บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

แนวคิดและทฤษฎี

2.1 โครงสร้างวิทยาของยีสต์

เซลล์ยีสต์มีขนาดและรูปร่างแตกต่างกันออกไปขึ้นกับอายุและสภาพแวดล้อม โดยทั่วไปมีความกว้างตั้งแต่ 1- 5 ไมโครเมตร และมีความยาวตั้งแต่ 5-30 ไมโครเมตร ผนังเซลล์ของยีสต์จะมีความหนาประมาณ 1/7 ของเส้นผ่านศูนย์กลางของเซลล์ (สุพจน์,2529) จะมีความหนาเพิ่มขึ้นตามอายุของยีสต์ และจะทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ดีกว่าปกติ ผนังเซลล์ของยีสต์เป็นส่วนที่มีความแข็งแรงมากที่สุดเพราะเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของสารไบโอพอลิเมอร์หลายชนิดมาเชื่อมต่อกัน ได้แก่ กลูแคน, แมนแนน, โปรตีน,ไขมัน และไคติน โดยจะมี กลูแคนอยู่ถึงร้อยละ 55-60 ของผนังเซลล์และจะเป็นกลูแคน 2 ชนิด ที่มีการเชื่อมด้วยพันธะ β(1-6) และβ(1-3) ส่วนที่เหลือ จะเป็นสารประกอบของแมนแนน-โปรตีน

ภายในเซลล์ยีสต์มีองค์ประกอบซึ่งเป็นสารอาหารที่สำคัญ ได้แก่ โปรตีน วิตามินบีรวม เกลือแร่ ไขมัน เส้นใย โปรตีนจากยีสต์มีกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายอย่างครบถ้วน โดยเฉพาะไลซีนมีปริมาณสูง (Reed และ Nagodawithana,1991) จึงเหมาะที่จะใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตสารสกัด

2.2 การผลิตยีสต์สกัด

ยีสต์สกัดเป็นผลิตภัณฑ์ที่ประกอบไปด้วยโปรตีน และองค์ประกอบอื่นๆภายในเซลล์ที่แยกได้จากเซลล์ยีสต์ (Peppler,1970,และ Reed และ Nagodawithana,1991) วิธีการในการผลิตยีสต์สกัดโดยทั่วไปได้แก่ วิธีทางกายภาพ ด้วยการใช้เครื่องโฮโมจิไนซ์เซอร์ วิธีทางเคมี ด้วยการใช้กรดหรือด่างเข้มข้น และสารละลายผงซักฟอก และวิธีการทางชีวภาพ คือ การใช้เอนไซม์

2.2.1 การย่อยสลายยีสต์ด้วยวิธีทางกายภาพ

การใช้เครื่องโฮโมจิไนซ์ หรือลูกแก้ว เป็นวิธีหนึ่งที่นิยมใช้ในการแยกโปรตีนออกจากยีสต์ในระดับอุตสาหกรรม โดยทำให้เซลล์แตกหรือฉีกขาดด้วยแรงเฉือน แล้วสารต่างๆที่อยู่ภายในเซลล์จะถูกปล่อยออกมา ผลิตภัณฑ์ที่ได้จะเป็นส่วนผสมของโปรตีน กรดนิวคลีอิก และชิ้นส่วนของผนังเซลล์ การทำลายผนังเซลล์ด้วยวิธีนี้จะเป็นการทำลายผนังเซลล์ได้ค่อนข้างสมบูรณ์ จึงทำให้กรดนิวคลีอิกที่ออกมานั้นมีผลต่อความหนืดของสารละลาย อีกทั้งยังมีชิ้นส่วนของผนังเซลล์ขนาดเล็กที่อยู่ในสารละลายซึ่งทำให้กระบวนการแยกและการทำให้ใสมีความยุ่งยากขึ้น (Asenjo และ Andrew,1990)

2.2.2 การย่อยสลายยีสต์ด้วยวิธีทางเคมี

2.2.2.1 การย่อยสลายด้วยกรด เป็นการย่อยเซลล์ยีสต์ด้วยกรดแก่ ร่วมกับความร้อนเพื่อย่อยสารโมเลกุลใหญ่ๆในเซลล์ยีสต์ เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรท และกรดนิวคลีอิก ให้อยู่ในรูปของสารโมเลกุลเล็กที่ละลายได้ ผลิตภัณฑ์ที่ได้เรียกว่ายีสต์ไฮโดรไลเสท

2.2.2.2 การสกัดด้วยสารเคมี เป็นการสกัดส่วนประกอบต่างๆภายในเซลล์ยีสต์ ด้วยเกลืออนินทรีย์หรือตัวทำละลายอินทรีย์ ได้แก่ น้ำตาล แอลกอฮอล์ อีเธอร์ คลอโรฟอร์ม เป็นต้น ที่ใช้ความเข้มข้นสูง โดยไม่มีการทำงานของเอนไซม์เข้ามาเกี่ยวข้อง ในสภาวะที่มีความเข้มข้นของเกลือสูง ยีสต์จะสูญเสียน้ำในเซลล์ เพื่อรักษาสมดุลของแรงดันออสโมติกระหว่างภายในและภายนอกเซลล์ไว้ เมื่อเซลล์สูญเสียน้ำมากขึ้น พลาสมาเมมเบรนจะแยกตัวออกจากผนังเซลล์และแตกออก ผลิตภัณฑ์ที่ได้ เรียกว่า ยีสต์พลาสโมไลเสท แต่สารสกัดที่ได้จากการพลาสโมไลซ์ด้วยเกลือจะมีปริมาณเกลืออยู่สูง ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้ไม่เป็นที่ยอมรับ

2.2.3 การย่อยสลายยีสต์ด้วยวิธีทางชีวภาพ

การย่อยสลายตัวเองของยีสต์ เป็นการย่อยสลายตัวเองโดยเอนไซม์ภายในเซลล์ของยีสต์เอง โดยทำการกระตุ้นกระบวนการเกิดการย่อยสลายตัวเองด้วยการปรับความเป็นกรดด่างให้ได้ ประมาณ 5.5 ให้ความร้อนที่อุณหภูมิประมาณ 45-50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-36 ชั่วโมง (Reed และ Nagodawithana,1991) จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิเป็น 80-90 องศาเซลเซียส เพื่อหยุดกิจกรรมของเอนไซม์

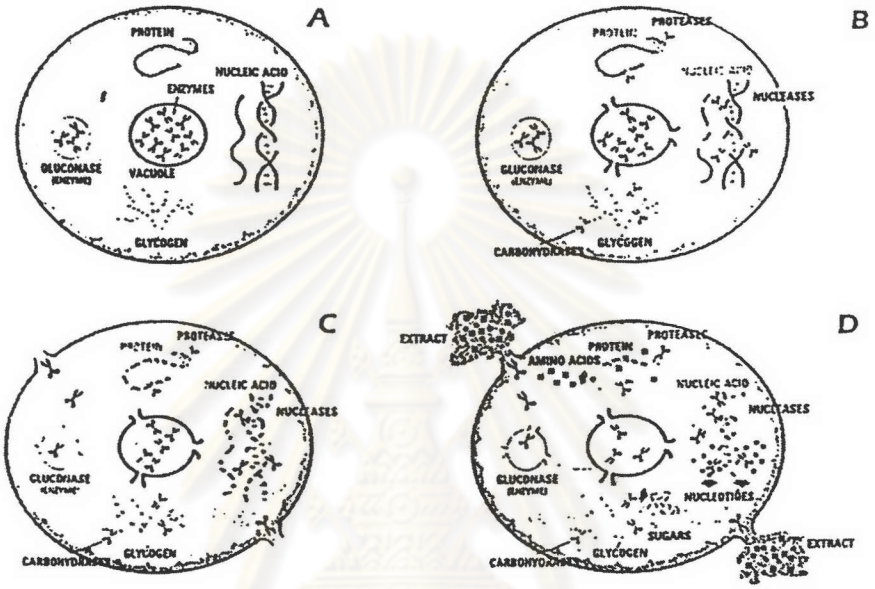
จะได้ผลิตภัณฑ์ที่เรียกว่า ยีสต์ออโตไลเสท ซึ่งถ้านำไปแยกผนังเซลล์ออกจะเรียกว่ายีสต์สกัด ซึ่งจะมีคุณภาพที่ดีกว่ายีสต์สกัดจากกระบวนการอื่นๆ

2.3 การย่อยสลายตัวเองของยีสต์

ปกติการย่อยสลายตัวเองของยีสต์สามารถเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติในไวน์ หรือผลิตภัณฑ์จากการหมักอื่นๆ แต่ก็สามารถกระตุ้นให้กระบวนการนี้เกิดได้เร็วขึ้นด้วยการปรับสภาพให้เหมาะสม (Reed และ Nagodawithana,1991) โดยการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ เช่น การเร่งอุณหภูมิ การใช้วิธีทางกลในการทำให้เซลล์แตกก่อน และการเติมสารเร่งการย่อยสลายให้เหมาะสม และการเปลี่ยนแปลงทางเคมี เช่น การเปลี่ยนค่าความแรงของประจุ และค่าความเป็นกรดด่าง (Roman และคณะ,1991)

สภาวะในการย่อยสลายตัวเองที่เหมาะสม จะแตกต่างกันไปตามแต่ชนิดของยีสต์ ซึ่งภายใต้สภาวะที่เหมาะสมนี้ ระบบเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการควบคุมเมตาบอลิซึมของยีสต์จะทำงานผิดปกติไป ทำให้เซลล์ยีสต์ตาย แต่ระบบเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการย่อยจะเพิ่มกิจกรรมในการทำงาน โดยเอนไซม์ภายในแวคิวโอลซึ่งอยู่ในไซโตพลาสซึมจะถูกปล่อยออกมาเพื่อย่อยสลายสารโมเลกุลใหญ่ เช่น โปรตีน และกรดนิวคลีอิก ไปเป็นสารโมเลกุลเล็กที่สามารถละลายได้ และเนื่องจากภายในของเซลล์ยีสต์เกิดการเปลี่ยนแปลงจึงทำให้เสียแรงดันออสโมติกจึงทำให้ผนังเซลล์สูญเสียคุณสมบัติในการเป็นเยื่อเลือกผ่านและปล่อยให้สารประกอบต่างๆภายในเซลล์ไหลออกมานอกเซลล์ได้ ดังรูปที่ 2.1

กระบวนการย่อยสลายตัวเองมี 2 ขั้นตอนใหญ่ๆ คือ ขั้นตอนแรกจะเป็นการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเซลล์ และเป็นการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยสลายตัวเอง และขั้นตอนที่ 2 จะเป็นการย่อยสารประกอบภายในเซลล์ และปล่อยผลิตภัณฑ์ที่ได้ออกสู่ภายนอก (Tatyana และคณะ ,1981)



รูปที่ 2.1 ขั้นตอนของกระบวนการย่อยสลายตัวเองของยีสต์ (Nagodawithana,1995)

A : เซลล์เริ่มต้น

B: มีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างภายในของเซลล์ และกระตุ้นการทำงานเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อย

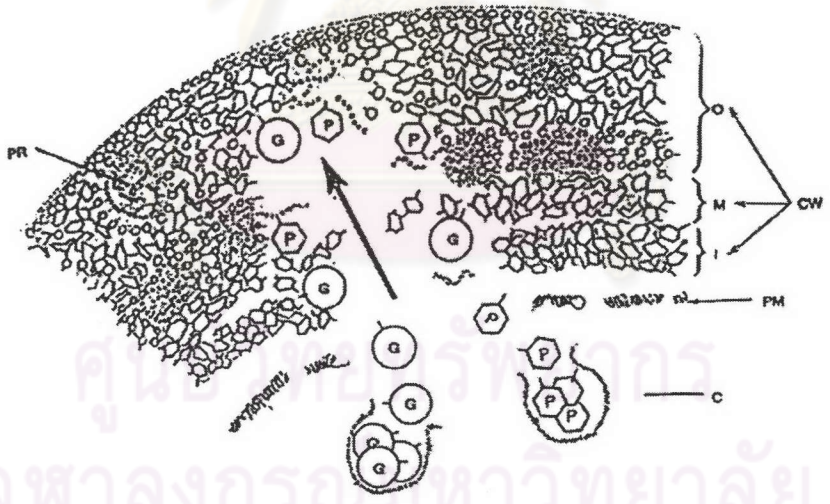
C: มีการย่อยสลายสารประกอบภายในเซลล์และผนังเซลล์เริ่มสูญเสียสภาพ

D: ผลิตภัณฑ์ที่ย่อยได้ถูกปล่อยออกสู่ภายนอกเซลล์

การเร่งกระบวนการย่อยสลายตัวเองด้วยการเติมเอนไซม์จากภายนอก เป็นวิธีหนึ่งที่นิยม เนื่องจากได้ผลิตภัณฑ์ที่ปลอดภัยไม่มีสารพิษ และไม่มีเกลือสูง แต่จะมีราคาสูง และต้องมีการควบคุมการดำเนินของกิจกรรมของเอนไซม์ที่เติมให้เหมาะสมไม่ให้ไปย่อยผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ หรือไปรบกวนการทำงานของเอนไซม์ภายในเซลล์

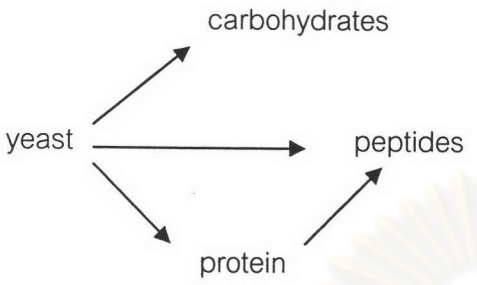
<u>กลไกในการย่อยของผนังเซลล์</u>

เนื่องจากกระบวนการในการย่อยสลายตัวเองของยีสต์มีกระบวนการหลักๆ อยู่ 2 ขั้นตอน คือ การย่อยสลายผนังเซลล์โดยเอนไซม์กลูคาเนสและโปรติเอสที่มีอยู่ภายในเซลล์ (ดังรูป 2.2) และกระบวนการในการปล่อยผลิตภัณฑ์ที่ย่อยได้ออกสู่ภายนอก ซึ่งยังเป็นที่สงสัยว่ากระบวนการแต่ละขั้นใช้เวลานานเท่าไร จึงมีงานวิจัยที่ให้ความสนใจในการหาจลนพลศาสตร์ของการย่อยสลายของผนังเซลล์ซึ่งได้แบบจำลองออกมาหลายรูปแบบด้วยกัน และในการงานวิจัยนี้จะมุ่งเน้นศึกษาการโอนถ่ายโปรตีนและกรดอะมิโนของกระบวนการย่อยสลายตัวเองของสเปนท์บริวเวอร์ยีสต์



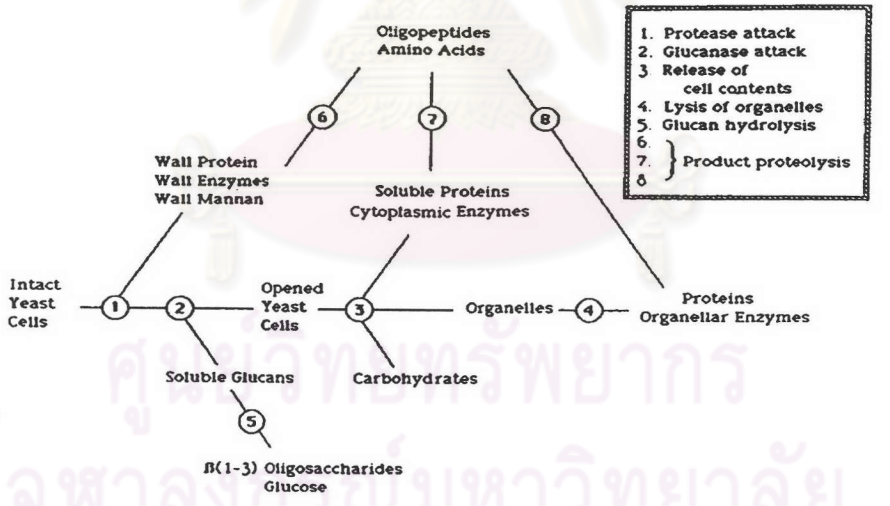
รูปที่ 2.2 โครงสร้างของเซลล์และการย่อยสลายตัวเองของยีสต์ โดย C คือ ไซโตพลาสซึม , PR คือ โปรตีน ,I คือกลูแคนชั้นในที่ไม่ละลายด้วยด่าง, M คือกลูแคนชั้นกลางที่ไม่ละลายด้วยด่าง ,O คือไกลโคโปรตีนชั้นนอก,P คือ เอนไซม์โปรติเอส, G คือ เอนไซม์กลูคาเนส ,PM คือพลาสมาเมมเบรน (Reed และ Nagodawithana,1991)

แบบจำลองอย่างง่ายที่ Hunter และ Asenjo (1987) ได้ใช้ในการศึกษาจลนพลศาสตร์ของระบบเอนไซม์ที่เติมเพื่อใช้ในการย่อยเซลล์ยีสต์เป็นดังรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 แบบจำลองอย่างง่ายของHunter และ Asenjo (1987)

แบบจำลองที่คำนึงถึงโครงสร้างที่ Hunter และ Asenjo (1988) ได้ใช้ในการศึกษาจลนพลศาสตร์ของระบบเอนไซม์ที่เติมเพื่อใช้ในการย่อยเซลล์ยีสต์ ดังรูปที่ 2.4



รูปที่ 2.4 ขั้นตอนในการย่อยผนังเซลล์ด้วยเอนไซม์โปรติเอสและกลูคาเนส

(Hunter และ Asenjo ,1988)

กระบวนการในการย่อยสลายตัวเองด้วยเอนไซม์โปรติเอสและกลูคาเนสจากภายนอกเป็นตัวเร่ง เป็นดังนี้ คือ ขั้นแรกเนื้อเยื่อแมนแนน-โปรตีนด้านนอกถูกย่อยด้วยเอนไซม์โปรตีเอส และปลดปล่อยโปรตีนออกมาก่อน ขั้นตอนที่ 2 เอนไซม์กลุ่มกลูคาเนส จับกับสายโซ่ของกลูแคนที่ด้านในผนังเซลล์ ทำการย่อย กลูแคนให้มีขนาดเล็กลงและละลายน้ำได้ เมื่อโปรตีเอสกับกลูคาเนสทำงานร่วมกันผนังเซลล์จะถูกเปิดออกเหลือแต่เฉพาะส่วนของพลาสมาเมมเบรน ขั้นตอนที่ 3 พลาสมาเมมเบรนจะแตกและปลดปล่อย องค์ประกอบภายในเซลล์ออกมาซึ่งจะถูกย่อยต่อในขั้นตอนที่ 4 ในขณะเดียวกันชิ้นส่วนของผนังเซลล์ คาร์โบไฮเดรทส่วนที่ละลายจากผนังเซลล์ถูกย่อยต่อไปโดยกลูคาเนสและ ไคตีเนสเป็นขั้นตอนที่ 5 หลังจากนั้นโปรตีนที่ปล่อยออกจากเซลล์ และโปรตีนจากผนังเซลล์จะถูกย่อยซ้ำอีกครั้งโดยเอนไซม์โปรตีเอส ในขั้นตอนที่ 6-8 เรียกว่าเกิด proteolysis ได้โปรตีนที่มีขนาดเล็กและละลายน้ำได้ (Hunter และ Asenjo, 1988)

ภายใต้สภาวะที่ยีสต์ย่อยสลายตัวเองนี้ นอกจากเอนไซม์โปรตีเอส และกลูคาเนส จะเป็นหลักในการทำงานแล้วยังมีเอนไซม์นิวคลีเอส เริ่มย่อยสลาย RNA และDNA เป็นโพลีนิวคลีโอไทด์ และโมโนนิวคลีโอไทด์ (Reed และ Nagodawithana,1991) จึงเห็นได้ว่าระบบเอนไซม์ที่ย่อยเซลล์ยีสต์เป็นเอนไซม์ผสม ซึ่งมี β (1-3) กลูคาเนส มากกว่า 1 ชนิด โปรตีเอส β (1-6) กลูคาเนส แมนแนเนส หรือไคตีเนส การทำงานของเอนไซม์เหล่านี้จะเสริมฤทธิ์ซึ่งกันและกัน (synergism) แต่มีเพียงเอนไซม์ 2 ชนิดเท่านั้น ที่มีความสำคัญและจำเป็นต่อการย่อยสลายยีสต์ คือ โปรตีเอสชนิดที่จำเพาะต่อเนื้อเยื่อด้านนอกของผนังเซลล์ คือ โปรตีน-แมนแนน นั่นเอง และอีกชนิดหนึ่งคือ β(1-3) กลูคาเนส ซึ่งย่อย โพลิเมอร์ของกลูแคนเป็นเนื้อเยื่อด้านในของผนังเซลล์ (Asenjo และ Andrew ,1991)

2.4 ฮอพ (*Humulus lupulus* L.)

เป็นวัตถุดิบตัวหนึ่งที่สำคัญในการผลิตเบียร์ โดยสารประกอบที่เป็นอนุพันธ์ของฮอพ จะมีผลต่อเบียร์หลายด้าน เช่นกลุ่มที่เป็นแอลฟา หรือเบต้าแอซิด จะให้สารที่มีรสขมแก่เบียร์ ส่วนน้ำมันที่จำเป็น (essential oils) จะมีผลต่อการเกิดกลิ่นหอมของฮอพ และความขมของฮอพนี้จะช่วยป้องกันการเจริญของแบคทีเรียกรดแลกติก และยังช่วยเพิ่มความคงทนของฟองเบียร์ (Canbas,2001)

ในกระบวนการผลิตเบียร์จะมีการเติมฮอพลงไปในน้ำเวิร์ต และเมื่อต้มน้ำเวิร์ตแอลฟาแอซิดจะเกิดปฏิกิริยาไอโซเมอไรเปลี่ยนไปเป็นไอโซ-แอลฟาแอซิด ซึ่งละลายน้ำได้ดี และมีความขมมากกว่าแอลฟาแอซิด และไอโซ-แอลฟาแอซิด จะถูกดูดซึมอยู่ที่ผนังเซลล์ของยีสต์ไว้ส่วนหนึ่งด้วยแรงดูดซึม

แอลฟาแอซิดสามารถละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ แต่เมื่ออยู่ในสภาวะที่มีความเป็นกรด-ด่าง อยู่ในช่วงกลางจนถึงกรด แอลฟาแอซิดจะไม่สามารถละลายในน้ำได้ และจะละลายน้ำได้เมื่ออยู่ในช่วงที่เป็นด่าง

2.5 การโอนถ่ายมวล

การโอนถ่ายมวลสาร คือการโอนถ่ายขององค์ประกอบในสารผสม จากแหล่งหนึ่งไปยังอีกแหล่งหนึ่ง โดยสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดการโอนถ่าย ก็คือ ความแตกต่างระหว่างความเข้มข้นของสารกับสิ่งแวดล้อมรอบๆสาร ความแตกต่างของความเข้มข้นระหว่างสารสองแหล่งนี้จะเป็นแรงขับในการเคลื่อนย้ายมวลสารไปในทิศทางที่จะทำให้ความเข้มข้นของทั้งสองด้านเท่ากัน เมื่อความแตกต่างระหว่างสองด้านนี้ถูกทำลาย การโอนถ่ายมวลสารจะหยุดลง นอกจากความแตกต่างของความเข้มข้นจะเป็นสาเหตุที่สำคัญในการเกิดการโอนถ่ายมวลสารแล้ว ยังมีสาเหตุจากปัจจัยอื่นๆได้อีก เช่น โดย activity gradient ด้วยความแตกต่างของความดัน ความแตกต่างของอุณหภูมิ หรือโดยการใช้แรงจากภายนอก เช่น ในเครื่องเหวี่ยงแยก ที่เรียกว่า forced diffusion

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.6 การกรองแบบไมโครฟิลเตรชัน (Microfiltration)

กระบวนการไมโครฟิลเตรชัน เป็นกระบวนการที่ใช้เยื่อแผ่นในการแยกสารละลายที่มีตัวถูกละลายเป็นอนุภาคขนาดเล็ก ใช้สำหรับการกรองสารขนาด 0.1 ถึง 10 ไมโครเมตร โดยใช้หลักการแยกสารแบบคัดขนาดอนุภาค (sieving mechanism) และเยื่อแผ่นที่ใช้ในการกรองมีขนาดรูพรุนตั้งแต่ 0.05 ถึง 10 ไมโครเมตร โดยใช้ความดัน 1-5 บาร์เป็นแรงผลักให้โมเลกุลของสารไหลผ่านเยื่อแผ่น

ในการกรองแบบไมโครฟิลเตรชันตัวทำละลายและอนุภาคที่มีขนาดเล็กกว่ารูพรุนของเยื่อแผ่นที่สามารถผ่านเยื่อแผ่นไปได้เรียกว่า เพอมิเอท (permeate) ส่วนของสารแขวนลอยที่มีขนาดใหญ่กว่ารูพรุนของเยื่อแผ่นที่ถูกกักเก็บไว้ในระบบ เรียกว่า รีเทนเทท (retentate) หรือ คอนเซนเตรท (concentrate)

การแยกสารด้วยกระบวนการไมโครฟิลเตรชันมีข้อได้เปรียบในการนำไปใช้ในอุตสาหกรรม ดังนี้

1. เนื่องจากกระบวนการไมโครฟิลเตรชันเป็นกระบวนการที่ใช้หลักการ แยกสารแบบคัดขนาดอนุภาค ดังนั้นในกระบวนการแยกสารจึงไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติของสาร ซึ่งเหมาะที่จะนำไปใช้แยกสารที่มีความไวต่ออุณหภูมิ

2. ประหยัดพลังงาน เนื่องจากไม่ต้องใช้พลังงานในการเปลี่ยนสถานะของสารที่ต้องการแยก

3. สามารถแยกสารได้อย่างมีประสิทธิภาพสูง อีกทั้งยังประหยัดพื้นที่ในการติดตั้งเนื่องจากเยื่อแผ่นมีพื้นที่การกรองต่อปริมาตรสูง

4. สามารถดำเนินการได้ทั้งแบบต่อเนื่องและไม่ต่อเนื่อง รวมทั้งการขยายขนาดให้เหมาะต่อระดับอุตสาหกรรมสามารถทำได้ง่าย

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ลักษณะการกรองในกระบวนการไมโครฟิลเตรชัน แบ่งออกเป็น 2 แบบ คือ

1. การกรองแบบไหลผ่านเยื่อแผ่น (Dead-end filtration) เป็นการป้อนสารละลายในทิศทางที่ตั้งฉากกับเยื่อแผ่น ทำให้เกิดการสะสมของอนุภาคบนผิวเยื่อแผ่น เรียกว่าเค้ก (cake) การสะสมของเค้กทำให้ความต้านทานในการไหลเพิ่มขึ้น และทำให้ฟลักซ์ลดลงอย่างรวดเร็ว จนต้องหยุดการกรองเพื่อกำจัดชั้นเค้กที่เกิดขึ้น ดังนั้น การกรองแบบไหลผ่านเยื่อแผ่น จึงควรใช้เมื่อสารละลายประกอบด้วยอนุภาคขนาดเล็ก และมีความเข้มข้นต่ำ

2. การกรองแบบไหลขนานกับเยื่อแผ่นหรือตั้งฉากกับทิศทางการไหลของเพอมิเอท ซึ่งเรียกว่า crossflow หรือ tangential flow ทิศทางการไหลของสายป้อนจะทำให้เกิดแรงเฉือนบริเวณผิวหน้าของเยื่อแผ่น ซึ่งจะช่วยลดปริมาณอนุภาคที่สะสมบนผิวเยื่อแผ่น ดังนั้นการกรองแบบนี้จึงเหมาะกับการกรองสารละลายแขวนลอยที่มีความเข้มข้นสูงแต่ไม่เหมาะกับการกรองอนุภาคที่มีขนาดใกล้เคียงกับรูพรุนหรืออนุภาคที่แยกออกจากกันได้ยาก

<u>เพอมิเอชันฟลักซ์ (Permeation flux,J)</u>

เพอมิเอชันฟลักซ์ เป็นตัวที่ใช้บอกประสิทธิภาพของการกรองโดยจะเห็นจากปริมาณของเพอมิเอทที่ผ่านรูพรุนของเยื่อแผ่นต่อพื้นที่ต่อเวลา ซึ่งสามารถหาได้จากสมการที่ 2.1

$$J = \frac{\Delta P_{TM}}{\mu R_t} \qquad (2.1)$$

J = เพอมิเอชันฟลักซ์ (ลูกบาศก์เมตรต่อตารางเมตร- วินาที)

ΔP_{TM} = ผลต่างความดันที่ผิวเยื่อแผ่นด้านสายป้อนกับเพอมิเอท (กิโลปาสคาล)

μ = ความหนืดของสารละลาย (กิโลกรัมต่อเมตร-วินาที)

R_t = ความต้านทานรวม (เมตร$^{-1}$)

การแยกสารโดยใช้กระบวนการไมโครฟิลเตรชันเมื่อใช้งานไปได้ระยะหนึ่งจะพบปัญหาค่าฟลักซ์ที่ลดลง เนื่องจากมีการสะสมของอนุภาคที่ผิวหน้าเยื่อแผ่น และภายในรูพรุน ซึ่งสามารถอธิบายได้โดย 2 ขั้นตอน คือ

1. คอนเซนเตรชันโพลาไรเซชัน (Concentration polarization)

คอนเซนเตรชันโพลาไรเซชันเกิดขึ้นเมื่อตัวถูกละลายหรืออนุภาคขนาดเล็กต่างถูกพาสู่เยื่อแผ่น ตัวถูกละลายหรืออนุภาคขนาดเล็กที่ไม่สามารถผ่านเยื่อแผ่นได้ จะถูกกักกันและสะสมอยู่ที่ผิวเยื่อแผ่น ความเข้มข้นของอนุภาคแขวนลอยที่ผิวเยื่อแผ่น (C_w) จะมีค่าสูงกว่าความเข้มข้นของอนุภาคที่แขวนลอยในสายป้อน (C_b) อนุภาคที่ผิวเยื่อแผ่นจะแพร่กลับ (back diffusion) ไปยังสารแขวนลอยด้านสายป้อน

สมการการทำดุลมวลของตัวถูกละลายที่สภาวะของการเกิดคอนเซนเตรชันโพลาไรเซชันเขียนได้ดังนี้

[อัตราการพาสู่เยื่อแผ่นของตัวถูกละลาย] - [อัตราการแพร่กลับของตัวถูกละลาย] = [อัตราการผ่านเยื่อแผ่นของตัวถูกละลาย]

$$J_v C - D\frac{dC}{dX} = J_v C_p \qquad (2.2)$$

อินทิเกรตโดยใช้สภาวะขอบเขตคือ ที่ X = 0, C = C_b และที่ X = δ, C = C_w จะได้

$$J_V = \frac{D}{\delta}\ln\frac{C_w - C_P}{C_b - C_P} \qquad (2.3)$$

หรือ
$$J_V = k\ln\frac{C_w - C_P}{C_b - C_P} \qquad (2.4)$$

ถ้า C_p = 0, ความเข้มข้นที่ผิวเยื่อแผ่น $C_w = C_b\exp(J_v/k)$ (2.5)

เมื่อ C, C_b, C_W, C_P = ความเข้มข้นของสารละลาย,ในสายป้อน, ที่ผิวเยื่อแผ่น และในเพอมิเอทตามลำดับ (กรัมต่อลิตร)

J_v = เพอมิเอชันฟลักซ์ (ลิตรต่อตารางเมตร-วินาที)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

X = ระยะห่างจากชั้นขอบเขต (เมตร)

k = สัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลของตัวถูกละลาย (เมตรต่อวินาที)

D = สัมประสิทธิ์การแพร่ (ตารางเมตรต่อวินาที)

δ = ความหนาของชั้นขอบเขต (เมตร)

2. เจลโพลาไรเซชัน (Gel polarization)

เจลโพลาไรเซชันเกิดขึ้นเมื่อทำการกรองต่อไปอีกจนกระทั่งความเข้มข้นของอนุภาคที่อยู่ใกล้ผิวเยื่อแผ่นมีค่าสูงถึงขีดจำกัดการละลายของสารนั้น (Cg) อนุภาคแขวนลอยจะเริ่มกลายเป็นแผ่นคล้ายเจล ทำให้เยื่อแผ่นมีความต้านสูงขึ้น

ที่ภาวะการเกิดเจลโพลาไรเซชัน, Cw = Cg ดังนั้นสมการที่ 2.4 จะเปลี่ยนเป็น

$$J_V = K \ln \frac{Cg - Cp}{Cb - Cp} \qquad (2.6)$$

ถ้า Cp = 0 ได้

$$J_V = K \ln \frac{Cg}{Cb} \qquad (2.7)$$

2.7 การกรองแบบไมโครฟิลเตรชันด้วยเยื่อแผ่นชนิดหมุนได้ (Rotating Microfiltration)

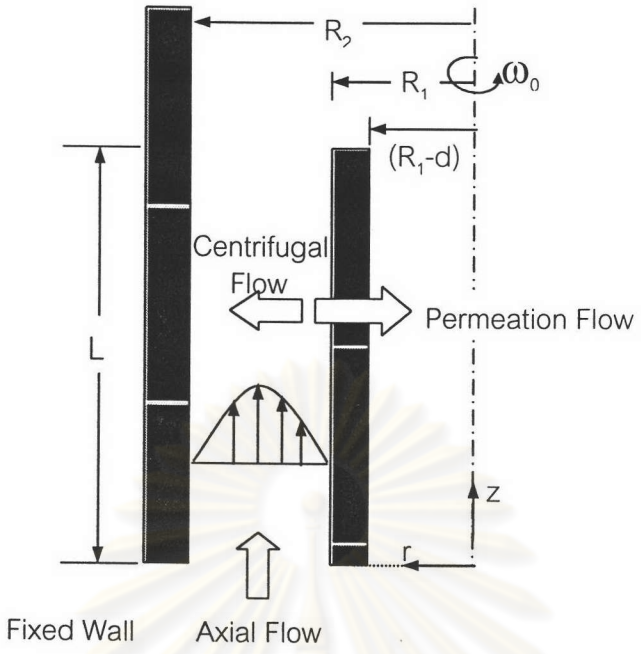
การใช้เครื่องกรองแบบไหลขนานเยื่อแผ่น (crossflow microfiltration) สามารถลดปริมาณอนุภาคที่สะสมบนผิวเยื่อแผ่นได้เนื่องจากความเร็วของสายป้อน โดยเมื่อเพิ่มความเร็วในสายป้อน จะมีแรงเฉือนบริเวณผิวหน้าของเยื่อแผ่นเพิ่มขึ้น แต่การเพิ่มความเร็วในสายป้อนทำให้สารละลายแขวนลอย (feed) ไหลผ่านเยื่อแผ่นไปอย่างรวดเร็ว ซึ่งต้องเพิ่มพื้นที่ในการกรองเพื่อเพิ่มเรสซิเด้นท์ไทม์ (resident time) การใช้เครื่องกรองแบบไหลขนานเยื่อแผ่นชนิดหมุนได้ (Rotating-crossflow microfiltration) จะอาศัยหลักการหมุนวนของสารละลาย (Taylor vortice) ทำให้เกิดแรงเฉือนตลอดผิวหน้าของเยื่อแผ่น ด้วยหลักการนี้จึงทำให้รอบการทำงานของเครื่องกรองนานขึ้น เนื่องจากสามารถป้อนสารละลายด้วยอัตราป้อนที่ต่ำ

เครื่องกรองชนิดหมุนได้ ประกอบด้วยส่วนที่ใช้ในการกรองซึ่งเป็นเยื่อแผ่นทรงกระบอกที่ยึดติดอยู่กับแกนที่สามารถหมุนได้ (rotor) ด้วยแรงขับของมอเตอร์ และทรงกระบอกภายนอกซึ่งอยู่นิ่งโดยหลักการการทำงานของเครื่องกรองเป็นดังนี้

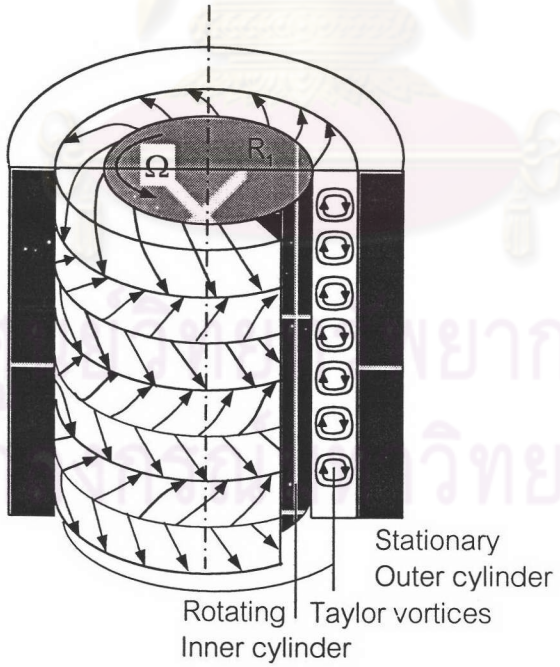
สารละลายแขวนลอย (feed) จะถูกปั๊มเข้าทางด้านล่างของเครื่องกรองโดยไหลเข้าสู่ปริมาตรวงแหวนของท่อทรงกระบอกและไหลผ่านเยื่อแผ่นด้วยแรงขับดันจากปั๊ม สารละลายและอนุภาคที่มีขนาดเล็กกว่ารูพรุนของเยื่อแผ่นจะสามารถผ่านเข้าทางแนวศูนย์กลางของเยื่อแผ่นแล้วออกทางท่อด้านล่างของเครื่อง (permeate) ส่วนอนุภาคที่มีขนาดใหญ่กว่ารูพรุนของเยื่อแผ่นซึ่งมีความเข้มข้นสูงขึ้น (concentrate) จะไหลผ่านช่องว่างระหว่างเยื่อแผ่นกับท่อทรงกระบอกออกสู่ท่อทางด้านบนของเครื่องกรอง

เมื่อเยื่อแผ่นหมุนจะทำให้ของไหลมีการไหลใน 3 ทิศทาง ดังรูปที่ 2. 5 การไหลทั้ง 3 ทิศทาง ได้แก่ การไหลในแนวแกน (axial flow) ,การไหลในทิศทางการหมุนเหวี่ยง (centrifugal flow) และการไหลผ่านตัวกรองในแนวรัศมี (permeation flow) ลักษณะการไหลของของไหลระหว่างทรงกระบอกชั้นในและชั้นนอกเป็นลักษณะการไหลแบบไม่คงที่ เนื่องจากมีแรงหมุนเหวี่ยงที่เกิดจากการหมุนของเยื่อแผ่น ทำให้ของไหลบริเวณที่อยู่ใกล้ผิวของเยื่อแผ่นมีแรงหมุนเหวี่ยงสูง จึงเคลื่อนที่ออกจากผิวของเยื่อแผ่นไปยังทรงกระบอกชั้นนอกที่หยุดนิ่ง เกิดเป็นการไหลลักษณะไม่คงที่เป็นวงแหวนรอบๆผิวของเยื่อแผ่น เรียกการหมุนวนของสารละลายนี้ว่า “การหมุนวนของเทย์เลอร์” (Taylor vortice) โดยการหมุนวนนี้จะส่งผลให้เกิดแรงเฉือนตลอดผิวหน้าของเยื่อแผ่น ทำให้อนุภาคที่เกาะที่ผิวของเยื่อแผ่นลดลง ซึ่งช่วยในการลดการอุดตันของเยื่อแผ่น ทำให้ฟลักซ์ของการกรองมีค่าเพิ่มขึ้น ลักษณะการหมุนวนของเทย์เลอร์ในช่องว่างระหว่างผนังท่อทรงกระบอกด้านในและผนังของเยื่อแผ่นด้านนอก แสดงดังรูปที่ 2.6

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 2.5 ลักษณะการไหลของสารละลายทั้ง 3 ทิศทาง ในช่องว่างระหว่างเยื่อแผ่นและท่อทรงกระบอก (จันทพร, 2539)



รูปที่ 2.6 ลักษณะการหมุนวนของเทย์เลอร์ในช่องว่างระหว่างผนังท่อทรงกระบอกด้านในและผนังของเยื่อแผ่นด้านนอก (Hermert van,P.A., 1987)

จากลักษณะการไหลของของไหลที่เคลื่อนที่หมุนวนระหว่างทรงกระบอกชั้นนอกและผิวนอกของเยื่อแผ่นที่มีการหมุนจะเกิดการหมุนวนของเทย์เลอร์ขึ้น อนุภาคจะถูกพาออกไปจากผิวหน้าของเยื่อแผ่นด้วยแรงเหวี่ยงที่เกิดขึ้นจากการหมุนของทรงกระบอกชั้นใน ซึ่งรูปแบบการหมุนวนของเทย์เลอร์นี้จะกำหนดโดยใช้ค่าเทย์เลอร์นัมเบอร์ จากสมการเทย์เลอร์นัมเบอร์ (Taylor number equation) ดังสมการที่ 2.8

$$Ta = \frac{\omega R_1 \Delta}{\nu}\left[\frac{2\Delta}{R_2 + R_1}\right]^{0.5} \qquad (2.8)$$

เมื่อ Ta = ค่าเทย์เลอร์นัมเบอร์ (Taylor number) (-)

ω = ความเร็วเชิงมุม $= 2\pi n$ (เรเดียนต่อวินาที)

n = ความเร็วรอบการหมุนของเยื่อแผ่น (รอบต่อวินาที)

R_1 = รัศมีภายนอกของเยื่อแผ่น (เมตร)

R_2 = รัศมีภายในของท่อทรงกระบอกที่อยู่กับที่ (เมตร)

Δ = ความกว้างของช่องว่างระหว่างผนังท่อทรงกระบอกด้านในกับผนังเยื่อแผ่นด้านนอก $= R_2 - R_1$ (เมตร)

ν = ความหนืดคิเนมาติก $= \mu/\rho$ (ตารางเมตรต่อวินาที)

μ = ความหนืดของสารละลาย (กิโลกรัมต่อเมตร-วินาที)

ρ = ความหนาแน่นของสารละลาย (กิโลกรัมต่อลูกบาศก์เมตร)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โดยกำหนด

$$Ta,crit = 41.3 + 13.1\Delta/R_1 \qquad (2.9)$$

การหมุนวนของเยื่อแผ่นจะทำให้เกิดการหมุนวนของเทย์เลอร์ภายในช่องว่างระหว่างท่อทรงกระบอกด้านในกับผนังเยื่อแผ่นด้านนอก ดังนั้นตัวแปรที่มีผลต่อการไหล คือ เทย์เลอร์นัมเบอร์ของการหมุน และ ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ (Reynold number)

จากสมการเทย์เลอร์นัมเบอร์ทำให้สามารถแบ่งลักษณะการไหลตามความสัมพันธ์ระหว่างค่าเทย์เลอร์นัมเบอร์กับลักษณะการหมุนวนของเทย์เลอร์ได้เป็น 5 ช่วง ดังนี้

การไหลแบบราบเรียบ (laminar flow) $Ta \leq Ta,crit$

การหมุนวนแบบราบเรียบ (laminar vortex flow) $Ta,crit < Ta < 800$

ช่วงการเปลี่ยนแปลง (transition flow) $800 < Ta < 2000$

การหมุนวนแบบปั่นป่วน (turbulent vortex flow) $2000 < Ta < 10000 \approx 15000$

การไหลแบบปั่นป่วน (turbulent flow) $Ta > 15000$

ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ซึ่งเป็นค่าที่เกี่ยวข้องกับการไหลของสารละลายมี 2 ค่า เนื่องมาจากการไหลของของไหลในท่อวงแหวนระหว่างท่อทรงกระบอกชั้นนอก กับผิวหน้าของเยื่อแผ่นมีการไหลทั้งในแนวแกน และการไหลที่เกิดจากการหมุนของเยื่อแผ่น จึงทำให้ต้องมีค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ 2 ค่า ซึ่งค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ที่ใช้เพื่ออธิบายลักษณะการไหลของสารละลายคือ ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ตามแนวแกน (axial Reynold number) และค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เนื่องจากการหมุนของเยื่อแผ่น (tangential Reynold number) ดังสมการที่ 2.10 และ 2.11

$$\mathrm{Re}_a = \frac{Vd_h}{\nu} \qquad (2.10)$$

$$\mathrm{Re}_t = \frac{\omega R_1 d_h}{\nu} \qquad (2.11)$$

โดยที่ Re_a = ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ตามแนวแกน

Re_t = ค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์เนื่องจากการหมุนของเยื่อแผ่น

V = ความเร็วของสารละลายตามแนวแกน (เมตรต่อวินาที)

d_h = เส้นผ่านศูนย์กลางไฮดรอริก = 2d (เมตร)

ดังนั้นการหมุนวนแบบราบเรียบจนถึงการหมุนวนแบบปั่นป่วนเกิดที่ค่าเทลย์เลอร์นัมเบอร์อยู่ระหว่างค่าเทย์เลอร์นัมเบอร์วิกฤตจนถึงค่าเทย์เลอร์นัมเบอร์ไม่เกิน 10000 และเมื่อค่าเทย์เลอร์นัมเบอร์มากกว่า 10000 การหมุนวนจะเปลี่ยนเป็นการหมุนวนแบบปั่นป่วนและไม่เกิดการหมุนวนของ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เทย์เลอร์ขึ้น ซึ่งจะทำให้การกวาดอนุภาคออกจากผิวหน้าของเยื่อแผ่นมีน้อยกว่าในช่วงที่มีการหมุนวนของเทย์เลอร์

การหมุนวนของเทย์เลอร์จะทำให้เกิดแรงเฉือนบริเวณผิวหน้าของเยื่อแผ่น ดังสมการ 2.12

$$\tau = 0.23 \frac{\omega R_1}{\Delta} \sqrt{Ta} \qquad (2.12)$$

โดย τ = อัตราการเฉือน (effecfive shear rate) (ต่อวินาที)

Ta = ค่าเทย์เลอร์นัมเบอร์ (Taylor number) (-)

ω = ความเร็วเชิงมุม = $2\pi n$ (เรเดียนต่อนาที)

R_1 = รัศมีภายนอกของเยื่อแผ่น (เมตร)

Δ = ความกว้างของช่องว่างระหว่างผนังท่อทรงกระบอกด้านใน กับผนังเยื่อแผ่นด้านนอก

= $R_2 - R_1$ (เมตร)

<u>ปัจจัยที่มีผลต่อการกรองด้วยเครื่องกรองชนิดหมุนได้</u>

1. ความดัน

เมื่อความดันเพิ่มขึ้น จะทำให้แรงในทิศการกรองมีค่าเพิ่มขึ้น ค่าฟลักซ์จึงมีค่าเพิ่มขึ้นตาม แต่ถ้าความดันมีค่ามากเกินไปจะทำให้สมดุลของแรงทั้ง 3 แรง (แรงตามแนวแกน แรงเหวี่ยง และแรงในทิศทางกรอง)เสียไป ทำให้เกิดอนุภาคอุดตันบริเวณผิวหน้าเยื่อแผ่นได้อย่างรวดเร็ว

2. ความเร็วรอบในการหมุนเยื่อแผ่น

โดยเมื่อเพิ่มความเร็วรอบในการหมุนเยื่อแผ่นจะทำให้แรงเฉือนที่เกิดบริเวณผิวเยื่อแผ่นมีค่าสูงขึ้นตามไปด้วย ดังนั้นจึงสามารถควบคุมการสร้างเจลบนผิวเยื่อแผ่นได้เป็นอย่างดี ทำให้ค่า ฟลักซ์ที่ได้มีค่าสูงขึ้น

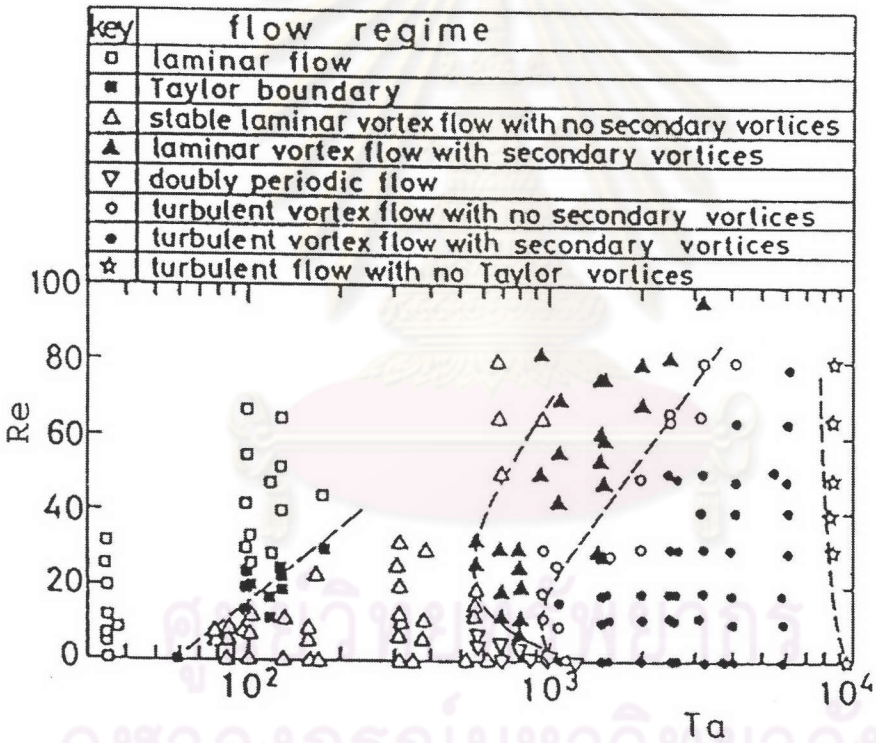
3. ช่องว่างระหว่างผนังเยื่อแผ่นกับผนังท่อด้านใน

เมื่อช่องว่างระหว่างผนังเยื่อแผ่นกับผนังท่อด้านในลดลงจะทำให้แรงเฉือนบริเวณผิวเยื่อแผ่นมีค่าสูงขึ้น เมื่อแรงเฉือนมีค่าเพิ่มขึ้นก็จะทำให้อนุภาคที่อุดตันบริเวณผิวเยื่อแผ่นสามารถหลุดกลับเข้าไป

ในสารละลายได้มากขึ้น ดังนั้นความต้านทานการกรองของเยื่อแผ่นจึงมีค่าลดลง ทำให้ฟลักซ์ที่ได้มีค่าสูงขึ้น

4. อัตราการป้อนสาร

อัตราการป้อนสารจะอยู่ในเทอมของเรย์โนลด์นัมเบอร์ ซึ่งมีผลต่อลักษณะการไหลของสารละลายในช่องว่างระหว่างผนังท่อด้านในกับผนังเยื่อแผ่นด้านนอก โดยค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์ที่อยู่ในช่วง 0 -100 ($0<Re<100$) จะมีความสัมพันธ์กับค่าเทย์เลอร์นัมเบอร์ ดังแสดงในรูปที่ 2.7 เมื่อเทย์เลอร์นัมเบอร์มีค่าเพิ่มขึ้น จะทำให้ลักษณะการหมุนวนของเทย์เลอร์เป็นแบบปั่นป่วน ซึ่งจะสามารถกวาดอนุภาคที่ผิวหน้าเยื่อแผ่นได้ดีกว่าในช่วงที่มีค่าเรย์โนลด์นัมเบอร์สูง



รูปที่ 2.7 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าเทย์เลอร์นัมเบอร์ และเรย์โนลด์นัมเบอร์ (จันทพร,2539)

2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Tatyana และคณะ ,1981 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ในขณะเกิดการย่อยสลายตัวเอง โดยศึกษาการแปรอุณหภูมิ 40-75 องศาเซลเซียสและการเติมสารที่มีผลต่อเยื่อหุ้มเซลล์ พบว่ากระบวนการย่อยสลายตัวเองมี 2 ขั้นตอน คือขั้นตอนแรกจะเป็นการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างภายในของเซลล์ และเป็นการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยสลายตัวเอง ขั้นตอนต่อมาจะเป็นการย่อยสารประกอบภายในเซลล์ และปล่อยผลิตภัณฑ์ที่ได้ออกสู่ภายนอก โดยในขั้นตอนแรกจะขึ้นกับอุณหภูมิและการเติมสารพลาสโมไลซ์ ซึ่งเป็นสารที่ชอบน้ำ เช่น พวกเอทานอล หรือเอทธิลอะซิเตท โดยสารที่เติมจะไปช่วยกระตุ้นให้เอนไซม์ในเซลล์ทำงานได้ที่อุณหภูมิต่ำกว่ากรณีไม่ใส่สารพลาสโมไลซ์ ทำให้การย่อยสลายเกิดได้เร็วขึ้น และพบว่ารูปร่างของเซลล์ยีสต์หลังการย่อยสลายยังคงมีรูปร่างไม่เปลี่ยนแปลง

Breddam ,1991 ศึกษาการเร่งการย่อยสลายตัวเองของยีสต์เพื่อผลิตเอนไซม์ด้วยวิธีทางเคมี คือใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ และสารซักฟอก เติมลงไปก่อนที่จะปล่อยให้เกิดการย่อยสลายตัวเอง พบว่าสาร พลาสโมไลซ์สามารถช่วยเร่งการย่อยสลายได้ โดยขึ้นกับคุณสมบัติของสารละลาย ความเข้มข้นและระยะเวลาที่เกิดปฏิกิริยา นอกจากนี้ยังพบว่าสารพลาสโมไลซ์ไม่มีผลกับการแพร่ของสารโมเลกุลใหญ่ที่อยู่ภายในเซลล์อย่างเช่นเอนไซม์carboxypeptidase Y ที่มีน้ำหนักโมเลกุล 64000 แต่การเติมน้ำจะเป็นตัวเร่งให้เกิดการย่อยสลายตัวเองและแพร่เอนไซม์ภายในออกมา

Orban และคณะ,1994 ศึกษาผลของอุณหภูมิและความเข้มข้นของยีสต์ในการย่อยสลายตัวเองของ *Kluveromyves marxianus* ที่เลี้ยงในอาหารแลกโตส พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายตัวเองของยีสต์ คือ ความเข้มข้นยีสต์เริ่มต้นในช่วง 80 - 110 กรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร ที่อุณหภูมิ 51.5 - 54.5 องศาเซลเซียส และเมื่อได้ทำการทดลองด้วยการเติมโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 5 โดยน้ำหนักลงในยีสต์ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก บ่มที่ 54 องศาเซลเซียส เมื่อเวลาผ่านไปเพียง 8 ชั่วโมง จะได้โพลิเมอร์ของกลูโคแมนแนนร้อยละ 50 ,โปรตีนทั้งหมดมากกว่าร้อยละ 88 และโปรตีนที่วัดด้วยวิธีลาวรีร์ประมาณร้อยละ 52 เมื่อทำการทดลองซ้ำด้วยการไม่เติมเกลือ พบว่าต้องใช้เวลาในการบ่มมากกว่า 8 ชั่วโมง เพื่อให้ได้ผลได้ของโปรตีนเท่ากับการทดลองที่ใส่เกลือ

Moresi และคณะ,1995 ได้ศึกษาผลของการเติมเกลือ และการทำให้เซลล์แตกด้วยวิธีทางกล ที่มีต่อกิจกรรมโดยรวมของเอนไซม์ภายในของ *Kluveromyves marxianus* ที่เลี้ยงด้วยหางนม โดยทำการย่อยสลายตัวเองที่อุณหภูมิ 54 องศาเซลเซียส และความเข้มข้นเริ่มต้นของยีสต์เท่ากับ 100 กรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร เพื่อใช้ในการพัฒนาแบบจำลองทางจลนพลศาสตร์ซึ่งไม่ได้คำนึงถึงโครงสร้างของการย่อยสลายตัวเองของยีสต์ พบว่าแบบจำลองการย่อยสลายสามารถใช้เป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่งได้ และค่าคงที่ของปฏิกิริยา (*Ka*) ซึ่งก็คือผลได้ของโปรตีนและคาร์โบไฮเดรท ไม่ขึ้นกับระดับความเข้มข้นของเกลือที่เติมและการทำให้เซลล์แตกด้วยวิธีทางกลก่อนการย่อยสลาย แต่การทำให้เซลล์แตกด้วยวิธีทางกลก่อน จะช่วยเร่งกิจกรรมของเอนไซม์ภายในที่ใช้ในการย่อยสลาย โดยจะทำให้ร้อยละของของแข็งที่เหลือลดลง และพบว่าค่า *Ka* นี้จะแปรผันตามอุณหภูมิตามกฎของอารีเนียส

วิวัฒน์,2535 ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายตัวเองของสเปนท์บริวเวอร์ยีสต์ พบว่า เมื่อใช้ปริมาณยีสต์ที่มีของแข็งเริ่มต้นร้อยละ 15 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส และความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 5.5 จะให้ปริมาณออโตไลเสทสูงสุด เมื่อใช้เวลาในการย่อยสลาย 18 ชั่วโมง นอกจากนี้ยังได้ศึกษาผลของสารเคมีที่เป็นตัวเร่งการเกิดพลาสโมไลซ์ ได้แก่ โซเดียมคลอไรด์ กลูโคส และเอทานอล พบว่าการใช้โซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรจะช่วยเร่งการย่อยสลายได้ดีที่สุด

อัมพร,1997 ได้ทดลองเพื่อศึกษากระบวนการผลิตยีสต์สกัดจากสเปนท์บริวเวอร์ยีสต์ พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายตัวเองของสเปนท์บริวเวอร์ยีสต์ คือความเข้มข้นยีสต์เริ่มต้นร้อยละ 15ความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5 บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำยีสต์ออโตไลเสทที่ได้ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 30 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรไปลดความขมโดยใช้เฮกเซนในสัดส่วน 1ต่อ 5 โดยปริมาตรเป็นเวลา 10 นาที และนำผลที่ได้ไปทำการเปรียบเทียบการผลิตสารสกัดจากยีสต์ที่ผ่านและไม่ผ่านการกำจัดความขม พบว่ายีสต์สกัดที่ได้จากการล้างด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และโซเดียมคาร์บอเนตจะมีค่าผลได้ของของแข็ง การเก็บเกี่ยวโปรตีน และค่าความขมน้อยกว่ายีสต์สกัดที่ผลิตจากสเปนท์บริวเวอร์ยีสต์ที่ไม่ผ่านการล้างด้วยด่าง แต่ยีสต์สกัดที่ผ่านการกำจัดความขมด้วยเฮกเซนจะให้ค่าผลได้ของของแข็งและโปรตีนเพิ่มขึ้น

ธนบ,2538 ศึกษาการผลิตยีสต์สกัดจากยีสต์ขนมปังโดยใช้เอนไซม์ปาเปน พบว่าถ้าใช้อัตราส่วนปริมาณเอนไซม์ต่อยีสต์ที่ถูกย่อยสลายเป็น 1:10 จะให้ผลการย่อยสลายสูงและมีศักยภาพในเชิงอุตสาหกรรม โดยใช้สภาวะในการย่อยที่เหมาะสมคือ ค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.5 อุณหภูมิ

55 องศาเซลเซียส เนื่องมาจากสภาวะนี้เป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ทั้งภายในเซลล์เองและเอนไซม์ภายนอกคือ ปาเปนที่เติมลงไป ดังนั้นจะใช้เวลาในการย่อยสลายลดลงเหลือเพียง 8-11 ชั่วโมง

สุพจน์,2540 ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายตัวเองของยีสต์ขนมปัง โดยใช้สภาวะมาตราฐานในการทดลองคือ ความเข้มข้นยีสต์เริ่มต้นร้อยละ 13 โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร อุณหภูมิ 54 องศาเซลเซียส ความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.2 และเปรียบเทียบผลกับวิธีทางเคมี คือใช้เกลือร้อยละ1-5 โดยน้ำหนัก ,ใช้เอทานอลร้อยละ 1-5 โดยปริมาตร และวิธีทางกายภาพ คือ การใช้โฮโมจิไนซ์เซอร์ที่ความดันในช่วง 2000 - 8000 psi และการใช้เอนไซม์ปาเปนที่มีร้อยละของความเข้มข้นในอยู่ช่วง 0.05-0.25 ของน้ำหนักยีสต์สด พบว่าในแต่ละการทดลองสภาวะที่ให้ผลได้ดีที่สุดเป็นดัง แสดงในตารางที่ 2 .2

ตารางที่ 2.2 ผลการทดลองการย่อยสลายตัวเองของยีสต์ขนมปังที่ภาวะต่างๆ

ภาวะของยีสต์	ผลได้ของโปรตีน(ร้อยละ)	ออโตไลเสท(ร้อยละ)
สภาวะมาตราฐาน	20.38	24.99
ใช้เกลือร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก	57.52	44.29
ใช้เอทานอลร้อยละ 5 โดยปริมาตร	51.64	39.35
ใช้เอนไซม์ร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนักยีสต์สด	48.76	46.53
ใช้เอทานอลและเกลือ	61.9	40.67
ใช้โฮโมจิไนซ์ ที่ 8000 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว	36.6	41.1

Kroner และ Nissiem,1988 ได้ทดลองเปรียบเทียบการกรองโดยใช้เครื่องกรองชนิดหมุนได้และการกรองแบบไหลขนานเยื่อแผ่นชนิดอยู่กับที่ พบว่า ภายใต้สภาวะเดียวกันการแยกสารแขวนลอยขนาดเล็ก เช่น ยีสต์ และการแยกเอนไซม์ออกจากเซลล์ที่ผ่านการทำให้เซลล์แตกด้วยเครื่องบดลูกแก้วหรือการใช้เครื่องโฮโมจิไนเซอร์ความดันสูง โดยใช้เครื่องกรองชนิดหมุนได้จะให้ค่าฟลักซ์ และร้อยละของการเก็บเกี่ยวเอนไซม์สูงกว่าการกรองแบบไหลขนานเยื่อแผ่นชนิดอยู่กับที่ ประมาณ 2-3 เท่า

Parnham และ Davis,1995 ทำการทดลองเปรียบเทียบการกรองโดยใช้เครื่องกรองชนิดหมุนได้ (Rotary filter)และการกรองแบบแผ่น(Flat filter) ในการแยกโปรตีนออกจากเศษเซลล์ *E.Coli* ที่ผ่านการทำให้เซลล์แตกด้วยคลื่นเสียงแบบไหลวนเซลล์ต่อเนื่อง 3 รอบ พบว่าในกรณีที่ความเข้มข้นเซลล์

ต่ำ การกรองแบบหมุนจะให้ค่าฟลักซ์ที่สูงกว่าการกรองแบบไม่หมุน เนื่องจากเมื่อเยื่อแผ่นหมุนจะเกิดการหมุนวนของเทย์เลอร์ ทำให้เกิดแรงเฉือนตลอดผิวหน้าของเยื่อแผ่น ทำให้อนุภาคที่เกาะที่ผิวเยื่อแผ่นลดลง และพบว่าเพอมิเอชันฟลักซ์ และร้อยละการส่งผ่านของโปรตีนจะเพิ่มมากขึ้น เมื่อเพิ่มแรงเฉือนและลดความเข้มข้นเซลล์ ส่วนการเพิ่มความดันช่วยให้เพอมิเอชันฟลักซ์มีค่าสูงขึ้นเล็กน้อย

ปราณี, 2543 ทำการศึกษาการแยกเศษเซลล์ออกจากผลิตภัณฑ์ภายในเซลล์เพื่อกำจัดความขมโดยใช้เครื่องกรองชนิดหมุนได้ในระดับอนุภาค โดยแบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอน ขั้นตอนแรกคือ การทำให้เซลล์แตกโดยใช้โฮโมจิไนเซอร์ ที่มีความดัน 500 บาร์ 2 รอบ ความเข้มข้นสเปนท์บริวเวอร์ยีสต์ ร้อยละ 12 โดยน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร ได้ยีสต์โฮโมจิเนทที่มีปริมาณโปรตีน และความขมเท่ากับ 0.223 กรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง และ 0.433 มิลลิกรัมไอโซแอลฟาแอซิดต่อกรัมเซลล์แห้ง ขั้นตอนที่ 2 คือ การกรองแยกเศษเซลล์ออกจากผลิตภัณฑ์ภายในเซลล์ โดยทำการกรองยีสต์โฮโมจิเนท,ยีสต์โปรตีนคอนเซนเทรทและยีสต์ออโตไลเสท พบว่า เพอมิเอชันฟลักซ์ที่ได้จากการกรองยีสต์โปรตีนคอนเซนเทรทมีค่าสูงสุด เนื่องจากไม่มีการอุดตันของเศษเซลล์ ส่วนยีสต์ออโตไลเสทให้อัตราการผลิตโปรตีนสูงกว่ายีสต์โฮโมจิเนท ประมาณ 8 เท่า เพราะมีการย่อยสลายของโปรตีนภายในเซลล์ นอกจากนี้ยังพบว่าแรงเฉือนจากการใช้โฮโมจิไนเซอร์ ทำให้ยีสต์โฮโมจิเนท มีเศษเซลล์ขนาดเล็กทำให้สารที่ให้ความขมหลุดออกมาปนกับผลิตภัณฑ์ อีกทั้งยังมีผลต่อค่าเพอมิเอชัน ฟลักซ์ ดังนั้นการกรองยีสต์ออโตไลเสทโดยไม่ผ่านโฮโมจิไนเซอร์ จึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจ

จากผลงานวิจัยที่ผ่านมาสรุปได้ว่า การทำการย่อยสลายตัวเองของยีสต์จะทำให้เซลล์มีรูปร่างที่ไม่เปลี่ยนแปลงมากและไม่น่าจะกระทบต่อความขมที่อยู่ที่ผนังเซลล์มากนักเนื่องจากกระบวนการเกิดขึ้น ณ สภาวะที่เป็นกรด นอกจากนี้การใช้เครื่องกรองชนิดหมุนได้แบบไหลขนานเยื่อแผ่น ยังช่วยเพิ่มเพอมิเอชัน ฟลักซ์และผลได้ของโปรตีนได้

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย