การหมักและการกลั่นแอลกอฮอล์

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.โชคชัย วนภู

แอลกอฮอล์เป็นสารอินทรีย์ที่มีทั้งคุณและโทษ สามารถลุกติดไฟได้ง่ายจึงนิยมมาใช้ทำเป็นเชื้อเพลิงทั้งการจุดไฟโดยตรงและเป็นส่วนผสมในน้ำมันเบนซิน เนื่องจากการผลิตแอลกอฮอล์เพื่ออุตสาหกรรมนี้ต้องใช้วัตถุดิบและยีสต์จากธรรมชาติและเป็นสิ่งมีชีวิต จึงนิยมเรียกแอลกอฮอล์ว่า ไบโอเอทานอล (bioethanol) โดยทั่วไปจะนิยมผสมกับน้ำมันเบนซิน ชนิดออกเทน 95 ในอัตราส่วน น้ำมันเบนซิน:แอลกอฮอล์บริสุทธิ์ 90:10 เรียกว่า E10 ในบางประเทศ อาจใช้สูงถึง E20 ก็มี และยังใช้เป็นตัวทำละลายในอุตสาหกรรมอื่น ๆ อีกมากมาย นอกจากนี้แอลกอฮอล์ยังสามารถใช้เป็นเครื่องดื่มที่มีความนิยมกันทั่วโลก

เครื่องดื่มประเภทสุรา จะมี 4 ประเภท ได้แก่ เบียร์ (beer) ไวน์ (wine) สุรากลั่น (spirits) และสุราปรุง (liqueurs) โดยปริมาณแอลกอฮอล์ในแต่ละประเภทจะแตกต่างกันไป เบียร์มักมีดีกรีระหว่าง 4-6 เปอร์เซ็นต์ ไวน์จะอยู่ระหว่าง 10-14 เปอร์เซ็นต์ แต่ก็มีบางชนิดที่แรงมากถึง 20 เปอร์เซ็นต์ เช่น porto และไวน์องุ่นขาวบางชนิด สุรากลั่นมักจะอยู่ระหว่าง 35-45 เปอร์เซ็นต์ และ liqueurs จะมีความแรงมากกว่า 40 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ วิสกี้ชนิดพิเศษจากสกอตแลนด์และสหรัฐอเมริกาจะสูงกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ และเหล้ารัมบางชนิดสูงกว่า 75 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งทั้งหมดจะขึ้นกับการได้รับอนุญาตการผลิตจากรัฐบาลของแต่ละประเทศโดยแต่ละประเทศมักคำนึงถึงผลกระทบต่อผู้บริโภค ปัจจัย และอุปนิสัยการบริโภคของผู้คนของตน แน่นอนที่จะไม่มีประเทศใดต้องการให้ประชาชนของตนเองติดสุรา จนก่อ

ให้เกิดปัญหาต่าง ๆ ขึ้น การพัฒนาอุตสาหกรรม ด้านนี้มีมาช้านานแล้ว แต่ละประเทศจะมีชื่อเสียงสำหรับแต่ละประเภทแตกต่างกันจนเป็นเอกลักษณ์ประจำชาติ เช่น

Mead เหล้าที่หมักจากน้ำผึ้ง มีแอลกอฮอล์ ประมาณ 8 เปอร์เซ็นต์

Pulque เหล้าหมักจากน้ำนมของพืช

Agave มีแอลกอฮอล์ 4-6 เปอร์เซ็นต์ Sake เหล้าที่หมักจากข้าว คล้ายสาโทมีแอลกอฮอล์ 12-16 เปอร์เซ็นต์

บรั่นดี(Brandy) เป็นกลุ่มสุรากลั่นจากไวน์องุ่นหรือไวน์ผลไม้ที่มีชื่อเสียงมากคือคอนยัก (Cognac) ผลิตจากแคว้น Cognac ประเทศฝรั่งเศส เช่นเดียวกับบรั่นดีจากไวน์องุ่นชื่อ Armagnac (ฝรั่งเศส) และ Grappa (อิตาลี), Calvados บรั่นดีแอปเปิล (ฝรั่งเศส), Kirsch บรั่นดีเชอร์รี่ และ Slivowitz บรั่นดีลูกพลัม

วิสกี้ (Whisky) เป็นกลุ่มสุรากลั่นจากธัญพืช โดยอาศัยพื้นฐานการทำเบียร์เป็นหลัก นำน้ำหมักมากลั่น แล้วบ่มในถังไม้เป็นเวลานาน

วอดก้า (Vodka) เป็นสุรากลั่นที่หมักจากส่วนผสมของธัญพืช มันฝรั่ง และอ้อย กระบวนการทำคล้ายกับวิสกี้ แต่จะมีการกำจัดสี กลิ่น รส กลั่นด้วยเทคนิคเฉพาะ

รัม (Rum) เป็นสุรากลั่นจากน้ำหมักที่มีรสหวาน ที่หมักจากน้ำตาลอ้อย และ/หรือโมลาส (Molass)

สุรากลั่น (Neutral Spirits) เป็นสุรากลั่นทั่ว ๆ ไป ที่ทำจากธัญพืชและน้ำตาล ไม่มีการบ่ม มักเป็นสุราที่มีแอลกอฮอล์สูงมากถึง 95 เปอร์เซ็นต์ หรือสูงกว่าในบางประเทศ

จิน (Gin) เป็นสุรากลั่นจากมอลต์ของข้าวบาร์เลย์ (Barley) และข้าวไรย์ (Rye) บางแห่งทำจากข้าวโพด

Cordials/Liqueurs เป็นสุราหวานที่ใช้สุรากลั่นแต่ละชนิด เช่น บรั่นดี วิสกี้ เป็นต้น มาผสมกับสารแต่งกลิ่นและน้ำตาล

สุราเหล่านี้มีต้นกำเนิดมาจากประเทศต่าง ๆ ได้แก่

แอปเปิล: Applejack (สหรัฐอเมริกา) Batzi (สวิตเซอร์แลนด์) Calvados (ฝรั่งเศส) Trebern (ออสเตรีย)

กระบองเพชร: Cocui (เวเนซุเอลา) Mescal (เม็กซิโก) Tequila (เม็กซิโก)

เชอร์รี่: Kirsch (ออสเตรีย เยอรมนี สวิตเซอร์แลนด์ ฝรั่งเศส) Kirsebaelikoer (เดนมาร์ก)

มะพร้าว-ปาล์ม: Arak, Arrack (หมู่เกาะอินดีสตะวันออก)

ผลไม้: Aliziergeist (ฝรั่งเศส) Prunelle (ฝรั่งเศส)

ธัญพืช: Akvaviitti, Akavit (เดนมาร์ก ฟินแลนด์ นอร์เวย์) Bourbon (สหรัฐอเมริกา) Genever (เนเธอร์แลนด์) Gin (อังกฤษ) Schnapps (เยอรมนี) Vodka (รัสเซีย โปแลนด์ สวีเดน) Whiskey (ไอร์แลนด์ สหรัฐอเมริกา แคนาดา สกอตแลนด์ ญี่ปุ่น)

องุ่น: Aquardiente (โปรตุเกส สเปน) Bagaceira (โปรตุเกส) Grappa (อิตาลี รัฐแคลิฟอร์เนีย) Marc (ฝรั่งเศส) Tresterschnapps (เยอรมนี) Armagnac (ฝรั่งเศส ออสเตรเลีย) Brandy (ออสเตรเลีย สหรัฐอเมริกา) Greece (อิตาลี สเปน ฝรั่งเศส) Cognac (ฝรั่งเศส) Ouzo (กรีซ) Pisco (ชิลี โบลิเวีย เปรู)

กากน้ำตาล: Arak, Raki (อินโดนีเซีย) Basi (ฟิลิปปินส์) Rum (สหรัฐอเมริกา)

ลูกแพร์: Mirabelle (ฝรั่งเศส) Slivo (ออสเตรีย บัลกาเรีย ฮังการี โ

มันฝรั่ง: Acquavit (เดนมาร์ก ฟินแลนด์ สวีเดน) Schnapps (เยอรมนี) Vodka (รัสเซีย โปแลนด์ สวีเดน)

ข้าว: Arak (อินโดนีเซีย) Raki (อินโดนีเซีย) Schochu (ประเทศญี่ปุ่น)

น้ำตาล (จากอ้อย): Aquardiente (ชิลี) Cana (ปารากัว) Rum (อเมริกาใต้)

แตงโม: Kislav (รัสเซีย)

กลไกการหมัก

จากเอกสารทางประวัติศาสตร์พบว่าชาวเยอรมัน ชื่อ George Ernest Stahl (ค.ศ. 1660) ในหนังสือของเขาชื่อ Zymotechnica Fundamentalis เป็นคนแรก ที่พยายามอธิบายกลไกการหมักแต่ยังไม่เป็นที่ยอมรับมากนักต่อมา นักเคมีฝรั่งเศสชื่อ Lavoisier (ค.ศ.1743-1794) ได้อธิบายกระบวนการการหมัก แสดงให้เห็นว่าน้ำตาลสามารถเปลี่ยนเป็นแอลกอฮอล์และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นครั้งแรก ต่อมาชาวฝรั่งเศสชื่อ Latour (ค.ศ.1837) ได้พบว่าเชื้อยีสต์เป็นสิ่งมีชีวิตที่ทำให้เกิดกระบวนการหมัก หลังจากนั้นมีการใช้เชื้อยีสต์มาทำการหมักไวน์มากขึ้น แต่กระบวนการหมักยังไม่ดีมีการบูดเน่าเป็นจำนวนมาก ต่อมา Louis Pasteur (ค.ศ. 1857) สามารถทำการทดลองและพิสูจน์ได้ว่าการบูดเน่าของไวน์เกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนจากอากาศนั่นเอง จากนั้นต่อมาในปี ค.ศ. 1810 นักวิทยาศาสตร์ชาวฝรั่งเศสชื่อ Gay. Lussac สามารถแสดงสมการกระบวนการหมักและใช้มาจนทุกวันนี้ คือ

$$\underset{\text{น้ำตาลกลูโคส}}{C_6H_{12}O_6} \longrightarrow \underset{\text{เอทานอล}}{2C_2H_5OH} + \underset{\text{คาร์บอนไดออกไซด์}}{2CO_2} + \text{ความร้อน}$$

กระบวนการหมักที่ให้แอลกอฮอล์นี้จะเกิดในภาวะที่ไม่มีอากาศซึ่งเรียกว่า Anaerobic โดยเขาสามารถยืนยันความถูกต้องได้จากการทดลองและเมื่อมีอากาศในถังหมักพบว่าอากาศจะทำให้เชื้อยีสต์เปลี่ยนการผลิตจากแอลกอฮอล์มาเป็นกรดน้ำส้มแทนได้ เรียกกระบวนการหมักแบบนี้ว่า Aerobic โดยการหมักในภาวะที่มีอากาศนี้นอกจากจะทำให้เกิดการสูญเสีย ในการผลิตแอลกอฮอล์แล้ว ยีสต์จะสามารถสร้างพลังงานหรือความร้อนได้สูงกว่าการหมักแบบไม่ใช้อากาศถึง 12 เท่า ในภาวะที่มีอากาศจะให้ค่าพลังงาน 673 กิโลแคลอรี ส่วนภาวะที่ไม่มีอากาศจะให้พลังงานเพียง 56 กิโลแคลอรี นั่นหมายความว่าเซลล์ยีสต์จะกินน้ำตาลที่เป็นแหล่งในภาวะที่มีอากาศหมดอย่างรวดเร็วกว่าภาวะที่ไม่มีอากาศในภาวะที่อากาศมีเชื้ออื่นในอากาศจะสามารถปนเปื้อนได้ง่ายขึ้นดังนั้นการหมักแอลกอฮอล์จึงจำเป็นต้องระมัดระวังเรื่องอากาศหรือออกซิเจนให้มาก

จากทฤษฎีการหมักจะได้แอลกอฮอล์ 51.1 เปอร์เซ็นต์ และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 48.9 เปอร์เซ็นต์ หรือหมายความว่า ถ้าใช้น้ำตาล 100 กิโลกรัมจะได้แอลกอฮอล์บริสุทธิ์ 51.1 กิโลกรัม ซึ่งในทางปฏิบัติจะไม่สามารถทำได้ เนื่องจากน้ำตาลจะเป็นสารอาหารหลักที่เซลล์ยีสต์จะนำไปใช้เลี้ยงเซลล์ ใช้ในการสังเคราะห์สารอื่น ๆ มากมาย นอกจากนี้ปริมาณแอลกอฮอล์ที่สูงมากเกินไปเซลล์ยีสต์จะไม่สามารถทนได้ จากการทดลองทำการหมักพบว่าโดยทั่วไปแล้วปริมาณน้ำตาลทุก ๆ 1 Brix จะให้แอลกอฮอล์ 0.535 เปอร์เซ็นต์ เช่น ใช้น้ำตาล 22 Brix จะได้แอลกอฮอล์ไม่เกิน 11.77 เปอร์เซ็นต์

ยีสต์เป็นสิ่งมีชีวิตจัดอยู่ในจำพวกราเซลล์เดี่ยว ยีสต์ที่ใช้ในการผลิตแอลกอฮอล์จะอยู่ในสกุล *Saccharomyces sp.* ซึ่งมีหลายชนิดได้แก่ *S. cerevisiae, S. bayanus, S. carlsbergensis* และ *S. fermentati* ยีสต์เหล่านี้สามารถหมักได้อย่างรวดเร็ว ให้ปริมาณแอลกอฮอล์สูง และทนทานต่อสภาวะแวดล้อม เช่น ดีกรีแอลกอฮอล์ อุณหภูมิ และค่า pH นอกจากนี้ยีสต์ที่ดีควรตกตะกอนเองได้ง่ายเพื่อง่ายต่อการทำให้ใส ยีสต์เป็นสิ่งมีชีวิต

ที่สามารถอยู่ได้ทั้งในสภาพมีและไม่มีก๊าซออกซิเจนได้ ในการหมักเริ่มต้นจะใช้ก๊าซออกซิเจนช่วยเพื่อเพิ่มอัตราการแบ่งเซลล์ (แตกหน่อ) เมื่อมีการเจริญมากพอระดับหนึ่งแล้วจะไม่ให้อากาศ เซลล์ก็จะเริ่มผลิตแอลกอฮอล์ หากในช่วงที่มีการผลิตแอลกอฮอล์นี้เซลล์ยีสต์ได้รับออกซิเจนมาก กลไกของเซลล์จะไม่ยอมผลิตแอลกอฮอล์แต่จะสร้างกรดน้ำส้มแทนหรือภาษาชาวบ้านเรียกว่า **บูด** นั่นเอง

การเจริญของเซลล์ยีสต์สามารถแบ่งได้เป็น 4 ระยะ คือ

1. **ระยะเริ่มต้น** (lag phase) เป็นระยะที่เซลล์กำลังปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมใหม่เพื่อเริ่มการเจริญ ระยะนี้จะใช้เวลาสั้น ๆ ประมาณ 1-6 ชั่วโมง ขึ้นกับการเตรียมหัวเชื้อ ความแข็งแรงของเซลล์ ความสดใหม่ของเซลล์ และสารอาหารเป็นสำคัญ

2. ***ระยะการเจริญ*** (log phase ***หรือ*** *exponential phase*) หลังระยะเริ่มต้นเสร็จสิ้นประมาณ 30 นาที เซลล์ยีสต์เริ่มแตกหน่อเพื่อเพิ่มจำนวน ระยะนี้จำนวนเซลล์จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเป็นทวีคูณหรือเพิ่มแบบค่า log ทางคณิตศาสตร์ จึงเรียกระยะนี้ตามค่าคณิตศาสตร์ ปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ก็จะเพิ่มมากขึ้นจนทำให้เห็นฟองอากาศผุดขึ้นมามากมาย ขณะเดียวกัน เซลล์ยีสต์ก็เริ่มจับกลุ่มกันเองมากขึ้น แอลกอฮอล์จะเริ่มผลิต

3. **ระยะคงที่** (stationary phase) เมื่อสารอาหารเริ่มหมดลงการเจริญหรือการแบ่งเซลล์จะลดน้อยลงด้วย ทำให้จำนวนเซลล์รวมค่อนข้างคงที่ ปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ก็จะลดน้อยลง เซลล์ยีสต์เริ่มตกตะกอนมากขึ้น แอลกอฮอล์จะเพิ่มจนสูงสุด

4. **ระยะตาย** (death phase) เป็นระยะที่เซลล์ตาย ตะกอนเซลล์จะมีมากขึ้น ปริมาณแอลกอฮอล์จะคงที่

ลักษณะของยีสต์

หากดูรูปร่างของยีสต์สายพันธุ์ต่าง ๆ ด้วยกล้องจุลทรรศน์แล้วจะเห็นว่าไม่มีความแตกต่างกันมากนัก ความแตกต่างของแต่ละสายพันธุ์จะอยู่ที่ความสามารถในการผลิตแอลกอฮอล์ ความสามารถทนทานต่อดีกรีแอลกอฮอล์ การให้กลิ่นสี ความเร็วที่ใช้หมัก ปริมาณฟองที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมัก ปริมาณการเกิดก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ และผลิตภัณฑ์อื่น ๆ เช่นแอลกอฮอล์ชนิดหนัก (isoamyl alcohol) และสารพิษต่าง ๆ

ในการผลิตแอลกอฮอล์ไม่ว่าโรงงานจะขนาดเล็กหรือใหญ่ มักนิยมใช้ยีสต์เพียงไม่กี่สายพันธุ์ที่คุ้นเคยมากกว่าการเปลี่ยนสายพันธุ์ยีสต์ไปเรื่อย ๆ ยีสต์ที่มีจำหน่ายทั่วไปอาจทำให้ผู้ผลิตแอลกอฮอล์เริ่มต้นสับสนได้ง่าย เช่น ยีสต์สายพันธุ์ Pasteur Champagne เป็นยีสต์ไวน์ทั่วไปไม่ใช่สำหรับการทำไวน์ซ่าหรือแชมเปญ แต่ถ้าเป็นสายพันธุ์ California Champagne หรือ Prisede Mousse จะเหมาะกับการหมักครั้งที่สองของการทำไวน์ซ่า แทน ชื่อที่ทำให้สับสนเหล่านี้เป็นชื่อสถานที่หรือเมืองที่ใช้ผลิตยีสต์ แชมเปญ (Champagne) เป็นชื่อเมืองหนึ่งในประเทศฝรั่งเศส ดังนั้นก่อนการสั่งซื้อจึงควรตรวจสอบให้ดีก่อน

การใช้ยีสต์ขนมปัง (Baker's yeast) มาหมักแอลกอฮอล์นั้น ยีสต์ขนมปังจะกินน้ำตาลมากแต่ให้แอลกอฮอล์ต่ำ ในขณะที่ยีสต์สำหรับทำไวน์สามารถให้แอลกอฮอล์ได้สูงอาจถึง 20 เปอร์เซ็นต์ และใช้น้ำตาลน้อยกว่า ให้กลิ่นหอมที่ดีกว่ายีสต์ขนมปังมาก นอกจากนี้ยีสต์ทำไวน์ยังมีคุณสมบัติในการให้สารอินทรีย์อื่น ๆ ในปริมาณน้อยกว่ามาก ได้แก่ อัลดีไฮด์ ฟูเซลออย เอสเทอร์ เป็นต้น ซึ่งสารเหล่านี้ส่วนมากเป็นอันตรายต่อระบบตับ ไต และทำให้เกิดอาการปวดหัวและเมาค้าง ดังนั้น จึงควรเลือกใช้ยีสต์สำหรับผลิตแอลกอฮอล์แต่ละประเภทให้เหมาะสมด้วย

ชนิดของยีสต์

ยีสต์ที่มีจำหน่ายโดยทั่วไปจะมี 2 ลักษณะคือ แบบของเหลวหรืออยู่ในสารอาหารเหลว และแบบแห้ง ยีสต์แบบของเหลวมักไม่สะดวกต่อการขนส่ง การใช้ง่ายและการจัดเก็บ เพราะอายุค่อนข้างสั้นและต้องเก็บในที่เย็น มักนิยมใช้แบบแห้งมากกว่า บริษัทลาลวิน (Lalvin) เป็นผู้ผลิตรายใหญ่ของโลก ยีสต์แต่ละสายพันธุ์ จะมีคุณสมบัติแตกต่างกันไป นอกจากนี้ยังสามารถค้นหาข้อมูลเพิ่มเติมได้จากบริษัท Lalvin (www.scottlab.com/lalvin.htm) บริษัท Red Star (www.redstaryeast.net) และบริษัท Wyeast Labs (www.wyeastlab.com)

การควบคุมการหมัก

1. สารอาหาร

โดยทั่วไปเซลล์ยีสต์ต้องการสารอาหารจำพวกคาร์บอน (C) ไนโตรเจน (N) ออกซิเจน (O) กำมะถัน (S) และฟอสฟอรัส (P) ธาตุเหล่านี้ต้องได้มาจากสารเคมี โดยคาร์บอนจะได้มาจากน้ำตาลซึ่งเป็นแหล่งพลังงานของเซลล์และเป็นตัวกำหนดปริมาณแอลกอฮอล์อีกด้วย ธาตุไนโตรเจนจะเป็นโครงสร้างของโปรตีนและสารพันธุกรรม ซึ่งเป็นสิ่งจำเป็นในการดำรงชีวิตและแบ่งเซลล์ ส่วนธาตุออกซิเจน กำมะถัน และฟอสฟอรัสก็เช่นกันเป็นโครงสร้างหลักของสารชีวโมเลกุลต่าง ๆ เช่น โปรตีน สารพันธุกรรม เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีธาตุสารอาหารที่เซลล์ต้องการแต่ใช้ในปริมาณน้อยอีกมากมาย

ดังนั้น การจะทำให้ได้แอลกอฮอล์ในปริมาณสูง ๆ จำเป็นต้องทำให้เซลล์สามารถเจริญในสภาวะที่เหมาะสม สามารถแบ่งเซลล์ได้ในจำนวนมาก ๆ สารอาหารที่นิยมใช้จะอยู่ในรูปของน้ำตาล เกลือฟอสเฟต เกลือไนโตรเจน และเกลือกำมะถัน เป็นต้น

2. อุณหภูมิ

ยีสต์สายพันธุ์ทั่วไปจะสามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 10-32 องศาเซลเซียส ถ้าอุณหภูมิเกินกว่า 38 องศาเซลเซียส ยีสต์มักตายและต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส มักไม่ค่อยเจริญ นอกจากนี้อุณหภูมิในช่วง 10-32 องศาเซลเซียส จะให้กลิ่นและรสชาติที่ดีกว่าที่อุณหภูมิสูง ๆ

3. ค่าความเป็นกรดด่าง

การเจริญของเซลล์ยีสต์ต้องการสภาวะที่เหมาะสม นอกจากสารอาหารและอุณหภูมิแล้ว ความเป็นกรดด่างภายนอกก็เป็นสิ่งจำเป็นที่จะกระตุ้นให้เซลล์ดำรงชีวิต และปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งกลไกการสังเคราะห์แอลกอฮอล์จะเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ต้องใช้เอนไซม์หลายชนิด การทำงานของเอนไซม์ต้องอยู่ในสภาวะที่เหมาะสมทั้งอุณหภูมิและความเป็นกรดด่าง โดยทั่วไปค่า pH ที่เหมาะสมจะอยู่ระหว่าง 3.4-3.6

วิธีการหมัก

โดยทั่วไปยีสต์ *S. cerevisieae* สามารถให้แอลกอฮอล์ในปริมาณ 0.53-0.60 เปอร์เซ็นต์ ต่อทุก ๆ 1 เปอร์เซ็นต์ของน้ำตาลที่เพิ่มขึ้น ดังนั้นควรปรับน้ำตาลให้มีความเข้มข้น 30-35 เปอร์เซ็นต์ หรือประมาณ 30-35°Brix จะได้ 18-21 ดีกรี อย่างไรก็ตามความสามารถ ในการผลิตและความทนทานต่อแอลกอฮอล์จะขึ้นกับสายพันธุ์ยีสต์เป็นหลัก เช่น ยีสต์ขนมปัง สามารถให้แอลกอฮอล์ได้ 12-14 ดีกรีเท่านั้น และยังให้สารปนเปื้อนที่เป็นอันตราย อาทิ ฟิวเซลออย (fusel oil) อีกด้วย ในทางตรงกันข้าม หากใช้น้ำตาลมากเกินไปอาจทำให้การเจริญของยีสต์ลดลงจนไม่สามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้ และจะมีเชื้อจุลินทรีย์อื่น ๆ ปนเปื้อนเพิ่มมากขึ้น เกิดการบูดเน่า

1. เตรียมอาหารแข็งสำหรับเก็บเชื้อยีสต์สด โดยนำยีสต์ผงหรือยีสต์สดมาต่อเชื้อด้วยการเขี่ยเชื้อลงบน

อาหาร PDA (Potato Dextrose Agar) ซึ่งสามารถเตรียมได้โดยใช้หัวมันฝรั่ง 200 กรัม (2 ขีด) มาหั่นเป็นชิ้นลูกเต๋าขนาดเล็ก ๆ นำเคี่ยวในน้ำเดือด 1 ลิตรจนละลายหมดแล้ว เติมน้ำตาลกลูโคส 20 กรัม และวุ้นผง 15 กรัม ต้มจนสุก นำอาหาร PDA มาบรรจุลงขวดแบนขนาดเล็ก แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที นำออกมาวางนอนและเอียงขวดขึ้นเล็กน้อย เมื่ออาหารแข็งแล้วให้ใส่ยีสต์ผงแห้ง 1-2 ช้อนชาลงในน้ำสะอาดที่ฆ่าเชื้อแล้วประมาณ 10 ซีซี คนให้ละลาย ทิ้งไว้ 15 นาที แล้วจึงนำมาเขี่ยเชื้อยีสต์ลงด้วยเทคนิคการปลอดเชื้อลงบนอาหาร PDA จากนั้นนำไปบ่มในที่ร่ม อุณหภูมิประมาณ 25-32 องศาเซลเซียส นาน 2-3 วัน ก็จะได้เชื้อยีสต์สดบนอาหารแข็ง สามารถเก็บเชื้อได้นานประมาณ 2 เดือนในตู้เย็น หากต้องการเพิ่มจำนวนหรือต่อเชื้อใหม่ก็สามารถ ใช้ขวดเดิมต่อได้อีก

2. เตรียมอาหารเหลวโดยสามารถใช้สูตรใดสูตรหนึ่งต่อไปนี้

สูตรที่ 1	*Diammonium phosphate (DAP)*	0.32	กรัม
	Diammonium sulphate	2	กรัม
	Calcium chloride	0.5	กรัม
	Magnesium sulphate	0.12	กรัม
	กากน้ำตาล	24-26°	Brix

(ปริมาณ กากน้ำตาลหรือโมลาส (molass) จะขึ้นกับเกรด และปริมาณน้ำตาล จึงใช้การวัดค่า Brix แทน)

เติมน้ำสะอาดกวนผสมจนละลายหมด แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร

สูตรที่ 2	Yeast extract	3.0	กรัม
	Malt extract	3.0	กรัม
	Peptone	5.0	กรัม
	น้ำตาลทราย	300	กรัม

ละลายน้ำตาลทรายในน้ำร้อนประมาณ 300-400 ซีซี ก่อน แล้วจึงเติมลงในสารอาหารอื่น ๆ คนให้เข้ากันแล้วเติมน้ำสะอาดให้ได้ 1 ลิตร

3. นำเชื้อยีสต์ในอาหารแข็ง 1-2 ลูป หรืออาจใช้ยีสต์ผงใส่ประมาณ ½-1 ช้อนชา ใส่ลงในอาหารเหลว 1 ลิตร เขย่าขวดให้ยีสต์และสารอาหารให้เข้ากัน ปิดฝาถังแล้วใส่ Air Lock เพื่อป้องกันการปนเปื้อนและสามารถควบคุมอากาศไม่ให้เข้าไปในถัง (มิฉะนั้นอาจทำให้สุราบูดเสียได้) ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิประมาณ 25-32 องศาเซลเซียส ไม่ให้ถูกแสงนาน 2-3 วัน ก็จะได้หัวเชื้อที่พร้อมจะขยายปริมาณ

4. หากต้องการขยายปริมาตรน้ำหมักให้ใช้หัวเชื้อประมาณ 2-5 เปอร์เซ็นต์ (เหมาะสมที่สุดควรใช้ประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์) ของน้ำกากน้ำตาลของสูตร 1 ในข้อ 2 หมักต่อจนกระทั่งไม่มีฟองแก๊ส ซึ่งโดยทั่วไปจะใช้เวลาประมาณ 10-14 วัน

5. หากมีเครื่องกรองให้กรองตะกอนเซลล์ยีสต์ออกก่อน หากไม่มีเครื่องให้พักถังในที่เย็น ๆ นาน 2-3 วัน เพื่อตกตะกอน แล้วจึงดูดส่วนใสนำไปกลั่นต่อไป

สำหรับการผลิตไบโอเอธานอลในประเทศไทย มักนิยมใช้กากน้ำตาลมาหมักโดยตรง ซึ่งจะมีต้นทุนในการผลิตต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้มันสำปะหลังที่ต้องมีการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล ด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลส (α-amylase) และกลูโคอะไมเลส (glucoamylase) ก่อน หรือบางโรงงานอาจใช้กรดมาย่อยโดยตรง จึงทำให้มีต้นทุนสูงกว่าการใช้กากน้ำตาล อย่างไรก็ตามปริมาณกากน้ำตาลที่ผลิตได้ในประเทศนั้นมีอยู่จำกัดจึงทำให้ราคาต้นทุนการผลิตสูงขึ้นเรื่อยๆ

การกลั่นแอลกอฮอล์

การกลั่นแอลกอฮอล์คือการแยกเอทิลแอลกอฮอล์ (ethyl alcohol) ออกจากน้ำหมัก โดยอาศัยจุดเดือด (boiling point) และความดันไอ (Vapor pressure) ของแอลกอฮอล์กับสารระเหยที่แตกต่างกัน แอลกอฮอล์ที่ได้จะมีความบริสุทธิ์มากน้อยเพียงใด

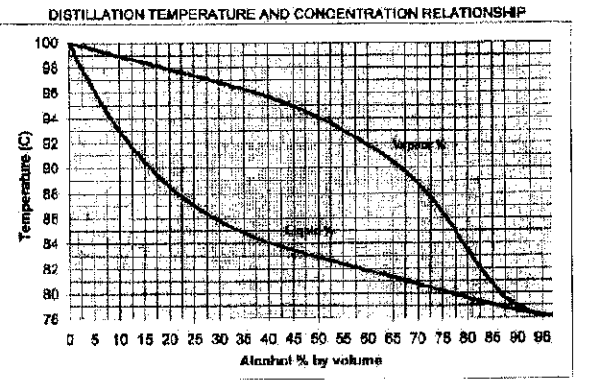
จะขึ้นกับหลายปัจจัย โดยปัจจัยหลักคือชนิดของหม้อกลั่น ในกระบวนการหมักจะมีสารที่เป็นพิษชนิดต่าง ๆ มากมายที่ถูกสร้างขึ้นมา เช่น กรดอินทรีย์ เมทิลแอลกอฮอล์ (methyl alcohol) เอสเตอร์ (esters) อัลดีไฮด์ (aldehydes) ฟิวเซลออยส์ (fusel oils) และสารระเหยต่าง ๆ โดยการกลั่น จะสามารถแยกสารที่ไม่ต้องการออกได้ แต่ก็มีสารระเหยบางอย่างเช่น เอสเตอร์ อาจมีหลงเหลือได้ โดยจะมีกลิ่นเฉพาะในแต่ละชนิด ซึ่งเป็นเอกลักษณ์ที่เป็นค่านิยมในการบริโภคสุรา สำหรับการทำเป็นเชื้อเพลิงนั้นจะมุ่งเน้นเฉพาะความบริสุทธิ์ของแอลกอฮอล์เท่านั้น

ความแรงของแอลกอฮอล์ที่ผ่านการกลั่นจะนิยมวัดด้วยค่าพรูฟ (Proof) ในอเมริกาค่าพรูฟ 100 (100 Proof) จะหมายถึงสุรานั้น ๆ มีดีกรีแอลกอฮอล์เท่ากับ 50 เปอร์เซ็นต์ หากเป็นสุราบริสุทธิ์ 100 เปอร์เซ็นต์ จะมีค่าพรูฟเป็น 200 (200 Proof) ในอังกฤษค่าพรูฟจะมีค่าแตกต่างกันเล็กน้อย เช่น พรูฟ 100 (100 British Proof) จะมีความแรงแอลกอฮอล์เท่ากับ 57.1 เปอร์เซ็นต์ ในฝรั่งเศสกลับไม่เรียกค่าพรูฟแต่นิยมเรียกดีกรีของ Gay-Lussac (G.L.) เช่น 40°G.L. เท่ากับ 40 เปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ หรือเรียกตามดีกรีแอลกอฮอล์นั่นเอง

สุรากลั่นทั่วไปมักจะมีความแรงน้อยกว่าค่าพรูฟ 100 หรือน้อยกว่า 50 ดีกรี ที่ได้จากการกลั่นครั้งเดียว สุราประเภท Cognac (คอนยัก) จะกลั่นสองครั้ง และไอริสวิสกี้ (Irish Whiskey) จะกลั่นถึงสามครั้ง

กราฟการกลั่น

จุดเดือดของแอลกอฮอล์บริสุทธิ์ (100 เปอร์เซ็นต์) เท่ากับ 78 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่ทั้งของเหลวและไอแอลกอฮอล์มีค่าเท่ากัน แต่เมื่อมีน้ำมาเจือปนยิ่งน้ำมากเท่าไรอุณหภูมิของสุราจะมีค่าสูงขึ้นไปด้วย ดีกรีของแอลกอฮอล์เริ่มต้นมากเท่าไรเมื่อกลั่นแล้วจะยิ่งได้ดีกรีสูงมากขึ้นเช่นกัน



ดังนั้นผู้ประกอบการจึงควรเข้าใจพื้นฐานการกลั่นก่อน โดยเฉพาะการใช้กราฟนี้ ดังตัวอย่าง

- การกลั่นหากเริ่มที่มีแอลกอฮอล์ที่ 15 เปอร์เซ็นต์ นำมากลั่น ให้ลากเส้นตั้งฉากขึ้นไปพบเส้นสีน้ำเงิน อ่านค่าอุณหภูมิได้เท่ากับ 93 องศาเซลเซียส แสดงว่า เมื่อน้ำสุรามีอุณหภูมิ 93 องศาเซลเซียส ไอแอลกอฮอล์จะมีความเข้มข้น 55 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจะสามารถควบแน่นได้แอลกอฮอล์ 55 เปอร์เซ็นต์
- หากนำแอลกอฮอล์ 55 เปอร์เซ็นต์ ที่ได้มากลั่นครั้งที่สองจะได้จุดเดือดที่ 82 องศาเซลเซียส และจะได้แอลกอฮอล์มีดีกรีเท่ากับ 82.5 เปอร์เซ็นต์

% alcohol (ของเหลว)	% alcohol (ไอ)
10	55
15	65
20	70
30	72.5
40	75

หม้อกลั่น

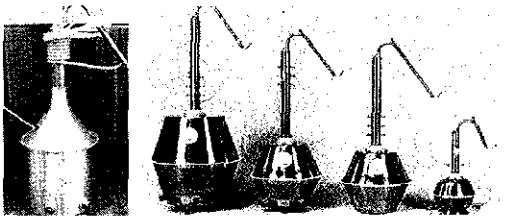
หม้อกลั่นสามารถแบ่งได้เป็น 3 ประเภท ได้แก่ หม้อกลั่นธรรมดา (Pot Still) หม้อกลั่นแบบไหลย้อนกลับ (Reflux Still) และหม้อกลั่นแบบแยกลำดับส่วน (Factionating Still หรือ Factionating Column) ทั้งสามชนิดจะมีความแตกต่างกัน ดังนี้

1. หม้อกลั่นธรรมดา

เป็นหม้อกลั่นที่ไอแอลกอฮอล์ และไอน้ำจะไหลขึ้นมากระทบกับความเย็นโดยตรง การแยกไอแอลกอฮอล์ และไอน้ำออกจากกันได้ไม่มากนัก การควบแน่นมักใช้ท่อยาว ๆ มาขดในน้ำ โดยทั่วไปจะได้ความบริสุทธิ์ ประมาณ 40-60 เปอร์เซ็นต์ หากต้องการเพิ่มดีกรีจำเป็นต้องกลั่นครั้งที่สองซึ่งมักจะได้ดีกรีประมาณ 70-85 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ความสามารถในการแยกสารระเหยต่าง ๆ จะไม่ดีเท่ากับอีกสองชนิด

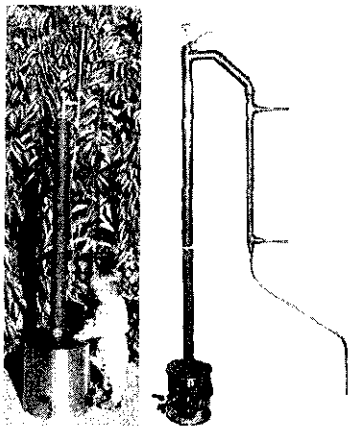
2. หม้อกลั่นแบบไหลย้อนกลับ

ไอแอลกอฮอล์และไอน้ำจะไหลเข้าสู่ท่อระหว่างปากหม้อกับชุดควบแน่น ภายในท่อนี้ถูกออกแบบให้ไอไหลไปกระทบความเย็นก่อนถึงชุดควบแน่น ทำให้แอลกอฮอล์กลั่นตัวไหลกลับลง โดยทั่วไปสามารถได้ดีกรีประมาณ 75-85 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นกับความยาวท่อ นอกจากนี้ระบบหม้อนี้ยังสามารถกำจัดกลิ่นของสารปนเปื้อนในสุราได้ดีกว่าแบบแรก นิยมใช้กับทำวอดก้า

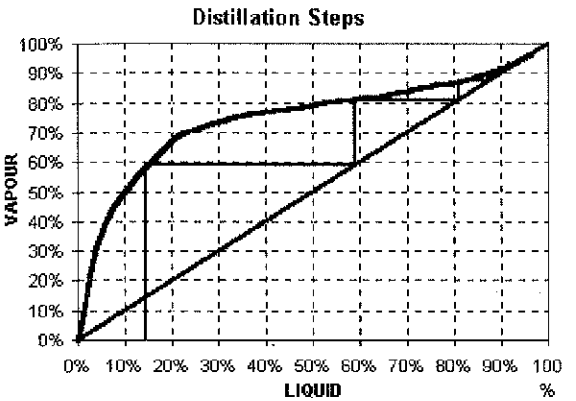


3. หม้อกลั่นแบบแยกลำดับส่วน

เป็นหม้อกลั่นที่ให้ความบริสุทธิ์มากที่สุด โดยท่อจะบรรจุวัสดุดูดซับ (scrubbers) หรือทำเป็นตะแกรงหรือถ้วยคว่ำขนาดเล็ก ๆ วางเป็นชั้น ๆ เพื่อทำให้ไอแอลกอฮอล์และไอน้ำไหลวกวนไปมาเสมือนเดินทางระยะไกล ๆ ประมาณ 9 ส่วนใน 10 ส่วนจะไหลย้อนกลับลงมา ทั่วไปท่อจะมีความสูงหลายเมตร สุรากลั่นที่ได้จะมีความบริสุทธิ์สูงมากถึง 95 เปอร์เซ็นต์ นิยมใช้ในการทำวิสกี้และเหล้ารัมชนิดต่าง ๆ การจะเพิ่มความบริสุทธิ์หรือดีกรีแอลกอฮอล์ให้สูง ๆ ได้นั้น อาจทำได้หลายวิธี เช่น การกลั่นหลาย ๆ ครั้ง การใช้หม้อกลั่นชนิดไหลย้อนกลับหรือแยกลำดับส่วน เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้หม้อชนิด Pot still นั้นหากเริ่มต้นน้ำหมักมีแอลกอฮอล์ 15 เปอร์เซ็นต์ ตามภาพ กลั่นครั้งแรกจะได้ความแรงไม่เกิน 60 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อเอามากลั่นครั้งที่สองจะได้ดีกรีสูงขึ้นเป็น 82 เปอร์เซ็นต์ และครั้งที่สามได้ 87 เปอร์เซ็นต์ ไปเรื่อย ๆ อย่างไรก็ตามการกลั่นหลาย ๆ ครั้งนั้นแม้ว่าจะได้ความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น แต่ก็ต้อง



เสียค่าใช้จ่ายมาก หม้อกลั่นชนิดไหลย้อนกลับและแบบแยกลำดับส่วนได้รับการออกแบบให้มีความสามารถในการแยกไอแอลกอฮอล์ได้ดีกว่า โดยจะเรียกจำนวนครั้งที่กลั่นซ้ำหรือจำนวนระดับการแยกนี้ว่า Height Equivalent of Theoretical Plates (HETP) เช่น หม้อกลั่นชนิดแยกลำดับส่วนมีความสูงของท่อ 50 เซนติเมตร ภายในบรรจุ Scrubber ชนิดฝอยสเตนเลส จะทำให้ค่า HETP มีค่าเท่ากับ 4-5 ส่วนหม้อกลั่นแบบปิดตาหรือหม้อกลั่นธรรมดาจะมีค่า HETP เท่ากับ 1 เท่านั้น หรือนั่นคือไม่สามารถกลั่นได้ดีกรีสูง ๆ เพียงครั้งเดียว



วิธีการกลั่นแอลกอฮอล์

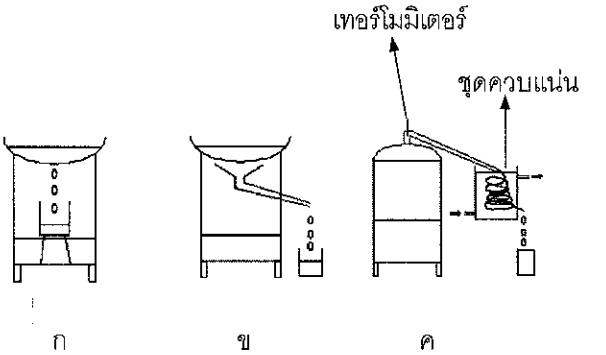
1. การเลือกใช้หม้อกลั่นควรใช้ชนิดสเตนเลส แก้ว หรือ ทองแดง ห้ามใช้ถังเหล็กหรือถังน้ำมันโดยเด็ดขาดเพราะจะทำให้สุรากลั่นมีธาตุเหล็กและสนิมเหล็กเจือปน

2. เลือกใช้หม้อกลั่นที่เหมาะสม

แบบ ก หม้อกลั่นแบบชาวบ้าน หรือนิยมเรียกว่า แบบปิดตา หม้อกลั่นชนิดนี้มักใช้ถังน้ำมันขนาด 200 ลิตร ไม่สามารถแยกเมทิลแอลกอฮอล์และสารพิษต่าง ๆ ได้ไม่เหมาะสมต่อการใช้งานเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคและสิ้นเปลืองค่าใช้จ่าย ปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้ค่อนข้างน้อย

แบบ ข หม้อกลั่นคล้ายกับแบบ ก แต่มีการเจาะรูเพื่อให้สุรากลั่นไหลออกมานอกถัง มักได้แอลกอฮอล์ ไม่เกิน 40 ดีกรี และสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายด้านพลังงานสูง

แบบ ค มีความเหมาะสม ควรทำจากสเตนเลส สามารถกลั่นได้สูงถึง 40-60 ดีกรี



3. หม้อกลั่นควรมีเทอร์โมมิเตอร์ติดที่ทางออกของไอแอลกอฮอล์ เพื่อใช้ตรวจสอบจุดเดือดของแอลกอฮอล์ในการเก็บสุรากลั่นจะเก็บที่อุณหภูมิ 78-85 องศาเซลเซียส เท่านั้น (ปริมาณแอลกอฮอล์ที่น้อยลงในน้ำหมักจะทำให้อุณหภูมิการกลายเป็นไอสูงขึ้น) หากเก็บก่อนจะมีสารพิษจำพวกเมทิลแอลกอฮอล์ (64.5 องศาเซลเซียส) เอทิลอะซีเตท (77.2 องศาเซลเซียส) หากเก็บหลังจาก 78.3 องศาเซลเซียส จะมีสารพิษจำพวกโพพิลแอลกอฮอล์ จนถึง 100 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นจุดเดือดของน้ำที่จะทำให้สุราถูกเจือจางลง ส่วนที่เหลือของสุราที่อยู่ในหม้อจะเป็นสารพิษจำพวก ฟิวเซลออย เอทิลคาร์บาเมท บิวทิล อะซิเตท ซึ่งมีกลิ่นเหม็น ไม่ควรนำไปผสมในสุรากลั่นอีก

4. เมื่อน้ำหมักมีอุณหภูมิถึง 78.3 องศาเซลเซียส แล้วให้หรี่ไฟหรือความร้อนแล้วควบคุมให้สม่ำเสมอ

5. ควรใส่เศษกระเบื้องแตก ประมาณ 20-30 ชิ้น ลงในหม้อกลั่นเพื่อให้การเดือดไม่รุนแรงและทำให้เดือด

อย่างสม่ำเสมอ นอกจากกระเบื้องแตกแล้ว ไม่มีความจำเป็นใด ๆ ที่ต้องเติมสารเร่งตามความเชื่อหรือคำโฆษณา เช่น ยาฆ่าหญ้า ปรอท น้ำจากแบตเตอรี่ หรือสารใด ๆ

6. ชุดควบแน่นควรใช้น้ำประปาให้ไหลต่อเนื่อง จะเป็นการช่วยถ่ายเทความร้อนการกลั่นจะมีประสิทธิภาพสูง ไม่จำเป็นต้องใส่น้ำแข็งในถังควบแน่น อาจทำให้ท่อบุบหรือหดตัวหรือท่อแตกได้

7. เมื่อกลั่นจนอุณหภูมิของน้ำหมักเกิน 96 องศาเซลเซียส หรืออุณหภูมิของไอเกิน 85 องศาเซลเซียส แล้วให้หยุดเพื่อประหยัดค่าใช้จ่าย ให้เปิดฝาหม้อเพื่อระบายความร้อน และความดัน ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วจึงล้างหม้อ ห้ามเติมน้ำเย็นลงในหม้อทันที มิฉะนั้นอาจทำให้หม้อบุบหรือยุบตัวได้ ในกรณีที่หม้อมีผนังบาง

8. แอลกอฮอล์ที่ได้ ควรตรวจสอบความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ ตะกอน ความใส กลิ่น แล้วจึงทำให้เจือจางตามความต้องการด้วยน้ำสะอาด

9. หากมีตะกอนให้ทำการกรองด้วยเครื่องกรอง หากมีกลิ่นเหม็นที่ไม่ต้องการให้นำแอลกอฮอล์มากรองผ่านท่อกรองที่มีถ่านกัมมันต์ (คล้ายเครื่องกรองน้ำ)

10. ในกรณีที่ใช้แอลกอฮอล์เพื่อการบริโภคจะต้องระวังด้านความสะอาดปราศจากสารพิษหรือสารปนเปื้อน

11. สำหรับการกลั่นแอลกอฮอล์เพื่อใช้ในอุตสาหกรรม เช่น ไบโอเอทานอล ต้องใช้หอกลั่นแบบแยกลำดับส่วน กลั่นภายใต้สุญญากาศเพื่อควบคุมความดัน แอลกอฮอล์ที่ได้ความบริสุทธิ์สูงมากกว่า 99.5 เปอร์เซ็นต์ หรือหมายความว่ามีน้ำน้อยกว่า 0.5 เปอร์เซ็นต์ เพื่อป้องกันไม่ให้เครื่องยนต์เสียหายในระหว่างการสันดาป

พลของสารเคมีที่อาจปนเปื้อนในสุรากลั่น

ชื่อสาร	จุดเดือด (°C)	ความเป็นพิษ
Acetone	56.5	ผิวหนัง ระบบประสาทส่วนกลางและประสาทตา ตับ ไต
Methanol	64.5	ผิวหนัง ระบบประสาทส่วนกลางและประสาทตา ตับ
Ethyl acetate	77.2	ระบบประสาทส่วนกลาง ระบบหายใจ ไต ตับ
n-Propyl alcohol (1-Propanol)	97	ผิวหนัง ระบบประสาทส่วนกลาง ระบบหายใจ ระบบทางเดินอาหาร
น้ำ	100	-
Butanol	116	ผิวหนัง ระบบประสาทส่วนกลาง ระบบหายใจ ไต
Butyl acetate	126	ผิวหนัง ระบบประสาทส่วนกลาง ระบบหายใจ ไต เยื่อบุตา ระบบทางเดินอาหาร
Fusel oil (*i*-amyl alcohol)	130	ผิวหนัง ระบบประสาทส่วนกลาง ระบบหายใจ ไต
Fusel oil (*n*-amyl alcohol)	134-138	ผิวหนัง ระบบประสาทส่วนกลาง ระบบหายใจ ไต
Furfural	161	ระบบทางเดินอาหาร มะเร็งตับ
Ethyl carbamate (Urethane)	182-184	ตา ระบบทางเดินอาหาร มะเร็งตับ