สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การคัดเลือกเชื้อราสำหรับผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังสภาวะไม่ปลอดเชื้อ

โดย

ผศ.ดวงใจ โอชัยกุล

RCH
TP
248.65
.S56
ด114ก
เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 54637
วัน,เดือน,ปี 24 ส.ค. 2548

b.11364766
i.....

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ประจำปีงบประมาณ 2546

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานวิจัย การคัดเลือกเชื้อราสำหรับผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังสภาวะไม่ปลอดเชื้อ

ผู้วิจัย ผศ. ดวงใจ โอชัยกุล

บทคัดย่อ

การคัดเลือกเชื้อราเพื่อผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังภายใต้สภาวะไม่ปลอดเชื้อ ซึ่งจะทำการคัดเลือกจากเชื้อรา 5 ชนิดคือ *Aspergillus oryzae* TISTR 3019 *Rhizopus oligosporus* TISTR 3001 *Rhizopus arrhizus* TISTR 3247 *Trichoderma viride* TISTR 3167 และ *Trichoderma reesei* TISTR 3081 โดยเพาะเลี้ยงเชื้อราทั้ง 5 ชนิดในน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังในสภาวะไม่ปลอดเชื้อ ภายใต้การให้อากาศบนเครื่องเขย่าความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 3.5 4.0 4.5 และ 5.0 เมื่อศึกษาค่าพีเอชที่เหมาะสม พบว่าเมื่อพีเอชเริ่มต้น 5.0 เชื้อราทั้ง 5 ชนิด มีการย่อยแป้ง การลดลงของค่าทีโอซี และอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด ภายใต้สภาวะดังกล่าว พบว่าเชื้อ *Aspergillus oryzae* TISTR 3019 มีอัตราการเจริญจำเพาะ 0.1 ค่าทีโอซีลดลงสูงสุดร้อยละ 96.42 และมีการย่อยแป้งสูงสุดร้อยละ 62.70 ส่วนเชื้อ *Rhizopus oligosporus* TISTR 3001 มีอัตราการเจริญจำเพาะ 0.08 ค่าทีโอซีลดลงสูงสุดร้อยละ 84.52 และมีการย่อยแป้งสูงสุดร้อยละ 60.11 ดังนั้นจึงนำเชื้อรา 2 ชนิด มาศึกษาหาสายพันธุ์ที่เหมาะสม เพื่อนำมาผลิตโปรตีนเซลล์เดียวในน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลัง ซึ่งเชื้อรา *Aspergillus oryzae* สายพันธุ์ที่เหมาะสมที่สุดคือ *Aspergillus oryzae* TISTR 3103 ให้ปริมาณโปรตีนจากมวลชีวภาพร้อยละ 22.75 มีน้ำหนักเซลล์แห้ง 3.97 กรัมต่อลิตร ค่าซีโอดีลดลงสูงสุดร้อยละ 61.0 และเชื้อ *Rhizopus oligosporus* สายพันธุ์ที่เหมาะสมที่สุดคือ *Rhizopus oligosporus* TISTR 3527 ให้ปริมาณโปรตีนจากมวลชีวภาพร้อยละ 17.59 มีน้ำหนักเซลล์แห้ง 4.22 กรัมต่อลิตร ค่าซีโอดีลดลงสูงสุดร้อยละ 66.50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Research Project Selection of fungi for single cell protein production from starch processing wastewater under non aseptic condition

Researcher Assitant Professor Duangjai Ochaikul

ABSTRACT

Selection of fungi for single protein from starch processing wastewater under non aseptic condition which *Aspergillus orysae* TISTR 3019, *Rhizopus oligosporus* TISTR 3001, *Rhizopus arrhizus* TISTR 3247, *Tricoderma viride* TISTR 3167 and *Tricoderma reesei* TISTR 3018. These fungus cultivated by starch processing wastewater under non aseptic condition, adjusted initial pH 3.5 4.0 4.5 5.0 and shaked flask 150 rpm temperature 30° C 24 hr. These fungus hydrolyzed starch, reduced TOC and growth rate were maximum at initial pH 5.0. This condition showed *Aspergillus oryzae* TISTR 3019 had growth rate 0.1 reduced TOC 96.42% and hydrolyzed starch 62.70%, *Rhizopus oligosporus* TISTR 3001 had growth rate 0.08 reduced TOC 84.52% and hydrolyzed starch 60.11%. Then *Aspergillus orysae* TISTR 3103 and *Rhizopus oligosporus* TISTR 3527 were seleded for single cell protein production. *Aspergillus orysae* TISTR 3103 produced biomass protein 22.75% cell dry weight 3.97 g/l reduced COD 61.0%, *Rhizopus oligosporus* TISTR 3527 produced biomass protein 17.59% cell dry weight 4.22 g/l reduced COD 66.50%.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากเงินรายได้คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ซึ่งสำเร็จได้ด้วยความช่วยเหลือจากบุคคลดังต่อไปนี้ นางสาวนิสา เหมมาลา นายสรัญ บินมิตตอร์ และนายสาธิต พิเสฏฐศลาศัย นักศึกษาภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ทุกท่านที่ได้เอื้อเฟื้ออุปกรณ์ต่างๆ ที่ใช้ในการทดลอง

คณะผู้จัดทำ

พฤษภาคม 2547

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญรูป	ช
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ที่มาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์	1
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	1
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร	
2.1 โปรตีนเซลล์เดียว	2
2.2 คุณสมบัติของโปรตีนเซลล์เดียว	2
2.3 วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว	3
2.4 คุณสมบัติของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว	4
2.5 ประเภทของจุลินทรีย์ที่ใช้ผลิตโปรตีนเซลล์เดียว	6
2.6 ประโยชน์ของการใช้จุลินทรีย์ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว	9
2.7 การยอมรับของผู้บริโภคและความเป็นพิษของโปรตีนเซลล์เดียว	10
2.8 ข้อควรระวังในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว	11
2.9 แนวโน้มการใช้โปรตีนเซลล์เดียวในอนาคต	11
2.10 มันสำปะหลัง	15
2.10.1 ประวัติและถิ่นกำเนิดของมันสำปะหลัง	15
2.10.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของมันสำปะหลัง	17
2.10.3 การจำแนกมันสำปะหลัง	19
2.10.4 การใช้ประโยชน์จากมันสำปะหลัง	20
2.10.5 น้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปมันสำปะหลัง	23
2.11 การทดลองและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	26

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการ	
3.1 วัสดุอุปกรณ์	27
3.2 วิธีการทดลอง	28
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์	
4.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและคุณลักษณะทางกายภาพของน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลัง	30
4.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อราในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังในสภาวะไม่ปลอดเชื้อ	31
4.3 การคัดเลือกชนิดของเชื้อราที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลัง	32
4.4 การคัดเลือกสายพันธุ์เชื้อราที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลัง	36
4.5 นำสายพันธุ์ของเชื้อราที่คัดเลือกได้มาศึกษาการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว	40
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	43
เอกสารอ้างอิง	45
ภาคผนวก	
ภาคผนวก ก. สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์	48
ภาคผนวก ข. วิธีการวิเคราะห์คุณลักษณะน้ำเสีย	49
ภาคผนวก ค. ตารางการวิเคราะห์ทางสถิติ	58

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 แสดงตัวอย่างจุลินทรีย์และวัตถุดิบที่ใช้ผลิตโปรตีนเซลล์เดียว 3

ตารางที่ 2 แสดงปริมาณสารอาหารในจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ 5

ตารางที่ 3 การทดลองใช้โปรตีนเซลล์เดียวที่ผลิตจากจุลินทรีย์บางชนิดกับมนุษย์ 13

ตารางที่ 4 อัตราเฉลี่ยส่วนประกอบของหัวมันสำปะหลัง 21

ตารางที่ 5 องค์ประกอบและคุณสมบัติของน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตแป้งมัน 23

ตารางที่ 6 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางเคมีของน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลัง 30

ตารางที่ 7 พีเอชของน้ำทิ้ง การย่อยแป้ง การลดลงของค่า TOC อัตราการเจริญจำเพาะและ ลักษณะมวลชีวภาพของจุลินทรีย์ในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลัง ในสภาวะเขย่า 33

ตารางที่ 8 การลดลงของค่า COD น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณโปรตีน อัตราการเจริญจำเพาะ และ ลักษณะมวลชีวภาพของจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้ในน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลัง ใน สภาวะเขย่า 37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 1 แสดงระบบรากของมันสำปะหลัง 17

รูปที่ 2 แสดงการใช้ประโยชน์ประโยชน์จากมันสำปะหลัง 22

รูปที่ 3 แสดงขบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังของบริษัทแป้งมันอีสานจำกัด 24

รูปที่ 4 แสดงการลดลงของค่าทีโอซีของจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ในน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังที่มีการปรับพีเอชเริ่มต้นแตกต่างกัน 34

รูปที่ 5 แสดงการย่อยแป้งของจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ในน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังที่มีการปรับพีเอชเริ่มต้นแตกต่างกัน 34

รูปที่ 6 แสดงอัตราการเจริญจำเพาะ ของจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ในน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังที่มีการปรับพีเอชเริ่มต้นแตกต่างกัน 35

รูปที่ 7 แสดงค่าซีโอดีที่ลดลงจากการเลี้ยง *Aspergillus oryzae* และ *Rhizopus oligosporus* สายพันธุ์ต่างๆ ในน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังในสภาวะไม่ปลอดเชื้อที่พีเอชเริ่มต้น 5.0 38

รูปที่ 8 แสดงน้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากการเลี้ยง *Aspergillus oryzae* และ *Rhizopus oligosporus* สายพันธุ์ต่างๆในน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังในสภาวะไม่ปลอดเชื้อที่พีเอชเริ่ม ต้น 5.0 38

รูปที่ 9 แสดงปริมาณโปรตีนที่ได้จากการเลี้ยง *Aspergillus oryzae* และ *Rhizopus oligosporus* สาย พันธุ์ต่างๆในน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังในสภาวะไม่ปลอดเชื้อที่พีเอชเริ่มต้น 5.0 39

รูปที่ 10 แสดงอัตราการเจริญจำเพาะของ *Aspergillus oryzae* และ *Rhizopus oligosporus* สายพันธุ์ต่างๆในน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังในสภาวะไม่ปลอดเชื้อที่พีเอชเริ่มต้น5.0 39

รูปที่ 11 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง *Aspergillus oryzae* TISTR 3103 และ *Rhizopus oligosporus* TISTR 3527 กับน้ำหนักเซลล์แห้งในน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลัง 40

รูปที่ 12 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Aspergillus oryzae* TISTR 3103 และ *Rhizopus oligosporus* TISTR 3527 กับการลดลงของค่าซีโอดีในน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลัง 41

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป(ต่อ)

หน้า

รูปที่ 13 แสดงลักษณะมวลชีวภาพของ *Aspergillus oryzae* TISTR 3103 41

รูปที่ 14 แสดงลักษณะมวลชีวภาพของ *Rhizopus oligosporus* TISTR 3527 42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

ปัจจุบันนี้อุตสาหกรรมการผลิตแป้งมันและผลิตภัณฑ์ที่ทำจากแป้งต่างๆ ได้เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ทำให้มีน้ำทิ้งปล่อยออกจากโรงงานเหล่านี้มีปริมาณสูงเช่นกัน ซึ่งในน้ำทิ้งเหล่านี้ จะมีปริมาณสารอินทรีย์ รวมทั้งมีค่าซีโอดีอยู่ในช่วง 5,460-9,970 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้เกิดปัญหามลพิษมากมาย ก่อนหน้านี้มีการศึกษากันมากในการนำน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตแป้งมันมาใช้เป็นสารอาหารสำหรับการเจริญของเชื้อยีสต์ เนื่องจากยีสต์มีเอนไซม์ในการย่อยแป้งได้ดี และตัวเซลล์ยีสต์มีอัตราการเจริญที่สูง ยีสต์จึงมีศักยภาพสูงในการใช้น้ำทิ้งจากโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังไปเป็นโปรตีนที่ได้จากมวลชีวภาพ มีการศึกษากันเล็กน้อยเกี่ยวกับการนำเชื้อรามาผลิตโปรตีนจากมวลชีวภาพ และเนื่องจากเชื้อรามีลักษณะเป็นเส้นใย ทำให้ง่ายต่อการแยกและการเก็บเกี่ยวออกจากอาหารเลี้ยงเชื้อ รวมทั้งเชื้อราเจริญได้ดีในสภาวะที่เป็นกรดทำให้เชื้อราเหล่านี้ไม่เป็นเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคอย่างแน่นอน ในโครงงานพิเศษเรื่องนี้ต้องการคัดเลือกเชื้อราที่เหมาะสมสำหรับนำมาผลิตโปรตีนจากมวลชีวภาพ จากน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลัง โดยทำการเลี้ยงเชื้อและเก็บตัวอย่างในสภาพไม่ปลอดเชื้อ ซึ่งเป็นการลดปัญหามลภาวะทางหนึ่งและสามารถนำน้ำกลับมาใช้ใหม่ได้อีก

1.2 วัตถุประสงค์

1. ศึกษาคุณสมบัติของน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลัง เช่น ของแข็งแขวนลอย ของแข็งทั้งหมด แป้ง ซีโอดี ทีโอซี น้ำตาล และพีเอช
2. คัดเลือกเชื้อราที่เหมาะสมในการนำมาผลิตโปรตีนจากมวลชีวภาพจากน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังและคัดเลือกเชื้อราที่เหมาะสมไว้ศึกษาต่อไป
3. คัดเลือกสายพันธุ์ของเชื้อราที่ได้จากข้อ 2 ไว้ศึกษาต่อไป
4. นำสายพันธุ์ของเชื้อราที่เหมาะสมที่คัดเลือกได้จากข้อ 3 มาศึกษาการผลิตมวลชีวภาพและการลดลงของซีโอดีที่เวลาต่างๆของการเพาะเลี้ยง เพื่อเป็นข้อมูลในการศึกษาต่อไป

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถผลิตโปรตีนจากมวลชีวภาพจากเชื้อราที่ใช้ในการศึกษา
2. เป็นการนำน้ำทิ้งมาใช้ให้เกิดประโยชน์ และเป็นการลดมลภาวะทางสิ่งแวดล้อมได้ขณะเดียวกันน้ำที่ผ่านการบำบัดสามารถนำกลับไปใช้ในสวนเกษตรได้อีก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
การตรวจเอกสาร

2.1 โปรตีนเซลล์เดียว (มวลชีวภาพ หรือ Single Cell Protien)

มวลชีวภาพ (Biomass) หรือโปรตีนเซลล์เดียว (Single Cell Protien) หรือ SCP เป็นโปรตีนที่ผลิตได้จากจุลินทรีย์ ซึ่งหมายถึง การนำจุลินทรีย์มาใช้เป็นแหล่งผลิตโปรตีน โดยจุลินทรีย์มีการเจริญในลักษณะเป็นเซลล์เดียวหรือเส้นใยมากกว่าที่เจริญเป็นหลาayเซลล์ที่ซับซ้อน เหมือนกับสิ่งมีชีวิตพวกพืชหรือสัตว์ การผลิตโปรตีนเซลล์เดียวเป็นกระบวนการผลิตทางเทคโนโลยีชีวภาพวิธีหนึ่งที่เหมาะสมในการแก้ปัญหาการขาดแคลนโปรตีนของโลก โดยเฉพาะอย่างยิ่งประเทศที่กำลังพัฒนา ซึ่งมีภูมิประเทศแห้งแล้งและมีพื้นที่ไม่เหมาะสมต่อการเพาะปลูก แม้ว่าจะมีการปรับปรุงพันธ์พืชและสัตว์ เพื่อเพิ่มผลผลิตต่อพื้นที่ให้สูงขึ้น ก็ยังมีสัดส่วนที่ไม่สมดุลต่อความต้องการของผู้บริโภคที่มีความต้องการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ดังนั้นโปรตีนเซลล์เดียวจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่นำมาใช้เป็นแหล่งอาหารโดยตรงสำหรับมนุษย์ และสัตว์หรือเป็นอาหารสัตว์เพื่อเป็นอาหารมนุษย์

จุลินทรีย์ที่สามารถนำมาผลิตโปรตีนเซลล์เดียว ได้แก่ แบคทีเรีย ยีสต์ รา และ สาหร่าย ซึ่งสาเหตุที่นำจุลินทรีย์มาใช้เป็นแหล่งโปรตีน เนื่องจากจุลินทรีย์ให้ผลผลิตต่อหน่วยพื้นที่ต่อหน่วยเวลาสูงกว่าโปรตีนจากแหล่งอื่นๆ และมีโปรตีนในเซลล์สูง ทั้งยังประกอบด้วย กรดอะมิโน ที่จำเป็นหลายชนิด อีกทั้งยังมีวิตามินต่างๆ ในปริมาณสูง โดยเฉพาะอย่างยิ่ง วิตามิน B_{12} ซึ่งเป็นวิตามินที่มีความสำคัญทางโภชนาการ สามารถใช้เป็นอาหารเสริมโปรตีนได้ ประเทศที่มีการนำจุลินทรีย์มาใช้ประโยชน์ในการผลิตโปรตีนมากที่สุด โดยผลิตมากกว่าล้านตันต่อปีคือ ประเทศรัสเซีย สำหรับประเทศไทย มีการศึกษาถึงการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากแบคทีเรียที่สังเคราะห์ได้โดยใช้กากมันสำปะหลังและน้ำทิ้งจากโรงงานแป้งมันสำปะหลัง ซึ่งประเทศไทยเป็นประเทศที่ผลิตมันสำปะหลังเป็นอันดับหนึ่งของโลก ผลผลิตที่ได้สามารถนำมาเป็นอาหารปลาได้โดยไม่เกิดอาการเป็นพิษและยังทำให้น้ำหนักปลามากกว่าที่เลี้ยงด้วยอาหารปลาอย่างเดียวถึงร้อยละ 22.62 (http://www. rdi.gpo.or.th)

2.2 คุณสมบัติของโปรตีนเซลล์เดียว

คุณสมบัติของโปรตีนเซลล์เดียวที่จะนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์ ขึ้นกับปัจจัยต่างๆ คือ

1. ชนิดของวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว ชนิดของวัตถุดิบที่ใช้ เช่น กากน้ำตาล หางนม มันสำปะหลัง แป้ง และอื่นๆ ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวที่ผ่านมาส่วนใหญ่ จะใช้วัตถุดิบพวกสารประกอบไฮโดรคาร์บอน เพราะสารประกอบไฮโดรคาร์บอนจะทำให้โปรตีนเซลล์เดียวที่ผลิตได้มีคุณภาพดี

2. ชนิดของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิต เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิต คือ ยีสต์ แบคทีเรีย และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาหร่ายซึ่งคุณค่าทางอาหารจะแตกต่างกัน

3. กระบวนการผลิต กระบวนการผลิตที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว ต้องคำนึงถึงความปลอดภัยของโปรตีนเซลล์เดียว การแยกผลิตภัณฑ์สุดท้าย อุณหภูมิที่ใช้ผลิตต้องอยู่ในช่วงที่เหมาะสม (สมศิริและคณะ, 2539)

2.3 วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

วัตถุดิบหลายชนิดสามารถนำมาใช้เป็นแหล่งอาหารในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวได้ ซึ่งรวมไปถึงของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมและการเกษตรด้วยในปัจจุบันประเทศในแถบตะวันออกและญี่ปุ่นมีการศึกษาถึงผลิตภัณฑ์โปรตีนเซลล์เดียวจากแอลกอฮอล์และของเสียพวกอินทรีย์สาร ของเสียที่นำมาใช้เช่น น้ำทิ้งจากโรงงานกระดาษ กากน้ำตาลจากโรงงานผลิตน้ำตาล หางนมจากโรงงานนม มูลสัตว์ ชานอ้อย กากกาแฟ ฯลฯ ซึ่งนับว่าเป็นประโยชน์อย่างยิ่งที่มีการนำของเสียกลับมาใช้ใหม่โดยสามารถช่วยลดมลภาวะสิ่งแวดล้อมเป็นพิษ ช่วยลดปัญหาการขาดแคลนโปรตีนของชุมชน ช่วยลดต้นทุนการผลิตและยังสามารถเปลี่ยนรูปให้เป็นพลังงาน และโปรตีนได้รวมทั้งนำเทคโนโลยีใหม่ๆ มาประยุกต์ใช้ในประเทศที่กำลังพัฒนา (ดุษณี, 2537)

ตารางที่ 1 แสดงตัวอย่างจุลินทรีย์และวัตถุดิบที่ใช้ผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

Organism	Carbon or Energysource
Bacteria	
Cellulomonas spp.	Bagasse
Alcaligenes spp.	
Methylophilus methylotrophus	Methanol
Methylococcus capsulatus	Methane
Yeast	
Candida utilis	Ethanol, sulfite waste liquor
Candida lipolytica	n-Alkane
Kluyvromyces fragilis	Chesse whey
Saccharomyces cerevisiae	Molass
Mold and Higher fungi	
Cephalosporium eichorniae	Cassava starch
Paecilomyces varioti	sulfite waste liquor

ตารางที่1 แสดงตัวอย่างจุลินทรีย์และวัตถุดิบที่ใช้ผลิตโปรตีนเซลล์เดียว(ต่อ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Penicillium cyclopium	Chesse whey
Chaetomium cellulolyticum	Agriculture and forestry waste
Algae	
Scenedesmus acutus	CO_2 , sunlight
Spirulina maxina	CO_2 , HCO_3 , CO_3 , sunlight

ที่มา : Lee (1996)

2.4 คุณสมบัติของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวมีทั้งแบคทีเรีย ยีสต์ รา สาหร่ายซึ่งมีคุณสมบัติที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวดังนี้ (Kosaric, 1972) เจริญได้เร็วในอาหารที่มีราคาถูกและเป็นวัตถุดิบที่หาได้ง่ายในท้องถิ่นนั้นๆ

1. เจริญได้ดีในอาหารที่มีองค์ประกอบง่ายๆ ไม่ซับซ้อน มีความต้องการวิตามินและปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญต่างๆ น้อยให้ผลผลิตสูง
2. คงลักษณะทางพันธุกรรมได้ดี และ ไม่กลายพันธุ์ง่าย
3. มีความทนทานต่ออุณหภิมสูงและ pH ต่ำโดยทั่วไปแบคทีเรียจะทนอุณหภูมิสูงได้ดี

กว่าฟังไจ จึงประหยัดค่าใช้จ่ายในการควบคุมอุณหภูมิในถังหมัก ในขณะที่ฟังไจทนทานต่อพีเอชต่ำได้ดีกว่าแบคทีเรีย ทำให้ลดโอกาสการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ชนิดอื่น

4. มีความต้านทานต่อการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ อื่น ๆ และใช้ขบวนการหมักอย่างง่าย ๆ

ในการเจริญ

5. ทราบคุณสมบัติทางพันธุกรรม สรีระวิทยาและสามารถปรับปรุงพันธุ์ได้
6. ใช้แหล่งพลังงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ
7. หลังจากผ่านขบวนการหมักแล้วมีวัสดุเหลือทิ้งน้อยหรือไม่มีเลย
8. ไม่เป็นพิษทั้งในระยะสั้นและระยะยาว หรือทำให้เกิดภูมิแพ้และปลอดภัยต่อผู้บริโภค
9. มีคุณค่าทางอาหารและมีโปรตีนสูง โปรตีนที่ได้ต้องมี กรดอะมิโนที่มีคุณค่า
10. เก็บรักษาได้ง่าย เช่นการทำแห้งและง่ายต่อการขนส่ง
11. ต้นทุนการเพาะเลี้ยงและการเก็บเกี่ยวต้องสามารถแข่งขันกับแหล่งอาหารโปรตีนอื่นได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่2 แสดงปริมาณสารอาหารในจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ

Biomass Products	Bacteria/ Methanol	Yeasts/ Paraffin	Yeasts/ Carbohydrates	Fungi/ Carbohydrates	Algae/ CO_2
Crude protein %	80	55-60	45-50	35-45	40-60
Nucleic acids %	10-15	5-8	10	10	6
Fat %	8	9	2-5	2-5	5-9
Minerals %	7-8	8	5-10	5-10	10-15
Selected amino acids, g/16 g nitrogen					
Isoleucine	4.5	3	4.5	5	5-6
Alanine	7	6	6	6.5	-
Leucine	7	5.5	6.5	7	8-9
Glycine	5.5	3	5	5	-
Lysine	6	6.5	6.5	6.5	4-5
Phenylalanine	3.5	3.5	3.5	4	4-5
Methionine	2.5	2	1.5	2	2-3
Prolein	3.5	2.5	3.5	4	-
Threonine	4.5	3.5	5.5	4	5
Aspartic acid	9	8	8	9	-
Tryptophan	1	0.5	1	1	1
Glutamic acid	10	9	10	2	-
Valine	5	3.5	5	5	6-7
Tyrosine	3	3	3.5	3.5	5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Arginine	4.5	3.5	4.5	5	9-10
Histidine	2.5	2	3	2	1.8
Serine	3.5	3	3.5	4	-

ที่มา : สมใจ (2545)

2.5 ประเภทของจุลินทรีย์ที่ใช้ผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

2.5.1 สาหร่าย

จัดเป็นพวกที่มีการดำรงชีวิตแบบ phototrophic microorganism คือการใช้พลังงานแสงอาทิตย์เป็นแหล่งของพลังงานในการรีดิวซ์สารอนินทรีย์ให้เป็นสารอินทรีย์ ข้อดีของสาหร่ายคือมีปริมาณโปรตีนสูงประมาณ 55 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งและเป็นโปรตีนที่มีคุณภาพ เพาะเลี้ยงได้ทุกฤดูกาล อุดมด้วยวิตามินซีและวิตามินบีรวม ใช้พลังงานแสงอาทิตย์อย่างมีประสิทธิภาพ มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตและไขมันอยู่ในสัดส่วนปานกลาง ในการเจริญต้องการน้ำปริมาณเล็กน้อย สามารถเจริญได้ในที่แห้งแล้งและเก็บเกี่ยวผลง่าย สำหรับพวกสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียว (blue-green algae) บางชนิดยังสามารถตรึงไนโตรเจนได้ด้วย ข้อเสียของพวกนี้คืออัตราการเจริญต่ำกว่าจุลินทรีย์กลุ่มอื่นและถ้านำมาเลี้ยงในถังหมักจะมีปัญหาในการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และแสงแก่เซลล์ (ดวงพร, 2530) และถ้านำมาเลี้ยงในบ่อเปิดก็อาจเกิดปัญหาการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่มาจากฝุ่นละออง มูลนก ตัวแมลง หรืออาจเกิดการปนเปื้อนของชิ้นส่วนแมลงของแมลงอีกด้วย นอกจากนี้คุณภาพของน้ำที่ใช้เลี้ยงสาหร่ายต้องแน่ใจว่าปราศจาก เชื้อโรค ยาฆ่าแมลง โลหะหนักที่เป็นพิษ หรือการปนเปื้อนจากสารเคมีอื่น ๆ

สาหร่ายหลายชนิดได้รับความสนใจและถูกนำมาใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว เช่น *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Spirulina*, *Coelastrum*, *Vromena*, *Dunaliella*, *Microactinium*, *Oocystis*, *Oscillatoria*, *Chlamydomonas*. *Euglena* และ *Ankistrodesmus* โดยเฉพาะสาหร่าย *Spirulina* ได้มีการนำมาใช้เป็นอาหารมนุษย์เป็นเวลานานหลายศตวรรษโดยชนชาวเผ่าที่อาศัยอยู่ทางเหนือของทะเลสาบชาด (Chad) ในอัฟริกากลางและชาวเม็กซิโก

ในประเทศญี่ปุ่นและไต้หวันมีการผลิต *Chlorella* ในรูปผงหรือเม็ด เพื่อใช้เป็นอาหารเสริมสุขภาพ หรือใช้เป็นยา โดยจะนำ *Chlorella* มาสกัดให้ได้ส่วนที่เรียกว่า "Chlorella Growth Factor" และมีการส่งออกไปขายยังประเทศอิสราเอล อิตาลี เม็กซิโก บัลกาเรีย เชคโกสโลวาเกีย และประเทศอื่น ๆ อีกหลายประเทศ โดยผลิตภัณฑ์ที่ได้เตรียมจากการแยกเซลล์ของสาหร่ายชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นี้ออกจากอาหารเลี้ยงเชื้อโดยการหมุนเหวี่ยง และนำมาทำให้เข้มข้นขึ้นโดยใช้การหมุนเหวี่ยงภายใต้สุญญากาศและนำของเหลวเข้มข้นที่ได้มาทำให้แห้งแข็ง เพื่อให้อยู่ในรูปผง

Dunaliella เป็นสาหร่ายเซลล์เดียวสีเข้มที่สามารถทนและปรับตัวได้ดีที่ความเข้มข้นของเกลือสูง สามารถให้ผลผลิตที่มีคุณค่าถึง 3 ชนิด คือ กลีเซอรอล เบตา-แคโรทีน และโปรตีน สาหร่ายชนิดนี้มีลักษณะแตกต่างจากสาหร่ายชนิดอื่นๆ คือ ไม่มีผนังเซลล์ ตัวเซลล์จะล้อมรอบด้วยเซลล์ เมมเบรนที่ยืดหยุ่นและปกคลุมด้วยเมือกที่ผิวเซลล์ ทำให้เซลล์ของสาหร่ายชนิดนี้ทนต่อการเปลี่ยนแปลงของแรงดันออสโมซิสได้ดี นอกจากนี้การไม่มีผนังเซลล์ของสาหร่ายชนิดนี้ทำให้ง่ายต่อการย่อยในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์และสัตว์ ประเทศที่สนใจและมีการศึกษาเพื่อผลิตสาหร่าย *Dunaliella* ในทางการค้าได้แก่ ออสเตรเลีย สหรัฐอเมริกา และอิสราเอล ซึ่งนอกจากการผลิตสาหร่าย *Dunaliella* เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเสริมสุขภาพและอาหารสัตว์แล้ว ยังมีการผลิตสาหร่ายชนิดนี้เพื่อนำเอาเบตา-แคโรทีนจากสาหร่ายมาใช้เป็นสีผสมอาหารอีกด้วย (ดุษณี, 2537)

2.5.2 เชื้อรา

เชื้อราที่ใช้เป็นแหล่งอาหารของมนุษย์มานานก็คือเห็ด ซึ่งเป็นโปรตีนเซลล์เดียวที่มนุษย์สามารถรับประทานได้โดยตรง เช่น *Agaricus campestris* ก็ถูกใช้เป็นอาหารแถวยุโรป ส่วนที่ประเทศจีนก็นิยมรับประทานเห็ด *Cortinellus berkelyanus* และเห็ด *Volvaria volvacea* ก็เป็นที่นิยมในประเทศจีนตอนใต้ ปัจจุบันการใช้เชื้อราจะต้องเสริมด้วย เมไทโอนีน กรดกลูตามิค วิตามินบี 2 และวิตามินบี 12 ทั้งนี้เพราะส่วนประกอบของกรดอะมิโนในเชื้อราจะใกล้เคียงกับพวกจุลินทรีย์อื่นๆ คือมี sulfur amino acid ต่ำ และเชื้อราจะมีวิตามินบีทุกชนิดในระดับต่ำ สำหรับการศึกษาเกี่ยวกับการใช้เชื้อราเป็นอาหารสัตว์ยังมีน้อย ส่วนใหญ่มักทดลองในหนู พบว่าทำให้หนูกินอาหารน้อยลง และมีการเจริญเติบโตไม่ดีเท่าที่ควร ข้อดีของเชื้อราคือเป็นที่ยอมรับได้ง่าย ตลอดจนมีคุณค่าทางอาหารพอๆกับยีสต์ แต่การเจริญต่ำกว่ายีสต์และแบคทีเรีย และมีปัญหาในการเลี้ยง เพราะว่าเมื่อเลี้ยงในอาหารเหลว (Submerged cultivation) เส้นใยจะอยู่ในสภาพเป็นกลุ่มก้อน (Pellet) ทำให้เกิดปัญหาในการให้ออกซิเจนแก่เซลล์ (ดวงพร, 2530) มีการเลี้ยงเชื้อรา ชนิดต่าง ๆในน้ำเสียจากอุตสาหกรรมทางการเกษตรและอาหารที่มีคาร์โบไฮเดรตทั้งแบบครั้งคราวและแบบต่อเนื่องโดยมีการเติมแอมโมเนียฟอสเฟต แอมโมเนียซัลเฟต หรือแอมโมเนียมไนเตรท เป็นแหล่งไนโตรเจนเสริม และเติมกรดฟอสฟอริกเป็นแหล่งของฟอสฟอรัส จากการศึกษาเมื่อใช้น้ำเสียจากโรงงานข้าวโพด และถั่วกระป๋อง เลี้ยงรา *Geotrichum sp.* และ *Fusarium sp.* พบว่าราทั้งสองชนิดสามารถลดปริมาณสารอินทรีย์ในรูปของ COD ได้ถึงร้อยละ 95 สำหรับ *Gliocladium deliquescens* ที่ใช้ในการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานโม่แป้งข้าวโพด และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำเสียจากกระบวนการผลิตซีอิ๊ว สามารถลด COD ของน้ำเสียจากโรงงานโม่แป้งข้าวโพดลงได้ถึงร้อยละ 87 และลด COD ของน้ำเสียจากกระบวนการผลิตซีอิ๊วได้มากกว่าร้อยละ 97 ในส่วนของการใช้ *Trichoderma harzianum* ในการบำบัดน้ำเสียจากกระบวนการผลิตกาแฟในเอลซัลวาดอร์ ในสภาวะไม่ปลอดเชื้อ สามารถลด COD ของน้ำเสียได้ ร้อยละ 73 และเซลล์ของ *Trichoderma harzianum* ที่ได้มีปริมาณโปรตีนโดยน้ำหนักแห้งร้อยละ 56 (วรรณทนา และคณะ, 2540)

2.5.3 แบคทีเรีย

แบคทีเรียสามารถใช้เป็นอาหารได้เพราะมีปริมาณโปรตีนสูงถึงร้อยละ 47-87 แล้วแต่ชนิดของแบคทีเรียและมีอัตราการเจริญเร็วกว่าจุลินทรีย์กลุ่มอื่น กล่าวคือแบคทีเรียใช้เวลาในการแบ่งตัวเพียง 20-30 นาที ในขณะที่ยีสต์ใช้เวลา 2-3 ชั่วโมง สาหร่ายและราใช้เวลานานกว่า 16 ชั่วโมง นอกจากนี้แบคทีเรียประกอบด้วยกรดอะมิโนจำเป็นหลายชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งไลซีนที่เหมาะต่อความต้องการของร่างกาย ยกเว้นกรดอะมิโนที่ซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบ ข้อดีของการใช้แบคทีเรียในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวคือ มีอัตราการเจริญเร็ว ให้ปริมาณโปรตีนสูง และสามารถใช้แหล่งไฮโดรคาร์บอนได้ แต่มีข้อจำกัดคือ แบคทีเรียมีขนาดเล็กมาก (0.50-50 ไมครอน) ทำให้เก็บเกี่ยวเซลล์ได้ยาก

ในประเทศไต้หวันก็มีการแยกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถใช้ไฮโดรคาร์บอนได้โดยใช้วิธีการคล้ายคลึงกัน และได้สายพันธุ์ของเชื้อ *Pseudomonas* 5404 ซึ่งสามารถย่อยเอ็น-พาราฟินจากน้ำมันดิบ หรือส่วนอื่นๆ ที่แยกได้จากการกลั่น โดยมีเกลือแอมโมเนียมเป็นแหล่งไนโตรเจน หลังจากเลี้ยงเชื้อโดยการหมักแบบต่อเนื่องที่ อัตราการเจือจาง 0.12 ต่อชั่วโมง จะได้น้ำหนักคงที่ 10 กรัมต่อลิตร เมื่อเก็บเกี่ยวเซลล์โดยวิธีหมุนเหวี่ยง และนำมาผ่านตัวทำละลายเพื่อกำจัดไฮโดรคาร์บอนที่หลงเหลืออยู่และนำมาทำให้แห้งและบด จะได้ปริมาณโปรตีนสูงถึง 73.62 กรัมต่อน้ำหนักแห้ง 100 กรัม โดยจะมีกรดอะมิโนที่จำเป็นมากกว่ายีสต์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งไลซีนและเมทไทโอนีน นอกจากนี้ยังประกอบด้วยวิตามินบีต่าง ๆ ด้วย

ในประเทศไทยมีการศึกษาถึงการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากแบคทีเรียที่สังเคราะห์แสงได้โดยใช้กากมันสำปะหลัง และน้ำทิ้งจากโรงงานแป้งมันสำปะหลัง จากการศึกษาถึงการเจริญของเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* (เดิมชื่อ *Rhodopseudomonas gelatinosa*) บนกากมันสำปะหลังที่เก็บไว้ในที่มืด และมีออกซิเจน พบได้ว่าในโปรตีนร้อยละ 56 ไขมันร้อยละ 2.45 คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 26.42 และเถ้าร้อยละ 3.21 และโปรตีนที่ได้จะประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็น เช่น เมทไทโอนี

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ ห้ามนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น ไลซีน ลูซีน และเฟนนิลอะลานีน นอกจากนี้ยังมีวิตามินที่จำเป็น เช่น วิตามินบี 2 วิตามินบี 12 วิตามินอี และกรดนิโคตินิก (nicotinic acid) โปรตีนเซลล์เดียวจากแบคทีเรียที่ผลิตได้นี้สามารถนำมาใช้เป็นอาหารปลาได้ โดยสามารถทดแทนการใช้ปลาป่นได้ถึงร้อยละ 50 (น้ำหนักต่อร่างกาย) และเมื่อนำมาเลี้ยงปลาทาง (*Carassius auratus*) อายุ 2 เดือน เป็นเวลา 122 วัน ปรากฏว่าไม่เกิดอาการเป็นพิษหรืออาการผิดปกติแต่อย่างใด นอกจากนี้ปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมเซลล์แบคทีเรียยังให้น้ำหนักปลามากกว่าการเลี้ยงด้วยอาหารปลาอย่างเดียวถึง 22.62% นอกจากนี้ยังมีการศึกษาถึงการนำแบคทีเรีย *Rhodobacter sphaeroides* P47 ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ให้ผลผลิตสูงเมื่อใช้น้ำตาลเป็นแหล่งอาหาร และมีปริมาณวิตามินบี 12 และคาโรทีนอยด์ (Carotenoid) สูงมาเลี้ยงผสมกับเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* ด้วย โดยใช้กากมันสำปะหลังแห้งที่ได้จากโรงงานผลิตแป้งมันในจังหวัดชลบุรีเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งจากการศึกษาพบว่าการเลี้ยงเชื้อผสมให้ผลผลิตดีกว่าการเลี้ยงเชื้อเดี่ยวๆ ใช้ระยะเวลาในการเจริญสั้นลง และยังพบว่าเซลล์ของ *Rhodocyclus gelatinosus* อุดมไปด้วยวิตามินบี 2 ในขณะที่เซลล์ของ *Rhodobacter sphaeroides* P47 จะประกอบด้วยวิตามินอี ซึ่งวิตามินเหล่านี้ จำเป็นต่อการเจริญของสัตว์ โดยเฉพาะวิตามินอีจะมีความสำคัญต่อการพัฒนาการสืบพันธุ์ของสัตว์ด้วย (ดุษณี, 2537)

2.5.4 ยีสต์

ยีสต์เป็นโปรตีนเซลล์เดียวที่มีการนำมาใช้กันมากที่สุด เนื่องจากยีสต์มีคุณสมบัติที่ดีเหมาะสมต่อการนำมาใช้เป็นแหล่งอาหารสำหรับมนุษย์ และสัตว์ (ดุษณี, 2537) แต่มีข้อจำกัดคือยีสต์มีปริมาณกรดนิวคลีอิกค่อนข้างสูงถึงร้อยละ 12 ซึ่งมีแนวโน้มที่จะเป็นอันตรายต่อคนโดยทำให้เกิดโรคเกี่ยวกับไตและโรคเก๊าท์ (ดวงพร, 2525) นอกจากนี้ยีสต์ยังสามารถใช้ผลพลอยได้ทางการเกษตร หรืออุตสาหกรรมเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานได้ เช่น กากน้ำตาล วัตถุดิบพวกแป้ง หางนม ผลไม้ และน้ำทิ้งจากโรงงานต่างๆ เป็นต้น (ดุษณี, 2537)

2.6 ประโยชน์ของการใช้จุลินทรีย์ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

1. จุลินทรีย์สามารถเจริญได้อย่างรวดเร็วและเป็นจำนวนมาก ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม แบคทีเรีย และยีสต์สามารถเจริญได้ทุกๆ 0.5-2 ชั่วโมง และ 1-3 ชั่วโมง ตามลำดับ ในขณะที่สาหร่ายและราใช้เวลา 2-6 ชั่วโมง และ 4-6 ชั่วโมง ตามลำดับ ในการเพิ่มจำนวน
2. การปรับปรุงพันธุ์จุลินทรีย์ทำได้ง่ายกว่าการปรับปรุงพันธุ์พืชและสัตว์
3. จุลินทรีย์ประกอบด้วยปริมาณโปรตีนและคุณค่าทางอาหารอื่นๆที่เป็นประโยชน์
4. จุลินทรีย์สามารถเจริญได้เป็นจำนวนมากในพื้นที่จำกัดและต้องการน้ำในปริมาณน้อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถผลิตได้ตลอดเวลาในถังหมักขนาดใหญ่ ไม่ขึ้นกับสภาพแวดล้อม

5. จุลินทรีย์สามารถใช้วัตถุดิบได้หลายชนิดในการเจริญรวมทั้งของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม และ เซลูโลสจากพืช

6. ปัญหาเกี่ยวกับของเสียของจุลินทรีย์มีน้อยเมื่อเทียบกับกระบวนการผลิตอื่นๆ

2.7 การยอมรับของผู้บริโภคและความเป็นพิษของโปรตีนเซลล์เดียว

ปัญหาของการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวอยู่ที่ความปลอดภัย คุณค่าทางอาหาร และการยอมรับของผู้บริโภค เนื่องจากอาหารที่ผลิตจากโปรตีนเซลล์เดียวนั้นประกอบด้วยจุลินทรีย์ทั้งหมดและการยอมรับยังไม่ดีเท่าที่ควร ดังนั้นก่อนที่จะนำผลิตภัณฑ์ที่ได้มาเป็นอาหารสัตว์ หรืออาหารมนุษย์ควรมีการทดสอบเพื่อให้แน่ใจว่าไม่เป็นอันตรายต่อการบริโภค นอกจากนี้ยังต้องระวังในการผลิตอีกด้วยเพราะวัตถุดิบบางชนิดใช้ในการผลิตอาจเป็นสารก่อมะเร็งได้ เช่น เอ็นพาราฟีน หรือไฮโดรคาร์บอนบางชนิด(Reed,1982) สารละลายที่ใช้ในการสกัดโปรตีนจากจุลินทรีย์อาจมีอันตรายได้ (Lindblom,1973;Woodard and Short,1973) ได้ศึกษาพบว่าด่างที่ใช้ในการสกัดโปรตีนจากถั่วเหลืองนั้น มีสารพิษไลซิโนอะลานีน ซึ่งเป็นอันตรายต่อไตอยู่ด้วย รวมทั้งการปนเปื้อนของสารพิษและจุลินทรีย์อื่นๆที่สำคัญสำหรับการบริโภคของมนุษย์ เพราะมีปริมาณของกรดนิวคลีอิกสูงกว่าโปรตีนที่ได้จากพืชและสัตว์ซึ่งมีผลทำให้เกิดโรคเก๊าท์ได้ เนื่องจากมนุษย์ไม่มีเอนไซม์ยูเรตออกซิเดส (urate oxidase) หรือ ยูริเคส (uricase) ซึ่งกลุ่ม Protein Advisory Group (PAG) ขององกรณ์สหประชาชาติจะเป็นผู้ให้คำแนะนำเกี่ยวกับความปลอดภัยและคุณค่าทางอาหารของโปรตีนเซลล์เดียวโดยแนะนำว่าควรกำหนดการบริโภคกรดนิวคลีอิกจากโปรตีนเซลล์เดียวไม่ควรเกิน 2 กรัม ต่อวันหรือถ้าบริโภครวมกับอาหารอื่นๆ ก็ต้องไม่เกิน 4 กรัมต่อวัน

การทดสอบความเป็นพิษของผลิตภัณฑ์โปรตีนเซลล์เดียวต้องทดสอบทั้งในระยะสั้นและในระยะยาว โดยใช้สัตว์ทดลองหลายชนิดเพื่อให้แน่ใจว่าผลิตภัณที่ได้ปลอดภัยต่อผู้บริโภค ซึ่งการทดสอบนี้ต้องใช้ระยะเวลาและค่าใช้จ่ายสูง ดังนั้นการพัฒนาโปรตีนเซลล์เดียวส่วนใหญ่มักจะใช้เป็นอาหารสัตว์มากกว่าเป็นอาหารมนุษย์ มีรายงานเกี่ยวกับการทดลองให้โปรตีนเซลล์เดียวใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มนุษย์ พบว่าให้ผลแตกต่างกันออกไปตั้งแต่อาการปกติ จนถึงอาการไม่สบาย ระบบอาหารเป็นพิษ ผิวหนังลอกเป็นเกล็ด และอื่นๆ ซึ่งอาการเหล่านี้จะปรากฏในกรณีที่มีการบริโภคโปรตีนเซลล์เดียวในปริมาณมาก ในการศึกษาถึงผลของโปรตีนเซลล์เดียวที่ผลิตจากจุลินทรีย์ชนิดต่างๆกับมนุษย์โดยพบว่าแบคทีเรียที่นำมาใช้เป็นอาหารโปรตีนทำให้มนุษย์เกิดอาการคลื่นไส้ อาเจียน และท้องเสียมากกว่าจุลินทรีย์อื่นๆ ซึ่งปฏิกิริยาเหล่านี้อาจเนื่องมาจากสารที่มีลักษณะคล้ายสารพิษ endotoxin ที่อยู่ในเซลล์ของแบคทีเรีย (Litchfield,1991) นอกเหนือจากนี้ก็พบว่าการบริโภคโปรตีนเซลล์เดียวเป็นอาหารมนุษย์ควรผ่านกรรมวิธีแปรรูปก่อนจะเป็นการเหมาะสมกว่าปัจจัยอื่นๆ ที่มีผลกับการบริโภค นอกเหนือจากที่กล่าวมาแล้วได้แก่ ผนังเซลล์ที่ย่อยไม่ได้ สีของจุลินทรีย์ที่น่ารังเกียจ กลิ่นรสที่ไม่พึงปรารถนา เช่น ในกรณีของสาหร่ายและยีสต์

ปัญหาของการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวอยู่ตรงที่ความปลอดภัย คุณค่าทางอาหารและการยอมรับของผู้บริโภค เนื่องจากว่าอาหารที่ทำจากโปรตีนเซลล์เดียวนั้นประกอบด้วยจุลินทรีย์ทั้งหมด และจุลินทรีย์เหล่านี้ไม่เคยปรากฏว่ามีการใช้ หรือมีการยอมรับในรูปของอาหารมาก่อน ก่อนที่จะนำผลิตภัณฑ์ที่ได้จากโปรตีนเซลล์เดียวมาใช้เป็นอาหารสัตว์ หรืออาหารมนุษย์ก็ตาม ควรมีการทดสอบเพื่อให้แน่ใจว่าไม่เป็นพิษ หรือเป็นอันตรายต่อการบริโภค ซึ่งในการบริโภคสำหรับมนุษย์นั้น ปริมาณกรดนิวคลีอิกที่มีอยู่ในโปรตีนเซลล์เดียวจะมีความสำคัญมากกว่าการใช้เป็นอาหารสัตว์ พบว่าโปรตีนเซลล์เดียวที่ผลิตได้จากเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cereviseae* ที่เจริญในกากน้ำตาล *S.uvarum* ที่เลี้ยงในน้ำเบียร์ *Candida utillis* ที่เจริญในกากน้ำตาลหรือน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตกระดาษ และ *Kluyveromyces* ที่เลี้ยงในหางนม เป็นโปรตีนเซลล์เดียวที่ปลอดภัยต่อการบริโภคสำหรับมนุษย์ (Reed, 1982)

2.8 ข้อควรระวังในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

วัตถุดิบบางชนิดที่ใช้ในการผลิตอาจเป็นสารก่อมะเร็ง เช่น เอ็นพาราฟิน หรือไฮโดรคาร์บอนบางชนิด (Reed, 1982) ซึ่งจากการศึกษาพบว่า เบเกอร์ยีสต์จากประเทศฝรั่งเศส อังกฤษ และรัสเซีย ยีสต์ที่ใช้เป็นอาหารในยุโรป และยีสต์ที่เลี้ยงในน้ำมันก๊าซ หรือไฮโดรคาร์บอนที่ได้มาจากโรงงานอุตสาหกรรมปิโตรเคมีเหล่านี้มีไฮโดรคาร์บอนอยู่ 13 ชนิด รวมทั้งไฮโดรคาร์บอนที่เป็นสารก่อมะเร็งด้วย ได้แก่ 3,4 –เบนไพรีน (3,4-benzpyrene) 1,2,5,6-ไดเบนแซนทราซีน (1,2,5,6-dibenzanthracene) และ เมทิลโคแลนทรีน (methylcholanthrene) (Griummer, 1974; Riviere, 1977) แม้ว่าปริมาณของสารที่พบในยีสต์เหล่านี้จะมีอยู่ต่ำกว่า 0.002 พีพีเอ็ม หรือเพียงเศษหนึ่งส่วนร้อยของที่พบในเนื้อสัตว์รมควันก็ตาม การทดสอบการเกิดมะเร็งในสัตว์ทดลองก็ยังมีความจำเป็นอยู่มาก

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การปนเปื้อนในอาหารเลี้ยงเชื้อ (Payer,1975) ได้ตรวจพบว่าสารพิษจากสิ่งแวดล้อมสามารถปนเปื้อนมากับสาหร่ายได้ แม้ว่าปริมาณที่พบจะมีน้อยกว่าในอาหารชนิดอื่น โลหะหนักบางชนิดที่อยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้ออาจติดมากับโปรตีนเซลล์เดียวได้ นอกจากนี้กระบวนการผลิตจะต้องถูกสุขลักษณะ ทั้งนี้เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่เป็นเชื้อโรค หรือจุลินทรีย์ที่สร้างสารพิษด้วย นอกจากการปนเปื้อนของสารพิษและจุลินทรีย์อื่นๆ ที่ไม่ต้องการแล้วจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจะต้องไม่เป็นเชื้อโรค หรือสามารถสร้างสารพิษได้ ด้วย

2.9 แนวโน้มการใช้โปรตีนของเซลล์เดียวในอนาคต

โปรตีนเซลล์เดียวเป็นอาหารที่มีโปรตีนสูงและสามารถเก็บรักษาไว้ได้เป็นเวลานาน การใช้ประโยชน์หลักของโปรตีนเซลล์เดียว คือเป็นอาหารสัตว์โดยจะเป็นการทดแทนการใช้วัตถุดิบที่มีโปรตีนสูงเช่น อาหารถั่วเหลือง หรืออาหารปลาป่น การผลิตโปรตีนเซลล์เดียวค่อนข้างเสียค่าใช้จ่ายสูง กระบวนการผลิตส่วนใหญ่ต้องกระทำภายใต้สภาวะปราศจากเชื้อจุลินทรีย์อื่นๆ อุปกรณ์ที่ใช้ในกระบวนการผลิตต้องนำมาทำความสะอาด และฆ่าเชื้อได้ โปรตีนเซลล์เดียวที่ผลิตได้จะต้องไม่มีการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์อื่นๆ โดยเฉพาะจุลินทรีย์ที่เป็นเชื้อโรคมนุษย์ นอกเหนือจากการใช้โปรตีนเซลล์เดียวเพื่อเป็นอาหารสัตว์แล้ว การใช้โปรตีนเซลล์เดียวเพื่อเป็นอาหารมนุษย์ก็มีแนวโน้มที่ดี เช่น *Spirulina, Candida utilis, Kluyveromvces fragillis, Saccharomyces carlsbergensis,*
S. cerevisiae และ Fusarium graminarum สามารถใช้เป็นแหล่งอาหารโปรตีนที่สำคัญในอนาคต นอกจากนี้สารที่ได้จากการย่อยสลายของเซลล์เหล่านี้ก็ยังสามารถนำมาใช้เป็นส่วนผสมในอาหารต่างๆ ได้ด้วย การที่โปรตีนเซลล์เดียวจะมีบทบาทสำคัญในวงการอาหารหรือไม่ขึ้นอยู่กับการพัฒนากระบวนการผลิตให้ดีขึ้น โดยอาศัยวิศวกรรมเคมีมาใช้ในการพัฒนากระบวนการหมักทางอุตสาหกรรม การลดต้นทุนการผลิต และการพัฒนาคุณภาพของโปรตีนเซลล์เดียวโดยการปรับปรุงสายเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตโดยวิธีพันธุวิศวกรรม หรือวิธีดีเอ็นเอเทคโนโลยี ตัวอย่างเช่น การปรับปรุงรหัสพันธุกรรมเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของเอนไซม์นิวคลีเอส (nuclease) ในการลดปริมาณกรดนิวคลีอิกในเซลล์ หรือการปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้เซลล์ผลิตกรดอะมิโนเพิ่มมากขึ้น เป็นต้น ซึ่งในอนาคตอันใกล้นี้เป็นที่คาดกันว่าผลิตภัณฑ์อาหารที่มีคุณค่าสูงที่ได้จากโปรตีนจุลินทรีย์จะมีการนำมาใช้ประโยชน์มากยิ่งขึ้น (ดุษณี, 2537)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 การทดลองใช้โปรตีนเซลล์เดียวที่ผลิตจากจุลินทรีย์บางชนิดกับมนุษย์

จุลินทรีย์	รายละเอียด	ผลการทดลอง
สาหร่าย		
Chlorella ผสมกับ *Scenedesmus*	ฆ่าเชื้อที่ 60 องศาเซลเซียส และนำมาเป็นอาหารสำหรับคนหนุ่มที่แข็งแรงจำนวน 5 คน (ปริมาณที่ให้มีตั้งแต่ 10-500 กรัมต่อวัน)	สามารถทนกับปริมาณที่ให้ได้ถึง 100 กรัมต่อวัน แต่ถ้าหากให้ปริมาณสูงกว่านี้ จะทำให้เกิดอาการกับกระเพาะและลำไส้ได้
Scenedusmus spp.	- อาหาร 32 มื้อจะมีการเติมสาหร่ายแห้ง 3-5 กรัมต่อมื้อ 2 ครั้งต่อสัปดาห์ เป็นเวลา 30 เดือน - ปริมาณสูงสุดที่ยอมรับได้คือ สาหร่าย 20 กรัมต่อ 1 คน ให้อาหาร 3 เวลาต่อวัน โดยใช้สาหร่าย 7 กรัมต่ออาหาร 1 มื้อ	ไม่ปรากฏอาการใดๆ การยอมรับของผู้บริโภคจะแตกต่างกันออกไป ขึ้นอยู่กับอายุของผู้บริโภค
Spirulina spp.	นำมาผสมกับอาหารของโรงพยาบาลสำหรับเด็กที่ขาดแคลนอาหาร	ผู้บริโภคยอมรับผลิตภัณฑ์และสามารถทนต่อสาหร่ายได้ หลังจากบริโภคเป็นเวลา 320 วัน การดูดซึมของไนโตรเจนจะต่ำกว่านมหรือถั่วเหลือง
แบคทีเรีย		
Acinetobacter calcoaceticus	ผู้บริโภควัยหนุ่มสาว 50 คน ได้รับน้ำผลไม้ที่ผสมแบคทีเรีย 20 กรัมต่อวัน	8 คนจะมีอาการคลื่นไส้อาเจียนและท้องร่วง
Alcaligenes eutropha (Hydrogenomonas)	ผู้บริโภควัยหนุ่มสาวได้รับเซลล์ 15-25 กรัม	คลื่นไส้ อาเจียน ท้องร่วง และเวียนศีรษะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 การทดลองให้โปรตีนเซลล์เดียวที่ผลิตจากจุลินทรีย์บางชนิดกับมนุษย์(ต่อ)

จุลินทรีย์	รายละเอียด	ผลการทดลอง
ยีสต์ *Candida utilis* (โดยใช้ของเสียจากโรงงานผลิตกระดาษเป็นอาหาร)	คนไข้จากโรงพยาบาลโรคจิตของรัฐ 300 คน ได้รับยีสต์โดยผสมในซุป เนื้อ ขนมอบ ผัก และสลัด ค่าเฉลี่ยในการบริโภคยีสต์คือ 100-379 กรัมต่อเดือน	ผู้บริโภคสามารถทนต่อผลิตภัณฑ์ต่างๆได้ดี ไม่มีอาการคลื่นไส้ อาการแพ้ หรืออาเจียน แต่มีการยอมรับน้อยมากในผลิตภัณฑ์สลัด
รา *Fusarium graminearum*	ผู้บริโภค 100 คน ได้รับเชื้อราในรูปใยราที่ลดปริมาณอาร์-เอ็นเอ แล้วปริมาณ 20 กรัมต่อวัน ในอาหารแป้งเป็นเวลา 30 วัน	ไม่ปรากฏอาการใดๆ หรือเกิดการเปลี่ยนทางชีวเคมี

ที่มา : ดุษณี (2537)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.10 มันสำปะหลัง (cassava, *Manihot esculenta* Crantz)

ชื่อทางวิทยาศาสตร์ : Manihot esculenta

ชื่อทางการค้า : cassava หรือ tapioca

มันสำปะหลังเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญพืชหนึ่งของประเทศไทย และนำรายได้ให้แก่ประเทศไทยปีละหลายหมื่นล้านบาท การปลูกกระทำกันแพร่หลาย แต่แหล่งปลูกที่สำคัญคือในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคตะวันออกเลียบชายฝั่งทะเล การปลูกกันแพร่หลายนั้นก็เนื่องจากความเด่นของพืชนี้เหนือพืชอื่นในหลายลักษณะ เช่น เวลาปลูกไม่จำกัดแน่นอน ปลูกง่ายและสะดวกต่อการดูแลรักษา ให้ผลผลิตในเกณฑ์ดีแม้ปลูกในดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ต่ำ ทนแล้งได้ดี ให้ผลผลิตต่อหน่วยพื้นที่สูงกว่าธัญพืชต่างๆ ไม่ว่าจะเป็น ข้าว ข้าวโพด ข้าวฟ่าง หรือข้าวสาลีก็ตาม และเวลาเก็บเกี่ยวไม่จำกัด

สำหรับเนื้อที่ปลูกและผลผลิตของมันสำปะหลังตั้งแต่ปี พ.ศ. 2518 ถึง พ.ศ. 2529 นั้นได้เพิ่มขึ้นโดยตลอดยกเว้นในปี พ.ศ. 2522 และ พ.ศ. 2529 และมูลค่าของผลผลิตได้เพิ่มขึ้นทุกปีในช่วงระยะเวลาเดียวกัน ซึ่งในปี พ.ศ. 2522 มีพื้นที่ปลูกต่ำสุดยังมีมูลค่าส่งออกถึง 9,800 ล้านบาทเศษ สำหรับผลผลิตมันสำปะหลัง 2 ตันเศษต่อไร่นั้น ยังนับว่าอยู่ในเกณฑ์ต่ำ ถ้าหากสามารถจะยกระดับให้เพิ่มขึ้นเป็น 3 ตันต่อไร่ หรือสูงกว่านั้น รายได้ย่อมเพิ่มขึ้นเป็นเงาตามตัว และการยกระดับผลผลิตนั้นก็ไม่ยาก เช่นใช้การเขตกรรม ปราบวัชพืช ใส่ปุ๋ย ฯลฯ ที่ถูกต้องเป็นต้น

เนื่องจากหัวมันสำปะหลังสามารถแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ ได้มากชนิด เช่น ทำเป็นมันเส้น มันอัดเม็ด เพื่อใช้เลี้ยงสัตว์ ทำเป็นแป้งประกอบอาหารสำหรับมนุษย์ เป็นวัตถุดิบใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น กาว กระดาษ ผงชูรส เป็นต้น นอกจากนั้นการพัฒนาอุตสาหกรรมใช้มันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบ เพื่อผลิตแป้งแปรรูป (modified starch) น้ำตาลฟรุคโตส และแอลกอฮอล์ควรได้รับการส่งเสริม เพื่อจะได้นำวัตถุดิบจากมันสำปะหลังที่ผลิตได้มาใช้ภายประเทศให้มากขึ้นโดยไม่ต้องพึ่งตลาดต่างประเทศแต่อย่างเดียว การพัฒนาการปลูก การใช้ประโยชน์ ตลอดจนอุตสาหกรรมมันสำปะหลังดังกล่าว จะนำมาซึ่งงาน รายได้ และความผาสุกของสังคมไทยในที่สุด (ไสว, 2534)

2.10.1 ประวัติและถิ่นกำเนิดของมันสำปะหลัง

มันสำปะหลังเป็นพืชดั้งเดิมของชาวพื้นเมือง (อเมริกันอินเดียน) ในเขตร้อนของทวีปอเมริกา ตั้งแต่อเมริกากลางคือตอนใต้ของประเทศเม็กซิโกลงไปถึงประเทศบราซิล ชนเหล่านี้ปลูกมันสำปะหลังเพื่อใช้เป็นอาหาร จากหลักฐานทางโบราณคดีได้พบเครื่องปั้นดินเผาเป็นรูปหัวมันสำปะหลังที่ประเทศเปรู เครื่องปั้นนี้มีอายุประมาณ 2,500 ปี ซึ่งแสดงว่ามนุษย์รู้จักปลูกมัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

สำปะหลังมาไม่ต่ำกว่า 2,500 ปี ในสมัยโบราณก่อนที่คริสโตเฟอร์โคลัมบัสสำรวจพบทวีปอเมริกา ในปี พ.ศ. 2035 ก็มีการปลูกมันสำปะหลังอยู่เฉพาะในเขตร้อนของทวีปอเมริกาเท่านั้น ส่วนในทวีปแอฟริกาและเอเชียยังไม่มีการปลูกมันสำปะหลัง เพราะยังไม่มีการติดต่อซึ่งกันและกัน หลังจากนั้นจึงมีผู้นำมันสำปะหลังจากทวีปอเมริกาไปยังทวีปแอฟริกาและเอเชียตามลำดับ

ประมาณกลางศตวรรษที่ 16 ชาวโปรตุเกสได้นำมันสำปะหลังจากบราซิลในทวีปอเมริกาใต้ไปยังทวีปแอฟริกา ในปัจจุบันมันสำปะหลังก็ยังคงเป็นพืชที่ใช้เป็นอาหารหลักที่สำคัญของชาวแอฟริกาอยู่ระหว่างคริสต์ศตวรรษที่ 17-18 ชาวโปรตุเกส ฮอลันดา และสเปน ได้แพร่มันสำปะหลังเข้าไปยังประเทศต่างๆ ในทวีปเอเชียไม่มีหลักฐานปรากฏแน่นอนว่า มีการนำมันสำปะหลังมาสู่ประเทศไทยเมื่อไร แต่สันนิษฐานกันว่าคงมีผู้นำเข้ามาจากประเทศมาเลเซียแห่งใดแห่งหนึ่ง เพราะคำว่ามันสำปะหลังคล้ายกับคำในภาษาชวาตะวันตก ซึ่งเรียกมันสำปะหลังว่า สัมเปอ (sampue) ซึ่งมีความหมาย เหมือนคำยูนิคายุในภาษามาเลย์ ซึ่งแปลว่า พืชที่มีรากขยายใหญ่

การปลูกมันสำปะหลังเป็นการค้าครั้งแรกในประเทศไทยนั้นปลูกในภาคใต้ โดยปลูกระหว่างแถวต้นยางพาราขนาดเล็ก ส่วนผลผลิตที่ได้นำไปจำหน่ายแต่โรงงานทำแป้งและโรงงานทำสาคูขนาดเล็กชั่วคราว แต่การปลูกมันสำปะหลังเป็นการค้าในภาคใต้นั้นค่อยๆ หมดไป เพราะปลูกกันในระหว่างแถวยางพาราและพืชยืนต้นอื่นๆ ซึ่งปลูกได้ประมาณ 4-5 ปี ต้นยางพาราก็โตคลุมพื้นที่หมดและไม่สามารถปลูกมันสำปะหลังได้อีกต่อไป สำหรับการปลูกมันสำปะหลังเป็นการค้าแพร่หลายในปัจจุบันนี้ เริ่มมาตั้งแต่หลังสงครามโลกครั้งที่ 2 เพราะในระยะนั้นญี่ปุ่นขาดวัตถุดิบ และได้เริ่มสั่งแป้งมันสำปะหลังจากประเทศไทย เมื่อประมาณปี พ.ศ. 2491 ในขณะที่สภาพภูมิประเทศริมฝั่งทะเลภาคตะวันออกของประเทศไทย คือ จังหวัดชลบุรี และระยอง มีลักษณะเป็นเนินเขาลาดเอียง ดินเป็นดินทราย ไม่มีแม่น้ำใหญ่ที่จะทำการชลประทาน พื้นที่ดังกล่าวไม่เหมาะแก่การทำนาและพืชไร่ชนิดอื่น ชาวบ้านจึงเริ่มปลูกมันสำปะหลังกัน ปรากฏว่าการปลูกมันสำปะหลังได้ผลดีจนกลายเป็นอาชีพที่แพร่หลายอย่างรวดเร็ว นอกจากญี่ปุ่นที่เป็นลูกค้าประจำแล้ว ในเวลาต่อมาประเทศสหรัฐอเมริกาและประเทศเพื่อนบ้านของไทย ก็ได้สั่งแป้งมันสำปะหลังจากไทย จึงทำให้โรงงานแป้งมันสำปะหลังเพิ่มขึ้นและทันสมัยขึ้น ควบคู่ไปกับพื้นที่ปลูกที่ขยายออกไปมากยิ่งขึ้น(ไสว, 2534)

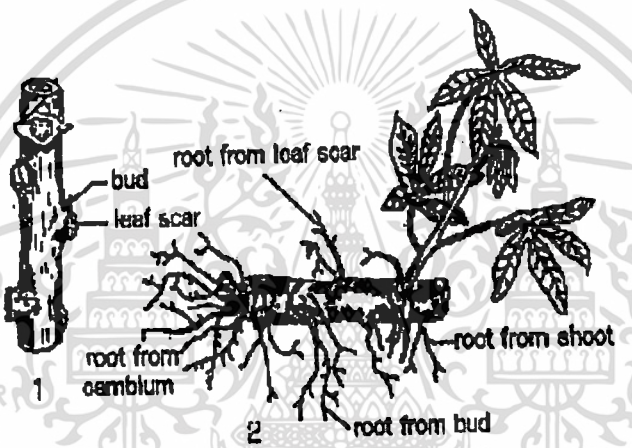
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

54637

2.10.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของมันสำปะหลัง

1. ราก

มันสำปะหลังที่ปลูกด้วยท่อนพันธุ์มีระบบรากฝอย (fibrous root system) โดยมี adventitious root งอกออกมาจากแคมเบียม (cambium) ของลำต้นที่ใช้เป็นท่อนพันธุ์ นอกจากนี้รากอาจงอกออกมาจากส่วนต่างๆ ของท่อนพันธุ์ได้อีก เช่น รอยแผลใบ (leaf scar) และตา (bud) แต่ส่วนมากรากที่งอกมาจากแคมเบียมเท่านั้นที่ขยายใหญ่เป็นหัว (thickened root) ดังรูปที่1



รูที่ 1 แสดงระบบรากของมันสำปะหลัง
ที่มา : จำลอง(2545)

มันสำปะหลังจะเริ่มสร้างหัวเมื่ออายุ 1.5-2 เดือน หลังจาก 3 เดือนไปแล้ว จำนวนหัวจะไม่เพิ่มขึ้น แต่จะเพิ่มขนาดของหัว จำนวน รูปร่าง ขนาด และสีของหัวแตกต่างไปตามพันธุ์ จำนวนหัวต่อต้นประมาณ 5-15 หัว หัวมีขนาดกว้าง 3-15 เซนติเมตร และยาว 15-100 เซนติเมตร รูปร่างมีหลายแบบ เช่น รูปกรวย ทรงกระบอก หรือมีลักษณะกลมตรงกลางและปลายทั้งสองเรียวเล็ก ทิศทางของหัวที่ลงในดินมีทั้งแบบแนวดิ่ง (vertical) แนวราบ (horizontal) และแบบไม่แน่นอน (irregular)

หัวมันสำปะหลังเมื่อตัดตามขวางจะพบส่วนประกอบ ดังนี้

1. เปลือกชั้นนอก (periderm) เป็นชั้นของเซลล์ผิวชั้นนอก (epidermal cell) และชั้นของคอร์ก (cork layer) รวมกันเป็นชั้นบางๆ ผิวเรียบหรือหยาบขรุขระ มีสีแตกต่างกันไปตามพันธุ์ เช่น ขาว ครีม น้ำตาลอ่อน หรือน้ำตาลเข้ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. เปลือกชั้นใน (cortical region) หนาประมาณ 0.1-0.3 เซนติเมตร เป็นส่วนของคอร์เทกซ์ (cortex) และส่วนของกลุ่มโฟลเอ็ม (phloem bundle) มีหลายสีแตกต่างไปตามพันธุ์ เช่น ขาว ครีม ชมพู ม่วง หรือน้ำตาล

เปลือกชั้นนอกและเปลือกชั้นในนี้รวมกันเรียกว่า peel

3. ส่วนสะสมแป้งหรือไส้กลาง (starchy flesh หรือ central pith) ประกอบด้วยเซลล์พาเรนไคมา (parenchyma cell) กลุ่มท่อน้ำ (xylem bundle) และท่อน้ำยาง (latex tube) เป็นต้น ชั้นนี้จะสะสมแป้งประมาณ 20-40 เปอร์เซ็นต์ ที่เหลือเป็นน้ำ ปกติมีสีขาว แต่อาจมีสีเหลืองหรือชมพู ขึ้นอยู่กับพันธุ์

2. ลำต้น

เป็นไม้เนื้อแข็ง สูง 1-5 เมตร ความสูงแตกต่างไปตามพันธุ์ พันธุ์ที่ไม่แตกกิ่งจะสูงกว่าพันธุ์ที่แตกกิ่ง กิ่งที่แตกออกจากลำต้นหลัก เรียกว่า กิ่งชุดแรก (primary branch) และกิ่งที่แตกจากกิ่งชุดแรก เรียกว่า กิ่งชุดที่สอง (secondary branch) พันธุ์ที่เริ่มแตกกิ่งเมื่ออายุน้อยจะเป็นพันธุ์ที่แตกกิ่งต่ำ ส่วนพันธุ์ที่เริ่มแตกกิ่งเมื่ออายุมากจะเป็นพันธุ์ที่แตกกิ่งสูง มันสำปะหลังบางพันธุ์แตกกิ่งหลายครั้งจนมองดูเป็นพุ่มเตี้ย มันสำปะหลังจะแตกกิ่งเป็นแบบ 2 กิ่ง (dichotomous branching) หรือ 3 กิ่ง (trichotomous branching) มุมของการแตกกิ่งอาจเป็นมุมแคบซึ่งจะทำให้กิ่งตั้งขึ้น ถ้าเป็นมุมกว้างกิ่งจะออกแนวนอน บนลำต้นจะเห็นรอยของก้านใบที่หลุดร่วงไปเรียกว่า รอยแผลใบ (leaf scar) ระหว่างรอยแผลใบเรียกว่า ความยาวของชั้น (storey length) ซึ่งจะถี่หรือห่างขึ้นกับพันธุ์และสภาพแวดล้อม ลักษณะของรอยแผลใบจะนูนเด่นมากน้อยขึ้นกับพันธุ์ เหนือรอยแผลใบมีตา (bud) ลำต้นมีสีแตกต่างกันไป เช่น เทา-เงิน เขียว เหลือง แดง หรือน้ำตาล ลำต้นที่อายุน้อยจะมีสีเขียว

3. ใบ

เป็นใบเดี่ยว เกิดเวียนสลับรอบลำต้น (spiral) มีการจัดเรียงตัว (phyllotaxy) เท่ากับ 2/5 แผ่นใบเว้าลึกเป็นแฉก (lobe) แบบ palmate มีจำนวน 3-7 แฉก แต่โดยทั่วไปมี 3-5 แฉก ภายในต้นเดียวกันใบอาจมีจำนวนแฉกไม่เท่ากันได้ ใบใกล้ๆ ช่อดอกมีขนาดเล็ก และมีเพียง 1-3 แฉกเท่านั้น รูปร่างของแฉกมีหลายแบบ เช่น รูปร่างคล้ายไวโอลิน (pandurate) ใบแคบยาว (linear) ใบรูปหอก (lanceolate) หรือ รูปไข่ (ovate) แต่แฉกที่อยู่ตรงกลางค่อนข้างจะคงที่ในแต่ละพันธุ์ ใบมีก้านใบ (petiole) ยาว 5-30 เซนติเมตร ซึ่งยาวกว่าแผ่นใบ สีก้านใบและสีเส้นกลางใบแตกต่างกันไป เช่น เขียว แดง แดงปนเขียว หรือม่วง ที่โคนก้านใบติดกับลำต้นมีหูใบ (stipule) รูปร่างแบบรูป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หอก ยาวประมาณ 1 เซนติเมตร จำนวน 3-5 อัน ใบอ่อนที่ยังไม่คลี่มีสีแตกต่างกัน เช่น เขียวอ่อน เขียวเข้ม แดง หรือม่วง บางพันธุ์มีขนอ่อน (pubesence) ที่ยอด แต่บางพันธุ์ไม่มี

4. ช่อดอกและดอก

มันสำปะหลังมีช่อดอกแบบ panicle เกิดตรงจุดที่มีการแตกกิ่ง พันธุ์ที่ไม่แตกกิ่งจึงไม่มีดอก มันสำปะหลังเป็นพืชพวก monoecious ดอกตัวผู้มีขนาดเล็กอยู่ส่วนบนของช่อดอก ดอกตัวเมียมีขนาดใหญ่กว่าอยู่ส่วนล่างของช่อดอก ดอกตัวผู้มีก้านดอก (pedicel) ยาว 0.5-1.0 เซนติเมตร มีกลีบเลี้ยง (sepal) 5 กลีบ มีสีต่างๆ กัน เช่น ขาว ส้ม เขียว แดง หรือม่วง ไม่มีกลีบดอก (petal) มีเกสรตัวผู้ (stamen) 10 อัน เรียงตัวเป็น 2 วงๆ ละ 5 อัน วงในมีก้านเกสรตัวผู้ (filament) สั้น วงนอกมีก้านยาว ดอกตัวเมียมีก้านดอกยาว 1.0-2.5 เซนติเมตร มีกลีบเลี้ยง 5 กลีบ ไม่มีกลีบดอก รังไข่ (ovary) มี 3 คาร์เพล (carpel) แต่ละคาร์เพลมี 1 ออวุล (ovule) ดอกตัวเมียจะบานช้ากว่าดอกตัวผู้ประมาณ 7-10 วัน

5. ผลและเมล็ด

ผลเป็นแบบ capsule มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1-1.5 เซนติเมตร ผลมีปีก (wing) แคบๆ 6 ปีก ทอดไปตามความยาวของผล หลังจากผสมเกสรแล้วประมาณ 3-5 เดือน ผลจะแก่ เปลือกของผลจะแห้ง และแตกออกตามความยาวของผล ดีดเมล็ดกระจายออกไป

เมล็ดมีขนาดกว้าง 0.75 เซนติเมตร ยาว 1 เซนติเมตร และหนา 0.5 เซนติเมตร มีสีน้ำตาลลายดำ คล้ายเมล็ดละหุ่งแต่เล็กกว่า รอยของก้านออวุลที่เหลืออยู่ (raphe) มีลักษณะเป็นสันนูนขึ้นทางด้านหนึ่งของเมล็ด ด้านล่างของเมล็ดมีส่วนที่มีลักษณะคล้ายฟองน้ำ (caruncle) ซึ่งอาจมีสีขาว ชมพู หรือม่วง(จำลอง, 2545)

2.10.3 การจำแนกมันสำปะหลัง

มันสำปะหลังแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด ตามปริมาณของกรดไฮโดรไซยานิก (hydrocyanic acid, HCN) และการนำไปใช้ประโยชน์ คือ

1. ชนิดหวาน (sweet type) หรือพันธุ์สำหรับใช้บริโภคหัวโดยตรง เป็นพันธุ์ที่มีปริมาณของกรดไฮโดรไซยานิกต่ำทำให้ไม่มีรสขม สามารถปอกเปลือกรับประทานดิบได้ เช่น พันธุ์ห้านาที และมันสวน พันธุ์พวกนี้มีอายุเก็บเกี่ยวสั้นประมาณ 6 เดือน หลังจากปลูก ถ้าปล่อยทิ้งไว้ในดิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นาน 9-11 เดือน หัวจะเน่าเสียหายมาก และพันธุ์ระยอง 2 ซึ่งเป็นพันธุ์ที่กรมวิชาการเกษตรปรับปรุงขึ้นมาใช้สำหรับทอดเป็นแผ่นบางชนิดเดียวกับ potato chips

2. พันธุ์ชนิดขม (bitter type) เป็นพันธุ์ที่มีปริมาณของกรดไฮโดรไซยานิกสูง และมีรสขม ปกติมีอายุเก็บเกี่ยวนานประมาณ 1 ปี แต่ถ้าปล่อยไว้นาน 3-4 ปี โดยไม่เก็บเกี่ยว หัวจะเน่าเสียหายน้อย พันธุ์นี้มีพื้นที่ปลูกมากที่สุดหลายล้านไร่ เป็นพันธุ์ปลูกส่งโรงงานอุตสาหกรรมเพื่อผลิตเป็นมันเส้น มันอัดเม็ด และแป้ง ภายในหัวจะประกอบด้วยแป้งเป็นส่วนใหญ่ และจะใช้เป็นอาหารของต้นอ่อนในช่วงเริ่มงอก ขนาดและความแข็งแรงของต้นอ่อนมักขึ้นอยู่กับปริมาณอาหารจากหัวซึ่งจะเคลื่อนไปหล่อเลี้ยงต้นอ่อนที่งอก ชิ้นส่วนของหัวที่ใช้ปลูกควรมีน้ำหนักอย่างน้อย 40 กรัม เพื่อให้ได้หน่อที่สมบูรณ์และผลผลิตสูง

แต่เดิมปลูกพันธุ์เดียวคือพันธุ์ดั้งเดิมที่มีผู้นำเข้ามาในประเทศเป็นเวลานาน ผ่านการปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดีจนจัดเป็นพันธุ์พื้นเมือง ต่อมากรมวิชาการเกษตรได้ทำการคัดเลือกพันธุ์จากแหล่งปลูกทั่วไป พบว่าพันธุ์ที่ปลูกในจังหวัดระยองให้ผลผลิตดีที่สุด จึงตั้งชื่อใหม่ว่าพันธุ์ระยอง 1 ลักษณะทรงต้นสูงใหญ่แข็งแรง ความงอกดี เก็บต้นไว้ทำพันธุ์ได้นานให้ผลผลิตค่อนข้างสูง ต้านทานต่อโรคและแมลงได้ดี แต่มีเปอร์เซ็นต์แป้งต่ำโดยเฉพาะในฤดูฝน ต่อมามีการพัฒนาปรับปรุงพันธุ์มันสำปะหลัง โดยมีหน่วยงานของราชการอย่างน้อย 2 แห่งที่ดำเนินการในเรื่องนี้ หน่วยงานแรก คือ กรมวิชาการเกษตร มีศูนย์วิจัยอยู่ที่จังหวัดระยอง ฉะนั้นพันธุ์ใหม่ๆจึงมีชื่อว่าพันธุ์ระยอง เช่น ระยอง 2 ระยอง 3 ระยอง 5 ระยอง 60 และระยอง 90 ส่วนอีกหน่วยงานหนึ่งคือ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ มีสถาบันวิจัยอยู่ที่อำเภอศรีราชา จังหวัดชลบุรี จึงใช้ชื่อพันธุ์ใหม่ว่าศรีราชา 1 และเกษตรศาสตร์ 50 ซึ่งตั้งชื่อเพื่อเป็นการร่วมฉลองในโอกาสที่มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ก่อตั้งมาครบ 50 ปีใน พ.ศ. 2536

3. พันธุ์ที่ใช้ประดับ นิยมปลูกตามบ้านเพื่อความสวยงาม เนื่องจากใบมีแถบสีขาวและเหลืองกระจายไปตามความยาวของใบจึงเรียกว่า มันด่าง และยังมีพันธุ์อีกชนิดหนึ่งเป็นพันธุ์ป่า มีลักษณะเป็นไม้พุ่มถึงใหญ่ ใช้ปลูกเพื่อให้ร่มเงา พบมากแถบจังหวัดชลบุรี และระยอง (นพพร และ คณะ, 2542)

2.10.4 การใช้ประโยชน์จากมันสำปะหลัง

เนื่องจากหัวมันสำปะหลังมีแป้ง โปรตีน และไขมันค่อนข้างสูงจึงสามารถใช้เป็นอาหารมนุษย์และสัตว์ได้อย่างดี ประโยชน์ที่ได้จากหัวมันสำปะหลังจำแนกได้ดังนี้

1. ใช้เป็นอาหารมนุษย์ โดยใช้เป็นอาหารหลักและอาหารเสริม มันสำปะหลังที่ผลิตได้ในโลกประมาณ 95 เปอร์เซ็นต์ ใช้เป็นอาหารของมนุษย์ การใช้เป็นอาหารของมนุษย์อาจจะใช้การ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต้ม นึ่ง ย่าง เผา เชื่อม และแกงบวชเป็นต้น ส่วนประกอบของหัวมันสำปะหลังนั้นจะมีส่วนที่รับประทานได้มีโปรตีนและไขมันในปริมาณที่พอสมควร

ตารางที่ 4 อัตราเฉลี่ยส่วนประกอบของหัวมันสำปะหลัง

ส่วนประกอบ	ร้อยละ
ส่วนที่รับประทานได้	81.40
ความชื้น	63.80
เถ้า	1.44
โปรตีน	0.96
ไขมัน	0.26
กรดไฮโดรไซยานิค	0.02
กาก	0.85
แป้ง	27.65
Nitrogen free extract(N.F.E.) และอื่นๆ	5.04

ที่มา : ไสว(2534)

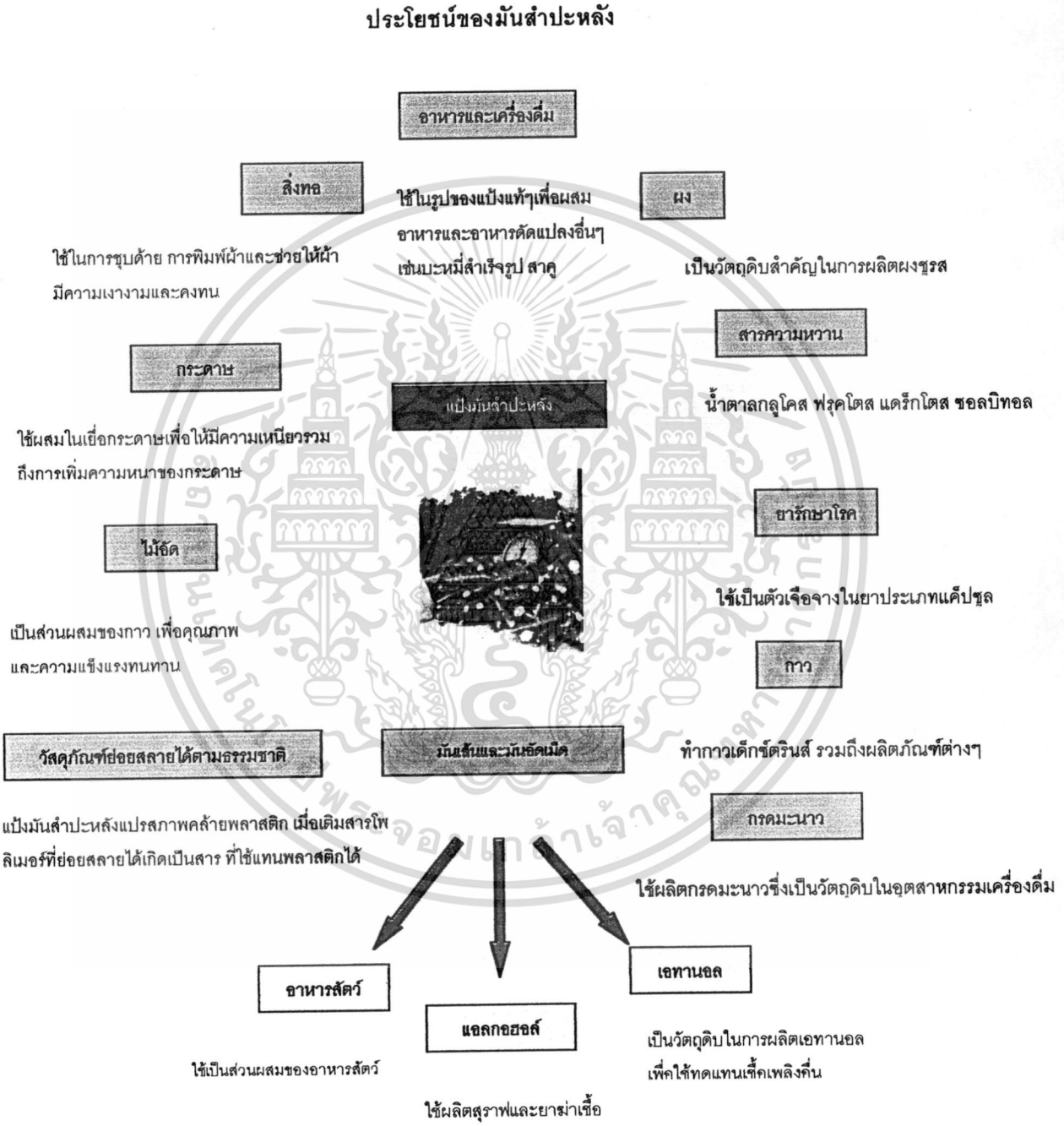
2. ใช้ในอุตสาหกรรมทำแป้งและอุตสาหกรรมอื่นๆ เช่น แป้งมันสำปะหลังใช้เป็นอาหารของมนุษย์โดยตรง ทำสาคู ขนมปัง สารเพิ่มความเหนียว วัตถุดิบทางเคมีบางอย่าง เช่น พลาสติก น้ำยาฟอกหนัง อุตสาหกรรมน้ำตาล เช่น กลูโคส เด็กโทรส อุตสาหกรรมกระดาษ ทอผ้า ลูกกวาด อาหารกระป๋อง ผงชูรส และสีผสมอาหารเป็นต้น

3. ใช้หมักทำแอลกอฮอล์ ยีสต์ เบียร์และขนมปัง ในสภาวะที่น้ำมันเบนซินมีราคาแพงดังในปัจจุบันนี้ สามารถที่จะใช้หัวมันสำปะหลังหมักเป็นแอลกอฮอล์เพื่อใช้แทนน้ำมันเบนซินสำหรับเครื่องยนต์ได้

4. ใช้เป็นอาหารสัตว์ โดยทำเป็นมันเส้น (tapioca chip) มันสำปะหลังอัดเม็ด (pellets) มันสำปะหลังป่น (tapioca meal) และกากมันสำปะหลัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากหัวมันสำปะหลังแล้วใบอ่อนยังใช้รับประทานแทนผักได้ ส่วนลำต้นแก่ก็สามารถนำไปผลิตเป็นไม้อัดได้ (ไสว, 2534)



รูปที่ 2 แสดงการใช้ประโยชน์ประโยชน์จากมันสำปะหลัง

ที่มา : www.dft.moc.go.th

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.10.5 น้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปมันสำปะหลัง

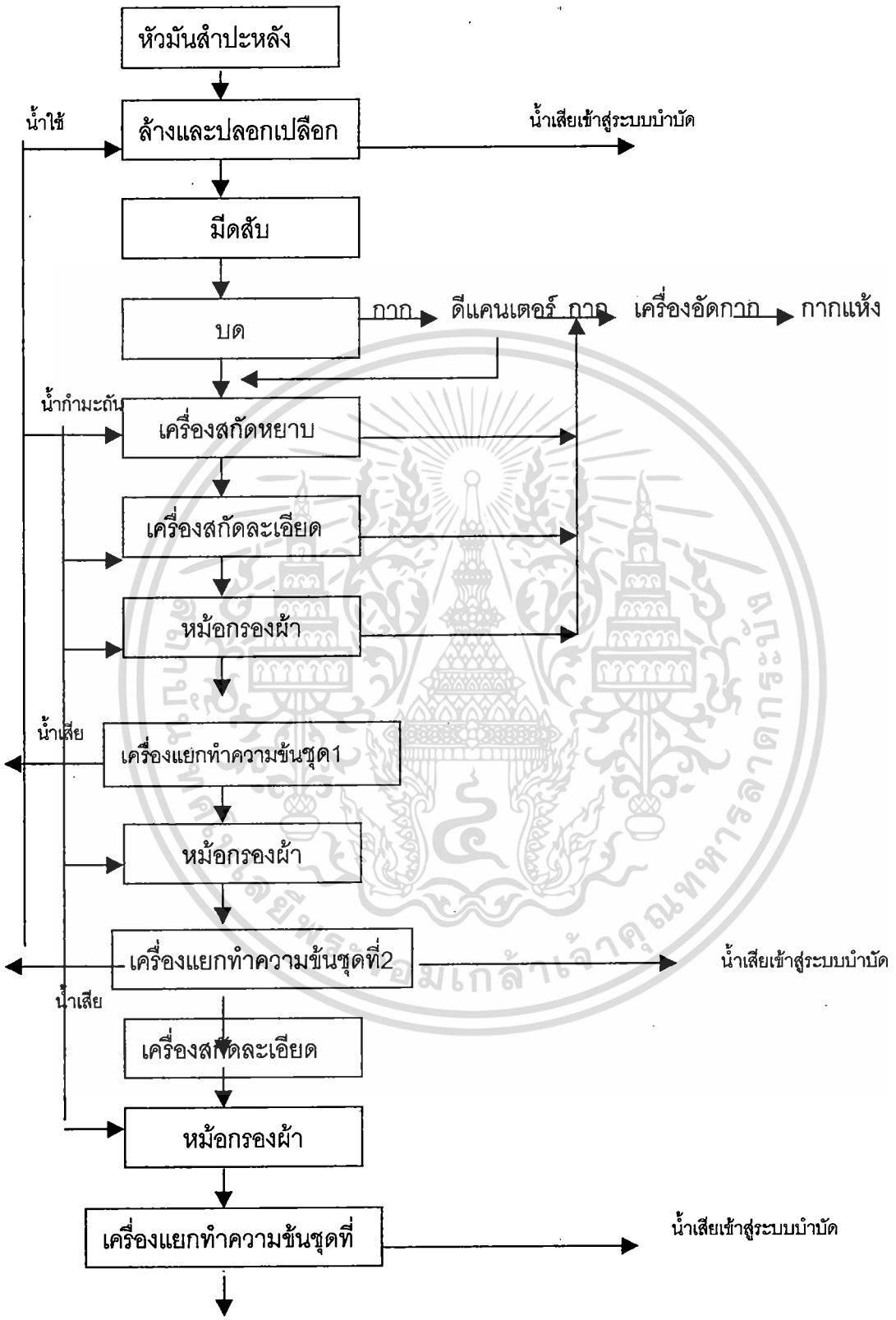
น้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปมันสำปะหลังสามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว ซึ่งสามารถนำไปใช้เป็นอาหารเลี้ยงสัตว์เนื่องจากประกอบด้วยกรดอะมิโนหลายชนิดที่สัตว์ต้องการ กระบวนการแปรรูปมันสำปะหลังดังรูปที่ 3 ในน้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังนั้นจะมีองค์ประกอบต่างๆ ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 องค์ประกอบและคุณสมบัติของน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตแป้งมัน

Parameter	Unit	Value rang
Suspended solids	mg/l	1670-2650
Volatile suspended solids	mg/l	1400-1880
Total solid	%	1.28-2.48
Total insoluble solids	%	0.63-1.16
Soluble protein	%	0.12-0.15
Starch	mg/l	1560-2620
Insoluble carbohydrates	mg/l	2360-3550
Total organic carbon	mg/l	3950-5180
(TOC)	mg/l	7980-12800
BOD	mg/l	5460-9970
Soluble COD	mg/l	11870-18200
Total COD	%	0.65-1.18
Sugars	mg/l	60.0-81.0
Phosphate	mg/l	48.0-63.0
Sulphate	mg/l	328.0-485.0
Total Kjeldahl-N		3.2-4.4
pH	°C	30-38
Temperature		

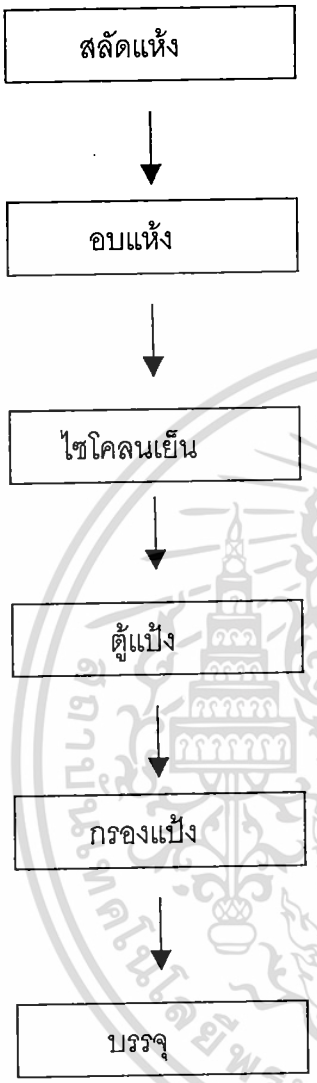
ที่มา : Jin และคณะ (1999)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3 แสดงขบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังของบริษัทแป้งมันอีสานจำกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3 แสดงขบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังของบริษัทแป้งมันอีสานจำกัด (ต่อ)

ที่มา : โครงการศึกษาเพื่อประเมินปริมาณสารมลพิษอุตสาหกรรมทางน้ำจากอุตสาหกรรมในประเทศไทย จัดทำโดย บริษัท ซีเอชเอ็มเอ็นจิเนียริ่ง แอนด์ แมเนจเม้นท์จำกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.11 การทดลองและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Calrtonc และคณะ (1984) ศึกษาการเปลี่ยนแป้งมันสำปะหลังเป็นมวลชีวภาพ คาร์โบไฮเดรตและกรด โดยเชื้อ *Aspergillus niger* ซึ่งใช้เวลาในการหมัก 42 ชั่วโมงพบว่าแป้งถูกใช้ไปร้อยละ 70 และได้ผลผลิตมวลชีวภาพ 0.38 กรัมน้ำหนักแห้ง น้ำตาลรีดิวซ์ 1.14 มิลลิโมล และกรด 1.17 meq โดยน้ำตาลที่พบได้แก่ maltoltriose maltose glucose กรดที่พบได้แก่ citric malic gluconic succinic และ fumalic จากทดสอบโดย chromato focusing electrophoresis พบว่า *Aspergillus niger* มี extracellular enzyme ที่มีคุณสมบัติในการย่อยแป้งดิบ เอนไซม์ amyloglucosidase (EC.3.1.2.3) α-amylase (EC.3.2.1.1) และα-glucosidase (EC.3.2.1.20) ซึ่งจากคุณสมบัติของเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิดนี้ ทำให้ *Aspergillus niger* สามารถใช้แป้งเป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญเติบโตได้

Doelle และคณะ (1999) ทำการศึกษาหาสภาวะที่เหมะสมในการผลิตการผลิตมวลชีวภาพและเอนไซม์กลูโคอะมัยเลสโดย *Rhizopus oligosporus* จากน้ำทิ้งกระบวนการผลิตแป้ง พบว่าพีเอช
เริ่มต้น 4.0 ปริมาณมวลชีวภาพมากที่สุดคือ 4.6 กรัมต่อลิตร และสามารถลดค่า COD ลงได้ถึงร้อยละ96 ดังนั้นจะเลือกใช้ พีเอช 4.0 เป็นพีเอชเริ่มต้นในการเลี้ยงเชื้อรา *R oligosporus* ในการผลิตมวลชีวภาพและเอนไซม์กลูโคอะมัยเลส

Gregory และ Reade (1975) ทำการศึกษาการผลิตโปรตีนเสริมอาหารสัตว์จากมันสำปะหลังในสภาวะไม่ปลอดเชื้อโดยเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* ซึ่งสามารถทนต่ออุณหภูมิสูงและผลิตเอนไซม์อะมัยเลสได้ สภาวะที่ใช้ในการทดลองคือ พีเอชเริ่มต้นที่ 3.5 และอุณหภูมิมากกว่า 45 องศาเซลเซียส และทำการหมักเป็นเวลา 20 ชั่วโมง ซึ่งให้ผลผลิตคาร์โบไฮเดรตประมาณร้อยละ 4 น้ำหนักเซลล์แห้ง 24 กรัม และยังพบอีกว่าอาหารที่เตรียมจากมันสำปะหลังมีการยับยั้งเชื้อราได้น้อยกว่าอาหารจากเนื้อมันสำปะหลังที่ถูกให้ความร้อน 70 องศาเซลเซียส

Jin และคณะ (1998) ศึกษาลักษณะทางกายภาพของเส้นใยราและการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวของ *Aspergillus oryzae* DAR 1679, 3699 และ 3863 ในน้ำทิ้งจากขบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังพบว่าการเจริญของเชื้อราดังกล่าวจะมีลักษณะเป็นกลุ่มก้อนของใยราซึ่งจะมีการเปลี่ยนแปลงไปตามพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ และอัตราเร็วของการให้อากาศโดยทำการเพาะเลี้ยงใน air lift fermenter

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 วัสดุอุปกรณ์

1. จุลินทรีย์

เชื้อราที่ใช้มีดังนี้ *Aspergillus oryzae* TISTR 3019, TISTR 3086, TISTR 3065 และTISTR 3013

Rhizopus oligosporus TISTR 3001, TISTR 3532, TISTR 3527 และTISTR 3158

Rhizopus arrhizus TISTR 3247

Trichoderma reesei TISTR 3081

Trichoderma viride TISTR 3167

ยีสต์ที่ใช้มีดังนี้ *Endomycopsis fibuliger*a TISTR 5097

2. อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

2.1 อาหารสูตร Potato dextrose agar (PDA)

2.2 อาหารสูตร YM

2.3 น้ำทิ้งที่ได้จากโรงงานอุตสาหกรรมผลิตแป้งมันสำปะหลัง

3. เครื่องมือและอุปกรณ์

3.1 เครื่องวัดพีเอช (pH meter)

3.2 เครื่องชั่งชนิด 4 ตำแหน่ง

3.3 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer)

3.4 เครื่องย่อย (digestibility)

3.5 เครื่องกลั่น (distillation)

3.6 เครื่องควบแน่น (condensor)

3.7 เครื่องระเหย (evaporator)

3.8 เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge)

3.9 เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (incubator shaker)

3.10 เครื่องอบลมร้อน (hot air oven)

3.11 เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อไอน้ำ (autoclave)

3.12 เดซิกเคเตอร์ (desiccator)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 วิธีการทดลอง

1. การเตรียมหัวเชื้อ

เตรียมสารละลายสปอร์เชื้อรา โดยเตรียมจากเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA บ่มไว้ที่ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน เก็บเกี่ยวสปอร์ของราที่เจริญบนผิวหน้าอาหารในแต่ละหลอดใส่ในน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 10 มิลลิลิตร สารละลายเชื้อที่ได้จะอยู่ระหว่าง $1x10^7$ และ $1x10^8$ สปอร์หรือเซลล์/มิลลิลิตร ซึ่งนำมาวัดโดย haemacytometer

เตรียมสารละลายเชื้อยีสต์ โดยเตรียมจากเชื้อยีสต์ที่เจริญบนอาหาร YM บ่มไว้ที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง เก็บเกี่ยวเซลล์ยีสต์ที่เจริญบนผิวหน้าอาหาร ใส่ในน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 10 มิลลิลิตร นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสง (OD) ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ให้ได้ค่าประมาณ 0.5

2 ศึกษาสภาวะในการเลี้ยงเชื้อจากน้ำทิ้งในสภาวะไม่ปลอดเชื้อ

เลี้ยงเชื้อราและยีสต์ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปแป้งมันสำปะหลัง ใน ฟลากส์ ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำเสียจากกระบวนการผลิตลงไป 100 มิลลิลิตร นำมาปรับ pH เป็น 3.5 4.0 4.5 และ 5.0 โดยใช้ 1 โมลของ NaOH หรือ 1 โมลของ HCl และใส่หัวเชื้อร้อยละ 2.5 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ของสปอร์ของราหรือสารละลายเซลล์ของยีสต์ ไปบ่มบนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ ที่ความเร็วรอบ150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง เก็บตัวอย่าง10 มิลลิลิตรมาวิเคราะห์การลดลงของค่า TOC COD และความสามารถในการย่อยแป้ง ซึ่งการเพาะเลี้ยงและการเก็บตัวอย่างจะทำในสภาวะที่ไม่ปลอดเชื้อ

3. การคัดเลือกชนิดของเชื้อราที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

เลี้ยงเชื้อราและยีสต์ทั้ง 6 สายพันธุ์ ในน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังตามสภาวะในข้อ 2 และคัดเลือกเชื้อราที่เหมาะสม โดยดูจากความสามารถในการย่อยแป้ง การลดลงของค่า TOC อัตราการเจริญจำเพาะ และลักษณะของมวลชีวภาพของเชื้อราเหล่านี้ เพื่อนำมาใช้ในการศึกษาต่อไป

4. คัดเลือกสายพันธุ์ของเชื้อราที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

เลี้ยงเชื้อราที่ได้จากข้อ 3 ในน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังตามสภาวะในข้อ 2 และทำการคัดเลือกสายพันธุ์ของเชื้อราที่เหมาะสม โดยดูจากปริมาณโปรตีนในมวลชีวภาพ น้ำหนักเซลล์แห้งของมวลชีวภาพ การลดลงของค่าซีโอดี อัตราการเจริญจำเพาะ และลักษณะของมวลชีวภาพที่ได้ ทำการคัดเลือกเชื้อราที่เหมาะสมเพื่อทำการศึกษาต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. นำสายพันธุ์ของเชื้อราที่คัดเลือกได้มาศึกษาการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

นำเชื้อราที่คัดเลือกได้ในข้อ 4 มาชนิดละ 1 สายพันธุ์ นำมาเลี้ยงในน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังตามสภาวะในข้อ 2 เก็บตัวอย่างทุกๆ 4 ชั่วโมง เป็นเวลา 24ชั่วโมง ศึกษาน้ำหนักเซลล์แห้งและการลดลงของค่าซีโอดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่4

ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและคุณลักษณะทางกายภาพของน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลัง

ผลของการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและคุณลักษณะทางกายภาพของน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลัง (ตารางที่ 6) พบว่าในน้ำทิ้งมีปริมาณแป้ง 9,275 มิลลิกรัมต่อลิตร ของแข็งทั้งหมด 6,380 มิลลิกรัมต่อลิตร ของแข็งแขวนลอย 2,745 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าทีโอซีร้อยละ67.5 ค่าซีโอดี 9,200 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณโปรตีนทั้งหมด ร้อยละ 0.79 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 4.37 กรัมต่อลิตร และพีเอชอยู่ในช่วง 5.4-5.6

ตารางที่ 6 แสดงค่าที่จากการวิเคราะห์ทางเคมีของน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลัง

parameter	Value range
Starch (mg/litre)	9,275
Total solid (mg/litre)	6,380
Suspended solid (mg/litre)	2,745
Total organic carbon (TOC) (%)	67.5
COD (mg/litre)	9,200
Protein (%)	0.7875
Reducing sugar (g/litre)	4.37
pH	5.4-5.6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อราในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังในสภาวะไม่ปลอดเชื้อ

จากการเลี้ยงเชื้อราทั้ง 5 ชนิดคือ *Aspergillus oryzae* TISTR 3019 *Rhizopus oligosporus* TISTR 3001 *Rhizopus arrhizus* TISTR 3247 *Trichoderma viride* TISTR 3167 *Trichroderma reesei* TISTR 3081 และเชื้อยีสต์ 1 ชนิดคือ *Endomycopsis fibuligera* TISTR 5097 ในน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังในสภาวะไม่ปลอดเชื้อโดยปรับค่าพีเอชเริ่มต้นเป็น 3.5 4.0 4.5 และ 5.0 ภายใต้สภาวะการให้อากาศบนเครื่องเขย่า ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมงเก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์การลดลงของค่าทีโอซี การย่อยแป้ง และอัตราการเจริญจำเพาะ (ตารางที่ 7) เมื่อเปรียบเทียบที่พีเอชต่างๆ พบว่าที่พีเอชเริ่มต้น 5.0 จุลินทรีย์ที่นำมาใช้ในการทดลองทุกชนิด มีการย่อยแป้ง การลดลงของค่าทีโอซี และอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (รูปที่4-รูปที่6) และเมื่อนำค่าเหล่านี้มาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ภาคผนวก ค1-ค3)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 การคัดเลือกชนิดของเชื้อราที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลัง

ผลของการเพาะเลี้ยงเชื้อราทั้ง 5 ชนิดคือ *Aspergillus oryzae* TISTR 3019 *Rhizopus oligosporus* TISTR 3001 *Rhizopus arrhizus* TISTR 3247 *Trichroderma viride* TISTR 3167 *Trichroderma reesei* TISTR 3081 ในสภาวะไม่ปลอดเชื้อโดยปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 3.5 4.0 4.5 และ 5.0 (ตารางที่7) พบว่า เชื้อ *Aspergillus oryzae* TISTR 3019 ที่พีเอชเริ่มต้น 5.0 มีอัตราการเจริญจำเพาะ 0.1 ต่อชั่วโมง ค่าทีโอซีลดลงสูงสุดร้อยละ 96.42 และมีการย่อยแป้งร้อยละ 62.7 *Rhizopus oligosporus* TISTR 3001 ที่พีเอชเริ่มต้น 5.0 มีอัตราการเจริญจำเพาะ 0.08 ต่อชั่วโมง ค่าทีโอซีลดลงร้อยละ 84.52 และมีการย่อยแป้งร้อยละ 60.11 *Rhizopus arrhizus* TISTR 3247 ที่พีเอชเริ่มต้น 5.0 มีอัตราการเจริญจำเพาะ 0.06 ต่อชั่วโมง ค่าทีโอซีลดลงร้อยละ 65.48 และมีการย่อยแป้งร้อยละ 39.85 *Trichroderma viride* TISTR 3167 ที่พีเอชเริ่มต้น 5.0 มีอัตราการเจริญจำเพาะ 0.04 ต่อชั่วโมง ค่าทีโอซีลดลงร้อยละ 38 และมีการย่อยแป้งร้อยละ 29.47 *Trichroderma reesei* TISTR 3081 ที่พีเอชเริ่มต้น 5.0 มีอัตราการเจริญจำเพาะ 0.05ต่อชั่วโมง ค่าทีโอซีลดลงได้ร้อยละ 78.57 และมีการย่อยแป้งร้อยละ 34.56 สำหรับ *E. fibuligera* TISTR 5097 ที่พีเอชเริ่มต้นเท่ากับ5.0 มีอัตราการเจริญจำเพาะ 0.06 ต่อชั่วโมงค่าทีโอซีลดลงร้อยละ 66.27 และการย่อยแป้งร้อยละ 44.02 รวมทั้งลักษณะของมวลชีวภาพที่ได้มีลักษณะเป็นสารละลาย (cell suspension)ทำให้การเก็บเกี่ยวเซลล์ค่อนข้างยาก และใช้เวลานาน ดังนั้นในการศึกษาต่อไปจึงเลือกเชื้อ *Aspergillus oryzae* TISTR 3019 และ *Rhizopus oligosporus* TISTR 3001 มาศึกษาหาสายพันธุ์ที่เหมาะสมเพื่อนำมาผลิตโปรตีนเซลล์เดียวในน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังต่อไปเนื่องจากเชื้อราทั้ง 2 ชนิดนี้มีอัตราการเจริญจำเพาะสูง มีการย่อยแป้งสูง ทำให้ค่าทีโอซีลดลงมาก รวมทั้งลักษณะมวลชีวภาพที่ได้สามารถเก็บเกี่ยวได้ง่าย

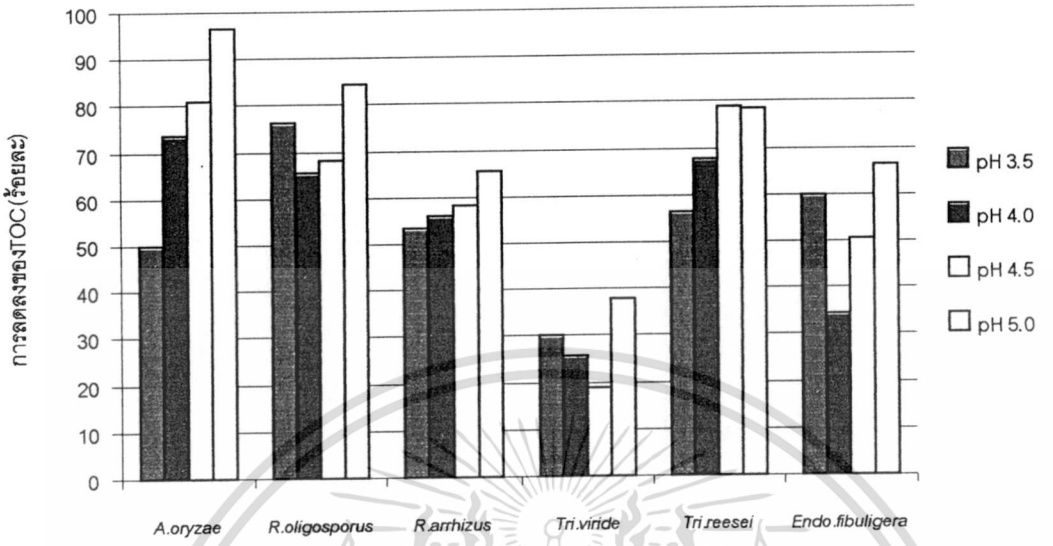
ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Jin และคณะ (1999) ซึ่งได้ศึกษาเรื่องการคัดเลือกและแยกสายพันธุ์ของเชื้อราที่ใช้ผลิตโปรตีนจากมวลชีวภาพจากน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลัง พบว่าจากการใช้เชื้อ *Aspergillus oryzae* NRRL 3699 ทำให้ค่าทีโอซีลดลงได้มากที่สุดร้อยละ 86.7และมีการย่อยแป้งสูงสุดร้อยละ 100 และรองลงมาคือการใช้เชื้อ *Rhizopus oligosporus* NRRL2710 ซึ่งทำให้ค่าทีโอซีลดลงร้อยละ 83.6 และมีการย่อยแป้งร้อยละ 96.8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

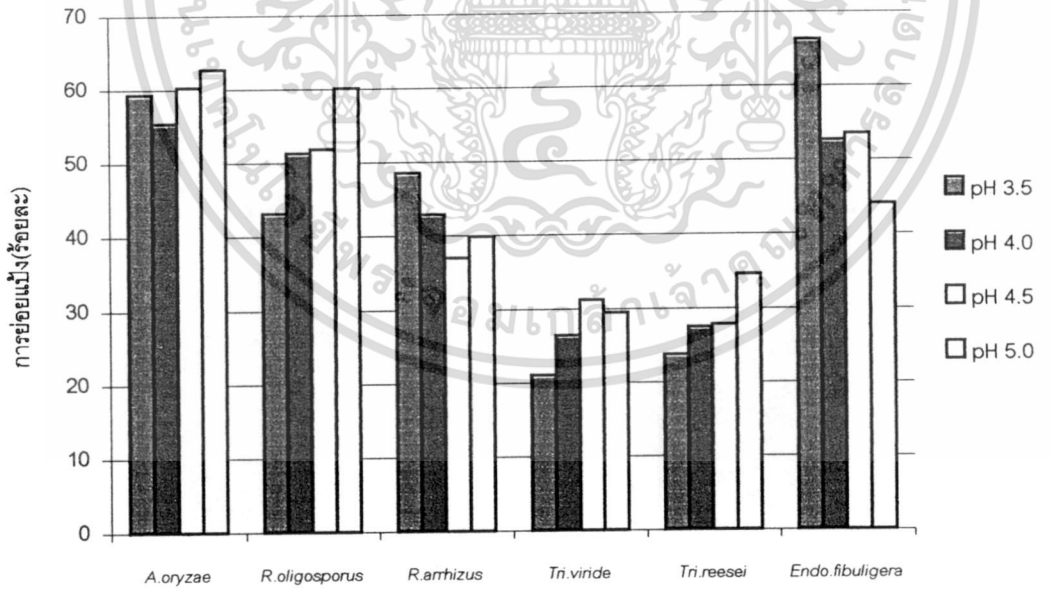
ตารางที่ 7 พีเอชของน้ำทิ้ง การย่อยแป้ง การลดลงของค่า TOC อัตราการเจริญจำเพาะและลักษณะมวลชีวภาพของจุลินทรีย์ในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังในสภาวะเขย่า

จุลินทรีย์	สายพันธุ์	พีเอช	การย่อยแป้ง (ร้อยละ)	การลดลงของ TOC (ร้อยละ)	อัตราการเจริญจำเพาะ (ต่อชั่วโมง)	ลักษณะมวล
Aspergillus oryzae	TISTR 3019	3.5	59.32	50	0.07	เส้นใยจับตัวเป็นก้อน (Clumpy Pellet)
		4.0	55.40	73.8	0.07	
		4.5	60.26	80.95	0.08	
		5.0	62.7	96.42	0.1	
Rhizopus oligosporus	TISTR 3001	3.5	43.20	76.19	0.07	เส้นใยจับเป็นกลุ่มก้อนฟู (Fluffy Mycelia)
		4.0	51.36	65.5	0.07	
		4.5	51.84	67.95	0.07	
		5.0	60.11	84.52	0.08	
Rhizopus arrhizus	TISTR 3247	3.5	48.59	53.57	0.05	เส้นใยจับเป็นกลุ่มก้อนฟู (Fluffy Mycelia)
		4.0	42.94	55.95	0.05	
		4.5	37.04	58.33	0.05	
		5.0	39.85	65.48	0.06	
Trichroderma viride	TISTR 3167	3.5	21.01	30.15	0.03	เส้นใยมีลักษณะกระจาย (Dispersed Mycelia)
		4.0	26.43	25.71	0.02	
		4.5	31.14	19.0	0.02	
		5.0	29.47	38.0	0.04	
Trichroderma reesei	TISTR 3081	3.5	23.68	56.35	0.02	เส้นใยมีลักษณะกระจาย (Dispersed Mycelia)
		4.0	27.43	67.86	0.04	
		4.5	27.82	78.81	0.05	
		5.0	34.56	78.57	0.05	
Endomycopsis fibuligera	TISTR 5097	3.5	66.29	59.92	0.05	สารละลาย (cell suspension)
		4.0	52.65	34.52	0.04	
		4.5	53.48	50.39	0.05	
		5.0	44.02	66.27	0.06	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

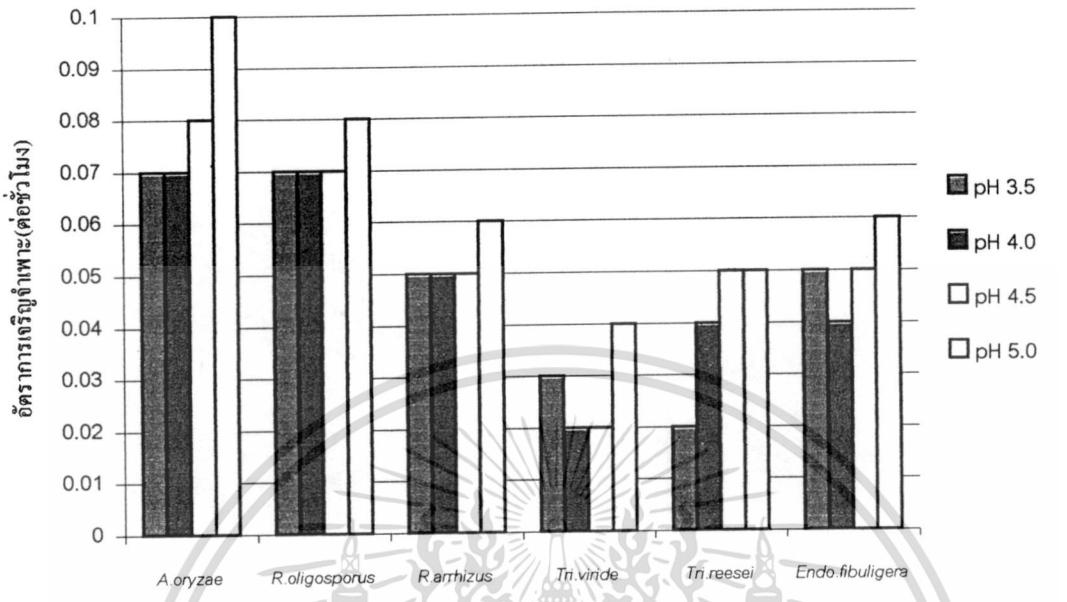


รูปที่ 4 แสดงการลดลงของค่าทีโอซีของจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ในน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมัน สำปะหลังที่มีการปรับพีเอชเริ่มต้นแตกต่างกัน



รูปที่ 5 แสดงการย่อยแป้งของจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ในน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมัน สำปะหลังที่มีการปรับพีเอชเริ่มต้นแตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 6 แสดงอัตราการเจริญจำเพาะ ของจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ในน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังที่มีการปรับพีเอชเริ่มต้นแตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 การคัดเลือกสายพันธุ์เชื้อราที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลัง

จากของการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Aspergillus oryzae* 3 สายพันธุ์คือ *Aspergillus oryzae* TISTR 3086 *Aspergillus oryzae* TISTR 3065 *Aspergillus oryzae* TISTR 3103 และเชื้อ *Rhizopus oligosporus* 3 สายพันธุ์คือ *Rhizopus oligosporus* TISTR 3532 *Rhizopus oligosporus* TISTR 3527 *Rhizopus oligosporus* TISTR 3158 ในน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังในสภาวะไม่ปลอดเชื้อที่พีเอชเริ่มต้น 5.0 ภายใต้การให้อากาศบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาทีอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้งการลดลงของค่าซีโอดี ปริมาณโปรตีน อัตราการเจริญจำเพาะ และลักษณะของมวลชีวภาพ (ตารางที่8) พบว่าเชื้อ *Aspergillus oryzae* สายพันธุ์ที่เหมาะสมที่สุดคือ *Aspergillus oryzae* TISTR 3103 โดยให้น้ำหนักเซลล์แห้ง 3.97 กรัมต่อลิตร ทำให้ค่าซีโอดีลดลงสูงสุดร้อยละ 61.0 มีปริมาณโปรตีนร้อยละ 22.75 มีอัตราการเจริญจำเพาะ 0.08 และลักษณะมวลชีวภาพของ เชื้อ *Aspergillus oryzae* ทั้ง3 สายพันธุ์มีลักษณะเส้นใยที่จับตัวเป็นก้อนแน่น (Clumpy pellet)

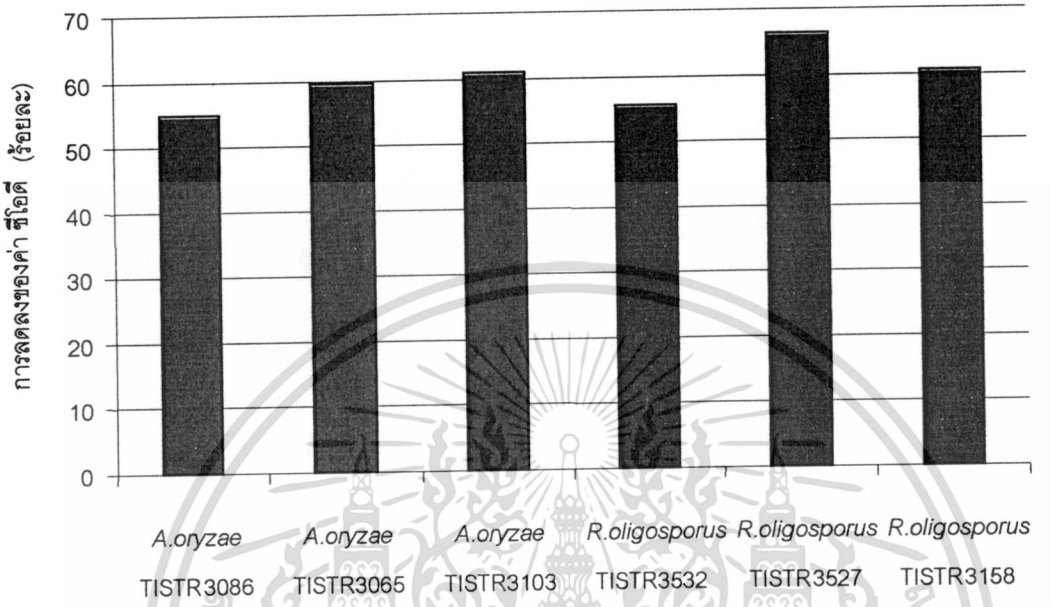
เชื้อ *R. oligosporus* สายพันธุ์ที่เหมาะสมที่สุดคือ *Rhizopus oligosporus* TISTR 3527 โดยพบว่ามีน้ำหนักเซลล์แห้ง 4.22 กรัมต่อลิตร ค่าซีโอดีลดลงสูงสุดร้อยละ 66.5 มีปริมาณโปรตีนร้อยละ 17.59 อัตราการเจริญจำเพาะ 0.07 และลักษณะมวลชีวภาพของ เชื้อ *R .oligosporus* ทั้ง 3 สายพันธุ์มีลักษณะเส้นใยที่จับตัวเป็นก้อนฟู (Fluffy mycelia) ดังนั้นจึงเลือกเชื้อราทั้ง 2 สายพันธุ์ดังที่กล่าวมาแล้วมาศึกษาการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

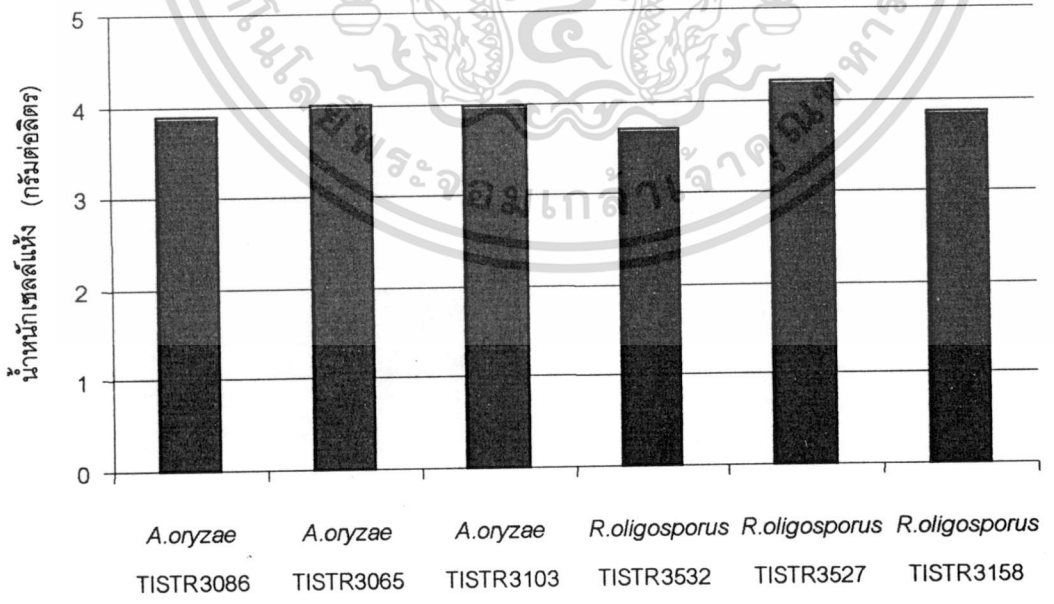
ตารางที่ 8 การลดลงของค่า COD น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณโปรตีน อัตราการเจริญจำเพาะ และลักษณะมวลชีวภาพของจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้ในน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังในสภาวะ เขย่า

จุลินทรีย์	สายพันธุ์	ค่า COD ที่ลดลง (ร้อยละ)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณโปรตีน (ร้อยละ)	อัตราการเจริญจำเพาะ(ต่อชั่วโมง)	ลักษณะมวลชีวภาพ
A. oryzae	TISTR 3086	55	3.89	20.04	0.07	เส้นใยจับตัวเป็นก้อนแน่น (Clumpy Pellet)
A. oryzae	TISIR 3065	59.5	4.01	18.99	0.07	เส้นใยจับตัวเป็นก้อนแน่น (Clumpy Pellet)
A. oryzae	TISIR 3103	61	3.97	22.75	0.08	เส้นใยจับตัวเป็นก้อนแน่น (Clumpy Pellet)
R .oligosporus	TISIR 3532	55.5	3.7	17.32	0.05	เส้นใยจับเป็นกลุ่มก้อนฟู (Fluffy Mycelia)
R. oligosporus	TISIR 3527	66.5	4.22	17.59	0.07	เส้นใยจับเป็นกลุ่มก้อนฟู (Fluffy Mycelia)
R. oligosporus	TISIR 3158	60.6	3.85	15.4	0.05	เส้นใยจับเป็นกลุ่มก้อนฟู (Fluffy Mycelia)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

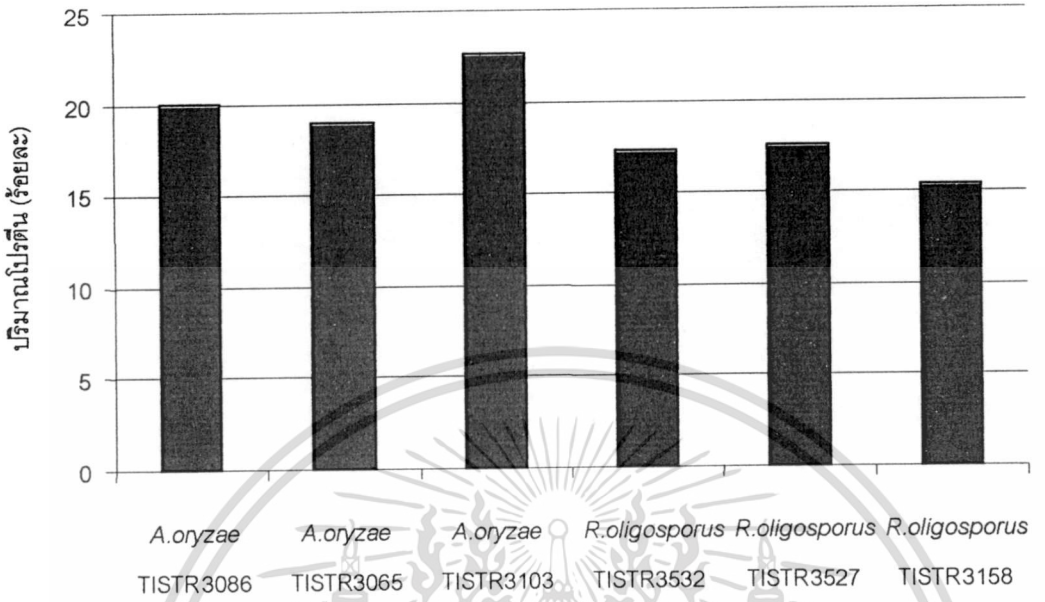


รูปที่ 7 แสดงค่าซีโอดีที่ลดลงจากการเลี้ยง *Aspergillus oryzae* และ *Rhizopus oligosporus* สายพันธุ์ต่างๆ ในน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังในสภาวะไม่ปลอดเชื้อที่พีเอชเริ่มต้น 5.0

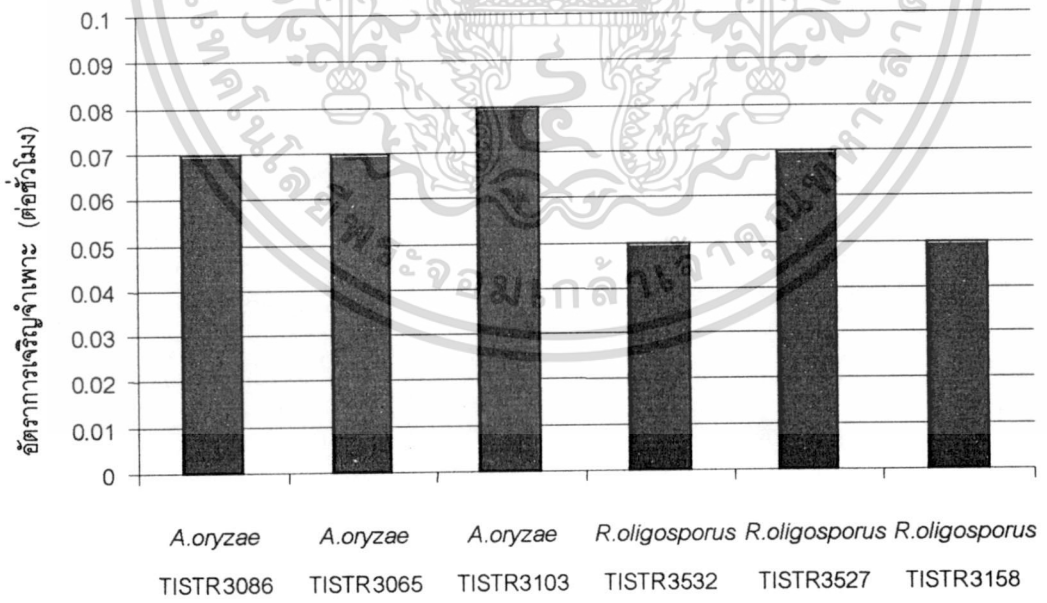


รูปที่ 8 แสดงน้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากการเลี้ยง *Aspergillus oryzae* และ *Rhizopus oligosporus* สายพันธุ์ต่างๆในน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังในสภาวะไม่ปลอดเชื้อที่พีเอชเริ่ม ต้น 5.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 9 แสดงปริมาณโปรตีนที่ได้จากการเลี้ยง *Aspergillus oryzae* และ *Rhizopus oligosporus* สายพันธุ์ต่างๆในน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังในสภาวะไม่ปลอดเชื้อที่พีเอชเริ่มต้น5.0

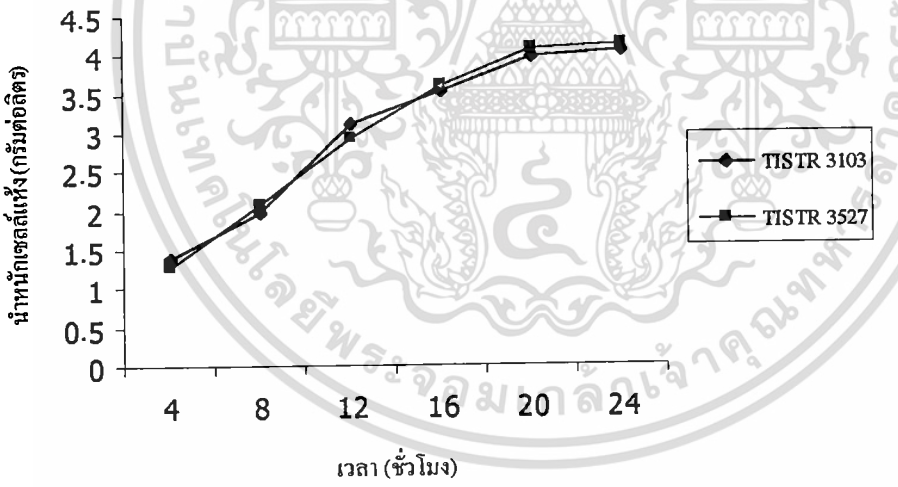


รูปที่ 10 แสดงอัตราการเจริญจำเพาะของ *Aspergillus oryzae* และ *Rhizopus oligosporus* สายพันธุ์ต่างๆในน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังในสภาวะไม่ปลอดเชื้อที่พีเอชเริ่มต้น5.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

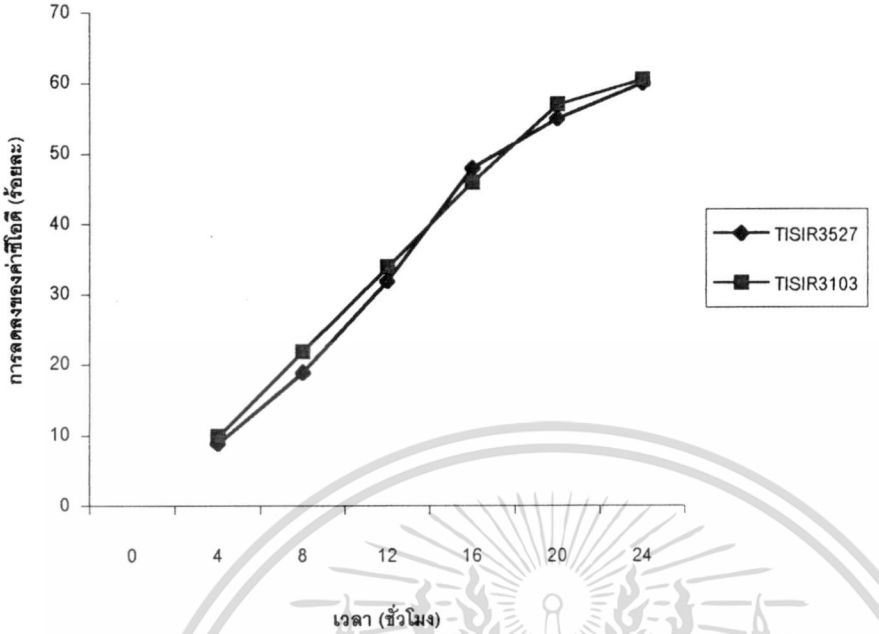
4.5 นำสายพันธุ์ของเชื้อราที่คัดเลือกได้มาศึกษาการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

โดยนำสายพันธุ์ที่คัดเลือกได้ในหัวข้อ 4.4 คือ *Aspergillus oryzae* TISTR 3103 และ *Rhizopus oligosporus* TISTR 3527 นำมาเพาะเลี้ยงในน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังในสภาวะไม่ปลอดเชื้อที่พีเอชเริ่มต้น 5.0 ภายใต้การให้อากาศบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างทุก 4 ชั่วโมงเพื่อศึกษาน้ำหนักเซลล์แห้ง (รูปที่11) และการลดลงของค่าซีโอดี (รูปที่12) จากการศึกษาพบว่า *Aspergillus. oryzae* TISTR 3103 และ *Rhizopus* oligosporus TISTR 3527 มีการเจริญเติบโตและความสามารถในการลดค่าซีโอดีในน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังได้ใกล้เคียงกัน โดยพบว่า *Rhizopus* oligosporus TISTR 3527มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงกว่า *Aspergillus. oryzae* TISTR 3103 ที่ 20 ชั่วโมงของการเพาะเลี้ยง ซึ่งเมื่อนำข้อมูลเหล่านี้มาเปรียบเทียบทางสถิติแล้วพบว่าน้ำหนักเซลล์แห้งและการลดลงของค่าซีโอดีของเชื้อทั้งสองสายพันธุ์ไม่แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางภาคผนวกที่ ค15-ค16)

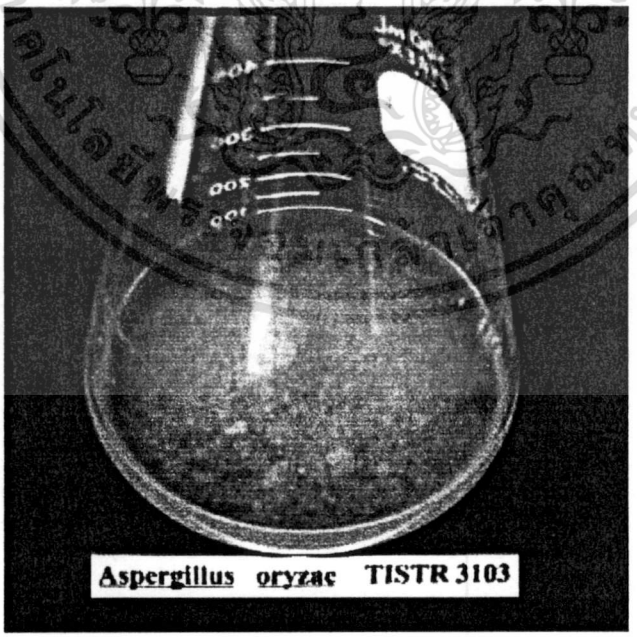


รูปที่ 11 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง *Aspergillus oryzae* TISTR 3103 และ *Rhizopus oligosporus* TISTR 3527 กับน้ำหนักเซลล์แห้งในน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

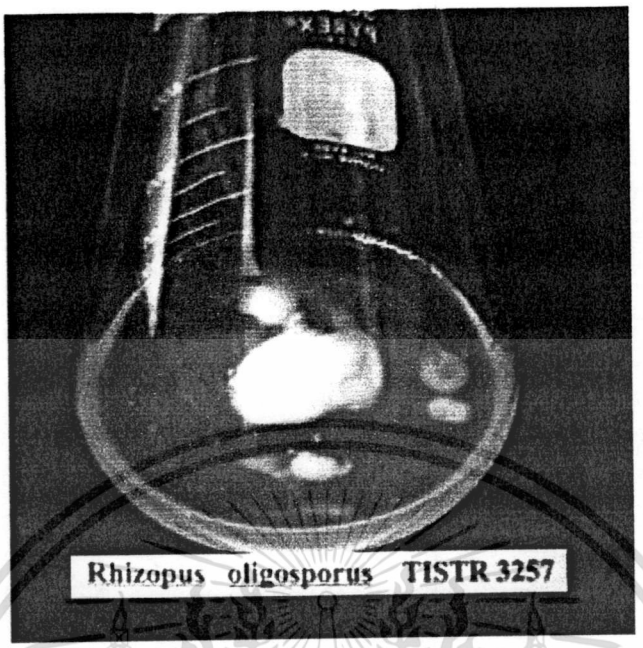


รูปที่ 12 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Aspergillus oryzae* TISTR 3103 และ *Rhizopus oligosporus* TISTR 3527กับการลดลงของค่าซีโอดีในน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลัง



รูปที่ 13 แสดงลักษณะมวลชีวภาพของ *Aspergillus oryzae* TISTR 3103 ซึ่งมีลักษณะเป็นเส้นใยที่จับตัวเป็นก้อนแน่น (Clumpy pellet)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 14 แสดงลักษณะมวลชีวภาพของ *Rhizopus oligosporus* TISTR 3527 ซึ่งมีลักษณะเป็นเส้นใยที่จับตัวเป็นก้อนฟู (Fluffy mycelia)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการคัดเลือกเชื้อราสำหรับการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวในน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังโดยมีจุดประสงค์เพื่อลดปริมาณซีโอดีในน้ำทิ้งก่อนออกสู่สิ่งแวดล้อม จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อราในน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังพบว่าที่พีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 5.0 เป็นค่าพีเอชที่เหมาะสมที่สุดโดยเปรียบเทียบจากการลดลงของทีโอซี การย่อยแป้งและอัตราการเจริญ และพบว่าเชื้อที่เหมาะสมที่นำมาเลี้ยงในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังได้แก่เชื้อ *Aspergillus oryzae* และ *Rhizopus oligosporus* ซึ่งทำการคัดเลือกโดยนำค่าเหล่านั้นมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากนั้นนำเชื้อราทั้ง 2 ชนิดมาทำการคัดเลือกสายพันธุ์ที่เหมาะสมเพื่อนำไปผลิตโปรตีนเซลล์เดียวโดยการศึกษามวลชีวภาพ การลดลงของซีโอดี ปริมาณโปรตีน และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะพบว่าเชื้อรา *Aspergillus oryzae* TISTR 3103 ให้น้ำหนักเซลล์แห้ง 3.97 กรัมต่อลิตร ทำให้ค่าซีโอดีลดลงสูงสุดร้อยละ 61.0 มีปริมาณโปรตีนร้อยละ 22.75 มีอัตราการเจริญจำเพาะ 0.08 ส่วน *Rhizopus oligosporus* TISTR 3527 พบว่ามีน้ำหนักเซลล์แห้ง4.22กรัมต่อลิตร ค่าซีโอดีลดลงสูงสุดร้อยละ 66.5 มีปริมาณโปรตีนร้อยละ 15.23 อัตราการเจริญจำเพาะ 0.07 และเมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า *Aspergillus oryzae* TISTR 3103 และ *Rhizopus oligosporus* TISTR 3527 มีความแตกต่างจากเชื้อชนิดเดียวกันในคนละสายพันธุ์อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังนั้นจึงเลือกเชื้อราทั้ง 2 สายพันธุ์ดังที่กล่าวมาแล้วมาศึกษาการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวในน้ำทิ้งจากโรงงาน
ผลิตแป้งมันสำปะหลังต่อไป

Aspergillus oryzae TISTR 3103 และ*Rhizopus oligosporus* TISTR 3527 มีการเจริญเติบโตและความสามารถในการลดค่าซีโอดีในน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังได้ใกล้เคียงกันโดยพบว่า *Rhizopus oligosporus* TISTR 3527มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงกว่า *Aspergillus oryzae* TISTR 3103 ที่ 20 ชั่วโมงของการเพาะเลี้ยง เมื่อเปรียบเทียบข้อมูลทางสถิติแล้วพบว่าน้ำหนักเซลล์แห้งและการลดลงของค่าซีโอดีของเชื้อทั้งสองสายพันธุ์ไม่แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อเสนอแนะ

1. การเลี้ยงเชื้อราในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังจะให้ปริมาณโปรตีนน้อยอาจเนื่องมาจากในน้ำนั้นมีแหล่งไนโตรเจนน้อย ถ้าต้องการให้มีปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้นควรมีการศึกษาการเติมแหล่งไนโตรเจน เพื่อทำให้โปรตีนเซลล์เดียวที่ได้มีคุณค่าทางอาหารเพิ่มมากขึ้น
2. การเก็บตัวอย่างเพื่อนำมาศึกษาการลดลงของซีโอดีถ้ามีอุปกรณ์ในการรีฟลักซ์มากพอควรเก็บตัวอย่างทุก 2 ชั่วโมง เพราะจะทำให้เห็นแนวโน้มของการลดลงได้ชัดเจนกว่านี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
สูตรอาหารที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

1. อาหารสูตร potato dextrose agar (www.dmsz.de/media)

มันฝรั่งปอกเปลือกและหั่น	200	กรัม
กลูโคส	20	กรัม
วุ้น (Agar)	15	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม

1. ชั่งมันฝรั่ง 200 กรัม ใส่ลงในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร นำไปต้มเป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วจึงนำไปกรอง

2. นำสารละลายจากข้อ 1 มาเติมน้ำตาลกลูโครส 20 กรัม และวุ้น 15 กรัม นำไปตั้งไฟเพื่อให้วุ้นละลายโดยต้องคนอย่างสม่ำเสมอ

3. นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

วิธีการวิเคราะห์คุณลักษณะน้ำเสีย

1. suspended solid (สารแขวนลอย)(นวลพรรณ, 2539)

สารแขวนลอย หมายถึง สิ่งเจือปนที่เป็นทั้งสารอินทรีย์และอนินทรีย์ที่เป็นของแข็งและไม่ละลายน้ำ รวมทั้งพวกที่อยู่ในรูปของตะกอนแขวนลอย ซึ่งสามารถกรองได้ด้วยกระดาษกรองใยแก้ว ปริมาณสารแขวนลอยมีประโยชน์มากสำหรับการวิเคราะห์น้ำเสีย เพราะสามารถบอกถึงความสกปรกของน้ำและบอกถึงประสิทธิภาพของระบบกำจัดน้ำเสีย

<u>เครื่องมือและอุปกรณ์</u>

1. กระดาษกรองใยแก้ว No. GF/C เส้นผ่านศูนย์กลาง 4.7 เซนติเมตร
2. กรวยกรอง (Buchner funnel) ความจุ 100.0 มิลลิลิตร
3. เครื่องดูดอากาศ (suction pump)
4. เตาอบแห้ง
5. เดซิกเคเตอร์
6. เครื่องชั่งอย่างละเอียด

<u>วิธีวิเคราะห์</u>

1. อบกระดาษกรองใยแก้วในเตาอบแห้งที่อุณหภูมิ 103 – 105 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมงทำให้เย็นในเดซิกเคเตอร์ แล้วชั่งน้ำหนักกระดาษกรอง
2. เลือกปริมาตรน้ำตัวอย่างที่จะให้ค่าสารแขวนลอยอย่างน้อยที่สุดประมาณ 2 – 5 มิลลิกรัม (ไม่รวมน้ำหนักกระดาษกระดาษกรองใยแก้ว)
3. วางกระดาษกรองลงในกรวยที่ต่อเข้ากับเครื่องดูดอากาศ
4. ใช้น้ำกลั่นฉีดกระดาษกรองให้เปียกเพื่อให้ติดแน่นกับกรวย
5. เทตัวอย่างน้ำปริมาตรตามต้องการผ่านกระดาษกรอง โดยอาศัยแรงดูดจากเครื่องดูดอากาศ
6. ใช้น้ำกลั่นฉีดล้างของแข็งที่ตกค้างอยู่ข้างกรวยกรองจนหมด รอจนเครื่องดูดน้ำหมด
7. ปิดเครื่องดูดอากาศ ใช้ปากคีบจับกระดาษกรองใส่ภาชนะทนไฟ นำไปอบในเตาอบแห้งที่อุณหภูมิ 103 – 105 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง หรือจนกระดาษแห้ง
8. ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้องในเดซิกเคเตอร์ แล้วชั่งหาน้ำหนักกระดาษกรองที่เพิ่มขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณสารแขวนลอย (มิลลิกรัม/ลิตร)} = \frac{\text{น้ำหนักตะกอน (มิลลิกรัม)} \times 1000}{\text{มิลลิลิตรของน้ำตัวอย่าง}}$$

2. Total solid (ของแข็งทั้งหมด)(นวลพรรณ, 2539)

ของแข็งทั้งหมด หมายถึง ปริมาณสารที่เหลืออยู่ในภาชนะหลังจากระเหยน้ำออกจากตัวอย่างน้ำจนหมด ซึ่งรวมทั้งของแข็งที่ละลายน้ำและของแข็งที่ไม่ละลายน้ำ โดยนำตัวอย่างน้ำในภาชนะไปอบที่อุณหภูมิ 103 – 105 องศาเซลเซียส จนได้น้ำหนักคงที่

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. จานระเหย (evaporating dish)
2. เครื่องอังน้ำ (water bath)
3. เตาอบแห้ง
4. เดซิกเคเตอร์
5. เครื่องชั่งอย่างละเอียด

วิธีวิเคราะห์

1. นำจานระเหยไปอบให้แห้งและมีน้ำหนักคงที่ในตู้อบแห้งอุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในเดซิกเคเตอร์ แล้วชั่งหาน้ำหนักของจานระเหย
2. เลือกใช้ปริมาตรตัวอย่างน้ำที่เหมาะสม (50.0 – 100.0 มิลลิลิตร)
3. ค่อยๆรินน้ำตัวอย่างที่ต้องการลงในจานระเหย นำไปตั้งบนเครื่องอังไอน้ำ เมื่อน้ำระเหยหมด นำจานไปอบที่อุณหภูมิ 103 – 105 องศาเซลเซียส จนแห้งและน้ำหนักคงที่ ทำให้เย็นในเดซิกเคเตอร์
4. ชั่งหาน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นคือน้ำหนักของของแข็งทั้งหมด

คำนวณ

$$\text{ของแข็งทั้งหมด (มิลลิกรัม/ลิตร)} = \frac{\text{น้ำหนักของของแข็ง (มิลลิกรัม)} \times 1000}{\text{มิลลิลิตรของน้ำตัวอย่าง}}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ซีโอดี (นวลพรรณ, 2539)

ซีโอดี (COD, Chemical oxygen demand) หมายถึงปริมาณของออกซิเจนในน้ำหรือน้ำเสียที่ใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ทั้งหมดที่จุลินทรีย์ย่อยได้และย่อยไม่ได้ด้วยวิธีทางเคมี การหาค่าซีโอดีเป็นวิธีการวัดความสกปรกน้ำและน้ำเสีย โดยเปรียบในรูปของปริมาณออกซิเจนที่ใช้ในการออกซิไดส์สารเคมีโดยใช้สารเคมีที่มีอำนาจในการออกซิไดส์สูงในสารละลายที่เป็นกรด วิธีการวิเคราะห์ค่าซีโอดีที่นิยมใช้กันมากคือ Dichomate reflux method วิธีนี้วิเคราะห์ง่าย สามารถออกซิไดส์สารอินทรีย์ต่างๆ ได้ 95-100%วิธีนี้เป็นการกลั่นกลับคืนของตัวอย่างน้ำกับโพแทสเซียมไดโครแมต ($K_2C_{r2}O_7$) ในสภาวะที่เป็นกรดอย่างแรงที่อุณหภูมิสูง ปฏิกิริยาทางเคมีที่เกิดขึ้นสรุปได้ดังนี้

$$\text{สารอินทรีย์} + C_{r2}O_7^{2-} + H^+ \xrightarrow[Ag+]{\text{ความร้อน}} 2Cr^{3+} + CO_2 + H_2O$$

เมื่อทำการกลั่น 2 ชั่วโมงทำการวิเคาระห์หาปริมาณโพแทสเซียมไดโครเมตที่เหลือด้วยการไตเตรทกับสารละลายมาตรฐานเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟต โดยใช้เฟอโรอินเป็นอินดิเคเตอร์

<u>เครื่องมือและอุปกรณ์</u>

1. อุปกรณ์กลั่นไหลกลับ
   - ขวดก้นกลมขนาด 250 มิลลิลิตร
   - เครื่องควบแน่น
   - เตาให้ความร้อน (hot plate)
2. บิวเรต

<u>สารเคมี</u>

1. สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมตเข้มข้น 0.025 นอร์มอล

   ละลายโพแทสเซียมไดโครเมต ($K_2Cr_2O_7$) ซึ่งอบแห้งที่ 103 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จำนวน 12.259 กรัมในน้ำกลั่น เติมกรดซัลฟามิก (NH_2SO_3H) 0.12 กรัม แล้วเจือจางจนได้ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

2. Sulfuric acid reagent

   สารละลายซิลเวอร์ซัลเฟต (Ag_2SO_4) 22 กรัม ในกรดซัลฟูริกเข้มข้น บรรจุขวดขนาด 1 ปอนด์ เนื่องจากละลายยากมาก อาจต้องใช้เวลา 1-2 วัน จึงจะละลายหมด

3. สารละลายมาตรฐานเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟต 0.10 นอร์มอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1 การเตรียมสารละลาย

ละลายเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟตจำนวน 39 กรัม ในน้ำกลั่น เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 20 มิลลิลิตร ทำให้เย็นแล้วเติมน้ำกลั่นให้ครบ 1000 มิลลิลิตร

3.2 การหาความเข้มข้นของสารละลาย

ปิเปตสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมตเข้มข้น 0.025 นอร์มอล จำนวน 10 มิลลิลิตร เติม Sulfuric acid reagent 30 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ให้เย็น ไทเทรตด้วยสารละลายมาตรฐานเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟต เติมเฟอร์โรอิน 2-3 หยดเป็นอินดิเคเตอร์

$$\text{ความเข้มข้น (นอร์มอล)} = \frac{\text{ปริมาณสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต (มล.)} \times 0.25}{\text{ปริมาณสารละลายมาตรฐานเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟต (มล.)}}$$

4 สารละลายเฟอร์โรอิน

ละลาย 1-10 พีแนนโทรลีน ($C_{12}H_6N_2.H_2O$) จำนวน 1.485 กรัม และเฟอรัสซัลเฟต ($FeSO_4.7H_2O$) จำนวน 0.695 กรัม เติมน้ำจนปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

5 ซิลเวอร์ซัลเฟต (Ag_2SO_4) ชนิดผง

6 เมอร์คิวรีซัลเฟต ($HgSO_4$) ชนิดผลึกบริสุทธิ์ หรือเป็นผง ใช้เป็นตัวกำจัดอนุภาคคลอไรด์ในอัตราส่วน $HgSO_4$ ต่อ Cl^- = 10 : 1

7 กรดซัลฟามิก ใช้ในกรณีที่กำจัดไนไตรท์เท่านั้น

<u>วิธีการวิเคราะห์</u>

1. เติมเมอร์คิวรีซัลเฟต 0.4 กรัม ลงในขวดกลม
2. เติมตัวอย่าง 20 มิลลิลิตร หรือส่วนของตัวอย่างที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 20 มิลลิลิตร
3. เติมสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต 10 มิลลิลิตร และลูกแก้ว glass bead) 3-5 เม็ด
4. ค่อยๆเติม Sulfuric acid reagent 30 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันเพื่อละลายเมอร์คิวรีซัลเฟต ควรทำให้เย็นขณะเขย่า เพื่อหลีกเลี่ยงการสูญเสียของสารที่เป็นไอในตัวอย่าง
5. กลั่นด้วยอุปกรณ์กลั่นไหลกลับประมาณ 2 ชั่วโมงปล่อยให้เย็น
6. ไทเทรตสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมตที่เกินพอ ด้วยสารละลายมาตรฐานเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟต ใช้เฟอร์โรอินเป็นอินดิเคเตอร์ เมื่อถึงจุดยุติสีจะเปลี่ยนจากเขียวปนน้ำเงินไปเป็นน้ำตาลปนแดง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. ทำ Blank โดยใช้น้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร แทนตัวอย่างน้ำ ทำเช่นเดียวกับตัวอย่าง (ข้อ 1-6)

$$\text{COD (มิลลิกรัมต่อลิตร)} = \frac{A - B \times N \times 8 \times 1000}{\text{ปริมาณตัวอย่าง}}$$

A คือ ปริมาณสารละลายมาตรฐานเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้ไทเทรต Blank

B คือ ปริมาณสารละลายมาตรฐานเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้ไทเทรตตัวอย่าง

N คือ ความเข้มข้นของปริมาณสารละลายมาตรฐานเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟต (นอร์มอล)

4. การวิเคราะห์หาโปรตีนโดยวิธี Semi-micro Kjedahl Method (AOAC,1984)

<u>เครื่องมือและอุปกรณ์</u>

1. ขวดย่อยโปรตีน (Kjeldahl flask) ขนาด 250 - 300 มิลลิลิตร
2. อุปกรณ์ให้ความร้อน (Heating mentle)
3. อุปกรณ์กลั่นโปรตีน (Semi – micro distillation)
4. ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ขนาด 100 มิลลิลิตร
5. ขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร
6. ปีเปต
7. บิวเรต
8. ลูกแก้ว (glass bead)
9. กระดาษกรอง

<u>สารเคมี</u>

1. โซเดียมซัลเฟต
2. เมอร์คิวรีซัลเฟต

ละลายผงเมอร์คิวรีออกไซด์จำนวน 10 กรัม ในกรดซัลฟูริกเข้มข้นจำนวน 12 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำ 92 มิลลิลิตร

3. กรดซัลฟูริกเข้มข้น
4. โซเดียมไฮดรอกไซด์ 60 กรัม และโซเดียมไทโอซัลเฟต 5 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. กรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 4
6. กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.02 นอร์มอล
7. อินดิเคเตอร์

ละลายเมธิลเรด 0.2 กรัม และเมทิลีนบลู 0.1 กรัม ในเอธานอล (95%) 100 มิลลิลิตร

<u>วิธีการวิเคราะห์</u>

1. ชั่งตัวอย่างบนกระดาษกรองให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 0.5-1.0 กรัม ห่อให้มิดชิด ใส่ลงในขวดย่อยโปรตีน
2. เติมโซเดียมซัลเฟต 2 กรัม และเมอร์คิวรีซัลเฟต 5 มิลลิลิตร
3. ใส่ลูกแก้ว
4. เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 20 มิลลิลิตร
5. ย่อยบนอุปกรณ์ให้ความร้อน
6. ปล่อยทิ้งให้เย็น
7. ล้างบริเวณคอขวดด้วยน้ำกลั่นที่ต้มร้อนจนทั่ว
8. ย่อยต่อจนกระทั่งหมดควัน
9. ทิ้งให้เย็นแล้วถ่ายลงในขวดปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร ใช้น้ำกลั่นล้างขวดย่อยให้หมดสาระลายตัวอย่าง แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร
10. จัดอุปกรณ์กลั่นรวมทั้งเปิดสวิทซ์ไฟ และเปิดน้ำหล่อเย็นเครื่องควบแน่น
11. นำขวดรูปชมพู่ขนาด 100 มิลลิลิตร ซึ่งบรรจุกรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 4 ปริมาณ 5 มิลลิลิตร ผสมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร และเติมอินดิเคเตอร์ 1-2 หยด เรียบร้อยแล้วไปรองรับของเหลวที่กลั่นได้ โดยให้ส่วนปลายของอุปกรณ์ควบแน่นจุ่มลงในสารละลายกรดนี้
12. เติมสารละลายตัวอย่างปริมาณ 10 มิลลิลิตร ลงในช่องใส่ตัวอย่าง
13. เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 60 ปริมาณ 10 มิลลิลิตร ลงในช่องใส่ตัวอย่าง
14. กลั่นนานประมาณ 10 นาที
15. ไทเทรตสารละลายที่กลั่นได้ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.02 นอร์มอล จนกระทั่งสีของสารละลายจะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีม่วง
16. ทำ blank ตามข้อ 1-14 โดยไม่ใส่ตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\text{ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (ร้อยละ)} = \frac{(A - B) \times N \times 14}{W}$$

A คือ ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไทเทรตกับตัวอย่าง

B คือ ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไทเทรตกับ blank

W คือ น้ำหนักตัวอย่าง

N คือ ความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริก (นอร์มอล)

กรณีคิดเป็นปริมาณโปรตีน (ร้อยละ) คูณด้วย 6.25

5. TOC (total organic carbon) (กรรณิการ์, 2544)

<u>วิธีการวิเคราะห์</u>

1. ชั่งสารตัวอย่างประมาณ 50 มิลลิกรัม (ในกรณีเป็นของเหลวให้ใช้ 50 มิลลิลิตร) เติมสารต่างดังนี้

- 1 N $K_2Cr_2O_7$ 5 มิลลิลิตร
- Conc. H_2SO_4 5 มิลลิลิตร

2. นำสารละลายในข้อ 1 ไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิประมาณ 80 – 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

3. ทิ้งสารละลายในข้อ 2 ให้เย็น หลังจากนั้นเติมน้ำ 50 มิลลิลิตร

4. ไทเทรตกับสารละลาย 0.5 นอร์มอล $Fe(NH_4(SO_4)_2 . 6H_2O$ สังเกตจุดยุติสารละลายจะเปลี่ยนสี จากสีเหลือง(บางครั้งอาจเป็นสีเขียว)เป็นสีแดง

5. ไทเทรตแบลงค์โดยใช้น้ำกลั่นแทนสารตัวอย่าง

<u>การคำนวณ</u>

$$\%\ TOC = \frac{(B - S) \times N \times 300}{Sample}$$

B = ปริมาตร 0.5 นอร์มอล $Fe(NH_4(SO_4)_2 . 6H_2O$ ที่ใช้ในการไทเทรตแบลงค์

S = ปริมาตร 0.5 นอร์มอล $Fe(NH_4(SO_4)_2 . 6H_2O$ ที่ใช้ในการไทเทรต sample

N = ความเข้มข้นที่แน่นอนของ 0.5 นอร์มอล $Fe(NH_4(SO_4)_2 . 6H_2O$

Sample = ปริมาณของสารตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมายเหตุ : ก่อนทำการวิเคราะห์จะต้องหาความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลาย 0.5 นอร์มอล $Fe(NH_4(SO_4)_2 . 6H_2O$ ก่อนโดยไทเทรตกับสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต

6. ปริมาณแป้ง ดัดแปลงจากวิธีการของ Dubois (1956)

<u>สารเคมี</u>

1. กรดซัลฟูริกเข้มข้น
2. สารละลาย 5 เปอร์เซ็นต์ฟีนอล (Phenol)

ละลายฟีนอล 5 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร เก็บในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีอายุการเก็บรักษานาน 30 วัน

3. สารละลายน้ำแป้งสุก ความเข้มข้น 0-200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

<u>วิธีการวิเคราะห์</u>

การเตรียม standard starch

1. นำสารละลายน้ำแป้งสุกแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 1 มิลลิลิตร ทำปฏิกิริยากับสารละลาย 5 เปอร์เซ็นต์ฟีนอล ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน
2. เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้นปริมาตร 5 มิลลิลิตร โดยให้ไอสัมผัสกับของเหลวมากที่สุด ตั้งทิ้งไว้นาน 5 นาที ผสมให้เข้ากัน แล้วตั้งทิ้งไว้ในอ่างน้ำอุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส นาน 10-20 นาที
3. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร ชุดควบคุมใช้น้ำกลั่นแทน
4. เขียนกราฟ standard starch ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายน้ำแป้งสุก

การหาปริมาณน้ำแป้งในตัวอย่าง

1. เตรียมสารละลายตัวอย่างให้มีความเข้มข้นเหมาะสม
2. ดำเนินการทดลองเช่นเดียวกับการเตรียม standard starch
3. นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาเปรียบเทียบหาปริมาณแป้งจากกราฟ standard starch

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. การตรวจนับจำนวนสปอร์โดยใช้ Haemacytometer (Petreoff-Hausserchamber)

Haemacytometer เป็นเครื่องมือซึ่งโดยพื้นฐานใช้สำหรับการนับเม็ดเลือด แต่ได้นำมาประยุกต์ใช้ในการนับจำนวนจุลินทรีย์และสปอร์ของเชื้อรา เครื่องมือนี้เป็นสไลด์ซึ่งมีสเกล แบ่งช่องไว้แน่นอน และมีขอบยกสูงจากสเกล เมื่อปิดด้วย cover slip ขอบนี้จะรองรับ cover slip ไว้ ทำให้เกิดระยะห่างระหว่าง cover slip จากบริเวณที่มีสเกลคิดเป็นความลึกได้ 0.1 หรือ 0.2 มิลลิลิตร แล้วแต่บริษัทผู้ผลิต สเกลที่กำหนดไว้ประกอบด้วยช่องสี่เหลี่ยมจตุรัสใหญ่ 25 ช่อง แต่ละช่องมีขนาด 0.2 x 0.2 ตารางมิลลิเมตร แต่ละช่องใหญ่นี้มีขีดแบ่งเป็นช่องเล็กอีก 16 ช่อง แต่ละช่องมีเนื้อที่ 0.05 x 0.05 ตารางมิลลิเมตร ดังนั้นของเหลวที่บรรจุในแต่ละช่องเล็กจะมีปริมาตร 0.00025 ตารางมิลลิเมตร (0.05 x 0.05 x 0.1)

1.3.3 ใช้ปิเปตแบบซึ่งใช้เฉพาะกับเครื่องมือนี้โดยมีสายยางสวมด้านที่จะใช้ดูดตัวอย่างอาหาร แตะปลายปิเปตให้ตัวอย่างอาหารซึมเข้าไปในบริเวณซึ่งกำหนดปริมาตรดังกล่าวไว้ข้างต้น

1.3.4 ตรวจนับโดยใช้ objective กำลังขยาย 40 เท่า

1.3.5 นับจำนวนจุลินทรีย์ในแต่ละช่องเล็ก ควรตรวจนับจำนวนจุลินทรย์ทั้งสิ้นไม่น้อยกว่า 10 ช่อง

1.4 การคำนวนปริมาณจุลินทรีย์

1.4.1 รวมจำนวนที่นับได้จากแต่ละช่องเล็ก หารด้วยจำนวนช่อง จะได้ค่าเฉลี่ยจำนวนต่อหนึ่งช่องเล็ก เช่น ได้ X เซลล์ตัวอย่าง

1.4.2 คำนวณจำนวนจุลินทรีย์ต่อตัวอย่างอาหารหนึ่งมิลลิลิตรได้ดังนี้

อาหาร 0.00025 ลูกบาศก์มิลลิเมตร มีจุลินทรีย์ = X เซลล์ (ปริมาตรของแต่ละช่องเล็ก)

อาหาร 1 มิลลิลิตรมีจุลินทรีย์ $= \frac{X \times 10^3}{0.0025}$ เซลล์

$= 4X \times 10^6$ เซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค
ตารางการวิเคราะห์ทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ ค-1 ความแตกต่างของการย่อยแป้งของเชื้อ *Aspergillus oryzae* TISTR 3019 ที่พีเอช ต่างๆ

พีเอช	การย่อยแป้ง(ร้อยละ)
3.5	59.32 c
4.0	55.40 d
4.5	60.26 b
5.0	62.70 a

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีค่าแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางภาคผนวกที่ ค-2 ความแตกต่างของการลดลงของค่าทีโอซีของเชื้อ *Aspergillus oryzae* TISTR 3019 ที่พีเอช ต่างๆ

พีเอช	การลดลงของทีโอซี(ร้อยละ)
3.5	50.00 d
4.0	73.80 c
4.5	80.95 b
5.0	96.42 a

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีค่าแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ค-3 ความแตกต่างของอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของเชื้อ *Aspergillus oryzae* TISTR 3019 ที่พีเอช ต่างๆ

pH	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ(ต่อชั่วโมง)
3.5	0.07 b
4.0	0.07 b
4.5	0.08 b
5.0	0.10 a

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีค่าแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางภาคผนวกที่ ค-4 ความแตกต่างในการย่อยแป้งของจุลินทรีย์ชนิด ต่างๆที่พีเอช 5.0

จุลินทรีย์	การย่อยแป้ง(ร้อยละ)
Aspergillus oryzae TISTR 3019	62.70 a
Rhizopus oligosporus TISTR 3001	60.11 b
Rhizopus arrhizus TISTR 3247	39.85 d
Trichoderma viride TISTR 3167	29.47 f
Trichoderma reesei TISTR 3081	34.56 e
Endomycopsis fibuligera	44.02 c

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีค่าแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ค-5 ความแตกต่างของการลดลงของค่าทีโอซีของจุลินทรีย์ชนิด ต่างๆ ที่พีเอช 5.0

จุลินทรีย์	การลดลงของทีโอซี(ร้อยละ)
Aspergillus oryzae TISTR 3019	96.42 a
Rhizopus oligosporus TISTR 3001	84.52 b
Rhizopus arrhizus TISTR 3247	65.48 e
Trichoderma viride TISTR 3167	38.00 f
Trichoderma reesei TISTR 3081	78.57 c
Endomycopsis fibuligera	66.27 d

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีค่าแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางภาคผนวกที่ ค-6 ความแตกต่างของอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของจุลินทรีย์ชนิด ต่างๆที่พีเอช 5.0

จุลินทรีย์	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ(ต่อชั่วโมง)
Aspergillus oryzae TISTR 3019	0.10 a
Rhizopus oligosporus TISTR 3001	0.08 b
Rhizopus arrhizus TISTR 3247	0.06 d
Trichoderma viride TISTR 3167	0.04 f
Trichoderma reesei TISTR 3081	0.05 e
Endomycopsis fibuligera	0.06 c

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีค่าแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ค-7 ความแตกต่างของซีโอดีที่ลดลงในการเลี้ยงเชื้อ *Aspergillus oryzae* สายพันธุ์ที่แตกต่างกัน

สายพันธุ์ของ *Aspergillus oryzae*	ค่าซีโอดีที่ลดลง(ร้อยละ)
Aspergillus oryzae TISTR 3086	55.00 c
Aspergillus oryzae TISTR 3065	59.50 b
Aspergillus oryzae TISTR 3013	61.00 a

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีค่าแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางภาคผนวกที่ ค-8 ความแตกต่างของน้ำหนักเซลล์แห้งในการเลี้ยงเชื้อ *Aspergillus oryzae* สายพันธุ์ที่แตกต่างกัน

สายพันธุ์ของ *Aspergillus oryzae*	น้ำหนักเซลล์แห้ง(กรัมต่อลิตร)
Aspergillus oryzae TISTR 3086	3.89 c
Aspergillus oryzae TISTR 3065	4.01 a
Aspergillus oryzae TISTR 3013	3.97 b

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีค่าแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางภาคผนวกที่ ค-9 ความแตกต่างของปริมาณโปรตีนในการเลี้ยงเชื้อ *Aspergillus oryzae* สายพันธุ์ที่แตกต่างกัน

สายพันธุ์ของ *Aspergillus oryzae*	ปริมาณโปรตีน(ร้อยละ)
Aspergillus oryzae TISTR 3086	20.04 b
Aspergillus oryzae TISTR 3065	18.99 c
Aspergillus oryzae TISTR 3013	22.75 a

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีค่าแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ค-10 ความแตกต่างของอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะในการเลี้ยงเชื้อ *Aspergillus oryzae* สายพันธุ์ที่แตกต่างกัน

สายพันธุ์ของ *Aspergillus oryzae*	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ(ต่อชั่วโมง)
Aspergillus oryzae TISTR 3086	0.065 b
Aspergillus oryzae TISTR 3065	0.070 ab
Aspergillus oryzae TISTR 3013	0.080 a

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีค่าแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางภาคผนวกที่ ค-11 ความแตกต่างของซีโอดีที่ลดลงในการเลี้ยงเชื้อ *Rhizopus oligosporus* สายพันธุ์ที่แตกต่างกัน

สายพันธุ์ของ *Rhizopus oligosporus*	ค่าซีโอดีที่ลดลง(ร้อยละ)
Rhizopus oligosporus TISTR 3532	55.50 c
Rhizopus oligosporus TISTR 3527	66.50 a
Rhizopus oligosporus TISTR 3158	60.60 b

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีค่าแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางภาคผนวกที่ ค-12 ความแตกต่างของน้ำหนักเซลล์แห้งในการเลี้ยงเชื้อ *Rhizopus oligosporus* สายพันธุ์ที่แตกต่างกัน

สายพันธุ์ของ *Rhizopus oligosporus*	น้ำหนักเซลล์แห้ง(กรัมต่อลิตร)
Rhizopus oligosporus TISTR 3532	3.70 c
Rhizopus oligosporus TISTR 3527	4.22 a
Rhizopus oligosporus TISTR 3158	3.85 b

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีค่าแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ค-13 ความแตกต่างของปริมาณโปรตีนในการเลี้ยงเชื้อ *Rhizopus oligosporus* สายพันธุ์ที่แตกต่างกัน

สายพันธุ์ของ *Rhizopus oligosporus*	ปริมาณโปรตีน(ร้อยละ)
Rhizopus oligosporus TISTR 3532	17.32 b
Rhizopus oligosporus TISTR 3527	17.59 a
Rhizopus oligosporus TISTR 3158	15.40 c

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีค่าแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางภาคผนวกที่ ค-14 ความแตกต่างของอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะในการเลี้ยงเชื้อ *Rhizopus oligosporus* สายพันธุ์ที่แตกต่างกัน

สายพันธุ์ของ *Rhizopus oligosporus*	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ(ต่อชั่วโมง)
Rhizopus oligosporus TISTR 3532	0.049 b
Rhizopus oligosporus TISTR 3527	0.070 a
Rhizopus oligosporus TISTR 3158	0.050 ab

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีค่าแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ค-15 ความแตกต่างของน้ำหนักเซลล์แห้งในการเลี้ยงเชื้อ *Aspergillus oryzae* TISTR 3103 และ*Rhizopus oligosporus* TISTR 3527 ที่ระยะเวลาต่างๆในน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง

จุลินทรีย์	น้ำหนักเซลล์แห้งที่เวลาต่างๆ (ชั่วโมง)					
	4	8	12	16	20	24
Aspergillus oryzae TISTR 3103	1.40e	2.00d	3.12c	3.55b	3.98a	4.05a
Rhizopus oligosporus TISTR 3527	1.30e	2.10d	2.96c	3.63b	4.08a	4.15a

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีค่าแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางภาคผนวกที่ ค-16 ความแตกต่างของการลดลงของซีโอดีในการเลี้ยงเชื้อ *Aspergillus oryzae* TISTR 3103 และ*Rhizopus oligosporus* TISTR 3527 ที่ระยะเวลาต่างๆในน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง

จุลินทรีย์	น้ำหนักเซลล์แห้งที่เวลาต่างๆ (ชั่วโมง)					
	4	8	12	16	20	24
Aspergillus oryzae TISTR 3103	10f	20e	34d	46c	57b	60.5a
Rhizopus oligosporus TISTR 3527	9f	19e	32d	48c	55b	60a

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีค่าแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กรรณิการ์ สิริสิงห์. 2544. เคมีของน้ำ. น้ำโสโครกและการวิเคราะห์, กรุงเทพฯ. 365 น.

จำลอง เจียมจำนรรจา. 2545. พฤษศาสตร์พืชเศรษฐกิจ. ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร, กรุงเทพฯ. 47-51 น.

ดวงพร คันธโชติ. 2530. จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม. *อ้างโดย* ดุษณี ธนะบริพัตน์.โครงการตำรา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีเจ้าคุณทหารลาดกระบัง,กรุงเทพฯ.

ดุษณี ธนะบริพัตน์. 2537. จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม. พิมพ์ครั้งที่ 2. โครงการตำราคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีเจ้าคุณทหารลาดกระบัง,กรุงเทพฯ.

นพพร สายัณผล รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ และเรวัต เลิศฤทัยโยธิน. พืชเศรษฐกิจ. 2542. ภาควิชาพืชไร่นาคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 84-85 น.

นวลพรรณ ณ ระนอง. 2539. ปฏิบัติการวิเคราะห์คุณภาพน้ำ. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ. 87 น.

วรรณทนา ราชชมภู ศิรินดา พุฒชูชาติ และเหมวดี กิจวรเกียรติ. 2540. การผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปมันฝรั่งโดย *Candida tropicalis* TISTR 5136. โครงงานพิเศษปริญญาตรีภาควิชาชีววิทยา ประยุกต์. คณะวิทยาศาสตร์. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

สมใจ ศิริโภค. 2545. จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม. ศูนย์สื่อเสริมกรุงเทพ, กรุงเทพฯ. 156-157, 239-247, 286-290 น.

สมศิริ นัยนาภรณ์ สุกัญญา เจริญชัยศิริกุล และอรทัย เถลิงเกรียติลีลา. 2539. การผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากกากเปลือกส้มโอโดยกระบวนการหมักในอาหารแข็งเพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์ โครงงานพิเศษปริญญาตรี สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ไสว พงษ์เก่า. 2534. พืชเศรษฐกิจ (Economic crop). ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 454-487 น.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lee, B. 1996. Food Biotechnology. New York. vcw Publishers. 267 p.

Lindblom, M. 1973 The influence of alkali and heat treatment on yeast protein. *อ้างโดย* ดุษณี ธนะบริพัฒน์.โครงการตำราคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีเจ้าคุณทหารลาดกระบัง,กรุงเทพฯ.

Litchfiled, J.H. 1991. Food supplement from microbial protein. *อ้างโดย* ดุษณี ธนะบริพัฒน์.โครงการตำราคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

Payer, H.P. 1975. The contamination of micro-algea with some environmental toxins. *อ้างโดย* ดุษณี ธนะบริพัฒน์.โครงการตำราคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีเจ้าคุณทหารลาดกระบัง,กรุงเทพฯ.

Reed, G. 1982. Microbial biomass, single cell protein and other microbial products. In Presscott and Dunn's Industrial Microbiology. 4th ed. Edited by G. Reed AVI, Westport, Connecticut.

Riviere, J. 1977. Industrial Applications of Microbiology. Surrey University Press, London.

Woodard, J.C. and Short,D.D. 1973. Toxicity of alkali treated soy protein in rats. *อ้างโดย* ดุษณี ธนะบริพัฒน์.โครงการตำราคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีเจ้าคุณทหารลาดกระบัง,กรุงเทพฯ.

http://www.dft.moc.go.th

http://www.dsmz.de/media.htm

http://www.rdi.gpo.or.th/html

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้