

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การเพิ่มปริมาณเซลล์ยีสต์ขนมปังจากแป้งมันสำปะหลังและกากน้ำตาล
THE PRODUCTION OF BAKER'S YEAST FROM CASSAVA STARCH
AND MOLASSES



นางสาวปิยดา ดิสดำ
MISS PIYADA DIDSAWAT

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
บัณฑิตวิทยาลัย

เลขหมู่..... สอ.บ.น.เทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เลขทะเบียน..... 28857
วัน, เดือน, ปี..... 7 พ.ย. 2540

ISBN 974-621-817-4

เอกสารนี้เป็นทรัพย์สินของบัณฑิตวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**THE PRODUCTION OF BAKER'S YEAST FROM CASSAVA STARCH
AND MOLASSES**



**THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE
MASTER OF SCIENCE (BIOTECHNOLOGY)
SCHOOL OF GRADUATE STUDIES
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG**

1997

ISBN 974-621-817-4
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การเพิ่มปริมาณเซลล์ยีสต์ขนมปังจากแป้งมันสำปะหลัง และกากน้ำตาล
นักศึกษา	นางสาวปิยดา ดิศวัฒน์
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์	ดร. ปราโมทย์ ศิริโรจน์
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ร่วม	รศ. ดร. ดุชนี่ ธนะบริพัฒน์
ระดับการศึกษา	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง
พ.ศ.	2540

บทคัดย่อ

การทดลองนี้เป็นการศึกษาถึงการเพิ่มปริมาณเซลล์ยีสต์ขนมปังจากแป้งมันสำปะหลังและกากน้ำตาล โดยการเพิ่มปริมาณเซลล์ในถังหมักแบบแบชและนำยีสต์ที่ได้มาทำขนมปังเปรียบเทียบกับยีสต์แห้งที่มีจำหน่ายตามท้องตลาด จากผลการศึกษาพบว่า อาหาร MY สูตรดัดแปลงที่เหมาะสมที่สุดต่อการนำไปใช้ในการเพิ่มปริมาณ คือ แป้งมันสำปะหลัง 0.5%, yeast extract 0.5%, ยูเรีย 0.3%, KH_2PO_4 0.3% และกากน้ำตาล 0.5% เมื่อนำยีสต์ที่ได้มาเพิ่มปริมาณเซลล์ พบว่าจะได้ค่าน้ำหนักแห้งของเซลล์เท่ากับ 2.88 กรัมต่อลิตร มีค่า yield เท่ากับ 0.16 กรัมเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลทั้งหมด และยีสต์ที่ได้จะมีประสิทธิภาพในการทำขนมปังใกล้เคียงกับยีสต์แห้ง Fermipan คือ ให้ขนมปังที่มีคุณภาพดีทั้งทางด้านสี กลิ่น รส และลักษณะเนื้อสัมผัส

Thesis Title	The production of baker's yeast from cassava starch and molasses
Student	Miss Piyada Didsawat
Thesis Advisor	Dr. Pramote Sirirote
Thesis Co-advisor	Assoc. Prof. Dr. Dusanee Thanaboripat
Level of Study	Master of Science in Program Biotechnology
Department	Applied Biology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang
Year	1997

Abstract

Cassava starch and molasses were used as a substrate to increase the productivity of baker's yeast in batch culture. Activity of harvested cells for bread-making was compared with commercial active dry yeast. From the experimental results, the optimization of modified MY medium containing 0.5% cassava starch, 0.5% yeast extract, 0.3% urea, 0.3% KH_2PO_4 and 0.5% molasses was used for further investigation. The production of baker's yeast in batch fermentation gave the yield of 0.16 g cell / g total sugar and contained 2.88 g/l of cell mass with similar efficiency to Fermipan active dry yeast when applied for the production of bread. The bread produced from baker's yeast gave good quality in colour, flavour and texture.

กิตติกรรมประกาศ

การจัดทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี เพราะได้รับคำแนะนำและการตรวจแก้จากผู้ทรงคุณวุฒิหลายท่าน ในการนี้ผู้วิจัยต้องขอขอบคุณ รศ.ดร. ดุชนี ธนะบริพัฒน์ ที่ได้ให้คำปรึกษาชี้แนวทางในการแก้ไขปัญหา ตลอดจนให้ความสบายใจแก่ผู้วิจัยในขณะที่ยังดำเนินการทดลอง นอกจากนี้ท่านยังได้กรุณาตรวจแก้ทางด้านภาษาและเนื้อหาให้ถูกต้องยิ่งขึ้น ขอขอบคุณ ดร. ปราโมทย์ ศิริโรจน์ ที่ได้ให้ความเอาใจใส่ในการทำการศึกษและให้ความสะดวกในการใช้เครื่องมือต่างๆ เป็นอย่างยิ่ง ขอขอบคุณคณะกรรมการพิจารณาวิทยานิพนธ์ทุกท่านที่กรุณาให้คำแนะนำและชี้แนะแนวทางที่เป็นประโยชน์ในการทำวิทยานิพนธ์ ขอขอบคุณ ผศ. วรารัตน์ เรืองรัตนเมธี ที่ช่วยตรวจผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ขอขอบคุณสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีที่ได้ให้ยืมสเต็มมาใช้ในการทดลองและยังให้ข้อมูลเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงยีสต์อีกด้วย และขอขอบคุณ ร.ท. วโรดม เจียรกุล ที่ช่วยเหลือในด้านการถ่ายภาพ ตลอดจนพี่น้องๆ และเพื่อนร่วมรุ่นที่ได้ช่วยเหลือและให้กำลังใจแก่ผู้วิจัยตลอดมาจนวิทยานิพนธ์นี้เสร็จสมบูรณ์ลงด้วยดี จึงขอกราบขอบพระคุณทุกท่านเป็นอย่างสูง

ปิยดา ดิศวัฒน์

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	II
กิตติกรรมประกาศ.....	III
สารบัญ.....	IV
สารบัญตาราง.....	VI
สารบัญภาพ.....	VIII
บทที่	
1. บทนำ.....	1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา.....	1
สมมุติฐานของการศึกษา.....	1
ขอบเขตของการศึกษา.....	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
2. ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง.....	3
ประวัติความเป็นมาของยีสต์ขนมปัง.....	3
ลักษณะทางชีววิทยาของยีสต์ขนมปัง.....	5
เมแทบอลิซึมของยีสต์.....	8
อาหารและสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์ขนมปัง.....	12
ชนิดของยีสต์ขนมปัง.....	24
กรรมวิธีการผลิตยีสต์ขนมปัง.....	26
ความสำคัญของยีสต์ต่ออุตสาหกรรมการผลิตขนมปัง.....	32
กรรมวิธีการผลิตขนมปัง.....	45
การใช้ยีสต์ขนมปังในประเทศไทย.....	50
3. ขั้นตอนการดำเนินการทดลอง.....	53
วัสดุอุปกรณ์.....	53

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
วิธีดำเนินการวิจัย.....	54
3.1 การเตรียมเชื้อยีสต์.....	54
3.2 การศึกษาอัตราการเจริญของยีสต์ในอาหาร MY สูตรดัดแปลง.....	54
3.3 การเปรียบเทียบปริมาณเซลล์และผลผลิตต่างๆ ของยีสต์ในอาหาร MY broth และ MY สูตรดัดแปลง.....	55
3.4 การเพิ่มปริมาณเซลล์ในถังหมักแบบเบช.....	56
3.5 การศึกษาคุณสมบัติในการหมักแบ่งของยีสต์ที่ได้.....	57
3.6 การทำขนมปังจากยีสต์สดเปรียบเทียบกับยีสต์แห้งที่จำหน่ายในท้องตลาด.....	57
4. ผลการทดลอง.....	61
4.1 ผลการเตรียมเชื้อยีสต์.....	61
4.2 ผลการศึกษาอัตราการเจริญของยีสต์ในอาหาร MY สูตรดัดแปลง.....	61
4.3 ผลการเปรียบเทียบปริมาณเซลล์และผลผลิตต่างๆ ของยีสต์ในอาหาร MY broth และ MY สูตรดัดแปลง.....	67
4.4 ผลของการเพิ่มปริมาณเซลล์ในถังหมักแบบเบช.....	72
4.5 ผลการศึกษาคุณสมบัติในการหมักแบ่งของยีสต์ที่ได้.....	75
4.6 ผลของการทำขนมปังจากยีสต์สดเปรียบเทียบกับยีสต์แห้งที่จำหน่ายในท้องตลาด.....	75
5. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....	84
บรรณานุกรม.....	86
ภาคผนวก ก. อาหารเลี้ยงเชื้อ.....	91
ภาคผนวก ข. การวิเคราะห์.....	92
ภาคผนวก ค. แบบทดสอบ.....	99
ประวัติผู้เขียน.....	100

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1. ส่วนประกอบของยีสต์แห้ง.....	7
2. ส่วนประกอบของเซลล์ยีสต์.....	8
3. ความสามารถของยีสต์ <i>Saccharomyces</i> และ <i>Kluyveromyces</i> ในการหมักน้ำตาล.....	11
4. ส่วนประกอบของกากน้ำตาลแต่ละประเภท.....	13
5. ส่วนประกอบของกรดอะมิโนในเซลล์ยีสต์ชนิดต่างๆ.....	18
6. เปรียบเทียบกรดอะมิโนในเซลล์ยีสต์ต่างๆ และ FAO reference protein.....	19
7. ปริมาณวิตามินในเซลล์ยีสต์ขนมปัง.....	21
8. ส่วนประกอบของวิตามินในเซลล์ยีสต์ชนิดต่างๆ.....	22
9. ปริมาณของยีสต์อัดก้อนที่ใส่ในโดชนิดต่างๆ.....	42
10. ความแตกต่างของส่วนประกอบของโดที่ผลิตโดยวิธีสปันซ์โดและแบบหมักโดเหลว.....	43
11. สารให้กลิ่นรสที่พบในระหว่างการหมักหรืออบขนมปัง.....	46
12. ส่วนผสมของขนมปังขาวที่ผลิตโดยวิธีสปันซ์โดและสเตรตโด.....	48
13. สูตรการทำขนมปังแบบต่อเนื่องโดยวิธีของ Amflow.....	49
14. สูตรการทำขนมปังแบบหมักโดเหลวที่ใช้แบ่งหมัก.....	51
15. น้ำหนักแห้งของเซลล์ยีสต์ในอาหาร MY broth และ MY สูตรดัดแปลงที่เหมาะสมที่สุด.....	71
16. ผลผลิตต่างๆ ของยีสต์ในอาหาร MY broth และ MY สูตรดัดแปลงที่เหมาะสมที่สุด.....	71
17. ผลของการเพิ่มปริมาณเซลล์ยีสต์ในถังหมักแบบเบซ.....	73
18. เปรียบเทียบปริมาตรของแป้งที่เพิ่มขึ้นระหว่างการใช้ยีสต์แห้ง 0.15 กรัมกับยีสต์สดในปริมาณต่างๆ.....	76
19. ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นจากการเลี้ยงยีสต์ในอาหาร MY broth และ MY สูตรดัดแปลงที่เหมาะสมที่สุด.....	76
20. การทดสอบของวิลคอกสันสำหรับข้อมูลที่เป็นคู่เพื่อทดสอบการยอมรับโดยใช้คะแนนความชอบทางด้านสี.....	79

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
21. การทดสอบของวิลคอกสันสำหรับข้อมูลที่เป็นคู่เพื่อทดสอบการยอมรับโดยใช้ คะแนนความชอบทางด้านกลิ่น.....	80
22. การทดสอบของวิลคอกสันสำหรับข้อมูลที่เป็นคู่เพื่อทดสอบการยอมรับโดยใช้ คะแนนความชอบทางด้านรส.....	81
23. การทดสอบของวิลคอกสันสำหรับข้อมูลที่เป็นคู่เพื่อทดสอบการยอมรับโดยใช้ คะแนนความชอบทางด้านลักษณะเนื้อสัมผัส.....	82
24. การทดสอบของวิลคอกสันสำหรับข้อมูลที่เป็นคู่เพื่อทดสอบการยอมรับโดยใช้ คะแนนความชอบรวม.....	83

สารบัญภาพ

	หน้า
1. การเพิ่มปริมาณเซลล์ในถังหมัก.....	58
2. ส่วนผสมในการทำขนมปัง.....	59
3. ลักษณะโคโลนีของยีสต์ในอาหาร MY agar.....	62
4. อัตราการเจริญของยีสต์ในอาหาร MY สูตรดัดแปลงโดยใช้แป้งมันสำปะหลัง ที่ความเข้มข้นต่างๆ.....	63
5. อัตราการเจริญของยีสต์ในอาหาร MY สูตรดัดแปลงโดยใช้ yeast extract ที่ความเข้มข้นต่างๆ.....	65
6. อัตราการเจริญของยีสต์ในอาหาร MY สูตรดัดแปลงโดยใช้ยูเรีย ที่ความเข้มข้นต่างๆ.....	66
7. อัตราการเจริญของยีสต์ในอาหาร MY สูตรดัดแปลงโดยใช้โพแทสเซียม ไดไฮโดรเจนฟอสเฟตที่ความเข้มข้นต่างๆ.....	68
8. อัตราการเจริญของยีสต์ในอาหาร MY สูตรดัดแปลงโดยใช้กากน้ำตาล ที่ความเข้มข้นต่างๆ.....	69
9. กราฟแสดงผลของการเพิ่มปริมาณเซลล์ยีสต์ในอาหาร MY สูตรดัดแปลงที่เหมาะสม ในถังหมักแบบเบช.....	74
10. ลักษณะของโค.....	77
11. การขึ้นฟูของโค.....	77
12. ลักษณะของขนมปังก่อนนำไปอบ.....	78
13. ลักษณะของขนมปังที่ได้จากการใช้ยีสต์ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> TISTR 5013 เปรียบเทียบกับยีสต์แห้งที่จำหน่ายในท้องตลาด.....	78
14. กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณโปรตีน.....	94
15. กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์.....	96
16. กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณน้ำตาลทั้งหมด.....	98

VIII

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

อุตสาหกรรมการผลิตยีสต์ขนมปังเป็นอุตสาหกรรมหลักที่มีขนาดใหญ่ที่สุด อุตสาหกรรมหนึ่งที่มีการผลิตยีสต์ขนมปังมากกว่า 1.8 ล้านตันต่อปี (ดูเชณี ธนะบริพัฒน์, 2534) ซึ่งในการเลี้ยงยีสต์ขนมปังระดับอุตสาหกรรมมักใช้กากน้ำตาลเป็นวัตถุดิบ แต่เนื่องจากกากน้ำตาลทำให้ขนมปังที่ได้มีสีไม่น่ารับประทาน จึงควรที่จะได้มีการศึกษาเกี่ยวกับการผลิตยีสต์ขนมปังโดยใช้วัตถุดิบอื่นที่หาได้ง่ายและราคาถูกแทนการใช้กากน้ำตาล นอกจากนี้ในประเทศไทยมีการผลิตยีสต์ขนมปังน้อยมาก ส่วนใหญ่ต้องสั่งจากต่างประเทศเข้ามาปีละหลายแสนบาท ทำให้ต้นทุนการผลิตขนมปังโดยเฉพาะอย่างยิ่งการผลิตในระดับอุตสาหกรรมสูงขึ้นด้วย ดังนั้นจะเห็นว่าหากมีการส่งเสริมให้ผลิตยีสต์ขนมปังจากวัตถุดิบราคาถูกเพิ่มมากขึ้นภายในประเทศแล้วจะช่วยลดต้นทุนการผลิตในอุตสาหกรรมการทำขนมปังและสามารถลดเงินตราของประเทศที่สูญเสียไปได้

ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา

1. เพื่อศึกษาถึงสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเซลล์ของยีสต์ขนมปังจากแป้งมันสำปะหลังและกากน้ำตาล
2. เพื่อศึกษาถึงการเพิ่มปริมาณเซลล์ยีสต์ขนมปังจากแป้งมันสำปะหลังและกากน้ำตาล
3. เพื่อศึกษาถึงคุณสมบัติของยีสต์ที่ผลิตได้ในการทำขนมปัง

สมมุติฐานของการศึกษา

ยีสต์ขนมปังน่าจะสามารถใช้แป้งมันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบในการผลิตได้ เนื่องจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำแข็งเมื่อถูกความร้อนและอยู่ในสภาวะที่เป็นกรดจะถูกย่อยให้กลายเป็นน้ำตาลที่ประกอบด้วยคาร์บอน 6 อะตอม ซึ่งยีสต์จะใช้น้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญ ซึ่งเป็นการช่วยลดต้นทุนในการผลิตยีสต์ขนมปัง

ขอบเขตของการศึกษา

การศึกษานี้จะเป็นการศึกษาถึงสูตรอาหาร MY สูตรดัดแปลงที่เหมาะสมที่สุดต่อการเจริญของยีสต์ขนมปัง รวมทั้งการเพิ่มปริมาณเซลล์ยีสต์ในถังหมักแบบแบช ตลอดจนการทดสอบคุณสมบัติของยีสต์ที่ได้โดยการทำขนมปังเปรียบเทียบกับยีสต์ขนมปังที่ขายตามท้องตลาด

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ลดต้นทุนในการเพาะเลี้ยงเซลล์ยีสต์
2. เป็นการใช้ประโยชน์จากแป้งมันสำปะหลังและกากน้ำตาลซึ่งหาได้ง่ายและราคาถูกในการผลิตยีสต์ขนมปังที่มีความสำคัญทางอุตสาหกรรม
3. สามารถนำวิธีการนี้ไปประยุกต์ใช้กับการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์อื่นๆเพื่อให้ได้ปริมาณเซลล์เพิ่มขึ้น

บทที่ 2

ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

ประวัติความเป็นมาของยีสต์ขนมปัง

การทำขนมปังได้มีขึ้นตั้งแต่ 2300 ปีก่อนคริสตกาลโดยชาวบาบิโลเนียน แต่การทำขนมปังให้ฟูพบในสมัยชนชาวอียิปต์โบราณ เทคโนโลยีการทำขนมปังได้ถูกถ่ายทอดจากชาวอียิปต์ไปยังบริเวณเมดิเตอร์เรเนียน และบริเวณอื่นๆ ในศตวรรษที่ 13 การใช้ประโยชน์จากยีสต์ในช่วงเริ่มแรกไม่ได้เป็นการค้า ยีสต์ที่ได้มาจากโรงงานเบียร์หรือโรงงานเหล้า (ดุชนี ธนะบริพัฒน์,2534) Rose และ Harrison (1970) ได้รายงานว่ายีสต์ขนมปังที่ขึ้นฟู (dough : โด) เป็นผลมาจากการทำงานของยีสต์และเชื้อ Lactobacilli ที่มีอยู่ในโด ในระยะแรกคนทำขนมปังจะเตรียมแป้งสำหรับทำขนมปัง โดยใช้แป้งสาลีหรือแป้งมันเทศละลายน้ำ แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อให้เชื้อจุลินทรีย์ขึ้น จากนั้นเมื่อหมักโดแล้ว จะมีการแบ่งโดไว้สำหรับทำขนมปังคราวต่อไป ปัจจุบันเรียกกระบวนการนี้ว่า Spontaneous fermentation และวิธีนี้ยังใช้ทำขนมปังที่เรียกว่า sour dough ด้วย (Freund,1961) สิ่งที่ทำให้ขนมปังฟู สามารถใช้ในการหมักเบียร์และผลิตแอลกอฮอล์ได้ แต่ยังไม่มียางานที่แน่นอน จนกระทั่งในศตวรรษที่ 17 Leeuwenhoek ได้อธิบายว่า สิ่งนั้นคือยีสต์ซึ่งมีรูปร่างกลม และในช่วงสามปีหลังของศตวรรษที่ 19 Pasteur ได้มีความต้องการขนมปังในปริมาณมากเพื่อเป็นการค้า ด้วยเหตุนี้จึงมีการผลิตยีสต์เกิดขึ้น (ดุชนี ธนะบริพัฒน์,2534)

ปี ค.ศ. 1775 Krunitz ได้บันทึกในเอนไซโคลปีเดียว่า เชื้อยีสต์เป็นสิ่งที่เกิดขึ้นในของเหลวระหว่างการหมัก. โดยที่เมื่อเริ่มการหมัก เชื้อยีสต์มักจะลอยอยู่บนผิวหน้าและเมื่อการหมักเสร็จสมบูรณ์แล้ว เชื้อยีสต์จะตกตะกอนอยู่ที่ก้นภาชนะ (ลัดดาวัลย์ รัศมีทัต,2536)

ปี ค.ศ. 1781 ประเทศฮอลแลนด์ เป็นประเทศแรกที่มีการผลิตยีสต์ขนมปังแบบยีสต์สด ซึ่งผลิตผลที่ได้ในช่วงนั้นค่อนข้างต่ำเพียง 4-6 % ของวัตถุดิบที่ใช้ หลังจากนั้นการผลิตยีสต์ขนมปัง ได้แพร่หลายในประเทศอังกฤษ ฝรั่งเศส เยอรมัน และประเทศแถบยุโรปกลาง (Prescott และ Dunn,1959)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปี ค.ศ. 1792 Mason เป็นคนแรกที่ได้กล่าวถึงการเตรียมยีสต์สดชนิดอัดเป็นก้อน (Prescott และ Dunn,1959)

ปี ค.ศ. 1800 ได้มีการพัฒนากรรมวิธีการผลิตเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ขึ้นในประเทศฮอลแลนด์ โดยใช้วัตถุดิบหลัก คือ เมล็ดธัญพืช ซึ่งจะถูกล้างเป็นน้ำตาลโดยใช้เอนไซม์จากข้าวมอลต์(malt) จากนั้นเติมเชื้อยีสต์ในปริมาณที่เหมาะสมลงไปของเหลวที่ได้ ระหว่างที่เกิดการหมักจะมีการผลิตแอลกอฮอล์ พร้อมกับนั้นปริมาณของเซลล์ยีสต์จะเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ยีสต์เหล่านี้บางส่วนจะตกตะกอนนอนกัน บางส่วนจะจับอยู่ที่ผนังของฟองอากาศซึ่งเกิดอยู่บนผิวหน้า นำยีสต์ทั้งสองส่วนมารวมกันแล้วแยกของเหลวออกไป โดยการกรอง และบีบเอาของเหลวออก โดยใช้ถุงผ้าลินิน ยีสต์สดที่ได้จึงเรียกว่า ยีสต์ก้อน (compressed yeast) (Rosen,1968)

ปี ค.ศ. 1860 Mautner ได้เริ่มมีการพัฒนาเกี่ยวกับกระบวนการผลิตยีสต์สดที่เรียกว่า Vienna process ซึ่งดัดแปลงมาจากกระบวนการหมักแอลกอฮอล์จากเมล็ดธัญพืช ในกระบวนการนี้ ข้าวมอลต์และข้าวโพดที่อบแห้งแล้วจะถูกนำมาบด แล้วผสมกับน้ำ คลุกเคล้าให้เข้ากัน ได้ของผสมที่เรียกว่า mash จากนั้นเติมเชื้อยีสต์ลงไปหมักไว้ 20-23 ชั่วโมง แยกเอายีสต์ออกมาล้าง และอัดเป็นก้อนต่อไป วิธีนี้จะทำให้ได้ยีสต์เพิ่มขึ้นเป็น 10-14 % ของธัญพืชที่ใช้และได้แอลกอฮอล์ 30% (Freund,1961 และ Prescott และ Dunn,1959)

ปี ค.ศ. 1868 เริ่มมีอุตสาหกรรมการผลิตยีสต์สดในประเทศสหรัฐอเมริกา โดยบริษัท Fleischmann ได้มีการพัฒนาเทคนิคทางด้านวิศวกรรมควบคู่ไปกับการปรับปรุงความรู้ทางด้านชีวเคมีของกระบวนการหมัก ทำให้เกิดความก้าวหน้าแก่โรงงานผลิตยีสต์ เช่น มีการใช้เครื่องหมุนเหวี่ยง(centrifuge) ในการแยกยีสต์จาก wort (White,1954)

ปี ค.ศ. 1876 Pasteur ได้เผยแพร่การทดลองเกี่ยวกับกระบวนการหมัก และแสดงให้เห็นว่า ยีสต์จะมีการเจริญเพิ่มขึ้น ถ้ามีการผ่านอากาศเข้าไปในถังหมัก วิธีนี้จะทำให้ได้ยีสต์เพิ่มขึ้นเป็น 20-25 % ส่วนปริมาณแอลกอฮอล์ลดลงเป็น 20-22 % ต่อมาได้มีการปรับปรุงกระบวนการไปเรื่อยๆ เพื่อให้ได้ปริมาณเซลล์เพิ่มขึ้น และปริมาณแอลกอฮอล์ลดลง เช่น มีการกรอง mash และของเหลวที่ได้เรียกว่า wort จากนั้นเพิ่มการให้อากาศลงใน wort ที่เจือจางมาก และใช้อุณหภูมิต่ำ จนในที่สุดได้ยีสต์ถึง 40 % และปริมาณแอลกอฮอล์ลดลงเป็น 14-15 % (Reed และ Pepler,1973 และ White,1954)

ปี ค.ศ. 1915 นักวิทยาศาสตร์ชาวเดนมาร์กชื่อ Sak และนักวิทยาศาสตร์ชาวเยอรมันชื่อ Hayduck แห่ง Garungs Institute ในกรุงเบอร์ลิน ได้ศึกษาถึงการใช้กากน้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอน และแอมโมเนียเป็นแหล่งไนโตรเจนในการเลี้ยงยีสต์ และประสบความสำเร็จเป็นครั้งแรก (Frey และ คณะ, 1936) โดยจดลิขสิทธิ์ในการเลี้ยงยีสต์ขมบั้งและบุกเบิกงานเกี่ยวกับการผลิตยีสต์ (Reed, 1982) และยังพบว่าการทำที่จะทำให้ได้ปริมาณเซลล์ยีสต์เพิ่มมากขึ้น และปริมาณแอลกอฮอล์ลดน้อยลงนั้น ขึ้นอยู่กับการควบคุมความเป็นกรดเป็นด่าง การทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อตอนเริ่มต้นเจือจางมาก และการเติมสารอาหารลงไปเป็นระยะๆ ตลอดช่วงของการเจริญ ซึ่งกระบวนการผลิตยีสต์นี้เรียกว่า Zulaufverfahren (Zulauf process) หรือ fed batch หรือ z-method (Z หมายถึง zero alcohol) หรือ Danish method กระบวนการนี้จะทำให้ได้ยีสต์ที่มีทั้งคุณภาพและความคงทนดีขึ้น (Rosen, 1968) ซึ่งกระบวนการนี้มีการใช้กากน้ำตาลเป็นอาหารของยีสต์ จะทำให้ได้ปริมาณยีสต์สูงถึง 90 % ซึ่งเป็นที่ยอมรับและได้ถูกนำมาใช้กันทั่วไปในโรงงานผลิตยีสต์ (Trivedi และ Jacobson, 1986)

ปี ค.ศ. 1920 เริ่มมีการผลิตยีสต์แห้งเป็นการค้า และในปัจจุบันยีสต์ขมบั้งที่ขายอยู่ตามท้องตลาดส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปยีสต์แห้ง (Reed และ Pepler, 1973 และ Thorn และ Reed, 1959)

ปี ค.ศ. 1930 อุตสาหกรรมการผลิตยีสต์เริ่มแพร่หลายไปในประเทศแคนาดา เม็กซิโก ออสเตรเลีย นิวซีแลนด์ ลาตินอเมริกา และญี่ปุ่น (Freund, 1961)

ลักษณะทางชีววิทยาของยีสต์ขมบั้ง

ยีสต์ขมบั้ง จัดอยู่ใน

Phylum	Eumycetes (true fungi)
Division	Eumycota
Subdivision	Ascomycotina
Class	Hemiascomycetes
Subclass	Hemiascomycetidae
Order	Endomycetales

Family	Saccharomycetaceae
Subfamily	Saccharomycetoideae
Genus	<i>Saccharomyces</i>
Species	<i>cerevisiae</i>

รูปร่างและขนาดของเซลล์ ยีสต์ขนมปังมีรูปร่างเป็นรูปไข่ค่อนข้างกลม เซลล์เดี่ยว ไม่มีสี ถ้าอายุยังไม่มากจะพบเซลล์ที่กำลังแตกหน่อ หรือพบเซลล์ที่เกาะกลุ่มกัน หรือต่อกันเป็นสาย ความกว้างของเซลล์โดยเฉลี่ยมีค่าประมาณ 4-6 ไมครอน และยาวประมาณ 5-7 ไมครอน มีค่า a_w เท่ากับ 0.905 (a_w : available water เป็นค่าความชื้นอิสระหรือน้ำที่จะนำไปใช้ได้) (Frazier, 1967, Freund, 1961, Pelczar และคณะ, 1986 และ Reed และ Pepler, 1973)

ลักษณะทางกายวิภาคและสรีรวิทยา เมื่อนำเซลล์ยีสต์มาส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์จะพบว่า เซลล์ยีสต์ขนมปังจะเหมือนกับเซลล์ยีสต์ทั่วไป คือ ประกอบด้วยส่วนใหญ่ๆ 3 ส่วน ได้แก่ ผนังเซลล์ นิวเคลียส และไซโตพลาสซึมรอบๆ นิวเคลียส และเมื่อย้อมสีดูจะพบว่าในไซโตพลาสซึมประกอบด้วย ช่องว่างภายในเซลล์ (vacuole) เม็ดไขมัน (fat globule) ไกลโคเจน (glycogen) โวลูติน (volutin) และอนุภาคอื่นๆ อีก (Reed และ Pepler, 1973)

จากการนำยีสต์แห้งมาวิเคราะห์พบว่า มีองค์ประกอบดังแสดงในตารางที่ 1 และ 2 แร่ธาตุ ส่วนใหญ่ที่มีอยู่ได้แก่ คาร์บอน ไฮโดรเจน ออกซิเจน และไนโตรเจน นอกจากนี้ยังมีสารอนินทรีย์อยู่ด้วย ซึ่งประมาณ 90 % ของสารอนินทรีย์ทั้งหมดเป็นฟอสฟอรัสและโพแทสเซียม สำหรับคาร์บอน ไฮโดรเจน ออกซิเจน และไนโตรเจนในเซลล์ยีสต์จะอยู่ในรูปสารคาร์โบไฮเดรต พวกไกลโคเจน (glycogen) เซลลูโลส (cellulose) และ แมนแนน (mannan หรือ yeast gum) และจะอยู่ในรูปสารไนโตรเจนพวกโปรตีน กรดนิวคลีอิก และไพริมิดีน (pyrimidine) กับพิวรีน (purine) นอกจากนี้แร่ธาตุเหล่านี้แล้ว ในเซลล์ยีสต์ยังมีวิตามินอยู่ในปริมาณเล็กน้อย โดยเฉพาะอย่างยิ่งวิตามินบี (Frey และ คณะ, 1936 และ White, 1954)

ตารางที่ 1
ส่วนประกอบของยีสต์แห้ง

องค์ประกอบ	%ของน้ำหนักระหว่าง	ค่าเฉลี่ยเป็น%ของน้ำหนักระหว่าง
คาร์บอน (C)	45.0-49.0	47.0
ไฮโดรเจน (H)	5-7	6.0
ออกซิเจน (O)	30-35	32.5
ไนโตรเจน (N)	7.1-10.8	8.5
เถ้าทั้งหมด	4.7-10.5	6.0
ฟอสเฟต (P_2O_5)	1.9-5.5	2.6
โพแทสเซียม (K_2O)	1.4-4.3	2.5
แคลเซียม (CaO)	0.005-0.2	0.05
แมกนีเซียม (MgO)	0.1-0.7	0.4
อลูมิเนียม (Al_2O_3)	0.002-0.02	0.005
ซัลเฟต (SO_4)	0.01-0.05	0.03
คลอไรด์ (Cl)	0.004-0.1	0.02
เหล็ก (Fe_2O_3)	0.005-0.012	0.007
ทองแดง (Cu)	10-100 ส่วนในล้านส่วน	20 ส่วนในล้านส่วน
ซิลิกา (SiO_2)	0.02-0.2	0.08

ที่มา White (1954)

ตารางที่ 2

ส่วนประกอบของเซลล์ยีสต์

ส่วนประกอบ	% เฉลี่ย
น้ำ	68 - 73
โปรตีน	12 - 14
ไขมัน	0.6 - 0.8
คาร์โบไฮเดรต (เซลลูโลสและแป้ง)	9 - 11
เกลือแร่	1.7 - 2

ที่มา : สมหวัง วีระวุฒิวังศ์ และคณะ (2533)

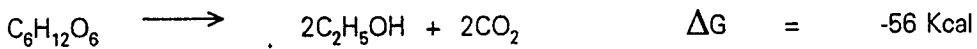
เมแทบอลิซึมของยีสต์

การหมัก (fermentation) ตามความหมายดั้งเดิมหมายถึง กระบวนการย่อยสลายสารประกอบพวกน้ำตาลหรือแป้ง ทางชีวเคมีภายใต้สภาวะที่ไม่มีอากาศ (จันทนา นันทพงษ์, 2522) นักเคมีในเวลานั้นเชื่อว่า การหมักเป็นการเปลี่ยนแปลงทางเคมีอย่างเดียว โดยในปี ค.ศ. 1810 Gay-Lussac ได้เสนอว่า น้ำตาล 1 โมเลกุลจะถูกเปลี่ยนเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ 2 โมเลกุล และเอทิลแอลกอฮอล์ 2 โมเลกุล (Pepler, 1960 และ Phaff และคณะ, 1978) ต่อมาได้มีรายงานว่า ยีสต์เป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิตและเป็นสิ่งสำคัญยิ่งในกระบวนการหมัก จนกระทั่งในปี ค.ศ. 1837 Mayen จึงตั้งชื่อยีสต์ว่า "sugar fungus" หรือ *Saccharomyces* (Pepler, 1960) ดังนั้นข้อโต้แย้งที่ว่า การหมักเกิดจากปฏิกิริยาเคมีหรือจากจุลินทรีย์นั้นจึงยุติลง

ปี ค.ศ. 1875 Pasteur พบว่า การแตกตัวของน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์และกรดคาร์บอนิกเป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ ซึ่งน้ำตาลเข้าไปเป็นส่วนหนึ่งของสารภายในเซลล์นั้น จากข้อสังเกตเหล่านี้ทำให้เขาพบอีกว่า ยีสต์จะมีอยู่ในกระบวนการหมักทั้งที่มีอากาศและไม่มีอากาศ และพฤติกรรมของมันจะแตกต่างกันออกไป (เปรียา วิบูลย์เศรษฐ์, 2524)

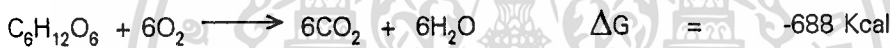
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในสภาวะที่ไม่มีอากาศ การเจริญของยีสต์จะเป็นไปอย่างช้าๆ แต่การผลิตแอลกอฮอล์จะเพิ่มขึ้นดังสมการ



นอกจากจะผลิตแอลกอฮอล์และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์แล้วยังมีสารประกอบอื่นๆ เช่นกลีเซอรอล (glycerol) และกรดซัคซินิก (succinic acid) เกิดขึ้นด้วยในกระบวนการหมักของยีสต์ (Peppler, 1960)

ในสภาวะที่มีอากาศ การเจริญของยีสต์จะเป็นไปอย่างรวดเร็วและมีการสะสมของแอลกอฮอล์น้อยมาก โดยออกซิเจนสามารถออกซิไดส์กลูโคสให้กลายเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ และน้ำได้ดังสมการ



ปฏิกิริยาต่าง ๆ ของยีสต์ที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ ขึ้นอยู่กับสภาวะในการเจริญ ยีสต์สามารถเปลี่ยนจากกระบวนการหมักเป็นกระบวนการหายใจ กระบวนการหายใจให้พลังงานมากกว่ากระบวนการหมัก

Pasteur เป็นคนแรกที่แสดงให้เห็นว่า ยีสต์ประเภทที่หมักน้ำตาลได้เมื่อเปลี่ยนให้อยู่ในสภาวะที่มีออกซิเจน ความสามารถในการหมักของยีสต์จะลดลง และกลูโคสบางส่วนจะเปลี่ยนเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ เรียกปรากฏการณ์ดังกล่าวว่า "Pasteur effect" นั่นคือ มีการยับยั้งกระบวนการหมักโดยการหายใจ ยีสต์สามารถปรับการดำรงชีพได้ตามสภาวะแวดล้อม จึงได้นำหลักการนี้มาใช้ในการผลิตยีสต์ขนมปัง ในสภาวะที่มีออกซิเจนและมีน้ำตาลเพียงเล็กน้อย ยีสต์ที่ใช้ทำขนมปังจะเปลี่ยนน้ำตาลทั้งหมดให้เป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ (Reed, 1982)

ยีสต์ต้องการสารอาหารต่าง ๆ เพื่อช่วยในการเจริญ อาหารที่ใช้เลี้ยงยีสต์ประกอบด้วยสารอาหารที่เป็นแหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน แร่ธาตุและวิตามินต่าง ๆ

แหล่งคาร์บอน น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญของยีสต์ น้ำตาลผ่านเข้าสู่ภายในเซลล์ด้วยระบบขนส่งที่ผนังเซลล์หรือที่เยื่อไซโตพลาสซึม และการหมักเกิดขึ้นในไซโตพลาสซึม

แหล่งไนโตรเจน เมื่ออาหารขาดแหล่งไนโตรเจน ยีสต์ไม่มีการเจริญ ยีสต์จะทำหน้าที่เปลี่ยนกลูโคสบางส่วนเก็บสะสมไว้ภายในเซลล์ *Saccharomyces cerevisiae* ในระยะพักตัว และมีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ยีสต์เปลี่ยนน้ำตาล 70% ให้กลายเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และแอลกอฮอล์ ส่วนน้ำตาลที่เหลืออีก 30% ยีสต์เก็บสะสมไว้

Kluyver ได้ตั้งกฎขึ้นเพื่อเป็นพื้นฐานในการหมัก 3 ข้อ คือ

ข้อที่ 1 ถ้ายีสต์ไม่สามารถหมักน้ำตาลกลูโคส (D-glucose) ยีสต์นั้นจะไม่สามารถหมักน้ำตาลชนิดใด ๆ ทั้งสิ้น

ข้อที่ 2 ถ้ายีสต์สามารถหมักน้ำตาลกลูโคส ยีสต์นั้นสามารถหมักฟรุกโทส (D-fructose) และแมนโนส (D-mannose) ได้ แต่อาจจะไม่หมักกาแล็กโทส (D-galactose)

ข้อที่ 3 ถ้ายีสต์สามารถหมักมอลโทสได้ ยีสต์นั้นไม่สามารถหมักแล็กโทส ในทางตรงกันข้าม ถ้ายีสต์ไม่หมักมอลโทส ยีสต์นั้นหมักแล็กโทส

มีเหตุผลสำหรับอธิบายกฎของ Kluyver ได้ดังนี้ ในกระบวนการหมักคาร์โบไฮเดรต ประเภท ไตรแซ็กคาไรด์ ไตรแซ็กคาไรด์ หรือพอลิแซ็กคาไรด์ ผ่านขั้นตอนที่เปลี่ยนเป็นน้ำตาลเฮกโซสหรือน้ำตาลที่ประกอบด้วยคาร์บอน 6 อะตอม ดังสมการ



ดังนั้นถ้ายีสต์ไม่หมักน้ำตาลที่มีคาร์บอน 6 อะตอม ยีสต์ไม่สามารถหมักโอลิโกแซ็กคาไรด์ได้ ยีสต์สามารถใช้เอนไซม์เฮกโซไคเนส (hexokinase) ในปฏิกิริยาฟอสฟอริเลชันให้กับน้ำตาลทั้ง 3 ชนิด คือ กลูโคส ฟรุกโทส และแมนโนส ให้กลายเป็น hexose-6-phosphate แต่ในการหมักกาแล็กโทสต้องมีเอนไซม์กาแล็กโทไคเนส ยีสต์ที่มีเอนไซม์เฮกโซไคเนสอาจจะไม่มีเอนไซม์กาแล็กโทไคเนส ดังนั้นจึงเห็นได้ว่ายีสต์ที่สามารถหมักน้ำตาลทั้งสามดังกล่าวได้ แต่อาจจะไม่สามารถหมักกาแล็กโทส ในตารางที่ 3 จะแสดงถึงความสามารถของเซลล์ยีสต์ในการหมักน้ำตาล

ตารางที่ 3

ความสามารถของยีสต์ *Saccharomyces* และ *Kluyveromyces* ในการหมักน้ำตาล

จำนวนคาร์บอน อะตอมของ น้ำตาล Basic Subunit	ชนิดของ น้ำตาล Basic Subunit	น้ำตาล	Basic unit	ยีสต์			
				<i>S. cerevisiae</i>	<i>S. uvarum</i>	<i>Kluyveromyces fragilis</i>	
น้ำตาล คาร์บอน 6 อะตอม	น้ำตาล อัลโดส	กลูโคส	กลูโคส	+	+	+	
		มอลโทส	กลูโคส	+	+	-	
		มอลโทไตรโอส	กลูโคส	+	+	-	
		เซลโลไบโอส	กลูโคส	-	-	-	
		ทรีฮาโลส	กลูโคส	+/-	+/-	-	
		กาแล็กโทส	กาแล็กโทส	+	+	+	
		แมนโนส	แมนโนส	+	+	+	
	น้ำตาล คีโทส	แล็กโทส	กลูโคส, กาแล็กโทส	-	-	+	
		เมลลิไบโอส	กลูโคส, กาแล็กโทส	-	+	-	
		ฟรักโทส	ฟรักโทส	+	+	+	
		ซอลไบส	ซอลไบส	-	-	-	
		ซูโครส	กลูโคส, ฟรักโทส	+	+	+	
		ดีออกซี อัลโดส	ราฟิโนส	กลูโคส, ฟรักโทส,	+/-	+	+/-
		และ คีโทส	แลมโนส	กาแล็กโทส	-	-	-
น้ำตาล คาร์บอน 5 อะตอม	น้ำตาล อัลโดส	อะราบิโนส	อะราบิโนส	-	-	-	
		ไซโลส	ไซโลส	-	-	-	
		ดีออกซีไรโบส	2-ดีออกซีไรโบส	+/-	+/-	+/-	

ที่มา : วราวุฒิ ครุสง (2529)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอนไซม์ที่ผิวเซลล์ทำหน้าที่ย่อยคาร์โบไฮเดรต น้ำตาลเมลลิโบส (melibiose) ราฟฟิโนส (raffinose) อิมูลิน (imulin) หรือแป้ง ให้เป็นน้ำตาลที่ประกอบด้วยคาร์บอน 6 อะตอมเสียก่อนที่จะผ่านเข้าสู่ภายในเซลล์ แต่โคแอสคาไรด์ทั้งสอง คือ แล็กโทสและมอลโทส ผ่านเข้าสู่ภายในเซลล์ในรูปของโคแอสคาไรด์ และถูกย่อยภายในเซลล์

โดยทั่วไปยีสต์ที่เลี้ยงในโมโนแซ็กคาไรด์ น้ำตาลกลูโคส ยีสต์จะมีเอนไซม์ที่ใช้ย่อยโคแอสคาไรด์ ไตรแซ็กคาไรด์ และพอลิแซ็กคาไรด์อยู่เพียงเล็กน้อย ดังนั้นจึงต้องเลี้ยงยีสต์ในอาหารที่มีน้ำตาลที่ต้องการย่อยก่อน เพื่อเป็นการเหนี่ยวนำให้ยีสต์สร้างเอนไซม์ที่ต้องการได้ (ปริยา วิบูลย์ เศรษฐ์, 2524)

อาหารและสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์ขนมปัง

1. แหล่งคาร์บอน

ยีสต์ใช้สารอินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงาน เช่น น้ำตาลชนิดต่างๆ ได้แก่ D-glucose, D-fructose, D-mannose, ซูโครส แต่ก็มีน้ำตาลบางชนิดที่ยีสต์ขนมปังไม่สามารถใช้ได้ เช่น อัลลูลูโลส (allulose) นอกจากนี้ตาลแล้วยังมีสารอินทรีย์อื่นๆที่ยีสต์ขนมปังสามารถใช้เป็นแหล่งคาร์บอนได้ เช่น เอทานอล, กรดแอซิดิก, อะเซตัลดีไฮด์ (acetaldehyde) และกรดแล็กติก (lactic acid) นอกจากนี้ยังสามารถใช้กรดอินทรีย์อื่นๆ เช่น ไดไฮดรอกซีอะซิโตน (dihydroxyacetone), กรดซัคซินิก (succinic acid), กรดทาร์ทาริก (tartaric acid), กรดคีโตกลูตาริก (ketoglutaric acid) และกรดอะมิโน (Reed, 1982)

ในประเทศไทยมีการผลิตผลิตภัณฑ์จากมันสำปะหลังปริมาณมากทุกปี เช่น มันอัดเม็ด แป้งมันสำปะหลังซึ่งเป็นที่ราคาถูก หาได้ง่าย และยีสต์ก็สามารถใช้แป้งมันสำปะหลังแทนน้ำตาลกลูโคสได้ เนื่องจากน้ำแป้งเมื่อถูกย่อยในสภาวะที่เป็นกรดจะเปลี่ยนเป็นน้ำตาล ซึ่งยีสต์จะใช้น้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญ ดังนั้นแป้งมันสำปะหลังจึงเป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานที่ดีสำหรับยีสต์

กากน้ำตาล คือส่วนที่ไม่ตกผลึกของน้ำอ้อยเมื่อเอาไปเคี้ยวทำน้ำตาล มีลักษณะข้นเหนียวสีน้ำตาลปนดำ ซึ่งในส่วนของกากน้ำตาลมีน้ำตาลต่างๆมากมาย เช่น กลูโคส, ฟรักโทส และซูโครส ซึ่งในตารางที่ 4 จะแสดงถึงส่วนประกอบของกากน้ำตาลแต่ละประเภท

ตารางที่ 4
ส่วนประกอบของกากน้ำตาลแต่ละประเภท

ส่วนประกอบ	กากน้ำตาล จากหัวบีท (beet)	กากน้ำตาล จากอ้อย (refiner's cane)	กากน้ำตาล จากอ้อย (blackstrap cane)
น้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมด (% น้ำหนัก)	47-58	50-58	50-65
ไนโตรเจนทั้งหมด (% น้ำหนัก)	0.2-2.8	0.1-0.6	0.4-1.5
๑๐- อะมิโนไนโตรเจน; N (% น้ำหนัก)	0.36	0.03	0.05
ฟอสฟอรัส, P ₂ O ₅ (% น้ำหนัก)	0.02-0.07	0.01-0.08	0.2-2.0
แคลเซียม, CaO (% น้ำหนัก)	0.15-0.7	0.15-1.0	0.1-1.3
แมกนีเซียม, MgO (% น้ำหนัก)	0.01-0.10	0.25-0.8	0.3-1.0
โพแทสเซียม, K ₂ O (% น้ำหนัก)	2.2-5.0	0.8-2.3	2.6-5.0
สังกะสี, Zn (ไมโครกรัมต่อกรัม)	30-50	5-20	10-20
คาร์บอนทั้งหมด, C (% น้ำหนัก)	28-34	28-33	-
เถ้าทั้งหมด (% น้ำหนัก)	4-11	3.5-7.5	7-11
ซัลเฟอร์, SO ₃ (% น้ำหนัก)	0.3-0.4	-	-
ไบโอดีน (ไมโครกรัมต่อกรัม)	0.01-0.13	0.9-1.8	0.6-3.2
แคลเซียมแพนโททีเนต (ไมโครกรัมต่อกรัม)	40-100	16	20-120
อินซิทอล (ไมโครกรัมต่อกรัม)	5000-8000	2500	6000
ไทอะมีน (ไมโครกรัมต่อกรัม)	1-4	-	1.4-8.3
ไพรีดอกซีน (ไมโครกรัมต่อกรัม)	2.3-5.6	-	6-7
ไรโบฟลาวิน (ไมโครกรัมต่อกรัม)	0-0.75	-	2.5
นิโคตินาไมด์ (ไมโครกรัมต่อกรัม)	37-51	-	20-25
กรดโฟลิก (ไมโครกรัมต่อกรัม)	0.21	-	0.04

ที่มา : White(1954) และ Olbrich(1956)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กากน้ำตาลแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท คือ

1. กากน้ำตาลจากหัวบีท (beet molass) คือน้ำเชื่อมเข้มข้นที่ได้หลังจากสกัดน้ำตาลซูโครสออกจากน้ำคั้นหัวบีท

2. กากน้ำตาลจากอ้อย (cane molass) มี 2 ชนิด คือ

2.1 refiner's cane molass จะเกิดขึ้นระหว่างการทำน้ำตาลอ้อยดิบให้บริสุทธิ์

2.2 blackstrap cane molass เป็นกากผลพลอยได้หลังจากน้ำตาลถูกแยกออกไปจากน้ำอ้อยคั้น (Moss และ Smith, 1977)

ในปัจจุบันจะใช้กากน้ำตาลที่ได้จากหัวบีทหรืออ้อยโดยมีสาเหตุสืบเนื่องมาจากเรื่องราคาและเสริมด้วยปัจจัยที่เรียกว่า "bios" สำหรับเร่งการเจริญ ปัจจัยนี้จะประกอบด้วย วิตามินพวกไบโอติน (biotin), กรดแพนโททีนิก (panthothenic acid) และ อินโนซิทอล (inositol) ซึ่งไบโอตินจะเป็น limiting factor ในการเจริญของยีสต์ (Rose และ Harrison, 1970) กากน้ำตาลที่มาจากหัวบีทจะมีสีอ่อน ทำให้ยีสต์ที่ได้มีสีอ่อนด้วย กากน้ำตาลจากหัวบีทจะมีกรดแพนโททีนิกและอินโนซิทอล (Reed, 1982) แต่จะไม่มีไบโอตินหรือมีในปริมาณ 0.01-0.02 พีพีเอ็ม ซึ่งน้อยมาก ดังนั้นในการผลิตยีสต์โดยกากน้ำตาลจากหัวบีทจะต้องมีการเติมไบโอตินลงไปด้วย ซึ่งถ้าหากเป็นกากน้ำตาลจากอ้อยไม่จำเป็นต้องเติมไบโอตินเนื่องจากกากน้ำตาลจากอ้อยมีไบโอตินอยู่เพียงพอต่อการเจริญของยีสต์แล้วซึ่งจะมีปริมาณ 0.5-0.8 พีพีเอ็ม (Reed และ Nagodawithana, 1991) แต่ข้อเสียของกากน้ำตาลจากอ้อยคือไม่มีกรดแพนโททีนิกและอินโนซิทอล และจะมีสีเข้ม ทำให้เซลล์ยีสต์ที่ได้มีสีเข้มต้องนำมาล้างเพื่อจะล้างเอาสิ่งสกปรกออกไปจากเซลล์ของยีสต์ดังนั้นการผสมกากน้ำตาล 2 ชนิดเข้าด้วยกันจึงเป็นสิ่งที่ดี (Moss และ Smith, 1977)

นอกจากนี้ยังต้องกำจัดการแขวนลอยที่มีอยู่ในกากน้ำตาลออกไปด้วย เนื่องจากสารแขวนลอยที่ปนมาจะมีผลต่อการเจริญของยีสต์ ซึ่งการกำจัดการแขวนลอยออกจากกากน้ำตาลที่มาจากหัวบีทจะใช้วิธีการกรอง แต่ถ้าเป็นกากน้ำตาลจากอ้อยจะต้องใช้การตกตะกอน เพราะน้ำหมักจะมีฟองมากและมีปัญหาทางด้านสีด้วย กากน้ำตาลที่กรองได้จะนำมาฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิสูงเป็นระยะเวลาสั้นๆและนำมาทำให้เย็นลงทันที ข้อควรระวังคือ การฆ่าเชื้อกากน้ำตาลจะต้องไม่ใช้เวลานานเกินไปเพื่อป้องกันไม่ให้น้ำตาลถูกทำลาย และสารละลายเปลี่ยนเป็นสีเข้มขึ้น

การใช้กากน้ำตาลในการผลิตยีสต์ขนมปังนี้ได้เริ่มมีมาตั้งแต่เมื่อ 60 ปีที่แล้ว โดยกากน้ำตาลที่ใช้ในการผลิตยีสต์นี้จะเป็นทั้งแหล่งคาร์บอนและแหล่งอาหารอื่น ๆ ที่จำเป็น เช่น แหล่ง

ไนโตรเจนและเกลือแร่ (Sobkowics, 1976) มีปริมาณน้ำตาลระหว่าง 50 ถึง 55% อุณหภูมิประมาณ 80 องศาเซลเซียส พีเอชประมาณ 6.5-8.5

ส่วนประกอบของกากน้ำตาลในประเทศไทยมีดังนี้ คือ น้ำ 17-25%, น้ำตาลซูโครส 30-40%, น้ำตาลอินเวิร์ท 10-20%, น้ำตาลทั้งหมด 50-60%, เถ้า 7-15%, สารอินทรีย์ 10-20%, ไนโตรเจน 0.86%, ฟอสฟอรัส 0.18%, โพแทสเซียม 3.0%, แคลเซียม 0.5%, เหล็กและทองแดง 0.045%, และ โซเดียม 0.38% เนื่องจากกากน้ำตาลยังคงมีปริมาณน้ำตาลอยู่สูง ดังนั้นกากน้ำตาลจึงเป็นอาหารเสริมสำหรับแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานที่ดีสำหรับยีสต์ นอกจากนี้กากน้ำตาลยังให้ธาตุอาหารอื่น ๆ ที่จำเป็นต่อการเจริญของยีสต์ด้วย เพราะมีวิตามินพวกไบโอติน, แคลเซียมแพนโทเทนิค, อินซิทอล, โทอะมีน, ไพรีดอกซีน, ไรโบฟลาวิน, นิโคตินาไมด์ และกรดโฟลิก (Imrie, 1969, Prescott และ Dunn, 1959 และ Rose และ Harrison, 1970)

แม้ว่ากากน้ำตาลจะเป็นแหล่งอาหารที่ดีสำหรับยีสต์ แต่ก็มีข้อเสียอยู่บ้าง เนื่องจากในกากน้ำตาลมีสารที่สามารถยับยั้งการเจริญของยีสต์ปะปนมาด้วย เช่น ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (sulfur dioxide), ไฮดรอกซีเมทิลเฟอูรัล (hydroxymethyl furfural), โพแทสเซียมอิมิดอไดซัลโฟเนต (potassium imidodisulphonate), กรดไขมัน (fatty acid) และธาตุโลหะหนัก เช่น ทองแดง สังกะสี (Rose และ Harrison, 1970)

สำหรับความเข้มข้นของน้ำตาลที่ใช้เลี้ยงยีสต์ มีผลต่อปริมาณผลผลิตของเซลล์ยีสต์ที่จะได้ บุหลัน พิทักษ์ผล และคณะ (2519) เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อให้มีกลูโคส 1% ในการเลี้ยงยีสต์ โดยใช้กากน้ำตาลเพื่อเปลี่ยนเป็นอาหารโปรตีน Harris และคณะ (1948) ได้ศึกษาการเจริญของยีสต์ที่ใช้เป็นอาหารสัตว์ที่เลี้ยงในน้ำย่อยเนื้อไม้ (wood hydrolysate) และสังเกตเห็นว่าถ้าความเข้มข้นของน้ำตาล 1% จะได้ยีสต์ 63.3% ขณะที่เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาล 2% ปริมาณยีสต์ที่ได้จะลดลงเป็น 49.9% การเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลจะทำให้ปริมาณยีสต์ที่ได้ลดลงอย่างสัมพันธ์กัน Peterson และคณะ (1945) รายงานผลของความเข้มข้นของน้ำตาลต่อการเพิ่มปริมาณยีสต์ไว้เช่นเดียวกัน Tirmazi และคณะ (1973) ได้ศึกษาถึงการเลี้ยงยีสต์ขนมปังโดยใช้กากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลทั้งหมดต่าง ๆ กัน และสังเกตเห็นว่าความเข้มข้นของน้ำตาลมีผลอย่างมีนัยสำคัญยิ่งต่อการขยายพันธุ์ของยีสต์และจะให้ปริมาณสูงสุดของเซลล์ยีสต์เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลคือ 1% และจะลดลงเมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเพิ่มขึ้น ในตัวอย่างที่มีน้ำตาล 1% เมื่อทิ้งไว้นานขึ้นเป็น 48 ชั่วโมง ปริมาณเซลล์จะไม่เพิ่มขึ้น เขากล่าวว่าอาจเนื่องมาจากความจริงที่ว่า น้ำตาลที่ยีสต์ใช้ได้

ในการหมักถูกใช้ไปแล้วในช่วง 24 ชั่วโมงแรกและจากการทดลองยังพบอีกว่าระหว่างช่วงเวลาที่ยีสต์ในตัวอย่างที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลสูงจะเหมาะสำหรับการผลิตแอลกอฮอล์มากกว่า การเพิ่มปริมาณเซลล์ และพบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 1% ในโตรเจน 30 มิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำตาล และฟอสฟอรัส 20 มิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำตาล จะให้ผลผลิตของยีสต์ขนมปัง *Saccharomyces cerevisiae* IMI-39916 ในปริมาณสูงสุด Rose และ Harrison (1971) พบว่า ถ้าให้ปริมาณกลูโคสแก่ยีสต์ตั้งแต่ 5% ขึ้นไปจะมีผลทำให้ยีสต์หยุดสร้างเอนไซม์ในระบบหายใจในสภาวะที่มีออกซิเจน และทำให้ยีสต์เปลี่ยนระบบการสร้างพลังงานไปอยู่ในสภาวะที่ไม่ใช้ออกซิเจน ทำให้อัตราการเจริญลดลง

จากการศึกษาของ Okada และคณะ (1981) โดยใช้คณิตศาสตร์ในการคำนวณอัตราการผลิตเอทานอลและการใช้ในถังหมักยีสต์ขนมปังแบบเฟดแบช (fed batch) พบว่ายีสต์จะผลิตเอทานอลเมื่อระดับน้ำตาลในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณความเข้มข้นสูงกว่า 0.28 กรัมต่อลิตร และเมื่อระดับน้ำตาลมีปริมาณต่ำกว่า 0.28 กรัมต่อลิตร เอทานอลจะถูกใช้ไปโดยยีสต์

2. แหล่งไนโตรเจน

ไนโตรเจนเป็นธาตุอาหารที่สำคัญต่อการเจริญของยีสต์มากธาตุหนึ่ง โดยยีสต์ส่วนใหญ่จะใช้เกลือแอมโมเนียมได้ดี โดยเฉพาะแอมโมเนียมซัลเฟตหรืออาจเติมในรูปยูเรียหรือแอมโมเนีย ส่วนกรดไนตริก แอมโมเนียมไนเตรต แอมโมเนียมฟอสเฟต โมโน ไดและไตรแอมโมเนียมฟอสเฟต แอมโมเนียมไบคาร์บอเนต แอมโมเนียมคาร์บอเนตนั้น ยีสต์ก็สามารถใช้ได้ดีเช่นเดียวกัน (Rose และ Harrison, 1971) ยีสต์บางชนิดเท่านั้นที่ใช้ไนโตรเจนในรูปไนเตรตได้ คุณสมบัติข้อนี้ใช้ในการจำแนกชนิดของยีสต์ คือ ยีสต์ขนมปังจะไม่สามารถใช้ในเตรตได้

ไนโตรเจนที่จะใช้เลี้ยงยีสต์ขนมปัง อาจให้ในรูปสารที่ได้จากการย่อยสลายอนุพันธ์โปรตีน (soluble protein derivative) เช่น เปปไทน์ (peptone) เปปไทด์ (peptide) และกรดอะมิโน ได้มีรายงานว่า กากน้ำตาลที่มีปริมาณน้ำตาลต่ำและมีปริมาณไนโตรเจนที่เป็นสารอินทรีย์สูง จะให้ผลผลิตเซลล์ยีสต์ดีกว่ากากน้ำตาลที่มีปริมาณน้ำตาลสูงและมีปริมาณไนโตรเจนต่ำ (Prescott และ Dunn, 1959) นอกจากนี้ยังพบอีกว่า กากน้ำตาลจากหัวบีทและกากน้ำตาลจากอ้อยประกอบด้วยสารที่มีไนโตรเจน ซึ่งยีสต์จะนำไปใช้ได้ แต่ยังไม่เพียงพอต่อความต้องการของยีสต์ที่จะใช้ในการเจริญ ดังนั้นจึงมักมีการเติมไนโตรเจนลงไปในรูปเกลือแอมโมเนียม เช่น แอมโมเนียมซัลเฟต หรือฟอสเฟต

ไนโตรเจนที่ยีสต์ได้รับเข้าไป ยีสต์จะนำไปสังเคราะห์โปรตีน ถ้าได้รับไนโตรเจนในรูปกรดอะมิโนจะมีผลทำให้ในเซลล์มีกรดอะมิโนชนิดนั้น ๆ เพิ่มขึ้น แต่การเติมกรดอะมิโนลงในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับผลิตยีสต์เป็นอุตสาหกรรมนั้น จะทำให้ต้นทุนการผลิตสูงขึ้น (Reed และ Pepler, 1973) ในตารางที่ 5 และ 6 จะแสดงถึงส่วนประกอบของกรดอะมิโนในเซลล์ยีสต์ชนิดต่าง ๆ

3. เกลือแร่

ยีสต์ขนมบ่งต้องการแร่ธาตุเพื่อใช้เป็นส่วนประกอบของโปรตีน เป็นตัวกระตุ้นเอนไซม์ และเป็น stabilizer สำหรับโปรตีน ซึ่งแบ่งได้เป็น 3 พวก คือ

1. เกลือแร่ที่ต้องการในปริมาณมาก (macroelement) ได้แก่ โพแทสเซียม แมกนีเซียม แคลเซียม สังกะสี เหล็ก แมงกานีส คลอรีน ยีสต์ต้องการในระดับ 0.1-1 มิลลิโมล
2. เกลือแร่ที่ต้องการในปริมาณน้อย (microelement) ได้แก่ โคบอลต์ โบรอน แคดเมียม โครเมียม ทองแดง ไอโอดีน โมลิบดีนัม นิกเกิล ยีสต์ต้องการในระดับ 0.1-100 ไมโครโมล
3. สารยับยั้ง (inhibitor) ได้แก่ เงิน อาร์ซีนิก พรอท ลิเทียม นิกเกิล ออสเมียม พอลลาเดียม ซีลีเนียม เทลลูเรียม ถ้ามีในระดับความเข้มข้นสูงกว่า 10-100 ไมโครโมล จะมีผลยับยั้งการเจริญและการหมักโดยยีสต์ ในบางครั้งถ้ามี macroelement และ microelement ในปริมาณมาก จะมีผลไปยับยั้งการเจริญและการหมักของยีสต์ได้เช่นกัน

ฟอสฟอรัส จำเป็นสำหรับการเจริญของยีสต์ขนมบ่ง ฟอสฟอรัสมีหน้าที่หลายอย่าง เช่น ใช้ในการสังเคราะห์นิวคลีโอโปรตีนและช่วยเป็นบัฟเฟอร์รักษาความเป็นกรดเป็นด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อช่วงที่มีการเพิ่มปริมาณเซลล์ด้วย โดยทั่วไปจะเติมลงไปในการในรูปของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) เพื่อใช้เป็นแหล่งธาตุฟอสฟอรัส (Reed และ Pepler, 1973) หรืออาจให้ยีสต์ได้รับในรูปแคลเซียมซูเปอร์ฟอสเฟต แอมโมเนียมฟอสเฟต หรือกรดฟอสฟอริก เซลล์ยีสต์จะดูดซึมสารโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟตได้ดีกว่าไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (Rose และ Harrison, 1971) Prescott และ Dunn (1959) รายงานว่าฟอสเฟตเป็นแร่ธาตุอาหารที่สำคัญและอาจเติมลงไปในรูปแบบไดแอมโมเนียมฟอสเฟต แคลเซียมแอสิดฟอสเฟต กรดฟอสฟอริก หรือ รูปอื่น ๆ เช่นเดียวกับรายงานของ Rosen (1968)

Frey และคณะ (1936) รายงานว่า ฟอสฟอรัสที่มีอยู่หรือที่เติมลงไปในกากน้ำตาล ทำหน้าที่หลายอย่าง เช่น ใช้ในการสังเคราะห์นิวคลีโอโปรตีน และช่วยเป็นบัฟเฟอร์รักษาความเป็นกรดเป็นด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อช่วงที่มีการเพิ่มปริมาณเซลล์ด้วย

ตารางที่ 5

ส่วนประกอบของกรดอะมิโนในเซลล์ยีสต์ชนิดต่าง ๆ (กรัมต่อ 16 กรัมในโตรเจน)

กรดอะมิโน	<i>C. lipolytica</i>	<i>P. methylotropha</i>	<i>C. utilis</i>	<i>S. cerevisiae</i>
ไลซีน	7.4	7.32	7.17	8.41
วาซีน	5.9	6.51	5.33	6.67
ลิวซีน	7.4	8.43	6.97	8.13
ไอโซลิวซีน	5.1	5.35	4.30	5.19
ทรีโอนีน	4.9	5.71	4.71	5.20
เมทไทโอนีน	1.8	3.00	1.02	1.63
ซีสตีน์	1.1	0.76	0.61	1.6
ฟีนิลอะลานีน	4.3	4.27	3.69	4.50
ทริปโตเฟน	1.4	1.11	0.04	1.1
ฮีสตีดีน	2.1	2.29	2.05	3.14
ไทโรซีน	3.6	3.82	3.28	4.87
อาซีน	5.1	5.56	7.17	5.35

ที่มา : ดัดแปลงมาจาก วราวุฒิ ครูสง และ รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต (2532)

ตารางที่ 6

เปรียบเทียบกรดอะมิโนในเซลล์ยีสต์ต่าง ๆ และ FAO reference protein

กรดอะมิโน	FAO reference protein	ส่วนประกอบในเซลล์ยีสต์ (กรัมต่อ 16 กรัมในโตรเจน)		
		<i>S. cerevisiae</i> ในกากน้ำตาล	<i>C. utilis</i> ในสารละลายซัลไฟด์	<i>C. utilis</i> ในกากน้ำตาล
ไลซีน	4.2	8.2	6.7	10.7
วาเลีน	4.2	5.5	6.3	5.7
ลิวซีน	4.8	7.9	7.0	8.1
ไอโซลิวซีน	4.2	5.5	5.3	7.3
ทรีโอนีน	2.8	4.8	5.5	4.8
เมทไทโอนีน	2.2	2.5	1.3	1.4
ฟีนิลอะลานีน	2.8	4.4	4.3	4.1
ซีสตีน์	2.0	2.6	0.7	0.3
ทริปโตเฟน	-	1.2	1.2	0.5
ฮีสติดีน	-	4.0	1.9	2.8
ไทโรซีน	-	5.0	3.3	1.4
อะซีนีน	-	5.0	5.4	4.7

ที่มา : ดัดแปลงมาจาก ดวงพร คันธโชติ (2530)

Reed และ Peppler (1973) รายงานว่า ปริมาณฟอสเฟตที่ยีสต์ขนมปังต้องการขึ้นอยู่กับปริมาณไนโตรเจนด้วย ยีสต์ที่มีไนโตรเจนสูงจะต้องการฟอสเฟตมากด้วย

ซัลเฟอร์ ยีสต์เกือบทุกชนิดใช้ซัลเฟอร์จาก inorganic sulfate หรือ organic sulphur compound

โพแทสเซียม จำเป็นสำหรับการเจริญของยีสต์ขนมปังในอาหารที่มีกลูโคส การดูดซึมของโพแทสเซียมไอออนเข้าสู่ผนังเซลล์จะง่าย และเมื่อกลูโคสถูกใช้ไปโพแทสเซียมไอออนก็จะถูกส่งกลับไปในอาหารใหม่ ในที่ไม่มีโพแทสเซียมไอออนก็จะไม่มีการใช้ฟอสเฟต พบว่าพวก fermentable yeast ใช้โพแทสเซียมไอออนมากเป็น 2 เท่าของ respiratory yeast

แมกนีเซียม ยีสต์ขนมปังต้องการแมกนีเซียมเพื่อกระตุ้นเอนไซม์ โดยเฉพาะเอนไซม์พวก phosphate transferase และ decarboxylase (Rosen, 1977)

4. วิตามิน

วิตามินเป็นตัวควบคุมกระบวนการเมแทบอลิซึมของยีสต์ ยีสต์ขนมปังต้องการวิตามินในการเจริญหลายชนิด เช่น ไบโอติน, กรดแพนโททีนิก, อินอซิทอล, ไทอะมีน, กรดนิโคตินิก, ไพรีดอกซีน และกรดโฟลิก เป็นต้น (Reed และ Peppler, 1973 และ Rosen, 1968) ตารางที่ 7 และ 8 แสดงปริมาณวิตามินในเซลล์ยีสต์ชนิดต่าง ๆ

ไบโอติน (biotin) ที่ยีสต์ขนมปังต้องการไม่เกิน 1 พีพีเอ็ม โดยได้จากเกล็ดแอมโมเนีย เช่นเดียวกับแหล่งไนโตรเจน กรดแอสคอร์บิกสามารถใช้แทนที่ไบโอติน รวมทั้งกรดโอสัลลิกก็สามารถใช้แทนได้ดีเช่นเดียวกัน

ไทอะมีน (thiamine) จะมีความสำคัญในการเร่งปฏิกิริยาการหมักของยีสต์ เป็นตัวกระตุ้นในการหมักโด และจำเป็นต้องเติมลงไปให้อาหารให้พอเหมาะ

กรดแพนโททีนิก (pantothenic acid) ยีสต์ขนมปังต้องการกรดแพนโททีนิกในปริมาณที่เหมาะสม คือ 50 พีพีเอ็ม

อินอซิทอล (inositol) ยีสต์ขนมปังต้องการในปริมาณที่เหมาะสม คือ 1,200 พีพีเอ็ม

ส่วนวิตามินตัวอื่น ๆ ไม่ต้องการมากนัก

ตารางที่ 7
ปริมาณวิตามินในเซลล์พืชชั้นมบ่ง

วิตามิน	ปริมาณ (ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง)
กรดพารา - อะมิโนเบนโซอิก	16 - 175
ไบโอติน	0.5 - 36
โคลีน	2100 - 5100
กรดโฟลิก	19 - 80
ไอ - อีโนซิทอล	3000 - 5000
กรดนิโคตินิก	200 - 700
กรดแพนโททีนิก	69 - 280
ไพรีดอกซีน	16 - 65
ไรโบฟลาวิน	7.5 - 85
โทอะมีน	9 - 89

ที่มา : Peterson (1950), Kirchhoff (1960) และ Grylls (1961)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 8
ส่วนประกอบของวิตามินในเซลล์ยีสต์ชนิดต่าง ๆ

วิตามิน	ส่วนประกอบในเซลล์ยีสต์ (ไมโครกรัมต่อกรัม)		
	<i>S. cerevisiae</i> ในกากน้ำตาล	<i>C. utilis</i> ในสารละลายซัลไฟด์	<i>C. utilis</i> ในกากน้ำตาล
ไทอะมีน (Thiamine HCl)	165	130	25
ไรโบฟลาวิน	100	45	50
ไนอะซีน	585	400	355
ไพริดอกซีน (Pyridoxine HCl)	20	30	-
โฟลาซีน	13	21	20
แคลเซียม-ดี-แพนโททีเนต	100	40	120
ไบโอติน	0.5	0.8	2
กรดพารา - อะมิโนเบนโซอิก	160	11	-
โคลีนคลอไรด์	2,710	2,860	5,500
อินซิทอล	3,000	4,500	-

ที่มา : ดัดแปลงมาจาก ดวงพร คันธโชติ (2530)

5. สภาพความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ของอาหาร ยีสต์ขนมปังชอบความเป็นกรดและทนกรดได้ดีกว่าจุลินทรีย์พวกอื่น ๆ โดยทั่วไปการเลี้ยงยีสต์ในระดับอุตสาหกรรมต้องปรับพีเอชให้ค่อนข้างไปทางกรด และควรรักษาระดับพีเอชไว้อย่างสม่ำเสมอ ยีสต์ขนมปังจะให้ผลผลิตดีที่สุดในช่วงพีเอช 4.5-5 (Reed และ Pepler, 1973, Prescott และ Dunn, 1959 และ Tirmazi และคณะ, 1973) ถ้าพีเอชต่ำกว่า 3.5 การเจริญจะลดลง แต่ถ้าพีเอชต่ำถึง 3 หรือต่ำกว่านั้นก็จะไม่เจริญ

6. อุณหภูมิ ยีสต์ขนมปังเจริญได้ดีในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 25-30 องศาเซลเซียส โดยทั่วไปแล้วการผลิตยีสต์ทางอุตสาหกรรมจะใช้อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (Prescott และ Dunn, 1959, Reed และ Pepler, 1973 และ Rose และ Harrison, 1970) และอุณหภูมิสูงสุดที่ยีสต์จะเจริญได้คือระหว่าง 35-37 องศาเซลเซียส

การควบคุมอุณหภูมิ ตามปกติเชื้อยีสต์จะใช้น้ำตาลในการเจริญและจะสร้างพลังงานขึ้นด้วยในระหว่างการหมัก ซึ่งพบว่าจากกากน้ำตาล 1 กิโลกรัม จะก่อให้เกิดความร้อนประมาณ 300-400 กิโลแคลอรี ความร้อนนี้จะเกิดสะสมขึ้นในน้ำหมัก ดังนั้นจึงจำเป็นต้องระบายออกสู่ภายนอก มิฉะนั้นจะเป็นอันตรายต่อการเจริญของเซลล์ยีสต์เอง การควบคุมอุณหภูมิที่นิยมใช้กันทำได้โดยการผ่านน้ำเย็นเข้าไปในขดลวด ซึ่งขดไปมาในถังหมักใหญ่ (internal cooling system) หรือโดยใช้ jacket ของน้ำเย็นหุ้มอยู่รอบนอกถังหมัก (external cooling system) แต่ทั้งนี้จะต้องผ่านตัวควบคุมอุณหภูมิ (temperature controller) ก่อน กล่าวคือถ้าอุณหภูมิในน้ำหมักสูงเกินระดับที่ต้องการตัวควบคุมจะส่งสัญญาณสั่งให้ระบบน้ำเย็นทำงาน น้ำเย็นก็จะไหลไปตาม jacket เพื่อระบายความร้อนจากภายในถังหมัก เป็นต้น

7. ปริมาณและวิธีให้อากาศ วิธีให้อากาศในการเพาะเลี้ยงยีสต์เพื่อให้ได้เซลล์ปริมาณมากนั้นทำได้ 2 วิธี วิธีแรก ได้แก่ การใช้เครื่องเขย่า (shaker) เมื่อทำการทดลองในห้องปฏิบัติการยีสต์มีโอกาสได้รับอากาศมากน้อยตามปริมาณช่องว่างของอาหารในพลาสติก และอัตราความเร็วของการเขย่า ซึ่งจะทำให้เซลล์สัมผัสกับอากาศได้ทั่วถึง วิธีที่สอง ได้แก่ การใช้ถังหมัก (fermentor) ซึ่งมีเครื่องอัดอากาศ (air compressor) โดยการอัดอากาศที่ปราศจากเชื้อในลักษณะฟองอากาศ ลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อ ฟองอากาศยิ่งเล็กก็ยิ่งจะได้ผลดียิ่งขึ้น เนื่องจากออกซิเจนละลายในอาหารได้มากขึ้น (Vananuvat และ Kinsella, 1975) การอัดอากาศที่ปราศจากเชื้อเข้าไปในถังหมักอาจทำได้โดยการใช้ fibrous filter เช่น glass fibre mineral wool และ เซลลูโลส (Flynn และ Adams, 1981) ซึ่งเชื่อกันว่าการให้อากาศจะช่วยกำจัดผลิตภัณฑ์จากกระบวนการหมักออกจากผิวหน้าของเซลล์ แล้วทำให้ธาตุอาหารเข้าไปแทนที่ผลิตภัณฑ์เหล่านั้นได้เรื่อยๆ เซลล์จึงเพิ่มปริมาณได้มาก (ฉันทนานันทพงษ์, 2522)

อากาศที่อัดเข้าไปในถังหมักต้องปราศจากเชื้อและควรมีคุณภาพดังนี้ คือ อากาศจะต้องผ่านและกระจายไปในอาหารอย่างทั่วถึง ต้องมีพื้นที่ผิวสัมผัส (surface area) มากที่สุด และอยู่ในอาหารได้นานพอสมควร ในทางปฏิบัติ เมื่อทำการเพิ่มปริมาณยีสต์ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของฟอง

อากาศที่จะให้จะมีขนาดระหว่าง 0.0001 - 1 นิ้ว ในถังหมักจะมีเครื่องกวนสำหรับกวนให้อาหาร และ ฟองอากาศกระจายได้ดีสม่ำเสมอทั่วถังหมัก มีรายงานว่า ลักษณะถังหมักที่แคบและสูงจะดีกว่าถังหมักที่มีลักษณะกว้าง และเตี้ย เพราะทำให้ฟองอากาศสัมผัสกับอาหารเลี้ยงเชื้อและเชื้อจุลินทรีย์ได้นานขึ้น (ฉันทนา นันทพงษ์, 2522)

ปริมาณอากาศที่จะให้ขึ้นกับรูปร่างและขนาดของถังหมัก ชนิดและองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ และวิธีการหมัก (Maxon และ Johnson, 1953) สำหรับยีสต์ขนมปัง de Beze และ Liebmann (1944) รายงานว่าจะให้อากาศในปริมาณ 275 - 530 ลูกบาศก์ฟุตต่อปอนด์ของยีสต์ที่เกิดขึ้นใหม่ ซึ่งมีปริมาณของแฉียงอยู่ร้อยละ 30

White (1954) รายงานว่า ควรให้อากาศ 250 ลูกบาศก์ฟุตต่อ 1 ปอนด์ของกากน้ำตาลที่มีน้ำตาลอยู่ร้อยละ 50

Vananuvat และ Kinsella (1975) รายงานว่า ปริมาณอากาศที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์ คือ 1 หน่วยปริมาตรของอากาศ ต่อ 1 หน่วยปริมาตรของอาหารเลี้ยงเชื้อต่ออนาที (vvm)

ในกระบวนการหมักมักจะเกิดฟองขึ้นที่ผิวหน้าอาหารเป็นจำนวนมาก ซึ่งทำให้อากาศละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ต่ำลง ดังนั้นสิ่งสำคัญอีกอย่างหนึ่งที่ต้องเติมลงในถังหมักระหว่างการหมัก คือ สารกำจัดฟอง (antifoam) เช่น ซิลิโคน (silicone) อนุพันธ์ของกรดไขมัน แอลกอฮอล์บางชนิด หรือสารอื่น ๆ ที่กินได้ เมื่อเติมลงไปจะลดแรงตึงผิวของฟองทำให้ฟองแตกสลายไป (ไพบูลย์ ดำนวิรุทัย, 2520) สารกำจัดฟองที่ดีควรมีคุณสมบัติดังนี้ คือ ทำให้ฟองหายไปอย่างรวดเร็ว เกิดปฏิกิริยานาน มีประสิทธิภาพดีเมื่อใช้ในปริมาณต่ำ ไม่เป็นพิษต่อจุลินทรีย์ คน และสัตว์ ไม่ติดไฟ หรือ ระเหยง่าย และราคาถูก (Solomons, 1967 และ Solomons, 1969)

ชนิดของยีสต์ขนมปัง

ยีสต์ขนมปังมีการผลิตเป็น 3 รูปแบบ คือ

1. ยีสต์สด (fresh หรือ compressed yeast, CY)

เป็นยีสต์ขนมปังที่อัดเป็นก้อนมีลักษณะคล้ายก้อนเนย มีสีน้ำตาลอ่อน ค่อนข้างขาว มีความชื้นประมาณ 70% และมีปริมาณโปรตีน 48-60% มีการเติมสาร emulsifier ด้วย เจริญเร็วเมื่อมีอาหารและสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม และทำให้ขนมปังมีกลิ่นรสที่ดี ราคาของยีสต์ชนิดนี้ไม่แพง แต่ต้องเก็บไว้ในที่อุณหภูมิต่ำประมาณ 2-5 องศาเซลเซียส ซึ่งในระหว่างการเก็บรักษาอาจสูญเสีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความชื้นไปบางส่วน สามารถเก็บไว้ได้นาน 2-3 สัปดาห์ ยีสต์สดนี้เหมาะสำหรับอุตสาหกรรมการทำขนมปังขนาดเล็ก

ยีสต์สดที่มีปริมาณไนโตรเจนต่ำและมีเซลล์แตกหน่ออยู่น้อยจะช่วยยืดอายุการเก็บรักษานานขึ้น โดยทั่วไปยีสต์สดจะสูญเสียการทำให้เกิดก๊าซประมาณ 3-5% เมื่อเก็บไว้เป็นเวลานานกว่า 1 สัปดาห์ ยีสต์สดที่มีปริมาณไนโตรเจนมากกว่า 8% จะมีอายุการเก็บรักษาสั้นกว่ายีสต์สดที่มีปริมาณไนโตรเจน 7% หรือต่ำกว่านี้ ดังนั้นยีสต์จะมีปริมาณไนโตรเจนสูงและอัตราการผลิตก๊าซสูง ซึ่งเป็นยีสต์ที่ใช้กันมากในประเทศสหรัฐอเมริกา จะต้องมีการขนส่งโดยใช้ตู้เย็น ซึ่งยีสต์สดชนิดนี้ได้มีการใช้ในประเทศแคนาดาและในทวีปยุโรปด้วย ซึ่งในทวีปยุโรปจะเรียกยีสต์นี้ว่า "Schnellhefen" หรือ fast yeast (Reed, 1982) และในการขนส่งและเก็บรักษาต้องแช่ตู้เย็นเสมอ

ความคงทนของยีสต์สดสามารถตรวจสอบได้โดยดูจากผลของการเก็บรักษาที่มีต่อการรอดของเซลล์ยีสต์ วิธีที่ใช้ในการตรวจสอบคือ yeast plate count หรือการย้อมสีเซลล์ยีสต์ด้วย methylene blue หรือ fluorochrome โดยพบว่ายีสต์สดที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 16 วัน จะมีเซลล์ตายเพียง 1-2% ในขณะที่การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส จะมีเซลล์ตายถึง 10% (ดุชนี ธนะบริพัฒน์, 2534)

Crumbled Yeast เป็นยีสต์ขนมปังที่มีลักษณะเหมือน compressed yeast แต่ต่างกันตรงที่ crumbled yeast ไม่มีการเติมสาร emulsifier ยีสต์นี้เหมาะสำหรับอุตสาหกรรมการทำขนมปังขนาดใหญ่ (Nagodawithana และ Trivedi, 1990)

2. ยีสต์เม็ดหรือยีสต์น้ำ (active dry yeast, ADY)

เป็นยีสต์แห้งที่ทำมาจากการนำยีสต์สดไปอบแห้งจนเหลือความชื้น 7.5-8.5% และมีปริมาณโปรตีน 40-43% ก่อนที่จะนำยีสต์เม็ดหรือยีสต์น้ำมาใช้ในการทำขนมปังจะต้องนำมาละลายน้ำก่อน ซึ่งถ้านำมาละลายในน้ำเย็นจะมีเซลล์ยีสต์ 20-25% หลุดออกมาจากยีสต์เม็ด ทำให้คุณสมบัติในการทำขนมปังสูญเสียไปด้วย ดังนั้นในการละลายน้ำจึงต้องใช้น้ำอุ่นเพื่อลดการถูกชะล้างออกไปของเซลล์ยีสต์ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการละลาย คือ 40-43 องศาเซลเซียส เป็นเวลาไม่เกิน 5 นาที อีกวิธีหนึ่งที่จะช่วยลดการถูกชะล้างออกไปของเซลล์ โดยการนำยีสต์เม็ดมาบดให้ละเอียดและนำมาผสมกับแป้งที่จะใช้ทำขนมปังในขณะที่ยังแห้งอยู่

ยีสต์เม็ดจะมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1-2 มิลลิเมตร และมีความยาวหลายขนาด มีปริมาณไนโตรเจนประมาณ 7% (ของของแข็ง) ยกเว้นยีสต์ที่มีคุณภาพสูงจะมีปริมาณไนโตรเจนถึง 9.5%

โดยปกติยีสต์เม็ดจะมีคุณสมบัติด้อยกว่ายีสต์สด เนื่องจากคุณสมบัติจะสูญเสียไปในระหว่างกระบวนการทำแห้ง ข้อดีของยีสต์เม็ดคือสามารถเก็บรักษาไว้ได้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1-2 เดือน โดยจะสูญเสียคุณสมบัติการทำขนมปังเพียง 7% ต่อการเก็บรักษา 1 เดือน แต่ถ้าหากนำมาเก็บรักษาไว้ภายใต้สุญญากาศจะสูญเสียคุณสมบัติเพียง 1% ต่อการเก็บรักษา 1 เดือน หรือไม่เกิน 10% ในการเก็บรักษาเป็นเวลา 1 ปี (ดุชนี ณะบริวัฒน์, 2534)

3. ยีสต์ผง (instant active dry yeast, IADY)

เป็นยีสต์แห้งที่ได้จากการนำยีสต์สดไปอบแห้ง มีความชื้นเพียง 5% สามารถใช้ผสมกับแป้งทำขนมปังได้ทันทีโดยไม่ต้องนำมาละลายน้ำก่อนใช้ และมีปริมาณโปรตีน 42-52% (Verachtert, 1990)

ยีสต์สดดีกว่ายีสต์ผงเนื่องจากว่าเป็นยีสต์ใหม่แข็งแรงทำให้ขนมปังที่ได้สดและมีกลิ่นหอมธรรมชาติ นอกจากนี้ราคายังถูกกว่ายีสต์แห้ง 30-40% ถึงแม้ว่าปริมาณที่ใช้จะมากกว่า 3 เท่าของน้ำหนัkyีสต์ผง เวลาใช้ก็ไม่ต้องละลายน้ำ โดยปกติยีสต์ที่ใช้ผสมกับแป้งสาลีเพื่อทำขนมปังจะใช้อัตราส่วนยีสต์ผง 0.5-1% ของน้ำหนักแป้ง ส่วนยีสต์เม็ดและยีสต์สดจะต้องใช้มากขึ้น 2-3 เท่าของน้ำหนักยีสต์ผง โดยทั่วไปในการผลิตขนมปังในโรงงานผลิตขนาดใหญ่มักจะใช้ยีสต์สด ยกเว้นในโรงงานขนาดเล็กจะนิยมใช้ยีสต์ผงเนื่องจากสามารถเก็บรักษาไว้ได้เป็นเวลานานกว่ายีสต์สด (ดุชนี ณะบริวัฒน์ , 2534) การเก็บรักษายีสต์ผงควรเก็บไว้ในที่แห้งหรือภายใต้สุญญากาศ (Sanderson, 1984)

กรรมวิธีการผลิตยีสต์ขนมปัง

การผลิตยีสต์ขนมปัง มี 4 วิธี คือ

1. กระบวนการ Symba วัตถุดิบที่ใช้ ได้แก่ น้ำทิ้งจากเกษตรกรรม (Agricultural waste water) วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร หรือ พืชผลทางเกษตรกรรมที่มีราคาถูก เช่น มันสำปะหลัง ซึ่งประกอบด้วยแป้งส่วนใหญ่ โดยเลี้ยงยีสต์ 2 ชนิด คือ *Endomycopsis fibuligera* และ *Candida utilis* การผลิตมีการควบคุมพีเอชประมาณ 5 อุณหภูมิประมาณ 30-37 องศาเซลเซียส รวมทั้งการให้อากาศ ยีสต์จะถูกทำให้แห้งโดยใช้ Spray dryer หรือ Drum dryer วิเคราะห์โปรตีนได้ 40-50% ไขมัน 4-5% เถ้า 5% และ เส้นใย 5% ยีสต์ที่ได้จะเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีสี และกลิ่นรสดี มีกรดอะมิโนซึ่ง

มีปริมาณไลซีนสูง และมักเติมเมทไทโอนีนสังเคราะห์ลงไปประมาณ 0.1% ซึ่งทำให้คุณค่าทางอาหารโปรตีนเทียบเท่าโปรตีนในนม

2. กระบวนการ Waldhof ใช้วัตถุดิบคือ น้ำทิ้งจากโรงงานกระดาษ โดยหมักในถังหมักที่ทำด้วยเหล็กกล้าไร้สนิม มีการให้อากาศโดยใช้เครื่องอัดอากาศของ Waldhof ตลอดระยะเวลาการหมัก จะเติมสารละลายแอมโมเนีย 20% อย่างสม่ำเสมอ เพื่อปรับพีเอชของอาหารให้คงที่ประมาณ 5 ควบคุมอุณหภูมิให้เป็น 37 องศาเซลเซียส โดยมีระบบระบายความร้อน ใช้การหมักแบบต่อเนื่อง เซลล์ยีสต์จะถูกส่งไปยังเครื่องกรองสองชั้น แล้วผ่านไปปั่นแยกเซลล์ออก นำเซลล์ที่แยกได้ไปล้างในน้ำที่สะอาด 3 ครั้ง เก็บไว้ในที่เย็น แล้วจึงส่งไปยังเครื่องทำแห้ง

3. กระบวนการ DSM Oxanone-Water ใช้น้ำเสียจากการออกซิไดส์ cyclohexone ที่เรียกว่า oxanone-water ประกอบไปด้วยกรดอินทรีย์เป็นส่วนใหญ่ ซึ่งเป็นปัญหาต่อการกำจัดมาก ยีสต์ที่ใช้ในกรรมวิธีนี้ คือ *Candida lipolytica* และ *Trichosporon cutaneum* โดยเลี้ยงในสภาวะเป็นกรด ยีสต์ที่ได้มีคุณภาพสูง ในแง่ของสารประกอบเคมีภายในเซลล์ เช่น กรดอะมิโน วิตามิน เป็นต้น

4. กระบวนการ n-paraffin and gas oil เป็นการผลิตยีสต์ในระดับอุตสาหกรรมจากสารไฮโดรคาร์บอน โดยใช้ยีสต์ *Candida lipolytica* ผลผลิตที่ได้มีปริมาณมากถึงสี่พันตันต่อปี

ขั้นตอนในการผลิตยีสต์ขนมบั้ง

1. คัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์ที่เหมาะสมสำหรับทำขนมบั้ง โดยควรมีคุณสมบัติบางประการ (Prescott และ Dunn, 1959) ดังนี้

1.1 มีความคงตัวทางชีวเคมี (biochemical stability) คือ มีคุณลักษณะที่สม่ำเสมอ และคงที่ตลอด

1.2 มีความสามารถในการหมักโดที่ทำจากแป้งได้อย่างดี คือ มีกำลังในการทำโดขึ้นได้ดีที่สุด

1.3 มีความสามารถในการกระจายตัวในน้ำ และมีคุณภาพดีในการเก็บรักษา

1.4 สามารถรักษาเชื้อให้อยู่ในสภาพที่ดีเป็นเวลานานที่อุณหภูมิปกติ

1.5 มีความสามารถในการขยายพันธุ์และให้ผลผลิตสูง

2. แยกเชื้อยีสต์ให้บริสุทธิ์ และการขยายพันธุ์

ยีสต์ขนมปังจะเริ่มเพาะจากเชื้อในหลอดทดลอง (slant culture) ซึ่งเป็นเชื้อบริสุทธิ์ที่ไม่มีจุลินทรีย์อื่นปนเปื้อน นำมาขยายพันธุ์ตามขั้นตอนต่าง ๆ เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการหมักโดยการเลี้ยงเชื้อยีสต์ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน เพื่อเพิ่มปริมาณเซลล์ให้มากขึ้น โดยอาหารที่ใช้จะต้องมีปริมาณน้ำตาลต่ำ เพื่อป้องกันการผลิตเอทิลแอลกอฮอล์ที่อาจเกิดขึ้นได้ เนื่องจากการผลิตเอทานอลและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จะเกิดขึ้นภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจนมากกว่าสภาวะที่มีออกซิเจน ซึ่งเรียกว่า Pasteur effect และในกรณีที่อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณน้ำตาลสูงจะทำให้กระบวนการหายใจของยีสต์ถูกยับยั้ง ถึงแม้ว่าในอาหารจะมีปริมาณออกซิเจนมากเพียงพอก็ตาม ดังนั้นเพื่อเป็นการยับยั้งกระบวนการไกลโคไลซิส (glycolysis) ของยีสต์เพื่อให้เกิดการผลิตเอทานอลน้อยลง อาหารที่ใช้จะต้องมีปริมาณน้ำตาลต่ำ มีออกซิเจนเพียงพอ ซึ่งจะมีผลทำให้ยีสต์เกิดการเปลี่ยน ADP และ Pi เป็น ATP มากขึ้น ทำให้การผลิตแอลกอฮอล์หยุดลง และเกิดกระบวนการ TCA cycle ขึ้นมาแทนที่ (Rhodes และ Fletcher, 1977, Reed, 1982 และ Coombs, 1986)

3. กระบวนการหมัก

3.1 กระบวนการหมักแบบแบช (Batch process) เริ่มโดยการเพิ่มปริมาณของเซลล์ยีสต์ เพื่อใช้เป็นเชื้อเริ่มต้น (inoculum) หรือเรียกว่า "seed yeast" จากยีสต์เริ่มต้นประมาณ 100 กรัม จะถูกเพิ่มปริมาณเป็น 300-500 กิโลกรัม โดยเพิ่มปริมาณจากถังหมักขนาดเล็กก่อน แล้วจึงถ่ายไปถังหมักขนาดใหญ่ขึ้น (Rosen, 1977) แยกยีสต์ที่ได้ออกมาโดยการเหวี่ยง แล้วเก็บไว้ในลักษณะเป็นครีมชั้น เพื่อใช้เป็น seed yeast ในการผลิตเป็นปริมาณมากเพื่อส่งขายต่อไป (Rose และ Harrison, 1970)

3.2 กระบวนการหมักแบบเฟดแบช (Fed-batch process) คือ มีการเติมอาหารเลี้ยงเชื้อลงไปเป็นระยะ ๆ ในถังหมัก ในปริมาณที่พอเพียงต่อการสร้างเซลล์ของยีสต์ในขณะนั้น โดยอาศัยหลักจากการที่สังเกตพบว่าการแบ่งเซลล์ของยีสต์จะเป็นไปในอัตราที่คงที่ ($r = \text{specific growth rate}$) ถ้ามีธาตุอาหารพอเพียง (Rosen, 1977) ดังนั้นปริมาณของยีสต์ที่ถูกผลิตขึ้นมา (dx) ในเวลา t (dt) อาจแสดงได้ในรูปสมการ (Rosen, 1968) ต่อไปนี้

$$dx = r x dt$$

เมื่อ x คือปริมาณยีสต์ที่มีอยู่ในถังหมักในช่วงเวลา t และเมื่อ integrate แล้วจะได้ว่า

$$x = x_0 e^{(rt)}$$

เมื่อ x_0 คือ ปริมาณยีสต์เริ่มต้น

นั่นคือ ช่วงเวลาที่จะเติมธาตุอาหารลงในถังหมักขึ้นอยู่กับปริมาณของยีสต์เริ่มต้น growth rate factor และปริมาณการให้อากาศพร้อมทั้งระบบทำความเย็น (cooling) ที่ใช้ (Rose และ Harrison, 1970) เมื่อเติมอาหารเลี้ยงเชื้อลงไปจนกระทั่งเกือบเต็มถังหมัก แล้วปล่อยให้ไว้นาน 2 ชั่วโมง เพื่อให้ยีสต์ทำงาน แล้วทำการแยกเอายีสต์ออกจากอาหารเลี้ยงเชื้อ (Flynn, 1966)

3.3 กระบวนการหมักแบบต่อเนื่อง (Continuous process) กระบวนการนี้เป็นการทำให้สภาพทุกอย่างในถังหมักคงที่อยู่ตลอดเวลา ทั้งปริมาณเซลล์ ปริมาณอาหาร ปริมาตรของอาหารและปัจจัยอื่น ๆ ซึ่งอาจทำได้โดยใช้ถังหมักเดียวหรือ หลายถังหมัก วิธีนี้แม้จะมีข้อดีหลายประการ เช่น ให้ผลผลิตและประสิทธิภาพในการผลิตสูง ประหยัดแรงงาน และจัดระบบควบคุมแบบอัตโนมัติได้ก็ตาม แต่วิธีการนี้ค่อนข้างยากที่จะไม่ให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสภาพทางพันธุกรรมของยีสต์ และลำบากในการควบคุมให้อยู่ในสภาพปลอดเชื้อตลอดช่วงการหมักเป็นเวลานานๆ (ไพบูลย์ ด้านวิรุทย์, 2520 และ Rose และ Harrison, 1970)

ถังหมักที่ใช้จะต้องมีท่อพ่นอากาศซึ่งผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ควบคุมพีเอชให้อยู่ประมาณ 4-6 ในระหว่างที่ยีสต์เจริญมักจะมีฟองเกิดขึ้นมากในถังหมัก ซึ่งกำจัดได้โดยใช้เครื่องตีฟองให้สลายหรือใส่สารกำจัดฟอง (antifoam) และจะต้องมีระบบน้ำเย็นหล่อถังหมัก เพราะในขณะที่ยีสต์เจริญและขยายพันธุ์ จะมีความร้อนเกิดขึ้น อุณหภูมิในถังหมักจะถูกควบคุมให้อยู่ระหว่าง 25-35 องศาเซลเซียส เวลาที่ใช้ในการหมักทั้งสิ้นประมาณ 9-15 ชั่วโมง ซึ่งในช่วงเวลานี้ยีสต์จะสามารถแตกหน่อได้ประมาณ 3-4 รุ่น จึงทำให้ปริมาณเซลล์ยีสต์เพิ่มขึ้น 4-15 เท่า เมื่อการหมักสิ้นสุดลง

ในช่วงสุดท้ายก่อนการเก็บเกี่ยวเซลล์ยีสต์จะต้องหยุดการเติมสารอาหารพวกไนโตรเจน แต่จะให้สารอาหารพวกคาร์โบไฮเดรตเท่านั้น และจะต้องให้อากาศต่อไปอีกประมาณ 30-60 นาที ทั้งนี้เพื่อให้ยีสต์มีระยะพักตัว (หรือระยะปม) เพื่อให้หน่อที่เกิดขึ้นใหม่เจริญเติบโตเต็มที่ ซึ่งเรียกว่าเกิด synchronization ของระบบการเจริญเติบโต กล่าวคือ เซลล์ยีสต์ทุกเซลล์ที่อยู่ในระยะพักตัวจะมีการปรับสภาพภายในเซลล์อย่างเต็มที่ พร้อมทั้งจะเริ่มทำการแตกหน่อได้ต่อไปอีกทุก ๆ เซลล์พร้อมกัน นอกจากนี้แล้วการเติมคาร์โบไฮเดรตจะทำให้ยีสต์สะสมคาร์โบไฮเดรตไว้ในเซลล์ โดยเฉพาะในรูปของไกลโคเจน (glycogen) และทรีฮาโลส (trehalose) ซึ่งเป็นน้ำตาลไดแซ็กคาไรด์ ดังนั้นจึงพอจะสรุปได้ว่าในช่วงระยะพักตัวของเชื้อยีสต์นี้ จะช่วยทำให้ยีสต์มีคุณสมบัติดีขึ้น และสามารถเก็บไว้ได้นานยิ่งขึ้น

4. การเก็บเกี่ยวเซลล์

เมื่อยีสต์เจริญได้เต็มที่แล้ว จะต้องทำการเก็บเกี่ยวเซลล์ออกจากถังหมัก โดยนำไปผ่านเครื่องแยก(separator) แล้วนำไปล้างให้สะอาด และทำให้เข้มข้นโดยใช้เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge) ที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ซึ่งที่ความเร็วระดับนี้สามารถแยกเซลล์ออกมาได้หมด ยีสต์ที่แยกได้จะมีสีขาวเรียกว่า ครีม (cream) ยีสต์ครีมที่ได้จะมีส่วนของของแข็ง (yeast solid) ประมาณ 18-20% (น้ำหนักต่อปริมาตร) ยีสต์ครีมที่ได้สามารถเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำประมาณ 1-4 องศาเซลเซียส ได้เป็นเวลาหลายวันโดยไม่สูญเสียคุณภาพ

ยีสต์ครีมที่ได้จะนำมาทำให้เข้มข้นขึ้น โดยกรองผ่านเครื่องกรองแบบหมุนภายใต้สภาพสุญญากาศ (rotary vacuum filter หรือ filter press) ใช้ความดัน 125-150 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ยีสต์ที่ผ่านการกรองจะมีปริมาณน้ำน้อยลงทำให้มีลักษณะคล้ายเค้ก (cake) ซึ่งจะมีของแข็งประมาณ 27-32% โดยน้ำหนัก มีความชื้นประมาณ 70% (Reed และ Nagodawithana, 1991)

ในช่วงของการทำยีสต์เค้กให้มีลักษณะเกาะกันอย่างดี สามารถทำได้โดยการเติมโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.2-0.6% ผสมกับยีสต์ครีมก่อนที่จะเข้าเครื่องกรอง ซึ่งจะทำให้ยีสต์เกิดการหดตัว เนื่องจากปฏิกิริยาออสโมซิส หลังจากนั้นในระหว่างการกรองภายใต้สภาพสุญญากาศ จะมีการพ่นน้ำไปบนผิวของยีสต์เพื่อล้างเอาน้ำเกลือที่เหลือค้างอยู่ระหว่างเซลล์ออกไป ในกรณีเช่นนี้จะทำให้สภาพสมดุล (osmotic balance) สูญเสียไป ดังนั้นในช่วงนี้ยีสต์จะกลับพองตัวขึ้นมาอีก แต่อย่างไรก็ตาม การกรองจะใช้เวลานานมากเพียงไม่กี่วินาที ในขณะที่การพองตัวของเซลล์ยีสต์ต้องกินเวลาประมาณ 1-2 นาที ดังนั้นเซลล์ยีสต์จะดูน้ำที่มีอยู่รอบ ๆ เซลล์ ในขณะที่ผ่านการกรองเท่านั้น จึงทำให้ก้อนยีสต์เค้กมีความแน่นตัวยิ่งขึ้น (Reed, 1982)

5. การผลิตยีสต์

5.1 การผลิตยีสต์สด

ยีสต์ที่ได้จะนำมาผสมกับสารพวก emulsifier บางชนิดเพื่อให้ยีสต์มีลักษณะดี และเบา และมีสีสม่ำเสมอ ป้องกันการเกิดรอยต่างของน้ำบนก้อนยีสต์ ช่วยให้การอัดและการบรรจุสะดวกขึ้น นิยมใช้ในปริมาณ 0.1-0.2% emulsifier ที่ใช้ผสมกับยีสต์ ได้แก่ mono- หรือ diglyceride, sorbitan ester หรือ lecithin (MacDonald และ Geisler , 1965) หลังจากนั้นยีสต์จะถูกนำมาผ่านเครื่องอัด (extruder) เพื่อให้ได้ลักษณะแท่งยาว ๆ และถูกตัดออกเป็นก้อน นำไปห่อด้วยกระดาษไข (wax) หรืออะลูมิเนียมฟอยล์ เก็บไว้ที่อุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมา

ใช้ในการทำขนมปัง ทั้งนี้เพื่อป้องกันไม่ให้ยีสต์ย่อยสลายตัวเองได้ โดยทั่วไปมีข้อกำหนดว่ายีสต์สดควรมี yeast solid ไม่น้อยกว่า 30% (Reed และ Pepler, 1973)

5.2 การผลิตยีสต์เม็ดและยีสต์ผง

การนำเอายีสต์สดมาทำให้แห้ง โดยนำมาอัดผ่านตะแกรงซึ่งมีเส้นผ่าศูนย์กลางเล็ก ๆ ให้ออกมาเป็นเส้น จากนั้นจึงนำไปสับให้เป็นท่อนสั้น ๆ ก่อนที่จะนำเข้าสู่เครื่องทำแห้ง (ถ้าทำยีสต์เม็ดจะใช้เครื่อง screw press ให้ได้ยีสต์ที่เป็นเม็ด) การทำแห้งนี้จะใช้อากาศที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า 40 องศาเซลเซียส เครื่องทำแห้งที่นิยมใช้ในทางการค้าแบ่งออกเป็น 2 ชนิดคือ

(1) continuous belt tunnel drier เป็นเครื่องทำแห้งที่นิยมใช้กันมากในการผสมยีสต์แห้ง วิธีนี้จะเป็นการส่งยีสต์เค้กหรือยีสต์สดที่มีลักษณะเป็นเส้นหลังจากผ่านเครื่อง extruder มาแล้ว ถูกส่งเข้าสู่สายพานซึ่งผ่านเข้าบริเวณอบความร้อนของเครื่อง ซึ่งเป็นห้องทำแห้งที่มีอยู่หลายห้อง โดยจะมีอากาศร้อนผ่านยีสต์ตลอดเวลาทั้งทางด้านบนและด้านล่างของสายพาน เวลาที่ใช้ในการทำแห้งจะอยู่ในช่วง 2-4 ชั่วโมง และอากาศที่ปล่อยเข้าไปจะมีอุณหภูมิอยู่ในช่วง 28-42 องศาเซลเซียส (Reed, 1982)

(2) air lift (fluidized bed) drier เป็นเครื่องทำแห้งที่สามารถจะทำให้ยีสต์แห้งได้ในระยะเวลาที่สั้นกว่าเครื่องทำแห้งแบบแรก โดยยีสต์ที่ได้จะไม่สูญเสียประสิทธิภาพในการทำขนมปังมากนัก วิธีนี้ชั้นของยีสต์เค้กที่จะนำไปอบจะต้องทำให้เป็นชั้นเล็ก ๆ ก่อน หลังจากนั้นชั้นยีสต์ก็จะถูกนำเข้าเครื่องอบ เวลาที่ใช้ในการทำแห้งจะอยู่ในช่วง 10-30 นาที และอากาศที่ปล่อยเข้าไปจะมีอุณหภูมิอยู่ในช่วง 100-150 องศาเซลเซียส อุณหภูมิของยีสต์ที่นำมาทำยีสต์แห้งจะอยู่ระหว่าง 25-40 องศาเซลเซียส (Reed, 1982) อุณหภูมิสูงจะช่วยให้ระยะเวลาในการทำแห้งสั้นลง และลดการสูญเสียประสิทธิภาพในการทำขนมปังให้น้อยลงด้วย ซึ่งการใช้อุณหภูมิสูงจะทำให้ความชื้นของยีสต์ลดลงเหลือ 35% หลังจากนั้นจะใช้อุณหภูมิต่ำประมาณ 35-40 องศาเซลเซียส เพื่อลดความชื้นของยีสต์ให้เหลือเพียง 4-8%

ยีสต์แห้งที่ผลิตขึ้นมาจะถูกบรรจุในถุงโพลีทีน (polythene bag) หรือกระป๋องปิดสนิทภายใต้สุญญากาศ หรือสภาพที่มีก๊าซไนโตรเจนแทนก๊าซออกซิเจน ในการผลิตยีสต์ขนมปังอาจมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์อื่น ๆ ได้ จุลินทรีย์ที่พบว่ามี การปนเปื้อนมากับยีสต์ขนมปังมากที่สุดคือแบคทีเรียพวกแลกติก เช่น *Lactobacillus* หรือ *Leuconostoc* ซึ่งจากการตรวจนับจำนวนแบคทีเรียพบว่าแบคทีเรียเหล่านี้มีอยู่ประมาณ 10^4 - 10^9 เซลล์ต่อกรัม จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมาเหล่านี้ไม่มีผลต่อ

การทำขนมปังในทางการค้าทั่ว ๆ ไป นอกจากแบคทีเรียเหล่านี้แล้ว บางครั้งอาจพบว่ามีจุลินทรีย์พวกโคลิฟอร์ม (coliform) เช่น *E. coli* ปนเปื้อนมาด้วย แต่เมื่อนำยีสต์ขนมปังที่ผลิตได้มาทำเป็นยีสต์เม็ดโดยการทำแห้ง ปริมาณแบคทีเรียที่ปนเปื้อนมาจะลดน้อยลงและยิ่งเหลือน้อยลงมากขึ้นเมื่อนำยีสต์มาเก็บรักษาไว้เป็นเวลานาน ๆ (ดุชนี ธนะบริพัตน์, 2534)

ยีสต์เป็นแหล่งอาหารที่ดีสำหรับการเจริญของเชื้อรา โดยจะพบว่าเชื้อราเจริญบนยีสต์สดที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลา 3-4 สัปดาห์หรือนานกว่านั้นในตู้เย็น ในบางครั้งจะพบว่ามี การเจริญของเชื้อรา *Oidium lactis* ซึ่งเป็นเชื้อราที่พบอยู่ตามเครื่องจักรหรือ wild yeast เกิดขึ้นบนยีสต์สด wild yeast เหล่านี้สามารถเจริญได้เร็วกว่า *Saccharomyces cerevisiae* ยีสต์เหล่านี้ได้แก่ *Saccharomyces paradoxus*, *Candida utilis*, *Torulopsis minor*, *Candida krusei*, *Candida mycoderma*, *Candida tropicalis*, *Trichosporon cutaneum*, *Torulopsis candida* และ *Rhodotorula mucilaginosa* (Fowell, 1965)

ความสำคัญของยีสต์ต่ออุตสาหกรรมการผลิตขนมปัง

หน้าที่ของยีสต์ขนมปัง ยีสต์มีความสำคัญต่อการผลิตขนมปังมาก ซึ่งไม่สามารถจะใช้สารหรือสิ่งอื่นทดแทนได้ เนื่องจากยีสต์ได้ทำหน้าที่ที่สำคัญและเป็นประโยชน์ต่ออุตสาหกรรม การผลิตขนมปัง 3 ประการดังนี้ คือ 1) การขึ้นฟู 2) การเกิดกลิ่นรส และ 3) การเกิดโด (Pepler, 1960, Reed, 1982 และ Rose และ Harrison, 1970) ดังจะกล่าวโดยละเอียดต่อไปนี้

1. การขึ้นฟู

การขึ้นฟูของขนมปังเกิดจากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ได้จากการที่ยีสต์ย่อยน้ำตาลในโด กล่าวคือ ในการทำขนมปังจะใส่ *Saccharomyces cerevisiae* (ยีสต์ขนมปัง) ซึ่งจะย่อยน้ำตาลในโด เพื่อการเจริญเติบโต เกิดเป็นแอลกอฮอล์และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งน้ำตาลในโดมาจากน้ำตาลที่เติมเป็นส่วนผสมในการทำโดหรือน้ำตาลจากแป้ง ทำให้ระยะแรกของการหมักมีก๊าซเกิดขึ้นมาก และเร็ว แต่ภายหลังการหมักประมาณ 1 ชั่วโมง น้ำตาลอิสระจะหมด ทำให้อัตราการเกิดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ลดลงอย่างรวดเร็ว ยีสต์ก็จะหันมาใช้มอลโทสแทน ทำให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เกิดขึ้นอีกแต่ในอัตราที่ช้าลง เมื่อการหมักดำเนินไปได้ประมาณ 3 ชั่วโมง น้ำตาลจะหมดจึงไม่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เกิดขึ้น กล่าวโดยละเอียดคือ ในระหว่างการทำโดไม่ว่า

จะโดยวิธีสพันซ์โดหรือสเตรตโดมักเติมน้ำตาลเข้าไปในส่วนผสม *S. cerevisiae* จะใช้น้ำตาลที่เติมในโดก่อน โดยจะย่อยกลูโคสก่อน ดังนั้นหากน้ำตาลที่เติมเข้าไปเป็นเดกซ์โทรส *S. cerevisiae* จะย่อยได้ทันที แต่ถ้าน้ำตาลที่เติมเข้าไปเป็นน้ำตาลข้าวโพดหรือน้ำตาลทราย *S. cerevisiae* ก็จะย่อยกลูโคสและฟรักโทสในน้ำตาลข้าวโพดหรือน้ำตาลทราย โดยอัตราการใช้กลูโคสจะเร็วกว่าฟรักโทส นอกจากนี้ *S. cerevisiae* ยังใช้น้ำตาลจากแป้งที่ใส่ในการทำขนมปัง เนื่องจากแป้งข้าวสาลีที่จำหน่ายจะเติมเอนไซม์อะไมเลสที่อาจเป็นอะไมเลสที่ได้จากราหรือเป็นอะไมเลสที่มีอยู่ตามธรรมชาติในข้าวสาลีหรือข้าวบาร์เลย์ ซึ่งอะไมเลสจะย่อยโมเลกุลของแป้งให้เป็นโมเลกุลเล็กลงหรือจนเป็นมอลโทสซึ่งเป็นน้ำตาลที่ยีสต์สามารถใช้ในการเจริญและเกิดเป็นแอลกอฮอล์กับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์อันเอนไซม์ที่ได้จากราจะมีปริมาณของเอนไซม์กลูโคอะไมเลส (glucoamylase) มากกว่าอะไมเลสที่ได้จากแบคทีเรียหรือข้าวสาลี ซึ่งมีผลต่อกิจกรรมของยีสต์ในกรณีที่มีการเติมน้ำตาลเพื่อทำโด หรือกรณีที่ยีสต์มีประสิทธิภาพในการย่อยมอลโทสต่ำ นอกจากนี้การย่อยเดกซ์ทรินให้เป็นมอลโทสกับกลูโคสนั้น จะกลายเป็นแหล่งของน้ำตาลที่ทำให้เกิดการหมักต่อไป ในขณะที่เดียวกันอะไมเลสยังช่วยทำให้โดมีความเหนียวและนุ่ม นอกจากนี้ยังมีผลต่อความละเอียดของเนื้อของขนมปังและผลิตภัณฑ์แป้งอื่น ๆ ที่ใช้ยีสต์ และยังช่วยทำให้ขนมปังมีสีที่เปลือก ปริมาตรและอายุการเก็บดีขึ้น

การเกิดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในโด เกิดจากการกระทำของ *S. cerevisiae* ซึ่งมีผลต่อคุณสมบัติของการมีรูของขนมปังอันเป็นคุณสมบัติที่สำคัญอย่างหนึ่งต่อการเลือกซื้อของผู้บริโภค ซึ่งการมีรูนี้ขึ้นอยู่กับปริมาณของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ยีสต์สร้างขึ้นจากการย่อยน้ำตาลและประสิทธิภาพในการเก็บกักก๊าซของโด โดยประสิทธิภาพในการเก็บกักก๊าซนี้ขึ้นอยู่กับคุณสมบัติในการเกิดฟิล์มของโด ซึ่งพบว่าโดที่ทำจากแป้งข้าวสาลีมีโปรตีนชนิดกลูเทินที่สามารถยืดตัวให้เป็นแผ่นฟิล์มบางเหนียวเก็บกักก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดจากการหมักที่แพร่เข้าสู่ช่องอากาศที่มีอยู่แล้วในโดและทำให้เกิดเป็นรูในขนมปังในที่สุด

2. การเกิดกลิ่นรส

ขนมปังที่เพิ่งผลิตใหม่ ๆ จะมีกลิ่นรสที่ชวนรับประทาน ซึ่งกลิ่นรสของขนมปังจะสัมพันธ์กับการหมักของยีสต์และการเกิดสีเข้มของเปลือกขนมปัง

การหมักของยีสต์ การหมักของยีสต์ขนมปังในโดมีผลต่อกลิ่นรสของขนมปังที่จะได้โดยเฉพาะจากผลิตภัณฑ์พลอยได้ที่ได้จากการหมักของ *S. cerevisiae* แบบที่เรียกว่าแกกติก และยีสต์อื่น ๆ ที่มักปนมาเสมอในยีสต์ขนมปัง และจากการย่อยโปรตีนของโปรตีนเอสที่ได้จากเชื้อราที่เติมเข้าไปในโดเพื่อผลิตขนมปัง กล่าวคือ ในระหว่างการหมักโด *S. cerevisiae* จะเกิดการหมักและให้ผลิตภัณฑ์ที่เมื่อทำปฏิกิริยากับสารในโดในระหว่างการอบจะเกิดเป็นสารให้กลิ่นรสพวกเอสเทอร์ กรดแอลกอฮอล์และสารคาร์บอนิล ที่ให้กลิ่นรสแกกติกที่หมักแล้ว ซึ่งสารให้กลิ่นรสเหล่านี้จะสูญหายไปบ้างในระหว่างการอบหรือทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนหรือสารอื่นในโด เกิดเป็นกลิ่นรสเฉพาะแก่ขนมปัง

นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยโปรตีนในแป้งมีส่วนให้กลิ่นรสแก่ขนมปัง ซึ่งในอุตสาหกรรมการผลิตขนมปังจะมีการเติมโปรตีนเอสที่ได้จากเชื้อรา โดยเฉพาะจาก *Aspergillus oryzae* เข้าไปในโด ซึ่งโปรตีนเอสที่ได้จากรานี้ร่วมกับโปรตีนเอสที่ได้จาก *S. cerevisiae* และยีสต์อื่นที่ปนมาในยีสต์ขนมปัง จะย่อยโปรตีนให้เป็นโปรตีนที่มีโมเลกุลสั้นลงที่เรียงตัวเป็นแผ่นฟิล์มโปรตีนหรือย่อยเปปไทนหรือโพลีเปปไทด์ให้เป็นผลิตภัณฑ์ที่ทำปฏิกิริยากับน้ำตาลเกิดเป็นสารให้กลิ่นรสช่วยให้กลิ่นรสแก่ขนมปังภายหลังการอบ ดังเช่น โปรตีนเอสจากรา ช่วยย่อยกลูเทนทำให้ได้ขนมปังกรอบที่มีความแข็งแรงและมีการยืดตัวดี และยังช่วยให้โดสามารถยืดตัวเป็นแผ่นบางได้โดยไม่ขาดหรือวางแบนได้ราบเรียบในเตาอบโดยไม่โป่งหรืออูที่มุม และได้ขนมปังที่มีสมมาตรและมีปริมาตรดีซึ่งมีผู้พยายามสังเคราะห์สารให้กลิ่นรส โดยการรวมสารให้กลิ่นรสต่าง ๆ ที่เกิดในโดในถังหมักและในขนมปังเพื่อใช้ใส่ทำให้ขนมปังมีกลิ่นรสดี แต่ไม่ประสบผลสำเร็จ นอกจากนี้ยังพบว่า การจะทำให้ได้ขนมปังมีกลิ่นรสดีที่สุดนั้นจะต้องให้ก่อนขนมปังมีการพักตัว เพื่อให้ *S. cerevisiae* ได้เพิ่มจำนวนและผลิตสารให้กลิ่นรส หรือสารตั้งต้นของสารให้กลิ่นรส (flavor precursor) ที่ให้กลิ่นรสที่ดีแก่ขนมปังภายหลังการอบ อย่างไรก็ตามโดที่ใส่ *S. cerevisiae* มากเกินไปจะมีกลิ่นยีสต์หรือกลิ่นไหม้อ่อน ๆ ที่เป็นสารให้กลิ่นรสพวกโทอะมีนหรือโทอะมีนโดฟอสเฟต

การเกิดสีเข้มของเปลือกขนมปัง มีผลต่อกลิ่นรสของขนมปัง ซึ่งจะเห็นได้ชัดหากทดลองอบขนมปังในไมโครเวฟที่ไม่มีการเกิดบราวน์นิ่ง หรือลอกเอาเปลือกขนมปังออกทันทีที่ขนมปังออกจากเตาอบ แล้วเก็บแช่เย็น ขนมปังจะไม่มียีสต์ที่ติด ซึ่งสันนิษฐานว่ากลิ่นรสของขนมปังจะ

เกิดขึ้นที่เปลือกขนมปังแล้วแพร่เข้าสู่เนื้อขนมปัง ซึ่งจะดูดซับกลิ่นรสไว้ การเกิดสีเข้มของเปลือกขนมปังนี้จะเกิดมากน้อยขึ้นกับกิจกรรมของ *S. cerevisiae* ในระหว่างการหมักโดยสารให้กลิ่นรสที่พบในขนมปังมีมากกว่า 100 ชนิด

3. การเกิดโด

การที่โดมีความยืดหยุ่นและมีการยึดตัวที่ดีเพื่อให้ได้ขนมปังที่มีปริมาตรและเนื้อที่ดีนั้น ขึ้นอยู่กับกิจกรรมของ *S. cerevisiae* ในระหว่างการหมักโดจนเกิดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ แอมโมเนีย แอลกอฮอล์ และอื่น ๆ ที่มีผลต่อคุณสมบัติต่าง ๆ ของโด กล่าวคือในระหว่างการหมักโด *S. cerevisiae* ที่อยู่ในโดจะเปลี่ยนน้ำตาลในโดให้เป็นแอลกอฮอล์กับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จำนวนมาก ซึ่งแอลกอฮอล์ที่เกิดมีผลต่อการเกิดคอลลอยด์ของโปรตีนในแป้ง และทำให้ความตึงผิวของโดเปลี่ยนไป ในขณะที่ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์บางส่วนในโดจะละลายและเกิดเป็นกรดคาร์บอนิกทำให้พีเอชลดลง นอกจากนี้การขยายตัวตามธรรมชาติของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ช่วยให้โดยึดตัวออก ทำให้โดที่ได้มีความยืดหยุ่นและยึดตัวดี

ในระหว่างการหมักโด จะเติมแอมโมเนียมซัลเฟต และ แอมโมเนียมคลอไรด์ เพื่อเป็นอาหารเพื่อให้ *S. cerevisiae* ใช้ในการเจริญและเปลี่ยนเป็นก๊าซแอมโมเนีย กรดกำมะถัน และกรดเกลือ ทำให้พีเอชในระบบการหมักลดลงอีก ซึ่งมีผลต่อการรุ่มน้ำและการฟองตัวของโปรตีนในแป้ง และมีผลต่ออัตราการทำงานของเอนไซม์ในโด มีผลต่อปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชัน ตลอดจนปฏิกิริยาทางเคมีต่างๆ นอกจากนี้ที่กล่าวมาแล้ว *S. cerevisiae* ยังผลิตเอนไซม์รีดักเทส (reductase) ที่ทำปฏิกิริยากับสารตัวกลาง (intermediate substrate) ในโดซึ่งมีผลต่อความชื้นเหลืองของโดด้วย

คุณสมบัติที่สำคัญของยีสต์ขนมปัง ยีสต์ที่ใช้ทำขนมปังควรมีคุณสมบัติดังนี้ (ฉันทนานันท์พงษ์, 2522, ดวงพร คันธโชติ, 2530, วราวุฒิ ครูสง และรุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต, 2532, และ White, 1954)

1. ทำให้ได้ขนมปังที่มีคุณภาพสม่ำเสมอ คือ ผิวเรียบสม่ำเสมอ สีของเปลือก (crust) เป็นสีเหลืองทอง เนื้อขนมปัง (crumb) นุ่มมีสีขาว
2. ยีสต์ควรมีสื่ออ่อน เพื่อให้ได้ขนมปังที่ขาว
3. มีลักษณะ และกลิ่นสด กลิ่นรสดี
4. ไม่มีเชื้อราปะปน
5. มีลักษณะทางกายภาพที่คงตัว

6. มีความคงทนทางด้านสรีรวิทยา
7. เสถียรในการเก็บโดยไม่เกิดการแตกของเซลล์
8. อยู่รอดได้ดีในการทำแห้ง
9. สามารถหมักน้ำตาลในโดได้อย่างรวดเร็ว ทำให้โดขยายตัวได้มาก
10. สามารถหมักมอลโทสได้ เนื่องจากการเจริญในอาหารพวกซูโครส
11. ละลายน้ำได้ดี อดทนต่อแรงดันออสโมซิส เนื่องจากมีน้ำเพียงเล็กน้อยที่ใช้ในการผสม

โด และความเข้มข้นของเกลือสูง

12. สามารถเจริญได้อย่างรวดเร็ว และเจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อทั่วไป
13. มีผลผลิต (yield) สูง เมื่อเลี้ยงในถังหมักและเก็บรักษาได้ง่าย
14. มีความสามารถในการใช้น้ำตาลได้หลายชนิด

การเจริญของยีสต์ในโด ไม่ว่าจะเป็ยีสต์สดหรือแห้งจะมีอัตราการเพิ่มจำนวนประมาณ 35% ในสเตรตโดที่ทำการหมักนาน 3-4 ชั่วโมง ในขณะที่ในการหมักสปันโดจะมีอัตราการเพิ่มจำนวนของยีสต์ประมาณ 55% แต่ทั้งนี้จะเกิดขึ้นในโดของขนมปังจืดซึ่งมีน้ำตาลไม่เกิน 5% ส่วนในโดของขนมปังหวานซึ่งใช้น้ำตาล 15-20% จะมีอัตราการเพิ่มจำนวนของเซลล์ยีสต์ในอัตราที่ต่ำกว่า ในโดขนมปังจืดเมื่อทิ้งให้ทำการหมักในระยะเวลาเท่ากัน ทั้งนี้เนื่องจากผลของแรงดันออสโมซิส (osmotic pressure) สูงอันเนื่องมาจากความเข้มข้นของน้ำตาลสูงนั่นเอง

การเจริญของยีสต์ในโดอาศัยการแตกหน่อ ทั้งนี้จากการศึกษาพบว่าจำนวนหน่อยีสต์ที่เกิดขึ้นใหม่จากการใช้ยีสต์สดและยีสต์แห้งมีปริมาณที่ใกล้เคียงกัน และเมื่อการหมักโดใกล้จะสิ้นสุดหน่อยีสต์ที่เกิดขึ้นจะมีการเจริญจนมีขนาดใกล้เคียงกับเซลล์แม่ทีเดียว

ในการสังเกตการเจริญของยีสต์ในโด นอกจากจะพิจารณาจากการสร้างหน่อแล้ว ยังอาจพิจารณาจากการเกิดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์อีกด้วย ทั้งนี้เพราะตามปกติยีสต์สามารถหมักน้ำตาลกลูโคส 1 โมเลกุล ให้เป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และเอทานอลอย่างละ 2 โมเลกุล รวมทั้งผลพลอยได้อื่น ๆ อีกหลายชนิด ดังนั้นเราจึงอาศัยการวัดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เพื่อแสดงลักษณะการเจริญของยีสต์ในโดได้ สำหรับในการหมักน้ำตาลของยีสต์เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ดังกล่าว เนื่องมาจากผลของเอนไซม์ในเซลล์ยีสต์นั่นเอง ในเซลล์ยีสต์มีเอนไซม์ที่สำคัญ 3 ชนิดคือ

1. อินเวอร์เทส (invertase enzyme) ซึ่งทำหน้าที่เปลี่ยนน้ำตาลซูโครสให้เป็นกลูโคสหรือเดกซ์โทรส (dextrose) เพราะยีสต์จะสามารถหมักน้ำตาลกลูโคสหรือเดกซ์โทรสได้เท่านั้น

2. มอลเทส (maltase enzyme) ทำหน้าที่เปลี่ยนน้ำตาลมอลโทสให้เป็นกลูโคสหรือเดกซ์- ไทโรส

3. ซิเมส (zymase enzyme) เป็นเอนไซม์ประเภท multienzyme system (กล่าวคือ เป็นกลุ่มของเอนไซม์ที่ทำหน้าที่เปลี่ยนวัตถุดิบให้เป็นผลิตภัณฑ์) เอนไซม์ซิเมสเป็นกลุ่มของเอนไซม์ที่เปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสหรือเดกซ์โทรสให้เป็นเอทานอลและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

สำหรับเอทานอลที่เกิดขึ้นในโดซึ่งเป็นผลจากการหมักน้ำตาลด้วยยีสต์นั้นจะถูกระเหยออกไปในช่วงการอบขนมปัง ส่วนก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นจะซึมผ่านผนังเซลล์ของยีสต์ออกมา โดยในช่วงแรกก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ออกมาจะละลายน้ำ (ที่มีอยู่ในปริมาณน้อย) ในโด จนกระทั่งน้ำนั้นอิ่มตัวด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ จากนั้นคาร์บอนไดออกไซด์ที่ซึมออกมาใหม่ จะออกมาในรูปของฟองก๊าซ ฟองก๊าซเหล่านี้จะมีตัวทั้งก้อนโดและจะมีขนาดใหญ่ขึ้นเรื่อย ๆ โดยมีขนาดที่ไม่เท่ากัน ด้วยเหตุนี้จึงจำเป็นต้องนำโดไปรีดเพื่อไล่ลมออกไปบ้าง พร้อมทั้งเป็นการกำจัดฟองก๊าซที่มีขนาดโตเกินไป ในกรณีที่ไม่ว่างฟองก๊าซออกไป จะทำให้เนื้อของขนมปังที่ได้ภายหลังจากการอบ หลวมไม่เกาะกัน และบางครั้งเนื้อขนมปังอาจจะเป็นโพรงอีกด้วย ในขณะที่โดผ่านการรีดไล่ลมออกไปแล้ว เซลล์ยีสต์ก็ยังคงผลิตก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ออกมาใหม่พร้อมกันด้วย จึงทำให้เกิดฟองก๊าซที่มีขนาดเล็กสม่ำเสมอแต่มีจำนวนมาก ขนมปังที่อบออกมาแล้วจะมีเนื้อสวย

ในระหว่างการนำโดไปอบเพื่อทำขนมปัง เมื่ออุณหภูมิในตู้อบสูงขึ้นถึง 60 องศาเซลเซียส จะทำให้สภาพของผนังเมมเบรน (semi-permeable membrane) ของเซลล์ยีสต์ถูกทำลายจึงส่งผลทำให้สารโมเลกุลต่าง ๆ ที่อยู่ในเซลล์กระจายออกมาอยู่ในเนื้อโด สารเหล่านั้นจะมีผลต่อโดด้วย กล่าวคือ จะช่วยทำให้กลูเทนไม่ตึงตัวเกินไปในช่วงอุณหภูมินี้ และยังช่วยให้ฟองก๊าซมีปริมาตรเพิ่มขึ้นได้ต่อไปทั้ง ๆ ที่อุณหภูมิสูงถึงขั้นนี้ (Sultan, 1969, Suomalainen และคณะ, 1972 และ White, 1954)

ผลของส่วนประกอบและกรรมวิธีการผลิตต่อการทำงานของยีสต์

1. องค์ประกอบในโด

น้ำตาล เป็นอาหารและควบคุมการทำงานของยีสต์ ช่วยให้อุณหภูมิให้กลิ่นรส เนื้อ และการพองตัวของขนมปังดีขึ้น น้ำตาลช่วยให้ขนมปังมีรสหวานอ่อน ๆ และช่วยให้สีของกระโหลกขนมปังเป็นสีน้ำตาลทองสวย น้ำตาลที่เติมลงไปในรูปแบบน้ำตาลซูโครส จะเป็นอาหารของยีสต์ ทำให้เกิดการหมักขึ้น ปริมาณน้ำตาลที่ใช้จะแตกต่างกันไปตามชนิดของขนมปัง และความต้องการ

รสหวานมากน้อย โดยเฉลี่ยแล้วน้ำตาลที่ใช้เป็นอาหารของยีสต์นั้นประมาณ 2 - 6 % ถ้าปริมาณน้ำตาลที่เติมลงไปมากกว่า 2% ของน้ำหนักแป้ง จะทำให้ใช้เวลาในการหมักนานขึ้น เนื่องจากน้ำตาลไปเพิ่มแรงดันออสโมซิสในโด น้ำตาลที่ใช้ นอกจากน้ำตาลซูโครสแล้วอาจใช้กลูโคส ฟรักโทส หรือ น้ำตาลชนิดอื่น ๆ ที่หมักได้เร็วเท่า ๆ กัน

ในการหมักโดในสภาพที่ไม่มีออกซิเจน *S. cerevisiae* จะย่อยน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์กับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งน้ำตาลที่ยีสต์ย่อยได้ ได้แก่ กลูโคส ฟรักโทส ซูโครส และมอลโทส แต่ไม่ย่อยแล็กโทสและไม่สามารถย่อยแป้งหรือเดกซ์ทริน นอกจากนี้จะถูกย่อยโดยเอนไซม์อะไมเลสจนได้มอลโทสเสียก่อน ซึ่งโดยทั่วไปแป้งมีน้ำตาลอยู่ 0.3-0.5%

ส่วนผสมของโด ได้แก่ แป้ง น้ำ ยีสต์ เกลือ และน้ำตาล (แม้เป็นสินโดก็ยังคงเติมน้ำตาล 0.5-2.0%) ในการหมักโด พบว่า 30 นาทีแรกจะมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เกิดขึ้นจำนวนมาก เนื่องจาก *S. cerevisiae* ใช้ น้ำตาลที่เติมเข้าไปแล้วเปลี่ยนเป็นแอลกอฮอล์และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และจะมีก๊าซเพิ่มอีกครั้งประมาณ 60-90 นาทีภายหลังการหมักเนื่องจากยีสต์จะย่อยมอลโทสที่ได้จากแป้ง ข้าวสาลี ถ้า น้ำตาลที่เติมไปในโดเป็นน้ำตาลข้าวโพดจะมีน้ำตาล 8 % ที่ประกอบด้วยมอลโทส 3.9 % กับกลูโคส 4.1% กลูโคสนี้จะถูกย่อยอย่างรวดเร็ว แต่มอลโทสจะถูกย่อยอย่างช้า ๆ ในอัตราที่ช้ากว่าการเกิดมอลโทสที่ได้จากการย่อยแป้งของอะไมเลส เหตุนี้จึงยังมีมอลโทสเหลืออยู่ในโด

เกลือมีหน้าที่ช่วยด้านรสชาติ ช่วยให้ลักษณะเนื้อของขนมปังดีขึ้น กลิ่นรสดีขึ้น มีผลต่อโครงสร้างของกลูเทินที่แข็งแรง ช่วยควบคุมการทำงานของยีสต์ไม่ให้เร็วเกินไป ถ้าใส่เกลือมากเกินไป จะช่วยยับยั้งการเจริญของยีสต์เป็นเหตุให้ขนมปังแน่น แข็ง กระโหลกเป็นสีเทา ไม่เป็นสีน้ำตาลทอง ปริมาณเกลือที่เหมาะสม คือ 1.5-2.0%

ไขมัน ช่วยให้ขนมปังเนื้อนุ่มขึ้น ทำให้แป้งมีความมันนารับประทาน ช่วยให้สีของขนมปังดีขึ้น ถ้าใช้น้อยจะช่วยรักษาคุณภาพของขนมปังทำให้เก็บได้นาน เนื้อไม่รวนเร็ว แต่ถ้าใช้มากเกินไป จะทำให้ขนมปังไม่ฟู และเก็บได้ไม่นาน หินเร็ว และต้องใช้เวลาในการหมักนานขึ้น ขนมปังที่ดีอาจทำได้โดยไม่ใช้น้ำมัน หรือใช้น้อยเพียง 2-3%

นมผงขาดมันเนย พบว่าไม่มีผลต่อการหมักของยีสต์ แต่ถ้าเติมในปริมาณมากการทำงานของยีสต์จะเพิ่มขึ้นเล็กน้อย

นอกจากองค์ประกอบเหล่านี้แล้ว ในการทำขนมปังอาจมีการเติมสารบางอย่างลงไปอีกด้วย เช่น อาหารของยีสต์ ได้แก่ พวกเกลือแอมโมเนียมคลอไรด์ และยิปซัม และน้ำเชื่อมจากมอลท์

(malt syrup) ทั้งนี้เพื่อช่วยให้คุณภาพของขนมปังดีขึ้น องค์ประกอบเหล่านี้มักมีผลต่อยีสต์โดยตรง แต่เป็นผลในการที่จะลดเวลาในกระบวนการหมัก แต่ปริมาตรของขนมปังคงเดิม (Reed และ Peppler, 1973, Garver และคณะ, 1966 และ Peppler, 1960)

2. พีเอช การหมักของยีสต์จะคงที่ที่พีเอช 4-7 ที่พีเอชน้อยกว่า 4 อัตราการย่อน้ำตาลจะลดลงอย่างรวดเร็ว แต่ถ้าพีเอชมากกว่า 7 อัตราการย่อน้ำตาลจะลดลงอย่างช้า ๆ และพบว่าในการทำขนมปังแบบโดเหลวที่ไม่ใส่แป้งหรือนมผงพร่องไขมันในระหว่างการหมัก พีเอชจะลดลงเนื่องจากการเกิดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์หรือกรดอินทรีย์ที่เกิดจากยีสต์ และแบคทีเรียพวกแลคติก ซึ่งวิธีแก้ทำได้โดยการเติมเกลือที่เป็นบัฟเฟอร์ (buffer salt) เพื่อให้พีเอชสูงกว่า 4.5

3. อุณหภูมิ อุณหภูมิของการทำโดจะตั้งไว้ที่ 24-26 องศาเซลเซียส แต่ในระหว่างการหมัก อุณหภูมิจะสูงขึ้น 3-4 องศาเซลเซียส ดังนั้นอุณหภูมิที่ใช้หมักโดทุกชนิดจะใช้ 25-35 องศาเซลเซียส โดยอัตราการหมักจะเพิ่ม 1.5-2 เท่า ทุก ๆ 10 องศาเซลเซียสที่เพิ่ม และหากต้องการขนมปังที่มีความยืดหยุ่นหรือคุณสมบัติอย่างอื่นตามต้องการจะต้องควบคุมอุณหภูมิให้ดี

ในช่วงแรกของการอบ ก้อนขนมปังจะขยายตัวและมีปริมาตรเพิ่มขึ้น อันเนื่องมาจากการขยายตัวเนื่องจากความร้อนของก๊าซไนโตรเจนและของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เพิ่มขึ้นจากการหมัก

4. แรงดันออสโมซิส การหมักของยีสต์จะหยุดชะงักหากโดมีแรงดันออสโมซิสสูง จากการมีความเข้มข้นของเกลือหรือน้ำตาลสูง ซึ่งยีสต์จะมีความทนต่อแรงดันออสโมซิสสูงได้ต่างกันแล้วแต่สายพันธุ์ และสภาวะแวดล้อมที่ยีสต์เจริญอยู่ ถ้าความเค็มของเกลือในโดน้อยกว่า 1.5 % การหมักจะถูกยับยั้งเล็กน้อย แต่ถ้าความเค็มของเกลือในโดเป็น 2-2.5 % การหมักจะถูกยับยั้งปานกลาง และถ้าความหวานของน้ำตาลในโดมากกว่า 4.5 % การหมักจะถูกยับยั้ง

5. สารยับยั้ง สารยับยั้งมีทั้งที่เป็นสารยับยั้งการหมักและสารยับยั้งการเจริญของรา สารยับยั้งการหมัก เช่น เอทานอล 4% (w/v) สามารถยับยั้งการเจริญและการหมักของยีสต์ หรือโพพิโอเนต 0.25 % สามารถยับยั้งกระบวนการหมักได้ 20% ส่วนสารยับยั้งการเจริญของรา ได้แก่ น้ำส้มสายชู โซเดียมไดออกไซด์ 0.3 % ของโซเดียมโพพิโอเนตหรือแคลเซียมโพพิโอเนต เป็นต้น

6. สารอาหาร สารอาหารสำหรับยีสต์ ได้แก่ วิตามิน เกลือแร่ แหล่งไนโตรเจน แหล่งคาร์บอน ปกติระยะเวลาของการหมักโดจะสั้น จึงไม่จำเป็นต้องเติมสารอาหารใด ๆ แต่ควรเติมแหล่งไนโตรเจนที่ยีสต์สามารถนำไปใช้ได้ทันทีเพื่อการเจริญที่มีอยู่ในอัตราต่ำในระหว่างการหมัก อย่างไรก็ตามนิยมเติมสารในรูปของอาหารยีสต์ ซึ่งประกอบด้วยสารอาหารยีสต์ ตัวออกซิโดส์และ

เกลือที่เป็นบัฟเฟอร์ โดยทั่วไปอาหารยีสต์จะประกอบด้วย แอมโมเนียมคลอไรด์ หรือ แอมโมเนียมซัลเฟต 10 % เพื่อเป็นแหล่งของไนโตรเจน มีโพแทสเซียมโบรเมตหรือโพแทสเซียมไฮโอเดตเป็นตัวออกซิไดส์ และมีโมโนแคลเซียมฟอสเฟตเป็นบัฟเฟอร์ โดยไม่มีความจำเป็นต้องเติมเกลือแร่ ยกเว้นกรณีที่ใช้ น้ำอ่อนจึงจะใส่เกลือของแคลเซียม และไม่จำเป็นต้องเติมวิตามินเนื่องจากไทอามีนในแป้งหรือยีสต์จะช่วยกระตุ้นการหมักอยู่แล้ว ยกเว้นกรณีที่ผลิตโดเหลวที่ไม่ใส่แป้ง

การเติมตัวออกซิไดส์หรือเกลือที่เป็นบัฟเฟอร์ไม่มีผลโดยตรงต่อการหมักของยีสต์แต่ช่วยในการเก็บกักก๊าซในโดซึ่งช่วยให้มีการขึ้นฟูดี

ปริมาณยีสต์ที่ใช้ในการทำขนมปัง ปริมาณยีสต์ที่ใช้เปลี่ยนแปลงตามความก้าวหน้าทางเทคโนโลยีของแป้งและการทำขนมปัง ประมาณ 30 ปีที่ผ่านมา จะมีการใช้ยีสต์น้อยกว่า 2 ปอนด์ต่อแป้ง 100 ปอนด์ ต่อมาเมื่อแป้งมีคุณภาพดีขึ้น ปริมาณยีสต์สดที่ใช้จะเพิ่มเป็น 2.5% ในปี ค.ศ. 1959 Navy Department's Bayonne Bread Formula กำหนดให้ใช้ยีสต์แห้ง 1.8% ซึ่งเทียบแล้วเท่ากับใช้ยีสต์สดประมาณ 4% ของน้ำหนักแป้ง และลดเวลาในการทำขนมปังลงถึง 50% (Pepler, 1960) โดยทั่ว ๆ ไปจะใช้ยีสต์ผงประมาณ 0.5-1% ของน้ำหนักแป้ง ส่วนยีสต์เม็ดและยีสต์สดจะใช้เป็น 2 เท่าและ 3 เท่าของน้ำหนักยีสต์ผงตามลำดับ ถ้าต้องการทำขนมปังให้เสร็จเร็วก็เพิ่มปริมาณยีสต์มากขึ้น ซึ่งการเพิ่มความเข้มข้นของยีสต์อัดก้อน จะช่วยทำให้ระยะเวลาที่ใช้หมักสั้นลง แต่ก็มีขีดจำกัดถึงความเข้มข้นหนึ่งเท่านั้น กล่าวคือ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของยีสต์ถึงจุด ๆ หนึ่งการจะใส่ยีสต์เพิ่มไปอีกจะไม่สามารถทำให้ระยะเวลาที่ใช้ในการหมักสั้นลงและผลิตภัณฑ์ได้ยังคงมีคุณสมบัติต่าง ๆ ดีที่สุดตามต้องการ อาทิเช่น หากต้องการจะทำให้ระยะเวลาในการหมักสั้นลงจาก 180 นาที เป็น 70 นาที จะต้องเพิ่มความเข้มข้นของยีสต์ที่ใส่จาก 2 เป็น 7.2 % และเติมโบรเมต (bromate) เข้าไป 3 เท่า ซึ่งจะทำให้เวลาพักตัวลดลงจาก 55 นาที เป็น 21.5 นาที เป็นต้น ถ้าทำเป็นการค้าอาจจะลดปริมาณยีสต์ที่ใช้ให้น้อยลงกว่าปกติได้ ในการใช้ยีสต์ปริมาณน้อยจะให้กลิ่นและรสของขนมปังดี แต่ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ ถ้าใช้อุณหภูมิสูงในระหว่างการหมักส่วนผสมแป้ง กลิ่นของยีสต์จะแรง และถ้าใช้ยีสต์ในปริมาณมากเกินไป จะทำให้ขนมปังมีกลิ่นรสไม่น่ารับประทาน ลักษณะเนื้อหยาบและมีสีเทา ๆ แต่ถ้าใช้น้อยเกินไปจะใช้เวลาในการหมักนาน (Sonnenberg, 1977) นอกจากนี้ความเข้มข้นของยีสต์ที่ใส่ในโดยังขึ้นอยู่กับชนิดและส่วนประกอบของโด วิธีการผลิตโด และเวลาพักตัวของโด

ปกติยีสต์อัดก้อนจะมีเซลล์ของยีสต์อยู่ประมาณ $25-35 \times 10^9$ เซลล์ต่อกรัม ซึ่งจำนวนของเซลล์ขึ้นอยู่กับขนาดของเซลล์ หากขนาดของเซลล์เล็กก็จะมีจำนวนเซลล์ต่อกรัมมาก ตารางที่ 9 แสดงถึงปริมาณของยีสต์ที่ต้องใส่ในโดชนิดต่าง ๆ เพื่อผลิตเป็นขนมอบต่าง ๆ ซึ่งจะเห็นได้ว่าปริมาณของยีสต์ที่ใช้ในการผลิตโดบางชนิด เช่น สพันซ์โด มีเพียงค่าเดียว ในขณะที่ปริมาณของยีสต์สำหรับการผลิตโดชนิดหวานมีหลายค่าเป็นช่วงกว้าง ทั้งนี้เนื่องจากความแตกต่างกันในส่วนประกอบของโดและวิธีการผลิตโด ดังจะเห็นได้จากตารางที่ 10

คุณสมบัติที่สำคัญของขนมปัง การผลิตขนมปังมีวิธีการผลิตแตกต่างกัน เพื่อให้ได้ขนมปังที่มีคุณสมบัติต่าง ๆ ตามต้องการ คุณสมบัติที่สำคัญของขนมปัง ได้แก่

การขึ้นฟู การขึ้นฟูของโดทำได้โดยใส่ยีสต์ แบคทีเรีย หรือผงฟูเข้าไปในแป้ง กล่าวคือ ถ้าเป็นขนมปังชนิดอบในกะทะก้นแบน (pan bread) จะทำให้โดขึ้นฟูโดยการใส่ยีสต์ ถ้าเป็นขนมปังชนิดขึ้นฟูโดยมีเกลืออยู่ด้วย (salt-rising bread) จะทำให้โดขึ้นฟูโดยการใส่แบคทีเรีย และถ้าเป็นขนมปังแบบไอริช (Irish soda bread) จะทำให้ขึ้นฟูโดยการใส่ผงฟู อย่างไรก็ตามขนมปังบางชนิดอาจไม่ต้องทำให้ขึ้นฟูเลยก็ได้ เช่น แชนพาทิ (chappatti) การขึ้นฟูของโดทำให้ขนมปังที่ได้มีรูหรือช่องไม่ตันแน่น ซึ่งก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ดันให้โดฟูนี้เป็นก๊าซที่ได้จากการหมักโดยใช้ยีสต์ (หรือบางครั้งใช้แบคทีเรียหรือผงฟู) โดยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดจะแพร่เข้าไปในช่องอากาศที่มีอยู่แล้วในโดที่เกิดในระหว่างการผสมคลุกเคล้าโดหรือเกิดจากอากาศที่ซึมเข้าไปในเนื้อแป้ง

การขึ้นฟูโดยใช้ยีสต์นั้นในกระบวนการหมักของยีสต์ในสภาพที่ไม่มีออกซิเจนจะได้ 2 โมลของเอทานอล และ 2 โมลของคาร์บอนไดออกไซด์ จากกลูโคส 1 โมล หรืออีกนัยหนึ่งว่าการย่อยกลูโคส 180 มิลลิกรัม (1 mMole) จะได้คาร์บอนไดออกไซด์ 88 มิลลิกรัม (2 mMole) ซึ่งจะกินที่ในปริมาตร 480 มิลลิลิตร แต่เมแทบอลิซึมของยีสต์ค่อนข้างช้าเมื่อเปรียบเทียบกับอัตราการเกิดทางเคมี นั่นคือโดที่ใส่ยีสต์ 3 % หลังจากหมักนาน 1 ชั่วโมง จะให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เพียงพอและได้ขนมปังที่มีปริมาตรเท่ากับ 7

ส่วนการขึ้นฟูโดยวิธีทางเคมี โดยการใส่ผงฟูที่เป็นส่วนผสมของโซเดียมไบคาร์บอเนตกับโซเดียมฟอสเฟตหรือโซเดียมไพโรฟอสเฟตนั้น โซเดียมไบคาร์บอเนต 336 มิลลิกรัม (2 mMole) จะให้คาร์บอนไดออกไซด์ 88 มิลลิกรัม (2 mMole) ซึ่งปฏิกิริยานี้จะเกิดทันที จึงมักชะลอปฏิกิริยาให้ช้าลงโดยการเคลือบผงฟูด้วยไขมัน

ตารางที่ 9
ปริมาณของยีสต์อัดก้อนที่ใช้ในโดชนิดต่าง ๆ

ชนิดของขนมอบ	ยีสต์ (%)
ขนมปัง	
สพันซ์โด	2.5
ขนมปังแบบต่อเนื่อง	2.5-3.5
ขนมปังพิเศษ (Specialty breads)	2.5-4.0
Whole wheat	2.75
ขนมปังที่มีเส้นใยสูง (High - fiber breads)	3-5
No - time doughs	3-4
No - time doughs	10
Sour rye bread	1.2
บันและโรลล์ (Buns and rolls)	
Hard rolls straight or sponge	2
Hamburger buns	4
อิงลิช มัฟฟิน (English muffins)	2-8
ขนมหวาน	
โดนัทที่ใช้ยีสต์ในการทำฟู	4-7
เดนิช, เค้กกาแฟ และอื่นๆ	5-10
Specialties	
Partially baked rolls and buns	2
Frozen, unbaked doughs	5-5.5
Pretzels	0.5
โซดาแครกเกอร์ (Soda crackers)	0.2
ขนมปังพื้นบ้าน	
ฮาบับ (Habab) (ซีเรีย)	1.5
Creola (คิวบา)	1.0
Barbery (ซีเรีย)	0.25

ที่มา : Reed (1982)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 10

ความแตกต่างของส่วนประกอบของโดที่ผลิตโดยวิธีสพันซ์โดและแบบหมักโดเหลว

ส่วนประกอบของโด	สพันซ์โด	แบบหมักโดเหลว		
แป้ง	50-100%	40-70%	15-40%	0-15%
น้ำตาลใน pre-ferment	ไม่ต้องการ	มากกว่า 0.5%	มากกว่า 2%	2-3%
อุณหภูมิ	23° - 27° ซ.	24°-27° ซ.	27°-30° ซ.	28°-31° ซ.
	74° - 80° ฟ.	76°-80° ฟ.	80°-86° ฟ.	82°-88° ฟ.
เวลาที่ใช้ในการหมัก	3-5 ชม.	2-3 ชม.	2 ชม. หรือ น้อยกว่า	2 ชม. หรือ น้อยกว่า
ยีสต์ (%)	2 1/2	เพิ่มขึ้นที่ละน้อยจนถึง 3.5%		
สารอาหารของยีสต์และ ออกซิเดชัน	15 พีพีเอ็ม	20-50 พีพีเอ็ม	25-60พีพีเอ็ม	35-75พีพีเอ็ม
บัฟเฟอร์, เอนไซม์, acidity additives, mix reducing agents	ไม่ต้องการ	เพิ่มขึ้นที่ละน้อยจนถึงระดับสูง		
Dough mixing time	ปกติ	+10%	+40%	+60%
อุณหภูมิของโด	ปกติ -27°ซ.(80°ฟ.)	เพิ่มขึ้นที่ละน้อยจนถึง 35°ซ.(95°ฟ.)		
Dough floor time	ปกติ - 20 นาที	ค่อย ๆ เพิ่มขึ้นตามเวลา		

ที่มา . Reed (1982)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อย่างไรก็ตาม การทำให้โดขึ้นฟูนิยมใช้ยีสต์มากกว่าใช้ผงฟูเพราะได้กลิ่นรสที่ดีกว่า อันเนื่องมาจากการทำปฏิกิริยาระหว่างผลิตภัณฑ์พลอยได้จากการหมักกับสารในโด แต่ประสิทธิภาพของการขึ้นฟูของยีสต์จะต่ำมากหากโดมีแรงดันออสโมซิสสูง เช่น กรณีโดมีน้ำตาลหรือเกลือมาก เหตุนี้โดที่ใช้ทำขนมปังพวกโรลล์ (roll) และบัน (bun) จึงนิยมทำให้ขึ้นฟูโดยใช้ยีสต์ ในขณะที่เค้กคุกกี้นขนมปังกรอบจะทำให้ฟูโดยใช้ผงฟู ส่วนโดนัท (doughnut) อาจจะทำให้ขึ้นฟูโดยใช้ยีสต์หรือใช้ผงฟูก็ได้ สำหรับเปลือกพิซซาหรือเค้กกาแฟจะทำให้ฟูโดยวิธีโดก็ได้ แต่แพนเค้กจะทำให้ฟูโดยใช้ผงฟู ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่ได้โดยทั่วไปแล้วจะนำเข้าอบในเตาอบ แต่ก็ไม่จำเป็นต้องอบเสมอไป เช่น ดัมพิ่งที่นิยมบริโภคในยุโรปกลางหรือซาลาเปาที่นิยมบริโภคของชาวจีนใช้วิธีนี้และอิงลิชมัฟฟินใช้วิธีนี้เป็นต้น แต่ถ้าหากโดบางแบนมาก การขึ้นฟูจะเกิดโดยอาศัยความร้อนจากไอในระหว่างการอบ ดังเช่น โซดาแครกเกอร์ (soda cracker) หรือ ขนมปังชนิดแบน (flat bread) ที่นิยมบริโภคกันของชาวตะวันออกกลาง

ส่วนผสม ส่วนผสมหลักของขนมปัง ได้แก่ แป้ง น้ำ ยีสต์ และเกลือ แต่ขนมปังบางชนิดจะใส่วัตถุดิบอื่นเข้าไปด้วย เช่น ไข่ นม ไขมัน และอื่นๆ

รูปร่างและขนาด ขนมปังมีรูปร่างและขนาดต่างๆ เช่น ขนมปังบางชนิดมีขนาดเล็กและบางแบนอบในกระทะกันแบน บางชนิดมีขนาดใหญ่และหนาอบในเตาผิง เป็นต้น

ปริมาณ ขนมปังมีปริมาณและความแน่นของเนื้อต่าง ๆ กัน ตั้งแต่ขนมปังที่มีปริมาณมากแต่มีความหนาแน่นน้อยที่นิยมผลิตและบริโภคในแถบอเมริกาเหนือ จนถึงขนมปังที่มีความหนาแน่นมากที่นิยมบริโภคในยุโรปกลาง

คุณสมบัติของเปลือกขนมปัง เป็นคุณสมบัติของเปลือกขนมปัง (crust) เกี่ยวกับความหนา ความกรอบ และสี ขนมปังบางชนิด เช่น เวียนนาโลฟ มีเปลือกบางกรอบ ในขณะที่ขนมปังเยอร์มันพัมเพอร์นิเกลมีเปลือกหนาและมีสีต่าง ๆ กันตั้งแต่สีอ่อนไปจนถึงสีเข้ม

คุณสมบัติของเนื้อในขนมปัง เป็นคุณสมบัติทางเนื้อสัมผัสและความสม่ำเสมอของเนื้อในของขนมปัง (crumb) เช่น ขนมปังทั่วไปที่นิยมบริโภคในประเทศสหรัฐอเมริกาเนื้อที่นุ่มละเอียดสม่ำเสมอ ในขณะที่เฟรนช์บาเก้ (French baguette) จะมีเนื้อแข็ง หยาบ ไม่สม่ำเสมอ ส่วนขนมปังที่นิยมบริโภคในประเทศแถบตะวันออกกลางมีเนื้อน้อยมากส่วนใหญ่เป็นเปลือก เนื่องจากใช้อุณหภูมิสูงในการอบขนมปัง

กรรมวิธีการผลิตขนมปัง

การผลิตขนมปังโดยเฉพาะขนมปังขาว ที่นิยมบริโภคมากที่สุดในประเทศสหรัฐอเมริกาและทั่วโลกนั้นทำได้หลายวิธี แต่วิธีที่นิยมกันมากได้แก่ การผลิตแบบสปันชโด (sponge dough) แบบสเตรตโด (straight dough) แบบต่อเนื่อง (continuous mix) หรือแบบหมักโดเหลว (liquid-ferment process) ซึ่งจะเลือกผลิตโดยใช้วิธีหนึ่งวิธีใดก็ได้ ดังนี้

1. แบบสปันชโด เป็นวิธีการผลิตขนมปังที่นิยมมากที่สุดในอุตสาหกรรม เนื่องจากเป็นวิธีที่สามารถทนสภาพของการผลิตได้ดีและได้ขนมปังที่มีกลิ่นรสดีที่สุด ตารางที่ 11 แสดงถึงสารให้กลิ่นรสที่พบในระหว่างการหมักหรืออบขนมปัง

วิธีนี้โดจะประกอบด้วยแป้ง (65 % ของแป้งทั้งหมด) กับปริมาณเล็กน้อยของส่วนผสมระหว่างยีสต์ อาหารยีสต์ และน้ำ ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน แล้วเทใส่ถังเพื่อหมักนานประมาณ 4.5 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เมื่อสิ้นสุดการหมัก ปริมาตรของสปันชโด (sponge dough) จะเพิ่มขึ้น 4-5 เท่า เนื่องจากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมัก จากนั้นสปันชโดจะถูกส่งไปเข้าเครื่องผสมโด เพื่อผสมกับแป้งและส่วนผสมอื่น ๆ ให้เข้ากันดี ซึ่งจะทำให้โดเปลี่ยนจากส่วนผสมที่เหนียวและเป็นโดที่เหนียวเนื้อแน่นละเอียดเงาวาว ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะที่เกิดเนื่องจากคุณสมบัติพิเศษเฉพาะของแป้งสาลีที่โปรตีนและไขมันเมื่อคลุกเคล้าผสมกันดีกับน้ำ จะเกิดเป็นกลูเทนอยู่ในโดซึ่งมีคุณสมบัติในการเกิดเป็นแผ่นฟิล์มบางเก็บกักก๊าซไว้และดันให้โดขึ้นฟู โดที่ได้นี้จะถูกเก็บไว้ในถังหรือห้อง นานประมาณ 20-30 นาที เพื่อให้โดพักตัว (proof) เพื่อเตรียมพร้อมที่จะเกิดปฏิกิริยาต่อไป แล้วจึงนำโดเข้าสู่เครื่องตัด เพื่อแบ่งโดให้เป็นก้อนเล็ก ๆ ส่งเข้าเครื่องทำให้กลม (rounder) เพื่อทำให้เป็นก้อนกลมที่มีผิวเรียบแห้ง ซึ่งจะช่วยให้สามารถเก็บกักก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ได้ดีขึ้นและไม่เหนียวจนทำให้ติดกันแน่น แล้วพักตัวอีกครั้ง นานประมาณ 8-12 นาที จึงนำเข้าแบบพิมพ์ (moulder) ซึ่งจะบีบรีดโดก้อนกลม ๆ ให้เป็นแผ่นบาง แล้วม้วนแผ่นที่ได้ให้เป็นทรงกระบอก นำเข้าไปหมักครั้งสุดท้ายในกล่องฟูฟ (proof box) นานประมาณ 1 ชั่วโมง โดยปรับให้มีอุณหภูมิ 35-43 องศาเซลเซียส และมีความชื้นสัมพัทธ์ 80-95% ขึ้นของโดก็จะขยายตัวจนได้ปริมาณตามต้องการ ได้เป็นฟูฟโลฟ (proof loaves) ที่พร้อมจะถูกนำเข้าอบในเตาอบ เมื่อถูกความร้อนคาร์บอนไดออกไซด์ที่อยู่ในโดจะขยายตัวดันให้ขนมปังพองตัวออกดังที่เรียกว่าโอเวนสปริง (oven spring) ความร้อนจากโอและโอจากแอลกอฮอล์ มีส่วนช่วยให้ขนมปังขยายตัวดีขึ้น ใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 11
สารให้กลิ่นรสที่พบในระหว่างการหมักหรืออบขนมปัง

กรดอินทรีย์	แอลกอฮอล์	อัลดีไฮด์ และ คีโตน	สารประกอบคาร์บอนิล
บิวทิริก	เอทานอล	อะซีตัลดีไฮด์	เฟอพิวรอล
ซักซินิก	เอีน - โพรพานอล	ฟอร์มาลดีไฮด์	เมทไทโอนอล
โพรไพโอนิก	ไอโซบิวทานอล	ไอโซวาเลอรัลดีไฮด์	ไกลโคซอล
เอีน - บิวทิริก	เอมีลแอลกอฮอล์	เอีน - วาเลอรัลดีไฮด์	3 - เมทิลบิวทานอล
ไอโซบิวทิริก	ไอโซเอมีลแอลกอฮอล์	2 - เมทิลบิวทานอล	2 - เมทิลบิวทานอล
ไอโซวาเลอริก	2,3 - บิวทานีไดออล	เอีน - เฮกซัลดีไฮด์	ไฮดรอกซีเมทิลเฟอพิวรอล
เฮพทาโนอิก	β - ฟีนิลอีทิลแอลกอฮอล์	อะซีโตน	
ฟีลาโกนิก		โพรไพโอนัลดีไฮด์	
ไพรูวิก		ไอโซบิวทิลรัลดีไฮด์	
ปาล์มิติก		เมทิล เอทิล คีโตน	
โครโทนิก		2 - บิวทานอน	
อิทาโคนิก		ไดอะซีทิล	
ลิวลินิก		อะซีโทอิน	
แอสติก			
แลกติก			
ฟอร์มิก			
วาเลอริก			
คาโพรอิก			
คาโพรลิก			
ไอโซคาโพรอิก			
คาพริก			
ลอริก			
ไมริสติก			
ไฮโดรซินนามิก			
เบนไซลิก			

ที่มา : Magoffin และ Hosney (1974)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระหว่างนี้เอนไซม์ต่าง ๆ ยังคงทำงานอยู่จนอุณหภูมิถึง 75 องศาเซลเซียส ซึ่งแป้งจะเจลาทิไนซ์ (gelatinize) และรูปร่างของโดจะอยู่ตัว ในเวลาต่อมาเมื่ออุณหภูมิที่ผิวหน้าของขนมปังสูงถึง 130-140 องศาเซลเซียส น้ำตาลจะทำปฏิกิริยาทางเคมีกับโปรตีนชนิดละลายน้ำได้ ทำให้เกิดสีของเปลือกขนมปังที่น่ารับประทาน ในที่สุดขนมปังจะถูกทำให้เย็นแล้วนำไปเข้าเครื่องตัดเป็นแผ่นบางในกรณีผลิตขนมปังแบบแผ่นบาง (sliced bread) แล้วจึงบรรจุหีบห่อเพื่อจำหน่ายต่อไป

2. แบบสเตรตโด เป็นวิธีการผลิตขนมปังที่คล้ายแบบสพันซ์โด ทำโดยผสมส่วนผสมของสเตรตโด (ดังแสดงในตารางที่ 12) ให้เข้ากันดีแล้วปล่อยให้เกิดการหมักนานประมาณ 2-4 ชั่วโมง โดยขั้นตอนอื่น ๆ นั้นเหมือนกับแบบสพันซ์โดทุกประการ ดังนั้นจะเห็นว่าวิธีแบบสเตรตโดนี้ ใช้แรงงาน เวลาและเครื่องมือน้อยกว่าแบบสพันซ์โด แต่มีข้อเสียที่การผลิตแบบสเตรตโดมีความทนต่อสภาพการผลิตได้น้อยกว่าแบบสพันซ์โด นอกจากนี้ขนมปังที่ได้ยังมีรสขี้ดกว่าแบบสพันซ์โด จึงไม่เป็นที่นิยมผลิตในระดับอุตสาหกรรม มีใช้บ้างก็เพียงโรงงานผลิตขนมปังขนาดเล็ก หรือเมื่อโรงงานผลิตขนมปังขนาดใหญ่จะผลิตขนมปังชนิดพิเศษเท่านั้น

3. แบบต่อเนื่อง เป็นวิธีผลิตขนมปังแบบต่อเนื่องเพื่อลดต้นทุนการผลิตและเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตให้สูงขึ้นและสม่ำเสมอ โดยประยุกต์เอากระบวนการผลิตแบบต่อเนื่องมาใช้ เช่น วิธีของ Do-Maker หรือ วิธีของ Amflow (ตารางที่ 13) ซึ่งเป็นการผลิตขนมปังแบบต่อเนื่องที่นิยมใช้ในประเทศสหรัฐอเมริกา ซึ่งมีหลักการที่สำคัญคล้ายวิธีของ Do-Maker

ในขั้นแรกจะเริ่มการหมักแป้งในถังหมักนานประมาณ 1 ชั่วโมง ต่อมาในขั้นที่สองจะเติมน้ำเกลือ และน้ำตาลเข้าไปในแป้ง แล้วทำการหมักต่ออีก 2.5 ชั่วโมง เมื่อการหมักสิ้นสุดลง บั้มส่วนผสมที่ได้เข้าสู่ถังผสมแล้วทำให้เย็น แป้งที่เหลือ น้ำ น้ำตาล ไขมัน ตัวออกซิไดส์ หรือส่วนผสมอื่นๆ ก็จะถูกส่งเข้าสู่ถังผสมเช่นกันเพื่อคลุกเคล้าให้เข้ากันดี แล้วบั้มเข้าถังเตรียมโด (developing chamber) ซึ่งแป้งจะถูกนวดเคล้าอย่างแรงจนได้เป็นโดที่จะถูกนำมาอัด (extruded) และตัดออกเป็นโดชิ้นเล็กๆ ใส่ลงในกะทะกันแบนแล้วปล่อยให้พักไว้ในพรูฟเฟอร์ (proofer) แล้วจึงนำไปอบโดยวิธีเดียวกับสพันซ์โดจะได้ขนมปังแบบต่อเนื่อง (continuous mix bread) ซึ่งจะนุ่มกว่าขนมปังแบบสพันซ์โด (sponge dough bread) มีเนื้อละเอียดแต่เปราะกว่าและมีกลิ่นรสไม่ดีเท่าสพันซ์โด ด้วยเหตุนี้ขนมปังแบบต่อเนื่องจึงไม่เป็นที่นิยมกันในหลายท้องถิ่น

ตารางที่ 12

ส่วนผสมของขนมปังขาวที่ผลิตโดยวิธีสฟั่นชโโดและสเตรตโด

ส่วนผสม	สฟั่นชโโด		สเตรตโด
	สฟั่นช	โด	
แป้ง	65.0	35.0	100
น้ำ (เปลี่ยนแปลงได้)	40.0	25.0	65
ยีสต์	2.5	-	3.0
อาหารยีสต์ (Yeast food)	0.2-0.5	-	0.2-0.5
เกลือ	-	2.25	2.25
น้ำตาล (Sweetener)	-	8-10	8-10
ไขมัน	-	3.0	3.0
ผลิตภัณฑ์นม	-	0.5-3.0	0.5-3.0
Crumb softener	-	0.2-0.5	0.2-0.5
สารยับยั้งราและRope	-	0.125	0.125
Dough improver	-	0-0.5	0-0.5
สารปรุงแต่ง	-	ต้องการ	ต้องการ

ที่มา : Reed (1982)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 13
สูตรการทำขนมปังแบบต่อเนื่องโดยวิธีของ Amflow

สูตร	ส่วนผสม	ขั้นแรก	ขั้นที่สอง	Dough Stage
100.0	แป้ง	30	-	70
67.0	น้ำ	56	4.0	7.0
3.0	ยีสต์	3.0	-	-
0.5	อาหารยีสต์ (Yeast food)	0.5	-	-
2.0	เกลือ	-	2.0	-
6.0	น้ำตาล	-	1.0	5.0
3.0	นม	-	-	3.0
0.1	MCP	0.1	-	-
0.1	สารยับยั้งรา	-	-	0.1
3.0	Shortening Oxidation/variable	-	-	3.0

ที่มา . Reed (1982)

4. แบบหมักโดเหลว เป็นวิธีผลิตขนมปังที่เป็นกรรมวิธีหมักของเหลวหรือกึ่งของเหลวที่รู้จักกันมานาน แต่ในระยะหลังได้มีการประยุกต์ใช้เครื่องมือและบีมช่วยในการผสมส่วนผสมต่าง ๆ และในการทำโดในถังหมักดังแสดงในตารางที่ 14

วิธีการผลิตขนมปังแบบหมักโดเหลวนี้นี้ของเหลวที่ใช้หมักซึ่งเป็นส่วนผสมต่าง ๆ (ตารางที่ 14) จะถูกเตรียมไว้เพื่อรอการหมัก วิธีการหมักก็เหมือนกับวิธีการผลิตแบบต่อเนื่อง เมื่อการหมักเสร็จสมบูรณ์ส่วนผสมที่หมักแล้วและส่วนผสมที่เหลือจะถูกบีมเข้าสู่เครื่องผสมโด (แบบเดียวกันกับที่ใช้ในการทำสฟัซโด) เกิดการคลุกเคล้าจนได้โดที่จะถูกอัดและตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ ใส่ลงในกะทะกันแบน นำมาอบจนได้ขนมปัง โดยขั้นตอนการผลิตอื่น ๆ เหมือนวิธีของสฟัซโดทุกประการ อย่างไรก็ตามการผลิขนมปังแบบหมักโดเหลวดีกว่าสฟัซโดตรงที่ใช้เนื้อที่และแรงงานน้อยกว่าและมีวิธีการผลิตที่ถูกต้องเหมาะสมและสามารถดัดแปลงให้เหมาะสมกับสภาวะต่าง ๆ ได้

การใช้ยีสต์ขนมปังในประเทศไทย

จากการศึกษาถึงปริมาณการนำเข้ายีสต์ขนมปังในปี พ.ศ. 2524 พบว่า มีการนำเข้าของยีสต์ในปริมาณ 304,188 กิโลกรัม คิดเป็นมูลค่า 17,340,849 บาท ในขณะที่ปริมาณการส่งออกมีเพียง 1,293 กิโลกรัม หรือ คิดเป็นมูลค่า 15,013 บาท (ดุชนี ธนะบริพัฒน์, 2534) ยีสต์ขนมปังที่ส่งเข้ามาจำหน่ายในประเทศไทยในปัจจุบันประมาณเดือนละ 34 ตันซึ่งส่วนใหญ่เป็นชนิดยีสต์ผง (instant yeast) มีอยู่ด้วยกัน 4 ยี่ห้อ คือ

1. Fermipan ผลิตโดย Gist - brocades ประเทศเนเธอร์แลนด์ ซึ่งบริษัทนี้เป็นบริษัทผลิตยีสต์ขนมปังที่มีส่วนในการขาย 30% ทั่วโลก นอกจากนี้บริษัทนี้ยังศึกษาถึงการผลิตเอนไซม์เพื่อย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตด้วย (Keuning และ Korver, 1987)

2. Saf - instant ผลิตโดย S.I. La Saffre ประเทศฝรั่งเศส

3. Florylin ผลิตจากประเทศเยอรมัน

4. Bruggeman ผลิตโดย N.V. Gist - en Spiritus Fabrieken Bruggeman ประเทศเบลเยียม นอกจากนี้ยังมีการส่งเข้ายีสต์เม็ดเพื่อใช้ในการทำขนมปังกรอบที่เรียกว่า บิสกิต (biscuit) ซึ่งมีปริมาณการนำเข้าประมาณ 5% ยีสต์เม็ดที่ส่งเข้ามา ได้แก่ Pinnasal จากประเทศมาเลเซีย และ Fleischmann จากประเทศสหรัฐอเมริกา

ตารางที่ 14
สูตรการทำขนมปังแบบหมักโคเหลวที่ใช้แป้งหมัก

ส่วนผสม	สูตร	สูตร Liquid Sponge	Materials Added at Mix
แป้ง	100	50.02	49.98
น้ำ	66	55.77	10.23
ยีสต์	3	3	-
อาหารยีสต์ (Yeast food)	0.625	0.625	-
เกลือ	2.25	0.5	1.75
น้ำตาล	8	1.5	6.5
นม	3	-	-
สารยับยั้งรา	0.125	0.125	-
ไขมัน	3	-	3
Emulsifier	0.5	-	0.5
รวม	186.500	111.540	74.960

ที่มา : Reed (1982)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การใช้ยีสต์สดในประเทศไทยไม่เป็นที่นิยมนัก เนื่องจากยีสต์สดมีอายุสั้น และต้องเก็บรักษาไว้ในตู้เย็น ไม่สะดวกในการทำขนมปัง โดยเฉพาะในกรณีของร้านทำขนมปังขนาดเล็กที่อยู่ห่างไกลตัวเมือง ในประเทศไทยมีโรงงานผลิตยีสต์สด 2 แห่ง แห่งแรกอยู่ที่อำเภอมินบุรี จ. กรุงเทพฯ ซึ่งเริ่มดำเนินกิจการผลิตยีสต์ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2525 จนถึงปัจจุบัน แห่งที่สอง คือโรงงานไทยเมจิ ตั้งอยู่ที่นิคมอุตสาหกรรมลาดกระบัง จ. กรุงเทพฯ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

ขั้นตอนการดำเนินการทดลอง

วัสดุอุปกรณ์

1. แหล่งของยีสต์

1.1 *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5013 จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

1.2 ยีสต์ที่ใช้ทางการค้า “Fermipan”

2. อาหารเลี้ยงเชื้อ

2.1 Malt extract yeast extract medium (MY medium)

2.2 MY สูตรดัดแปลง

3. สารเคมี

3.1 ยูเรีย

3.2 โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)

3.3 สารเคมีที่ใช้ในการหาปริมาณโปรตีนโดยวิธี Folin-Lowry

3.4 สารเคมีที่ใช้ในการหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธีของ Somogyi-Nelson

3.5 สารเคมีที่ใช้ในการหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดโดยวิธี Phenol-sulphuric

3.6 แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (NH_4OH)

3.7 กรดไฮโดรคลอริก (HCl)

4. อุปกรณ์

4.1 เครื่องแก้วต่าง ๆ

4.2 หม้อนึ่งความดัน (autoclave)

4.3 เครื่องเขย่า (shaker)

4.4 เครื่องวัดพีเอช (pH meter)

4.5 เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge)

4.6 สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) รุ่น UNICAM 8620 บริษัท PHILIPS

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.7 ถังหมัก (fermentor) รุ่น BIOFLO MODEL C30 บริษัท NEW BRUNSWICK SCIENTIFIC

4.8 กล้องจุลทรรศน์ (compound microscope)

4.9 อุปกรณ์ในการทำขนมปัง

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 การเตรียมเชื้อยีสต์

นำเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5013 ที่อยู่ในสภาพ lyophilize ในหลอดแก้ว มาเลี้ยงใน MY broth และ MY agar เป็นเวลา 3 วัน ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำเซลล์ยีสต์มาศึกษารูปร่างและลักษณะต่าง ๆ แล้วเก็บไว้เป็น stock culture เพื่อศึกษาต่อไป

3.2 การศึกษาอัตราการเจริญของยีสต์ในอาหาร MY สูตรดัดแปลง

3.2.1 เปรียบเทียบอัตราการเจริญของยีสต์ในอาหาร MY สูตรดัดแปลงแหล่งธาตุคาร์บอน

3.2.1.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

3.2.1.1.1 สูตรอาหาร MY broth ประกอบด้วย yeast extract 0.3%, malt extract 0.3%, เปปไทน์ 0.5%, กลูโคส 1% และปรับพีเอช 4.5

3.2.1.1.2 สูตรอาหาร MY สูตรดัดแปลง จะใช้แบ่งมันสำปะหลังแทน malt extract และกลูโคสเพื่อเป็นแหล่งธาตุคาร์บอน โดยมีสูตรดังนี้ แบ่งมันสำปะหลังที่ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0%, yeast extract 0.3%, เปปไทน์ 0.5% และปรับพีเอช 4.5

3.2.1.2 การศึกษาอัตราการเจริญของยีสต์

บรรจุอาหาร MY broth และ MY สูตรดัดแปลงลงในพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาณพลาสติกละ 100 มิลลิลิตร แล้วใส่กล้ายีสต์จากเชื้อบริสุทธิ์ที่เตรียมไว้ในข้อ 3.1 ลงไป 2 % นำไปเข้าเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง วัดอัตราการเจริญของเชื้อ โดยวัดความขุ่น (optical density : O.D.) ที่ 660 นาโนเมตร ทุก 2 ชั่วโมง จนถึงระยะที่เซลล์เจริญสูงสุด เปรียบเทียบการเจริญของเชื้อในสูตรอาหาร MY broth และ MY สูตรดัดแปลง

3.2.2 การหาปริมาณที่เหมาะสมของ yeast extract ที่เติมในอาหาร MY สูตรดัดแปลง เตรียมอาหาร MY สูตรดัดแปลง โดยใช้ความเข้มข้นของแป้งมันสำปะหลังที่เหมาะสม จากข้อ 3.2.1 และเปลี่ยนแปลงปริมาณ yeast extract ให้มีความเข้มข้น 0.1,0.3,0.5 และ 0.7% และปรับพีเอช 4.5 จากนั้นทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 3.2.1.2

3.2.3 เปรียบเทียบอัตราการเจริญของยีสต์ในอาหาร MY สูตรดัดแปลงแหล่งธาตุ ไนโตรเจน

สูตรอาหาร MY สูตรดัดแปลงแหล่งธาตุไนโตรเจนนั้น จะใช้ยูเรียแทนเปปไทด์ดังนี้ แป้งมันสำปะหลังที่เหมาะสม จากข้อ 3.2.1 yeast extract ที่เหมาะสมจากข้อ 3.2.2 ยูเรียที่ความเข้มข้น 0.3,0.5,0.7,1.0 และ 1.5 % และปรับพีเอช 4.5 จากนั้นทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 3.2.1.2

3.2.4 การศึกษาปริมาณโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตต่อการเจริญของยีสต์ในอาหาร MY สูตรดัดแปลง

เตรียมอาหารโดยใช้แป้งมันสำปะหลังที่เหมาะสมจากข้อ 3.2.1 yeast extract ที่เหมาะสมจากข้อ 3.2.2 ยูเรียที่เหมาะสมจากข้อ 3.2.3 KH_2PO_4 ที่ความเข้มข้น 0.1,0.3,0.5,0.7 และ 1.0% และปรับพีเอช 4.5 จากนั้นทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 3.2.1.2

3.2.5 การศึกษาปริมาณกากน้ำตาลต่อการเจริญของยีสต์ในอาหาร MY สูตรดัดแปลง

สูตรอาหาร MY สูตรดัดแปลง จะใช้กากน้ำตาลเป็นอาหารเสริม โดยมีสูตรดังนี้ แป้งมันสำปะหลังที่เหมาะสมจากข้อ 3.2.1 yeast extract ที่เหมาะสมจากข้อ 3.2.2 ยูเรียที่เหมาะสมจากข้อ 3.2.3 KH_2PO_4 ที่เหมาะสมจากข้อ 3.2.4 กากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 0.1,0.3,0.5,0.7 และ 1.0 % และปรับพีเอช 4.5 จากนั้นทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 3.2.1.2

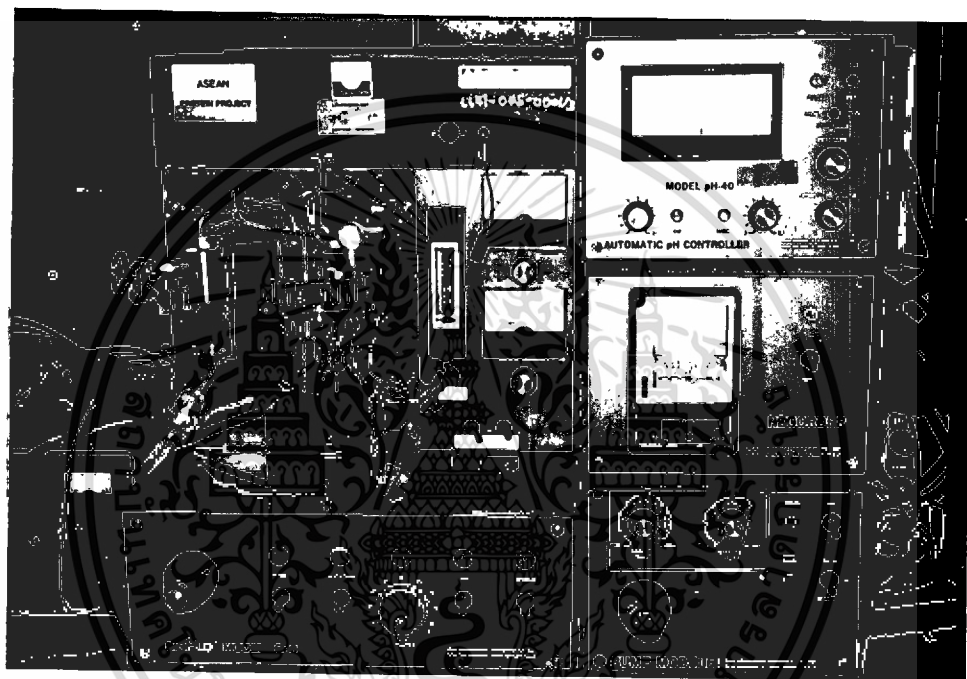
3.3 การเปรียบเทียบปริมาณเซลล์และผลผลิตต่างๆของยีสต์ในอาหาร MY broth และ MY สูตรดัดแปลง

3.3.1 การวิเคราะห์หาค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) (ภาคผนวก ข.)

3.3.2 การวิเคราะห์หาน้ำหนักแห้งของเซลล์

บรรจุอาหาร MY broth และ MY สูตรดัดแปลงที่เหมาะสมที่สุดที่ได้จากการทดลองลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาณฟลาสก์ละ 100 มิลลิลิตร แล้วใส่กล้ายีสต์จากเชื้อบริสุทธิ์ที่เตรียมไว้ลงไป 2 % นำไปเข้าเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง จนถึงระยะที่เซลล์เจริญสูงสุด แล้วทำการเก็บเกี่ยวเซลล์โดยการนำไปปั่นที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่นประมาณ 3 ครั้ง จากนั้นนำไป

ภาพที่ 1



การเพิ่มปริมาณเซลล์ในถังหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 2



ส่วนผสมในการทำขนมปัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.2 วิธีทำ

ผสมแป้งขนมปังตราหงส์ขาว นมผงขาดมันเนย และยีสต์แห้งเข้าด้วยกันในอ่างผสม ละลายน้ำตาลทราย เกลือ และโซเดียมในน้ำ แล้วเติมลงไปในส่วนผสมของแป้ง นวดพอเข้ากันแล้วเติมเนยสด จากนั้นนวดต่อจนกระทั่งแป้งเนียนดี หมักไว้ประมาณ 1 1/2 ชั่วโมง หรือจนกระทั่งแป้งขึ้นเป็น 2 เท่า ของของเดิม

แบ่งแป้งเป็นก้อน ๆ ปั้นเป็นก้อนกลม แล้วพักไว้ประมาณ 10 นาที ใช้มือคลึงให้กลม แล้ววางบนถาดที่ทำเนยขาวให้มีระยะห่างพอที่จะไม่ติดกันเมื่อนำไปอบ พักทิ้งไว้ประมาณ 1 ชั่วโมง หรือจนกระทั่งก้อนแป้งขยายใหญ่เป็น 2 เท่าของของเดิม ทาผิวด้วยไข่ นำไปอบที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส ประมาณ 20 นาที หรือจนมีสีเหลืองทอง

ขนมปังที่ได้นำมาทดสอบการยอมรับโดยใช้คะแนนความชอบทางด้านสี กลิ่น รส และลักษณะเนื้อทางประสาทสัมผัส โดยใช้ผู้ชิม 20 คน และนำมาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยวิธีการทดสอบของวิลคอกสันสำหรับข้อมูลที่เป็นคู่ (The Wilcoxon Matched Pairs Signed Ranks Test) (Daniel, 1990)

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 ผลการเตรียมเชื้อยีสต์

เมื่อนำยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5013 มาเลี้ยงใน MY broth เป็นเวลา 3 วัน ที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำมาดูลักษณะดังต่อไปนี้

- รูปร่าง จากการดูด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า พบว่าลักษณะเซลล์คล้ายรูปไข่กระจายอยู่ทั่วไป
- การแตกหน่อ จากการดูด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1,000 เท่า พบว่ามีการแตกหน่อต่อกันเป็น 2 เซลล์

เมื่อนำยีสต์มาเลี้ยงใน MY agar เป็นเวลา 3 วัน ที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำมาดูลักษณะต่อไปนี้ (ดังภาพที่ 3)

- | | |
|--------------------------|-------------------------|
| - สีของโคโลนี | มีสีครีม |
| - ผิวหน้าของโคโลนี | ค่อนข้างเรียบ |
| - ความเลื่อมมันของโคโลนี | มีความเลื่อมมันเล็กน้อย |
| - รูปร่างของโคโลนี | กลม ขอบเรียบ |
| - ลักษณะรูปร่างด้านตัด | แบน |

4.2 ผลการศึกษาอัตราการเจริญของยีสต์ในอาหาร MY สูตรดัดแปลง

4.2.1 ผลการเปรียบเทียบอัตราการเจริญของยีสต์ในอาหาร MY สูตรดัดแปลงแหล่งธาตุคาร์บอน

อาหาร MY สูตรดัดแปลงแหล่งธาตุคาร์บอน จะใช้แป้งมันสำปะหลังที่ความเข้มข้นต่าง ๆ แทน malt extract และ กลูโคส เนื่องจากยีสต์สามารถใช้น้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานได้ ยกเว้นน้ำตาลอัลลูลูส ดังนั้นเมื่อแป้งมันสำปะหลังถูกย่อยในสภาวะที่เป็นกรดจะเปลี่ยนเป็นน้ำตาล ซึ่งยีสต์จะใช้น้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญได้ (Reed,1982)

จากการทดลองพบว่า อัตราการเจริญของยีสต์ในอาหาร MY สูตรดัดแปลงแหล่งธาตุคาร์บอน ที่ใช้แป้งมันสำปะหลังที่ความเข้มข้น 0.5 % เหมาะสมที่สุด (ดังภาพที่ 4) เพราะมีอัตรา

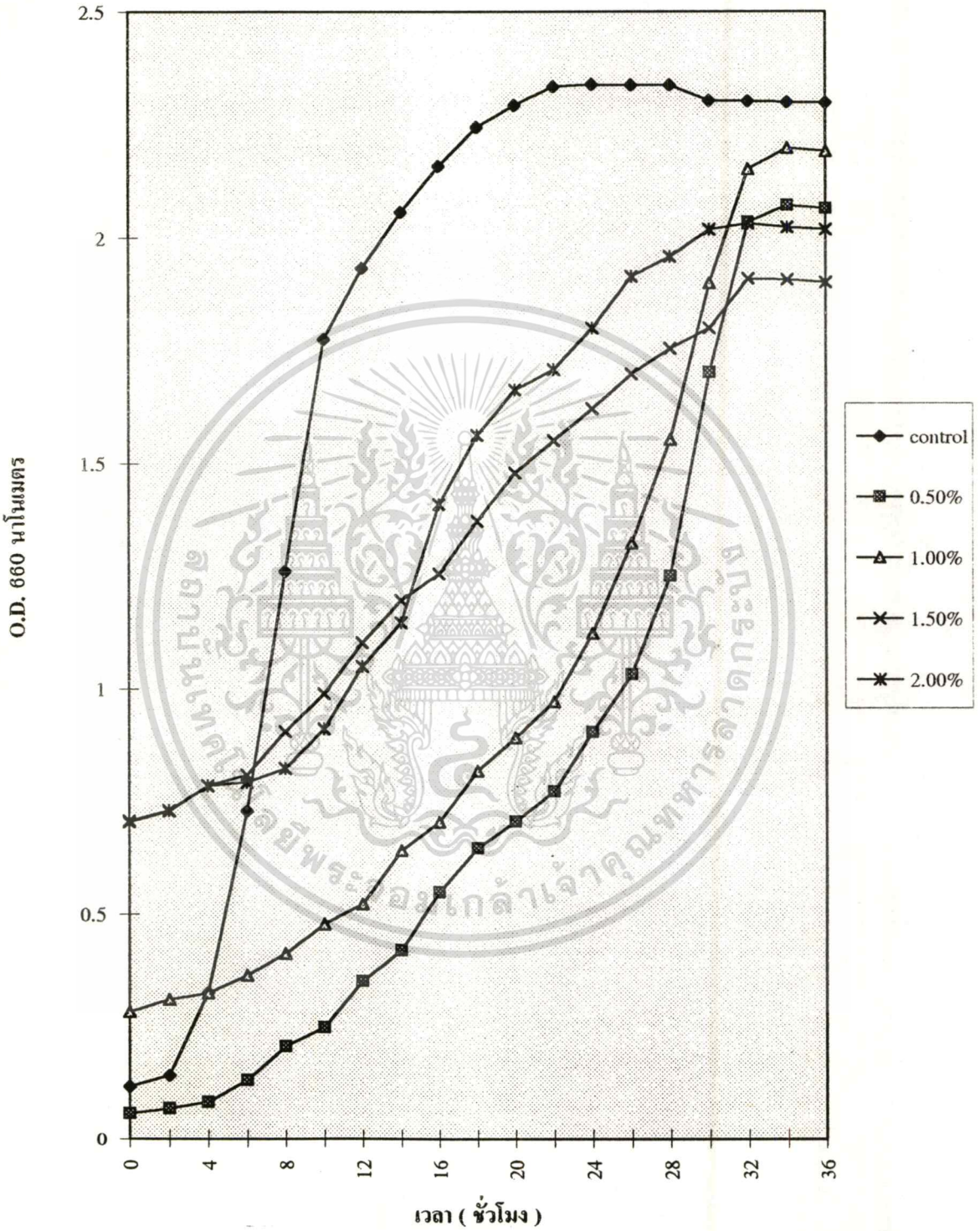
ภาพที่ 3



ลักษณะโคโลนีของยีสต์ในอาหาร MY agar

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4



อัตราการเจริญของยีสต์ในอาหาร MY สูตรดัดแปลงโดยใช้
 แป้งมันสำปะหลังที่ความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเจริญได้สูงสุด และเมื่อนำมาวิเคราะห์จะได้ค่า $\mu_{max} = 0.0879$ ต่อชั่วโมง และที่ระดับความเข้มข้นนี้ได้สารละลายที่เป็นเนื้อเดียวกัน ไม่มีการตกตะกอนของแป้ง ส่วนที่ระดับความเข้มข้นมากกว่า 0.5% แป้งละลายไม่หมดเกิดการตกตะกอนของแป้งซึ่งยีสต์ไม่สามารถนำไปใช้ในการเจริญได้ และได้มีรายงานการทดลองว่าถ้าเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลมากกว่า 1% จะทำให้ปริมาณยีสต์ที่ได้ลดลง (Harris และคณะ, 1948) และถ้าให้ปริมาณกลูโคสแก่ยีสต์ตั้งแต่ 5% ขึ้นไป จะมีผลทำให้ยีสต์หยุดสร้างเอนไซม์ในระบบหายใจในสภาวะที่มีออกซิเจน และทำให้ยีสต์เปลี่ยนระบบการสร้างพลังงานไปอยู่ในสภาวะที่ไม่ใช้ออกซิเจน ทำให้อัตราการเจริญลดลง (Rose และ Harrison, 1971) ดังนั้นจึงเลือกความเข้มข้นที่ระดับ 0.5% สำหรับการทดลองครั้งต่อไป

4.2.2 ผลการหาปริมาณที่เหมาะสมของ yeast extract ที่เติมในอาหาร MY สูตรดัดแปลง

จากการทดลองเติม yeast extract ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าการเจริญของยีสต์จะแปรผันโดยตรงกับปริมาณ yeast extract ที่เติมลงไป จนถึงที่ระดับความเข้มข้นของ yeast extract 0.5% (ดังภาพที่ 5) มีค่า $\mu_{max} = 0.1153$ ต่อชั่วโมง หลังจากนั้นก็ไม่เพิ่มขึ้นอีก ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่า ถ้ามีสารอาหารใน yeast extract บางส่วนที่เหลือก็จะถูกกลไกของเซลล์ยีสต์ขับออกสู่ภายนอกในที่สุด ดังนั้นจึงเลือกความเข้มข้นที่ระดับ 0.5% สำหรับการทดลองครั้งต่อไป

4.2.3 ผลการเปรียบเทียบอัตราการเจริญของยีสต์ในอาหาร MY สูตรดัดแปลงแหล่งธาตุไนโตรเจน

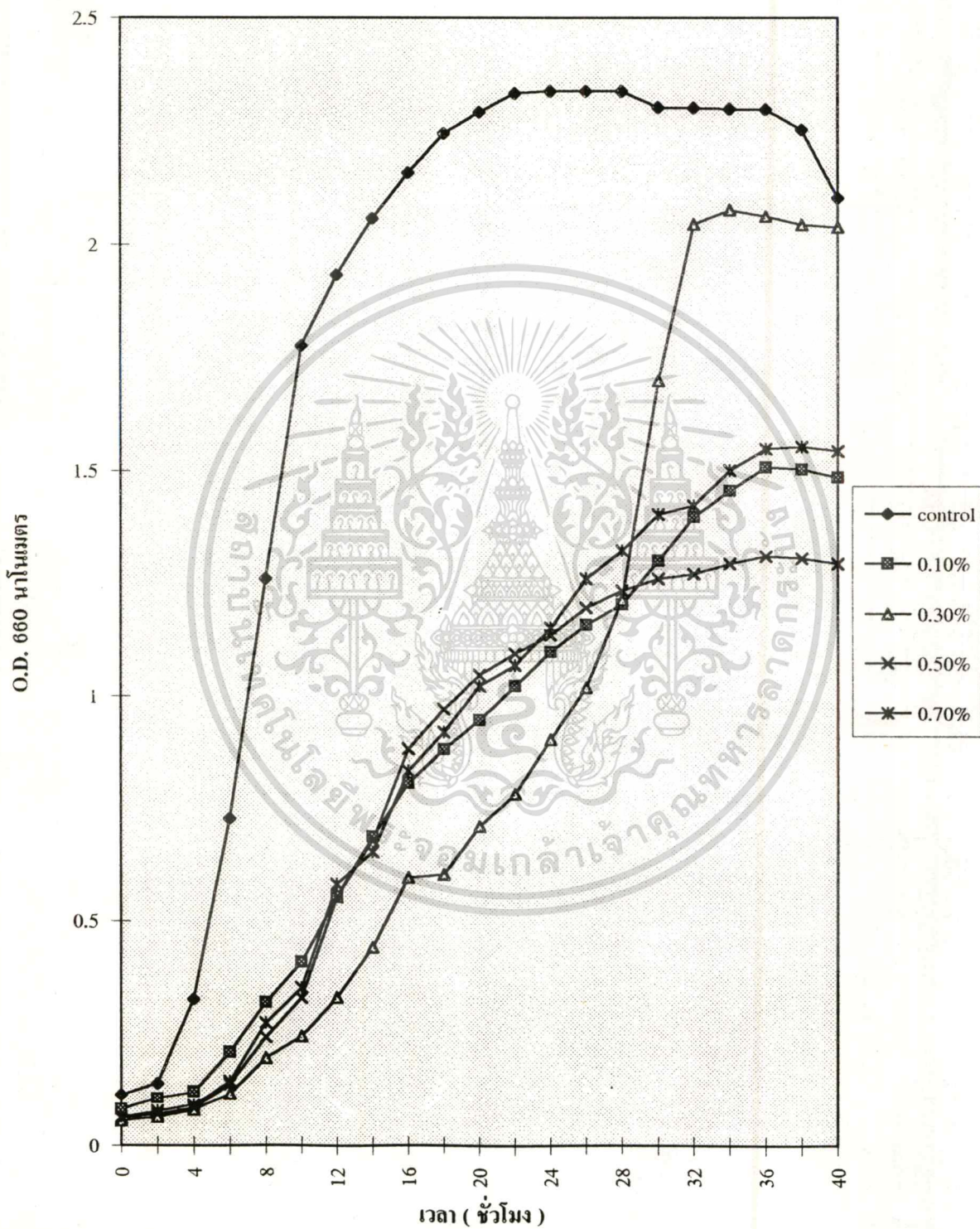
อาหาร MY สูตรดัดแปลงแหล่งธาตุไนโตรเจน จะใช้ยูเรียที่ความเข้มข้นต่าง ๆ แทนเปปไทน์ เนื่องจากยีสต์ส่วนใหญ่จะใช้เกลือแอมโมเนียมได้ดีโดยเฉพาะแอมโมเนียมซัลเฟต หรืออาจเติมในรูปยูเรียหรือแอมโมเนีย (Rose และ Harrison, 1971)

จากการทดลองพบว่า อัตราการเจริญของยีสต์ในอาหาร MY สูตรดัดแปลงแหล่งธาตุไนโตรเจนที่ใช้ยูเรียที่ความเข้มข้น 0.3% เหมาะสมที่สุด (ดังภาพที่ 6) เพราะมีอัตราการเจริญได้สูงสุด มีค่า $\mu_{max} = 0.1455$ ต่อชั่วโมง ดังนั้นจึงเลือกความเข้มข้นที่ระดับนี้ สำหรับการทดลองครั้งต่อไป

4.2.4 ผลการศึกษาปริมาณโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตต่อการเจริญของยีสต์ในอาหาร MY สูตรดัดแปลง

จากการทดลองโดยใช้ KH_2PO_4 เป็นแหล่งของฟอสฟอรัส เนื่องจากยีสต์ขมมั่งส่วนเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไมออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ใหญ่จะใช้ฟอสฟอรัสในรูปของ KH_2PO_4 (Reed และ Pepler, 1973) และพบว่าปริมาณไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 5

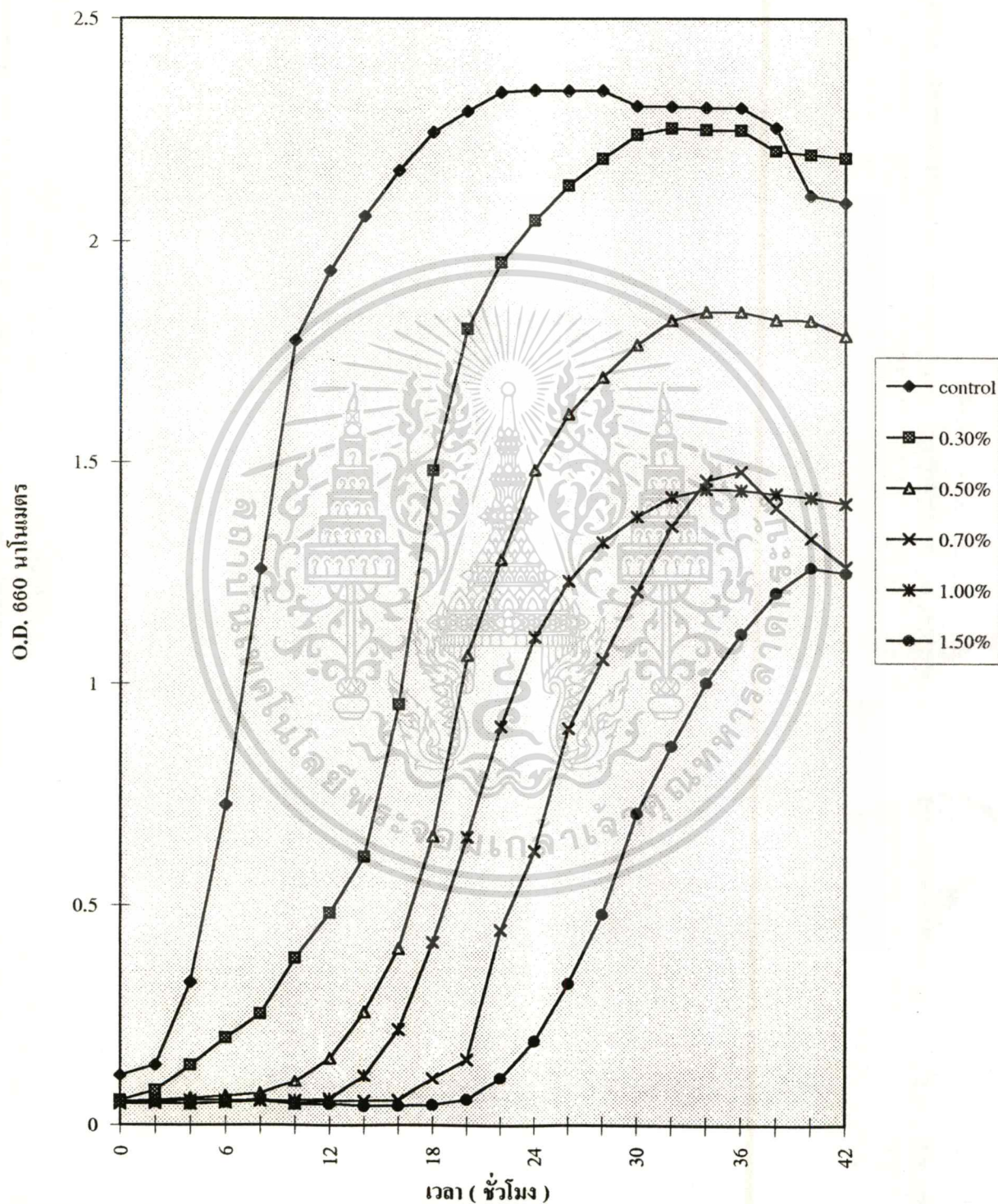


อัตราการเจริญของยีสต์ในอาหาร MY สูตรดัดแปลงโดยใช้

yeast extract ที่ความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้ในเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 6



อัตราการเจริญของยีสต์ในอาหาร MY สูตรดัดแปลงโดยใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้ ยูเรียที่ความเข้มข้นต่างๆ ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ฟอสฟอรัสที่เหมาะสม คือ 0.3% (ดังภาพที่ 7) มีค่า $\mu_{max} = 0.4620$ ต่อชั่วโมง ดังนั้นจึงเลือกความเข้มข้นที่ระดับนี้สำหรับการทดลองครั้งต่อไป

4.2.5 ผลการศึกษาปริมาณกากน้ำตาลต่อการเจริญของยีสต์ในอาหาร MY สูตรดัดแปลง

จากการทดลองจะใช้กากน้ำตาลเป็นอาหารเสริมของแหล่งธาตุคาร์บอน เพราะกากน้ำตาลเป็นแหล่งอาหารที่ดีสำหรับยีสต์ แต่ถ้าเติมลงไปมากก็จะเกิดผลเสียได้ เนื่องจากในกากน้ำตาลมีสารที่สามารถยับยั้งการเจริญของยีสต์ปะปนมา เช่น ซัลเฟอร์ไดออกไซด์, ไฮดรอกซีเมทิลเฟอิวรอล, กรดไขมัน เป็นต้น (Rose และ Harrison, 1970) และพบว่าปริมาณกากน้ำตาลที่เหมาะสมคือ 0.5% (ดังภาพที่ 8) มีค่า $\mu_{max} = 0.1749$ ต่อชั่วโมง

4.3 ผลการเปรียบเทียบปริมาณเซลล์และผลผลิตต่างๆของยีสต์ในอาหาร MY broth และ MY สูตรดัดแปลง

จากผลการทดลองต่าง ๆ ที่ได้ตามข้างต้นจะได้สูตรอาหาร MY สูตรดัดแปลงที่เหมาะสมที่สุดที่ให้ปริมาณเซลล์ยีสต์สูงสุด คือ

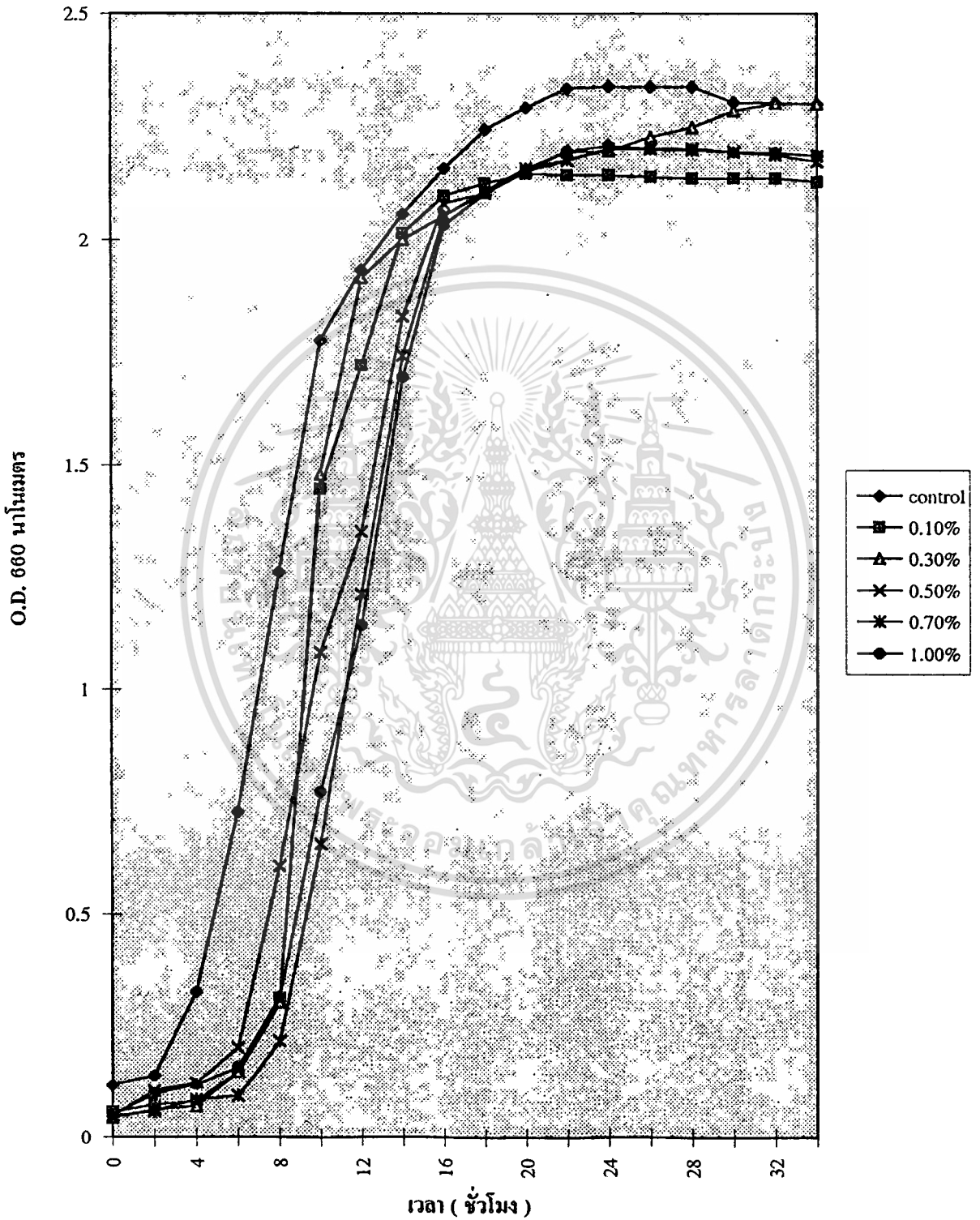
แป้งมันสำปะหลัง	0.5 %
yeast extract	0.5 %
ยูเรีย	0.3 %
KH_2PO_4	0.3 %
กากน้ำตาล	0.5 %

4.3.1 ผลการวิเคราะห์หาน้ำหนักแห้งของเซลล์

การวิเคราะห์หาน้ำหนักแห้งของเซลล์ โดยเซลล์ยีสต์ที่เลี้ยงในอาหาร MY broth นาน 18 ชั่วโมง แล้วทำการเก็บเกี่ยวเซลล์โดยการนำไปปั่นที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 วัน แล้วใส่ในเดซิเคเตอร์ 1 ชั่วโมง จะได้ค่าน้ำหนักแห้งของเซลล์ เท่ากับ 0.3067 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร และค่าน้ำหนักแห้งของเซลล์ยีสต์ที่เลี้ยงในอาหาร MY สูตรดัดแปลงที่เหมาะสมที่สุดที่ได้จากการทดลอง นาน 14 ชั่วโมง ผลที่ได้เท่ากับ 0.1349 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ดังแสดงในตารางที่ 15

จากการทดลอง จะเห็นได้ว่า ค่าน้ำหนักแห้งของเซลล์ที่ได้จากการเลี้ยงยีสต์ในอาหาร MY สูตรดัดแปลงที่เหมาะสมที่สุด มีค่าน้อยกว่าค่าน้ำหนักแห้งของเซลล์ที่ได้จากการเลี้ยงยีสต์ในอาหาร MY สูตรมาตรฐาน นั่นหมายความว่าสูตรอาหารดัดแปลงนี้สามารถผลิตเซลล์ยีสต์ได้มากกว่าสูตรมาตรฐาน อย่างไรก็ตาม ยังมีข้อจำกัดที่ต้องคำนึงถึงคือ ค่าใช้จ่ายในการผลิตวัตถุดิบ และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

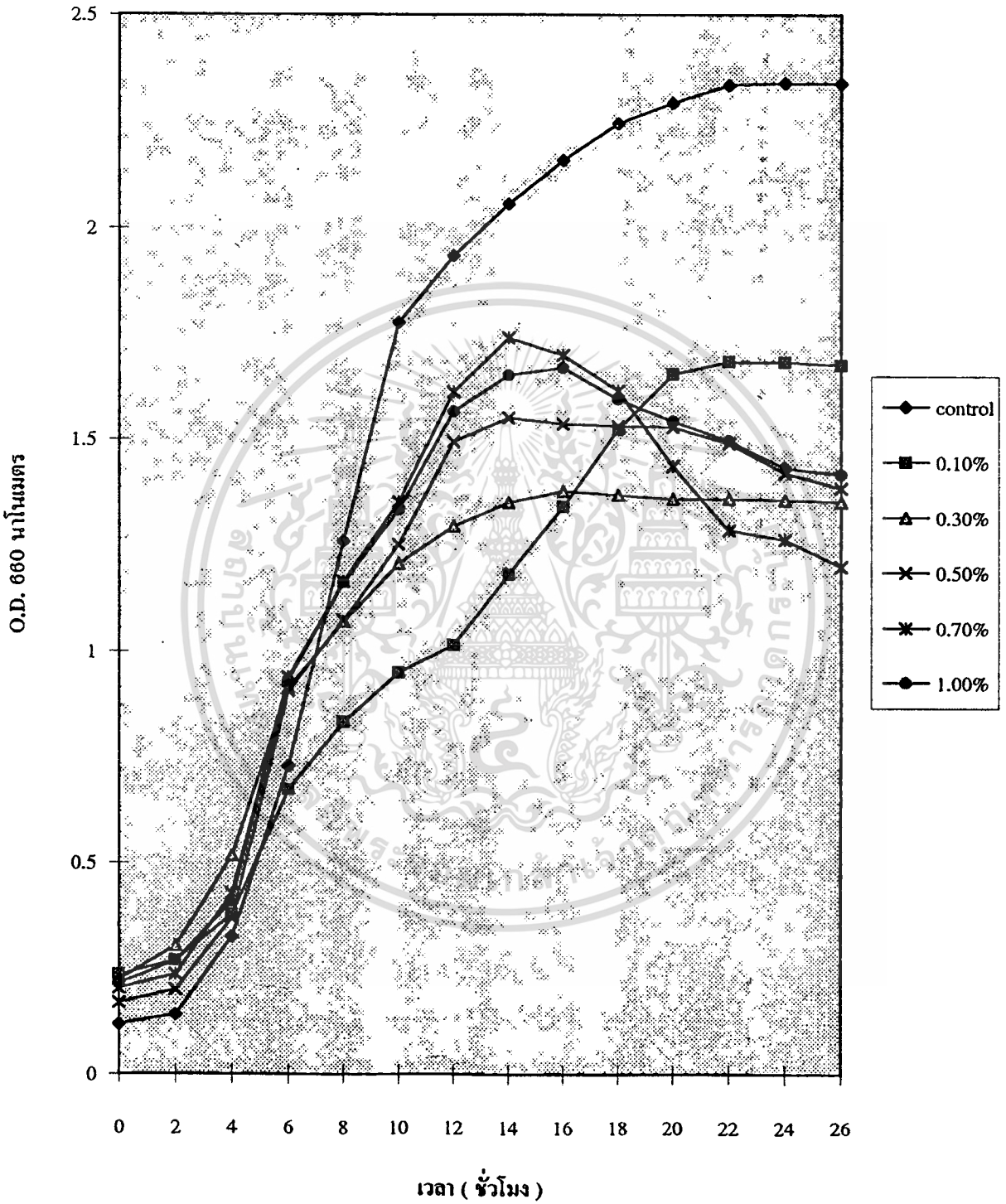
ภาพที่ 7



อัตราการเจริญของยีสต์ในอาหาร MY สูตรดัดแปลงโดยใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตที่ความเข้มข้นต่างๆ
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 8



อัตราการเจริญของยีสต์ในอาหาร MY สูตรดัดแปลงโดยใช้
 กากน้ำตาลที่ความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในอาหาร MY broth เนื่องจากในอาหาร MY สูตรดัดแปลงใช้แป้งมันสำปะหลังเป็นแหล่งธาตุคาร์บอน พบว่าในการเตรียมอาหารจะมีการปรับค่าพีเอชเป็น 4.5 ก่อนการนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) ซึ่งค่าพีเอชนี้เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์และจะให้ผลผลิตได้ดีที่สุด (Reed และ Pepler,1973, Prescott และ Dunn,1959 และ Tirmazi และคณะ,1973) แต่เมื่อนำไปนึ่งฆ่าเชื้อแล้วนำมาวัดค่าพีเอช ปรากฏว่าค่าพีเอชเพิ่มขึ้นเป็น 6.67 ซึ่งเมื่อสังเกตดูจากสูตรอาหาร พบว่ามีการใช้ยูเรียเป็นแหล่งธาตุไนโตรเจน ยูเรียจะแตกตัวเป็นแอมโมเนียทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อเป็นด่างเพิ่มมากขึ้นทำให้การเจริญของยีสต์ลดลง ค่าน้ำหนักแห้งของเซลล์ที่ได้จึงลดลงด้วย นอกจากค่าพีเอชแล้ว ยังมีการให้อากาศและการควบคุมอุณหภูมิ ที่อาจมีผลทำให้การเจริญของยีสต์ลดลง

4.3.2 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน

จากการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน พบว่าเซลล์ยีสต์ที่เลี้ยงในอาหาร MY broth ได้ปริมาณโปรตีนเท่ากับ 8.07% และเซลล์ยีสต์ที่เลี้ยงในอาหาร MY สูตรดัดแปลงที่เหมาะสมที่สุด ได้ปริมาณโปรตีนเท่ากับ 7.74% ดังแสดงในตารางที่ 16

จากการทดลองจะเห็นได้ว่า ปริมาณโปรตีนของเซลล์ยีสต์ที่เลี้ยงในอาหาร MY broth และ MY สูตรดัดแปลงที่เหมาะสมที่สุด จะให้ผลใกล้เคียงกัน

4.3.3 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

จากการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ พบว่าเซลล์ยีสต์ที่เลี้ยงในอาหาร MY broth เริ่มต้น จะมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 1.023 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร และเมื่อเลี้ยงนาน 18 ชั่วโมง จะมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 0.220 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร และเซลล์ยีสต์ที่เลี้ยงในอาหาร MY สูตรดัดแปลงที่เหมาะสมที่สุดเริ่มต้น จะมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 0.440 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร และเมื่อเลี้ยงนาน 14 ชั่วโมง จะมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 0.083 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ดังแสดงในตารางที่ 16

จากการทดลองจะเห็นได้ว่า ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นในอาหาร MY broth ซึ่งเป็น control สูงกว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นในอาหาร MY สูตรดัดแปลง อาจเนื่องมาจากในอาหาร MY สูตรดัดแปลงที่ใช้แป้งมันสำปะหลังเป็นแหล่งธาตุคาร์บอน ซึ่งเมื่อน้ำแป้งถูกย่อยด้วยความร้อนในการนึ่งฆ่าเชื้อ และในสภาวะที่เป็นกรด ก็จะเปลี่ยนจากแป้งไปเป็นน้ำตาล น้ำตาลที่เกิดขึ้นเป็นน้ำตาลเฮกโซส หรือน้ำตาลที่ประกอบด้วยคาร์บอน 6 อะตอม น้ำตาลนี้ จึงมีทั้งที่เป็นน้ำตาลรีดิวซ์และไม่เป็นน้ำตาลรีดิวซ์ ส่วนในอาหาร MY broth จะใช้กลูโคสเป็นแหล่ง

ตารางที่ 15

น้ำหนักแห้งของเซลล์ยีสต์ในอาหาร MY broth และ MY สูตรดัดแปลง
ที่เหมาะสมที่สุด

สูตรอาหาร	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อ100มิลลิลิตร)
MY broth	0.3067
MY สูตรดัดแปลงที่เหมาะสม	0.1349

ตารางที่ 16

ผลผลิตต่างๆของยีสต์ในอาหาร MY broth และ MY สูตรดัดแปลงที่เหมาะสมที่สุด

ผลผลิต	MY broth		MY สูตรดัดแปลงที่เหมาะสม	
	เริ่มต้น	18 ชั่วโมง	เริ่มต้น	14 ชั่วโมง
ปริมาณโปรตีน (%)	-	8.07	-	7.74
ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร)	1.023	0.220	0.440	0.083
ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร)	1.80	0.15	1.43	0.36

* เป็นเวลาที่มีการเจริญของเซลล์สูงสุด

- ไม่ได้วิเคราะห์

ธาตุคาร์บอน กลูโคสถือว่าเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ จึงทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในอาหาร MY broth สูงกว่าในอาหาร MY สูตรดัดแปลง

4.3.4 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด

จากการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด พบว่าเซลล์ยีสต์ที่เลี้ยงในอาหาร MY broth เริ่มต้นจะมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเท่ากับ 1.80 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร และเมื่อเลี้ยงนาน 18 ชั่วโมง จะเหลือปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเป็น 0.15 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร และเซลล์ยีสต์ที่เลี้ยงในอาหาร MY สูตรดัดแปลงที่เหมาะสมที่สุด เริ่มต้นจะมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเท่ากับ 1.43 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร และเมื่อเลี้ยงนาน 14 ชั่วโมง จะเหลือปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเป็น 0.36 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ดังแสดงในตารางที่ 16

จากการทดลอง พบว่าปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในอาหาร MY broth และ MY สูตรดัดแปลงตอนเริ่มต้น ใกล้เคียงกัน และเมื่อนำไปคำนวณหาค่า yield พบว่ายีสต์ที่เลี้ยงในอาหาร MY broth จะมีค่า yield เท่ากับ 0.1859 กรัมเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลทั้งหมด และยีสต์ที่เลี้ยงในอาหาร MY สูตรดัดแปลงที่เหมาะสมที่สุด จะมีค่า yield เท่ากับ 0.1261 กรัมเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลทั้งหมด

4.4 ผลของการเพิ่มปริมาณเซลล์ในถังหมักแบบแบช

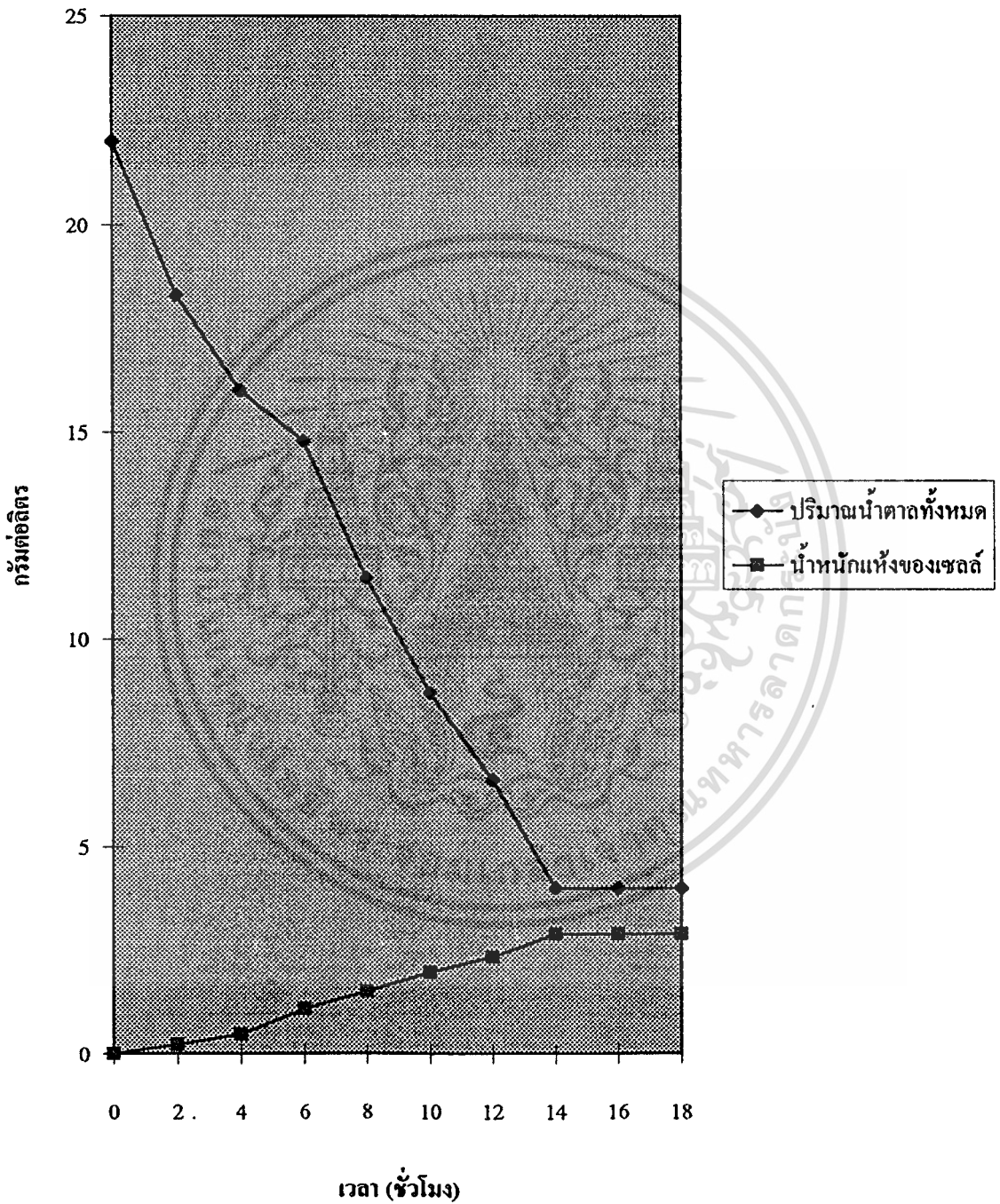
การเพิ่มปริมาณเซลล์ในถังหมักแบบแบช คือการหมักที่ทำทีละครั้ง ในถังหมักจะเป็นระบบปิด เมื่อใส่อาหารกับจุลินทรีย์แล้วก็จะเกิดการหมักในสภาวะที่เหมาะสม โดยมีการให้อากาศ การเติมกรด - ด่าง เพื่อรักษาสภาวะความเป็นกรดเป็นด่าง และการเติมสารที่ป้องกันไม่ให้เกิดฟอง (antifoam) จำนวนของจุลินทรีย์จะมีการเปลี่ยนแปลงในช่วงเวลาต่าง ๆ ของการหมัก โดยการวัดอัตราการเจริญของเชื้อที่ 660 นาโนเมตร ทุก 2 ชั่วโมง ทุกช่วงที่ทำการวัดอัตราการเจริญของเชื้อ จะเก็บตัวอย่างไปวัดหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือในถังหมัก และนำไปชั่งหาน้ำหนักแห้งของเซลล์ ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 17 และ ภาพที่ 9

จากการทดลอง พบว่าค่าน้ำหนักแห้งของเซลล์ยีสต์ที่ได้จากการเลี้ยงในอาหาร MY broth นาน 18 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 4.820 กรัมต่อลิตร มีค่า yield เท่ากับ 0.2042 กรัมเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลทั้งหมด และค่าน้ำหนักแห้งของเซลล์ยีสต์ที่ได้จากการเลี้ยงในอาหาร MY สูตรดัดแปลงที่เหมาะสมที่สุด นาน 14 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 2.882 กรัมต่อลิตร มีค่า yield เท่ากับ 0.1601 กรัมเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลทั้งหมด ซึ่งให้ผลใกล้เคียงกับการทดลองของฉันทนา (2522) ซึ่ง

ตารางที่ 17
ผลของการเพิ่มปริมาณเซลล์ยีสต์ในถังหมักแบบแบช

เวลา ชั่วโมง	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (กรัมต่อลิตร)		น้ำหนักแห้งของเซลล์ (กรัมต่อลิตร)	
	MY broth	MY สูตรดัด แปลง	MY broth	MY สูตรดัด แปลง
0	25.6	22.0	0	0
2	22.3	18.3	0.320	0.223
4	19.5	16.0	0.860	0.471
6	16.1	14.8	1.400	1.068
8	14.1	11.5	1.820	1.495
10	10.8	8.7	2.380	1.972
12	7.5	6.6	2.730	2.343
14	5.2	4.0	3.585	2.882
16	3.6	4.0	4.064	2.882
18	2.0	4.0	4.820	2.882

ภาพที่ 9



กราฟแสดงผลของการเพิ่มปริมาณเชลลียีสต์ในอาหาร
MY สูตรดัดแปลงที่เหมาะสมในถังหมักแบบแบช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใช้กากน้ำตาลเป็นวัตถุดิบในการเลี้ยงยีสต์ Fermipan เป็นเวลานาน 10 ชั่วโมง ได้ค่าน้ำหนักแห้งของเซลล์เท่ากับ 2.46 กรัมต่อลิตร และในการเลี้ยงยีสต์ Fleischmann เป็นเวลานาน 9 ชั่วโมง ได้ค่าน้ำหนักแห้งของเซลล์เท่ากับ 1.25 กรัมต่อลิตร ดังนั้นจะใช้เซลล์ยีสต์ที่ได้จากการเลี้ยงในอาหาร MY สูตรดัดแปลงที่เหมาะสมที่สุด สำหรับการทดลองครั้งต่อไป

4.5 ผลการศึกษาคุณสมบัติในการหมักแป้งของยีสต์ที่ได้

การศึกษาคุณสมบัติในการหมักแป้ง ได้ทำการแปรผันปริมาณของยีสต์สดที่ใช้ เพื่อหาปริมาณที่เหมาะสมในการทำขนมปัง โดยเริ่มแปรผันปริมาณยีสต์สดตั้งแต่ 2 เท่าของยีสต์แห้งขึ้นไป เพราะในการทำขนมปังปกติจะใช้ยีสต์สดเป็น 2 เท่าของยีสต์แห้ง (White, 1954) จากการทดลองพบว่ายีสต์สดที่ใช้ในปริมาณ 0.4 กรัม จะเพิ่มปริมาตรแป้งได้เท่า ๆ กับยีสต์แห้ง 0.15 กรัม (ดังแสดงในตารางที่ 18) เช่นเดียวกับการทดลองของฉันทนา (2522)

จากการทดลอง พบว่ายีสต์เป็นตัวการที่ทำให้ปริมาตรของแป้งเพิ่มขึ้น ซึ่งสามารถอธิบายได้ว่า ในการทำให้ขนมปังฟูจะใช้ยีสต์เติมลงไปในแป้งเพื่อหมักให้ได้โด ซึ่งยีสต์จะหมักน้ำตาลที่มีอยู่ในแป้งให้เป็นแอลกอฮอล์และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ก๊าซที่เกิดขึ้นนี้จะอยู่เป็นฟองเล็กๆ ในระหว่างเนื้อแป้ง มีผลทำให้แป้งขยายตัวได้ก่อนแป้งที่เรียกว่า โด ซึ่งในการเกิดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์นี้จะสังเกตได้จากการทดลองที่ให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เข้าไปแทนที่น้ำ ทำให้ปริมาตรของน้ำที่อยู่ในกระบอกตวงลดลงดังแสดงผลในตารางที่ 19

4.6 ผลของการทำขนมปังจากยีสต์สดเปรียบเทียบกับยีสต์แห้งที่จำหน่ายในท้องตลาด

จากการทดลองใช้ยีสต์ที่ได้จากการเลี้ยงในอาหาร MY สูตรดัดแปลงที่เหมาะสมที่สุด มาทำขนมปังเปรียบเทียบกับยีสต์แห้ง Fermipan ขนมปังที่ได้ (ดังภาพที่ 10-13) นำมาทดสอบการยอมรับโดยใช้คะแนนความชอบทางด้านสี กลิ่น รส และลักษณะเนื้อสัมผัส โดยใช้ผู้ชิม 20 คน พบว่าขนมปังที่ได้จากการใช้ยีสต์ทั้งสองชนิดให้สี กลิ่น รส ลักษณะเนื้อสัมผัสและความชอบโดยรวมใกล้เคียงกัน ดังผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยวิธีการทดสอบของวิลคอกสัน สำหรับข้อมูลที่เป็นคู่ ซึ่งแสดงในตารางที่ 20-24

ตารางที่ 18

เปรียบเทียบปริมาตรของแก๊ส (มิลลิลิตร) ที่เพิ่มขึ้นระหว่างการใช้ยีสต์แห้ง 0.15 กรัม
กับยีสต์สดในปริมาณต่าง ๆ

เวลา (นาที)	ปริมาณยีสต์แห้ง 0.15 กรัม	ปริมาณยีสต์สด (กรัม)			
		0.3	0.4	0.5	0.6
0	0	0	0	0	0
15	6.50	5.40	6.25	6.35	6.35
30	15.75	12.75	15.75	16.70	16.80
45	18.25	15.80	18.50	19.20	20.45
60	22.75	20.25	22.80	23.15	23.50

ตารางที่ 19

ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นจากการเลี้ยงยีสต์ในอาหาร MY broth และ
MY สูตรดัดแปลงที่เหมาะสมที่สุด

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาตรน้ำในกระบอกตวง (มิลลิลิตร)	
	MY broth	MY สูตรดัดแปลง
0	10	10
2	10	10
4	10	10
6	9.6	9.6
8	8.5	8.8
10	8.0	8.3
12	7.3	7.8
14	6.8	7
16	6.7	7
18	6.7	7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการวิจัยเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 10



ลักษณะของโด

ภาพที่ 11



การขึ้นฟูของโด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 12



ลักษณะของขนมปังก่อนนำไปอบ

ภาพที่ 13



ลักษณะของขนมปังที่ได้จากการใช้ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5013

เปรียบเทียบกับยีสต์แห่งที่จำหน่ายในท้องตลาด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 20

การทดสอบของวิลคอกสันสำหรับข้อมูลที่เป็นคู่เพื่อทดสอบการยอมรับโดยใช้
คะแนนความชอบทางด้านสี

คนที่	สี		d_i	$ d_i $	rank
	A	B			
1	4	6	-2	2	11
2	4	6	-2	2	11
3	3	6	-3	3	16.5
4	6	5	1	1	3.5
5	6	4	2	2	11
6	6	4	2	2	11
7	5	6	-1	1	3.5
8	4	4	0	0	-
9	3	6	-3	3	16.5
10	5	3	2	2	11
11	6	4	2	2	11
12	5	4	1	1	3.5
13	6	6	0	0	-
14	4	5	-1	1	3.5
15	5	4	1	1	3.5
16	6	4	2	2	11
17	6	7	-1	1	3.5
18	6	4	2	2	11
19	5	5	0	0	-
20	6	4	2	2	11

1. H_0 : ผลลิตภัณฑ์ทั้ง 2 ชนิดให้ความชอบทางด้านสีไม่แตกต่างกัน

H_1 : ผลลิตภัณฑ์ทั้ง 2 ชนิดให้ความชอบทางด้านสีแตกต่างกัน

2. $\alpha = 0.05$ $n = 17$ $T_{(17, 0.025)} = 34$

3. critical region คือ $T_{cal} \leq 34$

4. ตัวสถิติทดสอบ คือ $T_{cal} = \min(87.5, 65.5) = 65.5$

5. เนื่องจาก $65.5 > 34$ จึงไม่ตกในบริเวณวิกฤต

ยอมรับ H_0 นั่นคือ ผลลิตภัณฑ์ทั้ง 2 ชนิดให้ความชอบทางด้านสีไม่แตกต่างกันที่ $\alpha = 0.05$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์หรือการแจ้งในหอการค้าภายใต้ลิขสิทธิ์ของผู้จัดทำขึ้นโดยผู้จัดทำขึ้นเพื่อใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 21

การทดสอบของวิลคอกสันสำหรับข้อมูลที่เป็นคู่เพื่อทดสอบการยอมรับโดยใช้
คะแนนความชอบทางด้านกลิ่น

คนที่	กลิ่น		d_i	$ d_i $	rank
	A	B			
1	5	6	-1	1	5
2	5	4	1	1	5
3	6	5	1	1	5
4	6	5	1	1	5
5	2	7	-5	5	17
6	6	6	0	0	-
7	5	5	0	0	-
8	5	6	-1	1	5
9	5	3	2	2	12
10	3	6	-3	3	15
11	5	7	-2	2	12
12	6	5	1	1	5
13	5	6	-1	1	5
14	5	3	2	2	12
15	4	5	-1	1	5
16	1	5	-4	4	16
17	4	5	-1	1	5
18	3	5	-2	2	12
19	2	4	-2	2	12
20	6	6	0	0	-

- H_0 : ผลลัพธ์ทั้ง 2 ชนิดให้ความชอบทางด้านกลิ่นไม่แตกต่างกัน
 H_1 : ผลลัพธ์ทั้ง 2 ชนิดให้ความชอบทางด้านกลิ่นแตกต่างกัน
- $\alpha = 0.05$ $n = 17$ $T_{(17, 0.025)} = 34$
- critical region คือ $T_{cal} \leq 34$
- ตัวสถิติทดสอบ คือ $T_{cal} = \min(44, 109) = 44$
- เนื่องจาก $44 > 34$ จึงไม่ตกในบริเวณวิกฤต

ยอมรับ H_0 นั่นคือ ผลลัพธ์ทั้ง 2 ชนิดให้ความชอบทางด้านกลิ่นไม่แตกต่างกันที่ $\alpha = 0.05$
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่... ไม่ควรนำเอกสารนี้ไปใช้
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 22

การทดสอบของวิลคอกสันสำหรับข้อมูลที่เป็นคู่เพื่อทดสอบการยอมรับโดยใช้

คะแนนความชอบทางด้านรส

คนที่	รส		d_i	$ d_i $	rank
	A	B			
1	3	6	-3	3	15.5
2	5	4	1	1	6
3	6	4	2	2	13
4	5	7	-2	2	13
5	4	5	-1	1	6
6	5	5	0	0	-
7	3	5	-2	2	13
8	6	5	1	1	6
9	5	4	1	1	6
10	3	4	-1	1	6
11	4	4	0	0	-
12	6	5	1	1	6
13	5	5	0	0	-
14	3	6	-3	3	15.5
15	6	5	1	1	6
16	6	5	1	1	6
17	6	6	0	0	-
18	5	6	-1	1	6
19	4	3	1	1	6
20	5	4	1	1	6

1. H_0 : ผลิตรกณฑ์ทั้ง 2 ชนิดให้ความชอบทางด้านรสไม่แตกต่างกัน

H_1 : ผลิตรกณฑ์ทั้ง 2 ชนิดให้ความชอบทางด้านรสแตกต่างกัน

2. $\alpha = 0.05$ $n = 16$ $T_{(16, 0.025)} = 29$

3. critical region คือ $T_{cal} \leq 29$

4. ตัวสถิติทดสอบ คือ $T_{cal} = \min(61, 75) = 61$

5. เนื่องจาก $61 > 29$ จึงไม่ตกในบริเวณวิกฤต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่... นั่นคือ ผลิตรกณฑ์ทั้ง 2 ชนิดให้ความชอบทางด้านรสไม่แตกต่างกันที่ $\alpha = 0.05$...

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 23

การทดสอบของวิลคอกสันสำหรับข้อมูลที่เป็นคู่เพื่อทดสอบการยอมรับโดยใช้
คะแนนความชอบทางด้านลักษณะเนื้อสัมผัส

คนที่	ลักษณะเนื้อสัมผัส		d_i	$ d_i $	rank
	A	B			
1	3	3	0	0	-
2	4	3	1	1	4
3	3	3	0	0	-
4	4	6	-2	2	11.5
5	5	3	2	2	11.5
6	5	5	0	0	-
7	4	6	-2	2	11.5
8	5	4	1	1	4
9	3	5	-2	2	11.5
10	3	4	-1	1	4
11	3	3	0	0	-
12	5	3	2	2	11.5
13	2	3	-1	1	4
14	4	5	-1	1	4
15	6	4	2	2	11.5
16	5	5	0	0	-
17	4	5	-1	1	4
18	3	5	-2	2	11.5
19	5	3	2	2	11.5
20	5	4	1	1	4

1. H_0 : ผลลัพธ์ทั้ง 2 ชนิดให้ความชอบทางด้านลักษณะเนื้อสัมผัสไม่แตกต่างกัน

H_1 : ผลลัพธ์ทั้ง 2 ชนิดให้ความชอบทางด้านลักษณะเนื้อสัมผัสแตกต่างกัน

2. $\alpha = 0.05$ $n = 15$ $T_{(15, 0.025)} = 25$

3. critical region คือ $T_{cal} \leq 25$

4. ตัวสถิติทดสอบ คือ $T_{cal} = \min(58, 62) = 58$

5. เนื่องจาก $58 > 25$ จึงไม่ตกในบริเวณวิกฤต

ยอมรับ H_0 นั่นคือ ผลลัพธ์ทั้ง 2 ชนิดให้ความชอบทางด้านลักษณะเนื้อสัมผัสไม่แตกต่างกันที่ α

$= 0.05$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 24

การทดสอบของวิลคอกสันสำหรับข้อมูลที่เป็นคู่เพื่อทดสอบการยอมรับโดยใช้

คะแนนความชอบรวม

คนที่	ความชอบรวม		d_i	d_i	rank
	A	B			
1	5	6	-1	1	6
2	4	6	-2	2	14.5
3	5	5	0	0	-
4	6	5	1	1	6
5	5	4	1	1	6
6	5	4	1	1	6
7	4	6	-2	2	14.5
8	6	4	2	2	14.5
9	5	4	1	1	6
10	5	4	1	1	6
11	4	6	-2	2	14.5
12	5	4	1	1	6
13	4	6	-2	2	14.5
14	5	6	-1	1	6
15	5	6	-1	1	6
16	6	6	0	0	-
17	4	6	-2	2	14.5
18	5	5	0	0	-
19	5	6	-1	1	6
20	6	5	1	1	6

1. H_0 : ผลลัพธ์ทั้ง 2 ชนิดให้ความชอบรวมไม่แตกต่างกัน

H_1 : ผลลัพธ์ทั้ง 2 ชนิดให้ความชอบรวมแตกต่างกัน

2. $\alpha = 0.05$ $n = 17$ $T_{(17, 0.025)} = 34$

3. critical region คือ $T_{cal} \leq 34$

4. ตัวสถิติทดสอบ คือ $T_{cal} = \min(56.5, 96.5) = 56.5$

5. เนื่องจาก $56.5 > 34$ จึงไม่ตกในบริเวณวิกฤต

เอกสารนี้ยอมรับ H_0 นั่นคือ ผลลัพธ์ทั้ง 2 ชนิดให้ความชอบรวมไม่แตกต่างกันที่ $\alpha = 0.05$ ใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากผลการศึกษาพบว่าอาหาร MY สูตรดัดแปลงที่เหมาะสมที่สุด คือ

แป้งมันสำปะหลัง	0.5 %
yeast extract	0.5 %
ยูเรีย	0.3 %
KH_2PO_4	0.3 %
กากน้ำตาล	0.5 %
ฟิเอช	4.5

อาหาร MY สูตรดัดแปลง จะไม่มีการเติม malt extract กลูโคส และเปปไทน์ ทำให้ค่าใช้จ่ายในการเตรียมอาหารเลี้ยงยีสต์ลดลงอย่างมาก ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาถึงสูตรอาหารอื่น ๆ ที่หาได้ง่าย ราคาถูก และเหมาะสำหรับการเพาะเลี้ยงยีสต์ให้ได้ปริมาณเซลล์เพิ่มขึ้น

จากการศึกษาถึงการวิเคราะห์หาน้ำหนักแห้งของเซลล์ พบว่าเซลล์ยีสต์ที่เลี้ยงในอาหาร MY broth นาน 18 ชั่วโมง ได้น้ำหนักแห้งเท่ากับ 0.3067 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร และเซลล์ยีสต์ที่เลี้ยงในอาหาร MY สูตรดัดแปลง นาน 14 ชั่วโมง ได้น้ำหนักแห้งเท่ากับ 0.1349 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร

ผลการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน พบว่าเซลล์ยีสต์ที่เลี้ยงในอาหาร MY broth มีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 8.07% และเซลล์ยีสต์ที่เลี้ยงในอาหาร MY สูตรดัดแปลง มีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 7.74%

ผลการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ พบว่าในอาหาร MY broth มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 1.023 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร และเมื่อเลี้ยงยีสต์นาน 18 ชั่วโมง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงเหลือ 0.220 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ส่วนในอาหาร MY สูตรดัดแปลง มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 0.440 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร และเมื่อเลี้ยงยีสต์นาน 14 ชั่วโมง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงเหลือ 0.083 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร

ผลการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด พบว่าในอาหาร MY broth มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเริ่มต้นเท่ากับ 1.80 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร และเมื่อเลี้ยงยีสต์นาน 18 ชั่วโมง ปริมาณ

น้ำตาลทั้งหมดลดลงเหลือ 0.15 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ส่วนในอาหาร MY สูตรดัดแปลง มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเริ่มต้นเท่ากับ 1.43 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร และเมื่อเลี้ยงยีสต์นาน 14 ชั่วโมง ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดลดลงเหลือ 0.36 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร

ในการทดลองหาก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ พบว่าการเลี้ยงยีสต์ในสภาวะที่มีอากาศ จะมีการผลิตก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เกิดขึ้น

จากการศึกษาถึงการเพิ่มปริมาณเซลล์ในถังหมักแบบแบช พบว่าเซลล์ยีสต์ที่เลี้ยงในอาหาร MY broth นาน 18 ชั่วโมง ได้น้ำหนักแห้งเท่ากับ 4.820 กรัมต่อลิตร มีค่า yield เท่ากับ 0.2042 กรัมเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลทั้งหมด และเซลล์ยีสต์ที่เลี้ยงในอาหาร MY สูตรดัดแปลง นาน 14 ชั่วโมง ได้น้ำหนักแห้งเท่ากับ 2.882 กรัมต่อลิตร มีค่า yield เท่ากับ 0.1601 กรัมเซลล์ต่อกรัมน้ำตาลทั้งหมด จะเห็นว่าค่า yield ที่ได้ไม่แตกต่างกันมากนักเมื่อเทียบกับต้นทุนที่ใช้ในการผลิต แต่ค่า yield ที่ได้ยังน้อยอยู่ ดังนั้นจะต้องหาวิธีการเลี้ยงยีสต์ให้ได้ปริมาณเซลล์เพิ่มขึ้น เช่น การเลี้ยงเซลล์แบบต่อเนื่อง (continuous culture) หรือการเลี้ยงเซลล์แบบเฟดแบช (fed batch) และควรศึกษาถึงสภาวะที่เหมาะสมในถังหมักเพื่อการผลิตในระดับอุตสาหกรรม เช่น มีการศึกษาถึงการให้อากาศและความเร็วรอบในการกวน

จากการทดลองศึกษาถึงคุณสมบัติในการหมักแบ่งของยีสต์ที่ได้ พบว่ายีสต์สดที่ได้ในปริมาณ 0.4 กรัม จะเพิ่มปริมาตรแบ่งได้เท่า ๆ กับยีสต์แห้ง 0.15 กรัม

เมื่อนำยีสต์ที่ได้ไปทดลองทำขนมปังเปรียบเทียบกับยีสต์แห้งที่จำหน่ายในท้องตลาด (Fermipan) และนำมาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติเพื่อทดสอบการยอมรับ พบว่าขนมปังที่ได้จากการใช้ยีสต์ทั้งสองชนิดให้สี กลิ่น รส ลักษณะเนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมใกล้เคียงกัน

นอกจากนี้ควรมีการศึกษาถึงสูตรอาหารที่ใช้ เช่น ใช้แป้งมันสำปะหลังเป็นแหล่งคาร์บอนเพียงตัวเดียวโดยไม่ต้องใช้กากน้ำตาลเนื่องจากการใช้กากน้ำตาลมีผลทำให้ค่า μ_{max} ลดลง และควรศึกษาถึงอายุการเก็บรักษายีสต์สดเพื่อให้มีอายุการเก็บรักษาได้นานขึ้น และควรศึกษาถึงการนำมาทำเป็นยีสต์แห้งด้วย

บรรณานุกรม

ฉันทนา นันทพงษ์. กรรมวิธีและสายพันธุ์ยีสต์ที่เหมาะสมในการผลิตยีสต์สำหรับทำขนมปังในประเทศไทย. ปริญญาโท วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. กรุงเทพฯ : บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2522.

ดวงพร คันธโชติ. จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม : ผลิตภัณฑ์จากจุลินทรีย์. กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์, 2530.

ดุชนี ธนะบริพัฒน์. จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม. นครราชสีมา : โรงพิมพ์โคราชไทยรุ่งกิจ, 2534.

บุหลัน พิทักษ์ณิล และคณะ. “การเลี้ยงยีสต์โดยใช้กากน้ำตาลเพื่อเปลี่ยนเป็นอาหารโปรตีน.” รายงานผลงานวิจัยทุนอุดหนุนประจำปี 2517 จากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. กรุงเทพฯ, 2519. (อัดสำเนา)

ปรียา วิบูลย์เศรษฐ์. จุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์เกษตร. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2524.

ไพบุลย์ ด่านวิรุทัย. “หลักการของเทคโนโลยีอุตสาหกรรมอาหารหมัก.” ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2520. (อัดสำเนา)

ลัดดาวัลย์ รัศมีทัต. จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม จุลินทรีย์กับอุตสาหกรรมอาหาร. ชลบุรี : มหาวิทยาลัยบูรพา, 2536.

รวราวุฒิ ครุสง. เทคโนโลยีชีวภาพ. กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์, 2529.

รวราวุฒิ ครุสง และ รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต. เทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม. กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์, 2532.

สมหวัง วีระอุดมวิงศ์, ทิพย์พงา บุญเหมือน และ ชนิษฐา ยอดธรรมมา. การศึกษากาการผลิตเซลล์ยีสต์ขนมปังจากอาหารน้ำกากส่า. กรุงเทพฯ : สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, 2533.

Chaplin, M.F. “Monosaccharides.” Carbohydrate Analysis : A Practical Approach. Edited by M.F. Chaplin and J.F. Kennedy. Oxford, England : IRL Press, 1986, pp. 1-13.

Coombs, J. Macmillan Dictionary of Biotechnology. London : Macmillan Press, 1986.

Daniel, W.W. Applied Nonparametric Statistics. 2nd ed. Boston : PWS - Kent, 1990.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- de Becze, G. and A.J. Liebmman. "Aeration in the production of compressed yeast." Ind. Eng. Chem. 36 (10) (1944) : 882-890.
- Flynn, G. and M.R. Adams. An Industrial Profile of Yeast Production. London : Tropical Products Institute, 1981.
- Flynn, J.E. The New Microbiology. New York : McGraw - Hill, 1966.
- Fowell, M.S. "The identification of wild yeast colonies on lysine agar." J. Appl. Bacteriol. 28 (1965) : 373-383.
- Frazier, W.C. Food Microbiology. 2nd ed. New York : McGraw - Hill, 1967.
- Freund, O. "Yeast production and practices." Cereal Science Today. 6 (10) (1961) : 320-324.
- Frey, C.N., G.W. Kirby and A. Schultz. "Yeast physiology, manufacture, and uses." Ind. Eng. Chem. 28 (8) (1936) : 879-881.
- Garver, J.C., I. Navarini and A.M. Swanson. "Factors influencing the activation of baker's yeast." Cereal Science Today. 11 (9) (1966) : 410-418.
- Grylls, F.S.M. Biochemists' Handbook. Edited by C. Long. London : E. and F.N. Spon, 1961, pp. 1050-1053.
- Harris, E.E., M.L. Hannan and R.R. Marquardt. "Production of food yeast from wood hydrolyzates." Ind. Eng. Chem. 40 (1948) : 2068.
- Imrie, F.K.E. "Fermentation media : sugar and molasses." Process Biochem. 4 (1) (1969) : 34-35.
- Keuning, R. and O. Korver. "Industrial biotechnology in the Netherlands." Trends in Biotech. 5 (1987) : 127-131.
- Kirchhoff, H. Die Hefen. I. Die Hefen in der Wissenschaft. Edited by F. Reiff, R. Kautzmann, H. Luers and M. Lindemann. Nurnberg : Verlag Ham Carl, 1960, pp. 564-589.
- Lowry, O.H., N.J. Rosebrough, A. Lewis Farr and R.J. Randall. "Protein measurement with the folin phenol reagent." J. Biol. Chem. 193 (1951) : 265-275.
- MacDonald, I. and A.S. Geisler. Plasticized Yeast. U.S. Patent 3, 167, 433. Jan. 26, 1965.
- Magoffin, C.D. and R.C. Hosoney. "A review of fermentation." Bakers Dig. 12 (December 1974) : 22-27.

- Maxon, W.D. and M.J. Johnson. "Aeration studies on propagation baker's yeast." Ind. Eng. Chem. 45 (11) (1953) : 2554-2560.
- ✓ Moss, M.O. and J.E. Smith. Industrial Application of Microbiology. London : Surney University Press, 1977, pp. 105-149.
- Nagodawithana, T.W. and N.B. Trivedi. "Yeast Selection for Baking." Yeast Strain Selection. Edited by C.J. Panchel. New York : Marcel Dekker, 1990, pp. 139-180.
- Okada, W., H. Fukuda and H. Morikawa. "Kinetic expressions of ethanol production rate and ethanol consumption rate in baker's yeast cultivation." J. Ferment. Tech. 59 (2) (1981) : 103-109.
- ✓ Olbrich, H. Die Melasse. Berlin : Institut fur Garungsgewerbe, 1956.
- Pelczar, M.J., E.C.S. Chan and N.R. Krieg. Microbiology. 5th ed. New York : McGraw - Hill, 1986.
- Peppler, H.J. "Yeast." Bakery Technology and Engineering. Edited by A. Matz. Westport, Connecticut : AVI, 1960.
- Peterson, W.H. Yeasts in Feeding. Edited by S. Brenner. Wisconsin : Milwaukee, 1950, pp. 26-33.
- Peterson, W.H., J.F. Snell and W.C. Frazier. "Fodder yeast from wood sugar." Ind. Eng. Chem. 37 (1) (1945) : 30-35.
- Phaff, H.J., M.W. Miller and E.M. Mrak. The Life of Yeasts. 2nd ed. Cambridge, Mass : Harvard University Press, 1978.
- Pitt, J.I. and A.D. Hocking. Fungi and Food Spoilage. London and New York : Academic Press, 1985.
- ✓ Prescott, S.C. and C.G. Dunn. Industrial Microbiology. 3rd ed. New York : McGraw - Hill, 1959.
- Reed, G. "Production of baker's yeast." Prescott and Dunn's Industrial Microbiology. 4th ed. Edited by G. Reed. Westport, Connecticut : AVI, 1982. pp. 593-633.
- Reed, G. and T.W. Nagodawithana. "Baker's yeast production." Yeast Technology. New York : AVI, 1991, pp. 261-309.

- Reed, G. and H.J. Pepler. "Baker's yeast production." Yeast Technology. Westport, Connecticut : AVI, 1973, pp. 53-102.
- Rendina, G. Experimental Methods In Modern Biochemistry. W.B. Saunder, 1971.
- Rhodes, A. and D.L. Fletcher. Principles of Industrial Microbiology. Oxford : Pergamon Press, 1977.
- Rose, A.H. and J.S. Harrison. "Physiology and biochemistry of yeast." The Yeasts. Vol. 2. London and New York : Academic Press, 1970.
- Rose, A.H. and J.S. Harrison. "Yeast Technology." The Yeasts. Vol. 3. London and New York : Academic Press, 1971.
- Rosen, K. "Manufacture of baker's yeast." Process Biochem. 3 (7) (1968) : 45-47.
- Rosen, K. "Production of baker's yeast." Process Biochem. 12 (3) (1977) : 10-12.
- Runyon, R.P. and A. Haber. Fundamentals of Behavioral Statistics. Sydney : Addison - Wesley, 1980.
- Sanderson, G.W. "Yeast products for the baking industry." Proceedings of an International Symposium on Advances in Baking Science and Technology. Kansas City : KS, N1-N22, 1984.
- Sobkowics, G. "Yeast from molasses." Food from Waste. Edited by G.G. Birch, K.J. Parker and J.T. Worgan. London : Applied Science, 1976, pp. 42-57.
- Solomons, G.L. "Anti - foams." Process Biochem. 2 (10) (1967) : 47-48.
- Solomons, G.L. Materials and Methods in Fermentation. London : Academic Press, 1969.
- Sonnenberg, L. "The art of breadmaking." Life and Health. 92 (3) (1977) : 9-12.
- Sultan, W.J. Practical Baking. 2nd ed. Westport, Connecticut : AVI, 1969.
- Suomalainen, H., J. Dettwiler and E. Sinda. " α - Glucosidase and leavening of Baker's yeast." Process Biochem. 7 (4) (1972) : 16-22.
- Thorn, J.A. and G. Reed. "Active dry yeast." Cereal Science Today. 4 (7) (1959) : 198-200.
- Tirmazi, I. H., M.S. Chaudhry and F.H. Shah. "Determination of optimum conditions for the propagation of baker's yeast on molasses." J. Sci. Ind. Res. 16 (3-4) (1973) :120-122.

Trivedi, N.B. and G.K. Jacobson. "Recent advances in baker's yeast." Progress in Industrial Microbiology. Vol. 23. Microorganisms in the production of food. Edited by M.R. Adams. Amsterdam : Elsevier, 1986, pp. 45-71.

Vananuvat, P. and J.E. Kinsella. "Production of yeast protein from crude lactose by *Saccharomyces fragilis* batch culture studies." J. Food Sci. 40 (1975) : 336-341.

Verachtert, H. Yeast : Biotechnology and Biocatalysis. Rene De Mot. New York : Marcel Dekker, 1990.

/ White, J. Yeast Technology. London : Chapman and Hall, 1954.

Windisch, S. and B.A. Schubert. Breeding of new yeasts for biscuit doughs. Gordian 73 (7/8) (1973) : 288-290, 292-293.



ภาคผนวก ก. อาหารเลี้ยงเชื้อ

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Malt extract Yeast extract agar (MY agar)

malt extract	3 กรัม
yeast extract	3 กรัม
เปปไทน์	5 กรัม
กลูโคส	10 กรัม
วุ้น	15 กรัม
น้ำกลั่น	1,000 มิลลิลิตร

นึ่งฆ่าเชื้อที่ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

2. Malt extract Yeast extract broth (MY broth)

สูตรอาหารเหมือนข้อ 1 แต่ไม่เติมวุ้น

ภาคผนวก ข. การวิเคราะห์

1. การวิเคราะห์หาค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{\max})

$$\text{ค่า } \mu_{\max} \text{ หาได้จากสูตร } \mu_{\max} = \frac{\ln x - \ln x_0}{t - t_0}$$

X, X₀ เป็นค่า O.D. ของเซลล์ยีสต์ที่กำลังเจริญอยู่ในระยะ log phase

t, t₀ เป็นเวลา (ชั่วโมง) ของการเจริญของยีสต์ของ x, x₀ ตามลำดับ

2. การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนโดยวิธี Folin - Lowry

เป็นวิธีที่นิยมใช้กันมากที่สุด โดยเริ่มแรกจะใช้สารละลายคอปเปอร์ไปทำปฏิกิริยากับโปรตีนภายใต้สภาวะที่เป็นด่าง จากนั้นเติมสารละลาย Folin - Ciocalteu ซึ่งเป็นสารละลายระหว่าง sodium tungstate และ sodium molybdate ในกรดฟอสฟอริกและกรดไฮโดรคลอริก (Phosphomolybdic - phosphotungstic mixed acid) กรดนี้จะปรีดิซซ์คอปเปอร์คอมเพล็กซ์ให้เป็นสารละลายสีน้ำเงินเข้ม ซึ่งสามารถดูดกลืนแสงได้ที่ 750 นาโนเมตร ปริมาณโปรตีนที่เหมาะสมที่จะใช้หาปริมาณ คือ ระหว่าง 0.1 - 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2.1 เตรียมสารเคมี

- สารละลาย Na₂CO₃ ในด่าง : โดยใส่ Na₂CO₃ 2 กรัมต่อ NaOH 0.1 M จำนวน 100 มิลลิลิตร
- สารละลาย copper sulphate - sodium potassium tartrate (0.5% CuSO₄ ใน 1% NaKC₄H₄O₆) (เตรียมใหม่ทุกครั้ง)
- alkali solution : นำสารละลาย Na₂CO₃ ในด่างมา 50 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย copper sulphate - sodium potassium tartrate 1 มิลลิลิตร (เตรียมใหม่ทุกครั้ง)
- Folin - Ciocalteu reagent นำมาละลายด้วยน้ำในอัตราส่วน 1 : 1
- สารละลายโปรตีนมาตรฐาน : ใช้อัลบูมินเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อ

มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 วิธีวิเคราะห์

2.2.1 นำสารละลายตัวอย่างที่ต้องการหาปริมาณโปรตีนมา 1 มิลลิลิตร เติมสารละลาย alkali solution 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที

2.2.2 เติมสารละลาย Folin - Ciocalteu reagent ที่เจือจางแล้ว 0.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน และตั้งทิ้งไว้ 30 นาที

2.2.3 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร

2.2.4 เตรียม standard curve โดยใช้ bovine - serum albumin (BSA) ที่ความเข้มข้นระหว่าง 0.05 - 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2.3 เขียนกราฟ

โดยเขียนกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณโปรตีน (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) แล้วหาปริมาณของ unknown โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้มาเทียบจากกราฟ (ภาพที่ 14)

3. การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugar) โดยวิธีของ Somogyi - Nelson

วิธีนี้เป็นการหา molar equivalent ของปริมาณน้ำตาล โดยอาศัยปฏิกิริยาระหว่าง reducing end ซึ่งเป็น carbonyl group ของแต่ละโมเลกุลของน้ำตาลนั้น ๆ ซึ่งเรียกว่า reducing sugar กับสารเคมีซึ่งเป็น oxidizing agent บางตัว

3.1 เตรียมสารเคมี

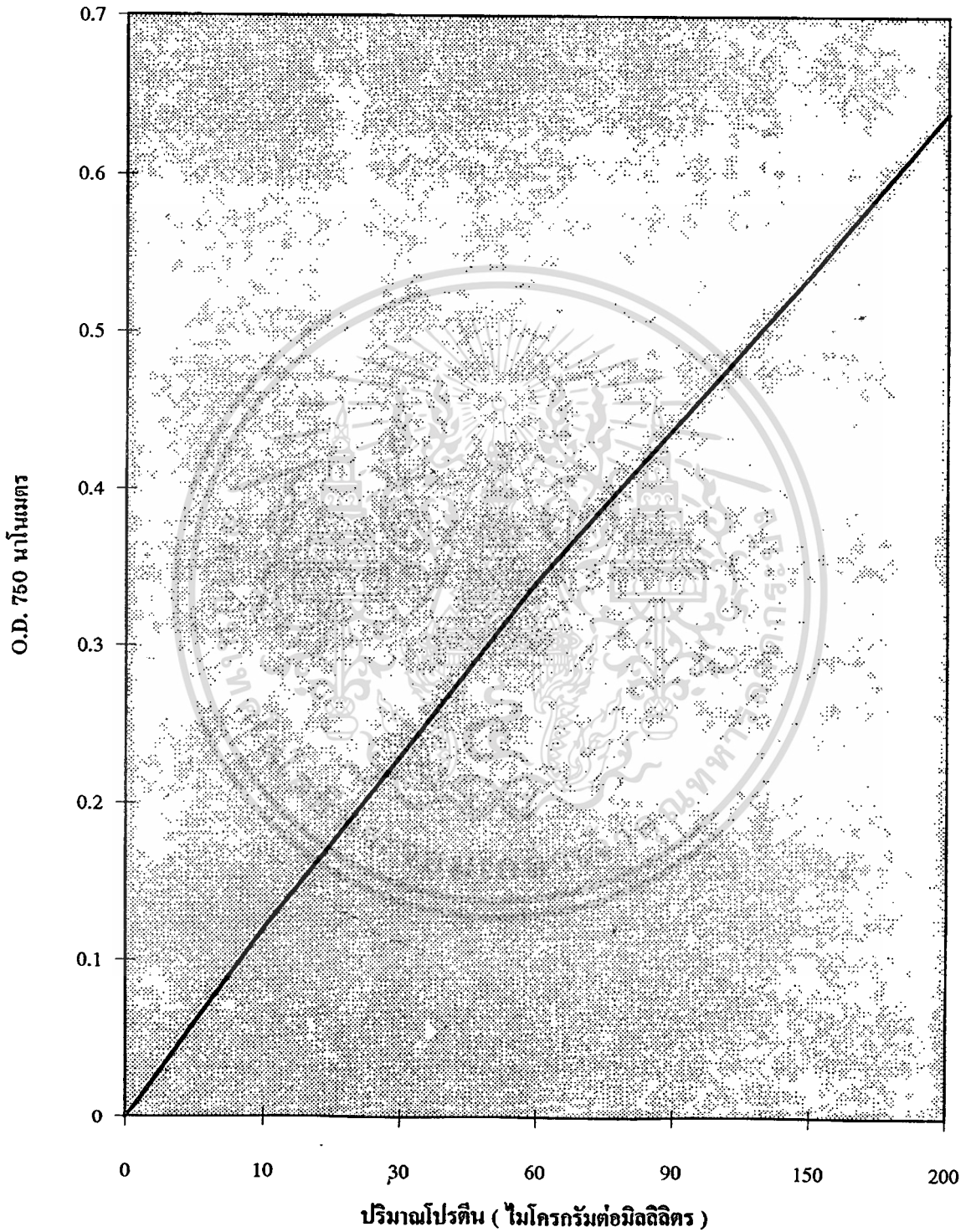
3.1.1 copper reagent

(1) 10% $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 100 มิลลิลิตร (10 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร)

(2) Phosphate - Tartrate solution เตรียมโดยละลาย Na_2HPO_4 28 กรัม (หรือ $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 70.5495 กรัม) ในน้ำกลั่น 700 มิลลิลิตร เติม sodium potassium tartrate (tetrahydrate) 40 กรัม ทำให้ละลายแล้วเติม 1 N NaOH 100 มิลลิลิตร ตามด้วย Na_2SO_4 (anhydrous) 120 กรัม เมื่อละลายดีแล้วปรับให้ได้ปริมาตร 900 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 2 วัน ถ้ามีตะกอนให้กรองเอาตะกอนทิ้งด้วยกระดาษฟิลเทรต (Whatman) เบอร์ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 14



กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง

กับปริมาณโปรตีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผสมสารละลายข้อ (1) 100 มิลลิลิตร และสารละลายข้อ (2) 900 มิลลิลิตร เข้าด้วยกัน จะเรียกสารละลายนี้ว่า copper reagent

3.1.2 Nelson's Arsenomolybdate Color reagent

(1) ละลาย ammoniummolybdate $[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ 25 กรัม ในน้ำกลั่น 450 มิลลิลิตร เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 21 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

(2) disodium arsenate $(\text{Na}_2\text{HAsO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O})$ 3 กรัม ในน้ำกลั่น 25 มิลลิลิตร

ผสมสารละลายข้อ (1) และข้อ (2) เข้าด้วยกัน บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วจึงนำมาเก็บที่อุณหภูมิห้อง และควรเก็บในขวดสีน้ำตาล

3.2 วิธีวิเคราะห์

3.2.1 นำสารละลายตัวอย่างที่ต้องการหาปริมาณน้ำตาลมา 2 มิลลิลิตร เติม copper reagent 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน และนำไปต้มในน้ำเดือดนาน 15 นาที ควรใช้ลูกแก้ววางบนปากหลอดแก้วเพื่อลดการระเหยของน้ำ ทำให้เย็นลงโดยแช่ในอ่างน้ำ

3.2.2 เติม Arsenomolybdate reagent 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ทิ้งไว้ประมาณ 2 นาที จะเห็นเป็นสีเขียวหรือน้ำเงินเขียวขึ้นกับปริมาณน้ำตาล

3.2.3 เติมน้ำกลั่น 4 มิลลิลิตร (ให้ได้ปริมาตรสุดท้าย 10 มิลลิลิตร) ผสมให้เข้ากัน

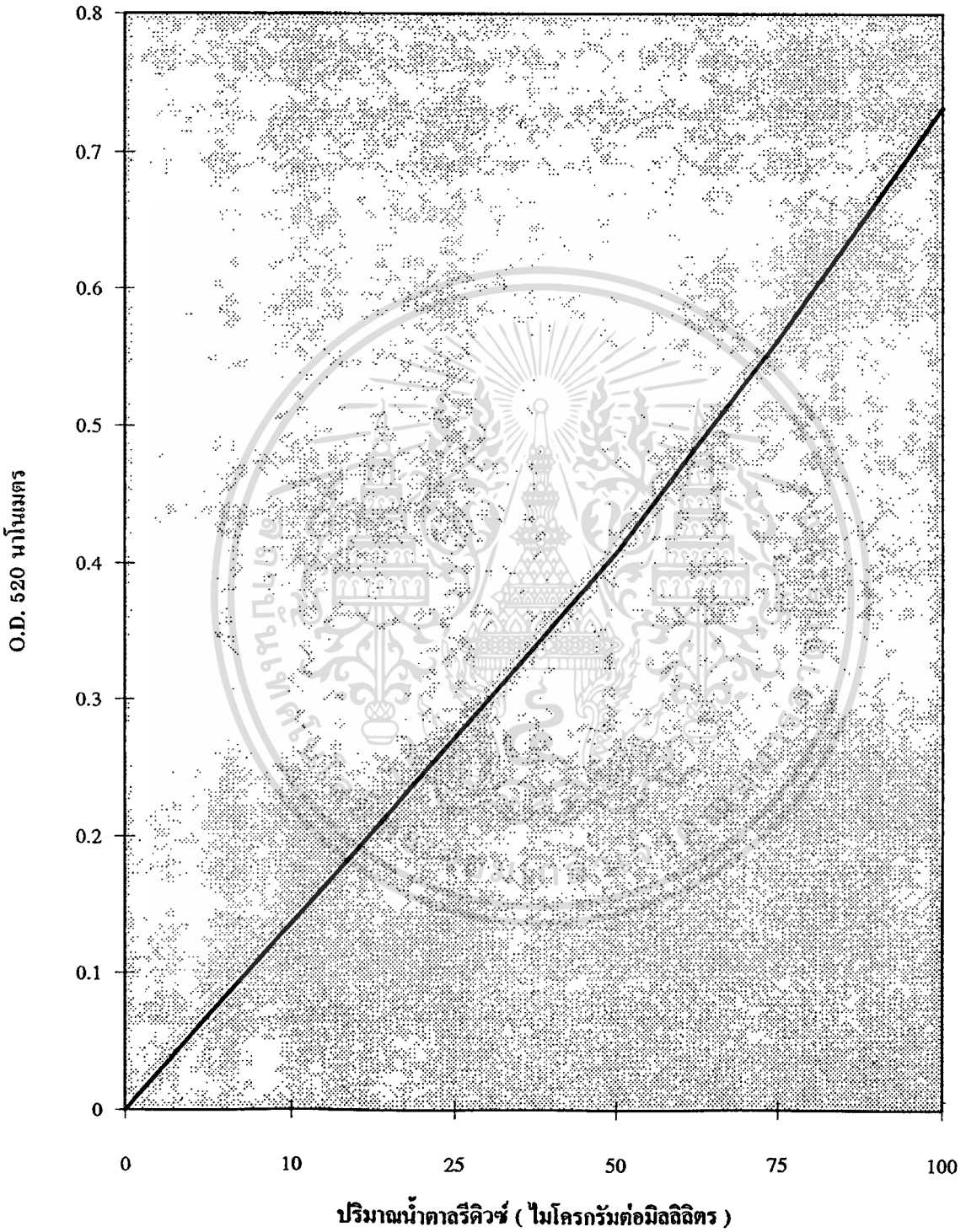
3.2.4 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร

3.2.5 เตรียม standard curve โดยละลายน้ำตาลกลูโคสในน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้น 1% (10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) แล้วทำให้น้ำตาลเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้นต่าง ๆ เช่น 10, 25, 50, 75 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

3.3 เขียนกราฟ

โดยเขียนกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) แล้วหาปริมาณของ unknown โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้มา เทียบจากกราฟ (ภาพที่ 15)

ภาพที่ 15



กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง

กับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (total sugar) โดยวิธี Phenol - sulphuric

วิธีนี้เป็นการใช้กรดเข้มข้นย่อยให้พอลิแซ็กคาไรด์เป็นโมเลกุลเดี่ยว ซึ่งสามารถจะวัดน้ำตาลได้ประมาณ 1 - 100 ไมโครกรัม และเป็นวิธีการที่รวดเร็วที่จะใช้วิเคราะห์หาปริมาณของน้ำตาลทั้งหมดอย่างไม่เฉพาะเจาะจง เพราะไม่ว่าน้ำตาลนั้นจะอยู่ในรูปน้ำตาลรีดิวซ์ หรือ neutral sugar ทั้งชนิดที่เป็นโมโนแซ็กคาไรด์และพอลิแซ็กคาไรด์ ก็สามารถวิเคราะห์หาปริมาณด้วยวิธีนี้ได้

4.1 เตรียมสารเคมี

- สารละลายฟีนอล 5% (w/v)
- กรดซัลฟิวริกเข้มข้น

4.2 วิธีวิเคราะห์

4.2.1 นำสารละลายตัวอย่างที่ต้องการหาปริมาณน้ำตาลมา 1 มิลลิลิตร

4.2.2 เติมสารละลายฟีนอล 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

4.2.3 เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที เขย่าแรงๆ ให้เข้ากัน แล้วตั้งทิ้งต่อไปอีกประมาณ 20 นาที

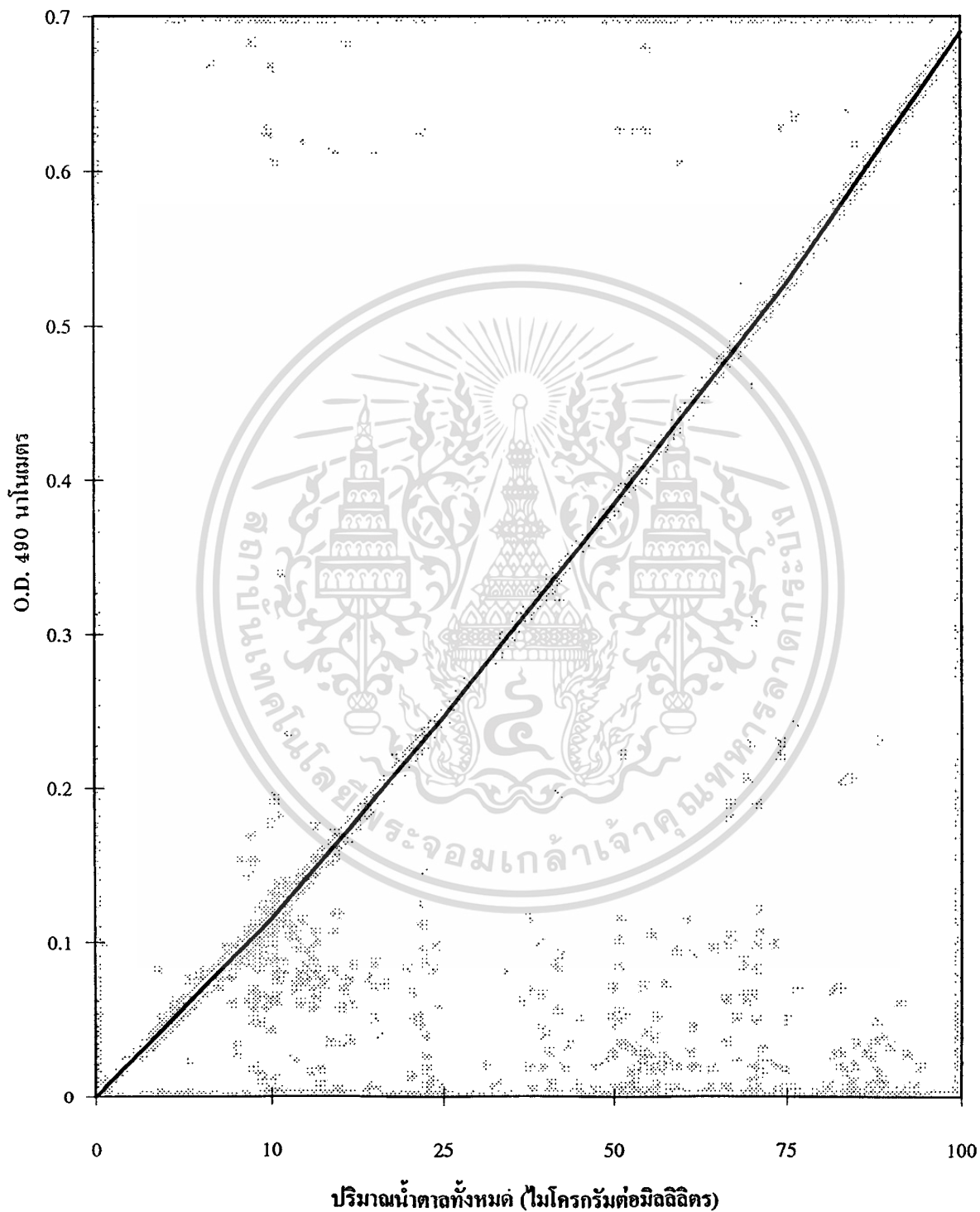
4.2.4 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร

4.2.5 เตรียม standard curve โดยละลายน้ำตาลกลูโคสในน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้น 1% (10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) แล้วทำให้น้ำตาลเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้นต่าง ๆ เช่น 10, 25, 50, 75 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

4.3 เขียนกราฟ

โดยเขียนกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) แล้วหาปริมาณของ unknown โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้มาเทียบจากกราฟ (ภาพที่ 16)

ภาพที่ 16



กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง

กับปริมาณน้ำตาลทั้งหมด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค.

แบบทดสอบ

แบบรายงานการทดสอบการให้อัตราความชอบ

แบบรายงานการทดสอบการให้อัตราความชอบ

ชื่อผู้ตัดสิน วันที่

ผลิตภัณฑ์

คำแนะนำ กรุณาชิมตัวอย่างเหล่านี้ตามลำดับที่เสนอ และให้คะแนนแต่ละปัจจัยตาม
ความชอบที่ท่านมีต่อผลิตภัณฑ์นั้น ตามที่ท่านเห็นสมควร

คะแนน

- 7 ชอบมากที่สุด
6 ชอบมาก
5 ชอบปานกลาง
4 เฉย ๆ
3 ไม่ชอบ
2 ไม่ชอบมาก
1 ไม่ชอบมากที่สุด

รหัส : A

สี _____ คะแนน
กลิ่น _____ คะแนน
รส _____ คะแนน
ลักษณะเนื้อสัมผัส _____ คะแนน
ความชอบรวม _____ คะแนน

รหัส : B

สี _____ คะแนน
กลิ่น _____ คะแนน
รส _____ คะแนน
ลักษณะเนื้อสัมผัส _____ คะแนน
ความชอบรวม _____ คะแนน

ประวัติผู้เขียน

นางสาวปิยดา ดิศวัฒน์ เกิดเมื่อวันที่ 26 มิถุนายน 2516 ที่จังหวัดกรุงเทพฯ สำเร็จ การศึกษาระดับปริญญาตรี คณะวิทยาศาสตร์ สาขาชีววิทยา จากมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ บางเขน ในปีการศึกษา 2536 และเข้าศึกษาต่อในระดับปริญญาโท คณะเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้