การวิเคราะห์คุณสมบัติและการใช้ประโยชน์เบื้องต้นของตะกอนซอสปรุงรส

นางสาวจิตติมา กนกนัยการ

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์

คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรมและวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

2531

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Preliminary Studies of Hydrolyzed Soysauce Sediment and Its Utilization

Miss Chittima Kanoknaiyakan

A Special Project Submitted in Partial Fulfilment of

the Requirement for the Degree of Bachelor of Science

Department of Applied Biology

Faculty of Industial Education and Sciences

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

1988

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การวิเคราะห์คุณสมบัติและการใช้ประโยชน์เบื้องต้นของตะกอนซอสปรุงรส

โดย นางสาวจิตติมา กนกนัยการ

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

อาจารย์ที่ปรึกษา ดร. เรียม เตชะโสภณมณี

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรมและวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้นับโครงงานพิเศษฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

_____ หัวหน้าภาควิชาชีววิทยาประยุกต์

(ผศ. มาลินี ตันติยาภรณ์)

คณะกรรมการสอบโครงงานพิเศษ

_____ ประธานกรรมการ

(ผศ. มาลินี ตันติยาภรณ์)

_____ กรรมการ

(อาจารย์มลวิภา เกษแจ้ง)

_____ กรรมการ

(อาจารย์อุ่นเรือน ศิริวานิชกุล)

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรมและวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การวิเคราะห์คุณสมบัติและการใช้ประโยชน์เบื้องต้นของตะกอนซอสปรุงรส
นักศึกษา	นางสาวจิตติมา กนกนัยการ
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.เรียม เตชะโสภณมณี
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์
ปีการศึกษา	2530

บทคัดย่อ

ซอสปรุงรส เป็นเครื่องปรุงแต่งกลิ่นรสให้แก่อาหาร องค์ประกอบที่สำคัญในซอสปรุงรส คือ กรดอะมิโน ในการผลิตในอุตสาหกรรมนั้น เมื่อได้ซอสปรุงรสแล้ว จำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องบ่มซอสปรุงรสไว้เพื่อรอการบรรจุ และเพื่อให้มีกลิ่น รสที่ดีขึ้น ในขั้นตอนนี้พบว่ามีตะกอนตกลงมา ผลจากการศึกษาพบว่า ตะกอนประกอบด้วย กรดอะมิโน และแคลเซียม เป็นส่วนประกอบที่สำคัญ จึงได้นำมาทดลองใช้ประโยชน์ เป็นแหล่งไนโตรเจนในการเลี้ยง Endomycopsis fibuligera ด้วย Waste extract-1 (WE-1) medium ทำให้จุลินทรีย์สามารถเจริญเติบโตพร้อมกับผลิตเอนไซม์อะมิเลสได้เป็นอย่างดี เมื่อเปรียบเทียบกับการเลี้ยงจุลินทรีย์ ใน Yeast Malt (YM) medium

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title	Preliminary Studies of Hydrolyzed Soysauce Sediment and Its Utilization
Name	Miss Chittima Kanoknaiyakan
Special Project Advisor	Dr.Ream Techasoponmanee
Department	Applied Biology
Academic Year	1987

Abstracts

Hydrolyzed soysauce is a food condiment which consist of various amino acids at different concentration. In hydrolized soysauce industries , it is necessary to keep the finished product for approximately 1 month in order to improve aroma and flavor before bottling. During this step , it appear to have sediment being deposited at the bottom of storage container. This project of study aims to characterize the sediment and search for its utilization. It is showed that the sediment consist of amino acid and calcium which can be used as a nitrogenous source for cultivation of Endomycopsis fibuligera supplemented in Waste extracted-1 (WE-1) medium.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

อันเนื่องมาจากความสำเร็จของโครงงานพิเศษฉบับนี้ ผู้เขียน ขอกราบขอบพระคุณ ดร.เรียม เตชะโสภณมณี อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษา และชี้แนะแนวทางในการดำเนินงาน ตลอดทั้งการแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้นในระหว่างการวิจัย ผศ.มาลินี ตันติยาภรณ์ อาจารย์หัวหน้าภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ ผู้ซึ่งอำนวยความสะดวกในด้านอุปกรณ์และเคมีภัณฑ์ที่จำเป็นสำหรับโครงงานพิเศษนี้ ศจ.พญ.พิมพ์พันธ์ เลียงพิบูลย์ คณบดีคณะเทคนิคการแพทย์ และ อาจารย์อัมรินทร์ ปรีชาวุฒิ หัวหน้าภาควิชาเคมีเทคนิค โรงพยาบาลศิริราช มหาวิทยาลัยมหิดล ซึ่งได้กรุณาอำนวยความสะดวกในด้านเครื่องมือที่จำเป็นสำหรับการทดลองและแนะนำเทคนิคการใช้เครื่องมือประกอบการทดลอง อาจารย์สินีนารถ สระตันตี๋ อาจารย์ประจำภาควิชาเคมีอุตสาหกรรม กรุณาให้ความรู้ทางด้านชีวเคมี

สุดท้ายผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณ บริษัท ง่วนเชียง จำกัด ที่ได้กรุณาให้ความอนุเคราะห์ ตะกอนซอสปรุงรส สำหรับงานวิจัย ตลอดจนถึงผู้มีพระคุณท่านอื่น ๆ ที่มิได้กล่าวนามได้ครบถ้วนมา ณ. โอกาสนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้าที่
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ	ฉ
สารบัญ	ช
สารบัญภาพ	ซ
สารบัญตาราง	ฌ
บทที่	
1. บทนำ	1
2. แนวความคิดและทฤษฎี	5
2.1 ซอสปรุงรส	5
2.2 ความรู้เกี่ยวกับ Endomycopsis fibuligera	15
2.3 ความรู้เกี่ยวกับเอนไซม์อะมิเลส	21
2.4 การใช้ประโยชน์จากกากของเสีย	31
3. การดำเนินงานวิจัย	33
3.1 อุปกรณ์และสารเคมี	33
3.2 วิธีการทดลอง	34
4. ผลการทดลองและวิจารณ์	42
5. บทสรุปและข้อเสนอแนะ	50
เอกสารอ้างอิง	52
ภาคผนวก	55
ประวัติผู้เขียน	57

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

		หน้าที่
รูปที่ 2-1	แสดงขั้นตอนการผลิตซอสปรุงรส	8
รูปที่ 2-2	แสดงตะกอนของซอสปรุงรส	9
รูปที่ 2-3	แสดงขั้นตอนการผลิตซีอิ๊ว	12
รูปที่ 2-4	แสดงลักษณะการเกิดแอสโคสปอร์	16
รูปที่ 2-5	แสดงวงจรชีวิตของ Endomycopsis fibuligera	16
รูปที่ 2-6	แสดงลักษณะของ Endomycopsis fibuligera เมื่อเลี้ยงใน Malt extract 3 วัน	18
รูปที่ 2-7	แสดง Endomycopsis fibuligera เมื่อเลี้ยงในน้ำกลั่น 3 สัปดาห์	19
รูปที่ 2-8	แสดงลักษณะผลึกของอะมิเลสจากแหล่งต่าง ๆ	22
รูปที่ 2-9	แสดงลักษณะโครงสร้างของอะมิโลส	23
รูปที่ 2-10	แสดงลักษณะโครงสร้างของอะมิโลเปคติน	24
รูปที่ 2-11	แสดงขบวนการผลิตแอลกอฮอล์	29
รูปที่ 2-12	แสดงปัจจัยที่ต้องคำนึงในการใช้ประโยชน์จากกากของเสีย	32
รูปที่ 4-1	แสดงลักษณะของตะกอนซอสปรุงรส	42
รูปที่ 4-2	แสดงลักษณะโคโลนีของ Endomycopsis fibuligera เมื่อเลี้ยงในอาหาร WE-1 และ YM	45
รูปที่ 4-3	กราฟแสดงอัตราการเจริญของเชื้อ Endomycopsis fibuligera ที่เลี้ยงในอาหาร WE-1 และ YM	47
รูปที่ 4-4	กราฟแสดงปริมาณของเอนไซม์ที่ผลิตโดยเชื้อ Endomycopsis fibuligera ที่เลี้ยงในอาหาร WE-1 และ YM	49

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

		หน้าที่
ตารางที่ 1-1	แสดงปริมาณการผลิตซอสปรุงรสในโรงงานอุตสาหกรรม	2
ตารางที่ 2-1	แสดงคุณลักษณะที่ต้องการของซอสปรุงรส	11
ตารางที่ 2-2	แสดงองค์ประกอบที่มีในซอสปรุงรสและซีอิ๊ว	13
ตารางที่ 2-3	แสดงปริมาณของกรดอะมิโนชนิดต่าง ๆในผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ	14
ตารางที่ 2-4	แสดงองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิตเอนไซม์อะมิเลส	26
ตารางที่ 4-1	แสดงความสามารถในการละลายของตะกอนที่อุณหภูมิ 100 °ซ.	43
ตารางที่ 4-2	แสดงองค์ประกอบทางเคมีของตะกอนซอสปรุงรส	44
ตารางที่ 4-3	แสดงจำนวนโคโลนีของ Endomycopsis fibuligera ที่เลี้ยงในอาหาร WE-1 และ YM	46
ตารางที่ 4-4	แสดงปริมาณเอนไซม์ที่ผลิตโดย Endomycopsis fibuligera ที่เลี้ยงในอาหาร WE-1 และ YM	48

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

การบริโภคอาหารของชาวไทยที่มีเชื้อสายจีน หรือแม้ชาวไทยเชื้อสายไทยก็ตาม ในปัจจุบันมักจะขาดสิ่งชูรสไม่ค่อยจะได้ คือ ซีอิ๊วและซอสปรุงรส ลักษณะการบริโภคดังกล่าว จึงทำให้มีธุรกิจการผลิตและการค้าอาหารประเภทซีอิ๊วและซอสปรุงรสเพิ่มมากขึ้นเป็นลำดับโดยเฉพาะอย่างยิ่งซอสปรุงรส (Hydrolyzed soysauce) โดยจะเห็นได้ว่าในระยะก่อน 15 ปีที่ผ่านมานั้น คนไทยเรายังไม่คุ้นเคยกับคำว่า ซอสปรุงรส แต่ในช่วงประมาณ 10 ปีเศษที่ผ่านมา คนไทยทั่วไปเริ่มรู้จักและคุ้นเคยกับคำว่าซอสปรุงรสมากขึ้น และมีโรงงานผลิตซอสปรุงรสมากขึ้นในช่วง 2-3 ปีที่ผ่านมา[1] คือ มีโรงงานที่มีกำลังการผลิตอยู่ในระดับโรงงานขนาดใหญ่ 2-3 แห่ง และมีโรงงานที่มีกำลังการผลิตขนาดย่อมอีก 3-4 แห่ง ซึ่งเนื่องมาจากความต้องการของผู้บริโภคมีสูงขึ้น ทั้งนี้อาจมีสาเหตุมาจาก ซอสปรุงรสมีรสชาติที่หวานอร่อยกว่า กลิ่นหอมแตกต่างไปจากผลิตภัณฑ์ประเภทซีอิ๊วที่ใช้วิธีการหมัก และราคาไม่แพงไปกว่าซีอิ๊ว

ลักษณะแนวโน้มของการบริโภค และ การผลิตซอสปรุงรสในอนาคต จากการสังเกตแนวโน้มของการบริโภคของคนไทยในปัจจุบันพบว่า มีแนวโน้มสูงขึ้นเป็นลำดับ โดยประมาณแล้วอัตราการผลิตซอสปรุงรสในประเทศไทยในปัจจุบันพบว่า อยู่ในช่วง 8-10 ล้านลิตรต่อปี[2] จากการสำรวจปริมาณการผลิตของโรงงานที่มีกำลังการผลิตขนาดใหญ่ แสดงดังตารางที่ 1-1

ซอสปรุงรสที่ผลิตขึ้น ประกอบด้วยกรดอะมิโนชนิดต่าง ๆ และให้รสชาติของกรดกลูตามิด เป็นรสชาติเด่นที่ทำให้ซอสปรุงรสมีรสอร่อย[3] ก่อนนำซอสปรุงรสไปบรรจุขวดนั้น จำเป็นต้องมีการบ่มในถังขนาดใหญ่ เพื่อทำให้กลิ่น-รส ของซอสดีขึ้น

ระหว่างการบ่มประมาณ 1 เดือนนี้ จะเกิดตะกอนขึ้นที่ก้นถังคิดเป็นปริมาตร 2-3 % ของปริมาตรซอสปรุงรสในถังบ่ม หรือเท่ากับประมาณ 36,000 กก./ปี จากปริมาณการผลิตของ 2 โรงงานขนาดใหญ่ ซึ่งถือว่าเป็นกากที่มีปริมาณไม่สูง และอาจไม่คุ้มค่าแก่การนำไปใช้ประโยชน์ตามหลักการของ Input output model ของการใช้ประโยชน์จากกากของเสีย

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โรงงานอุตสาหกรรม	ปริมาณการผลิต (ลิตร/ปี)
ง่วนเชียง	5,400,000
ไทยเทพรส	9,000,000

ตารางที่ 1-1 แสดงปริมาณการผลิตซอสปรุงรสในโรงงานอุตสาหกรรม

ที่มา : กองกำจัดกากอุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม

แต่เนื่องจาก น้ำซอสปรุงรสประกอบด้วย กรดอะมิโนที่มีคุณค่า ดังนั้นตะกอนที่เกิดขึ้น อาจเป็นส่วนประกอบของน้ำซอสปรุงรสที่มีมาก จนอิ่มตัวและตกตะกอนลงมา ซึ่งถือว่าเป็นสิ่งที่น่าจะนำไปใช้ให้เกิดประโยชน์คุ้มค่าได้

จากข้อมูลเกี่ยวกับปริมาณตะกอน จะเห็นว่า ตะกอนมีอยู่ในปริมาณที่ค่อนข้างจะน้อย ซึ่งไม่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ประโยชน์ในรูปของ Mass Utilization ดังนั้นจึงทำการศึกษาวิธีการใช้ประโยชน์ในลักษณะของการใช้ในปริมาณน้อยแต่ก่อให้เกิดคุณค่ามาก โดยการนำมาผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อ Endomycopsis fibuligera สำหรับนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

สมมติฐานสำหรับโครงงาน

1. ตะกอนซอสปรุงรสอาจจะประกอบด้วยส่วนประกอบของน้ำซอสปรุงรส ที่มีมากจนอิ่มตัวและตกตะกอนลงมา เช่นกรดอะมิโน

2. ถ้าสมมติฐานข้อ 1 เป็นจริง การนำตะกอนซอสปรุงรสไปใช้ประโยชน์เป็นแหล่งไนโตรเจนสำหรับจุลินทรีย์ในการเจริญเติบโต น่าจะเป็นไปได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ</u>

1. เพื่อตรวจสอบคุณสมบัติทางกายภาพของตะกอนซอสปรุงรส
2. เพื่อวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของตะกอนซอสปรุงรส
3. เพื่อศึกษาหาวิถีทางที่จะนำตะกอนมาใช้ประโยชน์
4. เปรียบเทียบการเจริญของเชื้อ <u>Endomycopsis fibuligera</u> ในอาหาร Yeast Malt (YM) และ Waste extract-1 (WE-1)
5. ศึกษาการผลิตเอนไซม์ของเชื้อ <u>Endomycopsis fibuligera</u>

<u>ขอบเขตของโครงงาน</u>

1. ตรวจสอบคุณสมบัติเบื้องต้นของตะกอน ในด้าน
   1.1 คุณสมบัติทางกายภาพ
   1.2 องค์ประกอบทางเคมีของตะกอนซอสปรุงรส
2. ศึกษาถึงการนำตะกอนซอสปรุงรสมาใช้ประโยชน์

<u>วิธีการวิจัยโดยย่อ</u>

1. ตรวจสอบคุณสมบัติทางกายภาพ
   - สังเกตรูปร่างลักษณะและสีของตะกอน
   - คุณสมบัติในการดูดความชื้น
   - ความสามารถในการละลายของตะกอน
2. วิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี
   - ตรวจหาปริมาณโปรตีน ไขมัน คาร์บอไฮเดรท เถ้า เส้นใย และ ความชื้น
3. การนำตะกอนมาใช้ประโยชน์โดยการนำมาผสมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อWE-1 สำหรับ <u>Endomycopsis fibuligera</u> และศึกษาถึงความเป็นไปได้ของการผลิต เอนไซม์อะมิเลสจากการเพาะเลี้ยงในอาหารดังกล่าว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้ทราบถึงวิธีการใช้ประโยชน์จากกากโรงงานอุตสาหกรรม
2. ช่วยลดปัญหาทางด้านมลภาวะจากของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม
3. ฝึกทักษะในการประยุกต์วิชาความรู้ทางวิทยาศาสตร์
4. ฝึกทักษะในการรู้จักตั้งสมมติฐาน วางแผน ดำเนินการวิจัย และแปลผล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

แนวความคิดและทฤษฎี

2.1 ซอสปรุงรส

น้ำปลาถั่วเหลืองหรือที่เราเรียกว่า น้ำซี่อิ๊วเป็นเครื่องปรุงแต่งกลิ่น-รสที่ทำจากถั่วเหลือง ได้เริ่มทำกันมานานหลายศตวรรษแล้วในประเทศต่าง ๆ เช่น ประเทศจีนและญี่ปุ่น และได้แพร่หลายต่อไปยังประเทศอื่น เช่น ประเทศไทย ฟิลิปปินส์ อินโดนีเซีย และสหรัฐอเมริกา เป็นต้น การผลิตซี่อิ๊วได้มีขึ้นที่ประเทศจีนเป็นประเทศแรก และได้แพร่เข้าไปในประเทศญี่ปุ่นเมื่อคริสตศักราช 552 แม้ว่าการผลิตซี่อิ๊วจะเริ่มมีขึ้นที่ประเทศจีนเป็นประเทศแรก แต่ประเทศที่มีโรงงานผลิตซี่อิ๊วมากที่สุดและใหญ่ที่สุดในโลก คือ ประเทศญี่ปุ่น ซึ่งมีมากถึง 5,000 แห่ง สามารถผลิตซี่อิ๊วได้ทั้งหมดประมาณ 300 ล้านแกลลอนต่อปี[4] สำหรับในประเทศไทยนั้น มีโรงงานอุตสาหกรรมที่ผลิตซี่อิ๊วตั้งแต่โรงงานขนาดเล็กแบบครัวเรือนไปจนถึงโรงงานขนาดใหญ่ที่มีกรรมวิธีการผลิตที่ทันสมัยอยู่มากมาย และเพื่อเป็นการลดต้นทุนการผลิตจึงมีการศึกษาค้นคว้าเพื่อที่จะลดระยะเวลาการผลิตลง จากการศึกษาพบว่าสามารถใช้กรดเพื่อทำการย่อยโปรตีนจากถั่วเหลืองแทนการใช้เอนไซม์จากจุลินทรีย์ ซึ่งเรียกผลิตภัณฑ์ชนิดนี้ว่า ซี่อิ๊วเคมีหรือซอสปรุงรส[5] (Flavored soysauce,chemical soysauce,hydrolyzed soysauce)

2.1.1. คำจำกัดความของซอสปรุงรส

เพื่อให้ทราบถึงความแตกต่างระหว่างซอสปรุงรสกับซี่อิ๊ว และให้เกิดความเข้าใจยิ่งขึ้นจึงได้กล่าวถึงคำจำกัดความของผลิตภัณฑ์ทั้ง 2 ซึ่งข้อแตกต่างของคำจำกัดความนี้กำหนดโดยถือตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรมไว้เป็นเกณฑ์ดังต่อไปนี้

1. น้ำซอสปรุงรส หมายถึง "ผลิตภัณฑ์ที่เป็นของเหลว อันผลิตขึ้นด้วยการไฮโดรลิซิสสารจำพวกโปรตีนด้วยกรด มีกลิ่น,รสคล้ายซอสแบบแมกกี้ที่ผลิตขึ้นในต่างประเทศ"[6]

2. น้ำซี่อิ๊ว หมายถึง "ผลิตภัณฑ์ที่เป็นของเหลวที่ได้จากการย่อยโปรตีนในถั่ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เหลืองโดยเอนไซม์จากจุลินทรีย์ด้วยการหมัก จะนำมาแต่งรสและสีหรือไม่ก็ได้ ตามชนิดของผลิตภัณฑ์นั้น ๆ แล้วนำไปผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ (Pasteurization)"[7]

จากคำจำกัดความ จะเห็นได้ว่าผลิตภัณฑ์ทั้ง 2 ชนิดนี้มีความแตกต่างกันใน 2 ลักษณะ คือ

-วัตถุดิบที่ใช้ จากคำจำกัดความของซอสปรุงรสไม่ได้กำหนดว่าจะต้องเป็นวัตถุดิบเฉพาะอย่าง อาจจะใช้โปรตีนจากถั่วเหลือง ถั่วต่าง ๆ หรือโปรตีนจากสัตว์ ผสมเข้าด้วยกันก็อาจทำได้ ส่วนซีอิ๊วนั้น ตามมาตรฐานกำหนดไว้ว่าจะต้องเป็นโปรตีนจากถั่วเหลืองเท่านั้น

-ขั้นตอนการผลิต สำหรับซอสปรุงรสนั้น เป็นการย่อยสลายโปรตีนให้เป็นกรดอะมิโนด้วยกรดเกลือ โดยไม่ผ่านการหมักหรือใช้เอนไซม์ (Enzyme) จากจุลินทรีย์ในกระบวนการผลิต ส่วนซีอิ๊วจำเป็นต้องผ่านการหมักเพื่อการย่อยสลายโปรตีนในถั่วเหลืองให้ได้เป็นกรดอะมิโน

2.1.2. <u>ขั้นตอนการผลิตของซอสปรุงรสและซีอิ๊ว</u>

ผลิตภัณฑ์ทั้งสองชนิดนี้ อาจมีลักษณะคล้ายคลึงกันในด้านคุณลักษณะทางกายภาพ (Physical Characters)อย่างไรก็ตามเพื่อให้เห็นความแตกต่างในกรรมวิธีการผลิตและขั้นตอนการผลิต จึงได้นำเอาขั้นตอนการผลิตของผลิตภัณฑ์ทั้ง 2 ชนิดมาแสดง

<u>ขั้นตอนการผลิตซอสปรุงรส</u>

<u>วัตถุดิบ</u>

1. ถั่วเหลือง (Soybeans)
2. โปรตีนในนม (Casein)
3. แป้งสาลี (Wheat)
4. กรดเกลือ
5. โซเดียมไฮดรอกไซด์

<u>หลักการ</u>

หลักการการผลิตซอสปรุงรส คือ การใช้สารเคมี เช่นกรด หรือ ด่างไปทำการย่อยสลายโปรตีนให้แตกตัวเป็นกรดอะมิโนที่ละลายน้ำ ซึ่งในทางการค้าใช้ กรดเกลือ เป็นตัวย่อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลังจากการย่อยสลายเสร็จสิ้นลง กรดที่เหลืออยู่จะถูกกำจัดด้วยด่างแก่ เช่น โซเดียมไฮดรอกไซด์ ผลที่ได้คือ เกลือแกงหรือเกลือโซเดียมคลอไรด์

$$HCl + NaOH \longrightarrow NaCl + H_2O$$

ขั้นตอนการผลิต

1. นำถั่วเหลืองที่คัดเลือกแล้วมาล้าง จากนั้นนำมาผสมกับแป้งสาลี และโปรตีนในนม ใส่ลงในถังย่อยที่สามารถทนกรดและทนความดันสูง เพื่อทำการย่อยสลายด้วยกรดเกลือเข้มข้น 20 % เป็นเวลา 12-16 ชม. โดยมีความร้อนเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา อุณหภูมิประมาณ 130 °ซ. กรดที่ใช้จะใช้ในปริมาณที่มากเกินพอ โปรตีนที่มีอยู่จะถูกย่อยสลายเป็นกรดอะมิโนจนหมด

2. หลังจาก 12-16 ชม. แล้วนำมากรองแยกเอาส่วนที่เป็นของเหลวและกากออกจากกัน ปล่อยให้ของเหลวเย็น

3. ส่วนที่เป็นของเหลวนำมาทำให้เป็นกลางด้วย โซเดียมไฮดรอกไซด์ 50 % จนมีความเป็นกรด-ด่าง 5.0-6.2 ในขั้นตอนนี้เป็นการกำจัดกรดที่เหลืออยู่ให้หมด ซึ่งจะทำให้ได้เกลือแกงออกมา

4. กรองเอากากออก จะได้เป็นซอสปรุงรสที่ยังไม่เป็นที่ยอมรับ จำเป็นต้องนำมาบ่ม (Aging) อีกระยะหนึ่ง เพื่อให้มีกลิ่นเกิดขึ้นในช่วงนี้ ซึ่งอาจใช้เวลาอีกประมาณ 2-4 สัปดาห์

5. นำไปฆ่าเชื้อโดยการพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 75-80 °ซ. นาน 30 นาที กรองก็จะได้เป็นซอสปรุงรสที่มีกลิ่นและรสคล้ายซอสแบบแมกกี้ ส่วนของตะกอนที่ได้ คือส่วนที่นำมาทำการศึกษาในโครงงานพิเศษนี้[๓] (รูปที่2-1)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2-1 แสดงขั้นตอนการผลิตซอสปรุงรส[2]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2-2 แสดงตะกอนของซอสปรุงรส

ขั้นตอนการผลิตน้ำซีอิ๊ว

วัตถุดิบ

1. ถั่วเหลือง
2. แป้งสาลี
3. เกลือ (Salt)
4. น้ำ
5. จุลินทรีย์

หลักการ

หลักการผลิตน้ำซีอิ๊ว คือ อาศัยเอนไซม์จากจุลินทรีย์ เหล่านี้คือ รา ยีสต์ และแบคทีเรีย เพื่อทำการย่อยสลายโปรตีนในถั่วเหลืองให้แตกตัวเป็นกรดอะมิโน ซึ่งในระหว่างการย่อยสลายนี้ จะเกิดสารประกอบประเภทเอสเทอร์ (Ester) ซึ่งทำให้น้ำซีอิ๊วมี กลิ่น รส เฉพาะตัวอีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ถั่วเหลืองที่ใช้อาจเป็นถั่วเหลืองที่สกัดไขมันออกแล้ว (Defatted Soybean) หรือถั่วเหลืองทั้งเมล็ด (Whole Soybean) ก็ได้ ถ้าใช้ถั่วที่สกัดไขมันออกแล้วจะใช้ระยะเวลาในการหมักสั้นลง แต่น้ำซีอิ๊วจากถั่วเหลืองทั้งเมล็ดจะมีอายุการเก็บนานกว่าน้ำซีอิ๊วจากถั่วเหลืองที่สกัดไขมันออกแล้ว

จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องในระหว่างขบวนการผลิต คือ

1. เชื้อรา Aspergillus oryzae และ Aspergillus shoyu

2. แบคทีเรียในกลุ่ม แลคติค (Lactic acid bacteria)

3. เชื้อยีสต์ (Yeast) สายพันธุ์ที่พบว่าทำให้การหมักเสร็จสิ้นโดยสมบูรณ์ คือ Saccharomyces rouxii และ Zygosaccharomyces sp.[4]

ขั้นตอนการผลิต

1. นำถั่วเหลืองที่เลือกแล้วมาแช่ในน้ำที่อุณหภูมิ 29 °ซ. ประมาณ 10-20 ชม. หลังจากแช่แล้วถั่วเหลืองจะมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นประมาณ 2.1-2.5 เท่า และปริมาตรจะเพิ่มขึ้น 2.2-2.5 เท่า

2. นึ่งถั่วเหลืองที่แช่แล้วที่ความดันไอน้ำ 10-13 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 1 ชม. ขณะที่รอถั่วสุก ก็ทำการล้างข้าวสาลีและทำให้แห้ง คั่วและบดอย่างหยาบ ๆ การที่ผสมข้าวสาลีก็เพื่อทำให้กลิ่นและรสของน้ำซีอิ๊วดีขึ้น

3. ผสมข้าวสาลีและถั่วเหลืองที่เตรียมไว้แล้วเข้าด้วยกันในอัตราส่วน ข้าวสาลีต่อถั่วเหลือง 7 : 3 โดยปริมาตร เมื่อส่วนผสมเย็นลงแล้ว ก็นำเชื้อรา Aspergillus oryzae หรือ Aspergillus shoyu ผสมลงประมาณ 1-2 ส่วน

4. นำมาแผ่ลงบนถาดให้มีความหนาประมาณ 1-2 นิ้ว บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30 °ซ. ประมาณ 5-7 วัน

5. หลังจาก 5-7 วัน แล้ว ถ่ายไปสู่ภาชนะที่ทำด้วยดินเผา เช่น โอ่ง ไห หรือ ตุ่ม ที่มีความจุ 50 แกลลอนโดยปริมาตร เติมน้ำเกลือเข้มข้น 20 % หมักในภาชนะนาน 3 เดือนถึง 1 ปี ซึ่งขึ้นกับอุณหภูมิขณะทำการหมัก ระหว่างการหมักควรจะมีการคนส่วนผสมด้วยเป็นครั้งคราว เพื่อให้อากาศผสมเข้าไปได้บ้าง ระยะนี้จะเกิด กรดแลคติค ซึ่งเกิดจาก ยีสต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และแบคทีเรีย ความเป็นกรด-ด่างของส่วนผสมจะลดลงจาก พีเอช 6.0-7.0 ไปเป็น พีเอช ประมาณ 4.5

6. หลังจากการหมักเสร็จสิ้นลง ทำการกรองแยกส่วนของเหลวกับกากออกจากกัน ส่วนที่เป็นกากจะนำไปผลิตเป็นอาหารสัตว์ ส่วนของเหลวที่กรองได้นั้นจะผ่านการฆ่าเชื้อและทำลายเอนไซม์ต่าง ๆ โดยการพาสเจอร์ไรซ์ จะได้เป็น น้ำซีอิ๊ว[10] (แผนภาพที่ 2-b)

3. ข้อกำหนดตามมาตรฐานอุตสาหกรรมของผลิตภัณฑ์ซอสปรุงรสและซีอิ๊ว

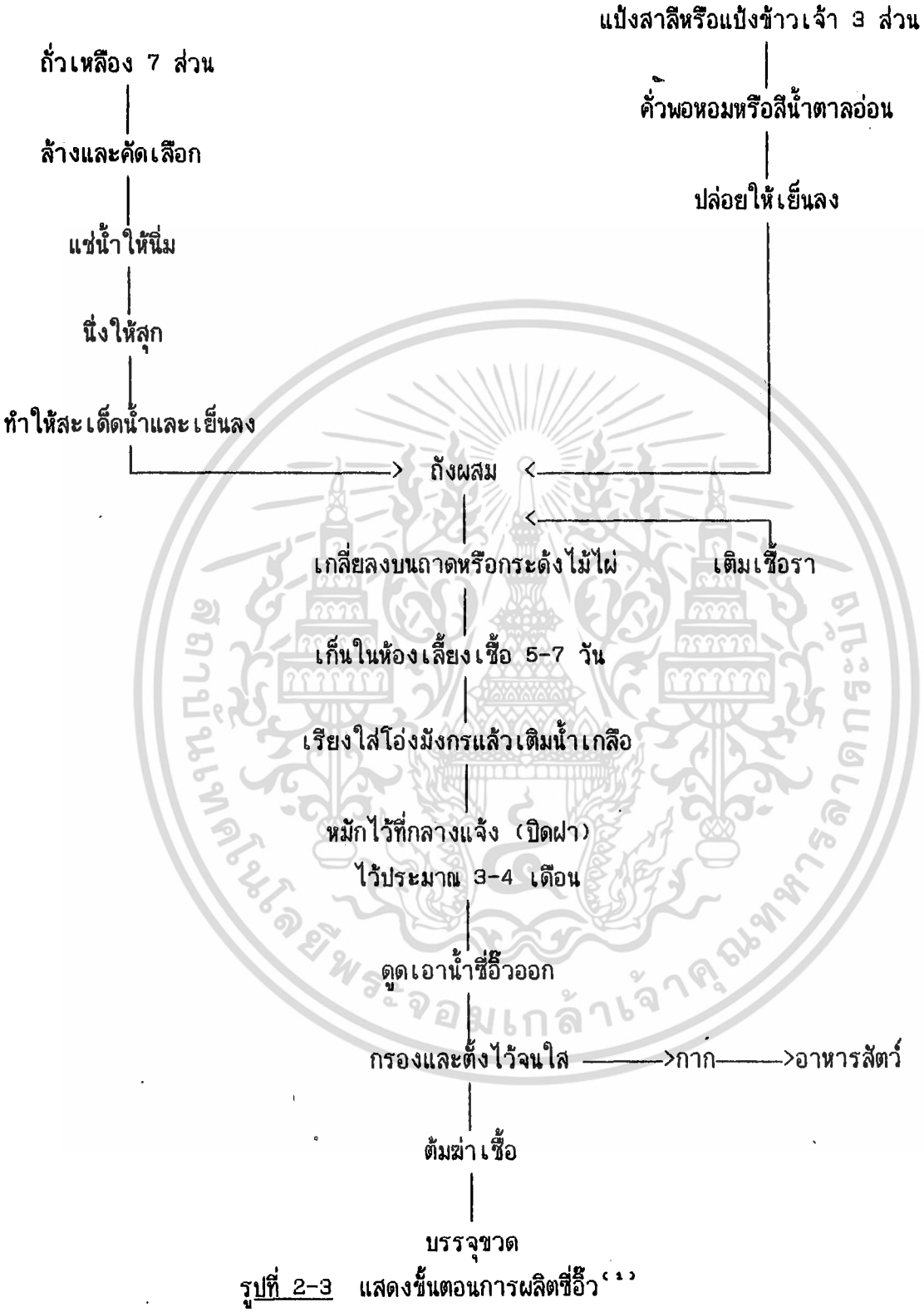
กองมาตรฐานของสำนักงานมาตรฐานอุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรมได้กำหนดคุณลักษณะที่ต้องการของผลิตภัณฑ์ของสองชนิดไว้ดังนี้

คุณลักษณะ	ความต้องการ
1. ความใส สี กลิ่น และรส	70 %
2. ความถ่วงจำเพาะ ณ.อุณหภูมิห้อง	1.24
3. ความเป็นกรด-ด่าง	5.0-6.2
4. ไนโตรเจนทั้งหมด กรัมต่อลิตร	30.0
5. อะมิโนแอซิดไนโตรเจน กรัมต่อลิตร	20.0
6. เกลือโซเดียมคลอไรด์ กรัมต่อลิตร	200-300

ตารางที่ 2-1 แสดงคุณลักษณะที่ต้องการของซอสปรุงรส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขั้นตอนการทำซี่อิ๊ว



รูปที่ 2-3 แสดงขั้นตอนการผลิตซี่อิ๊ว[11]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซอสปรุงรส	ซีอิ๊วหมัก
1. ไม่มีทริพโตแฟน (Trytophan) แต่มีเซอรีน (Serine) และ เมทไธโอนีน (Methionine) เล็กน้อย	1. ประกอบด้วย อาร์จินีน (Arginine) เล็กน้อย
2. 80 % ของกรดอินทรีย์เป็น กรดลิวูลินิค (Levulenic acid)	2. 80 % ของกรดอินทรีย์เป็นกรดแลคติค (Lactic acid) และกรดออกซาลิค (Oxalic acid) และ กรดฟอร์มิค (Formic acid)
3. ประกอบด้วย สารประกอบซัลเฟอร์ และเมอร์แคบแทนและบิวไทริคสูง	3. ประกอบด้วยสารประกอบซัลเฟอร์ ซัลไฟด์ เมอร์แคบแทน และบิวไทริคต่ำ

ตารางที่ 2-2 แสดงองค์ประกอบที่มีในซอสปรุงรสและซีอิ๊ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรดอะมิโน	โปรตีนถั่วเหลือง	ซอสปรุงรสในประเทศ	ซีอิ๊ว
Alanine	4.48	0.516	4.08
Arginine	9.00	0.731	1.19
Aspatic acid	12.87	1.648	4.06
Cystine	1.00	0.042	trace
Glutamic acid	23.40	2.784	6.86
Glycine	4.56	0.432	1.51
Histidine	2.83	0.388	0.84
Isoleucine	5.03	0.361	3.06
Leucine	7.91	0.483	3.55
Lysine	5.72	1.007	5.63
Methionine	1.33	0.136	1.48
Phenylalanine	5.94	0.469	2.06
Proline	6.55	1.123	2.70
Serine	5.77	0.590	3.26
Threonine	3.76	0.475	2.46
Tryptophane	1.01	0.224	–
Tyrosine	4.64	0.247	0.53
Valine	5.18	0.741	3.50

<u>ตารางที่ 2-3</u> ตารางแสดงถึงปริมาณกรดอะมิโนชนิดต่าง ๆ ในผลิตภัณฑ์ ต่าง ๆ (กรัมใน 100 กรัมอาหาร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 ความรู้เกี่ยวกับ Endomycopsis fibuligera

Endomycopsis fibuligera ถูกจัดให้อยู่ในกลุ่มของ ผู้ดยีสต์ (Food yeast) ซึ่งในอดีตนั้นนักวิทยาศาสตร์มีความเข้าใจว่า ยีสต์เป็นจุลินทรีย์ที่ไม่สามารถจะใช้แป้งเพื่อการเจริญเติบโตได้ แต่เมื่อประมาณปี ค.ศ.1942 (พ.ศ.2485) Lynferd J. Wicker[12] และคณะ ได้สนใจและทำการศึกษาเกี่ยวกับ Endomycopsis fibuligera ที่พบในมักกะโรนีและแป้งสำหรับทำมักกะโรนี พบว่า สามารถผลิตเอนไซม์อะมิเลสได้ การศึกษาทำโดย นำ Endomycopsis fibuligera ไปเลี้ยงในอาหารวุ้นที่มีแป้งอยู่ 1 % และทดสอบเคลียร์โซนโดยทดสอบกับสารละลายไอโอดีน พบว่าให้เคลียร์โซนขนาดประมาณ 5.5-8.2 มม.

2.2.1 การจัดจำแนก Endomycopsis fibuligera

Endomycopsis fibuligera ถูกจัดให้อยู่ใน

Class Ascomycetes

Order Endomycetales

Subfamily Saccharomycoideae

Genus Endomycopsis [13]

ลักษณะทั่ว ๆ ไปของยีสต์ใน จีนัสนี้ คือ จะสร้าง ไมซีเลียมที่แท้จริง ซึ่งต่อไปจะเจริญเป็น อาร์โทรสปอร์ (Arthrospore) ของซูโดไมซีเลียม (Psuedomycelium)และเซลล์ยีสต์ มีแอสโคสปอร์รูปร่างเป็นหมวก,รูปเดียว [14]

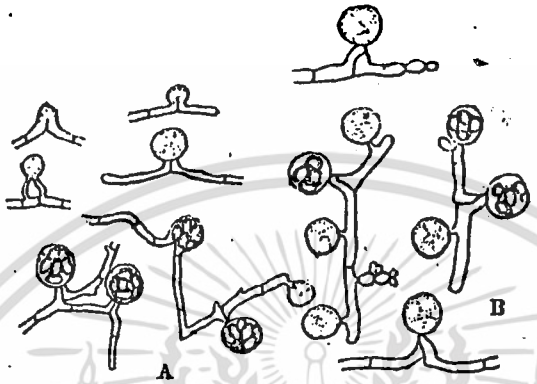
2.2.2 รูปร่างลักษณะของ Endomycopsis fibuligera

เป็นยีสต์ที่จัดอยู่ในกลุ่มของยีสต์ที่สามารถสร้างเส้นใยได้ ในวงชีวิตของการเจริญเติบโตจะสร้าง บลาสโตสปอร์ (Blastospore) การสืบพันธุ์มีทั้งแบ่งตัว (divide) และ แตกหน่อ(Budding) ลักษณะการแตกหน่อเป็นแบบสามารถเกิดได้รอบตัว (Multipolar budding)

รูปร่างลักษณะของสปอร์ที่พบโดยทั่ว ๆ ไปมีทั้งที่เป็นรูปไข่,รูปหมวก และรูป

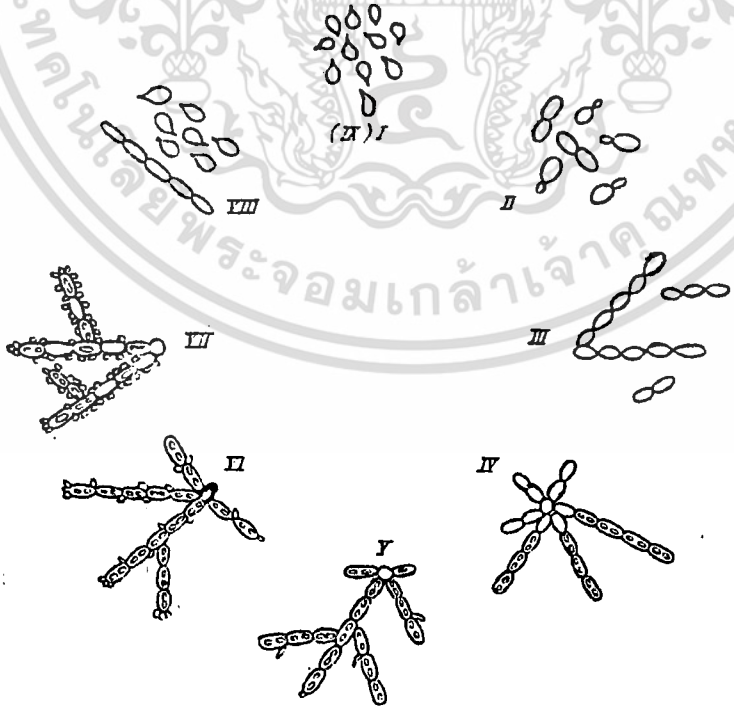
เอกสารนี้เป็นเอกสาร... ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เดียว พบว่าใน 1 แอสคัส (Ascus) มี 1-4 สปอร์ลักษณะการสร้างเส้นใย ทำให้จัดอยู่ในจำพวกการสร้างเส้นใยที่แท้จริง



รูปที่ 2-4 แสดงลักษณะการเกิดของแอสโคสปอร์

2.2.3 วงชีวิตของ Endomycopsis fibuligera



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2-5 แสดงวงชีวิตของ Endomycopsis fibuligera

กรมวิทยาศาสตรการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

I การเจริญเริ่มจากการที่ มีบลาสโตสปอร์หลุดออกจากเซลล์

II หลังจากนั้น บลาสโตสปอร์ที่แยกออกมาจากเซลล์จะมีการแตกหน่อ

III เมื่อมีการแตกหน่อเกิดขึ้นแล้ว หน่อที่แตกมานี้จะไม่แยกออกจากเซลล์แม่โดยเด็ดขาด ทำให้เกิดลักษณะเป็นเส้นสายต่อกันยาว ๆ เรียกลักษณะนี้ว่า ซูโดไมซีเลียม (Pseudomycelium) ในขั้นนี้เซลล์จะมีรูปร่างยาว,กลม ตรงกลางเซลล์จะป่อง

IV ขั้นที่ 4 เซลล์เริ่มมีการยืดตัว (Elongation) รูปร่างของเซลล์ที่ปรากฏในขั้นตอนนี้จะมีลักษณะดูแล้วคล้ายทรงกระบอก เมื่อมีการเจริญเติบโตขึ้นเรื่อย ๆ เซลล์จะมีการสร้างแวคคิวโอ (Vacuole) เซลล์ยังคงต่อกันเป็นสายยาวไม่แยกออกจากกันโดยเด็ดขาด ในช่วงนี้เมื่อนำไปดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบว่า จะเห็นผนังเซลล์ (Cell wall) ชัดเจน

การเจริญเติบโตในขั้นที่ 1-4 นั้น เกิดขึ้นในระยะต้น ๆ ของ Log phase ซึ่งจากการศึกษาพบว่ายังไม่มีการสร้างเอนไซม์

V หลังจากที่เซลล์เจริญเติบโตเต็มที่แล้ว จะทำการสร้างบลาสโตสปอร์ และพบว่าในช่วงนี้จะมีการสร้างเอนไซม์อะมิเลส (ระยะ Log phase)

VI ในขั้นที่ 6 ของการเจริญเติบโต พบว่า มีการสร้างบลาสโตสปอร์ขึ้นมากมาย และ ความสามารถในการสร้างเอนไซม์อะมิเลสเพิ่มมากขึ้น

VII ในช่วงนี้พบว่า เป็นช่วงที่มีการสร้างบลาสโตสปอร์มากที่สุด จากการตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ จะเห็นว่า เส้นใยของ Endomycopsis fibuligera จะปกคลุมไปด้วยบลาสโตสปอร์

VIII เมื่อนำเซลล์ที่อยู่ในช่วงนี้ไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบว่าส่วนประกอบต่าง ๆ เช่น แวคคิวโอ ที่เคยพบในช่วงก่อนนี้ จะไม่พบ จะเห็นแต่เพียงเยื่อหุ้มเซลล์เท่านั้น และ ยังพบอีกว่า บลาสโตสปอร์ที่เซลล์สร้างขึ้นนั้นจะแยกออกจากเซลล์ด้วย

สำหรับช่วงของการสร้างเอนไซม์อะมิเลสของ Endomycopsis fibuligera จะเริ่มสร้างเมื่อเซลล์เข้าสู่ระยะตอนปลาย ๆ ของ Log phase แต่ยังสร้างในปริมาณที่น้อยมาก การสร้างเอนไซม์จะเกิดขึ้นสูงสุดเมื่อ เซลล์อยู่ในระยะ Stationary phase [15]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

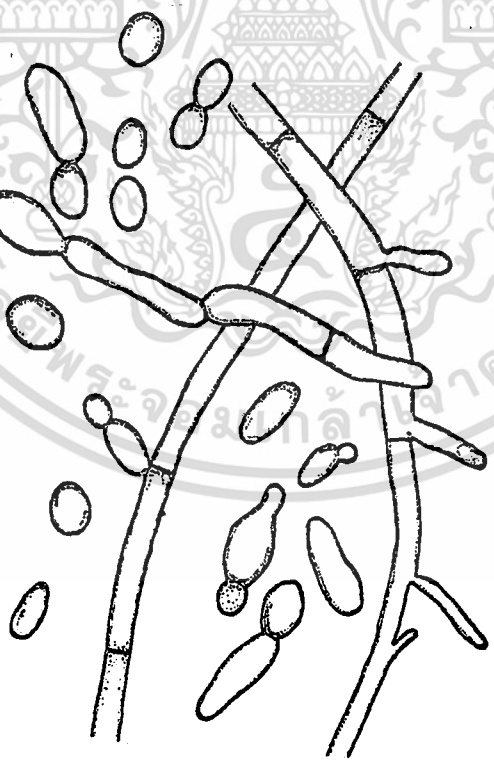
12430

2.2.4 ลักษณะทั่ว ๆไปของ Endomycopsis fibuligera เมื่อเลี้ยงบนอาหารต่าง ๆ

-เลี้ยงใน Malt extract : พบว่า หลังจากเลี้ยงใน Malt extract ที่อุณหภูมิ 25 °ซ. เป็นเวลา 2 วัน จะมีการแตกหน่อ หน่อที่เกิดขึ้นมีลักษณะ รูปไข่ ขนาด(4-8) x (6-18)ไมครอนสร้าง septate mycelium

-เลี้ยงใน Malt agar : ที่อุณหภูมิ 25 °ซ. เป็นเวลา 2 วันพบว่าจะมีการแตกหน่อและสร้าง True Mycelium และมีการสร้างเส้นใยมากกว่าเมื่อเลี้ยงในMalt extract เมื่อทำการเพาะเลี้ยงนาน 1 เดือน ที่อุณหภูมิ 17 °ซ. เชื้อที่เลี้ยงไว้จะมีสี น้ำตาลอมเหลือง

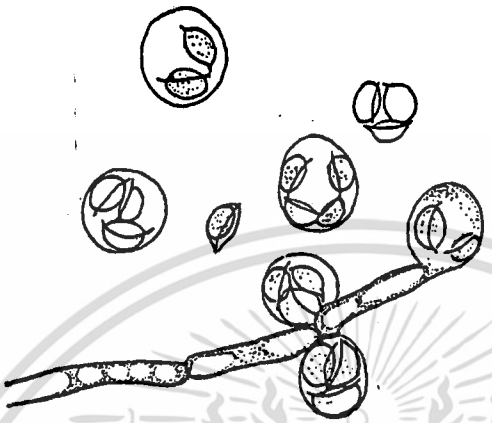
-เลี้ยงใน Potato และ Corn Meal agar : พบว่าจะมีการสร้างseptate mycelium และ pseudomycelium ส่วนที่บริเวณปลายของเส้นใยจะมีการสร้างบลาสโตสปอร์ซึ่งมีรูปร่างเป็นทั้งแบบทรงกลมและรูปไข่



รูปที่ 2-6 แสดงลักษณะของ Endomycopsis fibuligera เมื่อเลี้ยงใน Malt extract 3 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การสร้าง แอสโคสปอร์ : บริเวณที่เซลสองเซลใกล้ชิดกัน จะปรากฏให้เห็นเป็นปุ่มยื่นออกมา ซึ่งส่วนใหญ่จะเกิดที่บริเวณปลายของเส้นใย hyphae จะเกาะกันเป็นกลุ่ม 1 แอสคัส จะประกอบไปด้วย 2-4 แอสโคสปอร์ สปอร์มีรูปร่างคล้ายหมวก



รูปที่ 2-7 แสดง Endomycopsis fibuligera เมื่อเลี้ยงในน้ำกลั่นหลังจาก 3 สัปดาห์

จากการศึกษาการสร้างสปอร์ของ Endomycopsis fibuligera 12 สายพันธุ์จาก 15 สายพันธุ์ พบว่าอาหารที่เหมาะสมในการทำให้เชื้อสร้างสปอร์ คือ มันฝรั่ง และข้าวโพด ผสมวุ้นเล็กน้อย

2.2.5 การหมัก

กลูโคส + (ไม่ดี)	กาแลคโตส -
ซูโครส +	มอลโตส +
แลคโตส -	เมลิไบโอส -
รัฟฟิโนส +,-	สารละลายแป้ง +,-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.6 <u>การย่อยและการดูดซึมสารประกอบคาร์บอน</u>

กลูโคส +	ดี-ไรโบส -
กาแลคโตส -	แอล-แรมโนส -
แอล-ซอร์โบส -	เอธานอล +
ซูโครส +	กลีเซอรอล +
มอลโตส +	อีริไธทอล +,-
เซโลไบโอส +	ไรบิธอล +, เซลตอม -
ทริฮาโลส +,-	กาแลคไททอล -
แลคโตส -	ดี-แมนิทอล +, เซลตอม -
เมลิไบโอส -	ดี-กลูซิทอล +, เซลตอม -
รัฟฟิโนส +, เซลตอม -	แอลฟา-เมธิล-ดี-กลูโคไซด์ +
เมเลไซโตส +,-	ซาลิซิน +
อินูลิน -	ดีแอล-แลคติค แอซิด + (อ่อน)
สารละลายแป้ง +	ซัคซินิค แอซิด +, เซลคอม -
ดี-ไซโลส -	ซิตริค แอซิด +,-
แอล-อะราบิโนส -	อิโนซิทอล +,-
ดี-อะราบิโนส -	

ไม่มีการดูดซึม โปแตสเซียมไนเตรท ไม่สามารถเจริญในอาหารที่ไม่มี วิตามิน เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37 °ซ.[14]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 ความรู้เกี่ยวกับเอนไซม์อะมิเลส

อะมิเลสเป็นตัวอย่างของกลุ่มของเอนไซม์ที่มีความสำคัญ ในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น อุตสาหกรรมเบเกอรี่ อุตสาหกรรมผลิตเบียร์ เป็นต้น นักชีวเคมีได้จัดให้เอนไซม์อะมิเลสอยู่ในกลุ่มของ เอนไซม์ไฮโดรเลส อะมิเลสเป็นเอนไซม์ที่มีคุณสมบัติในการย่อยแป้ง เป็นหนึ่งในเอนไซม์กลุ่มแรกที่ผลิตขึ้นโดยจุลินทรีย์ในระดับอุตสาหกรรม ในสมัยแรก ๆ ที่มีการค้นพบนั้น ได้ให้คำจำกัดความของเอนไซม์นี้ว่า เป็นเอนไซม์ที่ย่อยสลายพันธะ อัลฟา-1,4 กลูโคซิดิกของอะมิโลส อะมิโลเปคติน และไกลโคเจน[16]

สมการการย่อยสลายแป้งของเอนไซม์อะมิเลส

แป้ง ----------> กลูโคส + มอลโตส + โอลิโกแซคคาไรด์

2.3.1 แหล่งของเอนไซม์อะมิเลส

ในธรรมชาตินั้นเราสามารถหา แหล่งที่จะสร้าง เอนไซม์อะมิเลสได้ไม่ยากนัก เนื่องจากอะมิเลสสามารถผลิตขึ้นได้จากทั้ง พืช และจุลินทรีย์ ดังต่อไปนี้คือ

พืช พืชที่จัดได้ว่าเป็นแหล่งของเอนไซม์อะมิเลส ได้แก่ ข้าวมอลท์ ที่นำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเบียร์ ซึ่งเอนไซม์จากแหล่งนี้ ค่อนข้างจะเสถียรต่อความร้อน

จุลินทรีย์ จุลินทรีย์ที่สามารถสร้างเอนไซม์อะมิเลสนั้นมีทั้ง ยีสต์ รา และแบคทีเรีย ซึ่งเอนไซม์ที่สร้างนั้นอาจจะแตกต่างกันในชนิดและปริมาณของกรดอะมิโน

ยีสต์ ในสมัยแรกที่มีการศึกษาเกี่ยวกับเอนไซม์อะมิเลสนั้นไม่มีรายงานว่า ยีสต์สามารถจะสร้างเอนไซม์อะมิเลส ภายหลังจากที่มีการศึกษากันอย่างกว้างขวางแล้วพบว่า ยีสต์สามารถจะสร้างเอนไซม์อะมิเลสได้ สายพันธุ์ที่สร้างเอนไซม์อะมิเลสได้แก่ Endomycopsis capsularis ซึ่งชนิดของเอนไซม์ที่สร้าง คือ อัลฟา-อะมิเลส และ กลูโคอะมิเลส พีเอชที่เหมาะสมในการสร้างอยู่ในช่วง 4.8-5.0 [17] นอกจาก Endomycopsis capsularis ยังมียีสต์อีกหลายสายพันธุ์ที่สามารถผลิตเอนไซม์อะมิเลสได้เช่น Endomycopsis fibuligera ซึ่งในปัจจุบันกำลังเป็นที่สนใจศึกษาของนักวิทยาศาสตร์และนักอุตสาหกรรมเป็นอย่างมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

α-amylase (3.2.1.1)
(pig pancreas)
× 230 from *1916a*

α-amylase (3.2.1.1)
(malt)
× 580 from *2353*

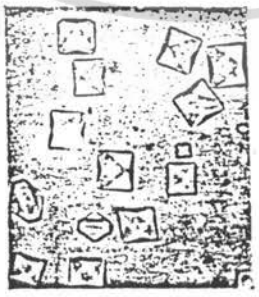
α-amylase (3.2.1.1)
(*Aspergillus*, 1st form)
× 150 from *2099*

α-amylase (3.2.1.1)
(*Aspergillus*, 2nd form)
× 205 from *736*

α-amylase (3.2.1.1)
(*Aspergillus*, 3rd form)
× 1000 from *27*

α-amylase (3.2.1.1)
(*B. stearothermophilus*)
× ? from *1708*

α-amylase (3.2.1.1)
(*B. subtilis*)
× 110 from *1916a*



β-amylase (3.2.1.2)
(sweet potato)
× 200 from *148*

β-amylase (3.2.1.2)
(wheat)
× 940 from *1807*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2-8 แสดงลักษณะผลึกของอะมิเลสจากแหล่งต่าง ๆ

แบคทีเรีย เช่นเดียวกันกับยีสต์คือ มีมากมายหลายสายพันธุ์ที่สามารถสร้างเอนไซม์อะมิเลสได้ และ มีการนำไปใช้ผลิตในระดับอุตสาหกรรม เช่น Bacillus sp.

รา อะมิเลสที่ผลิตจากเชื้อรา ได้มีการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมต่าง ๆมากมาย เชื้อราที่สามารถสร้างเอนไซม์อะมิเลสได้ ส่วนใหญ่จะอยู่ในจีนัส Aspergillus sp. [18]

2.3.2 สับสเตรท

สับสเตรทที่ใช้เลี้ยงจุลินทรีย์เพื่อการผลิตเอนไซม์อะมิเลส ได้แก่ แป้ง ซึ่งเป็นคาร์บอไฮเดรทที่พบมากในพืช โดยเฉพาะ ที่เมล็ด และรากของพืช แหล่งที่ให้แป้งที่สำคัญคือ ข้าวโพด โครงสร้างของแป้งจะประกอบด้วย โพลีแซคคาไรด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน 2 ชนิด คือ อะมิโลส และอะมิโลเปคติน ซึ่งแตกต่างกันทั้ง ขนาดโมเลกุล การละลาย และความเฉพาะเจาะจงกับเอนไซม์

อะมิโลส ประกอบด้วยกลูโคสต่อกันด้วยพันธะ อัลฟา-1,4 กลูโคซิดิกมีลักษณะเป็นสายตรงทดสอบกับเบเนดิกซ์จะให้สีน้ำเงิน

รูปที่ 2-9 แสดงลักษณะโครงสร้างของอะมิโลส

อะมิโลเปคติน ขนาดโมเลกุลจะใหญ่กว่า อะมิโลส ประกอบด้วยส่วนที่เป็นสายตรงซึ่งมีลักษณะเหมือน อะมิโลส และส่วนที่เป็น สายข้างซึ่งยึดติดกับสายตรงด้วยพันธะ อัลฟา-1,6 กลูโคซิดิก อะมิโลเปคตินจะทำปฏิกริยากับไอโอดีนได้สีแดงอมม่วง[19]

การที่ขนาดโมเลกุลต่างกันนี้เอง มีผลทำให้ความสามารถในการย่อยสลาย อะมิโลส และอะมิโลเปคตินของเอนไซม์อะมิเลสแตกต่างกันไปด้วย นอกจากขนาดโมเลกุลแล้ว ชนิดของพันธะที่เกาะกันของกลูโคสในสายของอะมิโลสและอะมิโลเปคติน ยังมีผลต่ออัตราเร็วการย่อยสลายของเอนไซม์อีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2-10 แสดงลักษณะโครงสร้างของอะมิโลเปคติน

2.3.3 ชนิดของเอนไซม์อะมิเลส

เอนไซม์อะมิเลสสามารถแบ่งออกได้เป็น 4 ชนิด คือ

1. อะมิโลกลูโคซิเดส หรือ กลูโคอะมิเลส เป็นเอนไซม์ที่ย่อยสลายแป้งที่พันธะ อัลฟา-1,4 และ อัลฟา-1,6 กลูโคซิดิก ซึ่งในการย่อยสลายนั้น จะทำการย่อยสลายจากปลายด้าน Non-reducing ของอะมิโลส อะมิโลเปคติน พบว่าส่วนใหญ่สร้างขึ้นโดยเชื้อรา จะมีพบบ้างในยีสต์บางสายพันธุ์ อัตราเร็วในการย่อยสลายสับสเตรท ขึ้นกับ ขนาดโมเลกุลโครงสร้างโมเลกุล และพันธะที่ยึดเกาะกันของสับสเตรท อะมิโลกลูโคซิเดสที่ผลิตได้จากจุลินทรีย์ต่างสายพันธุ์กัน จะมีความแตกต่างกันในด้านการเรียงตัวและชนิดของกรดอะมิโนที่แตกต่างกันนอกจากนี้ ความสามารถในการย่อยสลายโมเลกุลของแป้งยังแตกต่างกันด้วย เช่น อะมิโลกลูโคซิเดสที่สร้างโดย Aspergillus awamori var. kawachi และจาก Rhizopus sp. มีอัตราเร็วในการ ตัดพันธะ และย่อยสลายโมเลกุลของแป้งที่ต่ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษาของ Gracheva,I.M. และคณะ[20] พบว่าองค์ประกอบส่วนใหญ่ของอะมิโลกลูโคซิเดสที่ผลิตโด ย Endomycopsis sp. คือ ไกลโคโปรตีน และได้มีการตรวจหาชนิดของกรดอะมิโน และพบว่า กรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ในเอนไซม์ชนิดนี้ คือ เมไธโอนีน และทริพโตแฟน ซึ่งมีข้อยกเว้นในเอนไซม์ที่สร้างโดย Endomysis sp. และ Endomycopsis sp. จะไม่พบเมไธโอนีน และเอนไซม์ที่สร้างโดย Aspergillus phoenicus

pH และอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการสร้าง อยู่ในช่วง 4.5-5.0 และ 40-50 °ซ. ตามลำดับ

2. เบต้า-อะมิเลส

เบต้า-อะมิเลสเป็นเอนไซม์ที่พบมากในพืชชั้นสูง ทำหน้าที่ในการย่อยสลายพันธะ อัลฟา-1,4 กลูโคซิดิก ของแป้งที่ตรงปลายด้าน Non-reducing โดยจะย่อยกลูโคสทีละ 2 โมเลกุล ผลจากการย่อยสลายแป้งโดยเอนไซม์นี้โดยสมบูรณ์ คือ มอลโตส ในกรณีที่การสลายพันธะเป็นไปอย่างไม่สมบูรณ์พบว่า ผลิตภัณฑ์ที่ได้ออกมา คือ Limit dextrin และมอลโตส สารที่จะยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ เบต้า-อะมิเลส คือ p-Chloromercuribenzoate

อุณหภูมิ และ pH ที่เหมาะสมสำหรับเอนไซม์นี้ คือ 45-55 °ซ. และ 6.0-7.0 ตามลำดับ

3. อัลฟา-อะมิเลส

พบส่วนใหญ่ในจุลินทรีย์ มีความสามารถในการย่อยสลายพันธะ อัลฟา-1,4 กลูโคซิดิก โดยการย่อยสลายจะเป็นในลักษณะสุ่ม ซึ่งแตกต่างจาก เบต้า-อะมิเลส ผลจากการย่อยสลายโดยเอนไซม์นี้ โดยสมบูรณ์ คือ จะได้มอลโตสและกลูโคส แต่ถ้าการย่อยสลายเกิดขึ้นอย่างไม่สมบูรณ์ จะให้ผลเป็น Limit dextrin

อุณหภูมิและpHที่เหมาะสมสำหรับเอนไซม์นี้ คือ 5.5-8.0 และ 75 °ซ. ตามลำดับ แต่ในกรณีที่มีความเข้มข้นของแคลเซียมมาก ๆ พบว่าจะมีผลทำให้ค่า pH ที่เหมาะสมเปลี่ยนแปลงไป คือ ช่วง 4.8-6.5 ตัวยับยั้งการทำงานของอะมิเลสนี้ คือ โลหะหนัก เช่น Ag,Pb,Cu และ Hg เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. ไอโซอะมิเลส

2.3.4 สภาวะแวดล้อมและปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างเอนไซม์อะมิเลส

องค์ประกอบของอาหารที่ใช้ในการผลิตเอนไซม์อะมิเลสจะต้องประกอบด้วย แหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน และ Nutrient salt อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ผลิตเอนไซม์ในทางการค้าแสดงดังตารางที่ 2-4

Ingredients of Fermentation Media

Material	Per cent (w/v) of: Protein	Carbohydrate	Fat	Ash	Major growth factors
Fish meal	72.0	5.0	1.5	18.1	—
Soya meal	50.0	28.0	0.8	6.0	Niacin
Torula yeast	50.0	32.0	2.5	8.0	Inositol, niacin, thiamin, pyridoxine, riboflavin
Distiller's solubles	26.0	45.0	9.0	8.0	Pyridoxine, niacin
Corn-steep liquor	24.0	6.0	1.0	8.8	Niacin, inositol, pantothenic acid
Dried whey	13.0	72.0	1.0	8.0	Riboflavin, pantothenic acid
Corn meal	9.0	69.0	4.0	1.3	—

ตารางที่ 2-4 แสดงองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิตเอนไซม์อะมิเลส

อาหารที่ใช้เลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตเอนไซม์อะมิเลส ประกอบด้วย คาร์บอไฮเดรท โปรตีน ไขมัน กรดอะมิโน เกลือ และแร่ธาตุเล็กน้อย ไวตามิน และตัวเหนี่ยวนำการสร้างเอนไซม์

สำหรับการสร้างเอนไซม์อะมิโลกลูโคซิเดส องค์ประกอบที่มีผลต่อการสร้างคือ แหล่งไนโตรเจนและความเข้มของเอนไซม์ ความเข้มข้นของคาร์บอไฮเดรท ความเข้มข้นของแร่ธาตุ และค่า pH ของอาหาร แหล่งไนโตรเจนจะมีผลทั้งปริมาณเอนไซม์ที่จะสร้าง และเวลาในการสร้างเอนไซม์ ช่วงของการสร้างเอนไซม์แบ่งเป็น 2 ช่วง คือ หลังจาก 3 วัน และหลังจาก 6 วัน ตัวเหนี่ยวนำการสร้างเอนไซม์คือ มอลโตส แป้ง เด็กซตริน และกลูโคส ส่วนซูโครส แลคโตส ฟรุคโตสและกาแลคโตส จะทำให้การสร้างเอนไซม์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เกิดขึ้นน้อยลง แคลเซียมและแบเรียม จะกระตุ้นการสร้างเอนไซม์ เบต้า-อะมิเลส pH ที่เหมาะสมในการสร้างเอนไซม์อะมิเลส คือ 6.5-8.0 สารที่ใช้เป็นตัวลดฟองที่เกิดขึ้นในขณะหมัก คือ ออร์กาโนซิลิโคน

2.3.4 <u>การเหนี่ยวนำการสร้างเอนไซม์อะมิเลส</u>

<u>การควบคุมการเหนี่ยวนำ</u>

เอนไซม์ที่ผลิตขึ้นเป็นการค้าโดยเฉพาะเอนไซม์จำพวกไฮโดรเลส การเพิ่มประสิทธิภาพของการผลิตนั้น จะต้องอาศัยการเหนี่ยวนำ การที่จะสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างเอนไซม์ได้นั้นจะต้องอาศัยตัวเหนี่ยวนำ (Inducer) ซึ่งสามารถแบ่ง ตัวเหนี่ยวนำออกได้เป็น 3 พวก คือ

1. สารเหนี่ยวนำที่เป็นับสเตรท เช่น แป้งและเด็กซ์ตรินใช้เหนี่ยวนำการผลิตเอนไซม์อะมิเลส น้ำตาลซูโครสเหนี่ยวนำการผลิตเอนไซม์อินเวอร์เทส ยูเรียเหนี่ยวนำการผลิตเอนไซม์ยูรีเอส เปปโตนเหนี่ยวนำการสร้างโปติเอส เป็นต้น

2. สารเหนี่ยวนำที่ได้จากเมตาบอไลท์ของสับสเตรท เรียกว่า สารเหนี่ยวนำจากผลิตผล (Product-inducer) สารนี้มีหลายชนิดและจะทำหน้าที่เหนี่ยวนำการผลิตเอนไซม์จำเพาะในจุลินทรีย์ชนิดหนึ่ง ๆ

3. สารเหนี่ยวนำที่เติมลงไป (Gratuitous inducer) เป็นสารที่ไม่เหมือนกับที่กล่าวมาแล้วทั้งสองกลุ่ม แต่เป็นสารที่มีลักษณะคล้ายคลึงกับสารเหนี่ยวนำ (Analog inducer) ซึ่งเมื่อเติมลงไปในอาหารเลี้ยงจุลินทรีย์จะเพิ่มการผลิตเอนไซม์ขึ้น

ในกรณีที่สับสเตรท มีน้ำหนักโมเลกุลขนาดใหญ่จะไม่สามารถผ่านเข้าไปในเซลล์ได้ จุลินทรีย์จึงจำเป็นต้องสร้างเอนไซม์เพื่อทำการย่อยสลายโมเลกุลเหล่านั้นให้มีขนาดเล็กลง เพื่อที่เซลล์สามารถจะดูดซึมเข้าไปได้ ซึ่งการสังเคราะห์อะมิเลสอาศัยหลักการดังกล่าว สำหรับสารเหนี่ยวนำในการสร้างอะมิเลสส่วนใหญ่ ได้แก่ แป้ง และมอลโตส หรือ พวกโอลิโกแซคคาไรด์ หรือสารประกอบที่มีพันธะ อัลฟา-1,4 กลูโคซิดิก เป็นต้น จากการสำรวจการทดลองของ Suzuki และ Tanabe พบว่า เมื่อใดก็ตามที่สับสเตรทมีความเข้มข้นของ โอลิโกแซคคาไรด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สูง ๆ จะมีผลทำให้การสร้างเอนไซม์ของจุลินทรีย์สูงตามไปด้วย

การกดดันคาตาบอไลท์ (Catabolite repression)

การควบคุมการสังเคราะห์เอนไซม์บางชนิดอาจจะเกิดจากการกดดันคาตาบอไลท์ ซึ่งมีหลักการคล้ายคลึงกับการกดดันย้อนกลับ คือการควบคุมการเกิด การถอดระหัส เอนไซม์ชนิดที่จะถูกควบคุมโดยการกดดันคาตาบอไลท์ คือชนิด ตัวเหนี่ยวนำคาตาบอไลท์ ซึ่งเกิดจากสารประกอบคาร์บอน ดังนั้นเมื่อเลี้ยงจุลินทรีย์ในอาหารที่มีแหล่งคาร์บอนชนิดที่เซลล์พร้อมจะนำไปใช้ได้เลย โอกาสที่จะเกิดการกดดันคาตาบอไลท์ก็จะมีมาก เนื่องจากคาร์บอนเหล่านี้จะทำให้ความเข้มข้นของ Cyclic adenosine 3',5-monophosphatse (cAMP) ที่อยู่ภายในเซลล์ลดลง มีผลทำให้ไม่มีการสร้างเอนไซม์

การสร้างเอนไซม์ของจุลินทรีย์สายพันธุ์ใด ๆ ก็ตาม ขบวนการที่มีความสำคัญอย่างยิ่ง คือ ขบวนการ การกดดันคาตาบอไลท์

การที่จุลินทรีย์สามารถสร้างเอนไซม์อะมิเลสได้ในปริมาณมาก ๆ นั้น ในสารตั้งต้นจะต้องประกอบด้วย กลูโคส กลูตาเมท และ อะลานีน เพื่อใช้สำหรับเป็นแหล่งพลังงานและภายใต้สภาวะที่มีแหล่งคาร์บอนจำกัดการสร้างอะมิเลสจะลดลงเมื่ออัตราการเจริญเพิ่ม

2.3.4 ประโยชน์ของเอนไซม์อะมิเลสในอุตสาหกรรม

ดังที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้นว่า อะมิเลสเป็นเอนไซม์ที่มีความสำคัญในอุตสาหกรรมอาหาร และอุตสาหกรรมอื่น ๆ มากมาย โดยเฉพาะอุตสาหกรรมที่ต้องใช้แป้งเป็นวัตถุดิบ เช่น

1. อุตสาหกรรมการผลิตแอลกอฮอล์
2. อุตสาหกรรมการผลิตน้ำตาลซีรับ
3. อุตสาหกรรมการทำขนมปัง
4. อุตสาหกรรมการทอผ้า
5. อุตสาหกรรมการผลิตเบียร์
6. อุตสาหกรรมผลิตผงซักฟอก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

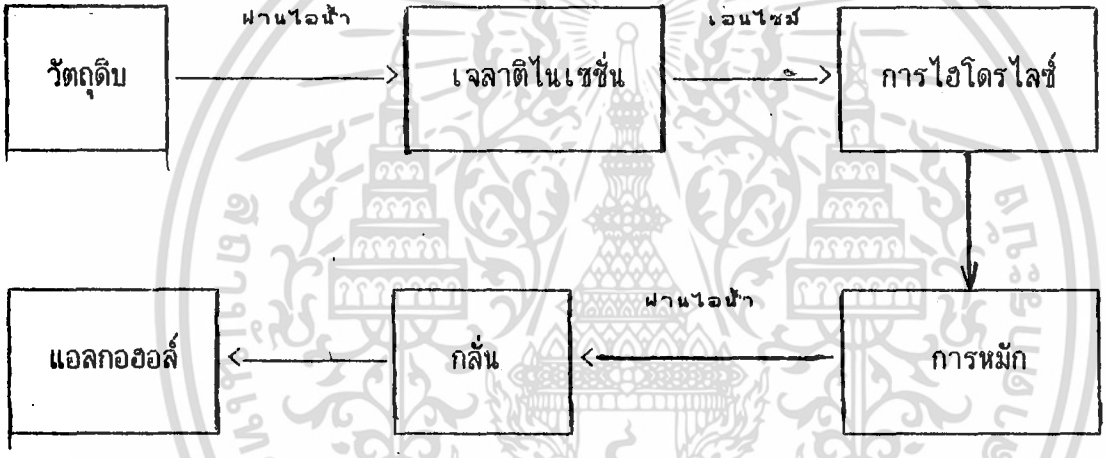
7. อุตสาหกรรมการผลิตยาช่วยย่อย (Digestive aids)

<u>อุตสาหกรรมการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์</u>

เครื่องดื่มแอลกอฮอล์เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้มีการผลิตมาหลายร้อยปีแล้ว ในระยะแรกของการผลิตเป็นการเปลี่ยนน้ำผลไม้ให้เป็นแอลกอฮอล์ โดยอาศัยจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในธรรมชาติ แต่ในปัจจุบันสามารถใช้วัตถุดิบในการผลิตได้หลายชนิด

ขบวนการผลิต

ขบวนการหลักของการผลิตแสดงดังรูปที่ 2-11



<u>รูปที่ 2-11</u> แสดงขบวนการผลิตแอลกอฮอล์

เริ่มจากการนำวัตถุดิบผ่านไอน้ำจากนั้นนำเข้าสู่ขบวนการเจลาติไนเซชั่น ซึ่งเป็นขั้นตอนทำให้แป้งมีความหนืดโดยการใช้ความร้อนเพื่อให้เอนไซม์ทำงานได้ดีขึ้น การไฮโดรไลซ์ เป็นการสลายโมเลกุลของแป้งให้เล็กลงโดยใช้เอนไซม์เพื่อให้ได้น้ำตาลก่อนเข้าสู่ขบวนการหมัก ในขั้นตอนนี้จะมีเอนไซม์มาเกี่ยวข้องซึ่งสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ขั้นตอนย่อย ๆ คือ

ลิควิแฟคชั่น เป็นขั้นตอนที่ทำการสลายแป้งให้มีโมเลกุลเล็กลงโดยใช้แอลฟาอะมิเลส

แซคคาริฟิเคชั่น เป็นขั้นตอนในการย่อยสลายแป้งต่อเพื่อให้ได้น้ำตาลกลูโคส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยใช้อะมิโลกลูโคซิเดส

หลังจากผ่านการไฮโดรไลซ์แล้วก็จะผ่านเข้าสู่ขบวนการหมัก ซึ่งเป็นขั้นตอนการเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์โดยยีสต์ จากนั้นนำไปผ่านขบวนการกลั่นเพื่อทำให้ได้แอลกอฮอล์บริสุทธิ์

อุตสาหกรรมการผลิตน้ำตาล

เป็นการใช้อะมิโลกลูโคซิเดสเปลี่ยนแป้งที่ผ่านขบวนการ ลิควิแฟคชั่นแล้วให้กลายเป็น กลูโคส ซีรัป ซึ่งนำไปใช้ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ มากมาย เช่น อุตสาหกรรมการผลิตลูกกวาด ขนมหวาน ไอศครีม แยม เยลลี่

อุตสาหกรรมการผลิตขนมปัง

การทำให้ขนมปังฟูนั้นเป็นปัจจัยสำคัญในอุตสาหกรรมการผลิตขนมปัง การทำให้ขนมปังฟู คือการทำให้เกิดแกซคาร์บอนไดออกไซด์ในขนมปังนั่นเอง ซึ่งในปัจจุบันมีด้วยกัน 2 วิธี คือ

1. เติมคาร์บอเดรทในแป้งทำขนมปังหรือใช้ผงฟู

2. การใช้เมตาบอลิซึมของน้ำตาลโดยจุลินทรีย์ จุลินทรีย์ที่ใช้ คือ ยีสต์ขนมปัง ในปัจจุบันได้ใช้เอนไซม์อะมิเลสเข้าช่วยในการย่อยสลายแป้งให้เป็นน้ำตาลบางส่วนในขั้นตอนการเตรียม โด (dough)

อุตสาหกรรมการทอผ้า

ในอุตสาหกรรมการทอผ้านั้นจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องทำให้เส้นด้ายที่จะนำมาทอนั้นเหนียวหรือแข็งเสียก่อนโดยการนำไปชุบแป้ง มิฉะนั้นเส้นด้ายจะขาดในระหว่างการทอ หลังจากทอเสร็จแล้วจำเป็นจะต้องล้างแป้งออก ในขั้นตอนนี้เองที่จะต้องอาศัยเอนไซม์อะมิเลสเพื่อช่วยในการย่อยแป้ง

อุตสาหกรรมการผลิตเบียร์

ขั้นตอนในการผลิตเบียร์ที่สำคัญขั้นตอนหนึ่ง คือ ขั้นตอนการทำมอลท์(Malting) ซึ่งภายในมอลท์จะมีเอนไซม์อะมิเลสอยู่ อะมิเลสในอุตสาหกรรมเบียร์นั้นจะมีหน้าที่ในการย่อยสลายส่วนผสมของมอลท์ และธัญพืช เพื่อเปลี่ยนแป้งในธัญพืชให้เป็นน้ำตาลเพื่อที่ยีสต์จะสามารถ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำไปใช้ในขบวนการเมตาบอลิซึมเพื่อให้ได้เป็นแอลกอฮอล์

อุตสาหกรรมการผลิตผงซักฟอก

ใช้อะมิเลสซึ่งผ่านขบวนการต่าง ๆ ให้อยู่ในรูปผงแล้วมาผสมลงในผงซักฟอก เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการชะล้าง ซึ่งคุณสมบัติของอะมิเลสที่ใช้ผสมในผงซักฟอกมีดังนี้ คือ

1. ต้องมีความคงตัวสูงเมื่ออยู่ในผงซักฟอก
2. จะต้องเกิดปฏิกิริยาได้ดีที่อุณหภูมิที่ใช้งาน
3. จะต้องย่อยสลายสับสเตรทได้หลายชนิด
4. ทำเป็นผงได้ง่าย
5. ต้องทำปฏิกิริยาได้ดีที่ pH เป็นด่าง
6. ใช้เวลาการทำงานน้อย

อุตสาหกรรมการผลิตยาช่วยย่อย

เนื่องจากอะมิเลสเป็นเอนไซม์ที่พบในระบบย่อยอาหารของมนุษย์ ในบางครั้งร่างกายอาจเกิดความผิดปกติเกี่ยวกับเอนไซม์ได้เช่นเอนไซม์อะมิเลสไม่ทำงานทำให้ร่างกายขาดสารอาหารประเภทคาร์บอไฮเดรท ดังนั้นอะมิเลสจึงถูกผลิตขึ้นในรูปของยาช่วยย่อย เมื่อรับประทานเข้าไปแล้วร่างกายสามารถย่อยอาหารจำพวกแป้งให้กลายเป็นกลูโคสและลำไส้สามารถดูดซึมนำไปใช้ได้

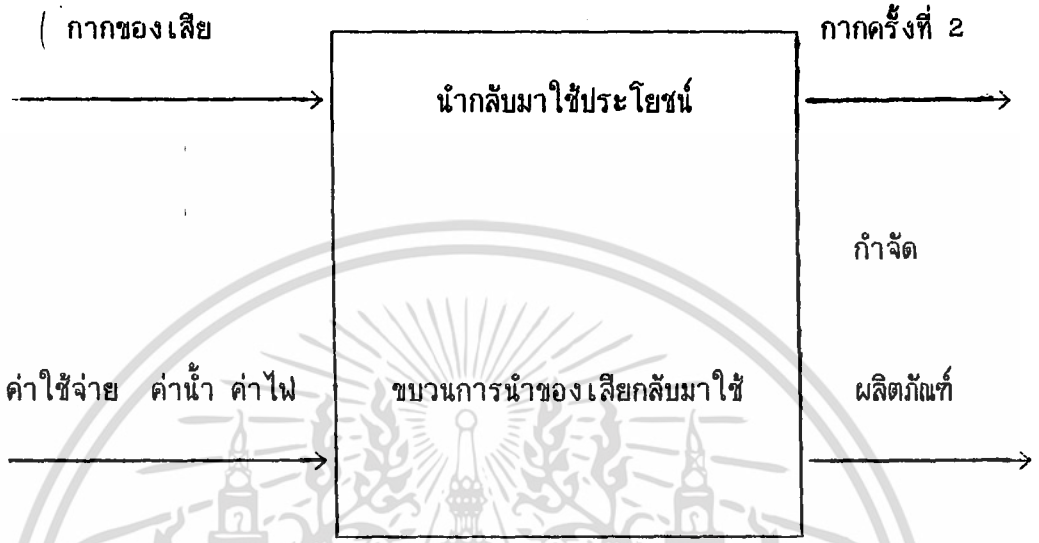
2.4 การใช้ประโยชน์จากกากของเสีย

ปัญหาที่สำคัญสำหรับโรงงานอุตสาหกรรม คือ ปัญหาการกำจัดของเสีย ซึ่งถือได้ว่าเป็นการสูญเสียของโรงงานอุตสาหกรรม ในการที่จะกำจัดกากของเสียได้มีการพยายามศึกษาวิธีที่จะทำให้เกิดการสูญเสียน้อยที่สุดในการกำจัด และพบว่าในกากของเสียของโรงงานอุตสาหกรรมส่วนมากแล้วสามารถจะนำกลับมาใช้ได้อีก แต่อย่างไรก็ตามการนำของเสียกลับมาใช้ประโยชน์ต้องคำนึงถึงปัจจัยต่อไปนี้ คือ

1. เทคโนโลยีในการนำของเสียกลับมาใช้ประโยชน์
2. ผลทางเศรษฐกิจ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยหลักการแล้ว การที่จะนำของเสียกลับมาใช้ประโยชน์ค่าใช้จ่ายต่าง ๆ ในการนำของเสียกลับมาใช้ประโยชน์ ตามหลักการของ Input-Output model (รูปที่ 2-12)



รูปที่ 2-12 แสดงปัจจัยที่ต้องคำนึงถึงในการใช้ประโยชน์จากของเสีย

ซึ่งหลักการดังกล่าวได้จากการคำนวณดังนี้

$$P = Rd + Rs - (Cw + Cu + Com)$$

P = กำไรจากการนำของเสียกลับมาใช้ประโยชน์

Rd = รายจ่ายในการกำจัดของเสีย

Rs = รายได้จากผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำของเสียกลับมาใช้ประโยชน์

Cu = รายจ่ายค่าน้ำ ค่าไฟ

Cw = รายจ่ายในการกำจัดของเสียครั้งที่ 2

Com = รายจ่ายด้านค่าแรง การปฏิบัติการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

การดำเนินงานวิจัย

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 ตะก่อนซอสปรุงรส (Sample)

3.1.2 เครื่องมือในการวิเคราะห์

-กระดาษอลูมิเนียม (Aluminium foil)

-กระดาษกรอง (Whatman filter paper No.1&42)

-กรวยแก้ว

-กระบอกตวง

-เทอร์โมมิเตอร์ (Thermometer)

-ตะเกียงบุนเซน (Bunsen burner)

-ขาตั้ง (Triangle)

-คีมสำหรับจับ (Tong)

-ช้อนตักสาร (Spatula)

-ถ้วยกระเบื้องเคลือบ (Porcelain crucible)

-บิวเรต (Burette)

-บีกเกอร์ (Beaker)

-เครื่องมือชุดวิเคราะห์โปรตีน (Kjeldahl apparatus)

-เครื่องมือชุดวิเคราะห์ไขมัน (Soxhlet apparatus)

-เตาไฟฟ้า (Heating mantle)

-ภาชนะดูดความชื้น (Dessicator)

-ตู้อบ (Incubator)

-เครื่องชั่ง (Balance)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

-เครื่องเขย่า (Shaker)

-เครื่องวัด พีเอช (pH meter)

-เตาเผา (Muffle furnance)

3.1.3 เคมีภัณฑ์

-กรดเกลือ (Hydrochloric acid)

-โซดาไฟ (Sodiumhydroxide)

-กรดกำมะถัน (Sulfuric acid)

-คอปเปอร์ซัลเฟต (Coppersulfate)

-โปรแตสเซียมซัลเฟต (Potassiumsulfate)

-เฮกเซน (Hexane)

-Brom-cresol green

-กรดบอริค เข้มข้น 4%

-Acetate buffer 0.1 M pH 5.0

-สารละลาย Ninhydrin 0.2% ใน เอธานอล 95 %

-อาหารเลี้ยงเชื้อ YM

-อาหารเลี้ยงเชื้อ WE-1

-สารละลาย โซเดียมคลอไรด์ 0.85 %

3.2 <u>วิธีการทดลอง</u>

<u>ตอนที่ 1</u> การวิเคราะห์คุณสมบัติเบื้องต้นของตะกอนซอสปรุงรส

<u>การทดลองที่ 1.</u> การตรวจสอบลักษณะทางกายภาพของตะกอน

<u>ขั้นตอนการทดลอง</u>

1. สังเกตด้วยตาเปล่า โดยสังเกตลักษณะรูปร่างของตะกอน สี และ ความ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถในการดูดความชื้น โดยตั้งตะกอนทิ้งไว้ในอากาศเป็นเวลา 24 ชม. และสังเกตการเปลี่ยนแปลงของตะกอน บันทึกผล

2. สังเกตจากกล้องจุลทรรศน์ โดยนำตะกอนซอสปรุงรสมาบดให้ละเอียด และนำไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ใช้กำลังขยายที่ 40X สังเกตลักษณะของตะกอน บันทึกผล

การทดลองที่ 2. การตรวจสอบคุณสมบัติการละลายของตะกอน

ก. การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างของตัวทำละลาย

ขั้นตอนการทดลอง

1. เตรียมน้ำกลั่นที่ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างด้วย สารละลายกรดเกลือ (6-นอร์มอล) ให้ได้พีเอชเป็น 1,2,3,...,12 จำนวน 200 มล.

2. นำกระดาษกรองไปอบที่อุณหภูมิ 60° ซ จนกระทั่งได้น้ำหนักคงที่ ชั่งน้ำหนักกระดาษกรอง และบันทึกไว้

3. ชั่งตัวอย่างโดยประมาณ 2 กรัม ผสมกับน้ำกลั่นที่ปรับพีเอชแล้ว จำนวน 100 มล.

4. นำเข้าเครื่องเขย่า โดยใช้ความเร็วรอบที่ 100 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที จากนั้นนำมากรองผ่านกระดาษกรอง แยกสารละลายเก็บใส่ขวดที่มีฝาปิดทำการวิเคราะห์ ส่วนตะกอนนำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 80°ซ จนกระทั่งแห้งและน้ำหนักคงที่ นำเข้าเก็บในภาชนะดูดความชื้นจนเย็น นำไปชั่ง บันทึกผลการทดลอง

ข. การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ

ขั้นตอนการทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างน้ำหนักประมาณ 2 กรัม ผสมกับน้ำกลั่นที่ปรับพีเอชที่เหมาะสม (ได้จากการทดลองตอนที่ 1) จำนวน 100 มล.

2. นำเข้าเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิต่าง ๆ คือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

20,30,40,50,60 และ70 °ซ นาน 30 นาที

3. นำไปกรองผ่านกระดาษกรองที่ทราบน้ำหนักแน่นอน เก็บสารละลายไว้วิเคราะห์ ส่วนตะกอนที่กรองได้นำไปอบที่อุณหภูมิ 80 °ซ จนกระทั่งแห้งและได้น้ำหนักคงที่ นำเข้าไปเก็บในภาชนะดูดความชื้นจนเย็น นำไปชั่ง บันทึกผลการทดลอง

ค. <u>การเปลี่ยนแปลงเวลา</u>

<u>ขั้นตอนการทดลอง</u>

1. ชั่งตัวอย่างน้ำหนักให้ได้แน่นอน 5 กรัม ผสมกับน้ำกลั่นที่ปรับพีเอชด้วยกรดเกลือ และกรดซัลฟูริกที่พีเอชและอุณหภูมิที่เหมาะสม (ได้จากการทดลองตอนที่ 1 และ 2)

2. เวลาที่ใช้ในการทดลอง คือ 2,4,6,...,22 ชม.

3. นำไปกรองผ่านกระดาษกรองที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอน สารละลายที่ได้เก็บไว้วิเคราะห์ ส่วนตะกอนนำไปอบที่อุณหภูมิ 80 °ซ จนกระทั่งแห้งและได้น้ำหนักคงที่ นำเข้าเก็บในภาชนะดูดความชื้นจนเย็น นำไปชั่ง และบันทึกผลการทดลอง

ง. <u>การใช้กรดเป็นตัวทำละลาย</u>

<u>ขั้นตอนการทดลอง</u>

1. ชั่งตัวอย่างน้ำหนัก 10 กรัม ผสมกับสารละลายกรดเกลือที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ดังนี้ 5,10,15 และ20% จำนวน 100 มล.

2. นำไปต้มด้วยตะเกียงบุนเซน นาน 2 ชม. หรือจนกระทั่งไม่มีการเปลี่ยนแปลง สังเกตการเปลี่ยนแปลงทุก ๆ 15 นาที

3. หลังจากครบกำหนดแล้วนำไปกรองด้วยกระดาษกรอง(Whatman เบอร์ 1) ส่วนที่เป็นสารละลายเก็บไว้ทำการวิเคราะห์ ส่วนตะกอนนำไปอบแห้ง ชั่งน้ำหนัก และบันทึกผล

4. นำสารละลายที่ได้จากการละลายตะกอนด้วยกรดเกลือเข้มข้น 20% มาปรับ pH ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 6 N ให้ได้ pH ประมาณ 4 นำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองที่ 3 การตรวจหาความชื้นของตะกอนซอสปรุงรส

ขั้นตอนการทดลอง

1. พับกระดาษอลูมิเนียมเป็นกระทงขนาดพอเหมาะ นำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 80 °ซ นาน 2 ชม. จากนั้นนำเข้าเก็บในภาชนะดูดความชื้น ทำเช่นนั้น 3 ครั้ง หรือ จนกระทั่งได้น้ำหนักคงที่ บันทึกน้ำหนักคงที่ของกระทง

2. ชั่งตัวอย่างให้มีน้ำหนักแน่นอนประมาณ 2 กรัม ใส่ลงในกระทงที่เตรียมได้จากข้อ 1 แล้วนำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 100±3 °ซ เป็นเวลา 1 ชม. นำออกไปใส่ภาชนะดูดความชื้นจนกระทั่งเย็น จากนั้นนำไปอบต่ออีกประมาณ 10-15 นาที ทำเช่นนี้จนกระทั่งได้น้ำหนักคงที่ บันทึกน้ำหนักของตะกอน คำนวณหาเปอร์เซนต์ความชื้น บันทึกผลการทดลอง

การทดลองที่ 4. การวิเคราะห์หาโปรตีนโดยวิธี Kjeldahl

ขั้นตอนการทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างให้ทราบน้ำหนักแน่นอนประมาณ 0.2-0.3 กรัม นำมาใส่ใน Kjeldahl digestion flask

2. เติม $CuSO_4$: K_2SO_4 ในปริมาณ 2 : 10 กรัม และลูกแก้ว 2-3 เม็ด เพื่อป้องกันการกระเด็นอย่างแรง เทกรดกำมะถันเข้มข้น 25 มล. ลงไปใน Kjeldahl digestion flask โดยค่อย ๆ เทล้างคอขวดไปด้วย เขย่าอย่างระมัดระวังจนกระทั่งผสมกันดี

3. นำไปย่อยโดยในตอนเริ่มต้นนั้นใช้ไฟอ่อน ๆ ก่อนจนเมื่อหยุดกระเด็นจึงให้ไฟแรง ย่อยจนกระทั่งสารละลายเป็นสีฟ้าหรือสีเขียวใส ย่อยต่ออีก 10 นาที เพื่อให้แน่ใจว่าการออกซิเดชันนั้นเกิดอย่างสมบูรณ์แล้ว

4. ดับไฟ ปล่อยให้เย็น เติมน้ำกลั่นปริมาตร 300 มล. เขย่าจนสาร ละลายหมด เตรียมอุปกรณ์สำหรับกลั่นให้เรียบร้อย

5. ตวงสารละลายกรด H_2BO_3 เข้มข้น 4 % 50 มล. ลงใน ขวดลูกชมพู่ขนาด 250 มล. จัดให้ปลายของ Condenser จุ่มอยู่ในกรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. ค่อย ๆ เทสารละลาย NaOH 50 % จำนวน 80 มล. ลงใน Kjeldahl flask แล้วรีบต่อเข้ากับ condenser และเขย่าให้เข้ากันดี จะสังเกตเห็นสารละลายจะเป็นสีน้ำเงินในตอนแรก จากนั้นค่อยเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล

7. กลั่นจนกระทั่งสารละลายในขวดลูกชมพู่มีปริมาตร 150-200 มล.

8. หยด Brom-cresol green 2-3 หยดนำไปติเตรท กับสารละลายกรดกำมะถันเข้มข้น 0.1 N จนกระทั่งอินดิเคเตอร์เปลี่ยนเป็นไม่มีสี บันทึกผล

9. ทำ blank โดยทำการทดลองเช่นเดิม แต่ไม่ใส่ตัวอย่าง

<u>การทดลองที่ 5</u> การตรวจหาปริมาณไขมัน

<u>ขั้นตอนการทดลอง</u>

1. ใช้วิธีการของ A.O.A.C. 14.081 [21] โดยใช้ตัวอย่างที่ผ่านการอบจนน้ำหนักคงที่แล้วที่อุณหภูมิ 103±3 °ซ.

2. ชั่งตัวอย่างให้มีน้ำหนักแน่นอน ประมาณ 2-5 กรัม แล้วนำไปสกัดด้วยเฮก-เซน นาน 6-8 ชม. ด้วย sohxlet apparatus

3. ระเหยตัวทำละลายออกจากน้ำมัน แล้วอบที่อุณหภูมิ 105 °ซ. นาน 30 นาที ปล่อยให้เย็นในภาชนะกันความชื้น ชั่งน้ำหนัก คำนวณหาปริมาณไขมันที่สกัดได้คิดเป็นร้อยละ

<u>การทดลองที่ 6</u> การวิเคราะห์หาเถ้า

<u>ขั้นตอนการทดลอง</u>

1. ใช้วิธีการของ A.O.A.C. 14.077 [21] โดยชั่งตัวอย่างน้ำหนักแน่นอนประมาณ 2 กรัม ใส่ในครูซิเบิลที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอน

2. นำไปเผาให้หมดควันก่อนที่จะเข้าเตาเผาที่อุณหภูมิ 550-600 °ซ. นานประมาณ 2 ชม. หรือจนได้เถ้าสีขาวน้ำหนักคงที่ ปล่อยให้เย็นในภาชนะดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักคำนวณหาปริมาณคิดเป็นร้อยละ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองที่ 7 การวิเคราะห์หาปริมาณเส้นใย

1. ใช้วิธีการของ A.O.A.C. 14.079 [21] โดยใช้ตัวอย่างแน่นอนประมาณ 2 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 600 มล. นำไปย่อยด้วยสารละลายกรดกำมะถันเข้มข้น 1.25 % จำนวน 200 มล. นาน 30 นาที กรองด้วยกระดาษกรอง (Whatman No.42) ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ถูกทำให้ร้อนจนหมดฤทธิ์กรด

2. นำมาย่อยต่อด้วยสารละลาย NaOH เข้มข้น 1.25 % จำนวน200 มล.นาน 30 นาทีกรองผ่านกระดาษกรองที่ทราบน้ำหนักแน่นอน ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ถูกทำให้ร้อนจนหมดฤทธิ์ด่าง

3. นำตัวอย่างพร้อมกระดาษกรองไปอบที่อุณหภูมิ 105 °ซ. นาน 3 ชม. โดยใส่ในดรูซิเบิลที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอนชั่งน้ำหนักหลังจากปล่อยให้เย็นในภาชนะดูดความชื้น

4. นำไปเผาตามวิธีการหาเถ้า เพื่อหาน้ำหนักเถ้าที่ได้ มาหักออกจากน้ำหนักที่เหลือภายหลังการย่อยด้วยด่าง แล้วจึงคำนวณปริมาณเส้นใยคิดเป็นร้อยละ

การทดลองที่ 8 การตรวจหากรดอะมิโนโดยวิธี Ninhydrin

ขั้นตอนการทดลอง

1. เตรียมหลอดทดลองบรรจุบัฟเฟอร์ปริมาตร 2 มล.

2. เติมสารละลายที่จะทดสอบ(สารละลายที่ได้จากการทดลองที่ 2) ลงในแต่ละหลอด ๆ ละ 1 มล.

3. เติมสารละลาย Ninhydrin หลอดละ 1 มล. นำไปอุ่นในอ่างน้ำเดือด 5 นาที สังเกตผล

การทดลองที่ 9 การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน

การทดสอบ พันธะเปปไทด์ ตั้งแต่ 2 พันธะขึ้นไป โดยจะสามารถทำปฏิกิริยากับ คอปเปอร์ซัลเฟต ให้สารละลายเปลี่ยนเป็นสีม่วง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตอนที่ 2 การใช้ประโยชน์

การทดลองที่ 1 การศึกษาการเจริญของ Endomycopsis fibuligera ในอาหาร YM เปรียบเทียบกับอาหาร WE-1 ที่ผสมตะกอนซอสปรุงรส

ขั้นตอนการทดลอง

1. WE-1 Medium เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วยแหล่ง คาร์บอนและวิตามิน ที่สกัดจากกากอุตสาหกรรม และสามารถใช้เป็นอาหารเพาะเลี้ยง Endomycopsis fibuligera ได้ Endomycopsis fibuligera ที่ใช้ในการทดลองนี้เป็นสายพันธุ์ที่ได้รับการปรับปรุงให้มีประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์อะมิเลสได้ดี

ทั้ง Endomycopsis fibuligera และ WE-1 medium ได้รับความอนุเคราะห์จาก ดร.เรียม เตชะโสภณมณีและคณะ ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะครุศาสตร์-อุตสาหกรรมและวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

การเก็บ Stock culture ใช้เลี้ยงในอาหาร YM ที่ 31 °ซ. 18-24 ชม. จากนั้นเก็บไว้ที่ 10 °ซ. และถ่ายเชื้อทุก ๆ 3 เดือน

2. เขี่ยเชื้อจากหลอดทดลองที่ได้จากข้อ 1 ลงในอาหารเหลว YM 50 มล.ที่บรรจุอยู่ในขวดลูกชมพู่ขนาด 250 มล. จำนวน 2 ขวด ๆ ละ 1 Loop เขย่าเบา ๆ บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชม.

3. หลังจากครบ 24 ชม. ถ่ายเชื้อลงสู่อาหารเหลว YM 100 มล. ที่บรรจุอยู่ในขวดลูกชมพู่ขนาด 250 มล. เขย่าให้เข้ากันเบา ๆ บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชม.

4. หลังจากครบ 24 ชม. เลือกขวดที่เชื้อมีการเจริญดี ถ่ายเชื้อลงสู่อาหารเหลว YM และ WE-1 500 มล. ที่บรรจุอยู่ในขวดลูกชมพู่ขนาด 1,000 มล. ขวดละ 0.5 มล. เขย่าเข้าด้วยกันเบา ๆ ใช้ปิเปตดูดเอาสารละลายจากขวดทั้งสองมาขวดละ 0.1 มล. และเททับด้วย YM agar 20 มล. ทิ้งไว้ให้วุ้นแข็ง และทำ plate count จับเวลาที่ 0 นาที ทำเช่นนี้ทุก ๆ 4 ชม. หลังจากบ่มไว้ 18 ชม. ในจานเพาะเชื้อแล้วทำการนับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้นบันทึกผล นำข้อมูลที่ได้มาเขียนกราฟการเจริญเติบโต เพื่อเปรียบเทียบระหว่างอาหารทั้ง 2 ชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองที่ 2 การตรวจหาปริมาณเอนไซม์อะมิเลส

ขั้นตอนการทดลอง

1. ทำควบคู่กันไปกับการทดลองที่ 1 ข้อ 4 คือ เมื่อดูดเอาสารละลายจากขวดมา 0.1 มล.แล้ว ทำการดูดสารละลายจากขวดเติมมา 5 มล. แล้วนำไปเข้าเครื่องเหวี่ยง ที่ความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาที นาน 30 นาที นำสารละลายที่ได้ไปตรวจหาปริมาณเอนไซม์โดยวิธี Henry and Chiamori [22]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

ตะกอนซอสปรุงรสที่นำมาศึกษาในโครงงานพิเศษนี้ มีกลิ่นรสคล้ายคลึงกับซอสปรุงรส จากการสังเกตุลักษณะของตะกอนด้วยตาเปล่าพบว่า ตะกอนมีสีน้ำตาล รูปร่างไม่แน่นอน มีทั้งลักษณะที่เป็นแผ่นและเป็นผงละเอียด (ดังรูปที่ 4-1) จากการศึกษาลักษณะของตะกอนโดยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 40X พบว่าตะกอนมีลักษณะโปร่งแสงที่บริเวณส่วนกลางของตะกอน ส่วนบริเวณขอบ ๆ ของตะกอน จะมีสีเขียวเข้ม ซึ่งสันนิษฐานว่าเป็นรงควัตถุที่มีอยู่ในถั่วเหลืองที่ถูกสลายไม่หมด

รูปที่ 4-1 แสดงลักษณะของตะกอนซอสปรุงรส

การศึกษาคุณสมบัติทางด้านความสามารถในการละลายของตะกอน โดยทำการเปลี่ยนแปลงสภาวะต่าง ๆ คือ ความเป็นกรด-ด่าง , อุณหภูมิ , เวลาในการละลาย , ตัวทำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช

ละลาย (กรดไฮโดรคลอริค , กรดซัลฟูริค , กรดอะซิติก) และความเข้มข้นของตัวทำละลายต่าง ๆ ดังนี้ คือ 5 , 10 , 15 , 20 เปอร์เซนต์ (แสดงดังตารางที่ 4-1)พบว่า ตะกอนสามารถจะละลายได้ดีเมื่อใช้ กรดไฮโดรคลอริค ที่ความเข้มข้น 20 เปอร์เซนต์ อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการละลายคือ 100 °ซ. โดยใช้เวลาประมาณ 2 ชม.ลักษณะของสารละลายที่ได้หลังจากการละลายตะกอนซอสปรุงรส มีสีน้ำตาล ใส มีลักษณะคล้ายซอสปรุงรสทั่ว ๆ ไป

ความเข้มข้นของกรด ไฮโดรคลอริค (เปอร์เซนต์)	ความสามารถในการละลาย (เปอร์เซนต์)
5	76.80
10	80.10
15	91.05
20	92.40

ตารางที่ 4-1 แสดงความสามารถในการละลายของตะกอนที่อุณหภูมิ 100 °ซ.

เมื่อทำการศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของตะกอนแล้ว จึงนำตะกอนมาศึกษาคุณสมบัติทางเคมีของตะกอนซอสปรุงรส คุณสมบัติทางเคมีที่ทำการศึกษาได้แก่ ปริมาณโปรตีนโดยวิธีเจลดาห์ล พบว่าได้โปรตีนประมาณ 14 มิลลิกรัมต่อกรัมตะกอน แต่เมื่อนำมาทำการหาโปรตีนโดยวิธี ไบยูเรต พบว่า มีปริมาณที่ต่ำมากเกินกว่าที่จะตรวจพบโดยวิธีนี้หรืออาจจะไม่มีโปรตีนอยู่เลย

จากผลการทดลองทั้ง 2 วิธี และประกอบกับคุณสมบัติของตะกอนซอสปรุงรส ทำให้คาดว่าค่าโปรตีนที่หาได้โดยวิธีเจลดาห์ลนั้นอาจจะอยู่ในรูปของกรดอะมิโน จึงทำการทดส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยวิธี นินไฮดริน ผลปรากฏว่า สารละลายตัวอย่างเปลี่ยนเป็นสีม่วง จากหลักการของ นินไฮดริน ที่ว่า นินไฮดรินจะทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนที่มีหมู่อะมิโนอิสระ และ ให้สีของสารละลายเป็นสีม่วง แสดงว่า ในตะกอนมีกรดอะมิโนอยู่ จากการทดลองหาโปรตีนทั้ง 3 วิธี ทำให้สามารถสรุปผลได้ว่า ค่าโปรตีนที่หาได้โดยวิธีเจลดาห์ลนั้นอยู่ในรูปของกรดอะมิโน

สำหรับคุณสมบัติทางเคมีอื่น ๆ อันได้แก่ คาร์บอไฮเดรท ไขมัน ฯลฯ ปริมาณที่หาได้แสดงดังตารางที่ 4-2 และจากการตรวจหาเกลือแร่โดยใช้ Ion Specific Electrode สามารถตรวจพบ แคลเซียมในตะกอนซอสปรุงรส ซึ่งมีประมาณ 45.3 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร

องค์ประกอบทางเคมี	ปริมาณ
คาร์บอไฮเดรท	24.40 %
ไขมัน	2.30 %
โปรตีน	14.0 มก./ดซ.
เถ้า	25.34 %
เส้นใย	26.27 %
ความชื้น	20.17 %

ตารางที่ 4-2 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของตะกอนซอสปรุงรส

จากข้อมูลทางด้านคุณสมบัติเบื้องต้นของตะกอนซอสปรุงรสซึ่งพบว่า มีกรดอะมิโนอยู่ แต่เนื่องจากขีดจำกัดทางด้านเครื่องมือในการวิเคราะห์ จึงไม่ได้ทำการวิเคราะห์ ชนิดและปริมาณของกรดอะมิโน แต่ได้นำตะกอนไปศึกษาวิธีการใช้ประโยชน์โดยนำใช้แทนแหล่งไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อ WE-1 ซึ่งมีเพียงแหล่งคาร์บอนและไวตามินบางชนิดเท่านั้น เพื่อนำไปเลี้ยง Endomycopsis fibuligera เพื่อทำการเปรียบเทียบการเจริญของ Endomycopsis

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

fibuligera ที่เลี้ยงในอาหาร YM ซึ่งเป็นอาหารที่ Endomycopsis fibuligera สามารถเจริญได้ดี กับ อาหาร WE-1 ที่เติมตะกอนซอสปรุงรส ผลจากการศึกษาได้ว่า Endomycopsis fibuligera สามารถเจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ WE-1 ในช่วง 0-8 ชั่วโมงแรกจะสังเกตเห็นจำนวนโคโลนีของ Endomycopsis fibuligera ที่เลี้ยงในอาหาร WE-1 มีมากกว่าในอาหาร YM (แสดงดังรูปที่ 4-2)

ก. เชื้อที่เลี้ยงบนอาหาร WE-1 ข. เชื้อที่เลี้ยงบนอาหาร YM

รูปที่ 4-2 แสดงลักษณะโคโลนีของ Endomycopsis fibuligera ที่เลี้ยงบนอาหาร YM เปรียบเทียบกับ อาหาร WE-1

เมื่อนำข้อมูลที่ได้ (แสดงดังตารางที่ 4-3) มาเขียนกราฟการเจริญเติบโต จากกราฟ (แสดงดังรูปที่ 4-3) จะเห็นว่า ช่วงเวลา 0-8 ชั่วโมง จะเป็นช่วงที่เชื้ออยู่ในระยะ Lag phase ซึ่งพบว่าอัตราการเจริญของ Endomycopsis fibuligera ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ WE-1 ที่เติมตะกอนซอสปรุงรสจะมีค่าเท่ากับอัตราการเจริญเมื่อเลี้ยงในอาหาร YM คือมีค่าประมาณ 0.02 x 10^7 เซลล์ต่อชั่วโมง หลังจาก 8 ชั่วโมงไปแล้วพบว่า เซลล์เริ่มเข้าสู่ระยะ Log phase ในช่วงนี้พบว่า อัตราการเจริญของเชื้อ Endomycopsis fibuligera ที่เลี้ยงในอาหาร YM มีอัตราการเจริญมากกว่า ที่เลี้ยงในอาหาร WE-1 ประมาณ 2 เท่า คืออัตรา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

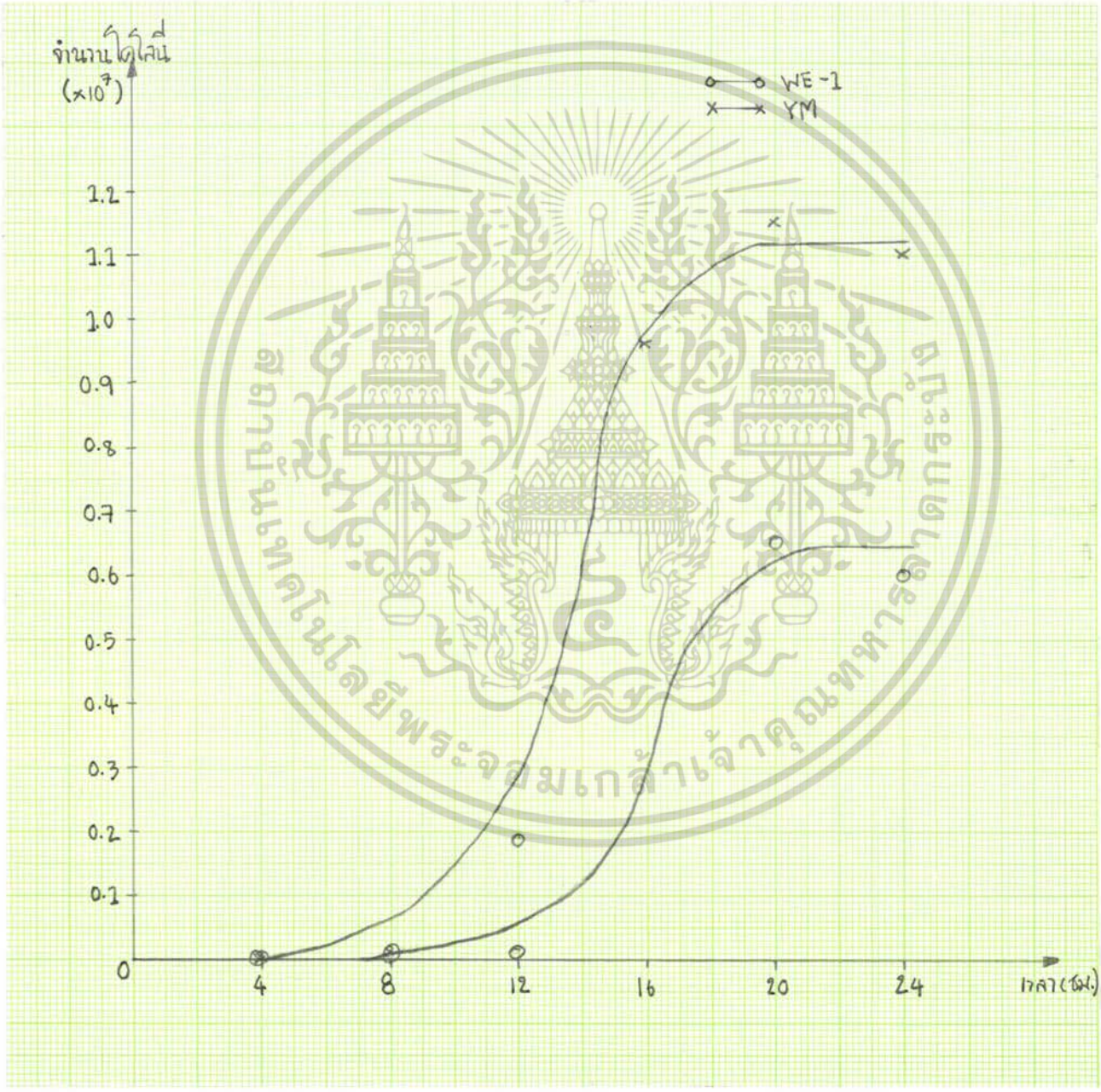
การเจริญของเชื้อที่เลี้ยงในอาหาร YM และ WE-1 เป็น 0.13 x 10^7 และ 0.27 x 10^7 เซลล์ตามลำดับ

เวลา (ชั่วโมง)	จำนวนโคโลนี ($x10^4$)	
	อาหาร YM	อาหาร WE-1
0	0.1	0.2
4	0.2	0.3
8	0.3	0.4
12	1080	12.9
16	960	184.5
20	1150	650
24	1100	604.7
28	592	284.5
32	465	233.5
36	388	220.9

ตารางที่ 4-3 ตารางแสดงจำนวนโคโลนีของเชื้อ Endomycopsis fibuligera ที่เลี้ยงในอาหาร WE-1 และ YM

เมื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณเอนไซม์ พบว่า ในช่วงระ Lag phase นั้นเชื้อยังจะไม่ทำการสร้างเอนไซม์ (ดังตารางที่ 4-3) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากในระยะ Lag phase นี้เซลล์ใช้สารอาหารไปเพื่อการเจริญเติบโตและสร้างองค์ประกอบที่สำคัญต่าง ๆ ภายในเซลล์ แต่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4-3 กราฟแสดงอัตราการเจริญของเชื้อ Endomycopsis fibuligera ที่เลี้ยงใน อาหาร WE-1 และในอาหาร YM

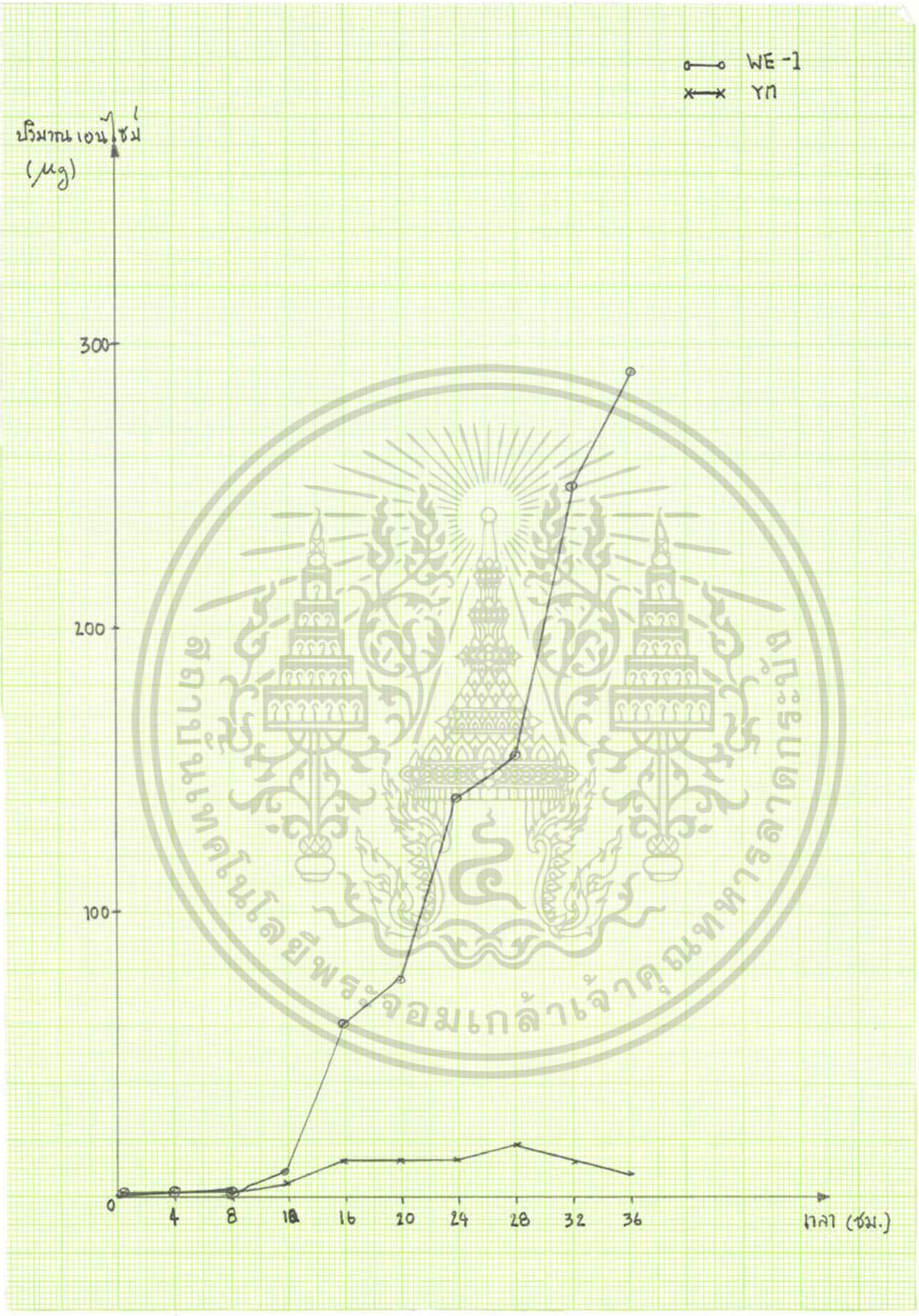
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อเซลล์เริ่มเข้าสู่ระยะ Log phase เซลล์จะเริ่มมีการสร้างเอนไซม์แต่ปริมาณที่สร้างมีปริมาณที่น้อย และจะสร้างเอนไซม์สูงขึ้นเรื่อย ๆ จนกระทั่งเซลล์เข้าสู่ระยะ Stationary phase ในระยะนี้เซลล์จะมีการสร้างเอนไซม์ในปริมาณที่สูงมาก เมื่อทำการเปรียบเทียบกับเซลล์ที่เลี้ยงในอาหาร YM พบว่าเซลล์ที่เลี้ยงในอาหาร YM มีการสร้างเอนไซม์อะมิเลสในปริมาณที่ต่ำ (แสดงดังรูปที่ 4-5)

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณเอนไซม์ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	
	อาหาร WE-1	อาหาร YM
0	0	0
4	0	0
8	0	0
12	4	8
16	12	62
20	12	75
24	12	120
28	16	135
32	10	250
36	5	290

ตารางที่ 4-4 ตารางแสดงปริมาณเอนไซม์ที่ผลิตโดย Endomycopsis fibuligera ที่เลี้ยงในอาหาร WE-1 และ YM

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4-4 กราฟแสดงปริมาณของเอนไซม์ที่ผลิตโดยเชื้อ Endomycopsis fibuligera ที่เลี้ยงบนอาหาร WE-1 และ YM

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

สรุปผลการทดลอง

โครงงานพิเศษนี้ เป็นโครงงานที่ศึกษาถึงคุณสมบัติและการใช้ประโยชน์เบื้องต้นของตะกอนซอสปรุงรส ซึ่งจากการผลการทดลองจะเห็นว่า ตะกอนซอสปรุงรสนี้เป็นกากโรงงานอุตสาหกรรมที่มีคุณค่าอีกชนิดหนึ่ง โดยจะเห็นได้ว่า ตะกอนมีองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญมากมาย โดยเฉพาะอย่างยิ่ง กรดอะมิโนและแคลเซียม ซึ่งเป็นตัวที่สำคัญในการเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างเอนไซม์อะมิเลส ซึ่งเอนไซม์ชนิดนี้มีประโยชน์มากมายในอุตสาหกรรมในปัจจุบัน ผลการทดลองที่ได้ สามารถพิสูจน์ให้เห็นว่าสมมติฐานที่ได้กล่าวไว้แล้วในบทนำนั้น เป็นความจริง คือ

1. ตะกอนซอสปรุงรสประกอบด้วยส่วนประกอบที่สำคัญที่มีในซอสปรุงรส คือ กรดอะมิโน ซึ่งจากการทดลองถึงแม้ปริมาณของกรดอะมิโนที่หาได้นี้จะค่อนข้างน้อยก็ตาม แต่ก็สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้อย่างคุ้มค่า

2. โดยสามารถนำไปผสมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ WE-1 ซึ่งจะมีแต่เพียงแหล่งคาร์บอนและวิตามินเท่านั้น ซึ่งจากผลการทดลองจะเห็นว่าเชื้อสามารถจะเจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ WE-1 ได้ดีเท่า ๆ กับ เชื้อที่เลี้ยงในอาหาร YM

3. นอกจากนี้ จะเห็นว่า ปริมาณเอนไซม์ที่ผลิตขึ้นโดยเชื้อ Endomycopsis fibuligera ที่เลี้ยงในอาหาร WE-1 ที่เติมกากตะกอนซอสปรุงรสลงไปนั้น มีมากกว่าในเชื้อที่เลี้ยงในอาหาร YM

4. นอกจากจะเป็นจริงตามสมมติฐานแล้ว จะเห็นว่าถ้ามีการศึกษากันอย่างจริงจังแล้ว จะสามารถช่วยลดปัญหาทางด้านมลภาวะอันเนื่องมาจากกากอุตสาหกรรมได้อีกด้วย

ข้อเสนอแนะ

โครงงานพิเศษนี้ เป็นเพียงการมุ่งศึกษาถึงคุณสมบัติและการใช้ประโยชน์จาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตะกอนซอสปรุงรสเท่านั้น ประกอบกับการขาดเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์บางส่วน ซึ่งถ้าหากจะได้มีการศึกษาต่อไปแล้วควรจะได้มีการวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณของกรดอะมิโน เพื่อเป็นประโยชน์ในการที่จะทำการศึกษาและปรับปรุงปริมาณของตะกอนที่เติมลงไปเพื่อให้สามารถผลิตเอนไซม์ได้มากขึ้น ตลอดจนศึกษาสภาวะต่าง ๆ ที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์ของ Endomycopsis fibuligera เพื่อให้สามารถขยายต่อไปจนถึงระดับอุตสาหกรรมต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

1. วิชัย สมชิต. "ซอสปรุงรสและซีอิ๊ว". วารสารอาหารและยา. 4(1-6). มค. - ธค. 2525 : หน้า 26 - 35.

2. พิชัย สราญรมย์. ความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับถั่วเหลือง. หน้า 394 - 397. ม.เกษตรศาสตร์ , กรุงเทพ ฯ . 2528.

3. นารา บุญหลง. "ซอสแมกกี้". วารสารวิทยาศาสตร์. 10(5) . พค. 2499 : หน้า 33 - 34.

4. กุลวดี กรองพาณิชย์. "น้ำปลาถั่วเหลือง". วารสารอาหาร. 6(4) . กค. - ธค. 2517 : หน้า 11 - 13.

5. ไพบูลย์ สุเมธาอักษร. อุตสาหกรรมการทำซีอิ๊วในเมืองไทย. หน้า 33 - 35. ม.เกษตรศาสตร์ , กรุงเทพ ฯ . 2523.

6. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม "มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำซอสปรุงรส", มอก. 8-2513.

7. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม "มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำซีอิ๊ว" มอก. 252-2521.

8. วันชัย สมชิต และ ลมัย ชูเกียรติวัฒนา. " ซีอิ๊วเคมี" วารสารอาหาร. 13(1). มค. - มีค. 2524 : หน้า 42 - 49.

9. Klare S. Markley. Soybeans and Soybean Products. pp. 210 - 215. Interscience Publisher Inc., New York , 1951.

10. Carl S. Pederson . Nutritious fermented food of the orient. in Microbiology of Food Fermentation. pp. 310 - 317. AVI Publishing ., New York , 1979.

11. วิชัย หฤทัยธนาสันต์ ."คุณลักษณะของน้ำซีอิ๊วที่มีคุณภาพดี". วารสารวิทยาศาสตร์การอาหาร. 10(1) . กพ.2521 : หน้า 12 - 16.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

12. Lynferd J. Wickerham , Lewis B. Lockwood , Pettijohn O. Glenn and George E. ward "Starch hydrolysis and fermentation by the Yeast Endomycopsis fibuligera" J. Bacteriology , 48(4) , 1944 : pp. 413 - 427.

13. Charles E.Skinner , Chester W. Emmons , and Henry M. Tsuchiya , Molds , Yeast and Actinomycetes. 274 . John Wiley & Sons , New York , 1948 .

14. N.J.W. Kreger-van Rij , Endomycopsis Dekker. The Yeast ... A Taxonomic Study. (J. Lodder 2nd edition) pp. 166 - 208. North-Holland Publishing , London , 1971.

15. V.P. Afanas'eva , "Growth cycle of the yeast like fungi Endomycopsis fibuligera and the accumulation of glucoamylase activity by It." Mikrobiologiya., 47(4) . 1978 : pp. 768 - 771.

16. Tony Godfrey , and Jon Reichelt ,Industial Enzymology. pp. 255 - 299 . The Nature Press , New York , 1983.

17. Allen I.Laskin , and Hubert A.Lechevalier , Handbook of Microbiology . Vol 3 . 654. CRS Press , Ohio , 1973.

18. Alan Wiseman , Handbook of Enzyme Biotechnology.pp. 254 - 255. John Wiley & Sons , New York , 1975.

19. William M.Fogarty , and Catherine T.Kelly , Amylases , amyloglucosidases and related glucanases. in Microbial enzyme and bioconvertions (A.H.Rose) Vol. 5. pp. 115 - 170. Academic Press , New York , 1980.

20. Gracheva I.M.,Lushchik T.A.,Tyrsin Yu.a.and Pinchukova , E.E. (1977). Biokhimiya . 42 , 1603.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

21. A.O.A.C. 1975. Official Method of analysis. (12 th ed.) Washington , D.C. The Association of Official Analytical Chemist.

22. Henry R.J., Determination of amylase in serum and urine. in Clinical Chemistry Principles and Technics , pp. 471-477. Harper & Row Publishers , New york , 1968.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

สูตรอาหาร YM

1. Yeast extract	3	กรัม
2. Malt extract	3	กรัม
3. Peptone	5	กรัม
4. กลูโคส	10	กรัม

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำ 1 ลิตร ให้ความร้อนประมาณ 90-100 °ซ. วัด pH ให้ได้ประมาณ 5.8-6.5

สูตรคำนวณหาปริมาณความชื้น

$$B - C / B - A \times 100$$

A = น้ำหนักกระทง

B = น้ำหนักกระทง + น้ำหนักตะกอนก่อนอบ

C = น้ำหนักกระทง + น้ำหนักตะกอนหลังอบจนน้ำหนักคงที่

การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนโดยวิธีเจลดาห์ล

ไนโตรเจนเป็นธาตุที่สำคัญในโปรตีน การวิเคราะห์สารอินทรีย์ไนโตรเจนจะทำให้ทราบถึงปริมาณโปรตีนทั้งหมดในอาหาร รวมทั้งสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีนปนอยู่ด้วย โดยอาศัยหลักการที่ว่า สารที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ เมื่อเอามาต้มกับกรดซัลฟูริกเข้มข้น โดยมี $CuSO_4$ เป็นตัวเร่ง และ K_2SO_4 เป็นตัวช่วยให้ความร้อนของสารละลายเพิ่มขึ้น ไนโตรเจนจะเปลี่ยนเป็นแอมโมเนียมไบซัลเฟต และเมื่อเติมสารละลายเบสโซเดียมไฮดรอกไซด์ เกลือแอมโมเนียมจะเปลี่ยนเป็นแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ ซึ่งเมื่อกลั่นจะออกมาในรูปของแก๊สแอมโมเนีย ซึ่งจะถูกดักไว้โดยสารละลายกรดบอริด หาปริมาณของแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ที่เกิดขึ้นโดยการติเตรทกับ สารละลายกรดซัลฟูริค โดยมีบรอมครีซอลกรีน (brom-cresol

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

green) เป็นอินดิเคเตอร์ ค่าที่ได้นำมาคำนวณโดยใช้สูตร

เปอร์เซนต์โปรตีน = (จำนวนมิลลิลิตรของกรดซัลฟูริก - blank) x $N.H_2SO_4$ x 14

x 6.25 x 100 / 1,000 x น้ำหนักตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

นางสาวจิตติมา กนกนัยการ เกิดเมื่อวันที่ 18 ธันวาคม พ.ศ. 2509 ณ. โรงพยาบาลหัวเฉียว กรุงเทพ ฯ สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมต้น ปีการศึกษา 2523 ณ.โรงเรียนวัดหนองจอก กรุงเทพ ฯ จากนั้นย้ายเข้าศึกษาต่อในระดับมัธยมตอนปลาย ณ.โรงเรียนสมถวิล ราชดำริ สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมตอนปลาย เมื่อปีการศึกษา 2526 หลังจากนั้นได้เข้าศึกษาต่อในระดับอุดมศึกษา โดยศึกษาอยู่ ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรมและวิทยาศาสตร์ ณ. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหารลาดกระบัง ในระหว่างศึกษาอยู่นี้ได้เข้าร่วมกิจกรรมของสถาบัน คือ เป็นเหรัญญิก องค์การนักศึกษา ในปีการศึกษา 2529 สำเร็จการศึกษาระดับอุดมศึกษาปีการศึกษา 2530

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้