รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการวิจัย

การคัดแยกจุลินทรีย์ออโตโคนัสที่เกี่ยวข้องกับการหมักน้ำสับปะรดคั้นสด เป็นกล้าเชื้อสำหรับการผลิตน้ำผลไม้น้ำตาลต่ำ

Isolation of autochthonous microorganisms associated with fermentation of freshly crushed pineapple juice as starter culture for low sugar fruit juice production

นางสาวอรอง จันทร์ประสาทสุข

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน)
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. ๒๕๖๑
มหาวิทยาลัยบูรพา

รหัสโครงการ 693978

สัญญาเลขที่ 78/2561

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการวิจัย
การคัดแยกจุลินทรีย์ออโตโคนัสที่เกี่ยวข้องกับการหมักน้ำสับปะรดคั้นสด เป็นกล้าเชื้อสำหรับการผลิตน้ำผลไม้น้ำตาลต่ำ
Isolation of autochthonous microorganisms associated with fermentation of freshly crushed pineapple juice as starter culture for low sugar fruit juice production

นางสาวอรอง จันทร์ประสาทสุข

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2561 มหาวิทยาลัยบูรพาผ่านสำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ เลขที่สัญญา 78/2560

Acknowledgment

This work was financially supported by the Research Grant of Burapha University through National Research Council of Thailand (Grant no. 78/2561)

บทคัดย่อ

สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียเป็นพันธุ์ที่นิยมเพาะปลูกทั่วไปในเขตภาคตะวันออก เนื้อผลมีสีเหลือง รสชาติหวานอมเปรี้ยว และมีสมบัติที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์ การหมักเครื่องดื่มแอลกอฮอล์โดยทั่วไปนั้นนิยมใช้กล้าเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* อย่างไรก็ตาม มีรายงานว่ายีสต์กลุ่ม Non – *Saccharomyces* บางสายพันธุ์เป็นยีสต์ที่มีศักยภาพในการหมักเช่นกัน งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษารูปแบบการหมักน้ำสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียด้วยกล้าเชื้อเดี่ยวของ *Saccharomyces cerevisiae*, *Meyerozyma guilliermondii* และ *Hanseniaspora guilliermondii* กล้าเชื้อผสมของ *M. guilliermondii* และ *H. guilliermondii* และ กล้าเชื้อลำดับของกล้าเชื้อเดี่ยวและผสมข้างต้นตามด้วยกล้าเชื้อ *S. cerevisiae* ในวันที่ 4 ของการหมัก จากการวิเคราะห์สมบัติทางเคมีของน้ำสับปะรดคั้นสด ได้แก่ ค่าความเป็นกรดด่าง (pH), ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (TSS), ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดซิตริก (TTA) และปริมาณไนโตรเจน พบว่ามีค่าเท่ากับ 3.84 ± 0.12, 14.7 ± 0.5 °Brix, 0.47 ± 0.07% และ 0.07 ± 0.00%w/v ตามลำดับ จากนั้นนำน้ำสับปะรดมาปรับปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเป็น 15 °Brix และเติมโปแตสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ นำมาหมักด้วยกล้าเชื้อดังข้างต้น ที่อุณหภูมิห้อง นาน 6 วัน ติดตามจำนวนประชากรชากรยีสต์ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ปริมาณแอลกอฮอล์ ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดซิตริก และค่าความเป็นกรดด่างตั้งแต่เริ่มต้นจนสิ้นสุดการหมัก จากผลการทดลอง พบว่า รูปแบบการหมักน้ำสับปะรดด้วยกล้าเชื้อเดี่ยวของ Non-*Saccharomyces* ทั้งสองสายพันธุ์มีรูปแบบใกล้เคียงกัน และแตกต่างจากรูปแบบการหมักของกล้าเชื้อเดี่ยว *S. cerevisiae* อย่างชัดเจน รูปแบบการหมักน้ำสับปะรดแบบลำดับด้วยกล้าเชื้อเดี่ยวและผสมของยีสต์ Non-*Saccharomyces* ตามด้วย *S. cerevisiae* พบว่าการหมักน้ำสับปะรดด้วยกล้าเชื้อยีสต์ Non-*Saccharomyces* ทำให้ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดลดลงเล็กน้อยในวันที่ 0 - 3 ของการหมัก และเมื่อเติมกล้าเชื้อ *S. cerevisiae* ในวันที่ 4 ของการหมัก พบการลดลงของปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดลงอย่างรวดเร็ว สอดคล้องกับจำนวนประชากรของ *S. cerevisiae* ที่มีจำนวนเพิ่มขึ้น ขณะที่จำนวนประชากรของยีสต์ Non-*Saccharomyces* เริ่มลดจำนวนลง จากผลการวิเคราะห์พบว่า ผลิตภัณฑ์น้ำสับปะรดหมักที่ได้มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ปริมาณแอลกอฮอล์ ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดซิตริก และค่าความเป็นกรดด่างอยู่ระหว่าง 5.0-8.8 °Brix, 5.1-8.7 %v/v, 0.48-0.57 % และ 3.75-3.94 ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำสับปะรดหมักเหล่านี้จะถูกนำไปทดสอบทางประสาทสัมผัสและการยอมรับโดยผู้บริโภคต่อไป

Abstract

Pattawia pineapple variety is generally cultivated in the eastern region of Thailand. Its flesh is yellow in color with balances the tastes of sweet and sour and there are suitable properties for yeast growth. *Saccharomyces cerevisiae* yeast is commonly used for alcoholic fermentation. However, some of non – *Saccharomyces* yeasts have the potential to ferment as well. This study aims to investigate the patterns of fermented pineapple juice with single culture of *Saccharomyces cerevisiae*, *Meyerozyma guilliermondii* and *Hanseniaspora guilliermondii*, and mixed cultures of *M. guilliermondii* and *H. guilliermondii*. The sequential cultures of all culture as above followed by *S. cerevisiae* in day 4 of fermentation were also investigated. The properties of fresh crushed pineapple juice i.e. pH, total soluble solids (TSS), total titratable acidity as citric acid (TTA) and nitrogen content were 3.84 ± 0.12, 14.7 ± 0.5 °Brix, 0.47 ± 0.07%, 0.07 ± 0.00 %w/v, respectively. The juice was adjusted to 15°Brix with potassium metabisulfite adding. The pineapple musts were fermented with starter culture as above at room temperature for 6 days. The population of yeast, TSS, alcohol content, TTA and pH value of fermented pineapple juices were investigated through the fermentation. The results showed that patterns of fermented pineapple juice by single and mixed cultures of non – *Saccharomyces* yeasts are similar which obviously differed from the patterns of fermented pineapple juice with *S. cerevisiae*. The sequential fermentation patterns, fermented pineapple juice with single and mixed cultures of non – *Saccharomyces* yeasts followed by *S. cerevisiae*, showed the slightly decreasing of TSS during 0-3 day of fermentation, then TSS rapidly decreased after *S. cerevisiae* yeast adding on day 4 of fermentation which corresponding to the increasing of its population. While the population of non-*Saccharomyces* has decreased. Based on the results of analysis, TSS, alcohol content, TTA and pH value of fermented pineapple were 5.0-8.8 °Brix, 5.1-8.7%v/v, 0.48-0.57% and 3.75-3.94, respectively. However, these fermented pineapple juice products will be further sensory and acceptability evaluated.

สารบัญเรื่อง (Table of Contents)

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
สารบัญเรื่อง	จ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญภาพ	ซ
เรื่อง	
1. เนื้อหาของเรื่องที่เคยมีผู้ทำการวิจัยมาก่อน	
1.1 สับปะรด	1
1.2 ไวน์	2
1.3 การผลิตไวน์	4
1.4 การหมักแอลกอฮอล์	8
1.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	9
1.6 Non-*Saccharomyces* yeasts	10
2. ความสำคัญและที่มาของปัญหา	13
3. วัตถุประสงค์และขอบเขตการวิจัย	13
4. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	13
5. รายละเอียดเกี่ยวกับวิธีดำเนินการวิจัย	14
5.1 การเตรียมตัวอย่างน้ำสับปะรด	14
5.2 การเพาะเลี้ยงกล้าเชื้อ	14
5.3 การหมักน้ำสับปะรด	14

เรื่อง	หน้า
5.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ	15
6. ผลการวิจัยและวิจารณ์	15
6.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำสับปะรด	15
6.2 การหมักไวน์สับปะรด	16
7. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	29
ผลผลิต	30
รายงานสรุปการเงิน	31
เอกสารอ้างอิง	33
ภาคผนวก	39
ประวัตินักวิจัย	77

สารบัญตาราง (List of tables)

ตารางที่		หน้า
5.1	กล้าเชื้อยีสต์ที่ใช้ในการหมักน้ำสับปะรด	15
6.1	สมบัติของน้ำสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย	15

สารบัญภาพ (List of illustrations)

ภาพที่		หน้า
1.1	รูปแบบการหมักแอลกอฮอล์โดยยีสต์	9
6.1	การเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์, ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด, ปริมาณแอลกอฮอล์, ปริมาณกรดทั้งหมด และค่าความเป็นกรดด่าง ในระหว่างการหมักน้ำสับปะรดด้วยกล้าเชื้อเดี่ยว *S. cerevisiae* นาน 6 วัน	18
6.2	การเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์, ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด, ปริมาณแอลกอฮอล์, ปริมาณกรดทั้งหมด และค่าความเป็นกรดด่าง ในระหว่างการหมักน้ำสับปะรดด้วยกล้าเชื้อเดี่ยว *M. guilliermondii* นาน 6 วัน	19
6.3	การเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์, ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด, ปริมาณแอลกอฮอล์, ปริมาณกรดทั้งหมด และค่าความเป็นกรดด่าง ในระหว่างการหมักน้ำสับปะรดด้วยกล้าเชื้อเดี่ยว *H. guilliermondii* นาน 6 วัน	21
6.4	การเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์, ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด, ปริมาณแอลกอฮอล์, ปริมาณกรดทั้งหมด และค่าความเป็นกรดด่าง ในระหว่างการหมักน้ำสับปะรดด้วยกล้าเชื้อร่วม *H. guilliermondii* และ *M. guilliermondii* นาน 6 วัน	22
6.5	การเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์, ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด, ปริมาณแอลกอฮอล์, ปริมาณกรดทั้งหมด และค่าความเป็นกรดด่าง	24

ภาพที่ **หน้า**

ในระหว่างการหมักน้ำสับปะรดด้วยกล้าเชื้อเดี่ยว *M. guilliermondii* ตามด้วยกล้าเชื้อ *S. cerevisiae* แบบลำดับ นาน 6 วัน

6.6 การเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์, ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด, ปริมาณแอลกอฮอล์, ปริมาณกรดทั้งหมด และค่าความเป็นกรดด่าง ในระหว่างการหมักน้ำสับปะรดด้วยกล้าเชื้อเดี่ยว *H. guilliermondii* ตามด้วยกล้าเชื้อ *S. cerevisiae* แบบลำดับ นาน 6 วัน 25

6.7 การเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์, ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด, ปริมาณแอลกอฮอล์, ปริมาณกรดทั้งหมด และค่าความเป็นกรดด่าง ในระหว่างการหมักน้ำสับปะรดด้วยกล้าเชื้อผสมของ *H. guilliermondii* และ *M. guilliermondii* ตามด้วยกล้าเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* แบบลำดับ นาน 6 วัน 27

บทนำ (Introduction)

1. เนื้อหาของเรื่องที่เคยมีผู้ทำการวิจัยมาก่อน

1.1 สับปะรด

สับปะรดเป็นผลไม้เขตร้อนที่อุดมไปด้วยวิตามิน แร่ธาตุ ใยอาหาร และมีเอนไซม์โบรมิเลนสับปะรด 100 กรัม จะให้พลังงานประมาณ 50 กิโลแคลลอรี่ สารสำคัญที่พบในสับปะรดคือสารในกลุ่ม phytoestrogens, isoflavones, lignans, phenolics, กรดซิตริก, กรดมาลิก, วิตามินต่างๆ รวมทั้งเอนไซม์โบรมิเลน (กฤติยา ไชยนอก, 2561) สับปะรดเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญอย่างยิ่งของประเทศเนื่องจากสามารถนำมาใช้ในอุตสาหกรรมแปรรูปเพื่อส่งออกไปจำหน่ายต่างประเทศ เช่น สับปะรดกระป๋อง สับปะรดแช่แข็ง น้ำผลไม้และผลไม้แปรรูป เป็นต้น (ประดิษฐ์ ครุวัณณา, 2557)

สับปะรดพันธุ์ที่ปลูกในประเทศไทยแบ่งออกได้เป็น 5 พันธุ์โดยถือตามลักษณะของต้นที่ได้ขนาดโตเต็มที่ และแข็งแรงสมบูรณ์เป็นบรรทัดฐานดังนี้คือ พันธุ์ปัตตาเวีย พันธุ์อินทรชิต พันธุ์ขาวพันธุ์ภูเก็ตหรือพันธุ์สวีและพันธุ์นางแลหรือพันธุ์น้ำผึ้ง

สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย มีชื่อเรียกหลายชื่อ เช่น สับปะรดศรีราชา พันธุ์ตาดำ ตาแดง กัลกัตตาหรือสับปะรดปราณบุรี สับปะรดพันธุ์นี้มีใบเขียวเข้ม ผิวใบด้านบนเป็นเงามัน ขอบใบเรียบกว่าทุกพันธุ์ อาจมีหนามที่ปลายใบ ช่อดอกมีดอกย่อยประมาณ 150 ดอก กลีบดอกสีม่วงอมน้ำเงิน ผลมีขนาดใหญ่ตั้งแต่ 2-6 กิโลกรัม ก้านผลสั้น เปลือกผลเขียว เมื่อแก่จะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอมส้ม เหลืองอมเขียวหรือยังคงเขียวเข้ม ตาค่อนข้างตื้น แกนใหญ่ มีเนื้อละเอียด สีเหลืองรสหวานฉ่ำ ผลที่มีขนาดใหญ่จะเป็นรูปทรงโคนใหญ่ ปลายเรียว แต่ผลขนาดเล็กและขนาดกลาง ส่วนใหญ่จะเป็นทรงกระบอก

1.1.1 องค์ประกอบทางเคมีของสับปะรด

สับปะรด มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Ananas comosus* บางครั้งเรียกว่า “ราชาแห่งผลไม้” สับปะรดมีการปลูกอย่างแพร่หลายในฮาวาย ฟิลิปปินส์ ภูมิภาคแคริบเบียน มาเลเซีย ไต้หวัน ไทย ออสเตรเลีย เม็กซิโก เคนยาและแอฟริกาใต้ สับปะรดเป็นผลไม้เขตร้อนและกึ่งเขตร้อนที่ได้รับความนิยมมากที่สุดชนิดหนึ่ง เนื่องจากมีรสชาติอันเป็นเอกลักษณ์และทำให้สดชื่น ปรับสมดุลกระน้ำตาล สามารถใช้ได้ทั้งในรูปแบบสด บรรจุกระป๋องและน้ำผลไม้ ในสับปะรด 100 กรัม ให้พลังงาน 47-52 แคลลอรี่ มีน้ำ 85.3-87.0 กรัม โปรตีน 0.4–0.7 กรัม ไขมัน 0.2-0.3 กรัม คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด 11.6 - 13.7 กรัม ไฟเบอร์ 0.4-0.5 กรัม เถ้า 0.3-0.4 กรัม แคลเซียม 17-18 มิลลิกรัม ฟอสฟอรัส 8-12 มิลลิกรัม เหล็ก 0.5 มิลลิกรัม โซเดียม 1-2 กรัม และโพแทสเซียม 125-146 มิลลิกรัม สับปะรดมีน้ำตาลประมาณ 12-15% โดยสองในสามส่วนอยู่ในรูปแบบของซูโครสและส่วนที่เหลือเป็นกลูโคสและฟรุกโตส สับปะรดมีความเป็นกรดประมาณ 1.6–1.2% โดย 87% ของปริมาณกรดทั้งหมดเป็น กรดซิตริกและเป็นกรดมาลิก 13% pH ของสับปะรดมีสภาพเป็นกรดซึ่ง

เท่ากับ 3.71 องค์ประกอบของสับปะรดนั้นแตกต่างกันไปตามแต่พื้นที่การเก็บเกี่ยวและการแปรรูป (Sairi, Masniza & Law, Jeng Yih & Sarmidi, Mohamad, 2004)

1.2 ไวน์ (wine) (ประดิษฐ์ ครุวัณณา, 2545)

ไวน์ (wine) หมายถึง เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ที่ได้จากการหมักน้ำองุ่นด้วยเชื้อยีสต์ ไวน์ประกอบด้วย เอทิลแอลกอฮอล์ น้ำตาล คาร์โบไฮเดรต กรดอินทรีย์ รงควัตถุ สารให้กลิ่นรส วิตามิน และแร่ธาตุต่างๆ สามารถทำการหมักไวน์โดยใช้ยีสต์ที่เจริญตามธรรมชาติบนผิวของผลองุ่นหรืออาจเติมยีสต์ที่คัดเลือกไว้แล้ว ไวน์เป็นเครื่องดื่มที่นิยมทั่วโลกมาเป็นเวลานาน มีรสชาติหลากหลายสามารถเลือกดื่มให้เหมาะกับอาหารนานาชนิด ทั้งก่อนหรือระหว่างรับประทานอาหารหรือหลังรับประทานอาหาร และตามโอกาสต่างๆ

สำหรับการทำไวน์ในประเทศไทยมีมานานแล้ว แต่เนื่องจากพื้นที่ส่วนใหญ่ของประเทศไทยไม่สามารถปลูกองุ่นพันธุ์สำหรับทำไวน์ได้ จึงได้ศึกษาการทำไวน์จากผลไม้ชนิดต่างๆ เช่น สับปะรด มะยม กระเจี๊ยบ กระท้อน มะเกี๋ยง มะเม่า ลูกหม่อน พิลังกาสา ตลอดจนเครื่องเทศสมุนไพรต่างๆ เช่น ขิง ข่า ตะไคร้ และใบบัวบก เป็นต้น การใช้วัตถุดิบชนิดอื่นที่ไม่ใช่องุ่นมาทำไวน์จะเรียกตามชนิดของวัตถุดิบนั้น เช่น ไวน์สับปะรด ไวน์เม่า และไวน์มะม่วง เป็นต้น รวมถึงไวน์แอปเปิ้ลหรือที่เรียกว่า ไซเดอร์ (Cider) ที่มีชื่อเสียงของประเทศอังกฤษ เตกีรา ผลิตจากต้นอากาเว (agave) ซึ่งเป็นพืชตระกูลเดียวกับป่านศรนารายณ์ ว่านหางจระเข้ หรือดอกโคม ที่มีชื่อเสียงของประเทศแม็กซิโก และสาเก (Sake) ผลิตจากข้าวของประเทศญี่ปุ่นเป็นต้น

1.2.1 ประเภทของไวน์

อาจแบ่งประเภทหรือชนิดของไวน์ได้หลายแบบ แล้วแต่ว่าจะถืออะไรเป็นหลัก เช่น

- สี แบ่งไวน์ได้เป็นไวน์สีขาว ไวน์สีแดง และไวน์สีชมพู (โรเซ่)

ความหวาน แบ่งไวน์เป็น

- ไวน์ไม่หวาน (Dry wines) จะมีน้ำตาลรีดิวซ์ไม่เกิน 1 %
- ไวน์หวานเล็กน้อย (Semi dry wines) จะมีน้ำตาลรีดิวซ์ 2-5 %
- ไวน์หวาน (Sweet wines) จะมีน้ำตาลรีดิวซ์มากกว่า 5 %

- ปริมาณแอลกอฮอล์ในไวน์ แบ่งไวน์ได้เป็น
  - ไวน์ที่มีแอลกอฮอล์ 8 – 14 % โดยปริมาตร (ดีกรี)
  - ไวน์ที่มีแอลกอฮอล์ 15 - 17% โดยปริมาตร (ดีกรี)
  - ไวน์ที่มีแอลกอฮอล์ 18 - 22% โดยปริมาตร (ดีกรี)
- แก๊สที่ละลายในไวน์ แบ่งไวน์ได้เป็น

- ไวน์นิ่ง (Still wines) ไม่มีแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ละลายในไวน์หรือมีแก๊สละลายอยู่น้อย

- ไวน์ฟอง (Sparkling wines) มีแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ละลายในไวน์ปริมาณหนึ่งตามที่กฎหมายกำหนด

- การเติมกลิ่นรสและสารสกัดสมุนไพร และเครื่องเทศในไวน์ แบ่งไวน์ได้เป็น
  - ไวน์ไม่เติมกลิ่นรสและสารสกัดสมุนไพรและเครื่องเทศ
  - ไวน์เติมกลิ่นรสและสารสกัดสมุนไพรและเครื่องเทศ
- วัตถุดิบ แบ่งไวน์ได้เป็น
  - ไวน์องุ่น
  - ไวน์ข้าว
  - ไวน์ผลไม้
  - ไวน์จากวัตถุดิบทางการเกษตรอื่นๆ เช่น ดอกไม้ ใบไม้ ผลไม้ สมุนไพร น้ำผึ้ง น้ำตาลสด เป็นต้น
- ความนิยมทั่วไป ใช้กันมาก แบ่งไวน์ได้เป็น
  - ไวน์ประจำโต๊ะอาหาร (Table wines) ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นไวน์นิ่ง
  - ไวน์ฟอง (Sparkling wines)
  - ไวน์เติมแอลกอฮอล์กลั่นหรือบรั่นดี (Fortified wines) ทำให้ไวน์มีแรงแอลกอฮอล์สูงกว่า 14 % โดยปริมาตร (ดีกรี) ยังแบ่งย่อยออกเป็น
    - ไม่เติมกลิ่นรสและสารสกัดสมุนไพรและเครื่องเทศ เช่น Sherry, Port, Madiera เป็นต้น
    - เติมกลิ่นรสและสารสกัดสมุนไพรและเครื่องเทศ เช่น Vermouth, Martini, Dubonnet เป็นต้น บางตำราเรียกไวน์กลุ่มนี้ว่า Aromatised wines, Fortified wines มีทั้งแบบไม่หวานและแบบหวาน มีทั้งสีขาว สีแดง และสีอื่นๆ ถ้าเป็นแบบไม่หวานจะใช้ดื่มก่อนอาหารเพื่อเรียกน้ำย่อย เป็น Apprtizer หรือ Aperitif แต่ถ้าเป็นแบบหวานจะดื่มหลังอาหารเป็น Dessert wines หรือเป็น Digestive wines
- อื่นๆ (Other) เช่น
  - ไวน์แอลกอฮอล์ต่ำ (Low alcohol wines) มีแรงแอลกอฮอล์ในไวน์ต่ำกว่า 8 % โดยปริมาตร (ดีกรี) ไวน์คูลเลอร์อาจจัดอยู่ในประเภทนี้
  - ไวน์ที่ถูกกำจัดแอลกอฮอล์ออกไป (Dealcohollised wined) อาจมีแอลกอฮอล์ในไวน์บ้างแต่ไม่เกิน 0.5 % โดยปริมาตร เป็นไวน์ที่ผลิตขึ้นสำหรับผู้อยากดื่มไวน์

แต่แพ้แอลกอฮอล์ หรือสำหรับผู้บริโภคที่นับถืออิสลามหรือศาสนาอื่น ซึ่งมีบทบัญญัติห้ามดื่มเครื่องดื่มแอลกอฮอล์

1..3 การผลิตไวน์

การผลิตไวน์เป็นทั้งวิทยาศาสตร์และศิลปะศาสตร์ ต้องอาศัยประสบการณ์ตำรา และเครื่องมือต่างๆ เข้ามาช่วย มีการผลิตไวน์ แอลกอฮอล์จากการหมักน้ำผลไม้เป็นเรื่องบังเอิญ จึงไม่สามารถควบคุมการหมักและการเกิดไวน์ได้ นอกจากนี้ยังมีการค้นพบซัลเฟอร์ไดออกไซด์ที่ช่วยไม่ให้ไวน์เกิดการเน่าเสีย หลังจากนั้นเทคโนโลยีในการผลิตไวน์ รวมทั้งเทคโนโลยีการปลูกองุ่นได้พัฒนาอย่างรวดเร็วและต่อเนื่อง มีความเข้าใจเป็นอย่างดีในกระบวนการหมักไวน์ เข้าใจบทบาทของจุลินทรีย์และการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและชีวเคมี เข้าใจความสำคัญของผลไม้ที่นำมาใช้ในการหมักไวน์ คุณภาพของไวน์ขึ้นกับปัจจัย 2 ประการ ได้แก่ คุณภาพของวัตถุดิบ ซึ่งขึ้นกับสายพันธุ์ สภาพดิน น้ำ แสงแดด ความชื้น วิธีการปลูก โรค แมลง เป็นต้น และ เทคโนโลยีการผลิต ซึ่งยังขึ้นกับความรู้และประสบการณ์ของผู้ผลิตไวน์และผู้ควบคุมคุณภาพ ยังขึ้นกับอุปกรณ์ เครื่องจักรในการผลิตและควบคุมคุณภาพไวน์ ขั้นตอนหลัก 9 ประการในการผลิตไวน์ ได้แก่

- การเตรียมน้ำวัตถุดิบ
- การยับยั้งหรือการทำลายจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการในน้ำวัตถุดิบ
- การเตรียมกล้าเชื้อยีสต์และการควบคุมการหมัก
- การทำให้ไวน์ใส
- การเก็บและการบ่มไวน์
- การผสมปรุงแต่งไวน์
- การทำให้ไวน์อยู่ตัวหรือเสถียร
- การกรองไวน์ครั้งสุดท้าย
- การบรรจุ

1.3.1 การเตรียมน้ำวัตถุดิบ

เป็นขั้นตอนที่สำคัญมาก หากเตรียมไม่ถูกต้อง อาจทำให้ไวน์คุณภาพไม่ดี ไม่ได้มาตรฐานหรือมีความบกพร่อง การเตรียมประกอบด้วย

- คัดเลือกวัตถุดิบ วัตถุดิบต้องมีคุณภาพดี อาจมีตำหนิบ้างแต่ต้องไม่ช้ำ ปริแตก หรือเน่า มีเชื้อรา มีกลิ่นเปรี้ยวน้ำส้มสายชู
- ล้างกำจัดสิ่งสกปรกในวัตถุดิบในน้ำสะอาด

- กำจัดส่วนที่ไม่ต้องการ ส่วนที่ต้องการนำมาทำเป็นชิ้นเล็กๆ แล้วบีบคั้นหรือสกัดน้ำออก
- หากจำเป็นต้องเติมน้ำ ต้องเติมในปริมาณที่เหมาะสมเพื่อรักษากลิ่น รส สี และปริมาณสารอาหาร สำหรับยีสต์ที่มีในน้ำวัตถุดิบ บันทึกปริมาตรน้ำวัตถุดิบ
- ใช้ Refractometer วัด °Brix ปรับเป็น 21 – 22 °Brix ด้วยน้ำตาลทรายหรือน้ำวัตถุดิบเข้มข้น ถ้าเติมน้ำผึ้งควรระวังกลิ่นน้ำผึ้งจะกลบกลิ่นวัตถุดิบ

สูตรการคำนวณปริมาณน้ำตาลทรายขาวที่ต้องเติมเพื่อปรับ °Brix ปริมาณน้ำตาลทรายขาวที่ต้องเติม (กก.) = $\frac{\mathbf{°Brix}_{\text{ที่ต้องการ}} - \mathbf{°Brix}_{\text{เดิม}}}{\mathbf{100} - \mathbf{°Brix}_{\text{ที่ต้องการ}}}$ $\boldsymbol{x}$ ปริมาตรน้ำวัตถุดิบ (ลิตร)

- การลด °Brix ทำโดยการเติมน้ำสะอาด แต่นิยมเติมน้ำวัตถุดิบ °Brix ต่ำ
- วิเคราะห์หาปริมาณกรดทั้งหมด (%TA) ถ้าจำเป็น อาจจะชิมดูก็ได้ ปริมาณ TA ในน้ำวัตถุดิบขึ้นอยู่กับวัตถุดิบและสไตล์ของไวน์ เช่น ไวน์ข้าว และไวน์พืชผักสมุนไพรจะมี %TA ต่ำกว่าองุ่นและไวน์ผลไม้ ปกติไวน์องุ่นจะมี TA ประมาณ 4-6 กรัม/ลิตร (คำนวณเป็นกรดทาร์ทาริก) การลด %TA โดยการเติมน้ำ แต่ไม่นิยม นิยมเติม $CaCO_3$ หรือ $NaHCO_3$ หรือเติมน้ำวัตถุดิบที่มี TA ต่ำ อาจเติม Malo – lactic bacteria ก็ได้ การเพิ่ม %TA โดยการเติมกรดอินทรีย์ เช่น Tartaric acid, Citric acid และ Fumaric acid ในน้ำองุ่นและน้ำผลไม้ สำหรับไวน์ข้าวควรเติม Lactic acid

1.3.2 การยับยั้งหรือการทำลายจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการในน้ำวัตถุดิบ

บางแห่งไม่ทำขั้นตอนนี้ นิยมให้เกิดการหมักไวน์โดยเชื้อจุลินทรีย์ตามธรรมชาติที่ติดมากับวัตถุดิบ แต่ไวน์ที่ได้มักมีคุณภาพไม่แน่นอน เป็นการเสี่ยงในการลงทุนทางธุรกิจ ในปัจจุบันจึงนิยมยับยั้งหรือทำลายจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการในวัตถุดิบ โดยใช้

- ความร้อน โดนต้มให้เดือดประมาณ 5 นาที หรือพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 60-70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10-15 นาที แล้วรีบทำให้เย็นเท่าอุณหภูมิห้อง
- สารเคมี สารเคมีที่ใช้ต้องไม่สะสมอยู่ในน้ำวัตถุดิบ ต้องสลายตัวง่าย สารเคมีที่นิยมใช้คือซัลเฟอร์ไดออกไซด์ หรือ SO_2 ซึ่งเป็นแก๊สที่หาซื้อได้ยาก จึงนิยมใช้เกลือซึ่งแตกตัวให้ SO_2 คือ KMS (Potassium metabisulfite = $K_2S_2O_5$) หรือ SMS (Sodium metabisulfite = $Na_2S_2O_5$) ในของเหลวที่มี pH ประมาณ 3.5 เกลือ KMS หรือ SMS จะแตกตัวได้ SO_2 ประมาณครึ่งหนึ่งของน้ำหนักเกลือที่เติมลงไป สมมุติว่าเติม KMS

หรือ SMS 200 ppm มันจะแตกตัวที่ pH ประมาณ 3.5 ได้ SO_2 ประมาณ 100 ppm ปรกติปริมารของ KMS หรือ SMS ที่เพียงพอในการยับยั้งหรือทำลายจุลินทรีย์ในน้ำวัตถุดิบคือ 150-200 ppm หลังจากเติมเกลือนี้อย่างน้อย 6 ชั่วโมง จึงเติมกล้าเชื้อยีสต์ลงไปหมัก

1.3.3 การเตรียมกล้าเชื้อยีสต์และการควบคุมการหมัก

ยีสต์ที่ใช้หมักไวน์เป็นยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* มีหลายสายพันธุ์ที่ใช้ในการผลิตไวน์ เช่น Burgundy เป็นต้น อาจใช้ในรูปยีสต์สดบนวุ้นเลี้ยงเชื้อหรือยีสต์ผงก็ได้ ในการผลิตไวน์ในทางอุตสาหกรรมจะนิยมใช้ยีสต์ผงเพราะสะดวก ใช้ง่าย ราคาไม่แพง เก็บไว้นานได้เป็นปี หมักได้คุณภาพดีและสม่ำเสมอ

การเตรียมกล้าเชื้อยีสต์ ถ้าหากเป็นกล้าเชื้อยีสต์สด ต้องเพาะเลี้ยงขยายในน้ำวัตถุดิบที่แบ่งมาในปริมาณ 1-5% ซึ่งได้ต้มฆ่าเชื้อปนเปื้อนและทำให้เย็นและกล้าเชื้อควรมีอายุ 1-2 วัน ถ้าหากเป็นยีสต์ผง ก่อนใช้ต้องทำการ reactivate ในน้ำวัตถุดิบ หรือน้ำอุ่นประมาณ 40 องศาเซลเซียส ก่อน ปริมาณการใช้และวิธีการใช้จะระบุในภาชนะบรรจุยีสต์ผงนั้น

การควบคุมการหมักเป็นเรื่องที่ต้องติดตามใกล้ชิดทุกวัน ภาชนะที่ใช้หมักควรเป็นวัสดุที่แข็งแรง ทนต่อกรด ต่อแอลกอฮอล์ ไม่เป็นสนิมหรือผุกร่อนรั่วซึม ทำความสะอาดได้ง่าย ถังหมักขนาดใหญ่ควรออกแบบให้เหมาะสม สามารถควบคุมอุณหภูมิของการหมักได้ ไวน์ขาวควรหมักที่ 15-18 องศาเซลเซียส ไวน์แดงควรหมักที่ 15-25 องศาเซลเซียส และต้องหมักทั้งเปลือกและผิวของวัตถุดิบที่มีสีแดง ควรคนหรือกวนไวน์ทุกวัน ๆ ละ 1-2 ครั้ง เก็บตัวอย่างไวน์ที่กำลังหมักเพื่อวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลง °Brix หรือการเพิ่มเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ทุก 1-2 วัน ควรดมกลิ่นตัวอย่างไวน์ด้วยว่ามีความบกพร่องหรือไม่ ควรใช้ระยะเวลาในการหมัก 3-4 สัปดาห์

1.3.4 การทำให้ไวน์ใส

หลังจากการหมักเสร็จควรถ่ายตะกอนไวน์ทิ้ง (rack) เก็บไวน์ที่อุณหภูมิต่ำ 10-15 องศาเซลเซียส และใส่เกือบเต็มถัง เติม KMS หรือ SMS 60-80 ppm ควรถ่ายตะกอนไวน์ทิ้ง 1-2 ครั้ง ภายใน 2 สัปดาห์ จากนั้นเร่งทำให้ไวน์ใส โดย

- การปั่นตะกอนแยก (centrifugation)
- การเติมสารเพื่อตกตะกอนให้ไวน์ใส (Fining) สารตะกอนไวน์ (Fining agent) ที่ใส่ในไวน์ ได้แก่ Bentonite, Tannins, Silica solution, Egg white เป็นต้น

- การกรอง โดยใช้เครื่องกรองไวน์พร้อมไส้กรอง หรือแผ่นกรองที่มีขนาดรูกรองที่เหมาะสม

การทำให้ไวน์ใสเร็วอาจใช้วิธีดังกล่าว 2-3 วิธีช่วยเสริมกัน ไวน์ที่ถูกทำให้ใสในขั้นตอนนี้ไม่ถือว่าเป็นไวน์ที่อยู่ตัว

1.3.5 การเก็บและการบ่มไวน์

ควรเก็บไวน์ในขวดหรือถังสแตนเลสที่สะอาด ใส่ไวน์ให้เกือบเต็มขวดหรือถัง มีที่ว่างของอากาศในภาชนะที่เก็บไวน์น้อยที่สุด บางครั้งจำเป็นต้องแทนอากาศด้วยแก๊สเฉื่อย เช่น CO2 และ N2 แล้วปิดฝาให้มิดชิด ลดอุณหภูมิของถังไวน์ในถังเก็บประมาณ 10-15 องศาเซลเซียส รักษาปริมาณของซัลเฟอร์ไดออกไซด์อิสระ 30-40 ppm จุดประสงค์ของการเก็บไวน์เพื่อพักไวน์ไว้ระยะหนึ่งก่อนที่ไวน์จะเข้าสู่ขั้นตอนต่อไป ไม่ต้องการให้ไวน์คุณภาพดีขึ้น การบ่มไวน์คือ การเก็บไวน์ไว้ในภาชนะที่เหมาะสม บรรจุไวน์ให้เต็มภาชนะ ให้มีที่ว่างของอากาศน้อยที่สุดในภาชนะ หรือแทนที่อากาศด้วยแก๊สเฉื่อย เช่น ไนโตรเจน หรือ คาร์บอนไดออกไซด์ เพื่อป้องกันการสันดาป (ออกซิเดชั่น) อาจบ่มไวน์ในถังสแตนเลสหรือถังไม้โอ๊กก็ได้ ไวน์องุ่นพันธุ์ดี เช่น Cabernet Sauvignon, Merlot เป็นต้น มักนิยมบ่มในถังไม้โอ๊ก เหตุที่นิยมบ่มไวน์ในถังไม้โอ๊กเพราะเป็นไม้เนื้อแข็ง เนื้อไม้ละเอียด อากาศผ่านเข้าหรือออกได้เล็กน้อยเนื้อไม้มีสารเคมีสำคัญ ซึ่งเมื่อถูกสกัดด้วยแอลกอฮอล์ในไวน์แล้วจะให้สี กลิ่น และรสที่ดีแก่ไวน์ ถังไม้โอ๊กมีขนาดต่างๆ กัน โรงงานไวน์แต่ละแห่งจะบ่มไวน์ในถังไม้โอ๊กทั้งถังใหม่และถังเก่า ถังใหม่จะให้สี กลิ่นและรสของสารสกัดไม้โอ๊กที่เข้มข้นแก่ไวน์ ความเข้มข้นของสารสกัดจะลดลงมากเมื่อถังไม้โอ๊กใหม่ผ่านการใช้บ่มไวน์แล้ว 4-5 ปี แต่ทางโรงงานไวน์ก็ยังใช้ถังไม้โอ๊กเก่าในการบ่มไวน์ต่อไป อาจใช้งานได้อีก 10-20 ปี โดยใช้บ่มไวน์หลังจากไวน์ผ่านการบ่มในถังไม้โอ๊กใหม่แล้ว หรือใช่บ่มไวน์ที่มีราคาถูก หรือใช้บ่มไวน์ที่ไม่ต้องการสี กลิ่น และรสจากไม้โอ๊กมากนัก

1.3.6 การผสมปรุงแต่งไวน์

นำไวน์ 2 ชนิดมาผสมกันในอัตราส่วนต่างๆ อาจเติมน้ำตาล กรด หรือสารเพิ่มความฝาดเฝื่อนก็ได้ การนำไวน์ใส 2-3 ชนิด มาผสมกันอาจทำให้ไวน์เกิดความขุ่นได้เนื่องจากองค์ประกอบทางเคมีของไวน์เปลี่ยนไป จุดประสงค์ของการผสมปรุงแต่งไวน์เพื่อต้องการให้คุณภาพของไวน์ดีขึ้น มีคุณภาพสม่ำเสมอทุกครั้งหรือทุกปีที่ผลิตจำหน่าย

1.3.7 การทำให้ไวน์อยู่ตัว

เป็นขั้นตอนที่สำคัญขั้นตอนหนึ่งในการผลิตไวน์ ไวน์ไม่อยู่ตัวคือการที่ไวน์เกิดการเปลี่ยนแปลงด้านความใสและสีหลังจากบรรจุขวดและเก็บไว้ระยะหนึ่ง

พบว่าไวน์บางขวดเมื่อตั้งในห้องหรือแช่ตู้เย็นระยะหนึ่ง จะเกิดความขุ่นหรือผลึกสีขาวภายในขวด แสดงว่าไวน์ไม่อยู่ตัว เป็นไวน์ไม่เสีย ใช้ดื่มได้แต่แสดงว่าผู้ผลิตมีเทคโนโลยีในการผลิตไม่ดีพอ สาเหตุหลักที่ทำให้ไวน์ไม่อยู่ตัวเนื่องจาก

- จุลินทรีย์ ยังมีจุลินทรีย์หลงเหลืออยู่ในไวน์ โดยเฉพาะจุลินทรีย์ที่ทนต่อแอลกอฮอล์และกรด สามารถใช้แอลกอฮอล์และกรดเป็นอาหารของมันได้ หากไวน์ยังมีน้ำตาลเหลืออยู่จะยิ่งมีโอกาสไม่อยู่ตัวมากขึ้น การทำให้ไวน์อยู่ตัวในปัญหานี้ทำได้โดยก่อนบรรจุไวน์ให้
- เคมี มีสารเคมีหลายตัวที่ทำให้ไวน์ไม่อยู่ตัว เช่น โปรตีน ผลึกโปแตสเซียมไบทาร์เทต เม็ดสีและโลหะหนัก

1.3.8 การกรองไวน์ครั้งสุดท้าย

เพื่อกำจัดความขุ่นทุกชนิดที่มองไม่เห็นด้วยตาเปล่าเป็นการสร้างความมั่นใจในความใสของไวน์ก่อนทำการบรรจุขวด ทำการกรองด้วยเครื่องกรองแบบ sterile filtration รูแผ่นกรองหรือแท่งกรองมีขนาด 0.4 microns หรือเล็กกว่า ไวน์ที่จะกรองต้องมีความใสมาก

1.3.9 การบรรจุ

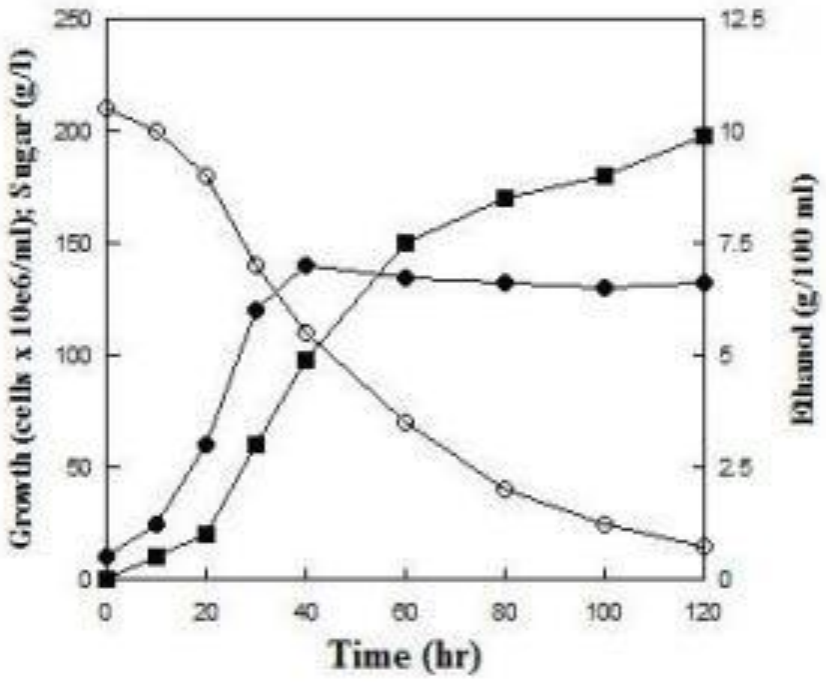
ก่อนที่จะบรรจุไวน์ ต้องมั่นใจว่าไวน์มีคุณภาพดีตามที่ต้องการผ่านการผสมปรุงแต่ง ใสและอยู่ตัว ขวดที่ใช้บรรจุควรเป็นขวดสี อาจเป็นสีเขียวหรือสีชา แห้ง สะอาด ไม่ร้าว ควรบรรจุไวน์เกือบเต็มขวด มีที่ว่างของอากาศในขวดน้อย อาจแทนที่อากาศในขวดด้วยแก๊สเฉื่อย เช่น CO_2 หรือ N_2 มี SO_2 อิสระในไวน์ประมาณ 25-30 ppm จุกไม่ก๊อกที่ปิดปากขวดไวน์ควรมีคุณภาพดี มีความยาวพอเหมาะ ฉลากไวน์ต้องมีทั้งตัวอักษรและภาพต้องเป็นไปตามข้อกำหนดกฎหมาย ไม่โอ้อวดคุณภาพไวน์ ควรให้ผู้บริโภคทราบว่าไวน์ขวดนั้นทำจากวัตถุดิบอะไร ปีผลิต แหล่งผลิต และสไตล์ไวน์ ความหวาน ปริมาณแอลกอฮอล์และปริมาตรบรรจุ ปัจจุบันบางประเทศบังคับให้ระบุชนิดและปริมาณของ SO_2 และสารกันบูดที่เติมบนฉลากหลังของไวน์ด้วย

1.4 การหมักแอลกอฮอล์

ยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคส หรือน้ำตาลฟรุคโตส ให้เป็นแอลกอออล์ และมีผลพลอยได้เป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ดังสมการข้างล่าง โดยตามทฤษฎี จะได้แอลกอฮอล์ประมาณ 50 % จากปริมาณน้ำตาลที่ใช้ แต่ในทางปฏิบัติมักไม่ถึง เพราะจะเกิดผลพลอยได้เป็นสารให้กลิ่นรสอีกหลายชนิด

$$C_6H_{12}O_6 \quad \rightarrow \quad 2C_2H_5OH + 2CO_2$$

ดังนั้นหากเราหมักน้ำตาลที่มีปริมาณน้ำตาล 20 °บริกส์ หรือ 200 กรัมต่อลิตร เราน่าจะได้แอลกอฮอล์ประมาณ 100 กรัมต่อลิตร หรือ 10 % หรือต่ำกว่านี้เล็กน้อย เพราะเสียเป็นผลพลอยได้ แต่เมื่อคำนวณเป็นปริมาณเป็นเปอร์เซ็นโดยปริมาตร เราจะต้องใช้ค่าความถ่วงจำเพาะของแอลกอฮอล์มาคำนวณ คือ 0.7893 ทำให้ได้ปริมาณแอลกอฮอล์เพิ่มขึ้นมากกว่า 10 % เช่นถ้ามี แอลกอฮอล์ 96.3 กรัมต่อลิตร จะได้ 12.2 % โดยปริมาตร (9.63 หาร 0.7893) ในการหมัก ยีสต์จะเจริญเติบโต อย่างรวดเร็วในช่วง 2 – 3 วันแรก หลังจากนั้นการเจริญเติบโต จะช้าลง จนถึงช่วงที่ไม่เพิ่มจำนวนขึ้น แต่ในช่วงนี้ ก็ยังมีการเพิ่มปริมาณแอลกอฮอล์ขึ้นเรื่อยๆ (ดังภาพที่ 2-1) และปริมาณน้ำตาลก็ลดลง และมีการสร้างสารให้กลิ่นรสต่างๆ ในช่วงนี้ด้วย ดังนั้นจึงต้องหมักต่อไป แม้ยีสต์จะหยุดเพิ่มจำนวนแล้วก็ตาม



ภาพที่ 1.1 รูปแบบการหมักแอลกอฮอล์โดยยีสต์ (กลมทึบ) ยีสต์, (เหลี่ยมทึบ) แอลกอฮอล์, (กลมโปร่ง) น้ำตาล

1.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

อาพรรณ ชัยกุลเสรีวัฒน์ และ สุนันทิดา สิงหพล (2559 : 165-169) ได้ศึกษาการผลิตไวน์สับปะรดผสมแครอท เริ่มจากการศึกษาอัตราส่วนของน้ำสับปะรดต่อน้ำที่อัตราส่วน 1:1 1:3 และ 1:5 (โดยปริมาตร) พบว่าอัตราส่วน 1:1 มีปริมาณแอลกอฮอล์สูงสุดเท่ากับร้อยละ 15.40 ± 0.20 (โดยปริมาตร) ในวันที่ 20 ของการหมัก จากนั้นทดสอบทางประสาทสัมผัสพบว่าไวน์ทั้ง 3 อัตราส่วน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อศึกษาอัตราส่วน

น้ำแครอทต่อน้ำ 1:3 1:5 และ 1:7 (โดยปริมาตร) พบว่าที่อัตราส่วน 1:3 มีปริมาณแอลกอฮอล์สูงสุดเท่ากับร้อยละ 12.30 ± 0.30 (โดยปริมาตร) ในวันที่ 20 ของการหมัก และไม่พบว่าไวน์ทั้ง 3 อัตราส่วนแตกต่างกันเมื่อทดสอบทางประสาทสัมผัส เมื่อศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของน้ำสับปะรดคั้นต่อน้ำ (1:1) และน้ำแครอทคั้นต่อน้ำ (1:3) ต่อการหมักไวน์ ใช้อัตราส่วน 2:1 1:1 และ 1:2 (โดยปริมาตร) พบว่าไวน์ที่ใช้อัตราส่วน 2:1 มีปริมาณแอลกอฮอล์สูงสุด เท่ากับร้อยละ 13.70 ± 0.30 (โดยปริมาตร) ในวันที่ 20 ของการหมัก พบว่าทั้ง 3 อัตราส่วน มีคะแนนด้านกลิ่นและความชอบโดยรวม ไม่แตกต่างทางสถิติ ส่วนลักษณะปรากฏ รสชาติ และสิ่งตกค้างในปาก พบว่าอัตราส่วน 2:1 ได้รับคะแนนการยอมรับสูงที่สุด (P≤0.05)

กนกวรรณ ทองแม้น ชื่นจิต ประกิตชัยวัฒนา และ ภาวินี ดีแท้ (2557 : 21-24) ได้ศึกษาการลดความเปรี้ยวของไวน์สับปะรดด้วยแบคทีเรียกรดแล็กติกสายพันธุ์ทางการค้า และออโตโคนัสไอโซเลท โดยหมักน้ำสับปะรดสดครบส่วนที่หมักด้วยออโตโคนัสยีสต์ *Hanseniaspora psuedoguilliermondii* และ *Saccharomycodes ludwigii* ที่แยกได้จากน้ำสับปะรดหมักธรรมชาติ แล้วจึงลดความเปรี้ยวของไวน์โดยการหมักด้วยแบคทีเรียกรดแล็กติก (LAB) สายพันธุ์ทางการค้าและออโตโคนัสไอโซเลททั้งในรูปแบบกล้าเชื้อเดี่ยว ได้แก่ *Oenococcus oeni* Enoferm® ALPHA, *Lactobacillus brevis* และ *L. Plantarum* และกล้าเชื้อผสมระหว่าง *O. oeni* Enoferm® ALPHA กับ *L. brevis* และ *O. oeni* Enoferm® ALPHA กับ *L. plantarum* โดยไวน์มีค่าเริ่มต้น คือค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) 3.67 ± 0.01, ปริมาณแอลกอฮอล์ 11.5 ± 0.28 %(v/v), ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (TTA) 0.39 ± 0.00 % (w/v) และน้ำตาลรีดิวซ์ (RS) 18.25 ± 1.37 mg/ml ตามลำดับ เมื่อลดความเปรี้ยวของไวน์โดยหมักด้วย LAB ที่อุณหภูมิประมาณ 25-30°C เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ปริมาณกรดในการหมักทุกรูปแบบลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (p≤0.05) ยกเว้น *O. oeni* Enoferm® ALPHA และค่า pH ของไวน์ที่หมักด้วย *O. oeni* Enoferm® ALPHA มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ pH ของไวน์ที่หมักด้วย LAB รูปแบบอื่นมีค่าไม่แตกต่างจากไวน์เริ่มต้น แต่พบว่าไวน์ที่หมักด้วย *L.brevis* มีค่า pH สูงกว่าไวน์ทั้งก่อนและหลังการลดความเปรี้ยวด้วย LAB ทุกรูปแบบอย่างมีนัยสำคัญ และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของไวน์ที่ผ่านการลดความเปรี้ยวทุกรูปแบบมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ

1.6 Non - *Saccharomyces* yeasts

1.6.1 *Hanseniaspora guilliermodii* (University of California, Davis, 2018)

Hanseniaspora guilliermodii จัดอยู่ในกลุ่มของ Ascomycote และมีการสืบพันธ์แบบอาศัยเพศ *H. guilliermodii* สามารถพบได้ในอินทผลัม องุ่น มะเขือ

เทศ มะเดื่อและในดิน *Hanseniaspora* sp. มีอยู่ตามธรรมชาติบนพืชโดยเฉพาะผลไม้ที่เสียหาย มีส่วนเกี่ยวข้องในการยับยั้งการหมักอาจเนื่องมาจากการสูญเสียวิตามินบี Non-*Saccharomyces* yeast เช่น *Hanseniaspora* sp. เป็นรูปแบบที่โดดเด่นของยีสต์บนองุ่นและในช่วงเริ่มต้นของการหมักที่ยังไม่เกิดกระบวนการหมัก การเจริญจะลดลงเมื่อเอทานอลหรือซัลเฟอร์ไดออกไซด์มีความเข้มข้นถึงจุดที่สามารถยับยั้งการเจริญได้

มีงานวิจัยรายงานว่า *Hanseniaspora guilliermondii* สามารถเจริญเติบโตได้มากถึง 10^6 - 10^8 เซลล์ / มล. ในระหว่างการหมัก 4-6 วันแรกหลังจากนั้นส่วนใหญ่จะตายไปเนื่องจากความเข้มข้นของเอทานอลที่เพิ่มขึ้นที่ผลิตโดย *Saccharomyces cerevisiae* ซึ่งมีกิจกรรมการหมักที่สูงขึ้นและทนต่อเอทานอล (Fleet, 2003; Fugelsang & Edwards, 2007, pp. 84-86; Granchi et al., 1998; Jolly, Augustyn, & Pretorius, 2006; Zott, Miot-Sertier, Claisse, LanvaudFunel, & Masneuf-Pomarede, 2008) โดยทั่วไปแล้วสายพันธุ์ของ *Hanseniaspora*, *Candida*, *Pichia*, *Metschnikowia* ที่พบในน้ำองุ่นไม่ทนต่อความเข้มข้นของเอทานอลเกินกว่า 4-7% และสิ่งนี้อธิบายถึงการตายของ *Hanseniaspora guilliermondii* ได้ เนื่องจากการหมักดำเนินไปเกินกว่าช่วงระยะกลางของการหมัก (Fleet, 2003; Fleet & Heard, 1993; Fugelsang & Edwards, 2007, pp. 84e86; Moreira, Mendes, Guedes de Pinho, Hogg, & Vasconcelos, 2008)

Apiculate yeast (*K. apiculata* และ *Hanseniaspora guilliermondii*) ก็มีส่วนเกี่ยวข้องในการผลิตกลีเซอรอล โดยทั่วไปยีสต์เหล่านี้สามารถแบ่งออกเป็นสองกลุ่มคือ กลุ่มผลิตกลีเซอรอลสูง (3 g/L) เอทานอลต่ำ (0.9% (v/v)) และกลุ่มผลิตกลีเซอรอลต่ำ (1 g/L) เอทานอลสูง (2.4% (v/v)) (Romano et al., 1997) Apiculate yeasts เป็นที่รู้จักกันในอีกนามหนึ่งว่าเป็นผู้ผลิตกรดอะซิติกสูง ทำให้ไม่เหมาะสมในการผลิตไวน์ (Ciani & Picciotti, 1995)

สารจาก Non – *Saccharomyces* สามารถเป็นสารตัวกลางในการเกิดกลิ่น *H. guilliermondii* และ *K. apiculata* สร้าง acetoin 50.3 ถึง 258.1 mg/L และ 55.8 ถึง 187.4 mg/L ตามลำดับในน้ำองุ่น Acetoin ถือเป็นสารประกอบที่ให้กลิ่นไม่ดีในไวน์ โดย acetoin จะให้กลิ่นเมื่อมีค่าประมาณ 150 mg/L ขึ้นไป (Romano & Suzzi, 1996) อย่างไรก็ตาม diacetyl และ 2,3-butanediol เป็นสารให้กลิ่นที่ไม่ดีในไวน์ซึ่งสามารถได้มาจาก acetoin โดยการออกซิเดชันทางเคมีและการลดลงของยีสต์ ตามลำดับ นี่สามารถบ่งชี้ได้ว่า acetoin เป็นสารที่มีบทบาทในการเกิดกลิ่นไม่ดีในไวน์ อะซิโตนความเข้มข้นสูงที่ผลิตจาก Non – *Saccharomyces* yeast ยังสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้โดย *S. cerevisiae* (Romano et al, 1993)

2-phenyl-ethyl acetate ที่สร้างจาก *H. guilliermondii* มีส่วนช่วยในการให้กลิ่นของกุหลาบ กลิ่นน้ำผึ้ง กลิ่นผลไม้และกลิ่นดอกไม้ ในส่วนของการหมักสุราสามารถช่วยให้เกิดกลิ่นรสโดยรวมของไวน์ใหม่

บทบาทอื่นที่ได้รับการแนะนำสำหรับ *Kloeckera* และ *Hanseniaspora* spp. คือการผลิตไวน์ที่ไว้สำหรับการผลิตน้ำส้มสายชู (Ciani & Picciotti, 1995) การผลิตอะซิโทอินและเอทิลอะซิเตตในระดับสูงจะส่งผลต่อคุณภาพของน้ำส้มสายชู

1.6.2 *Meyerozyma guilliermondii* (University of California, Davis, 2018)

Meyerozyma guillermodii เป็นสิ่งมีชีวิตในกลุ่มที่มีชื่อว่า "flavinogenic yeasts" ซึ่งมีความสามารถในการสังเคราะห์ riboflavin ในระหว่างการอดอาหารสำหรับธาตุเหล็ก นอกจากนี้บางสายพันธุ์ยังมีประสิทธิภาพในการเปลี่ยนไซโลสไปเป็นไซลิทอลซึ่งเป็นสารช่วยป้องกันโรคฟันผุ (Sibirny, Andriy & Boretsky, Yuriy, 2009) *H. Guillermodii* สามารถพบได้ในต่อ คนที่มีอาการติดเชื้อ น้ำทะเล อุจจาระของสัตว์ บัตเตอร์มิลค์ ดิน น้ำอุ่นและปลา และยังสามารถพบได้ในไวน์รวมไปถึงเครื่องสำอาง (ฟิล์ม) หรือไวน์ที่มีข้อบกพร่องทางประสาทสัมผัส การเน่าเสียของไวน์จะปรากฏเป็นฝาสีขาวบนผิวหน้า มีลักษณะเหมือนชีส เมื่อหมักไวน์ *Meyerozyma guilliermondii* ไม่เคยเกิดการเจริญเติบโตแบบลอการิทึมและเสียชีวิตอย่างรวดเร็ว ในทางตรงกันข้ามกับ *Candida pararugosa* ซึ่งมีชีวิตรอดมากกว่า 40 วันหลังจากการเติมเชื้อลงไปในกระบวนการหมัก (Susanne L. et al., 2009)

มีการรายงานว่าเมื่อทำการหมักไวน์โดยใช้ *Saccharomyces cerevisiae* ร่วมกับ *Meyerozyma guilliermondii* และ *Dekkera bruxellensis* เพื่อทดสอบปริมาณสารฟีนอลที่ระเหยได้ พบว่าเมื่อเติม *Meyerozyma guilliermondii* ในช่วงแรกของการหมักไวน์จะทำให้กิจกรรมของไวนิลฟีนอลรีดัคเทสมีค่าสูงส่งผลให้การผลิตฟีนอลที่ระเหยได้ในไวน์เพิ่มขึ้น (Sáez et al., 2010)

2. ความสำคัญและที่มาของปัญหา

สับปะรดเป็นพืชเศรษฐกิจของประเทศไทย นอกจากนั้นไทยยังเป็นประเทศผู้ส่งออกสับปะรดและผลิตภัณฑ์จากสับปะรดอันดับ 1 ของโลก ซึ่งสับปะรดสามารถปลูกได้ทั่วทุกภาคของประเทศ ให้ผลผลิตตลอดทั้งปี โดยสับปะรดที่นิยมปลูกในประเทศไทยมี 5 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ปัตตาเวีย หรือพันธุ์ศรีราชา พันธุ์ขาว พันธุ์ภูเก็ต หรือพันธุ์สวี พันธุ์นางแล หรือพันธุ์น้ำผึ้ง และพันธุ์อินทรชิต สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียเป็นพันธุ์ที่มีการเพาะปลูกจำนวนมาก นิยมบริโภคทั่วไปในเขตภาคตะวันออก เนื้อผลมีรสหวานอมเปรี้ยว โดยพบว่ามีปริมาณ

ของแข็งที่ละลายน้ำได้อยู่ระหว่างร้อยละ 9-20 และมีรสเปรี้ยวจากกรดซิตริกและกรดมาลิก โดยมีค่าความเป็นกรดอยู่ระหว่างร้อยละ 0.65-0.85 (Kongsuwan, A, Suthiluk, P.,Theppakorn,T., Srilaong, V. and Setha, S., 2009) และมีค่า pH ประมาณ 3.9 – 4.1 (ประธาน โพธิสวัสดิ์, 2544) ซึ่งสมบัติดังกล่าวมีความเหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์จึงสามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับหมักเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ได้ และยังมีประกอบไปด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิด เช่น สารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มเบต้าแคโรทีน เอนไซม์โบรมิเลน วิตามินซี (ศศิธร จันทนวรางกูล, 2550)

การหมักเครื่องดื่มแอลกอฮอล์โดยทั่วไปนิยมใช้กล้าเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* เนื่องจากสามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว อยู่ในสภาพที่แข็งแรงว่องไว ให้ผลผลิตที่เป็นแอลกอฮอล์ในปริมาณสูง และสามารถทนปริมาณแอลกอฮอล์ที่ผลิตขึ้นได้ จึงนิยมนำมาใช้ในการหมักเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ประเภทต่างๆ (นิภา มิลินทวิสมัย และคณะ, 2551) อย่างไรก็ตาม มีรายงานว่ายีสต์กลุ่ม Non – *Saccharomyces* บางสายพันธุ์ เช่น *Hanseniaspora guilliermondii* และ *Meyerozyma guilliermondii* เป็นยีสต์ที่มีศักยภาพในการหมักเช่นกัน โดย *H.guilliermondii* สามารถสร้างสารระเหยที่ให้กลิ่นดอกไม้ในระหว่างการหมัก (Rojas et al., 2003; Moreira et al., 2011; Swiegers et al., 2005) และ *M. guilliermondii* สามารถสร้างเอทานอลได้สูงสุดและมีลักษณะการหมักอื่นๆ ที่คล้ายคลึงกับ *S. cerevisiae* สายพันธุ์ที่ใช้ทางการค้า (อรอง จันทร์ประสาทสุข, 2551) อย่างไรก็ตามยีสต์ Non – *Saccharomyces* เหล่านี้ไม่สามารถทนต่อแอลกอฮอล์ปริมาณสูงได้จึงพบว่าสามารถเจริญได้ในช่วงการหมักของไวน์องุ่นแบบธรรมชาติ (Fleet, 2003; Fugelsang & Edwards, 2007, pp. 84-86; Granchi et al., 1998; Jolly, Augustyn, & Pretorius, 2006; Zott, Miot-Sertier, Claisse, LanvaudFunel, & Masneuf-Pomarede, 2008) ซึ่งการใช้ยีสต์ Non – *Saccharomyces* เป็นกล้าเชื้อร่วมกับ *S. cerevisiae* อาจเป็นแนวทางหนึ่งที่ทำให้กลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ที่หมักได้มีความซับซ้อนมากขึ้น อย่างไรก็ตาม การใช้กล้าเชื้อร่วมกัน มากกว่า 1 สายพันธุ์ ในการหมักอาจส่งผลต่อกิจกรรมการหมักของยีสต์หลัก และสมบัติของน้ำสับปะรดในระหว่างการหมักได้

3. วัตถุประสงค์และขอบเขตการวิจัย

เพื่อติดตามรูปแบบการหมักของยีสต์ Non-*Saccharomyces* ร่วมกับ *S. cerevisiae* ในน้ำสับปะรด

4. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้ข้อมูลรูปแบบการหมักของยีสต์ Non-*Saccharomyces* และยีสต์ผสมระหว่างการหมักน้ำสับปะรด

5. รายละเอียดเกี่ยวกับวิธีดำเนินการวิจัย

5.1 การเตรียมตัวอย่างน้ำสับปะรด

นำสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียมาล้างทำความสะอาด วางพักบนตะแกรงให้สะเด็ดน้ำ ปอกเปลือกและหั่นเป็นชิ้นตามยาว จากนั้นนำมาคั้นน้ำใช้เครื่องสกัดน้ำผักและผลไม้ แล้วนำน้ำสับปะรดที่ได้มากรองด้วยผ้าขาวบาง นำมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่

5.1.1 วิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดด้วยเครื่อง Refractometer

5.1.2 วิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดด้วยวิธีของ AOAC (1990)

5.1.3 วิเคราะห์ความเป็นกรด – ด่าง (pH) ด้วยเครื่อง pH meter

5.1.4 วิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนด้วยวิธีของ AOAC (2000)

5.2 เพาะเลี้ยงกล้าเชื้อ

นำน้ำสับปะรดในข้อ 3.5.1 ปริมาตร 150 มิลลิลิตร ไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 72 ℃ เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นเติมยีสต์บริสุทธิ์ที่มีอายุประมาณ 24 ชั่วโมง แล้วนำไปเข้าเครื่องเขย่า ที่อุณหภูมิ 30 ℃ นาน 24 ชั่วโมง (อำพรรณ และปิยะมาศ, 2548) และหาปริมาณกล้าเชื้อเริ่มต้นตามภาคผนวก ข.1

5.3 การหมักน้ำสับปะรด

นำตัวอย่างน้ำสับปะรดมาปรับปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดด้วยน้ำตาลทรายขาว ให้มีค่าเท่ากับ 15 °Brix จากนั้นเติม Potassium Metabisulphite (KMS) ให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 150 ppm ทิ้งไว้อย่างน้อย 6 ชั่วโมงจากนั้นเติมกล้าเชื้อยีสต์ที่เตรียมได้จากข้อ 3.5.2 ให้ได้กล้าเชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^6 cfu/ml ดังตารางที่ 5.1 จากนั้นปล่อยให้เกิดการหมักที่อุณหภูมิห้อง เก็บตัวอย่างน้ำสับปะรดทุกวันเพื่อติดตามค่าต่างๆ ดังนี้

5.3.1 จำนวนประชากรยีสต์ด้วยวิธี Total yeasts count

5.3.2 Total soluble solid (TSS) ด้วยเครื่อง Refractometer

5.3.3 ปริมาณแอลกอฮอล์ ด้วยเครื่อง vinometer

5.3.4 ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ทั้งหมด (AOAC, 1990)

5.3.5 pH ด้วยเครื่อง pH Meter

และวัดปริมาณแอลกอฮอล์สุดท้ายด้วยเครื่อง Ebulliometer ในวันสุดท้ายของการหมัก ดำเนินการทดลอง 2 ซ้ำ

ตารางที่ 5.1 กล้าเชื้อยีสต์ที่ใช้ในการหมักน้ำสับปะรด

ทรีตเมนต์	ลำดับการเติมกล้าเชื้อ	
	วันที่ 0 ของการหมัก	วันที่ 4 ของการหมัก
1	*S. cerevisiae*	-
2	*M. guilliermondii*	-
3	*H. guilliermondii*	-
4	*H. guilliermondii + M. guilliermondii*	-
5	*M. guilliermondii*	*S. cerevisiae*
6	*H. guilliermondii*	*S. cerevisiae*
7	*H. guilliermondii + M. guilliermondii*	*S. cerevisiae*

หมายเหตุ : เติมกล้าเชื้อยีสต์แต่ละสายพันธุ์ที่ให้มีปริมาณกล้าเชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^6 cfu/ml

5.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิเคราะห์ข้อมูลเชิงสถิติจากการทดลองใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) โดยใช้โปรแกรม Minitab 17 โดยค่าเฉลี่ยที่คำนวณได้จะถูกนำมาเปรียบเทียบโดยใช้ Tukey's range test และมีค่าระดับนัยสำคัญ $p < 0.05$

6. ผลการวิจัยและวิจารณ์

6.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำสับปะรด

การนำน้ำผลไม้มาใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับหมักควรพิจารณาสารอาหารได้แก่ ปริมาณน้ำตาล และปริมาณไนโตรเจน รวมทั้งค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่เหมาะสมสำหรับการเจริญและใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตแอลกอฮอล์ของยีสต์ด้วย จึงนำน้ำสับปะรดคั้นสดมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีกายภาพเบื้องต้นแสดงดังตารางที่ 6.1

ตารางที่ 6.1 สมบัติของน้ำสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย

สมบัติของน้ำสับปะรด	**ค่าเฉลี่ย ± SD**
ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (°Brix)	14.7 ± 0.5
ปริมาณกรดทั้งหมด (%ของกรดซิตริก)	0.47 ± 0.07
ความเป็นกรด-ด่าง	3.84 ± 0.12
ปริมาณไนโตรเจน (%w/v)	0.07 ± 0.00

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นของน้ำสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย พบว่ามีค่าของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ 14.7± 0.5°Brix ซึ่งค่าที่ได้สอดคล้องกับผลการทดสอบของ จิรภา พงษ์จันตา และคณะ (2554) ที่รายงานว่าค่าของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดมีค่าเท่ากับ 12–15 °Brix เช่นเดียวกับ Sairi et al. (2004) ที่รายงานว่า ในน้ำสับปะรดมีน้ำตาลประมาณ 12-15% โดยสองในสามส่วนเป็นซูโครส และส่วนที่เหลือเป็นกลูโคสและฟรุกโตส และจากการวิเคราะห์ค่าความเป็นกรดด่าง และค่าความเป็นกรดในรูปของกรดซิตริก พบว่าค่าความเป็นกรดด่างและค่าความเป็นกรดในรูปของกรดซิตริกเริ่มต้นของน้ำสับปะรดมีค่าเท่ากับ 3.84 ± 0.12 และ 0.47 ± 0.07 % ตามลำดับ ซึ่งค่าที่ได้ใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Sairi et al. (2004) ที่รายงานว่าค่า pH ของน้ำสับปะรดมีความเป็นกรดและมีค่า pH เท่ากับ 3.71 และมีความเป็นกรดประมาณ 0.6-1.2% โดย 87% ของปริมาณกรดทั้งหมดเป็น กรดซิตริกและเป็นกรดมาลิก 13% เช่นเดียวกับ Chanprasartsuk et al. (2010) ที่รายงานว่ามีค่า pH และค่าความเป็นกรดในรูปของกรดซิตริกเท่ากับ 3.9 และ 0.53% ตามลำดับ และพบว่าน้ำสับปะรดมีปริมาณไนโตรเจนเท่ากับ 0.07%w/v น้ำผลไม้ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของยีสต์สำหรับกระบวนการหมักไวน์นั้น ควรมีปริมาณน้ำตาลในช่วง 15–25°Brix (Reddy & Reddy, 2005) นอกจากนี้ควรมีค่า pH และปริมาณกรดประมาณ 3.3-4.0 และ 0.5–0.7%w/v ตามลำดับ (Gökmen et al., 2001; Kelebek & Selli, 2011) สำหรับปริมาณไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการหมักไวน์ควรอยู่ในช่วง 0.05–0.10%w/v จากเกณฑ์ดังกล่าวจะเห็นได้ว่าน้ำสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียนี้มีความเหมาะสมสำหรับนำมาใช้ในการหมัก เนื่องจากมีปริมาณน้ำตาล ความเป็นกรด และแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมโดยไม่ต้องเติมสารอาหารเพิ่มเติม นอกจากนี้ยังมีวิตามินและแร่ธาตุที่สามารถช่วยสนับสนุนการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในระหว่างการหมักด้วย (ธีรวัลย์ ชาญฤทธิเสน, 2544 ; ประดิษฐ์ ครุวัณณา, 2546)

6.2 การหมักไวน์สับปะรด

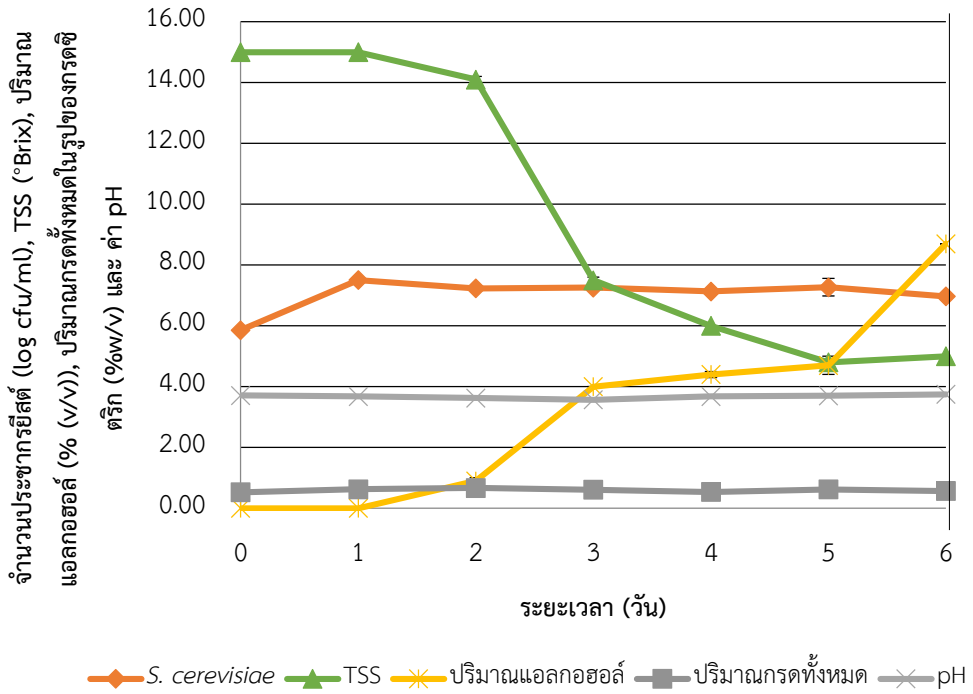
นำน้ำสับปะรดคั้นสดมาปรับปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดให้มีค่าเท่ากับ 15°Brix และฆ่าเชื้อโดยการเติม KMS ให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 150 ppm ทิ้งไว้อย่างน้อย 6 ชั่วโมง (ประดิษฐ์ ครุวัณณา) แล้วเติมกล้าเชื้อยีสต์ ดังตารางที่ 3-1 ให้มีปริมาณยีสต์แต่ละสายพันธุ์เริ่มต้นประมาณ 6 log cfu/mL หมักที่อุณหภูมิห้อง (25–30 องศาเซลเซียส) นาน 6 วัน ติดตามเก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยาและเคมี ได้แก่ จำนวนประชากรยีสต์ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ปริมาณแอลกอฮอล์ ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดซิตริก และค่า pH ตั้งแต่เริ่มต้นจนสิ้นสุดการหมัก

6.2.1 การหมักน้ำสับปะรดด้วยกล้าเชื้อเดี่ยว *S. cerevisiae*

ยีสต์ *S. cerevisiae* เป็นยีสต์ที่มีรายงานว่าสามารถเกิดการหมักได้อย่างรวดเร็ว ให้ปริมาณแอลกอฮอล์สูง สามารถทนต่อสภาวะที่มีแอลกอฮอล์และความ

เข้มข้นของน้ำตาลสูง และค่า pH ต่ำได้ จึงนิยมใช้เป็นยีสต์หลักที่ได้รับความนิยมนำมาใช้ในการหมัก (องค์การสุรา กรมสรรพสามิต, 2560) จากการติดตามค่าทางจุลชีววิทยาและเคมีในระหว่างการหมักน้ำสับปะรดด้วยกล้าเชื้อ *S. cerevisiae* (ภาพที่ 6.1) พบว่าจำนวนประชากร *S. cerevisiae* เริ่มต้นเท่ากับ 5.9 ± 0.1 log cfu/mL ปริมาณจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วประมาณ 2 log cycles จนมีค่าสูงสุดเท่ากับ 7.5 ± 0.1 log cfu/mL ในวันที่ 1 ของการหมัก จากนั้นปริมาณจุลินทรีย์จะเพิ่มขึ้นอย่างสม่ำเสมอจนถึงวันสุดท้ายของการหมัก โดยมีจำนวนประชากรเท่ากับ 7.0 ± 0.1 log cfu/mL (ภาคผนวก ง-1) และเมื่อพิจารณาปริมาณ TSS (ภาคผนวก ง-2) พบว่าค่า TSS ของน้ำสับปะรดที่เริ่มต้นเท่ากับ 15 °Brix และลดลงอย่างช้าๆ ในช่วงวันที่ 2 ของการหมัก อาจเนื่องจาก *S. cerevisiae* ใช้น้ำตาลกลูโคสและฟรุกโตส ซึ่งเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่มีในน้ำสับปะรดเป็นสารตั้งต้นในการผลิตแอลกอฮอล์ และลดลงอย่างรวดเร็วระหว่างวันที่ 3 ของการหมักจนมีค่าเท่ากับ 7.5 ± 0.1 °Brix และลดลงอย่างต่อเนื่องจนมีค่าเท่ากับ 5.0 ± 0.0 °Brix ในวันสุดท้ายของการหมัก ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณแอลกอฮอล์ (ภาคผนวก ง-3) ที่เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนในระหว่างวันที่ 2 ถึงวันที่ 3 ของการหมัก โดยมีค่าเท่ากับ 4.0 ± 0.0 %(v/v) และเพิ่มขึ้นอย่างสม่ำเสมอจนสิ้นสุดการหมักโดยมีปริมาณแอลกอฮอล์เท่ากับ 8.7 ± 0.0 %(v/v) เนื่องจาก *S. cerevisiae* สามารถผลิตเอนไซม์ invertase ที่สามารถเปลี่ยนน้ำตาลซูโครสเป็นน้ำตาลกลูโคสและฟรุกโตส (Horiuchi et al., 2000) และใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตแอลกอฮอล์ ผ่านวิถี Glycolysis เปลี่ยนน้ำตาลเป็นไทรโอฟอสเฟท ซึ่งเป็นน้ำตาลที่มีคาร์บอนสามอะตอมแล้วเปลี่ยนเป็นไพรรูเวท จากนั้นไพรรูเวทถูกเปลี่ยนเป็นเอทานอลโดยปฏิกิริยาจากเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส (Scragg, 1999; Boulton et al., 1996; Pretorious, 2000)

สำหรับปริมาณ TTA ของน้ำสับปะรด (ภาคผนวก ง-2) เริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 0.53 ± 0.03 % และเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเป็น 0.67 ± 0.04 % ในวันที่ 2 ของการหมัก จากนั้นลดลงอย่างช้าๆ จนถึง 0.54 ± 0.04 % ในวันที่ 4 ของการหมัก และลดลงเล็กน้อยจนวันสุดท้ายของการหมัก ซึ่งสอดคล้องกับผลของค่า pH ของน้ำสับปะรด (ภาคผนวก ง-5) ที่มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 3.71 ± 0.01 แล้วมีค่าลดลงเท่ากับ 3.57 ± 0.00 ในวันที่ 3 ของการหมัก และเพิ่มขึ้นเล็กน้อยจนมีค่าเท่ากับ 3.75 ± 0.01 ในวันสุดท้ายของการหมัก การเพิ่มขึ้นของปริมาณ TTA ในช่วงแรกของการหมักเนื่องจากยีสต์สามารถสร้างกรดอินทรีย์ได้หลายชนิดในระหว่างการหมัก เช่น กรดอะซิติก กรดทาร์ทาริก กรดฟอสฟอริก กรดมาลิก กรดซักซินิก กรดฟูมาริก กรดกลูตามิก และ กรดคาร์บอกซิลิก (Ribereau-Gayon et al., 2006) ซึ่งสอดคล้องกับค่า pH ที่ลดลง แต่เพิ่มขึ้นในช่วงท้ายของการหมักอาจเนื่องมาจากปริมาณน้ำตาลลดลงทำให้ยีสต์เปลี่ยนไปใช้กรดอินทรีย์และสารไนโตรเจนเป็นแหล่งอาหาร ทำให้ปริมาณกรดลดลงและผลิตสารประกอบแอมโมเนีย ส่งผลให้ค่า pH ของน้ำสับปะรดหมักสูงขึ้นในช่วงท้ายของการหมัก (Nychas et al., 1998; Parente et al., 1994)



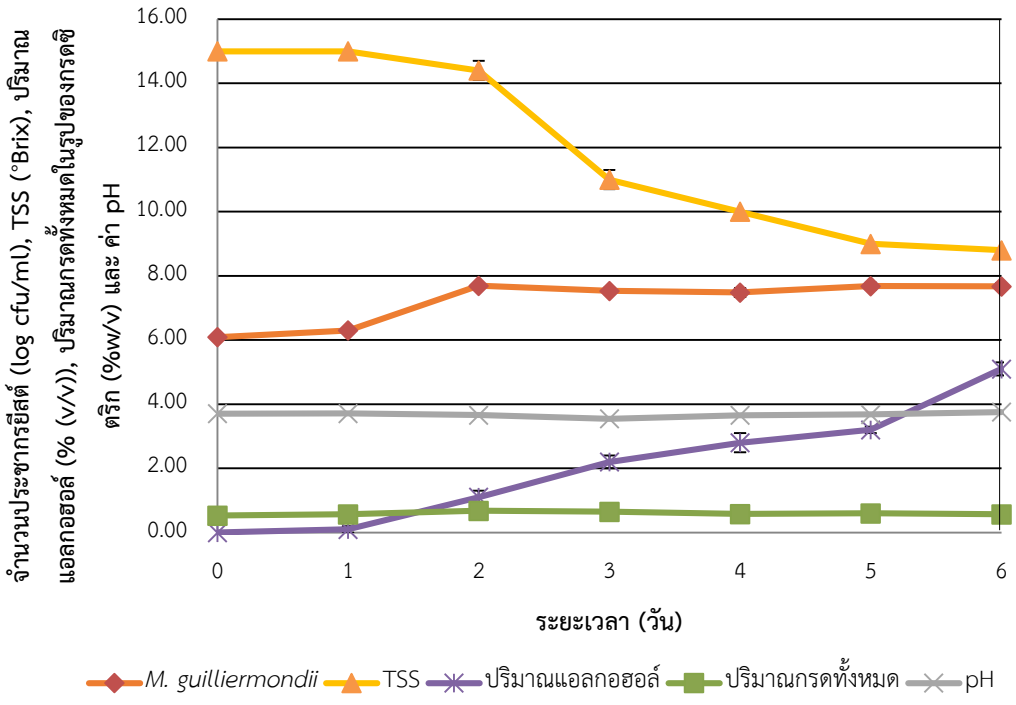
ภาพที่ 6.1 การเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์, ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด, ปริมาณแอลกอฮอล์, ปริมาณกรดทั้งหมด และค่าความเป็นกรดด่างในระหว่างการหมักน้ำสับปะรดด้วยกล้าเชื้อ *S. cerevisiae* นาน 6 วัน

6.2.2 การหมักน้ำสับปะรดด้วยกล้าเชื้อเดี่ยว *M. guilliermondii*

ยีสต์ *M. guilliermondii* เป็นยีสต์ท้องถิ่นที่แยกได้จากการหมักน้ำสับปะรดแบบธรรมชาติ ซึ่งมีรายงานว่า *M. guilliermondii* นั้น สามารถสร้างสารประกอบ 2-phenylethanol ซึ่งให้กลิ่นหอมของดอกไม้ในระหว่างการหมักได้ (Barata et al., 2006) โดยสังเคราะห์สารประกอบที่มาจากน้ำกลูโคสหรือฟีนิลอะลานีนซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่พบในน้ำสับปะรด (Hanaya and Nakadai, 2003) เมื่อติดตามผลทางจุลชีววิทยาและเคมีระหว่างการหมัก (ภาพที่ 6.2) พบว่า จำนวนประชากร *M. guilliermondii* มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 6.1 ± 0.0 log cfu/mL และเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วประมาณ 2 log cycles ระหว่างวันที่ 0 ถึง 2 ของการหมัก หลังจากนั้นปริมาณจุลินทรีย์จะเพิ่มขึ้นอย่างสม่ำเสมอจนถึงวันสุดท้ายของการหมัก (ภาคผนวก ง-1) สำหรับปริมาณ TSS (ภาคผนวก ง-2) พบว่ามีค่าลดลงเล็กน้อยในช่วงต้นของการหมักเนื่องจาก *M. guilliermondii* สามารถใช้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ได้แก่ กลูโคสและฟรุกโตส ที่มีอยู่ในน้ำสับปะรดเป็นแหล่งอาหารสำหรับเพิ่มจำนวนประชากรและเป็นสารตั้งต้นในการผลิตแอลกอฮอล์ จากนั้นปริมาณ TSS ลดลงอย่างชัดเจนในวันที่ 3 สอดคล้องกับปริมาณจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นสูงสุด จึงใช้น้ำตาลเป็นสารอาหารในการผลิตแอลกอฮอล์ ปริมาณ TSS จึงมีค่าลดลงอย่างสม่ำเสมอและมีค่าเท่ากับ 8.8 ± 0.0 °Brix ในวันสุดท้ายของการหมัก

ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณแอลกอฮอล์ (ภาคผนวก ง-3) ที่เพิ่มขึ้นอย่างสม่ำเสมอและมีค่าเท่ากับ 5.1 ± 0.2 %(v/v) ในวันสุดท้ายของการหมัก โดยจะสังเกตเห็นว่าปริมาณ TSS จะสูงกว่า และปริมาณแอลกอฮอล์จะต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการหมักน้ำสับปะรดด้วยกล้าเชื้อเดี่ยวของยีสต์ *S. cerevisiae* อาจเนื่องมาจากกล้าเชื้อยีสต์ *M. guilliermondii* มีเอนไซม์ β-glucosidase ไว้ย่อยน้ำตาลโมเลกุลคู่ให้ได้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว แต่เอนไซม์นี้จะทำงานได้ดีที่ pH เท่ากับ 5.0 (Yan & Lin, 1997) ทำให้ยีสต์ *M. guilliermondii* ใช้น้ำตาลเป็นสารตั้งต้นในการผลิตแอลกอฮอล์ได้ช้ากว่า ยีสต์ *S. cerevisiae* ปริมาณ TSS ในวันสุดท้ายของการหมักจึงมีค่าสูง ส่งผลให้ปริมาณแอลกอฮอล์ที่ผลิตได้มีค่าต่ำกว่าการหมักน้ำสับปะรดด้วยกล้าเชื้อเดี่ยวของยีสต์ *S. cerevisiae*

สำหรับปริมาณ TTA (ภาคผนวก ง-4) พบว่าน้ำสับปะรดมี TTA เริ่มต้นเท่ากับ 0.53 ± 0.03% และมีค่าเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเป็น 0.68 ± 0.03% ในวันที่ 2 ของการหมัก จากนั้นลดลงอย่างสม่ำเสมอจนมีค่าเท่ากับ 0.57 ± 0.03% ในวันสุดท้ายของการหมัก ซึ่งสอดคล้องกับค่า pH (ภาคผนวก ง-5) ที่มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 3.71 ± 0.00 จากนั้นลดลงเล็กน้อยเป็น 3.66 ± 0.01 ในวันที่ 2 ของการหมักและเพิ่มขึ้นอย่างสม่ำเสมอจนมีค่าเท่ากับ 3.76 ± 0.02 เมื่อสิ้นสุดการหมัก

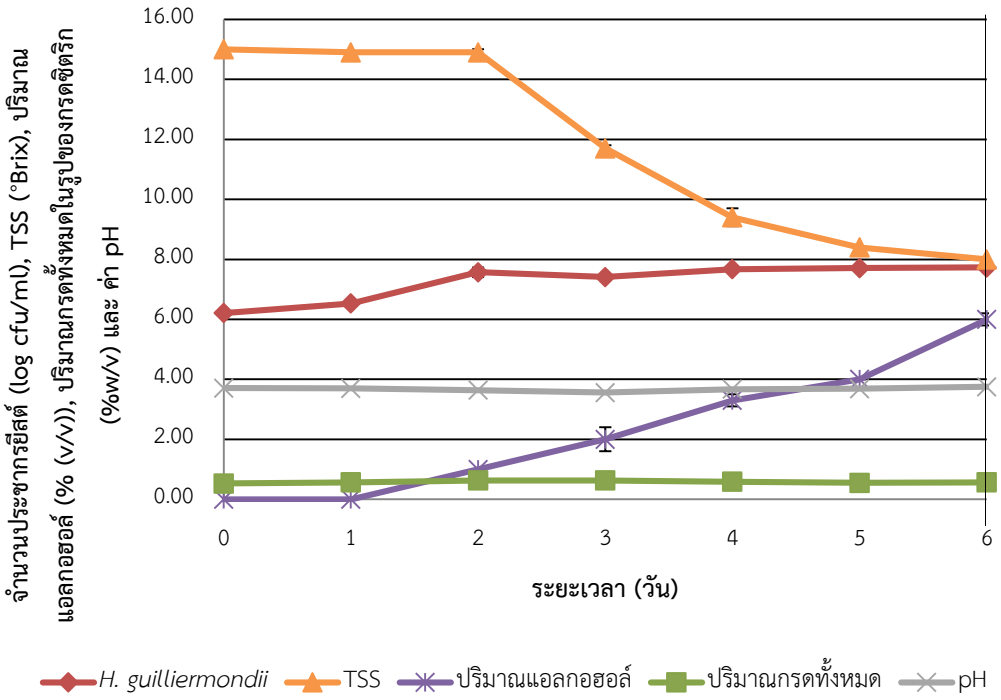


ภาพที่ 6.2 การเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์, ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด, ปริมาณแอลกอฮอล์, ปริมาณกรดทั้งหมด และค่าความเป็นกรดด่างในระหว่างการหมักน้ำสับปะรดด้วยกล้าเชื้อ *M. guilliermondii* นาน 6 วัน

6.2.3 การหมักน้ำสับปะรดด้วยกล้าเชื้อเดี่ยว *H. guilliermondii*

ยีสต์ *H. guilliermondii* เป็นยีสต์ท้องถิ่นอีกสายพันธุ์หนึ่งที่แยกได้จากการหมักน้ำสับปะรดแบบธรรมชาติ จากรายงานวิจัยของ Ciani & Picciotti. (1995) กล่าวว่า *H. guilliermondii* สามารถสร้าง 2-phenyl ethyl acetate ในระหว่างการหมัก ซึ่งเป็นสารประกอบ เช่น เอสเตอร์ที่ให้กลิ่นหอมของดอกกุหลาบ กลิ่นน้ำผึ้ง กลิ่นผลไม้และกลิ่นดอกไม้ ทำให้เกิดกลิ่นรสที่เฉพาะของไวน์ นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า *H. guilliermondii* เป็นยีสต์ที่สามารถเจริญเติบโตได้มากถึง 10^6 - 10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ในระหว่างการหมักน้ำองุ่น 4 – 6 วันแรกของการหมัก หลังจากนั้นจะลดลงเนื่องจากความเข้มข้นของเอทานอลที่เพิ่มขึ้น (Fleet, 2003; Fugelsang & Edwards, 2007, pp. 84-86; Granchi et al., 1998; Jolly, Augustyn, & Pretorius, 2006; Zott, Miot-Sertier, Claisse, LanvaudFunel, & Masneuf-Pomarede, 2008) เมื่อติดตามผลทางจุลชีววิทยาและเคมีในระหว่างการหมัก (ภาพที่ 6.3) พบว่าจำนวนประชากร *H. guilliermondii* (ภาคผนวก ง-1) เริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 6.2 ± 0.0 log cfu/mL และเพิ่มขึ้นอย่างสม่ำเสมอจนมีค่าเท่ากับ 7.7 ± 0.1 log cfu/mL ในวันสุดท้ายของการหมัก *H. guilliermondii* สามารถใช้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่มีอยู่ในน้ำสับปะรดเป็นสารตั้งต้นในการผลิตแอลกอฮอล์ ทำให้ค่า TSS (ภาคผนวก ง-2) ลดลงอย่างสม่ำเสมอหลังจากวันที่ 2 จนมีค่าเท่ากับ 8.0 ± 0.0 °Brix สอดคล้องกับปริมาณแอลกอฮอล์ (ภาคผนวก ง-3) ที่เพิ่มขึ้นอย่างสม่ำเสมอและมีค่าเท่ากับ 6.0 ± 0.2 %(v/v) ในวันสุดท้ายของการหมัก จะเห็นได้ว่าการใช้สารอาหารของกล้าเชื้อยีสต์ *H. guilliermondii* และ *M. guilliermondii* มีความคล้ายกัน โดยปริมาณ TSS ในวันสุดท้ายของการหมักจะสูงกว่า และมีปริมาณแอลกอฮอล์ต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการหมักน้ำสับปะรดด้วยกล้าเชื้อเดี่ยวของยีสต์ *S. cerevisiae* เนื่องจากกล้าเชื้อยีสต์ *H. guilliermondii* ไม่มีเอนไซม์ไว้ย่อยน้ำตาลโมเลกุลคู่ ทำให้สามารถใช้น้ำตาลกลูโคสเพียงอย่างเดียวสำหรับในการผลิตแอลกอฮอล์ ได้น้อยปริมาณ TSS จึงมีค่าสูง ส่งผลให้ปริมาณแอลกอฮอล์ที่ผลิตได้มีค่าน้อยตามไปด้วย (Cadez and Smith, 2011)

สำหรับปริมาณ TTA (ภาคผนวก ง-4) พบว่าน้ำสับปะรดมีปริมาณ TTA เริ่มต้นเท่ากับ 0.53 ± 0.03% และมีค่าเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเป็น 0.63 ± 0.03% ในวันที่ 2 ของการหมัก และลดลงอย่างสม่ำเสมอจนมีค่าเท่ากับ 0.57 ± 0.03% ในวันสุดท้ายของการหมัก ซึ่งสอดคล้องกับค่า pH (ภาคผนวก ง-5) ที่มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 3.71 ± 0.00 และลดลงเล็กน้อยเป็น 3.64 ± 0.01 ในวันที่ 2 ของการหมักและเพิ่มขึ้นอย่างสม่ำเสมอจนมีค่าเท่ากับ 3.75 ± 0.04 เมื่อสิ้นสุดการหมัก



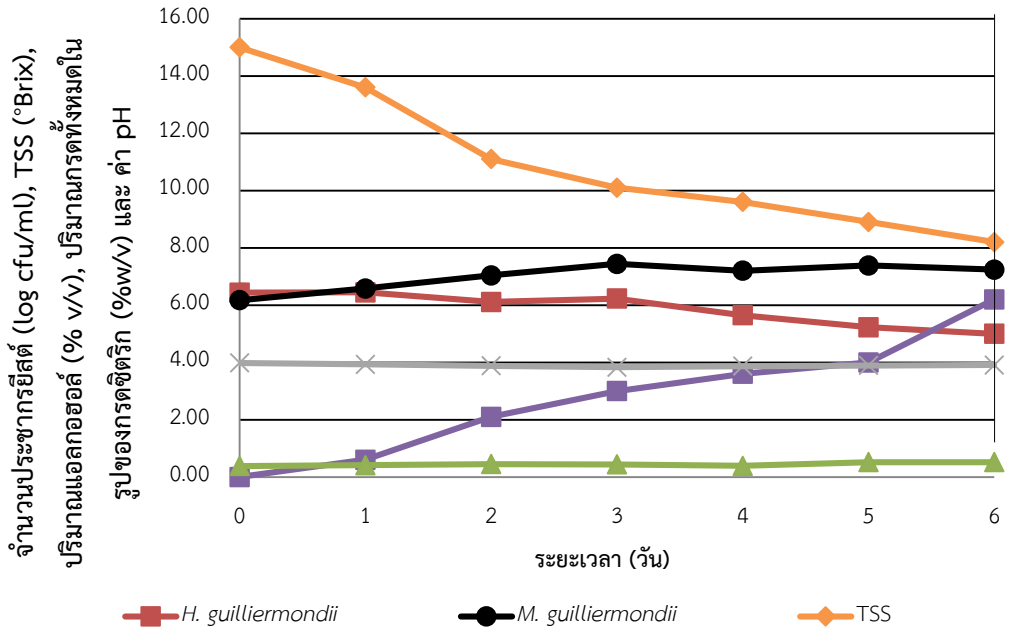
ภาพที่ 6.3 การเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์, ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด, ปริมาณแอลกอฮอล์, ปริมาณกรดทั้งหมด และค่าความเป็นกรดด่างในระหว่างการหมักน้ำสับปะรดด้วยกล้าเชื้อ *H. guilliermondii* นาน 6 วัน

6.2.4 การหมักน้ำสับปะรดด้วยกล้าเชื้อร่วมของ *H. guilliermondii* และ *M. guilliermondii*

จากการติดตามการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางจุลชีววิทยาและเคมีระหว่างการหมักสับปะรดด้วยกล้าเชื้อร่วมของ *H. guilliermondii* และ *M. guilliermondii* (ภาพที่ 6.4) พบว่า จำนวนประชากร *H. guilliermondii* และ *M. guilliermondii* (ภาคผนวก ง-1) มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 6.4 ± 0.3 และ 6.2 ± 0.1 log cfu/mL ตามลำดับ เมื่อสังเกตการณ์เจริญเติบโตของจุลินทรีย์ทั้ง 2 ชนิด จะเห็นได้ว่าจำนวนประชากรของ *H. guilliermondii* ลดลงอย่างช้าๆ ประมาณ 1.5 log cycles และมีค่าเท่ากับ 5.0 ± 0.0 log cfu/mL เมื่อสิ้นสุดการหมัก ขณะที่จำนวนประชากรของ *M. guilliermondii* เพิ่มขึ้นเล็กน้อยและมีค่าเท่ากับ 7.2 ± 0.1 log cfu/mL เมื่อสิ้นสุดการหมัก เมื่อพิจารณาที่ปริมาณ TSS (ภาคผนวก ง-2) ในน้ำสับปะรดที่มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 15 °Brix และลดลงอย่างสม่ำเสมอจนมีค่าเท่ากับ 8.2 ± 0.2°Brix เมื่อสิ้นสุดการหมัก ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณแอลกอฮอล์ (ภาคผนวก ง-3) ที่เพิ่มขึ้นอย่างสม่ำเสมอจนมีค่าเท่ากับ 7.0 ± 0.3%(v/v) เมื่อสิ้นสุดการหมัก เมื่อเปรียบเทียบกับการหมักน้ำสับปะรดด้วยกล้าเชื้อเดี่ยวของยีสต์ *H. guilliermondii* และ *M. guilliermondii* พบว่ามีปริมาณแอลกอฮอล์ต่ำกว่าการหมักน้ำสับปะรดด้วยการใช้

กล้าเชื้อร่วมกันของยีสต์ *H. guilliermondii* และ *M. guilliermondii* อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบกับการหมักน้ำสับปะรดด้วยกล้าเชื้อเดี่ยวของยีสต์ *S. cerevisiae* พบว่ามีปริมาณแอลกอฮอล์สูงกว่าการหมักน้ำสับปะรดด้วยกล้าเชื้อร่วมกันของยีสต์ *H. guilliermondii* และ *M. guilliermondii* มีงานวิจัยได้กล่าวไว้ว่า *H. guilliermondii* และ *M. guilliermondii* สามารถใช้น้ำตาลกลูโคส และฟรุกโตสเป็นสารตั้งต้นในการผลิตแอลกอฮอล์ซึ่งเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว โดยยีสต์จะใช้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่มีในน้ำสับปะรดเท่านั้นในการผลิตแอลกอฮอล์ ทำให้ปริมาณน้ำตาลในน้ำสับปะรดค่อยๆ ลดลง (Fleet and Heard, 1998; Nissen and Arneborg, 2003; Fleet, 2003; Nissen et al., 2003; Moreira et al., 2008; Moreira et al., 2011)

สำหรับปริมาณ TTA (ภาคผนวก ง-4) พบว่าน้ำสับปะรดมีปริมาณ TTA เริ่มต้นเท่ากับ 0.38 ± 0.00% และมีค่าเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเป็น 0.41 ± 0.03% ในวันที่ 2 ของการหมัก และเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วงท้ายของการหมักจนมีค่าเท่ากับ 0.52 ± 0.03% ในวันสุดท้ายของการหมัก ซึ่งสอดคล้องกับค่า pH (ภาคผนวก ง-5) ที่มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 3.98 ± 0.01 และลดลงเล็กน้อยเป็น 3.93 ± 0.01 ในวันที่ 2 ของการหมักและเพิ่มขึ้นอย่างสม่ำเสมอจนมีค่าเท่ากับ 3.91 ± 0.02 เมื่อสิ้นสุดการหมัก

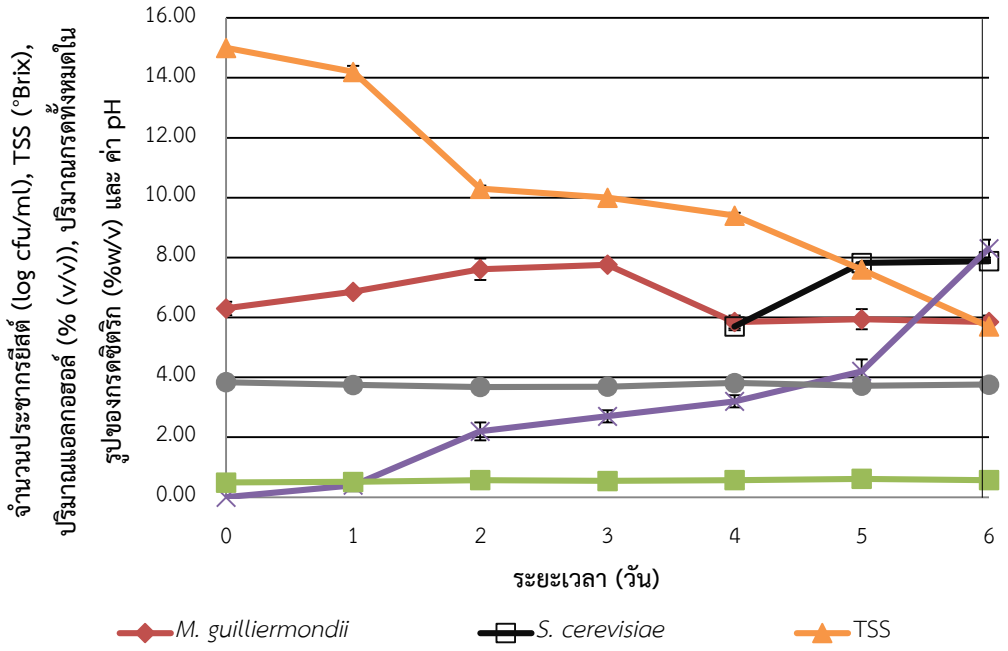


ภาพที่ 6.4 การเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์, ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด, ปริมาณแอลกอฮอล์, ปริมาณกรดทั้งหมด และค่าความเป็นกรดด่างในระหว่างการหมักน้ำสับปะรดด้วยกล้าเชื้อด้วยกล้าเชื้อร่วมของ *H. guilliermondii* และ *M. guilliermondii* นาน 6 วัน

6.2.5 การหมักน้ำสับปะรดด้วยกล้าเชื้อร่วมของ *M. guilliermondii* ตามด้วยกล้าเชื้อ *S. cerevisiae* แบบลำดับ

จากการติดตามการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางจุลชีววิทยาและเคมีในระหว่างการหมักสับปะรดด้วยกล้าเชื้อ *M. guilliermondii* และเติมด้วยกล้าเชื้อ *S. cerevisiae* ในวันที่ 4 ของการหมัก (ภาพที่ 6.5) พบว่า จำนวนประชากร *M. guilliermondii* มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 6.3 ± 0.2 log cfu/mL ในวันที่ 0 ของการหมัก และลดลงจนเหลือจำนวนประชากรเท่ากับ 5.9 ± 0.2 log cfu/mL ในวันที่ 4 ของการหมัก ซึ่งคล้ายกับการหมักใช้กล้าเชื้อเดี่ยวของ *M. guilliermondii* ในช่วง 0-3 วันแรกของการหมัก หลังการเติมยีสต์ *S. cerevisiae* ในวันที่ 4 ของการหมัก โดยจำนวนประชากรเริ่มต้นเท่ากับ 5.7 ± 0.1 log cfu/mL พบว่ายีสต์ *S. cerevisiae* สามารถเจริญได้อย่างรวดเร็วและมีค่าเป็น 7.9 ± 0.1 log cfu/mL เมื่อสิ้นสุดการหมัก ในขณะที่จำนวนประชากรของยีสต์ *M. guilliermondii* มีค่าลดลงเล็กน้อยเป็น 5.9 ± 0.2 log cfu/mL เมื่อสิ้นสุดการหมัก (ภาคผนวก ง-1) การลดลงของยีสต์ *M. guilliermondii* อาจเนื่องมาจากปริมาณแอลกอฮอล์ที่สูงขึ้นจากการหมักของยีสต์ *S. cerevisiae* ทำให้ยีสต์ *M. guilliermondii* ลดจำนวนลงเล็กน้อย สอดคล้องกับผลของ Barata et al. (2006) ที่ศึกษาเกี่ยวกับการเจริญและการสร้างได้ 4-phenylethanol โดยยีสต์ *Pichia guilliermondii* ในน้ำองุ่นได้รายงานว่ายีสต์ *M. guilliermondii* จะเริ่มตายและหยุดสร้าง 2-phenylethanol หลังเติม *S. cerevisiae* ลงไป เมื่อพิจารณาปริมาณ TSS ในน้ำสับปะรด (ภาคผนวก ง-2) ที่มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 15 °Brix พบว่าปริมาณ TSS ลดลงอย่างสม่ำเสมอและมีค่าเท่ากับ 9.4 ± 0.1 °Brix ในวันที่ 4 ของการหมัก หลังจากเติมกล้าเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* ลงไป พบว่าปริมาณ TSS มีค่าลดลงอย่างรวดเร็ว และมีค่าเท่ากับ 5.7 ± 0.1 °Brix ในวันสุดท้ายของการหมัก สอดคล้องกับปริมาณแอลกอฮอล์ (ภาคผนวก ง-3) ที่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วระหว่างวันที่ 5-6 ของการหมัก อาจเนื่องมาจากยีสต์ *S. cerevisiae* สามารถปรับตัวและเกิดการหมักได้อย่างรวดเร็วในสภาวะที่มีปริมาณแอลกอฮอล์ 3.2 ± 0.2 %(v/v) ที่เกิดจากการสร้างของยีสต์ โดยยีสต์ *M. guilliermondii* สร้างเอนไซม์ β–glucosidase ที่สามารถย่อยน้ำตาลโมเลกุลคู่เป็นโมเลกุลเดี่ยวได้ ทำให้เมื่อเติมยีสต์ *S. cerevisiae* ลงไป ยีสต์จึงสามารถนำน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวไปใช้ได้ทันที ทำให้เกิดสภาวะที่สนับสนุนการเจริญของยีสต์ *S. cerevisiae* (Ganga & Martinez, 2004)

สำหรับปริมาณ TTA (ภาคผนวก ง-4) มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 0.49 ± 0.02 % จากนั้นเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในวันที่ 1 ของการหมัก และมีค่าเท่ากับ 0.51 ± 0.00 % จากนั้นลดลงเล็กน้อยในช่วงท้ายของการหมัก สอดคล้องกับค่า pH (ภาคผนวก ง-5) ที่มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 3.84 ± 0.01 จากนั้นลดลงเล็กน้อยในช่วงแรกของการหมักและเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วงท้ายของการหมัก และมีค่าค่อนข้างจะคงที่ตลอดการหมัก

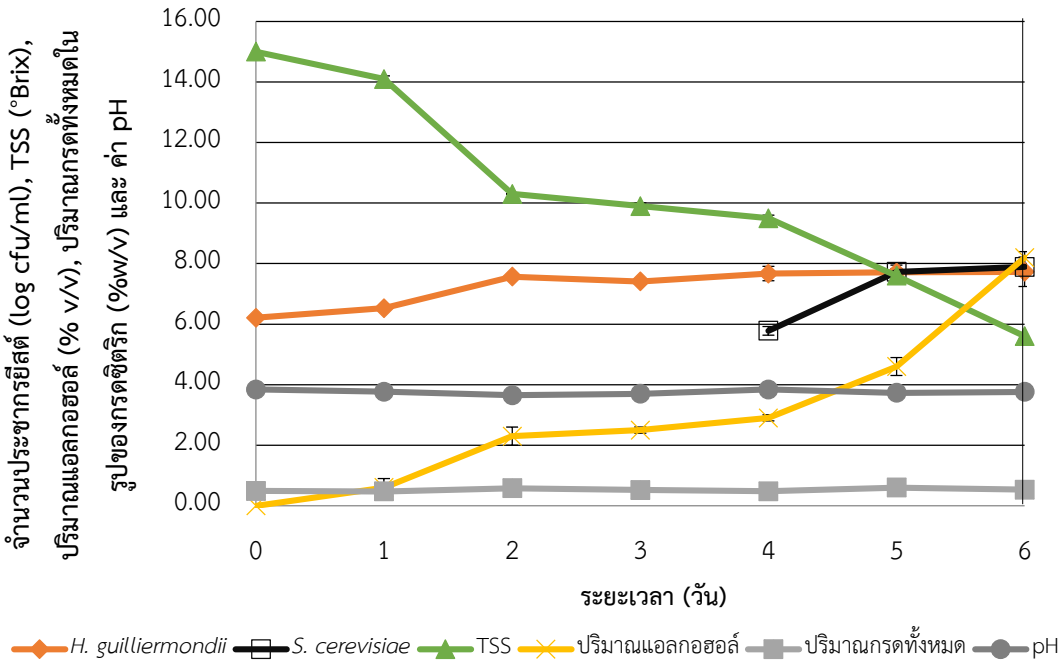


ภาพที่ 6.5 การเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์, ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด, ปริมาณแอลกอฮอล์, ปริมาณกรดทั้งหมด และค่าความเป็นกรดด่างในระหว่างการหมักน้ำสับปะรดด้วยกล้าเชื้อร่วมของ *M. guilliermondii* ตามด้วยกล้าเชื้อ *S. cerevisiae* แบบลำดับ นาน 6 วัน

6.2.6 การหมักน้ำสับปะรดด้วยกล้าเชื้อร่วมของ *H. guilliermondii* ตามด้วยกล้าเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* แบบเป็นลำดับ

จากการติดตามการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางจุลชีววิทยาและเคมีในระหว่างการหมักสับปะรดด้วยกล้าเชื้อ *H. guilliermondii* และเติมด้วยกล้าเชื้อ *S. cerevisiae* ในวันที่ 4 ของการหมัก (ภาพที่ 6.6) พบว่าจำนวนประชากร *H. guilliermondii* มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 6.8 ± 0.1 log cfu/mL ในวันที่ 0 ของการหมัก และลดลงจนเหลือจำนวนประชากรเท่ากับ 6.1 ± 0.2 log cfu/mL ในวันที่ 4 ของการหมัก ซึ่งมีรูปแบบคล้ายกับการหมักด้วยกล้าเชื้อเดี่ยวของยีสต์ *H. guilliermondii* ในช่วง 0-3 วันแรกของการหมัก หลังการเติมกล้าเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* ในวันที่ 4 ของการหมัก พบว่าจำนวนประชากรเริ่มต้นเท่ากับ 5.8 ± 0.1 log cfu/mL และเพิ่มขึ้นจนมีค่าเท่ากับ 7.9 ± 0.1 log cfu/mL เมื่อสิ้นสุดการหมัก ในขณะที่จำนวนประชากรของยีสต์ *H. guilliermondii* มีค่าลดลงเล็กน้อยเป็น 6.1 ± 0.5 log cfu/mL เมื่อสิ้นสุดการหมัก (ภาคผนวกที่ ง-1) อาจเนื่องมาจากปริมาณแอลกอฮอล์ที่ผลิตโดยยีสต์ *S. cerevisiae* ทำให้เซลล์ของยีสต์ *H. guilliermondii* มีจำนวนประชากรลดลง ซึ่งการหมักด้วยกล้าเชื้อยีสต์ *H. guilliermondii* และ *S. cerevisiae* แบบลำดับนี้มีรูปแบบการหมักคล้ายการหมักคล้ายกับการหมักด้วยกล้าเชื้อยีสต์ *M.*

guilliermondii และ *S. cerevisiae* แบบลำดับ (ภาพที่ 6.5) เมื่อพิจารณาปริมาณ TSS ในน้ำสับปะรด (ภาคผนวก ง-2) ที่มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 15 °Brix พบว่ามีค่าลดลงอย่างสม่ำเสมอเป็น 9.5 ± 0.1 °Brix ในวันที่ 4 ของการหมัก การเติมกล้าเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* ทำให้ปริมาณ TSS ของน้ำสับปะรดหมักลดลงอย่างรวดเร็ว และมีค่าเท่ากับ 5.6 ± 0.1 °Brix ในวันสุดท้ายของการหมัก สอดคล้องกับรายงานของ Polakowski and Tessa (2008) ที่ศึกษาเกี่ยวกับผลของโครงสร้างน้ำตาลต่ออัตราการหมักได้กล่าวไว้ว่ายีสต์ *S. cerevisiae* จะใช้น้ำตาลในช่วงแรกของการหมักอย่างรวดเร็ว จากนั้นจะลดลงจนค่อนข้างคงที่ในช่วงท้ายจนสิ้นสุดการหมัก และผลค่า TSS ที่ได้สอดคล้องกับปริมาณแอลกอฮอล์ (ภาคผนวก ง-3) ที่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเป็น 8.2 ± 0.2 %(v/v) ในวันสุดท้ายของการหมักสำหรับปริมาณ TTA ในน้ำสับปะรดหมัก (ภาคผนวก ง-4) พบว่ามีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 0.49 ± 0.02 % และเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในวันที่ 2 ของการหมักเป็น 0.58 ± 0.04% และลดลงเล็กน้อยในช่วงท้ายของการหมัก สอดคล้องกับค่า pH (ภาคผนวก ง-5) ที่มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 3.84 ± 0.01 จากนั้นลดลงเล็กน้อยในวันที่ 2 ของการหมักเป็น 3.65 ± 0.01 จากนั้นเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วงท้ายของการหมัก



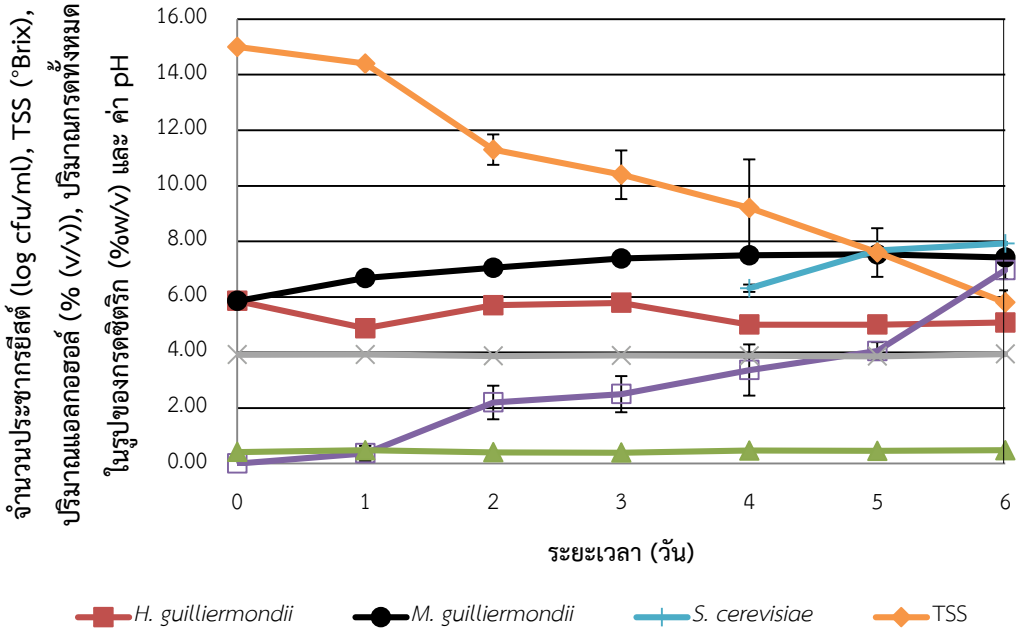
ภาพที่ 6.6 การเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์, ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด, ปริมาณแอลกอฮอล์, ปริมาณกรดทั้งหมด และค่าความเป็นกรดด่างในระหว่างการหมักน้ำสับปะรดด้วยกล้าเชื้อร่วมของ *H. guilliermondii* ตามด้วยกล้าเชื้อ *S. cerevisiae* แบบลำดับ นาน 6 วัน

6.2.7 การหมักน้ำสับปะรดด้วยกล้าเชื้อร่วมของกล้าเชื้อผสมระหว่างยีสต์ *H. guilliermondii* และ *M. guilliermondii* ตามด้วยกล้าเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* แบบลำดับ

จากการติดตามการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางจุลชีววิทยาและเคมีในระหว่างการหมักสับปะรดด้วยกล้าเชื้อร่วมของกล้าเชื้อผสมระหว่างยีสต์ *H. guilliermondii* และ *M. guilliermondii* เติมด้วยกล้าเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* ในวันที่ 4 ของการหมัก (ภาพที่ 6.7) พบว่าจำนวนประชากร *H. guilliermondii* และ *M. guilliermondii* มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 5.9 ± 0.0 และ 5.9 ± 0.0 log cfu/mL ตามลำดับ และเมื่อสังเกตการณ์เจริญเติบโตของยีสต์ Non-*Saccharomyces* ทั้ง 2 ชนิด พบว่าจำนวนประชากรของ *H. guilliermondii* มีค่าลดลงเล็กน้อยโดยจำนวนประชากรเท่ากับ 5.0 ± 0.0 log cfu/mL ในวันที่ 4 ของการหมัก ขณะที่จำนวนประชากรของ *M. guilliermondii* มีค่าเพิ่มขึ้นประมาณ 1.5 log cycles เป็น 7.5 ± 0.1 log cfu/mL หลังการเติมกล้าเชื้อ *S. cerevisiae* ลงไปในวันที่ 4 โดยมีจำนวนประชากรเริ่มต้นเท่ากับ 6.3 ± 0.1 log cfu/mL พบว่าจำนวนประชากรของ *H. guilliermondii* และ *M. guilliermondii* เริ่มลดลงจนมีค่าเท่ากับ 5.1 ± 0.1 log cfu/mL และ 7.4 ± 0.2 log cfu/mL ตามลำดับ ในวันสุดท้ายของการหมัก ขณะที่จำนวนประชากรของยีสต์ *S. cerevisiae* มีจำนวนเพิ่มขึ้นเป็น 7.9 ± 0.0 log cfu/mL ในวันสุดท้ายของการหมัก (ภาคผนวก ง-1) อาจเนื่องมาจากยีสต์ *H. guilliermondii* และ *M. guilliermondii* ไม่สามารถทนต่อปริมาณแอลกอฮอล์หรือสารประกอบอื่นๆ เช่น SO_2 ที่ *S. cerevisiae* สร้างได้ (Fleet, 2003; Fugelsang & Edwards, 2007, pp. 84-86; Granchi et al., 1998; Jolly, Augustyn, & Pretorius, 2006; Zott, Miot-Sertier, Claisse, LanvaudFunel, & Masneuf-Pomarede, 2008) มีรายงานกล่าวว่ายีสต์ Non-*Saccharomyces* สามารถสนับสนุนการเจริญของยีสต์ *S. cerevisiae* ได้ (Lombardi et al., 2018) โดยยีสต์ *M. guilliermondii* สร้างเอนไซม์ β – glucosidase ที่สามารถย่อยน้ำตาลโมเลกุลคู่เป็นโมเลกุลเดี่ยวได้ ทำให้เมื่อเติมยีสต์ *S. cerevisiae* ลงไป ยีสต์จึงสามารถนำน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวไปใช้ได้ทันที (Ganga & Martinez, 2004) สังเกตได้ว่ารูปแบบการหมักน้ำสับปะรดด้วยกล้าเชื้อผสมของ *H. guilliermondii* และ *M. guilliermondii* และเติม *S. cerevisiae* แบบลำดับ มีลักษณะการเจริญในช่วง 1-4 วันแรกของการหมัก คล้ายกับการหมักด้วยกล้าเชื้อผสมของยีสต์ *H. guilliermondii* ร่วมกับ *M. guilliermondii* และหลังจากเติมกล้าเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* พบว่า มีรูปแบบการเจริญในช่วงวันที่ 4-6 คล้ายกับการหมักน้ำสับปะรดด้วยกล้าเชื้อ *M. guilliermondii* และ *H. guilliermondii* ที่เติมกล้าเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* ในวันที่ 4 ของการหมัก เมื่อพิจารณาค่า TSS ในน้ำสับปะรดโดย (ภาคผนวก ง-2) มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 15 °Brix พบว่าปริมาณ TSS ลดลงอย่างสม่ำเสมอในช่วงแรกของการหมักจนมีค่าเท่ากับ 9.2 ± 1.8 °Brix ในวันที่ 4 การหมัก เมื่อเติมยีสต์ *S. cerevisiae* พบว่าปริมาณ TSS

ลดลงอย่างรวดเร็วจนมีค่าเท่ากับ 5.8 ± 0.4 °Brix เมื่อสิ้นสุดการหมัก สอดคล้องกับปริมาณแอลกอฮอล์ (ภาคผนวก ง-3) ที่เพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ ในช่วงแรกของการหมัก และเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วหลังเติมยีสต์ *S. cerevisiae* จนมีค่าเท่ากับ 7.0 ± 0.3 %(v/v) เมื่อสิ้นสุดการหมัก

สำหรับปริมาณ TTA ในน้ำสับปะรดหมัก (ภาคผนวก ง-4) พบว่า มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 0.42 ± 0.04% และเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในวันที่ 1 ของการหมักเป็น 0.48 ± 0.04% และลดลงเล็กน้อยในช่วงท้ายของการหมัก สอดคล้องกับค่า pH (ภาคผนวก ง-5) ที่มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 3.92 ± 0.01 จากนั้นลดลงเล็กน้อยในวันที่ 2 ของการหมักเป็น 3.87 ± 0.04 จากนั้นเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วงท้ายของการหมัก



ภาพที่ 6.7 การเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์, ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด, ปริมาณแอลกอฮอล์, ปริมาณกรดทั้งหมด และค่าความเป็นกรดด่างในระหว่างการหมักน้ำสับปะรดด้วยกล้าเชื้อร่วมของกล้าเชื้อผสมระหว่างยีสต์ *H. guilliermondii* และ *M. guilliermondii* ตามด้วยกล้าเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* แบบลำดับ นาน 6 วัน

เมื่อเปรียบเทียบรูปแบบการหมักน้ำสับปะรดด้วยกล้าเชื้อเดี่ยวของยีสต์ *S. cerevisiae* และ Non-*Saccharomyces* พบว่ายีสต์ Non-*Saccharomyces* มีรูปแบบของการหมักใกล้เคียงกัน โดยมีการลดลงของค่า TSS อย่างช้าๆ และมีปริมาณแอลกอฮอล์เพิ่มขึ้นอย่างช้าจนสิ้นสุดการหมัก ในขณะที่รูปแบบการหมักของยีสต์ *S. cerevisiae* นั้นมีลักษณะการลดลงของค่า TSS และมีปริมาณแอลกอฮอล์เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงวันที่ 2-3

ของการหมัก ปริมาณแอลกอฮอล์จึงแปรผันตามการลดลงของค่า TSS ที่เกิดจากการหมักของยีสต์ (Polakowski and Tessa., 2008)

เมื่อเปรียบเทียบรูปแบบการหมักน้ำสับปะรดด้วยกล้าเชื้อผสมระหว่างยีสต์ *S. cerevisiae* และยีสต์ Non-*Saccharomyces* โดยการหมักเป็นลำดับ พบว่าในช่วงแรกของการหมักที่เติมกล้าเชื้อยีสต์ Non-*Saccharomyces* มีลักษณะการใช้น้ำตาลแบบค่อยๆ ลดลงอย่างสม่ำเสมอจนค่อนข้างคงที่ในช่วงท้ายของการหมัก และเมื่อเติมกล้าเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* จะเห็นได้ว่าลักษณะการใช้น้ำตาลเปลี่ยนไป โดยจะมีการลดลงของค่า TSS อย่างรวดเร็วตั้งแต่หลังการเติมกล้าเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* เนื่องจาก Non-*Saccharomyces* สามารถสนับสนุนการเจริญเติบโตของยีสต์ *S. cerevisiae* (Lombardi et al., 2018) ทำให้จำนวนประชากรของยีสต์ *S. cerevisiae* เพิ่มขึ้น ขณะที่ยีสต์ Non-*Saccharomyces* มีจำนวนประชากรลดลง จากปริมาณแอลกอฮอล์ที่สูงขึ้นและสารประกอบที่ยีสต์ *S. cerevisiae* สร้างขึ้น

7. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

กล้าเชื้อเดี่ยว *S. cerevisiae* มีรูปแบบการหมักที่รวดเร็วสามารถสร้างแอลกอฮอล์ได้มากที่สุด ขณะที่กล้าเชื้อเดี่ยว Non-*Saccharomyces* ทั้งสองชนิดมีรูปแบบการหมักที่ช้า ทำให้สามารถสร้างกลิ่นที่ดีในระหว่างการหมักได้ และมีปริมาณแอลกอฮอล์ต่ำ เมื่อพิจารณาที่กล้าเชื้อผสมของ Non-*Saccharomyces* พบว่าสามารถสร้างกลิ่นที่ดีในระหว่างการหมักได้แต่มีปริมาณแอลกอฮอล์สูงกว่าการหมักแบบเดี่ยว สำหรับการหมักด้วยกล้าเชื้อเดี่ยวของ Non-*Saccharomyces* ตามด้วยการเติมกล้าเชื้อ *S. cerevisiae* แบบลำดับ พบว่าปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้จะต่ำกว่าการหมักด้วยกล้าเชื้อเดี่ยวของ *S. cerevisiae* แต่สูงกว่าการหมักด้วยกล้าเชื้อเดี่ยวของ Non-*Saccharomyces* และมีกลิ่นที่ดีกว่าการหมักด้วยกล้าเชื้อเดี่ยวของ *S. cerevisiae* และสำหรับการหมักด้วยกล้าเชื้อผสมของ Non-*Saccharomyces* ตามด้วยการเติมกล้าเชื้อ *S. cerevisiae* แบบลำดับ พบว่ามีปริมาณแอลกอฮอล์เท่ากับการหมักด้วยกล้าเชื้อผสมของ Non-*Saccharomyces* และมีกลิ่นที่ใกล้เคียงกับการหมักด้วยกล้าเชื้อเดี่ยว *S. cerevisiae*

ข้อเสนอแนะ

ควรติดตามค่าทางเคมีต่างๆ ในระหว่างการหมักน้ำสับปะรดด้วยวิธีวิเคราะห์ขั้นสูงเพิ่มเติมและประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ที่ได้อย่างเป็นระบบเพื่อทดสอบการยอมรับของผู้บริโภค

ผลผลิต (Output)

- ได้สายพันธุ์ยีสต์ *H. guilliermondii* และ *M. guilliermondii* ที่มีความสามารถหมักน้ำสับปะรดให้ผลิตภัณฑ์ที่มีปริมาณแอลกอออล์ใกล้เคียงกับการหมักน้ำสับปะรดด้วย *S. cerevisiae* ซึ่งเป็นยีสต์ทางการค้าที่นิยมใช้สำหรับการหมัก เพื่อนำไปพัฒนาเป็นกล้าเชื้อบริสุทธิ์ต่อไป

รายงานสรุปการเงิน

เลขที่โครงการระบบบริหารงานวิจัย (NRMS 13 หลัก) 2561A10802084

สัญญาเลขที่ 78/2561

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน)

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. ๒๕๖๑ มหาวิทยาลัยบูรพา

ชื่อโครงการ การคัดแยกจุลินทรีย์ออโตโคนัสที่เกี่ยวข้องกับการหมักน้ำสับปะรดคั้นสดเป็นกล้าเชื้อสำหรับการผลิตน้ำผลไม้น้ำตาลต่ำ

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน ผศ.ดร.อรอง จันทร์ประสาทสุข

รายงานในช่วงตั้งแต่วันที่ 1 ต.ค. 2560 **ถึงวันที่** 30 พ.ค. 2561

ระยะเวลาดำเนินการ 1 ปี 7 เดือน **ตั้งแต่วันที่** 1 ต.ค. 2560

<u>รายรับ</u>

จำนวนเงินที่ได้รับ

งวดที่ 1 (50%) 254,070 **บาท เมื่อวัน เดือน ปี 30 ม.ค. 61**

งวดที่ 2 (40%) 203,256 **บาท เมื่อวัน เดือน ปี 23 พ.ค. 61**

งวดที่ 3 (10%) 50,814 **บาท**

รวม 508,140 **บาท**

<u>รายจ่าย</u>

รายการ	**งบประมาณที่ตั้งไว้**	**งบประมาณที่ใช้จริง**	**จำนวนเงินคงเหลือ/เกิน**
1. ค่าตอบแทน	54,000	54,000	**-**
2. ค่าจ้าง	76,000	73,340	+2,660
3. ค่าวัสดุ	268,340	271,000	-2,660
4. ค่าใช้สอย	-	-	-
5. ค่าครุภัณฑ์	-	-	**-**
6. ค่าใช้จ่ายอื่น ๆ (โปรดระบุเป็นข้อย่อย) - ค่าจ้างนิสิตชั่วคราว	109,800	109,800	**-**

- ค่าธรรมเนียมการอุดหนุนสถาบัน	56,460	56,460	-
รวม	564,600	564,600	-

(.....)

ลงนามหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน

เอกสารอ้างอิง (Reference)

กนกวรรณ ทองแม้น, ชื่นจิต ประกิตชัยวัฒนา และภาวิณี ดีแท้. (2557). การลดความเปรี้ยวของไวน์สับปะรดด้วยแบคทีเรียกรดแล็กติกสายพันธุ์ทางการค้า และออโตโคนัสไอโซเลท. *วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร*, *45*(2), หน้า 21-24.

กนกอร ศรีม่วง. (2546). ผลของน้ำคั้นจากผลยอ (*Morinda citrifolia* Linn.) ต่อการเจริญของยีสต์ทำไวน์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae*: Effect of Indian Mulberry (*Morinda citrifolia* Linn.) juice on growth of wine yeast variety *Saccharomyces*. เชียงใหม่: บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

กฤติยา ไชยนอก. (2561). *สับปะรด : ผลไม้รักษาโรค.* เข้าถึงได้จาก https://www.pharmacy. mahidol.ac.th/th/knowledge/article/429/สับปะรด-อาหารไม่ย่อย-ขัดเบา/

จิรภา พงษ์จันตา, อัณณ์กาญจน์ นวลบุญเรือง, ลชินี ปานใจ และ ธัญลักษณ์ บัวผัน. (2557). การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดอินทรีย์และน้ำตาลในน้ำสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย (*Ananas comosus* cv. Smooth Cayenne) ที่ต่างพื้นที่ปลูกและระดับความสุก. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ธีรวัลย์ ชาญฤทธิเสน. (2544). ผลของปริมาณกรดในน้ำหมักและเอนไซม์เพคติเนสที่มีต่อปริมาณ เมทิลแอลกอฮอล์และองค์ประกอบทางเคมีบางประการของไวน์หม่อน. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นฤมล ประภาสุวรรณกุล, สุพัฒน์ชลี สิริโชควรกิตติ์, นันทพร อัคนิจ และสุภาวิณี แสนทวีสุข. (2555). *การผลิตไอศกรีมจากน้ำตาลมะพร้าว.* กรุงเทพฯ: สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราช ภัฏสวนสุนันทา.

ประดิษฐ์ ครุวัณณา. (2546). *ไวน์ : ศาสตร์และศิลป์.* (พิมพ์ครั้งที่ 2). กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ประธาน โพธิสวัสดิ์ และจารุพันธ์ ทองแถม. (2545). การศึกษาเปรียบเทียบการเจริญเติบโตและคุณภาพผลผลิตของสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียและพันธุ์ลูกผสม. *วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, 33*(4-5), หน้า 111-120.

สุดารัตน์ ตัญเจริญสุขจิต และศศิธร จันทนวรางกูร. (2550). *ความสามารถในการต้านออกซิเดชันของเปลือกแกนและเนื้อสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียและพันธุ์ภูเก็ต.* กรุงเทพฯ: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย.

สุราไทย. (2553). *ยีสต์และการหมักไวน์*. เข้าถึงได้จาก https://surathai.wordpress.com/2010/06/12/yeastwine/องค์การสุรา กรมสรรพสามิต. (2560). การผลิตแอลกอฮอล์. เข้าถึงได้จาก https://www.liquor.or.th/aic/detail/การผลิตแอลกอฮอล์

อำพรรณ ชัยกุลเสรีวัฒน์ และปิยมาศ วงษ์ประยูร. (2548). การวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์ไวน์มะม่วง. *วารสารเทคโนโลยีการอาหาร*, *2*(1), หน้า 28 – 35.

Barata, A., Nobre, A., Correia, P., Ferreira, M. & Loureiro, V. (2006). Growth and 4-Ethylphenol Production by the Yeast *Pichia guilliermondii* in Grape Juices. *American Journal of Enology and Viticulture, 57*: 133-138.

Boulton, R.B., Singleton, V.L., Bisson, L.F. & Kunkee, R.E. (1996). *Principles and practices of winemaking*, Chapman & Hall, New York.

Cadez, N. & Th.Smith, M. (2011). *The Yeast*. (Fifth Edition), pp: 421-434.

Chanprasartsuk, O., Pheanudomkitlert, K. & Toonwai, D. (2012). Pineapple wine fermentation with yeasts isolated from fruit as single and mixed starter cultures. *Asian Journal of Food and Agro-Industry 5*(20): 104-111.

Chanprasartsuk, O., Prakitchaiwattana, C., Sanguandeekul, R. & Fleet, H. G. (2010). Autochthonous yeasts associated with mature pineapple fruits, freshly crushed juice and their ferments; and the chemical changes during natural fermentation. *Bioresource Technology, 101*(2010): 7500–7509.

Ciani, M. & Picciotti, G. (1995). The growth kinetics and fermentation behaviour of some non-*Saccharomyces* yeasts associated with wine-making. *Biotechnology Letters*, *17*(11): 1247–1250.

Dellacassa, E., Laura, T., Florencia, F., Gabriel, D., Eduardo, P., Boidoc, E. & Carrau, F. (2017). Pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.) wine production in Angola: Characterisation of volatile aroma compounds and yeast native flora. *Journal of Food Microbiology, 241*: 161-167.

Ferreira, C., Silva, S., van Voorst, F., Aguiar, C., Kielland-Brandt, M. C., Brandt, A. & Lucas, C. (2006). Absence of Gup1p in *Saccharomyces cerevisiae* results in defective cell wall composition, assembly, stability and morphology. *FEMS Yeast Res, 6*(7): 1027-38.

Fleet, G.H. (2003). Yeast Interactions and Wine Flavor. I*nternational Journal of Food Microbiology, 86*: 11-22.

Fugelsang, K. C. & Edwards, G. C. (2007). Wine Microbiology: Practical Applications and Procedures. *Wine Microbiology*, 10.1007/978-0-387-33349-6.

Ganga, M.A. & Martinez, C. (2004). Effect of wine yeast monoculture practice on the biodiversity of non-*Saccharomyces* yeasts. *Journal of Applied Microbiology, 96*(1):76-83.

García, M., Esteve-Zarzoso, B. & Arroyo, T. (2016). Non-*Saccharomyces* Yeasts: Biotechnological Role for Wine Production. *Grape and Wine Biotechnolog, DOI: 10.5772/64957*

Gökmen, V., Artik, N., Acar, J., Kahraman, N., & Poyrazoğlu, E. (2001). Effects of various clarification treatments on patulin, phenolic compound and organic acid compositions of apple juice. *European Food Research and Technology, 213*(3): 194-199.

Granchi, L., Bosco, M., Messini, A. & Vincenzini, M. (1999). Rapid detection and quantification of yeast species during spontaneous wine fermentation by PCR–RFLP analysis of the rDNA ITS region. *Journal of applied microbiology, 87*: 949-956.

Hanaya, Y. & Nakadai, T. (2003). Yeasts and soy products. *Yeasts in Foods*, pp. 413-428.

Horiuchi, J., Kanno T. & Kobayashi M. (2000). Effective onion vinegar production by a two-step fermentation system. *J Biosci Bioeng 90*(3): 289-93.

Jensen, S. L., Umiker, N. L., Arneborg, N., & Edwards C. G. (2009). Identification and characterization of *Dekkera bruxellensis*, *Candida pararugosa* and *Pichia guilliermondii* isolated from commercial red wines. *Food Microbiology, 26*(8): 915-921.

Jolly, N.P., Augustyn, O.P.H. & Pretorius, I.S. (2003). The effect of non-*Saccharomyces* yeasts on fermentation and wine quality. *S. Afr. J. Enol. Vitic*. *24*(2): 55-62.

Jolly, N.P., Augustyn, O.P.H. & Pretorius, I.S. (2006). The Role and Use of Non-*Saccharomyces* Yeasts in Wine Production. *Journal of Enology & Viticulture, 27*(1): 15-39.

Kelebek, H. & Selli, S. (2011). Determination of volatile, phenolic, organic acid and sugar components in a Turkish cv. Dortyol (*Citrus sinensis* L. Osbeck) orange juice. *Journal of Food and Agriculture*, *91*(10): 1855-1862.

Kurtzman P. C. (2011). *The Yeasts.* (Fifth Edition), pp: 621-624.

Lombardi, S. J., Pannella, G., Iorizzo. M., Moreno-Arribas, M. V., Tremonte, P., Succi, M., Sorrentino, E., Macciola, V., Di Renzo, M. & Coppola, R. (2018). Sequential inoculum of *Hanseniaspora guilliermondii* and *Saccharomyces cerevisiae* for winemaking Campanino on an industrial scale. *World Journal of Microbiology and Biotechnology, 34*(11): 161. Doi:10.10072s11274-018-2540-6.

Moreira, N., Pina, C., Mendes, F., Couto, J. A., Hogg, T. & Vasconcelos, I. (2011). Volatile compounds contribution of *Hanseniaspora guilliermondii* and *Hanseniaspora uvarum* during red wine vinifications. *Food Control*, 22: 662–667.

Nychas, G. J. E., Drosinos, E. H., & Board, R. G. (1998). Chemical changes in stored meat. In Board and Davies. In Davies Board (Ed.*), The microbiology of meat and poultry*, (pp. 288–236). London: Blackie Academic and Professional.

Parente, E., Di Matteo, M., Spagma-Musso, S. & Crudele, M. A. (1994). Relationship between cathepsin B activity and compositional parameters in dry cured hams of normal and defective texture. *Meat Science*, 38, 117–122.

Polakowski. & Tessa, M. (2008). The Effect of Different Sugars on The Rate of Fermentation in Yeast. *Academic Journal, 108*(1): A-30

Pretorius I.S. (2000). Tailoring wine yeast for the new millennium: *Novel approaches to the ancient art of winemaking. Yeast, 16*: 675-729.

Reddy, L. V. A., & Reddy, O. V. S. (2005). Production and characterization of wine from mango fruit (*Mangifera indica* L). *World Journal of Microbiology and Biotechnology, 21*(8-9): 1345-1350.

Ribereau-Gayon, P., Dubourdieu, D., Doneche, B. & Lonvaud, A. (2006). *Handbook of enology: the microbiology of wine and vinifications, volume 1*, 2nd ed. John Wiley and Sons, Ltd., Chichester, England. pp. 79-113.

Rojas, V., Gil, J. V., Pinaga, F. & Manzanares, P. (2001). Studies on acetate ester production by non- *Saccharomyces* wine yeasts. *Int. J. Food Microbiol, 70*: 283–289. 10.1016/S0168-1605(01)00552-9

Sáez, J.S., Lopes, C.A., Kirs, V.C., & Sangorrín, M.P. (2010). Enhanced volatile phenols in wine fermented with *Saccharomyces cerevisiae* and spoiled with *Pichia guilliermondii* and *Dekkera bruxellensis. Applied Microbiology, 51*: 170–176.

Sairi, M, Law, J. Y. & Mohamad, R. S. (2004). *Chemical composition and sensory analysis of fresh pineapple juice and deacidified pineapple juice using electrodialysis* เข้าถึงได้จาก https://www.researchgate.net/publication/237438755_Chemical_composition_and_sensory_analysis_of_fresh_pineapple_juice_and_deacidified_pineapple_juice_using_electrodialysis

Scragg, A. (1999). *Environment biotechnology, 1st Edition*. Longman, Essex, United Kingdom. pp.13-18.

Sibirny, A. & Boretsky, Y. (2009). *Yeast Biotechnology: Diversity and Applications*. doi: 10.1007/978-1-4020-8292-4_6

Swiegers, J. H., Bartowsky, E. J., Henschke, P. A. & Pretorius, I. S. (2005). Yeast and bacterial modulation of wine aroma and flavour. *Grape Wine Res, 11*: 139–173.

University of California, Davis. *Hanseniaspora guilliermondii.* เข้าถึงได้จาก https://wineserver.ucdavis.edu/industry-info/enology/wine-microbiology/ yeast-mold/hanseniaspora-guilliermondii

University of California, Davis. *Pichia guilliermondii.* เข้าถึงได้จาก https://wineserver.ucdavis.edu/industry-info/enology/wine-microbiology/yeast-mold/pichia-guilliermondii

Wang, C., Mas, A. & Zarzoso, B. E. (2015). Interaction between *Hanseniaspora uvarum* and *Saccharomyces cerevisiae* during alcoholic fermentation. *Journal of Food Microbiology*, *206*:67-74.

Yan, T.R. & Lin, Y.H. (1997). Purification and Characterization of a Glucose-tolerant ß - Glucosidase from *Aspergillus niger* CCRC 31494. Bioscience, *Biotechnology and Biochemistry*, *61*: 965-970.

Zott, A., Miot-Sertiera, C., Claissea, O., Lonvaud-Funel, A. & Masneuf-Pomarede, I. (2008). Dynamics and diversity of non-*Saccharomyces* yeasts during the early stages in winemaking, *International Journal of Food Microbiology, 125*(2): 197-203.

ภาคผนวก (Appendix)

ภาคผนวก ก
การวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา

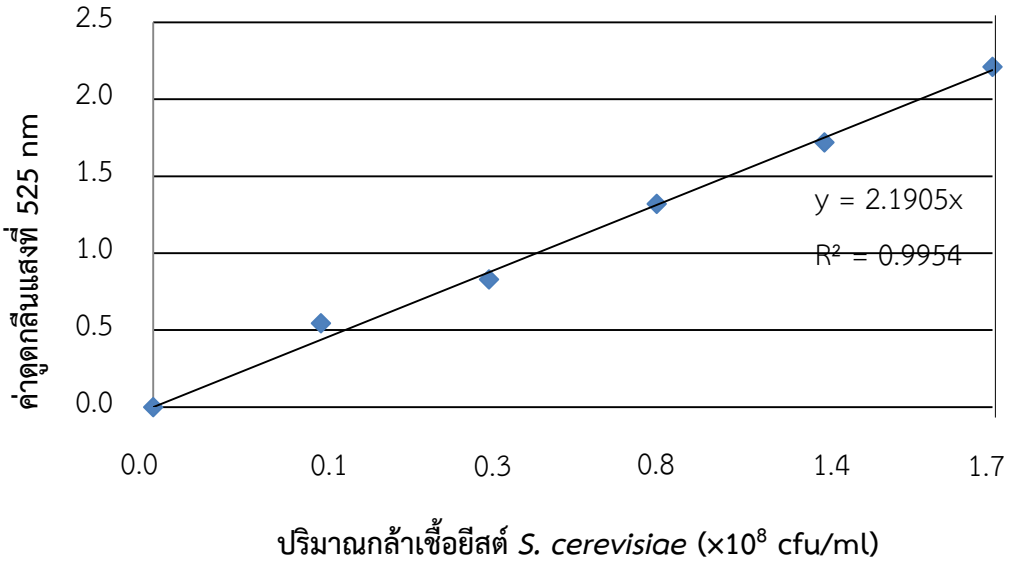
การเตรียมกล้าเชื้อยีสต์บริสุทธิ์

นำยีสต์บริสุทธิ์ทั้ง 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *S.cerevisiae*, *M. guilliermondii*, *H. guilliermondii* มา streak บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Malt Extrack Agar (MEA) บ่มที่อุณหภูมิ 30 ℃ นาน 24-48 ชั่วโมงจากนั้นเตรียมกล้าเชื้อผสมน้ำสับปะรดให้มีความเข้มข้นต่างกัน 6 ระดับ นำมาวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 525 นาโนเมตร 3 ซ้ำ จากนั้นคำนวณหาปริมาณกล้าเชื้อเริ่มต้นได้จากการแทนค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากการวัดตัวอย่าง (ค่า Y) ในสมการเส้นตรงที่ได้ จะได้ปริมาณกล้าเชื้อ (ค่า X) นำค่าที่ได้นำมาคำนวณหาปริมาตรกล้าเชื้อที่ต้องใช้

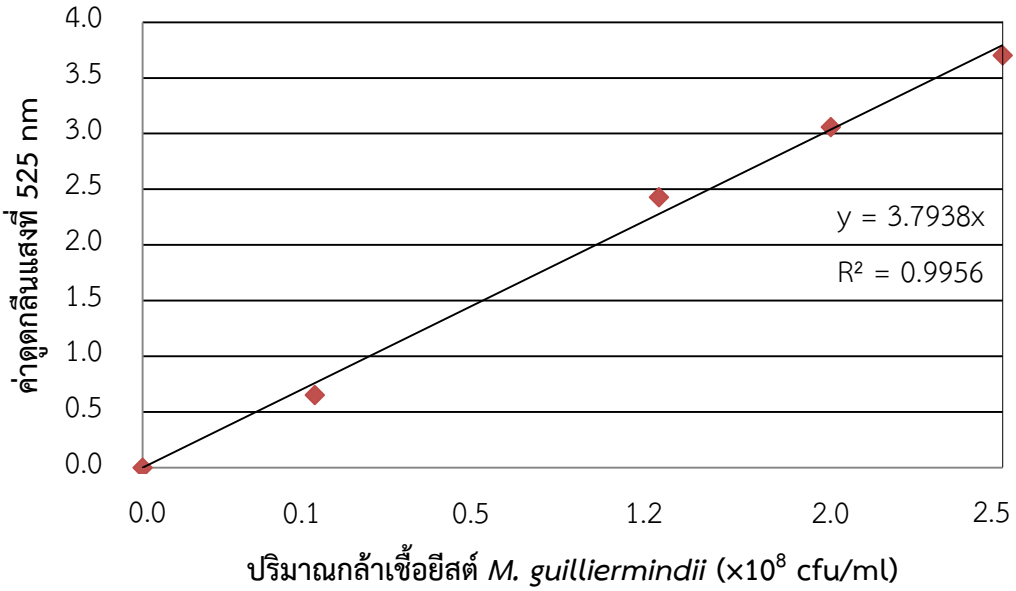
จากสูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

ตารางที่ ก-1 ปริมาณกล้าเชื้อยีสต์แต่ละสายพันธุ์ที่ความเข้มข้นกล้าเชื้อยีสต์ต่างๆ

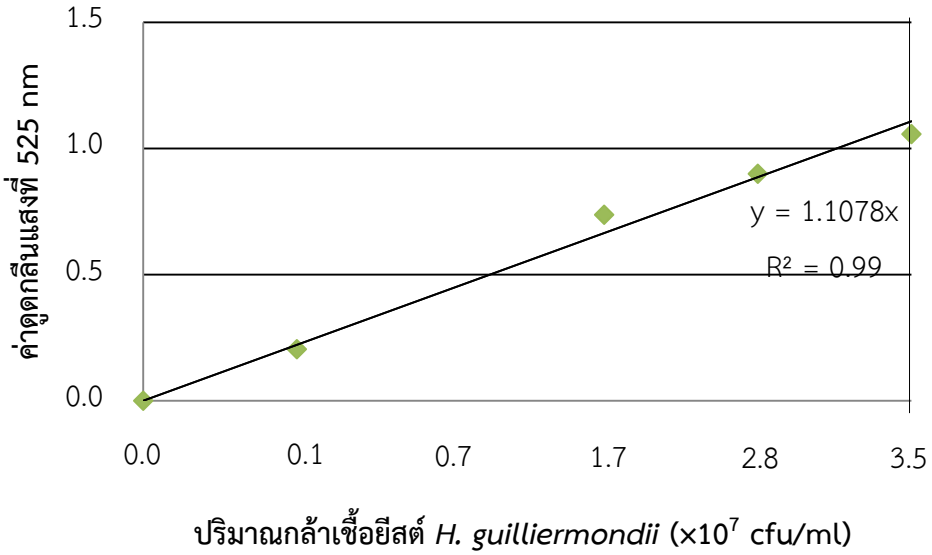
ความเข้มข้นกล้าเชื้อ (%)	จุลินทรีย์		
	S. Cerevisiae ($\times10^8$ cfu/ml)	*M. guilliermondii* ($\times10^8$ cfu/ml)	*H. guilliermondii* ($\times10^7$ cfu/ml)
100	1.7	2.5	3.5
80	1.4	2.0	2.8
60	0.8	1.2	1.7
40	0.3	0.5	0.7
20	0.1	0.1	0.1
0	0.0	0.0	0.0



ภาพที่ ก-1 กราฟมาตรฐานกล้าเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* ที่ค่าดูดกลืนแสง 525 นาโนเมตร



ภาพที่ ก-2 กราฟมาตรฐานกล้าเชื้อยีสต์ *M. guilliermondii* ที่ความยาวคลื่น 525 นาโนเมตร



ภาพที่ ก-3 กราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณกล้าเชื้อยีสต์ *H. guilliermondii* ที่ความยาวคลื่น 525 นาโนเมตร

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

- Malt Extrace Agar (MEA)

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ MEB ปริมาณ 10 กรัม และ Agar 15 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 มิลลิลิตร นำไปเข้าไมโครเวฟจนอาหารเลี้ยงเชื้อละลายจนหมด จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นทิ้งให้อาหารเลี้ยงเชื้อมีอุณหภูมิ 40-50 องศาเซลเซียส แล้วเทใส่จานเพาะเชื้อและทิ้งไว้ให้แข็งตัว

- Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol Agar (DRBC)

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ DRBC ปริมาณ 31.6 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 มิลลิลิตร นำไปเข้าไมโครเวฟจนอาหารเลี้ยงเชื้อละลายจนหมด จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นทิ้งให้อาหารเลี้ยงเชื้อมีอุณหภูมิ 40-50 องศาเซลเซียส แล้วเทใส่จานเพาะเชื้อและทิ้งไว้ให้แข็งตัว

การเตรียมสารละลายเปปโตนความเข้มข้น 0.1 %

ชั่งเปปโตนปริมาณ 1 กรัม ละลายในน้ำ 1000 มิลลิลิตร แล้วดูดใส่หลอดทดลองหลอดละ 9 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อจากนั้นนำไปฆ่าเชื้อใน autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

วิธีการวิเคราะห์

1. ปิเปตตัวอย่างน้ำสับปะรดหมักปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองที่บรรจุสารละลายเปปโตนความเข้มข้น 0.1% ปริมาตร 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex mixer จะได้สารละลายตัวอย่างที่เจือจาง 1:10 หรือ 10^{-1}

2. ปิเปตตัวอย่างน้ำสับปะรดจากข้อ 1 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่บรรจุสารละลายเปปโตนความเข้มข้น 0.1 ปริมาตร 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex mixer จะได้สารละลายตัวอย่างที่เจือจาง 1:100 หรือ 10^{-2} ทำซ้ำต่อไปจนได้ระดับการเจือจางที่ต้องการ

3. เลือกปิเปตระดับความเจือจางที่เหมาะสม 3 ระดับ เช่น 10^{-3} 10^{-4} และ 10^{-5} มาทำการ spread plate โดยการปิเปตสารละลายตัวอย่างระดับความเจือจางละ 0.1 มิลลิลิตร ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ โดในแต่ละระดับความเจือจางจะทำ 2 ซ้ำ

4. ใช้แท่งแก้วปราศจากเชื้อเกลี่ยตัวอย่างให้ทั่วผิวหน้าอาหาร จากนั้นคว่ำจานอาหารเลี้ยงเชื้อลง

5. บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน

6. ตรวจนับโคโลนียีสต์ในจานอาหารเพาะเชื้อ รายงานผลเป็นจำนวนโคโลนีต่อกรัมตัวอย่าง

การตรวจนับโคโลนีและการรายงานผล

หลังจากบ่มครบตามกำหนดแล้ว ตรวจนับจำนวนโคโลนีบนจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 25-250 โคโลนี หาค่าจำนวนโคโลนีเฉลี่ยจากทั้งสองจานเพาะเชื้อและรายงานผลในหน่วย cfu/ml

ภาคผนวก ค
การวิเคราะห์ทางเคมี

การวิเคราะห์หาปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด

หาปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดแสดงในรูปขององศาบริกซ์ โดยวิธีของ AOAC (1990) ข้อ 963.64

- อุปกรณ์

1. เครื่อง Hand Refractometer 0 – 32 °Brix
2. Dropper

- วิธีการวิเคราะห์

นำตัวอย่างน้ำสับปะรดหมักในแต่ละการทดลอง มาทำการตรวจวัดการทดลองละ 3 ซ้ำ หาค่าเฉลี่ย ± sd

การวิเคราะห์ความเป็นกรดทั้งหมด (AOAC, 1990)

วิเคราะห์หาปริมาณกรดทั้งหมดในน้ำสับปะรดหมัก โดยวิธีของ AOAC (1990) ข้อ 962.12

- สารเคมี

1. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 N
2. ฟีนอล์ฟทาลีน

- อุปกรณ์

1. ขวดรูปชมพู่ ขนาด 125 มิลลิลิตร
2. บิวเรต ขนาด 20 มิลลิลิตร
3. ปิเปต ขนาด 5 มิลลิลิตร
4. Burette stand, clamp
5. Volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร
6. แท่งแก้วคนสาร
7. ลูกยาง
8. กระบอกตวง 100 มิลลิลิตร
9. เครื่องชั่งหยาบ
10. บีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร
11. ขวดน้ำกลั่น

การเตรียมสาร

1.สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 N

ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 4 กรัม เติมน้ำกลั่นใส่ลงในขวดปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

- วิธีการวิเคราะห์

ปิเปตน้ำสับปะรดหมักมา 5 มิลลิลิตร ใส่ลง flask ขนาด 125 มิลลิลิตร หยดฟีนอฟทาลีนลงไป 2-3 หยด แล้วนำไปไทเทรตด้วย สารละลายด่างมาตรฐาน (โซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 N) จนถึงจุดยุติสีชมพู บันทึกปริมาตรของสารละลายด่างวิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ หาค่าเฉลี่ย ± sd

- การคำนวณ

$$\% \text{ ของกรดซิตริก} = \frac{M \times V1 \times 64}{10 \times V2}$$

โดย

V1 = เป็นปริมาตรของสารละลาย NaOH จากการไทเทรต

V2 = ปริมาตรของตัวอย่าง

M = เป็นความเข้มข้นของสารละลาย NaOH ในหน่วย mol/L

การหาค่าพีเอช

วัดค่าพีเอช โดยวิธี AOAC (1990) ข้อ 914.44

- อุปกรณ์

1. เครื่อง UltraBasic pH meter
2. บีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร
3. ขวดน้ำกลั่น

- วิธีการวิเคราะห์

นำตัวอย่างน้ำสับปะรดหมัก 20 มิลลิลิตร ใส่บีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร วัดค่าพีเอชโดยเครื่องพีเอชมิเตอร์วิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ หาค่าเฉลี่ย ± sd

การวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน (AOAC, 2000)

การวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนด้วยวิธีของ AOAC (2000)

-อุปกรณ์

1. เครื่องวิเคราะห์ไนโตรเจนและโปรตีน (Kjehdahl Analysis)
2. เครื่องชั่งแบบหยาบ
3. บีกเกอร์ 2000 มิลลิลิตร, 1000 มิลลิลิตร และ 250 มิลลิลิตร
4. ขวดปรับปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร, 250ml และ 100 มิลลิลิตร
5.ขวดรูปชมพู่ 250 มิลลิลิตร
6. ช้อนตักสาร
7. แท่งแก้วคน
8. กระบอกตวง 100 มิลลิลิตร และ 100 มิลลิลิตร .
9. บิวเรต
10. Burette stand, clamp

- สารเคมี

1. กรดบอริก (BH3O3 ; Boric acid) 2%
2. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH ; Sodium hydroxide) 32%
3. โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3 ; Sodium carbonate)
4. โบรโมไทมอลบลู อินดิเคเตอร์ ($C_{27}H_{30}O_5S$; Bromothymol blue indicator)
5. กรดไฮโดรคลอริก (HCl ; Hydrochloric acid)
6. Sher indicator*
7. โพแทสเซียมไฮโดรเจนพาทาเลท (KHP ; Potassium hydrogen phthalate)
8. ฟีนอล์ฟทาลีน (Phenolphthalein)
9. กรดซัลฟูริก (H_2SO_4 ; Sulfuric acid) เข้มข้น

- วิธีการวิเคราะห์

วิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนด้วยวิธีของ Kjeldahl analysis โดยใช้เครื่องวิเคราะห์โปรตีน เมื่อตัวอย่างผ่านการกลั่นแล้วนำไปไทเทรตกับสารละลายกรดไฮโดรคลอริกมาตรฐาน (ผ่านการ Standardize) เติมอินดิเคเตอร์ 2-3 หยด จนได้สารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพูอ่อน และนำไปคำนวณหาปริมาณไนโตรเจน

คำนวณผลการวิเคราะห์ดังนี้

เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน =

$$\frac{14 \times (v1 - v2) \times Normality\ of\ HCL\ (mol/L) \times 100}{Weight\ of\ Sample\ (g) \times 1000}$$

เมื่อ v1 = ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ไตเตรทตัวอย่าง

v2 = ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ไตเตรท blank

การหาปริมาณแอลกอฮอล์ในน้ำสับปะรดหมัก โดยเครื่อง Ebulliometer

- วัสดุอุปกรณ์

1. ตัวอย่างน้ำสับปะรดหมัก
2. เครื่องวัดดีกรีแอลกอฮอล์ Ebulliometer
3. น้ำสะอาด

- วิธีการวิเคราะห์

การหาจุดเดือดของน้ำ

เทน้ำสะอาดใส่ลงในหม้อต้มของตัวเครื่อง (ใช้หลอดแก้วตวงที่มากับตัวเครื่อง ตวงน้ำใน ระดับขีดล่างสุด - EAU) ใส่คอนเดนเซอร์ และเติมน้ำหล่อเย็นและติดเทอร์โมมิเตอร์ในตำแหน่งแล้วจุดตะเกียงแอลกอฮอล์เพื่อต้มหาจุดเดือดของน้ำ จากนั้นอ่านค่าอุณหภูมิเมื่อปรอทในเทอร์โมมิเตอร์หยุดนิ่งคงที่นานประมาณ 30 วินาทีบันทึกจุดเดือดของน้ำไว้นำไปตั้งค่าบนแผ่นวงกลมที่ใช้เทียบหาเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์

การหาปริมาณแอลกอฮอล์ในน้ำสับปะรดหมัก

นำตัวอย่างน้ำสับปะรดหมักใส่ลงในตัวเครื่อง (ใช้หลอดแก้วตวงที่มากับตัวเครื่อง ตวงในระดับขีดบนสุด - VIN) ติดตั้งคอนเดนเซอร์และเติมน้ำหล่อเย็นลงในกระบอกคอนเดนเซอร์ ติดเทอร์โมมิเตอร์ในตำแหน่ง แล้วจุดตะเกียงให้ความร้อนกับหม้อต้ม คอยสังเกตอุณหภูมิที่เทอร์โมมิเตอร์ เมื่อปรอทวัดอุณหภูมิเริ่มหยุดนิ่งคงที่นานกว่า 30 วินาที ให้อ่านค่าที่ได้แล้วนำมาเทียบบนแผ่นชาร์ทวงกลมที่มีมาพร้อมเครื่อง โดยกำหนดให้ตำแหน่งจุดเดือดของน้ำมีค่าตรงกับดีกรีแอลกอฮอล์ที่เป็น 0 เปอร์เซ็นต์ หรือ 0 ดีกรี จากนั้นดูค่าจุดเดือดของน้ำสับปะรดหมักที่อยู่ในวงกลมรอบใน แล้วอ่านค่าดีกรีที่อยู่บนเส้นวงกลมรอบนอก โดยทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

ภาคผนวก ง
ตารางแสดงผลทางจุลินทรีย์และเคมีของน้ำสับปะรดหมัก

ตารางที่ ง-1 จำนวนประชากรยีสต์แต่ละสายพันธุ์ในระหว่างการหมักน้ำสับปะรด วันที่ 0 – 6 เมื่อเติมกล้าเชื้อยีสต์สายพันธุ์ที่แตกต่างกัน

ทรีทเมนต์		จำนวนประชากรยีสต์ (log cfu/mL)						
		วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 4	วันที่ 5	วันที่ 6
S		5.9 ± 0.1	7.5 ± 0.1	7.2 ± 0.1	7.3 ± 0.1	7.1 ± 0.0	7.3 ± 0.3	7.0 ± 0.1
M		6.1 ± 0.0	6.3 ± 0.1	7.7 ± 0.1	7.5 ± 0.1	7.5 ± 0.1	7.7 ± 0.1	7.7 ± 0.1
H		6.2 ± 0.0	6.5 ± 0.1	7.6 ± 0.2	7.4 ± 0.1	7.7 ± 0.1	7.7 ± 0.0	7.7 ± 0.1
HM	H	6.4 ± 0.3	6.5 ± 0.1	6.1 ± 0.1	6.2 ± 0.1	5.7 ± 0.2	5.2 ± 0.3	5.0 ± 0.0
	M	6.2 ± 0.1	6.6 ± 0.2	7.0 ± 0.1	7.4 ± 0.2	7.2 ± 0.1	7.4 ± 0.1	7.2 ± 0.1
MS	M	6.3 ± 0.2	6.7 ± 0.0	7.6 ± 0.4	7.8 ± 0.0	5.9 ± 0.2	5.9 ± 0.3	5.9 ± 0.2
	S	-	-	-	-	5.7 ± 0.1	7.8 ± 0.0	7.9 ± 0.1
HS	H	6.8 ± 0.1	6.9 ± 0.1	7.8 ± 0.0	7.7 ± 0.1	6.1 ± 0.2	6.1 ± 0.2	6.1 ± 0.5
	S	-	-	-	-	5.8 ± 0.1	7.7 ± 0.1	7.9 ± 0.1
HMS	H	5.9 ± 0.0	4.9 ± 0.3	5.7 ± 0.1	5.8 ± 0.1	5.0 ± 0.0	5.0 ± 0.0	5.1 ± 0.1
	M	5.9 ± 0.0	6.7 ± 0.1	7.1 ± 0.0	7.4 ± 0.2	7.5 ± 0.1	7.5 ± 0.1	7.4 ± 0.2
	S	-	-	-	-	6.3 ± 0.1	7.7 ± 0.1	7.9 ± 0.0

S = *S. cerevisiae*, M = *M. guilliermondii*, H = *H. guilliermondii*, HM = *H. guilliermondii* ร่วมกับ *M. guilliermondii*, HS = *H. guilliermondii* ร่วมกับ *S. cerevisiae*, MS = *M. guilliermondii* ร่วมกับ S. *cerevisiae*, HMS = *H. guilliermondii* ร่วมกับ *M. guilliermondii* และตามด้วย *S. cerevisiae*

ตารางที่ ง-2 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเฉลี่ยของน้ำสับปะรดหมักด้วยกล้าเชื้อยีสต์เดี่ยวและผสมแบบลำดับ วันที่ 0 - 6

ทรีทเมนต์	ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (°Brix)						
	วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 4	วันที่ 5	วันที่ 6
S	15.0 ± 0.0^{a}	15.0 ± 0.0^{a}	14.1 ± 0.1^{b}	7.5 ± 0.1^{c}	6.0 ± 0.0^{d}	4.8 ± 0.0^{f}	5.0 ± 0.0^{e}
M	15.0 ± 0.0^{a}	15.0 ± 0.0^{a}	14.4 ± 0.0^{b}	11.0 ± 0.3^{c}	10.0 ± 0.3^{d}	9.0 ± 0.0^{e}	8.8 ± 0.0^{e}
H	15.0 ± 0.0^{a}	14.9 ± 0.0^{a}	14.9 ± 0.1^{a}	11.7 ± 0.1^{b}	9.4 ± 0.3^{c}	8.4 ± 0.0^{d}	8.0 ± 0.0^{e}
HM	15.0 ± 0.0^{a}	13.6 ± 0.4^{b}	11.1 ± 0.3^{c}	10.1 ± 0.1^{d}	9.6 ± 0.0^{e}	8.9 ± 0.1^{f}	8.2 ± 0.2^{g}
MS	15.0 ± 0.0^{a}	14.2 ± 0.2^{b}	10.3 ± 0.1^{c}	10.0 ± 0.0^{d}	9.4 ± 0.1^{e}	7.6 ± 0.0^{f}	5.7 ± 0.1^{g}
HS	15.0 ± 0.0^{a}	14.1 ± 0.1^{b}	10.3 ± 0.0^{c}	9.9 ± 0.1^{d}	9.5 ± 0.1^{e}	7.6 ± 0.0^{f}	5.6 ± 0.1^{g}
HMS	15.0 ± 0.0^{a}	14.4 ± 0.0^{a}	11.3 ± 0.5^{b}	10.4 ± 0.9^{bc}	9.2 ± 1.8^{c}	7.6 ± 0.9^{d}	5.8 ± 0.4^{e}

* ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่แตกต่างในแถวเดียวกัน แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเมื่อใช้กล้าเชื้อที่แตกต่างกัน ($p < 0.05$); S = *S. cerevisiae*, M = *M. guilliermondii*, H = *H. guilliermondii*, HM = *H. guilliermondii* ร่วมกับ *M. guilliermondii*, HS = *H. guilliermondii* ร่วมกับ *S. cerevisiae*, MS = *M. guilliermondii* ร่วมกับ *S. cerevisiae*, HMS = *H. guilliermondii* ร่วมกับ *M. guilliermondii* และตามด้วย *S. cerevisiae*

ตารางที่ ง-3 ปริมาณแอลกอฮอล์เฉลี่ยของน้ำสับปะรดหมักด้วยกล้าเชื้อยีสต์เดี่ยวและผสมแบบลำดับ วันที่ 0 - 6

ทรีทเมนต์	ปริมาณแอลกอฮอล์ (%(v/v))						
	วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 4	วันที่ 5	วันที่ 6
S	0.0 ± 0.0^{e}	0.0 ± 0.0^{e}	0.9 ± 0.1^{d}	4.0 ± 0.0^{c}	4.4 ± 0.1^{b}	4.7 ± 0.3^{b}	8.7 ± 0.0^{a}
M	0.0 ± 0.0^{e}	0.1 ± 0.1^{e}	1.1 ± 0.2^{d}	2.2 ± 0.2^{c}	2.8 ± 0.3^{b}	3.2 ± 0.1^{b}	5.1 ± 0.2^{a}
H	0.0 ± 0.0^{f}	0.0 ± 0.0^{f}	1.0 ± 0.0^{e}	2.0 ± 0.4^{d}	3.3 ± 0.2^{c}	4.0 ± 0.0^{b}	6.0 ± 0.2^{a}
HM	0.0 ± 0.0^{f}	0.6 ± 0.2^{e}	2.1 ± 0.4^{d}	3.0 ± 0.2^{c}	3.6 ± 0.3^{b}	4.0 ± 0.2^{b}	6.2 ± 0.3^{a}
MS	0.0 ± 0.0^{f}	0.4 ± 0.2^{f}	2.2 ± 0.3^{e}	2.7 ± 0.2^{d}	3.2 ± 0.2^{c}	4.2 ± 0.4^{b}	8.3 ± 0.3^{a}
HS	0.0 ± 0.0^{f}	0.6 ± 0.3^{e}	2.3 ± 0.3^{d}	2.5 ± 0.1^{cd}	2.9 ± 0.1^{c}	4.6 ± 0.3^{b}	8.2 ± 0.2^{a}
HMS	0.0 ± 0.0^{e}	0.4 ± 0.3^{e}	2.2 ± 0.6^{d}	2.5 ± 0.7^{cd}	3.4 ± 0.9^{bc}	4.1 ± 0.3^{b}	7.0 ± 0.3^{a}

* ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่แตกต่างในแถวเดียวกัน แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าปริมาณแอลกอฮอล์เมื่อใช้กล้าเชื้อที่แตกต่างกัน ($p < 0.05$);

S = *S. cerevisiae*, M = *M. guilliermondii*, H = *H. guilliermondii*, HM = *H. guilliermondii* ร่วมกับ *M. guilliermondii*, HS = *H. guilliermondii* ร่วมกับ *S. cerevisiae*, MS = *M. guilliermondii* ร่วมกับ S. *cerevisiae*, HMS = *H. guilliermondii* ร่วมกับ *M. guilliermondii* และตามด้วย *S. cerevisiae*

ตารางที่ ง-4 ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดซิตริกเฉลี่ยของน้ำสับปะรดหมักด้วยกล้าเชื้อยีสต์เดี่ยวและผสมแบบลำดับ วันที่ 0 - 6

ทรีทเมนต์	ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดซิตริก (%w/v)						
	วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 4	วันที่ 5	วันที่ 6
S	0.53 ± 0.03^{d}	0.63 ± 0.03^{ab}	0.67 ± 0.04^{a}	0.61 ± 0.04^{bc}	0.54 ± 0.04^{d}	0.62 ± 0.03^{abc}	0.57 ± 0.03^{cd}
M	0.53 ± 0.03^{c}	0.57 ± 0.03^{bc}	0.68 ± 0.03^{a}	0.65 ± 0.03^{a}	0.58 ± 0.00^{bc}	0.60 ± 0.03^{b}	0.57 ± 0.03^{bc}
H	0.53 ± 0.03^{c}	0.57 ± 0.03^{bc}	0.63 ± 0.03^{a}	0.63 ± 0.03^{a}	0.59 ± 0.03^{ab}	0.55 ± 0.03^{bc}	0.57 ± 0.03^{bc}
HM	0.38 ± 0.00^{d}	0.41 ± 0.03^{bcd}	0.45 ± 0.04^{b}	0.44 ± 0.03^{bc}	0.39 ± 0.03^{cd}	0.52 ± 0.03^{a}	0.52 ± 0.03^{a}
MS	0.49 ± 0.02^{c}	0.51 ± 0.00^{c}	0.57 ± 0.03^{ab}	0.54 ± 0.04^{bc}	0.57 ± 0.03^{ab}	0.61 ± 0.04^{a}	0.57 ± 0.03^{ab}
HS	0.49 ± 0.02^{bc}	0.48 ± 0.03^{c}	0.58 ± 0.04^{ab}	0.52 ± 0.07^{abc}	0.48 ± 0.04^{c}	0.60 ± 0.05^{a}	0.53 ± 0.03^{abc}
HMS	0.42 ± 0.04^{bcd}	0.48 ± 0.04^{a}	0.41 ± 0.03^{cd}	0.39 ± 0.03^{d}	0.47 ± 0.03^{ab}	0.46 ± 0.03^{abc}	0.48 ± 0.04^{a}

* ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่แตกต่างในแถวเดียวกัน แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดซิตริกเมื่อใช้กล้าเชื้อที่แตกต่างกัน ($p < 0.05$); S = *S. cerevisiae*, M = *M. guilliermondii*, H = *H. guilliermondii*, HM = *H. guilliermondii* ร่วมกับ *M. guilliermondii*, HS = *H. guilliermondii* ร่วมกับ *S. cerevisiae*, MS = *M. guilliermondii* ร่วมกับ S. *cerevisiae*, HMS = *H. guilliermondii* ร่วมกับ *M. guilliermondii* และตามด้วย *S. cerevisiae*

ตารางที่ ง-5 ความเป็นกรดด่างเฉลี่ยของน้ำสับปะรดหมักด้วยกล้าเชื้อยีสต์เดี่ยวและผสมแบบลำดับ วันที่ 0 - 6

ทรีทเมนต์	ความเป็นกรดด่าง						
	วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 4	วันที่ 5	วันที่ 6
S	3.71 ± 0.01^{b}	3.68 ± 0.00^{c}	3.63 ± 0.01^{d}	3.57 ± 0.00^{e}	3.68 ± 0.01^{c}	3.70 ± 0.00^{bc}	3.75 ± 0.01^{a}
M	3.71 ± 0.00^{bc}	3.71 ± 0.01^{b}	3.66 ± 0.01^{a}	3.55 ± 0.01^{e}	3.66 ± 0.03^{d}	3.68 ± 0.02^{cd}	3.76 ± 0.02^{a}
H	3.71 ± 0.00^{b}	3.70 ± 0.01^{b}	3.64 ± 0.00^{b}	3.56 ± 0.00^{d}	3.67 ± 0.01^{c}	3.69 ± 0.00^{c}	3.75 ± 0.04^{a}
HM	3.98 ± 0.01^{a}	3.93 ± 0.01^{b}	3.88 ± 0.02^{d}	3.83 ± 0.02^{e}	3.87 ± 0.02^{d}	3.89 ± 0.01^{cd}	3.91 ± 0.02^{bc}
MS	3.84 ± 0.01^{a}	3.75 ± 0.01^{b}	3.68 ± 0.03^{d}	3.69 ± 0.01^{cd}	3.81 ± 0.02^{a}	3.72 ± 0.01^{c}	3.76 ± 0.01^{b}
HS	3.84 ± 0.01^{a}	3.77 ± 0.01^{b}	3.65 ± 0.01^{e}	3.70 ± 0.00^{d}	3.84 ± 0.02^{a}	3.73 ± 0.01^{c}	3.76 ± 0.01^{b}
HMS	3.92 ± 0.01a^{b}	3.92 ± 0.01^{ab}	3.87 ± 0.04^{b}	3.89 ± 0.05^{ab}	3.88 ± 0.07^{ab}	3.86 ± 0.01^{b}	3.94 ± 0.02^{a}

* ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่แตกต่างในแถวเดียวกัน แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าความเป็นกรดด่างเมื่อใช้กล้าเชื้อที่แตกต่างกัน ($p < 0.05$);

S = *S. cerevisiae*, M = *M. guilliermondii*, H = *H. guilliermondii*, HM = *H. guilliermondii* ร่วมกับ *M. guilliermondii*, HS = *H. guilliermondii* ร่วมกับ *S. cerevisiae*, MS = *M. guilliermondii* ร่วมกับ S. *cerevisiae*, HMS = *H. guilliermondii* ร่วมกับ *M. guilliermondii* และตามด้วย *S. cerevisiae*

ภาคผนวก จ
การวิเคราะห์ทางสถิติ

ตารางที่ จ-1 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อเดี่ยว *S. cerevisiae*

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
day	6	841.189	140.198	30352.18	0.000*
Error	35	0.162000	0.005		
Total	41	841.351			

*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ จ-2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อเดี่ยว *M. guilliermondii*

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
day	6	287.451	47.9086	3493.33	0.000*
Error	35	0.480000	0.0137		
Total	41	287.931			

*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ จ-3 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อเดี่ยว *H. guilliermondii*

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
day	6	366.696	61.1160	6514.90	0.000*
Error	35	0.328	0.0094		
Total	41	367.024			

*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ จ-4 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อร่วมของ *H. guilliermondii* และ *M. guilliermondii*

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
day	6	226.526	37.7543	710.43	0.000*
Error	35	1.860	0.0531		
Total	41	228.386			

*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ จ-5 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อร่วมของ *M. guilliermondii* ตามด้วยกล้าเชื้อ *S. cerevisiae* แบบลำดับ

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
day	6	409.168	68.1947	10767.58	0.000*
Error	35	0.222	0.0063		
Total	41	409.390			

*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ จ-6 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อร่วมของ *H. guilliermondii* ตามด้วยกล้าเชื้อ *S. cerevisiae* แบบลำดับ

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
day	6	398.556	66.4260	11624.56	0.000*
Error	35	0.200	0.0057		
Total	41	398.756			

*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ จ-7 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อผสมระหว่างยีสต์ *H. guilliermondii* และ *M. guilliermondii* ตามด้วยกล้าเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* แบบลำดับ

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
day	6	409.77	68.2943	93.74	0.000*
Error	35	25.50	0.7286		
Total	41	435.27			

*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ จ-8 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณแอลกอฮอล์ในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อเดี่ยว *S. cerevisiae*

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
day	6	358.336	59.7226	2263.85	0.000*
Error	35	0.923	0.0264		
Total	41	359.259			

*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ จ-9 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณแอลกอฮอล์ในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อเดี่ยว *M. guilliermondii*

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
day	6	119.405	19.9008	265.85	0.000*
Error	35	2.620	0.0749		
Total	41	122.025			

*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ จ-10 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณแอลกอฮอล์ในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อเดี่ยว *H. guilliermondii*

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
day	6	176.686	29.4477	609.86	0.000*
Error	35	1.690	0.0483		
Total	41	178.376			

*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ จ-11 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณแอลกอฮอล์ในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อร่วมของ *H. guilliermondii* และ *M. guilliermondii*

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
day	6	161.660	26.9433	454.83	0.000*
Error	35	2.073	0.0592		
Total	41	163.733			

*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ จ-12 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณแอลกอฮอล์ในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อร่วมของ *M. guilliermondii* ตามด้วยกล้าเชื้อ *S. cerevisiae* แบบลำดับ

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
day	6	273.978	45.6630	756.25	0.000*
Error	35	2.113	0.0604		
Total	41	276.091			

*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ จ-13 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณแอลกอฮอล์ในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อร่วมของ *H. guilliermondii* ตามด้วยกล้าเชื้อ *S. cerevisiae* แบบลำดับ

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
day	6	267.781	44.6302	983.46	0.000*
Error	35	1.588	0.0454		
Total	41	269.370			

*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ จ-14 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณแอลกอฮอล์ในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อผสมระหว่างยีสต์ *H. guilliermondii* และ *M. guilliermondii* ตามด้วยกล้าเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* แบบลำดับ

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
day	6	200.716	33.4526	121.52	0.000*
Error	35	9.635	0.2753		
Total	41	210.351			

*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ จ-15 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความเป็นกรดในรูปของกรดซิตริกในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อเดี่ยว *S. cerevisiae*

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
day	6	0.0907	0.0151	14.62	0.000*
Error	35	0.036	0.001034		
Total	41	0.12688			

*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ จ-16 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความเป็นกรดในรูปของกรดซิตริกในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อเดี่ยว *M. guilliermondii*

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
day	6	0.10025	0.0167	21.97	0.000*
Error	35	0.027	0.000761		
Total	41	0.12688			

*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ จ-17 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความเป็นกรดในรูปของกรดซิตริกในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อเดี่ยว *H. guilliermondii*

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
day	6	0.04896	0.0082	10.20	0.000*
Error	35	0.028	0.0008		
Total	41	0.07695			

*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ จ-18 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความเป็นกรดในรูปของกรดซิตริกในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อร่วมของ *H. guilliermondii* และ *M. guilliermondii*

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
day	6	0.120	0.01996	25.58	0.000*
Error	35	0.027	0.00078		
Total	41	0.14707			

*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ จ-19 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความเป็นกรดในรูปของกรดซิตริกในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อร่วมของ *M. guilliermondii* ตามด้วยกล้าเชื้อ *S. cerevisiae* แบบลำดับ

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
day	6	0.000474	0.000079	11.53	0.000*
Error	35	0.000240	0.000007		
Total	41	0.000714			

*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ จ-20 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความเป็นกรดในรูปของกรดซิตริกในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อร่วมของ *H. guilliermondii* ตามด้วยกล้าเชื้อ *S. cerevisiae* แบบลำดับ

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
day	6	0.000815	0.000136	6.96	0.000*
Error	35	0.000683	0.00002		
Total	41	0.001499			

*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ จ-21 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความเป็นกรดในรูปของกรดซิตริกในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อผสมระหว่างยีสต์ *H. guilliermondii* และ *M. guilliermondii* ตามด้วยกล้าเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* แบบลำดับ

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
day	6	0.04896	0.008159	7.89	0.000*
Error	35	0.03618	0.001034		
Total	41	0.08514			

*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ จ-22 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความเป็นกรดด่างในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อเดี่ยว *S. cerevisiae*

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
day	6	0.122833	0.020472	125.71	0.000*
Error	35	0.005700	0.000163		
Total	41	0.128533			

*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ จ-23 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความเป็นกรดด่างในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อเดี่ยว *M. guilliermondii*

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
day	6	0.157895	0.026316	100.85	0.000*
Error	35	0.009133	0.000261		
Total	41	0.167029			

*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ จ-24 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความเป็นกรดด่างในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อเดี่ยว *H. guilliermondii*

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
day	6	0.128395	0.021399	80.68	0.000*
Error	35	0.009283	0.000265		
Total	41	0.137679			

*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ จ-25 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความเป็นกรดด่างในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อร่วมของ *H. guilliermondii* และ *M. guilliermondii*

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
day	6	0.088295	0.014716	62.31	0.000*
Error	35	0.008267	0.000236		
Total	41	0.096562			

*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ จ-26 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความเป็นกรดด่างในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อร่วมของ *M. guilliermondii* ตามด้วยกล้าเชื้อ *S. cerevisiae* แบบลำดับ

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
day	6	0.128233	0.021372	87.49	0.000*
Error	35	0.008550	0.000244		
Total	41	0.136783			

*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ จ-27 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความเป็นกรดด่างในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อร่วมของ *H. guilliermondii* ตามด้วยกล้าเชื้อ *S. cerevisiae* แบบลำดับ

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
day	6	0.16886	0.028144	332.03	0.000*
Error	35	0.00297	0.000085		
Total	41	0.171829			

*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ จ-28 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความเป็นกรดด่างในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อผสมระหว่างยีสต์ *H. guilliermondii* และ *M. guilliermondii* ตามด้วยกล้าเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* แบบลำดับ

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
day	6	0.03136	0.005226	3.74	0.006*
Error	35	0.04895	0.001399		
Total	41	0.08031			

*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ จ-29 ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อเดี่ยว *S. cerevisiae* ด้วยวิธี Tukey Pairwise Comparisons

day	N	Mean	Grouping					
0	6	15.00	A					
1	6	14.9833	A					
2	6	14.1000		B				
3	6	7.5000			C			
4	6	5.9667				D		
5	6	5.000					E	
6	6	4.800						F

*ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่เหมือนกันอยู่ในกลุ่มเดียวกัน

ตารางที่ จ-30 ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อเดี่ยว *M. guilliermondii* ด้วยวิธี Tukey Pairwise Comparisons

day	N	Mean	Grouping				
1	6	15.00	A				
0	6	15.00	A				
2	6	14.40		B			
3	6	11.0000			C		
4	6	10.0000				D	
5	6	9.000					E
6	6	8.800					E

*ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่เหมือนกันอยู่ในกลุ่มเดียวกัน

ตารางที่ จ-31 ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อเดี่ยว *H. guilliermondii* ด้วยวิธี Tukey Pairwise Comparisons

day	N	Mean	Grouping				
0	6	15.00	A				
1	6	14.9333	A				
2	6	14.8500	A				
3	6	11.7000		B			
4	6	9.4000			C		
5	6	8.400				D	
6	6	8.800					E

*ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่เหมือนกันอยู่ในกลุ่มเดียวกัน

ตารางที่ จ-32 ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อร่วมของ *H. guilliermondii* และ *M. guilliermondii* ด้วยวิธิ Tukey Pairwise Comparisons

day	N	Mean	Grouping
0	6	15.00	A
1	6	13.600	B
2	6	11.1000	C
3	6	10.1000	D
4	6	9.6000	E
5	6	8.9000	F
6	6	8.2000	G

*ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่เหมือนกันอยู่ในกลุ่มเดียวกัน

ตารางที่ จ-33 ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อร่วมของ *M. guilliermondii* ตามด้วยกล้าเชื้อ *S. cerevisiae* แบบลำดับด้วยวิธิ Tukey Pairwise Comparisons

day	N	Mean	Grouping
0	6	15.00	A
1	6	14.333	B
2	6	10.3500	C
3	6	10.0000	D
4	6	9.4333	E
5	6	7.5000	F
6	6	5.7000	G

*ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่เหมือนกันอยู่ในกลุ่มเดียวกัน

ตารางที่ จ-34 ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อร่วมของ *H. guilliermondii* ตามด้วยกล้าเชื้อ *S. cerevisiae* แบบลำดับ ด้วยวิธิ Tukey Pairwise Comparisons

day	N	Mean	Grouping
0	6	15.00	A
1	6	14.1000	B
2	6	10.30	C
3	6	9.9333	D
4	6	9.4667	E
5	6	7.600	F
6	6	5.6333	G

*ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่เหมือนกันอยู่ในกลุ่มเดียวกัน

ตารางที่ จ-35 ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อผสมระหว่างยีสต์ *H. guilliermondii* และ *M. guilliermondii* ตามด้วยกล้าเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* แบบลำดับ ด้วยวิธิ Tukey Pairwise Comparisons

day	N	Mean	Grouping
0	6	15.00	A
1	6	13.600	A
2	6	11.1000	B
3	6	10.1000	B C
4	6	9.6000	C
5	6	8.9000	D
6	6	8.2000	E

*ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่เหมือนกันอยู่ในกลุ่มเดียวกัน

ตารางที่ จ-36 ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณแอลกอฮอล์ทั้งหมดในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อเดี่ยว *S. cerevisiae* ด้วยวิธี Tukey Pairwise Comparisons

day	N	Mean	Grouping				
6	6	8.70	A				
5	6	4.650		B			
4	6	4.3670		B			
3	6	3.9833			C		
2	6	0.9333				D	
1	6	0.033					E
0	6	0.000					E

*ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่เหมือนกันอยู่ในกลุ่มเดียวกัน

ตารางที่ จ-37 ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณแอลกอฮอล์ทั้งหมดในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อเดี่ยว *M. guilliermondii* ด้วยวิธี Tukey Pairwise Comparisons

day	N	Mean	Grouping				
6	6	5.07	A				
5	6	3.217		B			
4	6	2.7500		B			
3	6	2.1500			C		
2	6	1.0830				D	
1	6	0.100					E
0	6	0.000					E

*ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่เหมือนกันอยู่ในกลุ่มเดียวกัน

ตารางที่ จ-38 ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณแอลกอฮอล์ทั้งหมดในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อเดี่ยว *H. guilliermondii* ด้วยวิธี Tukey Pairwise Comparisons

day	N	Mean	Grouping					
6	6	5.9500	A					
5	6	3.967		B				
4	6	3.2830			C			
3	6	1.9670				D		
2	6	1.0000					E	
1	6	0.000						F
0	6	0.000						F

*ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่เหมือนกันอยู่ในกลุ่มเดียวกัน

ตารางที่ จ-39 ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณแอลกอฮอล์ทั้งหมดในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อร่วมของ *H. guilliermondii* และ *M. guilliermondii* ด้วยวิธี Tukey Pairwise Comparisons

day	N	Mean	Grouping					
6	6	6.1670	A					
5	6	3.983		B				
4	6	3.550		B				
3	6	2.9000			C			
2	6	2.0170				D		
1	6	0.517					E	
0	6	0.000						F

*ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่เหมือนกันอยู่ในกลุ่มเดียวกัน

ตารางที่ จ-40 ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณแอลกอฮอล์ทั้งหมดในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อร่วมของ *M. guilliermondii* ตามด้วยกล้าเชื้อ *S. cerevisiae* แบบลำดับ ด้วยวิธิ Tukey Pairwise Comparisons

day	N	Mean	Grouping					
6	6	8.250	A					
5	6	4.167		B				
4	6	3.183			C			
3	6	2.7333				D		
2	6	2.2170					E	
1	6	0.300						F
0	6	0.000						F

*ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่เหมือนกันอยู่ในกลุ่มเดียวกัน

ตารางที่ จ-41 ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณแอลกอฮอล์ทั้งหมดในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อร่วมของ *H. guilliermondii* ตามด้วยกล้าเชื้อ *S. cerevisiae* แบบลำดับ ด้วยวิธิ Tukey Pairwise Comparisons

day	N	Mean	Grouping					
6	6	8.167	A					
5	6	4.550		B				
4	6	2.8667			C			
3	6	2.5333			C	D		
2	6	2.267				D		
1	6	0.600					E	
0	6	0.000						F

*ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่เหมือนกันอยู่ในกลุ่มเดียวกัน

ตารางที่ จ-42 ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณแอลกอฮอล์ทั้งหมดในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อผสมระหว่างยีสต์ *H. guilliermondii* และ *M. guilliermondii* ตามด้วยกล้าเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* แบบลำดับ ด้วยวิธี Tukey Pairwise Comparisons

day	N	Mean	Grouping				
6	6	6.967	A				
5	6	4.050		B			
4	6	3.367		B	C		
3	6	2.500			C	D	
2	6	2.200				D	
1	6	0.367					E
0	6	0.000					E

*ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่เหมือนกันอยู่ในกลุ่มเดียวกัน

ตารางที่ จ-43 ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดซิตริกในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อเดี่ยว *S. cerevisiae* ด้วยวิธี Tukey Pairwise Comparisons

day	N	Mean	Grouping			
2	6	0.6720	A			
1	6	0.6293	A	B		
5	6	0.6187	A	B	C	
3	6	0.6080		B	C	
6	6	0.5653			C	D
4	6	0.5440				D
0	6	0.5333				D

*ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่เหมือนกันอยู่ในกลุ่มเดียวกัน

ตารางที่ จ-44 ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดซิตริกในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อเดี่ยว *M. guilliermondii* ด้วยวิธิ Tukey Pairwise Comparisons

day	N	Mean	Grouping		
2	6	0.6827	A		
3	6	0.6507	A		
5	6	0.5973		B	
4	6	0.5760		B	C
6	6	0.5653		B	C
1	6	0.5653		B	C
0	6	0.5333			C

*ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่เหมือนกันอยู่ในกลุ่มเดียวกัน

ตารางที่ จ-45 ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดซิตริกในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อเดี่ยว *H. guilliermondii* ด้วยวิธิ Tukey Pairwise Comparisons

day	N	Mean	Grouping		
3	6	0.6293	A		
2	6	0.6293	A		
4	6	0.5867	A	B	
6	6	0.5653		B	C
1	6	0.5653		B	C
5	6	0.5547		B	C
0	6	0.5333			C

*ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่เหมือนกันอยู่ในกลุ่มเดียวกัน

ตารางที่ จ-46 ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดซิตริกในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อร่วมของ *H. guilliermondii* และ *M. guilliermondii* ด้วยวิธี Tukey Pairwise Comparisons

day	N	Mean	Grouping		
6	6	0.5227	A		
5	6	0.5227	A		
2	6	0.4480		B	
3	6	0.4373		B	C
1	6	0.4053		B	C	D
4	6	0.3947			C	D
0	6	0.3840				D

*ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่เหมือนกันอยู่ในกลุ่มเดียวกัน

ตารางที่ จ-47 ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดซิตริกในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อร่วมของ *M. guilliermondii* ตามด้วยกล้าเชื้อ *S. cerevisiae* แบบลำดับ ด้วยวิธี Tukey Pairwise Comparisons

day	N	Mean	Grouping		
5	6	0.6080	A		
6	6	0.5653	A	B	
4	6	0.5653	A	B	
2	6	0.5653	A	B	
3	6	0.5440		B	C
1	6	0.5120			C
0	6	0.50133			C

*ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่เหมือนกันอยู่ในกลุ่มเดียวกัน

ตารางที่ จ-48 ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดซิตริกในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อร่วมของ *H. guilliermondii* ตามด้วยกล้าเชื้อ *S. cerevisiae* แบบลำดับ ด้วยวิธิ Tukey Pairwise Comparisons

day	N	Mean	Grouping		
5	6	0.5973	A		
2	6	0.5760	A	B	
6	6	0.5333	A	B	C
3	6	0.5227	A	B	C
0	6	0.5013		B	C
4	6	0.4800			C
1	6	0.4693			C

*ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่เหมือนกันอยู่ในกลุ่มเดียวกัน

ตารางที่ จ-49 ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดซิตริกในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อผสมระหว่างยีสต์ *H. guilliermondii* และ *M. guilliermondii* ตามด้วยกล้าเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* แบบลำดับ ด้วยวิธิ Tukey Pairwise Comparisons

day	N	Mean	Grouping			
6	6	0.4800	A			
1	6	0.4800	A			
4	6	0.4693	A	B		
5	6	0.4587	A	B	C	
0	6	0.4160		B	C	D
2	6	0.4053			C	D
3	6	0.3947				D

*ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่เหมือนกันอยู่ในกลุ่มเดียวกัน

ตารางที่ จ-50 ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความเป็นกรดด่างในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อเดี่ยว *S. cerevisiae* ด้วยวิธี Tukey Pairwise Comparisons

day	N	Mean	Grouping				
6	6	3.75333	A				
0	6	3.70667		B			
5	6	3.69667		B	C		
1	6	0.68167			C		
4	6	0.67667			C		
2	6	3.62500				D	
3	6	3.57333					E

*ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่เหมือนกันอยู่ในกลุ่มเดียวกัน

ตารางที่ จ-51 ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความเป็นกรดด่างในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อเดี่ยว *M. guilliermondii* ด้วยวิธี Tukey Pairwise Comparisons

day	N	Mean	Grouping				
6	6	3.75500	A				
1	6	3.37133		B			
0	6	3.70667		B	C		
5	6	3.68167			C	D	
2	6	3.66000				D	
4	6	3.65833				D	
3	6	3.54500					E

*ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่เหมือนกันอยู่ในกลุ่มเดียวกัน

ตารางที่ จ-52 ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความเป็นกรดด่างในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อเดี่ยว *H. guilliermondii* ด้วยวิธี Tukey Pairwise Comparisons

day	N	Mean	Grouping			
6	6	3.7433	A			
1	6	3.71333		B		
2	6	3.71333		B		
0	6	3.70667		B		
5	6	3.67333			C	
4	6	3.65167			C	
3	6	3.6333				D

*ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่เหมือนกันอยู่ในกลุ่มเดียวกัน

ตารางที่ จ-53 ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความเป็นกรดด่างในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อร่วมของ *H. guilliermondii* และ *M. guilliermondii* ด้วยวิธี Tukey Pairwise Comparisons

day	N	Mean	Grouping				
0	6	3.98333	A				
1	6	3.93167		B			
6	6	3.91333		B	C		
5	6	3.89167			C	D	
2	6	3.87500				D	
4	6	3.86833				D	
3	6	3.83000					E

*ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่เหมือนกันอยู่ในกลุ่มเดียวกัน

ตารางที่ จ-54 ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความเป็นกรดด่างในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อร่วมของ *M. guilliermondii* ตามด้วยกล้าเชื้อ *S. cerevisiae* แบบลำดับ ด้วยวิธิ Tukey Pairwise Comparisons

day	N	Mean	Grouping			
0	6	3.83667	A			
4	6	3.81167	A			
6	6	3.75833		B		
1	6	3.74833		B		
5	6	3.71500			C	
3	6	3.69167			C	D
2	6	3.6767				D

*ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่เหมือนกันอยู่ในกลุ่มเดียวกัน

ตารางที่ จ-55 ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความเป็นกรดด่างในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อร่วมของ *H. guilliermondii* ตามด้วยกล้าเชื้อ *S. cerevisiae* แบบลำดับ ด้วยวิธิ Tukey Pairwise Comparisons

day	N	Mean	Grouping				
4	6	3.84167	A				
0	6	3.83667	A				
1	6	3.7667		B			
6	6	3.76000		B			
5	6	3.73000			C		
3	6	3.70167				D	
2	6	3.65333					E

*ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่เหมือนกันอยู่ในกลุ่มเดียวกัน

ตารางที่ จ-56 ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความเป็นกรดด่างในน้ำสับปะรดที่หมักด้วยกล้าเชื้อผสมระหว่างยีสต์ *H. guilliermondii* และ *M. guilliermondii* ตามด้วยกล้าเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* แบบลำดับด้วยวิธิ Tukey Pairwise Comparisons

day	N	Mean	Grouping	
6	6	3.94167	A	
1	6	3.92333	A	B
0	6	3.91667	A	B
3	6	3.8900	A	B
4	6	3.8767	A	B
2	6	3.8733		B
5	6	3.86333		B

*ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่เหมือนกันอยู่ในกลุ่มเดียวกัน