บทที่ 4

ผลการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลอง

4.1 สมบัติของครีมยีสต์เริ่มต้น

สเปนท์บริวเวอร์ยีสต์ที่นำมาทดลองได้มาจากถังพักยีสต์ของบริษัท บุญรอดบริวเวอร์รี จำกัด ซึ่งปนอยู่ร่วมกับน้ำเบียร์ จึงต้องทำการแยกเอาน้ำเบียร์ออกก่อน โดยเหวี่ยงแยกที่ความเร็ว 3000 รอบต่อนาที (1700xg) อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที นำครีมยีสต์ที่ได้ล้างด้วยน้ำในอัตราส่วน 1 ต่อ 3 จากนั้นกรองแยกเอาตะกอนฮอพออกด้วยตะแกรง 150 เมช เหวี่ยงแยก แล้วนำครีมยีสต์ไปล้างด้วยน้ำซ้ำอีก 2 ครั้ง จนได้ครีมยีสต์ที่สะอาด เก็บรักษาครีมยีสต์เพื่อใช้ในการทดลองต่อไปที่ 4 องศาเซลเซียส ซึ่งสามารถเก็บไว้ได้ไม่เกิน 1 สัปดาห์ ครีมยีสต์ที่ได้ทุกครั้งจะนำไปวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง,ค่าร้อยละของของแข็ง, ปริมาณโปรตีนและกรดอะมิโนเริ่มต้น ผลดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ผลการวิเคราะห์สมบัติของครีมยีสต์เริ่มต้น

การวิเคราะห์	ผลการวัด
ค่าความเป็นกรด-ด่าง	5.4 - 5.8
ค่าร้อยละของของแข็ง (โดยน้ำหนักแห้ง)	18-22
ปริมาณโปรตีนเริ่มต้น (มก./กรัมยีสต์แห้งเริ่มต้น)	198
ปริมาณกรดอะมิโนเริ่มต้น (มก./กรัมยีสต์แห้งเริ่มต้น)	133

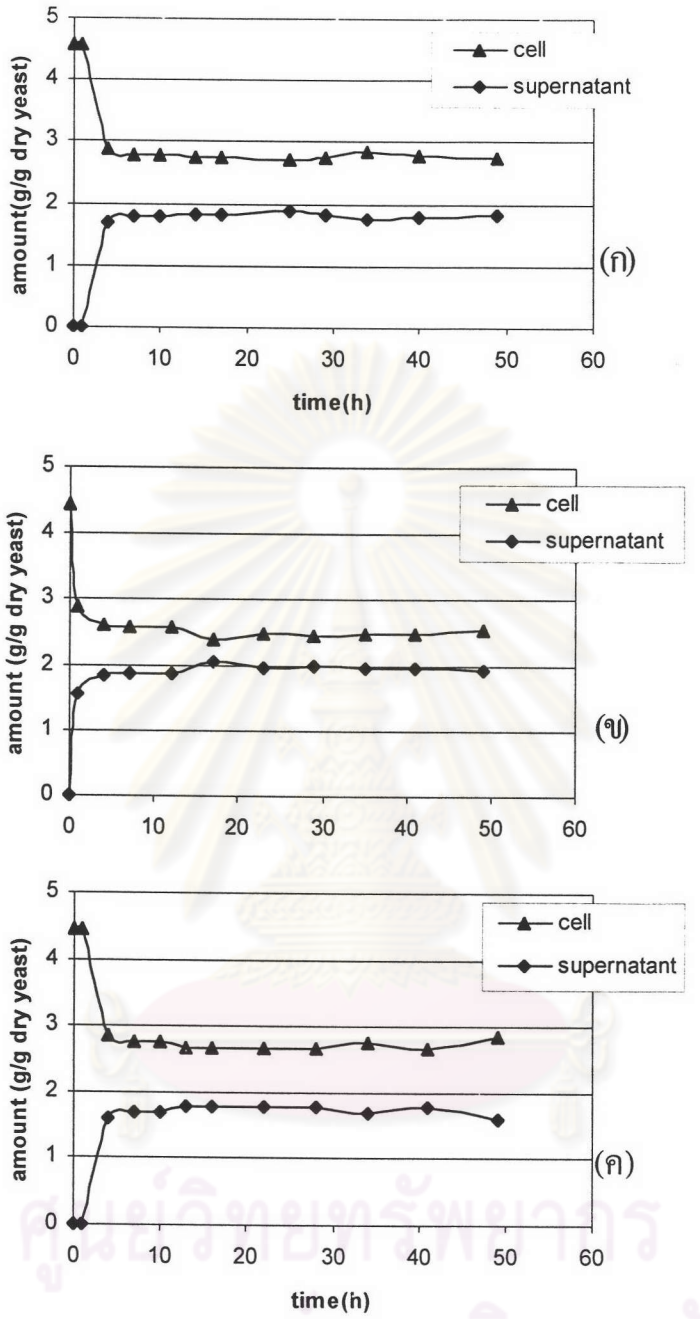
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.2 ผลการศึกษาอัตราการผลิตกรดอะมิโนและอัตราการโอนถ่ายโปรตีนและกรดอะมิโนตามเวลาในการย่อยสลายตัวเองของครีมยีสต์ที่ภาวะต่างๆ

4.2.1 การเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักเซลล์ และส่วนใส (Supernatant) ต่อน้ำหนักยีสต์แห้ง

การทดลองนี้ได้นำครีมยีสต์เข้มข้นร้อยละ 22 โดยน้ำหนักแห้ง (ในงานวิจัยนี้จะใช้คำว่า control แทนคำว่าครีมยีสต์เข้มข้น) ครีมยีสต์เข้มข้นเติมเกลือร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก และครีมยีสต์เติมน้ำ (ร้อยละ 11.25 โดยน้ำหนักแห้ง) มาปรับให้มีความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 5.5 อุณหภูมิ 50 องศา

เซลเซียส ซึ่งเป็นสภาวะที่จะทำให้เซลล์ยีสต์ตาย แต่ยังเป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ภายในตัวเซลล์ซึ่งเอนไซม์เหล่านี้จะมีหน้าที่ย่อยสลายสารโมเลกุลใหญ่ไปเป็นหน่วยย่อยๆ ส่วนมาก ได้แก่ พวกเปปไทด์ โปรตีนตัวเล็กๆที่ละลายน้ำได้ และกรดอะมิโน เมื่อเกิดการย่อยสลายสารที่ละลายน้ำได้เหล่านี้จะถูกปล่อยออกมาจากเซลล์ด้วย ดังนั้นเมื่อเก็บตัวอย่างยีสต์ออโตไลเสทแล้วเหวี่ยงแยกที่ความเร็วรอบ 3000 รอบต่อนาที (1700xg) จะได้ส่วนที่เป็นของเหลวใสที่ประกอบไปด้วยสารที่ละลายได้ทั้งหมด และส่วนที่เป็นเศษเซลล์ นำทั้งสองส่วนนี้มาวัดน้ำหนักและปริมาตรตามเวลาในการย่อยสลายตัวเอง ความสัมพันธ์ของการเพิ่มขึ้นของปริมาณส่วนใสและการลดลงของน้ำหนักเซลล์ต่อน้ำหนักแห้งเป็นดังแสดงในรูปที่ 4.1 และจากตารางที่ 4.2 ผลการทดลองพบว่า ในครีมยีสต์เข้มข้นและครีมยีสต์เติมน้ำ ส่วนใสมีปริมาณเพิ่มขึ้นมากใน 4 ชั่วโมงแรก หลังจากนั้นส่วนใสมีปริมาณเพิ่มขึ้นน้อยมาก ส่วนใสที่ได้นี้ เกิดจากแรงดันออสโมติกภายในเซลล์ที่มีมากกว่าภายนอกเซลล์ (Patricia,2003) โดยแรงดันออสโมติกนี้จะเป็นแรงขับให้เกิดความแตกต่างความเข้มข้นระหว่างสารภายในเยื่อหุ้มเซลล์และภายนอกเซลล์ ทำให้สารละลายที่อยู่ภายในเซลล์ไหลออกมานอกเซลล์เพื่อให้เกิดความสมดุลของสารละลายภายในเซลล์ กับสิ่งแวดล้อมรอบตัวเซลล์ โดยเกิดขึ้นเมื่อเซลล์ถูกกระตุ้นจากภายนอก หรือเมื่อเซลล์ตายลง การตายของเซลล์จะทำให้เยื่อหุ้มเซลล์เสียคุณสมบัติการเลือกผ่านของสาร ทำให้สารละลายต่างๆที่มีขนาดเล็กไหลออกเซลล์ได้ ด้วยเหตุนี้จึงมีสารไหลออกมานอกเซลล์ได้ เมื่อเปรียบเทียบปริมาณส่วนใสที่ไหลออกมาภายใน 49 ชั่วโมงต่อครีมยีสต์เริ่มต้น ดังแสดงในรูปที่ 4.2 พบว่ามีค่าประมาณร้อยละ 40 ทั้งสองกรณี แต่ถ้าเปรียบเทียบส่วนใสที่เพิ่มขึ้นตามช่วงเวลาของแต่ละภาวะ พบว่า กรณีครีมยีสต์เติมน้ำให้ร้อยละการเพิ่มขึ้นมากกว่ากรณีครีมยีสต์เข้มข้นเนื่องจากครีมยีสต์เติมน้ำมีความแตกต่างของความเข้มข้นระหว่างภายในกับภายนอกเซลล์สารที่ละลายได้ภายในเซลล์จึงออกมาได้มากขึ้น ส่วนการเติมเกลือ ซึ่งเป็นสารที่ช่วยเร่งให้เกิดการพลาสโมไลซิส จะทำให้เซลล์ตายเร็วขึ้น เพราะพลาสมาเมมเบรน หดตัวลงเพื่อรักษาสภาวะสมดุลภายในเซลล์ จนกระทั่งเยื่อหุ้มเซลล์แตก (Nagodawithana,1994) การปล่อยสารภายในเซลล์ออกมาสู่ข้างนอกจึงเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว ปริมาณส่วนใสที่ออกมาได้ต่อน้ำหนักแห้งจึงเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วใน 1 ชั่วโมงแรก ซึ่งสอดคล้องกับการที่น้ำหนักของเซลล์ต่อน้ำหนักแห้งลดลงอย่างรวดเร็วเช่นกัน ซึ่งในช่วงหลังของการย่อยสลายตัวเองพบว่าน้ำหนักส่วนใสและเซลล์มีค่าคงที่ น่าจะมีสาเหตุมาจากการที่ เกิดภาวะสมดุลของน้ำในเซลล์และนอกเซลล์แล้ว

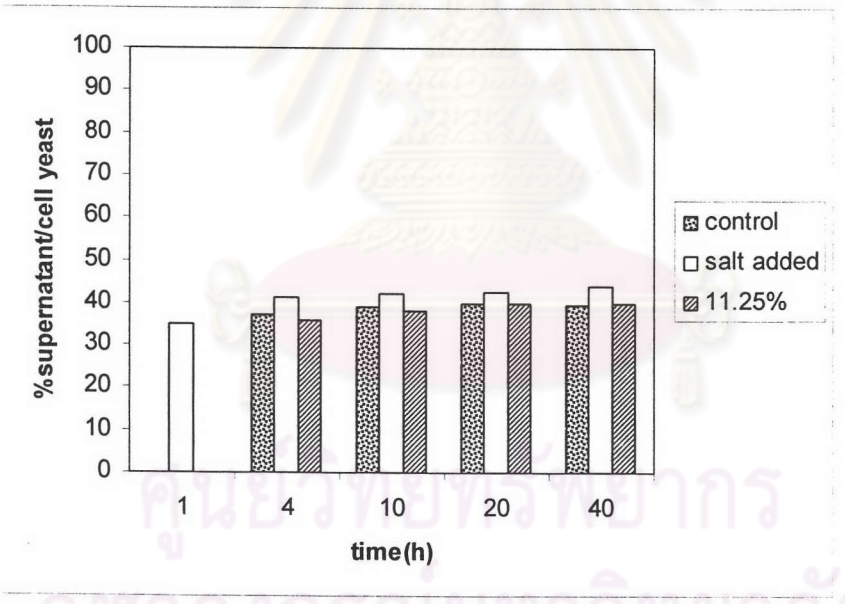


รูปที่ 4.1 การเปลี่ยนแปลงของสารภายใน และภายนอกเซลล์ รูป (ก) ครีมยีสต์ร้อยละ 22 (ข) ครีมยีสต์ร้อยละ 22 เติมเกลือร้อยละ 5 (ค) ครีมยีสต์เติมน้ำปรับให้เป็นร้อยละ 11.25 โดยน้ำหนักแห้ง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.2 ปริมาณของเซลล์และส่วนใสที่เพิ่มขึ้นตามช่วงเวลา

เวลา	น้ำหนักส่วนใส (กรัมต่อกรัมยีสต์แห้ง)			น้ำหนักเซลล์ (กรัมต่อกรัมยีสต์แห้ง)			ร้อยละของส่วนใสต่อเซลล์เริ่มต้น		
(ชั่วโมง)	เข้มข้น	เติมเกลือ	11.25%	เข้มข้น	เติมเกลือ	11.25%	เข้มข้น	เติมเกลือ	11.25%
0	0.00	0.00	0.00	4.58	4.44	4.44	0.00	0.00	0.00
1	0.00	1.56	0.00	4.58	2.89	4.44	0.00	35.04	0.00
4	1.70	1.82	1.60	2.89	2.62	2.84	37.02	41.04	36.04
10	1.79	1.87	1.70	2.79	2.58	2.76	39.02	42.04	38.29
20	1.82	1.90	1.78	2.75	2.58	2.67	39.74	42.79	40.04
40	1.83	1.96	1.78	2.79	2.49	2.67	40.02	44.04	40.04



รูปที่ 4.2 ร้อยละของส่วนใสต่อครีมยีสต์เริ่มต้น

โดย "control" คือ ครีมยีสต์เข้มข้น (22%) "salt added" คือ ครีมยีสต์เข้มข้น (22%) เติมเกลือร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก และ "11.25%" คือ ครีมยีสต์เข้มข้นเติมน้ำ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

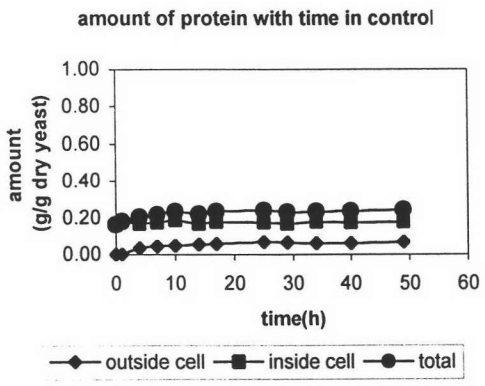
4.2.2 ผลของความเข้มข้นของครีมยีสต์ต่อปริมาณอัตราการผลิต อัตราการโอนถ่ายกรดอะมิโนและโปรตีน

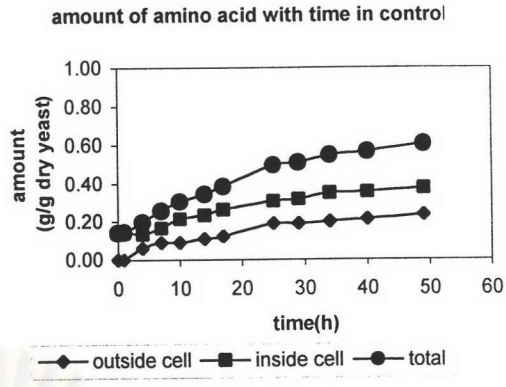
การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาปริมาณ อัตราการผลิต และอัตราการโอนถ่ายกรดอะมิโนและโปรตีนตามเวลา จากครีมยีสต์ที่มีความเข้มข้นต่างกัน (ร้อยละ 22 ,11.25 โดยน้ำหนักแห้ง) และที่เติมเกลือร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก ปริมาณรวมของกรดอะมิโนและโปรตีนตามเวลา สรุปไว้ดังรูปที่ 4.3 อัตราการผลิตกรดอะมิโน หมายถึงปริมาณกรดอะมิโนที่เกิดขึ้นทั้งหมดต่อเวลา เนื่องจากกระบวนการย่อยสลายตัวเองที่ทดลองนี้เป็นแบบไม่ต่อเนื่อง (Batch process) ดังนั้นเราจะแบ่งเวลาที่ใช้ในการย่อยสลายออกเป็น 2 ช่วง คือช่วงแรก 0 - 13 ชั่วโมง และช่วงท้าย 14 - 49 ชั่วโมง ปริมาณและอัตราการผลิตตามช่วงเวลาแสดงอยู่ในรูป 4.4

จากการเปรียบเทียบอัตราการผลิตกรดอะมิโน ในช่วงแรก พบว่า ครีมยีสต์เติมน้ำมีอัตราการผลิตกรดอะมิโนใกล้เคียงกับครีมยีสต์เข้มข้น ครีมยีสต์เข้มข้นเติมเกลือให้อัตราการผลิตกรดอะมิโนต่ำที่สุด เพราะเกลือไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ย่อยโปรตีนเป็นกรดอะมิโน (Sugimoto,1974) นอกจากนี้ยังพบว่าอัตราการผลิตกรดอะมิโน ในช่วงท้ายของครีมยีสต์ทุกภาวะ มีค่าน้อยกว่าช่วงแรกมาก(ประมาณ 3-5 เท่า) จากงานวิจัยที่ผ่านมา (Hunter และ Asenjo,1987) มีรายงานว่ากรดอะมิโนเกิดจากการย่อยสลายโปรตีนภายในเซลล์ยีสต์ และโอนถ่ายออกมานอกเซลล์ได้โดยอาศัยความแตกต่างของความเข้มข้นภายในและภายนอกเซลล์ เป็นแรงขับ รูปที่ 4.5 แสดงการเปรียบเทียบอัตราการโอนถ่ายกรดอะมิโนของครีมยีสต์ที่ภาวะต่างๆกัน ตามช่วงเวลา พบว่า ในช่วงแรก (0 - 13 ชั่วโมง) อัตราการโอนถ่ายกรดอะมิโนของครีมยีสต์เติมน้ำมีค่ามากที่สุด 22 มิลลิกรัมต่อชั่วโมง ส่วนครีมยีสต์เข้มข้น และครีมยีสต์เข้มข้นเติมเกลือให้อัตราการโอนถ่ายกรดอะมิโนใกล้เคียงกัน เมื่อพิจารณาในช่วงท้าย (14 - 49 ชั่วโมง) ของการย่อยสลายตัวเอง พบว่า อัตราการโอนถ่ายกรดอะมิโนของครีมยีสต์เติมน้ำลดลงอย่างมาก (ประมาณ 8 เท่า) ในขณะที่ครีมยีสต์เข้มข้น และครีมยีสต์เข้มข้นเติมเกลือให้อัตราการโอนถ่ายกรดอะมิโนใกล้เคียงกัน และมีค่าน้อยกว่าช่วงแรกประมาณ 2 เท่า ผลการทดลองอธิบายได้ว่า ในช่วงแรกครีมยีสต์เข้มข้น และครีมยีสต์เข้มข้นเติมเกลือจะผลิตกรดอะมิโนภายในเซลล์แต่โอนถ่ายออกมานอกเซลล์ได้น้อยเนื่องจากความเข้มข้นระหว่างภายในและภายนอกเซลล์ ซึ่งเป็นแรงขับ มีค่าใกล้เคียงกัน ทำให้กรดอะมิโนที่ผลิตได้ยังคงสะสมอยู่ในเซลล์ แต่เนื่องจากครีมยีสต์เติมเกลือมีปริมาณกรดอะมิโนที่ผลิตได้น้อยกว่าครีมยีสต์เข้มข้น ปริมาณที่คงเหลือในเซลล์จึงมีค่าน้อยกว่ามาก (ดูรูปที่ 4.6 และ 4.7) ส่วนครีมยีสต์เติมน้ำมีแรงขับสูงสุด ทำให้มีอัตราการโอนถ่ายกรดอะมิโนสูงสุดเช่นกัน

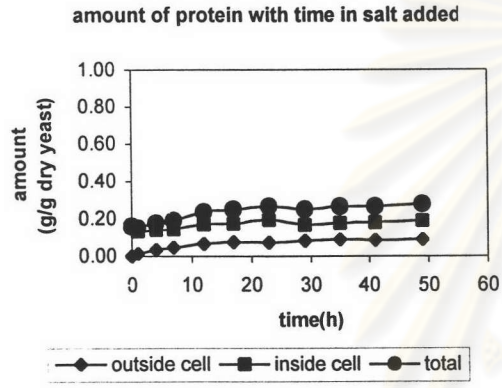
เป็นที่น่าสังเกตุว่าความเข้มข้นของกรดอะมิโนภายในเซลล์ของครีมยีสต์เติมน้ำมีค่าน้อยกว่าความเข้มข้นภายนอกเซลล์ จึงได้ทำการทดลองตามภาคผนวก ก พบว่าในกรณีที่ความเข้มข้นของกรดอะมิโนภายในเซลล์และภายนอกเซลล์มีความแตกต่างกันมาก การเหวี่ยงเพื่อแยกเซลล์ออกจากส่วนใส จะช่วยทำให้กรดอะมิโนออกมานอกเซลล์เพิ่มขึ้น ปรากฏการณ์นี้เรียกว่า Forced diffusion (Bird,1956) กรณีครีมยีสต์เข้มข้น และครีมยีสต์เติมเกลือไม่เกิดปรากฏการณ์นี้ แต่เมื่อเติมน้ำแล้วเหวี่ยงแยกจะเห็นปรากฏการณ์นี้อย่างชัดเจน เมื่อพิจารณาในช่วงท้ายของการย่อยสลาย พบว่าอัตราการผลิตกรดอะมิโนของครีมยีสต์ทุกภาวะมีค่าต่ำมาก ดังนั้นอัตราการโอนถ่ายกรดอะมิโนจึงน้อยตามไปด้วย

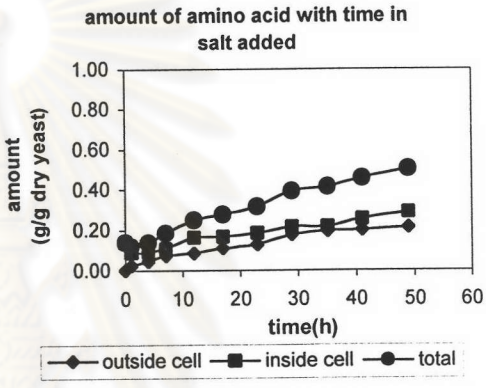
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



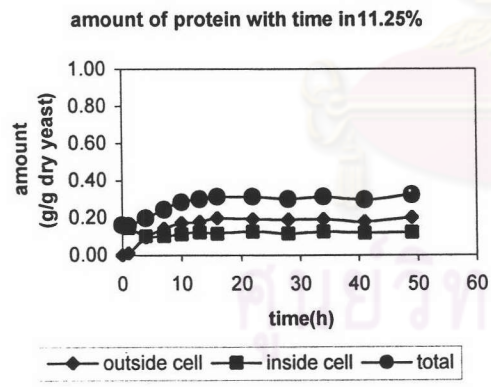


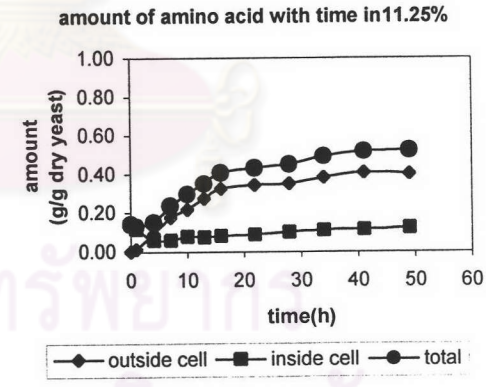
(ก)





(ข)

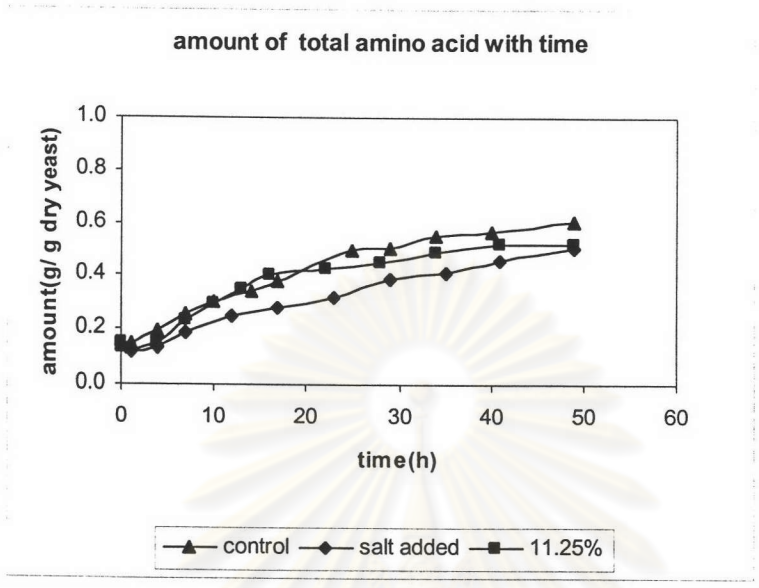


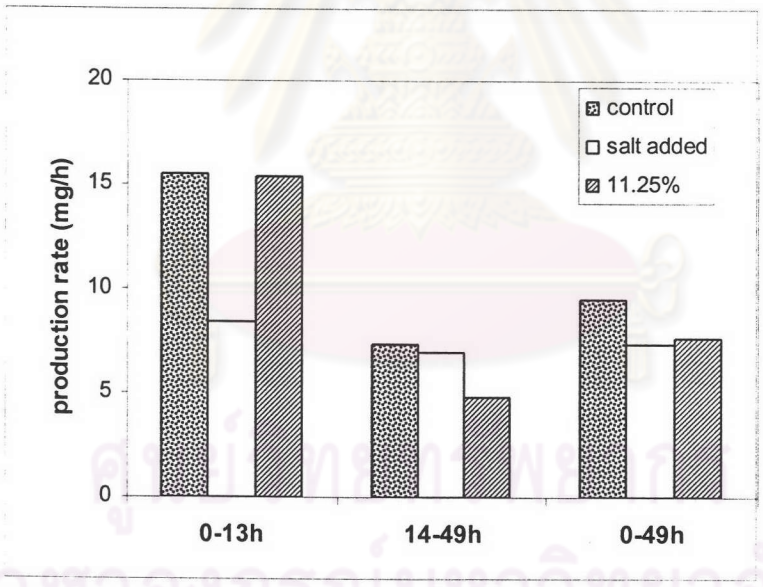


(ค)

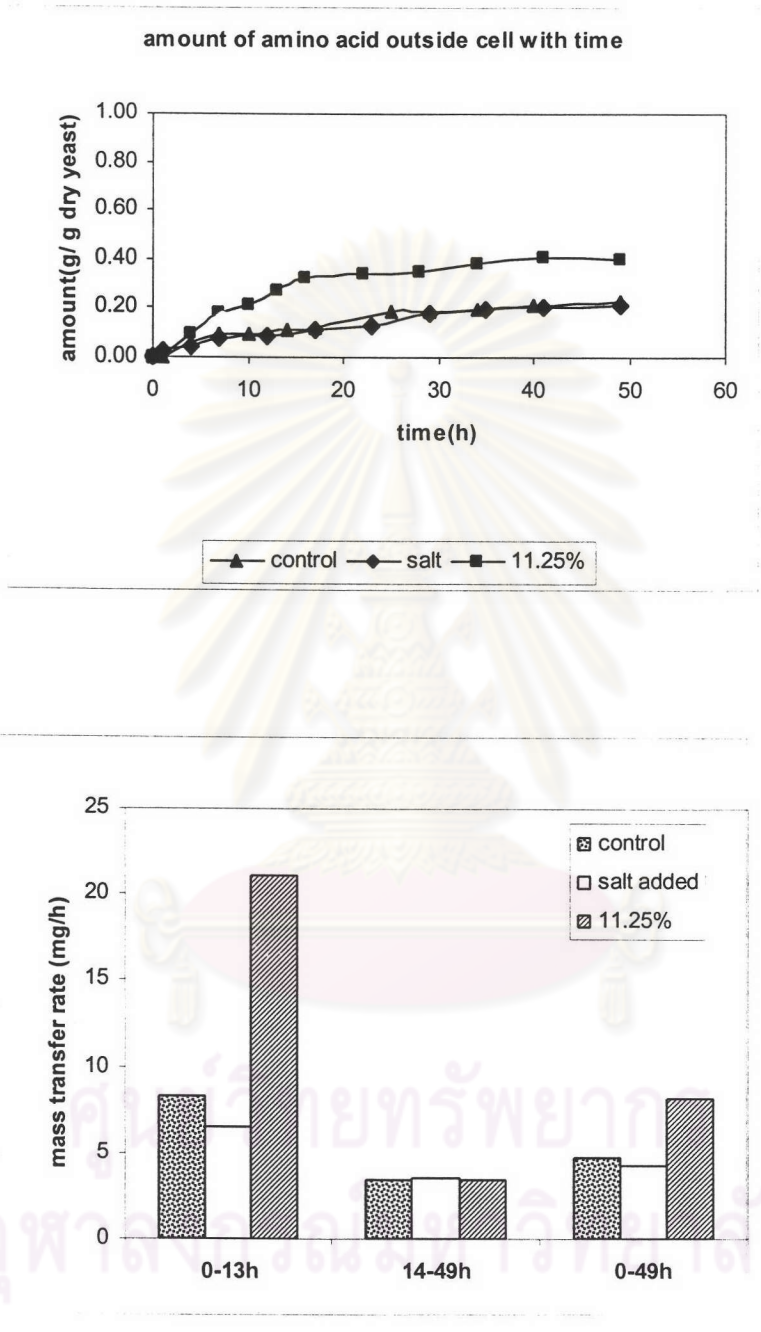
รูปที่ 4.3 ปริมาณรวมของกรดอะมิโนและโปรตีนตามเวลา (ก) คือ ครีมยีสต์เข้มข้น (22%) (ข) คือ ครีมยีสต์เข้มข้นเติมเกลือ (ค) คือ ครีมยีสต์เข้มข้นเติมน้ำ (11.25%)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

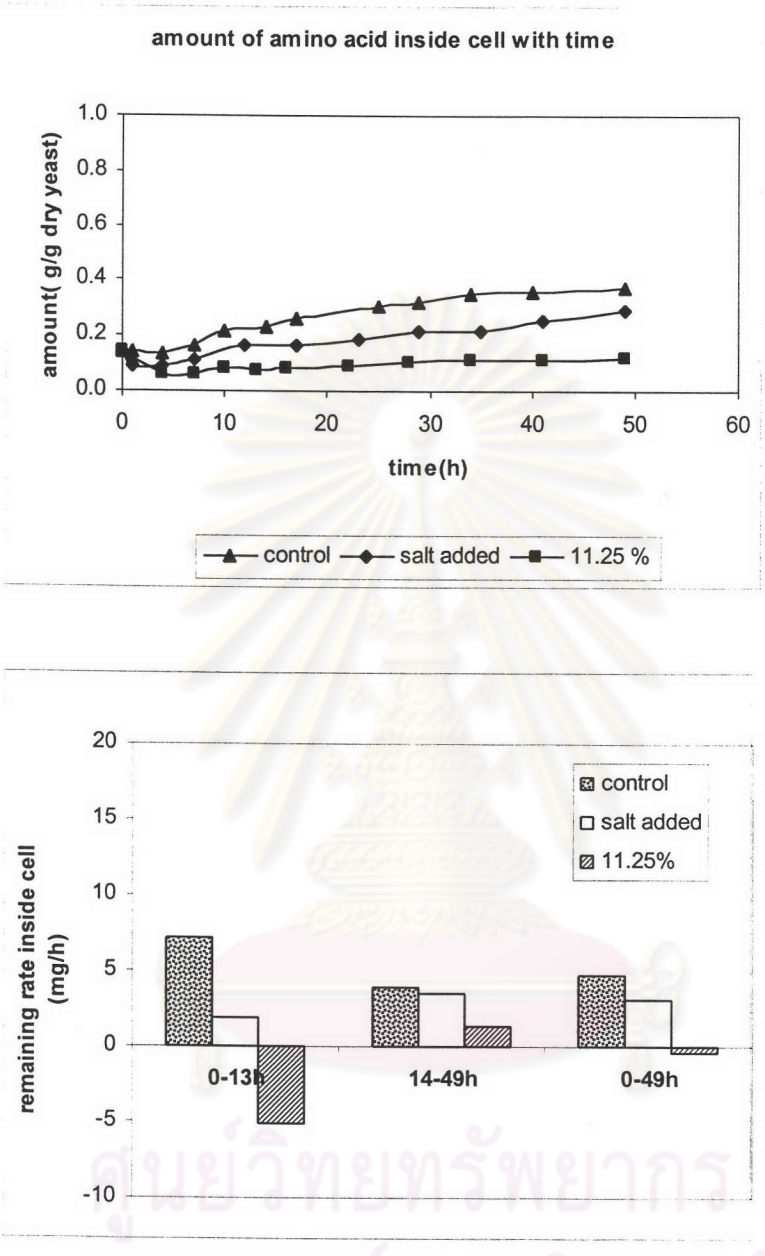




รูปที่ 4.4 ปริมาณและอัตราการผลิตกรดอะมิโน

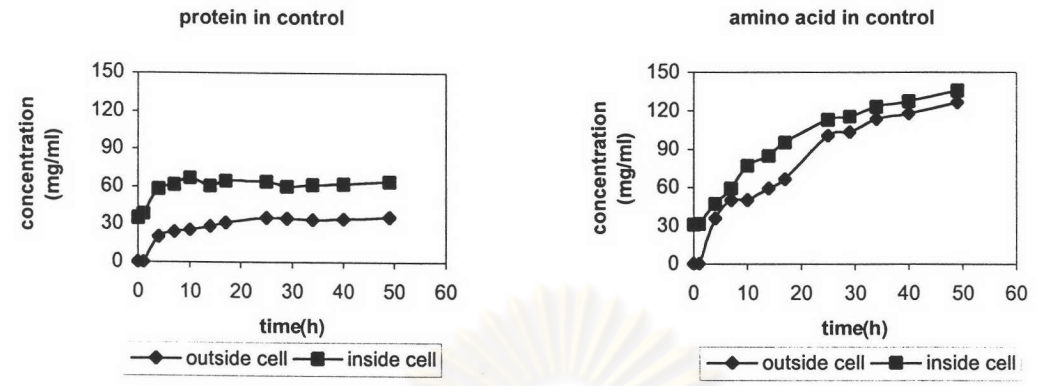


รูปที่ 4.5 ปริมาณและอัตราการโอนถ่ายของกรดอะมิโน

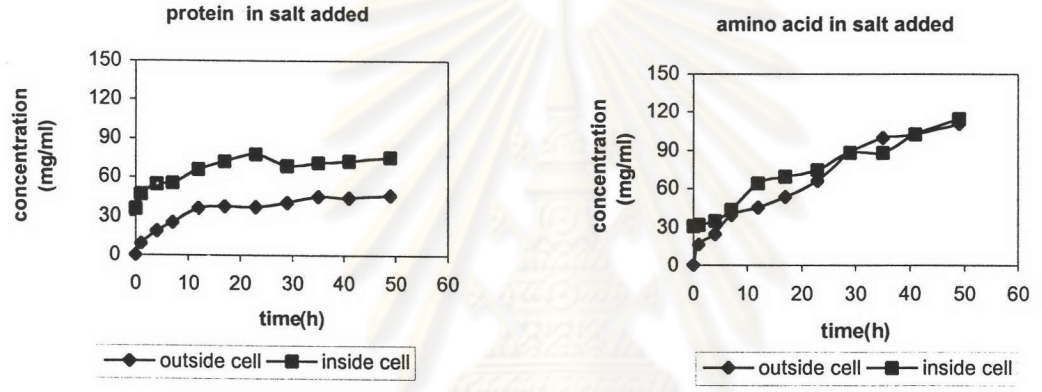


รูปที่ 4.6 ปริมาณและอัตราคงเหลือของกรดอะมิโนในเซลล์

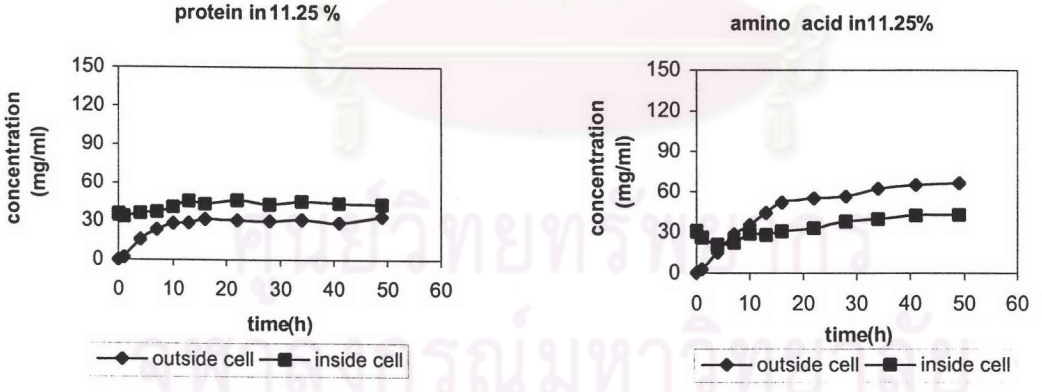
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



(ก)



(ข)

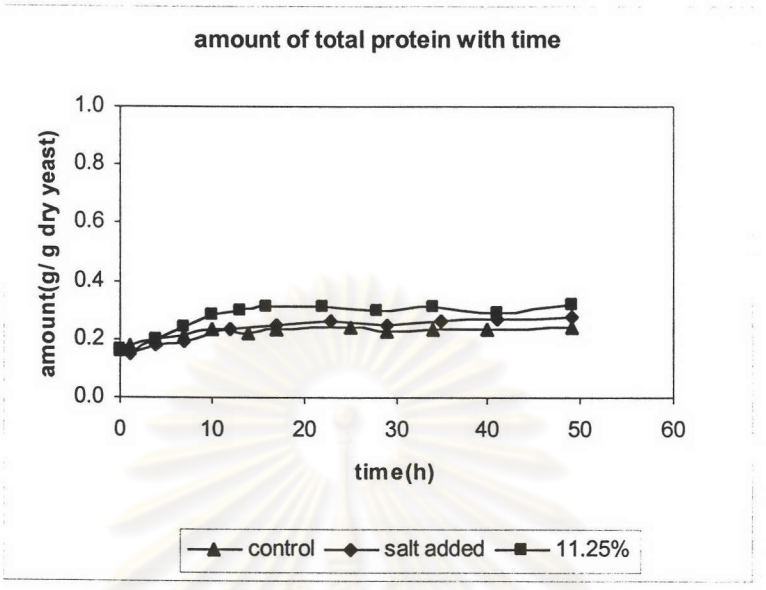


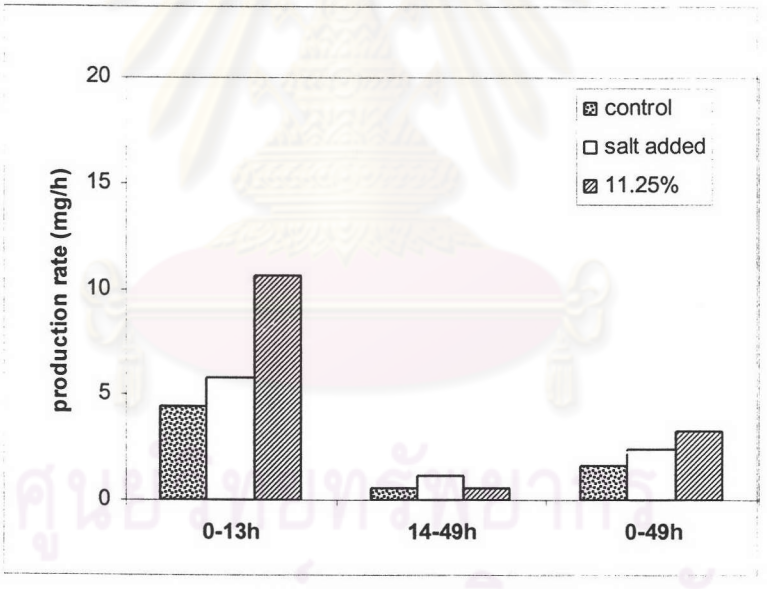
(ค)

รูปที่ 4.7 ความเข้มข้นของโปรตีน และกรดอะมิโน ตามเวลา (ก) คือครีมยีสต์เข้มข้น (22%) (ข) คือ ครีมยีสต์เข้มข้นเติมเกลือ (ค) คือ ครีมยีสต์เข้มข้นเติมน้ำ (11.25%)

ในกรณีโปรตีนซึ่งเป็นสารโมเลกุลขนาดใหญ่ภายในเซลล์จะถูกย่อยให้เป็นโมเลกุลขนาดเล็กโดยเอนไซม์ภายในเซลล์ งานวิจัยนี้วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธีลาวรี่ (Lowry method) ทำให้ทราบปริมาณโปรตีนโมเลกุลเล็ก (โปรตีนที่มีอยู่ 2 พันธะเปปไทด์) ที่ครีมยีสต์ผลิตขึ้นมาได้ ปริมาณและอัตราการผลิตโปรตีน ปริมาณและอัตราการโอนถ่ายโปรตีน และปริมาณและอัตราคงเหลือในเซลล์ ดังแสดงในรูปที่ 4.8 4.9 และ4.10 ตามลำดับ จากผลการทดลองพบว่า อัตราการผลิตโปรตีนขนาดเล็กในช่วงแรกของครีมยีสต์เติมน้ำมีค่ามากกว่าครีมยีสต์เข้มข้นและครีมยีสต์เข้มข้นเติมเกลือมากเพราะโปรตีนจะถูกผลิตขึ้นก่อนจากการย่อยสลายสารโมเลกุลใหญ่ภายในเซลล์ขณะที่มีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างภายในเซลล์ จากกราฟปริมาณโปรตีนรวม จะเห็นว่าใน 7 ชั่วโมงแรก ปริมาณโปรตีนที่ได้ของครีมยีสต์ทั้งสามแบบมีค่าใกล้เคียงกัน แต่ค่าจะเริ่มต่างกันในชั่วโมงที่ 10 โดยปริมาณโปรตีนรวมในครีมยีสต์เติมน้ำยังคงมีค่าสูงอยู่ ทำให้กราฟอัตราการผลิตของครีมยีสต์เติมน้ำมีค่าสูงกว่าครีมยีสต์เข้มข้น และครีมยีสต์เติมเกลือ ทั้งนี้มีสาเหตุจากการที่ครีมยีสต์เข้มข้น และครีมยีสต์เข้มข้นเติมเกลือมีปริมาณโปรตีนและเอนไซม์คงเหลืออยู่ในเซลล์มากกว่าครีมยีสต์เติมน้ำ จึงมีการย่อยสลายโปรตีนไปเป็นกรดอะมิโนต่อไปอีกขั้น ส่วนครีมยีสต์เติมน้ำมีอัตราการโอนถ่ายโปรตีนออกไปนอกเซลล์สูงกว่าการย่อยสลายโปรตีนไปเป็นกรดอะมิโนจึงเกิดขึ้นได้น้อย จากรูปอัตราการผลิตโปรตีนพบว่า อัตราการผลิตโปรตีนในช่วงท้าย (14 - 49 ชั่วโมง) มีค่าต่ำมาก เนื่องจากโปรตีนถูกย่อยสลายไปเป็นกรดอะมิโนซึ่งสอดคล้องกับอัตราการผลิตกรดอะมิโนในช่วงท้าย ที่ครีมยีสต์เข้มข้นยังคงมีอัตราการผลิตกรดอะมิโนสูงกว่าครีมยีสต์เติมน้ำ

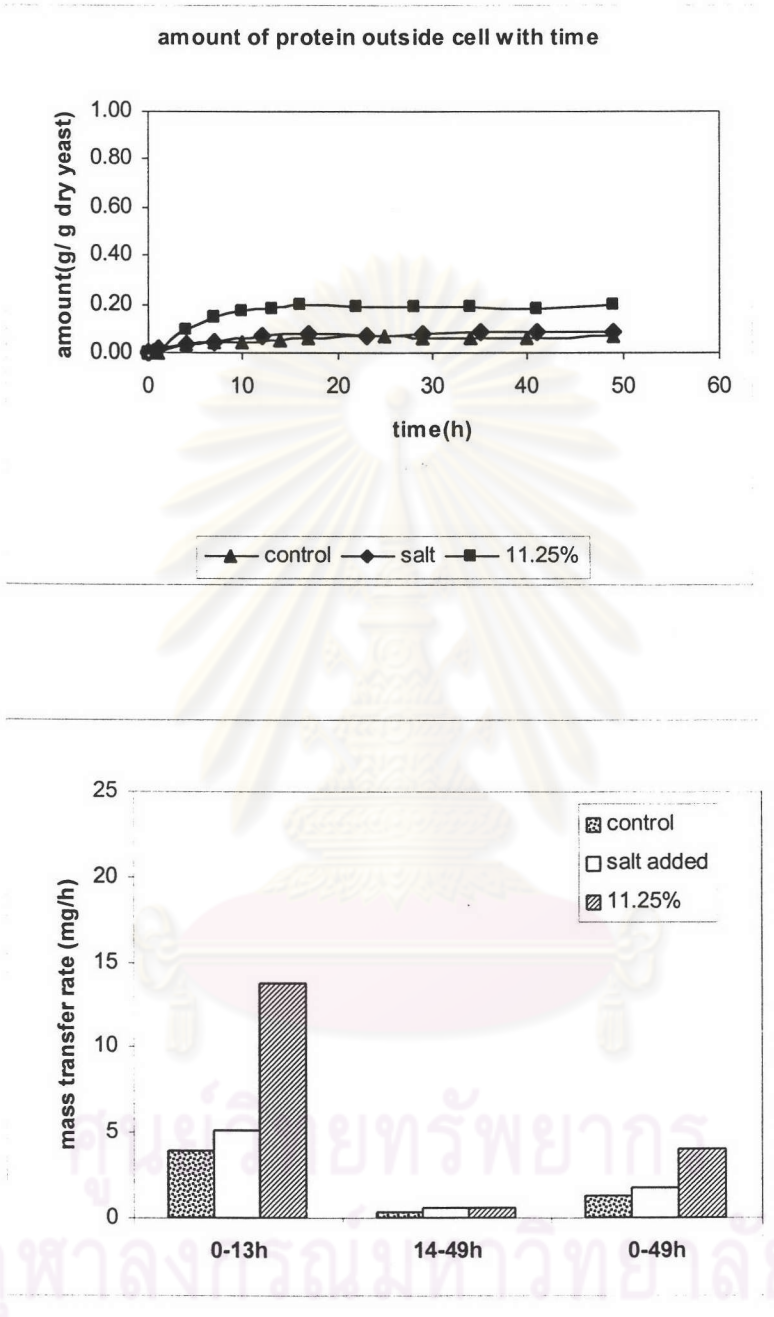
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



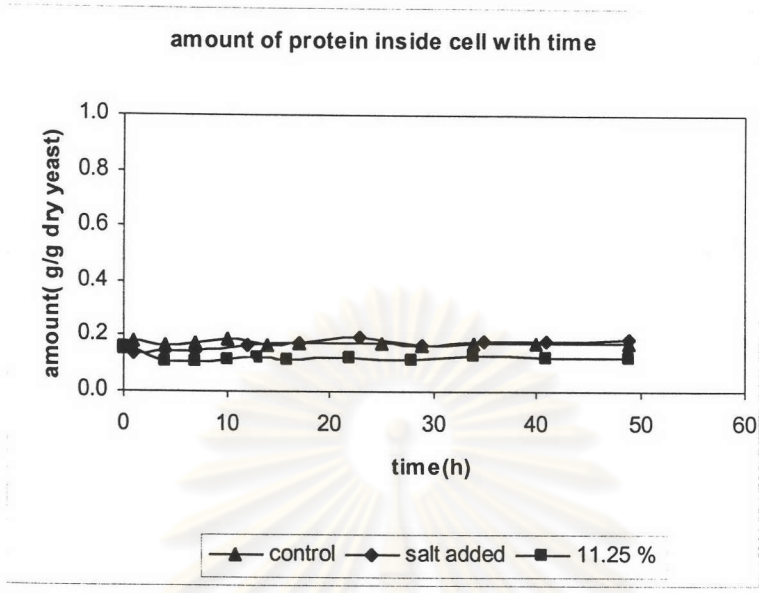


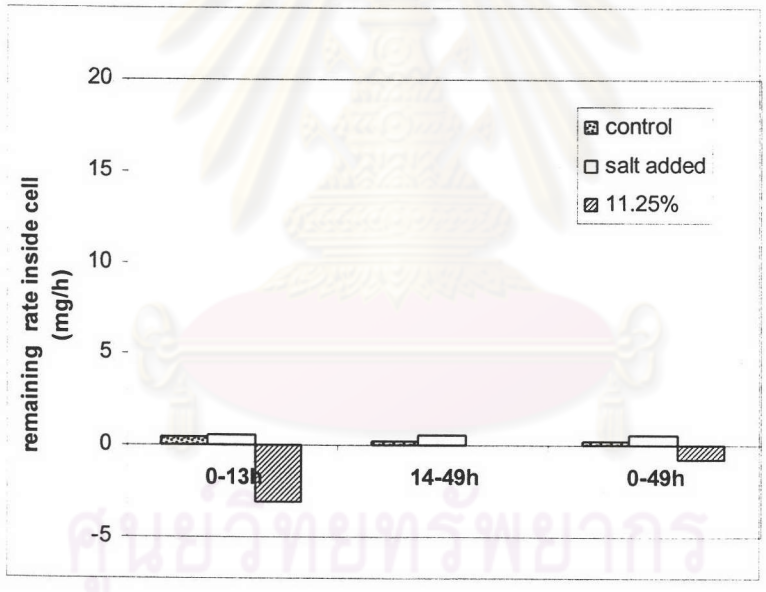
รูปที่ 4.8 ปริมาณและอัตราการผลิตโปรตีน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.9 ปริมาณและอัตราการโอนถ่ายโปรตีน





รูปที่ 4.10 ปริมาณและอัตราคงเหลือของโปรตีนในเซลล์

จากผลการทดลองทั้งหมดในหัวข้อนี้ สรุปได้ว่า

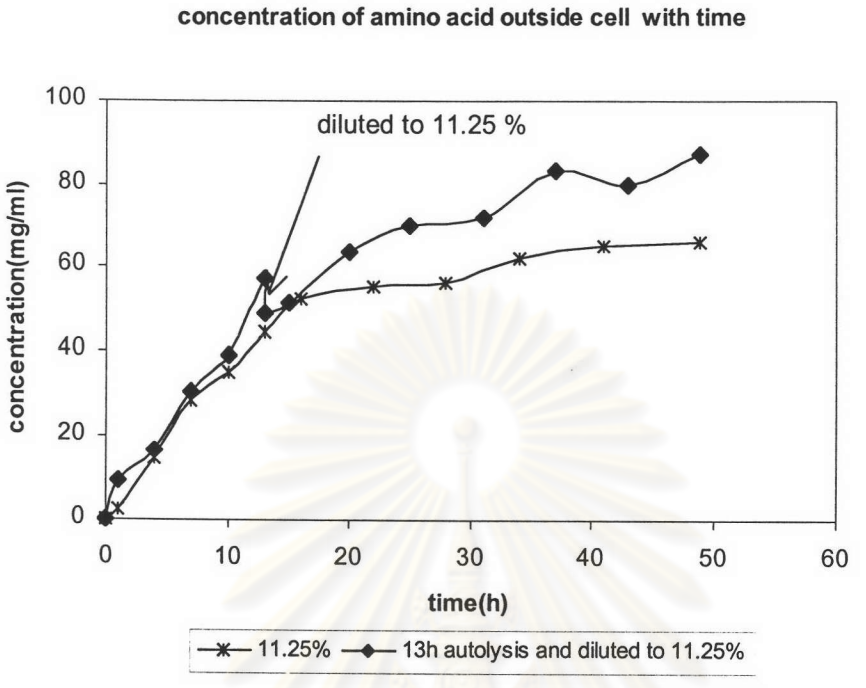
1) ครีมยีสต์เข้มข้นสามารถผลิตกรดอะมิโนและสะสมอยู่ภายในเซลล์ได้สูงสุด เนื่องจากโปรตีนภายในเซลล์มีความเข้มข้นมากกว่าครีมยีสต์เติมน้ำ จึงให้อัตราการผลิตเฉลี่ย (ต่อ 49 ชั่วโมง) สูงสุด

2) ถ้าพิจารณาอัตราการผลิตกรดอะมิโนตามช่วงเวลา พบว่า ในช่วงแรก (0 – 13 ชั่วโมง) อัตราการผลิตกรดอะมิโนของครีมยีสต์เข้มข้นและครีมยีสต์เติมน้ำมีค่าใกล้เคียงกัน และมีค่ามากกว่าช่วงท้ายในทั้งสองกรณี

ดังนั้นในขั้นตอนต่อไป จะทำการศึกษาผลของการเติมน้ำในยีสต์ออไลเสทเข้มข้นหลังจากการย่อยสลายไปได้ 13 ชั่วโมง

4.2.3 ผลการเติมน้ำในยีสต์ออโตไลเสทเมื่อการย่อยสลายผ่านไป 13 ชั่วโมง

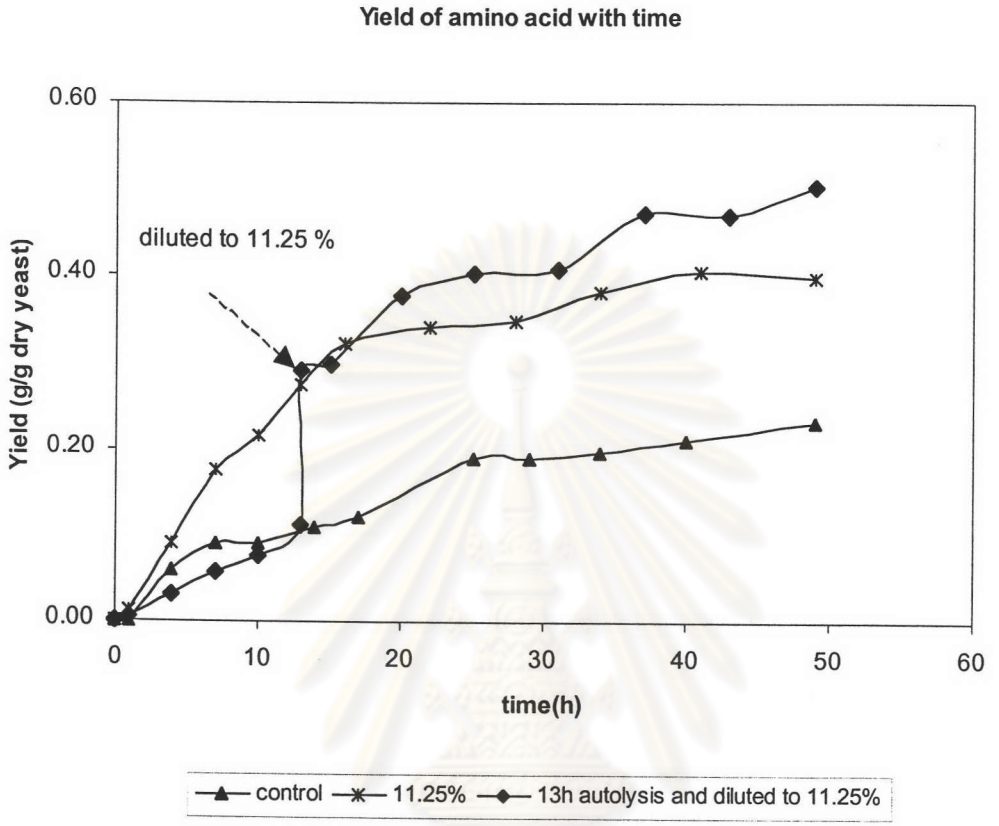
จากการศึกษาข้างต้น พบว่าการเติมน้ำในครีมยีสต์ตั้งแต่ชั่วโมงแรกๆ ของการย่อยสลาย ไม่ช่วยให้ได้ปริมาณกรดอะมิโนมากขึ้น ทั้งยังทำให้สิ้นเปลืองพลังงานและค่าใช้จ่ายในการออโตไลซิส จึงทำการศึกษาว่าหากทำการย่อยสลายครีมยีสต์ที่เข้มข้นแล้วมีการเติมน้ำในช่วงหลังจากที่อัตราการย่อยสลายเริ่มน้อยลง กล่าวคือในช่วงท้ายของการย่อยสลาย อัตราการเพิ่มขึ้นของปริมาณกรดอะมิโนต่อเวลามีค่าน้อยกว่าช่วงแรก ถ้าทำการย่อยสลายต่อไปจะทำให้เสียเวลาในการย่อยสลาย ไม่คุ้มค่าต่อการผลิต ในการทดลองจะนำครีมยีสต์เข้มข้นมาทำการย่อยสลายตัวเองแทนการใช้ครีมยีสต์ที่มีการเจือจางเพื่อเป็นการลดขนาดของถังกวน จากนั้นเมื่ออัตราการย่อยสลายเริ่มน้อยลง คือหลังจากชั่วโมงที่ 13 จึงทำการเติมน้ำปรับให้มีความเจือจางเป็นร้อยละ 11.25 โดยน้ำหนักแห้ง แล้วปล่อยให้เกิดการย่อยสลายตามเวลาต่อไปจนกระทั่งครบ 49 ชั่วโมง ผลการทดลองแสดงในรูปที่ 4.11 และ 4.12



รูปที่ 4.11 การเปรียบเทียบความเข้มข้นของกรดอะมิโนภายนอกเซลล์ตามเวลาที่ภาวะต่างๆ

จากผลการทดลอง พบว่าการเติมน้ำในช่วงหลังจาก 13 ชั่วโมงจะมีผลได้ของโปรตีนและกรดอะมิโนเพิ่มขึ้นอย่างมาก และมากกว่ากรณีที่มีการเจือจางตั้งแต่ต้น การเติมน้ำช่วงท้ายก็ยังมีค่าของผลได้สูงกว่าด้วย ดังแสดงในตารางที่ 4.3 ทั้งนี้เนื่องจากที่ภาวะครีมยีสต์เข้มข้นเริ่มต้น จะปริมาณกรดอะมิโนเหลืออยู่ในเซลล์ยีสต์มากกว่าการทดลองครีมยีสต์เข้มข้นเติมน้ำตั้งแต่แรก (11.25%) เมื่อเติมน้ำไปเจือจางอัตราการโอนถ่ายจึงเกิดขึ้นมากกว่า

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



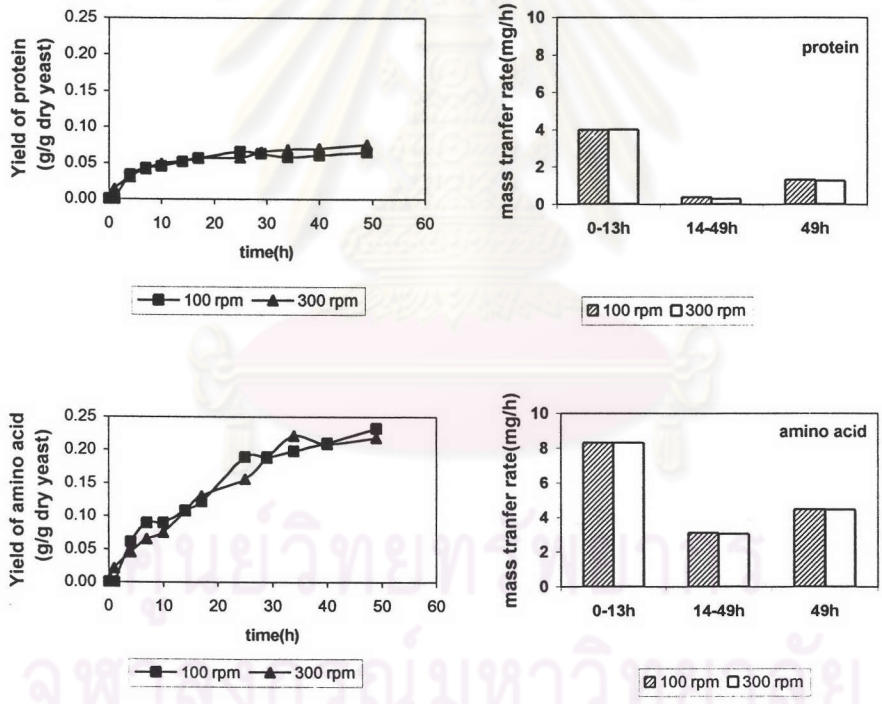
รูปที่ 4.12 การเปรียบเทียบผลได้ตามเวลาที่ภาวะต่างๆ

ตารางที่ 4.3 การเปรียบเทียบผลได้ของกรดอะมิโนที่ภาวะต่างๆ

ภาวะ	ผลได้ชั่วโมงที่ 13	ผลได้ชั่วโมงที่ 49
ครีมยีสต์เข้มข้น	0.108	0.232
ครีมยีสต์เติมน้ำ (11.25%)	0.275	0.399
ครีมยีสต์เข้มข้น ปรับเป็น 11.25 % เมื่อเวลา 13 ชั่วโมง	0.291	0.503

4.2.4 ผลของความเร็วในการกวนต่ออัตราการโอนถ่ายโปรตีนและกรดอะมิโน

การทดลองนี้ได้นำครีมยีสต์เข้มข้น (ร้อยละ 22 โดยน้ำหนักแห้ง) มาปรับให้มีความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 5.5 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 49 ชั่วโมง เหมือนการทดลองในข้างต้นแต่เปลี่ยนความเร็วรอบที่ใช้ในการกวนจาก 100 รอบต่อนาที เป็น 300 รอบต่อนาที ผลการทดลอง พบว่าการกวนด้วยความเร็วต่างกันในครีมยีสต์เข้มข้นให้ผลได้ของโปรตีนและกรดอะมิโนไม่แตกต่างกัน แสดงว่าการเพิ่มความเร็วในการกวนมีอิทธพลต่ออัตราการโอนถ่ายของโปรตีนและกรดอะมิโนน้อยกว่าความแตกต่างระหว่างความเข้มข้นภายในและนอกเซลล์ และอัตราการโอนถ่ายของสารยังขึ้นกับอัตราการย่อยสลาย (Hunter และ Asenjo,1987) การเปรียบเทียบผลได้และอัตราการโอนถ่ายดังแสดงในรูปที่ 4.13



รูปที่ 4.13 การเปรียบเทียบอัตราการโอนถ่ายของโปรตีนและกรดอะมิโนที่การกวน 100 และ300 รอบต่อนาที

จากผลการทดลองการย่อยสลายตัวเองด้วยภาวะต่างๆ ทำให้ทราบว่าการนำครีมยีสต์เข้มข้น (ร้อยละ 22 โดยน้ำหนักแห้ง) มาปรับให้มีความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5.5 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ความเร็วในการกวนเท่ากับ 100 รอบต่อนาที และใช้เวลาในการย่อยสลายตัวเอง 13 ชั่วโมง แล้วเติมน้ำปรับให้เป็น ร้อยละ 11.25 โดยน้ำหนักแห้ง จะให้อัตราการผลิตสูงที่สุด และให้ผลได้ที่ค่อนข้างสูงจึงเลือกภาวะนี้มาทำการทดลองกรองแยกเศษเซลล์ด้วยเครื่องกรองแบบหมุนได้

4.3 ผลการกรองยีสต์ออโตไลเสทด้วยเยื่อแผ่นเซรามิกแบบหมุนได้ แบบไม่ต่อเนื่อง

จากข้อ 4.2.3 ได้ภาวะที่ให้อัตราการผลิตยีสต์ออโตไลเสทสูงที่สุด คือ ภาวะที่ใช้ครีมยีสต์เข้มข้น (ประมาณร้อยละ 22 โดยน้ำหนักแห้ง) ปรับความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5.5 บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 13 ชั่วโมง นำยีสต์ออโตไลเสทที่ได้มาเติมน้ำปรับให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 112.5 กรัมต่อลิตร (หรือร้อยละ11.25โดยน้ำหนักแห้ง) ปรับความเป็นกรด-ด่างอีกครั้งให้อยู่ในช่วง 5-6 นำไปวัดคุณสมบัติได้ผลดังตารางที่ 4.4 นำสารแขวนลอยยีสต์ที่ได้มากรองด้วยเครื่องกรองแบบหมุนได้ ด้วยความเร็วในการหมุนเยื่อแผ่นเท่ากับ 1500 รอบต่อนาที อัตราเร็วในการป้อน 30 ลิตรต่อชั่วโมง โดยใช้เยื่อแผ่นเซรามิกขนาดรูพรุน 0.9 ไมโครเมตร การพิจารณาคัดเลือกเยื่อแผ่นประกอบกับขนาดของเซลล์ยีสต์ดูภาคผนวก ข

ตารางที่ 4.4 สมบัติของยีสต์ออโตไลเสท

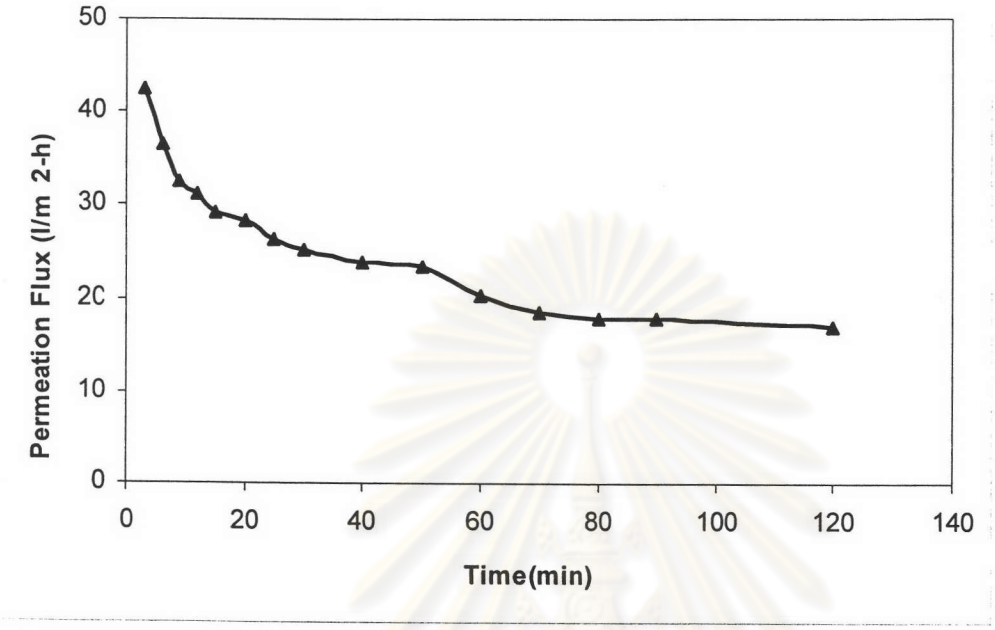
ค่าที่วัด	ผลการวัด
ความหนืด (เซนติพอยส์)	1.86
ความหนาแน่น (กิโลกรัมต่อลูกบาศก์เมตร)	1040
ความเป็นกรดเป็นด่าง	5.5

จากสมบัติของยีสต์ออโตไลเสทและภาวะการกรองดังกล่าว เมื่อนำไปคำนวณเพื่อหาลักษณะการไหลในช่องว่างระหว่างผนังด้านนอกของเยื่อแผ่นกับผนังท่อด้านใน โดยอาศัยความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเร็วรอบในการหมุนเยื่อแผ่นกับการหมุนวนของเทย์เลอร์ ที่แสดงในรูปของค่าเทย์เลอร์นัมเบอร์ (Ta) ตามสมการที่ 2.8 มีค่าเท่ากับ 8610 ค่าเรย์โนลด์ตามแนวแกน มีค่า 53 เมื่อนำค่าที่ได้ประกอบรูปที่ 2.7 ทำให้ได้ลักษณะการไหลในช่องว่างระหว่างผนังด้านนอกของเยื่อแผ่นกับผนังท่อด้านในมีลักษณะเป็นการหมุนวนแบบปั่นป่วน และการหมุนวนแบบนี้ทำให้กวาดอนุภาคที่เกาะที่ผิวด้านนอกของเยื่อแผ่นออกไปได้อย่างต่อเนื่อง เมื่อคำนวณค่าอัตราเฉือนในการกรองจากสมการที่ 2.12 ได้เท่ากับ 10420 ต่อวินาที

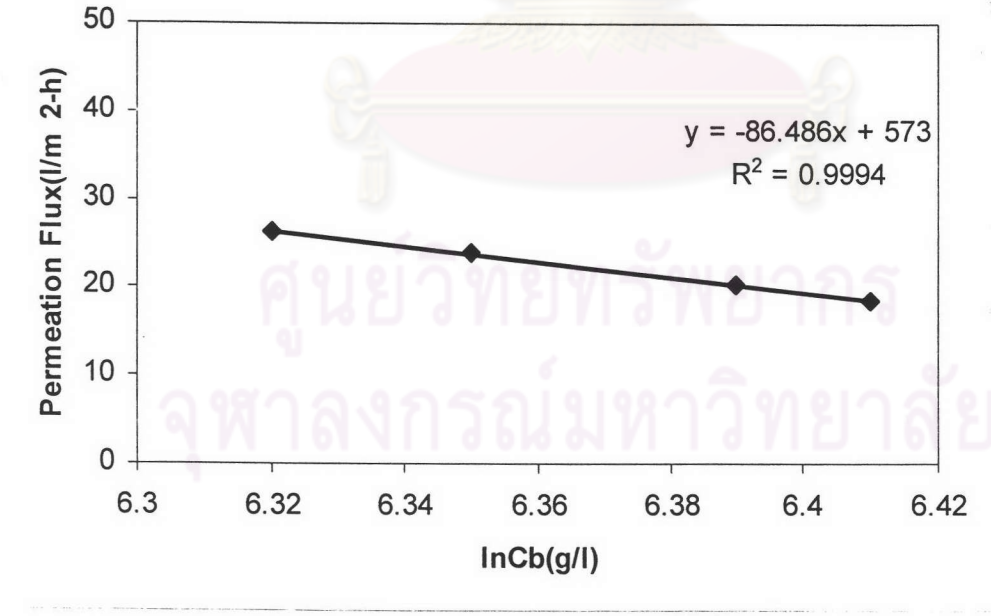
การกรองแบบไม่ต่อเนื่องนี้จะทำให้ฟลักซ์ลดลงตามเวลาจนมีค่าเข้าใกล้ศูนย์ ดังแสดงในรูปที่ 4.14 เนื่องจากความเข้มข้นของเซลล์ในถังป้อนมีค่าเพิ่มขึ้นเรื่อยๆตามเวลาที่ใช้ในการกรอง ความเข้มข้นที่เพิ่มสูงขึ้นจะมีผลต่อการถ่ายเทมวลเกิดคอนเซนเตรชันโพลาไรเซชัน เศษเซลล์จะไปสะสมอยู่ที่ผิวหน้าของเยื่อแผ่น เกิดลักษณะคล้ายเจลที่บริเวณผิวหน้าเยื่อแผ่น เรียก ปรากฏการณ์นี้ว่า เจลโพลาไรเซชัน โดยชั้นเจลจะเกิดขึ้นครอบคลุมผิวเยื่อแผ่น มีลักษณะคล้ายเยื่อแผ่นอีกแผ่นหนึ่งต่ออนุกรมอยู่กับเยื่อแผ่นเดิม ทำให้ความต้านทานการไหลสูงขึ้น

เมื่อเกิดปรากฏการณ์เจลโพลาไรเซชันความเข้มข้นที่ผิวเยื่อแผ่นจะมีค่าความเข้มข้นเท่ากับความเข้มข้นเจลโพลาไรเซชัน (C_g) ดังแสดงในสมการที่ 2.7 เมื่อพลอตเพอมิเอชันฟลักซ์กับ $\ln C_b$ จะได้กราฟเส้นตรงความชันเท่ากับ –k และมีจุดตัดกราฟเท่ากับ $k\ln C_g$ แต่เนื่องจากปริมาณวัตถุดิบ และเยื่อแผ่นมีจำนวนจำกัด ดังนั้นจึงประมาณค่าความเข้มข้นเจลโพลาไรเซชัน จากการพลอตเพอมิเอชันฟลักซ์กับความเข้มข้นในสายป้อนที่เปลี่ยนแปลงตามเวลาที่ใช้กรอง ดังแสดงในรูป 4.15 ซึ่งได้ค่าของสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลของเซลล์มีค่าประมาณ 86.5 เมตรต่อชั่วโมง และความเข้มข้นเจลโพลาไรเซชันมีค่าประมาณ 754 กรัมต่อลิตร

จากการศึกษาประสิทธิภาพในการแยกเศษเซลล์ของเยื่อแผ่นโดยการนับเซลล์ด้วยเฮมาไซโตมิเตอร์ ในกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน กำลังขยาย 1000 เท่า พบว่าสารละลายเพอมิเอทที่ผ่านการกรองที่เวลา 3 และ 10 นาที ไม่มีเซลล์ยีสต์ปนอยู่ ดังนั้นถือว่าเยื่อแผ่นที่ใช้มีรีเจคชัน 100 เปอร์เซนต์



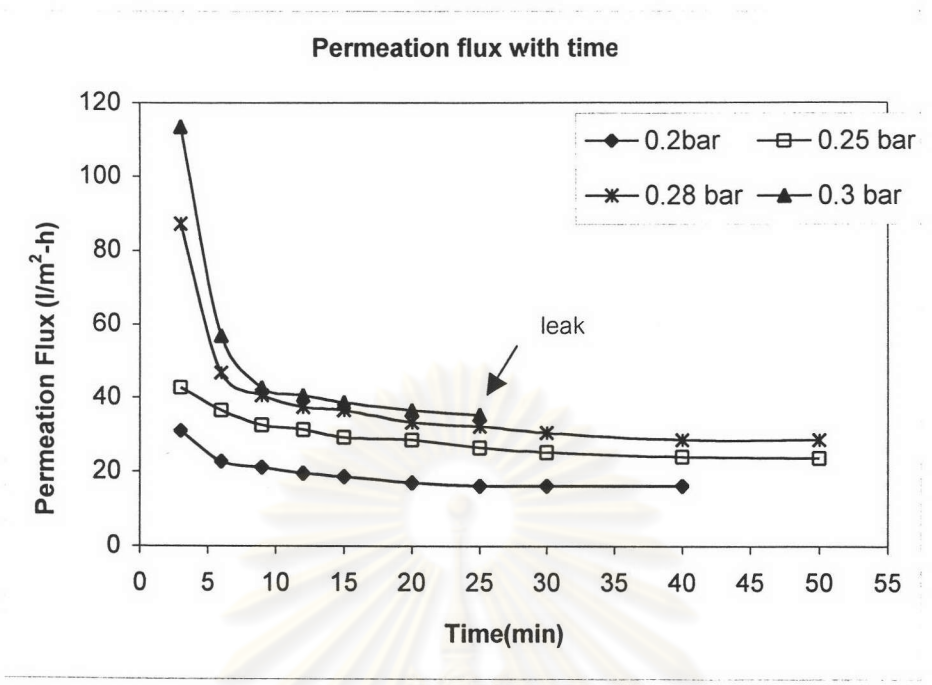
รูปที่ 4.14 ความสัมพันธ์ของเพอมิเอชันฟลักซ์กับเวลาที่ใช้กรองในการกรองแบบไม่ต่อเนื่อง



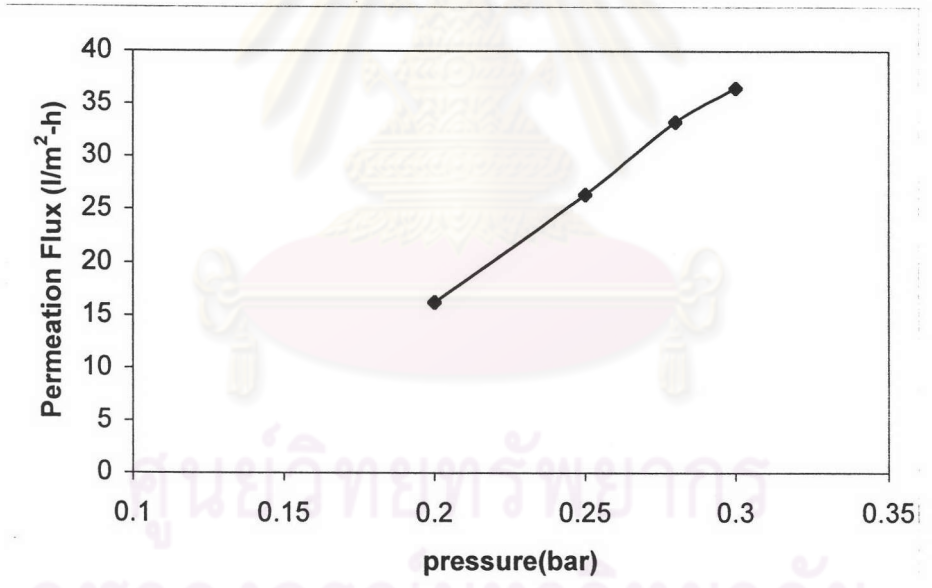
รูปที่ 4.15 ความสัมพันธ์ระหว่างเพอมิเอชันฟลักซ์กับความเข้มข้นที่เปลี่ยนแปลงตามเวลาที่ใช้ในการกรอง

4.3.3 ผลของความดันต่อเพอมิเอชันฟลักซ์ของยีสต์ออโตไลเสท

เนื่องจากการกรองด้วยเครื่องกรองชนิดหมุนได้ทำให้เกิดการหมุนวนของสารละลายที่เรียกว่าการหมุนวนของเทย์เลอร์ (Tayler vortice) ซึ่งช่วยทำให้เกิดแรงเฉือนตลอดผิวหน้าของเยื่อแผ่น ทำให้อนุภาคที่เกาะที่ผิวของเยื่อผิวลดลง การหมุนวนนี้จะทำให้เกิดแรงเหวี่ยง (Centrifugal flow) ออกไปสู่ผนังท่อทรงกระบอกที่อยู่นิ่ง ซึ่งแรงนี้ขึ้นกับความเร็วในการหมุนเยื่อแผ่น และมีอีก 2 แรงคือ แรงจากการเคลื่อนที่ของสารตามแนวแกน (Axial flow) ที่ขึ้นกับอัตราการป้อนสาร และแรงที่สามเป็นแรงที่เกิดในทิศทางการกรอง (Permeation flow) โดยแรงที่เกิดจากทิศทางการกรองนี้ขึ้นกับความดันที่ป้อนให้แก่ระบบ ดังนั้นเพื่อหาแรงที่สมดุลกันทั้ง 3 แรง จึงต้องศึกษาหาความดันที่เหมาะสมในการกรองที่จะให้ค่าเพอมิเอชันฟลักซ์สูง เพราะถ้าความดันน้อยเกินไปสายป้อนจะไหลออกไปทางรีเทนเททหรือถูกเหวี่ยงออกไป ไม่มีการกรองเกิดขึ้น หากความดันมากเกินไป อนุภาคจะสะสมอยู่ที่ผิวหน้าของเยื่อแผ่น ซึ่งทำให้เกิดการสะสมเศษเซลล์ที่ผิวหน้าของเยื่อแผ่นอย่างรวดเร็ว ค่าเพอมิเอชันฟลักซ์จะลดลง จึงทดลองนำยีสต์ที่ผ่านการย่อยสลายตัวเองเป็นเวลา 13 ชั่วโมง ปรับให้มีความเข้มข้น 112.5 กรัมต่อลิตรโดยน้ำหนักแห้ง ควบคุมความเป็นกรด-ด่างให้อยู่ในช่วง 5-6 มากรองด้วยเครื่องกรองแบบหมุนได้ โดยใช้อัตราการป้อนสารเท่ากับ 30 ลิตรต่อชั่วโมง ความเร็วรอบในการหมุนเยื่อแผ่นเท่ากับ 1500 รอบต่อนาที และแปรผันค่าความดันเป็น 4 ค่า คือ 0.2 , 0.25 , 0.28 และ 0.3 บาร์ จากรูปที่ 4.16ก พบว่าในช่วงแรกของการกรองที่ทุกความดัน ค่าเพอมิเอชันฟลักซ์มีค่าสูง และจะลดลงอย่างรวดเร็วภายใน 5 นาที และมีค่าลดลงตามเวลาไปตลอดการทดลอง เนื่องจากทำการทดลองแบบไม่ต่อเนื่อง ค่าเพอมิเอชันฟลักซ์ที่ลดลงนี้ สามารถอธิบายได้ว่าช่วงแรกมีการสะสมของอนุภาคยีสต์บริเวณผิวหน้าของเยื่อแผ่นในปริมาณน้อย แรงเฉือนยังสามารถเฉือนเค้กออกไปได้ ทำให้ค่าเพอมิเอชันฟลักซ์มีค่าสูง แต่เมื่อเวลาผ่านไปอัตราการสะสมอนุภาคของยีสต์บนผิวหน้าเยื่อแผ่นมีมากกว่าแรงเฉือน ทำให้เกิดการสะสมของชั้นเค้กบริเวณผิวตัวกรองมีมากขึ้น ทำให้ค่าเพอมิเอชันฟลักซ์ลดลงเรื่อยๆ และจากการทดลองจะเห็นว่าเมื่อเพิ่มความดัน ค่าเพอมิเอชันฟลักซ์จะเพิ่มขึ้น มีสาเหตุจากความดันที่สูงขึ้นจะเพิ่มการไหลในทิศทางการกรองมากขึ้น โดยความดันที่เพิ่มขึ้นนี้ยังคงเป็นความดันที่ทำให้เกิดแรงทั้งสามแรงที่สมดุลกันอยู่ จากรูป 4.16 ข แสดงให้เห็นว่าความดันที่มีผลต่อค่าเพอมิเอชันฟลักซ์มีค่าไม่เกิน 0.3 บาร์



(ก)



(ข)

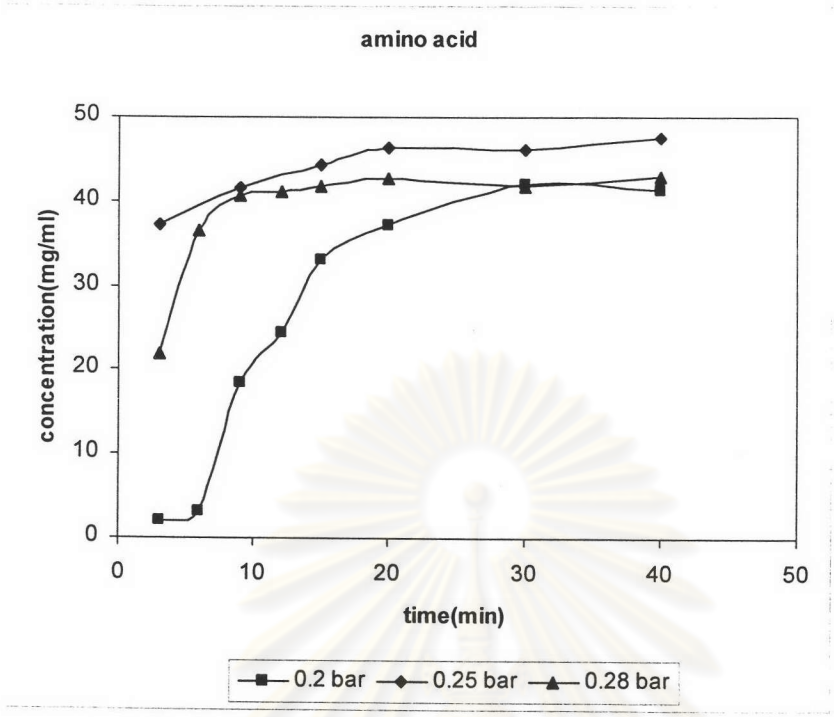
รูปที่ 4.16 ผลของความดันต่อเพอมิเอชันฟลักซ์ตามเวลาที่ใช้ในการกรอง ณ ความดันต่างๆ

4.3.2 ผลของความดันต่อความเข้มข้นของโปรตีนและกรดอะมิโน

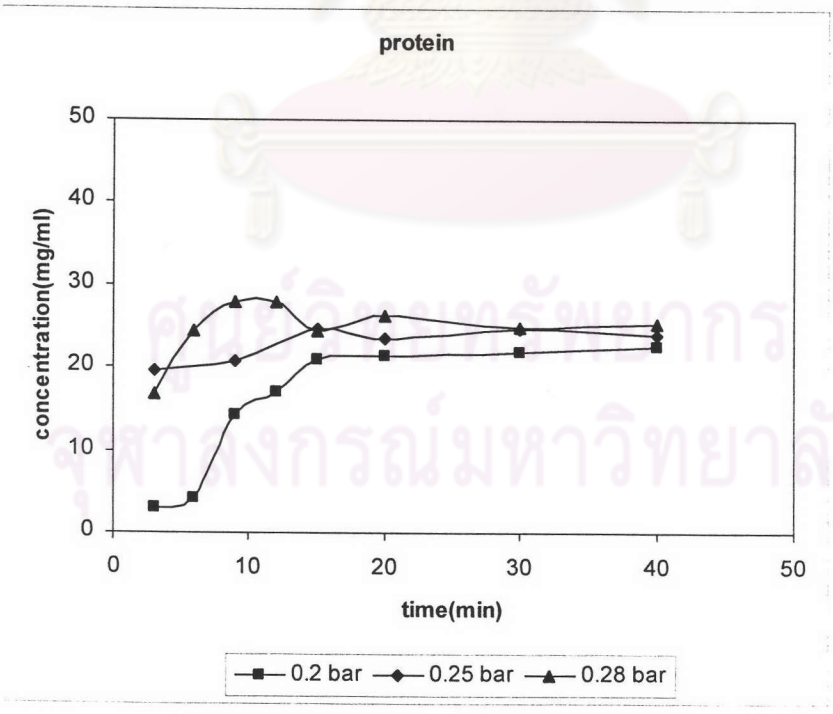
การทดลองในหัวข้อนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาผลของความดันต่อปริมาณโปรตีนและกรดอะมิโนในเพอมิเอทที่ได้ ณ เวลาต่างๆกัน โดยนำยีสต์ออโตไลเสทที่เข้มข้นมาเจือจางเป็นร้อยละ 11.25 โดยน้ำหนักแห้ง ปรับค่าความเป็นกรดด่างให้ได้เท่ากับ 5.5 นำมากรองด้วยเครื่องกรองแบบหมุนได้ โดยแปรผันความดันเป็นดังนี้ คือ 0.2 0.25 และ 0.28 บาร์ แล้วนำเพอมิเอทมาวิเคราะห์ ความเข้มข้นของโปรตีนและกรดอะมิโน ดังแสดงในรูปที่ 4.17 และ 4.18 ซึ่งจะเห็นว่าค่าความเข้มข้นที่ได้ในช่วง 10 นาทีแรก มีค่าน้อยมากเนื่องจากเกิดการดูดซับของเยื่อแผ่น (ปราณี,2543) ทำให้วัดค่าความเข้มข้นของโปรตีนและกรดอะมิโนได้น้อย และความเข้มข้นจะมีค่าเพิ่มขึ้นจนคงที่เมื่อเวลาผ่านไป ซึ่งที่ความดันสูงการดูดซับจะเกิดขึ้นได้น้อยกว่าที่ความดันต่ำ สังเกตได้จากที่ความดัน 0.28 บาร์ ค่าความเข้มข้นของโปรตีนจะมีค่าคงที่เร็วกว่า 0.2 บาร์ เนื่องจากการกรองที่ความดันสูง แรงในทิศทางการกรองจะมีค่ามาก ทำให้สารไหลผ่านเยื่อแผ่นไปได้เร็วกว่า การดูดซับจึงมีโอกาสน้อยลง ส่งผลให้ความเข้มข้นของโปรตีนและกรดอะมิโนในเพอมิเอทมีค่ามากกว่า ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Bowen และ Hughes (Bowen และ Hughes,1990) ที่ได้ศึกษาการดูดซับโบวีนซีรัมอัลบูมินของเยื่อแผ่นอลูมิเนียมออกไซด์ และพบว่าการดูดซับจะเกิดขึ้นในช่วงแรกอย่างรวดเร็ว และอัตราการดูดซับจะขึ้นกับความเข้มข้นของโปรตีน และอัตราการไหลของเพอมิเอท

เมื่อนำค่าอัตราการไหลเชิงปริมาตรกับค่าความเข้มข้นที่ได้มาคำนวณเป็นอัตราการไหลเชิงมวลของการกรองที่ความดันต่างๆ พบว่า อัตราการไหลเชิงมวลของโปรตีนและกรดอะมิโน ที่ความดัน 0.28 บาร์จะมีค่าสูงที่สุด รองลงมาคือ 0.25 และ 0.2 บาร์ ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 4.19 และ 4.20 ดังนั้นการกรองโดยใช้ความดันต่ำจะต้องใช้เวลาในการกรองเพื่อให้ได้ปริมาณโปรตีนที่ต้องการนานกว่าที่การกรองด้วยความดันสูง

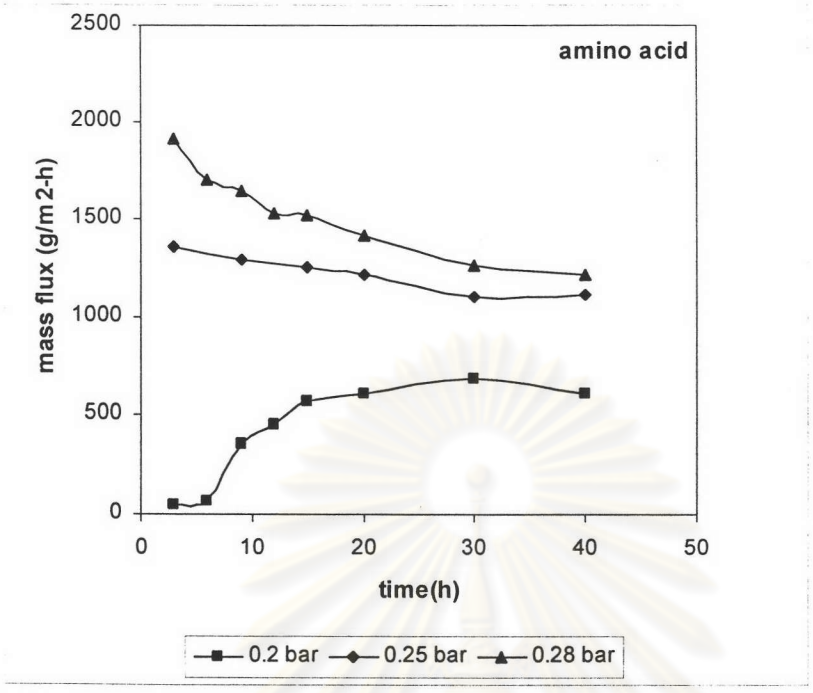
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



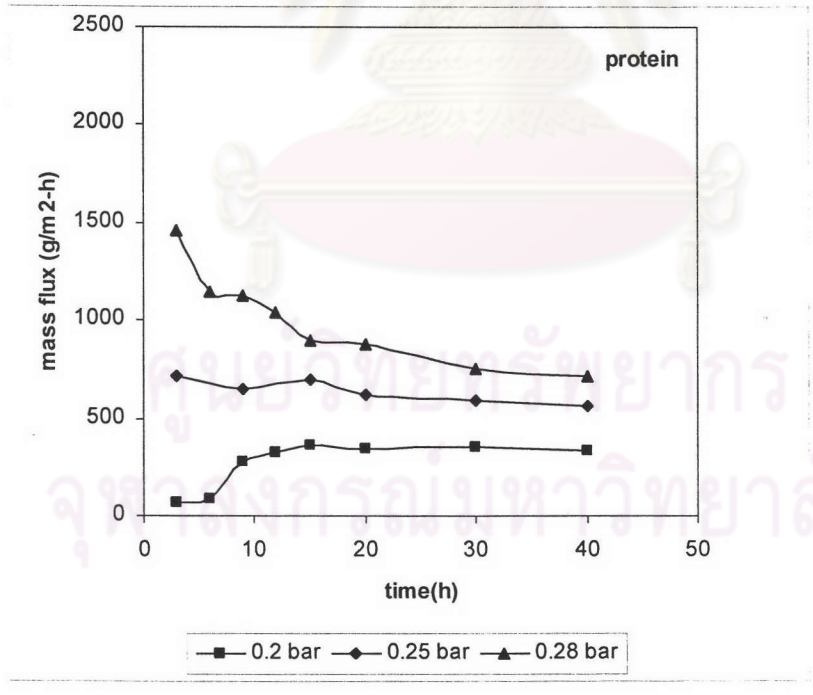
รูปที่ 4.17 ความเข้มข้นของกรดอะมิโนในเพอมิเอทตามเวลาที่ใช้ในการกรอง ที่ความดันต่างๆ



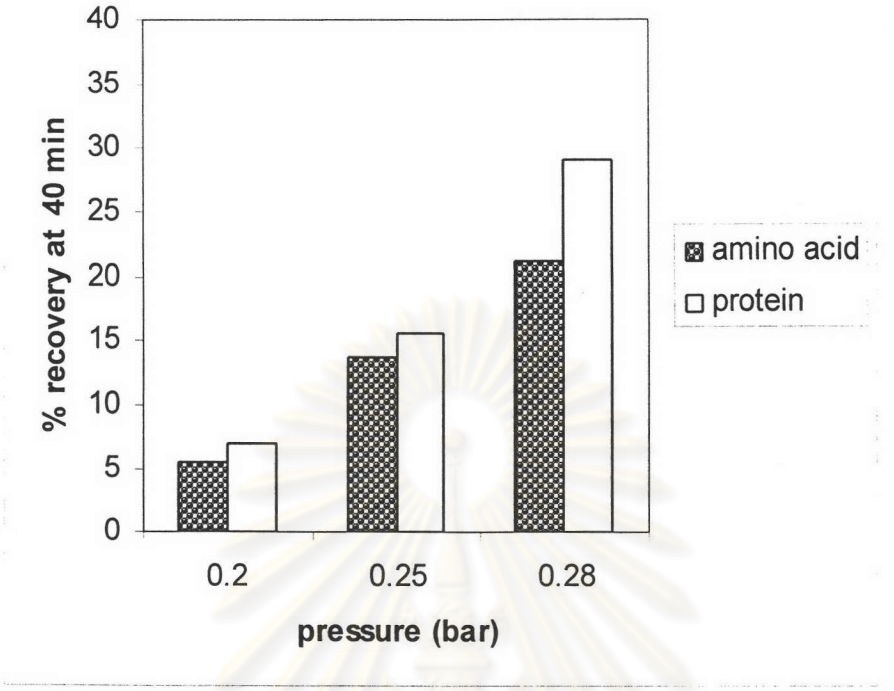
รูปที่ 4.18 ความเข้มข้นของโปรตีนในเพอมิเอทตามเวลาที่ใช้ในการกรอง ที่ความดันต่างๆ



รูปที่ 4.19 ความสัมพันธ์ของอัตราการไหลเชิงมวลของกรดอะมิโนตามเวลากับความดันในการกรอง



รูปที่ 4.20 ความสัมพันธ์ของอัตราการไหลเชิงมวลโปรตีนตามเวลากับความดันในการกรอง



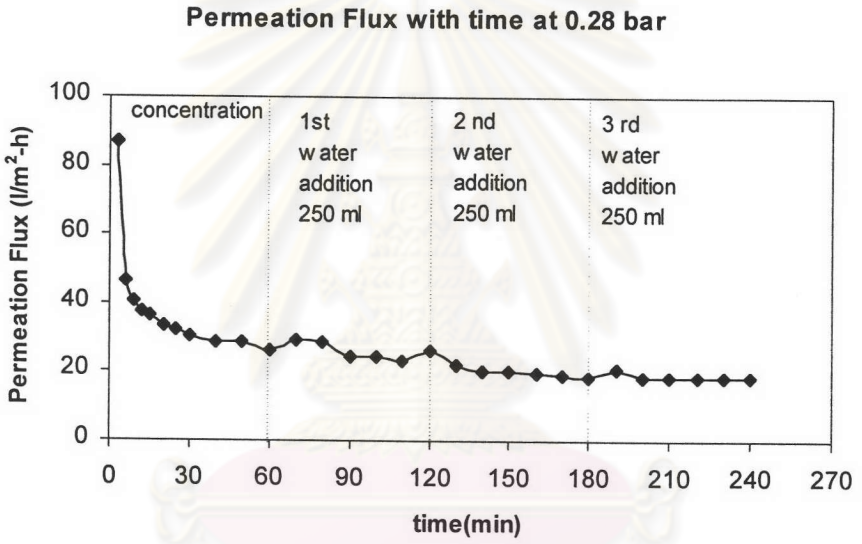
รูปที่ 4.21 ความสัมพันธ์ระหว่างความดันในการกรองและการนำกลับโปรตีนและกรดอะมิโน

จากการคำนวณค่าร้อยละการนำกลับของโปรตีน และกรดอะมิโน ที่เวลา 40 นาที โดยคำนวณจากปริมาณโปรตีนและกรดอะมิโนที่ได้ ณ เวลา 40 นาที เทียบกับค่าโปรตีนและกรดอะมิโนเริ่มต้น พบว่าค่าร้อยละการนำกลับของโปรตีนที่ความดัน 0.2 0.25 และ 0.28 บาร์ เท่ากับร้อยละ 7 , 15.5 และ 29 ตามลำดับ ส่วนค่าร้อยละการนำกลับของกรดอะมิโนเท่ากับ 5.5, 14 และ 21 ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 4.21 ค่าการนำกลับที่ได้ในการกรองแบบนี้มีค่าไม่สูงมากเนื่องจากยังมีปริมาณสารเหลืออยู่ในถังป้อนอีกจำนวนหนึ่ง และจากผลการทดลองพบว่าการกรองที่ความดันสูงจะมีค่าร้อยละการนำกลับของกรดอะมิโนและโปรตีนสูงกว่าที่ความดันต่ำ ทั้งนี้เพราะการกรองที่ความดันสูงมีค่าเพอมิเอชันฟลักซ์มากกว่าที่ความดันต่ำ จึงทำให้ปริมาณของกรดอะมิโนและโปรตีนมีค่ามากตามมาด้วย แต่เมื่อพิจารณาเทียบกับปริมาณส่วนใสที่ควรจะได้ พบว่ามีการสูญเสียไป อาจมีสาเหตุจากการดูดซับของเยื่อแผ่น

เนื่องจากที่ความดัน 0.28 บาร์ ให้ค่าเพอมิเอชันฟลักซ์ และค่าร้อยละการนำกลับของโปรตีนและกรดอะมิโนมากที่สุด จึงเลือกความดันนี้ ในการทำการทดลองต่อไป

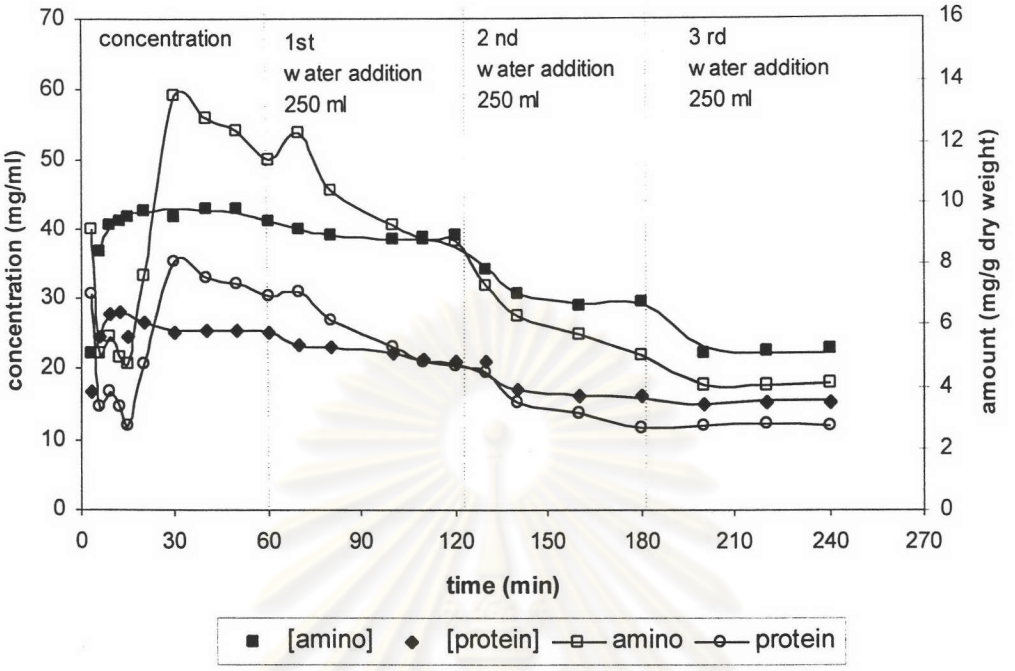
4.3.3 ผลของการเติมน้ำเพื่อชะโปรตีนและกรดอะมิโน

จากการกรองในช่วงแรก จะเห็นว่าเมื่อกรองไปนานๆ ค่าฟลักซ์ที่ได้จะลดลง เนื่องจากความเข้มข้นของเซลล์เพิ่มขึ้น อีกทั้งในการกรองไม่สามารถที่จะกรองแยกเอาส่วนใสภายในถังป้อน ออกได้หมด(จากข้อ4.3.2พบว่ากรองเอาส่วนใสออกจากถังป้อนไว้ประมาณร้อยละ30ของส่วนใสเริ่มต้น) จึงทำการเติมน้ำเพื่อชะเอาส่วนใส หรือ โปรตีนและกรดอะมิโนที่ปนอยู่กับเซลล์ในถังป้อนออกมาให้ได้มากที่สุด โดยทำการเติมน้ำ 3 ครั้ง ครั้งละ 250 มิลลิลิตร ซึ่งคิดเป็น ครึ่งหนึ่งของปริมาตรเพอมิเอทที่ได้ในชั่วโมงแรก ผลของการเติมน้ำเพื่อการชะต่อเพอมิเอชันฟลักซ์เป็นดังรูปที่ 4.22



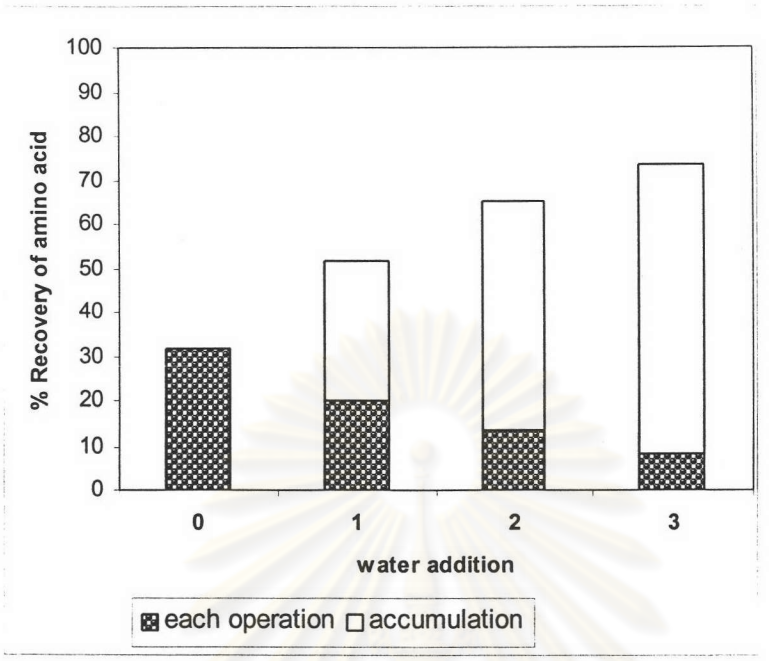
รูปที่ 4.22 ผลของการเติมน้ำชะต่อเพอมิเอชันฟลักซ์ตามเวลาที่ใช้ในการกรอง

หลังจากที่เติมน้ำชะแล้ว ค่าเพอมิเอชันฟลักซ์เพิ่มขึ้นจาก 26.35 ลิตรต่อตารางเมตร-ชั่วโมง เป็น 29.19 ลิตรต่อตารางเมตร-ชั่วโมง เนื่องจากทำให้สารแขวนลอยในถังป้อนมีความเข้มข้นเจือจางลงไปครึ่งหนึ่ง จากนั้นค่าเพอมิเอชันฟลักซ์จะลดลงเรื่อยๆเนื่องจากความเข้มข้นเพิ่มขึ้น จึงทำการเติมน้ำเพื่อชะอีกครั้ง และทำซ้ำจนกระทั่งครบ 4 ชั่วโมง เมื่อนำเพอมิเอทที่ได้ ไปวิเคราะห์ความเข้มข้นและปริมาณโปรตีนและกรดอะมิโน ผลดังแสดงในรูปที่ 4.23

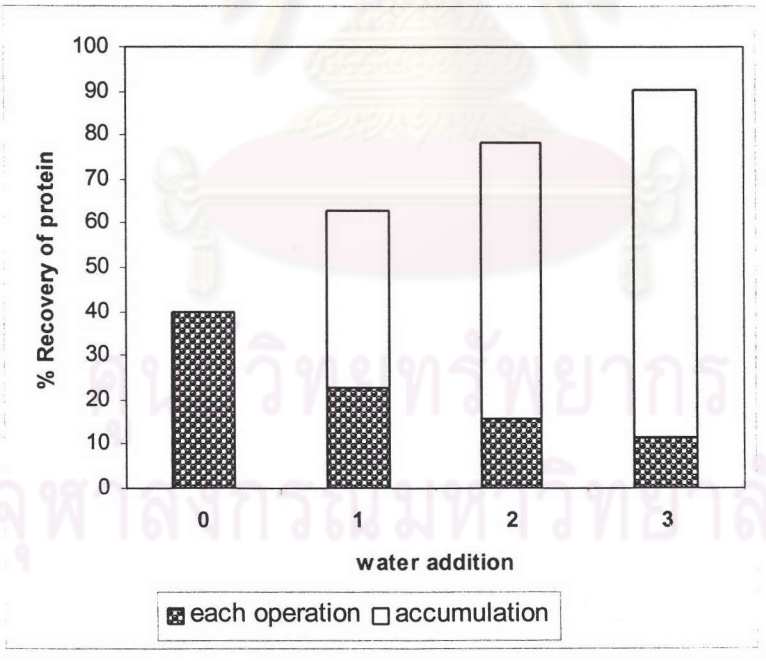


รูปที่ 4.23 ความเข้มข้นและปริมาณของโปรตีนและกรดอะมิโนในเพอมิเอท ตามเวลาที่ใช้ในการกรอง

จากรูปที่ 4.23 ความเข้มข้นของโปรตีนลดลง เนื่องจากการเติมน้ำลงไป 250 มิลลิลิตร การเติมน้ำนี้ช่วยในการเพิ่มเพอมิเอชันฟลักซ์ โดยไปลดความเข้มข้นของปริมาณตัวเซลล์ยีสต์ส่งผลให้ความหนืดของสายป้อนลดลง ทำให้มีแรงเฉือนเพิ่มขึ้น ตัวเซลล์จึงไม่อุดตันที่ผิวหน้าเยื่อแผ่น ทำให้การกรองดำเนินต่อไปได้ ปริมาณโปรตีนและกรดอะมิโนที่เหลืออยู่ในถังป้อนอีกจำนวนหนึ่ง จึงถูกกรองออกมาได้เพิ่มขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 4.24 เมื่อคิดเป็นร้อยละการนำกลับของโปรตีนเป็นช่วงๆ แบ่งเป็น 4 ช่วง คือ ช่วงทำให้เข้มข้น การเติมน้ำชะครั้งที่ 1,2 และ 3 มีค่าเท่ากับ 40 ,22.9 ,15.6 และ 11.7 ตามลำดับ เมื่อคิดเป็นร้อยละการนำกลับรวมของโปรตีนมีค่า 40, 62.9, 78.5 และ 90 ตามลำดับ ส่วนร้อยละการนำกลับของกรดอะมิโนในแต่ละช่วงในการชะเป็นดังนี้ 31.5,20,13.6 และ 8.3 ตามลำดับ และเมื่อคิดเป็นร้อยละการนำกลับรวมได้เท่ากับ 31.5, 51.5, 65.1 และ 73.4 ตามลำดับ โดยในการชะครั้งที่ 1 จะทำให้ปริมาณกรดอะมิโนที่มีอยู่ภายในเซลล์ออกมาเพิ่มขึ้นด้วย สังเกตจากเส้นกราฟปริมาณกรดอะมิโนและโปรตีนที่เพิ่มขึ้น แต่การชะในครั้งที่ 2 และ 3 ปริมาณกรดอะมิโนและโปรตีนมีค่าลดลงเรื่อยๆจนคงที่



ก



ข

รูปที่ 4.24 ร้อยละการนำกลับของโปรตีนและกรดอะมิโน ตามเวลาที่กรองได้หลังจากการเติมน้ำซะ (ก) กรดอะมิโน (ข) โปรตีน โดย 0 คือช่วงการทำเข้มข้น 1 2 3 คือ การเติมน้ำครั้งที่ 1 2 และ3 ตามลำดับ

จากผลการทดลองการเติมน้ำเพื่อชะกรดอะมิโนและโปรตีนนี้ พบว่าการชะในครั้งที่ 2 และครั้งที่ 3 มีร้อยละการนำกลับรวมของโปรตีนและกรดอะมิโนเพิ่มขึ้นไม่มาก เมื่อเทียบกับค่าใช้จ่ายในการระเหยน้ำเพื่อการทำให้เข้มข้น หรือการอบแห้ง แล้วจึงควรชะเพียงครั้งเดียว ซึ่งจะสามารถนำกลับกรดอะมิโนและโปรตีนได้ร้อยละ 52 และ 63 ตามลำดับ

เมื่อนำผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการกรองที่ภาวะต่างๆ มาวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะมิโน ปริมาณโปรตีน ปริมาณของแข็ง และปริมาณความขม ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของเพอมิเอทที่ภาวะต่างๆ

เพอมิเอท	ร้อยละของแข็งต่อปริมาตรเพอมิเอท	กรดอะมิโน (กรัมต่อกรัมของแข็งแห้ง)	โปรตีน (กรัมต่อกรัมของแข็งแห้ง)	ความขม (EBU.ต่อกรัมของแข็งแห้ง)
ทำเข้มข้น	7.46	0.575	0.339	7.44
ชะครั้งที่ 1	6.35	0.608	0.346	7.96
ชะครั้งที่ 2	4.86	0.596	0.335	14.81
ชะครั้งที่ 3	4.16	0.548	0.369	14.08

จากตารางที่ 4.5 พบว่าการชะในครั้งที่ 1 จะทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีร้อยละของแข็งต่อปริมาตรเพอมิเอทลดลงร้อยละ 14.88 ปริมาณกรดอะมิโนและโปรตีนมีค่าเพิ่มขึ้น ร้อยละ 6 และ 2 ตามลำดับ เพราะมีปริมาณจากภายในเซลล์ออกมาเพิ่มขึ้น ส่วนการชะในครั้งต่อๆไปปริมาณองค์ประกอบภายในผลิตภัณฑ์จะมีค่าลดลง และผลิตภัณฑ์ที่ได้จะมีความขมเพิ่มขึ้น

4.4 เปรียบเทียบผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทดลองที่ภาวะต่างๆ

เมื่อเปรียบเทียบการผลิตยีสต์สกัดที่ภาวะการทดลองต่างๆ พบว่า ครีมยีสต์เข้มข้น (22%) ครีมยีสต์เติมน้ำ (11.25%) และครีมยีสต์เข้มข้นเติมเกลือ ทั้ง 3 ภาวะนี้ ให้อัตราการโอนถ่ายของโปรตีนและกรดอะมิโนในช่วงแรกของการทดลองมากกว่าในช่วงท้าย ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของอัมพร (2540) แต่ค่าอัตราการโอนถ่ายของครีมยีสต์เข้มข้นในงานวิจัยนี้มีค่าน้อยกว่าครีมยีสต์เติมน้ำ ซึ่งขัดแย้งกับงานวิจัยดังกล่าวที่ครีมยีสต์เข้มข้นมีอัตราการโอนถ่ายสูงกว่าครีมยีสต์เจือจาง ส่วนในกรณีครีมยีสต์เข้มข้นเติมน้ำเป็น11.25%ในชั่วโมงที่ 13 ของการย่อยสลาย มีอัตราการโอนถ่ายสูงขึ้น แต่ไม่

เท่ากรณีครีมยีสต์เติมน้ำในตอนแรก อาจเป็นเพราะมีแรงขับไม่มากพอที่จะทำให้สารภายในเซลล์ของยีสต์ออโตไลเสทชั่วโมงที่ 13 ซึ่งมีปริมาณกรดอะมิโนมากกว่าครีมยีสต์เติมน้ำ (11.25%) ออกมาภายนอกได้ และเพื่อให้เกิดการโอนถ่ายสูงขึ้น ต้องเติมน้ำในปริมาณที่มากกว่าในการทดลองนี้ เมื่อพิจารณาด้านผลได้ พบว่า ผลได้ของโปรตีนและกรดอะมิโนมีค่าเพิ่มขึ้นตามเวลาที่ย่อยสลาย ทั้งในกรณีครีมยีสต์เข้มข้น ครีมยีสต์เติมน้ำ (11.25%) และครีมยีสต์เข้มข้นเติมเกลือ ซึ่งสอดคล้องกับของอัมพร(2540) แต่เมื่อพิจารณาครีมยีสต์เข้มข้นและครีมยีสต์เติมน้ำ (11.25%) พบว่าในงานวิจัยนี้มีค่าผลได้ของครีมยีสต์เติมน้ำมากกว่าครีมยีสต์เข้มข้นและครีมยีสต์เข้มข้นเติมเกลือ ซึ่งต่างจากงานวิจัยของอัมพรที่ได้ผลได้ของครีมยีสต์เข้มข้นมากกว่า ส่วนครีมยีสต์เติมน้ำเป็น 11.25 % ที่เวลา 13 ชั่วโมง ผลได้ของโปรตีนและกรดอะมิโน มีค่าใกล้เคียงกับครีมยีสต์เติมน้ำ (11.25%) แต่ผลได้ของกรดอะมิโนจะมีค่ามากกว่าประมาณ 2.4 เท่า ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีคุณภาพมากกว่า ในงานวิจัยนี้ไม่ได้วิเคราะห์ความขมเริ่มต้น แต่จากงานวิจัยของปราณี (2543) พบว่าความขมจะมีค่าเพิ่มขึ้นหลังจากผ่านกระบวนการกรอง และความขมจะมีค่าเพิ่มขึ้นตามเวลาในการย่อยสลายตัวเอง แต่จากงานวิจัยของวิวัฒน์ (2535) พบว่า การย่อยสลายตัวเองที่ภาวะเป็นกรด แล้วแยกเศษเซลล์ซึ่งเป็นส่วนที่มีความขมติดอยู่จำนวนมากออกไป จะช่วยลดปัญหาเรื่องความขมได้ส่วนหนึ่ง ดังนั้นในงานวิจัยนี้ ซึ่งใช้เวลาในการย่อยสลายตัวเองเป็นเวลา 13 ชั่วโมง ความขมที่ผนังเซลล์จึงยังออกมาได้ไม่มาก ผลิตภัณฑ์ที่ได้จึงมีความขมน้อยกว่าผลิตภัณฑ์ที่ใช้เวลาในการย่อยสลายเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และพบว่าการเพิ่มจำนวนครั้งในการชะเพื่อนำกลับผลิตภัณฑ์มากขึ้น ความขมที่ผนังเซลล์จะออกมาปนกับผลิตภัณฑ์ได้มากขึ้น ดังแสดงในตารางที่ 4.6

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.6 การเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนและกรดอะมิโนที่ได้จากภาวะต่างๆ

กระบวนการทดลอง	ผลได้ (กรัม/กรัมยีสต์แห้ง)			อัตราการโอนถ่าย (มก./กรัมยีสต์แห้ง-ชม.)			ผลิตภัณฑ์				ที่มา
							กรัมของแข็งแห้งต่อกรัมยีสต์แห้ง	โปรตีน (กรัม/กรัมของแข็งแห้ง)	กรดอะมิโน (กรัม/กรัมของแข็งแห้ง)	ความขม (EBU./กรัมของแข็งแห้ง)	
	โปรตีน	กรดอะมิโน	รวม	โปรตีน	กรดอะมิโน	รวม					
ครีมยีสต์ 10 %dw											อัมพร,2540
ออโตไลซิส 13 ชั่วโมง	0.0995	-	-	7.69	-	-	0.18	0.538	-		
ออโตไลซิส 49 ชั่วโมง	0.136	-	-	2.78	-	-	0.28	0.487	-	17.2	
ครีมยีสต์ 20 %dw										ที่ยีสต์ 15%dw	
ออโตไลซิส 13 ชั่วโมง	0.2099	-	-	16.15	-	-	0.33	0.636	-	24ชั่วโมง	
ออโตไลซิส 49 ชั่วโมง	0.225	-	-	4.59	-	-	0.43	0.523	-		
ครีมยีสต์ 11.25 %dw											งานวิจัยนี้
ออโตไลซิส 13 ชั่วโมง	0.178	0.275	0.453	13.69	21.15	34.84	-	-	-	-	
ออโตไลซิส 49 ชั่วโมง	0.2	0.399	0.599	4.08	8.14	12.22	-	-	-	-	
ครีมยีสต์ 22 %dw เติมเกลือ											
ออโตไลซิส 13 ชั่วโมง	0.07	0.085	0.155	5.38	6.54	11.92	-	-	-	-	
ออโตไลซิส 49 ชั่วโมง	0.09	0.212	0.302	1.84	4.33	6.17	-	-	-	-	
ครีมยีสต์ 22 %dw											
ออโตไลซิส 13 ชั่วโมง	0.052	0.108	0.16	4	8.31	12.31	-	-	-	-	
ออโตไลซิส 49 ชั่วโมง	0.062	0.232	0.294	1.33	4.74	6.07	-	-	-	-	
ออโตไลซิส13 ชม.เติมน้ำเป็น11.25 %dw	0.121	0.291	0.412	9.31	22.38	31.69	0.435	0.278	0.669	-	
กรองแบบทำให้เข้มข้น*	0.058	0.098	0.156	-	-	-	0.171	0.339	0.575	7.44	
ชะครั้งที่ 1*	0.034	0.059	0.093	-	-	-	0.098	0.347	0.608	7.96	
ชะครั้งที่ 2*	0.023	0.04	0.063	-	-	-	0.067	0.335	0.596	14.81	
ชะครั้งที่ 3*	0.017	0.025	0.042	-	-	-	0.045	0.369	0.548	14.08	

*คำนวณเฉพาะในเพอมิเอทที่ได้ออกมาเท่านั้น ไม่ได้คิดปริมาณที่เหลืออยู่ในถังป้อน