บทที่ 3

ผลการทดลอง

งานวิจัยนี้สนใจศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมในการเร่งการย่อยตัวเองของยีสต์ขนมปัง โดยศึกษาผลของอุณหภูมิ ค่าความเป็นกรดด่าง การเติมสารเคมี และเอนไซม์ต่อการเร่งการย่อยสลายตัวเองของยีสต์ โดยแบ่งการวิเคราะห์เป็น 2 ส่วนดังนี้ ส่วนแรกทำการวิเคราะห์ในเซลล์ยีสต์ คือ น้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณโปรตีนทั้งหมดในเซลล์เพื่อใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับการคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การย่อยตัวเองของยีสต์ ส่วนที่สองทำการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยตัวเองของยีสต์ภายใต้ภาวะต่างๆ ของการศึกษา

3.1 ผลของการหาภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยตัวเองของยีสต์

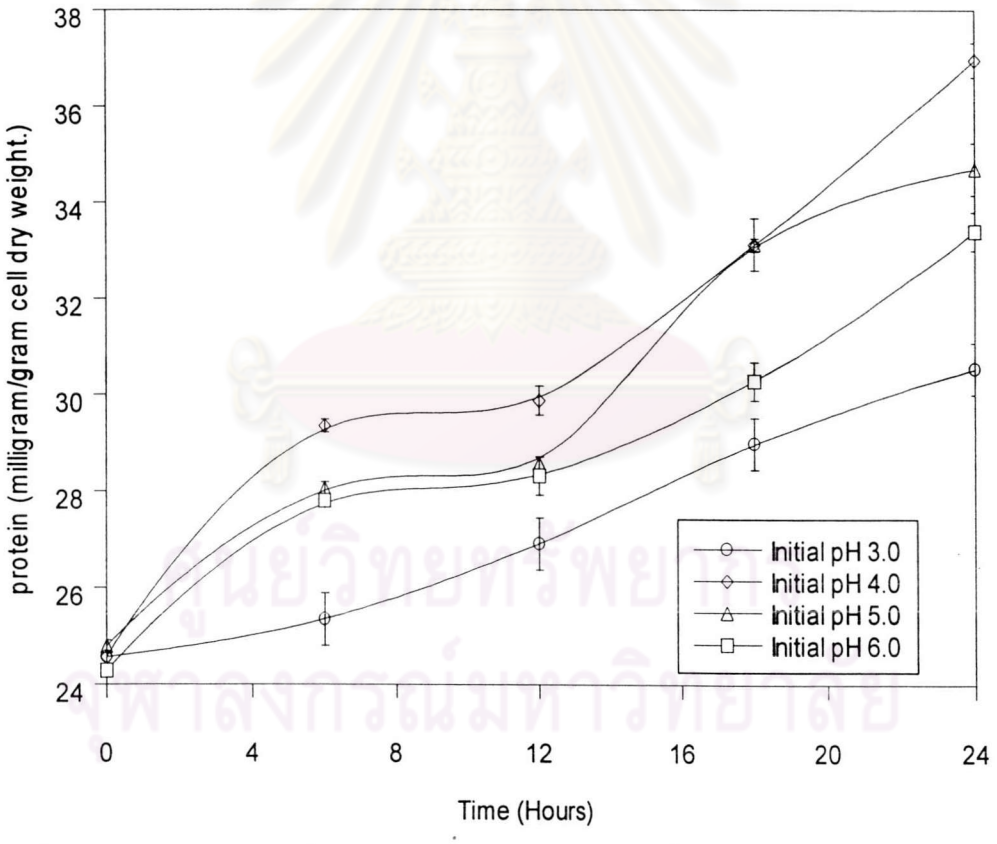
3.1.1 ผลของอุณหภูมิและค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นที่เหมาะสม

ได้ทำการศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการย่อยตัวเองของยีสต์โดยไม่มีการเติมสารเร่งการย่อยสลายโดยแปรอุณหภูมิในการย่อยสลาย 6 ระดับคือ 35 40 45 50 55 และ 60 องศาเซลเซียส และแปรค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 4 ระดับ คือ 3.0 4.0 5.0 และ 6.0 (ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของยีสต์อยู่ในช่วง 4.8 ถึง 5.3) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในออโตไลเสท จากการทดลองพบว่า อุณหภูมิ ความเป็นกรดด่างเริ่มต้น และอิทธิพลร่วมระหว่างอุณหภูมิและความเป็นกรดด่างเริ่มต้น มีผลต่อปริมาณโปรตีนในออโตไลเสทที่ได้จากการย่อยสลาย โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของปริมาณโปรตีนที่ผลิตได้และค่าความเป็นกรดด่างจากการย่อยตัวเองของยีสต์ในแต่ละภาวะตัวบ่งชี้ (ตารางที่ 3.1 -3.12 และ รูปที่ 3.1 – 3.12) พบว่าการย่อยตัวเองของยีสต์จะสูงสุดที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียสในทุกๆ ค่าความเป็นกรดด่างโดยค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 5.0 จะให้ปริมาณโปรตีนสูงสุด คือ 162.80 ± 0.54 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง (ตารางที่ 3.13 และ รูปที่ 3.13) คิดเป็น 35.96 ± 1.12 เปอร์เซ็นต์การย่อยตัวเองของยีสต์ (ตารางที่ 3.14)

ตารางที่ 3.1 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยตัวเองของยีสต์ ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส

เวลา (ชั่วโมงที่)	ปริมาณโปรตีน*(มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง)			
	Initial pH 3.0	Initial pH 4.0	Initial pH 5.0	Initial pH 6.0
0	24.57 ± 0.13	24.68 ± 0.13	24.79 ± 0.13	24.79 ± 0.13
6	25.34 ± 0.54	29.35 ± 0.13	28.05 ± 0.13	28.05 ± 0.13
12	26.90 ± 0.54	29.88 ± 0.30	28.57 ± 0.13	28.57 ± 0.40
18	28.98 ± 0.54	33.11 ± 0.13	33.13 ± 0.54	33.13 ± 0.40
24	30.54 ± 0.54	**36.96 ± 0.36**	34.69 ± 0.54	33.40 ± 0.40

* ค่าที่ได้จากการทดลองเป็นค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ

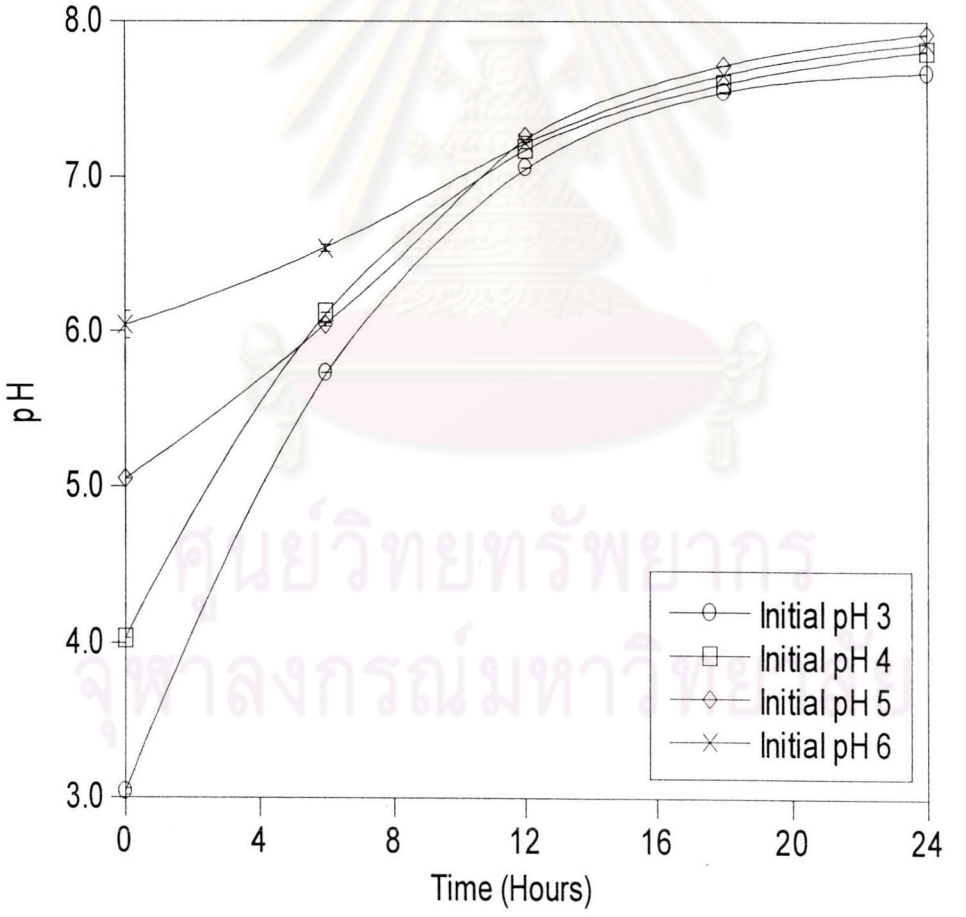


รูปที่ 3.1 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยตัวเองของยีสต์ ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 3.2 ค่าความเป็นกรดด่างจากการย่อยตัวเองของยีสต์ ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าความเป็นกรดด่าง*			
	Initial pH 3.0	Initial pH 4.0	Initial pH 5.0	Initial pH 6.0
0	3.04 ± 0.00	4.03 ± 0.00	5.05 ± 0.00	6.04 ± 0.00
6	5.73 ± 0.02	6.12 ± 0.00	6.04 ± 0.00	6.54 ± 0.09
12	7.06 ± 0.00	7.18 ± 0.00	7.26 ± 0.01	7.22 ± 0.02
18	7.55 ± 0.00	7.60 ± 0.00	7.72 ± 0.00	7.66 ± 0.00
24	7.67 ± 0.00	7.81 ± 0.00	7.92 ± 0.00	7.86 ± 0.00

* ค่าที่ได้จากการทดลองเป็นค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ

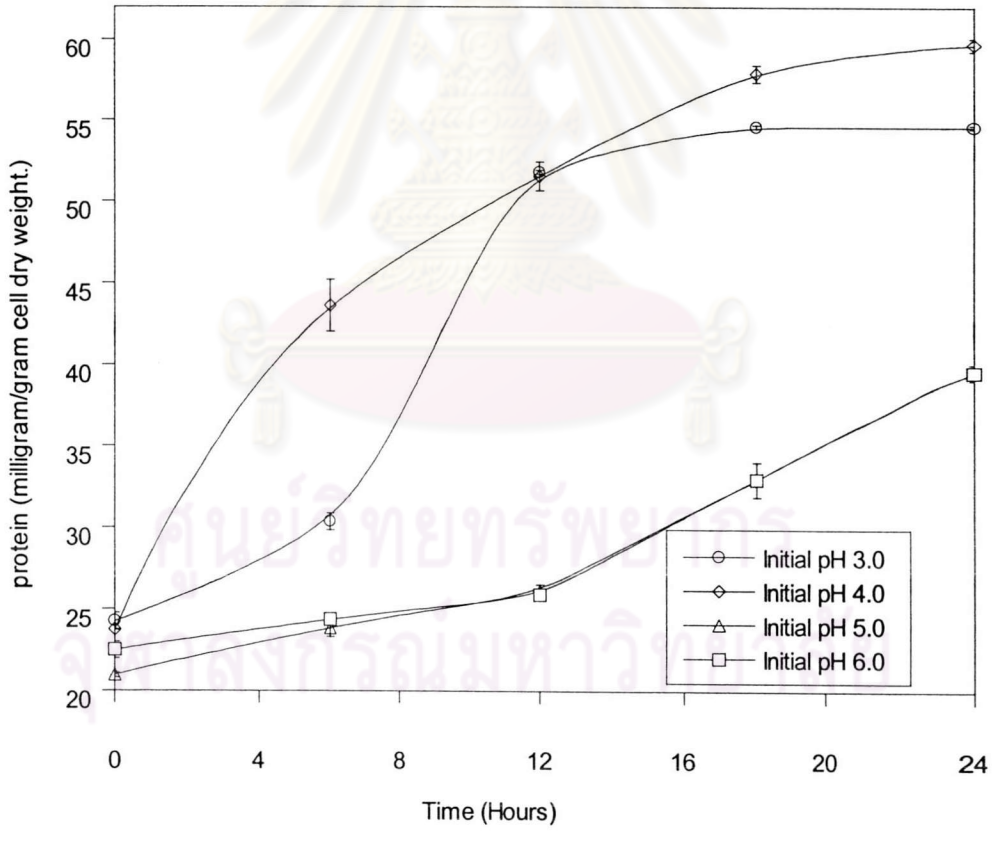


รูปที่ 3.2 ค่าความเป็นกรดด่างจากการย่อยตัวเองของยีสต์ ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 3.3 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยตัวเองของยีสต์ ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

เวลา (ชั่วโมงที่)	ปริมาณโปรตีน*(มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง)			
	Initial pH 3.0	Initial pH 4.0	Initial pH 5.0	Initial pH 6.0
0	24.25 ± 0.52	23.74 ± 0.00	20.97 ± 0.14	22.52 ± 0.52
6	30.37 ± 0.52	43.62 ± 1.56	23.86 ± 0.53	24.37 ± 0.21
12	51.80 ± 0.12	51.53 ± 0.89	31.66 ± 0.41	25.89 ± 0.20
18	54.61 ± 0.12	57.90 ± 0.52	26.32 ± 0.34	32.99 ± 1.06
24	54.61 ± 0.12	**59.69 ± 0.39**	39.57 ± 0.49	39.57 ± 0.49

* ค่าที่ได้จากการทดลองเป็นค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ

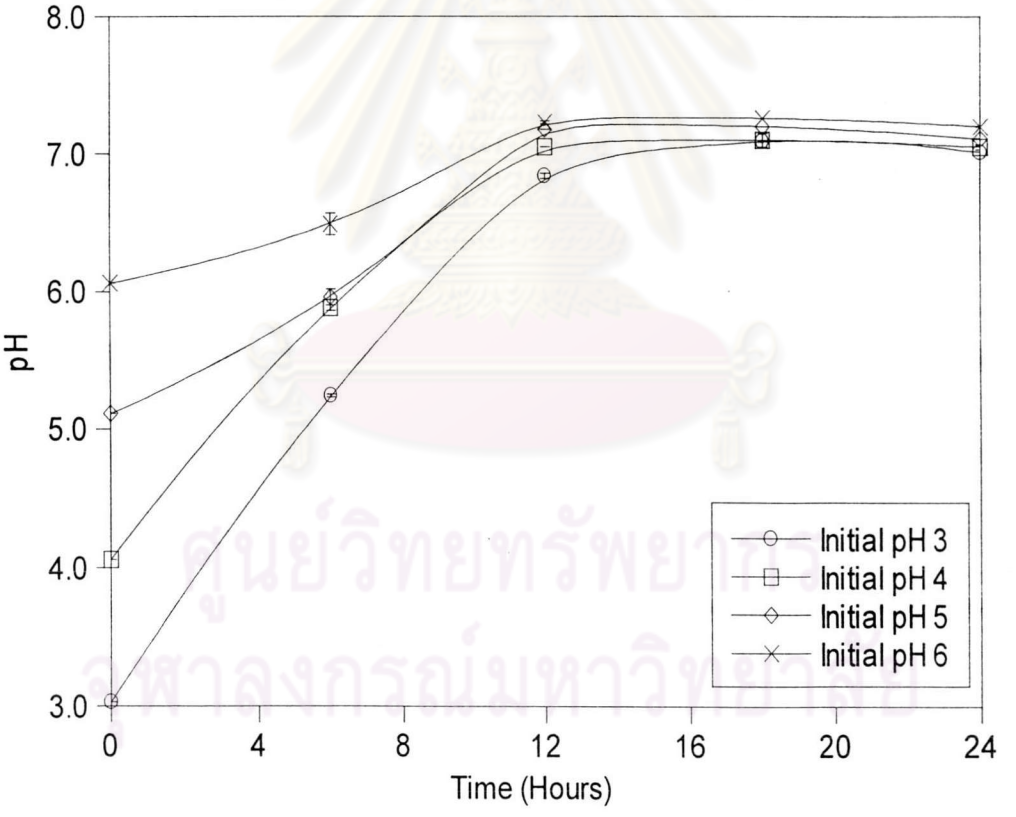


รูปที่ 3.3 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยตัวเองของยีสต์ ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 3.4 ค่าความเป็นกรดด่างจากการย่อยตัวเองของยีสต์ ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าความเป็นกรดด่าง*			
	Initial pH 3.0	Initial pH 4.0	Initial pH 5.0	Initial pH 6.0
0	3.03 ± 0.00	4.06 ± 0.00	5.11 ± 0.00	6.06 ± 0.00
6	5.24 ± 0.01	5.88 ± 0.02	5.96 ± 0.06	6.49 ± 0.08
12	6.84 ± 0.02	7.05 ± 0.05	7.18 ± 0.00	7.23 ± 0.01
18	7.09 ± 0.00	7.10 ± 0.00	7.20 ± 0.00	7.26 ± 0.00
24	7.01 ± 0.02	7.05 ± 0.02	7.11 ± 0.00	7.20 ± 0.00

* ค่าที่ได้จากการทดลองเป็นค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ

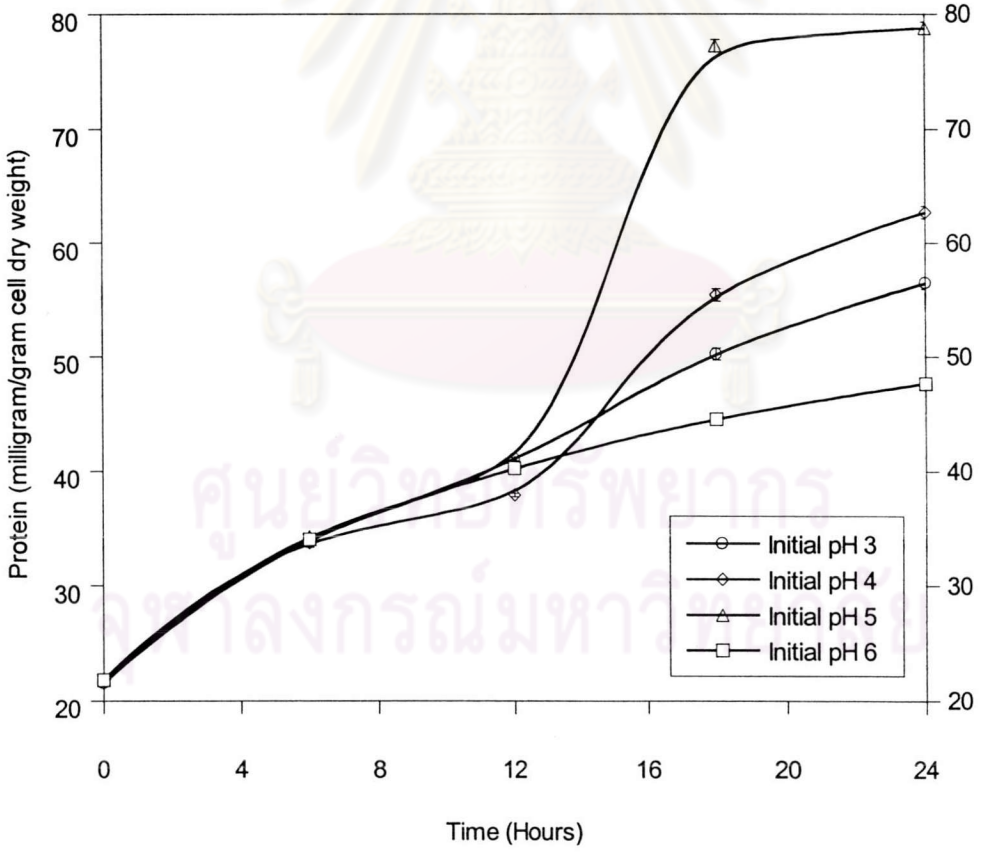


รูปที่ 3.4 ค่าความเป็นกรดด่างจากการย่อยตัวเองของยีสต์ ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 3.5 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยตัวเองของยีสต์ ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

เวลา (ชั่วโมงที่)	ปริมาณโปรตีน*(มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง)			
	Initial pH 3.0	Initial pH 4.0	Initial pH 5.0	Initial pH 6.0
0	21.57 ± 0.13	21.82 ± 0.13	21.82 ± 0.13	21.82 ± 0.13
6	34.02 ± 0.13	33.76 ± 0.40	34.28 ± 0.13	34.02 ± 0.13
12	41.03 ± 0.13	37.92 ± 0.13	40.77 ± 0.40	40.25 ± 0.13
18	50.26 ± 0.54	55.45 ± 0.54	77.25 ± 0.54	44.55 ± 0.54
24	56.49±0.54	62.72±0.54	**78.810±0.54**	47.67±0.54

* ค่าที่ได้จากการทดลองเป็นค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ

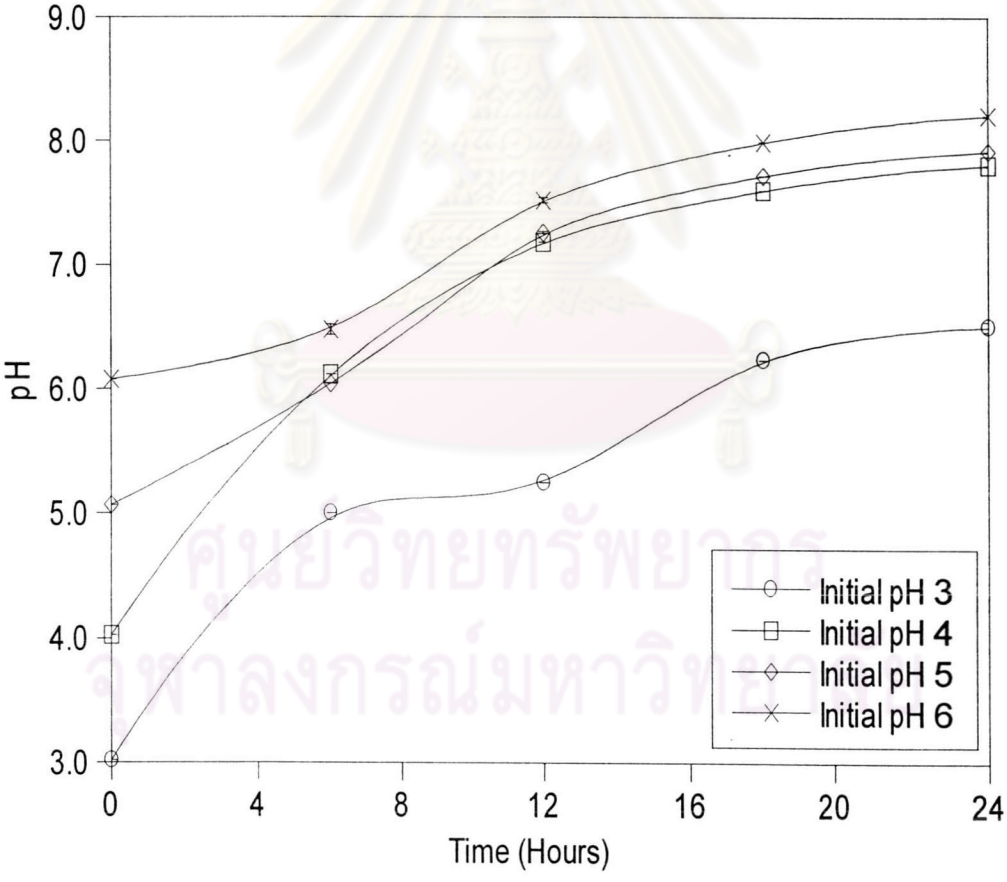


รูปที่ 3.5 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยตัวเองของยีสต์ ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 3.6 ค่าความเป็นกรดด่างจากการย่อยตัวเองของยีสต์ ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าความเป็นกรดด่าง*			
	Initial pH 3.0	Initial pH 4.0	Initial pH 5.0	Initial pH 6.0
0	3.02 ± 0.00	4.03 ± 0.00	5.07 ± 0.00	6.08 ± 0.00
6	5.00 ± 0.00	6.12 ± 0.00	6.04 ± 0.00	6.48 ± 0.04
12	5.25 ± 0.00	7.18 ± 0.00	7.26 ± 0.01	7.52 ± 0.02
18	6.24 ± 0.00	7.60 ± 0.00	7.72 ± 0.00	7.99 ± 0.00
24	6.51 ± 0.04	7.81 ± 0.00	7.92 ± 0.00	8.21 ± 0.00

* ค่าที่ได้จากการทดลองเป็นค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ

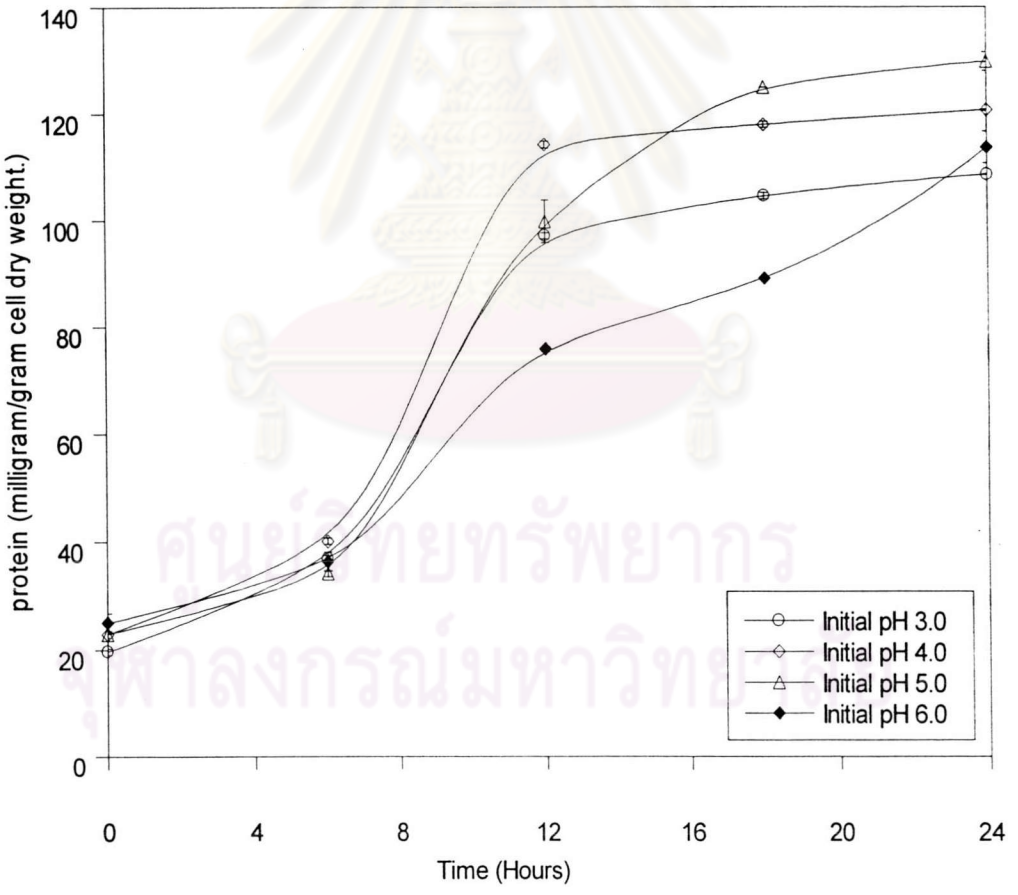


รูปที่ 3.6 ค่าความเป็นกรดด่างจากการย่อยตัวเองของยีสต์ ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 3.7 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยตัวเองของยีสต์ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

เวลา (ชั่วโมงที่)	ปริมาณโปรตีน*(มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง)			
	Initial pH 3.0	Initial pH 4.0	Initial pH 5.0	Initial pH 6.0
0	19.66 ± 0.58	22.88 ± 0.58	22.88 ± 0.58	22.33 ± 1.73
6	36.86 ± 0.58	40.09 ± 0.58	34.17 ± 0.58	36.32 ± 1.73
12	97.61 ± 1.73	114.28 ± 0.58	99.76 ± 4.05	75.85 ± 0.43
18	104.60 ± 0.58	117.51 ± 2.31	125.03 ± 0.00	89.03 ± 0.13
24	109.72 ± 0.53	120.75 ± 0.16	**129.87 ± 1.73**	113.76 ± 3.00

* ค่าที่ได้จากการทดลองเป็นค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ

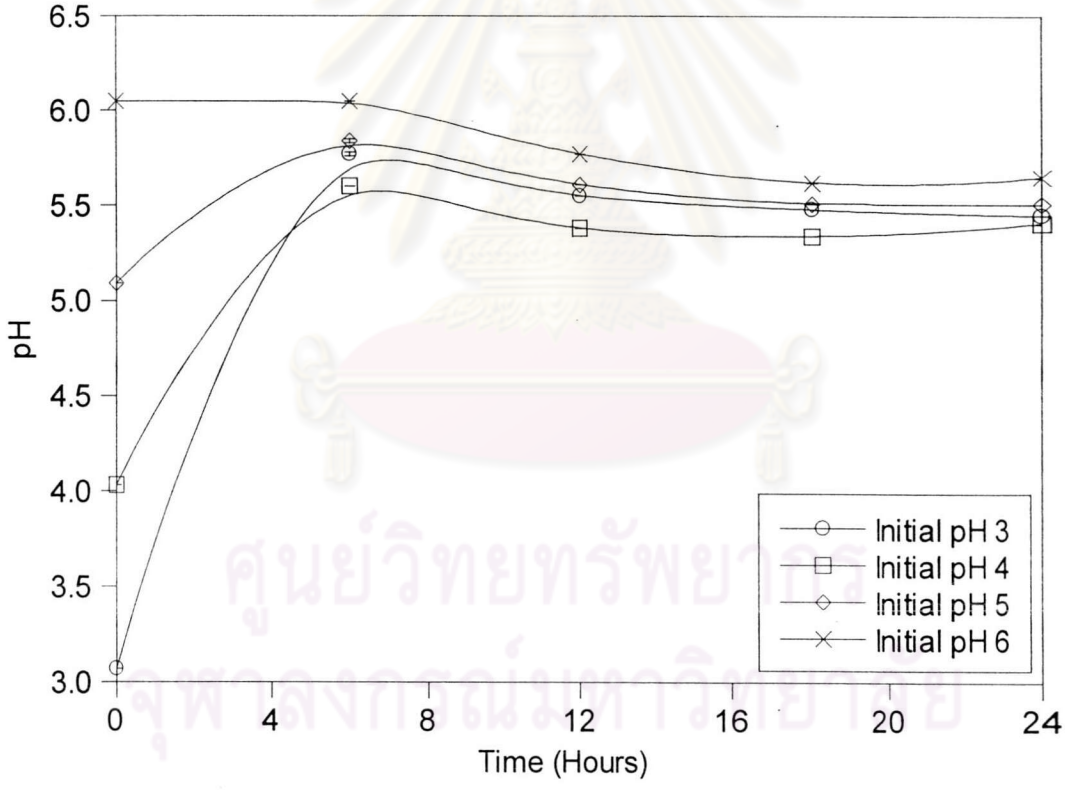


รูปที่ 3.7 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยตัวเองของยีสต์ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 3.8 ค่าความเป็นกรดด่างจากการย่อยตัวเองของยีสต์ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าความเป็นกรดด่าง*			
	Initial pH 3.0	Initial pH 4.0	Initial pH 5.0	Initial pH 6.0
0	3.07 ± 0.00	4.03 ± 0.00	5.09 ± 0.00	6.05 ± 0.00
6	5.77 ± 0.01	5.60 ± 0.00	5.84 ± 0.01	6.05 ± 0.00
12	5.55 ± 0.00	5.38 ± 0.00	5.61 ± 0.00	5.77 ± 0.00
18	5.48 ± 0.00	5.34 ± 0.00	5.51 ± 0.00	5.62 ± 0.00
24	5.45 ± 0.00	5.41 ± 0.00	5.51 ± 0.00	5.65 ± 0.00

* ค่าที่ได้จากการทดลองเป็นค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ



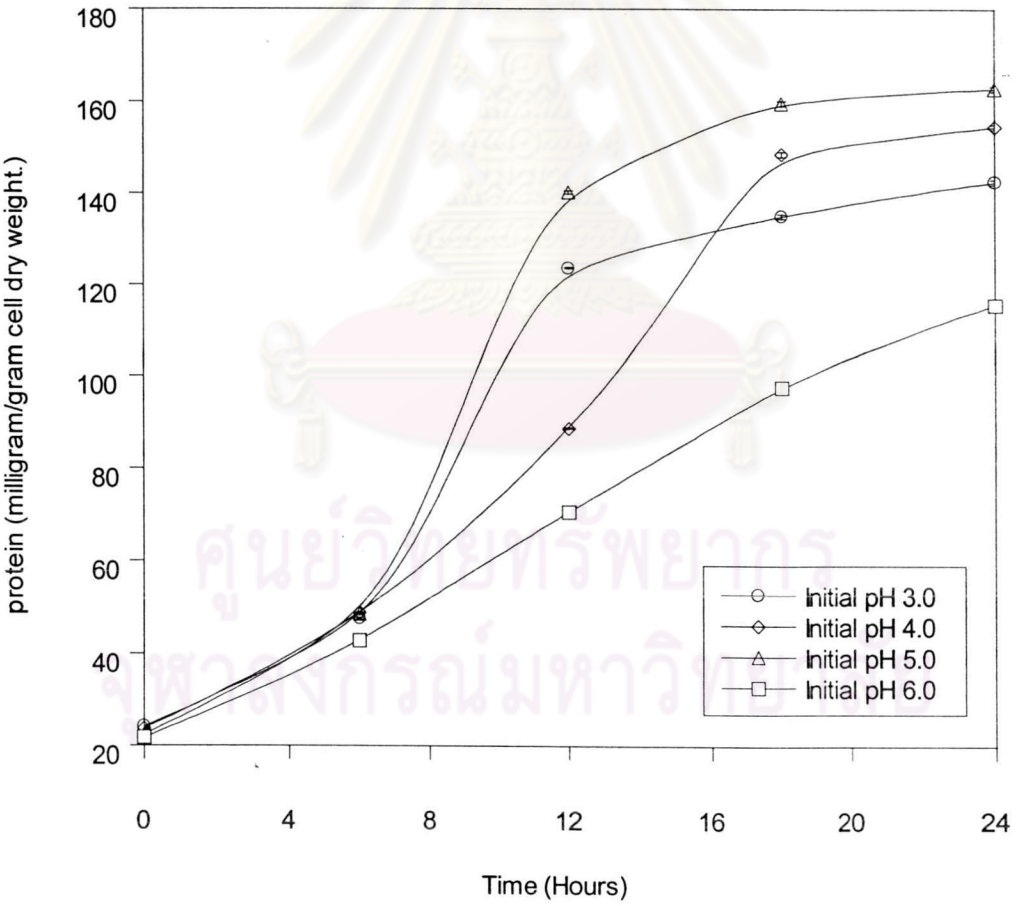
รูปที่ 3.8 ค่าความเป็นกรดด่างจากการย่อยตัวเองของยีสต์ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.9 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยตัวเองของยีสต์ ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

เวลา (ชั่วโมงที่)	ปริมาณโปรตีน* (มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง)			
	Initial pH 3.0	Initial pH 4.0	Initial pH 5.0	Initial pH 6.0
0	24.25 ± 0.00	23.74 ± 0.13	22.52 ± 0.17	21.82 ± 0.13
6	47.56 ± 0.13	48.78 ± 0.17	48.49 ± 0.17	42.78 ± 0.13
12	123.59 ± 0.17	88.57 ± 0.17	140.24 ± 0.54	70.57 ± 0.40
18	134.99 ± 0.53	148.57 ± 0.54	159.58 ± 0.54	97.57 ± 0.54
24	142.59 ± 0.53	154.57 ± 0.54	**162.80 ± 0.54**	115.57 ± 0.54

* ค่าที่ได้จากการทดลองเป็นค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ

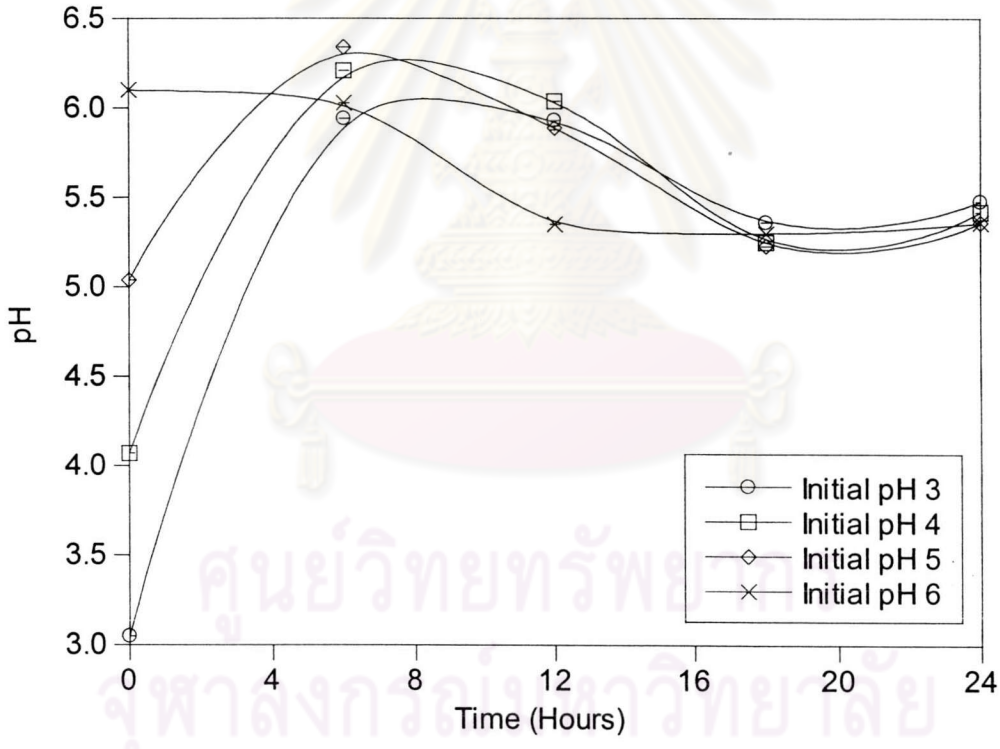


รูปที่ 3.9 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยตัวเองของยีสต์ ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 3.10 ค่าความเป็นกรดด่างจากการย่อยตัวเองของยีสต์ ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าความเป็นกรดด่าง*			
	Initial pH 3.0	Initial pH 4.0	Initial pH 5.0	Initial pH 6.0
0	3.05 ± 0.00	4.07 ± 0.00	5.04 ± 0.00	6.10 ± 0.00
6	5.94 ± 0.00	6.21 ± 0.00	6.34 ± 0.00	6.03 ± 0.00
12	5.93 ± 0.00	6.04 ± 0.00	5.89 ± 0.01	5.35 ± 0.00
18	5.36 ± 0.00	5.25 ± 0.00	5.23 ± 0.00	5.30 ± 0.00
24	5.48 ± 0.00	5.42 ± 0.00	5.36 ± 0.01	5.36 ± 0.00

* ค่าที่ได้จากการทดลองเป็นค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ

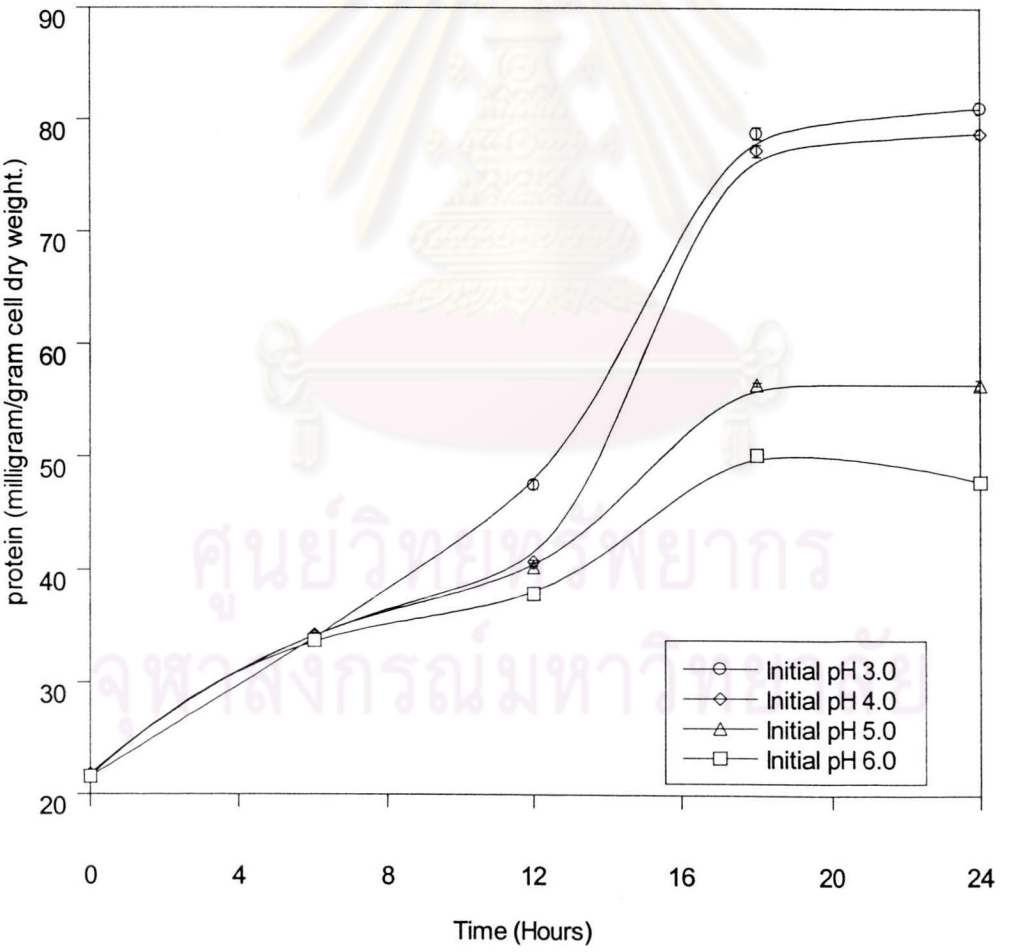


รูปที่ 3.10 ค่าความเป็นกรดด่างจากการย่อยตัวเองของยีสต์ ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 3.11 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยตัวเองของยีสต์ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

เวลา (ชั่วโมงที่)	ปริมาณโปรตีน* (มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง)			
	Initial pH 3.0	Initial pH 4.0	Initial pH 5.0	Initial pH 6.0
0	21.57 ± 0.13	21.82 ± 0.13	21.82 ± 0.13	21.57 ± 0.13
6	34.02 ± 0.13	34.28 ± 0.13	34.28 ± 0.13	33.76 ± 0.13
12	47.56 ± 0.40	40.77 ± 0.13	40.25 ± 0.13	37.92 ± 0.13
18	78.81 ± 0.54	77.25 ± 0.54	50.26 ± 0.17	44.50 ± 0.40
24	**81.08 ± 0.54**	78.81 ± 0.40	56.49 ± 0.40	47.87 ± 0.54

* ค่าที่ได้จากการทดลองเป็นค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ

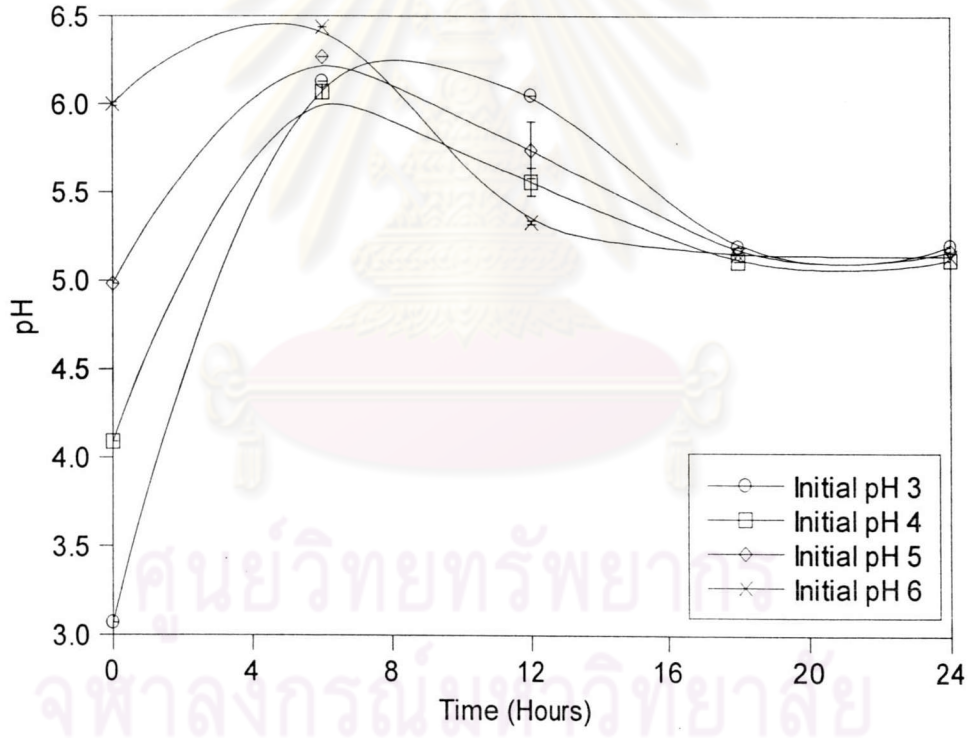


รูปที่ 3.11 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยตัวเองของยีสต์ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 3.12 ค่าความเป็นกรดด่างจากการย่อยตัวเองของยีสต์ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าความเป็นกรดด่าง*			
	Initial pH 3.0	Initial pH 4.0	Initial pH 5.0	Initial pH 6.0
0	3.07 ± 0.00	4.09 ± 0.00	4.98 ± 0.00	6.00 ± 0.00
6	6.13 ± 0.00	6.07 ± 0.00	6.27 ± 0.00	6.44 ± 0.00
12	6.05 ± 0.00	5.56 ± 0.00	5.74 ± 0.00	5.33 ± 0.00
18	5.19 ± 0.00	5.11 ± 0.00	5.16 ± 0.00	5.15 ± 0.00
24	5.20 ± 0.00	5.12 ± 0.00	5.17 ± 0.00	5.14 ± 0.00

* ค่าที่ได้จากการทดลองเป็นค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ



รูปที่ 3.12 ค่าความเป็นกรดด่างจากการย่อยตัวเองของยีสต์ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

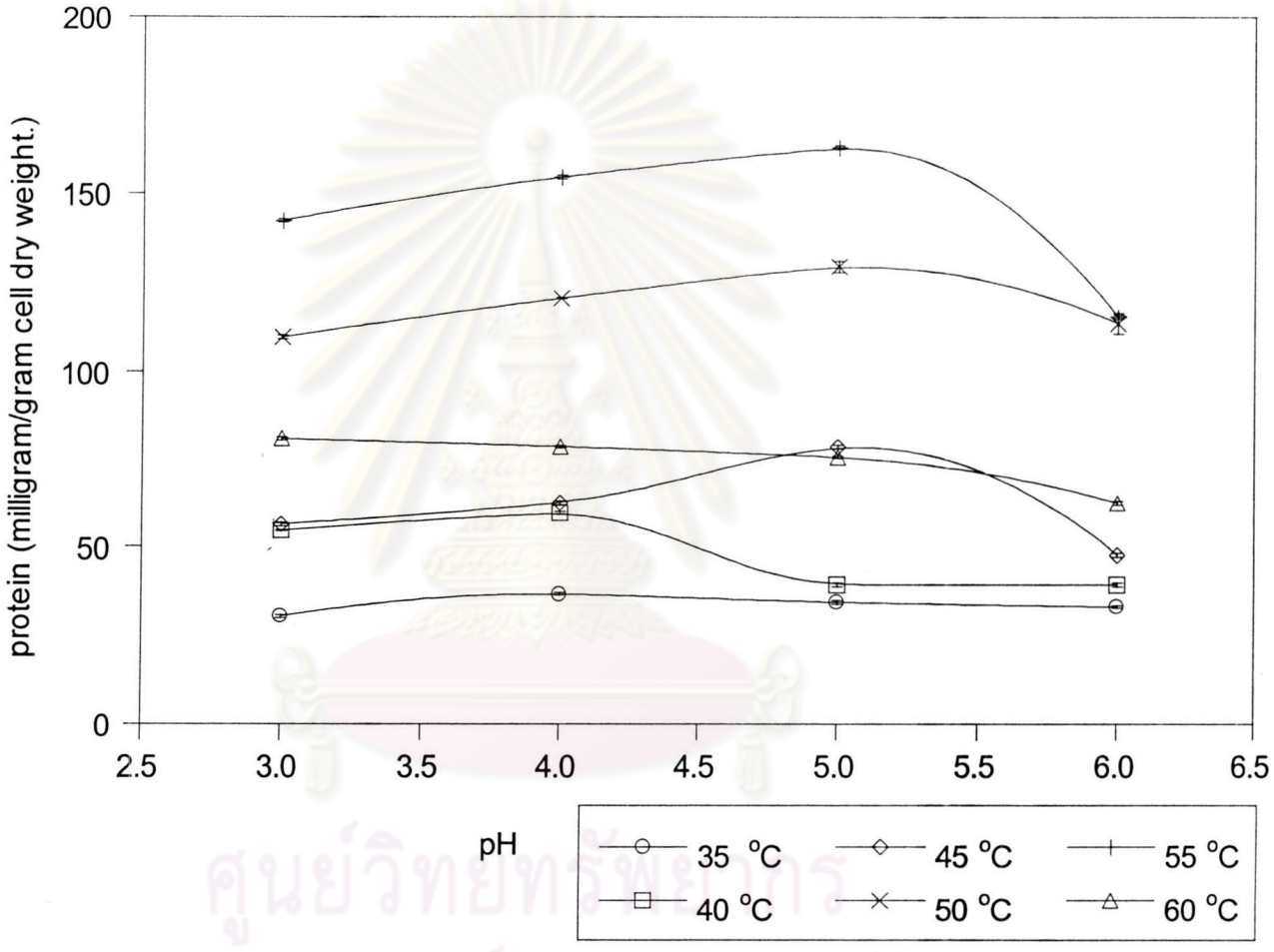
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.13 ผลของค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นและอุณหภูมิต่อการย่อยตัวเองของยีสต์ ในชั่วโมงที่ 24

ค่ากรดด่างเริ่มต้น	ปริมาณโปรตีน* (มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง)					
	อุณหภูมิ (°C)					
	35	40	45	50	55	60
3	30.54 ± 0.54	54.61 ± 0.12	56.49 ± 0.54	109.72 ± 0.53	142.59 ± 0.53	81.08 ± 0.54
4	36.96 ± 0.36	59.69 ± 0.39	62.72 ± 0.54	120.75 ± 0.16	154.57 ± 0.54	78.81 ± 0.40
5	34.69 ± 0.54	39.57 ± 0.49	78.81 ± 0.54	129.87 ± 1.73	**162.80 ± 0.54**	56.49 ± 0.40
6	33.40 ± 0.40	39.57 ± 0.49	47.67 ± 0.54	113.76 ± 3.00	115.57 ± 0.54	47.87 ± 0.54

* ค่าที่ได้จากการทดลองเป็นค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.13 แสดงปริมาณโปรตีนที่ได้จากการแปรค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นและอุณหภูมิต่อการย่อยตัวเองของยีสต์ ในชั่วโมงที่ 24

ตารางที่ 3.14 เปอร์เซ็นต์การย่อยตัวเองของยีสต์เมื่อแปรค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นและอุณหภูมิ ในชั่วโมงที่ 24

ค่ากรดด่างเริ่มต้น	การย่อยตัวเองของยีสต์ (%)*					
	อุณหภูมิ (°C)					
	35	40	45	50	55	60
3	6.74 ± 1.12	12.06 ± 0.03	12.48 ± 1.12	24.23 ± 1.12	31.49 ± 1.12	17.91 ± 1.12
4	8.16 ± 0.08	13.18 ± 0.03	13.85 ± 1.12	26.67 ± 0.04	34.14 ± 1.12	17.41 ± 0.09
5	7.66 ± 1.12	8.74 ± 0.11	17.41 ± 1.12	28.68 ± 0.38	**35.96 ± 1.12**	16.75 ± 0.09
6	7.66 ± 0.09	8.74 ± 0.11	10.53 ±1.12	25.12 ± 0.66	25.52 ± 1.12	13.85 ± 1.12

* ค่าที่ได้จากการทดลองเป็นค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ โดยคิดจากโปรตีนในออโตไลเสตเทียบกับปริมาณโปรตีนในเซลล์ยีสต์แห้ง เมื่อ 1 กรัม เซลล์ยีสต์แห้งมีปริมาณโปรตีน 452.78 มิลลิกรัม (วิเคราะห์โดยเครื่องวิเคราะห์ไนโตรเจน)

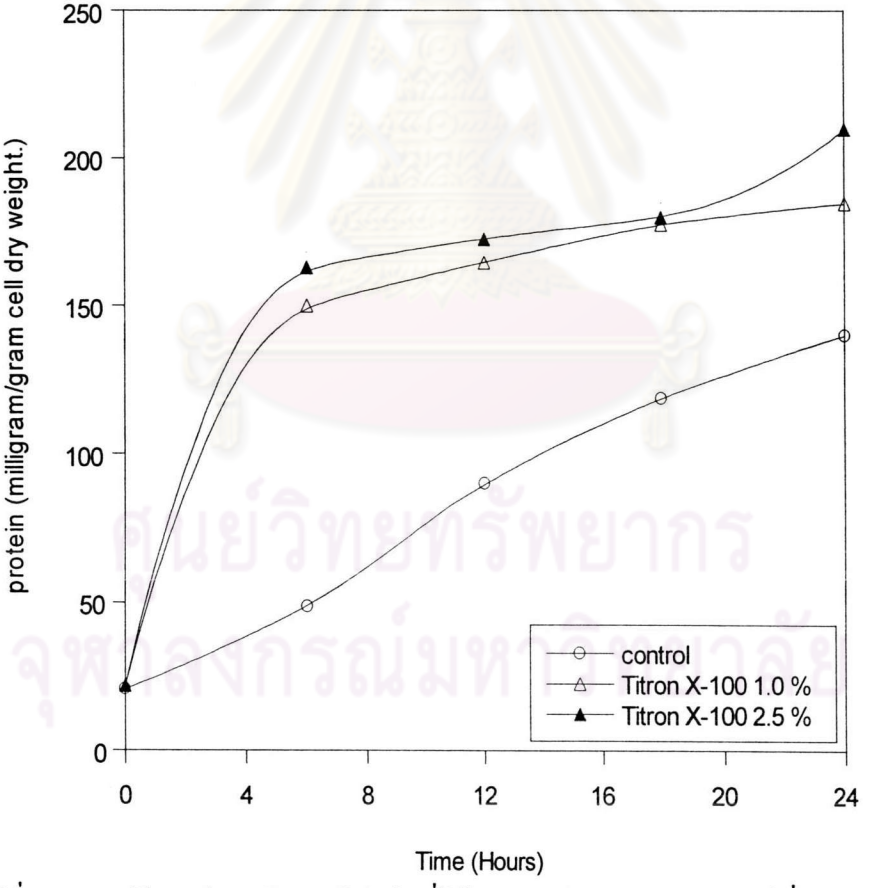
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.1.2 ผลของสารเคมีต่อการเร่งการย่อยตัวเองของยีสต์

ได้ทำการหาชนิดและปริมาณของสารเคมีที่เหมาะสมในการเร่งการย่อยตัวเองของยีสต์โดยแปรชนิดและความเข้มข้นที่เติมลงในสารละลายแขวนลอยของยีสต์ คือ Titron X – 100 ที่ 1.0 % และ 2.5 % (ปริมาตรต่อปริมาตร) โพแทสเซียมคลอไรด์ โซเดียมคลอไรด์ ในปริมาณ 5.0 7.5 และ 10.0 % (น้ำหนักต่อปริมาตร) และเอทานอล 2.5 5.0 7.5 และ 10.0 % (ปริมาตรต่อปริมาตร) โดยใช้ภาวะที่ได้จากข้อ 3.1.1 คืออุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 5.0 ทำการเขย่าที่ 200 รอบต่อนาทีตลอดการทดลอง จากการทดลองพบว่าภาวะที่มีการเติม Titron X-100 และโพแทสเซียมคลอไรด์ ระยะเวลาที่ใช้ในการบ่มเพื่อเพื่อให้ปริมาณโปรตีนคงที่ คือ 24 ชั่วโมง ส่วนการเติมโซเดียมคลอไรด์และเอทานอล มีปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วใน 6 ชั่วโมงแรก และใช้ระยะเวลาบ่มจนให้ปริมาณโปรตีนคงที่นานกว่า จึงทำการเก็บตัวอย่างทุก 3 ชั่วโมง ใน 6 ชั่วโมงแรก หลังจากนั้นเก็บทุก 6 ชั่วโมง จนครบชั่วโมงที่ 24 จากนั้นเก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง จนครบ 48 ชั่วโมง จากการทดลองพบว่าการเติม Titron X -100 โซเดียมคลอไรด์ และเอทานอล มีผลให้ได้ปริมาณโปรตีนในออโตไลเสตสูงขึ้น (ตารางที่ 3.9 3.17 และ 3.19) โดยการเติม Titron X – 100 2.5 % ทำให้ออโตไลเสตที่ได้มีปริมาณโปรตีน 209.81 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง (ตารางที่ 3.15 และรูปที่ 3.14) คิดเป็น 46.34 เปอร์เซ็นต์การย่อยตัวเองของยีสต์ ส่วนผลของการเติมโพแทสเซียมคลอไรด์ 10.0 % ทำให้ออโตไลเสตที่ได้มีปริมาณโปรตีน 173.47 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง (ตารางที่ 3.16 และรูปที่ 3.15) คิดเป็น 38.31 เปอร์เซ็นต์การย่อยตัวเองของยีสต์ การเติมโซเดียมคลอไรด์ 7.5 % ทำให้ได้ปริมาณโปรตีน 198.89 ± 3.17 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง (ตารางที่ 3.17-3.18 และ รูปที่ 3.16-3.17) คิดเป็น 43.92 ± 0.70 เปอร์เซ็นต์การย่อยตัวเองของยีสต์ การเติมเอทานอล 7.5 % ทำให้ได้ปริมาณโปรตีน 257.14 ± 0.86 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง (ตารางที่ 3.19 - 3.20 และ รูปที่ 3.18 - 3.19) คิดเป็น 56.79 ± 0.19 เปอร์เซ็นต์การย่อยตัวเองของยีสต์ จากผลการทดลองการเติม Titron X – 100 2.5 % ให้ผลของปริมาณโปรตีนในออโตไลเสตมากกว่าที่ได้จากการเติมโซเดียมคลอไรด์ 7.5 % เพียง 10.92 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง แต่ Titron X – 100 มีคุณสมบัติเป็นนอนไอออนนิกดีเทอร์เจนต์ซึ่งมีความเป็นพิษต่อผู้บริโภค และมีราคาแพงกว่าโซเดียมคลอไรด์ จึงสนใจศึกษาถึงอิทธิพลร่วมกันของสารเร่งการย่อยสลายโดยเติมเอทานอลและโซเดียมคลอไรด์ ที่ระดับความเข้มข้น 2.5 5.0 7.5 และ 10.0 ตามลำดับ พบว่าการเติมเอทานอล 7.5 % และโซเดียมคลอไรด์ 7.5 % ได้ปริมาณโปรตีนในออโตไลเสตสูงสุดคือ 267.12 ± 2.15 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง (ตารางที่ 3.21 และรูปที่ 3.20) โดยแสดงแนวโน้มค่าความเป็นกรดด่าง ดังตารางที่ 3.22 และรูปที่ 3.21 คิดเป็นสารสกัดจากยีสต์ 59.00 ± 0.47 เปอร์เซ็นต์การย่อยตัวเองของยีสต์ (ตารางที่ 3.23)

ตารางที่ 3.15 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยตัวเองของยีสต์เมื่อแปรความเข้มข้น Titron X -100 ที่ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 5.0 อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

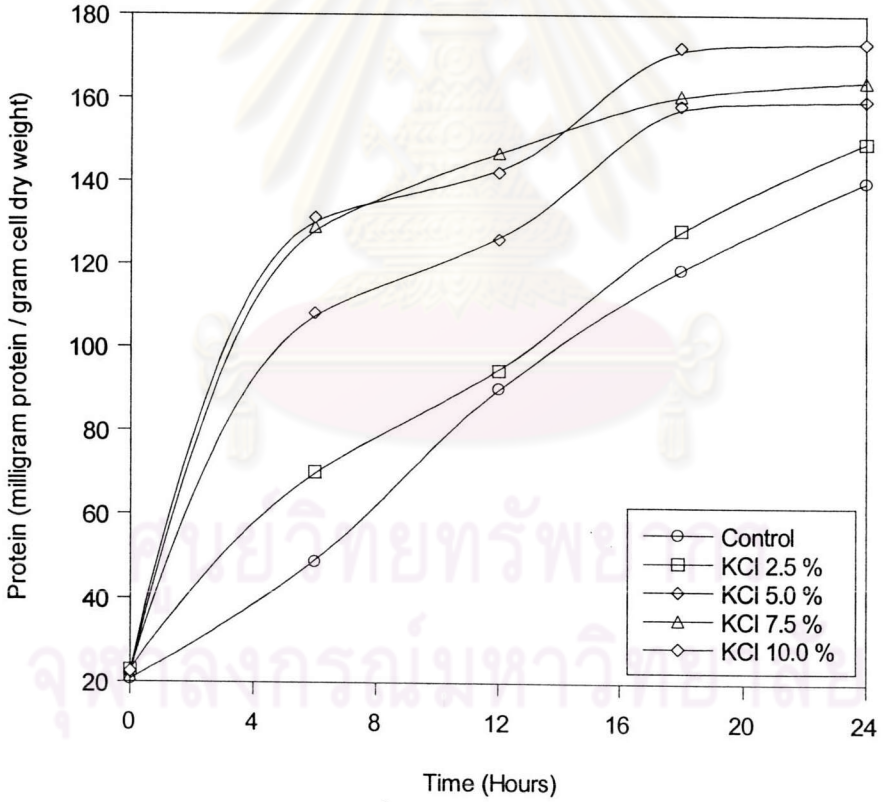
เวลา (ชั่วโมงที่)	ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง)		
	ชุดควบคุม	Titron X -100 1.0 %	Titron X -100 2.5 %
0	20.70	21.81	21.81
6	48.70	150.07	153.29
12	90.03	164.65	172.65
18	118.73	177.55	171.10
24	140.06	184.65	**209.81**



รูปที่ 3.14 เปรียบเทียบปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยตัวเองของยีสต์เมื่อแปรความเข้มข้น Titron X-100 ที่ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 5.0 อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 3.16 ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยตัวเองของยีสต์ เมื่อแปรความเข้มข้นโพแทสเซียมคลอไรด์ ที่ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 5.0 อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง)				
	ชุดควบคุม	KCl 2.5 %	KCl 5.0 %	KCl 7.5 %	KCl 10.0 %
0	20.7	22.880	22.44	21.41	22.56
6	48.7	69.950	108.1	128.9	131.21
12	90.03	94.420	126.03	146.84	142.22
18	118.73	128.29	158.4	160.71	172.27
24	140.06	149.50	159.6	164.22	**173.47**



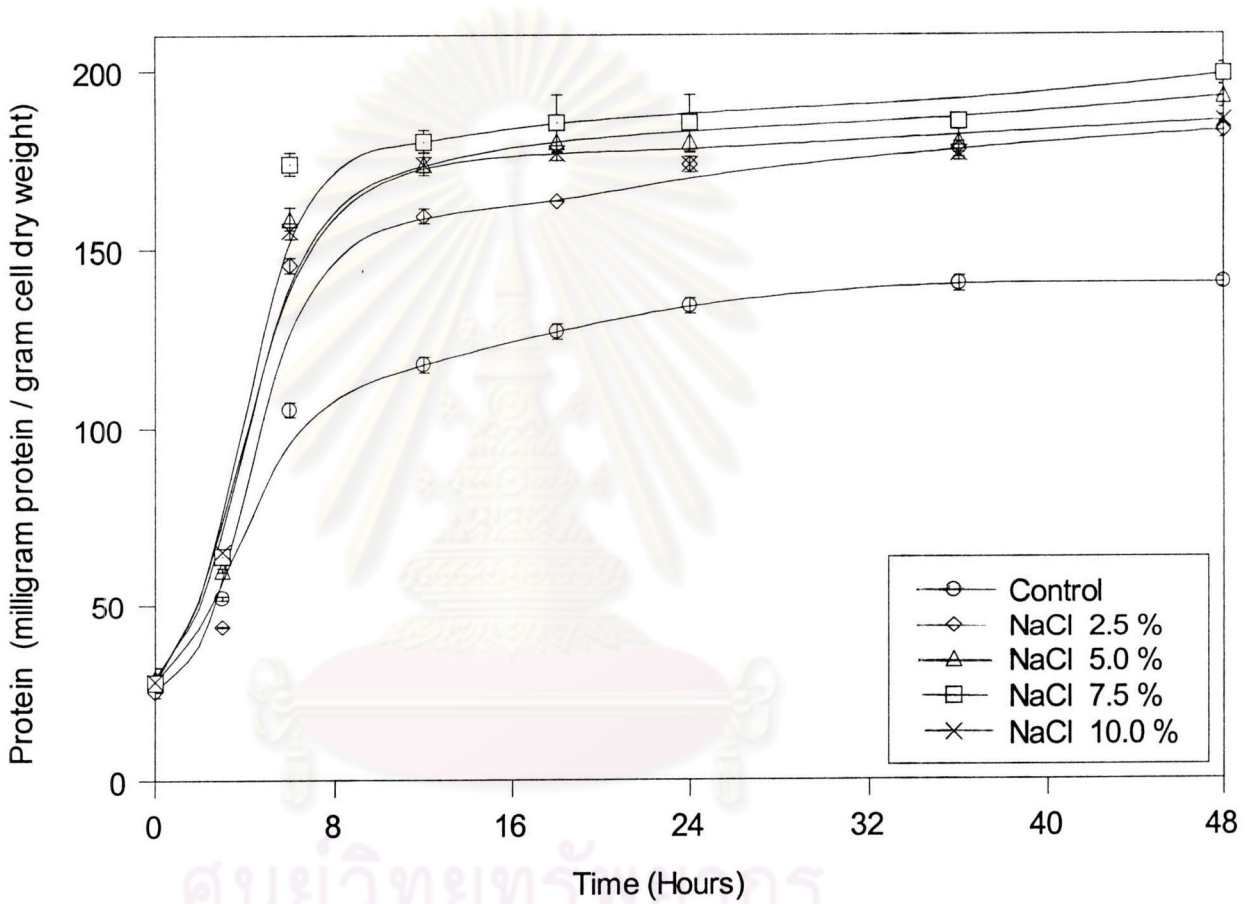
รูปที่ 3.15 เปรียบเทียบปริมาณโปรตีนที่ได้จากการย่อยตัวเองของยีสต์ เมื่อแปรความเข้มข้นโพแทสเซียมคลอไรด์ ที่ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 5.0 อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 3.17 ผลการย่อยตัวเองของยีสต์เมื่อแปรความเข้มข้นโซเดียมคลอไรด์ ที่ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 5.0 อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณโปรตีน* (มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง)				
	ชุดควบคุม	โซเดียมคลอไรด์ 2.5 %	โซเดียมคลอไรด์ 5.0 %	โซเดียมคลอไรด์ 7.5 %	โซเดียมคลอไรด์ 10.0 %
0	27.37 ± 0.13	24.78 ± 0.13	28.60 ± 2.72	27.29±4.22	27.50 ± 0.06
3	87.41 ± 2.15	43.44 ± 0.13	59.78 ± 0.54	63.67 ± 1.75	64.97 ± 0.40
6	105.33 ±2 .15	145.78 ± 2.15	158.44 ± 3.17	174.00 ± 3.17	155.11 ± 1.33
12	117.78 ± 2.15	159.26 ± 2.15	174.00 ± 3.17	180.22 ± 3.17	173.78 ± 1.33
18	127.11 ± 2.15	163.41 ± 2.15	180.22 ± 3.17	185.41 ± 7.93	176.89 ± 2.15
24	134.37 ± 2.15	173.78 ± 2.15	180.22 ± 3.17	185.41 ± 7.93	176.89 ± 2.15
36	140.59 ± 2.15	177.93 ± 2.15	180.22 ± 3.17	185.82 ± 0.79	176.89 ± 2.15
48	141.63 ± 2.15	183.11 ± 2.15	192.67 ± 3.17	**198.89 ± 3.17**	185.96 ± 1.18

* ค่าที่ได้จากการทดลองเป็นค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



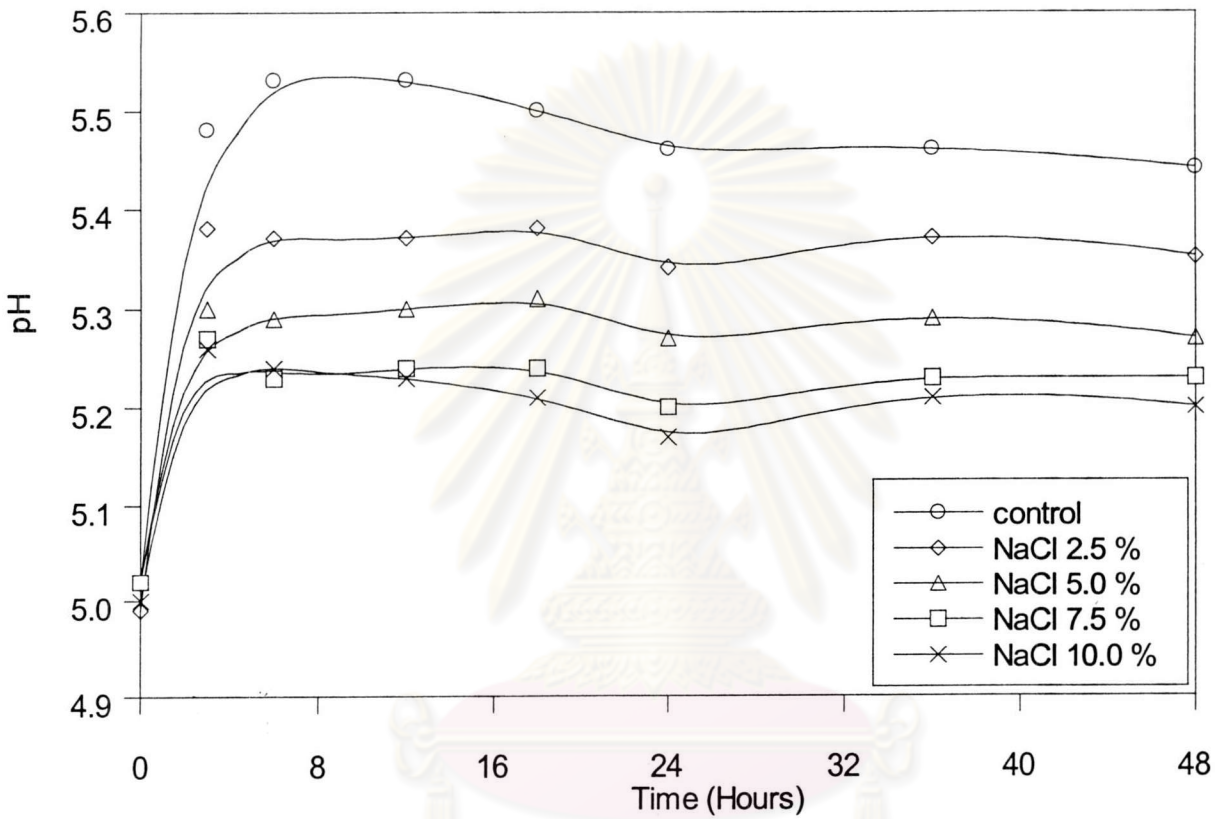
รูปที่ 3.16 เปรียบเทียบผลการย่อยตัวเองของยีสต์เมื่อแปรความเข้มข้นโซเดียมคลอไรด์ ที่ความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 5.0 อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.18 ค่าความเป็นกรดด่างของออโตไลเสตที่ได้จากการย่อยตัวเองของยีสต์โดยแปรความเข้มข้นโซเดียมคลอไรด์ที่ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 5.0 อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าความเป็นกรดด่าง*				
	ชุดควบคุม	โซเดียมคลอไรด์ 2.5 %	โซเดียมคลอไรด์ 5.0 %	โซเดียมคลอไรด์ 7.5 %	โซเดียมคลอไรด์ 10.0 %
0	5.02 ± 0.01	4.99 ± 0.00	5.02 ± 0.00	5.02 ± 0.00	5.00 ± 0.00
3	5.48 ± 0.01	5.38 ± 0.00	5.30 ± 0.00	5.27 ± 0.00	5.26 ± 0.00
6	5.53 ± 0.00	5.37 ± 0.00	5.29 ± 0.00	5.23 ± 0.00	5.24 ± 0.00
12	5.53 ± 0.00	5.37 ± 0.00	5.30 ± 0.00	5.24 ± 0.00	5.23 ± 0.00
18	5.50 ± 0.00	5.38 ± 0.00	5.31 ± 0.00	5.24 ± 0.00	5.21 ± 0.00
24	5.46 ± 0.00	5.34 ± 0.00	5.27 ± 0.00	5.20 ± 0.00	5.17 ± 0.00
36	5.46 ± 0.00	5.37 ± 0.00	5.29 ± 0.00	5.23 ± 0.00	5.21 ± 0.00
48	5.44 ± 0.00	5.35 ± 0.00	5.27 ± 0.00	5.23 ± 0.00	5.20 ± 0.00

* ค่าที่ได้จากการทดลองเป็นค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ



รูปที่ 3.17 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเป็นกรดด่างกับระยะเวลาบ่มเชื้อเมื่อแปรความเข้มข้นโซเดียมคลอไรด์ ที่ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 5.0 อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

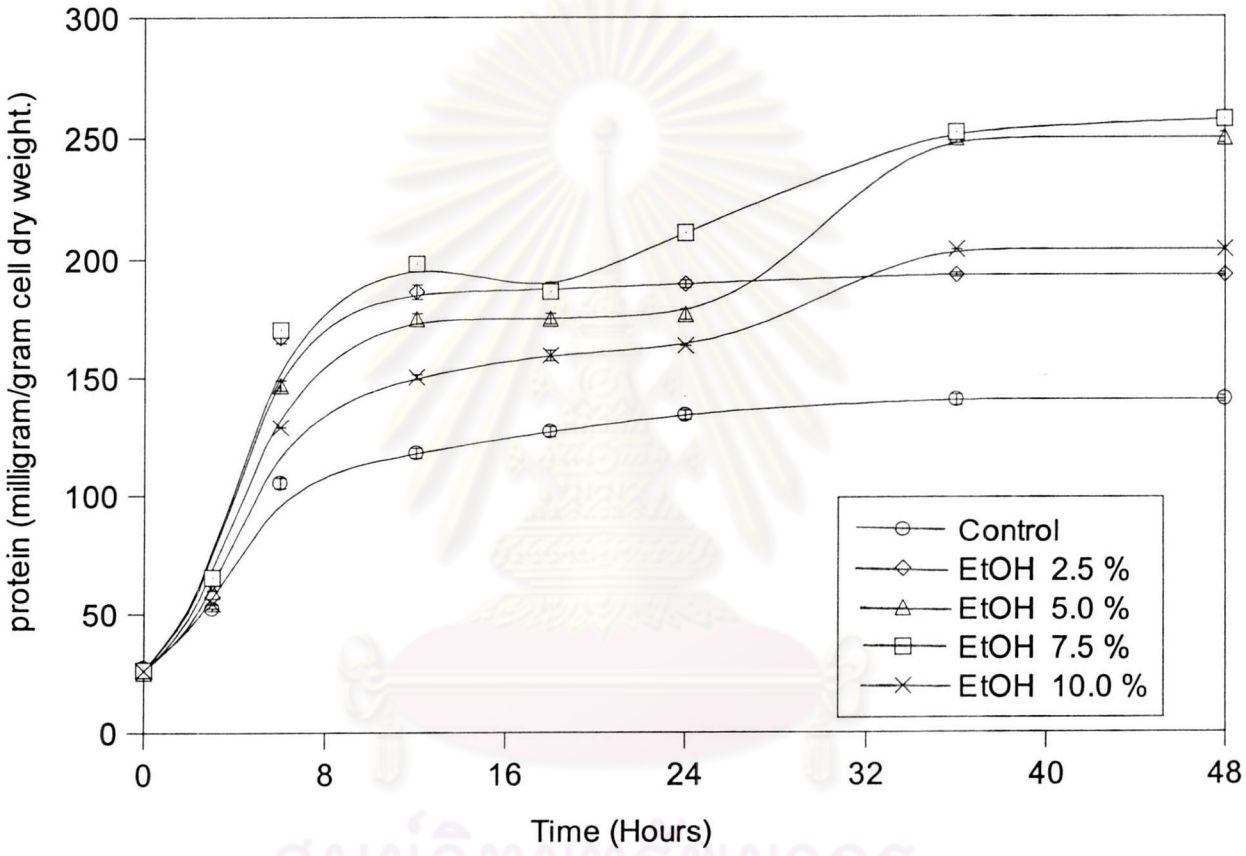
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.19 ผลการย่อยตัวเองของยีสต์เมื่อแปรความเข้มข้นเอทานอล ที่ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 5.0 อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

เวลา (ชั่วโมงที่)	ปริมาณโปรตีน* (มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง)				
	ชุดควบคุม	เอทานอล 2.5 %	เอทานอล 5.0%	เอทานอล 7.5%	เอทานอล 10.0%
0	27.37 ± 0.13	26.51 ± 0.23	25.38 ± 1.25	26.42 ± 0.73	26.16 ± 0.53
3	87.41 ± 2.15	63.54 ± 0.37	59.78 ± 0.13	65.34± 0.27	54.25 ± 0.19
6	105.33 ± 2.15	167.05± 2.66	146.81 ± 2.15	170.21 ± 1.21	129.00 ± 0.07
12	117.78 ± 2.15	186.24 ± 3.07	174.82 ± 2.15	198.10 ± 0.11	150.26 ± 0.99
18	127.11 ± 2.15	187.27 ± 3.05	174.82 ± 2.15	186.32 ± 2.20	159.30 ± 2.23
24	134.37 ± 2.15	189.61 ± 1.63	176.89 ± 2.15	210.99 ± 0.48	163.37 ± 0.00
36	140.59 ± 2.15	193.24 ± 0.83	249.49 ± 2.15	251.77 ± 1.04	203.82 ± 0.00
48	141.63 ± 2.15	193.24± 0.83	249.49± 2.15	**257.14 ± 0.86**	203.82± 0.00

* ค่าที่ได้จากการทดลองเป็นค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.18 เปรียบเทียบผลการย่อยตัวเองของยีสต์เมื่อแปรความเข้มข้นเอทานอล ที่ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 5.0 อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

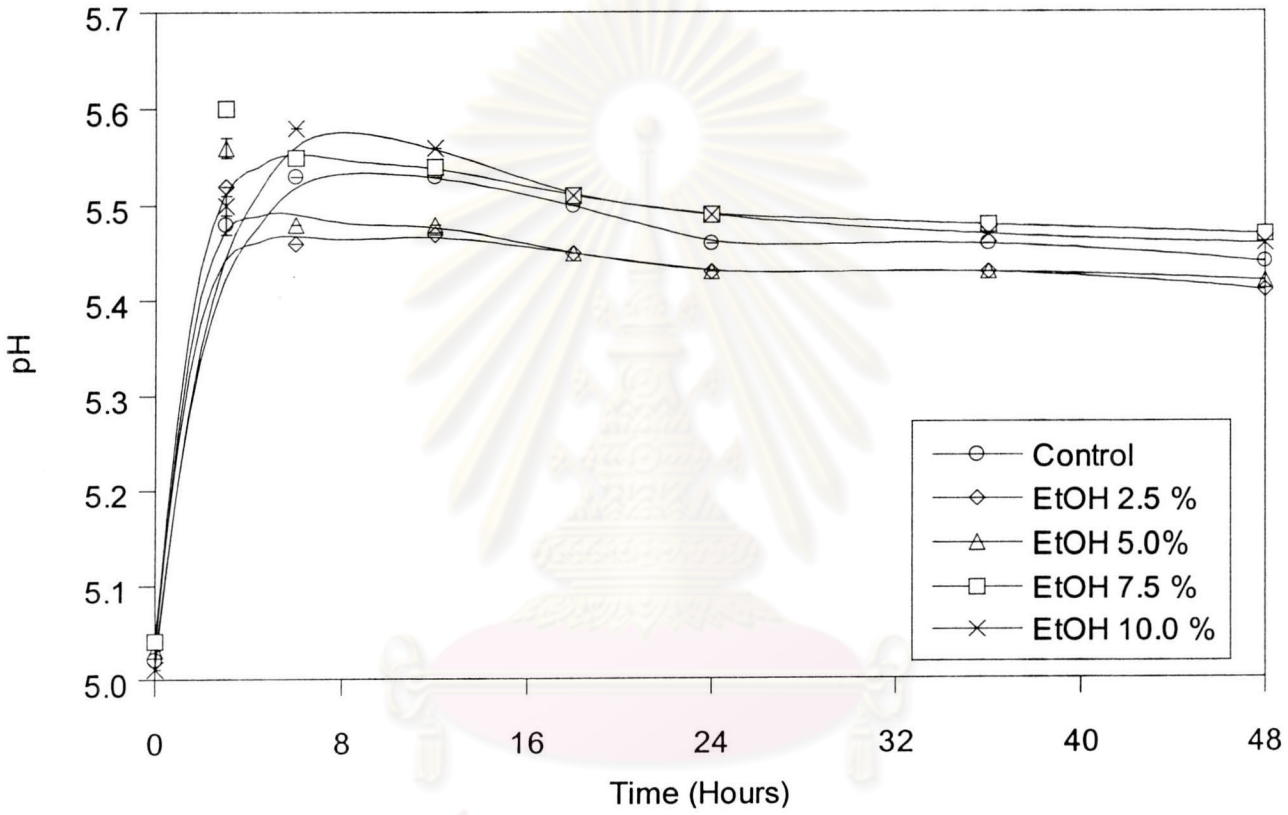
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.20 ค่าความเป็นกรดด่างของของออโตไลเสตที่ได้จากการเร่งการย่อยตัวเองของยีสต์ เมื่อแปรความเข้มข้นเอทานอล ที่ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 5.0 อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

เวลา (ชั่วโมงที่)	ค่าความเป็นกรดด่าง*				
	ชุดควบคุม	เอทานอล 2.5 %	เอทานอล 5.0%	เอทานอล 7.5%	เอทานอล 10.0%
0	5.02 ± 0.01	5.04 ± 0.00	5.03 ± 0.00	5.04 ± 0.00	5.01 ± 0.00
3	5.48 ± 0.01	5.52 ± 0.00	5.56 ± 0.01	5.60 ± 0.00	5.50 ± 0.01
6	5.53 ± 0.00	5.46 ± 0.00	5.48 ± 0.00	5.55 ± 0.00	5.58 ± 0.00
12	5.53 ± 0.00	5.47 ± 0.00	5.48 ± 0.00	5.54 ± 0.00	5.56 ± 0.00
18	5.50 ± 0.00	5.45 ± 0.00	5.45 ± 0.00	5.51 ± 0.00	5.51 ± 0.00
24	5.46 ± 0.00	5.43 ± 0.00	5.43 ± 0.00	5.49 ± 0.00	5.49 ± 0.00
36	5.46 ± 0.00	5.43 ± 0.00	5.43 ± 0.00	5.48 ± 0.00	5.47 ± 0.00
48	5.44 ± 0.00	5.41 ± 0.00	5.42 ± 0.00	5.47 ± 0.00	5.46 ± 0.00

* ค่าที่ได้จากการทดลองเป็นค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.19 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเป็นกรดด่างกับระยะเวลาบ่มเชื้อ เมื่อแปรความเข้มข้นเอทานอล ที่ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 5.0 อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

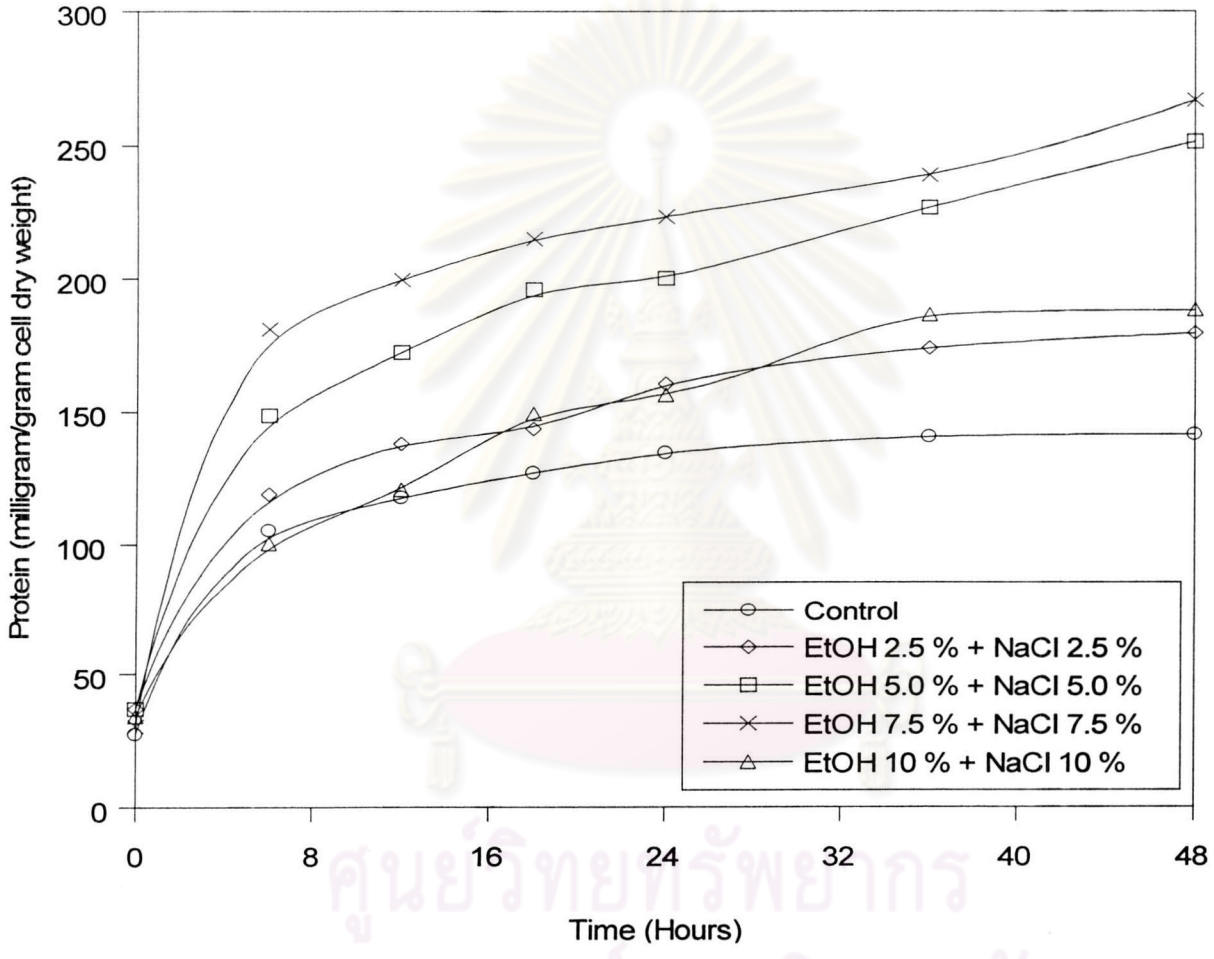
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.21 แสดงอิทธิพลร่วมของโซเดียมคลอไรด์และเอทานอล ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 5.0 อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

เวลา (ชั่วโมงที่)	ปริมาณโปรตีน* (มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง)				
	ชุดควบคุม	EtOH 2.5% + NaCl 2.5%	EtOH 5.0% + NaCl 5.0%	EtOH 7.5% + NaCl 7.5%	EtOH 10.0% + NaCl 10.0%
0	27.37 ± 0.13	36.86 ± 0.13	36.86 ± 0.22	30.22 ± 0.13	34.24 ± 0.00
6	105.33 ± 2.15	119.05 ± 0.89	148.80 ± 3.78	181.04 ± 2.15	100.49 ± 0.00
12	117.78 ± 2.15	137.94 ± 0.89	172.10 ± 1.19	199.71 ± 2.15	120.93 ± 0.79
18	127.11 ± 2.15	143.64 ± 3.57	196.10 ± 4.74	215.26 ± 2.15	149.42 ± 3.16
24	134.37 ± 2.15	160.64 ± 0.00	200.37 ± 0.00	223.56 ± 2.15	156.53 ± 3.16
36	140.59 ± 2.15	173.87 ± 3.57	227.00 ± 3.78	239.12 ± 2.15	186.75 ± 0.00
48	141.63 ± 2.15	179.53 ± 0.00	251.48 ± 0.00	**267.12 ± 2.15**	188.53 ± 3.16

* ค่าที่ได้จากการทดลองเป็นค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.20 ปริมาณโปรตีนจากการย่อยตัวเองของยีสต์ เมื่อเติมโซเดียมคลอไรด์และเอทานอล ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 5.0 อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

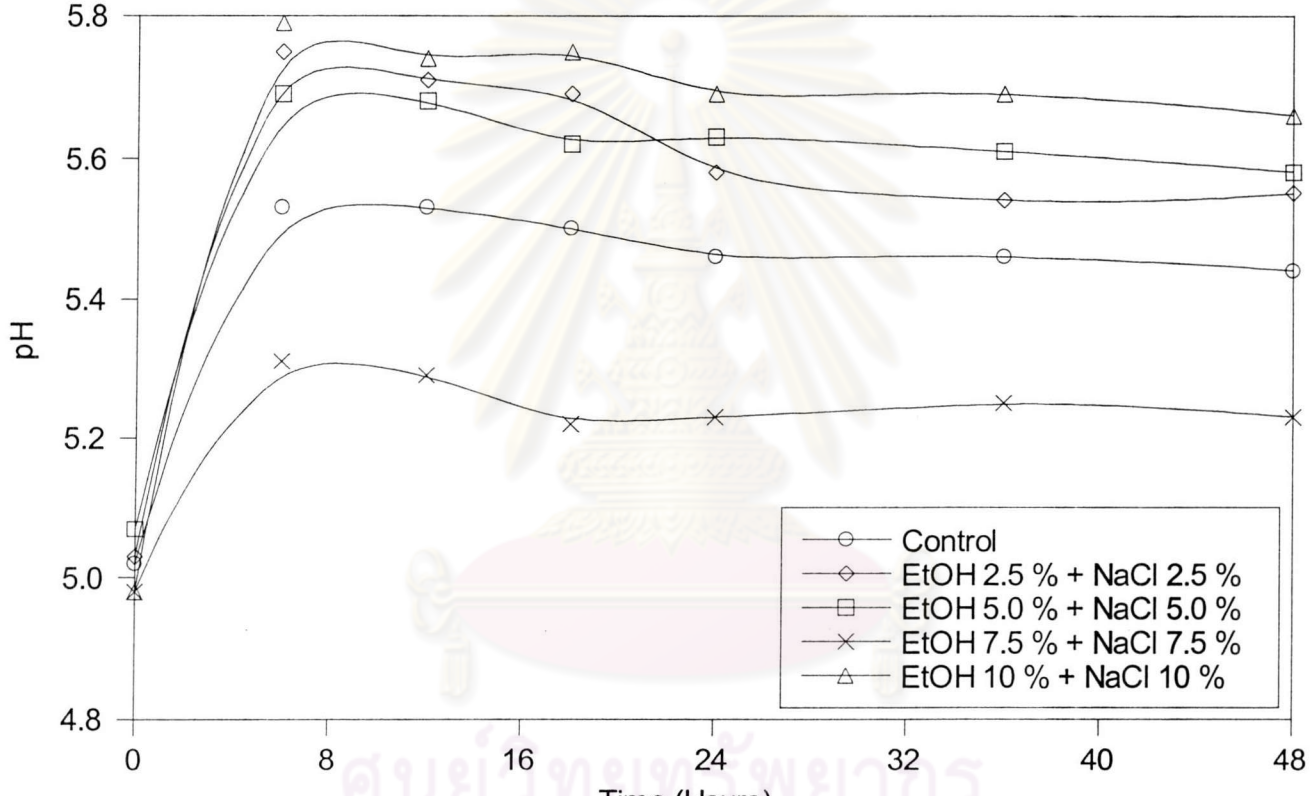
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.22 ค่าความเป็นกรดด่างเมื่อเติมโซเดียมคลอไรด์ร่วมกับเอทานอล ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 5.0 อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

เวลา	ค่าความเป็นกรดด่าง*				
(ชั่วโมงที่)	ชุดควบคุม	EtOH 2.5% + NaCl 2.5%	EtOH 5.0% + NaCl 5.0%	EtOH 7.5% + NaCl 7.5%	EtOH 10.0% + NaCl 10.0%
0	5.02 ± 0.01	5.03 ± 0.00	5.07 ± 0.00	4.98 ± 0.00	4.98 ± 0.05
6	5.48 ± 0.01	5.75 ± 0.00	5.69 ± 0.00	5.25 ± 0.00	5.79 ± 0.00
12	5.53 ± 0.00	5.71 ± 0.00	5.68 ± 0.00	5.31 ± 0.00	5.74 ± 0.00
18	5.53 ± 0.00	5.69 ± 0.00	5.62 ± 0.00	5.29 ± 0.00	5.75 ± 0.00
24	5.50 ± 0.00	5.38 ± 0.00	5.63 ± 0.00	5.22 ± 0.00	5.69 ± 0.00
36	5.46 ± 0.00	5.24 ± 0.00	5.61 ± 0.00	5.23 ± 0.00	5.69 ± 0.00
48	5.46 ± 0.00	5.25 ± 0.00	5.58 ± 0.00	**5.25 ± 0.00**	5.66 ± 0.00

* ค่าที่ได้จากการทดลองเป็นค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.21 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเป็นกรดด่างกับระยะเวลาบ่มเชื้อเมื่อแปรความเข้มข้นโซเดียมคลอไรด์และเอทานอล ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 5.0 อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.23 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การย่อยตัวเองของยีสต์ โดยการเติมสารเคมีเพื่อเร่งการย่อยสลาย

ภาวะที่ใช้ในการย่อยสลาย	การย่อยตัวเองของยีสต์ (%) *
ออโตลิซิส + 2.5 %(v/v) Titron X-100	46.34
ออโตลิซิส + 10.0%(w/v) โพแทสเซียมคลอไรด์	38.31
ออโตลิซิส + 7.5%(w/v) โซเดียมคลอไรด์	43.92 ± 0.70**
ออโตลิซิส + 7.5%(v/v) เอทานอล	56.79 ± 0.19**
ออโตลิซิส + 2.5%(w/v) โซเดียมคลอไรด์ + 2.5%(v/v) เอทานอล	39.65 ± 0.00**
ออโตลิซิส + 5.0%(w/v) โซเดียมคลอไรด์ + 5.0%(v/v) เอทานอล	51.12 ± 0.00**
ออโตลิซิส + 7.5%(w/v) โซเดียมคลอไรด์ + 7.5%(v/v) เอทานอล	**59.00 ± 0.47****
ออโตลิซิส + 10.0%(w/v) โซเดียมคลอไรด์ + 10.0%(v/v) เอทานอล	41.64 ± 0.70**

* โดยคิดจากปริมาณโปรตีนในออโตไลเสตเทียบกับปริมาณโปรตีนเซลล์ยีสต์แห้ง เมื่อ 1 กรัมเซลล์ยีสต์แห้งมีปริมาณโปรตีน 452.78 มิลลิกรัม (วิเคราะห์โดยเครื่องวิเคราะห์ไนโตรเจน)

** ค่าที่ได้จากการทดลองเป็นค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

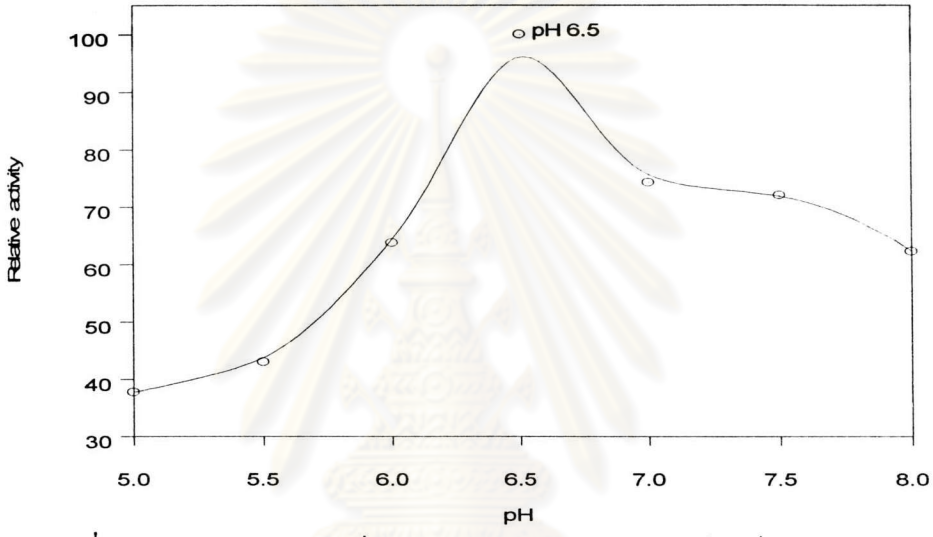
3.1.3 การหาภาวะเหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์พาเพน (Rohm GmbH) พาเพน (BDH) เฟลเวอร์ไซม์ และ นิวเทรส

การทดลองนี้จะศึกษาผลของเอนไซม์ในกลุ่มย่อยสลายโปรตีนชนิดต่างๆ ต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยตัวเองของยีสต์ ดังนั้นในขั้นต้นจะทดสอบความสามารถในการทำงานของเอนไซม์เหล่านี้ ได้แก่ พาเพน (Rohm GmbH) พาเพน (BDH) เฟลเวอร์ไซม์ และนิวเทรส โดยบ่มที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส (ตามวิธีข้อ 2.3.3.1) ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่เหมาะต่อการย่อยตัวเองของยีสต์ (จากข้อ 3.1.1) และแปรค่าความเป็นกรดด่างที่ 5.0 ถึง 8.0 เพื่อหาภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์ พบว่าที่ค่าความเป็นกรดด่างที่ 6.5 ให้แอคติวิตีพาเพน (BDH) และพาเพน(Rohm GmbH) สูงสุด (รูปที่ 3.22 - 3.23) สำหรับฟลาวโวไซม์ พบว่าค่าความเป็นกรดด่างช่วง 6.5 ถึง 7.0 ให้แอคติวิตีสูงสุด ดังนั้นจึงเลือกค่าความเป็นกรดด่าง 6.5 เนื่องจากใกล้กับค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 5.0 ซึ่งเป็นค่าที่เหมาะสมต่อการย่อยตัวเองของยีสต์ ส่วนนิวเทรสพบว่ามีแอคติวิตีสูงสุด ที่ค่าความเป็นกรดด่าง 6.0 (รูปที่ 3.24 - 3.25)

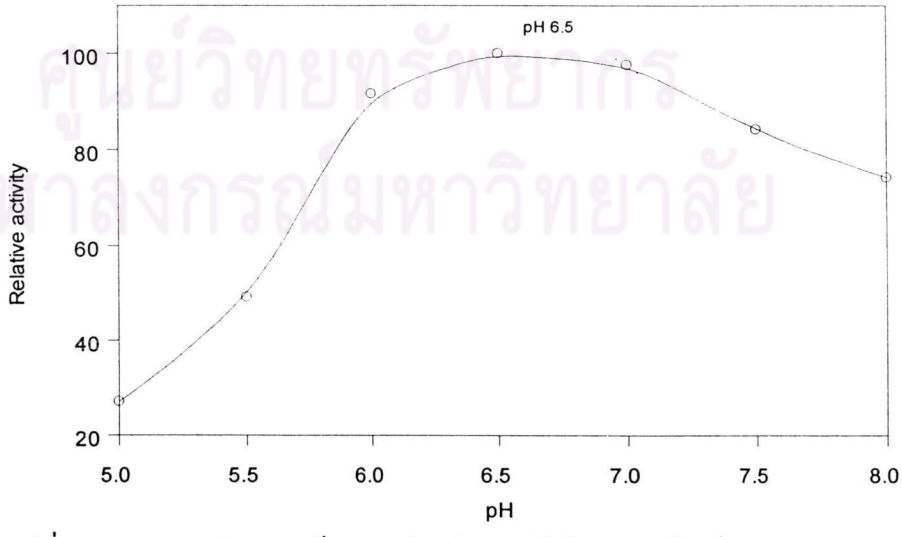
3.1.4 การหาภาวะที่เหมาะสมในการเร่งการย่อยตัวเองของยีสต์โดยการเติมเอนไซม์ พาเพน (BDH) พาเพน (Rohm GmbH) เฟลเวอร์ไซม์ และนิวเทรส

จากการทดลอง ข้อ 3.1.1 พบว่าที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นค่าที่เหมาะสมต่อการย่อยตัวเองของยีสต์ และจากการทดลอง ข้อ 2.3.3 พบว่าที่ค่าความเป็นกรดด่าง 6.5 เป็นค่าที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์พาเพน (BDH) พาเพน (Rohm GmbH) และเฟลเวอร์ไซม์ โดยค่าความเป็นกรดด่าง 6.0 เป็นค่าที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์นิวเทรส ทำการหาภาวะที่เหมาะสมต่อการเร่งการย่อยตัวเองของยีสต์ โดยเติมเอนไซม์โปรติเอสทั้ง 4 ชนิด 1,000 ยูนิตต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง โดยใช้ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.10 โมลาร์ เป็นตัวแขวนลอยยีสต์ ทำการบ่มที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมในการย่อยตัวเองของยีสต์ โดยทำการเก็บตัวอย่างเป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าการใช้พาเพน (BDH)ได้ปริมาณโปรตีนในออโตไลเสตมากกว่าการใช้พาเพน (Rohm GmbH) คือ 147.94 ± 0.22 และ 122.47 ± 0.12 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง(ตารางที่ 3.24 -3.25 และรูปที่ 3.26-3.27) คิดเป็น 32.67 และ 27.05 เปอร์เซ็นต์การย่อยตัวเองของยีสต์ ตามลำดับ สำหรับผลการทดลองเร่งการย่อยตัวเองของยีสต์ โดยเติม เฟลเวอร์ไซม์ ที่ค่าความเป็นกรดด่าง 6.5 และนิวเทรส ที่ค่าความเป็นกรดด่าง 6.0 พบว่าการเติมเฟลเวอร์ไซม์ และนิวเทรส ได้ปริมาณโปรตีนในออโตไลเสต 120.15 ± 2.05 และ 137.75 ± 0.24 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง(ตารางที่ 3.26 - 3.27

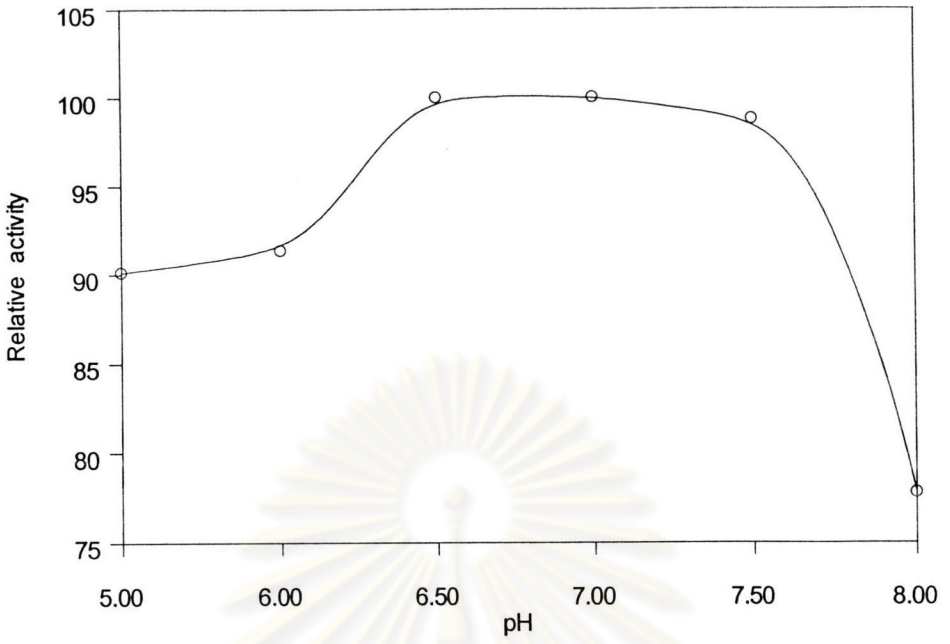
และ รูปที่ 3.28 - 3.29) คิดเป็น 26.54 ± 0.45 และ 30.43 ± 0.05 เปอร์เซ็นต์การย่อยตัวเองของยีสต์ (ตารางที่ 3.28) ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบผลการทดลอง สามารถสรุปได้ว่าการเติมเอนไซม์พาเพน(BDH)ในการเร่งการย่อยตัวเองของยีสต์ ทำให้ได้ปริมาณโปรตีนในออโตไลเสตสูงสุด แต่อย่างไรก็ตามจากการทดลองพบว่าค่าความเป็นกรดด่างในระหว่างการทดลองเร่งการย่อยตัวเองของยีสต์มีค่าไม่คงที่ (ตาราง 3.25) ซึ่งมีผลทำให้เอนไซม์ไม่สามารถการทำงานได้อย่างเต็มประสิทธิภาพ จึงเลือกใช้พาเพน(BDH)ทำการทดลองแปรชนิดและความเข้มข้นบัฟเฟอร์ที่ใช้เป็นสารละลายแขวนลอยเพื่อควบคุมค่าความเป็นกรดด่างให้คงที่ในการการทดลองต่อไป



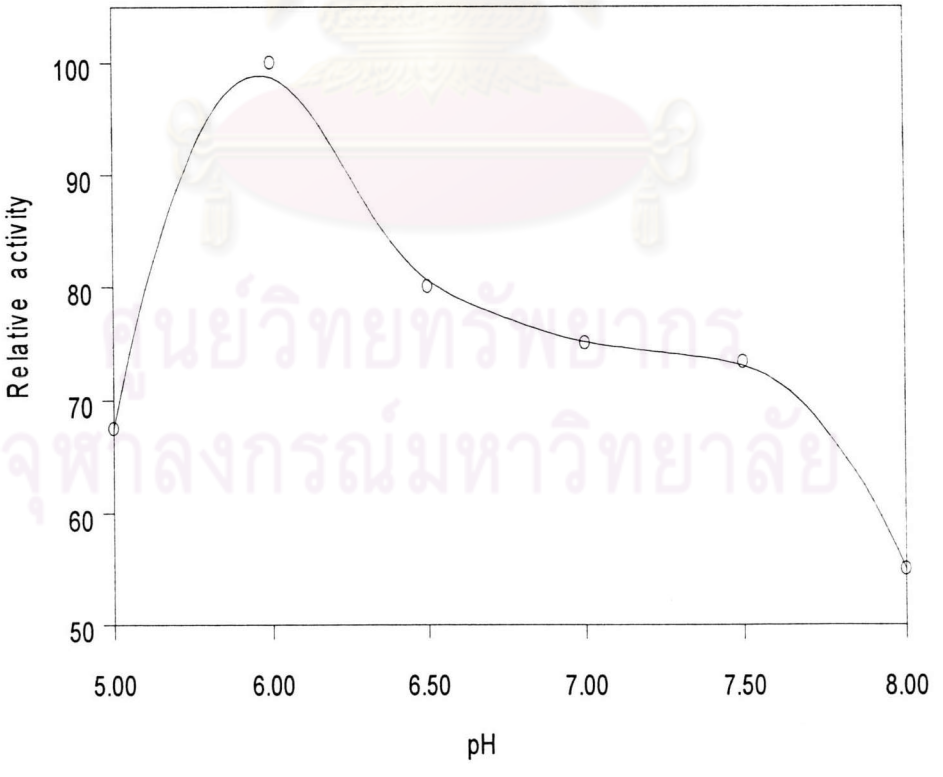
รูปที่ 3.22 ผลของค่าความเป็นกรดด่างต่อแอคติวิตีของเอนไซม์พาเพน (BDH) ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส



รูปที่ 3.23 ผลของค่าความเป็นกรดด่างต่อแอคติวิตีของเอนไซม์พาเพน (Rohm GmbH) ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส



รูปที่ 3.24 ผลของค่าความเป็นกรดด่างต่อแอคติวิตีของเอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์ ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส



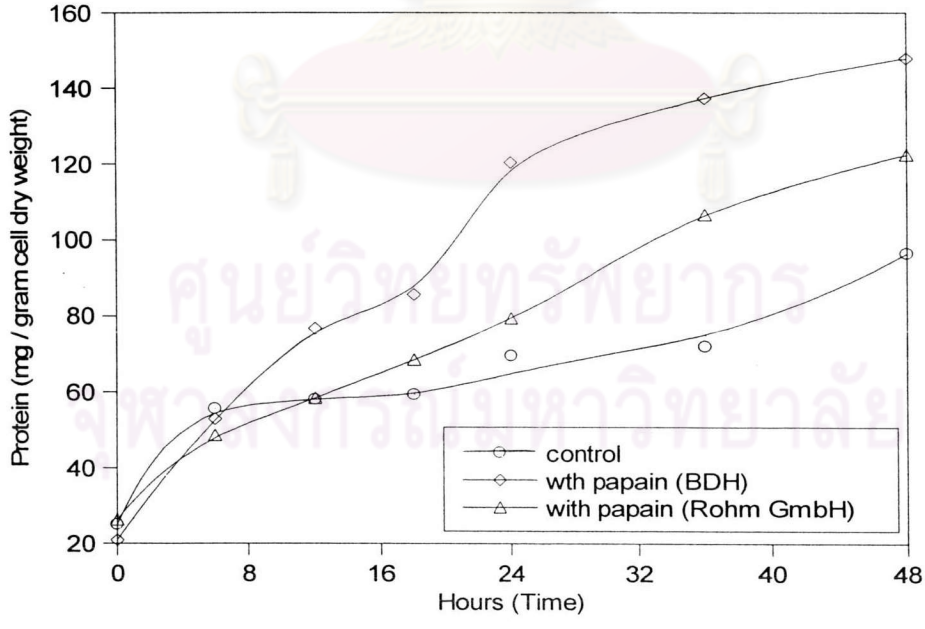
รูปที่ 3.25 ผลของค่าความเป็นกรดด่างต่อแอคติวิตีของเอนไซม์นิวเทรส ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.24 ผลการย่อยตัวเองของยีสต์ ใน 0.10 โมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ เมื่อไม่เติมพาเพนหรือเติมพาเพน (BDH) และพาเพน (Rohm GmbH) 1,000 ยูนิตต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง ที่ค่าความเป็นกรดด่าง 6.5 อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

เวลา (ชั่วโมงที่)	ปริมาณโปรตีน* (มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง)		
	ชุดควบคุม	เติมพาเพน (BDH)	เติมพาเพน (Rohm GmbH)
0	25.11 ± 0.22	20.94 ± 0.13	26.34 ± 0.22
6	55.72 ± 0.24	52.93 ± 0.22	48.70 ± 0.12
12	58.16 ± 0.33	76.71 ± 0.34	58.45 ± 0.22
18	59.38 ± 0.12	85.59 ± 0.32	68.55 ± 0.12
24	69.60 ± 0.15	120.33 ± 0.12	79.39 ± 0.24
36	72.02 ± 0.32	137.33 ± 0.32	106.70 ± 0.24
48	96.52 ± 0.24	147.94 ± 0.22	122.47 ± 0.12

* ค่าที่ได้จากการทดลองเป็นค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ

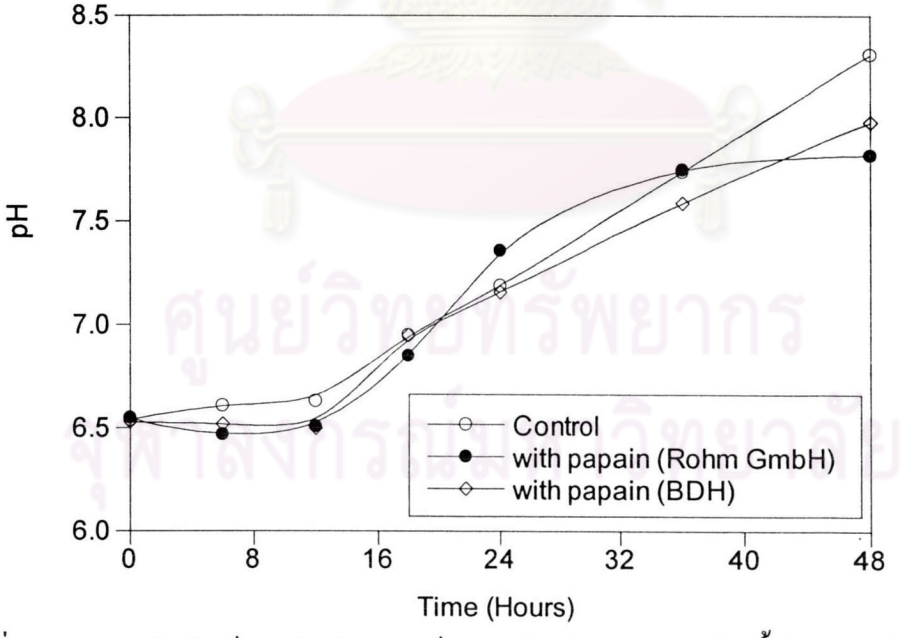


รูปที่ 3.26 เปรียบเทียบความสามารถเร่งการย่อยตัวเองของยีสต์เมื่อไม่เติมพาเพน หรือเติมพาเพน (BDH) และพาเพน (Rohm GmbH) 1,000 ยูนิตต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง ใน 0.10 โมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ที่ค่าความเป็นกรดด่าง 6.5 อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 3.25 ค่าความเป็นกรดด่างกับระยะเวลาบ่มเชื้อ ใน 0.10 โมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ เมื่อไม่เติมพาเพน หรือเติมพาเพน (BDH) และพาเพน (Rohm GmbH) 1,000 ยูนิตต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง ที่ค่าความเป็นกรดด่าง 6.5 อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

เวลา (ชั่วโมงที่)	ค่าความเป็นกรดด่าง*		
	ชุดควบคุม	เติมพาเพน (BDH)	เติมพาเพน (Rohm GmbH)
0	6.54 ± 0.00	6.53 ± 0.00	6.50± 0.00
6	6.61 ± 0.00	6.52 ± 0.00	6.47 ± 0.00
12	6.63 ± 0.01	6.50 ± 0.00	6.51 ± 0.00
18	6.95 ± 0.00	6.95 ± 0.00	6.8 ± 0.00
24	7.19 ± 0.00	7.16 ± 0.00	7.36± 0.00
36	7.74 ± 0.00	7.59 ± 0.00	7.75 ± 0.00
48	8.31 ± 0.00	7.98 ± 0.00	7.82 ± 0.00

* ค่าที่ได้จากการทดลองเป็นค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ

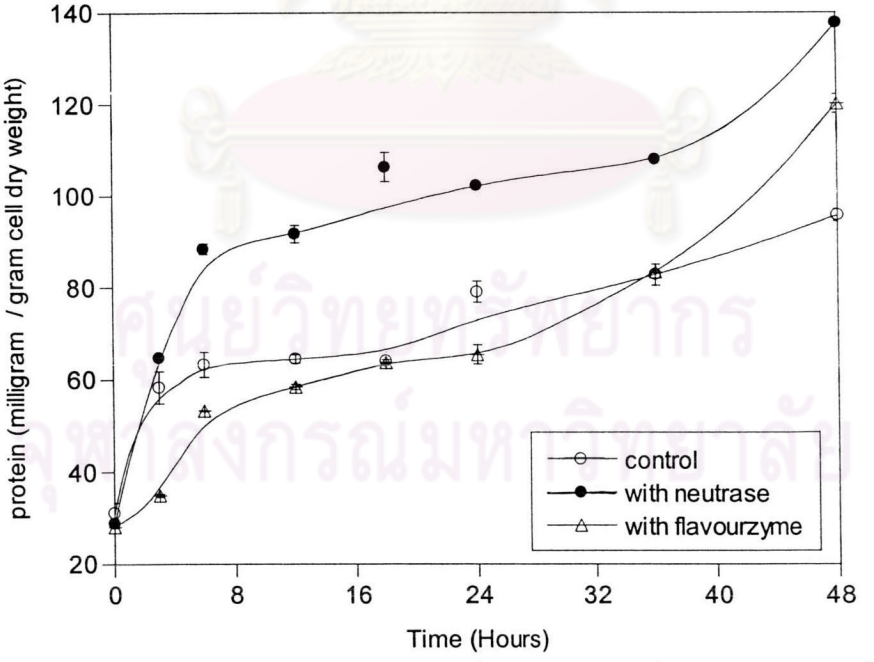


รูปที่ 3.27 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเป็นกรดด่างกับระยะเวลาบ่มเชื้อใน 0.10 โมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ เมื่อไม่เติมพาเพน หรือเติมพาเพน (BDH) และพาเพน (Rohm GmbH) 1,000 ยูนิตต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง ความเป็นกรดด่าง 6.5 อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 3.26 ผลการย่อยตัวเองของยีสต์ ใน 0.10 โมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ เมื่อไม่เติมหรือเติมนิวเทรส และเฟลเวอร์ไซม์ 1,000 ยูนิตต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง ที่ค่าความเป็นกรดด่าง 6.0 และ 6.5 ตามลำดับ อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

เวลา (ชั่วโมงที่)	ปริมาณโปรตีน* (มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง)		
	ชุดควบคุม	เติมเฟลเวอร์ไซม์	เติมนิวเทรส
0	31.08 ± 2.22	28.17 ± 0.31	28.84 ± 0.40
6	63.29 ± 2.70	53.22 ± 0.15	88.38 ± 1.19
12	64.51 ± 0.86	58.46 ± 0.58	91.71 ± 1.88
18	64.08 ± 0.28	63.71 ± 0.11	106.33 ± 3.20
24	79.06 ± 0 .31	65.45 ± 2.09	102.26 ± 0.28
36	82.76 ± 6.34	83.43 ± 0.33	108.03 ± 0.39
48	95.75 ± 1.33	120.15 ± 2.05	137.75 ± 0.24

* ค่าที่ได้จากการทดลองเป็นค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ

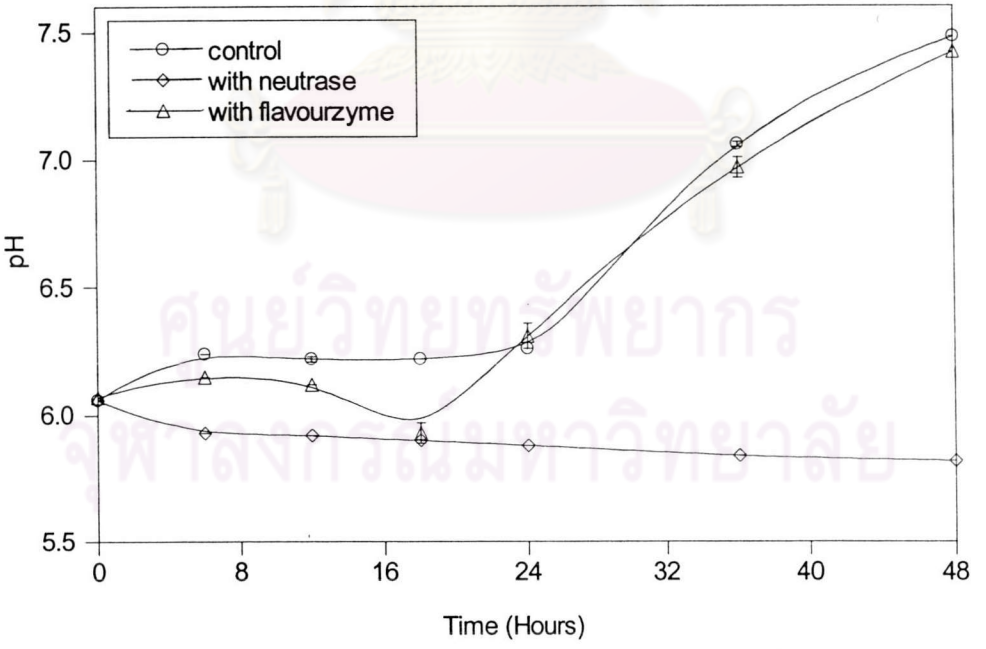


รูปที่ 3.28 เปรียบเทียบผลการย่อยตัวเองของยีสต์ ใน 0.10 โมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ เมื่อไม่เติมหรือเติมนิวเทรส และเฟลเวอร์ไซม์ 1,000 ยูนิตต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง ที่ค่าความเป็นกรดด่าง 6.0 และ 6.5 ตามลำดับ อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 3.27 ค่าความเป็นกรดด่างกับระยะเวลาบ่มเชื้อใน 0.10 โมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์เมื่อไม่เติมหรือเติมนิวเทรส และเฟลเวอร์ไซม์ 1,000 ยูนิตต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง ที่ค่าความเป็นกรดด่าง 6.0 และ 6.5 ตามลำดับ อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

เวลา (ชั่วโมงที่)	ค่าความเป็นกรดด่าง*		
	ชุดควบคุม	เติมเฟลเวอร์ไซม์	เติมนิวเทรส
0	6.07 ± 0.00	6.07 ± 0.00	6.06 ± 0.00
6	6.27 ± 0.00	6.15 ± 0.00	5.93 ± 0.00
12	6.24 ± 0.00	6.12 ± 0.00	5.92 ± 0.00
18	6.16 ± 0.04	5.93 ± 0.04	5.90 ± 0.00
24	7.02 ± 0.00	6.31 ± 0.05	5.88 ± 0.00
36	8.33 ± 0.00	6.97 ± 0.04	5.84 ± 0.00
48	8.16 ± 0.00	7.42 ± 0.00	5.82 ± 0.00

* ค่าที่ได้จากการทดลองเป็นค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ



รูปที่ 3.29 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเป็นกรดด่างกับระยะเวลาบ่มเชื้อใน 0.10 โมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ เมื่อไม่เติมหรือเติมนิวเทรส และเฟลเวอร์ไซม์ 1,000 ยูนิตต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง ที่ค่าความเป็นกรดด่าง 6.0 และ 6.5 ตามลำดับ อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 3.28 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การย่อยตัวเองของยีสต์ เมื่อเติมเอนไซม์พาเพน (BDH) พาเพน (Rohm GmbH) เฟลเวอร์ไซม์และนิวเทรส 1,000 ยูนิตต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง ใน 0.1โมลาร์ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

ภาวะที่ใช้ในการย่อยสลาย	การย่อยตัวเองของยีสต์ (%) *
ออโตลิซิส + เอนไซม์พาเพน (BDH)	32.67
ออโตลิซิส + เอนไซม์พาเพน (Rohm GmbH)	27.05
ออโตลิซิส + เอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์	26.54 ± 0.45
ออโตลิซิส + เอนไซม์นิวเทรส	30.43 ± 0.05

* ค่าที่ได้จากการทดลองเป็นค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ โดยคิดเป็นปริมาณโปรตีนในออโตไลเสตเทียบกับปริมาณโปรตีนในเซลล์ยีสต์แห้ง เมื่อ 1 กรัมเซลล์ยีสต์แห้งมีปริมาณโปรตีน 452.78 มิลลิกรัม (วิเคราะห์โดยเครื่องวิเคราะห์ไนโตรเจน)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

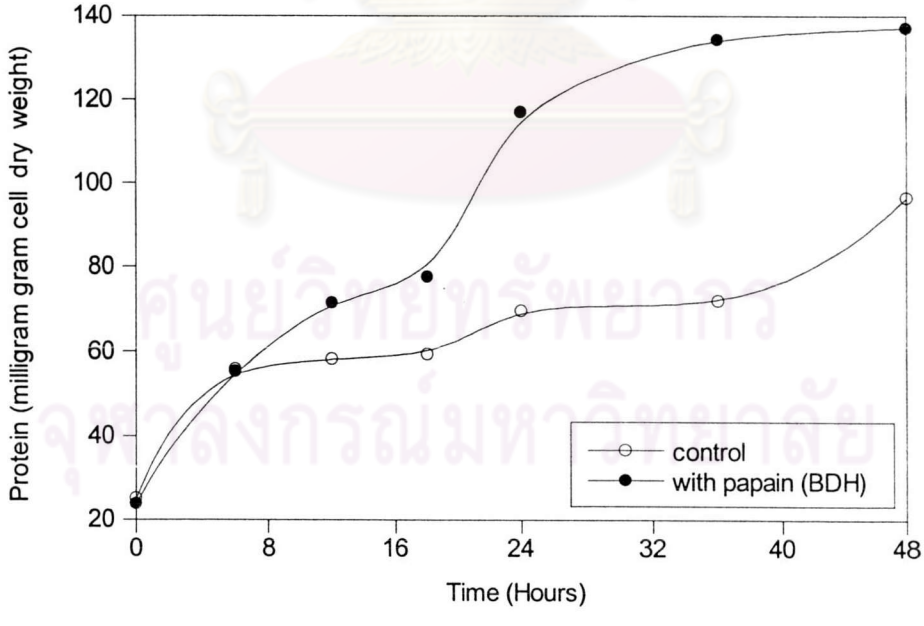
3.1.5 การแปรชนิดและความเข้มข้นของบัฟเฟอร์ในการเร่งการย่อยตัวเองของยีสต์โดยการเติมเอนไซม์พาเพน

จากการทดลองเร่งการย่อยตัวเองของยีสต์ ข้อ 3.1.4 พบว่าการใช้เอนไซม์พาเพน (BDH) ให้ปริมาณโปรตีนในออโตไลเสตมากกว่าพาเพน (Rohm GmbH) แต่เนื่องจากค่าความเป็นกรดด่างระหว่างการทดลองไม่คงที่ ซึ่งมีผลให้เอนไซม์ไม่สามารถทำงานได้อย่างเต็มประสิทธิภาพ จึงทำการทดลองเร่งการย่อยตัวเองของยีสต์โดยใช้พาเพน (BDH) 1,000 ยูนิตต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ทำการแปรชนิดของบัฟเฟอร์ซึ่งเป็นตัวแขวนลอยยีสต์ เพื่อควบคุมค่าความเป็นกรดด่างให้คงที่ บัฟเฟอร์ที่ใช้คือ ซิเตรตฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ และอะซิเตตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.10 โมลาร์ ในการแขวนลอยยีสต์ ที่ค่าความเป็นกรดด่าง 6.5 ซึ่งเป็นภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ โดยติดตามผลของปริมาณโปรตีน และค่าความเป็นกรดด่างตลอดการทดลอง ได้ปริมาณโปรตีนในไฮโดรไลเสต 137.09 125.54 และ 90.26 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง (ตารางที่ 3.29 - 3.33 และ รูปที่ 3.30 - 3.34) คิดเป็น 30.28 27.73 และ 19.93 เปอร์เซ็นต์การย่อยตัวเองของยีสต์ ตามลำดับ พบว่าในภาวะที่ใช้บัฟเฟอร์ ทั้ง 3 ชนิด เป็นตัวแขวนลอยยีสต์ไม่สามารถควบคุมค่าความเป็นกรดด่างคงที่ได้ จึงเพิ่มความเข้มข้นของอะซิเตตบัฟเฟอร์จาก 0.10 เป็น 0.15 โมลาร์ พบว่าได้ปริมาณโปรตีน 71.64 ± 1.61 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง (ตารางที่ 3.34 และรูปที่ 3.35) คิดเป็น 15.82 ± 0.29 เปอร์เซ็นต์การย่อยตัวเองของยีสต์โดยติดตามผลค่าความเป็นกรดด่างตลอดการทดลอง พบว่ายังไม่สามารถควบคุมค่าความเป็นกรดด่าง จึงทดลองเปลี่ยนเป็นน้ำปราศจากไอออนในการแขวนลอยยีสต์ พบว่าที่ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 6.5 ได้ปริมาณโปรตีนในไฮโดรไลเสต 185.67 ± 1.33 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง (ตารางที่ 3.35 - 3.36 และรูปที่ 3.36 - 3.37) คิดเป็น 41.00 ± 0.29 เปอร์เซ็นต์การย่อยตัวเองของยีสต์ ซึ่งสูงกว่าการใช้บัฟเฟอร์ในการแขวนลอย (ตารางที่ 3.37)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.29 ผลการย่อยตัวเองของยีสต์ เมื่อเติมและไม่เติมพาเพน (BDH) 1,000 ยูนิตต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง ใน 0.10 โมลาร์ ซิเตรตฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ที่ค่าความเป็นกรดด่าง 6.5 ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

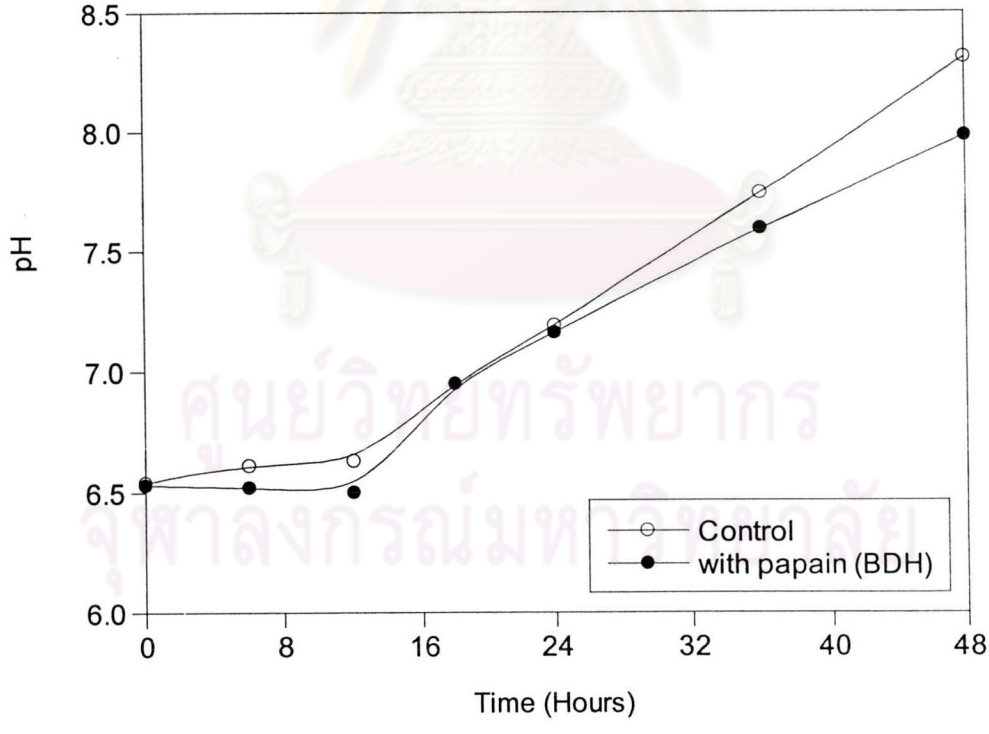
เวลา (ชั่วโมงที่)	ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง)	
	ชุดควบคุม	เติมพาเพน (BDH)
0	25.11	23.83
6	55.72	55.19
12	58.16	71.43
18	59.38	77.55
24	69.60	116.89
36	72.02	134.20
48	96.52	137.09



รูปที่ 3.30 ความสามารถเร่งการย่อยตัวเองของยีสต์ เมื่อเติมและไม่เติมพาเพน (BDH) 1,000 ยูนิตต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง ใน 0.10 โมลาร์ ซิเตรตฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ที่ค่าความเป็นกรดด่าง 6.5 ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 3.30 ค่าความเป็นกรดด่างกับระยะเวลาบ่มเชื้อ เมื่อเติมและไม่เติมพาเพน (BDH) 1,000 ยูนิตต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง ใน 0.10 โมลาร์ ซิเตรตฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ที่ค่าความเป็นกรดด่าง 6.5 อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

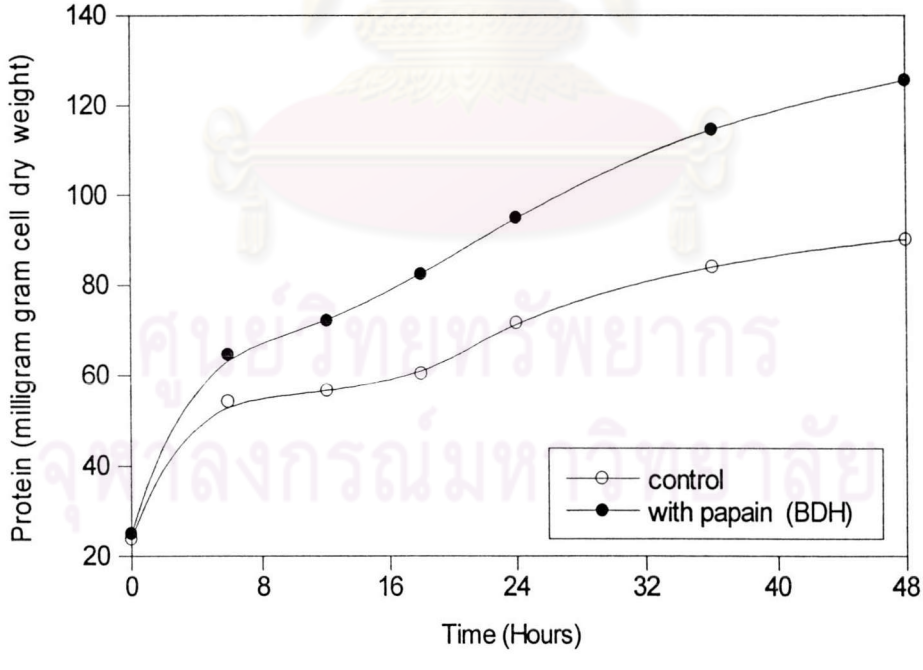
เวลา (ชั่วโมงที่)	ค่าความเป็นกรดด่าง	
	ชุดควบคุม	เติมพาเพน (BDH)
0	6.54	6.53
6	6.61	6.52
12	6.63	6.50
18	6.95	6.95
24	7.19	7.16
36	7.74	7.59
48	8.31	7.98



รูปที่ 3.31 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเป็นกรดด่างกับระยะเวลาบ่มเชื้อ เมื่อเติมและไม่เติม พาเพน (BDH) 1,000 ยูนิตต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง ใน 0.10 โมลาร์ ซิเตรตฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ที่ค่าความเป็นกรดด่าง 6.5 อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 3.31 ผลการย่อยตัวเองของยีสต์เมื่อเติมและไม่เติมพาเพน (BDH) 1,000 ยูนิตต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง ใน 0.10 โมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ที่ค่าความเป็นกรดด่าง 6.5 ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

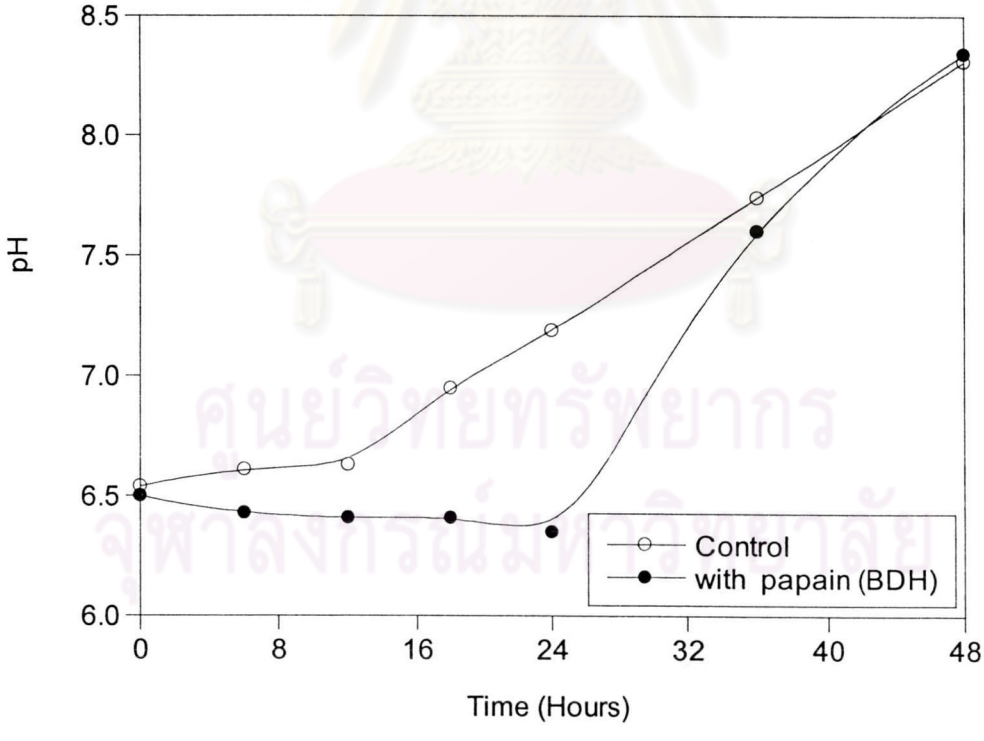
เวลา (ชั่วโมงที่)	ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง)	
	ชุดควบคุม	เติมพาเพน (BDH)
0	23.89	25.05
6	54.18	64.65
12	56.63	72.14
18	60.30	82.47
24	71.53	94.95
36	84.13	114.70
48	90.26	125.54



รูปที่ 3.32 เปรียบเทียบความสามารถเร่งการย่อยตัวเองของยีสต์ เมื่อเติมและไม่เติมพาเพน (BDH) 1,000 ยูนิตต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง ใน 0.10 โมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ที่ค่าความเป็นกรดด่าง 6.5 อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 3.32 ค่าความเป็นกรดด่างกับระยะเวลาบ่มเชื้อ เมื่อเติมหรือไม่เติมพาเพน (BDH) 1,000 ยูนิตต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง ใน 0.10 โมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ที่ค่าความเป็นกรดด่าง 6.5 อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

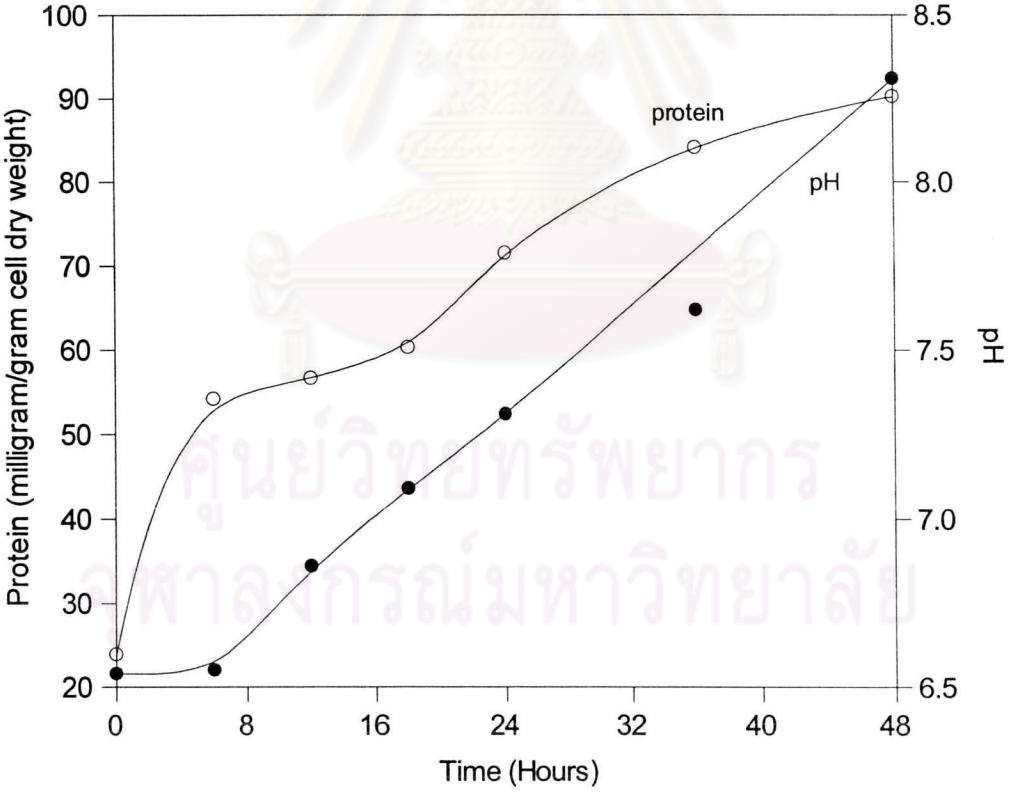
เวลา (ชั่วโมงที่)	ค่าความเป็นกรดด่าง	
	ชุดควบคุม	เติมพาเพน (BDH)
0	6.54	6.50
6	6.61	6.43
12	6.63	6.41
18	6.95	6.41
24	7.19	6.35
36	7.74	7.60
48	8.31	8.34



รูปที่ 3.33 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเป็นกรดด่างกับระยะเวลาบ่มเชื้อ เมื่อเติมหรือไม่เติมพาเพน (BDH) 1,000 ยูนิตต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง ใน 0.10 โมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ที่ค่าความเป็นกรดด่าง 6.5 อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 3.33 ค่าความเป็นกรดด่างและผลการย่อยตัวเองของยีสต์ ใน 0.10 โมลาร์ อะซิเตตบัฟเฟอร์ ที่ค่าความเป็นกรดด่าง 6.5 อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

เวลา (ชั่วโมงที่)	ค่าความเป็นกรดด่าง	ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง)
0	6.54	23.89
6	6.55	54.18
12	6.86	56.63
18	7.09	60.30
24	7.31	71.53
36	7.62	84.13
48	8.31	90.26



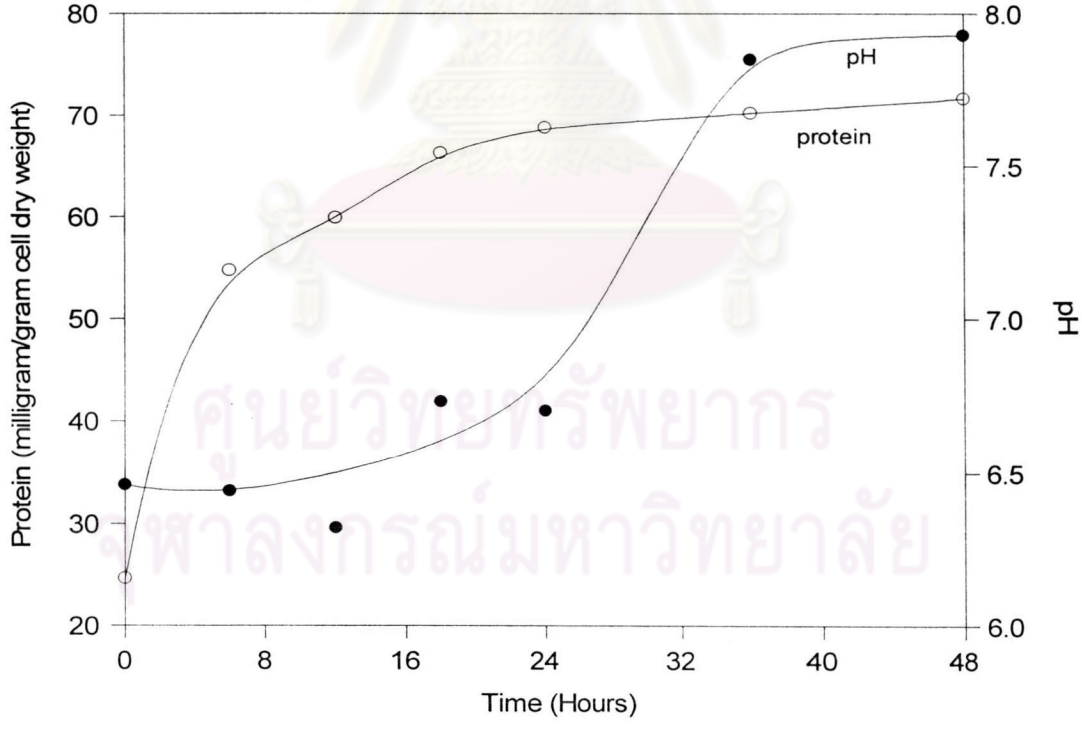
รูปที่ 3.34 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเป็นกรดด่างกับผลการย่อยตัวเองของยีสต์ ใน 0.10 โมลาร์ อะซิเตตบัฟเฟอร์ ที่ค่าความเป็นกรดด่าง 6.5 อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.34 ค่าความเป็นกรดด่างและผลการเร่งการย่อยตัวเองของยีสต์ ใน 0.15 โมลาร์ อะซิเตต บัฟเฟอร์ ที่ค่าความเป็นกรดด่าง 6.5 อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

เวลา (ชั่วโมงที่)	ค่าความเป็นกรดด่าง*	ปริมาณโปรตีน* (มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง)
0	6.46 ± 0.00	24.66 ± 0.01
6	6.44 ± 0.00	54.74 ± 0.36
12	6.32 ± 0.01	59.81 ± 1.43
18	6.73 ± 0.20	66.26 ± 1.43
24	6.70 ± 0.08	68.76 ± 0.36
36	7.85 ± 0.27	70.22 ± 1.43
48	7.93 ± 0.56	71.64 ± 1.61

* ค่าที่ได้จากการทดลองเป็นค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ



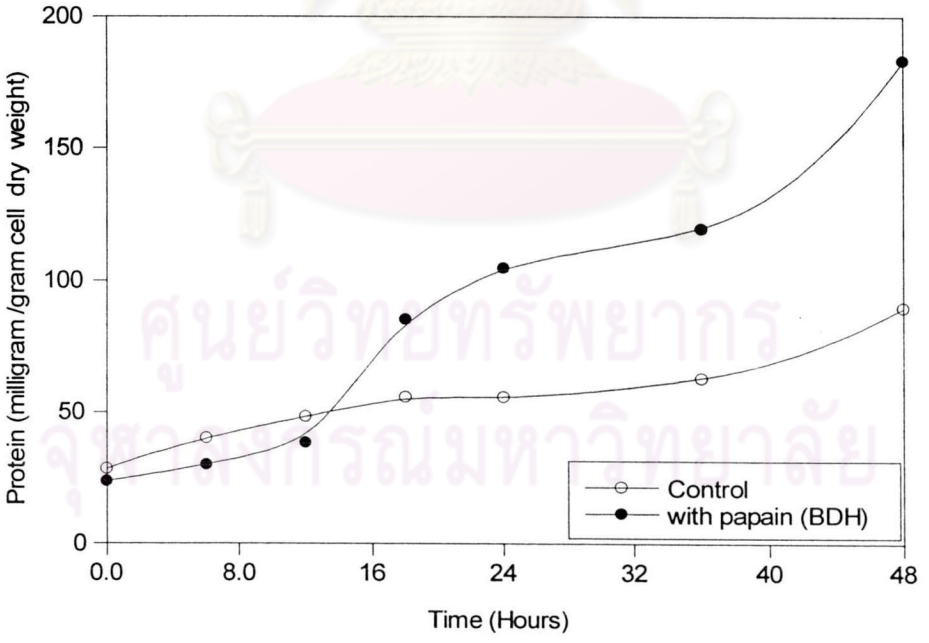
รูปที่ 3.35 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเป็นกรดด่างกับระยะเวลาบ่มเชื้อ ใน 0.15 โมลาร์ อะซิเตตบัฟเฟอร์ ที่ค่าความเป็นกรดด่าง 6.5 อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.35 ผลการย่อยตัวเองของยีสต์ เมื่อเติมและไม่เติมพาเพน (BDH) 1,000 ยูนิตต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง ในน้ำปราศจากไอออน ที่ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 6.5 อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

เวลา (ชั่วโมงที่)	ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง)	
	ชุดควบคุม	เติมพาเพน (BDH)*
0	28.47	23.72 ± 0.00
6	40.09	30.10 ± 0.08
12	48.37	38.46 ± 0.33
18	55.71	85.31 ± 1.33
24	55.71	104.89 ± 1.33
36	63.05	119.58 ± 1.33
48	89.98	185.67 ± 1.33

* ค่าที่ได้จากการทดลองเป็นค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ

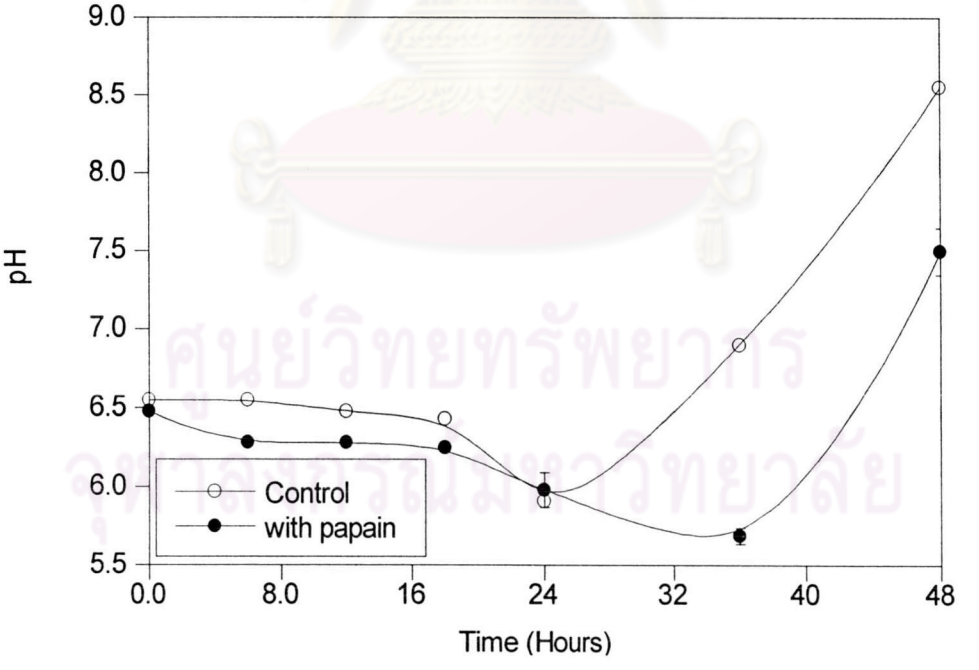


รูปที่ 3.36 เปรียบเทียบผลการย่อยตัวเองของยีสต์ในน้ำปราศจากไอออน เมื่อเติมและไม่เติมพาเพน(BDH) 1,000 ยูนิตต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง ที่ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 6.5 อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 3.36 ค่าความเป็นกรดด่างกับระยะเวลาบ่มเชื้อ เมื่อเติมและไม่เติมพาเพน (BDH) 1,000 ยูนิตต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง ในน้ำปราศจากไอออน ที่ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 6.5 อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

เวลา (ชั่วโมงที่)	ค่าความเป็นกรดด่าง	
	ชุดควบคุม	เติมพาเพน (BDH)*
0	6.55	6.48±0.00
6	6.55	6.28±0.02
12	6.48	6.28±0.01
18	6.43	6.25±0.01
24	5.91	5.98±0.11
36	6.90	5.69±0.05
48	8.55	7.50±0.15

* ค่าที่ได้จากการทดลองเป็นค่าที่ได้จากการเฉลี่ย 3 ซ้ำ



รูปที่ 3.37 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเป็นกรดด่างกับระยะเวลาบ่มเชื้อ เมื่อเติมและไม่เติมพาเพน(BDH) 1,000 ยูนิตต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง ในน้ำปราศจากไอออน ที่ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 6.5 อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 3.37 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การย่อยตัวเองของยีสต์ เมื่อเติมเอนไซม์ พาเพน (BDH) โดยแปรชนิดและความเข้มข้นของสารละลายแขวนลอยยีสต์

ภาวะที่ใช้ในการย่อยสลาย	การย่อยตัวเองของยีสต์ (%) *
0.10 โมลาร์ ซิเตรตฟอสเฟตบัฟเฟอร์	30.28
0.10 โมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์	27.73
0.10 โมลาร์ อะซิเตตบัฟเฟอร์	19.93
0.15 โมลาร์ อะซิเตตบัฟเฟอร์	15.82 ± 0.29**
น้ำปราศจากไอออน	41.00 ± 0.29**

* ปริมาณโปรตีนในออโตไลเสตเทียบกับปริมาณโปรตีนในเซลล์ยีสต์แห้ง เมื่อ 1 กรัม เซลล์ยีสต์แห้งมีปริมาณโปรตีน 452.78 มิลลิกรัม (วิเคราะห์โดยเครื่องวิเคราะห์ไนโตรเจน)

** ค่าที่ได้จากการทดลองเป็นค่าที่ได้จากการเฉลี่ย 3 ซ้ำ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.1.6 ผลการทดลองเร่งการย่อยตัวเองของยีสต์ในการทดลองขนาด 4.5 ลิตร

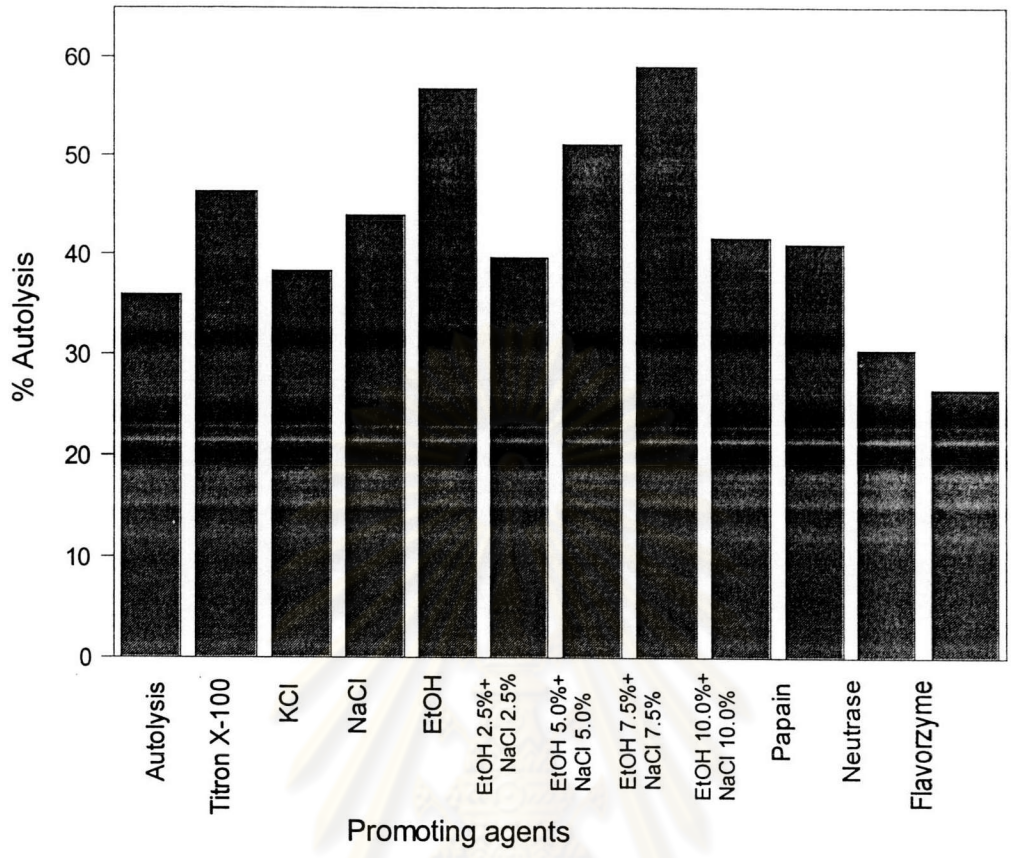
จากผลการทดลองการเร่งการย่อยตัวเองของยีสต์ในระดับขวดเขย่า (มีสารละลายแขวนลอยยีสต์ ปริมาตร 28 มิลลิลิตร) มาทำการทดลองเร่งการย่อยตัวเองของยีสต์ โดยเติมและไม่เติมสารเร่งการย่อยสลาย พบว่าการเติมเอทานอลและโซเดียมคลอไรด์อย่างละ 7.5 % มีผลให้ปริมาณโปรตีนในออโตไลเสตสูงสุดคือ 267.12 ± 2.15 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง (ตารางที่ 3.21) คิดเป็นสารสกัดจากยีสต์ 59.00 ± 0.47 เปอร์เซ็นต์การย่อยตัวเองของยีสต์ (ตารางที่ 3.38 และ รูปที่ 3.38) โดยนำผลการทดลองมาทำการวิเคราะห์ผลเชิงสถิติ โดยใช้วิธี Yate's Method (ภาคผนวก ง - 1) เพื่อเปรียบเทียบอิทธิพลของโซเดียมคลอไรด์และเอทานอล พบว่าการเติมเอทานอล โซเดียมคลอไรด์ และเอทานอลร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ ที่ระดับความเข้มข้น 7.5 % มีผลต่อการเร่งการย่อยตัวเองของยีสต์มากที่สุดสำหรับสารที่เติมแต่ละชนิด โดยการเติมเอทานอล 7.5 % โซเดียมคลอไรด์ 7.5 % และผลร่วมของเอทานอล 7.5 % กับโซเดียมคลอไรด์ 7.5 % มีอิทธิพลผลต่อการเร่งการย่อยตัวเองของยีสต์ลดลงตามลำดับ (ตารางที่ 3.39) นำภาวะที่มีการเติมเอทานอลร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ ซึ่งให้ปริมาณโปรตีนสูงสุดมาทำการทดลองขนาด 4.5 ลิตร เพื่อยืนยันผลการทดลอง พบว่ามีปริมาณโปรตีนในออโตไลเสต 261.85 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง คิดเป็นสารสกัดจากยีสต์ 58.55 เปอร์เซ็นต์การย่อยตัวเองของยีสต์ (ตารางที่ 3.40) ซึ่งผลการวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะมิโนในออโตไลเสต ด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) จากหน่วยเครื่องมือกลาง คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล พบว่าออโตไลเสตที่ได้จากการเร่งการย่อยตัวเองของยีสต์ โดยเติมสารเร่งการย่อยสลายมีปริมาณกรดอะมิโนสูงกว่าที่ไม่เติมสารเร่งการย่อยสลาย เมื่อเทียบเป็นเปอร์เซ็นต์น้ำหนักต่อปริมาตรของออโตไลเสต โดยมีกรดกลูตามิกและกรดแอสปาร์ติก เป็นส่วนประกอบสำคัญ คิดเป็น 8.28 และ 5.55 % ตามลำดับ (ตารางที่ 3.41) จากนั้นนำออโตไลเสตมาทำให้เข้มข้นโดยเครื่องระเหยเป็นไอ หลังจากนั้นนำสารละลายที่ได้มาทำการอบแห้งแบบพ่นฝอย (spray dry) พบว่าได้สารสกัดจากยีสต์ 376.43 กรัม เมื่อนำมาละลายได้สารละลายสีเหลืองใส มีค่าการละลาย 4 % ในน้ำปราศจากไอออน ที่ค่าความเป็นกรดด่าง 5.7 อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส และมีความเข้มข้นเกลือ 55 % ของน้ำหนักสารสกัดจากยีสต์ คำนวณปริมาณโปรตีนในสารสกัดจากยีสต์ได้ 61.11 % ของสารประกอบของแข็งในสารสกัดจากยีสต์ เมื่อหักปริมาณเกลือออกแล้ว (ภาคผนวก ก - 3)

ตารางที่ 3.38 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การย่อยตัวเองของยีสต์ โดยการเติมและไม่เติมสารเร่งการย่อยสลาย

ภาวะที่ใช้ในการย่อยสลาย	การย่อยตัวเองของยีสต์ (%) *
ออโตลิซิส	35.96 ± 1.12**
ออโตลิซิส + 2.5 %(v/v) Titron X-100	46.34
ออโตลิซิส + 10.0%(w/v) โพแทสเซียมคลอไรด์	38.31
ออโตลิซิส + 7.5%(w/v) โซเดียมคลอไรด์	43.92 ± 0.70**
ออโตลิซิส + 7.5%(v/v) เอทานอล	56.79 ± 0.19**
ออโตลิซิส + 2.5%(w/v) โซเดียมคลอไรด์ + 2.5%(v/v) เอทานอล	39.65 ± 0.00**
ออโตลิซิส + 5.0%(w/v) โซเดียมคลอไรด์ + 5.0%(v/v) เอทานอล	51.12 ± 0.00**
ออโตลิซิส + 7.5%(w/v) โซเดียมคลอไรด์ + 7.5%(v/v) เอทานอล	59.00 ± 0.47**
ออโตลิซิส + 10.0%(w/v) โซเดียมคลอไรด์ + 10.0%(v/v) เอทานอล	41.64 ± 0.70**
ออโตลิซิส + เอนไซม์พาเพน (BDH)	41.00 ± 0.29**
ออโตลิซิส + เอนไซม์นิวเทรส	30.43 ± 0.05**
ออโตลิซิส + เอนไซม์เฟลเวอร์ไซม์	26.54 ± 0.45**

* ปริมาณโปรตีนในออโตไลเสตเทียบกับปริมาณโปรตีนในเซลล์ยีสต์แห้ง เมื่อ 1 กรัมเซลล์ยีสต์แห้งมีปริมาณ โปรตีน 452.78 มิลลิกรัม (วิเคราะห์โดยเครื่องวิเคราะห์ไนโตรเจน)

** ค่าที่ได้จากการทดลองเป็นค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ



รูปที่ 3.38 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การย่อยตัวเองของยีสต์ โดยการเติมและไม่เติมสารเร่งการย่อยสลาย

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.39 แสดงอิทธิพลของการเติมสารเคมีชนิดต่างๆ ต่อปริมาณโปรตีนในยีสต์ออโตไลเสต

ชนิดของสารเคมี	อิทธิพลของสารเคมีที่เติมในระดับความเข้มข้นต่างๆ*			
	ความเข้มข้น 2.5%	ความเข้มข้น 5.0%	ความเข้มข้น 7.5%	ความเข้มข้น10.0 %
โซเดียมคลอไรด์	6.60	31.86	49.07	7.87
เอทานอล	26.86	145.50	159.57	43.59
โซเดียมคลอไรด์ร่วมกับเอทานอล	-34.02	-27.88	-23.11	-38.45

* ค่าที่ได้มาจากการคำนวณปริมาณของโปรตีนในออโตไลเสต มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์ยีสต์แห้ง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.40 เปรียบเทียบปริมาณโปรตีนและเปอร์เซ็นต์จากการย่อยตัวเองของยีสต์ระดับขวดเขย่าและการทดลองขนาด 4.5 ลิตร ในภาวะที่มีการเติม เอทานอล 7.5 % และโซเดียมคลอไรด์ 7.5 %

การทดลอง	ปริมาณโปรตีน	
	มิลลิกรัม / กรัมเซลล์ยีสต์แห้ง	เปอร์เซ็นต์การย่อยตัวเองของยีสต์*
ขวดเขย่า**	267.12 ± 2.13	59.00 ± 0.47
การทดลองขนาด 4.5 ลิตร	261.85	58.55

* ปริมาณโปรตีนในออโตไลเสตเทียบกับปริมาณโปรตีนทั้งหมดในเซลล์ยีสต์แห้ง โดยยีสต์แห้ง 1 กรัมมีปริมาณโปรตีน 447.20 มิลลิกรัม (วิเคราะห์โดยเครื่องวิเคราะห์ไนโตรเจน)

** ค่าที่ได้จากการทดลองเป็นค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.41 ปริมาณกรดอะมิโนในออโตไลเสตจากการย่อยตัวเองของยีสต์เมื่อเติมและไม่เติมสารเร่งการย่อยสลาย

ชนิดของกรดอะมิโน	*ปริมาณกรดอะมิโน (%)	
	ชุดควบคุม	ชุดทดลอง** (เติมสารเร่งการย่อยสลาย)
กรดแอสปาร์ติก	3.20	5.55
เซรีน	1.32	1.88
กรดกลูตามิก	3.95	8.28
ไกลซีน	1.32	1.69
ฮิสติดีน	0.38	0.66
อาร์จีนีน	1.88	2.73
ทรีโอนีน	1.22	1.88
อาลานีน	3.01	3.48
โพรลีน	1.22	1.69
ไทโรซีน	0.85	1.22
วาลีน	1.60	2.16
ไลซีน	2.63	4.14
ไอโซลิวซีน	1.13	1.69
ลิวซีน	1.69	2.63
ฟีนิลอาลานีน	0.75	1.51

* เทียบกับโปรตีนในเซลล์ยีสต์แห้ง

** เอทานอล 7.5 % และ โซเดียมคลอไรด์ 7.5 %

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย