สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การผลิตยีสต์สกัดจาก *Hansenula anomala* เพื่อใช้เป็นสารเพิ่มกลิ่นรส

นางสาวกล้วยไม้ แก้วแจ่มใส
นางสาวทองพรรณ เหลืองอภิชาติ
นางสาวสุชาดา ศิริตันหยง

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 67275
วัน,เดือน,ปี 22 พ.ย. 2549
b 11kk235x
i.....

โครงงานพิเศษเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2548

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Production of yeast extract from *Hansenula anomala* for flavoring agent

Miss Kluymai Kaewjamsai

Miss Thongpan Leangapichart

Miss Suchada Siritunyong

A Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement for the Degree of Bachelor of Science

Department of Applied Biology

Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

Academic Year 2005

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษเรื่อง การผลิตยีสต์สกัดจาก *Hansenula anomala* เพื่อใช้เป็นสารเพิ่มกลิ่นรส

นักศึกษา นางสาวกล้วยไม้ แก้วแจ่มใส

นางสาวทองพรรณ เหลืองอภิชาติ

นางสาวสุชาดา ศิริตันหยง

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

สาขาวิชา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

อาจารย์ที่ปรึกษา รศ. ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผศ. ลินจง สุขลำภู

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

คณะกรรมการตรวจสอบ	ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ รศ.ดร. ดุษณี ธนะบริพัฒน์	
กรรมการ รศ. ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง	
กรรมการ ผศ. ลินจง สุขลำภู	

.....

(รศ. ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง)

หัวหน้าภาควิชา

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษเรื่อง การผลิตยีสต์สกัดจาก *Hansenula anomala* เพื่อใช้เป็นสารเพิ่มกลิ่นรส

นักศึกษา นางสาวกล้วยไม้ แก้วแจ่มใส

นางสาวทองพรรณ เหลืองอภิชาติ

นางสาวสุชาดา ศิริตันหยง

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

สาขาวิชา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

อาจารย์ที่ปรึกษา รศ. ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผศ. ลินจง สุขลำภู

บทคัดย่อ

ศึกษาการผลิตยีสต์สกัดจาก *Hansenula anomala* TISTR 5082 โดยใช้อาหาร YM ดัดแปลงที่มีน้ำมะพร้าวเป็นแหล่งอาหาร เมื่อเพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีอากาศ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 36 ชั่วโมง จะได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 20.31 กรัมต่อลิตร ในการย่อยสลายเซลล์ยีสต์ที่มีอายุ 36 ชั่วโมง โดยใช้เอนไซม์ปาเปนที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนักเซลล์ยีสต์เปียกที่พีเอช 5.4 และอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 36 ชั่วโมงจะได้ยีสต์สกัดที่มีปริมาณโปรตีนและไรโบนิวคลีโอไทด์สูงสุดเท่ากับ 13.30 และ 7.75 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ผลได้ของยีสต์สกัดเท่ากับ 0.38 กรัมต่อกรัมเซลล์ ในการศึกษาการยอมรับยีสต์สกัดในผลิตภัณฑ์อาหารหมั่นโถว พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักสูตร มีการยอมรับของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์มากที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title Production of yeast extract from *Hansenula anomala* for flavoring agent

Name Miss Kluymai Kaewjamsai
Miss Thongpan Leangapichart
Miss Suchada Siritunyong

Department Applied Biology

Program Industrial Microbiology

Academic Year 2005

Special Project Advisor Assoc. Prof. Dr. Nuanphan Naranong

Special Project Co-advisor Asst.Prof. Linchong Suklampoo

ABSTRACT

Yeast extract production by *Hansenula anomala* TISTR 5082 was studied in aerobic fermentation at 30 °C using modified Y-M broth containing coconut water as substrate. From the results, it was found that the highest cell dry weight was 20.31g/L at 36 hrs of cultivation. The maximum production of protein and ribonucleotide were obtained when 36-hr yeast cells were incubated with papain at concentration of 0.2% (weight/cell wet weight) at pH 5.4, 55 °C for 36 hrs. The yields of protein and ribonucleotide from the autolysis were 13.30 and 7.75 g/L, respectively. The yield of yeast extract was 0.38 g/g (weight/cell wet weight). Various concentrations of yeast extract were added for chinese bread production. The result showed that the good taste of the bread was accepted when 0.5% yeast extract was used.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษนี้ ได้จัดทำขึ้นตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต และสามารถทำสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีนั้น คณะผู้จัดขอขอบพระคุณ รศ.ดร. นวลพรรณ ณ ระนอง อาจารย์ที่ปรึกษาซึ่งท่านได้ช่วยเอาใจ ให้คำแนะนำด้วยดีเสมอมา และกรุณาตรวจทานแก้ไขทางด้านภาษา ประธานกรรมการ รศ.ดร. ดุษณี ธนะบริพัฒน์ และ ผศ. ลินจง สุขลำภู กรรมการพิจารณาโครงงานพิเศษ ทั้งนี้ยังขอบคุณ คุณวิทยา เขียวเขิน คุณประสิทธิ์ แผ้วบาง คุณเอกภพ ภาเรือง และคุณอนิทัต ทองจันทร์ เจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ที่ช่วยกรุณาให้ยืมอุปกรณ์และสารเคมี และเจ้าหน้าที่ธุรการด้วย ทำให้การทดลองเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ

สุดท้าย คณะผู้จัดทำขอขอบคุณเพื่อน ๆ ที่ช่วยเหลือ และให้ยืมอุปกรณ์ให้การทำโครงงานพิเศษนี้บรรลุไปด้วยดี

คณะผู้จัดทำ

พฤษภาคม 2549

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
สารบัญ	ค
สารบัญตาราง	ง
สารบัญรูป	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	1
ความเป็นมาของโครงงานพิเศษ	1
วัตถุประสงค์	2
ขอบเขตของการวิจัย	2
ผลที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ	3
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	22
บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผล	26
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	35
บรรณานุกรม	36
ภาคผนวก	38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1 ปริมาณกรดอะมิโนในยีสต์และยีสต์สกัด 5

ตารางที่ 2.2 ปริมาณวิตามินบีในยีสต์และยีสต์สกัด 6

ตารางที่ 2.3 คุณสมบัติการให้กลิ่นรสของกรดอะมิโนและน้ำตาลกลูโคส เมื่อให้ความร้อนที่ 180 °C 7

ตารางที่ 2.4 ปริมาณการใช้ยีสต์สกัดในอาหาร 10

ตารางที่ 2.5 เอนไซม์ที่ย่อยสลายยีสต์ 14

ตารางที่ 2.6 ประโยชน์ของการใช้เอนไซม์ย่อยสลายยีสต์ 15

ตารางที่ 2.7 วิเคราะห์ส่วนประกอบของน้ำมะพร้าว 20

ตารางที่ 2.8 วิเคราะห์ส่วนประกอบของกรดอะมิโนในน้ำมะพร้าว 20

ตารางที่ 2.9 วิเคราะห์ส่วนประกอบของวิตามินบีในน้ำมะพร้าว 21

ตารางที่ 4.1 ค่าพีเอชและน้ำหนักเซลล์แห้งน้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อ*H. anomala* TISTR 5082 เมื่อเลี้ยงในอาหารน้ำมะพร้าวเป็นเวลา 72 ชั่วโมง 26

ตารางที่ 4.2 แสดงปริมาณโปรตีนและปริมาณไรโบนิวคลีโอไทด์อายุเซลล์ที่ 36 ชั่วโมง 27

ตารางที่ 4.3 แสดงปริมาณโปรตีนและปริมาณไรโบนิวคลีโอไทด์อายุเซลล์ที่ 48 ชั่วโมง 28

ตารางที่ 4.4 แสดงปริมาณโปรตีนและปริมาณไรโบนิวคลีโอไทด์อายุเซลล์ที่ 60 ชั่วโมง 30

ตารางที่ 4.5 แสดงปริมาณโปรตีนและปริมาณไรโบนิวคลีโอไทด์ของสารละลายใส หลังการหมุน เหวี่ยงที่สภาวะต่างๆ 31

ตารางที่ 4.6 แสดงปริมาณโปรตีนและปริมาณไรโบนิวคลีโอไทด์ ที่ได้จากตัวอย่างเซลล์ชั่วโมงที่ 36 ใช้ความเข้มข้นปาเปน 0.2 ร้อยละ โดยน้ำหนักเซลล์ยีสต์เปียก และปริมาณผลได้ของยีสต์สกัด 31

ตารางที่ 4.7 องค์ประกอบทางกายภาพและเคมีของสารสกัดจากยีสต์ที่ได้จากการใช้เอนไซม์ ปาเปนความเข้มข้นร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนักยีสต์ในการย่อยสลายเซลล์ยีสต์ 32

ตารางที่ 4.8 คะแนนเฉลี่ยของการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสของหมั่นโถวที่ผสมสารสกัดจากยีสต์ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0 0.1 0.3 0.5 และ 0.7 โดยน้ำหนักสูตร 34

ตารางที่ ข-1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย bovine serum albumin ที่ความเข้มข้นต่างๆ 43

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง(ต่อ)

หน้า

ตารางที่ จ-1 ปริมาณโปรตีนของสารละลายใสหลังการหมุนเหวี่ยง (กรัมต่อลิตร) 46

ตารางที่ จ-2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณโปรตีนของสารละลายใส หลังการหมุนเหวี่ยง 46

ตารางที่ จ-3 ปริมาณไรโบนิวคลีโอไทด์ของสารละลายใสหลังการหมุนเหวี่ยง (กรัมต่อลิตร) 47

ตารางที่ จ-4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณไรโบนิวคลีโอไทด์ของ สารละลายใสหลังการ หมุนเหวี่ยง 47

ตารางที่ จ-5 คะแนนความชอบทางด้านประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์หมั่นโถวในด้านสี 49

ตารางที่ จ-6 คะแนนความชอบทางด้านประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์หมั่นโถวในด้านกลิ่น 50

ตารางที่ จ-7 คะแนนความชอบทางด้านประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์หมั่นโถวในด้านรสชาติ 51

ตารางที่ จ-8 คะแนนความชอบทางด้านประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์หมั่นโถวในด้าน ความชอบรวม 52

ตารางที่ จ-9 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของการทดสอบทางประสาทสัมผัสที่มีต่อ หมั่นโถวผสมยีสต์สกัด 53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 2.1 การเกิดกลิ่นรสโดยการเปลี่ยนรูปของ 5′–AMP เป็น 5′–IMP	7
รูปที่ 2.2 วิถีของปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องการย่อยสลายตัวเองของยีสต์	13
รูปที่ 2.3 แผนภาพการย่อยสลายเซลล์ยีสต์โดยวิธีการย่อยสลายตัวเอง (autolysis)	14
รูปที่ 2.4 ขั้นตอนและสภาวะของกระบวนการผลิตยีสต์สกัด	17
รูปที่ 4.1 น้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อ *H. anomala* TISTR 5082 เมื่อเลี้ยงในอาหารน้ำมะพร้าวเป็น เวลา 72 ชั่วโมง	27
รูปที่ 4.2 แสดงปริมาณโปรตีนและปริมาณไรโบนิวคลีโอไทด์อายุเซลล์ที่ 36 ชั่วโมง	28
รูปที่ 4.3 แสดงปริมาณโปรตีนและปริมาณไรโบนิวคลีโอไทด์อายุเซลล์ที่ 48 ชั่วโมง	29
รูปที่ 4.4 แสดงปริมาณโปรตีนและปริมาณไรโบนิวคลีโอไทด์อายุเซลล์ที่ 60 ชั่วโมง	30
รูปที่ 4.5 ลักษณะของยีสต์สกัด	31
รูปที่ ข-1 กราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายโปรตีนมาตรฐาน	43

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาของโครงงานพิเศษ

ยีสต์สกัดเป็นผลิตภัณฑ์ที่ประกอบด้วยโปรตีนและองค์ประกอบชนิดอื่น ๆ ภายในเซลล์ที่แยกได้จากเซลล์ยีสต์ด้วยกระบวนการย่อยสลายตัวเอง (autolysis) ของยีสต์ หรือได้จากการย่อยโดยใช้สารเคมีและเอนไซม์ ยีสต์สกัดที่ได้จากการย่อยสลายตัวเองของยีสต์ เรียกว่า "ยีสต์ออโตไลเสท" (yeast autolysate) ดังนั้นยีสต์สกัดบางครั้งอาจเรียกเป็นยีสต์ออโตไลเสท การย่อยสลายตัวเองของเซลล์ยีสต์โดยปกติจะเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติอยู่แล้ว เมื่อเซลล์มีอายุมากและตายไป เอนไซม์ในเซลล์จะย่อยสลายผนังเซลล์และสารต่าง ๆ ที่มีอยู่ในเซลล์ แต่เป็นการย่อยตัวเองแบบค่อยเป็นค่อยไปทีละเล็กทีละน้อย ซึ่งต่างจากวิธีการนี้ที่จะเป็นการเร่งเซลล์ยีสต์ให้เกิดการย่อยตัวเองอย่างรวดเร็ว และเกิดในปริมาณมาก ด้วยการปรับสภาวะต่างๆ ทำให้สารประกอบเหล่านั้นออกมาภายนอกได้อย่างอิสระ เช่น การสกัดหรือย่อยเซลล์ยีสต์ด้วยกรดแก่ (hydrolysis) การสกัดด้วยสารเคมี (plasmolysis) หรือการสกัดด้วยเอนไซม์ที่มีอยู่ในเซลล์ยีสต์ (autolysis) ยีสต์สกัดเป็นแหล่งสะสมสารอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงหลายชนิด เช่น โปรตีน และวิตามิน บีรวม ยีสต์สกัดมีประโยชน์ในการใช้ทำอาหารสัตว์ อาหารเสริมสุขภาพ รวมทั้งการนำมาใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสของอาหาร

เชื้อยีสต์ที่ผลิตไรโบนิวคลีโอไทด์ได้จาก *Candida* spp. *Sacchromyces cerevisiae*, *Kluyveromyces lactis* *Zygosacchromyces rouxii* และ *Hansenula anomala* TISTR 5082 พบว่าเชื้อ *H. anomala* TISTR 5082 จะผลิตไรโบนิวคลีโอไทด์ได้มากที่สุด (Kim et.al., 2002) ซึ่งต่อมาได้มีการนำน้ำมะพร้าวมาใช้ประโยชน์เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ *H. anomala* TISTR 5082 เพื่อผลิตไรโบนิวคลีโอไทด์ (ตุสิตและคณะ, 2547) เนื่องจากน้ำมะพร้าวมีส่วนประกอบของกรดอะมิโน กรดอินทรีย์ กรดนิวคลีอิก พิวรีน น้ำตาล น้ำตาลแอลกอฮอล์ วิตามิน สารควบคุมการเจริญเติบโต และธาตุอาหาร เป็นต้น เป็นแหล่งอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์

การศึกษาครั้งนี้เพื่อผลิตยีสต์สกัดจากเชื้อ *H. anomala* TISTR 5082 โดยใช้น้ำมะพร้าวเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อและหาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายเซลล์ยีสต์โดยใช้เอนไซม์ปาเปนในการย่อยสลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์

ศึกษาการผลิตยีสต์สกัดจาก *Hansenula anomala* TISTR 5082 ในน้ำมะพร้าวเพื่อเป็นสารเพิ่มกลิ่นรสในอาหาร

1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

1. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของเอนไซม์ปาเปนในการย่อยสลายเซลล์ยีสต์ *Hansenula anomala* TISTR 5082
2. ศึกษาการยอมรับของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์อาหารที่ผสมสารให้กลิ่นรสจากยีสต์สกัด

1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1. ผลิตยีสต์สกัดจาก *Hansenula anomala* TISTR 5082 เพื่อเป็นสารเพิ่มกลิ่นรส
2. ทราบสภาวะที่เหมาะสมของเอนไซม์ปาเปนในการย่อยเซลล์ยีสต์ *Hansenula anomala* TISTR 5082

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและหลักการ

2.1 ประวัติและความเป็นมาของยีสต์สกัด

ในปลายศตวรรษที่ 19 มีการศึกษาและพบว่าในเซลล์ยีสต์มีปริมาณของโปรตีนสูง สามารถเป็นแหล่งอาหารที่สำคัญต่อมนุษย์และสัตว์ นอกจากนั้นยังเป็นสารเพิ่มกลิ่นรส (flavoring agent) อีกด้วย ในวงการอุตสาหกรรมเบียร์ได้เริ่มทดสอบความเป็นไปได้ในการเพิ่มมูลค่าของยีสต์ที่เหลือจากการใช้ในอุตสาหกรรมเบียร์ โดยประสบความสำเร็จในปี ค.ศ. 1894 ได้มีการจดสิทธิบัตรเกี่ยวกับการผลิตสารสกัดจากยีสต์เป็นครั้งแรก และสารสกัดจากยีสต์ที่ผลิตขายในทางการค้าเป็นครั้งแรกอยู่ภายใต้ชื่อ " Marmite " โดยมีการผสมเครื่องเทศบางชนิดลงไปในส่วนผสมด้วย ซึ่งยังคงมีการจำหน่ายจนถึงปัจจุบันนี้ ในปี ค.ศ. 1940 ได้มีการศึกษาการผลิตสารสกัดจากยีสต์ขนมปัง (baker's yeast) ขึ้น ในปัจจุบันได้นิยมใช้ยีสต์ขนมปังเป็นวัตถุดิบในการผลิตยีสต์สกัด และสายพันธุ์ที่ใช้ในการผลิตยีสต์สกัด ได้แก่ *Candida utilis*, *Kluyveromyces marxianus* และ *Saccaromyces cerevisiae* เป็นต้น (Cornel, 1996)

ยีสต์สกัดเป็นผลิตภัณฑ์ที่ประกอบด้วยโปรตีน และองค์ประกอบชนิดอื่นๆ ภายในเซลล์ที่แยกได้จากเซลล์ยีสต์ด้วยกระบวนการย่อยสลายตัวเอง (autolysis) ของยีสต์ หรือได้จากการย่อยโดยใช้สารเคมี และเอนไซม์ ยีสต์สกัดที่ได้จากการย่อยสลายตัวเองของยีสต์ มีชื่อเรียกว่า "ยีสต์ออโตไลเสท" (yeast autolysate) ดังนั้นยีสต์สกัดบางครั้งอาจเรียกเป็นยีสต์ออโตไลเสท ซึ่งหมายถึงผลิตภัณฑ์ที่ประกอบด้วยเซลล์ที่ย่อยสลาย โปรตีนที่ละลายได้ และผนังเซลล์ แต่ถ้ากระบวนการผลิตมีการแยกเอาส่วนของผนังเซลล์ที่ไม่ละลาย (insoluble cell wall) ออกด้วยวิธีการกรอง เรียกผลิตภัณฑ์ที่ได้ว่า "autolysed yeast extract" (Dziezak, 1987)

2.2 องค์ประกอบของสารสกัดจากยีสต์

ยีสต์สกัดถูกนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร เช่น ไส้กรอก ไอศกรีม ผลิตภัณฑ์ขนมอบ ด้วยจุดประสงค์ที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับองค์ประกอบที่สำคัญในยีสต์สกัด ซึ่งส่วนใหญ่เป็นโปรตีน

2.2.1. โปรตีน

ปริมาณโปรตีน (อย่างหยาบ) ของยีสต์สกัดคำนวณจาก N×6.25 โดย N (ไนโตรเจน) มีค่าระหว่างร้อยละ 7.0- 9.0 สัดส่วนประสิทธิภาพโปรตีนที่ถูกใช้ (protein efficiency ratio, PER) ของยีสต์ของขนมปังมีค่าเท่ากับ 1.8 คิดเป็นร้อยละ 72.0 ของคุณค่าทางโภชนาการเมื่อเปรียบเทียบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กับเคซีน (Reed and Nagodawithana, 1991) กรดอะมิโนเป็นส่วนประกอบของโปรตีนในยีสต์และยีสต์สกัดมีปริมาณกรดอะมิโนดังแสดงในตารางที่ 2.1

2.2.2 วิตามิน

ยีสต์เป็นแหล่งวิตามินบีรวม เป็นสารอินทรีย์ที่ละลายน้ำ เป็นอนุพันธุ์ของพิวรีน (purine) และ ไพริมิดีน (pyrimidine) วิตามินบีรวมเป็นกลุ่มของวิตามินที่มีความจำเป็นต่ออวัยวะต่าง ๆ ซึ่งประกอบด้วย วิตามินบี1 วิตามินบี 2 ไนอะซีน แพนโทธีนิก แอซิด วิตามินบี 6 วิตามินบี 12 ไลโฟลิกแอซิดและโคลีน วิตามินบีรวมเหมาะสำหรับบำรุงสุขภาพของผิว ผม สายตา ตับ และเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของพอร์ไฟรีน นิวคลีโอไทด์ (วิตามิน บี 12) ซึ่งวิตามินบี ที่กล่าวมาแต่ละชนิดมีความสำคัญต่อการทำงานของเอนไซม์ หรือเป็นโคแฟคเตอร์ (co-factor) ของเอนไซม์ (Reed and Nagodawithana, 1991) ปริมาณของวิตามินบีในยีสต์และยีสต์สกัดแสดงในตารางที่ 2.2

2.2.3 สารให้กลิ่นรสและสารเพิ่มรสชาติอาหาร

การใช้ยีสต์สกัดในอาหารเพื่อเป็นสารให้กลิ่นรสหรือสารปรุงแต่งกลิ่นรส และสารเพิ่มรสชาติในอาหาร (flavors and flavor enhacers) มีรายงานการศึกษาออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มแรกได้ศึกษาและพบว่า สารประกอบให้กลิ่นรสจากยีสต์สกัด มีองค์ประกอบ 48 ชนิด เป็นสารพวกกรดคาร์บอกซิลิก เบนซีนนอยด์ ฟิวรานอยด์ ไพราซีน เอสเทอร์ ไพโรล และไธอาโซล กลุ่มที่สอง ได้ศึกษาสารให้กลิ่นรสที่เกิดจากปฏิกิริยาต่างๆ ขององค์ประกอบภายในของยีสต์สกัด เช่น การให้ความร้อนแก่กรดอะมิโนและกลูโคส ดังแสดงในตารางที่ 2.3

2.3 การเกิดกลิ่นรสในยีสต์สกัด

การผลิตสารให้กลิ่นรสจากยีสต์มีความเกี่ยวข้องกับนิวคลีโอไทด์ ที่มีองค์ประกอบของเพียวรีน และน้ำตาลรวมทั้งกลุ่มของฟอสเฟต ในสูตรโครงสร้างซึ่งสามารถนำมาเป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสในอาหารได้ยีสต์เป็นแหล่งของ RNA ซึ่งมีอยู่ภายในเซลล์ถึง 2.5-15% สามารถแยกออกมาจากเซลล์ยีสต์ที่ถูกทำให้แตก หรือสลายตัวและเมื่อทำการย่อยสลาย RNA ด้วยเอนไซม์ 5′-ฟอสโฟไดเอสเทอร์เรส (5′-phosphodiesterase) จะให้สารประกอบพวกนิวคลีโอไทด์ เช่น AMP (adenosine monophosphat) GMP (guanosine monophophate) CMP (cytidinosine monophophate) และ UMP (uridinosine monophophate) และออกมาในที่สุด สารพวก AMP และ GMP จะนำมาใช้ในอาหาร ส่วน CMP และ UMP นิยมใช้ในวงการแพทย์ (Reed and Nagodawithana, 1991)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 ปริมาณกรดอะมิโนในยีสต์และยีสต์สกัด

กรดอะมิโน	ปริมาณกรดอะมิโน (ร้อยละของยีสต์โปรตีน)							
	A[1/]	B[1/]	C[1/]	D[2/]	YE_1[3/]	YE_2[3/]	YA_1[4/]	YA_2[4/]
Lysine	9.4	8.1	8.2	7.4	*	*	6.92	6.51
Methionie	*	1.4	2.5	1.7	4.5	1.4	1.49	1.15
Trypttophan	1.2	*	1.2	*	1.7	0.6	*	*
Valine	7.4	5.5	5.5	4.7	6.0	5.6	6.93	6.00
Threonine	5.8	4.1	4.8	5.4	0.5	7.1	4.92	6.00
Leucine	9.0	6.6	7.9	7.7	7.0	6.2	9.16	7.66
Isoleucine	5.8	6.0	5.5	4.4	4.7	4.9	5.82	5.15
Histidine	3.5	2.8	4.0	2.2	2.3	1.8	1.89	1.39
Cysteine	1.8	*	1.6	1.3	น้อยมาก	น้อยมาก	น้อยมาก	น้อยมาก
Alanine	9.1	5.1	*	7.6	7.2	6.5	5.84	6.64
Glutamic acid	21.0	20.1	*	15.4	11.5	19.5	5.21	6.26
Aspartic acid	*	9.6	*	10.4	10.2	14.0	5.37	4.73
Proline	5.5	5.3	*	9.4	5.0	3.5	2.54	13.75
Serine	5.6	4.4	*	5.4	4.5	4.6	8.35	7.12
Phenylalanine	*	4.1	4.5	3.7	3.8	4.5	3.96	3.71
Aarginine	*	8.3	5.0	4.7	1.74	3.8	4.64	1.57
Ttyrosine	5.4	3.7	5.0	3.7	3.0	2.5	2.58	3.04
Glycine	5.8	4.9	*	5.4	5.5	4.4	3.21	3.31

หมายเหตุ A : *S. cerevisiae*, Univ.Food Assay , B : *S. cerevisiae*, Kockova-kratochvilova

C : *S. cerevisiae*, D : *Candida rugosa*

YE_1 : Yeast extract(Brewer's yeast), YE_2 : Yeast extract(Baker's yeast)

YA_1 : Yeast autolysate(*S. cerevisiae* RCM-Y-2465)

YA_2 : Yeast autolysate(*S. cerevisiae* RCM-Y-2656), * ไม่มีข้อมูลรายงาน

ที่มา : 1 / Reed and Nagodawithana (1991), 2 / Kim et al. (2002), 3 / Kelly (1983)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 ปริมาณวิตามินบีในยีสต์และยีสต์สกัด

วิตามิน	ยีสต์แห้ง[1/] (µg/g)	ยีสต์สกัด[2/] (mg/100g extraxt)
ไทอามีน(บี 1)	120	3
ไรโบฟลาวิน(บี 2)	40	11.9
ไนอาซีน	300	68
ไพริดีอกซีน(บี 6)	28	2.3
กรดแพนโทนิค	70	30
ไบโอติน	1.3	0.25
กรดโฟลิค	13.0	3.1
วิตามินบี 12	0.001	*

หมายเหตุ * ไม่มีข้อมูลรายงาน
ที่มา : Reed and Nagodawithana (1991)

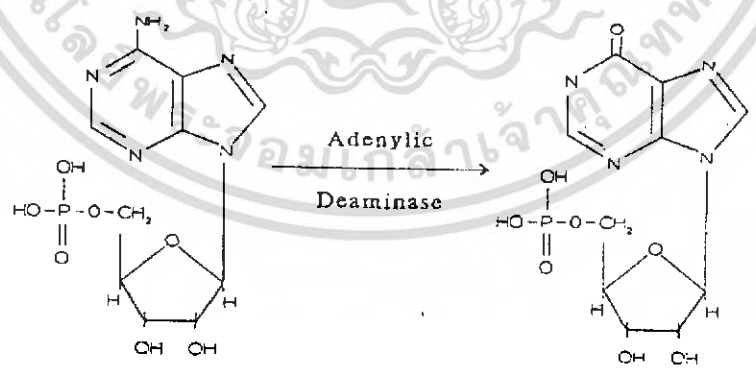
เมื่อนำยีสต์สกัดมาให้ความร้อน เพื่อทำให้เข้มข้นและทำแห้งต่อไปนั้น ในระหว่างการให้ความร้อน องค์ประกอบตามธรรมชาติของเซลล์ยีสต์ เช่น ไทอามีน ไขมัน และองค์ประกอบต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นในระหว่างการย่อยสลายตัวเองเนื่องจากการย่อยโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และกรดนิวคลีอิก เช่น กรดอะมิโน กลูโคส ไรโบ-5′-ฟอสเฟต และไรโบส จะเกิดการเปลี่ยนแปลงเนื่องจากความร้อนหรือปฏิกิริยาต่างๆ ภายใต้อิทธิพลของความร้อน ทำให้เกิดสารประกอบที่ระเหยได้เป็นจำนวนมาก รวมถึงเมื่อมีการเติมเอนไซม์ดีอะมิเนส (deaminase) ลงไปจะทำให้ เกิดการเปลี่ยนรูปของ 5–AMP ไปเป็น 5–IMP ดังรูปที่ 1.1 สารสกัดจากยีสต์จึงมีสมบัติเป็นสารให้กลิ่นรส cheesy meaty หรือ savoury แก่อาหาร ซึ่งกลิ่นรสที่ได้นี้จะแตกต่างออกไปตามภาวะที่ใช้ในการย่อยสลาย ระดับการย่อยสลายโปรตีนและชนิดของยีสต์ที่นำมาใช้ในการผลิต สารสกัดจากยีสต์ที่มีคุณภาพ และกลิ่นรสที่ดีนั้นได้จากยีสต์ขนมปังหรือยีสต์ที่ใช้หมักเครื่องดื่ม ส่วน *Candida utilis* ซึ่งจัดเป็นยีสต์ที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว (single cell protein) นั้น สามารถนำมาผลิตสารสกัดได้แต่ไม่นิยมเพราะผลิตภัณฑ์จะมีกลิ่นรสที่ด้อยกว่า(Reed and Nagodawithana, 1991)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.3 คุณสมบัติการให้กลิ่นรสของกรดอะมิโนและน้ำตาลกลูโคสเมื่อให้ความร้อนที่180°C

Amino acid	Property
Glycine	caramel
Alanine	caramel
Valine	chocolate
Leucine	Baked cheese
Isoleucine	Baked cheese
Proline	cakes and pastries
Hydroxyproline	crackers
Methionine	cooked pototatoes
Phenylalanine	violets
Tyrosine	caramel
Asparaginic acid	caramel
Glutamic acid	Toffee
Histidine	Corn bread
Lysine	Fresh bread
Arginine	Burnt sugar

ที่มา : www.ajinomoto.com



รูปที่ 2.1 การเกิดกลิ่นรสโดยการเปลี่ยนรูปของ 5′–AMP เป็น 5′–IMP

ที่มา :Reed and Nagodawithana (1991)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประเภทของสารที่ให้กลิ่นรสที่พบในสารสกัดจากยีสต์อาจสรุปได้ดังนี้

- สารอนินทรีย์ที่ให้รสชาติ ได้แก่ โซเดียม โปตัสเซียม แมกนีเซียม คลอไรด์ ฟอสเฟตและซัลเฟต
- สารอินทรีย์ที่ให้รสชาติ ได้แก่ กรดอะมิโน นิวคลีโอไทด์ และเปปไทด์
- สารอินทรีย์ที่ให้กลิ่น ได้แก่ liphatic acids aromatic acids ester carbonyl compound heterocyclic compound(N, O, S) phenolics pyrazine และ hydroxyl compound (ภูวดลและสมศักดิ์, 2536)

2.3.1 ปฏิกิริยาการเกิดสารให้กลิ่นรส

การเกิดสารให้กลิ่นรสของยีสต์สกัด มีสาเหตุการเกิด 2 ประการใหญ่ๆ คือ เกิดจากการรวมตัวของสารต่างๆ ภายในเซลล์ยีสต์ขณะผ่านกระบวนการย่อยสลายตัวเอง และอีกประการหนึ่งเป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น อันเนื่องมาจากได้รับความร้อน ซึ่งมีบทบาทสำคัญมากต่อการเกิดสารให้กลิ่นรส ปฏิกิริยาที่สำคัญมีดังนี้

2.3.1.1การเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ไม่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ (maillard reaction หรือ non-enzymaticbrowning) ยีสต์สกัดอุดมไปด้วยเปปไทด์ กรดอะมิโนอิสระ นิวคลีโอไทด์ และน้ำตาล จึงเป็นแหล่งตั้งต้นอย่างดีของปฏิกิริยาสีน้ำตาล คือเป็นการรวมกันระหว่างหมู่เอมีนของกรดอะมิโน โปรตีน กับหมู่คาร์บอนิล ของน้ำตาลรีดิวซ์ ได้สารเป็นผลผลิตแล้วเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างจากปฏิกิริยาต่อเนื่องมากมาย ได้ให้สารกลิ่นรสและสีน้ำตาลในอาหารหลายชนิด ความแรงของปฏิกิริยาขึ้นอยู่กับคุณสมบัติตามธรรมชาติของสารที่ทำปฏิกิริยาและมีความเป็นด่าง อุณหภูมิสูงจะเกิดการเร่งปฏิกิริยาสีน้ำตาลได้ดีขึ้น น้ำตาลอัลโดส เกิดปฏิกิริยาสูงกว่าน้ำตาลคีโตส สารประกอบให้กลิ่นรสจากปฏิกิริยาดังกล่าวนี้ ได้แก่ ไพราซีน ไพโรล ไธโอโซน และ ไตรไธโอน เป็นต้น และสารให้สีน้ำตาลคือ เมลานอยด์ดีน

2.3.1.2 ปฏิกิริยาอื่นๆ คือปฏิกิริยาออกซิเดชัน ของไขมันที่เป็นส่วนประกอบของยีสต์สกัดให้สารที่มีกลิ่นเช่น pentane-1-ol heptan-2-one และ 2-pentylfuran

ไพโรไรซีน (pyrolysis) เป็นปฏิกิริยาอีกแบบหนึ่งที่เกิดขึ้นกับกรดอะมิโน แต่ไม่พบในยีสต์สกัด เพราะปฏิกิริยาดังกล่าวเป็นการจัดเรียงตัวกันใหม่ของกรดอะมิโนซึ่งปกติแล้วกรดอะมิโนมีการจัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบที่ดีแล้ว

คุณลักษณะของกลิ่นรสที่เกิดขึ้นเมื่อใช้ยีสต์สกัดผสมในอาหารมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องดังนี้

- ชนิดของสายพันธุ์ยีสต์ที่ใช้ผลิตยีสต์สกัด
- สภาวะของการผลิตยีสต์สกัด
- ปริมาณเกลือในอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- เอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยสลาย
- ผลจากการปนเปื้อนของแบคทีเรีย
- ความเข้มข้นของยีสต์สกัดที่ใช้ในการผลิตอาหาร
- คุณลักษณะธรรมชาติของส่วนผสมอื่นๆ ในอาหาร

2.4 การประยุกต์ใช้ยีสต์สกัดในอาหาร

การประยุกต์ใช้ยีสต์สกัดกว้างขวางมาก จุดมุ่งหมายโดยส่วนใหญ่เพื่อเพิ่มกลิ่นรสในอาหารมากกว่าการเป็นแหล่งอาหารเสริม พบว่ายีสต์สกัดนำมาใช้เพิ่มกลิ่นรสในอาหารจำพวกซุป ซอส น้ำเกรวี่ เนยแข็ง เครื่องเทศ ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ ส่วนผสมของเครื่องปรุง อาหารประเภทขบเคี้ยว อุตสาหกรรมการผลิตผักและปลา บางครั้งยังมีการใช้ยีสต์สกัดในน้ำผลไม้และของหวานที่พร้อมรับประทานแต่จะใช้ในปริมาณที่ต่ำ (Cornel, 1996) มีรายงานว่ามีการใช้ยีสต์สกัดที่ได้จากยีสต์ที่เหลือจากอุตสาหกรรมเบียร์ในขนมปังกรอบและซอสเพื่อเพิ่มรสเนยแข็งให้มากขึ้น หรือใช้ในผลิตภัณฑ์ขนมอบและผลิตภัณฑ์จำพวกธัญพืช เช่น ครัวซองค์ (croissant) หรือในขนมปังกรอบ (cracker) โดยจะผสมในช่วงของการนวด หรือโรยบนผิวหน้าของผลิตภัณฑ์ ยีสต์สกัดจะคงตัวในกระบวนการผลิตภัณฑ์ สามารถอบด้วยเตาอบ ใช้ไมโครเวฟหรือแช่แข็งได้ ปริมาณการใช้ยีสต์สกัดและผลิตภัณฑ์ที่ต้องการใช้ โดยทั่วไปจะอยู่ในช่วงร้อยละ 0.5-2

ยีสต์สกัด เมื่อนำไปละลายในน้ำร้อน จะให้กลิ่นรสของเนื้อสัตว์ เมื่อรับประทานสารสกัดจากยีสต์พบว่า กลิ่นรสของเนื้อสัตว์จะคงอยู่ได้นานและไม่มีกลิ่นรสอื่นปน

ยีสต์สกัดมีหน้าที่หลายประการในอาหาร (Cornel, 1996)

1. ให้กลิ่นรสในอาหาร
2. กลบกลิ่นรสอื่นที่ไม่ต้องการ
3. ใช้แทนส่วนผสมที่มีราคาแพง เช่น สารสกัดจากเนื้อสัตว์
4. ปรับปรุงสีของอาหารให้เข้มขึ้น
5. ลดการใช้ผงชูรสและเกลือ

ยีสต์สกัดในทางการค้ามีหลายชนิด เช่น

- ชนิดที่มีกลิ่นรสอ่อน (light) สำหรับอาหารที่มีสีอ่อน และรสนุ่ม เช่น ซุปไก่
- ชนิดที่มีกลิ่นรสเข้ม (dark) สำหรับอาหารประเภทน้ำเกรวี่เนื้อ (beef gravy)
- ชนิดที่มีความเข้มข้นของเกลือต่ำ ซึ่งสามารถประยุกต์ใช้กับอาหารได้หลายชนิด

2.4.1 การใช้ยีสต์สกัดในผลิตภัณฑ์อาหาร

Albrecht และ Deindoefer (1966) ได้แนะนำให้ใช้ยีสต์สกัดในผลิตกัณฑ์อาหารชนิดต่างๆ โดยใช้น้ำหนักอาหารเป็นเกณฑ์ ดังตารางที่ 2.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.4 ปริมาณการใช้ยีสต์สกัดในอาหาร

ผลิตภัณฑ์อาหาร	ปริมาณการใช้ (ร้อยละโดยน้ำหนักอาหาร)
Dried soup	0.30-1.00
Concentrate soup	0.50-1.30
Bouillon soup	0.50-1.60
Sauce and gravy	0.50-1.00
Meat	0.70-1.30
Canned meat	0.70-1.60
Frozen meat	0.70-1.60
Stew	0.50-1.30
Poutry product	0.30-1.00
Seafood	0.20-0.60
Vegetable	0.10-0.50
Snackfood	0.20-0.80
Breading and batter	1.00-2.50

ที่มา : Albrelht and Deindoefer (1966)

เป็นที่ทราบกันดีแล้วว่ายีสต์มีกรดนิวคลีอิก ประมาณร้อยละ 8-15 ดังนั้นในกระบวนการผลิตยีสต์สกัดจะได้กรดนิวคลีอิกผสมอยู่ในผลิตภัณฑ์ด้วย กรดนิวคลีอิกโดยเฉพาะพิวรีน ถ้าร่างกายได้รับสารชนิดนี้มากๆจะขับออกมาไม่ทัน ทำให้มีกรดยูริกในกระแสเลือดสูงกว่าปกติ แล้วตกผลึกสะสมตามข้อกระดูกหรือเนื้อเยื่อ เป็นสาเหตุของโรคเกาต์ ดังนั้นการใช้ยีสต์สกัดผสมอาหารในปริมาณสูงมากเกินไป จึงเป็นสิ่งที่ควรระวัง ในคนปกติสามารถรับกรดนิวคลีอิกได้ไม่เกินวันละ 4 กรัม หรือ 2 กรัมจากยีสต์โดยน้ำหนักแห้ง (Reed and Nagodawithana, 1991)

2.5 การสลายเซลล์ยีสต์เพื่อผลิตยีสต์สกัด

หลักการโดยทั่วไปสำหรับการผลิตยีสต์สกัด คือ การทำให้ผนังเซลล์ของยีสต์ถูกทำลายหรือแตกออก เพื่อให้สารประกอบต่างๆ ที่อยู่ภายในเซลล์ยีสต์สามารถละลายออกมาอยู่ในตัวกลางได้

วิธีการโดยทั่วไปที่ใช้ในการสกัดยีสต์ได้แก่ วิธีทางกายภาพ ด้วยการใช้เครื่องโฮโมจีไนซ์ วิธีทางเคมีด้วยการใช้กรดหรือด่างเข้มข้น และสารลดแรงตึงผิว และวิธีการทางชีวภาพ คือการใช้เอนไซม์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.1 การย่อยสลายยีสต์ด้วยวิธีทางเคมี

การใช้สารเคมีบางชนิดย่อยสลายยีสต์เพื่อผลิตยีสต์สกัดที่จำหน่ายทางการค้า แบ่งออกเป็น 2 กระบวนการใหญ่ๆ คือ

- การทำให้เซลล์แตกโดยวิธีพลาสโมไลซิส (Plasmolysis)

เป็นวิธีการที่นิยมใช้ในการผลิตยีสต์สกัดใช้สารพลาสโมไลส์ (plasmolysing agent) ซึ่งส่วนมากจะเป็นสารอนินทรีย์ไม่มีขั้ว เช่น คลอโรฟอร์ม, เอทธิลอะซิเตท หรือเอมิลอะซิเตท หรืออาจใช้สารละลายอินทรีย์จำพวกน้ำตาล และสารอะซิเตทเอสทอร์ โดยที่พีเอช 7 ใช้เอทธิลอะซิเตทย่อยเซลล์ยีสต์ได้ปริมาณโปรตีนไฮโดรไลซิสประมาณ 58 เปอร์เซ็นต์ (Champagne et al., 1999) ใช้ที่นิยมใช้การผลิตสารสกัดจากยีสต์คือ เกลือ เมื่อยีสต์อยู่ในตัวกลางที่มีความเข้มข้นมากกว่าปกติ จะเกิดการสูญเสียน้ำจากภายในเซลล์ทำให้พลาสมาเมมเบรนแยกตัวออกจากผนังเซลล์ เกิดปฏิกิริยาพลาสโมไลซิสขึ้น วิธีการนี้มีค่าใช้จ่ายต่ำ และสารพลาสโมไลส์ยังมีคุณสมบัติในการทำลายจุลินทรีย์ได้ แต่มีข้อเสียตรงที่สารสกัดจากยีสต์ที่ได้มีรสเค็มของเกลือ จึงเป็นข้อจำกัดในการใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร (Cornel, 1996 ; Reed and Nagodawithana, 1991)

- การย่อยสลายโดยใช้กรด (Hydrolysis)

เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด ในการย่อยสลายยีสต์ขนมปัง วิธีการคือใช้กรดไฮโดรคลอริค ย่อยสารโมเลกุลใหญ่ เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และกรดนิวคลีอิก ให้เป็นสารโมเลกุลเล็กละลายได้ดีขึ้น กรรมวิธีการผลิตมีดังนี้คือ เตรียมตัวอย่างให้มีความเข้มข้นของยีสต์ในรูปของแข็งร้อยละ 65-85 เติมกรดเกลือเข้มข้น แล้วให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส จนเกิดการไฮโดรไลซิสได้ปริมาณกรดอะมิโนตามที่ต้องการ ซึ่งในทางการค้าจะหยุดกระบวนการผลิตเมื่อได้ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ร้อยละ 50-60 เปลี่ยนเป็นกรดอะมิโน หลังจากนั้นปรับพีเอช เป็น 5.0-6.0 โดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ ขั้นตอนต่อมาทำการกรองและทำให้เข้มข้นขึ้น แม้ว่าวิธีการผลิตยีสต์สกัดโดยการไฮโดรไลซิสนี้จะให้ปริมาณการผลิตสูง แต่มีข้อจำกัดคือ เครื่องมืออุปกรณ์ที่ใช้จะต้องไม่ทำปฏิกิริยากับกรดจนเกิดการกัดกร่อนได้ การใช้กรดเข้มข้นอาจทำลายกรดอะมิโนและวิตามิน ทำให้คุณค่าทางโภชนาการลดลง นอกจากนี้อาจเกิดสารประกอบของคลอรีน (3-choloropropanediol) ตกค้าง ซึ่งอาจก่อมะเร็งให้เกิดกับผู้บริโภคได้ (Reed and Nagodawithana, 1991) ดังนั้นวิธีนี้จึงไม่นิยมนำมาผลิตยีสต์สกัดใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

2.5.2 การสลายยีสต์โดยวิธีทางกายภาพหรือทางกล

การแยกโปรตีนออกจากยีสต์ในระดับอุตสาหกรรม วิธีหนึ่งที่นิยมใช้ คือการทำลายยีสต์ด้วยวิธีทางกลโดยใช้เครื่องโฮโมจีไนซ์หรือลูกแก้ว เครื่องโฮโมจีไนซ์มีความดันสูงถึง 20,000 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ทั้งชนิด French Press Eaton Press และ Gualin homogenizer โดย Gualin homogenizer นั้นมักออกแบบให้มีขนาดและใช้ปริมาตรของเหลวปริมาณน้อยๆ ได้ จำนวนครั้งที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผ่านเครื่องสามารถปรับให้ได้ความต้องการที่จะทำให้เซลล์แตก (Jazwinski, 1990) ตัวเครื่องประกอบด้วย ปั๊มผลักดันแทนที่ (positive displacement pump) เป็นส่วนดันให้ของเหลวข้นของยีสต์ ผ่านช่องเล็กๆ เกิดแรงเฉือนทำให้เซลล์แตกหรือฉีกขาด สารต่างๆ ภายในเซลล์จะถูกปล่อยออกมา ผลิตภัณฑ์ที่ได้เป็นส่วนผสมของโปรตีน กรดนิวคลีอิก และชิ้นส่วนของผนังเซลล์ การทำลายเซลล์ยีสต์โดยวิธีนี้มีข้อเสียเนื่องจากเซลล์ถูกทำลายค่อนข้างสมบูรณ์ กรดนิวคลีอิกที่ถูกปล่อยออกมาทำให้ความหนืดของสารละลายเพิ่มขึ้น รวมทั้งชิ้นส่วนขนาดเล็กของผนังเซลล์ที่อยู่ในสารละลายมีผลต่อการทำให้ใสมีความยุ่งยากขึ้น (Asenjo and Andrews, 1990)

การใช้วิธีทางกล (Mechanical) สามารถแบ่งได้ ดังนี้

-วิธีการบด (Grind) วิธีการบดนั้นอาศัยอนุภาคที่มีความหยาบเป็นตัวบด เพื่อช่วยในการทำให้ผนังของเซลล์ยีสต์ฉีกขาด เช่น แก้ว ทราย ควอตท์ และอะลูมิเนียม เป็นต้น วิธีนี้เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพต่ำ ไม่เหมาะกับวัตถุดิบที่มีราคาแพง (ชื่นจิตต์, 2528)

-วิธีการกวนด้วยอนุภาคหยาบ (Agitation) วิธีนี้ใช้ลูกแก้วขนาดเล็กที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.1-0.5 มิลลิเมตร ใส่ลงไปในสารแขวนลอยที่มีเซลล์จุลินทรีย์ผสมอยู่ประมาณ 10-100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วกวนด้วยความเร็ว 50-1000 รอบต่อวินาที จากนั้นค่อยแยกลูกแก้วออกโดยการกรอง ลูกแก้วสามารถนำกลับไปใช้อีก แต่ประสิทธิภาพของวิธีนี้จะดีสู้วิธีการทำให้เซลล์แตกโดยใช้คลื่นเสียงไม่ได้ (ชื่นจิตต์, 2528)

-วิธีการทำให้เซลล์แตกโดยใช้คลื่นเสียง (Sonic vibration) วิธีนี้จะใช้โพรงอากาศ (gascious cavitation) เป็นส่วนสำคัญที่ทำให้เซลล์แตก ฟองอากาศที่เกิดขึ้นนี้จะมีขนาดใหญ่ขึ้นเรื่อยๆ โดยต่อมาจะเกิดการแตกอย่างรวดเร็วกลายเป็นฟองอากาศขนาดเล็กๆ ภายใต้สภาวะที่มีความดันแตกต่างกันซึ่งเกิดขึ้นในสนามเสียง (sound field) นอกจากนี้ยังมีสาเหตุอื่นอีกที่มีส่วนช่วยทำให้เกิดการแตกของเซลล์ คือ

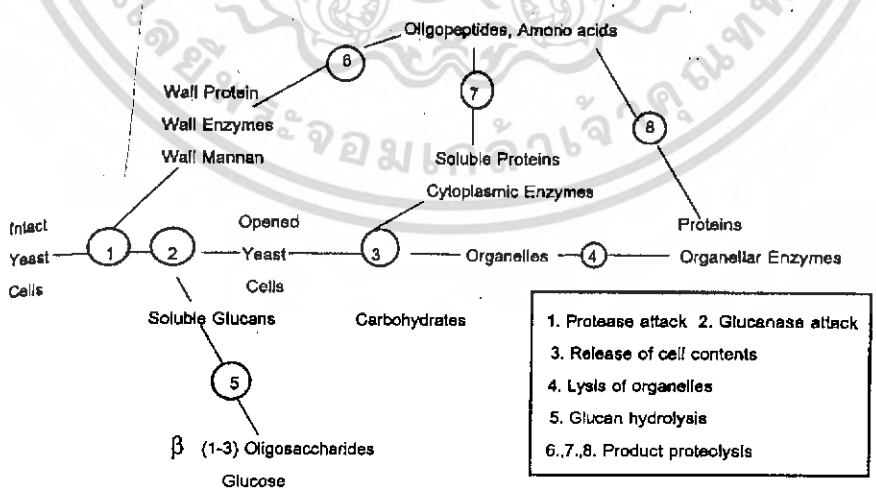
1) แรงเฉือน (shearing forces) เนื่องจากการไหลของของเหลวภายในเซลล์
2) ความดันจากการแตกสลายของฟองอากาศใกล้ๆ ผนังเซลล์
3) ความดันจากคลื่นเสียงโดยตรง
4) สาเหตุทางเคมี เนื่องจากอนุภาคอิสระ (free radical) ที่เกิดขึ้นในน้ำโดยเฉพาะ H^+ และ OH^- ซึ่งจะเข้าทำลายผนังเซลล์ ทำให้เซลล์ง่ายต่อการแตกสลาย
5) สาเหตุทางเคมี และทางกลรวมกันทำให้เซลล์แตก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

-วิธีการทำให้เซลล์แตกโดยใช้ความดัน (Pressure)การเปลี่ยนแปลงแรงดันที่เกิดขึ้นจะมีผลต่อการแตกของเซลล์ ตัวอย่างของแรงดัน เช่น แรงดันออสโมติก แรงดันของก๊าซ การสั่นสะเทือนของคลื่นเสียง การกวน การบดเป็นต้น เมื่อใช้แรงดันในช่วง 100-3500 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร

2.5.3 การสลายตัวของยีสต์โดยเอนไซม์ภายในเซลล์ (Yeast Autolysis)

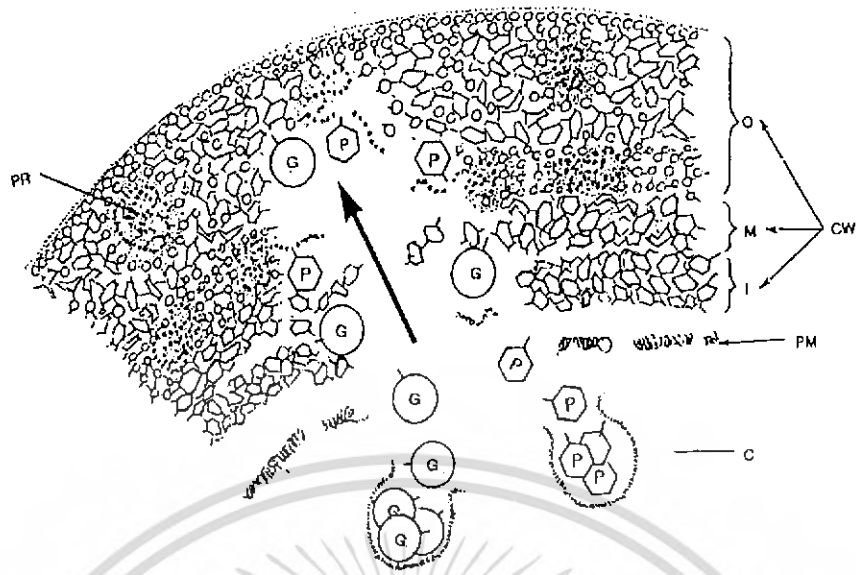
การย่อยสลายตัวเองของยีสต์ เกิดขึ้นเมื่อปรับสภาพแวดล้อมให้เหมาะสม คืออุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส สภาพความเป็น พีเอช 5.5 เป็นเวลานานประมาณ 20 ชั่วโมง (Kelly, 1983) โดยเอนไซม์ภายในเซลล์ยีสต์เริ่มกิจกรรมตามลำดับดังนี้ คือขั้นแรก เนื้อเยื่อแมนแนนโปรตีนด้านนอกถูกย่อยโดยเอนไซม์โปรติเอส และปลดปล่อยโปรตีนออกมาก่อน (Asenjo and Andrews, 1990) ขั้นที่สองเอนไซม์กลุ่มกลูคาเนส จับกับสายโซ่ของกลูแคนที่ด้านในผนังเซลล์ ทำการย่อยกลูแคนให้มีขนาดเล็กลงและละลายได้ เมื่อโปรติเอสกับกลูคาเนสทำงานร่วมกันเท่ากับเป็นการเปิดเอาผนังเซลล์ออกเหลือเฉพาะส่วนของพลาสมาเมมเบรน จากนั้นขั้นที่สามพลาสมาเมมเบรนจะแตกและปลดปล่อยองค์ประกอบภายในเซลล์ออกมาซึ่งจะถูกย่อยในขั้นตอนที่สี่ ในขณะเดียวกันชิ้นส่วนของผนังเซลล์ คาร์โบไฮเดรตส่วนที่ละลายจากผนังเซลล์ถูกย่อยต่อไปโดยกลูคาเนสและไคติเนสเป็นขั้นตอนที่ห้า โปรตีนที่ถูกปลดปล่อยออกจากเซลล์และขั้นตอนที่หกถึงแม้โปรตีนจะถูกย่อยซ้ำอีกครั้งโดยโปรติเอส เรียกว่าการเกิด "proteolysis" ได้โปรตีนที่มีขนาดเล็กและละลายน้ำได้ ปฏิกิริยาการย่อยสลายตัวเองของยีสต์ที่กล่าวมาทั้งหมดแสดงได้ดังรูปที่ 2.2 ภายใต้สภาวะที่ยีสต์ทำการย่อยสลายตัวเองนี้ นอกจากเอนไซม์โปรติเอส กลูคาเนสจะเป็นหลักในการทำงานแล้วยังมีเอนไซม์นิวคลีเอส เริ่มย่อยสลาย RNA และ DNA เป็นโพลีนิวคลีโอไทด์ และนิวคลีโอไซด์ (Reed and Nagodawithana, 1991)



รูปที่ 2.2 วิถีของปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องการย่อยสลายตัวเองของยีสต์

ที่มา : Huter and Asenjo (1987)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.3 แผนภาพการย่อยสลายเซลล์ยีสต์โดยวิธีการย่อยสลายตัวเอง (autolysis)

ที่มา : Reed and Nagodawithana (1991)

ตารางที่ 2.5 เอนไซม์ที่ย่อยสลายยีสต์

Source	Optimum pH	Optimum Temp.(^{0}C)	MW(x10^{3})	References
Oerskokia xanthineolytica/				Scott and Scheckman
Arthrobacter luteus				(1980)
(Zymolyase / Lyticase)				
Glucanase	6.5	45	58	Kitamura(1982)
Protease (alkaline)	10.0	35	29	
Whole yeast cell activity	7.5	35		
Arthrobacter GJM-1				Vrasnska' et al.(1977)
Glucanase	5.0	30 - 40	20	
Glucanase on walls		50		
Protease(alkaline)	9.0		11	
Whole cell yeast activity	7.5	30 - 35		
Glucanase		35 - 40	12	
Whole cell yeast activity	9.0	35 - 40		
Rhizoctinia sp.				Kobayashi et al.(1982)
Glucanase	5.5	55 - 60		
Protease	6.5	40		
Whole cell yeast activity	6.0	40	26	
Cytophaga NCIB 9497	8.5	55		Andrew and Asenjo (1986)
Whole cell yeast activity	9.0	45 - 50		

ที่มา : Asenjo and Andrews (1991)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.4 การใช้เอนไซม์ย่อยสลายยีสต์ขนมปัง

กระบวนการย่อยสลายตัวเองของยีสต์อาจเร่งอัตราเร็วโดยการเติมเอนไซม์จากภายนอกลงไป เช่น เอนไซม์จากพืช เอนไซม์จากจุลินทรีย์ เอนไซม์จากพืชที่อยู่ในกลุ่มซัลไฟดริลโปรติเอสให้ผลดีที่สุด เอนไซม์เหล่านี้ได้แก่ ปาเปน ฟิซิน โบรมิเลน

จากตารางที่ 2.6 การใช้เอนไซม์ย่อยสลายยีสต์แม้ว่าจะมีประโยชน์หลายด้านก็ตาม แต่มีปัจจัยที่ควรคำนึงถึงเมื่อจะใช้เอนไซม์เหล่านั้นคือ เอนไซม์ที่ย่อยสลายยีสต์ถ้าเป็นเอนไซม์โปรติเอส ปนอยู่ด้วยจะต้องไม่มีผลต่อผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ สามารถแยกเอนไซม์ย่อยสลายยีสต์ออกจากผลิตภัณฑ์ง่ายๆ และความสามารถของเอนไซม์มีสูงพอที่จะย่อยสลายได้เร็วโดยที่เซลล์ยีสต์ไม่ปลดปล่อยเอนไซม์โปรติเอสซึ่งอยู่ภายในเซลล์ออกมาย่อยผลิตภัณฑ์ได้ทัน (Asenjo and Andrews, 1990)

ตารางที่ 2.6 ประโยชน์ของการใช้เอนไซม์ย่อยสลายยีสต์

Utilization	References
Preparation of protoplasts ,cell fusion and transformation of yeast	Kitamura (1982)
Production of intracellular enzymes	Zomer et al.(1987)
Pretreatment to increase yeast digestibility	Kobayashi et al.(1982)
Preparation of soluble glucan polysaccharide	Jamas et al.(1986)
Alkaline extraction of yeast protein	Kobayashi et al.(1982)
Pretreatment for Dyno-mill mechanical breakage of cells	Kobayashi et al.(1982)
Extraction of specialized lipids from yeast	Hammon et al.(1981)
Production of yeast extracts	Kobayashi et al.(1982)
Extraction of pigments from red yeast	Okagbue and Lewis(1983)
Release of recombinant proteins(e.g.,human serum albumin)	Asenjo et al.(1988)
Lysis of carries-inducing microorganisms	Johnson (1977)

ที่มา : Asenjo and Andrews (1990)

2.6 กรรมวิธีการผลิตยีสต์สกัดระดับอุตสาหกรรม

การผลิตยีสต์สกัดในระดับอุตสาหกรรม อาศัยยีสต์จาก 2 แหล่ง คือ ยีสต์ที่เพาะเลี้ยงขึ้นมาโดยเฉพาะ เรียกว่า "Primary grown yeast" กับยีสต์ที่ได้จากโรงงานเบียร์เรียกว่า "Secondary grown yeast" (Keeman และ Snick, 1994) ซึ่งมีกระบวนการผลิตเริ่มต้นโดยการเตรียมเซลล์ยีสต์ให้มีความเข้มข้นร้อยละ 15-18 โดยน้ำหนักแห้ง แล้วดำเนินการผลิตตามขั้นตอนดังนี้

ขั้นที่1 พลาสโมไลซิส เป็นวิธีการเริ่มต้นทำลายเซลล์โดยการปรับอุณหภูมิให้สูงขึ้นจนมีผลทำให้เซลล์แตกแต่ไม่ทำลายเอนไซม์ และเติมสารเคมีบางชนิดคือเกลือแกง หรือตัวทำละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อินทรีย์ ซึ่งเป็นสารพลาสโมไลซ์ ช่วยลดการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่อาจปนเปื้อน และช่วยให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เมแบรนเสียรูปไปจากเดิม

ขั้นที่2 ออโตไลซิส เกิดการย่อยสลายตัวเองของยีสต์ โดยเอนไซม์ภายในเซลล์ หรืออาจเป็นเอนไซม์ที่เติมลงไปเพื่อช่วยเร่งการย่อยสลาย

ขั้นที่3 การแยกเศษเซลล์โดยการเหวี่ยง เพื่อแยกเศษเซลล์ ผนังเซลล์ออกจากส่วนที่สกัดได้ ช่วยให้การดำเนินงานในขั้นตอนทำให้ใสง่ายขึ้น

ขั้นที่4 พาสเจอร์ไรซ์ เพื่อฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อน และหยุดกิจกรรมของเอนไซม์

ขั้นที่5 การทำให้บริสุทธิ์ เป็นขั้นตอนที่ทำให้ส่วนสกัดที่ได้มีความบริสุทธิ์ ด้วยการแยกกลูแคน แมนแนน และโปรตีนบางชนิด รวมทั้งทำให้ใสด้วยการแยกส่วนที่ทำให้ขุ่น ซึ่งเป็นโอลิโกเปปไทด์ที่ตกตะกอนออก

ขั้นที่6 การทำให้เข้มข้น อาจทำได้โดยการใช้วิธีการกรอง เพื่อหลีกเลี่ยงการสูญเสียสารให้กลิ่นรส หรือทำแห้งภายใต้สุญญากาศ อุณหภูมิไม่เกิน 55 องศาเซลเซียส (Kelly, 1983) ขั้นตอนการผลิตยีสต์สกัดที่กล่าวมาทั้งหมดแสดงได้ดังรูปที่ 2.3

ครีมยีสต์เข้มข้นร้อยละ 15-18 โดยน้ำหนักแห้ง

↓

ให้ความร้อนที่ 55°ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง(เป็นขั้นตอนพลาสโมไลซิส)

↓

เพิ่มอุณหภูมิสูงขึ้นเป็น 70°ซ เป็นเวลานาน 15 ชั่วโมง(เป็นขั้นตอนออโตไลซิส)

↓

เหวี่ยงแยกเศษเซลล์

↓

ทำการพาสเจอร์ไรซ์ส่วนสกัดที่อุณหภูมิ 70-75 องศาเซลเซียสเป็นเวลานาน 2-5 ชั่วโมง

↓

ระเหยขั้นแรกภายใต้สภาพสุญญากาศให้ได้ของแข็งร้อยละ 30

↓

กรองแยกเอาส่วนตกตะกอนออก

↓

ระเหยซ้ำครั้งที่ 2 ภายใต้สุญญากาศ อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

↓

ยีสต์สกัดเข้มข้นมีของแข็งร้อยละ 70-75

รูปที่ 2.4 ขั้นตอนและสภาวะของกระบวนการผลิตยีสต์สกัด

ที่มา : Kelly (1983)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7 คุณลักษณะของยีสต์ที่ใช้ในการผลิตสารสกัดจากยีสต์

ในการผลิตสารสกัดจากยีสต์สามารถใช้ยีสต์ขนมปัง (baker's yeast) หรือยีสต์ที่ได้จากอุสาหกรรมเบียร์ (brewer's yeast) แต่จะนิยมใช้ยีสต์ขนมปังมากกว่าถึงแม้ว่าต้นทุนในการผลิตจะสูงแต่ยีสต์ขนมปังจะมีคุณประโยชน์ทางด้านโปรตีนอยู่สูงกว่า และมีกรรมวิธีในการผลิตไม่ยุ่งยากเท่ายีสต์ที่เหลือจากการใช้ในอุตสาหกรรมเบียร์ สายพันธุ์ยีสต์ที่ใช้ในการผลิตสารสกัดจากยีสต์ได้แก่ *Candida utilis, Kluyveromyces marxianus* หรือ *Saccharomyces cerevisiae* เป็นต้น ซึ่งสายพันธุ์ที่นิยมมากที่สุดคือ สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* เพราะยีสต์สายพันธุ์นี้ให้กลิ่นรสเฉพาะตัวที่ดีกว่าเมื่อใช้เป็นสารเพิ่มกลิ่นรสในอุตสาหกรรมอาหาร (Reed and Nagodawithana, 1991)

2.8 เอนไซม์ปาเปน

2.8.1 คุณสมบัติทางเคมีและการทำงานของปาเปน

ปาเปนจัดเป็นเอนไซม์ในกลุ่มซัลฟ์ไฮดริลโปรติเอส (sulfhydryl protease) หรือ เรียกว่า cystein proteinase ซึ่งกิจกรรมของเอนไซม์จะขึ้นอยู่กับหมู่ไทออล (thiol group) ของซิสเตอีน ปาเปนมีน้ำหนักโมเลกุล 23,406 มี isoelectrie point (pI) เท่ากับ 8.8 (Kimmel และ Smith, 1953) ปาเปนมีความคงตัวดีที่ พีเอช 5 ถ้า พีเอช ต่ำกว่า 3 หรือสูงกว่า 11 การเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลส์จะลดลง พีเอชที่เหมาะสมกับการทำงานของปาเปนขึ้นอยู่กับชนิดของสารที่เป็นสารตั้งตั้งต้น ด้วยปาเปนทนต่อความร้อนได้ดีกว่าโปรติเอสชนิดอื่น ๆ เช่น เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที เมื่อนำมาวัดกิจกรรมการตกตะกอนในนม พบว่ามีกิจกรรมลดลงไปเพียงร้อยละ 20 (Reed, 1975)

Kang และ Warner (1974) ศึกษาผลของพีเอชและอุณหภูมิที่มีต่อความคงตัวของปาเปน ไคโมปาเปน และปาปายาเปปติเดสเอ พบว่าเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที เอนไซม์ทั้ง 3 ชนิด มีการเปลี่ยนแปลงค่ากิจกรรมเพียงเล็กน้อยที่ พีเอช 5 มีการสูญเสียกิจกรรมสูงขึ้นที่ พีเอช 7 และสูญเสียกิจกรรมอย่างมีนัยสำคัญที่พีเอช 9

การเกิดปฏิกิริยาระหว่างปาเปนกับสารตั้งต้น จะเกิดที่ผิวโมเลกุลของปาเปนส่วนที่มีลักษณะเป็นร่อง ซึ่งมีหมู่ซัลฟ์ไฮดริล (-SH group) ของซิสเตอีน ดังนั้นถ้าหมู่นี้ถูกออกซิไดส์โดยโลหะหนักหรือสารพวก oxidizing agent เกิดเป็นพันธะไดซัลไฟด์ขึ้น กิจกรรมของปาเปนจะลดลง หมู่ซัลฟ์ไฮดริลในโมเลกุลของปาเปนถูกออกซิไดส์ได้ง่าย ดังนั้นควรป้องกันไม่ให้สัมผัสกับอากาศ โลหะหนักที่มีผลออกซิไดส์ ได้แก่ ทองแดง สังกะสี ปรอท เงิน และโคบอลท์ โมเลกุลของปาเปนประกอบด้วยกรดอะมิโนทริปโตเฟน และฮิสทิดีน ซึ่งถูกออกซิไดส์ได้ง่ายด้วยแสงอุลตราไวโอเลต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

67275

ที่มีอยู่ในแสงแดด ดังนั้น การสัมผัสกับแสงแดดมีผลให้ปาเปนมีกิจกรรมของเอนไซม์ลดลงได้ (Ortiz et al., 1980)

สารที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ของปาเปน ได้แก่ ไซยาไนด์ ซิสเตอิก ริดิวส์กลูตาไทโอน และซัลไฟด์ โดยสารเหล่านี้ทำหน้าที่รีดิวซ์พันธะไดซัลไฟด์ในโมเลกุลปาเปนให้อยู่ในรูปหมู่ไฮออลอิสระ (free – thiol group) ทำให้การทำงานดีขึ้น ในการทำงานของปาเปนนั้นจะไฮโดรไลส์เปปไทด์ เอไมด์ และเอสเทอร์ของกรดอะมิโนโดยแสดงคุณสมบัติเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลส์แบบ broad specificity คือสามารถไฮโดรไลส์สารตั้งต้นได้หลายชนิด

สารที่สามารถยับยั้งการทำงานของปาเปน รวมทั้งปัจจัยที่เกี่ยวข้องที่ทำให้การทำงานของปาเปนลดลง ได้แก่ วิตามินซี สารพวกไอโซไธโอไซยาเนต (isothiocynate) สารยับยั้งที่ทำให้เกิดการออกซิเดชัน การถูกทำงานโดยจุลินทรีย์ และการย่อยสลายของโปรตีน (Ortiz et al., 1980)

2.8.2 การตรวจสอบกิจกรรมของปาเปน

การตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์โดยปกตินิยมวัดจากความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาหรือประสิทธิภาพของเอนไซม์ซึ่งแสดงในรูปกิจกรรม กิจกรรมของเอนไซม์ หรือบางครั้งเรียกว่าหน่วยของเอนไซม์ (enzyme units) แสดงในรูปน้ำหนักของสารตั้งต้นที่ถูกเปลี่ยนไปเป็นผลิตภัณฑ์ในเวลาที่กำหนด หรือแสดงเป็นปริมาณผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นในเวลาที่กำหนดและภายใต้สภาวะที่ทดลอง หน่วยของเอนไซม์ที่นิยมใช้กันโดยสากลคือ I.U. (International Unit) ซึ่งกำหนดโดย The Commission of the International Union of Biochemistry ได้นิยามไว้ว่า "1 หน่วยของเอนไซม์หมายถึงปริมาณเอนไซม์ที่ใช้เร่งปฏิกิริยาในการเปลี่ยนสารตั้งต้นหรือทำให้เกิดผลิตภัณฑ์ 1 ไมโครโมล ในเวลา 1 นาที ภายใต้สภาวะที่กำหนด

ในกรณีปาเปนซึ่งเป็น hydrolytic enzyme 1 หน่วยเอนไซม์ (1 I.U.) หมายถึง ปริมาณปาเปนที่ไฮโดรไลส์สารตั้งต้นแล้วได้ 1 ไมโครโมลไทโรซีนต่อนาทีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส pH 6.0 (Ortiz และคณะ, 1980) กิจกรรมของปาเปนสามารถแสดงในหน่วยของค่ากิจกรรมเฉพาะ (specific activity) คือ I.U./mg protein ซึ่งหมายถึงจำนวนหน่วยเอนไซม์ที่มีอยู่ในโปรตีน 1 มิลลิกรัม (μmole tyrosine/min/mg. protein)

Cayle (1965) ได้ตรวจสอบกิจกรรมของปาเปนโดยวิธี casein digestion assay ซึ่งมีหลักการพื้นฐานคือไฮโดรไลส์เคซีนภายใต้สภาวะที่มีการกระตุ้นเอนไซม์เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาสูงสุด ทำโดยใช้สารละลายร้อยละ 0.7 ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 6.0 ทำปฏิกิริยากับสารละลายปาเปนในบัฟเฟอร์ที่มี 0.01 M ซิสเตอีน และ 0.01 M EDTA เป็นเวลา 1 ชั่วโมงที่ 40 องศาเซลเซียส และหยุดปฏิกิริยาด้วยสารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติก ร้อยละ 22 วิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนซึ่งละลายอยู่ในกรดไตรคลอโรอะซิติกได้ด้วยวิธี Kjeldahl หรือโดยการวัด absorbance ที่ 280 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8.3 คุณสมบัติของปาเปนในการทำให้เนื้อนุ่ม

ในอุตสาหกรรมเนื้อสัตว์ให้ปาเปนทำให้เนื้อนุ่มขึ้นโดยการปรับปรุงคุณภาพของเนื้อสัตว์ที่มีอายุมาก หรือเนื้อสัตว์ที่เหนียวอันเนื่องจาก cold shortening เอนไซม์จะย่อยได้ทั้งโปรตีนของเส้นใยกล้ามเนื้อและโปรตีนของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน การย่อยจะเกิดขึ้นในขณะหุงต้มและปฏิกิริยาเกิดได้ดีที่อุณหภูมิใกล้เคียง 50 องศาเซลเซียส โดยที่อุณหภูมิสูงกว่า 50 องศาเซลเซียส โครงสร้างของคอลลาเจนคลายออกและถูกย่อยโดยปาเปนได้ ปฏิกิริยาการย่อยเนื้อสัตว์เกิดได้สูงสุดที่อุณหภูมิ 60 - 65 องศาเซลเซียส และเอนไซม์จะถูกทำลายอย่างสมบูรณ์เมื่ออุณหภูมิสูงถึงประมาณ 90 องศาเซลเซียส (Drasnfield และ Etherington, 1981) โปรติเอสชนิดอื่นในยางมะละกอ เช่น ไคโมปาเปน และ ปาปายาเปปติเดสเอ ต่างมีคุณสมบัติการย่อยเช่นเดียวกับปาเปนโดยจะย่อยทั้งเส้นใยกล้ามเนื้อและเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ได้เร็วกว่าที่ 40 องศาเซลเซียส (Kang และ Warner, 1974) วิธีทำให้เนื้อนุ่มแบ่งได้ 2 วิธีคือ ใช้โรยเอนไซม์ผงบนชิ้นเนื้อ หรือจุ่มชิ้นเนื้อในสารละลายเอนไซม์ และวิธีฉีดสารละลายเอนไซม์ก่อนฆ่าสัตว์

2.9 น้ำมะพร้าว

คืออาหารเหลวที่ใช้สำหรับการเจริญของต้นอ่อนภายในผลมะพร้าว เพราะในน้ำมะพร้าวประกอบด้วยสารอินทรีย์และอนินทรีย์หลายอย่างในปริมาณมากเพียงพอที่จุลินทรีย์จะเจริญได้เป็นอย่างดีซึ่งจะเห็นว่าน้ำมะพร้าวจัดเป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่น่าสนใจทั้งในด้านราคา ปริมาณและคุณภาพสมควรจะนำมาทดลองใช้เป็นวัตถุดิบทางอุตสาหกรรมบางอย่างเช่น เลี้ยงยีสต์เพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์ โดยอาจจุเพิ่มเติมธาตุอาหารบางชนิดลงไป ทั้งนี้อาจเป็นหนทางผลิตในระดับอุตสาหกรรมได้ ซึ่งจะทำให้อาหารสัตว์ราคาถูกลง

2.9.1 ส่วนประกอบของน้ำมะพร้าว

น้ำมะพร้าว (coconut water) สามารถกระตุ้นเซลล์ให้เซลล์เกิดการเจริญเติบโตและแบ่งเซลล์อย่างรวดเร็ว โดยเนื้อเยื่อแคลลัสและเซลล์แขวนลอย นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของเนื้อเยื่อ น้ำมะพร้าวจากผลที่ยังไม่แก่พบว่ามีประสิทธิภาพดีกว่าผลที่แก่ จากคุณสมบัติของน้ำมะพร้าวได้มีการพยายามแยกส่วนประกอบในน้ำมะพร้าว ส่วนประกอบที่แยกได้ ได้แก่ กรดอะมิโน กรดอินทรีย์ กรดนิวคลีอิก พิวรีน น้ำตาล น้ำตาลแอลกอฮอล์ วิตามิน สารควบคุมการเจริญเติบโต และธาตุอาหาร เป็นต้น ดังตารางการวิเคราะห์ข้างล่างนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.7 วิเคราะห์ส่วนประกอบของน้ำมะพร้าว

ส่วนประกอบของน้ำมะพร้าว	
Total solids%	5.4
Reducing sugars %	0.2
Minerals %	0.5
Protein %	0.1
Fat %	0.1
Acidity mg %	60.0
pH	5.2
Potassium mg%	247.0
Sodium mg%	48.0
Calcium mg%	40.0
Magnesium mg %	15.0
Phosphorous mg%	6.3
Iron mg%	79.0
Copper mg%	26.0

ที่มา : www.lartc.rmutl.ac.th

ตารางที่ 2.8 วิเคราะห์ส่วนประกอบของวิตามินบีในน้ำมะพร้าว

ส่วนประกอบของวิตามินบีในน้ำมะพร้าว (μg/ml)	
Nicotinic acid	0.64
Pantothenic acid	0.52
Biotin	0.02
Riboflavin	<0.01
Folic acid	0.003
Thiamine	Trace
Pyridoxine	Trace

ที่มา : www.lartc.rmutl.ac.th

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.9 วิเคราะห์ส่วนประกอบของกรดอะมิโนในน้ำมะพร้าว

ส่วนประกอบของกรดอะมิโนในน้ำมะพร้าว (ร้อยละของโปรตีนทั้งหมด)	
Alanine	2.41
Arginine	10.75
Aspartie acid	3.60
Cystine	0.97-1.17
Glutamic acid	9.76-14.5
Histidine	1.95-2.05
Leucine	1.95-4.18
Lysine	1.95-4.57
Proline	1.21-4.12
Phenylalanine	1.23
Serine	0.59-0.91
Tyrosine	2.83-3.00

ที่มา : www.lartc.rmutl.ac.th

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 เชื้อจุลินทรีย์

- เชื้อ *Hansenula anomala* TISTR 5082 ได้รับจากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย และนำมาทำการเก็บเป็น Stock culture ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส บนอาหาร Yeast - Malt extract agar slant (YM-agar slant) โดยจะทำการถ่ายเชื้อทุกๆ 2 เดือน เพื่อที่จะนำมาใช้ในการศึกษาขั้นต่อไป

3.2 วัตถุดิบและสารเคมี

- น้ำมะพร้าวแก่ (ตลาดหัวตะเข้ เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ)
- เปปโตน (Himedia, Laboratories Prt Limited, India)
- มอลต์สกัด(Himedia, Laboratories Prt Limited, India)
- แอมโมเนียมซัลเฟต (Himedia, Laboratories Prt Limited, India)
- ยีสต์สกัด (Himedia, Laboratories Prt Limited, India)
- โซเดียมคาร์บอเนต (Anibioticos s.p.A)
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Anibioticos s.p.A)
- คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSo_4.5H_2O$) (Scharlau Chemie S.A., Spain)
- สารละลายฟีนอล (Scharlau Chemie S.A., Spain)
- กรดซัลฟูริกเข้มข้น (Scharlau Chemie S.A., Spain)
- โซเดียม โปตัสเซียมทาร์เทรต (Fluka bioChemika, Swizerland)
- Folin-ciocalteau phenol reagent (E.Merck, D-6100 Darmstadt, F.R., Germany)
- citric acid (E. Merck, D-6100 Darmstadt, F.R., Germany)
- citric acid (E. Merck, D-6100 Darmstadt, F.R., Germany)
- dibasic sodium phosphate (E. Merck, D-6100 Darmstadt, F.R., Germany)
- Bovine Serum Albumin (Sigma Chemical Co.)
- น้ำกลั่น
- น้ำตาลกลูโคส
- น้ำตาลซูโครส
- วุ้นผง
- แอลกอฮอล์ 70 และ 95 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 อุปกรณ์

- กระดาษกรองจีเอฟซี
- กระบอกตวง
- เข็มเขี่ยเชื้อ
- คิวเวตแก้ว
- จานเพาะเชื้อ
- ตะเกียงแอลกอฮอล์
- ที่วางหลองทดลอง
- แท่งแก้ว
- บีกเกอร์
- ปิเปตแก้ว
- ปากคีบ
- ฟลาสก์
- ไมโครปิเปต
- หลอดทดลอง
- หลอดปั่นเหวี่ยง

3.4 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

- เครื่องเขย่า (Orbital Shaker OSI-501)
- เครื่องทำแห้ง (Heto LyoLab 3000)
- เครื่องวัดพีเอช (Eutech Instruments pH 510)
- ตู้ปลอดเชื้อ (Model ABS 1200 ผลิตภัณฑ์ Astee microflow)
- สเปกโทรโฟรโตมิเตอร์ (DR/4000 V Spectrophotometer)
- เครื่องวัดปริมาณสารพันธุกรรม (Eppendort Biophotometer)
- เครื่องปั่นเหวี่ยง (Falcon 6/300)
- เครื่องชั่งสาร 4 ตำแหน่ง (Sartorius Analytic)
- ตู้บ่มเชื้อ (Memmert)
- ตู้อบลมร้อน (WTB Binder)
- ถังหมักใบพัดกวน ขนาด 10 ลิตร (B. Braum Biotech International รุ่น Biostat $^{®}$C)
- โถดูดความชื้น (Duran)
- หม้อนึ่งความดันไอ (Hiclave)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- อ่างน้ำร้อน (Clifton Unstirred Bath)
- ชุดกรองด้วยระบบสุญญากาศ

3.5 วิธีการทดลอง

3.5.1 การเตรียมกล้าเชื้อ

เตรียมอาหาร YM broth ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ใส่ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ที่ความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที จากนั้นทำการเขี่ยเชื้อ *H. anomala* TISTR 5082 จากอาหารผิวเอียง YM อายุ 48 ชั่วโมง จำนวน 2 ลูปลงในอาหารที่เตรียมไว้ นำฟลาสก์ไปเพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร ปรับค่าความขุ่นให้เท่ากับ 0.3 เพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อในการทดลองต่อไป

3.5.2 ศึกษาการเจริญของเชื้อ

เตรียมสูตรอาหารน้ำมะพร้าวของดุสิตและคณะ (2547) (ภาคผนวก ก) ปริมาตร 5 ลิตร ใส่ลงในถังหมักใบพัดกวนขนาด 10 ลิตร ปรับความเป็นกรดด่างของอาหารเริ่มต้น 5.0 ทำการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 40 นาที เมื่ออาหารเย็นเติมกล้าเชื้อที่เตรียมจากข้อที่ 3.5.1 ปริมาตร 250 มิลลิลิตร ลงในถังหมักที่มีอาหารเตรียมไว้ ทำการเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราการให้อากาศ 1.5 วีวีเอ็มและอัตราการกวน 400 รอบต่อนาที เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก ๆ 6 ชั่วโมง ทำการวิเคราะห์การเจริญของยีสต์โดยหาน้ำหนักเซลล์แห้ง วัดความขุ่น และหาค่าพีเอช

3.5.3 การศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของเอนไซม์ปาเปนในการผลิตยีสต์สกัด

ทำการเก็บเกี่ยวเซลล์ยีสต์ในชั่วโมงที่ 36 48 และ 60 โดยนำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกน้ำหมักออกจากตัวเซลล์ที่ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เตรียมตัวอย่างเซลล์ยีสต์ความเข้มข้นร้อยละ 20 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เติมเอนไซม์ปาเปนที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 0.2 และ 0.3 โดยน้ำหนักของยีสต์ ที่สภาวะพีเอช 5.4 แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมงโดยมีการกวนตลอดเวลา ทำการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน โดยวิธี Lowry method และหาปริมาณไรโบนิวคลีโอไทด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.4 การผลิตยีสต์สกัด

ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ยีสต์ในถังหมักขนาด 10 ลิตร ในเวลาที่ให้ปริมาณโปรตีน และไรโบนิวคลีโอไทด์สูงสุดและเก็บเกี่ยวเซลล์ในช่วงเวลาที่เหมาะสมที่ได้จากการทดลองในข้อที่ 3.5.3 ปั่นแยกเซลล์ยีสต์โดยใช้เครื่องหมุนเหวี่ยงเพื่อทำการล้างเซลล์ 2 ครั้ง ด้วยน้ำเกลือ 0.85 เปอร์เซ็นต์ นำเซลล์เปียกผสมกับฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 5.4 ทำเป็นสารละลายที่ความเข้มข้นร้อยละ 20 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เติมเอนไซม์ปาเปนในสภาวะความเข้มข้นที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 3.5.3 และปรับ พีเอช 5.4 บ่มที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 36 ชั่วโมง โดยมีการกวนตลอดเวลา จากนั้นบ่มในอ่างน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที เพื่อทำการพาสเจอไรซ์ แยกตัวเซลล์ออกโดยนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำส่วนใสที่ได้ทำเป็นผงโดยใช้เครื่องทำแห้งโดยใช้วิธี Freeze drying เพื่อผลิตยีสต์สกัด

3.5.5 การศึกษาองค์ประกอบของยีสต์สกัด

นำส่วนใสไปทำให้เป็นผลผลิตด้วยเครื่องทำแห้ง และไปวิเคราะห์หาโปรตีน ไขมัน เถ้า ความชื้น ไรโบนิวคลีโอไทด์และคาร์โบไฮเดรต

3.5.6 ศึกษาปริมาณความเข้มข้นของยีสต์สกัดในผลิตภัณฑ์อาหาร

ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 0.3 0.5 และ0.7 โดยน้ำหนักสูตร โดยนำยีสต์สกัดที่ได้มาละลายน้ำและผสมกับส่วนผสมในหมั่นโถ (ภาคผนวก ค) และทำการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส

3.6 การวิเคราะห์

3.6.1 วัดพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยเครื่องวัดพีเอช

3.6.2 หาน้ำหนักแห้ง (ภาคผนวก ข-1)

3.6.3 หาปริมาณความชื้น (ภาคผนวก ข-2)

3.6.4 หาปริมาณเถ้า (ภาคผนวก ข-3)

3.6.5 หาปริมาณไขมัน (ภาคผนวก ข-4)

3.6.6 หาปริมาณคาร์โบไฮเดรต (ภาคผนวก ข-5)

3.6.7 หาปริมาณโปรตีนโดยวิธี Lowry method (ภาคผนวก ข-6)

3.6.8 วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติวิธี DMRT โดยใช้โปรแกรม SPSS

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่4
ผลการทดลองและอภิปรายผล

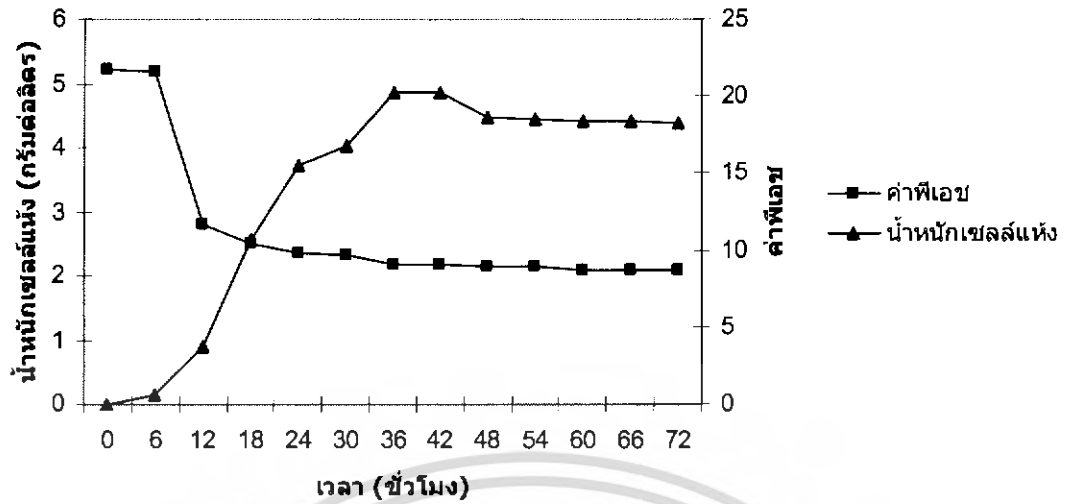
4.1 ผลการศึกษาการเจริญของเชื้อ *Hansenula anomala* TISTR 5082 ในถังหมักขนาด 10 ลิตร

การศึกษาการเจริญของเชื้อ *Hansenula anomala* TISTR 5082 ในถังหมักขนาด 10 ลิตรในอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 5 ลิตร เป็นเวลา 72 ชั่วโมง พบว่า ชั่วโมงที่ 36 มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 20.31 กรัมต่อลิตรและค่าพีเอชเท่ากับ 2.17 จากนั้นปริมาณเซลล์จะมีค่าลดลง(ตารางที่ 4.1 และรูปที่ 4 .1) ซึ่งในการเลี้ยงเชื้อค่าพีเอชจะมีค่าลดต่ำลง ซึ่งจะสอดคล้องกับผลการทดลองของนายดุสิตและคณะ(2547)โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 18.54 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่36 เนื่องจากน้ำมะพร้าวมีสารอาหารและแร่ธาตุที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของยีสต์ทำให้ปริมาณเซลล์ยีสต์ที่ได้มีปริมาณมาก

ตารางที่ 4.1 ค่าพีเอชและน้ำหนักเซลล์แห้งน้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อ*H. anomala* TISTR 5082 เมื่อเลี้ยงในอาหารน้ำมะพร้าวเป็นเวลา 72 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	พีเอช	น้ำหนักเซลล์แห้ง(กรัมต่อลิตร)
0	5.23	0
6	5.19	0.605
12	2.81	3.68
18	2.50	10.65
24	2.37	15.49
30	2.34	16.85
36	2.17	20.31
42	2.17	20.23
48	2.15	18.62
54	2.15	18.57
60	2.10	18.46
66	2.10	18.39
72	2.10	18.32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.1 น้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อ*H. anomala* TISTR 5082 เมื่อเลี้ยงในอาหารน้ำมะพร้าว เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

4.2 ผลการศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของเอนไซม์ปาเปนในการย่อยสลายเซลล์ยีสต์ *Hansenula anomala* TISTR 5082

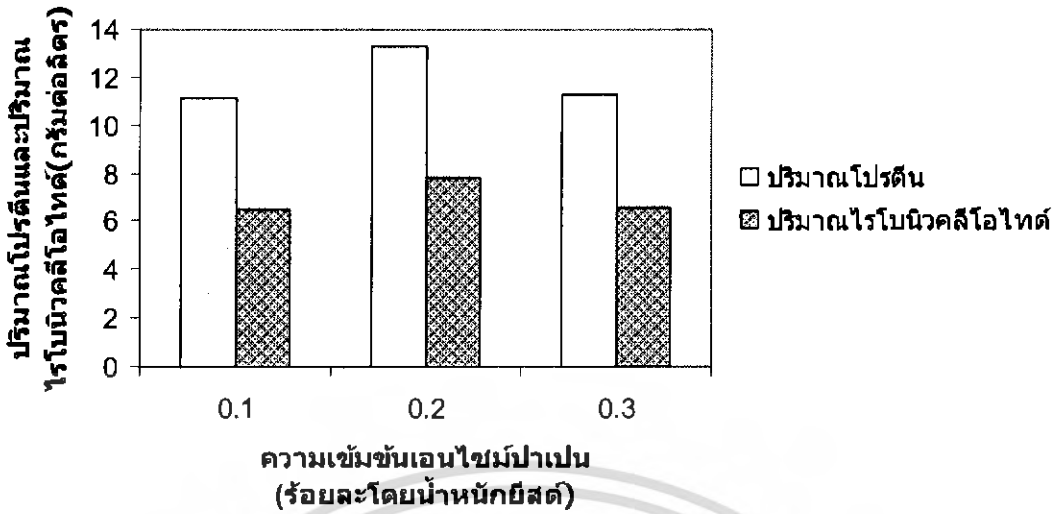
จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยเปรียบเทียบที่อายุเซลล์เดียวกัน ที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ปาเปนร้อยละ 0.1 0.2 และ 0.3 โดยน้ำหนักเซลล์ยีสต์ พบว่าที่อายุเซลล์ที่ 36 ชั่วโมง พบว่ามีความแตกต่างของปริมาณโปรตีนและไรโบนิวคลีโอไทด์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($P>0.05$) ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนักยีสต์มีค่าปริมาณโปรตีนและไรโบนิวคลีโอไทด์เท่ากับ 11.10 และ 6.50 กรัมต่อลิตร และระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.3 โดยน้ำหนักยีสต์มีค่าปริมาณโปรตีนและไรโบนิวคลีโอไทด์เท่ากับ11.30 และ 6.54 กรัมต่อลิตร โดยระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนักยีสต์มีค่าปริมาณโปรตีนและไรโบนิวคลีโอไทด์มากที่สุดเท่ากับ 13.30 และ 7.79 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

ตารางที่ 4.2 แสดงปริมาณโปรตีนและปริมาณไรโบนิวคลีโอไทด์อายุเซลล์ที่ 36 ชั่วโมง

ความเข้มข้นเอนไซม์ (ร้อยละโดยน้ำหนักยีสต์)	0.1	0.2	0.3
ปริมาณโปรตีน	11.10^{b}	13.30^{a}	11.30^{b}
ปริมาณไรโบนิวคลีโอไทด์	6.50^{b}	7.79^{a}	6.54^{c}

หมายเหตุ : a, b, c,... อักษรที่เหมือนกันตามแนวนอนแสดงถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 แสดงปริมาณโปรตีนและปริมาณไรโบนิวคลีโอไทด์อายุเซลล์ที่ 36 ชั่วโมง

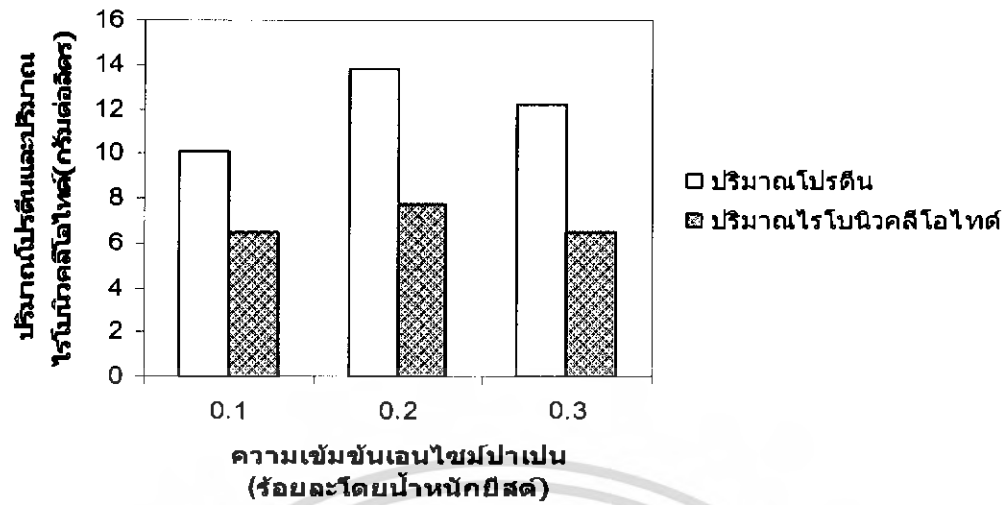
จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยเปรียบเทียบที่อายุเซลล์เดียวกัน ที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ปาเปนร้อยละ 0.1 0.2 และ 0.3 โดยน้ำหนักเซลล์ยีสต์ พบว่าที่อายุเซลล์ที่ 48 ชั่วโมง พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($P>0.05$) ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนักยีสต์มีค่าปริมาณโปรตีนและไรโบนิวคลีโอไทด์เท่ากับ10.10 และ 6.50 กรัมต่อลิตร และระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.3 โดยน้ำหนักยีสต์มีค่าปริมาณโปรตีนและไรโบนิวคลีโอไทด์เท่ากับ 12.20 และ 6.52 กรัมต่อลิตร โดยระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนักยีสต์มีค่าปริมาณโปรตีนและไรโบนิวคลีโอไทด์มากที่สุดเท่ากับ 13.85 และ 7.78 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

ตารางที่ 4.3 แสดงปริมาณโปรตีนและปริมาณไรโบนิวคลีโอไทด์อายุเซลล์ที่ 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้นเอนไซม์ (ร้อยละโดยน้ำหนักยีสต์)	0.1	0.2	0.3
ปริมาณโปรตีน	10.10^{b}	13.85^{a}	12.20^{ab}
ปริมาณไรโบนิวคลีโอไทด์	6.50^{b}	7.78^{a}	6.52^{c}

หมายเหตุ : a, b, c,... อักษรที่เหมือนกันตามแนวนอนแสดงถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.3 แสดงปริมาณโปรตีนและปริมาณไรโบนิวคลีโอไทด์ตัวเซลล์ที่ 48 ชั่วโมง

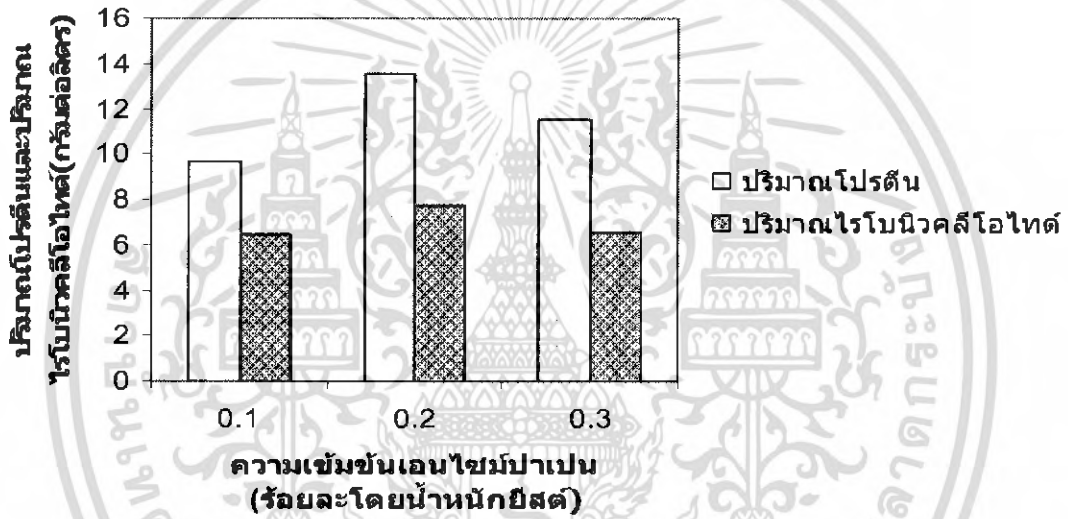
จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยเปรียบเทียบที่อายุเซลล์เดียวกัน ที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ปาเปนร้อยละ 0.1 0.2 และ 0.3 โดยน้ำหนักเซลล์ยีสต์ พบว่าที่อายุเซลล์ที่ 60 ชั่วโมง พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($P>0.05$) ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนักยีสต์มีค่าปริมาณโปรตีนและไรโบนิวคลีโอไทด์เท่ากับ9.70 และ 6.48 กรัมต่อลิตร และระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.3 โดยน้ำหนักยีสต์มีค่าปริมาณโปรตีนและไรโบนิวคลีโอไทด์เท่ากับ 11.50 และ 6.53 กรัมต่อลิต โดยที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนักยีสต์มีค่าปริมาณโปรตีนและไรโบนิวคลีโอไทด์มากที่สุดเท่ากับ 13.60 และ 7.76 กรัมต่อลิดร ตามลำดับ โดยอายุเซลล์ที่ชั่วโมง 36 48 และ 60 ให้ผลที่ไม่แตกต่างกันโดยปริมาณความเข้มข้นเอนไซม์ปาเปนที่เหมาะสมคือ ที่ร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนักเซลล์ยีสต์ซึ่งให้ปริมาณโปรตีนและไรโบนิวคลีโอไทด์สูงสุด ในขณะที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนักเซลล์ยีสต์มีความเข้มข้นน้อยเกินไปจึงไม่สามารถย่อยสลายเซลล์ยีสต์ได้หมด จึงทำได้ปริมาณโปรตีนและไรโบนิวคลีโอไทด์น้อยตามไปด้วย ในขณะที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.3 โดยน้ำหนักเซลล์ยีสต์ นั้นมีความเข้มข้นมากเกินไปดังนั้นเอนไซม์ปาเปนซึ่งทำหน้าที่ย่อยโปรตีนจึงมีผลทำให้เกิดการย่อยสลายของโปรตีนและไรโบนิวคลีโอไทด์ที่ได้ตามไปด้วย ดังนั้นปริมาณโปรตีนและไรโบนิวคลีโอไทด์จึงมีปริมาณน้อยกว่าที่ควรจะเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 แสดงปริมาณโปรตีนและปริมาณไรโบนิวคลีโอไทด์อายุเซลล์ที่ 60 ชั่วโมง

ความเข้มข้นเอนไซม์ (ร้อยละโดยน้ำหนักยีสต์)	0.1	0.2	0.3
ปริมาณโปรตีน	9.70[b]	13.60[a]	11.50[ab]
ปริมาณไรโบนิวคลีโอไทด์	6.48[c]	7.76[a]	6.53[b]

หมายเหตุ : a, b, c,... อักษรที่เหมือนกันตามแนวนอนแสดงถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.4 แสดงปริมาณโปรตีนและปริมาณไรโบนิวคลีโอไทด์ตัวเซลล์ที่ 60 ชั่วโมง

จากการศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของเอนไซม์ปาเปนที่ร้อยละ 0.1 0.2 และ 0.3 โดยน้ำหนักเซลล์ยีสต์เปียก ในชั่วโมงที่ 36 48 และ 60 พบว่า ในการย่อยสลายเซลล์ *Hansenula anomala* TISTR 5082 ที่อายุเซลล์ชั่วโมงที่ 36 48 และ 60 ที่ระดับความเข้มข้นเอนไซม์เดียวกัน พบว่าปริมาณโปรตีนและไรโบนิวคลีโอไทด์ที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ($P \leq 0.05$) แต่ที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ร้อยละ 0.1. 0.2 และ 0.3 โดยน้ำหนัก ที่อายุเซลล์ชั่วโมงเดียวกัน พบว่าปริมาณโปรตีนและไรโบนิวคลีโอไทด์มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ($P>0.05$) โดยพบว่าที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนักเซลล์ยีสต์เปียก ในการย่อยสลายเซลล์ที่อายุเซลล์ชั่วโมง 36 มีความแตกต่างกับระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.1 และ 0.3 โดยน้ำหนักเซลล์ยีสต์เปียก อย่างมีนัยสำคัญที่ร้อยละ 95 คือ ที่ระดับความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนักเซลล์ยีสต์เปียก ในการย่อยสลายเซลล์ที่ชั่วโมง ที่ 36 ให้ปริมาณโปรตีนสูงสุด ดังตารางที่ 4.5 ดังนั้นสรุปได้ว่าเชื้อที่ใช้เลี้ยงที่มีอายุต่างกัน ไม่มีผลต่อปริมาณโปรตีนและปริมาณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไรโบนิวคลีโอไทด์ จึงใช้เชื้อที่ชั่วโมงที่ 36 และความเข้มข้นปาเปนร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนักยีสต์ เนื่องจากช่วยประหยัดเวลาและค่าใช้จ่ายมากกว่าใช้ตัวเซลล์ชั่วโมงที่ 48 และ 60

ตารางที่ 4.5 แสดงปริมาณโปรตีนและปริมาณไรโบนิวคลีโอไทด์ของสารละลายใสหลังการหมุนเหวี่ยงที่สภาวะต่างๆ

สภาวะ	เวลา	ปริมาณปาเปน	ปริมาณโปรตีน (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณไรโบนิวคลีโอไทด์ (กรัมต่อลิตร)
1	36	0.1	11.10^{bcd}	6.50^{e}
2	36	0.2	13.30^{a}	7.79^{a}
3	36	0.3	11.30^{bcd}	6.54^{e}
4	48	0.1	10.10^{bcd}	6.50^{e}
5	48	0.2	13.85^{a}	7.78^{ab}
6	48	0.3	12.20^{ab}	6.52^{d}
7	60	0.1	9.70^{d}	6.48^{e}
8	60	0.2	13.60^{a}	7.76^{ab}
9	60	0.3	11.50^{bc}	6.53^{cd}

หมายเหตุ : a, b, c,... อักษรที่เหมือนกันตามแนวดั้งแสดงถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากการผลิตยีสต์สกัด โดยใช้เอนไซม์ปาเปนในการย่อยสลายเซลล์ยีสต์ โดยทำการเก็บเซลล์และย่อยสลายเซลล์ยีสต์ที่อายุเซลล์ที่ 36 ชั่วโมงและใช้เอนไซม์ปาเปนที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนักยีสต์ มีผลได้เท่ากับ 0.38 กรัมต่อกรัมเซลล์ยีสต์

ตารางที่ 4.6 แสดงปริมาณโปรตีนและปริมาณไรโบนิวคลีโอไทด์ ที่ได้จากตัวอย่างเซลล์ชั่วโมงที่ 36 ใช้ความเข้มข้นปาเปน 0.2 ร้อยละ โดยน้ำหนักเซลล์ยีสต์เปียก และปริมาณผลได้ของยีสต์สกัด

ปริมาณเซลล์ (กรัมต่อลิตร)	โปรตีน (กรัมต่อลิตร)	ไรโบนิวคลีโอไทด์ (กรัมต่อลิตร)	ผลได้ (กรัมต่อกรัมเซลล์)
20.31	13.30	7.75	0.38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและทางกายภาพของยีสต์สกัด

จากการทดลองผลิตยีสต์สกัดโดยใช้เอนไซม์ปาเปนที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนักยีสต์ในการย่อยสลายเป็นเวลา 36 ชั่วโมง และนำสารละลายที่ได้จากการหมุนเหวี่ยงไประเหยแห้งแบบสุญญากาศจากนั้นนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้ผลดังตารางที่ 4.7 โดยมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 52.78 คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 22.08 ไขมันร้อยละ 1.06 ความชื้นร้อยละ 22.08 และเถ้าร้อยละ 12.88 โดยน้ำหนัก ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับองค์ประกอบทางเคมีของยีสต์สกัดที่ได้จากการทดลองของนายสุพจน์(2540) ที่ทำการย่อยสลายยีสต์ขนมปังโดยใช้เอนไซม์ปาเปนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 พบว่ามีปริมาณโปรตีนร้อยละ 50.57 คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 24.27 และเถ้าร้อยละ 10.72 ดังนั้นปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยสลายเซลล์ยีสต์ *H. anomala* TISTR 5082 โดยใช้เอนไซม์ปาเปนที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนักยีสต์ มีค่าใกล้เคียงกัน

ตารางที่ 4.7 องค์ประกอบทางกายภาพและเคมีของยีสต์สกัดที่ได้จากการใช้เอนไซม์ปาเปนความเข้มข้นร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนักยีสต์ในการย่อยสลายเซลล์ยีสต์

องค์ประกอบทางกายภาพและเคมีของยีสต์สกัด	ร้อยละโดยน้ำหนัก
โปรตีน	52.78
คาร์โบไฮเดรต	22.23
ไขมัน	1.06
ความชื้น	22.08
เถ้า	12.88
ค่าสี L*	+80.20
a*	-1.35
b*	+9.84

หมายเหตุ L* แสดงถึง ความสว่าง (0 = สีดำ 100 = สีขาว)

a* แสดงถึง ช่วงสีแดงถึงช่วงสีเขียว (+ = สีแดง - = สีเขียว)

b* แสดงถึง ช่วงสีเหลืองถึงช่วงสีน้ำเงิน (+ = สีเหลือง - = สีน้ำเงิน)

จากการวัดค่าสีของยีสต์สกัดที่ได้จากการย่อยสลายเซลล์ยีสต์ โดยใช้เอนไซม์ปาเปนความเข้มข้นร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนักยีสต์ พบว่าค่า L* มีค่าค่อนข้างสูง แสดงถึงยีสต์สกัดที่ได้มีความขาวค่อนข้างสูง โดยลักษณะของยีสต์สกัดที่ได้นั้นมีลักษณะเป็นผงสีขาวขุ่น มีกลิ่นคล้ายเนื้อตุ๋น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.5 ลักษณะของยีสต์สกัด

4.4 การประยุกต์ใช้ยีสต์สกัดในผลิตภัณฑ์หมั่นโถว

จากการประยุกต์ใช้ยีสต์สกัดในผลิตภัณฑ์หมั่นโถวโดยแปรปริมาณของยีสต์สกัดที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.1 0.3 0.5 และ 0.7 โดยน้ำหนักสูตร และนำผลิตภัณฑ์ที่ได้มาศึกษาการยอมรับทางประสาทสัมผัสโดยเปรียบเทียบกับสูตรมาตรฐาน พบว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($P \leq 0.05$)ในด้านสี ส่วนทางด้านกลิ่นพบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณความเข้มข้นของยีสต์สกัดมากขึ้น พบว่าคะแนนความชอบมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่เมื่อเติมยีสต์สกัดที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.7 คะแนนที่ได้มีค่าลดลงอาจเพราะการเติมมากเกินไปจะไปมีผลต่อผลิตภัณฑ์เนื่องจากมีกลิ่นคล้ายเนื้อตุ๋น ถ้าใส่ในปริมาณมากจะทำให้มีกลิ่นค่อนข้างแรง ในทางด้านรสชาติเมื่อเติมยีสต์สกัดที่ความเข้มข้นมากขึ้น ผู้ทดสอบให้การยอมรับมากขึ้นเช่นเดียวกับด้านกลิ่น เมื่อใส่ยีสต์สกัดเข้มข้นมากขึ้นอาจทำให้มีรสชาติเข้มขึ้น ซึ่งจากการทดสอบพบว่าหมั่นโถวที่ได้รับคะแนนการยอมรับมากที่สุดคือการใช้ยีสต์สกัดที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.5 โดยน้ำหนักสูตร ทำให้ได้หมั่นโถวที่มีรสชาติกำลังพอเหมาะ ในด้านความชอบโดยรวมพบว่าการใช้ยีสต์สกัดที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 โดยน้ำหนักสูตรได้คะแนนการยอมรับมากที่สุดคือ 7.72 อาจเป็นผลเนื่องมาจากผลิตภัณฑ์มีคะแนนทางด้านสี กลิ่น รสชาติสูงกว่าที่ระดับความเข้มข้นอื่นๆ ดังนั้นการใช้ยีสต์สกัดที่ระดับความเข้มข้นที่ร้อยละ 0.5 จึงน่าจะเป็นระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมที่ใช้เติมลงในผลิตภัณฑ์หมั่นโถว ดังแสดงในตารางที่ 4.8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 คะแนนเฉลี่ยของการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสของหมั่นโถวที่ผสมสารสกัดจากยีสต์ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0 0.1 0.3 0.5 และ 0.7 โดยน้ำหนักสูตร

ความเข้มข้นของยีสต์สกัด (ร้อยละโดยน้ำหนักสูตร)	คุณลักษณะ			
	สี	กลิ่น	รสชาติ	ความชอบโดยรวม
สูตรมาตรฐาน	6.88[a]	5.84[b]	6.64[b]	6.72[b]
0.1	6.96[a]	5.88[b]	6.44[b]	6.72[b]
0.3	7.24[a]	6.12[b]	6.64[b]	6.84[b]
0.5	7.32[a]	7.68[a]	7.78[a]	7.72[a]
0.7	7.16[a]	6.04[b]	6.68[b]	6.60[b]

หมายเหตุ : a, b, c,.... อักษรที่เหมือนกันตามแนวตั้งแสดงถึงข้อมูลที่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาการเจริญของเชื้อ *Hansenula anomala* TISTR 5082 และทำการย่อยสลายโดยใช้เอนไซม์ปาเปนเพื่อผลิตยีสต์สกัดและใช้ในการเพิ่มกลิ่นรสในอาหาร สามารถสรุปผลการทดลองได้ดังนี้

1. พบว่าเชื้อ *Hansenula anomala* TISTR 5082 มีการเจริญสูงสุดในชั่วโมงที่ 36 มีปริมาณเซลล์เท่ากับ 20.31 กรัมต่อลิตร

2. จากการศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของเอนไซม์ปาเปนในการย่อยสลายเซลล์ยีสต์ *Hansenula anomala* TISTR 5082 โดยใช้อายุเซลล์ที่ชั่วโมง 36 48 และ 60 พบว่าอายุตัวเซลล์ไม่มีผลต่อปริมาณโปรตีนและปริมาณไรโบนิวคลีโอไทด์ ดังนั้นสภาวะที่ใช้ในการผลิตยีสต์สกัดคืออายุเซลล์ที่ 36 ชั่วโมง และความเข้มข้นของเอนไซม์ปาเปนที่เหมาะสมคือ ร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนักยีสต์เปียก

3. จากการศึกษาการผลิตยีสต์สกัดโดยใช้อายุเซลล์ที่ 36 ชั่วโมง และความเข้มข้นของเอนไซม์ปาเปนร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนักยีสต์เปียก เมื่อนำมาศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพพบว่า ยีสต์สกัดที่ได้นั้นมีลักษณะสีค่อนข้างขาว โดยมีค่าสีL* a* b* เท่ากับ +80.20 -1.35 +9.84มีลักษณะเป็นแผ่นผงที่มีลักษณะหยาบ มีกลิ่นคล้ายเนื้อต้ม และจากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของยีสต์สกัดมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 52.78 คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 22.23 ไขมันร้อยละ 1.06 ความชื้นร้อยละ 22.08 และเถ้าร้อยละ 12.88 โดยน้ำหนัก

4. จากการศึกษาการยอมรับของผู้บริโภคต่อหมั่นโถวที่ผสมยีสต์สกัดพบว่าผลิตภัณฑ์หมั่นโถว ที่ผสมยีสต์สกัดที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.5 โดยน้ำหนักสูตรผู้ทดสอบให้การยอมรับมากที่สุด ดังนั้นควรเติมยีสต์สกัดลงในผลิตภัณฑ์หมั่นโถวที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.5 ในผลิตภัณฑ์หมั่นโถว

ข้อเสนอแนะ

จากการทดสอบจะเห็นว่ายีสต์สกัดนั้นมีผลต่อผลิตภัณฑ์อาหาร ซึ่งการเติมยีสต์สกัดที่มากเกินไปอาจทำให้ผู้บริโภคไม่ยอมรับได้ ซึ่งอาจจะมีการนำไปประยุกต์ใช้กับอาหารประเภทของคาวและพบว่ายีสต์สกัดที่ได้นั้นมีความชื้นสูง ทำให้การเก็บรักษาได้ไม่นาน ซึ่งต้องมีการปรับปรุงการผลิตให้ผลผลิตที่ได้นั้นมีความชื้นที่ลดลง และอาจมีการเติมสารถนอมอาหารเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาให้นานขึ้น เพื่อให้เป็นสารเพิ่มกลิ่นรสที่มีคุณภาพต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

ชื่นจิตต์ พฤฒิภากร. 2528. การผลิตสารสกัดจากยีสต์ที่ได้จากโรงงานเบียร์. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ

ดุสิต ลิขิตสุภิณ, ปิยเชษฐ์ สิทธิเขตรกรณ์, ยศธนา กรินทรากุล. 2547 .การผลิตไรโบนิวคลีโอไทด์จากเชื้อ *Hansenula anomala* TISTR 5082 . ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.

ภูวดล สุกมลานันท์ และสมศักดิ์ ศิริชัยเจริญ. 2536. การศึกษาเบื้องต้นในการผลิตสารปรุงแต่งกลิ่นรสจากยีสต์ขนมปัง. ปัญหาพิเศษ ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.

สุพจน์ บุญแรง.2540.การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายเซลล์ยีสต์ขนมปังและการใช้ประโยชน์.วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ

Albrecht, J.M. and Deindoefer, F.H. 1966. Autolysed yeast extracts make foods flavorful. Food Eng. 10 : 92-95.

Asenjo, J.A. and Andrews, B.A. 1990. Enzymatic cell lysis for product release. Separation Process in Biotechnology. Marcell Dekker Inc., New York. p. 143-175.

Cayle, T. 1965. Purification of papain fresh plant extracts. U.S. Patent. 5: 195-266.

Champagne, C. P., Barrette , J. and Goulet, J. 1999. Interaction between pH, autolysis promoters and bacterial contamination on the production of yeast extracts. Food Research International. 32 : 575-583.

Cornel, V. 1996. Production of yeast extract as food flavouring agent. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล. กรุงเทพฯ.

Dransfield, E. and Etherington , D. 1981. Enzymes in the tenderization of meat. Enzyme and Food Processing. Applied Science. Publisher, Ltd., London. p. 177-192.

Dziezak, J.D. 1987. Yeast and yeast derivatives: definition, characteristics and processing. Food Technology. 41(2) : 104-121.

Horwitz, W. 2000. Official Methods of Analysis of AOAC International. AOAC International, Maryland. 1: 589-597.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Hunter, J.B. and Asenjo, J.A. (1987) Kinetics of enzymatic lysis and disruption of yeast cells: 1. Evaluation of two lytic systems with different properties. Biotechnol. Bioeng. 30 : 471-480.

Jazwinski, S.M. 1990. Preparation of extraction from yeast. Method in Enzymology. Academic Press, London. 82: 154-174.

Kang , C.K. and Warner, W.D. 1974. Tenderization of meat with papaya latex protease. J. Food Sci. 39: 812-814.

Keeman, N. and Snick , P.E.A.. 1994. Application of yeast extract in the food industry. Gistbrocades Savocery B.V. Holland.

Kelly, M. 1983. Yeast extract.The Application of Enzyme in Industry. Academic Press, London. p. 457-465.

Kim, J. H., Lee, B. H. and Lee , J. S.. 2002. Production of Ribonucleotides by Autolysis of Hansenula anomala Grown on Korean Ginseng Steaming Effluent. J. Bioscience and Bioengineering. 93(3): 318-321.

Kimmel, J.R. and Smith , E.L. 1953. Crystalline papain : preparation, specificity and activation. In P.D. Boyer (ed.). the Enzyme Vol. 3. (Hydrolysis of peptide bonds). Academic Press, New York. 3: 165-171.

Lowry, O.H., Rose Drough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193 : 265-275.

Ortiz, A., L. Madrigal, R. Fernandez and R.D. Cook. 1980. The storage and drying characteristic of papain (*Carica papaya* L.) latex. J. Sci. Food Agric. 31: 510-514.

Reed,G . 1975. Enzyme in Food Processing. 2 d ed., Academic Press, New York. p 166-175

Reed, G. and Nagodawithana ,T.W. 1991. Yeast Technology. AVI. Publishing, New York.p. 496

Ronald, M.A. 2000. Yeast Fermentation Broth, In : Handbook of Microbiology media. Lawrence, C.P. USA : CPC Press.

http://b.domaindlx.com/ubonwork/_occ/food4.htm.

http://www.ajinomoto.com.

http://www.lartc.rmutl.ac.th.

http://www.sc.chula.ac.th.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

สูตรอาหาร

1. Yeast Malt Extract Broth (YM broth) (Ronald, 2000)

ส่วนประกอบ ต่อ 1 ลิตร

- ผงวุ้น 20 กรัม
- กลูโคส 10 กรัม
- เปปโตน 5 กรัม
- ยีสด์สกัด 3 กรัม
- มอลต์สกัด 3 กรัม

พีเอช 6.5 ± 0.2

หมายเหตุ: ถ้าต้องการเตรียม YM-broth ไม่ต้องเติมผงวุ้น

2. สูตรอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเชื้อในถังหมักขนาด 10 ลิตร (ดุสิต และคณะ, 2547)

ส่วนประกอบ ต่อ 1 ลิตร

- น้ำมะพร้าว 750 มิลลิลิตร
- น้ำตาลซูโครส 10 กรัม
- แอมโมเนียมซัลเฟต 3 กรัม
- น้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร

พีเอช 5.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

วิธีการวิเคราะห์

1. การหาน้ำหนักแห้ง

นำตะกอนเซลล์ที่ได้จากการกรองมาอบในตู้อบอุณหภูมิ 105 °c เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำเข้าเดซิเคเตอร์เป็นเวลา 4 – 6 ชั่วโมง นำไปชั่งด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง นำค่าที่ได้ไปหักลบกับน้ำหนักแห้งของกระดาษกรองที่ทราบน้ำหนักแห้งแน่นอน และคำนวณหาน้ำหนักเซลล์แห้ง

2. การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น โดยวิธีอบในตู้อบไฟฟ้า (Horwitz, 2000)

2.1 นำ Aluminium can อบในตู้ไฟฟ้า ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเวียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วนำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น ปล่อยทิ้งไว้ จนกระทั่งอุณหภูมิของภาชนะลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก จนน้ำหนักคงที่

2.2 ชั่งตัวอย่างที่ต้องการหาความชื้น 1-3 กรัม ใน Aluminium can ที่ทราบน้ำหนัก แล้วนำไปอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 5-6 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนักภาชนะพร้อมตัวอย่างนั้น จากนั้นนำกลับเข้าไปใส่ตู้อบอีก และกระทำเช่นเดิมจนได้ผลต่างของน้ำหนักคงที่บางครั้งอาจต้องนำตัวอย่างกลับไปอบต่อจนได้น้ำหนักคงที่ หรือแตกต่างประมาณ 0.003-0.005 กรัมเท่านั้น

$$\text{ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)} = \frac{(\text{น้ำหนักเริ่มต้น-น้ำหนักหลังอบ})\times 100}{\text{น้ำหนักตังอย่างก่อนอบ}}$$

3.การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (Horwitz, 2000)

3.1 อุปกรณ์

3.1.1 เตาเผา (muffle furnace)

3.1.2 ถ้วยกระเบื้องเคลือบ (Porcelain cricible)

3.1.3 โถดูดความชื้น

3.1.4 เครื่องชั่งไฟฟ้าอย่างละเอียด 4 ตำแหน่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 วิธีการ

3.2.1 เผาถ้วยกระเบื้องเคลือบในเตาเผาที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ปิดสวิตซ์เตาเผาแล้วรอประมาณ 30-45 นาที เพื่อให้อุณหภูมิภายในเตาลดลงก่อน แล้วนำออกจากเตาใส่ในโถดูดความชื้นปล่อยให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก

3.2.2 เผาซ้ำอีกครั้ง ครั้งละประมาณ 30-45 นาที และกระทำเช่นในข้อ 5.2.1 จนได้ผลต่างของน้ำหนักทั้ง 2 ครั้ง ติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

3.2.3 ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักแน่นอนประมาณ 2 กรัม ใส่ในถ้วยกระเบื้องเคลือบที่รู้น้ำหนักแน่นอนแล้ว นำไปเผาในตู้ควันจนหมดควัน แล้วจึงนำเข้าเตาเผาอุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส และกระทำเช่นเดียวกันกับข้อ 4.2.1-4.2.2

$$\text{ปริมาณเถ้า (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างหลังเผา} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}}$$

4. การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (Horwitz, 2000)

4.1 อุปกรณ์

4.1.1 อุปกรณ์ชุดสกัดไขมัน (Soxhlet apparatus) ประกอบด้วยขวดสำหรับใส่ตัวทำละลายซอคเลต (Soxhlet) เครื่องควบแน่น (condenser) และเตาให้ความร้อน (heating mantle)

4.1.2 หลอดใส่ตัวอย่าง (extraction thimble)

4.1.3 สำลี

4.1.4 ตู้อบไฟฟ้า

4.1.5 เครื่องชั่งไฟฟ้าอย่างละเอียด

4.1.6 โถดูดความชื้น

4.2 วิธีการ

4.2.1 อบบีกเกอร์สำหรับหาปริมาณไขมัน ขนาดความจุ 150 มิลลิลิตร ในตู้อบไฟฟ้าทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น และชั่งน้ำหนักที่แน่นอน

4.2.2 ชั่งตัวอย่างบนกระดาษกรองที่ทราบน้ำหนัก ประมาณ 1-2 กรัม ห่อให้มิดชิด แล้วใส่ลงในหลอดสำหรับใส่ตัวอย่างคลุมด้วยสำลี เพื่อให้สารทำละลายมีการกระจายอย่างสม่ำเสมอ

4.2.3 นำหลอดตัวอย่างใส่ลงในซอคเลต เติมปิโตรเลียมอีเทอร์ ลงในขวดหาไขมันประมาณ 50 มิลลิลิตร แล้ววางบนเตาให้ความร้อน

4.2.4 สกัดไขมันเป็นเวลา 45 นาที โดยปรับความร้อนให้หยดของสารทำละลายกลั่นตัวจากอุปกรณ์ควบแน่นด้วยอัตรา 150 หยดต่อนาที

4.2.5 นำหลอดใส่ตัวอย่างออกจากซอคเลต และกลั่นเก็บสารทำละลายจนเหลือสารละลายในขวดเพียงเล็กน้อยด้วยเครื่องระเหยตัวทำละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.6 นำขวดหาไขมันไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 80-90 องศาเซลเซียส จนแห้ง ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น

4.2.7 ชั่งน้ำหนัก แล้วอบซ้ำครั้งละ 30 นาที จนกระทั่งผลต่างของน้ำหนัก 2 ครั้งติดต่อกัน ไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

$$\text{ปริมาณไขมัน (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักไขมันหลังอบ} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}}$$

5. การวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดโดยวิธี phenol sulfuric

5.1 สารเคมี

5.1.1 กรดซัลฟุริก (H_2SO_4 reagent grade 95.5 % ความถ่วงจำเพาะ 1.84)

5.1.2 ฟีนอล 5 % โดยน้ำหนัก เตรียมโดยชั่งน้ำกลั่น 95 กรัม และละลายฟีนอล 5 กรัม

5.2 วิธีการ

5.2.1 ดูดสารละลายตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร (ที่น้ำตาลอยู่ระหว่าง 10-70 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) เติม 1 มิลลิลิตรของสารละลายฟีนอล

5.2.2 เติมกรดซัลฟุริกเข้มข้น 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

5.1.3 ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที หลังจากนั้นเขย่าและนำไปแช่ในอ่างน้ำเย็นอุณหภูมิ 25 – 30 องศาเซลเซียส สักครู่

5.1.4 นำตัวอย่างไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร เทียบค่าดูดกลืนแสงที่ได้กับกราฟมาตรฐานของ D-glucose ที่ความเข้มข้น10-70 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ค่าแบลงค์ใช้น้ำกลั่นแทนตัวอย่าง

6.การวิเคราะห์โปรตีนโดยวิธี Lowry method (Lowry et al.,1951)

6.1 สารเคมี

6.1.1 สารละลายมาตรฐานโปรตีน : สารละลาย Bovine Serum Albumin (Sigma Chemical Co.)ความเข้มข้น 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

6.1.2 สารละลาย A : โซเดียมคาร์บอเนต 2 เปอร์เซ็นต์ ในโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มัล

6.1.3 สารละลาย B : คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSo_4.5H_2O$) 0.5 เปอร์เซ็นต์ ในโซเดียมโปตัสเซียมทาร์เทรต 1 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6.1.4 สารละลาย C : คือ alkaline copper reagent ได้จากการผสมสารละลาย A ปริมาตร 50 มิลลิลิตร กับสารละลายB ปริมาตร 1 มิลลิลิตร (ต้องเตรียมใหม่ทุกครั้งก่อนการทดลอง)

6.1.5 สารละลาย D : โซเดียมคาร์บอเนต ($Na_2.CO_3$) 2 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย B ปริมาตร 1 มิลลิลิตร (ต้องเตรียมใหม่ทุกครั้งก่อนการทดลอง)

6 .1.6 สารละลาย D : สารละลาย Folin-ciocalteau phenol reagent เจือจางโดยการผสมกับน้ำกลั่น ในอัตราส่วน 1 : 1

6.2 วิธีการวิเคราะห์โปรตีนที่ละลาย (soluble protein)

6.2.1 เตรียมสารละลายตัวอย่าง ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ซึ่งมีปริมาณโปรตีนอยู่ระหว่าง 25-500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

6.2.2 เติมสารละลายC ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงไปผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้อย่างน้อย 15 นาที

6.2.3 เติมสารละลาย E ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตรลงไปผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้อย่างน้อย 30 นาที

6.2.4 วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร

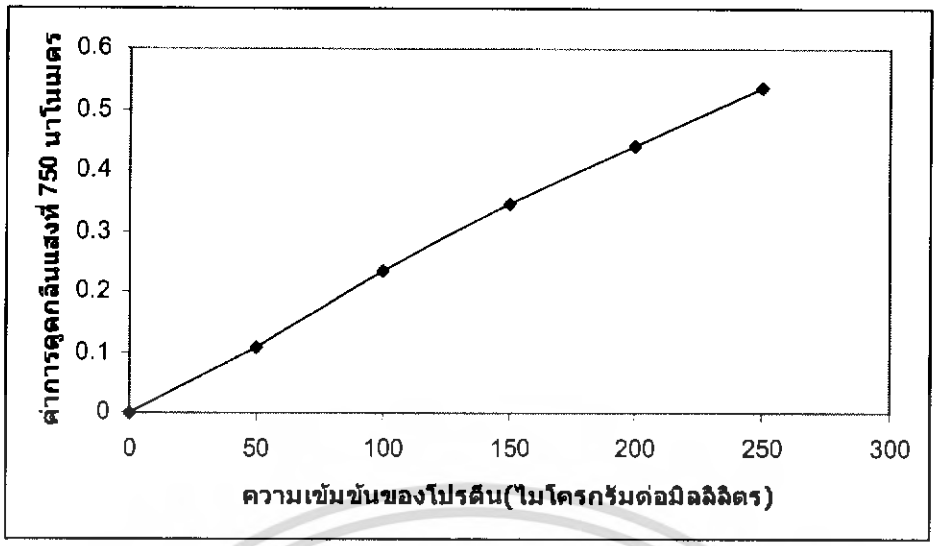
6.2.5 สร้างกราฟมาตรฐานโปรตีนโดยใช้ bovine serum albumin เป็นสารละลายมาตรฐาน

6.3 สร้างกราฟมาตรฐานโปรตีน

การสร้างกราฟมาตรฐานโปรตีนโดยใช้ bovine serum albumin ความเข้มข้น 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นสารละลายมาตรฐานโปรตีน สามารถคำนวณหาปริมาณโปรตีนได้ดังนี้

$$\text{โปรตีน (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)} = \frac{\text{ค่าการดูดกลืนแสงที่ 750 นาโนเมตร} \times \text{dilution} \times 10^{-3}}{\text{ความชันของกราฟมาตรฐานโปรตีน}}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ข-1 กราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายโปรตีนมาตรฐาน

ตารางที่ ข-1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย bovine serum albumin ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นโปรตีน (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร
0	0
50	0.109
100	0.234
150	0.347
200	0.442
250	0.535

7. การเตรียม phosphate-citrate buffer พีเอช 5.4

7.1 สารเคมี

A:0.1 M citric acid (ละลาย citric acid 21.01 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร)

B:0.2 M dibasic sodium phosphate (ละลาย $Na_2HPO_4.7H_2O$ 53.65 กรัม หรือ $Na_2HPO_4.12H_2O$ 71.7 กรัมใน น้ำกลั่น 1 ลิตร)

7.2 วิธีการ

ผสม 22.2 มิลลิลิตร (ของสารละลาย A) กับ 27.8 มิลลิลิตร (ของสารละลาย B) ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค
วิธีทำผลิตภัณฑ์

1. วิธีทำหมั่นโถ

ส่วนผสม

แป้งสาลี 1 กิโลกรัม

น้ำตาลทราย 350 กรัม

ยีสต์ 2 ช้อนโต๊ะ

SP 4 ช้อนชา

ผงฟู 2 ช้อนโต๊ะ

เนยขาว 60 กรัม

น้ำสะอาด ½ ถ้วยตวง (ผสมยีสต์สกัด 0 0.15 0.3 และ 0.6 กรัม)

วิธีทำ

1. นำส่วนผสมทุกอย่างผสมเข้าด้วยกัน ใส่ในเครื่องนวดประมาณ 20 นาที จากนั้นแบ่งแป้งออกเป็นก้อน ๆ ละ 50 กรัม แล้วพักแป้งไว้ประมาณ 1 ชั่วโมง

2. ต้มน้ำในลังถึงจนเดือดจัด นำแป้งขึ้นนึ่งประมาณ 5 นาทีหรือนานกว่านี้ จนแป้งสุก (ไม่ควรเปิดฝาดูแป้งเพราะน้ำจะหยดโดนแป้งแฉะและเสีย) จากนั้นยกลงมาตั้งไว้ให้เย็น ใช้มีดผ่าก้อนแป้งตามยาวลึกครึ่งหนึ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส

Hedonic scoring test preference

ชื่อผู้ทดสอบ_____ วันที่ _____

ชื่อผลิตภัณฑ์: หมั่นโถว

คำชี้แจง โปรดทดสอบตัวอย่างต่อไปนี้ แล้วให้ระดับคะแนนความชอบต่อผลิตภัณฑ์แต่ละตัวอย่างตามระดับคะแนนที่ท่านคิดว่าเหมาะสม โดยดื่มน้ำก่อนทดสอบตัวอย่างแต่ละตัวอย่างทุกครั้ง

ระดับคะแนน

9 = ชอบมากที่สุด (Like extremely)

8 = ชอบมาก (Like very much)

7 = ชอบปานกลาง (Like moderately)

6 = ชอบเล็กน้อย (Like slightly)

5 = เฉยๆ (Nether like dislike)

4 = ไม่ชอบเล็กน้อย (dislike slightly)

3 = ไม่ชอบปานกลาง (Dislike moderately)

2 = ไม่ชอบมาก (Dislike very much)

1 = ไม่ชอบมากที่สุด (Dislike extremely)

คุณลักษณะ

	รหัสตัวอย่าง				
สี					
กลิ่น					
รสชาติ					
ความชอบโดยรวม					

ข้อเสนอแนะ_____

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

การวิเคราะห์ทางด้านสถิติ

ตารางที่ จ-1 ปริมาณโปรตีนของสารละลายใสหลังการหมุนเหวี่ยง (กรัมต่อลิตร)

ความเข้มข้นเอนไซม์	36			48			60		
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	เฉลี่ย	ครั้งที่1	ครั้งที่2	เฉลี่ย	ครั้งที่1	ครั้งที่2	เฉลี่ย
0.1	10.70	11.50	11.10	9.50	10.70	10.10	9.50	9.90	9.70
0.2	12.90	13.70	13.30	13.40	14.30	13.85	14.30	12.90	13.60
0.3	11.50	11.10	11.30	11.50	12.90	12.20	11.10	12.00	11.50

ตารางที่ จ-2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณโปรตีนของสารละลายใสหลังการหมุนเหวี่ยง

Dependent Variable: yield

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	35854444.444(a)	8	4481805.556	9.402	.001
Intercept	2529975555.556	1	2529975555.556	5307.641	.000
hours	581111.111	2	290555.556	.610	.565
conc	32607777.778	2	16303888.889	34.204	.000
hours * conc	2665555.556	4	666388.889	1.398	.310
Error	4290000.000	9	476666.667		
Total	2570120000.000	18			
Corrected Total	40144444.444	17			

a R Squared = .893 (Adjusted R Squared = .798

Duncan

hours	N	Subset 1
60	6	11616.67
36	6	11900.00
48	6	12050.00
Sig.		.325

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on Type III Sum of Squares The error term is Mean Square(Error) = 476666.667.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

b Alpha = .05.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Duncan

conc	N	Subset 1	2	3
.1	6	10300.00		
.3	6		11683.33	
.2	6			13583.33
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on Type III Sum of Squares The error term is Mean Square(Error) = 476666.667.
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.
b Alpha = .05.

ตารางที่ จ-3 ปริมาณไรโบนิวคลีโอไทด์ของสารละลายใสหลังการหมุนเหวี่ยง (กรัมต่อลิตร)

ความเข้มข้นเอนไซม์	36			48			60		
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	เฉลี่ย	ครั้งที่1	ครั้งที่2	เฉลี่ย	ครั้งที่1	ครั้งที่2	เฉลี่ย
0.1	7.46	7.49	7.47	7.21	7.33	6.50	5.58	5.61	5.60
0.2	7.75	7.75	7.75	7.76	7.86	7.81	8.83	8.95	8.89
0.3	6.87	6.90	6.88	6.88	6.92	6.90	7.60	7.67	7.64

ตารางที่ จ-4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณไรโบนิวคลีโอไทด์ของสารละลายใสหลังการหมุนเหวี่ยง

Dependent Variable: yield

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	126896.000(a)	8	15862.000	594.825	.000
Intercept	9741698.000	1	9741698.000	365313.675	.000
hour	81.333	2	40.667	1.525	.269
conc	60532.000	2	30266.000	1134.975	.000
hour * conc	66282.667	4	16570.667	621.400	.000
Error	240.000	9	26.667		
Total	9868834.000	18			
Corrected Total	127136.000	17			

a R Squared = .998 (Adjusted R Squared = .996)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

	hour	N	Subset 1
Duncan(a,b)	48	6	732.67
	36	6	737.00
	60	6	737.33
	Sig.		.168

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on Type III Sum of Squares The error term is Mean Square(Error) = 26.667.
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.
b Alpha = .05.

yield

	conc	N	Subset 1	2	3
Duncan(a,b)	.1	6	678.00		
	.3	6		714.00	
	.2	6			815.00
	Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. Based on Type III Sum of Squares The error term is Mean Square(Error) = 26.667.
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.
b Alpha = .05.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-5 คะแนนความชอบทางด้านประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์หมั่นโถวในด้านสี

ผู้ทดสอบชิม	หมั่นโถวที่ผสมยีสต์สกัด				
	ควบคุม	0.01	0.03	0.05	0.07
1	6	6	7	7	5
2	8	6	8	5	6
3	6	8	8	8	7
4	8	8	8	8	8
5	6	5	7	7	9
6	8	6	6	7	8
7	6	7	8	9	8
8	6	8	7	8	6
9	8	8	5	7	6
10	6	6	7	5	7
11	8	7	8	5	6
12	6	7	7	6	7
13	8	7	8	8	6
14	6	6	7	7	8
15	6	8	8	9	7
16	8	8	6	8	6
17	6	7	6	8	7
18	8	6	8	9	8
19	6	6	6	7	6
20	8	7	7	7	8
21	6	9	8	6	9
22	6	6	8	8	7
23	8	6	9	8	8
24	8	8	6	9	8
25	6	8	8	7	8
รวม	172	174	181	183	179
เฉลี่ย	6.88	6.96	7.24	7.32	7.16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-6 คะแนนความชอบทางด้านประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์หมั่นโถวในด้านกลิ่น

ผู้ทดสอบชิม	หมั่นโถวที่ผสมยีสต์สกัด				
	ควบคุม	0.01	0.03	0.05	0.07
1	6	5	5	7	9
2	6	6	6	7	6
3	6	6	6	8	6
4	5	6	5	8	7
5	6	5	6	8	6
6	6	6	6	6	7
7	6	6	5	7	6
8	6	7	6	8	7
9	6	6	7	9	6
10	6	6	7	7	7
11	5	7	7	7	6
12	6	6	6	8	5
13	6	7	6	8	6
14	6	6	5	7	5
15	6	7	6	8	5
16	6	6	6	8	6
17	6	6	5	9	5
18	5	5	6	8	5
19	6	5	5	7	6
20	6	6	7	8	5
21	6	6	7	8	7
22	6	5	8	8	5
23	5	5	6	7	6
24	6	5	7	8	7
25	6	6	7	8	5
รวม	146	147	153	192	151
เฉลี่ย	5.84	5.88	6.12	7.68	6.04

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-7 คะแนนความชอบทางด้านประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์หมั่นโถวในด้านรสชาติ

ผู้ทดสอบชิม	หมั่นโถวที่ผสมยีสต์สกัด				
	ควบคุม	0.01	0.03	0.05	0.07
1	7	6	4	8	8
2	7	7	7	9	7
3	8	5	7	8	7
4	6	6	7	7	7
5	6	6	8	8	6
6	7	6	8	8	6
7	6	7	6	9	6
8	5	7	7	7	7
9	8	8	7	7	8
10	5	7	6	7	6
11	7	6	7	8	7
12	5	6	7	8	7
13	7	6	7	7	7
14	6	7	5	7	7
15	6	7	6	8	7
16	8	7	6	8	6
17	7	7	6	8	6
18	7	6	7	9	6
19	6	7	6	8	7
20	7	7	8	8	7
21	7	5	8	7	6
22	8	4	6	8	7
23	7	7	6	7	6
24	7	8	7	8	6
25	6	6	7	8	7
รวม	166	161	166	195	167
เฉลี่ย	6.64	6.44	6.64	7.78	6.68

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-8 คะแนนความชอบทางด้านประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์หมั่นโถวในด้านความชอบโดยรวม

ผู้ทดสอบชิม	หมั่นโถวที่ผสมยีสต์สกัด				
	ควบคุม	0.01	0.03	0.05	0.07
1	7	6	6	8	8
2	7	7	7	8	7
3	6	6	7	7	7
4	6	7	6	7	7
5	8	6	7	8	7
6	7	6	7	7	7
7	6	7	7	8	7
8	7	7	7	8	7
9	6	7	7	8	7
10	6	7	7	8	6
11	6	7	7	8	6
12	8	7	7	7	6
13	6	7	7	8	6
14	6	6	6	7	6
15	6	7	7	8	7
16	7	7	7	8	6
17	7	7	7	8	6
18	8	6	7	8	7
19	7	7	6	8	6
20	7	7	7	8	7
21	8	7	7	7	6
22	6	6	7	8	7
23	6	7	7	7	6
24	7	7	7	8	7
25	7	7	7	8	6
รวม	168	168	171	193	165
เฉลี่ย	6.72	6.72	6.84	7.72	6.60

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ จ-9 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของการทดสอบทางประสาทสัมผัสที่มีต่อหมั่นโถวผสมยีสต์สกัด

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
color	Between Groups	3.472	4	.868	.772	.546
	Within Groups	134.960	120	1.125		
	Total	138.432	124			
smell	Between Groups	59.792	4	14.948	27.579	.000
	Within Groups	65.040	120	.542		
	Total	124.832	124			
taste	Between Groups	29.680	4	7.420	10.976	.000
	Within Groups	81.120	120	.676		
	Total	110.800	124			
total	Between Groups	20.720	4	5.180	18.028	.000
	Within Groups	34.480	120	.287		
	Total	55.200	124			

color

Duncan

conc	N	Subset for alpha = .05
		1
.00	25	6.88
.01	25	6.96
.07	25	7.16
.03	25	7.24
.05	25	7.32
Sig.		.198

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 25.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

smell

Duncan

conc	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
.00	25	5.84	
.01	25	5.88	
.07	25	6.04	
.03	25	6.12	
.05	25		7.68
Sig.		.226	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 25.000.

taste

Duncan

conc	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
.01	25	6.44	
.00	25	6.64	
.03	25	6.64	
.07	25	6.68	
.05	25		7.80
Sig.		.354	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 25.000.

total

Duncan

conc	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
.07	25	6.60	
.00	25	6.72	
.01	25	6.72	
.03	25	6.84	
.05	25		7.72
Sig.		.153	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 25.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้