สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การใช้ประโยชน์จากยีสต์ที่เหลือจากการหมักไวน์เพื่อทดแทนยีสต์สกัดในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการหมักไวน์และน้ำส้มสายชูจากน้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อน

(Utilization of Yeast Cells Recovered from Wine Process as Yeast Extract Substitute in Fermenting Medium for Wine and Vinegar Fermentation from Baby corn Boiling Water)

จัดทำโดย

นาย	จักรกฤษณ์	คล้ายแก้ว	รหัสนักศึกษา	47040801
นางสาว	ระดิพร	ธรรมประสิทธิ์	รหัสนักศึกษา	47040822
นาย	สุริยะ	ธูสรานนท์	รหัสนักศึกษา	47040831

อาจารย์ที่ปรึกษา

รศ. ดร. วราวุฒิ ครูส่ง

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2550

ปพ.
ว216ก
2550

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 85406
วัน,เดือน,ปี 11 พ.ย. 2551

b 12009696
i.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปัญหาพิเศษ

การใช้ประโยชน์จากยีสต์ที่เหลือจากการหมักไวน์เพื่อทดแทนยีสต์สกัดในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการหมักไวน์และน้ำส้มสายชูจากน้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อน

(Utilization of Yeast Cells Recovered from Wine Process as Yeast Extract Substitute in Fermenting Medium for Wine and Vinegar Fermentation from Baby corn Boiling Water)

จัดทำโดย

นาย	จักรกฤษณ์	คล้ายแก้ว	รหัสนักศึกษา	47040801
นางสาว	ระติพร	ธรรมประสิทธิ์	รหัสนักศึกษา	47040822
นาย	สุริยะ	ธูสรานนท์	รหัสนักศึกษา	47040831

โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร

Faculty of Agricultural Industry

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า
เจ้าคุณทหารลาดกระบัง
กรุงเทพฯ 10520

King Mongkut's Institute of Technology
Ladkrabang
Bangkok 10520 Thailand

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การใช้ประโยชน์จากยีสต์ที่เหลือจากการหมักไวน์เพื่อทดแทนยีสต์สกัดในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการหมักไวน์และน้ำส้มสายชูจากน้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อน

(Utilization of Yeast Cells Recovered from Wine Process as Yeast Extract Substitute in Fermenting Medium for Wine and Vinegar Fermentation from Baby corn Boiling Water)

จัดทำโดย

นาย	จักรกฤษณ์	คล้ายแก้ว	รหัสนักศึกษา	47040801
นางสาว	ระติพร	ธรรมประสิทธิ์	รหัสนักศึกษา	47040822
นาย	สุริยะ	ธูสรานนท์	รหัสนักศึกษา	47040831

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

....24/...ม.ค./...51.....

(อ.ดร.กฤษณ์ ณัฐ)

อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จักรกฤษณ์ คล้ายแก้ว , ระติพร ธรรมประสิทธิ์ และ สุริยะ ชูสรานนท์ . 2550 : การใช้ประโยชน์จากเซลล์ยีสต์ที่เหลือจากการหมักไวน์เพื่อทดแทนยีสต์สกัดในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการหมักไวน์และน้ำส้มสายชูจากน้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อน(Utilization of Yeast Cells Recoverd from Wine Process as Yeast Extract Substitute in Fermentation Medium for Wine and Vinegar Fermentation from Baby Corn Boiling Water).

คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

อาจารย์ที่ปรึกษา : รศ.ดร. วราวุฒิ ครูส่ง

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อการใช้ประโยชน์จากตะกอนของยีสต์ที่เหลือจากการหมักไวน์มาใช้ให้เกิดประโยชน์ในการทดแทนยีสต์สกัด(yeast extract)ในการหมักไวน์และน้ำส้มสายชูพบว่าภายหลังจากการศึกษาการนำตะกอนยีสต์ที่ได้จากโรงงาน มาทำให้เซลล์แตกออกเพื่อเอาสารสกัดที่ได้มาใช้ทดแทนนั้น วิธีการ Ultrasonic disruption ในอัตราส่วน 30 : 70 (ตะกอนยีสต์ : น้ำ)ได้ปริมาณสารสกัดซึ่งวัดอยู่ในรูปของปริมาณโปรตีนมากที่สุดโดยเฉลี่ย คือ 11.93 mg/ml/100 กรัมของตะกอนยีสต์ และภายหลังจากการทดลองใช้สารสกัดในปริมาณที่เท่ากันกับยีสต์สกัดมาใช้หมักไวน์น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อนนั้นได้ปริมาณแอลกอฮอล์ 9.7 % ในขณะที่ปริมาณแอลกอฮอล์ จากการหมักโดยใช้ยีสต์สกัดมีสูงกว่าคือ 11.9 % ซึ่งสามารถคิดประสิทธิภาพของการใช้ทดแทนยีสต์สกัดเป็น 81.5 % และจากการทดลองหมักน้ำส้มสายชูจากทั้งตะกอนยีสต์ที่ผ่านการ Ultrasonic disruption และยีสต์สกัดนั้นจะได้ปริมาณกรด 5.05% และ 5.35% ตามลำดับคิดเป็น 94.4% ของการหมักโดยใช้ยีสต์สกัด(yeast extract) ดังนั้นภายหลังจากการศึกษาถึงประสิทธิภาพของตะกอนยีสต์ที่ผ่านการ Ultrasonic disruption แล้วนั้นจึงได้มีการทดลองนำมาใช้ทดแทนเพิ่มอีกโดยคิดเป็น 2 เท่าของการใช้ยีสต์สกัด(yeast extract) โดยได้ผลการหมักคิดเป็นปริมาณแอลกอฮอล์ 11.4 % และปริมาณกรดอะซิติก 5.25 % ซึ่งทำให้ทราบได้ว่าการใช้ปริมาณสารสกัดเพิ่มขึ้น 2 เท่า ในการผลิตแอลกอฮอล์และกรดอะซิติกนั้นสามารถใช้ทดแทนยีสต์สกัดได้ 100 %

จักรกฤษณ์ คล้ายแก้ว		
สุริยะ ชูสรานนท์		24 มิ.ย 51
ระติพร ธรรมประสิทธิ์	(รศ.ดร.วราวุฒิ ครูส่ง)	วัน เดือน ปี
ลายมือชื่อนักศึกษา	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

การจัดทำปัญหาพิเศษได้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี ทางคณะผู้จัดทำขอขอบพระคุณ รศ.ดร.วราวุฒิ ครูส่ง ซึ่งได้กรุณามาเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ ที่ได้เสียสละเวลามาคอยแนะนำ ให้คำปรึกษาและคอยดูแลและเอาใจใส่เป็นอย่างดี รวมทั้งยังช่วยตรวจทานแก้ไขรายงานสัมมนาฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์ ข้าพเจ้ารู้สึกซาบซึ้งในความกรุณาของท่านเป็นอย่างสูง จึงขอกราบขอบพระคุณท่านอาจารย์เป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้ด้วย

ขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ที่ได้คอยเป็นกำลังใจและสนับสนุนในทุกๆด้าน โดยเฉพาะด้านการเงิน จึงทำให้รายงานเล่มนี้เป็นรูปเล่มออกมาได้

ขอขอบคุณบริษัท ไวน์วิเศษ จำกัด ที่ทำให้เราได้หัวข้อปัญหาพิเศษ

ขอขอบคุณเพื่อนๆทุกคนที่คอยช่วยเหลือในการทำสัมมนาทั้งรูปเล่มและการนำเสนอ โดยเฉพาะเพื่อนๆ ที่ทำสัมมนากับอาจารย์วราวุฒิด้วยกัน

ขอขอบคุณกำลังใจจากทุกคนที่เป็นแรงผลักดันให้ข้าพเจ้ามาจนถึงวันนี้

สุดท้ายนี้ข้าพเจ้าหวังว่า เรื่องที่ข้าพเจ้าค้นคว้ามานั้น จะเป็นประโยชน์แก่วงการอาหาร และประโยชน์แก่ผู้อ่านทุกท่าน ไม่มากก็น้อย

คณะผู้จัดทำ
จักรกฤษณ์ คล้ายแก้ว
ระดิพร ธรรมประสิทธิ์
สุริยะ ธูสรานนท์
19 มีนาคม 2551

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ.....ก
กิตติกรรมประกาศ.....ข
สารบัญ.....ค
สารบัญภาพ.....ง
สารบัญตาราง.....จ
บทที่
1. บทนำ.....1
2. วารสารปริทัศน์.....2
1. ยีสต์สกัด (Yeast Extract).....2
1.1 ประวัติความเป็นมาของยีสต์สกัด.....2
1.2 องค์ประกอบของยีสต์สกัด.....2
2. การผลิตยีสต์สกัด.....4
2.1 คุณลักษณะของยีสต์ที่ใช้ในการผลิตยีสต์สกัด.....4
2.2 ยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiea*.....5
2.3 โครงสร้างและองค์ประกอบของยีสต์โดยทั่วไป.....5
2.4 วิธีการผลิตยีสต์สกัด.....7
3. อุปกรณ์และวิธีการ.....12
4. ผลการทดลอง.....18
5. สรุปผลการทดลอง.....23
บรรณานุกรม.....24
ภาคผนวก ก : องค์ประกอบและวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ.....27
ภาคผนวก ข : วิธีการวิเคราะห์ทางเคมี.....28
ภาคผนวก ค : การเทียบน้ำหนักของสารสกัดจากเซลล์ยีสต์ กับ ยีสต์สกัด.....32
ประวัติผู้เขียน.....33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่

2.1 แผนภาพการย่อยสลายเซลล์ยีสต์โดยวิธีย่อยสลายตัวเอง (Autolysis).....8
2.2 การทำให้เซลล์แตกโดยวิธีพลาสโมไลซิส (Plasmolysis).....9
4.1 การทำให้เซลล์ยีสต์แตกด้วยเครื่องอุลตร้าโซนิค.....15
5.1 อัตราการเจริญของยีสต์เมื่อเลี้ยง เป็นเวลา 24 ชม.....20
5.2 อัตราการผลิตแอลกอฮอล์ของไวน์ปกติและไวน์ที่เติมสารสกัดทดแทนยีสต์สกัด.....20
5.3 อัตราการผลิตแอลกอฮอล์ของไวน์ที่เติมสารสกัดจากเซลล์ยีสต์ทดแทนยีสต์สกัดสำเร็จรูป และแบมเพิ่มสารสกัดจากเซลล์ยีสต์อีก 2 เท่า กับ 5 เท่า.....21
5.4 อัตราการเพิ่มขึ้นของแอลกอฮอล์ของไวน์ที่เติมยีสต์สกัดและแบบเพิ่มสารสกัดจากเซลล์ยีสต์ อีก 2 เท่า กับ การเติมสารอาหาร 2 เท่าเป็น 2 ช่วง.....21
5.5 อัตราการผลิตกรดอะซิติกของน้ำส้มสายชูปกติและน้ำส้มสายชูที่เติมสารสกัดจากเซลล์ยีสต์ทดแทนยีสต์สกัดสำเร็จรูป.....22
5.6 อัตราการเพิ่มขึ้นของกรดอะซิติกในน้ำส้มสายชูปกติและน้ำส้มสายชูแบบเพิ่มสารสกัดจากเซลล์ยีสต์ อีก 2 เท่า กับแบบ แบ่งการเติมสารสกัด 2 เท่าเป็น 3 ช่วง.....22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่

2.1 องค์ประกอบของยีสต์สกัดจากยีสต์ขนมปังในรูปของเหลวข้น....3
2.2 ปริมาณวิตามินที่พบในยีสต์สกัดที่ได้จากกระบวนการย่อยสลายตัวเอง....4
2.3 องค์ประกอบทางเคมีของผนังเซลล์ยีสต์ *S. cerevisiae*....6
5.1 ปริมาณโปรตีนในสารละลายยีสต์สกัดที่ได้จากการทำให้เซลล์ยีสต์แตกด้วยคลื่นเสียงอุลตร้าโซนิค ความถี่ 20%....18
5.2 ปริมาณโปรตีนในสารละลายยีสต์สกัดที่ได้จากการทำให้เซลล์ยีสต์แตกด้วยคลื่นเสียงอุลตร้าโซนิค ความถี่ 40%....18
5.3 ปริมาณโปรตีนในสารละลายยีสต์สกัดที่ได้จากการทำให้เซลล์ยีสต์แตกด้วยการแช่แข็งสลับกับการละลาย....19

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญของเรื่อง

การหมักน้ำส้มสายชูนั้นจะใช้ยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* และ แบคทีเรียสายพันธุ์ *Acetobacter aceti* ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดนี้นั้นจะใช้ในการหมักแบบ Dual - fermentation โดยอาศัยกระบวนการทางชีวเคมี 2 ขั้นตอน คือ การเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ และ เปลี่ยนแอลกอฮอล์เป็นกรดอะซิติก โดยจะมีการแบ่งเป็นการหมักไวน์ โดยเชื้อ *S. cerevisiae* และหมักน้ำส้มสายชูต่อโดยใช้เชื้อ *A. aceti* ซึ่งในการหมักไวน์แต่ละครั้งจะมีการเจริญของยีสต์จนมีปริมาณของยีสต์มากขึ้น เมื่อการหมักไวน์เสร็จสิ้น จะมีตะกอนเหลือทิ้ง ซึ่งตะกอนเหล่านั้นก็คือ ตะกอนของเซลล์ยีสต์(ประกายแก้ว และ สว่างพงษ์, 2550)

ปัจจุบันการแข่งขันทางด้านอุตสาหกรรมมีสูงขึ้นโดยที่องค์กรใดมีศักยภาพที่จะลดต้นทุนในการผลิตและเพิ่มผลกำไรได้ในคราวเดียวจะมีความได้เปรียบในการแข่งขัน ซึ่งการนำby - product มาใช้ประโยชน์นั้น จะสามารถลดต้นทุนในการบำบัดน้ำเสีย เช่น การนำตะกอนของยีสต์ที่อุดมไปด้วยสารอาหาร เช่น โปรตีน แมกนีเซียม ฟอสฟอรัสและวิตามินบี 1 มาทดลองใช้ทดแทนยีสต์สกัดเพื่อที่จะลดต้นทุนในการกำจัดน้ำเสีย และลดต้นทุนในการสั่งซื้อยีสต์สกัด ทำให้เกิดผลกำไรที่เพิ่มขึ้น(ประภา, 2521)

1.2 วัตถุประสงค์

1. เพื่อนำตะกอนยีสต์ซึ่งเป็นของเหลือใช้จากการหมักไวน์น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อน ที่จะใช้ผลิตน้ำส้มสายชูหมัก มาปรับปรุงใช้ทดแทน yeast extract ในการเลี้ยงเชื้อ *A. aceti*

2. เพื่อเป็นการรักษาสิ่งแวดล้อม และลดทุนในการบำบัดน้ำเสียที่เหลือจากโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร

3. พัฒนากระบวนการผลิต yeast extract จากวัสดุเหลือใช้จากโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร เพื่อลดต้นทุนการผลิตให้สามารถแข่งขันในกลไกการตลาดและเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
วารสารปริทัศน์

1. ยีสต์สกัด (Yeast Extract)

1.1 ประวัติความเป็นมาของยีสต์สกัด

ในช่วงปลายศตวรรษที่ 19 ได้มีการศึกษาและทำให้บ่งชี้ได้ว่าในเซลล์ยีสต์มีปริมาณโปรตีนอยู่สูงจึงสามารถเป็นใช้เป็นแหล่งสารอาหารที่สำคัญต่อสัตว์และมนุษย์ได้ นอกจากนั้นยังเป็นสารเพิ่มกลิ่นรส (Flavoring agent) อีกด้วย ในวงการอุตสาหกรรมเบียร์ได้เริ่มต้นทดสอบความเป็นไปได้ในการเพิ่มมูลค่าของยีสต์ที่เหลือจากการใช้ในอุตสาหกรรมเบียร์ โดยประสบความสำเร็จในปี ค.ศ. 1894 และจึงได้มีการจดสิทธิบัตรเกี่ยวกับการผลิตยีสต์สกัดเป็นครั้งแรก และยีสต์สกัดที่ผลิตขายในทางการค้าเป็นครั้งแรก อยู่ภายใต้ชื่อ "Marmite" โดยมีการผสมเครื่องเทศบางชนิดลงในส่วนผสมด้วย ซึ่งก็ยังคงมีการจำหน่ายอยู่จนถึงปัจจุบันนี้ ในปี ค.ศ. 1940 ได้มีการศึกษาการผลิตยีสต์สกัดจากยีสต์ขนมปัง (Baker's yeast) ขึ้น ในปัจจุบันได้นิยมใช้ยีสต์ขนมปังเป็นวัตถุดิบในการผลิตยีสต์สกัด สายพันธุ์ยีสต์ที่นิยมใช้ผลิตยีสต์สกัดได้แก่ *Candida utilis* , *Kluyveromyces marxianus* และ *Saccharomyces cerevisiea* เป็นต้น (Verduyn ,1996)

องค์ประกอบของยีสต์สกัด

ยีสต์สกัด (Yeast Extract)มีลักษณะเป็นผงสีน้ำตาลอ่อนมีรสเค็มเฝื่อน ๆ และมีสารอาหาร วิตามินบีรวม (บี 1, ไนอะซิน, บี 2, บี 12,บี 5 (Panthothenic acid) บี 6 (Pyridoxine) และกรดโฟลิค) ไบโอติน (Biotin) และสังกะสี (Zinc) โครเมียม ธาตุเหล็ก แมกนีเซียม ฟอสฟอรัส และโปแตสเซียม นอกจากนี้ยังมีโปรตีน โดยที่ยีสต์สกัด 1 ช้อนโต๊ะ ให้โปรตีน 8 กรัม (เท่ากับนม 1 กล่อง) แทบจะไม่มีไขมันเลย ให้พลังงานประมาณ 60 แคลอรี่ (http://nutrition.anamai.moph.go.th/1675/old1675/Html/menu13/m1313.html) องค์ประกอบของสารอาหารเหล่านี้ ได้มาจากกระบวนการย่อยสลายตัวเอง (autolysis) ของยีสต์ หรือได้จากการย่อยสลายโดยใช้สารเคมีหรือเอนไซม์ ยีสต์สกัดที่ได้จากการย่อยสลายตัวเองของยีสต์ มีชื่อเรียกว่า " ยีสต์ออโตไลเสท"(autolusate) ดังนั้นยีสต์สกัดบางครั้งอาจเรียกเป็นยีสต์ออโตไลเสท หมายถึงผลิตภัณฑ์ที่ประกอบด้วยเซลล์ที่ย่อยสลาย โปรตีนที่ละลายได้ และ ผนังเซลล์ (สุพจน์ , 2550) ซึ่งปริมาณองค์ประกอบต่างๆในยีสต์สกัดสามารถแสดงได้ดังตารางต่อไปนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบของยีสต์สกัดจากยีสต์ขนมปังในรูปของเหลวข้น

General				
	Moisture	28 %		
	Protein (Nx6.25)	37 %		
	Sodium chloride	11 %		
	Ash (excluding NaCl)	7 %		
	Fat	Traces		
	Carbohydrate	17 %		
Vitamin B content (mg. per g. extract)				
	Thiamin	10 – 20		
	Riboflavin	50 – 100		
	Pyridoxine	10 – 16		
	Niacin	300 – 500		
Amino acid (of total protein (N x 6.25) after hydrolysis)				
	Essential		Non-essential	
	Isoleusine	4.9	Alanine	6.5
	Leusine	6.2	Arginine	3.8
	Methionine	1.4	Aspartic	14.0
	Phenylalanine	4.5	Cistine	Trace
	Threonine	7.1	Glutamic	19.6
	Trytophan	4.5	Glycine	4.4
	Valine	5.6	Histidine	1.8
			Proline	3.5
			Serine	4.6
			Tyrosine	2.5

ที่มา : Kelly , 1983 **อ้างถึงใน ภูวดลและสมศักดิ์**, 2536

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 ปริมาณวิตามินที่พบในยีสต์สกัดที่ได้จากกระบวนการย่อยสลายตัวเอง

Vitamin	Range of content (µg per g. of extract)
Thiamine	10 – 50
Riboflavin	15 – 75
Nicotinainide	125 – 550
Calcium pantothenate	30 -120
Pyridovine	1 – 25
Biotin	0.05 – 2

ที่มา : Rose, 1982

2. การผลิตยีสต์สกัด

2.1 คุณลักษณะของยีสต์ที่ใช้ในการผลิตยีสต์สกัด

ในการยีสต์สกัดนั้นสามารถนำยีสต์ขนมปัง (baker's yeast) หรืออาจใช้ยีสต์ที่ได้จากอุตสาหกรรมเบียร์ (brewer's yeast) แต่จะนิยมใช้ยีสต์ขนมปังมากกว่าเพราะถึงแม้ว่าต้นทุนในการผลิตจะสูงแต่ยีสต์ขนมปังจะมีคุณประโยชน์ทางด้านโปรตีนอยู่สูงกว่า และมีกรรมวิธีในการผลิตที่ไม่ยุ่งยากเท่ายีสต์ที่เหลือจากอุตสาหกรรมเบียร์ สายพันธุ์ยีสต์ที่ใช้ในการผลิตยีสต์สกัด ได้แก่ *Candida utilis* , *Kluyveromyces marxianus* และ *Saccharomyces cerevisiea* เป็นต้น ซึ่งสายพันธุ์ที่นิยมใช้มากที่สุดคือ *Saccharomyces cerevisiea* เพราะยีสต์สายพันธุ์นี้ให้กลิ่นรสเฉพาะตัวที่ดีกว่าเมื่อใช้เป็นสารเพิ่มกลิ่นรสในอาหาร (Reed และ Nagodawithana, 1991)

การตกตะกอน (flocculation) ของยีสต์นั้น มีผู้ให้คำจำกัดความไว้หลายประการ เช่น (Stewart , 1975) และ (Suzzi และคณะ, 1984) ให้คำจำกัดความว่าคือ การที่เซลล์ยีสต์เข้ามารวมกันเป็นกลุ่มที่เรียกว่า clumps หรือ flocs แล้ว ตกตะกอนอย่างรวดเร็วสู่ส่วนล่างของอาหารเหลวที่เจริญอยู่ (Esser และ Kues, 1983) ให้นิยามว่า ปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นเมื่อเซลล์เดี่ยวๆ หลายเซลล์ที่อยู่ในอาหารเหลวมารวมกันทำให้เกิด clumps หรือ flocs ซึ่งจะตามด้วยการตกตะกอนหรือ การลอยตัวก็ได้โดยที่การลอยตัวอาจเกิดเนื่องจากการรวมตัวกับฟองแก๊สที่สร้างขึ้นจากการหมัก (Johnson และ คณะ,1987) กล่าวว่า ในการรวมกลุ่มของเซลล์ถ้าเกิดจากเซลล์ของสายพันธุ์เดียวกัน เรียกว่า autoflocculation หรือ self-flocculation แต่ถ้าการรวมกลุ่มเกิดจากเซลล์ต่างสายพันธุ์หรือต่างสปีชีส์ เรียกว่า co-flocculation (Kamada และ Murata , 1984)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พบว่า การตกตะกอนดังกล่าวยังเป็นแบบผันกลับได้ โดยการตกตะกอนและการกระจายของเซลล์จะผันแปรตามสภาวะแวดล้อม

2.2 ยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiea*

ยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* จัดอยู่ใน Phylum Eumycetes, Class Acetomycetes, Order Saccharomycetales, Family Saccharomycetaceae, Sub family Saccharomycetoidae, Genus Saccharomyces, Species cerevisiae มีลักษณะรูปร่างเป็นโซ่เซลล์เดียว ไม่มีสี มีขนาดความกว้าง 2.5 - 10.5 ไมครอนมีความยาว 4.5 – 21 ไมครอน การสืบพันธุ์ แบบไม่อาศัยเพศ (asexual reproduction) โดยอาศัยการแตกหน่อและการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (sexual reproduction) โดยการสร้าง ascospore ตามปกติแล้วยีสต์จะสร้างหน่อมากเมื่อเราเลี้ยงยีสต์ในอาหารสังเคราะห์ แต่จะพบ ascospore มากเมื่อเลี้ยงยีสต์ในสภาพอิสระตามธรรมชาติ (สุพจน์ , 2550)

ยีสต์ *S. cerevisiae* M30 เป็นยีสต์สายพันธุ์หนึ่งของ *S. cerevisiae* ซึ่งกลายพันธุ์ (mutant) เกิดจาก spontaneous mutation แยกจากการหมักเอทานอลโดย *S. cerevisiae* Sc 90 ในโรงงานสุราอุชยา (จรูญ, 2524) และ (นงพงา, 2530) และเป็นสายพันธุ์หนึ่งที่มีปริมาณโปรตีนทั้งหมดภายในเซลล์สูงกว่าสายพันธุ์ตกตะกอนอื่นๆยกเว้นสายพันธุ์ AM12 และ N1(รัฐดา , 2539) เป็นยีสต์สายพันธุ์ที่สามารถตกตะกอนเมื่อมีการเจริญเติบโต (ประพันธ์, 2531) ซึ่งง่ายต่อการแยกเซลล์ออกจากอาหารที่ใช้เลี้ยง ทำให้การเก็บเกี่ยวผลผลิตเป็นไปอย่างไม่สิ้นเปลือง

2.3 โครงสร้างและองค์ประกอบของยีสต์โดยทั่วไป

1) แคปซูล (Capsule) เป็นสารเมือก เหนียว ที่ขับออกสู่ภายนอกเซลล์ ส่วนใหญ่จะประกอบด้วยโพลีแซ็กคาไรด์(Polysaccharide) ซึ่งมีทั้งแมนโนส (Mannose) เฮเทอโรโพลี-แซ็กคาไรด์ (Heteropolysaccharide)และสารที่คล้ายแป้ง (นงลักษณ์ และ ปรีชา, 2541)

2) ผนังเซลล์ (Cell wall) ผนังเซลล์ของยีสต์เป็นส่วนที่มีความแข็งแรงมากที่สุด เพราะเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของสารไบโอโพลิเมอร์หลายชนิดมาเชื่อมต่อกัน ได้แก่ กลูแคน (Glucan) โปรตีน (Protein) แมนแนน(Mannan)และไคติน(Chitin) เป็นต้น(ดูจากตารางที่ 3) กลูแคนเป็นโพลิเมอร์ของกลูโคสที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ ß (1-3) และ ß (1-6) กลูแคนชนิด ß (1-3) สามารถแยกออกจากผนังเซลล์ได้ ด้วยวิธีการสกัดด้วยด่าง ส่วนชนิด ß (1-6) ไม่ละลายในด่างแต่ละลายในกรดแอซิติก สำหรับแมนแนนกับโปรตีนมักพบอยู่ด้วยกันมีพันธะเชื่อมต่อกันโดยแมนแนนมีตำแหน่งอยู่ส่วนนอกของผนังเซลล์จับกับโปรตีนทางด้านกรดอะมิโนแอสพาราจีน (Asparagine) เป็นโครงสร้างแบบร่างแห โครงสร้างแมนแนน-โปรตีน นี้สามารถแยกออกจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผนังเซลล์ด้วยวิธีการนึ่งภายใต้ความดันสูง หรือกำจัดด้วยไธออล ซึ่งเป็นสารที่ทำให้เซลล์แตก การสกัดด้วยด่าง หรือย่อยสลายด้วยเอนไซม์ (สุพจน์ , 2550) นอกจากนี้โปรตีนบางชนิดที่อยู่ในผนังเซลล์ยังทำหน้าที่เป็นเอนไซม์ เนื่องจากมีการพบอินเวอร์เทส (Invertase) และ ไฮโดรเลส (Hydrolase) อื่นๆที่ผนังเซลล์ด้วย (นงลักษณ์ และ ปรีชา, 2541)

ตารางที่ 2.3 องค์ประกอบทางเคมีของผนังเซลล์ยีสต์ *S. cerevisiae*

องค์ประกอบ	ร้อยละน้ำหนักแห้งของผนังเซลล์
ไนโตรเจน (Nitrogen)	2.1
ฟอสเฟต (Phosphate)	0.31
ไลปิด (Lipid)	8.5
โปรตีน (Protein)	13.0
ไคติน (Chitin)	1.0
ไคโตแซน (Chitosan)	1.0
กลูแคน (Glucan)	28.8
แมนแนน (Mannan)	31.0

ที่มา : รพีพร คำรัตน์ , 2542

3) เยื่อหุ้มเซลล์(Cell membrane) เยื่อหุ้มเซลล์มีความหนาประมาณ 8 ไมโครเมตร ประกอบด้วยชั้น 3 ชั้น ที่ทึบต่อแสงอิเล็กตรอนสองชั้น คือ ชั้นนอกและชั้นในสุด เยื่อหุ้มเซลล์ประกอบด้วยไขมัน(รวมทั้งฟอสโฟลิปิด) โปรตีนและโพลีแซ็กคาไรด์ (นงลักษณ์ และปรีชา, 2541)

4) องค์ประกอบในโพรโทพลาสซึม (Protoplasm) ในเซลล์ยีสต์ประกอบด้วยไซโทพลาสซึมซึ่งเป็นสารกึ่งเหลว ภายในมีเอนไซม์หลายชนิด ไรโบโซมที่มี RNA มาก รวมถึงออร์แกเนลล์ (Organelle) ที่มีเยื่อหุ้ม ได้แก่ เอนโดพลาสมิก เรติคิวลัม(Endoplasmic reticulum) ซึ่งเชื่อมต่อกับเยื่อหุ้มนิวเคลียสชั้นนอก และอาจติดกับเยื่อหุ้มเซลล์ด้วย(นงลักษณ์และปรีชา, 2541)

5) นิวเคลียส (Nucleus) เป็นออร์แกเนลล์ที่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียสล้อมรอบ เยื่อหุ้มนิวเคลียสมีสมบัติยอมให้สารบางอย่างผ่านได้เท่านั้น (semipermeable mebrane) นิวเคลียสมีหน้าที่เกี่ยวกับเมแบอลิซึมและการสืบพันธุ์ของสิ่งมีชีวิต (นงลักษณ์ และ ปรีชา, 2541)

6) ไมโทคอนเดรีย (Mitochondria) เป็นออร์แกเนลล์มีเยื่อหุ้ม มีลักษณะคล้ายเส้นด้ายพันกันอยู่ ไมโทคอนเดรียมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.3 – 1 ไมโครเมตรและยาวถึง 3 ไมโครเมตร มีเยื่อหุ้ม 2 ชั้น ชั้นในจะพับเว้าเข้าข้างในเป็นคริสตี (cristae) ไมโทคอนเดรียประกอบด้วย ลิโพโปรตีน (Lipoprotein) จำนวนมาก มี RNA และ DNA เล็กน้อย DNA นี้จะต่างจาก DNA ใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นิวเคลียส เนื่องจากไมโคอนเดรียมีเอนไซม์เกี่ยวกับการหายใจ ซึ่งเป็นแหล่งพลังงานของเซลล์ (นงลักษณ์ และปรีชา, 2541)

7) แวคิวโอล (Vacuole) ภายในเซลล์ยีสต์จะมี แวคิวโอลอยู่หนึ่งหรือมากกว่า ซึ่งสามารถมองเห็นด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดาเมื่อย้อมสี ภายในเซลล์ที่กำลังเจริญเติบโตแวคิวโอลจะไม่มีโครงสร้างที่เป็นชิ้นส่วน แต่เมื่อเซลล์เข้าสู่ระยะ " Stationary phase" แวคิวโอลจะมีสารแกรนูลเพิ่มขึ้น อาจเป็นเมตาฟอสเฟต (Metaphosphate) โพลีฟอสเฟต (Polyphosphate) หรือลิพิด (Lipid) สารที่อยู่ในแวคิวโอลที่เคยแยกได้ ได้แก่ เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการไฮโดรไลส์ปฏิกิริยาต่างๆเช่น โปรติเอส (Protease) ไรโบนิวคลีเอส (Ribonuclease) และเอสเทอเรส (Esterase) เป็นต้น (นงลักษณ์ และปรีชา, 2541)

8) อินคลูชันต่างๆ (Inclusion) เซลล์ยีสต์ที่แก่จะมีผนังเซลล์หนาขึ้น และสามารถอดทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ เช่น ความร้อน ความแห้งแล้ง และสารเคมี ยีสต์บางชนิดสะสมสารต่างๆไว้จำนวนมาก เช่น ไขมัน คาร์โบไฮเดรต หรือ โปรตีน นอกจากนี้ยังมีพวกรงควัตถุเช่น ไซโตโครม (Cytocrome) เฟลวิน (Felvin) ฮีโมโกลบิน (Hemoglobin) และอื่นที่พบในพืชชั้นสูงก็จะพบในยีสต์ด้วย (นงลักษณ์ และปรีชา, 2541)

2.4 วิธีการผลิตยีสต์สกัด

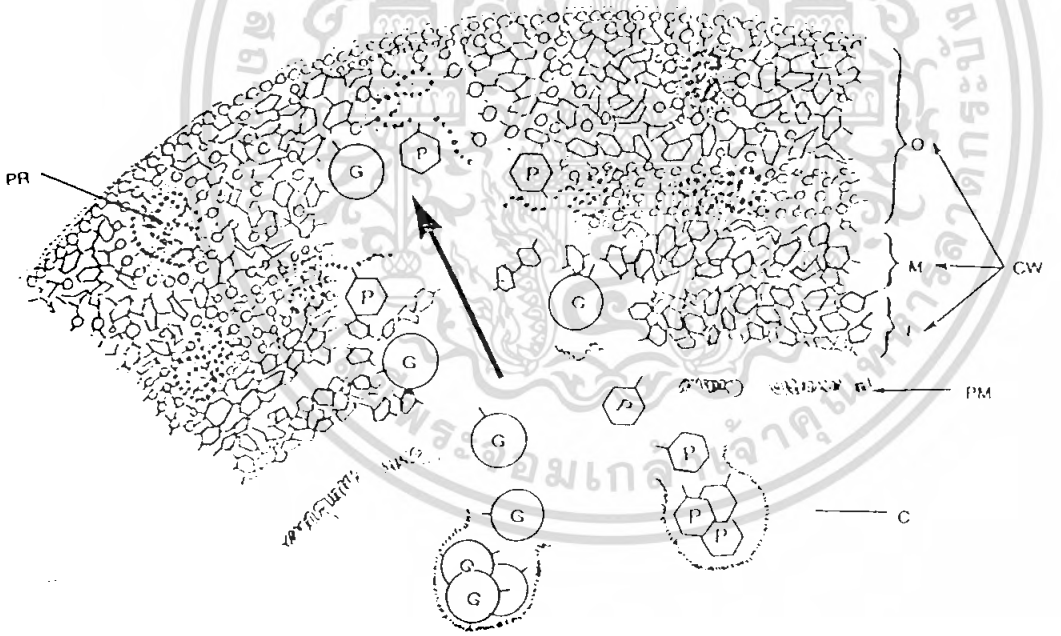
เนื่องจากสารอาหารต่างๆที่จะนำมาผลิตเป็น ยีสต์สกัด (Yeast Extract) นั้นจะอยู่ภายในเซลล์ซึ่งถูกห่อหุ้มไว้ด้วยเซลล์เมมเบรน(Cell membrance) ดังนั้นการที่เราจะนำสารอาหารออกมาจึงอาจทำได้โดยการทำเซลล์ให้แตก (Cell disruption) ซึ่งเป็นขั้นตอนที่สำคัญในการศึกษาองค์ประกอบต่างของเซลล์ หลังจากเซลล์แตกแล้วจึงนำมาปั่นแยกเพื่อให้ได้องค์ประกอบต่าง ๆ ตามต้องการสำหรับนำไปศึกษาในขั้นตอนต่อไปเทคนิคและวิธีการทำให้เซลล์แตกมีอยู่ด้วยกันหลายวิธี ทั้งนี้พบว่า Breaking efficiency จะขึ้นกับเทคนิคและวิธีการที่นำมาใช้ในการ Break cell นอกจากนั้นยังขึ้นกับชนิดของเซลล์อีกด้วย โดยทั่วไปพบว่าแบคทีเรียแกรมบวกจะทำให้มีการแตกของเซลล์ได้ยากกว่าแบคทีเรียแกรมลบ Breaking efficiency สามารถประเมินได้จากความหนาแน่นของเซลล์ (Cell density) น้ำหนักแห้ง (Cellular dry weight) และความมีชีวิตของเซลล์ (Viability) (http://moomsabuy.exteen.com20070115cell-disruption-techniques) ซึ่งวิธีการที่จะทำให้เซลล์จุลินทรีย์แตกสามารถทำได้หลายวิธีดังนี้

1) การย่อยสลายตัวเอง (Autolysis)

เป็นวิธีการทำให้เซลล์แตกโดยการใช้เอนไซม์ภายในเซลล์ ซึ่งจะได้ผลิตภัณฑ์ที่เรียกว่า ยีสต์ออโตไลเสท (Autolysate yeast) ผลิตภัณฑ์ที่ได้จะมีกลิ่นรสใกล้เคียงกับสารสกัดจากเนื้อสัตว์ (Meat extract) ดังนั้นจึงเป็นวิธีการที่ได้รับความสนใจมากกว่าวิธีอื่น การย่อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สลายตัวเองของเซลล์ยีสต์โดยปกติจะเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติอยู่แล้ว เมื่อเซลล์มีอายุมากและตายไป เอนไซม์ในเซลล์จะย่อยสลายผนังเซลล์และสารต่างๆ ที่มีอยู่ในเซลล์ แต่เป็นการย่อยตัวเองแบบค่อยเป็นค่อยไปทีละเล็กละน้อย (http://www.sc.chula.ac.th/clubs/FoodClub/page_116.htm) โดยขั้นแรก เนื้อเยื่อแมนแนน - โปรตีนด้านนอกถูกย่อยโดยเอนไซม์โปรตีเอส และปลดปล่อยโปรตีนออกมาก่อน ขั้นที่สอง เอนไซม์กลุ่มกลูคาเนส (Glucanases) จับกับสายโซ่ของกลูแคนที่ด้านในผนังเซลล์ทำการย่อยกลูแคนให้มีขนาดเล็กลงได้ เมื่อโปรตีเอสกับกลูคาเนสทำงานร่วมกันเท่ากับเป็นการเปิดเอาผนังเซลล์ออกเหลือเฉพาะส่วนของพลาสมาเมมเบรน(Plasma membrane) จากนั้นขั้นที่สาม พลาสมาเมมเบรนจะแตกและปลดปล่อยองค์ประกอบภายในเซลล์ออกมาซึ่งจะถูกย่อยในขั้นตอนที่สี่ ในขณะเดียวกัน ชิ้นส่วนของผนังเซลล์ คาร์โบไฮเดรตส่วนที่ละลายจากผนังเซลล์ถูกย่อยต่อไปโดย กลูคาเนส และ ไคตีเนส (Chitinase) เป็นขั้นตอนที่ห้า โปรตีนที่ถูกปลดปล่อยออกมาจากเซลล์และขั้นที่หกถึงแปด โปรตีนจะถูกย่อยซ้ำอีกครั้งโดยเอนไซม์โปรตีเอส (Protease) เรียกว่า " Proteolysis " ได้โปรตีนที่มีขนาดเล็กและละลายน้ำได้ (สุพจน์ , 2550) ซึ่งสามารถดูการย่อยสลายเซลล์ยีสต์ได้จาก ภาพที่ 1



ภาพที่ 2.1 แผนภาพการย่อยสลายเซลล์ยีสต์โดยวิธีย่อยสลายตัวเอง (Autolysis)

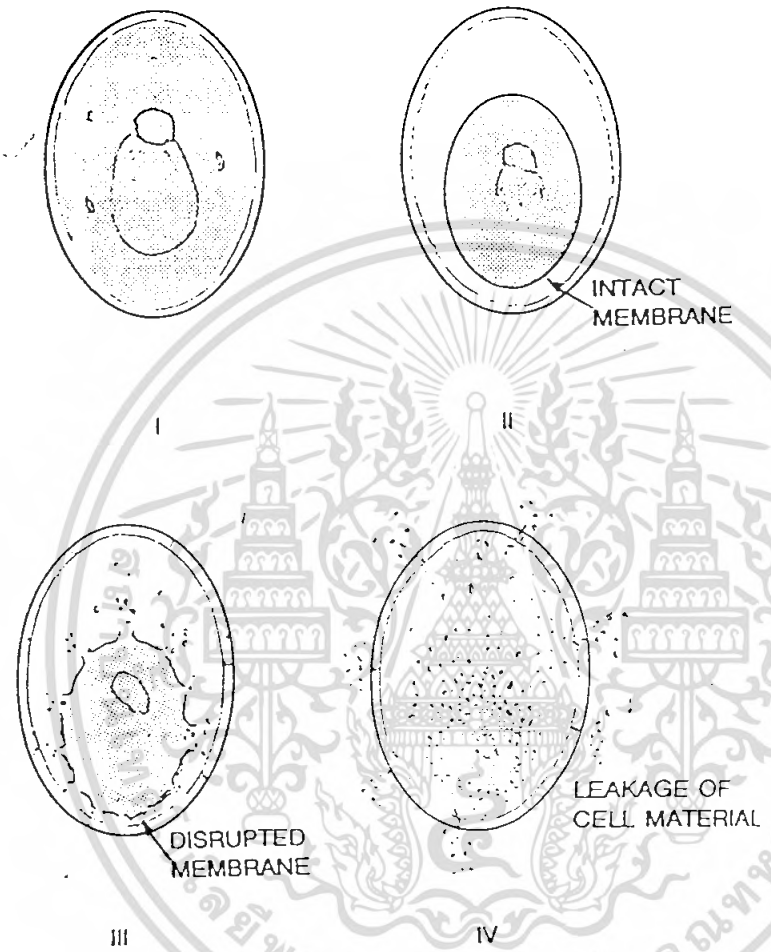
ที่มา : Reed and Nagodawithana , 1991

2) การย่อยสลายเซลล์ยีสต์ด้วยวิธีพลาสโมไลซิส (Plasmolysis)

เป็นวิธีที่ง่ายสำหรับการเริ่มต้นทำลายเซลล์ยีสต์ด้วย (Plasmolysis agent)ซึ่งเป็นตัวทำละลายไม่มีขั้ว(non-polar organic solvent) เช่น โทลูออล คลอโรฟอร์ม เอธิลอะซีเตท

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซโพรพานอล หรือใช้เกลือแกง (NaCl) เมื่อเซลล์ยีสต์อยู่ภายใต้สภาวะความเข้มข้นสูงๆของสารดังกล่าว จะเกิดแรงดันออสโมติก เซลล์ยีสต์ต้องสูญเสียน้ำเพื่อปรับสภาพแรงดันให้สมดุลกัน ในสภาวะนี้ พลาสมาเมมเบรน จะหดตัวแยกออกจากผนังเซลล์ ยีสต์จะตายและเป็นจุดเริ่มของการสลายตัวของยีสต์ (สุพจน์, 2550)



ภาพที่ 2.2 การทำให้เซลล์แตกโดยวิธีพลาสโมไลซิส (Plasmolysis)
ที่มา : Reed and Nagodawithana , 1991

3) การสลายเซลล์ยีสต์โดยใช้กรด (Hydrolysis)

เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด นิยมใช้ กรดเกลือ (Hydrochloric acid) ร่วมกับการใช้ความร้อนเพื่อย่อยผนังเซลล์ และสารโมเลกุลใหญ่ในเซลล์ยีสต์ เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และกรดนิวคลีอิก ให้เป็นสารโมเลกุลเล็กๆ ที่ละลายน้ำได้ โดยนำเซลล์ยีสต์สดหรือแห้งมาเติมกรดเกลือลงไป แล้วให้ความร้อนที่ 100° ซ. ทำการย่อยจนปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดถูกเปลี่ยนไปเป็น อัลฟาอะมิโนไนโตรเจน (α-aminonitrogen) 50-60% จากนั้นทำให้เป็นกลางด้วยด่างโซเดียมคาร์บอเนต (Sodium carbonate) แล้วกรองเอาตะกอนออก สารละลายที่ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำไปทำให้เข้มข้นขึ้น แล้วทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray dryer) ผลิตภัณฑ์ที่ได้จะเรียกว่า ยีสต์ไฮโดรไลเสท (Hydrolysate yeast) สามารถเก็บไว้ปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารได้ดี (http://www.sc.chula.ac.th/clubs/FoodClub/page_116.htm)

4) การใช้แรงดันออสโมติก (Osmotic disruption)

สามารถใช้ได้กับเซลล์จุลินทรีย์ที่มีความอ่อนแอเท่านั้น โดยทำการเตรียมสารแขวนลอยเซลล์จุลินทรีย์ในสารละลาย กลีเซอรอล 0.5 M เมื่อสารแขวนลอยนี้ถูกเจือจางลงด้วยน้ำ น้ำจะแพร่เข้าสู่เซลล์อย่างรวดเร็วทำให้เกิดแรงดันของน้ำ มีผลทำให้เซลล์จุลินทรีย์แตกออกมา แต่มีข้อจำกัด คือ ปรับปรุงให้ผลิตได้มากทำได้ยาก (Perlman, 1969)

5) การใช้ความร้อน (Heat treatment disruption)

การให้ความร้อนกับจุลินทรีย์ พบว่าทำให้โพรโตพลาสซึมจับตัวกันเป็นก้อนเล็กๆ และผนังเซลล์ถูกทำลาย เนื่องจากอุณหภูมิที่ใช้ในการทำให้เซลล์แตกจะทำให้เกิดการรวมตัวกันเป็นก้อนของโปรโตพลาสซึม ดังนั้นในวิธีการให้ความร้อนโดยทั่วไปจะมีวิธีในการทำให้โพรโตพลาสซึมละลายตามมาด้วย เช่น การใส่เอนไซม์ที่ย่อยสลายโปรตีน (Perlman, 1969)

6) การใช้เอนไซม์ย่อยสลายเซลล์ยีสต์

กระบวนการย่อยสลายตัวเองของยีสต์อาจเร่งอัตราเร็วโดยการเติมเอนไซม์จากภายนอกลงไป เช่นเอนไซม์จากพืช เอนไซม์จากจุลินทรีย์ เอนไซม์จากพืชที่อยู่ในกลุ่มซัลไฟดริลโปรตีเอส ให้ผลดีที่สุด เอนไซม์เหล่านี้ได้แก่ ปาเปน โบรมิเลน และ ฟิซิน โดยใช้ในปริมาตรร้อยละ 0.01 – 1.0 โดยน้ำหนัก เมื่อเปรียบเทียบกันแล้ว ปาเปนช่วยย่อยสลายยีสต์ได้ดีที่สุด สามารถลดระยะเวลาการย่อยตัวเองของยีสต์ สภาวะที่ทำปฏิกิริยาคือ อุณหภูมิ 40 – 60 ° ซ. pH 5.0 - 6.5 เวลาที่ใช้ 2 – 24 ชั่วโมง (สุพจน์ , 2550)

7) การทำให้เซลล์แตกโดยใช้ความดัน (Presure)

การทำลายยีสต์ด้วยวิธีทางกลโดยใช้เครื่องโฮโมจิไนซ์ที่มีความดันสูงถึง 20000 ปอนด์/ตารางนิ้ว มีทั้งชนิด French Press, Eaton Press และ Gualin homogenizer โดย Gualin homogenizer นั้นมักออกแบบให้มีขนาดและปริมาตรของเหลวปริมาณน้อยๆได้ จำนวนครั้งที่ผ่านเครื่องสามารถปรับให้ได้ตามความต้องการที่จะทำให้เซลล์แตก ตัวเครื่องประกอบด้วย ปั๊มผลักดันแทนที่ เป็นส่วนดันให้ของเหลวข้นของยีสต์ ผ่านช่องเล็กๆ เกิดแรงเฉือนทำให้เซลล์แตกหรือฉีกขาด สารต่างๆภายในเซลล์จะถูกปลดปล่อยออกมา ผลิตภัณฑ์ที่ได้เป็นส่วนผสมของโปรตีน กรดนิวคลีอิก และชิ้นส่วนของผนังเซลล์ แต่วิธีนี้มีข้อเสียคือ กรดนิวคลีอิกที่ปล่อยออกมาทำให้สารละลายมีความหนืดมากขึ้นยากต่อการทำให้ใส (สุพจน์ , 2550) วิธีนี้เป็นหนึ่งในวิธีที่นิยมใช้ในระดับอุตสาหกรรม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8) การแช่แข็งและการละลาย (Freezing & Thawing)

เป็นวิธีการทำให้เซลล์แตกโดยการใช้เกล็ดน้ำแข็งที่เกิดจากการ รวมตัวกันใหม่ของผลึกน้ำในขณะที่ทำการละลายน้ำแข็งแบบช้าสลับกับการแช่แข็ง ซึ่งการละลายที่ใช้เวลานานจะก่อให้การสูญเสียน้ำจากอาหารเป็นจำนวนมาก เนื่องจากการเกิดผลึกน้ำแข็งใหม่หรือที่เรียกว่า (Recrystallization) ซึ่งผลึกน้ำแข็งที่เกิดใหม่จะมีขนาดใหญ่ขึ้น และจะทำลายผนังเนื้อเยื่อของ cell ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เนื้อเยื่อไม่สามารถดูดซึมน้ำกลับได้ นั่นคือ น้ำที่เห็นไหลซึมออกมา จากอาหารแช่แข็ง (Drip loss) ซึ่งสารอาหารจะไหลออกมาพร้อมกับน้ำที่ไหลซึมออกมาจากอาหาร (Edward Kolbe , 2003)

9) การทำให้เซลล์แตกโดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูง (Ultrasonic disruption)

เป็นวิธีการทำให้เซลล์แตกด้วยเสียงที่เกิดจากการสั่นสะเทือนที่มีความถี่สูงเกิน 15,000 รอบ/วินาที ซึ่งเกินความสามารถของการได้ยิน โดย คลื่นเสียง Ultrasonic จะทำลาย plasma membrane และไปทำลายส่วนประกอบของ cytoplasm ของเซลล์ทำให้เราสามารถสกัดเอาส่วนของโปรตีน, DNA , RNA , Enzyme และส่วนประกอบอื่นๆ ของเซลล์ ออกมาได้ ซึ่งหลักการทำงานของวิธี Ultrasonic disruption สามารถอธิบายได้ดังนี้ คือใช้การสร้างคลื่นความดันในตัวอย่างของเหลว เมื่ออยู่ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม คลื่นความดันนี้จะเป็นผลให้เกิดการสร้างฟองอากาศขนาดเล็กจำนวนมากและระเบิดออกอย่างรุนแรงจนเกิดเป็นสภาวะที่เรียกว่าโพรงอากาศ (cavitation) การระเบิดจะทำให้เกิดคลื่นกระแทก (shock wave) หรือเกิดเป็นคลื่น อุลตร้าโซนิค ซึ่งมีพลังมากพอที่จะทำให้ตัวอย่างในของเหลวเกิดการแตกกระจายเป็นชิ้นเล็กๆได้ คลื่น อุลตร้าโซนิค ที่เกิดขึ้นนี้จะอยู่ในช่วงความถี่ 18 ถึง 50 กิโลเฮิร์ต ซึ่งเป็นช่วงความถี่ที่หูของมนุษย์ไม่สามารถได้ยิน และทำให้เกิดแรงดันได้มากกว่า 500 บรรยากาศและอุณหภูมิมากกว่า 5000 องศาเซลเซียส โดยทั่วไปแล้ว เครื่องมือที่ให้กำเนิดคลื่น อุลตร้าโซนิค ทุกชนิด จะมีโครงสร้างการทำงานพื้นฐานคล้ายกัน แต่อาจมีข้อแตกต่างกันเล็กน้อยตามความเหมาะสมของการนำไปใช้งาน ปริมาตรของตัวอย่างและพื้นที่ในการทำงาน (www.thaiscience.com/lab_vol/p25/Homogenizer.asp)

นอกจากนี้ยังมีสาเหตุอื่นที่ช่วยในการทำให้เกิดการแตกของเซลล์ คือ

9.1) แรงเฉือน (Shearing forces) เนื่องจากการไหลของของเหลวภายในเซลล์

9.2) ความดันจากการแตกสลายของฟองอากาศใกล้ผนังเซลล์

9.3) ความดันจากคลื่นเสียงโดยตรง

9.4) สาเหตุทางเคมี เนื่องจากอนุมูลอิสระ (Free radical) ที่เกิดขึ้นในน้ำโดยเฉพาะ H และ OH ซึ่งจะเข้าทำลายผนังเซลล์ ทำให้เซลล์ง่ายต่อการแตกสลาย (Perlman,1969)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 วัตถุดิบ

ตะกอนยีสต์ที่เหลือจากการหมักไวน์น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อน

3.2 เชื้อจุลินทรีย์

3.2.1 *Saccharomyces cerevisiea* M30 ได้จากห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีการหมัก คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.2.2 *Acetobacter aceti* สป.5 ได้จากห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีการหมัก คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.3 สารเคมี

- Potassium Phosphate
- Magnesium Sulphate
- Sodium Hydroxide
- Sodium Carbonate
- Copper Sulphate
- Folin reagent
- Sodium Potassium Tartrate
- Calcium Carbonate

3.4 สารอาหาร

- น้ำตาลทราย
- Yeast Extract
- Peptone
- Dextrose
- Malt extract
- Di-ammonium Phosphate

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5 เครื่องมือและอุปกรณ์

- เครื่อง Ultrasonic Vibra Cell
- เครื่อง Spectrophotometer
- เครื่อง Centrifuge Beckmann
- ตู้แช่แข็ง
- ตู้ UV
- หม้อนึ่งความดันไอ
- ตู้อบลมร้อน
- pH meter
- Hand Refractometer
- Ebulliometer
- เตาไมโครเวฟ
- ถุงร้อน
- ที่ใส่หลอดทดลอง (Rack)
- ขวดน้ำกลั่น
- ตะเกียงแอลกอฮอล์
- ลวดเขี่ยเชื้อ (loop)
- Foggy
- ไฟแช็ค
- หนังยาง
- ช้อนตักสาร
- หม้อสแตนเลส
- สำลี
- อลูมิเนียมฟอยด์
- ทัพพี
- กระบอกตวง 100 ml.
- กระบอกตวง 1000 ml.
- จานเพาะเชื้อ
- ขวดรูปชมพู่ 125 ml.
- ขวดรูปชมพู่ 250 ml.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- แท่งแก้วคนสาร
- แท่งแก้วรูปตัว L
- ปิเปต 10 ml.
- ปิเปต 5 ml.
- ปิเปต 1 ml.
- บิวเรต 50 ml.
- คิวเวต
- Volumetric Flask 100 ml
- Volumetric Flask 1,000 ml
- Volumetric Pipett 5 ml.
- Volumetric Pipett 25 ml.

3.6 สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีการหมัก คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณหารลาดกระบัง

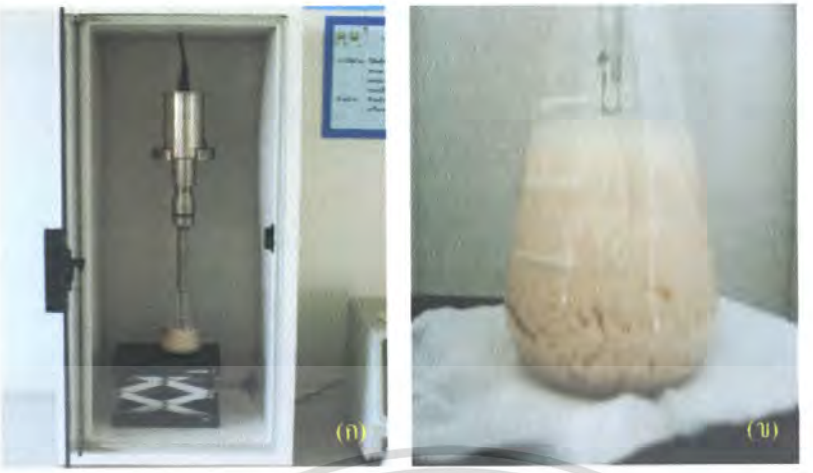
3.7 วิธีการดำเนินงาน

3.7.1 ศึกษากระบวนการสกัดสารอาหารจากเซลล์ยีสต์ โดยวิธี แช่แข็ง และวิธีใช้คลื่นเสียง รวมทั้งคัดเลือกวิธีการสกัดที่เหมาะสมที่สุด

1. การใช้คลื่นเสียงในระดับอุล ตร้าโซนิค เพื่อทำให้เซลล์แตก

นำตะกอนยีสต์ที่ได้จากการหมักไวน์น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อนมาทำการเหวี่ยงแยกน้ำด้วยเครื่อง centrifuge อัตราเร็ว 7500 rpm เวลา 15 นาที นำไปผสมกับน้ำกลั่นในอัตราส่วน (เนื้อ : น้ำ) ต่างๆ ดังนี้ 10 : 90 20 : 80 30 : 70 40 : 60 และ 50 : 50 จากนั้นนำไปทำให้เซลล์แตกโดยใช้ เครื่องอุลตร้าโซนิค (ภาพที่ 1) เป็นเวลา 5 10 และ 15 นาที โดยที่กำหนดความถี่ไว้ที่ 20 % และ 40 % แล้วนำตะกอนยีสต์ที่ผ่านการทำให้เซลล์แตกแล้วมาแยกน้ำอีกครั้งด้วยเครื่อง centrifuge อัตราเร็ว 9500 rpm เวลา 15 นาที เพื่อนำส่วนที่ได้ใสมาวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี lowry's method (AOAC. 2000.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.1 การทำให้เซลล์ยีสต์แตกด้วยเครื่องอุลตร้าโซนิค : (ก) เครื่องอุลตร้าโซนิครุ่น Vibra Cell Serial No. 34743F USA ; (ข) ตะกอนยีสต์ที่ได้ภายหลังการเซลล์ยีสต์ถูกทำให้แตก

2. การใช้การแช่แข็ง สลับกับการละลายเพื่อทำให้เซลล์แตก

นำตะกอนยีสต์มาทำการเหวี่ยงแยกน้ำ เช่นเดียวกับข้อที่ 2.1.1นำไปผสมกับน้ำกลั่นในอัตราส่วน (เนื้อ : น้ำ) ต่างๆ ดังนี้ 50 : 50 60 : 40 70 : 30 80 : 20 และ 90 : 100 จากนั้นนำ ไปทำการแช่แข็งสลับกับการละลายทั้งหมด 3 ครั้ง และทุกครั้งที่ละลายน้ำแข็ง ต้องแบ่งส่วนหนึ่งมาเหวี่ยงแยกน้ำอีกครั้งด้วยเครื่อง centrifuge อัตราเร็ว 9500 rpm เวลา 15 นาที เพื่อนำส่วนใสมาวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี lowry's method(AOAC. 2000.)

3. คัดเลือกหาวิธีการสกัดที่เหมาะสมที่สุด

นำปริมาณโปรตีนที่ได้มาเปรียบเทียบเพื่อหาวิธีที่ได้ปริมาณโปรตีนมากที่สุดโดยทำการเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนจากข้อที่ 1.1 และ 1.2 / การใช้ตะกอนยีสต์ 100 กรัม แล้วเลือกวิธีการสกัดที่ให้ปริมาณโปรตีนต่อตะกอนยีสต์ 100 กรัมมากที่สุดมาใช้ทดแทน ยีสต์สกัดสำเร็จรูป

3.7.2 ทดสอบประสิทธิภาพในการหมักไวน์ โดยการใช้สารสกัดจากตะกอนยีสต์ทดแทนยีสต์สกัดสำเร็จรูป

1. การใช้สารสกัดจากเซลล์ยีสต์ในการทดแทนยีสต์สกัดสำเร็จรูป

นำสารสกัดที่คัดเลือกมาจากข้อที่ 1 มาเตรียมสารอาหาร MY Broth ซึ่งมีส่วนประกอบทั้งหมดดังนี้ Yeast extract 3 กรัม/ลิตร Malt extract 3 กรัม/ลิตร Peptone 5 กรัม/ลิตร และ Dextrose กรัม/ลิตร โดยนำสารสกัดที่ได้มาแทน Yeast extract (เทียบเป็นน้ำหนักแห้ง)รวมทั้งเตรียม MY Broth แบบปกติด้วย จากนั้นทำการเลี้ยงเชื้อ *S. cerevisiae* M30

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยเติมหัวเชื้อลงไป 2 % ในอาหารเลี้ยงเชื้อ 150 มล. ทำการเขย่าที่ความเร็ว 120 rpm เป็นเวลา 24 ชม. เพื่อทำกล้าเชื้อ นับการเจริญของยีสต์ด้วย Haemacytometer เปรียบเทียบการเจริญของเชื้อระหว่างในอาหาร MY Broth ที่ใช้สารสกัดทดแทน กับ MY Broth ปกติ แล้วนำกล้าเชื้อที่เตรียมได้มาเติมลงน้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อน ที่ปรับไว้เพื่อทำการหมักไวน์โดย ปรับน้ำต้มข้าวโพดให้มีส่วนประกอบดังนี้ น้ำตาล 20 % ยีสต์สกัด 0.03 % Potassium Phosphate 0.8 % Magnesium Sulphate 0.2 % Diamoniumphosphate 0.05 % และหมักไวน์ด้วยสารสกัดทดแทนยีสต์สกัดด้วย ติดตามการหมักของไวน์ แบบปกติ กับแบบที่ใช้สารสกัดจากเซลล์ยีสต์มาทดแทนยีสต์สกัดสำเร็จรูป โดยติดตามแอลกอฮอล์ที่เพิ่มขึ้นด้วย Ebuliometer รวมไปถึงอัตราการเจริญของ *S. cerevisiae* M30

2. การใช้สารสกัดจากเซลล์ยีสต์ในการทดแทนเพิ่มขึ้น 2 เท่า และ 5 เท่า

เตรียมกล้าเชื้อและน้ำต้มไวน์ ดังเช่นข้อที่ 2.1 ทำการเพิ่มปริมาณสารสกัดจากเซลล์ยีสต์ขึ้นเป็น 2 เท่าและ 5 เท่า จากเดิมและติดตามการหมักเช่นเดียวกับ ข้อที่ 2.1 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของการใช้สารสกัดจากเซลล์ยีสต์มาแทนยีสต์สกัดสำเร็จรูป

3. การใช้สารสกัดจากเซลล์ยีสต์ เพิ่มขึ้น 2 เท่า โดยแบ่งการเติมเป็น 2 ช่วง

เตรียมกล้าเชื้อและน้ำต้มไวน์ ดังเช่นข้อที่ 2.1 เพียงแต่เพิ่มปริมาณสารสกัดขึ้นเป็น 2 เท่า ดังเช่นข้อที่ 2.2 โดยแบ่งการเติมสารสกัดจากเซลล์ยีสต์เป็น 2 ช่วงคือ วันที่ 0 และ วันที่ 5 ติดตามการหมักเช่นเดียวกับ ข้อที่ 2.1 พร้อมทั้งเปรียบเทียบ ประสิทธิภาพของการใช้สารสกัดจากเซลล์ยีสต์มาแทนยีสต์สกัดสำเร็จรูป

3.7.3 ทดสอบประสิทธิภาพในการหมักหมักน้ำส้มสายชู โดยใช้สารสกัดจากตะกอนยีสต์ ทดแทนยีสต์สกัดสำเร็จรูป

1. การใช้สารสกัดจากเซลล์ยีสต์ในการทดแทนยีสต์สกัดสำเร็จรูป

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ GYE Broth 1 ลิตร ที่มีส่วนประกอบของGlucose 100 g. และ Yeast extract 10 g. และทำอาหารเลี้ยงเชื้อที่นำสารสกัดที่คัดเลือกแล้วมาใส่ทดแทน Yeast extract จากนั้นนำอาหารเลี้ยงเชื้อไปผ่านการฆ่าเชื้อและถ่ายเชื้อ *A . aceti* สป5 ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ 150 มล. แล้วนำไปเขย่าด้วยความเร็ว 120 รอบ/นาที เวลา 72 ชม. นำกล้าเชื้อที่เตรียมไว้เติมลงในน้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อนที่มีการเติม ยีสต์สกัด 0.03 % Potassium Phosphate 0.8 % Magnesium Sulphate 0.2 % และปรับความเข้มข้นรวมเป็น 8 % และทำการหมักไวน์ที่ใช้สารสกัดทดแทนยีสต์สกัดด้วย แล้วทำการติดตามเปอร์เซ็นต์กรดอะซิติก ด้วยวิธีไตเตรชัน(AOAC.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2000.) แอลกอฮอล์ และ ค่า pH พร้อมทั้งเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการหมักน้ำส้มสายชู ของเชื้อจากน้ำหมักที่ใช้ยีสต์สกัดและที่ใช้สารสกัดจากตะกอนยีสต์

2. การใช้สารสกัดจากเซลล์ยีสต์ในการทดแทนเพิ่มขึ้น 2 เท่า

เตรียมกล้าเชื้อและน้ำหมักดังเช่น ข้อที่ 3.1 เพียงแต่เพิ่มปริมาณสารสกัดขึ้นเป็น 2 เท่า จากเดิมและติดตามการหมักเช่นเดียวกับ ข้อที่ 3.1 เปรียบเทียบ ประสิทธิภาพของการใช้สารสกัดจากเซลล์ยีสต์มาแทนยีสต์สกัดสำเร็จรูป

3. การใช้สารสกัดจากเซลล์ยีสต์ เพิ่มขึ้น 2 เท่า โดยแบ่งการเติมเป็น 3 ช่วง

เตรียมกล้าเชื้อและน้ำหมักดังเช่น ข้อที่ 3.1เพียงแต่เพิ่มปริมาณสารสกัดขึ้นเป็น 2 เท่า โดยแบ่งการเติมสารสกัดเป็น 2 ช่วงคือ วันที่ 0 วันที่ 7 ติดตามการหมักเช่นเดียวกับ ข้อที่ 3.พร้อมทั้งเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการใช้สารสกัดจากเซลล์ยีสต์มาแทนยีสต์สกัด

85406

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
ผลการทดลอง

1. การหาวิธีการที่เหมาะสมที่สุดในการทำให้เซลล์แตก

เมื่อทำการวัดโปรตีนด้วยวิธี lowry's method (AOAC. 2000.) พบว่าวิธีการ ultrasonic disruption ที่อัตราส่วน 30 : 70 ความถี่ 40 % มีปริมาณโปรตีนมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกันที่การใช้ตะกอนยีสต์ 100 กรัม ดูจากตารางที่ 1 , 2 และ 3

ตารางที่ 5.1 ปริมาณโปรตีนในสารละลายยีสต์สกัดที่ได้จากการทำให้เซลล์ยีสต์แตกด้วยคลื่นเสียงอุลตร้าโซนิค ความถี่ 20 %

อัตราส่วน Yeast cake: น้ำ	ปริมาณโปรตีน (mg/ml) ณ ระยะเวลาต่างๆ		
	5 นาที	10 นาที	15 นาที
50:50	5.39	5.41	5.95
40:60	3.99	4.08	3.84
30:70	2.76	3.70	2.69
20:80	1.67	1.75	1.87
10:90	1.08	1.26	1.47

ตารางที่ 5.2 ปริมาณโปรตีนในสารละลายยีสต์สกัดที่ได้จากการทำให้เซลล์ยีสต์แตกด้วยคลื่นเสียงอุลตร้าโซนิค ความถี่ 40 %

อัตราส่วน Yeast cake: น้ำ	ปริมาณโปรตีน(mg/ml) ณ ระยะเวลาต่างๆ		
	5 นาที	10 นาที	15 นาที
50:50	6.25	6.41	7.15
40:60	5.38	4.96	6.73
30:70	**3.48**	**3.53**	**3.74**
20:80	1.57	2.22	2.41
10:90	1.03	1.07	1.13

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5.3 ปริมาณโปรตีนในสารละลายยีสต์สกัดที่ได้จากการทำให้เซลล์ยีสต์แตกด้วยการแช่แข็งสลับกับการละลาย

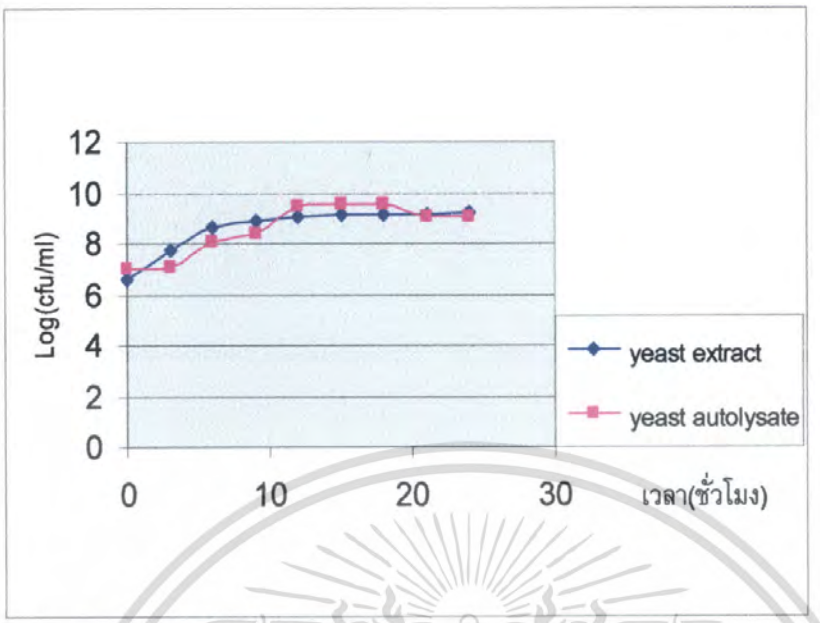
อัตราส่วน Yeast Cake: น้ำ	จำนวนครั้งในการแช่แข็งสลับละลาย	ปริมาณโปรตีน (mg/ml)
50:50	1	4.79
	2	5.75
	3	4.29
60:40	1	6.50
	2	5.06
	3	6.88
70:30	1	7.73
	2	7.53
	3	7.57
80:20	1	7.98
	2	8.04
	3	7.61
90:10	1	9.27
	2	9.55
	3	10.19

2. ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการหมักไวน์

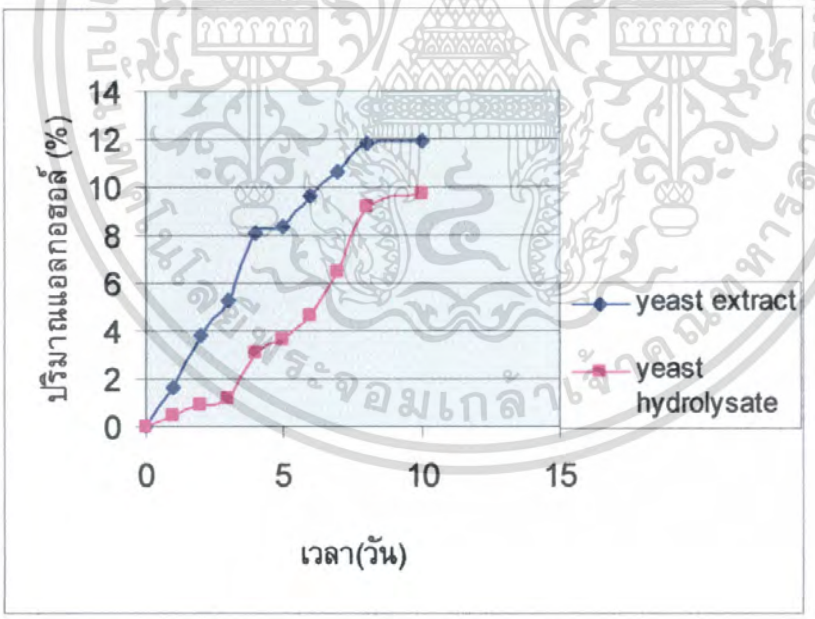
2.1 ใช้สารสกัดจากตะกอนยีสต์ทดแทน 100 %

ในการเตรียมหัวเชื้อ พบว่า การใช้สารละลายจากตะกอนยีสต์และการใช้ยีสต์สกัดทางการค้าให้ผลต่อปริมาณเซลล์ยีสต์ที่ใกล้เคียงกันดังแสดงในภาพที่ 2 และจากการทดลองยังบ่งชี้อีกว่า อัตราการผลิตแอลกอฮอล์ของไวน์ที่เติมสารสกัดทดแทนยีสต์สกัดนั้นยังไม่สามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้มีประสิทธิภาพเท่ากับไวน์ที่ใช้ยีสต์สกัด ดังภาพที่ 3 จึงสมควรที่จะมีการเพิ่มปริมาณของสารสกัดลงไปในน้ำหมักอีก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 5.1 อัตราการเจริญของยีสต์เมื่อเลี้ยงในฟลาสค์ขนาด 250 มล. เขย่า 120 รอบ/นาที เป็นเวลา 24 ชม. อุณหภูมิ 30+2 องศาเซลเซียส

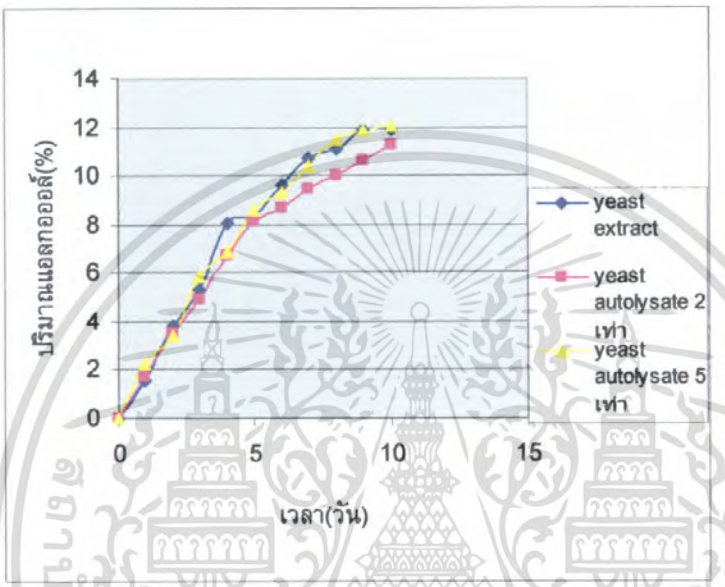


ภาพที่ 5.2 อัตราการผลิตแอลกอฮอล์ของไวน์ปกติและไวน์ที่เติมสารสกัดทดแทนยีสต์สกัด

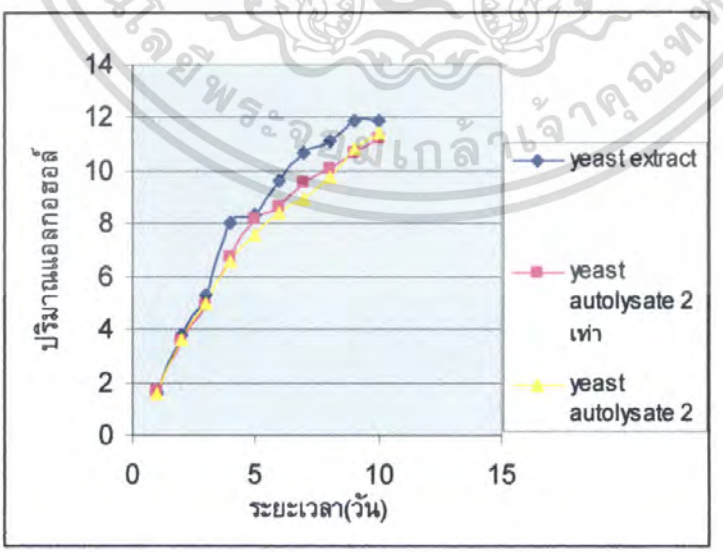
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 การใช้สารสกัดจากตะกอนยีสต์ทดแทนเพิ่มขึ้น 2 เท่า และ 5 เท่า

การผลิตแอลกอฮอล์ของไวน์ที่เติมสารสกัดที่เพิ่มปริมาณสารสกัดขึ้นเป็น 2 เท่านั้น ยังมีประสิทธิภาพด้อยกว่าแบบที่ใช้ยีสต์สกัดอยู่เล็กน้อย ส่วนที่ใช้เพิ่ม 5 เท่า มีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับแบบที่ใช้ยีสต์สกัด (ภาพที่ 5.3) แต่แบบ 2 เท่าน่าจะคุ้มค่ามากกว่า ส่วนการเติมสารอาหารเป็น 2 ช่วงและการเติมทีเดียวนั้นมีผลใกล้เคียงกัน (ดังภาพที่ 5.4)



ภาพที่ 5.3 อัตราการผลิตแอลกอฮอล์ของไวน์ที่เติมสารสกัดจากเซลล์ยีสต์ทดแทนยีสต์สกัดสำเร็จรูปและแบบเพิ่มสารสกัดจากเซลล์ยีสต์อีก 2 เท่า กับ 5 เท่า



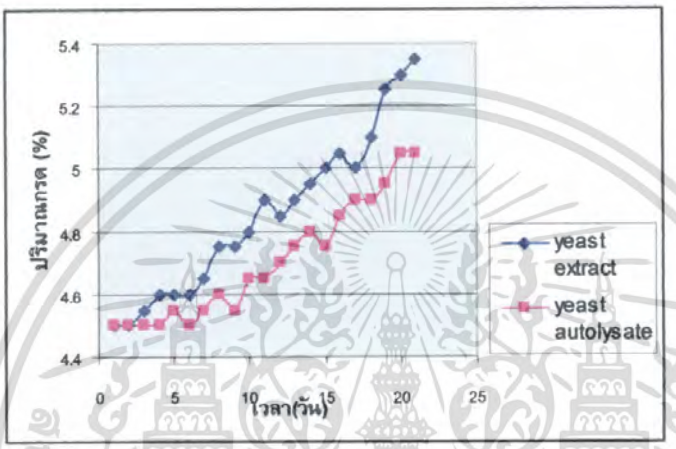
ภาพที่ 5. 4 อัตราการเพิ่มขึ้นของแอลกอฮอล์ของไวน์ที่เติมยีสต์สกัดและแบบเพิ่มสารสกัดจากเซลล์ยีสต์ อีก 2 เท่า กับ การเติมสารอาหาร 2 เท่าเป็น 2 ช่วง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการหมักน้ำส้มสายชู

3.1 ใช้สารสกัดจากตะกอนยีสต์ทดแทน 100 %

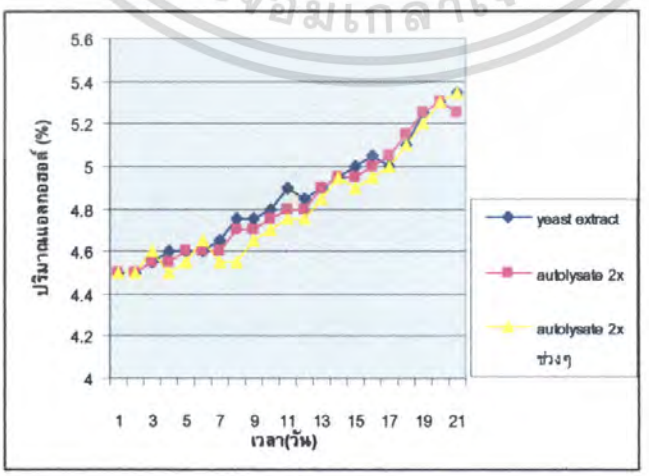
อัตราการผลิตกรดอะซิติกของน้ำส้มสายชูที่เติมสารสกัดทดแทนยีสต์สกัดนั้นยังไม่สามารถผลิตกรดอะซิติกได้มีประสิทธิภาพเท่ากับน้ำส้มสายชูที่ใช้ยีสต์สกัด ดังภาพที่ 5.5 จึงสมควรที่จะมีการเพิ่มปริมาณของสารสกัดลงไปในน้ำหมักอีก



ภาพที่ 5.5 อัตราการผลิตกรดอะซิติกของน้ำส้มสายชูปกติและน้ำส้มสายชูที่เติมสารสกัดจากเซลล์ยีสต์ทดแทนยีสต์สกัดสำเร็จรูป

3.2 การใช้สารสกัดเพิ่มขึ้น 2 เท่า เพื่อทดแทนยีสต์สกัดในการหมักน้ำส้มสายชู

เมื่อมีการเติมสารสกัดเป็น 2 เท่าพบว่าอัตราการผลิตกรดอะซิติกมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับการเติมยีสต์สกัดมากกว่าการเติมเท่าเดียว (ภาพที่5.6)



ภาพที่ 5.6 อัตราการเพิ่มขึ้นของกรดอะซิติกในน้ำส้มสายชูปกติและน้ำส้มสายชูแบบเพิ่มสารสกัดจากเซลล์ยีสต์ อีก 2 เท่า กับแบบ แบ่งการเติมสารสกัด 2 เท่าเป็น 3 ช่วง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 6
สรุปผลการดำเนินงาน

จากการทดลองสามารถสรุปได้ว่าประสิทธิภาพในการผลิตแอลกอฮอล์ของ *S. cerevisiae* M30 และการผลิตกรดอะซิติกของ *A. aceti* สป5 นั้นต้องอาศัยสารอาหารจำพวก โปรตีน ซึ่งโดยทั่วไปจะมีการเติมยีสต์สกัดลงไป ซึ่งในการทดลองนี้ได้นำสารสกัดที่ได้จากตะกอนยีสต์มาใช้ทดแทน ผลปรากฏว่า ประสิทธิภาพยังไม่เพียงพอต่อการทดแทน จึงได้ทำการเพิ่มปริมาณสารสกัดให้มากขึ้นเป็น 2 เท่า ผลที่ได้คือประสิทธิภาพในการผลิตแอลกอฮอล์และการผลิตกรด อะซิติกที่ใช้สารสกัดเซลล์ยีสต์จะใกล้เคียงกับการหมัก ที่ใช้ยีสต์สกัดแบบปกติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

การสกัดสารปรุงแต่งกลิ่นรสจากยีสต์

http://www.sc.chula.ac.th/clubs/FoodClub/page_116.htm " 25/04/50 "

เครื่องโฮโมจีไนเซอร์

www.thaiscience.com/lab_vol/p25/Homogenizer.asp

จรูญ คำนวนตา กณิษฐา สังคะหะ วิชชุพร ว่องสุวรรณเลิศ จรัญ เจตนะจิตร. 2526.การคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์ เพื่อหมักแอลกอฮอล์. วารสารชมรมผู้หมักแอลกอฮอล์แห่งประเทศไทย.ปีที่ 2 ฉบับที่ 2

นงพงา คุณจักร . 2530 . การปรับปรุงความทนเค็มของยีสต์ที่ผลิตเอทานอลโดยวิธีโปรโตพลาสฟิวชั่น . วิทยานิพนธ์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ . กรุงเทพ ฯ .

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และ ปรีชา สุวรรณพินิจ . 2541. จุลชีววิทยาทั่วไป. พิมพ์ครั้งที่ 2 . กรุงเทพมหานคร : โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิยาลัย. 485 หน้า

ประกายแก้ว และ สว่างพงษ์ , 2550 การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากไวน์น้ำต้มข้าวโพด ปัญหาพิเศษ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง . กรุงเทพ ฯ , หน้า 4

ประพันธ์ ปันเถิน.2531. ปัจจัยบางประการที่มีอิทธิพลต่อการตกตะกอนของยีสต์ตกตะกอนที่ผลิตเอทานอล วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ . กรุงเทพ ฯ , หน้า 3 –19

ประภา เพื่องฟูพงษ์ และคณะ .2525. การใช้ยีสต์และราในการกำจัดของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมเพื่อใช้เป็นอาหาร ที่มีโปรตีนสูง . สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร , มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ , กรุงเทพ

ภูวดล สุกมลานนท์ และ สมศักดิ์ ศิริชัยเจริญ. 2536. การศึกษาเบื้องต้นในการผลิตสารปรุงแต่งกลิ่นรสจากยีสต์ขนมปัง. ปัญหาพิเศษ ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ยีสต์สกัด (Yeast Extract)

http://nutrition.anamai.moph.go.th/1675/old1675/Html/menu13/m1313.html " 18/04/50 "

รัฐดา จันทร์กลิ่น .2539. การปรับปรุงพันธุกรรมและการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเลี้ยง *S. cerevisiae* เมทไธโอนีนภายในเซลล์สูง . วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ . กรุงเทพ ฯ

รพีพร คำรัตน์ .2542 .การดูดซับโลหะหนักโดยใช้กากยีสต์จากโรงงานเบียร์ วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล

สุพจน์ บุญแรง.2550. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายยีสต์ขนมปังและการใช้ประโยชน์ วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ . กรุงเทพ ฯ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

AOAC. 2000. official medthod of analysis of AOAC internationnal.
Association of Analysis Chemistry .Virginia.

Edward Kolbe , 2003 , Thawing Process & Recrystallization,
Encyclopedia of Agricultural Food and Biological engineering . 416 p.

Cell disruption techniques
http://moomsabuy.exteen.com20070115cell-disruption-techniques " 14/04/50 "

Cornel Verduyn. 1996. Production of yeast extract as a food flavouring agent. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล

Perlan, D. 1969. (ed.). Fermentation Advances. New York : Academic Press. Pp. 249 – 262.

Reed, G., and Nagodawithana, T. W. 1991. Yeast Technology. 2nd ed. New York :
Van Nostrand Reinhold

Rose, A.H. (ed.). 1982. Fermentation food. London : Academic press. Pp. 293 – 305.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

องค์ประกอบและวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. อาหาร Glucose Yeast Extract Broth (GYE Broth)

มีองค์ประกอบดังนี้

Dextrose	100	กรัม
Yeast Extract	10	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

2. อาหารMedium Broth (MY Broth)

มีองค์ประกอบดังนี้

Dextrose	10	กรัม
Yeast Extract	3	กรัม
Peptone	5	กรัม
Malt Extract	3	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ทางเคมี

1. การวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์โดยใช้ Ebuliometer

การหาจุดเดือดของน้ำ

ล้าง Ebuliometer ให้สะอาดแล้วเติมน้ำให้ได้ปริมาตรที่ขีดไว้ตอนล่างของกระบอกตวง (25 มิลลิลิตร) โดยเติมในช่องที่เสียบเทอร์โมมิเตอร์ ใส่เทอร์โมมิเตอร์ไว้ตามเดิม จุดไฟตะเกียงแอลกอฮอล์ไว้ใต้เครื่อง รอประมาณ 8-9 นาที น้ำจะร้อนขึ้น เห็นปรอทของเทอร์โมมิเตอร์ขึ้นเมื่อน้ำเดือดและปรอทอยู่คงที่ อ่านค่าอุณหภูมิที่ได้จะเป็นจุดเดือดของน้ำ (ควรได้ใกล้เคียงกับ 100 องศาเซลเซียส)

การหาจุดเดือดของตัวอย่าง

เทน้ำออกแล้วใช้ตัวอย่างล้าง และเททิ้งให้หมด ตวงตัวอย่างโดยใช้กระบอกตวงปริมาตร 50 มิลลิลิตร เติมน้ำในคอนเดนเซอร์ จุดไฟตะเกียงแอลกอฮอล์ สังเกตปรอทของเทอร์โมมิเตอร์ที่เริ่มสูงขึ้นจนกระทั่งปรอทหยุดอยู่คงที่ จากนั้นอ่านค่าอุณหภูมิที่ได้

การอ่านค่าแอลกอฮอล์

อ่านโดยใช้แป้นกลม หมุนป้ายวงกลมให้จุดเดือดของน้ำตรงกับค่าแอลกอฮอล์ที่ 0 ดีกรี จากนั้นอ่านค่าจุดเดือดของตัวอย่างและค้านตรงข้ามจะเป็นค่าแอลกอฮอล์ที่มีอยู่ในตัวอย่าง โดยวิธีอ่านค่าได้โดยตรงโดยไม่ต้องปรับค่าของอุณหภูมิทำให้สะดวกและรวดเร็วขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมด (AOAC , 2000)

2.1 สารเคมี

2.1.1 น้ำปลอด CO_2 เตรียมโดย ต้มน้ำกลั่นให้เดือดเป็นเวลา 20 นาที

2.1.2 สารละลายมาตรฐาน 0.1 N NaOH เตรียมจาก NaOH 4 กรัมที่เติมน้ำจนครบ 1 ลิตร เก็บไว้ในขวดแก้วที่กันคาร์บอนไดออกไซด์ได้ และเป็นแก้วทนด่าง ก่อนใช้ให้นำมาหาค่าความเข้มข้นมาตรฐานก่อน

2.1.3 สารละลายฟีนอล์ฟทาลีน (phenolphthalein) ชั่ง 1 กรัม ละลายในแอลกอฮอล์ 95 % 100 มิลลิลิตร

2.2 การหาความเข้มข้นมาตรฐาน

การหาความเข้มข้นมาตรฐานของ 0.1 N NaOH ทำได้โดยการชั่งโพแทสเซียมไฮโดรเจนพาทาเลต ($KHC_8H_4O_4$) ซึ่งผ่านการอบ 2 ชม. ที่ 120 องศาเซลเซียส แล้วทิ้งให้เย็นในดูดความชื้น แล้วนำมาชั่ง 0.3 กรัม เติมลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร จึงเติมน้ำปลอดคาร์บอนไดออกไซด์ 90 -100 มิลลิลิตร เมื่อ $KHC_8H_4O_4$ ละลาย จึงเติมสารละลายฟีนอล์ฟทาลีน 3 หยด แล้วไทเทรตด้วยสารละลาย 0.1 N NaOH ความเข้มข้นมาตรฐานคำนวณได้จากสูตร

$$\text{ความเข้มข้นมาตรฐาน} = \frac{\text{กรัม } KHC_8H_4O_4 \times 1000}{\text{มิลลิลิตร NaOH} \times 204.229}$$

2.3 วิธีวิเคราะห์

นำตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร มาเจือจางน้ำปลอดคาร์บอนไดออกไซด์เติมสารละลายฟีนอล์ฟทาลีน 3 หยดแล้วไทเทรตด้วยสารละลายมาตรฐาน 0.1 N NaOH จนกระทั่งถึงจุดยุติ(end point) สีชมพู แต่ถ้าตัวอย่างมีสีให้ใช้พีเอชมิเตอร์วัด โดยจุดยุติของสารละลายฟีนอล์ฟทาลีน คือ pH 8.6 ปริมาณกรดคำนวณเป็นกรดแอซิติกตามสูตร

$$\text{กรดทั้งหมด (กรัม / 100 มิลลิลิตร)} = \frac{N \times V \times 60 \times 100}{1000 \times 1}$$

โดย N คือ ความเข้มข้นมาตรฐาน 0.1 N NaOH

V คือ จำนวนมิลลิลิตรของสารละลายมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธี lowry's method (AOAC , 2000)

3.1 สารเคมี

- Bovine Serum Albumin (BSA)
- Sodium Hydroxide
- Sodium Carbonate
- Copper Sulphate
- Sodium Potassium Tartrate
- Folin reagent ผสมกับน้ำกลั่น อัตราส่วน 1 : 1

3.2 ขั้นตอนการเตรียมสารเคมี

3.2.1 เตรียมสารละลาย Sodium Hydroxide ความเข้มข้น 0.1 N โดย ชั่ง Sodium Hydroxide 4 กรัม แล้วเติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

3.2.2 ชั่ง Sodium Carbonate 10 กรัม เติมลงในเตรียมสารละลาย Sodium Hydroxide ความเข้มข้น 0.1 N ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

3.2.3 ชั่ง Sodium Potassium Tartrate 1 กรัม ลงใน Volumetric Flask 100 มิลลิลิตร จากนั้นเติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลาย 1 % ของ Sodium Potassium Tartrate

3.2.4 ชั่ง Copper Sulphate 0.5 กรัม เติมลงในสารละลาย 1 % ของ Sodium Potassium Tartrate ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

3.2.5 เตรียม Alkaline Solution โดย นำสารละลายในข้อ 3.2.4 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เติมลงใน สารละลายในข้อ 3.2.2 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เมื่อเตรียมแล้วควรใช้ให้หมดในคราวเดียว

3.3 การเตรียมกราฟมาตรฐาน

3.3.1 นำ BSA ที่มีความเข้มข้นของโปรตีน 250 ไมโครกรัม / มิลลิลิตร มาเจือจางด้วยน้ำกลั่นที่อัตราส่วน (BSA : น้ำกลั่น) ดังต่อไปนี้ 100 : 0 , 80 : 20 , 60 : 40 , 40 : 60 , 20 : 80 และ 0 : 100 จะได้ความเข้มข้นของโปรตีนเป็น 250 , 200 , 150 , 100 , 50 , 0 ไมโครกรัม / มิลลิลิตร ตามลำดับ

3.3.2 นำ BSA ที่เจือจางไว้ทุกอัตราส่วน ใส่ในหลอดทดลองหลอดละ 1 มิลลิลิตร

3.3.3 เติม Alkaline Solution ลงในหลอดทดลองทุกหลอดๆละ 5 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 10 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.4 เติมสารละลาย Folin reagent ที่ผสมกับน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1 : 1 แล้วลงในหลอดทดลองทุกหลอดๆละ 0.5 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 30 นาที

3.3.5 นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 750 นาโนเมตร โดยใช้น้ำกลั่นเป็น Blank

3.3.6 นำค่าดูดกลืนแสงที่ได้ไปเขียนกราฟมาตรฐาน โดย เป็นกราฟระหว่าง ค่าความเข้มข้นของโปรตีน และ ค่าการดูดกลืนแสง

3.4 การวิเคราะห์ตัวอย่าง

3.4.1 นำสารละลายตัวอย่างเติมลงในหลอดทดลอง 1 มิลลิลิตร

3.4.2 เติม Alkaline Solution ลงในหลอดทดลองทุกหลอดๆละ 5 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 10 นาที

3.4.3 เติมสารละลาย Folin reagent ที่ผสมกับน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1 : 1 แล้วลงในหลอดทดลองทุกหลอดๆละ 0.5 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 30 นาที

3.4.4 นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 750 นาโนเมตร โดยใช้น้ำกลั่นเป็น Blank (ถ้าค่าดูดกลืนแสงที่วัดได้มีค่า เกิน ค่าดูดกลืนแสงสูงสุดของกราฟมาตรฐาน ให้เจือจางตัวอย่าง แล้ว เริ่มทำตั้งแต่ข้อ 3.4.1 ใหม่)

3.4.5 นำค่าดูดกลืนแสงที่วัดได้ไปเทียบกับกราฟมาตรฐาน เพื่อหาปริมาณโปรตีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

การเทียบปริมาณสารสกัดจาก ตะกอนยีสต์ กับ ยีสต์สกัดสำเร็จรูป

1. **การหาน้ำหนักแห้งของตะกอนยีสต์ที่ผ่านการอุลตร้าโซนิคแล้ว**
   - ชั่งน้ำหนักที่แน่นอน(ด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง)ของตะกอนยีสต์ที่ผ่านการอุลตร้าโซนิคแล้ว ประมาณ 3- 5 กรัม ใส่ลงใน aluminium can ที่ผ่านการอบแห้งและดูดความชื้นด้วยโถดูดความชื้นแล้ว
   - ชั่ง น้ำหนักของ aluminium can
   - นำไปอบที่ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
   - ชั่งน้ำหนัก ตะกอนยีสต์ + aluminium can หลังอบ
   - นำน้ำหนักหลังอบ ลบออกด้วย น้ำหนัก aluminium can จะได้น้ำหนักแห้งของตะกอนยีสต์

2. **การเทียบปริมาณ**

   <u>ตัวอย่างการคำนวณ</u>
   - ชั่งตะกอนยีสต์ มา 3.7742 กรัม เมื่อ อบแห้งแล้ว จะเหลือน้ำหนักแห้ง 0.3236 กรัม
   - ในไวน์ 1 ลิตร จะต้องมีการเติมยีสต์สกัด 0.3 กรัม
   - ดังนั้นตะกอนยีสต์ที่ใช้คือ $\frac{0.3 \times 3.7742}{0.3236} = 3.4989$ กรัม
   - การเพิ่มปริมาณสารสกัดจากตะกอนยีสต์ เป็น 2 เท่า และ 5 เท่า จึงใช้ 3.4989 กรัม คูณด้วย 2 และ 5 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

นาย จักรกฤษณ์ คล้ายแก้ว เกิดเมื่อวันที่ 27 เมษายน 2529 จังหวัด กรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนราชดำริ พ.ศ. 2546 และสำเร็จการศึกษา ระดับปริญญาตรี สาขาเทคโนโลยีการหมัก คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง พ.ศ. 2550

นาย สุริยะ ธูสรานนท์ เกิดเมื่อวันที่ 19 มิถุนายน 2529 จังหวัด สุพรรณบุรี สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนนครสวรรค์ พ.ศ. 2546 สำเร็จการศึกษา ระดับปริญญาตรี สาขาเทคโนโลยีการหมัก คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง พ.ศ. 2550

นางสาว ระติพร ธรรมประสิทธิ์ เกิดเมื่อวันที่ 9 พฤษภาคม 2528 จังหวัด สุพรรณบุรี สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียน บรรหารแจ่มใสวิทยา1 พ.ศ 2545 และสำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี สาขาเทคโนโลยีการหมัก คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง พ.ศ. 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้