ผลของอุณหภูมิและสารอาหารที่มีผลต่อการหมักเบียร์
EFFECT OF TEMPERATURE AND NUTRITIONAL CONDITION ON BEER FERMENTATION

ขจรพงศ์ สมาธิ
ปวิตรา ช่างเกตุ
สุจินดา ระกุล

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2558

ผลของอุณหภูมิและสารอาหารที่มีผลต่อการหมักเบียร์

EFFECT OF TEMPERATURE AND NUTRITIONAL CONDITION ON BEER FERMENTATION

ขจรพงศ์ สมาธิ
ปวิตรา ช่างเกตุ
สุจินดา ระกุล

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2558

EFFECT OF TEMPERATURE AND NUTRITIONAL CONDITION ON BEER FERMENTATION

KAJOHNPONG SAMATHI
PAWITRA CHANGKET
SUJINDA RAKOON

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 2015

หัวข้อโครงงานพิเศษ	ผลของอุณหภูมิและสารอาหารที่มีผลต่อการหมักเบียร์ Effect of Temperature and Nutritional Condition on Beer Fermentation		
ชื่อนักศึกษา	นายขจรพงศ์	สมาธิ	รหัสนักศึกษา 55051239
	นางสาวปวิตรา	ช่างเกตุ	รหัสนักศึกษา 55051332
	นางสาวสุจินดา	ระกุล	รหัสนักศึกษา 55051409
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)		
ภาควิชา	ชีววิทยา		
ปีการศึกษา	2558		
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ. มงคล เพ็ญสายใจ		
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง		

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2558

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

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

หัวข้อโครงงานพิเศษ	ผลของอุณหภูมิและสารอาหารที่มีผลต่อการหมักเบียร์		
ชื่อนักศึกษา	นายขจรพงศ์	สมาธิ	รหัสนักศึกษา 55051239
	นางสาวปวิตรา	ช่างเกตุ	รหัสนักศึกษา 55051332
	นางสาวสุจินดา	ระกุล	รหัสนักศึกษา 55051409
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)		
ภาควิชา	ชีววิทยา		
คณะ	วิทยาศาสตร์		
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)		
ปีการศึกษา	2558		
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ. มงคล เพ็ญสายใจ		
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง		

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของอุณหภูมิและสารอาหารที่มีผลต่อการหมักเบียร์ได้ทำการวิเคราะห์การหมักเบียร์โดยใช้สายพันธุ์ยีสต์ อุณหภูมิและสารอาหารซิงค์ซัลเฟตที่แตกต่างกัน ในสภาวะกระบวนการหมักที่เหมาะสมที่สุด คือเบียร์ที่หมักด้วยเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ S-23 โดยใช้อุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียสและเติมซิงค์ซัลเฟต 0.24 กรัมต่อลิตร สภาวะที่ได้คัดเลือกนี้นำมาปรับปรุงรสชาติ โดยเบียร์รสส้ม มีค่าน้ำตาลต่ำสุดคือ 5.1 องศาบริกซ์และปริมาณเอทานอลสูงสุดคือ 19.67 เปอร์เซ็นต์ต่อปริมาตร เบียร์รสกระเจี๊ยบ มีค่าน้ำตาลต่ำสุดคือ 7.8 องศาบริกซ์และปริมาณเอทานอลสูงสุดคือ 7.24 เปอร์เซ็นต์ต่อปริมาตร และเบียร์รสสะระแหน่ มีค่าน้ำตาลต่ำสุดคือ 7.9 องศาบริกซ์ และปริมาณเอทานอลสูงสุดคือ 8.14 เปอร์เซ็นต์ต่อปริมาตรและการประเมินความชอบด้านลักษณะปรากฏ พบว่าเบียร์รสกระเจี๊ยบได้รับความพึงพอใจสูงสุด การประเมินความชอบด้านกลิ่น พบว่าเบียร์รสส้มได้รับความพึงพอใจสูงสุด การประเมินความชอบด้านรสชาติ พบว่าเบียร์รสกระเจี๊ยบได้รับความพึงพอใจสูงสุด การประเมินความชอบโดยรวม พบว่าเบียร์รสกระเจี๊ยบได้รับความพึงพอใจสูงสุด ผลการศึกษาครั้งนี้พบว่า การเพิ่มสารอาหารลงในเวิร์ตและการใช้อุณหภูมิที่เหมาะสม มีความสำคัญต่อการใช้น้ำตาลของยีสต์และปริมาณแอลกอฮอล์

คำสำคัญ: ซิงค์ซัลเฟต เบียร์ ยีสต์ สารอาหาร อุณหภูมิ เอทานอล

Title	Effect of Temperature and Nutritional Condition on Beer Fermentation		
Student	Mr. KAJOHNPONG	SAMATHI	Student ID 55051239
	Miss. PAWITRA	CHANGKET	Student ID 55051332
	Miss. SUJINDA	RAKOON	Student ID 55051409
Degree	Bachelor of Science (Industrial Microbiology)		
Department	Biology		
Faculty	Science		
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)		
Academic Year	2015		
Advisor	Asst. Prof. Mongkol Phensaijai		
Co-Advisor	Assoc. Prof. Dr. Nuanphan Naranong		

Abstract

This study aimed to explore the temperature and the nutrition which had an effect on the findings of beer fermentation. The study was conducted through the analyses of beer fermentation applying yeast strains, temperature, and wort nutritional supplements. The findings revealed that the best condition for beer fermentation was that the beer was fermented with *S. cerevisiae* S-23 at 14 C° and added 0.24 g/l. of zinc sulphate. After obtaining the best condition for beer fermentation, the condition was implemented in terms of the better taste. The development for the better taste was as follows: (1) regarding the orange beer sample, the value of the lowest sugar was at 5.1° Brix. and the value of the highest ethanol was at 19.67 % (v/v), (2) regarding roselle beer sample, the value of the lowest sugar was at was 7.8° Brix. and the value of the highest ethanol was at 7.24% (v/v), and (3) regarding mint beer sample, the value of the lowest sugar was 7.9°Brix. and the value of the highest ethanol was at 8.14 % (v/v). With respect to the evaluation of the preferences of the sensory quality in appearance, the findings indicated as follows: the roselle beer was marked at the highest satisfaction, the smell of the beer obtaining the highest satisfaction was orange, the taste of the beer given the highest satisfaction was roselle, and the beer given the overall satisfaction was roselle. The study found that the addition of nutrition in wort and the use of

the proper temperature played important roles for the application of sugar of yeast and for the quantity of alcohol.

Keyword : ethanol, beer, nutrition, temperature, yeast, zinc sulphate

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษจัดทำขึ้นตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม โดยสามารถสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี หากไม่ได้รับความช่วยเหลือ จากบุคคลต่อไปนี้ ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ มงคล เพ็ญสายใจ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ ผู้ให้คำแนะนำแนวทางในการค้นคว้า และจัดทำวิจัย รวมทั้งตรวจทานแก้ไขข้อบกพร่องของโครงงานฉบับนี้ให้สมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ ผศ.วีนา ชูโชติ ประธานในการสอบโครงงานพิเศษ และ รศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง กรรมการ ที่ได้ให้คำปรึกษาและแนวทางการปฏิบัติงาน ตลอดจนตรวจทานแก้ไขข้อบกพร่องของโครงงานพิเศษ

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ คณะวิทยาศาสตร์ทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกเกี่ยวกับอุปกรณ์เครื่องมือ และสารเคมีต่างๆในห้องปฏิบัติการ เจ้าหน้าที่ธุรการที่ได้อำนวยความสะดวกในการดำเนินงาน

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่และญาติพี่น้อง ที่เป็นกำลังกายและกำลังใจให้กับคณะผู้จัดทำ จนกระทั่งก้าวมาถึงวันนี้ได้ ตลอดจนขอขอบคุณเพื่อนๆ ที่ให้ความช่วยเหลือและคอยเป็นกำลังใจให้กันเสมอมา

ขจรพงศ์ สมาธิ
ปวิตรา ช่างเกตุ
สุจินดา ระกุล

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ก

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ข

กิตติกรรมประกาศ ..... ง

สารบัญ ..... จ

สารบัญตาราง ..... ฌ

สารบัญรูปภาพ ..... ญ

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ความเป็นมาของงานวิจัย 1

1.2 วัตถุประสงค์ 2

1.3 ขอบเขต 2

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2

บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 3

2.1 ความหมายของเบียร์ 3

2.2 ชนิดของเบียร์ 4

2.3 วัตถุดิบหลักของการหมักเบียร์ 4

2.3.1 ข้าวบาร์เลย์ 4

2.3.2 น้ำ 6

2.3.3 ฮอพ (Hop) 6

2.4 การผลิตข้าวมอลต์ 7

2.5 ขั้นตอนการหมักเบียร์ 8

2.5.1 การโม่ข้าวมอลต์ (Malting) 8

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.5.2 การทำ mash (Mashing) 9
2.5.3 การกรองเวิร์ต (Lautering) 10
2.5.3.1 Lautertun 10
2.5.3.2 Mash filter 10
2.5.4 การต้มเวิร์ต 10
2.5.5 การทำให้เวิร์ตเย็นลง 11
2.5.6 การหมัก 11
2.5.7 การกรองเบียร์ (Filtration) 15
2.6 องค์ประกอบทางเคมีของเบียร์ 15
2.7 ยีสต์ที่ใช้ในเครื่องดื่มที่ผลิตจากมอลต์ 18
2.8 การเตรียมเชื้อเริ่มต้นในกระบวนการหมักที่ใช้ยีสต์ 19
2.9 การควบคุมจุลินทรีย์ 21
2.9.1 การควบคุมจุลินทรีย์ในข้าวบาร์เลย์ 21
2.9.2 การควบคุมจุลินทรีย์ในการเพาะข้าวเป็นมอลต์ 21
2.9.3 การควบคุมจุลินทรีย์ในการอบแห้งข้าวมอลต์ 21
2.9.4 การควบคุมจุลินทรีย์ในกระบวนการผลิต 21
2.10 ยีสต์ 22
2.11 ประโยชน์ของยีสต์ 23
2.12 สารอาหารที่ยีสต์ใช้ในการเจริญ 24
2.13 อุณหภูมิที่มีผลต่อยีสต์ 26
2.14 กระเจี๊ยบ 28

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.15 สะระแหน่ 29
2.16 ส้มเขียวหวาน 31
2.17 การเก็บรักษาเชื้อยีสต์ (Preservation of Yeast) 33
2.18 ลักษณะทางประสาทสัมผัส 35
2.19 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 39
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย 40
3.1 ฮอพและมอลต์ที่ใช้ 40
3.2 เชื้อแบคทีเรีย 40
3.3 สารเคมี 40
3.4 อุปกรณ์ 40
3.5 วิธีการทดลอง 42
3.5.1 การเตรียมเชื้อยีสต์ที่ใช้ในการหมักเบียร์ 42
3.5.2 การเตรียมหัวเชื้อยีสต์ 42
3.5.3 ขั้นตอนการเตรียมน้ำเวิร์ต 42
3.5.4 ขั้นตอนการหมัก 43
3.5.5 ขั้นตอนการวิเคราะห์ 43
3.5.6 การคัดเลือกสูตรเบียร์ที่เหมาะสมเพื่อนำมาปรับปรุงรสชาติของเบียร์ 43
3.5.7 ขั้นตอนการปรับปรุงรสชาติ 44
3.5.8 วิธีการวิเคราะห์เอทานอลโดยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี 45
3.5.9 การวิเคราะห์ทางสถิติ 46
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล 48

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 60

เอกสารอ้างอิง 63

ภาคผนวก 66

ภาคผนวก ก อาหารเลี้ยงเชื้อ 67

ภาคผนวก ข การวิเคราะห์ทางเคมีและเครื่องมือ 68

ภาคผนวก ค ข้อมูลดิบ 70

ภาคผนวก ง การวิเคราะห์ทางสถิติ 89

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1 แสดงคุณสมบัติของข้าวบาร์เลย์และคุณภาพของมอลต์ 5

ตารางที่ 2.2 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของข้าวบาร์เลย์ (น้ำหนักแห้ง) 6

ตารางที่ 2.3 กระบวนการแช่ข้าวบาร์เลย์ (Steeping) 8

ตารางที่ 2.4 ปฏิกิริยาเอนไซม์ในขั้นตอนการต้มข้าวมอลต์ (Mashing) 9

ตารางที่ 2.5 การจำแนกเบียร์เยอรมัน 16

ตารางที่ 2.6 องค์ประกอบของเบียร์ Pilsner 17

ตารางที่ 2.7 ส่วนประกอบของเบียร์ทั่วไป 18

ตารางที่ 2.8 การจำแนกประเภทของยีสต์ตามอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญ 27

ตารางที่ 4.1 ตารางแสดงคะแนนความชอบทางด้านประสารทสัมผัสของเบียร์ทั้ง 3 ตัวอย่าง 58

สารบัญรูปภาพ

หน้า

รูปที่ 2.1 เบียร์ 3

รูปที่ 2.2 มอลต์ 7

รูปที่ 2.3 ยีสต์ 22

รูปที่ 4.1 แสดงเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์และค่าความเข้มข้นของน้ำตาลในกระบวนการหมักด้วยยีสต์สายพันธุ์ S-23 อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียสโดยใช้ความเข้มข้นของซิงค์ซัลเฟตที่แตกต่างกัน 48

รูปที่ 4.2 แสดงเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์และค่าความเข้มข้นของน้ำตาลในกระบวนการหมักด้วยยีสต์สายพันธุ์ M-84 อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส โดยใช้ความเข้มข้นของซิงค์ซัลเฟตที่แตกต่างกัน 49

รูปที่ 4.3 แสดงเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์และค่าความเข้มข้นของน้ำตาลในกระบวนการหมักด้วยยีสต์สายพันธุ์ S-23 อุณหภูมิ 11 องศาเซลเซียส โดยใช้ความเข้มข้นของซิงค์ซัลเฟตที่แตกต่างกัน 50

รูปที่ 4.4 แสดงเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์และค่าความเข้มข้นของน้ำตาลในกระบวนการหมักด้วยยีสต์สายพันธุ์ M-84 อุณหภูมิ 11 องศาเซลเซียส โดยใช้ความเข้มข้นของซิงค์ซัลเฟตที่แตกต่างกัน 51

รูปที่ 4.5 แสดงเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์และค่าความเข้มข้นของน้ำตาลในกระบวนการหมักด้วยยีสต์สายพันธุ์ S-23 อุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส โดยใช้ความเข้มข้นของซิงค์ซัลเฟตที่แตกต่างกัน 52

รูปที่ 4.6 แสดงเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์และค่าความเข้มข้นของน้ำตาลในกระบวนการหมักด้วยยีสต์สายพันธุ์ M-84 อุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส โดยใช้ความเข้มข้นของซิงค์ซัลเฟตที่แตกต่างกัน 53

รูปที่ 4.7 แสดงค่าพีเอช (pH) ของเบียร์ทั้ง 3 รสชาติ ในการหมักทุกๆ 3 วัน จนครบ 21 วัน..... 54

รูปที่ 4.8 แสดงค่าความเข้มข้นของน้ำตาลในการหมักทุกๆ 3 จนครบ 21 วัน 55

รูปที่ 4.9 แสดงค่าแอลกอฮอล์จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องอีบูลิโอมิเตอร์ของเบียร์ทั้ง 3 รสชาติ ในการหมักทุกๆ 3 วัน จนครบ 21 วัน 56

รูปที่ 4.10 แสดงปริมาณเอทานอลที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gas Chromatography ของเบียร์ทั้ง 3 รสชาติ ในการหมักทุก 3 วัน จนครบ 21 วัน 57

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาของงานวิจัย

เบียร์เป็นเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ชนิดแรกของโลก ที่เกิดจากกระบวนการหมักของเวิร์ตซึ่งเวิร์ตเตรียมมาจากวัตถุดิบจำพวกแป้งหรือวัตถุดิบที่มีความหวาน ดอกฮอพ ยีสต์และน้ำ ซึ่งในปัจจุบันได้มีการผลิตเบียร์ที่หลากหลาย เนื่องจากเครื่องปรุงและกรรมวิธีในการผลิตเบียร์แตกต่างกันไปตามสถานที่ ทำให้ลักษณะของเบียร์ (ชนิด รสชาติ สี) มีความแตกต่างกัน ซึ่งเบียร์ที่นิยมผลิตมี 2 ชนิด คือ เอลเบียร์ (ale beer) และ ลาเกอร์เบียร์ (lager beer) ทั้ง 2 ชนิดนี้มีความแตกต่างกันที่อุณหภูมิที่ใช้ในการหมักกับสายพันธุ์ยีสต์ แม้ว่าจะมียีสต์ที่ใช้ในการหมักเบียร์สายพันธุ์ต่างๆมากมาย (*Saccharomyces cerevissiae*) สำหรับผลิตภัณฑ์เบียร์ (Bamforth., 2000) การคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์ที่เหมาะสมมีความสำคัญสำหรับกลิ่นรสในเบียร์ ยีสต์ที่ใช้ในการหมักเบียร์มี 2 ประเภท คือเป็นแบบดั้งเดิม ซึ่งมีลักษณะของการรวมกลุ่ม ดังนี้ top fermenting (ale yeast) และ bottom fermenting (lager yeast) (Jentsch., 2007) ซึ่งทั้ง 2 ประเภทนี้มีพฤติกรรมของยีสต์ที่แตกต่างกันในระหว่างกระบวนการหมัก Ale yeast (top yeast) แสดงให้เห็นการลอยตัวและความสามารถในการดักฟองคาร์บอนไดออกไซด์ด้านบนของภาชนะหมัก และเนื่องด้วยสายพันธุ์ lager (bottom yeasts) มีการรวมกลุ่มกันของเซลล์ ส่งผลให้เซลล์เกาะกันเป็นกลุ่มแล้วตกลงเป็นตะกอนจากตรงกลางไปยังก้นภาชนะหมัก ปรากฏการณ์นี้เรียกว่า การสมานตะกอน (Verstrepen. *et al.*, 2003; Speers. *et al.*, 1992) Ale yeast มีกลไกทางพันธุกรรมอื่นๆที่หลากหลาย และการหมักใช้อุณหภูมิสูงกว่า (18 – 24 องศาเซลเซียส) Lager yeast เพราะ lager yeast ถูกทำให้คงสภาพไว้ด้วย การหมักที่อุณหภูมิที่ต่ำ (8 - 14 องศาเซลเซียส) (Lodolo. *et al.*, 2008) ยีสต์ทั้ง 2 ประเภทต้องการออกซิเจนเพียงเล็กน้อยเพื่อที่จะเริ่มกระบวนการเมตาบอลิซึม แต่ในส่วนของการหมักแอลกอฮอล์นั้นจะไม่ต้องการออกซิเจน (Bamforth., 2000)

องค์ประกอบในเวิร์ตและสภาวะในการหมักทำให้ทราบถึงสมรรถภาพของการหมักและกลิ่นของเบียร์ (Saerens. *et al.*, 2008) สายพันธุ์ยีสต์ที่ใช้ในการหมักเบียร์ตอบสนองต่อความแตกต่างของสารอาหารที่หลากหลาย และสภาวะของกระบวนการหมัก (Peddie., 1990) ดังนั้นการศึกษานี้ได้ทำการทดสอบถึงผลของความแตกต่างของสารอาหารและสภาวะของการหมักในเบียร์ที่ผลิตโดยลาเกอร์ยีสต์

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษากระบวนการหมักของลาเกอร์เบียร์
2. เพื่อศึกษาสายพันธุ์ของยีสต์ที่ใช้ในการหมักเบียร์
3. เพื่อศึกษาความเข้มข้นของซิงค์ซัลเฟต ($ZnSO_4$) ที่แตกต่างกัน
4. เพื่อศึกษาอุณหภูมิที่แตกต่างกัน ที่มีผลต่อปริมาณแอลกอฮอล์
5. เพื่อศึกษาการหมักเบียร์ให้มีรสชาติที่แปลกใหม่ได้

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1. ศึกษาการผลิตลาเกอร์เบียร์ โดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ S-23 และ M-84
2. ศึกษาความเข้มข้นของซิงค์ซัลเฟต ($ZnSO_4$) ที่ความเข้มข้น 0 กรัมต่อลิตร, 0.12 กรัมต่อลิตร และ 0.24 กรัมต่อลิตร
3. ศึกษาอุณหภูมิที่ใช้ในการหมักที่ 8, 11 และ 14 องศาเซลเซียส
4. ศึกษารสชาติของเบียร์โดยการใส่วัสดุประกอบ เพื่อให้ได้เบียร์รสส้ม เบียร์รสกระเจี๊ยบและเบียร์รสสะระแหน่

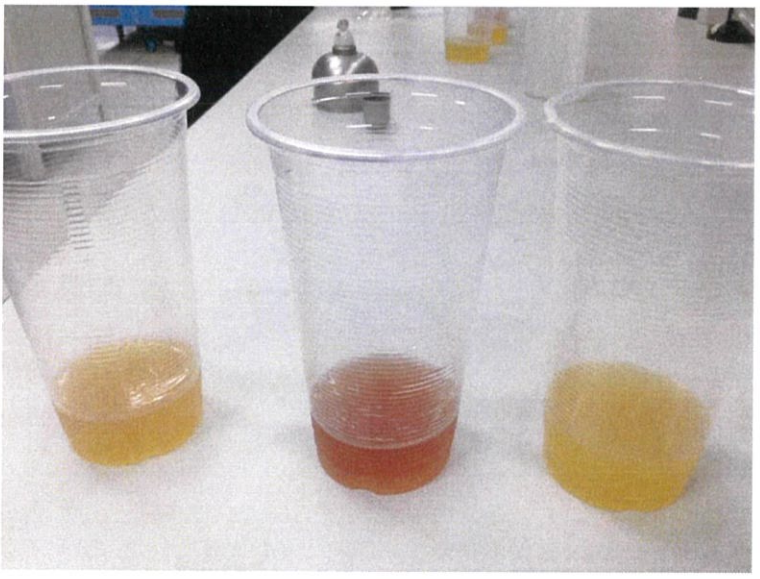
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถหมักลาเกอร์เบียร์ได้
2. ได้เบียร์ที่มีรสชาติหลากหลายมากขึ้น
3. ทำให้ทราบถึงผลของอุณหภูมิและสารอาหารที่มีผลต่อการหมักเบียร์

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ความหมายของเบียร์

ตามความหมายดั้งเดิมนั้นเบียร์หมายถึงเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ที่ได้จากกระบวนการหมักของข้าวมอลต์น้ำฮอปและยีสต์ แต่ในปัจจุบันมีเพียงประเทศเยอรมันประเทศเดียวเท่านั้น ที่มีการผลิตเบียร์ตามความหมายนี้ แต่ประเทศอื่นๆจะมีการใช้ธัญพืชอื่นๆผสมกับข้าวมอลต์ในการผลิตเบียร์ ธัญพืชที่ใช้ได้แก่ ข้าวโพด ข้าว และข้าวสาลี เพื่อเป็นการลดต้นทุนการผลิตเนื่องจากข้าวมอลต์มีราคาสูง ซึ่งในกระบวนการผลิตเบียร์นั้นยีสต์จะมีบทบาทสำคัญมากที่สุด โดยนอกจากจะเป็นตัวการในการเปลี่ยนน้ำตาลในเวิร์ตให้เป็นเอทานอล และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์แล้ว ยังผลิตสารอื่นๆที่ระเหยได้และระเหยไม่ได้หลายชนิดในปริมาณเล็กน้อย และสารเหล่านี้เป็นตัวให้กลิ่นรสในเบียร์ เบียร์ที่ผลิตได้มีหลายชนิดด้วยกันขึ้นอยู่กับสี และธรรมชาติ (ดุษณี, 2537)



รูปที่ 2.1 เบียร์

2.2 ชนิดของเบียร์

ลาเกอร์เบียร์ (Lager beer) ตามตัวหนังสือหมายถึงเบียร์ที่ผ่านการเก็บหรือบ่มก่อนนำไปบริโภค เพราะคำว่าลาเกอร์มาจากภาษาเยอรมัน ว่าลาเกอร์น (lagern) ซึ่งหมายถึงเก็บรักษา ถ้าอาศัยนิยามนี้เบียร์ทุกประเภทจัดว่าเป็นลาเกอร์ เพราะเบียร์จะต้องบ่มหลายสัปดาห์ก่อนที่จะดื่มได้ ลาเกอร์เบียร์ผลิตได้จากยีสต์จม (bottom yeast) มีแอลกอฮอล์สูงแต่สารที่สกัดได้จากฮอพต่ำ

บ็อกเบียร์ (Bock beer) เป็นเบียร์ที่มีสีเข้ม รสชาติเข้มข้นมีแอลกอฮอล์สูง จะผลิตเบียร์ประเภทนี้ในช่วงต้นของฤดูใบไม้ผลิ

เอล (Ale) เป็นเบียร์ที่มีสีจาง รสเผื่อน แอลกอฮอล์สูง ใส่ฮอพมาก หมักด้วยยีสต์ลอย (top yeast) ที่อุณหภูมิค่อนข้างสูงคือ 12 – 24 องศาเซลเซียส จึงหมักเสร็จเร็วภายใน 5 – 7 วัน

พอร์เตอร์ (Porter) จัดว่าเป็นเอลชนิดหนึ่งมีสีเข้มเนื่องจากใช้โรสท์มอลท์ (Roasted malt) มีรสหวานและสารที่สกัดได้สูงแต่กลิ่นและรสของฮอพน้อยกว่าเอล

สเตาท์ (Stout) คล้ายพอร์เตอร์แต่มีสีน้ำตาลดำ รสหวานให้กลิ่นและรสของมอลต์กับฮอพที่แรงกว่าพอเตอร์ และแอลกอฮอล์สูงกว่า

ไวสส์เบียร์ (Weissbeer) เป็นเบียร์ที่ผลิตจากข้าวสาลีหมักด้วยยีสต์ลอย รสอ่อน มีกลิ่นรสของมอลต์และฮอพ ประกอบด้วยแก๊สที่ได้จากการหมักตามธรรมชาติมาก มีลักษณะขุ่น

ซีเรียลเบฟเวอเรจ (Cereal beverage) เป็นเบียร์ที่มีแอลกอฮอล์ต่ำกว่า 0.5 เปอร์เซ็นต์ บางครั้งรู้จักกันในนามของเนียเบียร์ (Near beer) (นัยทัศน์, 2532)

2.3 วัตถุดิบหลักของการหมักเบียร์

2.3.1 ข้าวบาร์เลย์ จัดเป็นวัตถุดิบหลักของการผลิตเบียร์ เปลือกของข้าวบาร์เลย์นอกจากจะช่วยป้องกันเมล็ดข้าวแล้ว ยังช่วยในการกรองน้ำเวิร์ตในขั้นตอนของการผลิตเบียร์ได้อีกด้วย ข้าวบาร์เลย์ที่ใช้ในการผลิตเบียร์มีทั้งชนิดข้าวบาร์เลย์ฤดูใบไม้ผลิและข้าวบาร์เลย์ฤดูหนาว แต่สายพันธุ์ของข้าวบาร์เลย์และแหล่งปลูกจะมีผลต่อกระบวนการผลิตมอลต์ และเป็นตัวกำหนดถึงคุณภาพของเบียร์จึงจำเป็นต้องมีการควบคุมคุณภาพของข้าวบาร์เลย์ตั้งแต่สายพันธุ์ที่ใช้ปลูก เมล็ดข้าวบาเลย์ที่

เก็บเกี่ยวได้และคุณภาพของข้าวบาร์เลย์หลังการเก็บเกี่ยว ซึ่งจะต้องมีความชื้นไม่เกิน 16 เปอร์เซ็นต์ ข้าวบาร์เลย์ที่มีคุณภาพดีสำหรับการผลิตเบียร์จะต้องมีเมล็ดที่สมบูรณ์ขนาดใหญ่กว่า 2.5 มิลลิเมตร ซึ่งเป็นเกรดของข้าวบาร์เลย์ที่เรียกว่า Bold Barley และมีเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดไม่ต่ำกว่า 96 เปอร์เซ็นต์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งจะต้องมีปริมาณของโปรตีนต่ำ จากการศึกษาพบว่าปริมาณโปรตีนของเมล็ดที่เพิ่มขึ้น 1 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้ผลได้ของการสกัดมอลต์ลดลง 0.8 เปอร์เซ็นต์ มีผลต่างของการสกัด (การละลายของผนังเซลล์) เพิ่มขึ้น 0.5 หน่วย และทำให้การละลายของโปรตีน (Kolbach index) ลดลง 2.5 หน่วย ถ้าข้าวบาร์เลย์ทั้งหมดมีชนิดเกรด Bold Barley เพิ่มขึ้น 10 เปอร์เซ็นต์ จะเพิ่มผลได้ของการสกัดมอลต์ 0.4 เปอร์เซ็นต์ มีผลต่างการสกัดลดลง 0.1 หน่วย และทำให้ค่าของ Kolbach index เพิ่มขึ้น 0.7 หน่วย ดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 แสดงคุณสมบัติของข้างบาร์เลย์และคุณภาพของมอลต์

ข้าวบาร์เลย์	ผลที่ได้ของการสกัด	ผลต่างของการวัด[1]	Kolbach index[2]
โปรตีน +1%	-0.8%	+0.5	-2.5
ข้าวบาร์เลย์ (Bold Barley10%)	+0.4%	-0.1	+0.7

[1]การละลายของผนังเซลล์

[2]ปริมาณของโปรตีนละลายคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของโปรตีนในเวิร์ต (Wort)

ที่มา : (สาโรจน์, 2547)

นอกจากนี้คุณภาพของมอลต์ยังขึ้นอยู่กับโครงสร้างของเมล็ด อาทิ ปริมาณบีตากลูแคน และความแข็งของเมล็ดข้าวบาร์เลย์ เป็นต้น ซึ่งวิธีวิเคราะห์กระบวนการตัวแปรดังกล่าวยังเป็นปัญหาเชิงปฏิบัติจึงยังไม่มีการประยุกต์นำเอาปัจจัยทางโครงสร้างของเมล็ดข้าวบาร์เลย์ดังกล่าวมาใช้ในการกำหนดคุณภาพของการผลิตมอลต์ สำหรับองค์ประกอบทางเคมีของข้าวบาร์เลย์ที่ใช้ในการผลิตเบียร์ที่แสดงไว้ในตารางที่ 2 ซึ่งมีหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้งของข้าวบาร์เลย์

ตารางที่ 2.2 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของข้าวบาร์เลย์ (น้ำหนักแห้ง)

องค์ประกอบ	เปอร์เซ็นต์
แป้ง	63
น้ำตาล	2
เพนโทแซน	9
เซลลูโลส	5
โปรตีน	11
ไขมัน	2.5
เกลือแร่	2.6
อื่นๆ	4.9

ที่มา : (สาโรจน์, 2547)

2.3.2 น้ำ นับว่าเป็นปัจจัยที่สำคัญอย่างหนึ่งที่มีผลต่อคุณภาพเบียร์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในขั้นตอนของการต้มเวิร์ต เนื่องจากเกลือแร่ที่มีอยู่ในน้ำจะมีผลต่อคุณภาพของเบียร์ที่หมักได้ ในอุตสาหกรรมทำเบียร์ จะมีการปรับความเป็นกรดเป็นด่างของเวิร์ต โดยการเติมกรดหรือขจัดคาร์บอเนตออกให้เหลืออยู่ในปริมาณ 50 - 100 มิลลิกรัมแคลเซียมคาร์บอเนตต่อลิตร น้ำที่ใช้จะมีความกระด้างทั้งหมด 55 มิลลิกรรมต่อลิตร และมีความกระด้างถาวรสูงสุดไม่เกิน 25 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนความเป็นกรดด่างสูงสุด 7.5 (นัยทัศน์, 2532)

2.3.3 ฮอพ (Hop) ฮอพเป็นไม้เลื่อยที่ใช้ในการผลิตเบียร์มีเพียงสปีชีส์เดียว คือ *Humulus lupulus* แต่ในสปีชีส์ดังกล่าวมีหลายพันธุ์ปลูก (cultivar) ซึ่งการเลือกพันธุ์ปลูกของฮอพสำหรับการผลิตเบียร์ขึ้นอยู่กับความขม รสชาติที่ต้องการ ฮอพอาจแบ่งคร่าวๆ เป็นฮอพที่ให้ความขม (bittering hop) และฮอพที่ให้กลิ่นหอมมีระดับกรดอัลฟาต่ำจนถึงปานกลาง ปกติฮอพที่ให้ความขมมักใส่เมื่อเริ่มต้นการต้มเวิร์ต จึงเรียกว่าการเติมฮอพในหม้อต้ม (kettle hopping) หรือการเติมฮอพที่ทำให้ขม (bitter hopping) ในขณะที่ออพที่ให้กลิ่นหอมมักใส่ในระยะสุดท้ายของการต้มเรียกว่าการเติมฮอพช้า (late hopping) มีฮอพบางชนิดที่ให้ทั้งความขมและกลิ่นหอม เช่น ชาลเลนเจอร์ (Challenger) และนอร์ตดาวน์ (Northdown) (สาวิตรี, 2549)

2.4 การผลิตข้าวมอลต์

การผลิตข้าวมอลต์ (Malting) วัตถุดิบที่ใช้ทำข้าวมอลต์คือข้าวบาร์เลย์ ข้าวบาร์เลย์เป็นแหล่งของน้ำตาลและแหล่งของธาตุไนโตรเจน (กรดอะมิโน) ซึ่งเป็นอาหารของยีสต์ที่จำเป็นต้องใช้ในการเจริญเติบโตเพื่อสร้างแอลกอฮอล์ ในข้าวบาร์เลย์ดิบ สารคาร์โบไฮเดรตอยู่ในรูปแป้ง และมีโปรตีนอยู่เพียงเล็กน้อยซึ่งยีสต์ไม่สามารถนำมาใช้ได้ จะต้องเปลี่ยนให้อยู่ในรูปโมเลกุลง่ายๆ เสียก่อน ดังนั้นการเปลี่ยนข้าวบาร์เลย์เป็นข้าวมอลต์ (Malting) ก็เพื่อวัตถุประสงค์นี้ ในการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวต้องอาศัยเอนไซม์เปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาลที่มีโมเลกุลเล็กลง คือ มอลโตสและกลูโคส และอาศัยเอนไซม์ทำหน้าที่ย่อยโปรตีนให้อยู่ในรูปของกรดอะมิโนซึ่งยีสต์นำไปใช้ได้

เทคนิคเริ่มจากการนำข้าวบาร์เลย์มาทำให้เปียกน้ำจนชุ่มที่อุณหภูมิ 10 – 15 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ 1 – 3 วัน โดยทำการเปลี่ยนน้ำบ่อยๆ เมล็ดข้าวบาร์เลย์จะมีความชื้นเพิ่มขึ้นเป็น 42 – 45 เปอร์เซ็นต์ ทำให้เกิดการสังเคราะห์เอนไซม์ขึ้นอีกหลายชนิด เช่น เบตากลูคาเนสอะไมเลส โปรติเอส และเปปติเดส เอนไซม์เหล่านี้จะกระตุ้นให้เมล็ดข้าวบาร์เลย์งอก จากนั้นผึ่งเมล็ดข้าวพอหมาดๆ ทิ้งไว้ให้งอกเป็นเวลา 7 วัน โดยกลับเมล็ดข้าวให้อากาศถ่ายเทบ้าง ระหว่างนี้โพลิแซคคาไรด์และโปรตีนในเมล็ดข้าวบาร์เลย์จะถูกย่อยด้วยเอนไซม์อะไมเลส จะไฮโดรไลซ์แป้ง ได้ของผสมของเดกซ์ตริน โอลิโกแซคคาไรด์ น้ำตาลมอลโตสและกลูโคส การงอกทำให้ยุติลงด้วยการอบแห้ง (kilning) โดยเพิ่มความร้อนขึ้นทีละน้อยจนได้อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เมล็ดข้าวจะมีสีน้ำตาลเล็กน้อย เป็นผลให้ได้เบียร์มีสีอำพัน ขั้นตอนการเพาะข้าวบาร์เลย์และการอบต้องควบคุมอย่างดีตามข้อกำหนดของผู้ชำนาญการผลิตเบียร์ เพื่อให้ได้ข้าวมอลต์ที่มีสัดส่วนของน้ำตาลและกรดอะมิโนเหมาะสม อันเป็นผลให้เกิดการพัฒนาสีของเบียร์ขึ้นได้ตามมาตรฐาน (สุมณฑา, 2549)

รูปที่ 2.2 มอลต์

ตารางที่ 2.3 กระบวนการแช่ข้าวบาร์เลย์ (Steeping)

แบบชนิดของ Steeping	เวลา (ชั่วโมง)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ปริมาณน้ำ (เปอร์เซ็นต์)
Immersion	6 – 8	12 – 14	35
Air rest	16 – 20	14 – 16	36
Immersion	4 – 6	14 – 16	42
Air rest	15 – 20	16 – 18	42
Immersion	1 – 2	16	45

ที่มา : (สาโรจน์, 2547)

คุณลักษณะที่ดีของมอลต์จะต้องมีความชื้นไม่เกิน 4.0 – 4.5 เปอร์เซ็นต์ ผลได้ของการสกัดไม่ต่ำกว่า 85.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณโปรตีนละลายในเวิร์ต 4.4 กรัมต่อ 100 กรัมของมอลต์ ดีกรีของโปรตีนละลายเท่ากับ 40 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนในเวิร์ต สิ่งที่ได้ของเวิร์ตเท่ากับ 5.0 หน่วยของ EBC (European Brewery Convention) เวิร์ตที่เตรียมได้มีความหนืด 1.6 mPa s และมีค่าพีเอชเท่ากับ 5.8 และควรมีผลต่างของการสกัดเปรียบเทียบระหว่างแป้งข้าวมอลต์และมอลต์ชนิดบดหยาบเท่ากับ 2.3 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจะแสดงให้เห็นถึงการดัดแปรที่ดีของผนังเซลล์ นอกจากนี้ยังมีการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์และปริมาณกลูแคนของมอลต์อีกด้วย (สาโรจน์, 2547)

2.5 ขั้นตอนการผลิตเบียร์

ปกติมอลต์ประกอบด้วยสารที่ละลายน้ำได้ประมาณ 19 เปอร์เซ็นต์ ที่เหลือเป็นส่วนประกอบที่ไม่ละลายน้ำ ในการผลิตเบียร์จำเป็นต้องสกัดมอลต์ให้ได้อย่างสมบูรณ์ในระยะเวลาสั้นและไม่สิ้นเปลืองค่าใช้จ่าย กรรมวิธีในการผลิตเบียร์สามารถสรุปถึงรายละเอียดได้ดังนี้

2.5.1 การโม่ข้าวมอลต์ (Malling) วิธีการโม่มี 2 แบบคือ การโม่แห้ง และการโม่เปียก ในการโม่แห้งจะมีการเพิ่มความชื้นให้กับมอลต์ด้วยไอน้ำหรือน้ำเล็กน้อยก่อนที่จะเริ่มทำการบดแต่ในการโม่เปียกจะต้องแช่มอลต์ก่อนที่จะทำการบด ซึ่งจะทำให้เปลือกเมล็ดยังคงเหลือติดอยู่ เพื่อช่วยใน

การกรองหลังจากขั้นตอนของการเมสชิง จึงเป็นเหตุผลที่ไม่ทำการบดมอลต์ให้เป็นแป้ง ถึงแม้ว่าจะช่วยให้การสกัดเกิดขึ้นได้ดีกว่าก็ตาม (สาโรจน์, 2547)

2.5.2 การทำ mash (mashing) เป็นการนำข้าวมอลต์มาบดและต้มที่อุณหภูมิ 60 - 75 องศาเซลเซียสเพื่อแยกกรดอะมิโน เพปไทด์และน้ำตาลที่เกิดขึ้นในระหว่างการผลิตมอลต์ออกมา นอกจากนี้ก็เป็นการย่อยคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนที่ยังเหลืออยู่ให้เป็นกรดอะมิโนและน้ำตาลเพิ่มมากขึ้นโดยเอนไซม์ที่อยู่ในข้าวมอลต์และในระหว่างนี้สามารถเติมธัญพืชอื่นๆ เช่น ข้าวบาเลย์ ข้าวสาลี ข้าวโพด หรือข้าวลงไปเพิ่มเพื่อให้เอนไซม์ที่มีอยู่แล้วเปลี่ยนแป้งจากธัญพืชให้เป็นน้ำตาลและการต้มยังเป็นการสกัดสี เกลือแร่ กลิ่นและอื่นๆ จากมอลต์อีกด้วย (นัยทัศน์, 2532)

การต้มข้าวมอลต์เรียกว่าเมสชิง (Mashing) ขั้นตอนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสกัดสารที่ละลายได้จากมอลต์ ได้เป็นสารละลายสกัดที่เรียกว่าเวิร์ต ปัจจัยที่ควบคุมขั้นตอนเมสชิง คือ ระยะเวลา อุณหภูมิ และความเข้มข้นของมอลต์ มีปฏิกิริยาเอนไซม์ที่สำคัญ 4 ประการ เกิดขึ้นในระหว่างขั้นตอนเมสชิง คือ การย่อยสลายของบีตากลูแคน โปรตีน แป้งและการเกิดน้ำตาลมอลโทส (ตารางที่ 2.4)

ตารางที่ 2.4 ปฏิกิริยาเอนไซม์ในขั้นตอนการต้มข้าวมอลต์ (Mashing)

ความเป็นกรด – ด่าง (พีเอช)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ลักษณะของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น	เอนไซม์ที่เกี่ยวข้อง
4.8 – 5.0	40 – 50	การย่อยสลายกัม	กลูคาเนส
4.5 – 4.7	50 – 60	การเกิดผลิตภัณฑ์จากการย่อยสลายโปรตีน	โปรทีโอไลติก
5.3	60 – 64	การเกิดมอลโทส	บีตาอะไมเลส
5.8	70 – 74	ดารย่อยสลายแป้ง	แอลฟาอะไมเลส

ที่มา : (สาโรจน์, 2547)

ปกติอุณหภูมิที่เหมาะต่อการทำงานของแอลฟา–และบีตาอะไมเลส คือ 10 – 15 องศาเซลเซียส ซึ่งต่ำกว่าที่ได้แสดงไว้ในตารางที่ 4 ในขั้นตอนของเจลาทิไนเซชันจะใช้อุณหภูมิเท่ากับ 60 – 70 องศาเซลเซียส อุณหภูมิของเมสชิงขึ้นอยู่กับชนิดของเบียร์ที่ต้องการผลิต โดยทั่วไปใช้อุณหภูมิที่

40 – 50 องศาเซลเซียส ส่วนการปรับพีเอชจะทำได้โดยดำเนินการในขั้นตอนของการเตรียมน้ำที่เหมาะสม หรือโดยการเติม Sour malt หรือ เวิร์ตเปรี้ยวที่เกิดจากแบคทีเรียกรดแลกติก เป็นต้น ในขั้นตอนของเมสชิงจะมีการเพิ่มอุณหภูมิเป็นลำดับ ซึ่งจะช่วยประหยัดการสิ้นเปลืองพลังงาน และทำให้เบียร์ที่ผลิตได้มีสีไม่เข้ม แต่ก็มีข้อเสียคือ มีผลได้ของการสกัดต่ำ มีการสูญเสียสารขมสูง และทำให้เบียร์มีเสถียรภาพของคอลลอยด์ต่ำ สำหรับภาชนะทรงกลมที่ใช้มนขั้นตอนเมสชิงทำมาจากทองแดง หรือเหล็กสแทนเลสที่มีพื้นผิวให้ความร้อนและมีระบบการกวน

2.5.3 การกรองเวิร์ต (Lautering) เป็นขั้นตอนของการกรองเอากากของแข็งออกจากเวิร์ตที่สกัดได้จากมอลต์ ซึ่งจะได้เป็นส่วนของเวิร์ตใส โดยชั้นของกากเหลือทิ้งของมอลต์จะทำหน้าที่ช่วยในการกรอง ในด้านเทคนิคระบบการกรองที่ใช้มีอยู่ 2 แบบคือ

2.5.3.1 Lautertun มีลักษณะเป็นเวสเซลทรงกระบอกที่มีก้นแบบหรือเอียงเล็กน้อยถัดขึ้นมาจะเป็นส่วนของตะแกรงเพื่อรองรับชั้นกากของแข็ง ส่วนของเวิร์ตใสที่ไหลผ่านจะถูกรวบรวมและส่งผ่านท่อไปสู่หม้อต้มเวิร์ตต่อไป ในระหว่างการกรองจะมีการคลายชั้นของกากของแข็งให้หลวมด้วยใบมีดเป็นระยะ เมื่อสิ้นสุดของการกรองเวิร์ตชุดแรก ก็จะมีการเติมน้ำร้อนเพื่อไล่เวิร์ตที่ตกค้างอยู่ในชั้นของกากของแข็ง

2.5.3.2 Mash filter เป็นเครื่องกรองชนิด Frane filter ที่ประกอบด้วยแผ่นกรองที่ทำด้วยพอลิพอพิลีน หลังจากขั้นตอนเมสชิงแล้ว เวิร์ตที่ได้จะถูกดูดผ่านเข้าสู่เครื่องกรองด้วยความดันต่ำ จนกระทั่งเวิร์ตที่ต้องการกรองหมดไป จึงจะทำการชะล้างเวิร์ตที่ติดค้างอยู่ในเครื่องกรองด้วยน้ำร้อนอีกครั้ง (สาโรจน์, 2547)

2.5.4 การต้มเวิร์ต วัตถุประสงค์ของการต้มเวิร์ตมีดังนี้

การต้มน้ำเวิร์ต (Wort boiling) น้ำเวิร์ตที่ได้จากการกรองด้วยเปลือกข้าวมอลต์ บริเวณส่วนบนของถังถูกถ่ายมาใส่กาต้ม (brewing kettle) ต้มจนเดือดเป็นเวลา 1 – 2 ชั่วโมง พร้อมกับเติมฮอพในขั้นตอนนี้ และปรับปรุงความหวานของน้ำเวิร์ตด้วยน้ำเชื่อม (หากน้ำเวิร์ตมีความหวานต่ำ)

การต้มน้ำเวิร์ตมีข้อดีหลายประการ อาทิ หยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์ ทำลายจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับวัตถุดิบและภาชนะ ช่วยเพิ่มประสิทธิผลในการสกัดสารออกมาจากฮอพและมีการเปลี่ยนรูปของกรด (isomerization of acids) ในน้ำเวิร์ตทำให้เกิดปฏิกิริยามิลลาร์ด เป็นผลให้เบียร์

มีสีน้ำตาลและมีกลิ่นหอม อีกทั้งยังช่วยให้สารจำพวกโปรตีนรวมตัวกัน สามารถแยกออกมาได้ง่าย หากไม่แยกออกมาในจอนนี้จะมีผลทำให้เบียร์ขุ่นได้ (haze)

หลังการต้มและทิ้งน้ำเวิร์ตไว้ให้โปรตีนและสารแขวนลอยตกตะกอนแล้ว นำไปกรองหรือปั่น (centrifuge) เติมอากาศ แล้วถ่ายไปสู่ถังหมัก พร้อมที่จะเติมยีสต์ซึ่งเป็นเชื้อหมัก (pitching) ลงไป การเติมอากาศในขั้นตอนนี้จะทำให้ระยะ lag phase สั้นลง เนื่องจากออกซิเจนกระตุ้นให้เกิดการสังเคราะห์สารเสตอรอล (sterols) และกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัว (ใช้ในการสร้างเยื่อหุ้มเซล) เป็นผลให้ยีสต์เจริญได้เร็ว (สุมณฑา, 2549)

2.5.5 การทำให้เวิร์ตเย็นลง ขั้นตอนนี้ประกอบด้วยการแยกเอากากของฮอพออกจากเวิร์ตด้วยการกรองและการกำจัดความขุ่นจากสารประกอบโปรตีน-เทนนินที่เกิดขึ้นในระหว่างการต้มเวิร์ต เพื่อทำให้เวิร์ตใสด้วยเครื่องเหวี่ยงหรือถังตกตะกอน จากนั้นจึงจะทำให้เวิร์ตเย็นลงด้วยระบบทำความเย็น การทำให้เวิร์ตเย็นตัวลงนี้จะก่อให้ความขุ่นขึ้นอีกเรียกว่า cold break จึงจำเป็นต้องขจัดออกไปด้วยการตกตะกอนหรือการกรองอีกครั้งหนึ่ง (สาโรจน์, 2547)

2.5.6 การหมัก เวิร์ตที่เตรียมเรียบร้อยแล้วจะนำมาใช้ในการหมักเบียร์ด้วยเชื้อยีสต์ กระบวนการหมักจะเป็นการหมักแบบครั้งคราว ในการผลิตเบียร์ตามวิธีดั้งเดิมนั้นจะใช้ถังหมักทรงสี่เหลี่ยมแบบเปิดทำด้วยไม้หรือหินกระดานชนวน แต่ในปัจจุบันถังหมักที่ใช้จะทำด้วยเหล็กกล้าไร้สนิมและเป็นถังหมักแบบปิด เพื่อสามารถเก็บกักก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมักและสามารถนำกลับมาใช้ได้อีก ถังหมักที่นิยมใช้ในปัจจุบันเป็นถังหมักทรงกระบอกมีฐานเป็นรูปกรวย โดยจะอัดกาซคาร์บอนไดออกไซด์เข้ามาในถังหมักทางด้านล่างของกรวยเพื่อช่วยเร่งให้เกิดการหมักเร็วขึ้น

การหมักเบียร์ในสมัยโบราณจะไม่มีการเติมเชื้อยีสต์ลงไป แต่จะอาศัยเชื้อยีสต์จากธรรมชาติที่ติดมากับธัญพืชที่ใช้หมัก ในปัจจุบันมีเบียร์เพียง 2 ชนิดที่ยังใช้การหมักด้วยเชื้อธรรมชาติคือ gueuze beer และ limbic beer ของประเทศเบลเยี่ยม สำหรับเบียร์ที่มีการผลิตกันมากทั่วโลกในปัจจุบันนี้มีอยู่ 2 ชนิดคือ ale และ lager ซึ่งเบียร์ทั้งสองชนิดนี้แตกต่างกันที่สายเชื้อของยีสต์ที่ใช้ในการหมักและสภาวะที่ใช้ในการหมักและสภาวะที่ใช้ในการหมัก lager beer จะผลิตโดยกระบวนการหมักที่เรียกว่า bottom fermentation ส่วน ale จะผลิตโดยกระบวนการหมักที่เรียกว่า top fermentation

bottom fermentation เป็นการหมัก lager beer โดยใช้สายเชื้อ *Sacharomyces uvarum* เบียร์ชนิดนี้นิยมผลิตในประเทศเยอรมันและทวีปอเมริกาเหนือ แต่ในปัจจุบันเบียร์ชนิดนี้นิยมบริโภคกันทั่วโลก ในระหว่างการหมักเบียร์ยีสต์จะแขวนลอยในถังหมักและใช้น้ำตาลในเวิร์ต เมื่อน้ำตาลในเวิร์ตลดลงเกือบหมดแล้วยีสต์จะเริ่มเกาะกันเป็นกลุ่มและจมลงสู่ก้นถังหมัก การตกตะกอนนี้เรียกว่า flocculation ยีสต์ที่ตกตะกอนนี้จะถูกแยกไปหลังจากกระบวนการหมักสิ้นสุดลงแล้ว สำหรับอุณหภูมิที่ใช้ในการหมักคือ 6 – 25 องศาเซลเซียสและเวลาที่ใช้ในการหมักจะเป็น 7 - 12 วัน

top fermentation เป็นการหมักแบบ ale โดยใช้สายเชื้อ *S. cerevisiae* แต่ในบางครั้งอาจใช้เชื้อ *Brettanomyces* sp. ในการผลิต ale เพื่อการส่งออก เบียร์ชนิดนี้นิยมผลิตในประเทศอังกฤษและไอร์แลนด์ ในระหว่างการหมักเชื้อยีสต์จะลอยขึ้นมาอยู่ที่ผิวหน้าของเวิร์ต มีลักษณะเป็นชั้นยีสต์ที่หนา อุณหภูมิที่ใช้ในการหมักคือ 18 - 22 องศาเซลเซียสและเวลาที่ใช้ในการหมักจะเป็น 5 - 7 วัน หลังจากกระบวนการหมักสิ้นสุดลงชั้นของยีสต์ที่ผิวหน้าจะถูกแยกออกไป (ดุษณี, 2555)

นอกจากนี้ยังมีการแยกประเภทของยีสต์ได้เพียงออกได้เป็น flocculating yeast และ powdery yeast โดยดูจากการตกตะกอนของยีสต์หลังการหมักสิ้นสุด ชนิดแรกจะจับตัวเป็นกลุ่มก้อนตกตะกอน ในขณะที่ชนิดที่ 2 จะตกตะกอนนอนก้นอย่างช้าๆ การผลิตเบียร์ด้วย flocculating yeast ให้คุณภาพของเบียร์ที่ดี แต่เป็นการยากที่จะทำให้ยีสต์ตกตะกอนได้อย่างมีเอกภาพ จึงต้องมีการทำ premature flocculation เพื่อป้องกันการเกิดการหมักอีกครั้งในภายหลังในช่วงเวลาของการเก็บพักเบียร์เพราะยีสต์ที่ยังคงมีอยู่ในปริมาณมากในการเก็บพักเบียร์จะก่อให้เกิดปัญหาในการกรองและทำให้เบียร์มีรสชาติไม่ดีที่เรียกว่า autolysis taste

เชื้อยีสต์ที่ใช้ผลิตเบียร์นั้นจะเก็บรักษาในอาหารเลี้ยงเชื้อกลีเซอรอล-เซรุ่ม บรรจุในขวดแก้วเล็กปิดสนิท และแช่ในไนโตรเจนเหลวที่อุณหภูมิ -196 องศาเซลเซียส (สาโรจน์, 2547)

Pitching หมายถึงการใส่เชื้อยีสต์ลงในเวิร์ตเพื่อให้เกิดการหมักเบียร์ ในตอนแรกยีสต์จะใช้ออกซิเจนเพื่อการเจริญของเซลล์ และเมื่อน้ำตาลถูกใช้ไปเกือบหมดทำให้ปริมาณออกซิเจนใน เวิร์ตลดลง เปลี่ยนสภาพเป็นไม่มีออกซิเจน ยีสต์จะมีการแบ่งเซลล์เพื่อการเจริญน้อยลงและเกิดการหมักน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ นอกจากนี้ยังมีสารอื่นๆเกิดขึ้นด้วยในปริมาณน้อย ซึ่งสารเหล่านี้เป็นตัวให้กลิ่นรสของเบียร์ได้แก่ fusel alcohol ซึ่งเป็นแอลกอฮอล์ที่ระเหยช้ากว่าเอทานอล fusel oil จะประกอบด้วย เอสเตอร์ สารประกอบซัลเฟอร์ และกรดอินทรีย์ต่างๆ ใน

ขั้นนี้เบียร์ที่หมักได้จะเรียกว่า green beer ซึ่งต้องนำมาหมักต่อในขั้นที่สอง การหมักเบียร์ในขั้นที่สองเรียกว่า lagering

เบียร์ที่หมักได้ในขั้นแรกจะถูกย้ายมาเก็บไว้ในห้องใต้ถุนเพื่อให้เบียร์มีอุณหภูมิต่ำลงเป็น 3 – 6 องศาเซลเซียส Green beer ที่นำมาบ่มในถังหมักแบบปิดจะมีเซลล์ยีสต์ 6 - 10 ล้านเซลล์เหลืออยู่จากการหมักในขั้นแรก กระบวนการหมักในขั้นที่สองเพื่อปรับปรุง green beer ให้มีรสชาติดีขึ้น ซึ่งการหมักในขั้นที่สองจะเป็นการลดปริมาณของสารที่ให้กลิ่นรสพวกไดอะซิทิล และไฮโดรเจนซัลไฟด์เพื่อให้อยู่ในปริมาณที่พอเหมาะ

เบียร์ที่หมักในขั้นที่สองจะมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เพิ่มขึ้นจาก 1.5 ปริมาตรเป็น 2.8 ปริมาตร ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เพิ่มขึ้นจะมีลักษณะเป็นฟองเล็กๆผุดขึ้นที่ผิวหน้าของเบียร์ มีลักษณะเป็นชั้นครีมสีขาว เรียกว่า krausen ระยะเวลาในการหมักเบียร์ขั้นที่สองนี้จะใช้เวลา 3 - 4 สัปดาห์ จะทำให้ได้เบียร์ที่มีรสชาติดี

ในกรณีของการหมักแบบ bottom fermentation นั้น การหมักในขั้นที่สองจะทำที่อุณหภูมิประมาณ 8 – 10 องศาเซลเซียสเมื่อการหมักขั้นที่สองสิ้นสุดลง จะนำเบียร์มาทำให้เย็นที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียสและทิ้งไว้ระยะเวลาหนึ่งเพื่อให้ยีสต์และสารประกอบโปรตีนหรือแทนนินเกาะกันเป็นก้อนและตกตะกอน การนำมาทำให้เย็นนี้จะช่วยกำจัดสารที่ทำให้เบียร์ขุ่นให้หมดไป และทำให้เบียร์มีความคงตัวมากขึ้น

ในระหว่างการปรับปรุงคุณภาพของเบียร์นี้จะมีการเติมสารป้องกันความเย็น เช่น papain ลงไปด้วยเพื่อช่วยให้เบียร์มีความคงตัว และป้องกันไม่ให้เบียร์ขุ่นในระหว่างแช่เย็นด้วย เบียร์ที่ขุ่นส่วนใหญ่จะเกิดจากการรวมตัวกันของสารประกอบระหว่างโปรตีนและพอลิฟีนอล ซึ่งสามารถกำจัดพอลิฟีนอลให้น้อยลงโดยการใช้ลูกปัดพอลิไวนิลไพรโรลิโดน หรือไนรอล 66 เป็นตัวดูดซับพอลิฟีนอล (ดุษณี, 2555)

ในการหมักเบียร์จะต้องคำนึงถึงกระบวนการสร้างและสลายสารอาหารจากการทำงานของยีสต์ซึ่งขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆดังต่อไปนี้

- องค์ประกอบของเวิร์ตได้แก่ แอลฟา-อะมิโน ไนโตเจน ออกซิเจน เกลือแร่ น้ำตาลที่หมักได้

- ความเข้มข้นของยีสต์ปกติใช้กล้ายีสต์เท่ากับ 15 - $20x10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตรของเวิร์ต
- การให้อากาศอย่างเพียงพอ เพื่อช่วยการเพิ่มปริมาณเซลล์และเร่งการหมักให้เร็วขึ้น ปกติใช้ความเข้มข้นของออกซิเจนเท่ากับ 6 - 8 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณออกซิเจนเป็นปัจจัยควบคุมผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากการหมัก
- อุณหภูมิ ควบคุมที่อุณหภูมิเท่ากับ 6 - 8 องศาเซลเซียส หรือ 8 – 10 องศาเซลเซียส เมื่อสิ้นสุดการหมักอุณหภูมิจะควบคุมไว้ที่ 4 - 6 องศาเซลเซียสปกติการหมักใช้เวลา 7 วันซึ่งทำให้น้ำตาลและการอาหารในเวิร์ตประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์ถูกใช้ในการหมัก ได้เป็นเบียร์สด (young beer) ที่ถูกนำเอาไปเก็บไว้ในถังพัก (storage cellar) เพื่อให้การหมักเกิดขึ้นอย่างช้าๆ โดยการควบคุมอุณหภูมิ -1 องศาเซลเซียสซึ่งเป็นการบ่มเบียร์เป็นระยะเวลานาน 4 - 6 สัปดาห์ จะทำให้สารก่อความขุ่นตกตะกอนได้

นอกจากนี้ยังสามารถเลือกการหมักเบียร์ที่อุณหภูมิสูง (14 - 18 องศาเซลเซียส) ภายใต้สภาวะความดันของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ จะทำให้เบียร์มีปริมาณความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์สูง ซึ่งสามารถยับยั้งการเติบโตของยีสต์ เพราะฉะนั้นการหมักที่อุณหภูมิสูงขึ้นจึงสามารถช่วยเร่งกระบวนการย่อยสลายของกระบวนการย่อยสลายของยีสต์ได้ และทำให้การหมักน้ำตาลเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ จึงไม่มีความจำเป็นต้องมีการบ่มเบียร์ในถังพักเหมือนกับการหมักที่อุณหภูมิต่ำ เพราะฉะนั้นการพักเบียร์ในถังบ่มมีวัตถุประสงค์เพื่อการตกตะกอน ทำให้เบียร์ใสเท่านั้น จึงช่วยทำให้ใช้ระยะเวลาในถังพักเบียร์สั้นลงเหลือเพียง 7 - 14 วันเท่านั้น หากเลือกการหมักเบียร์ด้วย Top test ซึ่งให้กลิ่นรสที่ดีจะต้องหมักที่อุณหภูมิสูงขึ้น (18 - 25 องศาเซลเซียส) ทำให้ระยะเวลาการหมักสั้นลงเหลือ 1 - 3 วัน และใช้เวลาในการพักเบียร์เพียง 7 - 21 วัน

- การกวนทำให้เกิดการผสมผสานระหว่างเวิร์ตกับยีสต์เป็นเนื้อเดียวกัน ซึ่งจะช่วยส่งเสริมการเติบโตและการใช้สารอาหารของยีสต์
- ความดัน ซึ่งเกิดขึ้นเนื่องจากปริมาณแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ที่ได้จากกระบวนการสร้างและสลายของยีสต์ มีผลกระทบเชิงลบต่อการเติบโตของยีสต์

การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีระหว่างการหมักระยะแรกของยีสต์จะมีสารประกอบเกิดขึ้นมากมาย อาทิ สารประกอบซัลเฟอร์ระเหย (เช่น ไฮโดรเจนซัลไฟด์ ไดเมททิลซัลไฟด์ ไดเอททิล

ซัลไฟด์ และเอททิลเมอร์แคปแทน) กรดไขมันโมเลกุลสั้นแอลดีไฮด์ และแอลฟา-แอลซีโตแลคเทต ในระหว่างการสังเคราะห์ของกรดอะมิโนของยีสต์ก่อให้เกิดสารมัทยันตร์ Intermidiates ที่สำคัญได้แก่ แอลฟา-แอลซีโตแลคเทต แอลฟา-แอซิโตรไฮดรอกซีบิวทิเรต ซึ่งเปลี่ยนไปเป็นไบแอซิทิล (Biacetyl) และแพนแทนไดโอน (Pentanedione) ตามลำดับจากปฏิกิริยาดีคาร์บอกซิเลชัน โดยเฉพาะไบแอซิทิลจะถูกใช้เป็นตัวดัชนีบ่งถึงการบ่มเบียร์ (Maturation) ที่เหมาะสม โดยมีระดับความเข้มข้นที่สามารถรับรู้ด้วยประสาทสัมผัสเท่ากับ 0.15 - 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร เพราะในระหว่างการบ่มเบียร์ในถังพักนั้น ไบแอซิทิลที่เกิดขึ้นจากการหมักระยะแรกจะถูกรีดิวซ์ต่อไปโดยยีสต์ (สาโรจน์, 2547)

2.5.7 การกรองเบียร์ (Filtration) การกรองเบียร์เพื่อแยกยีสต์ อนุภาคโปรตีน และคาร์โบไฮเดรตจากเบียร์ เพื่อทำให้เบียร์ใสเป็นขั้นตอนที่จำเป็น ถึงแม้ว่าขั้นตอนการปรับปรุงคุณภาพของเบียร์ก่อนหน้าจะมีประสิทธิภาพของเบียร์ในการแยกองค์ประกอบที่ทำให้เบียร์ขุ่นออก การกรองนั้นถ้ามีปริมาณของสารแขวนลอยมากอาจใช้เครื่องกรองผง (powder filter) ที่ใช้ไดอะโตมาเชียสเอิร์ท (daitomaceoud earth) หรือ เพอร์ไลต์ (perlite) แม้ว่าการใช้เครื่องกรองผงกรองเพียงครั้งเดียวสามารถผลิตเบียร์ที่มีความใสที่ยอมรับได้ แต่กระบวนการกรองที่ใช้ 2 ขั้นตอนจำเป็นเพื่อให้ได้เบียรที่มีลักษณะใสเป็นประกายวาวยิ่งขึ้น การกรองเพื่อจุดประสงค์นี้ อาจใช้เครื่องกรองแบบแผ่น (sheet filter) เป็นขั้นตอนระหว่างกลางในกรณีที่มีสิ่งที่ทำให้เบียร์ขุ่นมากแล้วจึงตามด้วยการกรองผ่านเครื่องกรองแบบคาร์ทริจ (cartridge filter) (สาวิตรี, 2549)

2.6 องค์ประกอบทางเคมีของเบียร์

การจำแนกประเภทของเบียร์ในสหพันสาธารณรัฐเยอรมันนีอาศัยเกณฑ์ความเข้มข้นของเวิร์ตเริ่มต้น (Original Wort Striength) โดยคิดในรูปของปริมาณสารสกัดในเวิร์ตที่ได้ (กรัมต่อ100 กรัมของเวิร์ตที่ใช้ก่อนการหมัก) ซึ่งแบ่งออกได้เป็น 4 กลุ่มด้วยกันดังแสดงในตารางที่ 2.5

ตารางที่ 2.5 การจำแนกเบียร์เยอรมัน

เบียร์	เปอร์เซ็นต์เวิร์ต	ตลาดเบียร์เยอรมัน[1]
เบียร์อ่อน	2 - 55	0.1
เบียร์ธรรมดา	7 - 8	0.2
เบียร์เข้มข้น	11 - 14	98.9
เบียร์แรง	มากกว่า 16	0.8

[1] ข้อมูลเมื่อปี ค.ศ.1979

ที่มา : (สาโรจน์, 2547)

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเบียร์จะอาศัยปัจจัยความเข้มข้นของเวิร์ตที่ใช้ในการหมักเบียร์เป็นหลัก อาทิ เบียร์ชนิดที่เรียกว่า Pilsner ซึ่งผลิตมาจากเวิร์ตที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 11.9 เปอร์เซ็นต์ เบียร์ชนิดนี้โดยเฉลี่ยแล้วจะมีองค์ประกอบทางเคมี ดังแสดงดังตารางที่ 6 ส่วนรายละเอียดในตารางที่ 7 แสดงถึงองค์ประกอบของเบียร์โดยทั่วไป ในตารางที่ 8 ส่วนเบียร์ชนิดอื่นๆ ที่มีการผลิตสำหรับบุคคลบางกลุ่มได้แก่

- เบียร์ไดเอท จะมีองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตที่เป็นแหล่งพลังงานอยู่เพียง 7.5 กรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นเบียร์ประเภทที่ได้จากการหมักอย่างสมบูรณ์โดยการเลือกใช้มอลต์ชนิดที่มีเอนไซม์อยู่สูง เบียร์ไดเอทจะมีปริมาณเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์มากกว่าเบียร์ทั่วไป
- เบียร์ที่มีแอลกอฮอลต่ำหรือเบียร์ที่ปลอดแอลกอฮอล์ ผลิตจากกระบวนการหมักที่ไม่สมบูรณ์หรืออาศัยกระบวนการกลั่นเพื่อกำจัดแอลกอฮอลล์ที่ได้จากการหมัก

องค์ความรู้ของเทคโนโลยีสมัยใหม่ช่วยส่งเสริมทำให้ได้กระบวนการผลิตเบียร์ที่ทันสมัยและมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น จึงสามารถผลิตเบียร์ได้เป็นจำนวนมากในระยะเวลาสั้นลงแต่ก็ยังคงคุณภาพการผลิตเบียร์ตามที่ผู้อื่นต้องการได้ ความจริงเบียร์เป็นเครื่องดื่มที่มีโภชนาการ แต่การดื่มเป็นจำนวนมากซึ่งเป็นกิจวัตรก็ย่อมไม่ส่งผลดีต่อสุขภาพแต่อย่างใด โดยเฉพาะอย่างยิ่งผลกระทบต่อสติสัมปชัญญะในการดำรงชีวิตและการทำงานของเรา (สาโรจน์, 2547)

ตารางที่ 2.6 องค์ประกอบของเบียร์ Pilsner

ส่วนประกอบ	ปริมาณ
	กรัมต่อ100กรัม
เวิร์ต(Wort)	11.9
	กรัมต่อลิตร
สารสกัด (Extract)	42.0
แอลกอฮอล์	39.0
คาร์โบไฮเดรต	29.0
โปรตีน	5.1
เกลือแร่	1.5
	มิลลิกรัมต่อลิตร
กรดอินทรีย์	591
กลีเซอรอล	1617
แอลกอฮอล์อื่นๆ	88
สารขม	34
พอลิฟีนอล	185
วิตามิน	ไมโครกรัมต่อลิตร
ไทอามีน	33
ไรโบฟลาวิน	410
พิริดอกซิน	650
กรดเพนโททีนิก	1632
ไนอาซีน	7875
ไบโอทิน	13
พลังงาน	1828 กิโลจูลต่อลิตร

ที่มา : (สาโรจน์, 2547)

ตารางที่ 2.7 ส่วนประกอบของเบียร์ทั่วไป

ส่วนประกอบ	ความเข้มข้น (เปอร์เซ็นต์)	จำนวนชนิดของส่วนประกอบ	แหล่งที่มา
น้ำ	90	1	
แอลกอฮอล์	4	1	ยีสต์ มอลต์
คาร์โบไฮเดรต	4	16	มอลต์ ธัญพืช
มอนอแซ็กคาไรด์	0.1 – 0.2		
ไดแซ็กคาไรด์	0.4 – 1.0		
ไตรแซ็กคาไรด์	0.2 – 0.3		
พอลิแซ็กคาไรด์(4 – 24 หน่วยกลูโคส)	2.6 – 3.2		
เกลืออนินทรีย์	0.8	10	เวิร์ตมอลต์
สารประกอบไนโตรเจน	0.3	35	มอลต์
กรดอินทรีย์	0.3	13	ยีสต์ มอลต์
คาร์บอนไดออกไซด์	0.5	1	ยีสต์
อื่นๆ	0.2	± 750	มอลต์ ยีสต์ ฮอพ

ที่มา : (สาโรจน์, 2547)

2.7 ยีสต์ที่ใช้ในเครื่องดื่มที่ผลิตจากมอลต์

วิธีการในระหว่างการผลิตเบียร์จะมีอิทธิพลต่อการดำรงชีวิตของจุลินทรีย์มาก ถ้ามีการเจริญของจุลินทรีย์ในระหว่างการเตรียมมอลต์และแมช และอาจเกิดขึ้นระหว่างการหมักและการเก็บผลผลิต โดยเชื้อยีสต์มักมีการปนเปื้อนกับจุลินทรีย์ชนิดอื่น เช่น แบคทีเรียและยีสต์ชนิดอื่นที่ไม่ต้องการ แต่โชคดีที่จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมานี้จะถูกยับยั้งการเจริญหมด (แม้ว่าจะเจริญได้ในอาหารเลี้ยงยีสต์) โดยสารจากดอกฮอพ และความเป็นกรดในเวิร์ตจึงไม่ทำให้เกิดความเสียหายต่อกระบวนการหมักเครื่องดื่มประเภทนี้ ยกเว้น สปอร์ของ *Bacillus* และ *Clostridium* เท่านั้นที่ยังอาจรอดชีวิตอยู่ได้ แต่ก็จะไม่สามารถเจริญได้เนื่องจากมีสารสกัดจากฮอพรวมอยู่ อีกทั้งอุณหภูมิที่ใช้หมักและบ่มต่ำเกินไป สภาวะไร้ออกซิเจนและแอลกอฮอล์ที่เกิดจากการผลิตของยีสต์ก็มีส่วนทำให้จุลินทรีย์ที่หลงเหลืออยู่เจริญไม่ได้ ดังนั้นถ้าผลิตเบียร์อย่างถูกต้องตามกรรมวิธีที่กำหนดทุกขั้นตอนแล้ว เบียร์ไม่น่าจะเสียเนื่องจากจุลินทรีย์ แต่อย่างไรก็ตามการเสียของเบียร์อาจเกิดจากจุลินทรีย์พวก

Clostridium ซึ่งเป็นตัวการสำคัญในกระบวนการหมักชนิดให้กรดบิวทิริกและกรดแล็กทิก ถ้าเก็บแมช เอาไว้ในอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรียเหล่านี้นานเกินไป กลิ่นของกรดที่เกิดขึ้นอาจติดเข้าไปในเบียร์ แม้ว่าแบคทีเรียจะถูกทำลายไปหมดแล้วก็ตามทำให้เบียร์มีรสชาติไม่ดี การนำเชื้อยีสต์จาการหมักครั้งก่อนๆ มาใช้อาจเกิดการปนเปื้อนได้ และทำให้เบียร์ขุ่น หรือมีรสชาติไม่ดี เช่น *Saccharomyces pastorianus* ทำให้เบียร์ขม *Hansenula anomala* ทำให้เบียร์มีรสคล้ายเอสเทอร์ ยีสต์บางชนิดทำให้เบียร์มีกลิ่นผลไม้ และบางชนิดยังสามารถใช้สารสกัดจากฮอพแล้วให้ไฮโดรเจนซัลไฟด์ ยีสต์ที่สามารถใช้เด็กซ์ทรินในเบียร์ได้ เช่น *S.diastaticus* ทำให้เบียร์เสียได้ ส่วนแบคทีเรียที่ทำให้เบียร์เสียได้นั้น เช่น *Pedtorianus cerevisiae* ทำให้เบียร์เปรี้ยว ขุ่นละเป็นยางเหนียว (สุมาลี, 2527)

2.8 การเตรียมเชื้อเริ่มต้นในกระบวนการหมักที่ใช้ยีสต์

โดยทั่วไปอุตสาหกรรมการผลิตเบียร์ในประเทศอังกฤษ นิยมใช้ยีสต์จากการหมักครั้งก่อนเป็นเชื้อเริ่มต้นสำหรับการหมักครั้งต่อไป แต่การกระทำเช่นนี้มักทำให้เกิดปัญหาการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์อื่น และการกลายพันธุ์ของยีสต์ที่ใช้ในกระบวนการผลิต โดยยีสต์มักจะมีความสามารถในการจับตัวกันเป็นกลุ่มได้ลดลง และทำให้เบียร์ใสได้ยากขึ้น การลดปัญหานี้ในการหมักเบียร์ Top fermentation สามารถทำได้โดยใช้ยีสต์จากบริเวณส่วนกลางของยีสต์ที่ลอยอยู่ที่ผิวหน้าของถังหมักเป็นเชื้อเริ่มต้นสำหรับการหมักในครั้งต่อไป เนื่องจากในระหว่างการหมัก เซลล์ยีสต์จะมีการจับตัวกันเป็นกลุ่ม และลอยขึ้นมาที่ผิวหน้าอาหาร เซลล์พวกแรกที่ลอยขึ้นมา จะเป็นพวกที่มีความสามารถในการจับกลุ่มกันได้ดีที่สุด และพวกที่ลอยขึ้นมาเป็นกลุ่มสุดท้าย จะเป็นพวกที่มีความสามารถในการจับกลุ่มกันได้น้อยที่สุด แต่ยีสต์พวกแรกมีโอกาสปนเปื้อนจากจุลินทรีย์อื่นได้สูง จึงต้องกำจัดทิ้งไป และเก็บเกี่ยวเซลล์ยีสต์ที่อยู่บริเวณส่วนกลาง มาใช้เป็นเชื้อเริ่มต้นในการผลิตเบียร์ในครั้งต่อไป เนื่องจากยีสต์ในส่วนนี้มีความสามารถในการจับกลุ่มกันได้ดี และมีโอกาสเกิดการปนเปื้อนได้น้อยกว่ายีสต์ที่ผิวชั้นบนสุด นอกจากนี้อาจมีการลดจำนวนแบคทีเรียที่ปนเปื้อนมา และกำจัดโปรตีน และเซลล์ยีสต์ที่ตายแล้วออกไปได้โดยการลด พีเอช เป็น 2.5 - 3.0 ล้างด้วยน้ำแล้วล้างด้วยแอมโมเนียมเปอร์ซัลเฟต และใส่สารปฏิชีวนะ เช่น โพลิมัยซิน เพนนิซิลิน หรือนีโอมัยซิน

อย่างไรตาม แม้ว่าจะเลือกใช้ยีสต์ที่อยู่บริเวณส่วนกลาง จากการหมักครั้งก่อนเป็นเชื้อเริ่มต้นสำหรับการหมักครั้งต่อไป แต่โดยทั่วไปจะใช้ต่อเนื่องกันได้ไม่เกิน 5 - 10 ครั้ง ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการผลิตเชื้อเริ่มต้นที่บริสุทธิ์ขึ้นใหม่เป็นระยะๆ

ในปี ค.ศ. 1896 ได้เริ่มใช้ยีสต์บริสุทธิ์ในการผลิตเบียร์เป็นคนแรก โดยใช้เชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์ ในการเพิ่มปริมาตรของเชื้อเริ่มต้นในแต่ละขั้นตอน และใช้สภาวะในการเพาะเลี้ยงเช่นเดียวกับที่ใช้ในการหมักเบียร์ แต่ในปัจจุบันการเตรียมเชื้อเริ่มต้นของยีสต์นิยมใช้เชื้อเริ่มต้น 1 เปอร์เซ็นต์ หรือต่ำกว่านี้และใช้สภาวะเลี้ยงเชื้อที่แตกต่างไปจากสภาวะที่ใช้ในการหมักเบียร์ คือ มีการให้อากาศในระหว่างการเพิ่มจำนวนเชื้อเริ่มต้น ด้วยการใช้สภาวะที่แตกต่างกันเช่นนี้ พบว่ามีผลเพียงเล็กน้อยต่อการผลิตเบียร์ อย่างไรก็ตามในปีค.ศ. 1957 พบสภาวะที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนเชื้อเริ่มต้น โดยเฉพาะอุณหภูมิ จะมีผลต่อการหมักเบียร์ของยีสต์ ดังนั้นการเพาะเลี้ยงเชื้อเริ่มต้น จึงควรใช้อุณหภูมิที่ใกล้เคียงกับอุณหภูมิในการหมักเบียร์ นอกจากนี้หลังจากที่ยีสต์มีการเจริญสูงสุดแล้ว ถ้ายังคงทิ้งไว้ในถังหมักเพิ่มจำนวนเซลล์ต่อไป ก็จะทำให้เซลล์ยีสต์รวมกลุ่มกัน และมีผลให้ระยะ lag phase ในการหมักเบียร์นานขึ้นด้วย

โดยทั่วไปถังหมักที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนยีสต์เพื่อใช้เป็นเชื้อเริ่มต้น จะมีลักษณะเป็นภาชนะปิด และมีระบบให้อากาศ แบบง่ายที่สุดคือ ถังหมักชนิด single-stage system ซึ่งมีระบบให้อากาศแต่ไม่มีเครื่องกวน การเตรียมเชื้อเริ่มต้นในถังหมักชนิดนี้ทำได้โดยใช้เชื้อจากโคโลนีเดี่ยวๆ ใส่ลงในฟลาสก์ เขย่าให้อากาศ หลังจากนั้นจึงถ่ายเชื้อจากฟลาสก์ลงสู่ถังหมักเพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์ สำหรับถังหมักอีกชนิดหนึ่งจะเป็นแบบ two-stage system ซึ่งสมารถทำงานได้กึ่งต่อเนื่อง เช่น Thorne's propagator ซึ่งประกอบด้วยภาชนะ 2 ใบ ขนาด 1.5 และ 150 ลิตร เชื่อมอยู่ใกล้กัน ภายในภาชนะทั้งสองใบนี้มีระบบให้อากาศ และมีเวิร์ตซึ่งผ่านการสเตอริไลส์และทำให้เย็นแล้วบรรจุอยู่ การเตรียมเชื้อเริ่มต้น ทำได้โดยใส่ยีสต์ที่เจริญในฟลาสก์ลงในภาชนะใบเล็ก แล้วปล่อยให้เชื้อเจริญประมาณ 3 - 4 วัน ถ่ายเชื้อจากภาชนะใบเล็กเข้าสู่ภาชนะใบใหญ่โดยใช้แรงดันอากาศ หลังจากผสมเรียบร้อยแล้ว จึงถ่ายอาหารจากภาชนะใบใหญ่กลับคืนสู่ภาชนะใบเล็ก 1.5 ลิตร หลังจากนั้น 3 - 4 วัน ในภาชนะใบใหญ่ก็จะมียีสต์เจริญขึ้นมากพอที่จะใช้เป็นเชื้อเริ่มต้นสำหรับถังหมักเบียร์ขนาด 1,000 ลิตรได้ และภาชนะใบเล็กก็จะมียีสต์เจริญขึ้นมากพอที่จะใช้เป็นเชื้อเริ่มต้นสำหรับภาชนะใบใหญ่ได้อีก อย่างไรก็ตามการใช้ระบบกึ่งต่อเนื่องแบบนี้ มีข้อเสียคือยีสต์มีโอกาสเกิดการผ่าเหล่าได้สูง (สาโรจน์, 2547)

2.9 การควบคุมจุลินทรีย์

2.9.1 การควบคุมจุลินทรีย์ในข้าวบาร์เลย์ ข้าวบาร์เลย์อาจมีจุลินทรีย์อยู่ตามธรรมชาติ การควบคุมจึงเริ่มตั้งแต่การระมัดระวังในขณะเก็บเกี่ยว และเก็บเกี่ยวในระยะที่ข้าวบาร์เลย์มีความแก่พอเหมาะ เก็บรักษาอย่างถูกสุขลักษณะ ควบคุมความชื้นไว้อย่าให้เกิน 12.5 เปอร์เซ็นต์ หาไม่แล้วแบคทีเรีย ยีสต์ และราที่สร้างเส้นใยจะเจริญได้ อาจมีปัญหาการปนเปื้อนของสารพิษจากเชื้อรา ซึ่งยากที่จะกำจัดออกไป

2.9.2 การควบคุมจุลินทรีย์ในการเพาะเป็นข้าวมอลต์ จะต้องมีการฉีดน้ำให้ชุ่มเมล็ดข้าว ความชื้นที่เพิ่มขึ้นมีผลให้จุลินทรีย์หลายชนิดเจริญ มีผู้แยกเชื้อจุลินทรีย์จากข้าวมอลต์ในระยะสิ้นสุดของการเพาะข้าวบาร์เลย์จนงอกเป็นข้าวมอลต์ พบเชื้อจุลินทรีย์ประกอบด้วย

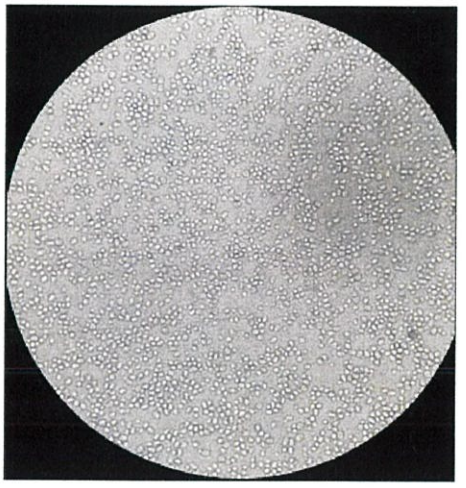
- แบคทีเรียแกรมลบ (*Flavobacterium esteroaromaticum*)
- แบคทีเรียแกรมบวก (*Lactobacillus plantarum*)
- ยีสต์ (*Candida catenulate*)
- รา (*Geotrichum candidum*)

2.9.3 การควบคุมจุลินทรีย์ในการอบแห้งข้าวมอลต์ การอบมีผลทำให้จำนวนจุลินทรีย์ลดลง 1 - 2 log แต่จุลินทรีย์ที่มีชีวิตยังหลงเหลืออยู่ ความรู้เกี่ยวกับเทคนิคมอลติ้งและจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องจะช่วยให้เกิดการจัดการที่ดี สามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ที่จะทำให้ข้าวมอลต์มีคุณภาพด้อยลงได้ และถ้าใช้ข้าวมอลต์คุณภาพดีในการผลิตเบียร์ ก็จะมีผลให้ได้เบียร์ที่มีคุณภาพดีด้วยเช่นกัน

2.9.4 การควบคุมจุลินทรีย์ในกระบวนการผลิต จุลินทรีย์อาจปนเปื้อนในน้ำเวิร์ตในระหว่างการถ่ายเบียร์ การสุขาภิบาลภาชนะ อุปกรณ์ โดยเฉพาะอุปกรณ์ที่ติดตั้งกับที่ เช่นเครื่องบด หม้อต้ม ถังหมัก เครื่องกรอง จะต้องทำความสะอาดด้วยระบบ CIP ถ้าหากการทำความสะอาดบกพร่อง อาจสร้างปัญหาและนำความเสียหายมาได้อย่างคาดไม่ถึง ดังนั้นมาตรการณ์ในเรื่องนี้จึงต้องเข้มงวด และมีการตรวจสอบอย่างสม่ำเสมอ น้ำเวิร์ตเป็นอาหารที่อุดมด้วยสารอาหารซึ่งจุลินทรีย์นำมาใช้ในการเจริญเติบโตได้ทันที การผลิตจึงต้องเป็นแบบต่อเนื่อง หากทิ้งไว้แบคทีเรียจะสร้างสปอร์ซึ่งทนความร้อน และคลอสตริเดียมบางสปีชีร์ที่ปนเปื้อนเข้ามาในข้าวมอลต์และแอดจั๊ง ณ ระดับอุณหภูมิที่ใช้ในแมสชิ่ง แบคทีเรียเหล่านี้มามารถเจริญได้ ทำให้น้ำเวิร์ตมีความเป็นกรดเพิ่มขึ้น เป็นผลให้น้ำเวิร์ตมีกลิ่นรสผิดปกติ นอกจากนี้อาจเกิดสารก่อมะเร็ง คือ ไนโตรซามีนสืบเนื่องมาจากการรีดิวซ์ไนเตรทที่มี

อยู่ในน้ำเวิร์ตเป็นไนไตรท์ การมีแบคทีเรียในน้ำเวิร์ตก่อนเติมยีสต์จะมีผลให้เบียร์ที่ได้มีกลิ่นรสผิดปกติ และไม่สมารถแก้ไขให้เบียร์มีรสชาติกลับคืนมาเหมือนเดิมได้ (สุมณฑา, 2549)

2.10 ยีสต์



รูปที่ 2.3 ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*

กำลังขยาย 400 เท่า

Saccharomyces cerevisiae

ยีสต์เป็นจุลินทรีย์ที่รู้จักกันมาตั้งแต่สมัยโบราณถึงกับมีผู้กล่าวว่า ยีสต์เป็นจุลินทรีย์ชนิดแรกที่มนุษย์นำมาใช้ รายงานแรกเกี่ยวกับการใช้ยีสต์ คือการผลิตเบียร์ชนิดหนึ่งที่เรียกว่า Heineken เมื่อประมาณ 6,000 ปีก่อนคริสต์ศักราช คนไทยรู้จักใช้ประโยชน์จากยีสต์มาเป็นเวลานาน เช่นในการทำอาหารหมักบางชนิด ได้แก่ ข้าวหมาก ปลาแจ่ว เครื่องดองของเมาหลายชนิดเช่น อุ สาโท และกระแช่ เป็นต้น ปัจจุบันมีการนำยีสต์มาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมหลายประเภท เป็นต้นว่าการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ ชนิดต่างๆเช่น เบียร์ ไวน์ และวิสกี้ การผลิตเอทิลแอลกอฮอล์เพื่อใช้เป็นสารเคมี และเชื้อเพลิง การผลิตเซลล์ยีสต์ เพื่อใช้เป็นยีสต์ขนมปังและเป็นโปรตีนเซลล์เดียว ราบางประเภทสามารถนำมาใช้ในการผลิตสุราได้แต่ราบางชนิดที่เพาะมาเป็นพิเศษ ก็เป็นราที่ผลิตมาเพื่อการค้าและมีลิขสิทธิ์เฉพาะ เช่นรา คาลสเบิร์กโนเจนซิส เป็นราลิขสิทธิ์ที่ใช้ในการผลิตเบียร์คาลสเบิร์ก การผลิตยีสต์ที่ได้คุณภาพจะต้องผ่านการรับรองจากสถาบัน Leco ถึงจะสามารถบรรจุวางขายในซูเปอร์มาร์เก็ตของยุโรปเช่น ร้าน Hermes และ Struers ได้

ยีสต์ มีคุณสมบัติในการเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นคาร์บอนไดออกไซด์และแอลกอฮอล์ได้ โดยหลักการทำงานของยีสต์ หรือ "เบเกอร์ ยีสต์" (Baker yeast) ที่ใส่ให้ขนมปังฟู เนื่องมาจากยีสต์ที่ใส่ลงไปมีการใช้น้ำตาลในแป้งขนมปัง หรือที่เรียกกันว่า "โด้" (dough) เป็นอาหาร และระหว่างที่มันกินอาหารมันจะเกิดการหายใจแบบไม่ใช้ออกซิเจน สลายกลูโคสได้ adenosine triphosphate และคายแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ออกมา และเมื่อเราเอาแป้งไปอบ ก๊าซที่มันคายออกมาก็ผุดขึ้นมาระหว่างเนื้อขนมปังทำให้เกิดรูพรุนจนฟูขึ้นมา

ส่วนพวก "บริวเวอร์ ยีสต์" (Brewer yeast) ซึ่งเป็นยีสต์ที่นำมาหมักทำเบียร์และไวน์ มีรสชาติค่อนข้างรุนแรง บริวเวอร์ยีสต์ ประกอบไปด้วยธาตุอาหารมากมีกรดอะมิโน 16 ชนิด เกลือแร่ 14 ชนิด วิตามิน 17 ชนิด นอกจากนี้ยังมีเกลือแร่สูง คือ โครเมียม เหล็ก ฟอสฟอรัส เซเลเนียม และยังมีวิตามินบีรวม โดยเฉพาะวิตามินบี5 วิตามินบี 6 ไบโอติน และสังกะสีซึ่งสารอาหารเหล่านี้ถือว่าเป็นสารอาหารที่ช่วยบำรุงเส้นผม ทำให้ผมมีสุขภาพดียิ่งขึ้น ลดการหลุดร่วงของเส้นผม ช่วยบำรุงระบบประสาททำให้สามารถทนต่อความเครียดความอ่อนล้าจากการใช้สมอง อีกทั้งบริวเวอร์ยีนยังเป็นแหล่งสำคัญของโปรตีนถึง 16 กรัมต่อปริมาตรยีสต์ 30 กรัม มีมากถึง 50 - 55 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้โดยยีสต์ไม่ใช้ออกซิเจนในการหายใจการใช้ประโยชน์จากบริวเวอร์ยีสต์ที่เป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมการหมักเบียร์ ก่อให้เกิดประโยชน์ในอุตสาหกรรมต่อเนื่องที่หลากหลาย ไม่ว่าจะใช้เป็นส่วนประกอบในอาหาร หรือสารปรุงรสอาหารโดยสารสกัดจากยีสต์ (yeast extract) จะให้ลักษณะของกลิ่นรสที่พิเศษซึ่งเพิ่มความอร่อยให้กับอาหาร (กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 2549)

2.11 ประโยชน์ของยีสต์

ยีสต์ถูกนำมาใช้มากมายในทางวิทยาศาสตร์ชีวภาพ ที่สำคัญคือทำให้มนุษย์เข้าใจกลไกต่างๆ ที่เกิดขึ้นในเซลล์ยูคาริโอตมากขึ้น การใช้ยีสต์ในอุตสาหกรรมการหมักเพื่อผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ เช่น เบียร์ ไวน์ วิสกี้ และทำให้ขนมปังฟูนั้นมีมาหลายศตวรรษ โดยมีการขยายการผลิตในระดับทางการค้าแพร่กระจายไปทั่วโลก ยีสต์หลายชนิดมีบทบาทในการผลิตอาหารหมักพื้นเมืองในระดับอุตสาหกรรม ใช้ผลิตยารักษาโรค ผลิตวัคซีน ผลิตอาหารเพื่อสุขภาพ นอกจากนี้ยีสต์มีบทบาทสำคัญในทางอุตสาหกรรมผลิตพลังงานทดแทนคือเอทานอลที่ผลิตจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรและมีราคาถูก (อรุณ, 2558)

2.12 สารอาหารที่ยีสต์ใช้ในการเจริญ

สำหรับการเจริญและพัฒนาของยีสต์นั้นยีสต์ต้องการสารอาหารซึ่งทำหน้าที่เป็นแหล่งพลังงาน แหล่งคาร์บอน รวมทั้งธาตุอาหารหลัก (major element) อื่นๆ ได้แก่ ไฮโดรเจน ออกซิเจน ไนโตรเจน ซัลเฟอร์ และฟอสฟอรัส นอกจากนั้นยีสต์ยังต้องการธาตุอาหารบางชนิดในปริมาณค่อนข้างมาก ธาตุอาหารเหล่านั้นจัดเป็น macroelement ประกอบด้วย แมกนีเซียม และโพแทสเซียม ในขณะที่ธาตุอาหารบางชนิดยีสต์ต้องการในปริมาณที่ต่ำ (microelement หรือ trace element) ได้แก่ โบรอน ทองแดง สังกะสี แมงกานีส เหล็ก ไอโอดีน และโมลิบดีนัม เพื่อให้ยีสต์เจริญเติบโตมากที่สุด(นงลักษณ์ และปรีชา, 2547)

- คาร์บอน ภายในเซลล์ของยีสต์มีคาร์บอนประมาณ 50 เปอเซ็นต์ของน้ำหนักเซลล์แห้ง ยีสต์เป็นคีโมออร์กาโนโทรฟ (Chemoorganotroph) ซึ่งต้องใช้สารประกอบอินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงาน ส่วนใหญ่สารอินทรีย์ที่ใช้คือน้ำตาล กลูโคสเป็นน้ำตาลที่ยีสต์ทุกชนิดสามารถเมแทบอลิ-ซึมได้ ยีสต์บางชนิดสามารถเมแทบอลิซึมกลูโคสโดยการหมักได้ด้วย

- ไฮโดรเจน ไฮโดรเจนไอออน (H ion) หรือโปรตรอน (Proton) สำคัญมากในสรีรวิทยาของยีสต์โดยภายนอกและภายในเซลล์มีอิทธิพลมากต่อการเจริญและเมแทบอลิซึมของยีสต์ มีรายงานว่าพีเอชที่เหมาะสม (optimal pH) สำหรับการเจริญและการหมักกลูโคสคือพีเอชที่ให้ไฮโดรเจนไอออนเข้มข้น 1 ไมโครโมลาร์ (พีเอช 6) และ 10 ไมโครโมลาร์ (พีเอช 5) ยีสต์ปกติเจริญดีมากเมื่ออาหารเลี้ยงเชื้อมีพีเอชเริ่มต้นอยู่ในช่วง 4 - 6 แต่ยีสต์บางชนิดสามารถเจริญในช่วงพีเอชกว้างกว่าคือ 2 - 8 และยีสต์ส่วนใหญ่เจริญไม่ดีในพีเอชที่เป็นด่าง ในขณะที่ยีสต์บางชนิดสามรถปรับตัวให้เจริญได้ในสภาพที่เป็นด่างเล็กน้อย

- ออกซิเจน ยีสต์หลายชนิดเจริญเฉพาะที่มีออกซิเจน เรียกว่า obligate aerobic yeast เช่น Candida ยีสต์ไม่สามารถเจริญได้ในที่ขาดออกซิเจนอย่างสมบูรณ์ โดยไม่มียีสต์ชนิดใดที่เจริญได้เฉพาะในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน (obligate aerobic yeast) ยีสต์บางชนิดเจริญได้ทั้งสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจนที่เรียกว่า facultative anaerobic yeast ซึ่งยีสต์ประเภทนี้มีลักษณะสำคัญ 3 อย่าง คือ สามารถเจริญในสภาวะไม่มีออกซิเจน ชอบเจริญในที่มีออกซิเจนมากกว่าเพราะได้พลังงานในรูป ATP มากกว่า และในสภาวะที่มีออกซิเจนจะมีอัตราการใช้กลูโคส (glucose consumption) 9 กว่าในที่ไม่มีออกซิเจน ออกซิเจนมีหน้าที่หลักเป็นตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้ายใน

ห่วงโซ่อิเล็กตรอน นอกจากนั้นยังทำหน้าที่เป็น growth factor โดยยีสต์ต้องการออกซิเจนสำหรับการเกิดไฮดรอกซีเลชัน (hydroxylation) เพื่อรักษาการเจริญ

- ไนโตรเจน ยีสต์มีไนโตรเจนภายในเซลล์ประมาณ 10 เปอเซ็นต์ ของน้ำหนักเซลล์แห้ง ไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบของอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงยีสต์ที่มีปริมาณรองลงมาจากคาร์บอน สารหลายชนิดสามารถใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนได้ โดยแหล่งไนโตรเจนที่มีโมเลกุลขนาดเล็กและใช้ได้ง่ายเช่น แอมโมเนียมไนโตรเจนในรูปแอมโมเนียมไนเตรต แอมโมเนียมคลอไรด์ และแอมโมเนียมซัลเฟต มักใช้ในอุตสาหกรรมการหมักโดยยีสต์ โดยเฉพาะแอมโมเนียมซัลเฟตมักใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงยีสต์เพราะนอกจากให้ไนโตรเจนแล้วยังให้ซัลเฟอร์ด้วย

- ซัลเฟอร์ ยีสต์มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบ 0.3 เปอร์เซ็นของน้ำหนักเซลล์แห้ง โดย 50 เปอเซ็นต์ของซัลเฟอร์ในเซลล์อยู่ที่กรดอะมิโนที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบในโปรตีนอีก 5 เปอร์เซ็นเป็นอนินทรีย์ซัลเฟตอิสระ ส่วนที่เหลืออยู่ในรูปของซัลเฟตที่เกาะกันหรือกรดอะมิโนอิสระ นอกจากนั้นยังพบอยู่ในวิตามินบางชนิด เช่น ไบโอติน และสารที่มีซัลเฟอร์อื่นๆ ยีสต์ต้องการซัลเฟอร์เพื่อใช้ในการสังเคราะห์กรดอะมิโนที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบอันดับแรก

- ฟอสฟอรัส ถูกแอสซิมิเลตในรูปของไดโฮโดรเจนฟอสเฟตไอออนหรือออร์โทฟอสเฟตไอออน (orthophosphate ion, H_2PO_4) เท่านั้น บทบาทหลักของฟอสฟอรัสคือเป็นองค์ประกอบของน้ำตาลฟอสเฟต (sugar phosphate) กรดนิวคลีอิก และนิวคลีโอไซด์ฟอสเฟต หรือนิวคลีโอไทด์ไทรฟอสเฟต และยังพบในอนินทรีย์ฟอสเฟตในรูปของพอลิเมอร์สายตรงคือพอลิฟอสเฟต มีความสำคัญในการควบคุมเมแทบอลิซึม ให้ฟอสเฟตสะสม และให้พลังงาน ฟอสฟอรัสทำให้มีประจุลบในไซโต-พลาสซึมของยีสต์จากการที่มีอนินทรีย์ฟอสเฟตและกลุ่มฟอสเฟตในสารอินทรีย์ ฟอสเฟตในเซลล์ยีสต์มีอยู่ประมาณ 3 - 5 เปอเซ็นของน้ำหนักเซลล์แห้งซึ่งส่วนใหญ่อยู่ในรูปของออร์โทฟอสเฟต (สาวิตรี, 2549)

2.13 อุณหภูมิที่มีผลที่ยีสต์

ยีสต์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการและใช้ในอุตสาหกรรมส่วนใหญ่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิปานกลางคือ 20 - 30 องศาเซลเซียส อย่างไรก็ตามบางชนิดเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำในช่วง 12 – 15 องศาเซลเซียส สำหรับอุณหภูมิสูงสุด (maximum temperature) ที่ยีสต์เจริญได้ขึ้นอยู่กับชนิด เช่น *Saccharomyces cerevisiae* และ *Saccharomyces paradoxus* เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 35 - 43 องศาเซลเซียส ในขณะที่ *Saccharomyces bayanus* และ *Saccharomyces pastorianus* ไม่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิสูงกว่า 35 องศาเซลเซียส โดยทั่วไปอุณหภูมิสูงสุดที่ยีสต์เจริญได้อยู่ที่ประมาณ 50 องศาเซลเซียส เช่น *Kluyeromyces marxianus* สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 52 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิต่ำสุดประมาณ 20 องศาเซลเซียส นอกจากอุณหภูมิสูงสุดที่ยีสต์เจริญได้จะขึ้นอยู่กับชนิดของยีสต์แล้วยังได้รับอิทธิพลจากสภาวะแวดล้อมในการเจริญด้วย เช่น แหล่งคาร์บอน ปริมาณออกซิเจน ปริมาณน้ำในอาหาร ปริมาณเอทานอล และปัจจัยส่งเสริมการเจริญ (growth factor) ดังนั้นจึงอาจแบ่งยีสต์ออกเป็น 3 กลุ่ม ตามสมบัติการเจริญได้ดีที่อุณหภูมิต่างกัน คือ พวกเทอร์โมไฟล์ (thermophile) ได้แก่ กลุ่มยีสต์ที่เจริญได้ดีในอุณหภูมิสูง พวกมีโซไฟล์ (mesophile) คือยีสต์พวกที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิปานกลาง และพวก ไซโครไฟล์ (psychrophile) เป็นพวกที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิต่ำ (ตารางที่ 2.8) ยีสต์ที่นำมาใช้ประโยชน์ส่วนใหญ่เป็นพวกมีโซไฟล์และอาจพบไซโครไฟล์ที่บริเวณเย็นจัดอาร์คติก (Arctic) เช่น *Trichosporon scotia* ที่เจริญได้ในช่วงอุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส ถึง 10 องศาเซลเซียส และมักเป็นยีสต์ที่มักปนเปื้อนในอาหารแช่แข็ง (frozen food) (อรุณ, 2558)

ตารางที่ 2.8 การจำแนกประเภทของยีสต์ตามอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญ

ประเภทยีสต์	ลักษณะ	ตัวอย่างยีสต์
ไซโครไฟล์ (Psychrophile)	สามารถเจริญได้ในช่วงอุณหภูมิ 5 - 18 องศาเซลเซียส	*Leucosporidium frigidum* *Torulopsis psychrophila*
พวกมีโซไฟล์ (Mesophile)	ไม่สามารถเจริญได้ที่ 0 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิสูงกว่า 48 องศาเซลเซียส	ยีสต์ส่วนใหญ่
พวกเทอร์โมไฟล์ (Thermophile)	อุณหภูมิที่ต่ำสุดที่เจริญได้ คือ 20 องศาเซลเซียส	*Candida slooffii* *Cyniclomyces guttulatus* *Saccharomyces telluris*

ที่มา : (อรุณ, 2558)

2.14 กระเจี๊ยบ

ชื่อสามัญ Rosella, Red Sorrel, Jamaica Sorrel

ชื่อวงศ์ *Malvaceae*

ชื่อท้องถิ่น กระเจี๊ยบแดง ภาคเหนือเรียก ผักเก็งเค็ง ส้มเก็งเค็ง ส้มปู ส้มตะแลงเครง ภาคกลางเรียก กระเจี๊ยบ กระเจี๊ยบเปรี้ยว ส้มพอเหมาะ

ลักษณะทั่วไป กระเจี๊ยบเป็นพืชสมุนไพรไม้พุ่มขนาดเล็ก สูงประมาณ 3 – 6 ศอก ลำต้นและกิ่งก้านมีสีม่วงแดง ขอบใบเรียบ บางทีก็มีรอยหยักเว้า 3 หยัก ดอกเป็นสีชมพู ตรงกลางดอกมีสีเข้มมากกว่าขอบนอกของกลีบ เมื่อกลีบดอกร่วงโรยไป กลีบรองดอกและกลีบเลี้ยงก็จะเจริญเติบโตขึ้นแทนเป็นสีม่วงแดงเข้มหุ้มเมล็ดเอาไว้

สารอาหารและสรรพคุณ

ดอก แก้โรคนิ่วในไต แก้โรคนิ่วในกระเพาะปัสสาวะ ขัดเบา ละลายไขมันในเส้นเลือด ช่วยขับเมือกในลำไส้ให้ลงสู่ทวารหนัก แก้อ่อนเพลีย แก้ปัสสาวะพิการ แก้คอแห้งกระหายน้ำ แก้ความดันโลหิตสูง ลดอุณหภูมิในร่างกาย แก้โรคเบาหวาน

กลีบเลี้ยงและกลีบรองดอก หรือกลีบที่เหลืออยู่ที่ผล มีสรรพคุณเช่นเดียวกับดอก ช่วยลดน้ำหนัก ลดความดันโลหิตได้โดยไม่มีผลข้างเคียงแต่อย่างใด

ใบ แก้โรคพยาธิตัวจี๊ด ยากัดเสมหะ แก้ไอ ขับเมือกมันในลำคอ

ผล ลดไขมันในเส้นเลือด แก้กระหายน้ำ รักษาแผลในกระเพาะ

เมล็ด บำรุงธาตุ บำรุงกำลัง แก้ดีพิการ ขับปัสสาวะ และช่วยลดไขมันในเส้นเลือด

นอกจากใช้เดี่ยวๆแล้ว ยังสามารถใช้ผสมในตำรับยาร่วมกับสมุนไพรชนิดอื่นเพื่อเป็นยาถ่ายพยาธิตัวจี๊ด

น้ำกระเจี๊ยบแดงมีรสเปรี้ยว นำมาต้มกับน้ำเติมน้ำตาลดื่มแล้วกระชุ่มกระชวย แก้ร้อนในกระหายน้ำ และช่วยป้องกันการจับตัวของไขมันในเส้นเลือดได้ และนำมาทำเยลลี่ แยม หรือใช้เป็น

สารแต่งสี ส่วนใบอ่อนของกระเจี๊ยบก็เป็นผักได้ ใช้แกงส้มรสเปรี้ยวกำลังดี กระเจี๊ยบในใบมีวิตามินเอ ช่วยบำรุงสายตา ส่วนกลีบเลี้ยงและกลีบดอกมีแคลเซียม ช่วยบำรุงกระดูกและฟันให้แข็งแรง

ทางการแพทย์ ใช้รักษาคนที่เป็นนิ่วทางเดินปัสสาวะอักเสบ

รสเปรี้ยวของกระเจี๊ยบมีกรดซิตริกมัคลิค และวิตามินซี

กรดอินทรีย์ในกระเจี๊ยบ ช่วยไม่ให้หินปูนในปัสสาวะจับตัวกันเป็นก้อน บำบัดและรักษาโรคนิ่ว เม็ดนิ่วหากใหญ่ไม่เกินเม็ดถั่วเขียวสามารถขับออกมาได้ ป้องกันการอักเสบ และลดการจับตัวของหินปูน ในกระเจี๊ยบมีสารที่ดูดซับแอลกอฮอล์ในเลือดทำให้เมาช้า (กนกศิริ, 2552)

2.15 สะระแหน่

ชื่อสามัญ Kitchen Mint

ชื่อวงศ์ *Labiatae*

ชื่อท้องถิ่น หอมด่วน หอมเดือน (ภาคเหนือ) มักเงาะ สะแน่ (ภาคใต้) สะระแหน่สวน (ภาคกลาง) ขะแยะ (อีสาน)

ลักษณะทั่วไป สะระแหน่เป็นพืชล้มลุก เลื้อยแผ่คลุมตามดิน ลำต้นสี่เหลี่ยมสีเขียวแกมม่วงน้ำตาล แตกกิ่งก้านมาก ใบเดี่ยวออกเรียงสลับกัน รูปทรงแบบวงรีค่อนข้างกว้าง ผิวใบย่น ขอบใบหยัก ฟันเลื่อย มีกลิ่นฉุยแรง รสชาติเผ็ดเย็น ช่อดอกออกเป็นกระจุกที่ซอกใบ ผลเป็นผลแห้ง

สะระแหน่ชอบดินร่วนซุยที่ระบายน้ำได้ดี และต้องการแสงสว่าง แต่ไม่ต้องการแดดที่ร้อนจัดจนเกินไป จะปลูกในที่ร่มรำไรหรือในที่แดดก็ได้

สารอาหารและสรรพคุณทางยา

ลำต้น ทั้งต้นกินสด แก้จุกเสียดแน่น ท้องเฟ้อ ขับลมขับเหงื่อ หรือจะนำไปสกัดเอาน้ำมันหอมระเหย นำมาทาขมับ แก้ปวดศีรษะ หน้ามืด วิงเวียนจะเป็นลม ช่วยบรรเทาอาการหวัดคัดจมูก แก้ปวดไมเกรน (ปวดหัวข้างเดียว)

ใบ ต้มกับน้ำผสมเล็กน้อยเคี่ยวให้งวด รินดื่มวันละ 2 ครั้ง รักษาอาการปวดฟัน หลอดลมอักเสบ ปวดปาก ปวดลิ้นเนื่องมาจากบาดแผลในช่องปาก หรือจะต้มกับขิงสดรินเอาน้ำดื่ม บำรุงธาตุ เลือดลมให้ไหลเวียนได้สะดวก และยังช่วยรักษาอาการบิด ท้องร่วง อุจจาระเป็นเลือดได้ด้วย

ใบสด นำมาคั้นเอาน้ำหยอดหู ช่วยบรรเทาอาการปวดเจ็บในรูหู หรือนำมาตำให้ละเอียด นำไปพอกบริเวณแมลงสัตว์กัดต่อยช่วยคลายความปวดแสบปวดร้อนและแก้พิษได้ ทั้งนี้เมื่อนำใบสะระแหน่ 2 – 3 ใบ มาบดให้ละเอียด ผสมกับยาหอมแล้วนำมากวาดคอเด็ก อาการเสียดท้องจะทุเลา เพราะน้ำมันหอมระเหยของสะระแหน่ ยังเป็นยาที่ช่วยยับยั้งเชื้อโรคและลดอาการเกร็งของลำไส้ หรือจะรับประทานสดๆ เพื่อดับกลิ่นปาก นอกจากนี้ยังช่วยให้สมองปลอดโปร่ง โล่งคอ ป้องกันไข้หวัด บำรุงสายตา ช่วยให้หัวใจแข็งแรง

ในน้ำสะระแหน่มี เบต้า-แคโรทีน มากถึง 538.5RE แคลเซียม 40 กรัม วิตามินซีถึง 88 มิลลิกรัม เมื่อทาน 100 กรัม จะทำให้ร่างกายได้รับสารอาหารครบถ้วน

จากผลการวิจัยของแพทย์พบว่าในใบสะระแหน่สามารถระงับอาการปวดได้ดีกว่ายาแก้ปวด (พาราฯ) ในใบและลำต้นยังอุดมไปด้วยสารเมนทอลไลโมนีน ซึงปัจจุบันจึงนิยมนำมาสกัดเอาน้ำมันหอมระเหย สำหรับใช้ทาและสูดดมแก้วิงเวียน (กนกศิริ, 2552)

ในด้านการแพทย์ นำเมนทอลมาเป็นส่วนผสมของยาแก้ไอทั้งชนิดรับประทานและชนิดหยอดจมูก ยาหม่อง ยาแก้ลม ยาแก้ปวดท้อง และกระตุ้นการทำงานของกระเพาะอาหาร ขับระดู ขับปัสสาวะ บรรเทาอาการไข้ และแก้กระหายน้ำ ใช้กระตุ้นการหลั่งของน้ำลายและเอนไซม์เพื่อเร่งการย่อยอาหาร และแก้อาการหดเกร็งของกล้ามเนื้อ ใช้เป็นส่วนผสมของยาหยอดจมูกเพื่อลดอาการคั่งของเลือดบริเวณจมูกและหลอดลม และใช้เป็นยาแก้ปวดไขข้อ

ด้านอาหาร ใช้แต่งกลิ่นอาหารประเภทซุป ซอสสลัด ผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ เนื้อปลา หมากฝรั่ง ลูกกวาด ของว่างต่างๆ และเครื่องดื่ม เช่น ชา

ด้านอุตสาหกรรมอื่น เช่น บุหรี่ เครื่องสำอาง สบู่ ยากลั้วคอ ยาสีฟัน แชมพู โลชั่น แป้ง และยาดับกลิ่น เป็นต้น นอกจากนั้น กากมินต์ที่เหลือจากการสกัดน้ำมันยังใช้ทำปุ๋ย หรือจากแห้งทำอาหารของโคและกระบือได้ด้วย

แต่อย่างไรก็ตาม เมนทอลก็อาจก่อให้เกิดอันตรายได้เช่นกัน ในผู้ป่วยที่เป็นโรคในระบบหายใจ ถ้าหาดใช้ยาหยอดจมูกที่มีส่วนผสมของเมนทอลและสารที่ทำให้เส้นเลือดบีบตัว จะทำให้เกิด

อาการคั่งของเลือดบริเวณจมูก ถ้าเติมเมนทอลลงในน้ำร้อนให้ผู้ป่วยที่เป็นโรคหลอดลมอักเสบแยบพลันสูดดม จะบรรเทาอาการลงได้ แต่บางคนอาจทำให้เกิดอาการระคายเคือง ในทารกถ้าได้รับเมนทอลปริมาณมากจะทำให้การหายใจหยุดชะงักเนื่องจากขาดออกซิเจน ในคนปกติถ้าได้รับเมนทอลในปริมาณมากจะทำให้กล้ามเนื้อทำงานไม่ประสานกัน เนื่องจากเมนทอลมีผลต่อระบบประสาทส่วนกลาง นอกจากนั้นยังทำลายไขมันในร่างกายด้วย ในรายที่แพ้เมนทอลจะทำให้ผิดหนังเป็นผื่นแดง เนื่องจากมีเลือดมาหล่อเลี้ยงมากกว่าปกติ ปวดหัว เป็นลมพิษ และมีฤทธิ์กดการทำงานของหัวใจ (ส่วนวิจัยเกษตรกรรม, 2532)

2.16 ส้มเขียวหวาน

ส้มเขียวหวานเป็นผลไม้ยอดนิยมที่ปลูกกันทั่วประเทศ เนื่องจากมีรสหวานอมเปรี้ยว ชื่นใจ พันธุ์ที่นิยมปลูกกันมาก คือ ส้มเขียวหวานบางมด เพราะรสชาติที่ดี นิยมรับประทานสด และทำน้ำส้มคั้น เพราะรสชาติที่มีเอกลักษณ์เฉพาะตัว หวานนำอมเปรี้ยวนิดหน่อย ชื่นใจเป็นที่สุด ส้มเขียวหวานเป็นผลไม้ที่รู้จักกันดี และนิยมบริโภคกันทั่วไปในรูปของหวานหลังอาหารแต่ละมื้อ หรือในยามว่าง หรือในรูปของน้ำส้มคั้น ซึ่งนอกจากจะให้คุณค่าทางอาหารสูงแล้ว การบริโภคในลักษณะที่รวมทั้งเส้นใยและกาก ก็จะทำหน้าที่เป็นยาระบายอย่างอ่อน ๆ ได้อย่างดี (กระยาทิพย์, ม.ป.พ.)

คุณค่าทางด้านอาหาร

ส้มเขียวหวานเป็นผลไม่ที่มีคุณค่าทางอาหารสูง ดังข้อมูลจากการวิเคราะห์ของกองโภชนาการ กรมอนามัย ที่พบว่าจากส่วนของผลส้มที่รับประทานได้จำนวน 100 กรัม จะมีปริมาณสารอาหารต่าง ๆ ดังนี้

คาร์โบไฮเดรต	9.9	กรัม
โปรตีน	0.6	กรัม
ไขมัน	0.2	กรัม
แคลเซียม	31	มิลลิกรัม
เหล็ก	0.8	มิลลิกรัม

ฟอสฟอรัส	18	มิลลิกรัม
วิตามินเอ	4,000	หน่วยสากล
วิตามันซี	18	มิลลิกรัม
วิตามินบี 1	0.04	มิลลิกรัม
วิตามินบี 2	0.05	มิลลิกรัม
เส้นใย	0.2	กรัม
ความชื้น	88.7	กรัม
แคลอรี่	44	หน่วย

สรรพคุณในทางยา ช่วยดับกระหาย ป้องกันการติดเชื้อจากแบคทีเรีย ป้องกันอาการไข้หวัด ลดคอเรสเตอรอลในเลือด ช่วยย่อยอาหาร บำรุงอวัยวะภายใน ช่วยระบายท้อง ทั้งยังแก้อาการเมาค้างได้ การรักษาผิวหนังอักเสบเนื่องจากติดเชื้อ หรือเป็นแผลจากน้ำร้อน ไฟลวก สามารถใช้น้ำส้มคั้นได้ทันที เพราะนอกจากดูดดื่มให้คลายเครียด ยังสามารถใช้น้ำส้มคั้นทาบริเวณแผลที่ติดเชื้อ ช่วยฆ่าเชื้อแบคทีเรีย ลดอาการอักเสบ ทำให้แผลหายเร็วขึ้น อีกทั้งยังสามารถปรับถนอมผิวพรรณที่หยาบกร้านให้อ่อนละมุนลงได้ เพียงการใช้ผิวส้มแช่น้ำ แล้วใช้น้ำที่ได้ล้างหรืออาบเป็นประจำ

ผิวส้มยังใช้ปรุงเป็นตำรับยาได้อีกหลายขนาน เช่นผิวส้มตาแห้ง 30 กรัม นึ่งกับกระเทียม 15 กรัม ให้สุก ใช้กินแก้โรคหลอดลมอักเสบ หรือเปลี่ยนเป็นสูตรแก้อาเจียน ก็ให้ใช้ผิวส้มตากแห้ง 6 กรัม ต้มกับขิงสดอีก 3 กรัม ดื่มน้ำที่ได้ครั้งละถ้วย วันละ 2 ครั้ง สำหรับอาการไม่เจริญอาหาร แน่นกระเพาะ อืดอัด เต็มไปด้วยลม ตำรับพื้นบ้านว่าให้เอาผิวส้ม 1 – 1 ½ ผล (โขลกให้แหลกฉ่ำน้ำมันระเหยจากผิว) ต้มกับกะบังลมหมู 1 – 2 ชิ้นนาน 2 – 3 ชั่วโมง แล้วดื่มน้ำซุปที่ได้ ช่วยกระตุ้นกระเพาะอาหารขับน้ำย่อยออกมา หรืออีกสูตร ให้เอาผิวส้มมาหมักเกลือจนผิวส้มนุ่ม แล้วเติมผงชะเอมผสมผงจันทน์หอม เคล้าให้ทั่ว กินไล่ลม ปรับระบบการย่อยของกระเพาะอาหาร ทั้งยังแก้พิษสุราได้อีกด้วย ถ้าต้องการทำเก็บเป็นยาสำรอง ให้ตากแดดให้แห้งก่อน (เปรมปรี, 2538)

2.17 การเก็บรักษาเชื้อยีสต์ (Preservation of Yeasts)

เซลล์ยีสต์มีลักษณะแข็งแรง ทนทานต่อสภาวะต่างๆ ได้ดีโดยไม่ต้องการสารอาหารซับซ้อน และพบใช้ทั่วไปในอุตสาหกรรม ฉะนั้นจึงง่ายต่อการเก็บรักษา อย่างไรก็ตามสามารถเก็บรักษาเชื้อยีสต์ได้หลายวิธี แต่พบว่าเซลล์รอดชีวิตต่ำและทำให้คุณสมบัติของเชื้อเปลี่ยนแปลงไป ถึงแม้จะยังไม่ทราบถึงเฟคเตอร์ที่มีผลต่อการรอดชีวิตอย่างสมบูรณ์ในระดับ Subcellular เพราะเซลล์มีขนาดใหญ่เมื่อเทียบกับเซลล์แบคทีเรีย และเชื้อไม่สร้างสปอร์ที่ทนเหมือนเชื้อราชั้นสูง จากความรู้เพียงเล็กน้อยเหล่านี้ สามารถทำให้อัตราการรอดชีวิตสูงขึ้นโดยเอาใจใส่ต่อภาวะการเจริญอย่างระมัดระวัง รวมทั้งการเลือกใช้สารป้องกันความเย็น เทคนิคการเก็บรักษาและการนำเชื้อออกมาเพาะเลี้ยงใหม่

พบว่าการต่อเชื้อ การทำให้แห้งหรือการทำให้เชื้อแห้งแบบเยือกแข็งทำให้เชื้อรอดชีวิตน้อย ถึงแม้ว่าอาจมีเชื้อรอดชีวิตบ้าง เมื่อเปรียบเทียบกับการเก็บในไนโตรเจนเหลวซึ่งสูงถึง 100 เปอร์เซ็นต์ การรอดชีวิตของเชื้อไม่สัมพันธ์กับอนุกรมวิธานและเฟคเตอร์ที่ทำให้รอดชีวิตนั้นจำเพาะต่อแต่ละเชื้อ หมายความว่าวิธีการเก็บรักษาสายพันธุ์ (Strain) หนึ่งอาจไม่เหมาะสมกับสายพันธุ์อื่น ถ้ามีเชื้อจำนวนมากก็ควรเลือกวิธีการที่ดีสำหรับเชื้อส่วนใหญ่

การเลือกวิธีการเก็บรักษาจะมีความสำคัญต่อความคงที่ของเชื้อ วิธีการใดที่ทำให้เกิดการแบ่งเซลล์ไม่ควรใช้วิธีนั้น โดยทั่วไปการทำให้เชื้อยีสต์แห้ง ไม่ทำให้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาและคุณสมบัติทางอุตสาหกรรมเปลี่ยนไป ถึงแม้ว่าบางท่านจะกล่าวว่าพันธุกรรมเปลี่ยนไปได้เมื่อทำให้ยีสต์แห้งบนซิลิกาเจล บางคนกล่าวว่าเชื้อที่เก็บไว้ในไนโตรเจนเหลวให้ความคงที่ดี

ไม่ว่าจะเลือกวิธีการใดก็ตามควรเลี้ยงเชื้อให้เจริญดี อายุของเชื้อและออกซิเจนที่มีอยู่ระหว่างการเจริญอาจมีผลต่อการรอดชีวิต ดังนั้นเชื้อที่เจริญหลังช่วง Logarithmic มักรวดชีวิตได้ดีกว่าเชื้อที่มีอายุน้อย และการเก็บเชื้อโดยการทำแห้งแบบเยือกแข็งได้ผลดีสำหรับเชื้อที่เจริญโดยมีออกซิเจนจำกัด ขณะที่การเก็บไว้ในไนโตรเจนเหลวเชื้อรอดได้ดีเมื่อเลี้ยงเชื้อโดยการเขย่าเพื่อให้ออกซิเจน

วิธีการเก็บรักษาเชื้อยีสต์

วิธีการที่เหมาะสมต่อไปนี้ส่วนใหญ่ใช้ใน National Collection of Yeast Cultures (NCYC) รวมถึงความรู้เกี่ยวกับระดับการรอดชีวิต ความยาวนานของการเก็บรักษา

การต่อเชื้อ (Subculture)

วิธีการนี้ใช้ได้ผลดีโดยเฉพาะการเก็บเชื้อไว้ระยะสั้น ทำได้ง่ายและรวดเร็ว เสียค่าใช้จ่ายต่ำ ปัจจุบันอาจพบการเปลี่ยนแปลงของสายพันธุ์ที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลานาน เช่น การเปลี่ยนแปลงลักษณะการตกตะกอน (Flocculation) ของเชื้อเมื่อเก็บรักษาไว้นานกว่า 10 ปี ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาเปลี่ยนแปลงมากหรือน้อยเป็นบางครั้ง ถ้ามีลักษณะของเชื้อเป็นสิ่งสำคัญควรลดจำนวนควรลดจำนวนครั้งของการต่อเชื้อ (สมบูรณ์, 2544)

การถ่ายเชื้อในอาหารเหลว (Subculturing in broth)

วิธีนี้ใช้เพื่อการเก็บรักษายีสต์มาเป็นเวลานานแล้ว และยังคงจัดว่าเป็นวิธีที่มีประโยชน์ และใช้มาถึงปัจจุบันโดยเฉพาะถ้าเก็บเชื้อเป็นเวลาสั้นๆ วิธีปฏิบัติง่าย ทำได้เร็วและไม่สิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายในการปฏิบัติไม่ต้องการความชำนาญสูงนักและพร้อมที่จะนำมาใช้ได้ทันที ข้อเสียของวิธีนี้คือเสี่ยงต่อการปนเปื้อนสูงมากทั้งจากจุลินทรีย์อื่นและจากยีสต์สายพันธุ์อื่น ถ้าหากมีการถ่ายเชื้อครั้งละมากๆ การปนเปื้อนข้ามสายพันธุ์จะเกิดขึ้นได้ง่าย วิธีนี้ไม่เหมาะอย่างยิ่งสำหรับการเก็บระยะยาวเพราะมีโอกาสที่จะเกิดการเปลี่ยนแปลงพันธุกรรมได้สูง และจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอาจจะมีอยู่น้อยมากถ้าพ้นจากระยะที่กำหนดไว้ซึ่งส่วนมากแล้วเนื่องจากอาหารเลี้ยงเชื้อสูญเสียความชื้นมากเกินไป จากการศึกษาของ NCYC พบว่ายีสต์ที่เก็บรักษาโดยวิธีนี้เมื่อพ้นระยะเวลาที่กำหนดอัตราการรอดชีวิตของเซลล์จะต่ำมาก (มักจะต่ำกว่า 10 เปอร์เซ็นต์) ทางด้านการสุญเสียต่างๆพบว่ายีสต์ประมาณ 46 เปอร์เซ็นต์จะสูญเสียสมบัติในการสร้างแอสโคสปอร์ และประมาณ 25 เปอร์เซ็นต์เปลี่ยนความสามารถในการใช้น้ำตาลมอลโทส บางส่วนของเชื้อซึ่งเดิมต้องการอาหารจำเพาะบางอย่างกลายมาเป็นสามารถสร้างอาหารนั้นได้เองและเกิดการเปลี่ยนแปลงของฟีโนไทป์ นอกจากนี้ยังพบว่ายีสต์ประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์สูญเสียความสามารถในการจับกลุ่มตกตะกอน (Flocculation) ถ้าทำการถ่ายเชื้อเป็นระยะเวลานานๆ จากการศึกษาดังกล่าวชี้ให้เห็นว่าถ้าความคงตัวของสายพันธุ์มีความสำคัญมากๆไม่ควรที่จะเก็บเชื้อด้วยวิธีนี้

วิธีปฏิบัติสำหรับวิธีถ่ายเชื้อบนอาหารเหลวนี้คือ เลี้ยงยีสต์ในอาหารเหลวที่เหมาะสม ซึ่งปกติใช้ ยีสต์ Yeast extract malt extract broth บ่มโดยไม่ต้องเขย่าจนเชื้อเจริญดี เก็บที่ 4 องศาเซลเซียส หรือเก็บที่ 8 – 10 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่ระบุว่าเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษายีสต์มากกว่า

ยีสต์ส่วนใหญ่เก็บโดยวิธีนี้พบว่าเมื่อเก็บนาน 6 เดือน เชื้อยังคงมีชีวิตอยู่และส่วนมากอยู่ได้นานกว่านั้น แต่ถ้าสายพันธุ์ใดมีความต้องการสิ่งต่างๆมากกว่านี้หรือสร้างสารบางอย่างที่มีผลต่อความมีชีวิตของเซลล์อาจต้องถ่ายเชื้อบ่อยขึ้นและใช้สภาวะของการเก็บที่ต่างออกไป

การถ่ายเชื้อบนอาหารแข็ง (Subculturing on agar)

การเก็บเชื้อยีสต์วิธีนี้ทำโดยการเลี้ยงยีสต์บนอาหาร YM agar ที่บรรจุใน McCartney bottle ปิดด้วยฝาเกลียด บ่มจนเชื้อเจริญดี และเก็บที่อุณหภูมิ 4 หรือ 8 – 10 องศาเซลเซียส โดยต้องถ่ายเชื้อทุกๆ 6 – 8 เดือน

ปกติการเก็บยีสต์ที่มีกลูโคสเพียงอย่างเดียวเป็นแหล่งคาร์บอนที่ให้ผลดีที่สุด เมื่อเลี้ยงยีสต์สายพันธุ์ที่ไม่คงตัวบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี Malt extract เช่น Malt extract agar และ YM agar ลักษณะของสายพันธุ์อาจเปลี่ยนภายใน 2 – 3 วัน ส่วนเบซิดิโอไมซีตัสยีสต์หลายชนิดมีชีวิตไม่นานเมื่อเก็บบนอาหาร YPD agar แม้ว่าเจริญได้ดีบนอาหารนี้ โดยอาหาร Potato dextrose agar (PDA) เหมาะสมกว่าเมื่อต้องการเก็บยีสต์พวกนี้เป็นเวลานานๆ นอกจากนั้นรายงายว่าสำหรับสายพันธุ์ที่สร้างแอสโคสปอร์ได้อาจมีการสร้างสปอร์บนอาหารแข็งเอียงเมื่อเลี้ยงไว้นานๆทำให้สายพันธุ์ไม่คงตัว แต่ถ้าจำเป็นต้องใช้วิธีนี้เวลาถ่ายเชื้อควรถ่ายจากส่วนล่างของอาหารเนื่องจากปกติแอสโคสปอร์จะสร้างจากส่วนบนก่อน

อายุของการเก็บ (Shelf life) โดยวิธีนี้พบว่าสำหรับยีสต์หลายสายพันธุ์ โดยเฉพาะสายพันธุ์ที่ไม่มีความสมารถในการหมักเก็บได้นานกว่าเมื่อทำการเก็บเชื้อในอาหารเหลว (สาวิตรี, 2549)

2.18 ลักษณะทางประสาทสัมผัส

โดยทั่วไปลักษณะประมาทสัมผัสของอาหารหรือผลิตภัณฑ์อาหารจะหมายถึงลักษณะต่างๆ ดังต่อไปนี้ คือ ลักษณะปรากฏ กลิ่น ลักษณะเนื้อสัมผัส กลิ่นรส และเสียง ที่เกิดจากการเคี้ยว การกัดหรือการเคาะ (Meilgaard, 1999)

- ลักษณะปรากฏ

ลักษณะปรากฏมักจะเป็นสิ่งแรกที่จะมีอิทธิพลต่อการตัดสินใจซื้อหรือลองรับประทานอาหารหรือผลิตภัณฑ์อาหารในครั้งแรกของผู้บริโภค แต่หลังจากที่ผู้บริโภคได้รับประทานอาหารนั้นแล้ว การ

ที่ผู้บริโภคจะยอมรับอาหาร และกลับมาซื้อซ้ำมักจะได้รับอิทธิพลจากลักษณะอื่นๆมากกว่าลักษณะปรากฏ การประเมินคุณภาพอาหารทางประสาทสัมผัสจึงมักจะมีการควบคุมลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์ที่ไม่ต้องการศึกษาด้วยวิธีการที่เหมาะสม เพื่อป้องกันอิทธิพลที่ผู้ทดสอบจะได้รับจากการมองเห็นก่อนการทดลองรับประทานตัวอย่างอาหาร

ลักษณะที่ปรากฏของอาหารทั่วไป จะหมายถึงลักษณะต่างๆดังต่อไปนี้

1. สี (Colour) ซึ่งประกอบด้วย สีหลัก ความเข้มของสี ความสว่าง ความสม่ำเสมอของสี สีของอาหารบางชนิดจะเป็นสิ่งดึงดูดความสนใจของผู้บริโภคแล้ว ยังสามารถบ่งบอกถึงคุณภาพอาหารนั้นอีกด้วย เช่น เราสามารถใช้สีผิวของผลไม้บางชนิดบอกระดับความสุก ความแก่อ่อน และการเสื่อมเสียได้อย่างชัดเจน เป็นต้น
2. ขนาดรูปร่าง (Size and shape)
3. ลักษณะเนื้อสัมผัสที่ผิว (Surface texture) เช่น ความด้านหรือความเป็นมันวาวที่ผิว ความเรียบความละเอียด ความขรุขระความหยาบ ลักษณะผิวดูเปียกหรือแห้ง อ่อนหรือแข็ง กรอบหรือเหนียว
4. ความใส (clerity) ของเหลวหรือของแข็งที่มีลักษณะโปร่งแสงที่สังเกตได้ด้วยตาเปล่า
5. ลักษณะเนื้อสัมผัสที่สามารถมองเห็นได้ (Visual texture) ความซ่า ที่สังเกตได้จากปริมาณฟองที่เกิดขึ้นในขณะที่รินเครื่องดื่ม ความหนืดหรือลักษณะเหนียวเหนอะหนะที่สังเกตได้ในขณะที่เทหรือใช้ช้อนตักของเหลวหรือของกึ่งแข็ง เป็นต้น
6. อื่นๆ เช่น ลักษณะโครงสร้างที่สามารถมองเห็นได้ ลักษณะเฉพาะที่เมื่อมองเห็นแล้วทำให้นึกถึงกลิ่นรสได้

- กลิ่น

กลิ่นเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่อาจมีอิทธิพลต่อการตัดสินใจซื้อหรือลองรับประทานอาหารในครั้งแรกของผู้บริโภคได้ในบางกรณี ในภาษาอังกฤษมีคำที่ใช้เพื่อแสดงถึงกลิ่นอยู่หลายคำ โดยแต่ละคำมีความหมายเฉพาะ ดังนี้ Odour หมายถึงสารระเหยที่ถูกสูดเข้าทางจมูกและถูกรับรู้โดยระบบประสาทรับกลิ่น Aromatics หมายถึงกลิ่นของอาหาร และ Fragrance หมายถึงกลิ่นของน้ำมันหอมหรือเครื่องสำอาง

กลิ่นของอาหารหรือผลิตภัณฑ์จะมีมากน้อยเพียงใดขึ้นอยู่กับธรรมชาติของสารประกอบนั้นๆ อุณหภูมิและลักษณะของผิวหน้าของอาหาร (เมื่ออาหารมีผิวหน้าอ่อน เป็นรูพรุน และชื้นจะมีการปลดปล่อยกลิ่นได้มากกว่าอาหารที่มีผิวหน้าแข็ง เรียบ แห้ง) นอกจากนี้ในอาหารบางชนิด โดยเฉพาะพวกผักผลไม้สด จะมีกลิ่นก็ต่อเมื่อมีการทำงานของเอนไซม์ซึ่งเกิดจากการบอบช้ำหรือผ่าหรือตัดเท่านั้น

- ลักษณะเนื้อสัมผัส

ลักษณะเนื้อสัมผัสเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีอิทธิพลต่อการยอมรับผลิตภัณฑ์อาหารของผู้บริโภค โดยทั่วไปแล้วเนื้อสัมผัสเป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการยอมรับผลิตภัณฑ์มากเป็นอันดับสองรองจากกลิ่นรส โดยลักษณะเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์อาหารจะมีความแตกต่างกันไปตามลักษณะสถานะของผลิตภัณฑ์อาหาร ดังนี้

1. ความหนืด เป็นลักษณะเนื้อสัมผัสของ ของเหลวแบบ Homogenous Newtonain เช่นน้ำเบียร์ ในการวิเคราะห์โดยใช้เครื่องมือ ความหนืดหมายถึง อัตราการไหลของของเหลวตามแนวแรงที่มากระทำ

2. ความสม่ำเสมอ เป็นลักษณะเนื้อสัมผัสของของเหลวแบบ Non-Newtonain หรือ Heterogeneous และของกึ่งแข็ง โดยหลักการแล้ว ความสม่ำเสมอเป็นวิธีหนึ่งของการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสแต่ในทางปฏิบัติได้มีการพยายามใช้เครื่องมือเพื่อวัดความสม่ำเสมอของผลิตภัณฑ์อาหารบางชนิดเช่นกัน

3. เนื้อสัมผัส เป็นลักษณะเนื้อสัมผัสของของแข็งหรือของกึ่งแข็ง ลักษณะเนื้อสัมผัสของอาหารเป็นลักษณะที่ค่อนข้างซับซ้อนเนื่องจากเป็นลักษณะที่เกี่ยวข้องกับโครงสร้างภายในของผลิตภัณฑ์

- กลิ่นรส

โดยทั่วไปกลิ่นรสเป็นลักษณะทางประสารทสัมผัสที่มีอิทธิพลต่อการยอมรับหรือผลิตภัณฑ์อาหารของผู้บริโภคมากที่สุด โดยความหมายที่แท้จริงแล้ว กลิ่นรส หมายถึง ลักษณะของอาหาร เครื่องดื่ม และสารปรุงแต่งซึ่งเป็นผลรวมของการรับรู้จากสิ่งเร้าในอาหารที่มีผลต่อปลายประสาทสัมผัสทั้งหมดที่รวมตัวกันอยู่บริเวณทางเข้าของหลอดอาหารและหลอดลม แต่ในงานด้านการประเมินทางประสาทสัมผัส กลิ่นรส หมายถึง การรับรู้ที่เกิดขึ้นเนื่องจากประสาทรับความรู้สึกทางเคมีเมื่ออาหารอยู่ภายในปาก ซึ่งประกอบไปด้วย 3 ส่วนคือ

1. กลิ่นสารระเหยที่รับรู้โดยประสารทรับกลิ่นจากอาหารที่อยู่ในปาก

2. รสชาติ ซึ่งเกิดจากสารที่ละลายได้จากอาหารที่อยู่ในปาก ประกอบด้วยรสชาติพื้นฐาน 4 ชนิด คือ เปรี้ยว หวาน เค็ม และขม

3. ปัจจัยความรู้สึกทางเคมี ซึ่งเกิดจากการกระตุ้นของสารประกอบจากอาหารที่มีผลต่อเนื้อเยื่ออ่อนๆบริเวณช่องปากและจมูก ตัวอย่างของปัจจัยความรู้สึกทางเคมี ได้แก่ ความฝาด ความเผ็ด ความเย็น อูมามิ ความแสบ เป็นต้น

- เสียง

เสียงที่เกิดขึ้นขณะกัด เคี้ยวหรือเคาะอาหารอาจเป็นลักษณะทางประสาทสัมผัสที่ไม่มีอิทธิพลต่อการยอมรับอาหารหรือผลิตภัณฑ์อาหารทั่วไปมากนัก แต่สำหรับอาหารหรือผลิตภัณฑ์อาหารที่มีเนื้อสัมผัสเป็นลักษณะสำคัญ เช่น อาหารที่มีความกรอบ เสียงที่เกิดจากการรับประทานผลิตภัณฑ์ก็สามารถดึงดูดความสนใจผู้ได้ยินได้ไม่น้อย (วิวัฒน์, 2549)

2.19 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

งานวิจัยเรื่อง Pervaporation methodology for improving alcohol-free beer quality Through aroma recovery ได้นำเสนอว่ายีสต์สามารถที่จะสร้างผลิตภัณฑ์แอลกอฮอล์ที่สูง และเอสเทอร์ให้ได้มาซึ่ง กลิ่นและรสชาติที่ดี (Olmo *et al.*, 2013)

งานวิจัยเรื่อง Effect of malting temperature and mashing method on sorghum wort composition and beer flavor ได้นำเสนอ รสชาติของเบียร์และกลิ่น จะเป็นตัวบ่งบอกคุณภาพของเบียร์ โดย กลิ่นรสนั้นมาจากฮอพแต่ก็มีแหล่งของกลิ่นรสอื่นๆอีกในกระบวนการหมัก คือ higher alcohol, fatty acid, ester, สารประกอบ carbonyl ซึ่งทั้งปริมาณและคุณลักษณะเหล่านี้ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของยีสต์ , อุณหภูมิที่ใช้ในการหมัก และองค์ประกอบของ wort (Igyor *et al.*, 2001)

งานวิจัยเรื่อง Proteases supplementation to high gravity worts enhances fermentation performance ofbrewer'syeast กล่าวถึง FAN หรือ free aminonitrogen ที่เป็นตัวบ่งชี้การเจริญเติบโตของ ยีสต์, การมีชีวิตอยู่รอด, ประสิทธิภาพของการหมัก คุณลักษณะของเบียร์และความเสถียรภาพ wort ที่เพิ่มสารอาหารลงไป ทำให้แน่ใจได้ว่าจะส่งผลต่อการเจริญของยีสต์และเป็นที่น่าพึงพอใจในสมรรถนะของการหมัก (Lei *et al.*, 2013)

งานวิจัยเรื่อง Accumulation and cellular distribution of zinc by brewing yeast กล่าวถึง Zinc มีความสำคัญสำหรับการเจริญของเซลล์ยีสต์, เมตาบอลิซึมและการหมัก Zinc เป็นโคแฟ็กเตอร์และ ส่วนประกอบของโครงสร้างในเอนไซม์ (Nicola and Walker., 2009)

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 ฮอพและมอลต์ที่ใช้

ฮอพอัดเม็ด สายพันธุ์เอลลา จาก www.bangkokbrew.com

มอลต์กระสอบ สายพันธุ์เวียนนา ของ Weyermann® จาก www.bangkokbrew.com

3.2 เชื้อแบคทีเรีย

เชื้อยีสต์ที่ใช้ทดสอบของ Mangrove Jack M48 Bohemian Lager และ Saflager s-23

3.2.1 *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ M-48

3.2.2 *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ S-23

3.3 สารเคมี

3.3.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ YM agar

3.3.2 zinc sulphate

3.4 อุปกรณ์

3.4.1 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอ (Autoclave) ; Harvey รุ่น Hydroclave MC 10

3.4.2 ตู้เขี่ยเชื้อ (Larminar air flow) ; ISSCO Lamimar air flow รุ่น BVT 123

3.4.3 ตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส (Hot air oven) ; รุ่น ED 53

3.4.4 เครื่องชั่งละเอียด 2 ตำแหน่ง ; Shimazu รุ่น Libror EB-4000H

3.4.5 เครื่องชั่งละเอียด 3 ตำแหน่ง ; Sartorius analytic รุ่น A200S

3.4.6 เครื่องเขย่าผสม (vortex mixer) ;Vortex Genie 2 รุ่น G-560E

3.4.7 เครื่องเขย่าสารละลาย (Shakers)

3.4.8 สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer)

3.4.9 อีบลูลิโอมิเตอร์ (ebulliometer)

3.4.10 Gas chromatograph (GC)

3.4.11 รีแฟ็กโตมิเตอร์ (refractometer)

3.4.12 พีเอชมิเตอร์ (PH meter)

3.4.13 เทอร์โมมิเตอร์ (Thermometer)

3.4.14 กล้องจุลทรรศน์

3.4.15 ฮีมาไซโตมิเตอร์ (hemacytometer)

3.4.16 หลอดทดลอง

3.4.17 ที่ตั้งหลอดทดลอง (rack for tube)

3.4.18 ปากคีบ (forcept)

3.4.19 กระบอกตวง (cylinder)

3.4.20 บีกเกอร์ (beaker)

3.4.21 ช้อนตักสาร (spatula)

3.4.22 แท่งแก้วคนสาร (stirring rod)

3.4.23 จานเพาะเชื้อ (petri dish)

3.4.24 ปิเปตแก้ว (pipette)

3.4.25 ไมโครปิเปต (micropipette) ขนาด 20 – 1000 ไมโครลิตร

3.4.26 ทิป (tip) ขวดใส่อาหารเลี้ยงเชื้อ (Duran)

3.4.27 ตะเกียงแอลกอฮอล์ (alcohol burner)

3.4.28 เข็มเขี่ยเชื้อ (needle)

3.4.29 เตาแก๊ส

3.4.30 หม้อ

3.4.31 ทัพพี

3.4.32 ผ้าขาวบาง

3.4.33 ตู้เย็น

3.4.34 เครื่องบดมอลต์

3.4.35 ขวดหมักตัวอย่าง (ขวดสีชา)

3.4.36 ขวดใส่อาหารเลี้ยงเชื้อ (Duran)

3.4.37 ขวดแก้วเล็ก (vial)

3.4.38 แอร์ล็อค (Air lock)

3.5 วิธีการทดลอง

3.5.1 การเตรียมเชื้อยีสต์ที่ใช้ในการหมักเบียร์ ตามวิธีของ Hiralal *et al.* (2014)

นำเชื้อผงยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* M-48และ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 มาเทลงในอาหาร YM broth (ภาคผนวก ก) และนำไปเขย่าที่ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมงจากนั้นนำมาเขี่ยเชื้อ (cross steak) แล้วนำไปบ่มอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

3.5.2 การเตรียมหัวเชื้อยีสต์ โดยดัดแปลงจากวิธีของ Hiralal *et al.* (2014)

เตรียมน้ำเวิร์ตแบ่งใส่ขวดแก้ว ขวดละ 200 มิลลิลิตรแล้วปิดจุกด้วยสำลีนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นทิ้งให้เย็นแล้วถ่ายเชื้อที่เจริญบนเพลทลงในน้ำเวิร์ตที่เตรียมไว้ แล้วนำไปวัดค่าความขุ่นด้วยสเปกโตโฟโตมิเตอร์และนับจำนวนเซลล์ด้วยฮีมาไซโตมิเตอร์ จากนั้นนำไปเขย่าที่ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.5.3 ขั้นตอนการเตรียมน้ำเวิร์ต โดยดัดแปลงจากวิธีของ Hiralal *et al.* (2014)

3.5.3.1 ชั่งมอลต์ 0.33 กิโลกรัมต่อน้ำ 9 ลิตร

3.5.3.2 นำมอลล์ที่ชั่งบดด้วยเครื่องบด

3.5.3.3 นำมอลต์ที่บดแล้วไปต้นที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ในอัตราส่วน 0.33 กิโลกรัมต่อน้ำ 9 ลิตร

3.5.3.4 ทำให้เย็นทันที ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส โดยใช้น้ำแข็งหล่อเย็น

3.5.3.5 ทำการกรองกากมอลต์ด้วยผ้าขาวบาง

3.5.3.6 นำน้ำที่ผ่านการกรองไปต้ม ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส พร้อมเติมฮอพในอัตราส่วน 30 กรัม ต่อน้ำเวิร์ต 20 ลิตร นาน 45 นาที จากนั้นแบ่งน้ำมอลต์เป็น 3 หม้อ โดยแต่ละหม้อ เติม ซิงค์ซัลเฟตที่ความเข้มข้น 0, 0.12 และ 0.24 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

3.5.3.7 ทำน้ำมอลต์แต่ละหม้อให้เย็นที่ 25 องศาเซลเซียส โดยใช้น้ำแข็งหล่อเย็น

3.5.3.8 กรองฮอพออกด้วยผ้าขาวบาง

3.5.4 ขั้นตอนการหมัก

3.5.4.1 นำน้ำเวิร์ตที่มีซิงค์ซัลเฟต 3 ความเข้มข้น ตามลำดับแยกบรรจุลงในขวดแก้วสีชา ขนาด 1000 มิลลิลิตร ปริมาตร 500 มิลลิลิตร

3.5.4.2 เติมหัวเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* M-48 ในน้ำเวิร์ตที่มีซิงค์ซัลเฟต 3 ความเข้มข้น ตามลำดับและ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 ในน้ำเวิร์ตที่มีซิงค์ซัลเฟต 3 ความเข้มข้น ตามลำดับ ที่ความเข้มข้น $6x10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 15 มิลลิลิตร

3.5.4.3 นำเบียร์ทั้งหมดมาวัดความขุ่นเริ่มต้น ด้วยสเปกโตโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร และนับเซลล์ด้วยฮีมาไซโตมิเตอร์ และวัดพีเอชด้วยพีเอชมิเตอร์

3.5.4.4 ปิดปากขวดด้วยแอร์ล็อก

3.5.4.5 นำเบียร์ไปแยกหมักที่อุณหภูมิ 8, 11 และ 14 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 วัน

3.5.5 ขั้นตอนการวิเคราะห์ โดยดัดแปลงจากวิธีของ Hiralal *et al.* (2014)

3.5.5.1 วิเคราะห์ค่าความขุ่นในเบียร์ทั้งหมดเมื่อหมักครบ 6 วัน และ 20 วัน ด้วยสเปกโตโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร

3.5.5.2 นับเซลล์ด้วยฮีมาไซโตมิเตอร์

3.5.5.3 วัดพีเอชด้วยพีเอชมิเตอร์

3.5.5.4 วัดปริมาณน้ำตาลด้วยรีแฟ็กโตมิเตอร์

3.5.5.5 วัดปริมาณแอลกอฮอลล์ด้วยอีบลูลิโอมิเตอร์และเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี

3.5.6 การคัดเลือกสูตรเบียร์ที่เหมาะสมเพื่อนำมาปรับปรุงรสชาติของเบียร์

ทำการคัดเลือกสภาวะในการหมัก ที่ใช้ปริมาณซิงค์ซัลเฟตสูงสุด คือ 0.24 กรัมต่อลิตร และอุณหภูมิการหมักที่สูงที่สุด คือ 14 องศาเซลเซียส ที่ให้ปริมาณแอลกอฮอล์สูงสุด มาใช้เป็นสภาวะที่เหมาะสมในการปรับปรุงรสชาติเบียร์ต่อไปนั่นคือ ในเบียร์ที่หมักโดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ S-23 หมักที่อุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส ที่ปริมาณซิงค์ซัลเฟต 0.24 กรัมต่อลิตรที่ให้ปริมาณแอลกอฮอล์ 7.4 เปอร์เซ็นต์ต่อปริมาตร

3.5.7 ขั้นตอนการปรับปรุงรสชาติ

3.5.7.1 ชั่งมอลต์ 0.33 กิโลกรัมต่อน้ำ 9 ลิตร

3.5.7.2 นำมอลล์ที่ชั่งบดด้วยเครื่องบด

3.5.7.3 นำมอลต์ที่บดแล้วไปต้นที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ในอัตราส่วน 0.33 กิโลกรัมต่อน้ำ 9 ลิตร

3.5.7.4 ทำให้เย็นทันที ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส โดยใช้น้ำแข็งหล่อเย็น

3.5.7.5 ทำการกรองกากมอลต์ด้วยผ้าขาวบางแล้วแยกน้ำที่ผ่านการกรองใส่หม้อ 3 ใบ ใบละ 2400 มิลลิลิตร โดยใบแรกสำหรับทำเบียร์รสส้ม ใบที่สองทำเบียร์รสกระเจี๊ยบ ใบที่สามทำเบียร์รสสะระแหน่

3.5.7.6 การทำเบียร์รสส้มให้นำส้มเขียวหวานมาล้างให้สะอาด นำมาผ่าซีกคั้นเอามาเฉพาะน้ำ และนำน้ำเวิร์ตไปต้ม ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส พร้อมเติมน้ำส้ม ในอัตราส่วน 200 มิลลิลิตร ต่อน้ำเวิร์ต 800 มิลลิลิตร และเติมฮอพในอัตราส่วน 30 กรัม ต่อน้ำเวิร์ต 20 ลิตร ต้มนาน 45 นาที จากนั้นเติม ซิงค์ซัลเฟตที่ความเข้มข้น 0.24 กรัมต่อลิตร

3.5.7.7 การทำเบียร์รสกระเจี๊ยบให้นำกระเจี๊ยบแห้งใส่ลงในหม้อที่ตวงน้ำไว้ ในอัตราส่วน 20 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร ต้มประมาณครึ่งชั่วโมง โดยใช้ไฟกลาง เมื่อสีซีดแล้วยกลงและกรองเอากากออก และนำน้ำเวิร์ตไปต้ม ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส พร้อมเติมน้ำกระเจี๊ยบ ในอัตราส่วน 200 มิลลิลิตรต่อน้ำเวิร์ต800 มิลลิลิตร และเติมฮอพในอัตราส่วน 30 กรัม ต่อน้ำเวิร์ต 20 ลิตร ต้มนาน 45 นาที จากนั้นแบ่งน้ำออกเป็น 2 ส่วน โดยส่วนแรกเติม ซิงค์ซัลเฟตที่ความเข้มข้น 0.24 กรัมต่อลิตร

3.5.7.8 การทำเบียร์รสสะระแหน่ให้นำใบสะระแหน่มาล้างให้สะอาด แล้วซอยละเอียดใส่ลงในหม้อที่ตวงน้ำไว้ในอัตราส่วน 20 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร ต้มประมาณครึ่งชั่วโมง โดยใช้ไฟกลาง แล้วยกลงและกรองเอากากออก และนำน้ำเวิร์ตไปต้ม ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส พร้อมเติมน้ำสะระแหน่ในอัตราส่วน 200 มิลลิลิตรต่อน้ำเวิร์ต 800 มิลลิลิตร และเติมฮอพในอัตราส่วน 30 กรัม ต่อน้ำเวิร์ต 20 ลิตร ต้มนาน 45 นาที จากนั้นแบ่งน้ำออกเป็น 2 ส่วน โดยส่วนแรกเติม ซิงค์ซัลเฟตที่ความเข้มข้น 0.24 กรัมต่อลิตร

3.5.7.9 ทำน้ำเวิร์ตทั้ง 3 รสให้เย็นที่ 25 องศาเซลเซียส โดยใช้น้ำแข็งหล่อเย็น

3.5.7.10 กรองฮอพออกด้วยผ้าขาวบาง

3.5.7.11 นำน้ำเวิร์ตทั้ง 3 รส แยกบรรจุลงในขวดแก้วสีชา ขนาด 1000 มิลลิลิตร ปริมาตร 500 มิลลิลิตร

3.5.7.12 เติมหัวเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* S-23 ที่ความเข้มข้น $6x10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 15 มิลลิลิตร (เชื้อยีสต์สายพันธุ์ที่ผ่านการคัดเลือก)

3.5.7.13 นำเบียร์ทั้งหมดมาวัดความขุ่นเริ่มต้น ด้วยสเปกโตโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 600นาโนเมตร และนับเซลล์ด้วยฮีมาไซโตมิเตอร์ และวัดพีเอชด้วยพีเอชมิเตอร์

3.5.7.14 ปิดปากขวดด้วยแอร์ล็อก

3.5.7.15 นำเบียร์ทั้งหมดไปหมักที่อุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 21 วันโดยเก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์ทุกๆ 3 วัน โดย วัดพีเอชด้วยพีเอชมิเตอร์, วัดปริมาณน้ำตาลด้วยรีแฟ็กโตมิเตอร์ และวัดปริมาณแอลกอฮอลล์ด้วยอีบลูลิโอมิเตอร์

3.5.8 วิธีการวิเคราะห์เอทานอลโดยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี

3.5.8.1 กราฟมาตรฐานของเอทานอล

- เตรียมสารละลายมาตรฐานภายในโดยใช้โพรพานอล (n-propanol) ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยปริมาตรเป็นสารละลายมาตรฐานภายใน (internal standard)
- เตรียมสารละลายมาตรฐานเอทานอลให้มีความเข้มข้นร้อยละ 8 12 16 20 และ 24 โดยปริมาตร
- วิเคราะห์ปริมาณเอทานอลโดยใช้เทคนิคเฮดสเปซ-แก๊สโครมาโตกราฟี (HS-GC) โดยใช้เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (GC-2014 Chromatograph, Shimadzu) สารตัวอย่างในขวดแก้วจะระเหยกลายเป็นไอจนกระทั่งอยู่ในสมดุลไดนามิก จากนั้นเครื่องจะดูดไอปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพื่อเข้าสู่คอลัมน์ต่อไป
- ใช้คอลัมน์ DB-1 (Agilent J&W GC Column) ความยาว 30 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.32 มิลลิเมตร ความหนาของฟิล์ม 5 ไมครอน อุณหภูมิของคอลัมน์อยู่ที่ 60 องศาเซลเซียส และใช้ตัวตรวจวัด (detecter) เป็นชนิด FID โดยปรับอุณหภูมิเท่ากับ 200 องศาเซลเซียส ส่วนอุณหภูมิของตำแหน่งฉีดสาร (injector) อยู่ที่ 200 องศาเซลเซียสและใช้แก๊สฮีเลียมเป็นพาหะ โดยมีความดันคอลัมน์เท่ากับ 30 kPa
- สภาวะในการวิเคราะห์เริ่มจากอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0.5 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิในอัตรา 15 องศาเซลเซียสต่อนาที จนถึง 180 องศาเซลเซียส คงไว้ที่ 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที รวมเวลาในการวิเคราะห์ทั้งหมด 5.50 นาทีต่อตัวอย่าง โครมาโตแกรมจะแสดงเวลาที่เอทานอลและโพรพานอลถูกชะออกจากคอลัมน์
- นำพื้นที่ใต้กราฟ (peak area) ของสารมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นมาสร้างกราฟมาตรฐาน โดยกำหนดให้แกน y คือ อัตราส่วนพื้นที่ใต้กราฟของเอทานอลต่อโพรพานอลในแต่ละความเข้มข้น ส่วนแกน x คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเอทานอล

3.5.8.2 วิธีการวิเคราะห์เอทานอลในตัวอย่าง

- วิเคราะห์ปริมาณเอทานอลในตัวอย่าง โดยผสมสารละลายโพรพานอลร้อยละ 10 ปริมาตร 500 ไมโครลิตร และตัวอย่าง 500 ไมโครลิตร
- วิเคราะห์ดังสภาวะข้างต้น จากนั้นนำค่าอัตราส่วนพื้นที่ใต้กราฟของเอทานอลในสารตัวอย่างต่อโพรพานอล มาเทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อหาความเข้มข้นของเอทานอล

3.5.9 การวิเคราะห์ทางสถิติ

การคัดเลือกเบียร์โดยทดสอบทางประสาทสัมผัสแบบ 9-point hedonic scale ทำการทดสอบสี กลิ่น รสชาติ และโดยรวม โดยใช้ผู้ทดสอบจำนวน 50 คน และวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS 16.0 for Windows Evaluation version ทำการทดสอบการให้คะแนนความชอบในผลิตภัณฑ์ ตามคุณลักษณะของน้ำเบียร์ที่ได้จากการหมักในการทดลอง โดยทำการเปรียบเทียบความชอบเบียร์ที่ได้จากการหมักโดยเซลล์ยีสต์ ในขั้นแรกทำการคัดเลือกผู้ที่ทำการทดสอบผลิตภัณฑ์ที่มีคุณสมบัติเหมาะสม ในที่นี้คือผู้ที่ทำการดื่มและนิยมในการดื่มเบียร์เป็นประจำ จำนวน 50 ท่าน (นักศึกษาสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง) และเชิญมาทำการทดสอบความชอบน้ำเบียร์ที่ได้จากการทดลอง ซึ่งทำการทดสอบในห้องที่เหมาะสมต่อการทดสอบคือ ไม่มีเสียงรบกวนสมาธิ มีสภาพที่เหมาะสมทำให้ผู้ที่ทำการทดสอบมีความสบาย ซึ่งจะทำให้การให้คะแนนเป็นไปอย่างถูกต้อง หลังจากที่ได้ผู้ที่ทำการทดสอบที่มีคุณสมบัติที่เหมาะสมแล้ว ให้ผู้ทำการทดสอบให้คะแนนความชอบตามคุณลักษณะ ของน้ำเบียร์ คือให้คะแนนความชอบระหว่างตัวอย่างที่ทำการควบคุม (เบียร์รสส้ม, เบียร์รสกระเจี๊ยบ, เบียร์รสสะระแหน่) โดยให้คะแนนของ สี กลิ่น รสชาติและโดยรวม จากนั้นนำข้อมูลทั้งหมดมาหาความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะต่างๆ และทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยวิธี Analysis of variance (ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P \leq 0.05$)

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสแบบ 9 -point hedonic scale

วันที่..... ตัวอย่าง เบียร์ ชื่อผู้ทดสอบ.....เพศ.....

กรุณาทำเครื่องหมาย √ ลงในช่องตามระดับความชอบของแต่ละรหัสตัวอย่าง

รหัสตัวอย่าง	236				503				972			
ความชอบโดยรวม	สี	กลิ่น	รสชาติ	โดยรวม	สี	กลิ่น	รสชาติ	โดยรวม	สี	กลิ่น	รสชาติ	โดยรวม
ชอบมากที่สุด												
ชอบมาก												
ชอบปานกลาง												
ชอบเล็กน้อย												
เฉยๆ												
ไม่ชอบเล็กน้อย												
ไม่ชอบปานกลาง												
ไม่ชอบมาก												
ไม่ชอบมากที่สุด												

ข้อเสนอแนะ

.....

.....

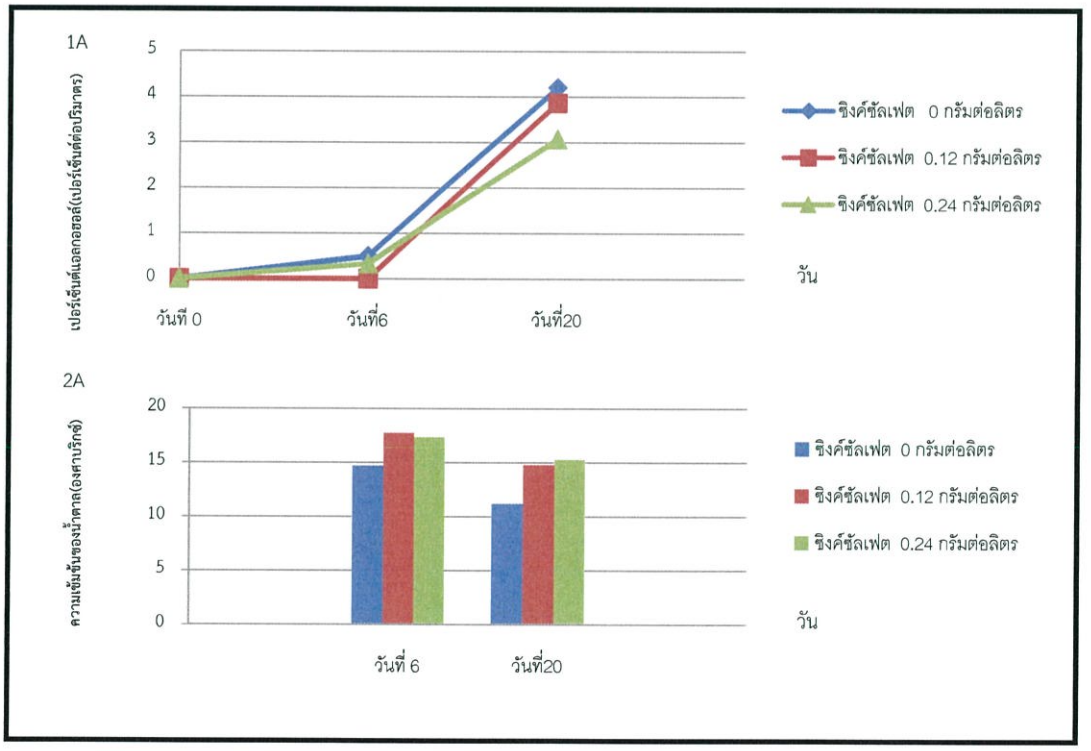
ขอบคุณค่ะ

บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

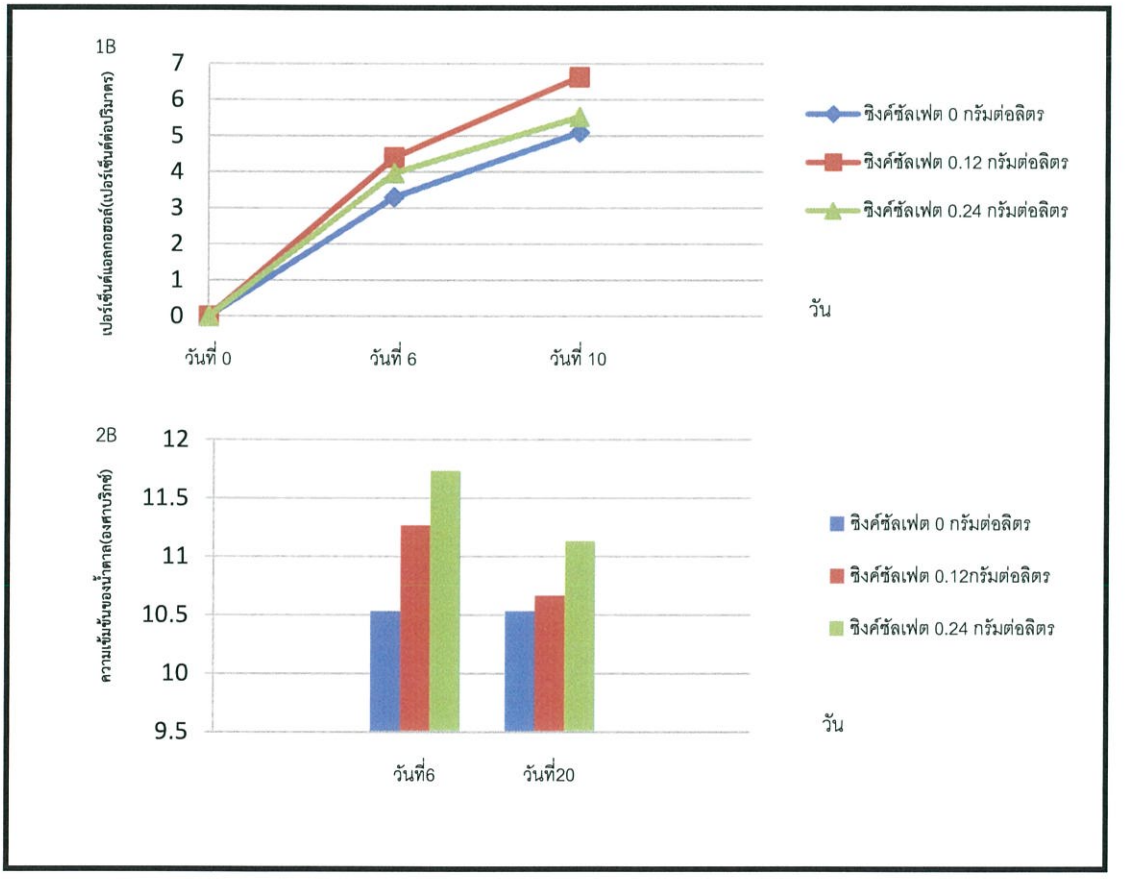
4.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อกระบวนการหมักเบียร์

ผลการศึกษากระบวนการหมักเบียร์ โดยเปรียบเทียบเชื้อ *S. cerevisiae* 2 สายพันธุ์ คือ S-23 และ M-84 ที่มีค่าของซิงค์ซัลเฟต 3 ความเข้มข้นคือ 0, 0.12 และ 0.24 กรัมต่อลิตรตามลำดับ โดยใช้อุณหภูมิในการหมักคือ 8, 11 และ 14 องศาเซลเซียส ตามลำดับ โดยที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียสยีสต์สายพันธุ์ S-23 ที่แต่ละความเข้มข้นของซิงค์ซัลเฟตยีสต์สามารถสร้างแอลกอฮอล์ได้เพิ่มขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป 6 วัน จนครบ 20 วัน ดังแสดงในรูปที่ 4.1 1A โดย รองลงมาคือค่าของความเข้มข้น ซิงค์ซัลเฟต 0.12 และ 0.24 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และค่าความเข้มข้นของน้ำตาลลดลงเนื่องจากยีสต์มีการใช้น้ำตาลเพิ่มมากขึ้นเมื่อวัดจากวันที่ 6 ไปยังวันที่ 20 ดังรูปที่ 4.1 2A



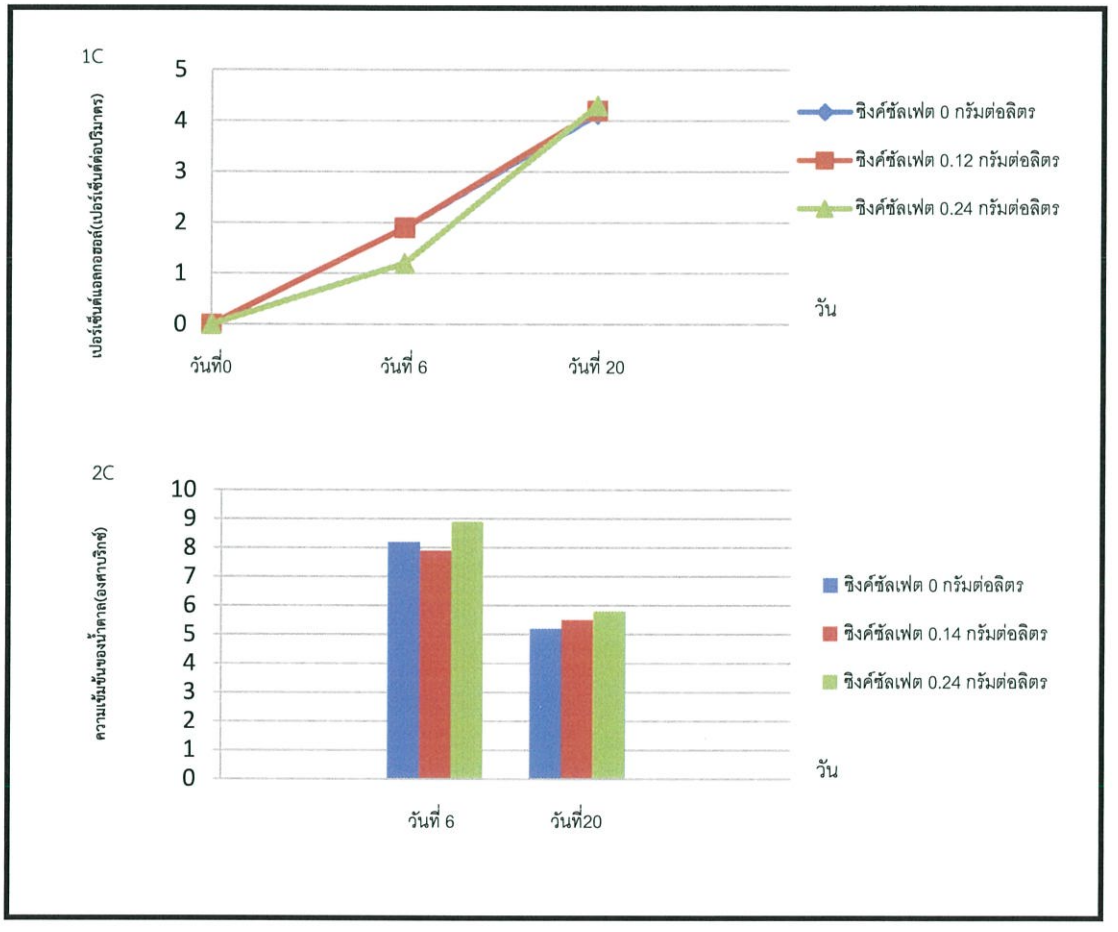
รูปที่ 4.1 แสดงเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ (1A) และค่าความเข้มข้นของน้ำตาล (2A) ในกระบวนการหมักด้วยยีสต์สายพันธุ์ S-23 อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส โดยใช้ความเข้มข้นของซิงค์ซัลเฟตที่แตกต่างกัน

กราฟเส้นแสดงเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์และกราฟแท่งแสดงค่าความเข้มข้นของน้ำตาลของยีสต์สายพันธุ์ M-84 ที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียสค่าที่ได้มาจากค่าเฉลี่ยจำนวน 3 ครั้ง ในส่วนของรูปที่ 4.2 1B ยีสต์สามารถสร้างแอลล์กอฮอล์ได้เพิ่มขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป 6 วัน จนครบ 20 วัน ค่าความเข้มข้นของซิงค์ซัลเฟต 0.12 กรัมต่อลิตร มีปริมาณของแอลกอฮอลล์สูงที่สุด รองลงมาคือค่าของความเข้มข้นซิงค์ซัลเฟต 0.24 และ 0 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซิงค์ซัลเฟตที่ความเข้มข้น 0 กรัมต่อลิตร ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของค่าความเข้มข้นของน้ำตาลและซิงค์ซัลเฟตที่ความเข้มข้น 0.12 และ 0.24 กรัมต่อลิตร ค่าความเข้มข้นของน้ำตาลลดลงเนื่องจากยีสต์มีการใช้น้ำตาลเพิ่มมากขึ้นเมื่อวัดจากวันที่ 6 ไปยังวันที่ 20 ดังรูปที่ 4.2 2B



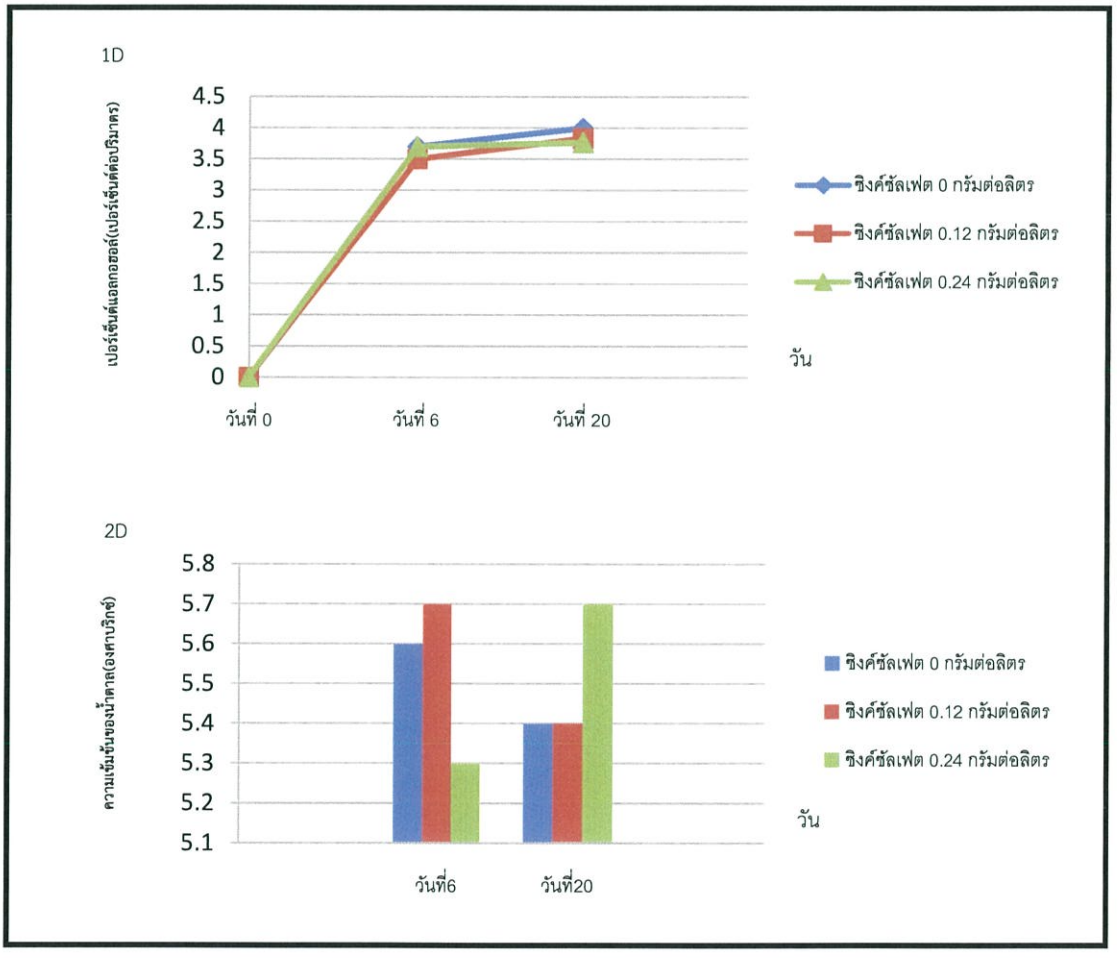
รูปที่ 4.2 แสดงเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ (1B) และค่าความเข้มข้นของน้ำตาล (2B) ในกระบวนการหมักด้วยยีสต์สายพันธุ์ M-84 อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส โดยใช้ความเข้มข้นของซิงค์ซัลเฟตที่แตกต่างกัน

จากรูปที่ 4.3 1C ยีสต์สายพันธุ์ S-23 ที่อุณหภูมิ 11 องศาเซลเซียสยีสต์สามารถสร้างแอลล์กอฮอล์ได้เพิ่มขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป 6 วัน จนครบ 20 วัน ค่าความเข้มข้นของซิงค์ซัลเฟต 0.24 กรัมต่อลิตร มีปริมาณของแอลกอฮอลล์สูงที่สุด รองลงมาคือค่าของความเข้มข้นซิงค์ซัลเฟต 0.12 และ 0 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และค่าความเข้มข้นของน้ำตาลลดลงเนื่องจากยีสต์มีการใช้น้ำตาลเพิ่มมากขึ้นเมื่อวัดจากวันที่ 6 ไปยังวันที่ 20 ดังรูปที่ 4.3 2C



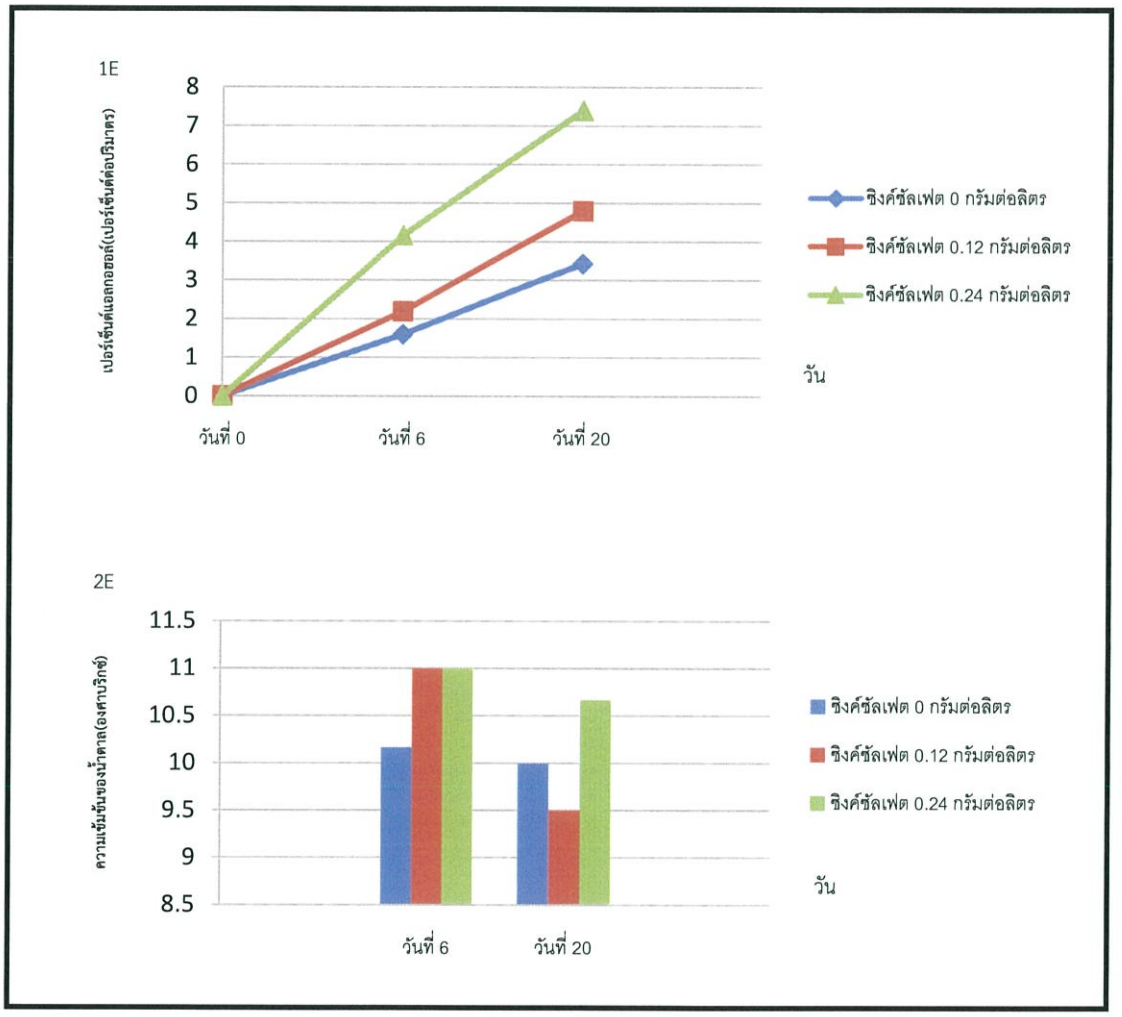
รูปที่ 4.3 แสดงเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ (1C) และค่าความเข้มข้นของน้ำตาล (2C) ในกระบวนการหมักด้วยยีสต์สายพันธุ์ S-23 อุณหภูมิ 11 องศาเซลเซียส โดยใช้ความเข้มข้นของซิงค์ซัลเฟตที่แตกต่างกัน

จากรูปที่ 4.4 1D ยีสต์สายพันธุ์ M-84 ที่อุณหภูมิ 11 องศาเซลเซียส ยีสต์สามารถสร้างแอลล์กอฮอล์ได้เพิ่มขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป 6 วัน จนครบ 20 วัน ยีสต์สามารถสร้างแอลล์กอฮอล์ได้เพิ่มขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป 6 วัน จนถึงวันที่ 20 ค่าความเข้มข้นของซิงค์ซัลเฟต 0 กรัมต่อลิตร มีปริมาณของแอลกอฮอล์สูงที่สุด รองลงมาคือค่าของความเข้มข้นซิงค์ซัลเฟต 0.12 และ 0.24 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และที่ความเข้มข้นซิงค์ซัลเฟต 0.24 กรัมต่อลิตร มีค่าความเข้มข้นของน้ำตาลเพิ่มขึ้น และที่ความเข้มข้นซิงค์ซัลเฟต 0 และ 0.12 กรัมต่อลิตร ค่าความเข้มข้นของน้ำตาลลดลงเนื่องจากยีสต์มีการใช้น้ำตาลเพิ่มมากขึ้นเมื่อวัดจากวันที่ 6 ไปยังวันที่ 20 ดังรูปที่ 4.4 2D



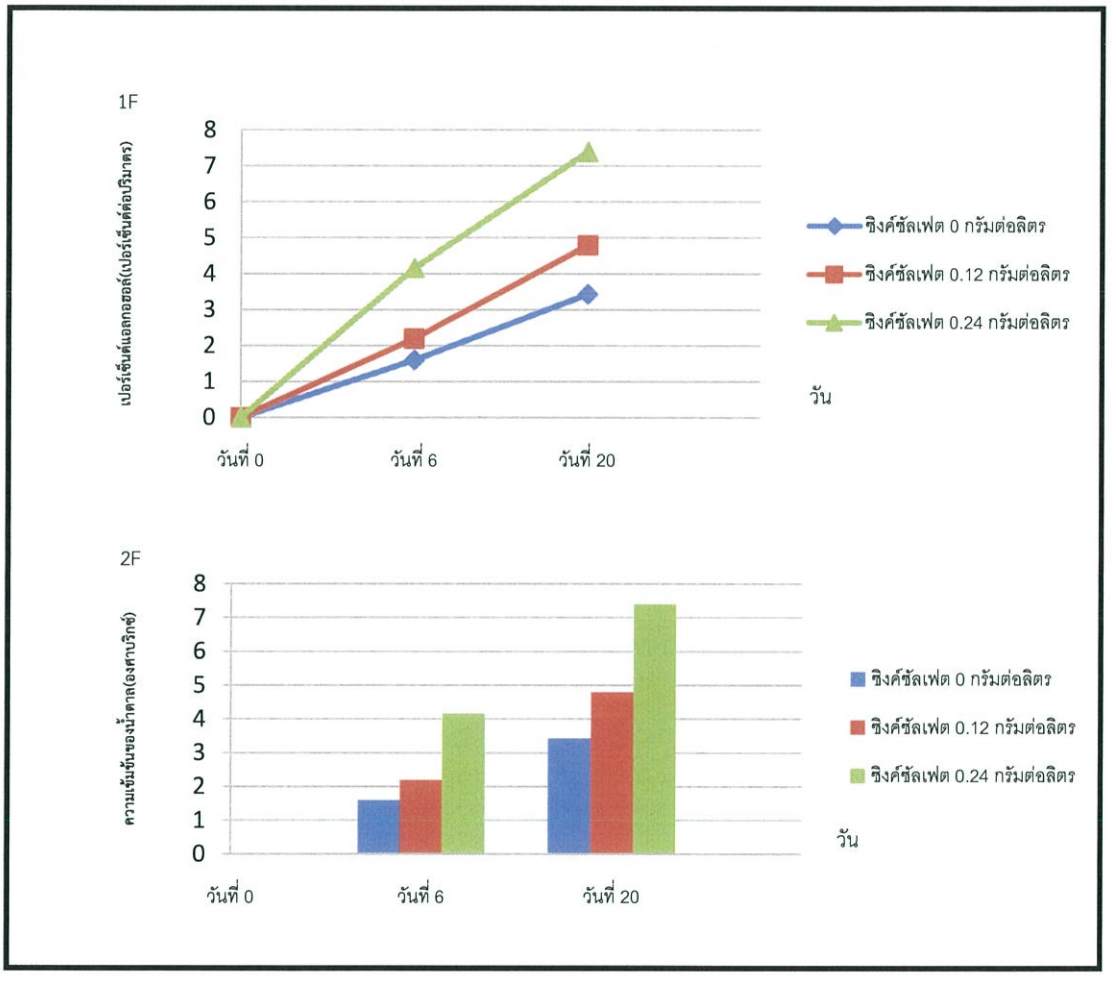
รูปที่ 4.4 แสดงเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ (1D) และค่าความเข้มข้นของน้ำตาล (2D) ในกระบวนการหมักด้วยยีสต์สายพันธุ์ M-84 อุณหภูมิ 11 องศาเซลเซียส โดยใช้ความเข้มข้นของซิงค์ซัลเฟตที่แตกต่างกัน

จากรูปที่ 4.5 1E ยีสต์สายพันธุ์ S-23 ที่อุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส สามารถสร้างแอลกอฮอล์ได้เพิ่มขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป 6 วัน จนครบ 20 วัน ค่าความเข้มข้นของซิงค์ซัลเฟต 0.24 กรัมต่อลิตร มีปริมาณของแอลกอฮอล์สูงที่สุด รองลงมาคือค่าของความเข้มข้นซิงค์ซัลเฟต 0.12 และ 0 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และค่าความเข้มข้นของน้ำตาลลดลงเนื่องจากยีสต์มีการใช้น้ำตาลเพิ่มมากขึ้นเมื่อวัดจากวันที่ 6 ไปยังวันที่ 20 ดังรูปที่ 4.5 2E



รูปที่ 4.5 แสดงเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ (1E) และค่าความเข้มข้นของน้ำตาล (2E) ในกระบวนการหมักด้วยยีสต์สายพันธุ์ S-23 อุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส โดยใช้ความเข้มข้นของซิงค์ซัลเฟตที่แตกต่างกัน

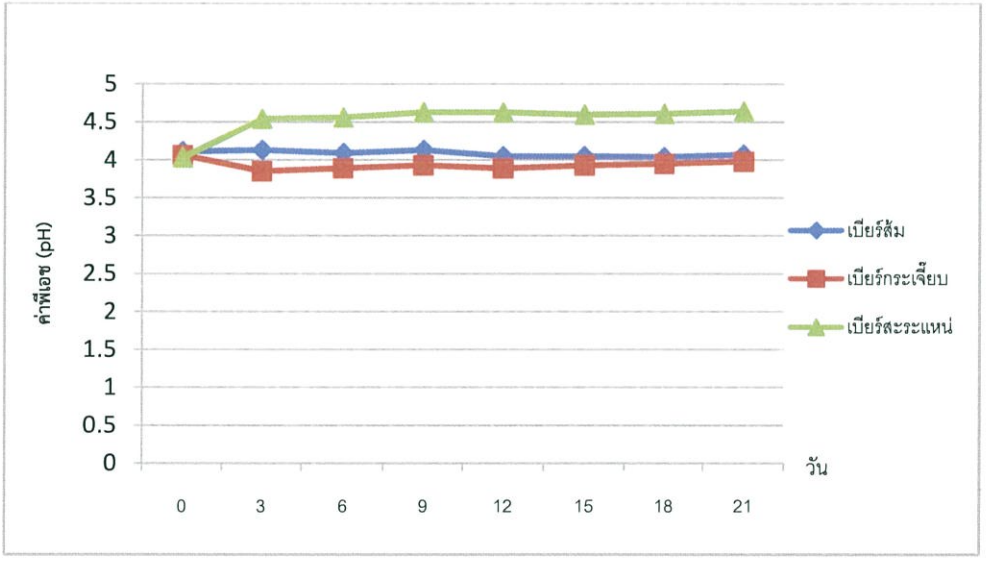
จากรูปที่ 4.6 1F ยีสต์สายพันธุ์ M-84 ที่อุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส สามารถสร้างแอลกอฮอล์ได้เพิ่มขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป 6 วัน จนครบ 20 วัน ค่าความเข้มข้นของซิงค์ซัลเฟต 0.24 กรัมต่อลิตร มีปริมาณของแอลกอฮอล์สูงที่สุด รองลงมาคือค่าของความเข้มข้นซิงค์ซัลเฟต 0.12 และ 0 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และค่าความเข้มข้นของน้ำตาลลดลงเนื่องจากยีสต์มีการใช้น้ำตาลเพิ่มมากขึ้นเมื่อวัดจากวันที่ 6 ไปยังวันที่ 20 ดังรูปที่ 4.6 2F



รูปที่ 4.6 แสดงเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ (1F) และค่าความเข้มข้นของน้ำตาล (2F) ในกระบวนการหมักด้วยยีสต์สายพันธุ์ M-84 อุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส โดยใช้ความเข้มข้นของซิงค์ซัลเฟตที่แตกต่างกัน

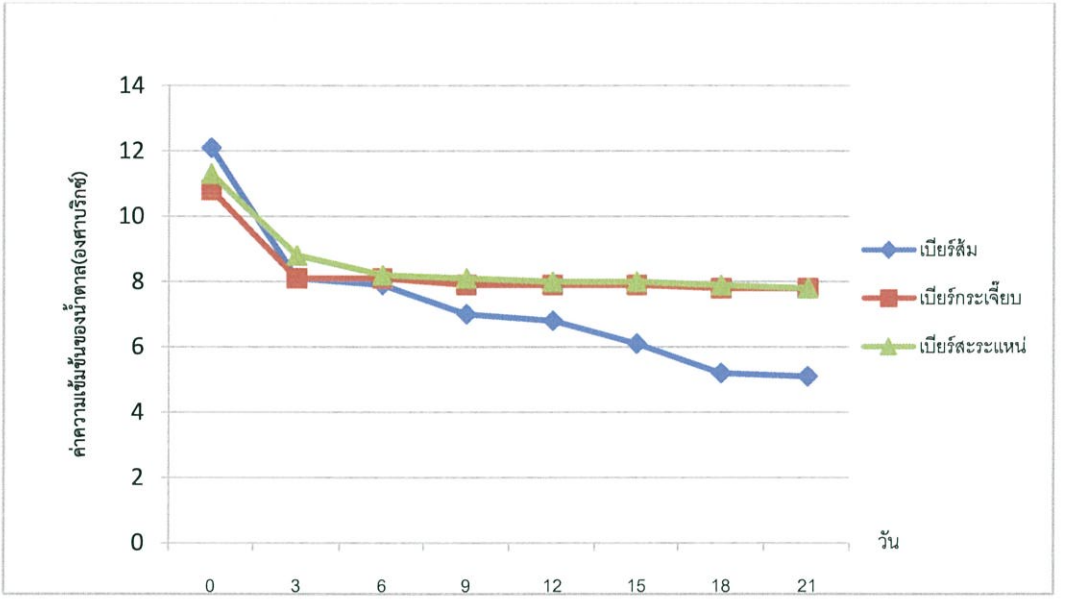
4.3 การศึกษาผลของเบียร์ที่ผ่านการปรับปรุงรสชาติ

จากรูปที่ 4.7 แสดงค่าของพีเอช (pH) ของเบียร์ที่แตกต่างกัน 3 รสชาติ ในการหมักทุกๆ 3 วัน โดยเริ่มวัดจากวันที่ 0 เบียร์รสส้ม ได้ค่าพีเอช 4.11, 4.13, 4.09, 4.13, 4.05, 4.05, 4.04 และ 4.07 ตามลำดับ เบียร์รสกระเจี๊ยบได้ค่าพีเอช 4.06, 3.85, 3.89, 3.93, 3.89, 3.93, 3.95 และ 3.98 ตามลำดับ และเบียร์รสสะระแหน่ได้ค่าพีเอช 4.03, 4.54, 4.56, 4.63, 4.63, 4.60, 4.61 และ 4.64 ตามลำดับ พบว่าค่าพีเอชของเบียร์ทั้ง 3 รส อยู่ในช่วงพีเอช 3.8 - 4.7



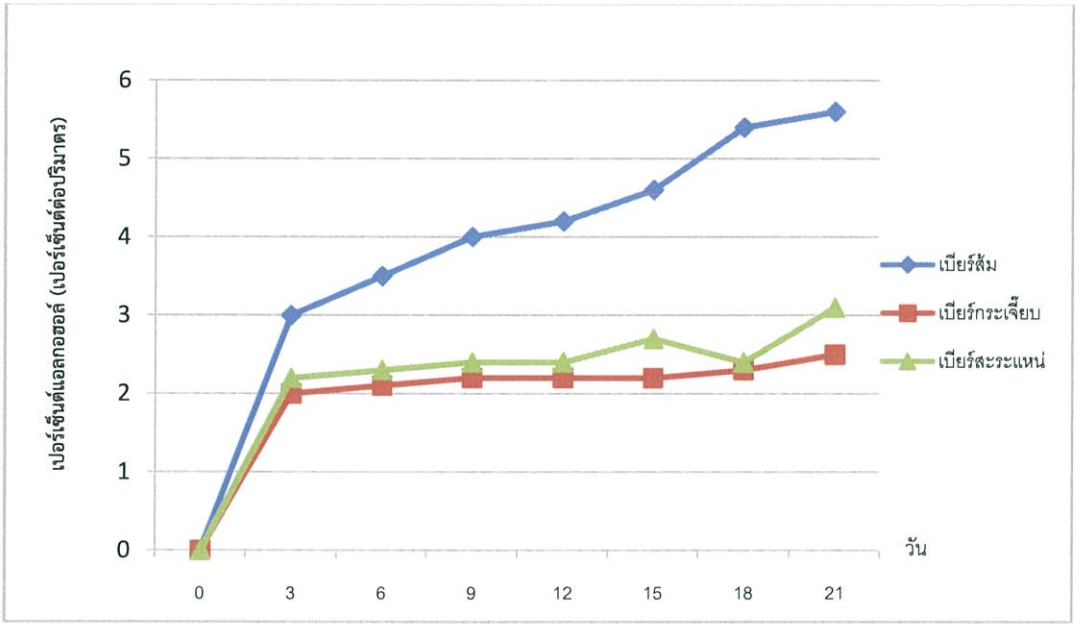
รูปที่ 4.7 แสดงค่าพีเอช (pH) ของเบียร์ทั้ง 3 รสชาติ ในการหมักทุกๆ 3 วัน จนครบ 21 วัน

จากรูปที่ 4.8 แสดงค่าความเข้มข้นของน้ำตาลของเบียร์ที่แตกต่างกัน 3 รสชาติ ในการหมักทุกๆ 3 วัน โดยเริ่มวัดจากวันที่ 0 เบียร์รสส้ม ได้ค่าความเข้มข้นของน้ำตาล 12.1, 8.1, 7.9, 7.0, 6.8, 6.1, 5.2 และ 5.1 ตามลำดับ เบียร์รสกระเจี๊ยบได้ค่าพีเอช 10.8, 8.1, 8.1, 7.9, 7.9, 7.9, 7.8 และ 7.8 ตามลำดับ และเบียร์รสสะระแหน่ ได้ค่าพีเอช 11.3, 8.8, 8.2, 8.1, 8.0, 8.0, 7.9 และ 7.8 ตามลำดับ พบว่าค่าความเข้มข้นของน้ำตาลของเบียร์รสส้มมีค่าความเข้มข้นของน้ำตาลลดลงมากที่สุดรองลงมาคือเบียร์รสสะระแหน่และเบียร์รสกระเจี๊ยบตามลำดับ



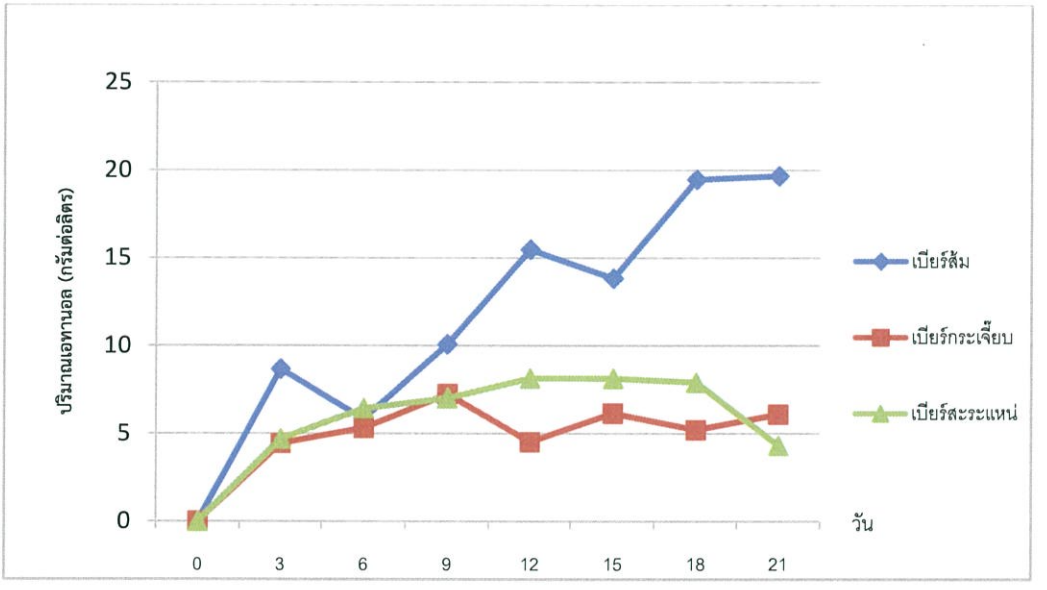
รูปที่ 4.8 แสดงค่าความเข้มข้นของน้ำตาลของเบียร์ทั้ง 3 รสชาติ ในการหมักทุกๆ 3 วัน จนครบ 21 วัน

จากรูปที่ 4.9 แสดงค่าของแอลกอฮอล์ของเบียร์ที่แตกต่างกัน 3 รสชาติ ในการหมักทุกๆ 3 วัน โดยเริ่มวัดจากวันที่ 0 เบียร์รสส้ม ได้ค่าค่าแอลกอฮอล์ 0, 3, 3.5, 4, 4.2, 4.6, 5.4 และ 5.6 ตามลำดับ เบียร์รสกระเจี๊ยบได้ค่าพีเอช 0, 2, 2.1, 2.2, 2.2, 2.2, 2.3 และ 2.5 ตามลำดับ และเบียร์รสสะระแหน่ ได้ค่าพีเอช 0, 2.2, 2.3, 2.4, 2.4, 2.7, 2.4 และ 3.1 ตามลำดับ พบว่าค่าแอลกอฮอล์ของเบียร์ทั้ง 3 รส มีค่าเพิ่มสูงขึ้น โดยเบียร์รสส้มมีแอลกอฮอล์สูงที่สุด รองลงมาคือเบียร์รสสะระแหน่ และเบียร์รสกระเจี๊ยบ ตามลำดับ



รูปที่ 4.9 แสดงค่าแอลกอฮอล์จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องอีบลูลิโอมิเตอร์ของเบียร์ทั้ง 3 รสชาติ ในการหมักทุกๆ 3 วัน จนครบ 21 วัน

จากรูปที่ 4.10 แสดงค่าปริมาณเอทานอลของเบียร์ที่แตกต่างกัน 3 รสชาติ ในการหมักทุกๆ 3 วัน โดยเริ่มวัดจากวันที่ 0 เบียร์รสส้ม ได้ค่าปริมาณเอทานอล 0, 8.68, 5.84, 10.08, 15.47, 13.83, 19.46 และ 19.67 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เบียร์รสกระเจี๊ยบได้ค่าปริมาณเอทานอล 0, 4.44, 5.31, 7.24, 4.50, 6.14, 5.20 และ 6.10 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และเบียร์รสสะระแหน่ ได้ค่าปริมาณเอทานอล 0, 4.71, 6.44, 7.01, 8.14, 8.13, 7.91 และ 4.32 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ พบว่าค่าปริมาณเอทานอลของเบียร์ทั้ง 3 รส มีค่าเพิ่มสูงขึ้น โดยเบียร์รสส้มมีปริมาณเอทานอลสูงที่สุด รองลงมาคือเบียร์รสกระเจี๊ยบและเบียร์รสสะระแหน่ ตามลำดับ



รูปที่ 4.10 แสดงปริมาณเอทานอลที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gas Chromatography ของเบียร์ทั้ง 3 รสชาติ ในการหมักทุกๆ 3 วัน จนครบ 21 วัน

จากการศึกษาการหมักเบียร์ทั้งหมด 18 สภาวะนี้ สามารถคัดเลือกสภาวะในการหมักที่ดีที่สุดที่สามารถนำมาปรับปรุงรสชาติเบียร์ในขั้นตอนต่อไป โดยใช้สภาวะในเบียร์ที่หมักโดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ S-23 หมักที่อุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส ที่ปริมาณซิงค์ซัลเฟต 0.24 กรัมต่อลิตร ที่ให้ปริมาณแอลกอฮอล์ 7.40 เปอร์เซ็นต์ต่อปริมาตร จากนั้นได้นำสภาวะการหมักนี้มาปรับปรุงรสชาติโดย ทำการเติมน้ำส้ม น้ำกระเจี๊ยบ และน้ำสะระแหน่ตามวิธีการข้อ 3.5.7

4.2 ผลการทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส

นำตัวอย่างเบียร์สูตรที่คัดเลือกไว้ ไปทดสอบการยอมรับทางประสารทสัมผัส โดยทำการประเมินความชอบในด้านลักษณะปรากฏ ด้านกลิ่น ด้านรสชาติ และโดยรวม ของผู้บริโภคจำนวน 50 คน โดยใช้แบบทดสอบ ได้ผลดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ตารางแสดงคะแนนความชอบทางด้านประสาทสัมผัสของเบียร์ทั้ง 3 ตัวอย่าง

เบียร์	ลักษณะปรากฏ	กลิ่น	รสชาติ	ความชอบโดยรวม
1. เบียร์กระเจี๊ยบ	6.24	6.62	5.57	6.24
2. เบียร์สะระแหน่	6.06	6.76	5.52	6.06
3. เบียร์ส้ม	6.04	6.82	5.50	6.04

จากตารางคะแนนความชอบทางด้านประสาทสัมผัสของเบียร์ทั้ง 3 ตัวอย่าง การประเมินความชอบด้านลักษณะปรากฏพบว่า คะแนนของเบียร์กระเจี๊ยบได้คะแนน 6.24 เบียร์สะระแหน่ได้คะแนน 6.06 เบียร์ส้ม ได้คะแนน 6.04 จะเห็นได้ว่าเบียร์กระเจี๊ยบ ได้รับคะแนนสูงสุด เมื่อเทียบตัวอย่างเบียร์ทั้ง 3 สูตรแล้วมีมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

การประเมินความชอบด้านกลิ่นพบว่า คะแนนของเบียร์กระเจี๊ยบ ได้คะแนน 6.62 เบียร์สะระแหน่ได้คะแนน 6.76 เบียร์ส้มได้คะแนน 6.82 จะเห็นได้ว่าเบียร์ส้ม ได้รับคะแนนสูงสุด เมื่อเทียบตัวอย่างเบียร์ทั้ง 3 สูตรแล้วไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

การประเมินความชอบด้านรสชาติพบว่า คะแนนของเบียร์กระเจี๊ยบได้คะแนน 5.57 เบียร์สะระแหน่ได้คะแนน 5.52 เบียร์ส้มได้คะแนน 5.50 จะเห็นได้ว่าเบียร์กระเจี๊ยบ ได้รับคะแนนสูงสุด เมื่อเทียบตัวอย่างเบียร์ทั้ง 3 สูตรแล้วไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

การประเมินความชอบโดยรวมของเบียร์ทั้ง 3 สูตรพบว่า คะแนนความชอบโดยรวมของเบียร์กระเจี๊ยบได้คะแนน 6.24 เบียร์สะระแหน่ได้คะแนน 6.06 เบียร์ส้มได้คะแนน 6.04 มีความชอบโดยรวมไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

จากงานวิจัยของ Hiralal *et al.* (2014) ศึกษาอุณหภูมิที่ใช้ในการหมักและการเพิ่มซิงค์ซัลเฟต ส่งผลให้เกิดการใช้ประโยชน์จากสารอาหารของยีสต์ที่เพิ่มมากขึ้นและจะทำให้ได้ปริมาณเอทานอลเพิ่มสูงขึ้นขณะที่โลหะ มีความสำคัญต่อการเจริญและเมตาบอลิซึมของยีสต์ โดยทั่วไปโลหะไอออนสามารถส่งผลต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมระหว่างการหมัก ซึ่งซิงค์เป็นโลหะไอออนที่ทำหน้าที่เป็นโคแฟกเตอร์ (Co-factors) สำหรับเอนไซม์ที่ใช้ในการหมักจากการศึกษาปริมาณซิงค์ซัลเฟตที่มีความเข้มข้นสูงสุดคือ 0.24 กรัมต่อลิตร ส่งผลให้ยีสต์มีการใช้น้ำตาลมากที่สุด และอุณหภูมิในการหมักที่สูงที่สุดคือ 14 องศาเซลเซียส ส่งผลให้ได้ปริมาณเอทานอลสูงสุด

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาผลของอุณหภูมิและสารอาหารที่มีผลต่อการหมักเบียร์ชนิดลาร์เกอร์เบียร์ โดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ S-23 และ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ M-84 และนำมาหมักที่อุณหภูมิ 8, 11 และ 14 องศาเซลเซียส โดยการเติมซิงค์ซัลเฟตที่ความเข้มข้น 0, 0.12 และ 0.24 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งมีสภาวะการหมักทั้งหมด 18 สภาวะ โดยยีสต์สายพันธุ์ S-23 ที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส ค่าความเข้มข้นของซิงค์ซัลเฟต 0 กรัมต่อลิตร ได้ปริมาณของแอลกอฮอล์สูงที่สุดและค่าความเข้มข้นของน้ำตาลลดลงเนื่องจากยีสต์มีการใช้น้ำตาลเพิ่มมากขึ้น ยีสต์สายพันธุ์ M-84 ที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส ค่าความเข้มข้นของซิงค์ซัลเฟต 0.12 กรัมต่อลิตร มีปริมาณของแอลกอฮอล์สูงที่สุด ซิงค์ซัลเฟตที่ความเข้มข้น 0 กรัมต่อลิตร ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของค่าความเข้มข้นของน้ำตาลและซิงค์ซัลเฟตที่ความเข้มข้น 0.12 และ 0.24 กรัมต่อลิตร ค่าความเข้มข้นของน้ำตาลลดลงเนื่องจากยีสต์มีการใช้น้ำตาลเพิ่มมากขึ้น ยีสต์สายพันธุ์ S-23 ที่อุณหภูมิ 11 องศาเซลเซียส ค่าความเข้มข้นของซิงค์ซัลเฟต 0.24 กรัมต่อลิตร มีปริมาณของแอลกอฮอล์สูงที่สุด และค่าความเข้มข้นของน้ำตาลลดลงเนื่องจากยีสต์มีการใช้น้ำตาลเพิ่มมากขึ้น ยีสต์สายพันธุ์ M-84 ที่อุณหภูมิ 11 องศาเซลเซียส ค่าความเข้มข้นของซิงค์ซัลเฟต 0 กรัมต่อลิตร มีปริมาณของแอลกอฮอล์สูงที่สุด และที่ความเข้มข้นซิงค์ซัลเฟต 0.24 กรัมต่อลิตร มีค่าความเข้มข้นของน้ำตาลเพิ่มขึ้น และที่ความเข้มข้นซิงค์ซัลเฟต 0 และ 0.12 กรัมต่อลิตร ค่าความเข้มข้นของน้ำตาลลดลงเนื่องจากยีสต์มีการใช้น้ำตาลเพิ่มมากขึ้น ยีสต์สายพันธุ์ S-23 ที่อุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส ค่าความเข้มข้นของซิงค์ซัลเฟต 0.24 กรัมต่อลิตร มีปริมาณของแอลกอฮอล์สูงที่สุดและค่าความเข้มข้นของน้ำตาลลดลงเนื่องจากยีสต์มีการใช้น้ำตาลเพิ่มมากขึ้น ยีสต์สายพันธุ์ M-84 ที่อุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส ค่าความเข้มข้นของซิงค์ซัลเฟต 0.24 กรัมต่อลิตร มีปริมาณของแอลกอฮอล์สูงที่สุด และค่าความเข้มข้นของน้ำตาลลดลงเนื่องจากยีสต์มีการใช้น้ำตาลเพิ่มมากขึ้น

จากงานวิจัยของ Hiralal *et al*. (2014) ได้กล่าวว่า ที่ปริมาณซิงค์ซัลเฟตสูงสุด ส่งผลให้ยีสต์มีการใช้น้ำตาลมากที่สุด และอุณหภูมิของการหมักที่สูงที่สุด มีผลให้ได้ปริมาณแอลกอฮอล์สูงสุด ดังนั้นจึงทำการคัดเลือกสภาวะในการหมัก ที่ใช้ปริมาณซิงค์ซัลเฟตสูงสุด และอุณหภูมิการหมักที่สูงที่สุด ที่ให้ปริมาณแอลกอฮอล์สูงสุด มาใช้เป็นสภาวะที่เหมาะสมในการปรับปรุงรสชาติเบียร์ต่อไปนั่นคือ ในเบียร์ที่หมักโดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ S-23 หมักที่อุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส ที่ปริมาณซิงค์ซัลเฟต 0.24 กรัมต่อลิตรที่ให้ปริมาณแอลกอฮอล์ 7.40 เปอร์เซ็นต์ต่อปริมาตร ซึ่งสภาวะนี้ทำให้ยีสต์สามารถสร้างแอลกอฮอล์ได้ปริมาณมากที่สุด และมีค่าความเข้มข้นของน้ำตาลลดลงมากที่สุดเนื่องจากยีสต์ใช้น้ำตาลในการสร้างแอลกอฮอล์ จากนั้นได้นำสภาวะการหมักนี้มาปรับปรุงรสชาติโดย ทำการเติมน้ำส้ม น้ำกระเจี๊ยบ และน้ำสะระแหน่ และนำมาวิเคราะห์

ปริมาณเอทานอลโดยใช้เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีและทดสอบความชอบทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี 9-point hedonic scale ซึ่งทำการทดสอบสี กลิ่น รสชาติ และโดยรวม โดยใช้ผู้ทดสอบจำนวน 50 คน และวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS 16.0 for Windows Evaluation version ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P \leq 0.05$) พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

ข้อเสนอแนะ

1. ควรทำการกรองเบียร์ให้ใส ไม่มีตะกอน เพื่อตอบสนองต่อความพึงพอใจและเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค
2. ในขั้นตอนการปรับปรุงงรสชาติของเบียร์ ควรมีการปรับปรุงสูตร โดยเพิ่มความเข้มข้นของน้ำส้ม น้ำกระเจี๊ยบ และน้ำสะระแหน่ที่หลากหลายมากขึ้น เพื่อหาสูตรที่ทำให้เบียร์มีรสชาติดีขึ้น
3. ควรมีเบียร์ที่ไม่ผ่านการปรับปรุงรสชาติมาเป็นเบียร์ควบคุม ในขั้นการทดสอบทางประสาทสัมผัสของเบียร์ที่ปรับปรุงรสชาติ
4. ควรใช้ระยะเวลาในการหมักที่นานมากขึ้น

เอกสารอ้างอิง

กนกศิริ. 2552. **เครื่องดื่มสมุนไพรเพื่อสุขภาพ.** กรุงเทพฯ : ห้างหุ้นส่วนจำกัดภาพพิมพ์.

กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 2549. **ยีสต์ คุณประโยชน์ในอุตสาหกรรม**. กรุงเทพฯ : สำนักงานวัตกรรมแห่งชาติ.

กระยาทิพย์ เรือนใจ. ม.ป.พ. **ตำหรับน้ำดื่มสมุนไพร**. กรุงเทพฯ : ยูโรปา เพลส.

ดุษณี ธนะบริพัฒน์. 2537. **จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม**. กรุงเทพฯ : สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และปรีชา สุวรรณพินิจ. 2547. **จุลชีววิทยาทั่วไป**. พิมพ์ครั้งที่4. กรุงเทพฯ : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

นัยทัศน์ ภู่ศรัณย์. 2532. **อุตสาหกรรมหมักดอง**. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

เปรมปรี ณ สงขลา. 2538. **รวมกลยุทธ์ส้ม**. กรุงเทพฯ : เจริญรัฐการพิมพ์.

วิวัฒน์ หวังเจริญ. 2549. **การประเมินคุณภาพอาหารโดยประสาทสัมผัส**. เชียงราย : มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

สมบูณร์ ธนาศุภวัตน์. 2553. **เทคนิคการเก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์.** ครั้งที่3. กรุงเทพฯ : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ส่วนวิจัยเกษตรกรรม ฝ่ายวิชาการ ธนาคารกสิกรไทย. 2532. **สมุนไพร**. กรุงเทพฯ : ชวนพิมพ์.

สาโรจน์ ศิริศันสนียกุล. 2547. **เทคโนโลยีชีวภาพอาหาร**. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สาวิตรี ลิ่มทอง. 2549. **ยีสต์ ความหลากหลายและเทคโนโลยีชีวภาพ**. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2549. **ตำราจุลชีววิทยาทางอาหาร**. ครั้งที่2. กรุงเทพฯ : จามจุรีโปรดักท์.

สุมาลี เหลืองสกุล. 2527. **จุลชีววิทยาทางอาหาร.** ครั้งที่2. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยศรีนครินทราวิโรฒ ประสานมิตร.

อรุณ ชาญชัยเชาว์วิวัฒน์. 2558. **ยีสต์และเทคโนโลยีของยีสต์.** กรุงเทพฯ : บริษัทก้าวไทยแอดเวอร์ไทซิ่ง.

Bamforth, C. W.2000 **Beer An Ancient Yet Modern Biotechnology Chem.** Ed., 5, 102-112.

Hiralal, L., Pillay, B., and Olaniran, A. O. 2014 **Stability Profile of Flavour-activeester Compounds in Ale and Lager Beer During Storage.** Afr. J. Biotechnol. 12, 491-498.

Jentsch, M. 2007 **Top-fermented Beer Specialities in Focus. Brauwelt Int.**, 5, 332-334.

Igyor M.A., Ogbonna A.C., Palmer G.H. 2001 **Effect of Malting Temperature and Mashing Method on Sorghum Wort Composition and Beer Flavour.** Process Biochemistry 36, 1039-1044.

Lei H., Zhao H., Zhao M. 2013 **Proteases Supplementation to High Gravity Worts Enhances Fermentation Performance Ofbrewer'sYeast.** Biochemical Engineering journal 77 : 1-6.

Lodolo, E. J., Kock, J. L. F., Axcell, B. C., and Brooks, M. 2008 **The Yeast *Saccharomyces cerevisiae* the Main Character in Beer Brewing.** FEMS Yeast Res., 8, 1018-1036.

Meilgaard, M., Civille, V., and Carr, B T. 1999. **Sensory Evaluation Techniques.** 3rd ed.

CRC press. Boca Raton. 387 p.

Nicola R. D., Walker G.M. 2009 **Accumulation and Cellular Distribution of Zinc by Brewing Yeast**. Enzyme and Microbial Technology 44 : 210-216.

Olmo A. D., Blanco C. A., Palacio. L., Pradanos P., Hernadez A. 2013 **Pervaporation Methodology forImproving Alcohol-free beer Quality Through Aroma Recovery**. Journal of Food Engineering 133 : 1-8.

Peddie, H. A. B.1990 **Ester Formation in Brewery Fermentations**. J. Inst. Brew., 96, 327-331.

Saerens, S. M. G., Delvaux, F., Vertrepen, K. J., van Dijck, P., Thevelein, J. M., and Delvaux, F. R.2008 **Parameters Affecting Ethyl Ester Production by *Saccharomyces cerevisiae* During Fermentation**. Appl. Environ. Microbiol., 74, 454-461.

Speers, R. A., Tung, M. A., Durance, T. D., and Stewart, G. G. 1992 **Biochemical Aspects of Yeast Flocculation and Its Measurements: a Review**. J. Inst. Brew., 98, 293-300

Verstrepen, K. J., Derdelinckx, G., Dufour, J., Winderrikx, J., Thevelein, J. M.,Pretorius, I. S., and Delvaux, F. R. 2003 **Flavour-active Esters: Adding Fruitiness to Beer**. J. Biosci. Bioeng., 96, 110-118.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

อาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหาร Yeast Malt Extract Agar (YM) ต่อปริมาตร 1 ลิตร

ยีสต์สกัด	3	กรัมต่อลิตร
มอลต์สกัด	3	กรัมต่อลิตร
เปปโตน	5	กรัมต่อลิตร
กลูโคส	10	กรัมต่อลิตร
ผงวุ้น	20	กรัมต่อลิตร

อาหาร Yeast Malt Extract Broth (YMB) ต่อปริมาตร 1 ลิตร

ยีสต์สกัด	3	กรัมต่อลิตร
มอลต์สกัด	3	กรัมต่อลิตร
เปปโตน	5	กรัมต่อลิตร
กลูโคส	10	กรัมต่อลิตร

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ทางเคมีและเครื่องมือ

1. วิธีการวิเคราะห์เอทานอลโดยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี

2.1 กราฟมาตรฐานของเอทานอล

2.1.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานภายในโดยใช้โพรพานอล (n-propanol) ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยปริมาตรเป็นสารละลายมาตรฐานภายใน (internal standard)

2.1.2 เตรียมสารละลายมาตรฐานเอทานอลให้มีความเข้มข้น 8 12 16 20 และ 24 เปอรเซ็นต์โดยปริมาตร

2.1.3 วิเคราะห์ปริมาณเอทานอลโดยใช้เทคนิคเฮดสเปช-แก๊สโครมาโตกราฟี (HS-GC) โดยใช้เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (GC-2014 Chromatograph, Shimadzu) สารตัวอย่างในขวดแก้วจะระเหยกลายเป็นไอจนกระทั่งอยู่ในสมดุลไดนามิก จากนั้นเครื่องจะดูดไอปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพื่อเข้าสู่คอลัมน์ต่อไป

2.1.4 ใช้คอลัมน์ DB-1 (Agilent J&W GC Column) ความยาว 30 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.32 มิลลิเมตร ความหนาของฟิล์ม 5 ไมครอน อุณหภูมิของคอลัมน์อยู่ที่ 60 องศาเซลเซียส และใช้ตัวตรวจวัด (detecter) เป็นชนิด FID โดยปรับอุณหภูมิเท่ากับ 180 องศาเซลเซียส ส่วนอุณหภูมิของตำแหน่งฉีดสาร (injector) อยู่ที่150 องศาเซลเซียสและใช้แก๊สฮีเลียมเป็นพาหะโดยมีความดันคอลัมน์เท่ากับ 30 kPa

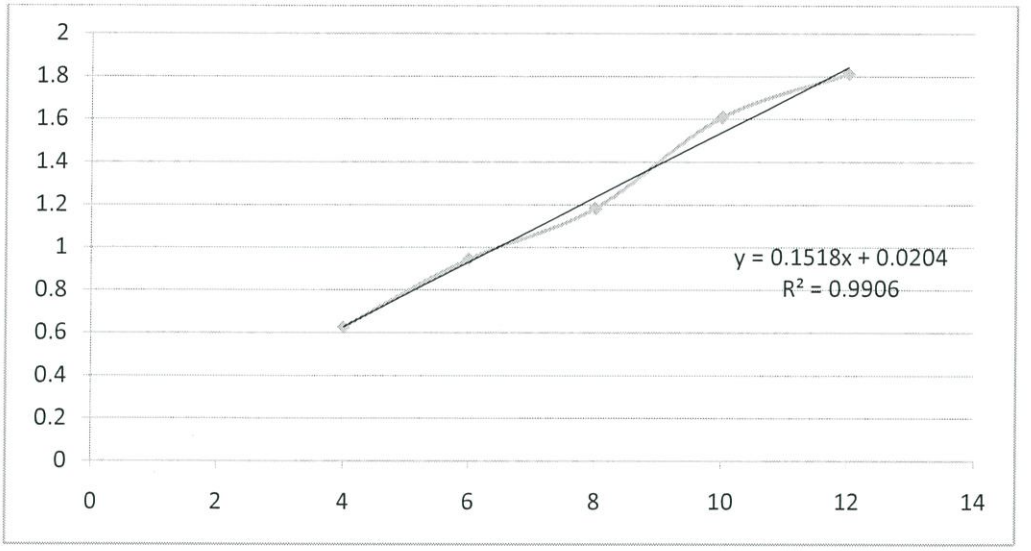
2.1.5 สภาวะในการวิเคราะห์เริ่มจากอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0.5 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิในอัตรา 15 องศาเซลเซียสต่อนาที จนถึง 180 องศาเซลเซียส คงไว้ที่ 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที รวมเวลาในการวิเคราะห์ทั้งหมด 5.50 นาทีต่อตัวอย่าง โครมาโตแกรมจะแสดงเวลาที่เอทานอลและโพรพานอลถูกชะออกจากคอลัมน์

2.1.6 นำพื้นที่ใต้กราฟ (peak area) ของสารมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นมาสร้างกราฟมาตรฐาน โดยกำหนดให้แกน y คือ อัตราส่วนพื้นที่ใต้กราฟของเอทานอลต่อโพรพานอลในแต่ละความเข้มข้นส่วนแกน x คือ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเอทานอล

2.2 วิธีการวิเคราะห์เอทานอลในตัวอย่าง

2.2.1 วิเคราะห์ปริมาณเอทานอลในตัวอย่าง โดยผสมสารละลายโพรพานอล 10 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร 500 ไมโครลิตร และตัวอย่าง 500 ไมโครลิตร

2.2.2 วิเคราะห์ดังสภาวะข้างต้น จากนั้นนำค่าอัตราส่วนพื้นที่ใต้กราฟของเอทานอลในสารตัวอย่างต่อโพรพานอล มาเทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อหาความเข้มข้นของเอทานอล



รูปที่ ข-2 กราฟสารละลายมาตรฐานเอทานอลวัดโดยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี

<u>สูตรคำนวณปริมาณเอทานอล</u>

สมการ	y	=	y = 0.1518x + 0.0204
ให้	y	=	ค่าอัตราส่วนระหว่างเอทานอลต่อโพรพานอล
ความหนาแน่นของเอทานอล		=	0.789 กรัมต่อมิลลิลิตร
ดังนั้น ปริมาณเอทานอล		=	(x) (0.789) (10) กรัมต่อลิตร

ภาคผนวก ค

ข้อมูลดิบ

ตารางที่ ค-1 ตารางแสดงค่าการดูดกลืนแสง ค่าพีเอช และจำนวนเซลล์ ที่ได้จากเบียร์ที่หมักที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส โดยใช้สายพันธุ์ S-23 ที่ความเข้มข้นของซิงค์ซัลเฟตต่างๆ ก่อนการบ่ม (หมักวันที่ 0)

ความเข้มข้น $ZnSO_4$ (กรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร)				ค่าพีเอช (pH)				จำนวนเซลล์ (โคโลนีต่อมิลลิลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	2.520	2.722	2.702	2.6480	5.66	5.68	5.67	5.6700	$0.55x10^6$	$0.43x10^6$	$0.53x10^6$	$0.5033x10^6$
0.12	2.798	2.743	2.813	2.7847	5.41	5.38	5.39	5.3933	$0.58x10^6$	$0.30x10^6$	$0.50x10^6$	$0.4600x10^6$
0.24	2.818	2.930	2.932	2.8933	5.54	5.55	5.54	5.5433	$0.33x10^6$	$0.43x10^6$	$0.55x10^6$	$0.4367x10^6$

ตารางที่ ค-2 ตารางแสดงค่าการดูดกลืนแสง ค่าพีเอช และจำนวนเซลล์ ที่ได้จากเบียร์ที่หมักที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส โดยใช้สายพันธุ์ M-84 ที่ความเข้มข้นของซิงค์ซัลเฟตต่างๆ ก่อนการบ่ม (หมักวันที่ 0)

ความเข้มข้น $ZnSO_4$ (กรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร)				ค่าพีเอช (pH)				จำนวนเซลล์ (โคโลนีต่อมิลลิลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	2.694	2.680	2.720	2.6980	5.51	5.52	5.51	5.5133	$2.75x10^6$	$3.20x10^6$	$3.15x10^6$	$3.0333x10^6$
0.12	2.683	2.704	2.804	2.7303	5.31	5.43	5.32	5.3533	$2.88x10^6$	$3.48x10^6$	$2.63x10^6$	$2.9967x10^6$
0.24	2.6585	2.885	2.488	2.6860	5.38	5.46	5.35	5.3967	$3.55x10^6$	$1.75x10^6$	$3.55x10^6$	$2.9500x10^6$

ตารางที่ ค-3 ตารางแสดงค่าการดูดกลืนแสง ค่าพีเอช จำนวนเซลล์ ค่าน้ำตาล และปริมาณแอลกอฮอล์ ที่ได้จากเบียร์ที่หมักที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส โดยใช้สายพันธุ์ S-23 ที่ความเข้มข้นของซิงค์ซัลเฟตต่างๆ เมื่อเวลาผ่านไป 6 วัน

ความเข้มข้น $ZnSO_4$ (กรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร)				ค่าพีเอช (pH)				จำนวนเซลล์ (โคโลนีต่อมิลลิลิตร)				ค่าน้ำตาล (องศาบริกซ์)				ปริมาณแอลกอฮอล์ (เปอร์เซ็นต์ต่อปริมาตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.498	0.474	0.384	0.4520	5.42	5.47	5.57	5.4867	$2.3x10^5$	$0.75x10^5$	$0.75x10^5$	$1.2667x10^5$	14.6	14.8	14.8	14.7333	0.5	0.5	0.5	0.5000
0.12	0.351	0.327	0.460	0.3793	5.39	5.41	5.37	5.3900	$1.3x10^5$	$1.3x10^5$	$1.5x10^5$	$1.3667x10^5$	17.5	17.8	17.8	17.7333	0	0	0	0
0.24	0.431	0.276	0.273	0.3267	5.46	5.55	5.53	5.5133	$2.5x10^5$	$2.5x10^5$	$2.8x10^5$	$2.6000x10^5$	16.0	18.0	18.0	17.3333	0.5	0.5	0	0.3333

ตารางที่ ค-4 ตารางแสดงค่าการดูดกลืนแสง ค่าพีเอช จำนวนเซลล์ ค่าน้ำตาล และปริมาณแอลกอฮอล์ ที่ได้จากเบียร์ที่หมักที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส โดยใช้สายพันธุ์ M-84 ที่ความเข้มข้นของซิงค์ซัลเฟตต่างๆ เมื่อเวลาผ่านไป 6 วัน

ความเข้มข้น $ZnSO_4$ (กรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร)				ค่าพีเอช (pH)				จำนวนเซลล์ (โคโลนีต่อมิลลิลิตร)				ค่าน้ำตาล (องศาบริกซ์)				ปริมาณแอลกอฮอล์ (เปอร์เซ็นต์ต่อปริมาตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	2.248	2.318	2.418	2.3280	4.65	4.67	4.66	4.6600	$8.25x10^6$	$2.43x10^6$	$2.98x10^6$	$4.5533x10^6$	10.4	10.6	10.6	10.5333	3.3	3.3	3.3	3.3000
0.12	2.827	2.424	2.745	2.6653	4.59	4.68	4.58	4.6167	$4.95x10^6$	$1.85x10^6$	$5.15x10^6$	$3.9833x10^6$	12.0	10.8	11.0	11.2667	4.6	3.3	5.3	4.4000
0.24	2.415	2.909	2.686	2.6700	4.63	4.76	4.66	4.6833	$2.55x10^6$	$4.5x10^6$	$4.0x10^6$	$3.6833x10^6$	10.0	14.2	11.0	11.7333	3.3	4.6	4.0	3.9667

ตารางที่ ค-5 ตารางแสดงค่าการดูดกลืนแสง ค่าพีเอช จำนวนเซลล์ ค่าน้ำตาล และปริมาณแอลกอฮอล์ ที่ได้จากเบียร์ที่หมักที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส โดยใช้สายพันธุ์ S-23 ที่ความเข้มข้นของซิงค์ซัลเฟตต่างๆ เมื่อครบ 20 วัน

ความเข้มข้น $ZnSO_4$ (กรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร)				ค่าพีเอช (pH)				จำนวนเซลล์ (โคโลนีต่อมิลลิลิตร)				ค่าน้ำตาล (องศาบริกซ์)				ปริมาณแอลกอฮอล์ (เปอร์เซ็นต์ต่อปริมาตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.216	0.671	0.564	0.4837	4.87	4.80	4.83	4.8300	$0.68x10^6$	$0.30x10^6$	$0.43x10^6$	$0.4700x10^6$	12.0	10.5	11.1	11.2000	3.8	4.6	4.2	4.2000
0.12	2.302	2.233	2.367	2.3007	4.81	4.83	4.76	4.8000	$1.15x10^6$	$1.05x10^6$	$1.50x10^6$	$1.2333x10^6$	15.2	15.2	14.0	14.8000	3.6	3.6	4.4	3.8667
0.24	2.608	2.517	2.609	2.578	4.96	5.03	4.96	4.9833	$0.98x10^6$	$1.08x10^6$	$0.88x10^6$	$0.9800x10^6$	14.0	16.0	15.8	15.2667	3.0	3.1	3.1	3.0667

ตารางที่ ค-6 ตารางแสดงค่าการดูดกลืนแสง ค่าพีเอช จำนวนเซลล์ ค่าน้ำตาล และปริมาณแอลกอฮอล์ ที่ได้จากเบียร์ที่หมักที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส โดยใช้สายพันธุ์ M-84 ที่ความเข้มข้นของซิงค์ซัลเฟตต่างๆ เมื่อครบ 20 วัน

ความเข้มข้น $ZnSO_4$ (กรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร)				ค่าพีเอช (pH)				จำนวนเซลล์ (โคโลนีต่อมิลลิลิตร)				ค่าน้ำตาล (องศาบริกซ์)				ปริมาณแอลกอฮอล์ (เปอร์เซ็นต์ต่อปริมาตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.392	0.382	0.302	0.3587	4.66	4.67	4.66	4.6633	$0.50x10^6$	$0.65x10^6$	$0.30x10^6$	$0.4800x10^6$	11.0	10.2	10.4	10.5333	5.1	5.0	5.2	5.1000
0.12	0.560	0.267	0.503	0.4433	4.63	4.69	4.62	4.6467	$0.45x10^6$	$0.33x10^6$	$0.20x10^6$	$0.3300x10^6$	11.0	10.0	11.0	10.6667	6.7	5.4	7.8	6.6333
0.24	0.471	0.470	0.398	0.4463	4.66	4.69	4.64	4.6633	$0.28x10^6$	$0.20x10^6$	$0.10x10^6$	$0.5800x10^6$	10.0	13.0	10.4	11.1333	5.7	5.3	5.6	5.5333

ตารางที่ ค-7 ตารางแสดงค่าการดูดกลืนแสง ค่าพีเอช และจำนวนเซลล์ ที่ได้จากเบียร์ที่หมักที่อุณหภูมิ 11 องศาเซลเซียส โดยใช้สายพันธุ์ S-23 ที่ความเข้มข้นของซิงค์ซัลเฟตต่างๆ ก่อนการบ่ม (หมักวันที่ 0)

ความเข้มข้น $ZnSO_4$ (กรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร)				ค่าพีเอช (pH)				จำนวนเซลล์ (โคโลนีต่อมิลลิลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	1.414	1.456	2.359	1.743	5.56	5.57	5.62	5.5800	$0.43x10^6$	$1.26x10^6$	$0.90x10^6$	$0.8517x10^6$
0.12	1.167	2.261	0.760	1.396	5.38	5.33	5.34	5.3500	$1.20x10^6$	$1.05x10^6$	$0.90x10^6$	$1.0500x10^6$
0.24	1.378	2.287	1.108	1.591	5.24	5.29	5.25	5.2600	$1.18x10^6$	$0.50x10^6$	$1.13x10^6$	$0.9333x10^6$

ตารางที่ ค-8 ตารางแสดงค่าการดูดกลืนแสง ค่าพีเอช และจำนวนเซลล์ ที่ได้จากเบียร์ที่หมักที่อุณหภูมิ 11 องศาเซลเซียส โดยใช้สายพันธุ์ M-84 ที่ความเข้มข้นของซิงค์ซัลเฟตต่างๆ ก่อนการบ่ม (หมักวันที่ 0)

ความเข้มข้น $ZnSO_4$ (กรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร)				ค่าพีเอช (pH)				จำนวนเซลล์ (โคโลนีต่อมิลลิลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	1.024	2.285	2.507	1.939	5.62	5.68	5.70	5.67	$2.85x10^6$	$2.25x10^6$	$2.30x10^6$	$2.4667x10^6$
0.12	0.886	2.295	1.405	1.529	5.38	5.44	5.42	5.41	$3.35x10^6$	$2.60x10^6$	$2.68x10^6$	$2.8767x10^6$
0.24	2.406	2.386	1.248	2.013	5.34	5.34	5.34	5.34	$1.43x10^6$	$2.38x10^6$	$1.95x10^6$	$1.9200x10^6$

ตารางที่ ค-9 ตารางแสดงค่าการดูดกลืนแสง ค่าพีเอช จำนวนเซลล์ ค่าน้ำตาล และปริมาณแอลกอฮอล์ ที่ได้จากเบียร์ที่หมักที่อุณหภูมิ 11 องศาเซลเซียส โดยใช้สายพันธุ์ S-23 ที่ความเข้มข้นของซิงค์ซัลเฟตต่างๆ เมื่อเวลาผ่านไป 6 วัน

ความเข้มข้น $ZnSO_4$ (กรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร)				ค่าพีเอช (pH)				จำนวนเซลล์ (โคโลนีต่อมิลลิลิตร)				ค่าน้ำตาล (องศาบริกซ์)				ปริมาณแอลกอฮอล์ (เปอร์เซ็นต์ต่อปริมาตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	2.585	2.223	2.659	2.489	3.72	3.89	3.65	3.75	$5.45x10^6$	$1.60x10^6$	$2.03x10^6$	$3.0300x10^6$	7.8	8.8	8.1	8.2000	2.1	1.3	2.2	1.9000
0.12	2.368	2.333	2.062	2.254	3.60	3.34	3.83	3.59	$3.40x10^6$	$2.08x10^6$	$1.50x10^6$	$2.3300x10^6$	7.8	7.0	9.0	7.9000	2.3	2.2	1.1	1.9000
0.24	0.895	1.084	1.080	1.020	3.91	3.80	4.00	3.90	$5.30x10^6$	$1.73x10^6$	$2.38x10^6$	$3.1400x10^6$	9.0	8.8	9.0	8.9000	0.9	2.1	0.5	1.2000

ตารางที่ ค-10 ตารางแสดงค่าการดูดกลืนแสง ค่าพีเอช จำนวนเซลล์ ค่าน้ำตาล และปริมาณแอลกอฮอล์ ที่ได้จากเบียร์ที่หมักที่อุณหภูมิ 11 องศาเซลเซียส โดยใช้สายพันธุ์ M-84 ที่ความเข้มข้นของซิงค์ซัลเฟตต่างๆ เมื่อเวลาผ่านไป 6 วัน

ความเข้มข้น $ZnSO_4$ (กรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร)				ค่าพีเอช (pH)				จำนวนเซลล์ (โคโลนีต่อมิลลิลิตร)				ค่าน้ำตาล (องศาบริกซ์)				ปริมาณแอลกอฮอล์ (เปอร์เซ็นต์ต่อปริมาตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.568	0.623	0.622	0.604	3.64	3.42	3.42	3.4900	$1.45x10^6$	$1.08x10^6$	$3.60x10^6$	$2.0400x10^6$	5.9	5.8	5.2	5.6000	3.7	3.7	3.6	3.7000
0.12	0.626	0.562	0.848	0.679	3.36	3.33	3.36	3.3500	$4.13x10^6$	$4.30x10^6$	$6.23x10^6$	$4.8900x10^6$	5.7	5.8	5.7	5.7000	3.6	3.6	3.4	3.5000
0.24	0.592	0.828	0.674	0.698	3.31	3.30	3.33	3.3100	$1.73x10^6$	$2.70x10^6$	$4.40x10^6$	$2.9400x10^6$	5.5	5.2	5.1	5.3000	3.6	3.7	3.8	3.7000

ตารางที่ ค-11 ตารางแสดงค่าการดูดกลืนแสง ค่าพีเอช จำนวนเซลล์ ค่าน้ำตาล และปริมาณแอลกอฮอล์ ที่ได้จากเบียร์ที่หมักที่อุณหภูมิ 11 องศาเซลเซียส โดยใช้สายพันธุ์ S-23 ที่ความเข้มข้นของซิงค์ซัลเฟตต่างๆ เมื่อ ครบ 20 วัน

ความเข้มข้น $ZnSO_4$ (กรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร)				ค่าพีเอช (pH)				จำนวนเซลล์ (โคโลนีต่อมิลลิลิตร)				ค่าน้ำตาล (องศาบริกซ์)				ปริมาณแอลกอฮอล์ (เปอร์เซ็นต์ต่อปริมาตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.092	0.067	0.082	0.0800	4.48	4.44	4.39	4.4400	$0.075x10^6$	$0.035x10^6$	$0.25x10^6$	$0.2250x10^6$	5.3	4.5	5.8	5.2000	4.1	4.2	4.1	4.1333
0.12	0.063	0.070	0.083	0.0720	4.27	4.22	4.26	4.2500	$0.10x10^6$	$0.13x10^6$	$0.03x10^6$	$0.085x10^6$	5.7	5.2	5.5	5.5000	4.3	4.2	4.1	4.2000
0.24	0.068	0.073	0.053	0.0650	4.41	4.42	4.47	4.4300	$0.05x10^6$	$0.28x10^6$	0	$0.1100x10^6$	5.8	5.9	5.8	5.8000	4.3	4.3	4.3	4.3000

ตารางที่ ค-12 ตารางแสดงค่าการดูดกลืนแสง ค่าพีเอช จำนวนเซลล์ ค่าน้ำตาล และปริมาณแอลกอฮอล์ ที่ได้จากเบียร์ที่หมักที่อุณหภูมิ 11 องศาเซลเซียส โดยใช้สายพันธุ์ M-84 ที่ความเข้มข้นของซิงค์ซัลเฟตต่างๆ เมื่อ ครบ 20 วัน

ความเข้มข้น $ZnSO_4$ (กรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร)				ค่าพีเอช (pH)				จำนวนเซลล์ (โคโลนีต่อมิลลิลิตร)				ค่าน้ำตาล (องศาบริกซ์)				ปริมาณแอลกอฮอล์ (เปอร์เซ็นต์ต่อปริมาตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.062	0.055	0.053	0.0570	4.34	4.29	4.30	4.3000	$0.13x10^6$	$0.18x10^6$	$0.13x10^6$	$0.1470x10^6$	5.2	5.8	5.2	5.4000	4.3	3.9	3.8	4.0000
0.12	0.071	0.058	0.061	0.0630	4.27	4.25	4.27	4.2600	$0.23x10^6$	$0.23x10^6$	$0.15x10^6$	$0.2030x10^6$	5.7	5.5	5.1	5.4000	3.9	3.9	3.7	3.8333
0.24	0.065	0.069	0.068	0.0670	4.23	4.21	4.23	4.2200	$0.15x10^6$	$0.13x10^6$	$0.15x10^6$	$0.1430x10^6$	5.5	5.8	5.8	5.7000	3.8	3.7	3.8	3.7666

ตารางที่ ค-13 ตารางแสดงค่าการดูดกลืนแสง ค่าพีเอช และจำนวนเซลล์ ที่ได้จากเบียร์ที่หมักที่อุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส โดยใช้สายพันธุ์ S-23 ที่ความเข้มข้นของซิงค์ซัลเฟตต่างๆ ก่อนการบ่ม (หมักวันที่ 0)

ความเข้มข้น $ZnSO_4$ (กรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร)				ค่าพีเอช (pH)				จำนวนเซลล์ (โคโลนีต่อมิลลิลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	2.861	3.807	3.883	3.5170	5.52	5.50	5.48	5.5000	$0.53x10^6$	$0.95x10^6$	$2.06x10^6$	$1.1800x10^6$
0.12	3.640	3.943	3.465	3.6827	5.51	5.50	5.51	5.5067	$0.23x10^6$	$3.68x10^6$	$0.80x10^6$	$1.5700x10^6$
0.24	3.389	3.551	3.257	3.3990	5.74	5.77	5.77	5.7600	$1.85x10^6$	$1.93x10^6$	$0.68x10^6$	$1.4867x10^6$

ตารางที่ ค-14 ตารางแสดงค่าการดูดกลืนแสง ค่าพีเอช และจำนวนเซลล์ ที่ได้จากเบียร์ที่หมักที่อุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส โดยใช้สายพันธุ์ M-84 ที่ความเข้มข้นของซิงค์ซัลเฟตต่างๆ ก่อนการบ่ม (หมักวันที่ 0)

ความเข้มข้น $ZnSO_4$ (กรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร)				ค่าพีเอช (pH)				จำนวนเซลล์ (โคโลนีต่อมิลลิลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	3.020	2.984	2.969	2.9927	5.51	5.51	5.51	5.5100	$5.73x10^6$	$5.28x10^6$	$2.050x10^7$	$10.5033x10^6$
0.12	2.686	2.677	2.675	2.6793	5.32	5.27	5.27	5.2867	$5.10x10^6$	$3.73x10^6$	$6.78x10^6$	$5.2033x10^6$
0.24	2.746	2.756	2.751	2.7510	5.23	5.27	5.27	5.2567	$6.48x10^6$	$1.35x10^6$	$2.06x10^6$	$3.2967x10^6$

ตารางที่ ค-15 ตารางแสดงค่าการดูดกลืนแสง ค่าพีเอช จำนวนเซลล์ ค่าน้ำตาล และปริมาณแอลกอฮอล์ ที่ได้จากเบียร์ที่หมักที่อุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส โดยใช้สายพันธุ์ S-23 ที่ความเข้มข้นของซิงค์ซัลเฟตต่างๆ เมื่อเวลาผ่านไป 6 วัน

ความเข้มข้น $ZnSO_4$ (กรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร)				ค่าพีเอช (pH)				จำนวนเซลล์ (โคโลนีต่อมิลลิลิตร)				ค่าน้ำตาล (องศาบริกซ์)				ปริมาณแอลกอฮอล์ (เปอร์เซ็นต์ต่อปริมาตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.290	0.296	2.400	0.3287	4.89	4.85	4.89	4.8767	$4.48x10^6$	$2.73x10^6$	$3.05x10^6$	$3.3867x10^6$	10.5	10.0	10.0	10.1667	1.6	1.6	1.6	1.6000
0.12	1.165	1.239	0.773	1.0590	4.59	4.60	4.62	4.6033	$2.50x10^5$	$1.90x10^6$	$3.00x10^5$	$0.8167x10^6$	13.0	10.0	10.0	11.0000	2.2	2.2	2.2	2.2000
0.24	1.868	1.776	0.699	1.4477	4.63	4.62	4.64	4.6300	$3.38x10^6$	$3.40x10^6$	$5.50x10^5$	$2.4433x10^6$	11.5	11.5	10.0	11.000	4.6	4.6	3.3	4.1667

ตารางที่ ค-16 ตารางแสดงค่าการดูดกลืนแสง ค่าพีเอช จำนวนเซลล์ ค่าน้ำตาล และปริมาณแอลกอฮอล์ ที่ได้จากเบียร์ที่หมักที่อุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส โดยใช้สายพันธุ์ M-84 ที่ความเข้มข้นของซิงค์ซัลเฟตต่างๆ เมื่อเวลาผ่านไป 6 วัน

ความเข้มข้น $ZnSO_4$ (กรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร)				ค่าพีเอช (pH)				จำนวนเซลล์ (โคโลนีต่อมิลลิลิตร)				ค่าน้ำตาล (องศาบริกซ์)				ปริมาณแอลกอฮอล์ (เปอร์เซ็นต์ต่อปริมาตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.260	0.290	0.393	0.3143	4.77	4.78	4.78	4.7767	$8.50x10^5$	$7.25x10^5$	$23.8x10^5$	$13.1833x10^5$	10.0	10.0	10.0	10.0000	1.6	1.1	1.1	1.2667
0.12	0.734	0.684	0.679	0.6990	4.48	4.48	4.47	4.4767	$2.03x10^6$	$0.98x10^6$	$5.55x10^6$	$2.8517x10^6$	9.8	10.0	10.0	9.9333	2.2	2.2	2.2	2.2000
0.24	0.704	0.947	0.910	0.8587	4.43	4.44	4.45	4.4400	$2.45x10^6$	$4.08x10^6$	$7.03x10^6$	$4.5200x10^6$	10.0	10.0	10.0	10.0000	3.3	3.3	3.3	3.3000

ตารางที่ ค-17 ตารางแสดงค่าการดูดกลืนแสง ค่าพีเอช จำนวนเซลล์ ค่าน้ำตาล และปริมาณแอลกอฮอล์ ที่ได้จากเบียร์ที่หมักที่อุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส โดยใช้สายพันธุ์ S-23 ที่ความเข้มข้นของซิงค์ซัลเฟตต่างๆ เมื่อครบ 20 วัน

ความเข้มข้น $ZnSO_4$ (กรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร)				ค่าพีเอช (pH)				จำนวนเซลล์ (โคโลนีต่อมิลลิลิตร)				ค่าน้ำตาล (องศาบริกซ์)				ปริมาณแอลกอฮอล์ (เปอร์เซ็นต์ต่อปริมาตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.355	0.301	0.440	0.6530	5.09	5.02	5.11	5.0733	$0.85x10^6$	$0.95x10^6$	$1.20x10^6$	$1.0000x10^6$	10.0	10.0	10.0	10.0000	3.5	3.5	3.3	3.4333
0.12	0.311	0.443	0.356	0.3700	4.03	4.71	4.75	4.4967	$0.53x10^6$	$0.39x10^6$	$0.13x10^6$	$0.3400x10^6$	9.5	9.5	9.5	9.5000	4.6	4.9	4.9	4.8000
0.24	0.719	0.865	0.268	0.6173	4.75	4.81	4.83	4.7967	$1.10x10^6$	$1.70x10^6$	$0.58x10^6$	$1.1000x10^6$	11.0	11.1	9.9	10.6667	7.9	7.9	6.4	7.4000

ตารางที่ ค-18 ตารางแสดงค่าการดูดกลืนแสง ค่าพีเอช จำนวนเซลล์ ค่าน้ำตาล และปริมาณแอลกอฮอล์ ที่ได้จากเบียร์ที่หมักที่อุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส โดยใช้สายพันธุ์ M-84 ที่ความเข้มข้นของซิงค์ซัลเฟตต่างๆ เมื่อ ครบ 20 วัน

ความเข้มข้น $ZnSO_4$ (กรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง (ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร)				ค่าพีเอช (pH)				จำนวนเซลล์ (โคโลนีต่อมิลลิลิตร)				ค่าน้ำตาล (องศาบริกซ์)				ปริมาณแอลกอฮอล์ (เปอร์เซ็นต์ต่อปริมาตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.341	0.162	0.308	0.2703	4.86	4.79	4.84	4.8300	$1.70x10^6$	$0.88x10^6$	$2.40x10^6$	$1.6600x10^6$	10.0	10.0	10.0	10.0000	3.6	3.4	3.4	3.4667
0.12	0.453	0.352	0.300	0.3683	4.59	4.55	4.55	4.5633	$2.80x10^6$	$1.88x10^6$	$0.70x10^6$	$1.7933x10^6$	9.9	9.8	9.9	9.8667	4.6	4.7	4.6	4.6333
0.24	0.536	0.693	0.585	0.6047	4.58	4.56	4.52	4.5533	$5.30x10^6$	$2.33x10^6$	$1.73x10^6$	$3.1200x10^6$	9.9	9.9	9.8	9.8667	5.7	5.9	5.6	5.7333

ตารางที่ ค-19 ตารางแสดงค่าพีเอชของเบียร์ทั้ง 3 รสชาติ ที่หมักที่อุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส โดยใช้สายพันธุ์ S-23 ที่ความเข้มข้นของซิงค์ซัลเฟต 0.24 กรัมต่อลิตร

วันที่	0	3	6	9	12	15	18	21
เบียร์ส้ม	4.11	4.13	4.09	4.13	4.05	4.05	4.04	4.07
เบียร์กระเจี๊ยบ	4.06	3.85	3.89	3.93	3.89	3.93	3.95	3.98
เบียร์สะระแหน่	4.03	4.54	4.56	4.63	4.63	4.60	4.61	4.64

ตารางที่ ค-20 แสดงค่าน้ำตาลของเบียร์ทั้ง 3 รสชาติ ที่หมักที่อุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส โดยใช้สายพันธุ์ S-23 ที่ความเข้มข้นของซิงค์ซัลเฟต 0.24 กรัมต่อลิตร

วันที่	0	3	6	9	12	15	18	21
เบียร์ส้ม	12.1	8.1	7.9	7.0	6.8	6.1	5.2	5.1
เบียร์กระเจี๊ยบ	10.8	8.1	8.1	7.9	7.9	7.9	7.8	7.8
เบียร์สะระแหน่	11.3	8.8	8.2	8.1	8.0	8.0	7.9	7.8

ตารางที่ ค-21 แสดงค่าแอลกอฮอล์ที่วัดด้วยเครื่องอิบูลิโอมิเตอร์ ที่หมักที่อุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส โดยใช้สายพันธุ์ S-23 ที่ความเข้มข้นของซิงค์ซัลเฟต 0.24 กรัมต่อลิตร

วันที่	0	3	6	9	12	15	18	21
เบียร์ส้ม	0	3	3.5	4	4.2	4.6	5.4	5.6
เบียร์กระเจี๊ยบ	0	2	2.1	2.2	2.2	2.2	2.3	2.5
เบียร์สะระแหน่	0	2.2	2.3	2.4	2.4	2.7	2.4	3.1

ตารางที่ ค-22 แสดงปริมาณเอทานอลที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gas Chromatography ที่หมักที่อุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส โดยใช้สายพันธุ์ S-23 ที่ความเข้มข้นของซิงค์ซัลเฟต 0.24 กรัมต่อลิตร

วันที่	0	3	6	9	12	15	18	21
เบียร์ส้ม	0	8.6751	5.8370	10.0779	15.4731	13.8312	19.4599	19.6682
เบียร์กระเจี๊ยบ	0	4.4436	5.3170	7.2351	4.5012	6.1384	5.2027	6.0966
เบียร์สะระแหน่	0	4.7088	6.4398	7.0118	8.1448	8.1346	7.9160	4.3190

ภาคผนวก ง

การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P \leq 0.05$) โดยใช้โปรแกรม SPSS ในการวิเคราะห์

ตารางที่ ง-1 แสดงค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของลักษณะปรากฏในเบียร์ทั้ง 3 รสชาติ

		ลักษณะปรากฏ				
		Count	Mean	Maximum	Minimum	Standard Deviation
Type	236	50	6.24	9.00	3.00	1.55
	503	50	6.06	9.00	3.00	1.58
	972	50	6.04	9.00	2.00	1.63

ตารางที่ ง-2 แสดงค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของกลิ่นในเบียร์ทั้ง 3 รสชาติ

		กลิ่น				
		Count	Mean	Maximum	Minimum	Standard Deviation
Type	236	50	6.62	9.00	3.00	1.54
	503	50	6.76	9.00	3.00	1.74
	972	50	6.82	9.00	3.00	1.40

ตารางที่ ง-3 แสดงค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของรสชาติปรากฏในเบียร์ทั้ง 3 รสชาติ

		รสชาติ				
		Count	Mean	Maximum	Minimum	Standard Deviation
Type	236	50	5.72	9.00	1.00	1.96
	503	50	5.52	9.00	2.00	1.78
	972	50	5.50	9.00	1.00	2.15

ตารางที่ ง-4 แสดงค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของลักษณะโดยรวมในเบียร์ทั้ง 3 รสชาติ

	โดยรวม				
	Count	Mean	Maximum	Minimum	Standard Deviation
Type 236	50	6.24	9.00	3.00	1.55
503	50	6.06	9.00	3.00	1.58
972	50	6.04	9.00	2.00	1.63

ตารางที่ ง-5 แสดงค่าวิเคราะห์ความแปรปรวน (Anova) ของลักษณะปรากฏในเบียร์ทั้ง 3 รสชาติ

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.280	2	.140	.082	.921
Within Groups	249.480	147	1.697		
Total	249.760	149			

ตารางที่ ง-6 แสดงค่าวิเคราะห์ความแปรปรวน (Anova) ของกลิ่นในเบียร์ทั้ง 3 รสชาติ

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.053	2	.527	.215	.807
Within Groups	360.280	147	2.451		
Total	361.333	149			

ตารางที่ ง-7 แสดงค่าวิเคราะห์ความแปรปรวน (Anova) ของรสชาติในเบียร์ทั้ง 3 รสชาติ

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.480	2	.740	.191	.826
Within Groups	569.060	147	3.871		
Total	570.540	149			

ตารางที่ ง-8 แสดงค่าวิเคราะห์ความแปรปรวน (Anova) ลักษณะโดยรวมในเบียร์ทั้ง 3 รสชาติ

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.213	2	.607	.241	.786
Within Groups	369.860	147	2.516		
Total	371.073	149			

*สรุปว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ .05 คิดเหมือนกันในทุกกลุ่ม