ความดีของโครงงานพิเศษนี้

แด่

พ่อ แม่ และ อาจารย์ที่ปรึกษา

เลขหมู่ ปค.ทพจ 2541
เลขทะเบียน 12431
วัน, เดือน, ปี -4 พ.ค. 2532

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การหาอินเวอร์เทสจากตะกอนยีสต์ในกากเบียร์

นางสาววิมล พฤกษ์วัฒนากุล

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์

คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรมและวิทยาศาสตร์

พ.ศ.2531

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

STUDY OF INVERTASE ACTIVITY IN SPENT YEAST FROM BREWERY

Miss Wimon Pheagvatanakun

A Special Project Submitted in Partial fulfillment of the Requirements

for the Degree of Bachelor of Science

Department of Applied Biology

Faculty of Industrial Education and Sciences

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	:	การหาอินเวอร์เทสจากตะกอนยีสต์ในภาคเบียร์
โดย	:	นางสาววิมล พฤกษ์วัฒนากุล
ภาควิชา	:	ชีววิทยาประยุกต์
อาจารย์ที่ปรึกษา	:	อ. ดร. เรียม เตชะโสภณณี

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรมและวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้นับโครงงานพิเศษฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต

_____ หัวหน้าภาควิชาชีววิทยาประยุกต์
(ผศ. มาลินี ตันติยากรณ์)

คณะกรรมการสอบโครงงานพิเศษ

_____ ประธานกรรมการ
(ผศ. มาลินี ตันติยากรณ์)

_____ กรรมการ
(ผศ. เนาวรัตน์ ปานแย้ม)

_____ กรรมการ
(อ. สินีนารถ สระตันติ์)

_____ กรรมการ
(อ. ดร. เรียม เตชะโสภณณี)

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรมและวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

		หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย		ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ		จ
กิตติกรรมประกาศ		ฌ
สารบัญตาราง		ญ
สารบัญภาพ		ฌ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ		ต
บทที่		
1.	บทนำ	1
1.1	สมมติฐานสำหรับโครงงาน	2
1.2	วัตถุประสงค์	2
1.3	ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.4	ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
2.	แนวความคิดและทฤษฎี	4
2.1	อุตสาหกรรมเบียร์	4
2.1.1	ชนิดของเบียร์	4
2.1.2	กำลังการผลิตและปริมาณการผลิต	5
2.1.3	การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีของเบียร์	11
2.1.4	วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตเบียร์	12
2.1.5	ขบวนการผลิตเบียร์	15

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

		หน้า
2.2	ยีสต์	21
2.2.1	ลักษณะและส่วนประกอบของเซลยีสต์	21
2.2.2	วงจรชีวิต	28
2.2.3	การย่อยตัวเอง (Autolysis)	33
2.3	เอนไซม์อินเวอร์เทส (INVERTASE ENZYME)	34
2.3.1	สารตั้งต้นและความจำเพาะของเอนไซม์	34
2.3.2	อินเวอร์เทสจากยีสต์	38
2.3.3	การสังเคราะห์ทางชีวะและการยับยั้งอินเวอร์เทส	40
2.3.4	การปลดปล่อยอินเวอร์เทส	42
2.3.5	การตัดสินปฏิกิริยาเร่ง (Catalyst)	43
2.3.6	กลไกของการเร่ง	45
2.3.7	ความเสถียร	46
2.3.8	ตัวยับยั้ง	48
2.4	ประโยชน์ของอินเวอร์เทส	52
3.	การดำเนินงานวิจัย	61
3.1	การหาน้ำตาลริดิวซ์	61
3.2	การหาน้ำตาลกลูโคส	64
3.3	การศึกษาคุณสมบัติเบื้องต้นของยีสต์	65
3.4	การทำให้ยีสต์เกิดการย่อยตัวเอง	65
3.5	การทดสอบปฏิกริยาการเร่งของอินเวอร์เทส โดยวิธีของ Matsushita and Uritani	66
3.6	การทำให้ยีสต์เกิดการย่อยตัวเอง	66
3.7	การทดสอบปฏิกริยาการเร่งของอินเวอร์เทส โดยวิธีของ Merck Biochemica	66

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หน้า

4.	ผลการทดลอง	68
4.1	ผลที่ได้จากการทดลอง	68
4.2	วิเคราะห์และสรุปผลการทดลอง	76
4.3	ประโยชน์ที่ได้รับ	78
4.4	ข้อเสนอแนะ	79

เอกสารอ้างอิง

ภาคผนวก

ประวัติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ : การหาอินเวอร์เทสจากตะกอนยีสต์ในกากเบียร์
นักศึกษา : นางสาววิมล พฤกษ์วัฒนากุล
อาจารย์ที่ปรึกษา : อ. ดร. เรียม เตชะโสภณมณี
ภาควิชา : ชีววิทยาประยุกต์

บทคัดย่อ

ยีสต์จากอุตสาหกรรมเบียร์ ถือได้ว่าเป็นกากที่มีคุณค่ามากชนิดหนึ่งในการนำไปใช้ให้เกิดประโยชน์โดยวิธีเทคโนโลยีชีวภาพ จากอุตสาหกรรมผลิตเบียร์ 2 แห่งในประเทศไทยจะมีกากที่เป็นตะกอนยีสต์อยู่ประมาณ 6 x 10 ลิตรต่อปี

การศึกษาครั้งนี้จะใช้ยีสต์เป็นแหล่งผลิตเอนไซม์อินเวอร์เทส เพื่อหาสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมในการผลิต โดยวิธีการให้เซลยีสต์เกิดการย่อยตัวเองในสภาพต่าง ๆ กัน เช่น อุณหภูมิและเวลา ซึ่งผลของการศึกษาครั้งนี้ พบว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ตะกอนยีสต์ให้อินเวอร์เทส 29.08 ไมโครโมลของน้ำตาลรีดิวซ์ต่อมิลลิลิตร ในขณะที่มีอินเวอร์เทสเฉลี่ย 6.11 และ 4.77 ไมโครโมลของน้ำตาลรีดิวซ์ต่อมิลลิลิตรที่ 50 องศา และ 70 องศาตามลำดับ ในช่วงเวลา 60 ชั่วโมง

ผลที่ได้จากการทดลองนี้จะเป็นแนวทางสำหรับการผลิตเอนไซม์อินเวอร์เทสจากยีสต์ที่เกิดการย่อยตัวเองจากกากโรงงานผลิตเบียร์ในขั้นต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title	:	Study of Invertase Activity in Spent Yeast from Brewery
Name	:	Miss Wimon Pheagvatanakun
Special Project Advisor	:	Dr. Ream Techasoponmani
Department	:	Applied Biology
Academic Year	:	1987

ABSTRACT

Brewer's yeast from brewery industry is one of the most valuable wastes to be utilized in the field of Biotechnology. In Thailand there are 2 brewery industries that can give rise to approximately 6 x 10 litres of spent yeast annually.

This study utilized yeast as a source of invertase enzyme and searched for optimal conditions for production of enzyme by autolysis of the yeast sediment at different conditions such as temperature and time and Invertase is examined. The results appeared that Invertase yield the highest of 29.08 μmole of reducing sugar / ml at 30°C in 60 hours period of study. Invertase at 50° C and 70° C appeared to be at low level as 6.11 and 4.77 μmole of reducing sugar/ml accordingly.

This result may lead to the further study for a larger scale production of Invertase enzyme from yeast autolysate of brewery's wastes.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษฉบับนี้ ได้สำเร็จลุล่วงนั้น เนื่องมาจากความช่วยเหลือหลาย ๆ ฝ่าย ซึ่งผู้ที่ต้องขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงคือ อ.ดร.เรียม เตชะโสภณกิจ เป็นอาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษนี้ นอกจากนี้ท่านยังให้คำแนะนำ กำลังใจ รวมทั้งคอยช่วยเหลือทุก ๆ ด้านไม่เฉพาะกับข้าพเจ้าเท่านั้น แต่ท่านมีพร้อมทั่วให้ลูกศิษย์ของท่านทุกคน และต้องขอขอบคุณผู้ที่มีรายนามดังต่อไปนี้

1.	อ.มาลินี	ตันติยากรณ์	ให้ความอนุเคราะห์ทางด้านสารเคมี อุปกรณ์และคำแนะนำ
2.	อ.อัมรินทร์	ปรีชาวุฒิ	ให้ความอนุเคราะห์ทางด้านสารเคมี อุปกรณ์และคำแนะนำ
3.	คุณอิสระ	ขาวละเอียด	ให้ความอนุเคราะห์ตะกอนยีสต์
4.	อ.สินีนารถ	สระตันตี๋	ให้คำแนะนำและตรวจสอบเอกสาร
5.	อ.เนาวรัตน์	ปานแย้ม	ให้คำแนะนำและตรวจสอบเอกสาร
6.	อ.ดร.ดุษณี	เตโชวิบูลย์	ให้คำแนะนำเกี่ยวกับการใช้เครื่องมือ
7.	อ.นวลพรรณ	ณ ระนอง	ให้ความอนุเคราะห์เกี่ยวกับเครื่องแก้ว
8.	คุณอรพิน	เมฆจำเริญ	ให้คำแนะนำและกำลังใจ
9.	คุณบุญชัย	ชาญเชี่ยวชิงชัย	ช่วยพิมพ์ดีด
10.	คุณสุภรณ์	วงศ์สินิล	ช่วยพิมพ์ดีด

และต้องขอขอบคุณเพื่อน ๆ และรุ่นน้อง ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ ที่คอยให้ความช่วยเหลือและกำลังใจตลอดมา.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

บทที่ 2.

ตารางที่ 2.1 กำลังการผลิตและปริมาณการผลิตเบียร์

2.2 กำลังการผลิต การจำหน่าย และภาษีที่รัฐได้รับจากเบียร์ในปี 2525-2529

2.3 ปริมาณการผลิตเบียร์ทั่วโลก (10 อันดับแรก) ปี ค.ศ.1975

2.4 ปริมาณการบริโภคเบียร์ ใน ค.ศ.1975

2.5 ไนโตรเจนที่เป็นองค์ประกอบในเซลยีสต์

2.6 ส่วนประกอบกรดอะมิโนในเซลยีสต์

2.7 ส่วนประกอบของเถ้าในเซลยีสต์

2.8 คุณสมบัติของอินเวอร์เทสจากยีสต์

2.9 ส่วนประกอบของกรดอะมิโน ที่เป็นองค์ประกอบของอินเวอร์เทสจากยีสต์

2.10 การตอบสนองของอีเลคโทรดกับน้ำตาลซูโครส

บทที่ 4.

ตารางที่ 4.1 ลักษณะยีสต์ก่อนและหลังอบแห้ง

4.2 น้ำหนักแห้งของตะกอนยีสต์

4.3 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของน้ำตาลกลูโคสมาตราฐานที่ความเข้มข้นต่างกัน (ใช้วิธีของ Somogyi-Nelson)

4.4 อินเวอร์เทสที่ได้จากยีสต์ที่เกิดการย่อยตัวเองแล้ว ณ อุณหภูมิและเวลาต่างกัน (ใช้วิธีของ Matsushita and Uritani)

4.5 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของน้ำตาลกลูโคสมาตราฐานที่ความเข้มข้นต่างกัน (ใช้กลูโคสออกซิเดส)

4.6 อินเวอร์เทสที่ได้จากยีสต์ที่เกิดการย่อยตัวเองแล้ว ณ อุณหภูมิและเวลาต่างกัน (ใช้วิธีของ Merck Biochemica)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

บทที่ 2.

รูปภาพที่ 2.1 การเกิดเบียร์จาก Embden-Meyerhof-Parnas pathways

2.2 ขบวนการผลิตเบียร์

2.3 โครงสร้างของผนังเซลยีสต์

2.4 เซล Saccharomyces carlsbergensis

2.5 โครงสร้างภายในเซลยีสต์ S. cerevisiae

2.6 วงจรชีวิตของ Saccharomyces

2.7 โครโมโซมที่มีการแบ่งตัวแบบไมโอซีส

2.8 ขั้นตอนของการสร้างไซโตพลาสในการแตกหน่อของเซลยีสต์

2.9 Lager yeast

2.10 Ale yeast

2.11 การแตกหน่อของ Lager yeast

2.12 การแตกหน่อของ Ale yeast

2.13 Lager Yeast ที่มีการย่อยตัวเองแล้ว

2.14 สูตรโครงสร้างของซูโครส

2.15 ปฏิกริยาการเร่งของอินเวอร์เทส

2.16 การสังเคราะห์อินเวอร์เทสชนิดที่ขับออกมานอกเซล (External Invertase)

2.17 ผลของความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสกับปฏิกริยาการเร่งของยีสต์

2.18 แสดงลักษณะของเซลที่มีซูโครสกับไลโปโซม (Liposome) ที่มีอินเวอร์เทสอยู่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4.

รูปภาพที่ 4.1 กราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสโดยวิธีของ Somogyi-Nelson

4.2 กราฟเปรียบเทียบอินเวอร์เทส ณ เวลาและอุณหภูมิต่างกัน

4.3 อินเวอร์เทสที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เวลาต่างกัน (ใช้วิธีของ Matsushita and Uritani)

4.4 กราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสโดยใช้กลูโคสออกซิเดส

4.5 อินเวอร์เทสที่ 30 องศาเซลเซียส เวลาต่างกัน (ใช้วิธีของ Merck Biochemica)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำอธิบายสัญญลักษณ์และคำย่อ

°C	=	องศาเซลเซียส (degree celsius)
dl	=	เดซิลิตร (Decilitre)
g	=	กรัม (Gram)
l	=	ลิตร (Litre)
ml	=	มิลลิลิตร (Mililitre)
rpm	=	รอบต่อนาที (Round per minute)
u	=	หน่วย (Unit)
g	=	ไมโครกรัม (Microgram)
mole	=	ไมโครโมล (Micromole)

ชม	=	ชั่วโมง
มล	=	มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1.

บทนำ

เนื่องจากในปัจจุบันได้มีการผลิตเบียร์ชิ้นเป็นจำนวนมาก อาทิเช่น ในปี ค.ศ. 1975 มีการผลิตเบียร์ทั่วโลกถึง 683,809,000 บาเรล (Kalz , 1979) ส่วนกำลังการผลิตในประเทศไทยนั้น มีการผลิตในระยะ 10 ปี (2519-2526) ถึง 1,208,588,509 ลิตร ซึ่งเฉลี่ยแล้ว มีกำลังการผลิตในไทย ปัจจุบันปีละ 165.10 ล้านลิตร (จันทนีและชัชวาลย์ . 2529) ในการผลิตเบียร์นั้น ยีสต์ที่ใช้คือ Saccharomyces carlsbergensis (Reed , 1973) หรือ Brewer's Yeast (Rainbow , 1970) ซึ่งเมื่อหมดสภาพการใช้แล้ว ประมาณร้อยละ 20 ของน้ำเบียร์ จำเป็นต้องแยกออกจากเบียร์และทิ้งไป (Parsons , 1984) จากตัวเลขดังกล่าวจะมียีสต์ที่ต้องกำจัดทิ้งในประเทศไทยประมาณปีละอย่างน้อย 1 ล้านลิตร โดยคิดเฉลี่ยจากการใช้ยีสต์ซ้ำ 5 ครั้ง ก่อนที่จะทิ้งไป (เรียม . 2530) ซึ่งการที่จะนำตะกอนยีสต์ไปทิ้งนั้น จะทำให้เกิดการสูญเสียเป็นอย่างมาก จึงน่าจะนำตะกอนยีสต์นั้นมาใช้ให้เกิดประโยชน์ จากการศึกษาพบว่า Saccharomyces carlsbergensis สามารถผลิตเอนไซม์อินเวอร์เทสได้ (Laufer and Schharz , 1936) ซึ่งเอนไซม์ตัวนี้มีความสามารถในการไฮโดรไลซ์น้ำตาลซูโครสให้เป็นน้ำตาลฟรุกโตสและกลูโคส ซึ่งจะทำให้มีความหวานมากขึ้นและมีคุณสมบัติไม่ตกผลึกเมื่อมีความเข้มข้นสูงสามารถนำไปใช้ในวงการอุตสาหกรรมมากมาย เช่น การทำลูกกวาด การเตรียมอาหารสัตว์ที่มี D-Fructose จากอินโนลิน (Inulin) ใช้ในการแยกตัวยับยั้ง หรือใช้ในทางการแพทย์ เป็นต้น (Wiseman , 1979)

จากเหตุผลดังกล่าว จึงเป็นการสมควรที่จะทำการศึกษาวิธีให้ยีสต์ผลิตเอนไซม์อินเวอร์เทสให้มีจำนวนมากพอ โดยเสียค่าใช้จ่ายน้อยที่สุดและเมื่อมีปริมาณมากขึ้นแล้วก็หาแนวทางในการทำให้บริสุทธิ์ เพื่อประโยชน์ในการนำไปใช้ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.1 สมมติฐานสำหรับโครงงาน

อุณหภูมิและเวลาสำหรับการย่อยตัวเองของยีสต์อาจมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์อินเวอร์เทส

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงาน

1. ต้องการศึกษาถึงอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการใช้เซลยีสต์ย่อยตัวเอง เพื่อให้ได้กัมมันตภาพ เชิงเร่งปฏิกริยา (catalytic activity) ของเอนไซม์อินเวอร์เทสสูงสุด
2. ต้องการศึกษาถึงผลการเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์เมื่อยีสต์เกิดการย่อยตัวเองในเวลาต่างกัน
3. ต้องการศึกษาทางเป็นไปได้ของการนำตะกอนยีสต์จากกากเบียร์ไปใช้เป็นแหล่งผลิตเอนไซม์อินเวอร์เทส

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1. ศึกษาลักษณะเบื้องต้นของเซลยีสต์
2. หาวิธีที่ทำให้เซลยีสต์เกิดการย่อยตัวเองเพื่อปลดปล่อยอินเวอร์เทส
3. ทำการทดสอบกัมมันตภาพเชิงเร่งปฏิกริยาของเอนไซม์อินเวอร์เทส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เป็นการนำเอากากจากโรงงานอุตสาหกรรมมาใช้ในเกิดประโยชน์
2. เป็นการลดมลภาวะที่จะเกิดขึ้นกับสิ่งแวดล้อมลงได้
3. เป็นการลดภาระให้กับโรงงานในด้านการกำจัดของเสีย
4. เพื่อลดต้นทุนการผลิตเบียร์ เมื่อสามารถผลิตอินเวอร์เทสออกจำหน่ายได้
5. เพื่อเป็นการใช้ทรัพยากรให้เต็มที่และมีประสิทธิภาพสูงสุด
6. เป็นการฝึกทักษะในการประยุกต์วิชาการทางวิทยาศาสตร์
7. เป็นการฝึกทักษะในการรู้จักตั้งสมมติฐานเพื่อแก้ปัญหา การวางแผนการดำเนินการวิจัย และการรู้จักแปรผลการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2.

แนวความคิดและทฤษฎี

2.1 อุตสาหกรรมเบียร์

เบียร์ (Beer) จัดเป็นสุราแช่ประเภทหนึ่ง และเป็นเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ที่ผลิตจากพืช กล่าวคือ ทำมาจากมอลท์ (Malt) ซึ่งได้จากข้าวบาร์เล่ย์ (Barley) หมักจนงอกรากอ่อนแล้วจึงผสมด้วยดอกฮอพ (Hops) เพื่อให้เบียร์มีกลิ่นหอมและรสดี ถึงแม้ว่าเบียร์จะเป็นเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ผสมอยู่แต่ก็ไม่แรงนัก และกล่าวกันว่าเป็นเครื่องดื่มที่ช่วยแก้กระหายดับความร้อน ช่วยให้เจริญอาหาร ลดความตึงเครียดของอารมณ์ และให้ประโยชน์ต่อร่างกายของผู้ดื่มพอสมควร เพราะประกอบด้วยแร่ธาตุต่าง ๆ ที่มีประโยชน์ต่อร่างกายหลายชนิด เช่น แคลเซียม แคลอรี่ โปรตีน ฟอสฟอรัส วิตามินบี 1 วิตามินบี 2 และ วิตามินซี (จันทนีและชัชวาลย์ , 2529)

2.1.1 ชนิดของเบียร์

1. Lager เป็นชนิดที่ผลิตมากถึง 90% ในสหรัฐอเมริกา โดยมีการหมักที่ 50-60 °F โดยยีสต์ ซึ่งเป็นการหมักแบบ Bottom fermentation มีส่วนประกอบของฮอพเพียงเล็กน้อย เก็บในภาชนะที่เป็นถังไม้
2. Ale มีส่วนประกอบอัลกอฮอล์สูงถึง 6% การหมักทำจาก มอล์ท ฮอพ น้ำ และบางส่วนของน้ำตาล ข้าวโพดหรือข้าว หมักที่ 68-70 °F ด้วย Ale ยีสต์ เป็นการหมักแบบ Top Fermentation

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. Porter และ Stout คล้ายกับ Ale ในแง่ชนิดของการหมัก แต่ Porter จะหวานกว่า Ale ทั่วไป และมีฮอลน้อยกว่า แต่จะมีฟองมากกว่า ส่วน Stout จะมีกลิ่นมอลท์ค่อนข้างจะรุนแรงกว่า สีดำกว่า และมีความกระด้างมากกว่า Porter

4. Bock Beer เป็นเบียร์ที่แรง สีทึบ และหวานกว่า Lager Beer มีพื้นฐานมาจากเบียร์ของเยอรมัน

5. Near Beer เป็นเบียร์จากธัญพืช มีการหมักแบบ Bottom fermentation ซึ่งจะมีการเอาอัลกอฮอล์ออกเหลือประมาณ 0.5% เท่านั้น (Woodroof and Phillips , 1981)

2.1.2 <u>กำลังการผลิตและปริมาณการผลิต</u>

ในประเทศไทย ปัจจุบันมีผู้ผลิตเบียร์อยู่ 2 รายคือ บริษัท บุญรอดบริวเวอรี่ จำกัด ซึ่งตั้งโดย พระยาภิรมย์ภักดี (บุญรอด เศรษฐบุตร) เมื่อ พ.ศ.2473 และจำหน่ายในปี พ.ศ.2477 โดยผลิตเบียร์ตราสิงห์ โดยอาศัยกรรมวิธีการผลิตแบบยุโรป แต่ปรับปรุงรสให้แตกต่างกว่า กล่าวคือจะมีรสขม และดีกรีแรงกว่าเบียร์ของต่างประเทศ ส่วนอีกบริษัทคือ บริษัท บางกอกเบียร์ จำกัด ตั้งเมื่อปี พ.ศ.2501 และเปลี่ยนชื่อมาเป็น บริษัท ไทยอมฤตบริวเวอรี่ จำกัด ในปี พ.ศ.2509 ผลิตเบียร์อมฤตตราพระสุริยเทพทรงราชรถ เบียร์คลอสเตอร์ตราคอสิงห์โต เบียร์กินเนสเตราท์ตราคอหมาป่า เบียร์พยัคฆ์ตราคอเสือ และเบียร์ชุนแผน แม้ว่ามีผู้ผลิตเบียร์ทั้งสองรายจะสามารถผลิตเบียร์ได้เพียงพอกับความต้องการภายในประเทศก็ตาม แต่ก็ยังมีการนำเข้าอีกส่วนหนึ่งซึ่งไม่มากนัก เบียร์ที่ผลิตในประเทศจะเป็นเบียร์ชนิดขวดเป็นหลัก (เฉลิมชัย , 2527)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปัจจุบันผู้ผลิตเบียร์ 2 ราย มีกำลังการผลิตปีละ 165.10 ล้านลิตร ซึ่งเพิ่มขึ้นจากปี 2524 ซึ่งมีกำลังการผลิตปีละ 155.10 ล้านลิตร หรือเพิ่มขึ้นร้อยละ 6.4 จากตารางที่ 2.1 จะเห็นได้ว่ากำลังการผลิตเบียร์ได้เพิ่มสูงขึ้นตั้งแต่ปี 2520 โดยมีกำลังการผลิตเพิ่มขึ้นเป็น 155.10 ล้านลิตร หรือเพิ่มขึ้นร้อยละ 53.87 เมื่อเทียบกับปี 2529 ต่อมาในปี 2525 ก็ได้เพิ่มขึ้นเป็นปีละ 165.10 ล้านลิตร เนื่องจาก บริษัท บุญรอดบริวเวอรี่ จำกัด ได้ขยายกำลังการผลิตเพิ่มขึ้น

ส่วนปริมาณการผลิตตั้งแต่ปี 2525-2527 มีอัตราเพิ่มเฉลี่ยร้อยละ 16.01 ทั้งนี้เพราะ ภาวะเศรษฐกิจค่อยฟื้นตัวขึ้น อำนาจซื้อของประชาชนสูงขึ้น ความต้องการจึงเพิ่มตามไปด้วย ต่อมาในปี 2528 ปริมาณการผลิตได้ลดลง เนื่องจากปลายปี 2527 ได้มีการลดค่าเงินมาก ทำให้ต้นทุนการผลิตสูงโดยเฉพาะวัตถุดิบที่นำเข้า ประกอบกับกระทรวงการคลังได้ปรับปรุงโครงสร้างภาษีอากร ในส่วนของศุลกากรและภาษีสรรพสามิต เมื่อวันที่ 5 เมษายน 2528 และได้จัดเก็บภาษีเบียร์เพิ่มสูงขึ้นจากลิตรละ 14 บาท เป็นลิตรละ 28 บาท ส่งผลให้ผู้ผลิตปรับราคาจำหน่ายสูงขึ้น จึงทำให้ความต้องการบริโภคเบียร์ลดลง ปริมาณการผลิตจึงลดลงตามไปด้วย

ส่วนการผลิตและการบริโภคเบียร์ทั่วโลก ปรากฏว่า สหรัฐอเมริกา สามารถผลิตได้มากที่สุดในปี 1975 เป็นปริมาณ 160 ล้านบาเรล เมื่อเปรียบเทียบกับเยอรมันตะวันตก มีปริมาณเพียง 79 ล้านบาเรล ตามด้วยสหราชอาณาจักรอังกฤษ รัสเซีย ญี่ปุ่น เชคโกสโลวาเกีย ฝรั่งเศส แคนาดา เยอรมันตะวันออก และ แม็กซิโก รายชื่อประเทศต่าง ๆ เหล่านี้เป็นผู้ผลิตมากที่สุดใน 10 อันดับแรก ซึ่งประมาณได้ว่าจะมีการผลิตเบียร์ทั่วโลก 683,809,000 บาเรล หรือ 21.2 พันล้าน แกลลอน (Karlz , 1979)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 กำลังการผลิตและปริมาณการผลิตเบียร์

ปี	กำลังการผลิต (ลิตร)	ปริมาณการผลิต (ลิตร)	อัตราเปลี่ยนแปลงปริมาณการผลิต (ร้อยละ)	ปริมาณการผลิตเทียบกับกำลังการผลิต (ร้อยละ)
๒๕๑๙	๑๐๐,๘๐๐,๐๐๐	๗๔,๑๑๐,๖๗๖	...	...
๒๕๒๐	๑๕๕,๑๐๐,๐๐๐	๑๐๓,๐๖๔,๘๓๕	+ ๓๗.๒๒	๖๖.๔๕
๒๕๒๑	๑๕๕,๑๐๐,๐๐๐	๑๐๘,๓๒๔,๐๗๓	+ ๕.๑๔	๖๘.๘๗
๒๕๒๒	๑๕๕,๑๐๐,๐๐๐	๑๔๖,๒๘๔,๘๔๑	+ ๔๔.๒๒	๑๐๐.๗๖
๒๕๒๓	๑๔๕,๑๐๐,๐๐๐	๑๗๙,๐๘๑,๕๗๔	− ๒๗.๖๑	๘๑.๐๐
๒๕๒๔	๑๕๕,๑๐๐,๐๐๐	๑๐๕,๔๑๗,๕๓๓	− ๑๔.๐๔	๖๗.๙๖
๒๕๒๕	๑๖๔,๑๐๐,๐๐๐	๑๒๑,๖๔๔,๖๑๔	+ ๑๔.๔๔	๗๓.๗๑
๒๕๒๖	๑๖๕,๑๐๐,๐๐๐	๑๔๔,๔๔๖,๖๖๔	+ ๑๔.๑๕	๘๗.๘๒
๒๕๒๗	๑๖๕,๑๐๐,๐๐๐	๑๖๔,๕๐๐,๓๕๔	+ ๑๓.๔๔	๙๙.๖๓
๒๕๒๘	๑๖๕,๑๐๐,๐๐๐	๑๐๕,๐๖๓,๖๙๗	− ๓๖.๑๓	๖๓.๖๔

ที่มา : จากการสำรวจของกองเศรษฐกิจอุตสาหกรรม
สำนักงานปลัดกระทรวงอุตสาหกรรม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หน่วย – ลิตร

ปี	2525	2526	2527	2528	2529*
ปริมาณการผลิต	121,695,000	145,629,000	163,905,000	105,236,000	43,10,000
	(15.4)	(19.7)	(12.6)	(-35.8)	(-32.7)
ปริมาณการจำหน่าย	121,786,000	146,487,000	163,580,000	105,288,000	43,133,000
	(15.2)	(20.3)	(11.7)	(-35.6)	(-32.8)
สินค้าคงเหลือต้นปี	2,513,364	2,635,445	2,837,170	3,417,364	3,403,364
	(-2.2)	(4.9)	(7.7)	(20.5)	(-0.4)
ภาษีที่รัฐได้รับ (ล้านบาท)	1,733.24	2,091.56	2,338.32	2,347.50	1,278.92
	(23.0)	(20.7)	(11.8)	(0.9)	(11.7)

ตารางที่ 2.1 ปริมาณการผลิต การจำหน่าย และ ภาษีที่รัฐได้รับจากเบียร์ปี 2525-2529

ตารางที่ 2.3 ประเทศที่ผลิตเบียร์ทั่วโลกใน 10 อันดับแรก ปี ค.ศ.1975

ประเทศ	กำลังการผลิต
สหรัฐอเมริกา	160,572,000
เยอรมัน	79,630,000
อังกฤษ	55,057,000
รัสเซีย	51,130,000
ญี่ปุ่น	33,483,000
เชคโกสโลวาเกีย	19,066,000
ฝรั่งเศส	19,018,000
แคนาดา	18,099,000
เยอรมันตะวันออก	17,214,000
เม็กซิโก	16,510,000

หน่วย–บาร์เรล

ในขณะที่ สหรัฐอเมริกาเป็นผู้นำในการผลิตนั้น แต่จะอยู่ในอันดับที่ 13 ของผู้บริโภคดังในตารางที่ 2.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.4 ปริมาณการบริโภคเบียร์ในปี ค.ศ.1975

ประเทศ	การบริโภค (แกลลอน)
เยอรมันตะวันตก	39.0
เชคโกสโลวาเกีย	37.6
ออสเตรเลีย	37.5
เบลเยียม	37.0
นิวซีแลนด์	35.2
ลักเซมเบอร์ก	34.1
เยอรมันตะวันออก	31.2
สหราชอาณาจักรอังกฤษ	31.1
เดนมาร์ก	31.0
ออสเตรเลีย	27.4
แคนาดา	22.7
ไอร์แลนด์	22.3
สหรัฐอเมริกา	21.6
เนเธอร์แลนด์	20.8

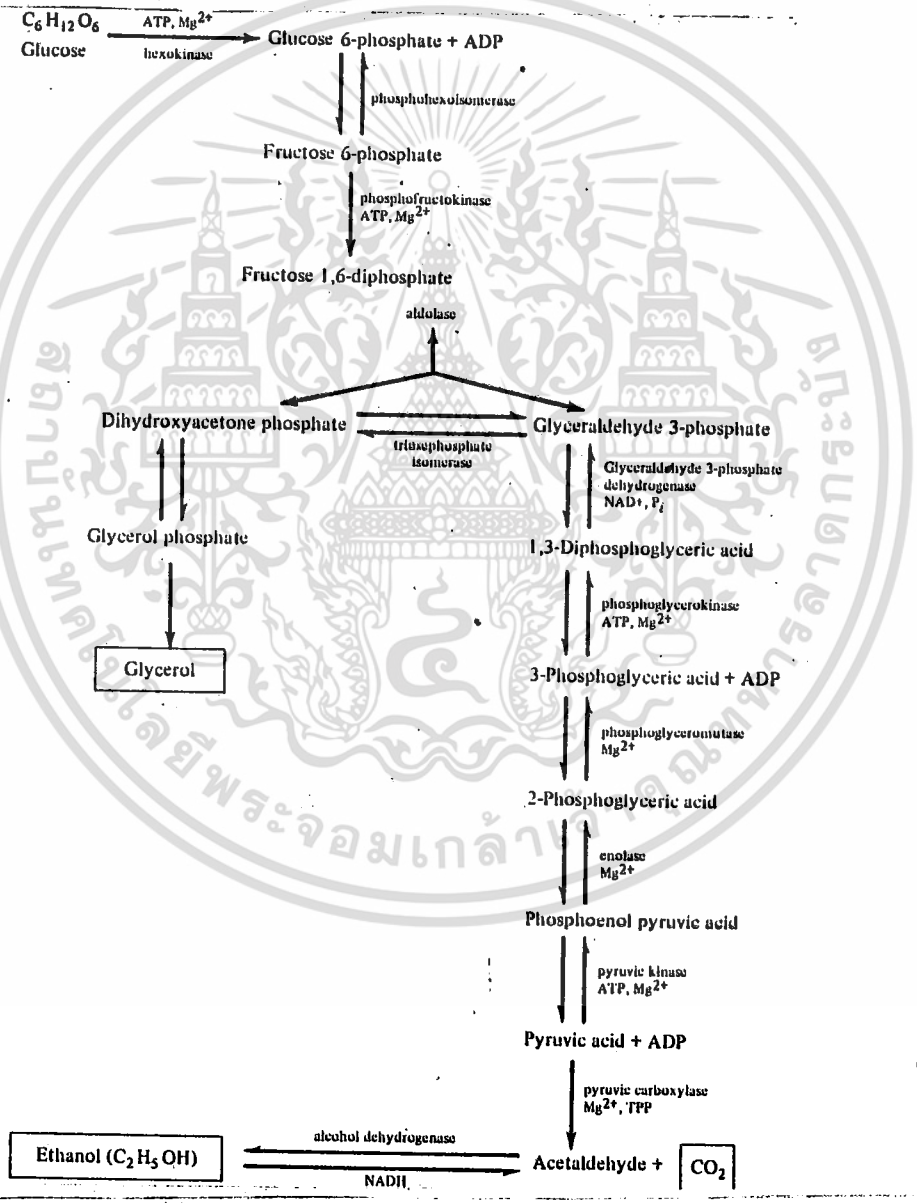
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.3 <u>การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีของเบียร์</u>

แอลกอฮอล์และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ถูกผลิตจากมอลโตสดังในสมการ

$$C_{12}H_{22}O_{11} \cdot H_2O \longrightarrow 4C_2H_6O + 4CO_2$$

เริ่มจากกลูโคสจากมอลโตสที่มี 2 หน่วย จะถูกหมักโดยขบวนการ Embden-Meyerhof อาจจะเกิดกลีเซอรอลเล็กน้อย จากปฏิกิริยาด้านข้าง (Milter and Litsky , 1976)



รูปภาพที่ 2.1 การเกิดเบียร์จาก Embden-Meyerhof Parnas pathway

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.4 วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตเบียร์

1. ข้าวมอลท์ (Malt) ได้มาจากข้าวบาร์เลย์ (Barley) ที่ได้นำมาเพาะให้เกิดการงอกเล็กน้อย ปกติทางโรงงานผลิตเบียร์ไม่ทำการผลิตมอลท์เอง แต่จะสั่งซื้อจากโรงงานผลิตมอลท์โดยเฉพาะ เนื่องจากการผลิตมอลท์นั้นมีเทคโนโลยีที่แตกต่างเฉพาะออกไป การที่มอลท์มีบทบาทต้องการผลิตเบียร์นั้น ก็เนื่องมาจากเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ ที่อยู่ในมอลท์นั้นเอง ข้าวบาร์เล่ย์ที่ยังไม่มีการงอก เอนไซม์ที่จะแปรเปลี่ยนแป้งโปรตีนให้เป็นน้ำตาลและกรดอะมิโนจะสูงขึ้น ดังนั้นข้าวมอลต์จะดีหรือไม่นั้นจึงขึ้นอยู่กับคุณภาพของเอนไซม์ ซึ่งเอนไซม์ในข้าวมอลล์ที่สำคัญคือ อะไมเลส (Amylases) และ โปรตีเอส (Proteases)

2. Malt Adjuncts ในกรณีที่มีการใช้วัตถุดิบจำพวกแป้งอย่างอื่นผสมลงมอลท์เพื่อการผลิตเบียร์ วัตถุดิบเหล่านี้จะเป็น ข้าว ข้าวโพด ข้าวฟ่าง ข้าวสาลี หรือ น้ำตาลก็ได้ จึงเรียกวัตถุดิบจำพวกนี้อีก Malt Adjuncts เหตุผลในการใช้ Malt Adjuncts ขึ้นอยู่กับโรงงานที่จะผลิตเบียร์ ทั้งนี้เพราะเกี่ยวโยงกับวัตถุดิบหลักคือ มอลท์ ที่ใช้ว่ามีคุณภาพแตกต่างกัน เช่น พันธุ์ข้าวบาร์เลย์ในอเมริกามีปริมาณโปรตีนอยู่สูง ซึ่งทำให้วัตถุดิบจากบาร์เล่ย์ล้วน ๆ เช่นนี้ก็อาจจะทำให้เบียร์ที่ผลิตได้มีสีเข้มเกินไป จึงเติมพวกธัญพืชอื่นลงไปบางส่วน และเอนไซม์ที่มีอยู่ในมอลท์นั้นก็เพียงพอที่จะย่อยแป้งจากธัญพืชที่ใส่ลงไป เช่น วัตถุดิบที่ใช้ทำเบียร์ ในอเมริกาจะใช้มอลท์ไม่เกิน 50% และเติมธัญพืชพวกข้าวโพดและข้าว (Reed , 1966) ปริมาณของ Malt Adjuncts อาจจะใช้มากขึ้นสูงถึง 80% ซึ่งในการนี้ จำต้องมีการเพิ่มเอนไซม์ที่ผลิตเป็นทางการค้าลงไป ซึ่งวิธีนี้เริ่มจะใช้กันและมีใช้กันหลายประเทศในแถบยุโรป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ฮอพ (Hop) ฮอพเป็นดอกตัวเมียของพืชที่เรียกว่า ฮอพ พืชชนิดนี้มีชื่อทางพฤกษศาสตร์คือ Humulus lupulus และ Humulus japonieus ดอกฮอพทั้งสองสายพันธุ์นี้เป็นที่สนใจมากกว่าสายพันธุ์อื่น การใช้ดอกฮอพเป็นส่วนประกอบในการผลิตเบียร์ก็เนื่องจากดอกฮอพนี้มีสารที่ให้รสขม (Bitter resing) สารที่ให้รสขมนี้ประกอบด้วย Humolones (α - Acids) และ Lupulone (β - Acids) ซึ่งเป็นรสขมที่เป็นคุณลักษณะของเบียร์ และยังเป็นสารที่ช่วยป้องกันการเจริญของบักเตรีที่เป็นแกรมบวก (Gram-Positive) ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการของการหมักเบียร์ ฮอพที่ใส่ลงไปนอกจากจะให้รสและกลิ่นแก่เบียร์ที่ผลิตได้ ยังช่วยให้เบียร์มีเสถียรภาพ (Beer stabtitty) สารแทนนินอยู่ในฮอพจะช่วยในการตกตะกอนของโปรตีน นอกจากนี้ในฮอพยังมีสารจำพวกเปกทิน (Pectin) ซึ่งมีส่วนเกี่ยวข้องกับคุณลักษณะของการเป็นฟองของเบียร์ โดยทั่วไปฮอพที่ใช้ประมาณ 1 ส่วน 4 ปอนด์ ต่อน้ำเวิทหนึ่งบาร์เรล (200 ลิตร) ถ้าเป็นเบียร์ที่เรียกว่า Ale ก็อาจจะใช้ถึง 2 ปอนด์ต่อน้ำเวิทหนึ่งบาร์เรล

4. น้ำ (Water) น้ำเป็นส่วนประกอบที่สำคัญในการผลิตเบียร์ ไม่น้อยกว่าวัตถุดิบอื่น ๆ ที่ได้กล่าวมาแล้ว ปริมาณน้ำที่ใช้นั้นมีจำนวนมาก โดยในการผลิตเบียร์หนึ่งบาร์เรล (200 ลิตร) จะใช้น้ำประมาณ 10 - 12 บาร์เรล สารประกอบที่ปนอยู่ในน้ำเป็นสิ่งสำคัญต่อคุณภาพของเบียร์ คือ มีผลทั้งทางด้าน รส กลิ่น และ คุณสมบัติของเบียร์ที่ผลิตขึ้น เช่น น้ำที่ใช้ ถ้ามีสารพวกคาร์บอเนตสูง จะทำให้เบียร์ที่ผลิตออกมามีกลิ่นแรงและมีสีเข้ม (Heavy-Flavour , Dark Colour) แต่ถ้าในน้ำนั้นไม่มีสารพวกคาร์บอเนต แต่มีสารพวกแคลเซียมซัลเฟต ที่จะใช้น้ำนี้ในการผลิตเบียร์ที่เป็นพวก light beer หรือ Pale beer ซึ่งเบียร์เหล่านี้จะมีรส กลิ่น ไม่มากนัก สำหรับความเป็นกรด-ด่างของน้ำที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เหมาะสำหรับใช้ในการผลิตเบียร์คือ ที่ พีเอช 6.5 - 7 และมีสารแคลเซียมและแมกนีเซียม คาร์บอเนต น้อยกว่า 100 พีพีเอ็ม แมกนีเซียมซัลเฟต มีจำนวนเล็กน้อย แคลเซียม ซัลเฟต 250 - 500 พีพีเอ็ม โซเดียมคลอไรด์ 200 - 300 พีพีเอ็มและเหล็กมี 1 พีพีเอ็ม หรือน้อยกว่า

5. ยีสต์ (Yeast) ยีสต์ที่ใช้ในการหมักเบียร์ที่สำคัญมีอยู่ 2 สายพันธุ์ คือ Sacchapomyces carlsbergensis และ Sacchanomyces cerevisiae ยีสต์ที่ใช้ใส่นี้จะใช้ยีสต์จากถังหมักเก่า โดยไม่จำเป็นจะต้องเตรียมเซลยีสต์ใหม่ ๆ เหมือนกับอุตสาหกรรมการหมักอย่างอื่น การหมักเบียร์ที่ต้องการเตรียมเซลยีสต์ใหม่ ๆ ก็ต่อเมื่อยีสต์เก่าเหล่านั้นมีจุลินทรีย์ชนิดอื่นที่ไม่ต้องการปะปนอยู่ด้วย หรือว่ายีสต์เก่าเหล่านั้นเริ่มตายลง ก่อนที่จะนำเซลยีสต์เก่ามาใส่เพื่อหมักเบียร์ใหม่นั้น จะต้องทำการล้างเซลของยีสต์เหล่านั้นเสียก่อน (ด้วยกรดฟอสฟอรัส กรดตาตาริค หรือ แอมโมเนียม เปอร์ซัลเฟต) แล้วให้ยีสต์จับกัน การล้างนี้จะทำให้ พีเอช เปลี่ยนไปอยู่ที่ประมาณ 2.5 และเป็นการแยกบักเตรีที่ปะปนมาด้วย ถ้ามีปริมาณของยีสต์ที่ใส่นี้จะใส่ในปริมาณ 1 ปอนด์เพื่อนำมาเตรียมกล้าเชื้อ ให้ได้ยีสต์ 3 - 4 ปอนด์ จะไม่เตรียมมากกว่านี้เพราะจะเป็นผลพลอยได้ของขบวนการหมักไป

6. วัตถุดิบอื่น ๆ นอกจากที่กล่าวมาแล้ว ก็ยังมี น้ำตาล วิตามินซี ซึ่งใช้เป็นสิ่งปรุงเบียร์ นอกจากนี้ก็ยังมี ขวดบรรจุ กล่องกระดาษ ฝาจีบ และ สลาก (อรพิน , 2523)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.5 <u>ขบวนการผลิตเบียร์</u>

ขบวนการผลิตเบียร์นั้นมีขั้นตอนต่าง ๆ คือ

ก. การเตรียมส่วนผสมเพื่อหมักเบียร์

ข. การหมักเบียร์

ค. การบ่มเบียร์

ง. การอัดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ลงในเบียร์

จ. การบรรจุขวด

ก. <u>การเตรียมส่วนผสมเพื่อหมักเบียร์</u> (Media preparation)

การเตรียมมอลท์ เริ่มจากนำข้าวบาร์เล่ย์ มาคัดเพื่อทำความสะอาดและตรวจสอบ แล้วนำมาแช่น้ำประมาณ 50 ชั่วโมง เพื่อให้มีความชื้นเพียงพอสำหรับการงอก (Germination, Sprouting) เป็นเวลา 6 - 8 วัน โดยนำไปหมักโดยเฉลี่ยในถังหมัก มอลท์ก็จะเกิดขึ้นจากการงอกของรากอ่อน ระหว่างนั้นมอลท์จะต้องถูกกลับ และให้อากาศบ่อย ๆ ป้องกันความร้อนที่มากเกินไป ซึ่งจะต้องมีการควบคุมการเจริญเติบโตด้วย เมื่อมีการเจริญตามที่เราต้องการแล้ว โดยวัดจากความยาวของรากหรือความแข็งของเอนโดสเปิร์ม แล้วมีการยับยั้งการเจริญโดยการเผา (Kilning) อุณหภูมิที่ใช้มีความสำคัญต่อ สี กลิ่น รส และระดับของเอนไซม์ หลังจากการเผาแล้ว ตันอ่อนและรากจะถูกเอาออก ส่วนของมอลท์จะถูกบ่ม เป็นเวลาหลายสัปดาห์เพื่อนำไปใช้ต่อ ซึ่งระหว่างการเตรียมมอลท์นี้ จะมีเอนไซม์เบตาอะไมเลสเพิ่มขึ้นและมีแอลฟาอะไมเลสเกิดขึ้น ซึ่งแอลฟาอะไมเลสเป็นตัวสำคัญในการกระทำกับแป้ง (liquefaction) ส่วนเบตาอะไมเลส จะให้ผลผลิตเป็นน้ำตาล นอกจากนี้ก็ยังมีโปรตีเอส (Proteases) ที่จะทำให้โปรตีนละลายมากขึ้น ไซเทสจะทำลายบางส่วนของเพนโทแซน กัม (Pentosan Gums) และไฟเทส ซึ่งจะให้ฟอสเฟตและอินโนซิทอลอิสระ ซึ่งจำเป็นสำหรับการเจริญของยีสต์หลายสายพันธุ์ ในระหว่างการเผา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(Kilning) จะเกิดปฏิกิริยาเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล (Browning Reactions) ทำให้เกิด Melanoidins ซึ่งเป็นตัวทำให้เกิดกลิ่นรส และสีของเบียร์ ซึ่งเราจะได้มอลท์ ซึ่งมีส่วนประกอบดังนี้ (Briton and Warren , 1976)

แป้ง	59%	น้ำตาล	10%
กัม	10%	เซลลูโลส	5%
โปรตีน	10%	ไขมัน	2.5%
และ เถ้า	2%		

นำมอลท์มาผสมกับ Malt Adjuncts โดยจะต้องทำการบดเสียก่อน ซึ่งอัตราส่วนของมอลท์และ Malt Adjuncts ประมาณ 2/3 Malt ต่อ 1/3 Adjuncts ซึ่งอาจจะแตกต่างออกไปแล้วแต่ละกรรมวิธีการผลิต ครั้งแรกจะทำการผสมมอลท์กับน้ำและทำให้อุณหภูมิเพิ่มขึ้นประมาณ 38 - 50 °ซ แล้วจึงเติม Malt Adjuncts ที่ผสมกับน้ำและต้ม ซึ่งจะมีอุณหภูมิ 100 °ซ (ในการต้มนี้เพื่อให้แป้งเกิด Gelatinize เหมาะที่จะให้เอนไซม์ในมอลท์ย่อยต่อไป) หลังจากนั้นจึงเติม Adjuncts ที่ต้ม ลงไปในมอลท์ที่เตรียมไว้ครั้งแรก ในตอนนี้อุณหภูมิในส่วนผสมจะลดลงเพื่อให้เอนไซม์อะไมเลส (Amylases) และโปรตีเอส (Protease) ทำการย่อยแป้งและโปรตีน ส่วนที่เป็นแป้งจะถูกย่อยให้ได้เด็กซทริน (Dextrin) แล้วจึงย่อยต่อให้ได้มอลโตส (Maltose) และ กลูโคส (Glucose) โดยเอนไซม์เอลฟาอะไมเลสและเบตาอะไมเลส โดยใช้อุณหภูมิ 70 - 76 °ซ และ 60 - 65 °ซ ตามลำดับ ส่วนเอนไซม์โปรตีเอสจะทำการย่อยโปรตีนให้ได้ กรดอะมิโน และ เพปไทด์ (Peptide) ใช้อุณหภูมิ 50 - 60 °ซ ซึ่งเรียกขบวนการนี้ว่า Mashing การแยกน้ำเวิท (Wort Seperation) เมื่อขบวนการ Mashing สิ้นสุดลง ส่วนผสมทั้งหมดจะประกอบด้วยส่วนที่เป็นของแข็งที่เรียกว่า Spent Grains (ได้แก่ มอลท์ , malt adjands และโปรตีนที่ตกตะกอน) และส่วนที่เป็นของเหลวที่เรียกว่า เวิท ซึ่งเวิทนี้จะประกอบด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำตาลที่ใช้ในการหมักแอลกอฮอล์ กรดอะมิโนและส่วนประกอบอื่นจากธัญพืชที่ใช้ โดยส่วนผสมทั้งหมดนี้จะผ่านการกรองเพื่อแยก Spent grain ออก โดยใช้ Mash filter แล้วเก็บน้ำเวิทไว้เพื่อการหมักต่อไป

การต้มน้ำเวิท (Wort Boiling) น้ำเวิทที่แยกมาได้จะทำการต้มโดยมีเครื่องกวนตลอดเวลา ในการต้มเวิทจะใช้เวลา 1 ชั่วโมงครึ่ง ในระหว่างการต้มนี้ก็จะค่อย ๆ เติมฮอพลงไปในอัตราของฮอพตามที่ต้องการ การเติมฮอพนี้จะเติมลงไปเป็นช่วง ๆ รวมถึงช่วงสุดท้ายของการต้มด้วย เหตุผลที่ต้องมีการต้มน้ำเวิทนี้ มีหลายประการคือ

- การต้มเป็นการช่วยทำให้โปรตีนที่เหลือจากการย่อยเกิดการรวมตัวกัน ส่วนของโปรตีนดังกล่าว จำเป็นจะต้องแยกออก เพราะถ้าไม่แยกออกจะเป็นสาเหตุทำให้เบียร์ขุ่นได้
- เป็นการช่วยทำลายเอนไซม์ที่ยังหลงเหลืออยู่ หลังจาก Mashing แล้ว
- เป็นการทำให้น้ำเวิทเข้มข้นขึ้น และเป็นการฆ่าเชื้อเวิทไปด้วย
- เป็นการช่วยสกัดสารบางชนิดจากฮอพที่เติม เช่น สารแทนนิน น้ำมันหอมระเหย กรดที่ทำให้เกิดความขม และ เรซิน สำหรับน้ำมันหอมระเหยซึ่งทำให้เกิดกลิ่นนั้นมักจะระเหยไปในระหว่างการต้ม แต่ก็ยังมีเหลืออยู่ในช่วยที่เติมฮอพไปครั้งสุดท้ายของการต้ม ซึ่งสารต่าง ๆ เหล่านี้มีผลต่อคุณภาพของเบียร์

ข. <u>ขบวนการหมัก</u> (Fermentation)

น้ำเวิทที่ต้มกับฮอพแล้ว จะต้องทำให้เย็นลงประมาณ 10 - 11 °ซ แล้วจึงถ่ายลงสู่ถังหมัก ซึ่งประกอบด้วยขดลวดที่ทำความเย็น ถังที่ให้เป็นแบบถังปิดเพราะระหว่างขบวนการหมัก ยีสต์จะผลิตก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งจะสามารถเก็บก๊าซนี้ได้ เพื่อใช้ก๊าซนี้เติมลงในเบียร์ทีหลัง ยีสต์ที่ใส่ในขั้นนี้จะใช้ 3/4-1 ปอนด์ ต่อ น้ำเวิท 31 แกลลอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

12431

(1 บาร์เรล) หลังจากเติมยีสต์ลงไป 24 ชั่วโมง จะมีฟองเกิดขึ้นอยู่บนพื้นผิวของถังหมัก โดยฟองที่เกิดครั้งแรกจะเกิดที่ฝาผนังถังก่อน แล้วจึงค่อย ๆ เคลื่อนเต็มผิวถังหมักก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จะเพิ่มขึ้น ทำให้ยีสต์เซลสามารถแขวนลอยอยู่ในถังหมักในช่วงนี้จะทำการถ่ายเวิทหรือเรียกว่า Young Beer ไปยังถังหมักที่สอง เพื่อว่ายีสต์เซลที่ตายโปรตีนที่ตกตะกอน เรซินของฮอพที่ไม่ละลายน้ำจะจมอยู่ถังหมักที่หนึ่ง หลังจากเติมยีสต์เป็นเวลานาน 40-60 ชั่วโมง จะเห็นฟองเกิดขึ้นเป็นชั้นหนาอยู่ผิวบน ในช่วงนี้ยีสต์เซลจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว เมตาโบลิซึมของยีสต์จะเกิดขึ้นอย่างมีประสิทธิภาพ ทำให้อุณหภูมิเพิ่มขึ้นเป็นประมาณ 12 - 13 °ซ เมื่อหมักไปได้ 5 วัน ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์จะมีได้เพียงพอ ทำให้ฟองที่อยู่ในถังหมักยุบลง และอุณหภูมิ ในถังหมักก็จะลดลงพอถึงวันที่ 7 - 9 ประสิทธิภาพของการทำงานของยีสต์จะลดลง

ค. <u>การบ่มเบียร์</u> (Maturation)

หลังจากขบวนการหมักเบียร์สิ้นสุดลง น้ำวอลท์ที่หมักแล้วจะมีอัลกอฮอล์อยู่ด้วยนี้เรียกว่า Lager Beer ซึ่งจะถ่ายไปสู่ถังเก็บที่ควบคุมอุณหภูมิได้ประมาณ 0 - 3 °ซ ในระหว่างที่เก็บเบียร์ไว้ในที่เย็นเพื่อเป็นการบ่มเบียร์นี้ พวกสารประกอบไนโตรเจน เรซินต่าง ๆ ฟอสเฟตที่ไม่ละลายน้ำและยีสต์เซลจะจมลงสู่ก้นถัง ในขณะเดียวกัน จะมีการเกิดสารพวกเอสเทอร์ (Ester) ทำให้เบียร์ลดความกระด้างลง ในระหว่างที่มีการบ่มเบียร์นี้ จะทำให้การทำเบียร์ไม่ให้เบียร์ขุ่น เกิดมาจากโปรตีนเกิดการรวมตัวกัน ซึ่งอาจจะทำโดยการแยกตะกอนออก ในช่วงนี้บางทีเติมสารพวกต้านตัวออกซิไดซ์ (Antioxidants) เพื่อไม่ให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของรส - กลิ่น เนื่องมาจากปฏิกริยาออกซิเดชั่น เช่น ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (ซัลไฟท์) ในการพาสเจอร์ไรส์เบียร์นั้นจะมีผลเสียถึงกลิ่นรส จึงใช้วิธีการกรองเบียร์ผ่าน Membrane Bacteriological Filters หรืออาจทำการสเตอไรซ์ โดยใช้ n - Butyl - Hydroxy Benzoate ในปริมาณ 12 พีพีเอ็ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

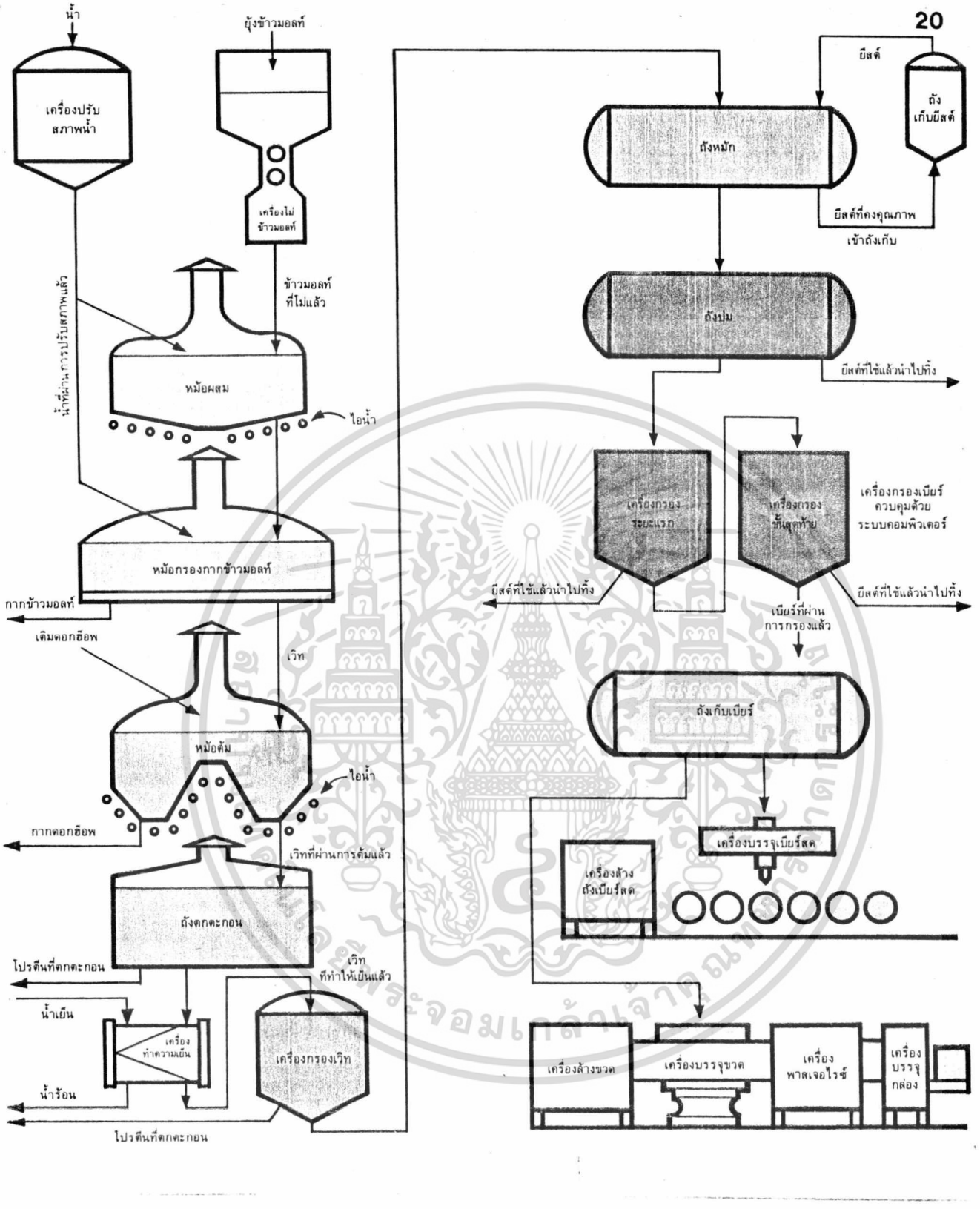
ง. <u>การเติมคาร์บอนไดออกไซด์</u> (Carbonation)

ตามคุณสมบัติของเบียร์นั้น จะต้องมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์อยู่ด้วย ซึ่งจะได้มาจากตอนหมักเบียร์ ซึ่งเรียกว่า การเติมคาร์บอนไดออกไซด์แบบธรรมชาติ (Natural carbonation) แต่ในการปฏิบัติมักจะเติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ลงไป ยังเป็นการถนอมไม่ให้เบียร์เสื่อมเสียอีกด้วย

จ. <u>การบรรจุ</u> (Packaging)

หลังจากที่บ่มเบียร์ไว้ในถังเก็บที่มีอุณหภูมิต่ำแล้ว จะทำการลดเบียร์ให้ผ่านไปตามท่อและไปผ่านการกรองโดยใช้ Diatomaceous earth filter จากนั้นจึงจะบรรจุเบียร์ลงในขวด กระป๋อง หรือ บาร์เรล ในช่วงนี้จะต้องกำจัดอากาศออก เพื่อป้องกันการเปลี่ยนแปลงของเบียร์ อันเนื่องมาจากปฏิกริยาออกซิเดชั่น หลังจากนั้นจะต้องผ่านการตรวจความชุ่นอีกครั้ง โดยใช้เครื่องตรวจไฟฟ้าเพื่อความแน่นอนว่าไม่มีสิ่งแปลกปลอมและความชุ่นเกิดขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปภาพที่ 2.2 แสดงขบวนการผลิตเบียร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 ยีสต์

ยีสต์ที่ใช้ทำเบียร์ ก็คือ Saccharomyces carlsbergensis จัดเป็น Lager yeast (Bottom-fermenting Yeast) และ Saccharomyces cerevisiae จัดเป็น Ale yeast (Top-fermenting Yeast) (อรพิน , 2523) ยีสต์ทั้งสองชนิดอยู่ใน Subfamily Saccharomycetoidae , Genus Saccharomyces

2.2.1 ลักษณะและส่วนประกอบของเซลยีสต์

1. นิวเคลียส (Nucleus) ส่วนนี้จะมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.5 μm เชื่อมโดยเมมเบรน 2 ชั้น ที่มีรูเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.1 μm ภายในนิวเคลียส จะมีนิวคลีโอลัส ภายในนิวเคลียส จะมีสารพันธุกรรมอยู่ ในลักษณะเป็นแฮพลอยด์ (hAPIOID) อย่างน้อย 17 โครโมโซม โดยที่โครโมโซมของยีสต์มีขนาดเล็กมาก แต่ละโครโมโซมประกอบไปด้วยสายเดียวของ Double-Helical DNA ระหว่าง S - Phase ของการเจริญแต่ละโครโมโซมจะถูกถอดแบบเพิ่มจำนวนมากขึ้น และมีการแยกออกจากกันในเวลาต่อมา เป็นการแบ่งแบบไมโตติค (Mitotic) เกิดภายใน Nuclear Membrane จะทำให้มีนิวคลีโอเกิดขึ้น 2 อัน

2. ไมโตคอนเดรีย (Mitochondrm) มีรูปร่างเป็นทรงกลม (0.3-1.0 μ) แต่ละอันจะมีผนัง 2 ชั้น มีทั้งด้านนอก (Outer wall) และด้านใน (Inner membrane) โดยการนับไปมา ทำให้เกิดลักษณะที่เรียกว่าคริสตี้ (Cristae) (Reed and Peppleer , 1973) ในส่วนของไมโตคอนเดรียมีส่วนสัมพันธ์กับการหายใจแบบใช้ออกซิเจน (Respiratory Chain) การสังเคราะห์ ATP ระหว่างการหายใจและปฏิกริยาออกซิเดชันของ Tricarboxylic Acid Cycle

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. แวคคิวโอล (Vacuoles) ในช่วง Stationary ของการเจริญจะมีแวคคิวโอลอันใหญ่ 1 อันซึ่งภายในจะมีเม็ด (Granules) ที่มีโพลีฟอสเฟต (Polyphosphate) อยู่ แต่ในช่วงเอ็กซ์โพเนนเชียล (Exponential phase) จะมี Vacuole 1 อันหรือมากกว่าในเซล แต่จะขาดพวก Granular anclusions ในเซลแวคคิวโอลเองจะเชื่อมกับเมมเบรน (Membrane) ชั้นเดียวและจะมีพวก Hydrolytic Enzyme อยู่เพราะฉนั้น ถ้าทิ้งยีสต์ไว้เป็นเวลานานหรืออยู่ในสารละลายอินทรีย์ จะมีผลทำให้เซลเกิดการย่อยตัวเอง

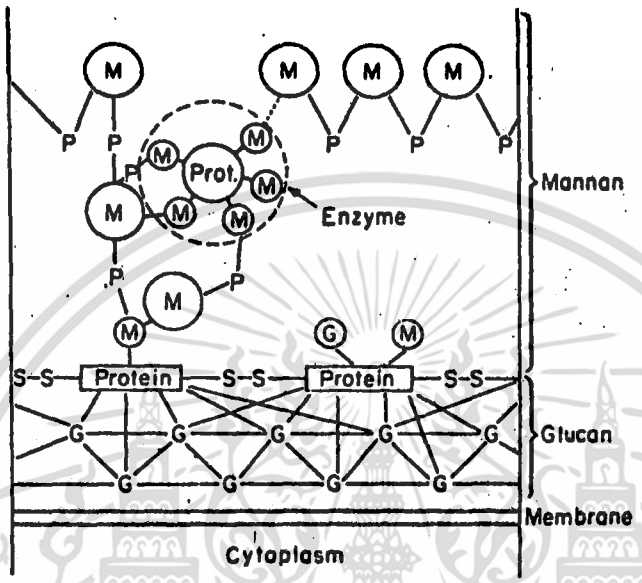
4. เมมเบรนหรือพลาสมาเลมมา (Membrane or Plasmalemma) อยู่เชื่อมกับ Cell Wall ในส่วนของด้านใน จะมีความหนา 8 nm และยื่นเข้าไปในส่วนของไซโตพลาสึม ส่วนเมมเบรนประกอบด้วยสปิด (Lipid) และฟอสโพลิปิด(Phospholipid) ซึ่งมีโปรตีนและสเตรียรอยบรรจุอยู่และมีความสัมพันธ์กับเอนโดพลาสปิคเรติคคัม (Endoplasmic Reticulum) โดยที่แอนโดพลาสมิค เรติคลัม (Indoplasmic Reticulum) ของเซลยีสต์มีโครงสร้างที่พับเป็น 2 ชั้น ยื่นเข้าไปในไซโตพลาสม รูระหว่างเมมเบรนจะกว้าง 20 nm จากเรติคลัม (Reticulum) นี้จะทำให้มีการพัฒนาในส่วนของเวซิเคิล (Vesicles) เป็นส่วนสำคัญในการสังเคราะห์ที่ผนังเซล และพัฒนาของการเกิดการแตกหน่อ

5. ไซโตพลาสม (Cytoplasm) ภายในพื้นผิวของไซโตพลาสม จะมีเอนไซม์ที่อยู่ภายใน (Intracellular Enzymes) อยู่ในส่วนนี้ เช่น เอนไซม์ที่อยู่ในวิถีไกลโคไลซิส (Glycolytic Pathway) เป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวกับเมตาบอลิซึมของเซลยีสต์ สารตัวกลางที่เกิดจากขบวนการเมตาบอไลท์ (Metabolite) และสารประกอบที่เป็นตัวสะสม (Storage Compounds) เช่น ทรีฮาโลส (Trehalose) และส่วนของแป้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. ผนังเซล (Cell Wall) จะมีประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้งของเซล มีความหนา 100-200 mm เมื่อมีการวิเคราะห์ทางเคมีพบว่า 60-85 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้งจะมีเบต้ากลูแคนและเอลฟาเมมเบรนในปริมาณที่เท่ากัน นอกจากนี้ก็ยังมีสปิด (Lipid) และโปรตีน 8 เปอร์เซ็นต์ สารอนินทรีย์ (โดยเฉพาะฟอสเฟส) 3 เปอร์เซ็นต์ เฮกโซซามีน (Hexoseamine) 2% และ ไคติน (Chitin) เล็กน้อย ซึ่งอัตราส่วนของทั้งสองนั้นขึ้นอยู่กับสายพันธุ์และอิทธิพลจากสภาพการเจริญเติบโต เช่น ถ้าในอาหารมีกลูโคสอยู่ในสภาพที่ไม่ใช้ออกซิเจน ทำให้ผนังเซลมีส่วนประกอบของกลูแคน (Glucum) ในปริมาณสูง ซึ่งกลูแคนมี 2 ชนิดนั้นก็คือ ที่ละลายน้ำ จะเป็นผลึกเล็ก ๆ อยู่ในรูปของเส้นใย ไม่มีสาขาเชื่อมด้วยพันธะ β (1⟶3) ในขณะที่ถ้าเป็นชนิดที่ไม่ละลายน้ำ จะมีความเป็นผลึกต่ำและเป็นสาขา สายหลักจะเชื่อมด้วย β (1⟶6) ในส่วนของด้านข้างเชื่อมด้วย β (1 - 3) ส่วนแมนแนนจะละลายอย่างรวดเร็วในสารละลายที่เป็นด่าง เป็นสายโพลิเมอร์ มี α (1-6) เป็นโครงสร้างหลักและมีการเชื่อมด้านข้างด้วย α-(1⟶2) และ (1⟶3) (Lee and Ballon , 1965) จะมีแมนโนส (Monnose) อย่างน้อย 360 หน่วย ใน 1 โมเลกุล แมนแนน เฮกโซซามีน (Mannan Hexosamine) จะอยู่ในรูปของ N-acetyl-D-glucosamine จะใช้เชื่อมสารต่าง ๆ ที่เป็นส่วนประกอบของผนังเซล มีข้อโต้แย้งว่าถ้ามีเฮกโซซามีน (Hexosamine) น้อยกว่า 10% (Korn and Northeote , 1960) ถูกโพลีเมอไรซ์ (Polymerized) ไปเป็นไคติน (Chitin) โดยใช้พันธะ β -(1 ⟶ 4) โปรตีนที่อยู่ในผนังเซลจะมีส่วนประกอบของกรดกลูตามิค (Glutamic acid) และกรดเอสปาติค (Aspartic acid) เป็นตัวที่ตัดสินรูปร่างของเซล นอกจากนี้ก็ยังมีโปรตีนที่เป็นเอนไซม์ เช่น เอซิค ฟอสฟาเทส (Acid phosphatase) อินเวอร์เทส , เมลลิไบโอส (Melibiose) และ โปรตีเอส (Proteases) ที่มีอยู่ในด้านนอกของผนังเซล (หรือด้านนอกและด้านในของชั้น) และจะเป็นพวกไกลโคโปรตีน (Glycoproteins) ดังนั้นอินเวอร์เทสจะมี 50% แมนแนนและมีเฮกโซซามีน(Hexosamine) ในปริมาณเล็กน้อย (Lampen, 1968)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปภาพที่ 2.3 โครงสร้างของผนังเซลยีสต์

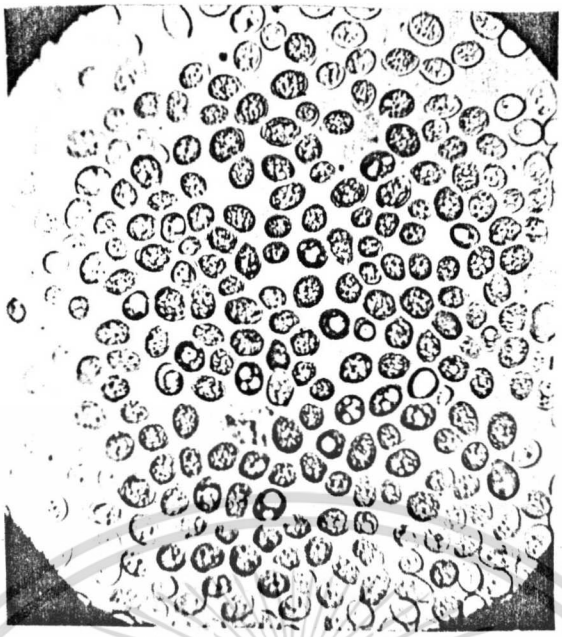
M - แมนแนน (Mannan)

P - ฟอสเฟต (Phosphate)

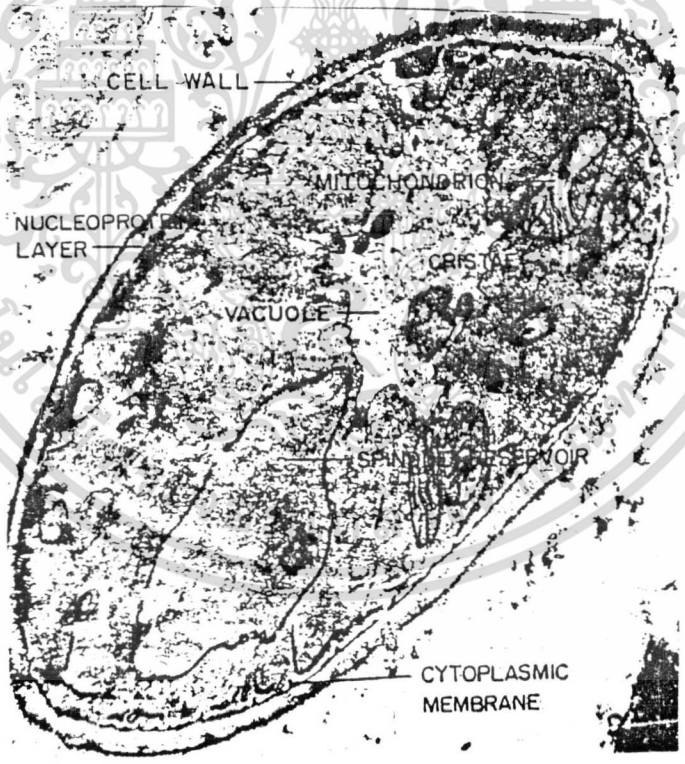
G - กลูแคน (Glucan)

S - ซัลเฟอร์ (Sulphur)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปภาพที่ 2.4 แสดงเซล Saccharomyces Carlsbergensis



รูปภาพที่ 2.5 แสดงโครงสร้างภายในเซลยีสต์ S. cerevisiae

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.5 ไนโตรเจนที่เป็นองค์ประกอบในเซลยีสต์

Principal compounds	Minor compounds	
Proteins	Adenosine triphosphate	Vitamins
Amino acids	Adenylic acid	Biotin
Purines	Cephalin	Folic acid
Adenine	Coenzymes	Nicotinic acid
Guanine	Cocarboxylase	Para-aminobenzoic acid
Pyrimidines	Coenzyme I†	Pyridoxine
Cytosine	Coenzyme II‡	Riboflavin
Uracil	Cytochrome	Thiamin
	Glucosamine	
	Glutathione	
	Lecithin	

* C. G. Dunn, *Wallerstein Labs. Communs.*, 15(48): 61 (1952).
† Coenzyme I is diphosphopyridine nucleotide (DPN).
‡ Coenzyme II is triphosphopyridine nucleotide (TPN).

ตารางที่ 2.6 ส่วนประกอบของกรดอะมิโนในเซลยีสต์

	Brewers' yeast[b]	Yeast[c]	Animal feed yeast[d]	*Saccharomyces cerevisiae*[e]	*Torula*[f]	*Hansenula*	*Rhodotorula rubra*
Alanine	2.7	...	...	...	...	...	...
Arginine	1.5	4.3	2.0	2.4	3.1	2.9	3.7
Cystine	[g]	1.0	...	...	...	...	...
Glutamic acid	...	...	5.4	...	...	...	...
Histidine	1.5	2.8	1.4	2.7	1.5	1.4	1.99
Isoleucine	2.8	5.9	3.4	2.5	3.7	3.7	2.1
Leucine	3.4	7.4	3.4	3.8	3.8	3.6	3.3
Lysine	3.2	7.5	3.3	3.1	4.4	4.3	3.0
Methionine	[g]	2.7	1.5	0.65	...	...	0.53
Phenylalanine	2.1	4.1	2.6	2.1	2.3	2.4	1.72
Serine	...	...	4.2	...	...	...	...
Threonine	2.6	5.5	2.4	2.4	2.5	2.4	1.79
Tryptophan	0.6	1.3	0.6	0.59	0.3	0.3	0.45
Tyrosine	...	3.6	1.0	...	...	...	...
Valine	...	5.0	2.9	2.8	3.3	3.3	2.5

[a] Courtesy of C. G. Dunn, *Wallerstein Labs. Communs.*, 15(48): 61 (1952).
[b] Roth and Zander (1944).
[c] Block and Bolling (average values) (1945).
[d] Baumgarten, Mather, and Stone (1946).
[e] Stokes and Gunness (1946).
[f] Kurth and Cheldelin (1946).
[g] Combined value = 1.7.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.7 ส่วนประกอบของเถ้าในเซลยีสต์

	Per Cent
Phosphorus pentoxide	54.5
Potassium oxide	36.5
Magnesium oxide	5.2
Calcium oxide	1.4
Silicon oxide	1.2
Sodium oxide	0.7
Sulfur trioxide	0.5
Chlorine	traces
Iron	traces

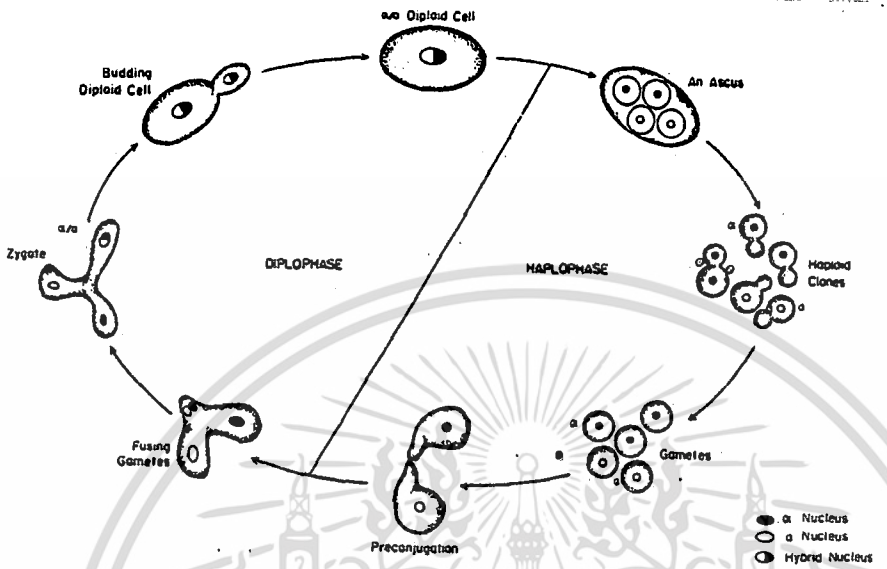
* C. N. Frey, *Ind. Eng. Chem.*, 22: 1154 (1930). Copyright 1930 by the American Chemical Society and reprinted by permission of the copyright owner.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 วงจรชีวิต

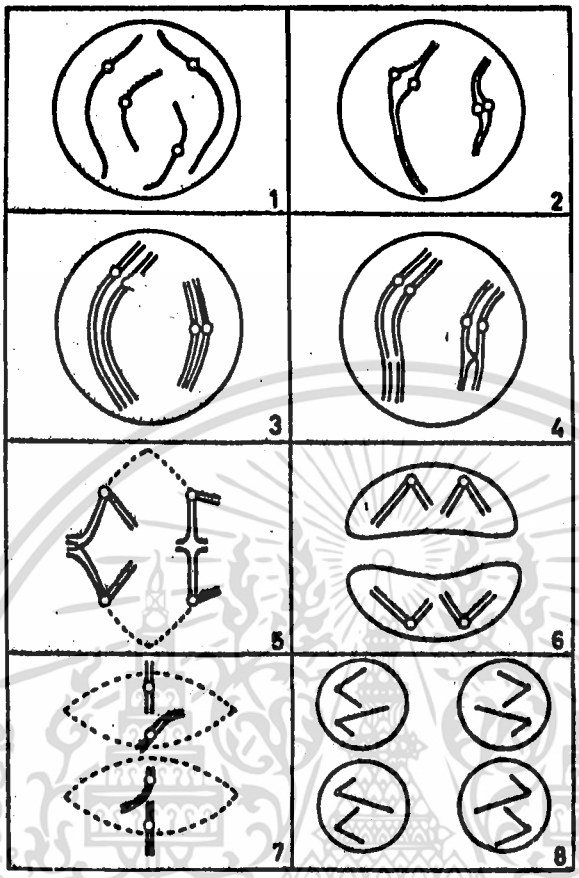
ยีสต์ในธรรมชาติจะมีในขั้นแฮพพลอยด์ (Haploid) และ ดัพพลอยด์ (Diploid) ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงมาจาก Haplophase และ Diplophase (โครโมโซม 2 ชุด) ที่เป็นส่วนประกอบของเซลยีสต์โดยที่ในช่วงแฮพพลอย (Haplora) เซลจะสืบพันธ์โดยการแตกหน่อ ระหว่างนั้นเซลจะมีการเพิ่มตัวเองด้วยขบวนไมโตรัส ดีเอ็นเอ (Mitosis DNA) ที่เกิดขึ้นระหว่าง S-phase จะแยกออกจากโครโมโซมและแบ่งนิวเคลียสอย่างสมบูรณ์ ในช่วงสุดท้ายของ m - Phase ดังนั้นช่วงที่เกิดการแตกหน่อจะมีการแบ่งตัวแบบไมโตซิส (Mitosis) จะอยู่ในขั้นของ Haplophase ถ้าเซลที่เป็นแฮพพลอยด์ (Haplorid Cell) มีการรวมตัวกันจะมีการรวมตัวของนิวเคลียสทำให้นิวเคลียสมีโครโมโซม 2 ชุด (diplorid Nucleus) สารตัวกลางที่ได้จากการรวมเรียกว่าไซโกต (Zygote) ซึ่งจะพัฒนาเป็นเซล (Diploid cell) ซึ่งในช่วง Diplophase เมื่ออยู่ในอาหารที่ขาดธาตุอาหาร (Sporylation medium) นิวเคลียสจะมีการแบ่งตัวแบบไมโอซิส โดยที่โครโมโซมจะจับคู่ที่เหมือนกัน แต่ละคู่จะมีโครโมโซมที่เป็นแฮพพลอยด์ (Haphoid) 2 ชุด เกิดมาจากนิวเคลียสที่มีโครโมโซม 2 ชุด (Diploid Nucleus) มีการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ (DNA) แต่ละโครโมโซมจะมีการแบ่งตัว ระหว่างขบวนการนั้นจะมีการแตกหักและเชื่อม (Crossing-Over) ของดีเอ็นเอที่มีการแบ่งตัวและมีการแยกของคู่ดีเอ็นเอ ทำให้สิ้นสุดการแบ่งแบบไมโอซิส (Meiosis) ขั้นที่ 1. ต่อจากนั้นก็จะมีการแบ่งตัวอีกครั้ง (Second division) ทำให้ได้แฮพพลอยด์ (Haploid) 4 เซล ดังรูปที่ 2.6 (Hough and Briggs , 1982)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปภาพที่ 2.6 วงจรชีวิตของ Saccharomyces

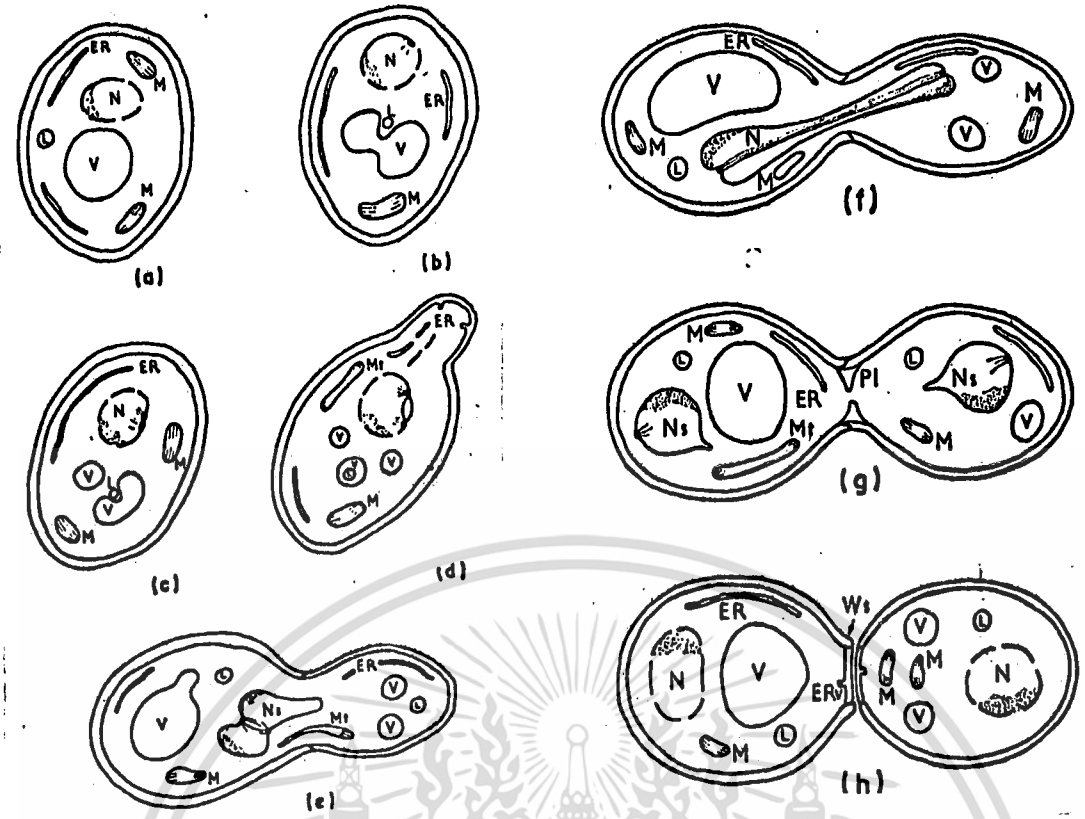
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปภาพที่ 2.7 การแสดงโครโมโซมที่มีการแบ่งตัวแบบ Meiosts

1. โครโมโซมเป็นเส้นเดียว
2. โครโมโซมจะจับเป็นคู่
3. โครโมโซมจะถูกแบ่ง
4. โครโมโซมจะแตกและมีการเชื่อมอีกครั้ง
5. จะมีแรงผลักของเซนโตรเมียร์ (Small Circles)
6. เซล 2 เซลจะมารวมกัน
7. จะมีการแบ่งครึ่งกัน
8. จะเกิด Haploid cell 4 เซล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปภาพที่ 2.8 ขั้นตอนการสร้างงาไซโตพลาสในการแตกหน่อของเซลยีสต์

a. เซลอยู่ในสภาพพักตัว

b. มีการรวมตัวของเอนโดพลาสมิค เรติคลัม (Endoplasmic Reciticulum)

c. มีการแบ่งแรคคิวโอล (Vacuoles) เรื่อย ๆ จะเกิด Proliferating endoplasmic reticulum มีการแบ่ง Centriolar plaque

d. มีการแตกหน่อ ลดเอนโดพลาสมิค เรติคลัม (Endoplasmic Reticulum) มีการก่อตัวเอง Spindle apparatus

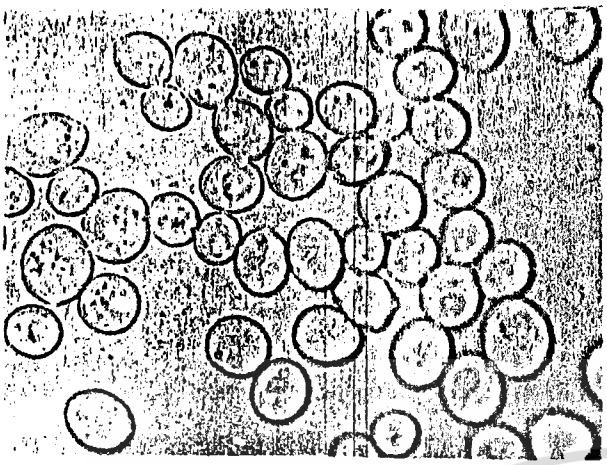
e. นิวเคลียสเริ่มเตรียมพร้อมที่จะเข้าไปในหน่อ

f. มีการแบ่งนิวเคลียสและชั้นส่วนไมโตครอนเดรีย

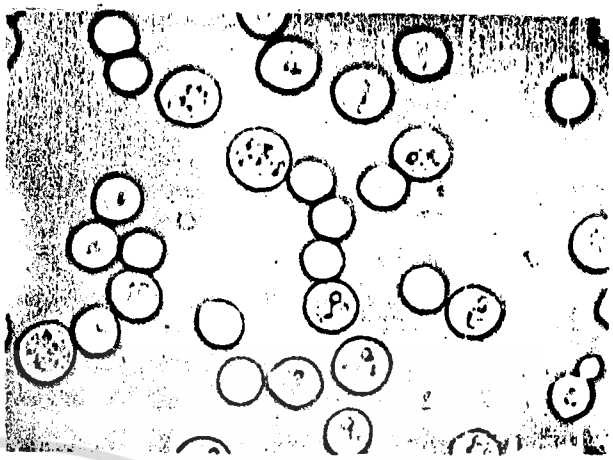
g. พลาสมาเลมมา (Plasmolemma) จะปิดเป็นช่องระหว่างเซลแม่และหน่อ

h. มี Cross-Wall เกิดขึ้น มีการรับของเอนโดพลาสมิค เรติคลัม (Endoplasmic Reticulum) ที่ได้จากเวสซิเคิล เซลแม่จะมีแวคคิวโอลขนาดใหญ่ 1 อัน ส่วนเซลลูกจะมีหลายอัน

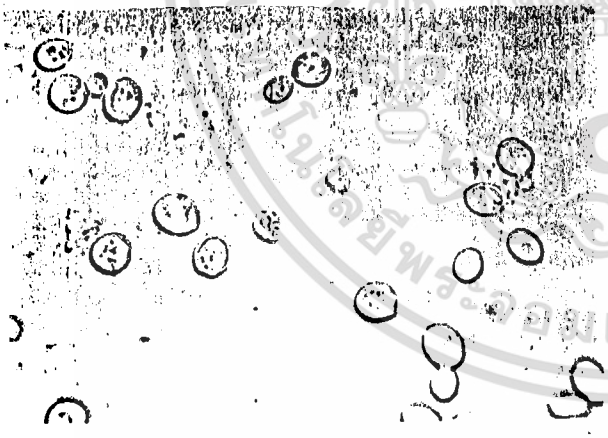
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



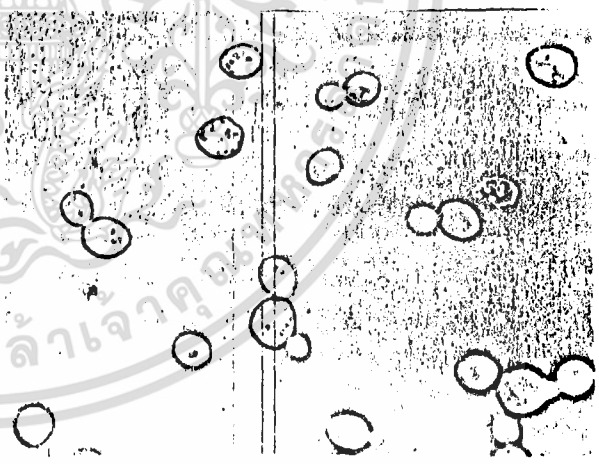
รูปภาพที่ 2.9 Lager yeast (1000x)



รูปภาพที่ 2.10 Ale yeast (900x)



รูปภาพที่ 2.11 การแตกหน่อของ Lager yeast (900x)



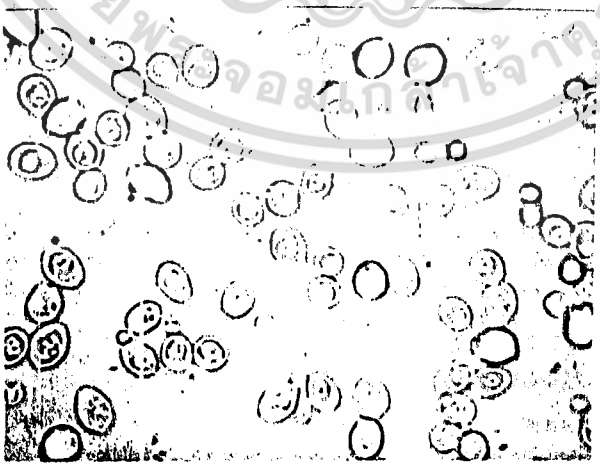
รูปภาพที่ 2.12 การแตกหน่อของ Ale yeast (750x)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.3 <u>การย่อยตัวเอง</u> (Autolysis)

เซลยีสต์ที่ตายแล้วจะมาจากการอดอาหารหรือมีส่วนสัมพันธ์กันเอนไซม์ที่อยู่ภายในเซล ในทางการค้า การสกัดเซลยีสต์โดยใช้การย่อยตัวเองจะใช้อุณหภูมิที่สูง (45 °ซ) หรือใช้ Plasmolysing agents เช่น โซเดียมคลอไรด์ หรือ สารละลายพวกสปิด เช่น เอธิลอะซิเตท พบว่ายีสต์ที่จะเจริญในที่มีความเข้มข้นของสังกะสีในปริมาณที่สูง (50 mg/ml) จะทำให้เกิดการย่อยตัวเองทั้ง ๆ ที่สังกะสีเองเป็นตัวที่ทำให้เกิดการหมัก (Maddox and Hough , 1970) เมื่อมีโปรตีนปรากฏในอาหาร การย่อยตัวเองจะเกิดในช่วงการเจริญเติบโตที่คงที่ (Stationary phase) (Maddoox and Hough , 1969) การย่อยตัวเองจะเพิ่มสูงขึ้นมาก จากการซึมผ่านออกในตอนที่ทำให้เซลแตก และไลโมโซม (Lysosomes) จะปล่อยเอนไซม์ออกมา การย่อยตัวเองขึ้นอยู่กับการหยุดอะนาบอลิสม (Anabolism) โดยปราศจากการสูญเสียประสิทธิภาพในการคะตะไลซ์ เช่น ใช้แรงตัน (Osmotic Shock) (Lewis and Phaff, 1963) จะทำให้มีการปล่อยของกรดอะมิโนและนิวคลีโอไทด์ กล่าวอีกนัยหนึ่งว่า เซลยีสต์จะมีถุงที่รั่วทำให้อินเวอร์เทสที่เป็นกรด ฟอสเฟต (Invertase acid , Phosphatase) และเอนไซม์อื่น ๆ ออกจากพลาสมาเมมเบรน (Plasmamembrane) นอกจากนี้ก็มีผลมาจากด้านแบคทีเรียอยู่ด้วยในปริมาณที่มากด้วย

รูปภาพที่ 2.13 Lager Yeast (750 x) ที่เกิดการย่อยตัวเองแล้ว



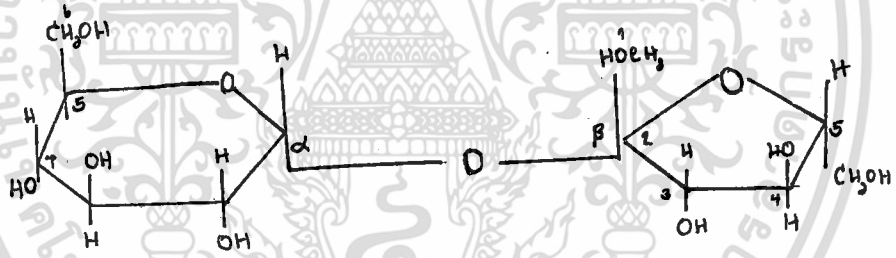
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 เอนไซม์อินเวอร์เทส Invertase Enzyme

Invertase (E.c.3.2.1.26) , β - D Fructofuranoside Fructohydrolase (Lampen , 1971) , Invertin , Saccharase , Sucrase (Myrback , 1960) จัดอยู่ใน Hydrolase Enzyme

2.3.1 สารตั้งต้นและความจำเพาะของเอนไซม์

สารตั้งต้นของอินเวอร์เทสก็คือ ซูโครส มีชื่อทางเคมีว่า Glucopyranosyl Fructofuranoside เนื่องมาจากพันธะไกลโคซิดิส ที่อยู่ระหว่างคาร์บอนตำแหน่งที่ 1 ของอัลโดส (กลูโคส) และคาร์บอนตำแหน่งที่ 2 ของคีโตส (ฟรุกโตส)



รูปภาพที่ 2.14 สูตรโครงสร้างของน้ำตาลซูโครส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

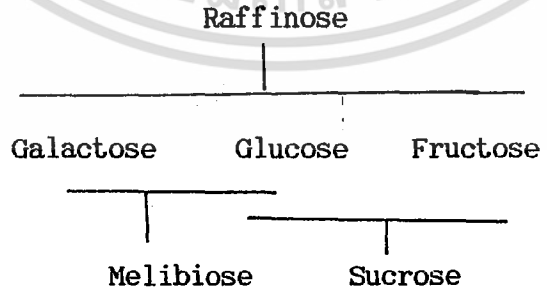
น้ำตาลชนิดนี้เป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่ จัดอยู่ในประเภท Non-reducing-sugar แต่ผลของการไฮโดรไลซ์ จะได้เป็นน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing Sugar) ซึ่งมีความหวานกว่าซูโครส ดังนั้นชื่อ Inversion มาจากการไฮโดรไลซ์ซูโครสได้จากการเปลี่ยนแปลงการหมุนระนาบแสงของน้ำตาล

$$\text{Sucrose} + H_2O \longrightarrow \underset{[\alpha]_D = +52.5^\circ}{\text{D(+) - Glucose}} + \underset{[\alpha]_D = -91^\circ}{\text{D(-) - Fructose}}$$

$[\alpha]_D = +66.5^\circ$

$[\alpha]_D = -20^\circ$

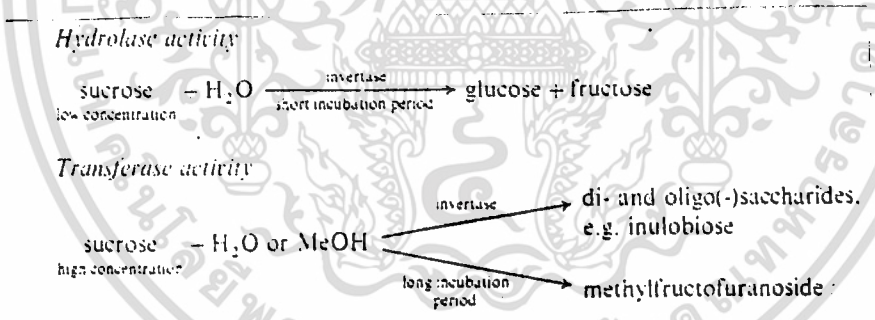
เอนไซม์ที่ไฮโดรไลซ์น้ำตาล เป็นการคะตะไลซ์โดยเอนไซม์ 2 ชนิดด้วยกันคือ α - D - Glucosidases และ β - D - Fructofuranosidases (E.c.3.2.1.26) ซึ่ง α - Glucosidases (Glucosidoinvertase) ติดพันธะไกลโคซิดิสจากด้านปลายของกลูโคส (c(1)-O Bond) และ β - Fructofuranosidase จะไฮโดรไลซ์โมเลกุลฟรุคโตส สารตั้งต้นที่สามารถกระทำได้โดยอินเวอร์เทส (Invertase) จะต้องมีด้านปลายเป็นพวก Unsubstituied β - D - Fructofuranosyl Residue แต่ส่วนของ Afructon moiety ในธรรมชาติจะมีความสำคัญเพียงเล็กน้อยสำหรับการคะตะไลซ์ของเอนไซม์ ดังนั้นนอกเหนือจากซูโครสแล้ว อินเวอร์เทสก็ยังสามารถไฮโดรไลซ์ α - D - Galactosylsucroses (น้ำตาลโมเลกุลคู่ของราฟิโนส) ซึ่งราฟิโนส (Raffinose) จะถูกไฮโดรไลซ์โดยอินเวอร์เทสไปเป็น เมลลิไบโอส (Melibiose) (Galactose -α- 6 - Glucose) และ ฟรุคโตส (Reep , 1973)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนกลูโคซิเดส (Glucosidases) ไม่สามารถไฮโดรไลซ์ราฟิโนสแต่จะทำกับเมเลซิโทส (Melezitose) (Glucose-Fructose-Glucose) ไปเป็นกลูโคส (Glucose) และทูราโนส (Turanose) ฉะนั้นการไฮโดรไลซ์ราฟิโนส (Raffinose) และเมเลซิโตส (Melegitose) จะเป็นตัวบอกความแตกต่างระหว่างอินเวอร์เทสและ ∝-D-Glucosidases

<u>ปฏิกริยาการเคลื่อนย้าย</u> (Transferase action)



รูปภาพที่ 2.15 ปฏิกริยาการเร่งของอินเวอร์เทส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากปฏิกิริยาการไฮโดรไวลซ์ซูโครสของอินเวอร์เทสแล้ว ยังมีปฏิกิริยาการเคลื่อนย้ายไปยังตัวรับ (Acceptors) ที่นอกเหนือจากน้ำ ทำให้พบโอลิโกแซคคาไรด์ (Oligosaccharide) หลายชนิดในระหว่างการไฮโดรไลซ์ซูโครส (Blanchard and Albon , 1950) จะมีการเคลื่อนย้ายส่วนของเบต้า ฟรุคโตฟราโนซิลจากสารตั้งต้น ซูโครส ราฟิโนส เมทธิล-ฟรุคโตฟูทโนไซด์ ไปยังตัวรับที่แน่นอน (Cosubstrate) ซึ่งจะเกิดประมาณ 10% ของน้ำตาลทั้งหมด

การเคลื่อนย้ายนั้นจะเกิดเมื่อD-Fructosyl ของซูโครสไปยังกลุ่มที่มีอัลดีไฮด์ เช่น D - Glucose และ D - Fructose ให้ น้ำตาลโมเลกุลคู่ 3 ชนิด (Reed , 1973) คือ . O - β - D - Fructosyl - (2→6-D-Glucose) , O - β - D - Fructosyl - (2→1)- D -Fructose (Inulobiose) และ O - β - D Fructosyl - (2 → 6) - D - Fructose (lavanbiose) นอกจากน้ำตาลแล้ว ก็ยังมีแอลกอฮอล์ เป็นตัวรับได้อีก เช่น ถ้ามีเมทานอล (Methanol) จะเกิดเป็น Methyl β - Fructofuranoside (Whelam and Jones , 1953) นอกจากนี้ยังสามารถเกิดไตรแซคคาไรด์ (Trisaccharides) ที่แตกต่างกัน 3 ชนิด ถ้ามี Primary Alcohol เป็นตัวรับนั่นก็คือ

1. β - fructofuranosyl - (2⟶6) - β - fructofuranosyl - (2⟶1) α - glucopyranoside (kettose , 6 - kestose)
2. β - fructofuranosyl - (2⟶1) - β - fructofuranosyl - (2⟶1) α - glucopyranoside (1 - kestose)
3. β - fructofuranosyl (2⟶1) - α - glucopyranosyl - (1⟶2) β - fructofuranoside (neokestose)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.2 อินเวอร์เทสจากยีสต์ Yeast Invertase

อินเวอร์เทสถูกแยกครั้งแรกจากยีสต์ โดย Berthelot ในปี ค.ศ .1860 ตั้งแต่นั้นมาได้มีการศึกษา และมีการทำให้บริสุทธิ์จากแหล่งต่าง ๆ กัน โดยใช้วิธีการสกัดที่แตกต่างกัน (Neuman and Lampen , 1967) ถึงแม้ว่าจะมีการศึกษาโดยใช้เอนไซม์ตัวนี้ แต่การทำให้บริสุทธิ์อย่างสมบูรณ์ก็ไม่สามารถทำได้ มีแต่เอนไซม์จาก S. cerevisiae และ S. carlsbergenses ที่มีความสำคัญในการผลิตอินเวอร์เทสในอุตสาหกรรม (Reed , 1975) อินเวอร์เทสที่เกิดจาก S. cerevisiae มี 2 ชนิดคือ อินเวอร์เทสที่อยู่ภายนอก (external) และ อินเวอร์เทสที่อยู่ภายใน (internal invertase) ขึ้นอยู่กับตำแหน่งว่าอยู่ภายในหรือภายนอกเซล (Fris and Ottolenghi , 1959)

อินเวอร์เทสที่อยู่ภายในเซล จะมีประมาณ 0.1-6.0% ขึ้นอยู่กับสายพันธ์ของ Saccharomyces โดยที่อินเวอร์เทสเป็นไกลโคโปรตีนที่มีคาร์โบไฮเดรทอยู่ถึง 50 % เมื่อเอนไซม์ที่อยู่ภายในถูกสังเคราะห์ ต่อมาจะถูก Glycosylated และถูกขับมาอยู่ในรูปที่ขับมาข้างนอก (Gascon and Lampen , 1968) คุณสมบัติของอินเวอร์เทส สรุปได้ในตารางที่ 2.8

ตารางที่ 2.8 แสดงคุณสมบัติของอินเวอร์เทสจากยีสต์

PROPERTIES OF YEAST INVERTASE[a]

Property	*Saccharomyces cerevisiae*		*Candida utilis*
	External	*Internal*	*External*
pH optimum	3·5–6·0	3·5–6·0	3·5–6·0
pH stability	3·5–6·0	6·0–9·0	3·5–8·5
Temp. optimum (°C)[b]	55	45	65
Temp. stability (°C)[c]	65	50	70
K_m (mM) sucrose	28·0	25·0	27·7
V_{max} (μmol min^{-1})	20·0	20·0	20·5
Molecular weight	270 000	135 000	210 000
Number of sub-units	2	n.d.	2
Sub-unit size	60 000	n.d.	95 000
Carbohydrate content (% w/w)	50	0	45

n.d., Not determined.
[a] Data compiled from refs. 15, 19, 21, 58.
[b] Determined in the presence of low sucrose concentrations. If high sucrose concentrations are used in the assay the temperature optimum increases because of an increase in stability of the enzyme.[58]
[c] Temperature at which rapid inactivation occurs when the enzyme is pretreated in the absence of sucrose.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อินเวอร์เทสที่ขับมานอกเซลจะมีโมเลกุลครึ่งหนึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรต มีความสำคัญในการทนทานต่อการถูกทำลายสูง ซึ่งส่วนของโปรตีนจะมีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 120000 ดาลตัน และประกอบด้วย 2 หน่วยที่มีขนาดเหมือนกันอยู่ คือ ประกอบด้วยไลซิน (Lysine) ที่ส่วนด้านปลายของ คาร์บอกซิล ส่วนอินเวอร์เทสที่ขับมานอกเซลจากจาก Candida utilis ส่วนของไกลโคโปรตีนจะประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรต 45 % มี 2 หน่วยมีอุณหภูมิที่เหมาะสมและความเสถียรที่สูงกว่า S. urevisiae ซึ่งเหตุผลสำหรับความเสถียรยังไม่ทราบ แต่น่าจะมีส่วนเกี่ยวกับกรดอะมิโนโดยที่ถ้ามีซีสตัน (cysteine) และไทโรซีน (tyrosine) สูงจะทำให้ความเสถียรของอินเวอร์เทสสูงขึ้นด้วย ดังตาราง

ตารางที่ 2.9 แสดงกรดอะมิโนที่เป็นส่วนประกอบของอินเวอร์เทสจากยีสต์

AMINO ACID COMPOSITION OF YEAST INVERTASES[a]

Amino acid	*Saccharomyces cerevisiae*[b]		*Candida utilis*[c]
	External	*Internal*	*External*
Glycine	71	115	81
Alanine	68	84	63
Serine	114	151	135
Threonine	84	80	126
Proline	65	63	54
Valine	69	73	90
Isoleucine	40	38	72
Leucine	83	77	90
Phenylalanine	80	77	72
Tyrosine	65	31	95
Tryptophan	33	30	33
Cysteine	5	0	9
Methionine	21	14	9
Aspartic acid	178	165	216
Glutamic acid	115	124	153
Arginine	27	32	27
Histidine	16	29	9
Lysine	60	85	45
Glucosamine	38	0	24

[a] Data compiled from refs. 15, 21.
[b] Moles 135000 g. or mole. of invertase protein.
[c] Moles 141000 g. or mole. of invertase protein.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.3 การสังเคราะห์ทางชีวะและการขับเอนไซม์อินเวอร์เทส

การสังเคราะห์ทางชีวะของอินเวอร์เทส ไม่เพียงแต่จะสังเคราะห์ส่วนที่เป็นโปรตีนเท่านั้น แต่จะรวมถึงการ Glycosylation โดยที่อินเวอร์เทสที่ขับมานอกเซล จะผลิตตลอดวัฏจักร ในขณะที่อินเวอร์เทสที่ขับมานอกเซลจะผลิตในขั้นการแตกหน่อ (Gallili and Lampen , 1977) อินเวอร์เทสที่ขับมานอกเซลจะเป็นโปรตีนที่มีแมนโนส (Mannose) ประกอบอยู่ โดยใช้แมนโนสเป็นตัวบ่งชี้ติดตามผล เมื่อมีการบ่มน้ำตาลกับไรโมโซมของยีสต์ (Ruiz and Sentandreu , 1975) ซึ่งเป็นจุดเริ่มต้นของการ Glycosylation ของแมนโนโปรตีน รวมทั้งอินเวอร์เทสจะเกิดในขณะที่โพลีเปปไต์ดเจริญบนไรโมโซม นอกเหนือไปจากแมนโนสแล้ว อินเวอร์เทสน่าที่จะเกิดบนส่วนอื่นของเซลด้วย มีการพบ Mannan synthetase activity ในพลาสมาเมนเบรน (Plasma Membrane) ของสเนียโรพลาสต์ spheroplast จากสายพันธุ์ Saccharomyces เมื่อสเฟียโรพลาสต์เหล่านี้ถูกบ่มด้วยทริมซิน (Trysin) แล้ว Mannan synthetase acitivity จะถูกยับยั้งและหยุดทำให้มีการขับอินเวอร์เทสหยุดด้วย ดังนั้นขบวนการ Trypsinisation ของพลาสมาเมมเบรน ของยีสต์จะขัดขวางการรับออกของเอนไซม์ที่ขับมานอกเซล ซึ่งอินเวอร์เทสที่จำเป็นต้องขับออกจากพลาสมาเมมเบรน ในระหว่างการสังเคราะห์แมนโนโปรตีนนั้นเป็นปฏิกิริยา Glycosylation จะถูกคะตะไลซ์โดยเอนไซม์ที่อยู่บนขบวนการและจะเป็นจุดเริ่มต้นในการย้ายไปยังโปรตีนของอินเวอร์เทส ซึ่งปรากฏเป็นตัวกลางของลิปิด (lipid) (Lehle and Tanner , 1975)

อินเวอร์เทสจะประกอบด้วยโอลิโกแซคคาไรด์ (Oligosaccharide) ที่เป็นกลาง ซึ่งจะติดกับส่วนของโปรตีนด้วยพันธะ glycosylasparagine จะมีตำแหน่งดังนี้ Asn - $(Glc\ NAc)_2$ - Mannan (Tarentino and Maley , 1974) Core ซึ่งเป็นหน่วยของคาร์โบไฮเดรตนั้น จะถูกย้ายให้กับโปรตีนรของอินเวอร์เทส ซึ่งเป็นสารตัวกลางของลิปิด ในขณะที่ dol-P_2 -(Glc NAc) เป็น Dolichyl Pyrophosphate carrier (Lehle and Rallou , 1979) ลำดับของการเกิดแสดงดังภาพที่ 2.16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Biosynthesis of yeast external invertase. [a] Precursor invertase possessing core carbohydrate. [b] Completely synthesised invertase molecule ready for secretion. * Catalytically active. ** Blocked by tunicamycin.[41]

รูปภาพที่ 2.16 การสังเคราะห์อินเวอร์เทสที่ขับออกมานอกเซล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปรากฏว่าที่เมนเบรนจะมีสารตั้งต้น (Precursor) สำหรับอินเวอร์เทสที่ขับออกมานอกเซล จะมีน้ำหนักของโมเลกุล 190000 (Babezinski and Tanner , 1978) แต่รูปแบบที่ปรากฏนั้น Core ของคาร์โบไฮเดรต จะถูกย้ายโดยทาง dolichy phosphate bond intermediates และมีการเติม แมนโนส ต่อมาผลของการเปลี่ยนแปลงและการเกิดอินเวอร์เทสที่ขับออกมานอกเซล จะมีน้ำหนักโมเลกุลเป็น 270000

2.3.4 <u>การปลดปล่อยเอนไซม์อินเวอร์เทส</u>

อินเวอร์เทสจะถูกปลดปล่อยออกมาด้วยการย่อยตัวเอง ซึ่งเป็นขบวนการที่ค่อนข้างช้า ซึ่งมีเอนไซม์นี้จะเชื่อมติดกับโปรตีนที่ไม่ละลายหรือใกล้กับเมนเบรน วิธีที่จะใช้ให้ยีสต์เกิดการย่อยตัวเองก็คือ ลดแรงตึงผิวรอบอาหารจะเป็นสาเหตุทำให้เกิดการหดตัวของโปรโตพลาสมเนื่องจากสูญเสียน้ำ ทำให้เกิดการรั่วของอินเวอร์เทสจากเซลยีสต์ ซึ่งสารที่ใช้คือ Diethyl Ether , Chloroform , toluene และ Ethyl acetate จะถูกใช้มาก กากรลดแรงตึงผิวของน้ำที่ทำให้เกิดการพลาสโมไลซิส (Plasmalysis) นั้นไม่จำเป็นที่ต้องเป็นต้องเป็นสารละลายที่มีไรซินอยู่ แม้แต่ Glycerol (Wittich , 1969) ซูโครส และโพลีแซคคสไรด์ที่ละลายเช่น Gum Arasbic ก็สามารถใช้ได้

การทดลองที่พบเช่น ใช้ 3 - 5 เปอร์เซ็นต์ของโซเดียมคลอไรด์และให้ความร้อน 45 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (Prpler , 1970) ยีสต์จะกลายเป็นของเหลว 80 เปอร์เซ็นต์ (เรียม , 2530) หรือการใช้เอธิลอะซิเตทเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก็สามารถให้อินเวอร์เทสเพียงเล็กน้อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.5 การตัดสินปฏิกริยาการเร่ง

1. Arbitrary unit

วิธีนี้เป็นการหาปฏิกริยาการเร่ง โดยดูอัตราการย่อยสลายของเอนไซม์ให้กลายเป็นผลิตภัณฑ์ โดยหาจากความเข้มข้นของสารตั้งต้นที่หายไป หรือผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นในเวลาที่กำหนด ช่วงที่เหมาะสมของเอนไซม์จะแตกต่างกัน แล้วแต่ผู้ทดลอง เพื่อให้ได้ปฏิกริยาการเร่งสูงสุด

2. Official unit

วิธีนี้ใช้กับสารที่เป็นมาตราฐาน เป็นหน่วยของเอนไซม์ที่กำหนดขึ้นโดย The Inter-national Union of Biotechemistry โดยกำหนดว่าเป็นปริมาณเอนไซม์ที่เปลี่ยนสารตั้งต้นจำนวน 1 หน่วยต่อนาที ภายในสภาวะที่กำหนดหรือบางกรณีจะใช้ปริมาณผลิตภัณฑ์ที่ได้ 1/(mole/นาที นอกจากนี้ยังอยู่ในรูปของ Specific ของเอนไซม์ โดยหายูนิตของเอนไซม์ต่อมิลลิกรัมของโปรตีน

การกระทำของอินเวอร์เทสจะวัดผลิตภัณฑ์ของการไฮโดรไลซ์ซูโครสหรือจาก Fructosyl transfer การวัดจะใช้จาก (Lampen , 1971)

- การวัดการหมุนระนาบของแสง (Polarimetry)
- น้ำตาลรีดิวซ์ (Reduced sugar)

(Hestrin and Feingold , 1955)

- ใช้กลูโคสออกซิเดส (Glucose oxidase)

(วิธีนี้จะมีข้อผิดพลาดน้อยจากปฏิกิริยา Transfer และสามารถเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็ว) (Messer and Dahlqiust , 1966)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลักการหาน้ำตาลรีดิวซ์

$$2\ Cu^{++} + \text{น้ำตาลรีดิวซ์} \longrightarrow Cu_2O$$

$$Cu_2O + H_2SO_4 \longrightarrow 2\ Cu^{+}$$

$$2\ Cu^{+} + Mo\ O_4^{--} + So_4^{--} \longrightarrow 2\ Cu^{++} + \text{สารสีฟ้า}$$

เมื่อน้ำตาลรีดิวซ์ทำปฏิกิริยากับ Cu เกิดเป็น Cu_2O จะทำปฏิกริยากับกรดซัลฟูริคเกิดเป็น Cu^{+} และทำปฏิกริยาต่อกับแอมโมเนียมโมลิบเดรท เกิดเป็นสารสีฟ้าขึ้น

หลักการหาน้ำตาลกลูโคส โดยใช้กลูโคสออกซิเดส

1. มีการออกซิไดซ์ D - Glucose ไปเป็น D - Gluconic กับ H_2O_2
2. มีการวัดสีในรูป H_2O_2

ปฏิกริยาออกซิเดชั่นของ D - Glucose ถูกกระทำด้วยกลูโคสออกซิเดส ซึ่งมีความจำเพาะต่อ β - Anomer ของ D - Glucose ถ้ามีมิวทาโรเดส (Mutarotase) อยู่จะมีการเปลี่ยน ∝ -D-Glucose ไปเป็น β -D-Glucose เพื่อให้กลูโคสออกซิเดส (Glucose Oxidase) ได้ผลผลิตเป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen Peroxide) ต่อจากนั้นเพอร์ออกซิเดส (Peroxidase) จะทำให้ฟีนอล และ 4-aminoantipyrine เกิดการรวมตัว (Condensation) เพื่อผลิต Red quinone เพราะฉะนั้นจำนวนกลูโคสของตัวอย่างจะตัดสินโดยการวัดการดูดกลืนของแสงสีแดง ที่ความยาวคลื่น 505 พาโนเมตร (Wako pure chemical industries)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.6 กลไกของการเร่ง

การกระทำของอินเวอร์เทสยังไม่ทราบ แต่พบว่าจะเกี่ยวกับคาร์บอซิเลท แอนอิออน (carboxylate anion) และส่วนของอิสทีดีน (histidine) ในการเชื่อมกันของสารตั้งต้นนั้น จะมี pK เท่ากับ 3 มีการศึกษาพบว่าไอโอดีนที่ความเข้มข้นต่ำจะยับยั้งปฏิกริยาการเร่งของอินเวอร์เทส ได้ถึง 50 % และสามารถใช้ Mercaptoethanol และ Mercaptoethylamine ให้มีปฏิกริยาการเร่งได้ ในขณะที่ซีสเตอีน (cysteine) จะไม่ทำเนื่องมาจากเพียงความแตกต่างระหว่างซีสเตอีน (cysteine) และ mercaptoethyl คือ คาร์บอกซิเลท แอนอิออน ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าคาร์บอกซิเลท แอนอิออน จะปรากฏใกล้ชิดกับบริเวณเร่ง (Active site) ของเอนไซม์ ส่วนซีสเตอีน จะอยู่ห่างไกลจากบริเวณเร่งของเอนไซม์ โดยใช้ electrostatic repulsion

นอกจากนี้ยังพบว่า กลุ่มที่มี -SH จะมีส่วนเข้าร่วมในการทำงานพบว่าปฏิกริยาการเร่งของอินเวอร์เทสเพิ่มได้หลายเท่าถ้ามีซีสเตอีนอยู่ แต่จะลดลงโดยไอโอดีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.7 ความเสถียร (Stability)

1. พีเอช (pH)

เมื่อใช้สารละลายต่างแยกอินเวอร์เทสให้บริสุทธิ์นั้น จะสูญเสียปฏิกริยาการเร่ง อย่างรวดเร็ว แต่ถ้าอินเวอร์เทสไม่ถูกแยกจากเซล จะมีการตัดซูโครสที่ พีเอช 8 เมื่อขบวนการหมักมีพวก โซเดียมซัลไฟท์ (sodium sulfite) , แมกนีเซียมออกไซด์ (magnesium oxide) , แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (ammonium hydroxide) , ไดโซเดียมฟอสเฟต (disodium phosphate) และ โซเดียมคาร์บอเนต (sodium carbonate) จะให้ผลผลิตเป็นกลีเซอรอล (glycerol) และอะซีตัลดีไฮด์ (acetaldehyde) (Neuberg and Hirsch , 1919) ซึ่งอินเวอร์เทสจากยีสต์จะมีปฏิกริยาการเร่งสูงสุดเมื่อเป็นกรดที่ พีเอช 4-5 แต่ค่าที่ใช้ทั่วไปคือ 4.5 (Sensner and Myrback , 1950) ซึ่งจะมีทฤษฎีเริ่มแรกที่ใช้อธิบาย activity pH curve ซึ่งสรุปได้ว่าอินเวอร์เทสจากยีสต์เป็นสารที่มีฤทธิ์เป็นทั้งกรดและด่าง (Ampholyte) และจะอยู่ในรูปที่มีประจุสมดุลย์ (Isoelectric) เท่านั้นที่จะมีปฏิกริยาการเร่ง ส่วน Kuhn (1923) พบว่าบางส่วนของ curve ไม่ได้ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารตั้งต้น ถ้า พีเอช มากกว่า 4 จะเป็นช่วงที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซ์ ซูโครส และ ราฟิโนส ถึงแม้ว่าความสามารถของเอนไซม์สำหรับซูโครสจะสูงกว่าราฟิโนสถึง 15 เท่าก็ตาม แต่ถ้า พีเอช น้อยกว่า 4 จะทำให้ความสามารถของอินเวอร์เทสสำหรับซูโครสลดลง จะเป็นไปตามสูตร

$$\text{ความสัมพันธ์ของปฏิกริยาการเร่ง} = \frac{1}{\left(1 + \frac{K_A}{[H^+]}\right)\left[1 + \frac{K_m}{[S]}\left(1 + \frac{[H^+]}{K_B}\right)\right]}$$

เมื่อ pK ~ 3 , pK ~ 7 และ Km (The Michaelis Constant) เท่ากับ 0.03 สำหรับน้ำตาลซูโครส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. อุณหภูมิ

อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับอินเวอร์เทส จากยีสต์จะเหมือนกับการเจริญและการขยายขนาดของเซล ซึ่งอินเวอร์เทสที่แห้งจะทนความร้อนได้สูงมากถึง 145 - 160 °ซ แต่ถ้าอยู่ในสารละลาย ความร้อนที่ 60 °ซ ก็สามารถทำลายปฏิกริยาการเร่งได้เกือบครึ่งหนึ่ง ซึ่ง Euler และ Laurin (1920) พบว่า พลังงานความร้อนที่จะทำให้อินเวอร์เทสเสียสภาพ พีเอช เท่ากับ 4 ประมาณ 101000 cal (mole) และพบว่าอัตราการไฮโดรไลซ์จะเพิ่มตามอุณหภูมิ พบว่าที่อุณหภูมิ 45 °ซ จะมากกว่าที่ 35 °ซ ถึง 3.5 เท่า (Kapanan and Shrinkhanda , 1932)

3. รังสี

การถูกทำลายด้วยแสงอุลตราไวโอเลตของอินเวอร์เทสนั้น ถูกคนพบในช่วงแรกโดย Downes and Beunt (1879) ซึ่งต่อมา Agulhon (1911) พบว่าอินเวอร์เทสจะไม่ถูกทำลายโดยแสงในที่สูญญากาศ แต่ถ้าเป็นอุลตราไวโอเลตที่มีความยาวน้อยกว่า 3022 °A จะกระทำกับเอนไซม์ได้ ถึงแม้ว่าจะน้อยกว่าในส่วนที่มีออกซิเจนอยู่ และพบว่า และของเรเดียมจะทำลายอินเวอร์เทสได้ (Goldharber and Letbowitz , 1943) แต่ X-ray จะไม่มีผล (Emmerling , 1901)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.8 ตัวยับยั้ง

1. อนินทรีย์สาร

การสูญเสียปฏิกริยาการเร่ง ในสารละลายที่เป็นตัวออกซิไดส์ ยังไม่ทราบแน่ ซึ่ง Sizer (1942) คิดว่ามาจากพลังงานในการออกซิไดซ์ที่สูง ไม่ใช่ความเป็นพิษของสารตั้งต้น และพบว่าการยับยั้งของเอนไซม์เป็นแบบผันกลับไม่ได้ และไม่ได้ขึ้นอยู่กับความบริสุทธิ์ การลดสารจำพวกไฮโดรเจนซัลไฟด์ (Hydrogen Sulfide) และ โซเดียมไทโอซัลเฟต (Sodium Thiosulfate) จะทำให้มีการเพิ่มปฏิกริยาการเร่งอย่างมาก ส่วนการยับยั้งจากโลหะ มีการศึกษากันอย่างมาก เช่น เงินจะเป็นการยับยั้งแบบผันกลับได้ เมื่อมีเงินอยู่ 7 - 8 อิออนต่อโมลของอินเวอร์เทส โลหะอิออนจะเชื่อมกับด้านที่เป็นฮิตติดีน (Histidine) ไม่ใช่กลุ่มของไทออล Thiol (Reed , 1975) ส่วนสังกะสีเป็นการยับยั้งแบบผันกลับได้ และเป็นแบบไม่แข่งขัน ขึ้นอยู่กับ พีอช โดยตรง (Myrback , 1967) จะทำให้เกิดไดเมอร์ขึ้น หรือปรอทจะยับยั้งอินเวอร์เทสอย่างแรง เมื่อมี pH 4-7 จะการทำให้มีปฏิกริยาการเร่งอีครั้ง จะใช้ glutathione แต่เป็นขบวนการแบบช้า ๆ นอกจากนี้ก็จะมีสารประกอบของปรอท เช่น phenyl mircury , อะซิเตท , p และ m-mercurybenzoate และ o-hydroxylmethylphenyl mercury chloride จะเป็นตัวยับยั้งแบบรุนแรง และมีการกระทำเหมือนกับ Mercury chloride (Myrback , 1957) นอกจากนี้ก็มี ไอโอดีน ซึ่งถ้ามีจำนวนมากก็ไม่สามารถทำให้เอนไซม์ inactivate มากกว่า 50 % ที่อุณหภูมิห้องโดยที่ indoinvertase จะมีปฏิกริยาการเร่งประมาณ 60 % ของเอนไซม์เริ่มต้น ซึ่งเกิดมาจากปฏิกริยา Iodination ของไทโรซิน (Tyrosine) และสารประกอบที่เป็นวงอื่น ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. อินทรีย์สาร

2.1 สารที่เป็นสาย (aliphatic) ได้แก่ อะซิโตน (acetone) , กลีเซอรอล (glycerol) และ แอลกอฮอล์ (alcohol) โดยที่อะซิโตน (acetone) จะมีความเป็นพิษ เมื่อมีอิออนของแอมโมเนียมในสารละลายของเอนไซม์ (Willstatter , 1928) ส่วนกลีเซอรอล จะทำให้หยุดปฏิกริยาการเร่งเมื่อมีความเข้มข้นมาก ๆ (Bourquelot , 1977) เป็นไปได้ที่ว่าจะยับยั้งโดยทำลายสารประกอบของเอนไซม์-สารตั้งต้นออกเป็นส่วน ๆ แต่ถ้ามีกลีเซอรอลในปริมาณที่เจือจางจะทำหน้าที่เป็นสารที่ทำให้เกิดความเสถียร(Stabilizer) (Wittich , 1869) ส่วนเอธานอลจะทำให้เสียปฏิกิริยาการเร่ง เอนไซม์สูงสุด 50 % จะไม่มีการทำลายเกิดขึ้นเลยที่ -20 °ซ ในสภาวะที่เป็นกรด เช่น กรดอะซิติค (Acetic Acid) (Willstatter , 1924)

2.2 สารที่เป็นวง (Aromatic) สารจำพวกอะนีลีน aniline , o ; m ; p - toluidine , bromoanilines , aminobenzoic acids และ sulfanilic acid (Euler , 1922) จะทำปฏิกริยากับกลุ่มของคาร์บอนิล คล้ายกับฟีนิลไฮดราซีน (phenylhydrazine) และ aminoguanidine ซึ่งมีผลในการยับยั้ง โดยจะมีการทำลายสารประกอบของการตั้งต้น-เอนไซม์ มากกว่าการจะยับยั้งโดยการเชื่อมกับเอมีน

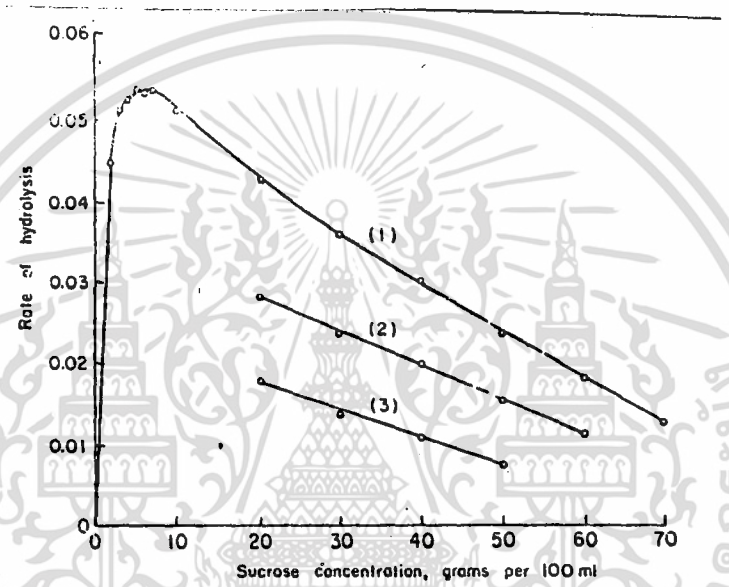
2.3 สี (dyes) สารละลายที่เจือจางของสี (congored , fuchin , safranine) (Mershkowsky , 1963) ซึ่งจะมีการเชื่อมกับเอนไซม์อย่างหลวม ๆ แต่ไม่ได้แทนที่รวมกับซูโครส การทำลายการกระทำของ Photodynamic Dyes มีการทำให้เสียปฏิกริยาการเร่ง โดยทั้งสีที่เป็นกรดและด่าง และจะมีการแข่งขันของน้ำตาลที่แตกต่างกันกับสีสำหรับย้อม สำหรับอินเวอร์เทส (Ouastel and Yates , 1932)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 น้ำตาล เป็นตัวยับยั้งที่น่าสนใจเพราะเป็นผลิตภัณฑ์จากซูโครสเอง (Henri , 1902) ทั้ง ∝ และ β - fructose แต่ไม่ใช่ ∝ - glucose จะยับยั้ง fructosidase นอกจากนี้คาร์โบไฮเดรตตัวอื่น ๆ ที่ได้รับจากการตัดซูโครสก็เป็นตัวยับยั้งด้วย เช่น ∝ และ β galactose , ∝ และ β arabinose , ∝ และ β methyl glucosides (Kuhn and Munch , 1925) β-rhamnose (Fuller and Josephson , 1924) และพบว่าถ้าอยู่ในรูป ∝ จะมีประสิทธิภาพมากกว่า ผลของการทำให้ฟรุตโตอินเวอร์เทส (fructoinvertase) ถูกเร่งอีกครั้งโดยฟรุคโตส (fructose) และ glucoinvertase โดยกลูโคสขึ้นอยู่กับการชอบที่จะรวมกับเอนไซม์ด้วยน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวมากกว่าสารตั้งต้น

นอกจากนี้ความเข้มข้นของสารตั้งต้นก็มีผลต่อปฏิกริยาการเร่งของอินเวอร์เทส โดยเฉพาะซูโครส ที่สามารถละลายได้สูง ดังภาพที่ 2.17 แสดงผลของความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสกับ activity ของเอนไซม์ ช่วยการเปลี่ยนแปลงก็เหมาะสมก็คือ มีซูโครส 5 - 8 เปอร์เซ็นต์ ที่ ซูโครส 70 เปอร์เซ็นต์ จะมีอัตราเพียง 1 ส่วน 4 ของอัตราเร่งสูงสุด การทดลองนี้ทำที่ พีเอช 4.5 นอกจากนี้ก็มีการเติม 10 และ 20 % เอธานอล ตามลำดับจะเห็นว่ากราฟมีลักษณะลาดลง (Reed , 1975)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปภาพที่ 2.17 ผลของความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสกับปฏิกริยาการเร่งของยีสต์

1. ซูโครส
2. ซูโครส + 10% แอลกอฮอล์
3. ซูโครส + 20% แอลกอฮอล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 ประโยชน์ของ Invertase

- ทำน้ำตาลอินเวอร์ (invert sugars) ที่ไม่ตกผลึกจากซูโครส
- ใช้ในโรงงานทำลูกกวาดที่หุ้มด้วยชอคโกแลค (Williams , 1964)
- ใช้ในการเตรียมอาหารสัตว์ที่มี D-Fructose จากอินโนลิน (Inulin) (Fructan , Polyfructose)
- ใช้ในการเตรียม Genteobiose จาก Gentianose
- ใช้ในการเตรียม phosphorylated hexose sugar จาก sucrose monophosphate
- ใช้ในการทำผลิตภัณฑ์ที่มีซูโครสที่มีความเข้มข้นสูง
- ใช้ในการเตรียม levulose (crude fructose ใช้ในโรงงานกระดาษเป็นตัว platiciser)
- ใช้ในการจำแนกซูโครสและความสัมพันธ์ของโอลิโกแซดอกไรด์ บางทีจะอยู่ในรูปของ enzyme electrode centaining เช่น Invertase glucose oxidase (Satoh , 1976)
- ใช้ในการไฮโดรไลซ์ซูโครส ที่อยู่ในโมลาส เพื่อใช้ในการปรับปรุงการเจริญของจุลินทรีย์
- ใช้ในทางอายุรเวท (Maggi and Madarena , 1922)
- ใช้ในการจำแนกตัวยับยั้ง (Townshend , 1973)
- ใช้ทำน้ำผึ้งเทียม
- ใช้ในการเตรียมดรีมไม่ให้ตกผลึก
- ทำ marzipan , fondant (Walliams , 1964)
- ใช้ตรวจสอบซูโครสในธัญญพืช ผลิตภัณฑ์ของธัญพืชและพืชอื่น ๆ (Clrning - Beroard , 1973)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- มีการพัฒนาการใช้เอนไซม์โดยทำเป็นการตรึงเอนไซม์ (immobilised invertase)
- ใช้แยกไซยาไนด์ (cyanide), ซัลไฟด์ (sulphide), ไอโอดีน (iodide), เงิน (silver) (2-10x10-7 m) และ ปรอท (mercury) (2-10x10 ท) (Townshend, 1973)

ก. การทำน้ำตาลอินเวอร์ส (invert sugar)

การทำน้ำตาลอินเวอร์ส (invert sugar) นั้น แต่ก่อนใช้กรดในการไฮโดรไลซ์ ต่อมาในช่วงสงครามโลกครั้งที่สอง กรดซัลฟูริคไม่สามารถหาได้ จึงได้มีการใช้การตรึงเอนไซม์ (immobilised) ในระดับขนาดใหญ่ โดยใช้ซูโครสซีรัป (Sucrose syrup) ผ่านไปยังถังที่มีรากไม้ที่เผาแต่ละชั้นจะมีอินเวอร์เทสอยู่ ขบวนการมีประสิทธิภาพและไม่แน่ว่าจะโดยใช้เกลือ สารอินทรีย์ที่เหมาะสม หรือใช้ซูโครสที่มีการย้อนกลับ (70% w/v) บ่มเป็นเวลา 48 ชั่วโมงที่ 50 °ซ และ พีเอช 4.5 เมื่อได้ซีรัปมาต้องมีการทำให้บริสุทธิ์อีกครั้ง นอกจากการระเหยอินเวอร์เทสที่ใช้ในการค้าจะถูกตรึงใน Collagen membranes และมีการป้อนกลับเอง 1.52 - 1.55 M ซูโครส พีเอช 5 ที่ 55 °ซ ด้วยอัตรา 2 ปริมาตรต่อชั่วโมง ระดับของการเปลี่ยนจะตกจาก 84.4 เปอร์เซนต์ ไปเป็น 49.2 เปอร์เซนต์ ภายใน 12 ชั่วโมง สีของไซรัป (syrup) ที่ได้จะไม่เปลี่ยนแปลงตลอดในขั้นตอนการเปลี่ยน (Buche, 1981)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค. Fondant

Fondant เป็นของผสมของน้ำตาลที่ต้มแล้ว , กลูโคสซีรัป และ น้ำ จะมีน้ำตาลที่ตกผลึกเล็กน้อยอยู่ในของเหลวที่ไม่ได้ตกผลึก อาหารที่จะเป็นสารละลายของน้ำตาลที่อิ่มตัว ขนาดของผลึกน้ำตาลขึ้นอยู่กับการเปลี่ยนของการกระทำของ "doctor" เช่น ตรีมของทาร์ทาร์ (tartar) หรือ น้ำตาลอินเวอร์ โดยที่ตรีมของทาร์ทาร์จะไปเปลี่ยนบางส่วนของซูโครสไปเป็นน้ำตาลอินเวอร์ส นอกจากนี้ อัลบูมินจากไข่ หรือ เจลลาติน (gelatin) ที่ใช้จะทำให้เกิดการตกผลึกมากขึ้น โดยแผ่นคอลลอยด์ที่เกิดขึ้นจะไปล้อมรอบน้ำตาลทำให้เกิดเป็นผลึกขึ้น เพราะฉะนั้นเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่ดี เราจึงใช้อินเวอร์เทสแทนในอัตราส่วน 2 ออนซ์ต่อ Fondant 100 ปอนด์ เป็นเวลา 2 สัปดาห์ในที่เย็น ซึ่งอินเวอร์เทสจะกระทำจนมีความเข้มข้นของน้ำตาลถึง 80 เปอร์เซ็นต์ อินเวอร์เทสก็จะลดปฏิกริยาการเร่งลงไป ยกตัวอย่างเช่น

Cast Fondant Cream Centres		
Fondant Base	100	lb
Invertase	2	fl.oz
Concentrated Fruit Juice	8	fl.oz
(72% ของของแข็งที่ละลาย)		

Fondant จะใช้แทนที่ในการหลอมดรีม ซึ่งจะให้ความร้อนที่คงที่ที่ 130 องศาฟาเรนซ์ไฮซ์ และมีการเติม invertase น้ำผลไม้ และ สี (สีควรมีการกรองก่อนใช้) หลังจากมีการตนอย่างคงที่แล้ว แล้วมีการปล่อยให้ตกตะกอน ก็จะมี cast เกิดขึ้น แล้วจึงมีการเคลือบด้ายชอคโกแลต (William , 1964)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ง. การทำน้ำผึ้ง

ในน้ำผึ้งประกอบด้วย

Dry	Solids	83%
	Luvulose	38%
	Dextrose	34%
	Maltose	7%
	Sucrose	6%
	Dixtrin	2%
	Higher sugar	2%
	Resins	5%
	Undertermined Matter	3%
	Acidity as gluconic	1.2%
	Ash	0.2%
	Nitrogen	0.1%
Sugar as Dextose		77%
Optical rotation		-5° to -10°
Moisture		17%

การทำน้ำผึ้งได้มาจากการคั้นน้ำหวานจากรวงผึ้ง มีการระเหยน้ำออกไป ทำให้มีของแข็งเพิ่มขึ้นจาก 14 เปอร์เซ็นต์ เป็น 75 - 80 เปอร์เซ็นต์ น้ำตาลจะถูกเปลี่ยนโดยเติมเอนไซม์เข้าไปจับกับน้ำผึ้ง ตั้งไว้ระยะเวลาหนึ่ง แล้วจึงเอากากออก หลังจากที่ให้ความร้อนที่ 70 องศาเซลเซียส เพื่อลดน้ำตาลที่ตกผลึก ที่มากเกินในระหว่างการเก็บด้วยก็ได้ (Jackson , 1973)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จ. การใช้อินเวอร์เทสสำหรับตรวจสอบชูโครส พวกธัญญพืชผลิตภัณฑ์จากธัญญพืชและพืชอื่น ๆ

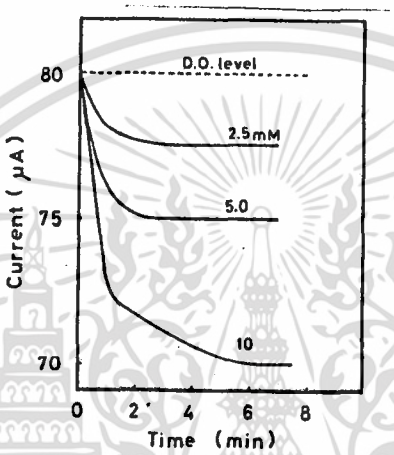
การตรวจสอบน้ำตาลซูโครสในพืชจะถูกกระทำเมื่อมีการสกัดด้วย 80 เปอร์เซ็นต์ เอธานอลที่ร้อน และไฮโดรไลซ์ด้วยอินเวอร์เทส กลูโคสอิสระที่ปลดปล่อยจะถูกประมาณโดยใช้วิธีกลูโคสออกซิเดส (Glucose oxidase) วิธีนี้นอกจากจะเหมาะสมกับชูโครสที่ถูกสกัดด้วยเอธานอลแล้ว ยังสามารถใช้น้ำสกัดได้อีกด้วย ขบวนการที่ทำนี้ง่าย รวดเร็ว และและไม่ต้องการเครื่องมือที่ซับซ้อน ซึ่งประโยชน์ที่นำไปใช้ก็คือ สามารถประกันคุณภาพของผลิตภัณฑ์ได้ ในด้านความหวานที่สม่ำเสมอในผลิตภัณฑ์ เช่น แป้ง , เค็กและแป้งสำเร็จรูป (Cerning-Beroard , 1975)

ฉ. การใช้อินเวอร์เทสเป็นตัวร่วมในอิเลคโทรด (electrode)

เริ่มจากที่อินเวอร์เทสจะไปย่อยชูโครสให้เป็น α -D-glucose และ D-fructose แล้ว มิวทาโรเทส (Muturotase) จะใช้ในการเปลี่ยน α -D-glucose ไปเป็น β - D-glucose เพื่อให้มีความเฉพาะกับกลูโคสออกซิเดส (glucose oxidase) ในการตรวจสอบออกซิเจนที่ละลายอยู่ในน้ำ จะมีผลคือ เกิดกระแสไฟฟ้าทำให้เราวัดค่าได้ ทำให้อิเลคโทรดที่มีเอนไซม์ (enzyme-electrode) ถูกใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร และการวิเคราะห์ของ urine ในทางการแพทย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.10 การตอบสนองของอิเลคโทรด กับน้ำตาลซูโครสที่ความเข้มข้น 2.5 , 5.0 และ 10 มิ ใน 0.1 M อะซิเตท บัฟเฟอร์ พีเอช 5.0 ที่ 25 °ซ



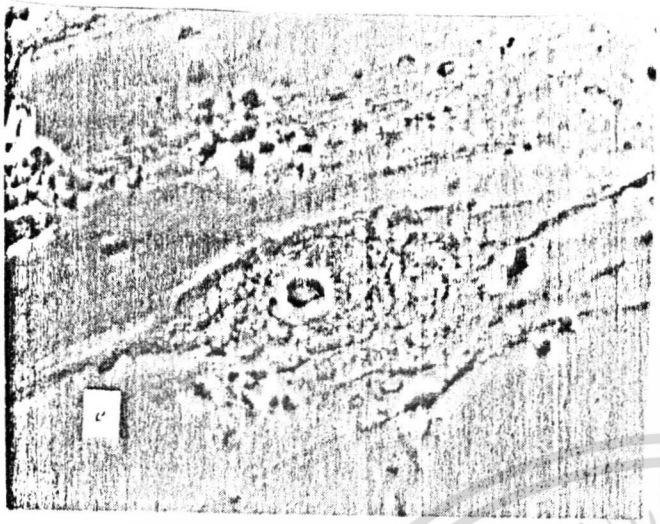
ช. การใช้อินเวอร์เทสในทางการแพทย์

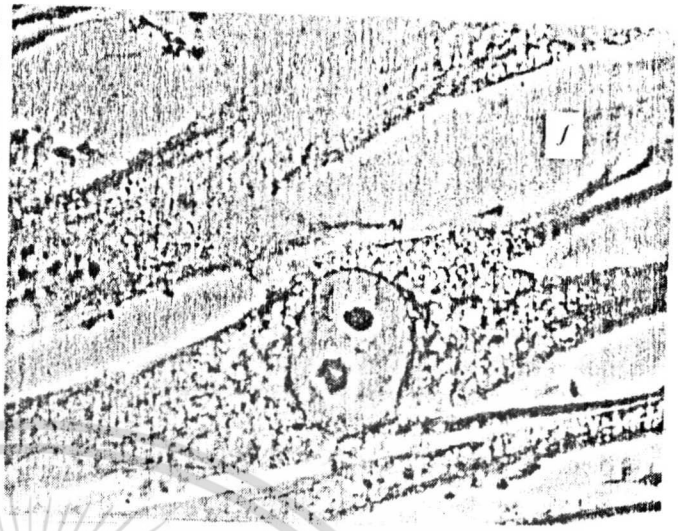
จะใช้เมื่อร่างกายขาดอินเวอร์เทส โดยจะใช้ liposomes เป็นการพา (carrier) ต่อจากนั้นอินเวอร์เทสก็จะไปอยู่กับ macrophage ดังรูปภาพที่ 3.18

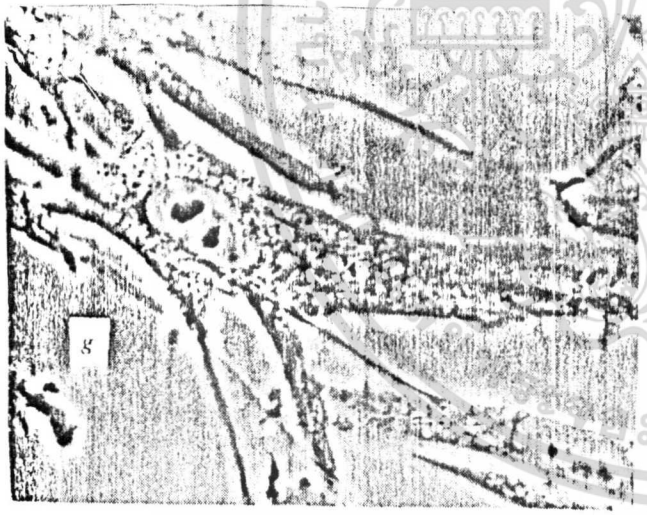
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

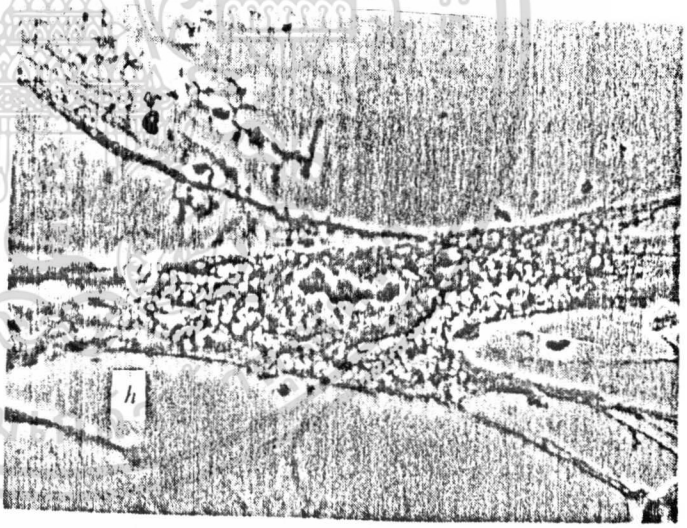
รูปภาพที่ 2.18 แสดงลักษณะของเซลที่มีซูโครสกับไลโพโซม (liposome) ที่มีอินเวอร์เทสอยู่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้









เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

การดำเนินงานวิจัย

3.1 การหาน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing Sugar)

สารทดลอง

1. คอปเปอร์ (Somogyi copper reagent) ประกอบด้วยสารละลายคอปเปอร์ซัลเฟต (Copper sulpate solution) และสารละลายฟอสเฟตตาร์เตรท (Phosphate tartate solution) ก่อนใช้ผสมสารละลายทั้ง 2 ชนิด เข้าด้วยกันในอัตราส่วนสารละลายคอปเปอร์ซัลเฟต ต่อ สารละลายฟอสเฟตตาร์เตรท = 1 : 9 โดยปริมาตร

2. สารละลายคอปเปอร์ซัลเฟต

คอปเปอร์ซัลเฟต [(CU) SO_4 . 5 H_2O]	100	กรัม
น้ำกลั่นจนครบ	1	ลิตร

ละลายคอปเปอร์ซัลเฟตในน้ำกลั่นคนให้เข้ากัน แล้วเก็บไว้ในขวดสีน้ำตาล

3. สารละลายฟอสเฟตตาร์เตรท

แอนไฮดรัสไดเมสิกโซเดียมฟอสเฟต (Na_2 H PO_4)	28	กรัม
ผลึกโซเดียมโพแทสเซียมตาร์เตรท	40	กรัม
โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 นอร์มอล	100	มล.
แอนไฮดรัสโซเดียมซัลเฟต	120	กรัม
น้ำกลั่นจนครบ	900	มล.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ละลาย Na_2HPO_4 ในน้ำกลั่น 700 มล. แล้วเติมโพแทสเซียมตาร์เตรทลงไป คนให้เข้ากันดี โซเดียมไฮดรอกไซด์ และตามด้วยโซเดียมซัลเฟต ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน เติมน้ำกลั่นลงไป จนมีปริมาตรเป็น 900 มล. ในขวดสีน้ำตาลตั้งทิ้งไว้ 2 วันแล้วนำมากรองด้วยกระดาษวอร์ทแมนเบอร์ 4

4. อาร์เซโนโมลิทเดทคัลเลอร์รีเอเจนต์ (Nelson's arsenomolydate color Reagent)

แอมโมเนียมโมลิทเดท	25	กรัม
กรดซัลฟูริคเข้มข้น	21	มล.
สารละลายไดโซเดียมอาร์ซีเนต	25	มล.
(ใช้ผลึกไดโซเดียมอาร์ซีเนต 3 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 25 มล.)		
น้ำกลั่น	450	มล.

ละลายแอมโมเนียมโมลิทเดทในน้ำกลั่น 450 มล. เติมกรดซัลฟูริคเข้มข้นลงไป ผสมให้เข้ากันแล้วเติมสารละลายโซเดียมอาร์ซีเนตลงไป คนให้สารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน นำสารผสมใส่ขวดเหลวที่มีจุกปิดแล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 37 °ซ นาน 48 ชั่วโมงถ้ามีตะกอนให้นำไปกรองออก

<u>การเตรียมน้ำตาลกลูโคสมาตรฐาน</u> (Somogyi - Nelson , 1944)

วิธีการ

1. ชั่งน้ำตาลกลูโคสให้มีน้ำหนัก 1.0000 กรัม ละลายในน้ำจะมีปริมาตร 100 มล. (Stock Solution)
2. นำ Stock Solution มาเตรียมเป็นสารละลายน้ำตาลที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ กัน (working solution) ที่ 0 , 50 , 100 , 200 , 300 และ 400 mg/dl

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยกตัวอย่างเช่น การเตรียมน้ำตาลจากกลูโคสที่ความเข้มข้น 50 mg/dl

น้ำตาลกลูโคส	1000	มก.	มีอยู่ในสารละลาย	100	มล.
น้ำตาลกลูโคส	50	มก.	มีอยู่ในสารละลาย	100 x 20	มล.
			=	5	มล.

แสดงว่าเอาสารละลายจาก stock solution มา 5 ml. แล้วเติมน้ำให้ครบ 100 ml. ก็จะเป็น Working solution ที่มีความเข้มข้น 50 mg/dl เพื่อความสอดคล้องกับการทำปฏิกริยาการเร่ง (activity) ของเอนไซม์ จึงเปลี่ยนให้อยู่ในรูป mg/ml

เพราะฉะนั้น จะได้น้ำตาลที่มีความเข้มข้นเป็น 0 , 500 , 1000 , 3000 และ 4000 mg/ml ตามลำดับ

3. นำสารละลายกลูโคสมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นบรรจุลงในหลอดทดสอบหลอดละ 1 มล. เติม copper reagent ลงไป 1 มล.
4. นำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 20 นาที แล้วทำให้เย็นทันทีโดยแช่ในน้ำเย็นจัด
5. เติม Arsenomolydate reagent ลงไป 1 มล. ผสมสารละลายให้เข้ากันโดยใช้เครื่องผสม (mixer) ช่วย ทิ้งไว้ 15 นาทีที่อุณหภูมิห้อง
6. แล้วเติมน้ำกลั่น 10 มล. ผสมให้เข้ากัน
7. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (Absorbanle) ด้วยเครื่อง spectophotometer (Shimadzu , uv-visible recording spectrophotometer , uv 160) ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร
8. นำไปเขียนกราฟระหว่างปริมาณน้ำตาลกลูโคสและตัวการดูดกลืนแสง (ABS)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 การหาน้ำตาลกลูโคส

สารทดลอง

1. Buffer solution 277-65698 , Glucose - AR II (Solution Tampon) 500 มล. ประกอบด้วย 0.2 M. Phosphate buffer solution และ 0.05 M. Tris (Hydroxymethyl) Aminomethane

   - Buffer solution ประกอบด้วย

     0.2 M Phosphate buffer solution , พีเอช 7.4

   Phenol 0.05%

   - Color reagent ประกอบด้วย

Peroxidase	0.73	u/ml
Glucose Oxidase	30	u/ml
Mutarotase	0.07	u/ml
4 - Aminoanitipyrine	0.01%	

2. Glucose standard solution ที่ความเข้มข้น 0 , 1000 , 2000 , 3000 และ 4000 µg./ml

วิธีการ

1. นำสารละลายน้ำตาลกลูโคสมาตรฐาน แต่ละความเข้มข้นใส่ในหลอดทดสอบหลอดละ 0.02 มล.
2. ใส่ Buffer solution (277-65698) หลอดละ 3 มล.
3. นำหลอดทดสอบแต่ละหลอดนำเข้าเครื่องผสม (mixer)
4. นำไปใส่ใน Water bath ที่ 37 °ซ เป็นเวลา 5 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer (Digi Spec , Helena Laboratories) ที่ความยาวคลื่น 505 นาโนเมตร

6. นำไปเขียนกราฟระหว่างน้ำตาลกลูโคสกับค่าการดูดกลืนแสง

3.3 การศึกษาคุณสมบัติเบื้องต้นของยีสต์

3.3.1 คุณลักษณะภายนอกที่สามารถสังเกตได้ของเซลยีสต์

3.3.2 นำเซลยีสต์จำนวน 300 กรัม ไปหาน้ำหนักแห้งที่ 80 °ซ เป็นเวลา 48 วัน

3.4 การทำให้ยีสต์เกิดการย่อยตัวเอง

3.4.1 นำยีสต์มาชั่งให้มีน้ำหนัก 300 กรัม ใส่ลงในฟลาสก์ขนาด 500 มล.

3.4.2 ใส่ Magnetic bar ขนาด 2 นิ้วครึ่ง ลงในพลาสต์

3.4.3 นำไปตั้งบน Magnetic stirrer โดยใช้ความเร็วรอบเขนาดปานกลาง (Medium Speed) ที่อุณหภูมิห้อง 30 °ซ เป็นเวลา 60 ชั่วโมง

3.4.4 ทำการสุ่มตัวอย่างครั้งละประมาณ 50 กรัม ทุก 12 ชั่วโมง

3.4.5 ทำการเหวี่ยงแยกเซลออกด้วยเครื่อง Centrifuge (Hettich Universal) ใช้ความเร็ว 3000 rpm เป็นเวลา 30 นาที

3.4.6 ทำการเก็บส่วนที่เป็นสารละลาย (supernant) ไว้ที่อุณหภูมิ 10 °ซ เพื่อทำการทดสอบคุณสมบัติการเร่งปฏิกริยาต่อไป

3.4.7 ทำการทดลองเช่นเดียวกันข้างต้น แต่เปลี่ยนจากอุณหภูมิที่ 30 °ซ เป็น 50° 70° และ 90 °ซ ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5 <u>การทดสอบคุณสมบัติการเร่งปฏิกริยาของอินเวอร์เทส</u>

(Matsushita and Uritani , 1974)

3.5.1 นำสารละลาย (supernant) ที่ได้จากข้อ 3.4 มาตัวอย่างละ 0.1 มล. นำใส่หลอดทดสอบ

3.5.2 ใส่สารละลายที่มีส่วนผสมของน้ำตาลซูโครส 0.125 M. ใน acetate buffer 0.05 M. , พีเอช 4.5 ในปริมาตรหลอดละ 1 มล.

3.5.3 ทำการบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา หลอดละ 10 นาทีตรง

3.5.4 หยุดปฏิกริยาด้วยการเติม Copper reagent 1 มล.

3.5.5 ทำการทดสอบหาน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้น ตามข้อ 3.1

3.5.6 บันทึกผลการทดลอง

3.5.7 เปรียบเทียบวิธีการหาน้ำตาลรีดิวซ์กับน้ำตาลกลูโคสมาตรฐาน

[1 u หมายถึงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้น (/lg/ml) ต่อหนึ่งหน่วยเวลา]

3.6 <u>การทำให้ยีสต์เกิดการย่อยตัวเอง</u>

ทำการทดลองเหมือนข้อ 3.4 เพียงแต่ทำการสุ่มตัวอย่างที่ 24 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ และทำการทดลองเป็นเวลาเพียง 48 ชั่วโมงเท่านั้น

3.7 <u>การทดสอบปฏิกริยาการเร่งของอินเวอร์เทส</u> (Merck Biochemica)

3.7.1 ใช้ 0.1 มล. ของ Acetate buffer , พีเอช 4.5
1.0 มล. ของ Sucrose 1 mol/l. ที่ละลายในน้ำกลั่น
0.1 มล. ของ Supernant ที่ได้จากการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.7.2 ผสมสารละลายในข้อ 3.7.1 เข้าด้วยกัน ตั้งทิ้งไว้ที่ 25 °ซ เป็นเวลา 6 นาทีตรง

3.7.3 เติม 0.2 มล. ของ Tris buffer 0.1 mol/l ที่ละลายในน้ำกลั่นเพื่อยับยั้งปฏิกริยา

3.7.4 ทำการวัดน้ำตาลกลูโคสอิสระ โดยใช้วิธีการหาน้ำตาลกลูโคส โดยใช้กลูโคสออกซิเดส (glucose oxidase)

3.7.5 บันทึกผลการทดลอง

3.7.6 เปรียบเทียบการหาน้ำตาลกลูโคส กับกราฟน้ำตาลกลูโคสมาตรฐาน

[1 น หมายถึงปริมาณน้ำตาลกูลโคสที่เกิดขึ้น ($\frac{\text{มิลลิกรัม}}{\text{มล}}$) ต่อหนึ่งหน่วยเวลา]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4.

ผลการทดลอง

4.1 ผลที่ได้จากการทดลอง

จากการศึกษาคุณสมบัติเบื้องต้นของยีสต์ที่ได้จากอุตสาหกรรมเบียร์พบว่ายีสต์เปียกและยีสต์ที่ผ่านการอบแห้งแล้วมีลักษณะแตกต่างกันทางกายภาพ ดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ลักษณะของยีสต์ก่อนและหลังอบแห้ง

ยีสต์	ลักษณะที่สังเกตได้
ก่อนอบแห้ง	ยีสต์อยู่ในลักษณะของเหลวข้นสีครีม มีน้ำเบียร์ปน มีฟองอากาศฟู
หลังอบแห้ง	เป็นตะกอนแข็งแห้งสีน้ำตาลเข้ม

นอกจากนั้นเมื่อนำยีสต์ไปอบแห้งแล้วมีน้ำหนักเปลี่ยนแปลงดังตารางที่ 4.2 ทำให้ทราบถึงปริมาณความชื้นที่มีอยู่ในยีสต์ครีมประมาณ 80.86 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 น้ำหนักแห้งของตะกอนยีสต์

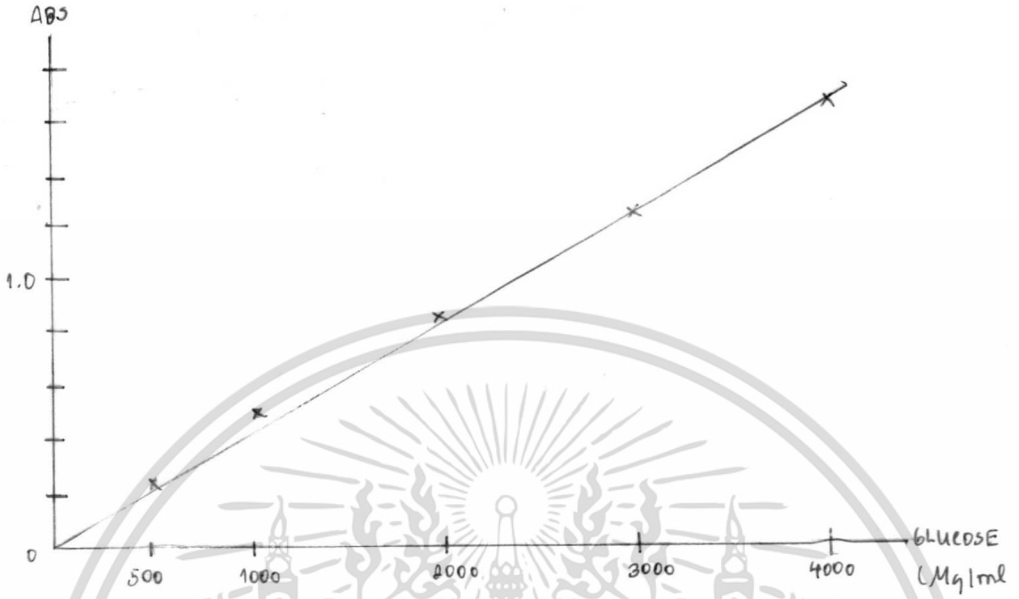
ยีสต์ (กรัม)	น้ำหนักก่อนอบ (กรัม)	น้ำหนักหลังอบ (กรัม)
300	300	57.42

จากการทดลองเมื่อนำยีสต์ครีมไปทำให้เกิดการย่อยตัวเองที่อุณหภูมิ 30,50,70 และ 90 °ซ พบว่าอุณหภูมิที่ 90 °ซ เป็นอุณหภูมิที่สูงเกินไป ไม่เหมาะสมที่จะนำมาใช้โดยสิ้นเชิง เพราะจะทำให้ตะกอนยีสต์ไหม้จนเกิดสีดำ เมื่อได้เซลยีสต์ที่ย่อยตัวเองแล้วจะนำเฉพาะส่วนสารละลายมาทดสอบกัมมันภาพเชิงเร่งปฏิกริยาของเอนไซม์อินเวอร์เทส โดยอาศัยหลักการที่ว่าอินเวอร์เทสจะทำการย่อยน้ำตาลซูโครส ให้เป็น กลูโคส และฟรุกโตส แล้วจึงวัดปริมาณน้ำตาลที่เกิดขึ้นเทียบกับน้ำตาลกลูโคสมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ดังรูปภาพที่ 4.1

ตารางที่ 4.3 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของน้ำตาลกลูโคสมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างกัน (ใช้วิธีของ Somogyi-Nelson)

ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสมาตรฐาน (µg/ml)	ตัวการดูดกลืนแสง (A)
0	0.000
500	0.232
1000	0.503
2000	0.850
3000	1.235
4000	1.643

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปภาพที่ 4.1 กราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสโดยใช้วิธี Somogyi-Nelson

เมื่อวัดปฏิกริยาการเร่งของอินเวอร์เทส ในรูปของน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นโดยใช้วิธีของ Matsushita และ Uritani จะเห็นว่าอุณหภูมิ ระหว่าง 30-70 °ซ จะเห็นความแตกต่างของปฏิกิริยา การไฮโดรไลซ์ น้ำตาลซูโครส ได้อย่างชัดเจน ดังรูปภาพที่ 4.2 โดยอุณหภูมิที่ยีสต์จะเกิดการย่อยตัวเองและจะให้ อินเวอร์เทสสูงสุดเฉลี่ย 29.08 ไมโครโมล/มิลลิลิตรในขณะที่มีอินเวอร์เทสเฉลี่ย 6.11 และ 4.77 ไมโครโมลของน้ำตาลรีดิวซ์/มิลลิลิตร เมื่อยีสต์ย่อยตัวเองที่ 50 และ 70 °ซ ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.4

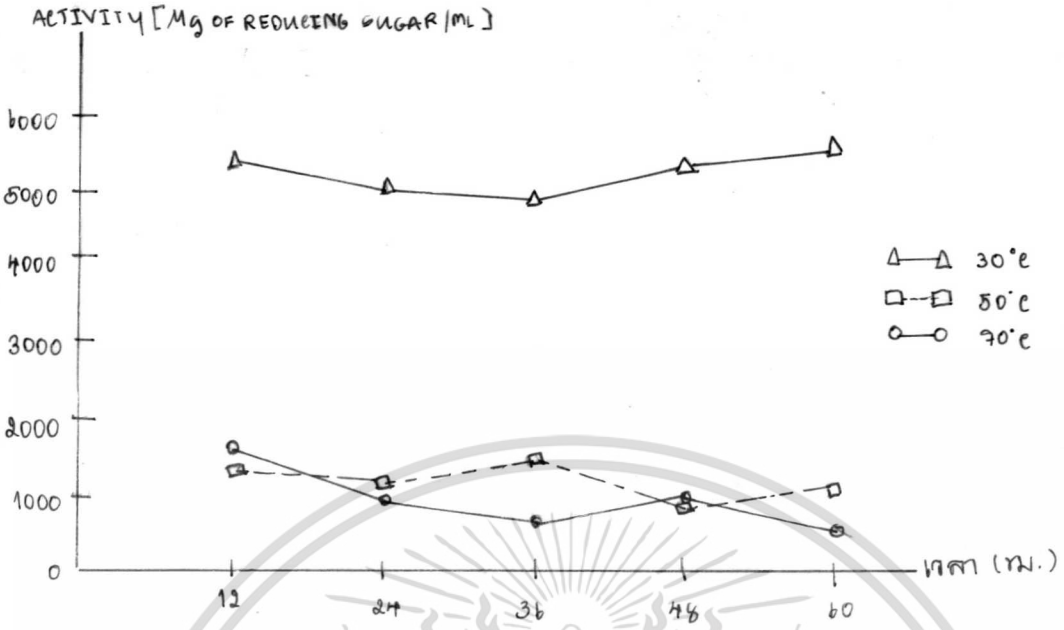
ส่วนเวลาที่ใช้ในการให้เซลยีสต์ย่อยตัวเองที่แต่ละอุณหภูมิของการทดลองนี้ไม่ได้ทำให้เอนไซน์ มีการเปลี่ยนแปลงในระหว่าง 12-60 ชั่วโมง ดังรูปภาพที่ 4.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

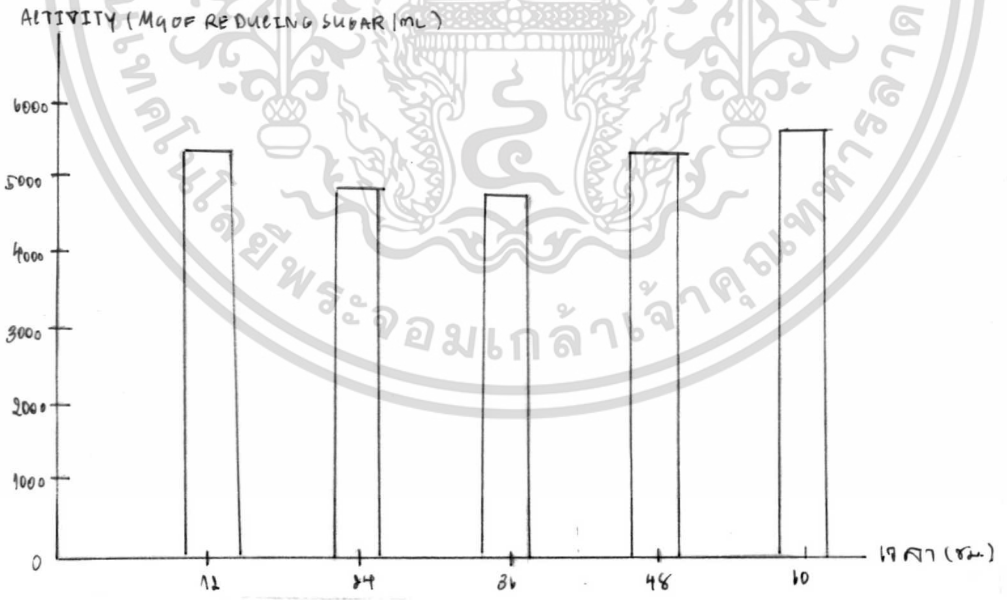
ตารางที่ 4.4 Activity ของ อินเวอร์เทส จากยีสต์ที่เกิดการย่อยตัวเองแล้ว ณ อุณหภูมิและเวลาต่างกัน (Matsushita and Uritani)

ยีสต์ที่เกิดการย่อยตัวเองแล้ว		Activity (u)	Activity (u)
อุณหภูมิ (°C)	เวลา (ชม)	μg ของน้ำตาลรีดิวซ์/ 1 มล. ของสารละลาย	μmole ของน้ำตาลรีดิวซ์/ 1 มล. ของสารละลาย
30	12	5388.7	29.44
	24	4912.8	27.29
	36	4811.6	26.73
	48	5361.0	29.28
	60	5697.2	31.65
50	12	1221.2	6.78
	24	1051.2	5.64
	36	1465.8	8.14
	48	744.12	4.13
	60	1057.4	5.27
70	12	1314.0	8.40
	24	842.0	4.68
	36	512.79	2.84
	48	964.20	5.36
	60	460.99	2.56
90	-	-	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปภาพที่ 4.2 กราฟเปรียบเทียบอินเวอร์เทส ณ เวลาและอุณหภูมิต่างกัน



รูปภาพที่ 4.3 อินเวอร์เทสที่อุณหภูมิ 30 °ซ ที่เวลาต่างกัน (ใช้วิธีของ Matsushita and Uritani)

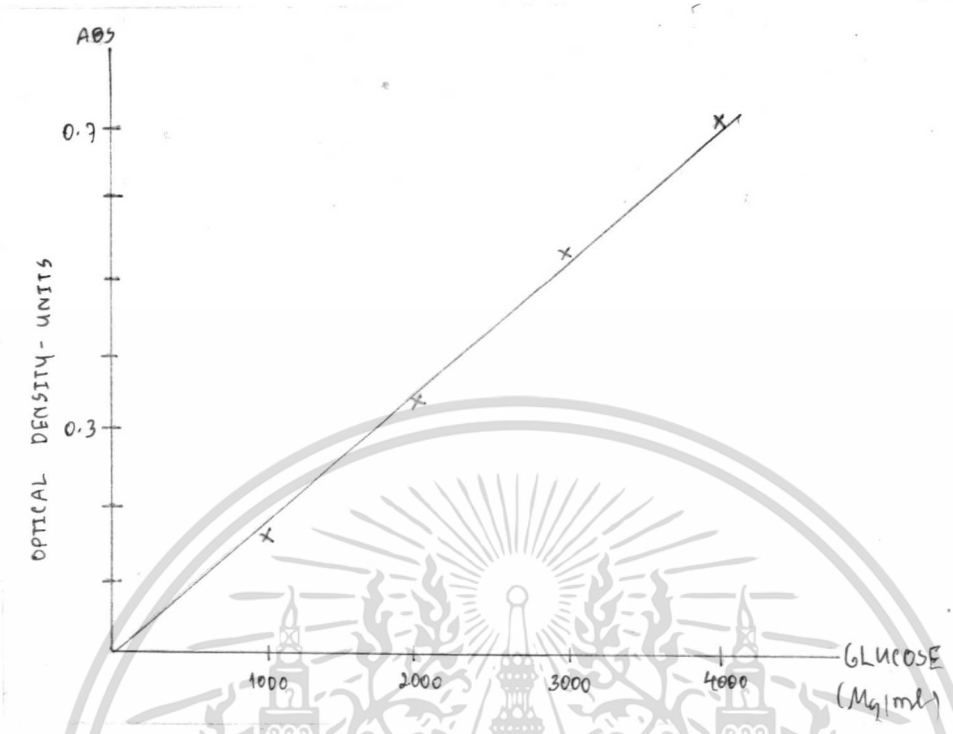
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อย่างไรก็ตาม ผลของการหาน้ำตาลรีดิวซ์ อาจคลาดเคลื่อนและได้ค่าที่ไม่ถูกต้องจึงได้มีการทดลองวัดกัมมันตภาพเชิงเร่งปฏิกริยาจากน้ำตาลกลูโคสโดยตรง โดยใช้เอนไซม์กลูโคสออกซิเดส เทียบกับน้ำตาลกลูโคสมาตราฐาน ที่ใช้กลูโคสออกซิเดส เช่นเดียวกันดังรูปภาพที่ 4-4

ตารางที่ 4.5 แสดงตัวการดูดกลืนแสงของน้ำตาลกลูโคสมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างกัน โดยใช้กลูโคสออกซิเดส

ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสมาตรฐาน (/Mg/ml)	สภานดูดกลืนแสง (A)
0	0
1000	0.142
2000	0.325
3000	0.524
4000	0.692

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



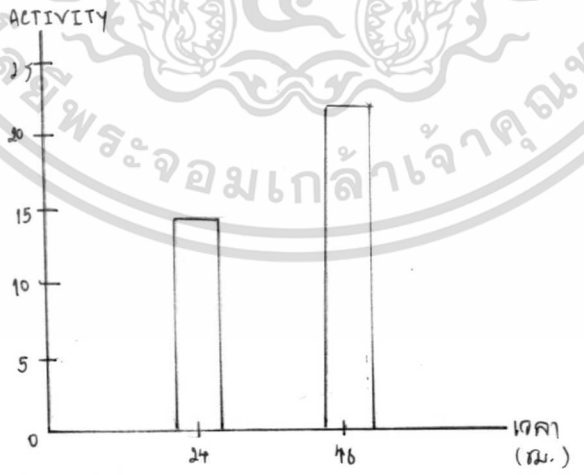
รูปภาพที่ 4.4 กราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสโดยใช้กลูโคสออกซิเดส

ผลของการหากัมมันตภาพเชิงเร่งปฏิกริยา โดยใช้วิธีวัดน้ำตาลกลูโคสอิสระ ใช้การวัดด้วยวิธี Merck Biochemica ปรากฏว่าที่ 30 °ซ ให้อินเวอร์เทสสูงจริง ประมาณ 14.81 และ 20.40 ไมโครโมลของน้ำตาลกลูโคสต่อมิลลิลิตร ที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมงตามลำดับ ส่วนที่ 50 °ซ และ 70 °ซ ไม่สามารถตรวจพบได้ ดังตารางที่ 4.6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 อินเวอร์เทสที่ได้จากยีสต์ที่เกิดการซ่อมตัวเองแล้ว ณ อุณหภูมิและเวลาต่างกัน (ใช้วิธีของ Merck Blochemica)

ยีสต์ที่เกิดการย่อยตัวเองแล้ว		กัมมันตภาพเชิงเร่งปฏิกริยา (u)
อุณหภูมิ(°C)	เวลา (ชม)	(M mole ของน้ำตาลกลูโคส ต่อ มล. ของ Supernant
30	24	14.81
	48	20.40
50	24	-
	48	-
70	24	-
	48	-



รูปภาพที่ 4.5 อินเวอร์เทสที่ 30 °ซ ในเวลาต่างกัน (ใช้วิธีของ Merck Biochemica)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 วิเคราะห์ผลการทดลอง

ผลของการหาอินเวอร์เทสจากตะกอนยีสต์นี้เป็นการศึกษาเบื้องต้นว่า ตะกอนยีสต์ที่เหลือจากการทำเบียร์ สามารถผลิตอินเวอร์เทสได้ โดยอาศัยหลักการที่ว่า ให้ยีสต์มีการย่อยตัวเอง (autolysis) ซึ่งการย่อยตัวเองของยีสต์นั้นมีหลายวิธีด้วยกัน เช่น การใช้อุณหภูมิที่สูง (Hough and Briggs , 1971) หรือใช้ Plasmolyzing Agent เช่น ไดเอธิลอีเทอร์ (diethyl ether) , คลอโรฟอร์ม (chloroform) , ทูโรอีน (toluen) และ เอธิลอะซิเตท (ethyl acetate) (Sensner and Myrback, 1930) ซึ่งวิธีที่ประหยัดและสะดวกก็คือ การใช้อุณหภูมิ เหตุที่ไม่ใช้สารเคมีเพราะจะเป็นการเพิ่มค่าใช้จ่ายในการทำ และไม่เหมาะที่จะใช้ทำผลิตในระดับอุตสาหกรรม หรืออาจเป็นพิษเมื่อนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

ฉะนั้นจึงมีการทดลองเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิกับเวลา โดยใช้อุณหภูมิที่ 30 , 50 , 70 , 90 °ซ เปรียบเทียบกับเวลาทุก 12 ชั่วโมง จนครบ 60 ชั่วโมง ปรากฏว่าที่อุณหภูมิ 30 °ซ จะให้อินเวอร์เทสสูงสุดเฉลี่ย 5234.26 u และให้ 1100.74 และ 859.06 u ที่ 50° และ 70°ซ [1 u = μg ของน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้น/มล./เวลา] ส่วนเวลาไม่มีผลต่อปฏิกริยาการเร่งของอินเวอร์เทส

ต่อจากนั้นได้ทำการทดลองยืนยันว่าที่อุณหภูมิ 30 °ซ สามารถผลิตอินเวอร์เทสได้สูงจริง และเวลาไม่มีผลต่อปฏิกริยาการเร่ง โดยการทดสอบหาน้ำตาลกลูโคสโดยตรง พบว่าที่ 30 ° จะมีอินเวอร์เทส 14.81 u และ 20.48 u ที่ 24 และ 48 ชั่วโมงตามลำดับ ในขณะที่ 50° และ 70° ซ ไม่พบอินเวอร์เทสเลย [1 u = μmole ของน้ำตาลกลูโคส/มล./เวลา] ซึ่งอาจมาจากว่ากลูโคสที่เกิดขึ้นน้อยมากจนไม่สามารถตรวจสอบได้ หรืออาจเป็นไปได้ว่ามันสามารถผลิตเอนไซม์ได้ในช่วงดังกล่าว แต่มันเสื่อมสภาพ (denature) ไปก่อนที่จะหาการวัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลที่ได้ทั้งจากการหาน้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลกลูโคสนั้นอาศัยหลักการที่ว่าในเอนไซม์ทำการย่อยน้ำตาลซูโครสในช่วงเวลาที่กำหนด แล้วทำการวัดปริมาณน้ำตาลที่เกิดขึ้น ปรากฏว่าการวัดค่าน้ำตาลรีดิวซ์จะให้ค่าสูงกว่า เนื่องมาจากอาจมีสารที่สามารถถูกรีดิวซ์ตัวอื่นสามารถทำปฏิกริยากับ Somogyi-Nelson reagent ทำให้มีค่าสูงกว่าปกติ และหน่วยที่ได้ค่อนข้างสูงมากเพราะอยู่ในรูปของไมโครกรัม แต่ถ้าเปลี่ยนเป็นไมโครโมลจะเห็นว่าตัวเลขอยู่ในระดับเดียวกับการใช้กลูโคสออกซิเดส แต่การใช้วิธีทดสอบน้ำตาลรีดิวซ์ แทนที่จะเป็นการหากลูโคสโดยตรงจากกลูโคสอกซิเดส เนื่องมาจาก

1. เป็นสารที่หาง่ายและสะดวกในการทำในห้องปฏิบัติการทั่วไป
2. ราคาถูก

ส่วนเหตุที่ไม่ใช้กลูโคสออกซิเดส เนื่องมาจาก

1. เป็นสารที่มีราคาแพง
2. การเตรียมการและการเก็บรักษายาก
3. สารสามารถเสื่อมสลายได้ง่าย

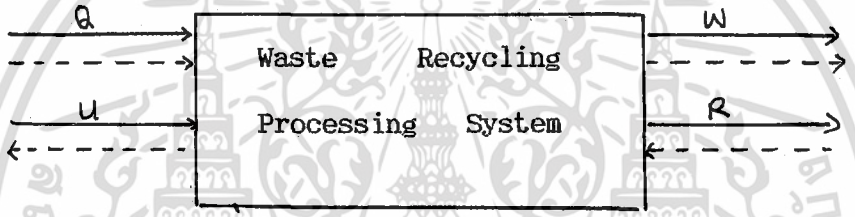
แต่ในการทดลองนี้เราใช้สารละลายสำเร็จรูปที่ใช้ทดสอบกลูโคสในชีรัป ซึ่งควรจะใช้เมื่อต้องการความถูกต้องมาก ๆ แต่ถ้าเรานำมาใช้ในห้องปฏิบัติการทั่วไปจะเห็นว่าไม่คุ้ม และตัวเลขที่ต้องการราบเพียงแค่ยืนยันได้ว่า สามารถนำตะกอนยีสต์มาผลิตอินเวอร์เทสได้จริงเท่านั้นเอง

จากผลดังกล่าวสามารถสรุปได้ว่า ตะกอนยีสต์สามารถย่อยตัวเองแล้วให้ Invertase activity สูงสุดที่ 30 °ซ เป็นเวลาอย่างน้อยที่ 48 ชั่วโมง ทำให้สามารถสรุปสมมติฐานที่กล่าวไว้ข้างต้นได้ว่า อุณหภูมิจะมีผลต่อการผลิตอินเวอร์เทส ส่วนเวลานั้นจะไม่มีผล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

สามารถนำกากจากขบวนการผลิตเบียร์มาผลิตอินเวอร์เทสได้ แทนที่จะเป็นการเลี้ยงเซล เพื่อผลิตอินเวอร์เทสโดยตรง เนื่องจากการเลี้ยงเซลต้องการอาหารสำเร็จรูปหลายชนิด เช่น meat extract 5 g/l difco malt extract 5 g/l และ difco extract 2 g/l ทำให้เสียค่าใช้จ่ายสูง แต่ถ้าสามารถนำตะกอนยีสต์มาผลิตในระดับการค้าแล้วจะช่วยลดมลภาวะของตะกอนยีสต์ลง รวมทั้งใช้ทรัพยากรให้อย่างมีประสิทธิภาพ เพราะถ้าสามารถผลิตอินเวอร์เทสได้แล้ว จากที่เหลือยังมีโปรตีนเหลือ สามารถนำไปเลี้ยงสัตว์ต่อได้ ซึ่งการที่จะผลิตเป็นการค้าต้องคำนึงถึง



Input - Output Model

โดยที่ Q = ของเสียที่จะนำมาใช้

W = ของเสียที่เหลือหลังจากการ recycle

U = ค่าใช่จ่าย

R = ผลิตภัณฑ์ที่ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$P = Rd + Rs - (Cu + Cw + C_{com})$$

P = ผลกำไรจากการทำ (ต่อปี)

Rq = เงินที่จะเสียในการกำจัด ถ้าไม่นำมา recycle (ต่อปี)

Rs = เงินที่ได้จากการขาย necycle product (ต่อปี)

Cu = ค่าใช้จ่ายของโรงงาน (ต่อปี)

Cw = ค่าใช้จ่ายในการกำจัดของเสียขั้นสุดท้าย (ต่อปี)

Ccom = ค่าใช้จ่ายเกี่ยวกับค่าแรงงาน ค่าบำรุงรักษา และค่าปฏิบัติการ (ต่อปี)

โดยดูว่า หลังจากที่มีการผลิตแล้วจะคุ้มกับต้นทุนที่ลงไปหรือไม่ เมื่อเทียบกับของเสียที่ได้แล้วมีการกำจัดโดยตรง

ข้อเสนอแนะ

- ควรเพิ่มเวลาในการทำมากกว่า 60 ชั่วโมง เพื่อยืดอายุในการเก็บเซลยีสต์ที่มีจำนวนมาก ทั้งนี้ต้องคำนึงถึงมิให้มีการปนเปื้อนจากเชื้ออื่น
- ควรทดลองทำในระดับที่มีขนาดใหญ่กว่านี้ เพื่อพัฒนาไปสู่ขบวนการผลิตที่เป็นการค้า
- หาแนวทางในการทำให้มีความเข้มข้นและบริสุทธิ์มากขึ้น โดยการตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต ที่ความเข้มข้น 80% ใช้ 0.56 กรัมของแอมโมเนียมซัลเฟตต่อสารละลาย 1 มล. ทำที่ 0 °ซ (Neuman and Lampan , 1967) หรืออาจนำไปทำให้บริสุทธิ์มากกว่านี้โดยผ่าน chromatography ต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

1. จันทนี จงนิตยกาล และ ชัชวาลย์ , "รายงานภาวะอุตสาหกรรมเบียร์" ฝ่ายนโยบาย 4 , กองเศรษฐกิจ , สำนักงานปลัดกระทรวงอุตสาหกรรม , 2529.

2. เฉลิมชัย ศรีรัตนศักดิ์ , "การใช้กากเบียร์ผสมกับมันเส้นทดแทนรำในอาหารสุกรรุ่นและขุน" ระดับบัณฑิตวิทยาลัย , ภาควิชาสัตว์บาล , คณะเกษตร , มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ , 2527.

3. เรียม เตชะโสภณณี , "การใช้ประโยชน์จากกากเบียร์และเศษเจลลาติน" การใช้ประโยชน์จากกากของเสียและทรัพยากรเหลือใช้ , หน้า 80 - 82 , สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง , 2530.

4. Agulhon , H. (1911) Compt. Rend. , 152 , 398

5. Babezingki , P. and Tanner , W. (1978) , Biochem . Biophys . Acia . , 538 , 426

6. Barker , S.A and Somers , P.J. Tropics in Enzyme and Fermentation Biotechnology , (Wiseman , A.ed) 2nd , ed , pp. 120 - 151 , Elits Horwood , Chichester , 1978 .

7. Berthelot , M. (1860) Compt. Rend. Acad. Sci. , 50 , 980

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. Blanchard , P.H and Albon , N. (1950) ABB. . 29 , 220

9. Bourquelot , E. (1917) Compt. Rend. , 165 , 567

10. Buchner (1897) Ber. , 30 , 1110

11. Bucke , C. Tropics in Enzyme and Fermentation Biotechnology , (Wiseman , A. ed) vol 1 , pp. 147 - 191 , Ellis Horwood , Chichester , 1977.

12. Cerning - Beroard (1975) J. Cereal. Chem. , 52 , 431 - 8

13. Dewnes , A. and Beunt , T.B. (1829) Proc. Roy Soc. London. , 28 , 199

14. Emmerling , O. (1901) Ber. , 34 , 3811

15. Euler , H.V. and Laurin (1920) Z. Physiol. Chem. , 110 , 55

16. Euler , H.V. (1922) Z. Physiol. Chem. , 175 , 297

17. Euler , H.V. and Josephson , K. (1924) Z. Physiol. Chem. , 132 , 39

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

18. Fris - J and Ottolenghi , P.C.R. (1959) Trac. Lab Carlsberg., 31 , 259

19. Gallile and Lampen , J.O. (1977) Biochem. Biophys. Acia. , 475 , 113

20. Gascon , S and Lampen , J.O. (1960) , J. Biol. Chem. , 243 , 1567

21. Goldhaber , G. and Leibowitz , J. (1943) Nature , 152 , 274

22. Henri , V (1902) Compt. Rend. , 135 , 916

23. Hestrin , D.S. , Feingold and Schramm , Methods in Enzymology , vol. 1 pp. 231 , Academic Press New York , 1935.

24. Holbein , B.E. and Kidby , D.K. , Can (1977) J. Microbiol., 399 , 364

25. Hough , J.S. and Briggs , D.E. Malting and Brewing Science. pp. 418 - 435 , Chapman and Hill Ltd. , London , 1971.

26. Hough , J.S. Biotechnology of Malting and Brewing , pp. 96 - 100 , Cambridge University Press , Cambride , 1982.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

27. Issaew , W. (1960) , Z. Ges. Brauw. , 23 , 796

28. Itoh , R. and Obo (1940) , Brit. Chem. Physiol. , Aitt , 686

29. Jackson , E.B. Sugar Confectionery and Chocolate Manufacture. pp. 20 - 21 , Leonard Hill Books , 1973.

30. Kalz , P.C. Fermented Food Beverages in Nutrition. pp. 152 - 153 , Academic Press , London , 1979.

31. Kapanna , A.N. and Shrink Handa , J.G. (1932) , Chem. Cerir. , II , 1005

32. Korn , E.C. and Northcote , D.H. (1960) Biochem. J. , 75 , 12

33. Kuhn , R. (1923) Z. Physiol. Chem. , 125 , 28

34. Kuhn , R. and Munch , H. (1925) Z. Physiol. Chem. , 150 , 270

35. Lampen , J.O. The Enzymes. (Boyer , P.D. ed.) vol. 5 pp. 291 - 303 , Academic Press , New York , 1921.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

36. Lampen , J.O. (1968) Antonie Van Leeuweenhoek. , 34 ,1

37. Laufer , S. and Schwarz , R. Yeast Fermentation and Pure Culture Systems , pp. 10 - 55 , Schwarz Laboratories , New York , 1936 .

38. Lee , Y.C. and Ballon , C.E. (1965) Biochem. J., 4 , 257

39. Lehle , L. and Tanner , W. (1975) Biochem. Biophys. Acia., 399 , 364

40. Lehle , L. , Co. Hen , R.E. , Ballau (1979) J. Biol. Chem., 254 , 12209

41. Lewis , M.J. and Phaff , H.J. (1963) Proc. A.M. Soc. Brew. Chem. , 114

42. Maddox , J.S. and Hough , J.S. (1969) Proc. Brew. Conv. , 315

43. Maggi , E. , Dazzi , G. and Madarena , G. (1922) , Industrial Conserve. , 47 , 122 - 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

44. Matsushita , K. and Uritani , I , (1974) Plant. Physiol. , 54 , 61

45. Mershkowsky , S.S. (1963) , Chem. Zig. , 27 , 271

46. Messer , M. and Dahlqiust , A. (1966) Anal. Biochem. 14 , 326

47. Milter , B.M. and Litsky , W. Industrial Microbiology. pp. 168 - 173 , Mc. Graw - Hill Book Co. , 1976.

48. Myrback , K. (1957) Arkiv. Kemi , 11 , 42

49. Myrback , K. The Enzyme , vol. 4 pp. 379 - 390 , Academic Pres , New York , 1960.

50. Myrback , K. (1967) Arkiv. Kemi , 22 , 507

51. Neuberg , C. and Hirsch , J (1919) Biochem. J. , 96 , 175

52. Nenuman , N.P. and Lampen , J.O. (1967) Biochem.J. , 6 , 468

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

53. Ouastel , J. and Yates , E.O , (1932) Enzymologia. , 1 , 60

54. Parsons , C.M. Alcoholic Beverages , pp. 43 - 50 , Elesevier Applied Science Publisher , London , 1984.

55. Pepler , H.J. Yeast Technology. vol. 3 , pp. 421 - 456 , Academic Press , New York , 1970.

56. Rainbow , C. Yeast Technology. vol. 3 , pp. 147 - 219 , Academic Press , New York , 1920.

57. Reed , A.D. Food Processing. pp. 463 , Academic Press , New York , 1966.

58. Reed , G. and Peppler , H.J. Yeast Technology. pp. 15-21 The Avi Publishing , 1973.

59. Reed and Peppler , H.J. Yeast Technology , pp. 237 - 243 The Avi Publishing , 1973,

60. Ruiz , Herrera , J. and Sentandreu , R.J. (1925) Bacteriol. , 124 , 27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

61. Satoh , J. , Karube , I and Suzuski , S. (1976) , Biotech. Bioeng. 18 , 269 - 72

62. Sensner , J.B. and Myrback , The Enzyme. vol. 1 pp. 536 - 540 , Academic Press , New York , 1950.

63. Sizer , I.W. (1942) , J. Gen. Physiol. , 25 , 399

64. Tarentino , A.L. and Maley , E. (1974) J. Biol. Chem. 249 , 818

65. Townshend , A. (1973) Process. Biochem. 8 , 22 - 24

66. Van , D.H. and Landergren , S. (1922) Biochem. J. , 137 , 386

67. Waheed , A. and Shall , S. (1921) Biochem. Biophys. Acia. , 172 , 242

68. Whelan , W.J. and Jones , D.M. (1953) Biochem. J. , 54

69. Wiseman , A. Tropics in Enzyme and Fermantation. pp. 267 - 287 , Ellis Horwood Ltd Publishing , 1979.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

70. Wittich , A. (1869) Arch. Ges. Physiol. , 2 , 193

71. Williams , T. Chocholate and Confectionery. pp. 156 - 158 Leonard Hill , London , 1964.

72. Willstatter , R and Schneider (1925) Z. Physiol. Chem. , 146 , 158

73. Woodroof , J.G. and Phillips , G.F. Beverages Carbonated and Non-carbonated , pp. 352 , Westport Publishing , 1981.

74. Woodward , J. and Wiseman , A. Development in Food Carbohydrates. (Lel , C.K. and Lindley , M.G. 505) , pp. 2-21 Applied Science Publishing , London , 1982.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

กฎแห่งการดูดกลืนแสง

การใช้เครื่อง Spectophotometer มีกฎแห่งการดูดกลืนแสงอยู่สองกฎด้วยกัน ที่มีความสำคัญมาก ได้แก่ กฎของแลมเบิร์ต และ กฎของเบียร์

1. กฎของแลมเบิร์ต

กฎของแลมเบิร์ตมีใจความว่า "เมื่อแสงสีเดียว (Monochromatic light) ซึ่งก็คือ แสงความยาวคลื่นเดียว ผ่านตัวกลางเนื้อเดียว (Homogeneous) สัดส่วนของความเข้มของแสงที่ถูกตัวกลางนั้นดูดกลืนไว้ ไม่ขึ้นอยู่กับความเข้มของแสงที่กระทบตัวกลางนั้น และความเข้มของแสงจะถูกแต่ละชั้นของตัวกลางดูดกลืนไว้ในสัดส่วนที่เท่ากัน"

เราอาจขยายความกฎข้อนี้ได้ว่า หากให้ลำแสงความยาวคลื่นเดียวผ่านตัวกลางหนึ่งที่เป็นเนื้อเดียวกันแล้ว ความเข้มของลำแสงนั้นจะลดลงเป็นแบบ Exponential กับความหนาของตัวกลาง ซึ่งอาจเขียนเป็นรูปสมการได้ดังนี้

$$\log_{10} \frac{I_0}{I} = Kb$$

เมื่อ $K = \frac{K}{2.303}$

ค่า K นี้เคยเรียกว่า Extinction Coefficient แต่ในปัจจุบันนี้เรียกกันว่า Absorptivity และใช้สัญลักษณ์ a แทน ส่วน $\log_{10} \frac{I}{I_0}$ เคยเรียกกันว่า Optical density ของตัวกลาง แต่ในปัจจุบันนี้เรียกว่า Absorbonce และใช้สัญลักษณ์ A แทน กฎนี้ใช้ได้กับตัวกลางเนื้อเดียวที่ไม่ก่อให้เกิดการกระเจิง (Scattering) ทุกชนิดไม่ว่าตัวกลางนั้นจะเป็นแก๊ส ของเหลว ของแข็ง หรือ สารละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. <u>กฎของเบียร์</u>

กฎของเบียร์มีใจความว่า "เมื่อแสงที่มีความยาวคลื่นเดียวผ่านตัวกลางเนื้อเดียว สัดส่วนของแสงที่ถูกตัวกลางนั้นดูดกลืนไว้จะแปรโดยตรงกับปริมาณของตัวกลางที่ดูดกลืนแสงนั้น"

เราอาจขยายความกฎข้อนี้ได้ว่า ในกรณีที่โมเลกุลของสารต่างก็เป็นอิสระแก่กันและกัน อิทธิพลของตัวทำละลายคงที่เมื่อความเข้มข้นเปลี่ยนแปลงไป แต่ละโมเลกุลของสารจะดูดกลืนความเข้มของแสงที่ได้รับเป็นสัดส่วนที่เท่ากัน หรืออีกนัยหนึ่งสัดส่วนของลำแสงที่ผ่านสารละลายที่มีความหนาขนาดหนึ่งจะลดลงแบบ Exponential กับความเข้มข้นของสารที่เพิ่มขึ้น ซึ่งอาจเขียนเป็นรูปสมการดังนี้

$$\log \frac{I_o}{I} = \varepsilon bc$$

เมื่อ $\varepsilon = \frac{Km}{2.303}$

ดังนั้น $A = \log_{10} \frac{I_o}{I} = \varepsilon bc$

เมื่อเราวัดการดูดกลืนแสงของสารละลาย ปริมาตรความเข้มของแสงที่ถูกดูดกลืนจะขึ้นอยู่กับทั้งความเข้มข้นของสารละลาย และความหนาของสารละลายที่ลำแสงต้องผ่าน จึงจำเป็นต้องรวมกฎของแลมเบิร์ตกับกฎของเบียร์เข้าด้วยกัน เรียกเป็นกฎของ เบียร์-แลมเบิร์ต และเขียนเป็นรูปสมการได้ดังนี้

$$A = \log_{10} \frac{I_o}{I} = \varepsilon bc$$

เมื่อ I และ I_o มีความหมายเช่นเดิม

ε เป็น Molar absorptivity

b เป็นความหนาของสารละลายในหน่วยเซนติเมตร

c เป็นความเข้มข้นของสารละลายในหน่วยโมลต่อลิตร

และ A เป็น Absorbance

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียนโครงงาน

นางสาววิมล พฤกษ์วัฒนากุล อายุ 22 ปี เกิดเมื่อวันที่ 5 สิงหาคม พ.ศ.2508 สถานที่เกิดคือ ตำบลท่าฉลอม อำเภอเมือง จังหวัดสมุทรสาคร วุฒิทางการศึกษาเริ่มศึกษาที่โรงเรียนทัศนะธรรมวิทยา ต่อมาได้ศึกษา ณ โรงเรียนสวัสดิ์วิทยา และโรงเรียนเอกชัย จังหวัดสมุทรสาครตามลำดับ จบมัธยมศึกษาตอนต้นที่โรงเรียนสมุทรสาครบูรณะ จังหวัดสมุทรสาคร เมื่อ พ.ศ.2523 ชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายที่โรงเรียนเตรียมอุดมศึกษา กรุงเทพ เมื่อ พ.ศ.2526 ปัจจุบันเป็นนักศึกษาของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรมและวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง กรุงเทพ ทุนการศึกษาที่ได้รับคือ ทุนเรียนดี เมื่อปี 2515 ของโรงเรียนสวัสดิ์วิทยา ความสามารถพิเศษเป็นนักกีฬาบาสเกตบอลของคณะ ประชาสัมพันธ์ชุมนุมถ่ายภาพและฝ่ายกระจายเสียงคณะครุศาสตร์อุตสาหกรรมและวิทยาศาสตร์ ในปี 2528 มีประสบการณ์ทำงานโดยฝึกงานที่ บริษัท ที ซี ไมซิน จำกัด ปี 2529 และ บริษัท มารีน ฟูด โปรดักส์ จำกัด ปี 2530

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้