



# เบียร์ข้าวโพด

โดย

นางสาวพัชรินทร์ สายสังข์

นางสาวพริยามา เกียรติชนะไพบุลย์

อาจารย์ที่ปรึกษา

ผศ.สุทธิศักดิ์ สุขในศิลป์

โครงการนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พุทธศักราช 2540

I18357052



# Maize Beer

By

Miss Patcharin Saisung

Miss Peeriya Kiatchanapaiboon

Project Advisor

Assistant Professor Sutthisak Suknaisilp

*A project submitted for the degree of Bachelor of Science*

*Food Technology Department Chulalongkorn University*

*Academic Year 1997*

หัวข้อโครงการ เบียร์ข้าวโพด  
 บัณฑิตผู้ดำเนินการ นางสาวพริษา เกียรติชนะไพบุลย์  
 นางสาวพัชรินทร์ สายสังข์  
 อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สุทธิศักดิ์ สุขในศิลป์  
 ภาควิชา เทคโนโลยีทางอาหาร  
 ปีการศึกษา 2540

### บทคัดย่อ

ทดลองนำข้าวโพดชนิดหัวแข็ง (flint corn) มาเป็นวัตถุดิบในการผลิตเบียร์ มีวัตถุประสงค์เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิต การทดลองแบ่งเป็น 3 ขั้นตอน ขั้นตอนแรกเป็นการหาเวลาที่เหมาะสมในการทำให้เมล็ดงอกที่อุณหภูมิห้อง ( $28-29^{\circ}\text{C}$ ) โดยแปรเวลาเป็น 2, 3, 4, 5, 6 และ 7 วัน แล้ววัดปริมาณการสูญเสียของเมล็ดเนื่องจากการงอก (total malting loss) และ amylase activity พบว่าเวลาที่เหมาะสมคือ 3 วัน ขั้นตอนที่สอง นำมอลท์ข้าวโพดที่ได้จากขั้นแรกมาอบแห้งให้มีปริมาณความชื้น 7 - 8 % บดลดขนาด แล้วหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับเตรียม mashing โดยแปรเวลาในการให้ความร้อนเป็น 1, 1.5 และ 2 ชั่วโมง และอุณหภูมิที่ใช้เป็น  $57, 63$  และ  $69^{\circ}\text{C}$  จากนั้นวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ซึ่งสภาวะที่เหมาะสมคือใช้เวลา 1.5 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ  $63^{\circ}\text{C}$  ขั้นตอนที่สาม นำสารละลายมอลท์ที่ผ่านการย่อยแล้วมาแปรปริมาณน้ำตาลเริ่มต้นที่ใช้ในการหมัก โดยเติมกลูโคสไซรัป 10, 20 และ 30 % ของน้ำหนักมอลท์ข้าวโพด เติม hops 0.065% (w/v) ต้มเป็นเวลา 2 ชั่วโมง กรองเอาส่วนน้ำใสไปใช้ในการหมัก เติม starter ของยีสต์ *Saccharomyces carlsbergensis* 10% (v/v) หมักไว้ที่อุณหภูมิ  $16^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 7 วัน นำมา centrifuge แล้วทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส พบว่าผลิตภัณฑ์ที่เติมกลูโคสไซรัป 30% มีปริมาณแอลกอฮอล์ 4.05% (v/v) ได้รับการยอมรับในด้านสี, ความหวาน และรสชาติโดยรวมที่  $P \leq 0.05$

Project Title      Maize Beer

Name              Miss Patcharin Saisang  
                         Miss Peeriya Kiatchanapaiboon

Project Advisor   Assistant Professor Sutthisak Suknaisilp

Department      Food Technology

Academic Year   1997

## ABSTRACT

The purpose of this study is to find certain factors in preparing malt to produce beer from flint corn. The experiment is carried out in three stages. In the first stage, the corn seeds are made to germinate at room temperature (28-29°C) in 2, 3, 4, 5, 6, and 7 days and then the amount of total malting loss and amylase activity is measured. It is found that the optimum time to germinate the seeds at room temperature is 3 days. In the second stage, the corn malt obtained from the first stage is kiln-dried until 7-8% of the moisture remains. After being ground, it is ready for mashing. The favorable conditions for mashing can be found by heating the malt for 1, 1.5, and 2 hours with a temperature of 57, 63, and 69°C and measuring the amount of reducing sugar. It is found that the most favorable condition is 1.5 hours and at 63°C. In the final stage, the malt solution which has been extracted is added with various amount of initial sugar for fermentation. This is done by mixing glucose syrup amounting to 10, 20, and 30% of the corn malt's weight. Then add 0.065% (w/v) hops, and boil it for 2 hours. Next, the clear liquid part is filtered into a fermenting jug and 10% (v/v) of the starter of *Saccharomyces carlsbergensis* is inoculated. It is then fermented at 16°C for 7 days before being centrifuged. After a sensory test, it is found that the product with 30% glucose syrup which produces 4.05% (v/v) alcohol is accepted in terms of color, sweetness and taste at  $P \leq 0.05$ .

## กิตติกรรมประกาศ

โครงการนี้เป็นส่วนหนึ่งของการเรียนการสอนในระดับปริญญาตรีของภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยได้รับทุนอุดหนุนจากงบประมาณของโครงการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ ปีการศึกษา 2540 ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โครงการนี้สามารถสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี โดยได้รับความแนะนำปรึกษาและความกรุณาอย่างดียิ่งจาก ผศ.สุทธิศักดิ์ สุขในศิลป์ อีกทั้งได้รับความกรุณาจากบุคคลหลายท่านดังนี้

บริษัท คาร์ลสเบอร์ก บริวเวอรี่ (ประเทศไทย) จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์วัตถุดิบ hops เพื่อใช้ในการทดลอง

เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการภาควิชา ฯ ที่ให้ความสะดวกในการยืมอุปกรณ์และเครื่องมือ  
รุ่นพี่ปริญญาโทและเพื่อน ๆ นิสิตทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือ คำปรึกษาแนะนำและให้ความร่วมมือในการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ผู้ดำเนินการทดลองรำลึกในความกรุณาของทุกท่านที่ได้กล่าวมานี้ และขอขอบคุณเป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้

นางสาวพัชรินทร์ สายสังข์

นางสาวพริษา เกียรติชนะไพบุลย์

### สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญรูปภาพ	จ
สารบัญตาราง	ฉ
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	ช
บทนำ	ซ
บทที่ 1 วารสารปริทัศน์	1
บทที่ 2 การทดลอง	13
บทที่ 3 ผลการทดลอง	16
บทที่ 4 วิจัย	24
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	27
ข้อเสนอแนะ	28
เอกสารอ้างอิง	29
ภาคผนวก ก (วิธีวิเคราะห์ทางเคมี)	31
ภาคผนวก ข (Proposal)	33
ภาคผนวก ค (แบบทดสอบ)	40

เลขหมู่ กที่  
 ๑/๑๓  
 เลขทะเบียน ๐๙๖๒  
 ๒๖/๑  
 วัน.เดือน.ปี 14 ต.๑.41

## สารบัญรูปภาพ

	หน้า
รูปที่ 1 : Isomerization of humulones	6
รูปที่ 2 : ขั้นตอนของ alcoholic fermentation	10
รูปที่ 3 : ขั้นตอนการผลิตเบียร์	12
รูปที่ 4 : %Loss ของข้าวโพดที่ทำให้งอกในเวลาต่าง ๆ กัน	17
รูปที่ 5 : ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของข้าวโพดที่งอกในเวลาต่าง ๆ กัน	18

## สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 : องค์ประกอบของข้าวโพดเมื่อเปรียบเทียบกับข้าว บาร์เลย์ (%)	4
ตารางที่ 2 : ผลการวัดอัตราการงอกของเมล็ด	16
ตารางที่ 3 : %Loss ของข้าวโพดที่ทำให้งอกในเวลาต่าง ๆ กัน	16
ตารางที่ 4 : ปริมาณ reducing sugar จากข้าวโพดที่งอกในเวลา ต่าง ๆ กัน	19
ตารางที่ 5 : ผลของระยะเวลาที่ใช้ในการงอก 2-7 วันที่มีต่อ %Loss และปริมาณน้ำตาลรีดิวิตซ์	20
ตารางที่ 6 : ANOVA TABLE	20
ตารางที่ 7 : ผลของอุณหภูมิ และเวลาที่มีต่อปริมาณน้ำตาล รีดิวิตซ์ในขั้น mashing	21
ตารางที่ 8 : ผลการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส	22
ตารางที่ 9 : แสดงปริมาณแอลกอฮอล์ ค่าความเป็นกรดต่าง และปริมาณน้ำตาลรีดิวิตซ์ที่เหลือหลังการหมัก	23



## วัตถุประสงค์

ศึกษาปัจจัยบางประการในการเตรียมมอลท์ข้าวโพด

## บทนำ

ประเทศไทยสามารถปลูกข้าวโพดได้เป็นจำนวนมาก แต่การนำข้าวโพดมาใช้ประโยชน์ในการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารอื่น ๆ ยังมีค่อนข้างจำกัด ในขณะเดียวกัน การผลิตเบียร์ซึ่งต้องอาศัยวัตถุดิบสำคัญ คือ มอลท์ธัญพืชที่นิยมใช้กันก็คือข้าวบาเลย์ ที่ต้องนำเข้าจากต่างประเทศและมีราคาแพง ทำให้ต้นทุนในการผลิตสูง จึงได้ทำการทดลองใช้มอลท์จากข้าวโพดมาผลิตเป็นเบียร์ เพื่อเป็นแนวทางในการใช้ประโยชน์ต่อไป

ขั้นตอนต่าง ๆ ในการผลิตทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณลักษณะส่วนใหญ่ตามที่ต้องการ เช่น ในการทำให้เมล็ดข้าวโพดงอกจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงชั้นภายในเมล็ดได้ผลเป็นน้ำตาลรีดิวิซ์ กรดอะมิโนอิสระและสารประกอบอื่น ๆ ที่จำเป็นต่อการหมักและรสชาติของผลิตภัณฑ์ซึ่งจะกล่าวถึงในรายละเอียดต่อไป

## บทที่ 1

### วารสารปริทัศน์

#### Alcoholic beverages

การผลิตและการบริโภคเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์เป็นกิจกรรมหนึ่งที่เก่าแก่ที่สุดของมนุษย์ ซึ่งในปัจจุบันอุตสาหกรรมการหมักที่นำรายได้เข้าสู่ประเทศหลายประเทศ คือ การผลิตไวน์ และสุรา เครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ แบ่งได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ คือ เบียร์, ไวน์ และสุรา ซึ่งแบ่งตามส่วนผสม และขั้นตอนการผลิต โดยจะมีการผลิต ethanol จากกระบวนการหมักคาร์โบไฮเดรต และใช้ยีสต์สกุล *Saccharomyces*

#### Beer

เบียร์เป็นเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ ซึ่งได้จากการหมักมอลท์ของธัญพืช และมีกลิ่นรสเฉพาะของ hops ซึ่งตามปกติแล้วจะใช้ข้าวบาร์เลย์หรือร่วมกับวัตถุดิบอื่นที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบ เช่น ข้าวโพด และข้าวฟ่าง เป็นต้น

Typical American beer จะมีน้ำเป็นองค์ประกอบ 91%, คาร์โบไฮเดรตซึ่งอยู่ในรูปของ maltose และ dextrins 4.6%, สารประกอบโปรตีน 0.5%, เกลือแร่ 0.2% และแอลกอฮอล์ 3.5% โดยน้ำหนัก และยังมีวิตามินต่าง ๆ ที่จำเป็นด้วย คือ thiamin, niacin, riboflavin, pantothenic acid, pyridoxine และอื่น ๆ

#### Kinds of beer ( Lea and Piggott, 1995 )

ชนิดของเบียร์ที่แตกต่างกัน จะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิในการหมัก, องค์ประกอบหรือส่วนผสม, ชนิดของเมล็ดธัญพืชที่ใช้, กระบวนการผลิต และยีสต์

#### Lager beer

ผลิตจากมอลท์ข้าวบาร์เลย์ ผ่านกระบวนการหมักโดยใช้ *Saccharomyces carlsbergensis* ซึ่งเป็น bottom yeast ที่หลังจากทำการหมักเสร็จจะอยู่กันถึง อุณหภูมิที่ใช้ในการหมักประมาณ 50-60°F (10-16°C) เบียร์ที่ได้จะมีลักษณะใสสว่าง และเป็นสีเหลืองอ่อน มีแอลกอฮอล์ประมาณ 4-5% เบียร์ชนิดนี้ใช้ hops ในปริมาณน้อย และนิยมเก็บไว้ในภาชนะบรรจุที่เป็นไม้ มีอายุการเก็บยาวนาน

## Ale

ale และ beer บางครั้งใช้ในความหมายเดียวกันหรือแทนกันได้ แต่ ale จะแตกต่างจาก beer ชนิดอื่น ๆ คือ มีปริมาณแอลกอฮอล์สูงกว่า คือ ประมาณ 6% ส่วนองค์ประกอบหลักอื่น ๆ เหมือนกับ Lager beer ยกเว้น ใช้ยีสต์ชนิด top yeast แทน

## Porter และ Stout

มีความเหมือน ale มากกว่า beer แต่ Porter จะหวานกว่า ale และในการผลิตจะได้ hops น้อยมาก และมีฟองมาก ส่วน Stout จะมีกลิ่นและรสของมอลท์แรง มีสีเข้มและหวานกว่า Porter เบียร์ทั้ง 2 ชนิดนี้มีแอลกอฮอล์ประมาณ 5-6%

## Bock beer

เป็นเบียร์ที่มีความหวานและสีเข้มมากกว่า lager beer เป็นเบียร์เยอรมันที่เตรียมไว้ใช้ในงานประเพณีฤดูหนาว

## Near beer

หรือ cereal beverage เป็นการหมักโดยใช้ bottom yeast โดยมีการกลั่นเอาแอลกอฮอล์ส่วนใหญ่ออกไป ดังนั้นจึงทำให้มีปริมาณแอลกอฮอล์เหลืออยู่น้อยกว่า 0.5% รสชาติของ Near beer จะมีลักษณะของเบียร์น้อยกว่าเบียร์ธรรมดาทั่วไป

## วัตถุดิบ

วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตเบียร์จะรวมถึงเมล็ดธัญพืช, น้ำ, hops และยีสต์

### 1. ข้าวบาร์เลย์

มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Hordeum vulgare* เป็นพืชตระกูลหญ้า (Gramineae) ซึ่งโดยทั่วไปธัญพืช (cereals) หลายชนิดสามารถนำมาทำเป็นมอลท์ได้ แต่การทำมอลท์จากข้าวบาร์เลย์จะทำได้ง่ายใช้เทคนิคต่าง ๆ น้อยลง ในขณะที่ข้าวโพดทำได้ยากกว่า และมอลท์ที่ได้จะมีปริมาณไขมันมาก ซึ่งจะเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการเหม็นหืนตามมา (Lewis, 1995) ข้าวสาลีก็พบว่ามักประสบปัญหาเรื่องจุลินทรีย์ในระหว่างขั้นตอนการงอกของเมล็ด สำหรับการผลิตเบียร์พื้นเมืองของชาว African จะใช้ธัญพืชหลายชนิดมาทำมอลท์โดยเฉพาะข้าวฟ่าง แต่อย่างไรก็ตาม กลิ่นรสของเบียร์ที่ผลิตจากมอลท์ข้าวบาร์เลย์จะได้รับความนิยม และ

ได้รับการยอมรับมานานจากคนส่วนใหญ่ในโลกมากกว่าเบียร์ที่ทำจากธัญพืชอื่น ๆ (Hough, 1985) ยิ่งกว่านั้น ข้าวบาร์เลย์ที่ใช้ในการทำมอลต์เพื่อผลิตเบียร์ ยังให้ปริมาณแป้ง (starch content) ที่สูง ซึ่งทำให้ผลผลิตในการหมักสูงด้วย รวมทั้งยังมีปริมาณโปรตีนที่เพียงพอที่จะให้กรดอะมิโนที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของยีสต์ และให้สารประกอบไนโตรเจนที่สำคัญในการเกิดฟองของเบียร์ ข้อได้เปรียบอีกอย่างหนึ่งของข้าวบาร์เลย์ก็คือ เมื่อเมล็ดแก่แล้วจะยังคงอยู่ในรวงข้าวซึ่งป้องกันความชื้นจากภายนอกได้ก่อนการเก็บเกี่ยว ทำให้ไม่มีการออกของเมล็ดขณะที่อยู่ในรวง (Warren and Martin, 1963)

## 2. ข้าวโพด

โดยทั่วไป พืชตระกูล *Gramineae* ได้แก่ ข้าวสาลี, ข้าวไร, ข้าวโอ๊ต, ข้าวเจ้า, ข้าวโพด, ข้าวเดือย และข้าวฟ่าง จะสามารถนำมาทำมอลต์ได้เช่นเดียวกับข้าวบาร์เลย์ แต่ส่วนใหญ่จะนำมาทำเป็น adjunct มากกว่า เช่น sugars และ syrups ที่เตรียมได้จากแป้งข้าวโพด

### การแยกประเภทข้าวโพด

1. Dent corn (ข้าวโพดไร่ชนิดหัวบุบ)
  2. Flint corn (ข้าวโพดไร่ชนิดหัวแข็ง)
  3. Sweet corn (ข้าวโพดหวาน) ปลูกรับประทานฝักสดโดยเฉพาะ รสหวานมีน้ำตาลมาก แต่เมล็ดแก่จะหดยาว และเหี่ยวง่าย
  4. Pop corn (ข้าวโพดคั่ว) มีแป้งประเภทแข็งอยู่ภายใน ภายนอกห่อหุ้มด้วยสารที่ค่อนข้างเหนียวและยึดตัวได้
  5. Waxy corn (ข้าวโพดข้าวเหนียว) เมล็ดเหนียวคล้ายขี้ผึ้ง แป้งคล้ายแป้งมันสำปะหลัง
  6. Flour corn (ข้าวโพดแป้ง) เมล็ดคล้ายพวกข้าวโพดไร่ชนิดหัวแข็ง ปลูกมากในแถบซึ่งค่อนข้างแห้งแล้ง
  7. ข้าวโพดป่า ปัจจุบันปลูกไว้เพื่อการศึกษาและปรับปรุงพันธุ์เท่านั้น
- นอกจากนี้ ยังแยกประเภทข้าวโพดตามวัตถุประสงค์ในการใช้ประโยชน์ คือ ปลูกเพื่อ
1. ใช้เมล็ดแก่ (corn for grain) เป็นอาหารคนหรือสัตว์โดยตรง
  2. ใช้ต้นหรือใบให้สัตว์กินเป็นอาหารสด

3. ใช้ทำเป็นอาหารแห้งสำหรับสัตว์ (fodder corn) โดยตัดต้นและใบมาตากแห้งเก็บไว้
4. ใช้ฝักอ่อน (baby corn)

### Flint corn

มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Zea mays indurata* เป็นชนิดที่มีลักษณะเมล็ดค่อนข้างแข็ง แกร่ง กลม เรียบ หัวไม่บุบ เพราะมีแป้งชนิดอ่อนอยู่ตรงกลางแต่ด้านนอกถูกห่อหุ้มด้วยแป้งชนิดแข็ง เมื่อตากแห้งจึงไม่หดตัว มีขนาดฝักและจำนวนแถวน้อยกว่าพวกหัวบุบ ปลูกกันมากในประเทศทางยุโรป เอเชีย อเมริกากลางและใต้ ในประเทศไทยก็ปลูกกันมาช้านาน และปัจจุบันมีการปรับปรุงพันธุ์ใหม่ ๆ ออกมา เช่น ข้าวโพดพันธุ์สุวรรณ พันธุ์ปากช่อง 1602 ซึ่งเป็นข้าวโพดประเภทที่นิยมปลูกกันมาก เพราะมีน้ำหนักรดี อายุสั้น ไม่ค่อยอดความชื้น เมื่อแห้งจัด และตลาดต่างประเทศต้องการใช้เป็นอาหารสัตว์ (Warren and Martin, 1963)

ตารางที่ 1 องค์ประกอบของข้าวโพดเมื่อเปรียบเทียบกับข้าวบาร์เลย์ (%)

เมล็ดธัญพืช	Moisture	Ash	Protein	Fat	Fiber	Carbohydrate
Maize grain	10.8	1.5	10.0	4.3	1.7	71.7
Pearl Barley	10.8	1.2	8.7	1.0	0.8	77.5

ที่มา : Kent (1983)

### 3. น้ำ

ปริมาณน้ำในเบียร์มีมากกว่า 95% และเป็นองค์ประกอบสำคัญที่มีผลต่อคุณภาพและชนิดของเบียร์ โดยเฉพาะแร่ธาตุที่ละลายอยู่ในน้ำที่สำคัญมี 2 ชนิด คือ calcium sulfate และ calcium carbonate ซึ่งมีบทบาทในการควบคุมความเป็นกรดต่าง (pH) ของเบียร์ ส่วนแร่ธาตุอื่น ๆ จะมีบทบาทในด้านกลิ่นรส (flavor) ของเบียร์ และพบว่า ถ้าน้ำมีปริมาณ calcium sulfate สูง จะทำให้ได้เบียร์ที่มีลักษณะ strong pale ales แต่ถ้าน้ำอ่อน (soft water) จะได้

pale lagers ส่วนน้ำที่มี calcium carbonate มาก หรือน้ำกระด้างชั่วคราว จะทำให้เบียร์ที่ได้มี สีคล้ำ (Varnam, 1994)

#### 4. Hops

องค์ประกอบโดยทั่วไปของ hops มีดังนี้ ( Verzele, 1991)

Water	10.0%
Total resins	15.0%
Essential oil	0.5%
Tannins	4.0%
Monosaccharides	2.0%
Pectin	2.0%
Amino acid	0.1%
Proteins (Nx6.25)	15.0%
Lipids and Wax	3.0%
Ash	8.0%
Cellulose, lignin, etc.	40.4%

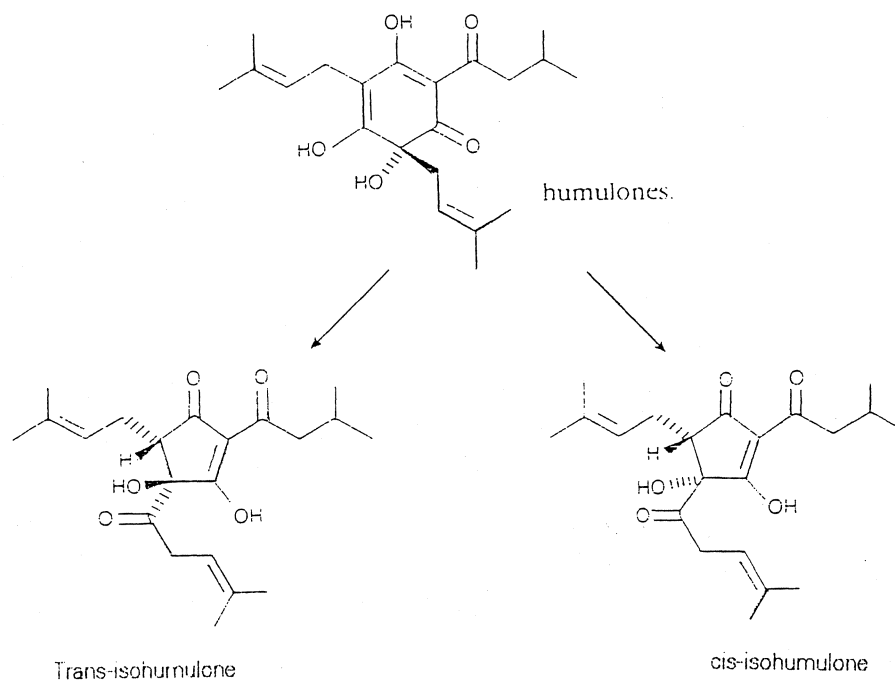
องค์ประกอบที่สำคัญในกระบวนการหมัก คือ resins และ essential oils ส่วน tannins, proteins, amino acid, sugar ซึ่งมีอยู่ในปริมาณน้อย จะถูกสกัดออกมาในระหว่างการหมัก (brewing) resins ที่มีอยู่ใน hops สด จะละลายได้ใน light petroleum (hexane) และเรียกว่า soft resins ซึ่งมี  $\alpha$  acids และ  $\beta$  acids แต่เมื่อ hops แก่ก็จะถูก oxidise ทำให้คุณสมบัติในการละลายใน hexane ลดลง เรียก resins นี้ว่า hard resins

$\alpha$  acid หรือ humulones ซึ่งเป็นแหล่งสำคัญในการให้รสขมในเบียร์

$\beta$  acid หรือ lupulones มีความสำคัญน้อยกว่า

ในระหว่างการต้ม hops ใน wort,  $\alpha$  acid จะถูก isomerized ได้สารประกอบ คือ iso  $\alpha$  acid หรือ isohumulones ซึ่งจะให้รสขมกว่า และละลายได้ดีกว่า  $\alpha$  acids ดังนี้





### รูปที่ 1 Isomerization of humulones

Essential oil ที่ได้จาก hops มีหลายชนิด สามารถละลายได้ใน hexane มีผลและอิทธิพลต่อทั้ง flavor และ aroma ของเบียร์ ซึ่งเป็นลักษณะที่ไม่ต้องการ และสามารถกำจัดได้ด้วยการกลั่นด้วยไอน้ำ

#### 5. ยีสต์

ยีสต์ที่ใช้ในการหมักเบียร์แบ่งได้เป็น 2 ชนิด คือ

1. top yeast ใช้ผลิต ale-type beer เช่น *Saccharomyces cerevisiae*

2. bottom yeast ใช้ผลิต lager-type beer เช่น *Saccharomyces carlsbergensis*

Lager beer จะใช้อุณหภูมิในการหมักต่ำ ซึ่ง *Saccharomyces carlsbergensis* จะมีความสามารถในการหมักได้ดี แต่กิจกรรมในการหายใจน้อยกว่า *Saccharomyces cerevisiae*

ยีสต์ที่ใช้ในการหมักจะเจริญได้ดีที่อุณหภูมิสูงกว่า 25°C (bottom yeast) และ 35°C (top yeast) แต่การหมักที่อุณหภูมินี้จะส่งเสริมให้แบคทีเรียเจริญได้ดี (Varnam, 1994)

## Brewing of beer

เบียร์ทำมาจากข้าวบาร์เลย์ที่นำมาเพาะให้งอกก่อน ซึ่งเรียกว่ามอลท์ (malt) จากนั้นจึงนำมอลท์มาผ่านกระบวนการหมัก ซึ่งขั้นตอนในการผลิตเบียร์โดยสังเขปจะประกอบด้วยขั้น malting, mashing, boiling, fermentation, aging หรือ maturing และ filtration

ในขั้นตอนการผลิตเบียร์จากเมล็ดธัญพืชจะเกิดสารเคมีมากมาย แอลกอฮอล์ซึ่งเป็น end product คือ ethyl alcohol และอาจมีผลผลิตอื่น ๆ ได้อีก เช่น alcohol acids และ esters ซึ่งได้จากการรวมตัวกันของ alcohols และ acids (Hougen, 1971)

นอกจากนี้ Palamand และ Hardwick (1969) พบว่ามีสารประกอบถึง 124 ชนิด ซึ่งรวมทั้ง volatile และ nonvolatile และ alcohols ต่าง ๆ , ketones, acids, esters, hydrocarbons, สารประกอบไนโตรเจน, สารประกอบซัลเฟอร์ ซึ่งสารประกอบพวกนี้มีเพียง 55 ชนิดที่สามารถวิเคราะห์ทางคุณภาพได้ และมีเพียง 28 ชนิดเท่านั้นที่สามารถศึกษาทางประสาทสัมผัสได้โดยวิธี threshold levels

### Malting

malt เตรียมจากข้าวบาร์เลย์หรือเมล็ดธัญพืชอื่น โดยการนำมาทำให้เมล็ดงอก ในระหว่างการงอก เอ็มบริโอ (embryo) ของเมล็ดจะผลิต gibberellins ซึ่งเป็น plant hormones กระตุ้น aleurone layer ให้ผลิตและปล่อยเอนไซม์ต่าง ๆ รวมทั้ง alpha-amylase ที่เป็นเอนไซม์สำคัญในการย่อยสลายแป้ง (starch) ใน endosperm ของเมล็ดธัญพืช โดยจะ hydrolyse ที่พันธะ  $\alpha$ -1,4-glucosidic linkages แล้วให้ dextrans และ maltose รวมทั้ง glucose เล็กน้อย ซึ่ง maltose และ dextrans จะถูกย่อยต่อไปโดย glucosidases,  $\beta$ -amylase และ phosphorylase แล้วให้ glucose และ glucose-6-phosphate (Briggs, 1972)

เมล็ดที่ผ่านการทำความสะอาดแล้ว จะนำมาแช่ (soaked or steeped) ในน้ำที่อุณหภูมิ 10-16°C เพื่อเพิ่ม water content ให้กับเมล็ดเป็น 42-46 % ในขณะที่แช่ต้องให้ออกซิเจนอย่างเพียงพอ เพราะถ้าขาดออกซิเจนจะมีผลยับยั้งการงอกของเมล็ด (Malleshi, 1986) การให้ออกซิเจนทำได้โดยเปลี่ยนน้ำที่แช่เป็นระยะ ๆ จากนั้นนำเมล็ดไปเพาะซึ่งจะใช้เวลาในการงอกประมาณ 3-5 วัน เรียกเมล็ดที่งอกแล้วว่า green malt แล้วจึงนำไปอบแห้ง (kilning) หรือ kiln-dried คือ การทำแห้ง เพื่อเก็บรักษามอลท์ และ activity ของเอนไซม์ไว้

โดยปกติจะใช้อุณหภูมิต่ำและเวลานานในการทำแห้ง เพราะเอนไซม์ส่วนใหญ่ไม่ทนความร้อน ซึ่งการทำแห้งจะทำให้เอนไซม์ต่าง ๆ เช่น amylase และ proteinase ถูก inactivated ไว้ชั่วคราวก่อนเพื่อใช้ในขั้นต่อไป นอกจากนี้การ kilning จะทำให้เกิดปฏิกิริยา Browning reaction ทำให้มอลท์ที่ได้มีสี และกลิ่นดีขึ้น รวมทั้งยังเป็นการลดความชื้นเพื่อให้เก็บได้นานขึ้นอีกด้วย จากนั้นก็จะมี การดิงราก และ germ ออกจากเมล็ด เมื่อนำมอลท์ไปใช้หมัก เบียร์ จะต้องบดลดขนาด และปรับสภาวะให้เหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์ที่จะเปลี่ยนแปลงเป็นน้ำตาล รวมทั้งย่อยองค์ประกอบอื่น ๆ ด้วย

### *Mashing*

เป็นกระบวนการที่มอลท์และ adjuncts ถูกผสมรวมกับน้ำ เพื่อให้ได้เป็นสารละลาย มักใช้น้ำที่มีอุณหภูมิประมาณ 38-50°C และนำมาต้มเพื่อเตรียมใช้ในขั้น fermentation ซึ่งจะเรียกสารละลายที่ได้ว่า wort หรือ sweet wort โดยทำการเพิ่มอุณหภูมิซ้ำ ๆ จนถึง 65-70°C ระหว่างนี้แป้งจะถูก hydrolyzed เป็น fermentable sugar ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็น maltose ในขณะที่โปรตีนบางส่วนถูกเปลี่ยนไปเป็น peptide และ amino acids และทำการเพิ่มความร้อนจนถึงอุณหภูมิประมาณ 75°C เพื่อ inactivate enzyme ซึ่งของแข็งต่าง ๆ จะรวมตัวกันแยกออกจากสารละลายที่ได้ แล้วทำการกรอง wort เพื่อให้สารละลายใส

ในบางครั้งอาจมีการใช้ adjuncts เพื่อปรับปริมาณน้ำตาลเริ่มต้นที่ใช้ในการหมักให้เหมาะสม อาจแบ่ง adjuncts ได้ 2 กลุ่มคือ sugars and sugar syrups และ starch-rich materials ในกลุ่มของน้ำตาล มักใช้ glucose และ other syrups ที่ได้จาก enzyme hydrolysis ของแป้งข้าวโพดแล้วนำไปทำ caramelized syrups โดยการต้ม ซึ่ง caramel syrup นี้เป็นส่วนหนึ่งของสี และรสชาติของ dark beers ส่วนในกลุ่มของ starch adjuncts จะใช้แป้งจากพวก cereal products โดยผ่านการย่อยที่เรียกว่า carbohydrate extraction ประกอบด้วย 3 ขั้นตอน คือ gelatinization, solubilization และ amylolysis

## Boiling

ของเหลวที่ได้จากขั้น mashing จะเรียกว่า wort ซึ่งก็คือ สารละลายที่มีคาร์โบไฮเดรต กรดอะมิโน และแร่ธาตุ ในปริมาณที่เพียงพอและสมดุลที่จะให้เกิดการเจริญของยีสต์ และการผลิตเอธิลแอลกอฮอล์ รวมทั้งเป็นสารตั้งต้นของการเกิดกลิ่นและรสชาติของเบียร์ด้วย

ในขั้นนี้จะมีการเติม hops ลงใน wort และต้มเป็นเวลาประมาณ 2 ชั่วโมง มีจุดมุ่งหมายหลายประการ คือ (Hough, 1985)

1. ทำการระเหยน้ำออกเพื่อทำให้ wort เข้มข้นขึ้น
2. ทำการ sterile wort
3. เป็นการ inactivate enzymes
4. สกัดสารที่ละลายน้ำได้ออกจาก hops
5. ทำการตกตะกอนโปรตีน และสารอื่น ๆ
6. เป็นการสร้าง flavor และ color compounds
7. กำจัด volatiles ที่ไม่ต้องการ
8. เพื่อสร้าง antiseptic substances (มักเป็น alpha resins humulone, cohumulone, adhumulone)

สารที่สกัดได้จาก hops จะเป็นพวก bitter acids และ resins จะมีผลต่อรสชาติ, ความคงตัวของเบียร์ นอกจากนี้ resins จะมีคุณสมบัติในการต่อต้านจุลินทรีย์พวก gram-positive bacteria โดยเฉพาะอีกด้วย

ระหว่างการต้ม ใอน้ำจะเกิดขึ้นที่อุณหภูมิประมาณ  $102^{\circ}\text{C}$  ซึ่ง wort จะถูก sterile และเอนไซม์จะถูก inactivate รสชาติและสารกลิ่นเสียต่าง ๆ จะถูกสกัดออกมาจาก hops ที่ใส่ โปรตีนจะตกตะกอนรวมกลุ่มกัน น้ำตาลจะเกิด caramelization และเกิดปฏิกิริยาเคมีต่าง ๆ กับสารหรือองค์ประกอบอื่น ๆ การต้มเป็นส่วนที่สำคัญในด้าน stability ของเบียร์

จากนั้นจะทำให้ wort เย็น ที่อุณหภูมิประมาณ  $65.5^{\circ}\text{C}$  wort จะข้นขึ้น แต่โอกาสที่จะมีการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์จะมีบ้างเล็กน้อย ซึ่งขั้นนี้ wort จะพร้อมสำหรับ inoculation และ fermentation

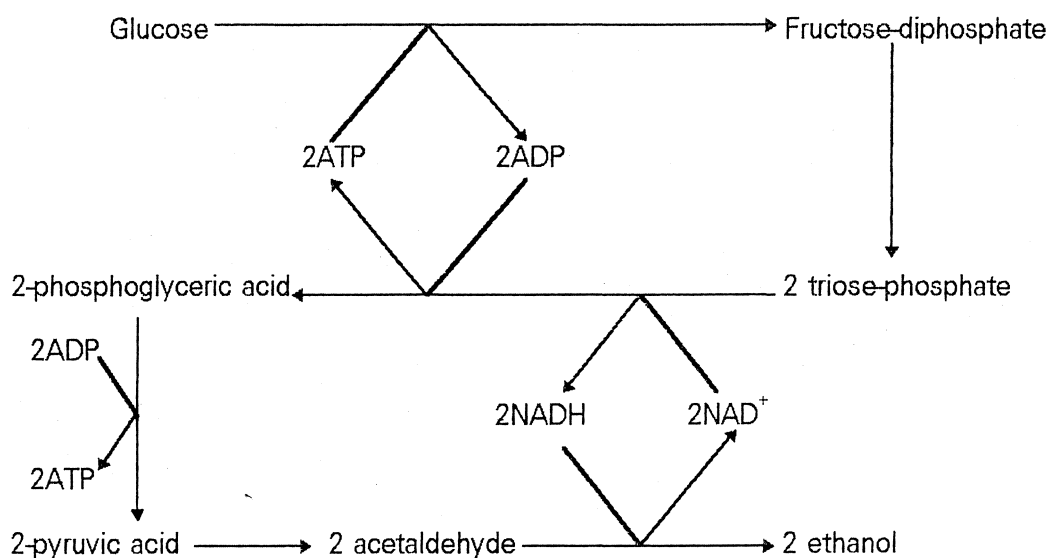
### Fermentation

การผลิต Lager beer ในขั้นตอน fermentation จะใช้อุณหภูมิระหว่าง  $3-14^{\circ}\text{C}$  ในการหมักที่สมบูรณ์อาจใช้เวลา 8-10 วัน การหมักที่อุณหภูมิต่ำ และเวลานานกว่านี้จะทำให้ได้เบียร์ที่มีคุณภาพ และรสชาติที่ดี ส่วน Ale beer นั้นจะใช้อุณหภูมิ  $12-24^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 4-7 วัน

ในระหว่าง fermentation ยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลใน wort เป็นแอลกอฮอล์ และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ รวมทั้งกลีเซอรอล และ acetic acid จำนวนเล็กน้อย ในขณะที่ปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เพิ่มขึ้น ก็จะทำให้ปริมาณฟอง (foam) เพิ่มขึ้นด้วย

โปรตีน และ fat derivatives จะมีผลทำให้แอลกอฮอล์, acids, organic acid และสารประกอบแอลกอฮอล์อื่น ๆ จะ form aromatic ester เพิ่มมากขึ้น (Steinkraus, 1989)

ในช่วงแรก ๆ ของการหมักจะมีการเปลี่ยนแปลง pH อย่างรวดเร็ว เมื่อ pH ลดลงประมาณ 5.2 จนถึง 4.1-4.2 (บางครั้งอาจเป็น 3.85) ซึ่งแบคทีเรียไม่สามารถเจริญเติบโตได้ และในขณะที่อุณหภูมิเพิ่มขึ้น จะทำให้ specific gravity และ wort solids ลดลง



รูปที่ 2 ขั้นตอนของ alcoholic fermentation

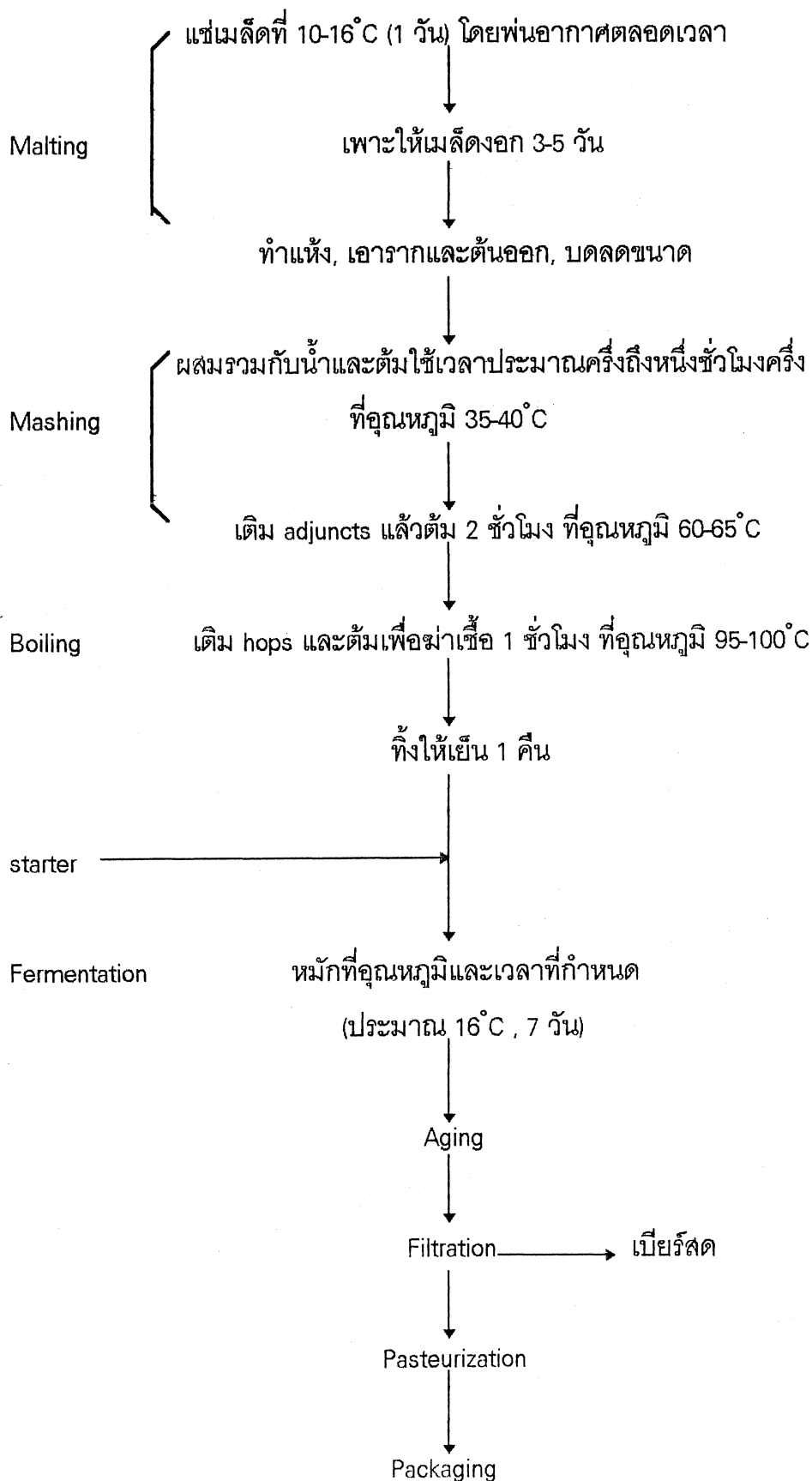
### *Aging or Maturation*

เบียร์ที่ทำเสร็จใหม่ ๆ ยังไม่ผ่านการ aging จะเรียกว่า green beer การ aging จะทำการเก็บ green beer ไว้ที่อุณหภูมิ 0°C เป็นเวลาหลายสัปดาห์ถึงหลายเดือน ในระหว่างการ aging การหมักจะยังคงดำเนินอยู่แต่จะช้าลง และมีการตกตะกอนของโปรตีน, ยีสต์, resins และสารอื่น ๆ ที่ไม่ต้องการ ซึ่งจะทำให้เบียร์ใสขึ้น และทำให้ลักษณะทางกายภาพดีขึ้น esters และสารประกอบอื่น ๆ จะถูกผลิตขึ้นทำให้ได้รสชาติ กลิ่น และการเปลี่ยนแปลงอื่น ๆ ที่ทำให้เบียร์มีรสนุ่มขึ้น ในขั้นนี้ Lager beer จะใช้เวลาในการ aging ยาวนานกว่า Ale โดยใช้เวลานานหลายเดือน ในขณะที่ Ale ใช้เวลาเพียง 1-2 สัปดาห์

### *Filtration*

เป็นขั้นที่มีการนำเอาเซลล์ยีสต์และสารแขวนลอยอื่นที่ไม่ต้องการออกจากเบียร์ ทำได้โดยการกรองผ่าน membranes หรือใช้สารช่วยในการกรอง เช่น Kieselguhr (diatomaceous earth) ซึ่งมีประสิทธิภาพสูง นอกจากนี้ ยังมีสารอื่น ๆ อีก เช่น perlite, silicates, silica hydrogels

### Brewing Procedures



รูปที่ 3 ขั้นตอนการผลิตเบียร์



## บทที่ 2

### การทดลอง

#### 2.1 การคัดเลือกข้าวโพดที่นำมาใช้เป็นวัตถุดิบ

เมล็ดข้าวโพดตัวอย่างที่ 1 เป็นเมล็ดข้าวโพดที่ได้จากร้านขายอาหารสัตว์ นำมาเก็บไว้เป็นเวลา 30 วัน

เมล็ดข้าวโพดตัวอย่างที่ 2 เป็นเมล็ดข้าวโพดที่ได้จากโรงงานผลิตอาหารสัตว์ นำมาเก็บไว้เป็นเวลา 20 วัน

เมล็ดข้าวโพดตัวอย่างที่ 3 เป็นเมล็ดข้าวโพดที่ซื้อโดยตรงจากเกษตรกร นำมาเก็บไว้เป็นเวลา 10 วัน

นำเมล็ดข้าวโพดตัวอย่างที่เก็บไว้เป็นเวลาต่างกันจำนวน 100 เมล็ด แช่น้ำนาน 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง ( $28-29^{\circ}\text{C}$ ) และให้อากาศตลอดเวลา นำมาเพาะในผ้าขาวบางโดยเรียงเมล็ดให้เป็นแถวแล้วม้วนพับเพื่อรักษาความชื้น เป็นเวลา 3 วัน นับจำนวนเมล็ดที่งอก ทำการทดลองตัวอย่างละ 2 ซ้ำ นำค่าที่ได้มาเฉลี่ยหาอัตราการงอกของเมล็ด แล้วเลือกตัวอย่างที่มีอัตราการงอกสูงที่สุดและสูงกว่า 95% (Beta et al, 1995.)

#### 2.2 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตมอลต์ข้าวโพด

นำเมล็ดข้าวโพดตัวอย่างที่ได้จากการคัดเลือกในการทดลองที่ 2.1 มาทำมอลต์ เริ่มจากนำข้าวโพด 1 กิโลกรัม มาแช่น้ำให้ท่วม ที่อุณหภูมิห้อง ( $28-29^{\circ}\text{C}$ ) และให้อากาศตลอดเวลา เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำให้งอกโดยแปรเวลาในการงอกเป็น 2, 3, 4, 5, 6 และ 7 วัน ในแต่ละวันจะวัดการสูญเสียเนื่องจากการงอกเป็นต้นอ่อนและราก (%loss ของต้นและราก) จากนั้นนำเมล็ดข้าวโพดที่งอกแล้วมาอบแห้งในตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ  $65^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 10 ชั่วโมง เพื่อให้เมล็ดข้าวโพดมีความชื้น 6-12% แล้วนำตัวอย่างที่ได้ในแต่ละวันมาวัด amylase activity โดยใช้การวัดปริมาณ reducing sugar (Miller, 1959) เพื่อหาเวลาที่เหมาะสมในการงอก

### 2.2.1 การหา %loss ของเมล็ดข้าวโพดที่ทำให้งอกเป็นเวลา 2 -7 วัน

- สุ่มตัวอย่างข้าวโพดที่ยังไม่ได้อบแห้งมาประมาณ 8 -10 กรัม แล้วชั่งน้ำหนักเริ่มต้น

- ตีงเอาต้นออก ชั่งน้ำหนัก คำนวณหา %loss ของต้น โดยการนำสัดส่วนระหว่างน้ำหนักที่ชั่งได้กับน้ำหนักเริ่มต้น คูณด้วย 100

- ตีงเอารากออก ชั่งน้ำหนัก คำนวณหา %loss ของราก โดยการนำสัดส่วนระหว่างน้ำหนักที่ชั่งได้กับน้ำหนักเริ่มต้น คูณด้วย 100

คำนวณหา %loss รวม ทำ 3 ซ้ำ บันทึกผลแล้วเขียนกราฟระหว่าง %loss กับจำนวนวันที่ทำให้งอก

2.2.2 การหา amylase activity โดยการวัดความสามารถในการเพิ่มปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของเอนไซม์อะไมเลสภายในเมล็ดข้าวโพดที่ทำให้งอกเป็นเวลา 2 -7 วัน ทำ 3 ซ้ำ โดยใช้วิธีของ Miller (1959) (วิธีการทำอยู่ในภาคผนวก ก) บันทึกผลแล้วนำข้อมูลมาเขียนกราฟระหว่างปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์กับจำนวนวันที่ทำให้งอก

นำข้อมูลที่ได้จากการหา %loss และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

### 2.3 การหาสภาวะที่เหมาะสมในขั้น mashing

นำเมล็ดข้าวโพดที่ผ่านการอบแห้งแล้วมาบดขนาดโดยใช้ pin mill แล้วนำมาผสมกับน้ำในอัตราส่วน malt : น้ำ เท่ากับ 1 : 5 ให้ความร้อนแก่สารละลาย เพื่อเตรียม wort สำหรับใช้ในขั้น fermentation โดยใช้มอลท์ที่ได้เลือกไว้จากข้อ 2.2 จำนวน 150 กรัม ผสมกับน้ำ 750 มิลลิลิตร แล้วแปรอุณหภูมิและเวลาในการให้ความร้อนเป็น 57, 63, 69°C และ 1, 1.5, 2 ชั่วโมงตามลำดับ โดยใช้ water bath นำแต่ละตัวอย่างมาวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ทำ 2 ซ้ำ บันทึกผลและวิเคราะห์ผลทางสถิติ

## 2.4 การหาปริมาณน้ำตาลเริ่มต้นที่ใช้ในการหมัก

นำ wort จากขั้น mashing มาเติม glucose syrup โดยแปรปริมาณที่เติมเป็น 10, 20 และ 30 % โดยน้ำหนักแห้งของน้ำหมักมอลท์ข้าวโพดที่ใช้ แล้วให้ความร้อน พร้อมกับเติม hops ในปริมาณ 0.065 % (w/v) ที่งัวให้เดือด 2 ชั่วโมง กรองเอาตะกอนและ hops ออกเพื่อทำให้สารละลายใส จากนั้นถ่ายสารละลายลงขวดหมัก แบ่งสารละลายมา 10% โดยปริมาตร เพื่อเตรียม starter ซึ่งการเตรียมนั้นทำได้โดยใส่สารละลายที่แบ่งมานี้ลงใน flask ปิดจุกด้วยสำลีแล้วนำไปฆ่าเชื้อที่ 121°C เป็นเวลา 15 นาที ปล่อยให้เย็นแล้ว inoculate ด้วย *Saccharomyces carlsbergensis* ที่เลี้ยงบน PDA ในหลอดทดลอง ปริมาณ 2 - 3 loop เขย่าใน shaker เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เท starter ที่เตรียมไว้ลงในขวดหมัก เขย่าให้เข้ากัน หมักไว้ที่อุณหภูมิ 16°C เป็นเวลา 7 วัน แยกเซลล์ยีสต์ออกโดยการปั่นเหวี่ยง (centrifuge) 6,000 rpm เป็นเวลา 30 นาที นำตัวอย่างทั้ง 3 ตัวอย่างมาทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสในด้านสี กลิ่น รสหวาน รสขม และรสชาติโดยรวม รวมทั้งวัดปริมาณแอลกอฮอล์ ค่าความเป็นกรดต่าง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือหลังการหมัก นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ

### บทที่ 3

#### ผลการทดลอง

#### 3.1 การคัดเลือกข้าวโพดที่นำมาใช้เป็นวัตถุดิบ

นำข้าวโพดที่มีอายุการเก็บแตกต่างกันมาแช่น้ำแล้วเพาะเพื่อหา %การงอกพบว่า เมล็ดข้าวโพดตัวอย่างที่ 3 มีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงสุดเฉลี่ย 97%

ตารางที่ 2 ผลการวัดอัตราการงอกของเมล็ด

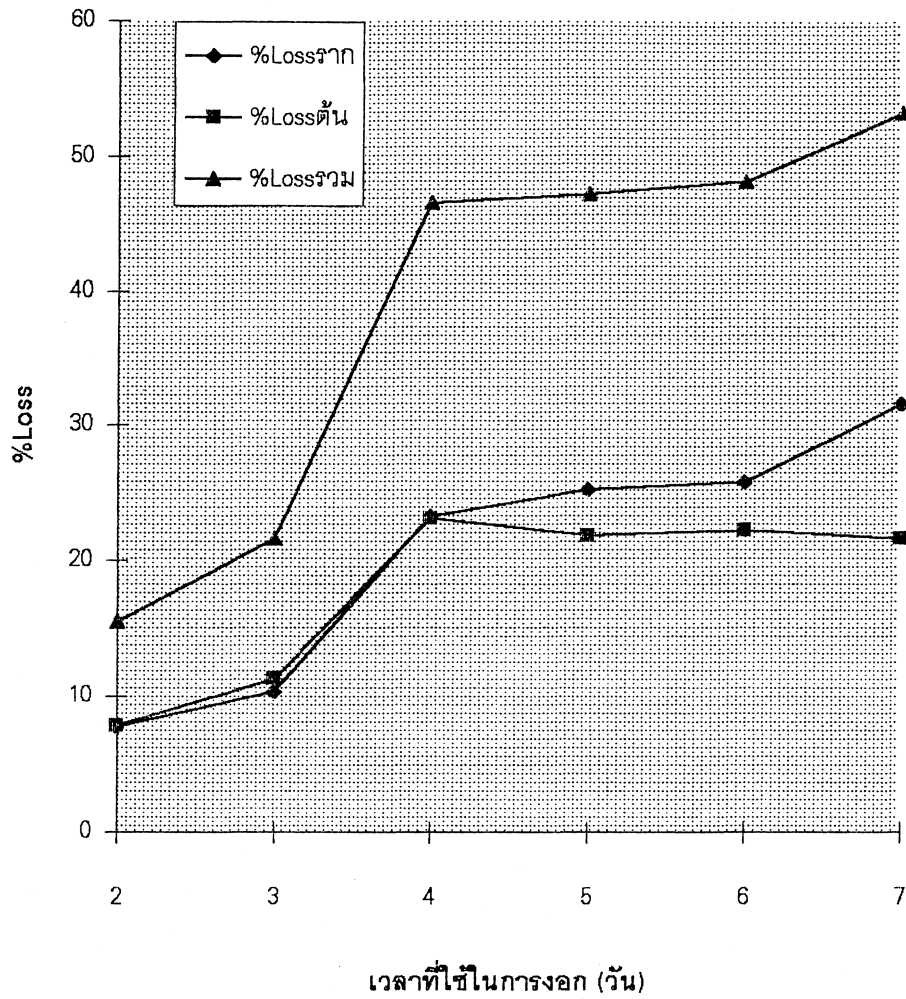
ครั้งที่	อัตราการงอก (%)		
	ตัวอย่างที่ 1	ตัวอย่างที่ 2	ตัวอย่างที่ 3
1	68	74	94
2	72	76	100
3	70	75	97

#### 3.2 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตมอลต์ข้าวโพด

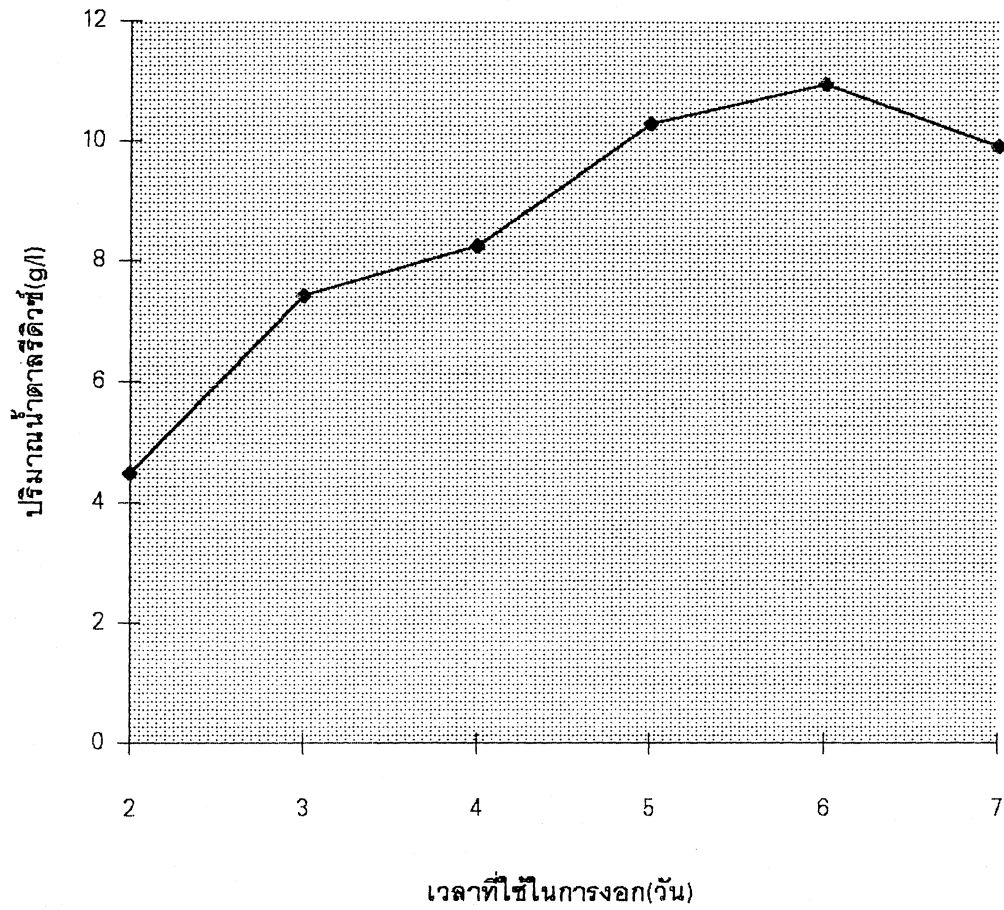
นำตัวอย่างเมล็ดข้าวโพดที่เลือกแล้ว มาแช่น้ำ ทำให้งอกเป็นเวลา 2-7 วันแล้วนำมาหา %loss พบว่า

ตารางที่ 3 %loss ของเมล็ดข้าวโพดที่ทำให้งอกในเวลาต่าง ๆ กัน

เวลาที่ใช้ในการงอก (วัน)	%loss ราก	%loss ต้น	%loss รวม
2	7.67	7.79	15.46
3	10.35	11.28	21.63
4	23.26	23.14	46.47
5	25.26	21.88	47.14
6	25.84	22.24	48.08
7	31.51	21.63	53.14



รูปที่ 4 %Loss ของข้าวโพดที่ทำให้งอกในเวลาต่าง ๆ กัน



รูปที่ 5 ปริมาณน้ำตาลรีดิทิวซ์ของข้าวโพดที่งอกในเวลาต่าง ๆ กัน

เมื่อใช้เวลางอกนานขึ้น แหนงโน้ม %Loss ของราก, ต้น และ %Loss รวมจะสูงขึ้น ดังแสดงในตารางที่ 3 และรูปที่ 4

%Loss ของรากมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น และสูงสุดในวันที่ 7 ส่วน %Loss ของต้นมีแนวโน้มลดลงจากวันที่ 4-7 โดยในช่วง 4 วันแรกจะมี %Loss รากใกล้เคียงกับ %Loss ต้น

สำหรับแนวโน้มของ %Loss รวมจะมีค่าเพิ่มขึ้น โดยเพิ่มขึ้นอย่างมากในวันที่ 4 และจะค่อย ๆ เพิ่มขึ้น จนสูงสุดในวันที่ 7

ความสามารถในการเพิ่มปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของเอนไซม์อะไมเลสจากข้าวโพดที่ทำให้งอกเป็นเวลา 2-7 วัน พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่วัดได้จากค่าการดูดกลืนแสง มีแนวโน้มสูงขึ้นตามระยะเวลาในการทำให้งอก ดังแสดงในตารางที่ 4 และรูปที่ 5 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะมีค่าสูงขึ้น โดยสูงที่สุดในวันที่ 6 และเริ่มลดลงในวันที่ 7

ตารางที่ 4 ปริมาณ reducing sugar จากข้าวโพดที่งอกในเวลาต่าง ๆ กัน

เวลาที่ใช้ในการงอก (วัน)	OD <sub>540</sub>	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (g/l)
2	1.120	4.48
3	1.786	7.41
4	1.038	8.24
5	1.269	10.27
6	1.344	10.93
7	1.226	9.89

- เป็นข้อมูลจากการ dilute 1:1

เมื่อนำข้อมูลจากตารางที่ 3 และ 4 มาหาความแตกต่างทางสถิติ พบว่า



ตารางที่ 5 ผลของระยะเวลาที่ใช้ในการงอก 2-7 วันที่มีต่อ %Loss และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

สิ่งที่วัด	เวลาที่ใช้ในการงอก (วัน)					
	2	3	4	5	6	7
%Loss	15.46± 0.58 <sup>a</sup>	21.63± 0.19 <sup>b</sup>	46.40± 0.42 <sup>c</sup>	47.41± 0.89 <sup>cd</sup>	48.08± 0.12 <sup>d</sup>	53.14± 0.24 <sup>e</sup>
ปริมาณ น้ำตาลรี ดิวซ์ (g/l)	4.48± 0.08 <sup>a</sup>	7.41± 0.06 <sup>b</sup>	8.24± 0.12 <sup>b</sup>	10.27± 0.09 <sup>c</sup>	10.93± 0.30 <sup>d</sup>	9.87± 0.26 <sup>c</sup>

%Loss ในวันที่ 3 และ 4 แตกต่างกันมาก ในขณะที่ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ไม่แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 5 ดังนั้นจึงเลือกเวลาในการงอก 3 วัน

### 3.3 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการ mashing

เมื่อนำตัวอย่างสารละลายของมอลท์ข้าวโพดที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ กันมาวัดปริมาณ reducing sugar แล้ววิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้วิธี factorial experiment ได้ผลดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ANOVA TABLE

SOV	d.f.	S.S.	M.S.	F
Rep	1	2.45E-3	2.45E-3	1.782
Temperature	2	7.407	3.704	2,693.46
Time	2	3.883	1.917	1,393.82
Temp x Time	4	0.185	4.63E-2	33.67
Error	8	0.011	1,380	
Total	17	11.438		

$$F_{0.05(1,8)} = 5.32$$

$$F_{0.05(2,8)} = 4.46$$

$$F_{0.05(4,8)} = 3.84$$

และวิเคราะห์ความแตกต่างโดยใช้ Turkey's Test จะได้ผลดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 ผลของอุณหภูมิ และเวลาที่มีต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในขั้น mashing

Time (hr.)	Temperature (°C)		
	57	63	69
1	4.17 ± 0.04 <sup>a</sup>	5.41 ± 0.01 <sup>d</sup>	4.52 ± 0.02 <sup>f</sup>
1.5	4.71 ± 0.04 <sup>b</sup>	6.56 ± 0.05 <sup>e</sup>	5.32 ± 0.05 <sup>d</sup>
2	5.12 ± 0.04 <sup>c</sup>	6.64 ± 0.04 <sup>e</sup>	5.59 ± 0.01 <sup>g</sup>

จากตารางที่ 6 จะเห็นว่า ค่า F ที่คำนวณได้จากการทำซ้ำ (Replicate) มีค่าน้อยกว่าค่า F ที่เปิดได้จากตาราง แสดงว่า การทำซ้ำไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) ส่วนค่า F ที่คำนวณได้จาก treatment คือ อุณหภูมิ, เวลา และความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิกับเวลา มีค่ามากกว่าค่า F ที่เปิดได้จากตาราง แสดงว่า treatment มีผลต่อค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่วัดได้ และค่าดังกล่าวมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ )

จากตารางที่ 7 พบว่า ที่อุณหภูมิ 63°C มีค่าเฉลี่ยของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มากที่สุด และที่เวลา 1.5 กับ 2 ชั่วโมง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่วัดได้ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ดังนั้นจึงเลือกสภาวะในการทำ mashing ที่ 63°C เป็นเวลา 1.5 ชั่วโมง

### 3.4 การหาปริมาณน้ำตาลเริ่มต้นที่ใช้ในการหมัก

ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส แสดงในตารางที่ 8 ส่วนปริมาณแอลกอฮอล์, ค่าความเป็นกรดต่างและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ แสดงผลดังในตารางที่ 9

ตารางที่ 8 ผลการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส

คุณลักษณะ	ปริมาณ glucose syrup (%)		
	10	20	30
สี	8.70±1.69 <sup>a</sup>	7.90±1.60 <sup>ab</sup>	6.70±1.58 <sup>b</sup>
ความใส	1.10±0.65 <sup>a</sup>	1.60±0.92 <sup>a</sup>	1.90±0.64 <sup>a</sup>
กลิ่น	3.50±0.53 <sup>a</sup>	3.80±1.21 <sup>a</sup>	2.60±1.14 <sup>a</sup>
รสหวาน	6.80±1.18 <sup>a</sup>	6.50±1.03 <sup>a</sup>	5.30±0.05 <sup>b</sup>
รสขม	3.70±1.00 <sup>a</sup>	2.80±0.22 <sup>a</sup>	3.40±1.16 <sup>a</sup>
รสชาติโดยรวม	3.90±1.47 <sup>a</sup>	4.20±0.92 <sup>a</sup>	5.10±0.81 <sup>b</sup>
ความชอบโดยรวม	2.30±0.91 <sup>a</sup>	2.60±0.45 <sup>a</sup>	2.10±0.68 <sup>a</sup>

หมายเหตุ : เปรียบเทียบคะแนนตามแถว

ตารางที่ 9 แสดงปริมาณแอลกอฮอล์ ค่าความเป็นกรดต่าง (pH) และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือหลังการหมัก

สิ่งที่วัด	ปริมาณ glucose syrup (%)		
	10	20	30
ปริมาณ alcohol (% v/v)	3.85	3.80	4.05
ค่า pH	5.67	5.62	5.57
ปริมาณน้ำตาล รีดิวซ์ (g/l)	0.18	0.21	0.26

จากตารางที่ 8 พบว่า ค่าสี ความหวาน และรสชาติโดยรวมมีค่าคะแนนเฉลี่ยใกล้เคียงกับคะแนน 5 ซึ่งเป็นคะแนนที่ดีที่สุด ส่วนคุณลักษณะอื่น ๆ มีคะแนนต่างจาก 5 มาก แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยตัวอย่างที่เติมกลูโคสไซรัป 30% ได้รับการยอมรับมากที่สุดของคุณลักษณะทั้ง 3 ดังกล่าว

และตัวอย่างทั้ง 3 ยังมีปริมาณแอลกอฮอล์ใกล้เคียงกันเฉลี่ยแล้วเป็น 3.90% (v/v) มีค่าความเป็นกรดต่างอยู่ในช่วง 5.57-5.67 และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือหลังการหมักจะเพิ่มขึ้นเมื่อใช้ปริมาณกลูโคสไซรัปมากขึ้น ดังแสดงในตารางที่ 9

## บทที่ 4

### วิจารณ์

#### 4.1 การคัดเลือกข้าวโพดที่นำมาใช้เป็นวัตถุดิบ

ตัวอย่างที่นำมาทดลองเปรียบเทียบกันนั้นมีแหล่งที่มาและระยะเวลาในการ storage หรือความเก่าใหม่ของการเก็บแตกต่างกัน ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าเมล็ดข้าวโพดที่ใช้เวลาในการเก็บน้อยกว่าจะมีอัตราการงอกสูงกว่าตัวอย่างที่ใช้ระยะเวลาในการเก็บมากกว่า ซึ่งแตกต่างจากความสามารถในการงอกของเมล็ดข้าวสาลีพันธุ์ต่าง ๆ ที่เก็บไว้ในระยะเวลาต่างกันจะไม่เท่ากัน กล่าวคือ ข้าวสาลีที่เก็บเกี่ยวใหม่ ๆ จะงอกไม่ดี ต้องเก็บไว้อย่างน้อย 3 เดือน และถ้าเก็บเมล็ดข้าวสาลีไว้นานถึง 11 เดือน ก็ยังพบว่าเมล็ดข้าวสาลียังคงมีความสามารถในการงอกดี (Hough, 1985) ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากเมล็ดข้าวโพดนั้นอาจผ่านพ้นระยะพักตัวนานเกินไปและในระหว่างการเก็บเมล็ดข้าวโพดจะมีการสูญเสียความชื้น รวมทั้งทำให้แมลงที่ติดมากับเมล็ดข้าวโพดมีโอกาสทำลายเมล็ดได้มากขึ้นด้วย

#### 4.2 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตมอลท์ข้าวโพด

##### 4.2.1 การหา %loss ของข้าวโพดที่ทำให้งอกเป็นเวลา 2 -7 วัน

เนื่องจาก %loss สามารถบ่งถึงการเปลี่ยนแปลงสารอาหารภายในเมล็ดมาเป็นต้นอ่อนและราก ทำให้เกิดการสูญเสียสารอาหารภายในเมล็ด โดยเฉพาะแป้งและยังทำให้ yield ลดลงอีกด้วย

เมื่อพิจารณากราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง %loss ของต้นอ่อน, รากและ %loss รวมทั้งต้นและราก กับระยะเวลาที่ใช้ในการงอกของเมล็ด พบว่าจะมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อใช้เวลาในการงอก 2 -4 วัน และเริ่มคงที่ในวันที่ 5 -7 เนื่องจากสารอาหารภายในเมล็ดถูกใช้ไปในระหว่างการงอกและเริ่มหมดไปเมื่อใช้เวลาในการงอกเพิ่มขึ้น ส่วน %loss ของต้นและรากก็มีลักษณะเช่นเดียวกัน คือจะมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาที่ใช้ในการงอกมากขึ้น โดยที่ %loss ของรากจะมีค่าสูงกว่า %loss ของต้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการงอกของเมล็ดนั้น ส่วนที่เป็นรากจะงอกออกมาก่อนส่วนที่เป็นต้นอ่อน

( Hough, 1985) ซึ่งตามปกติเมื่อเกิดการงอกรากและต้นอ่อนแล้ว รากและต้นอ่อนจะมีการหายใจเพิ่มมากขึ้น และต้องใช้สารอาหารรวมทั้งแป้งที่อยู่ในเมล็ด ดังนั้นเมื่อทำการทดลองโดยใช้เวลาในการงอกเพิ่มขึ้น %loss ของรากและต้นอ่อนจึงมีค่า %lossเพิ่มมากขึ้น

#### 4.2.2 การหา amylase activity โดยการวัดความสามารถในการเพิ่มปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของเอนไซม์อะไมเลส

เมื่อระยะเวลาในการงอกของเมล็ดข้าวโพดเพิ่มขึ้น ปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์ก็จะเพิ่มขึ้นเนื่องจากเมล็ดจะสร้างเอนไซม์อะไมเลสขึ้นมาย่อยแป้งภายในเมล็ดเพิ่มมากขึ้น จนถึงวันที่ 6 ของการงอก หลังจากนั้นในวันที่ 7 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะลดลงเนื่องจากในการงอกจะทำให้ substrate หรือแป้งถูกใช้ไปในการสร้างต้นอ่อน, รากและการหายใจเพิ่มมากขึ้น ทำให้ปริมาณแป้งเหลืออยู่ในเมล็ดน้อยลง ถึงแม้ว่าปริมาณเอนไซม์จะเพิ่มขึ้นแต่ก็ยังทำให้ได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์น้อยกว่าในตัวอย่างที่ใช้เวลาในการงอกน้อยกว่า ซึ่งผลที่ได้จะสอดคล้องกันกับการทำมอลท์ของข้าวสาลี ที่ใช้เวลาในการงอกเพิ่มขึ้นจะให้ amylase activity และ %loss สูงขึ้น ( Suhasini and Malleshi, 1995 ) ดังนั้นจึงต้องเลือกเวลาที่เหมาะสมในการทำให้เมล็ดงอกเพื่อให้ได้ amylase activity สูง ในขณะที่ %loss ไม่สูงเกินไป

#### 4.3 การหาสภาวะที่เหมาะสมในขั้น mashing

เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส โดยทั่วไปจะมี optimum temperature ประมาณ 60 - 65°C ซึ่งแล้วแต่ชนิดของธัญพืช เนื่องจากธัญพืชส่วนใหญ่จะมี gelatinization temperature สูงกว่า 60°C ทำให้เอนไซม์ทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น แต่ถ้าอุณหภูมิสูงเกินไปจะทำให้เอนไซม์ถูก inactivate ได้ ดังเช่นในเมล็ดข้าวบาร์เลย์มี optimum temperature เท่ากับ 65°C ( Briggs et al, 1981) จากผลการทดลองพบว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับเมล็ดข้าวโพด คือ 63°C ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่ทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงกว่าที่อุณหภูมิต่ำและเป็นอุณหภูมิที่อยู่ในช่วง 60-65°C โดยที่อุณหภูมิ

57 และ 69 °C ความสามารถในการเพิ่มปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงเพราะเป็นอุณหภูมิที่อยู่นอกช่วง optimum temperature

#### 4.4 การหาปริมาณน้ำตาลเริ่มต้นที่ใช้ในการหมัก

จากการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส พบว่าการใช้ glucose syrup 30% ของน้ำหมักมอลท์ข้าวโพด จะมีคุณลักษณะด้านรสหวานดีกว่าเมื่อใช้ 10 และ 20% ของน้ำหมักมอลท์ข้าวโพด เนื่องจากการใช้ glucose syrup 30% ของน้ำหมักมอลท์ข้าวโพด จะทำให้ wort ที่ผ่านการหมักแล้ว มีปริมาณน้ำตาลเหลืออยู่มากกว่าในตัวอย่างอื่น ทำให้สามารถเกิดการบั้งรสขมจาก hops ที่ใส่ไว้เท่ากันในตัวอย่างอื่น ๆ ได้ ส่วนปริมาณแอลกอฮอล์และค่าความเป็นกรดต่างของผลิตภัณฑ์ที่ได้มีค่าใกล้เคียงกับคุณสมบัติของเบียร์ปกติคือ ปริมาณแอลกอฮอล์เท่ากับ 4-5 % (v/v) และค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 5.0-5.6 ( Hough, 1985 )

ส่วนปริมาณแอลกอฮอล์ในตัวอย่างที่เติม glucose syrup 20% ของน้ำหมักมอลท์ข้าวโพด ควรจะมีปริมาณแอลกอฮอล์มากกว่าตัวอย่างที่เติม glucose syrup 10% แต่จากผลการทดลองพบว่า ตัวอย่างที่เติม glucose syrup 20% มีปริมาณแอลกอฮอล์น้อยกว่าตัวอย่างที่เติม glucose syrup 10% ในขณะที่ปริมาณน้ำตาลที่เหลือหลังการหมักของตัวอย่างทั้งสองมีค่าใกล้เคียงกัน ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากวิธีการวัดค่าปริมาณแอลกอฮอล์ที่ใช้นั้นเป็นการนำจุดเดือดของตัวอย่างมาเปรียบเทียบกับจุดเดือดของน้ำบริสุทธิ์ ซึ่งในการทดลองดังกล่าวไม่ได้ทำการกำจัดน้ำตาลหรือสารอื่น ๆ ที่มีผลกระทบต่อจุดเดือดของตัวอย่างออกไปก่อน ดังนั้นปริมาณแอลกอฮอล์ที่วัดได้จึงอาจมีค่าผิดไปจากที่ควรจะเป็น

## บทที่ 5

## สรุปผลการทดลอง

1. ข้าวโพดที่นำมาทำมอลต์ควรเก็บเกี่ยวใหม่ ๆ
2. เวลาในการเพาะข้าวโพดเพื่อทำมอลต์ที่เหมาะสมคือ 3 วัน (ที่ 28-29°C)
3. สภาพที่เหมาะสมในการ mashing คือ ใช้อุณหภูมิในการทำงานของเอนไซม์ 63°C และใช้เวลา 1.5 ชั่วโมง
4. ปริมาณน้ำตาล maltose เริ่มต้นที่ใช้ในการหมัก คือ 22.64%(w/v) ซึ่งได้จากการเติม glucose syrup 30%(w/v) ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์เบียร์ที่มีปริมาณแอลกอฮอล์ 4.05%(v/v) และได้รับการยอมรับในด้านสี, ความหวาน และรสชาติโดยรวม ที่  $P \leq 0.05$



## ข้อเสนอแนะ

1. ในการหาสภาวะที่เหมาะสมในขั้น mashing ควรมีการทดลองเพิ่มเติมต่อไป เพื่อหา optimum temperature ของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสในเมล็ดข้าวโพด โดยแปรอุณหภูมิในช่วง 63 - 69°C ให้ละเอียดขึ้น และแปรเวลาที่ให้ให้อยู่ระหว่าง 1.5 - 2 ชั่วโมง เนื่องจากช่วงเวลาดังกล่าวสามารถเพิ่มปริมาณน้ำตาลรีดิวิชั่นในขณะที่เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสยังไม่ถูก inactivate
2. ในการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส อาจทำการศึกษาต่อได้โดยการเพิ่มปริมาณ glucose syrup ให้มากกว่า 30% ของน้ำหนักมอลท์ข้าวโพดที่ใช้ และควรระวังปัญหาในเรื่องของความหนืดของ wort และ osmotic pressure ที่จะมีผลกระทบต่อยีสต์ที่ใช้ในการหมักได้
3. อาจเปลี่ยนแปลงวิธีการทำ wort ให้ใสและการแยกเอาเซลล์ยีสต์ออก ให้เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพมากกว่าการ centrifuge เช่น การกรองโดยใช้สารช่วยตกตะกอน ฯลฯ ซึ่งอาจทำให้ปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เพิ่มมากขึ้น
4. อาจเพิ่มกรรมวิธีในการฆ่าเชื้อเพื่อยืดอายุของผลิตภัณฑ์ให้นานกว่าเดิม รวมทั้งการใช้บรรจุภัณฑ์ที่เหมาะสม

## เอกสารอ้างอิง

1. กองส่งเสริมพืชไร่ฯ, 2524. ข้าวโพด, เอกสารวิชาการ เล่มที่ 4, พิมพ์ครั้งที่ 1, กรมวิชาการเกษตร.
2. ASBC., 1985. Methods of Analysis of the American Society of Brewing Chemists, 6<sup>th</sup> ed., Washington, DC.
3. Briggs, D.E., Hough, J.S., Stevens, R. and Young, T.W., 1981. *Malting and Brewing Science* Volume 1 : Malt and Sweet Wort, Chapman & Hall, London.
4. Frazier, W.C. and Westhoff, D.C., 1988. *Food Microbiology*, 4<sup>th</sup> ed, McGraw-Hill, Inc., Singapore.
5. Hosney, R.C., 1994. An Overview of Malting and Brewing, *Cereal Foods World*. 39(9) : 675-679.
6. Hough, J.S., 1985. *The Biotechnology of Malting and Brewing*, the University Press, Cambridge.
7. Jackson, M., 1977. *The World Guide To Beer*, Mitchell Beazley, London.
8. Kent-Jones, D.W. and Amos, A.J., 1967. *Modern Cereal Chemistry*, Food Trade Press Ltd., UK.
9. Lea, A.G.H. and Piggott, J.R., 1995. *Fermented Beverage Production*, Blackie Academic & Professional, Chapman & Hall, London.
10. Malleshi, N.G. and Desikachar, HSR., 1982. Formulation of a weaning food with low hot paste viscosity based on malted ragi and greengram. *J. Food Sci. Technol.* 19:193-197.
11. Malleshi, N.G. and Desikachar, HSR., 1986. Influence of malting conditions on quality of finger millet malt. *J. Inst. Brew.* 92:81-83.
12. Miller, L., 1959. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing sugar. *Anal Chem.* 31(2) : 426-428.

13. Ranhotra, G.S., Loewre, R.J., Lehmann, T.A., 1977. Bread making quality and nutritive value of sprouted wheat.. *J. Food Sci.* 42:1373-1375.
14. Reddy, L.V., Ching, T.M., and Meizger, R.J., 1984. Alpha-amylase activity in wheat kernels matured and germinated under different temperature conditions. *Cereal Chem.* 61 : 228-231.
15. Sethi, V.B. and Bains, G.S., 1978. Factors influencing the malting quality of Indian wheats. *J. Food Sci. Technol.* 15 : 62-67.
16. Singh, T. and Sosulski, F.W., 1986. Amino acid composition of malts : Effect of germination and gibberilic acid on hulled and hulless barley and utility wheat. *J. Agric. Food Chem.* 34 : 1012-1016.
17. Steinkraus, K.H., 1989. *Industrialization of Indigeneous Fermented Foods*, Marcel Dekker, Inc., NewYork.
18. Varnam, A.H. and Sutberland, J.P., 1994. *Beverages* (Technology, Chemistry and Microbiology) Volume 2, Chapman&Hall, London.
19. Verzele, M. and Keukeleire, D., 1991. *Chemistry and Analysis of hop and Beer bitter acids.*, Elsevier Science Publishers.
20. Warren, L.H. and Martin, J.H., 1963. *Cereal Crops.*, Macmillan Publishing, USA.

## ภาคผนวก ก

### วิธีวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธีของ Miller (1959)

#### 1. หลักการ

น้ำตาลรีดิวซ์จะทำปฏิกิริยากับสารละลาย 3, 5 Dinitrosalicylic acid ในสภาวะที่เป็นเบสและร้อน ได้สารละลายสีส้มแดง วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร วิเคราะห์ปริมาณโดยการเปรียบเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายกลูโคสมาตรฐาน

#### 2. สารเคมีและวิธีเตรียมสารละลาย 3, 5 Dinitrosalicylic acid reagent

2.1 ละลายสารละลาย 3, 5 Dinitrosalicylic acid น้ำหนัก 5 กรัม ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 นอร์มัล ( โซเดียมไฮดรอกไซด์หนัก 8 กรัมในน้ำ 100 มิลลิลิตร ) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ทำสารละลายให้อุ่นเพื่อเพิ่มการละลายให้ดีขึ้น

2.2 ละลาย Sodium Potassium Tartrate หนัก 150 กรัม ด้วยน้ำกลั่น 25 มิลลิลิตร ทำสารละลายให้อุ่นเพิ่มการละลายให้ดีขึ้น

2.3 ผสมสารละลายในข้อ 2.1 และ 2.2 ในขณะร้อน แล้วปรับปริมาตรเป็น 500 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

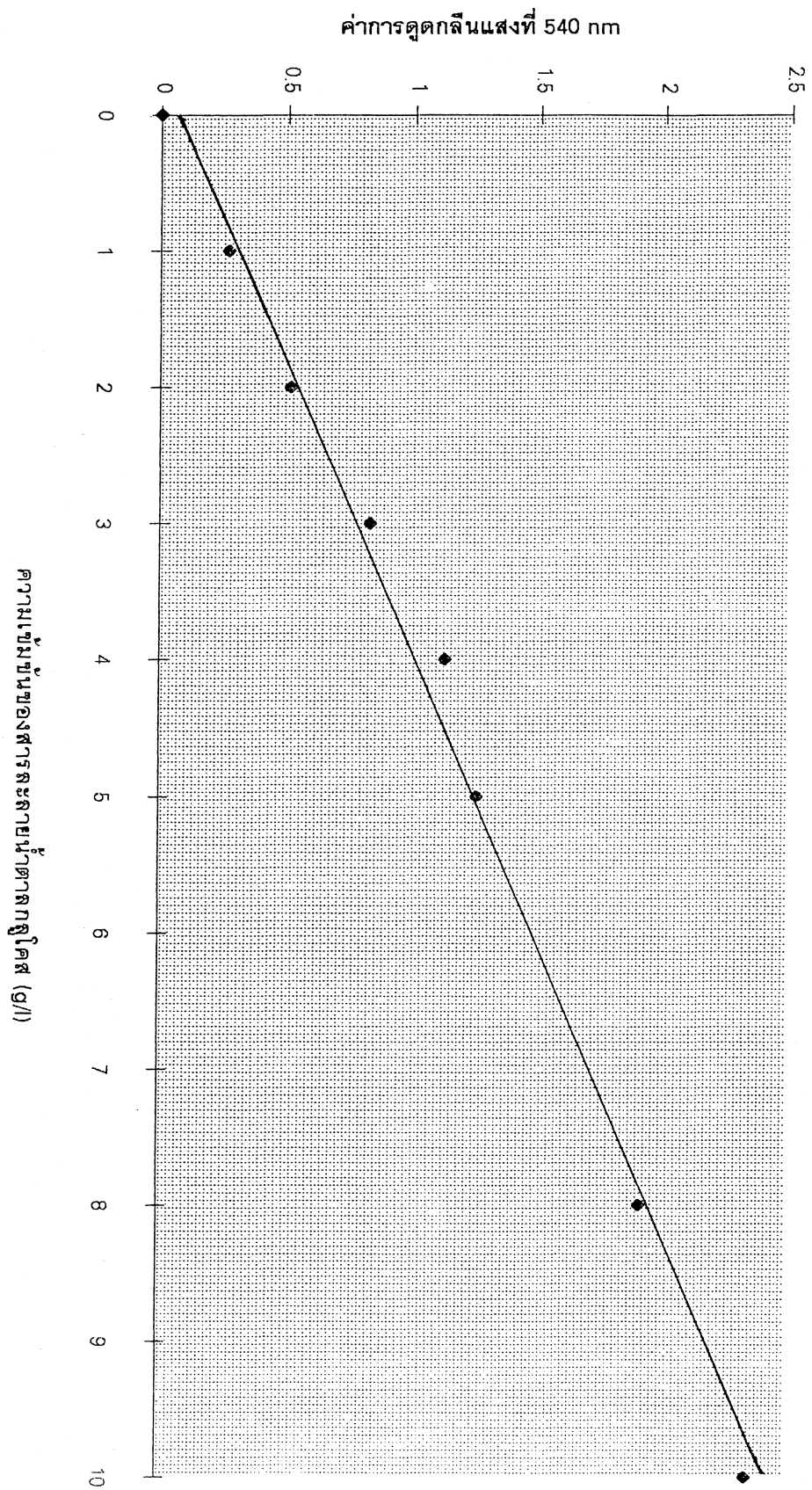
#### 3. วิธีวิเคราะห์

ปิเปตสารละลายตัวอย่าง 0.5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง เดิม 3,5 Dinitrosalicylic acid reagent ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ทำให้ร้อนในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที แล้วนำหลอดทดลองจุ่มแช่น้ำเย็น เพื่อลดอุณหภูมิ เดิมน้ำกลั่นปริมาตร 10 มิลลิลิตร เขย่าให้ผสมกันทั่ว นำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร โดยเปรียบเทียบกับ Blank แล้วดำเนินการเช่นเดียวกับตัวอย่าง วิเคราะห์ปริมาณโดยเปรียบเทียบกราฟมาตรฐานของกลูโคส

#### 4. การทำกราฟมาตรฐาน

ปิเปตสารละลายกลูโคสมาตรฐานความเข้มข้น 0, 1, 2, 3, 4, 5, 8 และ 10 กรัม ต่อลิตร ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง แต่ละหลอดทดลองเดิม 3, 5 Dinitrosalicylic acid reagent ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เขย่าให้ผสมกันทั่ว ทำให้ร้อนในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที นำหลอดทดลองจุ่มแช่ในน้ำเย็นเพื่อลดอุณหภูมิ เดิมน้ำกลั่น ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เขย่าให้ผสมกันทั่ว นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร โดยเปรียบเทียบกับ Blank

กราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส



ภาคผนวก ข

**PROPOSAL**

รายละเอียดโครงการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์  
ปีงบประมาณ 2540

ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร  
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ชื่อโครงการ	เบียร์ข้าวโพด (Maize beer)
ผู้ดำเนินการ	1. นางสาว พัชรินทร์ สายสังข์ 2. นางสาว พิริยา เกียรติชนะไพบูลย์
อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ	ผศ. สุทธิศักดิ์ สุขโนศิลป์

**เหตุผลที่สนใจในการเสนอโครงการ**

เบียร์ เป็นเครื่องดื่มประเภทแอลกอฮอล์ ที่ได้รับความนิยมสูงทั้งในต่างประเทศ และในประเทศไทย และมีแนวโน้มในการผลิตสูงขึ้นทุกปี ซึ่งวัตถุดิบสำคัญที่นิยมใช้ในปัจจุบันนั้นคือ ข้าวบาเลย์ ซึ่งในระดับอุตสาหกรรมเบียร์ไทยนั้นยังต้องนำเข้าจากต่างประเทศ ทำให้ต้นทุนในการผลิตยังสูงอยู่ ดังนั้นการนำวัตถุดิบท้องถิ่นภายในประเทศมาทดแทนข้าวบาเลย์จึงเป็นการลดต้นทุนการผลิตได้อีกทางหนึ่ง

และเนื่องจากข้าวโพดชนิดหัวแข็ง (flint corn) เป็นพันธุ์ที่กสิกรในประเทศนิยมปลูกกันมาก เพราะน้ำหนักดีและอายุสั้น อีกทั้งตลาดต่างประเทศต้องการนำไปเป็นอาหารสัตว์ และถ้าหากมีการพัฒนานำข้าวโพดชนิดนี้มาผลิตเบียร์แทนข้าวบาเลย์ในอุตสาหกรรม ก็จะเป็นการเพิ่มคุณค่า และราคาให้กับพืชไร่ชนิดนี้ด้วย

ดังนั้น โครงการนี้จึงได้ทดลองศึกษาการใช้ข้าวโพดเป็นวัตถุดิบในการผลิตเบียร์ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการขยายความรู้ไปสู่ระดับอุตสาหกรรมต่อไปในอนาคต

**ความเป็นมา และความสำคัญของโครงการ**

การหมัก (fermentation) เป็นคำที่มีรากศัพท์มาจากภาษาละติน "fervere" แปลว่า เคียด ซึ่งครั้งแรกใช้เพื่ออธิบายลักษณะที่เกิดจากการกระทำของยีสต์ในน้ำสกัดจากผลไม้ หรือเมล็ดข้าวมอลต์ เนื่องจากยีสต์ย่อยสลายน้ำตาลภายใต้สภาวะไม่มีออกซิเจน ทำให้เกิดฟองก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ผุดขึ้นมาเหมือนน้ำเคียด ซึ่งในปัจจุบันความหมายของคำว่า "หมัก" นั้น ก็จะนิยามต่าง

กันไปในแต่ละสาขาวิชา ส่วนการพัฒนาของอุตสาหกรรมหมักก็ก้าวหน้าขึ้นเรื่อย ๆ โดยมีวิวัฒนาการมาตั้งแต่ก่อนปี ค.ศ. 1900 ซึ่งมีผลผลิตจำกัดอยู่เพียงเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ และน้ำส้มสายชู จนกระทั่งต่อมาเริ่มมีการผลิตยีสต์ที่ใช้ทำขนมอบ และตัวทำละลายอินทรีย์ การผลิตเพนนิซิลิน การผลิตเซลล์จุลินทรีย์เพื่อใช้เป็นแหล่งโปรตีนในอาหารสัตว์ และการใช้เทคนิคทางพันธุวิศวกรรมปรับปรุงจุลินทรีย์เพื่อเพิ่มผลผลิต เป็นต้น จึงเห็นได้ว่า เทคโนโลยีการหมักนั้นเป็นศาสตร์ที่น่าสนใจอีกสาขาหนึ่ง โดยเฉพาะ ทางด้านเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ เช่น เบียร์ ซึ่งมีขั้นตอนในการผลิตที่ไม่ยุ่งยากมากนัก แต่ต้องมีเทคนิคในการหมักที่ดี และควบคุมสภาวะให้เหมาะสม

ตั้งแต่สมัยอียิปต์โบราณเป็นต้นมา มีการหมักเบียร์โดยใช้เชื้อจากธรรมชาติ ซึ่งอาจติดมากับเมล็ดข้าวมอลต์ที่ใช้หมัก หรือจุลินทรีย์ในอากาศ ต่อมาเมื่อนุขย์มีความรู้เกี่ยวกับจุลินทรีย์ และบทบาทของจุลินทรีย์มากขึ้น จึงได้มีการเติมยีสต์ลงไปในช่วง fermentation หรืออาจเติมเอนไซม์ที่ได้จากมอลต์ธรรมชาติลงไปแทนเชื้อจุลินทรีย์จากธรรมชาติ ซึ่งมอลต์ที่ใช้มักทำจากข้าวบาเลย์ เพราะมีปริมาณเอนไซม์สูง และโปรตีนต่ำ แต่ในบางประเทศก็มีการใช้ข้าวโพด และธัญพืชอื่น ๆ ด้วย

ในปัจจุบัน คนไทยนิยมดื่มเบียร์เพิ่มมากขึ้น ดังจะเห็นได้จากการเพิ่มขึ้นของโรงงานผลิต และปริมาณเบียร์ที่ผลิตได้ในแต่ละปี ดังนั้น ประเทศไทยจึงต้องสั่งข้าวบาเลย์เข้ามาใช้เป็นวัตถุดิบในปริมาณมาก และเพิ่มขึ้นทุกปี ขณะเดียวกัน ข้าวโพดที่ปลูกภายในประเทศก็มีปริมาณมาก และมักเกิดปัญหาการขาดแคลนอยู่บ่อย ๆ ดังนั้น การนำข้าวโพดมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเบียร์ ก็จะเป็นการช่วยเกษตรกรผู้ปลูกข้าวโพดในด้านเศรษฐกิจ และยังช่วยลดปัญหาการสูญเสียเงินตราออกนอกประเทศได้อีกทางหนึ่ง

### วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษากรรมวิธีในการผลิตเบียร์จากข้าวโพด
2. ศึกษาสภาวะการผลิตที่เหมาะสม
3. เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์เบียร์ข้าวโพดให้มีคุณภาพ และเป็นที่ยอมรับมากที่สุดเท่าที่จะทำได้

### ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เพิ่มคุณค่าทางเศรษฐกิจให้กับผลิตภัณฑ์จากข้าวโพด
2. เป็นการขยายขอบเขตการแปรรูปผลิตภัณฑ์จากข้าวโพด
3. เป็นข้อมูลในการขยายการผลิตไปสู่ระดับอุตสาหกรรม

## วิธีการดำเนินการศึกษา

### I. ระยะเวลาในการดำเนินงาน

ขั้นตอนการดำเนินงาน	มี.ย.	ก.ค.	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.	ม.ค.	ก.พ.	มี.ค.
1. รวบรวมข้อมูลจากรายงาน สิ่งตีพิมพ์ เอกสารต่าง ๆ จัดลำดับ และวางแผน การทดลอง	<----->									
2. จัดหาวัสดุอุปกรณ์ในการ ทดลอง		<----->								
3. ดำเนินการทดลอง - malting - mashing - fermentation และเก็บรวบรวมข้อมูล จากการทดลอง		<----->								
4. เขียนรายงาน และ เสนอผลงาน									<----->	

### II. รายละเอียดของการดำเนินงาน

1. รวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับวัตถุดิบ(ข้าวโพด) ยีสต์ กระบวนการผลิต และวิธีตรวจสอบคุณภาพของผลิตภัณฑ์
2. เตรียมวัสดุ และเครื่องมือในการผลิต และวิเคราะห์คุณภาพของผลิตภัณฑ์
3. ดำเนินการทดลอง

#### 3.1 การทำ malting

ศึกษาสภาวะที่ใช้ในการทำ malting จากข้าวโพด

- ระยะเวลาในการแช่ โดยกำหนดเวลาในการแช่เป็น 16,24 และ 32 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส
- ระยะเวลาในการเพาะ 3,4 และ 5 วัน
- การตรวจปริมาณน้ำตาลในข้าว malt ที่ได้
- การอบแห้ง ใช้ oven หรือ air dryer ที่อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส จนกระทั่งข้าว malt เหลือ moisture content ไม่ต่ำกว่า 6 %



- การเก็บรักษา ใช้ภาชนะแก้วมีฝาปิดมิดชิด เพื่อป้องกันความชื้น
- การบดลดขนาดก่อนใช้ในขั้น mashing โดยใช้ blender

### 3.2 ขั้น mashing

- ศึกษาสภาวะการเปลี่ยนแปลงเป็นน้ำตาล โดยใช้อัตราส่วน malt : water เป็น  
100 g : 300 ml , 100 g : 400 ml และ 100 g : 500 ml
- ศึกษาอัตราส่วนของ malt : hop โดยใช้ hop 0.45 และ 0.65%wt of malt
- ตรวจสอบคุณภาพของ wort ที่ได้ โดยใช้เกณฑ์ดังนี้  
ปริมาณน้ำตาล 0.10-0.15 %wt/v  
pH 5.0-5.6  
ปริมาณโปรตีน 160-300 mg/l

### 3.3 การเตรียม starter ของ yeast

### 3.4 การหมัก

นำยีสต์สายพันธุ์ต่าง ๆ มาทดลองหมักกับน้ำ wort ที่ได้ ดังตาราง

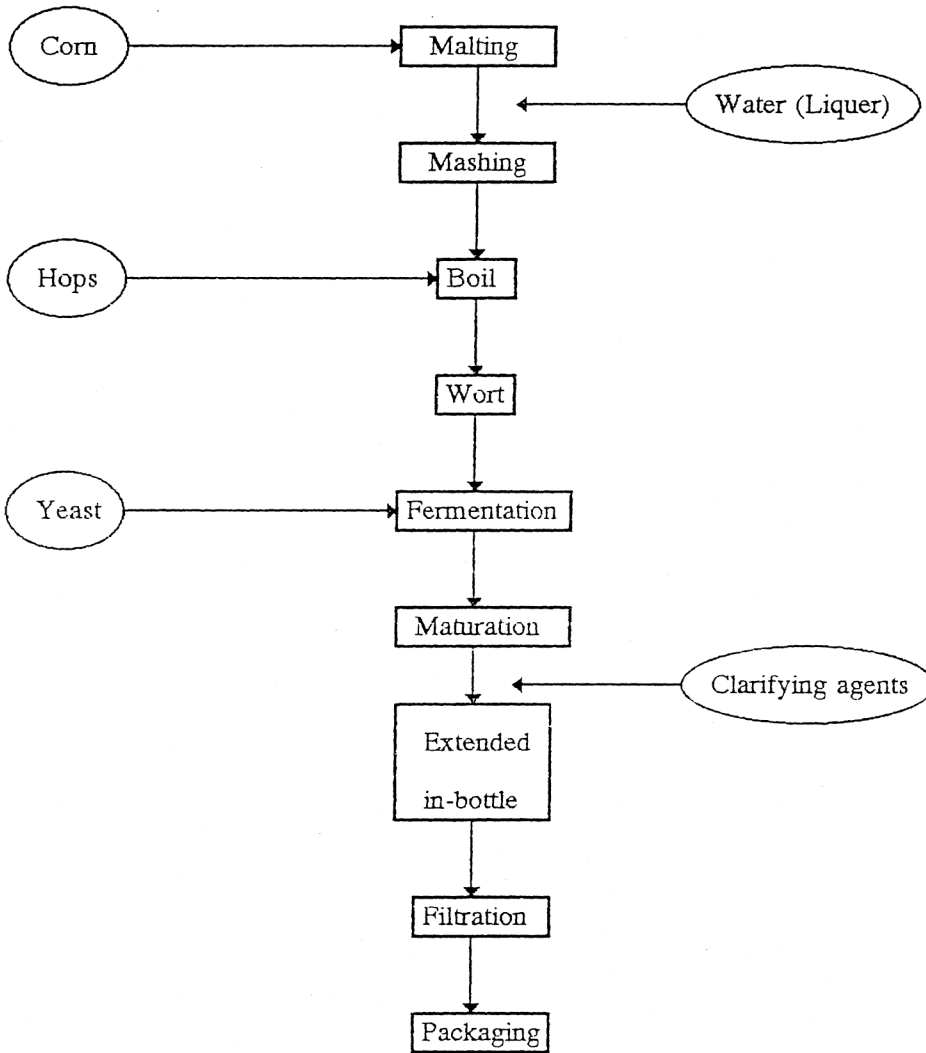
อุณหภูมิ (°C)	4	10	15
สายพันธุ์ yeast			
<i>S. carlsbergensis</i>			
<i>S. cerevisiae</i>			
<i>S. uvarum</i>			

### 3.5 - การวัดคุณสมบัติของเบียร์ที่ได้ คือ

- alcohol content, colour, head retention, clarity, pH, ปริมาณโปรตีนและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์
- การประเมินคุณภาพของเบียร์ที่ได้ทางประสาทสัมผัส คือ  
sweet, salt, bitter and sour

4. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ
5. การเขียนรายงานฉบับสมบูรณ์

III. ขั้นตอนการหมักเบียร์โดยสังเขป



## งบประมาณ

## 1. หมวดค่าใช้จ่าย

ค่าเดินทางในการไปซื้อวัตถุดิบ	700	บาท
ค่าเอกสาร, รายงานที่เป็นข้อมูล	500	บาท
ค่าวัสดุทำรายงาน และเสนอผลงาน	800	บาท

## 2. วัตถุดิบ

	จำนวน	ราคา	
ข้าวโพด	50 ก.ก.	750	บาท
ยีสต์	3 สายพันธุ์	600	บาท
อาหารเลี้ยงยีสต์	500 กรัม	2000	บาท
hop	0.5 ก.ก.	2000	บาท

## 3. อุปกรณ์ที่ใช้ในขั้นตอนการหมัก

	จำนวน	ราคา	
ผ้าขาวบาง	6 เมตร	240	บาท
กระด้ง	4 ใบ	240	บาท
กะละมัง	3 ใบ	135	บาท
สำลี	4 ห่อ	96	บาท
ที่สเปรย์ความชื้น	2 อัน	50	บาท
แท่งแก้วคน	3 อัน	30	บาท
ขวดแก้วที่ใช้เป็นถังหมัก	10 ขวด	500	บาท
กระดาษกรองเบียร์	4 ก้อน	480	บาท
แก้วชิมเบียร์	1 โหล	180	บาท
สาร diatomaceous earth	100 g.	480	บาท

## 4. สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของผลิตภัณฑ์

standard sulfuric or hydrochloric acid	1 l.	380	บาท
NaOH 0.1 N	1 l.	380	บาท
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 96% (N <sub>2</sub> free)	2.5 l.	400	บาท
mercuric oxide หรือ mercury (N <sub>2</sub> free)	125 g.	1000	บาท
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> หรือ anh. sodium sulfate (N <sub>2</sub> free)	1 kg.	350	บาท
sulfide หรือ thiosulfate solution	500 g.	280	บาท
methyl red indicator	50 g.	630	บาท
glucose	500 g.	200	บาท
รวม		13,401	บาท

## เอกสารอ้างอิง

กองส่งเสริมพืชไร่และปศุสัตว์, 2524. ข้าวโพด. เอกสารวิชาการ เล่มที่ 4 กรมวิชาการเกษตร,

อักษรสยามการพิมพ์

ASBC. 1958. Methods of Analysis of the American Society of Brewing Chemists,  
6<sup>th</sup> ed. Washington, DC.

Hough, J. S. 1985. The Biotechnology of Malting and Brewing, the University Press,  
Cambridge.

Steinkraus, K. H. 1989. Industrialization of Indigeneous Fermented Foods, New York.

Vernam, A. H. and Sutberland, J. P. 1994. Beverages: Technology, Chemistry and  
Microbiology, Vol 2 , Chapman & Hall, London.

ภาคผนวก ค

แบบสอบถาม

ชื่อผลิตภัณฑ์.....

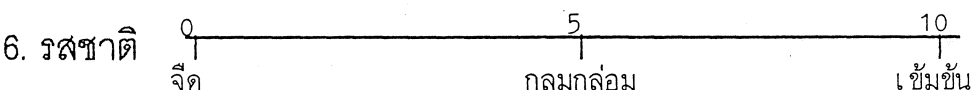
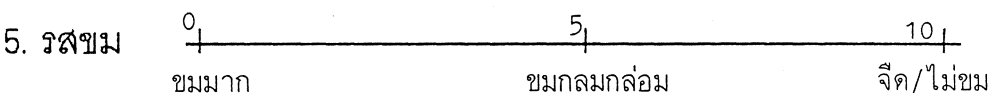
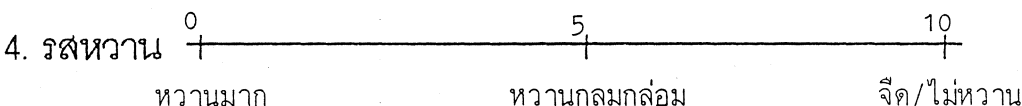
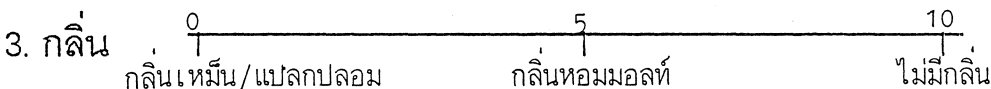
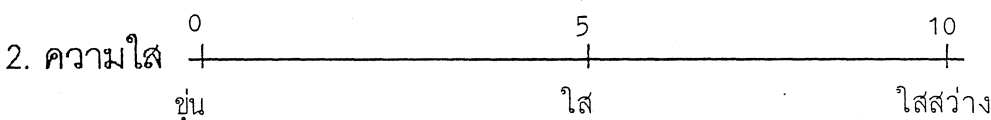
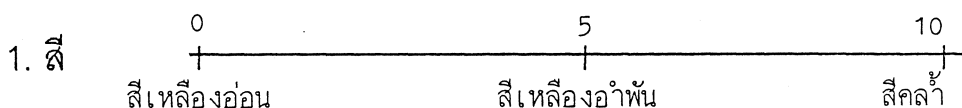
ชื่อผู้ทดสอบ.....

วันที่.....

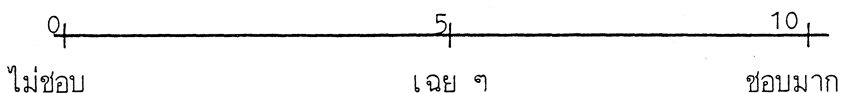
คำชี้แจง กรุณาทดสอบผลิตภัณฑ์ตัวอย่างตามคุณลักษณะที่กำหนด แล้ว

ให้คะแนนผลิตภัณฑ์ตามเกณฑ์ที่กำหนดให้ โดยทำเครื่องหมาย / พร้อม

กำกับรหัสตัวอย่าง



7. ความชอบโดยรวม



ข้อเสนอแนะ.....

.....