บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 สายพันธุ์สาหร่าย

สาหร่ายสไปรูลิน่าที่ใช้ในงานวิจัยนี้ได้แก่ *Spirulina maxima* IFRPD1183 จากสถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (Institute of Food Research and Product Development: IFRPD)

3.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย

3.2.1 ตู้เพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบควบคุมอุณหภูมิขนาด 30×60×40 ลูกบาสก์เซนติเมตร มีปั๊มช่วยกระจายอุณหภูมิให้สม่ำเสมอทั่วตู้ และใช้หลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ 40 วัตต์ 6 หลอด เป็นแหล่งให้แสง (สามารถปรับความเข้มแสงด้วยการกำหนดระยะระหว่างหลอดไฟกับพื้นที่ผิวที่ตั้งของหลอดทดลองที่แสงส่องมาถึง และวัดความเข้มแสงโดยใช้เครื่องวัดความเข้มแสง และอุปกรณ์ตั้งเวลาเปิดและปิดไฟ

3.2.2 หลอดทดลองเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.5 เซนติเมตร ยาว 35 เซนติเมตร ความจุ 200 มิลลิลิตร เป็นหลอดแก้วปลายแหลม ปิดด้วยจุกซิลิโคน เจาะรู 2 รู สวมท่อแก้วสำหรับให้คาร์บอนไดออกไซด์ที่ผสมกับอากาศจากเครื่องปั๊มอากาศผ่านเข้าไปได้

3.2.3 บ่อเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาด 250 ลิตร ของสถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.2.4 ถังก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์พร้อมอุปกรณ์หัวจ่าย

3.2.5 เครื่องวัดความเข้มแสง (Light meter); (Tecpel 530, Taiwan)

3.2.6 อุปกรณ์วัดปริมาณการไหลของอากาศ (Air flow meter)

3.2.7 ผ้ากรองสาหร่ายขนาดความถี่ 50 ไมครอน

3.3 อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับการวิเคราะห์

3.3.1 ชุดกรองเมมเบรน (Millipore) พร้อมเครื่องปั๊มสุญญากาศ (Air pump)

3.3.2 กระดาษกรอง Sartorius-membrane filter GMBH ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 50 มิลลิลิตร ขนาดช่องผ่าน 0.6 ไมครอน

3.3.3 กระทงอลูมินัม

3.3.4 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer/Genesys 20, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)

3.3.5 เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูงชนิดควบคุมอุณหภูมิ (Refrigerater centrifuge/B. Braun Biotech International, Sigma 203, Germany)

3.3.6 เครื่องปั่นเหวี่ยงชนิดไม่ควบคุมอุณหภูมิ (Refrigerater centrifuge)

3.3.7 หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave/Sanyo, Labo Autoclave, Japan)

3.3.8 เครื่องเขย่าหลอด (Vortex mixer/KMC-1300 V, Vision Scientific Co., Ltd., Korea)

3.3.9 เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter/Horiba, M-11, Japan)

3.3.10 เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง

3.3.11 เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Balance/Sartorius CP323S, Scientific Promotion, Thailand)

3.3.12 เครื่องอบลมร้อน (Hot air oven/Memmert, Tv10u, Germany)

3.3.13 เครื่องอบแบบถาด (Tray dryer)

3.3.14 เครื่องบดตัวอย่างพร้อมตะแกรงร่อนขนาด 0.25 มิลลิเมตร (Retsch ZM1)

3.3.15 เครื่องทำลายผนังเซลล์สาหร่ายด้วยกระบวนการไดโนมิลล์ (Dyno-mill 3.3.16 กล้องจุลทรรศน์

3.3.17 เครื่องผสมตัวอย่างให้เป็นเนื้อเดียวกัน (Homogenizer)

3.3.18 เครื่องอบแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze dryer)

3.3.19 อุปกรณ์วัดค่าสี L*, a*, b*, C* และ h° (Handy colorimeter)

3.3.20 เตากวนผสมพร้อมแท่งแม่เหล็ก (Magnetic stirrer)

3.3.21 เครื่องวัดปริมาณน้ำอิสระ (Water activity)

3.3.22 เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (Laboratory hand refractometer)

3.3.23 ถุงอลูมินัมฟอยล์

3.4 สารเคมี

สารเคมีเกรดวิเคราะห์ของบริษัท Univar, Merck, Lab-scan และเกรดทดลองของบริษัท Unilab และ Fluka

3.5 วิธีดำเนินการวิจัย

3.5.1 การเตรียมกล้าเชื้อสาหร่าย

3.5.1.1 การเตรียมกล้าเชื้อสาหร่ายขั้นที่ 1

นำสาหร่าย *S. maxima* IFRPD 1183 มาเพาะเลี้ยงในหลอดเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาด 200 มิลลิลิตร ซึ่งบรรจุอาหารเหลว Zarrouk's medium ที่ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นเท่ากับ 9.0 ปริมาตร 150 มิลลิลิตร (คำนวณปริมาตรเริ่มต้นของกล้าเชื้อสาหร่ายที่ต้องใช้โดยกำหนดให้มีความขุ่นเริ่มต้นที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร (OD_{560}) เท่ากับ 0.2) จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงในตู้เพาะเลี้ยงสาหร่ายที่ควบคุมอุณหภูมิเท่ากับ 30 องศาเซลเซียส ความเข้มแสงประมาณ 15 กิโลลักซ์ โดยให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ด้วยหลอดฟลูออเรสเซนส์ชนิดแสงขาวนวล ซึ่งแต่ละหลอดมีกำลังและความเข้มแสงเท่ากับ 36 วัตต์ และ 90-93 ลูเมนต่อวัตต์ ลำดับ และให้อากาศที่มีส่วนผสมของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 1-2 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตรของอากาศ โดยกำหนดอัตราการไหล

เท่ากับ 0.6 VVM (ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรของเหลงต่อนาที) ทำการเพาะเลี้ยงนาน 3 วัน เมื่อครบกำหนดนำกล้าเชื้อไปใช้ในการเตรียมกล้าเชื้อในขั้นที่ 2 ต่อไป

3.5.1.2 การเตรียมกล้าเชื้อสาหร่ายขั้นที่ 2

นำกล้าเชื้อสาหร่ายขั้นที่ 1 มาขยายปริมาณในอ่างเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาด 250 ลิตร โดยใช้ปริมาตรอาหาร Zarrouk's medium ในการเพาะเลี้ยงเท่ากับ 100 ลิตร แล้วปรับให้มีความขุ่นที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร (OD_{560}) เท่ากับ 0.2 ทำการควบคุมความเข้มแสงให้มีค่าประมาณ 15 กิโลลักซ์ และให้อากาศที่มีส่วนผสมของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 1-2เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตรของอากาศ โดยกำหนดอัตราการไหลเท่ากับ 0.6 VVM ทำการเพาะเลี้ยงนาน 3 วัน หรือจนกว่ามีความขุ่นเท่ากับ 0.4 ในแต่ละวันจะปรับปริมาตรของอาหารเหลวให้ได้ 100 ลิตร โดยการเติมน้ำเพื่อทดแทนปริมาตรของน้ำที่ระเหยไป

3.5.2 การศึกษาการพัฒนากระบวนการเพาะเลี้ยงสไปรูลิน่าเพื่อการผลิตซี-ไฟโคไซยานิน

ทำการเติมอาหาร Modified Zarrouk's medium (ความเข้มข้นเริ่มต้นของโซเดียมไบคาร์บอเนต ($NaHCO_3$) 10 กรัมต่อลิตร) ที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นประมาณ 8.4 ลงในบ่อเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาด 250 ลิตร ที่มีกล้าเชื้อสาหร่ายในขั้นที่ 2 จนได้ปริมาตรรวม 200 ลิตร ควบคุมความเข้มแสงระหว่างการเพาะเลี้ยงให้อยู่ในช่วงที่ 15-20 กิโลลักซ์ เพาะเลี้ยงจนได้ปริมาณซี-ไฟโคไซยานินสูงสุด เก็บตัวอย่างทุกวันเป็นจำนวน 3 ซ้ำ เพื่อนำไปวัดค่าความขุ่นที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร (OD_{560}), น้ำหนักเซลล์แห้ง (Dry cell weight) โดยคำนวณจากสมการ Dry cell weight (g/L) = 0.887 OD_{560} (r^2 = 0.999), ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด (Total chlorophyll) (ดัดแปลงจาก Bennet and Bogorad, 1973; Vanshak, 1977), ค่าความเป็นกรรด-ด่าง โดยใช้ pH meter, ปริมาณไนเตรททั้งหมด (Total nitrate concentration) (APHA, 1998), ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด (Total phosphorus concentration) (APHA, 1998), ค่าความเป็นอัลคาไลน์ (Total alkalinity) (APHA, 1998), ปริมาณโปรตีนทั้งหมด (Total protein) (Micro kjeldahl method), ปริมาณซี-ไฟโคไซยานินรวม (ดัดแปลงจาก Miyakawa, K., Siam algae Co., Ltd. personal communication) และปริมาณพอลิเมอร์นอกเซลล์ทั้งหมด (Total extracellular polymeric substances) (Moore and Tischer, 1964) นำผลการทดลองที่ได้มาคำนวณค่าพารามิเตอร์ของการเจริญเติบโตและการผลิตซี-ไฟโคไซยานินแก่ อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate: μ), เวลาทวีคูณ (Doupling time: t_d), อัตราการผลิตเซลล์เชิงปริมาตร (Volumetric cell productivity: Q_x), อัตราการผลิตซี-ไฟโคไซยานินเชิงปริมาตร (Volumetric product productivity: Q_P) และอัตราจำเพาะของการเกิดซี-ไฟโคไซยานิน (Specific product productivity: q_S) (Sirisansaneeyakul *et al*., 2011)

เมื่อสิ้นสุดการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในรอบที่ 1 (Run 1) ทำการแยกเซลล์สาหร่ายออกจากอาหารเพาะเลี้ยง โดยการกรองด้วยผ้ากรองขนาดความถี่ 50 ไมครอน จากนั้นนำอาหารเพาะเลี้ยงที่เหลือจากรอบที่ 1 มาใช้เพาะเลี้ยงสาหร่ายในรอบที่ 2 (Run 2) โดยปรับให้มีปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 200 ลิตร คำนวณปริมาณโซเดียมไนเตรท ($NaNO_3$) ที่ต้องเติมลงไปในอาหารเพาะเลี้ยงจากน้ำหนักสาหร่ายแห้งที่ได้ โดยกำหนดให้ใช้ในปริมาณ 2.5 กรัมต่อลิตร แล้วเติม

โซเดียมไบคาร์บอเนต ลงไปในปริมาณ 10 กรัมต่อลิตร และใช้เซลล์สาหร่ายจากรอบที่ 1 เป็นกล้าเชื้อเริ่มต้น (คำนวณปริมาตรเริ่มต้นของกล้าเชื้อสาหร่ายที่ต้องใช้โดยกำหนดให้มีความขุ่นเริ่มต้นที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร (OD_{560}) ให้ได้เท่ากับ 0.2) จากนั้นปรับสภาวะการเพาะเลี้ยงเช่นเดียวกับการเพาะเลี้ยงในรอบที่ 1 ทำการเพาะเลี้ยงนาน 6 วัน โดยเก็บตัวอย่างทุกวันเป็นจำนวน 3 ซ้ำ เพื่อมาวิเคราะห์คุณภาพและคำนวณค่าพารามิเตอร์ของการเจริญเติบโตและการผลิตผลิตภัณฑ์ เช่นเดียวกับรอบที่ 1 สำหรับการเพาะเลี้ยงรอบที่ 3 นั้น ดำเนินการเช่นเดียวกับรอบที่ 2

3.5.3 การศึกษาการผลิตผงสีซี-ไฟโคไซยานินโดยวิธีทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

การทดลองในขั้นตอนนี้ได้พัฒนากรรมวิธีการผลิตผงสีซี-ไฟโคไซยานิอย่างง่ายจากสาหร่ายสไปรูลิน่า ซึ่งพัฒนามาจากวิธีการสกัดซี-ไฟโคไซยานินจากสาหร่ายสไปรูลิน่า ของฝ่ายจุลชีววิทยา สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ โดยนำเซลล์สาหร่ายสไปรูลิน่าจากการเพาะเลี้ยงในรอบที่ 1 มาอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส โดยใช้เครื่องอบแห้งแบบถาดจนสาหร่ายมีปริมาณความชื้นไม่เกิน 10 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำไปบดละเอียดด้วยเครื่องบด (Retsch ZM1) โดยตะแกรงร่อนขนาดรูพรุนเท่ากับ 0.25 มิลลิเมตร นำสาหร่ายที่ผ่านการบดแล้วไปเก็บไว้ในถุงอลูมินัมฟอยล์ภายใต้สุญญากาศที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปสกัด การสกัดสารสีซี-ไฟโคไซยานินเริ่มจากนำสาหร่ายที่บดละเอียดแล้วไปทำให้ผนังเซลล์แตกโดยการใช้กระบวนการไดโนมิลล์ (Dyno-mill) ซึ่งเป็นการทำให้ผนังเซลล์ของสาหร่ายแตกออกโดยไม่ได้ทำลายสารอาหารภายในเซลล์ โดยผสมสาหร่ายบดกับน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1 : 3 จากนั้นกวนผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (Homogenizer) ที่ความเร็ว 3,200 รอบต่อนาที นาน 10 นาที นำของผสมที่ได้ไปเข้าเครื่องไดโนมิลล์ประมาณ 4-5 รอบจนกระทั่งผนังเซลล์สาหร่ายถูกทำลายหมด ซึ่งสามารถตรวจสอบได้ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ จากนั้นนำของเหลวที่ได้ซึ่งประกอบด้วยสารสีซี-ไฟโคไซยานิน อัลโลไฟโคไซยานิน คลอโรฟิลล์และสารสีอื่น ๆ รวมถึงโปรตีนและองค์ประกอบต่าง ๆ ที่อยู่ภายในเซลล์สาหร่ายสไปรูลิน่าไปปรับให้มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 4.5 ด้วยสารละลายกรดซิตริกความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ เพื่อตกตะกอนโปรตีนที่ไม่ต้องการ แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องเซนตริฟิวจ์ที่ความเร็วรอบ 590 g (HERAEUS CHRIST GMBH, เส้นผ่านศูนย์กลางของหลอด centrifuge : 6 เซนติเมตร ; ส่วนสูง 13.5 เซนติเมตร, ปริมาตร 300 มิลลิลิตร) นาน 1 ชั่วโมง เพื่อแยกส่วนสกัดซี-ไฟโคไซยานินหยาบออกจากกากชีวมวลสาหร่าย จดบันทึกน้ำหนักของส่วนสกัดซี-ไฟโคไซยานินที่ได้และกากชีวมวลสาหร่ายที่เหลือ แล้วนำส่วนสกัด ซี-ไฟโคไซยานินที่ได้ไปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง นำผงสีซี-ไฟโคไซยานินที่ได้บรรจุลงในถุงอลูมินัมฟอยล์เพื่อรอการทดสอบคุณสมบัติในขั้นต่อไป

3.5.4 การวิเคราะห์คุณภาพของผงสีซี-ไฟโคไซยานิน

3.5.4.1 คุณภาพทางกายภาพ

1) วัดค่าสี L*, a*, b*, C* และ h° ด้วยเครื่อง Handy Colorimeter

2) ความหนาแน่นของผงสี (bulk density) ดัดแปลงจาก มอก. 1142-2536 โดยชั่งผงสี 10 กรัม บรรจุในกระบอกตวงขนาด 50 มิลลิลิตร ยกขึ้นสูงจากเดิม 10 เซนติเมตร ภายในเวลา 1 วินาที โดยไม่ให้กระบอกตวงเหวี่ยงหรือสะบัด ลดกระบอกตวงลงมาที่ตำแหน่งเดิมภายใน 1 วินาที แล้วหมุนกระบอกตวงไปประมาณ 10 องศา ปฏิบัติเช่นเดียวกัน 15 ครั้ง แล้วอ่าน

ปริมาตรของตัวอย่าง บันทึกค่าของปริมาณผงสี ค่าความหนาแน่น (กรัมต่อมิลลิกรัม) เท่ากับอัตราส่วนของน้ำหนักผงสี (กรัม) ต่อปริมาตรของผงสี (มิลลิกรัม)

3) ความสามารถในการกระจายตัวของผงสี (dispersibility) ดัดแปลงจากวิธีของ AL-Kahtani and Hassan (1990) โดยชั่งผงสี 2 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 150 มิลลิลิตร จากนั้นเติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร กวนด้วยท่งแม่เหล็ก ที่ความเร็วระดับ 5 เป็นเวลา 15 วินาที ดูดตัวอย่างออกด้วยปิเปตให้ได้ปริมาตรเท่ากับ 50 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงเป็นเวลา 3 นาที ค่าความสามารถในการกระจายตัวของผงสี วัดได้จากค่า optical density (OD) ของส่วนใสที่ความยาวคลื่น 690 นาโนเมตร โดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์และใช้น้ำกลั่นเป็น Blank

4) การดูดความชื้น (hygroscopicity) ชั่งผงสี 10 กรัม ลงในจานแก้ว บันทึกน้ำหนักเริ่มต้นแล้วตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง บันทึกน้ำหนักสุดท้ายเมื่อเวลาผ่านไป 360 นาที เปรียบเทียบน้ำหนักสุดท้ายกับน้ำหนักเริ่มต้น

5) การละลาย (solubility) ดัดแปลงจากวิธีของ AL-Kahtani and Hassan (1990) โดยชั่งผงสี 10 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีน้ำกลั่นบรรจุอยู่ 100 มิลลิลิตร กวนสารละลายด้วยเครื่องกวนที่ความเร็วระดับ 5 เป็นเวลา 90 นาที แบ่งสารละลายปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำมากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 ที่ทราบน้ำหนักคงที่แล้ว นำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นำมาชั่งน้ำหนักจนได้น้ำหนักคงที่ ค่าการละลายคำนวณในรูปร้อยละโดยน้ำหนักของตะกอนที่ไม่ละลาย

3.5.4.2 คุณภาพทางเคมี

1) ปริมาณซี-ไฟโคไซยานิน และความบริสุทธิ์โดยคำนวณหาค่าความบริสุทธิ์ของซี-ไฟโคไซยานิน ได้จากสัดส่วนระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร และ 280 นาโนเมตร (Rito-Palomares, Nuñez และ Amador, 2001)

2) ปริมาณความชื้น โดยวิธี A.O.A.C. (2000)

3) ค่าวอเตอร์แอคทิวิตี้ (a_w) โดยใช้เครื่องวัดค่า water activity

4) ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (total soluble solids) ดัดแปลงจากวิธี A.O.A.C. (2000) โดยชั่งผงสี 10 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร ละลายใน น้ำกลั่น และปรับปริมาตรเท่ากับ 100 มิลลิลิตร แบ่งสารละลายปริมาตร 10 มิลลิลิตร วัดค่าด้วย laboratory hand refractometer

5) ความเป็นกรด-ด่าง (pH) โดยชั่งผงสี 10 กรัม ละลายในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเท่ากับ 100 มิลลิลิตร โดยใช้เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง

3.5.5 การประยุกต์ใช้ผงสีซี-ไฟโคไซยานินในผลิตภัณฑ์อาหารและทดสอบความการยอมรับ

นำผงสีที่พัฒนาได้ไปใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร 2 ชนิด ได้แก่ เจลลี่และน้ำมะพร้าว ในปริมาณที่แตกต่างกัน 3 ระดับ จากนั้นนำไปทดสอบการยอมรับด้านสีกับผู้ทดสอบ จำนวน 50 คน ด้วยวิธีให้คะแนนความชอบ 9 ระดับ (9 point-hedonic scale) ในคุณลักษณะด้านสี ความเหมาะสมของสีกับผลิตภัณฑ์ และความชอบโดยรวม โดยคะแนน 1 = ไม่ชอบมากที่สุด และ 9 = ชอบมากที่สุด

3.5.6 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพด้านสีของผลิตภัณฑ์ในระหว่างการเก็บรักษา

นำผลิตภัณฑ์อาหารที่ผลิตได้จากการใช้ผงสีซี-ไฟโคไซยานินในการปรุงแต่งสีไปเก็บรักษาที่อุณภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน จากนั้นสุ่มตัวอย่างมาวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงค่าสีในระหว่างการเก็บรักษาทุก 3 วัน บันทึกค่าสีที่ได้แล้ววิเคราะห์การเปลี่ยนแปลง

3.6 ระยะเวลาที่ทำการวิจัย

ระยะเวลา 1 ปี ใช้งบประมาณปี 2554 ตั้งแต่ 1 ตุลาคม 2555 – 30 กันยายน 2556

3.7 สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงสาหร่าย ฝ่ายจุลชีววิทยาประยุกต์ สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์