สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การผลิตโปรตีนเซลล์เดียวของเห็ดนางฟ้าภูฐาน (*Pleurotus* sp. strain Bhutan) จากการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว

T033518

นางสาวผ่องฉวี เกษมโกสินทร์
นางสาวสุทธิสา ลาภเพิ่มทรัพย์

โครงงานพิเศษนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2541

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 33518
วัน, เดือน, ปี 13 ส.ค. 2542

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Single Cell Protein Production of *Pleurotus* sp. strain Bhutan in Submerged Culture

Miss Phongchawee Kasamegosin

Miss Suttisa Lappermsap

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

1998

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การผลิตโปรตีนเซลล์เดียวของเห็ดนางฟ้าภูฐาน (*Pleurotus* sp. strain Bhutan) จากการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว

โดย นางสาวผ่องฉวี เกษมโกสินทร์
นางสาวสุทธิสา ลาภเพิ่มทรัพย์

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

อาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์มงคล เพ็ญสายใจ

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้นับโครงงานพิเศษฉบับนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

_____ หัวหน้าภาควิชาชีววิทยาประยุกต์
(รศ.ดร. พรรณี ฐิตาภิชิต)

คณะกรรมการสอบโครงงานพิเศษ

_____ ประธานกรรมการ
(รศ.ดร. ดุษณี ธนะบริพัฒน์)

_____ กรรมการ
(อาจารย์วีนา ชูโชติ)

_____ กรรมการ
(อาจารย์มงคล เพ็ญสายใจ)

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การผลิตโปรตีนเซลล์เดียวของเห็ดนางฟ้าภูฐาน (*Pleurotus* sp. strain Bhutan) จากการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว

นักศึกษา นางสาวผ่องฉวี เกษมโกสินทร์
นางสาวสุทธิสา ลาภเพิ่มทรัพย์
อาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์มงคล เพ็ญสายใจ
ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์
ปีการศึกษา 2541

บทคัดย่อ

การเพาะเลี้ยงเส้นใยของเห็ดนางฟ้าภูฐาน (*Pleurotus* sp. strain Bhutan) ในอาหารเหลว YM สูตรดัดแปลง พบว่าแหล่งธาตุอาหารและความเข้มข้นของคาร์บอนกับไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ด คือ กากน้ำตาลและ $(NH_4)_2SO_4$ ที่ความเข้มข้น 7 เปอร์เซ็นต์และ 1.4 เปอร์เซ็นต์(น้ำหนักต่อปริมาตร) ตามลำดับ อัตราส่วนระหว่างเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนเป็น 5 : 1 และต้องการ KH_2PO_4 ที่ความเข้มข้น 0.35 เปอร์เซ็นต์ในการเจริญ ระดับพีเอชเริ่มต้นของอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญ คือ 6.5 ทำการเพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าด้วยความเร็ว 250 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 7 วัน วิเคราะห์ได้ปริมาณโปรตีน 52.97 เปอร์เซ็นต์ และได้มวลชีวภาพ 8.6350 กรัมต่อลิตร โดยคิดเป็นปริมาณโปรตีนต่อมวลชีวภาพ(กรัมโปรตีนต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) 4.5741 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title	Single cell protein production of *Pleurotus* sp. strain Bhutan in submerged culture
Name	Miss Phongchawee Kasamegosin Miss Suttisa Lappermsap
Special Project Advisor	Mr. Mongkol Phensaijai
Department	Applied Biology
Acedemic Year	1998

ABSTRACT

Grey oyster mushroom,(*Pleurotus* sp. strain Bhutan) grew well with modified YM medium in submerged cultured . Mollasses 8 %(W/V) and $(NH_4)_2SO_4$ 1.4 %(W/V) were effectively utilized as carbon and nitrogen source . The C : N ratio of the medium was approximately 5 : 1 . KH_2PO_4 0.35 %(W/V) was required as macronutrient for growth . The optimum conditions for mycelial growth were at initial pH 6.5 , 30 C ,250 rpm with incubation period of 7 days . There was 52.97 % true protein content of mushroom mycelium from SCP production . The biomass of 8.635 g/l were obtained . The highest protein content calculated from biomass of *Pleurotus* sp. strain Bhutan was 4.5741 g .

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษฉบับนี้ จัดทำขึ้นตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต จนสำเร็จลุล่วงมาได้ ทางคณะผู้จัดทำใคร่ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์มงคล เพ็ญสายใจ ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษา ตลอดการทำโครงงาน ที่ได้กรุณาให้ความรู้ ข้อเสนอแนะ และความช่วยเหลือต่าง ๆ รวมถึงกราบขอบพระคุณ รศ.ดร. ดุษณี ธนะบริพัฒน์ และ อาจารย์วีนา ชูโชติ ผู้เป็นประธานกรรมการและกรรมการสอบโครงงานพิเศษ ที่ได้กรุณาช่วยตรวจสอบแก้ไขทางด้านภาษาและวิชาการให้แก่โครงงานพิเศษฉบับนี้ เจ้าหน้าที่ทางห้องปฏิบัติการทุกท่านที่ได้ให้ความสะดวกในการใช้อุปกรณ์และสารเคมีมาโดยตลอด

เบื้องหลังความสำเร็จนี้ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านที่ได้ให้ความรู้ บิดา มารดา ขอบคุณเพื่อน ๆ และน้อง ๆ ทุกท่านที่ได้ให้ความเอื้อเฟื้อและให้กำลังใจระหว่างการทำโครงงานจนกระทั่งสำเร็จด้วยดี

คณะผู้จัดทำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญรูป	ช
ภาคผนวก	ฌ
บทที่	
1. บทนำ	1
1.1 วัตถุประสงค์	2
1.2 ขอบเขตการศึกษา	2
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
2. การตรวจเอกสาร	
2.1 คุณค่าทางอาหารของเห็ด	3
2.2 ลักษณะทางชีววิทยาของเห็ดนางฟ้า	3
2.3 เห็ดนางฟ้าภูฐาน	4
2.4 คุณค่าทางอาหารของเห็ดนางฟ้าภูฐาน	5
2.5 การผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากเห็ด	6
2.6 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว	9
2.7 ประเภทของจุลินทรีย์ที่ใช้ผลิตโปรตีนเซลล์เดียว	9
2.8 คุณค่าของโปรตีนเซลล์เดียวสำหรับสัตว์	16
2.9 วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว	20
2.10 การยอมรับของผู้บริโภคและความเป็นพิษของโปรตีนเซลล์เดียว	24
3. อุปกรณ์และวิธีการ	
3.1 วัสดุและอุปกรณ์	26
3.2 วิธีการทดลอง	26
3.3 การวิเคราะห์	29
4. ผลการทดลอง	34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

5. สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ 45

เอกสารอ้างอิง 59

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1.	แสดงปริมาณโปรตีนและไขมันเปรียบเทียบระหว่างเส้นใยเห็ดกับดอกเห็ด	8
2.	ปริมาณความต้องการอาหารโปรตีนของสัตว์เลี้ยง	17
3.	แหล่งอาหารบางชนิดที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว	21
4.	ส่วนประกอบของกากน้ำตาล	22
5.	ส่วนประกอบของน้ำทิ้งจากโรงงานทำกระดาษ	23
6.	ส่วนประกอบของน้ำทิ้งจากโรงงานมันฝรั่ง	23
7.	แสดงมวลชีวภาพและปริมาณโปรตีนของเส้นใยเห็ดที่ระดับพีเอชต่าง ๆ	34
8.	แสดงมวลชีวภาพและปริมาณโปรตีนของเส้นใยเห็ดในอาหารที่ใช้ แหล่งคาร์บอน : ไนโตรเจน เป็น กากน้ำตาล : แอมโมเนียมซัลเฟต	38
9.	แสดงมวลชีวภาพและปริมาณโปรตีนของเส้นใยเห็ดในอาหารที่ใช้ แหล่งคาร์บอน : ไนโตรเจน เป็น น้ำตาลซูโครส : แอมโมเนียมซัลเฟต	39
10.	แสดงมวลชีวภาพและปริมาณโปรตีนของเส้นใยเห็ดในอาหารที่ใช้ แหล่งคาร์บอน : ไนโตรเจน เป็น กากน้ำตาล : โพแทสเซียมไนเตรต	40
11.	แสดงมวลชีวภาพและปริมาณโปรตีนของเส้นใยเห็ดในอาหารที่ใช้ แหล่งคาร์บอน : ไนโตรเจน เป็น น้ำตาลซูโครส : โพแทสเซียมไนเตรต	41
12.	แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณโปรตีนต่อมวลชีวภาพ (แหล่งอาหารกากน้ำตาล : แอมโมเนียมซัลเฟต)	45
13.	แสดงการเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนต่อมวลชีวภาพ	46
14.	แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณโปรตีนต่อมวลชีวภาพ (แหล่งอาหารน้ำตาลซูโครส : แอมโมเนียมซัลเฟต)	47
15.	แสดงการเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนต่อมวลชีวภาพ	48
16.	แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณโปรตีนต่อมวลชีวภาพ (แหล่งอาหารกากน้ำตาล : โพแทสเซียมไนเตรต)	49
17.	แสดงการเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนต่อมวลชีวภาพ	50
18.	แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณโปรตีนต่อมวลชีวภาพ (แหล่งอาหารน้ำตาลซูโครส : โพแทสเซียมไนเตรต)	51
19.	แสดงการเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนต่อมวลชีวภาพ	52

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

	หน้า
20. แสดงปริมาณโปรตีนต่อมวลชีวภาพสูงสุด	53
21. วิเคราะห์ความแปรปรวน	53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1.	การเจริญของเชื้อ *Pleurotus* sp. Strain Bhutan บนอาหารแข็ง	28
2.	การเจริญของเชื้อ *Pleurotus* sp. Strain Bhutan โดยการหมักในอาหารเหลว	28
3.	เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์	31
4.	สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ค่าโปรตีน (true protein)	32
5.	เครื่องวัดค่าพีเอช	32
6.	ตู้อบลมร้อน	33
7.	เดซิกเคเตอร์	33
8.	กราฟแสดงมวลชีวภาพ(กรัม/ลิตร) และปริมาณโปรตีน(%)ของเส้นใย ในอาหารที่ระดับพีเอชต่างๆ	35
9.	กราฟแสดงค่าปริมาณโปรตีนต่อมวลชีวภาพ(กรัมโปรตีน/กรัมน้ำหนักแห้ง) ของเส้นใยในอาหารที่ระดับพีเอชต่าง ๆ	36
10.	กราฟแสดงมวลชีวภาพ(กรัม/ลิตร) ของเส้นใยเห็ดในอาหารสูตรต่าง ๆ	42
11.	กราฟแสดงปริมาณโปรตีน(% true protein) ของเส้นใยเห็ดในอาหารสูตรต่าง ๆ	43
12.	กราฟแสดงปริมาณโปรตีนต่อมวลชีวภาพ(กรัมโปรตีน/กรัมน้ำหนักแห้ง) ในอาหารสูตรต่าง ๆ	44

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

		หน้า
ภาคผนวก ก	กราฟแสดงค่า Optical density ของปริมาณโปรตีนมาตรฐาน	57
ภาคผนวก ข	แสดงสูตรอาหาร YM (Yeast Malt Broth)	58

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

โปรตีนเซลล์เดียวหรือเขียนย่อว่า SCP (Single Cell Protein) คือโปรตีนจากจุลินทรีย์ ได้แก่ สาหร่าย เชื้อรา ยีสต์ และแบคทีเรีย ไม่จำเป็นต้องเป็นจุลินทรีย์ที่มีเซลล์เดียว (unicellular cell) เช่น แบคทีเรีย ยีสต์และสาหร่ายบางชนิด แต่รวมถึงจุลินทรีย์ที่มีหลายเซลล์ (multicellular cell) เช่น สาหร่าย และเชื้อรา แต่โดยทั่วไปก็ยังนิยมเรียกว่าโปรตีนเซลล์เดียว (ดวงพร, 2530)

โปรตีนเซลล์เดียวเป็นที่น่าสนใจมาก มีสาเหตุเนื่องมาจากประชากรโลกมีจำนวนเพิ่มมากขึ้น ในขณะที่แหล่งพื้นที่ในการเพาะปลูกมีจำนวนจำกัด ดังนั้นผลผลิตทางการเกษตรจึงไม่เพียงพอต่อความต้องการของผู้บริโภค ทำให้เกิดปัญหาการขาดแคลนอาหารโปรตีน จึงจำเป็นต้องมีการแสวงหาแหล่งโปรตีนอื่นทดแทนซึ่งมีคุณค่าเทียบเท่า จึงมีการศึกษาถึงการใช้จุลินทรีย์เป็นแหล่งโปรตีนเนื่องจากมีศักยภาพที่จะพัฒนามาเป็นแหล่งอาหารโปรตีนทดแทนในรูปโปรตีนเซลล์เดียวโดยกระบวนการผลิตทางชีวภาพที่เหมาะสมได้ดี จุลินทรีย์ให้ผลผลิตสูงและสามารถเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็ว ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็นหลายชนิด และวิตามินต่าง ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง วิตามินบี 12

เห็ดจัดเป็นอาหารที่มีโปรตีนสูงชนิดหนึ่งและเป็นที่นิยมรับประทาน เส้นใยของเห็ดปรากฏว่าสามารถใช้เป็นแหล่งของโปรตีนได้ดีเช่นกัน เนื่องจากเป็นที่รู้กันว่าเห็ดสามารถรับประทานได้ ผลิตภัณฑ์จากเส้นใยเห็ดจึงมีความเสี่ยงต่อการเป็นพิษน้อยมาก และเส้นใยเห็ดมีความทนทานต่อการแปรผันได้ดี จึงได้มีการศึกษาการนำเทคโนโลยีการหมักในอาหารเหลวมาใช้กับการผลิต SCP จากเส้นใยเห็ด โดยเฉพาะการนำมาใช้กับการเลี้ยงเส้นใยของเห็ดหลายชนิดเพื่อการค้า ในโครงงานพิเศษนี้มีวัตถุประสงค์ในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางฟ้าภูฐาน (*Pleurotus* sp. strain Bhutan) และศึกษาเปรียบเทียบหาแหล่งธาตุอาหารรวมถึงอัตราส่วนความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่เหมาะสม เพื่อให้ได้ปริมาณโปรตีนสูงสุด โดยอาศัยการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวเพื่อเป็นการเพิ่มแหล่งอาหารโปรตีนแก่ผู้บริโภคอีกทางหนึ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.1 วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากเส้นใยเห็ดนางฟ้าภูฐานในอาหารเหลว
2. เพื่อศึกษาปัจจัยและสภาวะต่างๆที่เหมาะสมเพื่อให้ได้ปริมาณและโปรตีนจากเส้นใยเห็ดสูงสุด โดยปัจจัยต่าง ๆ ที่นำมาศึกษา ได้แก่ พีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ อัตราส่วนที่เหมาะสมของแหล่งแร่ธาตุจำเป็นในอาหารสูตรดัดแปลงคือ แหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจน

1.2 ขอบเขตการศึกษา

1. ศึกษาเปรียบเทียบผลของพีเอชในอาหารเหลวที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางฟ้าภูฐาน
2. ศึกษาเปรียบเทียบผลของความเข้มข้นและแหล่งธาตุอาหาร ของอาหารสูตรดัดแปลงที่เหมาะสมต่อการเจริญเพื่อให้ได้ปริมาณโปรตีนสูงสุด โดยแหล่งคาร์บอนได้แก่ กากน้ำตาลและน้ำตาลซูโครส แหล่งไนโตรเจน ได้แก่ แอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$) และโพแทสเซียมไนเตรต (KNO_3)

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. แนวทางในการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดเพื่อผลิตเป็นโปรตีนเซลล์เดียว โดยใช้เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว
2. การศึกษาเพื่อนำไปสู่การเพิ่มแหล่งอาหารโปรตีนที่มีประสิทธิภาพสูง เพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
การตรวจเอกสาร

2.1 คุณค่าทางอาหารของเห็ด

จากการวิเคราะห์คุณค่าทางอาหารของเห็ดหลายชนิด พบว่า เห็ดจัดเป็นอาหารที่มีปริมาณของโปรตีนค่อนข้างสูง เมื่อเปรียบเทียบกับพืชผัก นอกจากนี้เห็ดยังมีกรดอะมิโน (amino acid) เป็นส่วนประกอบ มากกว่า 20 ชนิด ในปริมาณที่แตกต่างกัน กรดอะมิโนเหล่านี้มีอยู่ 9 ชนิด ที่มีความสำคัญต่อร่างกาย และร่างกายของมนุษย์ไม่สามารถสร้างขึ้นได้ ได้แก่ lysine , methionine tryptophane , threonine , valine , leucine , isolucine , cystine และ phenylalanine นอกจากนี้ เห็ดยังมีคุณค่าทางอาหารอีกหลายอย่าง ได้แก่ ไขมัน ฟอสฟอรัส เหล็ก Thiamine , Riboflavin และ Niacine เห็ดจัดเป็นอาหารที่มีปริมาณของ แคลอรี่ คาร์โบไฮเดรท และแคลเซียมต่ำ แต่มีปริมาณ ascorbic acid (วิตามินซี) สูงในเห็ดสกุล *Agaricus* (เห็ดแชมปิญอง) และมี ergosterine (วิตามินดี)สูงในเห็ดสกุล *Lentinus* (เห็ดหอม) และเห็ดสกุล *Volvariella* (เห็ดฟาง) และเห็ดยังมีราคาถูกกว่าเนื้อสัตว์มาก หลายชนิดมีสรรพคุณทางยารักษาโรคด้วย (ปัญญา,2533) ส่วนปริมาณโปรตีนและคุณค่าทางอาหารของเห็ดแต่ละชนิดก็จะแตกต่างกัน

2.2 ลักษณะทางชีววิทยาของเห็ดนางฟ้า

1. **การจำแนกเห็ดนางฟ้า** (Taxonomy)

ชื่อวิทยาศาสตร์	:	*Pleurotus sajor-caju*
ชื่อสามัญ	:	เห็ดนางฟ้า
Class	:	Basidiomycetes
Subclass	:	Holobasidiomycetidae
Order	:	Agaricales
Family	:	Tricholomataceae
Genus	:	Pleurotus
Species	:	Sajor-caju

2. **ลักษณะทางสัณฐานวิทยา**

เห็ดนางฟ้าจัดเป็นเห็ดที่อยู่ในสกุลเดียวกับเห็ดนางรมและเห็ดเป๋าฮื้อ แต่เห็ดนางฟ้าจะมีหมวกดอกหนาและเนื้อแน่นกว่าเห็ดนางรม ลักษณะของดอกทั่ว ๆ ไป ประกอบด้วยส่วนต่าง ๆ ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. **หมวกดอก** (Cap) หมวกดอกจะมีเนื้อแน่น และมีสีคล้ำคล้ายเห็ดเป๋าฮื้อ แต่สีของหมวกดอกจะจางกว่า หมวกดอกจะมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3-6 นิ้ว ดอกอาจจะออกมาเป็นดอกเดี่ยว ๆ หรือเป็นกระจุกก็ได้

2. **ก้านดอก** (Stalk) ก้านดอกของเห็ดนางฟ้าจะเป็นเนื้อเดียวกับหมวกดอก คล้ายเห็ดนางรม แต่มีเนื้อแน่นสีขาว และไม่มีวงแหวนรอบก้านดอก ถ้าเห็ดนางฟ้าเจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติตามขอนไม้ ดอกเห็ดจะมีลักษณะเรียงรายลดหลั่นกันเป็นชั้น ๆ ก้านดอกจะสั้นมาก

3. **ครีบดอก** (Gills) ครีบดอกของเห็ดนางฟ้าจะมีสีขาว ยาวตลอด และบริเวณครีบดอกจะเป็นแหล่งสร้างสปอร์ของเห็ดนางฟ้า

4. **เส้นใยของเห็ดนางฟ้า** (Mycelium) เส้นใยจะมีลักษณะค่อนข้างละเอียดและมีสีขาวมากกว่าเห็ดนางรมเล็กน้อย การเจริญเติบโตของเส้นใยจะมีลักษณะคล้ายเห็ดนางรม

2.3 เห็ดนางฟ้าภูฐาน

ในปัจจุบัน ได้มีการผสมพันธุ์และปรับปรุงพันธุ์ เพื่อให้ได้เห็ดพันธุ์ดี ให้ผลผลิตสูงอยู่ตลอดเวลา รวมทั้งการนำพันธุ์จากต่างประเทศเข้ามาทดลองเพาะในประเทศไทย พบว่า เห็ดนางฟ้าภูฐานที่นำมาจากประเทศภูฐาน ประเทศอินเดีย จัดเป็นพันธุ์ที่ดีพันธุ์หนึ่ง เห็ดพันธุ์นี้มีข้อดีหลายประการคือ

1. เส้นใยของเห็ดนางฟ้าภูฐานเจริญเติบโตได้ดีในอาหารวุ้นเช่น พี.ดี.เอ.(P.D.A.) ที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อเห็ดชนิดอื่น ๆ โดยเฉพาะอาหารวุ้นที่ผสมถั่วเหลือง หรือถั่วเขียวแล้วเส้นใยจะเจริญเติบโตได้ดีมาก

2. เส้นใยเห็ดนางฟ้าภูฐานเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วในเมล็ดธัญพืชที่ทำหัวเชื้อ ในระยะแรกเส้นใยจะเดินบาง ๆ และจะหนาขึ้นเมื่อเส้นใยเดินเต็มขวดเมล็ดธัญพืช

3. เห็ดนางฟ้าภูฐาน จัดเป็นพันธุ์ที่ออกดอกเร็ว หลังจากเขี่ยหัวเชื้อลงปุ๋ยหมักจะใช้เวลาประมาณ 2-3 สัปดาห์ ก็เจริญเต็มถุงก้อนเชื้อและสามารถเปิดถุงให้ออกดอกได้ นอกจากนี้ช่วงห่างในการเก็บผลผลิตจะสั้น กล่าวคือ หลังจากเก็บผลผลิตแล้ว เห็ดจะพักตัว 5-7 วันเท่านั้น ก็จะออกดอกและเก็บผลผลิตรุ่นต่อไปได้

4. เห็ดนางฟ้าภูฐานมีประสิทธิภาพในการเปลี่ยนอาหารที่อยู่ในวัสดุเพาะมาใช้ในการเจริญเติบโตได้สูงมาก นอกจากนี้ยังมีความต้านทางต่อราเขียว และราดำได้ดี จึงทำให้ก้อนเชื้อมีโอกาสเสียน้อยลง

5. เห็ดนางฟ้าภูฐาน เป็นเห็ดที่มีรสชาติอร่อย เหมือนเห็ดนางรม มีกลิ่นหอม รสหวานและมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความกรอบ เห็ดนางฟ้าภูฐานสามารถเก็บเอาไว้ได้นานกว่าเห็ดนางรม โดยเฉพาะถ้าเก็บไว้ในตู้เย็นจะเก็บเอาไว้ได้นาน 3-4 วัน

6. เห็ดนางฟ้าภูฐาน ให้ผลผลิตตอบแทนสูงกว่าเห็ดที่อยู่ในสกุลเดียวกับเห็ดนางรมพันธุ์อื่นๆ และโอกาสที่ก้อนเชื้อเห็ดจะเสียมีน้อย นอกจากนี้ ยังสามารถเพาะในวัสดุชนิดต่าง ๆ ได้อย่างดี และสามารถเพาะได้ทุกฤดูกาล

2.4 คุณค่าทางอาหารของเห็ดนางฟ้า

เห็ดนางฟ้าประกอบด้วยคุณค่าทางอาหาร ดังต่อไปนี้

1. ปริมาณของธาตุอาหาร (Nutrients) เห็ดนางฟ้ามีปริมาณธาตุอาหารหลายอย่าง ดังนี้

แคลเซียม	(Ca)	20	มก./100 กรัม
ฟอสฟอรัส	(P)	760	มก./100 กรัม
โพแทสเซียม	(K)	3,260	มก./100 กรัม
เหล็ก	(Fe)	124	พีพีเอ็ม
แคดเมี่ยม	(Cd)	0.3	พีพีเอ็ม
สังกะสี	(Zn)	12.0	พีพีเอ็ม
ทองแดง	(Cu)	12.2	พีพีเอ็ม
ตะกั่ว	(Pb)	3.2	พีพีเอ็ม

2. ปริมาณของกรดอะมิโน (amino acid) ปริมาณของกรดอะมิโนคำนวณในหน่วยมิลลิกรัมต่อกรัมของ Crude protein nitrogen

Isoleucine	78.4
Leucine	68.1
Lysine	73.5
Methionine + Cystine	62.7
Phenylolanine + Tyrosine	137.8
Threonine	88.0
Tryptophan	91.6
Valine	76.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 การผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากเห็ด

การเจริญของเส้นใยเห็ดจากขบวนการหมักในอาหารเหลวจะเป็นลักษณะเฉพาะคือ เส้นใยจะเจริญในรูป pellet ขนาดใหญ่ ทั้งนี้ก็ขึ้นอยู่กับแหล่งอาหาร พีเอช ความหนืด และปริมาณการให้อากาศ

ส่วนการเจริญของโคโลนีบนอาหารแข็งก็เหมือนกับเห็ดราชนิดอื่น ๆ ซึ่งเส้นใย (hypha) เจริญจากจุดศูนย์กลางที่ได้จากการถ่ายเชื้อ แต่อัตราการเจริญบนอาหารแข็งของเชื้อเห็ดส่วนมากจะเจริญช้ากว่าเชื้อรา ขึ้นกับแบบการเจริญที่เห็ดนั้น ๆใช้ด้วย

ลักษณะทางกายภาพโปรตีนเซลล์เดียวของเห็ด จะแตกต่างจากแบคทีเรีย หรือราบางชนิด ระหว่างขบวนการหมัก เส้นใยสร้างรูปแบบเป็นเพลเลทที่มีขนาดแตกต่างกัน โดยอยู่ในช่วง 1-20 มิลลิเมตร จากการเจริญในฟลาสก์ที่เขย่าด้วยความเร็วรอบเหมาะสม แต่ pellet ขนาดใหญ่จะมีผลยับยั้งอัตราการเจริญเติบโต และความสามารถในการผลิตของกระบวนการหมัก โดยพื้นผิวเซลล์มีการถ่ายเทอากาศและสารอาหารต่อหน่วยปริมาตรลดลง

ขนาดอายุและภาวะของหัวเชื้อที่เหมาะสมมีผลต่ออัตราการเจริญ ความสดใหม่ของเส้นใยเห็ดที่ใช้มีความสำคัญและจำเป็นเพื่อให้ได้ผลผลิตที่ดีที่สุด

อาหารที่ใช้สำหรับการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ด

เชื้อเห็ดแต่ละชนิดมีความต้องการแร่ธาตุอาหารที่เหมาะสมแตกต่างกันไป แต่ไม่ว่าจะเป็นอาหารชนิด Synthetic defined media, Complex media หรือ การใช้กากของเสียเป็นแหล่งวัตถุดิบ หลักในการเตรียมอาหารให้มีสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของเส้นใยในการเพาะเลี้ยงได้แก่

1. แหล่งไนโตรเจนและคาร์บอนที่ความเข้มข้นสูงมีความจำเป็นเพื่อให้ได้ผลผลิต(มวลชีวภาพ) สูง แต่น้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้นมากเกินไป จะมีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อเห็ดหลายชนิด (Sakamoto et al. 1978) ดังนั้นอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงต้องให้มีความเหมาะสมเพื่อลดต้นทุนการผลิตด้วย
2. ประสิทธิภาพของการผลิตโปรตีน และองค์ประกอบสารให้กลิ่นรส (flavour) ขึ้นอยู่กับแหล่งคาร์บอน และ ไนโตรเจนที่แตกต่างกัน
3. การเพาะเลี้ยงในอาหารชนิด Synthetic defined media มวลชีวภาพที่ได้จะต่ำกว่าการเพาะเลี้ยงในอาหารชนิด Complex media
4. ปริมาณไนโตรเจนที่มีในอาหารเป็นปัจจัยสำคัญที่ควบคุมปริมาณโปรตีนของเส้นใยเห็ด
5. ถ้าใช้กากของเสียเป็นแหล่งวัตถุดิบ ต้องมีการเติมแหล่งไนโตรเจนหรือแร่ธาตุที่จำเป็นลงไปด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. ในส่วนประกอบของอาหาร เช่น แร่ธาตุธรรมชาติ หรือสารอนินทรีย์ มีผลต่อองค์ประกอบของสารให้กลิ่นรสและกรดอะมิโน

7. อัตราส่วนของ C:N มีผลต่อปริมาณและประสิทธิภาพของการผลิตเส้นใยเห็ด คือมีผลต่อองค์ประกอบปริมาณโปรตีนและไขมันของเส้นใย (Litchfield และคณะ, 1963)

8. การเติมสารกำจัดฟอง กรดไขมัน ไขมัน ตัวอย่างเช่น เอสเทอร์ของกรดโอเลอิค(oleic acid) สามารถไปกระตุ้นอัตราการเจริญเติบโตได้

ความเข้มข้นของคาร์โบไฮเดรตที่เหมาะสม สำหรับการผลิตเส้นใยเห็ดอยู่ในช่วง 1-10 % (Litchfield,1979) วัตถุดิบจากแหล่งของเสียต้องทำการเจือจางเสียก่อน เพื่อว่าปริมาณน้ำตาลที่มีอยู่จะสามารถใช้ได้ในช่วงความเข้มข้นเดียวกันกับกลูโคส บางรายงานมีการใช้เด็กซ์ตริน (dextrin)เป็นแหล่งคาร์บอน (Ghosh และ Sengupta,1978) เชื้อแต่ละชนิดมีความเฉพาะที่แตกต่างกันไป ซึ่งอัตราส่วนที่เหมาะสมของ C:N อยู่ในช่วง 5:1 ถึง 25:1 ถ้ามากไปกว่านี้จะเกิดการสะสมของไขมันในเซลล์มากขึ้นและผลผลิตโปรตีนที่ได้จะลดลง แร่ธาตุธรรมชาติ อนุมูลโลหะ และสารประกอบเช่น $ZnCl_2$, $CuSO_4$ และ Cu^{2+} สามารถเพิ่มผลผลิตและกระตุ้นอัตราการเจริญของเส้นใยเห็ด (Sakamoto และคณะ 1978; Ghosh และ Sengupta,1977) แต่ต้องมีระดับที่เหมาะสมในอาหารต่อปริมาณความต้องการ

เส้นใยจะเจริญช้าในอาหารที่ขาดวิตามิน เชื้อ *Coprinus comatus* มีความต้องการ thiamin biotin และ adenine แต่บางเชื้อเช่น *Agaricus* , *Morchella* และ *Lentinus* เจริญได้ในอาหารสูตรง่าย ๆ อย่างไรก็ตามเชื้อเห็ดส่วนใหญ่เหล่านี้มีความต้องการแหล่งอาหารที่สมบูรณ์ ตัวอย่างเช่นในน้ำแช่ข้าวโพด (cornsteep liquor) ซึ่งอุดมไปด้วยแหล่งแร่ธาตุและวิตามิน

เห็ดบางชนิดเช่นบางสปีชีส์ของ *Pleurotus* พบว่ามีความต้องการ thiamin และ biotin (Jandiak และ Kapoor, 1976) ความเข้มข้นที่เหมาะสมของ thiamin อยู่ในช่วง 50 µg/l ส่วน biotin เป็น 10 µg/l ความเข้มข้นที่สูงกว่านี้ไม่ให้ผลที่แตกต่างกันในการเพิ่มอัตราการเจริญเติบโต นอกจากนี้ยังมีรายงานการใช้แหล่งคาร์โบไฮเดรตอื่น ๆ เช่น เมทานอล และ เอทานอล โดยเชื้อ *Pleurotus ostreatus* เชื้อ *Lentinus edodes* (Sugimori และคณะ,1971) การใช้กรดไขมันหรือเอสเทอร์เช่นกรดโอเลอิค เช่นเชื้อ *Agaricus bisporus* พบว่าได้มวลชีวภาพสูงถึง 52 กรัมต่อลิตรโดยเชื้อ *C. comatus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1.แสดงปริมาณโปรตีนและไขมันเปรียบเทียบระหว่างเส้นใยเห็ดกับดอกเห็ด(Eyal, 1991)

Mushroom Species	Fruiting Bodies		Mycelium (Glucose Media)	
	Crude Protein (%)	Crude Fat (%)	Crude Protein (%)	Crud Fat (%)
Agaricus blazei	43	-	32.5	-
Agaricus bisporus			38	
			24	
			30.2	
Agaricus campestris	37.52	1.81	35.5 (White)	3.3
			45.3 (Brown)	-
	46.3	2.84		
Boletus indecisus			27.4	0.8
Lentinus edodes	19.12	3.94	52.81	3.39
			28.53	-
Morchella crassipes			30.6	3.07
			29.74	
			22.8	7.55
			45.1	5.13
Pleurotus ostreatus	13.4	0.96		
			26.87	-
Tricholoma nudum			44.8	6.4
			51.0	4.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

ได้มีการศึกษาและทดลองใช้จุลินทรีย์บางชนิดที่จะคัดเลือกมาผลิตโปรตีนเซลล์เดียว ซึ่งมีทั้งสาหร่าย ไลเคนส์ แบคทีเรีย รา และยีสต์ การคัดเลือกนั้นจะต้องคำนึงถึงปัจจัยต่าง ๆ คือ ประเภทของวัตถุดิบ คุณค่าอาหาร และวัตถุประสงค์ที่จะนำเอาจุลินทรีย์โปรตีนไปใช้ Kosaric (1972) ได้รวบรวมคุณสมบัติของจุลินทรีย์ที่เหมาะสมจะผลิตเป็นโปรตีนเซลล์เดียวดังนี้คือ

1. เจริญได้รวดเร็วในอาหารที่มีราคาถูก ซึ่งเป็นวัตถุดิบที่หาได้ในท้องถิ่นนั้น ๆ
2. เจริญได้ดีในอาหารที่มีส่วนประกอบง่าย ๆ มีความต้องการวิตามินและสารเร่งการเจริญเติบโตต่าง ๆ น้อยหรือไม่ต้องการเลย
3. คงลักษณะทางพันธุกรรมได้ดี ไม่กลายพันธุ์ง่ายเมื่อเลี้ยงติดต่อกันเป็นเวลานาน
4. การแยกและเก็บเกี่ยวเซลล์ทำได้ง่าย
5. มีความต้านทานต่อการปะปนของจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ
6. ทราบคุณสมบัติทางพันธุกรรม สรีรวิทยา และสามารถปรับปรุงทางพันธุกรรมได้
7. ใช้แหล่งพลังงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ
8. หลังจากผ่านกระบวนการเลี้ยงแล้ว มีวัสดุเหลือทิ้งน้อยหรือไม่มีเลย
9. ไม่เป็นพิษและทำให้เกิดอาการภูมิแพ้
10. ให้ปริมาณโปรตีนสูง โดยเฉพาะโปรตีนจะต้องมีกรดอะมิโนที่มีคุณค่า
11. เก็บรักษาได้ง่าย เช่น การทำให้แห้งได้
12. ต้นทุนการเพาะเลี้ยงเซลล์และการเก็บเกี่ยวเซลล์จะต้องสามารถแข่งขันกับแหล่งอาหารโปรตีนอื่น ๆ ได้

2.7 ประเภทของจุลินทรีย์ที่ใช้ผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

สาหร่าย

จัดเป็นพวกที่มีการดำรงชีวิตแบบ phototrophic microorganism คือการใช้พลังงานแสงอาทิตย์เป็นแหล่งของพลังงานในการรีดิวซ์สารอนินทรีย์ให้เป็นสารอินทรีย์ ข้อดีของสาหร่ายคือมีปริมาณโปรตีนสูงประมาณ 55 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งและเป็นโปรตีนที่มีคุณภาพเพาะเลี้ยงได้ทุกฤดูกาล อุดมด้วยวิตามินซีและวิตามินบีรวม ใช้พลังงานแสงอาทิตย์อย่างมีประสิทธิภาพ มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตและไขมันอยู่ในสัดส่วนที่น่าพอใจ สามารถใช้เป็นแหล่งของคาร์บอน ในการเจริญต้องการน้ำปริมาณเล็กน้อย สามารถเจริญได้ในที่แห้งแล้งและเก็บเกี่ยวผลง่าย สำหรับพวกสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียว (blue – green algae) บางชนิดยังสามารถตรึงไนโตรเจนได้ด้วย ข้อเสีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของพวกนี้คือ อัตราการเจริญต่ำกว่าจุลินทรีย์กลุ่มอื่น และถ้าเลี้ยงในถังหมักมีปัญหาการให้คาร์บอนไดออกไซด์และแสงแก่เซลล์แต่ละเซลล์ (ดวงพร , 2530)

สาหร่ายที่ได้รับความสนใจในการใช้เป็นแหล่งอาหารโปรตีน ได้แก่ *Chlorella* sp., *Scenedesmus* sp., *Spirulina* sp., *Coelastrum* sp. และ *Uromema* sp. โดยเฉพาะ*Spirulina* maxima ชาวพื้นเมืองอัฟริกาและบางส่วนของเม็กซิโกใช้ผสมในอาหาร

ในประเทศญี่ปุ่นและไต้หวันมีการผลิต *Chlorella* ในรูปผงหรืออัดเม็ดเพื่อใช้เป็นอาหารเสริมสุขภาพ หรือใช้เป็นยา โดยจะนำ *Chlorella* มาสกัดให้ได้ส่วนที่เรียกว่า " Chlorella Growth Factor " และมีการส่งออกไปขายยังประเทศอิสราเอล อิตาลี เม็กซิโก บัลกาเรีย และประเทศอื่น ๆ อีกหลายประเทศ โดยผลิตภัณฑ์ที่ได้เตรียมจากการแยกเซลล์ของสาหร่ายชนิดนี้ออกจากอาหารเลี้ยงเชื้อโดยการหมุนเหวี่ยง และนำมาทำให้เข้มข้นขึ้นโดยใช้การหมุนเหวี่ยงภายใต้สุญญากาศ และนำของเหลวเข้มข้นที่ได้มาทำให้แข็งขึ้น เพื่อให้อยู่ในรูปผง (ดุษณี ,2537)

Dunaliella เป็นสาหร่ายเซลล์เดียวสีเขียวที่สามารถทนและปรับตัวได้ดีที่ความเข้มข้นของเกลือสูง สามารถให้ผลผลิตที่มีคุณค่าถึง 3 ชนิดคือ กลีเซอรอล เบตา – แคโรทีน และโปรตีน สาหร่ายชนิดนี้มีลักษณะแตกต่างจากสาหร่ายชนิดอื่น ๆ คือ ไม่มีผนังเซลล์ ตัวเซลล์จะล้อมรอบด้วยเซลล์เมมเบรนที่ยืดหยุ่นและปกคลุมด้วยเมือกที่ผิวเซลล์ ทำให้เซลล์ของสาหร่ายชนิดนี้ทนต่อการเปลี่ยนแปลงของแรงดันออสโมซิสได้ดี นอกจากนี้การไม่มีผนังเซลล์ของสาหร่ายชนิดนี้ทำให้ง่ายต่อการย่อยในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์และสัตว์ (Ben – Amotz and Avron , 1989) ประเทศที่สนใจและมีการศึกษาเพื่อผลิตสาหร่าย *Dunaliella* ในทางการค้าได้แก่ ออสเตรเลีย สหรัฐอมริกา และอิสราเอล ซึ่งนอกจากการผลิตสาหร่าย *Dunaliella* เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเสริมสุขภาพและอาหารสัตว์เลี้ยงแล้ว ยังมีการผลิตสาหร่ายชนิดนี้เพื่อนำเอาเบตา-แคโรทีนจากสาหร่ายมาใช้เป็นสีผสมอาหารอีกด้วย

แบคทีเรีย

แบคทีเรียสามารถนำมาใช้เป็นแหล่งอาหารได้ เพราะมีปริมาณโปรตีนสูงและมีอัตราการเจริญเร็วกว่าจุลินทรีย์กลุ่มอื่น ๆ ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็นหลายชนิดโดยเฉพาะอย่างยิ่งไลซีน ที่เหมาะต่อความต้องการของร่างกาย ยกเว้นกรดอะมิโนที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบ ข้อดีของการใช้แบคทีเรียในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวคือ มีอัตราการเจริญเร็ซ ให้ปริมาณโปรตีนสูง และสามารถใช้แหล่งไฮโดรคาร์บอนได้ แต่มีข้อเสียที่ขนาดเซลล์เล็กประมาณ 5-10 ไมครอน ทำให้เก็บเกี่ยวผลยาก การทดลองเลี้ยงแบคทีเรียเพื่อเป็นแหล่งโปรตีนนั้นเริ่มเมื่อปี ค.ศ. 1953

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บริษัทเนสเล่ท์ ประเทศสวิสเซอร์แลนด์ได้จดลิขสิทธิ์เกี่ยวกับกระบวนการผลิต *Acinetobacter calcoaceticus (Micrococcus cerificans)* จากอาหารพาราฟินหรือเอทานอล ผลิตภัณฑ์ที่ได้จะเป็นผลสีขาวประกอบด้วยโปรตีน 12.1 เปอร์เซ็นต์ มีการเติมกรดแอสคอร์บิก กรดซิตริก กรดฟอสฟอริก และ/หรือ กรดทาร์ทาริกลงไปด้วยเพื่อเป็นสารรีดิวซ์ในระหว่างการตกตะกอน เพื่อป้องกันการออกซิเดชันหรือการดูดซึมเม็ดสี สำหรับบริษัทสแตนดาร์ดออยล์ (Standard Oil) แห่งรัฐอินเดียน่า ประเทศสหรัฐอเมริกาก็มีการจดลิขสิทธิ์การผลิตโปรตีนจากแบคทีเรียบิวเทน โปรตีนที่ได้จะอยู่ในรูปไฟเบอร์ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางตั้งแต่ 0.2 – 2 มม. (ดุษณี, 2537)

Fields และคณะ (1991) ได้ศึกษาถึงการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากเชื้อ *Cellulomonas uda* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ใช้ออกซิเจน และย่อยสลายเซลลูโลสได้ โดยใช้ซังข้าวโพดและก้านข้าวโพดบดที่ถูกย่อยด้วยด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.2 N ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที และปรับพีเอชให้เป็น 7 แล้วใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ การใส่เชื้อจะใช้ในรูปเชื้อแบคทีเรียชนิดเดียว หรือใส่เชื้อผสมกับยีสต์ *Candida utilis* เมื่อเลี้ยงเซลล์เป็นเวลาครบ 5 วัน นำเซลล์มาแยกออกโดยใช้เครื่องหมุนเหวี่ยงที่ 11,000 รอบต่อนาที และนำมาทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 52 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชม. ปริมาณโปรตีนที่ได้จากเซลล์แบคทีเรียอย่างเดียวเท่ากับ 28.3 เปอร์เซ็นต์ และโปรตีนที่ได้จากแบคทีเรียผสมกับยีสต์เท่ากับ 34.0 เปอร์เซ็นต์ และมีปริมาณกรดอะมิโนใกล้เคียงกับไข่ และจากการศึกษาครั้งนี้พบว่าสามารถนำเซลล์ที่ผลิตได้มาผสมกับข้าวโพดที่ใช้เป็นอาหารเป็นการเพิ่มคุณค่าของโปรตีนในการใช้เป็นอาหารสัตว์หรือมนุษย์ได้

ในประเทศไทยมีการศึกษาถึงการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากแบคทีเรียที่สังเคราะห์แสงได้โดยใช้กากมันสำปะหลัง และน้ำทิ้งจากโรงงานแป้งมันสำปะหลัง ซึ่งประเทศไทยเป็นประเทศที่ผลิตมันสำปะหลังมากเป็นอันดับหนึ่งของโลก จากการศึกษาถึงการเจริญของเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosu* (เดิมชื่อ*Rhodopseudomonas gelatinosa)* บนกากมันสำปะหลังที่เก็บไว้ในที่มืดและมีออกซิเจน พบว่าได้โปรตีน 56 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 2.45 เปอร์เซ็นต์ คาร์โบไฮเดรต 26.42 เปอร์เซ็นต์ และเถ้า 3.21 เปอร์เซ็นต์ และโปรตีนที่ได้จะประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็น เช่น เมทไทโอนีน ไลซีน และเฟนนิลอะลานีน นอกจากนี้ยังมีวิตามินที่จำเป็น เช่น วิตามินบี 2 , วิตามินบี 12 , วิตามินอี และกรดนิโคตินิก (Nicotinic acid) (Noparatnaraporn, 1987) โปรตีนเซลล์เดียวจากแบคทีเรียที่ผลิตได้นี้สามารถนำมาใช้เป็นอาหารปลาได้ โดยสามารถทดแทนการใช้ปลาป่นได้ถึง 50 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) และเมื่อนำมาเลี้ยงปลาทอง (*Carassius auratus*) อายุ 2 เดือน เป็นเวลา 122 วัน ปรากฏว่าไม่เกิดอาการเป็นพิษหรืออาการผิดปกติแต่อย่างใด นอกจากนี้ปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมเซลล์แบคทีเรียยังให้น้ำหนักปลามากกว่าการเลี้ยงด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเอกสารนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหารปลาอย่างเดียวถึง 22.62 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาถึงการนำแบคทีเรีย *Rhodobacter sphaeroides* P47 ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ให้ผลผลิตสูงเมื่อใช้น้ำตาลเป็นแหล่งอาหาร และมีปริมาณวิตามินบี 12 และคาโรทีนอยด์ (carotenoid) สูง มาเลี้ยงผสมกับเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* ด้วย (Noparatnaraporn ,1987) โดยใช้กากมันสำปะหลังแห้งที่ได้จากโรงงานผลิตแป้งมันในจังหวัดชลบุรี เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งจากการศึกษาพบว่าการเลี้ยงเชื้อผสมให้ผลผลิตดีกว่าการเลี้ยงเชื้อเดี่ยว ๆ ใช้ระยะเวลาในการเจริญสั้นลง และยังพบว่าเซลล์ของ *Rc . elatinous* อุดมไปด้วยวิตามินบี 2 ในขณะที่เซลล์ของ *Rb. sphaeroides* P47 จะประกอบด้วยวิตามินอี ซึ่งวิตามินเหล่านี้จำเป็นต่อการเจริญของสัตว์ โดยเฉพาะวิตามินอี จะมีความสำคัญต่อการพัฒนาการสืบพันธุ์ของสัตว์ด้วย

ไลเคนส์

Perez และ Lano (1944) ได้รายงานว่า *Centraria isolandi* สามารถนำมาใช้เป็นแหล่งอาหารโปรตีนหรือเป็นอาหารมนุษย์ได้

ยีสต์

ยีสต์เป็นโปรตีนเซลล์เดียวที่มีการนำมาใช้กันมากที่สุด เนื่องจากยีสต์มีคุณสมบัติที่เหมาะสมต่อการนำมาใช้เป็นแหล่งอาหารสำหรับมนุษย์และสัตว์ การใช้ยีสต์เป็นอาหารมีมานานตั้งแต่สมัยสงครามโลกครั้งที่ 1 ชาวเยอรมันได้บริโภคยีสต์เป็นอาหารเสริมโปรตีน ซึ่งยีสต์ที่ใช้ในการบริโภคคือ *Saccharomyces cerevisiae* โดยใช้กากน้ำตาลเป็นแหล่งอาหาร และในสมัยสงครามโลกครั้งที่ 2 ในประเทศเยอรมันก็มีการผลิต Torula yeast (*Candida utilis)* จากของเสียจากโรงงานผลิตเยื่อกระดาษเป็นวัตถุดิบและจากน้ำตาลที่ได้จากการใช้กรดย่อยเนื้อไม้ โปรตีนที่ผลิตได้นี้เป็นแหล่งอาหารสำหรับมนุษย์ นอกจากนี้ยีสต์ยังสามารถใช้ผลพลอยได้ทางการเกษตรหรืออุตสาหกรรมเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานได้ เช่น การน้ำตาล วัตถุดิบพวกแป้ง หางนม ผลไม้ และน้ำทิ้งจากโรงงานต่าง ๆ เป็นต้น

ยีสต์ประกอบด้วยโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไขมันปริมาณมาก และเป็นแหล่งวิตามินบีรวมสูงสุดแหล่งหนึ่ง แหล่งโปรตีนจากยีสต์จะมีคุณค่าทางอาหารใกล้เคียงกับโปรตีนจากพืช มีกรดอะมิโนจำเป็นเกือบทุกชนิดยกเว้นเมทไทโอนีนและซีสทีน โปรตีนของเซลล์ยีสต์จะมีประมาณ 45-55 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง

Candida utilis เป็นยีสต์ที่นิยมใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวมากที่สุด เนื่องจากสามารถเจริญเติบโตได้เร็ว ใช้น้ำตาลและอาหารได้หลายชนิด ขนาดของเซลล์ใหญ่ และมีปริมาณโปรตีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สูง ซึ่งชาวเยอรมันเป็นชนชาติแรกที่ใช้เชื้อ *Candida* เป็นแหล่งอาหารโปรตีนในระหว่างสงครามโลกครั้งที่ 2 (Beech และคณะ, 1985) ดังนั้น *Candida* จึงเป็นยีสต์ตัวแรกที่รู้จักกันในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวและได้รับความนิยมแพร่หลายทั่วไป ได้มีการศึกษาถึงการนำ *Candida utilis* มาเลี้ยงในอาหารต่าง ๆ เช่น Lawford และคณะ(1979) ได้นำ *Candida utilis* Y- 900 มาเลี้ยงในกากน้ำตาลโดยใช้กระบวนการหมักแบบต่อเนื่อง พบว่าได้โปรตีนจากยีสต์ 50-55 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีคุณค่าใกล้เคียงกับโปรตีนจากถั่วเหลือง นอกจากนี้กรดอะมิโนจำเป็นหลายชนิดที่พบในยีสต์สามารถนำมาใช้เป็นอาหารเสริมในธัญพืชได้ เช่น ข้าวสาลีที่ขาดไลซีนและทรีโอนีน เป็นการเพิ่มคุณค่าอาหารพวกธัญพืชเหล่านี้

Rale (1985) ได้ศึกษาถึงการใช้ผลมะม่วงหิมพานต์ (*Anacardium occidentale*) ในการผลิตยีสต์เพื่อเป็นอาหารสัตว์หรืออาหารเสริมในประเทศอินเดีย ผลมะม่วงหิมพานต์ที่ยังอ่อนอยู่จะมีรสเปรี้ยวและฝาด ส่วนผลแก่จะฉ่ำและหวาน เมื่อนำผลแต่ละผลมาคั้นจะได้น้ำคั้นประมาณ 25 มิลลิลิตร ซึ่งจะมีของแข็งทั้งหมด 10.4 เปอร์เซ็นต์ และอีก 90 เปอร์เซ็นต์ จะประกอบด้วยน้ำตาลแปร (ส่วนใหญ่) แทนนิน (tannin) กรด และเม็ดสี ในการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์จะใช้น้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปมะม่วงหิมพานต์ หรือน้ำคั้นจากผลที่เหลือทิ้ง โดยอาจเติมสารอาหารอื่น ๆ ลงไปด้วย เช่น แอมโมเนีย ยีสต์ที่ใช้เลี้ยงเพื่อเป็นอาหารสัตว์คือ *C. utilis* และ *S. cerevisiae* และจากการศึกษาพบว่า *C. utilis* ให้ผลดีกว่า *S. cerevisiae* ทั้งปริมาณเซลล์และปริมาณโปรตีน และจากการเลี้ยงเชื้อ *C. utilis* ในอาหารที่เติมแอมโมเนีย 0.5 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับอาหารที่ไม่เติมแอมโมเนีย พบว่าในอาหารที่เติมแอมโมเนียจะได้ปริมาณยีสต์และโปรตีนสูงกว่า เมื่อเก็บเกี่ยวเซลล์ยีสต์และนำมาอบให้แห้ง วิเคราะห์ค่ากรดนิวคลีอิกทั้งหมดได้ 8.1 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งพบว่ากรดอะมิโนที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบจะมีอยู่ในปริมาณต่ำ ยีสต์ที่เก็บเกี่ยวได้สามารถนำมาทำให้แห้งและมีความชื้นต่ำกว่า 6 เปอร์เซ็นต์ ได้โดยใช้เครื่อง drum dryer ยีสต์ที่ผลิตได้นำมาทดลองเลี้ยงหนูเป็นเวลา 21 วัน พบว่ามีรสชาติดี ย่อยง่าย และไม่เกิดอาการเป็นพิษหรือมีการเปลี่ยนแปลงที่อวัยวะต่าง ๆ แต่อย่างใด

Aker และ Robinson (1987) ได้ทำการทดลองนำกล้วยที่ถูกคัดทิ้งมาใช้เลี้ยงยีสต์ *C.utilis* เพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์ จากการคำนวนถึงการใช้กล้วย 20,000 กิโลกรัม (น้ำหนักเปียก) ในการหมักแบบครั้งคราว พบว่าได้จุลินทรีย์เป็นปริมาณ 2,970 กิโลกรัม และได้โปรตีน 44 เปอร์เซ็นต์

Nwabueze และ Oguntimein (1987) ได้ทดลองนำกากส้มหวานมาใช้เป็นอาหารเลี้ยงยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* โดยกระบวนการหมักแบบครั้งคราว พบว่าจะได้โปรตีน 57 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) จากการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วยกากส้ม 4 เปอร์เซ็นต์ พีเอช 5.5 อุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส และระยะเวลาเลี้ยงเชื้อ 12 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Calleeja และคณะ (1986) ได้ศึกษาถึงการนำแป้งมันมาใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว โดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces alluvius* ซึ่งเป็นเชื้อที่มีอัตราการเจริญสูง ไม่เป็นเชื้อโรคและสามารถย่อยคาร์โบไฮเดรตได้หลายชนิด เช่น อินูลิน เซลโลไบโอส ไซโลส และ เมลิไบโอส นอกจากนี้เชื้อนี้ยังสามารถปล่อยเอนไซม์อะไมเลสออกมานอกเซลล์ในปริมาณมากอีกด้วย ซึ่งคุณสมบัติเหล่านี้ได้มีผู้นำยีสต์ *S. alluvius* มาใช้ในการผลิตแอลกอฮอล์ และเอนไซม์อะไมเลสทางอุตสาหกรรมอีกด้วย

เชื้อรา

เชื้อราที่ใช้เป็นแหล่งอาหารของมนุษย์มานานคือเห็ด ซึ่งเป็นโปรตีนเซลล์เดียวที่มนุษย์สามารถบริโภคได้โดยตรง เช่น *Agaricus campestris* ถูกใช้เป็นอาหารแถวยุโรป ส่วนที่ประเทศจีนนิยมรับประทานเห็ด *Cortinellus berkelyanus* และเห็ด *Vollvarialla volvace* เป็นที่นิยมในเขตจีนตอนใต้ และฟิลิปปินส์ เมื่อสมัยสงครามโลกครั้งที่ 2 ประเทศเยอรมันได้เลี้ยงราพวก *Geotrichum candidum* เป็นอาหารเสริมของมนุษย์ เนื่องจากมีปริมาณวิตามินและโปรตีนสูง (Bhattacharjee,1970) นอกจากนี้ราพวก*Geotrichum lactis* สามารถเลี้ยงได้โดยใช้กากถั่วเหลือง จากนมและของเสียที่มีซัลเฟอร์ อย่างไรก็ตามราที่ใช้เป็นอาหารโปรตีนในปัจจุบันพบว่ามีเมทไทโอนีน กรดกลูทามิก ไรโบฟลาวินและวิตามินบี 12 อยู่ ส่วนราอื่น ๆ ที่เป็นแหล่งโปรตีนได้แก่ *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp. และ *Rhizopus* sp. เป็นต้น ข้อดีของเชื้อราคือ ยอมรับง่ายตลอดจนมีคุณค่าทางอาหารพอ ๆ กับยีสต์ แต่การเจริญต่ำกว่ายีสต์และแบคทีเรีย และมีปัญหาในการเลี้ยงเพราะว่าเส้นใยเมื่อเลี้ยงในสภาพอาหารเหลว เส้นใยจะอยู่ในสภาพเป็นกลุ่มก้อนเกิดปัญหาในการให้ออกซิเจนแก่เซลล์ มีเชื้อราหลายชนิดมีแนวโน้มที่จะใช้เป็นแหล่งอาหารเสริมโปรตีนในสัตว์เลี้ยง เช่น *A. niger* , *Trichoderma viride* และ *Fusarium* sp. (Bhattacharjee,1970)

Kokke (1977) ทดลองหมักเปลือก Carob แบบแข็ง (solid state) เพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์ โดยใช้เปลือกผลไม้กับน้ำอัตราส่วนหนึ่งต่อหนึ่ง และมีการเติมพวก Na_2HPO_4 เล็กน้อย ฆ่าเซลล์ด้วยความร้อน 20 นาที แล้วหมักด้วยเชื้อรา *Rhizopus oligosporus* หรือ *Monascus ruber* นาน 35 นาที น้ำตาลในเปลือกผลไม้ถูกใช้ 73-83 เปอร์เซ็นต์ และแทนนินถูกใช้หมดไป ซึ่งวิธีนี้ง่าย สามารถใช้ตามฟาร์มและหมู่บ้านได้

Fusarium graminearum เป็นเชื้อราที่บริษัท Ranks Hovis McDougall (RHM) ในประเทศอังกฤษนำมาใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวเพื่อให้เป็นอาหารสำหรับมนุษย์ โดยมีชื่อเรียกว่าไมโคโปรตีน (mycoprotein) สาเหตุที่บริษัทนี้เลือกใช้เชื้อราในการผลิตเนื่องจากว่าเชื้อรามี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คุณค่าทางอาหารและรสชาติดี มีลักษณะคล้ายเนื้อสัตว์ กระบวนการหมักที่ใช้ในอุตสาหกรรมเป็นกระบวนการหมักแบบต่อเนื่อง ไมโคโปรตีนที่ผลิตได้จะนำมาลดปริมาณกรดนิวคลีอิก โดยนำเชื้อรามาสกัดด้วยไอโซโพรพานอล (Isopropanol) และผ่านกรรมวิธีด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์หรือแอมโมเนียมคลอไรด์บัฟเฟอร์ที่พีเอช 8.5 ซึ่งกรรมวิธีนี้จะลดปริมาณกรดนิวคลีอิกจาก 9-10 เปอร์เซ็นต์ ให้เหลือเพียง 0.59 – 1.7 (Litchfield ,1991) หลังจากนั้นจึงเก็บเกี่ยวผลิตภัณฑ์โดยวิธีกรองภายใต้สุญญากาศ (vacuum filtration) สามารถนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารอื่น ๆ ได้ ผลิตภัณฑ์ที่ได้จะมีลักษณะคล้ายเนื้อสัตว์และเนื้อปลา นอกจากนี้ยังมีคุณค่าทางอาหารคล้ายกับเนื้อสัตว์อีกด้วย ผลิตภัณฑ์ไมโครโปรตีนได้ทดลองวางขายในประเทศอังกฤษโดยมีชื่อทางการค้าว่า ควอร์น(Quorn) (Osborne, 1989)

Paecilomyces varioti เป็นเชื้อราอีกชนิดหนึ่งที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว โดยบริษัท United Paper Mills ประเทศฟินแลนด์ ในปี ค.ศ. 1970 ผลิตภัณฑ์ที่ได้เรียกว่า "เปกิโลโปรตีน"(Pekilo protein) โดยใช้กระบวนการหมักแบบต่อเนื่อง และใช้น้ำทิ้งจากโรงงานผลิตกระดาษที่กำจัดซัลเฟอร์ไดออกไซด์ออกแล้ว เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ (Romantschuk ,1975) น้ำทิ้งที่ได้ต้องนำมาฆ่าเชื้อและเติมสารอาหาร เช่นโพแทสเซียมคลอไรด์ กรดฟอสฟอริก และ แอมโมเนียลงไปด้วย หลังจากกระบวนการหมักสิ้นสุดลงผลิตภัณฑ์ที่ได้จะถูกแยกออกมาโดยการกรองภายใต้สุญญากาศ และทำให้แห้ง โปรตีนเซลล์เดียวที่ผลิตได้นี้จะมีปริมาณโปรตีน 55-60 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณกรดอะมิโน และวิตามินใกล้เคียงกับยีสต์ เมื่อนำมาทดลองเลี้ยงกับหมู วัว ควาย เป็ด ไก่ ไข่ และไก่พันธุ์ พบว่าเป็นแหล่งโปรตีนที่ดี และรัฐบาลฟินแลนด์อนุญาตให้ใช้เป็นผลิตภัณฑ์อาหารสัตว์ได้

Chaetomium cellulolyticum ที่มีการศึกษาเพื่อนำมาใช้ผลิตโปรตีนเซลล์เดียว เนื่องจากเชื้อนี้สามารถย่อยสลายวัตถุดิบพวกเซลลูโลสได้ดี เช่น เยื่อกระดาษ ขี้เลื่อย และฟางข้าวสาลี ซึ่งบริษัท Envirocon ในประเทศแคนาคาได้มีโปรแกรมการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากเชื้อราตัวนี้เพื่อเป็นการค้า โดยได้สร้างโรงงานผลิตขึ้นที่เมืองแวนคูเวอร์ จุดประสงค์ของการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวก็เพื่อใช้เป็นอาหารเสริมในอาหารสัตว์

Tropical Product Institute (TPI)(1967) ของอังกฤษ ได้รายงานเกี่ยวกับวิธีการหมักหัวมันสำปะหลังเพื่อเพิ่มคุณค่าทางอาหาร วิธีแรกคือ การเติมแร่ธาตุในอาหารราคาถูกเป็นอาหารเสริม วิธีนี้เรียกว่า TPI vegetative cheese process โดยใส่เกลือ และสปอร์ของรา *Rhizopus stolonifer* อีกวิธีหนึ่งโดยการใช้ของเหลวจากมันสำปะหลังเติมเกลือและสปอร์ดังกล่าวข้างต้นภายใต้การหมักที่มีอากาศ ผลจาก 2 วิธี จะได้ปริมาณเซลล์ของจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นมากมาย นอกจากนั้น Woolen (1968) ได้ค้นคว้าวิธีการเพิ่มโปรตีนในมันสำปะหลังได้ crude protein เพิ่มขึ้น

0.1-4.0 เปอร์เซ็นต์ แต่ถ้ามีการนำมันสำปะหลังมารวมกับสารที่มีไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และเกลือแร่อื่น ๆ รวมทั้งในสปอร์รา *Rhizopus stolonifer* ลงไปในสภาพอุณหภูมิที่เหมาะสม ความชื้นองค์ประกอบและคุณสมบัติต่าง ๆ ทางฟิสิกส์ที่เหมาะสมทำให้ราเจริญได้ดี โปรตีนที่ได้เก็บในรูปแช่แข็งหรือทำแห้งก็ได้ (Duthie, 1975)

Imrie และ Vlitos (1973) ได้ทำการทดลองนำมันสำปะหลังมาเป็นวัตถุดิบในการเลี้ยงเชื้อ *Aspergillus niger* ในการหมักระบบ Continuous Culture ได้โปรตีนสูง 45 เปอร์เซ็นต์

2.8 คุณค่าของโปรตีนเซลล์เดียวสำหรับสัตว์

อาหารสัตว์จะมีส่วนประกอบที่จำเป็นและสำคัญ 3 ชนิด คือ ธัญพืช โปรตีนและเกลือแร่หรือวิตามิน หรือยา ซึ่งขึ้นอยู่กับ ชนิด อายุ และหน้าที่ของสัตว์ ส่วนประกอบของอาหารสัตว์จะมีอัตราที่แตกต่างกันคือ ประมาณ 60 – 80 , 15 – 35 และ 0 – 5 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ในบางกรณีไขมันจะเข้ามาแทนส่วนผสมบางอย่างได้ เพื่อเพิ่มคุณค่าให้กับอาหารสัตว์

ส่วนประกอบที่เป็นโปรตีนอาจมาจากอาหารชนิดเดียว หรือหลายชนิด เช่น สารสกัดจากถั่วเหลือง หรือ ส่วนสกัดจากเมล็ดไขมันกับโปรตีนจากสัตว์ เช่น ปลาป่น หรือ เนื้อป่น เลือดป่น เศษเป็ดเศษไก่ เป็นต้น

หน้าที่ของโปรตีนในอาหารสัตว์

1. ช่วยทำให้สัตว์เจริญเติบโตได้ดี ถ้าขาดโปรตีนจะแคระแกรนและอ่อนแองง่ายต่อการติดโรค

2. โปรตีนเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของ กล้ามเนื้อ เลือด น้ำย่อย ฮอร์โมน เนื้อเยื่อ ขน ผิวหนัง แม้กระทั่ง กระดูกก็ยังมีโปรตีนอยู่เกินกว่า 1 ใน 3 ของวัตถุแห้ง

3. โปรตีนช่วยเสริมสร้าง ผลผลิตให้กับสัตว์ เช่น นม ไข่ เนื้อ และขน นอกจากนั้นยังใช้สำหรับการเจริญเติบโตของลูกในท้องอีกด้วย

4. โปรตีนเป็นแหล่งของพลังงานสำหรับสัตว์ โดยจะให้พลังงานในปริมาณที่พอ ๆ กับคาร์โบไฮเดรต สัตว์จะได้รับพลังงานจากโปรตีนโดยการทำงานของตับ ในกระบวนการที่มีชื่อว่า Deamination โดยตับจะเปลี่ยนกลุ่มอะมิโนไปเป็นยูเรียในปัสสาวะและจะได้พลังงานออกมา

ความต้องการอาหารโปรตีนของสัตว์เลี้ยง

สัตว์จะต้องการโปรตีนจากอาหารในปริมาณมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับ (ตารางที่)

1. ชนิดของสัตว์

2. อายุของสัตว์กล่าวคือสัตว์อ่อนจะต้องการโปรตีนมากเพื่อใช้สำหรับการเจริญเติบโต สัตว์อายุมากขึ้นจะต้องการโปรตีนน้อยลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

3. ระดับของผลผลิตและการตั้งท้อง หากสัตว์กำลังตั้งท้องก็จะต้องการโปรตีนสูง เพื่อการเจริญเติบโตของลูกด้วย

4. ความสมดุลของกรดอะมิโนและความสามารถในการใช้ประโยชน์

ตารางที่ 2 ปริมาณความต้องการอาหารโปรตีนของสัตว์เลี้ยง (วินัย, 2525)

ชนิดของสัตว์	ปริมาณโปรตีนในอาหาร (ร้อยละ)
ลูกไก่ 0-4 สัปดาห์	18.8
ลูกไก่ 4-8 สัปดาห์	15.6
ไก่สาว	10.7
ไก่ไข่	16.5
ไก่พันธุ์	16.5
ลูกไก่งวง	28.0
ไก่งวงรุ่น	22.0
ไก่งวงพันธุ์	12.0
ลูกเป็ด	23.0
สุกร 1-5 กก.	27.0
สุกร 5-10 กก.	20.0
สุกร 10-20 กก.	18.0
สุกร 20-35 กก.	16
สุกร 35-60 กก.	14
สุกร 60-100 กก.	13
สุกรพันธุ์	12
แม่สุกรเลี้ยงลูก	13
ลูกโค	18-20
แม่โค (กินถั่วบ้าง)	12-14
แม่โค (กินหญ้าบ้าง)	16-18
พ่อโค	12-14

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

33518

คุณสมบัติของโปรตีนเซลล์เดียวที่นำมาใช้เป็นอาหารสัตว์ขึ้นกับปัจจัยต่าง ๆ คือ

1. ชนิดของวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

ชนิดของวัตถุดิบที่ใช้เช่น กากน้ำตาล หางนม มันสำปะหลัง แป้ง และอื่น ๆ ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวที่ผ่านมาส่วนใหญ่จะใช้วัตถุดิบพวกสารประกอบไฮโดรคาร์บอนเพราะสารประกอบไฮโดรคาร์บอนจะทำให้โปรตีนเซลล์เดียวที่ผลิตได้มีคุณภาพดี

2. ชนิดของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิต

เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิต คือ ยีสต์ แบคทีเรีย รา และ สาหร่าย ซึ่งคุณค่าทางอาหารของโปรตีนเซลล์เดียวจะแตกต่างกันในจุลินทรีย์ที่แตกต่างกัน

3. กระบวนการผลิต

กระบวนการผลิตที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจะต้องคำนึงถึงความปลอดภัยของโปรตีนเซลล์เดียว การแยกผลิตภัณฑ์สุดท้าย อุณหภูมิที่ใช้ในการผลิต ต้องอยู่ในช่วงที่เหมาะสม

ประโยชน์ของการใช้โปรตีนเซลล์เดียวเป็นแหล่งโปรตีนในอาหารสัตว์

1. เป็นแหล่งอาหารที่สัตว์ต้องการ
2. โปรตีนเซลล์เดียวมีกรดอะมิโนครบถ้วน
3. เพิ่มคุณภาพในสัตว์
4. ราคาของโปรตีนเซลล์เดียวไม่สูงมาก

ได้มีการทดลองนำเอาโปรตีนเซลล์เดียวไปใช้เป็นอาหารสัตว์ต่าง ๆ เช่น ไก่ เป็ด วัว ปลา โดยอัตราส่วนและรูปแบบของโปรตีนเซลล์เดียวที่ใช้ต้องคำนึงถึงคุณค่าทางโภชนาการ ความปลอดภัย และความคุ้มทุนด้วย

สุกร

ได้มีการทดลองนำเอาโปรตีนเซลล์เดียวมาใช้เป็นอาหารทดแทนปลายข้าวในสูตรอาหารของลูกสุกร โดยใช้โปรตีนในระดับ 15, 30 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ผลการทดลองพบว่าลูกสุกรที่ได้รับโปรตีนเซลล์เดียวแทนปลายข้าวจะมีอัตราการเจริญเร็วกว่าลูกสุกรที่ได้รับปลายข้าวเป็นอาหารและที่ระดับ 15, 30 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ความแตกต่างของอัตราการเจริญของลูกหมูไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ สรุปได้ว่าสามารถใช้โปรตีนเซลล์เดียวแทนปลายข้าวในสูตรอาหารลูกสุกรได้ และจากการทดลองใช้มันสำปะหลังหมักเพิ่มโปรตีนจากเชื้อราและยีสต์เพื่อทดแทนปลายข้าวในสูตรอาหารสุกรขุน พบว่า สุกรขุนจะสามารถใช้มันสำปะหลังได้ถึง 60 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้มันสำปะหลังหมักเพิ่มโปรตีนมีผลทำให้สุกรมีความหนาของไขมันสันหลังเมื่อสิ้นสุดการทดลองต่ำกว่าการใช้ปลายข้าวอีกด้วย (วิชชุพร, 2523)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สัตว์ปีก

ได้มีการทดลองใช้โปรตีนเซลล์เดียวจากยีสต์กับเป็ดไก่ พบว่า สามารถใช้โปรตีนเซลล์เดียวได้ถึง 20 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักของอาหารที่ให้หลักสำคัญของการทดลอง คือ อัตราส่วนของไลซีนต่ออาร์จีนีนในอาหาร เพื่อให้ได้การเจริญสูงสุด สิ่งสำคัญของโปรตีนเซลล์เดียวที่ได้จากยีสต์คือ มีส่วนประกอบหลักของโปรตีน (กรดอะมิโน) เมทไทโอนีนเหมือนกับถั่วเหลือง และมีองค์ประกอบของกรดอะมิโนที่จำเป็นสำหรับสัตว์ปีก

ความต้องการโปรตีนในนกจะต้องการโปรตีนประมาณ 12-14 เปอร์เซ็นต์ จากการทดลองให้โปรตีนระดับ 20 เปอร์เซ็นต์ จากโปรตีนเซลล์เดียว ผลการทดลองสรุปได้ว่าไม่มีอันตรายใด ๆ เกิดขึ้นต่อไข่และลูกนก แสดงว่าปริมาณโปรตีนที่เกินมาไม่มีผลต่อการให้อาหารของนก

ในประเทศญี่ปุ่น ได้มีการทดลองให้อาหารโปรตีนที่ได้จากยีสต์ที่เจริญในไฮโดรคาร์บอน พบว่าอาหารโปรตีนที่ระดับโปรตีน 15 เปอร์เซ็นต์ ไม่เป็นพิษต่อไก่ และไมทำให้เกิดอันตรายต่อไก่ (Duthie, 1975)

โค

ในโคนมไม่จำเป็นต้องใช้โปรตีนเซลล์เดียวเป็นอาหาร เนื่องจากบทบาทของโปรตีนเซลล์เดียวในโภชนาการของสัตว์เคี้ยวเอื้องที่โตเต็มวัยจะไม่มีปัญหาของคุณค่าโภชนาการของโปรตีนเซลล์เดียว สัตว์พวกนี้สามารถสังเคราะห์กรดอะมิโนจำเป็นขึ้นมาได้โดยตัวมันเอง การใช้โปรตีนเซลล์เดียวในสัตว์จำพวกนี้จะใช้สำหรับพวกลูกอ่อน ในประเทศฝรั่งเศสนิยมใช้โปรตีนเซลล์เดียวในการเลี้ยงลูกอ่อนของโค และกระบือมากที่สุด (Duthie, 1975)

Young Stock

ได้มีการนำเอาโปรตีนเซลล์เดียวมาใช้เป็นอาหารแก่ลูกโค ลูกแกะ การนำไปใช้อาจให้ได้ทั้งในรูปอาหารเหลว อาหารแข็ง หรือใช้ทั้ง 2 อย่าง และอาจใช้อาหารนี้แทนนมผงได้ ในประเทศฝรั่งเศสและฮอลแลนด์ได้มีการศึกษาเกี่ยวกับโปรตีนเซลล์เดียวมาก เนื่องจากมีอุตสาหกรรมที่เกี่ยวกับลูกโคพันธุ์เนื้อ

การให้โปรตีนเซลล์เดียวในลูกโคพันธุ์เนื้อ ที่ต้องให้อาหารที่มีเหล็กในปริมาณต่ำ เพื่อหลีกเลี่ยงไม่ให้เกิดสีแดงในเนื้อวัวแต่ต้องไม่ต่ำมากจนยับยั้งการสร้างเม็ดเลือด ความต้องการโปรตีนของลูกโคพันธุ์เนื้อประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งอาจใช้โปรตีนเซลล์เดียวล้วน ๆ หรือ โปรตีนเซลล์เดียว 10 เปอร์เซ็นต์ และนม 10 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นฟาร์มโคสามารถใช้โปรตีนเซลล์เดียวเป็นแหล่งโปรตีนเสริมทดแทนนมได้ โดยปกติ ถ้าใช้นมจะใช้ประมาณ 30 หรือ 50 เปอร์เซ็นต์ (โปรตีนเซลล์เดียว 10 เปอร์เซ็นต์สามารถใช้ทดแทนหางนมหรือแล็กโทสได้ 20 เปอร์เซ็นต์)(Duthie, 1975)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สัตว์ชนิดอื่น

ปลา

Corrias (1973) ได้ทดลองใช้โปรตีนเซลล์เดียวจากยีสต์เป็นส่วนประกอบในอาหารให้กับปลาเทราท์ได้สูงถึง 30 เปอร์เซ็นต์ และในญี่ปุ่นสามารถใช้ได้ถึง 40 เปอร์เซ็นต์ ในปลาคราฟท์และ 45 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารปลาไหล

กระต่าย

มีการทดลองให้อาหารโปรตีน 10 เปอร์เซ็นต์ ในกระต่าย ซึ่งทำให้กระต่ายมีคุณภาพเป็นที่ยอมรับและนิยมใช้โปรตีนเซลล์เดียวเป็นแหล่งอาหารกันมากในฝรั่งเศส (มงคล, 2532)

มิงค์

ได้มีการทดลองเลี้ยงมิ้งค์ด้วยโปรตีนเซลล์เดียว ผลปรากฏว่าไม่เป็นอันตรายใด ๆ ต่อมิ้งค์ (มงคล, 2532)

สรุปได้ว่ายังไม่มีหลักฐานที่ชี้ให้เห็นว่าการนำโปรตีนเซลล์เดียวไปใช้เป็นส่วนผสมในอาหารสัตว์จะให้ผลที่แตกต่างในด้านความต้องการอาหารของสัตว์พันธุ์ต่าง ๆ อย่างเห็นได้ชัด แต่ก็ไม่พบลักษณะที่เป็นอันตรายที่ร้ายแรง

ในอนาคต การใช้โปรตีนเซลล์เดียวเป็นแหล่งอาหารสำหรับสัตว์จะมีความเป็นไปได้ใน 3 แนวทาง คือ

1. การเพิ่มปริมาณโปรตีนเซลล์เดียวที่นำไปใช้
2. การปรับปรุงสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว
3. การทดลองอย่างต่อเนื่อง

2.9 วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

วัตถุดิบหลายชนิดที่สามารถนำมาใช้เป็นแหล่งอาหารในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวได้ ซึ่งรวมไปถึงของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมและการเกษตรด้วย ตัวอย่างของแหล่งอาหารที่สามารถนำมาใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวได้แสดงไว้ในตารางที่ 3.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3. แหล่งอาหารบางชนิดที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว (Edelman และคณะ, 1983)

ปิโตรเคมี	น้ำมันก๊าซ n-alkane (พาราฟิน) มีเทน
สารเคมี	เมทานอล เอทานอล กรดแอซีติก
คาร์โบไฮเดรต	เซลลูโลส แป้ง ซูโครส กลูโคส
ของเสีย	หางนม เปลือกผลไม้ ชานอ้อย น้ำทิ้งจากโรงงานทำกระดาษ กากน้ำตาล น้ำทิ้ง มูลสัตว์

Gaden (1974) ได้แบ่งวัตถุดิบสำหรับผลิตโปรตีนเซลล์เดียวออกเป็น 2 ประเภทใหญ่ ๆ คือ ไฮโดรคาร์บอน และ คาร์โบไฮเดรต

1. ไฮโดรคาร์บอน

ซึ่งมีทั้งที่อยู่ในสภาพเป็นของเหลว เช่น เมทานอล เอทานอล n-paraffin และไฮโดรคาร์บอนในสภาพแก๊ส เช่น มีเทน เอ็น-บิวเทน โพรเพน อีเทน เป็นต้น จุดเริ่มต้นที่สนใจใช้สารประเภทนี้เป็นวัตถุดิบเพราะมีปริมาณมากราคาถูก และมีความบริสุทธิ์สูง แต่ในช่วงนั้นอยู่ในวิกฤตการณ์น้ำมัน จึงทำให้ความสนใจในการนำสารพวกนี้มาใช้เป็นวัตถุดิบเปลี่ยนไป

2. คาร์โบไฮเดรต

ได้แก่น้ำตาล แป้ง เซลลูโลส รวมถึงของเหลือใช้จากการเกษตรและอุตสาหกรรม ซึ่งได้จากแหล่งต่าง ๆ เช่น

เอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของผลงานนำไปใช้

2.1 กากน้ำตาล ได้จากโรงงานทำน้ำตาล ซึ่งจะเป็นน้ำตาลที่ได้จากอ้อยหรือหัวบีท ขึ้นกับ

ท้องถิ่น ส่วนประกอบของกากน้ำตาลจากอ้อยและหัวบีทแสดงในตารางที่ 4. (ดวงพร,2530)

ตารางที่ 4. ส่วนประกอบของกากน้ำตาล (ดวงพร,2530)

Analysis	Average value	
	Beet molasses	Canmolasses
Invert sugar (%)	57	59
Nonfermentables (%)	2.1	3.5
Ash (%)	6.3	5.9
P_2O_5	0.02	0.1
CaO	0.5	0.8
MgO	0.1	0.7
K_2O	3.7	2.2
Vitamins (mg/g)		
Biotin	0.08	0.7
Thiamin	0.6	1.0
Pyridoxine	5.5	3.5
Nitrogen (%)	1.6	0.4
Betaine	0.80	
Amino nitrogen	0.15	

2.2 น้ำทิ้งจากโรงงานทำกระดาษ (Spent sulfite waste liqour) มีส่วนประกอบดังแสดงใน ตารางที่ 5.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5. ส่วนประกอบของน้ำทิ้งจากโรงงานทำกระดาษ (ดวงพร, 2530)

ส่วนประกอบ	กรัมต่อลิตร
Neutralized solids	100
น้ำตาลทั้งหมด	15-22
น้ำตาลเฮกโซส	11-16
น้ำตาลเพนโทส	4-6
กรดระเหย	2-5
กำมะถัน	3-8
สารอนินทรีย์	0.5-2.5
สารอินทรีย์	2.5-5.5
ลิกนิน (ลิกโนเซลลูโลส)	50-65
แคลเซียม	7-10

2.3 น้ำทิ้งจากโรงงานมันฝรั่ง(Potato waste water) แสดงส่วนประกอบในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ส่วนประกอบของน้ำทิ้งจากโรงงานมันฝรั่ง (ดวงพร, 2530)

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

2.4 น้ำทิ้งจากอุตสาหกรรมเนย (whey) มีลักษณะเป็นของเหลวสีเหลือง ประกอบด้วยน้ำตาลแล็คโทส 5 เปอร์เซ็นต์ โปรตีน 1 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 0.3 เปอร์เซ็นต์ และเถ้า 0.6 เปอร์เซ็นต์

2.5 น้ำตาลโมเลกุลใหญ่ แบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ แป้งและเซลลูโลส โดยวัตถุดิบพวกนี้ต้องผ่านกระบวนการทางเคมีหรือเอนไซม์เพื่อย่อยให้เป็นน้ำตาลก่อน หลังจากนั้นจึงนำไปเลี้ยงจุลินทรีย์

2.6 เมล็ดธัญพืช โดยทั่วไปจะมีแป้งเป็นส่วนใหญ่ โปรตีนมีเพียงเล็กน้อยและมักขาดกรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อะมิโนที่จำเป็นเช่น ข้าวสาลี ขาดไลซีน และทริปโตเฟน พืชตระกูลถั่ว ขาดเมทไทโอนีน ไลซีน และทริปโตเฟน ดังนั้นการนำมาเป็นวัตถุดิบผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจึงเป็นการเพิ่มคุณค่าทางอาหาร

2.7 มันสำปะหลัง มีแป้งเป็นส่วนใหญ่ มีโปรตีนเพียง 1 เปอร์เซ็นต์ ในหัวมันสำปะหลัง มันสำปะหลังถูกใช้เป็นอาหารหลักของประชากรแถบบราซิล อัฟริกาตะวันตก และอินโดนีเซีย มีหลายประเทศนิยมใช้มันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบสำหรับผลิตโปรตีนเซลล์เดียว เนื่องจากราคาถูก หาง่าย มีทุก ๆ ฤดูกาล

2.8 เซลลูโลส เป็นสารอินทรีย์ที่เป็นส่วนประกอบของพืชทุกชนิด ซึ่งเป็นของเหลือใช้จากการเกษตรและอุตสาหกรรม ในสหรัฐอเมริกา ประมาณว่ามีของเหลือใช้จากการเกษตรสูงถึง 200 ล้านตันต่อปี และขยะจากที่อยู่อาศัยพบว่า 40-50 เปอร์เซ็นต์ ของขยะที่ทิ้งเป็นพวกเซลลูโลส ชานอ้อยก็เป็นของเหลือทิ้งจำพวกเซลลูโลสมีส่วนประกอบดังนี้คือ ความชื้น 50 เปอร์เซ็นต์ เซลลูโลส 50-60 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักแห้ง เฮมิเซลลูโลส 10-20 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักแห้ง นอกนั้นเป็นลิกนินและเถ้า

ประโยชน์ของการนำของเสียกลับมาใช้เป็นแหล่งอาหารในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

(1) ลดมลภาวะสิ่งแวดล้อมเป็นพิษ

(2) มีราคาถูกและหาง่าย

(3) สามารถนำมาเปลี่ยนรูปให้เป็นพลังงานและโปรตีนได้

(4) ช่วยลดปัญหาการขาดแคลนโปรตีนของชุมชน

(5) สามารถนำเทคโนโลยีใหม่ ๆ มาประยุกต์ใช้ในประเทศที่กำลังพัฒนา

2.10 การยอมรับของผู้บริโภคและความเป็นพิษของโปรตีนเซลล์เดียว

ปัญหาของการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวอยู่ตรงที่ความปลอดภัย คุณค่าทางอาหารและการยอมรับของผู้บริโภค เนื่องจากว่าอาหารที่ทำจากโปรตีนเซลล์เดียวนั้นประกอบด้วยจุลินทรีย์ทั้งหมดและจุลินทรีย์เหล่านี้ไม่เคยปรากฏว่ามีการใช้หรือมีการยอมรับในรูปของอาหารมาก่อน (Beech และคณะ,1985) ก่อนที่จะนำผลิตภัณฑ์ที่ได้จากโปรตีนเซลล์เดียวมาใช้เป็นอาหารสัตว์หรืออาหารมนุษย์ก็ตาม ควรมีการทดสอบเพื่อให้แน่ใจว่าไม่เป็นพิษหรือเป็นอันตรายต่อการบริโภค

ข้อควรระวังในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว ได้แก่

วัตถุดิบ วัตถุดิบบางชนิดที่ใช้ในการผลิตอาจเป็นสารก่อมะเร็ง เช่น เอ็นพาราฟิน หรือไฮโดรคาร์บอนบางชนิด (Reed, 1982) ซึ่งจากการศึกษาพบว่า เบเกอร์ยีสต์จากประเทศฝรั่งเศส อังกฤษและรัสเซีย ยีสต์ที่ใช้เป็นอาหารในยุโรปและยีสต์ที่เลี้ยงในน้ำมันก๊าซหรือไฮโดรคาร์บอนที่ได้มาจากโรงงานอุตสาหกรรมปิโตรเคมีเหล่านี้มีไฮโดรคาร์บอน 13 ชนิด รวมทั้งไฮโดรคาร์บอนที่เป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเอกสารนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารก่อมะเร็งด้วย ได้แก่ 3,4 เบนซ์ไพรีน เมทิลโคแลนทรีน (Grimmer, 1974; Riviere, 1977) ถึงแม้ว่าปริมาณของสารที่พบในยีสต์เหล่านี้จะมีอยู่ต่ำกว่า 0.0002 พีพีเอ็ม หรือเพียงเศษหนึ่งส่วนร้อยของที่พบในเนื้อสัตว์รมควันก็ตาม การทดสอบการเกิดมะเร็งในสัตว์ทดลองก็ยังมีความจำเป็นอยู่มาก

การปนเปื้อนในอาหารเลี้ยงเชื้อ Payer (1975) ได้ตรวจพบว่าสารพิษจากสิ่งแวดล้อมสามารถปนเปื้อนมากับสาหร่ายได้ แม้ว่าปริมาณที่พบจะมีน้อยกว่าในอาหารชนิดอื่น โลหะหนักบางชนิดที่อยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้ออาจติดมากับโปรตีนเซลล์เดียวได้ นอกจากนี้กระบวนการผลิตจะต้องถูกสุขลักษณะด้วย ทั้งนี้เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่เป็นเชื้อโรค หรือจุลินทรีย์สร้างสารพิษด้วย นอกจากนี้การปนเปื้อนของสารพิษและจุลินทรีย์อื่น ๆ ที่ไม่ต้องการแล้ว จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจะต้องไม่เป็นเชื้อโรค หรือสามารถสร้างสารพิษได้ด้วย

การทดสอบความเป็นพิษของผลิตภัณฑ์โปรตีนเซลล์เดียวจะต้องทดสอบความเป็นพิษทั้งในระยะสั้นและระยะยาว โดยใช้สัตว์ทดลองหลายชนิดด้วยกัน เพื่อให้แน่ใจว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้ปลอดภัยต่อการบริโภค ซึ่งการทดสอบนี้จะต้องใช้ระยะเวลาและค่าใช้จ่ายสูง ดังนั้นการพัฒนาผลิตภัณฑ์โปรตีนเซลล์เดียวส่วนใหญ่มักจะใช้เป็นอาหารสัตว์มากกว่าอาหารมนุษย์

มีรายงานเกี่ยวกับการทดลองให้โปรตีนเซลล์เดียวในมนุษย์ พบว่าให้ผลแตกต่างกันออกไป ตั้งแต่อาการปกติ จนถึงอาการไม่สบาย ระบบทางเดินอาหารเป็นพิษ ผิวหนังลอกเป็นเกล็ดและอื่น ๆ ซึ่งอาการเหล่านี้จะปรากฏชัดขึ้นในกรณีที่มีการบริโภคโปรตีนเซลล์เดียวในปริมาณมาก ในการศึกษาถึงผลของโปรตีนเซลล์เดียวในมนุษย์ ควรใช้ตัวอย่างอย่างน้อย 25 คน หรือ 50 คน จึงจะเหมาะสม โดยพบว่าแบคทีเรียที่นำมาใช้เป็นอาหารโปรตีนจะทำให้มนุษย์เกิดอาการคลื่นไส้อาเจียน และท้องเสียมากกว่าจุลินทรีย์อื่น ๆ ซึ่งปฏิกิริยาเหล่านี้อาจเนื่องมาจากสารที่มีลักษณะคล้ายสารพิษ endotoxin ที่อยู่ในเซลล์ของแบคทีเรีย(Litchfield, 1991) นอกเหนือจากนี้ก็พบว่าการบริโภคโปรตีนเซลล์เดียวสำหรับมนุษย์ส่วนใหญ่สามารถยอมรับได้ อย่างไรก็ดีในการใช้โปรตีนเซลล์เดียวเป็นอาหารมนุษย์ควรนำมาผ่านกรรมวิธีแปรรูปให้เป็นอาหารชนิดอื่นก่อนที่จะนำมาใช้บริโภคจะเป็นการเหมาะสมกว่า

ปัจจัยอื่น ๆ ที่มีผลต่อการบริโภคนอกเหนือจากที่กล่าวมาแล้ว ได้แก่ผนังเซลล์ที่ย่อยไม่ได้ สีของจุลินทรีย์ที่น่ารังเกียจ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสีของสาหร่าย และกลิ่นรสที่ไม่พึงปรารถนาเช่นในกรณีของสาหร่ายและยีสต์ นอกจากนี้ในการบริโภคเซลล์ควรทำให้เซลล์ตายเสียก่อน เนื่องจากว่าการบริโภคเซลล์ที่มีชีวิตเข้าไป อาจมีผลทำให้เกิดการแบ่งเซลล์ขึ้นในลำไส้ และทำให้เกิดการหมักขึ้น ซึ่งมีผลทำให้เกิดสารพิษพวกเอมีน (amine) หรืออาจมีการใช้วิตามินบีในลำไส้มนุษย์ได้ (ดุษณี, 2537)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 เชื้อจุลินทรีย์

เชื้อเห็ดนางฟ้าภูฐาน (*Pleurotus* sp. strain Bhutan) จากศูนย์รวบรวมเชื้อพันธุ์เห็ดแห่งประเทศไทย กลุ่มงานชีววิทยาประยุกต์ กองโรคพืชและจุลชีววิทยา

3.2 วัสดุและอุปกรณ์

1. กากน้ำตาล
2. เครื่องวัดพีเอช (pH meter) รุ่น HM-7E
3. เครื่องชั่งชนิด 4 ตำแหน่ง รุ่น A 200S และ 2 ตำแหน่ง รุ่น B-3100J
4. สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ รุ่น UNICAM 8620
5. เครื่องย่อย (digester)
6. เครื่องกลั่น (distiller)
7. เดซิกเคเตอร์
8. ชุดเครื่องกรอง
9. เครื่องเขย่า (shaker)
10. ตู้ปลอดเชื้อ (laminar air flow)
11. cork borer เบอร์ 3

3.3 วิธีการทดลอง

3.3.1 การเตรียมกล้าเชื้อเห็ด

1. เขี่ยเส้นใยบริสุทธิ์ในขวดเชื้อลงบนจานเพาะเชื้อ บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน
2. เจาะส่วนปลายของเส้นใยด้วย cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.8 ซม.ใส่เป็นหัวเชื้อฟลาสก์ละ 3 ชิ้น

3.3.2 ศึกษาระดับพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใย

1. เตรียมอาหาร YM ที่ปรับระดับพีเอชของอาหารเป็น 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0 และ 7.5
2. บรรจุอาหารที่ปรับค่าพีเอชแล้วปริมาตร 100 มล. ลงในฟลาสก์ขนาด 250 มล. แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ใส่หัวเชื้อ 3 ชิ้น เลี้ยงบนเครื่องเขย่าด้วยความเร็ว 250 รอบ/ นาที ที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

4. นำไปหามวลชีวภาพและปริมาณโปรตีน (true protein)

3.3.3 เปรียบเทียบการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากเชื้อเห็ดนางฟ้าภูฐาน ในอาหารสูตรดัดแปลง เพื่อหาชนิดและอัตราส่วนของ แหล่งคาร์บอน : แหล่งไนโตรเจน : แหล่งฟอสฟอรัส (ใช้ KH_2PO_4 0.35 w/v) : yeast extract (0.3 %w/v) ที่ผลิตได้ปริมาณโปรตีนสูงสุด

1. แหล่งคาร์บอน

เปรียบเทียบระหว่าง กากน้ำตาล และน้ำตาลซูโครสที่ความเข้มข้น 6, 7, 8 และ 9 %w/v

2. แหล่งไนโตรเจน

เปรียบเทียบระหว่าง โพแทสเซียมไนเตรต (KNO_3) และแอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$) ที่ความเข้มข้น 0.8, 1.0, 1.2 และ 1.4 %w/v

โดยปรับพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อตามข้อ 3.3.2 ที่ให้ผลโปรตีนสูงสุด

บรรจุอาหารที่ปรับค่าพีเอชแล้วลงในฟลาสก์ขนาด 250 มล. จำนวน 100 มล. แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ เป็นเวลา 10 นาที

ใส่หัวเชื้อ 3 ชิ้น เลี้ยงบนเครื่องเขย่าด้วยความเร็ว 250 รอบ / นาที ที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

นำไปหามวลชีวภาพและปริมาณโปรตีน (true protein)

3.3.4 ศึกษาการเจริญของเชื้อเห็ดในอาหารสูตรดัดแปลงที่เวลาต่าง ๆ กัน

1. เตรียมอาหารสูตรดัดแปลง ที่เติมแหล่ง C : N ในอัตราส่วนที่ทดสอบได้ผลโปรตีนสูงสุด รวมถึง KH_2PO_4 3.35 %w/v และ yeast extract 0.3 %w/v ปรับพีเอชที่ได้จากข้อ 3.3.2

2. เพาะเลี้ยงเซลล์บนเครื่องเขย่าความเร็ว 250 รอบ/นาที ที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน โดย เก็บตัวอย่างวิเคราะห์ที่เวลาเดียวกันทุกวัน โดยวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ พีเอช มวลชีวภาพ และปริมาณโปรตีน (true protein)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 1. การเจริญของเชื้อ *Pleurotus* sp. strain Bhutan บนอาหารแข็ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2. การเจริญของเชื้อ *Pleurotus* sp. strain Bhutan โดยการหมักในอาหารเหลว

3.4 การวิเคราะห์

การหานำหนักแห้ง ตามวิธีของ Miller Method

<u>วิธีการ</u>

1. นำกระทงอลูมิเนียมอบที่ 80 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นในโถอบแห้ง (desicator) แล้วนำมาชั่งหาน้ำหนักแห้งที่แน่นอน (W_1)
2. นำตัวอย่างที่ทำการกรอง ส่วนใสนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบอื่น ๆ ส่วนตะกอนนำไปใส่กระทงอลูมิเนียมที่อบไว้
3. อบที่ 60 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ ประมาณ 24-48 ชั่วโมง
4. นำมาใส่ใน โถอบแห้ง ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วชั่งน้ำหนัก (W_2)
5. นำค่าน้ำหนักมาทำการคำนวณก็จะได้ค่าน้ำหนักแห้งของเซลล์ในอาหาร 100 มล.

$$\text{น้ำหนักแห้ง} = \frac{(W_2 - W_1) \times 1000 \text{ g/l}}{100}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การหาปริมาณ true protein

สารเคมี

- สารละลาย A : 1% (w/v) คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4 . 5 H_2O$)
- สารละลาย B : 2% (w/v) โซเดียม โพแทสเซียม ทาร์เทรต (Sodium potassium tartrate)
- สารละลาย C : 0.2 M โซเดียม ไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide)
- สารละลาย D : 4% (w/v) โซเดียม คาร์บอเนต (Sodium carbonate)

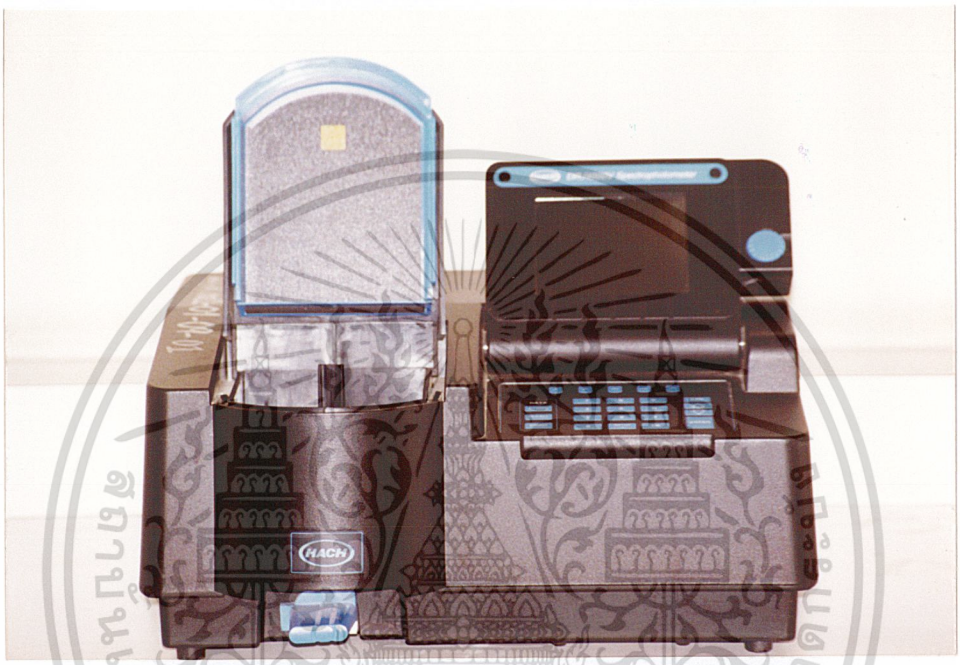
สารละลายเหล่านี้เก็บที่อุณหภูมิห้องได้

- Folin – Ciocalteau reagent

วิธีการ

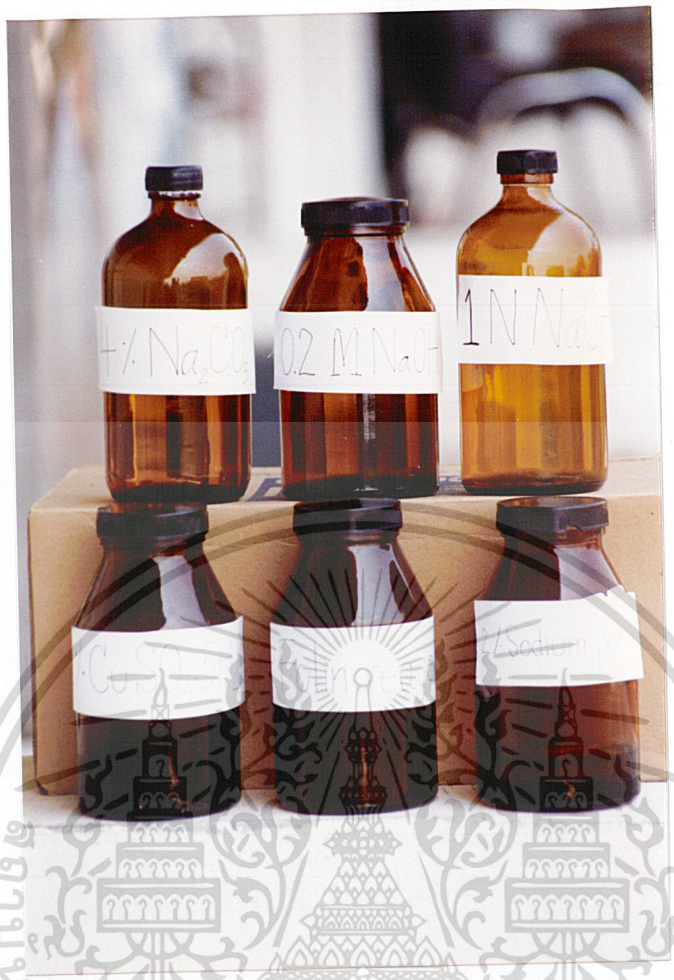
1. เตรียมสารละลาย E โดยผสมสารละลาย C 49 มล. กับสารละลาย D 49 มล. แล้วเติมสารละลาย A 1 มล. จากนั้น จึงใส่สารละลาย B 1 มล. สารละลาย E ต้องเตรียมใหม่ทุกครั้งก่อนทำการทดลอง
2. เจือจาง Folin – Ciocalteau reagent ในอัตราส่วน 1:1 ด้วยน้ำกลั่นเรียกว่า สารละลาย F
3. ใช้สารตัวอย่างที่ต้องการหาปริมาณโปรตีน (โดยมีค่าโปรตีนไม่เกิน 0.5 มก.) 0.5 มล. เติมสารละลาย E 2.5 มล. เขย่าให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้นาน 10 นาที
4. ใส่สารละลาย F 0.25 มล. ลงไปในหลอดในข้อ 3
5. เขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ นาน 30 นาที
6. วัด absorbance ที่ 750 นาโนเมตร โดยใช้ Sample buffer เป็น Blank ทำตามขั้นตอน 3-6
7. เตรียม Standard curve โดยใช้ BSA ความเข้มข้นระหว่าง 0.05-0.3 มก./มล.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

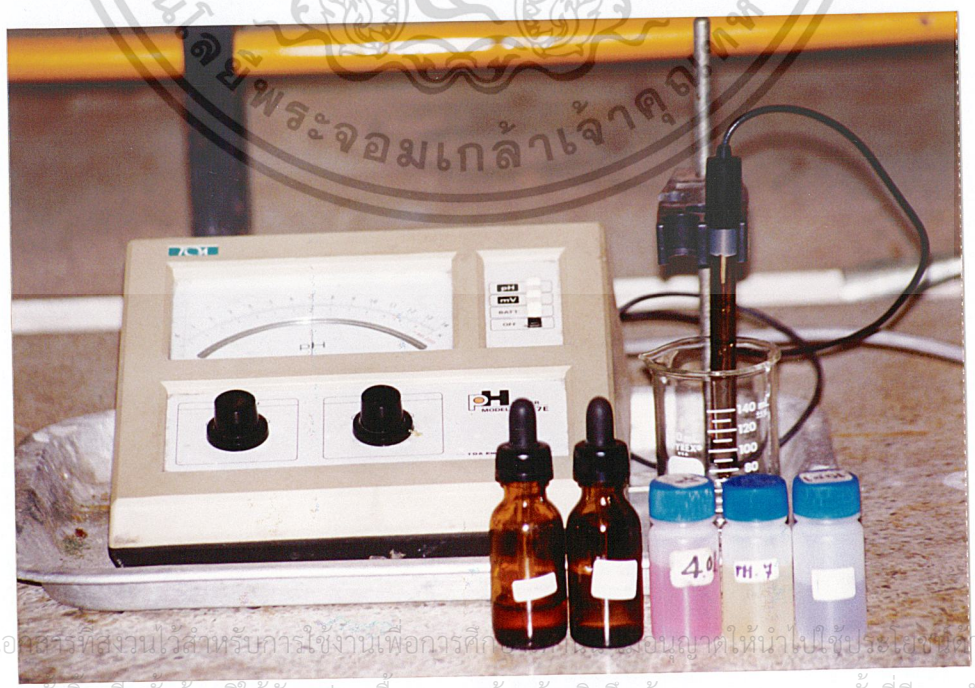


รูปที่ 3. สเปกโทรโฟโตมิเตอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

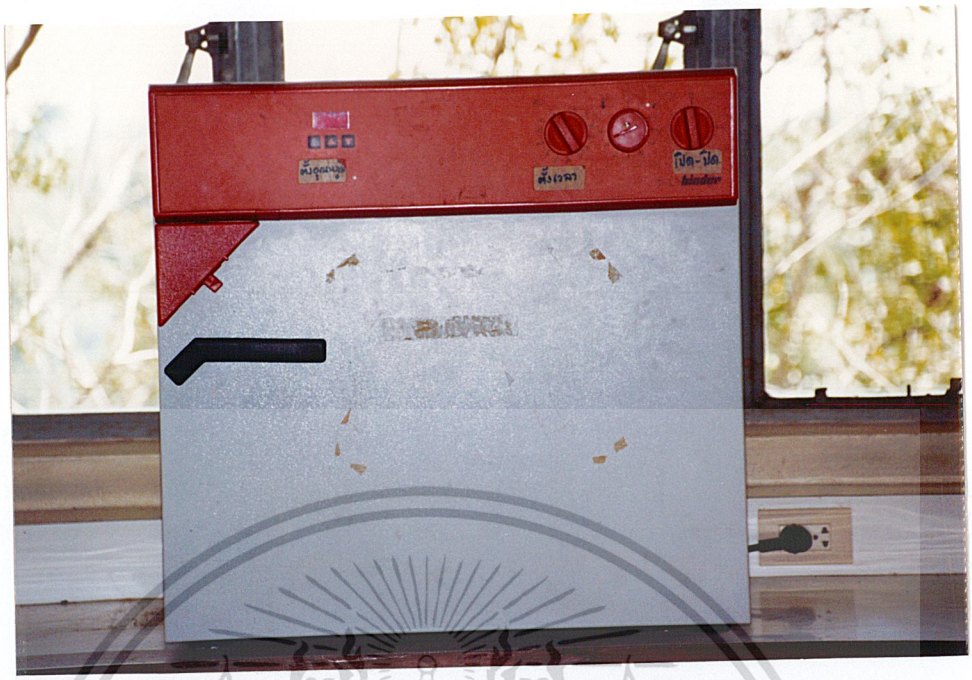


รูปที่ 4. สารเคมีที่ใช้ในการทดสอบค่าโปรตีน

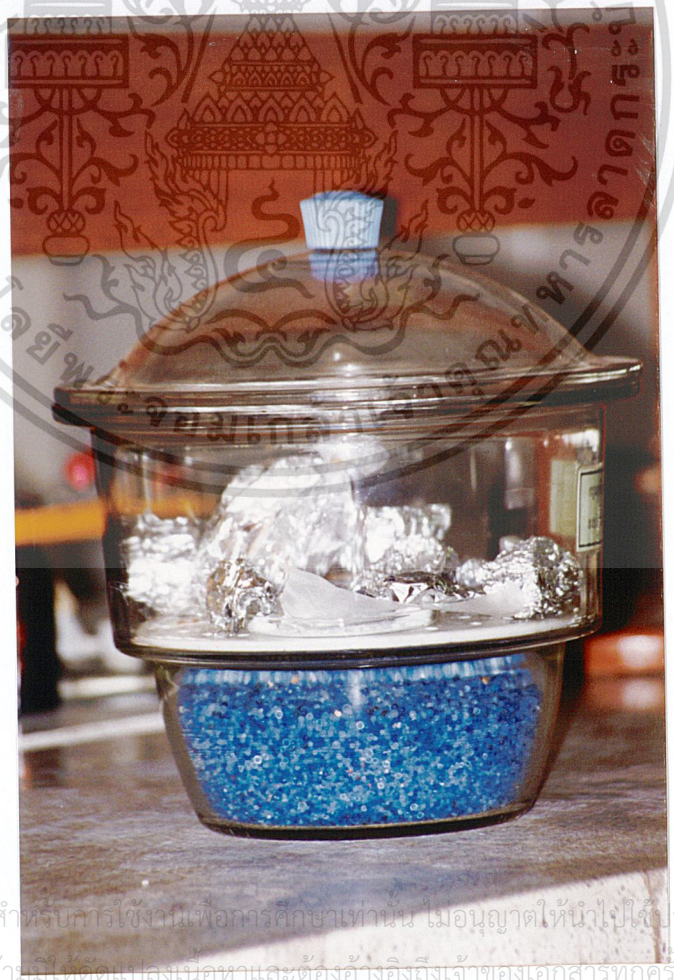


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 5. เครื่องวัดค่าพีเอช



รูปที่ 6 . ตู้อบลมร้อน



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 7 . เดซิเคเตอร์

บทที่ 4
ผลการทดลอง

1. การศึกษาระดับ พีเอช ที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ด

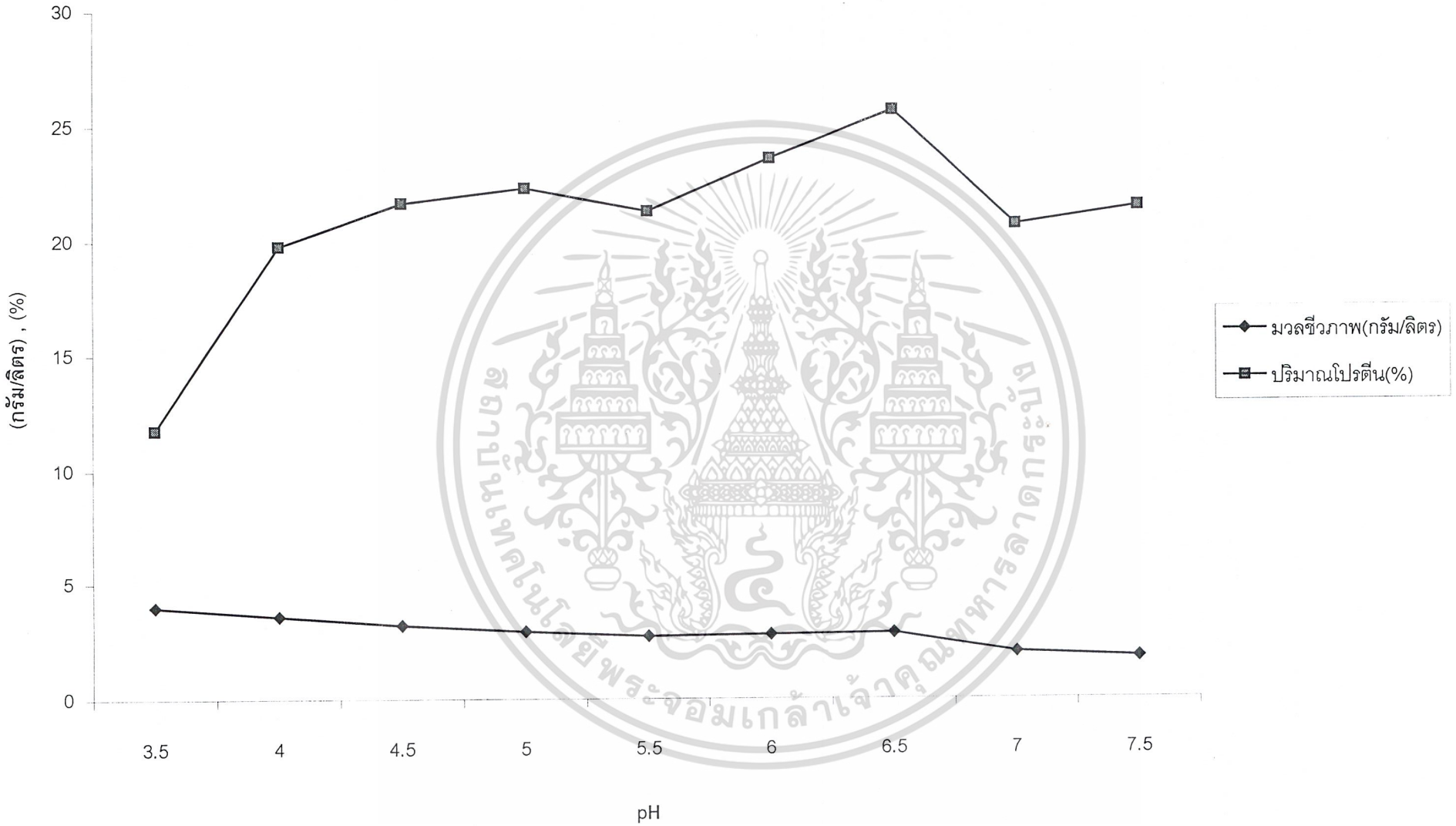
จากการศึกษาการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากเห็ดนางฟ้าภูฐานในอาหารเหลว YM ที่ระดับพีเอช ต่างๆ พบว่าที่พีเอช 6.5 ได้โปรตีนเซลล์เดียวที่มีปริมาณโปรตีนสูงสุด 25.67 %มวลชีวภาพ 2.825 กรัม/ลิตร และได้ปริมาณโปรตีนต่อมวลชีวภาพ(กรัมโปรตีน/กรัมน้ำหนักแห้ง) สูงสุดคือ 0.7251 กรัม ในขณะที่ระดับ พีเอช อื่น ๆ ให้ปริมาณโปรตีนต่ำกว่า ดังนั้นจึงเลือกใช้ระดับ พีเอช ที่ 6.5 ในการทดลองต่อไป

แสดงผลดังตารางที่ 7.

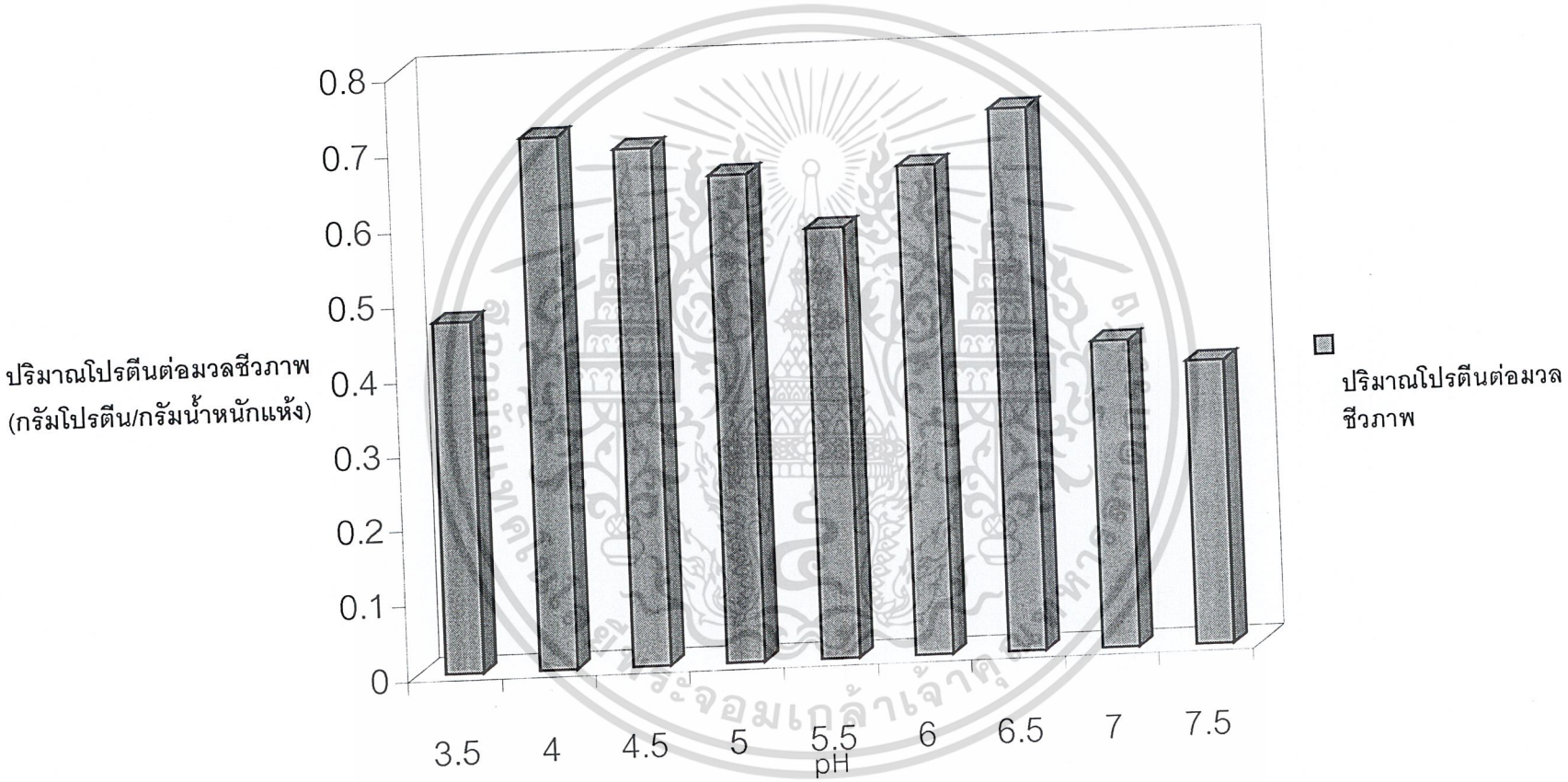
ตารางที่ 7. มวลชีวภาพและปริมาณโปรตีนของเส้นใยเห็ดที่ระดับ พีเอช ต่าง ๆ

ระดับ พีเอช	มวลชีวภาพ (กรัม/ลิตร)	ร้อยละของโปรตีน	ปริมาณโปรตีนต่อมวลชีวภาพ(กรัมโปรตีน/กรัมน้ำหนักแห้ง)
3.5	3.9882	11.77	0.4693
4.0	3.5884	19.80	0.7105
4.5	3.1906	21.67	0.6913
5.0	2.9238	22.30	0.6520
5.5	2.7064	21.30	0.5765
6.0	2.7780	23.57	0.6547
6.5	2.8250	25.67	0.7251
7.0	1.9834	20.70	0.4106
7.5	1.7638	21.50	0.3792

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 8. กราฟแสดงมวลชีวภาพ(กรัม/ลิตร) และปริมาณโปรตีน(%)ของเส้นใย
.ในอาหารที่ระดับพีเอชต่างๆ



รูปที่ 9. กราฟแสดงค่าปริมาณโปรตีนต่อมวลชีวภาพ(กรัมโปรตีน/กรัมน้ำหนักแห้ง)
ของเส้นใยในอาหารที่ระดับพีเอชต่าง ๆ

2. **การหาชนิดและอัตราส่วน C : N ที่เหมาะสม** จากการเปรียบเทียบระหว่าง

กากน้ำตาล : $(NH_4)_2SO_4$

น้ำตาลซูโครส : $(NH_4)_2SO_4$

กากน้ำตาล : KNO_3

น้ำตาลซูโครส : KNO_3

โดยสร้างเป็นสูตรอาหาร 16 สูตร จากอัตราส่วนความเข้มข้นของแหล่ง C : N ดังนี้

สูตรอาหารที่	C : N (%w/v :%w/v)	สูตรอาหารที่	C:N (%w/v :%w/v)
1	6 : 0.8	9	6 : 1.2
2	7 : 0.8	10	7 : 1.2
3	8 : 0.8	11	8 : 1.2
4	9 : 0.8	12	9 : 1.2
5	6 : 1.0	13	6 : 1.4
6	7 : 1.0	14	7 : 1.4
7	8 : 1.0	15	8 : 1.4
8	9 : 1.0	16	9 : 1.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1 ผลการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวในอาหารสูตรดัดแปลงที่ใช้แหล่งคาร์บอน : ไนโตรเจน คือ กากน้ำตาล : แอมโมเนียมซัลเฟต

จากการศึกษาพบว่าที่ความเข้มข้นของ กากน้ำตาล : แอมโมเนียมซัลเฟตเป็น 7 : 1.4 (%w/v) เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวเนื่องจากให้ปริมาณโปรตีน 52.97 % โดยได้มวลชีวภาพเท่ากับ 8.635 กรัม/ลิตร และ ปริมาณโปรตีนต่อมวลชีวภาพ(กรัมโปรตีน/กรัมน้ำหนักแห้ง) สูงสุดคือ 4.5741 กรัม ในขณะที่ระดับความเข้มข้นอื่น ๆ จะให้ปริมาณโปรตีนที่ต่ำกว่า แสดงผลดังตารางที่ 8

ตารางที่ 8. มวลชีวภาพและปริมาณโปรตีนของเส้นใยเห็ดในอาหารที่ใช้แหล่งคาร์บอน : ไนโตรเจน เป็น กากน้ำตาล : แอมโมเนียมซัลเฟต

สูตรอาหารที่	มวลชีวภาพ (กรัม/ลิตร)	ร้อยละของโปรตีน	ปริมาณโปรตีนต่อมวลชีวภาพ(กรัมโปรตีน/กรัมน้ำหนักแห้ง)
1	8.1500	40.33	3.2871
2	8.9450	35.64	3.1880
3	9.5250	39.20	3.7334
4	9.8650	31.59	3.1082
5	8.1250	47.94	3.8951
6	6.7350	49.70	3.3475
7	8.3800	45.49	3.8120
8	8.4950	34.66	2.9440
9	7.6250	45.56	3.4739
10	8.8050	39.92	3.5149
11	9.3500	30.28	2.8312
12	8.1700	47.39	3.8720
13	6.4000	41.70	2.6682
14	8.6350	52.97	4.5741
15	6.4700	35.56	2.3013
16	9.5650	41.42	3.9615

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 ผลการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวในอาหารสูตรดัดแปลงที่ใช้แหล่งคาร์บอน : ไนโตรเจน คือ น้ำตาลซูโครส : แอมโมเนียมซัลเฟต

จากการศึกษาพบว่าที่ความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส : แอมโมเนียมซัลเฟตเป็น 8 :1.0(% w/v) เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวเนื่องจากให้ปริมาณโปรตีน 30.12 %ได้มวลชีวภาพเท่ากับ 2.7440 กรัม/ลิตร และปริมาณโปรตีนต่อมวลชีวภาพ(กรัมโปรตีน/กรัมน้ำหนักแห้ง) สูงสุดคือ 0.8264 กรัม ในขณะที่ระดับความเข้มข้นอื่น ๆ จะให้ปริมาณโปรตีนที่ต่ำกว่า แสดงผลดังตารางที่ 9

ตารางที่ 9. มวลชีวภาพและปริมาณโปรตีนของเส้นใยเห็ดในอาหารที่ใช้แหล่งคาร์บอน : ไนโตรเจน เป็น น้ำตาลซูโครส : แอมโมเนียมซัลเฟต

สูตรอาหารที่	มวลชีวภาพ (กรัม/ลิตร)	ร้อยละของโปรตีน	ปริมาณโปรตีนต่อมวลชีวภาพ (กรัมโปรตีน/กรัมน้ำหนักแห้ง)
1	1.7650	20.26	0.3576
2	2.0540	22.25	0.4570
3	1.8760	18.98	0.3560
4	2.8430	21.36	0.6074
5	1.8280	17.46	0.3192
6	2.3120	23.37	0.5402
7	2.7440	30.12	0.8264
8	2.6270	28.09	0.7379
9	2.3510	27.44	0.6451
10	1.9250	18.24	0.3512
11	2.1490	16.69	0.3587
12	2.1370	24.27	0.5187
13	1.6400	20.70	0.3395
14	2.5380	25.38	0.6442
15	2.5920	26.77	0.6939
16	2.3920	23.76	0.5684

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 ผลการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวในอาหารสูตรดัดแปลงที่ใช้แหล่งคาร์บอน : ไนโตรเจน คือ กากน้ำตาล:โพแทสเซียมไนเตรต

จากการศึกษาพบว่าที่ความเข้มข้นของกากน้ำตาล : โพแทสเซียมไนเตรต เป็น 9 :1.2 (% w/v) เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวเนื่องจากให้ปริมาณโปรตีน 42.53 % ได้มวลชีวภาพเท่ากับ 8.51 กรัม/ลิตร โดยมีปริมาณโปรตีนต่อมวลชีวภาพ(กรัมโปรตีน/กรัมน้ำหนักแห้ง) สูงสุดคือ 3.6192 กรัม ตามลำดับ ในขณะที่ระดับความเข้มข้นอื่น ๆ จะให้ปริมาณโปรตีนที่ต่ำกว่า แสดงผลดังตารางที่ 10

ตารางที่10.มวลชีวภาพและปริมาณโปรตีนของเส้นใยเห็ดในอาหารที่ใช้แหล่งคาร์บอน : ไนโตรเจน เป็น กากน้ำตาล : โพแทสเซียมไนเตรต

สูตรอาหารที่	มวลชีวภาพ (กรัม/ลิตร)	ร้อยละของโปรตีน	ปริมาณโปรตีนต่อมวลชีวภาพ(กรัมโปรตีน/กรัมน้ำหนักแห้ง)
1	8.2600	31.05	2.5648
2	7.5450	34.10	2.5728
3	9.5250	34.34	3.2706
4	5.4600	36.72	2.0047
5	7.9450	30.57	2.4255
6	8.9500	29.66	2.6546
7	7.0150	42.83	3.0043
8	8.3700	31.56	2.6417
9	7.5500	44.67	3.3724
10	6.7250	34.21	2.3006
11	6.3550	32.24	2.0129
12	8.5100	42.53	3.6192
13	5.4750	30.16	1.6515
14	5.6400	38.69	2.1822
15	5.6350	40.52	2.2835
16	6.9200	46.00	3.1829

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

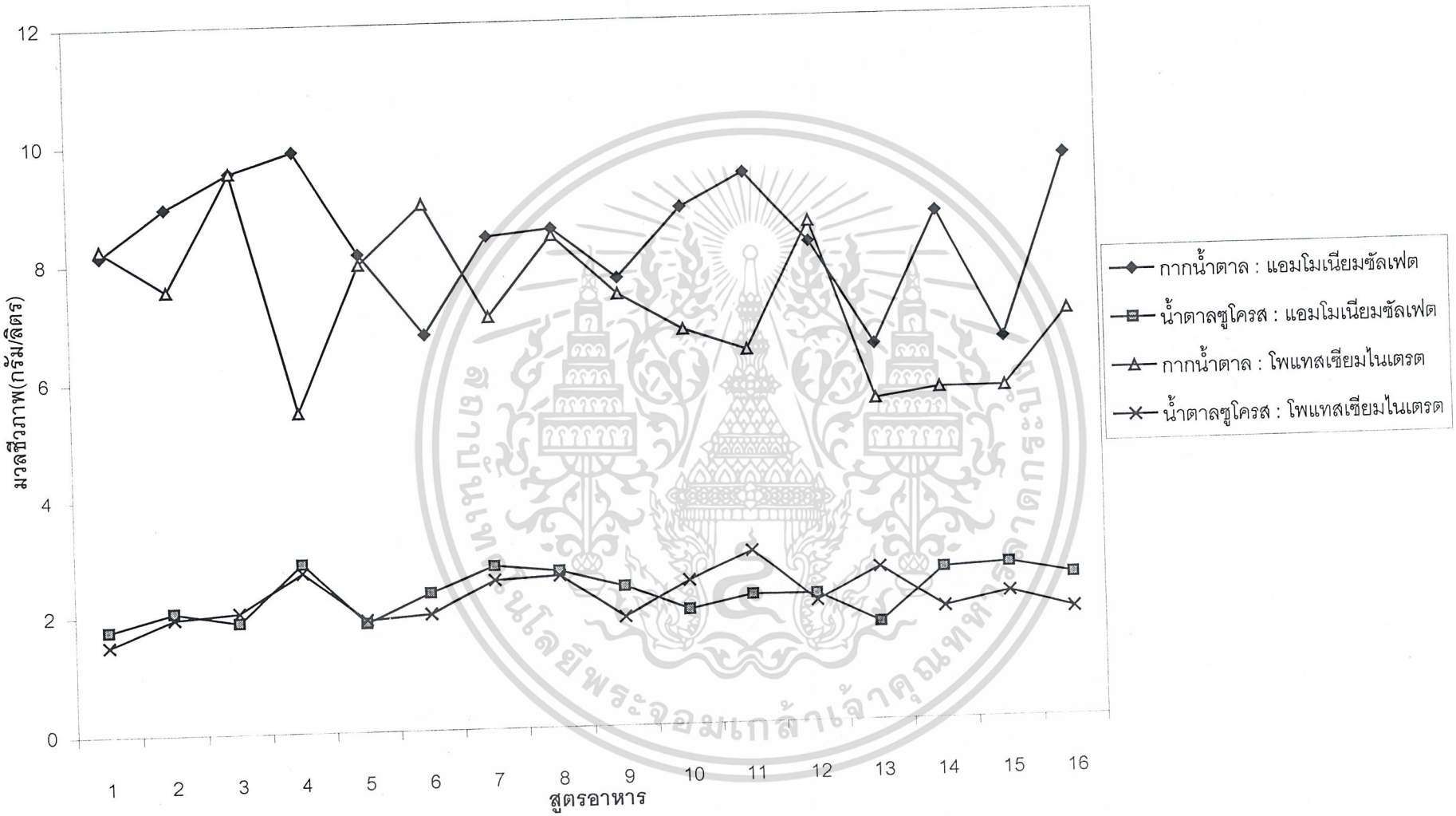
2.4 ผลการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวในอาหารสูตรดัดแปลงที่ใช้แหล่งคาร์บอน : ไนโตรเจน คือ น้ำตาลซูโครส:โพแทสเซียมไนเตรต

จากการศึกษาพบว่าที่ความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส :โพแทสเซียมไนเตรตเป็น 9 :0.8 (% w/v) เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวเนื่องจากให้ปริมาณโปรตีน27.34 % ได้มวลชีวภาพเท่ากับ 2.688 กรัม/ลิตร โดยมีปริมาณโปรตีนต่อมวลชีวภาพ(กรัมโปรตีน/กรัมน้ำหนักแห้ง) สูงสุดคือ 0.735 กรัม ในขณะที่ระดับความเข้มข้นอื่น ๆ จะให้ปริมาณโปรตีนที่ต่ำกว่า แสดงผลดังตารางที่ 11

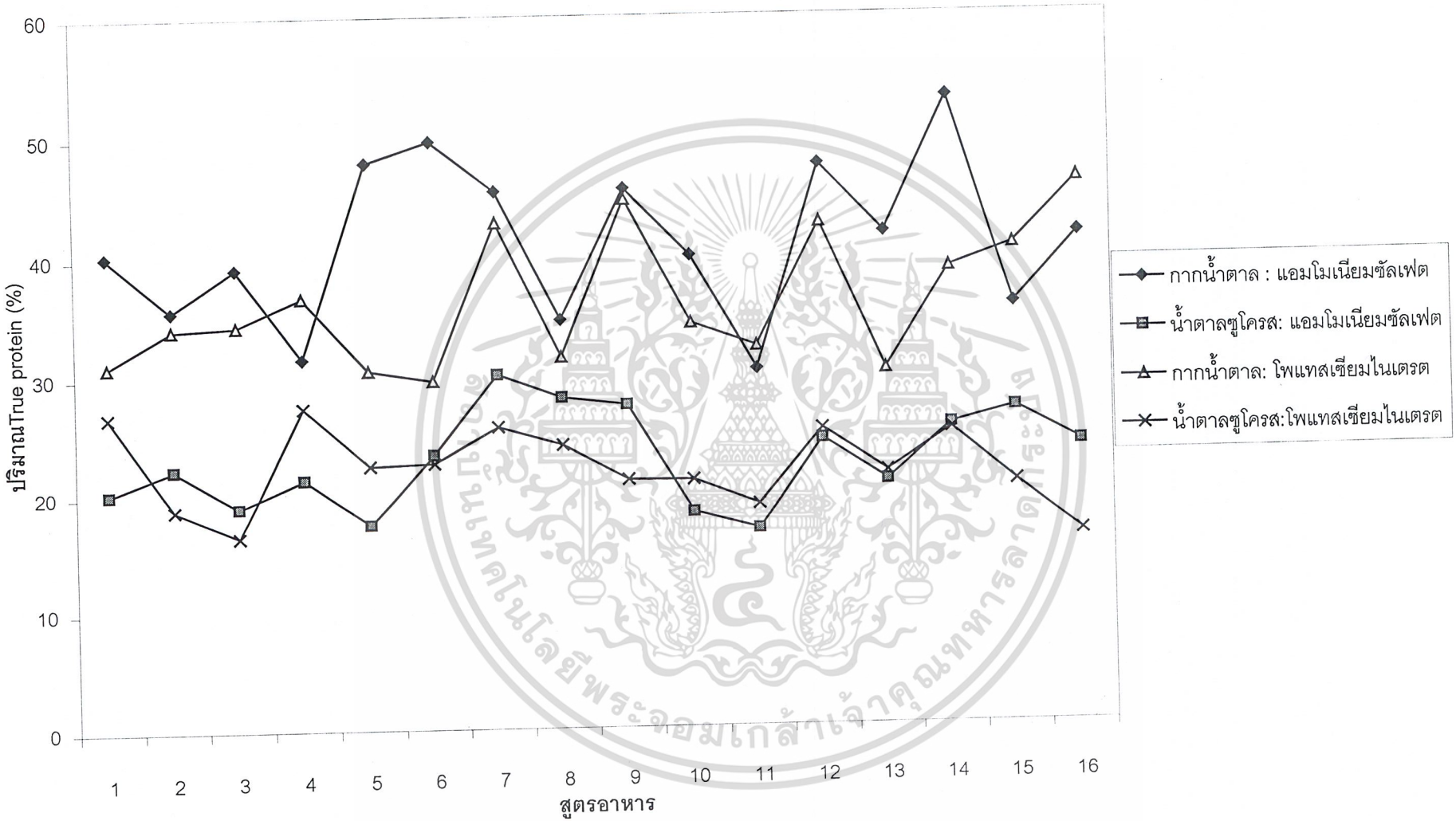
ตารางที่11.มวลชีวภาพและปริมาณโปรตีนของเส้นใยเห็ดในอาหารที่ใช้แหล่งคาร์บอน : ไนโตรเจน เป็น น้ำตาลซูโครส : โพแทสเซียมไนเตรต

สูตรอาหารที่	มวลชีวภาพ (กรัม/ลิตร)	ปริมาณโปรตีน(%)	ปริมาณโปรตีนต่อมวลชีวภาพ(กรัมโปรตีน/กรัมน้ำหนักแห้ง)
1	1.5090	26.76	0.4038
2	1.9530	18.83	0.3677
3	2.0330	16.42	0.3338
4	2.6880	27.34	0.7350
5	1.8803	22.46	0.4224
6	1.9610	22.66	0.4444
7	2.5040	25.68	0.6430
8	2.5540	24.09	0.6153
9	1.8290	21.06	0.3852
10	2.4170	20.99	0.5073
11	2.8960	18.83	0.5453
12	2.0230	25.14	0.5086
13	2.5650	21.49	0.5513
14	1.8740	25.00	0.4685
15	2.1090	20.52	0.4328
16	1.8140	26.13	0.2127

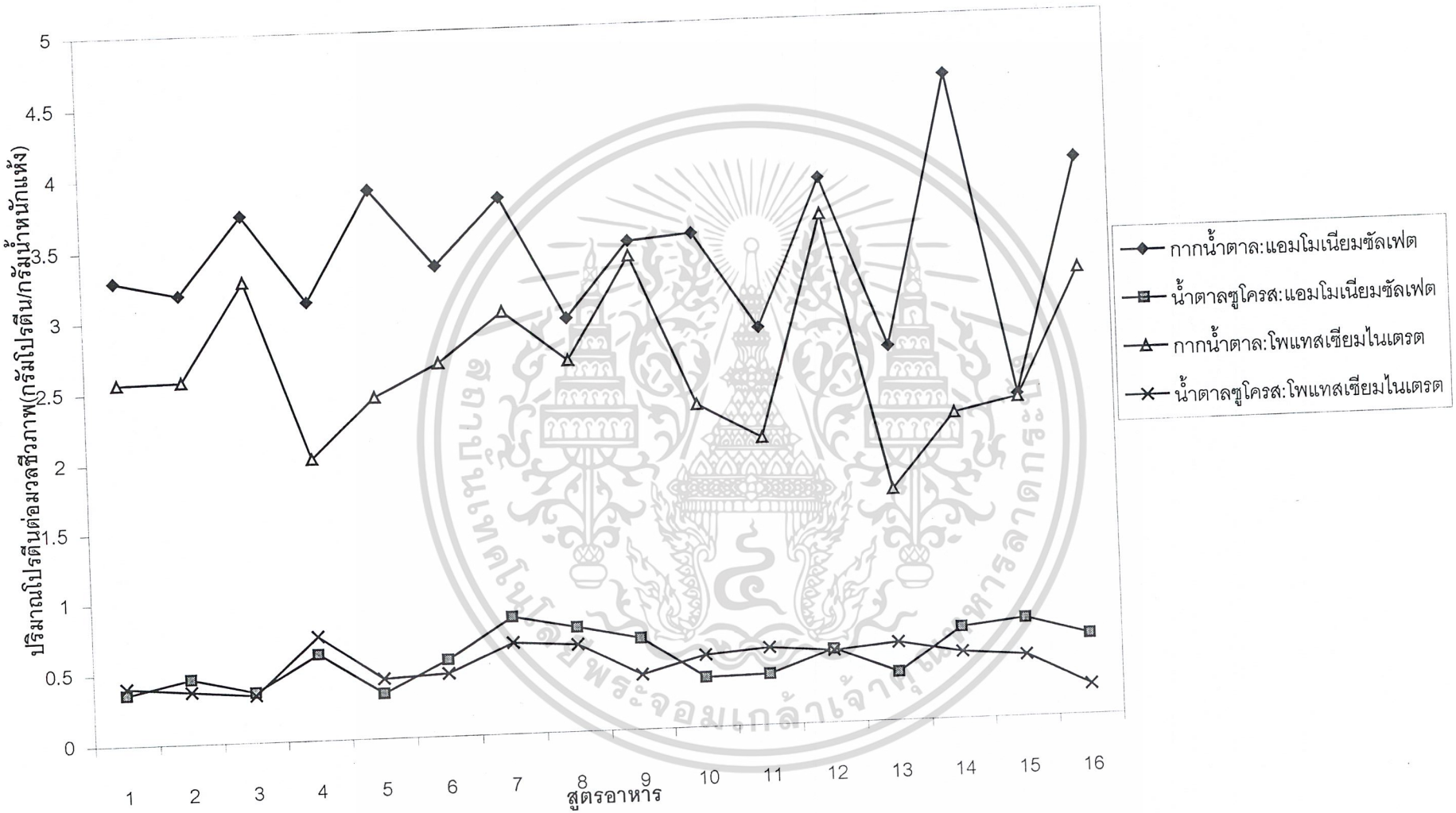
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 10. กราฟแสดงมวลชีวภาพ(กรัม/ลิตร) ของเส้นใยเห็ดในอาหารสูตรต่าง ๆ



รูปที่ 11. กราฟแสดงปริมาณโปรตีน(% true protein) ของเส้นใยเห็ดในอาหารสูตรต่าง ๆ



รูปที่ 12. กราฟแสดงปริมาณโปรตีนต่อมวลชีวภาพ(กรัมโปรตีน/กรัมน้ำหนักแห้ง)
ในอาหารสูตรต่าง ๆ

บทที่ 5
สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ

จากผลการศึกษาประสิทธิภาพในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากเห็ดนางฟ้าภูฐานในสูตรอาหารที่มีการดัดแปลงแหล่งไนโตรเจนและแหล่งคาร์บอนในระดับพีเอชที่ 6.5 โดยใช้แบบแผนการทดลองสำหรับ 2 ปัจจัยคือ Factorial Experiment in CRD (Completely Randomized Design) ทำการวิเคราะห์แยกระหว่างปริมาณโปรตีนต่อมวลชีวภาพที่ได้จากการใช้แหล่งคาร์บอน : แหล่งไนโตรเจนเป็น กากน้ำตาล : แอมโมเนียมซัลเฟต, น้ำตาลซูโครส : แอมโมเนียมซัลเฟต, กากน้ำตาล : โพแทสเซียมไนเตรต และ น้ำตาลซูโครส : โพแทสเซียมไนเตรต ซึ่งแสดงผลดังตารางที่ 12,14, 16 และตารางที่ 18 ตามลำดับ เมื่อพบว่าความแปรปรวนที่วิเคราะห์ได้มีความแตกต่างกันจึงนำค่าเฉลี่ยไปทำการเปรียบเทียบโดยใช้ Duncan 's multiple range test (DMRT) ซึ่งแสดงผลดังตารางที่ 13, 15, 17 และตารางที่ 19 ตามลำดับ

ตารางที่ 12. แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณโปรตีนต่อมวลชีวภาพ (แหล่งอาหารกากน้ำตาล : แอมโมเนียมซัลเฟต)

Source of Variation	Degree of freedom	Sum of square	Mean square	F value	Tabular F 5%	Tabular F 1%
[Molasses] (C)	3	1.540812	0.513604	181.29**	2.90	4.46
[Ammoniumsulphate] (N)	3	0.190377	0.063459	22.40**	2.90	4.46
C X N	9	12.913512	1.434835	506.47**	2.19	3.01
Error	32	0.090648	0.002833			
Total	47	14.735349				

** ต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99%

จากตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งระหว่างระดับความเข้มข้นของกากน้ำตาล : แอมโมเนียมซัลเฟตที่ระดับต่าง ๆ ในด้านปริมาณโปรตีนต่อมวลชีวภาพ จึงทำการเปรียบเทียบระหว่างค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan 's multiple range test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 13. แสดงการเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนต่อมวลชีวภาพ

[Molasses] : [$(NH_4)_2SO_4$] (%w/v)	Ranks	Means
6 : 0.8	10	3.2871 g
7 : 0.8	11	3.1880 h
8 : 0.8	6	3.7334 e
9 : 0.8	12	3.1082 h
6 : 1.0	3	3.8951 bc
7 : 1.0	9	3.3475 g
8 : 1.0	5	3.8120 cde
9 : 1.0	13	2.9440 i
6 : 1.2	8	3.4739 f
7 : 1.2	7	3.5149 f
8 : 1.2	14	2.8312 j
9 : 1.2	4	3.8720 cd
6 : 1.4	15	2.6682 k
7 : 1.4	1*	4.5741 a
8 : 1.4	16	2.3013 l
9 : 1.4	2	3.9651 b

ค่าเฉลี่ยใดที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยใช้ DMRT ที่ 5%

จากตาราง จะเห็นได้ว่าที่ระดับความเข้มข้นกากน้ำตาล : แอมโมเนียมซัลเฟตเท่ากับ 7 : 1.4 (%w/v) จะให้ค่าเฉลี่ยของปริมาณโปรตีนต่อมวลชีวภาพสูงสุด และแตกต่างจากค่าเฉลี่ยอื่น ๆ ดังนั้น จึงสรุปได้ว่าที่ความเข้มข้นของกากน้ำตาล : แอมโมเนียมซัลเฟตเท่ากับ 7: 1.4 (%w/v) ให้ประสิทธิภาพในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากเห็ดนางฟ้าภูฐานดีที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 14. แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณโปรตีนต่อมวลชีวภาพ (แหล่งอาหารน้ำตาลซูโครส : แอมโมเนียมซัลเฟต)

Source of Variation	Degree of freedom	Sum of square	Mean square	F value	Tabular F 5%	Tabular F 1%
[Sucrose] (C)	3	0.26458	0.08819	565.32**	2.90	4.46
[Ammoniumsulphate] (N)	3	0.19663	0.06554	420.13**	2.90	4.46
C X N	9	0.75034	0.08337	534.42**	2.19	3.01
Error	32	0.00499	0.000156			
Total	47	1.21654				

** ต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99%

จากตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งระหว่างระดับความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส : แอมโมเนียมซัลเฟตที่ระดับต่าง ๆ ในด้านปริมาณโปรตีนต่อมวลชีวภาพ จึงทำการเปรียบเทียบระหว่างค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan 's multiple range test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 15. แสดงการเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนต่อมวลชีวภาพ

[Sucrose] : [$(NH_4)_2SO_4$] (%w/v)	Ranks	Means
6 : 0.8	12	0.3576 jk
7 : 0.8	10	0.4570 i
8 : 0.8	13	0.3560 jkl
9 : 0.8	6	0.6074 e
6 : 1.0	16	0.3192 n
7 : 1.0	8	0.5402 g
8 : 1.0	1*	0.8264 a
9 : 1.0	2	0.7379 b
6 : 1.2	4	0.6451 d
7 : 1.2	14	0.3512 jklm
8 : 1.2	11	0.3587 j
9 : 1.2	9	0.5187 h
6 : 1.4	15	0.3395 jklmn
7 : 1.4	5	0.6442 d
8 : 1.4	3	0.6939 c
9 : 1.4	7	0.5684 f

ค่าเฉลี่ยใดที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยใช้ DMRT ที่ 5%

จากตาราง จะเห็นได้ว่าที่ระดับความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส : แอมโมเนียมซัลเฟตเท่ากับ 8 :1.0(%w/v) จะให้ค่าเฉลี่ยของปริมาณโปรตีนต่อมวลชีวภาพสูงสุด และแตกต่างจากค่าเฉลี่ยอื่น ๆ ดังนั้น จึงสรุปได้ว่าที่ความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส : แอมโมเนียมซัลเฟตเท่ากับ 8 :1.0 (%w/v) ให้ประสิทธิภาพในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากเห็ดนางฟ้าภูฐานดีที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 16. แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณโปรตีนต่อมวลชีวภาพ (แหล่งอาหารกากน้ำตาล : โพแทสเซียมไนเตรต)

Source of Variation	Degree of freedom	Sum of square	Mean square	F value	Tabular F 5%	Tabular F 1%
[Molasses] (C)	3	1.311120	0.43704	388.13**	2.90	4.46
[Potassium nitrate] (N)	3	1.597779	0.532593	473.00**	2.90	4.46
C X N	9	10.852695	1.205855	1,070.92**	2.19	3.01
Error	32	0.036021	0.001126			
Total	47	13.797615				

** ต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99%

จากตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งระหว่างระดับความเข้มข้นของกากน้ำตาล : โพแทสเซียมไนเตรต ที่ระดับต่าง ๆ ในด้านปริมาณโปรตีนต่อมวลชีวภาพ จึงทำการเปรียบเทียบระหว่างค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan 's multiple range test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 17. แสดงการเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนต่อมวลชีวภาพ

[Molasses] : [KNO_3] (%w/v)	Ranks	Means
6 : 0.8	9	2.5648 g
7 : 0.8	8	2.5728 g
8 : 0.8	3	3.2706 c
9 : 0.8	15	2.0047 k
6 : 1.0	10	2.4255 h
7 : 1.0	6	2.6546 f
8 : 1.0	5	3.0043 e
9 : 1.0	7	2.6417 f
6 : 1.2	2	3.3724 b
7 : 1.2	11	2.3006 i
8 : 1.2	14	2.0129 k
9 : 1.2	1*	3.6192 a
6 : 1.4	16	1.6515 l
7 : 1.4	13	2.1822 j
8 : 1.4	12	2.2835 i
9 : 1.4	4	3.1829 d

ค่าเฉลี่ยใดที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยใช้ DMRT ที่ 5%

จากตาราง จะเห็นได้ว่าที่ระดับความเข้มข้นกากน้ำตาล : โพแทสเซียมไนเตรตเท่ากับ 9 : 1.2 (%w/v) จะให้ค่าเฉลี่ยของปริมาณโปรตีนต่อมวลชีวภาพสูงสุด และแตกต่างจากค่าเฉลี่ยอื่น ๆ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าที่ความเข้มข้นของกากน้ำตาล : โพแทสเซียมไนเตรต เท่ากับ 9 :1.2 (%w/v) ให้ประสิทธิภาพในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากเห็ดนางฟ้าภูฐานดีที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 18. แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณโปรตีนต่อมวลชีวภาพ (แหล่งอาหารน้ำตาลซูโครส : โพแทสเซียมไนเตรต)

Source of Variation	Degree of freedom	Sum of square	Mean square	F value	Tabular F 5%	Tabular F 1%
[Sucrose] (C)	3	0.15571	0.051903	540.66**	2.90	4.46
[Potassium nitrate] (N)	3	0.03215	0.010717	111.64**	2.90	4.46
C X N	9	0.33716	0.037462	390.21**	2.19	3.01
Error	32	0.00306	0.000096			
Total	47	0.52808				

** ต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99%

จากตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งระหว่างระดับความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส : โพแทสเซียมไนเตรต ที่ระดับต่าง ๆ ในด้านปริมาณโปรตีนต่อมวลชีวภาพ จึงทำการเปรียบเทียบระหว่างค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan 's multiple range test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 19. แสดงการเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนต่อมวลชีวภาพ

[Sucrose] : [KNO_3] (%w/v)	Ranks	Means
6 : 0.8	13	0.4038 i
7 : 0.8	15	0.3677 k
8 : 0.8	16	0.3338 l
9 : 0.8	1*	0.7350 a
6 : 1.0	12	0.4224 h
7 : 1.0	10	0.4444 g
8 : 1.0	2	0.6430 b
9 : 1.0	3	0.6153 c
6 : 1.2	14	0.3852 j
7 : 1.2	7	0.5073 e
8 : 1.2	5	0.5453 d
9 : 1.2	6	0.5086 e
6 : 1.4	4	0.5513 d
7 : 1.4	9	0.4685 f
8 : 1.4	11	0.4328 gh
9 : 1.4	8	0.4739 f

ค่าเฉลี่ยใดที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยใช้ DMRT ที่ 5%

จากตาราง จะเห็นได้ว่าที่ระดับความเข้มข้นน้ำตาลซูโครส : โพแทสเซียมไนเตรตเท่ากับ 9 : 0.8 (%w/v) จะให้ค่าเฉลี่ยของปริมาณโปรตีนต่อมวลชีวภาพสูงสุด และแตกต่างจากค่าเฉลี่ยอื่น ๆ ดังนั้น จึงสรุปได้ว่าที่ความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส : โพแทสเซียมไนเตรต เท่ากับ 9 : 0.8 (%w/v) ให้ประสิทธิภาพในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากเห็ดนางฟ้าภูฐานดีที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลองที่กล่าวมาทั้งหมด นำแหล่งคาร์บอน : ไนโตรเจนที่ดีที่สุดของแต่ละชุดการทดลองมาทำการวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้แผนการทดลองแบบ CRD เมื่อพบว่าความแปรปรวน ที่วิเคราะห์ได้มีความแตกต่างกัน จึงนำค่าเฉลี่ยไปทำการเปรียบเทียบโดยใช้ Least significant difference

ตารางที่ 20. แสดงปริมาณโปรตีนต่อมวลชีวภาพสูงสุด

อัตราส่วนความเข้มข้นที่ให้ค่าสูงสุด	ปริมาณโปรตีนต่อมวลชีวภาพ			ค่าเฉลี่ย
[Molasses] : [$(NH_4)_2SO_4$] 7 : 1.4	4.4819	4.4906	4.7497	4.5741
[Sucrose] : [$(NH_4)_2SO_4$] 8 :1.0	0.8243	0.8289	0.8261	0.8264
[Molasses] : [(KNO_3)] 9 : 1.2	3.6304	3.5962	3.6310	3.6192
[Sucrose] : [(KNO_3)] 9 : 0.8	0.7381	0.7355	0.7314	0.7350

ตารางที่ 21. ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวน

Source of Variation	Degree of freedom	Sum of square	Mean square	F value	Tabular F 5%	Tabular F 1%
Treatment	3	34.366106	11.455369	1945.21	4.07	7.59
Error	8	0.047108	0.005889			
Total	11	34.413241				

* ต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99%

จากตารางวิเคราะห์ความแปรปรวน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งระหว่างความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอน : ไนโตรเจน ที่ดีที่สุดต่าง ๆ ในด้านปริมาณโปรตีนต่อมวลชีวภาพ จึงทำการเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยที่มากที่สุด 2 Treatment คือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กากน้ำตาล : แอมโมเนียมซัลเฟต ที่ 7 : 1.4 (%w/v) และ
กากน้ำตาล : โพแทสเซียมไนเตรต ที่ 9 :1.2 (%w/v) ได้ผลดังนี้

$$LSD_{0.05} = t_{0.05}\sqrt{\frac{2\,MSE}{R}}$$

$$= 2.306\sqrt{\frac{2(0.005889)}{3}} = 0.144489$$

$$LSD_{0.01} = t_{0.01}\sqrt{\frac{2\,MSE}{R}}$$

$$= 3.355\sqrt{\frac{2(0.005889)}{3}} = 0.210217$$

$$d = 4.5741 - 3.6192 = 0.9549$$

$d > LSD_{0.01}$ และ $LSD_{0.05}$

จากผลดังกล่าวจะเห็นได้ว่า ปริมาณโปรตีนต่อมวลชีวภาพสูงสุดเมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากเห็ดนางฟ้าภูฐานควรเป็น กากน้ำตาลและแอมโมเนียมซัลเฟตตามลำดับโดยความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดคือ ที่ความเข้มข้นของกากน้ำตาล : แอมโมเนียมซัลเฟต เท่ากับ 7 : 1.4 หรือคิดเป็นอัตราส่วน 5 : 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อเสนอแนะ

1. ที่ระดับพีเอชต่ำมีผลต่อคุณภาพของโปรตีน โดยการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดในอาหารระดับพีเอช 4 พบว่าได้มวลชีวภาพสูงกว่าที่ระดับพีเอช 6.5 แต่ในวิเคราะห์พบปริมาณโปรตีนต่อมวลชีวภาพต่ำกว่า

2. ในการเก็บเกี่ยวเซลล์ต้องทำการล้างเซลล์อย่างดี ซึ่งในการเพาะเลี้ยงจากแหล่งอาหารกากน้ำตาล สีของผลิตภัณฑ์ที่ได้จะมีลักษณะเข้ม

3. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ ควรเลือกใช้วิธีการฆ่าเชื้อที่ทำให้สูญเสียคุณค่าของสารอาหารบางประเภทน้อยที่สุด เช่นสารพวกวิตามินต่าง ๆ ซึ่งจะมีผลต่อการเจริญของเส้นใยเห็ด

4. ในการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ด จะมีความต้องการแหล่งอาหารที่มีแร่ธาตุสมบูรณ์ ในสัดส่วนความเข้มข้นที่เหมาะสม และมีการให้อากาศอย่างเพียงพอ

วิจารณ์การทดลอง

จากการศึกษาพบว่าเส้นใยเห็ดนางฟ้าภูฐาน (*Pleurotus* sp. strain Bhutan) สามารถทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว บนเครื่องเขย่าอัตราเร็ว 250 รอบต่อนาที ระดับพีเอชเริ่มต้นของอาหารที่ 6.5 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน โดยสูตรอาหารเหลวดัดแปลงมีองค์ประกอบดังนี้ กากน้ำตาล 7 เปอร์เซ็นต์ ใช้ $(NH_4)_2SO_4$ 1.4 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งไนโตรเจนแทนเพปโตนและ มอลต์สกัด ใช้ KH_2PO_4 เป็นแหล่งฟอสฟอรัสที่เพิ่มให้กับอาหารและใช้ยีสต์สกัดที่ 0.35 เปอร์เซ็นต์ และ 0.3 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ได้ค่ามวลชีวภาพที่ 8.6350 กรัม/ลิตร วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนได้ 52.97 เปอร์เซ็นต์ โดยได้ปริมาณโปรตีนต่อมวลชีวภาพ(กรัมโปรตีน/กรัมน้ำหนักแห้ง) สูงสุดคือ 4.5741 กรัม

จากการศึกษาโดยการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดในอาหารเหลวสูตรดัดแปลง YM จะเห็นว่ากากน้ำตาลเข้มข้น 7 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) เป็นแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมมากกว่าน้ำตาลซูโครส เนื่องจากในกากน้ำตาลยังมีสารที่จำเป็นต่อการเจริญ (growth factor) ประกอบอยู่เป็นจำนวนมากเช่น biotin , thiamine , adenine ซึ่งจะส่งเสริมให้เส้นใยเห็ดเจริญได้ดี แต่ถ้าหากมีระดับความเข้มข้นของกากน้ำตาลสูงเกินไปจะมีผลยับยั้งการเจริญได้ เนื่องจากสารเฟอร์ฟิวรอล (furfural) ที่มีอยู่ในกากน้ำตาล

การศึกษาแหล่งไนโตรเจน เห็ดนางฟ้าภูฐานให้ปริมาณโปรตีนสูงในแหล่งอาหารชนิด $(NH_4)_2SO_4$ แสดงว่า เห็ดนี้ใช้แหล่งไนโตรเจนในรูปของ NH_4^+ ได้ดีกว่าในรูปของ NO_3^- ซึ่งความเข้มข้นที่เหมาะสมคือ 1.4 เปอร์เซ็นต์(น้ำหนักต่อปริมาตร) ได้มวลชีวภาพสูงกว่าใช้เพปโตนและ malt extract

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

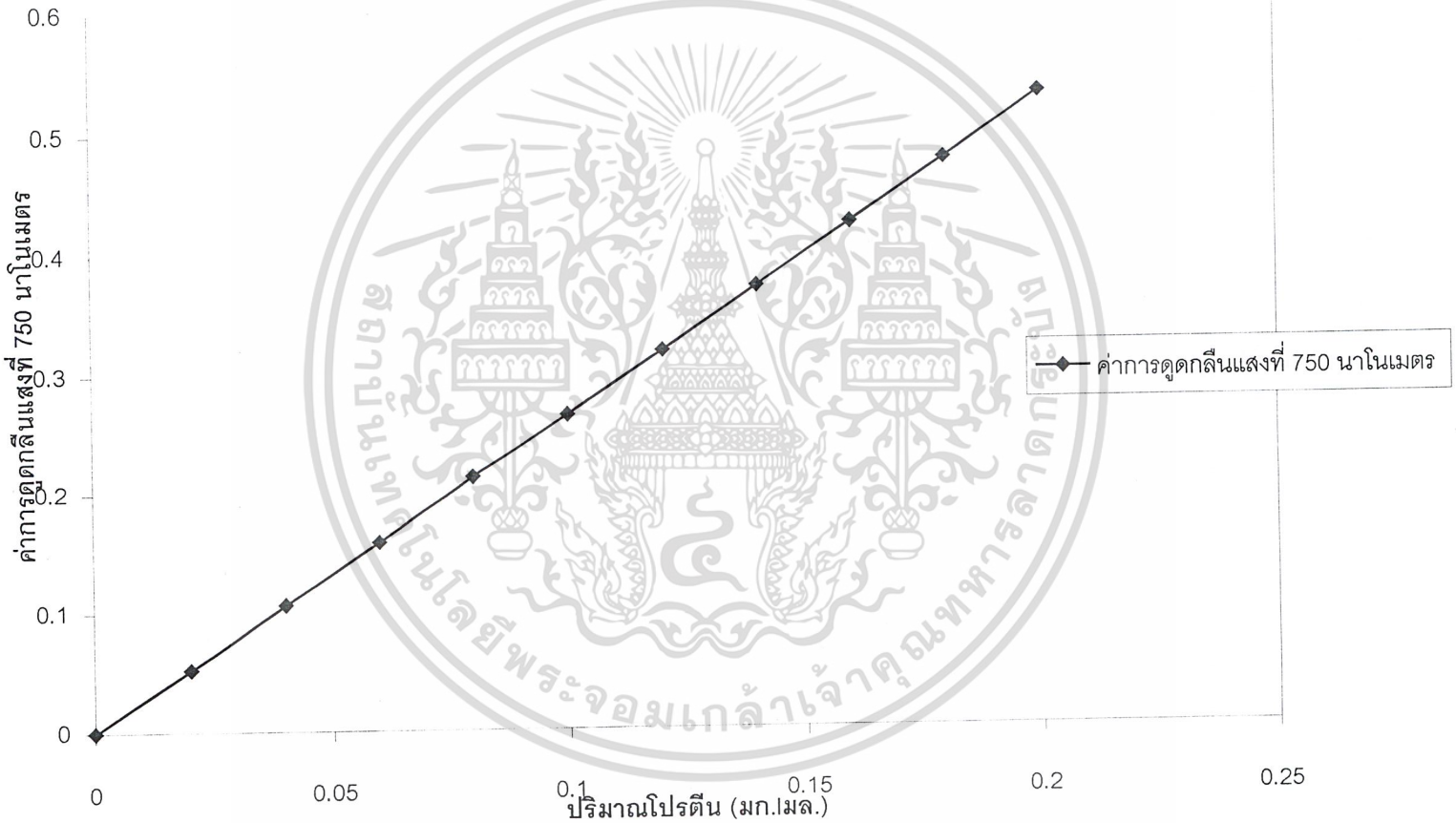
นอกจากแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนแล้ว แหล่งฟอสฟอรัสยังเป็นแร่ธาตุหลักที่มีความจำเป็นต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดโดยแหล่งที่ใช้คือ KH_2PO_4 0.35 เปอร์เซ็นต์(น้ำหนักต่อปริมาตร) และยังเติม ยีสต์สกัด อีก 0.3 เปอร์เซ็นต์(น้ำหนักต่อปริมาตร) ซึ่ง Manu and Martin (1988) ได้เคยรายงานไว้ว่า เส้นใยเห็ดมีความต้องการทั้งฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม โดยจะนำไปใช้ในการสังเคราะห์อินทรีย์สารภายในเซลล์ และยังทำให้เส้นใยมีความสมบูรณ์แข็งแรงและเจริญได้ดี ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว เราต้องการเซลล์ที่ประกอบด้วยปริมาณโปรตีนที่สูง ทั้งนี้องค์ประกอบทางเคมีของเส้นใยที่เพาะเลี้ยงจะขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อ โดยถ้าไนโตรเจนมีในปริมาณน้อยจะเป็นตัวจำกัดการเจริญทำให้มีการสะสมของไขมันในเซลล์มากขึ้น ในขณะที่การสังเคราะห์โปรตีนเป็นไปได้น้อย และในช่วงการเจริญของเส้นใยจะเกิดการย่อยสลายของสารอินทรีย์ที่จุดศูนย์กลางของกลุ่มเส้นใยทำให้เกิดการสร้างสารให้เกิดกลิ่นรส (flavour) ของเห็ดขึ้น (Manu and Martin, 1987) ปริมาณสารที่ใช้ในการสังเคราะห์โปรตีนจะลดลง

การศึกษาถึงปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของเส้นใยเห็ด ซึ่งสามารถเจริญได้ดีในแหล่งอาหารกากน้ำตาล สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Sakamoto และคณะ(1978) แต่ปริมาณโปรตีนเซลล์เดียวที่ผลิตได้มีปริมาณน้อยกว่าเมื่อเทียบกับสปีชีส์ต่าง ๆของ เชื้อ *Pleurotus* ในขณะที่การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน(%) ได้สูงกว่าเชื้อ *Pleurotus* อื่น ๆเช่น *Pleurotus* ostreatus จากการศึกษาของ Tawain และคณะ (1987) ทั้งนี้อาจเกิดผลคลาดเคลื่อนบางส่วนจากวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนก็ได้

จากการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่ได้มีปริมาณค่อนข้างสูง แต่การเพาะเลี้ยงในรูปโปรตีนเซลล์เดียวก็ยังไม่เป็นที่แพร่หลาย ทั้งนี้เนื่องจากปัญหาเกี่ยวกับระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงซึ่งจะค่อนข้างนานกว่าถ้าเทียบกันกับจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ รวมถึงปัญหาในขบวนการหมักเช่นการปนเปื้อน หรือความต้องการแหล่งแร่ธาตุอาหารที่ค่อนข้างสมบูรณ์ในการเจริญ แต่ข้อดีเช่นการใช้พื้นที่น้อยกว่าในการผลิตโปรตีนจากแหล่งอื่น หรือการเพาะเห็ดแบบเดิมเพื่อให้ได้ปริมาณโปรตีนที่เท่ากัน ตัวอย่างของประโยชน์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดต่างๆ นอกจากเป็นแหล่งโปรตีนแล้ว ยังเป็นแหล่งผลิตสารก่อกลิ่นรส รวมถึงสามารถนำมาสกัดหรือสร้างสารที่เป็นประโยชน์ทางการแพทย์ เช่น ยาปฏิชีวนะ (antibiotics) หรือสารต้านมะเร็ง ในเชื้อเห็ดบางชนิด และแหล่งวิตามิน เป็นต้น โครงงานนี้จึงเป็นตัวอย่างหนึ่งของการศึกษาการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดโดยการหมักในอาหารเหลว เพื่อจะได้มีการพัฒนาต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก



ภาคผนวก ก กราฟแสดงค่า Optical density ของปริมาณโปรตีนมาตรฐาน

ภาคผนวก ข

สูตรอาหาร YM (Yeast Malt Broth)

การเตรียมอาหารปริมาตร 1 ลิตร

มีส่วนประกอบดังนี้

เพปโตน	5	กรัม
มอลต์สกัด	3	กรัม
ยีสต์สกัด	3	กรัม
น้ำตาลกลูโคส	15	กรัม

โดย ละลายด้วยน้ำกลั่น ให้ได้ปริมาตร 1 ลิตร

ปรับพีเอชที่ 4.5

หากเตรียมเป็นอาหารแข็ง เติมวุ้น (Agar) 15 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

ดวงพร คันธโชติ. 2530. **จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม : ผลิตภัณฑ์จากจุลินทรีย์** พิมพ์ครั้งที่ 1 กรุงเทพฯ โอ.เอส.พริ้นติ้งเฮาส์

ดุษณี ธนะบริพัฒน์. 2537. **จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม** พิมพ์ครั้งที่ 2 นครราชสีมา โครงการตำรา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปัญญา โพธิ์ฐิติรัตน์. 2533. **เทคโนโลยีการเพาะเห็ด** พิมพ์ครั้งที่ 1 กรุงเทพฯ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

มงคล เพ็ญสายใจ และสุภา สินทวีวงศ์. 2532. การศึกษาเบื้องต้นในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากกากสับปะรด **โครงงานพิเศษปริญญาตรี** สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

วิชชุพร ว่องสุวรรณเลิศ. 2523 จุลินทรีย์โปรตีนจากมันสำปะหลังโดย *Rhizopus* และยีสต์ **วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์**

วินัย ขจรพิทักษ์. 2525. **โภชนาการอาหารสำหรับสัตว์** พิมพ์ครั้งที่ 3 กรุงเทพฯ โอเดียนสโตร์

อนุเทพ ภาสุระ.2540.การผลิตจุลินทรีย์โปรตีนของเห็ดฟาง(*Volvariella volvacea*) จากการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา,5(1):9-19

Aker, K.C. and Robinson, C.W. 1987. Growth of *Candida utilis* on single- and multicomponent suger substrate fermentation of wheat straw. MIRCEN J. 3, 255-274.

Antonio,M.M. 1983. Adaptation of *Agaricus campestris* NRRL 2334 to extract medium. Can.J. Microbiol. 29,108-110

Antonio,M.M. and Valerie. I.B. 1985. Growth of *Agaricus campestris* NRRL 2334 in the form of pellet. Applied and Environmental Microbiology.49(6),1502-1506

A.O.A.C. 1980. Official Method of Analysis (13th Ed.). Horwitz, W. (Ed.). Washington,D.C.

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 Acientific Publications, Oxford.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Ben – Amotz , A. and Avron , M. 1989. The biotechnology of mass culturing *Dunaliella* for products of commercial interest. **In Algal and Cyanobacterial Biotechnology** , pp. 91-114. Editted by R.C. Cresswell, T.A.V. Rees and N.Shah. Longman Scientific and Technical,Harlow.

Bhattacharjee,J.K.. 1970. **Advance in Applied Microbiology**. 13:134-159.

Booth,C. 1971. Introduction to general methods in Microbiology (Booth,C.Editor).4:3, **Academic Press**,London.

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

Corrias,A. 1973. Personal Communication. P.33-42

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

E.L.Jr.Gaden. Single Cell Protein (**Academic press**,New York, 1974),pp 46-60

Eyal,J.1991. Mushroom Mycelium Grown in Submerged Culture Potential Food Applications. **Biotechnology and Food Ingredients**.pp.31-64

Ghosh,A. K., and S. Sengupta. 1977. Studies on biochemistry of higher fungi. I. Submerged growth of *Volvariella volvacea* in synthetic medium. **J. Food Sci. Technol**.15:82-83.

Imrie,F.K.E. and Vlitos,A.J. 1973. Production of fungal protein from carob (Ceratonia silique) **presented at the 2nd International Fermentation Symposium**. Kyoto:Japan.

Jandiak, C. L., and J. N. Kapoor. 1976. Studies of vitamin requirements of some edible fungi. **Indian Phytopathol**. 29:259-261.

KOKKE,R. 1977. Improvement of carob pods, as feed by solid substrate fermentation, **J.Appl.Bacterial**.43,pp.303-307.

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

Litchfield, J. H.1979. Production of single cell protein for use in food and feed. In **Microbial Technology**, pp. 93-145. New York: Academic Press.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Litchfield, J. H., R. C. Overbeck, and R. S. Davidson. 1963. Factors affecting the growth of morel mushroom mycelium in submerged culture. **J. Agric. Food Chem.** 11:158-162.

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

Manu, T.W. and Martin,A.M. 1987. Studies of operational variables in the submerged growth of *Pleurotus ostreatus* mushroom mycelium **Applied. Biochem. Biotechnol.**14(3),221-230.

Manu, T.W. and Martin,A.M. 1988. *Pleurotus ostreatus* requirment for P,K,Mg and Mn in submerged culture. **Can.J. Microbiol.** 34(5),620-624

Myriam,R. and Marie,L.B. 1986. Development and application of a bioassay to study the effect of nutrients, pH and active substances on *Sodaria macrospora* fruiting. **Can.J. Microbiol.** 32,930-936

Noparatnaraporn,N. 1987. Photosynthetic bacteria from cassava easte:a multepurpose animal feed, In Upgrading of Cassava/Cassava Wasted by Appopriate. **Biotechnologies**,pp.92-105.Proceeding of UNEP/TISTR/Bangkok MIRCEN Workshop,Thailand,November.24-26

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

Romantschuk,H.1975.The Pekilo process:protein from apet sulfite liquor. In **Single Cell Protein II**, pp.344-356, Edited by S.R.Tannenbaum and E.I.C.Wang. MIT Press, Cambridge, Mass.

Sakamoto, R., T. Niimi, and S. Takahashi. 1978. Studies on submerged culture of edible fungi. I. Effect of carbon and nitrogen sources on submerged culture of edible mushroom. II. Submerged culture of edible fungi in high consistency starch media. **J. Agric. Chem. Soc. Jpn.** 52(2):75-90.

Sugimori, T., Y. Oyama, and T. Omichi. 1971. Studies on basidiomycetes. I. Production of mycelium and fruiting body from noncarbohydrate organic substance. **J. Ferment. Technol.** 49:435-446.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Tawain, M. W., and A. M. Martin. 1987. Chemical compostion of *Pleurotus ostreatus* mycelial biomass . **Food Microbiol.**4(4):303-310.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้