สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ความพยายามในการหาวิธีการและสภาวะในการกำจัดฮอพ ออกจากยีสต์แทนการใช้ด่าง

นายพรศักดิ์ กิติกุล
นายยุทธพงษ์ วงษ์กรวรเวช

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต
ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2538

ปว.
พ2818
2538
เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 25405
วัน, เดือน, ปี 9 ก.ค. 2539

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Attemp to dehop brewer's yeast without use alkaline

Mr. Pornsak Kitikul

Mr. Youthapong Vongornvoravej

Special Project Submitted in Partial fulfillment

of the Requirements for the Bachelor Degree of Science

Department of Applied Biology

Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Lardkrabang

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษ ความพยายามในการกำจัดยอพออกจากยีสต์โดยไม่ใช้ด่าง

โดย นายพรศักดิ์ กิติกุล

นายยุทธพงษ์ วงษ์กรวรเวช

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.เรียม เตชะโสภณมณี

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้นับโครงงานพิเศษฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต

---------- **หัวหน้าภาควิชาชีววิทยาประยุกต์**

(อ.อุ่นเรือน ศิริวานิชกุล)

คณะกรรมการตรวจสอบโครงงานพิเศษ

---------- **ประธานกรรมการ**

(ผศ.มาลินี ตันติยาภรณ์)

---------- **กรรมการ**

(รศ.สุขใจ ชูจันทร์)

---------- **กรรมการ**

(ผศ.ดร.เรียม เตชะโสภณมณี)

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สภาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงการพิเศษ	ความพยายามในการกำจัดฮอพออกจากยีสต์โดยไม่ใช้ด่าง
โดย	นายพรศักดิ์ กิติกุล
	นายยุทธพงษ์ วงษ์กรวรเวช
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.เรียม เตชะโสภณมณี
ปีการศึกษา	2538

บทคัดย่อ

การกำจัดฮอพออกจากยีสต์เบียร์ แบ่งออกเป็นการกำจัดฮอพที่อยู่นอกเซลล์โดยการล้างด้วยน้ำ น้ำเกลือ 0.85% เปรียบเทียบกับการล้างด้วยด่าง 0.1 N. NaOH และกำจัดฮอพที่อยู่ในเซลล์ยีสต์โดยการใช้เอนไซม์ chitinase, lyticase และ lysing enzyme ผลการทดลองปรากฏว่าการล้างยีสต์ด้วยน้ำ และน้ำเกลือ 0.85% โดยมีอัตราส่วนระหว่างยีสต์และสารละลาย 1:4 จึงจะสามารถล้างฮอพออกได้ดีเท่ากับการล้างด้วยด่าง และเมื่อนำยีสต์ที่ล้างแล้วนี้ไปทำออโตไลซิส เพื่อนำออโตไลเสทไปตรวจวัดปริมาณความขม พบว่ายีสต์ที่ล้างด้วยด่างมีความขมเหลืออยู่ในออโตไลเสท 13 EBU ในขณะที่ยีสต์ที่ล้างด้วยน้ำ และน้ำเกลือ 0.85% จะเหลืออยู่ 18 และ 17 EBU ตามลำดับ สำหรับการกำจัดฮอพภายในเซลล์พบว่าเอนไซม์ lyticase 500 ยูนิต ให้ผลฮอพออกมาปริมาณ 1 มม. และที่ 625-1250 ยูนิต ให้ฮอพออกมาปริมาณ 2 มม. ซึ่งเทียบกับการล้างด้วยด่าง 0.1 N. NaOH ซึ่งให้ฮอพออกมาถึง 4 มม. ในตัวอย่างยีสต์ 10 กรัม เท่ากัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title	**Attemp to dehop brewer's yeast without use alkaline.**
Name	**1. Mr.Pornsak Kitikul**
	2. Mr.Youthapong Vongornvoravej
Special Project Adviser	**Assist Prof.Dr.Ream Techasophonmani**
Academic Year	**1995**

Abstract

Prepare brewer's yeast for the experiment by treat with distilled water and 0.85% saline compare with treat with base 0.1 N. NaOH. At the rate between yeast and solution 1:4 is the best rate to get rid of hop out of brewer's yeast. Then use chitinase enzyme, lyticase enzyme and lysing enzyme for get rid of hop inside cell. The experiment show that lyticase enzyme 500 units give hop 1 mm. and lyticase enzyme 625-1250 units give hop 2 mm. Compare with treat with base 0.1 N. NaOH gives hop 4 mm., by use yeast 10 g. in both case. At last use the yeast that is treated with distilled water and 0.85% saline to be autolysis and check amount of the remain bittering 18 EBU. and yeast wich is treated with 0.85% saline has the remain bittering 17 EBU., compare with yeast that is treated by base from standard method has remain bittering 13 EBU.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษนี้ได้จัดทำขึ้นตามหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร.เรียม เตชะโสภณมณี ผู้ซึ่งให้ความช่วยเหลือในทุก ๆ ด้านตลอดจำให้คำแนะนำนานาประการ และกำลังใจซึ่งส่งผลให้โครงการพิเศษนี้ดำเนินไปได้ด้วยดี ขอขอบพระคุณ คุณสุธีร์ ปรางค์ทอง ที่ให้ความสะดวกในการไปเอายีสต์ที่ใช้ในการทดลอง และ คุณออมศรี ชลายน ผู้ซึ่งให้ความกรุณาในการวิเคราะห์หาปริมาณความขม จากบริษัทบุญรอด เบเวอร์รี จำกัด และขอขอบคุณผู้เกี่ยวข้อง เพื่อนๆ น้องๆ ที่คอยช่วยเหลือในทุก ๆ เรื่อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

เรื่อง		หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย		ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ		ข
กิตติกรรมประกาศ		ค
สารบัญตาราง		ง
สารบัญรูป		จ
บทที่ 1	บทนำ	1
บทที่ 2	ตรวจเอกสารที่เกี่ยวข้อง	3
	กรรมวิธีการผลิตเบียร์	4
	คุณลักษณะโดยทั่วไปของยีสต์	11
	ออโตไลซีส	14
	ฮอพ	18
บทที่ 3	อุปกรณ์ สารเคมี และวิธีการทดลอง	22
บทที่ 4	ผลการวิจัยและการวิจารณ์	28
บทที่ 5	สรุปผลการทดลอง	37
เอกสารอ้างอิง		38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง หน้า

ตารางที่ 1	แสดงอัตราการผลิตและปริมาณ spent yeast ในปี 2539 และ การประมาณการในปี 2540	1
ตารางที่ 2	แสดงปริมาณน้ำเสียที่เกิดจากการล้าง spent yeast ด้วยด่างในปี 2539 และการประมาณการในปี 2540	1
ตารางที่ 3	แสดงปริมาณและองค์ประกอบต่างๆ ใน ข้าวมอลท์	5
ตารางที่ 4	แสดงคุณสมบัติของเอนไซม์บางชนิดในข้าวมอลท์	7
ตารางที่ 5	แสดงคุณสทบัติของเอนไซม์โปรตีเอสในยีสต์	16
ตารางที่ 6	แสดงองค์ประกอบของฮอพ	19
ตารางที่ 7	ส่วนประกอบของ α-acid	20
ตารางที่ 8	แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณความชื้นในยีสต์ที่นำมาจาก Decantor	28
ตารางที่ 9	แสดงผลการล้างยีสต์ครีมเบียร์ด้วยน้ำเกลือ 0.85 %	29
ตารางที่ 10	แสดงผลการล้างยีสต์ครีมเบียร์ด้วยน้ำ	29
ตารางที่ 11	แสดงผลการล้างยีสต์ครีมเบียร์ด้วยด่าง 0.1 N.	30
ตารางที่ 12	แสดงผลการกำจัดฮอพออกจากยีสต์โดยใช้เอนไซม์ lyticase ที่ pH 7 อุณหภูมิ 25 $^{\circ}$C	30
ตารางที่ 13	แสดงค่าพีเอชในยีสต์ออโตไลเซท	31
ตารางที่ 14	แสดงปริมาณความขมของตัวอย่างยีสต์ทั้งหมด	31

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

		หน้า
รูปที่ 1	ขบวนการผลิตเบียร์	10
รูปที่ 2	แสดงโครงสร้างผนังเซลล์ของยีสต์	11
รูปที่ 3	โครงสร้างของไคติน	12
รูปที่ 4	โครงสร้างของ β-glucan	12
รูปที่ 5	โครงสร้างของ α-D-mannopyrenose	13
รูปที่ 6	ไดอะแกรมแสดงการแตกของเซลล์	17
รูปที่ 7	แสดงสีของยีสต์ครีมเบียร์	32
รูปที่ 8	แสดงลักษณะของยีสต์ครีมเบียร์ที่นำมาจาก Decanter และนำไปผ่านการอบแห้ง	32
รูปที่ 9	แสดงการเปรียบเทียบสีของยีสต์ครีมที่ทำการล้างด้วยน้ำเกลือ 0.85%(ซ้าย) และยีสต์ครีมที่นำมาจาก Decanter (ขวา)	33
รูปที่ 10	แสดงลักษณะของตะกอนฮอพที่อยู่ภายนอก (ซ้าย) และ ภายในเซลล์ (ขวา)	33
รูปที่ 11	แสดงลักษณะของยีสต์ครีมที่ผ่านการล้างน้ำเกลือ 0.85 %	34
รูปที่ 12	แสดงลักษณะสีของออโตไลเซส (ซ้าย) และสีของน้ำเกลือ (ขวา)	34
รูปที่ 13	แสดงการเปรียบเทียบสีของออโตไลเซส	35
รูปที่ 14	เครื่องเซนตริฟิวส์ที่ใช้ในการปั่นแยกฮอพ	35
รูปที่ 15	เครื่องเขย่าที่ใช้ในการตรวจหาความขม	36
รูปที่ 16	เครื่อง UV Spectophotometer ที่ใช้ในการวัดความขม	36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. ภายนอกเซลล์ยีสต์ (ในน้ำเบียร์ที่เหลืออยู่ใน spent yeast)

2. ภายในเซลล์ยีสต์

และได้มีการใช้ด่าง (NaOH 0.1 N.) ในการล้างฮอพออกเป็นผลสำเร็จ และนำมาใช้อย่างแพร่หลายในปัจจุบัน ยีสต์ที่นำฮอพออกแล้วสามารถนำไปใช้ประโยชน์ต่าง ๆ ได้มากมาย แต่ผลที่เกิดจากการล้างด้วยด่างนั้นจะทำให้เกิดปัญหาน้ำเสียเพิ่มขึ้นจากปริมาณยีสต์ถึง 12 เท่า (เกิดจากการล้างฮอพด้วยด่าง และทำการล้างด่างออกจากตัวยีสต์ 2 ครั้ง)

จากที่กล่าวมานั้นทำให้เกิดความคิดที่จะใช้สิ่งอื่นมาล้างฮอพออกจากเซลล์ยีสต์โดยลดปริมาณน้ำเสียที่เกิดจากการใช้ด่าง

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาวิธีการกำจัด Hop (Debittering) ออกจาก Spent Yeast
2. เพื่อศึกษาวิธีการและสภาวะในการ Debittering แทนการใช้ด่าง (NaOH)
3. เพื่อลดปริมาณน้ำเสียที่เกิดจากการล้าง Spent Yeast ด้วยด่าง

ขอบเขตของปัญหาพิเศษ

นำ Spent Yeast มาศึกษาหาวิธีการและสภาวะที่สามารถนำมาสกัด Hop ออก แทนการใช้ด่าง

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ลดปริมาณน้ำเสียและของเสียที่เกิดจากการล้าง Spent yeast ด้วยด่าง
2. เพิ่มคุณค่าทางเศรษฐกิจของ Yeast ที่เป็นของเสียจากอุตสาหกรรมการผลิตเบียร์
3. ช่วยลดปัญหามลภาวะสิ่งแวดล้อมที่เกิดจากการล้าง Spent Yeast ด้วยด่าง

ขั้นตอนในการดำเนินงาน

1. การทดลองหาวิธีการกำจัด Hop (Debittering) ออกจาก Spent Yeast
2. การทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมในการ Debittering
3. การทดลองหาความขมที่เหลืออยู่ในครีมยีสต์หลังจากการล้างด้วยน้ำเกลือ 0.85 % และน้ำ เปรียบเทียบกับการล้างด้วยด่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ตรวจเอกสารที่เกี่ยวข้อง
เบียร์และกรรมวิธีการผลิตเบียร์

เบียร์ (Beer) จัดเป็นสุราแช่ประเภทหนึ่ง และเป็นเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ที่ผลิตจากพืช กล่าวคือทำมาจากมอลท์ (Malt) ซึ่งได้จากข้าวบาร์เล่ย์ (Barley) หมักจนงอกรากอ่อนแล้วจึงผสมด้วยดอกฮอพ (Hop) เพื่อให้เบียร์มีกลิ่นหอมและรสชาติดี เบียร์เป็นเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ผสมอยู่แต่ก็ไม่มากนัก ประกอบด้วยแร่ธาตุต่าง ๆ ที่มีประโยชน์ต่อร่างกายหลายชนิด เช่น แคลเซียม แคลอรี่ โปรตีน ฟอสฟอรัส วิตามินบี1 วิตามินบี2 และวิตามินซี

วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตเบียร์

1. ข้าวมอลท์ (Malt) ได้มาจากข้าวบาร์เล่ย์ (Barley) ที่ได้นำมาเพาะให้เกิดการงอกเล็กน้อย การที่มอลท์มีบทบาทต่อการผลิตเบียร์นั้น ก็เนื่องมาจากเอนไซม์ต่าง ๆ ที่อยู่ในมอลท์นั่นเอง ข้าวบาร์เล่ย์ที่ยังไม่มีการงอก เอนไซม์ที่จะแปรเปลี่ยนแป้งและโปรตีนให้เป็นน้ำตาลและกรดอะมิโนจะสูงขึ้น ดังนั้นข้าวมอลท์จะดีหรือไม่นั้นจึงขึ้นอยู่กับคุณภาพของเอนไซม์ ซึ่งเอนไซม์ในข้าวมอลท์ที่สำคัญคือ อะไมเลส (Amylase) และโปรตีเอส (Protease)

2. ฮอพ (Hop) เป็นดอกตัวเมียของพืชที่เรียกว่า ฮอพ พืชชนิดนี้มีชื่อทางพฤกษศาสตร์คือ *Humulus lupulus* และ *Humulus japonicus* ดอกฮอพทั้งสองสายพันธุ์นี้เป็นที่สนใจมากกว่าสายพันธุ์อื่น การใช้ดอกฮอพเป็นส่วนประกอบในการผลิตเบียร์ก็เนื่องจากดอกฮอพนี้มีสารที่ให้รสขม (Bitter resing) สารที่ให้รสขมนี้ประกอบด้วย Humulus (α-acid) และ Lupulone (β-acid) ซึ่งเป็นรสขมที่เป็นคุณลักษณะของเบียร์และยังเป็นสารที่ช่วยป้องกันการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวก (Gram - Positive) ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการของการหมักเบียร์ ฮอพที่ใส่ลงไปนอกจากจะให้รสและกลิ่นแก่เบียร์ที่ผลิตได้ ยังช่วยให้เบียร์มีเสถียรภาพ (Beer stability) สารแทนนินที่อยู่ในฮอพจะช่วยในการตกตะกอนของโปรตีน นอกจากนี้ในฮอพยังมีสารจำพวกเปกติน (Pectin) ซึ่งมีส่วนเกี่ยวข้องกับคุณลักษณะของการเป็นฟองของเบียร์

3. ยีสต์ (Yeast) ยีสต์ที่ใช้ในการหมักเบียร์ที่สำคัญมีอยู่ 2 สายพันธุ์ คือ *Saccharomyces cerevisiae* และ *Saccharomyces carlbergensis* ยีสต์ที่ใช้ใส่นี้จะใช้ยีสต์จากถังหมักเก่า โดยไม่จำเป็นต้องเตรียมเซลยีสต์ใหม่เหมือนกับอุตสาหกรรมการหมักอย่างอื่น การหมักเบียร์ที่ต้องการเตรียมเซลยีสต์ใหม่ ๆ ก็ต่อเมื่อยีสต์เก่าเหล่านั้นมีจุลินทรีย์ชนิดอื่นที่ไม่ต้องการปะปนอยู่ด้วย หรือว่ายีสต์เก่าเหล่านั้นเริ่มตายลง ก่อนที่จะนำเซลยีสต์เก่ามาใส่เพื่อหมักเบียร์ใหม่นั้น จะต้องทำการล้างเซลยีสต์เหล่านั้นเสียก่อน (ด้วยกรดฟอสฟอรัส กรดตาตาริค หรือแอมโมเนียม เปอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซัลเฟต) แล้วให้ยีสต์จับกัน การล้างนี้จะทำให้พีเอชเปลี่ยนไปอยู่ที่ประมาณ 2.5 และเป็นการแยกแบคทีเรียที่ปะปนมาด้วย

กรรมวิธีการผลิตเบียร์

การผลิตเบียร์นั้นมีขั้นตอนต่าง ๆ คือ

ก. การเตรียมส่วนผสมเพื่อหมักเบียร์

ข. การหมักเบียร์

ค. การบ่มเบียร์

ง. การอัดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ลงในเบียร์

จ. การบรรจุขวด

ก. การเตรียมส่วนผสมเพื่อหมักเบียร์ (Media preparation)

การเตรียมมอลท์ เริ่มจากนำข้าวบาร์เล่ย์ มาคัดเพื่อทำความสะอาดและตรวจสอบแล้วนำมาแช่น้ำประมาณ 50 ชั่วโมง เพื่อให้มีความชื้นเพียงพอสำหรับการงอก (Germination, Sprouting) เป็นเวลา 6-8 วันโดยนำไปหมักโดยเฉลี่ยในถังหมัก มอลท์ก็จะเกิดการงอกของรากอ่อน ระหว่างนั้นมอลท์จะต้องถูกกลับ และให้อากาศบ่อยๆ ป้องกันความร้อนที่มากเกินไป ซึ่งจะต้องมีการควบคุมการเจริญเติบโตด้วย เมื่อมีการเจริญตามที่เราต้องการแล้ว โดยวัดจากความยาวของรากหรือความแข็งของเอนโดสเปิร์ม แล้วมีการยับยั้งการเจริญเติบโตโดยการเผา (killning) อุณหภูมิที่ใช้มีความสำคัญต่อ สี กลิ่น รส และระดับของเอนไซม์ หลังจากการเผาแล้ว ต้นอ่อนและรากจะถูกแยกออก ส่วนของมอลท์จะถูกบ่ม เป็นเวลาหลายสัปดาห์เพื่อนำไปใช้ต่อ ซึ่งระหว่างการเตรียมมอลท์นี้จะมีเอนไซม์เบต้าอะไมเลสเพิ่มขึ้นและมีแอลฟาอะไมเลสเกิดขึ้น ซึ่งแอลฟาอะไมเลสเป็นตัวสำคัญในการกระทำกับแป้ง (liquefaction) ส่วนเบตาอะไมเลส จะให้ผลผลิตเป็นน้ำตาล นอกจากนี้ก็ยังมีโปรตีเอส (proteases) ที่จะทำให้โปรตีนละลายมากขึ้น ไซเทสจะทำลายบางส่วนของเพนโทแซนกัม (pentosan gume) และไฟเทส ซึ่งจะให้ฟอสเฟตและอินโนซิทอลอิสระ ซึ่งจำเป็นสำหรับการเจริญของยีสต์หลายสายพันธุ์ ในระหว่างการเผา (killning) จะเกิดปฏิกิริยาเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล (browning reactions) ทำให้เกิด melanoidins ซึ่งเป็นตัวทำให้เกิดกลิ่น รส และสีของเบียร์ ซึ่งเราจะได้มอลท์ที่มีส่วนประกอบดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 แสดงปริมาณและส่วนประกอบต่าง ๆ ในข้าวมอลท์

ส่วนประกอบ	ปริมาณ (%)
แป้ง	59
น้ำตาล	10
กัม	10
เซลลูโลส	5
โปรตีน	1
ไขมัน	2.5
เถ้า	2

ที่มา : บริษัท เชียงใหม่มอทล์ติ้ง จำกัด

นำมอลท์มาผสมกับ malt adjuncts โดยจะต้องทำการบดเสียก่อน ซึ่งอัตราส่วนของมอลท์และ malt adjuncts ประมาณ 2/3 malt ต่อ 1/3 adjuncts ซึ่งอาจจะแตกต่างออกไปแล้วแต่ละกรรมวิธีการผลิต ครั้งแรกจะทำการผสมมอลท์กับน้ำและทำให้อุณหภูมิเพิ่มขึ้นประมาณ 38-50°ซ แล้วจึงเติม malt adjuncts ที่ผสมกับน้ำและต้ม ซึ่งจะมีอุณหภูมิ 100°ซ (ในการต้มนี้เพื่อให้แป้งเกิด gelatinize เหมาะที่จะให้เอนไซม์ในมอลท์ย่อยต่อไป) หลังจากนั้นจึงเติม adjuncts ที่ต้มลงไปในมอลท์ที่เตรียมไว้ครั้งแรก ในตอนนี้อุณหภูมิในส่วนผสมจะลดลงเพื่อให้เอนไซม์อะไมเลส (amylases) และโปรตีเอส (protease) ทำการย่อยแป้งและโปรตีน ส่วนที่เป็นแป้งจะถูกย่อยให้ได้เด็กซทริน (dextrin) แล้วจึงย่อยต่อให้ได้มอลโตส (maltose) และกลูโคส (glucose) โดยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและเบตาอะไมเลส โดยใช้อุณหภูมิ 70-73°ซ และ 60-65°ซ ตามลำดับ ส่วนเอนไซม์โปรตีเอสจะทำการย่อยโปรตีนให้ได้ กรดอะมิโน และเพปไทด์ (peptide) ใช้อุณหภูมิ 50-60°ซ เรียกขบวนการนี้ว่า mashing

ส่วนการแยกน้ำเวิท(wort separation) นั้นเกิดขึ้นเมื่อขบวนการ mashing สิ้นสุดลง ส่วนผสมทั้งหมดจะประกอบด้วยส่วนที่เป็นของแข็งที่เรียกว่า spent grains (ได้แก่ มอลท์, malt adjuncts และโปรตีนที่ตกตะกอน) ปละส่วนที่เป็นของเหลวที่เรียกว่า เวิท ซึ่งเวิทนี้จะประกอบด้วยน้ำตาลที่ใช้ในการหมักแอลกอฮอล์ กรดอะมิโนและส่วนประกอบอื่นจากธัญพืชที่ใช้ โดยส่วนผสมทั้งหมดนี้จะผ่านการกรองเพื่อแยก spent grains ออก โดยใช้ mash filter แล้วเก็บน้ำเวิทไว้เพื่อการหมักต่อไป

การต้มน้ำเวิท (wort boiling) น้ำเวิทที่แยกมาได้จะทำการต้มโดยมีเครื่องกวนตลอดเวลา ในการต้มเวิทจะใช้เวลา 1 ชั่วโมงครึ่ง ในระหว่างการต้มนี้ก็จะค่อย ๆ เติมฮอพลงไปในอัตราของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ฮอพตามที่ต้องการ การเติมฮอพนี้จะเติมลงไปเป็นช่วงๆ รวมถึงช่วงสุดท้ายของการต้มด้วย เหตุผลที่ต้องมีการต้มเวิทนี้ มีหลายประการคือ

- การต้มเป็นการช่วยทำให้โปรตีนที่เหลือจากการย่อยเกิดการรวมตัวกัน ส่วนของโปรตีนดังกล่าว จำเป็นจะต้องแยกออก เพราะถ้าไม่แยกออกจะเป็นสาเหตุทำให้เบียร์ขุ่นได้
- เป็นการช่วยทำลายเอนไซม์ที่ยังหลงเหลืออยู่หลังจาก mashing แล้ว
- เป็นการทำให้น้ำเวิทเข้มข้นขึ้น และเป็นการฆ่าเชื้อเวิทไปด้วย
- เป็นการช่วยสกัดสารบางชนิดจากฮอพที่เติม เช่น สารแทนนิน น้ำมันหอมระเหยซึ่งทำให้เกิดกลิ่น นั้นมักจะระเหยไปในระหว่างการต้ม แต่ก็ยังคงมีเหลืออยู่ในส่วนที่เติมฮอพไปครั้งสุดท้ายของการต้ม ซึ่งสารต่าง ๆ เหล่านี้มีผลต่อคุณภาพของเบียร์

ข. ขบวนการหมัก (fermentation)

น้ำเวิทที่ต้มกับฮอพแล้ว จะต้องทำให้เย็นลงประมาณ 10-11 °ซ แล้วจึงถ่ายลงสู่ถังหมักซึ่งประกอบด้วยขดลวดที่ทำความเย็น ถังที่ให้เป็นแบบถังปิดเพราะระหว่างขบวนการหมัก ยีสต์จะผลิตก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งจะสามารถเก็บก๊าซนี้ได้ เพื่อใช้ก๊าซนี้เติมลงในเบียร์ที่หลัง ยีสต์ที่ใส่ในขั้นนี้จะใช้ 3/4-1 ปอนด์ ต่อ น้ำเวิท 31 แกลลอน (1 บาร์เรล) หลังจากเติมยีสต์ลงไป 24 ชั่วโมง จะมีฟองเกิดขึ้นอยู่บนพื้นผิวของถังหมักโดยฟองที่เกิดครั้งแรกจะเกิดที่ฝาผนังถังก่อน แล้วจึงค่อย ๆ เคลื่อนเต็มผิวถังหมัก ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จะเพิ่มขึ้น ทำให้ยีสต์เซลล์สามารถแขวนลอยอยู่ในถังหมัก ในช่วงนี้จะทำการถ่ายเวิทหรือเรียกว่า young beer ไปยังถังหมักที่สอง เพื่อให้ยีสต์เซลล์ที่ตาย โปรตีนที่ตกตะกอน และ เรซินของฮอพที่ไม่ละลายน้ำจมอยู่ที่ถังหมักหนึ่ง หลังจากเติมยีสต์เป็นเวลานาน 40-60 ชั่วโมงแล้วจะเห็นฟองเกิดขึ้นเป็นชั้นหนาอยู่ที่ผิวบน ในช่วงนี้ยีสต์เซลล์จะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว เมตาโบลิซึมของยีสต์จะเกิดขึ้นอย่างมีประสิทธิภาพ ทำให้อุณหภูมิเพิ่มขึ้นเป็น 12-13°ซ เมื่อหมักไปได้ 5 วัน ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์จะมีเพียงพอ ทำให้ฟองที่อยู่ในถังหมักยุบลง และอุณหภูมิในถังหมักก็จะลดลง พอถึงวันที่ 7-9 ประสิทธิภาพของการทำงานของยีสต์จะลดลง

ค. การบ่มเบียร์ (maturation)

หลังจากขบวนการหมักเบียร์สิ้นสุดลง น้ำเวิทที่หมักแล้วจะมีแอลกอฮอล์อยู่ด้วยนี้เรียกว่า lager beer ซึ่งจะถ่ายไปสู่ถังเก็บที่ควบคุมอุณหภูมิได้ประมาณ 0-3°ซ ในระหว่างที่เก็บเบียร์ไว้ในที่เย็นเพื่อเป็นการบ่มเบียร์นี้ พวกสารประกอบไนโตรเจน เรซินต่าง ๆ ฟอสเฟตที่ไม่ละลายน้ำและยีสต์เซลล์จะจมลงสู่ก้นถัง ในขณะเดียวกัน จะมีการเกิดสารพวกเอสเทอร์ (ester) ทำให้เบียร์ลดความกระด้างลง ในระหว่างที่มีการบ่มเบียร์นี้ จะทำให้การทำเบียร์ไม่ให้เบียร์ขุ่น เกิดมาจากโปรตีนเกิดการรวมตัวกัน ซึ่งอาจจะทำโดยการแยกตะกอนออก ในช่วงนี้บางที่เติมสารพวกต้านตัวออกซิไดซ์ (antioxidants) เพื่อไม่ให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของกลิ่น รส เนื่องมาจากปฏิกิริยาออกซิเดชั่น เช่น ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (ซัลไฟท์) ในการพาสเจอไรส์เบียร์นั้นจะมีผลเสียถึงกลิ่นรส จึงใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการกรองเบียร์ผ่าน membrane bacteriological filters หรืออาจทำการสเตอไรซ์ โดยใช้ n-Butyl-Hydroxybenzoate ในปริมาณ 12 พีพีเอ็ม

ง. การเติมคาร์บอนไดออกไซด์ (carbonation)

ตามคุณสมบัติของเบียร์นั้น จะต้องมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์อยู่ด้วยซึ่งจะได้มาจากตอนหมักเบียร์ ซึ่งเรียกว่า การเติมคาร์บอนไดออกไซด์แบบธรรมชาติ (natural carbonation) แต่ในการปฏิบัติมักจะเติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ลงไป ยังเป็นการถนอมไม่ให้เบียร์เสื่อมเสียอีกด้วย

จ. การบรรจุ (packaging)

หลังจากที่บ่มเบียร์ไว้ในถังเก็บที่มีอุณหภูมิต่ำแล้ว จะส่งเบียร์ให้ผ่านไปตามท่อ และไปผ่านการกรองโดยใช้ diatomaceous eart filter จากนั้นจึงจะบรรจุเบียร์ลงในขวด กระป๋อง หรือบาร์เรล ในช่วงนี้จะต้องกำจัดอากาศออก เพื่อป้องกันการเปลี่ยนแปลงของเบียร์ อันเนื่องมาจากปฏิกิริยาออกซิเดชั่น หลังจากนั้นจะต้องผ่านการตรวจความขุ่นอีกครั้ง โดยใช้เครื่องตรวจไฟฟ้าเพื่อความแน่นอนว่าไม่มีสิ่งแปลกปลอมและความขุ่นเกิดขึ้น

การผลิตข้าวมอลท์

ข้าวมอลท์เป็นข้าวที่ได้มาจากข้าวบาร์เลย์โดยการเปลี่ยนแปลงส่วนประกอบบางอย่างภายในเมล็ดข้าวบาร์เลย์ ซึ่งจะต้องอาศัยเอนไซม์ภายในเมล็ดข้าวบาร์เลย์เอง รวมทั้งองค์ประกอบอื่นๆ ที่จะช่วยให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางชีวภาพ จนกระทั่งได้ต้นอ่อนและรากอ่อนงอกออกจากเมล็ด จากนั้นจึงอาศัยองค์ประกอบทางกายภาพไปหยุดการทำงานของเอนไซม์ และหยุดการเจริญของต้นอ่อนและใบอ่อนนั้นไว้ ดังนั้นการทำข้าวมอลท์ก็คือ การทำให้ข้าวบาร์เลย์เกิดการงอกโดยอาศัยการควบคุมสภาพที่เหมาะสมต่อการงอก ระหว่างการงอกของเมล็ดจะมีการสร้างเอนไซม์ และมีการกระตุ้น (activate) เอนไซม์ที่มีอยู่แล้วในเมล็ด ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสารที่สะสมอยู่ภายในเมล็ด เอนไซม์ดังกล่าวคือ พวก α-amylase, β-amylase, cytolytic พวก β-Giucanase, proteolytic enzyme และ enzyme พวก phosphatase

ตารางที่ 4 แสดงคุณสมบัติของเอนไซม์บางชนิดในข้าวมอลท์

เอนไซม์	optimum temperature ($^{\circ}$C)	optimum pH	หน้าที่
α-amylase	60-70	5.7-6.3	dextrinization
β-amylase	57-65	5.0-5.5	saccharificatio
proteinase	38-50	4.0-5.0	protcolysis

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขบวนการที่สำคัญในการผลิตข้าวมอลท์

1. Steeping คือการนำข้าวบาร์เลย์มาแช่น้ำเพื่อทำให้เมล็ดอ่อนนุ่ม และเพิ่มความชื้นให้กับเมล็ด ซึ่งจะเป็นการกระตุ้นให้เอนไซม์ที่มีอยู่ภายในเมล็ดมี activity สูงและเริ่มการเปลี่ยนแปลงทางชีวภาพภายในเมล็ด คือเริ่มการงอกและมีการหายใจ ปกติขบวนการในการดำรงชีวิตนี้จะต้องอาศัยน้ำและอากาศสำหรับหายใจ ซึ่งจะได้คาร์บอนไดออกไซด์และความร้อนออกมา ดังนั้นในขั้นตอนของการแช่น้ำนี้จะต้องใส่อากาศเข้าไปด้วยเพื่อให้ได้ออกซิเจนสำหรับใช้ในขบวนการหายใจ อุณหภูมิของน้ำที่ใช้มีผลต่อการดูดน้ำของเมล็ด น้ำที่มีอุณหภูมิสูงเมล็ดจะดูดน้ำได้เร็ว activity ก็จะยิ่งมาก ทำให้ได้ความร้อนออกมามาก ดังนั้นจึงต้องควบคุมอุณหภูมิของน้ำที่ใช้ด้วย ปกติอุณหภูมิของน้ำที่ใช้จะมีอุณหภูมิประมาณ 10°ซ หรืออาจใช้วิธีถ่ายน้ำสำหรับแช่เมล็ดข้าวบาร์เลย์ใหม่ก็ได้ ขั้นตอนนี้เริ่มต้นความชื้นของเมล็ดข้าวบาร์เลย์จะอยู่ประมาณ 10-11% เมื่อเสร็จสิ้นขั้นตอนนี้แล้ว จะได้ความชื้นเพิ่มขึ้นเป็นประมาณ 45% ซึ่งจะใช้ระยะเวลาประมาณ 58-60 ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงปล่อยน้ำออก

2. Germination นำเมล็ดข้าวบาร์เลย์ที่ผ่านการแช่น้ำแล้ว มาผึ่งไว้บนตะแกรง เพื่อให้เกิดการงอกโดยมีการ aerate และควบคุมอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการงอกตลอดเวลา ซึ่งจะมีการเปลี่ยนแปลงสารภายในเมล็ดจาก high molecularform เป็น low molecular ระหว่างนี้มีการงอกของรากอ่อนและใบอ่อน

ในขบวนการ germination นี้ น้ำส่วนหนึ่งจะระเหยออกไปบางส่วนถูกนำไปใช้ในขบวนการหายใจ ทำให้เกิดเหงื่อหรือหยดน้ำรอบ ๆ เมล็ด รวมทั้งคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดระหว่างขบวนการหายใจ จะมีผลทำให้เมล็ดได้รับออกซิเจนไม่เท่ากันสม่ำเสมอ จึงต้องมีการกลับผิวหน้าของชั้นข้าวในตอนนี้ด้วย ขณะเดียวกันก็ต้อง aerate อากาศที่เย็นผ่านชั้นของข้าวด้วย แต่ต้องควบคุมด้วยว่าเมล็ดจะไม่ได้รับออกซิเจนมากเกินไป เพราะถ้าได้ออกซิเจนมากก็จะเกิดการงอกอย่างรวดเร็ว ทำให้สารประกอบที่เปลี่ยนแปลงภายในเมล็ดไปสะสมอยู่ที่ต้นอ่อนหมด อากาศที่เย็นและการควบคุมอุณหภูมิห้องก็เป็นการช่วยดึงเอาความร้อนซึ่งเกิดจากขบวนการหายใจออกจากชั้นของเมล็ดข้าวด้วย ปกติจะควบคุมอุณหภูมิระหว่าง 17-18°ซ รอจนกระทั่งใบอ่อนงอกได้ประมาณ 2/3 เท่าของเมล็ดและรากอ่อนยาวประมาณ 1.5 เท่าของเมล็ดก็จะเสร็จสิ้นขบวนการของขั้นตอน germination ซึ่งจะใช้ระยะเวลาประมาณ 5 วัน

หลังจากที่เมล็ดข้าวบาร์เลย์เกิดการงอกแล้วเราเรียกข้าวนั้นว่า green malt ซึ่งจะต้องนำไปผ่านการทำอบให้แห้ง เพื่อให้เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาเพื่อใช้ประโยชน์ต่อไป ข้าวที่ได้หลังการอบแล้วนี้เรียกว่า malt (มอลท์)

<u>ขั้นตอนการผลิตข้าวมอลท์อย่างย่อๆ</u>

1. ข้าวบาร์เลย์ที่ได้จากการเก็บเกี่ยว จะถูกนำมาผ่านเครื่องร่อน, เครื่องขัดข้าว เพื่อแยกเอาสิ่งสกปรกหรือสิ่งแปลกปลอมต่างๆ ออก รวมทั้งคัดเลือกขนาดของเมล็ด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. นำข้าวที่ผ่านการคัดเลือกสิ่งสกปรกแล้วไปเก็บไว้ในยุ้งสำหรับเก็บข้าวบาร์เลย์

3. ข้าวบาร์เลย์จากยุ้งที่จะนำไปทำเป็นข้าวมอลท์จะถูกแช่น้ำ เพราะน้ำเป็นองค์ประกอบสำคัญในขบวนการเปลี่ยนแปลงทางชีวภาพ รวมทั้งการเจริญของต้นอ่อน

4. นำข้าวที่ผ่านการแช่น้ำแล้วนี้ไปผึ่งเพื่อให้เกิดการงอกในห้องที่จัดไว้สำหรับขบวนการงอกของต้นอ่อน

5. เมล็ดข้าวที่มีการงอกของต้นอ่อนแล้วจะถูกนำไปอบเพื่อหยุดการทำงานของเอนไซม์และการเจริญของต้นอ่อน

6. เมล็ดข้าวที่ผ่านการอบแล้วจะถูกนำมาผ่านเครื่องร่อนอีกครั้ง เพื่อให้ต้นอ่อนและรากอ่อนที่งอกหักหลุดออกจากเมล็ด และนำไปเก็บไว้ในยุ้งข้าวมอลท์ เพื่อใช้ประโยชน์ต่อไป

3. Kilning

<u>จุดประสงค์ของการอบ</u>

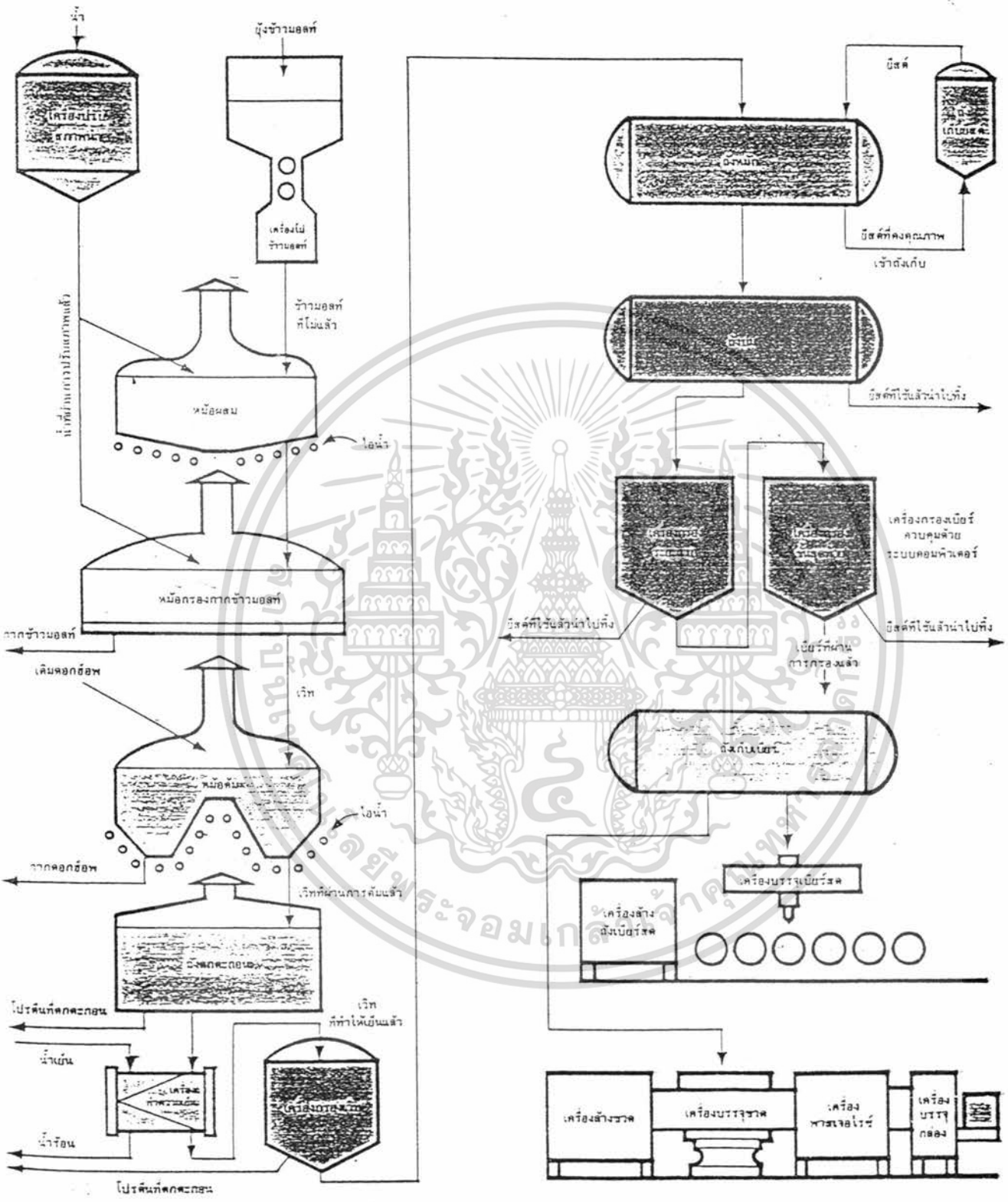
3.1. เพื่อให้ข้าวแห้ง โดยใช้ความร้อนเป็นตัวดึงน้ำออกจากเมล็ด

3.2. เพื่อหยุดการเจริญของต้นอ่อน รวมทั้งหยุด activity ของเอนไซม์

3.3. เพื่อทำให้เกิดกลิ่นหอมรวมทั้งเกิดสีแก่เมล็ดข้าว ตามชนิดของข้าวที่ต้องการผลิต

ข้าวที่งอกได้ตามต้องการแล้วจะถูกนำมาอบ เพื่อให้น้ำระเหยออกจากเมล็ดข้าวโดยอาศัยลมร้อนผ่านชั้นของข้าวเพื่อดึงน้ำออกไป การให้ความร้อนนี้มีส่วนสำคัญอย่างมาก เพราะถ้าใช้ความร้อนจัดเลยทีเดียว จะทำให้น้ำระเหยออกจากเมล็ดอย่างรวดเร็ว มีผลทำให้เมล็ดย่นและเกิดเป็นไตภายในเมล็ด จึงจำเป็นต้องค่อย ๆ ให้ความร้อนทีละน้อยจนกระทั่งถึง 50 องศาเซลเซียส ซึ่งตอนนี้ความชื้นของเมล็ดที่มีอยู่ประมาณ 45 % จะลดลงเหลือประมาณ 10 -12 % ต่อจากนั้นจึงเพิ่มความร้อนให้สูงขึ้นมากกว่า 50 องศาเซลเซียส ความร้อนสูงสุดก่อนจะสิ้นสุดกระบวนการอบนั้น ขึ้นอยู่กับชนิดของข้าวมอลท์ที่ต้องการผลิต ปกติข้าวมอลท์ธรรมดาจะอบด้วยอุณหภูมิสูงสุดประมาณ 82 - 85 องศาเซลเซียส ระยะเวลาที่ต้องใช้ทั้งหมดประมาณ 18 - 24 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 1 ขบวนการผลิตเบียร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คุณลักษณะโดยทั่วไปของยีสต์

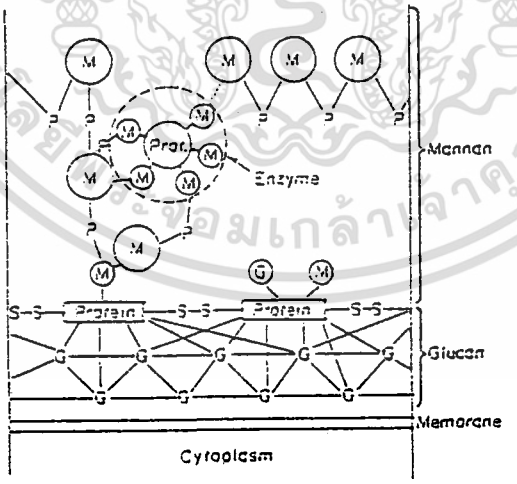
ลักษณะทั่วไป

Saccharomyces cerevisiae จัดอยู่ใน subclass hemiascomycetidae order endomycetales family saccharomycetaceae มีโครงสร้างเป็นแบบง่าย ๆ ไม่มีไมซีเลียม สร้างแอสคัสโดยไม่ต้องมี ascogenous hypha และไม่มีแอสโคคาร์ป สร้างแอสคัสโดยตรงจากไซโกตซึ่งเกิดจากการผสมของเซลล์สองเซลล์ หรือเกิดได้เองจากเซลล์ๆ เดียวโดยไม่ต้องมีการผสม สืบพันธ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการแตกหน่อ มีรูปร่างรีเกือบกลม มีขนาดใหญ่ (3.0-10.0)*(4.5-21.0) μm. สามารถหมักน้ำตาลให้เปลี่ยนเป็นแอลกอฮอล์ได้

โครงสร้างของผนังเซลล์

ผนังเซลล์ยีสต์จะประกอบด้วยส่วนประกอบต่าง ๆ หลายชนิด รูปที่ 2 แสดงถึงการรวมกันของส่วนประกอบต่าง ๆ โดยมีพันธะไดวาเลนซ์, พันธะไฮโดรเจน และการรวมตัวกันของส่วนที่ไม่ชอบน้ำเกิดเป็นส่วนที่สำคัญของรูปร่างภายนอกของเซลล์ ซึ่งจะเกิดการลดและคลายตัวหรือถูกกำจัดไปในระหว่างการล้างเซลล์ที่จะทำการแยกผนังเซลล์ ส่วนประกอบเหล่านี้จะไม่ได้เป็นผนังเซลล์ที่แท้จริง แต่เรียกส่วนนี้ว่า periplasmic space และจะเป็นตัวทำหน้าที่ปกป้องเซลล์

ผนังเซลล์ยีสต์จะมีสารพวก polysaccharides อยู่ประมาณ 80 % ของน้ำหนักแห้ง มีโปรตีนประมาณ 3-20% ส่วนไขมัน, เม็ดสี และเกลืออนินทรีย์จะพบในปริมาณเล็กน้อย



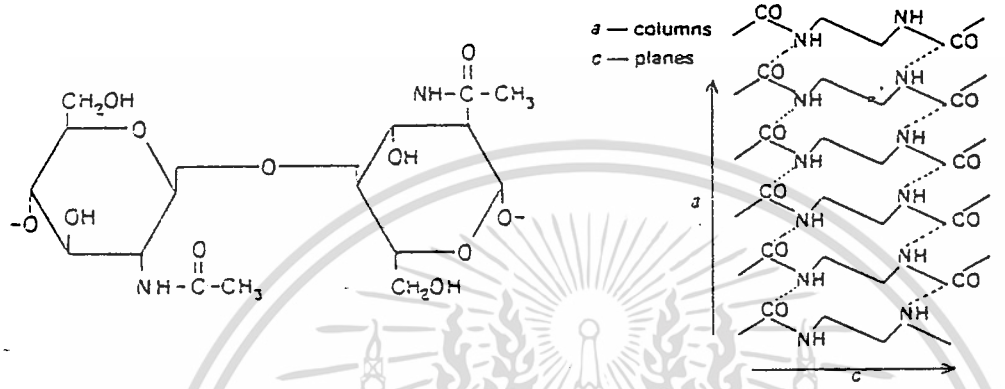
รูปที่ 2 แสดงโครงสร้างผนังเซลล์ของยีสต์ (M : anman, G : glucan, P : phosphate, S : sulphur)

- polysaccharide ที่พบในผนังเซลล์

ผนังเซลล์ยีสต์จะประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตมากที่สุด จากการวิเคราะห์ที่ได้ ทำให้เราทราบว่า monosaccharides ที่พบในผนังเซลล์เมื่อเกิดการไฮโดรไลส์จะเป็นกลูโคสมากที่สุด

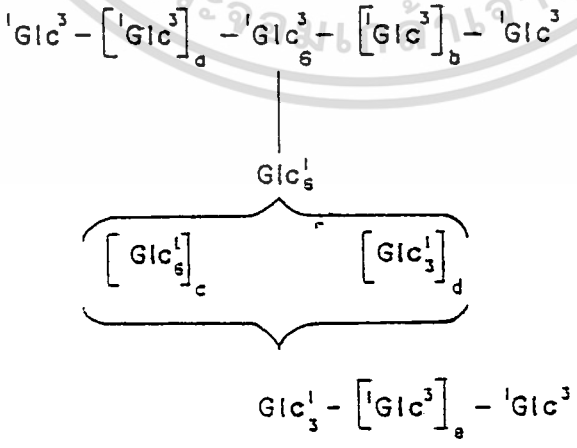
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ ดัดแปลง เผยแพร่ หรือแสวงหาประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Chitin เป็น polysaccharide ที่มีความสำคัญที่สุดของผนังเซลล์ ไม่มีกิ่งก้าน ประกอบด้วย N-acetylglucosamine (GlcNAc) เชื่อมกันด้วยพันธะ β-1,4 chitin มีความแตกต่างของผลึก 3 แบบ คือ α-chitin, β-chitin และ γ-chitin ซึ่ง chitin



รูปที่ 3 โครงสร้างของไคติน

Glucan จะพบในปริมาณมากกว่า chitin มีลักษณะเป็น Heteropolysaccharide โดยส่วนใหญ่แล้วจะอยู่ในรูปที่ไม่ละลายน้ำของ β-1,3-glucan ซึ่งประกอบด้วยส่วนที่เป็นกิ่งก้าน 3% เชื่อมกันด้วยพันธะ β-1,6-glycosidic และส่วนที่พบรองลงมานั้นเป็น glucan ที่สามารถละลายน้ำได้ 15 % ของ β-1,6-glucan อุณหภูมิที่จะทำให้เกิด polymerization ประมาณ 130-140 ประกอบด้วยส่วนที่เป็นกิ่งก้าน 14% ต่อด้วยพันธะ β-1,3-glycosidic

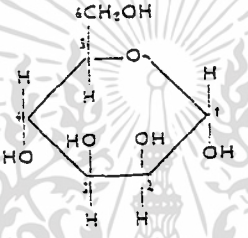


รูปที่ 4 โครงสร้างของ β-glucan ค่า a, b, c, d และ e เป็นค่าที่แตกต่างกันของโมเลกุลที่จำเพาะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Mannan โครงสร้างของแมนแนนประกอบด้วยหน่วยpjvpของเมนโนส ที่ต่อกันด้วยพันธะ $\alpha 1 \rightarrow 6$, $\alpha 1 \rightarrow 2$ และ $\alpha 1 \rightarrow 3$ การศึกษาโครงสร้างของแมนแนนสามารถทำได้โดยการ acetolysis เช่น การ hydrolysis โดยใช้ acetic anhydride กับ sulphuric acid ในปริมาณเล็กน้อย และทำการแยกส่วนที่หักด้วย gel filtration ซึ่งการ acetolysis จะทำลายพันธะ $\alpha 1 \rightarrow 6$

โครงสร้างของแมนแนนประกอบด้วยแมนโนสต่อกันด้วยพันธะ $\alpha 1 \rightarrow 6$ แต่ในส่วนที่เป็นกิ่งจะต่อกันด้วยพันธะ $\alpha 1 \rightarrow 2$ และ $\alpha 1 \rightarrow 3$ การแตกหักของโครงสร้างหลักโดย acetolysis สามารถจะทำให้แยกส่วนกิ่งได้



รูปที่ 5 โครงสร้างของ α-D-mannopyrenose

แมนแนนจะอยู่ร่วมกับโปรตีนในรูปของสารประกอบ โดยที่สายสั้นๆ ของแมนโนโอลิโกเซคคาไรด์จะต่อกับ serine หรือ threonine ด้วยพันธะ O-glycoside ส่วนสายยาวของแมนแนนจะต่อด้วยพันธะ GlcNAc กับ asparagine

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ออโตไลซีส

(autolysis)

สารโมเลกุลใหญ่ (macromolecule) ทั้งหมดที่มีอยู่ในเซลล์ยีสต์เป็นตัวทำให้เซลล์ยีสต์สามารถมีชีวิตอยู่ต่อไปได้ สารเหล่านี้จะลดน้อยลงจากเซลล์ โดยเยื่อหุ้มที่มีคุณสมบัติ semipermeable ของผนังเซลล์ซึ่งมีกลไกที่สำคัญในการสนับสนุนค้ำจุนรูปร่างและขนาดของเซลล์ที่เหลืออยู่ ออโตไลซีสคือกระบวนการที่ซึ่งองค์ประกอบของเซลล์ถูกทำให้ละลายโดยการกระตุ้นเอนไซม์ที่มีความสามารถในการย่อย ซึ่งก็มีอยู่ภายในเซลล์ตามธรรมชาติ การออโตไลซีสสามารถทำได้โดยการนำมาประยุกต์ โดยการควบคุมสภาวะอย่างรอบคอบและระมัดระวังเช่น อุณหภูมิ, pH, เวลา และ การเติมสารที่ช่วยเพิ่มการเกิด ออโตไลซีส การตายของยีสต์มีสาเหตุมาจากความสับสนไม่เป็นระเบียบภายในเซลล์ และการยอมรับเอนไซม์ที่ย่อยอย่างอิสระ รวมไปถึงการเข้าจับโดยขาดการพิจารณาต่อสับสเตรตที่จำเพาะเจาะจงเหล่านั้น การเข้าจับนี้มีสาเหตุมาจากโมเลกุลเหล่านั้น (macromolecule) ขาดการตอบสนองเพราะถูกทำลายไป ซึ่งเหมือนกับการที่โปรตีนและกรดนิวคลีอิก ถูกย่อยจนเป็นหน่วยพื้นฐานที่สามารถละลายน้ำได้ ในธรรมชาติความไม่เป็นระเบียบภายในเซลล์นี้มีผลต่อผนังเซลล์คือ เกิดการรั่วของผนังเซลล์และสูญเสียความสมบูรณ์ของคุณสมบัติ semipermeable ของเยื่อหุ้มเซลล์ และเปิดโอกาสให้สารประกอบที่ละลายน้ำได้รั่วไหลออกจากเซลล์ไป

กลิ่นรสสุดท้ายและผลที่ได้จากสารสกัดในกระบวนการที่ถูกควบคุมอย่างดี โดยมากขึ้นกับอุณหภูมิ,พีเอชระหว่างการมีชีวิตอยู่และความเข้มข้นของยีสต์ และชนิดของกรดที่ใช้ในขบวนการบางสภาวะที่สารสกัดที่ได้มาให้กลิ่นรสสูง ซึ่งอาจเป็นกลิ่นรสที่ไม่สำคัญ จึงมีความพยายามผลิตสารสกัดที่ให้กลิ่นรสที่พึงพอใจ จำนวนมากแทน ความพยายามวิจัย คือ สิ่งจำเป็นเพื่อที่หาสภาวะที่เหมาะสมดังเช่น ให้ผลิตภัณฑ์ที่มีกลิ่นรสที่น่าพึงพอใจ

ปกติกรดที่ใช้เพื่อทำการละลาย ระหว่างการออโตไลซีส ส่วนมากเป็นเอนไซม์ เช่น โปรตีเอส,กลูโคเนส,นิวคลีเอส หรือ ฟอสโฟไดเอสเตอเรส เอธิลอะซีเตทถูกใช้บ่อยๆในการเพิ่มการออโตไลซีส และยังช่วยควบคุมการปนเปื้อนให้มีน้อยลงมาก ในกลุ่มโปรตีเอสเช่นปาเปน (papain) ซึ่งเป็นที่รู้กันว่าจะช่วยเพิ่มสารที่สกัดได้มากยิ่งขึ้นแต่เฉพาะในการทำออโตไลซีสที่ใช้เวลานานๆ เช่นที่ปฏิบัติกันในประเทศอเมริกา,อังกฤษ และออสเตรเลีย การเติมปาเปนจะมีผลน้อยมากเมื่อการออโตไลซีสอยู่ระหว่างเวลาที่สั้นกว่า 20 ชั่วโมงเช่นที่ปฏิบัติกันในประเทศญี่ปุ่นและฝรั่งเศส

วิธีการทำออโตไลซีสถูกทำให้เหมาะสมเพื่อผลิตยีสต์สกัดที่มีเกลือโซเดียมต่ำซึ่งก็จะเป็นการได้เปรียบต่อการยอมรับอย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรมอาหาร แม้กระนั้นรสชาติอ่อนนุ่มของสารสกัดนี้ ผู้ผลิตก็มีความพยายามที่จะพัฒนากลิ่นรสโดยการรวมกับส่วนประกอบของอาหารอื่นๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยีสต์สกัดที่มีโซเดียมต่ำเริ่มเข้ามาเป็นส่วนประกอบที่สำคัญเพิ่มมากขึ้นในอาหารของคนไข้และสูตรอาหารของเด็กอ่อน

ออโตไลซีสหรือการย่อยด้วยตัวเองของเซลล์ยีสต์ที่มีชีวิตอยู่ จะยอมรับได้เมื่อ yeast slurry มีของแข็งเหลืออยู่ ประมาณ 15% จะถูกกระทำที่อุณหภูมิ 45-50 องศาเซลเซียส เวลา 24-36 ชั่วโมง ที่พีเอชประมาณ 5.5 การแตกของเซลล์ที่มีชีวิตอยู่นี้เริ่มต้นโดยการทำงานของเบต้า (1-3) กลูโคเนสและโปรตีเอสที่มีอยู่ภายในเซลล์ เบต้า(1-6)กลูโคเนสและแมนแนนเอสก็มีส่วนร่วมในการละลายที่ผนังเซลล์ และมีเอนไซม์โปรติโอไลติกที่สำคัญ 4 ชนิด ที่แสดงบทบาทส่วนใหญ่ระหว่างการแตกของเซลล์ คือ

1) proteinase ysc A

2) proteinase ysc B

3) carboxypeptidase ysc Y

4) catboxypeptidase ysc S

ทั้ง 4 ชนิดนี้จะอยู่ในแวคคิวโอล (vacuole) เอนไซม์เหล่านี้จะทำหน้าที่เป็นตัวยับยั้งซึ่งจะอยู่ในส่วนนอกของไซโตพลาสซึมของแวคคิวโอล

ภายใต้สภาวะการออโตไลซีสของเซลล์ยีสต์ เริ่มจะตายหลังจากทั้งหมดของเซลล์เริ่มมีการจำกัดการใช้การ macromolecule ขึ้น สภาวะนี้สามารถทำให้เกิดความไม่เป็นระเบียบภายในเซลล์ยีสต์ ซึ่งก็เป็นเครื่องหมายบอกถึงการเริ่มต้นของการเกิดขบวนการออโตไลซีส โดยเริ่มจากการทำลายผนังกั้นของแมตริกส์ในเซลล์ ด้วยการปลดปล่อยเอนไซม์โปรติโอไลติกออกจากแวคคิวโอล เพื่อป้องกันการเกิดเซลล์แมตริกส์ใหม่ขึ้น การทำงานของเอ็นไซม์นี้อย่างแรกคือ ยับยั้งการกระตุ้นระหว่างการฟอร์มตัวของสารที่ซับซ้อน (complex) โดยการทำปฏิริยาโดยตรงกับตัวยับยั้งที่มีปริมาณใกล้ๆกัน

การเติม proteinase ysc A ที่บริสุทธิ์เพื่อเพิ่มยีสต์สกัดสดๆ ตามธรรมชาติ จะไปเพิ่มการยับยั้งของตัวยับยั้ง คือ proteinase ysc B และ carboxypeptidase ysc Y แต่จะมีผลน้อยในการดำเนินการที่ยาวนาน ในเอนไซม์โปรติโอไลติก ภายใต้สภาวะเหนี่ยวนำของออโตไลซีส (pH 5.5,อุณหภูมิ 45-55 องศาเซลเซียส)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 แสดงคุณสมบัติของเอนไซม์โปรตีเอสในยีสต์

	Proteinase ysc A	Proteinase ysc B	Proteinase ysc Y	Proteinase ysc S
Type	acid endopeptidase	serine endopeptidase	serine exopeptidase	metallo (Zn^{2+}) exopeptidase
Optimum pH	2-6	6-7	4-7	7
Optimum T (^{o}C)	35-40	45-55	45-55	60
Cell location	vacuole	vacuole	vacuole	vacuole
Solubility	soluble	soluble	soluble	soluble
Molecula weight	60,000	32,000-44,000	61,000	not determined
Isoelectric pt.	3.8	5.8	3.6	-
Inhibitors	protein 1^{A}_{3} pepstatin,etc.	protein 1^{13}_{2} chymostatin,etc.	protein 1^{o} Hg^{2+}	EDTA
Cellular role	protein degradation	protein degradation	protein degradation	protein degradation

โปรตีเนสในแวคคิวโอลที่เหมือนกับ proteinase ysc A, proteinase ysc B, carboxypeptidase ysc Y, carboxypeptidase ysc S และ aminopeptidase เกี่ยวข้องกับโปรตีนที่ไม่มีความจำเพาะเจาะจงอย่างสูงและการย่อยเปปไทด์ ภายใต้สภาวะธรรมชาติ เอนไซม์นี้ส่วนมากมีลักษณะการให้เหมือนในเซลล์ที่กำลังมีชีวิตอยู่ คือสามารถที่จะค้ำจุนแหล่งอะมิโนในแวคคิวโอลที่เป็นสิ่งที่ทำให้โปรตีนในเซลล์ที่ไม่ต้องการหมดไป เพื่อที่จะสร้างโปรตีนขึ้นใหม่ ภายใต้สภาวะออโตไลซีสเอ็นไซม์เหล่านี้จะทำให้โปรตีโอไลติกเอนไซม์จำเป็นต้องย่อยโดยขาดการพิจารณาในการเข้าจับกับโปรตีนที่อยู่ที่แมตริกส์ ของไซโตพลาสซึม เช่นเดียวกับ เอนไซม์นิวคลีเอสที่มีในเซลล์ก็เริ่มทำปฏิกิริยากับอาร์เอ็นเอและดีเอ็นเอ โดยลดจากโพลีนิวคลีโอไทด์ไปเป็น โมโนนิวคลีโอไทด์,นิวคลีโอไซด์ จนในที่สุดเป็นสารประกอบที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ที่ละลายได้ในอาหารรอบๆตัวยีสต์ได้

ผนังเซลล์ซึ่งโดยทั่วไปแข็งและเป็นตัวแสดงรูปร่างของเซลล์ เมื่อคิดถึงการละลายที่เกิดจากอัลคาไลน์ ละลายเบต้า-กลูแคนภายในเนื้อเยื่อ ที่เนื้อเยื่อชั้นกลางมีการละลายเบต้า-กลูแคนของอัลคาไลน์และเนื้อเยื่อชั้นนอกของกลูโคโปรตีนในที่ซึ่งคาร์โบไฮเดรทถูก phosphorylated เป็นแมนแนน ผนังเซลล์ของยีสต์มีไคตินอยู่ประมาณ 1% โพลีเมอร์ของเอ็นอะเซทิล-กลูโคซามีนเป็นเส้นตรงซึ่งมีโอกาสในการเกิด bud scar ชั้นกลูแคนจะเป็นตัวอย่างในการผสมสารโพลีแซคคา

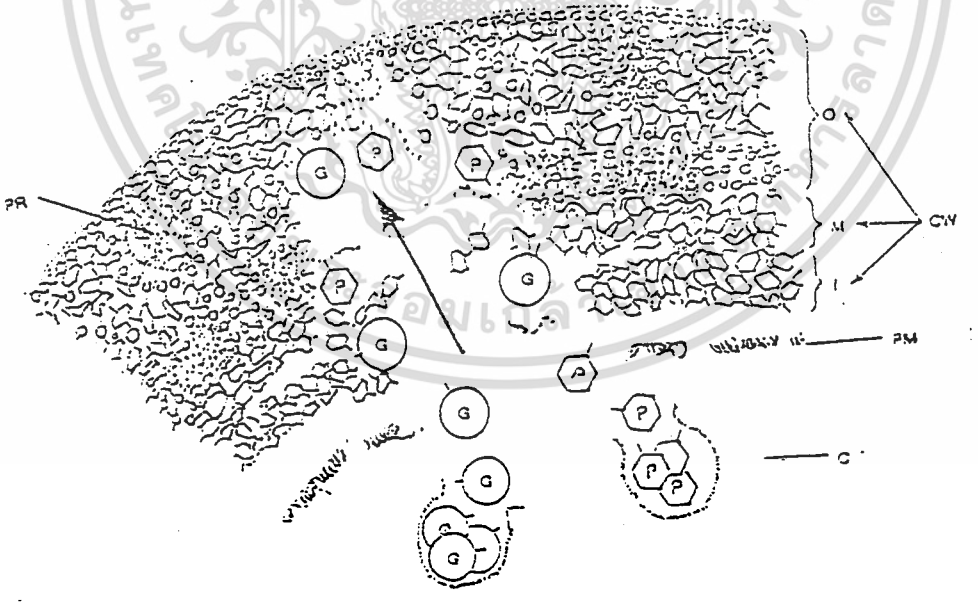
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ไรด์ ชั้นกลูแคนส่วนประกอบหลักประกอบด้วย 85% เป็นเบต้า-(1-3)-linkกลูแคน และส่วนน้อย ประมาณ 15% จะเกิดกิ่งเบต้า(1-6)กลูแคน ระหว่างลูกโซ่ที่มีการเชื่อมกัน

เอนไซม์กลูโคเนสสามารถแยกได้จากยีสต์ และก็เป็นที่รู้กันว่าสามารถไฮโดรไลซ์เบต้า (1-3) และเบต้า (1-6) ของกลูแคนได้ กลูโคเนสมีส่วนในขบวนการเกิดหน่อ แต่กระนั้นภายใต้การเกิดออโตไลติก เบต้า (1-3) กลูโคเนสด้วยการสนับสนุนจากเอ็นไซม์โปรติเนส ก็สามารถทำลายผนังเซลล์กระบวนการนี้สามารถเพิ่มขึ้นโดยการปล่อยให้ถูกจับโดยเอ็กเทอร์นอลโปรตีนเอส ช่วงแรกเหมือนการเกิดโอกาสหนึ่งกับปาเปนตามด้วยการเติมด้วยไลติกกลูโคเนส เอนไซม์ขณะนี้มีประโยชน์ในการค้าเพื่อที่จะพัฒนาปริมาณสารสกัดที่ได้

ยีสต์ที่กลายพันธุ์ด้วยทางเลือกของโครงสร้างของผนังเซลล์ ที่มีความรู้สึกได้สูงต่อเอนไซม์ออโตไลซีสสามารถเป็นตัวสำคัญเพื่อทำสารสกัด อย่างไรก็ตามตัวมิวแตนท์นี้ส่วนใหญ่จะไม่เสถียร เจริญช้าและชอบที่จะเกิดการแตกของเซลล์ระหว่างการเจริญ มิวแตนท์เหล่านั้นมีความผิดปกติทางสรีระวิทยาที่ปรากฏซึ่งจะสัมพันธ์กับ ความไม่สมบูรณ์ของการสร้างผนังเซลล์ อย่างไรก็ตามด้วยการใช้เทคนิค recomination DNA (rDNA) มันจะเป็นไปได้ที่จะสามารถทำวิศวกรรมของยีสต์เพื่อให้เกิดการออโตไลซีสเร็วขึ้น



รูปที่ 6 ไดอะแกรมแสดงการแตกของเซลล์ (C : cytoplasm; CW : cell wall; I : inner-alkali-insoluble layer; M : middle-soluble glucam layer; P : protease; G : gluconase; PM : plasma membrane; PR : protein)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

25405

Hop และคุณสมบัติของ Hop

ฮอพเป็นพืชในแฟมิลี่ Cannabinaceae ซึ่งประกอบไปด้วย 2 จีนัส คือ Humulus และ Cannabis จีนัส Humulus มี 2 สปีชีส์ คือ *Humulus lupulus L.* และ *Humulus japomicus* โดยจะใช้สปีชีส์ *Humulus lupulus* ในการทำเบียร์

ฮอพเป็นพืชที่มีดอกเพศเดียวโดยจะขึ้นปนอยู่กับพืชอื่น ๆ ในทางการค้าจะมีความต้องการต้นฮอพตัวเมียเพราะสามารถให้ดอกได้ ดอกฮอพจะมีต่อม lupulin อยู่ที่บริเวณกลีบดอกซึ่งติดอยู่กับแกนของดอกหรือโคนดอกในดอกจะมียางสีเหลืองหรืออาจจะมีสีขาวน้ำตาลซึ่งจะมีสีใดก็ขึ้นอยู่กับส่วนประกอบของกรดที่ทำให้ขม (bitter acid)

ฮอพเป็นองค์ประกอบสำคัญที่ทำให้เกิดรสขมในเบียร์ โดยเริ่มมีบทบาทเมื่อ ศตวรรษที่ 19 ในอดีตฮอพมีประโยชน์ใน 2 แง่คือ ใช้เป็นอาหารเหมือนกับผักชีฝรั่งและใช้เป็นสารยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในอุตสาหกรรม ในยุคที่ยังไม่มีการค้นพบการฆ่าเชื้อแบบ Pasteurization ปัจจุบันหน้าที่ของฮอพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ถูกมองข้ามไป แต่มีบทบาทในการผลิตเบียร์แทน

ประมาณ 1/5 ของน้ำหนักแห้งของฮอพประกอบไปด้วย lupulin ซึ่งมีองค์ประกอบสำคัญของฮอพคือกรดขมและไขมันจำเป็น กรดขมประกอบไปด้วย α-acid และ β-acid องค์ประกอบของสารเหล่านี้จะผสมกันและจะอยู่ในรูปยาง (resin) ซึ่งมี 2 รูปคือแข็งและอ่อน ถ้าละลายในสารละลายอินทรีย์จะอยู่ในรูปอ่อน (solf resin) เมื่อผ่านอากาศเข้าไปจะเกิดการออกซิเดชั่นกรดขมจะเปลี่ยนรูปเป็น ill-dofined products ซึ่งจะไม่มีความอ่อนนุ่นและจะแข็งในสารละลายอินทรีย์ (hard resin) ฮอพประกอบไปด้วยสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ผสมกันอยู่ องค์ประกอบของฮอพแสดงในตารางที่ 6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6 แสดงองค์ประกอบของฮอพ

Nature	Weight %
alpha acids	2-12
amino acids	0.1
beta acids	1-10
cellulose	40-50
chlorophyll	-
essential oil	0.5-5
monosacchrides	2
oils and fatty acids	traces to 25%
pectin	2
polyphenols	2-5
protein	1
Salts (ash)	10
water	8-12
waxes and steroids	-

การกำหนดค่าของฮอพสามารถดูได้จากกลิ่นของฮอพต่อปริมาณที่ใช้ และอาจจะกำหนดค่าได้จากการเกิด hard resin และ soft resin แต่วิธีที่ดีที่สุดคือวัดปริมาณ α-acid

α-acid ประกอบด้วย humulone,cohumulone,adhumulone และอนุพันธ์ของ humulone อีกหลายชนิด โดยมี adhumulone 10-15% , cohumulone 20-25% และ humulone 35-70% (ตาราง 7) ขึ้นอยู่กับชนิดและสายพันธุ์ของฮอพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 7 ส่วนประกอบของ α-acid

α-acid	Acyl R	%
Humulone	$CH_2CH(CH_3)_2$	35-70
Cohumulone	$CH(CH_3)_2$	20-65
Adhumulone	$CH(CH_3)CH_2CH_3$	10-15
Prehumulone	$CH_2CH_2CH(CH_3)_2$	1-10
Posthuhumulone	CH_2CH_3	1-3

การใช้ฮอพในการผลิตเบียร์

วัตถุประสงค์หลักของการใช้ฮอพในการผลิตเบียร์คือต้องการให้ α-acid ในฮอพเปลี่ยนเป็น iso-α-acid ในเบียร์ ซึ่งในการผลิตเบียร์ ปริมาณ α-acid จะสามารถเปลี่ยนเป็น iso-α-acid ได้เพียง 20-35% เท่านั้น α-acid อีก 65-80% จะถูกนำไปใช้ในรูปของการเกิด isomerization กับสารตัวอื่น ๆ ในการหมัก ไป 40-65% ที่เหลือก็อยู่ในขั้นตอนการกรอง และอยู่ในโฟมในขั้นตอนการหมัก

α-acid สามารถละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์แต่ไม่สามารถละลายได้ในน้ำในอาศัยคุณสมบัตินี้ในการสกัด α-acid ออกจากฮอพด้วย methylene chloride และ acetone เนื่องจากสารทั้ง 2 ตัวนี้มีพิษและเป็นอันตรายต่อสภาพแวดล้อม ปัจจุบันจึงเปลี่ยนมาใช้ ethanol และ hexane แทน ข้อดีของการใช้ ethanol สกัด α-acid ในฮอพ α-acid ที่ได้จะเปลี่ยนเป็น iso-α-acid ได้ง่าย เราเรียก α-acid ที่เปลี่ยนเป็น iso-α-acid ได้ง่ายนี้ว่า สารสกัดก่อไอโซเมอร์

การเกิด isomerization ของ α-acid ได้ iso-α-acid นั้น iso-α-acid ที่ได้จะมี 2 รูปคือ cis iso-α-acid และ trans iso-α-acid รูปของ iso-α-acid ที่แตกต่างกันนี้จะให้รสขมที่แตกต่างกันออกไปสัดส่วนของ cis iso-α-acid กับ trans iso-α-acid ที่เหมาะสมจะให้รสขมที่เป็นธรรมชาติทำให้รสชาติเบียร์ที่ได้มีรสชาติดี.

ประมาณ 25 ประเทศที่มีการเพาะปลูกฮอพ แหล่งของฮอพที่ทำการเพาะปลูกที่ใหญ่ที่สุดอยู่ในเยอรมันนีคิดเป็น 30% ของผลผลิตทั้งโลก, อเมริกาคิดเป็น 20%, โซเวียตคิดเป็น 10%, เชคโกสโลวาเกียคิดเป็น 10% และอังกฤษคิดเป็น 6% แหล่งการค้าที่สำคัญเกิดขึ้นระหว่างประเทศที่มีการปลูกฮอพได้แก่ Germany, USA, Czechoslovakia, Yugoslavia, Australia และ China กับประเทศที่มีการผลิตเบียร์แต่ไม่ได้มีการปลูกฮอพได้แก่ Netherlands, Denmark, Brazil, Mexico และบางประเทศใน African ปริมาณฮอพที่มีจะเปลี่ยนแปลงอยู่ระหว่างประเทศที่ปลูกฮอพเนื่องจากความแตกต่างของสายพันธุ์

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลผลิตของฮอพทั้งโลก วัดโดยน้ำหนักของ α-acid ในปี 1973 พบว่ามากถึง 7,500 ตัน มีมากกว่าความต้องการโลก 1,000 ตัน สาเหตุที่มีมากเกินไปเพราะมีการเพิ่มพื้นที่เพาะปลูกมาก จนกระทั่งในปี 1974 ผลผลิตต่อปีของธัญญพืชต่อหนึ่งหมื่นตารางเมตรของน้ำหนัก α-acid ยังเพิ่มสูงขึ้นมากแต่ปริมาณความต้องการฮอพเพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ ทั้ง ๆ ที่มีการผลิตเบียร์เพิ่มขึ้น เป็นเพราะปริมาณเบียร์ที่ผลิตเพิ่มขึ้นเป็นเบียร์ชนิดที่มีปริมาณแอลกอฮอล์ต่ำ (light beer) ซึ่งจะใช้ฮอพในการผลิตเบียร์ในสัดส่วนที่น้อยกว่าการผลิตเบียร์ธรรมดา

ปริมาณการปลูกฮอพลดลงในบางพื้นที่เช่นใน เบลเยี่ยม ปริมาณการปลูกฮอพน้อยกว่าเมื่อ 5 ปีที่แล้ว ส่งผลให้เกิดการซบเซาของตลาดฮอพในช่วงปี 1984-1990 ในปี 1991ปริมาณความต้องการฮอพเพิ่มขึ้นอีกครั้งหนึ่งราคาก็สูงขึ้นสาเหตุที่ตลาดฮอพกระฉับกระเฉง ขึ้นเพราะมีผู้บริโภคเบียร์เพิ่มขึ้นในประเทศที่กำลังพัฒนาโดยเฉพาะแถบประเทศในอเมริกาใต้ ฮอพมีชื่อทางด้านราคาที่ไม่แน่นอนนี่อาจจะเป็นสาเหตุสำคัญที่จะทำให้มีการลดการปลูกฮอพลงในอนาคตได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

อุปกรณ์ สารเคมี และวิธีการทดลอง

คำย่อที่ใช้ในการทดลอง

YC-I :ยีสต์ครีมเบียร์ที่ไม่มีความสามารถในการผลิตเบียร์แล้ว (Yeast cream I)

YC-II :ยีสต์ครีมเบียร์ที่ผ่านการล้างด้วย 0.85 % NaCl ในอัตราส่วน 1:4 (Yeast cream II)

YC-III :ยีสต์ครีมเบียร์ที่ผ่านการล้างด้วยน้ำ ในอัตราส่วน 1:4 (Yeast cream III)

YC-IV :ยีสต์ครีมเบียร์ที่ผ่านการล้างด้วย 0.1 N NaOH ในอัตราส่วน 1:4 (Yeast cream IV)

YC-IA :ยีสต์ที่ทำการออโตไลเสท (Yeast autolysate) จาก YC-I

YC-IIA :ยีสต์ที่ทำการออโตไลเสท (Yeast autolysate) จาก YC-II

YC-IIIA :ยีสต์ที่ทำการออโตไลเสท (Yeast autolysate) จาก YC-III

YC-IVA :ยีสต์ที่ทำการออโตไลเสท (Yeast autolysate) จาก YC-IV

การวิจัยและการดำเนินงาน

การทดลองที่ 1 การทดลองหาคุณลักษณะของยีสต์ครีมเบียร์

จุดประสงค์ ศึกษาคุณสมบัติบางประการของตัวอย่างตะกอนยีสต์เบียร์ (YC-I) ที่ใช้ทดลอง

การตรวจหาความชื้น

- ครั้งที่ 1

1. ชั่งยีสต์ครีมเบียร์ 30 กรัม นำไปเกลี่ยลงบนแผ่นพลาสติกแบน
2. นำไปอบให้แห้งในเตาอบ อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส
3. นำยีสต์ครีมเบียร์ที่ผ่านการอบแห้งแล้วนำไปชั่งน้ำหนักที่หายไป

- ครั้งที่ 2

1. ชั่งยีสต์ครีมเบียร์ 12 กรัม นำไปเกลี่ยลงบนแผ่นพลาสติกแบน
2. นำไปอบให้แห้งในเตาอบ อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส
3. นำยีสต์ครีมเบียร์ที่ผ่านการอบแห้งแล้วนำไปชั่งน้ำหนักที่หายไป

อุปกรณ์

1. แผ่นพลาสติกแบน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. เตาอบ

3. เครื่องชั่ง

วิธีการคำนวณ

$$P = \frac{100 * B}{A}$$

เมื่อ P คือ เปอร์เซ็นต์ความชื้นในอาหาร

A คือ น้ำหนักยีสต์ครีมเบียร์ก่อนการอบ

B คือ น้ำหนักของน้ำที่หายไป

การหาค่า pH

วัดค่าโดยใช้ pH meter

สีและลักษณะต่าง ๆ

ใช้การสังเกต

ความถ่วงจำเพาะ

นำตัวอย่างยีสต์ครีมเบียร์ 10 มล ชั่งหาน้ำหนักแล้วนำมาคำนวณได้ค่าเป็น กรัม / มล

การทดลองที่ 2 การล้างยีสต์ครีมเบียร์เพื่อใช้ในการทดลอง

จุดประสงค์ ศึกษาวิธีการล้างยีสต์ครีมเบียร์ให้ปราศจากฮอพเพื่อใช้เป็นยีสต์ตัวอย่างในการทดลองทั้ง หมดต่อไป

การล้างด้วยน้ำเกลือ (0.85 % NaCl)

1. ชั่งยีสต์ครีมเบียร์ (YC-I) มา 30 กรัม ใส่ในฟลาสก์ขนาด 250 มล. จำนวน 8 ฟลาสก์

2. เติมน้ำเกลือ 0.85 % จำนวน 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105 และ 120 มล. ตามลำดับในแต่ละฟลาสก์

3. ทำการคนด้วยแท่งแก้วให้ยีสต์สัมผัสกับน้ำเกลือมากที่สุด

4. นำไป centrifuge ที่ 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที

5. จดบันทึกโดยวัดปริมาณฮอพเป็นมิลลิเมตร สังเกตสีของน้ำและลักษณะตะกอนของยีสต์ครีมเบียร์ % (YC-II)

การล้างด้วยน้ำ

ทำการทดลองแบบเดียวกับน้ำเกลือ แต่ใช้น้ำแทน (YC-III)

การล้างด้วยด่าง (0.1 N. NaOH)

ทำการทดลองแบบเดียวกับน้ำเกลือ แต่ใช้ด่างแทน (YC-IV)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลังจากการล้างยีสต์ครีมเบียร์แล้วทำการตักเอาเฉพาะส่วนที่เป็นยีสต์ครีมมาตั้งทิ้งไว้ 24 ชม. เพื่อดูว่ามีฮอพตกออกมาอีกหรือไม่เก็บเป็นตัวอย่างใช้ในการทดลองทั้งหมดต่อไป

การทดลองที่ 3 การกำจัดฮอพออกจากเซลล์ยีสต์ (debittering) โดยการใช้เอนไซม์

จุดประสงค์ ศึกษาความสามารถของเอนไซน์ในการกำจัดฮอพออกจากเซลล์ยีสต์ แทนการใช้ด่าง

เอนไซม์ lyticase (sigma chemical company)

1. ทำการละลายเอนไซม์ด้วยน้ำกลั่น 4 มล.
2. ชั่งยีสต์ครีมเบียร์ที่ผ่านการล้างด้วยน้ำเกลือแล้วมา 110 กรัม แบ่งใส่ฟลาสก์ละ 10 กรัม
3. เติมน้ำกลั่นลงไปฟลาสก์ละ 10 มล.
4. วัด pH และ อุณหภูมิ ของยีสต์ในแต่ละฟลาสก์
5. เติมเอนไซม์ให้มีจำนวนยูนิต 125, 250, 375, 500, 625, 750, 875, 1000, 1125 และ 1250 ยูนิต ตามลำดับ อีกหนึ่งฟลาสก์เป็นฟลาสก์ควบคุม
6. นำไปปั่นบนเครื่อง centifuge 1 ชม. ที่ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที
7. นำไป centrifuge ที่ 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที
8. สังเกตดูตะกอนฮอพ และส่วนน้ำใส

หมายเหตุ เอนไซม์ของ sigma chemical company ที่ใช้จะมีจำนวน 25,000 ยูนิต ต่อ 1 ขวด (crude) และสภาพที่เหมาะสม คือ pH 7.5 ที่ 25 $^{\circ}$C ซึ่งใช้ในการทำ photoplast ของเซลล์ยีสต์

วิธีการคำนวณยูนิต

ในเอนไซม์หนึ่งขวดที่ใช้จะมีจำนวน 25,000 ยูนิต ทำการเติมน้ำ 4 มล. เพราะฉะนั้น ใน 4 มล. จะมีทั้งหมด 25,000 ยูนิต (A) ทำการปิเปตมา 2 มล.จะเท่ากับ (2*25,000)/4 = 12,500 ยูนิต เติมน้ำลงไปจนได้ปริมาตร 10 มล. (B) แล้วทำการปิเปตมา 1 มล. จะเท่ากับ (1*12,500)/10 = 1,250 ยูนิต

125 ยูนิต = ปิเปต B มา 0.10 มล.

250 ยูนิต = ปิเปต B มา 0.20 มล.

375 ยูนิต = ปิเปต B มา 0.30 มล.

500 ยูนิต = ปิเปต B มา 0.40 มล.

625 ยูนิต = ปิเปต B มา 0.50 มล.

750 ยูนิต = ปิเปต B มา 0.60 มล.

875 ยูนิต = ปิเปต B มา 0.70 มล.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1000 ยูนิต = ปิเปต B มา 0.80 มล.

1125 ยูนิต = ปิเปต B มา 0.90 มล.

1250 ยูนิต = ปิเปต B มา 1.00 มล.

เอนไซม์ chitinase (sigma chemical company)

1. ทำการละลายเอนไซม์ด้วยน้ำกลั่น 0.5 มล.
2. ชั่งยีสต์ครีมเบียร์ที่ผ่านการล้างด้วยน้ำเกลือแล้วมา 20 กรัม แบ่งใส่ฟลาสก์ ๆ ละ 10 กรัม
3. เติมน้ำกลั่นลงไปฟลาสก์ ๆ ละ 10 มล.
4. วัด pH และ อุณหภูมิ ของยีสต์ในฟลาสก์
5. เติมเอนไซม์
6. นำไปปั่นบนเครื่องปั่นเหวี่ยง 1 ชม. ที่ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที
7. นำไป centrifuge ที่ 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที
8. สังเกตดูตะกอนยอพ และส่วนน้ำใส

หมายเหตุ เอนไซม์ของ sigma chemical company ที่ใช้จะมีจำนวน 5 ยูนิต ต่อ 1 ขวด (lyophilized powder containing) และสภาพที่เหมาะสม คือ pH 6.0 ที่ 25 $^{\circ}C$

เอนไซม์ lysing enzyme (sigma chemical company)

1. ทำการละลายเอนไซม์ด้วยน้ำกลั่น 10 มล.
2. ชั่งยีสต์ครีมเบียร์ที่ผ่านการล้างด้วยน้ำเกลือแล้วมา 20 กรัม แบ่งใส่ฟลาสก์ละ 10 กรัม
3. เติมน้ำกลั่นลงไปฟลาสก์ละ 10 มล.
4. วัด pH และ อุณหภูมิ ของยีสต์ในฟลาสก์
5. เติมเอนไซม์ 0.5 มล.
6. นำไปปั่นบนเครื่องปั่นเหวี่ยง 1 ชม. ที่ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที
7. นำไป centrifuge ที่ 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที
8. สังเกตดูตะกอนยอพ และส่วนน้ำใส

หมายเหตุ เอนไซม์ของ sigma chemical company ที่ใช้จะมีจำนวน 500 มก. ต่อ 1 ขวด (A brown powder containing)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองที่ 4 การทำออโตไลเสทยีสต์ที่ล้างด้วยน้ำเกลือ 0.85 %, น้ำ, ด่าง 0.1 N. และที่ไม่มีการล้างเซลล์

จุดประสงค์ นำไปใช้ศึกษาความแตกต่างของยีสต์ที่อยู่ภายในและภายนอกเซลล์ยีสต์

วิธีทำ

1. ชั่งยีสต์ครีมเบียร์ (YC-I) 400 กรัม แบ่งใส่ฟลาสก์ 4 ฟลาสก์เท่า ๆ กัน

2. นำยีสต์ครีมเบียร์ในฟลาสก์ที่ 2 และ 3 ไปล้างด้วยน้ำเกลือ 0.85 % และน้ำเปล่าตามลำดับ (อัตรา ส่วน 1:4) จนไม่มีฮอพตกตะกอนออกมาอีกตามการทดลองที่ 1

3. นำยีสต์ครีมเบียร์ทั้ง 4 ฟลาสก์ มาทำการออโตไลเซท ที่ อุณหภูมิ 80°C เป็นเวลา 45 นาที ภายใน water-baht

4. นำยีสต์ที่ออโตไลเสทแล้วมาทำการ centrifuge ที่ 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที เมื่อครบ เวลาจะสามารถแยกส่วนที่ เป็นของเหลวสีน้ำตาล และเศษเซลล์สีขาวออกจากกัน

5. นำของเหลวสีน้ำตาลซึ่งเรียกว่า ออโตไลเซท ไปวัดพีเอช

การทดลองที่ 5 การวิเคราะห์หาปริมาณความขมในออโตไลเสททั้ง 4 ตัวอย่าง โดยใช้ International method

จุดประสงค์ ศึกษาหาความแตกต่างของฮอพที่อยู่ภายนอกเซลล์และภายในเซลล์ยีสต์

ความขมนี้จะวัดจากปริมาณ ไอโซ-อัลฟา-แอซิด(iso-α-acid) ซึ่งจะถูกสกัดด้วย ไอโซออกเทน(iso octane) และนำไปวัดปริมาณ อัลฟาแอซิดด้วย UV spectrophotometry

สารละลาย(reagent)

1. กรดไฮโดรคลอริก 6 นอร์มอล(N) ต้องใช้reagent grade
2. iso-octane (2,2,4-trimetyl-pentane) ต้องเป็น spectroscopic grade

อุปกรณ์

1. centrifuge tube
2. ฝาปิดหลอดเซนตริฟิวก์ ต้องใช้ที่ทำมาจาก polypropylene โดยเฉพาะ
3. ปีเปตขนาด 0.5 ,10 และ 20 มิลลิลิตร
4. เซนตริฟิวก์ความเร็วรอบ 3000 รอบต่อนาที
5. rotary shaker ที่มีแอมปลิจูด 2-3 เซนติเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. UV spectrophotometer และต้องใช้ silica cell ที่มี slit width น้อยกว่า 2 มิลลิเมตร

วิธีทำ

1. ปิเปตตัวอย่างออโตไลเซทมา 10 มิลลิลิตร
2. เติมกรดไฮโดรคลอริก 6 N จำนวน 0.5 มิลลิลิตร
3. ใส่กลาสบีด 2-3 เม็ด (ต้องใส่ให้จำนวนเท่ากันเพื่อความสมดุล)
4. เติมไอโซออกเทน 20 มิลลิลิตร แล้วปิดฝาหลอดเซนตริฟิวก์ให้แน่น เพื่อป้องกันการระเหย หรือการซึมออกสู่ภายนอกของไอโซออกเทน
5. นำไปเขย่าที่ความเร็วรอบ 130 รอบต่อนาที 15 นาที ที่อุณหภูมิ 20 °C
6. นำไปปั่นอีก 4 นาที ที่ความเร็วรอบ 3000 รอบต่อนาที
7. นำเฉพาะส่วนใสด้านบน ซึ่งเป็นส่วนของไอโซออกเทนที่สกัดเอา อัลฟ่าแอซิดไว้ไปวัดค่า absorbance ที่ 275 นาโนเมตร โดยใช้ไอโซออกเทนเป็นแบลังค์

การคำนวณหาปริมาณความขม

bitterness unit (BUs) = 50 * A_{275} EBU (European Brewer's Units)

หมายเหตุ หน่วยของ bittering unit จะเป็นตัวเลขจำนวนเต็ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและการวิจารณ์

ผลการทดลองที่ 1 การทดลองหาคุณลักษณะของยีสต์ครีมเบียร์

1. แหล่งเก็บตัวอย่าง : จากตะกอนเบียร์ที่ผ่านการเหวี่ยงปั่นรีดเอาน้ำเบียร์ออกไปมากที่สุดด้วย Decanter
2. ลักษณะ : เป็นครีมข้นไม่ไหล สามารถตักได้
3. สี : เขียวปนเทาคล้ำ
4. pH : 5.8
5. ความถ่วงจำเพาะ : 1.017
6. ความชื้น : 75.84 %

ตารางที่ 8 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณความชื้นในยีสต์ที่นำมาจาก Decanter

จำนวนชุดการทดลอง	น้ำหนักก่อนอบ	น้ำหนักหลังอบ	เปอร์เซ็นต์ความชื้น
1	30	7	76.67
2	12	3	75.00
เฉลี่ย	21	5	75.84

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองที่ 2 การล้างยีสต์ครีมเบียร์ที่ใช้ในการทดลอง

ตารางที่ 9 แสดงผลการล้างยีสต์ครีมเบียร์ด้วยน้ำเกลือ 0.85 %

ฟลาสก์ที่	1	2	3	4	5	6	7	8
YC-I	30	30	30	30	30	30	30	30
น้ำเกลือ 0.85 %	15	30	45	60	75	90	105	120
ความหนาของตะกอนฮอพ (มม.)	0	0	1	5	7	8	8	8
ลักษณะตะกอนยีสต์	คล้ำ	คล้ำ	คล้ำ	นวลคล้ำ	นวลคล้ำเล็กน้อย	ขาวนวล	ขาวนวล	ขาวนวล
ลักษณะส่วนชั้นน้ำ	ใส	ใส	ใส	ใส	ใส	ใส	ใส	ใส

ตารางที่ 10 แสดงผลการล้างยีสต์ครีมเบียร์ด้วยน้ำ

ฟลาสก์ที่	1	2	3	4	5	6	7	8
YC-I	30	30	30	30	30	30	30	30
น้ำ	15	30	45	60	75	90	105	120
ความหนาของตะกอนฮอพ (มม.)	0	0	0	2	3	8	8	8
ลักษณะตะกอนยีสต์	คล้ำ	คล้ำ	คล้ำ	นวลคล้ำ	นวลคล้ำเล็กน้อย	ขาวนวล	ขาวนวล	ขาวนวล
ลักษณะส่วนชั้นน้ำ	ใส	ใส	ใส	ใส	ใส	ใส	ใส	ใส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 11 แสดงผลการล้างยีสต์ครีมเบียร์ด้วยด่าง 0.1 N.

ฟลาสก์ที่	1	2	3	4	5	6	7	8
YC-I	30	30	30	30	30	30	30	30
ด่าง 0.1 N. NaOH	15	30	45	60	75	90	105	120
ความหนาของตะกอนฮอพ (มม.)	0	0	2	4	4	8	8	8
ลักษณะตะกอนยีสต์	คล้ำ	คล้ำ	คล้ำ	นวลคล้ำ	นวลคล้ำเล็กน้อย	ขาวนวล	ขาวนวล	ขาวนวล
ลักษณะส่วนชั้นน้ำ	สีเขียวอ่อน	สีเขียวอ่อน	สีเขียวอ่อน	สีเขียวอ่อน	สีเขียวอ่อน	สีเขียวอ่อน	สีเขียวอ่อน	สีเขียวอ่อน

ผลการทดลองที่ 3 การกำจัดฮอพออกจากเซลล์ยีสต์ (debittering) โดยการใช้เอนไซม์

ตารางที่ 12 แสดงผลการกำจัดฮอพออกจากยีสต์โดยใช้เอนไซม์ lyticase ที่ pH 7 อุณหภูมิ 25°C

ฟลาสก์ที่	ปริมาณเอนไซม์ (ยูนิต)	ผลของฮอพที่ออกมา(มม.)	ส่วนของชั้นน้ำ
1	125	0	ใสไม่มีสี
2	250	0	ใสไม่มีสี
3	375	0	ใสไม่มีสี
4	500	1	ใสไม่มีสี
5	625	2	ใสไม่มีสี
6	750	2	ใสไม่มีสี
7	875	2	ใสไม่มีสี
8	1000	2	ใสไม่มีสี
9	1125	2	ใสไม่มีสี
10	1250	2	ใสไม่มีสี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลของการกำจัดฮอพออกจากยีสต์โดยเอนไซม์ chitinase และ lysing enzyme ที่ พีเอช 7 อุณหภูมิ 25°C ไม่มีตะกอนฮอพหลุดออกมาภายนอกเซลล์

ผลการทดลองที่ 4 การทำออโตไลเสทยีสต์ที่ล้างด้วยน้ำเกลือ 0.85 %, น้ำ, ด่าง 0.1 N. และที่ไม่มีการล้างเซลล์

ตารางที่ 13 แสดงค่าพีเอชในยีสต์ออโตไลเสท

ตัวอย่างที่	1	2	3	4
พีเอช	5.8	5.8	5.8	5.8

ผลการทดลองที่ 5 การหาปริมาณความขม

ตารางที่ 14 แสดงปริมาณความขมของตัวอย่างยีสต์ทั้งหมด

ตัวอย่างที่	1	2	3	4
ปริมาณความขม (bitterness มีหน่วยเป็น EBU)	26	17	18	13
% ฮอพที่ลดลง	-	34.6	30.8	50

หมายเหตุ ความขมที่วัดได้จากปริมาณอัลฟ่าแอซิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 7 แสดงสีของครีมยีสต์

YC-I แสดงครีมยีสต์ที่นำมาจาก decanter

YC-II แสดงครีมยีสต์ที่ทำการล้างด้วยน้ำเกลือ 0.85% อัตราส่วน 1:4

YC-III แสดงครีมยีสต์ที่ทำการล้างด้วยน้ำ อัตราส่วน 1:4

YC-IV แสดงครีมยีสต์ที่ทำการล้างด้วยด่าง 0.1 N. NaOH อัตราส่วน 1:4

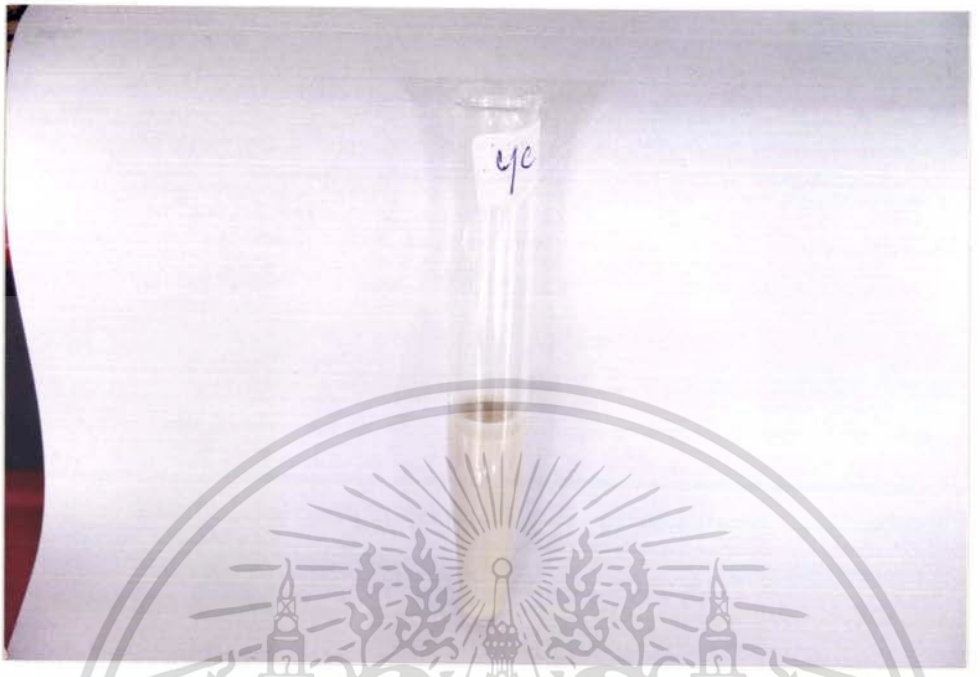
รูปที่ 8 แสดงลักษณะของยีสต์ครีมที่นำมาจาก decanter นำไปอบแห้งเพื่อหาความชื้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 9 แสดงการเปรียบเทียบสีของยีสต์ครีมที่ทำการล้างด้วยน้ำเกลือ 0.85% (ซ้าย) และยีสต์ครีมที่นำมาจาก decanter

รูปที่ 10 แสดงลักษะตะกอนฮอพที่อยู่ภายนอก (ซ้าย) และ ภายในเซล (ขวา)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 11 แสดงลักษณะของยีสต์ครึมที่สะอาด (ผ่านการล้างด้วยน้ำเกลือ 0.85% เพื่อใช้เป็นยีสต์ตัวอย่างในการทดลองกำจัดฮอพโดยใช้เอนไซม์)

รูปที่ 12 แสดงลักษณะสีของออโตไลเสท (ซ้าย) และ สีของน้ำเกลือ (ขวา)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 13 เปรียบเทียบสีของออโตไลเสท

AI แสดงลักษณะของออโตไลเสทที่ไม่มีการล้าง

AII แสดงลักษณะของออโตไลเสทที่ทำการล้างด้วยน้ำเกลือ 0.85 %

AIII แสดงลักษณะของออโตไลเสทที่ทำการล้างด้วยน้ำ

AIV แสดงลักษณะของออโตไลเสทที่ทำการล้างด้วยด่าง 1 N. NaOH

รูปที่ 14 เครื่องเซนติฟิวใช้ในการปั่นแยกฮอพและใช้ในการวัดความขม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 15 เครื่องเขย่าใช้ในการหาความขม

รูปที่ 16 เครื่อง UV spectophotometer ใช้ในการวัดความขม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

ในความพยายามที่จะหาวิธีการในการล้างฮอพออกจากยีสต์ ที่ผ่านกระบวนการผลิตเบียร์จนหมดสภาพการหมักแล้วนั้น การใช้ด่างก็เป็นอีกวิธีหนึ่งในการล้างฮอพ แต่วิธีนี้ก็ทำให้เกิดน้ำเสียอย่างมากถึง 12 เท่า ของปริมาณยีสต์ ในการทดลองนี้ได้ทำการล้างทั้งฮอพภายนอก และภายในเซลล์ การล้างฮอพภายนอกเซลล์นี้จะทำให้เซลล์ยีสต์สะอาดและทำให้แน่ใจได้ว่า เมื่อใช้เอนไซม์ในการล้างฮอพภายในเซลล์ยีสต์แล้วฮอพที่เกิดขึ้นจะออกมาจากภายในเซลล์ยีสต์เท่านั้น จากผลการทดลองพบว่า การใช้น้ำและน้ำเกลือ 0.85% ที่อัตราส่วนยีสต์และสารละลาย 1:4 จะสามารถล้างฮอพภายนอกออกได้ดีเท่ากับการล้างด้วยด่าง และเมื่อน้ำยีสต์ไปออโตไลซิส เพื่อนำออโตไลเสทไปวัดปริมาณความขม พบว่ายีสต์ที่ล้างด้วยด่าง, น้ำ และน้ำเกลือ 0.85 % มีความขมเหลืออยู่ในออโตไลเสท 13, 18, 17 EBU ตามลำดับ สำหรับการกำจัดฮอพภายในเซลล์นั้น พบว่าเอนไซม์ไสติเคส 500 ยูนิต ให้ฮอพออกมา 1 มม. และที่ 625-1250 ยูนิต ให้ฮอพออกมา 2 มม. ซึ่งเมื่อเทียบกับการล้างด้วยด่าง 0.1 N. NaOH ให้ฮอพออกมา 4 มม. ในตัวอย่างยีสต์ 10 กรัมเท่ากัน

จากผลการทดลองทั้งหมดจะเห็นได้ว่า การใช้เอนไซม์จะให้ผลการล้างฮอพภายในเซลล์ยีสต์ เพียง 50% ของการล้างเซลล์ยีสต์ด้วยด่าง และสามารถลดน้ำเสียที่เกิดจากการล้างด้วยด่าง แต่เมื่อเทียบกับต้นทุนของสารที่ใช้ล้างแล้วการใช้เอนไซม์ไม่คุ้มทุนเพราะมีมูลค่าสูงกว่าด่างมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อ้างอิง

วิวัฒน์ หวังเจริญ, ยีสต์ออโตไลเสท : สารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารจากยีสต์, อาหาร, ปีที่ 23 (เมษายน - มิถุนายน 2536), 83-97.

อรพิน ภูมิภมร ดร.,จุลินทรีย์ในการหมักเบียร์, 2526,25-39

Alexopoulos,C.J. 1962 Introductory Mycology,Toppan Printing Company,Tokyo

Anna Kockova′- Kratochvilova′, Yeast and Yeast -like Organisms, 1990.

Anthony H. Rose, J.S. Harrison, The Yeast, Vol. 1.,1969.

Anthony H.Rose, The Yeast Vol.2, 2nd edition, School of Biological Sciences, University of Bath, Avon, United Kingdom, 1987.

A.S. Rose,Microbial enzymes and bioconversions, 1980

Bishop, L.R., J. Inst. Brew., 73:525,1967.

Cook, A.H. (edit), The Chemistry and Biology of Yeast, 1st. ed., United State of America:Academic, 1958.

Gerald Reed, Ph.D. and Henry J.Peppler, Ph.D., Yeast Technology, 1st. ed. West port, Commecteut, United State of America:The AVI Publish Company, Inc., 1972.

G.G. Stewart and I. Russell, Labett Brewing Co.Ltd, London, Ontario, Canada., Comphehensive Biotechnology Vol.3 The Practice of Biotechnology : current commodity products,335-381

Jos′e Ruiz - Herrera, Fungal cell wall : Structure synthesis and assembly, 1992

J. Raymond Helbert,Beer Prescott & Dunn′s Industrial Microbiology,4 th edition

N.J.W. Kreger - van Rij,The yeasts,1984

Phaff, H.J. miller. M.W., and Mrak, E.M., The Life of Yeast, United State of America:Harvard, 1966.

Verzele, M. and Dekeukeleire, D., Chemistry and Analysis of Hop and Beer Bitter Acid, Netheland:Elsevier, 1991.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้