
สารบัญตาราง ..... ช
สารบัญรูป ..... ซ
คำย่อ/สัญลักษณ์ ..... ฌ
บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย 1
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย 2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 3
2.1 เบียร์ 3
2.1.1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับเบียร์ 3
2.1.2 องค์ประกอบสำคัญในการผลิตเบียร์ 3
2.1.2.1 มอลต์ 3
2.1.2.2 ลักษณะคุณภาพของมอลต์ 4
2.1.2.3 ดอกฮ็อพ 5
2.1.2.4 น้ำ 6
2.1.2.5 ยีสต์ 6
2.1.3 การผลิตเบียร์ 9
2.1.3.1 การทำมอลต์ 9
2.1.3.2 การบดมอลต์ 10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.3.3 การทำแม็ชชิ่ง 10
2.1.3.4 การหมักเบียร์ 11
2.1.3.5 การบ่มเบียร์ 12
2.1.4 คุณค่าทางโภชนาการของเบียร์ 12
2.2 ข้าวเหนียวดำพันธุ์ลืมผัว 13
2.3 สารต้านอนุมูลอิสระและวิธีการตรวจสอบความสามารถในการเป็นตัวต้านอนุมูลอิสระ 14
2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 16
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย 20
3.1 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง 20
3.2 การผลิตมอลต์จากข้าวพันธุ์ลืมผัว 21
3.3 การเตรียมเชื้อยีสต์ 22
3.4 การผลิตเบียร์ 22
3.5 สภาวะที่ใช้ในการหมัก 23
3.6 การวิเคราะห์ 23
3.6.1 การวิเคราะห์แอลกอฮอล์โดยใช้ Ebulliometer 23
3.6.2 การวัดค่าความเป็นกรดด่างโดยใช้ pH meter 23
3.6.3 การวัดค่าสีของเบียร์ 23
3.6.4 วิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในเบียร์โดยวิธี DPPH assay 24
3.6.5 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดย DNS reagent 24
3.6.6 การวิเคราะห์รสสัมผัสของเบียร์ (Sensory) 25
3.7 การวิเคราะห์ทางสถิติ 25
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล 26
4.1 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในน้ำเวิร์ต 26
4.2 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และปริมาณแอลกอฮอล์ในน้ำเวิร์ตที่ผ่านการหมัก 27
4.3 การทำเครื่องดื่มเบียร์ในถังหมักขนาด 5 ลิตรและคุณภาพของเบียร์ 30
4.4 การทดสอบกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของเบียร์ 32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสเบียร์ที่มีส่วนผสมของข้าวเหนียวลืมผัว
ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน 33
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 35
5.1 สรุปผลการวิจัย 35
เอกสารอ้างอิง 37
ภาคผนวก 42
ภาคผนวก ก 43
ภาคผนวก ข 46
ภาคผนวก ค 50
ภาคผนวก ง 56

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

4.1 การทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสแบบ 9 point Hedonic scale Test ของเบียร์ที่มีส่วนผสมของข้าวเหนียวลืมผัวในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน 34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ **หน้า**

2.1 การก่อตัวของเอทานอล กลีเซอรอลและคาร์บอนไดออกไซด์จากกลูโคสโดยวิถี EmbdenMeyerhof-Parnas (EMP) 7
2.2 ข้าวเหนียวลืมผัว 14
2.3 โครงสร้างทางเคมีของวิตามินอี (α-tocopherol) 15
2.4 แสดงโครงสร้างทางเคมีของวิตามินซี (Ascorbic acid) 15
2.5 โครงสร้างทางเคมีของ DPPH - 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl 16
4.1 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในน้ำเวิร์ต 27
4.2 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ต่อปริมาณแอลกอฮอล์ในระหว่างการหมักเบียร์ที่มีอัตราส่วนมอลต์บาร์เลย์100% 28
4.3 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ต่อปริมาณแอลกอฮอล์ในระหว่างการหมักเบียร์ที่มีอัตราส่วนมอลต์บาร์เลย์ 75% ผสมกับมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว25%..... 28
4.4 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ต่อปริมาณแอลกอฮอล์ในระหว่างการหมักเบียร์ที่มีอัตราส่วนมอลต์บาร์เลย์ 50% ผสมกับมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว 50% 29
4.5 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ต่อปริมาณแอลกอฮอล์ในระหว่างการหมักเบียร์ที่มีอัตราส่วนมอลต์บาร์เลย์ 75% ผสมกับมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว 25% 29
4.6 แสดงปริมาณแอลกอฮอล์หลังเสร็จสิ้นกระบวนการหมักของเบียร์ 4 ตัวอย่าง 30
4.7 แสดงค่าสีเริ่มต้นและค่าสีวันที่ 24 ที่ความยาวคลื่น 430 นาโนเมตรของเบียร์ 4 ตัวอย่าง 31
4.8 แสดง pH เริ่มต้นและ pH วันที่ 24 ของเบียร์ 4 ตัวอย่าง 31
4.9 แสดง pH ในระหว่างการหมักเบียร์เป็นระยะเวลา 24 วัน 32
4.10 แสดงการต้านอนุมูลอิสระของเบียร์ 4 ตัวอย่าง 33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำย่อ/สัญลักษณ์

คำย่อ/สัญลักษณ์	คำอธิบาย
DMS	ไดเมททิล ซัลไฟด์ (Dimethyl Sulfite)
ATP	Adenosine triphosphate เป็นสารให้พลังงานสูงแก่เซลล์
CO_2	แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์
EBC	European Brewery Convention องค์กรที่เป็นตัวแทนด้านเทคนิคและวิทยาศาสตร์ของภาคการผลิตเบียร์ในยุโรป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

เบียร์จัดอยู่ในจำพวกเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ ที่มีมานานและได้รับความนิยมอย่างแพร่หลาย ซึ่งเบียร์ได้จากการหมักน้ำเวิร์ตโดยยีสต์ การผลิตเบียร์ส่วนใหญ่มักใช้มอลต์จากข้าวบาร์เลย์เป็นวัตถุดิบหลักและเป็นแหล่งอาหารของยีสต์เพื่อใช้ในการสร้างแอลกอฮอล์ซึ่งสามารถหาได้แต่ต้องสั่งซื้อจากต่างประเทศ และในหลายๆประเทศได้มีการนำข้าวต่างๆมาใช้แทนมอลต์บาร์เลย์ เช่น อเมริกาผลิตเบียร์ Tesgoino จากมอลต์ข้าวโพด อินเดียผลิตเบียร์ Zutho จากข้าวมอลต์และแอฟริกาผลิต Kaffir beer จากมอลต์ข้าวฟ่าง เป็นต้น (Teramoto *et al*., 2002) ซึ่งข้าวมีการเพาะปลูกมากกว่า 100 ประเทศทั่วโลก เป็นแหล่งอาหารที่สำคัญที่สุดมีผู้บริโภคเกินกว่าครึ่งหนึ่งของประชากรทั่วโลก แต่มีข้อจำกัดของการใช้ข้าวในการผลิตเบียร์ คือ ปริมาณแป้ง (starch) ที่ค่อนข้างสูงประมาณ 85-90%, ใช้อุณหภูมิในการเจลาติไนส์แป้งของข้าวที่สูง (70-85 องศเซลเซียส) และมีปริมาณโปรตีนต่ำ (5-8%) ซึ่งไม่เพียงพอต่อการเมตาบอลิซึมของยีตส์ (Kunze, 2004) แต่อย่างไรก็ตามโรงงานผลิตเบียร์ได้นำข้าวมาเป็นส่วนผสมเพื่อลดต้นทุนการผลิต ยิ่งไปกว่านั้นข้าวยังมีคุณสมบัติช่วยปรับปรุงกลิ่นและรสชาติของเบียร์ให้ดีขึ้น

ข้าวเป็นอาหารธัญพืชหลักของชาวเอเชีย โดยประเทศไทยเป็นประเทศที่มีการปลูกข้าวเป็นหลักและส่งออกข้าวได้มากเป็นอันดับต้นๆของโลก (หนึ่ง และคณะ, 2553) ดังนั้นข้าวจึงเป็นพืชที่น่าสนใจอย่างยิ่งในการศึกษาและนำมาผลิตเป็นเบียร์เพื่อพัฒนาข้าวให้มีมูลค่าเพิ่มโดยที่ผ่านมานั้นได้มีผู้ศึกษาการใช้ธัญพืชชนิดอื่นๆในการผลิตเบียร์ เช่น ข้าวสาลี, ข้าวฟ่าง, บัควีท รวมไปถึงข้าวแทน การใช้ข้าวบาร์เลย์เพื่อคิดค้นเบียร์รูปแบบใหม่ๆ สำหรับงานวิจัยนี้ได้ทำการผลิตเบียร์โดยนำข้าวเหนียวลืมผัวมาเพาะเป็นมอลต์และนำมาผสมกับมอลต์ข้าวบาร์เลย์เพื่อใช้สำหรับการทำเบียร์ เนื่องจากข้าวเหนียวลืมผัวมีคุณค่าทางโภชนาการสูงและมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวในกลุ่มโอเมกา3 โอเมกา 6 โอเมกา9 ธาตุเหล็ก แคลเซียม แมงกานีส วิตามินอีและแกมมาโอไรซานอล (ยศพร, 2559) จากนั้นนำไปวิเคราะห์คุณสมบัติต่างๆของเบียร์ที่ผลิตได้

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1) เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตมอลต์จากข้าวเหนียวลืมผัว
2) เพื่อศึกษากระบวนการหมักเบียร์และตัวแปรต่างๆ
3) เพื่อผลิตเบียร์ โดยใช้ข้าวเป็นส่วนประกอบและวิเคราะห์คุณสมบัติต่างๆของเบียร์ที่ผลิตได้
4) เพื่อปรับรสชาติใหม่ให้กับเบียร์เพื่อเพิ่มความหลากหลายและทางเลือกในการบริโภค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1) ทำการเพาะข้าวมอลต์และวิเคราะห์คุณภาพของเบียร์ที่ผลิตได้
2) ทำการวิเคราะห์คุณสมบัติของเบียร์รวมไปถึงคุณสมบัติของการงอกของข้าวเหนียวลืมผัว
3) ทำการหมักน้ำเวิร์ตในถังหมักปริมาตร 5 ลิตรและตรวจสอบเปอร์เซ็นต์ของแอลกอฮอล์
4) ทำการวิเคราะห์การต่อต้านอนุมูลอิสระในเบียร์ โดยวิธี DPPH assay
5) ทำการวิเคราะห์ Reducing sugar โดยใช้ DNS reagent

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1) สามารถเข้าใจถึงกระบวนการที่สำคัญในการเพาะข้าวเหนียวลืมผัวแล้วนำไปผลิตเป็นมอลต์เพื่อลดต้นทุนในการผลิตเบียร์ได้
2) สามารถทราบถึงคุณภาพด้านความสามาถในการต้านสารอนุมูลอิสระของข้าวเหนียวลืมผัวได้
3) สามารถผลิตเบียร์ที่มีรสชาติถูกปากโดยมีส่วนผสมจากข้าวเหนียวลืมผัว
4) สามารถลดการนำเข้าวัตถุดิบบางชนิดในการผลิตเบียร์
5) สามารถเพิ่มมูลค่าของข้าวไทย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 เบียร์

2.1.1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับเบียร์

เบียร์เป็นเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ประเภทหนึ่งมีต้นกำเนิดตั้งแต่ สมัย 4,000ปีก่อนคริสตกาลในแถบประเทศอียิปต์และดินแดนเมโสโปเตเมีย (Esslinger และ Narziss, 2009) จากนั้นเทคโนโลยีการผลิตเบียร์ได้ขยายตัวไปทางตะวันตกเข้าสู่ทวีปยุโรปและได้รับการพัฒนาขึ้นเป็นเครื่องดื่มที่สำคัญในทวีปยุโรปตั้งแต่โบราณเป็นต้นมา โดยเบียร์เป็นเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ที่เกิดจากกระบวนการหมักน้ำเวิร์ต ซึ่งน้ำเวิร์ตนี้จะเตรียมจากวัตถุดิบจำพวกแป้ง ดอกฮอพ ยีสต์ และน้ำ การผลิตเบียร์ในประเทศเยอรมันมักผลิตจากมอลต์ที่มาจากข้าวบาร์เลย์เท่านั้น ส่วนในประเทศอื่นๆจะมีการนำแหล่งคาร์โบไฮเดรตต่างๆจากมอลต์ธัญพืชชนิดอื่นที่ไม่ใช่ข้าวบาร์เลย์มาใช้สำหรับการผลิตเบียร์ เช่น นำข้าวสาลีมาผลิต White beer อเมริกาผลิตเบียร์ Tesgoino จากมอลต์ข้าวโพด อินเดียผลิตเบียร์ Zutho จากข้าวมอลต์และแอฟริกาผลิต Kaffir beer จากมอลต์ข้าวฟ่าง เป็นต้น (Teramoto *et al.*, 2002) นอกจากนั้นยังมีการใช้แอ็ดจังท์ ซึ่งมีวัตถุประสงค์หลักเพื่อลดค่าใช้จ่ายให้ต่ำลง โดยการใช้คาร์โบไฮเดรตชนิดอื่นที่มีราคาถูกกว่ามอลต์ โดยแอ็ดจังท์เป็นคาร์โบไฮเดรตอื่นๆที่เติมลงไปเพื่อเจือจางโปรตีนของมอลต์และในขณะเดียวกันจะไปเพิ่มปริมาณน้ำตาลซึ่งส่วนใหญ่จะถูกเปลี่ยนเป็นแอลกอฮอล์โดยสารดังกล่าวอาจเป็น น้ำตาล น้ำเชื่อมและธัญพืช เช่น ข้าวโพด ข้าวโอ๊ต ข้าวฟ่าง ข้าวและข้าวสาลี อาจมีการใช้พืชหัว เช่น มันสำปะหลังและมันฝรั่ง (ก่อเกียรติ, 2551)

2.1.2 องค์ประกอบสำคัญในการผลิตเบียร์

2.1.2.1 มอลต์

มอลต์เป็นวัตถุดิบหลักในการผลิตเบียร์ (Catarino, 2010) ซึ่งเป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตเมื่อย่อยสลายแล้วคาร์โบไฮเดรตจะให้น้ำตาลสำหรับหมักเป็นเอทิลแอลกอฮอล์หรือ เอทานอล และมีเอนไซม์ย่อยโปรตีน ซึ่งย่อยสลายโปรตีนให้กรดอะมิโน ซึ่งเป็นธาตุอาหารสำหรับการเจริญและเมแทบอลิซึมของยีสต์ นอกจากนั้นมอลต์เป็นสิ่งสำคัญต่อรสชาติของเบียร์ องค์ประกอบของมอลต์ส่วนใหญ่เป็นคาร์โบไฮเดรตที่ประกอบด้วยเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส เดกซ์ทริน แป้ง และน้ำตาล ซึ่งเซลลูโลสไม่ได้ถูกหมักหรือให้รสชาติกับเบียร์ ส่วนเฮมิเซลลูโลสซึ่งเป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์ของเอนโดสเปิร์ม ซึ่งประกอบไปด้วยเบตา-กูลแคนเป็นส่วนใหญ่ เดกซ์ทรินเป็นส่วนที่ไม่สามารถหมักได้เช่นกัน สำหรับแป้งมีประมาณ 40–60% ของน้ำหนักมอลต์ ประกอบด้วยอะไมโลสที่ถูกรีดิวซ์เป็นมอลโทส และมอลโทไทรโอส และอะไมโลเพกตินที่ถูกย่อยสลายเป็นกลูโคสและเดกซ์ทริน ส่วน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำตาลที่พบมีทั้งกลูโคส (ประมาณ 1–2% ของแป้งทั้งหมด) มอลโทส ซูโครส และไตรแซ็กคาไรด์ที่มีมากคือ มอลโทไทรโอสซึ่งถูกหมักอย่างช้าๆโดย Brewing yeast (สาวิตรี, 2549)

มอลต์ที่ใช้ในการผลิตเบียร์ส่วนใหญ่เป็นข้าวบาร์เลย์โดยข้าวบาร์เลย์เป็นแหล่งที่พบน้ำตาลที่ใช้ในการหมักเบียร์ (fermentable sugars) มากที่สุด เป็นเมล็ดของพืชตระกูลหญ้า *Gramineae*. ซึ่งมอลต์ข้าวบาร์เลย์มาจากการเพาะเมล็ดข้าวบาร์เลย์ให้แตกหน่อ (งอก) ให้มีความยาวของรากตามที่ต้องการแล้วตัดรากออก จากนั้นอบแห้งให้เมล็ดมีสีที่เฉพาะ เมล็ดเหล่านี้ประกอบด้วยหน่อซึ่งเป็นส่วนที่งอกออกมาและเอนโดสเปิร์ม ซึ่งเป็นแป้งหรือแหล่งอาหารสำรองสำหรับการงอกของเอ็มบริโอ โดยทั้งสองส่วนถูกหุ้มด้วยเปลือกซึ่งเป็นเซลลูโลสเกือบทั้งหมด รากแท้เป็นส่วนของพืชที่กำลังพัฒนากลายเป็นยอดที่โผล่ขึ้นเหนือพื้นดิน การเจริญของหน่อ ความยาวของรากแท้จะใช้เป็นดัชนีบอกความเจริญของมอลต์

ข้าวบาร์เลย์ที่ใช้ในการผลิตเบียร์แบ่งได้เป็น 2 ชนิด คือ ข้าวบาร์เลย์สองแถวและข้าวบาร์เลย์หกแถว ข้าวบาร์เลย์สองแถวมีปริมาณโปรตีนและเอนไซม์ต่างๆต่ำ คาร์โบไฮเดรตสูง เปลือกเมล็ดบางกว่าและมีปริมาณสารกลุ่ม โพลีฟีนอล เช่น แทนนิน ต่ำกว่าแต่จะมีเมล็ดที่ใหญ่กว่าและให้ผลผลิตสูงกว่าหกแถว ซึ่งปริมาณโปรตีน คาร์โบไฮเดรตและ โพลีฟีนอล ทั้งสามส่วนนี้จะมีผลต่อคุณภาพของเบียร์แต่ละชนิดที่ใช้ผลิต (Wolfe *et al.*, 2016)

2.1.2.2 ลักษณะคุณภาพของมอลต์

นอกจากข้าวบาร์เลย์แล้วเมล็ดธัญพืชอื่นๆก็สามารถนำมาทำมอลต์ได้ เช่น ข้าวสาลี ข้าวไรย์ และข้าวโพด เนื่องจากมีคุณสมบัติที่เหมาะสมในการผลิตมอลต์ได้ดี (เรวัติ, 2535) แต่ในปัจจุบันข้าวบาร์เลย์ยังเป็นที่นิยมที่สุดในการทำมอลต์ ธัญพืชที่นำมาผลิตมอลต์ต้องมีกิจกรรมการลดลงของแป้งสูงที่สุดในระหว่างการทำมอลต์ มีปริมาณโปรตีนต่ำเนื่องจากปริมาณไนโตรเจนในโปรตีนที่สูงไม่เหมาะสำหรับการทำมอลต์เพราะจะทำให้เบียร์ขุ่น อาจเกิดเป็นอาหารสำหรับแบคทีเรีย และคุณภาพการเก็บของเบียร์ลดต่ำลง (ปาริฉัตร, 2542) มอลต์ข้าวบาร์เลย์ที่ดีตามมาตรฐานสากลที่นำไปใช้ในการผลิตเบียร์ต้องมีความชื้นในเมล็ดต่ำกว่า 12.00%, ควรมีปริมาณโปรตีน 9.00 ถึง11.50% มีความแข็งแรงและมีการงอกไม่ต่ำกว่า 98% ภายใน 3 วันและมีองค์ประกอบทางเคมีในเมล็ด ได้แก่ กลูโคส 3.5–7.0%, ไขมัน 2.0–3.0% และเถ้า 2.5–3.5% เป็นต้น (Brummer, 1990) คุณภาพที่ต้องการในมอลต์ขึ้นอยู่กับการนำไปใช้ โดยทั่วไปควรเป็นมอลต์ที่ให้มอลต์สกัดในปริมาณสูง มีโปรตีนละลายน้ำได้ ในสัดส่วนที่ถูกต้องมีส่วนประกอบของเอนไซม์ที่ย่อยแป้งได้ดีและควรมีจำนวนองค์ประกอบที่ไม่ต้องการอยู่ในระดับต่ำด้วย เช่น เบตา-กลูแคน, โพลีฟีนอล และ ไดเมททิล ซัลไฟด์ โดยชนิดของมอลต์ที่แตกต่างกันก็จะมีองค์ประกอบ กลิ่น รส และสีที่ต่างกันด้วย (Edney, 1996)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.2.3 ดอกฮ็อพ (Hop : *Humulus lupulus*)

ฮ็อพเป็นพืชชนิดหนึ่งให้กลิ่นรสขมและป้องกันการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในกระบวนการหมักที่นิยมใส่ลงไปในเบียร์ (Catarino, 2010) เป็นพืชพันธุ์ไม้เลื้อย ดอกฮ็อพประกอบด้วยกลีบดอกซ้อนๆกัน ภายในจะมีเกสรสีเหลือง เรียกว่า ลูพูลิน มีสารเรซินประกอบด้วย กรดแอลฟ่า และน้ำมันหอมระเหยที่มีส่วนช่วยสร้างความขม รส และกลิ่นหอมในเบียร์

สารจากกรดแอลฟ่าที่อยู่ในฮ็อพจะทำให้เกิดความขม แบ่งได้เป็น Humulone, Cohumulone, และ Adhumulone ปกติแล้วกรดแอลฟ่าเป็นสารที่ไม่ละลายในเวิร์ตโดยธรรมชาติ แต่เมื่อมีการต้มเวิร์ตเกิดขึ้น กรดแอลฟ่าที่อยู่ในเวิร์ตจะเริ่มทำปฏิกิริยา เรียกว่า ไอโซเมอไรเซชัน และหลังจากต้มจะได้สาร Iso-alpha acid เป็นตัวให้ความขมให้กับเบียร์ น้ำมันหอมระเหยที่มีส่วนช่วยในรสชาติและกลิ่นหอมของเบียร์สำเร็จรูปประกอบด้วยสารประกอบหลายสิบชนิดสารเหล่านี้จะระเหยจึงไม่ควรใช้เวลาในการต้มนาน ด้วยเหตุนี้จึงมีการใส่ฮ็อพที่ช่วยเพิ่มรสชาติและกลิ่นหอมในช่วง 30 นาทีสุดท้ายของการต้ม (Wolfe *et al.*, 2016)

ฮ็อพสามารถจำแนกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ กลุ่มที่ให้ความขม และกลุ่มที่ให้กลิ่นรส (Aroma hop) ในดอกฮ็อพมีสารสำคัญที่มีผลต่อความขมและรส ได้แก่ สารกลุ่มเรซิน ซึ่งสามารถแบ่งสารเรซินออกได้เป็น 2 กลุ่มตามความสามารถในการละลาย กลุ่มแรก คือ Hard resin ไม่มีผลต่อคุณภาพของเบียร์อีกกลุ่ม คือ Soft resin ซึ่งเป็นส่วนที่ให้กลิ่น รส และความขม รวมไปถึงบทบาทในการเป็นสารป้องกันการเน่าเสีย ใน Soft resin มีสารสำคัญอีกสองชนิด คือ กรดแอลฟ่า และกรดเบตา 90% ของความขมเป็นผลมาจากสารกลุ่มแอลฟ่า ดังนั้นจะพบว่า ฮ็อพที่ให้ความขมจะมีปริมาณกรดแอลฟาสูงกว่าฮ็อพที่ให้กลิ่นรส ในการผลิตเบียร์บางชนิดใส่ ฮ็อพที่ให้ความขมในช่วงแรกที่มีการต้มทำให้เรียกว่า Kettle hopping หรือ Bitter hopping และใส่ฮ็อพที่ให้กลิ่นรสในขั้นตอนสุดท้ายของการต้ม ซึ่งบางครั้งเรียกขั้นตอนนี้ว่า Late hopping นอกจากนี้ส่วนที่เป็นน้ำมันของดอกฮ็อพก็เป็นอีกส่วนหนึ่งที่ส่งผลต่อกลิ่นของเบียร์โดยเฉพาะความรู้สึกกลมกล่อม ปริมาณน้ำมันดอกฮ็อพอยู่ในช่วง 0.5-3.0% โดยมีองค์ประกอบหลักไฮโดรคาร์บอนเป็น Myreene, Humulene และ Caryophyllene ในฮ็อพที่ให้กลิ่นรสมี Myreneต่ำแต่ Humuleneสูง ส่วนฮ็อพที่มีปริมาณ Myreene ที่สูงเกินไปไม่เหมาะที่จะนำมาทำเบียร์เพราะจะก่อให้เกิดรสชาติไม่พึงประสงค์ (หนึ่ง และคณะ, 2553) สารอีกกลุ่มหนึ่งที่มีความสำคัญในดอกฮ็อพ คือ สารกลุ่ม โพลีฟีนอล ซึ่งประกอบไปด้วย แอนโธไซยาโนเจน แทนนิน และ แคเทชิน สารกลุ่มนี้จะทำหน้าที่เป็นสารแอนตี้ออกซิแดนท์ซึ่งช่วยป้องกันปฏิกิริยาออกซิเดชันในเบียร์ได้ (อุลัยวรรณ์, 2554)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.2.4 น้ำ

ในเบียร์ประกอบด้วยน้ำ 85-90% ส่วนที่เหลือเป็นสารประกอบที่ได้จากมอลต์ ฮ็อพและยีสต์ซึ่งในน้ำประปาส่วนใหญ่จะมีคลอรีนเพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียดังนั้นควรมีการกำจัดคลอรีนออกไปเพื่อให้เบียร์ที่ผลิตมีคุณภาพสูงขึ้น (Wolfe *et al.*, 2016) คุณภาพของน้ำจะส่งผลให้คุณภาพและวัตถุประสงค์ในการเลือกผลิตชนิดของเบียร์แตกต่างกันออกไป เช่น น้ำกระด้างที่มีปริมาณแคลเซียมและซัลเฟตสูงนิยมใช้ผลิตเบียร์ประเภท Pale หรือ น้ำที่มีคาร์บอเนตสูงเหมาะสำหรับผลิตเบียร์ดำ หรือ ลาเกอร์ ส่วนแร่ธาตุอื่นๆในน้ำที่มีผลต่อคุณภาพของเบียร์ ได้แก่ แคลเซียมอิออน จะทำปฏิกิริยากับสารกลุ่มฟอสเฟตทำให้เกิดเป็นตะกอน และการปลดปล่อยไฮโดรเจนอิออนทำให้ค่า pH ต่ำลงส่งผลต่อประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์อะไมเลส, เบตา-อะไมเลสและกลุ่มโปรติโอไลติกเอนไซม์ แมกนีเซียมอิออนมีผลต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมของยีสต์ที่ใช้ หมัก โซเดียมอิออนมีผลต่อการส่งเสริมความหวานของเบียร์ (หนึ่ง และคณะ, 2553)

2.1.2.5 ยีสต์

ยีสต์ที่ใช้ในกระบวนการหมักเบียร์ (Brewer's yeast) ส่วนใหญ่มาจากสกุล *Saccharomyces* สามารถใช้น้ำตาลในการเจริญและหมักไปเป็นเอทานอล ดังสมการ (Bamforth, 2007)

$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 2C_2H_5OH + 2CO_2$$

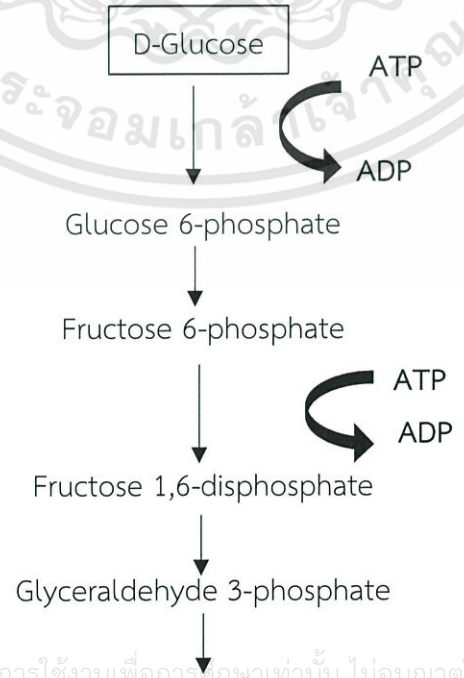
โดยทั่วไปใช้ยีสต์สายพันธุ์ ale ที่รู้จักกันในชื่อ *S. cerevisiae* หรือ ใช้ยีสต์สายพันธุ์ลาเกอร์ที่รู้จักในชื่อ *S. pastorianus* (ชื่อเดิมคือ *S. carlsbergensis* หรือ *S. uvarum*) ตามลักษณะของเบียร์ที่ต้องการ ซึ่งยีสต์เหล่านี้แตกต่างกันที่อุณหภูมิในการหมัก ความสามารถในการหมักน้ำตาลที่แตกต่างกัน ความสามารถในการตกตะกอนหลังเสร็จสิ้นกระบวนการหมักและผลิตภัณฑ์หรือผลพลอยได้ ของการหมักหลังการเมทาบอลิซึม สภาวะแวดล้อมและความทนทานของยีสต์แต่ละชนิดแตกต่างกัน ได้แก่ ความทนต่อแอลกอฮอล์ซึ่งความทนทานต่อแอลกอฮอล์อธิบายว่ายีสต์แต่ละสายพันธุ์จะยังคงหมักต่อเนื่องได้ดีเพียงใดเนื่องจากความเข้มข้นของแอลกอฮอล์เพิ่มขึ้นในระหว่างการหมัก ส่วนใหญ่ลาเกอร์ยีสต์สามารถหมักแอลกอฮอล์ประมาณ 8% โดยปริมาตรและเอลยีสต์บางสายพันธุ์สามารถหมักได้ถึง 12% ความต้องการของออกซิเจนซึ่งยีสต์แต่ละสายพันธุ์ต้องการออกซิเจนอาจแตกต่างกันบางชนิดต้องการออกซิเจนมากขึ้นเพื่อให้สามารถหมักได้โดยไม่มีปัญหาและความไวต่อองค์ประกอบน้ำเวิร์ตโดยน้ำเวิร์ตที่แตกต่างกันจะมีปริมาณน้ำตาลที่แตกต่างกันซึ่งยีสต์สายพันธุ์ต่างกันจะหมักน้ำเวิร์ตได้ต่างกัน

ผลพลอยได้ที่เกิดจากการผลิตและยังเมทาบอไลซ์โดยยีสต์ ได้แก่ เอสเทอร์ (รวมแอลกอฮอล์อินทรีย์และฟูเซลแอลกอฮอล์) ซึ่งมีอะตอมของคาร์บอนมากกว่าแอลกอฮอล์ เอทานอลผลิตขึ้นโดยการเผาผลาญของกรดอะมิโน ไดอะซิทิล และสารประกอบซัลเฟอร์ สารทั้งหมดเหล่านี้เป็นตัวที่ทำให้เบียร์มีกลิ่นหอมผลไม้ กระบวนการหมักเบียร์แบ่งเป็น 2 ประเภท ได้แก่

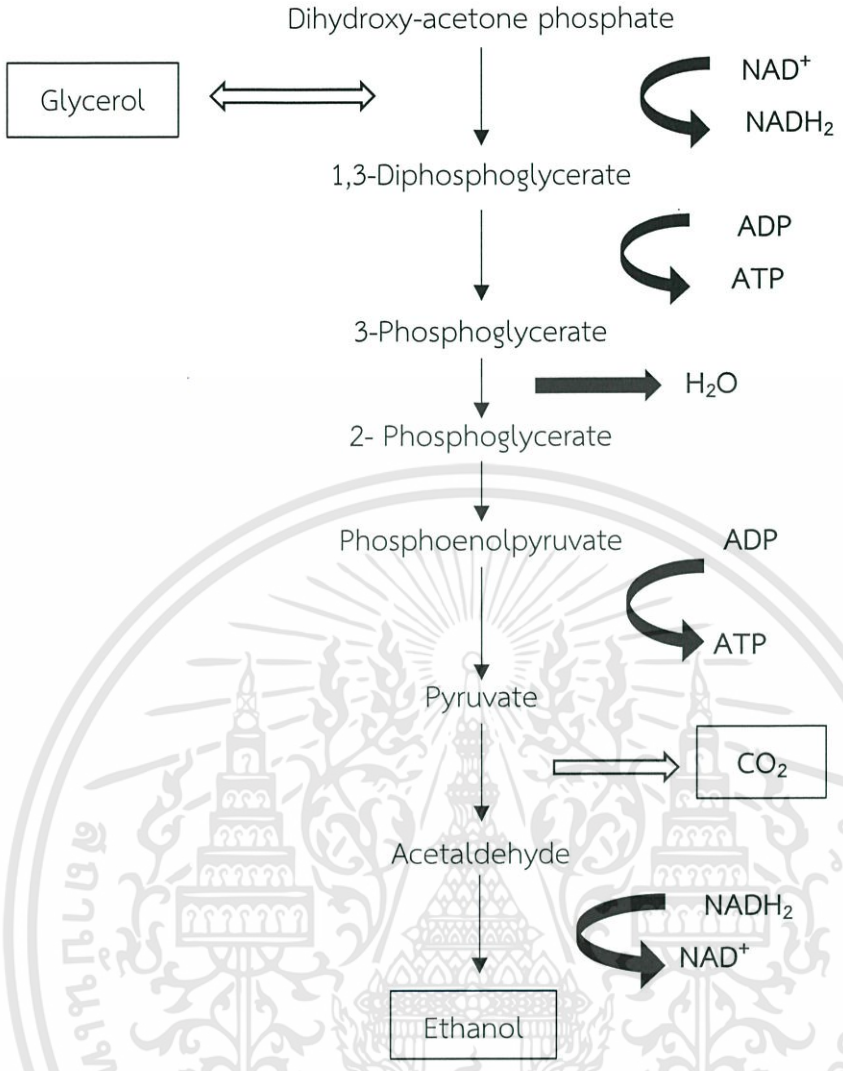
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. Top-ferment ซึ่งเป็นยีสต์ในจีนัส *Saccharomyces cerevisiae* บางครั้งเรียก เอล ยีสต์ นิยมใช้ในการผลิตเบียร์ประเภท เอล สเตาท์ และเบียร์ที่ทำจากข้าวสาลี ทำงานได้ดีที่สุดในช่วงอุณหภูมิ 55-75 องศาฟาเรนไฮต์ (13-24 องศาเซลเซียส) ยีสต์เหล่านี้สามารถหมักน้ำตาลกลูโคส ฟรุคโตส มอลโตส ซูโครส มอลโทไทรโอส ไซลูโลส แมนโนส และกาแลคโตสได้อย่างเต็มที่และหลังจากเสร็จสิ้นกระบวนการหมักยีสต์เหล่านี้จะรวมตัวกันลอยขึ้นไปบริเวณผิวหน้าของเบียร์
2. Bottom–ferment เป็นยีสต์ในจีนัส *S. pastorianus* (ชื่อเดิม *S. Calbergenesis* หรือ *S. uvarum*) บางครั้งเรียก ลาเกอร์ยีสต์ นิยมใช้ในการผลิตเบียร์ประเภท Pilsner, ลาเกอร์ และ American malt liquors ทำงานได้ดีที่สุดในช่วงอุณหภูมิ 46-56 องศาฟาเรนไฮต์ (8-13 องศาเซลเซียส) ลาเกอร์ยีสต์สามารถหมักราฟฟิโนสนอกเหนือจากน้ำตาลที่หมักโดยเอลยีสต์เบียร์และหลังจากเสร็จสิ้นกระบวนการหมักยีสต์เหล่านี้จะรวมตัวกันตกลงสู่ก้นถังหมัก (Wolfe *et al.*, 2016)

คุณสมบัติทั่วไปที่พบในยีสต์ เช่น การหมักแอลกอฮอล์และการเจริญเติบโตโดยการแตกหน่อ มีการเพาะเลี้ยงยีสต์ในสารละลายน้ำตาลที่เป็นกรด (acidic aqueous sugary solution) เรียกว่า เวิร์ต โดยเตรียมได้จากมอลต์บาร์เลย์และธัญพืชอื่นๆ เช่น ข้าวโพด ข้าวสาลี ข้าวฟ่าง อ้อย อีกทั้งยังมีน้ำตาลอ้อยและน้ำตาลบีท เซลล์ดูดซึมน้ำตาลที่ละลายได้ ไนโตรเจน (กรดอะมิโน ไอออนแอมโมเนียมและเปปไทด์ขนาดเล็ก) วิตามินและไอออนผ่านพลาสมาเมมเบรน ต่อมายีสต์จะใช้ปฏิกิริยาที่เรารู้จักกันดีเป็นกระบวนการเผาผลาญสารอาหาร (ไกลโคไลซิส การสังเคราะห์องค์ประกอบของเซลล์ เป็นต้น) และใช้สารอาหารเหล่านี้สำหรับการเจริญเติบโตและการหมัก สิ่งสำคัญคือผลิตภัณฑ์หลักของไกลโคไลซิส ได้แก่ เอทานอล, กลีเซอรอลและคาร์บอนไดออกไซด์ (รูปที่ 1) (Stewart, 2016)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.1 การก่อตัวของเอทานอล กลีเซอรอลและคาร์บอนไดออกไซด์จากกลูโคสโดยวิถี Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) (Stewart, 2016)

วงจรชีวิตของยีสต์

เมื่อยีสต์ถูกใส่ลงไปในน้ำเวิร์ตกระบวนการหมักโดยรวมสามารถแบ่งออกเป็นหลายขั้นตอนซึ่งทั้งหมดนี้เป็นส่วนหนึ่งของวงจรชีวิต เวลาที่ใช้ในแต่ละเฟสขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น องค์ประกอบของเวิร์ต สภาพแวดล้อมและปริมาณยีสต์ตั้งต้น

ระยะแรกของวงจรจะเรียกว่า Lag phase ในระยะนี้ยีสต์จะปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมและเริ่มสร้างเอนไซม์ไว้สำหรับการเจริญและหมักน้ำตาลในน้ำเวิร์ต ยีสต์จะใช้พลังงานสำรองซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรต ไกลโคเจน ยีสต์จะปรับสภาพตัวเองและประเมินระดับออกซิเจนที่ละลายรวมทั้งปริมาณกรดอะมิโนและปริมาณรวมของน้ำตาลทั้งหมดบางส่วนของกรดอะมิโนเหล่านี้ที่เป็นกลุ่มย่อยของกรดอะมิโน ที่เรียกว่า เปปไทด์ และน้ำตาลจะถูกนำเข้ามาภายในเซลล์เพื่อใช้ในการแบ่งเซลล์โดยปกติช่วงเวลาของระยะนี้สั้นมาก แต่ถ้ายีสต์ไม่แข็งแรงระยะเวลานี้สามารถยืดเยื้อได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มากและจะทำให้เกิดปัญหาในการหมัก. จากปัจจัยเหล่านี้ยีสต์จะเข้าสู่เฟสถัดไปของวงจรชีวิต คือ Accelerating phase บางครั้งเรียกว่า Low kräusen stage ในระยะนี้ยีสต์จะเริ่มแบ่งตัวโดยการแตกหน่อเพื่อให้ได้ความหนาแน่นที่เหมาะสมสำหรับการหมักที่แท้จริงซึ่งอัตราการแบ่งเซลล์เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องในช่วงนี้ถ้ามียีสต์แข็งแรงที่เพียงพอและมีสารอาหารที่เหมาะสม ต่อมาในระหว่าง Exponential phase ยีสต์จะมีอัตราการเจริญเติบโตคงที่ในอัตราสูงสุดที่กำหนดโดยสายพันธุ์ยีสต์ อุณหภูมิและองค์ประกอบเวิร์ต ระยะนี้เรียกอีกอย่างว่า Logarithmic (Log) หรือ High kräusen phase ยีสต์ปรับตัวให้เข้ากับสภาวะของเวิร์ตและจะเกิดการขนส่งทั้งกรดอะมิโนและน้ำตาลเข้าไปในเซลล์สำหรับการเผาผลาญสารอาหาร ในช่วงเวลานี้เอสเทอร์จะเกิดขึ้นจากเอสเทอริฟิเคชันของกรดไขมันโดยเอทานอลและอาจเป็นเอสเทอริฟิเคชันของ Higher alcohols, ฟูเซลแอลกอฮอล์ สามารถผลิตได้โดยการเปลี่ยนกรดอะมิโนไปเป็น Higher alcohols โดยกระบวนการดีแอมิเนชัน ดีคาร์บอกซีเลชัน และรีดักชัน ขั้นที่สี่ของวงจรชีวิตของยีสต์ คือ Deceleration phase หรือ Late kräusen phase ในช่วงนี้ยีสต์จะมีอัตราการเติบโตค่อยๆลดลงเมื่อถึงจุดนี้ เอลยีสต์จะมีการเมทาบอไลซ์น้ำตาลส่วนใหญ่ที่อยู่ในเวิร์ต ส่วนลาเกอร์ยีสต์จะกลับกันคือมีการลดการสกัดลงและเป็นสิ่งสำคัญเนื่องจากในช่วงเวลานี้ยีสต์เริ่มเผาผลาญผลพลอยได้ของกระบวนการหมักซึ่งก่อนหน้านี้มีการขับออกมาใน Low kräusen phase. ขั้นสุดท้าย คือ Stationary phase เป็นช่วงที่จำนวนของเซลล์ยีสต์ยังคงที่และเริ่มเกิดการลดลง เกิดการแขวนลอยของยีสต์เป็นช่วงที่เหมาะสมในการเกิดกระบวนการหมักครั้งที่ 2 ซึ่งช่วยลดสารสกัดที่เหลืออยู่มักประกอบด้วย Trace sugars นอกจากนี้การกำจัดยีสต์ส่วนเกินจะช่วยป้องกันการก่อตัวของรสชาติที่ไม่พึงประสงค์ (Wolfe *et al.*, 2016)

2.1.3 การผลิตเบียร์

2.1.3.1 การทำมอลต์

กระบวนการผลิตมอลต์ เป็นขั้นตอนในการเตรียมวัตถุดิบสำคัญสำหรับกระบวนการผลิตเบียร์ เริ่มต้นด้วยนำข้าวบาร์เลย์ที่คัดเลือกมาทำความสะอาด กำจัดเศษดินทรายแล้วมาทำการแช่น้ำ โดยการแช่ข้าวมีวัตถุประสงค์เพื่อทำให้ข้าวมีความชื้นที่สูงขึ้น เพื่อทำให้เกิดความเหมาะสมในขั้นตอนการงอกต่อไป โดยปกติแล้วความชื้นที่เหมาะสมที่สุดในการงอกของข้าวนั้นอยู่ที่ประมาณ 35% (Gamlatha *et al.*, 2008) เพื่อกระตุ้นให้เกิดกระบวนการเมตาบอลิซึมในเมล็ด มีการเปลี่ยนน้ำที่แช่เป็นระยะเพื่อรักษาความสะอาด เพิ่มการให้ออกซิเจนของเมล็ดและกำจัดคาร์บอนไดออกไซด์ ทั่วไปจะใช้เวลา 40 ชั่วโมงมีการเปลี่ยนน้ำ 3-4 ครั้ง การแช่จะสมบูรณ์เมื่อสังเกตเห็นว่าเมล็ดมีการงอกและมีลักษณะพองหรือบวมขึ้น 1/3-1เท่าของขนาดเดิม จากนั้นจะเข้าสู่ขั้นตอนถัดไปคือการทำให้เมล็ดงอก ซึ่งจะมีการควบคุมอุณหภูมิและความชื้นให้พอเหมาะ ในขณะที่เมล็ดมีการงอกจะเกิดการเปลี่ยนแปลงต่างๆ เช่น การทำงานของกลุ่มไฮโดรไลติกเอนไซม์ เกิดการสังเคราะห์สารต่างๆขึ้นใหม่ ช่วงระยะเวลาการงอกที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 3-5 วัน จากนั้นจะนำเมล็ดที่งอกไปทำให้หยุดการงอกด้วยการอบแห้ง วัตถุประสงค์ของการอบมอลต์ คือ ลดปริมาณความชื้นในมอลต์ทำได้โดยผ่านลมร้อนเข้าไปในเมล็ดมอลต์เพื่อดึงเอาความชื้นออกมา การลดลงของความชื้นในมอลต์ช่วยชะลอกิจกรรมของเอนไซม์ที่มีในมอลต์อีกทั้งยังเพิ่มอายุการเก็บมอลต์ นอกจากนี้กระบวนการอบมอลต์ยังช่วยทำให้เกิดการสร้างสีและกลิ่นเฉพาะในผลิตภัณฑ์เบียร์ซึ่งเกิดจากกระบวนการเมลลาร์ด (Maillard

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

reaction) (Palmer, 2006) และยังเป็นการหยุดการเมทาบอลิซึมและทำให้มีลักษณะทางกายภาพของเมล็ดค่อนข้างกรอบเพื่อสะดวกในการบด โดยขั้นตอนการอบแห้งสามารถใช้อุณหภูมิและเวลาต่างกันได้ขึ้นอยู่กับชนิดของเบียร์ที่ต้องการผลิต จากนั้นจะกำจัดส่วนที่เป็นรากที่งอกทิ้งไป นำเมล็ดที่ต้องการมาทำความสะอาดอีกครั้งก่อนนำไปใช้ในขั้นตอนต่อไปซึ่ง เมล็ดบาร์เลย์ที่ผ่านกระบวนการดังกล่าวจะเรียกว่า มอลต์ (Briggs, 1998) ปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพของมอลต์จากธัญพืชต่างๆที่มีการศึกษากันอยู่ ได้แก่ ระยะเวลาการแช่น้ำ อุณหภูมิในการแช่น้ำ วิธีการแช่น้ำ อุณหภูมิในการงอก ระยะเวลาในการงอก โดยพบว่าธัญพืชแต่ละชนิดต้องการสภาวะในการงอกที่ต่างกันออกไปรวมถึงธัญพืชเดียวกันแต่คนละสายพันธุ์ต้องการสภาวะการงอกที่ต่างกันด้วย (หนึ่ง และคณะ, 2553)

2.1.3.2 การบดมอลต์ (Malt milling)

การบดมอลต์คือการแยกเปลือก (แกลบ) เพื่อให้เอนโดสเปิร์มที่เป็นแป้งเปิดออก การบดเป็นผงทำให้เกิดการสกัดอย่างมีประสิทธิภาพและการกรองเวิร์ตที่มีประสิทธิภาพ การบดมอลต์อาจทำโดยวิธีการบดแห้งและการบดเปียก สำหรับการบดมอลต์ที่ใช้มากเพื่อการผลิตเบียร์คือ การบดแห้งโดยใช้เครื่องบดชนิดลูกกลิ้งในการบด (สาวิตรี, 2549)

2.1.3.3 การทำแม็ชชิ่ง

แม็ชชิ่งเป็นกระบวนการเปลี่ยนแป้งในมอลต์ให้เป็นน้ำตาล (สาวิตรี, 2549) และสารอาหารต่างๆจากข้าวมอลต์ที่บดโดยการนำมาต้มที่อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมเพื่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีและกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ที่สำคัญในข้าวมอลต์ซึ่งมีอยู่ 3 กลุ่ม ได้แก่

1. กลุ่มเอนไซม์ phytase มีบทบาทในการควบคุม pH โดยเฉพาะในขั้นตอนที่หมักด้วยยีสต์
2. กลุ่มโปรติโอไลติกเอนไซม์ ได้แก่ โปรติเนส และเปปติเดส จะเป็นตัวย่อยสลายโมเลกุลของโปรตีนที่มีขนาดใหญ่ (ก่อให้เกิดความไม่เสถียรของโฟมและกลิ่นไม่พึงประสงค์) ให้มีขนาดเล็กลงและอยู่ในรูปของเปปไทด์และกรดอะมิโน อุณหภูมิที่เหมาะสำหรับการย่อยโปรตีน คือ 113-127 องศาฟาเรนไฮต์ (45-53 องศาเซลเซียส) (Wolfe *et al.*, 2016)
3. เอนไซม์แอลฟ่า-อะไมเลสและเอนไซม์เบตา-อะไมเลสเอนไซม์เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแป้งไปเป็นเดกซ์ทรินและน้ำตาลที่หมักได้ สำหรับมอลต์บาร์เลย์แป้งจะต้องเจลาติไนซ์และเกิดขึ้นที่อุณหภูมิ 130-150 องศาฟาเรนไฮต์ (55-65 องศาเซลเซียส) ซึ่งแอลฟ่า-อะไมเลสจะทำลายปลาย 1-4 links แบบสุ่มโดยอุณหภูมิสูงกว่า 155 องศาฟาเรนไฮต์ (68 องศาเซลเซียส) จะช่วยให้แอลฟ่า-อะไมเลสย่อยสลายแป้งได้ดีขึ้น ส่วนเบตา-อะไมเลสจะสลายส่วนปลาย (reducing ends) ของน้ำตาลมอลโตสและกลูโคสซึ่งอุณหภูมิต่ำกว่า 150 องศาฟาเรนไฮต์ (65 องศาเซลเซียส) จะช่วยให้เบตา-อะไมเลสย่อยสลายได้ดีขึ้น (Wolfe *et al.*, 2016) โดยทั่วไปเอนไซม์ทั้งสองนี้สามารถเปลี่ยนแป้งในข้าวมอลต์ให้เป็นโมเลกุลของน้ำตาลที่ยีสต์นำไปใช้ได้ 60-80% สารละลายที่ได้จากขั้นตอนนี้เรียกว่าเวิร์ต (หนึ่ง และคณะ, 2553) น้ำตาลที่ผลิตได้ง่ายที่สุดคือ โมโนแซคคาไรด์มีโครงสร้าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นในโมเลกุลเดี่ยว ซึ่งโมโนแซคคาไรด์ในเวิร์ตประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคส ฟรุกโตส แมนโนส และกาแลคโตส. ไดแซคคาไรด์ประกอบด้วยโมโนแซคคาไรด์ 2 ตัวรวมกัน รวมทั้งมอลโตส ไอโซมอลโตส กลูโคส เมลิไบโอส และแลคโตส. ไตรแซคคาไรด์ประกอบด้วยโมโนแซคคาไรด์ 3 ตัว ได้แก่ มอลโทไทรโอส. โอลิโกแซคคาไรด์สร้างจากกลูโคสต่อกันเป็นสาย (โมโนแซคคาไรด์หลายตัวรวมกัน) ละลายน้ำได้ เรียกว่า เดกซ์ทริน (Wolfe *et al.*, 2016)

จากนั้นจะเพิ่มอุณหภูมิของการแม็ชชิ่งให้เป็น 168 องศาฟาเรนไฮต์ (76 องศาเซลเซียส) และจะคงไว้ที่อุณหภูมินี้เป็นเวลาหลายนาทีเพื่อให้แน่ใจว่ายับยั้งเอนไซม์อะไมเลสและหยุดการเปลี่ยนเดกซ์ทรินไปเป็นน้ำตาลที่หมักได้ นอกจากนี้ยังช่วยลดความหนืดของเวิร์ตช่วยให้การทำ Lautering ง่ายและมีประสิทธิภาพมากขึ้น จากนั้นแยกกากมอลต์ออกจากน้ำเวิร์ตเพื่อให้ได้น้ำเวิร์ตที่มีความใสแล้วนำน้ำเวิร์ตไปต้ม โดยการต้มเวิร์ตเป็นสิ่งจำเป็นเนื่องจากเหตุผลดังต่อไปนี้ : ละลายกรดอัลฟ่าในฮ็อพ หยุดกิจกรรมเอนไซม์ ฆ่าเชื้อแบคทีเรียเชื้อราและยีสต์ ระเหยน้ำมันที่มีส่วนผสมของสารประกอบซัลเฟอร์ คีโตนและเอสเทอร์ที่ไม่พึงประสงค์ เวลาที่ใช้ในการต้มเบียร์ให้มีคุณภาพอย่างน้อยหนึ่งชั่วโมง ซึ่งการต้มน้อยกว่าหนึ่งชั่วโมงอาจเสี่ยงต่อการใช้กรดของฮ็อพได้ในปริมาณน้อย ทำให้ระดับความขมที่ได้ต่ำกว่าที่คาดไว้ (Wolfe *et al.*, 2016) และในระหว่างการต้มจะมีการเติมฮ็อพเพื่อ ฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดที่อยู่ในน้ำเวิร์ต ตกตะกอนโปรตีนที่ยังหลงเหลืออยู่ในน้ำเวิร์ตที่อาจก่อให้เกิดความขุ่นในเบียร์ กระตุ้นให้เกิดการสร้างสารประกอบไดเมททิล ซัลไฟด์ ซึ่งสารดังกล่าวเป็นสารที่ทำให้เกิดกลิ่นรสเฉพาะตัวในเบียร์ โดยมีปริมาณที่ยอมรับได้ในช่วง 30-100 ไมโครกรัมต่อลิตร (Bamforth, 2009; Hansen, 1999) สกัดสารประกอบที่ให้ความขมออกจากฮ็อพและทำให้ผลิตภัณฑ์เบียร์มีสีที่ดีขึ้น (โชคชัย, 2558)

2.1.3.4 การหมักเบียร์ (Beer fermentation)

เป็นกระบวนการที่ใช้ยีสต์เปลี่ยนสารอาหารในน้ำเวิร์ตให้กลายเป็นเอทานอล อุณหภูมิที่ใช้ในการหมักทั่วไปจะอยู่ที่ 8–15 องศาเซลเซียส สำหรับเบียร์ประเภทลาเกอร์ และระหว่าง 15–20 องศาเซลเซียสสำหรับเบียร์ประเภท เอล (หนึ่ง และคณะ, 2553) อุณหภูมิของการหมักขึ้นอยู่กับชนิดของเบียร์และชนิดของยีสต์ที่ใช้ กระบวนการหมักจะใช้เวลาประมาณ 5 วัน สำหรับ Top yeast ส่วน Bottom yeast ใช้เวลา 7–10 วัน หลังจากเสร็จสิ้นกระบวนการหมักแล้วจึงแยกยีสต์ออก โดยเบียร์ที่ได้ในช่วงนี้จะเรียกว่า กรีนเบียร์ หรือ ยังเบียร์ (Young beer) (จันทรวดี และรัตติกาล, 2549)

วัตถุประสงค์หลักของการหมักเบียร์คือ การผลิตเอทานอลจากน้ำตาลและกรดอะมิโนโดยยีสต์ที่เติมลงไปในสภาวะที่ปราศจากออกซิเจน ยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคส 1 โมเลกุลไปเป็นกรดไพรูวิค 2 โมเลกุล ผ่านกระบวนการไกลโคไลซิส และจากสภาวะไร้อากาศกรดไพรูวิคจะถูกเปลี่ยนเป็นเอทานอล ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ น้ำและ ATP จำเป็นต้องมีการเติมอากาศเข้าไปเมื่อเริ่มต้นกระบวนการ (wort aeration) เพื่อกระตุ้นการทำงานของยีสต์ที่เติมลงไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.3.5 การบ่มเบียร์

วัตถุประสงค์ของกระบวนการบ่มเบียร์ คือ ปรับกลิ่นรสของเบียร์ให้มีความละมุนมากขึ้น การบ่มเบียร์ยังช่วยกำจัดกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ออกไปได้ เช่น สารกลุ่มไดอะซิทิล และกลุ่มสารประกอบซัลเฟอร์ โดยสารกลุ่มไดอะซิทิลหรือสารกลุ่มวิซินอล ไดคีโตน (vicinal diketones, VDKs) เป็นสารที่ทำให้เกิดกลิ่นรสที่ดีในเบียร์ เมื่อมีปริมาณอยู่ในช่วง 0.1 – 0.15 มิลลิกรัมต่อลิตร (Olaniran, 2017) การบ่มเบียร์ยังทำให้เบียร์มีความคงตัวมากยิ่งขึ้น ซึ่งส่วนมากจะบ่มเบียร์ที่อุณหภูมิต่ำ (ประมาณ 0 องศาเซลเซียส) เพื่อให้เซลล์ยีสต์และสารแขวนลอยตกลงสู่ก้นถังทำให้เบียร์มีความใสมากขึ้นหรือบางที่อาจใช้วิธีกรองเบียร์ผ่านตัวกรอง (โชคชัย, 2558)

2.1.4 คุณค่าทางโภชนาการของเบียร์

เบียร์เป็นเครื่องดื่มที่มาจากวัตถุดิบธรรมชาติ จึงทำให้เบียร์เป็นเครื่องดื่ม ที่มีคุณประโยชน์ทางด้านโภชนาการนอกจากจะช่วยดับกระหายยังสามารถช่วยกระตุ้นให้เจริญอาหาร ปริมาณแอลกอฮอล์และคาร์โบไฮเดรตที่มีอยู่ในเบียร์จะให้พลังงานต่อร่างกาย การดื่มเบียร์ 1 ลิตร จะได้รับพลังงานประมาณ 440 กิโลแคลอรี่ แอลกอฮอล์ยังช่วยกระตุ้นการหมุนเวียนของโลหิต ส่วนประกอบจากกดอกฮ็อพยังช่วยในการขับถ่ายปัสสาวะและชะล้างไต เบียร์ช่วยให้ผ่อนคลายความตึงเครียดทำให้เกิดการตื่นตัว ในเบียร์ยังประกอบไปด้วยวิตามินที่มีคุณค่าหลายชนิด โดยเฉพาะวิตามินบี 1 และวิตามินบี 2 นอกจากนั้นเบียร์ยังมีโปรตีนเป็นส่วนประกอบอยู่ด้วย รวมทั้งแร่ธาตุต่างๆ เช่น แคลเซียม ซึ่งช่วยในการป้องกันโรคหัวใจ แมกนีเซียมช่วยควบคุมระดับคอเลสเตอรอลเสริมสร้างการทำงานของกล้ามเนื้อหัวใจ ฟอสเฟตเป็นส่วนประกอบสำคัญของกระดูก ฟัน และเป็นตัวช่วยสะสมพลังงาน (กนกวรรณ, 2548) เบียร์เป็นเครื่องดื่มที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงเนื่องจากมีสารประกอบฟีนอล วิตามินและเมลานอยดิน ซึ่งทั้งหมดนี้มีส่วนทำให้เกิดความสมดุลของออกซิเจนหรือสารต้านอนุมูลอิสระที่จำเป็นต่อการใช้ชีวิตที่มีสุขภาพดี ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของเบียร์ได้รับการศึกษาอย่างกว้างขวางซึ่งแสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างการบริโภคเบียร์กับบทบาทในการป้องกันโรคต่างๆ เช่น โรคหัวใจและหลอดเลือด การป้องกันโรคมะเร็งบางชนิด และมีความสัมพันธ์กับการเพิ่มความหนาแน่นของกระดูกในสตรีวัยหมดประจำเดือน (Frías *et al.*, 2016)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 ข้าวเหนียวดำพันธุ์ลืมผัว

ข้าวเหนียวมีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Oryza sativa* var. *glutinosa* ชื่อวงศ์ Poaceae ชื่อสามัญ Glutinous rice เป็นข้าวที่มีอะไมโลสปริมาณต่ำมาก ข้าวสารจะมีสีขุ่น เมล็ดข้าวที่สุกแล้วจะติดกันเหมือนกาว นิยมบริโภคเป็นอาหารหลักของประชากรในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคเหนือของประเทศไทย นอกจากจะบริโภคโดยตรงแล้วยังมีการนำข้าวเหนียวมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตสุราพื้นบ้าน การผลิตแป้งข้าวเหนียวเพื่ออุตสาหกรรมอาหาร และขนมขบเคี้ยวเป็นต้น ข้าวเหนียวมี 2 ชนิด คือ ข้าวเหนียวขาวและข้าวเหนียวดำ สำหรับข้าวเหนียวดำภาษาพื้นเมืองของทางภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เรียกว่า ข้าวก่ำ ในข้าวเหนียวดำมีสารอาหารที่เป็นประโยชน์มาก คือ Oligomeric Proanthocyanidin Complexs (OPC) มีสรรพคุณช่วยชะลอการแก่ก่อนวัยและความเสื่อมถอยของร่างกาย โดยสารโอพีซีที่พบในข้าวเหนียวดำเป็นสารชนิดเดียวกับสารสกัดที่ได้จาก องุ่นดำ องุ่นแดง และเปลือกสน นอกจากนี้ในข้าวเหนียวดำยังมีสารฟีโนลิก เช่น กรดเฟอรูลิก เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ทำหน้าที่เป็นตัวยับยั้งแบบแย่งแข่งขันจับเอนไซม์ที่กระตุ้นสารก่อมะเร็งไม่ให้จับกับสารก่อมะเร็งและมีวิตามินอีซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระชนิดหนึ่ง (อทิตยา, 2551)

ข้าวเหนียวดำพันธุ์ลืมผัว (*Oryza sativa* L. variety Leum Phua) มีลักษณะประจำพันธุ์คือ เป็นข้าวเหนียวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดข้าวกล้องสีดำ ไวต่อช่วงแสง เก็บเกี่ยวกลางเดือนตุลาคม ลักษณะทรงกอตั้ง ต้นแข็ง ไม่ล้มง่าย ใบสีเขียว ใบธงหักลง คอรวงยาว รวงค่อนข้างแน่น ความสูงเฉลี่ย 151 เซนติเมตร เปลือกเมล็ดสีฟางขีดดำ ข้าวเปลือกยาว 10.7 มิลลิเมตร กว้าง 3.7 มิลลิเมตร หนา 2.2 มิลลิเมตร มีลักษณะเด่น คือ เมล็ดมีคุณภาพทางโภชนาการสูง (กรมการข้าว, 2555) ข้าวลืมผัวเป็นข้าวเหนียวไทยที่ได้รับการรับรองเมล็ดพันธุ์เพื่อความบริสุทธิ์ของพันธุกรรมในปี 2555 ข้าวเปลือกข้าวลืมผัวเป็นข้าวสีม่วงที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง โดยปกติแล้วข้าวสีมีปริมาณแอนโธไซยานินแกมมาโอรีซานอล และสารประกอบฟีนอลสูงกว่าข้าวขาวถึง 2-3 เท่า (Boonsit *et al.*, 2010) มีสารสำคัญหลายชนิดที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย เช่น กรดไขมันไม่อิ่มตัวในกลุ่มโอเมก้า3 โอเมก้า6 และโอเมก้า9 ธาตุเหล็ก แคลเซียม แมงกานีส วิตามินอี (ยศพร, 2559) วิตามินอีสามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดกับแอลดีแอลคอเลสเตอรอล กรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายตำแหน่งและผนังเซลล์ซึ่งช่วยให้เซลล์ในร่างกายไม่ถูกทำลายด้วยอนุมูลอิสระ (Subasree, 2014) ช่วยลดการอักเสบ ลดความเสี่ยงของการเกิดโรคโรคหลอดเลือดหัวใจ ป้องกันการเกิดมะเร็งในอวัยวะต่างๆ เช่น ลำไส้ใหญ่ ปอด เต้านม และต่อมลูกหมาก (Rizvi *et al.*, 2014) แอนโทไซยานินเป็นรงควัตถุที่ให้สีแดง น้ำเงินหรือม่วงที่พบในพืชนั้นจัดเป็นสารในกลุ่มโพลีฟีนอลที่มีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระจึงสามารถช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดโรคหัวใจ มะเร็ง เบาหวานและข้ออักเสบได้ (Wang and Stoner 2008 ; Cassidy *et al.*, 2013) ส่วนแกมมาโอรีซานอลซึ่งพบในรำข้าว เมล็ดข้าว เปลือกข้าว และเอนโดสเปิร์ม (Goufo, 2014) มีบทบาทสำคัญในการยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระและการเกาะตัวของเกล็ดเลือด รวมถึงช่วยลดการอักเสบ ช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลและช่วยเพิ่มระดับเอชดีแอลคอเลสเตอรอล (HDL cholesterol) ในกระแสเลือด (Juliano *et al.*, 2005 ; Saenjum *et al.*, 2011)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.2 ข้าวเหนียวลืมผัว

2.3 สารต้านอนุมูลอิสระและวิธีการตรวจสอบความสามารถในการเป็นตัวต้านอนุมูลอิสระ

ปัจจุบันความสนใจในคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระของอาหารมีเพิ่มขึ้น สารต้านอนุมูลอิสระเป็นสารประกอบที่มีผลดีต่อสุขภาพของมนุษย์ สามารถกำจัดปฏิกิริยาออกซิเจนและอนุมูลอิสระจากสิ่งมีชีวิตและวิธีนี้จะช่วยป้องกันความเสียหายจากการเกิดออกซิเดชันต่างๆ เช่น อายุ โรคมะเร็งและโรคหัวใจและหลอดเลือด สารประกอบโพลีฟีนอลเป็นสารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติมาจากวัตถุดิบมอลต์และฮ็อพในระหว่างขั้นตอนการผลิตเบียร์ซึ่งมีรายงานระบุว่าประมาณ 70-80% ของโพลีฟีนอลในเบียร์มาจากมอลต์และประมาณ 20% มาจากดอกฮ็อพ สารประกอบเหล่านี้มีบทบาทสำคัญในฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Krofta *et al.*, 2008)

อนุมูลอิสระ (free radical) เป็นโมเลกุลที่ไม่สเถียรและว่องไวต่อปฏิกิริยาเคมีที่มีผลต่อการทำลายโมเลกุลอื่นๆต่อเนื่องกันไปเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ อนุมูลอิสระจึงเป็นสารพิษต่อเซลล์ของร่างกาย ถ้ามีมากก็จะเป็นอันตรายได้โดยจะทำลายดีเอ็นเอ เยื่อหุ้มเซลล์ ในระยะสั้นอนุมูลอิสระมีผลต่อการอักเสบและการทำลายเนื้อเยื่อ ในระยะยาวมีผลต่อความเสื่อมหรือการแก่ของเซลล์ ซึ่งในปัจจุบันมีผลการศึกษาทั้งในประเทศและต่างประเทศพบว่า อนุมูลอิสระมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคเรื้อรัง เช่น โรคมะเร็ง อนุมูลอิสระถูกสร้างขึ้นมาทั้งจากกระบวนการเมทาบอลิซึมของร่างกายเองและในสภาวะที่ผิดปกติ เช่น โรคและมลพิษ โดยในภาวะที่ผิดปกติจะส่งผลให้ร่างกายเกิดการสะสมของอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นร่างกายจึงต้องหาทางป้องกันการโดนทำลายจากอนุมูลอิสระ ซึ่งสิ่งที่ร่างกายสร้าง

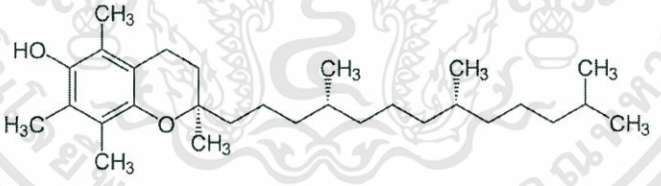
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขึ้นเพื่อปกป้องตัวเองคือ ระบบแอนตี้ออกซิแดนท์ที่ประกอบไปด้วยสารหรือเอนไซม์ต่างๆที่มีความเข้มข้นต่ำเพื่อชะลอหรือป้องกันปฏิกิริยาออกซิเดชันของสาร (subtrate) ที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยา และหากมีภาวะที่มีปริมาณอนุมูลอิสระมากเกินกว่าที่ระบบแอนตี้ออกซิแดนท์จะจัดการได้ จะเกิดภาวะที่เรียกว่า Oxidative stress ขึ้น ซึ่งเป็นสาเหตุของการแก่และรุนแรงไปถึงการเกิดเส้นเลือดตีบ รวมไปถึงโรคมะเร็ง เป็นต้น

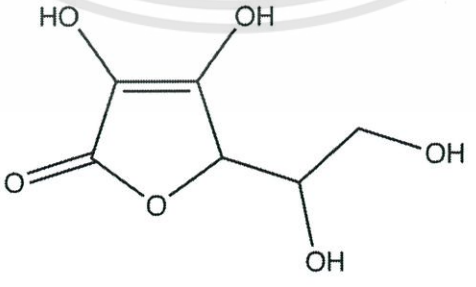
สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) คือ สารที่ทำหน้าที่ป้องกันไม่ให้สารอนุมูลอิสระก่อตัวขึ้น โดยจะยับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระและหยุดการก่อตัวใหม่ของอนุมูลอิสระช่วยซ่อมแซมความเสียหายที่เกิดจากตัวอนุมูลอิสระที่ไปทำลายเซลล์ต่างๆ ในร่างกายรวมถึงช่วยกำจัดและแทนที่โมเลกุลที่ถูกทำลาย (Nednapa and Chalerm, 2014) เช่น วิตามินอี (α-Tocopherol) (รูปที่ 2) เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถละลายไขมันได้อย่างมีประสิทธิภาพซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวทำลายโซ่ในระหว่างการเกิด lipid peroxidation ในเยื่อหุ้มเซลล์และอนุภาคไขมันต่างๆรวมถึง Low-Density Lipoprotein (LDL) โดยทำหน้าที่ในการสกัดกั้นอนุมูลอิสระเปอร์ออกไซด์ของไขมัน ($LOO^{\cdot}$) และเพื่อหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของลิพิด เปอร์ออกซิเดชัน แสดงในสมการที่ 1. (Tafazoli *et al.*, 2005)

$$LOO^{\cdot} + \alpha\text{-tocopherol–OH} \longrightarrow LOOH + \alpha\text{-tocopherol}^{\cdot} \qquad (1)$$

นอกจากนี้ยังมีวิตามินซี (Ascorbic acid) (รูปที่ 3) เป็นสารกันเสียที่ละลายน้ำได้ง่ายนอกจากนี้ยังช่วยฟื้นวิตามินอีในเยื่อหุ้มเซลล์ร่วมกับกลูตาไธโอนหรือสารประกอบที่มีความสามารถในการทดแทนสารที่ลดลงได้ (Chang-Won *et al.*, 2010)



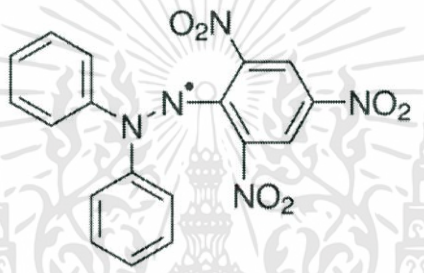
รูปที่ 2.3 แสดงโครงสร้างทางเคมีของวิตามินอี(α-Tocopherol) (Tafazoli *et al.*, 2005)



รูปที่ 2.4 แสดงโครงสร้างทางเคมีของวิตามินซี (Ascorbic acid) (Chang-Won *et al.*, 2010)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งวิธีการตรวจสอบความสามารถในการเป็นตัวต้านอนุมูลอิสระมีหลายวิธีด้วยกัน เช่น การวิเคราะห์ปริมาณอนุมูลอิสระ DPPH assay เป็นวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชัน โดยใช้ reagent คือ 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (รูปที่ 5) ซึ่ง DPPH เป็นอนุมูลอิสระที่มีเสถียรภาพที่สามารถรับอิเล็กตรอนหรือไฮโดรเจนอนุมูลอิสระกลายเป็นโมเลกุลไดอะแมกเนติกที่เสถียร เนื่องจากอนุภาคอิเล็กตรอนที่ละลายเมทานอลของ DPPH ดูดกลืนคลื่นแสงที่ 517 นาโนเมตร โดย DPPH radical ทำปฏิกิริยากับตัวรีดิวซ์ที่เหมาะสมทำให้เกิดพันธะใหม่และสีของสารละลายที่มีสีม่วงจะเปลี่ยนแปลงไป (Calliste *et al.*, 2010) DPPH assay เป็นวิธีที่มีข้อดีคือ เป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว ง่ายต่อการวิเคราะห์และมีความถูกต้องแต่มีข้อเสีย คือ ไม่สามารถใช้วิธีนี้วิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของเลือดได้เพราะต้องวัดในปฏิกิริยาที่เป็นแอลกอฮอล์เท่านั้น



รูปที่ 2.5 โครงสร้างทางเคมีของ DPPH - 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Suwannalert และ Rattanachitthawat (2011) ได้ตรวจสอบระดับฟีนอลิก ไฟโตฟีนอลิก (phytophenolic) และกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดของข้าว (*Oryza sativa*) ที่ไม่ผ่านการขัดสี ได้แก่ ข้าวลืมผัว ข้าวหอมนิลและBlack rose โดยทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยใช้สาร 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline6-sulfonic acid (ABTS) และ Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) โดยโครมาโตแกรมของไฟโตฟีโนลิกได้จากการทำ HPLC นอกจากนี้ยังได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลและแอนโธไซยานิน ผลที่ได้คือ ข้าวลืมผัวมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด นอกจากนี้ยังมีเม็ดสีแอนโธไซยานินที่สูงที่สุด

โชคชัย (2558) ได้ทำการศึกษาและผลิตเบียร์โดยใช้ข้าวเป็นส่วนประกอบหลักเพื่อลดต้นทุนการผลิตเบียร์และเพิ่มมูลค่าของข้าวไทย คือ ข้าวพันธุ์ผสม CP13 นำมาทำมอลต์โดยการทำให้งอกที่ 1, 3, 5, 7 และ 9 วัน มีการศึกษาผลของเอนไซม์สองชนิด ได้แก่ เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสและเอนไซม์โปรติเอสจากแบคทีเรียเพื่อใช้ในการเพิ่มคุณสมบัติของน้ำเวิร์ตพบว่าเวลาในการงอก เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสและมอลต์บาร์เลย์ มีผลต่อค่า extract content น้ำเวิร์ตของข้าวที่งอก 5 วันและข้าวมอลต์ 50% ไม่มีความแตกต่างกับเวิร์ตมาตรฐานที่ความเข้มข้นเท่ากัน ปริมาณน้ำตาลกลูโคสของน้ำเวิร์ต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดลองค่อนข้างสูง คือ ประมาณ 33% ของปริมาณ Fermentable sugar ทั้งหมด เวลาในการงอกของมอลต์ข้าวและมอลต์บาร์เลย์สามารถเพิ่มการนำไปใช้ของน้ำตาลรีดิวซ์และ FAN ของยีสต์ในน้ำเวิร์ตสูงสุดคือ 70% แต่น้อยกว่าค่ามาตรฐานที่ 80%เป็นสาเหตุทำให้ปริมาณเอทานอลในตัวอย่างเบียร์ค่อนข้างต่ำ ปริมาณข้าวมีผลทำให้สีของตัวอย่างเบียร์เข้มขึ้น การทดสอบทางประสาทสัมผัสของเบียร์โดยใช้ข้าวเป็นส่วนประกอบหลัก พบว่าเวลาในการงอกของข้าวมีผลทางประสาทสัมผัสเมื่อมีการใช้ข้าวมอลต์มากกว่าหรือเท่ากับ 70% ผู้ทำการทดสอบได้ตัดสินตัวอย่างเบียร์ที่มีส่วนผสมของมอลต์ข้าว 50% อยู่ในเกณฑ์ดี

Marinova และ Batchvarov (2011) ได้ทดลองหาความถูกต้องของวิธีการในการกำหนดกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระจากตัวทำละลายที่ใช้(เอทานอลหรือเมทานอล) โดยทำการตรวจวัดปริมาณอนุมูลอิสระของเบียร์ด้วยDPPH ใช้สารละลาย DPPH ในเอทานอล 0.06 mM ใช้ตัวอย่างที่ทำการเจือจาง 1.5 มิลลิลิตร และเติมสารละลาย DPPH 1.5 มิลลิลิตรใช้เวลาในการทำปฏิกิริยาคือ 30 นาทีในที่มืด และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร นำผลที่ได้เทียบกับวิตามิน C พบว่ากิจกรรมต้านอนุมูลอิสระของเบียร์ที่ได้จากตัวทำละลายเอทานอลมีค่าสูงเฉลี่ย 8.2-38.9% สำหรับตัวอย่างเบียร์ที่ใช้ ซึ่งมากกว่าค่าที่ได้จากตัวทำละลายเมทานอล

Kudpeng และคณะ (2016) ศึกษาคุณลักษณะของสาโทที่ผลิตจากข้าวพื้นเมืองชนิดต่างๆ จำนวน 7 ชนิด ได้แก่ ข้าวหอมมะลิดอย (ข้าวเจ้า) ข้าวลืมผัว (ข้าวเหนียว) ข้าวหอมภูพาน(ข้าวเหนียว) ข้าวหอมนิล(ข้าวเจ้า) ข้าวไรซ์เบอร์รี่ (ข้าวเจ้า) ข้าวหอมมะลิ 105 (ข้าวเจ้า) และข้าว กข.6 (ข้าวเหนียว) พบว่าข้าวที่มีคุณสมบัติที่ดีในการผลิตสาโทมากที่สุดคือข้าวเหนียวซึ่งจะให้ปริมาณแอลกอฮอล์และปริมาณบริกซ์ที่สูงกว่าข้าวเจ้า โดยข้าวหอมภูพานให้ปริมาณบริกซ์สูงสุด 17.20 องศาบริกซ์รองลงมา คือ ข้าว กข.6 ข้าวลืมผัว ข้าวหอมมะลิ 105 ข้าวไรซ์เบอร์รี่ ข้าวหอมมะลิดอยและข้าวหอมนิล 16.80, 14.80, 7.80, 6.00, 5.80 และ 5.60 องศาบริกซ์ตามลำดับและข้าวหอมภูพานมีปริมาณแอลกอฮอล์สูงสุดร้อยละ 15.30 รองลงมาคือ ข้าวลืมผัว ข้าวหอมมะลิ 105 ข้าว กข.6 ข้าวไรซ์เบอร์รี่ ข้าวหอมมะลิดอยและข้าวหอมนิลมีปริมาณแอลกอฮอล์ ร้อยละ 14.80 14.30, 14.20, 13.10, 12.70 และ 11.90 ตามลำดับแต่จะมีค่า pH น้อยกว่าข้าวเจ้า

Boonsit และคณะ (2010) ได้ทำการศึกษาว่าว่าข้าวเหนียวสีม่วงสังเคราะห์มีโภชนาการทางการเกษตรที่แตกต่างจากข้าวขาวหรือไม่โดยทำการตรวจสอบเมล็ดข้าวสีม่วงสิบสายพันธุ์และข้าวขาว 2 พันธุ์เพื่อหาปริมาณน้ำมันดิบ Semi-gamma oryzanol และ แกมมาโอรีซานอล (γ - oryzanol) ใช้เฮกเซนและเอทิลอะซิเตตเป็นตัวทำละลายในการสกัด จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณของ γ - oryzanol ใน HPLC ผลการทดลองพบว่าปริมาณน้ำมันดิบที่สกัดได้จากข้าวที่ไม่ผ่านการขัดสีมีความแตกต่างกันคือระหว่าง 2.19 ถึง 2.91 กรัมต่อ100กรัมของข้าวกล้อง ในปริมาณที่เท่ากันของน้ำมันดิบที่ใส่ลงใน HPLC ปริมาณของ Semi-gamma oryzanol ที่บริสุทธิ์วมีค่าเท่ากับข้าวทั้ง 2 ชนิดของข้าวสีม่วง (2.08 กรัมต่อ100 กรัมโดยเฉลี่ย) และข้าวขาว (1.99 กรัมต่อ100 กรัม) โดยเฉลี่ย ในทางตรงกันข้ามปริมาณของ γ - oryzanol กลับแตกต่างกันไปในแต่ละพันธุ์ โดยข้าวสีม่วงมีปริมาณน้ำตาล (55.58 มิลลิกรัมต่อ100 กรัมโดยเฉลี่ย) ซึ่งสูงกว่าค่าเฉลี่ยของข้าวขาว 30.68 มิลลิกรัมต่อ100 กรัม การ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมของ γ-oryzanol ปรากฏชัดในประชากรของพันธุ์ข้าวสีม่วงเนื่องจากมีปริมาณที่แตกต่างกัน

นวลอนงค์ และคณะ (ม.ป.ป.) ได้ศึกษาปริมาณฟลาโวนอย์ สารประกอบฟีนอลทั้งหมดและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดข้าวไทย 12 พันธุ์ ได้แก่ ข้าวเหนียวพันธุ์กข.6 ข้าวเหนียวพันธุ์สันป่าตอง1 ข้าวเหนียวดำพันธุ์หอมภูเขียว ข้าวเหนียวดำพันธุ์ลืมผัว ข้าวเหนียวดำพันธุ์พื้นเมือง ข้าวเหนียวดำพันธุ์ก่ำดอยสะเก็ด ข้าวเจ้าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ข้าวเจ้าพันธุ์สินเหล็ก ข้าวเจ้าพันธุ์ชิตโต้เจ้าแปด ข้าวเจ้าแดงพันธุ์หอมมะลิแดง ข้าวเจ้าดำพันธุ์หอมนิล และข้าวเจ้าดำพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่ โดยนำข้าวสารมาสกัดด้วยตัวทำละลายที่มี ethanol : HCl (65% : 0.1%) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ให้เป็นผง นำสารสกัดที่ได้มาวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ สารประกอบฟีนอลทั้งหมดและฤทธิ์การรต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH assay, ABTS radical scavenging activity ความสามารถในการรีดิวซ์ (Reducing power) และความสามารถในการยับยั้งการเกิด lipid peroxidation ตามลำดับ พบว่า ข้าวเหนียวดำพันธุ์ลืมผัวมีปริมาณฟลาโวนอยด์และสารประกอบฟีนอลทั้งหมดที่เป็นองค์ประกอบสูงที่สุด คือ 89.26±3.42 mg QE/g และ 221.45±12.95 mg GAE/g ของสารสกัด ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดย DPPH assay พบว่า สารสกัดจากข้าวเหนียวดำพันธุ์ลืมผัว ข้าวเหนียวดำพันธุ์หอมภูเขียว ข้าวเหนียวดำพันธุ์พื้นเมือง และข้าวเจ้าดำพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่มีฤทธิ์ ในการยับยั้งอนุมูลอิสระมากที่สุด คือ อยู่ในช่วงร้อยละ 93.28±0.52 ถึง 96.68±0.15 ผลการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ โดย ABTS assay พบว่า ข้าวเหนียวดำพันธุ์ลืมผัว ข้าวเหนียวดำพันธุ์หอมภูเขียว และข้าวพันธุ์ก่ำดอยสะเก็ด มี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด คือ มีค่าอยู่ในช่วง 7,879.25±133.18 ถึง 7,896.25±5.89 μM TE/g ของสารสกัด ส่วนความสามารถในการรีดิวซ์ พบว่า ข้าวเหนียวดำพันธุ์ลืมผัวมีความสามารถในการรีดิวซ์ดีที่สุด เท่ากับ 242.18±14.96 mM AAE /g ของสารสกัด และผลการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation พบว่า ปริมาณการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation ในข้าวเหนียวดำพันธุ์ลืมผัว ข้าวเหนียวดำพันธุ์พื้นเมือง และข้าวเหนียวดำพันธุ์หอมภูเขียวมีมากที่สุด คือ อยู่ในช่วงร้อยละ 67.91±2.60 ถึง 82.50±5.70 จากผลการทดลองพบว่า ข้าวเหนียวดำพันธุ์พื้นเมือง ข้าวเหนียวดำพันธุ์ลืมผัว ข้าวเหนียวดำพันธุ์หอมภูเขียว ข้าวพันธุ์ก่ำดอยสะเก็ด และข้าวเจ้าดำพันธุ์ไรซ์เบอร์รี่ ซึ่งข้าวที่มีสีดำเป็นข้าวที่มีปริมาณฟลาโวนอยด์และฟีนอลทั้งหมดเป็นองค์ประกอบสูง มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าข้าวที่มีสีขาวในทุกๆวิธีการทดสอบ โดยข้าวเหนียวดำพันธุ์ลืมผัวให้สารสกัดที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด

หนึ่ง และคณะ (2553) ศึกษาการผลิตเบียร์จากข้าวไทย โดยทำการหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตจากมอลต์ข้าวเจ้าดำ และมอลต์ข้าวเหนียวดำ พบว่า กระบวนการหมักเบียร์แบบ Top-fermentation ใช้เวลาในกระบวนการหมักจนกระบวนการหมักสิ้นสุดลงเป็นเวลา 48 ชั่วโมง เนื่องจากเป็นการหมักที่ใช้อุณหภูมิสูงถึง 20 องศาเซลเซียส คุณภาพของเบียร์มอลต์ข้าวเจ้าที่ได้ คือ มีน้ำตาลทั้งหมด 11.58 กรัมต่อลิตร โปรตีน 0.6% และ แอลกอฮอล์ 5.17 %v/v และคุณภาพของเบียร์มอลต์ข้าวเหนียวดำที่ได้ คือ มีน้ำตาลทั้งหมด 40.19 กรัมต่อลิตร โปรตีน 0.3% และแอลกอฮอล์ 4.36%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Agu and Palmer (1998) ทำการศึกษาการประเมินข้าวฟ่างเพื่อใช้ในการผลิต Lager beer พบว่าในการผลิตมอลต์ข้าวฟ่าง อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อคุณภาพของมอลต์ข้าวฟ่าง เนื่องจากในสภาวะนี้มีการลดลงของคาร์โบไฮเดรตสูงที่สุด ซึ่งแตกต่างจากอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการผลิตมอลต์ข้าวบาร์เลย์ โดยมีอุณหภูมิอยู่ที่ 16–17 องศาเซลเซียส ซึ่งข้อแตกต่างนี้อาจสะท้อนให้เห็นถึงสรีรวิทยาของพืชเขตร้อนและพืชเขตหนาวซึ่งให้การตอบสนองอุณหภูมิในการผลิตมอลต์ที่แตกต่างกัน.

กาญจนา (2549) ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของกากธัญชาติมีความแตกต่างกันขึ้นกับพันธุ์ข้าวบาร์เลย์ ระยะเวลาหลังการเก็บเกี่ยวสภาวะที่ใช้ในขั้นตอนการผลิตมอลต์และแม็ชชิ่ง คุณภาพและชนิดของธัญชาติ ชนิดอื่น ๆ ที่เติมลงไปในกระบวนการผลิตเบียร์ โดยธัญชาติชนิดอื่นที่ใช้เป็นส่วนผสม ได้แก่ ข้าวเจ้า ข้าวโพด และข้าวสาลี เป็นต้น โดยมีปริมาณโปรตีน , เส้นใยหยาบ, ไขมัน, ส่วนสกัดที่ปราศจากไนโตรเจน, เถ้า และน้ำ มีค่าอยู่ในช่วง 21.1-27.5, 15.3-17.6, 6.4-6.9, 39.4-42.9, 3.9-4.2 และ 7.2-7.7 % ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่ากากธัญชาติมีปริมาณโปรตีน ไขมัน และเส้นใยหยาบสูงกว่าธัญชาติเริ่มต้นที่ ใช้เป็นวัตถุดิบ เนื่องจากมีการย่อยคาร์โบไฮเดรตเป็นน้ำตาลในขั้นตอนการผลิตข้าวมอลต์และแม็ชชิ่ง เพื่อเป็นอาหารของยีสต์ในการผลิตเบียร์ ซึ่งน้ำตาลดังกล่าวจะละลายอยู่ในส่วนของน้ำเวิร์ตที่แยกออกไปทำให้องค์ประกอบทางเคมีอื่น ๆ ของกากธัญชาติมีสัดส่วนสูงขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 เครื่องมือและสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

3.1.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องบ่มเขย่า (Incubator Shaker) รุ่น NB-205Q
2. หม้อนึ่งความดันไอฆ่าเชื้อ (Autoclave) รุ่น TOMY ES-315
3. เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง (Analytical balance) รุ่น FX-300i
4. ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) รุ่น BINDER
5. เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer) รุ่น UV-1800
6. ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar Flow) รุ่น FLEXLAB BV4-06
7. เตาไฟฟ้า (Hot plate)
8. ตู้แช่เย็นอุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส รุ่น SNH-0403
9. เครื่องควบคุมการเจริญข้าว รุ่น GC-1000
10. เครื่องวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH meter) รุ่น METTLER TOLEDO
11. เครื่องบดมอลต์
12. เครื่องควบคุมอุณหภูมิต้มมอลต์
13. เครื่องวัดปริมาณแอลกอฮอล์ (Ebulliometer)
14. ตะเกียงแอลกอฮอล์
15. Refractometer รุ่น ATC-1E
16. Haemacytometer รุ่น PRECICOLOR HBG GERMANY
17. กล้องจุลทรรศน์ รุ่น CH30RF200
18. เครื่องมือวัดอุณหภูมิ (Thermometer)
19. Air Lock
20. ขวดรูปชมพู่ (erlenmeyer flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร
21. ถังน้ำขนาด 5 ลิตร
22. หลอดหยด (Dropper)
23. ผ้ากรอง
24. ปิเปตขนาด 1,5และ10 มิลลิลิตร
25. กระบอกตวงขนาด 1,000 มิลลิลิตร
26. หลอดทดลอง
27. ขวดปรับปริมาตร (Volumetric flask)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

28. น้ำกลั่น

3.1.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Yeast extract
2. Peptone จากบริษัท ซีทีไอ แอนด์ ซายน์ จำกัด
3. Malt extract จากบริษัท ซีทีไอ แอนด์ ซายน์ จำกัด
4. Glucose จากบริษัท ซีทีไอ แอนด์ ซายน์ จำกัด
5. Beef extract TITAN BIOTECH LTD.
6. Agar จากบริษัท ซีทีไอ แอนด์ ซายน์ จำกัด

3.1.3 สารเคมี

1. 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl จากบริษัท SIGMA-ALDRICH
2. Absolute ethanol 95%
3. α-Tocopherol จากบริษัท CALBIOCHEM
4. 3,5-Dinitrosalicylic acid
5. NaOH
6. Sodium Potassium Tartrate
7. กลีเซอรอล
8. สารฆ่าเชื้อถังหมัก Star San

3.2. การผลิตมอลต์จากข้าวพันธุ์ลืมผัว

3.2.1 การเตรียมพันธุ์ข้าวและการเพาะ

การเตรียมการทำมอลต์จากข้าวพันธุ์ลืมผัวทำโดยการนำข้าวส่วนที่เรียกว่าข้าวเปลือกมาทำความสะอาด จากนั้นแช่ข้าวในน้ำเป็นเวลา 1 คืน และนำไปใส่ตู้บ่ม ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสสลับกับเอาข้าวออกมาผึ่งอากาศทุกๆ 8 ชั่วโมง โดยใช้เวลาผึ่งอากาศ 4 ชั่วโมง ใช้เวลาทั้งหมด 4 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.2 การนำพันธุ์ข้าวที่เตรียมไว้มาทำเป็นมอลต์

นำพันธุ์ข้าวที่มีรากงอกออกมา ให้ทำการตัดรากทิ้งจากนั้นนำพันธุ์ข้าวที่ทำการตัดรากออกแล้วนำไปเข้าตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา24 ชั่วโมง (Usansa *et al.*, 2009)

3.3 การเตรียมเชื้อยีสต์

1. เชื้อยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* ยี่ห้อ M84 Bohemian Lager Yeast ซึ่งทำการหมักแบบ Bottom fermentation ถูกเตรียมโดยทำการกระตุ้นการเจริญของเชื้อยีสต์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ YM broth ขั้นตอนการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อมีดังนี้ ชั่ง Yeast extract 1.2 กรัม, Malt extract 1.2กรัม, เปปโตน 2 กรัม และกลูโคส 4 กรัม ผสมในน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 200 มิลลิลิตร เทใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ และทิ้งไว้ให้เย็น จานั้นเทลาเกอร์ยีสต์ลงไปให้ท่วมผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อโดยทำในตู้ laminar flow แล้วนำไปเลี้ยงในสภาวะเขย่า ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ความเร็ว 120 รอบต่อนาที เป็นเวลา 8 ชั่วโมง ทำการนับจำนวนเซลล์ของยีสต์โดยใช้ Haemacytometer ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยคำนวณปริมาตรความเข้มข้นของหัวเชื้อให้เท่ากับ 1.2×10^7 เซลล์/มิลลิลิตร ในน้ำเวิร์ต (โชคชัย, 2558)
2. เก็บรักษาเชื้อยีสต์ในกลีเซอรอล ทำได้โดยการนำกลีเซอรอล ปริมาตร 5 มิลลิลิตรและน้ำกลั่น 45 มิลลิลิตรใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอ ควบคุมอุณหภูมิที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที จากนั้นทิ้งไว้ให้เย็น และทำการใส่กลีเซอรอล 0.5 มิลลิลิตร เชื้อยีสต์ที่ถูกกระตุ้นการเจริญ 0.5 มิลลิลิตร ลงใน Eppendorf ขนาด 1.5 มิลลิลิตร และนำไปเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

3.4 การผลิตเบียร์

1. เตรียมมอลต์บาร์เลย์ 1 กิโลกรัม ผสมมอลต์กับน้ำในอัตราส่วน 1:5 (เป็นตัวควบคุม)
2. นำไปทำการแม็ชชิ่งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นปรับอุณหภูมิขึ้นเป็น 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที และ75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที จะได้ส่วนที่เรียกว่า น้ำเวิร์ต (โชคชัย, 2558)
3. นำน้ำเวิร์ตที่ได้มากรองแยกกากมอลต์ออกด้วยผ้าขาวบางที่ผ่านการฆ่าเชื้อ
4. ทำการวัดปริมาณน้ำตาลในน้ำเวิร์ตด้วย Refractometer
5. ต้มน้ำเวิร์ตให้เดือด เป็นเวลา 60 นาที และเติม hop pellet 0.9 กรัมต่อลิตร ทำให้น้ำเวิร์ตเย็นด้วยคอยด์ทองแดง (Edyta Kordialik-Bogacka *et al.*, 2014)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. นำมอลต์บาร์เลย์ 750 กรัม ผสมกับมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว 250 กรัม และผสมมอลต์กับน้ำในอัตราส่วน 1:5 ทำตามข้อที่ 2-6
7. นำมอลต์บาร์เลย์ 500 กรัม ผสมกับมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว 500 กรัม ผสมกับน้ำในอัตราส่วน 1:5 ทำตามข้อที่ 2-6
8. นำมอลต์บาร์เลย์ 250 กรัม ผสมกับมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว 750 กรัม ผสมกับน้ำในอัตราส่วน 1:5 ทำตามข้อที่ 2-6

3.5 สภาวะที่ใช้ในการหมัก

เติมเชื้อยีสต์ที่ทำการนับจำนวนเซลล์ด้วย Hemacytometer ภายใต้กล้อง นำไปหมักที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 วันในถังหมักปริมาตร 5 ลิตร 3 ถัง ต่อ 1 ตัวอย่าง เก็บตัวอย่างไปทำการวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ด้วย Ebulliometer วิเคราะห์การวัดค่าสี วันที่ 0 และวันที่ 24 วัดpH และวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์โดยใช้ DNS reagent (3,5-Dinitrosalicylic acid) วันที่ 0 และทุก 2 วัน จนครบ 24 วัน.

3.6 การวิเคราะห์

3.6.1 การวิเคราะห์แอลกอฮอล์ โดยใช้ Ebulliometer

เป็นการวัดแอลกอฮอล์ด้วยจุดเดือดของน้ำเบียร์ที่ลดลงจากจุดเดือดของน้ำบริสุทธิ์ และนำค่าอุณหภูมิจุดเดือดที่อ่านได้ ไปเทียบกับตารางที่ให้มากับเครื่อง เพื่ออ่านค่าปริมาณแอลกอฮอล์

3.6.2 การวัดค่าความเป็นกรดด่างโดยใช้ pH meter

ทำการปรับเทียบมาตรฐานก่อนการใช้งานโดยการเทียบกับสารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐาน 2 ค่าเช่น pH4 และ pH 7 หรือ pH 7 และ pH10 จากนั้นวัด pH ของน้ำเวิร์ตที่มีอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ตามวิธี EBC 8.17 (1998)

3.6.3 การวัดค่าสีของเบียร์

ทำการวัดสีของเบียร์ด้วยวิธี spectrophotometric โดยใช้ spectrophotometer ทำการวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 430 นาโนเมตรและใช้น้ำกลั่นเป็น blank จากนั้นนำมาคำนวณ ดังสมการ (Shellhammer, 2008)

$$\text{Color (EBC units)} = A_{430} \times 25$$

เมื่อ A_{430} = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ 430นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.4 การวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในเบียร์โดยวิธี DPPH assay

ทำการวิเคราะห์ผลโดย (Marinova and Batchvarov, 2011)

1. เตรียมสาร DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ในเอทานอล โดยชั่ง 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl 0.0024 กรัมละลายด้วยเอทานอล 100 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 20 นาที ที่ 20 องศาเซลเซียส (ต้องเตรียมใหม่ก่อนการทดลองทุกครั้ง)
2. การเจือจางตัวอย่างเบียร์กับน้ำทำได้โดย นำตัวอย่างเบียร์มา 13.3 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำในขวดปรับปริมาตรจากนั้น ปิเปตตัวอย่างที่ทำการเจือจางแล้วมา 2.5 มิลลิลิตรใส่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตรและเติมเอทานอลลงไปจนครบ 25 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียสก่อนนำไปใช้
3. ทำการเตรียมแบลงค์โดยการเติมน้ำ 2.5 มิลลิลิตรในขวดปรับปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร และเติมเอทานอลลงไปจนครบ 25 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียสก่อนนำไปใช้
4. การวิเคราะห์โดยนำตัวอย่างเบียร์ที่เจือจางในข้อ 2. มา 1.5 มิลลิลิตร และปิเปตสารละลาย DPPH ในข้อ 1. มา 1.5 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองปิดด้วยลูกแก้วเขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งในที่มืด30นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร เทียบกับแบลงค์
5. เตรียมตัวควบคุมโดยใช้แบลงค์ที่ทำการเจือจางแล้วในข้อ 3. มา 1.5 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย DPPH ในข้อ 1. มา 1.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร ทำการเปรียบเทียบกับสารต้านอนุมูอิสระที่ใช้เป็นสารมาตรฐานคือ Tocopherol

3.6.5 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดย DNS reagent

สารเคมีที่ใช้ : สารละลาย DNS (Dinitrosalicylic acid)

นำน้ำเวิร์ตที่ทำการเจือจางมา 1 มิลลิลิตร เติมสารละลายDNS (มีองค์ประกอบของ 3,5-Dinitrosalicylic acid จำนวน 10 กรัม, Potassium Sodium tartrate 300 กรัม ที่ละลายในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตรจากนั้นนำไปผสมกับ 2N NaOH ที่มีปริมาตร 200 มิลลิลิตร และทำการปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร นำสารผสมที่ได้ไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที ทำให้เย็น และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ 540 นาโนเมตร (Başkan *et al.*, 2016) ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์จะถูกคำนวณเทียบกับค่าที่ได้จากสารละลายมาตรฐานของกลูโคสที่ความเข้มข้น 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำไป Plot เป็นกราฟมาตรฐานกลูโคส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.6 การวิเคราะห์รสสัมผัสของเบียร์ (Sensory)

อุปกรณ์และวิธีการ

การทดสอบลำดับความชอบด้วย 9 – point hedonic scale

ตัวอย่างเบียร์ที่แตกต่างกันจะถูกนำเสนอให้กับผู้ทดสอบได้ชิมผลิตภัณฑ์เพื่อตรวจสอบความชอบระหว่างผลิตภัณฑ์ด้วยกัน

การเตรียมตัวอย่าง

นำเบียร์จำนวน 4 ตัวอย่าง ใส่ในเหยือกทั้ง4ใบแล้วทำการติดรหัสเลขสุ่ม3หลักซึ่งจะปรากฏในแบบทดสอบแต่ละใบตามที่กำหนดไว้

ผู้ทดสอบ

นักศึกษาคณะวิทยาศาสตร์จำนวนทั้งหมด 50 คนเป็นผู้ที่เคยรับประทานหรือชอบรับประทานผลิตภัณฑ์เบียร์และมีอายุในช่วง 20-25ปี และทำการกรอกแบบทดสอบที่ให้โดยทำการกำหนดลำดับคะแนนที่ได้รับโดยระบุจาก

ชอบมากที่สุด = 9 คะแนน ชอบมาก = 8 คะแนน ชอบปานกลาง =7 คะแนน ชอบเล็กน้อย = 6 คะแนน เฉยๆ = 5 คะแนน ไม่ชอบเล็กน้อย = 4 คะแนน ไม่ชอบปานกลาง = 3 คะแนน ไม่ชอบมาก = 2 คะแนน ไม่ชอบมากที่สุด = 1 คะแนน (ไพโรจน์, 2545)

3.7 การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์การทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) และ One-Way ANOVA วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Tukey's Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 23

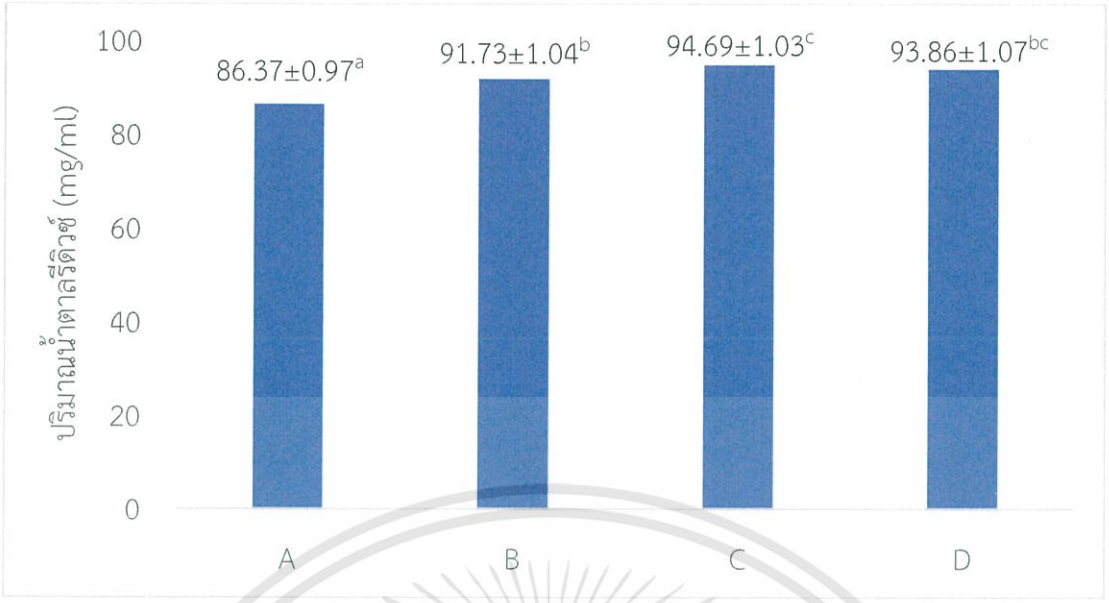
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในน้ำเวิร์ต

จากการนำมอลต์บาร์เลย์และมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัวในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน ดังนี้ มอลต์ข้าวบาร์เลย์ 100% เป็นตัวควบคุม (ตัวอย่างA) มอลต์บาร์เลย์ 75% ผสมกับมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว 25% (ตัวอย่าง B) มอลต์บาร์เลย์ 50% ผสมกับมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว 50% (ตัวอย่าง C) มอลต์บาร์เลย์ 25% ผสมกับมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว 75% (ตัวอย่าง D) มาทำการแม็ซชิ่งที่อุณหภูมิ50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นปรับอุณหภูมิขึ้นเป็น 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที และ 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที ได้เป็นน้ำเวิร์ต นำมาวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วย DNS reagent พบว่าน้ำเวิร์ตที่มีอัตราส่วนของมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว 50% มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุด รองลงมาคือ 75% 25% และน้ำเวิร์ตที่มีเพียงมอลต์บาร์เลย์พียงอย่างเดียวมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ต่ำที่สุด ดังนี้ 94.69±1.03 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร 93.86±1.07 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร 91.73±1.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและ 86.37±0.97 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อนำค่าไปวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าน้ำเวิร์ตที่มีอัตราส่วนของมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัวกับน้ำเวิร์ตที่มีมอลต์บาร์เลย์อย่างเดียวมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนน้ำเวิร์ตที่มีอัตราส่วนของมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัวต่างกันที่ 25% และ 50% มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (รูปที่ 4.1)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



a b c ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับต่างกัน แตกต่างกัน ($p<0.05$)

รูปที่ 4.1 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในน้ำเวิร์ตที่ทำจากมอลต์ข้าวบาร์เลย์ 100% (A) มอลต์บาร์เลย์ 75% ผสมกับมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว 25% (B) มอลต์บาร์เลย์ 50% ผสมกับมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว 50% (C) มอลต์บาร์เลย์ 25% ผสมกับมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว 75% (D)

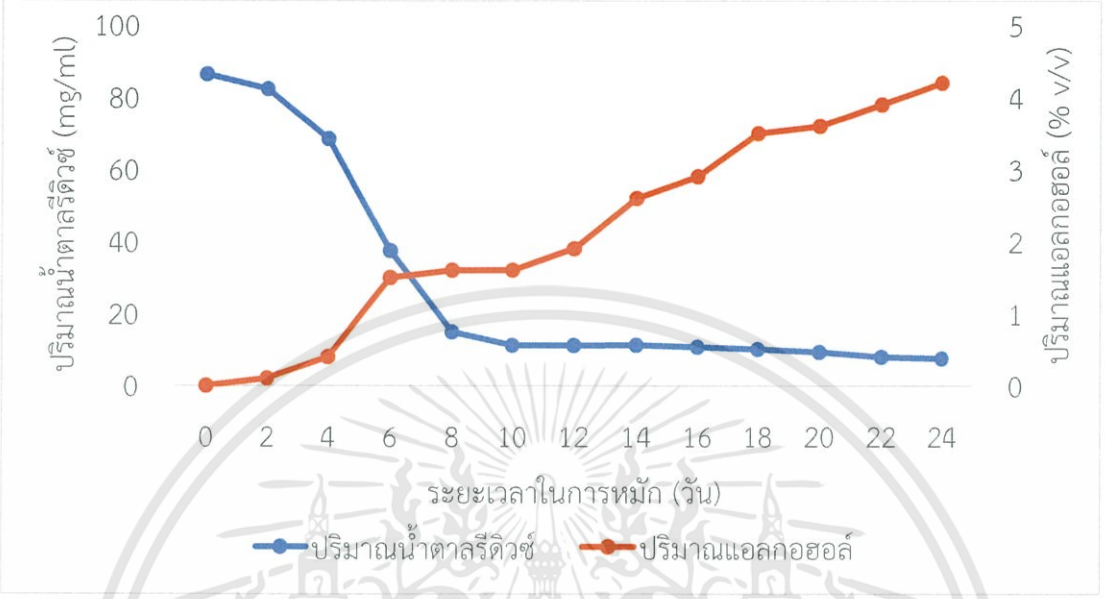
4.2 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และปริมาณแอลกอฮอล์ในน้ำเวิร์ตที่ผ่านการหมัก

หลังจากนำยีสต์ใส่ในน้ำเวิร์ตเพื่อให้เกิดกระบวนการหมักและเก็บตัวอย่างเบียร์วันที่ 0 และทุกๆ 2 วัน จนครบ 24 วัน นำมาวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วย DNS reagent และวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์โดยใช้ Ebulliometer พบว่า ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของตัวอย่าง A,B,C และD มีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่องตั้งแต่วันที่0 จนถึงวันที่ 24 ส่วนใหญ่ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะเริ่มถูกใช้และลดลงอย่างรวดเร็วในระหว่างวันที่ 2 ถึง 6 จากนั้นจะเริ่มมีปริมาณลดลงช้าๆและคงที่เป็นผลมาจากยีสต์มีการใช้น้ำตาลในการหมักอย่างรวดเร็วตามรายงานของ โชคชัย (2558) รายงานว่า การใช้น้ำตาลกลูโคสและฟรุกโตสซึ่งเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวจะถูกใช้จนหมดภายในเวลา 36 ชั่วโมงหลังจากเริ่มกระบวนการหมักในช่วงเวลาชั่วโมงที่ 36-80 ของการหมัก พบว่ามีการใช้น้ำตาลมอลโตสอย่างรวดเร็ว โดยจะถูกใช้ไปประมาณ 80-85 % ของน้ำตาลมอสโตสเริ่มต้น ขณะที่การลดลงของ fermentable sugar จะลดลงไปพร้อมกับการลดลงของน้ำตาลรีดิวซ์

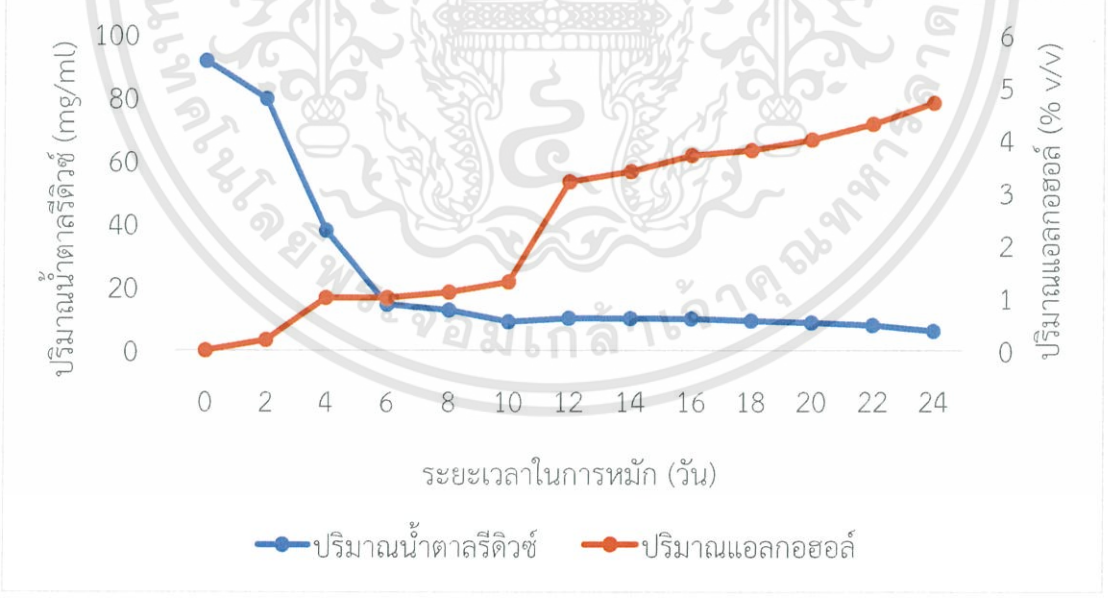
ในทางกลับกันปริมาณแอลกอฮอลล์ของทั้ง 4 ตัวอย่างมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น โดยตัวอย่าง C ที่มีอัตราส่วนของมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว 50% มีปริมาณแอลกอฮอล์สูงที่สุด คือ 5.1±0.10 % v/v รองลงมาคือตัวอย่าง B เท่ากับ 4.7±0.21 % v/v ตัวอย่าง A เท่ากับ 4.2±0.06 % v/v และตัวอย่าง D มีปริมาณแอลกอฮอล์น้อยที่สุด คือ 2.5±0.10 % v/v ปริมาณแอลกอฮอล์ในเบียร์ที่ได้จาก 50% ของการเติมมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัวเท่ากับเบียร์ทางการค้าที่มีปริมาณแอลกอฮอล์อยู่ที่ 5.0% โดย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาตร (รูปที่ 4.2 4.3 4.4 และ 4.5) และปริมาณแอลกอฮอล์หลังเสร็จสิ้นกระบวนการหมักของเบียร์ทั้ง 4 ตัวอย่างมีความแตกต่างกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (รูปที่ 4.6)

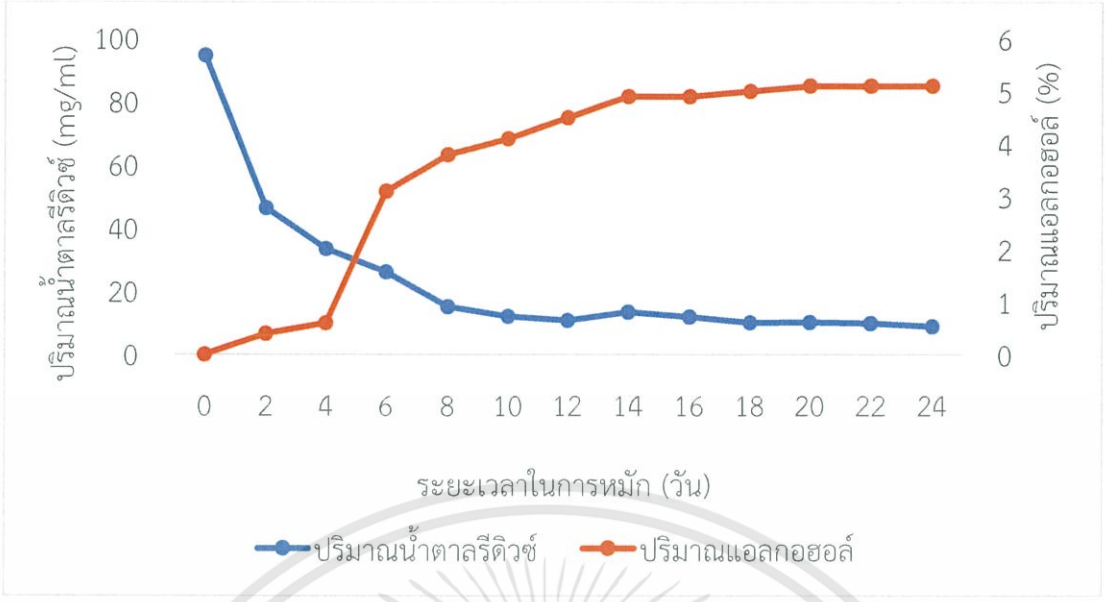


รูปที่ 4.2 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ต่อปริมาณแอลกอฮอล์ในระหว่างการหมักเบียร์ที่มีอัตราส่วนมอลต์บาร์เลย์ 100% เป็นระยะเวลา 24 วัน

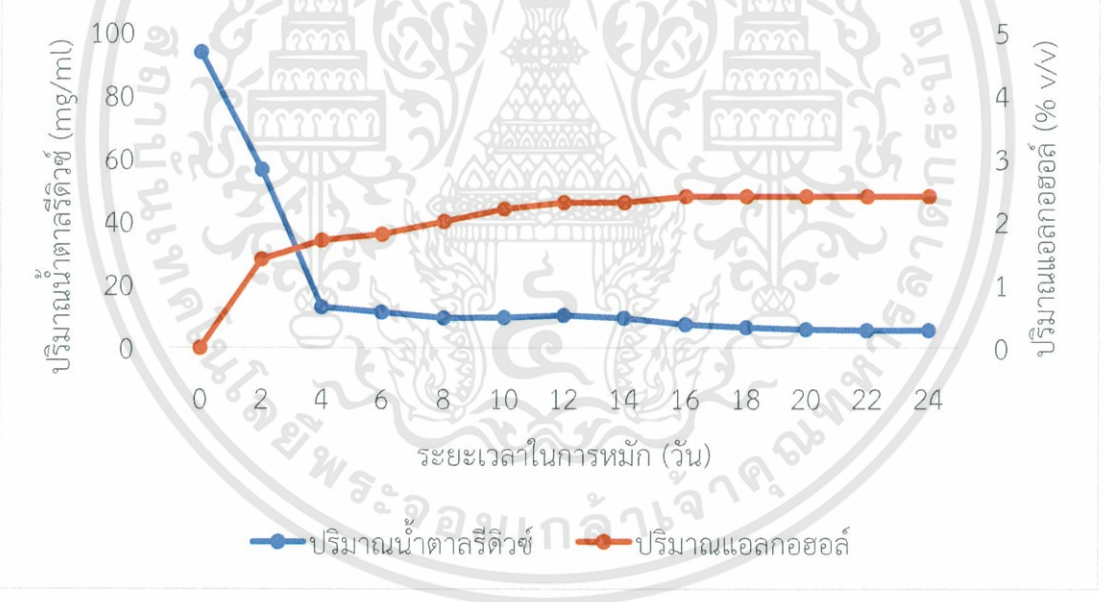


รูปที่ 4.3 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ต่อปริมาณแอลกอฮอล์ในระหว่างการหมักเบียร์ที่มีอัตราส่วนมอลต์บาร์เลย์ 75% ผสมกับมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว 25%เป็นระยะเวลา 24 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

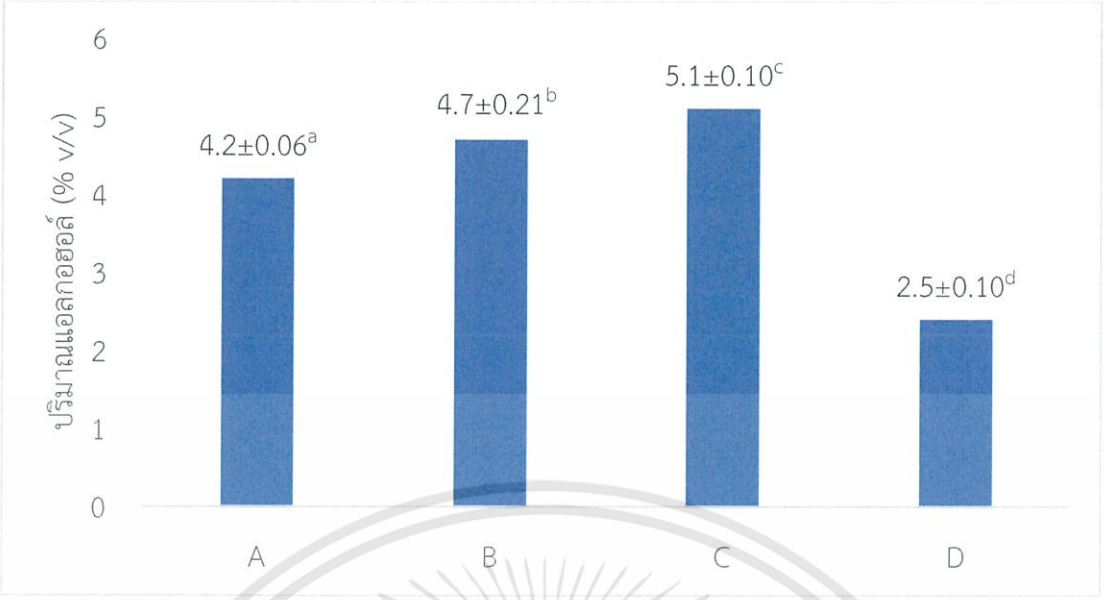


รูปที่ 4.4 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ต่อปริมาณแอลกอฮอล์ในระหว่างการหมักเบียร์ที่มีอัตราส่วนมอลต์บาร์เลย์ 50% ผสมกับมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว 50%เป็นระยะเวลา 24 วัน



รูปที่ 4.5 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ต่อปริมาณแอลกอฮอล์ในระหว่างการหมักเบียร์ที่มีอัตราส่วนมอลต์บาร์เลย์ 25% ผสมกับมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว 75%เป็นระยะเวลา 24 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



[a b c] ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับต่างกัน แตกต่างกัน ($p<0.05$)

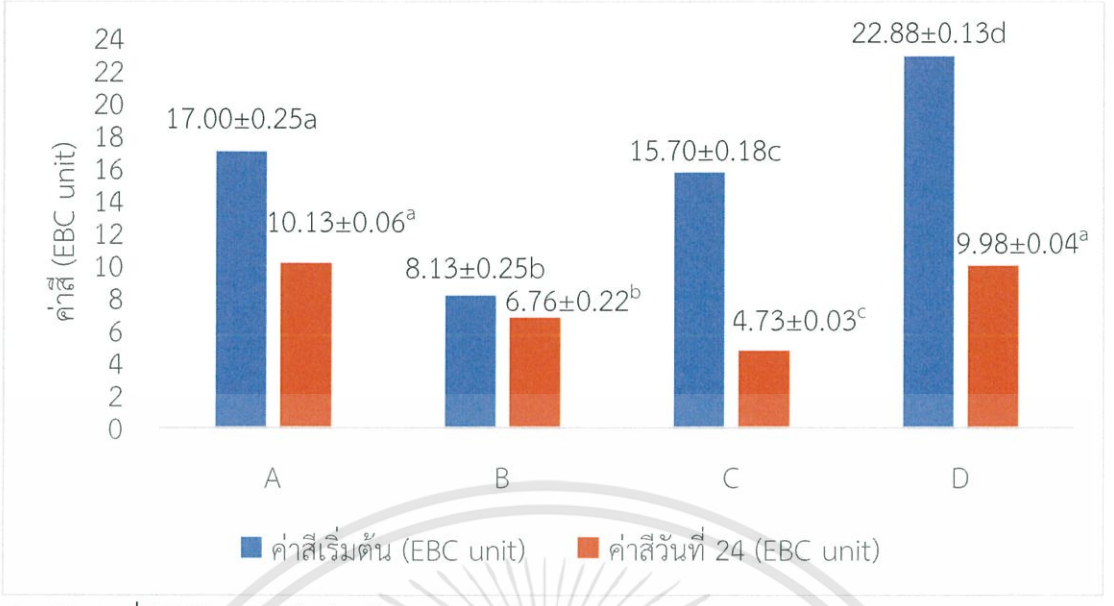
รูปที่ 4.6 แสดงปริมาณแอลกอฮอล์หลังเสร็จสิ้นกระบวนการหมักของเบียร์ที่ทำจากมอลต์ข้าวบาร์เลย์ 100% (A) มอลต์บาร์เลย์ 75% ผสมกับมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว 25% (B) มอลต์บาร์เลย์ 50% ผสมกับมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว 50% (C) มอลต์บาร์เลย์ 25% ผสมกับมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว 75% (D)

4.3 การทำเครื่องดื่มเบียร์ในถังหมักขนาด 5 ลิตรและคุณภาพของเบียร์

จากการวิเคราะห์คุณภาพทางด้านสี และ pH ของเบียร์ทั้ง 4 ตัวอย่าง พบว่าค่าสีและ pH ของน้ำเวิร์ตที่ทำจากมอลต์บาร์เลย์และมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว รวมทั้งค่าสีและ pH ของตัวอย่างหลังเสร็จสิ้นกระบวนการหมักในวันที่ 24 มีความแตกต่างกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ในด้าน pH ของน้ำเวิร์ตที่มีมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัวผสมอยู่มีค่าสูงกว่าเวิร์ตที่มีมอลต์บาร์เลย์เพียงอย่างเดียว และพบว่าปริมาณสัดส่วนของมอลต์จากข้าวมีผลต่อค่า pH และสีของเบียร์ เบียร์ที่ใช้มอลต์จากข้าวในสัดส่วนที่สูงจะมีค่า pH เริ่มต้นในน้ำเวิร์ตสูง ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับผลการทดลองของ Edyta Kordialik-Bogacka และคณะ (2014) ที่ค่า pH ของน้ำเวิร์ตที่ทำจากมอลต์บาร์เลย์ มีค่าเท่ากับ 5.77 แต่เมื่อมีปริมาณข้าวโอ๊ตเพิ่มขึ้น pH ที่ได้ก็จะมีค่าสูงขึ้น

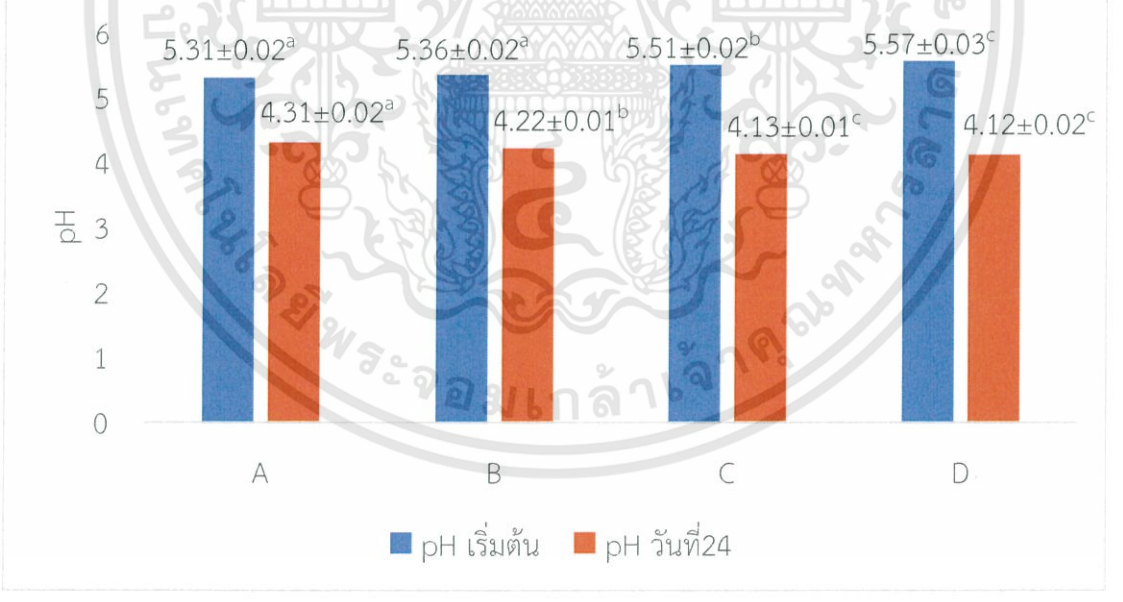
ในด้านสี พบว่า เมื่อสัดส่วนข้าวมากน้ำเวิร์ตที่ได้จะมีสีเข้มมากขึ้น นั่นคือ เบียร์ที่มีสัดส่วนมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว 75% มี pH ในน้ำเวิร์ตเท่ากับ 5.57±0.03 และมีค่าสี ประมาณ 22±0.13 EBC โดยสีที่เข้มขึ้นของเบียร์มีผลมาจากการ browning หรือ การเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดของแกลบระหว่างการทำแม็ชชิ่งและขั้นตอนการต้มน้ำเวิร์ต โดยผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับผลการทดลองของ โชคชัย (2558) ที่สีของเบียร์ที่ทำมาจากชุดการทดลองที่มี 50% ของมอลต์จากข้าวจะมีสีประมาณ 20 EBC ส่วนสีของเบียร์ที่ทำมาจากชุดการทดลองที่มี 70% และ 90% ของมอลต์จากข้าวจะมีค่าสีในช่วง 30-32 EBC (รูปที่ 4.7-4.9)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



a b c ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับต่างกัน แตกต่างกัน ($p<0.05$)

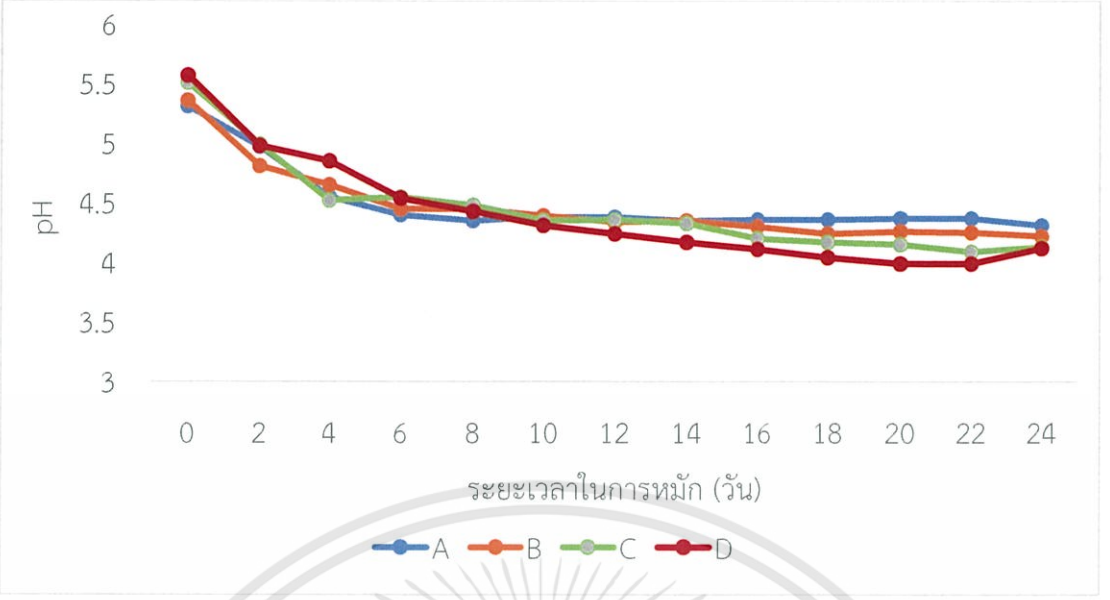
รูปที่ 4.7 แสดงค่าสีเริ่มต้นและค่าสีวันที่ 24 ที่ความยาวคลื่น 430 นาโนเมตร ของเบียร์ที่ทำจากมอลต์ข้าวบาร์เลย์ 100% (A) มอลต์บาร์เลย์ 75% ผสมกับมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว 25% (B) มอลต์บาร์เลย์ 50% ผสมกับมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว 50% (C) มอลต์บาร์เลย์ 25% ผสมกับมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว 75% (D)



a b c ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับต่างกัน แตกต่างกัน ($p<0.05$)

รูปที่ 4.8 แสดง pH เริ่มต้นและ pH วันที่ 24 ของเบียร์ที่ทำจากมอลต์ข้าวบาร์เลย์ 100% (A) มอลต์บาร์เลย์ 75% ผสมกับมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว 25% (B) มอลต์บาร์เลย์ 50% ผสมกับมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว 50% (C) มอลต์บาร์เลย์ 25% ผสมกับมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว 75% (D)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

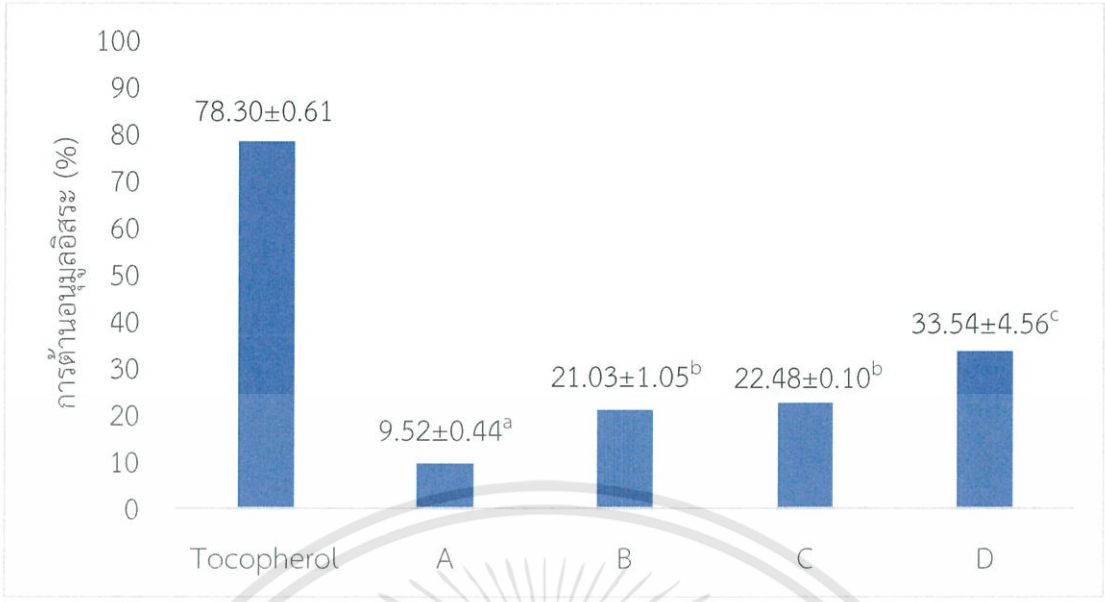


รูปที่ 4.9 แสดง pH ในระหว่างการหมักเบียร์ที่ทำจากมอลต์ข้าวบาร์เลย์ 100% (A) มอลต์บาร์เลย์ 75% ผสมกับมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว 25% (B) มอลต์บาร์เลย์ 50% ผสมกับมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว 50% (C) มอลต์บาร์เลย์ 25% ผสมกับมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว 75% (D) เป็นระยะเวลา 24 วัน

4.4 การทดสอบกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของเบียร์ที่มีอัตราส่วนมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัวต่างกัน

จากการทดสอบกิจกรรมการของเบียร์มีอัตราส่วนมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัวต่างกันด้วยวิธี DPPH โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระนี้จะช่วยป้องกันโรคต่างๆ เช่น มะเร็ง หัวใจ โรคไขมันอุดตันในเส้นเลือด และสารต้านอนุมูลอิสระเป็นส่วนผสมของผลิตภัณฑ์เสริม อาหารบำรุงสุขภาพ ถ้าร่างกายมีสารต้านอนุมลูอิสระที่เพียงพอจะช่วยลดโอกาสที่จะเป็นโรคเรื้อรังที่เป็นอันตรายเหล่านี้ได้ ผลการตรวจสอบพบว่า เบียร์ที่มีสัดส่วนมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว 75% มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด เท่ากับร้อยละ 33.54±4.56 รองลงมาคือ เบียร์ที่มีสัดส่วนมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว 50% และ 25% ตามลำดับ จากการวิจัยพบว่าเบียร์ที่ทำจากมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัวมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระมากกว่าเบียร์ที่มีมอลต์บาร์เลย์เพียงอย่างเดียว (ร้อยละ 9.52±0.44) ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับผลการทดลองของ Marinova และ Batchvarov (2011) ที่ได้ศึกษากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของเบียร์ด้วย DPPH และใช้ตัวทำละลายเอทานอล พบว่า กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของเบียร์ที่ทำจากมอลต์บาร์เลย์ มีค่าสูงเฉลี่ย 8.2-38.9% (รูปที่ 4.10)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



a b c ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับต่างกัน แตกต่างกัน ($p<0.05$)

รูปที่ 4.10 แสดงการต้านอนุมูลอิสระของเบียร์ทำจากมอลต์ข้าวบาร์เลย์ 100% (A) มอลต์บาร์เลย์ 75% ผสมกับมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว 25% (B) มอลต์บาร์เลย์ 50% ผสมกับมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว 50% (C) มอลต์บาร์เลย์ 25% ผสมกับมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว 75% (D) โดยใช้ Alpha-tocopherol เป็นสารมาตรฐาน

4.5 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสเบียร์ที่มีส่วนผสมของข้าวเหนียวลืมผัวในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน

จากการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยมีผู้ทดสอบจำนวน 50 คน ชิมเครื่องดื่มเบียร์ที่มีส่วนผสมข้าวเหนียวลืมผัวในอัตราส่วนที่แตกต่างกันทั้ง 4 ตัวอย่าง โดยงานวิจัยครั้งนี้ใช้แบบทดสอบการประเมินทางด้านประสาทสัมผัสแบบ 9 point Hedonic scale Test ซึ่งเป็นการให้ระดับคะแนนความชอบ 1 ถึง 9 (แสดงในตารางที่ 4.1) โดยจำแนกคุณสมบัติของเบียร์ออกเป็น 4 ลักษณะที่ต้องการประเมิน คือ

ลักษณะที่ 1 คือ Aroma หมายถึง กลิ่นของเบียร์ที่สัมผัสได้โดยการดมกลิ่นเท่านั้น พบว่าคะแนนสูงสุดที่ 6.52±1.49 และ 6.52±1.28 ซึ่งตัวอย่างที่มีคะแนนสูงที่สุด คือ เบียร์ตัวอย่าง B ที่มีอัตราส่วนมอลต์บาร์เลย์ 75% ผสมกับมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว 25% และเบียร์ตัวอย่าง D ที่มีอัตราส่วนมอลต์บาร์เลย์ 25% ผสมกับมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว 75% รองลงมาคือตัวอย่าง A และ C มีคะแนน เท่ากับ 6.34±1.66 และ 6.06±1.74 ตามลำดับ ซึ่งทั้ง 4 ตัวอย่างไม่มีความแตกต่างกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ลักษณะที่ 2 คือ Appearance ได้แก่ สี ระดับคะแนนความชอบด้านสีสูงสุดอยู่ที่ 6.80±1.25 และตัวอย่างที่มีคะแนนสูงที่สุด คือ เบียร์ตัวอย่าง D ที่มีอัตราส่วนมอลต์บาร์เลย์ 25% ผสมกับมอลต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้าวเหนียวลืมผัว 75% รองลงมาคือตัวอย่าง B,C และ A มีคะแนน เท่ากับ 6.68±1.45, 6.58±1.59 และ 6.38±1.48 ตามลำดับ ซึ่งทั้ง 4 ตัวอย่างไม่มีความแตกต่างกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ลักษณะที่ 3 คือ Flavor (รสชาติ) พบว่าเบียร์ที่มีมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัวผสมอยู่มีระดับคะแนนเฉลี่ยอยู่ที่ 5.84±1.60 ถึง 6.38±1.51 หมายความว่า ผู้ทดสอบส่วนใหญ่มีความเห็นว่า มีความรู้สึกเฉยๆจนถึงชอบเล็กน้อยกับเบียร์ที่มีมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัวผสมอยู่

ลักษณะที่ 4 Overall impression เป็นคะแนนโดยรวมเพื่อประเมินความประทับใจที่มีต่อตัวอย่างเบียร์ พบว่าระดับคะแนนเฉลี่ยสูงสุดอยู่ที่ 6.88±1.19 คือ เบียร์ตัวอย่าง B ที่มีอัตราส่วนมอลต์บาร์เลย์ 75% ผสมกับมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว 25% รองลงมาคือตัวอย่าง D, C และ A มีคะแนน เท่ากับ 6.66±1.38, 6.22±1.61 และ 6.22±1.49 ตามลำดับ ซึ่งทั้ง 4 ตัวอย่างไม่มีความแตกต่างกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ตารางที่ 4.1 แสดงผลการทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสแบบ 9 point Hedonic scale Test ของเบียร์ที่มีส่วนผสมของข้าวเหนียวลืมผัวในอัตราส่วนที่แตกต่างกันโดยผู้ทดสอบจำนวน 50 คน

ตัวอย่างเบียร์	สี	กลิ่น	รสชาติ	ความชอบโดยรวม
A	6.38±1.48	6.34±1.66	5.84±1.60	6.22±1.49
B	6.68±1.45	6.52±1.49	6.38±1.51	6.88±1.19
C	6.58±1.59	6.06±1.74	5.90±1.79	6.22±1.61
D	6.80±1.25	6.52±1.28	6.18±1.38	6.66±1.38

หมายเหตุ : A คือ เบียร์ที่ทำจากมอลต์ข้าวบาร์เลย์ 100%
B คือ เบียร์ที่ทำจากมอลต์บาร์เลย์ 75% ผสมกับมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว 25%
C คือ เบียร์ที่ทำจากมอลต์บาร์เลย์ 50% ผสมกับมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว 50%
D คือ เบียร์ที่ทำจากมอลต์บาร์เลย์ 25% ผสมกับมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว 75%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาการผลิตเครื่องดื่มเบียร์ที่มีอัตราส่วนมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัวต่างกันในถังหมักขนาด 5 ลิตร พบว่า ข้าวเหนียวลืมผัวสามารถนำมาเพาะเป็นมอลต์เพื่อทำเบียร์ได้ โดยเบียร์ที่มีสัดส่วนของมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัวต่างกันจะมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ต่างกัน คือ สัดส่วนมอลต์จากข้าวมาก จะมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มาก อยู่ที่ 94.69±1.03 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้ยังมีปริมาณแอลกอฮอล์ ค่าสี pH และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกัน

โดยปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้จากการหมักเบียร์ที่มีสัดส่วนข้าวมอลต์ 50% (5.1% v/v) มีปริมาณเทียบเท่ากับเบียร์ทางการค้า คือ 5.00% v/v ส่วนค่าสีและค่า pH ที่ได้จากน้ำเวิร์ตจะมีสีเข้มขึ้นมี pH สูงขึ้นเมื่อมีสัดส่วนของข้าวเพิ่มมากขึ้น และหลังจากเสร็จสิ้นกระบวนการหมักในวันที่ 24 pH ของเบียร์จะมี pH ลดลง ซึ่งเบียร์ที่มีปริมาณมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว 75% มีค่า pH ที่ต่ำที่สุดเท่ากับ 4.12±0.02

กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของเบียร์ที่มีสัดส่วนมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว 75% มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด เท่ากับร้อยละ 33.54±4.56 มากกว่าเบียร์ที่มีมอลต์บาร์เลย์เพียงอย่างเดียว จากข้อมูลดังกล่าวชี้ให้เห็นว่าการหมักเครื่องดื่มเบียร์ที่มีข้าวเหนียวลืมผัวอยู่นั้นทำให้ ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงซึ่งส่งผลดีต่อสุขภาพ

ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของเบียร์ทางด้านสี พบว่าเบียร์ที่มีสัดส่วนมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว 75% มีสีสันสวยงามตรงกับความพึงพอใจของผู้ทดสอบมากที่สุด โดยมีคะแนนความพึงพอใจเท่ากับ 6.80±1.25 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของเบียร์ทางด้านกลิ่น พบว่าเบียร์ที่มีสัดส่วนมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว 25%และ 75% มีคะแนนความพึงพอใจมากที่สุดเท่ากับ 6.52±1.49 และ 6.52±1.28 รองมาคือ เบียร์ที่ไม่ได้ใส่มอลต์ข้าวเหนียวลืมผัวมีคะแนนความพึงพอใจอยู่ที่ 6.34±1.66 ส่วนเบียร์ที่มีสัดส่วนข้าวเหนียวลืมผัว 50% มีคะแนนความพึงพอใจน้อยที่สุด เท่ากับ 6.06±1.74 และในขณะเดียวกันการทดสอบทางประสาทผัสของเบียร์ทางด้านรสชาติ พบว่า เบียร์ที่มีสัดส่วนมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว 25% มีคะแนนความพึงพอใจมากที่สุดเท่ากับ 6.38±1.51 รองมาคือ 75% เท่ากับ 6.18±1.38 50% เท่ากับ 5.90±1.79 และเบียร์ที่ไม่ได้ใส่มอลต์ข้าวเหนียวลืมผัวมีคะแนนความพึงพอใจน้อยที่สุด เท่ากับ 5.84±1.60 และจากการทดสอบทางประสาทสัมผัสของเบียร์ ด้านความชอบโดยรวม พบว่า เบียร์ที่มีสัดส่วนมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว 25% มีคะแนนความชอบมากที่สุดเท่ากับ 6.88±1.19 รองมาคือ 75% เท่ากับ 6.66±1.38 และเบียร์ที่มีสัดส่วนมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว 50% กับเบียร์ที่ไม่ได้ใส่มอลต์ข้าวเหนียวลืมผัวมีคะแนนความพึงพอใจน้อยที่สุดเท่ากับ 6.22±1.61 กับ 6.22±1.49 การศึกษาครั้งนี้พบว่าการผลิตเครื่องดื่มเบียร์ที่มีส่วนผสมจากข้าวเหนียวลืมผัว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถเป็นเครื่องดื่มเพื่อตอบโจทย์ผู้บริโภคได้ในขณะที่เบียร์ที่มีส่วนผสมของมอลต์บาร์เลย์ถึงแม้ว่าจะได้รับความนิยมมากในประเทศแต่ก็ยังใช้ต้นทุนที่สูงในการสั่งวัตถุดิบมาผลิตเบียร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กนกวรรณ สระแก้ว. 2548. กระบวนการหมักเบียร์ด้วยยีสต์ที่ตรึงบนแกลบ. กรุงเทพมหานคร : ฐานข้อมูลโครงสร้างพื้นฐานภาครัฐด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี.

กรมการข้าว กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2555. ข้าวเหนียวลืมผัว. พิษณุโลก : ศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลกกรมการข้าว กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

ก่อเกียรติ ใจอ่อน. (2551). "ผลของโปรตีนและไขมันในปลายข้าวที่ใช้เป็นแอดจังท์ต่อความคงตัวของฟองและกลิ่นรสในเบียร์." วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีอาหาร). ขอนแก่น : มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

จันทรวดี ทาปลัด และรัตติกาล เขื่อนเก้า. 2549. การเปรียบเทียบกระบวนการผลิตเบียร์โดยใช้เซลล์อิสระกับเซลล์ตรึง. ปัญหาพิเศษ วิทยาศาสตรบัณฑิต. (เทคโนโลยีชีวภาพ) แพร่ : มหาวิทยาลัย แม่โจ้ – แพร่ เฉลิมพระเกียรติ.

โชคชัย วนภู. 2558. "การหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเบียร์จากข้าวไทยเป็นส่วนประกอบหลักโดยวิธีพื้นที่ผิวตอบสนองและการประยุกตูใช้ในการผลิตเบียร์ระดับกึ่งอุตสาหกรรม." รายงานการวิจัยมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

เดชาวุฒิ วานิชสรรพ์, นิทัศน์ นิลฉวี, ทวีศักดิ์ รัตนคม และพรรณนิการ์ กงจักร. 2558. "ขั้นตอนวิธีนับจำนวนเชื้อบนแผ่นฮิโมซิมิเตอร์ด้วยเทคนิคประมวลผลภาพและดีบีสแกน." *วารสารเทคโนโลยีสารสนเทศ.* 11(2) : 57.

นวลอนงค์ เสมสังข์, ณกมล แก้วลังการ์ และวีรพงษ์ จันทะชัย. ไม่ปรากฏปีที่พิมพ์. *ปริมาณฟลาโวนอยด์สารประกอบฟีนอลทั้งหมดและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากข้าวไทย.* เชียงใหม่: มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่.

ปาริฉัตร สงข์สะอาด. (2542). การใช้รูปแบบโปรตีน Hordein ในการประเมินคุณภาพมอลต์ของสายพันธุ์ข้าวบาร์เลย์. สาขาวิชาพืชไร่ ภาควิชาพืชไร่. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ไพโรจน์ วิริยจารี. 2545. **การประเมินทางประสาทสัมผัส.** คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ยศพร พลายโถ. 2559. "ฤทธิ์การป้องกันภาวะเครียดจากออกซิเดชันในเซลล์ลำไส้มนุษย์ของข้าวหมากจากข้าวเหนียวดำพันธุ์ลืมผัว." *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี.* 24(5) : 813-830

เรวัติ เลิศฤทัยโยธิน. (2535). ศักยภาพในการใช้ธัญพืชเมืองหนาวโดยเน้นทรีติเคลี่ในการผลิตมอลต์ความสัมพันธ์ระหว่างพันธุกรรมกับคุณภาพมอลต์. การประชุมวิชาการธัญพืชเมืองหนาว ครั้งที่ 13. ชลบุรี : โรงแรมรอยัล คลิฟบีช รีสอร์ต เมืองพัทยา.

สาวิตรี ลิ่มทอง. 2549. ยีสต์ : ความหลากหลายและเทคโนโลยีชีวภาพ. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์ เกษตรศาสตร์.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หนึ่ง เตียอำรุง, นันทกร บุญเกิด และโชคชัย วนภู. 2553. "การผลิตเบียร์จากข้าวไทย." สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร. นครราชสีมา : มหาวิทยาลัย เทคโนโลยีสุรนารี.

อทิตยา โรจนสโรช. 2551. "สารต้านอนุมูลอิสระในข้าวดำ ข้าวเหนียวดำ และข้าวแดง : การป้องกันการเป็นพิษต่อเซลล์และสารพันธุกรรมจากอนุมูลอิสระและการแสดงออกของยีนสะสมไขมันในเซลล์ เพาะเลี้ยง." ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

อุลัยวรรณ์ อุสันสา. 2554. กระบวนการผลิตเบียร์ : ฮอพ. สรรสาระเทคโนโลยีชีวภาพ ฉบับที่ 2. กรุงเทพฯ : สมาคมเทคโนโลยีชีวภาพแห่งประเทศไทย.

Agu, R.C. and Palmer, G.H. 1998. A reassessment of sorghum for lager-beer brewing. Bioresour. Technol. p. 253–261.

Bamforth, W. Charles. 2007. Food, Fermentation and Micro-organisms. UK : Blackwell Publishing company. p.40-88

Bamforth, C. W. 2009. Handbook of Alcoholic Beverage Series: Beer A Quality Perspective. Academic Press.

Başkan Sözgen K., Tütem E., Akyüz E., Özen S., Apak R. 2016. Spectrophotometric total reducing sugars assay based on cupric reduction. Department of Chemistry, Faculty of Engineering, Istanbul University, 34320 Istanbul, Turkey.

Boonsit, P., Pongpiachan, P., Julsrigival, S. and Karladee, D. 2010. "Gamma Oryzanol Content in Glutinous Purple Rice Landrace Varieties." CMU. J. Nat. Sci. 9(1) : 151-157.

Brady, C. W. 2008. Dilution Techniques and Calculations. Journal of Molecular Biology. [Online] . Available : http://www2.hawaii.edu/~johnb/micro/m140/syllabus/week/handouts

Briggs, D. E. (1998). Malt and Malting. London: Blackie Academic & Professional.

Brummer, J. G. (1990). Barley for malt. In National Barley and Wheat Conference. Chiang Rai : Golde Triangle Resort Hotel. p. 305.

Calliste C.A., Kozlowski D., Duroux J.L., Champavier Y., Chulia A.J. and Trouillas P. 2010. A new antioxidant from wild nutmeg. *Food Chem.*, 2010(118), 489–496.

Caprette, D. R. 2006. Using a Counting Chamber. [Online]. Available : http://www.ruf.rice.edu/~bioslabs/methods/microscopy/cellcounting.html

Cassidy, A., Mukamal, K.J, Liu, L., Franz, M., Eliassen, A.H. and Rimm, E.B. 2013. High anthocyanin intake is associated with a reduced risk of myocardial infarction in young and middle-aged women. Circulation 127: 188-196.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Catarino, Margarida, D. 2010. "Production of Non-Alcoholic Beer with Reincorporation of original aroma compounds" Ph.D. dissertation, Department of Chemical Engineering Universityof Porto.

Chang-Won Oh, Minghua Li, Eun-Hye Kim Park, Jun-Seok Lee, Jong-Chan, Ham Seung-Wook. (2010). Antioxidant and Radical Scavenging Activities of Ascorbic Acid Derivatives Conjugated with Organogermanium. *Bull. Korean Chem. Soc.*, *2010*(31), 3513-3514. DOI: 10.5012/bkcs.2010.31.12.3513

Edney, M.J. (1996). Barley, Cereal quality. London. p. 113–131.

Edyta Kordialik-Bogacka, Paulina Bogdan and Anna Diowksz. 2014. "Malted and unmalted oats in brewing." J. Inst. Brew. 120: 390–398.

Esslinger, H. M., Narziss L. 2009. Beer. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, Wiley-VCH V.

European Brewery Convention, EBC (1998). Analytica-EBC. Germany.

Frías J., Martínez C., and Peñas E., editor. 2016. Fermented Foods in Health and Disease Prevention. Alcalá de Henares : Academic Press.

Gamlatha, J., Aldreda, G. P. and Panozzob, F. J. (2008). Barley (1 → 3; 1 → 4)-Beta-glucan and arabinoxylan content are related to kernel hardness and water uptake. Journal of Cereal Science. 47: 365-371.

Goufo, P. and Trindade, H. 2014. Rice antioxidants: phenolic acids, flavonoids, anthocyanins, proanthocyanidins, tocopherols, tocotrienols, Gramma-oryzanol, and phytic acid, Food Sci. Nutr. 2: 75-104.

Hansen, J. (1999). Inactivation of MXR1 Abolishes Formation of Dimethyl Sulfite from Ditethyl Sulfoxide in *Saccharomyces cerevisiae*. Apply Environmental Microbiology. 65(9): 3915-3919.

Juliano, C., Cossu, M., Alamanni, M.C. and Piu, L. 2005. Antioxidant activity of gamma-oryzanol: Mechanism of action and its effect on oxidative stability of pharmaceutical oils, Int. J. Pharm. 299: 146-54.

Krofta, K., Mikyska, A., and Hasková, D. 2008. Antioxidant characteristics of hops and hop products. J. Inst. Brew., 114(2), 160–166.

Kudpeng, C., Soemphol, W. and Tanamool, V. 2016. "Study on Production of Sato from Indigenous Rice Varieties in Nakhon Ratchasima." The national and International Graduate Research Conference.

Kunze, W. 2004. Technology Brewing and Malting. 3rd ed. VLB Berlin, Germany.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Marinova, G. and Batchvarov, V. 2011. "Evaluation of the methods for determination of the free radical scavenging activity by DPPH." Bulg. J. Agric. Sci., 17: 11-24

Nednapa Moelklang., Chalerm Ruangviriyachai. 2014. "Determination of Phenolic Compounds and Antioxidant Potential in Fruit Beverage." KKU RES J (GS). 14(4) : 69-79

Olaniran, O. A., Hiralal, L., Mokoena, P. M. and Pillay, B. 2017. Flavour-active volatile compounds in beer: production, regulation and control. J. Inst. Brew. 2017; 123: 13–23

Palmer, G. H. (2006). Barley and malt. In : Priest, F.G. and Stewart, G.G. (eds.). Handbook of brewing. 2nded. Taylor & Francis Group, CRC press.

Rizvi, S., Raza, S.T., Ahmed, F., Ahmad, A., Abbas, S. and Mahdi, F., 2014, The role of vitamin E in human health and some diseases. Sultan Qaboos Univ. Med. J. 14: 157-165.

Saenjum, C., Chaiyasut, C., Chansakaow, S., Suttajit, M. and Sirithunyalug, B. 2011. Antioxidant and anti-inflammatory activities of gamma-oryzanol rich extracts from Thai purple rice bran, J. Med. Plant Res. 6: 1070-1077.

Shellhammer, T. H. 2008. Beer a Quality Perspective. Califonia. DOI: 10.1021/bk-2008-0983.ch015. p.213-227

Stewart, G.G. 2016. "*Saccharomyces* species in the Production of Beer." The International Centre for Brewing and Distilling, Heriot-Watt University, Scotland.

Subasree, S., 2014, Role of vitamin C and vitamin E in health and disease, J. Pharm. Sci. Res. 6: 52-55.

Suwannalert P. and Rattanachitthawat S. 2011. "High Levels of Phytophenolics and Antioxidant Activities in Oryza Sativa – Unpolished Thai Rice Strain of Leum Phua." Tropical Journal of Pharmaceutical Research. 10(4): 431-436

Tafazoil, S., Wright, James S. and O'Brien, Peter J. 2005. "Prooxidant and Antioxidant Activity of Vitamin E Analogues and Troglitazone." *Chem. Res. Toxicol.* 18 (10) : pp 1567–1574.

Teramoto, Y., Yoshida, S., and Ueda, S. 2002. "Characteristics of a rice beer (zutho) and a yeast isolated from the fermented product in Nagaland, India." World Journal of Microbiology and Biotechnology 18: 813-816.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Usansa U., Sompo N., Wanapu C., Boonkerd N., Teaumroong N. 2009. The Influences of Steeping Duration and Temperature on the α- and β-Amylase Activities of Six Thai Rice Malt Cultivars *(Oryza sativa* L. Indica). JOURNAL OF THE INSTITUTE OF BREWING 115(2), 140–147.

Wang, L.S. and Stoner, G.D. 2008. Anthocyanins and their role in cancer prevention, Cancer Lett. 269: 281-290.

Wolfe, E., Bickham, S., Houseman, D., Wotring, G., Sapsis, D., Garofalo, P. and Hanning, C. 2016. "BJCP Beer exam study guide." Beer Judge Certification Program.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

อาหารเลี้ยงเชื้อ

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast Extract Malt Extract (YM) Broth

Yeast Extract	3.0	กรัม
Malt Extract	3.0	กรัม
Peptone	5.0	กรัม
Glucose	10.0	กรัม
Distilled Water	1000	มิลลิลิตร

ขั้นตอนการเตรียม

ใส่น้ำกลั่นส่วนหนึ่งเพื่อละลายส่วนผสมให้เข้ากัน จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรครบ 1000 มิลลิลิตร ฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอ ควบคุมอุณหภูมิที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast Extract Malt Extract (YM) slant

Yeast Extract	3.0	กรัม
Malt Extract	3.0	กรัม
Peptone	5.0	กรัม
Glucose	10.0	กรัม
Agar	20.0	กรัม
Distilled Water	1000	มิลลิลิตร

ขั้นตอนการเตรียม

ใส่น้ำกลั่นส่วนหนึ่งเพื่อละลายส่วนผสมให้เข้ากัน จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรครบ 1000 มิลลิลิตร แบ่งใส่หลอดทดลอง หลอดละประมาณ 5 มิลลิลิตร ปิดจุก ฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอ ควบคุมอุณหภูมิที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที วางหลอดให้เอียงจนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว เพื่อเก็บไว้ใช้ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar

Beef extract	3.0	กรัม
Peptone	5.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

ขั้นตอนการเตรียม

ใส่น้ำกลั่นส่วนหนึ่งเพื่อละลายส่วนผสมให้เข้ากัน จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรครบ 1000 มิลลิลิตรฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอ ควบคุมอุณหภูมิที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที จากนั้นเทใส่จานอาหารเลี้ยงเชื้อภายในตู้ laminar flow

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การเพาะเลี้ยงเซลล์ยีสต์

1. การกระตุ้นเชื้อยีสต์และการเก็บเซลล์ในกลีเซอรอล

วิธีการ

1. นำยีสต์ผงเทลงให้ท่วมผิวหน้าอาหาร YM broth ปริมาตร 150 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ด้วยวิธีปลอดเชื้อ
2. เลี้ยงเชื้อยีสต์ในสภาวะเขย่าด้วยตู้บ่ม incubator shaker ที่ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง
3. นำไปศึกษาเซลล์มีชีวิตด้วยวิธี Wet mount โดยเซลล์มีชีวิตจะมีลักษณะใส ไม่ติดสีย้อม methylene blue นำไปนับจำนวนเซลล์ด้วย Haemacytometer และเก็บเชื้อ 2 วิธี ได้แก่
    3.1 ใช้ loop เขี่ยเชื้อและทำการ steak ลงบนอาหาร YM Agar Slant นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส
    3.2 เก็บเชื้อในกลีเซอรอล ทำได้โดยการนำกลีเซอรอลปริมาตร 5 มิลลิลิตรและน้ำกลั่น 45 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอ ควบคุมอุณหภูมิที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที จากนั้นทิ้งไว้ให้เย็น และทำการใส่กลีเซอรอล 0.5 มิลลิลิตร เชื้อยีสต์ที่ทำการกระตุ้นการเจริญ 0.5 มิลลิลิตร ลงใน Eppendorf ขนาด 1.5 มิลลิลิตร และนำไปเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

2. การศึกษาเซลล์มีชีวิตด้วยวิธี Wet mount

อุปกรณ์

1. แผ่นสไลด์และกระจกปิดสไลด์ (Cover slip)
2. สีย้อม Methylene blue
3. หลอดหยด (dropper)
4. ยีสต์ที่เลี้ยงในอาหาร YM broth
5. กล้องจุลทรรศน์

วิธีการ

1. หยดยีสต์ลงบนสไลด์ด้วยหลอดหยด 1-2 หยด
2. หยดสีย้อม Methylene blue 1 หยด
3. ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ ระวังอย่าให้มีฟองอากาศ
4. นำไปตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 10 x 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การนับจำนวนเซลล์ด้วย Hemacytometer

อุปกรณ์

1. Neubauer improved Bright-line
2. Micropipette และ pipette tip
3. กล้องจุลทรรศน์

วิธีการนับจำนวนเซลล์

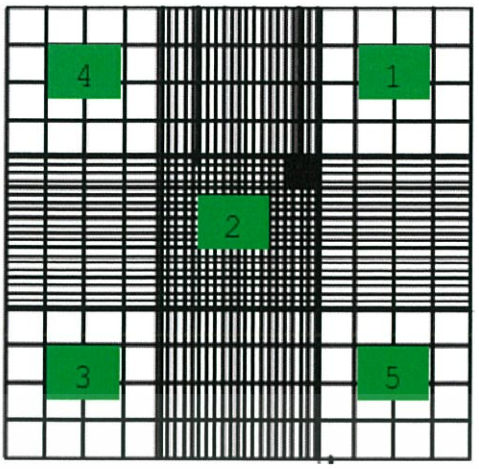
การนับเซลล์จะทำโดยการใช้กล้องจุลทรรศน์ช่วยขยายขนาด แล้วนับได้ โดยตรงด้วยการมองผ่านกล้องจุลทรรศน์ นับจำนวนเซลล์ในตารางย่อยของตารางใหญ่ตรงกลางโดยนับเซลล์ที่มุมทั้งสี่และตรงกลางของตารางย่อย 5 ช่อง (ภาพข.) ของทั้ง upper และ lower สำหรับเซลล์ที่อยู่คาบเกี่ยวระหว่างตารางให้นับเซลล์ที่อยู่ด้านบนและด้านขวา ส่วนเซลล์ที่อยู่ด้านล่างและด้านซ้ายไม่นับ จากนั้นนำมาหารด้วยจำนวนช่องที่นับเพื่อหาค่าเฉลี่ย (เดชาวุฒิ, 2558) และนำค่าที่ได้มาคำนวณดังนี้

$$\text{จำนวนเซลล์ (เซลล์/มิลลิลิตร)} = \frac{\text{จำนวนเซลล์ที่นับได้ทั้ง 5 ช่อง}}{5} \times \frac{1}{4} \times 10^6$$

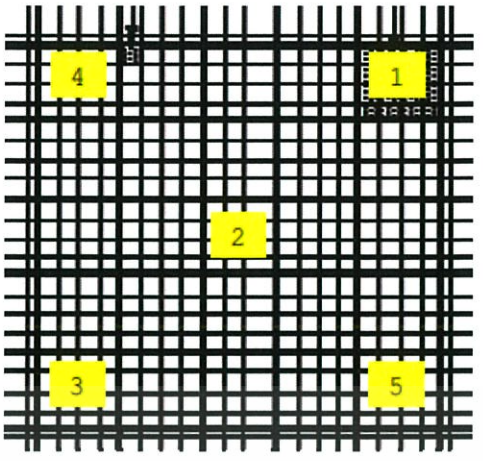
หน่วยที่ใช้ในการนับเซลล์จะใช้หน่วยเซลล์ต่อปริมาตร ตามปกติหน่วยที่นับได้ที่นิยมใช้จะเป็นเซลล์ต่อมิลลิลิตร

หากจำนวนเซลล์มีความหนาแน่นเกินไปจะต้องทำการเจือจางตัวอย่างก่อนนำมานับจำนวนเซลล์ การเจือจางตัวอย่างจะใช้ Serial dilution ทำได้โดย ใส่อาหารเลี้ยงยีสต์ ในหลอดทดลอง 4 หลอดๆละ 9 มิลลิลิตร เติม Stock yeast 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดที่ 1 เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นดูดสารละลายจากหลอดที่ 1 ใส่ลงในหลอดที่ 2 เขย่าให้เข้ากันทำเช่นเดียวกันในหลอดที่ 3 และ 4 (ภาพที่ 1)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

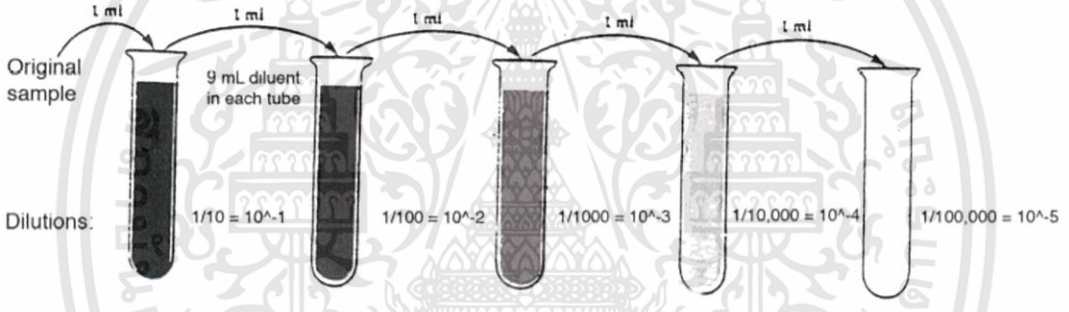


ก



ข

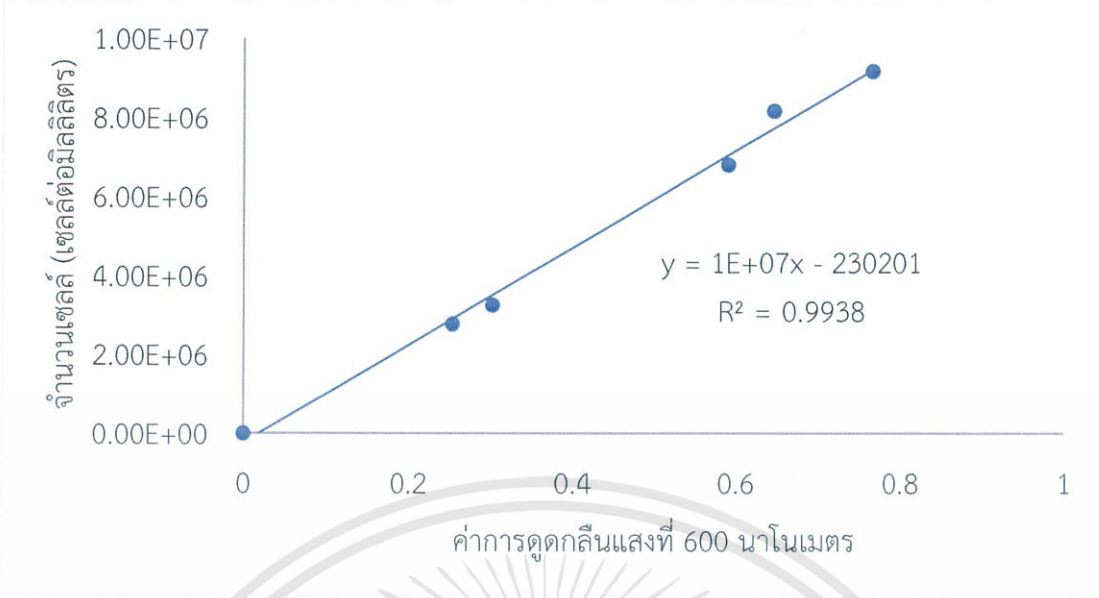
ที่มา: http://www.ruf.rice.edu/~bioslabs/methods/microscopy/cellcounting.html



รูปที่ 1 การทำ Serial dilution

ที่มา: http://www2.hawaii.edu/~johnb/micro/m140/syllabus/week/handouts

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



กราฟที่ 1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตรกับจำนวนเซลล์ยีสต์ที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

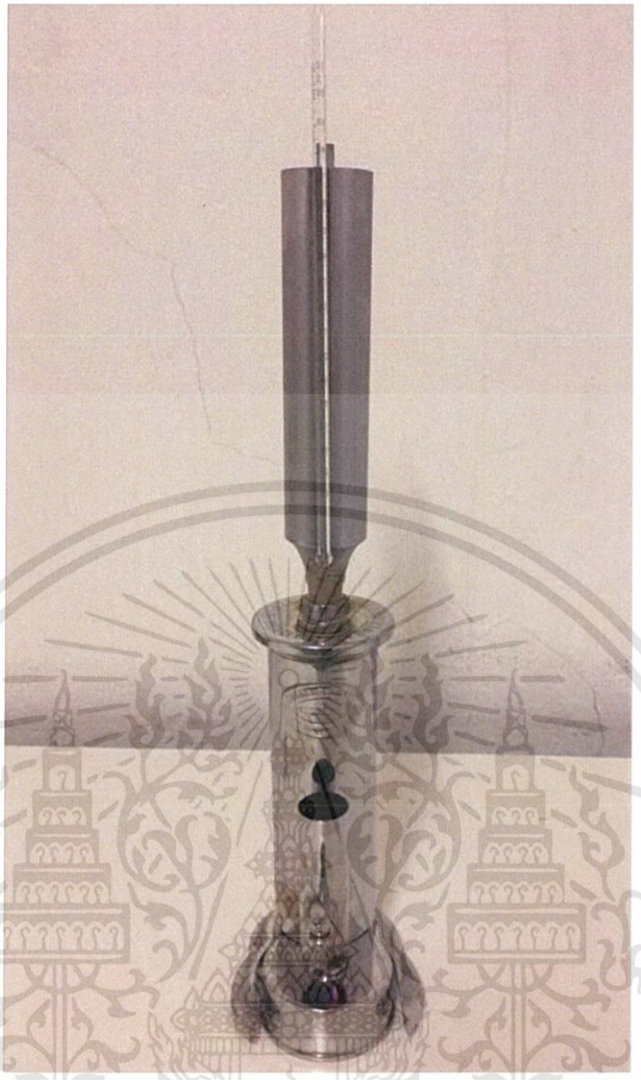
วิธีการวิเคราะห์

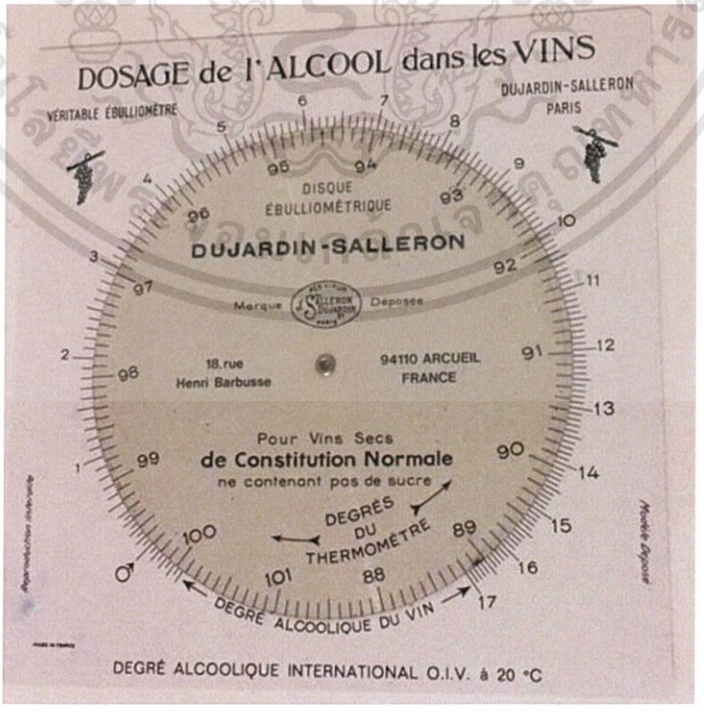
1. การวิเคราะห์แอลกอฮอล์ โดยใช้ Ebulliometer

หลักการ

เป็นการวัดแอลกอฮอล์ด้วยจุดเดือดของน้ำเบียร์ที่ลดลงจากจุดเดือดของน้ำบริสุทธิ์ และนำค่าอุณหภูมิจุดเดือดที่อ่านได้ ไปเทียบกับตารางที่ให้มากับเครื่อง ก็สามารถบอกปริมาณแอลกอฮอล์ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้





เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการหาจุดเดือดของน้ำ

1. เตรียมตะเกียงแอลกอฮอล์
2. ล้าง Boiler ให้ทั่วและเทน้ำออก
3. ใช้กระบอกตวงแก้ว ตวงน้ำถึงขีด EAU (น้ำ) ปริมาตร 15 มิลลิลิตร กรอกใส่ช่อง Boiler แล้วใส่เทอรโมมิเตอร์ให้เข้าที่
4. จุดตะเกียงแล้ววางไว้ใต้กระบอก หลังจากนั้นปรอทจะสูงขึ้นและจะมีไอน้ำระเหยออกมาจากส่วนบนของเครื่องมือเมื่อระดับของปรอทอยู่นิ่งแล้ว ให้หมุนแผ่นวงกลมของแผ่นบนที่ตรงกับอุณหภูมิของน้ำไปที่ศูนย์ดีกรีแอลกอฮอล์ของแผ่นล่าง จากนั้นจะสามารถตรวจสอบแอลกอฮอล์ของตัวอย่างได้

วิธีวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ในตัวอย่าง

1. เทน้ำเบียร์ทีละน้อยล้างกลั้ว Boiler แล้วเทออกให้หมด
2. เติมน้ำเบียร์ที่จะทดสอบในกระบอกตวงแก้วตามขีดที่บอก WINE ปริมาตร 50 มิลลิลิตร แล้วเทใส่ช่อง boiler และนำเทอร์โมมิเตอร์ใส่ให้เข้าที่แล้วเติมน้ำเย็นในcondenser หลังจากนั้นก็จุดตะเกียง รอจนปรอทของเทอร์โมมิเตอร์ค่อนข้างคงที่จึงอ่านอุณหภูมิที่สูงสุด แล้วนำไปเทียบกับแผ่นกลมข้างบนให้ตรงกับอุณหภูมิที่วัดน้ำเบียร์ได้ จะได้เปอเซ็นต์ของแอลกอฮอล์ในน้ำเบียร์ที่ตรวจสอบ

2. การวัดค่าพีเอช (pH) โดยใช้ pH meter ตามวิธี EBC 8.17 (1998)

วิธีการวิเคราะห์

1. ปรับเทียบมาตรฐานก่อนการใช้งานโดยการเทียบกับสารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐาน 2 ค่า เช่น pH4 และ pH 7 หรือ pH 7 และ pH10
2. วัด pH ของน้ำเวิร์ตและตัวอย่างเบียร์ที่มีอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การวัดค่าสีของเบียร์ (Shellhammer, 2008)

อุปกรณ์

1. Spectrophotometer
2. Cuvett 10mm

วิธีการวิเคราะห์

1. นำน้ำเวิร์ตและตัวอย่างเบียร์วัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 430 นาโนเมตรและใช้น้ำกลั่นเป็น blank
2. นำค่าการดูดกลืนแสงนำมาคำนวณ ดังสมการ

$$\text{Color (EBC units)} = A_{430} \times 25$$

เมื่อ A_{430} = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ 430นาโนเมตร

4. การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วย DNS reagent (Başkan *et al.*, 2016)

สารเคมี

1. 3,5-Dinitrosalicylic acid
2. $KNaC_4H_4O_6$(Potassium Sodium-Tartrate)
3. 2N NaOH

การเตรียมสารเคมี

1. ชั่ง 3,5-Dinitrosalicylic acid 10 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร เติมสารละลายด่างลงไปทีละน้อย (NaOH 16 กรัม) คนจนเข้ากันหมด อุ่นจนได้สารละลายใส
2. เติม Potassium Sodium-Tartrate ลงไปทีละน้อยจนครบ 300 กรัม
3. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1,000 มิลลิลิตร เก็บในขวดสีชา

การเตรียมกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 1 กรัมต่อลิตร โดยชั่งน้ำตาลกลูโคส 0.1 กรัม นำไปละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร
2. นำสารละลายมาตรฐานกลูโคสมาเจือจางให้มีความเข้มข้น 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. นำสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ทำการเจือจางแล้วมาเติมสารละลาย DNS ปริมาตร 1 มิลลิลิตร
4. นำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที นำไปแช่ในน้ำเย็นเป็นเวลา 5 นาที
5. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร บันทึกค่าที่ได้และนำไป Plot เป็นกราฟมาตรฐานกลูโคส

วิธีการวิเคราะห์

1. นำน้ำเวิร์ตและตัวอย่างเบียร์มาทำการเจือจางให้ได้ความเข้มข้นที่เหมาะสม
2. ปิเปตตัวอย่างที่มีความเข้มข้นที่เหมาะสมปริมาตร 1 มิลลิลิตร
3. เติมสารละลาย DNS ปริมาตร 1 มิลลิลิตร
4. นำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที นำไปแช่ในน้ำเย็นเป็นเวลา 5 นาที
5. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร บันทึกค่าที่ได้และนำไปคำนวณเทียบกับค่าที่ได้จากสารละลายมาตรฐานของกลูโคส

การคำนวณปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

$$\text{ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)} = \frac{\text{ค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร} \times \text{อัตราการเจือจาง}}{\text{ค่าความชันของกราฟมาตรฐาน}}$$

ตารางภาคผนวก ค 1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคส

ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำกลั่น (มิลลิลิตร)	ปริมาณสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส (มิลลิลิตร)
0.2	0.8	0.2
0.4	0.6	0.4
0.6	0.4	0.6
0.8	0.2	0.8
1.0	0	1.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. การวิเคราะห์ปริมาณอนุมูลอิสระในเบียร์โดยวิธี DPPH assay (Marinova and Batchvarov, 2011)

วิธีการวิเคราะห์

1. เตรียมสาร DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ในเอทานอล โดยชั่ง 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl 0.0024 กรัมละลายด้วยเอทานอล 100 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 20 นาที ที่ 20 องศาเซลเซียส (ต้องเตรียมใหม่ก่อนการทดลองทุกครั้ง)
2. เจือจางตัวอย่างเบียร์กับน้ำโดย นำตัวอย่างเบียร์ 13.3 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำในขวดปรับปริมาตรจากนั้น ปิเปตตัวอย่างที่ทำการเจือจางแล้วมา 2.5 มิลลิลิตร ใส่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร และเติมเอทานอลลงไปจนครบ 25 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ20 องศาเซลเซียสก่อนนำไปใช้
3. ทำการเตรียม blank โดยการเติมน้ำ 2.5 มิลลิลิตรในขวดปรับปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร และเติมเอทานอลลงไปจนครบ 25 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียสก่อนนำไปใช้
4. การวิเคราะห์โดยนำตัวอย่างเบียร์ที่เจือจางในข้อ 2. มา 1.5 มิลลิลิตร และปิเปตสารละลาย DPPH ในข้อ 1. มา 1.5 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองปิดด้วยลูกแก้วเขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งในที่มืด30นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร เทียบกับ blank
5. เตรียมcontrolโดยใช้ blank ที่ทำการเจือจางแล้วในข้อ 3. มา 1.5 มิลลิลิตรผสมกับสารละลาย DPPH ในข้อ1 มา 1.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร ทำการเปรียบเทียบกับสารต้านอนุมูอิสระที่ใช้เป็นสารมาตรฐานคือTocopherol

$$\text{การต้านอนุมูลอิสระของ DPPH (\%)} = \frac{A_{blank} - A_{sample}}{A_{blank}}$$

เมื่อ A = ค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร

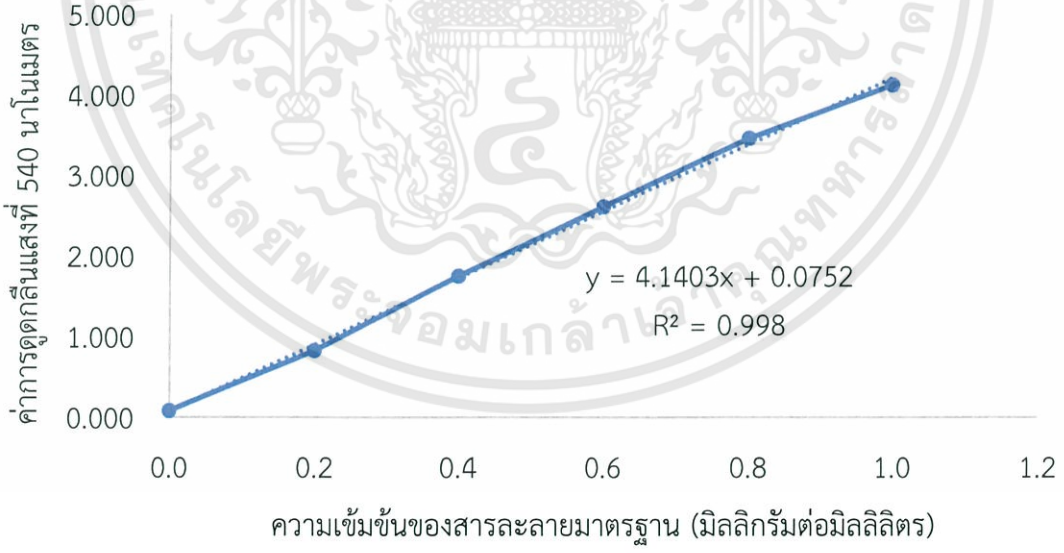
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

ผลการทดลองที่เป็นข้อมูลดิบ

การทำกราฟมาตรฐานสารละลายกลูโคส

ความเข้มข้นของกลูโคส (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร
0	0.08
0.2	0.828
0.4	1.753
0.6	2.616
0.8	3.466
1.0	4.125



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในน้ำเวิร์ต

จำนวนซ้ำ	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)			
	A	B	C	D
1	85.53	90.53	93.64	92.75
2	87.44	92.43	94.73	93.93
3	86.15	92.24	95.69	94.89
เฉลี่ย	86.37	91.73	94.69	93.68

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	125.821	3	41.940	39.516	.000
Within Groups	8.491	8	1.061		
Total	134.312	11			

Tukey HSD

Sample	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
A	3	86.3733		
B	3		91.7333	
D	3		93.8567	93.8567
C	3			94.6867
Sig.		1.000	.130	.761

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณแอลกอฮอล์ของตัวอย่างเบียร์วันที่ 24

จำนวนซ้ำ	ปริมาณแอลกอฮอล์ (% v/v)			
	A	B	C	D
1	4.3	4.9	5.1	2.5
2	4.2	4.5	5.2	2.6
3	4.2	4.6	5.0	2.4
เฉลี่ย	4.2	4.7	5.1	2.5

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	11.689	3	3.896	233.783	.000
Within Groups	.133	8	.017		
Total	11.823	11			

Tukey HSD

Sample	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
D	3	2.500			
A	3		4.233		
B	3			4.667	
C	3				5.100
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่าสีของน้ำเวิร์ตของเบียร์ 4 ตัวอย่าง

จำนวนซ้ำ	สี (EBC)			
	A	B	C	D
1	17.28	8.10	15.53	22.88
2	16.95	8.15	15.88	23.00
3	16.78	8.13	15.70	22.75
เฉลี่ย	17.00	8.13	15.70	22.88

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	331.057	3	110.352	3926.838	.000
Within Groups	.225	8	.028		
Total	331.282	11			

Tukey HSD

Sample	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
B	3	8.1267			
C	3		15.7017		
A	3			17.0033	
D	3				22.8767
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

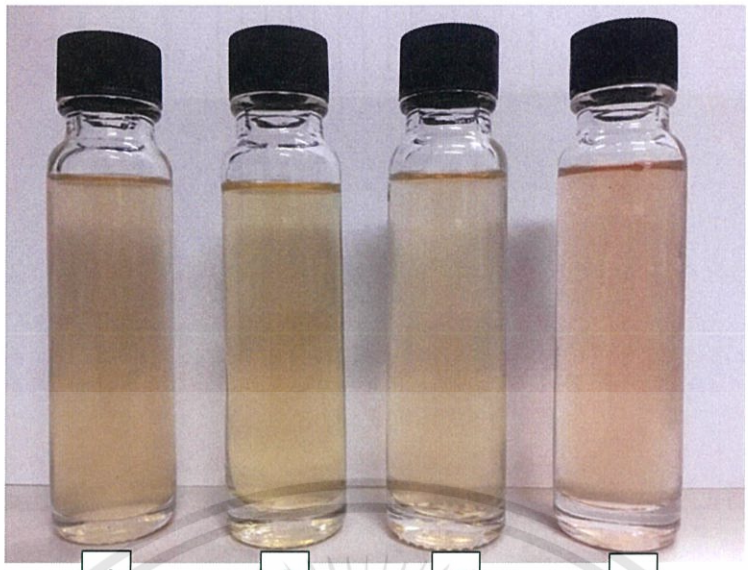
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่าสี ของตัวอย่างเบียร์วันที่ 24

จำนวนซ้ำ	สี (EBC)			
	A	B	C	D
1	10.08	6.95	4.73	9.98
2	10.13	6.88	4.70	10.03
3	10.20	6.53	4.75	9.95
เฉลี่ย	10.33	6.76	4.73	9.98

ภาพตัวอย่างน้ำเวิร์ตที่ทำจาก มอลต์บาร์เลย์ 100% (A), มอลต์บาร์เลย์ 75% ผสมกับมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว 25% (B), มอลต์บาร์เลย์ 50% ผสมกับมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว 50% (C) และ มอลต์บาร์เลย์ 25% ผสมกับมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว 75% (D)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพตัวอย่างเบียร์วันที่ 24 ที่ทำจาก มอลต์บาร์เลย์ 100% (A), มอลต์บาร์เลย์ 75% ผสมกับมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว 25% (B), มอลต์บาร์เลย์ 50% ผสมกับมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว 50% (C) และมอลต์บาร์เลย์ 25% ผสมกับมอลต์ข้าวเหนียวลืมผัว 75% (D)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	62.136	3	20.712	1578.063	.000
Within Groups	.105	8	.013		
Total	62.241	11			

Tukey HSD

Sample	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
C	3	4.7250		
B	3		6.7583	
D	3			9.9833
A	3			10.1333
Sig.		1.000	1.000	.428

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่า pH ของน้ำเวิร์ต

จำนวนซ้ำ	pH			
	A	B	C	D
1	5.29	5.34	5.49	5.60
2	5.33	5.38	5.53	5.57
3	5.30	5.36	5.51	5.55
เฉลี่ย	5.31	5.36	5.51	5.57

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.140	3	.047	100.351	.000
Within Groups	.004	8	.000		
Total	.144	11			

Tukey HSD

Sample	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
A	3	5.3067		
B	3	5.3600		
C	3		5.5100	
D	3			5.5733
Sig.		.064	1.000	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่า pH ของตัวอย่างเบียร์วันที่ 24

จำนวนซ้ำ	pH			
	A	B	C	D
1	4.29	4.21	4.12	4.10
2	4.32	4.23	4.14	4.13
3	4.32	4.21	4.13	4.12
เฉลี่ย	4.31	4.22	4.13	4.12

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.072	3	.024	125.449	.000
Within Groups	.002	8	.000		
Total	.074	11			

Tukey HSD

Sample	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
D	3	4.1167		
C	3	4.1300		
B	3		4.2167	
A	3			4.3100
Sig.		.655	1.000	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่างเบียร์วันที่ 24

ตัวอย่างเบียร์ (จำนวนซ้ำ)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร	กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ (%)	ค่าเฉลี่ยการต้านอนุมูลอิสระ (%)
A (1)	0.728	9.57	9.52
A (2)	0.725	9.94	
A (3)	0.732	9.06	
B (1)	0.636	20.99	21.03
B (2)	0.644	20	
B (3)	0.627	22.1	
C (1)	0.624	22.48	22.48
C (2)	0.616	23.48	
C (3)	0.632	21.49	
D (1)	0.551	31.55	33.54
D (2)	0.493	38.76	
D (3)	0.561	30.31	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	868.521	3	289.507	50.110	.000
Within Groups	46.219	8	5.777		
Total	914.740	11			

Tukey HSD

Sample	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
A	3	9.5233		
B	3		21.0300	
C	3		22.4833	
D	3			33.5400
Sig.		1.000	.878	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การประเมินทางประสาทสัมผัสด้วย วิธี 9 point Hedonic scale Test

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี 9-Hedonic scale

ตัวอย่าง เครื่องดื่มเบียร์ที่มีส่วนผสมของข้าวเหนียวดำพันธุ์ลืมผัว

เพศ ☐ ชาย ☐ หญิง **วันที่ทดสอบ**.....

คำชี้แจง : กรุณาทดสอบตัวอย่างเบียร์ทั้ง 4 ชนิด จากซ้ายไปขวา แล้วให้คะแนนความชอบต่อลักษณะปรากฏต่างๆตามลำดับคะแนนที่ได้กำหนดไว้ให้ด้านล่าง (1-9) และกรุณาบ้วนปากด้วยน้ำเปล่าในแก้วที่วางไว้ให้ด้านขวามือทุกครั้งก่อนชิมตัวอย่างแต่ละชนิด

ระดับของความชอบ	ระดับคะแนน	ระดับความของชอบ	ระดับคะแนน
ชอบมากที่สุด	9	ไม่ชอบเล็กน้อย	4
ชอบมาก	8	ไม่ชอบปานกลาง	3
ชอบปานกลาง	7	ไม่ชอบมาก	2
ชอบเล็กน้อย	6	ไม่ชอบมากที่สุด	1
เฉยๆ	5		

ลักษณะปรากฏ	รหัสตัวอย่าง			
	.....	.....	.....	.....
สี				
กลิ่น				
รสชาติ				
ความชอบโดยรวม				

ข้อเสนอแนะ

.....

.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
สี					
Between Groups	4.740	3	1.580	.754	.521
Within Groups	410.840	196	2.096		
Total	415.580	199			
กลิ่น					
Between Groups	7.080	3	2.360	.978	.404
Within Groups	473.000	196	2.413		
Total	480.080	199			
รสชาติ					
Between Groups	9.495	3	3.165	1.275	.284
Within Groups	486.380	196	2.482		
Total	495.875	199			
ความชอบโดยรวม					
Between Groups	16.335	3	5.445	2.684	.048
Within Groups	397.660	196	2.029		
Total	413.995	199			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Tukey HSD

สี Sample	N	Subset for alpha = 0.05 1
A	50	6.38
C	50	6.58
B	50	6.68
D	50	6.80
Sig.		.470

กลิ่น Sample	N	Subset for alpha = 0.05 1
C	50	6.06
A	50	6.34
B	50	6.52
D	50	6.52
Sig.		.451

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รสชาติ Sample	N	Subset for alpha = 0.05 1
A	50	5.84
C	50	5.90
D	50	6.18
B	50	6.38
Sig.		.319

กลิ่น Sample	N	Subset for alpha = 0.05 1
A	50	6.22
C	50	6.22
D	50	6.66
B	50	6.88
Sig.		.098

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

งานทะเบียนคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

คำรับรองเล่มโครงงานพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษา

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

ข้าพเจ้า นาย/นาง/นางสาว คฑาธร ช่างเรือนกุล รหัสประจำตัว 57050807

นาย/นาง/นางสาว พัชรพร เพ็ญศรี รหัสประจำตัว 57050814

นาย/นาง/นางสาว..... รหัสประจำตัว.....

นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชา คุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ภาควิชา ชีววิทยา

ขอรับรองว่าโครงงานพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษา เรื่อง

ชื่อภาษาไทย การผลิตเครื่องดื่มเบียร์จากข้าวเหนียวลืมผัว

ชื่อภาษาอังกฤษ BEER PRODUCTION FROM LEUM PUA STICKY RICE

ปีการศึกษา 2560

เป็นผลงานวิจัยที่มิได้คัดลอกหรือละเมิดลิขสิทธิ์ของผู้อื่นและได้ผ่านการตรวจสอบความซ้ำซ้อนเรียบร้อยแล้ว และได้แนบเอกสารการตรวจสอบการลอกเลียนงานวรรณกรรมที่ตรวจสอบจากเล่มโครงงานพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษาฉบับสมบูรณ์แล้ว

โปรแกรมอักขราวิสุทธิ์ 1.57 % หรือโปรแกรม Turnitin.....%

ลงชื่อ คฑาธร ช่างเรือนกุล	ลงชื่อ พัชรพร เพ็ญศรี	ลงชื่อ.....
(นาย คฑาธร ช่างเรือนกุล)	(นางสาว พัชรพร เพ็ญศรี)	( )
นักศึกษา	นักศึกษา	นักศึกษา

ข้าพเจ้า ศ. / รศ. / ผศ. / ดร. / อ. มงคล เพ็ญสายใจ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษา ได้ตรวจสอบโครงงานพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษาของนักศึกษาข้างต้น แล้ว ขอรับรองว่าเป็นผลงานวิจัยของนักศึกษาจริงและมีเนื้อหาสมบูรณ์ จึงลงชื่อไว้เป็นหลักฐาน

ลงชื่อ.....	ลงชื่อ.....	ลงชื่อ.....
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้