สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่โดย *Candida tropicalis* TISTR 5136

(Studied on Optimal Conditions for Single Cell Protein from Chicken Processing Wastewater by *Candida tropicalis* TISTR 5136)

โดย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ดวงใจ โอชัยกุล

RCH
TP
248.65
S56
ด164ก
เลขหมู่...ด164ก
เลขทะเบียน 54386
วัน,เดือน,ปี 18 มี.ค. 2548

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

b. 11414507
i.

หัวข้อโครงการวิจัย การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่โดย *Candida tropicalis* TISTR 5136

ผู้วิจัย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ดวงใจ โอชัยกุล

บทคัดย่อ

การผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากจุลินทรีย์ โดยการนำน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปไก่มาเป็นวัตถุดิบนั้น ถือเป็นแนวทางหนึ่งในการใช้ประโยชน์ จากของเหลือทิ้งที่ไร้ประโยชน์จากโรงงานอุตสาหกรรม โดยใช้จุลินทรีย์ในการแปรรูปสารอินทรีย์ต่างๆ ที่มีในวัตถุดิบให้เป็นผลิตภัณฑ์มูลค่าเพิ่ม พร้อมทั้งเป็นการลดมลภาวะสิ่งแวดล้อมทางน้ำด้วย จากการนำน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปไก่มาเป็นอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อยีสต์ *Candida tropicalis* TISTR 5136 และศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต ได้แก่ แหล่งคาร์บอน , แหล่งไนโตรเจน และ growth factor จากการศึกษาพบว่า กลูโคสที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 โพแทสเซียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.025 และโพแทสเซียมไนเตรตที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.8 เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อยีสต์มากที่สุด โดยมีอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด 0.1564 ต่อชั่วโมง ให้มวลชีวภาพ 1.5865 กรัมต่อลิตร และสามารถลดค่าซีโอดีในน้ำทิ้งได้ร้อยละ 54.88 จากสภาวะดังกล่าวเซลล์ที่ผลิตได้ เมื่อนำมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในยีสต์ลักษณะเปียกพบว่าจะมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 7.83 ปริมาณไขมันร้อยละ 45.99 และมีความชื้นร้อยละ 71.06

Research Project	Studied on Optimal Conditions for Single Cell Protein from Chicken Processing Wastewater by *Candida tropicalis* TISTR 5136
Researcher	Assistant Professor Duangjai Ochaikul

Abstract

Production of single cell protein from chicken wastewater is another way to modify worthless organic matter to be higher value product and also it can decrease pollutant in environment. Using the yeast *Candida tropicalis* TISTR 5136 cultivated in chicken wastewater and studied optimal condition for yeast growth namable carbon source, growth factor and nitrogen source. The result of this experiment have shown that optimal condition for yeast growth are 2% glucose concentration (carbon source), 0.025% potassium chloride concentration (growth factor) and 0.8% potassium nitrate concentration (nitrogen source). The specific growth rate of yeast is 0.1564 per hour and maximum biomass is 1.5865 g/l and reduced COD 54.88%. The biomass is classifie as having protein content 7.83%, fat 45.99% and moisture 71.06%.

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประจำปีงบประมาณ 2545 ซึ่งสำเร็จได้ด้วยความช่วยเหลือจากบุคคลดังต่อไปนี้ นางสาวประกายวัน สุรินทร์ศิริรัฐ นางสาวปัญจพร สฤษดิชัยนันทา และนางสาวรัชนีวัลย์ กลิ่นกลบ นักศึกษาภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ทุกท่านที่ได้เอื้อเฟื้ออุปกรณ์ต่างๆ ที่ใช้ในการทดลอง

คณะผู้จัดทำ
มิถุนายน 2546

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ข
กิตติกรรมประกาศ ค
สารบัญตาราง ง
สารบัญรูปภาพ จ

บทที่ 1 บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงงานพิเศษ 1
1.2 วัตถุประสงค์ 1
1.3 ขั้นตอนในการดำเนินงาน 1
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2

บทที่ 2 การตรวจเอกสาร

2.1 ผลิตภัณฑ์ของบริษัทศรีไทยฟูดส์ แอนด์ เบฟเวอเรจ จำกัด 3
2.2 กระบวนการผลิตไก่สดแช่แข็ง 3
2.3 คุณสมบัติของน้ำเสียจากอุตสาหกรรมการแปรรูปไก่ 6
2.4 โปรตีนเซลล์เดียว 13
2.5 คุณสมบัติของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว 14
2.6 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว 14
2.7 วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว 17
2.8 สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว 19
2.9 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ 21

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 วัสดุอุปกรณ์ 22
3.2 วิธีการทดลอง 23

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและคุณลักษณะทางกายภาพของน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ 27
4.2 การศึกษาอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุดของเชื้อ *Candida tropicalis* TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ 28
4.3 การศึกษาแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ *C. tropicalis* TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ 30
4.4 การศึกษา growth factor ที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ *C. tropicalis* TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ที่มีแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสม 32
4.5 การศึกษาแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ *C. tropicalis* TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ที่มีแหล่งคาร์บอนและ growth factor ที่เหมาะสม 34
4.6 องค์ประกอบทางเคมีของเซลล์ยีสต์ที่ผลิตได้ 37
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ 38

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก. สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ 40
ภาคผนวก ข. วิธีการวิเคราะห์คุณภาพน้ำเสีย 41
ภาคผนวก ค. วิธีการหาน้ำหนักเซลล์แห้งของเซลล์ยีสต์ 52
ภาคผนวก ง. วิธีการวิเคราะห์องค์ประกอบของเซลล์ยีสต์ 76
ภาคผนวก จ. ตารางวิเคราะห์ทางสถิติ 78
เอกสารอ้างอิง 81

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1. ลักษณะน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ 7
2. อัตราส่วนระหว่างน้ำทิ้งต่อน้ำในลำน้ำสาธารณะและสารที่ลอย 11
3. ปริมาณโปรตีนในจุลินทรีย์ต่างๆ 14
4. แหล่งอาหารบางชนิดที่สามารถใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว 18
5. ความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของจุลินทรีย์กับค่าพีเอชที่มีผลต่อการเจริญเติบโต 20
6. ลักษณะน้ำทิ้งโรงงานแปรูปไก่จากบริษัท ศรีไทยฟูดส์ แอนด์ เบฟเวอเรจ จำกัด (มหาชน) 27
7. แหล่งคาร์บอนที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อ *C. tropicalis* TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ 31
8. แสดง growth factor ที่มีผลต่อการของเชื้อ *C. tropicalis* TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ที่มีกลูโคสเข้มข้นร้อยละ 2 33
9. แหล่งไนโตรเจนที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อ *C. tropicalis* TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ที่มีกลูโคสเข้มข้นร้อยละ 2 โพแทสเซียมคลอไรด์ เข้มข้นร้อยละ 2 35
10. แหล่งคาร์บอน , growth factor และแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ *C. tropicalis* TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ 36
11. องค์ประกอบทางเคมีของเชื้อ *C. tropicalis* TISTR 5136 ที่เลี้ยงในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ที่มีกลูโคสร้อยละ 2 เป็นแหล่งคาร์บอน โพแทสเซียมคลอไรด์ เข้มข้นร้อยละ 0.025 เป็น growth factor และโพแทสเซียมไนเตรตเข้มข้น ร้อยละ 0.8 เป็นแหล่งไนโตรเจน 37

สารบัญรูปภาพ

รูปที่ หน้า

1. แสดงการใช้น้ำ / น้ำทิ้งระหว่างขั้นตอนการผลิต และการเตรียมวัตถุดิบ 8
2. การปรับพีเอชน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ที่ผ่านการกรองแล้ว 24
3. การเลี้ยง C. tropicalis TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่บนเครื่องเขย่า 24
4. ลักษณะน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ 28
5. น้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ก่อนกรองและหลังกรอง 29
6. กราฟความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเจริญของเชื้อ C. tropicalis TISTR 5136 กับเวลา เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ 29
7. ความสัมพันธ์ระหว่างมวลชีวภาพของเชื้อ C. tropicalis TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่เมื่อมีแหล่งคาร์บอนที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน 31
8. ความสัมพันธ์ระหว่างมวลชีวภาพของเชื้อ C. tropicalis TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ที่มีกลูโคสเข้มข้นร้อยละ 2 เมื่อมี growth factor ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน 33
9. ความสัมพันธ์ระหว่างมวลชีวภาพของเชื้อ C. tropicalis TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ที่มีกลูโคสเข้มข้นร้อยละ 2 โพแทสเซียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 0.025 เมื่อมีแหล่งไนโตรเจนที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน 35
10. น้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ก่อนเลี้ยงเชื้อ และหลังเลี้ยงเชื้อแล้ว 14 ชั่วโมง 36

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงงานพิเศษ

ปัจจุบันพบว่าประเทศไทยมีโรงงานแปรรูปไก่หลายโรงงาน ซึ่งจากการผลิตจะทำให้เกิดน้ำเสียในปริมาณมาก โดยน้ำเสียเหล่านี้จะเป็นของเหลือทิ้งทางอุตสาหกรรมที่ไร้ประโยชน์แต่จากการศึกษาพบว่าน้ำทิ้งเหล่านี้จะประกอบไปด้วยไขมันและโปรตีน ที่สามารถนำมาใช้เป็นอาหารในการเลี้ยงยีสต์เพื่อใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว สำหรับเป็นแหล่งอาหารโดยตรงแก่มนุษย์ อาหาร-เสริมสำหรับมนุษย์และสัตว์ หรือเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนในการผลิตอาหารสัตว์ นับว่าเป็นแนวทางหนึ่งในการใช้ประโยชน์จากของเหลือทิ้งที่ไร้ประโยชน์ โดยใช้ยีสต์ในการแปรรูปสารอินทรีย์ต่างๆที่มีในวัตถุดิบ ให้เป็นผลิตภัณฑ์มูลค่าเพิ่ม และเป็นการเพิ่มรายได้กับผู้ประกอบการ พร้อมทั้งเป็นการลดมลภาวะสิ่งแวดล้อมทางน้ำด้วย

1.2 วัตถุประสงค์

1. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ โดย

ใช้เชื้อ Candida tropicalis TISTR 5136 เช่น แหล่งไนโตรเจน แหล่งคาร์บอน รวมทั้งเกลือแร่และวิตามินบางชนิด

2. ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนเซลล์เดียว ซึ่งผลิตภายใต้สภาวะที่เหมาะสม

1.3 ขั้นตอนในการดำเนินงาน

การดำเนินการวิจัย แบ่งเป็นขั้นตอนดังนี้

ขั้นที่ 1: วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและคุณลักษณะทางกายภาพของน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่

ขั้นที่ 2: ศึกษาอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุดของเชื้อ Candida tropicalis TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่

ขั้นที่ 3: ศึกษาแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ Candida tropicalis TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่

ขั้นที่ 4: ศึกษา growth factor ที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ Candida tropicalis TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่

ขั้นที่ 5: ศึกษาแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ Candida tropicalis TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่

ขั้นที่ 6: ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเซลล์ยีสต์ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะที่เหมาะสม

ขั้นที่ 7: การวิเคราะห์ สรุป และการจัดทำรายงาน

4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เป็นแนวทางในการเพิ่มแหล่งโปรตีนที่มีประสิทธิภาพและสอดคล้องกับความต้องการในปัจจุบัน
2. เป็นแนวทางในการศึกษาการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวโดยใช้เชื้อยีสต์เลี้ยงในน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปไก่
3. เป็นแนวทางในการปรับปรุงสายพันธุ์ยีสต์เพื่อให้มีความสามารถในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวมากขึ้น
4. สามารถนำน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปไก่ ที่เป็นสิ่งไร้ประโยชน์มาใช้ให้เกิดประโยชน์ และเป็นการลดมลภาวะสิ่งแวดล้อมทางน้ำได้
5. เป็นแนวทางที่จะศึกษาการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวโดยกระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพ ซึ่งเป็นวิธีหนึ่งที่เหมาะสมในการแก้ปัญหาการขาดแคลนโปรตีน

บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

2.1 ผลิตภัณฑ์ของบริษัทศรีไทยฟูดส์ แอนด์ เบเวอเรจ จำกัด (มหาชน)

ในปัจจุบันไก่สดของ บริษัท ศรีไทยฟูดส์ แอนด์ เบเวอเรจ จำกัด (มหาชน) ได้มีการจำหน่ายทั้งในรูปชำแหละเป็นชิ้นและแบบแปรรูป ตามความต้องการของตลาดทั้งในประเทศและส่งออกไปยังต่างประเทศ เช่น ญี่ปุ่น ซึ่งเป็นลูกค้ารายใหญ่ที่สุด รวมทั้งประเทศในแถบตะวันออกกลางและยุโรปด้วย ผลิตภัณฑ์ของบริษัทที่นำออกจำหน่ายมี 2 ลักษณะ คือ

1. ไก่สดแช่แข็ง คือ ชิ้นส่วนต่างๆ ของไก่ที่ชำแหละตามที่ผู้สั่งซื้อระบุ เช่น เนื้อหน้าอก เนื้อสะโพก เนื้อสันใน เนื้อปีก เป็นต้น ผลิตภัณฑ์ประเภทนี้จำเป็นต้องใช้แรงงานที่มีฝีมือและความชำนาญในการตัดแต่งชิ้นส่วนต่างๆ ให้เป็นดังรูปแบบที่ตรงกับความต้องการของลูกค้าเพื่อความสะดวกในการบริโภค ลักษณะของชิ้นส่วนที่ได้จากการชำแหละด้วยมือนี้นับเป็นข้อได้เปรียบสำคัญเนื่องจากการชำแหละชิ้นส่วนโดยใช้เครื่องจักรเช่นหลายๆโรงงานในต่างประเทศนั้นชิ้นส่วนที่ได้จะไม่สามารถตัดแยกในส่วนปลีกย่อยตามความต้องการได้และการใช้แรงงานคนนั้นยังสามารถลดความสูญเสียจากการตัดแต่งได้มาก

2. ผลิตภัณฑ์อื่นที่เป็นผลพลอยได้จากกระบวนการผลิตไก่สดแช่แข็ง เป็นการนำชิ้นส่วนของไก่ที่ตัดผิดหรือไม่ได้ขนาด รวมไปถึงเครื่องในและส่วนอื่น นำมาปรุงแต่งรูปแบบและรสชาติเพื่อผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ชนิดอื่น เช่น ไส้กรอก , ยากิเทอริ เป็นการเพิ่มมูลค่าของผลิตภัณฑ์ให้มากขึ้น ซึ่งชิ้นส่วนต่างๆ เหล่านี้เดิมจะถือเป็นของเสียจากกระบวนการผลิตที่ต้องทิ้งไปเนื่องจากเน่าเสียง่ายและไม่เป็นที่ต้องการของตลาด

2.2 กระบวนการผลิตไก่สดแช่แข็ง (POULTRY PROCESSING)

ในการผลิตไก่สดแช่แข็งในโรงงานที่ทันสมัยนั้นมีขั้นตอนการผลิตหลายขั้นตอน จึงจำเป็นที่จะต้องมีการวางแผนกระบวนการผลิต และต้องมีการควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์ เพื่อให้สินค้าที่ผลิตได้มีคุณภาพและเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคมากที่สุด

กระบวนการผลิตเนื้อไก่สดแช่แข็ง

1. การขนส่งและการรับวัตถุดิบ

การขนส่งไก่จากฟาร์มเข้าโรงเชือดนั้น ส่วนใหญ่จะนำไก่บรรจุลงในเข่งพลาสติกเนื่องจากทำความสะอาดได้ง่าย ขนย้ายสะดวก และมีความคงทนแข็งแรงกว่ากล่องหรือเข่งไม้ไผ่

เมื่อขนส่งไก่มาถึงโรงเชือดแล้วจะนำไปหาค่าน้ำหนักไก่ที่รถบรรทุกมา โดยหักน้ำหนักของรถเปล่าจากน้ำหนักของรถพร้อมไก่ที่ได้ชั่งไว้ก่อนหน้านี้ หลังจากนั้นจะนำรถไปจอดที่ลานไก่เป็น และทำการพักไก่ก่อนเชือดประมาณครึ่งชั่วโมงเพื่อให้ไก่คลายความเครียดจากการขนส่งซึ่งจะทำให้สามารถเอาเลือดไก่ออกได้อย่างสมบูรณ์ ในช่วงพักไก่นี้จะมีการตรวจสอบคุณภาพเนื้อของไก่เป็นโดยสัตวแพทย์ เพื่อให้แน่แน่ใจว่าเนื้อไก่ที่ได้นั้นจะมีคุณภาพสมบูรณ์ดี หลังจากครบเวลาพักแล้วจะนำไก่ขึ้นแขวนบนราวที่จะเข้าสู่ห้องเชือดต่อไป

2. การเชือดไก่เพื่อเอาเลือดออก

เป็นการฆ่าไก่และเอาเลือดออกให้มากที่สุด ใช้เวลาประมาณ 2 นาที ในการเชือดไก่นั้นจะต้องทำการตัดหลอดลมให้ขาด มิฉะนั้นเลือดในตัวไก่จะออกไม่หมดทำให้ไก่ตัวแดงซึ่งถือว่ามีคุณภาพไม่ดี การเชือดไก่มี 2 วิธี คือ

1.) การเชือดโดยไม่ทำให้ไก่สลบ เป็นวิธีที่ทางโรงงานใช้เนื่องการความสะดวก และประหยัด แต่มีข้อเสียคือ จะทำให้ไก่ดิ้นแรงมากจนทำให้เกิดการบอบช้ำและอาจทำให้ส่วนต่างๆของไก่หักได้

2.) การทำให้ไก่สลบก่อนด้วยกระแสไฟฟ้าแล้วจึงเชือด

3. การลวกและการถอนขน

หลังจากเลือดออกหมดตัวไก่แล้วจะนำไก่ผ่านเข้าหม้อลวกหรือรางลวกซึ่งจะใช้อุณหภูมิประมาณ 58-61 องศาเซลเซียส เพื่อให้เหมาะสมกับความเร็วของราง ขนาดของไก่ และสภาพของไก่จึงใช้อุณหภูมิ 61 องศาเซลเซียส เมื่อใช้ความเร็วราว 105 ตัวต่อนาที

เมื่อทำการลวกแล้วจะนำไก่ผ่านเข้าเครื่องตีขนมี 3 เครื่อง คือ

1.) ถอนขนแท้ ใช้ลูกยางขนาด 8 นิ้ว

2.) ถอนขนอ่อน ใช้ลูกยางขนาด 4 นิ้ว

3.) ถอนขนที่เหลือใช้ลูกยางขนาด 6 นิ้ว

4. การตัดหัวและขา

หลังจากทำการถอนขนแล้วจะนำไก่ไปตัดหัวและขาด้วยเครื่อง ตัดขาออกประมาณครึ่งแข้ง ขาที่ตัดแล้วจะนำไปเข้าเครื่องปั่นหนังออก ส่วนซากไก่ที่ตัดขาออกแล้วจะถูกลำเลียงเข้าสู่ห้องเครื่องในต่อไป

5. การเอาเครื่องในออก

ทำการนำตัวไก่ขึ้นแขวนบนราว แล้วทำการสอยคอโดยกรีดหนังบริเวณข้างกระเพาะพัก ดึงให้หลุดจากเนื้อเยื่อรอบข้างแล้วตัดออก ซึ่งจะทำโดยใช้แรงงานคน จากนั้นจะทำการเจาะก้น สอยก้น งัดเครื่องใน ดึงเครื่องในออกโดยใช้แรงงานคน ดึงกระเพาะกับหลอดลมที่เหลือออกโดยใช้เครื่อง ทำการการฉีดน้ำล้างทำความสะอาดซากไก่ และผ่านไก่ลงสู่ถังน้ำเย็น (Chiller)

6. การตรวจสอบคุณภาพ

หลังกระบวนการเอาเครื่องในออกแล้ว เจ้าหน้าที่จะทำการตรวจสอบคุณภาพไก่เพื่อคัดไก่ที่มีคุณภาพต่ำออก ให้มีเฉพาะไก่ที่มีคุณภาพดีเท่านั้นที่จะผ่านเข้าสู่กระบวนการผลิตขั้นต่อไป

7. การแช่เย็น

ไก่ที่ผ่านการตรวจสอบคุณภาพแล้วจะถูกทำความสะอาดโดยใช้น้ำฉีด จากนั้นจะผ่านเข้าสู่ถังแช่เย็นเพื่อรักษาคุณภาพเนื้อ ทำให้เนื้อไก่แข็งง่ายต่อการตัดแต่ง และยังเป็นการชลอการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในตัวไก่อีกด้วย การแช่เย็นนี้จะทำโดยนำไก่แช่ลงในถังที่บรรจุน้ำผสมกับน้ำแข็ง กระบวนการนี้ประกอบด้วยถังน้ำแข็ง 2 ถัง ถังแรกจะทำการลดอุณหภูมิของตัวไก่จากอุณหภูมิประมาณ 38 องศาเซลเซียส จนมีอุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส จากนั้นจะนำไก่จากถังแรกลงสู่ถังที่ 2 ที่จะลดอุณหภูมิของไก่ลงถึง 4 องศาเซลเซียส รวมแล้วใช้เวลาทั้งหมดในการทำเย็นประมาณ 45 นาที

น้ำในถังทำเย็นนี้จะต้องมีการผสมสารฆ่าเชื้อโรคคือคลอรีนให้มีความเข้มข้น 20 พีพีเอ็ม และจะต้องมีการระบายน้ำออกเสมอเพื่อให้น้ำในถังมีความสะอาดตลอดเวลา อย่างไรก็ตามการแช่ไก่ในถังน้ำเย็นนั้นไม่ควรให้นานเกินครึ่งชั่วโมง เพราะจะทำให้เนื้อไก่มีลักษณะแฉะ และอุ้มน้ำ ไก่ที่ผ่านกระบวนการทำเย็นแล้วจะถูกส่งผ่านไปยังห้องตัดแต่งซากโดยผ่านรางเลื่อนต่อไป

8. การตัดแต่งตัวไก่และการตัดแต่งเนื้อ

ไก่ที่ผ่านกระบวนการแช่เย็นแล้วจะถูกส่งไปทำการชำแหละในห้องที่มีการควบคุมอุณหภูมิให้มีอุณหภูมิต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียสอยู่เสมอ เพื่อรักษาคุณภาพเนื้อในระหว่างกระบวนการผลิต กระบวนการชำแหละนี้จะต้องทำด้วยความรวดเร็ว และจะต้องมีการรักษาความสะอาดภายในห้องชำแหละเพื่อป้องกันไม่ให้เนื้อไก่ที่ผลิตเกิดการติดเชื้อแบคทีเรียซึ่งจะช่วยให้เนื้อไก่ที่

ผลิตได้มีคุณภาพตรงตามมาตรฐาน จากนั้นจะนำชิ้นส่วนไก่ที่ทำการตัดแต่งแล้วไปบรรจุหีบห่อต่อไป

9. การบรรจุหีบห่อ

ชิ้นส่วนไก่ที่ผ่านการตัดแต่งแล้วจะถูกนำมาบรรจุลงในถุงพลาสติกตามน้ำหนักที่ต้องการ แล้วทำการปิดผนึกถุงด้วยระบบสุญญากาศ (Vacuum sealing) ไม่ให้มีอากาศเหลืออยู่ในถุงอีก ถ้ามีอากาศในถุงจะต้องทำการปิดผนึกใหม่ จากนั้นจะนำเนื้อไก่ที่ได้ไปแช่แข็ง

10. การแช่แข็งและการบรรจุกล่อง

เนื้อไก่บรรจุในถุงสุญญากาศแล้วจะถูกนำเข้าแช่แข็งในห้อง Blast freezzer ที่มีอุณหภูมิประมาณ –30 ถึง –40 องศาเซลเซียส

เนื้อไก่ที่แช่แข็งแล้วจะถูกนำมาบรรจุกล่องในห้องที่สะอาดและมีการควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ที่ –18 องศาเซลเซียส การบรรจุกล่องนี้จะต้องทำด้วยความระมัดระวัง รวดเร็วและรักษาความสะอาดอยู่เสมอ

กล่องที่ใช้บรรจุนี้จะต้องมีการบอกรายละเอียดต่างๆ ของผลิตภัณฑ์ เช่น วันที่ผลิต วันหมดอายุ น้ำหนัก เป็นต้น ในกรณีเนื้อไก่ที่ผลิตเพื่อการส่งออกจะต้องมีการประทับตรารับรองโดยเจ้าหน้าที่รัฐบาลด้วย

11. การแช่แข็ง (Cold storage) และการขนส่งเนื้อไก่แช่แข็งจากห้องเย็นสู่ตลาด

หลังจากการบรรจุกล่องแล้วจะต้องรีบนำเข้าสู่ห้องแช่แข็งที่มีอุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียสทันที เพื่อรักษาความเย็นของผลิตภัณฑ์และรอการจำหน่ายต่อไป

การขนส่งเนื้อไก่แช่แข็งจะทำโดยบรรทุกในรถที่มีการรักษาอุณหภูมิให้ไม่เกิน –20 องศาเซลเซียส เพื่อรักษาคุณภาพของผลิตภัณฑ์ให้มีความสดอยู่เสมอ

2.3 คุณสมบัติของน้ำเสียจากอุตสาหกรรมการแปรรูปไก่

เนื่องจากน้ำเสียที่เกิดจากกรรมวิธีต่างๆของกระบวนการแปรรูไก่นั้นจะประกอบด้วยสารหลายชนิดทั้งอินทรียสารและอนินทรียสารน้ำเสียที่ไม่ได้ผ่านการบำบัดให้ถูกวิธีจะก่อให้เกิดปัญหาแก่แหล่งน้ำตามธรรมชาติ เช่น ทำให้เหม็นเน่า หรือก่อให้เกิดอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตต่างๆ เป็นต้น ในน้ำแต่ละแหล่งจะลักษณะแตกต่างกันออกไปทั้งด้านกายภาพ เคมี และชีววิทยา

โดยในปัจจุบันทางโรงงานมีแหล่งน้ำเสียหลักอยู่ 3 แหล่ง คือ

1.จากส่วนอาหารสำเร็จรูป

2. จากการเชือดไก่สด

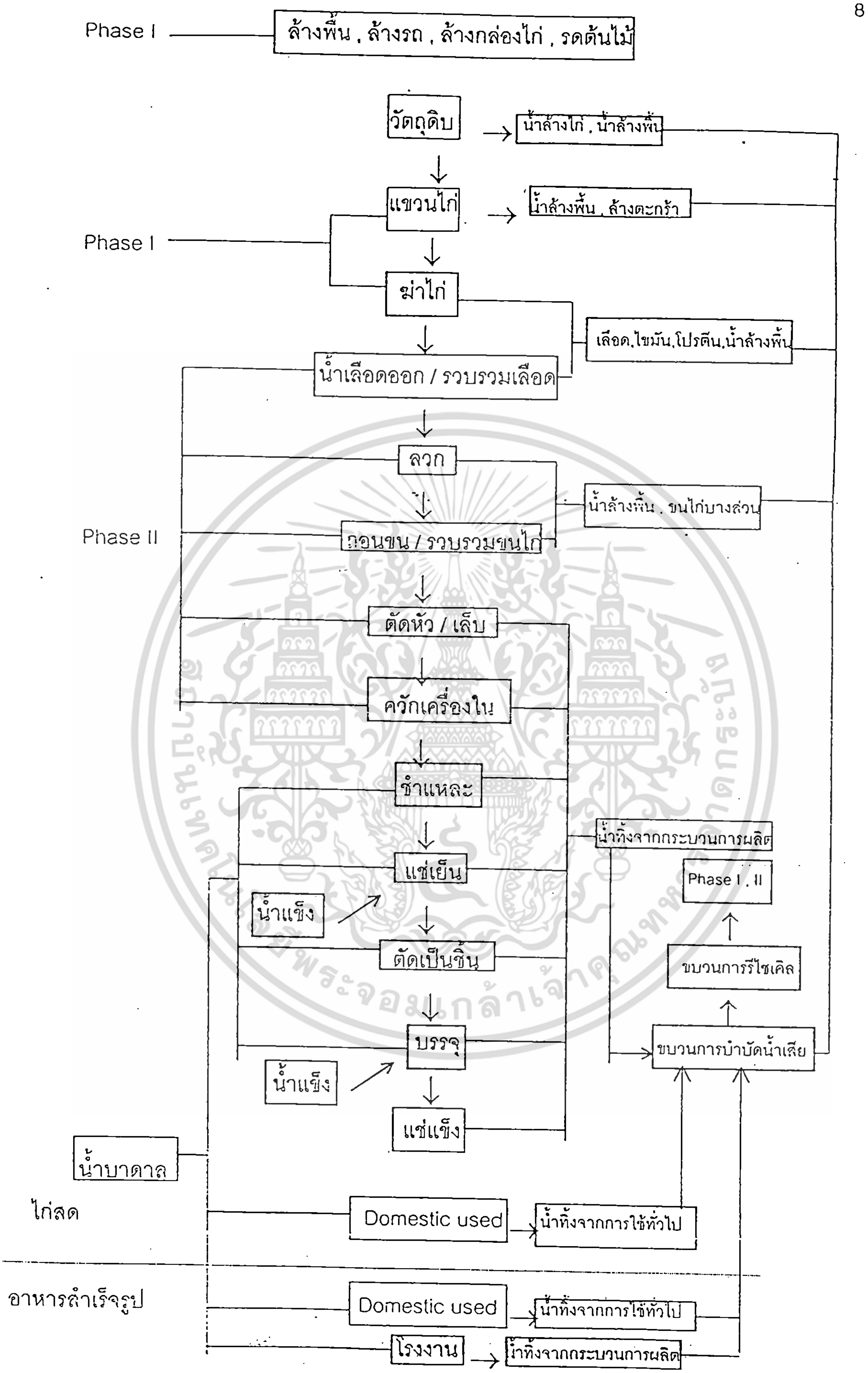
3. น้ำจากกระบวนการผลิตต่างๆ

น้ำเสียทั้งหมดที่เกิดขึ้นจากกระบวนการแปรรูปไก่แสดงดังรูปที่ 1 จะถูกรวบรวมเข้าไปไว้ยังส่วนของบ่อดักไขมัน ถือว่าเป็น pre-treatment และจำเป็นต้องทำการกำจัดไขมันที่ลอยอยู่บริเวณผิวหน้าทิ้ง เนื่องจากคุณสมบัติของน้ำทิ้งที่จะปล่อยสู่แหล่งน้ำจะต้องมีไขมันเหลืออยู่เพียง 5 ppm. และไขมันที่ลอยอยู่บริเวณผิวน้ำจะทำให้ปริมาณการละลายของออกซิเจนในน้ำลดลง ซึ่งไขมันที่ลอยอยู่บริเวณผิวหน้าจะกำจัดโดยการตักใส่ถุงแล้วนำไปทิ้ง หรือขายเพื่อนำไปเป็นอาหารปลา ลักษณะของน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ลักษณะของน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่

พารามิเตอร์	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อลิตร)
พีเอช	8.4
สารแขวนลอย	71.0
บีโอดี	24.0

ที่มา : บริษัท ศรีไทยฟูดส์ แอนด์ เบเวอเรจ จำกัด (มหาชน) (2542)


Phase I
ล้างพื้น , ล้างรถ , ล้างกล่องไก่ , รดต้นไม้
วัตถุดิบ
น้ำล้างไก่ , น้ำล้างพื้น
แขวนไก่
น้ำล้างพื้น , ล้างตะกร้า
Phase I
ฆ่าไก่
เลือด,ไขมัน,โปรตีน,น้ำล้างพื้น
น้ำเลือดออก / รวบรวมเลือด
ลวก
น้ำล้างพื้น , ขนไก่บางส่วน
Phase II
ถอนขน / รวบรวมขนไก่
ตัดหัว / เล็บ
ควักเครื่องใน
ชำแหละ
น้ำทิ้งจากกระบวนการผลิต
Phase I , II
แช่เย็น
น้ำแข็ง
ตัดเป็นชิ้น
ขบวนการรีไซเคิล
บรรจุ
ขบวนการบำบัดน้ำเสีย
น้ำแข็ง
แช่แข็ง
น้ำบาดาล
ไก่สด
Domestic used
น้ำทิ้งจากการใช้ทั่วไป
อาหารสำเร็จรูป
Domestic used
น้ำทิ้งจากการใช้ทั่วไป
โรงงาน
น้ำทิ้งจากกระบวนการผลิต

รูปที่ 1 แสดงการใช้น้ำ / น้ำทิ้งระหว่างขั้นตอนการผลิต และการเตรียมวัตถุดิบ

คุณลักษณะของน้ำเสียที่ควรพิจารณา

1. คุณลักษณะทางด้านกายภาพ
   1.1 อัตราการไหล
   1.2 อุณหภูมิ
   1.3 ของแข็ง
   1.4 คุณสมบัติทางกายภาพอื่นๆ เช่น สี ความขุ่น กลิ่น เป็นต้น
2. คุณลักษณะทางด้านเคมี
   2.1 ความเป็นกรด-ด่าง
   2.2 สารที่มีพิษ
   2.3 สารกัมมันตภาพรังสี
3. คุณลักษณะเกี่ยวกับอินทรียสารและสารชีวภาพ

อินทรียสารต่างๆ ในน้ำเสียจะถูกใช้เป็นแหล่งอาหารของจุลินทรีย์ ในระยะเริ่มต้นของการย่อยสลายจุลินทรีย์ชนิดที่ใช้อากาศจะใช้ออกซิเจนอิสระในน้ำ เพื่อนำไปใช้ในกระบวนการสร้างส่วนประกอบของเซลล์และการเพิ่มจำนวน เมื่อจุลินทรีย์ใช้ออกซิเจนอิสระในน้ำเสียหมด จำนวนของจุลินทรีย์ชนิดที่ใช้อากาศก็จะลดลงด้วย จุลินทรีย์ชนิดที่ไม่ใช้อากาศในการเจริญเติบโตจะเพิ่มจำนวนขึ้นแทน การกำจัดน้ำเสียนั้นจำเป็นต้องทำการตรวจวิเคราะห์ด้านต่างดังนี้ คือ

3.1 ออกซิเจนที่สามารถละลายน้ำได้ (DO) คือ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายได้ในน้ำ ค่าDOนี้สามารถใช้เป็นค่าชี้บอกคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำต่างๆได้ ถ้าค่าDOนี้มีค่ามากคือในน้ำนั้นมีออกซิเจนละลายอยู่มากแสดงว่าน้ำนั้นมีคุณภาพดี ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำส่วนใหญ่เกิดจากการละลายของออกซิเจนในธรรมชาติหรือใช้เครื่องพ่นอากาศ ความสามารถในการละลายของออกซิเจนภายใต้ความดันบรรยากาศปกติขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ ปริมาณเกลือแร่และไอออนต่างๆที่ปนอยู่ในน้ำด้วย พบว่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายได้ในน้ำจะมีค่าน้อยลงเมื่อมีอุณหภูมิสูงขึ้น ในขณะที่อัตราการย่อยสลายทางชีววิทยาจะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ในน้ำเสียค่าDOจะเป็นตัวบ่งชี้ว่าปฏิกิริยาทางชีววิทยาจะเกิดขึ้นในสภาพที่ใช้อากาศหรือไม่ใช้อากาศ

3.2 ปริมาณออกซิเจนที่ใช้ในปฏิกิริยาทางชีวภาพ (BOD) คือ ปริมาณของออกซิเจนที่จุลินทรีย์ใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ชนิดที่ย่อยสลายได้ภายใต้สภาวะที่ใช้อากาศ ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ในเวลา 5 วัน มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อลิตร ค่า BOD จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณอินทรียสารที่ถูกทำลายด้วยปฏิกิริยาของจุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศ ในน้ำเสียที่มีค่า

BOD สูงแสดงว่ามีปริมาณของอินทรียสารที่ก่อให้เกิดความสกปรกเจือปนอยู่มาก จึงมักใช้ค่า BOD มาเป็นตัวบ่งชี้ในการควบคุม การปรับปรุง และการกำจัดน้ำเสียได้เป็นอย่างดี

3.3 ปริมาณออกซิเจนที่ใช้ในปฏิกิริยาเคมี (COD) คือ ปริมาณออกซิเจนทั้งหมดที่ต้องการใช้เพื่อการออกซิไดซ์สารอินทรีย์ ทั้งที่ย่อยสลายได้และย่อยสลายไม่ได้ในน้ำ ให้เปลี่ยนเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ โดยใช้หลักการที่ว่าสารประกอบอินทรีย์เกือบทุกชนิดจะถูกออกซิไดซ์โดยสารเคมีที่มีอำนาจในการออกซิไดซ์สูง ค่า COD จะมีค่าสูงกว่าค่า BOD และสูงมากเมื่อมีสารอินทรีย์ที่ยากต่อการย่อยสลายทางชีววิทยาอยู่

3.4 จุลินทรีย์ชนิดต่างๆ (Organisms) กรรมวิธีในการบำบัดน้ำเสียหลังจากการบำบัดขั้นเตรียมการ(ปฐมภูมิ) นิยมใช้ปฏิกริยาการย่อยสลายของจุลินทรีย์ จึงต้องมีการตรวจวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ที่มีมากับน้ำเสียก่อนเริ่มทำการบำบัด เพื่อช่วยให้สามารถดำเนินการบำบัดได้อย่างเหมาะสม และพบว่าจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายสารอินทรีย์ส่วน ใหญ่ในน้ำเสีย คือ แบคทีเรีย รองลงมา คือ รา สาหร่าย และโปรโตซัว

มาตรฐานน้ำทิ้งของกระทรวงอุตสาหกรรม

ประกาศของกระทรวงอุตสาหกรรม ฉบับที่ 2 (พ.ศ. 2513) ออกตามพระราชบัญญัติโรงงาน พ.ศ. 2512 หมวดที่ 5 การกำจัดสิ่งปฏิกูล การระบายน้ำทิ้ง และการระบายอากาศ

ข้อ 22 ห้ามมิให้ระบายน้ำทิ้งจากโรงงาน เว้นแต่ได้กระทำการอย่างใดอย่างหนึ่งหรือหลายอย่าง ให้มีลักษณะดังต่อไปนี้

1. ค่าของความเป็นกรด-ด่าง อยู่ระหว่าง 5-9
2. permanganate value ไม่มากกว่า 60 มิลลิกรัมต่อลิตร
3. สารที่ละลายได้ (Dissolves solids) รวมกันไม่มากกว่า 2,000 มิลลิกรัมต่อลิตร
4. ซัลไฟด์คิดเทียบเป็น H_2S ไม่มากกว่า 1 มิลลิกรัมต่อลิตร
5. ไซยาไนต์คิดเทียบเป็น HCN ไม่มากกว่า 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร
6. Zn , Cr , As , Cu , Ag , Hg , Cd , Ba , Se , Pb , Ni รวมกันหรือแต่ละอย่างไม่มากกว่า 1 มิลลิกรัมต่อลิตร
7. Tar ไม่มีเลย
8. น้ำมันและไขมันไม่มีเลย
9. ฟอร์มัลดีไฮด์ ไม่เกิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร
10. ฟีนอล ไม่เกิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร
11. คลอรีนอิสระ ไม่เกิน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

12. ยาฆ่าแมลง , สารกัมมันตภาพรังสี ไม่มีเลย

13. อัตราส่วนระหว่างน้ำทิ้ง กับน้ำในลำน้ำสาธารณะ และสารที่ลอยเจือปน มีลักษณะดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 อัตราส่วนระหว่างน้ำทิ้งต่อน้ำในลำน้ำสาธารณะและสารที่ลอยเจือปน

น้ำทิ้งต่อน้ำในลำน้ำสาธารณะ	สารที่ลอยเจือปนต้องไม่เกิน (ppm.)
1:8 ถึง 1:150	30
1:151 ถึง 1:300	60
1:301 ถึง 1:500	450

14. BOD. (20 องศาเซลเซียส , 5 วัน) ไม่มากกว่า 20 มิลลิกรัมต่อลิตร

15. อุณหภูมิของน้ำทิ้งเมื่อระบายลงสู่ลำน้ำสาธารณะไม่มากกว่า 40 องศาเซลเซียส

16. สีหรือกลิ่นของน้ำทิ้งเมื่อระบายลงสู่ลำน้ำสาธารณะแล้วต้องไม่เป็นที่พึงรังเกียจ

ข้อ 2.3 ในกรณีที่ระบายน้ำทิ้งจากโรงงานลงในทะเล หรือ ลงสู่ท่อสาธารณะโดยตรงให้เป็นไปตามที่พนักงานเจ้าหน้าที่เห็นสมควร

วิธีการกำจัดน้ำโสโครก กระบวนการที่ใช้ในการกำจัดสิ่งเจือปนชนิดต่างๆ ออกจากน้ำเสียโดยทั่วไปมี 3 กระบวนการ คือ

1. การบำบัดทางกายภาพ (Physical Treatment) เป็นการแยกสิ่งเจือปนที่เป็นของแข็งที่ไม่ละลายน้ำ หรือของแข็งแขวนลอยออกจากน้ำเสีย

2. การบำบัดทางเคมี (Chemical Treatment) เป็นการแยกสิ่งเจือปนต่างๆ ในน้ำเสีย ซึ่งส่วนมากเป็นสารอนินทรีย์ที่ละลายในน้ำเสีย มักใช้เสริมกับการบำบัดทางชีววิทยา

3. การบำบัดทางชีววิทยา (Biological Treatment) เป็นการกำจัดสารอินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของความสกปรกในน้ำเสียโดยใช้จุลินทรีย์ในธรรมชาติ

วิธีการกำจัดน้ำเสียของโรงงานแปรรูปไก่ ทางโรงงานใช้วิธีกำจัดน้ำเสียโดยการปล่อยลงน้ำ ซึ่งมีกระบวนการสำคัญ ดังนี้

1. ทำการกรองโดยใช้เครื่องกรอง เพื่อแยกสิ่งปะปน เช่น เศษเนื้อ , ขนที่ติดมากับน้ำเสีย

2. ทำการบำบัดทางชีววิทยา โดยใช้จุลินทรีย์ย่อยสลายสิ่งปฏิกูลในบ่อเปิด โดยอาศัยจุลินทรีย์ทั้งที่ใช้อากาศและไม่ใช้อากาศจุลินทรีย์เหล่านี้จะใช้สารอินทรีย์ในน้ำเสียเป็นแหล่งอาหารโดยปล่อยให้จุลินทรีย์ทำการย่อยสลายประมาณ 2-3 ชั่วโมง ซึ่งผลผลิตที่ได้มักจะเป็นก๊าซ

คาร์บอนไดออกไซด์และของแข็งที่ตกตะกอนได้ น้ำเสียผ่านจะเข้าสู่ถังตกตะกอนและตกตะกอนออกมา

3. ทำการเติมออกซิเจนโดยใช้เครื่องพ่นอากาศ ทำให้น้ำเสียแตกกระจาย และสัมผัสกับอากาศตลอดเวลา จะช่วยให้ปฏิกิริยาการย่อยสลายมีประสิทธิภาพสูงขึ้น จากนั้นจะปล่อยลงสู่ถังตกตะกอนโดยผ่านตะแกรงดักของแข็งที่เหลือ

4. ทำการปล่อยน้ำเสียที่ผ่านการบำบัดแล้วลงสู่แม่น้ำ อาศัยปริมาณน้ำในแหล่งน้ำเป็นตัวช่วยในการเจือจาง และเพื่อให้แหล่งน้ำเกิดการทำให้บริสุทธิ์ด้วยตัวเอง (self-purification of water) อย่างไรก็ตามก่อนการปล่อยน้ำทิ้งลงสู่แหล่งน้ำนั้นจะมีการวัดค่า BODและอุณหภูมิของน้ำเสียก่อน โดยน้ำเสียที่ปล่อยลงสู่แหล่งน้ำจะต้องมีค่า BODประมาณ 45 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีอุณหภูมิ 25-26 องศาเซลเซียส

การสร้างระบบบำบัดน้ำเสียสำหรับลดปริมาณสารอินทรีย์อาจแบ่งได้เป็น 2 ขั้นตอน ดังนี้

1.ขั้นตอนการดักขยะหรือไขมัน ทำโดยใช้ตะแกรงกรองกากขยะ แยกกรวดทรายออก มีบ่อดักไขมัน 3 บ่อ ซึ่งน้ำที่ไหลเข้าสู่บ่อดักไขมันนี้จะเป็นน้ำเสียที่มาจากทุกสายการผลิต และทุกส่วนภายในสถานที่ตั้งของโรงงาน การที่ต้องผ่านตะแกรงแยกขยะนี้ก็เพื่อป้องกันการสึกหรอของอุปกรณ์เครื่องสูบน้ำ และการทำให้ลอยตัวเพื่อตักออก หรือการปล่อยให้ตกตะกอนตามธรรมชาติ ซึ่งจะสามารถช่วยลดความสกปรกในน้ำเสีย

2. ขั้นตอนการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ เป็นการปล่อยให้จุลินทรีย์เป็นตัวย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำ โดยอาศัยการทำงานของระบบบำบัดน้ำเสียแบบ activated sludge ซึ่งเป็นการบำบัดแบบใช้ออกซิเจน และมีการช่วยเติมออกซิเจนให้แก่ระบบโดยการเป่าอากาศลงไปในน้ำเสีย

ในด้านปริมาณของน้ำทิ้งจะทำการวิเคราะห์โดยใช้เครื่องตรวจวัด และเพื่อบ่งชี้ปริมาณความสกปรก การประหยัด และการนำน้ำส่วนที่ยังสามารถใช้ได้มาใช้ ซึ่งก็เป็นอีกวิธีหนึ่งในการลดปริมาณการใช้น้ำ และถือว่าเป็นการช่วยลดต้นทุนค่าใช้จ่ายด้านสาธารณูปโภคลงด้วย อาจทำได้โดย

1. กรองขยะออกจากน้ำเสียหรือเก็บกวาดของเสียในขณะที่แห้งอยู่หรือทำเป็นบ่อดักไขมัน

2. แยกน้ำเสียที่มีความสกปรกน้อยออกจากน้ำเสียที่มีความสกปรกมาก เพื่อลดปริมาณน้ำที่จะเข้าสู่ระบบบำบัดน้ำเสีย ซึ่งจะช่วยลดต้นทุนด้านการก่อสร้างระบบให้น้อยลง

3. ใช้น้ำเสียที่เกิดขึ้นจากกระบวนการผลิตให้เป็นประโยชน์ในด้านอื่น

2.4 โปรตีนเซลล์เดียว

ในปัจจุบันประชากรของโลกได้มีการเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็ว ในขณะที่พื้นที่ทำการเกษตร การกสิกรรม และการประมง เพื่อใช้เป็นแหล่งอาหารของมนุษย์นั้นมีจำนวนลดลง โดยเฉพาะแหล่งอาหารจำพวกโปรตีน ทำให้มีการปรับปรุงพันธุกรรมของแหล่งอาหารประเภทโปรตีนเหล่านั้นให้สามารถให้ผลผลิตที่มีโปรตีนสูงขึ้น แต่ก็พบว่าอาจไม่เพียงพอ ต่อความต้องการโดยเฉพาะในช่วงระหว่างสงครามโลกครั้งที่ 1 และ 2 จึงได้มีการศึกษาแหล่งอาหารชนิดอื่นเพื่อนำมาใช้เป็นแหล่งโปรตีนแทน หรือเป็นส่วนเสริมโปรตีนที่ได้จากเนื้อสัตว์หรือจากพืชโดยจะต้องมีคุณค่าทางอาหารที่ใกล้เคียงกัน ต่อมาได้มีความสนใจที่จะนำจุลินทรีย์มาใช้เป็นแหล่งโปรตีน จนกระทั่งเมื่อ 25 ปีที่แล้วจึงได้เริ่มมีการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวขึ้น ซึ่งนับเป็นอีกวิธีหนึ่งที่เหมาะสมที่จะใช้ในการแก้ไขปัญหาการขาดแคลนโปรตีนของโลก โปรตีนที่ผลิตได้จากจุลินทรีย์นี้เรียกว่าโปรตีนเซลล์เดียว (single cell protein หรือ SCP) หมายถึง การนำจุลินทรีย์ส่วนใหญ่มาใช้เป็นแหล่งโปรตีน โดยจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ที่ใช้จะมีลักษณะเป็นเซลล์เดียว หรือเป็นเส้นใย (filament) โปรตีนเซลล์เดียวที่ผลิตได้นั้นอาจนำมาใช้เป็นแหล่งอาหารโดยตรง หรืออาหารเสริมสำหรับมนุษย์และสัตว์ สาเหตุที่นำจุลินทรีย์มาใช้ผลิตเป็นแหล่งอาหารนั้น เนื่องจากให้ผลผลิตต่อหน่วยพื้นที่ต่อหน่วยเวลาสูงกว่าโปรตีนจากแหล่งอื่นๆ (ดุษณี, 2537)

ประโยชน์ของการใช้จุลินทรีย์ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวสรุปได้ดังนี้

1. จุลินทรีย์สามารถเจริญได้อย่างรวดเร็วและเป็นจำนวนมาก ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม แบคทีเรียและยีสต์สามารถเพิ่มจำนวนได้ทุกๆ 0.5-2 ชั่วโมง และ 1-3 ชั่วโมงตามลำดับในขณะที่สาหร่ายและราใช้เวลา 2-6 ชั่วโมง และ 4-12 ชั่วโมงตามลำดับในการเพิ่มจำนวน

2. การปรับปรุงพันธุ์จุลินทรีย์สามารถทำได้ง่ายกว่าการปรับปรุงพันธุ์พืชและสัตว์ เพื่อให้ได้ผลผลิตที่ดียิ่งขึ้น เช่น มีอัตราการเจริญเร็วขึ้น ปริมาณกรดอะมิโนมากขึ้น และอื่นๆ

3. จุลินทรีย์ประกอบด้วยปริมาณโปรตีนและคุณค่าอาหารอื่นๆ ที่เป็นประโยชน์

4.จุลินทรีย์สามารถเจริญได้เป็นจำนวนมากในพื้นที่จำกัดและต้องการน้ำในปริมาณน้อย สามารถผลิตได้ตลอดเวลาในถังหมักขนาดใหญ่ และไม่ขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม เช่น ดิน ฟ้าอากาศ เหมือนเช่นการเพาะปลูกพืช

5. จุลินทรีย์สามารถใช้วัตถุดิบหลายชนิดในการเจริญ รวมทั้งของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม แอลกอฮอล์จากอุตสาหกรรมปิโตรเคมีและกระบวนการหมัก และเซลลูโลสจากพืช

6. ปัญหาเกี่ยวกับของเสียของจุลินทรีย์มีน้อยเมื่อเทียบกับการผลิตอาหารโดยกระบวนการอื่นๆ

2.5 คุณสมบัติของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

1. เจริญได้เร็วในอาหารที่มีราคาถูก และเป็นวัตถุดิบที่หาได้ง่ายในท้องถิ่นนั้นๆ
2. เจริญได้ดีในอาหารที่มีองค์ประกอบง่ายๆ ไม่ซับซ้อน มีความต้องการวิตามินและปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญต่างๆ น้อยหรือไม่ต้องการเลย และให้ผลผลิตสูง
3. คงลักษณะทางพันธุกรรมได้ดี และไม่กลายพันธุ์ง่ายเมื่อเลี้ยงติดต่อกันเป็นเวลานาน
4. มีความต้านทานต่อการปนเปื้อนของจุลินทรีย์อื่นๆ และใช้กระบวนการหมักอย่างง่ายๆ ในการเจริญในถังหมัก
5. ทราบคุณสมบัติทางพันธุกรรม สรีรวิทยา และสามารถปรับปรุงพันธุ์ได้
6. ใช้แหล่งพลังงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ
7. หลังจากผ่านกระบวนการหมักแล้ว มีวัสดุเหลือทิ้งน้อยหรือไม่มีเลย
8. ไม่เป็นพิษทั้งในระยะสั้นและระยะยาว หรือทำให้เกิดภูมิแพ้ และปลอดภัยต่อการบริโภค
9. มีคุณค่าทางอาหาร ให้ปริมาณโปรตีนสูง โปรตีนที่ได้จะต้องมีกรดอะมิโนที่มีคุณค่า
10. เก็บรักษาได้ง่าย เช่น การทำให้แห้ง และง่ายต่อการขนส่ง
11. ต้นทุนการเพาะเลี้ยงเซลล์และการเก็บเกี่ยวเซลล์ต้องสามารถแข่งขันกับแหล่งอาหารโปรตีนอื่นๆได้

2.6 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวมีทั้ง แบคทีเรีย ยีสต์ รา และสาหร่าย โดยในจุลินทรีย์แต่ละชนิดจะมีปริมาณโปรตีนแตกต่างกันไป ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ปริมาณโปรตีนในจุลินทรีย์ต่างๆ

จุลินทรีย์	ปริมาณโปรตีน (ร้อยละ)
ยีสต์	45-55
สาหร่าย	47-53
แบคทีเรีย	50-83
รา	31-55

ที่มา : Batt และ Sinskey (1987)

1. แบคทีเรีย แบคทีเรียสามารถนำมาใช้เป็นแหล่งอาหารได้ เพราะมีปริมาณโปรตีนสูง โดยในแบคทีเรียชนิดที่ไม่เป็นเชื้อโรคจะมีปริมาณโปรตีนอยู่ถึงร้อยละ 80 และมีอัตราการเจริญเร็วกว่าจุลินทรีย์กลุ่มอื่น ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็นหลายชนิดโดยเฉพาะอย่างยิ่งไลซีนที่เหมาะสมต่อความต้องการของร่างกาย ยกเว้นกรดอะมิโนที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบ ข้อดีของการใช้แบคทีเรียในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว คือ มีอัตราการเจริญเร็วให้ปริมาณโปรตีนสูงและสามารถใช้ไฮโดรคาร์บอนเป็นแหล่งอาหารได้

Chrisanto (1989) ได้ศึกษาการนำของเสียจากการผลิตปลาซาร์ดีนและกากน้ำตาลมาเลี้ยง Lactobacillus plantarum โดยทำการหมักเป็นเวลา 21 วัน ในสภาวะที่ไม่มีอากาศ เพื่อผลิตโปรตีนเซลล์เดียวที่ใช้เป็นอาหารสัตว์ ได้ปริมาณโปรตีนร้อยละ 1.2 ของน้ำหนักเซลล์แห้ง

บริษัทเนสเล่ท์ ประเทศสวิสเซอร์แลนด์ ได้มีการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจาก Acinetobacter calcoaceticus (Micrococcus cerificans) โดยใช้พาราฟีนหรือเอทานอลเป็นอาหาร ผลิตภัณฑ์ที่ได้จะเป็นผงสีขาวประกอบด้วยโปรตีนร้อยละ 12.1

Fields และคณะ (1991) ได้ศึกษาถึงการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากเชื้อ Cellulomonas uda ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ใช้ออกซิเจนและย่อยสลายเซลลูโลสได้ โดยใช้ซังข้าวโพดและก้านข้าวโพดที่ถูกย่อยด้วยด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.2 นอร์มัล ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที และปรับพีเอชให้เป็น 7 แล้วใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ การใส่เชื้อจะใช้ในรูปเชื้อแบคทีเรียชนิดเดียวหรือใส่เชื้อนี้ผสมกับยีสต์ Candida utilis เมื่อเลี้ยงเซลล์เป็นเวลาครบ 5 วัน นำเซลล์มาแยกออกโดยใช้เครื่องหมุนเหวี่ยงที่ 11000 รอบต่อนาที และนำมาทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 52 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ปริมาณโปรตีนที่ได้จากเซลล์แบคทีเรียอย่างเดียวเท่ากับร้อยละ 28.3 และโปรตีนที่ได้จากแบคทีเรียผสมกับยีสต์เท่ากับร้อยละ 34.0

2. ยีสต์ ยีสต์เป็นโปรตีนเซลล์เดียวที่มีการนำมาใช้กันมากที่สุด เนื่องจากยีสต์มีคุณสมบัติที่เหมาะสมต่อการนำมาเป็นแหล่งอาหารของมนุษย์และสัตว์ และการใช้ยีสต์เป็นอาหารโปรตีนก็มีมานานตั้งแต่สมัยสงครามโลกครั้งที่1 ยีสต์ที่ใช้บริโภคในสมัยนั้น คือ Saccharomyces cerevisiae

ด้วยคุณสมบัติของเซลล์ยีสต์ที่ประกอบด้วย โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมันในปริมาณมาก และยังเป็นแหล่งวิตามินบีรวมสูงสุดแหล่งหนึ่ง โปรตีนจากยีสต์จะมีคุณค่าทางอาหารใกล้เคียงกับโปรตีนจากพืช มีกรดอะมิโนที่จำเป็นทุกชนิดยกเว้นเมทไทโอนีนและซิสทีน เซลล์ยีสต์จะมีปริมาณ โปรตีนประมาณร้อยละ 45-55 ของน้ำหนักแห้ง มีคุณค่าทางโปรตีนเทียบเท่ากับแหล่งอาหารจากถั่ว-เหลือง และถ้ามีการเสริมด้วยเมทไทโอนีนจะมีคุณค่าทางอาหารเทียบเท่ากับปลา

ยีสต์ที่นิยมนำมาเพาะเลี้ยงและเป็นยีสต์ชนิดแรกที่นำมาผลิตเป็นโปรตีนเซลล์เดียว คือ ยีสต์ในตระกูล Candida

Candida tropicalis เป็นยีสต์ที่สามารถเจริญบนน้ำเสียที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบ พร้อมทั้งสามารถลดปริมาณไขมันในน้ำทิ้งได้อีกด้วย สภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อชนิดนี้คือ พีเอชต้องอยู่ในช่วง 3.2-4.0 อุณหภูมิอยู่ในช่วง 30-38 องศาเซลเซียส และมีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์สำหรับการเจริญเติบโตร้อยละ 10

Rale (1984) ได้ศึกษาถึงการนำน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตสับปะรดกระป๋อง ในประเทศอินเดียมาเลี้ยงเชื้อยีสต์ Candida utilis และ Hansenula sydowiorum ซึ่งจะให้โปรตีน 19 และ 20 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

Nwabueze และ Oguntimein (1987) ได้ทดลองนำกากส้มหวาน (Citrus sinensis) มาใช้เป็นแหล่งอาหารเลี้ยงเชื้อยีสต์ Saccharomyces cerevisiae โดยกระบวนการหมักแบบครั้งคราว พบว่าจะได้โปรตีนร้อยละ 57 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) จากการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วยกากส้มร้อยละ 4 พีเอช 5.5 อุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส และใช้เวลาการเลี้ยงเชื้อ 12 ชั่วโมง

Noonai (1981) ได้ทดลองเลี้ยง Candida tropicalis จากน้ำทิ้งโรงงานผลิตเยื่อกระดาษ พบว่าจะมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 59

Lee และคณะ (1993) ได้ทำการเลี้ยง Candida tropicalis ในอาหารที่มีน้ำมันปาล์มร้อยละ 2 พบว่าได้เซลล์ยีสต์ 1.01 น้ำหนักแห้ง/น้ำหนักน้ำมันปาล์ม

ได้มีการยอมรับมากขึ้นเกี่ยวกับการใช้ยีสต์เป็นอาหารเสริมสำหรับสัตว์และมนุษย์ โดยนำมาเลี้ยงในวัตถุซึ่งหาได้ง่าย และมีปริมาณมาก เช่น กากน้ำตาล น้ำตาล วัสดุเหลือทิ้งทางเกษตร และน้ำทิ้งจากการต้มเยื่อในการผลิตเยื่อกระดาษ (Senez,1972 ; Scrimshaw, 1975) และน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปไก่

3. รา เชื้อราได้ถูกนำมาใช้เป็นอาหารมาเป็นเวลานานซึ่งมีข้อดีคือ สามารถใช้วัตถุดิบได้หลายชนิดรวมทั้งของเสียที่มีเซลลูโลสในปริมาณสูง และยังสามารถเจริญได้หลายรูปแบบ เช่น ในรูปเซลล์เดียว (pellet) ซึ่งทำให้การเก็บเกี่ยวเป็นไปได้ง่าย หรือการเจริญเป็นแบบใยรา นอกจากนั้นเชื้อรายังมีคุณค่าทางอาหารและรสชาติดี มีลักษณะคล้ายเนื้อสัตว์ เชื้อราที่ได้เคยมีการนำมาผลิตโปรตีนเซลล์เดียวเรียกว่าไมโคโปรตีน เชื้อราชนิดที่สามารถนำมาผลิตโปรตีนเซลล์เดียวได้ เช่น Fusarium , Rhizopus เป็นต้น

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

Gonzales และคณะ (1985) ได้ศึกษาการนำของเสียจากกระบวนการแปรรูปสับปะรดมาใช้เลี้ยงเชื้อรา Trichoderma viride ในภาวะการหมักแบบ solid state เพื่อผลิตโปรตีนเซลล์เดียวเป็นอาหารสัตว์ พบว่ามีปริมาณโปรตีนร้อยละ 1.6-1.2 ของน้ำหนักแห้ง

บริษัท United Paper Mills ประเทศฟินแลนด์ มีการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากเชื้อรา Paecilomyces varioti โดยใช้น้ำทิ้งจากโรงงานผลิตกระดาษที่กำจัดซัลเฟอร์ไดออกไซด์แล้วเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ นอกจากนี้ยังมีการเติมสารอาหาร เช่น โพแทสเซียมคลอไรด์ กรดฟอสฟอริก และแอมโมเนียลงไปในอาหารด้วย และใช้กระบวนการหมักแบบต่อเนื่อง ผลิตภัณฑ์ที่ได้เรียกว่า "เปกิโลโปรตีน"(Pekilo protein) มีปริมาณโปรตีนร้อยละ 55-60 และสามารถใช้เป็นอาหารสัตว์ได้

4. สาหร่าย เป็นจุลินทรีย์ที่สามารถสังเคราะห์แสงได้ ใช้แสงอาทิตย์เป็นแหล่งพลังงานในการออกซิไดส์สารอนินทรีย์ (คาร์บอนไดออกไซด์) ให้เป็นสารอินทรีย์ นอกจากนั้นยังสามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศมาใช้ เป็นแหล่งไนโตรเจนได้อีกด้วย ในการเพาะเลี้ยง และการเก็บเกี่ยวสามารถทำได้ง่ายเพียงเติมเกลืออนินทรีย์ลงไป แต่ถ้านำมาเลี้ยงในถังหมักจะมีปัญหาในการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และแสงแก่สาหร่าย ถ้านำมาเลี้ยงในบ่อเปิดก็อาจเกิดปัญหาการปนเปื้อนของจุลินทรีย์จากฝุ่นละอองได้ อัตราการเจริญของสาหร่ายยังต่ำกว่าจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ ด้วย และคุณภาพของน้ำที่ใช้เลี้ยงสาหร่ายจะต้องปราศจากเชื้อโรค ยาฆ่าแมลง หรือการปนเปื้อนจากสารเคมีอื่นๆ สาหร่ายมีปริมาณโปรตีนสูงประมาณร้อยละ 55 มีวิตามินซีและบีรวมสูง คุณค่าทางอาหารของสาหร่ายสามารถเทียบได้กับไข่แดง สาหร่ายที่นำมาใช้ผลิตโปรตีนเซลล์เดียว เช่น Chlorella , Spirulina , Euglena เป็นต้น ในสาหร่ายบางชนิดเช่น Dunaliella ยังสามารถผลิตสารเบตาแค-โรทีน และสามารถนำมาใช้เป็นสีผสมอาหารได้อีกด้วย

ในประเทศไทยมีการศึกษาการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจาก Spirulina มาใช้เป็นสารเติมแต่งในอาหารสัตว์ (Tanticharoen *et al.*, 1993) โดยใช้น้ำทิ้งโรงงานทำแป้งมันสำปะหลังเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อผลิตภัณฑ์ที่ได้จะประกอบด้วยโปรตีน 55 เปอร์เซ็นต์ และความชื้น 7 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสามารถนำมาใช้ผสมกับสูตรอาหารเลี้ยงกุ้งและอาหารเลี้ยงปลาประเภทสวยงามได้

2.7 วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

พบว่ามีวัตถุดิบหลายชนิดที่สามารถนำมาใช้เป็นแหล่งอาหารในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวได้จะรวมไปถึงของเสียจากโรงงานและภาคการเกษตรอีกด้วย ตัวอย่างของแหล่งอาหารที่สามารถนำมาใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวได้ แสดงในตารางที่ 4

54386

ตารางที่ 4 : แหล่งอาหารบางชนิดที่สามารถใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

ชนิดของแหล่งอาหาร	ตัวอย่างของแหล่งอาหาร
ปิโตรเคมี	น้ำมันก๊าด n-alkane (พาราฟิน) มีเทน
สารเคมี	เมทานอล เอทานอล กรดอะซิติก
คาร์โบไฮเดรต	เซลลูโลส แป้ง ซูโครส กลูโคส
ของเสีย	หางนม เปลือกผลไม้ ชานอ้อย น้ำทิ้งจากโรงงานทำกระดาษ กากน้ำตาล น้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม มูลสัตว์

ที่มา : Edelman และคณะ (1983)

มีเทนเป็นสารประกอบของก๊าซธรรมชาติที่สามารถนำมาใช้เป็นแหล่งผลิตโปรตีนเซลล์เดียวได้ แต่เนื่องจากมีความยุ่งยากทางเทคนิคจึงทำให้ไม่ได้ผลเท่าที่ควร แต่เมทานอลสามารถนำมาใช้ให้คุ้มค่าทางเศรษฐกิจได้โดยนำมาเลี้ยงแบคทีเรีย *Methylophilus methylotrophus* n-alkane (พาราฟิน)เป็นสารไฮโดรคาร์บอนที่พบในน้ำมันก๊าดสามารถนำมาใช้เป็นแหล่งอาหารของเชื้อยีสต์และราได้ แต่ไม่นิยมเนื่องจากอาจทำให้เกิดสารก่อมะเร็งได้

ของเสียต่างๆ ที่สามารถนำมาใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวได้ ได้แก่

1. ของเสียจากโรงงาน เช่น น้ำทิ้งจากโรงงานกระดาษ กากน้ำตาลจากโรงงานผลิตน้ำตาล หางนมจากโรงงานนม และน้ำทิ้งจากโรงงานต่างๆ

2. ของเสียจากผลผลิตทางการเกษตร เช่น ชานอ้อย กากกาแฟ กากผลไม้ประเภทส้ม มูลสัตว์

ประโยชน์ของการนำของเสียมาใช้เป็นแหล่งอาหารในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว คือ

1. ลดมลภาวะสิ่งแวดล้อมเป็นพิษ
2. มีราคาถูกและหาง่าย
3. สามารถนำมาเปลี่ยนรูปให้เป็นพลังงานและโปรตีนได้
4. เพื่อลดปัญหาการขาดแคลนโปรตีนของชุมชน
5. สามารถนำเทคโนโลยีใหม่ๆ มาประยุกต์ใช้ในประเทศที่กำลังพัฒนา

ตัวอย่างของกระบวนการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว จากของเสียทางการค้า โดยการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ในถังหมัก เช่น การผลิตยีสต์ Saccharomyces cerevisiae จากกากน้ำตาลเพื่อเป็นอาหารสัตว์ หรือกระบวนการหมักแบบต่อเนื่องโดยใช้ของเสียพวกแป้งมาใช้ผลิตโปรตีนเซลล์เดียวทางการค้าเรียกว่า Symba process โดยใช้ยีสต์ 2 ชนิด คือ Endomycopsis fibuliger และ Candida utilis หรือการผลิต Kluyveromyces fragilis จากหางนม โดยกระบวนการ Wheat process เป็นต้น

นอกจากของเสียที่กล่าวมาแล้วเซลลูโลสจากแหล่งการเกษตร แหล่งป่าไม้ หรือแหล่งของเสียก็อาจนำมาใช้ผลิตได้ด้วย เช่น ในประเทศสวีเดนได้มีการปรับปรุงพันธุ์เชื้อรา Sporotrichum pulverulentum ซึ่งเป็นเชื้อราที่ทำลายไม้ให้ผุกร่อน พันธุ์กลายนี้สามารถย่อยสลายลิกนินได้โดยไม่ย่อยสลายเซลลูโลส

2.8 สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

นอกจากแหล่งอาหารแล้วยังมีสิ่งอื่นๆ ที่ควรคำนึงถึงในกระบวนการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวที่มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ อาจมีผลให้การเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำการเพาะเลี้ยงมีการเจริญเติบโตดีขึ้นหรือต่ำลง หรือแม้กระทั่งไม่สามารถเจริญเติบโตได้ คือ

1.แหล่งคาร์บอน คือ สารที่จุลินทรีย์จะสามารถนำมาใช้เป็นแหล่งพลังงานในการเจริญเติบโตได้ ที่สำคัญคือ สารประเภทคาร์โบไฮเดรต โดยเฉพาะสารพวกน้ำตาลโมโนแซคคาไรด์ เช่น กลูโคสที่จุลินทรีย์ทุกชนิดสามารถใช้ได้ ส่วนพวกน้ำตาลโมเลกุลคู่ เช่น ซูโครส ก็พบว่ามีจุลินทรีย์หลายชนิดที่สามารถใช้ได้ ส่วนพวกคาร์โบไฮเดรตที่มีโมเลกุลซับซ้อน เช่น เซลลูโลสจะมีจุลินทรีย์เพียงบางชนิดเท่านั้นที่สามารถใช้ได้ เช่น ราต่างๆ

อย่างไรก็ตามการเติมแหล่งพลังงานเพื่อให้จุลินทรีย์ใช้ในการเจริญเติบโตนั้นจะต้องคำนึงถึงปริมาณที่เหมาะสมกับจุลินทรีย์แต่ละชนิด และต้องคำนึงถึงผลกระทบต่างๆ ด้วย เช่น Cap-three effect

2.แหล่งไนโตรเจน แหล่งอาหารหนึ่งที่จุลินทรีย์ใช้ในการเจริญเติบโตโดยจุลินทรีย์ โดยไนโตรเจนที่อยู่ในเซลล์จุลินทรีย์จะประกอบอยู่ในส่วนต่างๆ ของเซลล์ เช่น ไซโตพลาสซึม ผนังเซลล์ และเอนไซม์ต่างๆ ซึ่งจุลินทรีย์แต่ละชนิดก็จะมีความสามารถในการใช้สารประกอบไนโตรเจนเป็นแหล่งอาหาร ในการเจริญได้แตกต่างกัน แหล่งไนโตรเจนที่มักใช้กันในการเลี้ยงเซลล์ยีสต์ ได้แก่ ยีสต์สกัด , potassium nitrate เป็นต้น (พรชัย , 2527)

3. วิตามินและสารช่วยการเจริญเติบโต(growth factor) จะมีความจำเป็นต่อเมื่อจุลินทรีย์ที่ทำการเพาะเลี้ยงไม่สามารถผลิตกรดอะมิโนเองได้ ในยีสต์ส่วนใหญ่จึงจำเป็นที่จะต้องมีการเติม growth facotr เช่น Phosphoric acid , Potassium chloride (พรชัย , 2527) เพื่อให้จุลินทรีย์สามารถเจริญได้อย่างดีที่สุด

4. pH เป็นปัจจัยที่สำคัญอีกอย่างหนึ่ง ที่จะบอกถึงความเป็นกรด-เป็นด่างในแหล่งอาหาร โดยในจุลินทรีย์ต่างชนิดกันก็จะมีความเหมาะสมที่จะเจริญในช่วงค่า pH ที่ต่างกันดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของจุลินทรีย์กับค่าพีเอชที่มีผลต่อการเจริญเติบโต

ชนิดของจุลินทรีย์	ค่าพีเอชต่ำสุดที่จุลินทรีย์เจริญได้	ค่าพีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญ	ค่าพีเอชสูงสุดที่จุลินทรีย์เจริญได้
แบคทีเรีย	4.5	6.5-7.5	9.0
ยีสต์	1.5-3.5	4.0-6.5	8.0-8.5
รา	1.5-3.5	4.5-6.5	8.0-11.0

5. ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในอาหาร ก๊าซออกซิเจนมีความสำคัญและจำเป็นต่อจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ เนื่องจากเป็นสารที่เหมาะสมที่จะใช้เป็นตัวรับอิเลคตรอนตัวสุดท้ายในระบบลูกโซ่การขนส่งอิเลคตรอน เพื่อสร้างพลังงานในการเจริญเติบโต และกิจกรรมต่างๆ ของเซลล์จุลินทรีย์ความต้องการออกซิเจนของจุลินทรีย์แต่ละชนิด จะมีความแตกต่างกันไปตามชนิดของจุลินทรีย์ เช่น ในแบคทีเรียจะสามารถแบ่งแบคทีเรียออกตามความต้องการออกซิเจนได้เป็น 3 พวก คือ

- Aerobic bacteria คือ พวกที่ต้องการอากาศเพื่อนำไปใช้ในกิจกรรมต่างๆ ของเซลล์
- Facultative anaerobic bacteria คือ พวกที่ต้องการอากาศเพียงเล็กน้อยในการดำรงชีวิต
- Anaerobic bacteria คือ พวกที่ไม่ต้องการอากาศในการดำรงชีวิต

และพบว่าในการเลี้ยง Candida tropicalis TISTR. 5136 เพื่อให้ได้ผลผลิตมวลชีวภาพมากที่สุดจะต้องมีการควบคุมให้มีปริมาณออกซิเจนไม่เกินร้อยละ 20 และพบว่าปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 10 ขึ้นไปจะมีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อนี้ (Rydin *et al.*,1990)

2.9 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์

1. สารอาหารต่างๆ ในผลิตภัณฑ์ เช่น ปริมาณโปรตีน ไขมัน และความชื้น จะต้องอยู่ในปริมาณที่เหมาะสม
2. ผลิตภัณฑ์มีความคงตัว
3. ผลิตภัณฑ์สามารถย่อยสลายได้ง่าย
4. ลักษณะของผลิตภัณฑ์มีความนุ่มเหนียว
5. ลักษณะเนื้อสัมผัสต่างๆ ของผลิตภัณฑ์ต้องมีความเหมาะสม
6. ปริมาณ RNA ในผลิตภัณฑ์จะต้องมี ≤ 2 ออนซ์ต่อวัน

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 วัสดุอุปกรณ์

1. จุลินทรีย์ ใช้เชื้อยีสต์ Candida tropicalis TISTR 5136 จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

2. อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

2.1 อาหารสูตร NRRL (Lemmel et al., 1979) ประกอบด้วยกลูโคสร้อยละ 1.0 เปปโตนร้อยละ 0.5 มอลต์สกัดร้อยละ 0.3 และยีสต์สกัดร้อยละ 0.3

2.2น้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปไก่ ใช้น้ำทิ้งรวมโรงงานแปรรูปไก่ จากบริษัท ศรีไทยฟูดส์แอนด์เบฟเวอรเรจ จำกัด

3. เครื่องมือและอุปกรณ์

3.1 เครื่องวัดพีเอช (pH meter)

3.2 เครื่องชั่งชนิด 4 ตำแหน่ง รุ่น A 200S และ 2 ตำแหน่ง รุ่น B-3100J

3.3 เครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์ (spectophotometer) รุ่น UNICAM 8620

3.4 เครื่องย่อย (digestor)

3.5 เครื่องกลั่น (distillator)

3.6 เครื่องควบแน่น (condenser)

3.7 เครื่องระเหย (evaporator)

3.8 เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge)

3.9 เครื่องเขย่า (shaker)

3.10 เครื่องอบลมร้อน (hot air oven)

3.11 เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อในน้ำ (autoclave)

3.12 เดซิกเคเตอร์ (desicator)

3.2 วิธีการทดลอง

1. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและคุณลักษณะทางกายภาพของน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปไก่

ทำการวิเคราะห์ค่าพีเอช ซีโอดี ของแข็งแขวนลอย (suspended solid) ของแข็งทั้งหมด (total solid) ปริมาณกรีส ตามวิธีของ APHA , AWWA and WPCF (1992) และวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดโดยวิธี Boric acid

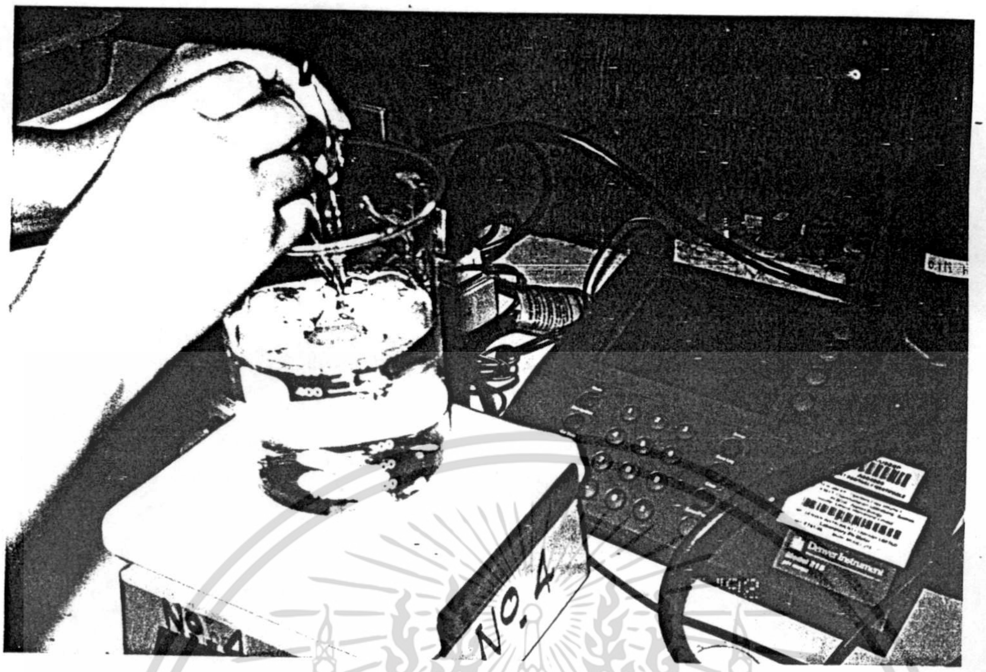
2. การเตรียมกล้าเชื้อเริ่มต้น (starter)

ถ่ายเชื้อ *Candida tropicalis* TISTR 5136 จาก slant PDA 1 ลูป ลงในอาหารเหลว NRRL 100 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่ปรับพีเอชเป็น 3.5 นำไปให้อากาศที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร ให้ได้ความขุ่น 0.5 เพื่อใช้เป็นเชื้อเริ่มต้น

3. ศึกษาอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุดของเชื้อ *Candida tropicalis* TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่

3.1 นำน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ที่ผ่านการกรองในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาตร 90 มิลลิลิตร มาปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 3.5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 5 นอร์มัล นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

3.2 นำกล้าเชื้อเริ่มต้นที่ได้จากการเตรียมในข้อ 2 มาเติมในปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำไปเลี้ยงในเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เก็บตัวอย่างที่ 0 , 6 , 8 , 10 , 12 , 14 , 16 , 18 , 20 , 22 , 24 ชั่วโมง เพื่อนำมาวิเคราะห์อัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด



รูปที่ 2 การปรับพีเอชน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ที่ผ่านการกรอง

GALLENKAMP
Orbital Shaker
5 '92

รูปที่ 3 การเลี้ยง *C. tropicalis* TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่บนเครื่องเขย่า

4. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่

4.1 ศึกษาแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ Candida tropicalis TISTR 5136 ในน้ำทิ้ง

4.1.1 นำน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปไก่ที่ผ่านการกรองแล้ว ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร มาเติมแหล่งคาร์บอน คือ กลูโคส และซูโครส ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 , 2 , 3 , 4 ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 3.5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 5 นอร์มัล นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

4.1.2 เติมกล้าเชื้อเริ่มต้นที่เตรียมไว้ในข้อ 2 นำไปเลี้ยงในเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เก็บตัวอย่างที่ชั่วโมงที่เชื้อมีอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุดที่ได้จากการศึกษาในข้อ 3 เพื่อนำมาวิเคราะห์ อัตราการเจริญ ซีโอดี และน้ำหนักเซลล์แห้งของมวลชีวภาพ

4.2 ศึกษา growth factor ที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ Candida tropicalis TISTR 5136 ในน้ำทิ้งที่มีแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสม

4.2.1 นำน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปไก่ที่ผ่านการกรอง และมีแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมซึ่งได้จากการศึกษาในข้อ 4.1 มาเติม growth factor คือ กรดฟอสฟอริก ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0 , 0.04 , 0.085 , 0.1 และโพแทสเซียมคลอไรด์ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0 , 0.025 , 0.05 ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 3.5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 5 นอร์มัล นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

4.2.2 เลี้ยงเชื้อและวิเคราะห์ผลเช่นเดียวกับข้อ 4.1.2

4.3 ศึกษาแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ Candida tropicalis TISTR 5136 ในน้ำทิ้งที่มีแหล่งคาร์บอน และ growth factor ที่เหมาะสม

4.3.1 นำน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปไก่ที่ผ่านการกรอง ที่มีแหล่งคาร์บอนและ growth factor ที่เหมาะสมซึ่งได้จากการศึกษาในข้อ 4.1 และ 4.2 มาเติมแหล่งไนโตรเจน คือ ยีสต์สกัด ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.03 , 0.05 และโพแทสเซียมไนเตรต ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.2 , 0.4 , 0.6 , 0.8 , 1.0 ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 3.5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 5 นอร์มัล นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

4.3.2 เลี้ยงเชื้อและวิเคราะห์ผลเช่นเดียวกับข้อ 4.1.2

5. ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเซลล์ยีสต์ที่ผลิตได้

วิเคราะห์ปริมาณไขมัน และความชื้นของเซลล์ยีสต์ที่ผลิตภายใต้สภาวะการเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมตามวิธีของ A.O.A.C. (1990) และวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธี Boric acid

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

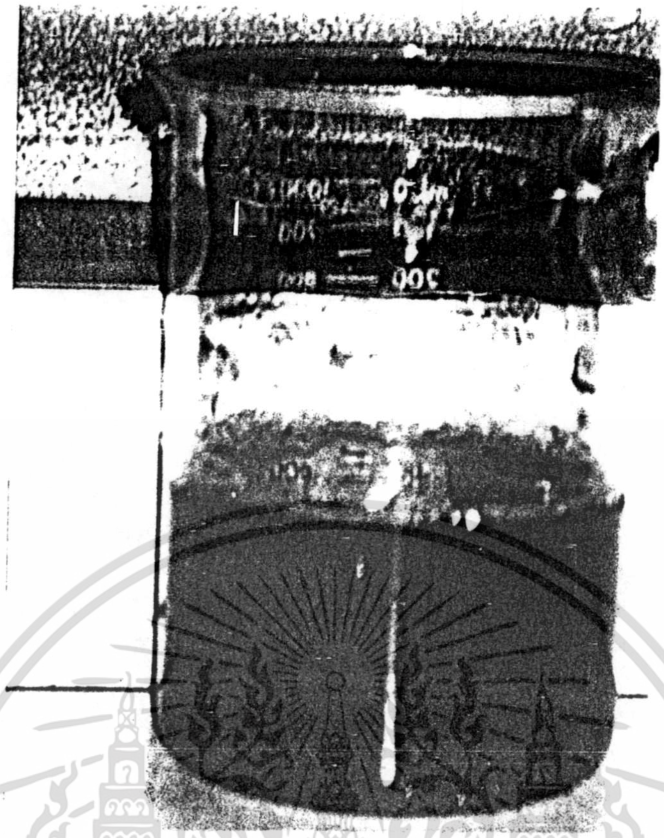
4.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและคุณลักษณะทางกายภาพของน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่

ผลของการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพ ของน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ จากบริษัท ศรีไทยฟูดส์ แอนด์ เบฟเวอรเรจ จำกัด (มหาชน) (ตารางที่ 6) พบว่าน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่มีพีเอชเท่ากับ 8.2 ค่าซีโอดีเท่ากับ 3,264 มิลลิกรัมต่อลิตร ไนโตรเจนทั้งหมดเท่ากับ 28 มิลลิกรัมต่อลิตร ของแข็งทั้งหมดเท่ากับ 1.45 มิลลิกรัมต่อลิตร ของแข็งแขวนลอยเท่ากับ 0.08 มิลลิกรัมต่อลิตร และกรีสเท่ากับ 21.3 มิลลิกรัมต่อลิตร

ตารางที่ 6 ลักษณะของน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่จากบริษัท ศรีไทยฟูดส์ แอนด์ เบฟเวอเรจ จำกัด (มหาชน)

พารามิเตอร์	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อลิตร)*
พีเอช	8.2
ซีโอดี	3,264
ไนโตรเจนทั้งหมด	28
ของแข็งทั้งหมด	1.45
ของแข็งแขวนลอย	0.08
กรีส	21.3

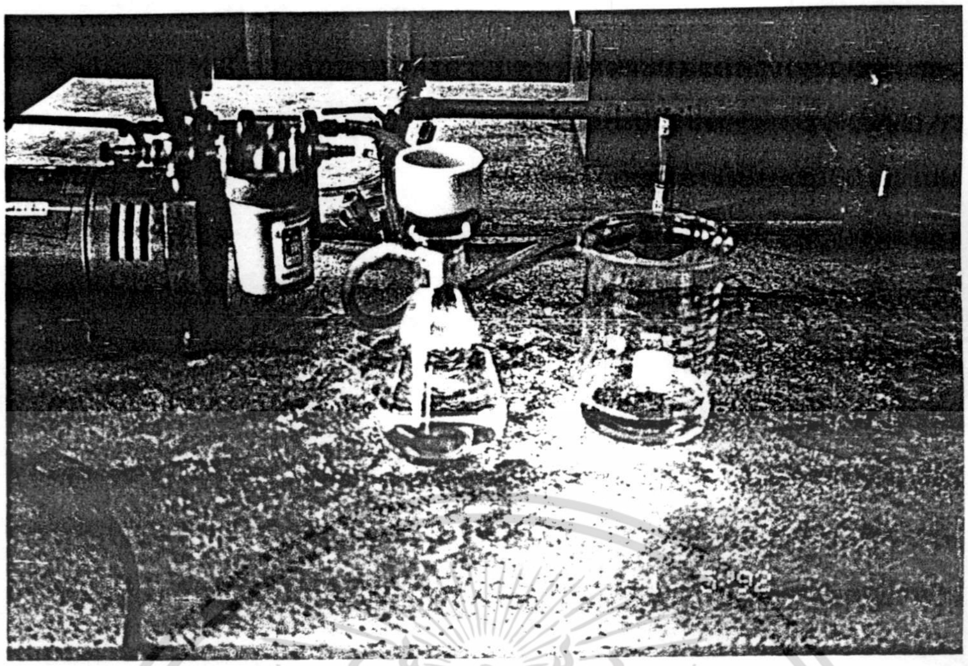
* ยกเว้นค่าพีเอช



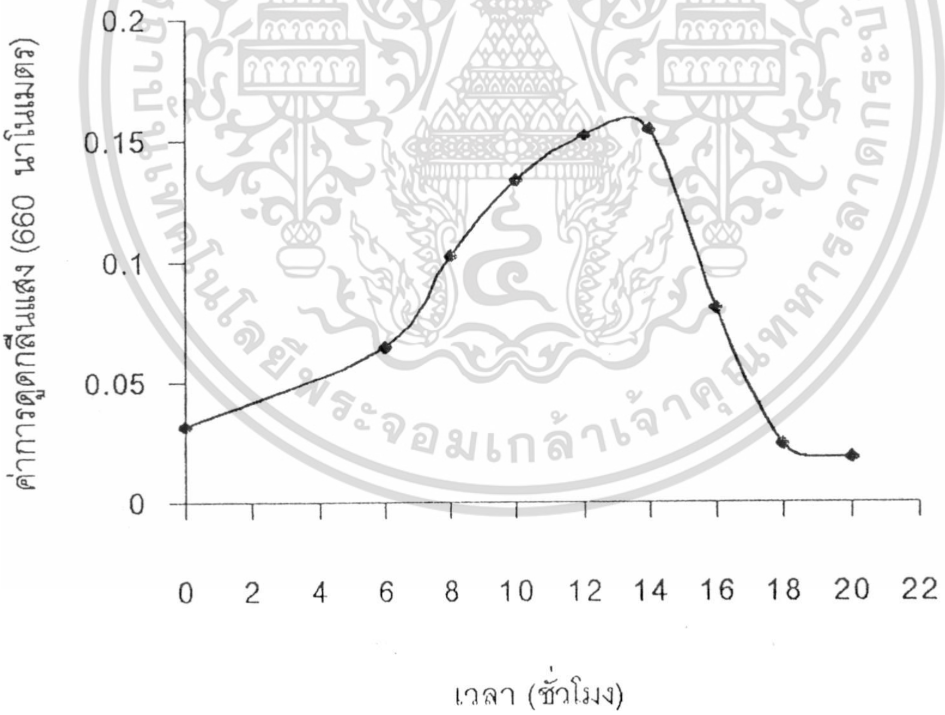
รูปที่ 4 : ลักษณะน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่

4.2 การศึกษาอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุดของเชื้อ C. tropicalis TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่

ผลการเลี้ยงเชื้อ C. tropicalis TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ที่ผ่านการกรอง ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 3.5 ภายใต้สภาวะการให้อากาศบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยเก็บตัวอย่างที่ 0 , 6 ,8 ,10 ,12 ,14 , 16 , 18 , 20 , 22 , 24 ชั่วโมง พบว่าเชื้อสามารถเจริญได้ดีที่สุดในชั่วโมงที่ 14 (รูปที่ 6) มีอัตราการเจริญจำเพาะ 0.1097 ต่อชั่วโมง



รูปที่ 5 : น้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ก่อนกรอง และหลังกรอง



รูปที่ 6 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเจริญของเชื้อ *C. tropicalis* TISTR 5136กับเวลา เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่

4.3 การศึกษาแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ C. tropicalis TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่

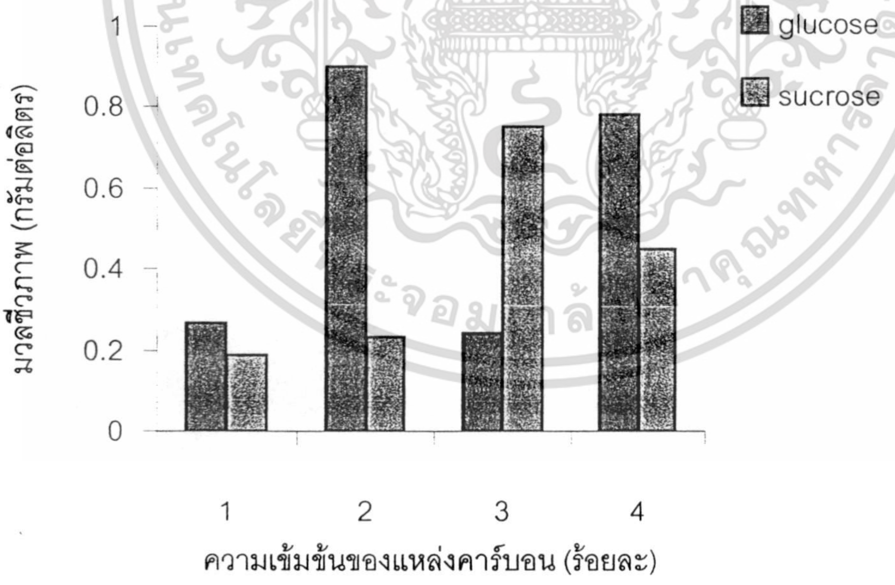
ผลของการเลี้ยงเชื้อ C. tropicalis TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ที่มีกลูโคสและซูโครส ความเข้มข้นร้อยละ 1 , 2 , 3 , 4 ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 3.5 ภายใต้สภาวะการให้อากาศบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 ชั่วโมงพบว่าจากการใช้กลูโคสความเข้มข้นร้อยละ 2 เป็นแหล่งคาร์บอนเชื้อจะมีอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุดเท่ากับ 0.0913 ต่อชั่วโมง และให้มวลชีวภาพสูงสุด 0.8994 กรัมต่อลิตร รองลงมาเป็นการใช้กลูโคสความเข้มข้นร้อยละ 4 , 1 และ 3 โดยจะให้มวลชีวภาพสูงสุด 0.7842 , 0.2682 และ 0.2430 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ สำหรับการลดลงของค่าซีโอดี พบว่าให้ผลในทางเดียวกันกับการเพิ่มมวลชีวภาพ ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ที่มีกลูโคสความเข้มข้นร้อยละ 2 เชื้อสามารถลดค่าซีโอดีได้สูงสุดร้อยละ 43.14 รองลงมาเป็นการใช้กลูโคสความเข้มข้นร้อยละ 4 , 1 และ 3 ซึ่งลดค่าซีโอดีได้ร้อยละ 41.63 , 32.35 และ 30.57 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 7

จากการใช้ซูโครสความเข้มข้นร้อยละ 1 , 2 , 3 และ 4 เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าซูโครสความเข้มข้นร้อยละ 3 เชื้อมีอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุดเท่ากับ 0.0628 ต่อชั่วโมง และให้มวลชีวภาพสูงสุด 0.7516 กรัมต่อลิตร รองลงมาเป็นการใช้ซูโครสความเข้มข้นร้อยละ 4 , 2 และ 1 ซึ่งจะให้มวลชีวภาพสูงสุด 0.4488 , 0.2348 และ 0.1902 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ สำหรับการลดลงของค่าซีโอดี พบว่าการใช้ซูโครสความเข้มข้นร้อยละ 3 สามารถลดค่าซีโอดีได้สูงสุดร้อยละ 41.06 รองลงมาเป็นการใช้ซูโครสความเข้มข้นร้อยละ 4 , 2 และ 1 ซึ่งลดค่าซีโอดีได้ร้อยละ 39.70 , 29.96 และ 27.94 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 7

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างการใช้กลูโคส และซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของเชื้อ C. tropicalis TISTR.5136 พบว่าเชื้อสามารถเจริญได้ดีที่สุดเมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ที่มีกลูโคสความเข้มข้นร้อยละ 2 เป็นแหล่งคาร์บอน เมื่อนำค่ามวลชีวภาพที่ได้จากการเลี้ยงในแหล่งคาร์บอนที่มีความเข้มข้นที่ต่างกันมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ดังแสดงในตารางภาคผนวก จ-1)

ตารางที่ 7 แหล่งคาร์บอนที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อ C. tropicalis TISTR.5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่

แหล่งคาร์บอน	อัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (ต่อชั่วโมง)	มวลชีวภาพสูงสุด (กรัมต่อลิตร)	ค่าซีโอดีที่ลดลง (ร้อยละ)	ค่าพีเอชสุดท้าย
Glucose ร้อยละ1	0.0607	0.2682	32.35	2.85
Glucose ร้อยละ 2	0.0913	0.8994	43.14	2.82
Glucose ร้อยละ 3	0.0298	0.2430	30.57	2.79
Glucose ร้อยละ 4	0.0706	0.7842	41.63	2.77
Sucrose ร้อยละ 1	0.0120	0.1902	27.94	2.84
Sucrose ร้อยละ 2	0.0128	0.2348	29.96	2.81
Sucrose ร้อยละ 3	0.0628	0.7516	41.06	2.80
Sucrose ร้อยละ 4	0.0617	0.4488	39.70	2.76



รูปที่ 7 ความสัมพันธ์ระหว่างมวลชีวภาพของเชื้อ C. tropicalis TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่เมื่อมีแหล่งคาร์บอนที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน

4.4 การศึกษา growth factor ที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ C. tropicalis TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ที่มีแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสม

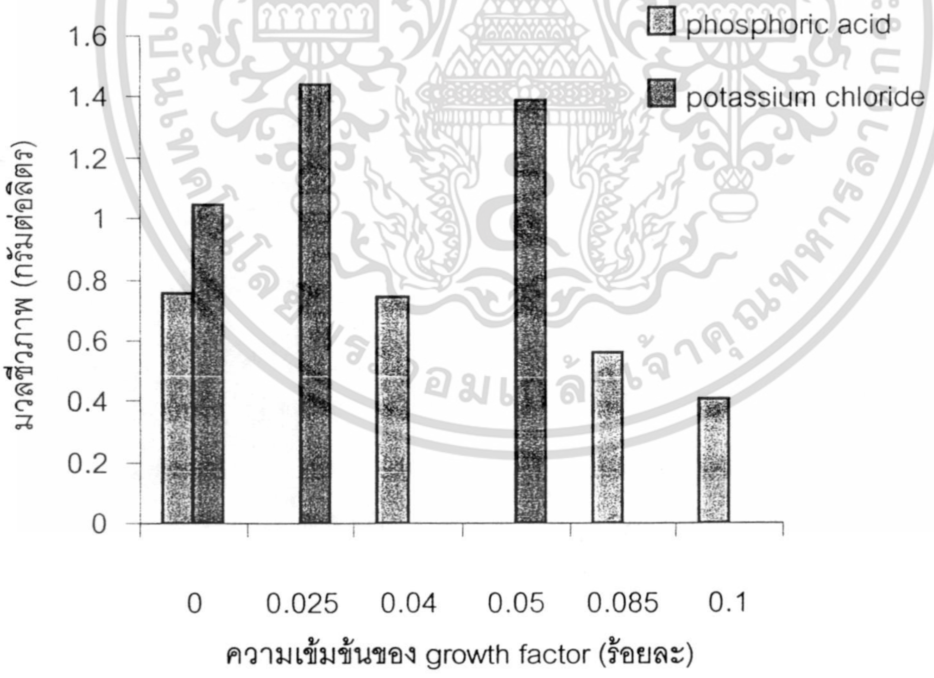
ผลของการเลี้ยงเชื้อ C. tropicalis TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ที่มีกลูโคสความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยเติมกรดฟอสฟอริกความเข้มข้นร้อยละ 0 , 0.04 , 0.085 , 0.1 และโพแทสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0 , 0.025 , 0.05 ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 3.5 ภายใต้สภาวะการให้อากาศบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 ชั่วโมงพบว่าจากการใช้กรดฟอสฟอริกความเข้มข้นร้อยต่างๆ การไม่เติมกรดฟอสฟอริกลงไปในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่จะทำให้เชื้อมีอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุดเท่ากับ 0.0950 ต่อชั่วโมง และให้มวลชีวภาพสูงสุด 0.9044 กรัมต่อลิตร รองลงมาเป็นการใช้กรดฟอสฟอริกความเข้มข้นร้อยละ 0.040 , 0.085 และ 0.100 โดยจะให้มวลชีวภาพสูงสุด 0.9001 , 0.7882 และ 0.2470 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ สำหรับการลดลงของค่าซีโอดี พบว่าให้ผลในทางเดียวกันกับการเพิ่มมวลชีวภาพในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ที่มีกลูโคสความเข้มข้นร้อยละ 2 และไม่เติมกรดฟอสฟอริกลงไป เชื้อสามารถลดค่าซีโอดีได้สูงสุดร้อยละ 43.97 รองลงมาเป็นการใช้กรดฟอสฟอริกความเข้มข้นร้อยละ 0.040 , 0.085 และ 0.100 ซึ่งลดค่าซีโอดีได้ร้อยละ 43.64 , 41.94 และ 31.84 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 8

จากการใช้โพแทสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้นต่างๆ พบว่าโพแทสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.025 เชื้อมีอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุดเท่ากับ 0.1410 ต่อชั่วโมง และให้มวลชีวภาพสูงสุด 1.0017 กรัมต่อลิตร รองลงมาเป็นการใช้โพแทสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 และ 0.00 ซึ่งจะให้มวลชีวภาพสูงสุด 0.9780 และ 0.9390 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ สำหรับการลดลงของค่าซีโอดีพบว่าการใช้โพแทสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.025 สามารถลดค่าซีโอดีได้สูงสุดร้อยละ 46.57 รองลงมาเป็นการใช้โพแทสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 และ 0.00 ซึ่งสามารถลดค่าซีโอดีได้ร้อยละ 46.13 และ 45.80 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 8

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างการใช้กรดฟอสฟอริกและโพแทสเซียมคอลไรด์ในความเข้มข้นต่างๆ เพื่อเป็น growth factor ที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของเชื้อ C. tropicalis TISTR 5136 โดยมีกลูโคสร้อยละ 2 เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าเชื้อสามารถเจริญได้ดีที่สุดเมื่อใช้โพแทสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.025 และเมื่อนำค่ามวลชีวภาพที่ได้จากการเลี้ยงใน growth factor ที่มีความเข้มข้นต่างกันมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ดังแสดงในภาคผนวก จ-3)

ตารางที่ 8 แสดง growth factor ที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อ C. tropicalis TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ที่มีกลูโคสเข้มข้นร้อยละ 2

Growth factor	อัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (ต่อชั่วโมง)	มวลชีวภาพสูงสุด (กรัมต่อลิตร)	ค่าซีโอดีที่ลดลง (ร้อยละ)	พีเอชสุดท้าย
Phosphoric acid ร้อยละ 0	0.0950	0.9044	43.97	2.89
Phosphoric acid ร้อยละ 0.04	0.0936	0.9001	43.64	2.91
Phosphoric acid ร้อยละ 0.1	0.0513	0.2470	31.84	2.88
Phosphoric acid ร้อยละ 0.085	0.0732	0.7882	41.94	2.87
Potassium chloride ร้อยละ 0	0.1182	0.9390	45.80	2.89
Potassium chloride ร้อยละ 0.025	0.1410	1.0017	46.57	2.89
Potassium chloride ร้อยละ 0.05	0.1384	0.9780	46.13	2.88



รูปที่ 8 ความสัมพันธ์ระหว่างมวลชีวภาพ ของเชื้อ C. tropicalis TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ ที่มีกลูโคสเข้มข้นร้อยละ 2 เมื่อมี Growth factor ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน

4.5 การศึกษาแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ C. tropicalis TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ที่มีแหล่งคาร์บอนและ growth factor ที่เหมาะสม

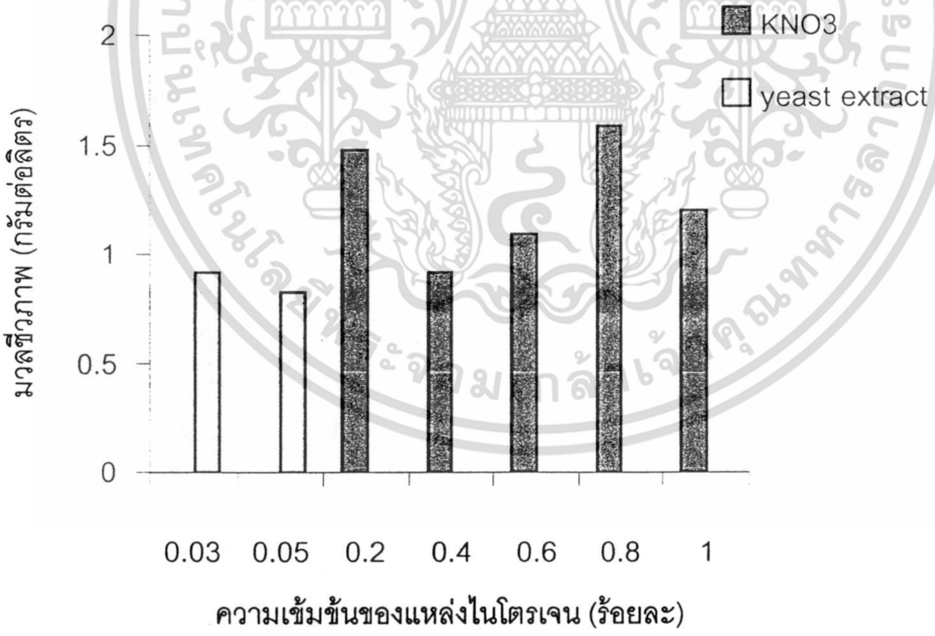
ผลของการเลี้ยงเชื้อ C. tropicalis TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ที่มีกลูโคสความเข้มข้นร้อยละ 2 และโพแทสเซียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 0.025 โดยเติมยีสต์สกัดความเข้มข้นร้อยละ 0.03 , 0.05 และโพแทสเซียมไนเตรตความเข้มข้นร้อยละ 0.2 , 0.4 , 0.6 , 0.8 ,1.0 ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 3.5 ภายใต้สภาวะการให้อากาศบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 ชั่วโมงพบว่าจากการใช้ยีสต์สกัดความเข้มข้นร้อยละ 0.03 และ 0.05 เชื้อสามารถเจริญได้ดีที่สุดเมื่อใช้ยีสต์สกัดร้อยละ 0.03 โดยมีอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด 0.1051 ต่อชั่วโมง และให้มวลชีวภาพสูงสุดเท่ากับ 0.9154 กรัมต่อลิตร ขณะที่ใช้ยีสต์สกัดความเข้มข้นร้อยละ 0.05 ให้มวลชีวภาพสูงสุด 0.8250 กรัมต่อลิตร สำหรับการลดลงของค่าซีโอดีก็จะให้ผลทำนองเดียวกันกับมวลชีวภาพ โดยการใช้ยีสต์สกัดร้อยละ 0.03 และ 0.05 การลดลงของค่าซีโอดีเป็นร้อยละ 44.26 และ 42.35 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 9

จากการใช้โพแทสเซียมไนเตรตเป็นแหล่งไนโตรเจน พบว่าโพแทสเซียมไนเตรตความเข้มข้นร้อยละ 0.8 เชื้อมีอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด 0.1564 ต่อชั่วโมง และให้มวลชีวภาพสูงสุด 1.5865 กรัมต่อลิตร รองลงมาเป็นการใช้โพแทสเซียมไนเตรตความเข้มข้นร้อยละ 0.2 , 1.0 , 0.6 และ 0.4 ซึ่งจะให้มวลชีวภาพสูงสุด 1.4770 , 1.1976 , 1.0872 และ 0.9176 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ สำหรับการลดลงของค่าซีโอดี พบว่าการใช้โพแทสเซียมไนเตรตความเข้มข้นร้อยละ 0.8 จะลดค่าซีโอดีได้สูงสุดร้อยละ 54.88 รองลงมาเป็นการใช้โพแทสเซียมไนเตรตความเข้มข้นร้อยละ 0.2 , 1.0 , 0.6 และ 0.4 ซึ่งค่าซีโอดีได้ร้อยละ 53.21 , 49.36 , 47.96 และ 45.01 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 9

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างการใช้ยีสต์สกัดและโพแทสเซียมไนเตรตเป็นแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของเชื้อ C. tropicalis TISTR 5136 โดยมีกลูโคสร้อยละ 2 เป็นแหล่งคาร์บอนและโพแทสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.025 เป็น growth factor พบว่าการใช้โพแทสเซียมไนเตรตความเข้มข้นร้อยละ 0.8 เป็นแหล่งไนโตรเจน จะให้มวลชีวภาพสูงสุด เมื่อนำค่ามวลชีวภาพที่ได้จากการเลี้ยงในแหล่งไนโตรเจนที่แตกต่างกันมาวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ดังแสดงในตารางภาคผนวก จ-5)

ตารางที่ ๑ แหล่งไนโตรเจนที่มีผลต่อการเจริญของของเชื้อ C. tropicalis TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ที่มีกลูโคสเข้มข้นร้อยละ 2 โพแทสเซียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 0.025

แหล่งไนโตรเจน	อัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (ต่อชั่วโมง)	มวลชีวภาพสูงสุด (กรัมต่อลิตร)	ค่าซีโอดีที่ลดลง (ร้อยละ)	พีเอชสุดท้าย
KNO$_3$ ร้อยละ 0.2	0.1541	1.4770	53.21	2.61
KNO$_3$ ร้อยละ 0.4	0.1135	0.9176	45.01	2.59
KNO$_3$ ร้อยละ 0.6	0.1438	1.0872	47.96	2.60
KNO$_3$ ร้อยละ 0.8	0.1564	1.5865	54.88	2.59
KNO$_3$ ร้อยละ 1.0	0.1493	1.1976	49.36	2.60
Yeast extract ร้อยละ 0.03	0.1051	0.9154	44.26	2.59
Yeast extract ร้อยละ 0.05	0.0899	0.8250	42.35	2.55



รูปที่ 9 ความสัมพันธ์ระหว่างมวลชีวภาพ ของเชื้อ C. tropicalis TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ที่มีกลูโคสเข้มข้นร้อยละ 2 โพแทสเซียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 0.025 เมื่อมีแหล่งไนโตรเจนที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน

ทั้งนี้จะเห็นว่าเมื่อมีการเพิ่มแหล่งอาหารให้กับเซลล์ยีสต์ที่เลี้ยงในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ อัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด มวลชีวภาพสูงสุด และความสามารถในการลดค่าซีโอดีในน้ำทิ้งจะมีค่ามากขึ้นในทางเดียวกัน ดังนั้นในการเลี้ยงยีสต์ C. tropicalis TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่เพื่อผลิตโปรตีนเซลล์เดียว และลดค่าปริมาณซีโอดีในน้ำทิ้งนั้น ควรจะมีการเติมแหล่งคาร์บอน growth factor และแหล่งไนโตรเจน ลงไป เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวและลดปริมาณซีโอดีได้ดียิ่งขึ้นดังแสดงในตารางที่ 10

ตารางที่ 10 แหล่งคาร์บอน , growth factor และแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ C. tropicalis TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่

แหล่งอาหาร	อัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (ต่อชั่วโมง)	มวลชีวภาพสูงสุด (กรัม / ลิตร)	ค่าซีโอดีที่ลดลง (ร้อยละ)	พีเอชสุดท้าย
Glucose ร้อยละ 2	0.0913	0.8994	43.14%	2.82
Glucose ร้อยละ 2 และ Potassium chloride ร้อยละ 0.025	0.1410	1.0017	46.57%	2.89
Glucose ร้อยละ 2 Potassium chloride ร้อยละ 0.025 และ KNO_3 ร้อยละ 0.8	0.1564	1.5865	54.88%	2.59

รูปที่ 10 น้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ก่อนเลี้ยงเชื้อ(ซ้าย) และหลังเลี้ยงเชื้อแล้วเป็นเวลา 14 ชั่วโมง

4.6 องค์ประกอบทางเคมีของเซลล์ยีสต์ที่ผลิตได้

จากการเลี้ยงเชื้อ *C. tropicalis* TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่โดยใช้กลูโคสที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 เป็นแหล่งคาร์บอน โพแทสเซียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.025 เป็น growth factor และโพแทสเซียมไนเตรตที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.8 เป็นแหล่งไนโตรเจน พบว่าเชื้อยีสต์ที่เลี้ยงในสภาวะดังกล่าวในลักษณะเปียกจะให้ปริมาณโปรตีนร้อยละ 7.83 ความชื้นร้อยละ 71.06 และไขมันร้อยละ 45.99 ส่วนยีสต์ในลักษณะแห้งจะให้โปรตีนร้อยละ 1.22 ความชื้นร้อยละ 10.36 และไขมันร้อยละ 27.48

ตารางที่ 11 องค์ประกอบทางเคมีของเชื้อ *C. tropicalis* TISTR 5136 ที่เลี้ยงในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ที่มีกลูโคสเข้มข้นร้อยละ 2 เป็นแหล่งคาร์บอน โพแทสเซียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 0.025 เป็นgrowth factor และโพแทสเซียมไนเตรตเข้มข้นร้อยละ 0.8 เป็นแหล่งไนโตรเจน

องค์ประกอบทางเคมี	ความเข้มข้น (ร้อยละ)	
	ยีสต์ลักษณะเปียก	ยีสต์ลักษณะแห้ง
โปรตีน	7.83	1.22
ความชื้น	71.06	10.36
ไขมัน	45.99	27.48

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุดของยีสต์ C. tropicalis TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่โดยเลี้ยงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าเชื้อยีสต์จะมีการเจริญสูงสุดในชั่วโมงที่ 14 มีค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุดเท่ากับ 0.1097 ต่อชั่วโมง

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสม (แหล่งคาร์บอน growth factor และแหล่งไนโตรเจน) ในการเลี้ยงยีสต์ C. tropicalis TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่เพื่อผลิตโปรตีนเซลล์เดียว และเพื่อลดปริมาณซีโอดีในน้ำทิ้ง ก่อนจะปล่อยออกสู่สิ่งแวดล้อม ผลการทดลองพบว่า

- แหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมคือ กลูโคสที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 มีค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุดเท่ากับ 0.0913 ต่อชั่วโมง ให้มวลชีวภาพสูงสุดเท่ากับ 0.8994 กรัมต่อลิตร ในเวลา 14 ชั่วโมง และลดค่าซีโอดีในน้ำทิ้งได้ร้อยละ 43.14 สูงกว่าค่ามวลชีวภาพ และความสามารถในการลดค่าซีโอดีของเชื้อยีสต์ ที่เลี้ยงในกลูโคสเข้มข้นร้อยละ 1 , 3 , 4 และที่ซูโครสเข้มข้นร้อยละ 1 , 2 , 3 , 4 (ตารางที่ 7)

- growth factor ที่เหมาะสมที่จะใช้ควบคู่กับกลูโคสที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 คือ โพแแทสเซียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 0.025 มีอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุดเท่ากับ 0.1410 ต่อชั่วโมง ให้มวลชีวภาพสูงสุดเท่ากับ 1.0017 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 14 และลดค่าซีโอดีในน้ำทิ้งได้ร้อยละ 46.57 สูงกว่าค่ามวลชีวภาพ และความสามารถในการลดค่าซีโอดีของเชื้อยีสต์ที่เลี้ยงในกรดฟอสฟอริกเข้มข้นร้อยละ 0 , 0.04 , 0.1 , 0.085 และที่โพแทสเซียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 0 , 0.05 (ตารางที่ 8)

- แหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมที่จะใช้ควบคู่กับกลูโคสที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 และโพแทสเซียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.025 คือ โพแทสเซียมไนเตรตเข้มข้นร้อยละ 0.8 มีอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุดเท่ากับ 0.1564 ต่อชั่วโมง ให้มวลชีวภาพสูงสุดเท่ากับ 1.5865 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 14 และลดค่าซีโอดีในน้ำทิ้งได้ร้อยละ 54.88 สูงกว่าค่ามวลชีวภาพและความสามารถในการลดค่าซีโอดีของเชื้อยีสต์ที่เลี้ยงในโพแทสเซียมไนเตรตเข้มข้นร้อยละ 0.2 , 0.4 , 0.6 , 1.0 และที่ยีสต์สกัดเข้มข้นร้อยละ 0.03 , 0.05 (ตารางที่ 9)

เชื้อยีสต์ที่ได้จากการเลี้ยงในสภาวะที่เหมาะสมที่ได้คัดเลือกไว้ ในยีสต์ที่มีลักษณะเปียกจะมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 7.83 ความชื้นร้อยละ 71.06 และไขมันร้อยละ 45.99 ส่วนในยีสต์ที่มีลักษณะแห้งจะมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 1.22 ความชื้นร้อยละ 10.36 และไขมันร้อยละ 27.48 (ตารางที่ 11)

ข้อเสนอแนะ

1.ควรมีการเติมแหล่งอาหารอื่นๆ เช่นแหล่งฟอสเฟต ที่เหมาะสมในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ เพื่อทำให้การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ดีขึ้น

2.ในการใช้แหล่งอาหารที่เหมาะสมนั้นควรมีการนำสภาวะที่เหมาะสมอื่น ๆ เช่น พีเอชเริ่มต้น อุณหภูมิ มาใช้ร่วมกันกับแหล่งอาหารที่เหมาะสมเพื่อให้ประสิทธิภาพในการเจริญของเชื้อดีขึ้น

3. ควรจะมีการศึกษาการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากวัตถุดิบชนิดอื่นๆ

4. ควรจะมีการศึกษาการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก.

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

อาหารสูตร NRRL

ประกอบด้วย

กลูโคส	1.0 %
เปปโตน	0.5 %
มอลต์สกัด	0.3 %
ยีสต์สกัด	0.3 %

ภาคผนวก ข.

วิธีการวิเคราะห์คุณลักษณะน้ำเสีย

1.ซีโอดี (APHA , AWWA and WPCF , 1985)

วัสดุอุปกรณ์

1. ขวดก้นกลม ขนาด 250 มิลลิลิตร
2. เครื่องควบแน่น (condenser)
3. เตาไฟฟ้า (heating mantle)
4. บิวเรตต์ ขนาด 50 มิลลิลิตร

สารเคมี

1. กรดซัลฟิวริกเข้มข้น ละลายซิลเวอร์ซัลเฟต (Ag_2SO_4) 5.5 กรัม ต่อกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1 กก. (ต้องใช้เวลาในการละลายประมาณ 1-2 วัน)

2. สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต 0.0417 M ละลายโพแทสเซียมไดโครเมต ($K_2Cr_2O_7$) 12.259 กรัม (อบ 130 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง) ลงในน้ำกลั่น ทำให้เจือจางจนปริมาตรเป็น 1 ลิตร

3. สารละลายมาตรฐานเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟต 0.25 M ละลายเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟต ($Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 .6H_2O$) ชนิดเออาร์ 98 กรัม ในน้ำกลั่น เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 20 มิลลิลิตรลงไป ทำให้เย็นแล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1 ลิตร สารละลายนี้จะต้องหาความเข้มข้นที่แน่นอนโดยไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต 0.0417 M

4. สารละลายเฟอโรอินอินดิเคเตอร์

5. เมอร์คิวรีซัลเฟต ($HgSO_4$) ชนิดผง ใช้กำจัดหมู่คลอไรด์

6. กรดซัลฟามิกชนิดเออาร์ (Sulfamic acid) ใช้กำจัดไนไทรต์

การหาความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟต

นำสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมต 10 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 30 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น นำมาไทเทรตด้วยสารละลายเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟต ใช้เฟอโรอินเป็นอินดิเคเตอร์ (2-3 หยด)

การคำนวณ

$$\text{โมลาริตี (M)} = \frac{\text{มิลลิลิตรของ 0.0417 M โพแทสเซียมไดโครเมต} \times 0.25}{\text{มิลลิลิตรของเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟต}}$$

วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งเมอร์คิวรีซัลเฟต ($HgSO_4$) 0.4 กรัม ใส่ลงในขวดก้นกลม

2. เติมตัวอย่างน้ำที่ต้องการวิเคราะห์ 20 มิลลิลิตร หรือส่วนของตัวอย่างที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 20 มิลลิลิตร

3. เติมสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต 10 มิลลิลิตร ค่อยๆเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้นที่มีซิลเวอร์ซัลเฟตเจือปนอยู่ลงไป 30 มิลลิลิตร

4. เขย่าสารละลายตั้งต้นทั้งหมดให้เข้ากันดี นำขวดต่อเข้ากับเครื่องควบแน่นกลั่นเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็น ล้างเครื่องควบแน่นด้วยน้ำกลั่นก่อนที่จะถอดเครื่องควบแน่นออกจากขวดแก้วก้นกลม

5. เติมน้ำกลั่นลงในขวดก้นกลมจนปริมาตรประมาณ 140-150 มิลลิลิตร ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

6. ไทเทรตสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมตที่เหลือด้วยสารละลายมาตรฐานเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟต ใช้เฟอโรอินเป็นอินดิเคเตอร์ (2-3 หยด) จนกระทั่งสีของส่วนผสมเปลี่ยนจากสีน้ำเงินเขียวเป็นสีน้ำตาลแดง แสดงว่าถึงจุดยุติ

7. ทำแบลงค์โดยใช้น้ำกลั่นแทนตัวอย่างน้ำและดำเนินการเช่นเดียวกับตัวอย่างน้ำทุกประการ

การคำนวณ

$$\text{COD (มิลลิกรัมต่อลิตร)} = \frac{(A - B) \times C \times 8000}{\text{มิลลิลิตรของน้ำตัวอย่าง}}$$

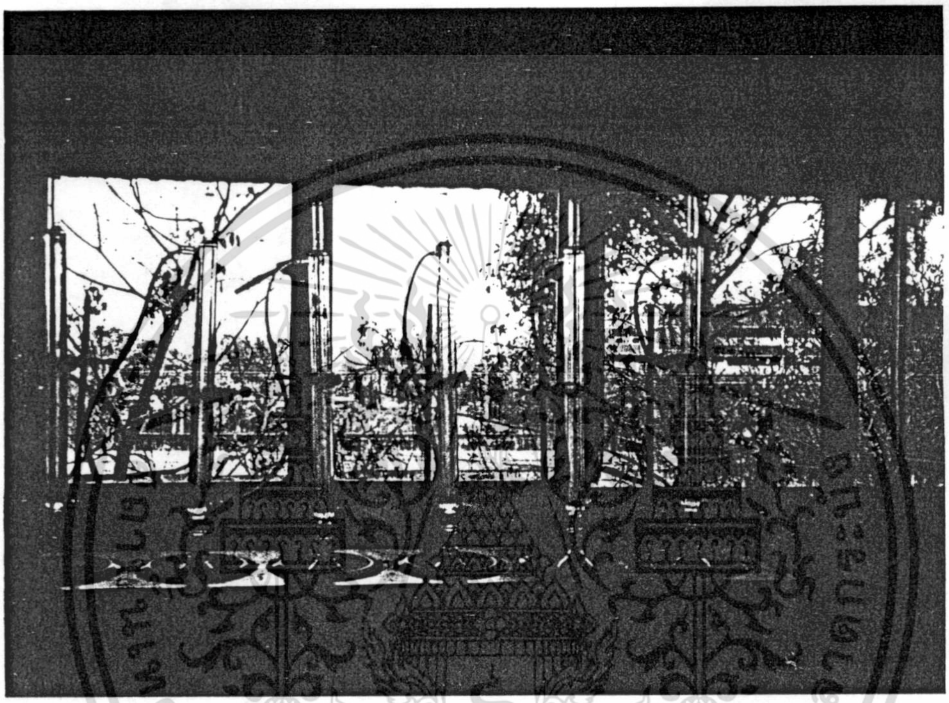
เมื่อ A = มิลลิลิตรของสารละลายเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้กับแบลงค์

B = มิลลิลิตรของสารละลายเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้กับตัวอย่างน้ำ

C = โมลาริตี (M) ของสารละลายเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟต

หมายเหตุ

ในขณะที่กลั่นตัวอย่างน้ำ กับสารละลายละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต ถ้าสารละลายในขวดเปลี่ยนจากสีส้มเป็นสีเขียวแสดงว่าใช้ตัวอย่างน้ำมากเกินไป ต้องนำมาทำใหม่โดยใช้ปริมาตรน้ำน้อยกว่าเดิม หรือนำมาทำให้เจือจาง



รูปภาคผนวกที่ ข-1 อุปกรณ์กลั่นไหลกลับ

2.ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด และโปรตีน (โดยวิธี Boric acid)

วัสดุอุปกรณ์

1. เตา digest (digestion system20, tecator)
2. เครื่องกลั่น (kjeldahl 1026 Distilling Unit)
3. Kjeldahl flask 800 มิลลิลิตร
4. Digestion tube 250 มิลลิลิตร
5. Erlenmayer flask 500 มิลลิลิตร, 250 มิลลิลิตร , 150 มิลลิลิตร
6. Volumetric flask 1000 มิลลิลิตร
7. Beaker 250 มิลลิลิตร, 100 มิลลิลิตร, 1000 มิลลิลิตร

8. Pipette 5 มิลลิลิตร, 10 มิลลิลิตร
9. Pumice stone
10. Filter paper No.1 dia. 7 เซนติเมตร (whatman)
11. Burettes 25 มิลลิลิตร

สารเคมี

1. $CuSO_4 . 5H_2o$
2. Conc Sulfuric acid
3. Methyl red & bromo cresol green
4. 0.1 N std. NaOH & 0.1 N std H_2SO_4
5. Conc. Hydrochloric acid
6. NaOH (pellet)
7. Boric acid
8. Na_2CO_3 anhydrous
9. K_2SO_4

การเตรียมสารละลาย

1. NaOH 40 %

ละลาย NaOH 4000 กรัม ในน้ำกลั่น 10 ลิตร

2. Boric acid 4 % ผสมกับ Bromocresol green + methyl red

ละลาย Boric acid 400 กรัม ในน้ำกลั่น 6 ลิตร นำไปตั้งบน hot plate ต้มจนสารละลายหมด เติมน้ำกลั่นที่ร้อน 3 ลิตร ทิ้งให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง เติม Bromocresol green 100 มิลลิลิตร + methyl red 70 มิลลิลิตร (Bromocresol green 0.1 กรัม ละลายใน ethanol 100 มิลลิลิตร, methyl red 0.1 กรัม ละลายใน ethanol 100 มิลลิลิตร) และเติมน้ำกลั่นจนครบ 10 ลิตร คนให้เข้ากันดี

ดูดสารละลาย Boric acid มา 25 มิลลิลิตร ใส่ flask เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ถ้าสารละลายใน flask ยังคงเป็นสีแดง ให้ไทเทรตด้วย 0.1 N NaOH จนกระทั่งกลายเป็นได้สีม่วง คำนวนจำนวนของสารละลาย NaOH ที่จำเป็นต้องลงไปใน Boric acid 10 ลิตร

มล. 1.0 M Alkali = มล. ไทเทรต x 40

เติมปริมาณที่คำนวนได้ของ 1 M สารละลาย NaOH ลงในสารละลาย Boric acid ผสมให้เข้ากัน

3. 0.2 N HCl

$$N_1V_1 = N_2V_2$$

ดังนั้นต้องปิเปต HCl conc. มา 17 มิลลิลิตร ใส่ใน Volumetric flask 1000 มิลลิลิตร ที่มีน้ำกลั่นอยู่แล้วประมาณ 500 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่นให้ถึงขีด 1000 มิลลิลิตร (ต้องหาความเข้มข้นที่แน่นอนโดยการ Standardize กับ 0.2 N Na_2CO_3 หรือ 0.1 N Standard NaOH)

4. 0.2 N Na_2CO_3

หาน้ำหนัก Na_2CO_3 = ?

แบ่ง anhydrous Na_2CO_3 ประมาณ 10 กรัม ใช้ครกบดให้เป็นผงละเอียดใส่ plate นำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 265 องศาเซลเซียส ประมาณ 1 ชั่วโมง หรือ 200 องศาเซลเซียส ประมาณ 2 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำออกมาไว้ในเดซิกเคเตอร์ทิ้งให้เย็น

$$\text{มล.} \times N = \frac{g}{(MW / X*1000)}$$

g = น้ำหนักของ Na_2CO_3 ที่ต้องการหา

X = c.qivalint = 2

Na_2 = 2e-

Na = e-

$$100 \times 0.2 = \frac{g}{106/(2 \times 1000)}$$

ml = ปริมาตรที่ต้องการเตรียม

N = ความเข้มข้นที่ต้องการเตรียม

MW. = น้ำหนักโมเลกุลของ Na_2CO_3

$$g = \frac{100 \times 0.2 \times 106}{2 \times 1000}$$

$$= 1.06 \text{ กรัม}$$

ดังนั้นต้องชั่ง Na_2CO_3 ที่อบแล้ว 1.06 กรัม (ต้องจดน้ำหนักที่แน่นอนไว้ใช้คำนวณ) ละลายน้ำกลั่นใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่นให้ถึงขีด

5. Standardize 0.2 N HCl (หาความเข้มข้นที่แน่นอน)

5.1 ปิเปตสารละลาย Na_2CO_3 ที่เตรียมไว้ 25 มิลลิลิตร ใส่ใน flask 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร หยด methyl orange 2 หยดเป็นอินดิเคเตอร์ ได้สารละลายสีเหลือง ใส่ HCl ที่ต้องการทราบความเข้มข้นในบิวเรต นำสารละลาย Na_2CO_3 ที่อยู่ใน flask มาไทเทรตกับ 0.2 N HCl จนถึงจุดยุติ สีของสารละลายสีเหลืองจะเปลี่ยนเป็นสีจำปาจดปริมาตร HCl ที่ใช้ นำไปให้ความร้อนจนเดือดน้อยๆเพื่อไล่คาร์บอนไดออกไซด์ ถ้าสารละลายเปลี่ยนกลับไปเป็นสีเหลืองอีกให้ทิ้งไว้จนเย็น แล้วนำมาไทเทรตต่อจนถึงจุดยุติ อีกนำปริมาตร HCl ที่ไทเทรตได้มารวมกันทำซ้ำ 2 ครั้ง หาปริมาตรเฉลี่ย

คำนวณหาความเข้มข้น Na_2CO_3

$$\text{มล.} \times N = \frac{g}{(MW / X * 100)}$$

$$100 \times N = \frac{g\ Na_2CO_3}{(106 / 2 * 100)}$$

$$(\text{ความเข้มข้น } Na_2CO_3) \times N = \frac{\text{น้ำหนัก } Na_2CO_3 * 2 * 1000}{106 \times 100}$$

คำนวณหาความเข้มข้น HCl

$$ml_1N_1 = ml_2N_2$$

$$ml.\ HCl \times N\ HCl = ml\ Na_2CO_3 \times N\ Na_2CO_3$$

$$N\ HCl = \frac{ml.\ Na_2CO_3 \times N\ Na_2CO_3}{ml.\ HCl}$$

วิธีวิเคราะห์

1.ชั่งตัวอย่าง 0.9–1.0 กรัมใส่ลงในกระดาษกรอง(เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง,Sartorious) แล้วใส่ลงใน digestion tube

2. ใส่ K_2SO_4 = 3.5 กรัม $CuSO_4.5H_2O$ = 0.4 กรัม

3. เติม Conc H_2SO_4 15 มิลลิลิตร เขย่าเบาๆ

4. นำ rack ที่มี digestion tube วางลงในเครื่องย่อย (digestor) ที่ตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 420 องศาเซลเซียส แล้วเปิดตู้ควัน เพื่อช่วยในการดูดควัน

5. ย่อยเป็นเวลา 50 นาที จนได้สารละลายใสสีเขียวหรือสีฟ้า นำออกจากเครื่องย่อย ตั้งทิ้งไว้ในตู้ควันเพื่อให้หมดควัน เติมน้ำลงในหลอดพอประมาณ แล้วนำไปขึ้นเครื่องกลั่น

6. เปิดก๊อกน้ำเพื่อหล่อเย็นเครื่องควบแน่นและเปิด power ของเครื่องกลั่น (Kjeltec)

7. กดปุ่ม Alkali = 2-3 ครั้ง จนแน่ใจว่าในท่อด่างไม่มีฟองอากาศหลงเหลืออยู่

8. Warm เครื่องกลั่นใช้ flask และ tube เปล่า เปิด steam กลั่นเป็นเวลา 5 นาที

9. ปิด steam นำ flask และหลอดออกจากเครื่องกลั่น

10. Set Alkali = 2 Delay time = 0.2 Steam = 3.6

11.นำ flask ซึ่งมี Boric acid 4% ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ไปตั้งบน plat form ของเครื่องกลั่น กดปุ่ม Auto ยก plat form ขึ้นเพื่อให้หลอดจุ่มลงในสารละลาย ปิด Safty door เครื่องจะทำงาน โดยมีน้ำกลั่นลงมาเจือจางสารละลายตัวอย่าง แล้วตามด้วย NaOH 40% 2 stroke (1 stroke = 25 มิลลิลิตร) จากนั้น steam จะทำงาน

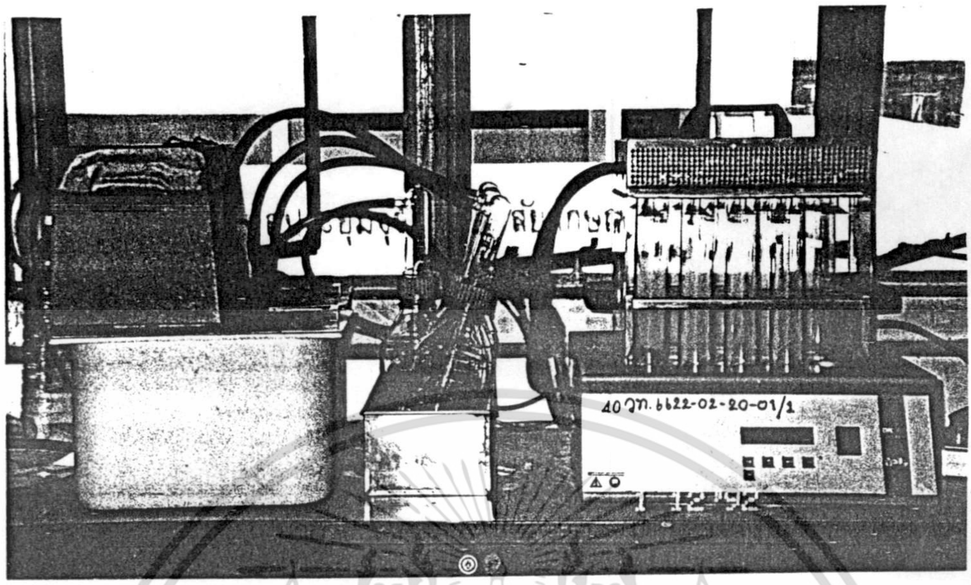
12. เมื่อกลั่นเสร็จแล้วนำ flask และหลอดออกจากเครื่องกลั่นแล้วทำการกลั่นตัวอย่างใหม่ต่อไป

13. นำ flask ซึ่งมี distillate เป็นสารละลายสีเขียวไปไทเทรตกับ 0.2 N HCl จนถึงจุดยุติ สารละลายจะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเทา

การคำนวณ

% N = 1.401 x (ml. HCl – blank) x N HCl

% Protein = % N x 6.25


40วท.6622-02-20-01/1

รูปภาคผนวกที่ ช-2 เครื่องย่อย

Gerhardt
Vapodest 30

รูปภาคผนวกที่ ช-3 เครื่องกลั่น

3.ของแข็งทั้งหมด(Total solids) (APHA,AWWA and WPCF,1985)

วัสดุอุปกรณ์

1. ถ้วยกระเบื้องสำหรับระเหย
2. ตู้อบที่ควบคุมอุณหภูมิได้ที่ 103 องศาเซลเซียส
3. อ่างไอน้ำ
4. เดซิกเคเตอร์
5. เครื่องชั่งน้ำหนักชนิด 4 ตำแหน่ง

วิธีการวิเคราะห์

1. นำถ้วยระเหยล้างให้สะอาด อบให้แห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 103 องสาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทำให้เย็นในเดซิกเคเตอร์แล้วชั่งน้ำหนักที่แน่นอน
2. ตวงตัวอย่าง 50 มิลลิลิตร หรือน้อยกว่า ใส่ลงในถ้วยระเหยที่ทราบน้ำหนักแน่นอน
3. นำไประเหยให้แห้งในอ่างน้ำ
4. อบให้แห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
5. ทำให้เย็นในเดซิกเคเตอร์ ประมาณ 45 นาที
6. ชั่งน้ำหนัก

$$\text{ของแข็งทั้งหมด (มิลลิกรัมต่อลิตร)} = \frac{\text{น้ำหนักของแข็ง (มิลลิกรัม)} \times 1000}{\text{มิลลิลิตรตัวอย่าง}}$$

4.ของแข็งแขวนลอยทั้งหมด (Total suspended solids) (APHA,AWWA and WPCF,1985)

วัสดุอุปกรณ์

1. Glass fiber filter disks (Whatman GF/C, 5.5 ซม.)
2. Gooch crusible
3. เครื่องดูดสุญญากาศ
4. ตู้อบที่ควบคุมอุณหภูมิได้ที่ 103 องศาเซลเซียส
5. เดซิกเคเตอร์
6. เครื่องชั่งน้ำหนักชนิด 4 ตำแหน่ง

Rale, V.B. (1984). SCP from pineapple (*Ananas sativa* Schutt.) canner effuents. J. Applied Microbiology and Biotechnology. 19, 106-109.

Rydin, S., Molin, G., and Nilsson, I. (1990). Conversion of fat in to yeast biomass in protein-containing waste-water. Applied Microbiology and Biotechnology. 33 : 473-476.

Tanticharoen, M., Bunnag, B. and Vonshak, A. (1993). Cultivation of Spirulina using Secondary treated starch wastewater. Australasian Biotech. 3 : 223-226.

วิธีการวิเคราะห์

1. วางกระดาษกรองใน gooch crusible ผ่านน้ำกลั่นลงไป ใช้เครื่องดูดอากาศ ดูดให้แห้ง นำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่งโมง

2. ทำให้เย็นเท่าอุณหภูมิห้องในเดซิกเคเตอร์

3. ชั่งน้ำหนัก

4.นำ gooch crusible ที่เตรียมไว้ใส่ในเครื่องดูดสุญญากาศ ทำกระดาษกรองให้เปียกด้วยน้ำกลั่น เปิดเครื่องสุญญากาศ

5. วัดปริมาตรตัวอย่าง สำหรับตัวอย่างที่มีสารแขวนลอยมากทำให้การกรองช้า ให้เลือกปริมาตรของตัวอย่างที่ใช้ซึ่งจะเท่ากับ 14 มิลลิลิตรต่อลูกบาศก์เซนติเมตร เติมตัวอย่างลงไปใน gooch crusible แล้วกรอง ล้างด้วยน้ำกลั่นครั้งละ 10 มิลลิลิตร 3 ครั้ง ใช้เครื่องดูดอากาศดูดให้แห้งนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส ทำให้เย็นในเดซิกเคเตอร์

6. ชั่งน้ำหนัก

$$\text{ปริมาณของแข็งแขวนลอยทั้งหมด} = \frac{\text{น้ำหนักของแข็ง (มิลลิกรัม)} \times 1000}{\text{มิลลิลิตรตัวอย่าง}}$$

5.ปริมาณกรีส (Grease) (APHA,AWWA and WPCF,1985)

วัสดุอุปกรณ์

1. กรวยแยกมีจุกทำด้วย teflon เป็น inert และไม่ต้องใช้พวกสารทำให้ลื่นซึ่งส่วนมากเป็นกรีส

2. อุปกรณ์ให้ความร้อน (heating mantle)

3. ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร

4. ขวดกลั่นขนาด 250 มิลลิลิตร

5. เครื่องชั่งละเอียด

สารเคมี

1. กรดซัลฟิวริกเข้มข้น

2. ตัวทำละลายอินทรีย์

- petrolium ether มีจุดเดือด 35-60 องศาเซลเซียส

วิธีการวิเคราะห์

1. การเตรียมตัวอย่าง นำตัวอย่าง 100 มิลลิลิตร ใส่ในกรวยแยก ทำให้เป็นกรดด้วยกรดซัลฟิวริก เข้มข้น 5 มิลลิลิตรต่อลิตร

2. สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ ล้างขวดตัวอย่างด้วย 15 มิลลิลิตร ของตัวทำละลายอินทรีย์ และเติมน้ำล้างลงไปในกรวยแยก เติมตัวทำละลายอินทรีย์อีก 25 มิลลิลิตร เขย่าอย่างแรง 2 นาที ปล่อยให้แยกชั้น ดูดส่วนที่เป็นน้ำของตัวอย่างลงในขวดรูปชมพู่ และเทชั้นตัวทำละลายในขวดกลั่นจุประมาณ 3 เท่าของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ ถ้าไม่ใส ให้กรองก่อนด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 40 ให้ใช้กรวยเล็กในการกรอง และล้างด้วยตัวทำละลายอีกครั้ง (5 มิลลิลิตร) เอาน้ำล้างใส่ลงในส่วนของตัวอย่างที่เป็นน้ำ เติมตัวละลายอินทรีย์ลงไปอีก 25 มิลลิลิตร เทลงในกรวยแยกเขย่าอย่างแรง 2 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น ไขชั้นน้ำทิ้งไปเอาส่วนที่สกัดได้ ซึ่งอยู่ในชั้นตัวทำละลายใส่ลงในขวดกลั่น ล้างกรวยแยกด้วยตัวทำละลาย 20 มิลลิลิตร รวมน้ำล้างเข้าในขวดกลั่น

3. การกำจัดตัวทำละลาย กลั่นตัวทำละลายทิ้งไปประมาณ 10 มิลลิลิตร โดยใช้อ่างไอน้ำ และระเหยส่วนที่เหลือ โดยใช้ไอน้ำเป่าอากาศลงไปจนแห้ง ทำให้เย็นในเดซิกเคเตอร์ประมาณ 30 นาที แล้วชั่งน้ำหนัก (โดยนำขวดกลั่นไปอบในตู้ที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส ประมาณ 1 ชั่งโมง ทำให้เย็นในเดซิกเคเตอร์แล้วชั่งน้ำหนักเริ่มต้นก่อน)

$$\text{ปริมาณของกรีสหรือน้ำมัน} = \frac{\text{น้ำหนักของสารที่สกัดได้ (มิลลิกรัม)} \times 1000}{\text{น้ำหนักของตัวอย่าง (มิลลิลิตร)}}$$

ภาคผนวก ค.

วิธีการหาน้ำหนักแห้งของเซลล์ยีสต์

การหาน้ำหนักแห้งของเซลล์ยีสต์

วัสดุอุปกรณ์

1. จานเพาะเชื้อ
2. ตู้อบที่ควบคุมอุณหภูมิได้ที่ 103 องศาเซลเซียส
3. เดซิกเคเตอร์
4. เครื่องชั่งน้ำหนักชนิดละเอียด 4 ตำแหน่ง
5. เครื่องปั่นเหวี่ยง
6. เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์

วิธีการวิเคราะห์

1. นำจานเพาะเชื้ออบที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส ประมาณ 12 ชั่วโมง แล้วนำออกใส่ในเดซิกเคเตอร์ เมื่อเย็นเท่าอุณหภูมิห้องนำมาชั่งน้ำหนักที่แน่นอนด้วยเครื่องชั่งชนิดละเอียด ทำซ้ำจนน้ำหนักคงที่

2. เลี้ยงยีสต์ในอาหารที่ใช้ทดลองจนเซลล์เจริญสูงสุด นำเซลล์เจือจางด้วยน้ำกลั่น วัดค่าความขุ่นด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร ให้ได้ค่าความขุ่นเท่ากับ 0.2 , 0.4 , 0.6 , 0.8 และ 1.0 ส่วน blank เตรียมโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อเจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วนเดียวกับตัวอย่าง

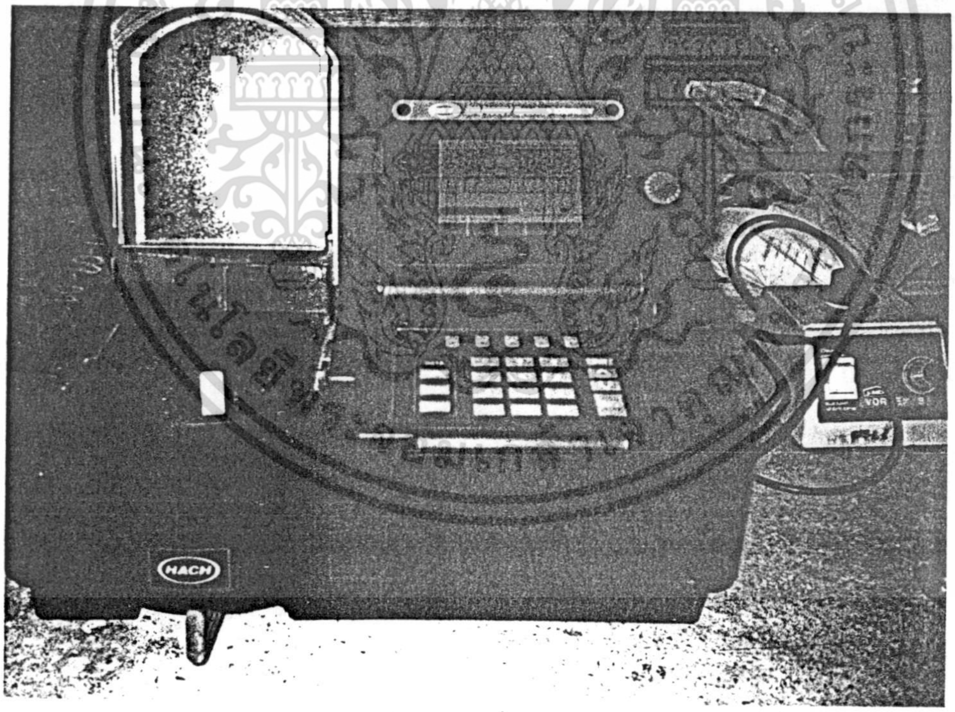
3. นำเซลล์ที่ระดับความขุ่นต่างๆ ปริมาณ 100 มิลลิลิตร เหวี่ยงด้วยเครื่องเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที ล้างเซลล์ด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง

4. นำเซลล์ใส่ในจานเพาะเชื้อแล้วอบที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง

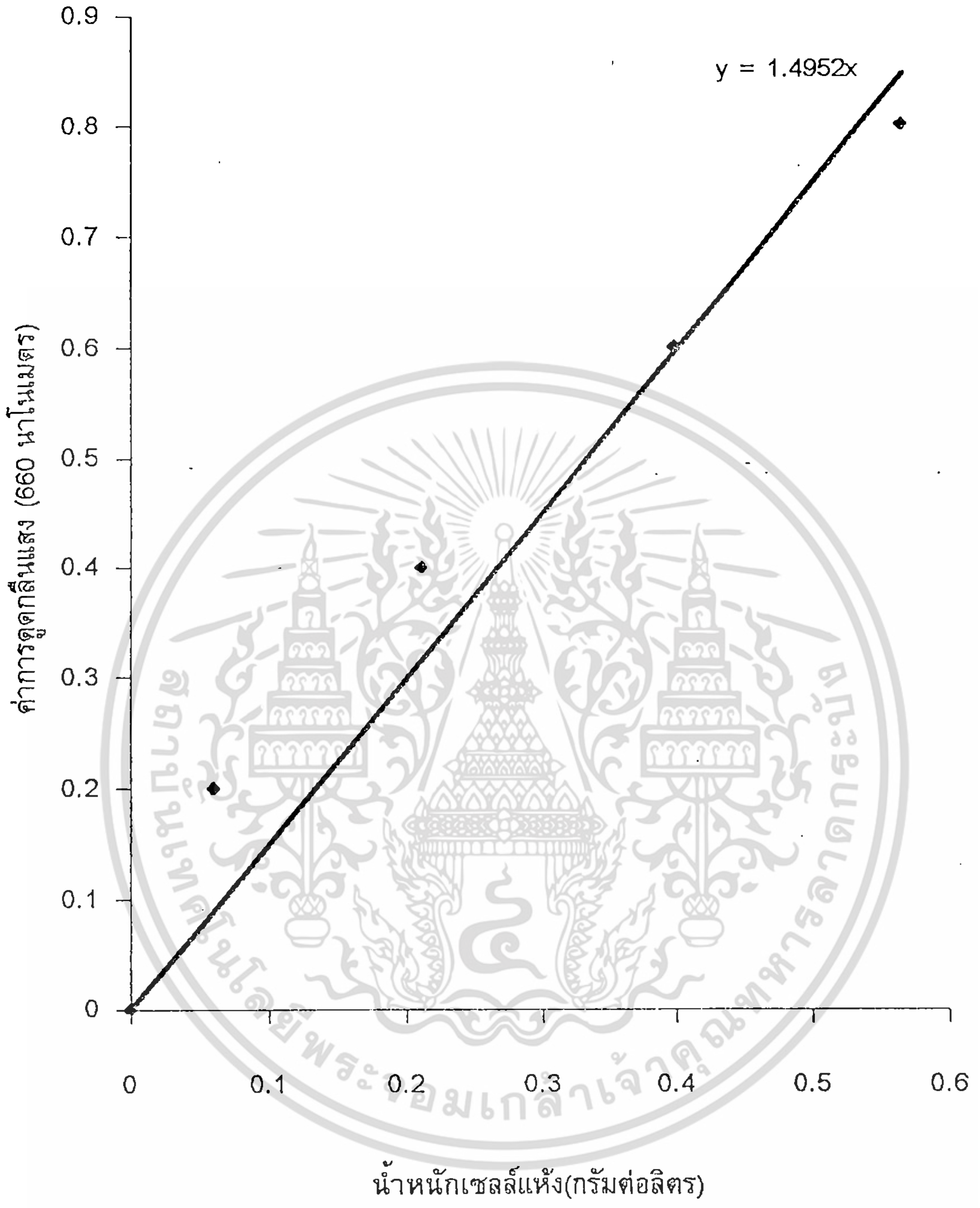
5. นำจานเพาะเชื้อ ใส่ในเดซิกเคเตอร์ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วชั่งน้ำหนักที่แน่นอนด้วยเครื่องชั่งละเอียด ทำซ้ำจนได้น้ำหนักคงที่

6. บันทึกค่าความขุ่นกับน้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้ (กรัมต่อลิตร) และเขียนกราฟเพื่อใช้เป็นกราฟมาตรฐานในการคำนวณหาน้ำหนักแห้ง

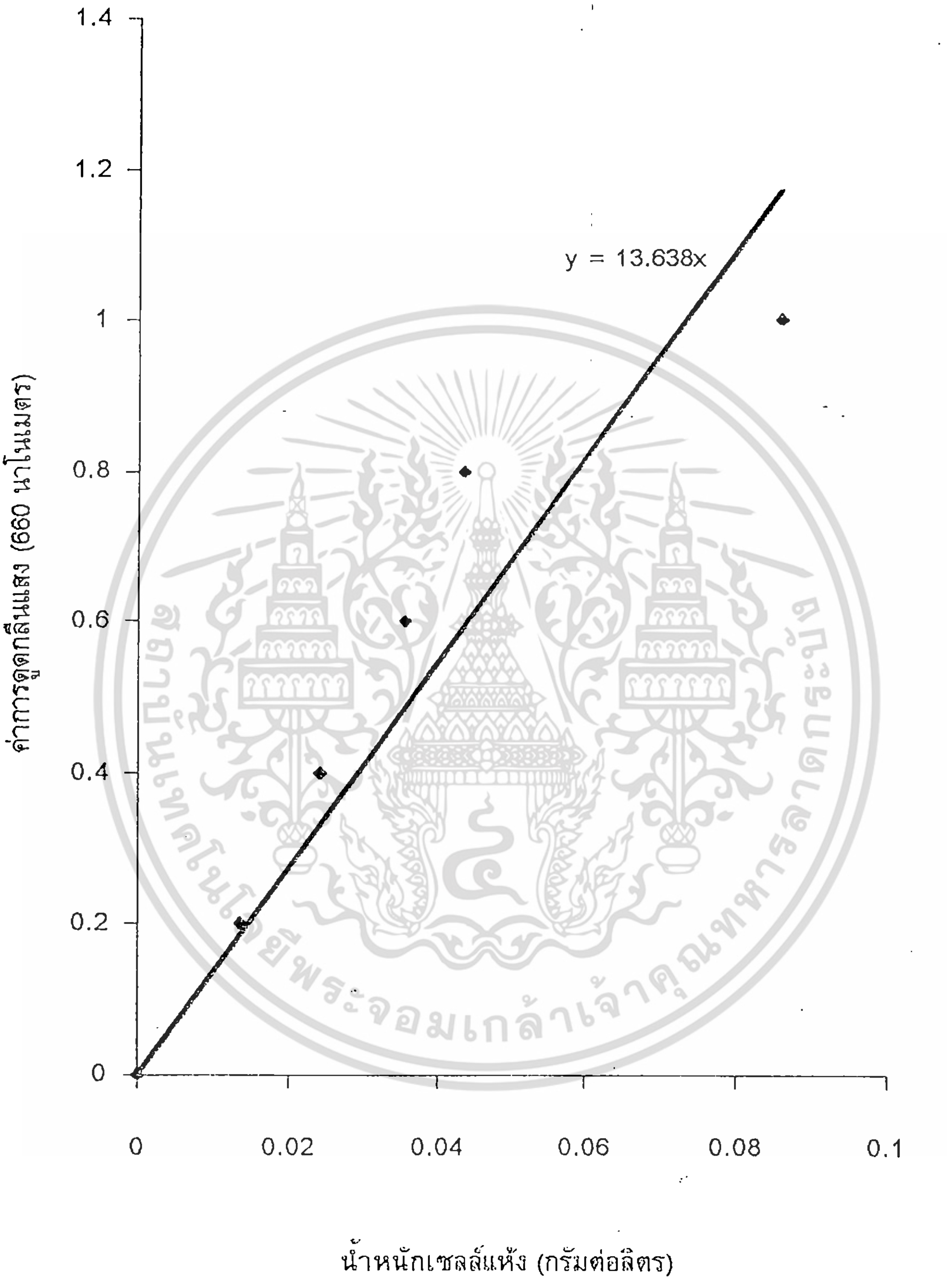
รูปภาคผนวกที่ ค-1 เครื่องปั่นเหวี่ยง



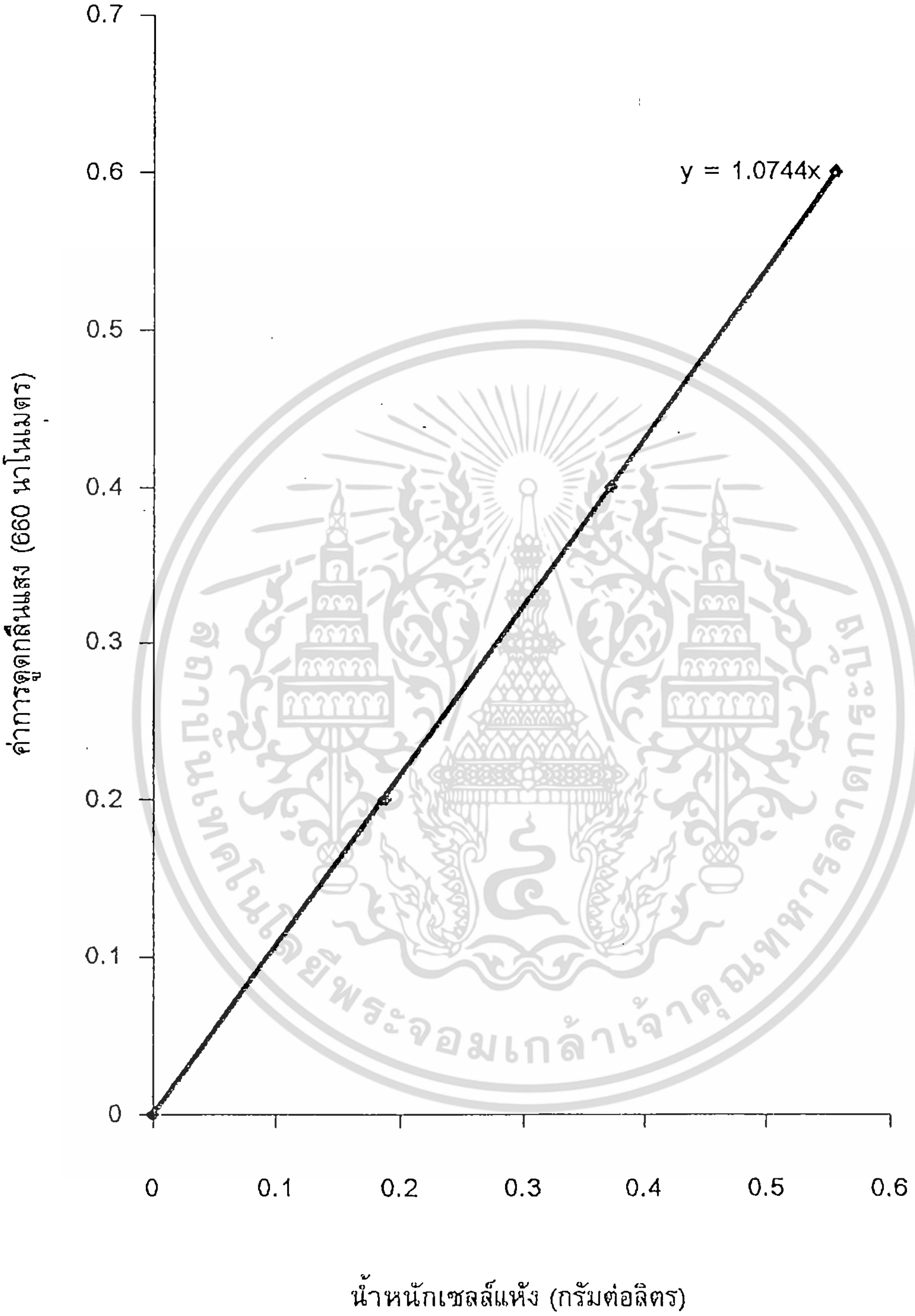
รูปภาคผนวกที่ ค-2 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์



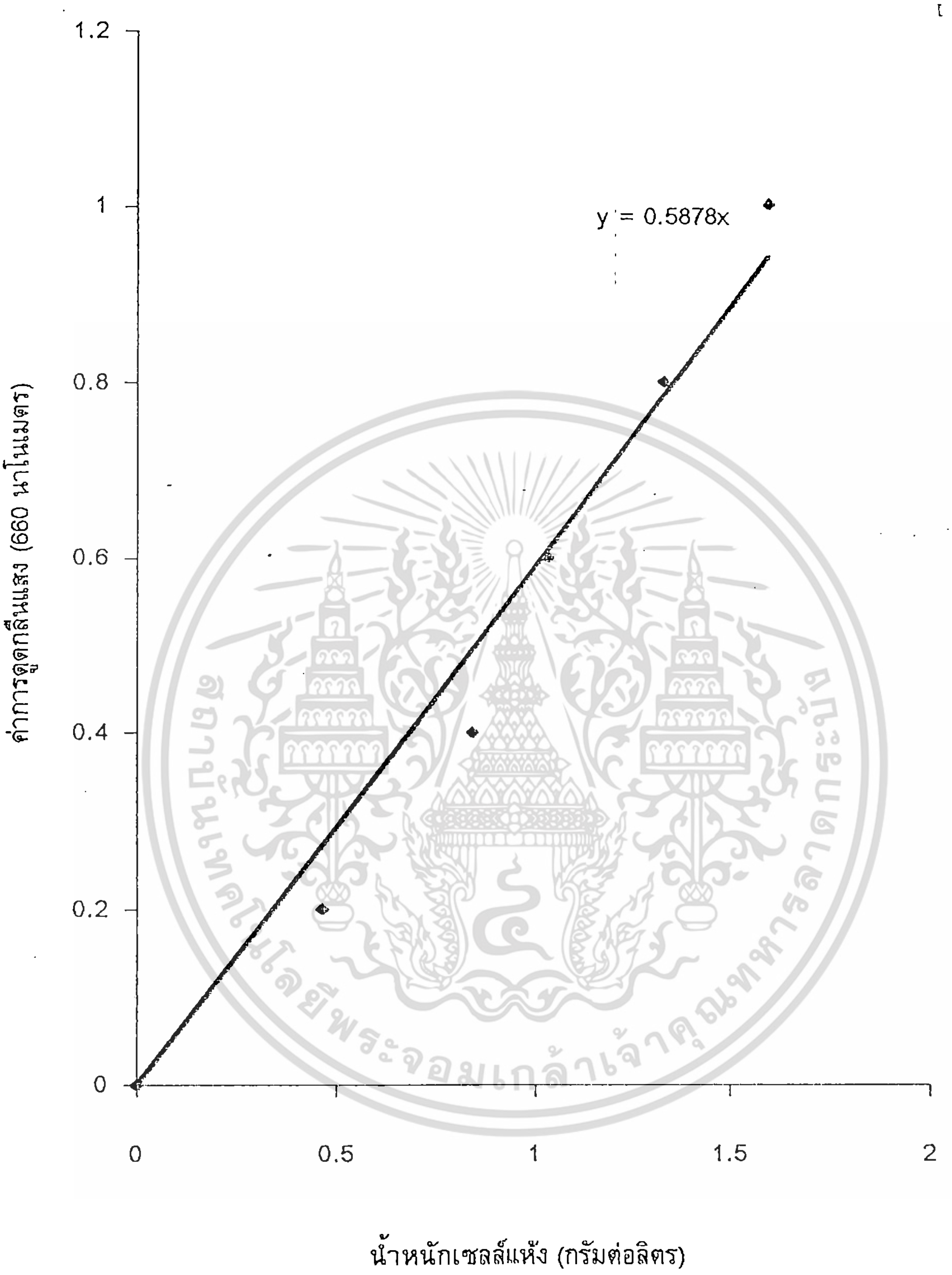
รูปภาคผนวกที่ ค-3 กราฟมาตรฐานน้ำหนักเซลล์แห้งของ *Candida tropicalis* TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ที่มีกลูโคสเข้มข้นร้อยละ 1



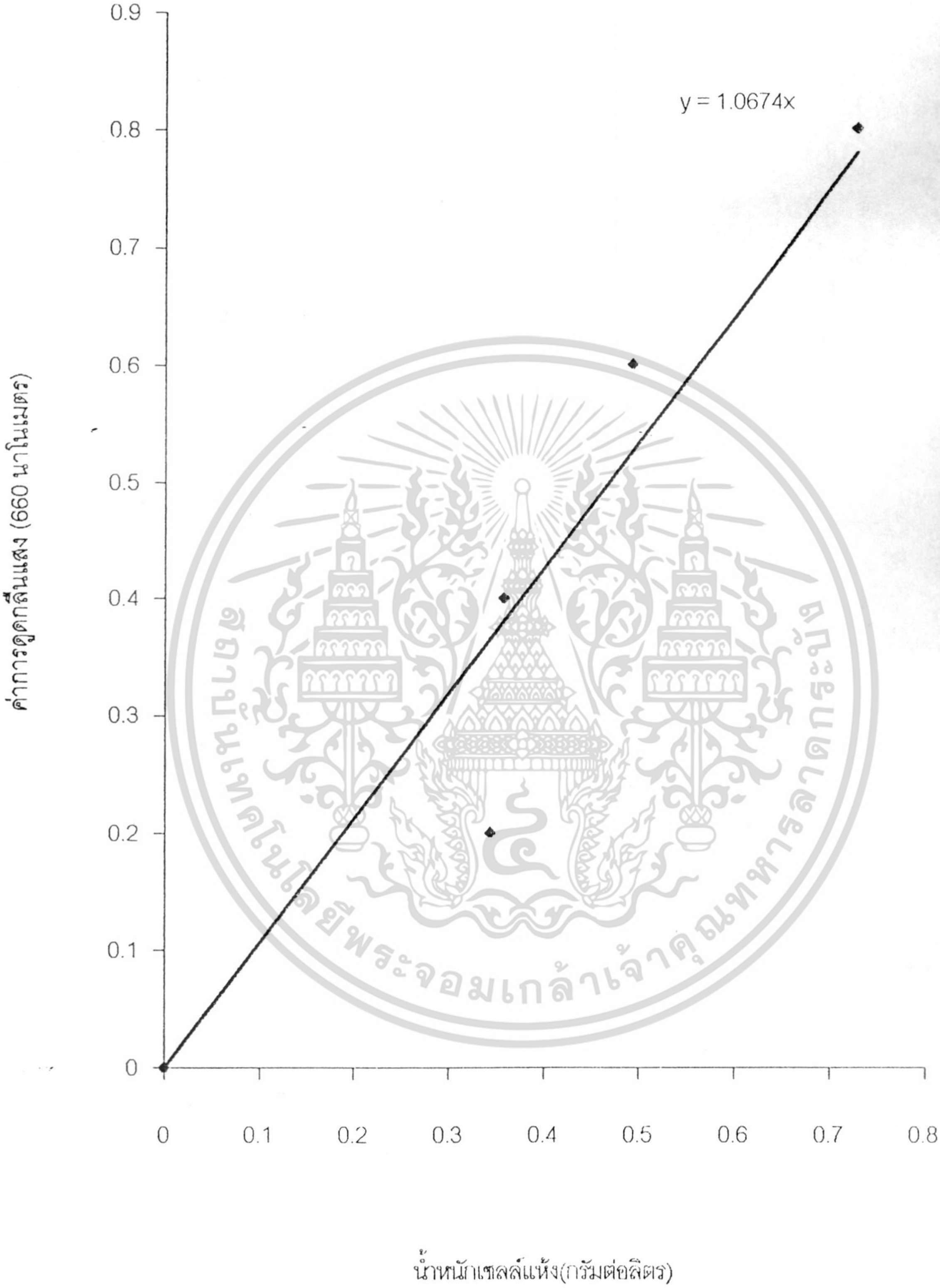
รูปภาคผนวกที่ ค-4 กราฟมาตรฐานน้ำหนักเซลล์แห้งของ Candida tropicalis TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ที่มีกลูโคสเข้มข้นร้อยละ 2



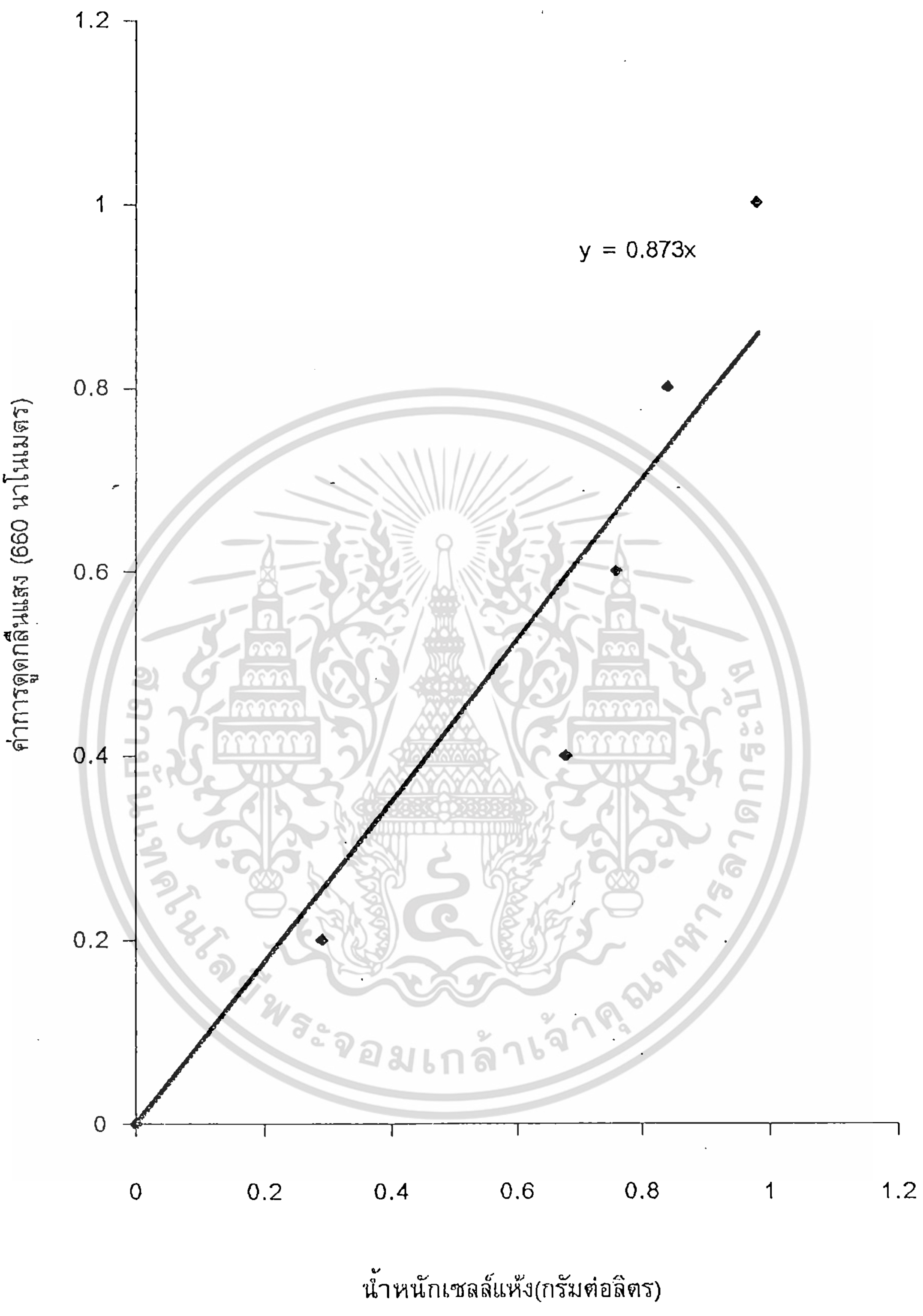
รูปภาคผนวกที่ ค-5 กราฟมาตรฐานน้ำหนักเซลล์แห้งของ Candida tropicalis TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ที่มีกลูโคสเข้มข้นร้อยละ 3



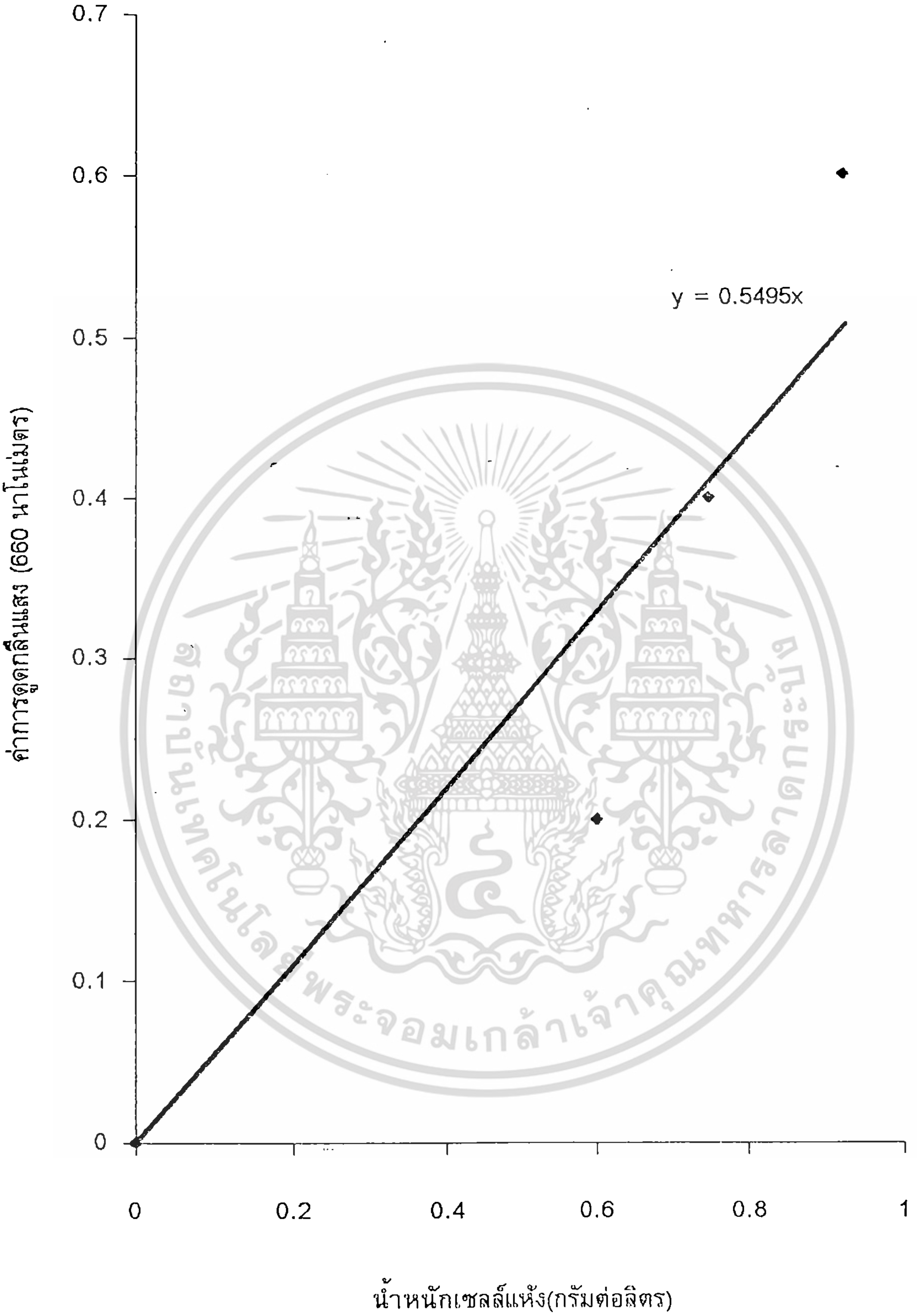
รูปภาคผนวกที่ ค-6 กราฟมาตรฐานน้ำหนักเซลล์แห้งของ Candida tropicalis TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ที่มีกลูโคสเข้มข้นร้อยละ 4



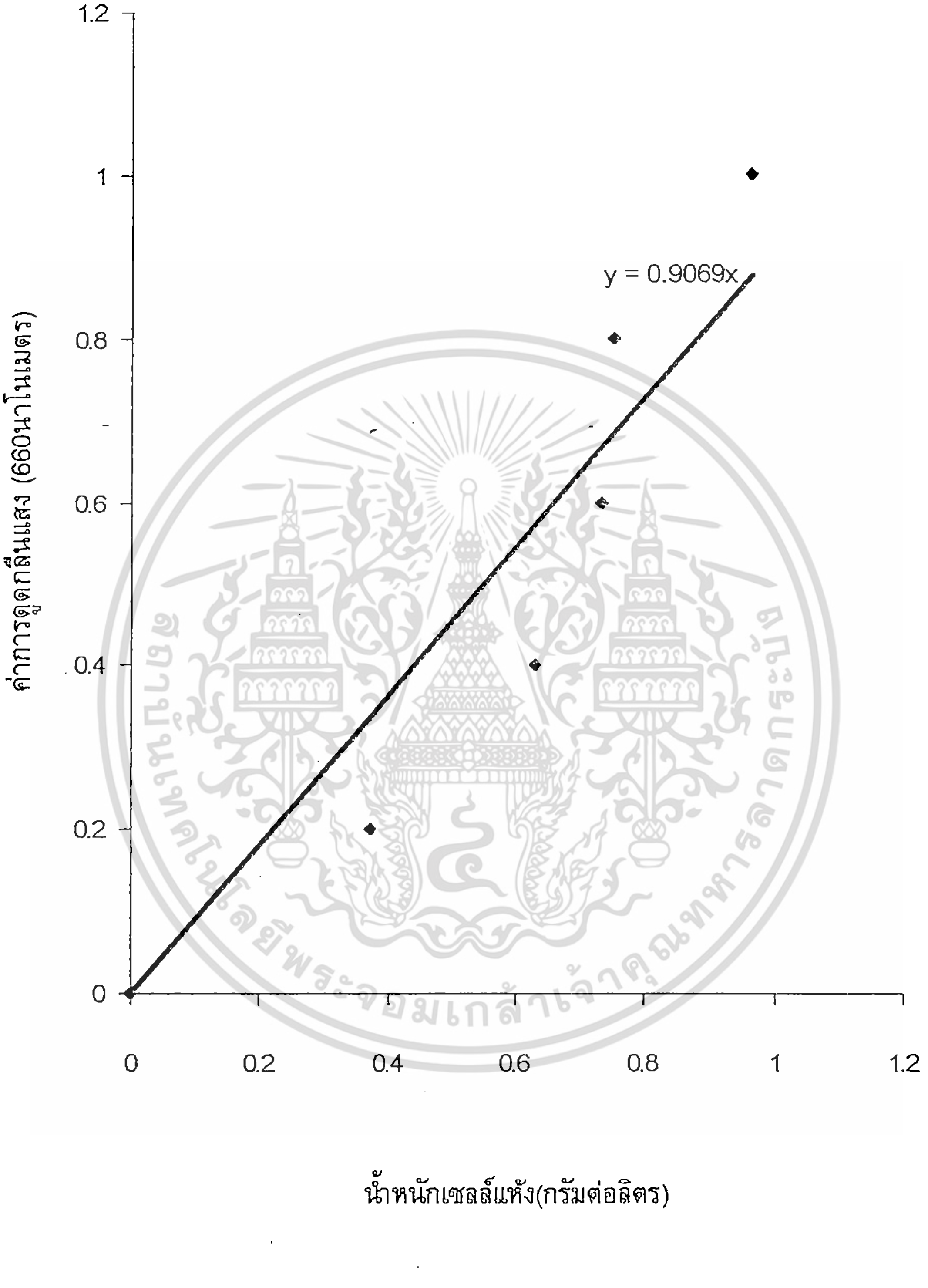
รูปภาคผนวกที่ ค-7 กราฟมาตรฐานน้ำหนักเซลล์แห้งของ Candida tropicalis TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ที่มีซูโครสเข้มข้นร้อยละ 1



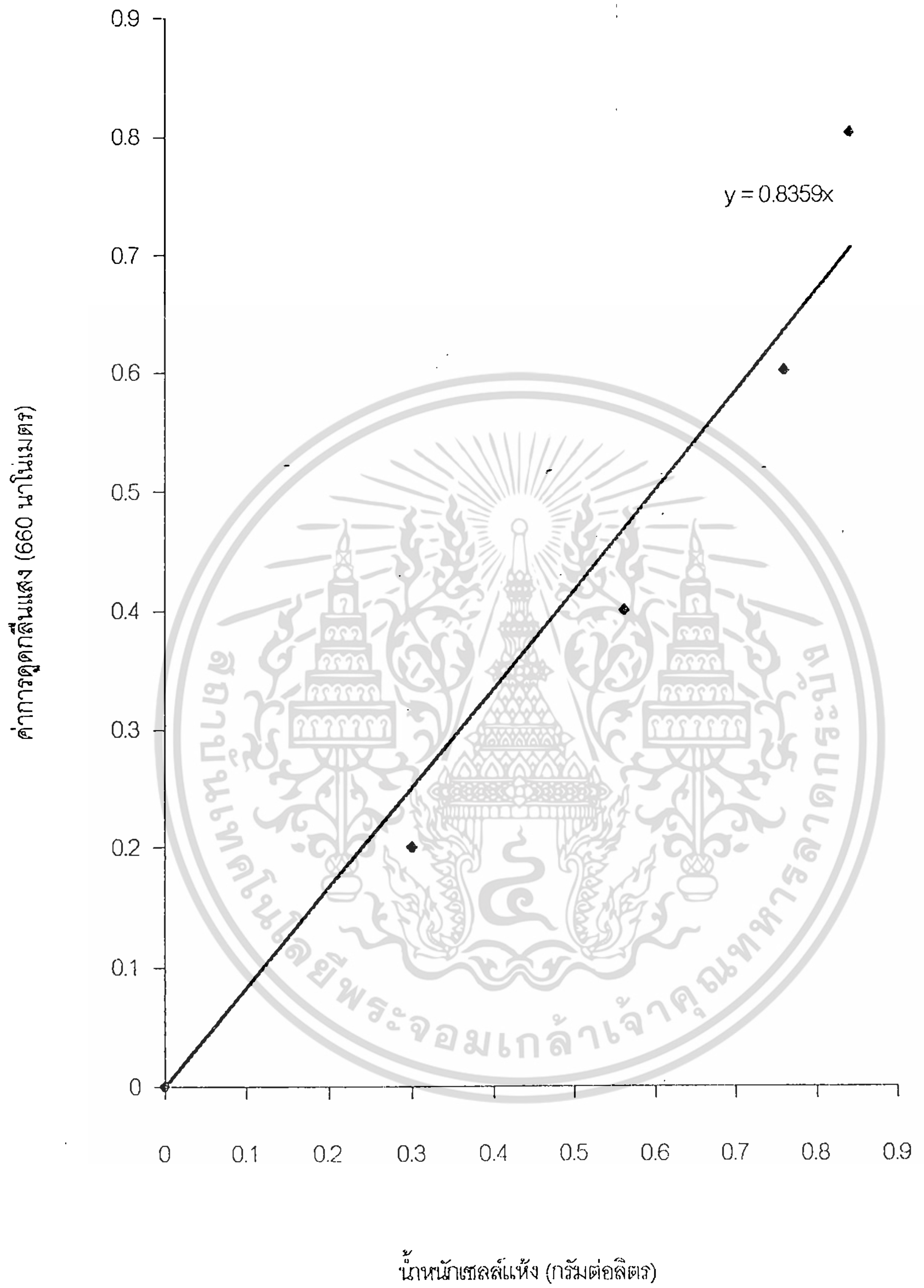
รูปภาคผนวกที่ ค-8 กราฟมาตรฐานน้ำหนักเซลล์แห้งของ Candida tropicalis TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ที่มีซูโครสเข้มข้นร้อยละ 2



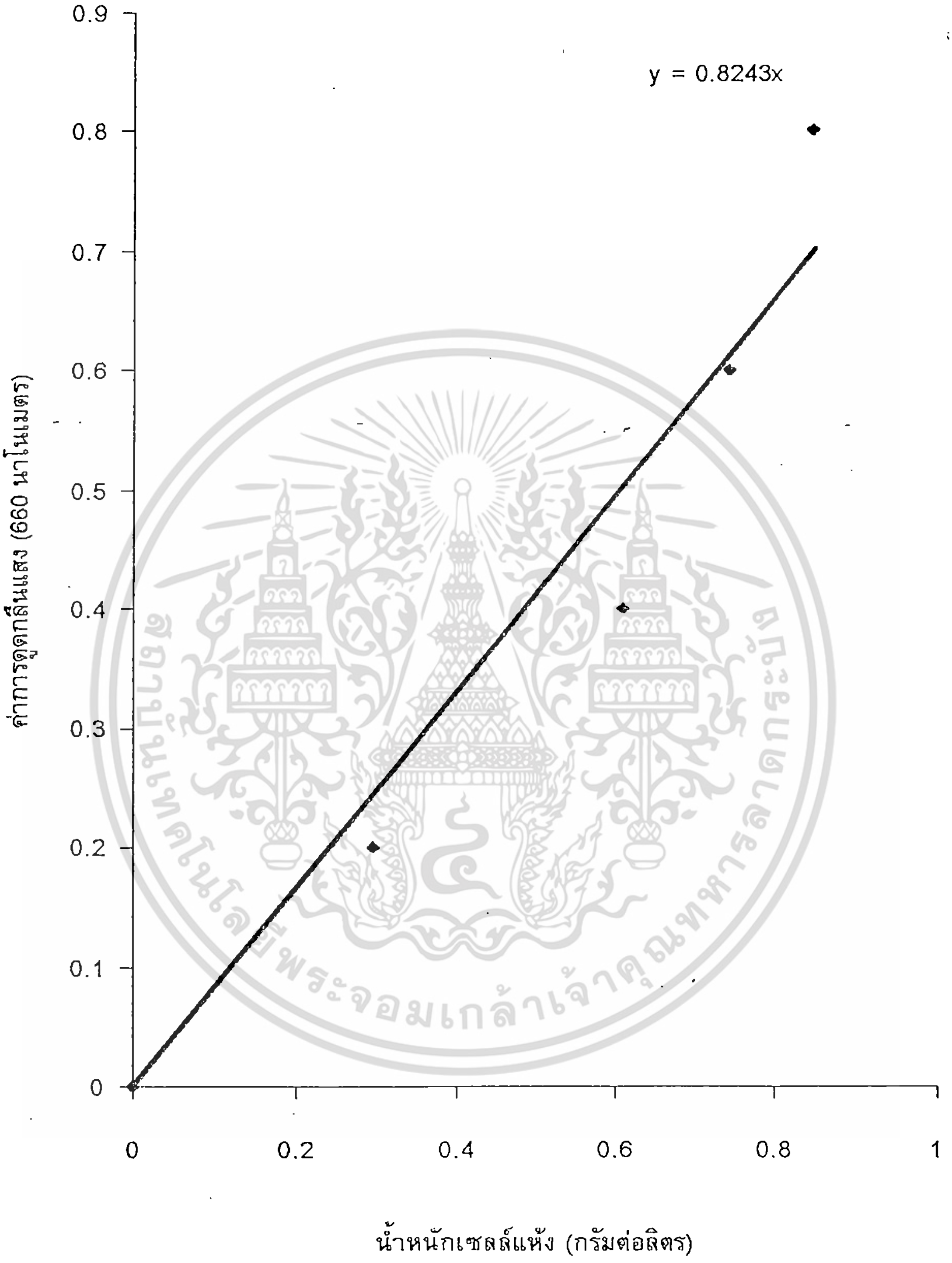
รูปภาคผนวกที่ ค-9 กราฟมาตรฐานน้ำหนักเซลล์แห้งของ Candida tropicalis TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ที่มีซูโครสเข้มข้นร้อยละ 3



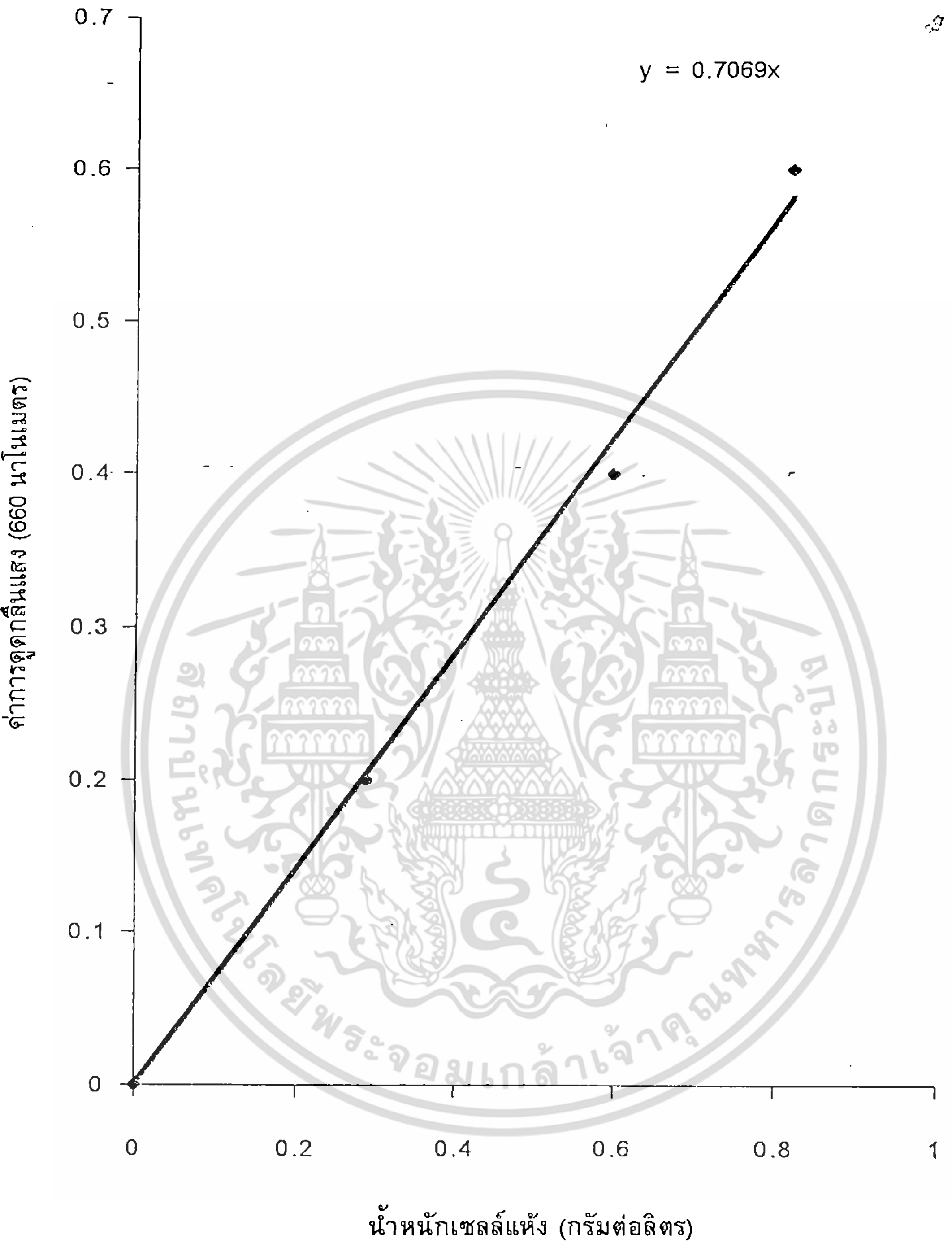
รูปภาคผนวกที่ ค-10 กราฟมาตรฐานน้ำหนักเซลล์แห้งของ Candida tropicalis TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ที่มีซูโครสเข้มข้นร้อยละ 4



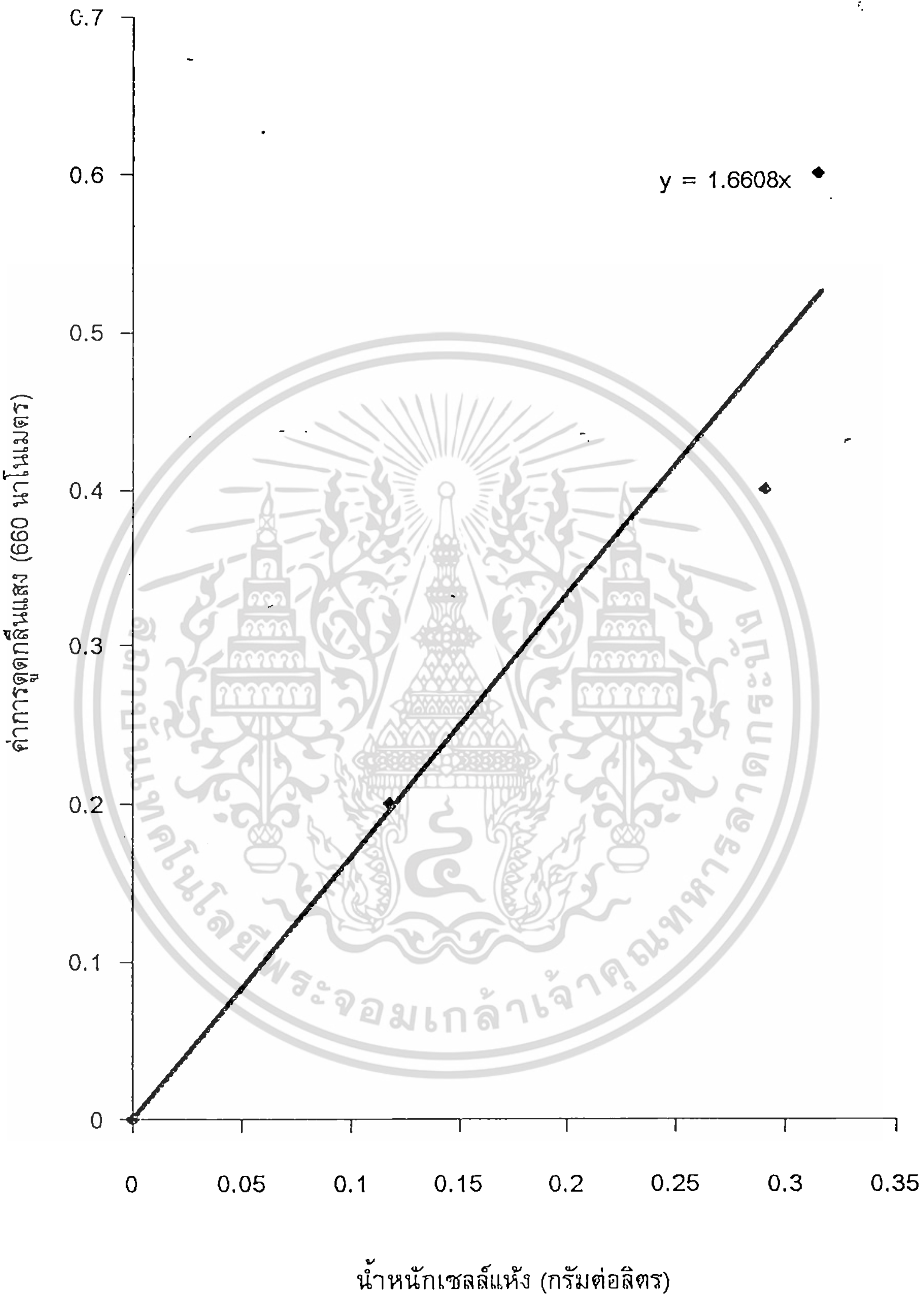
รูปภาคผนวกที่ ค-11 กราฟมาตรฐานน้ำหนักเซลล์แห้งของ Candida tropicalis TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ที่มีกลูโคสเข้มข้นร้อยละ 2 กับกรดฟอสฟอริกเข้มข้นร้อยละ 0



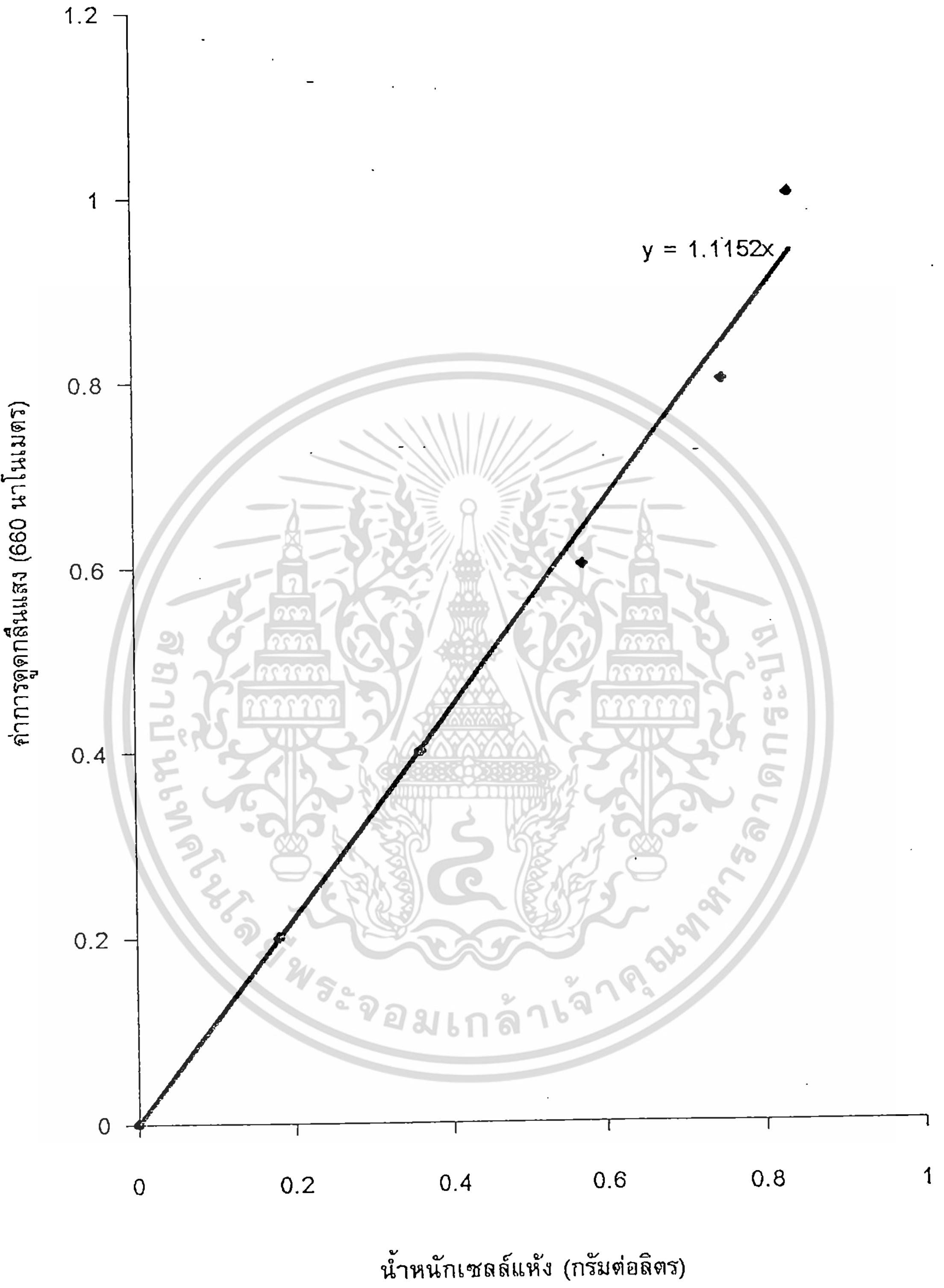
รูปภาคผนวกที่ ค-12 กราฟมาตรฐานน้ำหนักเซลล์แห้งของ Candida tropicalis TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ที่มีกลูโคสเข้มข้นร้อยละ 2 กับกรดฟอสฟอริกเข้มข้นร้อยละ 0.04



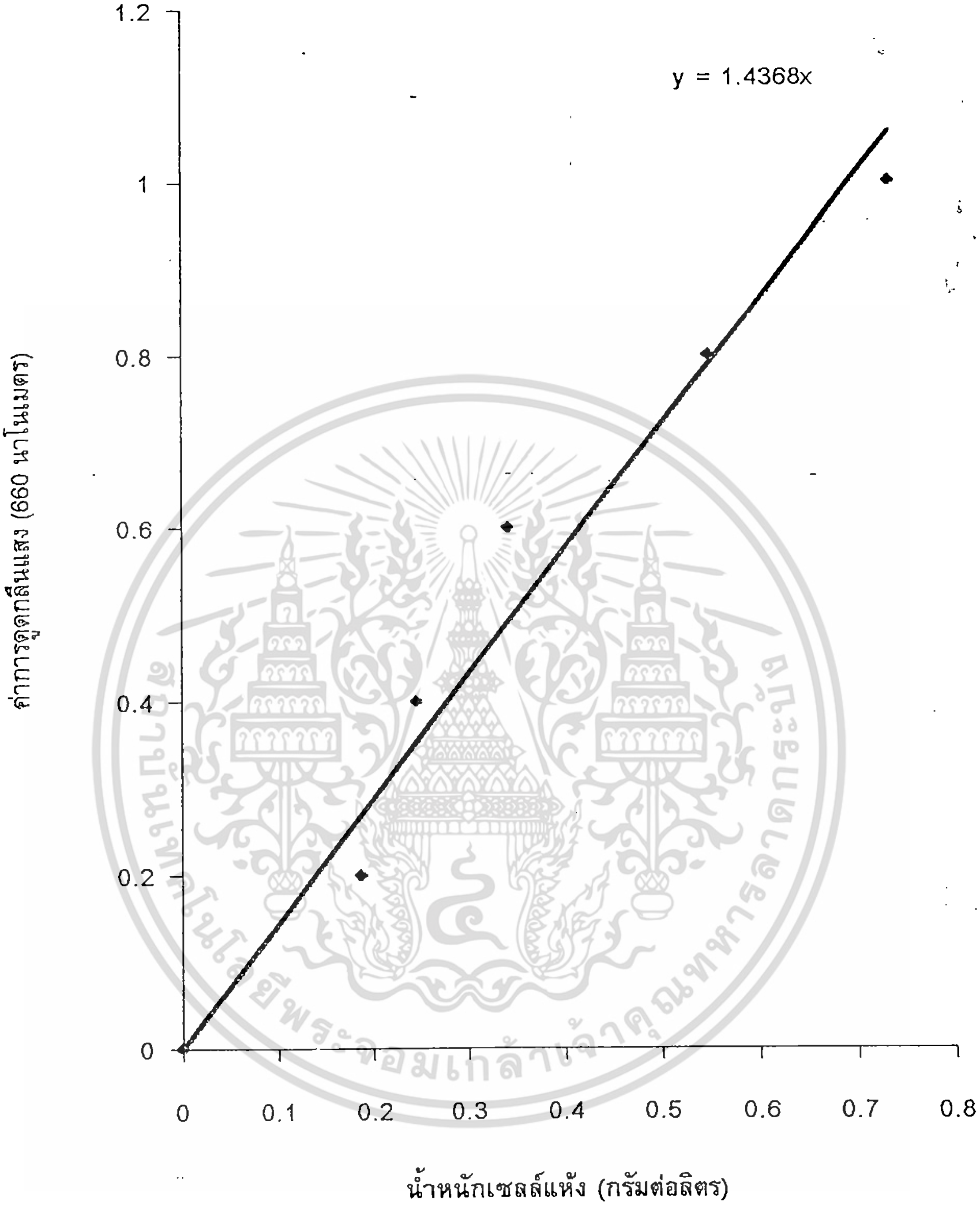
รูปภาคผนวกที่ ค-13 กราฟมาตรฐานน้ำหนักเซลล์แห้งของ Candida tropicalis TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ที่มีกลูโคสเข้มข้นร้อยละ 2 กับกรดฟอสฟอริกเข้มข้นร้อยละ 0.085



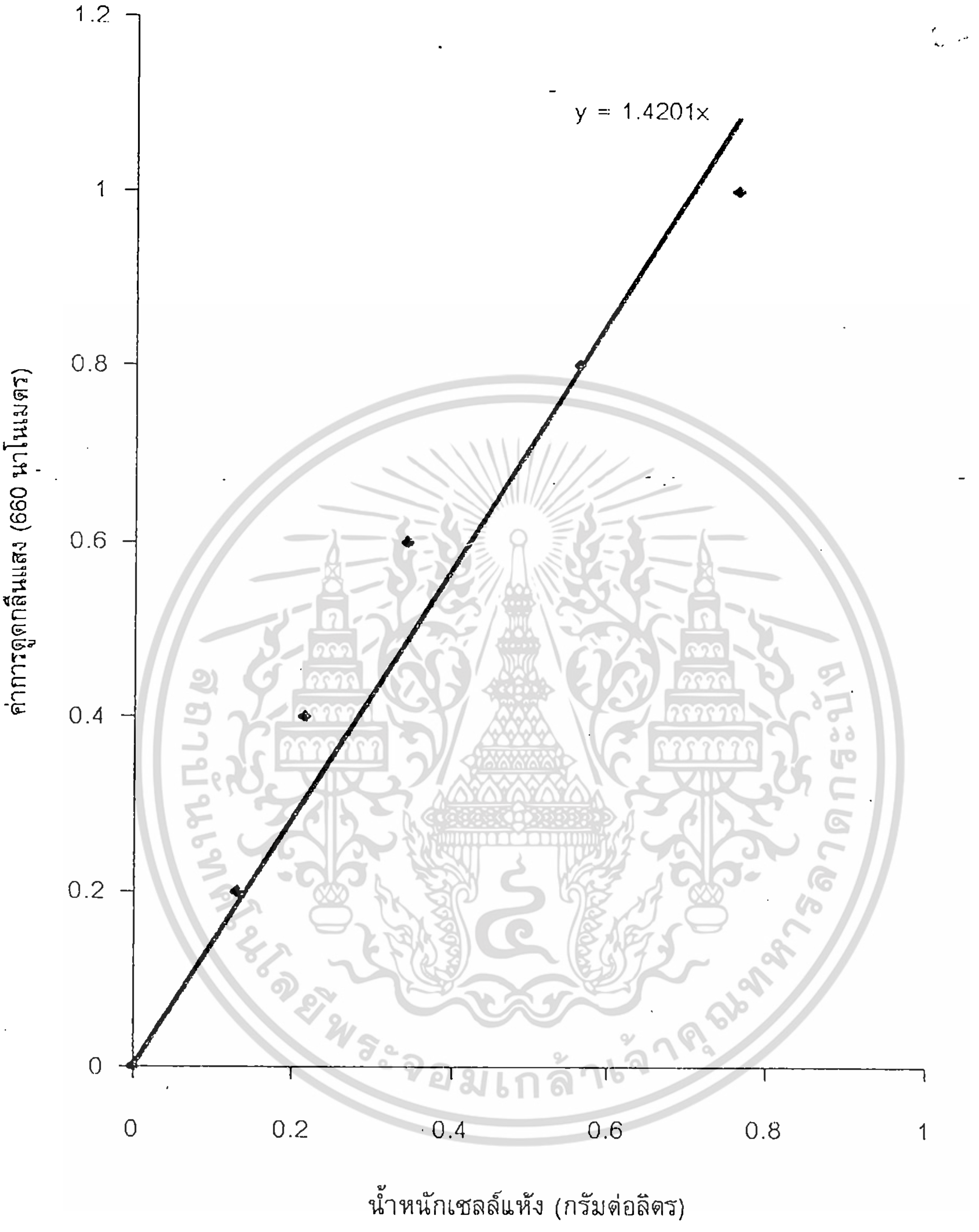
รูปภาคผนวกที่ ค-14 กราฟมาตรฐานน้ำหนักเซลล์แห้งของ Candida tropicalis TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ที่มีกลูโคสเข้มข้นร้อยละ 2 กับกรดฟอสฟอริกเข้มข้นร้อยละ 0.1



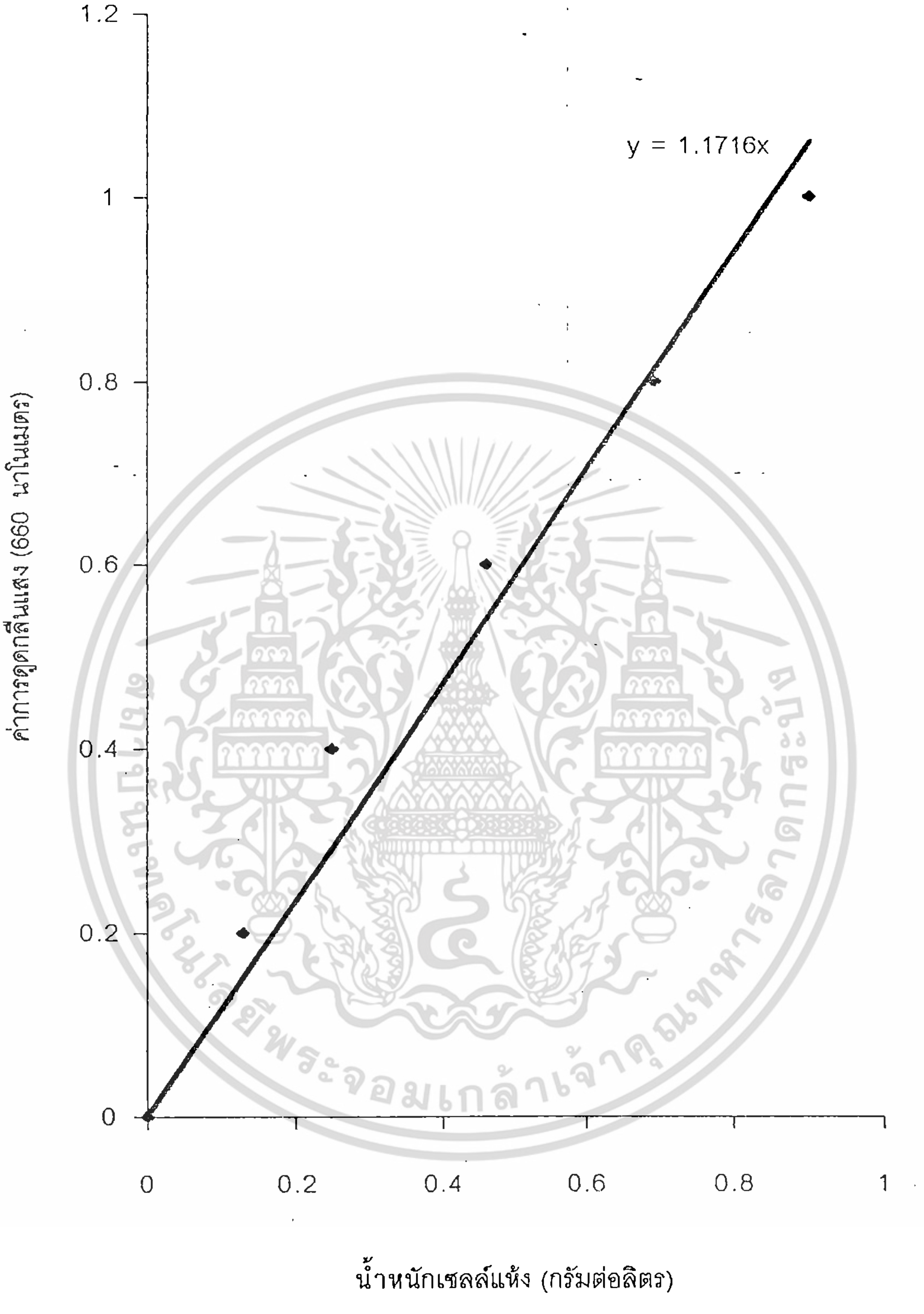
รูปภาคผนวกที่ ค-15 กราฟมาตรฐานน้ำหนักเซลล์แห้งของ Candida tropicalis TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ ที่มีกลูโคสเข้มข้นร้อยละ 2 กับโพแทสเซียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 0



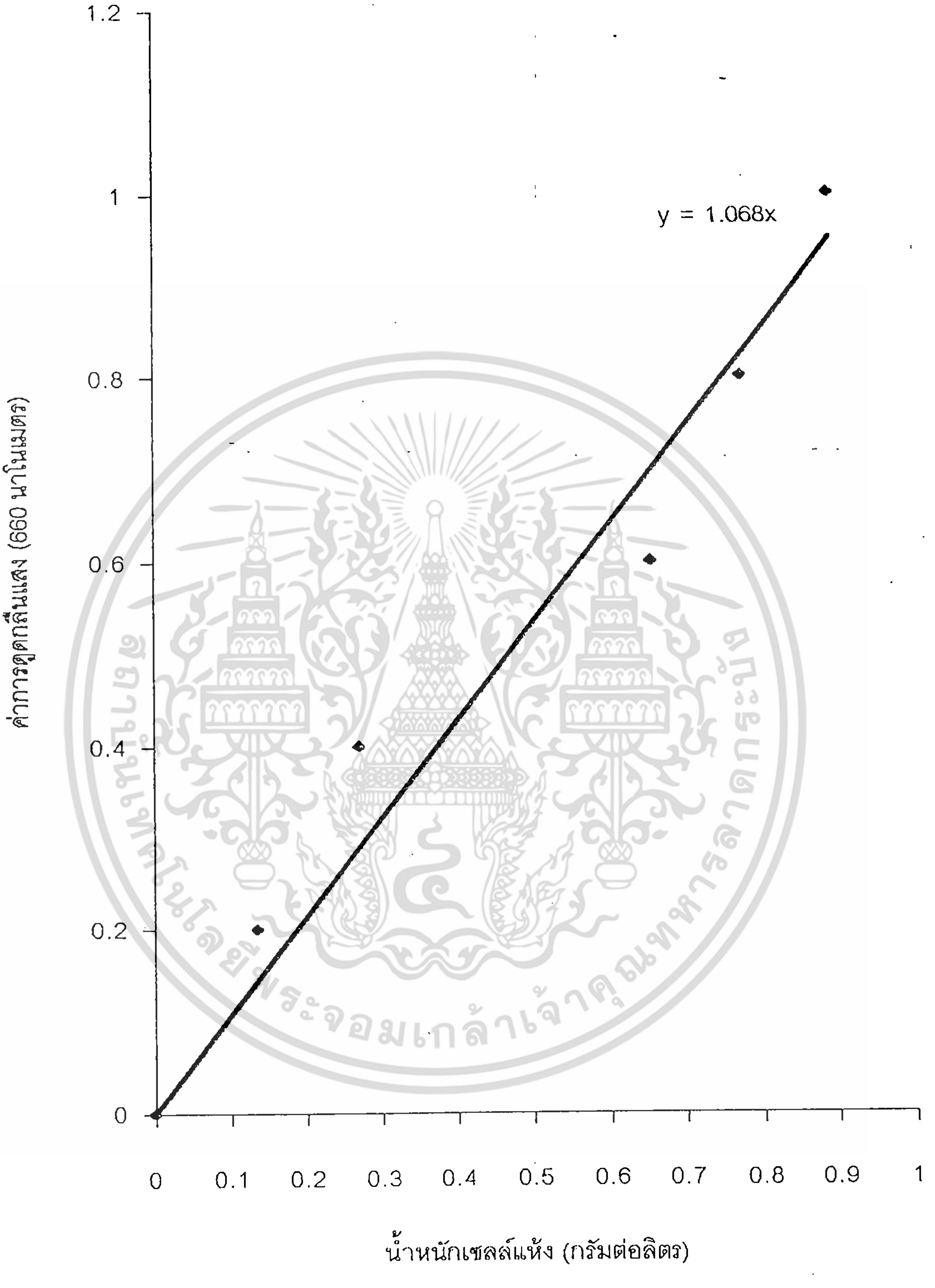
รูปภาคผนวกที่ ค-16 กราฟมาตรฐานน้ำหนักเซลล์แห้งของ Candida tropicalis TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ ที่มีกลูโคสเข้มข้นร้อยละ 2 กับโพแทสเซียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 0.025



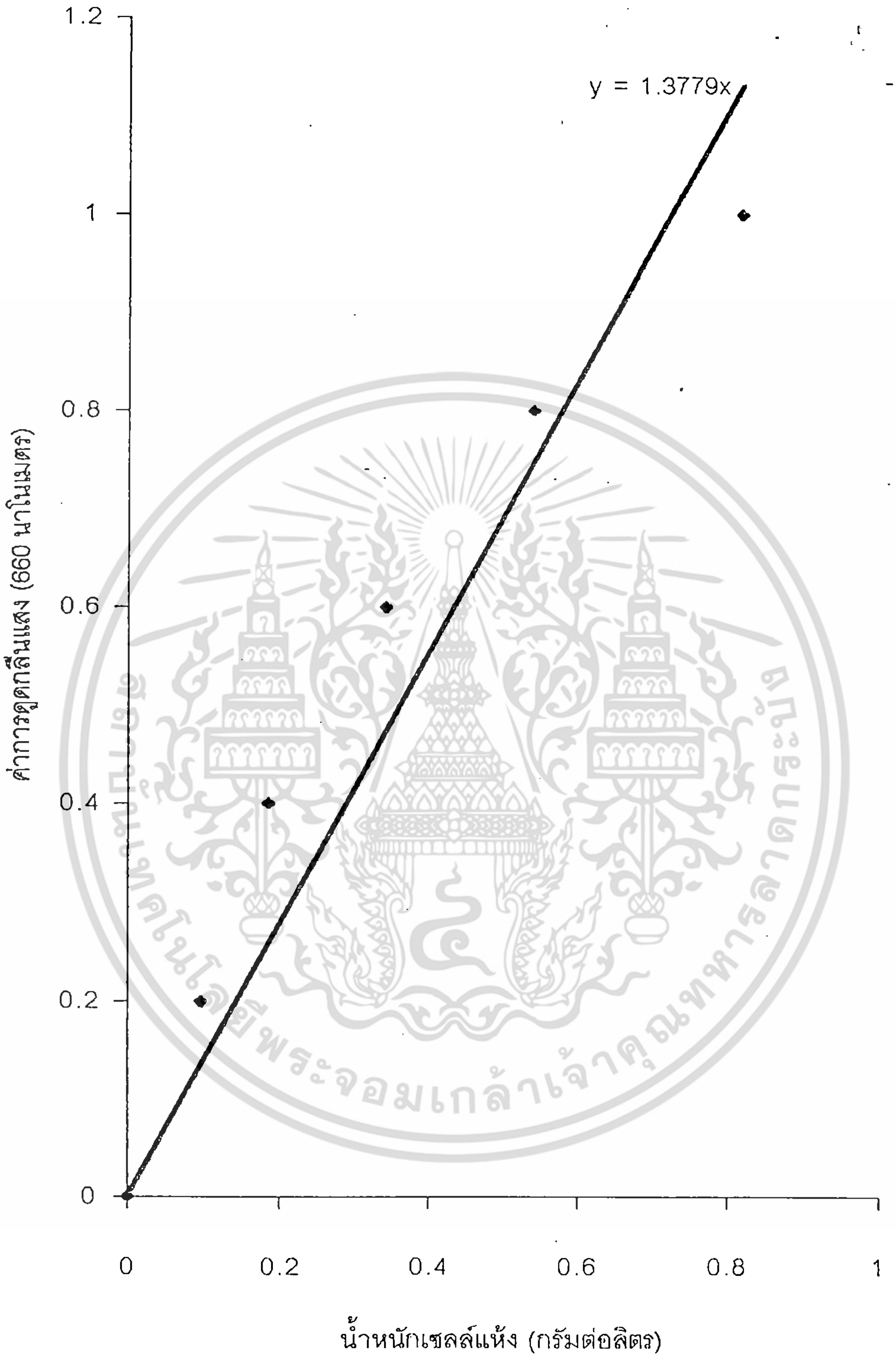
รูปภาคผนวกที่ ค-17 กราฟมาตรฐานน้ำหนักเซลล์แห้งของ Candida tropicalis TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ ที่มีกลูโคสเข้มข้นร้อยละ 2 กับโพแทสเซียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 0.05



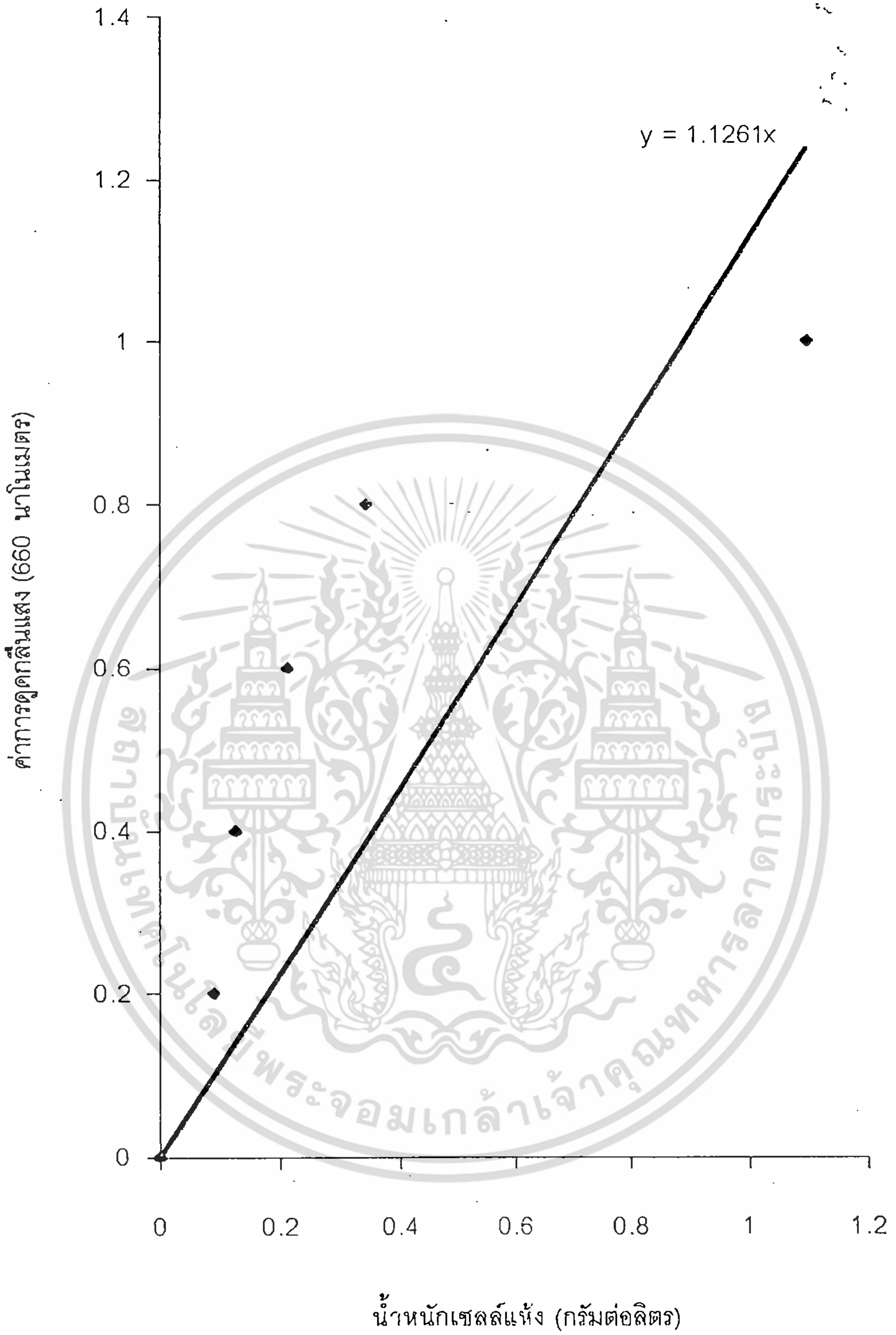
รูปภาคผนวกที่ ค-18 กราฟมาตรฐานน้ำหนักเซลล์แห้งของ Candida tropicalis TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ ที่มีกลูโคสเข้มข้นร้อยละ 2 กับโพแทสเซียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 0.025 และโพแทสเซียมไนเตรตเข้มข้นร้อยละ 0.2



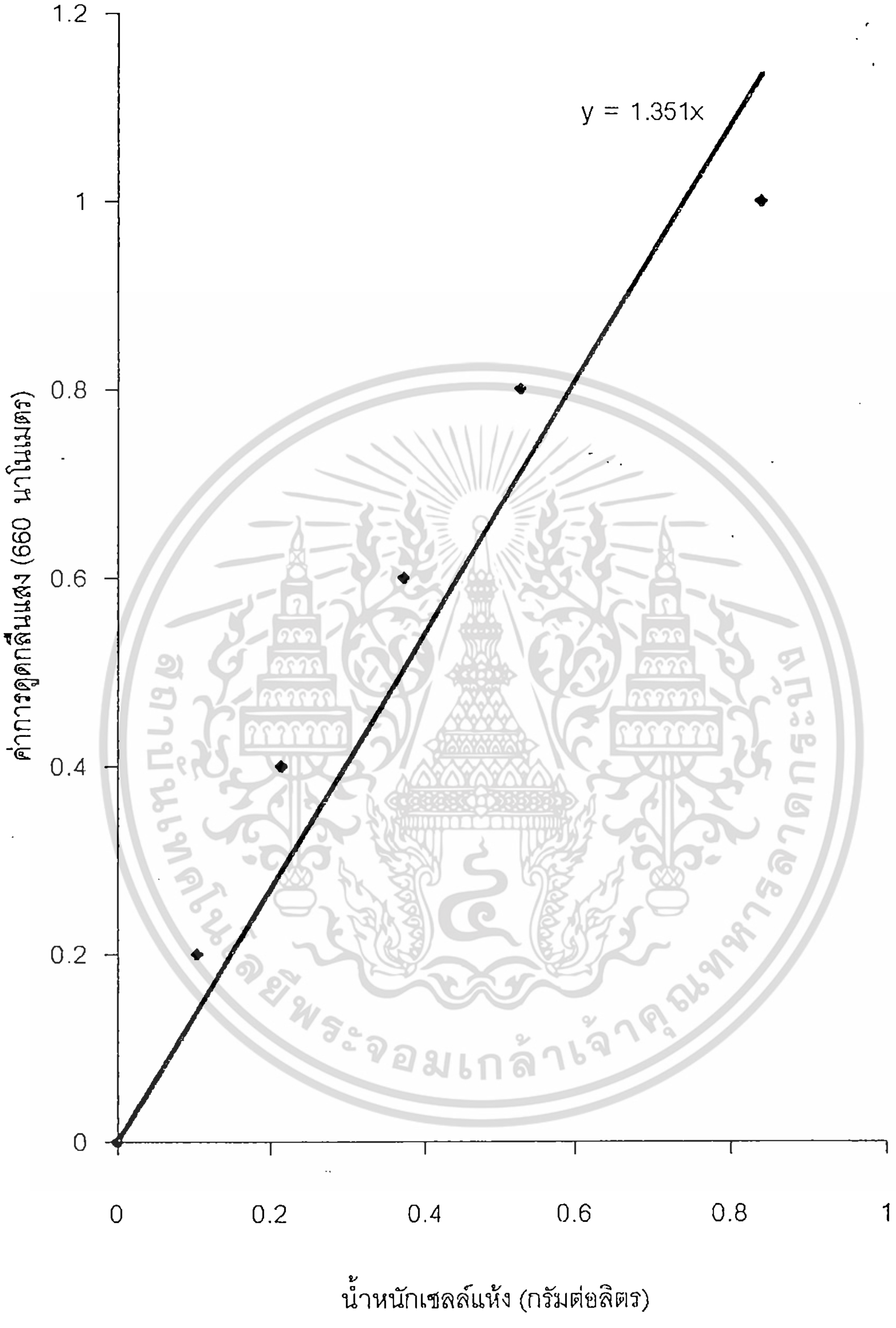
รูปภาคผนวกที่ ค-19 กราฟมาตรฐานน้ำหนักเซลล์แห้งของ Candida tropicalis TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ ที่มีกลูโคสเข้มข้นร้อยละ 2 กับโพแทสเซียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 0.025 และโพแทสเซียมไนเตรตเข้มข้นร้อยละ 0.4



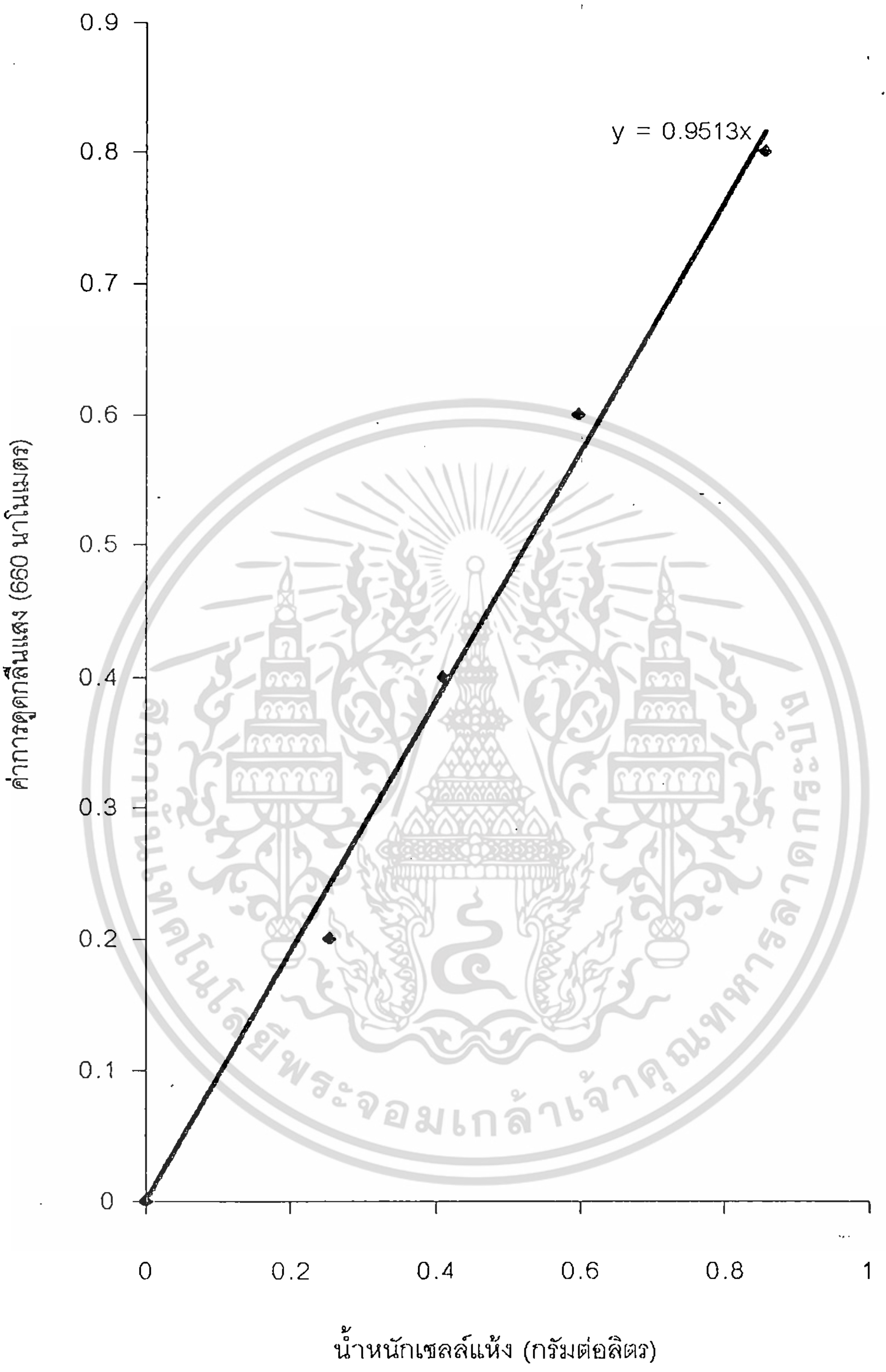
รูปภาคผนวกที่ ค-20 กราฟมาตรฐานน้ำหนักเซลล์แห้งของ Candida tropicalis TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ ที่มีกลูโคสเข้มข้นร้อยละ 2 กับโพแทสเซียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 0.025 และโพแทสเซียมไนเตรตเข้มข้นร้อยละ 0.6



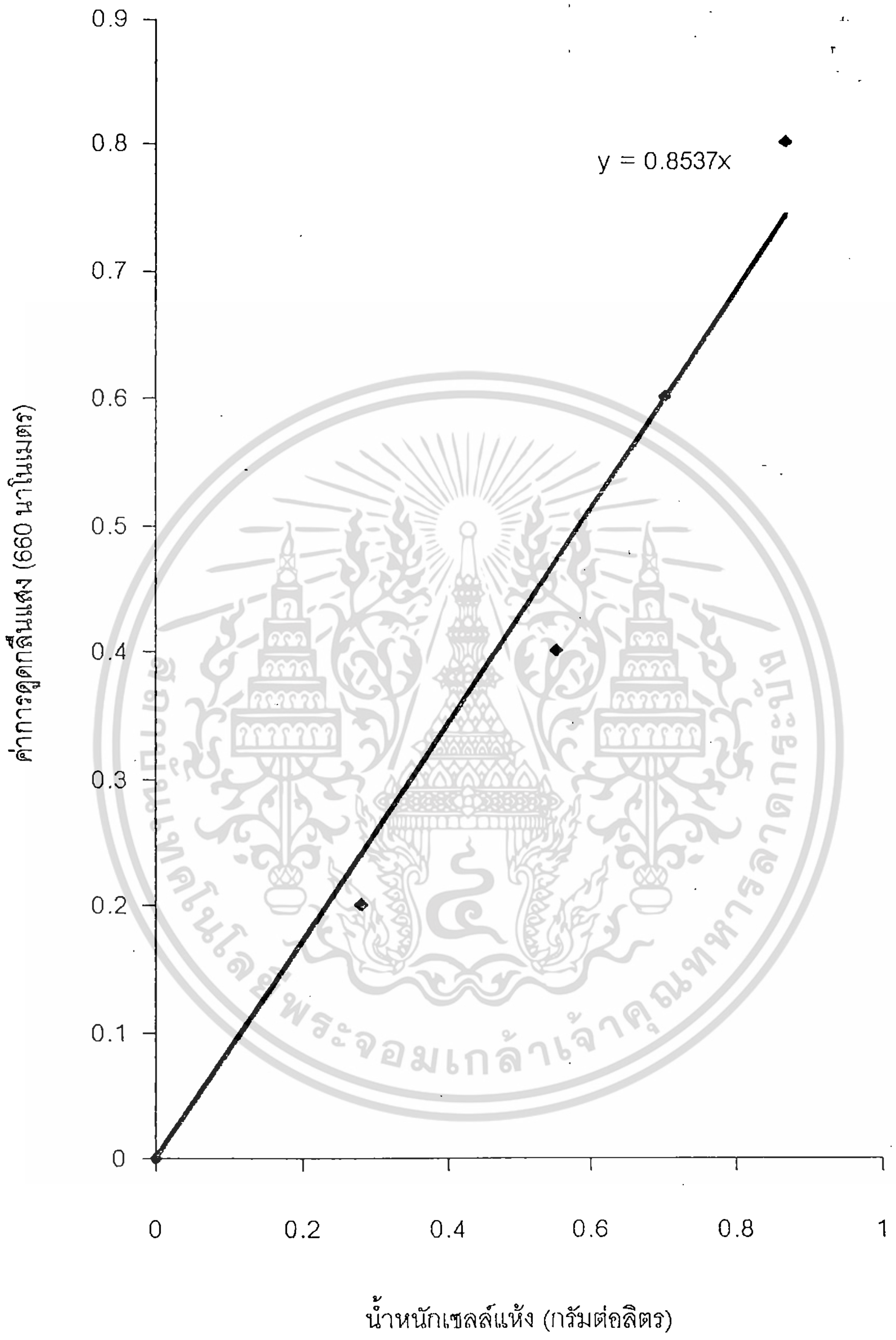
รูปภาคผนวกที่ ค-21 กราฟมาตรฐานน้ำหนักเซลล์แห้งของ Candida tropicalis TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ ที่มีกลูโคสเข้มข้นร้อยละ 2 กับโพแทสเซียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 0.025 และโพแทสเซียมไนเตรตเข้มข้นร้อยละ 0.8



รูปภาคผนวกที่ ค-22 กราฟมาตรฐานน้ำหนักเซลล์แห้งของ Candida tropicalis TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ ที่มีกลูโคสเข้มข้นร้อยละ 2 กับโพแทสเซียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 0.025 และโพแทสเซียมไนเตรตเข้มข้นร้อยละ 1.0



รูปภาคผนวกที่ ค-23 กราฟมาตรฐานน้ำหนักเซลล์แห้งของ Candida tropicalis TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ ที่มีกลูโคสเข้มข้นร้อยละ 2 กับโพแทสเซียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 0.025 และยีสต์สกัดเข้มข้นร้อยละ 0.03



รูปภาคผนวกที่ ค-24 กราฟมาตรฐานน้ำหนักเซลล์แห้งของ Candida tropicalis TISTR 5136 ในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปไก่ ที่มีกลูโคสเข้มข้นร้อยละ 2 กับโพแทสเซียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 0.025 และยีสต์สกัดเข้มข้นร้อยละ 0.05

ภาคผนวก ง.

วิธีการวิเคราะห์องค์ประกอบของเซลล์ยีสต์

1. ปริมาณโปรตีน โดยวิธี Boric acid

ปฏิบัติตามภาคผนวก ข. ข้อ 2

2. การหาปริมาณไขมัน (A.O.A.C.,1990)

การหาปริมาณของไขมันใช้วิธี Soxhlet apparatus โดยมี petrolium ether เป็นตัวสกัด

สารเคมีและอุปกรณ์

- ชุดสกัดไขมันประกอบด้วย ขวดใส่ตัวทำละลาย ซอคเลต(soxhlet) เครื่องควบแน่น (condenser) และเตาให้ความร้อน
- หลอดใส่ตัวอย่าง(extraction thimble)
- ปิโตรเลียมอีเทอร์

วิธีการวิเคราะห์

1. อบขวดกลมที่ใช้สำหรับหาปริมาณไขมันที่มีขนาด 250 มิลลิลิตร ในตู้อบไฟฟ้า ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น และชั่งน้ำหนักที่แน่นอน

2. ชั่งสารตัวอย่าง บนกระดาษกรองที่ทราบน้ำหนักแน่นอน ถ้าเป็นตัวอย่างสารที่มีไขมันมากให้ชั่ง 1-2 กรัม แต่หากเป็นตัวอย่างที่มีไขมันน้อยให้ชั่ง 3-5 กรัม ห่อให้มิดชิด แล้วใส่ลงในหลอดสำหรับใส่ตัวอย่าง คลุมด้วยใยแก้วหรือสำลีเพื่อให้สารตัวทำละลายมีการกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ

3. นำหลอดตัวอย่างใส่ลงใน Soxhlet

4. เติมสารตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ (petrolium ether) ลงในขวดหาปริมาณไขมันประมาณ 150 มิลลิลิตร แล้ววางลงบนเตา

5. ประกอบชุดอุปกรณ์สกัดไขมัน พร้อมกับเปิดอุปกรณ์ควบแน่น และเปิดสวิตซ์ไฟให้ความร้อน

6. ใช้เวลาในการสกัดไขมันนานประมาณ 14 ชั่วโมง โดยปรับความร้อนให้หยดของสารตัวทำละลาย กลั่นตัวจากอุปกรณ์ควบแน่น ด้วยอัตราเร็ว 150 หยดต่อนาที

7. เมื่อครบ 14 ชั่วโมง นำหลอดใส่ตัวอย่างออกจาก soxhlet และกลั่นเก็บสารตัวทำละลายจนเหลือสารในขวดกลมเพียงเล็กน้อย

8. นำขวดหาไขมันที่ได้ไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 80-90 องศาเซลเซียส จนแห้ง ใช้เวลาประมาณ 30 นาที ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น

9. ชั่งน้ำหนัก และอบซ้ำนานครั้งละ 30 นาที จนกระทั่งผลต่างของน้ำหนักสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

10. คำนวณหาปริมาณไขมันในตัวอย่างจากสูตร

$$\text{ปริมาณไขมัน (ร้อยละโดยน้ำหนัก)} = \frac{\text{น้ำหนักไขมันหลังอบ} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}}$$

3.การหาปริมาณความชื้น (A.O.A.C.,1990)

ใช้ในการอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 100 ± 5 องศาเซลเซียส ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วนำมาชั่งน้ำหนัก จนกระทั่งได้น้ำหนักคงที่

วิธีการวิเคราะห์

1. นำภาชนะอลูมิเนียมพร้อมฝาปิด ไปอบในตู้อบ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ประมาณครึ่งชั่วโมง ชั่งน้ำหนักของภาชนะพร้อมฝา (W_1)

2. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน (0.5 กรัม) ใส่ลงในภาชนะที่ชั่งน้ำหนักแล้ว เกลี่ยให้เนื้อสารกระจาย ปิดฝาและชั่งน้ำหนักอีกครั้ง (W_2)

3. นำไปอบในตู้อบอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส โดยให้ฝาภาชนะปิดไว้บางส่วน อบทิ้งไว้ข้ามคืน (ประมาณ 16-18 ชั่วโมง)

4. นำภาชนะดังกล่าวออกจากตู้อบ ปิดฝา แล้วนำไปใส่ในโถดูดความชื้น ทิ้งไว้จนเย็น ชั่งน้ำหนักอีกครั้ง (W_3)

5. คำนวณร้อยละของความชื้นในสารตัวอย่าง $= \dfrac{(W_2 - W_1) - (W_3 - W_1) \times 100}{(W_2 - W_1)}$

W_1 = น้ำหนักภาชนะอลูมิเนียม (กรัม)

W_2 = น้ำหนักภาชนะอลูมิเนียมรวมกับน้ำหนักสารตัวอย่างที่ไม่ผ่านการอบ (กรัม)

W_3 = น้ำหนักภาชนะอลูมิเนียมรวมกับน้ำหนักสารตัวอย่างที่ผ่านการอบ (กรัม)

ภาคผนวก จ.

ตารางการวิเคราะห์ทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ จ-1 ความแตกต่างของมวลชีวภาพในแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกัน

แหล่งคาร์บอน	มวลชีวภาพ
Glucose ร้อยละ 1	0.2682 d
Glucose ร้อยละ 2	0.8994 a
Glucose ร้อยละ 3	0.2430 d
Glucose ร้อยละ 4	0.7842 b
Sucrose ร้อยละ 1	0.1902 e
Sucrose ร้อยละ 2	0.2348 d
Sucrose ร้อยละ 3	0.7516 b
Sucrose ร้อยละ 4	0.4488 c

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่ามีค่าไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางภาคผนวกที่ จ-2 ความแตกต่างของซีโอดีที่ลดลงในแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกัน

แหล่งคาร์บอน	ค่าซีโอดีที่ลดลง (ร้อยละ)
Glucose ร้อยละ 1	32.35 c
Glucose ร้อยละ 2	43.14 a
Glucose ร้อยละ 3	30.57 c
Glucose ร้อยละ 4	41.63 ab
Sucrose ร้อยละ 1	27.94 c
Sucrose ร้อยละ 2	29.96 c
Sucrose ร้อยละ 3	41.06 b
Sucrose ร้อยละ 4	39.70 ab

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่ามีค่าไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางภาคผนวกที่ จ-3 ความแตกต่างของมวลชีวภาพใน growth factor ที่แตกต่างกัน

Growth factor	มวลชีวภาพ
Phosphoric acid ร้อยละ 0	0.9044 d
Phosphoric acid ร้อยละ 0.04	0.9001 d
Phosphoric acid ร้อยละ 0.1	0.2470 f
Phosphoric acid ร้อยละ 0.085	0.7882 e
Potassium chloride ร้อยละ 0	0.9390 c
Potassium chloride ร้อยละ 0.025	1.0017 a
Potassium chloride ร้อยละ 0.05	0.9780 b

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่ามีค่าไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางภาคผนวกที่ จ-4 ความแตกต่างของซีโอดีที่ลดลงใน growth factor ที่แตกต่างกัน

Growth factor	ค่าซีโอดีที่ลดลง (ร้อยละ)
Phosphoric acid ร้อยละ 0	43.97 d
Phosphoric acid ร้อยละ 0.04	43.64 e
Phosphoric acid ร้อยละ 0.1	31.84 g
Phosphoric acid ร้อยละ 0.085	41.94 f
Potassium chloride ร้อยละ 0	45.80 c
Potassium chloride ร้อยละ 0.025	46.57 a
Potassium chloride ร้อยละ 0.05	46.13 b

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่ามีค่าไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางภาคผนวกที่ จ-5 ความแตกต่างของมวลชีวภาพในแหล่งไนโตรเจนที่แตกต่างกัน

แหล่งไนโตรเจน	มวลชีวภาพ
KNO_3 ร้อยละ 0.2	1.4770 b
KNO_3 ร้อยละ 0.4	0.9176 e
KNO_3 ร้อยละ 0.6	1.0872 d
KNO_3 ร้อยละ 0.8	1.5865 a
KNO_3 ร้อยละ 1.0	1.1976 c
Yeast extract ร้อยละ 0.03	0.9154 e
Yeast extract ร้อยละ 0.05	0.8250 f

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่ามีค่าไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางภาคผนวกที่ จ-6 ความแตกต่างของซีโอดีที่ลดลงในแหล่งไนโตรเจนที่แตกต่างกัน

แหล่งไนโตรเจน	ค่าซีโอดีที่ลดลง (ร้อยละ)
KNO_3 ร้อยละ 0.2	53.21 b
KNO_3 ร้อยละ 0.4	45.01 e
KNO_3 ร้อยละ 0.6	47.96 d
KNO_3 ร้อยละ 0.8	54.88 a
KNO_3 ร้อยละ 1.0	49.36 c
Yeast extract ร้อยละ 0.03	44.26 e
Yeast extract ร้อยละ 0.05	42.35 f

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่ามีค่าไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารอ้างอิง

ดุษณี ธนบริพัฒน์.(2537).จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม. พิมพ์ครั้งที่ 2 โครงการตำราคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

พรชัย นพนาดีพงษ์. (2527). การผลิตโปรตีนจากยีสต์โดยใช้น้ำทิ้งจากการผลิตเยื่อกระดาษเป็นวัตถุดิบ. วิทยานิพนธ์. มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์.

A.O.A.C. 1990. Official of the Association of Official Chemists. The Association of official Analytical Chemists. Washington D.C.

APHA, AWWA and WEF. (1992). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 18th ed. American Public Health Association, Inc., New York

Batt, C. A. and Sinskey, A. J. (1987). Single-cell protein : production modification and Utilization. In Food Biotechnology. pp.347-362. Edited by D. Knorr. Marcel Dekker, Inc., New York and Basel.

Crisanto S. Lopez,Jr. (1989). Microbial Ensilage of Trash Fish for Animal Feeds Post-harvest Technology 3 : 189 –191.

Fields, M. L., Tantration, S. and Baldwin, R. E. (1991). Production of bacterial and Yeast biomass in ground corn cob and ground corn stalk media. J. Food Port. 54(2), 117-120.

Gonzalez, H.E.E., Vernon, C.E.J. (1985). Biotechnology for the processing of Pineapple waste. UNEP Industry and Environment. 19-20.

Lee, C., Yamakawa, T. and Kodama, T. (1993). Rapid growth of a thermo tolerant yeast on palm oil. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 9(2) : 187-190.

Lemmel, S.A., Heimsch, T.C. and Edwards, C.I. (1979). Optimizing the continuous Production of Candida utilis and Saccharomycopsis fibuligera on potato Processing Wastewater. Appl. & Environ. Microbial. 37(2) : 227-232.

Nwabueze, T.U. and Oguntimein, G.B. (1987). Sweet orange (*Citrus sinensis)* residue as a substrate for single cell protein production. Biol. Wastes. 20(1) : 71-75.

Rale, V.B. (1984). SCP from pineapple (*Ananas sativa* Schutt.) canner effuents. J. Applied Microbiology and Biotechnology. 19, 106-109.

Rydin, S., Molin, G., and Nilsson, I. (1990). Conversion of fat in to yeast biomass in protein-containing waste-water. Applied Microbiology and Biotechnology. 33 : 473-476.

Tanticharoen, M., Bunnag, B. and Vonshak, A. (1993). Cultivation of Spirulina using Secondary treated starch wastewater. Australasian Biotech. 3 : 223-226.

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง