บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

1. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบ

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของ Bottom-fermenting brewer's yeast (*Saccharomyces carlsbergensis*) ที่แยกได้จากตะกอนเบียร์ของ บริษัท ไทยอมฤต บริวเวอร์รี่ จำกัด พบว่ามีปริมาณโปรตีนและคาร์โบไฮเดรทอยู่สูง คือ ประมาณ 60.76 และ 35.34 % โดยน้ำหนักแห้งตามลำดับ (ตารางที่ 4.1) เหมาะที่จะนำมาใช้ในกระบวนการผลิตยีสต์ออโตไลเสทเพื่อใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารประเภทกลิ่นรสเนื้อ เพราะการผลิตสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารดังกล่าว จำเป็นต้องมีโปรตีนและคาร์โบไฮเดรทเป็นสารตั้งต้นของปฏิกิริยาสำคัญต่างๆ ได้แก่ Maillard reaction, Strecker degradation และ thermal degradation ในระหว่างการให้ความร้อนเพื่อทำให้เข้มข้นหรืออบแห้ง ผลิตภัณฑ์ที่ได้เป็นสารประกอบระเหยได้จำพวก furanone, pyrazine, thiazoline และ thiophene ทำให้เกิดกลิ่นหอมต่างๆ ขึ้น (Wong, 1989, Fennema, 1985, และ Zapsalis และ Beck, 1985) นอกจากนี้การที่วัตถุดิบมีไขมันในปริมาณต่ำ คือ ประมาณ 0.23 % โดยน้ำหนักแห้ง จะทำให้การย่อยสลายโปรตีนซึ่งเป็นกระบวนการสำคัญในการผลิตยีสต์ออโตไลเสทเกิดขึ้นได้ง่ายกว่า เนื่องจากไขมันสามารถรวมตัวกับโปรตีน ทำให้โครงสร้างของโปรตีนยากต่อการย่อยสลายมากขึ้น การมีไขมันในปริมาณมากจึงเป็นอุปสรรคต่อการย่อยสลายโปรตีน (Roach และ Gehrke, 1970)

2. ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายตัวเองของยีสต์

2.1 ศึกษาผลของอุณหภูมิและความเป็นกรดด่างเริ่มต้นที่เหมาะสม

การย่อยสลายตัวเองของยีสต์ เป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นโดยแอคติวิตีของเอนไซม์ต่างๆ ภายในเซลยีสต์ ดังนั้นอุณหภูมิและความเป็นกรดด่างเริ่มต้นซึ่งมีผลโดยตรงต่อแอคติวิตีของเอนไซม์ จึงเป็นสิ่งแรกที่จำเป็นต้องให้ความสนใจ และจากการศึกษาผลของอุณหภูมิและความเป็นกรดด่างเริ่มต้นที่เหมาะสมในการย่อยสลายตัวเองของยีสต์ โดยแปรอุณหภูมิและความเป็นกรดด่างเริ่มต้นในช่วง 35 - 50 °C และ 4.0 - 7.0 ตามลำดับ พบว่าช่วงอุณหภูมิและความเป็นกรดด่างเริ่มต้นที่ได้ปริมาณออโตไลเสทสูงกว่าช่วงอื่นที่ใช้ในการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) คือ 40 - 45 °C และ 5.5 - 6.0 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.2) และเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบระหว่างที่อุณหภูมิ 40 และ 45 °C ในทุกระดับความเป็นกรดด่างเริ่มต้น พบว่าที่อุณหภูมิ 45 °C ได้ปริมาณออโตไลเสทสูงกว่า จึงเลือกอุณหภูมินี้ไว้ใช้ในการทดลองขั้นต่อไป นอกจากนี้การเลือกอุณหภูมิ 45 °C ซึ่งเป็นอุณหภูมิสูงกว่ายังมีข้อได้เปรียบอีกประการหนึ่ง คือช่วยลดการเจริญของแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในระหว่างการย่อยสลายได้ดีกว่า(Reed และ Peppler, 1973) ส่วนการพิจารณาเปรียบเทียบความเป็นกรดด่างเริ่มต้นระหว่าง 5.5 และ 6.0 ในทุกระดับอุณหภูมิ พบว่าที่ความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 5.5 ได้ปริมาณออโตไลเสทสูงกว่า จึงเลือกความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 5.5 ไว้ใช้ในการทดลองขั้นต่อไป และเนื่องจากความเป็นกรดด่างเริ่มต้นที่ใช้อยู่ในช่วงกรด จึงช่วยลดปัญหาเรื่องความขมในออโตไลเสทที่ผลิตจากยีสต์จากกระบวนการผลิตเบียร์ได้ เพราะสารให้รสขมจากกระบวนการผลิตเบียร์อยู่ในรูปที่ไม่ละลายน้ำ และติดอยู่กับส่วนผนังเซลซึ่งต้องแยกส่วนนี้ออกในขั้นตอนต่อไป (Reed และ Nagodawithana, 1991) สำหรับปริมาณออโตไลเสทที่ผลิตได้จากอุณหภูมิ และ ความเป็นกรดด่างเริ่มต้นที่เลือกได้จากการทดลองนี้ คือ ประมาณ 30.67 %(w/w) และผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับช่วงอุณหภูมิและความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมสำหรับการทำงานของเอนไซม์ย่อยโปรตีนที่มีความสำคัญต่อกระบวนการย่อยสลายตัวเองของ *Saccharomyces carlsbergensis* ที่ Maddox และ Hough (1970) รายงานไว้ และอยู่ในช่วงที่ Robbins และคณะ (1975) Sugimoto และคณะ (1976) Chao และคณะ (1980) และ Reed และ Nagodawithana (1991) เสนอไว้

2.2 ศึกษาปริมาณของแข็งใน yeast suspension ที่เหมาะสม

เนื่องจากการผลิตยีสต์ออโตไลเสทเพื่อใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารนั้นจำเป็นต้องแยกส่วนของผนังเซล (ส่วนที่ไม่ละลาย) ออกก่อนนำมาทำให้เข้มข้นและอบแห้ง ทำให้มีออโตไลเสทบางส่วนตกค้างอยู่ในส่วนของผนังเซลดังกล่าว ดังนั้นปริมาณของแข็งใน yeast suspension ที่ใช้ผลิตยีสต์ออโตไลเสทจึงมีผลโดยตรงต่อปริมาณออโตไลเสทที่ผลิตได้ จากการศึกษาปริมาณของแข็งใน yeast suspension ที่เหมาะสมโดยแปรปริมาณของแข็งในช่วง 5 - 25 %(w/v) พบว่าการใช้ yeast suspension ที่มีปริมาณของแข็ง 15 %(w/v) เป็นระดับที่มีความเหมาะสมที่สุด เพราะยังคงได้ปริมาณออโตไลเสทในระดับสูง เมื่อเทียบกับการใช้ yeast suspension ที่มีปริมาณของแข็งในระดับที่สูงกว่า (ตารางที่ 4.3) เนื่องจากในขั้นตอนการแยกส่วนของผนังเซลออกเมื่อย่อยสลายได้ตามต้องการแล้วนั้น การใช้ yeast suspension ที่มีปริมาณของแข็งในระดับสูงจะทำให้มีออโตไลเสทตกค้างอยู่ในส่วนผนังเซลมากกว่า ส่วนการใช้ yeast suspension ที่มีปริมาณของแข็งในระดับต่ำ แม้ % ออโตไลเสทที่ผลิตได้จะอยู่ในระดับสูง แต่จะเจือจางมากเกินไป ไม่เหมาะที่จะนำมาใช้ผลิตสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหาร เพราะต้องระเหยน้ำออกมากขึ้นในขั้นตอนการทำให้เข้มข้นและอบแห้ง เป็นการเสียเวลาและสิ้นเปลืองพลังงานมากขึ้น และในการทดลองนี้ พบว่าการใช้ yeast suspension ที่มีปริมาณของแข็ง 15 %(w/v) ในการผลิตยีสต์ออโตไลเสท ให้ปริมาณออโตไลเสทประมาณ 34.12 %(w/w) ผลการทดลองในขั้นตอนนี้สอดคล้องกับที่ Peppler(1970) Reed และ Peppler (1973) Chao และคณะ(1980) และ Hill(1981) แนะนำไว้

2.3 ศึกษาผลของสารเคมีและเอนไซม์ต่อการย่อยสลายตัวเองของยีสต์

ปกติการย่อยสลายตัวเองของยีสต์โดยอาศัยเนียงแอคติวิตีของเอนไซม์ภายในเซลยีสต์เองนั้น ต้องใช้เวลานานกว่าการย่อยสลายจะเกิดขึ้น ดังนั้นการศึกษาเกี่ยวกับการใช้สารเคมีและเอนไซม์จากภายนอกที่มีผลต่อการย่อยสลายของยีสต์จึงมีความจำเป็น เพื่อลดระยะเวลาในการผลิตยีสต์ออโตไลเสท สำหรับสารเคมีและเอนไซม์ที่นิยมใช้นั้นต้องเป็นสารเคมีที่มีสมบัติเป็น plasmolyzing agent และ เอนไซม์ย่อยโปรตีน ตามลำดับ

2.3.1 ศึกษาผลของสารเคมีต่อการย่อยสลายตัวเองของยีสต์

สารเคมีที่ใช้ในการทดลองเป็นสารที่มีสมบัติเป็น plasmolyzing agent ซึ่งมีผลให้เซลยีสต์สูญเสียน้ำเพื่อรักษาสมดุลของ osmotic pressure ระหว่างภายในและภายนอกเซล ส่งผลให้ plasma membrane แตกในที่สุด องค์ประกอบต่างๆ ในเซลยีสต์จึงออกมาภายนอกเซลได้เร็วกว่าการย่อยสลายโดยไม่เติมสารเคมี จากการทดลองเติมสารเคมี 3 ชนิด คือ sodium chloride, glucose และ 95 % ethanol ในปริมาณ 1 และ 5 %(w/v) สำหรับ sodium chloride และ glucose และ 1 และ 5 %(v/v) สำหรับ 95 % ethanol พบว่าการเติม sodium chloride 1 %(w/v) ให้ออโตไลเสทที่มีปริมาณโปรตีนสูงสุด ส่วน 95% ethanol ให้ผลไม่แตกต่างจากเมื่อไม่เติมสารเคมีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$) (ตารางที่ 4.4) เนื่องจาก osmotic pressure เป็นสมบัติที่แปรผันตามจำนวนโมเลกุลของตัวถูกละลายในสารละลาย (Meyer, 1960) และเมื่อพิจารณาจำนวนโมเลกุลแล้ว พบว่า sodium chloride มีจำนวนโมเลกุลสูงกว่า เมื่อเทียบกับ glucose ซึ่งเติมลงใน yeast suspension ในปริมาณที่เท่ากัน ดังนั้นการเติม sodium chloride จึงทำให้ plasma membrane ของเซลยีสต์แตกได้เร็วกว่าการเติม glucose เพราะเซลยีสต์ต้องสูญเสียน้ำภายในเซลเพื่อรักษาสมดุลของ osmotic pressure มากกว่า plasma membrane จึงแตกเร็วกว่า ส่งผลให้ออโตไลเสทที่ผลิตได้จาก yeast suspension ที่เติม sodium chloride มีปริมาณโปรตีนสูงกว่า ส่วนการเติม 95 % ethanol นั้นได้ออโตไลเสทที่มีปริมาณโปรตีนไม่แตกต่างกับเมื่อไม่เติมสารเคมี เนื่องจากวัตถุดิบที่ใช้เป็นยีสต์จากกระบวนการผลิตเบียร์นั้นจัดเป็นยีสต์ที่ใช้ในการผลิตอัลกอฮอล์ประเภทหนึ่ง ซึ่งมีรายงานว่ายีสต์ประเภทดังกล่าวนี้สามารถทนต่ออัลกอฮอล์ได้สูงถึงประมาณ 12 % (มหาวิทยาลัย, 2527) ดังนั้นปริมาณที่ใช้ในการทดลองคือ 1 และ 5%(v/v) จึงไม่สามารถทำให้เซลยีสต์เกิด plasmolysis ได้ สำหรับปริมาณที่ใช้ในการทดลองของ sodium chloride และ glucose นั้น พบว่าการเพิ่มปริมาณจาก 1 เป็น 5 %(w/v) ของทั้ง sodium chloride และ glucose ให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$)(ตารางที่ 4.4) ดังนั้นการเติมสารเคมีทั้งสองที่ระดับ 1 %(w/v) จึงเพียงพอที่จะทำให้ plasma membrane ของเซลยีสต์แตกภายใต้ภาวะที่ใช้ในการทดลอง เพราะการทดลองขั้นตอนนี้เป็นการใช้สารเคมีร่วมกับการควบคุมภาวะ (อุณหภูมิ และความเป็นกรดด่างเริ่มต้น) ให้เหมาะสมต่อการย่อยสลายตัวเองของยีสต์ ผลการทดลองที่ได้จึงเป็นผลร่วมระหว่างการใช้สารเคมีจากภายนอกกับการทำงานของเอนไซม์ภายในเซลต่อการย่อยสลายตัว

ของยีสต์ ปริมาณของสารเคมีที่ใช้จึงค่อนข้างต่ำ สำหรับปริมาณโปรตีนสูงสุดในออโตไลเสทที่ผลิตได้จากการทดลอง คือประมาณ 6.72 % (w/v) ซึ่งเป็นออโตไลเสทที่ผลิตได้จากการเติม sodium chloride 1 %(w/v) ใน yeast suspension ก่อนการย่อยสลาย ผลการทดลองในขั้นตอนนี้สอดคล้องกับที่ Reed และ Nagodawithana (1991) รายงานไว้ว่า sodium chloride เป็น plasmolyzing agent ที่ดีที่สุดในการผลิตสารสกัดจากยีสต์ และใช้ในปริมาณที่ใกล้เคียงกับบริษัท Abel & Imray (1948) และ Peppler (1970)

2.3.2 ศึกษาผลของสารเคมีร่วมกับเอนไซม์ Neutrase® 0.5 L ต่อการย่อยสลายตัวเองของยีสต์

เนื่องจากเอนไซม์ Neutrase® 0.5 L เป็นเอนไซม์ย่อยโปรตีนชนิดหนึ่งจึงสามารถใช้เร่งการย่อยสลายตัวเองของยีสต์ได้ และที่สำคัญ คือ มีช่วงอุณหภูมิและความเป็นกรดด่างที่เหมาะสม 45 - 55 °C และ 5.5 -7.5 ตามลำดับ (Novo Industri A/S, 1987) ซึ่งอยู่ในช่วงเดียวกับภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายตัวเองของยีสต์ในงานวิจัยนี้ ดังนั้นจึงเลือกศึกษาเอนไซม์ Neutrase® 0.5 L ในการเร่งการย่อยสลายตัวเองของยีสต์

การศึกษาผลของสารเคมีร่วมกับเอนไซม์ Neutrase® 0.5 L ต่อการย่อยสลายตัวเองของยีสต์ โดยแปรปริมาณเอนไซม์ Neutrase® 0.5 Lในช่วง 0.01 - 0.2 %(v/v) ร่วมกับ sodium chloride ที่ระดับ 1%(w/v) ผลการทดลองพบว่าออโตไลเสทที่ผลิตได้มีปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจน ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด โปรตีน และ อัตราส่วนของปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนต่อปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด มีค่าใกล้เคียงกัน (ตารางที่ 4.5) เมื่อนำมาวิเคราะห์ผลปรากฏว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($p \geq 0.05$) (ตารางที่ ข4) แต่เมื่อทดลองใช้เอนไซม์ Neutrase® 0.5 L โดยไม่เติม sodium chloride พบว่าการใช้เอนไซม์มีผลทำให้ออโตไลเสทที่ผลิตได้มีปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจน ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด โปรตีน และ อัตราส่วนของปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนต่อปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ 4.6 และ ข5) โดยการใช้เอนไซม์ Neutrase® 0.5 L ที่ระดับ 0.10 และ 0.20 %(v/v) ทำให้ออโตไลเสทที่ผลิตได้มีปริมาณต่างๆ ดังกล่าวสูงกว่าเมื่อไม่ใช้หรือใช้ที่ระดับอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($p \leq 0.05$) และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างการใช้เอนไซม์ที่ระดับ 0.10 และ 0.20 %(v/v) พบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($p \geq 0.05$) (ตารางที่ 4.6) ดังนั้นการใช้เอนไซม์ที่ระดับ 0.10 %(v/v) จึงเพียงพอสำหรับเร่งการย่อย

สลายตัวเองของยีสต์ และเพื่อเป็นข้อมูลเพิ่มเติมเกี่ยวกับแอคติวิตีของเอนไซม์ Neutrase ® 0.5 L ในภาวะที่มี sodium chloride 1%(w/v) จึงทดลองหาแอคติวิตีที่ลดลงของเอนไซม์ Neutrase ® 0.5 Lเมื่อเติม sodium chloride ที่ระดับ 1%(w/v) โดยใช้ bovine serum albumin เป็น substrate พบว่าแอคติวิตีของเอนไซม์ลดลงประมาณ 94.62 % (ภาคผนวก ค) ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่า sodium chloride ที่ระดับ 1%(w/v) สามารถยับยั้งแอคติวิตีของเอนไซม์ Neutrase ® 0.5 L ได้

2.4 ศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการย่อยสลายตัวเองของยีสต์

จากการทดลองที่ 2.3 พบว่าการย่อยสลายตัวเองของยีสต์เกิดขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงเวลาเพียงไม่กี่ชั่วโมง แตกต่างจากข้อมูลพื้นฐาน (Hough และ Maddox, 1970) และงานวิจัยที่เคยมีมา (ชื่นจิตต์, 2528, และ จตุพร, 2531) ซึ่งต้องใช้เวลาในการย่อยสลายอย่างต่ำ 12 ชั่วโมง ดังนั้นจึงน่าจะมีปัจจัยอื่นๆ ในการทดลองที่มีผลต่อการย่อยสลายตัวของยีสต์ ซึ่งปัจจัยที่ศึกษาได้แก่ การแช่แข็งยีสต์ การเขย่าขณะย่อยสลาย และ การใช้เอนไซม์ Neutrase ® 0.5 L 0.1 %(v/v)

เมื่อพิจารณาผลของการแช่แข็งยีสต์โดยเปรียบเทียบระหว่าง (1) ยีสต์ที่ไม่ผ่านการแช่แข็งและเขย่า (2) ยีสต์ที่ผ่านการแช่แข็งแต่ไม่เขย่า (3) ยีสต์ที่ผ่านการแช่แข็งและเขย่า และ (4) ยีสต์ที่ผ่านการแช่แข็ง เติมเอนไซม์ Neutrase ® 0.5 L 0.1 %(v/v) และเขย่า พบว่าส่วนของเหลวที่แยกได้จากยีสต์ก่อนการย่อยสลาย (ที่เวลา 0 ชั่วโมง) ของยีสต์ที่ผ่านการแช่แข็งจะมีปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจน ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด และ โปรตีน มากกว่ายีสต์ที่ไม่ผ่านการแช่แข็ง (รูปที่ 4.2 - 4.4 และ ตารางที่ 4.7 - 4.9) เนื่องจากการแช่แข็งที่ใช้เป็นแบบ slow freezing ทำให้เกิดการเยือกแข็งภายนอกเซล ผลึกน้ำแข็งมีขนาดใหญ่และอาจขยายโตทะลุผ่านผนังเซลเข้าไป (Fennema, 1975) ทำให้ผนังเซลยีสต์เกิดความเสียหายบางส่วน องค์ประกอบภายในเซลยีสต์จึงสามารถออกมาภายนอกเซลได้ และการแช่แข็งยีสต์แล้วนำมาละลายนั้นจัดเป็นวิธีทำลายผนังเซลยีสต์วิธีหนึ่งด้วย (Maltz, 1981) และเมื่อพิจารณาปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจน ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด โปรตีน และ อัตราส่วนของปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนกับปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในออโตไลเสทที่เวลา 1 - 10 ชั่วโมงของยีสต์ที่ผ่านการแช่แข็งและเขย่า และ ยีสต์ที่ไม่ผ่านการแช่แข็งและเขย่า พบว่ายีสต์ที่ผ่านการแช่แข็งและเขย่ามีปริมาณต่างๆ ดังกล่าวข้างต้นมากกว่ายีสต์ที่ไม่ผ่านการแช่แข็งและเขย่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

(ตารางที่ 4.7 - 4.10) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในช่วง 4 ชั่วโมงแรก ปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจน ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด และ โปรตีน ในออโตไลเสทที่ผลิตได้จากยีสต์ที่ผ่านการแช่แข็งและเขย่า มีค่าประมาณ 3 เท่าของยีสต์ที่ไม่ผ่านการแช่แข็งและเขย่า จึงถือได้ว่าการแช่แข็งมีผลต่อการย่อยสลายตัวเองของยีสต์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) นอกจากนี้การแช่แข็งยังเป็นวิธีเก็บรักษายีสต์ที่สะดวกวิธีหนึ่ง เหมาะสำหรับการเก็บยีสต์ไว้ชั่วคราวเพื่อรอป้อนเข้าสู่กระบวนการผลิต แต่ไม่ควรเก็บยีสต์ไว้เป็นเวลานานๆ เพราะจะสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายในการเก็บมากเกินไป

เมื่อพิจารณาผลของการเขย่าขณะย่อยสลาย โดยเปรียบเทียบระหว่าง (1) ยีสต์ที่ไม่ผ่านการแช่แข็งและเขย่า (2) ยีสต์ที่ผ่านการแช่แข็งแต่ไม่เขย่า (3) ยีสต์ที่ผ่านการแช่แข็งและเขย่า และ (4) ยีสต์ที่ผ่านการแช่แข็ง เติมเอนไซม์ Neutrase ® 0.5 L 0.1 %(v/v) และเขย่า พบว่าการเพิ่มขึ้นของปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจน ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด และโปรตีนในออโตไลเสทที่ผลิตโดยมีการเขย่าจะมีแนวโน้มการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว(รูปที่ 4.2 - 4.4) และเมื่อพิจารณาเฉพาะกรณีของ (2) ยีสต์ที่ผ่านการแช่แข็งแต่ไม่เขย่า และ (3) ยีสต์ที่ผ่านการแช่แข็งและเขย่า พบว่าปริมาณต่างๆ ดังกล่าวข้างต้น และ อัตราส่วนของปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนต่อปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในออโตไลเสทของยีสต์ที่ผ่านการแช่แข็งและเขย่า มีค่ามากกว่ายีสต์ที่ผ่านการแช่แข็งแต่ไม่เขย่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ 4.7 - 4.10) โดยเฉพาะในช่วง 4 ชั่วโมงแรก ปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจน ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด และ โปรตีน ในออโตไลเสทที่ผลิตได้จากยีสต์ที่ผ่านการแช่แข็งและเขย่ามีค่าประมาณ 1.7 เท่าของยีสต์ที่ผ่านการแช่แข็งแต่ไม่เขย่า ดังนั้นการเขย่าขณะย่อยสลายจึงมีผลต่อการย่อยสลายตัวเองของยีสต์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($p \leq 0.05$) เนื่องจากการเขย่าช่วยให้องค์ประกอบต่างๆ ภายในเซลยีสต์ออกมาภายนอกเซลได้มากกว่าเมื่อไม่เขย่า นอกจากนี้ยังเป็นการเพิ่มโอกาสในการสัมผัสกันของเอนไซม์กับ substrate ทำให้การย่อยสลายเกิดได้สูงขึ้น (รูปที่ 4.2 - 4.5)

และเมื่อพิจารณาผลของการใช้เอนไซม์ Neutrase ® 0.5 L 0.1 %(v/v) โดยเปรียบเทียบระหว่างกรณีของ (3) ยีสต์ที่ผ่านการแช่แข็งและเขย่า กับ (4) ยีสต์ที่ผ่านการแช่แข็ง เติมเอนไซม์ และเขย่า พบว่าปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจน ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด และ โปรตีนในออโตไลเสทของ ยีสต์ที่ผ่านการแช่แข็ง เติมเอนไซม์ และเขย่า มีค่ามากกว่า ยีสต์ที่ผ่านการแช่แข็งและเขย่า อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในช่วงชั่วโมงแรกๆ ของการย่อยสลาย (ตารางที่ 4.7 - 4.10) เนื่องจากเอนไซม์ที่เติมลงไปเป็นเอนไซม์ช่วยย่อยสลาย

องค์ประกอบต่างๆ ที่เป็นโปรตีนโมเลกุลใหญ่ๆ ของเซลยีสต์ให้อยู่ในรูปที่ละลายน้ำ(โมเลกุลเล็กๆ) ได้มากกว่าเมื่อไม่เติมเอนไซม์ ส่วนในช่วงหลังของการย่อยสลาย แม้ปริมาณต่างๆ ดังกล่าวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($p \geq 0.05$) แต่การเติมเอนไซม์ยังคงมีแนวโน้มให้ปริมาณต่างๆ สูงกว่าเมื่อไม่เติมเอนไซม์อยู่ (รูปที่ 4.2 - 4.4) เนื่องจากโปรตีนที่เป็นส่วนประกอบของเซลยีสต์ในส่วนที่ไม่ละลายน้ำ เช่น ผนังเซล อาจถูกย่อยออกมาได้มากขึ้น ส่วนอัตราส่วนของปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนต่อปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในออโตไลเสทที่ผลิตได้จาก (4) ยีสต์ที่ผ่านการแช่แข็ง เติมเอนไซม์ และเขย่า มีค่ามากกว่า (3) ยีสต์ที่ผ่านการแช่แข็งและเขย่า อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($p \leq 0.05$) เกือบตลอดเวลาที่ใช้ในการทดลอง (ตารางที่ 4.18) เนื่องจากการเติมเอนไซม์ทำให้การย่อยสลายโปรตีนเกิดได้มากขึ้นนั่นเอง

และเนื่องจาก การแช่แข็งยีสต์ การเขย่าขณะย่อยสลาย และ การใช้เอนไซม์ Neutrase® 0.5 L 0.1 %(v/v) มีผลต่อการย่อยสลายตัวเองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($p \leq 0.05$) ดังนั้นจึงเลือกยีสต์ที่ผ่านการแช่แข็ง ปรับปริมาณของแข็งใน yeast suspension เป็น 15%(w/v) เติมเอนไซม์ Neutrase® 0.5 L 0.1 %(v/v) ควบคุมให้เกิดการย่อยสลายที่อุณหภูมิ 45 °C และความเป็นกรดด่าง 5.5 เขย่าขณะย่อยสลาย เพื่อใช้ผลิตยีสต์ออโตไลเสทในการทดลองขั้นต่อไป

3. การอบแห้งยีสต์ออโตไลเสทเพื่อใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหาร

เมื่อยีสต์ออโตไลเสทถูกนำมาให้ความร้อนเพื่อทำให้เข้มข้นและอบแห้งนั้น องค์ประกอบต่างๆ ในยีสต์ออโตไลเสท ซึ่งอาจเป็นองค์ประกอบตามธรรมชาติ ได้แก่ thiamine หรือองค์ประกอบที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายของเอนไซม์ต่างๆ เช่น กรดอะมิโน (จากโปรตีน) glucose (จากคาร์โบไฮเดรท) และ น้ำตาลไรโบส และ ribose-5-phosphate (จากกรดนิวคลีอิค) จะเกิดปฏิกิริยาต่างๆ ได้แก่ Maillard reaction, Strecker degradation และ thermal degradation ในระหว่างการให้ความร้อน ทำให้เกิดสารประกอบระเหยได้จำนวนมาก (Ames และ Mac Leoad, 1985) ยีสต์ออโตไลเสทจึงมีสมบัติเป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหาร ซึ่งกลิ่นรสที่ได้จะแตกต่างกันออกไปตามภาวะที่ใช้ในการย่อยสลาย ระดับการย่อยสลาย และชนิดของยีสต์ที่ใช้ (จตุพร, 2531, และ Dziezak, 1987) แต่อย่างไรก็ตาม การทำให้เข้มข้นเพียงอย่างเดียวโดยไม่อบแห้งนั้น ภาวะที่ใช้ไม่เหมาะสมต่อการเกิด Maillard reaction เนื่องจาก Maillard reaction จะเกิดได้ดีในผลิตภัณฑ์ที่มีความชื้นต่ำกว่า 30 % และเกิดได้ดีที่

สุดในผลิตภัณฑ์ที่มีความชื้น 18 % (Lee, 1983) ซึ่งเป็นช่วงความชื้นต่ำ ดังนั้นเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีกลิ่นหอมมากขึ้นและสะดวกต่อการเก็บรักษา จึงเลือกศึกษาการอบแห้งยีสต์ออโตไลเสทในขั้นตอนการผลิตเป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารต่อไป และวิธีอบแห้งที่เลือกศึกษามี 2 วิธี คือ การอบแห้งโดยตู้อบลมร้อน และ Spray drier เนื่องจากการอบแห้งโดยตู้อบลมร้อนเป็นวิธีที่สะดวก สามารถหาเครื่องมือได้ง่ายและไม่ยุ่งยากในการเดินเครื่อง ส่วน Spray drier เป็นการอบแห้งที่สามารถรักษาคุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์ไว้ได้ดีกว่า และยังมีสมบัติการละลายดีกว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการอบแห้งโดยตู้อบลมร้อน จึงสามารถนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารต่างๆ ได้กว้างขวางกว่า สำหรับการทดสอบสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารที่ผลิตได้ ใช้วิธีทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยเติมลงในซุปใส เนื่องจากซุปใสเป็นผลิตภัณฑ์ที่ให้กลิ่นรสได้ชัดเจนและส่วนประกอบอื่นๆ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นผักมีกลิ่นที่แตกต่างออกไป จึงไม่รบกวนต่อกลิ่นของสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารที่ต้องการทดสอบมากนัก

3.1 ศึกษาการอบแห้งยีสต์ออโตไลเสทโดยตู้อบลมร้อน

3.1.1 ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการอบแห้งโดยตู้อบลมร้อน

จากการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการอบแห้งโดยตู้อบลมร้อน โดยนำยีสต์ออโตไลเสทมาทำให้เข้มข้นจนมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ประมาณ 70 % แล้วนำมาอบแห้งแปรอุณหภูมิที่ใช้ในการอบ 3 ระดับคือ 90, 100 และ 110 °C จนกระทั่งยีสต์ออโตไลเสทมีความชื้นประมาณ 5 % นำมาบดเป็นผง และเติมลงในซุปใสเพื่อทดสอบทางประสาทสัมผัส พบว่ายีสต์ออโตไลเสทที่อบแห้งที่อุณหภูมิ 100 °C ได้คะแนนเฉลี่ยการทดสอบทางประสาทสัมผัสสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ 4.11) เนื่องจากการใช้อุณหภูมิสูงทำให้ปฏิกิริยาที่เกิดในระหว่างการให้ความร้อน โดยเฉพาะ Maillard reaction จะเกิดได้เร็วขึ้น 2 - 3 เท่าเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นทุกๆ 10 °C (de Man, 1980) ส่งผลให้เกิดกลิ่นหอมของคาราเมลจากสารพวก furanone ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ชนิดหนึ่งของ Maillard reaction มากขึ้น (Wong, 1989) และปฏิกิริยาระหว่างผลิตภัณฑ์จาก Maillard reaction กับองค์ประกอบต่างๆ หรือผลิตภัณฑ์จากการสลายตัวเนื่องจากความร้อนขององค์ประกอบต่างๆ สามารถเกิดได้มากขึ้นด้วย ได้แก่ Strecker degradation ระหว่าง dicarbonyl compound (จาก Maillard reaction) กับกรดอะมิโนอิสระที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบเกิดเป็น pyrazine และ dimethyl disulfite ปฏิกิริยาระหว่าง acetoin (จาก Maillard reaction) กับ ไฮโดรเจนซัลไฟด์ อัลดีไฮด์และแอมโมเนีย (จากการสลายตัวเนื่องจากความร้อนของ cystine) เกิดเป็น thiazoline (Fennema, 1985)

ปฏิกิริยาระหว่าง 4-hydroxy-5-methyl-3(2H)furanone (จาก Maillard reaction) กับไฮโดรเจนซัลไฟด์ เกิดเป็น mercapto-substituted furans และ thiophenes (Wong, 1989) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีกลิ่นหอมเกิดขึ้นได้มากกว่าที่อุณหภูมิต่ำ นอกจากปฏิกิริยาที่กล่าวมาข้างต้นแล้ว ปฏิกิริยาการสลายตัวเนื่องจากความร้อนของ thiamine เป็นอีกสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดสารประกอบระเหยได้ที่ให้กลิ่นในยีสต์ออโตไลเสท (Ames และ Mac Leoad, 1985) แต่การใช้อุณหภูมิ 110 °C ซึ่งเป็นอุณหภูมิสูงสุดในการทดลองได้คะแนนเฉลี่ยการทดสอบทางประสาทสัมผัสต่ำนั้นเนื่องจากเป็นอุณหภูมิที่สูง ประกอบกับต้องใช้เวลาในการอบเพื่อลดความชื้นให้เหลือ 5 % ตามต้องการ และการควบคุมการทำแห้งโดยไม่ให้เกิด overheat ทำได้ยาก ส่งผลให้ยีสต์ออโตไลเสทที่อบแห้งมีกลิ่นไหม้และรสขมจนผู้ทดสอบสามารถรับรู้ได้ นอกจากนี้ที่อุณหภูมิ 110 °C ยังเป็นจุดเดือดของสารประกอบระเหยได้ 2 ชนิด ที่ให้กลิ่นของเนื้อสัตว์ในยีสต์ออโตไลเสท คือ dimethyl disulfite และ pentane 2,3 dione (Fluka Chemie AG, 1990) จึงอาจเป็นอีกสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ยีสต์ออโตไลเสทที่อบแห้งที่อุณหภูมิดังกล่าวมีกลิ่นเนื้อน้อยลง คะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสจึงต่ำลง

3.1.2 ศึกษาอัตราส่วนของปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนต่อปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของยีสต์ออโตไลเสทที่เหมาะสม

อัตราส่วนของปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนต่อปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดเป็นค่าที่ใช้บอกระดับการย่อยสลายของยีสต์ออโตไลเสท เมื่ออัตราส่วนดังกล่าวมีค่าแตกต่างกันแสดงว่าโปรตีนในยีสต์ออโตไลเสทถูกเปลี่ยนเป็นกรดอะมิโนในปริมาณที่แตกต่างกัน การนำยีสต์ออโต-ไลเสทที่มีอัตราส่วนดังกล่าวต่างกันมาอบแห้งเพื่อใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหาร จึงส่งผลให้ยีสต์ออโตไลเสทที่อบแห้งได้มีสมบัติด้านกลิ่นรสที่แตกต่างกัน เนื่องจากองค์ประกอบในยีสต์ออโต-ไลเสทนั้นต่างกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งกรดอะมิโนซึ่งเป็นสารตั้งต้นที่สำคัญสำหรับปฏิกิริยาต่างๆ ที่มีผลให้เกิดสารประกอบระเหยได้ต่างๆ ต่อไป จากการศึกษาอัตราส่วนของปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนต่อปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของยีสต์ออโตไลเสทที่เหมาะสมเมื่ออบแห้งโดยตู้อบลมร้อนโดยแปรอัตราส่วนดังกล่าวในช่วง 40 - 60 % พบว่ายีสต์ออโตไลเสทที่มีอัตราส่วนของปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนต่อปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ 60 % ได้คะแนนเฉลี่ยการทดสอบทางประสาทสัมผัสสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($p \leq 0.05$)(ตารางที่ 4.12) เพราะเมื่อยีสต์ออโต-ไลเสทมีกรดอะมิโนปริมาณสูงจะสามารถทำปฏิกิริยาต่างๆ กับองค์ประกอบของอาหารในระหว่างได้

รับความร้อน ทำให้เกิดสารประกอบที่ระเหยได้มากกว่า จึงมีกลิ่นหอมมากขึ้น (Grace, 1974) นอกจากนี้กรดอะมิโนยังมีสมบัติให้รสชาติต่างๆ แก่อาหารด้วย (Goldberg และ Williams, 1991) ทำให้เมื่อนำยีสต์ออโตไลเสทที่มีอัตราส่วนของปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนต่อปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดสูงกว่า ซึ่งมีกรดอะมิโนอยู่มากกว่า มาอบแห้ง จึงให้กลิ่นและรสชาติที่ดีกว่า ผลการทดลองในขั้นตอนนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Pham และ del Rosario (1983) ซึ่งรายงานว่าคะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสของโปรตีนไฮโดรไลเสทที่ผลิตจากมะพร้าวและถั่วเหลืองสกัดน้ำมันมีค่าแปรผันตามปริมาณกรดอะมิโนในโปรตีนไฮโดรไลเสทนั้น

3.2 ศึกษาการอบแห้งยีสต์ออโตไลเสทโดย Spray drier

การอบแห้งยีสต์ออโตไลเสทโดย Spray drier ในขั้นตอนนี้ศึกษาอัตราส่วนของปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนต่อปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของยีสต์ออโตไลเสทที่เหมาะสม โดยแปรอัตราส่วนดังกล่าวในช่วง 40 - 60 % พบว่ายีสต์ออโตไลเสทที่มีอัตราส่วนของปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนต่อปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด 60 % ได้คะแนนเฉลี่ยการทดสอบทางประสาทสัมผัสสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($p \leq 0.05$)(ตารางที่ 4.13) เพราะมีกรดอะมิโนปริมาณสูงกว่าเช่นเดียวกับข้อ 3.1.2

3.3 ศึกษาผลของวิธีการอบแห้งยีสต์ออโตไลเสท

การศึกษาผลของวิธีการอบแห้งยีสต์ออโตไลเสท พบว่าการอบแห้งโดยตู้อบลมร้อนได้คะแนนเฉลี่ยการทดสอบทางประสาทสัมผัสสูงกว่าการอบแห้งโดย Spray drier อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ 4.14) เพราะการอบแห้งด้วย Spray drier นั้นความร้อนที่ใช้ในการอบแห้งซึ่งมาจากลมร้อนของเครื่อง Spray drier ถูกใช้ในการระเหยน้ำออกจากยีสต์ออโตไลเสทอย่างรวดเร็วเนื่องจากผิวสัมผัสระหว่างลมร้อนต่อยีสต์ออโตไลเสทมีมาก ทำให้อุณหภูมิของลมร้อนลดต่ำลงอย่างเร็ว ประกอบกับระยะเวลาในการอบแห้งสั้นมาก ทำให้เกิดปฏิกิริยาต่างๆ ภายใต้อิทธิพลของความร้อนได้น้อยกว่าการอบแห้งโดยตู้อบลมร้อน จึงมีสารประกอบระเหยได้ซึ่งส่วนใหญ่เป็นผลิตภัณฑ์จาก Maillard reaction หรือปฏิกิริยาระหว่างผลิตภัณฑ์จาก Maillard reaction กับองค์ประกอบต่างๆ หรือผลิตภัณฑ์จากการสลายตัวเนื่องจากความร้อนขององค์ประกอบต่างๆ ในยีสต์ออโตไลเสทซึ่งเป็นตัวการสำคัญในการเกิดกลิ่นอยู่น้อยกว่ายีสต์ออโตไลเสทที่อบแห้งโดยตู้อบลมร้อน

4. การปรุงแต่งยีสต์ออโตไลเสทเพื่อใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหาร

การผลิตยีสต์ออโตไลเสทเพื่อใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารนั้น สามารถปรับปรุงให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีกลิ่นรสใกล้เคียงเนื้อสัตว์มากขึ้น โดยเติมน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและไขมันชนิดอิ่มตัวลงไปในยีสต์ออโตไลเสทก่อนนำมาทำให้เข้มข้นและอบแห้ง (Gasser และ Huster, 1978) เพื่อให้ยีสต์ออโตไลเสทซึ่งประกอบด้วยกรดอะมิโนและโปรตีนเป็นส่วนใหญ่มีองค์ประกอบใกล้เคียงกับเนื้อสัตว์มากขึ้น ดังนั้นเมื่อองค์ประกอบต่างๆ ทำปฏิกิริยากันภายใต้อิทธิพลของความร้อน กลิ่นรสที่ได้จะใกล้เคียงกับเนื้อสัตว์มากขึ้นเช่นกัน

สารที่ใช้ปรุงแต่งยีสต์ออโตไลเสทในการทดลองขั้นตอนนี้ คือ glucose (น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว) และ น้ำมันมะพร้าว (น้ำมันพืชชนิดเดียวที่มีกรดไขมันชนิดอิ่มตัวอยู่มาก) โดยทดลองเติม glucose และน้ำมันมะพร้าวอย่างใดอย่างหนึ่งหรือทั้ง 2 อย่างในปริมาณ 1 กรัมต่อยีสต์ออโตไลเสท 100 มิลลิลิตร นำมาระเหยน้ำออกจนกระทั่งมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ประมาณ 70 % แล้วอบแห้งจนมีความชื้นประมาณ 5 % บดเป็นผง เติมลงในซุปใสเพื่อทดสอบทางประสาทสัมผัส จากการทดลองพบว่าการปรุงแต่งยีสต์ออโตไลเสทมีผลต่อคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยยีสต์ออโตไลเสทที่เติม glucose มีคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสสูงกว่ายีสต์ออโตไลเสทที่เติมน้ำมันมะพร้าว เติมทั้ง glucose และน้ำมันมะพร้าว หรือไม่เติมอะไรเลย(ตารางที่ 4.15) เนื่องจากการที่ยีสต์ออโตไลเสทมีน้ำตาลเพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้อัตราการเกิด Maillard reaction สูงขึ้น (de Man, 1980) ทำให้มีสารประกอบระเหยได้ซึ่งส่วนใหญ่เป็นผลิตภัณฑ์จาก Maillard reaction ปฏิกิริยาระหว่างผลิตภัณฑ์จาก Maillard reaction กับองค์ประกอบต่างๆ หรือผลิตภัณฑ์จากการสลายตัวเนื่องจากความร้อนขององค์ประกอบต่างๆ ในยีสต์ออโตไลเสทซึ่งเป็นตัวการสำคัญในการเกิดกลิ่นอยู่มากขึ้น ส่วนการเติมน้ำมันมะพร้าวนั้น เนื่องจากน้ำมันมะพร้าว มีกรดไขมันชนิดอิ่มตัวอยู่มากแต่เป็นพวกโมเลกุลสั้นๆ (ศศิเกษม และ พรรณี, 2530) เมื่อเกิดปฏิกิริยาภายใต้อิทธิพลของความร้อน (oxidation/degradation) ผลิตภัณฑ์ที่ได้จะเป็นสารประกอบระเหยได้พวกอัลกอฮอล์ alkanone และ alkaenol ซึ่งไม่มีผลต่อกลิ่นของยีสต์ออโตไลเสท ส่วนสารประกอบระเหยได้ที่มีผลต่อกลิ่นของยีสต์ออโตไลเสทนั้นต้องเป็นผลิตภัณฑ์จากกรดไขมันที่มีโมเลกุลยาวๆ ซึ่งมีคาร์บอนอยู่ในโมเลกุลประมาณ 18 - 28 ตัว (Ames และ Mac Leoad, 1985) ผลการทดลองในขั้นตอนนี้สอดคล้องกับหลักการผลิตสารให้กลิ่นรสเนื้อโดยใช้ Maillard reaction เป็นพื้นฐาน ซึ่ง

วัตถุดิบที่ใช้ต้องประกอบด้วย น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว กรดอะมิโน และ สารที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบ นำมาผสมเข้าด้วยกัน แล้วให้ความร้อนจนกระทั่งเป็นของเหลวสีน้ำตาล จากนั้นจึงนำไปอบแห้งต่อไป (Endel, 1982)

5. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหาร

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหาร พบว่า มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบเป็นส่วนใหญ่ คือ ประมาณ 61.65 % รองลงมา คือ คาร์โบไฮเดรท ประมาณ 28.79 % แต่มีไขมันและเถ้าในปริมาณต่ำ ประมาณ 0.29 และ 3.59 % ตามลำดับ ทำให้สารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารดังกล่าวสามารถเพิ่มกลิ่นรสให้แก่อาหารได้เป็นอย่างดี เนื่องจากประกอบด้วยโปรตีนและคาร์โบไฮเดรท ซึ่งเป็นตัวการสำคัญทำให้เกิดกลิ่นรสในอาหาร นอกจากนี้การที่สารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารมีเกลืออยู่ในปริมาณต่ำ คือ ประมาณ 0.53 % ทำให้สามารถใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารต่างๆ ได้อย่างกว้างขวาง ซึ่งเป็นข้อได้เปรียบเทียบอย่างหนึ่งของสารปรุงแต่งกลิ่นรสที่ผลิตจากยีสต์ออโตไลเสท เมื่อเทียบกับสารปรุงแต่งกลิ่นรสที่ผลิตจากโปรตีนไฮโดรไลเสทอื่นๆ ที่ใช้การย่อยสลายด้วยกรด (Tuley, 1986)

6. การใช้ประโยชน์สารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารในผลิตภัณฑ์บิสกิต

การใช้สารปรุงแต่งกลิ่นรสที่ผลิตจากยีสต์ออโตไลเสทในต่างประเทศ มีใช้กันอย่างแพร่หลายในผลิตภัณฑ์อาหารหลายชนิด เช่น barbecue sauce, gravy, stews, hams, hot dogs, sausage, bacons, meat loaf, canned meats, bouillon, baby foods, vegetable soup, spreads, soy sauce, seasonings, condiments, salad dressing, curry powder, crackers, cheese puffs และ biscuits เป็นต้น (Dziezak, 1987) สำหรับในประเทศไทย ปัจจุบันมีการใช้สารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารดังกล่าวในผลิตภัณฑ์หลายชนิด เช่น ผลิตภัณฑ์น้ำโปรตีนสกัด (bouillon) ผลิตภัณฑ์เส้นบะหมี่กึ่งสำเร็จรูป ผลิตภัณฑ์ซุปไก่ก้อน และโจ๊ก เป็นต้น (อรัญ และ ไพโรจน์ม 2528) ในการทดลองขั้นนี้เลือกใช้สารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารที่ผลิตได้ในผลิตภัณฑ์บิสกิต เนื่องจากเป็นผลิตภัณฑ์ที่คนไทยนิยมบริโภค สะดวกในการทดสอบทางประสาทสัมผัส และยังถือได้ว่าเป็นผลิตภัณฑ์บิสกิตกลิ่นรสใหม่อีกด้วย จากการทดลองแปรปริมาณสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารที่ผลิตได้ในผลิตภัณฑ์บิสกิตในช่วง 0 - 3 %โดย

น้ำหนักแป้ง พบว่าการใช้สารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารมีผลต่อคะแนนเฉลี่ยการทดสอบทางประสาทสัมผัสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($p \leq 0.05$) โดยการใช้สารปรุงแต่งกลิ่นรสที่ระดับ 2 % โดยน้ำหนักแป้งได้คะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสสูงสุด (ตารางที่ 4.16) จึงถือเป็นระดับที่เหมาะสมสำหรับการใช้สารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารที่ผลิตจากยีสต์ออโตไลเสทในผลิตภัณฑ์ดังกล่าว เพราะถ้าเพิ่มปริมาณสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารมากขึ้น จะทำให้ผลิตภัณฑ์มีกลิ่นแรงมากเกินไปผู้บริโภคบางกลุ่มไม่ชอบ ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับปริมาณยีสต์ออโตไลเสทที่ Dziezak (1987) แนะนำให้ใช้ในสูตรผลิตภัณฑ์บิสกิต

7. <u>การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของกรดอะมิโนอิสระ</u>

กรดอะมิโนอิสระเป็นสารประกอบที่สำคัญยิ่งในยีสต์ออโตไลเสท เพราะเป็นสารตั้งต้นในการเกิดปฏิกิริยาต่างๆ ภายใต้อิทธิพลของความร้อน เช่น Maillard reaction, Strecker degradation และ Thermal degradation ทำให้เกิดกลิ่นหอมของอาหาร ดังนั้นจึงศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดอะมิโนอิสระในยีสต์ออโตไลเสทที่มีอัตราส่วนของปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนต่อปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดต่างๆ และการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดอะมิโนอิสระในยีสต์ออโตไลเสทก่อนและหลังการอบแห้ง เพื่อสนับสนุนผลการทดลองในขั้นตอนการอบแห้งยีสต์ออโต-ไลเสทเพื่อใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหาร

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณของกรดอะมิโนอิสระแต่ละชนิดในยีสต์ออโตไลเสทที่มีอัตราส่วนของปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนต่อปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด 40, 50 และ 60 % พบว่าเมื่ออัตราส่วนของปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนต่อปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดสูงขึ้น ยีสต์ออโตไลเสทจะมีปริมาณกรดอะมิโนอิสระมากขึ้นตามลำดับ (ตารางที่ 4.18) เนื่องจากเมื่อยีสต์ออโตไลเสทที่มีอัตราส่วนดังกล่าวสูง แสดงว่า โปรตีนในยีสต์ออโตไลเสทถูกย่อยสลายเป็นกรดอะมิโนในปริมาณที่มากขึ้น และเมื่อนำยีสต์ออโตไลเสทที่มีอัตราส่วนของปริมาณแอลฟาอะมิโนไนโตรเจนต่อปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด 60 % มาระเหยน้ำออกที่อุณหภูมิ 100 °C จนมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ประมาณ 70 % แล้วอบโดยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 100 °C จนกระทั่งได้ผลิตภัณฑ์ที่มีความชื้นประมาณ 5 % บดเป็นผงนำมาละลายด้วยน้ำกลั่นจนมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้เท่ากับเริ่มต้น(ก่อนการระเหยน้ำออก) เพื่อวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดอะมิโนอิสระเปรียบเทียบกับยีสต์ออโตไลเสทก่อนการอบแห้ง พบว่าปริมาณของกรดอะมิโนอิสระทุกชนิดมีค่าลดลง (ตารางที่ 4.19) โดยเฉพาะอย่างยิ่งกรดอะมิโน

ที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบ คือ cystine และ methionine มีค่าลดลงมากที่สุด คือ 100 และ 76.43 % ตามลำดับ สอดคล้องกับการลดลงของกรดอะมิโนใน Beef Lyophilized Diffusate เมื่อได้รับความร้อนที่ Macy และคณะ (1964) รายงานไว้ เนื่องจากกรดอะมิโนดังกล่าวจะเกิดปฏิกิริยาต่างๆ ร่วมกับ reducing sugars โดยเฉพาะ reducing sugar ที่มีจำนวนคาร์บอนในโมเลกุล 5 ตัว คือ ribose จากการย่อยสลาย RNA ของยีสต์ เกิดเป็นสารประกอบระเหยได้ที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบซึ่งให้กลิ่นของเนื้อสัตว์ออกมา สารประกอบระเหยได้เหล่านี้ ได้แก่ mercapto-substituted furans และ thiophanes (Wong, 1989) ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาระหว่าง 4-hydroxy-5-methyl-3(2H)furanone (HMFone) และไฮโดรเจนซัลไฟด์ โดยที่ HMFone เกิดจาก ribose-5-phosphate (จากการย่อยสลาย RNA ของยีสต์) ได้รับความร้อนที่ 100 °C ความเป็นกรดด่าง 5.5 หรือ ปฏิกิริยาระหว่าง pyrrolidone-5-carboxylic acid (เกิดจาก glutamic acid ทำปฏิกิริยากับแอมโมเนียในระหว่างให้ความร้อน) กับ ribose-5-phosphate และ Maillard reaction ของ ribose จากการย่อยสลาย RNA ของยีสต์ (Ames และ Mac Leoad, 1985) ส่วนไฮโดรเจนซัลไฟด์เกิดจาก Thermal degradation ของกรดอะมิโนที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบ (Fennema, 1985) ซึ่งปริมาณไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่เกิดขึ้นจะมากหรือน้อยเพียงใดขึ้นกับอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการให้ความร้อน ถ้าใช้อุณหภูมิสูงหรือเวลามาก ปริมาณไฮโดรเจนซัลไฟด์ที่เกิดขึ้นจะมาก (Parr และ Levett, 1969, และ Peerson และ von Sydow, 1973) ส่วนกรดอะมิโนชนิดอื่นๆ จะเกิดปฏิกิริยาต่างๆ เช่น thermal degradation, Strecker degradation และ Maillard reaction ทำให้มีปริมาณลดลง สำหรับยีสต์ออโตไลเสทที่อบแห้งโดย Spray drier นั้น เมื่อนำมาละลายด้วยน้ำกลั่นจนมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้เท่ากับเริ่มต้น(ก่อนอบแห้ง) พบว่า มีปริมาณของกรดอะมิโนอิสระลดลง (ตารางที่ 4.20) แต่ลดลงในปริมาณที่น้อยกว่ายีสต์ออโตไลเสทที่อบแห้งโดยตู้อบลมร้อน เนื่องจากภาวะในการอบแห้งโดย Spray drier นั้น ความร้อนส่วนใหญ่จะถูกใช้ในการระเหยน้ำออกอย่างรวดเร็ว ทำให้อุณหภูมิของลมร้อนลดต่ำลงมาก ประกอบกับเวลาที่ใช้ในการอบแห้งสั้นมาก การสูญเสียกรดอะมิโนเนื่องจากปฏิกิริยาต่างๆ ภายใต้อิทธิพลของความร้อนจึงเกิดขึ้นน้อยกว่า เป็นเหตุให้ยีสต์ออโตไลเสทที่อบแห้งโดย Spray drier มีกลิ่นหอมด้อยกว่ายีสต์ออโตไลเสทที่อบแห้งโดยตู้อบลมร้อน

เมื่อพิจารณาปริมาณของกรดอะมิโนอิสระในการปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารที่ผลิตได้ พบว่ามีปริมาณกรดอะมิโนอิสระอยู่ในปริมาณมาก (ตารางที่ 4.21) การใช้สารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารเติมลงในอาหารจึงเป็นการเพิ่มกลิ่นรสให้แก่อาหารได้อย่างดี เนื่องจากกรดอะมิโนอิสระในสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารสามารถเกิดปฏิกิริยากับองค์ประกอบต่างๆ ของอาหารในระหว่างหุงต้ม ทำให้เกิดสารประกอบระเหยได้ขึ้นอีกจำนวนมาก (Grace, 1974) อาหารจึงมีกลิ่นหอมมากขึ้น และกรดอะมิโนเองก็ยังมีสมบัติให้รสชาติต่างๆ แก่อาหารอีกด้วย (Goldberg และ Williams, 1991)

การผลิตยีสต์ออโตไลเสทเพื่อใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารจึงมีประโยชน์อย่างมากต่ออุตสาหกรรมอาหาร เพราะสามารถใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารชนิดต่างๆ ได้อย่างกว้างขวาง สามารถเพิ่มกลิ่นรสให้แก่ผลิตภัณฑ์อาหารต่างๆ ได้อย่างดี และยังประกอบด้วยกรดอะมิโนซึ่งมีคุณค่าทางโภชนาการในปริมาณสูงอีกด้วย