ปัญหาพิเศษ

การศึกษาการผลิตยีสต์สดในสภาวะนิ่งเพื่อใช้หมักไวน์

Studies on Cream Yeast Production in Static Condition for Wine Makiag)

นางสาวปาลีชะ ศาสนกิจวรกุล รหัสนักศึกษา 45045033

นางสาวเรวดี อยู่พ่วง รหัสนักศึกษา 45045043

โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร

Faculty of Agricultural Industry

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า
เจ้าคุณทหารลาดกระบัง
กรุงเทพฯ 10520

King Mongkut's Institute of Technology
Ladkrabang
Bangkok 10520 Thailand

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การศึกษาการผลิตยีสต์สดในสภาวะนิ่งเพื่อใช้หมักไวน์

(Studies on Cream Yeast Production in Static Condition for Wine Makiag)

โดย

นางสาวปาลีชะ ศาสนกิจวรกุล รหัสนักศึกษา 45045033

นางสาวเรวดี อยู่พ่วง รหัสนักศึกษา 45045043

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

.... อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

(ดร.บุญเทียม พันธุ์เพ็ง) วัน เดือน ปี

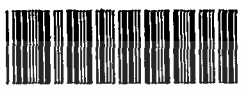
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

19741

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การศึกษาการผลิตยีสต์สดในสภาวะนิ่งเพื่อใช้หมักไวน์

(Studies on Cream Yeast Production in Static Condition for Wine Makiag)



T097069

นางสาวปาลีซะ ศาสนกิวรกุล รหัสนักศึกษา 45045033

นางสาวเรวดี อยู่พ่วง รหัสนักศึกษา 45045043

ปพ.
ป561ก
2546

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....97069.....
วัน,เดือน,ปี.....

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

2546

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นางสาวปาลีชะ ศาสนกิจวรกุล และนางสาวเรวดี อยู่พ่วง 2546 : การศึกษาการผลิตยีสต์สดในสภาวะนิ่งเพื่อใช้หมักไวน์(Studies on Cream Yeast Production in Static Condition for Wine Makiag) โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อาจารย์ที่ปรึกษา : ดร.บุญเทียม พันธุ์เพ็ง กรรมการ : ผศ.อดิศร เสวตวิวัฒน์ , ผศ.ดร. ประภาพร ขอไพบูลย์

บทคัดย่อ

ปัจจุบันยีสต์ที่ใช้หมักไวน์ส่วนใหญ่จะเป็นยีสต์ผง แต่ยีสต์สดยังไม่นิยมใช้กันมากนัก เพราะเก็บรักษายากและง่ายต่อการปนเปื้อน

การศึกษาการผลิตยีสต์สดเพื่อใช้หมักไวน์โดยใช้ยีสต์ Saccharomyces cerevisiae สายพันธุ์ montachate จากอาหาร 3 ชนิด คือ มอลต์ , น้ำสับปะรด และน้ำองุ่น ซึ่งจะพบว่าน้ำองุ่นได้ปริมาณเซลล์ยีสต์มากที่สุดและปริมาณของแข็งที่ละลายได้เท่ากับ 8 องศาบริกซ์ และเมื่อนำยีสต์เปียกที่ได้มาทำการทดลองหมักไวน์ระยะเวลา 5 วัน โดยใช้ปริมาณยีสต์เริ่มต้นแตกต่างกัน คือร้อยละ 0.125 , ร้อยละ 0.25 และ ร้อยละ 0.5 พบว่าปริมาณยีสต์เปียกเริ่มต้นร้อยละ 0.5 หมักไวน์ได้คุณภาพดีที่สุดและได้ปริมาณแอลกอฮอล์ร้อยละ 9 โดยปริมาณ

.....		
.....	.....	.....
ลายมือชื่อนักศึกษา	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา	วัน เดือน ปี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ ดร.บุญเทียม พันธุ์เพ็ง อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ ที่กรุณาให้คำปรึกษาให้ความรู้ ความเข้าใจ ความเอาใจใส่ชี้แนะและช่วยแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อการทำปัญหาพิเศษในครั้งนี้เป็นอย่างยิ่ง ทำให้ปัญหาพิเศษฉบับนี้มีความถูกต้องสมบูรณ์

นอกจากนี้คณะผู้จัดทำขอขอบพระคุณบิดาและมารดาที่ให้ทุนทรัพย์เพื่อใช้จ่ายในการทำปัญหาพิเศษในครั้งนี้ ตลอดจนกำลังใจต่าง ๆ ที่มีให้ด้วยเสมอมา และขอบคุณเพื่อน ๆ ที่มีส่วนช่วยให้ปัญหาพิเศษสำเร็จได้ด้วยดี ไม่ว่าจะเป็นให้ความช่วยเหลือในด้านข้อมูล และข้อเสนอแนะต่าง ๆ

คณะผู้จัดทำ

21 มีนาคม 2547

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ก
กิตติกรรมประกาศ	ข
สารบัญ	ค
สารบัญตาราง	ง
สารบัญภาพ	จ
บทที่	
1. บทนำ	1
2. วารสารปริทัศน์	2
3. อุปกรณ์และการทดลอง	14
4. ผลการทดลองและการอภิปรายผล	20
5. สรุปผลการทดลอง	39
เอกสารอ้างอิง	30
ภาคผนวก	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1. ส่วนประกอบของยีสต์แห้ง	2
2. แสดงปริมาณเซลล์ ยีสต์	21
3. แสดงปริมาณเซลล์ยีสต์ที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลแตกต่างกัน	24
4. แสดงปริมาณยีสต์ที่ผลิตได้	24
ตารางภาคผนวกที่	
1. แสดงปริมาณเซลล์ยีสต์ของอาหาร 3 ชนิด	33
2. แสดงปริมาณเซลล์ยีสต์ที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลแตกต่างกัน	34
3. แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณของแข็งที่ละลายได้ของไวน์ที่ใช้เวลาหมัก 5 วัน	34
4. แสดงการเปลี่ยนแปลงค่า pH ของไวน์ที่ใช้เวลาหมัก 5 วัน	35
5. แสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาณแอลกอฮอล์ของไวน์ที่ใช้เวลาหมัก 5 วัน	35
6. แสดงปริมาณเซลล์ยีสต์ของไวน์ที่ใช้เวลาหมัก 5 วัน	35
7. แสดงค่าทางสถิติของค่า pH ของไวน์ที่ใช้เวลาหมัก 5 วัน	36
8. แสดงค่าทางสถิติของค่า Brix ของไวน์ที่ใช้เวลาหมัก 5 วัน	37
9. แสดงค่าทางสถิติของค่าแอลกอออล์ ของไวน์ที่ใช้เวลาหมัก 5 วัน	38
10. แสดงค่าทางสถิติของปริมาณเซลล์ ของไวน์ที่ใช้เวลาหมัก 5 วัน	39

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1. ลักษณะการเจริญเติบโตของยีสต์	4
2. แสดงผลผลิตยีสต์ที่ได้จากการผลิตยีสต์ขนมปัง ในระดับอุตสาหกรรม	10
3. แผนผังกระบวนการผลิตยีสต์ขนมปังในระดับอุตสาหกรรม	11
4. แสดงปริมาณของเซลล์ยีสต์ของน้ำองุ่น น้ำสับปะรดและ malt extract	20
5. แสดงรูปร่างเซลยีสต์ ที่เวลา 12 ชั่วโมง	21
6. แสดงรูปร่างเซลยีสต์ที่เวลา 24 ชั่วโมง	22
7. แสดงรูปร่างเซลยีสต์ที่เวลา 36 ชั่วโมง	22
8. แสดงเซลยีสต์เวลา 48 ชั่วโมง	23
9. แสดงปริมาณเซลล์ยีสต์ที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลแตกต่างกัน	24
10. แสดงการเปลี่ยนแปลงค่า pH ของไวน์ที่ใช้ปริมาณยีสต์ตั้งต้นแตกต่างกัน	25
11. แสดง การเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลายได้ของไวน์ที่ปริมาณยีสต์ตั้งต้นแตกต่างกัน	26
12. แสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาณแอลกอฮอล์ ของไวน์ที่ใช้เวลาหมัก 5 วัน ที่มีปริมาณยีสต์ตั้งต้นแตกต่างกัน	27
13. แสดงปริมาณยีสต์ที่ได้ของไวน์ที่ปริมาณยีสต์ตั้งต้น แตกต่างกัน	28

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

ยีสต์ มีความสำคัญในอุตสาหกรรมอาหารมานานแล้ว ที่รู้จักกันโดยทั่วไปได้แก่ การใช้ยีสต์ในการผลิตไวน์ เบียร์ น้ำส้มสายชู เนยแข็งบางชนิด นอกจากนี้ยังใช้เป็นตัวปรุงแต่งกลิ่นรส แต่ในปัจจุบันยีสต์ที่ใช้หมักไวน์ส่วนใหญ่เป็นยีสต์แห้ง หรือในรูปยีสต์ผง ซึ่งง่ายต่อการเก็บรักษา (ไพโรจน์ วิริยจารี. 2534) ยีสต์สดยังไม่นิยมใช้กันมากนักในการหมักไวน์เพราะว่าเก็บรักษายาก และเกิดปัญหาอันเนื่องมาจากการปนเปื้อนของยีสต์ในระหว่างกระบวนการผลิตนอกจากนั้นยังใช้เวลานานในการผลิต การผลิตยีสต์สดในการหมักไวน์ในสภาวะนิ่งจากผลไม้จึงเป็นแนวทางที่จะพัฒนาการผลิตยีสต์เพื่อแก้ปัญหาดังกล่าวที่เกิดขึ้นและให้ได้ยีสต์มีคุณภาพดีซึ่งสามารถใช้ได้เช่นเดียวกับยีสต์ขนมปังที่ใช้กันอยู่ตามท้องตลาดและสามารถเก็บไว้ใช้เป็นเวลานานได้ สายพันธุ์ที่ถูกเลือกใช้ในการทำยีสต์ไวน์คือ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ *montrachate.*

วัตถุประสงค์

1. เพื่อทำการผลิตยีสต์สดในสภาวะนิ่งเพื่อใช้หมักไวน์
2. เพื่อหาข้อมูลพื้นฐานที่ใช้ในการผลิต และใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาขยายขนาดการผลิต เพื่อนำไปสู่การศึกษาความเป็นไปได้ในการพัฒนาการผลิตยีสต์ไวน์ในระดับอุตสาหกรรม

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้ข้อมูลพื้นฐานที่จะนำไปสู่การพัฒนาการผลิตยีสต์สดในสภาวะนิ่ง เพื่อใช้ในการหมักไวน์
2. เพื่อพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตยีสต์ไวน์สดจากผลไม้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

2.1 ยีสต์

คำนิยามสำหรับยีสต์อย่างกว้าง ๆ คือ เป็นรากลุ่มหนึ่ง ที่ดำรงชีวิตอยู่ในสภาพเซลเดี่ยวเป็นส่วนใหญ่ มีการขยายพันธุ์โดยการแตกหน่อ (budding) หรือการแบ่งตัวออกเป็นสองเซลล์(fission) คล้ายแบคทีเรีย (ฉันทนา นันทพงษ์, 2522.)

2.1.1 รูปร่างและขนาดของเซลล์

ยีสต์มีรูปร่างเป็นรูปไข่ ค่อนข้างกลม เซลเดียว ไม่มีสี ถ้าอายุยังไม่มาก พบเซลที่กำลังแตกหน่อ ความกว้างของเซลอยู่ในช่วง 2.5 – 10.5 ไมครอน ยาวประมาณ 4.5 – 21 ไมครอน เซลยีสต์ 1 เซลมีปริมาตรประมาณ 40 ลูกบาศก์ไมครอน และมีน้ำหนักแห้งประมาณ $1X10^{-11}$ กรัม ขนาดของเซลยีสต์ขึ้นอยู่กับอัตราการเจริญเติบโต (Brown, 1964)

2.1.2 ลักษณะทางกายวิภาคและสรีรวิทยา

เซลยีสต์จะประกอบด้วยส่วนใหญ่ๆ 3 ส่วน ได้แก่ ผนังเซล นิวเคลียส และไซโทพลาซึม รอบ ๆ นิวเคลียสในส่วนไซโทพลาซึมประกอบด้วย ช่องว่างในเซล เม็ดไขมัน ไกลโคลเจน และอนุภาคอื่น ๆ (พวงพร โชติกไกร, 2533) ยีสต์แห้งมีองค์ประกอบดังตาราง

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบของยีสต์แห้ง

องค์ประกอบ	ร้อยละของน้ำหนักแห้ง	ค่าเฉลี่ยเป็นร้อยละของน้ำหนักแห้ง
คาร์บอน	45.0 – 49.0	47.00
ไฮโดรเจน	5.0 – 7.0	6.00
ออกซิเจน	30.0 – 35.0	32.50
เถ้าทั้งหมด	4.7 – 10.5	6.00
ไนโตรเจน	7.1 –10.8	8.50
ฟอสเฟต	1.9 – 5.5	2.60
โปแตส	1.4 – 4.3	2.50
แคลเซียม	0.005 – 0.02	0.05
แมกนีเซียม	0.1 – 0.7	0.40
อลูมิเนียม	0.002 - 0.02	0.005

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 (ต่อ)

องค์ประกอบ	ร้อยละของน้ำหนักแห้ง	ค่าเฉลี่ยเป็นร้อยละของน้ำหนักแห้ง
ซัลเฟต	0.01 – 0.05	0.03
เหล็ก	0.005 – 0.012	0.007
คลอไรด์	0.004 – 0.1	0.02
ทองแดง	10 – 100 ส่วนในล้านส่วน	20 ส่วนในล้านส่วน

ที่มา : (White, 1954)

2.1.3 การขยายพันธุ์ยีสต์และวงจรชีวิตของยีสต์

ยีสต์เป็นราเซลเดียว มีการขยายพันธุ์แบบไม่ใช้เพศโดยการแตกหน่อ หรือการแบ่งตัวออกเป็น 2 เซล บางสภาวะมีการขยายพันธุ์แบบใช้เพศ คือมีการสร้างแอสโคสปอร์

การขยายพันธุ์โดยการแตกหน่อโดยยีสต์ตัวแม่ มีส่วนใดส่วนหนึ่งของเซลถูกดันโปงออกแล้วโตขึ้นเรื่อย ๆ เรียกว่า เซลลูก ขณะเดียวกันนิวเคลียสของมันก็โตขึ้นเรื่อย ๆ แล้วมีการ ส่งนิวเคลียสและส่วนต่าง ๆ ในไซโทพลาซึมจากตัวแม่เข้าไปในเซลลูก เมื่อเซลลูกโตเต็มที่เท่าตัวแม่หรือเกือบท่าตัวแม่ก็จะแยกหลุดออกไปเป็นสองเซล ที่ผิวเซลของตัวแม่เหลือเป็นรอยแตก เรียกว่า bud scar ยีสต์เซลหนึ่ง ๆ มี bud scar ประมาณ 12 – 15 รอยแผล ซึ่งขึ้นอยู่กับอายุเซลยีสต์ ความสามารถในการแตกหน่อสูงสุดของเซลยีสต์ถูก จำกัดโดยสารอาหารที่จำเป็น หรือความเข้มข้นของเซลยีสต์ที่ใช้เลี้ยง

การขยายพันธุ์แบบใช้เพศ ยีสต์มีการจับคู่กัน โดยยีสต์ที่มีโครโมโซมเป็นแบบแฮพลอยด์ 2 เซลมาจับคู่กัน ในเซลของยีสต์มีโครโมโซมหลายแบบ คือ อาจมีโครโมโซม 1 ชุด โครโมโซม 2 ชุด โครโมโซม 3 ชุด หรือโครโมโซม 4 ชุด ปกติจะมีโครโมโซม 2 ชุด ในสภาวะที่ขาดแคลนสารอาหาร ยีสต์มีการสร้างสปอร์ โดยนิวเคลียสแบ่งตัวแบบไมโอซีส ได้ 4 นิวเคลียส แต่ละนิวเคลียสมีโครโมโซม 1 ชุด แล้วไซโทพลาซึมล้อมรอบ ต่อมาสร้างผนังเซลขึ้นแล้วกลายเป็นแอสโคสปอร์โดยเซลยีสต์ทำหน้าที่เป็นถุงแอสคัส สปอร์เหล่านี้ทำหน้าที่เป็นเซลสืบพันธุ์ ซึ่งมีอยู่สองแบบคือ a และ b การขยายพันธุ์แบบใช้เพศ มี 2 แบบคือ Homothallic และ Heterothallic Homothallic mating เป็นการจับคู่ของยีสต์ 2 เซล ที่มีโครโมโซม 1 ชุดเหมือนกัน นิวเคลียสของทั้ง 2 เซล มีลักษณะเหมือนกัน และขนาดเท่ากัน เมื่อนิงเคลียสรวมกันได้ยีสต์ที่มีโครโมโซมเป็น 2 ชุด ส่วน Heterothallic เป็นการจับคู่ขอยีสต์ 2 เซลที่นิวเคลียสมีลักษณะต่างกัน เมื่อนิวเคลียสรวมกันได้ยีสต์ที่มีโครโมโซม เป็น 2 ชุด ยีสต์ที่ได้มีนิวเคลียสเป็น hybrid

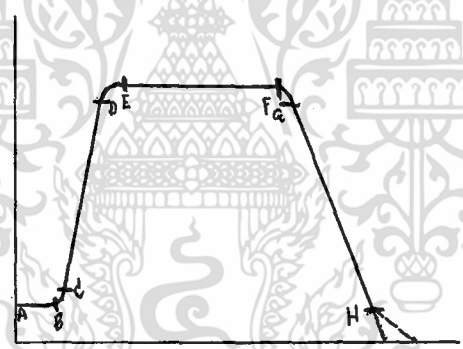
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

nucleus และเรียกยีสต์ที่ได้ว่ายีสต์พันธุ์ทาง ยีสต์ที่ได้มีการขยายพันธุ์โดยการแตกหน่อต่อไป (Trivedi, 1986.)

2.1.4 ลักษณะการการเจริญของยีสต์

เมื่อนำยีสต์ไปเพาะเลี้ยงในอาหารและทำการตรวจนับจำนวนเซลที่เพิ่มขึ้นเป็นระยะ ๆ แล้วนำจำนวนเซลกับเวลาไปสร้างกราฟ โดยให้จำนวนเซลเป็น log number ของเซลอยู่บนแนวตั้งและเวลาที่เปลี่ยนแปลงอยู่ในแนวนอนจะได้กราฟดังแสดงในภาพที่ 1 ซึ่งสามารถแบ่งออกได้เป็น 4 ระยะ ของการเจริญดังนี้

1. Lag phase เป็นระยะที่เซลปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมเพื่อเตรียมแบ่งเซลโดยเซลจะมีขนาดใหญ่ขึ้นแต่ยังไม่มีการแบ่งเซลเพิ่มจำนวน
2. Log phase เป็นระยะที่เซลมีอัตราการเกิดสูงมาก เซลมีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวน เซลในระยะนี้เป็นเซลที่มีชีวิตทั้งหมด และมีมวลเซลและจำนวนเซลเพิ่มขึ้นอย่างสม่ำเสมอ
3. Stationary phase เป็นระยะที่มีอัตราการเกิดเท่ากับอัตราการตาย ฉะนั้นอัตราการเจริญเท่ากับศูนย์ ซึ่งมีสาเหตุมาจากการขาดแคลนอาหารและมีการสะสมของสารพิษ
4. Death phase เป็นระยะที่มีอัตราการตาย ทำให้ปริมาณเซลที่มีชีวิตลดลง



ภาพที่ 1 ลักษณะการเจริญเติบโตของยีสต์

A⟶B = lag phase , B ⟶C = phase of positive acceleration

C ⟶ D = logarithmic, D ⟶E = phase of negative acceleration

E ⟶F = maximal stationary phase ,F ⟶G = accelerated death phase และ

G ⟶H = death phase (วราวุฒิ, 2529)

2.1.5 การเก็บรักษาเชื้อยีสต์

การเก็บรักษายีสต์ที่จะนำมาใช้เพาะเลี้ยง เป็นส่วนสำคัญส่วนหนึ่งในอุตสาหกรรมการผลิตยีสต์ วิธีการเก็บรักษาเชื้อยีสต์มีหลายวิธี คือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. Periodic transfer โดยการเก็บรักษาในอาหารแข็งหรือใน stab cultures เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 – 5 องศาเซลเซียส เพื่อลดกิจกรรมของเซล มีการถ่ายเซลไปยังหลอดอาหารแข็งใหม่ทุก ๆ 3 – 6 เดือน วิธีนี้ใช้มากในพวกยีสต์ รา

2. Storage under oil โดยการใส่ mineral oil ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วลงไปในอาหารแข็งที่มียีสต์ขึ้นอยู่เรียบร้อยแล้ว เก็บไว้ในตู้เย็นช่วยยืดอายุของเซล และยืดเวลาการถ่ายเซล ทั้งยังช่วยลดการสูญเสียน้ำ ทำให้กิจกรรมของยีสต์เกิดขึ้นอย่างช้า ๆ โดยลดปริมาณออกซิเจนที่ยีสต์สามารถนำเอาไปใช้ได้

3. Storage in water การเก็บไว้ในน้ำใช้ได้กับยีสต์บางสายพันธุ์เท่านั้น เช่น *Saccharomyces cerevisiae* บางสายพันธุ์ โดยเก็บไว้ในสารบัฟเฟอร์ที่เจือจาง เก็บที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส โดยวิธีนี้เหลือเซลมีชีวิตร้อยละ 2 – 19 หลังจากเก็บมานาน 1 ปี

4. Storage in soil โดยการเก็บจุลินทรีย์ไว้ในดินที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว วิธีนี้ไม่นิยมใช้กับยีสต์

5. Dehydration เป็นวิธีการดึงน้ำออกจากเซล โดยไม่ผ่านการทำให้เย็นจนแข็ง ทำได้หลายแบบตั้งแต่การทำให้แห้งแบบง่าย ๆ ในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อจนถึงแบบที่ซับซ้อนมากขึ้น เช่น การทำให้แห้งโดยระบบสูญญากาศ ใส่ในเครื่องทำให้แห้งที่มี silica gel

6. Freezing การทำให้เซลเย็นจนแข็ง ใช้เซลจำนวนเล็กน้อย ทำให้เซลค่อยเย็นขึ้นช้า ๆ (1 องศาเซลเซียสต่อนาที) จนถึง - 20 องศาเซลเซียส จากนั้นลดอุณหภูมิลงไปอีกอย่างรวดเร็วจนถึงอุณหภูมิที่ใช้เก็บ คือ –55 องศาเซลเซียส หรือต่ำกว่านี้ อาจเติมสารที่ช่วยป้องกันเซลแตก เช่น กลีเซอรอล (ร้อยละ 10 – 20)หรือเมทธิลซัลฟอกไซด์ ร้อยละ 10 ก่อนที่จะนำไปทำให้เซลแข็งตัวด้วยความเย็น ส่วนการละลายเพื่อนำเซลมาใช้ต้องทำอย่างรวดเร็วเท่าที่ทำได้ ปัจจุบันมีการเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลวที่อุณหภูมิต่ำมาก (-130 องศาเซลเซียส) เป็นวิธีที่ประสบความสำเร็จเช่นกัน

7. Lyophilization หรือ Freeze – drying เป็นวิธีที่ดีในการเก็บรักษายีสต์ไว้นาน ๆ คือ ไม่ต้องถ่ายเซลบ่อย ๆ คุณสมบัติทางชีวเคมีของยีสต์ไม่เปลี่ยนแปลง มีความคงทนของยีน ไม่มีปัญหาการปนเปื้อนของเชื้ออื่น สะดวกต่อการขนส่ง เสียค่าใช้จ่ายต่ำ สำหรับวิธีนี้ทำได้โดยใส่เซลยีสต์เพียงเล็กน้อยลงไปในหลอด (ampoule) ที่มีสารอาหารทำหน้าที่ป้องกันเซล ประกอบด้วย skim milk และน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1 : 1 แล้วปิดหลอดด้วยจุกสำลี นำไปทำให้เย็นจนถึงอุณหภูมิ - 35 องศาเซลเซียส แล้วต่อหลอดเข้ากับเครื่องสูญญากาศที่ความดัน 200 ไมโครเมตรปรอท เพื่อดึงน้ำออก จนได้ยีสต์แห้ง แล้วปิดปากหลอดภายใต้สภาวะสูญญากาศ แล้วเก็บเซลนี้ไว้ในตู้เย็น (White, 1954)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.6 อัตราการเจริญเติบโตของยีสต์

ภายใต้สภาวะที่มีความเข้มข้นของสารอาหารสูง และความหนาแน่นของเซลต่ำ specific growth rate ของยีสต์เป็น 0.6 ชั่วโมง ในการผลิตยีสต์ทางการค้าต้องการให้ได้เซลยีสต์สูง ๆ และมีความสามารถในการเปลี่ยนสารอาหารที่ใช้เลี้ยงเป็นองค์ประกอบของเซลได้สูงสุด (กรัมเซลต่อกรัมสารอาหารที่ถูกใช้สูง) จึงมีการควบคุมให้ specific growth rate ของยีสต์อยู่ในช่วง 0.05 – 0.3 ต่อชั่วโมง (Burrows,1970) ในช่วงที่อัตราการเจริญเติบโตของยีสต์อยู่ระหว่าง 0.08 – 0.18 ต่อชั่วโมง ผลผลิตเซลต่อสารอาหารที่ถูกใช้มีค่าคงที่ (ปริมาณยีสต์ที่ได้สัมพันธ์กับปริมาณสารอาหารที่ถูกใช้) ถ้าอัตราการเติบโตของยีสต์สูงกว่า 0.18 ต่อชั่วโมง สารอาหารที่มีปริมาณความเข้มข้นสูงถูกเปลี่ยนไปเป็นเอทธานอล ทั้งที่มีปริมาณออกซิเจนอย่างเพียงพอ ถ้าอัตราการเจิญเติบโตต่ำกว่า 0.08 ต่อชั่วโมง สารอาหารถูกออกซิไดส์ไปเป็นน้ำและคาร์บอนไดออกไซค์อย่างสมบูรณ์ เพื่อสร้างพลังงานสำหรับการเตรียมพร้อมของเซลเพื่อเจริญเติบโต (Hansfosd, 1966) McMurrough และ Rose พบว่าเมื่ออัตราการเจริญเติบโตของยีสต์เปลี่ยนแปลง มีการเปลี่ยนแปลงในรูปร่าง ขนาด ปริมาณโปรตีนและไขมัน ตลอดจนส่วนประกอบของผนังเซลของยีสต์ ซึ่งจะมีผลต่อคุณภาพของยีสต์ด้วย ถ้าอัตราการเจริญเติบโตสูง พร้อมกับที่มีการผลิตเอทธานอลได้ปริมาณเซลต่ำ เซลมีกิจกรรมการหมักสูง แต่ความคงตัวของเซลยีสต์ต่ำ (White, 1955)

2.1.7 อุณหภูมิ

ยีสต์สามารถเจริญได้ในอุณหภูมิตั้งแต่ 20 – 40 องศาเซลเซียส ยิ่งอุณหภูมิต่ำประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นเซลยิ่งสูง เพราะต้องการ maintenance energy น้อย สำหรับยีสต์ที่เลี้ยงที่อุณหภูมิที่สูงกว่า 35 องสาเซลเซียส จะให้ผลผลิตและกิจกรรมในการหมักของยีสต์ลดลง ในอุตสาหกรรมยีสต์ ส่วนใหญ่ใช้อุณหภูมิ 25 –35 องศาเซลเซียส สำหรับอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 30 องศาเซลเซียส ยีสต์เจริญเติบโตโดยใช้น้ำตาลร้อยละ 0.5 -1.5 ของปริมาตรการหมักได้หมดพอดี มีการศึกษาสายพันธุ์ยีสต์ที่ทนต่ออุณหภูมิสูง เช่น 40 องศาเซลเซียส ส่วนใหญ่ทนได้ราว 1 – 2 ชั่วโมงเท่านั้น ทั้งนี้เชื่อว่าความสามารถในการปรับตัวของยีสต์ให้เจริญได้ในสภาวะสูง อาจเกี่ยวกับปริมาณของแคลเซียมอิออนที่น้อยเกินไปในสารอาหาร มีรายงานว่าแคลเซียมอิออน ช่วยป้องกันคุณสมบัติขิงเอนไซม์ไม่ให้เสียสภาพ นอกจากนี้ อุณหภูมิยังมีผลกระทบต่อโครงร่างของเยื่อหุ้มเซล และกลไกในการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ ซึ่งจากยีสต์ที่เลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส แล้วลดอุณหภูมิลงเป็น 15 องศาเซลเซียส พบว่าอัตราส่วนของการสร้างกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่เป็นพวก C –16 และ C – 18 ลดลง และเพิ่มขึ้น ตามลำดับ ซึ่งมีผลทำให้อัตราการเจริญเติบโตของเซลยีสต์เปลี่ยนแปลงไป และถ้าลดอุณหภูมิในการเลี้ยงยีสต์จาก 35 องศาเซลเซียส มาเป็น 10 องศาเซลเซียส ทำให้การสร้างกรดไขมันไม่อิ่มตัว พวก C – 16 มากว่าพวก C – 18 ถึง 4.5 เท่า ซึ่งกรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอนต่ำ ๆ จุดหลอมเหลวก็ยิ่งต่ำ และไม่มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลต่อคุณสมบัติในการตอบสนองของเยื่อหุ้มเซลในการซึมผ่านขของของเหลวผ่านเข้าสู่ภายในเซล (Trivedi, 1986)

2.1.8 ความเข้มข้นของไฮโครเจนอิออน

ยีสต์ส่วนใหญ่สามารถเจริญได้ที่ pH 3.5 – 7.0 สำหรับในช่วง pH 3.5 – 4.5 มีการปนเปื้อนจากแบคทีเรียน้อย ในช่วง pH ที่ต่ำกว่า 5 ผนังเซลของยีสต์ดูดสีในกากน้ำตาลดังนั้นจึงมีการใช้ pH ที่สูงกว่า 5 ในบางครั้ง เพื่อหลีกเหลี่ยงการดูดซับสี (White, 1954)

2.1.9 ความเข้มข้นของยีสต์

ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม เช่น การให้อากาศ, การกวน, อัตราการเจริญ, อุณหภูมิ และพีเอช จะได้ผลผลิตเซลยีสต์สูง และถ้ามีการควบคุมระบบต่างๆ ได้ดีจริงสามารถเลี้ยงยีสต์ได้สูงถึง 150 กรัมน้ำหนักแห้งต่อลิตร(Drew,1962)

2.2 บทบาทของยีสต์ในการหมักไวน์

ยีสต์มีบทบาทสำคัญในการหมักน้ำตาลให้เป็นเอทิลแอลกอฮอล์ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักในไวน์ และยังได้สารประกอบพวกอัลดีไฮด์ แอลกอฮอล์ที่มีโมเลกุลใหญ่ กรดอินทรีย์ และสารประกอบอื่น ๆ ที่ทำให้ไวน์มีกลิ่นหอม และรสชาติดี

2.3 กระบวนการผลิตยีสต์ในอุตสาหกรรม

ในการผลิตอาหารโปรตีนเซลเดี่ยว สิ่งที่ต้องพิจารณาก็คือผลผลิตเซลรวมทั้งปริมาณโปรตีน กรดนิวคลีอิค และ digestibility ในการผลิตยีสต์ต้องคำนึงถึงคุณภาพของยีสต์ เก็บไว้ใช้ได้นาน และทนต่อสิ่งยับยั้ง ในแง่ของเศรษฐศาสตร์ ต้องคำนึงถึงผลผลิตของยีสต์ต่อหน่วยของ substrate ต่อปริมาณการหมักเช่นกัน ด้วยเหตุผลดังกล่าวจึงต้องมีการควบคุมตั้งแต่ต้นจนจบสิ้นกระบวนการ การผลิตยีสต์ในอุตสาหกรรมต้องมีการเตรียมกากน้ำตาลและเตรียมยีสต์ตั้งต้น (seed yeast)

2.3.1 การเตรียมกากน้ำตาล

การใช้กากน้ำตาลชนิด refiner' s cane molasses และ British beet molasses ไม่ต้องแยกสิ่งเจือปนในกากน้ำตาล ถ้าเป็นกากน้ำตาลในหัวบีทบางแหล่ง และกากน้ำตาลชนิด blackstrap cane molasses มีสิ่งเจือปนอยู่มาก ยีสต์สามารถดูดซับสารแขวนลอยในกากน้ำตาลทำให้มีผลต่อสีของยีสต์ จึงควรกำจัดสารแขวนลอยออก โดยใช้เครื่องเหวี่ยงแยกเอาตะกอนออก (Burrows, 1970)

การฆ่าเชื้อในกากน้ำตาลโดยใช้ความร้อน 100 –110 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง พวกแบคทีเรีย และยีสต์ที่ปนเปื้อนมาถูกทำลาย หรืออาจใช้ฟอร์มอลดีไฮด์ ร้อยละ 0.1 ใส่ลงไปในกากน้ำตาลที่จะใช้ป้อน แต่ไม่ควรเกินร้อยละ 0.3 ในขั้นสุดท้าย กากน้ำตาลที่ใช้ต้องมีการปรับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พีเอช เป็น 4.5 – 5. 0 (Freund, 1961) ถ้ากากน้ำตาลที่ใช้มีความเข้มข้นสูงต้องนำมาเจือจางให้ได้ความเข้มข้นที่เหมาะสม เพื่อใช้เป็นน้ำตาลตั้งต้นในการเลี้ยงยีสต์ การใช้กากน้ำตาลอาจมีผลเสีย เป็นต้นว่า ในบางครั้งองค์ประกอบที่มีอยู่ในกากน้ำตาลบางตัวถึงแม้มีในปริมาณน้อย ก็อาจเป็นตัวยับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์

สารยับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์ที่มีในกากน้ำตาล เช่น ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ สารตัวนี้ถูกนำไปใช้ในกระบวนการทำน้ำตาลของหัวบีท แต่ในการฆ่าเชื้อด้วยร้อน ช่วยลดปริมาณสารนี้ลงได้บ้าง สาร Hydroxymethyl furfural เป็นสารยับยั้งที่พบมากในกากน้ำตาลจากอ้อยที่ใช้ความร้อนในกระบวนการเตรียมน้ำตาลมากไป สารตัวนี้ยับยั้งกระบวนการเมตาบอลิซึมของยีสต์ในสภาวะที่ไม่มีอากาศ แต่พอเลี้ยงยีสต์ได้ปริมาณเซลเพิ่มมากขึ้น ในขณะที่มีความเข้มข้นของสารยับยั้งตัวนี้คงที่ ยีสต์มีการปรับตัวให้ทนต่อสารยับยั้งได้ดียิ่งขึ้น มีสารพวก Potassium inidodisulphonate ปริมาณร้อยละ 5 ในกากน้ำตาลที่ใช้ป้อน ที่มีผลการยับยั้งการเจริญของยีสต์บ้างเล็กน้อย สารพวกกรดไขมัน รวมทั้งพวกกรดระเหยง่าย เช่น กรดอะซิติก มีผลการยับยั้งที่ความเข้มข้นร้อยละ 0-0.1 เป็นสารยับยั้ง โดยขึ้นอยู่กับค่าพีเอชของสารอาหาร

วิธีการตรวจสารยับยั้งเหล่านี้กินเวลานาน ยกเว้นซัลเฟอร์ไดออกไซด์นอกจากนี้ยังมีสารยับยั้งหลายตัวที่ไม่ทราบแน่ วิธีหลีกเลี่ยงสารยับยั้งเหล่านี้โดยใช้กากน้ำตาลจากแหล่งที่เชื่อถือได้ และใช้วิธีการเลี้ยงเป็นแบบ Fed batch เพื่อให้ปริมาณสารยับยั้งมีน้อยที่สุด

2.3.2 การเตรียมยีสต์ตั้งต้น

การผลิตแบบครั้งคราว (batch process) โดยทำภายใต้สภาวะที่ปลอดจากเชื้อปนเปื้อนมากที่สุด การเตรียมยีสต์ในขั้นแรก ทำภายใต้สภาวะที่จำกัดการให้อากาศและเป็นแบบครั้งคราว เพื่อลดการปนเปื้อน การเตรียม seed นี้ อาจขยายระดับต่อไปเรื่อยๆจนได้ seed ในถังขนาด 5-10 ลูกบาศก์เมตร หรืออาจมีการเตรียม seed ในถังหมักขนาด 100 ลูกบาศก์เมตรโดยตรง แต่ทั้งนี้ต้องใช้เชื้อตั้งต้นจำนวนมาก และต้องรักษาสภาพปลอดเชื้อให้ได้ โดยวิธีหลังนี้ให้การเจริญที่เร็วกว่า แต่ทั้งนี้ กระบวนการที่เกี่ยวข้องกับสภาพปลอดเชื้อต้องมีประสิทธิภาพ เช่นการให้อากาศ การทำสารอาหารให้ปลอดเชื้อในบางคราวอาจมีการปนเปื้อนในการให้อากาศ และการป้อนอาหารเป็นระยะๆ ในการเตรียม seed ขั้นต้น ใช้อุณหภูมิ 29-32 องศาเซลเซียส พีเอช 3.5-4.5 เพื่อป้องกันไม่ให้เชื้อที่ปนเปื้อนมาเจริญเติบโต ปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ใช้โดยทั่วไป ใช้ยีสต์เปียก 200 กรัมต่อกากน้ำตาล 1000 กิโลกรัม ซึ่งถ้าไม่มีการป้อนสารอาหารเป็นระยะให้เซลยีสต์ 190 กิโลกรัม ภายใน 24 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะที่มีการให้อากาศ ซึ่งเห็นว่าในขั้นตอนที่ 2 ถ้าใช้วิธีแบบเก่า ต้องใช้กากน้ำตาลถึง 2500 กิโลกรัม ได้ยีสต์ 1000 กิโลกรัม แต่ถ้าใช้วิธีการป้อนอาหารเป็นระยะๆ ใช้กากน้ำตาลเพียง 1500 กิโลกรัม

ตั้งแต่ขั้นตอนที่ 3 ไป ใช้วิธีเดียวกัน ในการผลิตยีสต์จาก 1000 กิโลกรัม ให้เป็นยีสต์ 5000 กิโลกรัม ใช้กากน้ำตาล 5000 กิโลกรัม โดยการป้อนกากน้ำตาลด้วยอัตราทวีคูณ เป็นเวลา 11ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และต้องให้อากาศอย่างเพียงพอตลอดเวลาเพื่อให้ได้ปริมาณยีสต์สูงสุดโดยไม่ให้มีเอทธานอลเกิดขึ้น เอทธานอลที่เกิดขึ้นในขั้นตอนก่อน ถูกยีสต์นำไปใช้ได้ ยีสต์ที่ได้จากตอนที่ 3 ถูกเก็บโดยการ centrifuge ล้างและเก็บไว้ในที่เย็นเพื่อใช่เป็น seed ต่อไป

2.3.3 ขั้นตอนของการ propagation ขึ้นอยู่กับปริมาณยีสต์ในขั้นสุดท้ายที่ต้องการ เช่น จากภาพที่ 2 ยีสต์ที่เก็บได้ในขั้นตอนที่ 3 ถูกแบ่งเป็น 5 ส่วน แต่ละส่วนถูกใช้เป็น seed สำหรับถังปฏิกร 5 ถัง ซึ่งใช้เป็นยีสต์ทั้งหมดเป็น 25000 กิโลกรัม ยีสต์จำนวนนี้ถูกเก็บเกี่ยวเพื่อใช้เป็น seed สำหรับถังอีก 25 ถัง ให้ผลผลิตทั้งหมด 125000 กิโลกรัมสำหรับขาย

ในการผลิต seed ในขั้นตอนต้น เพียงแต่ควบคุมสภาวะเพื่อให้ได้ยีสต์ปริมาณสูงสุด แต่สำหรับขั้นตอนสุดท้าย นอกจากให้ปริมาณสูงสุดแล้ว คุณภาพของยีสต์ยังเป็นส่วนสำคัญด้วย การควบคุมอัตราการป้อนสารอาหาร อุณหภูมิ พีเอช การให้อากาศ ต้องเป็นไปอย่างแน่นอน และในระหว่างการเจริญของยีสต์ในสภาวะที่มีอากาศ มีความร้อนออกมา 850 กิโลกรัมต่อกิโลกรัมกากน้ำตาล ถ้าจะระบายความร้อนจำนวนนี้ออกต้องมีการหล่อเย็นเพียงพอ

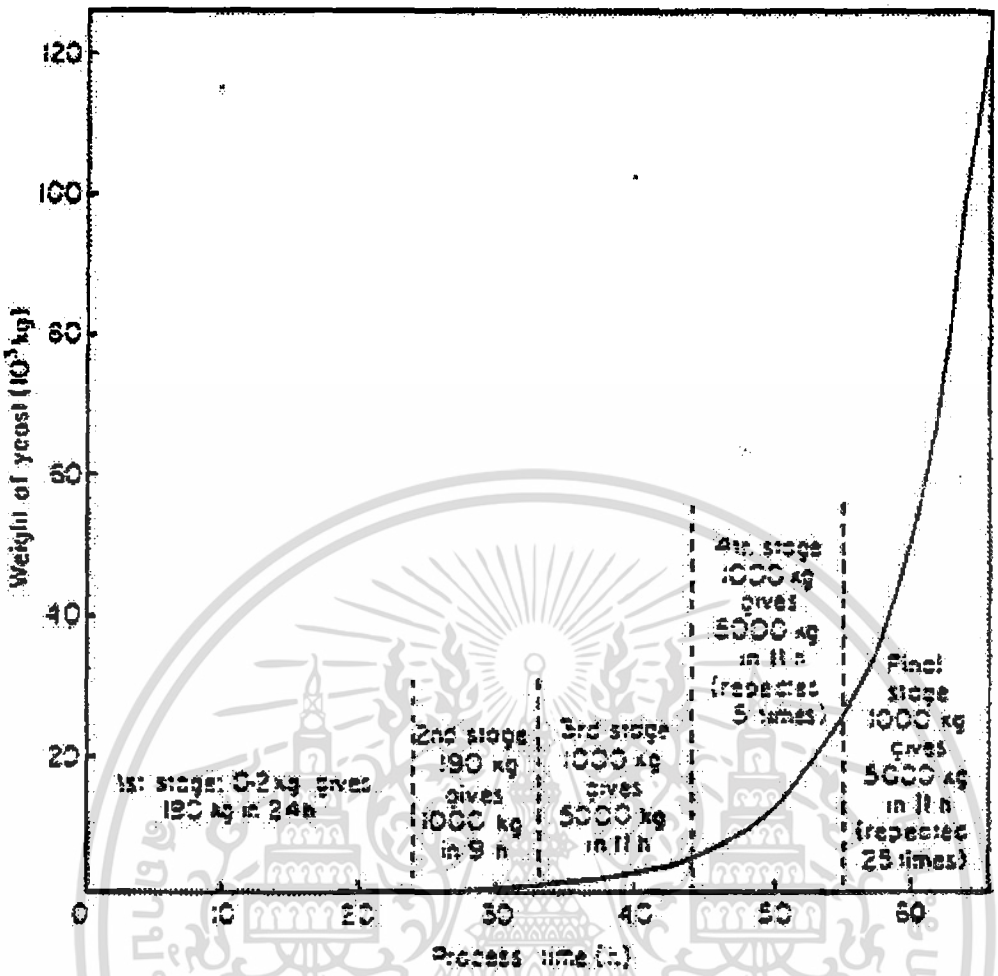
การป้อนอาหารแบบ fed batch ใช้เวลาประมาณ 9-15 ชั่งโมง อัตราการป้อนถูกจำกัดโดยอัตราการให้อากาศ หรือความสามารถในการระบายความร้อนโปรแกรมการป้อนอาจมีได้ต่างๆกันตามสภาพท้องถิ่น การหาอัตราการป้อนสารอาหารขึ้นอยู่กับปัจจัย 3 ประการคือ

1. จำนวนของ seed ยีสต์ที่เติม
2. อัตราการเจริญเติบโตของยีสต์ที่ใช้ในโปรแกรม
3. ปริมาณการให้อากาศและความสามารถในการระบายความร้อน

ในตอนปลายของกระบวนการหยุดการป้อนอาหาร แต่ในอากาศต่อไปเป็นเวลา 30-60 นาที เพื่อให้ยีสต์อยู่ในสภาพที่เป็น “ripen” ในระหว่างนี้อาหารที่เหลือถูกใช้ เซลที่แตกหน่อแบ่งตัวแบ่งตัวและ mature ทำให้คุณภาพยีสต์ดีขึ้น การทำเช่นนี้เหมือนเป็นการ synchronize เซลให้อยู่ใน resting condition และเริ่ม budding cycle

เมื่อสิ้นสุดขั้นตอนการหมัก ยีสต์จากสารละลายถูกแยกและล้างโดยใช้เครื่องเหวี่ยง ได้ยีสต์ครีม 150-200 กรัมน้ำหนักแห้งต่อลิตร ซึ่งเก็บไว้ในที่เย็นก่อนนำไปกรองหรืออัดเป็นยีสต์ สดยีสต์ที่ผลิตได้ต้องทดสอบกิจกรรมของยีสต์ โดยนำยีสต์ที่ได้ไปหมักกับองุ่น เพื่อดูความสามารถในการผลิตแอลกอฮอล์ (Burrows, 1970)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



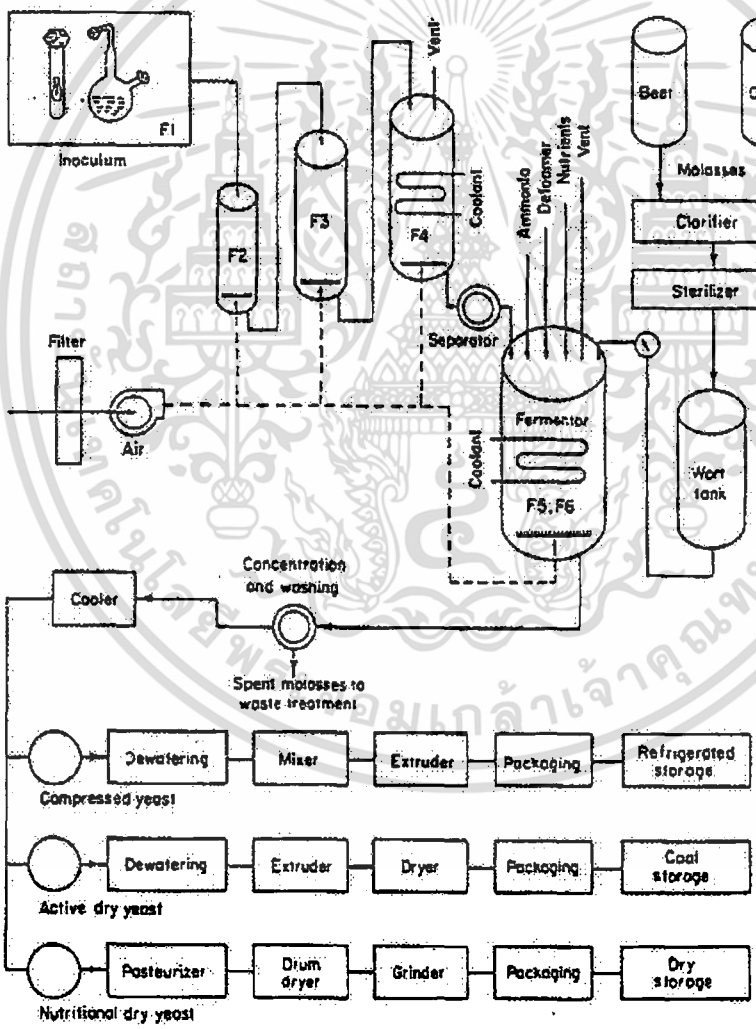
ภาพที่ 2 แสดงผลผลิตยีสต์ที่ได้จากการผลิตยีสต์ขนมปัง ในระดับอุตสาหกรรม

2.4 การผลิตยีสต์ขนมปัง

การผลิตยีสต์มีทั้งการใช้ fed batch หรือ Continuous process แต่ในการผลิตยีสต์ขนมปังนิยมใช้ fed batch และมีการให้อากาศ กระบวนการประกอบด้วยขั้นตอนการหมัก 5-7 ขั้นตอนถือเป็น multistage fermentation จากถังหมักตั้งแต่ bench-top fermentor เพิ่มขนาดขึ้นจนถึง 1.9x 10^4 ลิตร ในระหว่างการหมักสภาพแวดล้อมในถังหมัก เช่นปริมาณน้ำตาลกลูโคส (fermentation sugar) ,อากาศ,พีเอช และอุณหภูมิต้องมีการควบคุมอย่างมาก ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ยีสต์ มิฉะนั้นแล้วมีผลกับผลผลิตและกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ที่ได้ โดยทั่วไปควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส,พีเอช 4.5 ,อากาศ 1 vvm จากภาพที่ 3 แสดงการผลิตยีสต์ขนมปัง ซึ่งมีหลายขั้นตอน โดยที่ขั้นตอนแรก (F_1) เป็น flask culture stage หรือ inoculum stage F_2,F_3 และ F_4 เป็น initial generation stage เป็นการขยายของขนาด inoculum เป็นการหมักแบบ batch fermentation ส่วน F5 และ F6 เป็น final stage หรือ Trade stage ซึ่งขั้นตอนนี้ถือเป็น fed batch fermentation และทุกขั้นตอนมีการให้อากาศ ในขั้นตอนสุดท้ายมีการป้อนน้ำตาลเป็น fed batch process ซึ่งต้องมีการรักษาความเข้มข้นของน้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาลในถังหมักให้ต่ำ (มีความเข้มข้นของน้ำตาลที่ใช้ได้น้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.1) เพื่อหลีกเลี่ยงการเกิด crabtree effect เป็นการจำกัดการเกิดเอทธานอลและการหายใจในช่วงการเจริญเติบโตสุดท้ายของยีสต์ มีอัตราการเพิ่มของเซลยีสต์ (growth rate) เป็นร้อยละ 25 ต่อชั่วโมง ที่อัตราการเจริญเติบโตสูงๆ ทำให้เกิด aerobic fermentation มีการสร้างเอทธานอลเกิดขึ้น มีผลทำให้สูญเสียผลผลิตยีสต์ขนมปังไป การหมักในช่วงสุดท้ายใช้เวลา 10-20 ชั่วโมงในการหมัก ซึ่งขึ้นกับลักษณะของถังหมักและความเข้มข้นของยีสต์ที่ต้องการ ช่วงเวลานี้มีความเข้มข้นของเซลในสารอาหารเป็นร้อยละ 3.5-5 การเก็บยีสต์ใช้ centrifugal separator แล้วล้างด้วยน้ำหลายๆครั้ง เพื่อกำจัดสารอาหารและสีของน้ำตาลที่ติดมา ยีสต์ที่ได้เรียกว่า yeast cream มีเซลยีสต์อยู่ประมาณร้อยละ 18 yeast cream ถูกนำมาทำให้เย็นที่ 2-4 องศาเซลเซียส แล้วนำมากรองโดยใช้ plate-and-frame filter press หรือ rotary vaccum filter ได้เป็น wet yeast นำไปเก็บที่ 0 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปใช้ต่อไป (Trivedi, 1984)



ภาพที่ 3 แผนผังกระบวนการผลิตยีสต์ขนมปังในระดับอุตสาหกรรม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 รูปแบบของยีสต์

ยีสต์มีขายอยู่ 3 รูปแบบคือ ยีสต์สด ยีสต์เม็ด และยีสต์ผง

2.5.1 ยีสต์สด (compressed yeast)

ยีสต์สดมี 2 แบบ คือ Cake yeast(CY) และ crumbled yeast(CCY) โดยนำ wet yeast มาผสมกับน้ำมันพืช ที่ 2-7 องศาเซลเซียส และมีการเติมโซเดียมคลอไรด์ ร้อยละ 0.2-0.6 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ลงไปในยีสต์ครีม ทำให้เกิดการหดตัวของเซลเนื่องจากแรงดันออสโมซีส ในระหว่างที่ใช้ rotary vaccum filter มีการพ่นน้ำไปบนชั้นของยีสต์ครีม เพื่อไล่เกลือที่ติดอยู่ที่เซลออก เซลอยู่ในสภาวะสมดุลย์อีกครั้งหนึ่งและพองออก ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากวิธีนี้มีน้ำหนักแห้งร้อยละ 28-30 (มีความชื้นประมาณร้อยละ 70) จากนั้นนำไปบรรจุในถุง หรืออัดเป็นก้อนโดยการเติม emulsifier และน้ำลงไปด้วย การจำหน่ายยีสต์สดต้องเก็บที่ห้องเย็นทำให้เก็บได้นานเป็นเวลาหลายเดือน(Trivedi, 1986)

2.5.2 ยีสต์เม็ด (active dry yeast ,ADY)

การผลิตยีสต์ไวน์ในรูปยีสต์แห้ง ได้รับความสนใจมากขึ้นเพราะมีความอยู่ตัวมากขึ้น ความชื้นต่ำ ทำให้ลดราคาค่าขนส่งและเก็บ อย่างไรก็ดียีสต์แห้งมีกิจกรรมที่ต่ำลง ทำให้เวลานำไปใช้ ต้องใช้เซลยีสต์ในปริมาณที่มากกว่ายีสต์สด

ขั้นตอนการผลิตยีสต์แห้ง มีบางขั้นตอนที่ต่างไปจากยีสต์สด เช่น สายพันธุ์ยีสต์ที่ใช้ต้องเป็นสายพันธุ์พิเศษที่สามารถทนต่อการทำแห้งได้ ปริมาณไนโตรเจนที่ต้องป้อน ให้ได้ปริมาณไนโตรเจนในเซลอยู่ระหว่าง ร้อยละ 6-7 ของน้ำหนักแห้ง (Thorn, 1959)ถ้าหากใช้อุณหภูมิที่ใช้เลี้ยงปกติ คือ 30-33 องศาเซลเซียส และจำกัดปริมาณสารอาหารที่ป้อนโดยเติม spent waste ที่มีเอทธานอลการเติมกากน้ำตาล การทำ synchronization ของ budding cycle โดยการสลับกันระหว่างการป้อนสารอาหาร และช่วงขาดอาหาร อาจมีประโยชน์ต่อการผลิตยีสต์แห้ง

การจำกัดปริมาณไนโตรเจนในสารอาหาร อาจมีผลทำให้ปริมาณคาร์โบไฮเดรทในเซลโดยเฉพาะ trehalose เพิ่มขึ้น มีผลต่อการอยู่ตัวของยีสต์ในระหว่างกระบวนการทำแห้ง ปริมาณของไขมันในเซลเพิ่มขึ้นด้วย มีผลต่อ permeabilityของเซลที่มีส่วนสำคัญเมื่อนำยีสต์แห้งไปใช้

ยีสต์ที่ผลิตได้นำไปผ่าน filter presses เพื่อให้ได้น้ำหนักแห้งประมาณร้อยละ 30-38 นำไปทำแห้งใน tunnel drying หรือ rotary drum dryer ผลิตภัณฑ์สุดท้าย ที่ได้มีลักษณะเป็น pellet

ยีสต์ที่นำมาทำเป็นยีสต์แห้ง ต้องมีความสามารถในการรักษากิจกรรมของมันไว้ได้ภายหลังจากการทำแห้ง ระบบการอบยีสต์แห้งต้องสามารถดึงความชื้นออกไปได้อย่างรวดเร็วโดยใช้อุณหภูมิค่องข้างต่ำ ระบบการอบยีสต์แห้งมี Continuous belt dryer ที่ 25-45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ยีสต์แห้งที่ได้มีความชื้นร้อยละ 7.5-8.3 เก็บไว้ได้นาน 3 เดือน โดยไม่ต้องใส่ตู้เย็น ถ้าทำการบรรจุภายใต้บรรยากาศของไนโตรเจน คาร์บอนไดออกไซด์ หรือสุญญากาศยืดเวลาเก็บได้ถึงปี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก่อนนำ ADY ไปใช้ต้อง rehydration ก่อน ซึ่งทำให้ยุ่งยาก ปัจจุบันมียีสต์ผงที่ไม่ต้อง rehydration

2.5.3 ยีสต์ผง (Instant active dry yeast,IADY)

การทำยีสต์ผงต้องการยีสต์ที่มีคุณสมบัติพิเศษ เช่นเดียวกับยีสต์เม็ด ในการทำยีสต์ผงใช้ airlift fulid bed dryer ซึ่งมีอุณหภูมิสูงถึง 149-177 องศาเซลเซียสจาก cooling effect ของ moisture evaporation อุณหภูมิที่อนุภาคของยีสต์ อาจสูงกว่า 38 องศาเซลเซียสเล็กน้อย ทำให้แห้งได้อย่างรวดเร็ว มีความชื้นประมาณร้อยละ 5 เนื่องจากยีสต์ผงมีความหนาแน่นต่ำ พื้นที่ผิวสูง และอนุภาคละเอียด จึง dehydration ก่อน เนื่องจากเกิด dehydration ได้ง่าย ยีสต์ผงจึงไม่อยู่ตัวเมื่อถูกกับอากาศ การใส่ surfactant ทำให้ยีสต์ผงมีความอยู่ตัวเพิ่มขึ้น (Trivedi, 1986)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

วัตถุดิบและสารเคมี

1. ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ *montrachate.*
2. องุ่นพันธุ์ไวท์มะละกา
3. สับปะรดพันธุ์ศรีราชา
4. Malt extract
5. น้ำตาลทรายขาว
6. อาหาร YM broth

อุปกรณ์

1. ขวดแกลลอนขนาด 2.5 ลิตร
2. หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autocave)
3. เครื่องคั้นน้ำผลไม้
4. สำลี
5. ปิเปต
6. หม้อ
7. ผ้ากรอง
8. ขวดแก้วรูปชมพู่ (Flask)
9. เข็มเขี่ยเชื้อ
10. หลอดทดลอง
11. บีกเกอร์
12. จานเพาะเชื้อ
13. ขวดใส่อาหารเลี้ยงเชื้อ
14. rack
15. เครื่อง centrifuge
16. ตู้อบ (Hot air oven)
17. เครื่องวัดปริมาณน้ำตาล 0- 32 %(Hand refractometer)
18. เครื่องวัด pH (pH meter)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

19. Moisture can
20. Desiccater
21. กล้องจุลทรรศน์
22. เครื่องชั่ง
23. กระบอกน้ำกลั่น
24. กล้องดิจิตอล
25. เครื่องวัดปริมาณแอลกอฮอล์(Hidrometer)

วิธีการทดลอง

1. การเตรียมกล้าเชื้อยีสต์

เขี่ยเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ *montrachate* ลงใน slant บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 48 ชั่วโมง เทใส่อาหาร YM broth ในขวดแก้วขนาด 250 มล. บ่มที่อุณหภูมิห้องทิ้งไว้ 48 ชั่วโมง

2. การหาสูตรอาหารที่เหมาะสม

เตรียมอาหารเลี้ยงยีสต์จาก

สูตร 1. malt extract 12 กรัม น้ำ 800 มล.

สูตร 2. น้ำสับปะรด 800 มล.

สูตร 3. น้ำองุ่น 800 มล.

เติมน้ำตาลทราย ปรับให้มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้เท่ากับ 18 องศาบริกซ์ บรรจุในขวดขนาด 2.5 ลิตร แล้วนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียล ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 20 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วถ่ายเชื้อยีสต์ซึ่งเจริญใน YM broth ปริมาตร 10 มล.ต่อ 800 มล. เก็บที่อุณหภูมิห้องและเขย่าทุก 12 ชั่วโมงทุกวัน นับปริมาณยีสต์ ด้วยHaemacytometer และถ่ายภาพด้วยกล้องดิจิตอลเพื่อดูการเติบโต ทุก 4 ชั่วโมง เมื่อเจริญสูงสุดวิเคราะห์ หาน้ำหนักแห้งจากอาหาร 3 สูตร และเลือกสูตรอาหารที่เหมาะสมเพื่อนำไปวิเคราะห์ขั้นต่อไป

3. ศึกษาการเจริญของยีสต์จากอาหารที่เหมาะสมจากข้อ 2 ที่มี ความเข้มข้นของน้ำตาลแตกต่างกัน เท่ากับ 2, 4, 8, 16, 18 °บริกซ์ ปริมาตร 800 มล.บรรจุในขวดขนาด 2.5 ลิตร แล้วนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียล ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 20 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วถ่ายเชื้อยีสต์ซึ่งเจริญใน YM broth ปริมาตร 10 มล. ต่อ 800 มล. เก็บที่อุณหภูมิห้องและเขย่า ทุก 12 ชั่วโมง ทุกวัน นับปริมาณยีสต์ด้วย haemacytometer เพื่อดูการเติบโต เมื่อเจริญสูงสุดวิเคราะห์ หาน้ำหนักแห้งจากอาหาร 5 สูตรและเลือกสูตรอาหารที่เหมาะสมเพื่อนำไปวิเคราะห์ขั้นต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ศึกษาการเลี้ยงยีสต์เพื่อทำเป็นยีสต์สดเพื่อใช้หมักไวน์อาหารสูตรที่เหมาะสมปริมาตร 800 มล.บรรจุในขวดขนาด 2.5 ลิตร แล้วนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียล ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 20 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วถ่ายเชื้อยีสต์ซึ่งเจริญใน YM broth ปริมาตร 10 มล. ต่อ 800 มล. เก็บที่อุณหภูมิห้องและเขย่า ทุก 12 ชั่วโมง ทุกวัน ประมาณ 2 วัน หลังจากนั้นนำมากรองแยกเซลยีสต์ออกด้วยเครื่อง centrifuge แล้วล้างด้วยน้ำกลั่น เก็บในตู้เย็น

5. ทดลองหมักไวน์

น้ำองุ่นเติมน้ำตาลทรายปรับปริมาณของแข็งที่ละลายได้เท่ากับ 22 องศาบริกซ์ ปรับปริมาณความเป็นกรดด่างเท่ากับ 4.2 ปริมาตร 800 มล. บรรจุในขวดขนาด 2.5 ลิตร 3 ขวด เติม KMS ทิ้งไว้ 6 – 12 ชั่วโมง แล้วถ่ายเชื้อยีสต์ที่เลี้ยงได้โดยใช้ปริมาณยีสต์ร้อยละ 0.125 ร้อยละ 0.25 และร้อยละ 0.5 นน.เปียก ต่อ 800มล.ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เวลา 5 วัน วัดค่าความเป็นกรดด่าง วัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ วัดปริมาณแอลกอฮอล์ ดังภาพที่ 4

1. การเตรียมกล้าเชื้อยีสต์

ถ่ายเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cesevisiae* สายพันธุ์ *montrachate* ลงใน PDA slant บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 48 ชั่วโมง

↓

ถ่ายเชื้อลงในอาหาร YM broth 10 มล.

↓

เทใส่ขวดแก้วรูปกรวยขนาด 250 มล. ที่มี YM broth 100 มล0

↓

บ่มในสภาพนิ่งที่อุณหภูมิห้องนาน 48 ชั่วโมง

2. การหาสูตรอาหารที่เหมาะสม

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อยีสต์จากวัตถุดิบ คือ

สูตร 1. Malt extract 12 กรัม น้ำกลั่น 800 มล.

สูตร 2. น้ำสับปะรด 800 มล.

สูตร 3. น้ำองุ่น 800 มล.

↓

เติมน้ำตาลทราย ปรับบริกซ์เท่ากับ 18 องศาบริกซ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรจุในขวดขนาด 2.5 ลิตร

↓

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °ซ. ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วนาน 20 นาที

ถ่ายกล้าเชื้อยีสต์ซึ่งเจริญใน YM broth ปริมาตร 10 มล.ต่อ 800 มล.

↓

บ่มในสภาพนิ่งที่อุณหภูมิห้อง เขย่าทุก 12 ชม.

↓

นับปริมาณยีสต์โดยตรงด้วย haemacytometer

และถ่ายภาพทุก 4 ชม.

↓

เมื่อเจริญครบ 48 ชม. วิเคราะห์หาน้ำหนักแห้ง

↓

เลือกสูตรอาหารที่เหมาะสมที่สุดเพื่อใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

3. ศึกษาการเจริญของยีสต์จากอาหารที่เหมาะสมจากข้อ 2 ที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลแตกต่างกัน

อาหารที่เหมาะสมจากข้อ 2 ปริมาตร 800 มล.

↓

ปรับความเข้มข้นของน้ำตาลทรายให้เป็น 2, 4, 8, 16, 18 องศาบริกซ์

↓

บรรจุในขวดขนาด 2.5 ลิตร

↓

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 ° ซ. ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

นาน 20 นาที

↓

ถ่ายกล้าเชื้อยีสต์ซึ่งเจริญใน YM broth ปริมาตร 10 มล.ต่อ 800 มล.

↓

บ่มที่อุณหภูมิห้อง เขย่าทุก 12 ชม.

↓

นับปริมาณยีสต์โดยตรงด้วย haemacytometer ทุก 4 ชม.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

97069

เมื่อเจริญครบ 48 ชม. วิเคราะห์หาน้ำหนักแห้ง

↓

เลือกความเข้มข้นของน้ำตาลที่เหมาะสมเพื่อใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

4. ศึกษาการเลี้ยงยีสต์เพื่อทำเป็นยีสต์สดเพื่อใช้หมักไวน์

เตรียมอาหารสูตรที่เหมาะสมปริมาตร 800 มล.บรรจุในขวด 2.5 ลิตร

↓

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 ° ซ. ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

นาน 20 นาที

↓

ถ่ายเชื้อยีสต์ซึ่งเจริญในอาหาร YM broth ปริมาตร 10 มล.

↓

บ่มในสภาพนิ่งที่อุณหภูมิห้องเขย่าทุก 12 ชม. นาน 2 วัน

↓

แยกเซลยีสต์ออกด้วยเครื่อง centrifuge

↓

ล้างด้วยน้ำกลั่น

↓

เก็บในตู้เย็น

5. ทดลองหมักไวน์

น้ำองุ่น

↓

เติมน้ำตาลทรายเท่ากับ 22 องศาบริกซ์

↓

ปรับ pH เท่ากับ 4.2

↓

บรรจุในขวดขนาด 2.5 ลิตร

↓

เติม KMS 150 ppm ทิ้งไว้ 12 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ถ่ายเชื้อยีสต์ที่เลี้ยงได้ปริมาณยีสต์ร้อยละ 0.125 , ร้อยละ 0.25 , และร้อยละ 0.5 ต่อ 800 มล.

↓

บ่มในสภาพนิ่งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 วัน

↓

วิเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลองและการอภิปรายผล

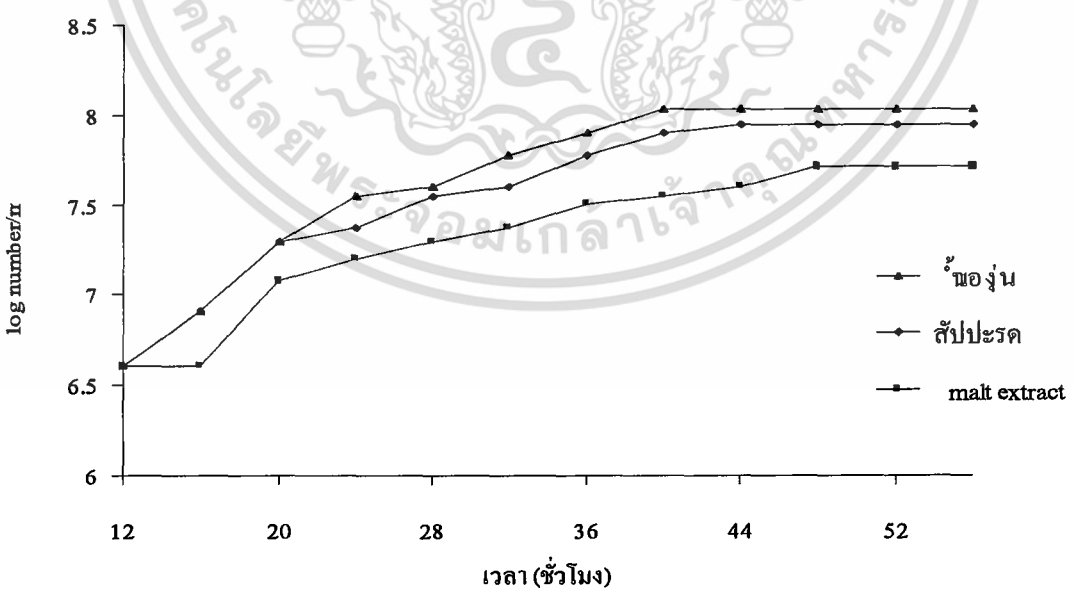
1. การหาสูตรอาหารที่เหมาะสม

ผลการหาสูตรอาหารที่เหมาะสม จากการเลี้ยงยีสต์ในอาหาร 3 ชนิดได้แก่ น้ำองุ่น , น้ำสับปะรดและ Malt extrct โดยปรับความหวาน (% °Brix)เท่ากันแล้วทำการหมัก พบว่า จำนวนเชื้อยีสต์ที่สามารถนับได้ ในน้ำองุ่นมีค่ามากที่สุด รองลงมาคือน้ำสับปะรดและmalt extract ตามลำดับ (ภาพที่ 4)

การหาน้ำหนักแห้ง พบว่า น้ำองุ่น มีน้ำหนักแห้งมากที่สุดซึ่งได้เท่ากับ 14.93กรัมต่อลิตร , รองลงมาคือน้ำสับปะรดได้เท่ากับ 12.01 กรัมต่อ ลิตร และ Malt extract ได้เท่ากับ 6.18 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 2)

น้ำองุ่นมีปริมาณเซลล์ยีสต์และน้ำหนักยีสต์แห้งมากที่สุดแสดงว่าในน้ำองุ่นมีสารอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์มากที่สุด

รูปร่างของเซลล์ยีสต์ (ภาพที่ 5 - 7) จะพบว่ามีเซลล์บางเซลล์ที่มี budding อยู่ซึ่งไม่เหมาะกับการที่จะนำไปผลิตเป็นยีสต์สด แต่รูปร่างเซลล์ (ภาพที่ 8) จะเห็นได้ว่าไม่มีเซลล์ budding และมีขนาดเซลล์เดี่ยว ๆ และเท่ากันซึ่งเหมาะแก่การนำไปผลิตยีสต์สดและจะนำไปใช้ได้เลย ลดระยะเวลาการผลิต



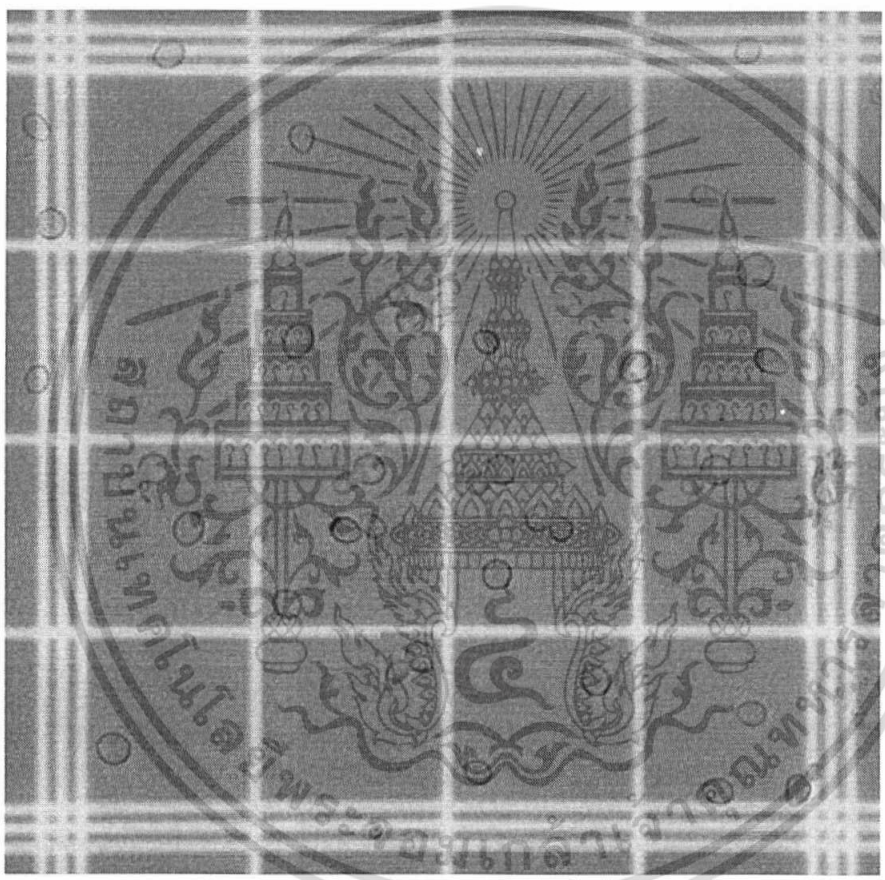
ภาพที่ 4 แสดงปริมาณของเซลล์ยีสต์ของน้ำองุ่น น้ำสับปะรดและ malt extract

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

19711

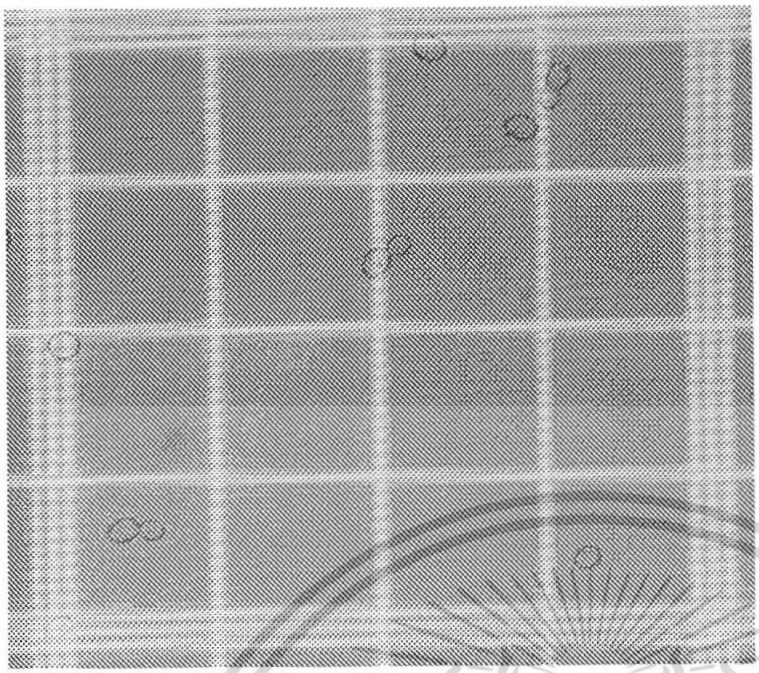
ตารางที่ 2 แสดงปริมาณเซลล์ ยีสต์ที่เวลา 52 ชั่วโมง

ชนิดอาหาร	ปริมาณยีสต์ที่ได้ (กรัมยีสต์แห้ง / ลิตร)
องุ่น	14.93
สับปะรด	12.01
Malt extrct	6.18

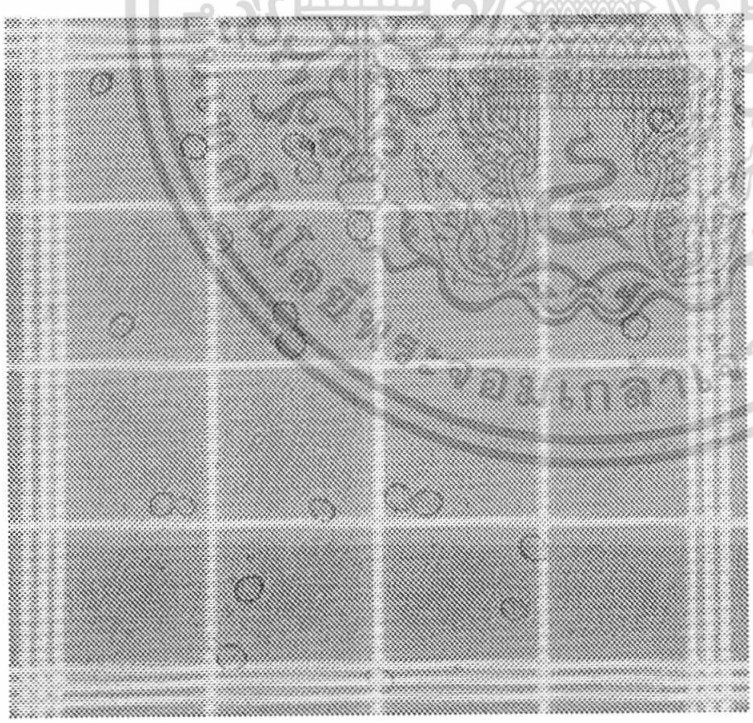


ภาพที่ 5 แสดงรูปร่างเซลยีสต์ในน้ำองุ่นที่เวลา 12 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ

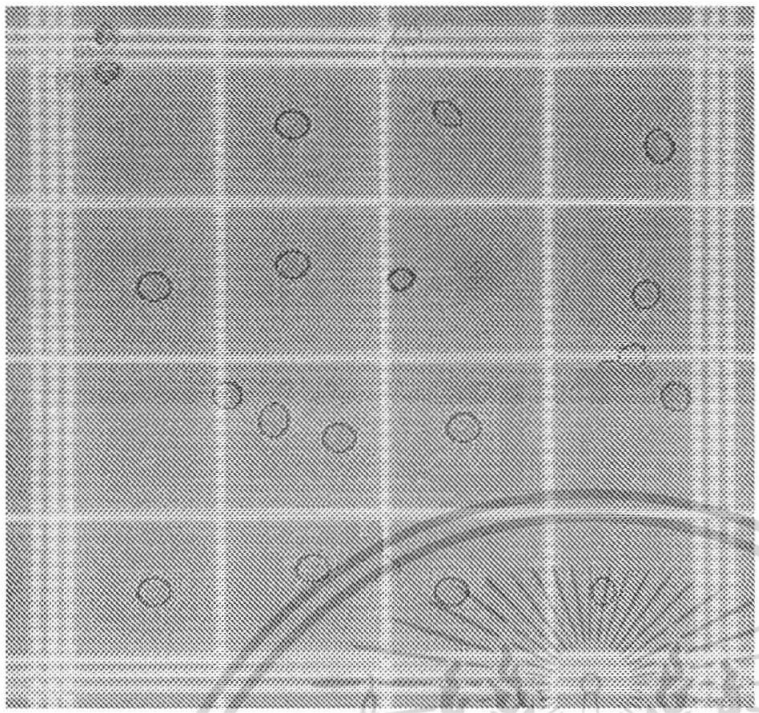


ภาพที่ 6 แสดงรูปร่างเซลยีสต์ในน้ำอุ่นที่เวลา 24 ชั่วโมง



ภาพที่ 7 แสดงรูปร่างเซลยีสต์ในน้ำอุ่นที่เวลา 36 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



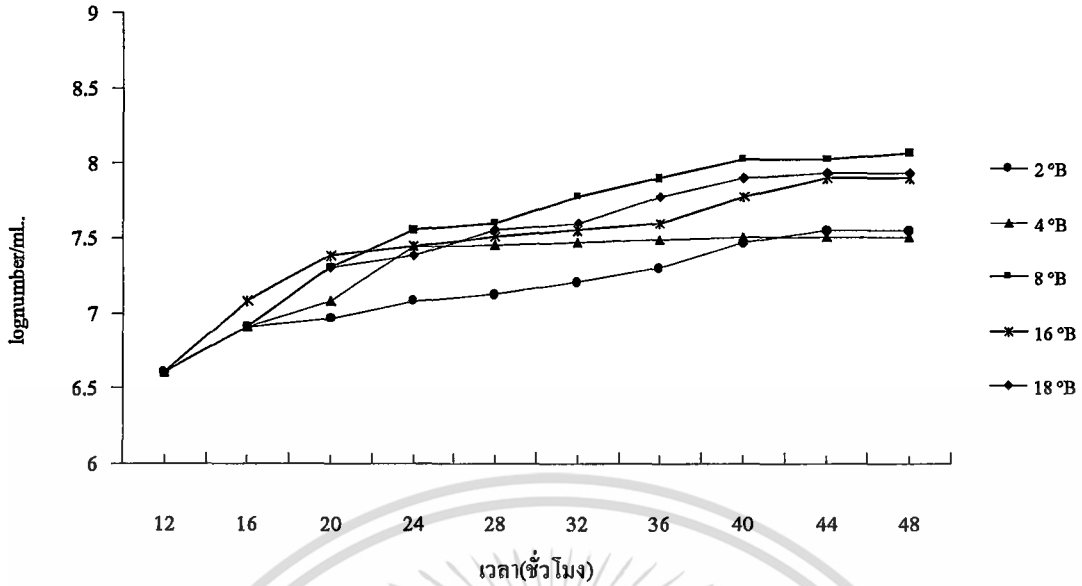
ภาพที่ 8 แสดงเซลยีสต์ในน้ำอุ่นที่เวลา 48 ชั่วโมง

2. ทดสอบการเจริญของยีสต์ในอาหารที่เหมาะสม ที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลเท่ากับ 2, 4, 8, 16, 18 องศาบริกซ์

การนับปริมาณของเซลล์ยีสต์ พบว่าที่ความเข้มข้นของน้ำตาลเท่ากับ 8 องศาบริกซ์ จะได้ปริมาณเซลล์ยีสต์มากที่สุด รองลงมาคือ 18 องศาบริกซ์ , 16 องศาบริกซ์, 2 องศาบริกซ์ และ 4 องศาบริกซ์ ตามลำดับ (ดังภาพที่ 9) และการหาน้ำหนักแห้งของเซลล์ยีสต์ ความเข้มข้นของน้ำตาลที่ 8 องศาบริกซ์ ได้น้ำหนักยีสต์แห้งมากที่สุดคือ16.6 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือ 18 องศาบริกซ์ ได้น้ำหนักยีสต์แห้ง 13.7 กรัมต่อลิตร , 16 องศาบริกซ์ ได้น้ำหนักยัสต์แห้ง 13.2 กรัมต่อลิตร, 2 องศาบริกซ์ได้น้ำหนักยีสต์แห้ง 10 กรัมต่อลิตรและ 4 องศาบริกซ์ได้น้ำหนักยีสต์แห้ง 7 กรัมต่อลิตรตามลำดับ (ดังตารางที่ 3)

ที่ความเข้มข้นของน้ำตาลเท่ากับ 8 องศาบริกซ์ ได้ปริมาณเซลล์ยีสต์และน้ำหนักแห้งมากที่สุด เพราะว่ามีความเข้มข้นของน้ำตาลและสารอาหารที่เหมาะสม แก่การเจริญของยีสต์ ความเข้มข้นของน้ำตาลมีผลต่อการผลิตยีสต์ไวน์ ความเข้มข้นของน้ำตาลถ้ามีไม่เพียงพอหรือน้อยเกินไป ทำให้ได้ผลผลิตเซลล์ต่ำ และประสิทธิภาพการเปลี่ยนน้ำตาลเป็นเซลล์ ความเข้มข้นของน้ำตาลมากเกินไป นอกจากจะให้ผลผลิตเซลล์ต่ำแล้ว ยังมีผลในทางเศรษฐกิจในการผลิตยีสต์ในระดับอุตสาหกรรมด้วย ในขั้นต่อไปจึงเลือกใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลเท่ากับ 8 องศาบริกซ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 9 แสดงปริมาณเซลล์ยีสต์ที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลแตกต่างกัน

ตารางที่ 3 แสดงปริมาณเซลล์ยีสต์ที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลแตกต่างกัน

ปริมาณน้ำตาล (° บริกซ์)	ปริมาณยีสต์ที่ได้ (กรัมยีสต์แห้ง/ ลิตร)
2	10
4	7
8	16.6
16	13.2
18	13.7

3. ศึกษาการเลี้ยงยีสต์เพื่อใช้เป็นยีสต์สดเพื่อใช้หมักไวน์ โดยมีความเข้มข้นของน้ำตาลเท่ากับ 8 องศาบริกซ์ ที่เวลา 48 ชั่วโมง ได้ผลดังตาราง ที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงปริมาณยีสต์ที่ผลิตได้

ปริมาณยีสต์(เซลล์ต่อมล.)	น้ำหนักยีสต์เปียก (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักยีสต์แห้ง (กรัมต่อลิตร)
$1.08 X10^{8}$	56.25	15.6

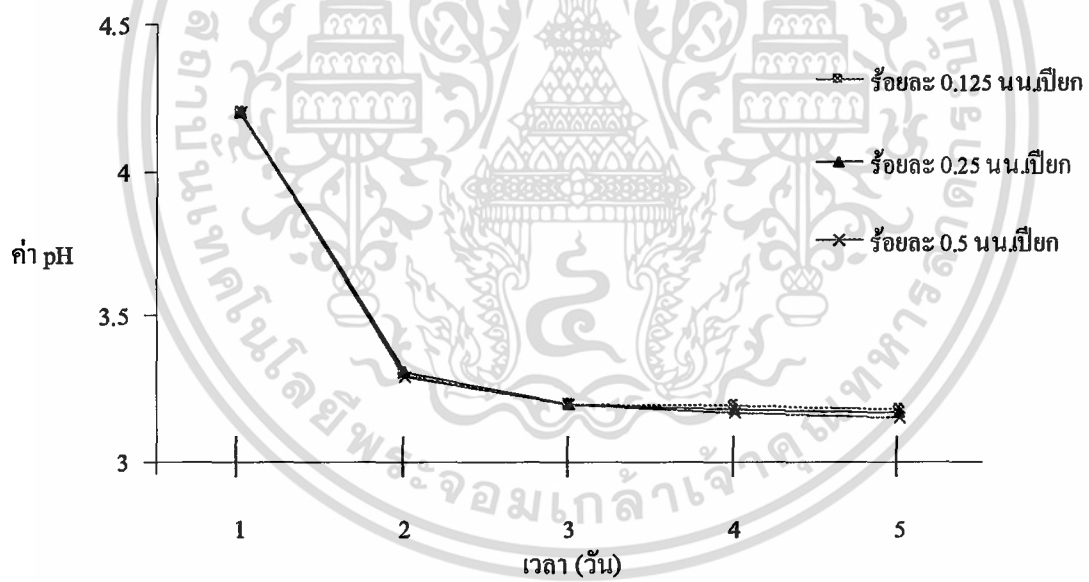
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ผลการหมักไวน์ดดยใช้ยีสต์สดที่ผลิตได้ปริมาณต่าง ๆ กัน

4.1 การทดลองหมักไวน์โดยนำยีสต์มาทำการหมักไวน์ ที่ปริมาตร 800 มล. ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำ 22 องศาบริกซ์ , pH เท่ากับ 4.2 ใช้เวลาหมัก 5 วันที่มีปริมาณยีสต์เริ่มต้นแตกต่างกันคือ 1.92 X10^5 เซลล์ต่อมล. หรือร้อยละ 0.125 ,3.84 X10^5 เซลล์ต่อมล. หรือร้อยละ 0.25 และ 7.68 X10^5 เซลล์ต่อมล. หรือร้อยละ 0.5

4.1.1 ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลง pH ของไวน์ที่ใช้เวลาหมัก 5 วันปริมาณยีสต์เริ่มต้นต่างกัน พบว่า ปริมาณยีสต์เริ่มต้นร้อยละ 0.5 ค่า pH ลดลงมากที่สุด รองลงมาคือปริมาณยีสต์เริ่มต้นร้อยละ 0.25 และ ปริมาณยีสต์เริ่มต้นร้อยละ 0.125 ตามลำดับ (ดังภาพที่ 10)

การลดลงของค่า pH ที่มีปริมาณยีสต์เริ่มต้นต่างกันค่า pH ลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 2 วันแรกหลังจากนั้นลดลงอย่างช้า ๆ เหมือนกัน เพราะยีสต์มีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 2 วันแรก หลังจากนั้นปริมาณเซลล์ยีสต์เพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ อาจเป็นเพราะในช่วง 2 วันแรกมีปริมาณสารอาหารมากทำให้ยีสต์มีการเจริญมากและใช้อาหารไปมากทำให้อาหารเหลือน้อยจึงเป็นผลทำให้วันหลัง ๆ ยีสต์เจริญได้น้อยและทำให้ pH ลดลงอย่างช้า ๆ เช่นกัน



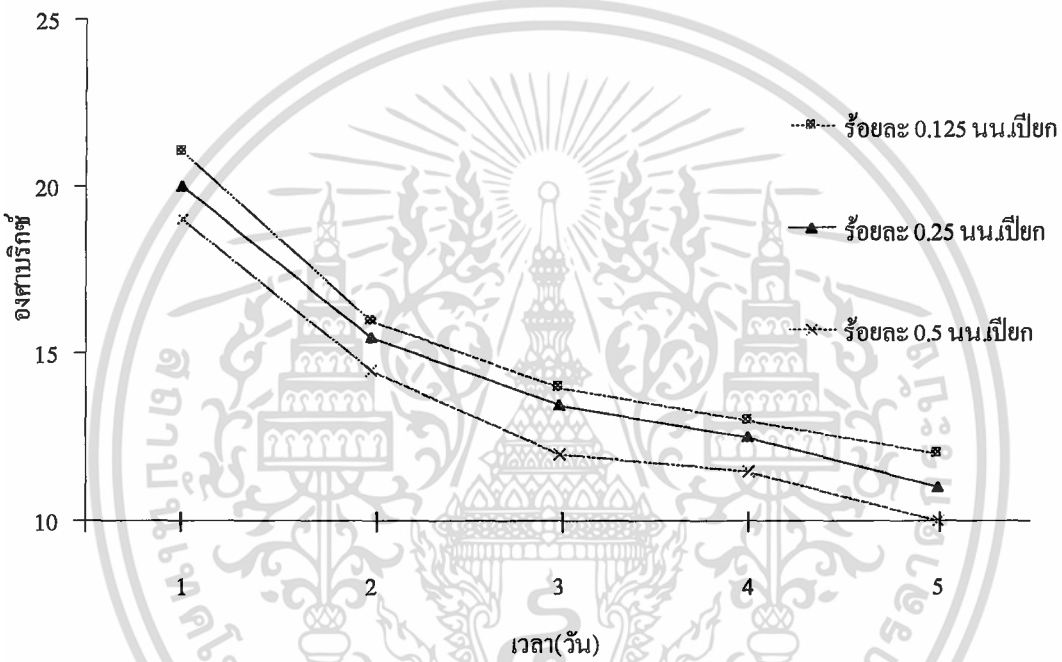
ภาพที่ 10 แสดงการเปลี่ยนแปลงค่า pH ของไวน์ที่ใช้ปริมาณยีสต์ตั้งต้นแตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4..1.2 ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลายได้ ที่ลดลง

ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ของไวน์ที่ใช้เวลาหมัก 5 วันที่มีปริมาณยีสต์ตั้งต้นแตกต่างกันพบว่า ปริมาณยีสต์ตั้งต้นร้อยละ 0.5 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้เหลือน้อยที่สุด รองลงมาคือ ปริมาณยีสต์ตั้งต้นร้อยละ 0.25 และร้อยละะ 0.125 ตามลำดับ (ภาพที่ 11)

การที่ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ลดลงเพราะว่ายีสต์ได้นำปริมาณของแข็งที่ละลายได้ไปใช้ในการเจริญ และจะเห็นได้ว่า ช่วง 2 วันแรกปริมาณยีสต์ตั้งต้นร้อยละ 0.5 , 0.25 และ 0.125 ยีสต์เจริญได้มากและทำให้ปริมาณของแข็งที่ละลายได้เหลือน้อย ทำให้วันที่ 3, 4 และ 5 มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ลดลงอย่างช้า ๆอาจเป็นเพราะ ยีสต์เจริญได้ช้าลง

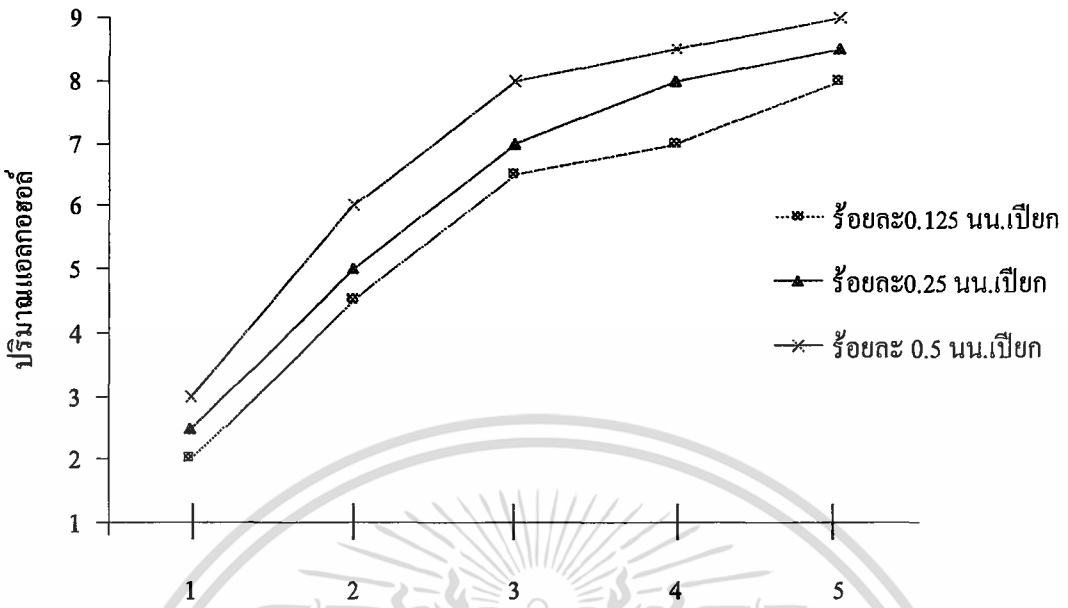


ภาพที่ 11 แสดง การเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลายได้ของไวน์ที่ปริมาณยีสต์ตั้งต้นแตกต่างกัน

4.1.3 ปริมาณแอลกอฮอล์ของไวน์เมื่อใช้เวลาหมัก 5 วัน

ปริมาณแอลกอฮอล์ ที่วัดได้พบว่า การเติมปริมาณยีสต์ตั้งต้นร้อยละ0.5 จะมีปริมาณแอลกอฮอล์เพิ่มมากกว่าปริมาณยีสต์ตั้งต้นต้นร้อยละ 0.25 และ ปริมาณยีสต์ตั้งต้นร้อยละ 0.125 ตามลำดับ (ภาพที่ 12) แต่ปริมาณแอลกอฮอล์จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 2 วันแรกหลังจากนั้นปริมาณแอลกอฮอล์เพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ อาจเป็นเพราะช่วง 2 วันแรกยีสต์ได้เปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ไปมาก ปริมาณน้ำตาลเหลือน้อยจึงทำให้ปริมาณแอลกอฮอล์ช่วงหลังเพิ่มขึ้นอย่าง ช้า ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

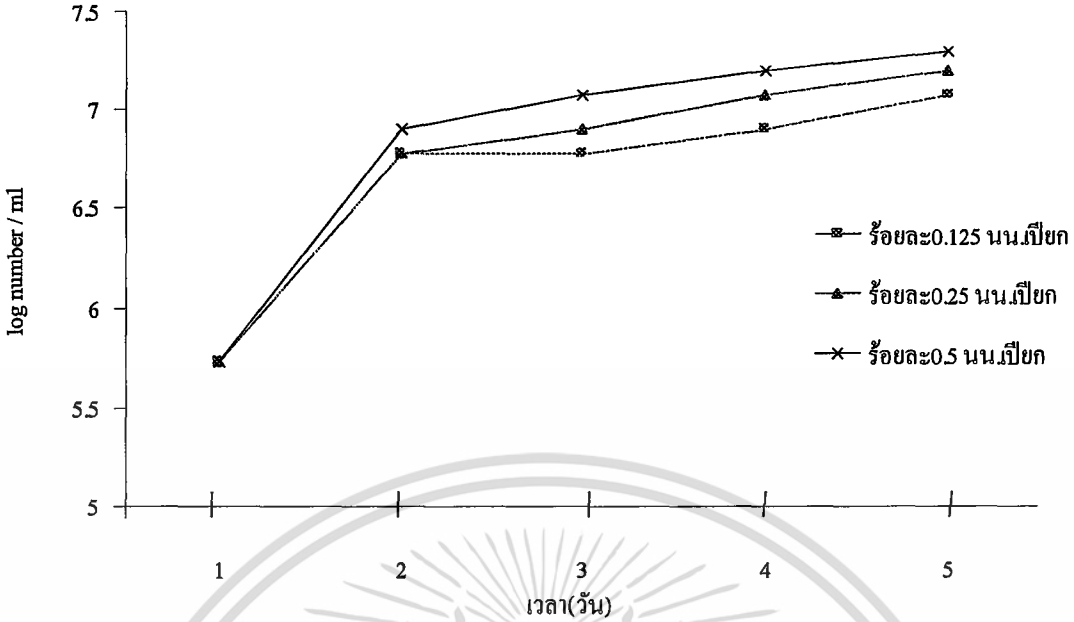


ภาพที่ 12 แสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาณแอลกอฮอล์ของไวน์ที่ใช้เวลาหมัก 5 วัน ที่มีปริมาณยีสต์ตั้งต้นแตกต่างกัน

4.1.4 การนับปริมาณเซลล์ยีสต์ของไวน์เมื่อใช้เวลาหมัก 5 วัน

การนับปริมาณเซลล์ยีสต์พบว่า การเติมปริมาณยีสต์ตั้งต้นร้อยละ0.5 มีปริมาณยีสต์เพิ่มมากขึ้นกว่าการเติมปริมาณยีสต์ตั้งต้นต้นร้อยละ 0.25 และ ปริมาณยีสต์ตั้งต้นร้อยละ 0.125 ตามลำดับ (ดังภาพที่ 13) และปริมาณเซลล์ยีสต์จะเพิ่มมากขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 2 วันแรกหลังจากนั้นปริมาณเซลล์ยีสต์เพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ เพราะยีสต์ใช้สารอาหารในช่วง 2 วันแรกไปมากทำให้สารอาหารเหลือน้อย ยีสต์จึงเจริญได้น้อยลง จะเห็นได้ว่าปริมาณยีสต์เริ่มต้นมากจะได้ปริมาณเซลล์ยีสต์มากไปด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 13 แสดงปริมาณยีสต์ที่ได้ของไวน์ที่ปริมาณยีสต์ตั้งต้น แตกต่างกัน

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าค่าการเลี่ยนแปลงค่า pH การเปลี่ยนแปลงค่าบริกซ์ การเปลี่ยนแปลงค่าแอลกอฮอล์ และการเปลี่ยนแปลงปริมาณเซลล์ยีสต์ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ของไวน์ที่ใช้เวลาหมัก 5 วันที่ปริมาณยีสต์ตั้งต้นร้อยละ 0.125 , ร้อยละ0.25 และร้อยละ 0.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

ถ้าใช้ยีสต์เปียกในการหมักไวน์ จะต้องใช้ยีสต์ในการเตรียมหัวเชื้อยีสต์ *Saccaromyces cerevisiae* สายพันธุ์ *montrachate*. ความเข้มข้นของปริมานน้ำตาลเท่ากับ 8 องศาบริกซ์และได้ปริมาณยีสต์เปียกเท่ากับ 56.25 กรัมต่อลิตร และปริมาณยีสต์เปียกที่ใช้ในการหมักน้ำองุ่นไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เพราะฉะนั้นถ้าใช้ปริมาณยีสต์เปียกเริ่มต้นร้อยละ 0.125 จะช่วยให้ประหยัดเซลล์ยีสต์

ข้อเสนอแนะ

1. ในการทดลองควรใช้ผลไม้หลาย ๆ ชนิดที่มีราคาถูกกว่าทำการทดลอง
2. ศึกษาการเก็บรักษายีสต์สดที่ได้ เช่น การใช้ stabilizer

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

ฉันทนา นันทพงษ์. 2522. **กรรมวิธีและสายพันธุ์ยีสต์ที่เหมาะสมในการผลิตยีสต์สำหรับทำขนมปังในประเทศไทย**. วิทยานิพนปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร. 104 หน้า

รำไพ เกณฑ์สาคู. 2534. **กาหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตยีสต์ขนมปังจากกากน้ำตาล**. วิทยานิพนปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันเทคโนโลยีพระจอม
เกล้าธนบุรี, ธนบุรี. 171 หน้า

วราวุฒิ ครูส่ง. 2529. **ขบวนการหมักในอุตสาหกรรม**. เทคโนโลยีชีวภาพ. พิมพ์ครั้งที่ 1 ,โรงพิมพ์ โอ. เอส. พริ้นติ้งเฮ้าส์, กรุงเทพมหานคร. หน้า 43-44 .

Trivedi, N.B. and Jacobson, G., 1986. **Recent Advances in Baker' s Yeast.** Progress in Industrial Microbiology, Vol. 23,. Pp. 45- 71

Trivedi, N.B. , Jacobson, G.K. and Tesch, W., 1986. **Baker's Yeast.** CRC. Critical Reviews in Biotechnology, Vol. 4, NO. 1, pp. 75-109.

Burrows, S., 1970. **Baker's Yeast**. The yeast, Edited by Rose, A.H. and Harrison, J.S. , Acadimic Press , Vol . 3, pp. 349 –420

Freund, o . , 1961. **Yeast Production and Practices**. Creal Science Today , Vol. 6 , NO . 10 , pp. 320-324

White , J . , 1954 . **Yeast Technology**. Chapman and Hall , London , pp. 432

Brown , C.M. , and Rose , A.H. , 1964. **Jounal of Bacteriology** . Vol . 97 , pp. 261-272.

Hansford, G.S. , and Humphrey , A.E. , 1966. **Biotechnology and Bioengineering**. Vol. 8 , pp. 85-96

White , J . and Munns, D.J. , 1955 . **Journal Industrial Brewery**. Vol. 61 , pp. 223-229

Drew, B. , Specht, H. and Herbst, A.M. , 1962. **Branntweinwirtshaft.** Vol. 120 , pp. 254

Trivedi , N . , Cooper , E .J. and Bruinsma , B'L' , 1984 , "Development and Applications of Quick – Rising Yeast" , **Food Technology**. Vol . 38 , NO . 6 , pp. 55.

Thorn , J.A. and Reed, G. , 1959 . **Cereal Science Today**. Vol. 38 , No . 7, pp. 198-213.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

สูตรอาหารและวิธีวิเคราะห์

1. yeast extract – malt extract broth (YM broth)

yeast extract	3	กรัม
malt extract	3	กรัม
peptone	5	กรัม
กลูโคส	10	กรัม
เติมน้ำกลั่นให้ครบ	1,000	มิลลิลิตร

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 ° ซ ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วเป็นเวลา 20 นาที

2. วิธีวิเคราะห์

1. การวัดการเจริญเติบโต

. การหาปริมาณของยีสต์ โดยการนับโดยตรงด้วย Haemacytometer

. การหานำหนักแห้ง นำสารละลายที่มีเซล 20 มล. มาปั่นแยกให้เซลตกตะกอน โดยเครื่องเหวี่ยง 3,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ล้างตะกอนเซลด้วยนำกลั่น 2 ครั้ง นำเซลที่ได้ไประเหยน้ำออกที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นนำไปอบแห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส จนกว่าจะแห้ง แล้วชั่งน้ำหนักของเซล

2. การวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ด้วย แฮนด์รีแฟรกโตมิเตอร์ (hand refractometer)

3. การวัดความเป็นกรดด่างด้วย pH meter

4. การวัดปริมาณแอลกอฮอล์ด้วย ไฮโดรมิเตอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

ตารางภาคผนวกที่ 1 แสดงปริมาณเซลล์ยีสต์ของอาหาร 3 ชนิด

ชั่วโมงที่	ปริมาณเซลยีสต์		
	น้ำองุ่น	น้ำสับปะรด	malt
12	$4x10^6$	$4x10^6$	$4x10^6$
16	$8x10^6$	$8x10^6$	$4x10^6$
20	$2x10^7$	$2x10^7$	$1.2x10^7$
24	$3.6x10^7$	$2.4x10^7$	$1.6x10^7$
28	$4x10^7$	$3.6x10^7$	$2x10^7$
32	$6x10^7$	$4x10^7$	$2.4x10^7$
36	$8x10^7$	$6x10^7$	$3.2x10^7$
40	$1.08x10^8$	$8x10^7$	$3.6x10^7$
44	$1.08x10^8$	$8.8x10^7$	$4x10^7$
48	$1.08x10^8$	$8.8x10^7$	$5.2x10^7$
52	$1.08x10^8$	$8.8x10^7$	$5.2x10^7$
56	$1.08x10^8$	$8.8x10^7$	$5.2x10^7$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 2 แสดงปริมาณเซลล์ยีสต์ที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลแตกต่างกัน

ชั่วโมงที่	ปริมาณน้ำตาลแต่ละองศาบริกซ์				
	2	4	8	16	18
12	$4x10^6$	$4x10^6$	$4x10^6$	$4x10^6$	$4x10^6$
16	$8x10^6$	$8x10^6$	$8x10^6$	$1.2x10^7$	$8x10^6$
20	$9.2x10^6$	$1.2x10^7$	$2x10^7$	$2.4x10^7$	$2x10^7$
24	$1.2x10^7$	$2.8x10^7$	$3.6x10^7$	$2.8x10^7$	$2.4x10^7$
28	$1.32x10^7$	$2.84x10^7$	$4x10^7$	$3.2x10^7$	$3.6x10^7$
32	$1.6x10^7$	$3.0x10^7$	$6x10^7$	$3.6x10^7$	$4x10^7$
36	$2x10^7$	$3.12x10^7$	$8x10^7$	$4x10^7$	$6x10^7$
40	$3x10^7$	$3.2x10^7$	$1.08x10^8$	$6x10^7$	$8x10^7$
44	$3.6x10^7$	$3.2x10^7$	$1.08x10^8$	$8x10^7$	$8.8x10^7$
48	$3.6x10^7$	$3.2x10^7$	$1.20x10^8$	$8x10^7$	$8.8x10^7$

ตารางภาคผนวกที่ 3 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณของแข็งที่ละลายได้ของไวน์ที่ใช้เวลาหมัก 5 วัน

วันที่	ปริมาณน้ำตาล (องศาบริกซ์)		
	ร้อยละ0.125นน.เปียก	ร้อยละ0.25 นน.เปียก	ร้อยละ0.5%นน.เปียก
1	21	20	19
2	16	15.5	14.5
3	14	13.5	12
4	13	12.5	11.5
5	12	11	10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 4 แสดงการเปลี่ยนแปลงค่า pH ของไวน์ที่ใช้เวลาหมัก 5 วัน

วันที่	ค่า pH ของไวน์		
	ร้อยละ0.125นน.เปียก	ร้อยละ0.25นน.เปียก	ร้อยละ 0.5 นน. เปียก
1	4.2	4.2	4.2
2	3.3	3.31	3.29
3	3.2	3.2	3.2
4	3.19	3.18	3.17
5	3.18	3.17	3.15

ตารางภาคผนวกที่ 5 แสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาณแอลกอฮอล์ของไวน์ที่ใช้เวลาหมัก 5 วัน

วันที่	ปริมาณ alc.		
	ร้อยละ0.125นน.เปียก	ร้อยละ 0.25นน.เปียก	ร้อยละ 0.5นน.เปียก
1	2	2.5	3
2	4.5	5	6
3	6.5	7	8
4	7	8	8.5
5	8	8.5	9

ตารางภาคผนวกที่ 6 แสดงปริมาณเซลล์ยีสต์ของไวน์ที่ใช้เวลาหมัก 5 วัน

วันที่	ปริมาณเซลล์ยีสต์		
	ร้อยละ0.125นน.เปียก	ร้อยละ0.25นน.เปียก	ร้อยละ0.5นน.เปียก
1	$5.4x10^5$	$5.4x10^6$	$5.4x10^7$
2	$4x10^6$	$6x10^6$	$8x10^6$
3	$6x10^6$	$8x10^6$	$1.2x10^7$
4	$8x10^6$	$1.2x10^7$	$1.6x10^7$
5	$1.2x10^7$	$1.6x10^7$	$2.0x10^7$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

ตารางแสดงผลทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 7 แสดงค่าทางสถิติของค่า pH ของไวน์ที่ใช้เวลาหมัก 5 วัน

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
D1	Between Groups	.000	2	.000	.000	1.000
	Within Groups	6.000E-02	3	2.000E-02		
	Total	6.000E-02	5			
D2	Between Groups	4.000E-04	2	2.000E-04	.029	.971
	Within Groups	2.040E-02	3	6.800E-03		
	Total	2.080E-02	5			
D3	Between Groups	.000	2	.000	.000	1.000
	Within Groups	6.000E-02	3	2.000E-02		
	Total	6.000E-02	5			
D4	Between Groups	9.333E-04	2	4.667E-04	.259	.787
	Within Groups	5.400E-03	3	1.800E-03		
	Total	6.333E-03	5			
D5	Between Groups	4.333E-04	2	2.167E-04	1.444	.364
	Within Groups	4.500E-04	3	1.500E-04		
	Total	8.833E-04	5			

เมื่อ D1 = วันที่ 1

D2 = วันที่ 2

D3 = วันที่ 3

D4 = วันที่ 4

D5 = วันที่ 5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 8 แสดงค่าทางสถิติของค่า Brix ของไวน์ที่ใช้เวลาหมัก 5 วัน

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
D1	Between Groups	4.000	2	2.000	1.000	.465
	Within Groups	6.000	3	2.000		
	Total	10.000	5			
D2	Between Groups	2.333	2	1.167	1.716	.319
	Within Groups	2.040	3	.680		
	Total	4.373	5			
D3	Between Groups	4.333	2	2.167	1.617	.334
	Within Groups	4.020	3	1.340		
	Total	8.353	5			
D4	Between Groups	3373.453	2	1686.727	.964	.475
	Within Groups	5247.400	3	1749.133		
	Total	8620.853	5			
D5	Between Groups	4.000	2	2.000	1.000	.465
	Within Groups	6.000	3	2.000		
	Total	10.000	5			

เมื่อ D1 = วันที่ 1

D2 = วันที่ 2

D3 = วันที่ 3

D4 = วันที่ 4

D5 = วันที่ 5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 9 แสดงค่าทางสถิติของค่าแอลกอออล์ ของไวน์ที่ใช้เวลาหมัก 5 วัน

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
D1	Between Groups	1.030	2	.515	.386	.709
	Within Groups	4.005	3	1.335		
	Total	5.035	5			
D2	Between Groups	2.333	2	1.167	.871	.503
	Within Groups	4.020	3	1.340		
	Total	6.353	5			
D3	Between Groups	2.763	2	1.382	1.035	.455
	Within Groups	4.005	3	1.335		
	Total	6.768	5			
D4	Between Groups	2.333	2	1.167	.871	.503
	Within Groups	4.020	3	1.340		
	Total	6.353	5			
D5	Between Groups	1.000	2	.500	.373	.717
	Within Groups	4.020	3	1.340		
	Total	5.020	5			

เมื่อ D1 = วันที่ 1

D2 = วันที่ 2

D3 = วันที่ 3

D4 = วันที่ 4

D5 = วันที่ 5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 10 แสดงค่าทางสถิติของปริมาณเซลล์ ของไวน์ที่ใช้เวลาหมัก 5 วัน

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
D1	Between Groups	.000	2	.000	.000	1.000
	Within Groups	6.000E-04	3	2.000E-04		
	Total	6.000E-04	5			
D2	Between Groups	1.920E-02	2	9.600E-03	1.412	.370
	Within Groups	2.040E-02	3	6.800E-03		
	Total	3.960E-02	5			
D3	Between Groups	9.120E-02	2	4.560E-02	6.706	.078
	Within Groups	2.040E-02	3	6.800E-03		
	Total	.112	5			
D4	Between Groups	9.120E-02	2	4.560E-02	3.403	.169
	Within Groups	4.020E-02	3	1.340E-02		
	Total	.131	5			
D5	Between Groups	4.853E-02	2	2.427E-02	1.811	.305
	Within Groups	4.020E-02	3	1.340E-02		
	Total	8.873E-02	5			

เมื่อ D1 = วันที่ 1

D2 = วันที่ 2

D3 = วันที่ 3

D4 = วันที่ 4

D5 = วันที่ 5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

นาวสาวปาลีซะ ศาสนกิจวรกุล เกิดวันที่ 4 ธันวาคม 2524 จบมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนหนองบัว จังหวัดนครสวรรค์ ระดับปวส.จากสถาบันเทคโนโลยีราชมงคล วิทยาเขตพิษณุโลก และระดับปริญญาตรี โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สาขาอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

นางสาวเรวดี อยู่พ่วง เกิดวันที่ 15 ตุลาคม 2524 จบมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนบางระกำวิทยศึกษา จังหวัดพิษณุโลก ระดับปวส. ระดับปวส.จากสถาบันเทคโนโลยีราชมงคล วิทยาเขตพิษณุโลก และระดับปริญญาตรี โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สาขาอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้