สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

เบียร์แอลกอฮอล์ต่ำ

นางสาววรรณี พันธุ์ปัญญาเลิศ
นางสาวอภิญญา สุขเลิศ

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต
ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2538

ปว.
ว 271 ป
เลขหมู่ 2538
เลขทะเบียน 25400
วัน, เดือน, ปี 9 ก.ค. 2539

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Low Alcoholic Beer

Miss Wannee Phunpunyalert

Miss Arpinya Sooklert

Special Project Submitted in Partial fufillment

of the Requirement for the Bechelor Degree of Science

Department of Applied Biology

Faculty of Science

King Monkut's Institute of Technology Ladkrabang

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษ เบียร์แอลกอฮอล์ต่ำ

โดย นางสาววรรณี พันธุ์ปัญญาเลิศ

นางสาวยภิญญา สุขเลิศ

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.เรียม เตชะโสภณเมณี

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้นับโครงงานพิเศษฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

(อ.อุ่นเรือน ศิริวานิชกุล) หัวหน้าภาควิชาชีววิทยาประยุกต์

คณะกรรมการโครงงานพิเศษ

(ผศ. มาลินี ตันติยาภรณ์) ประธานกรรมการ

(ผศ.ดร. เรียม เตชะโสภณเมณี) กรรมการ

(รศ. สุขใจ ชูจันทร์) กรรมการ

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษ เบียร์แอลกอฮอล์ต่ำ
โดย นางสาววรรณี พันธุ์ปัญญาเลิศ รหัส 35504337
นางสาวอภิญญา สุขเลิศ รหัส 35504352
ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์
อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.เรียม เตชะโสภณมณี
ปีการศึกษา 2538

บทคัดย่อ

การทดลองนี้เป็นการผลิตเบียร์แอลกอฮอล์ต่ำ โดยเลือกใช้วัสดุต่าง ๆ ที่คาดว่ามีความเป็นไปได้ในการผลิต ซึ่งได้แก่ กากข้าวมอลต์ที่ผ่านการใช้แล้วแบบเปียก, กากข้าวมอลต์ที่ผ่านการใช้แล้วแบบแห้ง และน้ำตาลดิบ โดยใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นในการหมัก เป็น 5, 10, 13.4, 15 และ 20 บริกซ์ นำมาผ่านกรรมวิธีต่าง ๆ ที่คล้ายกับการผลิตเบียร์ในอุตสาหกรรม โดยเชื้อ ***Saccharomyces carlsbergensis*** เติมเชื้อเริ่มต้น 10% พบว่าน้ำตาลดิบเป็นวัตถุดิบเริ่มต้นที่เหมาะสมที่สุดในการทดลองนี้ ส่วนกากข้าวมอลต์ที่ผ่านการแบบเปียกและแบบแห้งจะให้กลิ่นหญ้าแห้งซึ่งเป็นกลิ่นที่ไม่ต้องการ ทำการทดลองเพื่อหาความเข้มข้นเริ่มต้นที่เหมาะสมในการผลิตต่อไป โดยมีการเปลี่ยนแปลงค่าความเข้มข้นเริ่มต้นของน้ำตาลดิบเป็น 3, 5, 7, 9, 11, 13.4 บริกซ์ โดยความเข้มข้นที่ 7 บริกซ์ เป็นความเข้มข้นเริ่มต้นที่เหมาะสมที่สุดในการทดลองนี้ เพราะให้เปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ต่ำมีกลิ่นคล้ายเบียร์และมีรสชาดใกล้เคียงกับเบียร์ปกติมากที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title	Low Alcoholic Beer
Name	Miss Wannee Phunpunyalert
	Miss Arpinya Sooklert
Special Project Advisor	Mrs. Rium Taechasoponmanee
Department	Applied Biology
Academic Year	2538

Abstract

Different raw material such as dried spent malt, wet spent malt and raw cane sugar were selected and used as carbon sources in study of low alcoholic beer fermentation by varying concentration at 5, 10, 13.4, 15 and 20 brix. It was shown that the raw cane sugar at 7 brix with 10% ***Saccharomyces carlsbergensis*** inoculation was a suitable procedure to produce 0.2% alcoholic beer.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษนี้ได้จัดทำขึ้นตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.เรียม เตชะโสภณมณี ผู้ซึ่งให้ความช่วยเหลือในทุก ๆ ด้าน ตลอดจนให้คำแนะนำนานาประการ รวมทั้งกำลังใจซึ่งส่งผลให้โครงงานพิเศษนี้ดำเนินไปได้ด้วยดี ขอขอบพระคุณ คุณสุธีร์ ปรางค์ทอง ที่ให้ความสะดวกในเรื่องของวัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง ขอขอบพระคุณ คุณออมศรี ชลายน และพี่ ๆ ห้องปฏิบัติการของบริษัท บุญรอดบริวเวอรี่ จำกัด ที่ให้ความกรุณาในด้านอุปกรณ์เพื่อการวิเคราะห์ค่าต่าง ๆ ในเบียร์ด้วยเครื่อง Beer Detector ขอขอบพระคุณคณาจารย์ทุก ๆ ท่าน เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ เจ้าหน้าที่ธุรการภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ และเพื่อน ๆ พี่ ๆ น้อง ๆ ที่ให้ความช่วยเหลือในด้านต่าง ๆ

วรรณี&อภิญญา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
-บทคัดย่อปัญหาพิเศษภาษาไทย	ก
-บทคัดย่อปัญหาพิเศษภาษาอังกฤษ	ข
-กิตติกรรมประกาศ	ค
-สารบัญรูป	ง
-สารบัญตาราง	จ
-บทที่ 1. บทนำ	1
-บทที่ 2. บทตรวจเอกสาร	3
-อาหารหมักประเภทเครื่องดื่มแอลกอฮอล์	3
-ประวัติเบียร์	4
-วัตถุดิบที่ใช้	4
-กรรมวิธีการผลิต	6
-ชนิดของเบียร์	11
-ชนิดของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมักเบียร์	13
-ยีสต์	16
-หลักเกณฑ์ที่ใช้ในการจัดจำพวกยีสต์ในระดับจีนัสและสปีชีส์	18
-สัณฐานวิทยาของเซลยีสต์	19
-การสืบพันธุ์	21
-สรีรวิทยาของยีสต์	22
-กระบวนการหมักของยีสต์	23
-ผลพลอยได้จากการหมัก	25
-การเจริญเติบโตของยีสต์ที่ใช้ในการผลิตเบียร์	26
-องค์ประกอบของเบียร์	27
-การเกิดกลิ่น-รสของเบียร์	28
-การใช้น้ำตาลในเวิร์ทโดยยีสต์	33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

-เมตาโบลิซึ่มของยีสต์ 46
-บทที่ 3. อุปกรณ์ สารเคมี และวิธีการทดลอง 49
-วัสดุอุปกรณ์ 49
-สารเคมี 50
-วิธีทำการทดลอง 51
-บทที่ 4. ผลการทดลอง 68
ตอนที่ 1 การหมักเบียร์ปกติ 68
ตอนที่ 2 การหาวัตถุดิบที่เหมาะสมในการผลิต 70
Low Alcoholic Beer
ตอนที่ 3 การหาความเข้มข้นเริ่มต้นที่เหมาะสมในการผลิต 72
Low Alcoholic Beer
-บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง 86
-ภาคผนวก 87
-เอกสารอ้างอิง 88

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
รูปที่ 1	กรรมวิธีในการหมักเบียร์	9
รูปที่ 2	การผลิตเบียร์	10
	(ก) แบบใช้มอลต์	
	(ข) แบบใช้เอนไซม์	
รูปที่ 3	ถังหมักแบบเปิด ใช้ในการหมัก ale ตามกรรมวิธีแบบดั้งเดิม	11
รูปที่ 4	ถังหมักแบบปิด ใช้ในการหมัก ale และ lager	11
รูปที่ 5	ถังหมักแบบใหม่ ทรงกระบอกกึ่งกรวย	12
รูปที่ 6	ส่วนประกอบต่าง ๆ ของเซลยีสต์	19
รูปที่ 7	การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของ ***Saccharomyces cerevisiae***	22
รูปที่ 8	การสังเคราะห์ valine และการเกิด diacetyl	30
รูปที่ 9	ปฏิกริยาโฟโตเคมีคัลของ isohumulone และการรีดิวซ์โดย borohydride	32
รูปที่ 10	การใช้น้ำตาลกลูโคสโดยเซลล์ของยีสต์	33
รูปที่ 11	แนวทางการเปลี่ยนคาร์โบไฮเดรตในการผลิตเบียร์	38
รูปที่ 12	Hexose Monophosphate Shunt	39
รูปที่ 13	Tricarboxylic acid และ Glyoxylate	41
รูปที่ 14	Catabolism ของกรดอะมิโนที่เกี่ยวข้องกับ Carbohydrate Metabolism	42
รูปที่ 15	วัตถุดิบต่าง ๆ ที่ใช้ในการผลิตเบียร์แอลกอฮอล์ต่ำ	57
รูปที่ 16	ส่วนผสมทั้งหมดที่ใช้ในการผลิตเบียร์แอลกอฮอล์ต่ำ	57
รูปที่ 17	ตัวอย่างฮอปชนิดอัดเม็ด	58
รูปที่ 18	การบดข้าวมอลต์	58
รูปที่ 19	การทำ Mashing	59
รูปที่ 20	การกรองแยกกากข้าวมอลต์ที่ผ่านการใช้แล้ว	59
รูปที่ 21	การเติมฮอปขณะต้มเวิร์ท	60
รูปที่ 22	การกรองแยกตะกอนที่เกิดขึ้นภายหลังการต้มเวิร์ท	60
รูปที่ 23	การเตรียมเชื้อเริ่มต้น	61
รูปที่ 24	การหาค่า OD ของสารละลายเชื้อเริ่มต้นที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร	61
รูปที่ 25	ขณะทำการหมักที่ 12 องศาเซลเซียส	62

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ **หน้า**

รูปที่ 26 การกรองไล่ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ก่อนนำตัวอย่างเข้าเครื่อง Beer Detector 62
รูปที่ 27 กลีเซอกัว (สารลดความขุ่นในเบียร์) 63
รูปที่ 28 ตัวอย่างที่ผ่านการกรองเอาก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ออกแล้ว 63
รูปที่ 29 เครื่อง Beer Detector 64
รูปที่ 30 เครื่อง Beer Detector ส่วนหล่อเย็นตัวอย่างให้มีอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส 64
รูปที่ 31 เครื่อง Beer Detector ส่วนใส่ตัวอย่าง 65
รูปที่ 32 เครื่อง Beer Detector ส่วนตรวจสอบ 65
รูปที่ 33 เครื่อง Beer Detector ส่วน output 66
รูปที่ 34 การทดสอบทาง Organoleptic 66
รูปที่ 35 ตัวอย่างเบียร์แอลกอฮอล์ต่ำ 67

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

-ตารางที่ 1 ชนิดของเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ที่ใช้ยีสต์ในการผลิตระดับอุตสาหกรรม 3
-ตารางที่ 2 แสดงการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์โดยใช้เชื้อยีสต์และแลคติกแอซิดแบคทีเรีย 15
-ตารางที่ 3 Defined Medium for studying yeast Growth and Nutration 27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

เนื่องจากปัจจุบันนี้อุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่มต่าง ๆ ได้มีการขยายตัวออกสู่ตลาดมากขึ้น จึงทำให้เกิดการแข่งขันกันอย่างมากในแต่ละโรงงานผลิต โดยที่แต่ละโรงงานจะมีการใช้เทคโนโลยีใหม่ ๆ ในการผลิต เพื่อให้ได้ผลผลิตที่มีคุณภาพดี และมีปริมาณมาก ในระยะเวลาอันรวดเร็ว นอกจากนี้ สิ่งสำคัญที่ผู้ประกอบการโรงงานอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่มคำนึงถึงก็คือ การคิดค้นและพัฒนาผลิตภัณฑ์ใหม่ ๆ ออกมาเพื่อตอบสนองความต้องการในหมู่ผู้บริโภค ซึ่งผลิตภัณฑ์ดังกล่าวจำต้องมีคุณสมบัติเป็นที่พึงพอใจของผู้บริโภคส่วนใหญ่

สำหรับอุตสาหกรรมประเภทเครื่องดื่มแอลกอฮอล์นั้น เช่น เบียร์ ไวน์ ฯลฯ กำลังเป็นที่นิยมอย่างมากในหมู่ผู้บริโภคในปัจจุบัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในหมู่วัยรุ่น เพื่อตอบสนองความต้องการดังกล่าว จึงได้มีการคิดค้นและพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ให้มีความหลากหลายมากขึ้น เช่น การผลิตเบียร์แอลกอฮอล์ต่ำ โดยใช้กรรมวิธีต่าง ๆ เช่น การสกัดแอลกอฮอล์ออกจากเบียร์ที่ได้จากการหมักปกติ การหมักโดยการเติมแร่ธาตุบางชนิดลงไปในระหว่างการหมัก หรือการหมักโดยการเปลี่ยนแปลงสภาวะที่ใช้ในการหมัก ฯลฯ

สำหรับในโครงงานพิเศษนี้ เป็นการทดลองผลิตเบียร์แอลกอฮอล์ต่ำโดยการคัดเลือกวัตถุดิบที่เหมาะสมในการหมัก ซึ่งวัตถุดิบที่สนใจนำมาทดลองเป็นวัตถุดิบที่หาง่ายและราคาถูก เพื่อจะได้มีต้นทุนการผลิตที่ต่ำลง นั่นคือ กากข้าวมอลต์ที่ผ่านการใช้แล้วแบบเปียก, กากข้าวมอลต์ที่ผ่านการใช้แล้วแบบแห้ง และน้ำตาลดิบ

นอกจากนี้ ยังได้มีการศึกษาต่อถึงปริมาณความเข้มข้นเริ่มต้นของวัตถุดิบที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอน และสภาวะที่เหมาะสมในการหมัก อันจะทำให้ได้เบียร์แอลกอฮอล์ต่ำที่มีรสชาติ กลิ่น ใกล้เคียงกับเบียร์ปกติมากที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

1. เพื่อศึกษาหาชนิดของวัตถุดิบที่เหมาะสมในการหมักเบียร์แอลกอฮอล์ต่ำ
2. เพื่อศึกษาหาความเข้มข้นเริ่มต้นของวัตถุดิบที่เหมาะสมในการหมักเบียร์แอลกอฮอล์ต่ำ
3. เพื่อศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเบียร์แอลกอฮอล์ต่ำ
4. เพื่อศึกษากรรมวิธีการผลิตเบียร์แอลกอฮอล์ต่ำให้มีกลิ่นรสใกล้เคียงกับเบียร์ปกติ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถหาชนิดของวัตถุดิบที่เหมาะสมในการหมักเบียร์แอลกอฮอล์ต่ำ
2. สามารถหาความเข้มข้นเริ่มต้นของวัตถุดิบที่เหมาะสมในการหมักเบียร์แอลกอฮอล์ต่ำ
3. สามารถหาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเบียร์แอลกอฮอล์ต่ำ
4. สามารถผลิตเบียร์แอลกอฮอล์ต่ำที่มีกลิ่นรสใกล้เคียงกับเบียร์ปกติได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

บทตรวจเอกสาร

อาหารหมักประเภทเครื่องดื่มแอลกอฮอล์

อาหารหมักประเภทเครื่องดื่มแอลกอฮอล์แบ่งออกเป็น 2 ประเภทใหญ่ ๆ คือ ประเภทไม่กลั่น (nondistillates) ซึ่งได้แก่เครื่องดื่มจำพวกมอลต์ที่เป็นเบียร์ (beer) เอล (ale) หรือไวน์ (wine) และประเภทกลั่น (distillate) ซึ่งได้แก่บรั่นดี (brandy) รัม (rum) วิสกี้ (whisky) และนิวทรัลสปิริต (nutral spirit) ดังแสดงในตาราง 1 ซึ่งจะกล่าวโดยละเอียดถึงชนิดที่สำคัญต่อไป โดยเฉพาะเบียร์และไวน์ที่มีการผลิตในระดับอุตสาหกรรมในประเทศไทย

ตาราง 1 ชนิดของเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ที่ใช้ยีสต์ในการผลิตระดับอุตสาหกรรม

ประเภทของแอลกอฮอล์	คุณสมบัติ
เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ชนิดไม่กลั่น	
1. เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ทำจากมอลต์	ผลิตจากเมล็ดข้าวมอลต์
เบียร์	ปกติมี 4-5% แอลกอฮอล์
เอล	ปกติมี 5-6% แอลกอฮอล์
2. ไวน์	ผลิตจากน้ำผลไม้ปกติมี11-16% แอลกอฮอล์
ไวน์องุ่น	ผลิตจากน้ำองุ่น
ไวน์จากผลไม้อื่น	ผลิตจากน้ำผลไม้อื่น เช่น แอปเปิ้ล พีช พลัม แอปริคอท ฯลฯ
เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ชนิดกลั่น	
1. บรั่นดี	ผลิตจากผลไม้หรือน้ำผลไม้
2. รัม	ผลิตจากกากน้ำตาล
3. วิสกี้	ผลิตจากเมล็ดของข้าวโพดผสมข้าวสาลี
4. นิวทรัลสปิริต	ผลิตจากวัตถุดิบต่าง ๆ ชนิด
จิน	เติมกลิ่นรสของน้ำมันจูนิเพอร์
วอดก้า	ไม่เติมกลิ่นรส มักผลิตจากแป้งมันฝรั่ง

ที่มา ดัดแปลงจาก Baffaloe และ ferguson (1981)

เอกสารนี้เป็นกลางเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.ประวัติของเบียร์

ตามความหมายดั้งเดิมนั้นเบียร์หมายถึงเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ที่ ได้จากการกระบวนการหมักของข้าวมอลต์ น้ำฮอป (hop) และ ยีสต์ แต่ในปัจจุบันนี้มีเพียงประเทศเยอรมันประเทศเดียวเท่านั้นที่มีการผลิตเบียร์ตามความหมายนี้ แต่ประเทศอื่นๆจะมีการใช้ธัญพืชอื่นๆผสมกับข้าวมอลต์ในการผลิตเบียร์ ธัญพืชที่ใช้ได้แก่ ข้าวโพด ข้าว และข้าวสาลี เพื่อเป็นการลดต้นทุนการผลิตเนื่องจากข้าวมอลต์มีราคาสูง (Reed and Nagodawithana , 1991) ซึ่งในกระบวนการผลิตเบียร์นั้นยีสต์จะมีบทบาทสำคัญมากที่สุด โดยนอกจากจะเป็นตัวการในการเปลี่ยนน้ำตาลในวอร์ต(wort) ให้เป็นเอทานอลและคาร์บอนไดออกไซด์แล้วยังผลิตสารอื่นๆ ที่ระเหยได้และระเหยไม่ได้หลายชนิดในปริมาณเล็กน้อย และสารเหล่านี้เป็นตัวให้กลิ่นรสแก่เบียร์ เบียร์ที่ผลิตได้หลายชนิดด้วยกันขึ้นอยู่กับสีและรสชาติ (Stewart,1987) ได้แก่

lager beer เป็นเบียร์ที่มีปริมาณแอลกอฮอล์สูงและฮอปน้อย

bock beer เป็นเบียร์ที่มีสีเข้มและปริมาณแอลกอฮอล์สูง

weiss beer ทำจากข้าวสาลีเป็นส่วนใหญ่ มีรสฝาด มีกลิ่นมอลต์และฮอป ขุ่นและมีแก๊ส

ale เป็นเบียร์ที่มีสีอ่อน มีปริมาณแอลกอฮอล์สูง และมีฮอปมากกว่า lager beer

porter เป็น ale สีเข้ม ทำจากข้าวมอลต์อบ

stout เป็น porter ที่แรง มีกลิ่นของมอลต์และรสหวาน

กรรมวิธีการผลิต

การที่จะผลิตให้ได้เบียร์ที่มีกลิ่นรสและคุณสมบัติอื่นตามต้องการนั้น จำเป็นต้องเลือกใช้วัตถุดิบและการควบคุมตลอด กระบวนการผลิตที่ดี เป็นดังนี้

1. วัตถุดิบ วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตเบียร์ได้แก่ มอลต์ (malt) แอ็ดจั๊งต์ (adjuncts) ดอกฮอป (hops) ยีสต์ (yeast) น้ำและสารเสริม
   1.1 มอลต์ เตรียมจากเมล็ดข้าบาร์เลย์ที่แตกหน่อแล้วทำให้แห้ง ให้กลิ่นรสและสีแก่แมช(mash) เป็นแหล่งของสารอาหารพวกน้ำตาลและกรดอะมิโน สำหรับการเจริญเติบโตและเมแทบอลิซึมของจุลินทรีย์
   1.2 แอดจั๊งต์ ทำจากข้าวโพดหรือข้าวเจ้า เป็นแหล่งของคาร์โบไฮเดรต ช่วยทำให้เบียร์มีสีอ่อน เบา น่าดื่ม ซึ่งแอดจั๊งต์อาจเป็นเม็ดหรือเกล็ดของข้าวโพดหรือข้าวเจ้า หรืออาจเป็นน้ำเชื่อมที่ทำจากแป้งข้าวโพดก็ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 ดอกฮอป ได้จากต้นฮอปที่ทำให้แห้ง ซึ่งประกอบด้วยน้ำมันจำเป็น (essential oil) 1 % และเรซิน (resins) 15% ที่มีความสำคัญต่อกลิ่นและความขมที่ต้องการของเบียร์ตามลำดับ โดยแอลฟา-เรซิน (α-resins) ประกอบด้วยแอลฟา-แอซิด (α-acids) 3 ชนิดของฮิวมิวโลน (humulone) โคอิวมิวโลน (cohumulone) และแอดฮิวมิวโลน (adhumulone) นั้นเป็นส่วนสำคัญของฮอปที่ให้กลิ่นแก่เบียร์ ซึ่งอาจใช้ฮอปในรูปผง เม็ด หรือสารสกัด (extracts)

1.4 ยีสต์ อาจใช้หัวเชื้อบริสุทธิ์ของ *Saccharomyces uravum (S. carlsbergensis)* หรืออาจใช้ brewer's yeast ที่ได้จากการหมักเบียร์ครั้งก่อน ๆ เซลล์ของยีสต์เป็นส่วนประกอบที่สำคัญในการผลิตเบียร์ดังจะกล่าวโดยละเอียดต่อไป

1.5 น้ำ น้ำที่ใช้ในการหมักเบียร์ต้องมีคุณภาพดี ไม่มีสี กลิ่น รส และปราศจากสารอินทรีย์ เหล็ก โลหะหนัก ซัลไฟด์ ไนไตรต์ ฯลฯ ชนิดและจำนวนของเกลือที่ละลายได้ในน้ำจะมีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ ในระหว่างการเตรียมแมช การแยกสกัดฮอป การตกตะกอนของโปรตีนและแทนนิน ตลอดจนการเจริญและเมแทบอลิซึมของยีสต์ซึ่งมีผลต่อชนิด และคุณภาพของเบียร์ นอกจากนี้น้ำที่ใช้ควรจะสามารถดัดแปลงให้มีคุณสมบัติเหมาะสมกับการผลิตเบียร์ต่าง ๆ ได้

1.6 สารเสริม มักเติมในระหว่างบ่มหรืออัดแก๊ส มีบ้างที่เติมในระหว่างการผลิต สารเสริมต่าง ๆ ได้แก่ อาหารยีสต์ สารดงความเย็น (chillproofing agent) สารทำให้ใส (clarifying agent) ตัวรีดิวซ์ (reducing agent) แอลจิเนต (alginates) ไซรัป ดังจะกล่าวโดยสังเขปต่อไปนี้

1.6.1 อาหารยีสต์ ใส่ในระหว่างการผลิตเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการหมัก เป็นแหล่งของโลหะต่าง ๆ ที่มีอยู่ในระดับต่ำในเวิรต์

1.6.2 สารดงความเย็น เช่น เอนไซม์โปรติเอส กรดแทนนิก นิยมใช้ทั่วไปในโรงงานผลิตเบียร์ในประเทศสหรัฐอเมริกาที่นิยมดื่มเบียร์เย็นจัด เอนไซม์โปรติเอสที่ใช้ได้แก่ พาเพน (papain), โบรมิเลน(bromelain), และไฟซิน(ficin) ซึ่งจะเติมก่อนบ่ม

1.6.3 สารทำให้ใส เช่น อิสซิงกลาส (isinglas), ไนลอน-66 (Nylon-66), พอลิไวนิลไพโรลิโดน (polyvinylpyrolidone) ช่วยในการแยกเอาสารแขวนลอยต่าง ๆ ออก

1.6.4 ตัวรีดิวซ์ เช่น โปแตสเซียมเมตาไบซัลไฟด์(potassium metabisulfite) ใช้ในความเข้มข้นที่ต่ำกว่า 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำหน้าที่เป็น ออกซิเจนสแกเวนเจอร์ (oxygenscavenger)

1.6.5 แอลจิเนต ใช้ในบางครั้งเพื่อเป็นสารคงสภาพของฟอง (foam stabilizer) หรือสารช่วยให้เกิดฟอง (foam enhancer)

1.6.6 ไซรัป มักเติมระหว่างการบ่มหรืออัดแก๊ส เช่นเติมเข้าไปในเอลบางชนิด เพื่อช่วยให้เกิดสมดุลระหว่างความหวานและความขมให้มีรสชาดกลมกล่อม หรือใช้ในความเข้มข้นต่ำเพื่อช่วยทำให้เบียร์มีความหนืด คงรูปทรงและมีรสชาดที่ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.กรรมวิธีการผลิต การผลิตเบียร์มีขั้นตอนการผลิตต่าง ๆ ตามลำดับดังนี้

2.1 การเตรียมมอลต์

แล้วนำมาแช่ในน้ำนานประมาณ 2-3 วัน ที่อุณหภูมิ 12-15 องศาเซลเซียล โดยเปลี่ยนน้ำ 3-6 ครั้ง เพื่อเอาจุลินทรีย์ที่ปนมาออกไปจะได้ไม่แย่งเอาออกซิเจนจากเมล็ดข้าวบาร์เล่ย์ วิธีนี้จะได้มอลต์ที่มีคุณสมบัติดี จากนั้นปล่อยให้งอกที่อุณหภูมิ 15.6-21 องศาเซลเซียล นาน 5-7 วัน หน่อของข้าวบาร์เล่ย์ก็จะหลุดออกเหลือเป็นมอลต์ ซึ่งเป็นแหล่งอาหารของเอนไซม์แอมิเลสและโปรติเอส จากนั้นทำให้แห้งให้เหลือความชื้น 5% หรือต่ำกว่า นำไปผ่านความร้อนอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียล หรือสูงกว่าหากจะเตรียมเป็นมอลต์สีเข้ม ขั้นตอนนี้สำคัญมากต่อสีและกลิ่นของมอลต์ จากนั้นนำไปบดโดยใช้วิธีการบดแห้งหรือบดเปียกก็ได้

2.2 การคลุกเคล้าแมช

เป็นการคลุกเคล้ามอลต์กับน้ำและแอดจั๊งต์ เพื่อทำให้แป้งและพอลิแซคคาไรด์อื่น ๆ ตลอดจนโปรตีนถูกย่อยมากที่สุดจนได้เป็นเวิร์ต (wort)

การเตรียมเวิร์ตทำโดยผสมมอลต์ที่บดแล้วกับน้ำได้เป็นแมช (mash) ทำให้ร้อนที่อุณหภูมิ 40-60 องศาเซลเซียลเพื่อให้เหมาะแก่กิจกรรมของโปรติเอส แล้วเติมแอดจั๊งต์ของข้าวโพดหรือข้าวเจ้าที่ต้มแล้วที่ 100 องศาเซลเซียล ซึ่งแป้ง (strach) จะถูกเจลาติไนส์ (gelatinized) จากนี้ทำให้ซีเรียล - มอลต์แมช (cereal-malt mash) มีอุณหภูมิ 60-65 องศาเซลเซียล ซึ่งเหมาะแก่การทำงานของแอมิเลสของมอลต์ โดยแป้งจะถูกลิเดอไฟด์ (liquefied) ด้วยแอลฟ่าแอมิเลส (α - amylases) และถูกแซคคาริไฟด์ (saccharified) ต่อด้วยแอลฟา - บิต้า - แอมิเลส (α -and β amylases) จากนั้นนำไปผ่านความร้อนอุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียล กรองสารที่ไม่ละลายน้ำที่นอนก้นอยู่ออก ก็จะได้ของเหลวสีเหลืองใสอยู่ข้างบนที่เรียกว่า **เวิร์ต**

2.3 การต้มเวิร์ตกับฮอป

เติมดอกฮอปลงไปในเวิร์ตแล้วต้มเวิร์ตนานประมาณ 1-2.5 ชั่วโมง เพื่อทำลายจุลินทรีย์และเอนไซม์ต่าง ๆ ที่มีอยู่ในเวิร์ต เวิร์ตที่ต้มแล้วจะถูกปั๊มผ่านเครื่องกรองเพื่อกรองเอากากฮอปและของแข็งที่ปนมากับฮอปตลอดจนตะกอนโปรตีนและอื่น ๆ ที่ปนอยู่ออก แต่ถ้าใช้สารสกัดจากฮอปหรือผงหรือก้อนฮอปจะสามารถปั๊มเวิร์ตที่ต้มแล้วเข้าสู่ถังหมักได้เลย จากนั้นปล่อยให้เวิร์ตเย็นลง ซึ่งพบว่าเมื่ออุณหภูมิลดลงถึง 60-70 องศาเซลเซียล หรือต่ำกว่าจะมีตะกอนตกนอนก้นซึ่งจะยึดเอาเหล็ก ทองแดง สังกะสี หรือโลหะหนักไว้จึงต้องกรองหรือปั่นเพื่อแยกเอาตะกอนออกจนได้เวิร์ตที่ใส จากนั้นทำให้เวิร์ตที่ใสเย็นลงอย่างรวดเร็วถึง 10-15 องศาเซลเซียล เพื่อป้องกันการเจริญเติบโตของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นทรีย์ที่อาจปนเปื้อนมา จากนี้เติมอากาศที่กรองให้ปลอดเชื้อแล้วเข้าไปในเวิร์ตก่อนการใส่ยีสต์เพื่อเริ่มการหมัก

2.4 การหมัก

เป็นการหมักเวิร์ตด้วยบัตตอมยีสต์หรือที่เรียกว่า ฟิตชิงยีสต์ (pitching yeast) ซึ่งได้แก่ *S. carisbergensis (S. uvarum)* ซึ่งอาจใช้เป็นหัวเชื้อบริสุทธิ์ที่จำหน่ายหรือเป็นยีสต์ที่ได้จากการหมักครั้งก่อน ๆ การหมักอาจเป็นการหมักที่เกิดครั้งเดียวหรือเกิด 2 ครั้ง เป็น การหมักปฐมภูมิ (primary fermentation) และการหมักทุติยภูมิ (secondary fermentation) ที่ต่อเนื่องในระหว่างการบ่ม การหมักเริ่มจากการใส่ *S. carisbergensis* ลงในเวิร์ตที่เย็น ความเข้มข้นสูงประมาณ 10 $x10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร หรือ 1 ปอนด์ต่อบาร์เรลของเบียร์ โดยหมักที่อุณหภูมิต่ำระหว่าง 3.3-14 องศาเซลเซียล นาน 8-10 ชั่วโมง แล้วแต่บริษัทผู้ผลิต

ในระหว่างการหมักปฐมภูมิ ประมาณ 24-48 ชั่วโมงภายหลังการใส่ยีสต์จะเกิดความร้อนขึ้นถังหมักจึงจำเป็นต้องมีระบบทำเย็นเพื่อควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ เมื่อการหมักปฐมภูมิสิ้นสุดลงก็จะปรับถังหมักให้มีอุณหภูมิประมาณ 0 องศาเซลเซียล ซึ่งจะทำให้ยีสต์ที่อยู่ในสารแขวนลอยเกิดการตกตะกอนเบียร์ที่ได้เรียกว่า เบียร์ดิบ (green/young beer) หรือเบียร์สด ซึ่งจะปั๊มไปยังถังเก็บที่มีอุณหภูมิ 0-2 องศาเซลเซียล การหมักเบียร์ในปัจจุบันนิยมหมักในถังหมักเหล็กกล้า แทนถังไม้หรือคอนกรีต และโดยทั่วไปการหมักเบียร์นิยมใช้ระบบการหมักแบบแบตช์ หรือ เฟดแบตช์ (fed-bacth)

2.5 การบ่ม

การบ่มช่วยทำให้เบียร์ที่ได้ใสและมีกลิ่นรสดี บางครั้งการบ่มก็เป็นการหมักทุติยภูมิ แต่บางครั้งก็ไม่มีการหมักเกิดขึ้นในระหว่างการบ่มเลย เบียร์ดิบที่ได้จากการหมักจะถูกนำมาบ่มไว้ในถังที่อุณหภูมิใกล้ 0 องศาเซลเซียล นานหลายสัปดาห์ถึงหลายเดือน ในระหว่างการบ่มที่มีการหมักเกิดขึ้นด้วย การหมักแบบทุติยภูมินี้เป็นการหมักต่อเนื่องมาจากการหมักปฐมภูมิในช่วงแรก เพียงแต่เกิดอย่างช้า ๆ เนื่องจากอุณหภูมิของการหมักต่ำและความเข้มข้นของยีสต์กับน้ำตาลที่ต่ำ ซึ่งอาจกระตุ้นการหมักได้โดยการเติมไซรัป ในระหว่างการบ่มจะมีการตกตะกอนของโปรตีน ยีสต์ เรซิน และสารอื่น ๆ ที่ไม่ต้องการทำให้ได้เบียร์ที่ใสที่เรียกว่า เคกเบียร์ (keg beer) หรือ เลเกอร์เบียร์ (lager) ที่มีกลิ่นรสละมุนละม่อม นอกจากนี้ระหว่างบ่มยังมีเอสเทอร์และสารประกอบอื่น ๆ ที่ช่วยเสริมให้เบียร์ที่ผ่านการบ่มแล้วมีกลิ่นรสกลมกล่อมขึ้น

2.6 การอัดแก๊สและบรรจุ

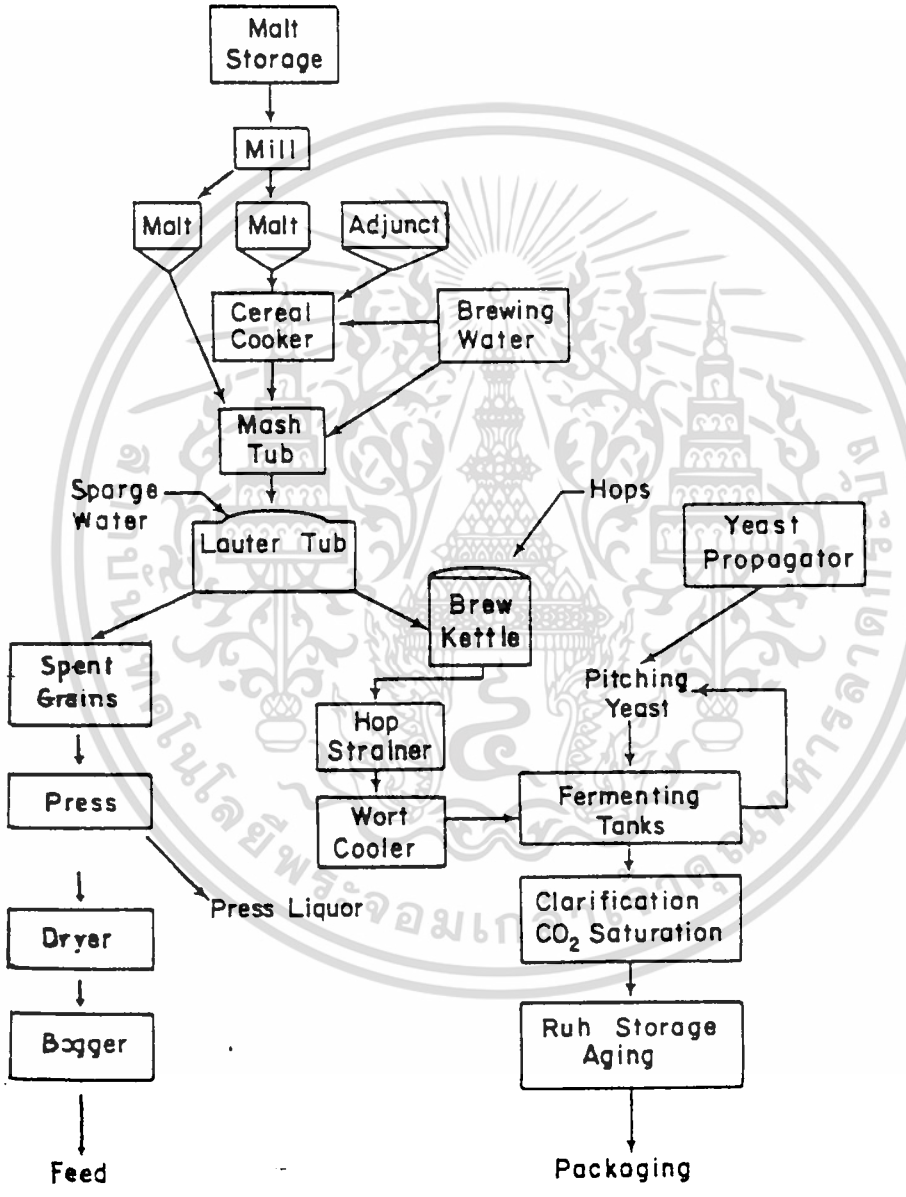
ภายหลังการบ่มจะอัดแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เข้าไปในเลเกอร์เบียร์ จนมีปริมาณแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ 0.45-0.52 % ซึ่งทั่วไปมักใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดในระหว่างการหมัก จากนั้นก็จะทำให้เบียร์เย็น ทำให้ใส แล้วบรรจุขวด กระป๋อง หรือถัง แล้วนำไปฆ่าเชื้อแบบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปาสเตอร์ที่อุณหภูมิ 60-61 องศาเซลเซียล หรือโดยการกรองแบบเม็มเบรนฟิลเทรชั่น (membrane filtration) เพื่อเอายีสต์และวัตถุอื่น ๆ ออก

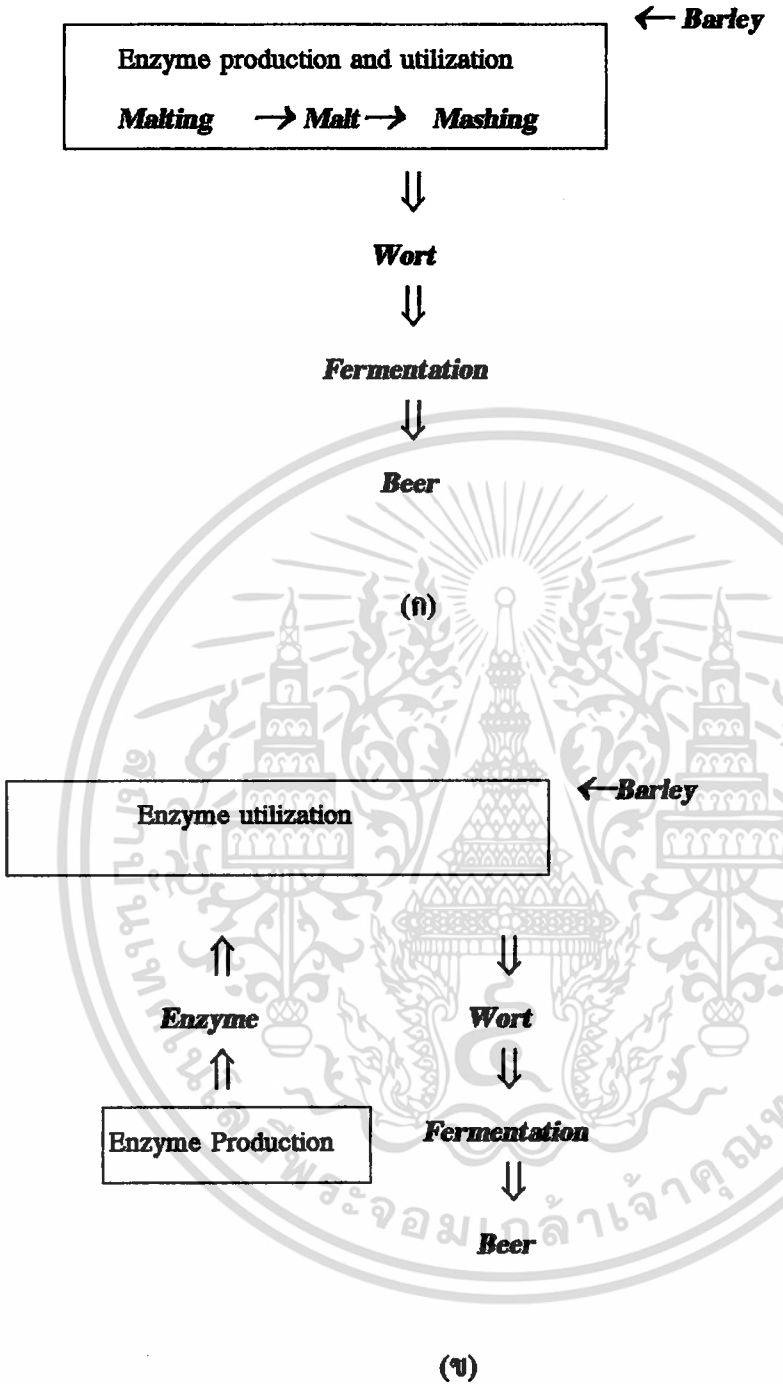
การทำให้เบียร์ใส ทำโดยการกรองเอายีส์ตที่ตกค้างและสารโมเลกุลใหญ่ ตลอดจนก้อนตะกอนขนาดต่าง ๆ ออก หรืออาจใช้วิธีทำให้สารเหล่านี้เกาะอยู่บนอีสซิ่งกลาส หรือใช้วิธีทำให้ละลายโดยเอนไซม์โปรทีเอส หรือใช้การกรอง หรือปั่นให้สารแขวนลอยตกตะกอน ก็จะทำให้ได้เบียร์ที่ใสและมีรสชาดกลมกล่อมขึ้น อย่างไรก็ตามในระหว่างการบ่มอาจมีความขุ่นเกิดขึ้นอันเนื่องมาจากการปนปื้อนของจุลินทรีย์ ซึ่งแก้ไขได้โดยการกรองเอาจุลินทรีย์ออกก่อนการบรรจุ จุลินทรียที่ปนเปื้อนระหว่างบรรจุจะถูกทำลายโดยความร้อนจากการฆ่าเชื้อแบบปาสเตอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 1 กรรมวิธีในการหมักเบียร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2 แสดงการผลิตเบียร์ (ก) แบบใช้มอลต์ (ข) แบบใช้เอมไซม์

(ถ้าไม่แยกออกจะเป็นสาเหตุให้เบียร์ขุ่นได้) และยังทำลายเอมไซม์ ส่วนที่เหลือจาก mashing ทำให้วอร์ทเข้มข้นขึ้นและเป็นการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำวอร์ทด้วย นอกจากนี้ยังเป็นการช่วยสกัดสาร

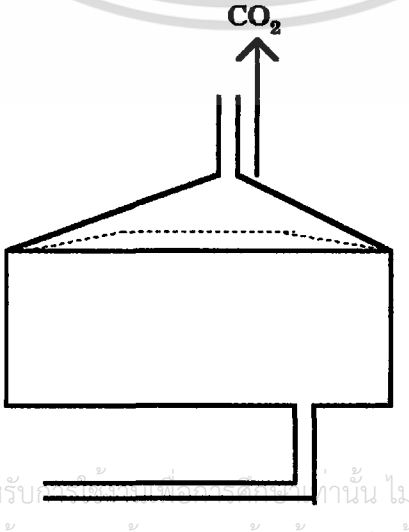
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.ชนิดของเบียร์

สำหรับเบียร์ที่มีการผลิตกันมากทั่วโลกในปัจจุบันที่มีอยู่ 2 ชนิด คือ ale และ lager ซึ่งเบียร์ทั้งสองชนิดนี้แตกต่างกันที่สายเชื้อของยีสต์ที่ใช้ในการหมักและสภาวะที่ใช้ในการหมัก lager beer จะผลิตโดยกระบวนการหมักที่เรียกว่า bottom fermentation ส่วน ale จะผลิตโดยกระบวนการหมักที่เรียกว่า top fermentation

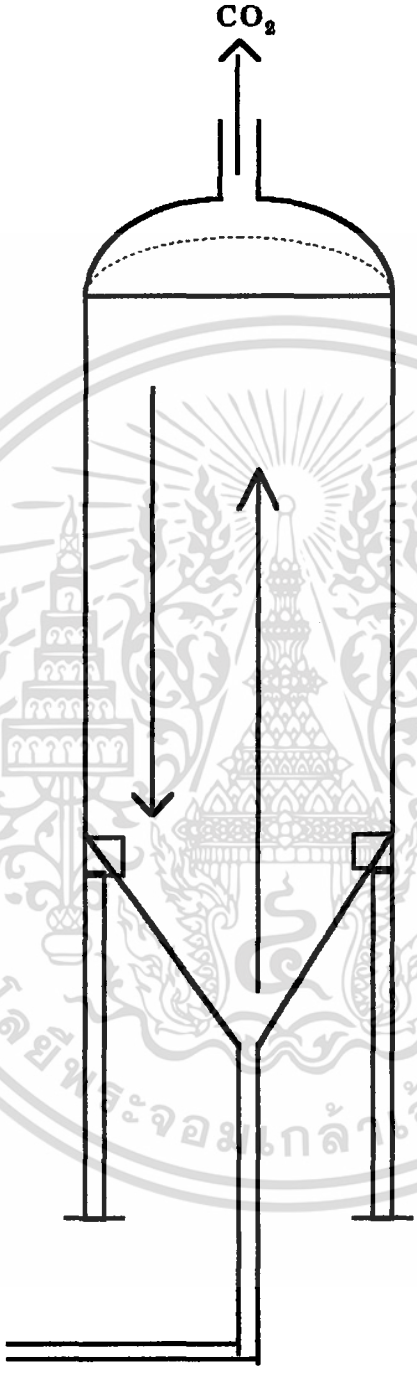
bottom fermentation เป็นการหมัก lager beer โดยใช้ยีสต์สายเชื้อ Saccharomyces uvarum (S. carlsbergensis) เบียร์ชนิดนี้นิยมผลิตในประเทศเยอรมันและในแถบทวีปอเมริกาเหนือ แต่ในปัจจุบันเบียร์ประเภทนี้นิยมบริโภคกันทั่วโลก ในระหว่างการหมักเบียร์ยีสต์จะแขวนลอยอยู่ในถังหมักและใช้น้ำตาลในวอร์ท เมื่อน้ำตาลในวอร์ทลดลงเกือบหมดยีสต์จะเริ่มเกาะกันเป็นกลุ่มและจมลงสู่ก้นถังหมัก การตกตะกอนนี้เรียกว่า flocculation ยีสต์ที่ตกตะกอนนี้ จะถูกแยกออกไปหลังจากกระบวนการหมักสิ้นสุดลงแล้ว สำหรับอุณหภูมิที่ใช้ในการหมัก lager beer คือ 6-15 องศาเซลเซียส และเวลาที่ใช้ในการหมักจะเป็น 7-12 วัน

รูปที่ 3 ถังหมักแบบเปิด ใช้ในการหมัก ale ตามกรรมวิธีแบบดั้งเดิม



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4 ถังหมักแบบปิด ใช้ในการหมัก ale และ lager



รูปที่ 5 ถังหมักแบบใหม่ ทรงกระบอกกึ่งกรวย (cylindroconical fermenter)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ถังหมักแบบรูปที่ 4 และ 5 สามารถเก็บกาซคาร์บอนไดออกไซด์ได้ทางด้านบน และเก็บยีสต์ได้ทางด้านล่าง

———— หมายถึง ระดับของวอร์ท

---------- หมายถึง ฟองที่เกิดขึ้นระหว่างการหมัก

top fermentation เป็นการหมัก ale โดยใช้ยีสต์สายเชื้อ *S. cerevisiae* แต่ในบางครั้งอาจใช้เชื้อ *Brettanomyces sp.* ในการผลิต ale เพื่อการส่งออก เบียร์ชนิดนี้นิยมผลิตกันในประเทศอังกฤษและไอร์แลนด์ ในระหว่างการหมักเชื้อยีสต์จะลอยขึ้นมาอยู่ผิวหน้าของวอร์ท มีลักษณะเป็นชั้นยีสต์ที่หนา อุณหภูมิที่ใช้ในการหมัก คือ 18-22 องศาเซลเซียส เวลาที่ใช้ในการหมัก คือ 5-7 วัน หลังจากกระบวนการหมักสิ้นสุดลงชั้นของยีสต์ที่ผิวหน้าจะถูกแยกออกไป

โรงงานเบียร์บางแห่งในสหรัฐอเมริกาจะผลิตทั้ง lager beer และ ale โดยใช้ยีสต์สายเชื้อ *S. uvarum* เพียงสายเชื้อเดียวเพื่อกำจัดปัญหาการแยกเก็บรักษาเชื้อยีสต์ 2 ชนิด ale ที่ผลิตได้จาก *S. uvarum* จะเรียกว่า bastard ale

เชื้อยีสต์ที่ใช้ในการผลิตเบียร์นั้น จะเก็บรักษาในอาหารเลี้ยงเชื้อ กลีเซอรอล-เซรุ่ม (glycerol-serum medium) บรรจุในขวดแก้วเล็กปิดสนิทและแช่ในไนโตรเจนเหลวที่อุณหภูมิ -196 องศาเซลเซียส การเก็บรักษาเชื้อยีสต์ไม่นิยมใช้วิธี lyphilization (freeze-drying) เนื่องจากเซลล์ยีสต์ที่เก็บรักษาโดยวิธีนี้มีชีวิตอยู่รอดน้อย และเซลล์ส่วนใหญ่มักเกิดการกลายพันธุ์

ยีสต์ที่ใช้ในการหมักจะแตกต่างกับจุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมักอื่นๆ โดยยีสต์ที่ใช้ใส่ในถังหมักสามารถใช้ยีสต์จากถังหมักเก่าได้ไม่จำเป็นต้องเตรียม เซลล์ยีสต์ใหม่ทุกครั้งเหมือนกับการหมักอื่นๆ ในการหมักเบียร์จะเตรียมยีสต์ใหม่ในกรณีที่ยีสต์เก่ามีจุลินทรีย์อื่นปะปนอยู่ หรือ ยีสต์เก่าเริ่มตายลง แต่ก่อนที่จะนำยีสต์เก่ามาใช้หมักต่อจะต้องนำยีสต์มาล้างเพื่อลดการปนเปื้อนของแบคทีเรียและเป็นการกำจัดอนุภาคโปรตีนและเซลล์ยีสต์ที่ตายแล้วออกไป ซึ่งการล้างยีสต์ในขั้นแรกจะนำ slurry ของยีสต์มาปรับพีเอชให้ลดลงเป็น 2.5-3.0 ด้วยกรดฟอสฟอริกหรือกรดซัลฟิวริก และนำมาล้างด้วยน้ำ อาจเติม ammonium persulfate ลงไปด้วยเพื่อฆ่าเชื้อโรคอื่นๆแต่จะไม่ใช้ยาปฏิชีวนะใส่ลงไปเพื่อยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย

4.ชนิดของจุลินทรีย์ที่ใช้หมักเบียร์

จุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมักเบียร์เพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์ คือ ยีสต์ ซึ่งสายพันธุ์ที่ใช้ในการหมักเบียร์มีอยู่ 2 สายพันธุ์ *Saccharomycos carlsbergensis* ซึ่งมักเรียกว่า bottom yeasts ดังแสดงในรูปที่ 4 เนื่องจากยีสต์ชนิดนี้จะจมอยู่ก้นถังหมัก เมื่อกระบวนการหมักเบียร์สิ้นสุดลง ส่วนยีสต์อีกสายพันธุ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คือ *Saccharomycos cerevisiae* หรือที่เรียกว่า top yeast ดังแสดงในรูปที่ 5 เมื่อกระบวนการหมักสิ้นสุดลง ยีสต์สายพันธุ์นี้จะลอยขึ้นสู่ผิวบน

ยีสต์ที่ใช้ในอุตสาหกรรมหมักเบียร์จะแตกต่างจากจุลินทรีย์ที่ใช้ในอุตสาหกรรมหมักอื่นๆ ยีสต์ที่ใส่ลงในถังหมักจะใช้ยีสต์จากถังหมักเก่า โดยไม่จำเป็นจะต้องเตรียมยีสต์ใหม่ๆทุกครั้งเหมือนกับอุตสาหกรรมหมักอย่างอื่น การหมักเบียร์ที่ต้องการเตรียมเซลล์ยีสต์ใหม่ ๆ ก็ต่อเมื่อยีสต์เก่าเหล่านั้นมีจุลินทรีย์อื่นปะปนอยู่ หรือยีสต์เก่าเริ่มตายลง แต่อย่างไรก็ตาม ก่อนที่จะนำเซลล์ยีสต์เก่ามาใส่เพื่อหมักเบียร์ใหม่นั้น จะต้องทำการล้างเซลล์ของยีสต์เหล่านั้นเสียก่อน ซึ่งอาจจะล้างด้วยกรดฟอสฟอริค กรดทาทาริค หรือ แอมโมเนียมซัลเฟท แล้วทำให้ยีสต์จับตัวเป็นก้อน การล้างนี้จะทำให้ pH เปลี่ยนไปอยู่ที่ pH ประมาณ 2.5 และเป็นการแยกแบคทีเรียที่ปะปนมา

ดังได้กล่าวมาแล้วว่า การหมักเบียร์นั้นจะต้องใช้ยีสต์เป็นจุลินทรีย์ที่จะแปรเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ และคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งทั้งสองเป็นส่วนประกอบสำคัญของเบียร์ซึ่งคุณสมบัติของยีสต์เพียงแค่นี้ ไม่ใช่เหตุผลเพียงข้อเดียว ที่จะคัดเลือกยีสต์สายพันธุ์นั้นมาหมักเบียร์ จะเห็นว่าสายพันธุ์ของยีสต์ที่ใช้ในการหมักเบียร์นั้น คือ *Saccharomycos carlsbergesis* และ *S. cerevisiae* แต่ก็ไม่ใช่ยีสต์ทุกชนิดในสองสายพันธุ์ที่จะนำมาหมักเบียร์ เหตุผลอื่นๆ ที่จะต้องพิจารณาในการคัดเลือกพันธุ์ยีสต์ คือ ความสามารถของยีสต์จะที่ทำให้เกิดฟอง สัดส่วนอย่างสมดุลย์ของ minor metabolic products เช่น acid, ester, higher alcohol และ ketones สารประกอบต่างๆเหล่านี้เกิดจากคาร์โบไฮเดรตและไนโตรเจนเมตาบอลิซึม โดยยีสต์ ฉะนั้นยีสต์ชนิดต่างๆจะผลิตสารประกอบเหล่านี้ในปริมาณที่แตกต่างกันออกไป บางชนิดอาจจะผลิตสารประกอบจำพวก mercaptans ซึ่งเป็นสารที่ไม่ต้องการสำหรับการหมักเบียร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 แสดงการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์โดยใช้เชื้อยีสต์ และ lactic acid bacteria

ชนิดของเครื่องดื่มแอลกอฮอล์	วัตถุดิบที่ใช้ผลิต	ประเทศผู้ผลิต
บูรูกูตู(burukutu)	ข้าวฟ่างและมันสำปะหลัง	ไนจีเรีย
บูสา(busa)	ข้าว ข้าวฟ่างและน้ำตาล	Turkestan แห่ง Krum
บูสา(bussa)	ข้าวโพด	เคนยา
gueuze beer	ข้าวบาร์เลย์	เบลเยี่ยม
gueuze 'beer'	รากขิงและน้ำตาล	ประเทศต่างๆ
เบียร์แคฟเฟอร์(kaffir beer)	เมล็ดพืชต่างๆ	แอฟริกา
ควาสส์(kvass)	ขนมปังไรน์	รัสเซียและยุโรปตะวันออก
lambic beer	ข้าวบาร์เลย์	เบลเยี่ยม
เมอริสสา(merissa)	ข้าวฟ่าง	ซูดาน
pulque	น้ำผลไม้ agave	เม็กซิโก
รัม	กากน้ำตาลจากอ้อย	คาริบเบียน
สาเก	ข้าวที่สีแล้ว	ญี่ปุ่น
sourmash bourbon	ธัญพืชต่างๆ	อเมริกา
stock beer	ข้าวบาร์เลย์	อังกฤษ
ทิบิ(tibi)	น้ำตาลทรายและผลมะเดื่อ	เม็กซิโก
วิสกี้	ข้าวบาร์เลย์	สก็อตแลนด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยีสต์ (YEASTS)

ยีสต์เป็นจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญกับมนุษยชาติ(ในด้านที่เป็นประโยชน์ต่อมนุษย์)มานานที่สุด จากที่ยีสต์สามารถเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์และคาร์บอนไดออกไซด์อย่างรวดเร็วซึ่งยีสต์จะเปลี่ยนของเหลวที่มีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบ ได้แก่ น้ำผลไม้ต่างๆ ให้เป็นแอลกอฮอล์ มีหลักฐานว่ามีการใช้ยีสต์ในการทำเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์และยีสต์ในการทำขนมปังตั้งแต่ 3000 ปีก่อนคริสต์กาล

ในปัจจุบันอุตสาหกรรมหลักที่ใช้ยีสต์ในการผลิต จัดเป็นอุตสาหกรรมหมักที่ใหญ่ที่สุด คือมีจำนวนเงินหมุนเวียนมากที่สุด อุตสาหกรรมหมักที่ใช้ยีสต์ในการผลิตมีดังนี้

1.เครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ (Alcoholic beveranges) ได้แก่เบียร์และเหล้าชนิดต่างๆ

2.ยีสต์ในการทำขนมปัง (Bakers' yeasts)

3.ยีสต์อาหารคนและอาหารสัตว์ (Food and fodder yeasts)

4.แอลกอฮอล์เชื้อเพลิง (Fuel alcohol)

เนื่องจากความสำคัญของยีสต์ต่ออุตสาหกรรมดังกล่าว ในที่นี้จะได้กล่าวถึงคุณสมบัติของยีสต์อย่างย่อๆดังนี้

<u>การจัดจำพวก(Classification)</u>

คำว่ายีสต์เป็นคำที่ไม่มีความสำคัญในแง่อนุกรมวิธาน คำนี้หมายถึง ฟังไจเซลเดี่ยวที่มีการสืบพันธุ์แบบแตกหน่อ (budding) หรือฟิสชัน (fission) ซึ่งถ้ายึดตามการจัดของ Whittake และ Margulis,1978 แล้วจัดอยู่ใน

Superkingdom Eucayonta

Kingdom Myceteae

ยีสต์มีทั้งหมด 60 จีนัส 350 สปีชีส์และประมาณ 4300 สายพันธุ์ (strain) ยีสต์แบ่งออกเป็นกลุ่มต่างๆโดยพิจารณาการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศเป็นหลักได้ดังนี้

1. Ascomycetous yeast เป็นยีสต์ที่มีการสร้างสปอร์ภายในถุงที่เรียกแอสคัส (ascus) ซึ่งแอสคัสนี้เป็นผลลัพธ์จากการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศโดยคอนจูเกชั่น (conjugation) ของเซลล์ ยีสต์ที่มีลักษณะเช่นนี้จะจัดอยู่ใน

Division Amastigomycota

Subdivision Ascomycotina

Class Ascomycetes

Subclass Hemiascomycetidae

Order Endomycetales

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

Family Saccaromycetaceae

Family Spermophtheraceae

ทั้งหมดมี 33 จีนัส

2. Basidiomycetous yeast เป็นยีสต์ที่มีวัฏจักรชีวิตแบบเดียวกับพวกสมัท (smut , Ustilago) จึงจัดอยู่ใน

Division Amastigomycota

Subdivision Basidiomycotina

Class Basidiomycetes

Subclass Teliomycetidae

Order Ustilaginales

Family Ustilaginaceas

มีทั้งหมด 10 จีนัส

3.Deuteromycetous (Imperfect or Asporogenoues) yeasts เป็นยีสต์กลุ่มที่ไม่สร้างเซลที่เป็นสปอร์ เป็นผลลัพธ์จากการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ จัดอยู่ใน

Subdivition Deuteromycdtinia

Class Deuteromycetes

Subclass Blastmycetales

Order Sporobolomycetidae

Family Cryptococcales

มีทั้งหมด 17 จีนัส

ยีสต์ใน Order Sporobolomycetidaeเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า ballistosporogenous yeasts เนื่องจากเวลาสปอร์ถูกปล่อยออกจากสเตอรริกมา (sterigma) คล้ายกับมีแรงดีดไปได้ไกลๆ สปอร์แบบนี้จึงเรียกว่าปัลลิสเตอสปอร์ (ballistospor) ยีสต์กลุ่มนี้บางชนิดจัดเป็นพวกที่มีระยะสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศของ Basidomycetes มีทั้งหมด 15 จีนัส

สิ่งมีชีวิตที่คล้ายยีสต์ สิ่งมีชีวิตที่คล้ายยีสต์ ได้แก่ สาหร่ายเซลเดียวบางชนิดที่เกิดการเปลี่ยนแปลงทางจีนส์ทำให้ไม่มีคลอโรฟิลล์ สาหร่ายที่ไม่มีสีเช่นนี้มักพบในธรรมชาติเสมอ ถ้าเป็น Chlorella ที่เกิดการเปลี่ยนแปลงทางจีนส์ไปจะจัดไว้ในจีนัส Prototheca แทน พวกนี้จะต่างจากยีสต์ที่มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ จะไม่ใช่การแตกหน่อหรือฟิสชั่น แต่จะแบ่งเซลแล้วภายในเซลเกิดเซลลูกมากมาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

25400

ฟังไจบางชนิดใน Class Zygomycetes (เดิมจัดอยู่ใน Class Phycomycetes)จะถูกเรียกว่าเป็น Phycomycetous Yeasts เช่น Mucor rouxii ทั้งนี้เนื่องจากในสภาพไร้ออกซิเจนและมีคาร์บอนไดออกไซด์อยู่มากจะมีการแตกหน่อคล้ายเซลยีสต์

หลักเกณฑ์ที่ใช้ในการจัดจำพวกยีสต์ในระดับจีนัสและสปีชีส์

โดยการพิจารณาเรื่องต่อไปนี้

1. การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศว่าเป็นแบบแตกหน่อ หรือ ฟิสชั่น ซึ่งข้อนี้นักจัดจำพวกยีสต์บางคนถือว่าไม่สำคัญ

2. การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ

ก. วิธีการสร้างแอสคัสและรูปร่างของแอสคัส

ข. จำนวนสีและรูปร่างของสปอร์ในแอสคัส

วิธีการงอกของสปอร์

3. การเฟอร์เมนต์และการสังเคราะห์สารต่างๆ ข้อนี้จัดเป็นหลักสำคัญเช่นเดียวกับที่ยึดในการจัดจำพวกแบคทีเรีย เช่น พิจารณา

ก. ความสามารถในการใช้น้ำตาลบางชนิด

ข. อัตราเร็วของการเฟอร์เมนต์

ค. แหล่งคาร์บอนที่มีการสังเคราะห์เป็นโปรโตพลาส

ง. แหล่งไนโตรเจนที่นำมาสังเคราะห์เป็นโปรโตพลาส

4.หลักการทางด้านสรีรวิทยาและชีวเคมีอื่นๆ

ก. อุณหภูมิที่ใช้ในการเจริญ

ข. ความต้องการวิตามิน

ค. ความทนทานต่อปริมาณของเกลือแกง

ง. ความสามารถในการย่อยเจลาติน

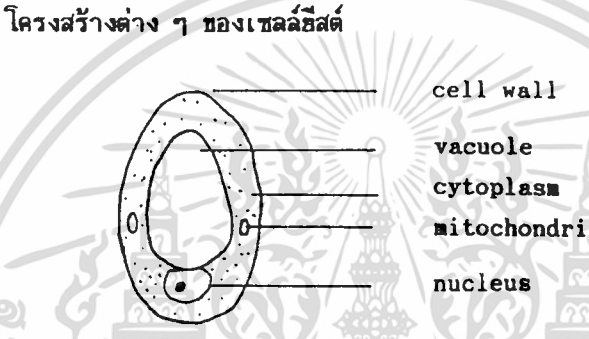
จ. ความสามารถในการสลายไขมัน

ฉ.การทดสอบอื่น ๆ เช่น ส่วนประกอบทางเคมีของผนังเซล สารที่ถูกส่งออกสู่ภายนอกผนังเซล คุณสมบัติในการเป็นแอนติเจน และปริมาณของกัวนีนและไซโตซินของดีเอ็นเอ เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สัญฐานวิทยาของเซลยีสต์

เซลล์ยีสต์มีขนาดแตกต่างกันออกไปมีเส้นผ่าศูนย์กลางตั้งแต่ 1-5 ไมโครเมตร ยาวตั้งแต่ 5-30 ไมโครเมตร ส่วนใหญ่เซลล์จะเป็นรูปไข่แต่มีบางชนิดที่ยาวกว่า บางชนิดเป็นรูปทรงกลมแต่ละสปีชีส์จะมีลักษณะเฉพาะของตนเอง แต่อย่างไรก็ตามขนาดและรูปร่างจะแตกต่างกันออกไปขึ้นอยู่กับอายุและสภาพแวดล้อม ยีสต์ไม่มีโครงสร้างที่ใช้ในการเคลื่อนที่ดังนั้นจึงเคลื่อนที่ไม่ได้



รูป 6 ส่วนประกอบต่าง ๆ ของเซลล์ยีสต์

<u>แคปซูล (Capsule)</u> เป็นโครงสร้างที่ห่อหุ้มเซล โดยมียีสต์บางชนิดจะปล่อยสารที่มีลักษณะเป็นเมือกหนืด หรือเหนียวมาห่อหุ้มเซล แคปซูลมักเป็นสารพวกโปลีแซกคาไรด์ รวมทั้งเฮทเทอโรโพลีแซคคาไรด์ แมนแนน และสารที่คล้ายแป้ง

<u>ผนังเซล (cell wall)</u> ผนังเซลยีสต์จะบางเมื่อเซลล์อายุยังน้อยแต่จะหนาขึ้นตามอายุ ความหนาของผนังประมาณ 1/7 ของเส้นผ่าศูนย์กลางเซลล์ ส่วนประกอบส่วนใหญ่ของผนังเซลล์ได้แก่

1. กลูแคน (glucan) หรือเรียกเซลลูโลสของยีสต์ต่างกับเซลลูโลสที่เป็น B-1,3 linkage หรือ B-1,6 linkage ซึ่งเซลลูโลสที่เป็น B-1,4 linkage มี 30-35%

2. แมนแนน (mannan) เป็นโพลีเมอร์ของแมนโนสมี 30%

3. ลิปิด มี 6.5-13.5%

4. โปรตีนมี 6-8 %*(S.cerevisiae)*

5. ไคตินมี 1-2 %

6. ที่เหลือเป็นสารอินทรีย์ เช่น เกลือฟอสเฟต

<u>เยื่อหุ้มเซลล์ (cytoplasmic membrane)</u> องค์ประกอบเหมือนเยื่อหุ้มเซลล์ของสิ่งมีชีวิตอื่น คือ เป็นไลโปโปรตีนและมีหน้าที่ควบคุมการผ่านเข้าออกของสาร

<u>ไซโตพลาส</u> มีลักษณะครึ่งเหลวครึ่งแข็ง ประกอบด้วยสารโปลีแซคคาไรด์ที่สะสมอยู่ คือ ไกลโคเจน นอกจากนี้มี RNA และโปรตีนอยู่มาก นอกจากนี้ยังมีไรโบโซม และออกาเนลอื่น เช่น ไมโตคอนเดรีย และมีระบบเยื่อในไซโตพลาส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้ทำซ้ำ ดัดแปลง เผยแพร่ หรือนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่ต่อ ในรูปแบบสื่อสิ่งพิมพ์ หรือสื่ออิเล็กทรอนิกส์ ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นิวเคลียส โครงสร้างทั่วไปเหมือนนิวเคลียสของเซลล์ของพวกยูคารีโอตทั่ว ๆไปแต่จากการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน พบว่าโครงสร้างภายในบางอย่างขาดหายไป เช่น

1.ไม่มีการสร้าง spindle เมื่อมีการแตกหน่อ

2.เยื่อหุ้มนิวเคลียสยังคงอยู่ตลอดเวลาขณะมีการแบ่งเซลล์

3.ขณะมีการแตกหน่อ นิวเคลียสจะคอดเข้าและส่วนหนึ่งจะยังเป็นเซลล์ที่เป็นหน่อ อีกส่วนหนึ่งจะอยู่ที่เซลล์เดิม

แวคคิวโอล (vacuole) เซลล์ยีสต์อาจมีแวคคิวโอล 1 หรือ หลายอัน เห็นชัดเจนกว่าโครงสร้างอื่นๆ

อินคลูชัน (inclusion) ยีสต์บางสปีชีส์จะมี volutin granule ซึ่งเป็นกรานูลของโปลีฟอสเฟต บางชนิดมีกรานูลไขมัน คาร์โบไฮเดรด หรือ โปรตีน บางสปีชีส์สะสมไขมันถึง 50%ของน้ำหนักแห้ง นอกจากนี้ก็มีไกลโคเจน เอนไซม์วิตามิน รงควัตถุซึ่งอาจเป็นสีเหลือง สีส้ม สีชมพู หรือสีน้ำตาล นอกจากนี้ยังอาจพบไซโตโครม, ฮีโมโกลบิน และฟลาวิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การสืบพันธุ์ (Reproduction)

1.การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ ยีสต์สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ โดย

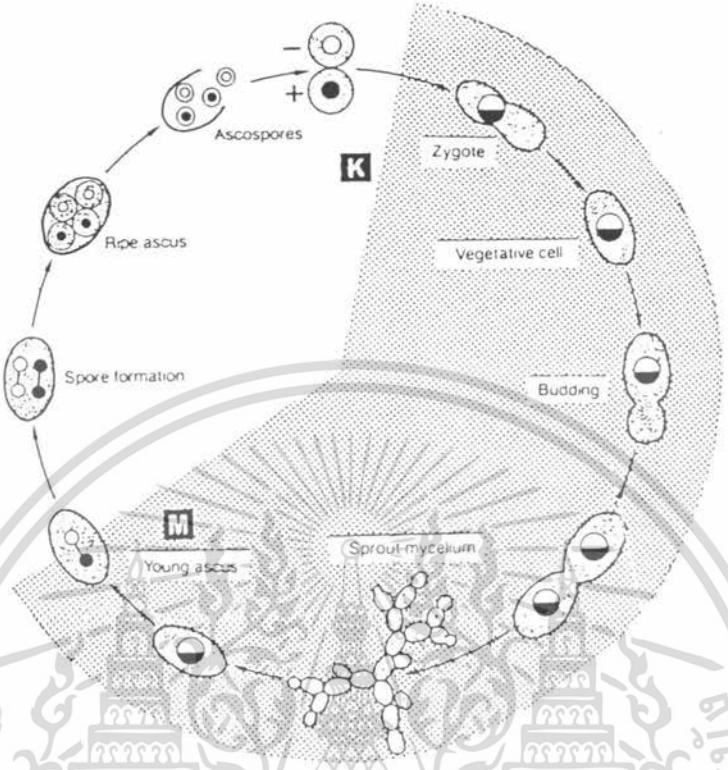
1.1 <u>การแตกหน่อ</u> (budding) โดยเกิดปุ่มเล็กๆ ที่ผิวนอกของเซลล์ ต่อมาปุ่มนี้จะขยายใหญ่ขึ้น และจะมีนิวเคลียส และไซโตพลาสจากเซลล์แม่เข้าไปในปุ่ม ปุ่มนี้จะเปลี่ยนเป็นเป็นหน่อที่มีขนาดใหญ่เกือบเท่าเซลล์แม่ ต่อไปก็จะแยกออกจากเซลล์ พวกที่สืบพันธุ์โดยการแตกหน่ออย่างแท้จริง เซลล์จะคอดเข้าแล้วหน่อจะหลุดออก ไม่มีการสร้างผนังคั่นระหว่างหน่อกับเซลล์แม่เสียก่อน ถ้าเกิดการแตกหน่อแล้วหน่อไม่หลุดออกจากเซลล์แม่ และยังสามารถให้หน่อใหม่ต่อๆไปได้อีก จะเกิดเป็น pseudomycelium

1.2 <u>ฟิชชั่น</u> ยีสต์จะสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศเรียก binary fission คล้ายกับที่เกิดในแบคทีเรีย โดยที่เซลล์ยีสต์จะพองออกหรือยาวออก นิวเคลียสจะมีการแบ่ง ทำให้ได้เซลล์ใหม่ขนาดเท่ากัน 2 เซลล์เกิดขึ้น

1.3 <u>การแตกหน่อและฟิชชั่นเกิดร่วมกัน</u> วิธีนี้เรียก bud-fission โดยเซลล์ยีสต์จะสร้างหน่อขึ้นมาและจะมีผนังคั่นระหว่างเซลล์แม่กับหน่อ

2. การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ ยีสต์ชนิด *Saccharomyces cerevisiae* มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ โดยมีวัฏจักรชีวิตแบบสลับช่วงชีวิตที่เป็นแฮพพลอยด์ และดิปพลอยด์ พอๆ กัน ทั้งสองช่วงชีวิตมีการเพิ่มจำนวนโดยการแตกหน่อ วัฏจักรชีวิตเป็นไปตามรูปที่ 7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูป 7 การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ ของ *Saccharomyces cerevisiae*

สรีรวิทยาของยีสต์

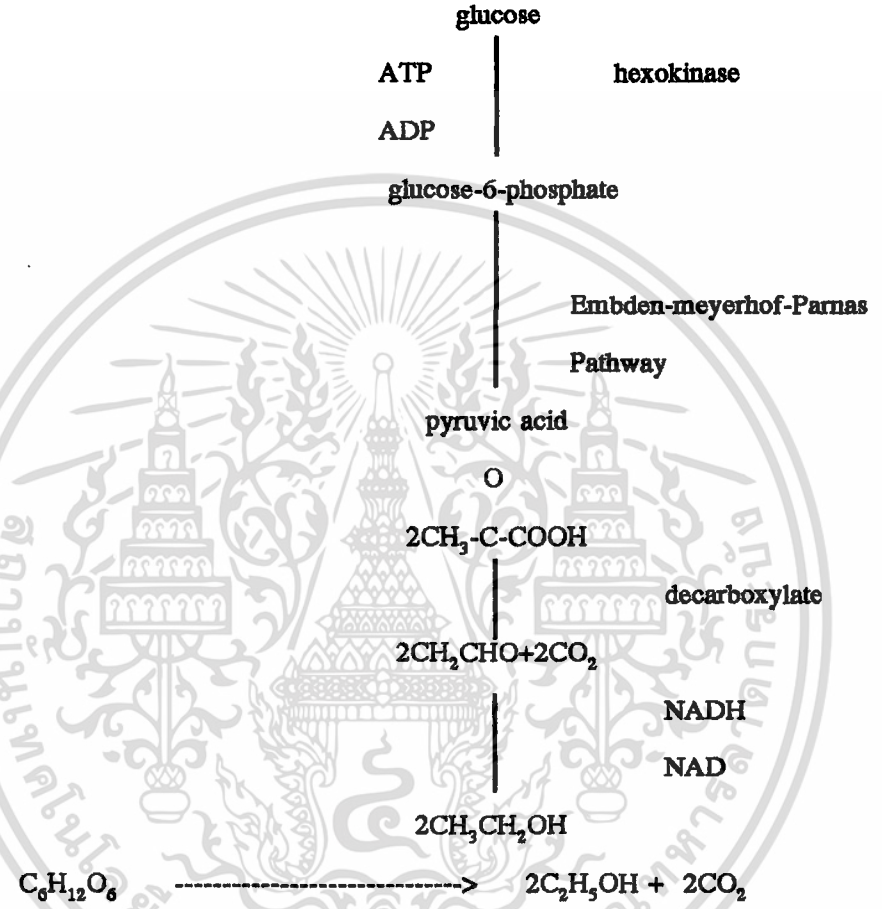
เนื่องจากยีสต์มีความแตกต่างกันไปมากเพราะแบ่งออกได้ถึง 3 กลุ่ม ดังที่กล่าวแล้วสรีรวิทยาก็จะแตกต่างออกไปมากเช่นกัน สรีรวิทยาที่จะนำมาศึกษาก็คือ กระบวนการผลิตพลังงาน

ยีสต์ที่นำมาศึกษามากก็คือ Baker's yeast (ยีสต์ทำขนมปัง) และยีสต์ที่ใช้ผลิตแอลกอฮอลล์ (Brever's yeast) ซึ่งเป็นยีสต์ในจีนัส Saccharomyces (ยีสต์ที่ใช้ในการผลิตไวน์ คือ *Saccharomyces cerevisiae Hanaen* หรือ *S. oviformis Osterwalder*) ซึ่งเป็นยีสต์ที่สามารถเปลี่ยนเมตาบอลิซึมจากการเฟอร์เมนต์ไปเป็นการหายใจแบบใช้ออกซิเจนได้ และพลังงานที่ได้ต่างกันถึง 19 เท่า หลุยส์ปาสเจอร์ (Louis Pasteur)เป็นคนแรกที่ชี้ให้เห็นว่ายีสต์ที่กำลังเฟอร์เมนต์เมื่อพ่นอากาศเข้าไปการเฟอร์เมนต์จะลดลงและกลูโครสก็จะเปลี่ยนเป็นคาร์บอนไดออกไซด์กับน้ำ ซึ่งปรากฏการณ์นี้เรียกว่า "Pasteur effect" ความรู้นี้นำไปทำการผลิตยีสต์ที่ใช้ทำขนมปังเพราะไม่ต้องการแอลกอฮอล์แต่ต้องการเซลล์มากๆ แต่ต้องมีความเข้มข้นของน้ำตาลต่ำๆ ถึงจะทำให้น้ำตาลเปลี่ยนเป็นคาร์บอนไดออกไซด์กับน้ำ ถ้าความเข้มข้นของน้ำตาลสูงภายใต้สภาพที่มีออกซิเจนมักจะเกิดการออกซิเดชันไม่สมบูรณ์ ซึ่งผลลัพธ์ที่ตามมาก็คือมีการสะสมกรดอินทรีย์ซึ่งเป็นสารที่ใช้เป็นตัวกลางใน TCA cycle ปรากฏการณ์นี้เรียกว่า"Crabtree effect"หรือ"Glucose effect"

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระบวนการหมักของยีสต์

เมื่อใส่กลูโคสลงในอาหารที่เลี้ยง *S. cerevisiae* กลูโคสจะเข้าสู่เซลล์โดยระบบการนำเข้าซึ่งอยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์ เมื่อเข้าสู่เซลล์แล้วจะเปลี่ยนแปลงดังนี้



กระบวนการนี้จะทำให้เกิดการสังเคราะห์ ATP ขึ้นมา 2 โมเลกุล ซึ่ง ATP นำไปใช้ในขบวนการสังคราะห์ (biosysthesis) เพื่อให้เซลเจริญต่อไปถ้าขาดแหล่งไนโตรเจนกลูโคสจะถูกสะสมอยู่ภายในเซลล์ คือประมาณ 70% ของกลูโคสจะถูกใช้ไปอีก 30 %จะถูกสะสมเอาไว้และยีสต์จะให้อาหารที่สะสมไว้อย่างช้า ๆ ระหว่างการอบหรือการเพาะเลี้ยง เรียกว่าเกิดการหมักภายใน (endogenous fermentation)

ในปี ค.ศ. 1926 A.J.kluyver ได้ตั้งกฎเกี่ยวกับการเฟอร์เมนต์ไว้ 3 ข้อ ซึ่งปัจจุบันก็ยังยึดถือใช้อยู่ ได้แก่

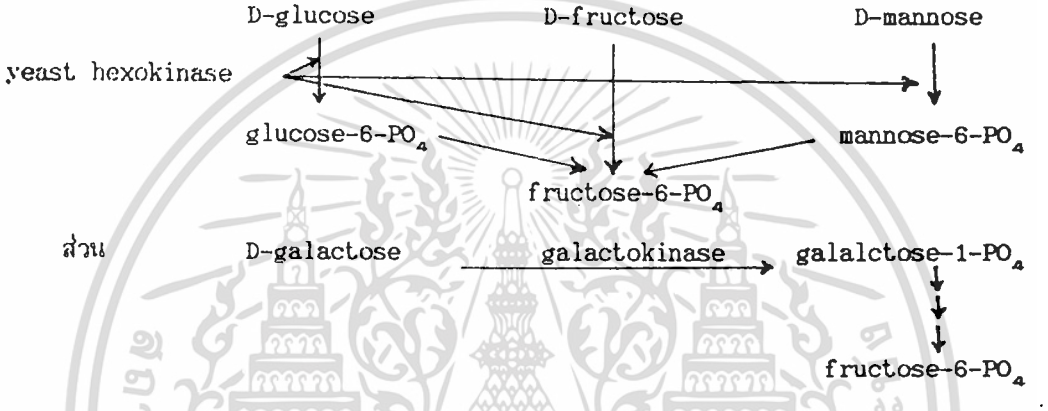
1. ยีสต์ที่ไม่สามารถใช้ D-glucose จะไม่สามารถใช้น้ำตาลชนิดอื่นได้
2. ยีสต์ที่ไม่สามารถใช้ D-glucose จะสามารถใช้ D-glucose และ D-mannoseได้ด้วย
3. ยีสต์ที่ใช้maltose จะไม่สามารถใช้ lactose และในทางกลับกันยีสต์ที่ใช้ lactose สามารถใช้ก็ไม่สามารถใช้ maltose

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เหตุผลเกี่ยวกับกฎ 3ข้อนี้คือ

<u>กฎข้อ1</u> ในการใช้หรือย่อยสลาย dri,tri หรือ polysaccharides จะต้องผ่านขั้นที่เป็น hexose เสียก่อนดังนั้นถ้ายีสต์ใช้ D-glucose ซึ่งเป็นน้ำตาล hexose ไม่ได้ ก็ไม่ควรจะใช้พวก dri,tri หรือ polysaccharides ได้

<u>กฎข้อ</u>2 D-glucose,d-fluctose หรือ D-mannose ใช้เอ็นไซม์ตัวเดียวกันคือ hexokinase ที่จะเปลี่ยนเป็น glucose-6-phsphate หรือ mannose-6-phosphate



ดังนั้นการที่ยีสต์ไม่มี galactokinase จึงไม่สามารถใช้ D-galactose แต่ใช้น้ำตาล 3 ชนิดนั้นได้

<u>กฎข้อ 3</u> เอนไซม์ที่ใช้ในการละลาย di,tri และ polysaccharide เป็น inducible enzyme คือถ้าไม่มีน้ำตาลชนิดนั้น ๆ อยู่จะไม่ถูกสังเคราะห์ขึ้นมาดังนั้นเมื่อมี maltose จึงสังเคราะห์เอนไซม์ที่สลาย maltose ขึ้นมาแต่ไม่สังเคราะห์เอนไซม์ที่สลาย lactose

เอนไซม์ที่สลาย sucrose, melibiose, raffinose, inulin และ starch มีตำแหน่งอยู่ที่ผิวเซลล์ น้ำตาลเหล่านี้ต้องสลายเป็น hexose ซึ่งเป็น monosaccharide เสียก่อนจึงจะเข้าเซลล์ได้ ส่วน maltose และ lactose นั้นถูกนำเข้าสู่เซลล์ในสภาพ disaccharide ได้ และถูกย่อยสลายภายในเซลล์

ปริมาณเอธานอลที่ยีสต์สามารถผลิตได้ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของยีสต์ ถ้าให้น้ำตาลเพียงพอจะให้แอลกอฮอล์ 12-14 % โดยปริมาตร ซึ่งปริมาณนี้จะเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็ว แต่เมื่อมีแอลกอฮอล์ขนาดนี้แล้วจะทำให้การหมักเกิดช้าลง ปริมาณสูงสุดที่ทำได้ คือ 18-19% โดยปริมาตร ซึ่งระดับนี้ต้องอาศัยยีสต์บางสายพันธุ์ซึ่งคัดเลือกพันธุ์ไว้เป็นพิเศษ และต้องอาศัยเวลาหลายเดือน อุณหภูมิและความเข้มข้นของน้ำตาลต้องควบคุมให้เหมาะกับยีสต์สายพันธุ์นั้น ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลพลอยได้ (by-product) จากการหมัก

ตามทฤษฎีแล้วผลลัพธ์จากการหมักควรได้เอทธานอล 51.1 % โดยน้ำหนัก และคาร์บอนไดออกไซด์ 48.9 % แต่ในทางปฏิบัติแล้วปริมาณเอทธานอลที่ได้จะต่ำกว่าทฤษฎีคือ ได้ปริมาณ 48 % และมีผลพลอยได้หลายอย่าง และปริมาณ 1 % ของน้ำตาลจะถูกเปลี่ยนไปเป็นองค์ประกอบของเซลล์ นอกจากนี้แอลกอฮอล์ยังหายไปโดยการระเหยอีกด้วย

สารที่จัดเป็นผลพลอยได้จากการเฟอร์เมนต์ ได้แก่

1. กลีเซอรอล (glycerol) ประมาณ 2.5-3.0 % เป็นผลพลอยได้ที่มีมากที่สุด เกิดจากการเพิ่มไฮโดรเจนให้กับสาร dihydroxyacetone phosphate ซึ่งเป็นสารที่เป็นตัวกลางกระบวนในการเฟอร์เมนต์

2. กรดอินทรีย์ ประมาณ 0.02-0.05 % กรดอินทรีย์ที่เป็นผลพลอยได้ ได้แก่ succinicacid, acetic acid, lactic acid และในสก๊อตวิสกี้มี palmitoleic acid

3. อัลดิไฮด์และคีโตน (aldehyde and ketone) มีประมาณ 0.01-0.04 %ที่พบมาก คือ acetaldehyde อัลดิไฮด์เกิดจากการเอาคาร์บอนไดออกไซด์ออกจาก oxo acid ระหว่างการเกิด higher alcohol มีตั้งแต่ formaldehyde ไปจนถึง hexanol, isoaldehyde พวกอัลดิไฮด์ทำให้รสของเครื่องดื่มประเภทแอลกอฮอล์เสียไป

ส่วนประเภทคีโตนจัดเป็น organoleptically compound สารที่เรียก organoleptically compound เป็นสารที่ช่วยให้กลิ่น รส หอมหวลกับเครื่องดื่ม สารเหล่านี้จะถูกผลิตขึ้นน้อยมาก (ไมโครกรัมต่อลิตร) แต่สารนี้เป็นตัวชี้คุณภาพของเครื่องดื่ม สารนี้บางทีไม่ได้มาจากยีสต์เอง แต่มาจากวัตถุดิบที่นำมาใช้หรือบางทีก็เกิดจากยีสต์เปลี่ยนวัตถุดิบไป หรือมาจากถังหมักที่เป็นไม้ เช่น ถังไม้โอค ทำให้มีรสดี สารประเภทคีโตน เช่น diacetyl, 2-3-pentanedione, diacetylทำให้เกิดรสเนย กับ “butterscotch” และ “toffee” ความเข้มข้นใน butterscotch มีถึง 0.1-0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

4. higher alcohol or fusel alcohol or fusel oil ได้มีการศึกษาสารประเภทนี้กันมากเพราะมีผลต่อคุณภาพของเครื่องดื่มประเภทมีแอลกอฮอล์ higher alcohol เกิดจากการเอาคาร์บอนไดออกไซด์ออกจาก keto acid ที่จะเปลี่ยนเป็นกรดอะมิโน แล้วมีการเติมไฮโรเจน higher alcohol ที่พบได้แก่

1. propanol

2. methyl-1-propanol (iso-butanol)

3. methyl-1-butanol (isoamyl alcohol) และ

2-methyl-1-butanol (optically active amyl alcohol)มีประมาณ 0.01-0.04 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ ห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้ ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. ester ผลพลอยได้ประเภท ester ได้แก่ ethyl acetate, isoamyl acetate ซึ่งจัดเป็น organoleptically compound

สารประกอบอื่นที่สร้างโดยการหมักของยีสต์

ไฮโดรเจนซัลไฟด์ เมทธิลเมอแคบแทน และเอทธิลเมอแคบแทน เป็นสารที่มีกลิ่นรสไม่พึงประสงค์ที่จะพบในเบียร์ บางครั้งปริมาณของสารนี้ขึ้นกับสารพันธุ์ของยีสต์ที่ใช้ หรือมาจากยาที่ฉีดพ่นให้กับผลไม้เพื่อฆ่าเชื้อรา เอทธิลเมอแคบแทนเกิดจากปฏิกิริยาระหว่างไฮโดรเจนซัลไฟด์กับอะเซตทาดีไฮด์ สารนี้มีเพียง 1-5 ppm. ก็ทำให้เกิดกลิ่นไม่ดีได้ ถ้าไฮโดรเจนซัลไฟด์มีอยู่ในปริมาณต่ำอาจกำจัดออกโดยการพ่นอากาศเข้าไป ถ้ามีปริมาณสูงกำจัดโดยใส่ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ลงไปให้เพียงพอที่จะไปออกซิไดส์ไฮโดรเจนซัลไฟด์ให้เป็นซัลเฟอร์

การเจริญเติบโตของยีสต์ที่ใช้ในการผลิตเบียร์

อาหารหรือ media สำหรับการเจริญของยีสต์ ขึ้นอยู่กับชนิดของน้ำตาลที่จะหมักได้ (fermentable sugar) ซึ่งเป็นแหล่งพลังงาน เกลือแอมโมเนียใช้เป็นแหล่งของไนโตรเจน นอกจากนี้ก็มีเกลือแร่ และ growth factors ดังตารางที่แสดงข้างล่างนี้ ดังนั้น สารอาหารต่าง ๆ สำหรับยีสต์จึงจำแนกได้ดังนี้ คือ

1. <u>คาร์โบไฮเดรต</u> ยีสต์ที่ใช้หมักเบียร์นี้จะเจริญและหมักน้ำตาลที่เป็น monosaccharide ซึ่งได้แก่น้ำตาลที่มีคาร์บอน 6 อะตอม เช่น D-glucose , D-mannose และ D-fructose ส่วนน้ำตาลที่มีคาร์บอน 6 อะตอมนั้น ยีสต์ไม่สามารถจะใช้ได้ น้ำตาล disaccharide ที่ยีสต์ใช้ได้ คือ ซูโครส และ D-maltose (โดยที่เอนไซม์จากยีสต์ คือ invertase จะย่อยซูโครส) ส่วนเอนไซม์มอลโตสก็จะย่อย D-maltose ให้ได้กลูโคสสำหรับ isomaltose นั้น ยีสต์ไม่สามารถจะนำมาใช้ได้ ดังนั้นจึงมีตกค้างอยู่ในน้ำวอร์ท

2. <u>ไนโตรเจน</u> ยีสต์ส่วนใหญ่จะเจริญได้ดีในอาหารที่มีเกลือแอมโมเนีย ซึ่งใช้เป็นแหล่งอาหารไนโตรเจน ความสามารถในการใช้แอมโมเนียของยีสต์เป็นที่น่าสนใจ เนื่องจากในน้ำวอร์ท ที่ใช้ในการหมักเบียร์มีส่วนประกอบของกรดอะมิโน เปปไทด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ นอกจากนี้ยีสต์ไม่สามารถที่จะผลิตเอนไซม์ proteaes ที่จะมาย่อย poly-peptide ดังนั้นพวกนี้จึงยังตกค้างอยู่ในเบียร์ได้ อย่างไรก็ตามยีสต์ก็ยังสามารถใช้เปปไทด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำได้บ้าง

3. <u>Growth factors</u> สารที่ใช้เป็น Growth factors ของยีสต์คือ inositol , biotin สาร biotin เป็นสารที่ยีสต์ต้องการ ดังนั้นจึงต้องเติมลงไปในอาหารของยีสต์ ยีสต์บางชนิดก็ต้องการ antothenate

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้นำไปดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

, aminobenzonate , pyridoxine และ ไทอามีน สำหรับยีสต์ที่ใช้หมักเบียร์นั้น ต้องการ Growth factors อยู่มาก ดังตารางที่แสดง

4. <u>แร่ธาตุ</u> แร่ธาตุที่ยีสต์ต้องการเช่นเดียวกับเซลล์ของสิ่งมีชีวิตอื่นๆ เช่น เหล็ก, โปแทสเซียม แมกนีเซียม , สังกะสี มังกานีส , ทองแดง นอกจากนี้ ยีสต์ยังต้องการ $(SO_4)^{2-}$ และ $(PO_4)^{2-}$ ions

ตาราง ที่ 3 Defined Medium for studying yeast Growth and Nutrition Zrainbow ,1970)

Component	Concentration (g/litre)
glucose	40
$(NH_4)_2HPO_4$	4.0
$MgSO_4.7H_2O$	2.0
KH_2PO_4	1.0
$CaCl_2.6H_2O$	0.25
Lactic acid (syrup)	10
Trace element sol[n]	1.0 ml/litre*
KOH Sol[n] to pH 5.0-5.2	2 mg/litre
D-Biotin	
Ca D-pantothenate	1,000
Thiamine HCL	1,000
Pyridoxine HCL	1,000
Myo-Inositol	10,000
p-Aminobenzoic acid	100
KI	100

* Composition of Trace element sol. g/litre

H_3BO_4 1.0 ; $MgSO_4.4H_2O$ 0.4 ; $ZnSO_4.7H_2O$ 0.4 ; $CuSO_4.5H_2O$ 0.45 ; $FeSO_4.7H_2O$ 0.25 ; ammonium molydate 0.2

<u>5.องค์ประกอบของเบียร์</u>

เบียร์ประกอบด้วยสารต่างๆมากกว่า 400 ชนิด นอกเหนือจากสารโมเลกุลใหญ่พวก โปรตีน กรดนิวคลีอิก คาร์โบไฮเดรต และไขมัน ส่วนประกอบของเบียร์ที่มีมากที่สุด คือ น้ำและสารอื่น เช่น ไอออนต่างๆ รวมทั้ง คาร์บอนไดออกไซด์ (3.5-6.5 กรัมต่อลิตร) ปริมาณเอทานอลในเบียร์จะแตกต่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กันไปแล้วแต่ชนิดของเบียร์ที่ผลิต โดยทั่วๆไปแล้วปริมาณเอทานอลจะอยู่ระหว่าง 3.6-4.2 เปอร์เซนต์ (ปริมาตร ต่อ ปริมาตร) สำหรับคาร์โบไฮเดรต ที่อยู่ในรูปน้ำตาลกลูโคส dextrin และน้ำตาลอื่นๆอีกเล็กน้อย

สารอื่นๆที่ไม่ระเหยที่พบในเบียร์ได้แก่ กลีเซอรอล (1.5-3.5 กรัมต่อลิตร) ไขมัน (0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร) และกรดไขมัน (0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร) มีโพลีฟีนอลในปริมาณ 80-160 มิลลิกรัมต่อลิตร เรซินของฮอปที่ทำให้มีรสขม 30-40 มิลลิกรัมต่อลิตร สารประกอบไนโตรเจน 300-900 มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อลิตร นอกจากนี้ก็ยังมีโปรตีนที่แปลงสภาพแล้ว กรดนิวคลีอิกที่แปลงสภาพแล้ว กรดอะมิโน amide , amine และสารประกอบ heterocyclic

สารอื่นๆที่ระเหยได้ที่พบในเบียร์นอกจากจะมีเอทานอลแล้วยังมีแอลกอฮอล์อื่นๆที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่ (100-200 มิลลิกรัมต่อลิตร) เอสเทอร์ (25-40 มิลลิกรัมต่อลิตร) และคีโตน (ประมาณ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร) สารให้กลิ่น เช่น diacetyl ในปริมาณ 0.1-2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ dimethyl sulfide ในปริมาณเพียง 15-150 ไมโครกรัมต่อลิตร

ปริมาณแคลอรี่ของเบียร์จะมาจากเอทานอล คาร์โบไฮเดรตและโปรตีนที่เหลืออยู่ในเบียร์ เบียร์ 1 ลิตรจะให้แคลอรี่ เป็น 300-400 กิโลแคลอรี่ (หรือ 1200-1600 กิโลจูล) นอกจากนี้ ยังมีวิตามินบางชนิดในเบียร์ด้วย เช่น ไบโอติน nicotinic acid , pantothenic acid ,pyridoxine, thiamine ,folic acid, riboflavin และ วิตามิน B-12

<u>เบียร์ที่มีแคลอรี่ต่ำ</u>

ในปัจจุบันโรงงานเบียร์หลายแห่งได้มีการผลิตเบียร์ที่มีแคลอรี่ต่ำเพื่อสนองความต้องการของผู้บริโภค โดยทั่วไปเบียร์ที่ผลิตได้จะมีแคลอรี่สูงเนื่องจากน้ำตาลบางส่วน เช่น maltotetrose และ dextrin ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงและแป้งบางชนิด ไม่สามารถถูกย่อยได้โดยยีสต์ ซึ่งจะมีประมาณ 30-40 เปอร์เซนต์ของวอร์ท และส่วนประกอบเหล่านี้จะทำให้ เบียร์มีแคลอรี่สูง

ในการลดปริมาณคาร์โบไฮเดรตในเบียร์ จะเติม เอนไซม์ glucoamylase ลงไปเพื่อเปลี่ยน dextrin ให้เป็นน้ำตาลกลูโคสที่ยีสต์สามารถนำไปใช้ได้ทำให้เบียร์ที่ผลิตได้ มีปริมาณแคลอรี่ต่ำลงโดยในเบียร์ทั่วๆไปที่บรรจุขวดขนาด 12 ออนซ์จะมีแคลอรี่ 150-160 แคลอรี่ แต่เบียร์ที่มีแคลอรี่ต่ำ ในขวดบรรจุขนาดเดียวกัน จะมีแคลอรี่เพียง 90-110 แคลอรี่เท่านั้น

<u>6.การเกิดรส-กลิ่นของเบียร์</u>

รส-กลิ่นของเบียร์เกิดขึ้นได้หลายทาง อันเนื่องมาจากปฏิกิริยาเคมีในระหว่างขบวนการหมักของยีสต์ และการบ่มเบียร์ รส-กลิ่น ที่สำคัญได้แก่ การเกิดเอสเทอร์ การเกิด diacetyl และ aceton และการเกิดสารประกอบจากพวกซัลเฟอร์

เอกสารนี้และเนื้อหาภายในเอกสารใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.การเกิดเอสเทอร์ การเกิดเอสเทอร์เนื่องมาจากยีสต์ที่อาจจะมาจากสาเหตุดังนี้

(1) เอสเทอร์ที่เกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่างกรดอะซิติกและแอลกอฮอล์ซึ่งจะเกิดขึ้นภายหลังของขบวนการหมัก

(2) เอสเทอร์ที่เกิดจากการทำงานของ enzyme-catalysed เกิด esterification ของกรดอะซิติกและแอลกอฮอล์ในอาหาร

(3) เอสเทอร์เกิดขึ้นภายในเซลล์ของยีสต์ แล้วขับออกมาสู่ภายนอกเอสเทอร์ที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ของยีสต์ อาจจะเกิดจากการทำงานของเอนไซม์ endoesterase

การเกิดเอสเทอร์นั้นมีความสัมพันธ์กับการเจริญเติบโตของยีสต์ เอสเทอร์จะเกิดขึ้นในปริมาณน้อย เมื่อเซลล์ของยีสต์ชงักการเจริญ สำหรับกลไกการเกิดเอสเทอร์นั้นมีดังนี้

ก. การกิดเอสเทอร์เนื่องมาจากกรด

(1) Direct esterification ดังสมการ

$$R - COOH + R'OH \rightarrow RCO\text{-}OR' + H_2O$$

(2) Ester formation โดยเกิด alcoholysis ของสารประกอบ acyl-CoA ดังสมการ

$$R - CONS\ CoA + R'OH \rightarrow RCOOR' + Co\tilde{}ASH$$

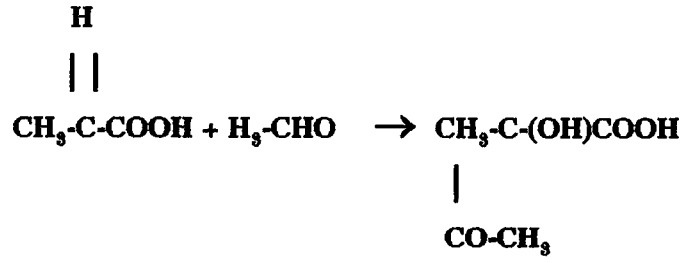
ข. การเกิดเอสเทอร์เนื่องจากแอลกอฮอล์และ fusel แอลกอฮอล์ที่เกิดขึ้นในระหว่างขบวนการหมัก fusel แอลกอฮอล์ที่เกิดขึ้นนั้นเป็นผลพลอยได้ของไนโตรเจนเมตาบอลิซึ่มของยีสต์ นอกจากนี้ fusel แอลกอฮอล์ยังอาจจะเกิดขึ้นโดยผ่านคาร์โบไฮเดรตเมตาบอลิซึ่มได้อีกด้วย

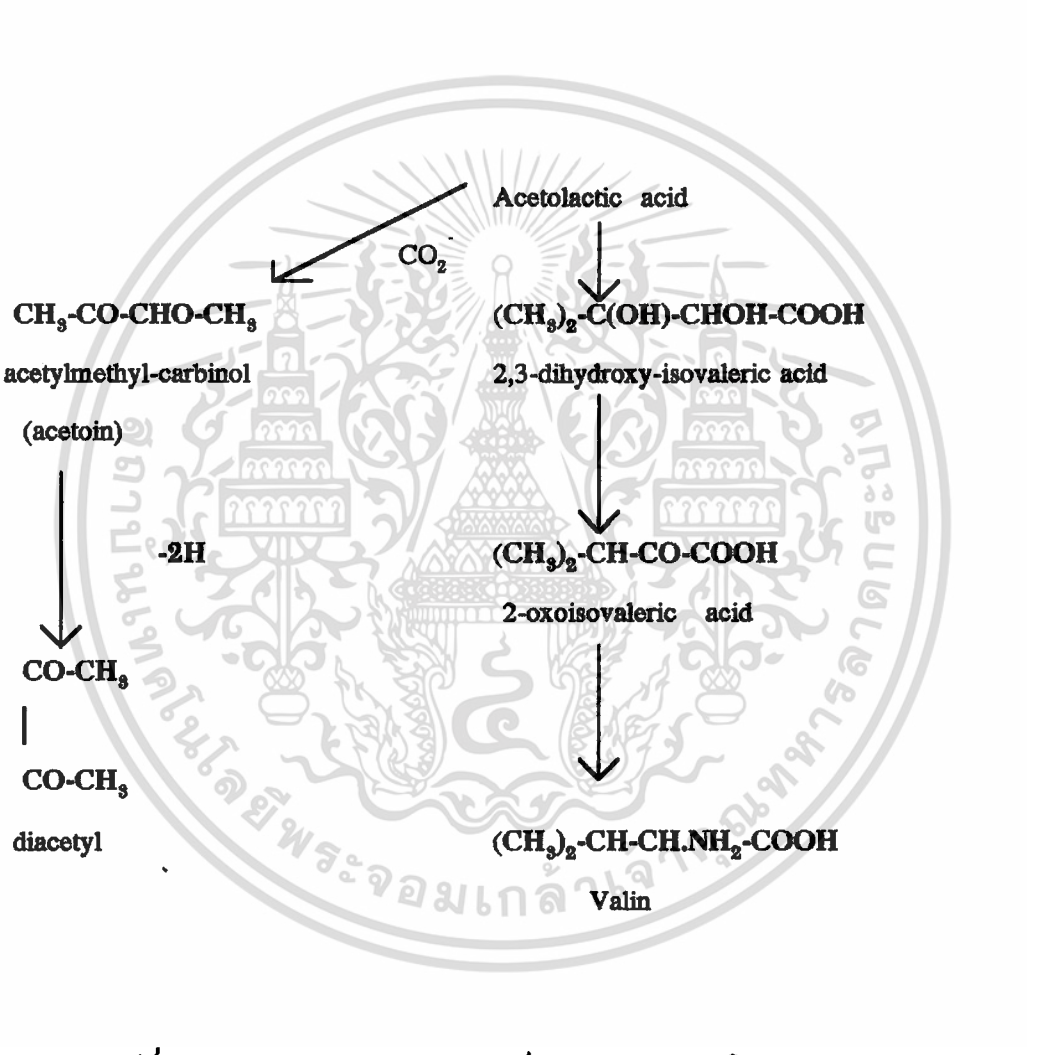
2.การเกิด diacetyl และ acetoin รสและกลิ่นที่อยู่ในเบียร์ นอกจากเกิดจากฮอพ เอสเทอร์และ fusel แอลกอฮอล์แล้ว dicetyl และ acetoin ก็เป็นสารที่ปนอยู่ในเบียร์ และอาจจะมีส่วนที่เกี่ยวกับรสขมกลิ่นของเบียร์ได้เช่นเดียวกัน

กลไกการเกิด dicetyl จากยีสต์นั้น acetoin และ dicetyl จะเกิดขึ้นจากผลพลอยได้ของการสังเคราะห์กรดอะมิโนValine ดัง pathwath ข้างล่างนี้ ถ้าไม่มีการสังเคราะห์ Valine ก็จะไม่มี dicetyl เกิดขึ้น

3.สารประกอบซัลเฟอร์ สารประกอบเหล่านี้ก็ทำให้เกิดรส-กลิ่น ในเบียร์เช่นเดียวกัน ได้แก่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้





รูปที่ 8 แสดงการสังเคราะห์ Valine และการเกิด diacetyl

ไฮโดรเจนซัลไฟด์ อาจจะได้จากซัลเฟตอิออนที่เติมลงไปเพื่อการเจริญของยีสต์ และอาจจะเกิดจากกรดอะมิโนที่มีซัลเฟอร์อยู่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Sulphydryl และ Mercaptans สารประกอบเหล่านี้จะเกิดขึ้นในระหว่างขบวนการหมักและการเก็บ และเกิดจาก S-amini acid หรือ โปรตีนซัลเฟอร์ไดออกไซด์ในเบียร์นั้น ส่วนใหญ่ก็จะเป็นส่วนที่เติมลงไปเพื่อให้เป็นสารป้องกันไม่ให้คุณภาพของเบียร์เสื่อมเสีย จึงมักจะใช้เบียร์ที่ไม่ได้ทำการฆ่าเชื้อโดยพาสเจอร์ไรส์ แต่ก็มีซัลเฟอร์ไดออกไซด์เกิดจากปฏิกิริยาทางชีวเคมีในระหว่างขบวนการหมัก

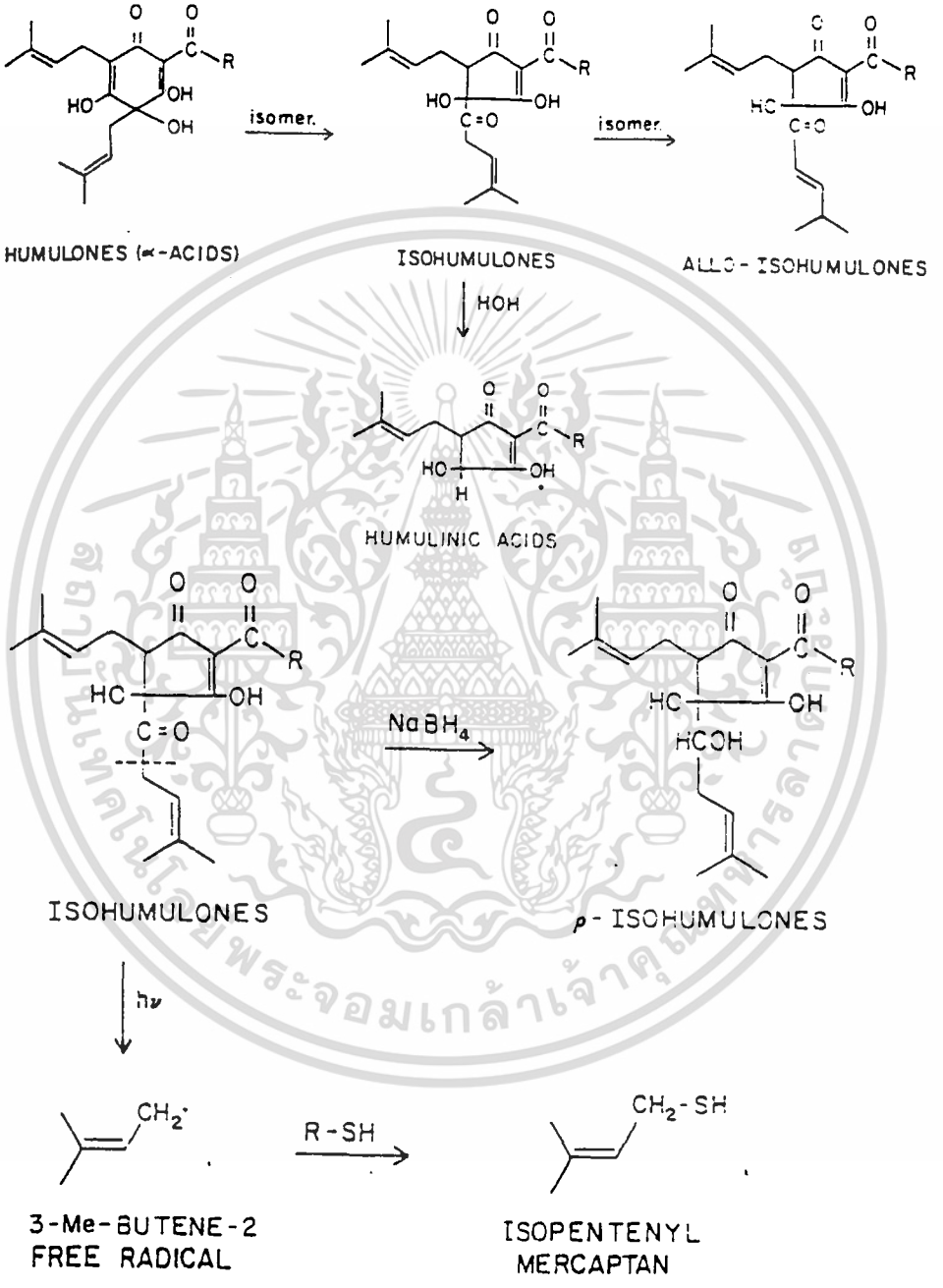
กลิ่นรสและสีที่เกิดจากการต้มเวิร์ต

การต้มเวิร์ตที่มีฮอปเป็นการฆ่าเชื้อและการทำลายเอนไซม์ อีกทั้งยังเป็นการสกัดเอาสารที่ละลายน้ำได้ออกจากฮอปซึ่งเป็นสารฆ่าเชื้อในเวิร์ตและเบียร์โดยเฉพาะแอลฟ่าเรซิน (alpha resins) ฮิวมิวโลน (humulone), โคฮิวมิวโลน (cohumulone), และแอดฮิวมิวโลน (adhumulone) ซึ่งมีผลยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวก นอกจากนี้ยังได้แก่ กรดไขมันที่จำเป็นและกรดขม (bitter acids) ที่ช่วยทำให้เบียร์มีกลิ่นรส การคงสภาพและการคงตัว (head retention) ดี ส่วนแทนนินที่ได้จากฮอปจะทำให้เบียร์มีกลิ่นรสไม่ดีและขุ่น จึงต้องพยายามเอาแทนนินออกจากเวิร์ตให้มากที่สุด

นอกจากนี้ การต้มเวิร์ตยังอาจจะทำให้เวิร์ตมีสีเข้มขึ้น อันเนื่องมาจากการเกิดปฏิกิริยาคาราเมลไลเซชั่นของน้ำตาลในเวิร์ต และหากต้องการผลิตเบียร์สีเข้ม ก็จะเติมน้ำตาลที่เคี่ยวไหม้จนเป็นคาราเมล (caramel) เข้าไปในเวิร์ต นอกจากนี้ในระหว่างการต้มจะเกิด เมลานอยดิน (melanoidins) และเกิดออกซิเดชั่นของแทนนิน และทำให้โปรตีน ไอออนของโลหะและสารอื่น ๆ รวมตัวกันตกตะกอนลงมา

นอกจากที่กล่าวมาแล้วนี้การต้มเวิร์ต ยังทำให้เวิร์ตมีอำนาจในการรีดิวส์สูงขึ้นอันเนื่องมาจากการเกิดรีดักโทนส์ (reductones) จากคาร์โบไฮเดรตและจากการระเหยไปของออกซิเจน นอกจากนี้ยังพบว่าระหว่างการต้มจะเกิดปฏิกิริยาไอโซเมอไรเซชันของฮิวมิวโลนเป็นไอโซ-ฮิวมิวโลนกับ แอลโล-ไอโซฮิวมิวโลน (allo-isohumulone) ไอโซฮิวมิวโลนบางส่วนจะถูกย่อยเป็นกรดฮิวมิวลินิก (humulinic acid) ที่ไม่มีรสขม (ดังรูปที่ 9.3) ในทำนองเดียวกันลูฟูโลน (lupulones) จะถูกไอโซเมอไรซ์ด้วยและในบางครั้งสารสกัดจากฮอปก็จะถูกไอโซเมอไรซ์เป็นไอโซฮิวมิวโลนเช่นกัน ซึ่งไอโซฮิวมิวโลนเมื่อถูกแสงแดดจะเกิดปฏิกิริยาโฟโตเคมีคัลเปลี่ยนเป็นไอโซเพนเทนิลเมอร์แคปแทน (isopentenyl mercaptan) ทำให้เบียร์ที่ถูกแสงแดดมีกลิ่นรสไม่ชวนดื่มจึงจำเป็นต้องบรรจุเบียร์ไว้ในขวดสีชาหรือสีอื่น ๆ ที่สามารถป้องกันแสงแดดได้ หรืออาจจะแก้ไขโดยการเติม โซเดียมโบโรไฮไดรด์ (sodium borohydride) ซึ่งจะไปรีดิวซ์ไอโซฮิวมิวโลนให้เปลี่ยนไปเป็น โร-ไอโซฮิวมิวโลน (ρ - isohumulone) ที่มีรสขมโดยไม่เกิดปฏิกิริยาโฟโตเคมีคัล ดังแสดงใน รูป 9

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 9 ปฏิกิริยาโฟโตเคมีคัลของ isohumulone และการรีดิวซ์โดย borohydride ที่มา Reed (ed.) 1982

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

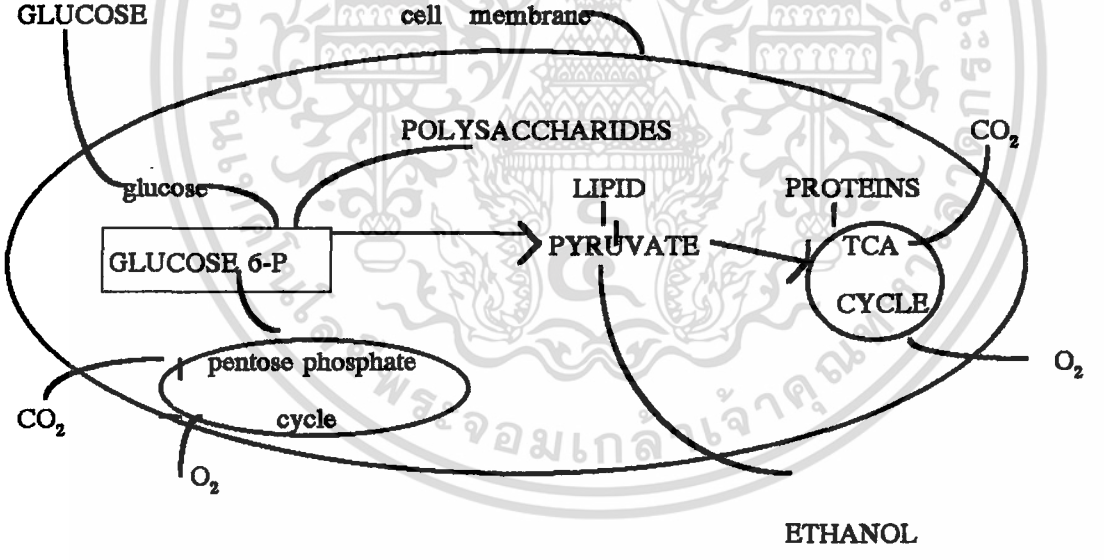
7.การใช้น้ำตาลในวอร์ทโดยยีสต์

น้ำตาลในวอร์ทส่วนใหญ่จะเป็น มอลโตส ซึ่งยีสต์จะนำไปใช้โดยกระบวนการ active transport โดยการนำน้ำตาลเข้าสู่เซลล์ดังนี้

1.maltose permease จะทำหน้าที่ในการส่งผ่านน้ำตาลมอลโตส ผ่านเซลเมมเบรน ไปยังไซโตพลาสซึม

2. maltase (α-glucosidase) จะย่อยน้ำตาลมอลโตสให้เป็นกลูโคส สองหน่วยซึ่งจะถูกนำไปใช้ในการ phosphorylation

หลังจากทีมอลโตสถูกเปลี่ยนเป็นกลูโคสแล้ว ยีสต์จะนำกลูโคสไปใช้ ในกระบวนการเมตาบอลิซึม ซึ่งภายใต้สภาวะที่เหมาะสม เช่น สายพันธุ์ของยีสต์ที่ใช้ อุณหภูมิของการหมัก ระดับของธัญพืชที่เติมลงไป ค่า pH ของวอร์ทและความถ่วงของวอร์ท จึงจะทำให้ได้ผลผลิตที่ต้องการ กระบวนการเมตาบอลิซึมที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ของยีสต์ได้แสดงดังรูป แสดงการใช้น้ำตาลกลูโคสโดยเซลล์ของยีสต์เชื้อ ดังแสดงในรูปที่ 10



รูปที่ 10 แสดงการใช้น้ำตาลกลูโคสโดยเซลล์ของยีสต์ (Stewart , 1987)

8.การ Pitching ในการหมักเบียร์

pitching หมายถึง การใส่เชื้อยีสต์ลงในวอร์ทเพื่อให้เกิดการหมักเบียร์ ในตอนแรกยีสต์จะใช้ออกซิเจนเพื่อการเจริญของเซลล์ และเมื่อน้ำตาลถูกใช้ไปเกือบหมดทำให้ปริมาณออกซิเจนในวอร์ทลดลง เปลี่ยนสภาพเป็นไม่มีออกซิเจน ยีสต์จะมีการแบ่งเซลล์เพื่อการเจริญน้อยลงและเกิดการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์และกาซคาร์บอนไดออกไซด์ นอกจากนี้ยังมีสารอื่นๆเกิดขึ้นในปริมาณเล็กน้อย ซึ่งสารเหล่านี้เป็นตัวให้กลิ่นรสกับเบียร์ ได้แก่ fusel alcohol (fusel oil) ซึ่งเป็นแอลกอฮอล์ที่ระเหยได้ช้ากว่าเอทานอล fusel oil จะประกอบด้วย isoamyl , active amyl alcohol , n-propanol และ isobutanol นอกจาก fusel oil แล้วก็มีสารอื่นๆอีก เช่น เอสเทอร์ สารประกอบซัลเฟอร์ และสารอินทรีย์ชนิดต่างๆ ในขั้นนี้ เบียร์ที่หมักได้จะเรียกว่า green beer ซึ่งต้องนำมาหมักในขั้นที่สอง การหมักในขั้นที่สองเรียกว่า lagering

เบียร์ที่หมักได้ในขั้นแรกจะถูกย้ายมาเก็บไว้ในห้องใต้ถุนเพื่อให้เบียร์มีอุณหภูมิต่ำลงเป็น 3-6 องศาเซลเซียส green beer ที่นำมาบ่มในถังหมักแบบปิด จะมีเซลล์ยีสต์ 6-10 ล้านเซลล์เหลืออยู่จากการหมักในขั้นแรก กระบวนการหมักในขั้นที่สองนี้เพื่อปรับปรุง green beer ให้มีรสชาติดีขึ้น ซึ่งการหมักในขั้นที่สองจะเป็นการลดปริมาณของสารที่ทำให้เกิดกลิ่นพวก diacetyl และ ไฮโดรเจนซัลไฟด์ เพื่อให้อยู่ในระดับที่พอเหมาะ ในเบียร์ทั่วไปปริมาณ diacetyl จะต้องลดลงจนต่ำกว่า 0.1 ppm เพื่อให้เบียร์ที่ได้มีรสชาติเป็นที่ยอมรับ ถ้าหาก diacetyl สูงกว่า 0.15 ppm จะทำให้เบียร์มีกลิ่นเนยค่อนข้างมาก ซึ่งยีสต์ที่มีการหมักในขั้นที่สองจะลดปริมาณ diacetyl โดยการนำไปใช้ สำหรับระดับไฮโดรเจนซัลไฟด์ในเบียร์จะต้องอยู่ในช่วง 5-10 ppb ไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่มีอยู่ในเบียร์จะค่อยๆระเหยไปพร้อมกับกาซคาร์บอนไดออกไซด์ในระหว่างการบ่มเบียร์

เบียร์ที่หมักในขั้นที่สองจะมีกาซคาร์บอนไดออกไซด์เพิ่มขึ้น จาก 1.5 ปริมาตรเป็น 2.8 ปริมาตร กาซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นจะมีลักษณะเป็นฟองเล็กๆผุดขึ้นมาที่ผิวหน้าของเบียร์ มีลักษณะเป็นชั้นครีมสีขาวที่เรียกว่า krausen ระยะเวลาที่ใช้ในการหมักเบียร์ขั้นที่สองนี้ใช้เวลา 3-4 สัปดาห์ จะทำให้เบียร์มีรสชาติดีขึ้น แต่การหมักในขั้นที่สองจะเสียค่าใช้จ่ายสูง ดังนั้น โรงงานเบียร์ส่วนใหญ่จึงใช้วิธีการเติมกาซคาร์บอนไดออกไซด์ลงไปแทนการหมักเพื่อให้เกิดกาซ กาซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เติมลงไปในครั้งนี้ ได้จากการกักกาซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ได้จากการหมักในครั้งแรก การเติมกาซคาร์บอนไดออกไซด์บริสุทธิลงไปในเบียร์ที่ผ่านการกรองแล้ว

ในกรณีการหมักแบบ bottom fermentation นั้น การหมักในขั้นที่สองจะทำที่อุณหภูมิประมาณ 8-10 องศาเซลเซียส เมื่อการหมักขั้นที่สองสิ้นสุดลง จะนำเบียร์มาทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส และทิ้งไว้เป็นระยะเวลาหนึ่ง เพื่อให้ยีสต์และสารประกอบโปรตีน หรือ แทนนินเกาะกันเป็นก้อนและตกตะกอน การนำมาทำให้เย็นนี้จะช่วยกำจัดสารที่ทำให้เบียร์ขุ่น (haze) ให้หมดไป และทำให้เบียร์มีความคงตัวมากขึ้น

ในระหว่างการปรับปรุงคุณภาพของเบียร์นี้จะมีการเติมสารป้องกันความเย็น เช่น papain ลงไปด้วยเพื่อช่วยให้เบียร์มีความคงตัวและป้องกันไม่ให้เบียร์ขุ่นในระหว่างแช่เย็นด้วย เบียร์ที่ขุ่นส่วนใหญ่เกิดจากการรวมตัวกันของสารประกอบระหว่างโปรตีนและพอลินอล(polynol) จึงสามารถกำจัดพอลินอลให้ลดน้อยลงได้ด้วยการใช้ลูกปัด polyvinylpyrrolidone (pvp) หรือ ไนลอน 66 เป็นตัวดูดซึมพอลิฟีนอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลิตภัณฑ์เบียร์ที่ผลิตได้จะนำมากรองเพื่อให้ได้ลักษณะใสสะอาด และย้ายมาบรรจุในถังใหม่ เพื่อเตรียมบรรจุในภาชนะอื่นๆและจัดจำหน่ายต่อไป แผนผังการผลิตเบียร์ได้แสดงไว้ดังรูปแสดงแผนผังการผลิตเบียร์ ซึ่งเบียร์ที่บรรจุขวดหรือกระป๋องเรียบร้อยแล้วจะนำมาฆ่าเชื้อแบบ ปาสเตอร์ โดยใช้อุณหภูมิประมาณ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 20 นาที หลังจากนั้นก็ทิ้งไว้อีกประมาณ 10 นาที แล้วจึงนำมาทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิประมาณ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งจะใช้เวลาประมาณ 20 นาที ดังนั้น เวลา ที่ใช้ในการฆ่าเชื้อทั้งหมดจะใช้เวลาเกือบ หนึ่งชั่วโมง

9.จุลชีววิทยาในการหมักเบียร์

ในระหว่างการหมักเบียร์ *S. uvarum* จะเปลี่ยนน้ำตาลในเวิร์ตให้เป็นแอลกอฮอล์กับแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ และเปลี่ยนโปรตีนและอนุพันธ์ของไขมันให้เป็นแอลกอฮอล์ชั้นสูงกับกรดจำนวนเล็กน้อย กรดอินทรีย์จะรวมตัวกับแอลกอฮอล์เกิดเป็นอะโรมาทิกเอสเทอร์(aromatic esters) ที่ให้กลิ่นรสแก่เบียร์ ส่วนแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดจะทำให้เกิดฟอง ยิ่งเกิดแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์มากก็ยิ่งมีฟองมาก แต่ปริมาณของคาร์บอนไดออกไซด์จะค่อยๆลดลงจนไม่มี เมื่อการหมักสิ้นสุดลง ในที่สุดยีสต์จะแตกตัวตาย รวมตัวกันเกิดเป็นก้อนตกตะกอนอยู่ก้นถังหมักอย่างไรก็ตามระหว่างการหมักต้องไม่มีแบคทีเรียปนเปื้อน

ในที่สุดจะเห็นได้ว่าสิ่งสำคัญหลักในการหมักเบียร์ คือ เวิร์ต และยีสต์ จึงจะแยกกล่าวอย่างละเอียดดังต่อไปนี้

เวิร์ต

เวิร์ตเป็นอาหารที่สำคัญของยีสต์ที่ใช้ทำเบียร์ และเป็นตัวที่ทำให้ได้เบียร์ที่ได้คุณภาพดี โดยเวิร์ตมีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นคาร์โบไฮเดรต และส่วนน้อยเป็นสารประกอบไนโตรเจน พอลิฟีนอล สารประกอบต่างของฮอป ไขมัน วิตามิน ออกซิเจน ฯลฯ

คาร์โบไฮเดรต

คาร์โบไฮเดรตในเวิร์ตเป็นอาหารที่สำคัญต่อการเจริญและแมแทบอลิซึมใน brewers' yeast คาร์โบไฮเดรตที่ยีสต์สามารถย่อยได้ ได้แก่ มอลโทส มอลโทไทรโอส กลูโคส ฟรุคโทส และซูโครส โดยฟรุคโทสและซูโครสได้จากมอลต์ ส่วนกลูโคส มอลโทส และมอลโทไทรโอสเกิดระหว่างการคลุกเคล้าแมช หรือจากไซรัปที่เติมเข้าไปเป็นวัตถุดิบ โดยมอลโทสเป็นคาร์โบไฮเดรตที่มีอยู่มากที่สุด การใช้คาร์โบไฮเดรตขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของ brewers' yeast แต่ทุกสายพันธุ์สามารถใช้มอลโทส กลูโคส ฟรุคโทส ซูโครส และกาแลกโทสได้ ส่วนคาร์โบไฮเดรตที่ใช้ในการย่อยไม่ได้จะยังคงเหลืออยู่ในถังหมัก ช่วยให้ความหวานแก่เบียร์ นอกจากนี้เดกซ์ทริน เปปไทด์หรือโปรตีนจะทำให้เบียร์มีความหนืดคงรูปอยู่ได้ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารประกอบไนโตรเจนมีเพียง 3-6 เปอร์เซ็นต์ของของแข็งทั้งหมดในเวิร์ต ได้แก่ กรดอะมิโนอิสระ เปปไทด์ โปรตีน และอนุพันธ์กรดนิวคลีอิก โดยกรดอะมิโนอิสระเป็นแหล่งไนโตรเจนที่สำคัญของยีสต์และให้กลิ่นรสแก่เบียร์ ส่วนเปปไทด์และโปรตีนเมื่อรวมกันคิดเป็น 50% ของเวิร์ตนั้น โปรตีนส่วนที่เป็นกรดเมื่อรวมกับแทนนินจะเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่ทำให้เบียร์มีกลิ่นรสไม่ดี ในขณะที่ไกลโคโปรตีนส่วนที่เป็นกลางเมื่อรวมกับสารประกอบของฮอปเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่ช่วยให้ฟองอยู่ตัว และ brewers' yeast สามารถใช้เปปไทด์บางตัว ส่วนกรดนิวคลีอิกในมอลต์จะถูกย่อยในระหว่างการดลุกเคล้าแมชเป็นนิวคลีโอไทด์ (nucleotide) นิวคลีโอไซด์ (nucleoside) พิวรีน (purines) และพิริมิดีน (pyrimidines) เฉพาะเบสอิสระเท่านั้นที่ brewers' yeast สามารถใช้ได้ในระหว่างการหมัก และถึงแม้ปริมาณของนิวคลีโอไทด์จะมีอยู่น้อยก็มีผลต่อกลิ่นรสของเบียร์

นอกจากนี้ปฏิกิริยาบราวนิ่ง (browning reaction) ที่เกิดระหว่างกรดอะมิโนกับน้ำตาลชนิดรีดิวซิ่ง (reducing sugars) เช่น กลูโคส ฟรุคโทสและมอลโทส เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของเมลานอยดิน (melanoidins) ซึ่งให้สีและรสหอมหวานแก่เบียร์ ในขณะที่เอมีนทุติยภูมิ (secondary amines) ทำปฏิกิริยากับมอลโทส ให้สารประกอบที่มีกลิ่นรสของน้ำตาลไหม้ (caramel flavor) เช่น maltol [3-hydroxy-2-methyl-4h-pyran-4-one], isomalto[1-(3-hxdroxy-2-furanyl)-ethanone] หรืออนุพันธ์ของสารเหล่านี้ นอกจากนี้เอมีนทุติยภูมิยังทำปฏิกิริยากับเฮกโซส (hexoses) ให้อะมิโนเฮกโซสรีดักโทน (aminohexose reductones) ซึ่งเป็นตัวรีดิวซ์ที่ไวต่อการรวมตัวกับออกซิเจน และทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนให้สารสีน้ำตาล

อนินทรีย์ไอออน

อนินทรีย์ไอออนที่สำคัญในเวิร์ต ได้แก่ แคลเซียมไอออน โซเดียมไอออน คลอไรด์ไอออน ซัลเฟตไอออนที่มักมาจากน้ำที่ใช้ในการผลิตเบียร์ พบว่าแคลเซียมไอออนจำเป็นต่อการรวมตัวและตกตะกอน (flocculation) ของ brewers' yeast ส่วนแมกนีเซียมไอออน แมงกานีสไอออน สังกะสี เหล็ก ทองแดง เป็นปัจจัยร่วม (cofactors) ที่จำเป็นของเอนไซม์ไคเนส (enzyme kinases), ดีไฮโดรจีเนส (dehydrogenases), ไบโอตินคัพเพิลคาร์บอกซีเลส (biotin - couplecarboxylases) ฮีโมโปรตีน (hemoprotein) และเมทัลโลโปรตีน (metalloproteins) ตามลำดับ ในขณะที่สังกะสี เหล็ก และทองแดงจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของ brewers' yeast

วิตามิน

ที่พบมากที่ในเวิร์ต ได้แก่ วิตามินบีคอมเพล็กซ์ ซึ่งมีทั้งไทอามีน (thiamin), ไรโบเฟลวิน (riboflavin), ไนอะซิน (niacin), แพนโททีเนต (pantothenate), ไบโอทิน (biotin), ไพริดอกซิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(pyridoxine), มิโซ-อิโนสิทอล (meso-inositol), และพารา-อะมิโนเบนโซเอต (p-aminobenzoate) ในปริมาณที่มากเกินพอสำหรับการเจริญของ brewers' yeast

พอลิฟีนอล

มาจากมอลต์และฮอป อาจเรียกว่า เวิร์ตแทนนิน ตรวจพบพอลิฟีนอลหลายชนิดในเวิร์ตและเบียร์ ซึ่งทำให้เบียร์ที่ได้มีคุณภาพไม่ดี เช่น พอลิฟีนอลบางชนิดทำให้เบียร์ขุ่นและมีรสฝาด แต่บางชนิดช่วยชลอการเสียของเบียร์โดยช่วยจับ (scavenging) อนุมูลอิสระ (free radicals) หรือออกซิเจน

สารประกอบของฮอป

เป็นพอลิฟีนอลพบเป็นปริมาณต่ำในเวิร์ตและเบียร์ทำปฏิกิริยากับโปรตีนและสารประกอบไนโตรเจนของเวิร์ต นอกจากนี้ยังพอลิเมอไรซ์ร่วม (copolymerize) กับพอลิฟีนอลอื่น

ไขมัน

ไขมันส่วนใหญ่ในเวิร์ตมาจากมอลต์ แต่อาจมีบ้างที่มาจากฮอป ที่สำคัญได้แก่ กรดไขมันอิสระ ไตรกลีเซอรอล (triglycerides), สเตรอล (sterols), และฟอสโฟลิปิด (phospholipids) ไขมันมีความสำคัญต่อการดงกลิ่นรสของเบียร์ การคงอยู่ของเซลล์ยีสต์ การเกิดเอสเทอร์ การพุ่งของเบียร์ การคงตัวของฟอง และการเกิดกลิ่นรสไม่ดี นอกจากนี้จำเป็นต้องมีเออร์โกสเตรอล (ergosterol) หรือไขมันไม่อิ่มตัวสำหรับการแตกหน่อและการคงอยู่ของเซลล์ ส่วนกรดไขมันไม่อิ่มตัวจะทำให้เบียร์ไม่พุ่งขึ้น ตรงกันข้ามกรดไขมันอิ่มตัวจะช่วยให้เบียร์พุ่งขึ้นดี นอกจากนี้ยังพบว่าไตรกลีเซอไรด์ในเวิร์ตจะทำให้เบียร์ไม่เกิดฟอง และพบว่าอัลดีไฮด์ไม่อิ่มตัวที่เกิดจากการออกซิเดชั่นของกรดลิโนลีอิกทำให้เบียร์ที่เก็บไว้นานหรือเก็บที่อุณหภูมิสูงมีกลิ่นรสไม่ดี

ออกซิเจน

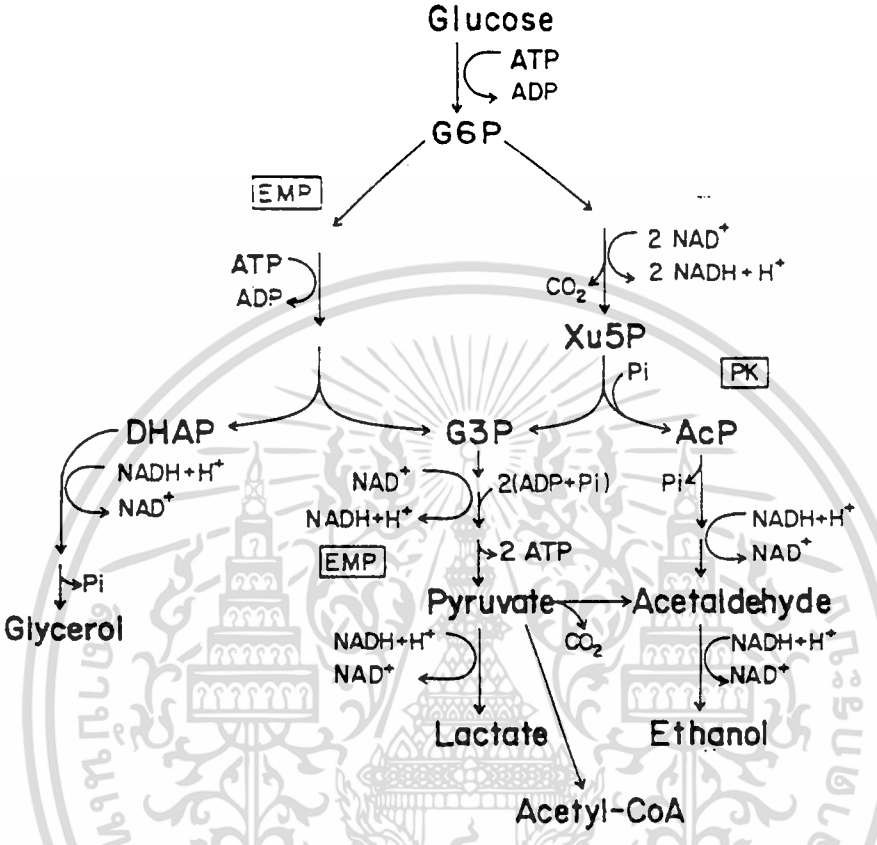
ออกซิเจนสำคัญมากต่อการเจริญและการหมักเบียร์ของ brewers' yeast ซึ่งในการต้มเวิร์ตจะทำให้ออกซิเจนออกไปจากถังหมักจึงต้องมีการให้ออกซิเจนโดยการคนปั่น หรือโดยการเติมอากาศที่ปลอดเชื้อเข้าไปในเวิร์ต

ยีสต์

คาร์โบไฮเดรต ในระหว่างการหมักเบียร์ *S. uvarum* จะใช้น้ำตาลเป็นแหล่งของพลังงานตามวิถีไกลโคลิซิส (Embden-Meyerhof pathway,EMP)โดยใช้ 2 ATPs ในการใช้กลูโคส 1 โมเลกุลและสร้าง 4 ATPs จึงมี 2 ATPsที่จะใช้เป็นแหล่งพลังงาน ถ้าเป็นน้ำตาลชนิดอื่น เช่น มอลโทส มอลโทไทรโอส กาแลคโทส จะต้องเปลี่ยนเป็นกลูโคสก่อนจะเข้าสู่วิถีไกลโคลิซิส และเนื่องจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

brewers' yeast ไม่ผลิตไพรูเวตจึงดีคาร์บอกซิเลต (decarboxylate) เปลี่ยนไพรูเวต เป็นอะเซทัลดีไฮด์ ซึ่งจะถูกรีดิวซ์ต่อให้เป็นแอลกอฮอล์ ดังแสดงในรูปที่ 11



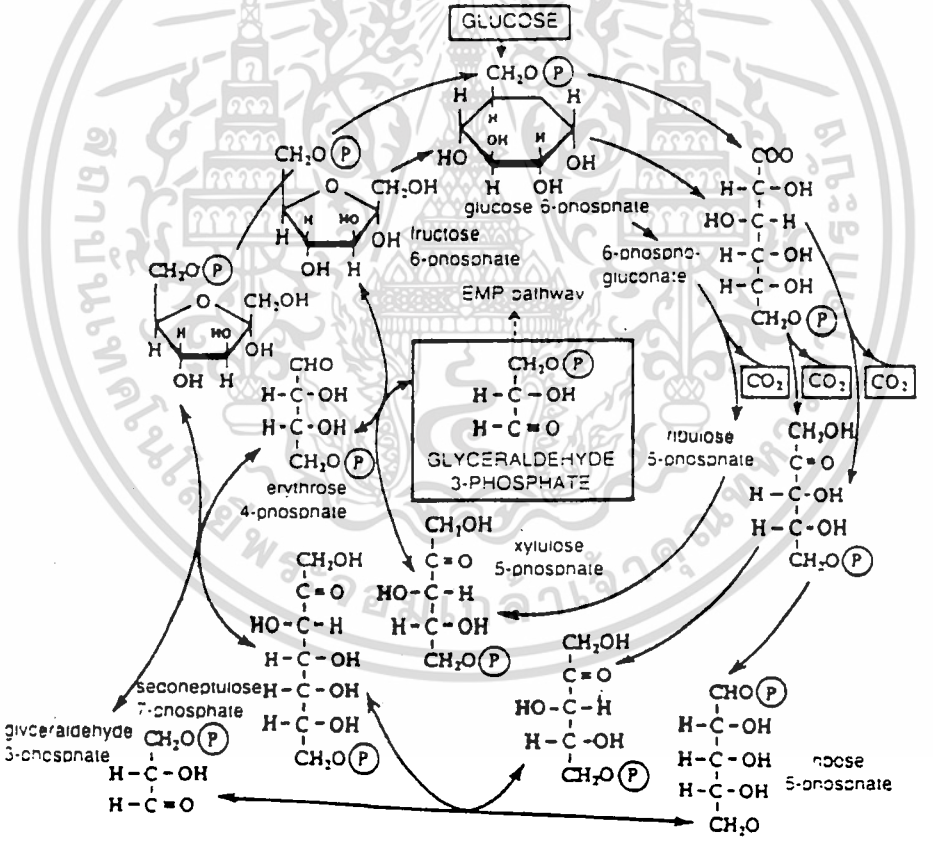
รูปที่ 11 แนวทางการเปลี่ยนคาร์โบไฮเดรตในการผลิตเบียร์

ที่มา Reed (ed.) 1982

ในระหว่างการหมัก หากมีแบคทีเรียปนเปื้อนโดยเฉพาะแลคติกแอซิดแบคทีเรียชนิดโฮโมเฟอร์เมนเททีฟ ก็จะเปลี่ยนกลูโคสในเวิร์ทเป็นกรดแลคติก โดยเปลี่ยนกลูโคสเป็นไพรูเวท ตามวิถีไกลโคไลซิสจนได้ไพรูเวทซึ่งจะถูกรีดิวซ์ต่อเป็นกรดแลคติก ทำให้เบียร์เสียแบบมีรสเปรี้ยวและมีกลิ่นไม่ดี ตรงกันข้าม หากมีแบคทีเรียปนเปื้อนเป็นเฮเทอโรเฟอเมนเททีฟ ภายหลังการหมักน้ำตาลในเวิร์ทจะได้แอลกอฮอล์และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์โดยผ่านวิถีฟอสโฟคีโตเลส (phosphoketolase(PK) pathway) โดยช่วงแรกของ PK pathway กลูโคส-6-ฟอสเฟต (glucose-6-phosephate) จะเปลี่ยนเป็นไซลูโลส-5-ฟอสเฟต (xylulose-5-phosphate) ซึ่งจะถูกฟอสโฟไรเลตได้เป็นกลีเซอรัลดีไฮด์-3-ฟอสเฟต (glyceraldehyde-3-phosphate) ที่จะถูกรีดิวซ์เป็นอะเซทัลดีไฮด์และเอทานอลในที่สุด คล้ายกับส่วนแรกของ phosphogluconate pathway หรือที่เรียกว่า pentose phosphate pathway หรือ hexose monophosphate shunt (HMS) แต่ใช้ไดเอนไซม์ $NADP^+$ แทน NAD^+ ดังแสดงในรูปที่ 12 ซึ่งใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การใช้กลูโคส 1 โมเลกุลผ่าน HMS pathway ในสภาพที่มีออกซิเจนจะได้พลังงานถึง 35 ATP แต่จะได้เพียง 1 ATP หากเป็นสภาพที่ไม่มีออกซิเจน การหมักเบียร์เป็นสภาพที่ไม่มีออกซิเจน การใช้กลูโคสผ่าน HMS pathway ของ brewer's yeast จึงไม่ได้มุ่งเพื่อเป็นแหล่งของพลังงาน แต่มุ่งเพื่อใช้เป็นแหล่งของเพนโทส(pentoses) ในการสร้างอาร์เอ็นเอ (RNA) และดีเอ็นเอ (DNA) ของ brewer's yeast เพราะยีสต์ไม่สามารถใช้เพนโทสจากแหล่งภายนอกได้ และใช้เป็นแหล่งของตัวรีดิวซ์ (NADPH) ที่จำเป็นต่อการสร้างสเตอรอล และกรดไขมันต่าง ๆ อย่างไรก็ตาม brewer's yeast ใช้น้ำตาลกลูโคสตามวิถี HMS ในปริมาณที่น้อยกว่า 20 เปอร์เซนต์



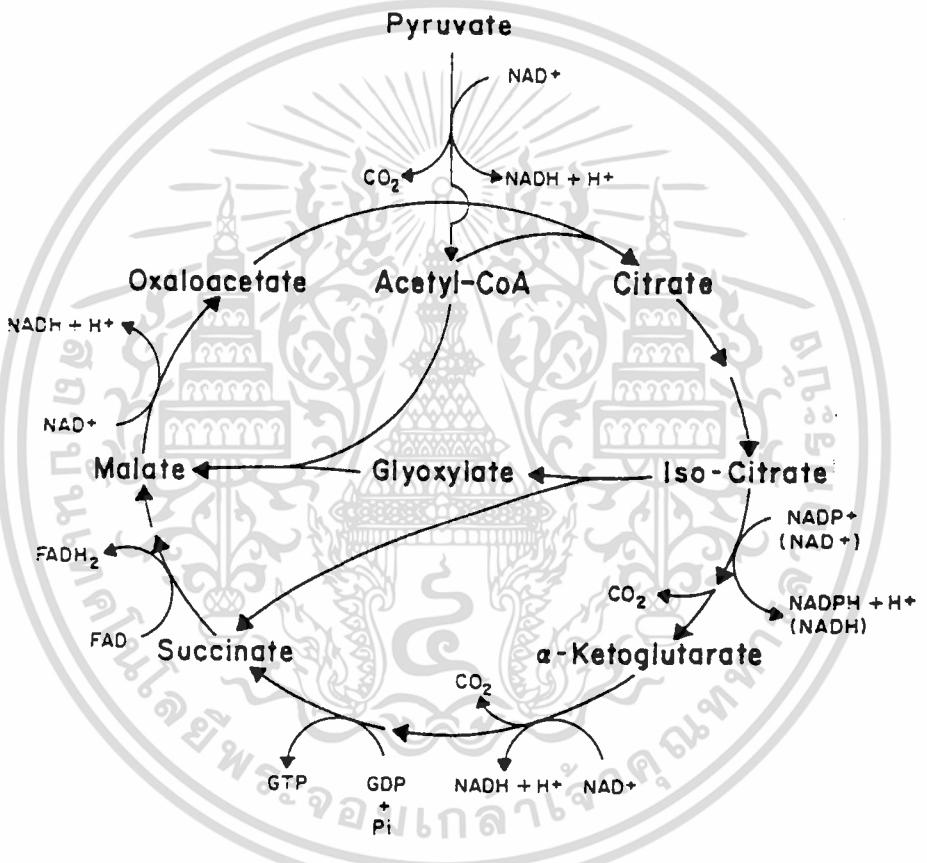
รูปที่ 12 **Hexose monophosephase shunt**

ที่มา: Read (ed.) (1982)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไพรูเวตเป็นสารประกอบหลักที่สำคัญที่จะเปลี่ยนเป็นเมทาโบไลต์ (metabolites) ต่าง ๆ มากมาย เช่น เปลี่ยนเป็นอะเซทิลโคเอ (acetyl CoA) ที่เมื่อเข้าสู่วัฏจักรไทรคาร์บอกซาลิก (tricarbozylic acid, TCA) และวัฏจักรไกลออกซิเลต (glyoxylate cycle) จะเกิดเป็นเมทาโบไลต์ต่าง ๆ เพื่อใช้ในการสร้างไขมัน นอกจากนี้ S.uvarum จะใช้สารตัวกลางของวัฏจักรไทรคาร์บอกซาลิก (TCA cycle intermedietes) เพื่อเป็นพรีเคอร์เซอร์ (precursors) ในเมตาโบลิซึมต่าง ๆ และในการย่อยกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อเมทาบอลิซึมของยีสต์ และกลิ่นรสที่ดีของเบียร์ สารตัวกลางของวัฏจักรไทรคาร์บอกซาลิกจะถูกนำไปใช้ในแง่แอนาบอลิซึม(anabolism) ซึ่งจำเป็นต้องมีวัฏจักรไกลออกซิเลต ที่เกิดจากการย่อยกรดอะมิโนต่าง ๆ ดังแสดงในรูปที่ 13 และ 14 และจาก noncyclic pathway อื่น ๆ โดยไม่ได้ใช้วัฏจักรไทรคาร์บอกซาลิก เพื่อเป็นแหล่งของพลังงานเหมือนดังกรณีทั่วไป เนื่องจากสภาพที่ไม่มีอากาศของการหมักเบียร์ ทำให้ไม่เกิดระบบการถ่ายทอดอิเล็กตรอน (electron transport chain) และออกซิเดทีฟฟอสฟอรีเลชัน (oxydative phosphorylation) ที่จำเป็นในการสร้างพลังงาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

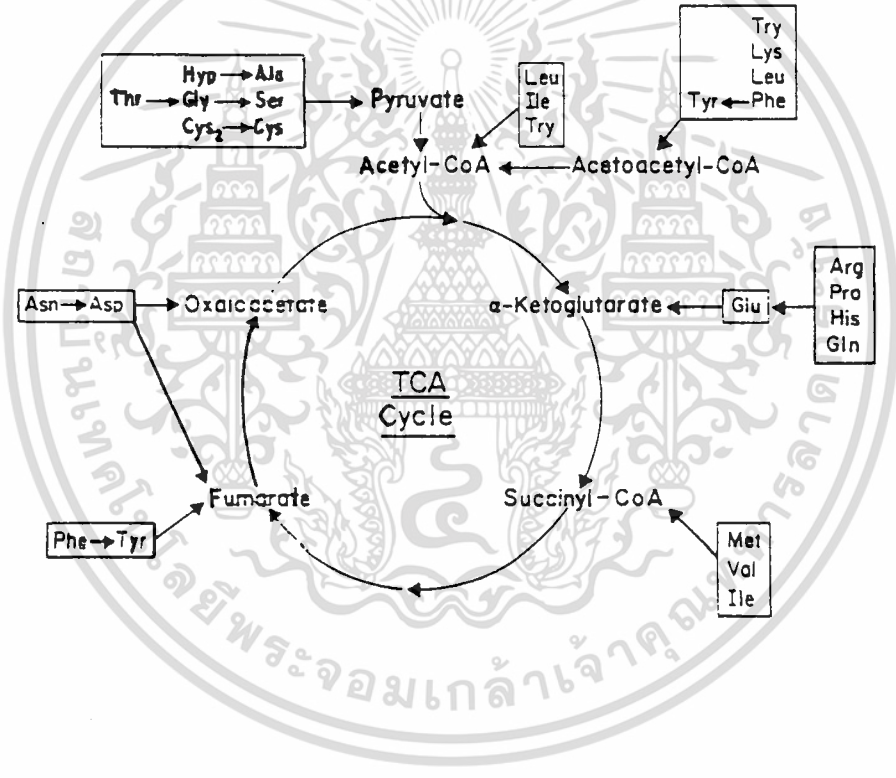


NADP+ and NADPH = Oxidized and reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate.
GDP and GTP = Guanosine diphosphate and triphosphate.
FAD and $FADH_2$ = Oxidized and reduced flavin adenine dinucleotide.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 13 Tricarboxylic acid และ glyoxylate

ที่มา: Reda (ed.) (1982)



รูปที่ 14 **Catabolism ของกรดอะมิโนที่เกี่ยวข้องกับ carbohydrate metabolism**

ที่มา: Reda (ed.) (1982)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรดอะมิโนและอื่น ๆ เมแทบอลิซึมของกรดอะมิโนที่สำคัญ และเกี่ยวข้องกับการหมัก คือ แทรนส์แอมิเนชัน (transamination) ที่เป็นปฏิกิริยาที่หมู่อะมิโน (amino group) ของแอลฟาอะมิโนแอซิด(∝-amino acid) ถูกเปลี่ยนไปอยู่ที่หมู่แอลฟาคีโทแอซิด (∝-keto-acid) โดยมีเอนไซม์แทรนส์แอมิเนสช่วย ซึ่งแทรนส์แอมิเนสส่วนใหญ่มีแอลฟาคีโทกลูทาเรต (∝-ketoglutarate) เป็นตัวรับหมู่อะมิโน (aminogroup acceptors) ซึ่งปกติ 4-carbon และ 5-carbon intermediates ของวัฏจักรไทรคาร์บอกซิลิก ได้เพิ่มการย่อยกรดอะมิโน (ดังแสดงในรูปที่ 14) ซึ่งในการหมักจะมีการย่อยของกรดอะมิโนเกิดขึ้นพร้อม ๆ กับการสร้างกรดอะมิโน เพียงเกิดขึ้นในคนละส่วนของเซลล์ และยังมีการเปลี่ยนแปลงกลับไปมา ทำให้ brewer's yeast ไม่ขาดกรดอะมิโนจำเป็น

กรดอะมิโนที่สร้างขึ้นในระหว่างการหมักเบียร์มาจากสารตัวกลางของวัฏจักร EMP และ TCA (EMP and TCA cycle intermediates) โดยมีปฏิกิริยาต่าง ๆ เกิดขึ้นรวมทั้งแทรนส์แอมิเนชัน กล่าวคือ แอลฟาคีโตแอซิดที่เกิดระหว่างเมแทบอลิซึมของกรดอะมิโน กับของคาร์โบไฮเดรตจะถูกดีคาร์บอกซิเลตเป็นแอลดีไฮด์ (รูปที่ 15) และรีดิวซ์เป็นแอลกอฮอล์ที่เรียกว่าฟิวเซลแอลกอฮอล์ (fusel alcohols) ปนอยู่ในเบียร์ซึ่งได้แก่บิวทานอล (butanol) โพรพานอล (propanol) 2-เมทิลบิวทานอล (2-metylbutanol) เอมิลแอลกอฮอล์(amyl alcohol) ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ (iso-amyl alcohol) และเบตา -ฟีนิลเอทานอล (β-phynylethanol) นอกจากนี้สารประกอบอื่นที่เกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึมของกรดอะมิโน ได้แก่ ไดอะเซทิล (diacetyl) หรือ 2,3-บิวเทนไดโอล (2,3-butanedione), 2,3-เพนเทนไดโอน (2,3-pentanedione) และวิซิแนลไดคีโตน (vicinal diketones) ซึ่งเกิดจากการย่อยสลายโดยไม่ใช้เอนไซม์ของแอลฟาอะซิโตแอลฟาไฮดรอกซีแอซิด (α-aceto-α-hydroxy acid) โดยแอลฟาแอซิโทแลกเทต (α-Acetolactate) เป็นไดอะเซทิลและแอลฟา - แอซิโท - แอลฟา - ไฮดรอกซีบิวไทเรต (α-aceto-α-hydroxybutyrate)เป็น 2,3 เพนเทนไดโอน (ดังรูปที่ 15)แต่ไดอะเซทิล (diacetyl) ที่เกิดจาก brewer's yeast อาจเกิดการรวมตัวโดยตรงของอะเซทัลดีไฮด์ เช่น 2-แอลฟาไฮดรอกซีเอทิลไทอามีนไพโรฟอสเฟต (2-[α-hydroxyethyl]thiamine pyrophosphate) ซึ่งในระหว่างการหมักเบียร์ Brewer's yeast จะปล่อยอะซีตอย ไดอะเซทิล และ 2,3-เพนเทนไดโอนออกมาซึ่งเป็นสารให้กลิ่นรสที่สำคัญในเบียร์ โดยเบียร์ที่มีกลิ่นรสดีควรมีสารเหล่านี้ในสัดส่วน 150:3:1 ตามลำดับ

แต่ในทางตรงกันข้ามแทนที่จะเกิดแอลกอฮอล์ แอลฟาคีโตแอซิดอาจเกิดการดีคาร์บอกซีเลชั่นเป็นแอลดีไฮด์และออกซิไดส์ต่อเป็นกรดไขมันแทนการรีดิวซ์ต่อเป็นแอลกอฮอล์ ซึ่งกรดอะซีติกและกรดอินทรีย์ต่าง ๆ ที่พบในเบียร์ก็เกิดขึ้นโดยวิธีนี้จากอะเซตัลดีไฮด์ สำหรับกรดไขมันที่มีอะตอมของคาร์บอนมากกว่า 12 จะเกิดจากอะซิติลโคเอ (acetyl CoA) (ดังแสดงในรูป 11) เช่น กรดมัลพิติก (plamitic acid) ได้จากอซิติลโคเอโดยมีเอ็นไซม์แฟตตีแอซิดซินเทเทสคอมเพล็กซ์ (fatty acids synthetase complex) ช่วยในการเร่งปฏิกริยา ซึ่งกรดพัลมิติกเป็นพรีเดอร์เซอร์ของกรดไขมันต่าง ๆ ทั้งที่เป็นกรดไขมันอิ่มตัวและกรดไขมันไม่อิ่มตัว ในขณะที่กรดสเตียริก (stearic acid) สามารถสร้างจากกรดพัลมิติกและสามารถทำให้เป็นกรดโอลิอิก (oleic) ซึ่งการเกิดกรดไขมันชนิดโมโนอีโนอิก

(monoenoic fatty acids) ต่าง ๆ ของ brewer's yeasts นั้นต้องใช้ออกซิเจน นอกจากนี้brewer's yeasts ยังสามารถสร้างสเตรอลได้ในสภาพที่มีออกซิเจนและยีสต์ยังมีวิถีการเปลี่ยนแปลงในสภาพที่ไม่มีออกซิเจน (anaerobic pathway) อื่น ๆ ช่วยในการสร้างกรดไขมันไม่อิ่มตัวต่าง ๆ

10.การเสื่อมเสียของเบียร์

จุลินทรีย์หลายชนิด สามารถปนเปื้อนมากับวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตเบียร์ ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้ทำให้เบียร์ เกิดการเสื่อมเสียได้ ถ้าหากไม่มีการควบคุมคุณภาพของวัตถุดิบที่ใช้ ในแต่ละขั้นตอนการผลิตเบียร์อาจเกิดการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ต่างกัน เช่น

1.เชื้อรา มักปนเปื้อนมากับมอลต์เป็นจุลินทรีย์ที่สำคัญที่สุดในข้าวมอลต์ เนื่องจากสาเหตุ คือ 1.1 ข้าวบาร์เลย์ที่มีเชื้อราขึ้น เมื่อนำมาใช้ผลิตเบียร์ที่ผลิตได้มีกลิ่นเหม็น เนื่องจากสารต่างๆ ที่เชื้อราสร้างขึ้น ในระหว่างการเจริญดังนั้น ผู้ผลิตมักจะไม่นำข้างบาร์เลย์ที่มีเชื้อรามาใช้ในการผลิตเบียร์

1.2 ข้าวบาร์เลย์ที่มีเชื้อราขึ้น อาจมีสารพิษที่สร้างขึ้นโดยเชื้อราปนมาด้วย แต่จากผลการทดลองนำข้างบาร์เลย์ที่มีสารพิษจากเชื้อรามาใช้ผลิตเบียร์ พบว่า สารพิษจะถูกทำลาย หรือ กำจัดไปในระหว่างกระบวนการการหมัก มากกว่า 98 เปอร์เซนต์ สารพิษที่ใช้ในการทดลอง คือ ochratoxin ที่ผลิตจากเชื้อรา Aspergillus ocsraceus

1.3 เชื้อราที่เจริญบนข้าวบาร์เลย์ก่อนการเก็บเกี่ยว ระหว่างการเก็บหรือระหว่างการทำมอลต์ จะมีผลทำให้เบียร์ที่บรรจุขวดหรือกระป๋องมีฟองมากเกินไป เมื่อเปิดฝาขวดหรือกระป๋องเบียร์จะทำให้เบียร์ไหลพุ่งออกมา เชื้อราที่มีผลกับเบียร์ได้แก่ Fusarium,Rhizopus , Stemphylium และโดยเฉพาะอย่างยิ่ง F. avenaceum ซึ่งปัจจัยที่ทำให้เบียร์พุ่งออกมานี้ คาดว่าเกี่ยวกับ โพลีเพบไทด์ สามารถกำจัดได้โดยการเติม เอนไซม์ ที่ย่อยโปรตีนลงไป ในหลายๆประเทศจะใช้เอนไซม์พาเพน ใส่ลงในเบียร์เพื่อป้องกันการขุ่น ของเบียร์ในขณะแช่เย็นเป็นเวลานานๆ และจะช่วยกำจัดปัญหาการไหลพุ่งของเบียร์ด้วย

2.เชื้อแบคทีเรีย แบคทีเรียที่ปนเปื้อนมาในระหว่างการผลิตเบียร์มีทั้งพวกแกรมบวกและแกรมลบ และในบางครั้งเกิดการปนเปื้อนจากแบคทีเรียที่สร้างสปอร์พวก Bacillus และแบคทีเรียบางสกุลของ Micrococs เช่น M. kristinae ซึ่งทำให้เกิดปัญหาในการผลิตเบียร์เป็นครั้งคราว

2.1 แบคทีเรียแกรมบวก ที่ทำให้เกิดปัญหาในการผลิตเบียร์ได้แก่

Lactobacillusเชื้อแบคทีเรียกลุ่มนี้เป็นตัวการสำคัญที่ทำให้เบียร์เสื่อมคุณภาพ เชื้อนี้สามารถทนต่อสารรสขมของฮอปได้ และสามารถสร้าง diacetyl ทำให้เกิดกลิ่นเนยแก่เบียร์นอกจากนี้ยังสร้างกรดแลคติก แต่ปริมาณกรดแลคติกที่สร้างยังไม่มากพอที่จะทำให้กลิ่นรสของเบียร์เปลี่ยนไป แต่เชื้อนี้ก็สามารถทำให้เบียร์เสื่อมเสียได้โดยจะสังเกตุพบว่า เบียร์ที่เสื่อมจะมีลักษณะขุ่นเป็นเส้นไหม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Pediococcus ที่สำคัญคือ P. damnosus พบในเบียร์ชนิด lager beer แบคทีเรียชนิดนี้ไม่ค่อยพบในระหว่างการใส่เชื้อยีสต์ แต่จะพบในระหว่างการหมักขั้นสุดท้าย หรือในเบียร์ที่ผลิตเรียบร้อยแล้ว การเสื่อมเสียของเบียร์โดยเชื้อนี้ จะคล้ายคลึงกับการเสื่อมเสียโดยเชื้อ Lactobacillus สามารถทำให้เบียร์มีความเป็นกรดสูง และให้กลิ่นเนยแก่เบียร์

แบคทีเรียแกรมบวกอื่นๆที่พบในการผลิตเบียร์ เช่น Leuconostos mesenteroides ถึงแม้ว่าจะพบในการผลิตเบียร์ แต่เชื้อนี้ไม่ได้ก่อปัญหาให้กับเบียร์ ซึ่งต่างจากเชื้ออื่นๆ เช่น Streptococcus lactis และ Micrococcus kristinae เชื้อเหล่านี้สามารถทนกรดและทนฮอปได้และเป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียของเบียร์ เชื้อที่ทำให้เบียร์มีความเป็นกรดสูงได้แก่ เชื้อแบคทีเรียที่สร้างสปอร์ และทนความร้อนสูง พวก B. coagulans และ B. strearothermophilus โดยเชื้อนี้จะสร้างกรดแลคติกในปริมาณมากได้ถ้าหากว่าทิ้งวอร์ทที่มีน้ำตาลไว้ที่อุณหภูมิสูงเป็นเวลานาน

2.2 แบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่

Acetic acid bacteria เป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปร่างเป็นท่อน สามารถเปลี่ยน เอทานอลให้เป็นกรดอะซิติกได้ เชื้อแบคทีเรียในกลุ่มนี้ที่สำคัญ คือ Acetobacter และ Gluconobacter ซึ่งมักพบในระหว่างการหมักเบียร์ Acetobacter สามารถออกซิไดซ์เอทานอล ให้เป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ โดย hexose monophosphate pathway และ TCA cycle แต่เชื้อทั้งสองนี้จะเจริญได้ในสภาวะที่มีออกซิเจน และไม่สามารถอยู่รอดได้ภายใต้สภาพที่ไม่มีออกซิเจน ซึ่งในเบียร์ที่ผลิตได้ขั้นสุดท้ายนั้นจะไม่มีออกซิเจน จึงไม่เกิดปัญหาจากเชื้อเหล่านี้ แต่จะพบว่า Acetobacter และ Gluconobacter จะเกิดปัญหาในกรณีที่เบียร์ ที่ผลิตได้มีปริมาณออกซิเจนหลงเหลืออยู่ เนื่องจากความบกพร่องในระหว่างการผลิต

Obesumbacterium proteus เป็นแบคทีเรียที่มีการปนเปื้อนในเบียร์ที่สำคัญ เป็นแบคทีเรีย ในแฟมิลี่ (family) Enterobacteriaceae แบคทีเรียนี้สามารถเจริญได้ ในวอร์ทที่ยังไม่เติมฮอป และสามารถเจริญได้ ที่ pH ช่วง 4.4-9.0 เชื้อนี้จะมีผลในการยับยั้งขบวนการหมักของเบียร์และทำให้ระดับสารต่างๆ ในเบียร์เพิ่มมากขึ้น เช่น dimethyl sulfide , diaceptyl และ fusel oil เบียร์ที่เสื่อมเสียเนื่องจากเชื้อนี้ จะมีกลิ่นคล้ายผลไม้ หรือผัก parsnip

Zymomonas เป็นแบคทีเรียแกรมลบมีลักษณะเป็นท่อน แบคทีเรียที่พบว่ามีการปนเปื้อนในการผลิตเบียร์มากที่สุดคือ Z. mobilis ความสำคัญของเชื้อนี้ คือ สามารถเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคส หรือฟรุคโตสให้เป็น เอทานอล และคาร์บอนไดออกไซด์ โดย Entner-Doudoruff pathway แต่เชื้อนี้จะถูกยับยั้งการเจริญโดยเอทานอล 8 เปอร์เซนต์ และถูกทำลายได้ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-3 นาที เชื้อนี้ถ้าหากเจริญได้ในเบียร์ จะทำให้ lager beer มีกลิ่นรสไม่เป็นที่ยอมรับ เนื่องจากสาร acetalbehyde และ ไฮโดรเจนซัลไฟด์ ที่เชื้อนี้ผลิตขึ้น

แบคทีเรียแกรมลบอื่นๆที่พบในการทำเบียร์ ได้แก่ Pectinatus cerevisiiphilus ซึ่งสามารถผลิตกรดอะซิติก กรดโพพิโอนิก อะซิโตอิน และ ไฮโดรเจนซัลไฟด์ ในวอร์ทหรือเบียร์ที่บรรจุขวด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แล้ว เบียร์ที่เกิดการเสื่อมเสียโดยเชื้อนี้จะมีลักษณะขุ่น และมีกลิ่นคล้ายไข่เน่า นอกจากเชื้อนี้แล้วยังมีแบคทีเรียแกรมลบอื่นๆ ที่มีผลต่อ การเสื่อมเสียของเบียร์ แต่ไม่ค่อยมีบทบาทสำคัญนัก คือ เชื้อ Megasphaera ซึ่งจะทำให้เบียร์มีลักษณะขุ่นและมีกลิ่นเหม็น เนื่องจากการสร้างกรดบิวไทริกในระหว่างการหมักวอร์ท

3.เชื้อยีสต์ ยีสต์ที่พบในการหมักเบียร์เป็นพวกwild yeast หมายถึงยีสต์อื่นๆที่ไม่ใช่ยีสต์ที่ใช้ในการหมักเบียร์ ยกตัวอย่างเช่นที่ใช้ในการหมักเบียร์ ยกตัวอย่างเช่น Saccharomyces cerevisiae ที่ใช้ในการหมักแบบ top fermentation นั้น ถ้าพบว่า มีการเจริญในระหว่างการหมัก lager beer ยีต์ตัวนี้ก็ถือว่าเป็น wild yeast เช่นกัน ยีสต์ต่างๆที่มีผลต่อการเสื่อมเสีย ของเบียรได้แก่ Candida , Saccharomyces , Dekker , Henseniaspora , Kloeckera , Kluyveromyces , Hancenula , Rhodotorula , Torulaspora , Brettanomyces และ Pichia

wild yeast สามารถปนเปื้อนมากับน้ำ อากาศ หรือ วัตถุดิบอื่นๆ ที่ใช้ในการหมักเบียร์ หรืออาจติดมากับแมลง หรือขวดเปล่าที่ใช้ในการบรรจุเบียร์โดยทั่วๆไปแล้วระดับการปนเปื้อน ของ wild yeast ในระหว่างการหมักเบียร์ จะน้อยเมื่อเทียบกับปริมาณของยีสต์ที่ใส่ลงไปเพื่อให้เกิดการหมักเบียร์ แต่ wild yeast จะเจริญได้ดีเมื่อการหมักขั้นแรกสิ้นสุดลง คือเมื่อน้ำตาลถูกใช้ไปเกือบหมดแล้ว นอกจากนี้การฆ่าเชื้อเบียร์แบบพาสเจอร์จะช่วยให้ wild yeast พวกที่ทนความร้อนสูงเจริญได้ wild yeast มีผลทำให้เบียร์เสื่อมเสียโดยการทำให้เบียร์มีกลิ่นรสที่ผิดปกติไปจากเดิม ทำให้เบียร์ขุ่น ยากแก่การกำจัด และ wild yeast บางชนิด ทำให้ผิวหน้าของเบียร์มีลักษณะเป็นฝ้า

11.เมตาโบลิซึ่มของยีสต์

การเจริญเติบโตในตอนแรกจะอยู่ในสภาพที่มีออกซิเจน เพื่อการเจริญของเซล ขณะเดียวกันก็เกิดคาร์บอนไดออกไซด์เนื่องมาจากระบบหายใจ ปริมาณออกซิเจนในวอร์ทจะลดลง ขณะเดียวกันกับการเพิ่มคาร์บอนไดออกไซด์ การสะสมคาร์บอนไดออกไซด์นี้จะทำให้กลายสภาพเป็นไม่มีอาการศ เมื่อเป็นเช่นนี้ พลังงานส่วนใหญ่จะได้จากขบวนการเมตาบอริค ของยีสต์ คือ Embden - Meyerhof - Parnas (EMP) pathway .

น้ำตาลที่หมักได้จะเข้าใน EMP pathway ซึ่งจะเกิด decarboxylation และ reduction ได้ ethanol และ คาร์บอนไดออกไซด์ รสกลิ่น เฉพาะอย่างและสารประกอบอื่นๆ จะเกิดขึ้น เนื่องจากขบวนการหมัก สารประกอบและรสกลิ่นเฉพาะเหล่านี้เกิดจาก biochemical transformation ของ pyruvate หรือในบางกรณีเกิดจากผลของเมตาโบลิซึมของไนโตรเจน ทำให้เกิดกลิ่นและรสที่สำคัญของเบียร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไนโตรเจนเมตาโบลิซึ่ม(Nitrogen Metabolism)

Ehrlich ได้เสนอการเกิด fusel alcohol จากไนโตรเจนเมตาบอลิซึ่มของยีสต์ โดยการให้ยีสต์เจริญในกรดอะมิโนเฉพาะอย่าง และเห็นว่าเกิด fusel alcohol เช่นเดียวกับการเกิดใน yeast fermentation ส่วนแอมโมเนียที่เกิดขึ้น ยีสต์จะใช้ไปสำหรับการเจริญเติบโต

$$R.CHNH_2.COOH + H_2O \rightarrow RCHOH.COOH + NH_3$$

α-amino acid — α-hydroxy acid

$$R\text{-}CH_2OH + CO_2$$

fusel alcohol

นอกจากไนโตรเจนเมตาโบลิซึ่มโดยยีสต์แล้ว ในระหว่างขบวนการหมัก Ehrlich ได้ให้ความเห็นเกี่ยวกับการเกิด transamination โดย α-aminonitrogen จะถูก assimilate ในสภาพที่ไม่มีออกซิเจน ตัวอย่างการเกิด transamination ของไทโรซิน ทำให้เกิดไทโรซอล ในเบียร์ซึ่งมีรสขม เอนไซม์ที่มีส่วนเกี่ยวข้องในกลไก นี้คือ transaminase , carboxylase และ alcohol dehydrogenase

$$C_6H_4\text{-}OH\text{-}CH_2\text{-}CH_2NH_2\text{-}COOH + CH_2CH_2\text{-}COOH\text{-}CO\text{-}COOH \xrightarrow{\text{transaminase}} C_6H_4OH\text{-}CH_2\text{-}CO\text{-}COOH$$

tyrosine — 2 oxoglutaric acid — hydroxy-phenyl pyruvic acid

$$+\ CH_2\text{-}CH_2\text{-}COOH\text{-}CH_2NH_2\text{-}COOH \xrightarrow{\text{carboxylase}}$$

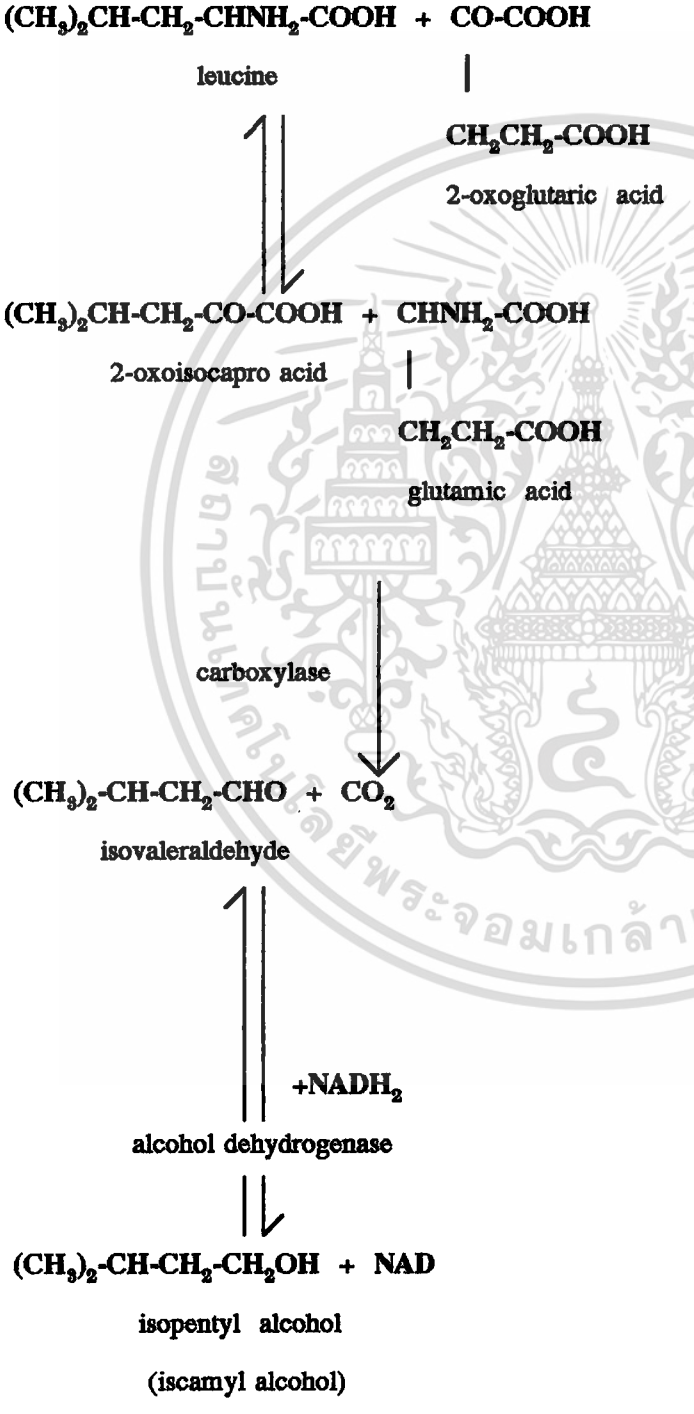
glutamic acid

$$C_6H_4\text{-}OH\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}OH \xleftarrow{\text{alcohol dehydrogen}} C_6H_4OH\text{-}CH\text{-}CHO + CO_2$$

hydroxyphenyl ethanol(tyrosol) — hydroxyphenyl acetaldehyde

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื่องจากกลไก transamination นี้ จึงทำให้ไม่มีแอมโมเนียเกิดขึ้น (ซึ่งเกิดขึ้นในไนโตรเจนเมตาโบลิซึ่ม) ดังนั้น การอธิบายเกี่ยวกับการเกิด fusel alcohol นี้ จึงสามารถจะใช้ Ehrlich mechanism เกี่ยวกับ transamination ไปอธิบายได้ ตัวอย่างเช่นการเกิด isomyl alcohol ดังปฏิกิริยาต่อไปนี้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

อุปกรณ์ สารเคมี และวิธีทำการทดลอง

วัสดุอุปกรณ์

1. เครื่องแก้วชนิดต่าง ๆ
2. เครื่องชั่งละเอียด
3. เครื่องชั่งแบบหยาบ
4. เทอร์โมมิเตอร์
5. กล้องจุลทรรศน์
6. เครื่องปั่น
7. หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ
8. Spectrophotometer
9. Reflextometer
10. Shaker
11. waterbath
12. Haeemacytometer
13. Beer Detector

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารเคมี

1. ข้าวมอลต์
2. กากข้าวมอลต์ที่ผ่านการหมักแล้วชนิดเปียก
3. กากข้าวมอลต์ที่ผ่านการหมักแล้วชนิดแห้ง
4. น้ำตาลดิบ
5. ผงถ่าน
6. กรดแลคติก
7. แคลเซียมคลอไรด์
8. ฮอป
9. ยีสต์
10. น้ำตาลทราย
11. น้ำ
12. Yeast-Malt Extract Medium
13. Kiesergur (สารที่ช่วยทำให้เบียร์ใสขึ้น)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีทำการทดลอง

- **การเตรียมส่วนผสม**

ทำการเตรียมส่วนผสมในการหมักเบียร์ดังนี้

- ACTIVATED CARBON	0.20	กรัม
- LACTIC ACID	0.17	กรัม
- ข้าวมอลต์[ก]	90.00	กรัม
- น้ำตาล	0.17	กรัม
- HOP[ก] 1	0.4	กรัม
- HOP 2	1.0	กรัม
- HOP 3	0.2	กรัม
- แคลเซียมคลอไรด์	0.001	กรัม
- น้ำ	300.00	มิลลิลิตร

การเตรียมเชื้อเริ่มต้น

1. นำเชื้อยีสต์ที่ผ่านการใช้แล้ว[ก] มาเลี้ยงในอาหาร YM[ข] (Yeast-Malt Agar) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อมาแล้ว โดยเติมเชื้อเริ่มต้น 10 % ของอาหารเลี้ยงเชื้อ

2. นำอาหารในข้อ 1 ไปเขย่าบน shaker ที่อุณหภูมิห้อง นาน 18 ชั่วโมง

3. นำสารละลายเชื้อที่เลี้ยงครบ 18 ชั่วโมงแล้วมาปริมาณเชื้อ โดยให้มีเชื้อประมาณ 2.7×10^7 cell/ml. ถ้าปริมาณเชื้อยังไม่ถึงให้ทำการเลี้ยงต่อไป จดบันทึกเวลาที่ใช้เลี้ยงเชื้อ

4. นำสารละลายเชื้อที่นับจำนวนเรียบร้อยแล้วไปวัดค่า OD ที่ความยาวคลื่น 280 nM จดบันทึกค่า OD ที่ได้เพื่อใช้เป็นมาตรฐานในการทดลองครั้งต่อ ๆ ไป

[ก] ได้รับความอนุเคราะห์จาก บริษัท บุญรอด เบเวอรี่ จำกัด

[ข] ดูวิธีเตรียมได้ในภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองตอนที่ 1. ⇒ ทำการหมักเบียร์ปกติ

<u>วิธีทำการทดลอง</u>

1. นำข้าวมอลต์มาบดพอแหลก

2. นำ ข้าวมอลต์, น้ำตาล, แคลเซียมคลอไรด์, Activated carbon และน้ำ มาผสมกันทำการ Mashing โดยการ Mashing คือ

ต้มส่วนผสมที่ 50 องศาเซนเซียล นาน 2 ชั่วโมง

ต้มส่วนผสมที่ 63 องศาเซนเซียล นาน 1 ชั่วโมง

ต้มส่วนผสมที่ 76 องศาเซนเซียล นาน 1 ชั่วโมง

(ขั้นตอนนี้เป็นการย่อยแป้งและโปรตีน ให้เปลี่ยนเป็นน้ำตาล โดยเอนไซม์ α-amylase และ β-amylase ในขั้นตอนนี้อาจมีการทดสอบด้วยไอโอดีนว่ามีแห้งหลงเหลืออยู่หรือไม่)

3. กรองแยกส่วนที่เป็นของแข็งออก (spent grain) ออกจากส่วนผสม โดยใช้ผ้าขาวบาง ของเหลวใสที่กรองได้จะเรียกว่า **น้ำเวิร์ต**

4. ทำการต้มน้ำเวิร์ตดังนี้ คือ

ต้มน้ำเวิร์ตที่ 100 องศาเซนเซียล นาน 60 นาที ⇒ เติม Hop 1

ต้มน้ำเวิร์ตที่ 100 องศาเซนเซียล นาน 80 นาที ⇒ เติม Hop 2

ต้มน้ำเวิร์ตที่ 100 องศาเซนเซียล นาน 60 นาที ⇒ เติม Hop 3

ต้มต่อไปอีกนาน 25 นาที

5. กรองแยกตะกอนที่เกิดขึ้นออก

(ในขั้นตอนนี้ โปรตีนที่เหลือจาการย่อยจะรวมตัวกัน เกิดเป็นตะกอน ต้องทำการกรองแยกเอาตะกอนที่เกิดขึ้นออก ถ้าไม่ทำการแยกออก จะทำให้เบียร์ขุ่นได้)

6. ปรับน้ำเวิร์ตที่ผ่านการกรองแยกตะกอนออกแล้วในข้อ 5 ให้มีความเข้มข้นเริ่มต้นเป็น 13.4 Brix โดยทำการทดลอง 2 ซ้ำ

7. ปรับ pH เริ่มต้นของน้ำเวิร์ตให้มีค่าเป็น 3.5

8. ทำเย็นน้ำเวิร์ต โดยใช้น้ำเย็น 5 องศาเซลเซียล ให้น้ำเวิร์ตมีอุณหภูมิเป็น 10 องศาเซลเซียล

9. นำเชื้อเริ่มต้นที่เตรียมไว้ข้างต้นมาเติมลงในส่วนผสม 10 % ทำการหมักที่อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียล นาน 2 สัปดาห์

10. นำไปตรวจหาปริมาณแอลกอฮอล์ที่เกิดขึ้น โดยเครื่อง Beer Detector

จดบันทึกผลการทดลองที่ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

11. นำไปทดสอบทาง Oganoleptic บันทึกผลการทดลองที่ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองตอนที่ 2. ⇒ หาวัตถุดิบที่เหมาะสมที่ใช้ในการผลิต Low Alcoholic Beer

<u>วิธีทำการทดลอง</u>

1. นำข้าวมอลต์มาบดพอแหลก

2. นำ ข้าวมอลต์, น้ำตาล, แคลเซียมคลอไรด์, Activated carbon} และน้ำ มาผสมกันทำการ Mashing โดยการ Mashing คือ

ต้มส่วนผสมที่ 50 องศาเซนเซียล นาน 2 ชั่วโมง

ต้มส่วนผสมที่ 63 องศาเซนเซียล นาน 1 ชั่วโมง

ต้มส่วนผสมที่ 76 องศาเซนเซียล นาน 1 ชั่วโมง

(ขั้นตอนนี้เป็นการย่อยแป้งและโปรตีน ให้เปลี่ยนเป็นน้ำตาล โดยเอนไซม์ α-amylase และ β-amylase ในขั้นตอนนี้อาจมีการทดสอบด้วยไอโอดีนว่ามีแห้งหลงเหลืออยู่หรือไม่)

3. กรองแยกส่วนที่เป็นของแข็งออก (spent grain) ออกจากส่วนผสม โดยใช้ผ้าขาวบาง ของเหลวใสที่กรองได้จะเรียกว่า น้ำเวิร์ต

4. ทำการต้มน้ำเวิร์ตดังนี้ คือ

ต้มน้ำเวิร์ตที่ 100 องศาเซนเซียล นาน 60 นาที ⇒ เติม Hop 1

ต้มน้ำเวิร์ตที่ 100 องศาเซนเซียล นาน 80 นาที ⇒ เติม Hop 2

ต้มน้ำเวิร์ตที่ 100 องศาเซนเซียล นาน 60 นาที ⇒ เติม Hop 3

ต้มต่อไปอีกนาน 25 นาที

5. กรองแยกตะกอนที่เกิดขึ้นออก

(ในขั้นตอนนี้ โปรตีนที่เหลือจากการย่อยจะรวมตัวกัน เกิดเป็นตะกอน ต้องทำการกรองแยกเอาตะกอนที่เกิดขึ้นออก ถ้าไม่ทำการแยกออก จะทำให้เบียร์ขุ่นได้)

6. ปรับน้ำเวิร์ตที่ผ่านการกรองแยกตะกอนออกแล้วในข้อ 5 ให้มีความเข้มข้นเริ่มต้นเป็น 5, 10, 13.4, 15, 20 Brix ตามลำดับ โดยทำการทดลองอย่างละ 2 ซ้ำ

7. ปรับ pH เริ่มต้นของน้ำเวิร์ตให้มีค่าเป็น 3.5

8. ทำเย็นน้ำเวิร์ต โดยใช้น้ำเย็น 5 องศาเซลเซียล ให้น้ำเวิร์ตมีอุณหภูมิเป็น 10 องศาเซลเซียล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

9. นำเชื้อเริ่มต้นที่เตรียมไว้ข้างต้นมาเติมลงในส่วนผสม 10 % ทำการหมักที่อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียล นาน 2 สัปดาห์

10. นำไปตรวจหาปริมาณแอลกอฮอล์ที่เกิดขึ้น โดยเครื่อง Beer Detector " จดบันทึกผลการทดลองที่ได้

11. นำไปทดสอบทาง Oganoleptic บันทึกผลการทดลองที่ได้

12. ทำการทดลองซ้ำจากข้อ 1-11 อีกครั้งหนึ่ง โดยเปลี่ยน Malt ในข้อ 2 เป็น

ก.) Wet Spent Grain

ข.) Dry Spent Grain

ค.) น้ำตาลดิบ $\Rightarrow$ เริ่มทำในข้อ 4 ได้เลย ไม่ต้องผ่านการ Mashing

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองตอนที่ 8. ⇒ หาความเข้มข้นเริ่มต้นที่เหมาะสมที่ใช้ในการผลิต Low Alcoholic Beer

วิธีทำการทดลอง

1. นำน้ำตาลดิบมาละลายน้ำ ให้มีความเข้มข้นเป็น 3, 5, 7, 9, 11, 13.4 Brix โดยให้แต่ละความเข้มข้นมีปริมาตรเป็น 300 มิลิลิตร (ทำ 2 ซ้ำ)

2. ทำการต้มน้ำเวิร์ตดังนี้ คือ

ต้มน้ำเวิร์ตที่ 100 องศาเซนเซียล นาน 60 นาที ⇒ เติม Hop 1

ต้มน้ำเวิร์ตที่ 100 องศาเซนเซียล นาน 80 นาที ⇒ เติม Hop 2

ต้มน้ำเวิร์ตที่ 100 องศาเซนเซียล นาน 60 นาที ⇒ เติม Hop 3

ต้มต่อไปอีกนาน 25 นาที

3. กรองแยกตะกอนที่เกิดขึ้นออก

(ในขั้นตอนนี้ โปรตีนที่เหลือจากการย่อยจะรวมตัวกัน เกิดเป็นตะกอน ต้องทำการกรองแยกเอาตะกอนที่เกิดขึ้นออก ถ้าไม่ทำการแยกออก จะทำให้เบียร์ขุ่นได้)

4. ปรับน้ำเวิร์ตที่ผ่านการกรองแยกตะกอนออกแล้วในข้อ 5 ให้มีความเข้มข้นเริ่มต้นเป็นไปตามความเข้มข้นเริ่มต้น

5. ปรับ pH เริ่มต้นของน้ำเวิร์ตให้มีค่าเป็น 3.5

6. ทำเย็นน้ำเวิร์ต โดยใช้น้ำเย็น 5 องศาเซลเซียล ให้น้ำเวิร์ตมีอุณหภูมิเป็น 10 องศาเซลเซียล

7. นำเชื้อเริ่มต้นที่เตรียมไว้ข้างต้นมาเติมลงในส่วนผสม 10 % ทำการหมักที่อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียล นาน 2 สัปดาห์

8. นำไปตรวจหาปริมาณแอลกอฮอล์ที่เกิดขึ้น โดยเครื่อง Beer Detector จดบันทึกผลการทดลองที่ได้

9. นำไปทดสอบทาง Oganoleptic บันทึกผลการทดลองที่ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 15 วัตถุดิบต่าง ๆ ที่ใช้ในการผลิตเบียร์แอลกอฮอล์ต่ำ

รูปที่ 16 ส่วนผสมทั้งหมดที่ใช้ในการผลิตเบียร์แอลกอฮอล์ต่ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 17 ตัวอย่างฮอปชนิดอัดเม็ด

รูปที่ 18 การบดข้าวมอลต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 19 การทำ Mashing

รูปที่ 20 การกรองแยกกากข้าวมอลต์ที่ผ่านการใช้แล้ว

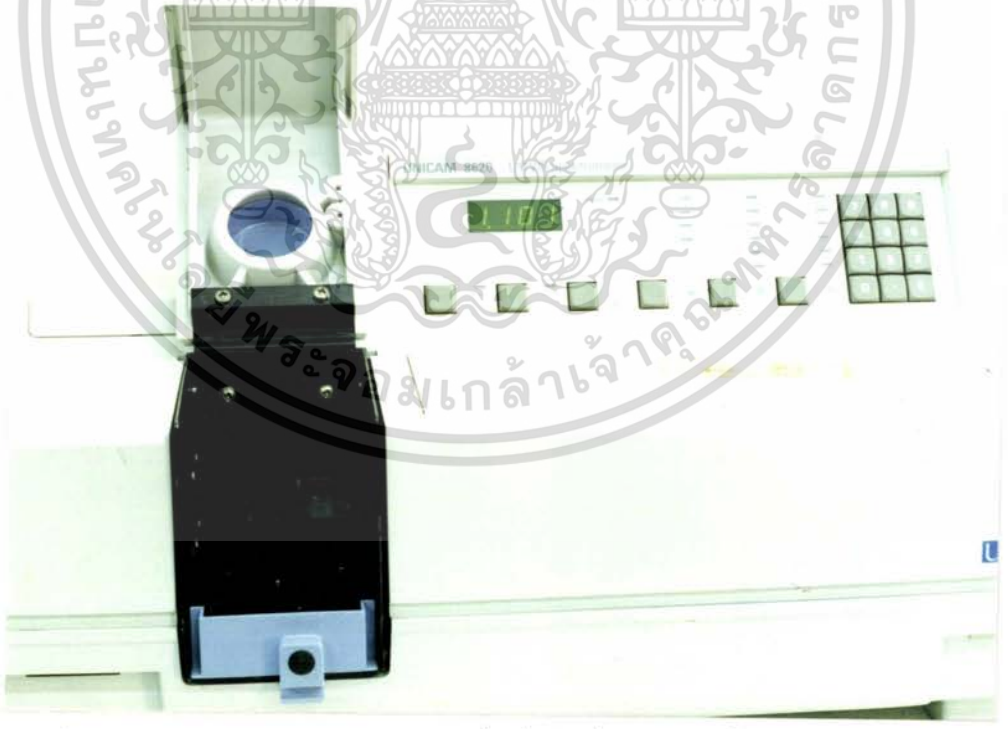
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 21 การเติมฮอปขณะต้มเวิร์ท

รูปที่ 22 การกรองแยกตะกอนที่เกิดขึ้นภายหลังการต้มเวิร์ท

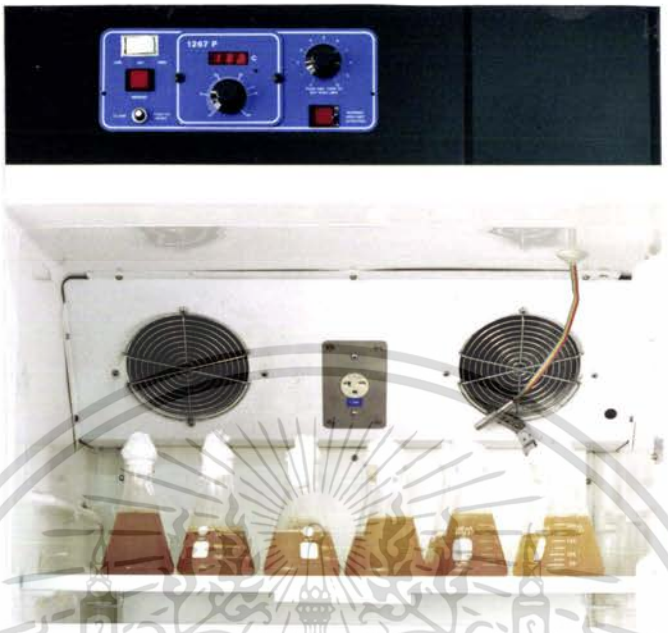
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 23 การเตรียมเชื้อเริ่มต้น



รูปที่ 24 การหาค่า OD ของสารละลายเชื้อเริ่มต้นที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร

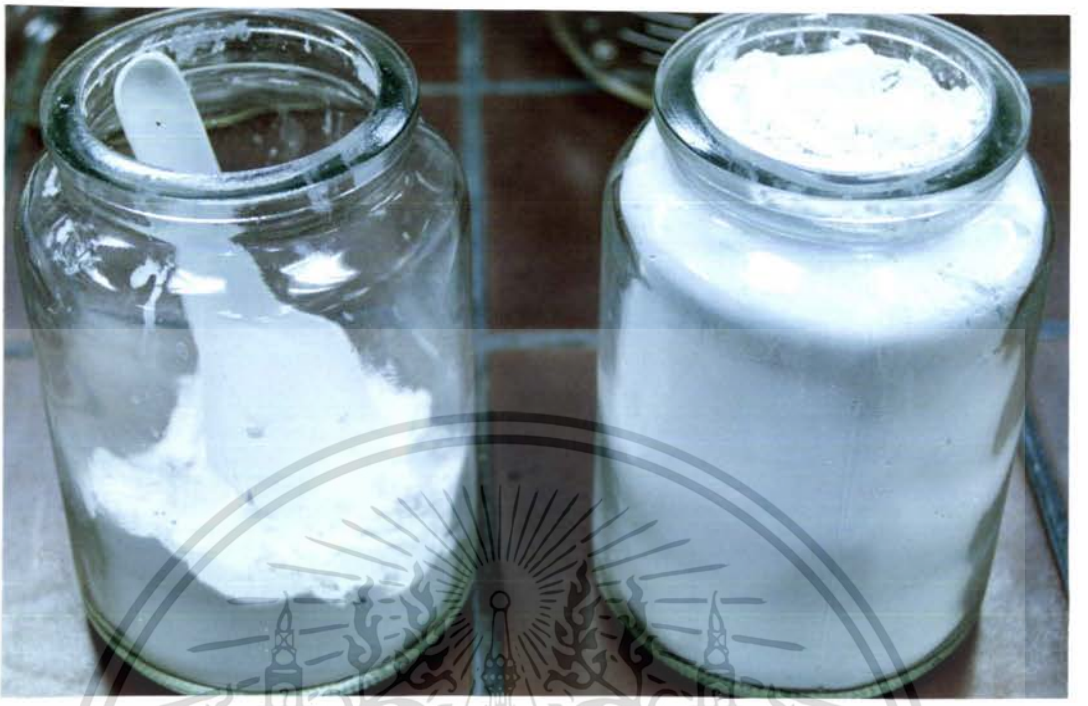
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



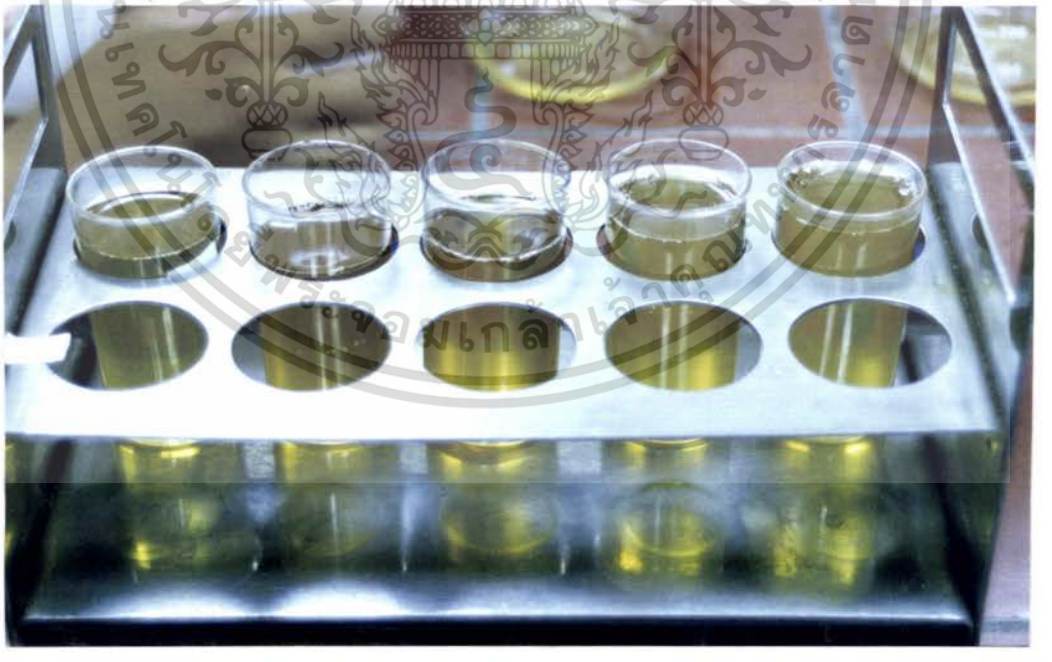
รูปที่ 25 ขณะทำการหมักที่ 12 องศาเซลเซียส

รูปที่ 26 การกรองไล่ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ก่อนนำตัวอย่างเข้าเครื่อง Beer Detector

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



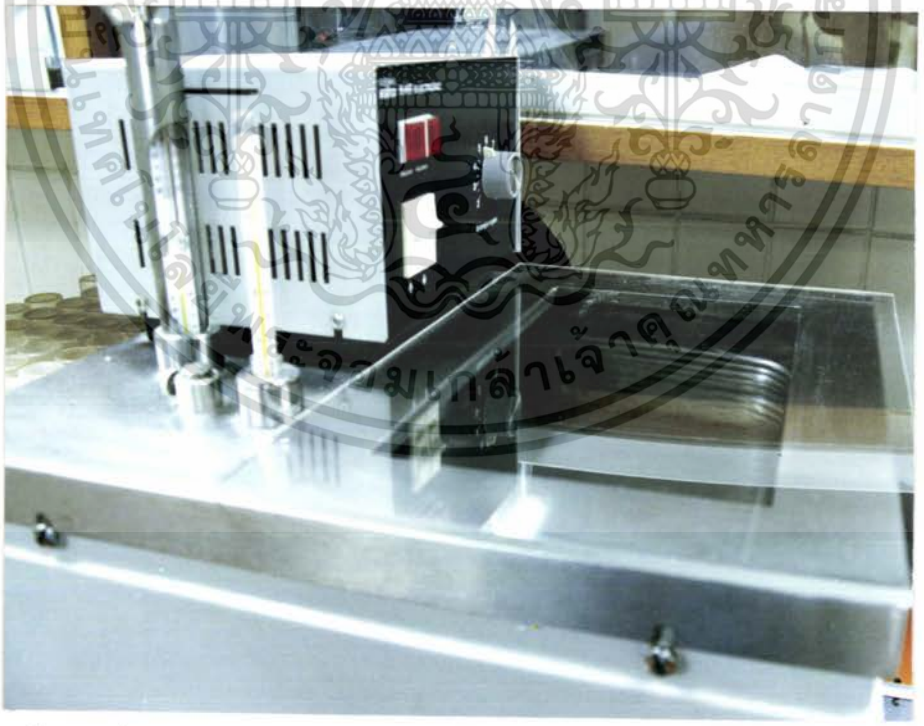
รูปที่ 27 กลีเซอกัว (สารลดความขุ่นในเบียร์)



รูปที่ 28 ตัวอย่างที่ผ่านการกรองเอาก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ออกแล้ว

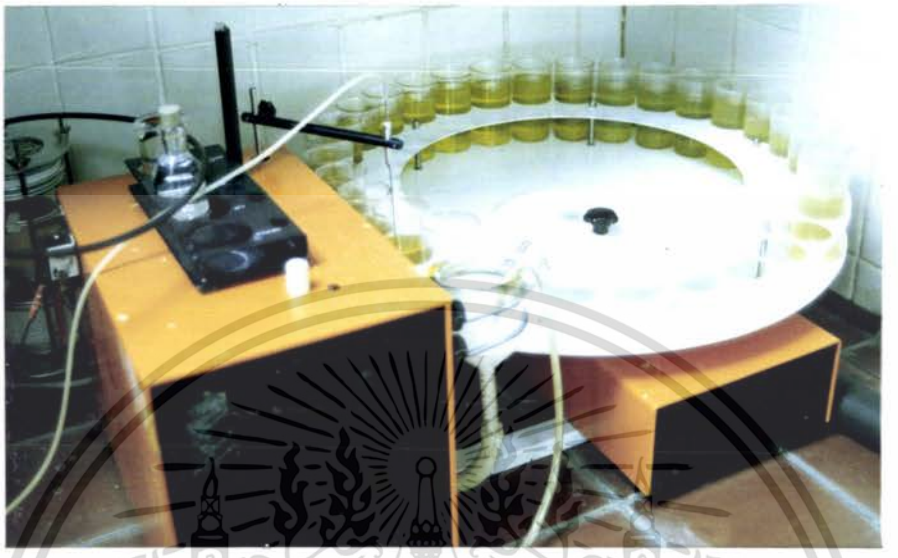
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 29 เครื่อง Beer Detector



รูปที่ 30 เครื่อง Beer Detector ส่วนหล่อเย็นตัวอย่างให้มีอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

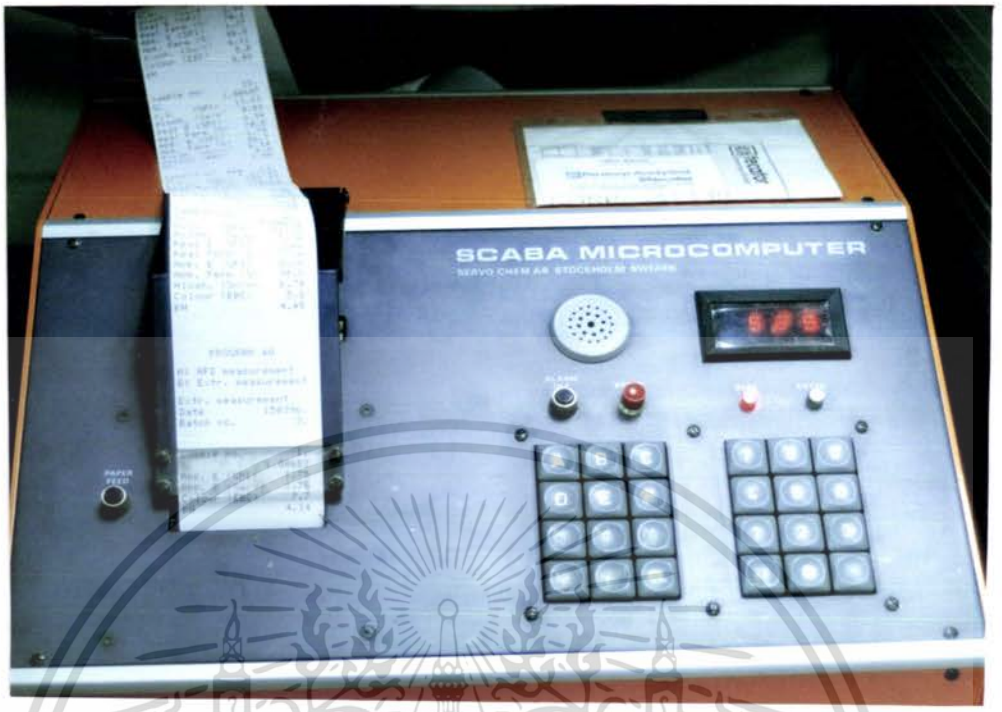
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



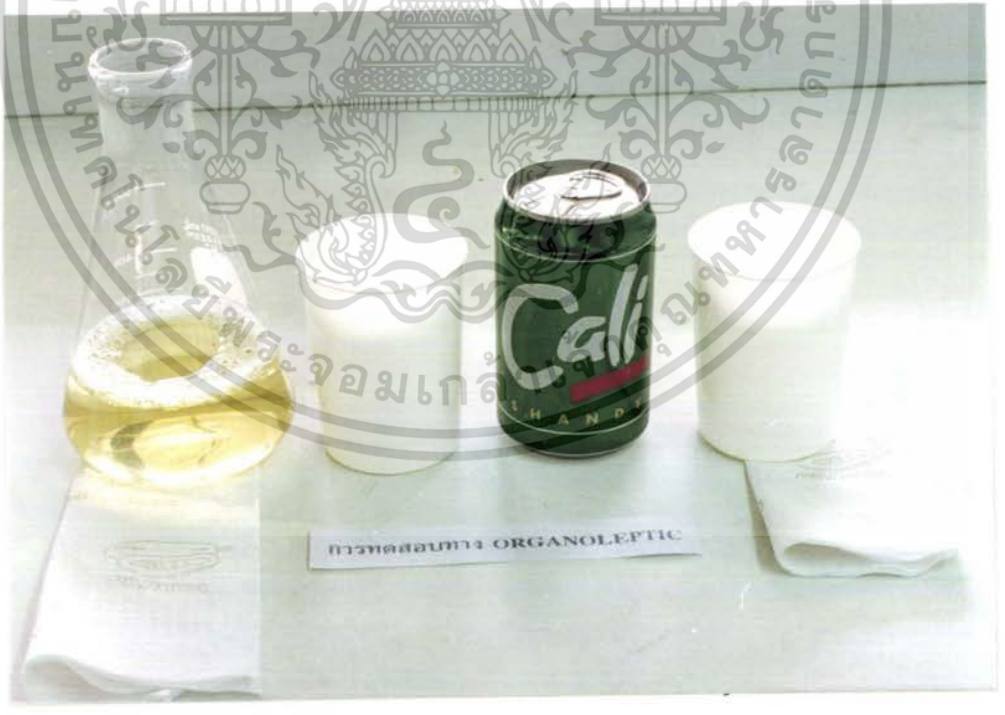
รูปที่ 31 เครื่อง Beer Detector ส่วนใส่ตัวอย่าง

รูปที่ 32 เครื่อง Beer Detector ส่วนตรวจสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

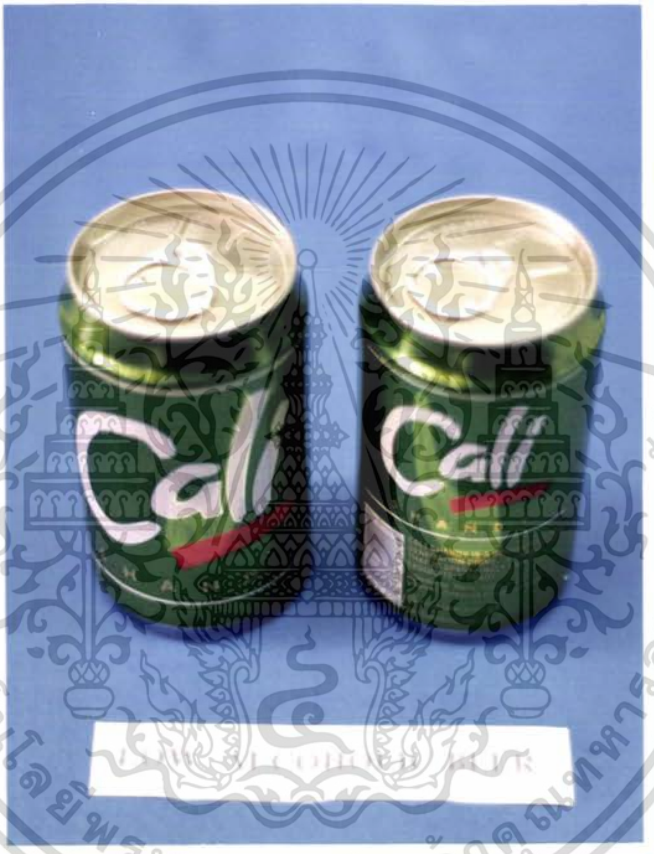


รูปที่ 33 เครื่อง Beer Detector ส่วน output



รูปที่ 34 การทดสอบทาง Organoleptic

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 35 ตัวอย่างเบียร์แอลกอฮอล์ต่ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลอง

ผลการทดลองเป็นดังตารางต่อไปนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองตอนที่ 1 การหมักเบียร์ปกติ

วัตถุดิบเริ่มต้น	SL	OG(%PL)	Alc(%w/w)	Alc(%v/v)	Real Extract (%PL)	App Extract (%PL)	Real Ferment (%)	App Ferment (%)	Color (EBC)	pH
มอลต์ 13.4 Brix (1)	1.03259	11.29	1.38	8.64	24.2	8.26	29.3	1.78	18.1	4.75
มอลต์ 13.4 Brix (2)	1.03316	11.41	1.28	8.92	21.8	8.33	27	1.67	18.0	4.86
มอลต์ 13.4 Brix (3)	1.03131	11.35	1.45	8.54	24.8	7.88	30.6	1.89	17.2	4.66
เบียร์สิงห์	1.00709	13.4	4.88	4.02	70	1.82	86.4	6.21	5.8	4.02

ผลการทดลองทาง Organoleptic ตอนที่ 1

วัตถุดิบเริ่มต้น	ผลการทดลอง
มอลต์ 13.4 Brix (1)	กลิ่นรสคล้ายเบียร์มาก
มอลต์ 13.4 Brix (2)	กลิ่นคล้ายเบียร์ แต่มีรสขมกว่าเล็กน้อย
มอลต์ 13.4 Brix (3)	กลิ่นรสคล้ายเบียร์
เบียร์สิงห์	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองตอนที่ 2 การหาวัตถุดิบที่เหมาะสมในการผลิต Low Alcoholic Beer

วัตถุดิบเริ่มต้น	SL	OG(%PL)	Alc(%w/w)	Alc(%v/v)	Real Extract (%PL)	App Extract (%PL)	Real Ferment (%)	App Ferment (%)	Color (EBC)	pH
Malt 5 Brix	1.01019	7.87	2.14	2.74	3.61	2.61	54.1	66.8	9.5	3.63
Malt 10 Brix	1.03176	13.19	2.19	2.85	8.90	7.99	31.9	39.4	9.6	3.61
Malt 13.4 Brix	1.00871	9.49	2.99	3.81	3.62	2.23	61.9	76.5	8.8	4.16
Malt 15 Brix	1.01563	13.78	4.13	5.31	5.85	3.98	57.6	71.1	12.6	4.31
Malt 20 Brix	1.01596	17.40	5.75	7.39	6.58	4.07	62.2	76.6	13.1	4.08
Wet Spent grain 5 Brix	1.00344	6.89	2.39	3.00	2.04	0.88	70.5	87.2	6.4	3.75
Wet Spent grain 10 Brix	1.01767	10.28	2.44	3.09	5.60	4.50	45.5	56.2	6.2	3.77
Wet Spent grain 13.4 Brix	1.02990	13.35	2.45	3.19	8.64	7.53	35.3	43.6	5.6	3.76
Wet Spent grain 15 Brix	1.03932	15.39	2.47	3.22	10.88	9.83	29.3	36.2	5.0	3.78
Wet Spent grain 20 Brix	1.05077	18.32	2.49	3.31	13.65	12.57	25.5	31.4	7.8	3.82
Dry Spent Grain 5 Brix	1.00381	6.62	1.97	2.45	2.06	0.98	68.9	85.2	16.5	3.81
Dry Spent Grain 10 Brix	1.02705	11.69	2.03	2.63	7.76	6.83	33.7	41.6	17.2	3.78
Dry Spent Grain 13.4 Brix	1.03814	14.87	2.36	2.97	10.55	9.54	29.0	35.8	14.1	3.80
Dry Spent Grain 15 Brix	1.04108	15.63	2.30	3.02	11.27	10.25	27.9	34.4	15.7	3.78
Dry Spent Grain 20 Brix	1.05935	19.61	2.49	3.24	15.53	14.59	20.8	25.6	15.1	3.71
น้ำตาลดิบ 5 Brix	1.01737	5.06	0.26	0.33	4.54	4.42	10.3	12.7	5.0	4.14
น้ำตาลดิบ 10 Brix	1.02767	8.63	0.68	0.88	7.30	6.98	15.5	19.1	5.2	3.79
น้ำตาลดิบ 13.4 Brix	1.01255	7.86	1.90	2.43	4.10	3.21	47.9	59.2	8.6	3.64
น้ำตาลดิบ 15 Brix	1.03970	14.76	1.99	2.54	10.82	9.92	26.3	32.5	10.4	3.76
น้ำตาลดิบ 20 Brix	1.05736	18.50	2.03	2.66	14.95	14.12	19.2	23.7	11.2	3.71

ผลการทดลองทาง Organoleptic ตอนที่ 2

วัตถุดิบเริ่มต้น	ผลการทดลอง
Malt 5 Brix	มีกลิ่นเบียร์เล็กน้อย รสชาดขม
Malt 10 Brix	มีกลิ่น-รสของเบียร์จาง ๆ
Malt 13.4 Brix	มีกลิ่น-รสคล้ายเบียร์มาก แต่รสชาดขมมากกว่า (control)
Malt 15 Brix	มีกลิ่น-รสคล้ายเบียร์มาก แต่มีรสหวานปนมามาก
Malt 20 Brix	มีลักษณะหนืด (slyrry)
Wet Spent grain 5 Brix	มีกลิ่นหญ้าแห้ง รสชาดขมเล็กน้อย
Wet Spent grain 10 Brix	มีกลิ่นหญ้าแห้ง
Wet Spent grain 13.4 Brix	มีกลิ่นหญ้าแห้ง
Wet Spent grain 15 Brix	มีกลิ่นหญ้าแห้ง มีรสชาดหวานปนบ้าง
Wet Spent grain 20 Brix	มีกลิ่นหญ้าแห้ง มีรสชาดหวานมาก
Dry Spent Grain 5 Brix	มีกลิ่นเปรี้ยว รสเปรี้ยว ไม่มีกลิ่นเบียร์ ขมเล็กน้อย
Dry Spent Grain 10 Brix	มีกลิ่น-รสเปรี้ยว
Dry Spent Grain 13.4 Brix	มีกลิ่น-รสเปรี้ยว
Dry Spent Grain 15 Brix	มีกลิ่น-รสเปรี้ยว
Dry Spent Grain 20 Brix	มีกลิ่น-รสเปรี้ยว
น้ำตาลดิบ 5 Brix	มีรสขมเล็กน้อย
น้ำตาลดิบ 10 Brix	มีรสหวานของน้ำตาล
น้ำตาลดิบ 13.4 Brix	มีรสหวานของน้ำตาลมาก
น้ำตาลดิบ 15 Brix	มีรสหวานของน้ำตาลมาก คล้ายน้ำหวาน
น้ำตาลดิบ 20 Brix	มีลักษณะหนืด ข้น เนื่องจากมีความหวานมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองตอนที่ 3 หาความเข้มข้นเริ่มต้นที่เหมาะสมในการผลิต

Low Alcoholic Beer

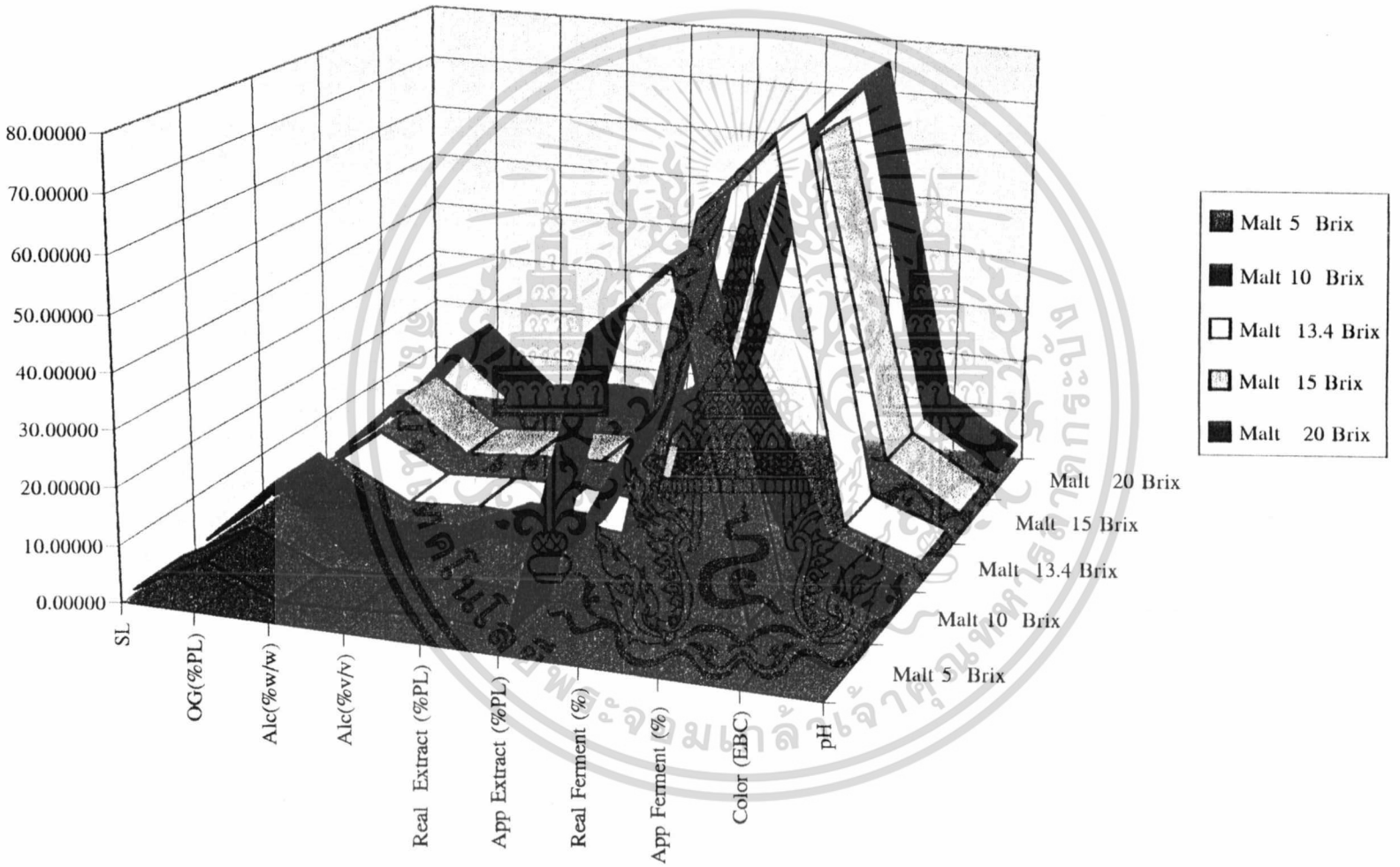
วัตถุดิบเริ่มต้น	SL	OG(%PL)	Alc(%w/w)	Alc(%v/v)	Real Extract (%PL)	App Extract (%PL)	Real Ferment (%)	App Ferment (%)	Color (EBC)
น้ำตาลดิบ 3 Brix	1.00467	3.28	0.26	0.33	1.58	1.18	51.9	64.1	4.3
น้ำตาลดิบ 5 Brix	1.01192	5.02	0.32	0.41	3.42	3.04	32.1	44.7	4.8
น้ำตาลดิบ 7 Brix	1.02212	6.86	0.53	0.68	5.85	5.61	14.8	18.3	5.1
น้ำตาลดิบ 9 Brix	1.02866	8.76	0.68	0.79	7.52	7.23	14.2	17.5	5.4
น้ำตาลดิบ 11 Brix	1.03128	10.08	0.74	0.97	8.29	7.865	17.8	21.9	5.9
น้ำตาลดิบ13.4 Brix	1.04751	12.67	0.81	1.25	11.96	11.80	5.5	7.0	6.1
Cali (low alcoholic beer)	1.04056	10.90	0.32	0.42	10.27	10.13	5.7	7.1	5.2

ผลการทดลองทาง Organoleptic ตอนที่ 3

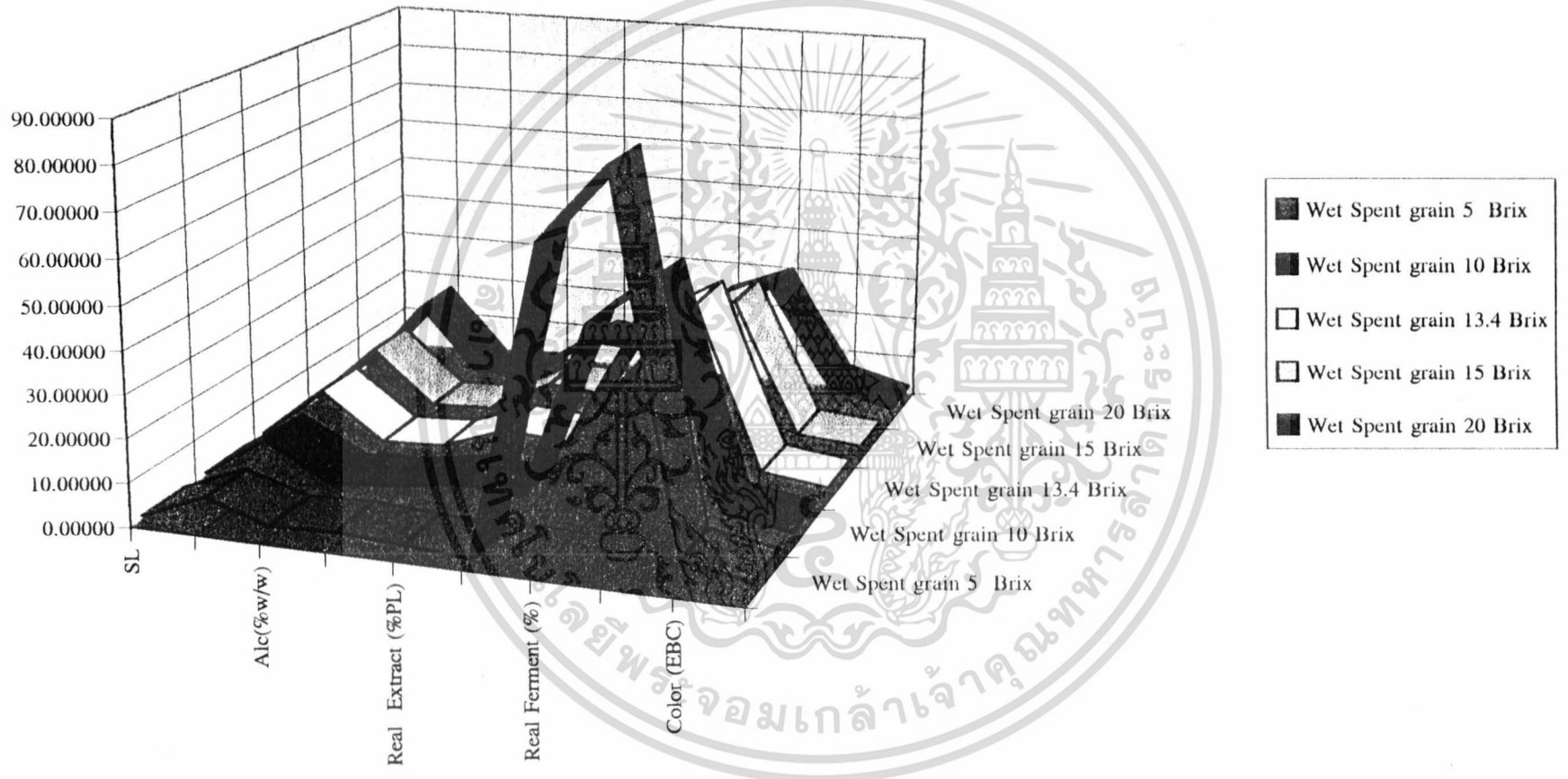
วัตถุดิบเริ่มต้น	ผลการทดลอง
น้ำตาลดิบ 3 Brix	มีกลิ่นรสเปรี้ยวค่อนข้างรุนแรง มีรสขมปนบ้าง
น้ำตาลดิบ 5 Brix	มีกลิ่นน้ำตาลจาง ๆ รสชาดหวานเล็กน้อย รสขมปานกลาง
น้ำตาลดิบ 7 Brix	มีกลิ่นเบียร์จาง ๆ รสชาติคล้ายเบียร์
น้ำตาลดิบ 9 Brix	มีกลิ่นเบียร์มากขึ้น รสชาดออกหวานเล็กน้อย
น้ำตาลดิบ 11 Brix	มีกลิ่นเบียร์ รสชาดหวาน
น้ำตาลดิบ 13.4 Brix	มีกลิ่นเบียร์ รสชาดหวานมากคล้ายน้ำหวาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

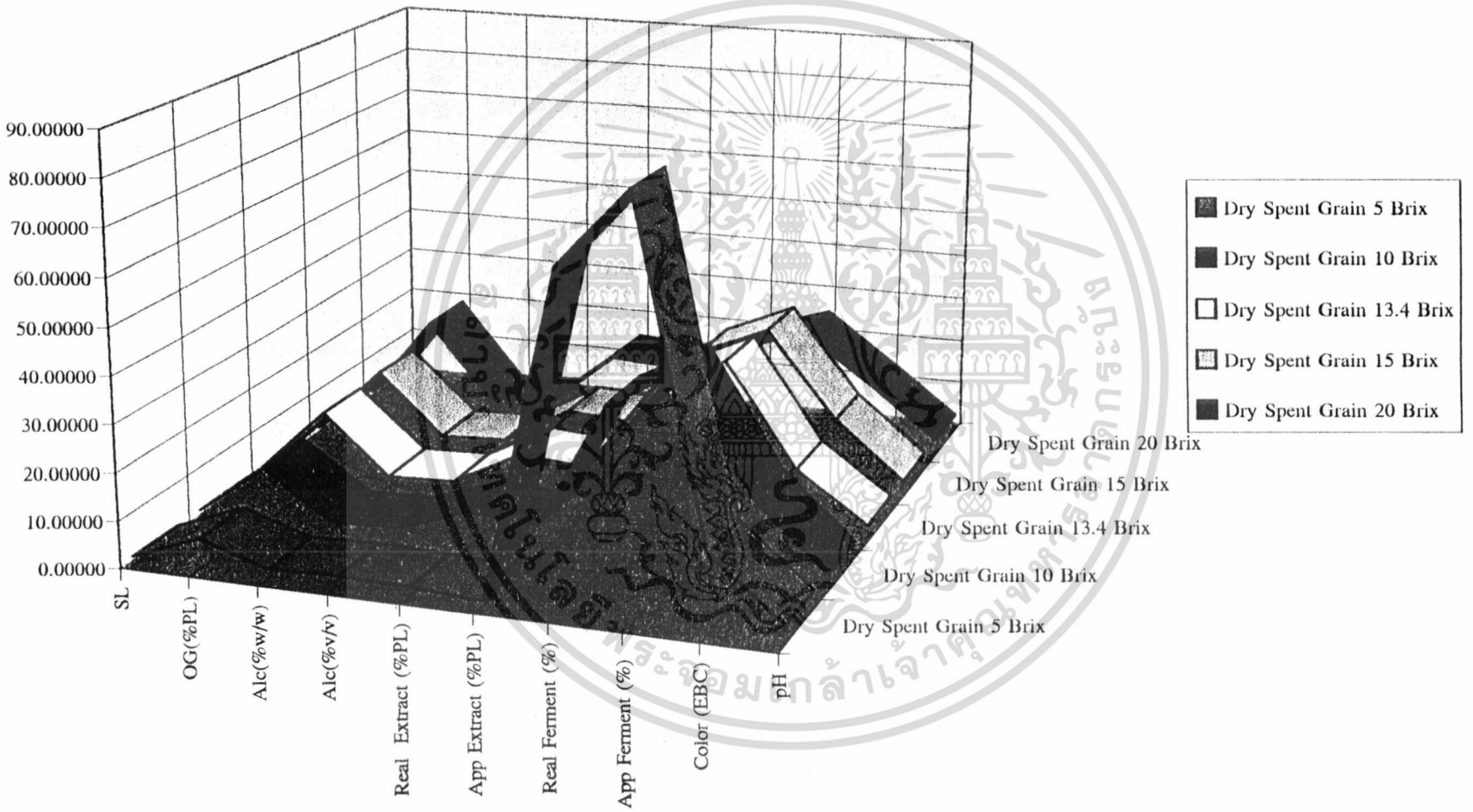
ค่าต่าง ๆ ที่วัดได้จากเครื่อง Beer Detector เมื่อใช้มอลต์เป็นวัตถุดิบ



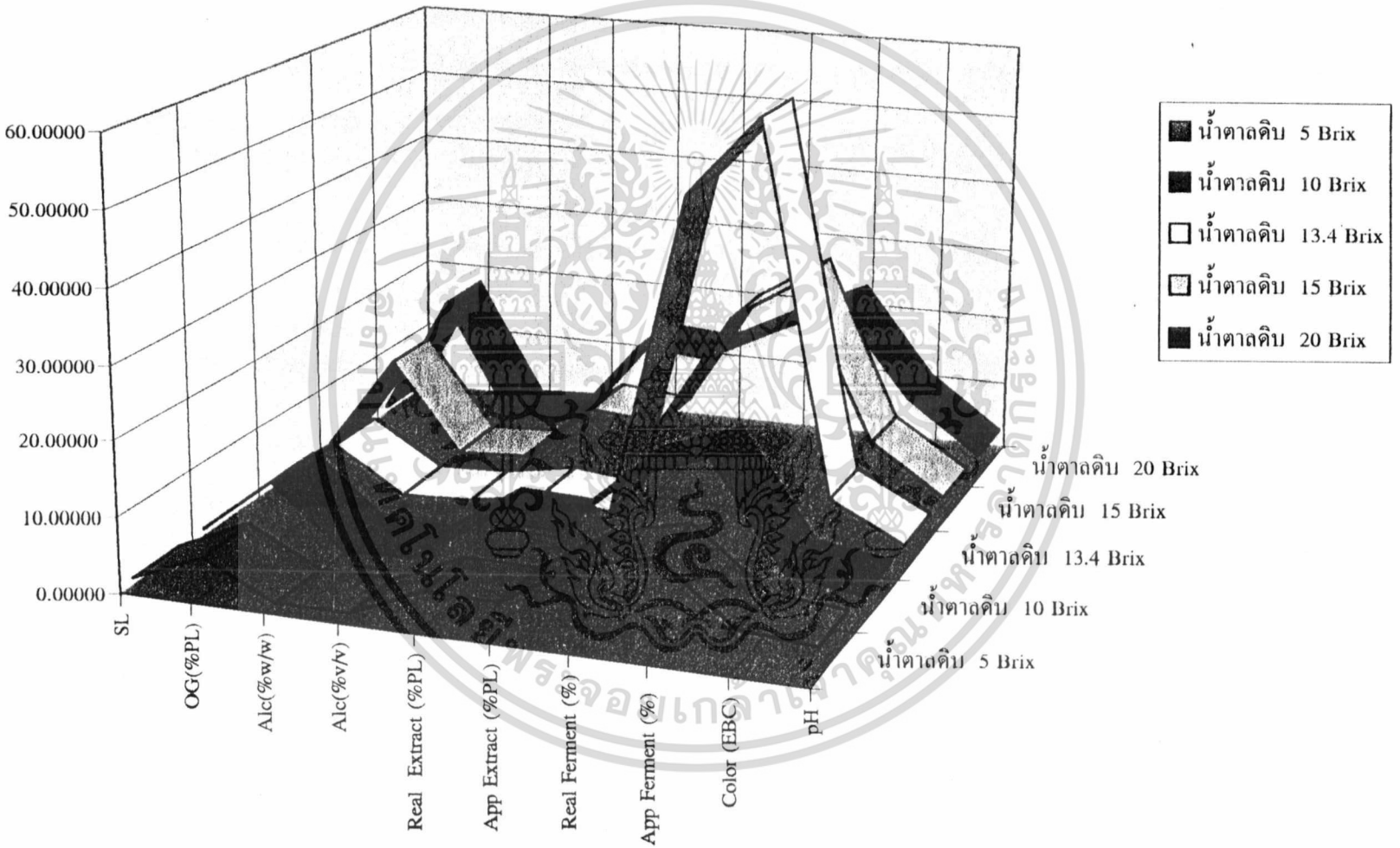
ค่าต่าง ๆที่วัดได้จากเครื่อง Beer Detector เมื่อใช้wet spent grain เป็นวัตถุดิบ



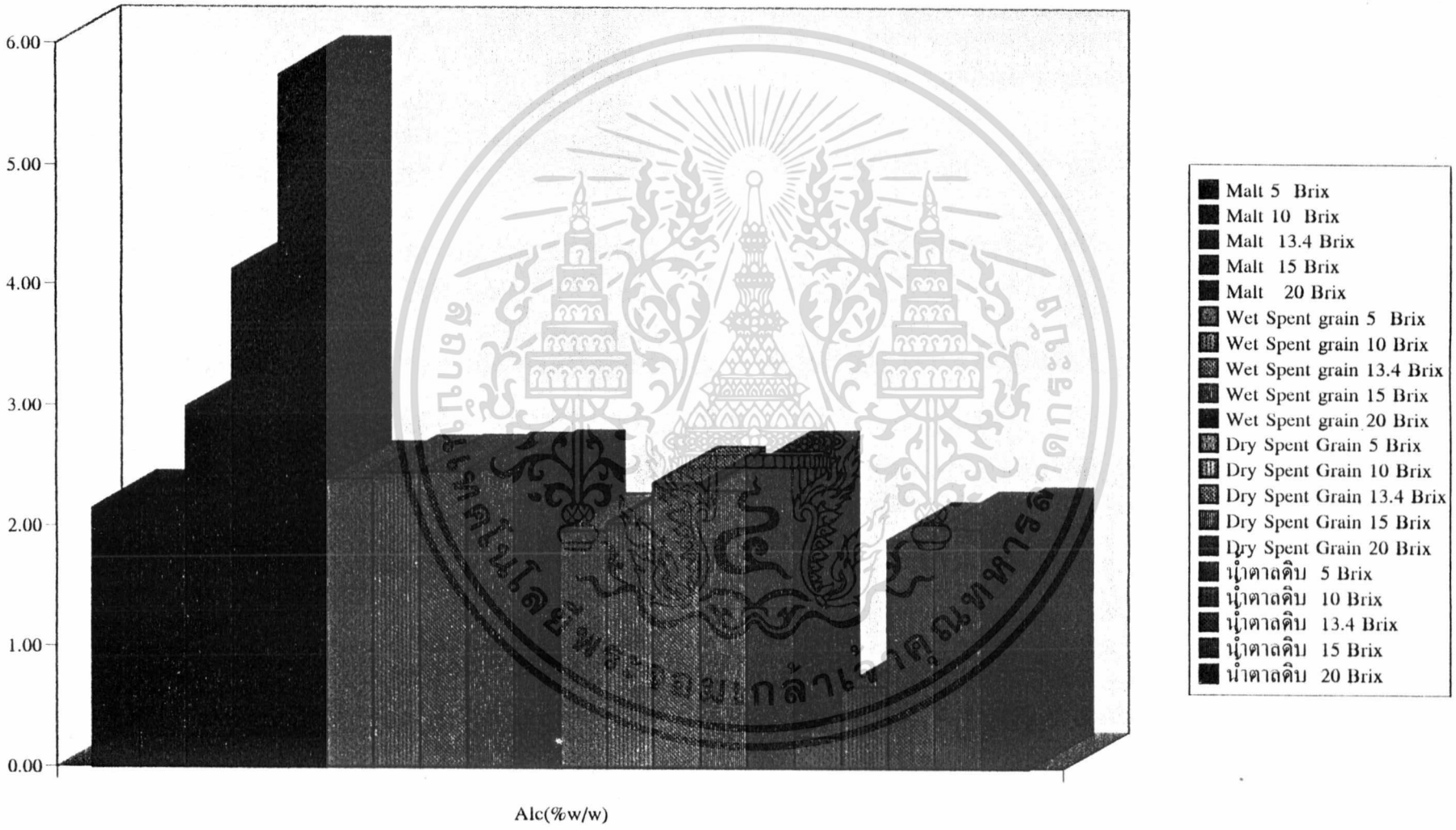
ค่าต่าง ๆ ที่วัดได้จาก Beer Detector เมื่อใช้ dry spent grain เป็นวัตถุดิบ



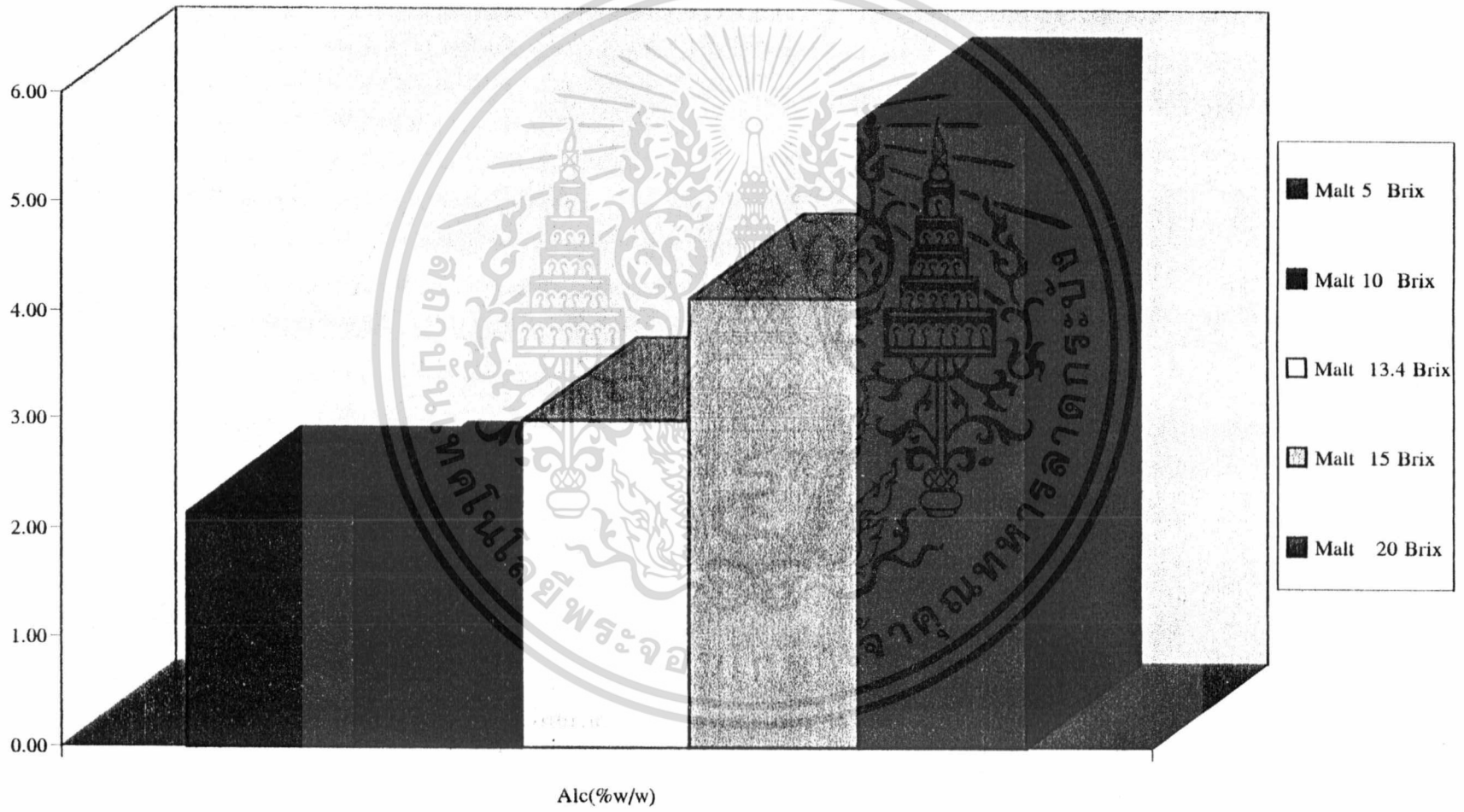
ค่าต่าง ๆ ที่วัดได้จาก Beer Detector เมื่อใช้น้ำตาลดิบเป็นวัตถุดิบ



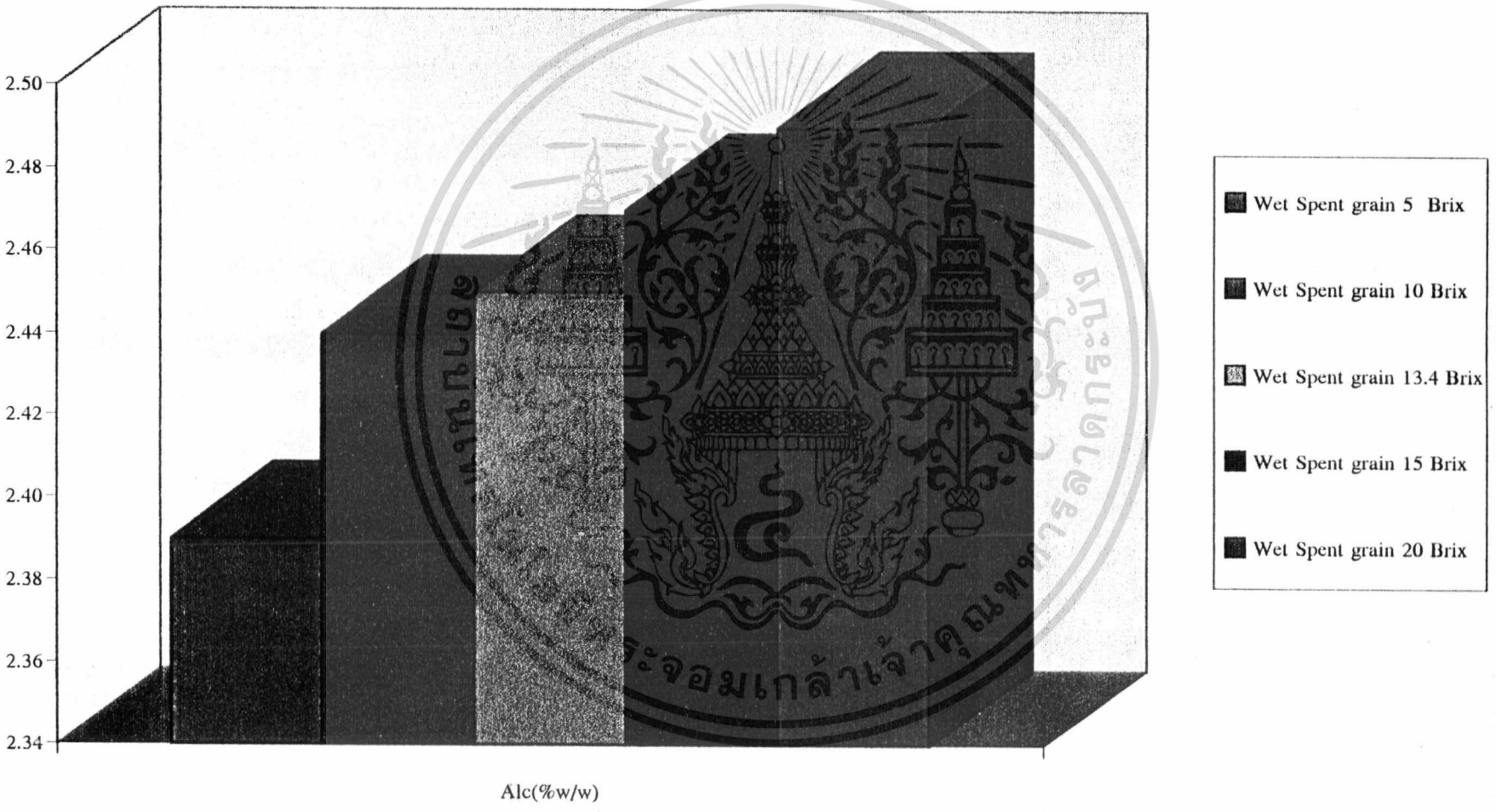
เปอร์เซนต์แอลกอฮอล์ที่ได้จากการหมักโดยใช้วัตถุดิบชนิดต่าง ๆ



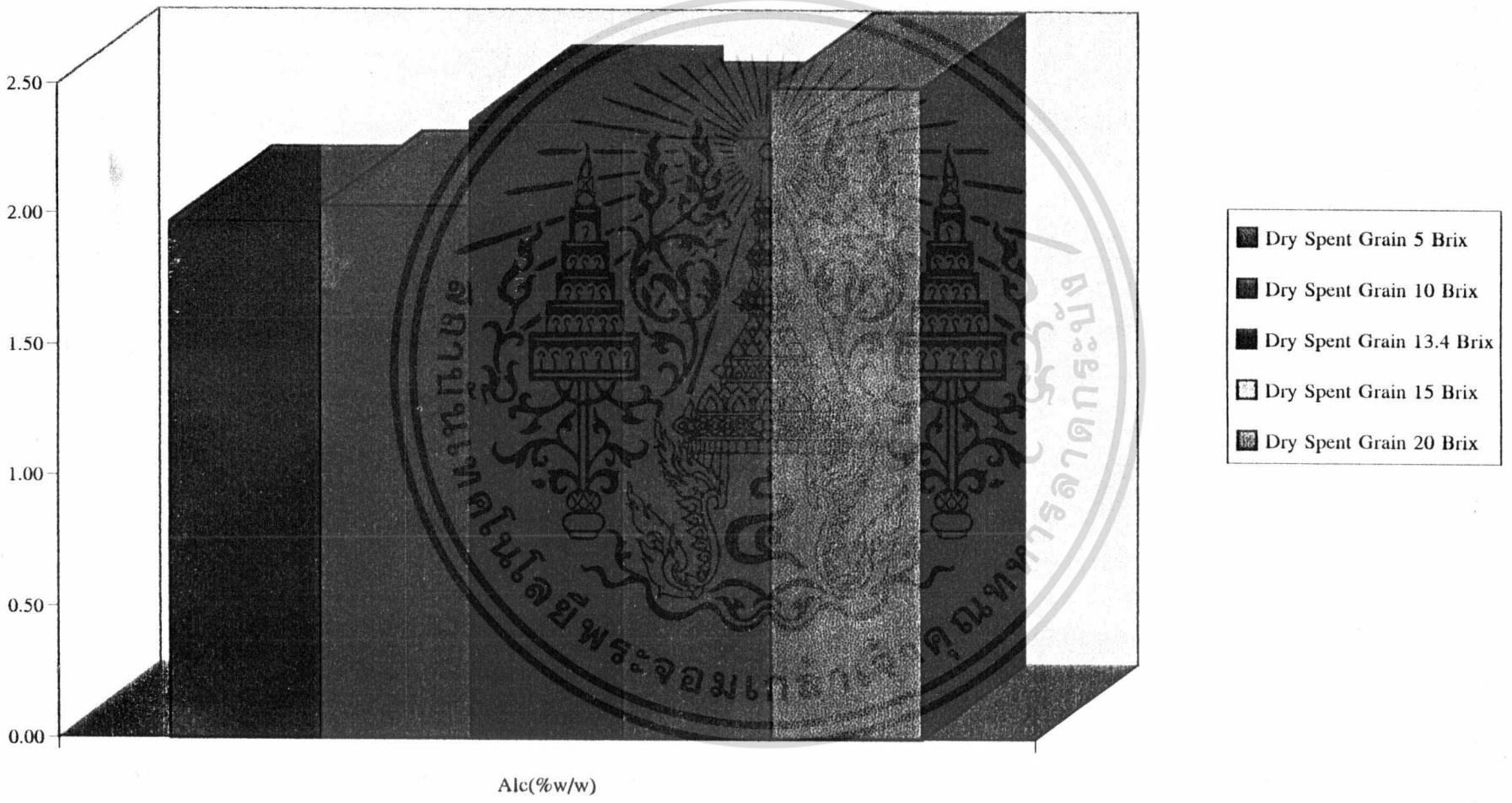
เปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ที่ได้จากการหมักเบียร์โดยใช้ข้าวมอลต์เป็นวัตถุดิบ



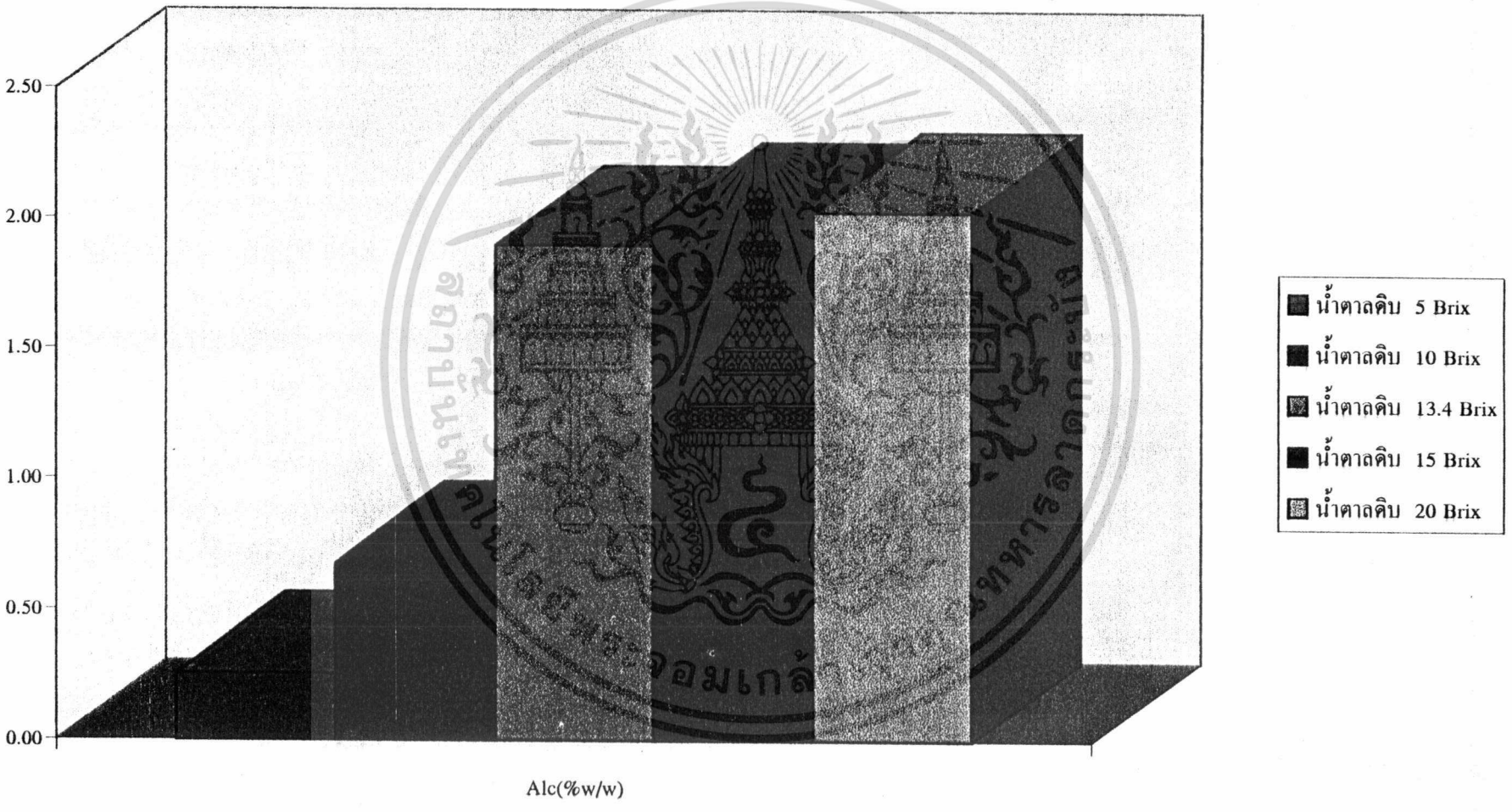
เปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ที่ได้จากการหมักโดยใช้ wet spent grain เป็นวัตถุดิบ



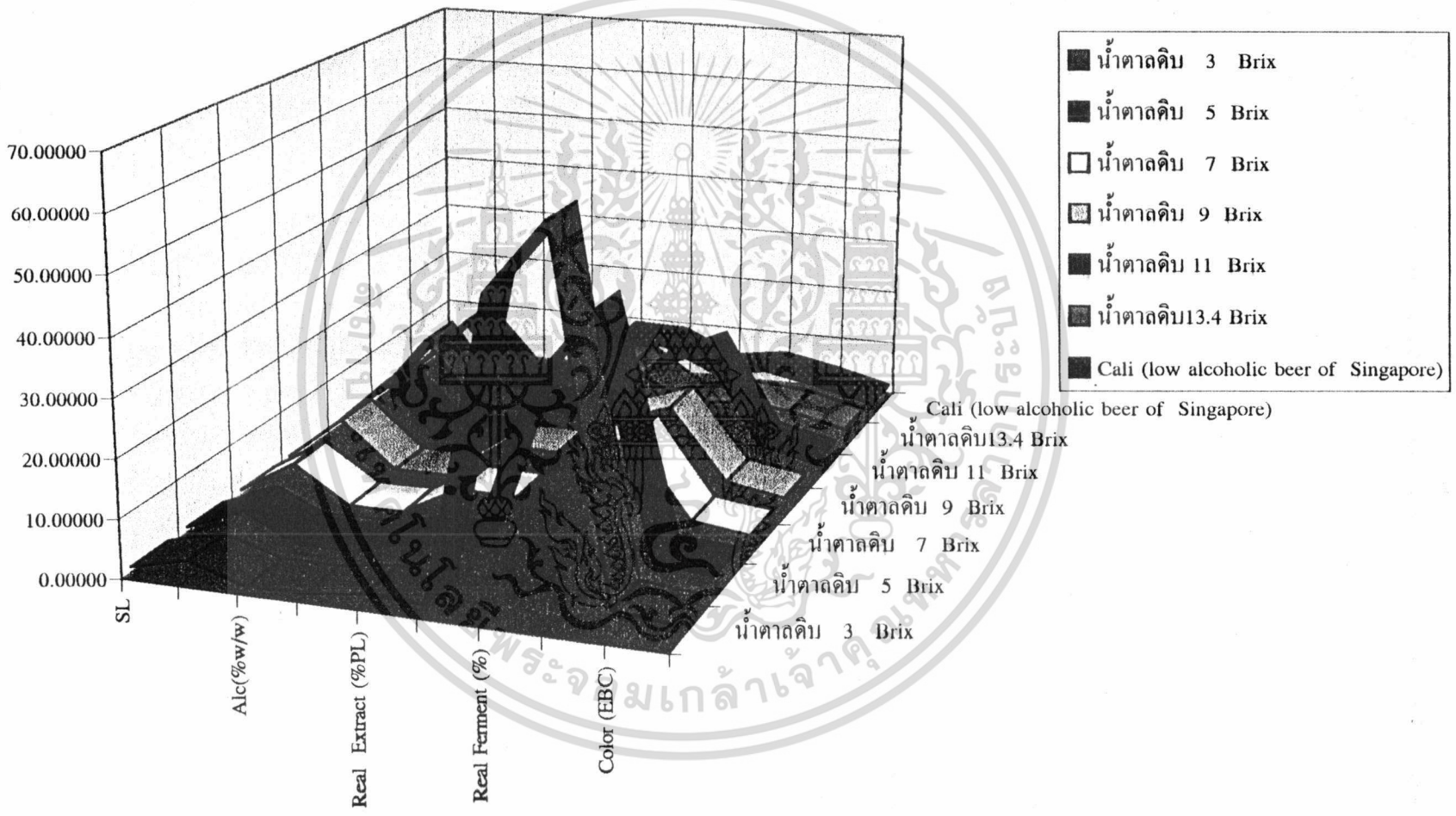
เปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ที่ได้จากการหมักโดยใช้ dry spent grain เป็นวัตถุดิบ



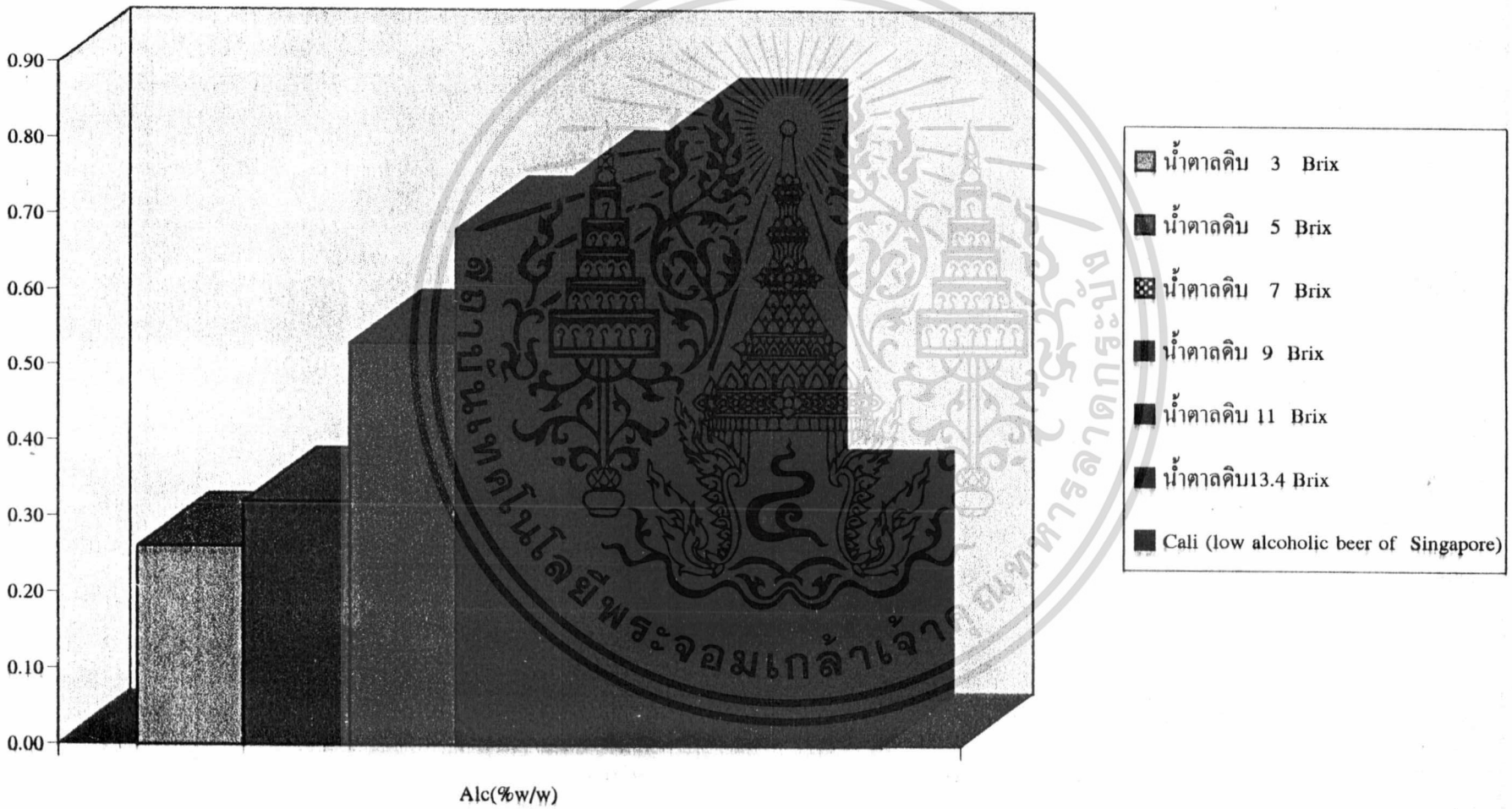
เปอร์เซนต์แอลกอฮอล์ที่ได้จากการหมักโดยใช้น้ำตาลดิบเป็นวัตถุดิบ



ค่าต่าง ๆ ที่วัดได้จาก Beer Detector เมื่อใช้น้ำตาลดิบความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นวัตถุดิบ เปรียบเทียบกับ Cali



เปอร์เซนต์แอลกอฮอล์ที่วัดได้จาก Beer Detector เมื่อใช้น้ำตาลดิบความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นวัตถุดิบ เปรียบเทียบกับ Cali



บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

- การทดลองตอนที่ 1

  จากการทดลองจะเห็นได้ว่า

  เราสามารถหมักเบียร์ตามปกติได้ โดยไม่มีการปนเปื้อนใด ๆ เกิดขึ้น อีกทั้งเมื่อนำไปตรวจวัดโดยเครื่อง Beer Detector แล้วยังให้ค่าต่าง ๆ ใกล้เคียงกับเบียร์ที่มีขายอยู่ตามท้องตลาด (เบียร์สิงห์)

- การทดลองตอนที่ 2

  จากการทดลองจะเห็นได้ว่า

  - วัตถุดิบที่ให้เปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ต่ำสุดไม่ได้เป็นวัตถุดิบที่ให้กลิ่น-รสดีที่สุด ในการทดลองนี้ต้องการสร้างผลิตภัณฑ์ใหม่ที่ได้รับการยอมรับว่ามีกลิ่น-รสคล้ายเบียร์มากโดยมีเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ต่ำ ดังนั้นเราจึงเลือกวัตถุดิบที่ใช้ในการทดลองที่ให้ทั้งปริมาณแอลกอฮอล์ต่ำและให้ผลทาง Organoleptic ที่มีกลิ่น-รสคล้ายเบียร์ด้วย แต่จะสังเกตเห็นว่าเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ของวัตถุดิบทุกอย่างที่นำมาใช้ในการทดลองให้ปริมาณแอลกอฮอล์ลดต่ำ

  - จากผลการทดลอง "น้ำตาลดิบ" คือ วัตถุดิบที่มีความเป็นไปได้ในการนำมาผลิต Low Alcoholic Beer มากที่สุด จึงนำน้ำตาลดิบมาทำการทดลองในขั้นตอนต่อไป

  - Wet Spent Grain และ Dry Spent Grain ก็เป็นวัตถุดิบที่น่าสนใจเนื่องจากให้เปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ต่ำมาก แต่เนื่องจากมีกลิ่น-รสที่ไม่ได้รับการยอมรับ คือมีกลิ่นของหญ้าแห้งปนมาด้วย จึงไม่เหมาะที่จะนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิต Low Alcoholic Beer

- การทดลองตอนที่ 3

  จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่า

  - ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นต่ำ ๆ จะให้ปริมาณแอลกอฮอล์ต่ำด้วย

  - เลือกความเข้มข้นเริ่มต้นที่ให้กลิ่นที่ใกล้เคียงกับเบียร์ปกติมากที่สุด (เพราะเรื่องรสชาดสามารถปรุงแต่งได้ด้วยใช้เทคนิคทาง Flavor) ซึ่งอาจจะไม่ใช่วัตถุดิบที่ให้ปริมาณแอลกอฮอล์ต่ำสุดก็ได้ แต่เป็นวัตถุดิบที่มีความเหมาะสมมากที่สุดในการทดลองนี้ ซึ่งในการทดลองนี้วัตถุดิบดังกล่าวคือ "น้ำตาลดิบที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 7 Brix" นั่นเอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.Yeast Malt Extract Agar (YM Agar)

กลูโคส	10	กรัม
เปปโตน	5	กรัม
สารสกัดจากยีสต์ (Yeast Extract)	3	กรัม
สารสกัดจากมอลต์ (Malt Extract)	3	กรัม
ผงวุ้น	15	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร
pH 6.5-7.0		

1.Yeast Malt Extract Broth (YM Broth)

กลูโคส	10	กรัม
เปปโตน	5	กรัม
สารสกัดจากยีสต์ (Yeast Extract)	3	กรัม
สารสกัดจากมอลต์ (Malt Extract)	3	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร
pH 6.5-7.0		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

ดร.ดุษณี ธนะบริพัฒน์, การผลิตแอลกอฮอล์, จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม, 2534, หน้า 1 - 14

ผศ.สุขใจ ชูจันทร์, ความสำคัญของยีสต์ในทางอุตสาหกรรมอาหาร, จุลชีววิทยาทางอาหาร, 2535, หน้า 58 - 70

กำเนิด สุภัณวงษ์, ยีสต์, จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม, 2534, หน้า 203 - 214

ดร. อรพิน ภูมิภมร, จุลินทรีย์ที่เกี่ยวกับการหมักเบียร์, จุลินทรีย์ในเครื่องดื่มประเภทแอลกอฮอล์และอาหารหมักพื้นเมือง, 2526, หน้า 26 - 40

Ron S. Jackson, Alcohol Fermentation, Wine Science Principle and Application, 1993, p. 234 - 259

Justin O. Neway, Growth of yeast, Fermentation Process, 1989, p. 277 - 291

J. Kulandai, D.B. Hanthorne and T.E.Kavanagh, Low Alcohol Beer, Food Australia 46(4), 1993, p. 175 -178

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้