การพัฒนาการผลิตขนมตาลโดยกล้าเชื้อที่แยกได้จากเนื้อตาลสุก

ปาลิดา ตั้งอนุรัตน์[1*] ปริญญา ฝาระมี[1] ชลดา รุ่งเรือง[1] ธัญญารัตน์ ปัญญายิ่ง[1] เจริญ เจริญชัย[1]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการผลิตขนมตาลจากเชื้อยีสต์ที่แยกจากเนื้อตาลสุก และตรวจสอบ คุณลักษณะทางเคมีกายภาพ และทางประสาทสัมผัส นำเชื้อยีสต์ที่แยกได้ทั้งหมด 17 ไอโซเลท มาคัดเลือก ยีสต์ที่มีความสามารถในการหมักดีที่สุด โดยสามารถคัดเลือกยีสต์ 7 ไอโซเลท ที่มีความสามารถในการหมัก สารประกอบคาร์บอน และผลิตก๊าซได้เร็วที่สุดในแป้งขนมตาล จากนั้นนำทั้ง 7 ไอโซเลท มาจัดจำแนกด้วยการหาลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ D1/D2 ของ 26S rDNA พบว่าเป็นยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae, Hanseniaspora guilliermondii* และ *Metschnikowia agaves* โดย *H. guilliermondii* มีความสามารถในการหมักแป้งสำหรับผลิตขนมตาลได้ดีที่สุดซึ่งนำมาใช้เป็นกล้าเชื้อ โดยแบ่งสูตรการผลิตขนมตาลออกเป็น 4 สูตร ดังนี้ KTC (ไม่เติมกล้าเชื้อและผงฟู: ควบคุม), KTS (เติมกล้าเชื้อ), KTSB (เติมกล้าเชื้อ และผงฟู) และ KTB (เติมผงฟู) พบว่า ขนมตาลควบคุมมีค่าความสว่าง (L*) มากกว่าสูตรอื่น ค่า pH มีแนวโน้ม ลดลงจาก 5.80 เป็น 5.17 - 5.56 เมื่อสิ้นสุดการหมัก KTB มีปริมาตรจำเพาะมากที่สุด ส่งผลให้ค่าแรงเฉือนมี ค่าสูงที่สุดเช่นกัน การวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัสพบว่า KTB ได้รับคะแนนความชอบมากที่สุด อย่างไรก็ตามขนมตาลที่เติมกล้าเชื้อร่วมกับผงฟูได้รับคะแนนความชอบในระดับชอบปานกลางด้านกลิ่น รสชาติ และความชอบโดยรวมเช่นกัน ($p \leq 0.05$)

คำสำคัญ : ขนมตาล กล้าเชื้อ *Hanseniaspora guilliermondii*

[1] *สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี*

* *ผู้นิพนธ์หลัก อีเมล: palida_t@rmutt.ac.th*

DEVELOPMENT OF KHANOM TAN (TODDY PALM CAKE) PRODUCED BY STARTER CULTURE ISOLATED FROM RIPE TODDY PALM PULP

T. Palida[1*] F. Parinya[1] R. Chonlada[1] P. Tanyarat[1] C. Charoen[1]

Abstract

This research aims to study the production of Toddy Palm Cake (Khanom-Tan) by yeast isolated from ripe Palmyrah fruit pulps and to investigate the physicochemical characteristics and sensory evaluation. A total of 17 isolates were obtained for preriminary screening based on fementation ability, the number was reduced to 7 isolates that could be fermented carbon compounds and produced gas rapidly in the Toddy Palm Flour. In addition, all the 7 isolates were identification by partial sequencing of the D1 / D2 region of 26S rDNA showed them to be *Saccharomyces cerevisiae, Hanseniaspora guilliermondii* and *Metschnikowia agaves. H. guilliermondii* showed efficacy to ferment flour for Khanom-Tan production that used as starter culture. Four formulations were produced Khanom Tan: KTC (no starter and baking powder: control), KTS (with starter culture), KTSB (with starter culture and baking powder), and KTB (with baking powder). The physical analysis found that the brightness (L*) significantly different in KTC was higher than others. The pH were dereased from initial 5.80 to 5.17 - 5.56 at the end of fermentation time. The KTB showed that the highest specific volume and also shear force. For sensory evaluation, the result showed that the KTB had the highest sensory scores in all attributes. However, KTSB also possess moderately like scores of flavor, taste and overall acceptance ($p \leq 0.05$).

Keywords : Toddy palm cake, Starter culture, *Hanseniaspora guilliermondii*

[1] *Division of Food Science and Technology, Faculty of Agricultural Technology, Rajamangala University of Technology Thanyaburi*

**Corresponding author, E-mail : palida_t@rmutt.ac.th*

บทนำ

ขนมตาลเป็นขนมไทยดั้งเดิม เนื้อขนมมีลักษณะเป็นแป้งสีเหลืองเข้ม นุ่ม ฟู มีกลิ่นตาลหอมหวาน ทำจากเนื้อลูกตาลที่สุกงอม แป้งข้าวเจ้า กะทิ และน้ำตาลผสมกันตามกรรมวิธี ใส่กระทงใบตองโรยมะพร้าวขูด และนำไปนึ่งจนสุก เนื้อลูกตาลยีที่เป็นส่วนผสมในการทำขนมตาล ได้จากการนำลูกตาลที่สุกจนเหลืองดำ เนื้อ ข้างในมีสีเหลือง มีกลิ่นแรง มาปอกเปลือกออกแล้วยีกับน้ำสะอาดให้หมดสีเหลือง นำน้ำที่ยีแล้วใส่ถุงผ้าแขวนไว้ 12 ชั่วโมง จะได้เนื้อตาลข้น ในปัจจุบันหาทานขนมตาลรสชาติดีได้ยากเนื่องจากปริมาณการปลูกต้นตาลที่ลดลง ขนมตาลที่ขายตามท้องตลาดส่วนใหญ่ผู้ประกอบการมักใส่เนื้อตาลน้อย เพิ่มแป้งและเจือสีเหลืองแทน ซึ่งทำให้ ขนมตาลมีเนื้อกระด้าง ไม่หอมกลิ่นตาล และไม่อร่อย (อรรณพ, 2551) หรืออาจใส่ผงฟูเพื่อช่วยในการพองตัวของขนม ทำให้ไม่ได้กลิ่นหอมของขนมตาลแบบดั้งเดิมซึ่งได้จากการหมักแป้งโดยยีสต์ที่อยู่ในเนื้อลูกตาลตามธรรมชาติ

ยีสต์ที่มักพบในเนื้อตาลสุกมีอยู่ 4 สกุล ได้แก่ *Saccharomyces* spp., *Candida* spp., *Kloeckera* spp. *และ Hanseniaspora* spp. (*อรวรรณ*, 2554) มีบทบาทสำคัญต่อการขึ้นฟูของขนมตาลตามธรรมชาติ โดยยีสต์จะหมักน้ำตาลและ แหล่งคาร์บอนอื่นๆ ในแป้งขนมตาลเปลี่ยนเป็นแอลกอฮอล์และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ทำให้ขนมตาลขึ้นฟูได้

Hanseniaspora guilliermondii เป็นยีสต์ apiculate ปกติมักพบเป็นจุลินทรีย์ประจำถิ่นในน้ำองุ่น ก่อให้เกิดการหมักตามธรรมชาติซึ่งจะมีเชื้อยีสต์ที่แตกต่างกันออกไป ในช่วงแรกของการหมักมักจะพบยีสต์ใน กลุ่มของ *Kloeckera* และ *Hanseniaspora* ยีสต์สกุลนี้สามารถหมักน้ำองุ่นให้มีปริมาณแอลกอฮอล์สูงสุดประมาณ 5% โดยปริมาตร (Albergaria *et al.,* 2003) ในช่วง 4-6 วันแรกของการหมัก หลังจากนี้ก็จะค่อย ๆ ลดจำนวนลง เนื่องจากความเข้มข้นแอลกอฮอล์ที่สูงขึ้น โดย *Saccharomyces cerevisiae* ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ มีความสามารถในการหมักสูงและทนต่อแอลกอฮอล์ได้ดีกว่า ยีสต์ apiculate ได้รับความสนใจมากขึ้น เมื่อมีการศึกษาพบว่าส่งผลต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสของไวน์ เนื่องจากผลิตเอสเตอร์ได้สูง (Moreira *et al.,* 2011) โดยวัตถุประสงค์ในการศึกษาครั้งนี้เพื่อแยกยีสต์ธรรมชาติในเนื้อลูกตาลสุกที่มีความสามารถในการหมักแป้งขนมตาลได้ดีพร้อมทั้งระบุสายพันธุ์ของเชื้อยีสต์ที่คัดแยกได้ และศึกษาการใช้กล้าเชื้อในการผลิตขนมตาลต่อคุณภาพทางกายภาพ เคมี และประสาทสัมผัส

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

วัตถุประสงค์ในการศึกษาครั้งนี้เพื่อแยกยีสต์ธรรมชาติในเนื้อลูกตาลสุกที่มีความสามารถในการหมักแป้งขนมตาลได้ดีและระบุสายพันธุ์ของเชื้อยีสต์ด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุลโดยการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ D1/D2 ของ 26S rDNA เพื่อศึกษาการใช้กล้าเชื้อในการผลิตขนมตาลต่อคุณภาพทางกายภาพ เคมี และประสาทสัมผัส

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเก็บและเตรียมตัวอย่างเนื้อลูกตาลสุก

1.1 การเก็บตัวอย่าง

ลูกตาลสุกจากจังหวัดเพชรบุรี (T1) และจังหวัดปทุมธานี (T2) นำมาเก็บที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส ก่อนนำมาแยกเชื้อยีสต์บริสุทธิ์

1.2. การเตรียมเนื้อลูกตาลสุก (จันทร์, 2532)

นำลูกตาลสุกมาล้างทำความสะอาดทั้งลูก ลอกเปลือกสีดำด้านนอกออกให้หมดแกะเมล็ดออกจากกันจะพบดีตาล ซึ่งมีลักษณะเป็นเส้นใยสีน้ำตาลแข็งอยู่ระหว่างเมล็ดให้ดึงทิ้งแล้วถูไปมาบนตะแกรงตาถี่จนเนื้อตาลหลุดออกหมด (อุปกรณ์ที่ใช้ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว)

2. การเตรียมเชื้อยีสต์จากเนื้อลูกตาลสุก

2.1 การแยกเชื้อยีสต์ (Downes and Ito, 2001)

สุ่มตัวอย่างเนื้อลูกตาลสุกยีจำนวน 10 กรัม ทำการเจือจางกับน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 90 มิลลิลิตร ตีปั่นด้วยเครื่อง Stomacher เป็นเวลา 60 วินาที (10^{-1}) ทำการเจือจางไปจนถึงระดับความเจือจางที่ 10^{-6} นำตัวอย่างในแต่ละระดับความเจือจางมา 0.1 มิลลิลิตร ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ malt extract agar นำ spreader เกลี่ยให้ทั่วจานเพาะเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 30 ± 5 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง จากนั้นเขี่ยเชื้อมาทำให้บริสุทธิ์ด้วยการ Streak ลงบนจานเพาะเชื้อที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ malt extract agar บ่มที่อุณหภูมิ 30 ± 5 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง เพื่อให้ได้โคโลนีเดี่ยว แล้วทำการศึกษารูปร่างของเซลล์ ด้วยกล้องจุลทรรศน์

2.2 การเก็บตัวอย่างยีสต์ที่แยกได้ (Downes and Ito, 2001)

เขี่ยเชื้อที่ต้องการขีดลงบนผิวหน้าของอาหาร malt extract agar ที่ทำเป็นอาหารเอียงไว้ บ่มที่ อุณหภูมิ 30 ± 5 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง จากนั้นเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ทำการถ่ายเชื้อทุกๆ 15 วัน

2.3 การเตรียมกล้าเชื้อยีสต์

เตรียมน้ำลูกตาลใส่ในหลอดทดลองหลอดละ 10 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อ จากนั้นเขี่ยเชื้อยีสต์ใส่ลงในน้ำลูกตาล ปลอดเชื้อผสมให้เข้ากันบ่มที่อุณหภูมิ 30 ± 5 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง

3. การคัดเลือกเชื้อยีสต์ที่มีความสามารถในการหมักแป้งขนมตาล

การเตรียมแป้งขนมตาล มีส่วนผสมประกอบด้วย กะทิ ร้อยละ 40.80 ของส่วนผสมทั้งหมด น้ำตาล ร้อยละ 27.35 ของส่วนผสมทั้งหมด แป้งร้อยละ 22.52 ของส่วนผสมทั้งหมด เนื้อตาลร้อยละ 9.23 ของส่วนผสมทั้งหมด และเกลือร้อยละ 0.1 ของส่วนผสมทั้งหมด (บุณยกฤต, 2545)

เตรียมส่วนผสมของแป้งขนมตาล เริ่มจากต้มกะทิที่อุณหภูมิ 50±1 องศาเซลเซียส ใส่น้ำตาลแล้วเคี่ยวจนน้ำตาลละลาย ผสมแป้งข้าวเจ้า เกลือ และเนื้อลูกตาลลงอ่างผสม ค่อยๆเทน้ำกะทิลงไปในแป้งครั้งละน้อย นวดจนเป็นเนื้อเดียวกัน ปิเปตแป้งใส่หลอดทดลอง ปริมาณหลอดละ 5 มิลลิลิตร ใส่กล้าเชื้อยีสต์ 2 เปอร์เซ็นต์ลงในหลอดทดลอง ปิดฝาแล้วนำหลอดทดลองทั้งหมดแช่ลงใน water bath ที่อุณหภูมิ 37±1 องศาเซลเซียส หมักเป็นเวลา 3 ชั่วโมง จดบันทึกปริมาตรแป้งที่เพิ่มขึ้น **เพื่อ**คัดเลือกยีสต์ที่หมักแป้งได้ดีที่สุด จากนั้นนำยีสต์ที่มีความสามารถในการหมักแป้งสูงที่สุดมาทำการระบุชนิดของยีสต์โดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุล โดยการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ D1/D2 ของ 26S rDNA (เสาวลักษณ์, 2548)

4. การศึกษาการผลิตขนมตาล

นำยีสต์ที่มีความสามารถในการหมักแป้งขนมตาลดีที่สุดจากข้อ 3 มาศึกษาประสิทธิภาพการเป็นกล้าเชื้อในกระบวนการผลิตขนมตาล ทำการวิเคราะห์ข้อมูลแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design ; CRD) โดยแบ่งสิ่งทดลองออกเป็น 4 สิ่งทดลอง ดังนี้

สิ่งทดลองที่ 1 ขนมตาลที่ไม่เติมกล้าเชื้อและผงฟู (KTC)

สิ่งทดลองที่ 2 ขนมตาลที่เติมกล้าเชื้อ (KTS)

สิ่งทดลองที่ 3 ขนมตาลที่เติมกล้าเชื้อร่วมกับผงฟู (KTSB)

สิ่งทดลองที่ 4 ขนมตาลที่เติมผงฟู (KTB)

หมายเหตุ เติมกล้าเชื้อ 2 เปอร์เซ็นต์ ลงในสิ่งทดลองที่ 2 และ 3

เติมผงฟู 0.5 เปอร์เซ็นต์ ลงในสิ่งทดลองที่ 3 และ 4

เตรียมส่วนผสมของแป้งขนมตาล เช่นเดียวกับข้อ 3 จากนั้นแบ่งแป้งที่ผสมแล้วออกเป็น 4 สิ่งทดลอง ใส่ลงใน water bath ที่อุณหภูมิ 37 ± 1 องศาเซลเซียส หมักเป็นเวลา 3 ชั่วโมง เทแป้งใส่กระทงใบตองแล้วนำไปนึ่งจนสุก ใช้เวลาประมาณ 20 นาที (จับเวลาตั้งแต่น้ำเดือดจนขนมสุก) วัดค่าความเป็นกรด – ด่าง (pH) ระหว่างการหมักทุกๆ 1 ชั่วโมงด้วยเครื่อง pH meter

5. การวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ขนมตาล

5.1 การวิเคราะห์ทางกายภาพ

- การวัดค่าสี L^* a^* b^* โดยใช้เครื่อง Hunter Lab (อรรณพ, 2551)
- การวัดค่าแรงเฉือน (Shearing test) โดยเครื่อง Texture Analyzer ยี่ห้อ LLOYD Instruments รุ่น LRX Plus ใช้หัวแบบ Warner-Bratzler blade set ด้วยความเร็ว 50 มิลลิเมตรต่อนาที
- การวัดปริมาตรจำเพาะ (AACC,1995)

5.2 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ทำการวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัส โดยทำการตรวจสอบลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัสและความชอบ โดยรวม โดยใช้วิธีการทดสอบแบบ 9 Point Hedonic Scale (1 = ไม่ชอบมากที่สุด 2 = ไม่ชอบมาก 3 = ไม่ชอบปานกลาง 4 = ไม่ชอบเล็กน้อย 5 = เฉยๆ 6 = ชอบเล็กน้อย 7 = ชอบปานกลาง 8 = ชอบมาก 9 = ชอบมากที่สุด) และใช้จำนวนผู้ทดสอบ 30 คน วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design: RCBD)

6. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การเก็บรวบรวมข้อมูลและบันทึกข้อมูลที่ได้จากการทดลอง โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ยโดยวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี (Duncan’s New Multiple Range Test ; DMRT) ประมวลผลจากโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

1. การคัดแยกและระบุสายพันธุ์เชื้อยีสต์ที่ได้จากเนื้อตาลสุกต่อความสามารถในการหมักแป้งขนมตาล

จากการคัดแยกเชื้อยีสต์บริสุทธิ์จากเนื้อลูกตาลสุกที่ได้จากจังหวัดเพชรบุรี (T1) และจังหวัดปทุมธานี (T2) สามารถแยกเชื้อยีสต์ได้จำนวน 17 ไอโซเลท ได้แก่ T1r2 T1r3 T1r5 T1r7 T2r1 T2r2 T2r3 T2r4 T2r5 T2r6 T2r7 T2r8 T2r9 T2r10 T2r11 T2r12 T2r14 ซึ่งมีลักษณะโคโลนีที่แตกต่างกัน 2 ลักษณะ ได้แก่ โคโลนีมีสีขาวขุ่น และโคโลนีสีครีมใส เซลล์มีทั้งรูปร่างกลม กลมรีและรูปร่างคล้ายผลเลมอน นำเชื้อยีสต์ ทั้ง 17 ไอโซเลท มาทำการศึกษาความสามารถในการหมักแป้งขนมตาล โดยการเตรียมกล้าเชื้อยีสต์ใน น้ำลูกตาลบ่มที่อุณหภูมิ 30±5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นเติมกล้าเชื้อยีสต์ลงในแป้งขนมตาล และบ่มใน water bath ที่อุณหภูมิ 37±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง พบว่าเชื้อยีสต์ไอโซเลท T1r7 T1r2 T2r2 T2r3 T2r5 T1r5 T2r14 สามารถหมักแป้งขนมตาลได้ปริมาณแป้งสูงสุดระหว่าง 6.7 - 6.4

มิลลิลิตร จากปริมาตรเริ่มต้น 5 มิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (6.1 มิลลิลิตร) แตกต่างกันอย่าง มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 รูปร่างเซลล์และการจัดจำแนกสายพันธุ์ของยีสต์ที่คัดแยกได้จากเนื้อตาลสุก และระดับความสูงของแป้งขนมตาลหมัก

ไอโซเลท	**รูปร่างเซลล์**	Accession number	**สายพันธุ์**	**ระดับความสูงของแป้งขนมตาลหมัก** (cm)*
Control	-	-	-	6.1^{b}
T1r2	**กลมรี ขนาดใหญ่**	HQ845010.1	*Saccharomyces cerevisiae*	6.5^{ab}
T1r5	**กลมรี ขนาดใหญ่**	HQ149319.1	*Saccharomyces cerevisiae*	6.4^{ab}
T1r7	**กลมรี หัวท้ายแหลม**	EU386752.1	*Hanseniaspora guilliermondii*	6.7^{a}
T2r2	**กลมรี หัวท้ายแหลม**	EU386752.1	*Hanseniaspora guilliermondii*	6.5^{ab}
T2r3	**กลมรี หัวท้ายแหลม**	EU386752.1	*Hanseniaspora guilliermondii*	6.5^{ab}
T2r14	**กลม ขนาดเล็ก**	HM189299.1	*Metschnikowia agaves*	6.4^{ab}

หมายเหตุ : * หมายถึง อักษรกำกับที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ95

นำทั้ง 7 ไอโซเลท มาระบุสายพันธุ์โดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลโดยการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ D1/D2 ของ 26S rDNA พบว่าไอโซเลท T1r2 และ T1r5 คือ *Saccharomyces cerevisiae* ไอโซเลท T1r7, T2r2 และ T2r3 คือ *Hanseniaspora guilliermondii* และไอโซเลท T2r14 คือ *Metschnikowia agaves (ตารางที่* 1) เช่นเดียวกับงานวิจัยของบุญมาและพยอม (2547) ที่พบเชื้อในลูกตาลสุกเป็นเชื้อในสกุลของ *Candida krusei, Sacharomyces* spp., *Kloeckera apiculate* และ *Heseniaspora* spp. จากนั้นคัดเลือกเชื้อยีสต์ ที่สามารถหมักแป้งได้ดีที่สุด คือ *H. guilliermondii* (T1r7) เพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อในการผลิตขนมตาล ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของอรวรรณ (2554) ที่พบว่าเชื้อยีสต์ชนิดนี้มีผลต่อการขึ้นฟูของขนมตาลดีที่สุดซึ่งยีสต์จะหมักน้ำตาลเปลี่ยนเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ได้ ทำให้ส่วนผสมของแป้งขนมตาลขยายตัว มี ความเบาตัว ยืดหยุ่น และมีรูอากาศ นอกจากนี้ในกระบวนการหมักจะได้สารพวกแอลดีไฮด์ แอลกฮอล์ คีโตน และกรดที่ยีสต์สร้างขึ้น ทำให้ได้กลิ่นรสเฉพาะตัวของผลิตภัณฑ์ ในขณะเดียวกันก็จะได้คุณค่าทางอาหารจากยีสต์โดยตรงด้วย (ประดิษฐ์, 2553)

2. คุณภาพทางเคมีกายภาพของขนมตาล

จากการทดลอง พบว่า ขนมตาล KTB มีปริมาตรจำเพาะมากที่สุดตามด้วย KTSB KTS และ KTC คือ 2.16, 2.10, 1.78 และ 1.67 ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) สำหรับการวิเคราะห์ คุณภาพทางกายภาพของขนมตาลพบว่าค่าความสว่าง (L^*) แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดย KTC มีค่าความสว่างมากที่สุดตาม ด้วย KTB, KTS และ KTSB คือ 20.57 19.43 19.27 และ 19.07 ตามลำดับ แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติสำหรับค่าสีเขียว/สีแดง (a^*) และค่าสีเหลือง/สีน้ำเงิน (b^*) ($p > 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 2 จากผลค่าสีของขนมตาล พบว่า การเกิดสีเหลืองของขนมตาล เนื่องจากสารเบต้าแคโรทีนซึ่งเป็นสารสีเหลืองที่มีอยู่ในเนื้อตาลยี (อรรณพ ,2551) โดยเชื้อยีสต์จะทำให้โพรงอากาศขนาดใหญ่ เนื่องจากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จากการย่อยน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวของเอนไซม์จากยีสต์เพิ่มขึ้นตามสัดส่วนของยีสต์ส่งผลให้การกระจายตัวของขนาดโพรงอากาศมีช่วงกว้างขึ้น

ค่าแรงเฉือน พบว่า KTB มีค่ามากที่สุดตามด้วย KTSB, KTC และ KTS คือ 5.97, 5.24, 4.22 และ 2.94 ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 2 โดย KTS มีค่าต่ำกว่าขนมตาลในสูตรอื่น ๆ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะขนมตาลที่ใช้กล้าเชื้อมีปริมาตรจำเพาะต่ำกว่าสิ่งทดลองที่มีการเติมผงฟู ฟองอากาศที่เกิดขึ้นมีขนาดใหญ่ และอาจมีการหดตัวหลังจากการให้ความร้อนจึงทำให้เนื้อสัมผัสแน่นกว่าสูตรอื่น ๆ (ผาณิต, 2553) ในทางกลับกัน KTC ก็มีปริมาตรจำเพาะต่ำเช่นกัน แต่ค่าแรงเฉือนสูงกว่า KTS อาจเนื่องมาจากฟองอากาศที่เกิดจากการหมักที่เกิดตามธรรมชาติมีขนาดไม่ใหญ่มากนัก และเมื่อให้ความร้อน แล้วเนื้อขนมตาลไม่ค่อยเกิดการยุบตัวลง และพบว่าการใช้ยีสต์นอกจากจะทำให้เกิดการขึ้นฟูแล้วยังเพิ่มกลิ่นรสให้แก่ขนมตาล การใช้สารเคมีที่ทำให้เกิดการขึ้นฟูจะใช้ระยะเวลาการหมักให้ขึ้นฟูสั้นกว่าการใช้ยีสต์แต่ขนมตาลที่ได้มี กลิ่นรสน้อยกว่าการใช้กล้าเชื้อยีสต์

การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีของขนมตาล การวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ทุกๆ 1 ชั่วโมง ระหว่าง การหมักขนมตาลที่อุณหภูมิ 37±1 องศาเซลเซียส พบว่าค่า pH ในช่วง 2 ชั่วโมงแรก มีค่าที่ไม่แตกต่างกัน แต่เมื่อเวลาการหมักเพิ่มขึ้น พบว่าค่าความเป็นกรดจะเพิ่มขึ้น โดย KTB มีค่า pH มากที่สุดตามด้วย KTC, KTSB และ KTS คือ 5.56 5.36 5.21 และ 5.17 ตามลำดับ แสดงดังภาพที่ 1 จากภาพค่า pH มีแนวโน้มลดลงอยู่ในช่วง 5.17-5.56 ซึ่งค่า pH ในช่วงดังกล่าวเป็นช่วงที่ยีสต์สามารถเจริญและสร้างก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ได้ สอดคล้องกับงานวิจัยของมณชัย (2546) รายงานว่า pH เป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการเจริญ และระบบ เมทาบอลิซึมของยีสต์ โดยทั่วไปแล้วยีสต์จะเจริญได้ดีที่สุดที่ pH เป็นกรดต่ำประมาณ 4.5-5

ตารางที่ 2 ค่าสี ปริมาตรจำเพาะ และค่าแรงเฉือนของขนมตาล

ขนมตาล	ค่าสี			ปริมาตรจำเพาะ*	แรงเฉือน* (N)
	$(L^*)^*$	$(a^*)^{ns}$	$(b^*)^{ns}$		
KTC	20.57^a	-8.63	26.97	1.67^b	4.22^b
KTS	19.27^b	-8.40	26.83	1.78^b	2.94^c
KTSB	19.07^b	-7.97	26.43	2.10^a	5.24^{ab}
KTB	19.43^b	-8.20	26.43	2.16^a	5.97^a

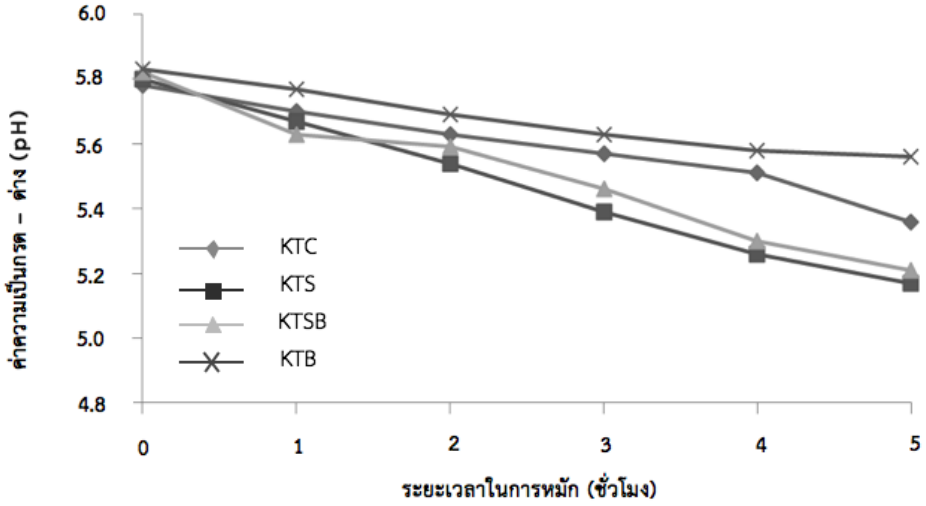
หมายเหตุ : * หมายถึง อักษรกำกับที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

L* หมายถึง ความสว่างของสีซึ่งมีค่าจาก 0 (สีดำ) ถึง 100 (สีขาว)

a* หมายถึง ค่าความเป็นสีเขียวและสีแดง (– คือ สีเขียวและ + คือสีแดง)

b* หมายถึง ค่าความเป็นสีเหลืองและสีน้ำเงิน (– คือ สีน้ำเงินและ + คือสีเหลือง)



ภาพที่ 1 การเปลี่ยนแปลงค่า pH ระหว่างการหมักแป้งขนมตาล

ขนมตาลที่เติมกล้าเชื้อจะมีค่า pH ต่ำที่สุด เป็นผลมาจากการที่ยีสต์เจริญเติบโตโดยใช้น้ำตาลเป็นแหล่งอาหาร เกิดกระบวนการหมักแล้วผลิตก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ แอลกอฮอล์ กลิ่นรส กรดและน้ำส่วน ขนมตาลที่เติมผงฟู จะมีค่า pH สูงกว่า ซึ่งเป็นผลมาจากผงฟูเป็นสารประกอบประเภทคาร์บอเนตจึงมีฤทธิ์เป็นด่าง (จิตธนาและอรอนงค์, 2539)

3. คุณภาพทางประสาทสัมผัส

จากการวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยใช้วิธีการทดสอบแบบ 9 point Hedonic scale และใช้ผู้ทดสอบ จำนวน 30 คน โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design: RCBD) ทำการ ทดสอบคุณลักษณะด้านสี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมแสดงดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 คะแนนความชอบทางประสาทสัมผัสของขนมตาลโดยใช้วิธีการทดสอบแบบ 9 point Hedonic scale

ขนมตาล	สี*	กลิ่น*	รสชาติ*	เนื้อสัมผัส*	ความชอบโดยรวม*
KTC	7.47^{bc}	7.00^{b}	7.43^{a}	7.33^{b}	7.40^{ab}
KTS	7.40^{c}	7.00^{b}	6.87^{b}	6.93^{b}	7.17^{b}
KTSB	7.77^{ab}	7.83^{a}	7.67^{a}	7.20^{b}	7.70^{a}
KTB	7.93^{a}	7.60^{a}	7.63^{a}	7.87^{a}	7.80^{a}

หมายเหตุ : * หมายถึง อักษรกำกับที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากตารางที่ 3 พบว่า สี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$) การวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัสของขนมตาลด้านสี พบว่า KTB มีคะแนนความชอบมากที่สุด ด้านกลิ่น รสชาติ พบว่า KTSB มีคะแนนความชอบมากที่สุด สำหรับด้านเนื้อสัมผัส พบว่า KTB มีคะแนนความชอบมากที่สุด อาจเนื่องจากเนื้อสัมผัสที่นุ่มกว่าขนมตาลสูตรอื่นๆ ด้านความชอบโดยรวม พบว่า KTB และ KTSB มีคะแนนความชอบสูงที่สุด และไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

สรุป

คัดแยกเชื้อยีสต์จากเนื้อลูกตาลสุกได้ทั้งหมด 17 ไอโซเลท จากนั้นคัดเลือกยีสต์ที่มีความสามารถในการหมักแป้งขนมตาลสูงสุดได้ 7 ไอโซเลท (T1r7 T1r2 T2r2 T2r3 T2r5 T1r5 และ T2r14) นำจัดจำแนกสายพันธุ์โดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุล โดยการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ D1/D2 ของ 26S rDNA ซึ่งเชื้อยีสต์ที่สามารถหมักแป้งขนมตาลได้ดีที่สุด คือ *H. guilliermondii* จึงนำมาใช้เป็นกล้าเชื้อ ในการผลิตขนมตาล โดยผลิตขนมตาล 4 สูตร ดังนี้ KTC (ไม่เติมกล้าเชื้อและผงฟู: ควบคุม), KTS (เติมกล้าเชื้อ), KTSB (เติมกล้าเชื้อและผงฟู) และ KTB (เติมผงฟู) พบว่า ค่าความสว่าง (L*) ของสูตรควบคุมมากกว่าสูตรอื่น ค่า pH มีแนวโน้มลดลงอยู่ในช่วง 5.17 - 5.56 เป็นช่วง pH ที่ยีสต์สามารถเจริญและสร้างก๊าซคาร์บอนได- ออกไซด์ได้ KTB มีปริมาตรจำเพาะมากที่สุด ส่งผลให้ค่าแรงเฉือนมีค่าสูงที่สุดเช่นกัน ทำให้มีเนื้อสัมผัสนุ่ม เป็นที่ยอมรับของผู้ทดสอบชิมด้านเนื้อสัมผัสและสี ขณะที่ KTB และ KTSB ได้รับคะแนนความชอบในระดับชอบปานกลาง ด้านกลิ่น รสชาติ และความชอบโดยรวมไม่แตกต่างกัน

ข้อเสนอแนะ

ควรศึกษาระยะเวลาในการหมักแป้งขนมตาลต่อการขึ้นฟูของขนมตาลและปริมาณกล้าเชื้อที่เหมาะสม ในการผลิตขนมตาล

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความกรุณาอย่างสูงจากผู้ช่วยศาสตราจารย์เจริญ เจริญชัย อาจารย์ที่ปรึกษางานวิจัยที่ให้คำแนะนำปรึกษา และทุนสนับสนุนในการทำงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

จิตธนา แจ่มเมฆ และ อรอนงค์ นัยวิกุล. (2539) เบเกอรีเทคโนโลยีเบื้องต้น. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร, คณะอุตสาหกรรมเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร.

จันทร์ ทศานนท์. (2532) อาหารไทย. ศิริวัฒนาอินเตอร์พริ้น. กรุงเทพมหานคร.

บุญมา นิยมวิทย์ และ พยอม อัตถวิบูลย์กุล. (2547) ผลิตภัณฑ์จากลูกตาล. วารสารอาหาร. 34(4): 272-276.

บุณยกฤต รัตนพันธุ์. (2545) การศึกษากระบวนการผลิตแป้งขนมตาลสำเร็จรูป. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ประดิษฐ์ คำหนองไผ่. (2553) บทปฏิบัติการรายวิชาเทคโนโลยีผลิตภัณฑ์เบเกอรี่. สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ปทุมธานี.

ผาณิต รุจิรพิสิฐ. (2553) ผลของการใช้น้ำมันมะพร้าวต่อคุณภาพของเค้กชนิดส่วนผสมข้น. วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยหอการค้าไทย. 30(2): 37-46.

มณชัย เดชสังกรานนท์. (2546) คุณสมบัติของยีสต์และราที่มีบทบาทในการหมักข้าวหมากและสาโท. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เสาวลักษณ์ ด่านสกุล. (2548) การระบุชนิดยีสต์ที่แยกจากข้าวหมากและเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ของไทยโดยอาศัยข้อมูลลำดับเบสบริเวณ rDNA. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อรรณพ ทัศนอุดม. (2551) การเปรียบเทียบคุณลักษณะทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ระหว่างขนมตาลที่ผลิตโดยการใช้หัวเชื้อกับขนมตาลที่ผลิตโดยวิธีดั้งเดิม. รายงานผลการวิจัย, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา.

อรวรรณ พึ่งคำ. (2554) การประยุกต์เทคโนโลยีกล้าเชื้อยีสต์สำหรับผู้ผลิตขนมตาล. วิทยานิพนธ์คหกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีคหกรรมศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี.

Albergaria, H., Torrao, A.R., Hogg, T. & Giro, F.M. (2003) Physiological behavior of *Hanseniaspora guilliermondii* in aerobic glucose-limited continuous cultures. FEMS Yeast Research. 3: 211-216.

American Association of Cereal Chemists. (1995) Approved Methods. St.Paul, MN: AACC International.

Downes, F.P. & Ito, K. (2544) Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, 4th ed. American Public Health Association. Washington D.C., 676 p.

Moreira, N., Pina, C., Mendes, F., Couto, J.A., Hogg, T. & Vasconcelos, I. (2011) Volatile compounds contribution of *Hanseniaspora guilliermondii* and *Hanseniaspora uvarum* during red wine vinifications. Food Control. 22: 662-667.