สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปมันฝรั่งโดย *Candida tropicalis* TISTR 5136

นางสาววรรณทนา ราชชมภู
นางสาวศิรินดา พุฒชูชาติ
นางสาวเหมวดี กิจวรเกียรติ

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2540

ว/ท
ว247ก
2540
เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 30605
วัน, เดือน, ปี 28 ก.ค. 2541

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Single cell protein from Potato Precessing Wastewater by *Candida tropicalis* TISTR 5136

Miss.Wantana Rajchompoo

Miss. Sirinda Putchoochart

Miss. Haemvadee Kitvolrakiat

A Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement for the Degree of

Bachelor of Science

Department of Applied Biology

Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

1997

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	**การผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปมันฝรั่งโดย *Candida tropicalis* TISTR 5136**
โดย	**นางสาววรรณทนา ราชชมภู**
	นางสาวศิรินดา พุฒชูชาติ
	นางสาวเหมวดี กิจวรเกียรติ
ภาควิชา	**ชีววิทยาประยุกต์**
อาจารย์ที่ปรึกษา	**อาจารย์ดวงใจ โอชัยกุล**
	อาจารย์วันชัย สุทธินุ่น
	อาจารย์มาริสา จาตุพรพิพัฒน์

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

.....

(รศ.ดร. พรรณี ฐิตาภิชิต) หัวหน้าภาควิชา

คณะกรรมการสอบโครงงานพิเศษ

.....

(ดร. อุ่นเรือน ศิริวานิชกุล) ประธานกรรมการ

.....

(อาจารย์ดวงใจ โอชัยกุล) กรรมการ

.....

(อาจารย์วันชัย สุทธินุ่น) กรรมการ

.....

(อาจารย์มาริสา จาตุพรพิพัฒน์) กรรมการ

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2540

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปมันฝรั่ง โดยเชื้อ *Canddida tropicalis* TISTR 5136.
นักศึกษา	นางสาววรรณทนา ราชชมภู
	นางสาวศิรินดา พุฒชูชาติ
	นางสาวเหมวดี กิจวรเกียรติ
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์ดวงใจ โอชัยกุล
	อาจารย์วันชัย สุทธินุ่น
	อาจารย์มาริสา จาตุรพรพิพัฒน์
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์
ปีการศึกษา	2540

บทคัดย่อ

การนำน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปมันฝรั่งมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวเป็นแนวทางหนึ่งในการใช้ประโยชน์จากวัสดุเศษเหลือของโรงงานมาผลิตโดยใช้ยีสต์ในการแปรรูปสารอินทรีย์ต่าง ๆ ที่มีอยู่ให้เป็นผลิตภัณฑ์มูลค่าเพิ่ม ตลอดจนเป็นการลดมลภาวะทางน้ำด้วย นอกจากนั้นโปรตีนเซลล์เดียวที่ผลิตสามารถนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์ได้ โดยนำน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปมันฝรั่ง ซึ่งได้จากการล้างแผ่นมันฝรั่งมาเป็นอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อยีสต์ *Candida tropicalis* TISTR 5136 และศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต ได้แก่ อัตราการเจือจาง ความเป็นกรด-ด่าง และจากการศึกษาพบว่า น้ำล้างแผ่นมันฝรั่งที่ไม่เจือจางปรับพีเอชเป็น 4.5 เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อยีสต์มากที่สุด โดยมีอัตราการเจริญจำเพาะ 0.47 ต่อชั่วโมง ให้ปริมาณชีวมวลสูงสุด 1.212 กรัมต่อลิตร และสามารถลดค่าซีโอดีได้ร้อยละ 78.97 จากสภาวะดังกล่าวเซลล์ยีสต์ที่ผลิตได้ เมื่อนำมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีพบว่าจะมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 32.19 ปริมาณไขมันร้อยละ 0.454 และปริมาณความชื้นร้อยละ 8.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title	Single Cell Protein from Potato Processing Wastewater by *Candida tropicalis* TISTR 5136
Name	Miss. Wantana Rajchompoo
	Miss Sirinda Putchoochart
	Miss Haemvadee Kitvolrakiat
Special Project Advisor	Mrs. Duangjai Ochaikul
	Mr. Wanchai Sutthinoon
	Mrs. Marisa Jatupornphiphat
Department	Applied Biology
Academic Year	1997

ABSTRACT

Using of Potatoes Processing Wastewater as a substrate for single cell protein production is the another way of industrial waste utilization in converting organic matters to be high value product by yeasts and also reduce the water pollution of natural environment. Single cell protein that is produced from this single cell protein production will be used to be animal feeds. Investigation of potatoes-sliced washing water as a culture medium of *Candida tropicalis* TISTR 5136 and study the optimum condition of growth including dilution rate and pH. The result of this study appeared that potato-sliced washing water which is undistilled and pH 4.5 is optimum condition. The specific growth rate is 0.47 per hour , the maximum dry cell matters 1.212 grams per lit and reduce 78.97% COD . According to this condition, in the final chemical analysis, single cell protein is composed of 32.19% protein , 0.454% fat and 8.5% moisture.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษนี้ได้จัดทำขึ้นตามหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ซึ่งสำเร็จได้ด้วยความช่วยเหลือจากบุคคลหลายท่าน ทางคณะผู้จัดทำขอขอบพระคุณอาจารย์ดวงใจ โอชัยกุล อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษนี้ที่ได้ให้ความรู้ ข้อเสนอแนะ รวมทั้งได้กรุณาตรวจทานภาษาที่ใช้ ดร.อุ่นเรือน ศิริวานิชกุล ประธานกรรมการ อาจารย์วันชัย สุทธินุ่น และอาจารย์มาริสา จาตุพรพิพัฒน์ กรรมการพิจารณาโครงงานพิเศษ ซึ่งท่านได้ให้คำแนะนำในโครงงานพิเศษนี้อย่างดียิ่งเสมอมา ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ทุกท่านที่เอื้อเฟื้ออุปกรณ์และสารเคมีต่างๆ ที่ใช้สำหรับการทดลอง สุดท้ายนี้ ขอขอบคุณพี่ๆ เพื่อนๆ น้องๆ ทุกคนที่คอยช่วยเหลือและให้กำลังใจในการจัดทำโครงงานพิเศษนี้

คณะผู้จัดทำ

มีนาคม 2541

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญตาราง	ง
สารบัญรูป	จ
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ที่มาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร	
2.1 มันฝรั่ง	3
2.2 คุณสมบัติของโปรตีนเซลล์เดียว	7
2.3 คุณสมบัติของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว	7
2.4 ประเภทของจุลินทรีย์ที่ใช้ผลิตโปรตีนเซลล์เดียว	8
2.5 *Candida tropicalis*	16
2.6 สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว	18
2.7 คุณค่าทางอาหารของยีสต์	19
2.8 การยอมรับของผู้บริโภคและความเป็นพิษของโปรตีนเซลล์เดียว	21
2.9 แนวโน้มการใช้โปรตีนเซลล์เดียวในอนาคต	27
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการ	
3.1 วัสดุอุปกรณ์	28
3.2 วิธีทดลอง	28

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและคุณลักษณะทางกายภาพของน้ำล้างแผ่นมันฝรั่ง 32

4.2 การศึกษาอัตราการเจือจางน้ำล้างแผ่นมันฝรั่งต่อการเจริญของเชื้อ *Candida tropicalis* 32

4.3 การศึกษาพีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ *C. tropicalis* 36

4.4 องค์ประกอบทางเคมีของเซลล์ยีสต์ที่ผลิตได้ 39

บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ 40

เอกสารอ้างอิง 41

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก. สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ 45

ภาคผนวก ข. วิธีการวิเคราะห์คุณลักษณะน้ำเสีย 46

ภาคผนวก ค. วิธีการหาน้ำหนักแห้งของเซลล์ยีสต์ 56

ภาคผนวก ง. วิธีการวิเคราะห์องค์ประกอบของเซลล์ยีสต์ 64

ภาคผนวก จ. ตารางการวิเคราะห์ทางสถิติ 67

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบจากน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปมันฝรั่ง 5

ตารางที่ 2 ปริมาณกรดอะมิโนของยีสต์ ปลาป่น และถั่วเหลือง 12

ตารางที่ 3 การเจริญของยีสต์ชนิดต่าง ๆในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตผงชูรส 16

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบกรดอะมิโนชนิดต่าง ๆในเซลล์ยีสต์ และ FAO reference protein 20

ตารางที่ 5 แสดงวิตามินชนิดต่าง ๆที่เป็นองค์ประกอบของเซลล์ยีสต์ 20

ตารางที่ 6 การทดลองให้โปรตีนเซลล์เดียวที่ผลิตจากจุลินทรีย์บางชนิดกับมนุษย์ 25

ตารางที่ 7 ลักษณะของน้ำล้างแผ่นมันฝรั่งจากบริษัท อาหารยอดคุณ จำกัด 32

ตารางที่ 8 อัตราการเจือจางน้ำล้างแผ่นมันฝรั่งที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อ *Candida tropicalis* 33

ตารางที่ 9 พีเอชที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อ *C. tropicalis* 36

ตารางที่ 10 องค์ประกอบทางเคมีของเชื้อ *C. tropicalis* ที่เลี้ยงในน้ำล้างแผ่นมันฝรั่งที่ไม่เจือจางและปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 4.5 39

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 1 กระบวนการแปรรูปมันฝรั่ง 6

รูปที่ 2 ลักษณะของ *C. tropicalis* ที่เจริญบนอาหาร glucose-yeast extract -peptone water 16

รูปที่ 3 ลักษณะของ *C. tropicalis* ที่เจริญบนอาหาร Dalmau plate culture on corn meal agar 17

รูปที่ 4 ลักษณะน้ำล้างแผ่นมันฝรั่ง 30

รูปที่ 5 เปรียบเทียบอาหารเหลว NRRL ก่อนและหลังเลี้ยงเชื้อ 30

รูปที่ 6 *Candida troplicalis* TISTR 5136 31

รูปที่ 7 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณมวลชีวภาพกับเวลาเมื่อใช้อัตราการเจือจางแตกต่างกัน 34

รูปที่ 8 น้ำล้างแผ่นมันฝรั่งก่อนการเลี้ยงเชื้อที่อัตราการเจือจางต่าง ๆ 35

รูปที่ 9 น้ำล้างแผ่นมันฝรั่งหลังการเลี้ยงเชื้อ 12 ชั่วโมงที่อัตราการเจือจางต่าง ๆ 35

รูปที่ 10 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณมวลชีวภาพกับเวลาเมื่อมีพีเอชเริ่มต้นแตกต่างกัน 37

รูปที่ 11 น้ำล้างแผ่นมันฝรั่งก่อนการเลี้ยงเชื้อที่พีเอชต่าง ๆ 38

รูปที่ 12 น้ำล้างแผ่นมันฝรั่งหลังการเลี้ยงเชื้อ 12 ชั่วโมงที่พีเอชต่าง ๆ 38

รูปที่ 13 น้ำล้างแผ่นมันฝรั่งก่อนเลี้ยงเชื้อและหลังจากที่มีการแยกเซลล์ยีสต์ออกแล้ว 39

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1. ที่มาและความสำคัญ

โปรตีนที่ผลิตได้จากจุลินทรีย์ เรียกว่า โปรตีนเซลล์เดียว (single cell protein หรือ SCP) ซึ่งหมายถึงการนำจุลินทรีย์ส่วนใหญ่มาใช้เป็นแหล่งผลิตโปรตีนโดยจุลินทรีย์ส่วนใหญ่จะมีการเจริญในลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยวหรือเส้นใย (filament) มากกว่าจะเจริญเป็นหลายเซลล์ที่ซับซ้อนเหมือนกับสิ่งมีชีวิตพวกพืชหรือสัตว์ การผลิตโปรตีนเซลล์เดียวเป็นกระบวนการผลิตทางเทคโนโลยีชีวภาพ ซึ่งเป็นวิธีหนึ่งที่เหมาะสมในการจะแก้ปัญหาการขาดแคลนโปรตีนของโลก โดยอาจนำมาใช้เป็นแหล่งอาหารโดยตรงสำหรับมนุษย์ อาหารเสริมสำหรับมนุษย์ และสัตว์หรือเป็นอาหารสัตว์ใช้เลี้ยงสัตว์เพื่อเป็นอาหารมนุษย์ (ดุษณี, 2537)

ปัจจุบันประชากรโลกมีจำนวนเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ในขณะที่แหล่งพื้นที่ในการใช้เพาะปลูกมีจำนวนจำกัด ดังนั้นผลผลิตทางการเกษตรจึงไม่เพียงพอต่อความต้องการของผู้บริโภคโดยเฉพาะอย่างยิ่งแหล่งโปรตีน ถึงแม้ว่าจะมีการปรับปรุงพันธุ์พืชและสัตว์ เพื่อเพิ่มผลผลิตต่อพื้นที่ให้สูงขึ้นก็ยังคงมีสัดส่วนที่ไม่สมดุลกับความต้องการของผู้บริโภคซึ่งมีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว รวมทั้งความต้องการโปรตีนในแต่ละประเทศจะแตกต่างกันออกไป ขึ้นอยู่กับเศรษฐกิจของประเทศ นอกจากนี้การที่ประเทศต่างๆ เปลี่ยนแปลงการบริโภคอาหารจากพืชมาเป็นเนื้อสัตว์เพิ่มมากขึ้น ก็มีผลทำให้การใช้เมล็ดธัญพืชเพิ่มมากขึ้นด้วย เนื่องจากต้องใช้เมล็ดธัญพืช 3-10 กิโลกรัม ในการเลี้ยงสัตว์ เพื่อให้ได้เนื้อสัตว์ 1 กิโลกรัม ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการเพิ่มแหล่งโปรตีนโดยวิธีต่างๆ เช่น การปรับปรุงธัญพืชเพื่อให้มีคุณค่าทางโปรตีนสูงขึ้น การเพิ่มพื้นที่ในการเพาะปลูกถั่วเหลือง และถั่วลิสง เป็นต้น และในปัจจุบันมีการศึกษาถึงการใช้จุลินทรีย์เป็นแหล่งโปรตีน เพราะเป็นแนวทางหนึ่งในการเพิ่มแหล่งโปรตีนที่มีประสิทธิภาพ และสอดคล้องกับความต้องการในปัจจุบัน สาเหตุที่มีการนำจุลินทรีย์มาใช้เป็นแหล่งโปรตีน เนื่องจากจุลินทรีย์ให้ผลผลิตต่อหน่วยพื้นที่ต่อหน่วยเวลาสูงกว่าโปรตีนจากแหล่งอื่นๆ นอกจากนี้จุลินทรีย์ยังสามารถเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็วเมื่อเปรียบเทียบกับสิ่งมีชีวิตอื่น และมีโปรตีนในเซลล์สูง และจุลินทรีย์ยังประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็นหลายชนิด และยังมีวิตามินต่างๆ ในปริมาณที่สูง โดยเฉพาะอย่างยิ่งวิตามินบี12 ซึ่งเป็นวิตามินที่มีความสำคัญทางโภชนาการ สามารถให้เป็นอาหารเสริมโปรตีนได้ (ดุษณี, 2537)

ในประเทศไทยมีโรงงานแปรรูปมันฝรั่งหลายโรงงาน ซึ่งจะให้น้ำทิ้งออกมาในปริมาณมาก และจากการศึกษาทำให้ทราบว่าของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมเหล่านี้ สามารถนำมาใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวได้(ดวงพร, 2530) ดังนั้นการนำน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปมันฝรั่ง โดยใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำส่วนที่ได้จากการล้างแผ่นมันฝรั่งมาใช้เป็นสารอาหารเลี้ยงเชื้อยีสต์ เพื่อผลิตโปรตีนเซลล์เดียวสำหรับเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนในการผลิตอาหารสัตว์ นับว่าเป็นแนวทางหนึ่งในการใช้ประโยชน์จากวัสดุเศษเหลือของโรงงานมาผลิตโดยใช้ยีสต์ในการแปรรูปสารอินทรีย์ต่างๆ ที่มีในวัตถุดิบให้เป็นผลิตภัณฑ์มูลค่าเพิ่ม และเป็นการเพิ่มรายได้กับผู้ประกอบการ ตลอดจนเป็นการลดมลภาวะสิ่งแวดล้อมทางน้ำด้วย

1.2. วัตถุประสงค์

1. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปมันฝรั่งโดยใช้เชื้อ *Candida tropicalis* TISTR 5136 เช่น ความเป็นกรด-ด่างและ อัตราการเจือจางของอาหารที่ใช้เลี้ยง
2. ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนเซลล์เดียวซึ่งผลิตภายใต้สภาวะที่เหมาะสม

1.3. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เป็นแนวทางในการศึกษาการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว โดยเชื้อยีสต์จากน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปมันฝรั่ง
2. เป็นแนวทางที่จะนำไปสู่การปรับปรุงสายพันธุ์ของยีสต์ เพื่อให้มีความสามารถในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวเพิ่มขึ้น
3. เป็นการนำน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปมันฝรั่งมาใช้ให้เกิดประโยชน์ และเป็นการลดมลภาวะสิ่งแวดล้อม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

2.1 มันฝรั่ง (Potatoes)

ชื่อพื้นเมืองอื่น ๆ : papa, batata, pomme de terre

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Sotanum tuberosom*

มันฝรั่งเป็นพืชหัว ซึ่งมนุษย์ใช้บริโภคและมีความสำคัญทางเศรษฐกิจของโลกมานานแล้ว จัดเป็นอาหารที่มีความสำคัญเป็นอันดับ 4 ของโลก ในปีหนึ่ง ๆทั้งโลกผลิตมันฝรั่งได้ประมาณ 297 ล้านตันต่อเนื้อที่เพาะปลูกมันทั้งหมดประมาณ 138 ล้านไร่ (พืชเศรษฐกิจเล่ม 1) ถึงแม้ว่าแหล่งเพาะปลูกมันฝรั่งจะอยู่ในเขตอบอุ่น แต่มันฝรั่งก็มีความสำคัญไม่น้อยในเขตร้อนและกึ่งเขตร้อนโดยเฉพาะบริเวณที่สูงของเขตร้อนตั้งแต่ 1,000 เมตรขึ้นไปและปลูกกันในหน้าหนาวของกึ่งเขตร้อน บริเวณเขตร้อนมันฝรั่งจะผลิตหัวในฤดูที่มีอุณหภูมิเฉลี่ยต่ำกว่า 24 องศาเซลเซียส สำหรับพันธุ์ที่ปลูกโดยทั่วไปในเขตอบอุ่นจะไม่สร้างหัวเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 27 องศาเซลเซียส แต่พันธุ์ซึ่งปรับปรุงขึ้นมาเพื่อเขตร้อนโดยเฉพาะอาจทนต่ออุณหภูมิที่ค่อนข้างสูงได้ (ดวงดาวและคณะ, 2533)

ประเทศที่สามารถผลิตมันฝรั่งได้ผลผลิตต่อไร่สูงสุด ได้แก่ สวิสเซอร์แลนด์ ซึ่งผลิตได้ 5 ตันต่อไร่และที่รองลงมาได้แก่ เบลเยี่ยมและเยอรมันตะวันตก จะผลิตได้ 4.5 ตันต่อไร่(พืชเศรษฐกิจเล่ม 1) ส่วนประเทศในเขตร้อนและกึ่งเขตร้อนที่มีความสำคัญในการปลูกมันฝรั่ง เช่น (เรียม, 2530)

ประเทศในแถบอเมริกากลางและบริเวณทะเลแคริบเบียน เช่น คอสตาริกา คิวบา สาธารณรัฐโดมินิกัน กัวเตมาลา ปานามา

ประเทศในอเมริกาใต้ เช่น โคลัมเบีย เปรู เวเนซูเอลา

ประเทศในแถบเอเชีย เช่น ไซปรัส เกาหลี อินเดีย อินโดนีเซีย ปากีสถาน ตุรกี

ประเทศในเขตแอฟริกา เช่น แอลจีเรีย เอธิโอเปีย เคนยา โมรอกโค ตูนีเซีย สาธารณรัฐอาหรับ

นอกจากนี้ยังมีอีกหลายประเทศซึ่งปลูกมันฝรั่งมากพอสมควรในท้องถิ่นที่มีสภาพแวดล้อมเหมาะสมกับมันฝรั่งในบางฤดู สำหรับในประเทศไทยนั้น จำนวนเนื้อที่เพาะปลูกมันฝรั่งจะขึ้นลงตามราคาในท้องตลาดถ้าราคาดีเกษตรกรจะปลูกกันมาก แต่ถ้าราคาตกต่ำเกษตรกรก็จะปลูกในปริมาณที่น้อยลง

2.1.1 ประวัติและถิ่นกำเนิด

มันฝรั่งเป็นพืชดั้งเดิมของชาวซีกโลกตะวันตกและเชื่อว่ามีแหล่งกำเนิดอยู่บนพื้นที่ระหว่างประเทศเม็กซิโกและชิลีบนแถบที่ราบสูงบนเทือกเขาแอนดีสในประเทศโบลิเวียหรือเปรู ปรากฏว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยังมีมันฝรั่งป่าขึ้นอยู่จนกระทั่งทุกวันนี้ พื้นที่อันน่าจะเป็นถิ่นกำเนิดดั้งเดิมของมันฝรั่ง คือ แถบหุบเขาใกล้ Cuzco ในประเทศเปรู นักสำรวจชาวสเปนพบว่ามีการปลูกมันฝรั่งในอเมริกาตะวันตกเฉียงใต้แต่ไม่ใช่ในประเทศเม็กซิโกและได้นำเข้ามาปลูกในยุโรประหว่างปี ค.ศ. 1531-1535 ต่อมาในปี ค.ศ. 1566 จึงแพร่พันธุ์เข้าไปในประเทศอังกฤษ ไอร์แลนด์ แต่ก็ยังไม่แพร่หลายจนกระทั่งปี ค.ศ. 1750 จึงปลูกกันแพร่หลายในประเทศยุโรป ปลายปีค.ศ. 1700 พันธุ์มันฝรั่งที่ใช้ปลูกทั่ว ๆไปตามอาณานิคมของอเมริกานั้นมาจากประเทศไอร์แลนด์ ซึ่งนำมาโดยพ่อค้าชาวสเปน ดังนั้นมันฝรั่งจึงได้ชื่อว่า irish potato ซึ่งเป็นอีกชื่อหนึ่งนอกเหนือคำว่า Potato (พืชเศรษฐกิจเล่ม 1; กฤษฎา, 2529)

2.1.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

มันฝรั่งจัดอยู่ใน Family Solanaceae จัดเป็นพืชฤดูเดียวมีลำต้นตั้งตรง สูงประมาณ 30-90 เซนติเมตร ใบมีขนเล็กน้อยและยาวประมาณ 30 เซนติเมตรหรือกว่า ใบประกอบด้วยใบย่อยประมาณ 2-4 คู่และมีใบเดี่ยวตรงส่วนปลาย ดอกออกเป็นกลุ่มประมาณ 5-8 ดอก อาจมีสีขาวหรือสีอื่น ๆ ผลมีสีเขียวหรือเหลือง มีเมล็ดมาก การปลูกโดยปกติแล้วใช้ส่วนของหัวซึ่งก็คือลำต้นใต้ดินที่หัวจะมีตาเรียงสลับกันและแต่ละตาสามารถงอกเป็นต้นอ่อนได้แต่ละตาจะมีตาย่อยหลายตา ซึ่งมีเปลือก (Scales) หุ้มอยู่

ภายในหัวจะประกอบด้วยแป้งเป็นส่วนใหญ่และจะใช้เป็นอาหารของต้นอ่อนในช่วงเริ่มงอก ขนาดและความแข็งแรงของต้นอ่อนมักขึ้นอยู่กับปริมาณอาหารจากหัวซึ่งจะเคลื่อนไปหล่อเลี้ยงต้นอ่อนที่งอก ชิ้นส่วนของหัวที่ใช้ปลูกควรมีน้ำหนักอย่างน้อย 40 กรัม เพื่อให้ได้หน่อที่สมบูรณ์และผลผลิตสูง

ผิวของหัวมันมีลักษณะพรุน (corky skin) ซึ่งจะป้องกันการสูญเสียน้ำ สีของผิวอาจเป็นสีครีม น้ำตาล ชมพู แดงหรือม่วงซึ่งเป็นลักษณะของพันธุ์ ขนาดของหัวอาจแตกต่างกันตั้งแต่ประมาณ 30 กรัมจนถึง 400 กรัม ซึ่งขึ้นอยู่กับพันธุ์และสภาพการปลูก เมื่อตัดหัวมันฝรั่งและเก็บไว้ในสภาพที่เหมาะสม รอยตัดจะสร้างผนังหุ้ม (corky layer) ได้ภายใน 2-3 วัน และป้องกันการเน่าหรือการสูญเสียน้ำ หัวซึ่งโดนแสงแดดจะเปลี่ยนเป็นสีเขียวและผลิตสารมีรสขมและเป็นพิษต่อมนุษย์ที่ผิว สารดังกล่าวกำจัดออกได้โดยการปอกเปลือกก่อนรับประทาน มันฝรั่งที่ใช้รับประทานควรระวังอย่าให้โดนแสงแดด เพื่อป้องกันการสร้างสารดังกล่าว (ดวงดาวและคณะ, 2533)

2.1.3 การใช้ประโยชน์

มันฝรั่งจัดเป็นพืชอาหารที่นิยมกันมากในแถบประเทศที่มีพื้นที่เพาะปลูกอาจใช้ปรุงเป็นอาหารได้หลายวิธี เช่น ต้ม อบ ปิ้งหรือทอด ใช้เป็นส่วนประกอบในการทำสตู ซุปและอื่น ๆ ทั้ง ๆที่มันฝรั่งมีความชื้นสูง แต่ก็สามารถเก็บไว้ได้เป็นอย่างดีและใช้เป็นพืชอาหารหลักในท้องตลาดทั่วไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มันฝรั่งอาจใช้แปรรูปทำแป้ง แอลกอฮอล์ แต่อุตสาหกรรมดังกล่าวมักทำกันเฉพาะในประเทศอุตสาหกรรมที่พัฒนาแล้วเป็นส่วนใหญ่ (เรียมม 2530; พืชเศรษฐกิจเล่ม 1)

2.1.4 น้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปมันฝรั่ง

น้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปมันฝรั่งสามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว ซึ่งสามารถนำไปใช้เป็นอาหารเลี้ยงสัตว์เนื่องจากประกอบด้วยกรดอะมิโนหลายชนิดที่สัตว์ต้องการ กระบวนการแปรรูปมันฝรั่งแสดงดังรูปที่ 1

ส่วนประกอบของน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปมันฝรั่ง แสดงได้ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบของน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปมันฝรั่ง

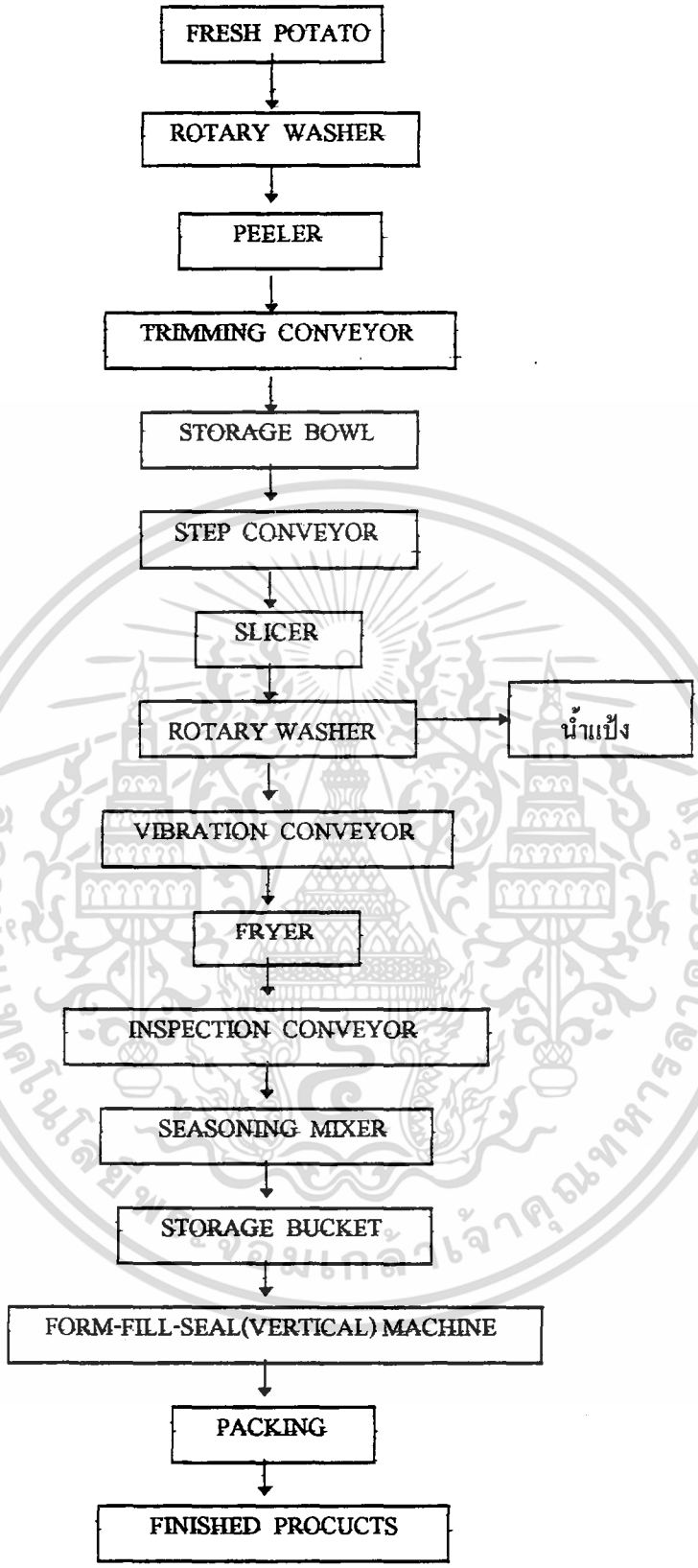
	ปริมาณของเสียต่อตันของปริมาณมันฝรั่ง
น้ำทิ้งจากกระบวนการผลิต (แกลลอน)	4,200
บีโอดี (ปอนด์)	50-90
ซีโอดี (ปอนด์)	210
Suspended solids (ปอนด์)	60-110
ฟอสเฟต (PO_4) (ปอนด์)	0-6
ไนโตรเจน (N) (ปอนด์)	3.5

ที่มา : ดวงพร (2530)

ประโยชน์ของการนำของเสียกลับมาใช้เป็นแหล่งอาหารในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว คือ (ดุษณี, 2537)

1. ลดมลภาวะสิ่งแวดล้อม
2. มีราคาถูก และหาง่าย
3. สามารถนำมาเปลี่ยนรูปให้เป็นพลังงาน และโปรตีนได้
4. ช่วยลดปัญหาการขาดแคลนโปรตีนของมนุษย์และสัตว์
5. สามารถนำเทคโนโลยีใหม่ๆ มาประยุกต์ใช้ในประเทศที่กำลังพัฒนา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 1 กระบวนการแปรรูปมันฝรั่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 คุณสมบัติของโปรตีนเซลล์เดียว

คุณสมบัติของของโปรตีนเซลล์เดียวที่จะนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์ ขึ้นกับปัจจัยต่าง ๆ คือ (สมศิริและคณะ,2539)

1. ชนิดของวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว ชนิดของวัตถุดิบที่ใช้ เช่น กากน้ำตาล หางนม มันสำปะหลัง แป้งและอื่น ๆ ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวที่ผ่านมาส่วนใหญ่จะใช้วัตถุดิบพวกสารประกอบไฮโดรคาร์บอน เพราะสารประกอบไฮโดรคาร์บอนจะทำให้โปรตีนเซลล์เดียวที่ผลิตได้มีคุณภาพดี

2. ชนิดของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิต เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิต คือ ยีสต์ แบคทีเรีย รา และสาหร่าย ซึ่งคุณค่าทางอาหารของโปรตีนเซลล์เดียวจะแตกต่างกันในจุลินทรีย์ที่แตกต่างกัน

3. กระบวนการผลิต กระบวนการผลิตที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจะต้องคำนึงถึงความปลอดภัยของโปรตีนเซลล์เดียว การแยกผลิตภัณฑ์สุดท้าย อุณหภูมิที่ใช้ในการผลิตต้องอยู่ในช่วงที่เหมาะสม

2.3 คุณสมบัติของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวมีทั้งแบคทีเรีย ยีสต์ รา และสาหร่าย คุณสมบัติของจุลินทรีย์ที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว มีดังนี้ (Kosaric, 1972; Sell et al., 1981)

1. เจริญได้เร็วในอาหารที่มีราคาถูก และเป็นวัตถุดิบที่หาง่ายในท้องถิ่นนั้นๆ

2. เจริญได้ดีในอาหารที่มีองค์ประกอบง่ายๆ ไม่ซับซ้อน มีความต้องการวิตามิน และปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญต่างๆ น้อยหรือไม่ต้องการเลยและให้ผลผลิตสูง

3. คงลักษณะทางพันธุกรรมได้ดี และไม่กลายพันธุ์ง่าย เมื่อเลี้ยงติดต่อกันเป็นเวลานาน

4. การแยก และเก็บเกี่ยวเซลล์สามารถทำได้ง่าย

5. มีความต้านทานต่อการปนเปื้อนของจุลินทรีย์อื่นๆ และใช้กระบวนการหมักอย่างง่ายๆ ในการเจริญในถังหมัก

6. ทราบคุณสมบัติทางพันธุกรรม สรีรวิทยา และสามารถปรับปรุงพันธุ์ได้

7. ใช้แหล่งพลังงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ

8. หลังจากผ่านการหมักแล้ว มีวัสดุเหลือทิ้งน้อยหรือไม่มีเลย

9. ไม่เป็นพิษทั้งในระยะสั้น และระยะยาว ไม่ทำให้เกิดภูมิแพ้ และปลอดภัยต่อการบริโภค

10. มีคุณค่าทางอาหาร ให้ปริมาณโปรตีนสูง โปรตีนที่ได้จะต้องมีกรดอะมิโนที่มีคุณค่า

11. เก็บรักษาง่าย เช่น การทำให้แห้ง และง่ายต่อการขนส่ง

12. ต้นทุนการเพาะเลี้ยงเซลล์และเก็บเกี่ยวเซลล์ต้องสามารถแข่งขันกับแหล่งโปรตีนอื่นได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 ประเภทของจุลินทรีย์ที่ใช้ผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

2.4.1 สาหร่าย

จัดเป็นพวกที่มีการดำรงชีวิตแบบ phototrophic microorganism คือการใช้พลังงานแสงอาทิตย์เป็นแหล่งของพลังงานในการรีดิวซ์สารอนินทรีย์ให้เป็นสารอินทรีย์ ข้อดีของสาหร่ายคือมีปริมาณโปรตีนสูงประมาณ 55 เปอร์เซนต์น้ำหนักแห้งและเป็นโปรตีนที่มีคุณภาพ เพาะเลี้ยงได้ทุกฤดูกาล อุดมด้วยวิตามินซีและวิตามินบีรวม ใช้พลังงานแสงอาทิตย์อย่างมีประสิทธิภาพ มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตและไขมันอยู่ในสัดส่วนที่น่าพอใจ สามารถใช้เป็นแหล่งของคาร์บอน ในการเจริญต้องการน้ำปริมาณเล็กน้อย สามารถเจริญได้ในที่แห้งแล้งและเก็บเกี่ยวผลง่าย สำหรับพวกสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียว (blue-green algae) บางชนิดยังสามารถตรึงไนโตรเจนได้ด้วย ข้อเสียของพวกนี้คืออัตราการเจริญต่ำกว่าจุลินทรีย์กลุ่มอื่นและถ้านำมาเลี้ยงในถังหมักจะมีปัญหาในการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และแสงแก่เซลล์(ดวงพร,2530) และถ้านำมาเลี้ยงในบ่อเปิดก็อาจเกิดปัญหาการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่มาจากฝุ่นละออง มูลนก ตัวแมลง หรืออาจเกิดการปนเปื้อนของชิ้นส่วนของแมลงอีกด้วย นอกจากนี้คุณภาพของน้ำที่ใช้เลี้ยงสาหร่ายต้องแน่ใจว่าปราศจากเชื้อโรค ยาฆ่าแมลง โลหะหนักที่เป็นพิษ หรือการปนเปื้อนจากสารเคมีอื่นๆ (ดุษฎี, 2537)

สาหร่ายหลายชนิดได้รับความสนใจและถูกนำมาใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว เช่น *Chlorella, Scenedesmus, Spirulina, Coelastrum, Vromena, Dunaliella, Microactinium, Oocystis, Oscillatoria, Chlamydomonas, Euglena* และ *Ankistrodesmus* โดยเฉพาะสาหร่าย *Spirulina* ได้มีการนำมาใช้เป็นอาหารมนุษย์เป็นเวลาหลายศตวรรษโดยชนชาวเผ่าที่อาศัยอยู่ทางเหนือของทะเลสาบชาด (Chad) ในอัฟริกากลางและชาวเม็กซิโก (Litchfield, 1991)

งานวิจัยชีวมวลของสาหร่าย ส่วนมากศึกษาในสภาวะการสังเคราะห์แสง โดยเฉพาะอย่างยิ่ง สำหรับการบำบัดน้ำเสียในบ่อบำบัดน้ำโสโครก (Sewage oxidation pond) ที่ใช้แสงอาทิตย์ สำหรับในประเทศไทย นฤมลและคณะ (2529) ได้ทำการวิจัยการผลิตสาหร่ายเกลียวทอง (*Spirulina spp.*) จากน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง พบว่าสาหร่ายสามารถเจริญเติบโตได้ดี เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งที่มีความเข้มข้นของโซเดียมไบคาร์บอเนต 8.5 กรัมต่อลิตร และไนโตรเจนในรูปของปุ๋ย NPK (16:16:16) 0.6 กรัมต่อลิตร และเมื่อขยายระดับการเลี้ยงโดยเลี้ยงในสภาพกลางแจ้ง สามารถผลิตสาหร่ายได้ 12.25 กรัมต่อตารางเมตรต่อวัน (ความชื้นร้อยละ10) สาหร่ายที่ได้มีปริมาณโปรตีนเฉลี่ย ร้อยละ 57 น้ำหนักแห้ง และประกอบด้วยวิตามินบี1 วิตามินบี2 วิตามินซี ไนอะซิน ไนอะซินามายด์ และกรดโฟลิก ในปริมาณที่ใกล้เคียงกับ *Spirulina maxima*

ในประเทศญี่ปุ่นและไต้หวันมีการผลิต *Chlorella* ในรูปผงหรือเม็ด เพื่อใช้เป็นอาหารเสริมสุขภาพ หรือใช้เป็นยา โดยจะนำ *Chlorella* มาสกัดให้ได้ส่วนที่เรียกว่า "Chlorella Growth Factor" และมีการส่งออกไปขายยังประเทศอิสราเอล อิตาลี เม็กซิโก บัลกาเรีย เชคโกสโลวาเกีย และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประเทศอื่นๆ อีกหลายประเทศ โดยผลิตภัณฑ์ที่ได้เตรียมจากการแยกเซลล์ของสาหร่ายชนิดนี้ออกจากอาหารเลี้ยงเชื้อโดยการหมุนเหวี่ยง และนำมาทำให้เข้มข้นขึ้นโดยใช้การหมุนเหวี่ยงภายใต้สูญญากาศ และนำของเหลวเข้มข้นที่ได้มาทำให้แห้งแข็ง เพื่อให้อยู่ในรูปผง (Soong, 1980)

Dunaliella เป็นสาหร่ายเซลล์เดียวสีเขียวที่สามารถทนและปรับตัวได้ดีที่ความเข้มข้นของเกลือสูง สามารถให้ผลผลิตที่มีคุณค่าถึง 3 ชนิดคือ กลีเซอรอล เบตา-แคโรทีน และโปรตีน สาหร่ายชนิดนี้มีลักษณะแตกต่างจากสาหร่ายชนิดอื่นๆ คือ ไม่มีผนังเซลล์ ตัวเซลล์จะล้อมรอบด้วยเซลล์เมมเบรนที่ยืดหยุ่นและปกคลุมด้วยเมือกที่ผิวเซลล์ ทำให้เซลล์ของสาหร่ายชนิดนี้ทนต่อการเปลี่ยนแปลงของแรงดันออสโมซิสได้ดี นอกจากนี้การไม่มีผนังเซลล์ของสาหร่ายชนิดนี้ทำให้ง่ายต่อการย่อยในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์และสัตว์ ประเทศที่สนใจและมีการศึกษาเพื่อผลิตสาหร่าย *Dunaliella* ในทางการค้าได้แก่ ออสเตรเลีย สหรัฐอเมริกา และอิสราเอล ซึ่งนอกจากการผลิตสาหร่าย *Dunaliella* เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเสริมสุขภาพและอาหารสัตว์แล้ว ยังมีการผลิตสาหร่ายชนิดนี้เพื่อนำเอาเบตา-แคโรทีนจากสาหร่ายมาใช้เป็นสีผสมอาหารอีกด้วย (สมศิริและคณะ, 2539)

2.4.2 รา

ราหลายชนิดได้ถูกใช้เป็นอาหารมาตั้งแต่สมัยโบราณ โดยเฉพาะอาหารหมักต่างๆ ในแถบเอเชีย เช่น *Aspergillus oryzae* ที่ใช้ในการหมักซีอิ๊ว (Lichfield, 1979) รามีปริมาณโปรตีนและวิตามินสูง (Bhappacharjee, 1970) แต่รามีอัตราการเจริญเติบโตต่ำกว่ายีสต์และแบคทีเรีย นอกจากนี้ยังมีปัญหาในการเลี้ยงเนื่องจากเส้นใย (Mycelium) เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลว (Submerged cultivation) เส้นใยจะอยู่ในสภาพเป็นกลุ่มก้อน (Pellet) ทำให้เกิดปัญหาในการให้ออกซิเจนแก่เซลล์ (ดวงพร, 2525) เชื้อราหลายชนิดมีแนวโน้มที่จะใช้เป็นอาหารเสริมโปรตีนให้สัตว์เลี้ยง เช่น *A.niger, Trichoderma viride* และ *Fusarium sp.* (Bhappacharjee, 1970) ได้เคยมีการเลี้ยงเชื้อราชนิดต่าง ๆ ในน้ำเสียจากอุตสาหกรรมทางการเกษตร และอาหารที่มีคาร์โบไฮเดรททั้งแบบครั้งคราวและแบบต่อเนื่องโดยมีการเติมแอมโมเนียมฟอสเฟต แอมโมเนียมซัลเฟต หรือแอมโมเนียมไนเตรท เป็นแหล่งไนโตรเจนเสริม และเติมกรดฟอสฟอริกเป็นแหล่งของฟอสฟอรัส จากการศึกษาเมื่อใช้น้ำเสียจากโรงงานข้าวโพด และถั่วกระป๋อง เลี้ยงรา *Geotrichum sp.* และ *Fusarium sp.* พบว่าราทั้งสองชนิดสามารถลดปริมาณสารอินทรีย์ในรูปของ COD ได้ถึงร้อยละ 95 สำหรับ *Gliocladium deliquescens* ที่ใช้ในการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานโม่แป้งข้าวโพด และน้ำเสียจากกระบวนการผลิตซีอิ๊ว สามารถลด COD ของน้ำเสียจากโรงงานโม่แป้งข้าวโพดลงได้ถึง ร้อยละ 87 และลด COD ของน้ำเสียจากกระบวนการผลิตซีอิ๊วได้มากกว่าร้อยละ 97 ในส่วนของการใช้ *Trichoderma harzianum* ในการบำบัดน้ำเสียจากกระบวนการผลิตกาแฟในเอลซัลวาดอร์ ใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สภาวะไม่ปลอดเชื้อ สามารถลด COD ของน้ำเสียลงได้ ร้อยละ 73 และเซลล์ของ *Trichoderma harzianum* ที่ได้มีปริมาณโปรตีนโดยน้ำหนักแห้ง ร้อยละ 56 (Lichfield, 1979)

2.4.3 แบคทีเรีย

แบคทีเรียสามารถใช้เป็นอาหารได้เพราะมีปริมาณโปรตีนสูงร้อยละ 47-87 แล้วแต่ชนิดของแบคทีเรียและมีอัตราการเจริญเร็วกว่าจุลินทรีย์กลุ่มอื่น กล่าวคือแบคทีเรียใช้เวลาในการแบ่งตัวเพียง 20-30 นาที ในขณะที่ยีสต์ใช้เวลา 2-3 ชั่วโมง สาหร่ายและราใช้เวลานานกว่า 16 ชั่วโมง นอกจากนี้แบคทีเรียประกอบด้วยกรดอะมิโนจำเป็นหลายชนิดโดยเฉพาะอย่างยิ่งไลซีนที่เหมาะต่อความต้องการของร่ายกาย ยกเว้นกรดอะมิโนที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบ ข้อดีของการใช้แบคทีเรียในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวคือ มีอัตราการเจริญเร็ว ให้ปริมาณโปรตีนสูง และสามารถใช้แหล่งไฮโดรคาร์บอนได้ แต่มีข้อจำกัดคือ แบคทีเรียมีขนาดเล็กมาก (0.5-5.0 ไมครอน) ทำให้เก็บเกี่ยวเซลล์ได้ยาก

ในประเทศไต้หวันก็มีการแยกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถใช้ไฮโดรคาร์บอนได้โดยใช้วิธีการคล้ายคลึงกัน และได้สายพันธุ์ของเชื้อ *Pseudomonas* 540I ซึ่งสามารถย่อยเอ็น-พาราฟินจากน้ำมันดิบ หรือส่วนอื่นๆ ที่แยกได้จากการกลั่น โดยมีแกลือแอมโมเนียมเป็นแหล่งไนโตรเจน หลังจากเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 36-38°ซ. พบว่าได้น้ำหนักแห้งสูงถึง 16 กรัมต่อลิตร และจากการเลี้ยงเชื้อโดยการหมักแบบต่อเนื่องที่ dilution rate 0.12 ต่อชั่วโมง จะได้น้ำหนักเซลล์คงที่ 10 กรัมต่อลิตร เมื่อเก็บเกี่ยวเซลล์โดยวิธีหมุนเหวี่ยง และนำมาผ่านตัวทำละลายเพื่อกำจัดไฮโดรคาร์บอนที่หลงเหลืออยู่และนำมาทำให้แห้งและบด จะได้ปริมาณโปรตีนสูงถึง 73.62 กรัมต่อน้ำหนักแห้ง 100 กรัม โดยจะมีกรดอะมิโนที่จำเป็นมากกว่ายีสต์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งไลซีนและเมทไทโอนีน นอกจากนี้ยังประกอบด้วยวิตามินบีต่างๆ ด้วย (ดุษฎี, 2537)

ในประเทศไทยมีการศึกษาถึงการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากแบคทีเรียที่สังเคราะห์แสงได้โดยใช้กากมันสำปะหลัง และน้ำทิ้งจากโรงงานแป้งมันสำปะหลัง ซึ่งประเทศไทยเป็นประเทศที่ผลิตมันสำปะหลังมากเป็นอันดับหนึ่งของโลก จากการศึกษาถึงการเจริญของเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* (เดิมชื่อ *Rhodopseudomonas gelatinosa*) บนกากมันสำปะหลังที่เก็บไว้ในที่มืด และมีออกซิเจน พบว่าได้โปรตีน 56% ไขมัน 2.45% คาร์โบไฮเดรต 26.42% และเถ้า 3.21% และโปรตีนที่ได้จะประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็น เช่น เมทไทโอนีน ไลซีน ลิวซีน และเฟนนิลอะลานีน นอกจากนี้ยังมีวิตามินที่จำเป็น เช่น วิตามินบี2 วิตามินบี12 วิตามินอี และกรดนิโคตินิก (nicotinic acid) โปรตีนเซลล์เดียวจากแบคทีเรียที่ผลิตได้นี้สามารถนำมาใช้เป็นอาหารปลาได้ โดยสามารถทดแทนการใช้ปลาป่นได้ถึง 50% (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) และเมื่อนำมาเลี้ยงปลาทาง (*Carassius auratus*) อายุ 2 เดือน เป็นเวลา 122 วัน ปรากฏว่าไม่เกิดอาการเป็นพิษหรืออาการผิดปกติแต่อย่างใด นอกจากนี้ปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมเซลล์แบคทีเรียยังให้น้ำหนักปลามากกว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเลี้ยงด้วยอาหารปลาอย่างเดียวถึง 22.62% นอกจากนี้ยังมีการศึกษาถึงการนำแบคทีเรีย *Rhodobacter sphaeroides* P47 ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ให้ผลผลิตสูงเมื่อใช้น้ำตาลเป็นแหล่งอาหาร และมีปริมาณวิตามินบี 12 และคาโรทีนอยด์ (carotenoid) สูงมาเลี้ยงผสมกับเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* ด้วย (noparatnaraporn et al., 1987) โดยใช้กากมันสำปะหลังแห้งที่ได้จากโรงงานผลิตแป้งมันในจังหวัดชลบุรี เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งจากการศึกษาพบว่าการเลี้ยงเชื้อผสมให้ผลผลิตดีกว่าการเลี้ยงเชื้อเดี่ยวๆ ใช้ระยะเวลาในการเจริญสั้นลง และยังพบว่าเซลล์ของ *Rc. gelatinosus* อุดมไปด้วยวิตามินบี2 ในขณะที่เซลล์ของ *Rb. sphaeroides* P47 จะประกอบด้วยวิตามินอี ซึ่งวิตามินเหล่านี้จำเป็นต่อการเจริญของสัตว์ โดยเฉพาะวิตามินอีจะมีความสำคัญต่อการพัฒนาการสืบพันธุ์ของสัตว์ด้วย (ดุษณี, 2537)

2.4.4 ยีสต์

ยีสต์เป็นโปรตีนเซลล์เดียวที่มีการนำมาใช้กันมากที่สุด เนื่องจากยีสต์มีคุณสมบัติที่ เหมาะสมต่อการนำมาใช้เป็นแหล่งอาหารสำหรับมนุษย์ และสัตว์ (ดุษณี, 2537) แต่มีข้อจำกัดคือ ยีสต์มีปริมาณกรดนิวคลีอิกค่อนข้างสูงถึงร้อยละ 12 ซึ่งมีแนวโน้มที่จะเป็นอันตรายต่อคนโดยทำให้เกิดโรคเกี่ยวกับไตและโรคเก๊าท์ (ดวงพร, 2525) นอกจากนี้ยีสต์ยังสามารถใช้ผลพลอยได้ทางการเกษตร หรืออุตสาหกรรมเป็นแหล่งคาร์บอน และพลังงานได้ เช่น กากน้ำตาล วัตถุดิบพวกแป้ง หางนม ผลไม้ และน้ำทิ้งจากโรงงานต่างๆ เป็นต้น (ดุษณี, 2537)

ยีสต์ประกอบด้วยโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไขมันปริมาณมาก และเป็นแหล่งวิตามินบีรวมสูงสุดแหล่งหนึ่ง แหล่งโปรตีนจากยีสต์จะมีคุณค่าทางอาหารใกล้เคียงกับโปรตีนจากพืช มีกรดอะมิโนที่จำเป็นเกือบทุกชนิดยกเว้น เมทไทโอนีน และซีสทีน โปรตีนของเซลล์ยีสต์จะมีประมาณ 45-55% ของน้ำหนักแห้ง ตารางที่ 2 แสดงถึงกรดอะมิโนที่สำคัญต่าง ๆ ในรูปของโปรตีนทั้งหมดของยีสต์ในแหล่งวัตถุดิบต่าง ๆ เปรียบเทียบกับโปรตีนที่สกัดจากถั่วเหลืองและปลาป่นโดยพบว่ายีสต์มีคุณค่าทางโปรตีนเทียบเท่ากับแหล่งอาหารจากถั่วเหลือง และถ้ามีการเสริมด้วยเมทไธโอนีนจะทำให้คุณค่าทางอาหารที่ได้เทียบเท่ากับปลา (Senez, 1972)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 ปริมาณกรดอะมิโนของยีสต์ ปลาป่น และถั่วเหลือง (หน่วยเป็นกรัมต่อ 16 กรัมไนโตรเจน)

กรดอะมิโน	ยีสต์จี (G)	ยีสต์แอล (L)	ปลาป่น	ถั่วเหลือง
ไอโซลิวซีน	5.1	5.3	4.6	5.4
ลิวซีน	7.4	7.8	7.3	7.7
เฟนนิลอะลานีน	4.3	4.8	4.0	5.1
ไทโรซีน	3.6	4.0	2.9	2.7
ทรีโอนีน	4.9	5.4	4.2	4.0
ทริปโทเฟน	1.4	1.3	1.2	1.5
วาลีน	5.9	5.8	5.2	5.0
อาร์จินีน	5.1	5.0	5.0	7.7
ฮิสทิดีน	2.1	2.1	2.3	2.4
ไลซีน	7.4	7.8	7.0	6.5
ซิสเทอีน	1.1	0.9	1.0	1.4
เมทไทโอนีน	1.8	1.6	2.6	1.4
กรดอะมิโนที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบทั้งหมด	2.9	2.5	3.6	2.8

ยีสต์จี เป็นยีสต์สายเชื้อที่เพาะเลี้ยงบน n-alkane อย่างเดียว

ยีสต์แอล เป็นยีสต์สายเชื้อที่เพาะเลี้ยงบน n-alkane ผสมกับน้ำมันก๊าซ

ที่มา : Senez (1972)

ยีสต์มีประโยชน์มากกว่าจุลินทรีย์ชนิดอื่น ประการแรก นำมาใช้เป็นอาหาร, food additives และ เป็นตัวเพิ่มกลิ่นรสในการทำขนมปัง การทำไวน์ และเบียร์ ประการที่สอง ยีสต์มีปริมาณโปรตีนสูงและอุดมไปด้วยวิตามินบี, โคเอนไซม์ (coenzyme) เป็นต้น ประการที่สาม ยีสต์เจริญในวัตถุดิบได้ที่พีเอชต่ำ (4.5-5.5) ช่วยลดโอกาสการปนเปื้อนของแบคทีเรียและลดความต้องการสภาวะปลอดเชื้อ ประการสุดท้ายคือยีสต์เก็บเกี่ยวเซลล์จากอาหารหมักได้ง่ายกว่าแบคทีเรีย

วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

1. กากน้ำตาล (Molasses) ซึ่งได้จากกระบวนการผลิตน้ำตาล กากน้ำตาลจากอ้อยและน้ำตาลจากหัวบีท สายพันธุ์ที่ใช้ เช่น *Candida utilis* และ *Saccharomyces cerevisiae*

2. หางนม (Whey) เป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมการผลิตเนยแข็ง เคซีนและการผลิตเนย ซึ่งส่วนประกอบของหางนม ประกอบด้วย แลกโตส 74% กรดแลกติก 2 % โปรตีน 12% ซึ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อยู่ในรูปแลคทอลอัลบูมิน (lactalbumin) และแลคโตโกลบูลิน (lactoglobulin) เกลือแร่ 8% และไขมัน 4%

เชื้อยีสต์ที่นำมาใช้ในการผลิตมวลชีวภาพจากหางนม *Kluyveromyces marxianus* (ชื่อเดิมคือ *K. fragilis*) โดยเชื้อชนิดนี้สามารถใช้น้ำตาลแลกโตสในหางนมและเปลี่ยนไปเป็นมวลชีวภาพ

3. แป้ง (Starch) เป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมที่เกี่ยวข้องกับธัญพืช เช่น ข้าวโพด ข้าวสาลีหรือของเสียที่ได้จากการผลิตมันฝรั่ง มียีสต์หลายชนิดที่มีความสามารถเจริญบนแป้งและใช้แป้งเป็นแหล่งคาร์บอนได้ เช่น *Schwanniomyces castellii* และ *Lipomyces starkeyi* ซึ่งเชื้อเหล่านี้จะมีเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยแป้ง คือ แอลฟา-อะไมเลส (∝-amylase) และอะไมโลกลูโคซิเดส (amyloglucosidase)

4. ไขมัน (Lipid) เชื้อยีสต์หลายสายพันธุ์ที่สามารถผลิตเอนไซม์ไลเปส (lipase) และเจริญบนไขมันได้ เช่น *Candida curtava* *C. lipolytica* *Geotrichum candidum*

5. เมทานอล (methanol) มีเทนเป็นของเสียที่ได้จากกระบวนการผลิตน้ำมันปิโตรเลียม มีเทนจะมีการเปลี่ยนแปลงทางเคมีกลายเป็นเมทานอล ยีสต์ที่สามารถใช้และเจริญบนเมทานอลได้ เช่น *Hansenula capssulata* *C. methanolica* *Torulopsis labrala*

6. Sulfite Liquor เป็นของเสียที่ได้จากกระบวนการผลิตกระดาษ ยีสต์ที่สามารถเจริญและใช้ sulfite liquor ได้ เช่น *C. utilis* ซึ่งสามารถใช้น้ำตาลกลูโคส เซลโลไบโอส (cellobiose) และดี-ไซโลส (D-xylose) ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

สายพันธุ์ของยีสต์ที่มีประโยชน์ซึ่งใช้ในทางการค้า ได้แก่ สายพันธุ์ของgenus *Saccharomyces* และบางสายพันธุ์ของ genus *Candida* ยีสต์ที่ใช้เป็นอาหารคนและอาหารสัตว์โดยทั่วไปคือ *C. tropicalis* และ *C. utilis* ซึ่งเป็น torula yeast

Saccharomyces cerevisiae (baker's yeast) เป็นยีสต์ที่พบในทางการค้ามากที่สุดเนื่องจากความสามารถที่หลากหลายจึงนำมาใช้ในการผลิตอาหารคน อาหารสัตว์ อุตสาหกรรมผลิตแอลกอฮอล์ การผลิตเบียร์ สาเกและไวน์

Nwabueze และ Ogutimein (1987) ได้ทดลองนำกากส้มหวาน(*Citrus sinensis*) มาใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* โดยกระบวนการหมักแบบครั้งคราว พบว่าจะได้โปรตีน 57%(น้ำหนักต่อน้ำหนัก) จากการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วยกากส้ม 4% พีเอช 5.5 อุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียสและระยะเวลาเลี้ยงเชื้อ 12 ชั่วโมง

Candida tropicalis พบบ่อยที่สุดเนื่องจากสามารถใช้สารประกอบไนโตรเจนอย่างง่ายและแหล่งคาร์บอนได้หลายชนิด เช่น น้ำตาลเฮกโซส น้ำตาลเพนโตส ไฮโดรคาร์บอน เอทานอล อะซิเตดและของเสียทางการเกษตรที่ผ่านการบำบัดแล้ว *C. tropicalis* และ *C. utilis* สามารถผลิต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โปรตีนเซลล์เดียวจากน้ำทิ้งโรงงานเยื่อกระดาษเพราะมีคุณสมบัติที่ทนต่อความเข้มข้นของซัลไฟด์สูง ๆ ได้ รวมทั้งสามารถดูดซึมน้ำตาลเพนโตสได้

Candida utilis เป็นยีสต์ที่นิยมใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวมากที่สุด เนื่องจากสามารถเจริญได้เร็ว ใช้น้ำตาล และอาหารได้หลายชนิด ขนาดของเซลล์ใหญ่ และมีปริมาณโปรตีนสูง ซึ่งชาวเยอรมันเป็นชนชาติแรกที่ใช้เชื้อ *Candida* เป็นแหล่งอาหารโปรตีนในระหว่างสงครามโลกครั้งที่ 2 (Beech et al., 1985) ดังนั้น *Candida* จึงเป็นยีสต์ตัวแรกที่รู้จักกันในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว และได้รับความนิยมแพร่หลายทั่วไป ได้มีการศึกษาถึงการนำ *C. utilis* มาเลี้ยงในอาหารต่างๆ เช่น ลอว์ฟอร์ด และคณะ (1979) ได้นำ *C.utilis* Y-900 มาเลี้ยงในกากน้ำตาล โดยใช้กระบวนการหมักแบบต่อเนื่องพบว่าได้โปรตีนจากยีสต์ 50-55% ซึ่งมีคุณค่าใกล้เคียงกับโปรตีนจากถั่วเหลือง นอกจากนี้กรดอะมิโนที่จำเป็นหลายชนิดที่พบในยีสต์สามารถนำมาใช้เป็นอาหารเสริมในธัญพืชได้ เช่น ข้าวสาลีที่ขาดไลซีน และทรีโอนีน เป็นการเพิ่มคุณค่าอาหารพวกธัญพืชเหล่านี้

จากการศึกษาถึงการเจริญของยีสต์ในน้ำทิ้งจากโรงงานกระดาษ พบว่า *C. utilis* เป็นยีสต์เพียงสายพันธุ์เดียวที่สามารถใช้น้ำตาลไซโลส (xylose) ในน้ำทิ้งนั้นได้ (Peppler, 1978) ซึ่งในประเทศสวิตเซอร์แลนด์ เยอรมันตะวันออก รัสเซีย เชคโกสโลวาเกีย สหรัฐอเมริกา และญี่ปุ่น ได้มีการผลิต *C. utilis* จากน้ำทิ้งโรงงานกระดาษในระดับอุตสาหกรรม พบว่าปริมาณยีสต์ที่ผลิตได้มีการประมาณ 50,000 ตันต่อปี นอกจากนี้ยังมีการศึกษาถึงการเลี้ยง *C. utilis* ในน้ำทิ้งจากโรงงานต่างๆ เช่น น้ำทิ้งจากโรงงานผลิตสับปะรดกระป๋อง จากการศึกษาถึงการนำน้ำทิ้งจากโรงงานสับปะรดกระป๋องมาใช้เลี้ยงเชื้อยีสต์และรา 10 ชนิด โดยกระบวนการหมักแบบครั้งคราว พบว่า *C. utilis* เป็นเชื้อที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดในการเจริญ และลดค่าซีโอดีได้สูง เมื่อนำ *C. utilis* มาเลี้ยงในกระบวนการหมักแบบต่อเนื่อง พบว่าที่ dilution rate 0.33 ต่อชั่วโมง เหมาะต่อการเจริญของเชื้อนี้และลดค่าซีโอดีได้สูง (Prior, 1984) ราล (1984) ได้ศึกษาถึงการนำน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตสับปะรดกระป๋องมาเลี้ยงเชื้อยีสต์ *C.utilis* และ *Hansenula sydowiorum* ซึ่งจะให้โปรตีน 19 และ 20 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

คาลเลจา และคณะ (1986) ได้ศึกษาถึงการนำแป้งมันมาใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวโดยใช้เชื้อยีสต์ *Schwanniomyces alluvius* ซึ่งเป็นเชื้อที่มีอัตราการเจริญสูง ไม่เป็นเชื้อโรคและสามารถย่อยคาร์โบไฮเดรตได้หลายชนิด เช่น อินูลิน (inulin) เซลโลไบโอส ไซโลส เมลิไบโอส และแรฟฟีโนส นอกจากนี้เชื้อนี้ยังสามารถปล่อยเอนไซม์อะไมเลสออกมานอกเซลล์ในปริมาณมากด้วย ซึ่งคุณสมบัติเหล่านี้ได้มีผู้นำยีสต์ *S. alluvius* มาใช้ในการผลิตแอลกอฮอล์และเอนไซม์อะไมเลสทางอุตสาหกรรมด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยีสต์ชนิดอื่นที่ใช้ในทางการค้า หรือใช้ในการศึกษากันอย่างกว้างขวางในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ *Candida arborea, C. pulcherrima, C. lipolytica, Trichosporon pullulans, C. maltosa* และ *C. boidini*

หางนมเป็นแหล่งวัตถุดิบที่สำคัญอีกแหล่งหนึ่งที่ใช้ในการผลิตยีสต์เพื่อเป็นอาหารมนุษย์และสัตว์ จากการศึกษาโดยนักวิทยาศาสตร์หลายๆ คน พบว่ายีสต์สายพันธุ์ที่เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากหางนมมากที่สุด คือ *Kluyveromyces fragilis* และ *K. lactis* และในการคัดเลือกสายพันธุ์จุลินทรีย์เพื่อใช้ในการผลิตระดับอุตสาหกรรม นอกจากจะคัดเลือกยีสต์ที่สามารถใช้น้ำตาลแล็กโทสได้แล้ว ยังต้องพิจารณาถึงอัตราการเจริญจำเพาะ (specific growth rate) ปริมาณโปรตีน กรดนิวคลีอิกในเซลล์ รวมทั้งประสิทธิภาพในการให้ผลผลิตสูง ซึ่งยีสต์ที่มีอัตราการเจริญเร็ว นอกจากจะทำให้การใช้ถังหมักมีขนาดเล็กลงแล้ว ยังทำให้แน่ใจได้ว่าจะไม่มีการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์อื่นๆ ปนเปื้อนมาด้วย (Halasz and Lasztity, 1991) ยีสต์อื่นๆ ที่สามารถนำมาใช้เลี้ยงในหางนมได้ เช่น *Candida tropicalis, C. utilis, Torulopsis utilis, Torulopsis sphaerica (Kluyveromyces lactis), Torula casei (Candida pseudotropicalis), T. cremoris, T. lactosa (Candida kefir)* และ *Torula sp.* (Marth, 1987)

การพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตยีสต์ มีมาตั้งแต่สตวรรษที่ 19 ในปีค.ศ. 1940 มีการใช้น้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมกระดาษ (Sulfite waste liquor) เป็น Substrate สำหรับ *Candida utilis* ซึ่งนอกจากจะเป็นการบำบัดน้ำเสียแล้ว ยังเป็นการเปลี่ยนน้ำเสียให้เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีคุณค่า ในกระบวนการ symba ได้มีการพัฒนายีสต์ *Endomycopsis fibuligera* ร่วมกับ *C. utilis* บำบัดน้ำเสียจากกระบวนการล้างมันฝรั่งและข้าวที่มีปริมาณ BOD 15,000 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยสามารถลด BOD ได้มากกว่าร้อยละ 85 และให้ยีสต์ 40-100 กิโลกรัมน้ำหนักแห้งต่อวัน จากปริมาณน้ำเสียที่ออกมา 126 ลูกบาศก์เมตรต่อชั่วโมง นอกจากนี้ยังมีการวิจัยพบว่า *C. lipolytica* หรือ *Trichosporon cutaneum* สามารถใช้ในการบำบัดน้ำโอซาโนน (Oxanone water) ซึ่งเป็นน้ำเสียที่มีกรดอินทรีย์ต่างๆ จากโรงงานคาโปรแลคแทม (Caprolactam) ที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตไนลอน โดยสามารถกำจัดกรดอินทรีย์ได้ถึง ร้อยละ 80 และได้ผลิตภัณฑ์ยีสต์ 4-4.5 กิโลกรัมต่อลูกบาศก์เมตรน้ำเสียต่อชั่วโมง (Lichfield, 1979)

วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรและอุตสาหกรรมอื่นๆ ที่สามารถนำมาใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากยีสต์ได้ เช่น ข้าวฟ่างหวานที่นำมาใช้เลี้ยง *Rhodotorula rubra* การใช้หางนมเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ *Trichosporon beigelii, Candida pseudotropicalis, C. curvata., C. shehatae* และ *Saccharomyes cerevisiae* (ดุษณี, 2537) และในการใช้น้ำทิ้งจากโรงงานผลิตผงชูรสเลี้ยงเชื้อยีสต์ชนิดต่าง ๆ เช่น *C. tropicalis* ดังแสดงในตารางที่ 3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 การเจริญของยีสต์ชนิดต่างๆ ในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตผงชูรส

Strain	Dry Cell Matter * ($g\ l^{-1}$)	COD Reduction (%)
C. tropicalis	12.35	68.33
C. utilis	10.50	54.18
G. candidum	8.25	41.62
S. cerevisiae	4.61	25.31
S. fermentati	4.07	23.56

ญ* It is a net value : Original suspended material in substrate has been removed

ที่มา : Yiao (1988)

2.5 *Candida tropicalis*

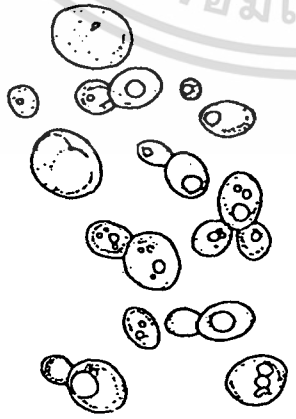
C. tropicalis เป็น torula yeast และเป็นสายพันธุ์หนึ่งของ *Candida*

ลักษณะทั่วๆ ไปของ *Candida tropicalis* เมื่อเลี้ยงบนอาหารต่างๆ

1. เลี้ยงใน glucose-yeast extract-peptone water พบว่าหลังจากการเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 วัน เซลล์จะมีรูปร่างเป็นทรงกลม รูปไข่ ขนาด (4.3-7.2)×(5.8-10.8) ไมครอน เกาะเป็นกลุ่มลักษณะวงแหวน

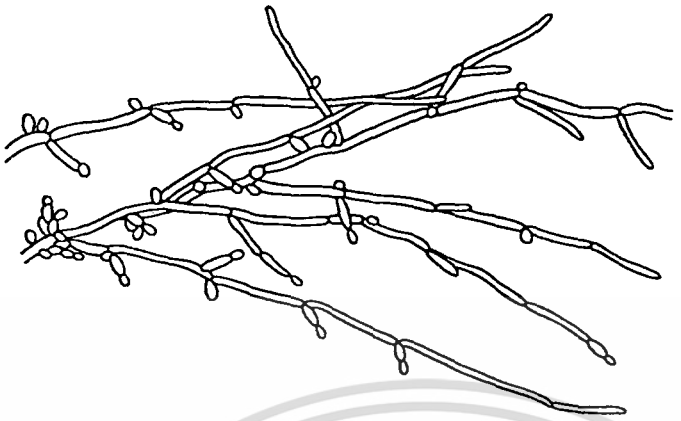
2. เลี้ยงบน glucose-yeast extract-peptone agar พบว่าหลังจากการเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 เดือน จะเกิดโคโลนีสีครีม ขาวอมเทา ทึบแสง ผิวเรียบเป็นมันหรือผิวขรุขระ และมีไมซีเลียมอยู่โดยรอบโคโลนี

3. เลี้ยงบน Dalmau plate culture on corn meal agar จะเกิดไมซีเลียมเทียม (pseudomycelium) มากมาย ทั้งสายยาวแตกแขนงเป็นไฮฟาเทียม (pseudohyphae) ซึ่งจะมี blastospores เดี่ยวๆ และสายสั้นๆ รวมเป็นกลุ่มรวมทั้งอาจเกิดไมซีเลียมที่แท้จริงได้



รูปที่ 2 ลักษณะของ *C. tropicalis* ที่เจริญบนอาหาร glucose-yeast extract-peptone water

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3 ลักษณะของ *C. tropicalis* ที่เจริญบน Dalmau plate culture on corn meal agar

การหมัก

กลูโคส	+	มอลโตส	+
กาแลคโตส	+	แลกโตส	+
ซูโครส	v	ทริฮาโลส	+ หรือ s

การย่อยและการดูดซึมสารประกอบคาร์บอน

กาแลคโทส	+	เมเลไซโตส	v
แอล-ซอร์โบส	v	สารละลายแป้ง	+
ซูโครส	v	ดี-ไซโลส	+
มอลโตส	+	แอล-อะราบิโนส	+ w หรือ -
เซโลไบโอส	v	ดี-อะราบิโนส	-
ทริฮาโลส	+	ดี-ไรโบส	v
แลคโตส	-	แอล-แรมโนส	-
เมลิไบโอส	-	กลีเซอรอล	v
รัฟฟีโนส	-	อีริไธทอล	-
ไรบิทอล	v	กาแลคไททอล	-
ดี-แมนิทอล	+	ดี-กลูซิทอล	+
ซาลิซิน	v	ซักซินิค แอซิด	+
ซิตริก แอซิด	v	อิโนซิทอล	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
30605

การทดสอบกับแหล่งคาร์บอนเพิ่มเติม : อินูลิน -

การย่อยอาบูติน : v

การดูดซึมไนเตรด : -

การเจริญบนอาหารที่ปราศจากวิตามิน : -

เจริญที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส : +

การเกิดสีกับ DBB : -

ระบบของโคเอนไซม์ Q : Q9

G + C : 35.9 - 36.1 โมล% , 3 สายพันธุ์

+ : สามารถเกิดปฏิกริยาได้

+w : เกิดปฏิกริยาได้น้อย

+s : เกิดปฏิกริยาได้ช้า

- : ไม่สามารถเกิดปฏิกริยาได้

v : บางสายพันธุ์เกิดปฏิกริยา บางสายพันธุ์ไม่เกิดปฏิกริยา

2.6 สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

2.6.1 การกวนและการให้อากาศ

ยีสต์เป็นพวก facultative anaerobe คือสามารถเจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน ซึ่งจะใช้สภาวะใดขึ้นอยู่กับความต้องการในการผลิต โดยสภาวะที่มีออกซิเจนยีสต์สามารถออกซิไดซ์แหล่งคาร์บอนให้เป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำทำให้ปริมาณเซลล์ต่อวัตถุดิบที่ใช้สูง แต่ภายใต้สภาวะไม่มีออกซิเจน ยีสต์จะเกิดการหมักวัตถุดิบทำให้เกิดการสะสมของสาร เช่น เอทานอล ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ

ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนจะมีการจำกัดปริมาณสารอาหารเพื่อให้ยีสต์เกิดการหมัก แต่ในสภาวะที่มีออกซิเจนจะเพิ่มวัตถุดิบที่ใช้เป็นอาหารและพลังงาน เพื่อให้ยีสต์เกิดเมตาบอลิซึมได้ สำหรับการกวนและการให้อากาศมีปัญหาในกรณีที่มีการกวนไม่ทั่วถึงซึ่งจะมีอิทธิพลต่อการเจริญและส่วนประกอบของยีสต์

2.6.2 อุณหภูมิ

จุลินทรีย์ทั้งหมดเจริญได้อย่างรวดเร็วเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น แต่เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นถึงจุดหนึ่งการเจริญจะลดลงเนื่องจากที่อุณหภูมิสูงจะยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ภายในเซลล์ ดังนั้นช่วงอุณหภูมิของการผลิตยีสต์ในทางการค้าคือ 28-32 องศาเซลเซียส จึงจำเป็นต้องมีการระบายความร้อนเพื่อรักษาระดับอุณหภูมิในระหว่างการเพาะเลี้ยงยีสต์หรืออาจจะใช้ thermophilic yeast ซึ่งทน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่ออุณหภูมิสูง เช่น *Saccharomyces cerevisiae* บางสายพันธุ์ซึ่งสามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิสูงถึง 38 องศาเซลเซียส หรือ *Saccharomyces fragilis* ซึ่งสามารถเจริญที่อุณหภูมิสูงถึง 45 องศาเซลเซียส

2.6.3 พีเอช

แม้ว่ายีสต์แทบทั้งหมดสามารถเจริญในช่วงพีเอชที่กว้างและการเปลี่ยนแปลงของพีเอชไม่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตแต่จะเลือกเพาะเลี้ยงที่พีเอชต่ำซึ่งจะยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย ช่วงของพีเอชที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงยีสต์ คือ 4.5-5.5

2.6.4 สารกำจัดฟอง

ในการเพาะเลี้ยงยีสต์แบบใช้ออกซิเจนจะทำให้เกิดฟองในปริมาณมาก ซึ่งฟองเหล่านี้จะทำให้อากาศไม่สามารถละลายลงไปในอาหารได้ ทำให้ออกซิเจนในอาหารลดลง ซึ่งมีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ ดังนั้นจึงต้องมีการควบคุมปริมาณฟองโดยการใช้เครื่องกำจัดฟองอากาศเชิงกล หรือสารกำจัดฟอง เช่น ซิลิโคน กรดไขมัน โพลีโพรพิลีน และกลีเซอรอล เป็นต้น ซึ่งสารที่เติมลงไปนั้นต้องอยู่ในการควบคุม ในกรณีที่ยีสต์นั้นนำมาใช้เป็นอาหารสำหรับมนุษย์

2.7 คุณค่าทางอาหารของยีสต์

ภายในเซลล์ยีสต์ มีส่วนประกอบของสารและเกลือแร่หลายชนิดเป็นปริมาณมาก ซึ่งเหมาะสมสำหรับใช้เป็นอาหารเสริมในอาหารสัตว์โดยเฉพาะโปรตีนซึ่งเฉลี่ยแล้วในเซลล์ยีสต์ประกอบด้วย โปรตีนทั้งหมดประมาณ 45-50% ของน้ำหนักแห้ง เป็นโปรตีนแท้ ๆ ประมาณ 40% ของน้ำหนักแห้ง ในส่วนของโปรตีนทั้งหมดประกอบด้วยกรดอะมิโนประมาณ 80-85% และเป็นกรดนิวคลีอิกประมาณ 2% และแอมโมเนีย 8% กรดอะมิโนในยีสต์แต่ละชนิดจะแตกต่างกันไป ดังแสดงในตารางที่ 4 คุณค่าทางอาหารไม่ได้ขึ้นกับปริมาณสารทั้งหมดที่มีอยู่ในเซลล์แต่เพียงประการเดียวแต่ขึ้นกับคุณภาพการย่อย (digestibility) ค่า biological value ค่า net protein utilization (NPU) และ protein efficiency ratio (PER) ด้วย โดยยีสต์มีค่า digestibility และ biological value 87% และ87% ตามลำดับ ซึ่งในไข่มีค่า 96% และ 97% ตามลำดับ เมื่อทดลองนำยีสต์มาเลี้ยงหนูพบว่ายีสต์ถูกย่อยและดูดซึมได้รวดเร็วและให้ caloric value ถึง 94% เมื่อทดลองในคนและสุนัขพบว่ายีสต์ถูกย่อยและนำไปใช้ได้ถึง 90% และ 80% ตามลำดับ (ดวงดาวและคณะ, 2533)

ยีสต์นอกจากจะให้คุณค่าทางด้านโปรตีนแล้ว ภายในเซลล์ยังประกอบด้วยแหล่งของวิตามินรวมหลายชนิดที่เหมาะสำหรับเป็นอาหารเสริมในอาหารคนและสัตว์ (Rose, 1971) ดังแสดงในตารางที่ 5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบกับกรดอะมิโนชนิดต่าง ๆในเซลล์ยีสต์ และ FAO reference protein

amino acid	FAO reference protein	content in yeast (g/16gN)		
		S. cerevisiae in molasses	C. utilis sulfite liquor	C. utilis in molasses
lysine	4.2	8.2	6.7	10.7
valine	4.2	5.5	6.3	5.7
leucine	4.8	7.9	7.0	8.1
isoleucine	4.2	5.5	5.3	7.3
threonine	2.8	4.8	5.5	4.8
methionine	2.2	2.5	1.3	1.4
phenylalanine	2.8	4.4	4.3	4.1
cystine	2.0	2.6	0.7	0.3
tuyptophan	-	1.2	1.2	0.5
histidine	-	4.0	1.9	2.8
tyrosine	-	5.0	3.3	1.4
arginine	-	5.0	5.4	4.7

ที่มา : Cooney (1972)

ตารางที่ 5 แสดงวิตามินชนิดต่าง ๆที่เป็นองค์ประกอบของเซลล์ยีสต์

vitamin	content in dry product (µg/g)		
	S.cerevisiae in molasses	C. utilis sulfite liquor	C. utilis in molasses
thiamine HCl	165	130	125
riboflavin	100	45	50
niacine	585	400	335
pyridoxine Hcl	20	30	-
folacine	13	21	20
calcium-d pantothenate	100	40	120
biotin	0.5	0.8	2
p-aminobenzoic acid	160	11	-
choline chloride	2,710	2,860	5,500
inositol	3,000	4,500	-

ที่มา : Rose (1971)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณคาร์โบไฮเดรตในเซลล์ยีสต์มีประมาณ 22-34% ของน้ำหนักแห้ง คาร์โบไฮเดรตประกอบด้วย ทริฮาโลส (trehalose) 33% กลูแคน(glucan) 27% แมนแนน(mannan) 21% และไกลโคเจน (glycogen) 12% (ดวงดาวและคณะ, 2533)

ไขมันในเซลล์ยีสต์มีประมาณ 2-3%ของน้ำหนักแห้ง ไตรกลีเซอไรด์(triglyceride) เลซิทิน (lecithin) และเออโกสเตรอล (ergosterol)

เกลือแร่ในเซลล์ยีสต์จะมีประมาณ 6-8% ของน้ำหนักแห้งนอกจากนี้แล้วยีสต์ยังอุดมด้วยวิตามินต่าง ๆ

สำหรับการผลิตจุลินทรีย์โปรตีนที่เป็นเชื้อรานั้น แม้ว่าในการทดลองเลี้ยงเชื้อราจะได้ผลดี แต่มีข้อเสียคือ เชื้อรามักจะสร้างสปอร์ได้ง่ายทำให้คุณค่าทางอาหารลดลง ซึ่งตามปกติคุณค่าทางอาหารของเชื้อรานั้นต่ำกว่ายีสต์อยู่แล้วและอัตราการเจริญของเชื้อราก็ต่ำกว่ายีสต์เช่นกัน และที่สำคัญคือ การเลี้ยงเชื้อราให้ได้ปริมาณมากในถังหมักนั้นจะทำได้ยากกว่าการเลี้ยงยีสต์ทั้งในด้านการกวนและการให้อากาศในถังหมัก แต่การใช้ยีสต์ก็มีข้อจำกัดคือ ยีสต์ส่วนใหญ่จะไม่สามารถใช้แป้งเป็นอาหารได้หรืออาจใช้ได้ไม่ดีเท่ากับเชื้อรา

2.8 การยอมรับของผู้บริโภคและความเป็นพิษของโปรตีนเซลล์เดียว

ปัญหาของการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวอยู่ตรงที่ความปลอดภัย คุณค่าทางอาหารและการยอมรับของผู้บริโภค เนื่องจากว่าอาหารที่ทำจากโปรตีนเซลล์เดียวนั้นประกอบด้วยจุลินทรีย์ทั้งหมด และจุลินทรีย์เหล่านี้ไม่เคยปรากฏว่ามีการใช้ หรือมีการยอมรับในรูปของอาหารมาก่อน ก่อนที่จะนำผลิตภัณฑ์ที่ได้จากโปรตีนเซลล์เดียวมาใช้เป็นอาหารสัตว์ หรืออาหารมนุษย์ก็ตาม ควรมีการทดสอบเพื่อให้แน่ใจว่าไม่เป็นพิษ หรือเป็นอันตรายต่อการบริโภค ซึ่งในการบริโภคสำหรับมนุษย์นั้น ปริมาณกรดนิวคลีอิกที่มีอยู่ในโปรตีนเซลล์เดียวจะมีความสำคัญมากกว่าการใช้เป็นอาหารสัตว์ พบว่าโปรตีนเซลล์เดียวที่ผลิตได้จากเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cereviseae* ที่เจริญใน ale wort หรือกากน้ำตาล *S. uvarum* ที่เลี้ยงใน beer wort *Candida utilis* ที่เจริญในกากน้ำตาล หรือน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตกระดาษ และ *Kluyveronyces* ที่เลี้ยงในหางนม เป็นโปรตีนเซลล์เดียวที่ปลอดภัยต่อการบริโภคสำหรับมนุษย์ (Reed, 1982)

ข้อควรระวังในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว ได้แก่

วัตถุดิบ วัตถุดิบบางชนิดที่ใช้ในการผลิตอาจเป็นสารก่อมะเร็ง เช่น เอ็นพาราฟีน หรือไฮโดรคาร์บอนบางชนิด (Reed, 1982) ซึ่งจากการศึกษาพบว่า เบเกอร์ยีสต์จากประเทศฝรั่งเศส อังกฤษ และรัสเซีย ยีสต์ที่ใช้เป็นอาหารในยุโรป และยีสต์ที่เลี้ยงในน้ำมันก๊าซ หรือไฮโดรคาร์บอนที่ได้มาจากโรงงานอุตสาหกรรมปิโตรเคมีเหล่านี้มีไฮโดรคาร์บอนอยู่ 13 ชนิด รวมทั้งไฮโดรคาร์บอนที่เป็นสารก่อมะเร็งด้วย ได้แก่ 3, 4-เบนซ์ไพรีน (3, 4-benzpyrene) 1, 2, 5, 6-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไดเบนแซนทราซีน (1, 2, 5, 6-dibenzanthracene) และ เมทิลโคแลนทรีน (methylcholanthrene) (Grimmer, 1974; Riviere, 1977) ถึงแม้ว่าปริมาณของสารที่พบในยีสต์เหล่านี้จะมีอยู่ต่ำกว่า 0.0002 พีพีเอ็ม หรือเพียงเศษหนึ่งส่วนร้อยของที่พบในเนื้อสัตว์รมควันก็ตาม การทดสอบการเกิดมะเร็งในสัตว์ทดลองก็ยังมีความจำเป็นอยู่มาก (ดุษฎี, 2537)

สารละลายที่ใช้ในการสกัดโปรตีนจุลินทรีย์ การใช้ด่างในการสกัดโปรตีนจากจุลินทรีย์อาจมีอันตรายได้ (Lindblom, 1973) Woodard และ Short (1973) ได้ศึกษาพบว่าด่างที่ใช้ในการสกัดโปรตีนจากถั่วเหลืองนั้น มีสารพิษไลซิโนอะลานีน ซึ่งเป็นอันตรายต่อไตอยู่ด้วย โดยการสกัดโปรตีนที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พีเอชสูงกว่า 10 หรือที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส พีเอชสูงกว่า 8 จะทำให้เกิดไลซิโนอะลานีนบางชนิดได้

การปนเปื้อนในอาหารเลี้ยงเชื้อ Payer (1975) ได้ตรวจพบว่าสารพิษจากสิ่งแวดล้อมสามารถปนเปื้อนมากับสาหร่ายได้ แม้ว่าปริมาณที่พบจะมีน้อยกว่าในอาหารชนิดอื่น โลหะหนักบางชนิดที่อยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้ออาจติดมากับโปรตีนเซลล์เดียวได้ นอกจากนี้กระบวนการผลิตจะต้องถูกสุขลักษณะ ทั้งนี้เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่เป็นเชื้อโรค หรือจุลินทรีย์ที่สร้างสารพิษด้วย นอกจากการปนเปื้อนของสารพิษและจุลินทรีย์อื่นๆ ที่ไม่ต้องการแล้วจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจะต้องไม่เป็นเชื้อโรค หรือสามารถสร้างสารพิษได้ด้วย

นอกจากจะต้องระมัดระวังในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวแล้ว ปริมาณกรดนิวคลีอิกที่มีอยู่ในโปรตีนเซลล์เดียวก็เป็นปัญหาสำคัญสำหรับการบริโภคของมนุษย์ เนื่องจากว่าโปรตีนเซลล์เดียวมีปริมาณของกรดนิวคลีอิกสูงกว่าโปรตีนจากพืชและสัตว์ และมนุษย์ไม่มีเอนไซม์ยูเรตออกซิเดส (urate oxidase) หรือยูริเคส (uricase) ดังนั้นการบริโภคกรดนิวคลีอิกจะทำให้ระดับของกรดยูริกในเส้นเลือดสูงขึ้น ซึ่งมีผลทำให้เกิดโรคเก๊าท์ได้ ซึ่งกลุ่ม Protein Advisory Group (PAG) ขององค์การสหประชาชาติจะเป็นผู้ให้คำแนะนำเกี่ยวกับความปลอดภัยและคุณค่าทางอาหารของโปรตีนเซลล์เดียว โดยแนะนำว่าค่ากำหนดในการบริโภคกรดนิวคลีอิกจากโปรตีนเซลล์เดียวไม่ควรเกิน 2 กรัมต่อวันหรือถ้าบริโภครวมกับอาหารอื่น ๆ ก็ต้องไม่เกิน 4 กรัมต่อวัน (ดุษฎี, 2537)

การทดสอบความเป็นพิษของผลิตภัณฑ์โปรตีนเซลล์เดียวจะต้องทดสอบความเป็นพิษทั้งในระยะสั้นและระยะยาว โดยใช้สัตว์ทดลองหลายชนิดด้วยกันเพื่อให้แน่ใจว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้ปลอดภัยต่อการบริโภค ซึ่งการทดสอบนี้จะต้องใช้ระยะเวลาและค่าใช้จ่ายสูง ดังนั้นการพัฒนาผลิตภัณฑ์โปรตีนเซลล์เดียวส่วนใหญ่มักจะใช้เป็นอาหารสัตว์มากกว่าอาหารมนุษย์ สัตว์ทดลองที่ใช้กันมากในการทดสอบความเป็นพิษและคุณค่าของโปรตีนเซลล์เดียว คือ หนู จากการศึกษาของ Worgan(1976) โดยศึกษาถึงอาการเกิดพิษอย่างเฉียบพลันในหนูทดลอง 5 ตัวที่ได้รับเชื้อรา *Fusarium semitectum* ในปริมาณ 40 กรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักตัวเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าไม่ปรากฏอาการแต่อย่างใด และเมื่อทำการผ่าซากหนูดูก็พบว่าปกติเช่นกัน นอกจากนี้ยังศึกษาพบว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไม่เกิดอาการเป็นพิษอย่างเรื้อรังด้วย และการใช้เชื้อรานี้เลี้ยงหมูและไก่ก็ไม่ปรากฏอาการใดๆ เช่นกัน Duthie (1975) ได้ทดลองนำเชื้อรา *Penicilium notatum-chrysoginum* มาเลี้ยงหมูและไก่ ก็พบว่าไม่ปรากฏอาการเป็นพิษต่อสัตว์แต่อย่างใด และจากการทดลองนำเชื้อ *Fusarium graminearum* มาใช้เลี้ยงสัตว์เป็นระยะเวลานาน ก็ไม่แสดงอาการเกิดพิษเช่นกัน นอกจากนี้ยังมีการทดลองเกี่ยวกับการใช้โปรตีนเซลล์เดียวเลี้ยงสัตว์เปรียบเทียบกับอาหารสัตว์ชนิดอื่น พบว่าไก่ที่เลี้ยงด้วย 20% ของยีสต์ที่เจริญในน้ำมันจะวางไข่ได้ในปริมาณปกติเช่นเดียวกันกับในหมู ซึ่งพบว่าการใช้โปรตีนเซลล์เดียวเลี้ยงหมูเป็นระยะเวลานาน ก็ไม่ทำให้เกิดอาการเจริญเติบโต การย่อยอาหาร หรือการให้น้ำนมผิดปกติแต่ประการใด และจากการทดลองนำสาหร่าย *Scenedesmus acutus* หรือ *Spirulina platensis* มาใช้เลี้ยงหนูในปริมาณสูงถึง 80 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักร่างกาย พบว่าไม่เกิดอาการเป็นพิษแต่อย่างใด นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อให้ปริมาณสาหร่ายสูงถึง 2000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักหนูขาว หนูขาวจะไม่เกิดอาการแพ้ที่ผิวหนังเช่นกัน (ดุษณี, 2537)

การนำผลิตภัณฑ์จากโปรตีนเซลล์เดียวมาใช้เป็นอาหาร จะต้องนำมาวิเคราะห์หาคุณค่าของอาหารในแง่ของโปรตีน และกรดอะมิโน วิเคราะห์การย่อยโปรตีน (protein digestibility) หาสัดส่วนของประสิทธิภาพของโปรตีน (protein efficiency ratio, PER) และหาสัดส่วนของโปรตีนสุทธิ (net protein ratio, NPR) โดยใช้เคซีนเป็นมาตรฐาน (ค่าที่ได้จะเรียกว่า biolgical value หรือ BV) หรือวิเคราะห์หาค่าของการใช้โปรตีนสุทธิ (net protein utillization, NPU) เป็นต้น ตัวอย่างเช่นค่า PER ของสาหร่ายจะอยู่ระหว่าง 2.09-2.6 ค่า PER ของยีสต์ *C. utilis* จะอยู่ระหว่าง 0.9-1.4 และค่า PER ของยีสต์ *S. cerevisiae* จะเท่ากับ 1.7 ในขณะที่เคซีนจะมีค่า PER เท่ากับ 2.5 (Bressani, 1968; Litchfield, 1979) ซึ่ง Young และ Pellett (1991) ได้ให้ความเห็นว่าการวิเคราะห์ค่า PER โดยใช้เคซีนเป็นมาตรฐานเปรียบเทียบนั้นเป็นวิธีที่ไม่เพียงพอต่อการหาคุณค่าของโปรตีนเพื่อนำมาใช้เป็นอาหารมนุษย์ และได้เสนอแนะว่าควรมีการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน กรดอะมิโน และการย่อยโปรตีน รวมถึงการหาค่ากรดอะมิโนที่นำมาใช้ได้โดยการใช้สัตว์ทดลองเป็นตัววิเคราะห์ และนำมาเปรียบเทียบกับโปรตีนในอาหารอื่นๆ จากการศึกษาถึงคุณค่าของโปรตีนเซลล์เดียวที่เป็นอาหารมนุษย์ เช่น ไมโคโปรตีนจากเชื้อรา *F. graminearum* พบว่าค่า BV จะเป็น 84 ซึ่งใกล้เคียงกับค่า BV ของโปรตีนในน้ำนมที่มีค่าเท่ากับ 85 และค่าการย่อยโปรตีน และค่า NPU ของเชื้อรานี้เท่ากับ 78 และ 65% ตามลำดับ ในขณะที่นมมีค่าการย่อยโปรตีน 95% และค่า NPU 80% (ดุ

มีรายงานเกี่ยวกับการทดลองให้โปรตีนเซลล์เดียวในมนุษย์ พบว่าให้ผลแตกต่างกันออกไปตั้งแต่อาการปกติ จนถึงอาการไม่สบาย ระบบทางเดินอาหารเป็นพิษ ผิวหนังลอกเป็นเกล็ด และอื่นๆ ซึ่งอาการเหล่านี้จะปรากฏชัดขึ้นในกรณีที่มีการบริโภคโปรตีนเซลล์เดียวในปริมาณมาก ในการศึกษาถึงผลของโปรตีนเซลล์เดียวในมนุษย์ควรใช้ตัวอย่างอย่างน้อย 25 คน หรือ 50 คน จึงจะเหมาะสม ตารางที่ 6 ได้สรุปถึงการให้โปรตีนเซลล์เดียวที่ผลิตจากจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ กับมนุษย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยพบว่าแบคทีเรียที่นำมาใช้เป็นอาหารโปรตีนจะทำให้มนุษย์เกิดอาการคลื่นไส้ อาเจียน และท้องเสียมากกว่าจุลินทรีย์อื่นๆซึ่งปฏิกิริยาเหล่านี้อาจเนื่องมาจากสารที่มีลักษณะคล้ายสารพิษ endotoxin ที่อยู่ในเซลล์ของแบคทีเรีย (Litchfield, 1991) นอกเหนือจากนี้ก็พบว่าการบริโภคโปรตีนเซลล์เดียวเป็นอาหารมนุษย์ควรนำมาผ่านกรรมวิธีแปรรูปให้เป็นอาหารชนิดอื่นก่อนที่จะนำมาใช้บริโภคจะเป็นการเหมาะสมกว่า (ดุษณี, 2537)

ปัจจัยอื่นๆ ที่มีผลต่อการบริโภคนอกเหนือจากที่กล่าวมาแล้ว ได้แก่ ผนังเซลล์ที่ย่อยไม่ได้ สีของจุลินทรีย์ที่น่ารังเกียจโดยเฉพาะอย่างยิ่งสีของสาหร่าย และกลิ่นรสที่ไม่พึงปรารถนา เช่น ในกรณีของสาหร่าย และยีสต์ นอกจากนี้ในการบริโภคเซลล์ควรทำให้เซลล์ตายเสียก่อน เนื่องจากว่าการบริโภคเซลล์ที่มีชีวิตเข้าไป อาจมีผลทำให้เกิดการแบ่งเซลล์ขึ้นในลำไส้ และทำให้เกิดการหมักขึ้น ซึ่งมีผลทำให้เกิดสารพิษพวกเอมีน (amine) หรืออาจมีการใช้วิตามินบีในลำไส้มนุษย์ได้ วิธีการฆ่าเซลล์ที่ได้ผลและง่าย คือ การใช้หม้อนึ่งอัดไอในการทำลายเซลล์สาหร่าย และการทำแห้งของเซลล์ยีสต์และแบคทีเรีย ซึ่งมีผลทำให้ผนังเซลล์ถูกทำลาย และเป็นการเพิ่มคุณค่าทางอาหาร นอกจากนี้อาจนำเซลล์ของยีสต์มาผสมกับน้ำมันพืช และให้ความร้อนที่ 170 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นจึงแยกเอาเซลล์ออกจะทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีไขมัน 7-15% ความชื้น 1-15% และมีกลิ่นรสที่ดี (ดุษณี, 2537)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6 การทดลองให้โปรตีนเซลล์เดียวที่ผลิตจากจุลินทรีย์บางชนิดกับมนุษย์

จุลินทรีย์	รายละเอียด	ผลการทดลอง
สาหร่าย		
Chlorella ผสมกับ *Scenedesmus*	ฆ่าเชื้อที่ 160 องศาเซลเซียสและนำมาเป็นอาหารสำหรับคนหนุ่มที่แข็งแรงจำนวน 5 คน (ปริมาณที่ให้มีตั้งแต่ 10-500 กรัมต่อวัน)	สามารถทนกับปริมาณที่ให้ได้ถึง 100 กรัมต่อวัน แต่ถ้าหากให้ปริมาณสูงกว่านี้ จะทำให้เกิดอาการกับกระเพาะและลำไส้ได้
Scenedusmus spp.	ก. อาหาร 32 มื้อจะมีการเติมสาหร่ายแห้ง 3-5 กรัมต่อมื้อ 2 ครั้งต่อสัปดาห์ เป็นเวลา 30 เดือน ข. ปริมาณสูงสุดที่ยอมรับได้คือ สาหร่าย 20 กรัมต่อ 1 คน ให้อาหาร 3 เวลาต่อวัน โดยใช้สาหร่าย 7 กรัมต่ออาหาร 1 มื้อ	ไม่ปรากฏอาการใดๆ การยอมรับของผู้บริโภคจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับอายุของผู้บริโภค
Spirulina spp.	นำมาผสมกับอาหารของโรงพยาบาลสำหรับเด็กที่ขาดแคลนอาหาร	ผู้บริโภคยอมรับผลิตภัณฑ์และสามารถทนต่อสาหร่ายได้หลังจากบริโภคเป็นเวลา 320 วัน การดูดซึมของไนโตรเจนจะต่ำกว่านมหรือถั่วเหลือง
แบคทีเรีย		
Acinetobacter calcoaceticus	ผู้บริโภควัยหนุ่มสาว 50 คนได้รับน้ำผลไม้ที่ผสมแบคทีเรีย 20 กรัมต่อวัน	8 คนจะมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน และท้องร่วง
Alcaligenes eutropha (Hydrogenomonas)	ผู้บริโภควัยหนุ่มสาวได้รับเซลล์ 15-25 กรัม (โดยผสมกับผลิตภัณฑ์ข้าวสาลีที่มีปริมาณโปรตีนต่ำ มีเคซีน 2 ตัวอย่างเป็นตัวเปรียบเทียบ)	คลื่นไส้ อาเจียน ท้องร่วง และเวียนศีรษะ
ยีสต์		
Candida utilis (โดยใช้ของเสียจากโรงงานผลิตกระดาษเป็นแหล่งอาหาร)	คนไข้จากโรงพยาบาลโรคจิตของรัฐ 300 คนได้รับยีสต์โดยผสมในซุป เนื้อ ขนมอบ ผัก และสลัด ค่าเฉลี่ยในการบริโภคยีสต์คือ 100-397 กรัมต่อเดือน	ผู้บริโภคสามารถทนต่อผลิตภัณฑ์ต่างๆ ได้ดี ไม่มีอาการคลื่นไส้ อาการแพ้หรืออาเจียน แต่มีการยอมรับน้อยมากในผลิตภัณฑ์สลัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6 (ต่อ)

จุลินทรีย์	รายละเอียด	ผลการทดลอง
C. utilis		
ก. ใช้ของเสียจากโรงงานผลิตเยื่อกระดาษเป็นแหล่งอาหาร	ผู้บริโภค 20 คนได้รับยีสต์ปริมาณ 90 กรัมต่อวันเป็นเวลา 11 สัปดาห์	ไม่ปรากฏอาการทางกระเพาะหรือลำไส้ ผื่นบนฝ่ามือ ฝ่าเท้าของผู้บริโภค
ข. ใช้กลูโคสเป็นแหล่งอาหาร	ผู้บริโภค 21 คนได้รับยีสต์ปริมาณ 90 กรัมต่อวันเป็นเวลา 90 วัน	ไม่ปรากฏผื่นหรือแผลอื่นๆ
Pichia spp.	ผู้บริโภควัยหนุ่มสาวได้รับคุกกี้ที่ผสมเซลล์ยีสต์ 20 กรัมต่อวันเป็นเวลา 30 วัน	เกิดปฏิกิริยากับผิวหนังบริเวณมือและเท้าปรากฏอาการกับกระเพาะและลำไส้ เมื่อนำยีสต์มาปรับปรุงกระบวนการผลิต รวมทั้งลดปริมาณอาร์เอนเอลงจะทำให้อาการต่างๆ ที่เกิดกับผู้บริโภคหมดไป
รา		
Fusarium graminearum	ผู้บริโภค 100 คนได้รับเชื้อราในรูปใยราที่ลดปริมาณอาร์เอนเอแล้ว ปริมาณ 20 กรัมต่อวันในอาหารแป้งเป็นเวลา 30 วัน	ไม่ปรากฏอาการใดๆ หรือเกิดการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมี

ที่มา : Litchfield (1991)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.9 แนวโน้มการใช้โปรตีนเซลล์เดียวในอนาคต

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

ในอนาคต การใช้โปรตีนเซลล์เดียวเป็นแหล่งอาหารสำหรับสัตว์จะมีความเป็นไปได้ 3 แนวทาง คือ

1. การเพิ่มปริมาณโปรตีนเซลล์เดียวที่นำไปใช้
2. การปรับปรุงสายพันธุ์ที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว
3. การทดลองอย่างต่อเนื่อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 วัสดุอุปกรณ์

1. จุลินทรีย์ ใช้เชื้อยีสต์ *Candida tropicalis* TISTR 5136 จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

2. อาหารเลี้ยงจุลินทรีย์

2.1 อาหารสูตร NRRL (Lemmel et al., 1979)

ประกอบด้วยกลูโคสร้อยละ 1.0 เปปโตนร้อยละ 0.5 มอลต์สกัดร้อยละ 0.3 และยีสต์สกัดร้อยละ 0.3

2.2 น้ำที่ได้จากการล้างแผ่นมันฝรั่งจากบริษัท อาหารยอดคุณ จำกัด กรุงเทพฯ

3. เครื่องมือและอุปกรณ์

3.1 เครื่องวัดพีเอช (pH meter) รุ่น HM-7E

3.2 เครื่องชั่งชนิด 4 ตำแหน่ง รุ่นA 200Sและ 2 ตำแหน่ง รุ่น B-3100J

3.3 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) รุ่น UNICAM 8620

3.4 เครื่องย่อย (digestibility)

3.5 เครื่องกลั่น(distillation)

3.6 เครื่องควบแน่น (condensor)

3.7 เครื่องระเหย (evaporator)

3.8 เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge)

3.9 เครื่องเขย่า (shaker)

3.10 เครื่องอบลมร้อน (hot air oven)

3.11 เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อไอน้ำ (autoclave)

3.12 เดซิกเคเตอร์ (desiccator)

3.2 วิธีการทดลอง

1. <u>การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและคุณลักษณะทางกายภาพของน้ำล้างแผ่นมันฝรั่ง</u>

ทำการวิเคราะห์ค่าพีเอช ซีโอดี ไนโตรเจนทั้งหมด(total nitrogen) ของแข็งแขวนลอย(suspended solids) ของแข็งทั้งหมด (total solids) ตามวิธีของ APHA,AWWA and WPCF(1985) น้ำตาลรีดิวซ์(reducing sugar) ตามวิธีของ A.O.A.C. (ภาคผนวก ข)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การเตรียมกล้าเชื้อเริ่มต้น(starter)

ถ่ายเชื้อ *Candida tropicalis* TISTR 5136 จาก slant PDA 1 ลูป ลงในอาหารเหลว NRRL 100 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่ปรับพีเอชเป็น 3.5 นำไปให้อากาศที่ความเร็วรอบ 130 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร ให้ได้ค่าความขุ่น 0.5 เพื่อใช้เป็นเชื้อเริ่มต้น

3. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปมันฝรั่ง

3.1 ศึกษาอัตราการเจือจางน้ำทิ้ง

3.1.1 นำน้ำล้างแผ่นมันฝรั่งมาเจือจางด้วยน้ำในอัตราส่วน 1:0, 1:1 และ 1:2 ปริมาตร 150 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 3.5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 5 นอร์มอล นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

3.1.2 เติมกล้าเชื้อเริ่มต้นที่เตรียมไว้ในข้อ 2 ลงไป นำไปเลี้ยงในเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 130 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างทุก 2 ชั่วโมง เพื่อนำมาวิเคราะห์อัตราการเจริญ ซีโอดีและน้ำหนักเซลล์แห้งของมวลชีวภาพ

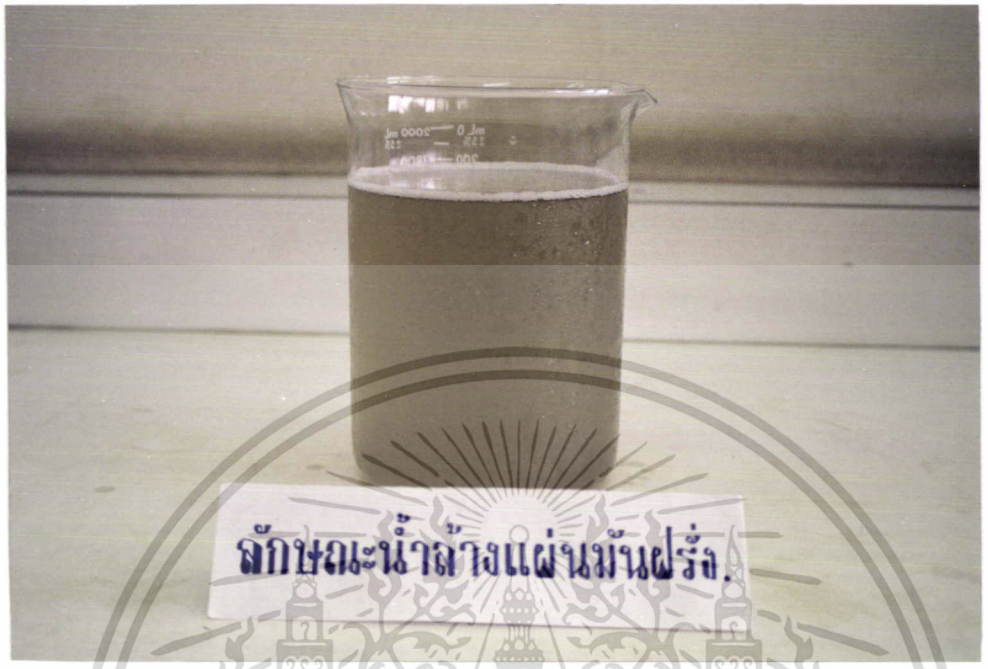
3.2 ศึกษาพีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์

ใช้น้ำล้างแผ่นมันฝรั่งที่มีอัตราการเจือจางที่เหมาะสมใน ข้อ 3.1 และปรับพีเอชเป็น 3.0, 3.5, 4.0 และ 4.5 ตามลำดับ เลี้ยงเชื้อและวิเคราะห์ผลเช่นเดียวกับข้อ 3.1

4. ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเซลล์ยีสต์ที่ผลิตได้

วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ไขมัน และความชื้นของเซลล์ยีสต์ที่ผลิตภายใต้สภาวะการเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมตามวิธีของ A.O.A.C. (ภาคผนวก ง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4 ลักษณะน้ำล้างแผ่นมันฝรั่ง

รูปที่ 5 เปรียบเทียบอาหารเหลว NRRL ก่อนและหลังเลี้ยงเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 6 *Candida tropicalis* TISTR 5136

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและคุณลักษณะทางกายภาพของน้ำล้างแผ่นมันฝรั่ง

ผลของการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำล้างแผ่นมันฝรั่งจากบริษัท อาหารยอดคุณ จำกัด (ตารางที่ 7) พบว่า น้ำล้างแผ่นมันฝรั่งมีพีเอชเท่ากับ 6.9 ค่าซีโอดีเท่ากับ 3,192 มิลลิกรัมต่อลิตร ไนโตรเจนทั้งหมดเท่ากับ 35 มิลลิกรัมต่อลิตร ของแข็งทั้งหมดเท่ากับ 3.8 มิลลิกรัมต่อลิตร ของแข็งแขวนลอยเท่ากับ 0.46 มิลลิกรัมต่อลิตร

ตารางที่ 7 ลักษณะของน้ำล้างแผ่นมันฝรั่งจากบริษัท อาหารยอดคุณ จำกัด

พารามิเตอร์	ความเข้มข้น(มิลลิกรัมต่อลิตร)*
พีเอช	6.9
ซีโอดี	3,192
ไนโตรเจนทั้งหมด	35
ของแข็งทั้งหมด	3.8
ของแข็งแขวนลอย	0.46
น้ำตาลรีดิวซ์	117,387

* ยกเว้นค่าพีเอช

** น้ำล้างแผ่นมันฝรั่งที่ใช้วิเคราะห์ผ่านการกรองแล้ว

4.2 การศึกษาอัตราการเจือจางน้ำล้างแผ่นมันฝรั่งต่อการเจริญของเชื้อ *Candida tropicalis*

ผลของการเลี้ยงเชื้อ *Candida tropicalis* ในน้ำล้างแผ่นมันฝรั่งที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:0 , 1:1 และ 1:2 ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 3.5 ภายใต้สภาวะการให้อากาศบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 130 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ชั่วโมง (ตารางที่ 8) พบว่าเชื้อสามารถเจริญได้ดีที่สุดเมื่อเลี้ยงในน้ำล้างแผ่นมันฝรั่งที่ไม่เจือจาง (1:0) มีอัตราการเจริญจำเพาะ 0.27 ต่อชั่วโมง และให้มวลชีวภาพสูงสุดเท่ากับ 0.653 กรัมต่อลิตร สูงกว่าค่ามวลชีวภาพของเชื้อที่เลี้ยงในน้ำล้างแผ่นมันฝรั่งที่อัตราการเจือจาง 1:1 และ 1:2 เท่ากับ 0.352 และ 0.317 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

สำหรับการลดลงของค่าซีโอดีพบว่าให้ผลในทางเดียวกันกับการเพิ่มมวลชีวภาพ คือ ที่อัตราการเจือจางน้ำล้างแผ่นฝรั่ง 1:0 เชื้อสามารถลดค่าซีโอดีได้สูงสุดร้อยละ 54.38 รองลงมาคือที่อัตราการเจือจาง 1:1 เท่ากับร้อยละ 35.28 และที่อัตราการเจือจาง 1:2 เชื้อจะลดค่าซีโอดีได้น้อย

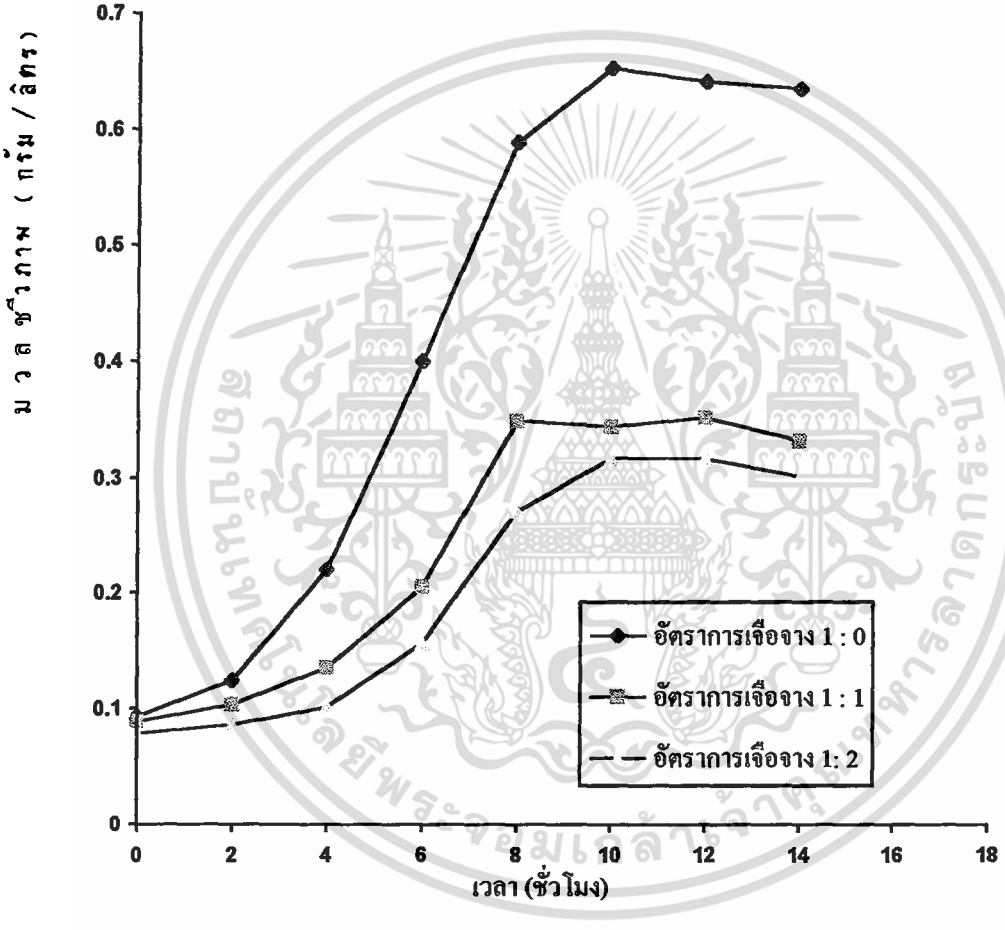
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่สุดเท่ากับร้อยละ 30.74 และเมื่อนำค่าเหล่านี้มาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าน้ำล้างแผ่นมันฝรั่งที่อัตราการเจือจางทั้ง 3 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตารางภาคผนวกที่ 1 และ 2)

ตารางที่ 8 อัตราการเจือจางน้ำล้างแผ่นมันฝรั่งที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อ *C. tropicalis*

อัตราการเจือจางน้ำล้างแผ่นมันฝรั่ง	อัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (ต่อชั่วโมง)	มวลชีวภาพสูงสุด (กรัมต่อลิตร)	การลดลงของค่าซีโอดี (%)	พีเอชสุดท้าย
1:0	0.27	0.653	54.38	4.14
1:1	0.20	0.352	35.28	3.2
1:2	0.19	0.317	30.74	2.98

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 7 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณมวลชีวภาพกับเวลา
เมื่อใช้อัตราการเจือจางแตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 8 น้ำล้างแผ่นมันฝรั่งก่อนการเลี้ยงเชื้อที่อัตราการเจือจางต่าง ๆ

รูปที่ 9 น้ำล้างแผ่นมันฝรั่งหลังการเลี้ยงเชื้อ 12 ชั่วโมงที่อัตราการเจือจางต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

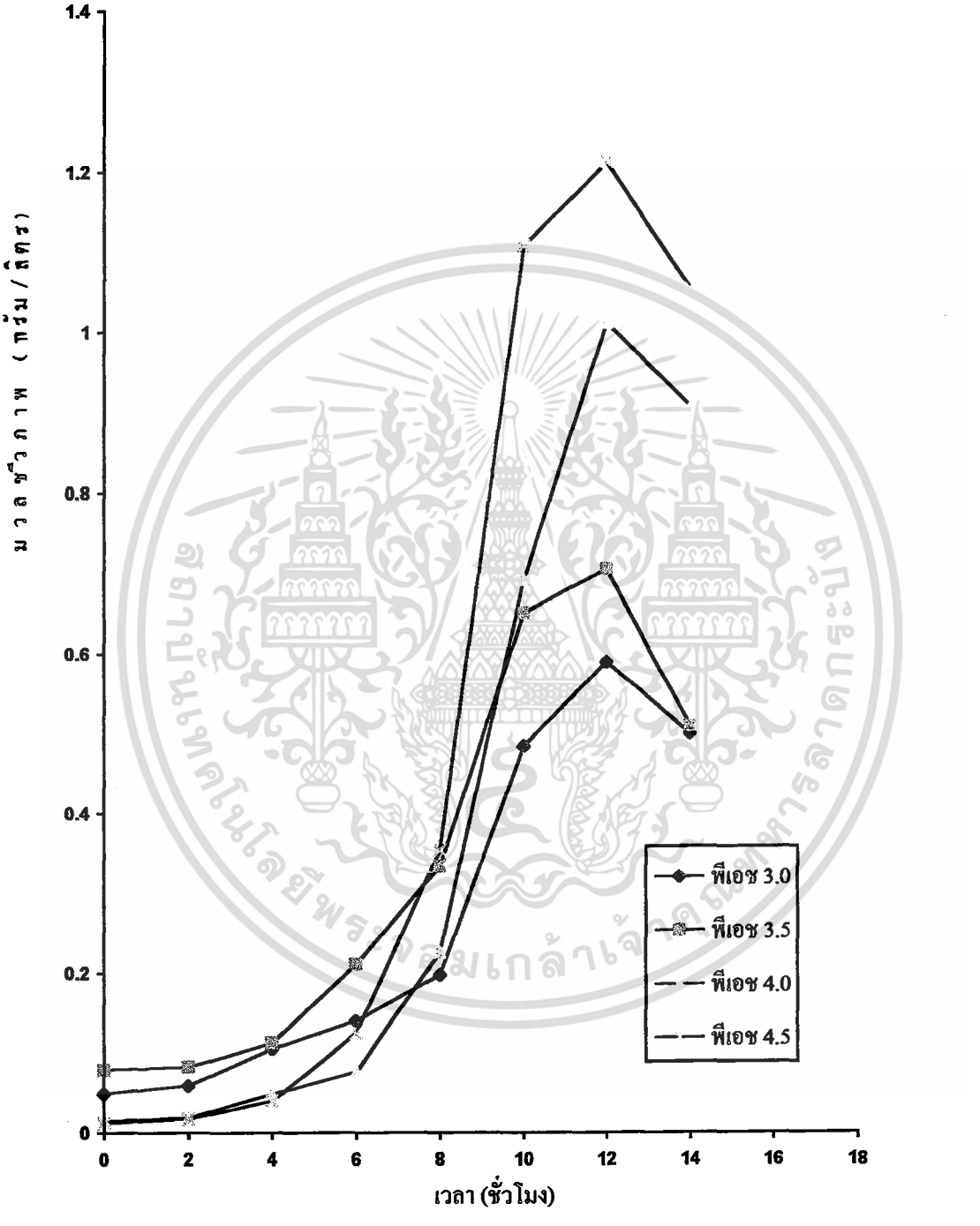
4.3 การศึกษาพีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ *Candida tropicalis*

จากการเลี้ยงเชื้อ *C. tropicalis* ในน้ำล้างแผ่นมันฝรั่งที่พีเอชเริ่มต้นต่าง ๆ คือ 3.0 , 3.5, 4.0 และ 4.5 พบว่าเชื้อยีสต์สามารถเจริญและให้มวลชีวภาพสูงสุด เมื่อเลี้ยงในน้ำล้างแผ่นมันฝรั่งที่ไม่เจือจางและมีพีเอชเริ่มต้น 4.5 เท่ากับ 1.212 กรัมต่อลิตร อัตราการเจริญจำเพาะ 0.47 ต่อชั่วโมง รองลงมาคือที่พีเอช 4.0 ได้มวลชีวภาพ 1.012 กรัมต่อลิตร อัตราการเจริญจำเพาะ 0.41 ต่อชั่วโมง ส่วนที่พีเอช 3.0 และ 3.5 เชื้อจะให้มวลชีวภาพเท่ากับ 0.59 และ 0.706 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับค่าซีโอดีที่ลดลง คือที่พีเอช 4.5 เชื้อสามารถลดค่าซีโอดีของน้ำล้างแผ่นมันฝรั่งได้สูงสุดร้อยละ 78.97 รองลงมาคือ ที่พีเอช 4.0 ร้อยละ 73.02 (ตารางที่ 9) และเมื่อนำค่าเหล่านี้มาวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าน้ำล้างแผ่นมันฝรั่งที่พีเอชเริ่มต้นต่างๆ กันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตารางภาคผนวกที่ 3 และ 4)

ตารางที่ 9 พีเอชที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อ *C. tropicalis*

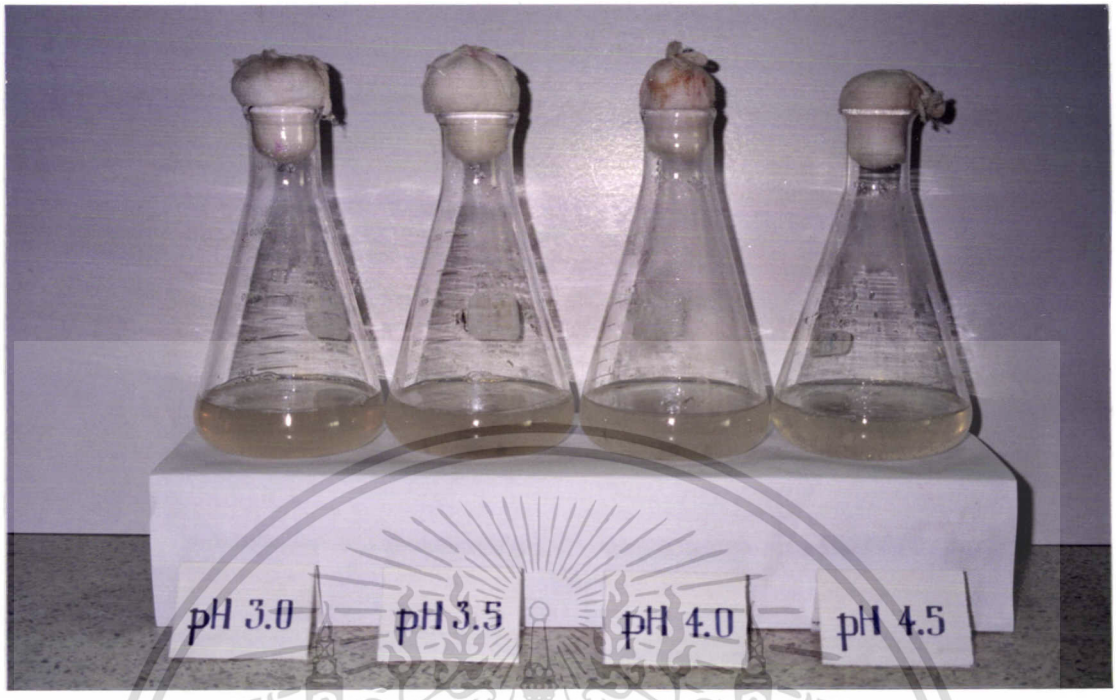
พีเอชเริ่มต้น	อัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (ต่อชั่วโมง)	มวลชีวภาพสูงสุด (กรัมต่อลิตร)	การลดลงของค่าซีโอดี (%)	พีเอชสุดท้าย
3.0	0.21	0.590	44.05	2.86
3.5	0.28	0.706	59.22	3.78
4.0	0.41	1.012	73.02	6.72
4.5	0.47	1.212	78.97	7.04

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

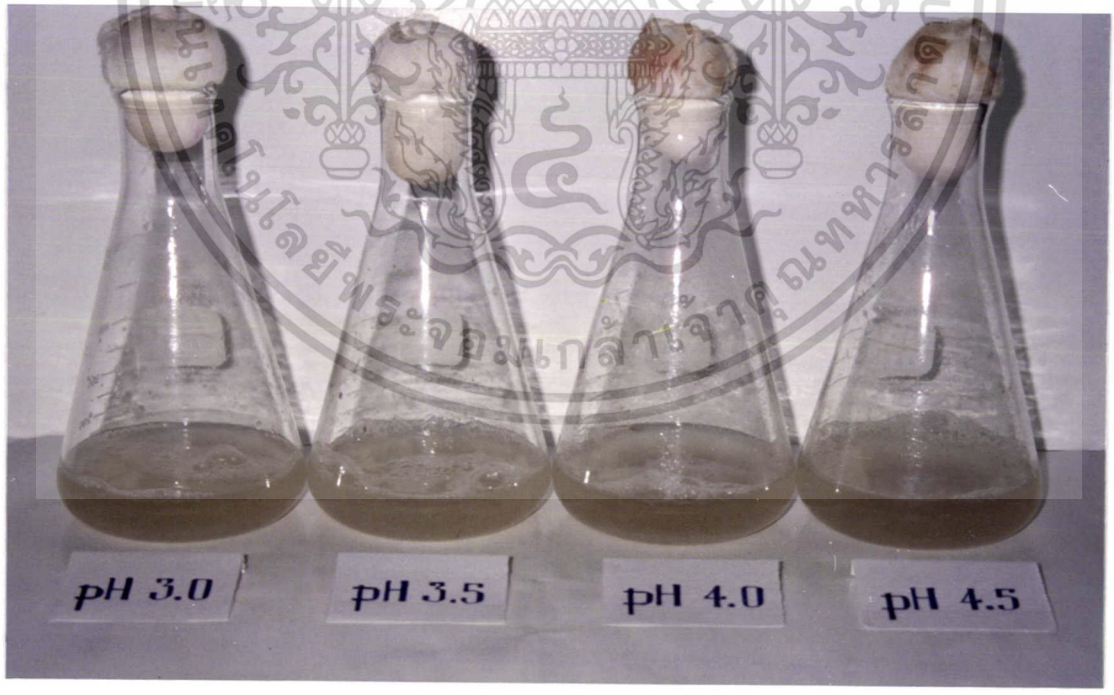


รูปที่ 10 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณมวลชีวภาพกับเวลา
เมื่อมีพีเอชเริ่มต้นแตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 11 น้ำล้างแผ่นมันฝรั่งก่อนการเลี้ยงเชื้อที่พีเอชต่าง ๆ



รูปที่ 12 น้ำล้างแผ่นมันฝรั่งหลังการเลี้ยงเชื้อ 12 ชั่วโมงที่พีเอชต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 องค์ประกอบทางเคมีของเซลล์ยีสต์ที่ผลิตได้

จากการเลี้ยง *Candida tropicalis* ในน้ำล้างแผ่นมันฝรั่งที่ไม่เจือจางและปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 4.5 (ตารางที่ 10) พบว่า เชื้อที่เลี้ยงในสภาวะดังกล่าวจะให้ปริมาณโปรตีน ความชื้น และไขมันร้อยละ 32.19 , 8.5 และ 0.454 ตามลำดับ

ตารางที่ 10 องค์ประกอบทางเคมีของเชื้อ *C. tropicalis* ที่เลี้ยงในน้ำล้างแผ่นมันฝรั่งที่ไม่เจือจางและปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 4.5

องค์ประกอบทางเคมี	ความเข้มข้น (%)
โปรตีน	32.19
ความชื้น	8.5
ไขมัน	0.454

รูปที่ 13 น้ำล้างแผ่นมันฝรั่งก่อนเลี้ยงเชื้อและหลังจากที่มีการแยกเซลล์ยีสต์ออกแล้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษานำน้ำล้างแผ่นมันฝรั่งมาใช้เลี้ยงยีสต์ *Candida tropicalis* TISTR 5136 เพื่อผลิตโปรตีนเซลล์เดียวและเพื่อลดปริมาณซีโอดีในน้ำทิ้งก่อนจะปล่อยออกสู่สิ่งแวดล้อม ผลการทดลอง พบว่า อัตราการเจือจางน้ำล้างแผ่นมันฝรั่งที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อยีสต์ คือน้ำล้างแผ่นมันฝรั่งที่ไม่เจือจางมีค่าอัตราการเจริญจำเพาะ 0.27 ต่อชั่วโมง และให้มวลชีวภาพสูงสุดเท่ากับ 0.653 กรัมต่อลิตร ในเวลา 10 ชั่วโมง สูงกว่าค่ามวลชีวภาพของเชื้อที่เลี้ยงในน้ำล้างแผ่นมันฝรั่งที่ทำการเจือจาง นำค่าเหล่านี้มาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ทั้งนี้เพราะการเจือจางน้ำทิ้งจะทำให้ปริมาณสารต่าง ๆ ที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อยีสต์ลดลง

สำหรับการเลี้ยงเชื้อในน้ำล้างแผ่นมันฝรั่งที่พีเอชเริ่มต้นต่าง ๆ พบว่าเชื้อยีสต์สามารถเจริญและให้มวลชีวภาพสูงสุด เมื่อเลี้ยงในน้ำล้างแผ่นมันฝรั่งที่ไม่เจือจางมีพีเอชเริ่มต้น 4.5 เท่ากับ 1.212 กรัมต่อลิตร อัตราการเจริญจำเพาะ 0.45 ต่อชั่งโมง สูงกว่าที่พีเอชเริ่มต้นอื่นๆ และเมื่อนำค่าเหล่านี้มาทำการค่าวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ซึ่งผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับรายงานของ Lemmel และคณะ (1979) ซึ่งพบว่ายีสต์โดยทั่วไปสามารถเจริญได้ดีที่พีเอช 4.5-4.6 ส่วนการลดลงของค่าซีโอดีพบว่าที่พีเอชเริ่มต้น 4.5 เชื้อสามารถลดค่าซีโอดีได้สูงสุด ร้อยละ 78.97 ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ สุวิทย์ สุวรรณโณ (2539) โดยพบว่าเชื้อ *Candida tropicalis* ที่เลี้ยงในน้ำนึ่งปลาทูน่าจะเจริญได้ดีที่สุดที่น้ำนึ่งปลาทูน่าที่ไม่เจือจางและลดค่าซีโอดีได้สูงสุดที่พีเอชเริ่มต้น 4.5

เชื้อยีสต์ที่เลี้ยงในสภาวะที่เหมาะสมที่ได้คัดเลือกไว้ จะมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 32.19 ความชื้นร้อยละ 8.5 และไขมันร้อยละ 0.454

ข้อเสนอแนะ

1. เชื้อยีสต์ *Candida tropicalis* TISTR 5136 ที่เลี้ยงในน้ำล้างแผ่นมันฝรั่งจะให้ปริมาณโปรตีนน้อยอาจเนื่องมาจากในน้ำนั้นมีแหล่งไนโตรเจนน้อย ถ้าต้องการให้มีปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้นควรมีการศึกษาการเติมแหล่งไนโตรเจน เพื่อจะทำให้โปรตีนเซลล์เดียวที่ได้มีคุณค่าทางอาหารเพิ่มขึ้น
2. ควรจะมีการศึกษาการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากน้ำทิ้งแหล่งอื่นโดยใช้จุลินทรีย์ชนิดต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กฤษฎา สัมพันธารักษ์, ดร. 2529. พืชไร่. หน้า 152-153, 164-166.

ดวงพร คันธโชติ. 2530. จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม. พิมพ์ครั้งที่ 2. โครงการตำราคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ดวงพร ธนารักษ์พงศ์.2525. การใช้น้ำทิ้งสับปะรดเข้มข้นเลี้ยงเชื้อ *Rhodopseudomonas* spp. เพื่อเป็นแหล่งอาหารโปรตีนรงควัตถุและวิตามินบี12. วิทยานิพนธ์ระดับปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต(จุลชีววิทยา). บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ดุษณี ธนบริพัฒน์. 2537. จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม. พิมพ์ครั้งที่ 2. โครงการตำราคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าคุณทหารลาดกระบัง

นฤมล ศุภจรรยา, บุษยา บุนนาค และ พิศมัย ภูริสินสิทธิ์. 2529. การผลิตสาหร่ายเกลียวทอง (*Spirulina* spp.) จากน้ำทิ้งโรงงานมันสำปะหลัง รายงานการวิจัย และพัฒนาเทคโนโลยีเพื่อใช้ประโยชน์และเพื่อการกำจัดน้ำเสียจากโรงงานแป้งมันสำปะหลัง ในระดับห้องปฏิบัติการ.ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ

พืชเศรษฐกิจ เล่ม 1, ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 2519: 178-181.

เรียม เตชะโสภณมณี, ดร. เอกสารประกอบคำสอนชุดวิชา การใช้ประโยชน์จากกากและของเสีย. คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรมและวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, 2530-2531: 2-10, 34-38.

สมศิริ นัยนาภรณ์, สุกัญญา เจริญชัยศิริกุล และอรทัย เฉลิงเกียรติลีลา. 2539. การผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากกากเปลือกส้มโดยกระบวนการหมักในอาหารแข็ง เพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์ โครงงานพิเศษปริญญาตรี สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

สุวิทย์ สุวรรณโฉ. 2539. การผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากน้ำนึ่งปลาทูน่าโดย *Candida tropicalis* TISTR 5136. ว.สงขลานครินทร์. วทท. 18(1) : 43-48.

เอกสารวิชาการเล่มที่ 7 มันสำปะหลัง, กรมวิชาการเกษตร : 1-5, 153-161.

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

APHA, AWWA and WPCF. 1985. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 16th ed. American Public Health Association. Washington D.C.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Beech, G. A. , Melvin, M.a. and Taggart, J. 1985. Food, drink and biotechnology. In Biotechnology. Principles and Applications. Edited by I. J. Higgins, D.J. Best and J. Jones. Blackwell Scientific Publications, Oxford.

Bernfelk, P., Colowick, M.J. and Kaplawn, N.O. 1995. Method in enzymology, vol 1,Academic Press, New York.

Bhappacharjee, J.K. 1970. Microorganisms as Potential Sources of Food. Advances in Applied Microbiology. 13, 134-159.

Bressani, R. 1968. The use of yeast in human foods. In Single-Cell Protein , pp. 90-121. Edited by R. I. Mateles and S.R. Tannenbaum MIT Press, Cambridge, Mass.

Calleja, G.B., Yaguchi M., Levy-Rick, S., Seguin, J.R.H., Roy, C. and Lusena, C.V. 1986. Single-cell protein production from potato starch by the yeast *Swaniomyces alluvius* J. Ferm. Technol. 64(1), 71-75.

Cooney, C.L. and D.W. Levine. 1972. Microbial Utilization of Methane. Adv in Appl Microbial. p 38.

Duthie , I.F. 1975. In SCP II, p. 505. Edited by S.R. Tannenbaum anf D.I.C. Wang, MIT Press, Cambridge, Mass.

Grimmer, G. 1974. Detection and occurrence of polycyclic hydrocarbons in yeasts cultured on mineral oils. Dtsch. Lebensm. Rundsch, 70(110, 394-397.

Halasz, A. and Lasztity, R. 1991. Use of Yeast Biomass in Food Production. CRC Press, Boca Raton.

Kosaric, N. 1972. In food from Waste. Edited by G. G. birch, K. J. Parker and J. T. Worgan. Applied Science Publishers Ltd., London.

Kreger-Van Rij, N.J.W. 1984. The yeasts. Dlsevier Science Publisher B.V., Amsterdum. p. 818-812.

Lawford, G. R., Kligermar, A., Williams, T. and Lawford, H. G.1979. Biotech. Bioeng. 21, 1163.

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

Lichfield, J.H. 1979. Production of Single cell Protein for Use in Food or Feed. In Microbial Technology/Microbial Process. Edited by H.J. Peppler and D. Perlman. 2nd Edition. Vol.1. Academic Press, Inc.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lindblom, M. 1974. The influence of alkali and heat treatment on yeast protein. Biotech. Bioeng. 16(11), 1485-1506.

Litchfield, J.H. 1991. Food supplements from microbial protein. In Biotechnology and Food Ingredient, pp.65-109. Edited by Goldberg, J. and Williams, R. Van Nostrand Reinhold, New York.

Marth, E.H. 1987. Dairy products. In food and Beverage Mycology, pp. 175-209. 2nd ed. Edited by L. Beuchat. AVI, New York.

Mateless, R.I. and Tannenbaum S.R. 1968. Single Cell Protein Cambridge Mass : MIT Press.

Noparatnaraporn, N. 1987. Photosynthetic bacteria from casava waste: a multipurpose animal feed. In upgrading of Casava/Casava Wastes by appropriate biotechnologies, pp. 92-105. Proceedings of UNEP/ TISTR / Bangkok MERCEN Regional Workshop, Thailand. November 24-26 , 1987.

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

Payer, H.P. 1975. The contamination of micro-algae with some environmental toxins. In symposium Microbial Production of Protein. Edited by F. Wagner. Verlag. Chemie, weinheim, W. Germany.

Peppler, H.J. 1978.Yeasts. In Annual Reports ferment Process 2, pp. 191-202. Edited by D. Perlman and G.T. tsao. Academic press, New York.

Prior, B.A. 1984. Continuous growth kinetics of *Candida utilis* in pineapple cannery effluent. Biotech. Bioeng. 26: 748-752.

Rale, V.B. 1984. SCP from pineapple (*Ananas sativa* Schutt.) cannery effluents. J.App. Microbiol. Biotech. 19: 106-109.

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. Translated and edited by M.O. Moss and J.E. Smith. Surrey University Press,London.

Rose, A.H. and J, S. Harrison. 1971. The Yeast, Vol. 2, p.432, 434. Academic Press Inc., New York.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Sell, J.L. , Ashraf, M. and Bales, G.L. 1981. Nutrition Reports. Int. 24, 229.

Senez, J.C. 1972. In Protein fron Hydrocarbon. Edited by H.G. de Pontanel. Academic press, London.

Soong, P. 1980. Production and development of *Chlorella* and *Spirulina* in Taiwan. In algae Biomass, pp.97-113. Edited by G. Shelef and C.J. Soeder. Elsevier/North-Holland Biochemical Press, Amsterdam.

Woodard, J.C. and Short, D.D. 1973. Toxicity of alkali treated soy protein in rats. J. Nut. 103(4): 569-574.

Worgan, J.T. 1976. Waste from crop plants as raw materials for conversion by fungi to food or livestock feed. In Food from Waste, pp. 23-41. Edited by G.G. Birch, K. J. Parker and J.T. Worgan. Applied Science Publishers Ltd., London.

Yiao, H. 1988. Single from Wastewater of Monosodium glutamate Manufacture. Process Biochem. 23(6) : 176-177.

Young, V.R. and Pellett, 1991. Protein evaluation, amino acid scoring and the Food and Drug Administration 's proposed food labeling regulations. J. Nutr. 121, 145-150.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.
สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

อาหารสูตร NRRL

ประกอบด้วย

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข.
วิธีการวิเคราะห์คุณลักษณะน้ำเสีย

1. ซีโอดี (APHA, AWWA and WPCF, 1985)

<u>วัสดุอุปกรณ์</u>

1. อุปกรณ์กลั่นไหลกลับ

- ขวดกลมขนาด 250 มิลลิลิตร
- เครื่องควบแน่น
- เตาให้ความร้อน (hot plate)

2. บิวเรต

<u>สารเคมี</u>

1. สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมตเข้มข้น 0.025 นอร์แมล

ละลายโพแทสเซียมไดโครเมต ($K_2Cr_2O_7$) ซึ่งอบแห้งที่ 103 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จำนวน 12.259 กรัมในน้ำกลั่น เติมกรดซัลฟามิก (NH_2SO_3H) 0.12 กรัม แล้วเจือจางจนได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

2. Sulfuric acid reagent

ละลายซิลเวอร์ซัลเฟต (Ag_2SO_4) 22 กรัม ในกรดซัลฟูริกเข้มข้น บรรจุขวดขนาด 1 ปอนด์ (2.65 ลิตร) เนื่องจากซิลเวอร์ซัลเฟตละลายยากมาก อาจต้องใช้เวลา 1-2 วัน จึงละลายหมด

3. สารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตเข้มข้น 0.10 นอร์แมล

3.1 การเตรียมสารละลาย

ละลายเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟต $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2.6H2O$ จำนวน 39 กรัม ในน้ำกลั่นเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 20 มิลลิลิตร ทำให้เย็นแล้วเติมน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร

3.2 การหาความเข้มข้นของสารละลาย

ปิเปตสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต (0.25 นอร์แมล) จำนวน 10 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เติม sulfuric acid reagent 30 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ให้เย็น ไทเทรตด้วยสารละลายเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟตเติมเฟอร์โรอิน 2-3 หยด เป็นอินดิเคเตอร์

$$\text{ความเข้มข้น (นอร์แมล)} = \frac{\text{ปริมาณสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมต (มล.)} \times 0.25}{\text{ปริมาณสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต (มล.)}}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. สารละลายเฟอร์โรอิน

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

5. ซิลเวอร์ซัลเฟต (Ag_2SO_4) ชนิดผง

6. เมอร์คิวรีซัลเฟต ($HgSO_4$) ชนิดผลึกบริสุทธิ์หรือเป็นผง ใช้เป็นตัวกำจัดอนุภาคคลอไรด์ (Cl^-) ในอัตราส่วน $HgSO_4$ ต่อ Cl^- = 10:1

7. กรดซัลฟามิก (Sulfamic acid) ใช้ในกรณีที่กำจัดไนไตรต์เท่านั้น

<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. ค่อยๆ เติม Sulfuric acid reagent 30 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันเพื่อละลายเมอร์คิวรีซัลเฟต ควรทำให้เย็นขณะเขย่า เพื่อหลีกเลี่ยงการสูญเสียของสารที่เป็นไอในตัวอย่าง (อาจแช่ในอ่างน้ำ)

5. กลั่นด้วยอุปกรณ์กลั่นไหลกลับประมาณ 2 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็น

6. ไทเทรตสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมตที่เกินพอ ด้วยสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต ใช้เฟอร์โรอินเป็นอินดิเคเตอร์ เมื่อถึงจุดยุติสีจะเปลี่ยนจากเขียวปนน้ำเงินไปเป็นสีน้ำตาลปนแดง

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

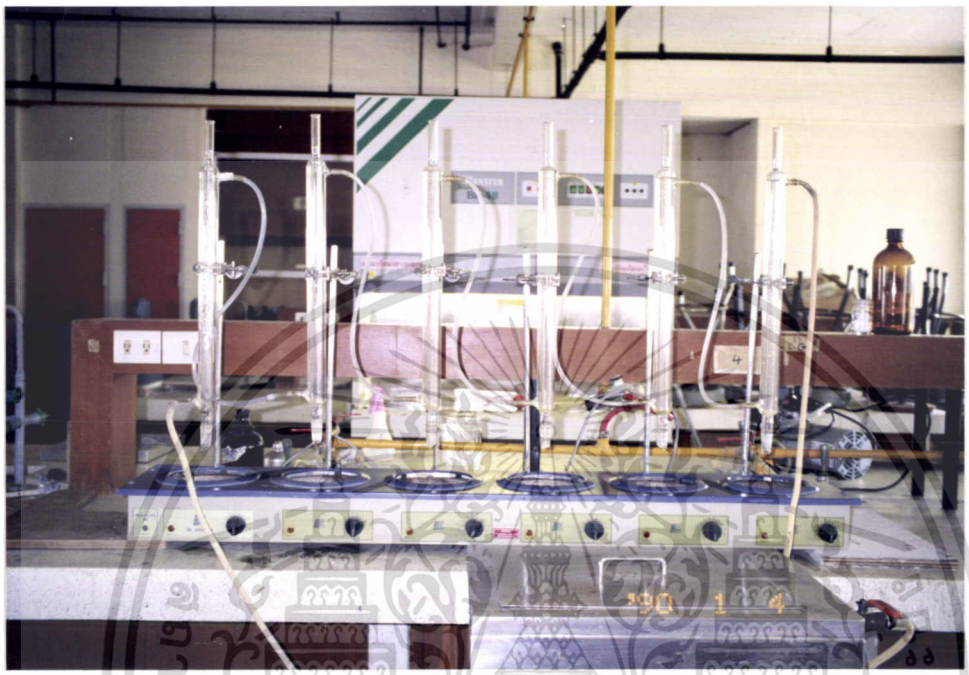
$$\text{ซีโอดี (มิลลิกรัมต่อลิตร)} = \frac{(A - B) \times N \times 8 \times 1,000}{\text{ปริมาณตัวอย่าง (มล.)}}$$

A คือ ปริมาณสารละลายเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้ไทเทรต blank

B คือ ปริมาณสารละลายเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้ไทเทรตตัวอย่าง

N คือ ความเข้มข้นของสารละลายเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟต (นอร์มอล)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปภาคผนวกที่ 1 อุปกรณ์กลั่นไหลกลับ

2. ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดและปริมาณโปรตีน โดยวิธี Kjeldahl method (A.O.A.C. , 1990)

วัสดุอุปกรณ์

1. ขวดย่อยโปรตีน(Kjeldahl flask) ขนาด 250-300 มิลลิลิตร
2. อุปกรณ์ให้ความร้อน(Heating mentle)
3. อุปกรณ์กลั่นโปรตีน(Semi-micro disstillation)
4. ขวดรูปชมพู่(Erlenmeyer flask)ขนาด 100 มิลลิลิตร
5. ขวดปรับปริมาตร(Volumetric flask) ขนาด 100 มิลลิลิตร
6. ปิเปต
7. บิวเรต
8. ลูกแก้ว
9. กระดาษกรอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารเคมี

1. โซเดียมซัลเฟต

2. เมอร์คิวรีซัลเฟต

ละลายผงเมอร์คิวรีออกไซด์จำนวน 10 กรัม ในกรดซัลฟูริกเข้มข้น จำนวน 12 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำ 92 มิลลิลิตร

3. กรดซัลฟูริกเข้มข้น

4. โซเดียมไฮดรอกไซด์ 60 กรัม และโซเดียมไธโอซัลเฟต 5 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

5. กรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 4

6. กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.02 นอร์แมล

7. อินดิเคเตอร์

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

วิธีการวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่างบนกระดาษกรองให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน ประมาณ 0.5-1.0 กรัม ห่อให้มิดชิด ใส่ลงในขวดย่อยโปรตีน

2. เติมโซเดียมซัลเฟต 2 กรัม และเมอร์คิวรีซัลเฟต 5 มิลลิลิตร

3.ใส่ลูกแก้ว

4. เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 20 มิลลิลิตร

5. ย่อยบนอุปกรณ์ให้ความร้อน จนกระทั่งได้สารละลายใส

6. ปล่อยทิ้งให้เย็น

7. ล้างบริเวณคอขวดด้วยน้ำกลั่นที่ต้มร้อนจนทั่ว

8. ย่อยต่อจนกระทั่งหมดควัน

9. ทิ้งให้เย็นแล้วถ่ายลงในขวดปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร ใช้น้ำกลั่นล้างขวดย่อยให้หมดสารละลายตัวอย่าง แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

10. จัดอุปกรณ์กลั่นรวมทั้งเปิดสวิทช์ไฟ และเปิดน้ำหล่อเย็นเครื่องควบแน่น

11. นำขวดรูปชมพู่ขนาด 100 มิลลิลิตร ซึ่งบรรจุกรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 4 ปริมาณ 5 มิลลิลิตร ผสมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร และเติมอินดิเคเตอร์ 1-2 หยดเรียบร้อยแล้วไปรองรับของเหลวที่กลั่นได้ โดยให้ส่วนปลายของอุปกรณ์ควบแน่นจุ่มลงในสารละลายกรดนี้

12. เติมสารละลายตัวอย่างปริมาณ 10 มิลลิลิตร ลงในช่องใส่ตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

13. เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 60 ปริมาณ 10 มิลลิลิตร ลงในช่องใส่ตัวอย่าง

14. กลั่นนานประมาณ 10 นาที

15. ไทเทรตสารละลายที่กลั่นได้ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.02 นอร์แมล จนกระทั่งสีของสารละลายจะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีม่วง

16. ทำ blank ตามข้อ 1-14 โดยไม่ใส่ตัวอย่าง

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

A คือ ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไทเทรตกับตัวอย่าง

B คือ ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไทเทรตกับ blank

W คือ น้ำหนักตัวอย่าง

N คือ ความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริก (นอร์แมล)

กรณีคิดเป็นปริมาณโปรตีน (ร้อยละ) คูณด้วย 6.25

รูปภาคผนวกที่ 2 อุปกรณ์ให้ความร้อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้ใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปภาคผนวกที่ 3 อุปกรณ์กลั่นโปรตีน

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 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทำให้เย็นในเดซิกเคเตอร์แล้วชั่งน้ำหนักที่แน่นอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ตวงตัวอย่าง 50 มิลลิลิตร หรือน้อยกว่า ใส่ลงในถ้วยระเหยที่ทราบน้ำหนักแน่นอน

3. นำไประเหยให้แห้งในอ่างไอน้ำ

4. อบให้แห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

5. ทำให้เย็นในเดซิกเคเตอร์ ประมาณ 45 นาที

6. ชั่งน้ำหนัก

$$\text{ของแข็งทั้งหมด (มิลลิกรัมต่อลิตร)} = \frac{\text{น้ำหนักของแข็ง(มิลลิกรัม)} \times 1{,}000}{\text{มิลลิลิตรตัวอย่าง}}$$

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

<u>วัสดุอุปกรณ์</u>

1. Glass fiber filter disks (Whatman GF/C, 5.5 ซม.)

2. Gooch crusible

3. เครื่องดูดสูญญากาศ

4. ตู้อบที่ควบคุมอุณหภูมิได้ที่ 103 องศาเซลเซียส

5. เดซิกเคเตอร์

6. เครื่องชั่งน้ำหนักชนิด 4 ตำแหน่ง

<u>วิธีการวิเคราะห์</u>

1. วางกระดาษกรองใน goodch crusible ผ่านน้ำกลั่นลงไปใช้เครื่องดูดอากาศ ดูดให้แห้ง นำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

2. ทำให้เย็นเท่าอุณหภูมิห้องในเดซิกเคเตอร์

3. ชั่งน้ำหนัก

4. นำ gooch crusible ที่เตรียมไว้ใส่ในเครื่องดูดสูญญากาศ ทำกระดาษกรองให้เปียกด้วยน้ำกลั่น เปิดเครื่องสูญญากาศ

5.วัดปริมาตรตัวอย่างสำหรับตัวอย่างที่มีสารแขวนลอยมากทำให้การกรองช้า ให้เลือกปริมาตรของตัวอยางที่ใช้ซึ่งจะเท่ากับ 14 มิลลิลิตรต่อลูกบาศก์เซ็นติเมตร เติมตัวอย่างลงไป gooch crusible แล้วกรอง

6. ล้างด้วยน้ำกลั่นครั้งละ 10 มิลลิลิตร 3 ครั้ง

7. ใช้เครื่องดูดอากาศดูดจนแห้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. นำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส

9. ทำให้เย็นในเดซิกเคเตอร์

10. ชั่งน้ำหนัก

$$\text{ปริมาณของแข็งแขวนลอยทั้งหมด} = \frac{\text{น้ำหนักของแข็ง (มิลลิกรัม)} \times 1{,}000}{\text{มิลลิลิตรตัวอย่าง}}$$

5. น้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugar) (Bernflelk, Colowick and Kaplawn ,1995)

อุปกรณ์

1. หลอดทดลอง ปิเปตต์

2. เครื่องผสมสารละลาย (vortex)

3. เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer)

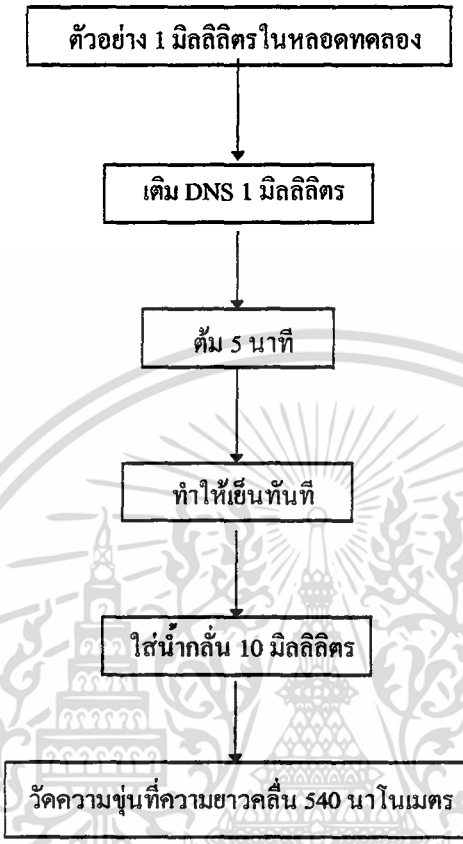
สารเคมี

1. สารละลาย 2,5 - Dinitrosalicylic acid (DNS)

ละลาย 2,5 - Dinitrosalicylic acid (DNS) 1.0 กรัม และโพแทสเซียมตาเทรต (COOK $(CHOH)_2$ $COONa.4H_2O$) 300 กรัม ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 2.0 โมลาร์ ปริมาตร 200 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น เก็บสารละลายในขวดสีชาหรือขวดทึบแสง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

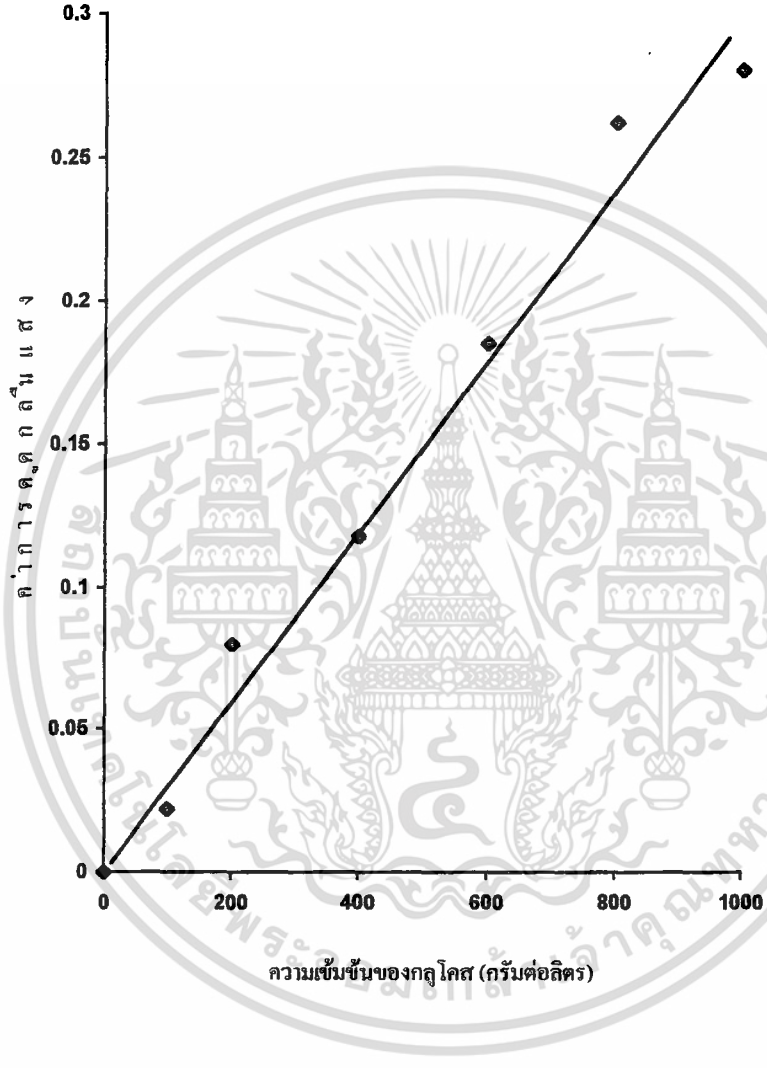
วิธีการวิเคราะห์



การทำกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส

โดยใช้น้ำตาลกลูโคสเข้มข้น 0, 100, 200, 400, 600, 800 และ 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการวิเคราะห์ตามวิธีการที่ได้กล่าวไปแล้วเขียนกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปภาคผนวกที่ 4 กราฟมาตรฐานของกลูโคส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค.
วิธีการหาน้ำหนักแห้งของเซลล์ยีสต์

การหาน้ำหนักแห้งของเซลล์ยีสต์

<u>วัสดุอุปกรณ์</u>

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

<u>วิธีการวิเคราะห์</u>

1. นำจานเพาะเชื้ออบที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส ประมาณ 12 ชั่วโมงแล้วนำออกใส่ในเดซิกเคเตอร์ เมื่อเย็นเท่าอุณหภูมิห้อง นำมาชั่งน้ำหนักที่แน่นอนด้วยเครื่องชั่งชนิดละเอียด ทำซ้ำจนน้ำหนักคงที่

2. เลี้ยงยีสต์ในอาหารที่ใช้ทดลองจนเซลล์เจริญสูงสุด นำเซลล์เจือจางด้วยน้ำกลั่น วัดค่าความขุ่นด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร ให้ได้ค่าความขุ่นเท่ากับ 0.2, 0.4, 0.6 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 ใส่ในเดซิกเคเตอร์ทิ้งให้เย็น แล้วชั่งน้ำหนักที่แน่นอนด้วยเครื่องชั่งละเอียด ทำซ้ำจนได้น้ำหนักคงที่

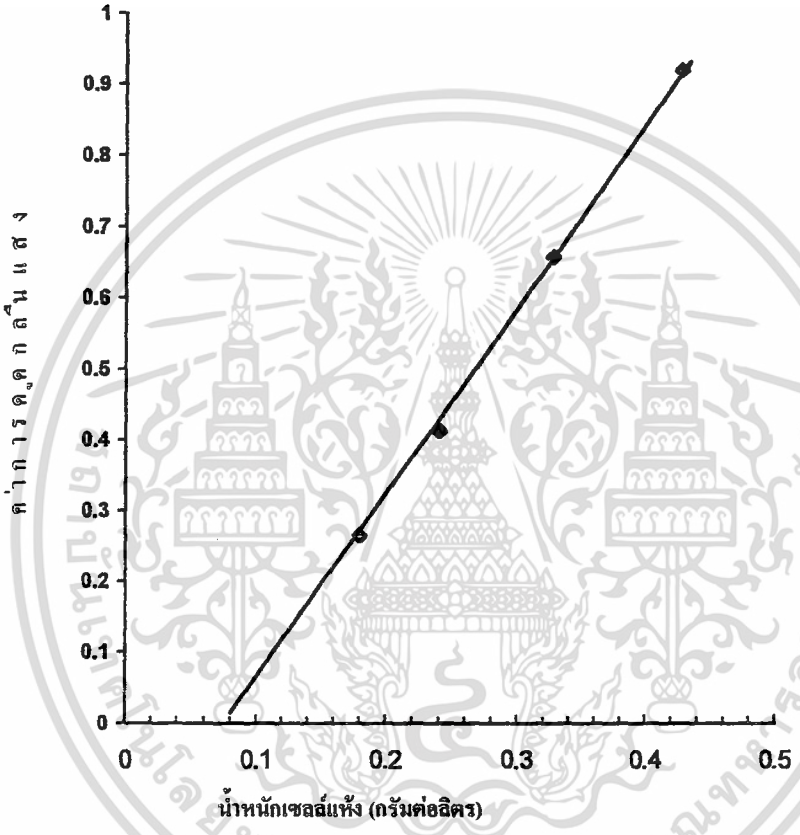
6. บันทึกค่าความขุ่นกับน้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้ (กรัมต่อลิตร) และเขียนกราฟเพื่อใช้เป็นกราฟมาตรฐานในการคำนวณหาน้ำหนักแห้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปภาคผนวกที่ 5 เครื่องปั่นเหวี่ยง

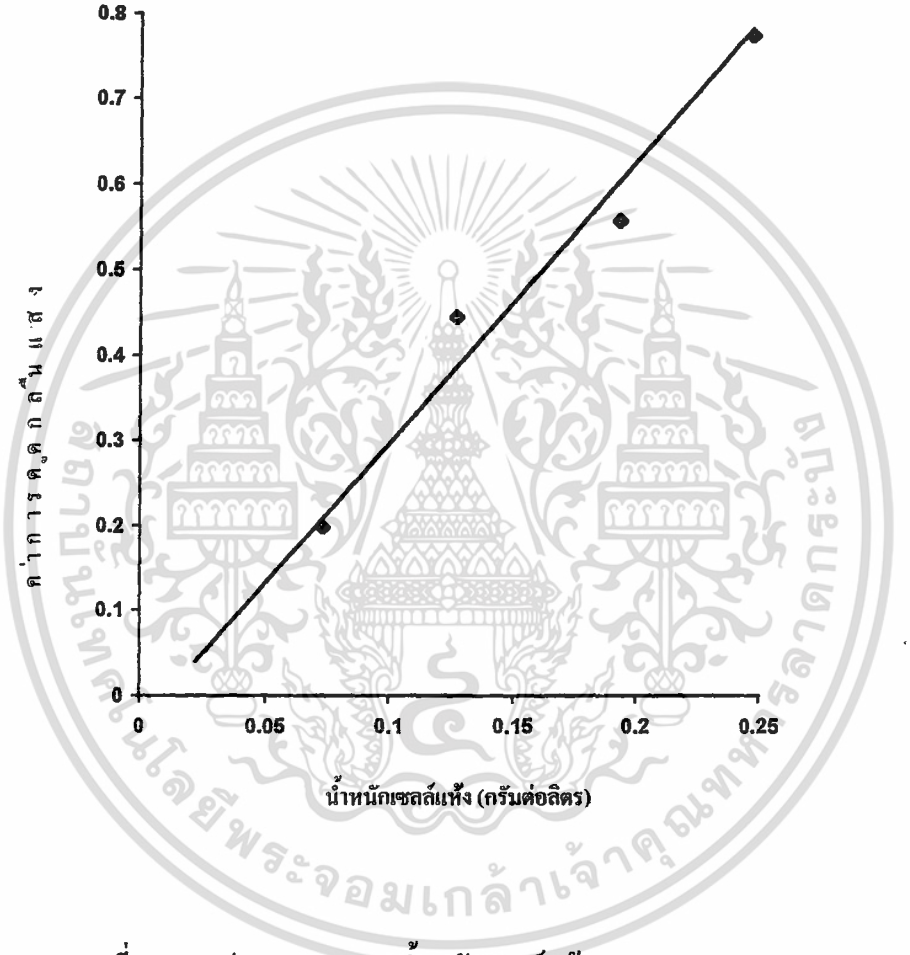
รูปภาคผนวกที่ 6 เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



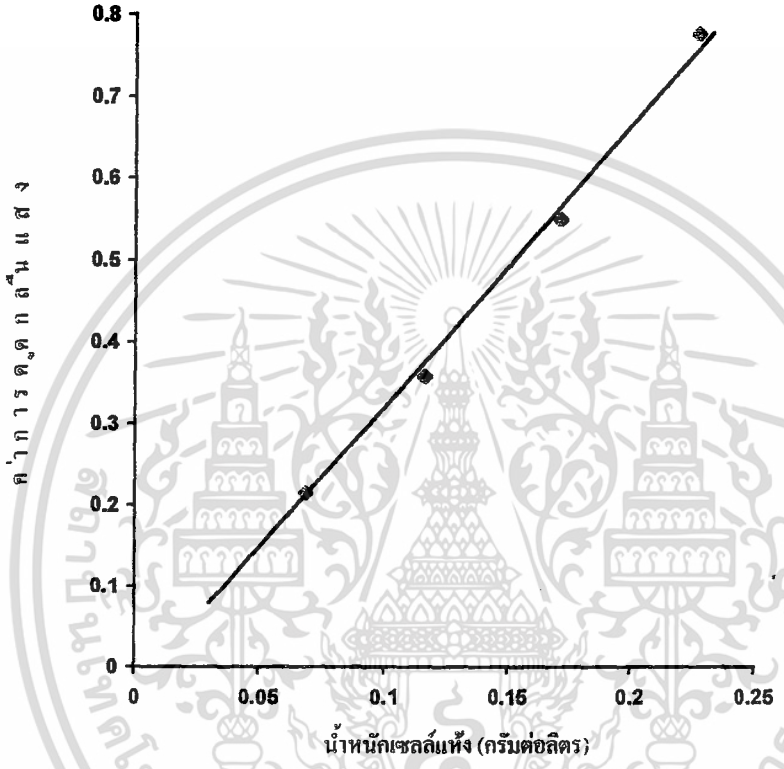
รูปภาคผนวกที่ 7 กราฟมาตรฐานของน้ำหนักเซลล์แห้งของ C. tropicalis ในน้ำล้างแผ่นมันฝรั่งที่ไม่เจือจาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



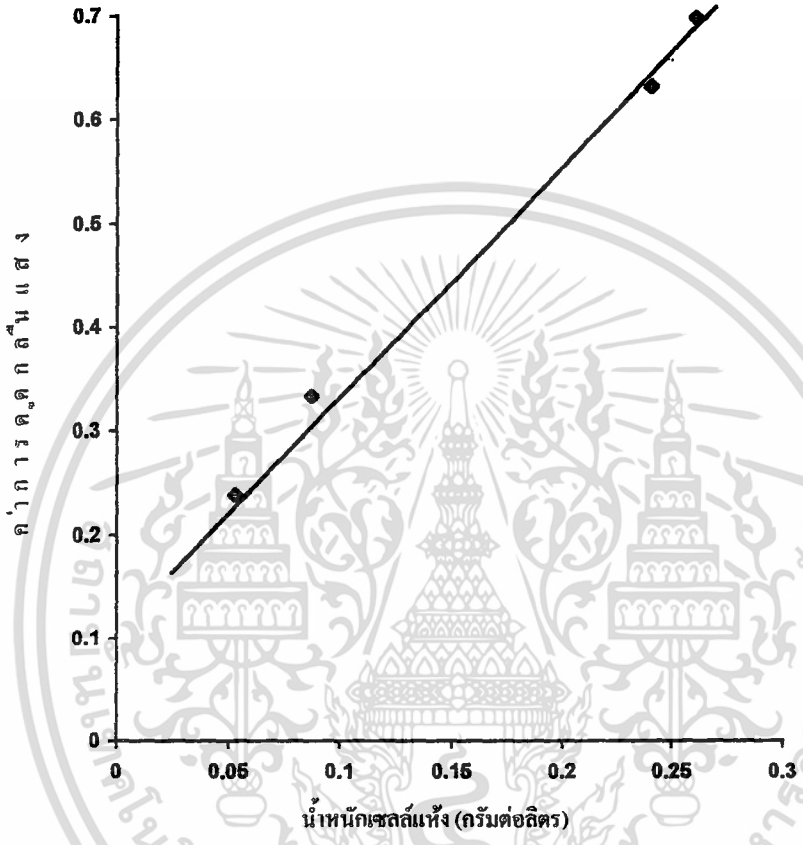
รูปภาคผนวกที่ 8 กราฟมาตรฐานของน้ำหนักเซลล์แห้งของ C. tropicalis ในน้ำล้างแผ่นมันฝรั่งที่เจือจางด้วยน้ำกลั่น 1 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



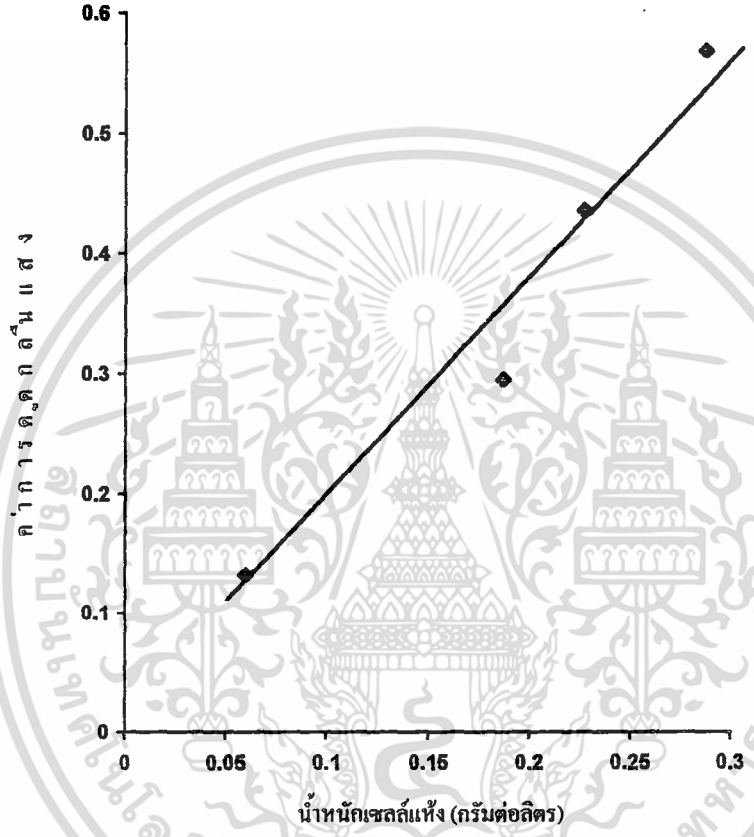
รูปภาคผนวกที่ 9 กราฟมาตรฐานของน้ำหนักเซลล์แห้งของ *C. tropicalis* ในน้ำล้างแผ่นมันฝรั่งที่เจือจางด้วยน้ำกลั่น 2 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



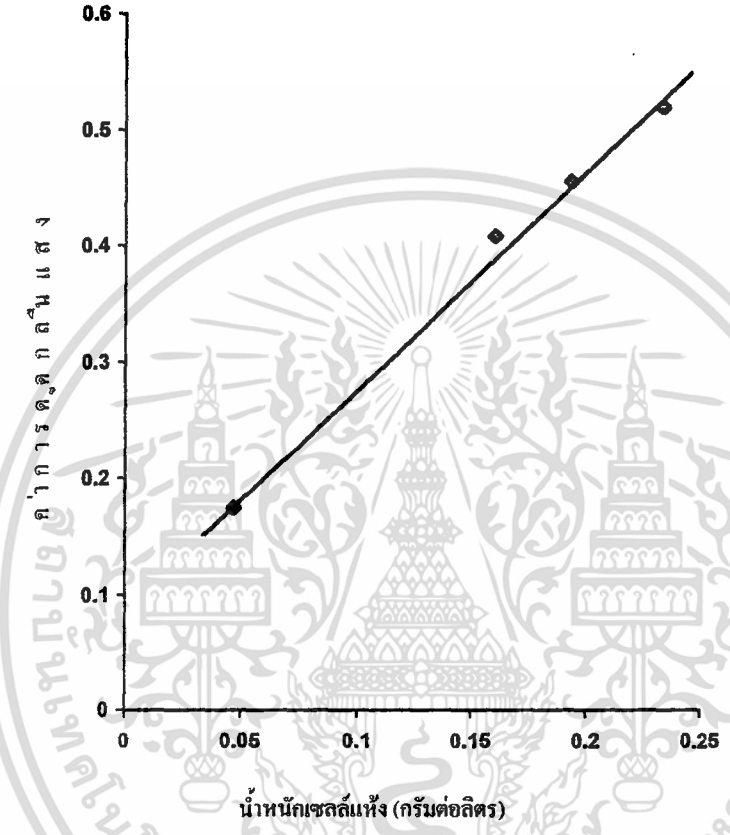
รูปภาคผนวกที่ 10 กราฟมาตรฐานของน้ำหนักเซลล์แห้งของ *C. tropicalis* ในน้ำล้างแผ่นมันฝรั่งที่ไม่เจือจางและปรับพีเอชเป็น 3.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปภาคผนวกที่ 11 กราฟมาตรฐานของน้ำหนักเซลล์แห้งของ *C. tropicalis* ในน้ำล้างแผ่นมันฝรั่งที่ไม่เจือจางและปรับพีเอชเป็น 4.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปภาคผนวกที่ 12 กราฟมาตรฐานของน้ำหนักเซลล์แห้งของ *C. tropicalis* ในน้ำล้างแผ่นมันฝรั่งที่ไม่เจือจางและปรับพีเอชเป็น 4.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง.

วิธีการวิเคราะองค์ประกอบของเซลล์ยีสต์

1. ปริมาณโปรตีน โดยวิธี Kjeldahl method (A.O.A.C., 1990)

ปฏิบัติตามภาคผนวก ข. ข้อ 2

2. การหาปริมาณไขมัน (A.O.A.C., 1990)

การหาปริมาณของไขมันใช้วิธี Soxhlet apparatus โดยมี petrolium ether เป็นตัวสกัดไม่ใช้ diethyl ether เพราะจะไปทำลาย Threobromine และ Caffeine ในตัวอย่าง

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 (phtroliumehter) ลงในขวดหาปริมาณไขมันประมาณ 150 มิลลิลิตร แล้ววางลงบนเตา

5. ประกอบชุดอุปกรณ์สกัดไขมัน พร้อมกับเปิดอุปกรณ์ควบแน่น และเปิดสวิตซ์ไฟให้ความร้อน

6. ใช้เวลาในการสกัดไขมันนานประมาณ 14 ชั่วโมง โดยปรับความร้อนให้หยดของสารตัวทำละลาย กลั่นตัวจากอุปกรณ์ควบแน่น ด้วยอัตราเร็ว 150 หยดต่อนาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

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

รูปภาคผนวกที่ 13 ชุดสกัดไขมัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การหาปริมาณความชื้น(A.O.A.C., 1990)

ใช้การอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 100±5 องศาเซลเซียส ทำให้เย็นในโถดูดความชื้นแล้วนำมาชั่งน้ำหนัก จนกระทั่งได้น้ำหนักคงที่

<u>วิธีการวิเคราะห์</u>

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

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

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

4. นำภาชนะดังกล่าวออกจากตู้อบ ปิดฝา แล้วนำไปใส่ในโถดูดความชื้น ทิ้งไว้จนเย็นชั่งน้ำหนักอีกครั้ง (W_3)

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

W_1 น้ำหนักภาชนะอลูมิเนียม (กรัม)

W_2 น้ำหนักภาชนะอลูมิเนียมรวมกับน้ำหนักสารตัวอย่างที่ไม่ผ่านการอบ (กรัม)

W_3 น้ำหนักภาชนะอลูมิเนียมรวมกับน้ำหนักตัวอย่างที่ผ่านการอบ (กรัม)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ.
ตารางการวิเคราะห์ทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 1 ความแตกต่างของมวลชีวภาพที่อัตราการเจือจางแตกต่างกัน

อัตราการเจือจาง	มวลชีวภาพ
1:0	0.635 a
1:1	0.352 b
1:2	0.317 b

*** ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 5 ซ้ำ ***

อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่ามีค่าไม่แตกต่างทางนัยสำคัญ $P < 0.01$

ตารางภาคผนวกที่ 2 ความแตกต่างของการลดลงของซีโอดีที่อัตราการเจือจางต่างกัน

อัตราการเจือจาง	การลดลงของซีโอดี (%)
1:0	54.38 a
1:1	32.28 b
1:2	30.74 b

*** ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ ***

อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่ามีค่าไม่แตกต่างทางนัยสำคัญ $P < 0.01$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 3 ความแตกต่างของมวลชีวภาพที่พีเอชเริ่มต้นต่างกัน

พีเอช	มวลชีวภาพ
3.0	0.590 c
3.5	0.706 c
4.0	1.012 b
4.5	1.212 a

*** ค่าจากการวิเคราะห์ 5 ซ้ำ ***

อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่ามีค่าไม่แตกต่างทางนัยสำคัญ P < 0.01

ตารางภาคผนวกที่ 4 ความแตกต่างของการลดลงของซีโอดีที่พีเอชเริ่มต้นต่างกัน

พีเอช	การลดลงของซีโอดี (%)
3.0	44.05 c
3.5	59.22 c
4.0	73.02 b
4.5	78.97 a

*** ค่าจากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ ***

อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่ามีค่าไม่แตกต่างทางนัยสำคัญ P < 0.01

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้