

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การใช้ประโยชน์จากกายสิทธิ์จากอุตสาหกรรมเบียร์ในการผลิตอาหารหรืออาหารเสริม

นายกวิน ธาราพิพัฒนกุล
นายคณธิ์ ปิงสุทธีวงศ์
นายณัฐวัฒน์ เทือกคิตกุล

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์
คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2539

ก323ก

เลขที่..... 2539

เลขทะเบียน..... 28158

วัน, เดือน, ปี 17...ก.ค. 2540

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

THE USE OF SPENT YEAST FROM BREWING INDUSTRY FOR
PRODUCTION OF SUPPLEMENTAL FOOD



Mr.Kawin Tarapipattanagul
Mr.Konthee Pingsuthiwong
Mr.Nattawat Turdkittigul

A Special Project Submitted in Partial Fulfillment
of Requirement for the Degree of Bachelor of Science
Department of Applied Biology
Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

1996

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก.

หัวข้อโครงการพิเศษ	การใช้ประโยชน์จาก กากยีสต์ จากอุตสาหกรรมเบียร์ในการผลิตอาหารหรืออาหารเสริม	
นักศึกษา	นายกวิน	ชาราพิพัฒน์กุล
	นายคณธิ	ปingsุทธิวงศ์
	นายณัฐวัฒน์	เทือกิตติกุล
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.เรียม	เตชะ โสภณมณี
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์	
ปีการศึกษา	2539	

บทคัดย่อ

เนื่องจากในปัจจุบันมีปัญหาสิ่งแวดล้อมเกิดขึ้นมากมาย ทั้งที่เกิดจากมนุษย์และโรงงานอุตสาหกรรม โรงงานผลิตเบียร์ก็เป็นอีกโรงงานหนึ่งที่มีของเสียจากกระบวนการผลิต ของเสียที่เกิดขึ้น อาทิ เช่น กากยีสต์ที่เหลือจากการผลิตเบียร์ น้ำเสีย เป็นต้น สำหรับน้ำเสียนั้นก็ผ่านกระบวนการบำบัดน้ำทิ้งของโรงงาน ส่วน กากยีสต์ จะนำไปทิ้งหรือนำไปกำจัดโดยฝังกลบต่อไปแต่กากยีสต์ยังมีคุณค่าทางอาหารเหลืออยู่และด้วยเหตุผลนี้เองโครงการนี้จึงนำ กากยีสต์ มาทำเป็นอาหารเสริมโดยทำการกำจัดขยออกบางส่วนด้วยการล้างด้วยน้ำกลั่นใช้อัตราส่วนระหว่างยีสต์และน้ำ 1:3 โดยน้ำหนักและเข้าสู่กระบวนการอบไคไลเสทโดยควบคุมอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส ใน Incubate shaker เขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นที่ 5.6 และอัตราส่วนของของแข็งประมาณ 15 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/น้ำหนัก)เป็นเวลา 36 ชั่วโมงและนำส่วนใสของ Autolysates มาทำให้เข้มข้นเรียกว่า 'PEYA' (Partial Evaporated Yeast Autolysates) และนำไปปรุงรสเป็นอาหารเรียกว่า 'Smoke PEYA' ซึ่งจัดเป็นอาหารประเภทขบเคี้ยว(snack)ที่ให้คุณค่าทางอาหารสูงและเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title THE USE OF SPENT YEAST FROM BREWING
INDUSTRY FOR PRODUCTION OF
SUPPLIMENTAL FOOD

Name Mr. Kawin Tarapipattanagul
Mr. Konthee Pingsuthiwong
Mr. Nattawat Turdkittigul

Special Project Advisor Assist.Prof. Dr.Ream Techasophonmani

Department Applied Biology

Academic Year 1996

Abstract

At present time there are plenty of environmental problems caused by man and Industrial plants. Beer producing plant which is one of the industrial plants, producing wastes from line process. Such as spent yeast and waste water. Wastewater was treated for improve the qualities and spent yeast was eliminated or used for other purposes. The high nutrition value in spent yeast is the reasons why this project use spent yeast have method to dehop of spent yeast with distilled water in the 1:3 ratio and controlled at pH 5.6 , suspended solid 15 %(w/w) in 36 hour and then bringed supernatant of Autolysated to evaporated, it call 'PEYA' (Partial Evaporaed Yeast Autolysates). The last method can use for food additive calls "Smoke PEYA" the high protien, food quality and accept form consumer

ก.

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษนี้ได้จัดทำขึ้นตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ขอรบ
ขอบพระคุณ ผศ.ดร.เรียม เตชะโสภณมณี ผู้ซึ่งให้ความช่วยเหลือในทุก ๆ ด้านตลอดจน
ให้คำแนะนำนานาประการ และกำลังใจซึ่งส่งผลให้โครงการพิเศษนี้ดำเนินไปได้ด้วยดี
ขอขอบพระคุณ คุณสุธีร์ ปรารค์ทอง ที่ให้ความสะดวกในการไปเอชิสต์ที่ใช้ในการ
ทดลองบริษัท บุญรอด บริวเวอรี่ จำกัดที่กรุณาให้ ความอนุเคราะห์เชื้อยีสต์ในการ
ทดลอง บริษัท ไฮวิงแซงค์ จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์ ผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลือง (ไม
คอน) ในการทดลอง ตลอดจนผู้ที่เกี่ยวข้องทุก ๆ ท่าน เพื่อน ๆ น้อง ๆ ที่คอยช่วยเหลือ
ในทุก ๆ เรื่อง ขอขอบพระคุณมา ณ โอกาสนี้

คณะผู้จัดทำ

มีนาคม 2540

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก.
บทคัดย่อภาคอังกฤษ	ข.
กิตติกรรมประกาศ	ค.
สารบัญตาราง	ง.
สารบัญรูป	จ.
บทที่ 1 บทนำ	1
จุดประสงค์ของโครงการพิเศษ	3
ขอบเขตของโครงการพิเศษ	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 ตรวจเอกสาร	4
ผลิตภัณฑ์อาหารเสริมจากยีสต์	
2.1 ผลิตภัณฑ์ยีสต์ผสมให้กลีนิรส	4
2.2 สารสกัดจากยีสต์	4
2.2.1 การย่อยสลายด้วยกรด	4
2.2.2 การสกัดด้วยสารเคมี	6
2.2.3 การย่อยสลายด้วยตัวเองของยีสต์	6
2.2.3.1 ยีสต์ออโตไลเซส	8
2.2.3.2 การเกิดกลีนิรสในยีสต์ออโตไลเซส	9
2.2.3.3 การใช้ยีสต์ออโตไลเซสเป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหาร	11
2.2.3.4 คุณสมบัติของยีสต์โปรตีนที่ใช้ในอาหาร	12
บทที่ 3 อุปกรณ์และสารเคมี	14
วิธีทดลอง	17
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์	23
บทที่ 5 บทสรุปและข้อเสนอแนะ	33
เอกสารอ้างอิง	35
ภาคผนวก ก.	36
วิธีการกำจัดขอบบางส่วนจากกากยีสต์	36
วิธีการวิเคราะห์โปรตีนด้วยวิธีเจลาตลล์	37
วิธีการวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธีโซไม-ใจ-เนลสัน	38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการวิเคราะห์โปรตีนด้วยวิธีลาร์วีลี-โฟลิน	40
วิธีเตรียมสารเคมี	43
ภาคผนวก ข.	44
การทดสอบทางสถิติด้วยตาราง ANOVA	44
การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยหลังการวิเคราะห์ความแปรปรวน	46
การทดสอบค่าความแปรปรวน	50



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 2-1 องค์ประกอบในยีสต์ออโตไลเซสที่มีผลต่อกลิ่นรสอาหาร	10
ตารางที่ 2-2 ตัวอย่างสารประกอบระเหยได้ที่สำคัญในยีสต์ออโตไลเซส	10
ตารางที่ 2-3 องค์ประกอบของยีสต์ออโตไลเซสและโปรตีนไฮโครไลเซส จากพืชและสัตว์	11
ตารางที่ 4-1 แสดงลักษณะและองค์ประกอบของกากยีสต์	23
ตารางที่ 4-2 แสดงค่าโปรตีนจากการวิเคราะห์ปริมาณ โปรตีนด้วยวิธีอาร์วีลี โดยใช้น้ำกลั่นอัตราส่วน 1:3 ทำการล้างกากยีสต์ที่อุณหภูมิ องศาเซลเซียส	40 25
ตารางที่ 4-3 แสดงค่าโปรตีนจากการวิเคราะห์ปริมาณ โปรตีนด้วยวิธีอาร์วีลี โดยใช้น้ำกลั่นอัตราส่วน 1:3 ทำการล้างกากยีสต์ที่อุณหภูมิ องศาเซลเซียส	45 25
ตารางที่ 4-4 แสดงค่าโปรตีนจากการวิเคราะห์ปริมาณ โปรตีนด้วยวิธีอาร์วีลี โดยใช้น้ำกลั่นอัตราส่วน 1:3 ทำการล้างกากยีสต์ที่อุณหภูมิ องศาเซลเซียส	50 25
ตารางที่ 4-5 แสดงส่วนประกอบที่สำคัญของผลิตภัณฑ์ยีสต์ปรุงรส	29
ตารางที่ 4-6 แสดงผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของผู้ทดสอบชิมเปรียบเทียบ ผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการปรุงรสกับโปรตีนสกัดจากถั่วเหลืองกับผู้ทดสอบทั้ง 30 คน	31
ตารางที่ 4-7 แสดงผลการยอมรับของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์โปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง ผ่านการปรุงรสด้วยยีสต์ออโตไลเซส(Yeast Autolysate)	32
ตารางที่ 5 แสดงปริมาณน้ำตาลมาตรฐาน	39
ตารางที่ 6 แสดงปริมาณโปรตีนมาตรฐาน	41

จ.

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 1.1 แสดงการใช้ประโยชน์จากเซลล์ยีสต์ในการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์อาหาร	5
รูปที่ 3-1 แสดงเครื่องกลั่นหาปริมาณ โปรตีน Gergardt	16
รูปที่ 3-2 แสดงเครื่อง Smoked generater	17
รูปที่ 4-1 แสดงรูปกากยีสต์ก่อนผ่านขั้นตอนการล้างฮอป	24
รูปที่ 4-2 แสดงรูปยีสต์ที่ผ่านการกำจัดฮอปบางส่วน	24
รูปที่ 4-3 แผนภูมิแสดงการเปรียบเทียบค่าโปรตีน โดยแปรเวลาต่างกัน	26
รูปที่ 4-4 แผนภูมิแสดงการเปรียบเทียบค่าโปรตีน โดยแปรอุณหภูมิต่างกัน	26
รูปที่ 4-5 กราฟแท่งแสดงค่าโปรตีน โดยแปรค่าระหว่างสารละลายและอัตราส่วน โดยใช้วิธีการลิตรตรวจสอบ	27
รูปที่ 4-6 แสดงยีสต์ที่ผ่านการย่อยสลายตัวเอง	28
รูปที่ 4-7 แสดงส่วนใสของยีสต์ออกโคไลเสท	28
รูปที่ 4-8 แสดงส่วนใสของยีสต์ที่ผ่านการระเหยน้ำออกบางส่วน	30
รูปที่ 4-9 แสดง โปรตีนสกัด(Maicon) และ โปรตีนสกัดที่ผ่านการปรุงกลั่นรส	30
รูปที่ 4-10 แผนภูมิแสดงส่วนประกอบโดยประมาณของผลิตภัณฑ์ยีสต์ปรุงแต่งสำเร็จรูป	31
รูปที่ 5-1 แสดงยีสต์ที่ผ่านการปรุงรสให้มีลักษณะคล้ายซูป	34
รูปที่ 5-2 แสดง โปรตีนสกัดที่ผ่านการปรุงกลั่นรส	34
รูปที่ 6 แผนภูมิแสดงปริมาณน้ำตาลมาตรฐาน	39
รูปที่ 7 แสดงปริมาณ โปรตีนมาตรฐานจาก bovine serum albumin	42
รูปที่ 8 แสดงปริมาณ โปรตีนมาตรฐาน จากการคำนวณสมการถดถอย	42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

สถานการณ์ปัจจุบันโลกกำลังประสบปัญหาภาวะในทุก ๆ ด้านตั้งแต่มลพิษทางน้ำ อากาศ ดิน ฯลฯ และเริ่มทวีความรุนแรงมากขึ้นๆ จนเกินความสามารถในการกินสภาพตามธรรมชาติด้วยตัวเองแต่ปัญหาเหล่านี้ยังพอมีหนทางแก้เหล่านี้ได้หลายหลากวิธีเช่น การนำของเสียหรือสิ่งที่เป็นพิษนำกลับมาใช้ใหม่ หรือการใช้เทคโนโลยีที่ไม่มีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมในการกำจัดของเสียหรือสารพิษเหล่านี้ อย่างเช่นในกรณีของการผลิตเบียร์ซึ่งให้กากของเสียอย่างมากมายทั้งน้ำทิ้งจากการผลิต ความร้อนจากการหมัก ฯลฯ รวมทั้งกากยีสต์ที่มีรสขมซึ่งเป็นสารให้ความขมปะปนอยู่ แต่สามารถนำไปผสมเป็นส่วนหนึ่งของอาหารสัตว์แต่กากยีสต์เหล่านี้จะสามารถทำให้เกิดคุณค่าเพิ่มได้มากกว่านี้ จึงนำหาหนทางในการดำเนินการเพิ่มประโยชน์อย่างสูงสุด

ในปัจจุบันยีสต์จัดเป็นจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งซึ่งมีบทบาทและความสำคัญอย่างมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในระดับอุตสาหกรรมได้มีการนำยีสต์มาใช้อย่างแพร่หลาย อาทิเช่น การผลิตเบียร์ ไวน์ ขนมนึ่ง อาหารสัตว์ เป็นต้น ซึ่งทั่วทั้งโลกสามารถผลิตได้ปีละประมาณ 50,000 ตันต่อปี หรือ 200 ล้านบาท(เข็ชชัย,2538)ซึ่งเป็นที่ทราบกันดีว่าภายในเซลล์ยีสต์นั้นประกอบด้วยสารอาหารต่างๆ มากมาย ไม่ว่าจะเป็น คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน แร่ธาตุและวิตามิน โดยเฉพาะแหล่งรวมของวิตามินบี(B complex) โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารปรุงแต่งกลิ่นรสที่ถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอย่างกว้างขวางเพื่อในการปรับปรุงกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ตามความต้องการของผู้บริโภคหรือเพื่อลดต้นทุนการผลิตโดยใช้สารปรุงแต่งกลิ่นรสแก่ผลิตภัณฑ์

โรงงานพิเศษนี้ได้นำเอากากยีสต์ จากการผลิตเบียร์มาผลิตเป็นอาหารหรืออาหารเสริมแต่ในกระบวนการผลิตเบียร์กากยีสต์จะยังมีความขมเนื่องจากการเติมขมระหว่างการผลิตหลงเหลืออยู่ภายในเซลล์ จึงเกิดความพยายามที่จะกำจัดฮอปเรซิน(hop resin)นี้ออกไป และนำกากยีสต์ เพื่อผลิตเป็นอาหารหรืออาหารเสริมต่อไปได้ โดย

การสกัดเฉพาะของเหลวภายในเซลล์ออก(Autolysate)และนำไปผลิตเป็นอาหารเสริมความคมจากฮอปที่อยู่ภายในยีสต์นี้อาจลดน้อยลงไปได้อีก ดังนั้นผลิตภัณฑ์ที่ได้นี้จะมีราคาที่ไม่แพงเพราะใช้ของที่เหลือจากการผลิตมาเป็นวัตถุดิบและยังเป็นการลดภาระในการกำจัดของเสียเหล่านี้ด้วย



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จุดประสงค์ของโครงการพิเศษ

ผลิตอาหารหรืออาหารเสริมจากยีสต์ที่ผ่านการล้างสปอออกและผ่านกระบวนการอโตไลซิส

ขอบเขตโครงการพิเศษ

ศึกษาการผลิตอาหารหรืออาหารเสริม โดยใช้ยีสต์และตรวจวิเคราะห์คุณค่าทางอาหาร

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.ลดปริมาณและภาวะที่ใช้ในการกำจัดของเสียที่เกิดจากการผลิตเบียร์
- 2.ลดค่าใช้จ่ายในการผลิตอาหารหรืออาหารเสริมเพื่อให้มีราคาถูกลงและทำให้ผู้บริโภคโดยทั่วไปสามารถบริโภคได้

บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

ผลิตภัณฑ์อาหารเสริมจากยีสต์

การใช้ผลิตภัณฑ์จากยีสต์มีการใช้กันมานานแล้วในต่างประเทศ โดยมีจุดประสงค์เพื่อปรุงแต่งกลิ่นรสในผลิตภัณฑ์ สามารถแบ่งแยกออกเป็น 2 ประเภทคือ

2.1 ผลิตภัณฑ์ยีสต์ผสมให้กลิ่นรส

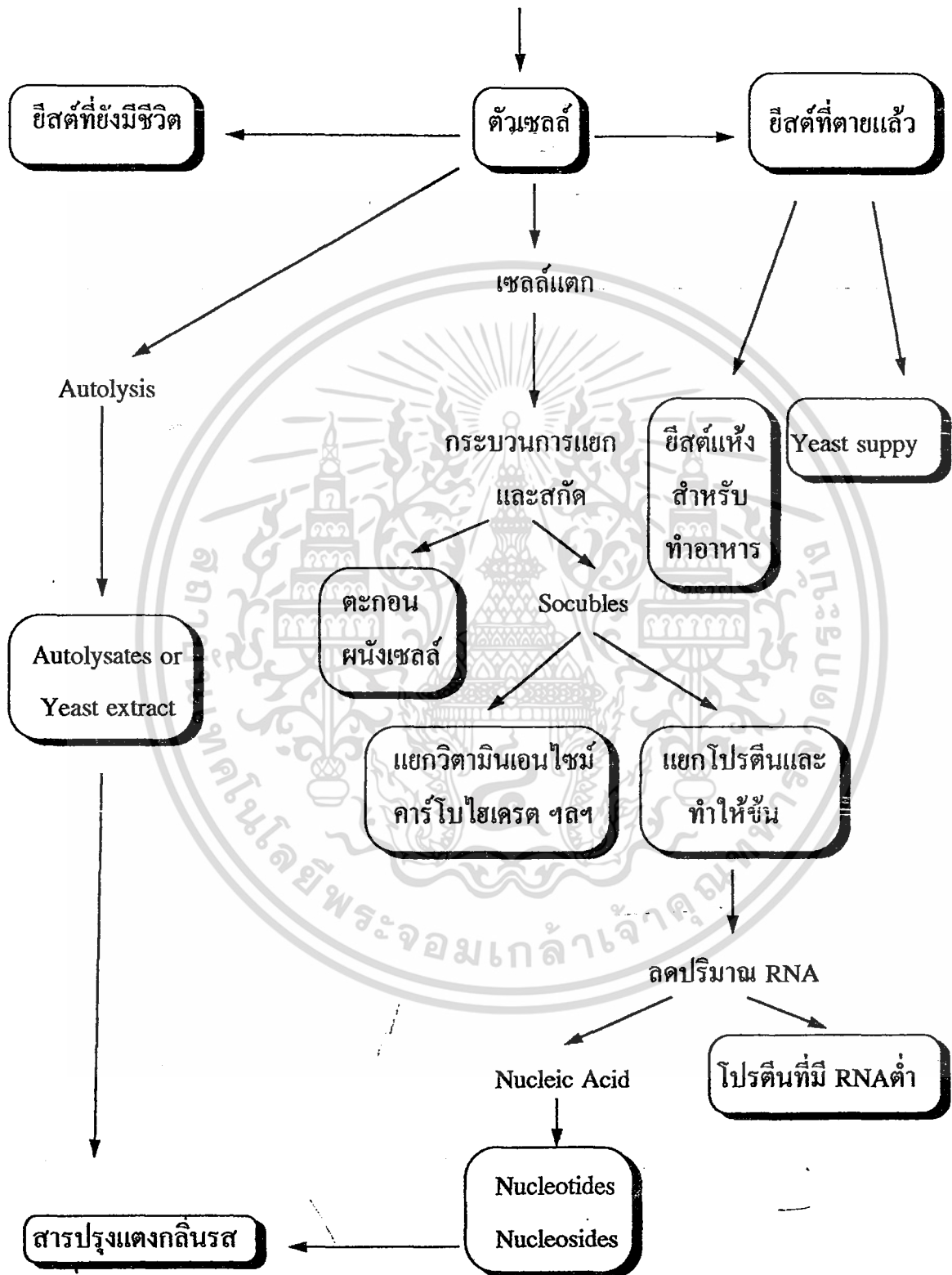
เป็นผลิตภัณฑ์สารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารชนิดหนึ่ง ผลิตขึ้นจากยีสต์ที่สามารถใช้รับประทานเป็นอาหารได้ (เช่น ยีสต์ขนมปัง) โดยนำยีสต์มาอบแห้งจนตาย มีลักษณะเป็นผง เมื่อเติมลงในอาหารจะทำหน้าที่เป็นสารตัวนำ(carrier)อย่างดีของกลิ่นรสในอาหาร เนื่องจากมีคุณสมบัติในการดูดซับกลิ่นรสของอาหาร และสามารถกระจายตัวในอาหารได้ดี ซึ่งสมบัติดังกล่าวเป็นสมบัติของส่วนประกอบของผนังยีสต์ อาหารที่มีส่วนผสมของผงยีสต์ จึงมีกลิ่นรสที่ค่อนข้างคงทนและสม่ำเสมอ เมื่อนำผงยีสต์ดังกล่าวมาผ่านการรมควัน จะให้กลิ่นรสคล้ายเบคอน (Peppler,และคณะ 1973) นอกจากนี้ยังมีผลิตภัณฑ์ยีสต์ผสมที่ให้กลิ่นรสอื่น ๆ อีก เช่น เนย, แฉ่ง,แฮม,มะเขือเทศ, celery และ paprika เป็นต้น

2.2 สารสกัดจากยีสต์

สารสกัดจากยีสต์ เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการหลัก 3 กระบวนการคือ

2.2.1 การย่อยสลายด้วยกรด (Hydrolysis) เป็นการย่อยเซลล์ยีสต์ด้วยกรดแก่เช่น กรดเกลือ(Hydrochloric acid)ร่วมกับความร้อนเพื่อย่อยสลายสาร โมเลกุลใหญ่ในเซลล์ยีสต์ เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และกรดนิวคลีอิก ให้อยู่ในรูปของสาร โมเลกุลเล็กที่ละลายได้ ซึ่งมีกระบวนการโดยสังเขปดังนี้ คือ การนำยีสต์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ หรือยีสต์สดที่มีน้ำหนักแห้ง ประมาณ 65 - 85 เปอร์เซ็นต์ มาเติมกรดเกลือและให้ความร้อนที่ 100 องศาเซลเซียส เวลาที่ใช้ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของกรดที่ใช้ โดยปกติจะไฮโดรไลซ์จนกระทั่งปริมาณ ในโครเจนทั้งหมด ถูกเปลี่ยนไปเป็น แอลฟาอะมิโนในโครเจนประมาณ 50 - 60 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นทำให้เป็นกลางด้วยโซดาไฟ (sodium hydroxide)

กระบวนการหมัก



รูปที่ 1-1 แสดงการใช้ประโยชน์จากเซลล์ยีสต์ในการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์อาหาร(เจ็ดชัย,2537)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แยกส่วนที่ไม่ละลายออก แล้วทำให้เข้มข้นและนำไปทำแห้งโดยใช้เครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอย (spray drier) จนมีความชื้น 3 - 5 เปอร์เซ็นต์ ผลิตภัณฑ์ที่ได้เรียกว่า ยีสต์ไฮโดรไลเสท (yeast hydrolysate) ซึ่งประกอบด้วย เกลือ 40 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด 13 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจน 8 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนัก) แต่เนื่องจากยีสต์ไฮโดรไลเสท มีคุณสมบัติเหมือนกับโปรตีนไฮโดรไลเสท(Hydrolysate)จากพืชซึ่งมีราคาถูกกว่า ยีสต์ไฮโดรไลเสทจึงไม่ได้รับความนิยมเท่าโปรตีนไฮโดรไลเสทจากพืช นอกจากนี้แม้การย่อยสลายด้วยกรดและความร้อนจะให้ผลผลิตสูง แต่ความรุนแรงของกรดจะกัดกร่อนภาชนะที่ใช้ อีกทั้งเป็นกระบวนการที่เสี่ยงอันตราย กรดอะมิโนและวิตามินซึ่งมีคุณค่าทางโภชนาการถูกทำลาย และยังเกิดสารพวกคลอรีเนต เช่น 3 - chloro - propaneediol ซึ่งก่อให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพของผู้บริโภคอีกด้วย

2.2.2 การสกัดด้วยสารเคมี(plasmolysis)

ภายในเซลล์ยีสต์ประกอบด้วยเกลืออนินทรีย์หรือตัวทำละลายอินทรีย์ได้แก่ น้ำตาล แอลกอฮอล์ อีเธอร์ คอลโรฟอร์ม โทลูอิน และ อะซิเตท เอสเทอร์(acetate ester) (เช่น ethyl acetate, amylo acetate) ที่มีความเข้มข้นสูง โดยไม่มีการทำงานของเอนไซม์เข้ามาเกี่ยวข้อง ซึ่งในสถานะที่มีความเข้มข้นของเกลือสูงนั้น ยีสต์จะสูญเสียน้ำในเซลล์เพื่อรักษาสสมดุลของแรงดันออสโมติก(osmotic pressure)ระหว่างภายในและภายนอกเซลล์เอาไว้ เมื่อเซลล์สูญเสียน้ำมากขึ้นพลาสมาเมมเบรน(plasma membrane)ของเซลล์จะแยกตัวออกจากผนังเซลล์และแตกออก ผลิตภัณฑ์ที่ได้เรียกว่า ยีสต์พลาสโมไลเสท (yeast plasmolysate) แต่สารที่สกัดได้จากการพลาสโมไลซ์ด้วยเกลือ จะมีปริมาณเกลือสูง ทำให้เกิดข้อจำกัดเกี่ยวกับปริมาณการใช้ในสุรอาหารที่ต้องการ

2.2.3 การย่อยสลายด้วยตัวเองของยีสต์ (autolysis) เป็นการย่อยสลายด้วยตัวเองโดยเอนไซม์ของยีสต์ มีกรรมวิธีโดยสังเขปดังนี้ นำยีสต์ที่ยังมีชีวิตที่มีชีวิตที่มีปริมาณของแข็งประมาณ 15 เปอร์เซ็นต์ มาปรับความเป็นกรด-ด่าง ประมาณ 5.5 แล้วให้ความร้อน 40 - 50 องศาเซลเซียส. เป็นเวลา 24 - 36 ชั่วโมง หรือจนกระทั่งปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดถูกเปลี่ยนเป็น แอลฟาอะมิโนไนโตรเจนประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ ทำให้เย็นลงและอาจกรองหรือเหวี่ยงแยกเอาส่วนที่เป็นผนังเซลล์ออกก่อนนำมาผ่านการพลาสเจอร์ไลซ์ เพื่อหยุดกิจกรรม (activity) ของเอนไซม์ที่อุณหภูมิ 80 - 90 องศาเซลเซียส ผลิตภัณฑ์ที่ไม่ผ่านการแยกเอาผนังเซลล์ออก เรียกว่า ออโตไลสยีสต์

(autolyse yeast) ซึ่งประกอบด้วยส่วนของผนังเซลล์ประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณของแข็งทั้งหมด ส่วนผลิตภัณฑ์ที่แยกเอาผนังเซลล์ออกแล้ว เรียกว่า ยีสต์ออโตไลเสท (yeast autolysate) เป็นผลิตภัณฑ์ที่ประกอบด้วยส่วนประกอบภายในเซลล์ยีสต์ ได้แก่ กรดอะมิโน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โปรตีน นิวคลีโอไทด์ โพลีเปปไทด์ โกลโคเจน น้ำตาล วิตามินบี ทรีฮาโลส และสารให้กลิ่นรส

การย่อยสลายตัวเองของยีสต์เริ่มจากการทำงานของเอนไซม์ $\beta(1-3)$ glucanase และ โปรตีเอส(protease) โดยมี $\beta(1-6)$ glucanase และ แมนนนานเนส(mannanase) ร่วมในการย่อยผนังเซลล์ด้วยเอนไซม์ดังกล่าวเป็นเอนไซม์ภายใน แวกิวโอล(vacuole) ซึ่งในภาวะปกติ กลูคาเนส(glucanase) และ แมนนนานเนส(mannanase)เป็นเอนไซม์ที่ยีสต์ใช้ย่อยผนังเซลล์ในกระบวนการแตกหน่อ ส่วน โปรตีเอส(protease) มีหน้าที่ย่อยสลายโปรตีนที่เซลล์ไม่ต้องการแล้วเป็นกรดอะมิโนเพื่อใช้สังเคราะห์โปรตีนของเซลล์ต่อไป จากการศึกษาชนิดของเอนไซม์ โปรตีเอส(protease) ในระหว่างการย่อยสลายตัวเองของยีสต์พบว่ามียีสต์ที่มีเอนไซม์ โปรตีเอส(protease) ที่เกี่ยวข้องมากกว่า 40 ชนิดแต่มีเพียง 4 ชนิดเท่านั้นที่เป็นเอนไซม์หลักในกระบวนการดังกล่าวคือ Proteinase ysc A, Proteinase ysc B, Carboxypeptidase ysc S (Reed และ Nagodawitthana, 1991) ซึ่งเป็นพวก โกลโคโปรตีน(glycoprotein) มีน้ำตาลกลูโคส(glucose) และน้ำตาลแมนโนส(mannose) เป็นองค์ประกอบในอัตราส่วนแตกต่างกัน(Maddox และ Hough, 1970) โดยมี Proteinase ysc A อยู่ในปริมาณมากที่สุดและทำหน้าที่ย่อยโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 5,000 คาลตัน ที่ได้จากการย่อยโปรตีนโมเลกุลใหญ่ของเอนไซม์ชนิดอื่นๆ ไปเป็นกรดอะมิโนหรือเปปไทด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำๆ ภาวะที่เหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์ทั้ง 4 ชนิดจะแตกต่างกันออกไปในยีสต์ต่างสายพันธุ์กัน หรือแม้กระทั่งยีสต์ในสายพันธุ์เดียวกันที่มีภาวะในการเจริญเติบโตแตกต่างกัน (Hough และ Maddox, 1970) การย่อยสลายตัวเองของยีสต์เนื่องจากเอนไซม์ภายในเซลล์ของยีสต์เอง ต้องใช้เวลานาน จึงมีผู้พยายามเร่งการย่อยสลายนี้ด้วยวิธีการต่างๆ ซึ่งพอสรุปได้ 3 วิธีดังนี้

- การใช้แรงกล ได้แก่ high pressure homogenization และการบดด้วย colloid mill
- การใช้สารเคมีที่มีสมบัติเป็น plasmolyzing agent หรือ เอนไซม์
- การใช้วิธีอื่นๆ ได้แก่ sonic disintegration, repeated freeze-thaw cycle และ thermal shock

วิธีการที่กล่าวมานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทำให้ผนังเซลล์ของยีสต์สูญเสียสภาพปกติไป ปลดปล่อยให้องค์ประกอบในเซลล์ยีสต์ออกมานอกเซลล์ได้ การย่อยสลายจึงเกิดได้เร็วขึ้นและวิธีที่นิยมใช้มากที่สุดคือ การใช้สารเคมีที่มีสมบัติเป็น plasmolyzing agent หรือเอนไซม์ เนื่องจากสะดวกและประหยัดกว่าวิธีอื่นๆ ซึ่งจำเป็นต้องมีเครื่องมือเฉพาะและสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายสูงกว่า

สารสกัดจากยีสต์ที่ได้จากกระบวนการย่อยสลายด้วยตัวเองแม้มีคุณภาพดีกว่า 2 กระบวนการแรก และการผลิตสารสกัดจากยีสต์ด้วยวิธีนี้ แม้จะควบคุมกระบวนการผลิตยากกว่า แต่เนื่องจากได้ผลิตภัณฑ์ที่มีกลิ่นใกล้เคียงกับสารสกัดจากเนื้อสัตว์ จึงได้รับความนิยมมากกว่าวิธีอื่น ๆ

2.2.3.1 ยีสต์ออโตไลเซส(Yeast Autolysates)

ยีสต์ออโตไลเซส เป็นสารสกัดจากยีสต์ที่ได้จากกระบวนการย่อยสลายด้วยตัวเองของยีสต์ ซึ่งสามารถกระตุ้นให้เกิดขึ้นได้โดยควบคุมอุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง เวลา และสารเร่งการย่อยสลายให้เหมาะสม ทำให้เอนไซม์สำคัญที่ทำหน้าที่ควบคุมเมตาบอลิซึมของยีสต์ทำหน้าที่ผิดปกติ เอนไซม์ภายในแควิวโอลซึ่งอยู่ในไซโทพลาซึมถูกปล่อยออกมาย่อยสลายสารโมเลกุลใหญ่ ไปเป็นสารโมเลกุลเล็กที่สามารถละลายน้ำได้ ส่งผลให้ผนังเซลล์สูญเสียสภาพเยื่อเลือกผ่าน(semi-permeable membrane) และปล่อยสารประกอบต่าง ๆ ในเซลล์ออกมาภายนอกเซลล์ได้ (Reed and Nagodaw----,1991)

ยีสต์ที่นิยมใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับกระบวนการผลิตเบียร์ ซึ่งปัจจุบันปริมาณยีสต์จากกระบวนการผลิตเบียร์ มีแนวโน้มสูงขึ้นตามกำลังผลิต เนื่องจากมีความต้องการบริโภคเบียร์ของคนไทยมีมากขึ้น การผลิตยีสต์ออโตไลเซสจากยีสต์ดังกล่าว จึงเป็นทางเลือกที่น่าสนใจและให้ผลตอบแทนสูง

สำหรับยีสต์ออโตไลเซสที่ผลิตจากยีสต์ที่ใช้ผลิตเบียร์ พบว่าจะมีรสขมเนื่องจาก ฮอป ที่ใช้ในกระบวนการผลิตเบียร์ สารให้รสขมดังกล่าวนี้คือ ฮิวมูโลน(humulones) หรือ ไอโซฮิวมูโลน(isohumulones) โดยในสถานะที่เป็นค่า (ความเป็นกรด-ด่างประมาณ 9)จะอยู่ในรูปไอโซฮิวมูโลน(isohumulones)ซึ่งละลายน้ำได้แต่ในสถานะที่เป็นกรดหรือกลางจะอยู่ในรูปฮิวมูโลน(humulones) ซึ่งไม่ละลายน้ำ ดังนั้นเพื่อให้ได้ยีสต์ออโตไลเซสที่มีคุณภาพดี จึงต้องมีการกำจัดรสขมนี้ออกไป ซึ่งอาจทำได้โดยใช้วิธีต่าง ๆ เช่น การล้างเซลล์ยีสต์ด้วยค่าที่ pH 9 ก่อนการย่อยสลาย, Ion exchange chromatography และ exclusion chromatography เป็นต้น นอกจากนี้ ในปี ค.ศ. 1978 West ได้เสนอวิธีการกำจัดรสขมโดยใช้ยีสต์ออโตไลเซสได้สัมผัสกับ สารดูดซับ(adsorbent material) ซึ่งประกอบด้วย ตัวดูดซับ(adsorbent) และ magnetic particle ที่ฝังอยู่ใน porous matric of organic polymeric material ซึ่งมีขนาดรู(pore) อยู่ในช่วง 2 - 3 นาโนเมตร สารดูดซับ(adsorbent particle) ที่ใช้ได้แก่ คาร์บอน(Carbon), อลูมินาซิลิกาเจล(Alumina silica gel), activated magnesium silicate, ดินเหนียว(clays) และ mineral powder เป็นต้น

2.2.3.2การเกิดกลิ่นรสในยีสต์ออโตไลเซส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อนำอีสต์อโตไลเซทมาทำให้ร้อนเพื่อทำให้เข้มข้น และทำให้แห้งนั้น ในระหว่างการให้ความร้อน องค์ประกอบตามธรรมชาติของเซลล์อีสต์ เช่น ไทอะมิน(thiamine)และองค์ประกอบต่างๆ ที่เกิดขึ้นระหว่างการย่อยสลายตัวเอง เนื่องจากการย่อยโปรตีน คาร์โบไฮเดรตและกรดนิวคลีอิกเช่น กรดอะมิโน กลูโคโรโบส และ ribose-5-phosphate จะเกิดการเปลี่ยนแปลงเนื่องจากความร้อน หรือปฏิกิริยาต่าง ๆ ภายใต้อิทธิพลของความร้อน เช่น ปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction), strecker degradation และ Thermal degradation ทำให้เกิดสารประกอบระเหยได้จำนวนมาก อีสต์อโตไลเซท จึงมีคุณสมบัติเป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสแก่ผลิตภัณฑ์อาหาร สำหรับองค์ประกอบในอีสต์ อโตไลเซทที่มีผลต่อกลิ่นรสอาหาร และตัวอย่างสารประกอบระเหยได้ที่สำคัญในอีสต์อโตไลเซทแสดงดังตารางที่ 1 และ 2 ตามลำดับ ส่วนกลิ่นรสที่ได้จากอีสต์อโตไลเซท จะแตกต่างกันออกไปตามภาวะที่ใช้ในการย่อยสลาย ระดับการย่อยสลายโปรตีน และชนิดของอีสต์ที่นำมาใช้ในการผลิตซึ่งอีสต์ที่นิยมใช้คือ อีสต์ทำขนมปัง หรือ อีสต์ที่ใช้หมักเครื่องดื่ม เนื่องจากให้อีสต์อโตไลเซทที่มีกลิ่นรสดี

ตารางที่ 2-1 องค์ประกอบในยีสต์ออโตไลเซสที่มีผลต่อกลิ่นรสอาหาร

(Schmidt,1987)

Inorganic Taste	Organic Taste	Odour
Sodium	Amino acid	Aliphatic acid
Potassium	Nucleotide	Aromatic acid
Magnesium	Peptide	Carbonyl compound
Chloride		Ester
Phosphate		Heterocyclic compound
Sulphate		(N, O, S)
		Hydroxyl compound
		Phenolic
		Pyrazine

ตารางที่ 2-2 ตัวอย่างสารประกอบระเหยได้ที่สำคัญในยีสต์ออโตไลเซส (Ames และ Mac Leoad, 1985)

สารประกอบ	สมบัติของกลิ่น
Methylpropanal	Cereal, Slight caramel
2-Methylfuran	Meat extract
Butanedione (diacetyl)	Creamy, Buttery
Pentane-2,3-dione	Caramel, Oily, Meaty
Dimethyl disulfide	Meat extract
2,5-Dimethylpyrazine	Peanut butter
Benzaldehyde	Almonds, Nutty
5-Methyl-2-furaldehyde	Meat extract, Roasted fat
Sesquiterpene hydrocarbon	Canned soup

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.3.3 การใช้ยีสต์ออกโตไลเอส เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหาร

ยีสต์ออกโตไลเอส ถูกใช้เป็นวัตถุดิบที่สำคัญอย่างหนึ่ง ในการผลิตสารปรุงแต่งกลิ่นรส การใช้ยีสต์ออกโตไลเอสเป็นสารปรุงแต่งรสอาหารนั้น นอกจากจะให้กลิ่นรสต่างๆ จากยีสต์ออกโตไลเอสแล้วเมื่อให้ความร้อนแก่อาหารจะทำให้กรดอะมิโนและน้ำตาลโรโบสใน

ยีสต์ออกโตไลเอสทำปฏิกิริยากับองค์ประกอบอื่นๆ ของอาหารเกิดเป็นสารประกอบระเหยได้ต่างๆ จำนวนมาก อาหารจึงมีกลิ่นหอมชวนรับประทานมากขึ้น นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบกับโปรตีนไฮโดรไลเอสจากพืชและสัตว์พบว่ายีสต์ออกโตไลเอสแม้มีราคาแพงกว่าโปรตีนไฮโดรไลเอสจากพืชแต่ให้กลิ่นรสที่ดีกว่า ส่วนโปรตีนไฮโดรไลเอสจากสัตว์นั้นมีราคาแพงกว่ายีสต์ออกโตไลเอส แต่ให้กลิ่นรสใกล้เคียงกัน แต่ยีสต์ออกโตไลเอสยังมีข้อได้เปรียบอีกหลายประการ คือ ยีสต์ออกโตไลเอสมีปริมาณเกลือต่ำกว่า ทำให้มีส่วนของสารให้กลิ่นรสอยู่ในปริมาณสูงกว่า มีส่วนประกอบที่มีคุณค่าทางโภชนาการและยังมีปริมาณโมโนโซเดียมกลูตาเมตต่ำ ดังตารางที่ 2-3

นอกจากนี้ การใช้ยีสต์ออกโตไลเอสในผลิตภัณฑ์อาหารยังสามารถช่วยลดการเกิดกลิ่นหืนของไขมัน ป้องกันการเปลี่ยนแปลงสี และกลิ่นรสตามธรรมชาติของอาหารบางชนิดได้ เนื่องจากมีสารประกอบที่มี ซัลไฟด์กรุป (Sulphydryl group) ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารกันหืน (Antioxidant) เป็นองค์ประกอบและยังมีสมบัติเป็น Texturizer ช่วยปรับปรุงเนื้อสัมผัสและลดการสูญเสียของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์บางชนิดได้

ตาราง 2-3 องค์ประกอบของยีสต์ออกโตไลเอส และโปรตีนไฮโดรไลเอสจากพืชและสัตว์ (Tuley, 1986)

ชนิดของสาร	ยีสต์ออกโตไลเอส	โปรตีนไฮโดรไลเอสจากพืชและสัตว์
เกลือ	5-12%	40%
วิตามิน	วิตามินบีรวม	-
คาร์โบไฮเดรต	กลูแคน/แมนแนน	-
สารให้กลิ่นรส	นิวคลีโอไทด์และโมโนโซเดียมกลูตาเมตต่ำ	โมโนโซเดียมกลูตาเมตสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.3.4 คุณสมบัติของยีสต์โปรตีน (Yeast Protein) ที่ใช้ในอาหาร

แบ่งได้ 4 ชนิด คือ

1. Bio protein Type I-Insoluble denatured protein isolate ซึ่งสามารถดูดไขมันและไขมันได้เป็นอย่างดี

2. Bio protein Type II-Partially Hydrolyzed protein isolate ซึ่งละลายน้ำได้ดีกว่าชนิดแรกและมีคุณสมบัติทางด้านในฟอง (Foaming) และประสานน้ำกับน้ำมัน (emulsifying) ได้เป็นอย่างดี

3. Bio protein Type III โปรตีนชนิดที่ละลายน้ำได้ในสภาพที่เป็นกลางและพีเอชที่เป็นกรดได้ซึ่งมีคุณสมบัติในการประสานน้ำกับน้ำมันและช่วยให้ถั่วใส่คุดชิมได้ง่าย เพราะเป็นโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ

4. Bio protein Type IIII-Partially Hydrolyzed protein isolate แฉวนลอยได้อย่างดีในน้ำซึ่งมีคุณสมบัติในการประสานน้ำกับน้ำมันและทำให้ข้นหรือเหนียว (viscosity) ได้เป็นอย่างดี

เราสามารถใช้อยีสต์อโตไลเสทตามคุณสมบัติต่าง ๆ ได้ผลิตภัณฑ์อาหารดังนี้

1. Hydration , water absorbtion water binding คุณสมบัติของยีสต์โปรตีนที่ช่วยทำให้อาหารสามารถดูดไขมันได้ดีขึ้น ซึ่งจะใช้ได้ดีกับอาหารประเภทเนื้อ ผลิตภัณฑ์จากเนื้อและขนมอบ

2. Solubility โปรตีนที่สามารถละลายน้ำได้ดี ควรใช้ส่วนสกัดจากยีสต์ในการทำเครื่องคัมที่เป็นอาหารเสริมได้เป็นอย่างดี เช่น เครื่องคัมที่คล้ายคลึงกับไมโลหรือโอวัลติน เป็นต้น

3. Viscosity คุณสมบัติที่ทำให้ของเหลวข้นเข้มข้นจึงเหมาะที่จะใช้กับอาหารประเภทเครื่องคัมเสริมสุขภาพ ซุป ซอส หรือครีมได้เป็นอย่างดี

4. Gel forming คุณสมบัติของส่วนสกัดจากยีสต์ในการเกิดเจลนั้นมีบทบาทสำคัญมากในอาหารหลายชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งในผลิตภัณฑ์นม (dairy products) เช่น เนยแข็ง นมเปรี้ยว โยเกิร์ต การแข็งของไข่ขาว texturized proteins และ doughs การเกิดเจลนี้ยังช่วยให้อาหารคุดน้ำได้ดีขึ้นและคุณสมบัติอื่น ๆ เช่น ทำให้ข้นเหนียว (thickening adhesion) และฟองอยู่ทน (emulsion foam-stabilizing effects) เป็นต้น

5. Emulsifying properties ตัวเชื่อมน้ำกับน้ำมันให้เข้ากันจึงควรใช้ในการผลิตอาหารที่เราคุ้นเคยหลายชนิดที่เป็นนม ครีม ไอศกรีม เนยแข็ง น้ำสลัดข้น เป็นต้น นอกจากนี้ยังจะช่วยให้อาหารที่กล่าวมาแล้วมีความคงตัว (stability) ดีขึ้น

6. Foaming properties ฟองในอาหารคือฟองอากาศที่เกิดขึ้นในอาหารที่เป็นของเหลวตนเอง คุณสมบัตินี้ใช้ได้เป็นอย่างดีกับครีมเหลวและขนมหวาน เช่น พวก mash mellow เป็นต้น

7. Cohesivity, Elasticity คือความสามารถของโปรตีนที่จะทำปฏิกิริยากับสารอาหารอื่น ๆ ให้เกิดเป็นเนื้อเดียวกันในลักษณะแข็ง (solid) หรือ กึ่งแข็ง (semi-solid) คุณสมบัตินี้ใช้กับอาหารจำพวกเนยแข็ง เนยเทียม ไข่กรอก เป็นต้น

8. Fat absorption คุณสมบัติในการดูดซึมไขมัน มีความสำคัญมากในการทำอาหารพวกเนื้อและเนื้อเทียม ส่วนในอาหารแบบไทย ๆ อาจใช้ได้ดีกับพวกหมูสับ เนื้อสับเทียมที่ให้ในพวกบะหมี่หรือก๋วยเตี๋ยวสำเร็จรูป

9.Flavor binding ช่วยรักษากลิ่นของอาหาร กลิ่นของอาหารนั้นเกิดจากสารที่ระเหยได้ ซึ่งมีน้อยมากในชั้นผิวของอาหาร โปรตีนในส่วนสกัดจากยีสต์จะช่วยให้อาหารนั้นเก็บกลิ่นได้ดีขึ้นซึ่งมีความสำคัญในอาหารทั่วไป และในอดีตที่ผ่านมาการใช้ส่วนสกัดจากยีสต์จะเน้นไปในทางการใช้คุณสมบัติข้อนี้

10.Texturization โปรตีนเป็นโครงสร้างสำคัญที่ทำให้เกิดลักษณะเนื้ออาหารดีขึ้น ควรใช้กับเนยแข็ง, ไข่กรอกและแป้งโด

โดยเฉพาะอย่างยิ่งพวกอาหารที่ผลิตโดยกระบวนการอัดพอง(extrusion)ซึ่งได้แก่พวกอาหารขบเคี้ยว(snack)ที่เด็กชอบมากในสมัยนี้ซึ่งบรรจุในภาชนะบรรจุอย่างสวยงาม อาหารเหล่านี้มีคาร์โบไฮเดรตเป็นส่วนประกอบสำคัญ ซึ่งเด็กรับประทานแล้วไม่ได้ประโยชน์อะไรมาก หากผู้ผลิตจะใส่ส่วนสกัดของยีสต์เข้าไปนอกจากจะทำให้กลิ่นหอมและรสชาติดีขึ้นแล้วยังจะช่วยให้มีคุณค่าทางอาหารมากขึ้น จะเห็นได้ว่าส่วนสกัดจากยีสต์สามารถใช้กับอาหารที่คนไทยคุ้นเคยได้มากมายหลายชนิด ในประเทศไทยก็มีวัตถุดิบที่จะใช้ทำส่วนสกัดจากยีสต์ได้มากมายตัวอย่างเช่น ยีสต์จากโรงงานทำเบียร์ โรงงานทำเหล้าหรือโรงงานผลิตแอลกอฮอล์ เป็นต้น

บทที่ 3

อุปกรณ์และสารเคมี

สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

การทดลอง

- | | |
|--------|---------|
| 1.NaOH | (SIGMA) |
| 2.NaCl | (SIGMA) |

การตรวจสอบปริมาณโปรตีนด้วยวิธีเจลดาคาล์

- | | |
|----------------------------------|---------|
| 1.K ₂ SO ₄ | (SIGMA) |
| 2.CuSO ₄ | (SIGMA) |
| 3.H ₃ BO ₃ | (SIGMA) |
| 4.NaOH | (SIGMA) |
| 5.methyl red | |
| 6.bromcresol green | |
| 7.alcohol | (SIGMA) |
| 8.Aluminium Sulfate | (SIGMA) |

การตรวจสอบปริมาณโปรตีนด้วยวิธีดาร์วาลี

- | | |
|--|---------|
| 1.Bovine albumin protein | |
| 2.Na ₂ CO ₃ | (SIGMA) |
| 3.CuSO ₄ ·5H ₂ O | (SIGMA) |
| 4.Sodium potassium ttrate | (SIGMA) |
| 5.Folin | (SIGMA) |
| 6.NaOH | (SIGMA) |

การผลิตผลิตภัณฑ์ปรุงรส

- 1.เกลือ
- 2.น้ำตาลทราย
- 3.น้ำมันพืช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

1. บีกเกอร์ 50,100,250,1000 และ 2000 มิลลิลิตร
2. แท่งแก้วคน
3. เทอร์โมมิเตอร์ 100 องศาเซลเซียส
4. ฟลาสก์ 250 มิลลิลิตร
5. หลอดเซนตริฟิวก์
7. ขวดปรับปริมาตร 1000 มิลลิลิตร
8. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่งและ 2 ตำแหน่ง
9. เคซิเตอร์
10. ขวดสีชา 1000 มิลลิลิตร
11. ปิเปต 0.1,1.5 และ 10 มิลลิลิตร
12. หลอดทดลอง
13. หลอดเจลาติน
14. คิวเวต
15. ออโตไปเปต
16. เซนตริฟิวจ์
17. พีเอชมิเตอร์
18. เตาอบ 600 องศาเซลเซียส
19. วอร์เท็ก
20. เครื่องกลั่นหาปริมาณโปรตีน Gerhardt Vapodest 30 Gerhardt Bonn (รูปที่ 3-1)
21. ตู้บ่มแบบหมุนเหวี่ยง Incubate shaker Vindon Scientific LTD
22. ตู้อบ WTB binder 7200 TüTTLINGEN/Germany Model FD53
23. เครื่องชั่ง Model B-31005 S/N 103035 (1 Scientific promotion Co,LTD)
24. เครื่องระเหย Evaporate Tokyo Rikakikai Co,LTD TYPE A-3S
25. เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง Spectrometer UNICAM Type PV8620/00 NO GE421352
Made in England
26. เครื่อง Smoked generator (รูปที่ 3-2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3-1 แสดงรูปเครื่องกลั่นหาปริมาณโปรตีน Gerhardt

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3-2 แสดงเครื่อง Smoked generater

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีทดลอง

การทดลองที่ 1 การหาความชื้นใน กากยีสต์ (W/W)

1.นำลูมิเนียมฟลอยด์พับเป็นทรงทรงแกลมมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร สูงประมาณ 5 เซนติเมตร ประมาณ 3 กระถง

2.นำกระถงเข้าอบในตู้อบที่ 110 องศาเซลเซียส ประมาณ 2 ชั่วโมง หรือจนน้ำหนักคงที่แล้วใส่ใน เดซิเคเตอร์(Decicator)ทิ้งไว้ให้เย็น

3.แล้วชั่งหาน้ำ

4.นำกากยีสต์มาชั่งหาน้ำหนักโดยใส่ลงในกระถงบนเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง ประมาณ 10 กรัม แล้วจดบันทึกน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น

5.นำเข้าตู้อบที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หรือจนน้ำหนักคงที่และปล่อยให้เย็นสนิทใน เดซิเคเตอร์(Decicator)

6.นำมาชั่งหาน้ำหนักบนเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง แล้วบันทึกผล

7.ทำซ้ำจนได้ ตัวอย่าง 3 ตัวอย่าง

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้น(g/g)} = \frac{\text{น้ำหนักแห้งรวมหลังอบ-น้ำหนักกระถง} \times 100}{\text{น้ำหนักยีสต์ก่อนอบ}}$$

การทดลองที่ 2 การหาปริมาณความชื้นในกากยีสต์ (W/V)

1.นำลูมิเนียมฟลอยด์พับเป็นทรงทรงแกลมมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร สูงประมาณ 5 เซนติเมตร ประมาณ 3 กระถง

2.นำกระถงเข้าอบในตู้อบที่ 110 องศาเซลเซียส ประมาณ 2 ชั่วโมง หรือจนน้ำหนักคงที่แล้วใส่ใน เดซิเคเตอร์(Decicator) จนเย็นสนิท

3.แล้วชั่งหาน้ำหนักกระถงด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง บันทึกผลการชั่ง

4.นำกากยีสต์วัดปริมาตรให้ได้ 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในกระถงบนเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง แล้วจดบันทึกน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น

5.นำเข้าตู้อบที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หรือจนน้ำหนักคงที่และปล่อยให้เย็นสนิทใน เดซิเคเตอร์(Decicator)

6.นำมาชั่งหาน้ำหนักบนตาชั่ง 4 ตำแหน่ง แล้วบันทึกผล

7.ทำซ้ำจนได้ ตัวอย่าง 3 ตัวอย่าง

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้น(g/ml)} = \frac{\text{น้ำหนักแห้งรวมหลังอบ-น้ำหนักกระถง} \times 100}{1 \text{ (ปริมาณยีสต์ใน 1 ml)}}$$

การทดลองที่ 3 การหาปริมาณความชื้นในยีสต์ครีม(W/W)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำเหมือนกันในการทดลองที่ 1 แต่เปลี่ยนตัวอย่างเป็นยีสต์ครีมแทน
การทดลองที่ 4 การหาปริมาณความชื้นในยีสต์ครีม(W/V)

ทำเหมือนกันในการทดลองที่ 2 แต่เปลี่ยนตัวอย่างเป็น ยีสต์ครีมแทน

การทดลองที่ 5 การหาความเป็นกรด-ด่างของตัวอย่าง

1.เตรียมเครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง ให้พร้อมโดยการทำความสะอาดกระเปาะวัดความดันไฟฟ้าด้วยน้ำกลั่นพร้อมกับปรับให้ตรงกับค่ามาตรฐานด้วยสารละลายตัวอย่าง

2.นำตัวอย่างมาวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง โดยนำกระเปาะจุ่มลงในตัวอย่างแล้วคนสารละลายให้เข้ากัน อ่านค่าที่ได้

3.บันทึกผลที่ได้

* ทำความสะอาดด้วยน้ำกลั่นทุกครั้งที่ใช้งาน

การทดลองที่ 6 การหาปริมาณเถ้าถ่านในยีสต์ตัวอย่าง

1.นำลูมิเนียมฟลอยด์พับเป็นกระทงทรงกลมมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร สูงประมาณ 5 เซนติเมตร ประมาณ 3 กระทง

2.นำกระทงเข้าอบในตู้อบที่ 110 องศาเซลเซียส ประมาณ 2 ชั่วโมง หรือจนน้ำหนักคงที่แล้วใส่ในเดซิเคเตอร์(Decicator) จนเย็นสนิท

3.แล้วชั่งน้ำหนักกระทงด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง บันทึกผลการชั่ง

4.นำตัวอย่างมาชั่งน้ำหนักโดยใส่ลงในกระทงบนเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง ประมาณ 5 กรัม แล้วจดบันทึกน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น

5.นำเข้าตู้อบที่ 600 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หรือจนน้ำหนักคงที่และปล่อยให้เย็นสนิทในเดซิเคเตอร์(Decicator)

6.นำมาชั่งน้ำหนักบนเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง แล้วบันทึกผล

7.ทำซ้ำอีก 2 ตัวอย่าง

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้น}(g/g) = \frac{\text{น้ำหนักแห้งรวมหลังอบ}-\text{น้ำหนักกระทง} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ}}$$

การทดลองที่ 7 การกำจัดสปอออกบางส่วนจากกากยีสต์โดยใช้น้ำกลั่น

1.ชั่งกากยีสต์ 200 กรัมใส่ลงในบีกเกอร์สะอาดขนาด 1000 มิลลิลิตร (ควบคุมให้ยีสต์มีความชื้น 15 กรัม/กรัม)

2.เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 600 มิลลิลิตร

3. คนด้วยแท่งแก้วคน พยายามให้ยีสต์และสารละลายผสมกันมากที่สุดแต่อย่ากวแรงจนเกินไป

4. ตั้งทิ้งไว้ให้ยีสต์ตกตะกอนเป็นเวลา 30 นาที

5. น

ครีมขาว

6. นำยีสต์ที่ได้ใส่ในหลอดเซนตริฟิวจ์แล้วปั่นที่ 4,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 นาที

7. เก็บเฉพาะส่วนหัวเซลล์สีขาวนวลไว้เท่านั้นเพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

* ตลอดทุกขั้นตอนการทดลองควรรักษาอุณหภูมิไว้ไม่เกิน 4 องศาเซลเซียส (พรตักดี, 2538)

การทดลองที่ 8 การออโตไลซิสยีสต์ครีม

1. นำยีสต์ครีม 100 กรัมจากการทดลองที่ 7 ใส่ในพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตรตัวอย่างละ 3 พลาสติก

2. นำพลาสติกใส่ในตู้บ่มแบบเขย่า (Incubate shaker) โดยปรับให้มีอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสและความเร็วรอบที่ 200 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 12 ชั่วโมงแล้วนำยีสต์ออกจากเครื่องบ่ม โดยเก็บไว้ใส่ที่เย็นต่ำกว่า 4 องศาเซลเซียส หรือนำไปใช้ทดลองต่อทันที

3. นำยีสต์ออโตไลสไปปั่นเหวี่ยงที่ 7,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 5 นาทีเพื่อให้ชั้นของของแข็งหรือกากเซลล์แยกออกจากส่วนสารละลาย

4. เก็บส่วนสารละลายใสที่เหลือไว้ ส่วนตะกอนแข็งทิ้งไป

5. เริ่มการทดลองตั้งแต่ข้อ 1. ใหม่แต่เปลี่ยนเวลาเป็น 24 และ 36 ชั่วโมง

6. เปลี่ยนอุณหภูมิจาก 40 องศาเซลเซียส เป็น 45 องศาเซลเซียส และ 50 องศาเซลเซียส โดยแปรร่วมกับเวลา

การทดลองที่ 9 การทำให้ออโตไลสเข้มข้น

1. นำขวดก้นกลมขนาด 250 มิลลิลิตร ใส่ยีสต์ออโตไลส 50 มิลลิลิตรลงในขวด

2. นำขวดก้นกลมต่อเข้ากับเครื่องระเหยของเหลว (Evaporator)

3. ปรับอุณหภูมิของอ่างให้ความร้อนจนมีอุณหภูมิประมาณ 90 องศาเซลเซียส

4. ปรับอัตราการหมุนของขวดก้นกลมให้มีอัตราพอเหมาะกับความหนืดของสารละลาย

5. ให้ความร้อนจนยีสต์ออโตไลสที่มีปริมาตรลดลงเหลือประมาณครึ่งหนึ่งหรือมีความข้นพอดีไม่เหนียวแห้งจนเกินไป

6. ตักยีสต์ออก โดไลเสทออกจากขวดกั้นกลมแล้วเก็บไว้ในภาชนะสะอาดปิดมิดชิดที่ อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส

การทดลองที่ 10 การหาวิเคราะห์ปริมาณ โปรตีน โดยวิธีลาร์วีลี

ตามวิธี AOAC(ภาคผนวก ก.)

การทดลองที่ 11 การหาวิเคราะห์ปริมาณ โปรตีน โดยวิธีเจลดาคาล์

ตามวิธี AOAC(ภาคผนวก ก.)

การทดลองที่ 12 การผลิตออก โดไลเสท โดยปรุงร่วมกับ โปรตีนสกัด

PEYA(Partial Evaporated Yeast Autolysate)	10	กรัม
เกลือ	0.1	กรัม
น้ำตาลทราย	0.7	กรัม
น้ำมันพืช	1.5	กรัม
MAICON	10	กรัม

วิธีปรุง

1. คลุกเคล้าทั้งเครื่องปรุงและสารปรุงแต่งให้เข้ากัน
2. นำเข้าอบใน Smoke generator 78 องศาเซลเซียส ความชื้น 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 30 นาที
3. ปลดยควันจากไม้ไผ่กึ่ง ผสมบีชนัท ให้ได้กลิ่นและสี นำรับประทาน ใช้เวลา 20 นาที
4. ได้ผลิตภัณฑ์ที่เรียกว่า 'Smoke PEYA'

การทดลองที่ 13 การปรุงซูปอโดไลสียีสต์โดยใช้ยีสต์ออก โดไลเสท

ส่วนผสม

ยีสต์ออก โดไลเสท	90%
คาราเมล	0.1%
น้ำ	9.9 %

วิธีปรุง

1. นำส่วนผสมคลุกเคล้าให้เข้ากัน
2. นำเข้าหม้อนึ่งอัดความดันแล้วให้ความร้อนที่ 121 องศาเซลเซียส ที่ 15 ปอนด์ 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองที่ 14 การเปรียบเทียบรสชาติระหว่าง 'Smoke PEYA' และโปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง

1. นำโปรตีนสกัดจากถั่วเหลืองปรุงสำเร็จรูปแล้วให้ผู้ทดสอบชิมเทียบกับโปรตีนสกัดจากถั่วเหลืองที่ไม่ผ่านการปรุง โดยให้ผู้ทดสอบ 30 คน
2. บันทึกผลการทดลอง

การทดลองที่ 15 การทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคของ 'Smoke PEYA'

1. นำ 'Smoke PEYA' ให้ผู้ทดสอบชิมแล้วให้ผู้ทดสอบบันทึกในแบบสอบถามประสาธสัมผัสของผลิตภัณฑ์โดยใช้ผู้ทดสอบ 30 คน
2. บันทึกผลการทดลอง



บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบ

วัตถุดิบที่ใช้คือ Bottom-ferment brewer's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) จากบริษัท บุญรอดบริวเวอรี่ จำกัด โดยตั้งแต่การนำมาจากถังตกตะกอน (Decanter) และรักษาไว้ให้อุณหภูมิต่ำกว่า 4 องศาเซลเซียสจนถึงสิ้นสุดการทดลอง

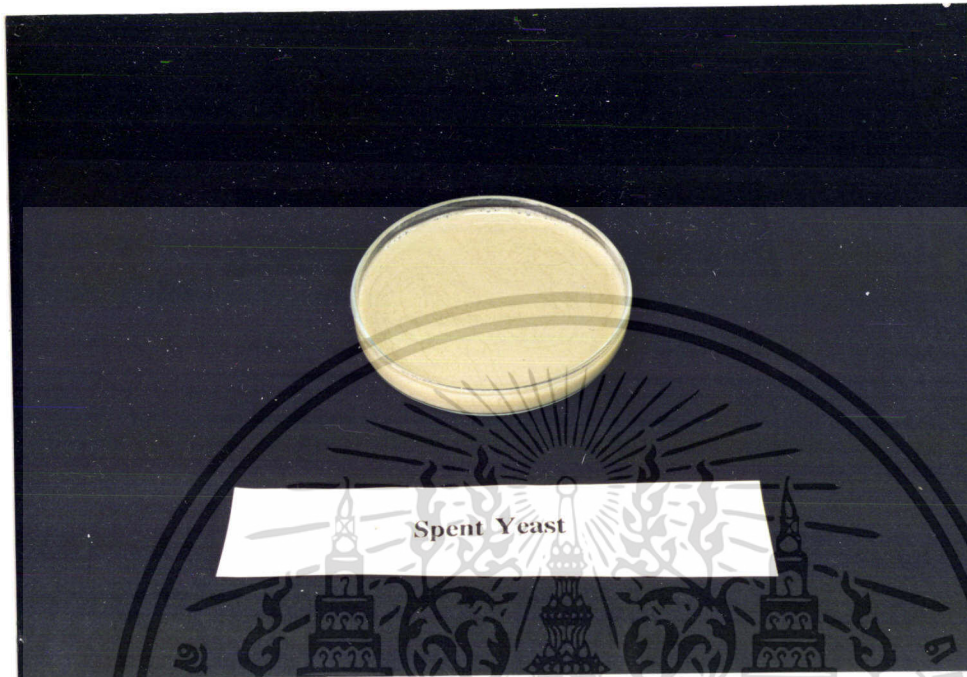
ตารางที่ 4-1 แสดงลักษณะและองค์ประกอบของกากยีสต์และยีสต์ครีม

องค์ประกอบ (%)	กากยีสต์	ยีสต์ครีม
โปรตีน	7.71	12.93
ไนโตรเจนอิสระ	1.23	2.07
เถ้าถ่าน	9.23	8.33
ของแข็ง	14.69	22.62
ปริมาณความขม (EBUs)	26	18
pH	5.7	5.6

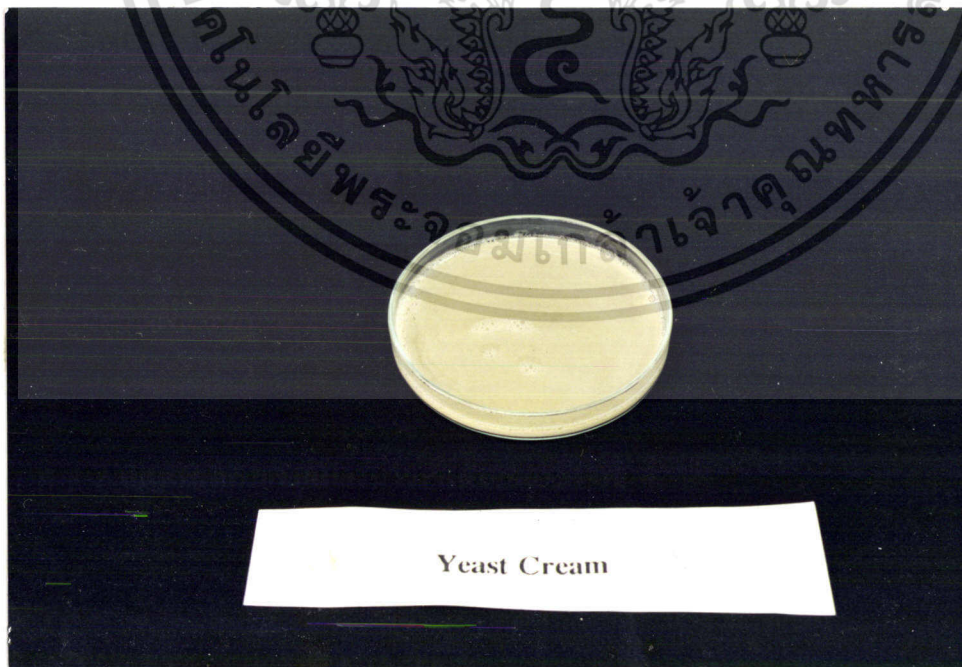
หมายเหตุ กากยีสต์ คือการยีสต์ที่ได้รับจากถังตกตะกอนของโรงงานไม่ผ่านกรรมวิธีหรือขั้นตอนใดๆ

ยีสต์ครีม คือยีสต์ที่ผ่านการล้างด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:3

จากตารางที่ 4-1 จะเห็นได้ว่าในกากยีสต์ที่ได้จากโรงงานโดยตรงจะมีปริมาณของของแข็งปะปนมากับตัวอย่างมากมายเช่น กากฮอปที่ปะปนมา ปริมาณเถ้าถ่านจึงสูงกว่าในยีสต์ครีม หรือน้ำเบียร์ที่ไม่สามารถกรองออกได้หมดซึ่งส่งผลต่อปริมาณโปรตีนและปริมาณไนโตรเจนอิสระ ที่มีมากขึ้นเมื่อผ่านการล้างด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:3 และยังช่วยลดความขมเนื่องจากการกำจัดอัลฟาเอซิดที่มีอยู่ในฮอป



รูปที่ 4-1 แสดงกากยีสต์ก่อนผ่านขั้นตอนการล้างฮอป



เอกรูปที่ 4-2 แสดงยีสต์ที่ผ่านการกำจัดฮอปออกบางส่วนนั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายตัวของยีสต์

ศึกษาอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการทำการย่อยสลายตัวของยีสต์โดยแปรเวลาที่ 12 ,24 และ 36 ชั่วโมง ร่วมกับอุณหภูมิ 40,45 และ 50 องศาเซลเซียส โดยควบคุมความเป็นกรด-ด่าง ที่ 5.5 ส่วนของของแข็งคือ 15เปอร์เซ็นต์ และอัตราการเขย่าเท่ากับ 200 รอบต่อนาที

ตารางที่ 4-2 แสดงการค่าโปรตีนจากการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธีลาร์วัลลี โดยใช้ น้ำกลั่นอัตราส่วน 1:3 ทำการล้างกากยีสต์ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิ(ซ)	40		
เวลา(ชั่วโมง)	12	24	36
ปริมาณโปรตีน ($\mu\text{g/l}$)	226.09	237.69	248.32

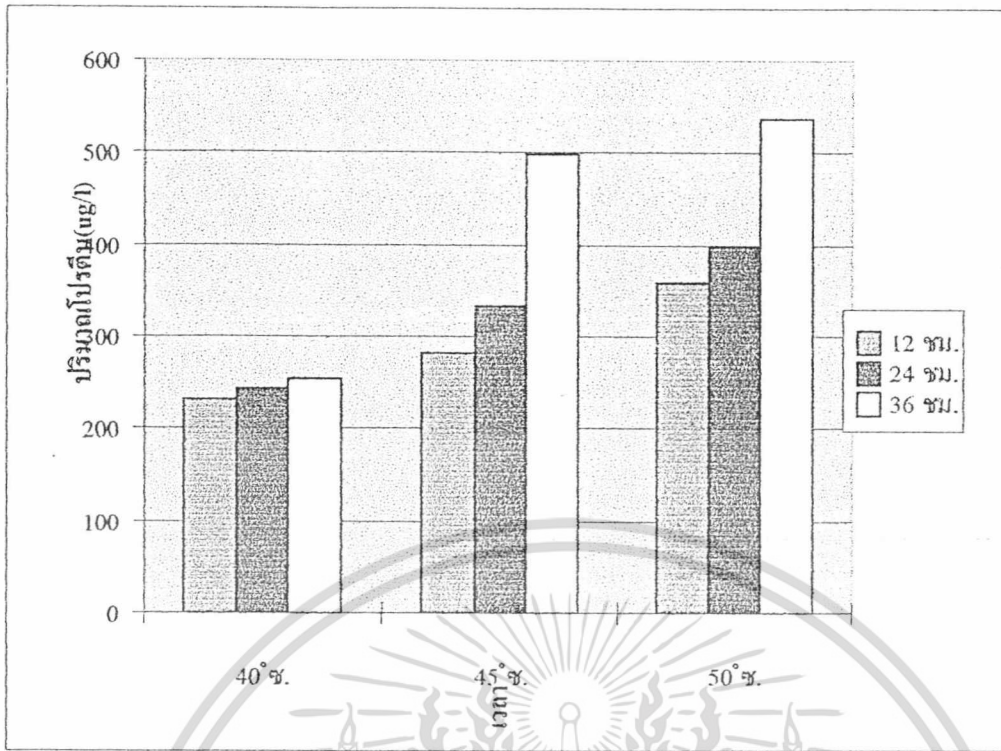
ตารางที่ 4-3 แสดงการค่าโปรตีน จากการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธีลาร์วัลลี โดยใช้ น้ำกลั่นอัตราส่วน 1:3 ทำการล้างกากยีสต์ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิ(ซ)	45		
เวลา(ชั่วโมง)	12	24	36
ปริมาณโปรตีน ($\mu\text{g/l}$)	274.41	324.17	484.07

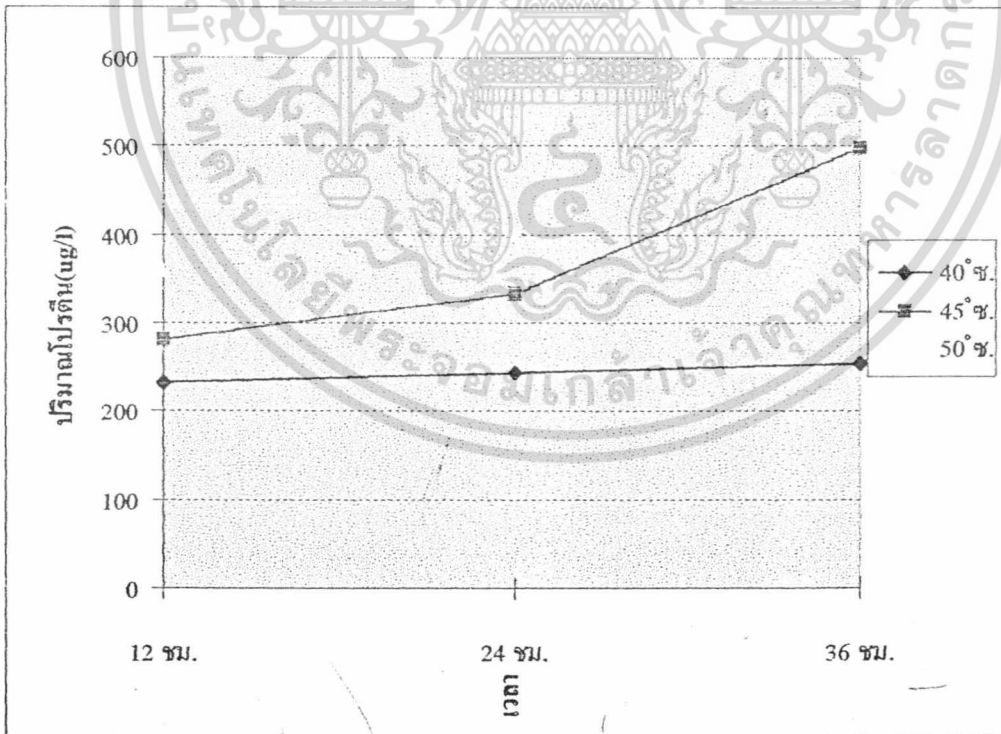
ตารางที่ 4-4 แสดงการค่าโปรตีน จากการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธีลาร์วัลลี โดยใช้ น้ำกลั่นอัตราส่วน 1:3 ทำการล้างกากยีสต์ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิ(ซ)	50		
เวลา ชั่วโมง	12	24	36
ปริมาณโปรตีน ($\mu\text{g/l}$)	348.80	388.90	521.27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

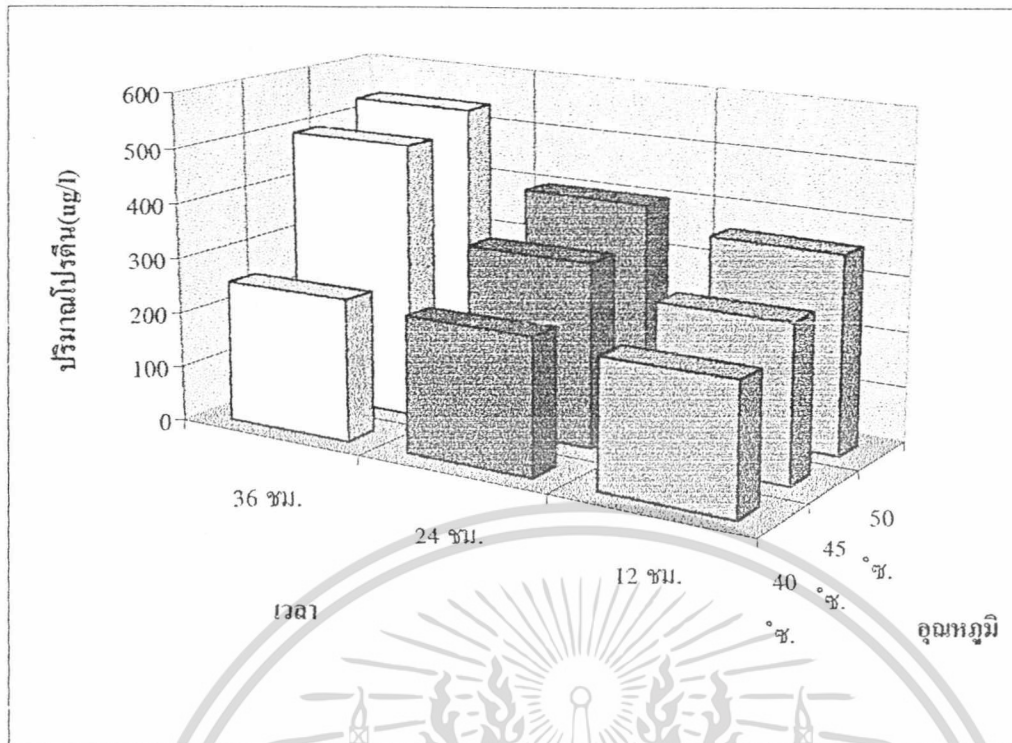


รูปที่ 4-3 แผนภูมิแสดงการเปรียบเทียบค่าโปรตีน โดยแปรอุณหภูมิและเวลาต่างๆ กัน จากวิธีลาร์วัลลี



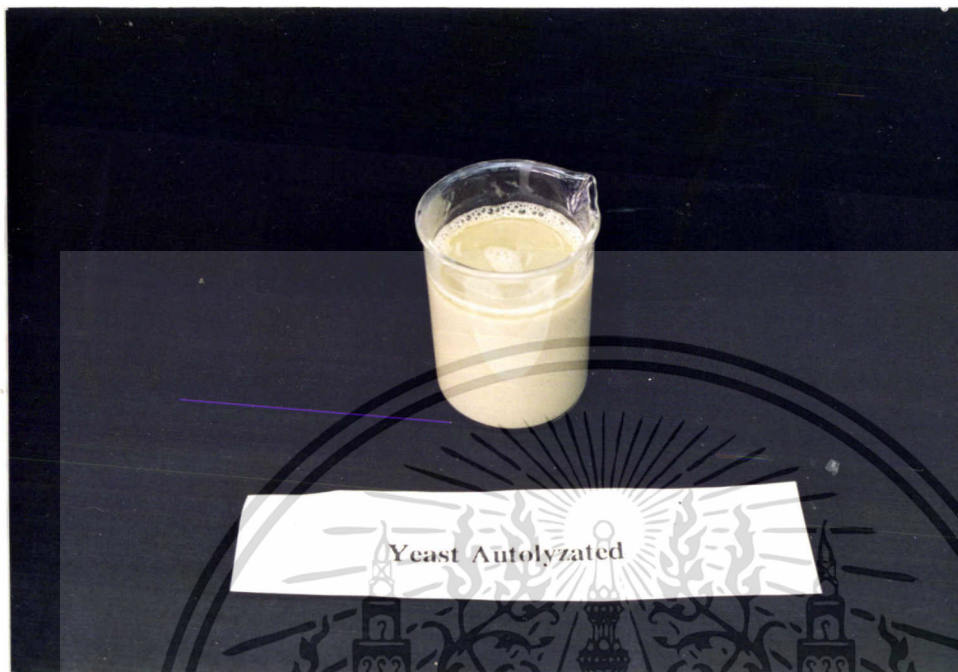
รูปที่ 4-4 แผนภูมิแสดงการเปรียบเทียบค่าโปรตีน โดยแปรอุณหภูมิและเวลาต่างๆ กัน จากวิธีลาร์วัลลี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4-5 กราฟแท่งแสดงค่าโปรตีน โดยแปรค่าระหว่างสารละลายและอัตราส่วน โดยใช้วิธีลาร์ว์ดี

นำผลการทดลองที่ได้วิเคราะห์ทางสถิติความแตกต่างของค่าโปรตีนระหว่างอิทธิพลร่วมของอุณหภูมิและเวลามีผลต่อค่าโปรตีนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 7) ดังนั้นจึงพิจารณาผลของอิทธิพลร่วมโดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของค่าโปรตีน ในแต่ละภาวะพบว่าที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (ตารางที่ 4.4) ให้ปริมาณของโปรตีนมากที่สุด (เทียบจากค่าโปรตีนในรูปที่ 4-1) แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ($P < 0.05$) (ตารางที่ 8) และเมื่อเทียบที่เวลา 36 ชั่วโมงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับเวลาที่ใช้ที่ 12 และ 24 ชั่วโมง (ตารางที่ 9) ดังนั้นเพื่อเป็นการประหยัดพลังงานและเพื่อให้ได้ปริมาณโปรตีนที่มากที่สุดจึงเลือกใช้ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสทำการเขย่าเป็นเวลา 36 ชั่วโมงในการผลิตออดโอไลเสทที่สกัดที่จะนำไปใช้ในการทดลองต่อไป



รูปที่ 4-7 แสดงยีสต์ที่ผ่านการย่อยสลายตัวเอง



รูปที่ 4-8 แสดงส่วนใสของยีสต์ออกโตไลเสท

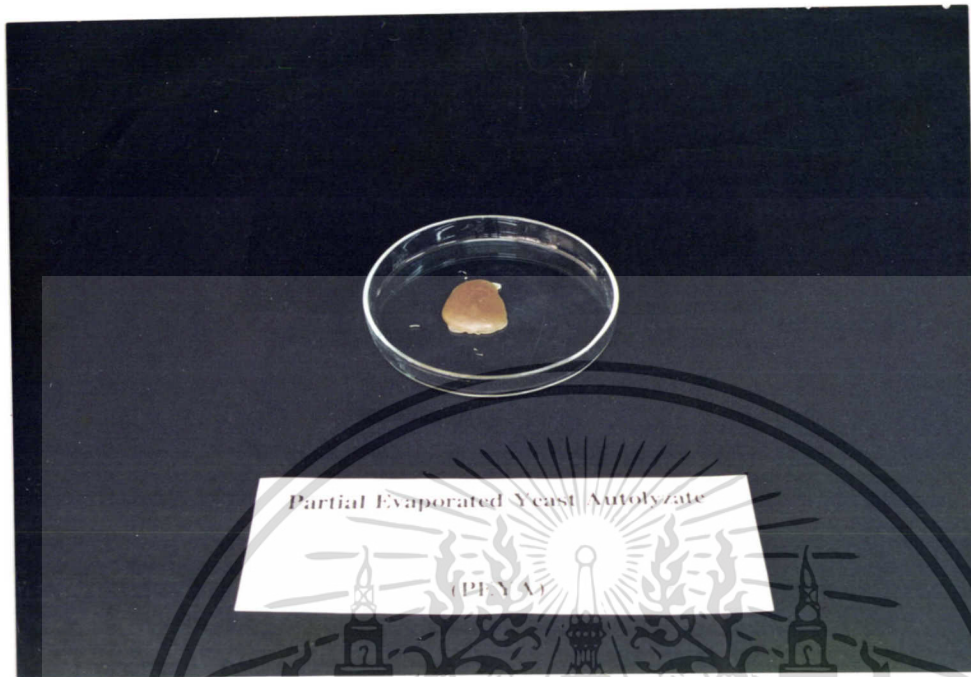
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การระเหยน้ำบางส่วนในยีสต์ออโตไลเซส

เมื่อได้ยีสต์ออโตไลเซสแล้วนำตัวอย่างเหล่านี้ไปปั่นเหวี่ยงเพื่อให้ของของแข็งตกตะกอนเพื่อแยกส่วนใสเท่านั้น ซึ่งการทำเช่นนี้จะช่วยลดปริมาณฮิวมูโลน(humulones)ที่ปะปนอยู่ในเซลล์ได้อีกทางหนึ่งซึ่งเป็นการลดความขมไปในตัวและทำการระเหยน้ำบางส่วนในยีสต์ออโตไลเซสเพื่อให้เข้มข้นมากขึ้นเหมาะกับการนำไปปรุงรสได้โดยง่าย ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์บางชนิดและลดปริมาตรพื้นที่เก็บรักษาด้วยเครื่อง Evaporator(รูปที่ 4-9)ซึ่งเป็นเครื่องให้ความร้อน(90 องศาเซลเซียส)ระเหยของเหลวแบบลดความดันโดยกระบวนการนี้มีส่วนช่วยลดปริมาณโปรตีนที่จะสูญเสียด้วยความร้อนแต่จะมีโปรตีนบางส่วน เช่น กรดอะมิโน เอนไซม์ น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลไรโบส ribose-5-phosphate จะเกิดปฏิกิริยาต่างๆ ได้แก่ ปฏิกิริยาเมลลาร์ด(Maillard reaction), Strecker degradation และ thermal degradation ในระหว่างให้ความร้อน ทำให้เกิดสารประกอบระเหยได้จำนวนมากซึ่งในขั้นตอนนี้เมื่อลดปริมาตรจนเหลือครึ่งหนึ่งของปริมาตรทั้งหมดซึ่งเรียกว่า Partial Evaporated Yeast Autolysates(PEYA) และจะนำไปใช้ในการปรุงแต่งกลิ่นและรสต่อไป

4. ผลิตภัณฑ์หลังจากการปรุงรสด้วยยีสต์ออโตไลเซสและการทดสอบการยอมรับ

หลังจากใช้ PEYA นำมาปรุงรสร่วมกับผลิตภัณฑ์โปรตีนสกัดจากถั่วเหลืองมีรสจืดไม่มีรสชาดโดยมีส่วนประกอบส่วนใหญ่คือโปรตีน(รูปที่ 4-10)ซึ่งองค์ประกอบของสารปรุงรสคือน้ำตาลเกลือและน้ำมันพืช เป็นที่ทราบแล้วว่าถ้าผลิตภัณฑ์มีน้ำตาลเป็นส่วนผสมและได้รับความร้อนสูงจะเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด(Maillard reaction)กับองค์ประกอบที่ให้กลิ่นรสต่างๆ รวมทั้งน้ำมันพืชที่เป็นตัวเคลือบภายนอก Smoke PEYA ทำให้ผลิตภัณฑ์มีลักษณะเงามัน นำรืบทานและมีรสชาติเค็มเล็กน้อยจากเกลือ ผลที่ได้คือผลิตภัณฑ์ที่มีสีแดงส้ม(รูปที่ 4-10)มีกลิ่นหอมของเนื้อสัตว์ชวนรับประทาน โดยได้ทำการหาองค์ประกอบที่สำคัญของ PEYA ได้ดังตารางที่ 4-5



รูปที่ 4-9 แสดงส่วนใสของยีสต์ที่ผ่านการระเหยน้ำออกบางส่วน



รูปที่ 4-10 แสดงโปรตีนสกัดและโปรตีนสกัดที่ผ่านการปรุงกลั่นรส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คุณค่าทางโภชนาการ

ตารางที่ 4-5 แสดงส่วนประกอบที่สำคัญของผลิตภัณฑ์ยีสต์ปรุงรส

ส่วนประกอบ	ปริมาณ(เปอร์เซ็นต์)
โปรตีน	71%
ไขมัน	5%
คาร์โบไฮเดรต	16%
เถ้าถ่าน	4%



รูปที่4-11 แผนภูมิแสดงส่วนประกอบโดยประมาณของผลิตภัณฑ์ยีสต์ปรุงแต่งสำเร็จรูป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และเมื่อทำการทดสอบรสชาติโดยให้ผู้ทำสอบทำการชิมระหว่าง ผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปกับ โปรตีนสกัดจากถั่วเหลืองนั้นผลที่ได้ปรากฏดังตารางที่ 4-6

ตารางที่ 4-6 แสดงผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของผู้ทดสอบชิมเปรียบเทียบ ผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการปรุงรสกับ โปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง จากผู้ทดสอบทั้งหมด 30 คน

จำนวนผู้ยอมรับรสชาติ Smoke PEYA	จำนวนผู้ยอมรับรสชาติ โปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง
29	1

และเมื่อทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสแบบ 7-Hedonic Scale ในด้านรสสัมผัสและรสชาติโดย ใช้ผู้ทดสอบจำนวน 30 คนดังตารางที่ 4-7 ปรากฏว่าอยู่ในระดับที่สามารถยอมรับในรสชาติได้เป็น ส่วนใหญ่และระดับความชอบส่วนใหญ่จะอยู่ในด้านบวก

ตารางที่ 4-7 แสดงผลการยอมรับของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์โปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง ผ่านการปรุงรสด้วยยีสต์ออกโตไลเอส

ระดับความชอบ	จำนวน(คน)
ไม่ชอบมากที่สุด	0
ไม่ชอบปานกลาง	0
ไม่ชอบเล็กน้อย	6
ยอมรับรสชาติ	15
ชอบเล็กน้อย	6
ชอบปานกลาง	2
ชอบมากที่สุด	1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

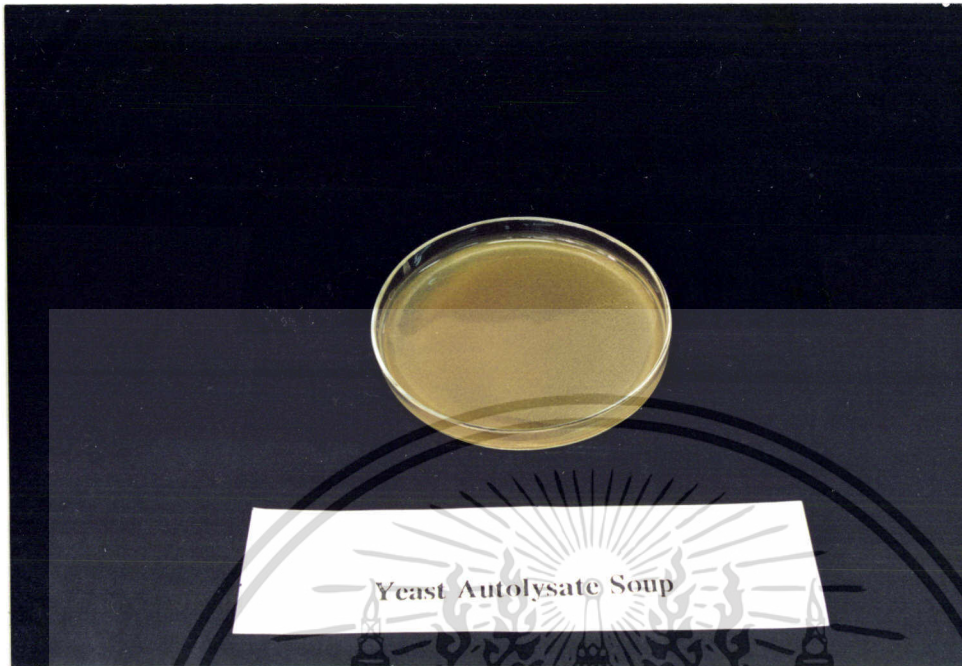
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

1.จากการทดลองโดยการนำกากยีสต์มาทำการล้างด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:3 ปรากฏว่าให้ปริมาณโปรตีนมากที่สุดและลดปริมาณความขมได้มากจนอยู่ในระดับที่ยอมรับได้

2.ภาวะที่เหมาะสมสำหรับการออโตไลซิส(Autolysis) กากยีสต์ที่ผ่านการกำจัดขอบบางส่วนนั้นคือที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส และเวลา 36 ชั่วโมงเพราะให้ปริมาณโปรตีนจากออโตไลเซตมากที่สุด

3.หลังจากได้ ออโตไลเซตเป็นจำนวนมากพอแล้วจะนำเข้าสู่กระบวนการระเหยน้ำออกด้วยเครื่อง Evaporator จนปริมาตรลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ แล้วนำไปปรุงเป็นอาหาร โดยปรุงรสร่วมกับโปรตีนสกัดจากถั่วเหลืองจะได้ผลิตภัณฑ์ที่มีกลิ่นหอมคล้ายกลิ่นเนื้อ มีความแตกต่างกันอย่างมากทั้งด้านกลิ่นและรสเมื่อเทียบกับโปรตีนสกัดจากถั่วเหลืองที่ไม่ผ่านการปรุงรสและเป็นที่ยอมรับรสชาติของผู้บริโภคในระดับหนึ่งว่าสามารถรับประทานเป็นอาหารได้ และได้รับคำแนะนำว่าถ้าได้รับการปรับปรุงทางด้านรสชาติให้ดีขึ้น โดยการเติมเครื่องเทศหรือเพิ่มรสเค็มให้มากขึ้นจะเป็นที่ยอมรับต่อผู้บริโภคมากขึ้น

นอกจากสามารถผลิตเป็นอาหารขบเคี้ยวเท่านั้น แต่สามารถปรับประยุกต์ผลิตเป็นอาหารเสริมสำหรับผู้ป่วย ซึ่งมีลักษณะคล้ายกับซูปส์สกัดจากเนื้อสัตว์ แต่มีราคาที่ถูกกว่า



รูปที่ 5-1 แสดงยีสต์ที่ผ่านการปรุงรสให้มีลักษณะคล้ายซุป



รูปที่ 5-2 แสดงโปรตีนสกัดที่ผ่านการปรุงรส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

นางสาวจินตนา มาตย์วิเศษ และคณะ , ความพยายามในการใช้ยีสต์ที่ผ่านการหมักเบียร์แล้วเพื่อผลิตเป็นสารปรุงรสและกลิ่น , โครงการงานพิเศษ ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สจล. , 2537

นางสาวนพวรรณ ประเทืองสุขพงษ์ และคณะ , การศึกษาเบื้องต้นในการสกัดอาร์เอ็นเอจากยีสต์ที่ผ่านการหมักเบียร์ , โครงการงานพิเศษ ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สจล. , 2534

นายพรศักดิ์ กิติกุลและนายยุทธพงษ์ วงษ์กรรเวช , ความพยายามในการหาวิธีการและสภาวะในการกำจัดสปอร์ออกจากยีสต์แทนการใช้ด่าง , โครงการงานพิเศษ ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สจล. , 2538

นายวิวัฒน์ หวังเจริญ , การผลิตยีสต์ออโตไลสเพื่อใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหาร , วิทยานิพนธ์ ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย , 2535

Anna Kockova ' -Kratochvilova' , **Yeast and Yeast -like Organism** , 1990

A.O.A.C. 1980. **Official methods of analysis** . 13 th ed. Washington D.C.: Association of Official Analytical Chemists.

Dziedzic, J.D. 1987. **Yeast and yeast derivatives: Application**. *Food Tech.* 41(2): 122-124.

Goldberg, I., and Williams, R. 1991. **Biotechnology and food ingredients**. New York: Van Nostrand Reinhold.

Hough, J.S., and Maddox, I.S. 1970. **Yeast autolysis**. *Process Biochem.* 5: 50 - 53

Maltz, M.A. 1981. **Protein food supplements - Recent advances**. New Jersey : Noyes Data Corp.

Reed, G. , and Peppler, H.J. 1973. **Yeast technology**. Westport, Connecticut : AVI Publishing.

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

ภาคผนวก ก.

การกำจัดฮอปออกบางส่วนจาก กากยีสต์

ตัวอย่างที่ 1 โดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์(NaOH) 0.1เปอร์เซ็นต์

1. ชั่งกากยีสต์ 250 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์สะอาดขนาด 1000 มิลลิลิตร
2. เติมน้ำละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1เปอร์เซ็นต์ 750 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์
3. คนด้วยแท่งแก้วคนอย่างเบามือเพื่อให้ยีสต์กระจายตัวไม่เกาะกันเป็นก้อน ใช้เวลาในการคน 30 นาที

4. ตั้งทิ้งไว้ให้ยีสต์ตกตะกอนเป็นเวลา 30 นาที
5. กำจัดส่วนสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เป็นส่วนใสออก
6. ตักยีสต์ที่เป็นส่วนสีขาวนวลแยกออกจากชั้นของฮอปที่มีสีเขียวอย่าให้สองส่วนปนกัน
7. นำตะกอนยีสต์ส่วนที่ขาวนวลใส่ในหลอดเซนตริฟิวจ์แล้วหมุนเหวี่ยงที่ 1,300 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 นาที
8. เก็บเฉพาะส่วนที่เป็นตัวเซลล์ยีสต์แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 3 เท่าของน้ำหนัวยีสต์แล้วเก็บไว้ใช้ในการทดลองต่อไป ทิ้งส่วนที่เป็นตะกอนสีเขียว
9. เก็บรักษายีสต์ไว้ในตู้เย็นโดยไม่ให้อุณหภูมิไม่เกิน 4 องศาเซลเซียสและไม่ค้างจนถึงจุดเยือกแข็ง

* ตลอดทุกขั้นตอนการทดลองควรรักษาอุณหภูมิไว้ไม่เกิน 4 องศาเซลเซียส(พริกตี้,2538)

ตัวอย่างที่ 2 โดยใช้โซเดียมคลอไรด์(NaCl) 0.85เปอร์เซ็นต์

1. ชั่ง กากยีสต์ 200 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์สะอาดขนาด 1000 มิลลิลิตร
2. เติมน้ำละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.85เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 600 มิลลิลิตร
3. คนด้วยแท่งแก้วคน พยายามให้ยีสต์และสารละลายผสมกันมากที่สุดแต่อย่ากวนแรงจนเกินไป

4. ตั้งทิ้งไว้ให้ยีสต์ตกตะกอนเป็นเวลา 30 นาที
5. นำส่วนสารละลายใสกับตะกอนเขียวส่วนล่างสุดทิ้งไป เหลือแต่เฉพาะส่วนที่เป็นยีสต์ครีมขาว

6. นำยีสต์ที่ได้ใส่ในหลอดเซนตริฟิวจ์แล้วปั่นที่ 4,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 นาที
7. เก็บเฉพาะส่วนตัวเซลล์สีขาวนวลไว้เท่านั้นเพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

* ตลอดทุกขั้นตอนการทดลองควรรักษาอุณหภูมิไว้ไม่เกิน 4 องศาเซลเซียส(พริกตี้,2538)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการวิเคราะห์หาโปรตีนโดย Kjeldahl Method

1. นำสารละลายตัวอย่างที่ได้จากการเลี้ยงในชั่วโมงสุดท้ายมาเซนตริฟิวจ์ และ อบแห้งตามวิธีในข้อ 4.1 (ไม่ต้องชั่งน้ำหนักแห้ง แต่ควรให้ได้เซลล์แห้งประมาณ 1 กรัม เพื่อให้เพียงพอที่จะใช้ในการวิเคราะห์)

2. นำตัวอย่างแห้งที่มีน้ำหนัก 1 กรัม มาใส่ใน Kjeldahl flask

3. เติม K_2SO_4 7.68 กรัม, $CuSO_4$ 0.28 กรัม และ selenium dioxide (SeO_2) 0.04 กรัม ลงใน Kjeldahl flask เพื่อเป็นตัวเร่ง (catalyst)

4. ค่อยๆ เติม H_2SO_4 conc. 12 ml. ลงไปใน Kjeldahl flask และใส่ลูกแก้วกันการเดือดอย่างรุนแรง 2-3 เม็ด

5. นำไปย่อยบนตะเกียงบุนเซ็น ตอนแรกใช้ไฟอ่อนๆ จนกระทั่งไม่มีฟองเกิดขึ้นแล้วจึงใช้ไฟแรง ในระหว่างการย่อยให้เขย่าฟลาสก์เป็นครั้งคราว ย่อยต่อไปจนได้สารละลายใสเป็นสีฟ้าหรือเขียวแล้วจึงย่อยต่ออีก 10 นาที จากนั้นจึงปิดไฟ

6. ปลอ่ยให้สารละลายเย็น เติมน้ำกลั่นที่ไม่มีแอมโมเนีย 70 ml. (เวลาเติมน้ำกลั่นให้ล้างที่รอบๆ ปากฟลาสก์ เพื่อให้สารที่เกาะอยู่ละลายลงไปรวมกัน) ต่อฟลาสก์เข้ากับ Kjeldahl bulb เขย่าจนสารละลายต่างๆ ละลายหมด

7. ต่อฟลาสก์เข้ากับเครื่องกลั่น

8. นำ H_3BO_3 (4เปอร์เซ็นต์) 50 ml. ใส่ฟลาสก์แล้วนำมารองสารละลายที่ได้จากการกลั่นตัว (diltillate) ระวังต้องปลอ่ยให้ปลายท่อกลั่นอยู่ใต้ H_3BO_3 ตลอดเวลา เมื่อเตรียมทุกอย่างเรียบร้อยแล้วค่อยๆ เติม NaOH 30เปอร์เซ็นต์ ลงไป 80 ml. ปิดปากฟลาสก์ด้วย Kjeldahl bulb เขย่าฟลาสก์จะได้สารละลายสีดํา

9. กลั่นจนได้ diltillate 150-200 ml. เมื่อครบให้เลื่อนฟลาสก์ออก ให้ปลายท่อกลั่นแตะที่ปากฟลาสก์ 5 นาที

10. ทิ้งให้เย็นแล้วจึงนำไปไทเทรตกับ 0.1 N H_2SO_4 โดยใช้ screened methyl red (เป็นส่วนผสมของ 0.16เปอร์เซ็นต์ methyl red และ 0.083เปอร์เซ็นต์ bromcresol green ใน alcohol) เป็น indicator โดยหยด 2-3 หยด

11. ปริมาณกรดมาตรฐานที่ใช้ในการไทเทรต นำมาคำนวณหา เปอร์เซ็นต์ โปรตีน ตามสูตร

12. ทำ Blank ควบคู่กันไปด้วย โดยทำทุกขั้นตอนเหมือนกัน ยกเว้นไม่ใส่ตัวอย่าง

เปอร์เซ็นต์โปรตีน = $\frac{(\text{ปริมาตรกรดที่ใช้} - \text{Blank}) \times N. \text{ของกรด} \times 14 \times 6.25 \times 100}{1000 \times \text{น.น.เซลล์}}$

1000 x น.น.เซลล์

12. วิเคราะห์ เปอร์เซ็นต์ โปรตีนของเซลล์จุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การหาน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี Somogyi-Nelson(1944)

วิธีการ

1.ทำกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส ความเข้มข้น 20,40,60,80,100,120,140 และ 160 ไมครกรัม/มิลลิลิตร

2.นำสารละลายน้ำตาล 1 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองเดิมสาร คอปเปอร์รีเอเจนท์(Copper reagent) 1 มิลลิลิตร เขย่าสารละลายให้เข้ากันดี นำไปคัมในน้ำเดือดนาน 15 นาที ทำให้เย็น เติม Nelson's reagent 1 มิลลิลิตร เขย่าสารละลายผสมนี้และตั้งทิ้งไว้ 15 นาที เติมน้ำ 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปวัดค่าโปรตีน ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร

3.หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากตัวอย่าง โดยใช้สารละลาย 1 มิลลิลิตรทำเช่นเดียวกับข้อ 2 นำค่าโปรตีน ที่ได้เปรียบเทียบกับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากกราฟมาตรฐาน

วิธีการเตรียมสารเคมี

-Somogyi reagent

Copper reagent A

ละลาย 25 กรัมของ Na_2CO_3 (anhydrous), 25 กรัมของ sodium potassium tartrate(Rochelle salt), 20 กรัมของ NaHCO_3 , และ 200 กรัมของ Na_2SO_4 (anhydrous) ในน้ำกลั่นประมาณ 800 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ด้วยพลาสติกปรับปริมาตร

Copper reagent B(2)

ละลาย 15 กรัมของ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตรด้วยพลาสติกปรับปริมาตร

นำ 25 ส่วนของ reagent A ผสมกับ 1 ส่วนของ reagent B เตรียมเมื่อต้องการใช้เท่านั้น

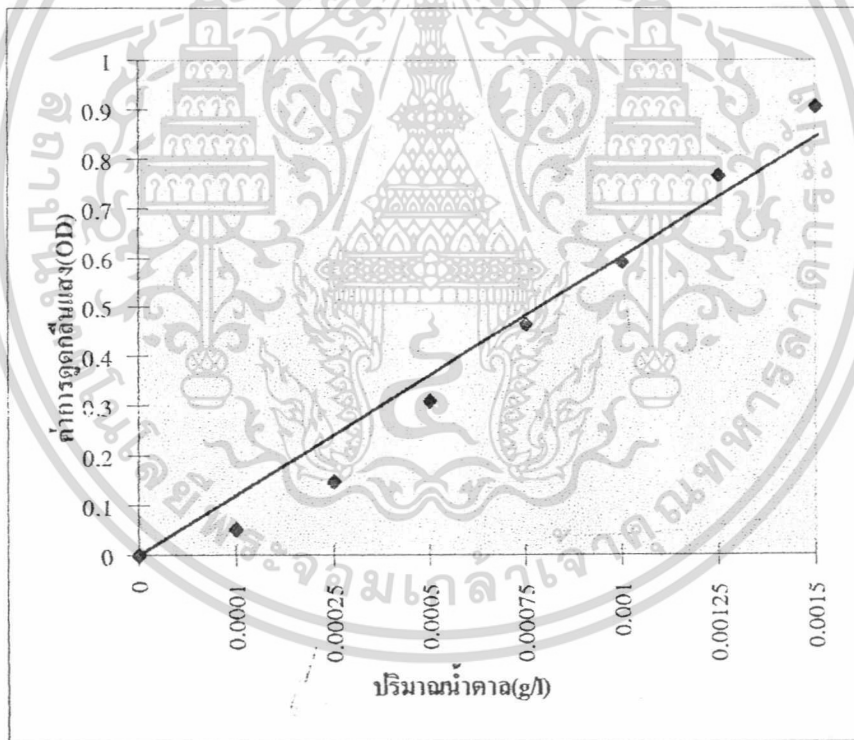
-Nelson's reagent

ละลาย ammonium molybdate 50 กรัม ในน้ำกลั่น 900 มิลลิลิตร เติม Conc. H_2SO_4 42 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน เติม $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Sodium arsenate) 6 กรัม ที่ละลายในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ด้วยพลาสติกปรับปริมาตร บ่ม 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา

24-48 ชั่วโมงก่อนนำไปใช้ สารละลายต้องเก็บในขวดสีชา

ตารางที่ ๕ แสดงปริมาณน้ำตาลมาตรฐาน

ปริมาณน้ำตาล(g/ml)	ค่าการดูดกลืนแสง(OD)
0	0
0.0001	0.0526
0.00025	0.147
0.0005	0.311
0.00075	0.463
0.001	0.595
0.00125	0.768
0.0015	0.907



รูปที่ ๕ แผนภูมิแสดงปริมาณน้ำตาลมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการวิเคราะห์หาโปรตีนโดยใช้วิธี ลาร์วี่-โฟลิน(Lowry et al,1951)

สารเคมี

1. สารละลาย Na_2CO_3 2เปอร์เซ็นต์ ใน 0.1 N NaOH 1 ลิตร
2. สารละลาย Potassium sodium tetrates 2.7 เปอร์เซ็นต์ 50 มิลลิลิตร. ในน้ำกลั่น
3. สารละลาย $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 1เปอร์เซ็นต์ ละลายน้ำกลั่น 50-100 มิลลิลิตร.
4. สารละลาย alkali copper ใช้สารละลายในข้อที่ 1 100 มิลลิลิตร. เติมสารละลายในข้อที่ 2. 1 มิลลิลิตร .และสารละลายในข้อ 3. 1 มิลลิลิตร (สารละลายนี้เตรียมเมื่อต้องการใช้เท่านั้น)
5. 1 N Folin-Ciocalteu reagent นำสารละลายนี้มาเจือจางด้วยน้ำในอัตราส่วน 1:1 ก่อนใช้
6. สารละลายมาตรฐานโปรตีน ใช้ Bovine serum albumin ปริมาณ 0.250 กรัม ในพลาสติกปรับปริมาตร เติมน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร. นำสารละลายมาทำให้เจือจางโดยได้ความเข้มข้น 25-250 ไมโครกรัม/ลิตร

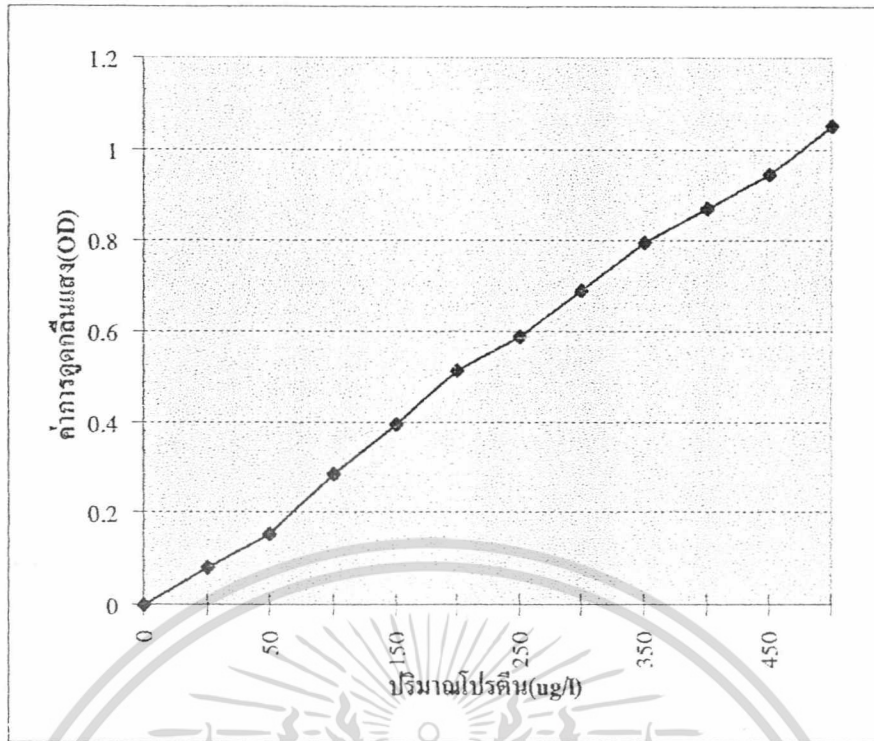
วิธีการ

1. หากราฟมาตรฐานโดยใช้สารละลายมาตรฐานโปรตีนของ Bovine serum albumin ความเข้มข้น 25,50,100,150,200 และ 250 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร
2. นำตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร. ใส่หลอดทดสอบ
3. เติมสารละลาย alkali copper 5.0 มิลลิลิตร. ผสมให้เข้ากันทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที
4. เติม 1 N Folin-Ciocalteu phenol reagent 0.5 มิลลิลิตร. ผสมกันอย่างรวดเร็ว ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที เพื่อให้เกิดสีอย่างสมบูรณ์ นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 750 นาโนเมตร เขียนกราฟระหว่างการดูดกลืนแสงกับปริมาณโปรตีน
5. หาปริมาณโปรตีนจากสารตัวอย่าง ทำการวิเคราะห์ตามวิธีข้อ 2-4 และหาปริมาณโปรตีนโดยเทียบกับกราฟมาตรฐานถ้าตัวอย่างมีโปรตีนสูงกว่าช่วงกราฟมาตรฐานต้องเจือจางให้อยู่ในช่วงที่วิเคราะห์ได้

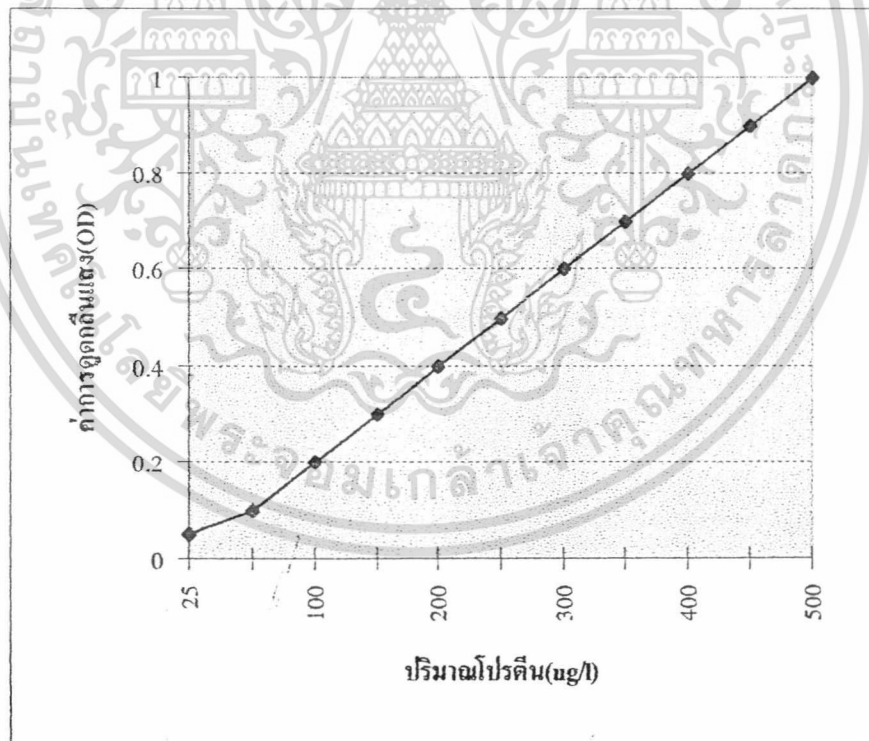
ตารางที่ 7 แสดงปริมาณโปรตีนมาตรฐาน

ความเข้มข้น ($\mu\text{g/l}$)	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ค่าเฉลี่ย
25	0.078	0.084	0.079	0.0803
50	0.158	0.158	0.146	0.1540
100	0.284	0.278	0.296	0.2860
150	0.397	0.403	0.385	0.3950
200	0.513	0.5	0.533	0.5153
250	0.585	0.59	0.588	0.5877
300	0.7	0.696	0.676	0.6907
350	0.799	0.79	0.808	0.7990
400	0.874	0.866	0.874	0.8713
450	0.95	0.938	0.953	0.9470
500	1.045	1.034	1.074	1.0510

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 7 แสดงปริมาณโปรตีนมาตรฐานจาก bovine serum albumin



รูปที่ 8 แสดงปริมาณโปรตีนมาตรฐานจากการคำนวณสมการถดถอย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีเตรียมสารเคมี

1. 25 เปอร์เซ็นต์ NaOH

-ใช้ ขวดปรับปริมาตร 1,000 ml. เติมน้ำ 200 มิลลิลิตร

-ชั่ง NaOH (analysis grade) 250 กรัม ละลายในบีกเกอร์ 1,000 มิลลิลิตร ที่มีน้ำอยู่ 600 มิลลิลิตร

ค่อยๆ ละลายเพราะมีความร้อนเกิดขึ้น

-นำสารละลายที่ละลายแล้วเทใส่ ขวดปรับปริมาตร เติมน้ำให้ครบ กวนให้ละลายใส่ในขวดสีชา เขียนฉลากปิดเก็บสารละลายไว้ 12 ชั่วโมงก่อนนำไปใช้

2. 0.1 เปอร์เซ็นต์ NaOH

-NaOH 25 เปอร์เซ็นต์ มา 80 มิลลิลิตร โดยใช้กระบอกควง

-เตรียมภาชนะถึงพลาสติกทนค้างขนาด 20 ลิตร เติมน้ำกลั่นลงไป 2 ลิตร

-เทสารละลาย NaOH 25 เปอร์เซ็นต์ ในถังไม้พายเหล็กคนสารแล้วเติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตร 20 ลิตร

เขียนฉลากปิดไว้ใน cold room ทิ้งไว้ 12 ชั่วโมงก่อนนำไปใช้

3. 0.85 เปอร์เซ็นต์ NaCl

-ใช้ ขวดปรับปริมาตร 1,000 ml

-ชั่ง NaCl 8.5 กรัม

-ใส่ใน ขวดปรับปริมาตร แล้วปรับปริมาตรเป็น 1,000 ml

4. Screened methyl red

เป็นส่วนผสมของ 0.16 เปอร์เซ็นต์ methyl red และ 0.083 เปอร์เซ็นต์ bromcresol green ใน alcohol

5. H₂SO₄ 0.1 N

1. นำขวดปรับปริมาตร 1000 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นลงไปประมาณ 400 มิลลิลิตร

2. ใส่น้ำกรดขี้เหล็ก 99.99 เปอร์เซ็นต์ (conc) 10 มิลลิลิตร ใส่ลงไปขวดปรับปริมาตร

3. เติมน้ำกลั่นให้ครบขีดขวดปรับปริมาตร 1000 มิลลิลิตร แล้วเขย่า ทำฉลากไว้ เก็บไว้ในขวดสีชาที่

อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12 ชั่วโมงก่อนนำไปใช้

5. H₃BO₃ 4 เปอร์เซ็นต์

1. ชั่งกรดบอริกบนตาชั่ง 2 ตำแหน่งจำนวน 40 กรัม

2. เติมน้ำในขวดปรับปริมาตร 1000 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

3. เก็บไว้ในขวดโดยปิดฝาให้สนิท เพื่อป้องกันการทำปฏิกิริยาระหว่างสารละลายกับออกซิเจน เขียนฉลาก

ภาคผนวก ข.

การทดสอบทางสถิติ

การทดสอบด้วยตาราง ANOVA

การทดสอบค่าทางสถิติ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 7 แสดงการแปรค่าระหว่างเวลาและอุณหภูมิ

การทดสอบค่าทางสถิติ($p \leq 0.05$)

ANALYSIS OF VARIANCE

Source of Variation	Sum of Squares	DF	Mean Square	F	Sig
Main Effects	244443.216	4	61110.804	16.999	.000
TEMP	156077.268	2	78038.634	21.708	.000
TIME	88365.948	2	44182.974	12.290	.000
2-Way Interactions	33086.637	4	8271.659	2.301	.098
TEMP TIME	33086.637	4	8271.659	2.301	.098
Explained	277529.853	8	34691.232	9.650	.000
Residual	64709.045	18	3594.947		
Total	342238.898	26	13163.035		

27 cases were processed.

0 cases (.0 pct) were missing.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การแปรค่าระหว่างค่าโปรตีนกับอุณหภูมิ

ตารางที่ 8 แสดงการแปรค่าระหว่างค่าโปรตีนกับอุณหภูมิ

Analysis of Variance					
Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	2	156077.2676	78038.6338	10.0608	.0007
Within Groups	24	186161.6303	7756.7346		
Total	26	342238.8980			

การแปรค่าระหว่างค่าโปรตีนกับเวลา

ตารางที่ 9 แสดงการแปรค่าระหว่างค่าโปรตีนกับเวลา

Analysis of Variance					
Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	2	88365.9483	44182.9742	4.1769	.0278
Within Groups	24	253872.9496	10578.0396		
Total	26	342238.8980			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยหลังการวิเคราะห์ความแปรปรวน

การทดสอบสมมติฐานโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยสถิติ F เป็นการทดสอบสมมติฐานเกี่ยวกับความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยตั้งแต่สามกลุ่มขึ้นไปว่าความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของประชากรกลุ่มเหล่านั้นแตกต่างกันหรือไม่ ถ้าภายหลังการทดสอบยอมรับ H_1 แสดงว่าค่าเฉลี่ยของประชากรเหล่านั้นแตกต่างกัน แต่ไม่ทราบว่าค่าเฉลี่ยของประชากรคู่ใดบ้างที่แตกต่างกัน ผลการทดสอบทราบเพียงว่าอย่างน้อยจะมีค่าเฉลี่ยหนึ่งค่าที่แตกต่างกับค่าเฉลี่ยอื่นๆ ฉะนั้นถ้าภายหลังการ

วิเคราะห์ความแปรปรวนมีนัยสำคัญ ผู้วิจัยจะต้องทำการเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยว่ามีค่าเฉลี่ยคู่ใดบ้างที่แตกต่างกัน ซึ่งวิธีดังกล่าวเรียกว่าการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยภายหลังการวิเคราะห์ความแปรปรวน หรือการเปรียบเทียบพหุคูณ(Multiple Comparison)

วิธีการเปรียบเทียบมีหลายวิธีแต่ที่ใช้ในการทดลองมีดังต่อไปนี้

1. วิธีผลต่างอย่างมีนัยสำคัญน้อยที่สุด(Least Significant Difference)
2. วิธีของทูกี(Tukey)
3. วิธี สติวเคนต์-นิวแมน-คูลส์(Student-Newman-Keuls)
4. วิธีของคันทัน(Duncan)

วิธีผลต่างอย่างมีนัยสำคัญน้อยที่สุด(Least Significant Difference)

การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธีผลต่างอย่างมีนัยสำคัญน้อยที่สุด(LSD)เป็นการเปรียบเทียบโดยกำหนดค่าที่น้อยที่สุด เพื่อเป็นค่าเปรียบเทียบ ถ้าผลต่างของค่าเฉลี่ยคู่ใดมีค่ามากกว่าค่าที่กำหนดขึ้นก็แสดงว่าค่าเฉลี่ยคู่นั้นแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญการเปรียบเทียบวิธีนี้เป็นที่นิยมมากเนื่องจากการคำนวณง่ายและการทดสอบให้ผลเชื่อถือได้มากพอสมควร ลักษณะการเปรียบเทียบมีหลักเกณฑ์เช่นเดียวกับการทดสอบค่าที่

ขั้นตอนในการเปรียบเทียบโดยวิธีผลต่างอย่างมีนัยสำคัญน้อยที่สุดมีดังนี้

1. คำนวณค่า LSD จากสูตร

$$LSD = t_{\alpha/2(v)} (S^2 (1/n_i + 1/n_j))^{1/2}$$

$$= t_{\alpha/2(v)} (MS_w (1/n_i + 1/n_j))^{1/2}$$

เมื่อ t คือ

ค่าที่ได้จากตารางการแจกแจงที่ ระดับความมีนัยสำคัญ $\alpha/2$ ชั้นความเป็นอิสระ V

S^2 คือ

ความแปรปรวนร่วม(Pooled Variance)และจากการวิเคราะห์ความแปรปรวน $S^2 = MS$

MS_w คือ

ค่าเฉลี่ยของความแปรปรวนภายในกลุ่ม ซึ่งได้จากการวิเคราะห์ความแปรปรวน

V คือ ชั้นความเป็นอิสระของความแปรปรวนภายในประชากร โดย

$$V = N - k$$

N คือ จำนวนตัวอย่างทั้งหมด

k คือ จำนวนกลุ่มทดลอง

n_i, n_j คือ ขนาดของตัวอย่างในกลุ่มทดลองที่ i และ j ตามลำดับ ถ้าขนาดตัวอย่างในกลุ่มทดลองมีจำนวนเท่ากัน ($n_i = n_j$) จะได้ว่า

$$\begin{aligned} \text{LSD} &= t_{\alpha/2(V)} (S^2 (2/n))^{1/2} \\ &= t_{\alpha/2(V)} (2S^2/n)^{1/2} \end{aligned}$$

หรือ
$$\text{LSD} = t_{\alpha/2(V)} (2MS_w/n)^{1/2}$$

2. หาผลต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของกลุ่มตัวอย่างแต่ละคู่

3. เปรียบเทียบค่าความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของตัวอย่างแต่ละคู่กับค่า LSD ที่คำนวณได้ ซึ่งผลการเปรียบเทียบค่าความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของตัวอย่างจากประชากรคู่ใดมีค่า

3.1 มากกว่าค่า LSD ที่คำนวณได้ แสดงว่าค่าเฉลี่ยของประชากรคู่ นั้นแตกต่างกัน

3.2 น้อยกว่าค่า LSD ที่คำนวณได้ แสดงว่าค่าเฉลี่ยของประชากรคู่ นั้นไม่แตกต่างกัน

วิธีของทูกี (Tukey)

การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธีนี้บางครั้งเรียกว่า Honestly Significant Difference (HSD) ซึ่งเป็นวิธีการที่ให้ความสะดวกในการทดสอบเนื่องจากในการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละคู่ ใช้ค่าเพียงค่าเดียวเป็นตัวเปรียบเทียบ

ขั้นตอนในการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธีของทูกีมีดังนี้

$$\text{HSD} = q_{\alpha(K, N-k)} (MS_w/n)^{1/2}$$

$q_{\alpha(K, N-k)}$ คือ ค่า q จากตารางสถิติเวิน ไทซ์ เรนจ์ (Studentized Range) ที่

ระดับความมีนัยสำคัญ α ชั้นความเป็นอิสระ K และ N-k

MS_w คือ ค่าเฉลี่ยของความแปรปรวนภายในกลุ่ม ซึ่งได้จากการวิเคราะห์ความคลาดเคลื่อน

N คือ จำนวนตัวอย่างทั้งหมด

n คือ ขนาดของตัวอย่างในแต่ละกลุ่มทดลอง

k คือ จำนวนกลุ่มทดลอง

2. หาผลต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของกลุ่มตัวอย่างแต่ละคู่

3. เปรียบเทียบค่าความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของตัวอย่างแต่ละคู่กับค่า HSD ที่คำนวณได้ ซึ่งผลการเปรียบเทียบค่าความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของตัวอย่างจากประชากรคู่ใดมีค่า

3.1 มากกว่าค่า HSD ที่คำนวณได้ แสดงว่าค่าเฉลี่ยของประชากรคู่ นั้นแตกต่างกัน

3.2 น้อยกว่าค่า HSD ที่คำนวณได้แสดงว่าค่าเฉลี่ยของประชากรคู่หนึ่งไม่แตกต่างกัน

วิธีของสตีเวนสัน-นิวแมน-คูลส์(Student-Newman-Keuls)

วิธีของสตีเวนสัน-นิวแมน-คูลส์(SNK)เป็นวิธีเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยที่มีค่าเปรียบเทียบความมีนัยสำคัญหลายค่าตามขนาดความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละคู่ โดยในการทดสอบเมื่อได้เรียงลำดับค่าเฉลี่ยจากน้อยไปหามากแล้วจะพิจารณาถึงจำนวนค่าเฉลี่ยที่อยู่ในช่วงการเปรียบเทียบขั้นตอนในการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี SNK มีดังนี้

- 1.เรียงลำดับค่าเฉลี่ยจากน้อยไปหามาก
- 2.คำนวณค่า W_p จากสูตร

$$W_p = q_{\alpha(p,N-k)} (MS_w/n)^{1/2}$$

เมื่อ $q_{\alpha(p,N-k)}$ คือ ค่า q จากตารางสตีเวนสัน-เรนจ์(Studentized Range) ที่ระดับความมีนัยสำคัญ α ชั้นความเป็นอิสระ p และ $N-k$

p คือ จำนวนค่าเฉลี่ยที่อยู่ในช่วงที่ต้องการเปรียบเทียบ

MS_w คือ ค่าเฉลี่ยของความแปรปรวนภายในกลุ่ม

N คือ จำนวนตัวอย่างทั้งหมด

n คือ ขนาดของตัวอย่างในแต่ละกลุ่มทดลอง

k คือ จำนวนกลุ่มทดลอง

3.เปรียบเทียบค่าความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของตัวอย่างแต่ละคู่กับค่า W_p ที่คำนวณได้ ซึ่งผลการเปรียบเทียบค่าความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของตัวอย่างจากประชากรคู่ใดมีค่า

3.1 มากกว่าค่า W_p ที่คำนวณได้ แสดงว่าค่าเฉลี่ยของประชากรคู่หนึ่งแตกต่างกัน

3.2 น้อยกว่าค่า W_p ที่คำนวณได้แสดงว่าค่าเฉลี่ยของประชากรคู่หนึ่งไม่แตกต่างกัน

วิธีของคันคัง(Duncan's New Multiple Range)

การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยวิธีนี้มีวิธีการคล้ายคลึงกับวิธีของ SNK โดยจะคำนึงถึงจำนวนค่าเฉลี่ยที่อยู่ในช่วงที่ต้องการเปรียบเทียบ โดยต้องคำนวณค่า W_r จากสูตร

$$W_r = q_{\alpha(r, N-k)} (MS_w/n)^{1/2}$$
 เมื่อ $q_{\alpha(r, N-k)}$ คือ ค่า q จากตารางค้นค้น(Duncan)ที่ระดับความมีนัยสำคัญ α
 ชั้นความ เป็นอิสระ r และ $N-k$
 r คือ จำนวนค่าเฉลี่ยที่อยู่ในช่วงที่ต้องการเปรียบเทียบ
 MS_w คือ ค่าเฉลี่ยของความแปรปรวนภายในกลุ่ม
 N คือ จำนวนตัวอย่างทั้งหมด
 n คือ ขนาดของตัวอย่างในแต่ละกลุ่มทดลอง
 k คือ จำนวนกลุ่มทดลอง

3.เปรียบเทียบค่าความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของตัวอย่างแต่ละคู่กับค่า W_r ที่คำนวณได้ ซึ่งผลการเปรียบเทียบค่าความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของตัวอย่างจากประชากรคูใดมีค่า

3.1 มากกว่าค่า W_r ที่คำนวณได้ แสดงว่าค่าเฉลี่ยของประชากรคู่นั้นแตกต่างกัน

3.2 น้อยกว่าค่า W_r ที่คำนวณได้แสดงว่าค่าเฉลี่ยของประชากรคู่นั้นไม่แตกต่างกัน

การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยภายหลังการวิเคราะห์ความแปรปรวนดังกล่าวข้างต้นจะเห็นว่ามีการในการทดสอบหลายวิธี ซึ่งแต่ละวิธีก็มีผลการทดสอบและความยากง่ายแตกต่างกัน ดังนั้นในการเลือกใช้ผู้วิจัยควรคำนึงถึงความเชื่อถือได้ของการทดสอบแต่ละวิธีด้วย ซึ่งในเรื่องนี้ได้ทำการเปรียบเทียบวิธีการต่างๆ ที่ใช้ทดสอบความมีนัยสำคัญของความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของประชากร โดยมีจุดมุ่งหมายเพื่อประเมินว่า วิธีใดจะให้ผลสรุปแม่นยำและถูกต้องในการทดสอบมากกว่าวิธีอื่นๆ โดยพิจารณาจากความผิดพลาด 3 แบบ ที่เกิดขึ้นในการทดสอบแต่ละวิธีว่าวิธีใดมีความผิดพลาดเกิดขึ้นน้อยที่สุด ความผิดพลาดทั้ง 3 แบบ ได้แก่ ความผิดพลาดแบบที่ 1 (Type I Error) ความผิดพลาดแบบที่ 2 (Type II Error) และความผิดพลาดแบบที่ 3 (Type III Error) ซึ่งเป็นความผิดที่เกิดจากการสรุปผลความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของประชากรตรงข้ามกับความเป็นจริง อันเป็นผลเนื่องจากตัวอย่างที่ใช้ไม่เป็นตัวแทนที่ดีของประชากร ผลการวิจัยสรุปได้ว่าการทดสอบโดยใช้ Murphys gap LSD จะทำให้ผลสรุปได้ถูกต้องมากกว่าวิธีอื่นๆ สำหรับวิธีที่ให้ผลสรุปถูกต้องรองลงมาตามลำดับ ได้แก่ Murphys gap SNK วิธีผลต่างอย่างมีนัยสำคัญน้อยที่สุด (LSD) วิธีของค้นค้น วิธีของสตีเวนส์-นิวแมน-ฮูลส์ วิธีของทูกีและวิธีเซฟเฟ

อย่างไรก็ตามถ้าถือว่าความผิดแบบที่ 1 ร้ายแรงกว่าความผิดแบบที่ 2 และแบบที่ 3 วิธีของทูกี และวิธีของเซฟเฟ จะดีกว่าวิธีอื่นๆ เพราะไม่มีความผิดพลาดแบบที่ 1 เลยมีเฉพาะความผิดพลาดแบบที่ 2 เท่านั้น แต่ถ้าผู้วิจัยคำนึงความสะดวกและเวลาที่ใช้ในการทดสอบแล้ว การทดสอบ

โดยใช้วิธีผลต่างอย่างมีนัยสำคัญน้อยที่สุด (LSD) เป็นวิธีที่ง่าย ใช้เวลาน้อยและให้ความถูกต้องพอสมควร

การทดสอบค่าทางสถิติ($p \leq 0.05$)

การแปรค่าอุณหภูมิ

การทดสอบหลายทางด้วยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05(Multiple Range Tests: Duncan test with significance level .05)

The difference between two means is significant if

$$\text{MEAN}(J) - \text{MEAN}(I) \geq 62.2765 * \text{RANGE} * \text{SQRT}(1/N(I) + 1/N(J))$$

with the following value(s) for RANGE:

Step	2	3
RANGE	2.92	3.06
Mean	TEMP	
	237.3128	Grp40
	360.8808	Grp45 *
	419.7661	Grp50 *

Homogeneous Subsets (highest and lowest means are not significantly different)

Subset 1

Group	Grp40
Mean	237.3128

Subset 2

Group	Grp45	Grp50
Mean	360.8808	419.7661

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดสอบค่าทางสถิติ($p \leq 0.05$)

การแปรค่าเวลา

การทดสอบหลายทางด้วยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05(Multiple Range Tests: Duncan test with significance level .05)

The difference between two means is significant if

$$\text{MEAN}(J) - \text{MEAN}(I) \geq 72.7256 * \text{RANGE} * \text{SQRT}(1/N(I) + 1/N(J))$$

with the following value(s) for RANGE:

Step	2	3
RANGE	2.92	3.06
Mean	TIME	
283.1543	Grp12	
316.9717	Grp24	
417.8337	Grp36	**

Homogeneous Subsets (highest and lowest means are not significantly different)

Subset 1

Group	Grp12	Grp24
Mean	283.1543	316.9717

Subset 2

Group	Grp36
Mean	417.8337

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้