สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลังโดยเลี้ยงเชื้อผสม *Endomycopsis fibuligera* TISTR 5097 และ *Candida utilis* TISTR 5046

PRODUCTION OF SINGLE CELL PROTEIN FROM CASSAVA PROCESSING WASTEWATER BY MIXED CULTURE OF *Endomycopsis fibuligera* TISTR 5097 AND *Candida utilis* TISTR 5046

TO58530

พรรณวิภา แพงศรี

PHANWIPA PANGSRI

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2547

ISBN 974-9680-31-6

QV.
W267n
2547

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 58530
วัน,เดือน,ปี 25 มี.ค. 2549

b.11422668
i.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

PRODUCTION OF SINGLE CELL PROTEIN FROM CASSAVA PROCESSING WASTEWATER BY MIXED CULTURE OF *Endomycopsis fibuligera* TISTR 5097 AND *Candida utilis* TISTR 5046

PHANWIPA PANGSRI

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENT FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN BIOTECHNOLOGY
SCHOOL OF GRADUATE STUDIES
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
2004

ISBN 974-9680-31-6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COPYRIGHT 2004

SCHOOL OF GRADUATE STUDIES

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	**การผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลังโดยเลี้ยงเชื้อผสม *Endomycopsis fibuligera* TISTR 5097 และ *Candida utilis* TISTR 5046**
ชื่อนักศึกษา	**นางสาวพรรณวิภา แพงศรี**
รหัสประจำตัว	43065202
ปริญญา	**วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต**
สาขาวิชา	**เทคโนโลยีชีวภาพ**
พ.ศ.	2547
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์	**ผศ. ดวงใจ โอชัยกุล**

บทคัดย่อ

การศึกษาการเจริญของเชื้อ *Endomycopsis fibuligera* TISTR 5097 ในอาหาร yeast starch และอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง พบว่า เชื้อ *E. fibuligera* TISTR 5097 มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด 2.66 กรัมต่อลิตร ที่เวลา 42 ชั่วโมง และ 2.96 กรัมต่อลิตร ที่เวลา 30 ชั่วโมง ตามลำดับ ส่วนการเจริญของเชื้อ *Candida utilis* TISTR 5046 ในอาหาร yeast starch และอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง พบว่า *C. utilis* TISTR 5046 มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด 0.98 กรัมต่อลิตร ที่เวลา 18 ชั่วโมง และ 2.82 กรัมต่อลิตร ที่เวลา 36 ชั่วโมง ตามลำดับ จากนั้นศึกษาอัตราส่วนของเชื้อ *E. fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 และผลของเวลาในการเติม *C. utilis* TISTR 5046 ภายหลังการเลี้ยง *E.fibuligera* TISTR 5097 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง พบว่าการใช้อัตราส่วนของเชื้อ *E. fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 เท่ากับ 1:4 และเลี้ยง *E. fibuligera* TISTR 5097 ก่อน จากนั้นจึงเติม *C. utilis* TISTR 5046 ในชั่วโมงที่ 18 มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 3.28 กรัมต่อลิตร และศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว จากการเลี้ยงเชื้อผสม *E. fibuligera* TISTR 5097 ร่วมกับ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง พบว่ามีสภาวะที่เหมาะสมดังต่อไปนี้ การใช้น้ำแช่ข้าวโพดความเข้มข้นร้อยละ 1.3 เป็นแหล่งไนโตรเจน ค่าพีเอชเริ่มต้น 4.0 อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบในการเขย่า 200 รอบต่อนาที พบว่ามีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด 4.89 กรัมต่อลิตร จากนั้นศึกษาองค์ประกอบของโปรตีนเซลล์เดียวที่ผลิตได้ในระดับฟลาสก์ พบว่ามีปริมาณโปรตีน 0.46 กรัมโปรตีนต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณไขมันร้อยละ 0.15 ความชื้นร้อยละ 2.3 และปริมาณเถ้าร้อยละ 7.49 ส่วนการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยมีอัตราการให้อากาศ 1.5 ปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาที อัตราการกวน 300 รอบต่อนาที พบว่ามีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 6.97 กรัมต่อลิตร จากนั้นศึกษาองค์ประกอบของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โปรตีนเซลล์เดียวที่ผลิตได้ในถังหมักขนาด 5 ลิตร พบว่ามีปริมาณโปรตีน 0.51 กรัมโปรตีนต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณไขมันร้อยละ 0.33 ความชื้นร้อยละ 5.16 และปริมาณเถ้าร้อยละ 7.47

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis Title Production of Single Cell Protein from Cassava Processing Wastewater by Mixed Culture of *Endomycopsis fibuligera* TISTR 5097 and *Candida utilis* TISTR 5046

Student Miss Phanwipa Pangsri

Student ID. 43065202

Degree Master of Science

Programme Biotechnology

Year 2004

Thesis Advisor Asst. Prof. Duangjai Ochaikul

ABSTRACT

Growth of *Endomycopsis fibuligera* TISTR 5097 in yeast starch and cassava processing wastewater, found that the highest cell dry weight were 2.66 g/l and 2.96 g/l at 42 hour and 30 hour, respectively. The growth of *Candida utilis* TISTR 5046 in yeast starch and cassava processing wastewater, found that the highest cell dry weight were 0.98 g/l and 2.82 g/l at 18 hour and 36 hour, respectively. Studied on volume ratio of *E. fibuligera* TISTR 5097 and *C. utilis* TISTR 5046, and begining time of *C. utilis* TISTR 5046 into the cultivation after *E. fibuligera* TISTR 5097, found that a volume ratio to 1:4, cell dry weight from mixed culture was the highest at 18 hour 3.28 g/l. The optimal conditions for single cell protein production from mixed culture of *E. fibuligera* TISTR 5097 and *C. utilis* TISTR 5046 in Cassava Processing Wastewater studies were as followed : 1.3%(v/v) corn steep liquor (nitrogen source) and pH was adjusted to 4.0 followed by shaking in 25°C shaking incubator at the speed of 200 rpm, the highest cell dry weight was 4.89 g/l. According to these conditions, the compositions of single cell protein were 0.46 g.Protein/g.Dry weight, 0.15% fat, 2.3% moisture and 7.49% ash. When the production of single cell protein in 5 l fermenter at aeration rate 1.5 vvm and agitation speed 300 rpm, the highest cell dry weight was 6.97 g/l.The compositions of single cell protein were 0.51 g.Protein/g.Dry weight, 0.33%fat, 5.16% moisture and 7.47% ash.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

การทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความกรุณาและคำแนะนำที่มีประโยชน์จาก ผศ.ดวงใจ โอชัยกุล ผู้ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ คำแนะนำต่างๆ และประสบการณ์ที่ได้รับจากงานวิจัยนี้จักมีประโยชน์อย่างยิ่งต่อข้าพเจ้าในภายหน้า ข้าพเจ้ามีความซาบซึ้งในความกรุณาที่ได้รับจากอาจารย์เป็นอย่างสูง และขอกราบขอบพระคุณไว้ ณ ที่นี้ด้วย

ขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร. นวลพรรณ ณ ระนอง ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผศ.มาริสา จาตุพรพิพัฒน์ และ รศ.อรุณี คงศักดิ์ไพศาล กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาสละเวลาอันมีค่าเพื่อเป็นกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์ รวมทั้งให้คำแนะนำ ตรวจสอบและแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้มีความเรียบร้อยสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลัง ชลเจริญ จำกัด จังหวัดชลบุรี ที่เอื้อเฟื้อตัวอย่างในการทดลอง

ขอขอบคุณพี่ๆ เพื่อนๆและน้องๆ นักศึกษาปริญญาโททุกท่าน สำหรับการช่วยเหลือในทุกเรื่องและมิตรภาพที่ดีตลอดมา

ขอขอบพระคุณนายสุวรรณและนางรำไพ ทองหนุน ผู้เป็นคุณลุงและคุณป้า ที่ให้ความรักความเมตตาและคำปรึกษาในการศึกษาแก่ข้าพเจ้าตลอดมา รวมทั้งกำลังใจจากญาติทุกๆท่าน

สุดท้ายนี้ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณนายประยูร แพงศรี บิดาผู้ล่วงลับ ที่ทำให้ข้าพเจ้ามีกำลังใจในการทำวิทยานิพนธ์ตลอดมา นางผ่องพรรณและนางสาวประภาวรรณ แพงศรี ผู้เป็นมารดาและพี่สาวที่ให้ทุนสนับสนุนในการศึกษา คอยให้กำลังใจและคำปรึกษาตลอดมา

คุณค่าและประโยชน์อันพึงมี จากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบแด่ผู้มีพระคุณทุกท่าน

พรรณวิภา แพงศรี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ III

กิตติกรรมประกาศ IV

สารบัญ V

สารบัญตาราง IX

สารบัญรูป XIII

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของการวิจัย 1

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย 2

1.3 ขอบเขตของการวิจัย 2

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2

บทที่ 2 หลักการและทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง 3

2.1 โปรตีนเซลล์เดียว 3

2.2 วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว 4

2.3 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว 8

2.4 ขั้นตอนในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว 16

2.5 กระบวนการที่ใช้ในการเลี้ยงยีสต์เพื่อเอาเซลล์ 17

2.6 ประโยชน์ของการใช้จุลินทรีย์ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว 19

2.7 ข้อเสียของโปรตีนเซลล์เดียว 20

2.8 ปัญหาเกี่ยวกับการใช้โปรตีนเซลล์เดียว 20

2.9 ปัญหาของกรดนิวคลีอิกในโปรตีนเซลล์เดียว 20

2.10 ข้อกำหนดความปลอดภัยของโปรตีนเซลล์เดียว 21

2.11 มันสำปะหลัง 22

บทที่ 3 วิธีการทดลอง 29

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี 29

3.1.1 เชื้อจุลินทรีย์ 29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.1.2 อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ 29
3.1.3 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง 29
3.1.4 เครื่องมือและอุปกรณ์ 30
3.2 ศึกษาองค์ประกอบของน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง 30
3.3 การเตรียมหัวเชื้อ 31
3.4 ศึกษาการเจริญของเชื้อ *Endomycopsis fibuligera* TISTR 5097 ในอาหาร yeast starch และอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง 31
3.5 ศึกษาการเจริญของเชื้อ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหาร yeast starch และอาหารน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลัง 31
3.6 ศึกษาผลอัตราส่วนของ *E. fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 และศึกษาผลของเวลาในการเติม *C. utilis* TISTR 5046 ภายหลังการเลี้ยง *E. fibuligera* TISTR 5097 ในน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง 32
3.7 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวโดยการเลี้ยง *E. fibuligera* TISTR 5097 ร่วมกับ *C. utilis* TISTR 5046 33
3.7.1 ศึกษาชนิดของแหล่งไนโตรเจนและความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว 33
3.7.2 ศึกษาค่าพีเอชเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว 33
3.7.3 ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว 33
3.7.4 ศึกษาความเร็วรอบในการเขย่าที่เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว 34
3.8 ศึกษาการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวในระดับฟลาสก์ 34
3.9 ศึกษาการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวในถังหมักขนาด 5 ลิตร 34

บทที่ 4 ผลการทดลอง 36
4.1 ผลการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง 36
4.2 ผลการศึกษาอัตราการเจริญของเชื้อ *E. fibuligera* TISTR 5097 ในอาหาร yeast starch และอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง 37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.2.1 ผลการศึกษาอัตราการเจริญของเชื้อ *E. fibuligera* TISTR 5097 ในอาหาร yeast starch 37

4.2.2 ผลการศึกษาอัตราการเจริญของเชื้อ *E. fibuligera* TISTR 5097 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง 40

4.3 ผลการศึกษาอัตราการเจริญของเชื้อ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหาร yeast starch และอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง 43

4.3.1 ผลการศึกษาอัตราการเจริญของเชื้อ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหาร yeast starch 43

4.3.2 ผลการศึกษาอัตราการเจริญของเชื้อ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง 46

4.4 ผลของเวลาในการเติม *C. utilis* TISTR 5046 ภายหลังการเลี้ยง *E.fibuligera* TISTR 5097 ในน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง และอัตราส่วนของ *E.fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 49

4.5 ผลของสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวโดยการเลี้ยง *E. fibuligera* TISTR 5097 ร่วมกับ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง 51

4.5.1 ผลของชนิดและความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสม 51

4.5.1.1 ชนิดและความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอินทรีย์ 51

4.5.1.2 ชนิดและความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอนินทรีย์ 54

4.5.2 ผลของค่าพีเอชเริ่มต้นที่เหมาะสม 56

4.5.3 ผลของอุณหภูมิที่เหมาะสม 59

4.5.4 ผลของความเร็วรอบในการเขย่าที่เหมาะสม 61

4.6 ผลการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวในระดับฟลาสก์ 63

4.6.1 ผลการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวในระดับฟลาสก์ในสภาวะที่เหมาะสม 63

4.6.2 ผลการศึกษาองค์ประกอบของโปรตีนเซลล์เดียวที่ผลิตได้ในสภาวะที่เหมาะสม 63

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.7 ผลการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวในถังหมักขนาด 5 ลิตร 64
4.8 ผลการศึกษาองค์ประกอบของโปรตีนเซลล์เดียวในถังหมักขนาด 5 ลิตร 67
4.9 เปรียบเทียบการผลิตน้ำหนักเซลล์แห้งจากอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง โดยใช้เชื้อผสมระหว่าง *E. fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 ในระดับฟลาสก์และถังหมัก 68

บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง 69

บรรณานุกรม 71

ภาคผนวก 77
ภาคผนวก ก อาหารเลี้ยงเชื้อและวิธีการเตรียม 77
ภาคผนวก ข การวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำทิ้ง 79
ภาคผนวก ค การวิเคราะห์องค์ประกอบของโปรตีนเซลล์เดียว 90
ภาคผนวก ง การวิเคราะห์ผลทางสถิติ 98

ประวัติผู้เขียน 107

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 ค่า Mass doubling time (td) 4

2.2 ประสิทธิภาพในการผลิตโปรตีนในเวลา 24 ชั่วโมง 4

2.3 ชนิดเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว 8

2.4 เปรียบเทียบกรดอะมิโนจากเซลล์ยีสต์ชนิดต่างๆและ FAO reference protein 14

2.5 องค์ประกอบของวิตามินในเซลล์ยีสต์ชนิดต่างๆ 15

2.6 เนื้อที่ ผลผลิต ราคา และมูลค่าของผลผลิตตามราคาที่เกษตรกรขายได้ พ.ศ. 2538-2545 23

4.1 องค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำทิ้งจากโรงงานแป้งมันสำปะหลัง 36

4.2 การเจริญของเชื้อ *E. fibuligera* TISTR 5097 ในอาหาร yeast starch ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบในการเขย่า 150 รอบต่อนาที นาน 48 ชั่วโมง 38

4.3 การเจริญของเชื้อ *E. fibuligera* TISTR 5097 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบในการเขย่า 150 รอบต่อนาที นาน 48 ชั่วโมง 41

4.4 การเจริญของเชื้อ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหาร yeast starch ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบในการเขย่า 150 รอบต่อนาที นาน 48 ชั่วโมง 44

4.5 การเจริญของเชื้อ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบในการเขย่า 150 รอบต่อนาที นาน 48 ชั่วโมง 47

4.6 อัตราส่วนของเชื้อ *E. fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 และเวลาในการเติม *C. utilis* TISTR 5046 ภายหลังการเลี้ยง *E.fibuligera* TISTR 5097 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง 50

4.7 ผลของแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอินทรีย์ต่อการผลิตน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณโปรตีนของเชื้อผสมระหว่าง *E. fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง 52

4.8 ผลของแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอนินทรีย์ต่อการผลิตน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณโปรตีนของเชื้อผสมระหว่าง *E. fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง 54

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

4.9 ค่าพีเอชเริ่มต้นที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากการเลี้ยงเชื้อผสมระหว่าง *E. fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง 57

4.10 อุณหภูมิที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากการเลี้ยงเชื้อผสมระหว่าง *E. fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง 59

4.11 ความเร็วรอบในการเขย่าที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากการเลี้ยงเชื้อผสมระหว่าง *E.fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง 61

4.12 องค์ประกอบของโปรตีนเซลล์เดียวที่ผลิตได้ในระดับฟลาสก์ 64

4.13 ปริมาณโปรตีนและน้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อผสมระหว่าง *E. fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลังที่อัตราการให้อากาศและอัตราการกวนที่ระดับต่างๆ ในถังหมักขนาด 5 ลิตร 66

4.14 องค์ประกอบของโปรตีนเซลล์เดียวในถังหมักขนาด 5 ลิตร 67

ง.1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักเซลล์แห้งของอัตราส่วน *E. fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 และเวลาในการเติม *C. utilis* TISTR 5046 98

ง.2 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้งของอัตราส่วน *E. fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 และเวลาในการเติม *C. utilis* TISTR 5046 98

ง.3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณโปรตีนของชนิดและแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอินทรีย์ที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว 99

ง.4 ค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีนของแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอินทรีย์ที่เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว 99

ง.5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักเซลล์แห้งของชนิดและแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอินทรีย์ที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว 99

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

ง.6 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้งของแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอินทรีย์ที่เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว 100

ง.7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณโปรตีนของชนิดและแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอนินทรีย์ที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว 100

ง.8 ค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีนของแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอนินทรีย์ที่เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว 100

ง.9 ค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีนของแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอนินทรีย์ที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว 101

ง.10 การวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักเซลล์แห้งของชนิดและแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอนินทรีย์ที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว 101

ง.11 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้งของความเข้มข้นแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอนินทรีย์ที่เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว 101

ง.12 การวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณโปรตีนของค่าพีเอชเริ่มต้นที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว 101

ง.13 ค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีนของค่าพีเอชเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว 102

ง.14 การวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักเซลล์แห้งของค่าพีเอชเริ่มต้นที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว 102

ง.15 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้งของค่าพีเอชเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว 102

ง.16 การวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณโปรตีนของอุณหภูมิที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว 103

ง.17 ค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีนของอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว 103

ง.18 การวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักเซลล์แห้งของอุณหภูมิที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว 103

ง.19 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้งของอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว 103

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

ง.20 การวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณโปรตีนของความเร็วรอบในการเขย่าที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว 104

ง.21 ค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีนของความเร็วรอบในการเขย่าที่เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว 104

ง.22 การวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักเซลล์แห้งของความเร็วรอบในการเขย่าที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว 104

ง.23 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้งของความเร็วรอบในการเขย่าที่เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว 104

ง.24 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณโปรตีนของอัตราการกวนและอัตราการให้อากาศที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว 105

ง.25 ค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีนของอัตราการกวนที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวในถังหมักขนาด 5 ลิตร 105

ง.26 ค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีนของอัตราการให้อากาศที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวในถังหมักขนาด 5 ลิตร 105

ง.27 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของน้ำหนักเซลล์แห้งของอัตราการกวนและอัตราการให้อากาศที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว 105

ง.28 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของน้ำหนักเซลล์แห้งของอัตราการกวนและอัตราการให้อากาศที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว 106

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
2.1	แสดงลักษณะของ *C.utilis*	12
2.2	แสดงลักษณะของ *E. fibuligera*	13
2.3	ขั้นตอนการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว	16
2.4	การผลิตโปรตีนเซลล์เดียวโดยกระบวนการหมักแบบซิมบา	19
2.5	กระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลัง	26
4.1	น้ำหนักเซลล์แห้งและค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตรของเชื้อ *E. fibuligera* TISTR 5097 ในอาหาร yeast starch ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบในการเขย่า 150 รอบต่อนาที นาน 48 ชั่วโมง	39
4.2	ปริมาณแป้งและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (ในรูปน้ำตาลกลูโคส) ของ *E. fibuligera* TISTR 5097 ในอาหาร yeast starch ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ-ในการเขย่า 150 รอบต่อนาที นาน 48 ชั่วโมง	39
4.3	น้ำหนักเซลล์แห้งและค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตรของเชื้อ *E. fibuligera* TISTR 5097 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบในการเขย่า 150 รอบต่อนาที นาน 48 ชั่วโมง	42
4.4	ปริมาณแป้งและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (ในรูปน้ำตาลกลูโคส) ของเชื้อ *E. fibuligera* TISTR 5097 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบในการเขย่า 150 รอบต่อนาที นาน 48 ชั่วโมง	42
4.5	น้ำหนักเซลล์แห้งและค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตรของเชื้อ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหาร yeast starch ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบในการเขย่า 150 รอบต่อนาที นาน 48 ชั่วโมง	45
4.6	ปริมาณแป้งและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (ในรูปน้ำตาลกลูโคส) ของเชื้อ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหาร yeast starch ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบในการเขย่า 150 รอบต่อนาที นาน 48 ชั่วโมง	45
4.7	น้ำหนักเซลล์แห้งและค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตรของเชื้อ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบในการเขย่า 150 รอบต่อนาที นาน 48 ชั่วโมง	48

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4.8	ปริมาณแป้งและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (ในรูปน้ำตาลกลูโคส) ของเชื้อ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบในการเขย่า 150 รอบต่อนาที นาน 48 ชั่วโมง	48
4.9	อัตราส่วนของเชื้อ *E. fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 และเวลาในการเติม *C. utilis* TISTR 5046 ภายหลังการเลี้ยง *E.fibuligera* TISTR 5097 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง	51
4.10	ผลของแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอินทรีย์ต่อการผลิตน้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อผสมระหว่าง *E. fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง	53
4.11	ผลของแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอินทรีย์ต่อปริมาณโปรตีนของเชื้อผสมระหว่าง *E. fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง	53
4.12	ผลของแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอนินทรีย์ต่อการผลิตน้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อผสมระหว่าง *E. fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง	55
4.13	ผลของแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอนินทรีย์ต่อปริมาณโปรตีนของเชื้อผสมระหว่าง *E. fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง	55
4.14	ค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะต่อการผลิตน้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อผสมระหว่าง *E.fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง	58
4.15	ค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อปริมาณโปรตีนของเชื้อผสมระหว่าง *E.fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง	58
4.16	อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการผลิตน้ำหนักเซลล์แห้งของการเลี้ยงเชื้อผสมระหว่าง *E.fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง	60

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ หน้า

4.17 อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อปริมาณโปรตีนของการเลี้ยงเชื้อผสมระหว่าง *E.fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง 60

4.18 ความเร็วรอบในการเขย่าที่เหมาะสมต่อการผลิตน้ำหนักเซลล์แห้งจากการเลี้ยงเชื้อผสมระหว่าง *E.fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง 62

4.19 ความเร็วรอบในการเขย่าที่เหมาะสมต่อปริมาณโปรตีนจากการเลี้ยงเชื้อผสมระหว่าง *E.fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง 62

4.20 การเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อผสมระหว่าง *E. fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 เลี้ยงในสภาวะที่เหมาะสมในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลังในระดับฟลาสก์ 63

4.21 การเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อผสมระหว่าง *E. fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลังที่อัตราการให้อากาศและอัตราการกวนที่ระดับต่างๆ ในถังหมักขนาด 5 ลิตร 66

4.22 ปริมาณโปรตีนของเชื้อผสมระหว่าง *E. fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลังที่อัตราการให้อากาศและอัตราการกวนที่ระดับต่างๆ ในถังหมักขนาด 5 ลิตร 67

4.23 การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อผสมระหว่าง *E. fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลังในระดับฟลาสก์และถังหมัก 68

ค.1 กราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส 91

ค.2 กราฟมาตรฐานของ soluble starch 93

ค.3 กราฟมาตรฐานของปริมาณโปรตีน 94

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของการวิจัย

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม จึงมีผลผลิตทางการเกษตรหลายชนิด เช่น ข้าว ข้าวโพด อ้อย มันสำปะหลัง เป็นต้น ซึ่งมันสำปะหลังเป็นผลผลิตทางการเกษตรอีกประเภทหนึ่งที่ประเทศไทยสามารถผลิตได้สูงติดอันดับผู้ผลิตรายใหญ่ของโลก การปลูกมันสำปะหลังมีการปลูกมากในแถบภาคตะวันออกเฉียงเหนือ สามารถให้ผลผลิตได้ถึง 20 - 21 ล้านตันต่อปี (เล หว่าง เจี๋ยญ. 2537) ผลผลิตส่วนใหญ่จะส่งออกไปสู่ยุโรปเพื่อเป็นอาหารสัตว์ ส่วนที่ใช้อยู่ในประเทศไทยจะถูกนำมาเป็นวัตถุดิบเพื่อแปรรูปเป็นแป้งสตาร์ชและใช้เป็นวัตถุดิบในการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อื่นๆ เช่น กลูโคส เด็กทรินซ์ มอลโตส และฟรุคโตสไซรัป เป็นต้น (Podjana. 2002) จากกระบวนการผลิตโดยใช้เทคโนโลยีใหม่ๆ ทำให้เกิดปัญหาทางด้านมลพิษที่เกิดจากของเสียในกระบวนการผลิต เช่น ของเสียจากกระบวนการผลิตแป้งที่มีค่า Chemical Oxygen Demand (COD) 6,000 - 10,000 มิลลิกรัมต่อลิตร จึงมีความต้องการที่จะนำเอาของเสียกลับมาใช้ใหม่อีกครั้ง โดยนำมาใช้เป็นสับสเตรทเพื่อผลิตโปรตีนเซลล์เดียว (Jin *et al.* 1999b) การผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากวัตถุดิบจำพวกแป้งที่มีราคาถูกจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว โดยจะย่อยด้วยกรดก่อนแล้วใส่เชื้อยีสต์ลงไป ซึ่งผลที่ได้จากการย่อยบางครั้งมีผลต่อการเจริญของยีสต์เช่นกัน รวมทั้งกรดที่ใช้ในการย่อยจะไปกัดกร่อนเครื่องมือหรือภาชนะต่างๆ ทำให้เสียหายได้ ดังนั้นเพื่อหลีกเลี่ยงปัญหาดังกล่าวจึงได้ใช้จุลินทรีย์ซึ่งมีคุณสมบัติในการย่อยแป้งและผลิตมวลชีวภาพเกิดขึ้น เรียกว่ากระบวนการซิมบา โดยกระบวนการนี้อาศัยการทำงานร่วมกันของเชื้อยีสต์ 2 ชนิด คือ *Endomycopsis fibuligera* เป็นเชื้อพวก amylolytic yeast ซึ่งมีเอนไซม์อะมัยเลสที่สามารถย่อยแป้งได้และ *Candida utilis* เป็นเชื้อพวก non-amylolytic ที่มีอัตราการเจริญรวดเร็ว สามารถใช้กลูโคสในการเจริญได้และผลผลิตสุดท้ายของโปรตีนเซลล์เดียวส่วนใหญ่จะเป็นยีสต์พวก non-amylolytic คือ *Candida utilis*

Wickerham and Kuchner (1956) ได้ศึกษาการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากการใช้เชื้อผสมของ *Saccharomycopsis fibuligera* และ *Candida utilis* จากอาหารที่มีแป้งเป็นส่วนประกอบ พบว่า *S. fibuligera* มีคุณสมบัติเป็น amylolytic yeast ทำการย่อยแป้งไปเป็นน้ำตาลเพื่อใช้ในการเจริญของ *C.utilis* ซึ่งมีคุณสมบัติเป็น food yeast กระบวนการนี้รู้จักกันในชื่อของ symba process

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การศึกษานี้จึงได้นำน้ำทิ้งจากโรงงานแป้งมันสำปะหลังมาใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อของ *Endomycopsis fibuligera* TISTR 5097 และ *Candida utilis* TISTR 5046 และศึกษาการผลิตมวลชีวภาพจากน้ำทิ้งเหล่านี้ รวมทั้งศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตมวลชีวภาพจากน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลังโดยเลี้ยงเชื้อยีสต์สองชนิดร่วมกัน นอกจากจะลดปัญหาด้านสิ่งแวดล้อมแล้ว สามารถผลิตผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าเพิ่มขึ้น โดยผลิตในรูปโปรตีนเซลล์เดียวเพื่อใช้เป็นแหล่งโปรตีนเสริมในอาหารสัตว์

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. ศึกษาการเจริญของเชื้อ *E. fibuligera* TISTR 5097 และ *C. utilis* TISTR 5046 ในน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง

2. ศึกษาอัตราส่วนของการใช้เชื้อ *E. fibuligera* TISTR 5097 และ *C. utilis* TISTR 5046 รวมทั้งเวลาที่เหมาะสมในการเติมเชื้อ *C.utilis* TISTR 5046 ลงในน้ำทิ้งที่มีเชื้อ *E.fibuligera* TISTR 5097 เจริญอยู่ก่อน

3. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตมวลชีวภาพจากการใช้เชื้อผสมระหว่าง *E.fibuligera* TISTR 5097 และ *C.utilis* TISTR 5046 จากน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง คือ แหล่งไนโตรเจน โดยหาชนิดและความเข้มข้นที่เหมาะสมของไนโตรเจนที่ใช้ ค่าพีเอชเริ่มต้น อุณหภูมิ และความเร็ว-รอบในการเขย่า

4. ศึกษาการผลิตมวลชีวภาพในถังหมัก

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

ศึกษาการเจริญของเชื้อ *E. fibuligera* TISTR 5097 และ *C. utilis* TISTR 5046 ในน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง และอัตราส่วนของเชื้อทั้งสองรวมทั้งเวลาที่เหมาะสมของการใช้เชื้อทั้งสองร่วมกัน สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตมวลชีวภาพจากเชื้อทั้งสอง และศึกษาการผลิตมวลชีวภาพในถังหมัก

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เป็นการนำน้ำทิ้งมาใช้ให้เกิดประโยชน์และเป็นการลดมลภาวะสิ่งแวดล้อม

2. สามารถหาปัจจัยและสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลังได้และผลที่ได้จากการศึกษาในระดับห้องปฏิบัติการสามารถเป็นแนวทางนำไปสู่การผลิตในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

3. สามารถผลิตมวลชีวภาพจากจุลินทรีย์โดยใช้น้ำทิ้งจากโรงงานแป้งมันสำปะหลังได้

4. เป็นแนวทางในการเพิ่มมูลค่าให้กับของเสียที่เกิดจากกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ในเชิงพาณิชย์ หรือในเชิงการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
หลักการและทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

2.1 โปรตีนเซลล์เดียว

โปรตีนเซลล์เดียว (Single Cell Protein) หรือเขียนย่อๆว่า SCP ถูกบัญญัติขึ้นโดย Massachusetts Institute of Technology โดยศาสตราจารย์ C.L. Wilson ในปี ค.ศ. 1966 คือ โปรตีนจากจุลินทรีย์ได้แก่ สาหร่าย เชื้อรา ยีสต์ และแบคทีเรีย ไม่จำเป็นต้องเป็นจุลินทรีย์ที่มีเซลล์เดียว (unicellular cell) ได้แก่ แบคทีเรีย ยีสต์ และสาหร่ายบางชนิด แต่รวมถึงจุลินทรีย์ที่มีหลายเซลล์ (multicellular cell) ได้แก่ สาหร่ายและเชื้อรา แต่โดยทั่วไปก็ยังนิยมเรียกว่าโปรตีนเซลล์เดียว (ดวงพร คันธโชติ. 2530) อย่างไรก็ตามในปัจจุบันเริ่มมีการใช้คำว่า microbial biomass protein (MBP) เข้ามาแทนที่คำว่าโปรตีนเซลล์เดียว (SCP) เพื่อให้ครอบคลุมฟังไจซึ่งเป็นจุลินทรีย์หลายเซลล์ด้วย (สมใจ ศิริโภค. 2544)

การผลิตโปรตีนเซลล์เดียวครั้งแรกเริ่มขึ้นในสมัยสงครามโลกครั้งที่ 1 ในประเทศเยอรมัน เนื่องจากภาวะสงครามทำให้เกิดการขาดแคลนอาหาร จึงได้มีการผลิตเซลล์ยีสต์ขนมปัง *Saccharomyces cerevisiae* เพื่อใช้เป็นแหล่งโปรตีนในอาหารสำหรับมนุษย์ โดยใช้กากน้ำตาลเป็นสับสเตรทหลัก ซึ่งทำให้ได้โปรตีนมากถึงร้อยละ 60 (Rose. 1981) ต่อมาในสมัยสงครามโลกครั้งที่ 2 ได้มีการพัฒนาการผลิตจาก *Candida utilis* โดยใช้ sulfite waste liquor ที่ได้จากอุตสาหกรรมผลิตกระดาษ และน้ำตาลที่ได้จากการย่อยสลายไม้ เป็นสับสเตรทในการเพาะเลี้ยงเชื้อเพื่อใช้เป็นแหล่งโปรตีนในอาหารมนุษย์และสัตว์ และในระหว่าง ค.ศ.1950 - 1960 ได้มีการใช้ไฮโดรคาร์บอนเป็นสับสเตรทในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวโดยบริษัทปิโตรเลียม เช่น บริษัท BP(UK) บริษัท Kanegafuichi (Japan) และบริษัท Liquichimica (Italy) จากนั้นมีการพยายามค้นคว้าการใช้เมทานอลและเอทานอลที่ได้จากปิโตรเลียมเพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานสำหรับเชื้อจุลินทรีย์ นอกจากนี้ยังใช้สับสเตรทชนิดอื่นๆ ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว เช่น ของเสียจากผลไม้พวกส้มและมะนาว กากน้ำตาล หางนม แป้ง น้ำเสีย ของเสียพวกซัลไฟด์ มูลสัตว์ เป็นต้น (Cleanthis. 2002) หลังจากนั้นจึงมีการศึกษาเกี่ยวกับการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวกันอย่างกว้างขวางจนกระทั่งในปี ค.ศ.1968 ได้มีการก่อตั้งโรงงานผลิตโปรตีนเซลล์เดียวเกิดขึ้นเป็นจำนวนมากในประเทศต่างๆ เช่น สหรัฐอเมริกา สวิตเซอร์แลนด์ ไต้หวัน สหภาพโซเวียต ญี่ปุ่น ฟินแลนด์ ฝรั่งเศสและอังกฤษ (Richad *et al.* 2000)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การผลิตโปรตีนเซลล์เดียวเป็นกระบวนการผลิตทางเทคโนโลยีชีวภาพซึ่งเป็นวิธีหนึ่งที่เหมาะสมในการแก้ปัญหาการขาดแคลนโปรตีน โดยอาจนำมาใช้เป็นแหล่งอาหารสำหรับมนุษย์และสัตว์ สาเหตุที่นำจุลินทรีย์มาใช้เป็นแหล่งโปรตีน เนื่องจากจุลินทรีย์ให้ผลผลิตต่อหน่วยพื้นที่ต่อหน่วยเวลาสูงกว่าโปรตีนจากแหล่งอื่นๆ สามารถเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็ว มีโปรตีนในเซลล์สูงและจุลินทรีย์ยังประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็นหลายชนิดรวมทั้งมีวิตามินต่างๆ ในปริมาณที่สูงซึ่งมีความสำคัญทางโภชนาการ สามารถใช้เป็นอาหารเสริมโปรตีนได้ (ดุษณี ธนะบริพัฒน์. 2537) เมื่อเปรียบเทียบ doubling time (td) และการผลิตโปรตีนของจุลินทรีย์กับแหล่งโปรตีนอื่นๆ จุลินทรีย์จะมีการเจริญอย่างรวดเร็วและมีปริมาณโปรตีนมาก ดังตารางที่ 2.1 และ 2.2

ตารางที่ 2.1 ค่า Mass doubling time (td)

สิ่งมีชีวิต	Mass doubling time (td)
แบคทีเรียและยีสต์	10-120 นาที
ราและสาหร่าย	2-6 ชั่วโมง
หญ้าและพืชบางชนิด	1-2 สัปดาห์
ไก่	2-4 สัปดาห์
หมู	4-6 สัปดาห์
วัว,ควาย	1-2 เดือน
คน	0.2-0.5 ปี

ที่มา : Cleanthis (2002)

ตารางที่ 2.2 ประสิทธิภาพในการผลิตโปรตีนในเวลา 24 ชั่วโมง

เชื้อจุลินทรีย์ (1,000 กิโลกรัม)	ปริมาณโปรตีน
เนื้อวัว,ควาย	1 กิโลกรัม
ถั่วเหลือง	10 กิโลกรัม
ยีสต์	100 ตัน
แบคทีเรีย	100X10,000,000 ตัน

ที่มา : Cleanthis (2002)

2.2 วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

1. ไฮโดรคาร์บอนซึ่งมีทั้งอยู่ในสภาพเป็นของเหลว เช่น เมทานอล เอธานอล พาราฟิน และไฮโดรคาร์บอนในสภาพแก๊ส เช่น methane n-butane propane และ ethane เป็นต้น จุดเริ่มต้นที่สนใจใช้สารประเภทนี้เป็นวัตถุดิบเริ่มโดยบริษัท Britis Petrolium (BP) Kanegafuichi Chemical

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Industry Company Ltd. Dainippon Ink, Chemical Company Ltd. ต่างก็สนใจที่จะใช้สารประกอบ n-alkane ของปิโตรเลียมเป็นวัตถุดิบเพราะมีปริมาณมากราคาถูกและมีความบริสุทธิ์สูง แต่ในช่วงนั้นเกิดวิกฤตการณ์น้ำมัน จึงทำให้ความสนใจในการนำสารพวกนี้มาใช้เป็นวัตถุดิบเปลี่ยนไป

Yeehn (1996) เลี้ยง *Rhodotorula* sp. Y-38 โดยใช้เอทานอล กรดอะซิติก และอะซิตัลดีไฮด์เป็นสับสเตรทเลี้ยงแบบต่อเนื่อง ใช้เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 1.0 สามารถผลิตโปรตีนได้ 52 กรัมต่อ 100 กรัมชีวมวล ที่ค่า dilution rate 0.5 ต่อชั่วโมง เมื่อใช้กรดอะซิติกความเข้มข้นร้อยละ 2 ผลิตโปรตีนได้ 50 กรัมต่อ 100 กรัมชีวมวล ที่ค่า dilution rate 0.4 ต่อชั่วโมง ส่วนการใช้อะซิตัลดีไฮด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 ผลิตโปรตีนได้ 47 กรัมต่อ 100 กรัมชีวมวล ที่ค่า dilution rate 0.014 ต่อชั่วโมง

2. คาร์โบไฮเดรต ได้แก่ น้ำตาล แป้ง เซลลูโลส รวมทั้งของเหลือใช้จากการเกษตรและอุตสาหกรรม ซึ่งได้จากแหล่งต่างๆ เช่น

2.1 กากน้ำตาล ได้จากโรงงานน้ำตาล ซึ่งเป็นน้ำตาลที่ได้จากอ้อยหรือหัวบีท ส่วนประกอบของกากน้ำตาลจากหัวบีทประกอบด้วย ซูโครสร้อยละ 48.5 ราฟฟิโนสร้อยละ 1 invert sugar ร้อยละ 1 เถ้าร้อยละ 10.8 สารอินทรีย์ร้อยละ 20.7 น้ำร้อยละ 18 และไนโตรเจนร้อยละ 1.5-2.0 ส่วนกากน้ำตาลจากอ้อยประกอบด้วย ซูโครสร้อยละ 33.4 invert sugar ร้อยละ 21.2 เถ้าร้อยละ 9.8 สารอินทรีย์ร้อยละ 19.6 น้ำร้อยละ 16 (Rhodes and Fletcher. 1975)

Burrows (1979) ใช้กากน้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานในการผลิต Baker's yeast โดยใช้ *Saccharomyces cerevisiae* ทำการหมักในอาหารกากน้ำตาลที่มีน้ำตาลร้อยละ 50 - 55 ค่าพีเอช 6.5 - 8.5 ระหว่างนี้มีกิจกรรมของเอนไซม์อินเวอร์เทสสูง มีการใช้ซูโครสอย่างรวดเร็ว ซึ่งในการหมักมีการเติมแหล่งไนโตรเจนลงไปด้วยคือเกลือแอมโมเนียมและยูเรีย

Nigam (1994) เลี้ยงเชื้อรา *Trichoderma viride* QM 9414 *Trichoderma reesei* NRRL 11460 *Fusarium oxysporum* DSM 841 และ *Chaetomium cellulolyticum* ATCC 32319 ในอาหารกากน้ำตาล โดยเลี้ยงแบบอาหารเหลวที่มีการเจือจางความเข้มข้นของน้ำตาลร้อยละ 3 - 4 สามารถผลิตโปรตีนได้ร้อยละ 32 ส่วนการเลี้ยงแบบอาหารแข็งใช้เวลา 3 วัน สามารถผลิตโปรตีนได้ร้อยละ 33.8

2.2 น้ำทิ้งจากโรงงานทำกระดาษ (spent sulfite waste liquor, SSL) ได้จากอุตสาหกรรมผลิตกระดาษ ทำการย่อยไม้ โดยใช้สารละลายกรด ส่วนประกอบของ SSL จะขึ้นอยู่กับชนิดของไม้และสารเคมีที่ใช้ในกระบวนการ SSL ที่ได้จากการย่อยไม้เนื้อแข็งประกอบด้วยน้ำตาลเพนโตสร้อยละ 80 เฮกโซสร้อยละ 20 ส่วน SSL ที่ได้จากการย่อยไม้เนื้ออ่อนประกอบด้วยเฮกโซสร้อยละ 80 เพนโตสร้อยละ 20 นอกจากนั้น SSL ประกอบด้วยกรดอะซิติก กรดฟอร์มิก และกรดกาแลคทูโรนิก (Noonai and Flegel. 1981) ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจาก SSL เป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สับสเตรทโดยเชื้อราในระดับอุตสาหกรรมเรียกว่า "Pekilo process" ซึ่งมีการพัฒนาโดยโรงงานผลิตเยื่อกระดาษในประเทศฟินแลนด์ (Romantschuk. 1975)

2.3 น้ำทิ้งจากโรงงานมันฝรั่ง ในกระบวนการผลิตจะมีของเสียที่ได้จากกระบวนการจำนวนมาก จึงนำของเสียที่ได้มาใช้ให้เกิดประโยชน์และเป็นการจัดการสิ่งแวดล้อมในโรงงานด้วย

Stevens and Gregory (1987) ใช้เชื้อ *Cephalosporium eichhorniae* 152 (ATCC 38255) ซึ่งมีความทนต่ออุณหภูมิสูง ทนกรดและเป็นพวก amylolytic เพื่อใช้ในการเปลี่ยนของเสียจากกระบวนการแปรรูปมันฝรั่งไปเป็นชีวมวลโปรตีนเพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์ ของเสียจากกระบวนการแปรรูปมันฝรั่งประกอบด้วย คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 2 โมโนแอมโมเนียม 0.506 กรัมต่อลิตร และเฟอร์ริกไอออน 0.1 กรัมต่อลิตร มีค่าพีเอช 3.7 และเติมแหล่งไนโตรเจนในรูปแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีผลผลิต 0.61 กรัมน้ำหนักแห้ง และมีโปรตีน 0.3 กรัมต่อกรัมคาร์โบไฮเดรต

2.4 หางนม (whey) เป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมเนยแข็ง มีลักษณะเป็นของเหลวสีเหลือง ประกอบด้วยน้ำตาลแลคโตสร้อยละ 5 โปรตีนร้อยละ 0.8 แร่ธาตุร้อยละ 0.7 เถ้าร้อยละ 0.6 และวิตามินร้อยละ 0.2 - 0.8 ในโรงงานอุตสาหกรรมมีการจัดการทางด้านสิ่งแวดล้อมจึงมีความสนใจนำหางนมมาใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว (Gaden. 1974)

2.5 เมล็ดธัญพืช โดยทั่วไปจะมีแป้งเป็นส่วนใหญ่ โปรตีนมีเพียงเล็กน้อยและมักขาดกรดอะมิโนที่จำเป็น เช่น ข้าวสาลี ขาดไลซีนและทริปโตเฟน พืชตระกูลถั่ว ขาดเมทไทโอนีน ไลซีนและทริปโตเฟน ดังนั้นการนำมาเป็นวัตถุดิบผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจึงเป็นการเพิ่มคุณค่าทางอาหาร

2.6 น้ำตาลโมเลกุลใหญ่ แบ่งเป็น 2 กลุ่มคือ แป้งและเซลลูโลส โดยวัตถุดิบพวกนี้ต้องผ่านกระบวนการทางเคมี ทำได้โดยย่อยด้วยกรดหรือด่าง การใช้เอนไซม์ทำได้โดยใช้เอนไซม์ย่อยพวกเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส เป็นต้น หรือการใช้จุลินทรีย์ในการย่อย โดยการคัดเลือกจุลินทรีย์ที่สามารถสร้างเอนไซม์ที่มีคุณสมบัติในการย่อยสลายได้ดี เพื่อย่อยให้เป็นน้ำตาลก่อน หลังจากนั้นจึงนำไปเลี้ยงจุลินทรีย์ (ดุษณี ธนะบริพัฒน์. 2537)

2.6.1 แป้ง ในกระบวนการผลิตโปรตีนที่ใช้แป้งเป็นวัตถุดิบ ทำการย่อยด้วยเอนไซม์หรือวิธีทางเคมี ต่อมาจึงหมักด้วยยีสต์เพื่อผลิตโปรตีน ในขั้นแรกใช้การหมักแป้งด้วยยีสต์ *Endomycopsis fibuligera* ซึ่งผลิตเอนไซม์แอลฟา - เบต้าอะมัยเลส เพื่อย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลกลูโคส จากนั้นจึงเลี้ยงต่อด้วย *Candida utilis* เพื่อผลิตชีวมวลสำหรับใช้เป็นอาหารสัตว์ ซึ่งเรียกวิธีการนี้ว่า " symba process" (Skogman. 1976)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Trien *et al.* (2000) ศึกษาการเจริญและผลิตโปรตีนเซลล์เดียวโดยเลี้ยง *E. fibuligera* TISTR 5097 ร่วมกับ *C. utilis* TISTR 5001 บนอาหารแป้งมันสำปะหลัง พบว่าสามารถผลิตโปรตีนเซลล์เดียวได้ 0.55 กรัมเซลล์แห้ง มีโปรตีนร้อยละ 48.8 ต่อ 1 กรัมมันสำปะหลัง และมีการเติมกากน้ำตาลเป็นแหล่งไนโตรเจน

Reade and Gregory (1975) นำเชื้อ *Aspergillus fumigatus* I-21 มาหาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีนโดยเติมแหล่งไนโตรเจน พบว่าการเติมยูเรีย จะมีการผลิตโปรตีนสูงสุดคือ 0.7 กรัมต่อลิตร จากนั้นหาค่าพีเอชเริ่มต้นที่เหมาะสมพบว่าพีเอชที่เหมาะสมคือ 3.5 ผลิตโปรตีนได้ถึง 4.5 กรัมต่อลิตร จากนั้นทำการเลี้ยงในอาหารแป้งที่มีความเข้มข้นของคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 4 ใช้เวลาในการหมักนาน 20 ชั่วโมง พบว่ามีผลผลิตสุดท้าย 24 กรัม มีโปรตีนถึงร้อยละ 36.9

Azoulay *et al.* (1980) ทำการเลี้ยง *Candida tropicalis* CBS 6948 ในอาหาร soluble starch อาหารแป้งข้าวโพดและแป้งมันสำปะหลัง ซึ่ง *C.tropicalis* มีเอนไซม์ที่จำเป็นในการย่อยแป้งคือแอลฟาอะมัยเลส พบว่า *C.tropicalis* CBS 6948 สามารถผลิตโปรตีนได้ถึงร้อยละ 20

2.6.2 เซลลูโลส ได้จากการเกษตร แหล่งไม้ ในธรรมชาติเซลลูโลสรวมอยู่กับลิกนิน ซึ่งได้มีการศึกษากันอย่างกว้างขวางถึงการกำจัดลิกนินทั้งทางกายภาพและทางเคมี สำหรับประเทศสวีเดนได้มีการปรับปรุงพันธุ์เชื้อรา *Sporotrichum pulverlentum* ซึ่งสามารถทำลายไม้ทำให้ผุกร่อน พันธุ์ที่ปรับปรุงได้สามารถย่อยสลายลิกนิน แต่ไม่ย่อยสลายเซลลูโลส และเซลลูโลสที่เหลือนี้สามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบ โดยใช้จุลินทรีย์หรือเอนไซม์ในการย่อยสลายให้เป็นน้ำตาล การกำจัดลิกนินในลิกโนเซลลูโลสจะทำให้ได้เซลลูโลส ดังนั้นลิกโนเซลลูโลสมีหลายชนิด เช่น ฟางข้าว ชานอ้อย เป็นต้น (ดุษณี ธนะบริพัฒน์. 2537)

Pessoa *et al.* (1996) ทำการศึกษาการเลี้ยง *Candida tropicalis* ในไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อย sugar cane hemicellulose โดยใช้กรดซัลฟิวริก 100 มิลลิกรัมต่อกรัมชีวมวลแห้ง ที่อุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ไฮโดรไลเสทที่ได้ใช้เป็นสับสเตรทในการเลี้ยง *C. tropicalis* IZ 1824 ในถังหมักขนาด 1 ลิตร อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการกวน 400 รอบต่อนาที มีการเติมอากาศ 1 และ 2 ปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาที นำมาคำนวณค่าไคเนติกส์ พบว่า ในการเติมอากาศ 1 และ 2 ปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาที มีค่าอัตราเจริญจำเพาะสูงสุด (μmax) 0.057 และ 0.137 ต่อชั่วโมง ตามลำดับ และสามารถผลิตโปรตีนได้ ร้อยละ 31.3 ซึ่งประกอบด้วยกรดอะมิโนชนิดต่างๆ เพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์

Hussein *et al.* (1992) ทำการผลิตโปรตีนโดยการย่อยเฮมิเซลลูโลสด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่อุณหภูมิสูง ของเหลวที่ได้จากการย่อย (black liquor) ประกอบด้วยซิลิกา ลิกนิน และเฮมิเซลลูโลส ส่วน black liquor ที่ได้จะนำมาใช้เป็นสับสเตรทโดยจะเปลี่ยน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

black liquor ไปเป็นชีวมวล ซึ่งมีการผลิตโปรตีนสูงสุดโดยเชื้อ *Aspergillus terreus, Paecilomyces simplicissima* และ *Actinopolyspora* sp. คือร้อยละ 9.58 9.4 และ 8.34 ตามลำดับ

2.3 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

2.3.1 คุณสมบัติของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

จุลินทรีย์ที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวมี 4 ชนิดคือ แบคทีเรีย ยีสต์ รา และสาหร่าย ซึ่งจุลินทรีย์แต่ละชนิดมีความสำคัญทางการค้า คุณสมบัติของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตโปรตีนคือ

1. เจริญเติบโตอย่างรวดเร็วและสามารถเจริญได้บนอาหารสูตรง่าย ไม่ต้องการปัจจัยในการเจริญที่มีราคาแพง
2. ผลผลิตมีประสิทธิภาพสูง
3. มีความสามารถในการใช้สับสเตรทหลายชนิด
4. มีความต้านทานต่อสับสเตรทและผลผลิตที่เป็นพิษ
5. มีการเจริญคงที่ในการเลี้ยงแบบต่อเนื่อง
6. มีอัตราการเจริญสูงในที่อุณหภูมิเหมาะสม
7. ทนต่อการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ชนิดอื่น
8. มีประสิทธิภาพในการพัฒนาการดัดต่อพันธุกรรม
9. สามารถใช้แอมโมเนียมเป็นแหล่งไนโตรเจนได้

2.3.2 ชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

ตารางที่ 2.3 ชนิดเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

เชื้อจุลินทรีย์	สายพันธุ์ของเชื้อจุลินทรีย์
สาหร่าย	*Chlorella*
	Spirulina
	Dunaliella
	Euglena
	Vromena
	Coelastrum
	Oscillatoria
	Chlamydomonas
	Ankistrodesmus

ที่มา : ดุษณี ธนะบริพัฒน์ (2537)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.3 (ต่อ)

เชื้อจุลินทรีย์	สายพันธุ์ของเชื้อจุลินทรีย์
รา	*Aspergillus niger*
	Fusarium graminearum
	Rhizopus oligosporus
	Trichoderma viride
	Neurospora intermedia
	Myrothecium verrucaria
แบคทีเรีย	*Pseudomonas ligustri* ATCC 15522
	Pseudomonas orvilla ATCC 15524
	Alcaligenes sp.
	Cellumonas galba ATCC15526
	Corynebacterium
ยีสต์	*Saccharomyces cerevisiae*
	Kluyveromyces marxianus
	Candida utilis
	C. tropicalis
	C. rugosa
	C.guilliermondii
	C.lipolytica
	Endomycopsis fibuligera
	Yarrowia lipolytica
	Schwanniomyces alluvius
	Kluyveromyces fragillis
	K. lactis

ที่มา : ดุษณี ธนะบริพัฒน์ (2537)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.3 สัณฐานวิทยาของยีสต์ (กำเนิด สุภัณวงษ์. 2534)

เซลล์ยีสต์มีขนาดแตกต่างกันออกไป มีเส้นผ่าศูนย์กลางตั้งแต่ 1 - 5 ไมโครเมตร ยาวตั้งแต่ 5 - 30 ไมโครเมตร ส่วนใหญ่เซลล์จะเป็นรูปไข่แต่มีบางชนิดที่ยาวกว่า บางชนิดเป็นรูปทรงกลม แต่ละสายพันธุ์มีลักษณะเฉพาะ อย่างไรก็ตามขนาดและรูปร่างอาจแตกต่างกันออกไปขึ้นอยู่กับอายุและสภาพแวดล้อม ยีสต์ไม่มีโครงสร้างที่ใช้ในการเคลื่อนที่ดังนั้นจึงเคลื่อนที่ไม่ได้

โครงสร้างของเซลล์ยีสต์

1. แคปซูล (capsule) เป็นโครงสร้างที่ห่อหุ้มเซลล์ โดยยีสต์บางชนิดจะปล่อยสารที่มีลักษณะเป็นเมือกหนืดหรือเหนียวออกมาหุ้มเซลล์ แคปซูลมักเป็นสารพวกโพลีแซคคาไรด์รวมทั้งเฮทเทอโรโพลีแซคคาไรด์ แมนแนนและสารที่คล้ายแป้ง

2. ผนังเซลล์ (cell wall) ผนังเซลล์ยีสต์จะบางเมื่ออายุเซลล์ยังน้อย แต่จะหนาขึ้นตามอายุ ความหนาของผนังประมาณ 1/7 ของเส้นผ่าศูนย์กลางเซลล์ ส่วนประกอบส่วนใหญ่ของผนังเซลล์ ได้แก่

- กลูแคน (glucan) หรือเซลลูโลสของยีสต์ ต่างกับเซลลูโลสที่เป็น β - 1,3 linkage หรือ β - 1,6 linkage ซึ่งเซลลูโลสเป็น β - 1,4 linkage มีร้อยละ 30 - 35
- แมนแนน (mannan) เป็นโพลีเมอร์ของแมนโนสมีร้อยละ 30
- ไขมัน (lipid) มีร้อยละ 8.5 - 13.5
- โปรตีน (protein) มีร้อยละ 6 - 8
- ไคติน มีร้อยละ 1 - 2
- ที่เหลือเป็นสารอินทรีย์ เช่น เกลือฟอสเฟต

3. เยื่อหุ้มเซลล์ (cytoplasmic membrane) องค์ประกอบเหมือนเยื่อหุ้มเซลล์ของสิ่งมีชีวิตอื่นคือ เป็นไลโปโปรตีนและมีหน้าที่ควบคุมการผ่านเข้าออกของสาร

4. ไซโตพลาสซึม (cytoplasm) มีลักษณะครึ่งเหลวครึ่งแข็ง ประกอบด้วยสาร-โพลีแซคคาไรด์ที่สะสมอยู่ คือ ไกลโคเจน นอกจากนี้มี RNA และโปรตีนอยู่มาก มีไรโบโซมและออแกเนลอื่น เช่น ไมโตคอนเดรียและมีระบบเยื่อในไซโตพลาสซึม

5. นิวเคลียส (nucleus) โครงสร้างทั่วไปเหมือนนิวเคลียสของเซลล์พวกยูคาริโอตทั่วไป จากการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน พบว่า โครงสร้างภายในบางอย่างขาดหายไป เช่น

- ไม่มีการสร้าง spindle เมื่อมีการแตกหน่อ
- เยื่อหุ้มนิวเคลียสยังคงอยู่ตลอดเวลาขณะมีการแบ่งเซลล์
- ขณะมีการแตกหน่อ นิวเคลียสจะคอดเข้าและส่วนหนึ่งจะไปยังเซลล์ที่เป็นหน่อ อีกส่วนหนึ่งอยู่ที่เซลล์เดิม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. แวคิวโอล (vacuole) เซลล์ยีสต์อาจมีแวคิวโอล 1 หรือหลายอัน เห็นชัดเจนกว่าโครงสร้างอื่นๆ

6. อินคลูชั่น (inclusion) ยีสต์บางชนิดจะมี volutin granule ซึ่งเป็นกรานูลของโพลีฟอสเฟต บางชนิดมีกรานูลไขมัน คาร์โบไฮเดรตหรือโปรตีน บางชนิดสะสมไขมันถึงร้อยละ 50 ของน้ำหนักแห้ง นอกจากนี้ก็มีไกลโคเจน เอนไซม์ วิตามิน รงควัตถุซึ่งอาจเป็นสีเหลือง สีส้ม สีชมพูหรือสีน้ำตาล นอกจากนี้ยังอาจพบไซโตโครม ฮีโมโกลบินและฟลาวิน

2.3.4 การจัดจำแนก *Candida utilis*

C.utilis พบครั้งแรกว่าปนเปื้อนในโรงงานผลิตยีสต์ในประเทศเยอรมัน ต่อมาได้ตั้งชื่อว่า *Torula utilis* ซึ่งเป็นยีสต์ที่นิยมใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวมากที่สุด เนื่องจากสามารถเจริญได้เร็ว ใช้น้ำตาลและอาหารได้หลายชนิด และมีปริมาณโปรตีนที่สูง

Torula เป็นชื่อที่ใช้เรียกยีสต์ที่ใช้เป็นอาหารสัตว์ ชื่อนี้ได้มาจากการเรียกชื่อของจีนัส Torulopsis *C.utilis* สามารถเจริญได้เนื่องจากดูดซึมได้ทั้งน้ำตาลเพนโตสและเฮกโซส ลักษณะรูปร่างของ *C.utilis* มีรูปร่างลักษณะเป็นวงรี สามารถแตกหน่อได้รอบตัว (multilateral budding) มีเส้นใยเทียม (pseudomycelium) แต่ไม่มีเส้นใยที่แท้จริง (true mycelium)

C.utilis มีอัตราการเจริญเร็ว มีโปรตีนสูง อุดมด้วยวิตามินบีรวม และสามารถใช้วัตถุดิบหลายชนิด เช่น น้ำตาลเพนโตส เฮกโซส sulfite waste liquor กากน้ำตาลและวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร เป็นต้น นอกจากนี้ยังต้องการสารช่วยในการเจริญน้อยมาก และใช้เป็นแหล่งอาหารโปรตีนได้ ซึ่งใช้เป็นอาหารเสริมทั้งในคนและสัตว์ เนื่องจากแหล่งอาหารโปรตีนในอาหารสัตว์ที่ได้จากกากถั่วเหลืองและปลาป่น นับวันจะมีราคาสูงและหายากขึ้นเรื่อยๆ ดังนั้นจึงมีการทดลองใช้ยีสต์เป็นแหล่งอาหารโปรตีนเพราะมีปริมาณสูง สามารถเลี้ยงได้ในระยะเวลาสั้น จากวัตถุดิบราคาถูกและประหยัดเนื้อที่ในการผลิต (วราวุฒิ ครูส่ง. 2529) ยีสต์ *Candida* ที่นิยมใช้ในการผลิตโปรตีน เช่น *C.utilis, C.tropicalis , C.lipolytica, C.guiliermondii* และ *C.intermedia*

การจัดจำแนก *C.utilis*

Kingdom	Fungi
Phylum	Deuteromycota
Class	Deuteromycetes
Family	Cryptococaceae
Genus	*Candida*
Species	*utilis*

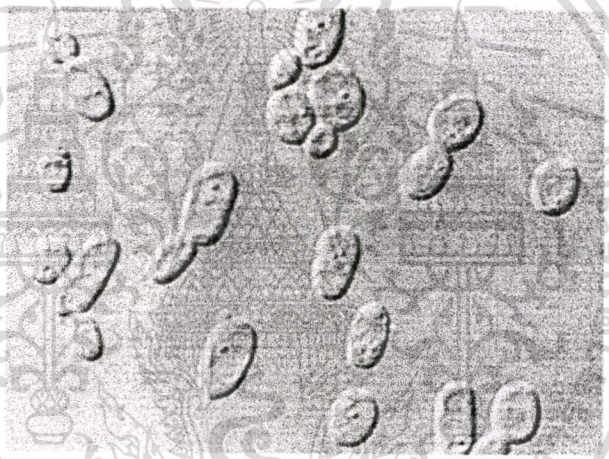
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะทั่วไปของ *C.utilis* ในอาหารชนิดต่างๆ (Kerger-van. 1984)

1. การเลี้ยงในอาหาร glucose - yeast - extract - peptone - water พบว่าหลังจากทำการเลี้ยงที่ 25 องศาเซลเซียส นาน 3 วัน เซลล์จะมีลักษณะรูปไข่ ทรงกระบอกขนาด (3.5 - 4.5) X (7 -13) μm

2. การเลี้ยงในอาหาร glucose - yeast - extract - peptone - agar พบว่าหลังจากเลี้ยงที่ 25 องศาเซลเซียส นาน 1 เดือน เชื้อจากรอยขีด (streak) จะมีสีเทาจนถึงสีครีม เป็นมันวาว ผิวเรียบ

3. การเลี้ยงในอาหาร corn- meal - agar มีการสร้างเส้นใยเทียม(pseudomycelium) ที่มีลักษณะเป็นสายสั้นๆ เซลล์มีลักษณะเป็นรูปไข่



รูปที่ 2.1 แสดงลักษณะของ *C.utilis*
ที่มา : Barnett *et al.* (2000)

2.3.5 การจัดจำแนก *Endomycopsis fibuligera*

ยีสต์โดยทั่วไปไม่สามารถใช้แป้งเป็นสับสเตรทได้ แต่ในธรรมชาติมียีสต์บางชนิดที่เป็นพวก amylolytic สามารถเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาลได้ (Wickerham *et al.* 1944)

Guilliermond and Tanner (1920) รายงานการใช้แป้งเป็นสับสเตรทและคุณสมบัติของเชื้อสายพันธุ์ *E. fibuligera* และยีสต์บางสายพันธุ์ที่สามารถหมักแป้งได้ เช่น *Saccharomyces exiguus, S. thermantitonum, S. acetethylicus, Schizosaccharomyces pombe, Sch.mellacei, Sch. octosporus*

Lindner (1907) ทำการแยกเชื้อ *E.fibuligera* ได้จากขนมปังเสีย พบว่า เชื้อ *E. fibuligera* สามารถใช้ซูโครสได้ดี ใช้กลูโคสได้ ใช้ราฟฟิโนสและแลกโตสได้บ้างเล็กน้อย

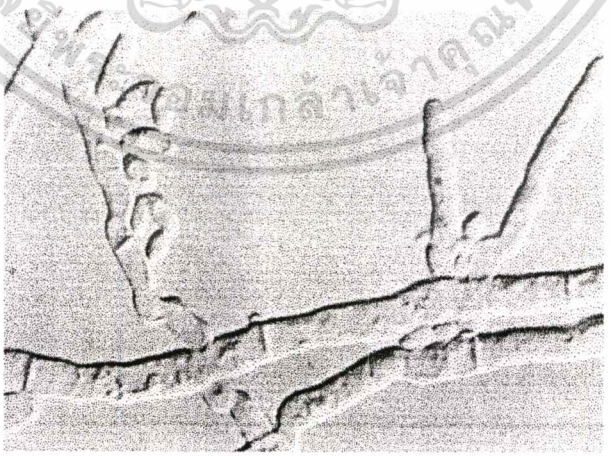
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การจัดจำแนก *Endomycopsis fibuligera*

Kingdom	Fungi
Phylum	Ascomycota
Class	Ascomycetes
Family	Saccharomycetaceae
Subfamily	Saccharomycoideae
Genus	*Endomycopsis*
Species	*fibuligera*

ลักษณะทั่วไปของยีสต์ในจีนัสนี้คือสร้างเส้นใยที่แท้จริง (true mycelium) ต่อไปเจริญไปเป็นอาร์โทรสปอร์ของเส้นใยเทียมและเซลล์ยีสต์มีแอสโคสปอร์ที่มีรูปร่างเป็นหมวกและรูปเดียว

รูปร่างลักษณะของ *E. fibuligera* เป็นยีสต์ที่จัดอยู่ในกลุ่มของยีสต์ที่สามารถสร้างเส้นใยได้ ในวงจรชีวิตของการเจริญเติบโตจะสร้างบลาสโตสปอร์ (blastospore) การสืบพันธุ์มีทั้งการแบ่งตัว (divide) การแตกหน่อ (budding) ลักษณะการแตกหน่อสามารถเป็นแบบเกิดได้รอบตัว (multipolar budding) รูปร่างลักษณะของสปอร์ที่พบโดยทั่วไป มีทั้งรูปไข่ รูปหมวก และรูปเดียว พบว่าใน 1 แอสคัส มี 1-4 แอสโคสปอร์ ลักษณะการสร้างเส้นใยทำให้จัดอยู่ในพวกการสร้างเส้นใยที่แท้จริง (true mycelium) (ปรเมศร์ ลำประเสริฐและพรศักดิ์ ต่างประภา. 2538)



รูปที่ 2.2 แสดงลักษณะของ *E. fibuligera*

ที่มา : Barnett *et al.* (2000)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะทั่วไปของ *E. fibuligera* ในอาหารชนิดต่างๆ (Kerger-van. 1984)

1. การเลี้ยงในอาหาร malt extract พบว่า หลังจากเลี้ยงที่ 25 องศาเซลเซียส นาน 2 วัน จะมีการแตกหน่อ หน่อมีลักษณะรูปไข่ขนาด (4 - 8) X (6 - 8) μm สร้างเส้นใยแบบมีผนังกั้น (septate mycelium)

2. การเลี้ยงในอาหาร malt extract agar extract พบว่า หลังจากเลี้ยงที่ 17 องศาเซลเซียส นาน 1 เดือน เชื้อจากรอยขีดจะมีสีน้ำตาลอมเหลือง นูน มีลักษณะย่นเล็กน้อย เป็นมัน

3. การเลี้ยงในอาหาร potato and corn meal agar พบว่า มีการสร้างเส้นใยแบบมีผนังกั้น (septate mycelium) ที่บริเวณปลายเส้นใยมีการสร้างบลาสโตสปอร์ ซึ่งมีรูปร่างทั้งรูปไข่และทรงกลม

2.3.6 คุณค่าทางอาหารของยีสต์

เนื่องจากภายในเซลล์ยีสต์มีส่วนประกอบของสารและเกลือแร่หลายชนิดเป็นปริมาณมาก ซึ่งเหมาะสำหรับใช้เป็นอาหารเสริมในอาหารสัตว์ โดยเฉพาะโปรตีนซึ่งเฉลี่ยแล้วในเซลล์ยีสต์ประกอบด้วยโปรตีนทั้งหมดประมาณร้อยละ 45-50 ของน้ำหนักแห้ง เป็นโปรตีนแท้ๆ ประมาณร้อยละ 40 ของน้ำหนักแห้ง ในส่วนของโปรตีนทั้งหมดประกอบด้วยกรดอะมิโนประมาณร้อยละ 30 และปริมาณกรดนิวคลีอิกประมาณร้อยละ 2 และแอมโมเนียร้อยละ 8 คุณค่าทางอาหารสัตว์ไม่ได้ขึ้นกับปริมาณสารทั้งหมดที่มีอยู่ในเซลล์ประการเดียว แต่ขึ้นอยู่กับคุณภาพของการย่อย ค่า biological value ค่า net protein utilization (NPU) และ protein efficiency ratio (PER) ด้วย นอกจากนี้ยังขึ้นกับชนิดและปริมาณของกรดอะมิโนหลายชนิดซึ่งส่วนใหญ่เป็นกรดอะมิโนที่จำเป็นสำหรับร่างกาย และกรดอะมิโนแต่ละชนิดก็แตกต่างกันไป ดังตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 เปรียบเทียบกรดอะมิโนจากเซลล์ยีสต์ชนิดต่างๆ และ FAO reference protein

กรดอะมิโน	FAO reference protein	Content in yeast (g/16gN)		
		S.cerevisiae in molasses	*C.utilis* in sulfite liquor	*C.utilis* in molasses
ไลซีน	4.2	8.2	6.70	10.7
วาลีน	4.2	5.5	6.3	5.7
ลิวซีน	4.8	7.9	7.0	8.1
ไอโซลิวซีน	4.2	5.5	5.3	7.3
ทรีโอนีน	2..8	4.8	5.5	4.8
เมทไธโอนีน	2.2	2.5	1.3	1.4

ที่มา : ดวงพร ดันธโชติ (2530)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.4 (ต่อ)

กรดอะมิโน	FAO reference protein	Content in yeast (g/16gN)		
		S.cerevisiae in molasses	*C.utilis* in sulfite liquor	*C.utilis* in molasses
ฟีนิลอะลานีน	2.8	4.4	4.3	4.1
ซีสติน	2.0	2.6	0.7	0.3
ทริปโตเฟน	-	1.2	1.2	0.5
ฮิสติดีน	-	4.0	1.9	2.8
ไทโรซีน	-	5.0	3.3	1.4
อาร์จีนีน	-	5.0	5.4	4.7

ที่มา : ดวงพร คันธโชติ (2530)

ยีสต์นอกจากให้คุณค่าทางโปรตีนแล้วภายในเซลล์ยังประกอบด้วยแหล่งวิตามินบีรวมที่เหมาะสมสำหรับเป็นอาหารเสริมในอาหารคนและสัตว์ ดังตารางที่ 2.5

ตารางที่ 2.5 องค์ประกอบของวิตามินในเซลล์ยีสต์ชนิดต่างๆ

Vitamin	Content in dry product (μg/g)		
	S.cerevisiae in molasses	*C.utilis* in sulfite liquor	*C.utilis* in molasses
Thiamine	165	130	25
Riboflavin	100	45	50
Niacin	585	100	355
Pyridoxine HC1	20	30	-
Folacine	13	21	20
Calcium-d-pantothenate	100	40	120
Biotin	0.5	0.8	2
P-aminobenzoic acid	160	11	-
Choline chloride	2,710	2,860	5,500
Inositol	3,000	4,500	-

ที่มา : ดวงพร คันธโชติ (2530)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 ขั้นตอนในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว (ดวงพร คันธโชติ. 2530)

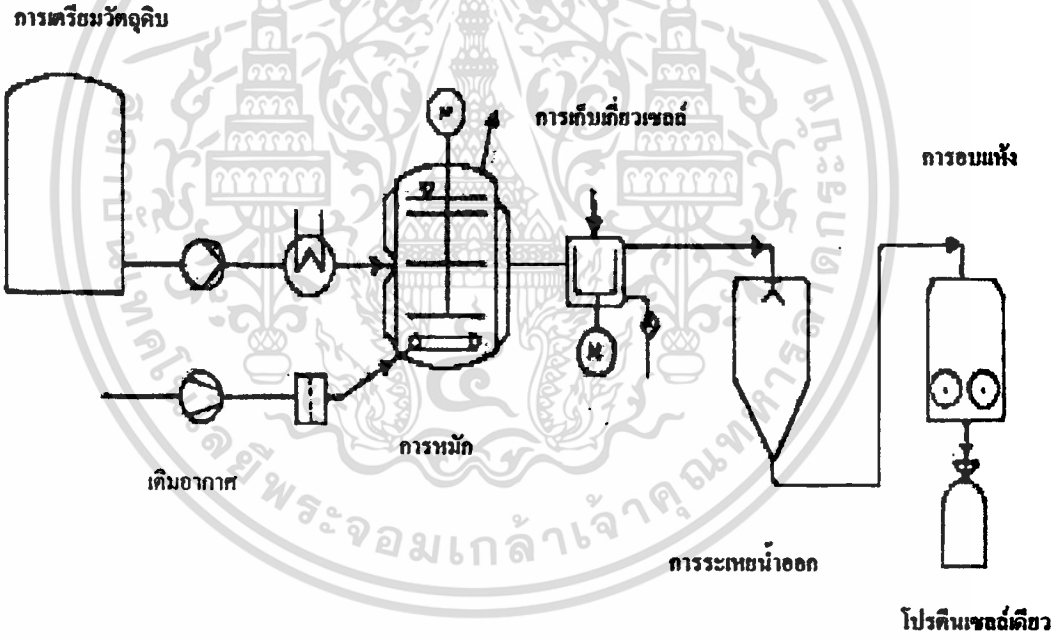
1. การเตรียมวัตถุดิบ ขั้นตอนนี้เป็นการเตรียมวัตถุดิบและนำวัตถุดิบที่ทำการเตรียมแล้วใส่ถังเก็บวัตถุดิบเพื่อนำเข้าสู่กระบวนการขั้นต่อไป ซึ่งวัตถุดิบที่ใช้ เช่น แป้ง เซลลูโลส กลูโคส หางนม วัตถุดิบจำพวกของเสีย เช่น เปลือกผลไม้ น้ำทิ้งจากโรงงานกระดาษ น้ำทิ้งจากโรงงานผลิตแป้ง กากน้ำตาล พาราฟิน เมทานอล เป็นต้น

2. การหมัก เป็นกระบวนการที่มีการควบคุมสภาวะในการเพาะเลี้ยงให้เหมาะสม เช่น พีเอช อุณหภูมิ การกวน และการให้อากาศ เป็นต้น

3. การเก็บเกี่ยวเซลล์ ทำการเก็บเกี่ยวและแยกเซลล์โดยการปั่นเหวี่ยงหรือกรอง

4. การระเหยน้ำออก เป็นการระเหยน้ำออกจากเซลล์

5. การอบแห้ง เป็นการทำให้แห้งในรูปผง



รูปที่ 2.3 ขั้นตอนการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว
ที่มา : ดวงพร คันธโชติ (2530)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 กระบวนการที่ใช้ในการเลี้ยงยีสต์เพื่อเอาเซลล์ (ดวงพร คันธโชติ. 2530)

1. Swidish symba process ใช้เชื้อ *Endomycopsis fibuligera* ซึ่งผลิตเอนไซม์แอลฟา-เบตาอะมัยเลสเป็นส่วนใหญ่ จะย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล ส่วนเชื้อ *Candida utilis* จะใช้น้ำตาลในการเจริญ ได้เชื้อชนิดหลังเป็นแหล่งโปรตีน

2. Amylo process ใช้เชื้อจุลินทรีย์ 2 ชนิด คือ *Rhizopus* และ *Saccharomyces cerevisiae* โดยใช้แป้งเป็นวัตถุดิบ ราจะย่อยแป้งเป็นน้ำตาลซึ่งเป็นแหล่งอาหารของยีสต์ ได้เซลล์ยีสต์เป็นโปรตีนเซลล์เดียว

3. Waldhof process ใช้ *C. utilis* ใน sulfite waste liquor ในถังหมักแบบต่อเนื่องของ Waldhof ได้โปรตีนร้อยละ 55 - 60

4. DSM oxanene-water process ใช้ *Candida lipolytica* และ *Trichosporon cutaneum* ในน้ำทิ้งจากการออกซิไดซ์ cyclohexane ได้โปรตีนร้อยละ 54 - 67

5. n-paraffin และ gas oil process (Petrolium process) ใช้ *Candida lipolytica* โดยใช้ไฮโดรคาร์บอนเป็นสารตั้งต้น

6. Philipe process ใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* มีการใช้กากน้ำตาลจากหัวบีทและกากน้ำตาลจากอ้อย นอกจากนี้ต้องเติมสารที่จำเป็นหรือสารเร่งการเจริญของยีสต์ เช่น แร่ธาตุ วิตามินพวกไบโอติน ไพริดอกซิน และไทอามีน รวมทั้งกรดอะมิโน เช่น แอสพาราจีน แอสปาติก และกรดกลูตามิก กระบวนการนี้ต้องระวังเรื่องการปนเปื้อนจากเชื้ออื่นเป็นพิเศษ

7. Whey process เป็นการนำของเหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตเนยซึ่งมีน้ำตาลแลคโตสร้อยละ 5 มาใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว โดยใช้เชื้อ *Kluyveromyces fragillis* มีการเติมแอมโมเนียมซัลเฟต แมกนีเซียมซัลเฟต ยีสต์สกัด ปริมาณที่เติมขึ้นกับปริมาณน้ำตาลแลคโตสในน้ำทิ้ง ควบคุมพีเอชอยู่ระหว่าง 4 - 5.5 อุณหภูมิ 30 - 32 องศาเซลเซียส ถ้าเป็นการหมักแบบชั่วคราวใช้เวลา 6 - 8 ชั่วโมง จะได้เซลล์ยีสต์ประมาณ 5,000 ปอนด์ จากของทิ้ง 180,000 ปอนด์

2.5.1 กระบวนการซิมบา (Symba process)

กระบวนการซิมบาอาศัยหลักการเจริญของจุลินทรีย์ 2 ชนิด โดยเรียกการเจริญแบบนี้ว่า การเจริญเติบโตแบบเกื้อกูล (symbiotic growth) เชื้อที่ใช้คือเชื้อ *E. fibuligera* และ *C.utilis* กระบวนการซิมบาเป็นกระบวนการที่ประกอบด้วย 2 ขั้นตอน คือ ขั้นตอนแรกเป็นการเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาลโดยใช้จุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์อะมัยเลส คือเชื้อ *E. fibuligera* จะปล่อยเอนไซม์อะมัยเลสออกมาย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล ต่อจากนั้นเชื้อ *C. utilis* จะใช้น้ำตาลในการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว ซึ่งเชื้อ *C. utilis* มีอัตราการเจริญสูงกว่า *E. fibuligera* ผลิตภัณฑ์สุดท้ายจะเป็นเซลล์ของ *C. utilis* ประมาณร้อยละ 90 - 94 ผลผลิตสุดท้ายซึ่งเรียกว่า ยีสต์ซิมบา ประกอบด้วย *C. utilis*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นหลัก และมี *E. fibuligera* ในปริมาณเล็กน้อยวิธีนี้สามารถใช้แป้งในขั้นตอนเดียว ทำให้ลดขั้นตอนในการย่อยสลายแป้งลงไปได้

เชื้อ *C. utilis* สามารถใช้น้ำตาลเพนโตสและน้ำตาลเฮกโซสในการเจริญซึ่งดีกว่าเชื้อ *E. fibuligera* ที่สามารถใช้น้ำตาลเฮกโซสได้เพียงตัวเดียวเท่านั้น แม้มีการผลิตโปรตีน-เซลล์เดียวจาก *C. utilis* มาค่อนข้างนานแล้ว แต่ยังไม่ประสบผลสำเร็จเนื่องจากราคาสูง แต่ความต้องการของตลาดต่ำจึงต้องหาทางแก้ไข เช่น การนำวัตถุดิบชนิดต่างๆมาใช้ทดแทน และสำรวจความต้องการของตลาด (Skogman. 1976)

ขั้นตอนของกระบวนการซิมบา

1. ถังบัฟเฟอร์ (buffer tank) ซึ่งรองรับน้ำหรือกากของเสียจากโรงงาน จะมีการแยกวัตถุที่มีขนาดใหญ่ออกก่อนแล้วทำให้มีสภาพเป็นของเหลวโดยที่มีแป้งประมาณร้อยละ 3 ถังบัฟเฟอร์จะทำให้ของเหลวผสมเข้าเป็นเนื้อเดียวกัน และประกอบด้วยส่วนของอาหารที่เหมือนกันโดยตลอด เพื่อเป็นการปรับสภาวะและอัตราการไหลก่อนเข้าสู่ขั้นต่อไป

2. ของเหลวจากถังบัฟเฟอร์จะไหลเข้าสู่ระบบให้ความร้อน เพื่อเป็นการฆ่าเชื้ออื่นก่อนโดยวิธีสเตอร์ริไรซ์ ต่อจากนั้นจะผ่าน heat exchanger ซึ่งเป็นตัวถ่ายเทความร้อนได้ถึงร้อยละ 90

3. นำของเหลวเข้าสู่ถังหมักเริ่มต้น เพื่อให้เชื้อ *E. fibuligera* เจริญ ซึ่งในช่วงนี้มีการเติมแหล่งไนโตรเจนและฟอสฟอรัสลงไปด้วย เพื่อช่วยในการเจริญเริ่มต้นของยีสต์

4. เมื่อมีน้ำตาลเพิ่มขึ้นตามต้องการ ก็ถ่ายลงสู่ถังที่มีขนาดใหญ่ขึ้น เพื่อให้เชื้อ *C. utilis* เจริญ เรียกถังนี้ว่า ถังซิมไบโอติค (symbiotic fermenter) ซึ่งเป็นที่ที่ *C. utilis* จะเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว ในขณะที่มีการเติมอากาศตลอดเวลา โดยที่อากาศจะถูกกรองให้ปราศจากเชื้อก่อนนำมาใช้

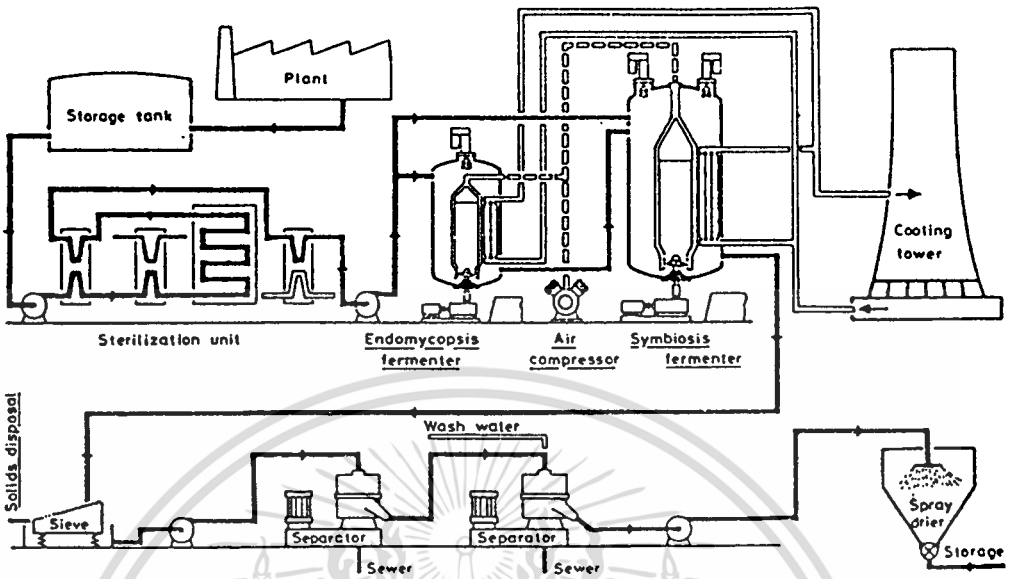
5. หอกลั่นทำความเย็น (cooling tower) ใช้ลดความร้อนในช่วงที่ *C. utilis* มีการเจริญเติบโตเพราะจะเกิดความร้อนขึ้น

6. เมื่อครบเวลาอันเหมาะสมก็นำเข้าสู่ขั้นตอนการแยก แล้วแต่วัตถุดิบที่ใช้เป็นสับสเตรท และความบริสุทธิ์ของผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ เช่น การเก็บเกี่ยวเซลล์ยีสต์โดยวิธีให้ของเหลวไหลผ่านเครื่องกรองหยาบและเครื่องกรองละเอียด ในขณะเดียวกันก็ล้างทำความสะอาดเซลล์ยีสต์ด้วย เมื่อกรองละเอียดแล้วผลผลิตที่ได้ยังมีน้ำปนอยู่ จึงนำไปผ่านเครื่องหมุนเหวี่ยง เพื่อทำให้ยีสต์เข้มข้นขึ้นเป็นของเหลวหนืดๆ

7. นำของเหลวหนืดไปเข้าเครื่องอบแห้ง โดยใช้เครื่องอบแห้งแบบลูกกลิ้ง (drum drier)

8. เก็บเข้าไซโล เพื่อบรรจุใส่ภาชนะที่เหมาะสมต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.4 การผลิตโปรตีนเซลล์เดียวโดยกระบวนการหมักแบบซิมบา
ที่มา : ดุษณี ธนะบริพัฒน์ (2537)

2.6 ประโยชน์ของการใช้จุลินทรีย์ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว (Cleanthis. 2000)

1. สามารถผลิตโปรตีนเซลล์เดียวได้โดยไม่ขึ้นอยู่กับพื้นที่หรือฤดูกาลและสามารถทำงานได้อย่างต่อเนื่องเป็นเวลานาน

2. สามารถปรับปรุงทางด้านพันธุกรรมได้ง่าย

3. เกิดปัญหาทางด้านมลภาวะน้อย เมื่อเทียบกับการผลิตอาหารโดยกระบวนการอื่น

4. จุลินทรีย์ประกอบด้วยปริมาณโปรตีนและคุณค่าอาหารอื่นๆที่เป็นประโยชน์ (ดุษณี ธนะบริพัฒน์. 2537)

5. จุลินทรีย์สามารถเจริญได้บนวัตถุดิบหลายชนิด เช่น ของเหลือทิ้งจากการเกษตรและผลพลอยได้ทางอุตสาหกรรม

6. สามารถเจริญได้อย่างรวดเร็วในสภาวะที่เหมาะสม (Ricard *et al.* 2000)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7 ข้อเสียของโปรตีนเซลล์เดียว (Cleanthis. 2000)

1. มีปริมาณของกรดนิวคลีอิกสูง
2. กลิ่นที่ได้ยังไม่เป็นที่ยอมรับ โดยเฉพาะสาหร่ายและยีสต์
3. สีที่ได้ไม่เป็นที่ยอมรับ
4. ไม่มีการย่อยผนังเซลล์พบในสาหร่าย

ด้วยเหตุนี้โปรตีนเซลล์เดียวที่ได้จึงต้องมีการผ่านกระบวนการปรับปรุงด้านกลิ่น สี และลดปริมาณกรดนิวคลีอิกลง ก่อนนำไปใช้

2.8 ปัญหาเกี่ยวกับการใช้โปรตีนเซลล์เดียว (ดวงพร คันธโชติ. 2530)

1. ปัญหาด้านการย่อย พบว่าจุลินทรีย์ที่ใช้เป็นโปรตีนเซลล์เดียว มีการย่อยได้ต่ำ เช่น สาหร่ายจะมีค่าการย่อยได้อยู่ระหว่างร้อยละ 50 - 75 ยีสต์ร้อยละ 95 ส่วนแบคทีเรียย่อยได้ร้อยละ 80 - 90 สาเหตุเนื่องมาจากผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ซึ่งป้องกันไม่ให้น้ำย่อยของสัตว์เข้าไปย่อยสารภายในเซลล์ได้ แต่ปัญหานี้แก้ไขได้โดยการ pretreatment ก่อนโดยการแยกเอาส่วนผนังเซลล์ออกหรือทำให้ผนังเซลล์แตกจะเพิ่มค่าการย่อยได้ ตัวอย่างเช่น ทำให้ *Bacillus megaterium* มีการแตกของเซลล์จะเพิ่มค่าการย่อยจากร้อยละ 56 เป็นร้อยละ 67 การที่เซลล์ของจุลินทรีย์ไม่ถูกย่อยจะทำให้เกิดการหมักในลำไส้ใหญ่ทำให้เกิดการท้องร่วงและเกิดสารเอมีน ซึ่งเป็นอันตรายต่อสุขภาพของสัตว์หรือมนุษย์ได้หรืออาจใช้วิตามินที่มีอยู่ในร่างกายของเซลล์เจ้าบ้านได้

2. ปัญหาเรื่องความเป็นพิษ พบว่า การใช้โปรตีนเซลล์เดียวในระดับสูง คือ 200 กรัมต่อวันของสาหร่าย *Chlorella* sp. จะทำให้คนที่รับประทานมีอาการทางระบบทางเดินอาหารเสียคือเป็นตะคริว ท้องร่วงและอาเจียน ส่วนพวกที่มีพิวรีนสูง ซึ่งจะทำให้ระดับยูเรียหรือกรดยูริคในเลือดสูงขึ้นจะทำให้เกิดนิ่วในไตได้และมีความไม่สมดุลย์ของระดับกรดนิวคลีอิก ทำให้เกิดการเสื่อมของเซลล์ตับได้ แต่สามารถลดปริมาณกรดได้โดยใช้เทคนิคในการผลิต เช่น การใช้ heat shock process เป็นต้น

3. ปัญหาเกี่ยวก็บความน่ากินของอาหารที่ใช้ ขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ที่ใช้ ถ้าใช้ยีสต์จะทำให้ความน่ากินดีขึ้น สาหร่ายอาจทำให้อาหารมีกลิ่นหืน เนื่องจากมีไขมันสูง เป็นต้น

2.9 ปัญหาของกรดนิวคลีอิกในโปรตีนเซลล์เดียว

กรดนิวคลีอิกจะมีปริมาณมากในเซลล์ที่มีอัตราการเจริญสูง เซลล์จุลินทรีย์โดยทั่วไปจะมีปริมาณกรดนิวคลีอิกอยู่ระหว่าง 8 - 25 กรัมต่อ 100 กรัมโปรตีน ความเข้มข้นของกรดนิวคลีอิกในโปรตีนจากจุลินทรีย์จะมีปริมาณสูงกว่าโปรตีนที่ได้จากแหล่งอื่นๆ ปัญหาที่เกิดขึ้นเกิดจากปริมาณของกรดนิวคลีอิกในโปรตีนมีปริมาณสูงถึง 25 - 78 กรัมต่อ 100 กรัมโปรตีนน้ำหนักแห้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งทำให้ปริมาณกรดยูริกในเลือดสูง ไม่สามารถถูกขับออกได้โดยไต ทำให้เกิดการสะสมของกรดยูริกตามข้อต่อและเนื้อเยื่อต่างๆของร่างกาย เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคเก๊าท์ (White *et al.* 1964) มีการทดลองกับอาสาสมัคร โดยให้อาสาสมัครกินเซลล์ยีสต์ 130 กรัมต่อวัน เป็นเวลา 1 สัปดาห์ หลังจากนั้นตรวจกรดยูริกในพลาสมาได้สูงถึง 4.8 - 8.3 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม (ปกติพลาสมามีระดับของกรดยูริก 2.7 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม สำหรับผู้ชายและน้อยกว่านี้เล็กน้อยสำหรับผู้หญิง) และมีการทดลองโดยให้ microbial protein (มีกรดนิวคลีอิคร้อยละ 8.5) 20 กรัมต่อวัน พบว่าร่างกายยอมรับได้ จึงสรุปได้ว่าโดยทั่วไปถ้ารับกรดนิวคลีอิค 2 กรัมต่อวันจะไม่เป็นอันตรายต่อสุขภาพ (ดวงพร คันธโชติ. 2530) ดังนั้นจะต้องทำการลดปริมาณกรดยูริกในโปรตีนเซลล์เดียวด้วยการใช้วิธีทางเคมี โดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) หรือ โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ร้อยละ 10 และใช้วิธีทางกายภาพ โดยการทำเซลล์ให้แตกโดยใช้อุณหภูมิสูง กระบวนการดังกล่าวมีจุดประสงค์เพื่อลดปริมาณ RNA ซึ่งสามารถลดได้จากร้อยละ 7 เหลือเพียงร้อยละ 1 ซึ่งถือว่าอยู่ในระดับที่ยอมรับได้ (Zee and Simard. 1974)

2.10 ข้อกำหนดความปลอดภัยของโปรตีนเซลล์เดียว

โปรตีนจากจุลินทรีย์ที่เป็นที่ยอมรับนั้นต้องไม่มีสิ่งแปลกปลอม เช่น สารพิษจากจุลินทรีย์ สารพิษจากโลหะหรือพิษจากอาหารที่เลี้ยงและจะต้องมีกรดนิวคลีอิกในปริมาณที่ปลอดภัยต่อผู้บริโภค มีรายงานว่าหากบริโภค *Saccharomyces cerevisiae* และ *Candida utilis* เป็นอาหารหลักทุกวันจะทำให้ระบบทางเดินอาหารผิดปกติและ *C. utilis* จากน้ำทิ้งโรงงานกระดาษอาจทำให้เกิดอาการทางผิวหนังได้ ดังนั้นการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจะต้องระมัดระวังเป็นอย่างมากและควรศึกษาถึงพิษตกค้างและสารอาหารจากวัตถุดิบที่ใช้เลี้ยง เช่น การผลิตเซลล์จากวัตถุดิบประเภทไฮโดรคาร์บอน

การศึกษาเกี่ยวกับความปลอดภัยของโปรตีนจากจุลินทรีย์ที่ใช้เป็นอาหารนั้น de Groot ค.ศ. 1974 กล่าวว่าควรทำทั้ง 3 ระดับคือ

1. อาการ sub-acute การศึกษาใช้หนูที่อดนมทั้งเพศผู้และเพศเมียจำนวน 20 ตัว ใช้โปรตีนเซลล์เดียวเป็นอาหารปริมาณร้อยละ 30-60 ระยะเวลา 2 สัปดาห์ แล้วสังเกตอาการเปลี่ยนแปลงทั้งร่างกาย และเฉพาะส่วน เช่น ฮีโมโกลบิน ไต ตับ หากผลที่ได้พบว่าจุลินทรีย์ไม่มีพิษต่อสัตว์ทดลอง ก็ทำการทดลองในประเด็นต่อไป

2. Sub-chronic ใช้หนูที่อดนมศึกษาเป็นเวลานาน 90 วัน สังเกตอาการเปลี่ยนแปลงทั้งร่างกาย ฮีโมโกลบิน ระบบชีวเคมีของเลือด ระบบขับถ่าย อวัยวะต่างๆ น้ำหนักและการเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อ เมื่อทดลองระดับนี้แล้วไม่มีข้อบ่งชี้ได้ว่าโปรตีนเซลล์เดียวนั้นมีอันตรายก็ทำการทดลองต่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. chronic ใช้หนูเป็นสัตว์ทดลอง ระยะเวลาศึกษานาน 2 ปี สังเกตผลเช่นเดียวกับระดับ sub-chronic และดูความสามารถว่าชักนำให้เกิดมะเร็งหรือไม่ ศึกษาความสามารถในการสืบพันธุ์ การให้นม และถ้าเป็นไปได้ควรศึกษารุ่นลูกรุ่นหลานต่อด้วยว่ามีการเปลี่ยนแปลงบ้างหรือไม่

2.11 มันสำปะหลัง

มันสำปะหลังเป็นพืชหัวชนิดหนึ่งที่เป็นแหล่งอาหารคาร์โบไฮเดรตที่สำคัญของประเทศในเขตร้อนทั่วโลก แหล่งผลิตมันสำปะหลังที่สำคัญอยู่ในเขตร้อนของทวีปอเมริกา แอฟริกาและเอเชีย เช่น ไนจีเรีย ซาอีร์ บราซิล ไทยและอินโดนีเซีย (จำลอง เจียมจำนรรจา. 2541) ซึ่งมันสำปะหลังสามารถขึ้นได้ดีในดินทุกประเภท ตั้งแต่ดินเหนียวจนกระทั่งถึงดินทรายจัด สำหรับดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ต่ำ เช่น ดินทราย ซึ่งโดยมากไม่สามารถเพาะปลูกพืชเศรษฐกิจอื่นๆได้ผลดีก็สามารถปลูกมันสำปะหลังได้ผลดีเป็นที่น่าพอใจ นอกจากนั้นมันสำปะหลังยังเป็นพืชที่ปลูกง่าย มีศัตรูรบกวนน้อย ไม่จำกัดเวลาปลูกและเวลาเก็บเกี่ยวมากนัก ให้ผลผลิตสูงเมื่อเทียบกับพืชเศรษฐกิจอื่นๆหลายชนิดและราคาของผลผลิตจัดอยู่ในเกณฑ์ดี (มนตรี เพ็ชรทองคำ. 2536) ดังนั้นมันสำปะหลังจึงเป็นพืชที่มีความสำคัญเป็นอันดับ 3 ของประเทศไทยรองจากข้าวและน้ำตาล ในปี ค.ศ.1998 มีผลผลิตรวมของข้าว น้ำตาลและมันสำปะหลัง คือ $24X10^6$ $47 X10^6$ และ $16 X10^6$ ตัน คิดเป็นมูลค่า 4,320 630 และ 520 ล้านดอลล่าร์ ตามลำดับ (MOAC. 1999) มันสำปะหลังที่ผลิตได้ในประเทศไทยใช้บริโภคภายในประเทศเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ส่วนที่เหลือส่งออกจำหน่ายต่างประเทศในรูปผลิตภัณฑ์กึ่งสำเร็จรูปหลายอย่าง เช่น มันสำปะหลังอัดเม็ดหรือมันสำปะหลังแท่ง มันสำปะหลังแห้งหรือมันสำปะหลังเส้น มันสำปะหลังป่น กากมันสำปะหลังและแป้งมันสำปะหลัง ซึ่งเป็นที่ต้องการของตลาดเป็นอย่างมาก จึงมีการเปลี่ยนแปลงกระบวนการผลิตจากขนาดเล็กให้มีขนาดใหญ่ขึ้น โดยจะเปลี่ยนให้มีกระบวนการผลิตที่ทันสมัย สำหรับประเทศไทยมีโรงงานผลิตแป้งทั้งหมด 56 โรงงาน (48 โรงงานขึ้นทะเบียนร่วมกับ Thai Topioca flour industries Trade Association) ซึ่งในปี ค.ศ. 1999 สามารถผลิตได้ $1.8 X 10^6$ ตัน หรือประมาณร้อยละ 5 ของทั่วโลก (Debaere. 1999) ดังนั้นการพัฒนากระบวนการผลิตให้มีประสิทธิภาพมากขึ้นทำให้มีผลดีต่อเศรษฐกิจคือเวลาที่ใช้ในกระบวนการผลิตลดลงรวมทั้งคุณภาพของผลผลิตเพิ่มขึ้นด้วย (Sriroth *et al.* 2000)

การผลิตและการตลาด ผลผลิตมันสำปะหลังของโลกปี 2544 มีประมาณ 139.8 ล้านตัน ผลผลิตเฉลี่ย 1.32 ตันต่อไร่ ประเทศไทยเป็นผู้ผลิตมันสำปะหลังอันดับ 3 ของโลก รองจากประเทศไนจีเรียและบราซิล คู่แข่งที่สำคัญของประเทศไทยได้แก่ อินโดนีเซียและเวียดนาม ในปี 2545 ประเทศไทยมีพื้นที่เพาะปลูก 6.22 ล้านไร่ มีพื้นที่เก็บเกี่ยว 6.18 ล้านไร่ ได้ผลผลิต 16.87 ล้านตัน ผลผลิตเฉลี่ย 2.73 ตันต่อไร่ ราคาหัวมันสำปะหลังสดที่เกษตรกรขายได้เฉลี่ยกิโลกรัมละ 1.05 บาท

เอกสารนี้เป็นการที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.6 เนื้อที่ ผลผลิต ราคา และมูลค่าของผลผลิตตามราคาที่เกษตรกรขายได้ พ.ศ. 2538-2545

พ.ศ.	เนื้อที่เพาะปลูก (1,000 ไร่)	ผลผลิตต่อไร่ (กก.)	ราคา (บาท/กก.)	มูลค่าของผลิต (ล้านบาท)
2538	8,093	2,083.9	1.15	18,649.55
2539	7,885	2,265.2	0.98	17,040.24
2540	7,907	2,351.6	0.71	12,839.64
2541	6,694	2,388.7	1.26	19,644.66
2542	7,200	2,478.9	0.91	15,021.37
2543	7,406	2,697.2	0.63	12,010.32
2544	6,918	2,805.1	0.69	12,693.24
2545	6,224	2,731.2	1.05	17,711.40

ที่มา : ฐานความรู้ด้านพืช กรมวิชาการเกษตร (2003)

2.11.1 การจำแนกทางพฤกษศาสตร์

มันสำปะหลังจัดอยู่ในวงศ์ใบเลี้ยงคู่ (dicotyledoneae) ตระกูล (family) Euphobiaceae มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Manihot esculenta* Crantz. (เดิมมีการใช้ชื่อว่า *Manihot utilissima* Pohl.) (กล้าณรงค์ ศรีรอตและเกื้อกูล ปียะจอมขวัญ. 2543) พืชสกุลนี้มีประมาณ 100-200 ชนิด ซึ่งขึ้นอยู่กับหลักการจัดและพืชในสกุลนี้ส่วนมากเป็นพืชยืนต้นขนาดเล็ก มียาง ใบมีแฉกลึก เป็นพืชที่มีดอกตัวผู้และตัวเมียอยู่ในดอกเดียวกัน พืชในสกุล *Manihot* หลายชนิดที่ให้ยางได้ เช่น *M.glaziovii, M.dichotoma* และ *M.piauhyense* จัดว่าเป็นยางที่มีคุณภาพดี มันสำปะหลังมีโครโมโซมจำนวน 18 คู่ (2n=36) (มนตรี เพ็ชรทองคำ. 2536) และนักวิทยาศาสตร์ได้จัดมันสำปะหลังไว้เป็นหมวดหมู่ดังนี้

Order	Geraniales or Euphorbiales
Class	Dicotyledonae
Sub-Class	Archichlamydeae
Sub-division	Angiospermae
Family	Euphorbiaceae
Genus	*Manihoteae*
Species	*Manihot*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ถิ่นกำเนิดของมันสำปะหลังอยู่ในอเมริกาใต้ บราซิล เม็กซิโก จึงมีชื่อเรียกต่างๆ กันตามรากศัพท์ภาษาอังกฤษ ฝรั่งเศส สเปน โปรตุเกส เช่น cassava mandioca yucca tapioca และ manioc (กล้าณรงค์ ศรีรอตและเกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ. 2543) จากนั้นได้เข้าสู่ทวีปเอเชียประมาณคริสตวรรษที่ 17 โดยผ่านเข้ามาทางศรีลังกา อินเดีย ชวา และฟิลิปปินส์ ในปี ค.ศ.1850 ประเทศมาเลเซียใช้มันสำปะหลังในอุตสาหกรรม และในปี ค.ศ.1855 สิงคโปร์ได้ผลิตแป้งมันสำปะหลังขึ้นมาใช้ (มนตรี เพ็ชรทองคำ. 2536) ส่วนประเทศไทย ในปี ค.ศ. 1786 - 1840 มันสำปะหลังถูกนำเข้ามาจากมาเลเซียโดยเข้ามาทางใต้ของไทย จากนั้นแพร่ขยายไปทั่วประเทศ นิยมเพาะปลูกกันมากในแถบภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เช่น นครราชสีมาให้ผลผลิตรวมถึงร้อยละ 57 และที่ราบอื่นๆให้ผลผลิตรวมร้อยละ 31 (Sriroth *et al.* 2000) มันสำปะหลังรุ่นแรกที่นำเข้ามาปลูกในประเทศไทยเป็นมันสำปะหลังชนิดหวาน ส่วนมันสำปะหลังชนิดขมได้นำมาทางมาเลเซียในระยะหลัง (เจริญศักดิ์ โรจนฤทธิ์พิเชษฐ์. 2519)

2.11.2 แป้งมันสำปะหลัง

แป้งมันสำปะหลังคือแป้งที่ได้จากหัวมันสำปะหลัง ประกอบด้วยเม็ดแป้งตั้งแต่ 2 - 8 เม็ดมารวมตัวกัน แต่ละเม็ดจะมีความยาวตั้งแต่ 5 - 35 ไมครอน เม็ดแป้งมีลักษณะเป็นรูปไข่ ซึ่งปลายข้างหนึ่งถูกตัดออกและผิวตรงส่วนที่ตัดออกมีลักษณะเว้าเข้าข้างใน บางเม็ดอาจมีริมด้านหนึ่งที่โค้ง อีกด้านไม่สม่ำเสมอกัน เม็ดแป้งเหล่านี้จะแสดงให้เห็นรอยปุ่มอย่างชัดเจนและในบางครั้งอาจเห็นชั้นของแป้งด้วย

แต่เดิมหัวมันสำปะหลังถูกใช้เพื่อบริโภคโดยตรง เช่น นำไปต้มหรือทอด ต่อมาเมื่ออุตสาหกรรมเจริญก้าวหน้าขึ้น จึงได้มีการนำหัวมันสำปะหลังมาแปรรูปโดยสร้างโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังขึ้น วัตถุดิบที่สำคัญคือหัวมันสำปะหลังอายุเก็บเกี่ยว 8 - 13 เดือน ซึ่งมีส่วนประกอบของน้ำร้อยละ 59 - 70 แป้งร้อยละ 20 - 40 โปรตีนร้อยละ 0.9 - 2.3 หัวมันสำปะหลังสดเมื่อขุดจากดินแล้ว จะเก็บไว้ได้ไม่นานเหมือนพืชชนิดอื่นๆ เนื่องจากเกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีภายในหัวมัน ดังนั้นหัวมันจากลานมันต้องทำการแปรรูปโดยเร็วที่สุด เพราะถ้าทิ้งไว้นานเกิน 72 ชั่วโมง จะทำให้เปอร์เซ็นต์ของแป้งลดต่ำลงหรือเกิดการเน่าได้

ระยะแรกการผลิตแป้งมันสำปะหลังเป็นอุตสาหกรรมในครัวเรือน ใช้แรงงานคนเป็นส่วนใหญ่ กำลังการผลิตต่ำ (ไม่เกิน 10 ตันต่อวัน) แป้งที่ได้สีไม่ค่อยขาว ค่าพีเอชและความหนืดต่ำ มีพวกเส้นใยและเถ้าค่อนข้างสูง กรรมวิธีเป็นการผลิตอย่างง่ายๆ โดยนำหัวมันสำปะหลังเข้าสู่เครื่องบดกรองผ่านตะแกรง ปล่อยให้น้ำแป้งตกตะกอนแยกชั้นมาตากแป้งบนพื้นคอนกรีตร้อน (ความร้อนได้จากแสงแดดหรือเตาฟืน) แล้วจึงบดแป้งให้เป็นผงเนื่องจากข้อจำกัดในเรื่องคุณภาพและกำลังการผลิต กรรมวิธีการผลิตแป้งแบบนี้จึงลดจำนวนลง หันมาใช้กรรมวิธีการผลิตแบบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใหม่ที่อาศัยเครื่องจักรแทน ในประเทศไทยกำลังการผลิตของโรงงานที่ใช้กรรมวิธีการผลิตแบบใหม่คิดเป็นร้อยละ 90 ของกำลังการผลิตทั่วประเทศ

2.11.3 กระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลัง (Boonaeksap *et al.* 2003)

1. นำหัวมันสำปะหลังเข้าเครื่องชั่งน้ำหนัก วัดเปอร์เซ็นต์แป้งที่มีในหัวมันสำปะหลัง

2. ทำความสะอาดและจัดเตรียมหัวมันสำปะหลัง เริ่มตั้งแต่นำหัวมันสำปะหลังสดเข้าสู่เครื่องร่อนเพื่อแยกเอาดินออก จากนั้นลำเลียงเข้าสู่เครื่องล้าง เพื่อทำความสะอาดหัวมันสำปะหลังอีกครั้ง แล้วจึงนำเข้าสู่เครื่องสับและขูดเปลือก เพื่อให้หัวมันสำปะหลังมีขนาดเล็กลงและแยกเอาเปลือกออก แล้วเข้าสู่เครื่องบด

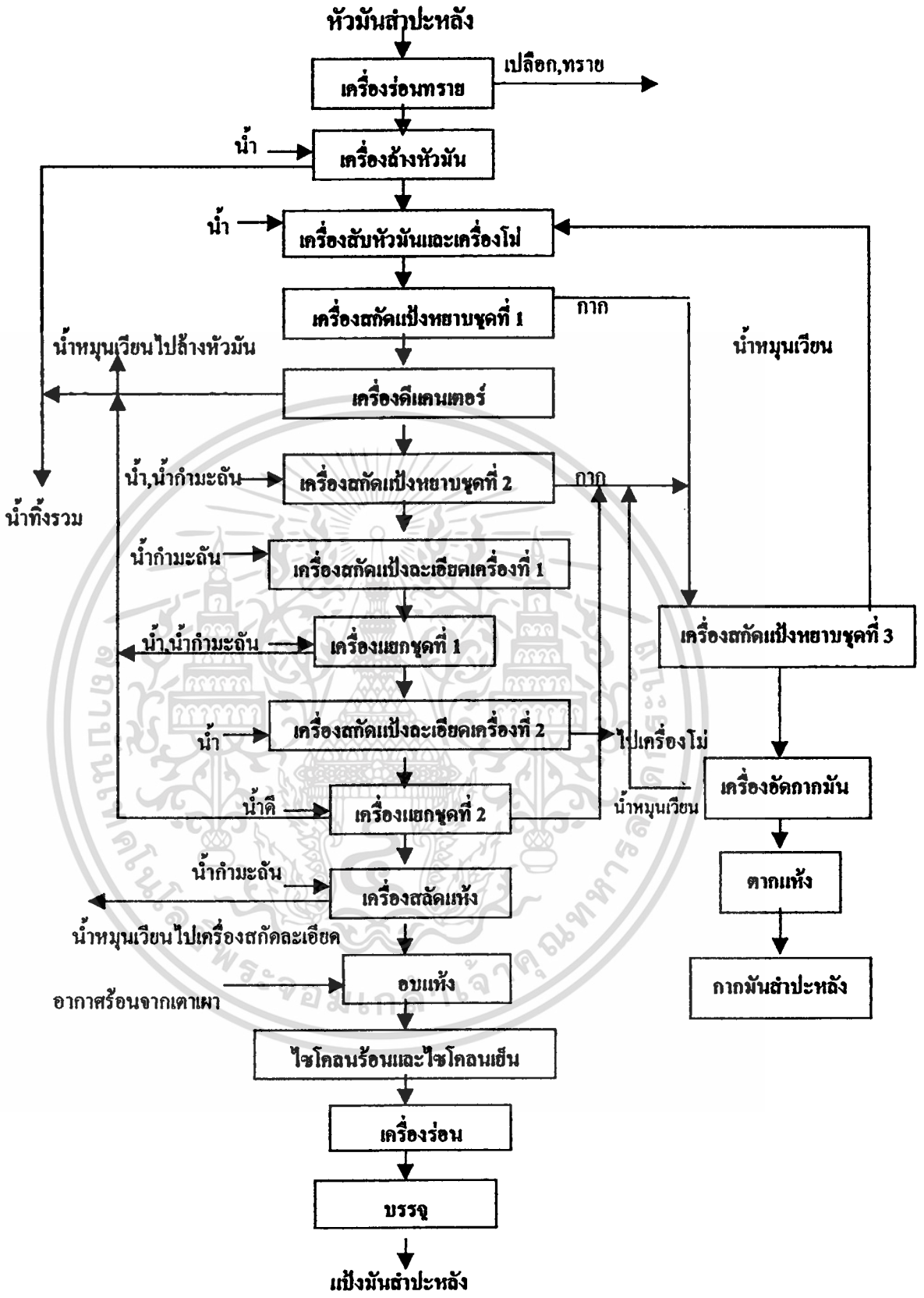
3. เมื่อบดเสร็จแล้วจะส่งเข้าเครื่องสกัด (extractor) แยกเอากากและน้ำแป้งออกจากกัน กากมันนี้จะถูกนำไปตากแดดให้แห้งเพื่อให้เป็นส่วนประกอบของอาหารสัตว์หรือนำไปผสมกับมันเส้นเพื่อทำมันอัดเม็ด

4. การทำให้บริสุทธิ์ ด้วยเครื่องแยกเหวี่ยง (separator) แยกเอากรดยางและเมือกออกจากน้ำแป้ง โดยการนำเอาน้ำสะอาดไปแทนที่น้ำที่มีสิ่งเจือปนในน้ำแป้ง

5. น้ำแป้งที่ได้จะผ่านเครื่องสกัดเหวี่ยงแยกน้ำออก ก่อนเข้าสู่เครื่องอบแห้งแบบพาหะลม จากนั้นทำการบดและผ่านตะแกรงร่อนได้เป็นแป้งมันสำปะหลัง

สำหรับกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังแบบอื่นๆ ขั้นตอนหลักไม่แตกต่างไปจากนี้ แต่รายละเอียดและอุปกรณ์ที่ใช้ในแต่ละขั้นตอนจะแตกต่างกันไปตามแต่ละระบบที่ออกแบบ กระบวนการผลิตของโรงงานมันสำปะหลังในประเทศไทยที่มีกำลังการผลิตมากกว่า 60 ตันแป้งต่อวัน บางโรงงานมีการใช้ decanter แยกไขมันและโปรตีนก่อนน้ำแป้งจะเข้าหน่วยสกัดและแยกแป้งตามลำดับ หรือในบางโรงงานจะเพิ่มเครื่องสกัดในหน่วยแยกแป้งอีกชุดหนึ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.5 กระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลัง

ที่มา :http://www.foodmarketexchang.com/datacenter/product/feedstuff/tapioca0402.htm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.11.4 ประโยชน์ของมันสำปะหลัง (พวงเพชร นรินทราพร. 2538)

ประเทศไทยมีการปลูกมันสำปะหลังเป็นจำนวนมากและมีการส่งสินค้าออกในรูปต่างๆ โดยมีการนำมาแปรรูปในอุตสาหกรรมแป้งและอาหารสัตว์เป็นส่วนใหญ่ นอกจากนี้ยังนำมารับประทานในรูปของอาหารชนิดต่างๆ มันสำปะหลังเป็นพืชที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้อย่างกว้างขวางทั้งทางตรงและทางอ้อม ทั้งด้านอุตสาหกรรมและเป็นอาหารมนุษย์และสัตว์ ทุกส่วนของต้นมันสำปะหลังสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ทั้งสิ้น ไม่ว่าจะเป็น ใบ ลำต้น ตลอดจนส่วนหัว การนำมันสำปะหลังมาใช้ประโยชน์ภายในประเทศค่อนข้างแคบ จำกัดอยู่เพียงอุตสาหกรรมแป้งและอาหารสัตว์ ส่วนที่นำมารับประทานก็เพียงเป็นอาหารว่างประเภทขนมหวาน ความจริงแล้วมันสำปะหลังถูกนำไปใช้เป็นอาหารหลักของมนุษย์อย่างมากมายและเป็นเวลาช้านานมาแล้วโดยเฉพาะประเทศทางแถบทวีปอัฟริกาและอเมริกาใต้ตลอดจนบางประเทศในทวีปเอเชีย ดังนั้นประโยชน์ของมันสำปะหลังจึงมีมากมายดังต่อไปนี้

ประโยชน์ของมันสำปะหลังแยกตามส่วนต่างๆ ของต้น

หัวสด

1. ใช้เป็นอาหารมนุษย์ โดยรับประทานสด นึ่ง ย่าง อบ เชื่อม และการนำมาคลุกน้ำมันผสมเครื่องเทศ ถั่วลิสงหรือนำมาทำเป็นแป้งแล้วแปรรูปเป็นอาหารชนิดต่างๆ ตลอดจนนำมาฝานเป็นแผ่นบางๆแล้วทอด

2. ใช้เป็นอาหารสัตว์ ทั้งหัวสด กากที่เหลือจากการทำแป้ง เปลือกของหัว

3. ใช้ส่งโรงงานอุตสาหกรรมทำแป้ง มันเส้น มันอัดเม็ด แอลกอฮอล์ เป็นต้น

ใบ

1. ใช้เป็นอาหารมนุษย์ รับประทานเป็นผักสด ต้ม จิ้มน้ำพริก นำมาแกง ปรุงเป็นซุป

2. ใช้เป็นอาหารสัตว์ ในรูปใบสด ตากแห้ง นำมาป่นผสมกับอาหารข้นเลี้ยงสัตว์และอาหารผสม

ลำต้น

1. ใช้ทำท่อนพันธุ์ โดยตัดออกเป็นท่อนๆ นำไปปลูกได้

2. ใช้เป็นอาหารสัตว์ โดยตัดส่วนยอดผสมกับใบสดใช้เลี้ยงสัตว์เคี้ยวเอื้องตากแห้งเป็นอาหารหยาบ

เมล็ด

ใช้สกัดน้ำมันที่มีคุณภาพดีสามารถนำไปใช้ในอุตสาหกรรมยาได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การใช้ผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังในรูปต่างๆ

มันเส้น

1. ใช้เป็นอาหารมนุษย์ หมักแล้วเติมเนื้อสัตว์ น้ำมัน ผัก เครื่องเทศ และน้ำปรุงเป็นอาหาร

2. ใช้เลี้ยงสัตว์โดยตรง

แป้ง (starch)

1. ใช้เป็นอาหารมนุษย์ อาหารทารก เป็นเครื่องปรุงอาหารหลายชนิด ใช้ทำวุ้นเส้น ทำเบียร์

2. ใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ เป็นตัวทำให้สารติดแน่น คงรูปร่าง เป็นตัวทำให้เป็นผงฝุ่น ใช้ในอุตสาหกรรมสิ่งทอ อุตสาหกรรมซักรีด อุตสาหกรรมกาว กระดาษ แป้งเปียก แอลกอฮอล์ อะซีโตน ยา กลูโคสและแป้งแปรรูป

แป้งดิบ

เป็นแป้งที่ไม่ได้สกัดเยื่อใยออก ทำได้โดยนำหัวมันสดมาปอกเปลือก หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ตากแห้ง ป่นละเอียด แล้วร่อนด้วยตะแกรงร่อนแป้ง จะได้แป้งดิบที่สามารถนำมาใช้ทำขนมอบชนิดต่างๆ ได้คล้ายแป้งสาลี เช่น นำมาทำเค้ก แพนเค้ก ขนมปัง คุกกี้ พาย สามารถนำมาทดแทนแป้งสาลี แป้งข้าวเจ้า ได้บางส่วนในอาหารบางชนิด

การใช้มันสำปะหลังเป็นอาหารสัตว์

ปัจจุบันนิยมนำมันสำปะหลังมาเลี้ยงสัตว์มากขึ้น เนื่องจากราคาต่ำกว่าธัญพืช แต่เนื่องจากมันสำปะหลังมีโปรตีนอยู่ต่ำ การใช้เป็นส่วนผสมในอาหารสัตว์จึงใช้ทดแทนข้าวโพดได้เพียงบางส่วน แต่จะทำให้อาหารสัตว์มีโปรตีนและกรดอะมิโนลดลง ซึ่งมีผลต่ออัตราการแลกเนื้อของสัตว์ (อัตราการแปรสภาพอาหารเป็นเนื้อ) จำเป็นต้องผสมด้วยวัตถุดิบที่มีโปรตีนสูง เพื่อทดแทนโปรตีนส่วนที่ขาดหายไป เช่น ปลาป่น กากถั่วเหลือง และเสริมด้วยเมทไธโอนีนและไลซีน เพื่อเพิ่มกรดอะมิโนที่จำเป็นในสูตรอาหารให้อยู่ในระดับที่เหมาะสม ดังนั้นการใช้มันสำปะหลังทดแทนข้าวโพดแทนที่จะช่วยให้ต้นทุนลดลงกลับทำให้ต้นทุนสูงขึ้น อีกทั้งกรดอะมิโนที่ใช้ยังต้องนำเข้าจากต่างประเทศและมีราคาอยู่ในเกณฑ์สูง จึงมีการศึกษาเพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการของมันสำปะหลัง ซึ่งปัจจุบันมันสำปะหลังมีบทบาทสำคัญต่อเศรษฐกิจของประเทศไทยเป็นอย่างมาก เกษตรกรได้หันมาปลูกแทนพืชไร่อื่นๆ โดยเฉพาะในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ทั้งนี้เป็นเพราะมันสำปะหลังเป็นพืชที่ปลูกและดูแลรักษาง่ายและทำรายได้ดี จึงมีการนำส่วนเหลือทิ้งของมันสำปะหลังมาใช้ในการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมต่างๆ เช่น แอลกอฮอล์ น้ำหวานเข้มข้น แป้งแปรรูป และโปรตีนเซลล์เดียว (ทิพรัตน์ หงภัทรคีรี. 2534)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการทดลอง

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 เชื้อจุลินทรีย์

Endomycopsis fibuligera TISTR 5097 และ *Candida utilis* TISTR 5046 จาก สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

3.1.2 อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ (ภาคผนวก ก)

YM broth

YM agar

yeast starch

น้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง จากโรงงานชลเจริญ จังหวัดชลบุรี

3.1.3 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

เปปโตน (Himedia Laboratories)

ยีสต์สกัด (Scharlau Chemie, European Union)

กลูโคส (merck)

มอลต์สกัด (Himedia Laboratories)

น้ำแช่ข้าวโพด (Sigma)

แอมโมเนียมซัลเฟต $(NH_4)_2SO_4$ (Fluka Chemica)

ไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต $(NH_4)_2HPO_4$ (APS Finechem)

Soluble starch (Merck)

โซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 นอร์มอล (Carlo erba reagenti)

กรดไฮโดรคลอริก 1 นอร์มอล (Scharlau Chemie, European Union)

โปรตีนมาตรฐาน (Bovine Serum Albumin, BSA) (sigma)

สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์น้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง (ภาคผนวก ข)

สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ ปริมาณแป้ง และปริมาณโปรตีน (ภาคผนวก ค)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.4 เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องวัดพีเอช (pH meter) รุ่น Model 215 (Denver instrument)

เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง รุ่น BP 221S และ 3 ตำแหน่ง รุ่น PG 803 (Mettler-Todedo (Thailand., Ltd)

เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) รุ่น UV 1601 (Shimadzu., Ltd)

เครื่องเขย่าชนิดควบคุมอุณหภูมิ (controled incubator shaker) รุ่น innova 4330 (Scientific Promotion Co., Ltd)

ตู้ถ่ายเชื้อ (laminar air flow) รุ่น ISSCO laminar air flow model (Internal scientific supply Co., Ltd)

เครื่องปั่นเหวี่ยงชนิดควบคุมอุณหภูมิ (refrigerated centrifuge) รุ่น Z 383 K (Hermle Top centrifuge, Germany)

ตู้อบ (hot air oven) รุ่น 1375 FX (Sheldon manufacturing. inc)

ถังหมักขนาด 5 ลิตร รุ่น Biostat B (B. Bran Biotech International, Germany)

เครื่องเขย่าผสม (vortex mixer) รุ่น vortex genie 2 (Scientific industries, inc)

หม้อนึ่งความดันไอ (autoclave) รุ่น Tomy SS 325 (Tomy - seiko Co., Ltd)

เครื่องกวนระบบแม่เหล็ก (Magnetic stirrer) รุ่น GEM MS101, Thailand

เครื่องย่อย (digestibility) รุ่น DK 20 Heading digester , Italy

เครื่องกลั่น (distillation) Gerhardt รุ่น Vapodest 30 (Scientific Promotion Co.,Ltd)

ไมโครปิเปต (Micropipet) (Gilson, France)

เดซิกเคเตอร์ (desiccator)

กระดาษกรอง Albet เบอร์ 1

เครื่องแก้ว (pyrex)

หลอดเซนตริฟิวส์

คิวเวท (cuvette)

3.2 ศึกษาองค์ประกอบของน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง (ภาคผนวก ข และ ค)

ทำการวิเคราะห์ ค่าพีเอช ซีโอดี บีโอดี ปริมาณฟอตเฟต สารแขวนลอย (suspended solids) ของแข็งทั้งหมด (total solids) ตามวิธีของ APHA, AWWA and WPCF (1992)

ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดและปริมาณโปรตีนตามวิธี Kjeldahl method (AOAC. 1980)

น้ำตาลรีดิวซ์ตามวิธีของ Somogyi - Nelson (1944)

ปริมาณแป้งตามวิธีของ กล้าณรงค์ ศรีรอตและเกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ (2543)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 การเตรียมหัวเชื้อ

ถ่ายเชื้อยีสต์จาก YM slant มา 1 ลูป ลงในอาหารเหลวสูตร YM broth ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปเลี้ยงบนเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ปรับให้ได้ค่าความขุ่น 0.5 เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น

3.4 ศึกษาการเจริญของเชื้อ *Endomycopsis fibuligera* TISTR 5097 ในอาหาร yeast starch และอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง

นำเชื้อ *E.fibuligera* TISTR 5097 เลี้ยงในอาหาร yeast starch ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร และอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง ที่มีค่าพีเอชเริ่มต้น 3.5 ปรับให้เป็นกรดด้วยกรดไฮโดรคลอริก 1 นอร์มอล ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที จากนั้นเติมหัวเชื้อยีสต์เริ่มต้นร้อยละ 5 (ปริมาตรต่อปริมาตร) นำไปเลี้ยงบนเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ทำการเก็บตัวอย่างทุก 3 ชั่วโมง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำมาวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้ง (ภาคผนวก ค) วัดค่าความขุ่นที่ค่าการดูดกลืนแสง 660 นาโนเมตร ส่วนใสที่ได้จากการปั่นเหวี่ยง นำมาวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ตามวิธีของ Somogyi - Nelson (1944) ปริมาณแป้ง ตามวิธีของ กล้าณรงค์ ศรีรอต และเกื้อกูล ปียะจอมขวัญ (2543) และอัตราการเจริญจำเพาะ (μ)

อัตราการเจริญจำเพาะ (μ) คำนวณได้จากน้ำหนักเซลล์แห้ง ดังสูตร

$$\mu = \frac{\ln(X_2) - \ln(X_1)}{t_2 - t_1}$$

X = มวลจุลินทรีย์ (กรัมต่อลิตร)

t = เวลา (ชั่วโมง)

μ = อัตราการเจริญจำเพาะ (ต่อชั่วโมง)

3.5 ศึกษาการเจริญของเชื้อ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหาร yeast starch และอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง

นำเชื้อ *C. utilis* TISTR 5046 เลี้ยงในอาหาร yeast starch ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร และอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง ที่มีค่าพีเอชเริ่มต้น 3.5 ปรับให้เป็นกรดด้วยกรดไฮโดรคลอริก 1 นอร์มอล ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที จากนั้นเติมหัวเชื้อยีสต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เริ่มต้นร้อยละ 5 (ปริมาตรต่อปริมาตร) นำไปเลี้ยงบนเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ทำการเก็บตัวอย่างทุก 3 ชั่วโมง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำมาวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้ง (ภาคผนวก ค) วัดค่าความขุ่นที่ค่าการดูดกลืนแสง 660 นาโนเมตร ส่วนใสที่ได้จากการปั่นเหวี่ยง นำมาวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ตามวิธีของ Somogyi - Nelson (1944) ปริมาณแป้ง ตามวิธีของ กล้าณรงค์ ศรีรอต และเกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ (2543) และอัตราการเจริญจำเพาะ (μ)

อัตราการเจริญจำเพาะ (μ) คำนวณได้จากน้ำหนักเซลล์แห้ง ดังสูตร

$$\mu = \frac{\ln(X_2) - \ln(X_1)}{t_2 - t_1}$$

X = มวลจุลินทรีย์ (กรัมต่อลิตร)

t = เวลา (ชั่วโมง)

μ = อัตราการเจริญจำเพาะ (ต่อชั่วโมง)

3.6 ศึกษาอัตราส่วนของ *E. fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 และศึกษาเวลาในการเติม *C. utilis* TISTR 5046 ภายหลังการเลี้ยง *E. fibuligera* TISTR 5097 ในน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง

เตรียมอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีค่าพีเอชเริ่มต้น 3.5 ปรับให้เป็นกรดด้วยกรดไฮโดรคลอริก 1 นอร์มอล นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที เติมหัวเชื้อยีสต์เริ่มต้นร้อยละ 5 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ในอัตราส่วนของ *E. fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 คือ 1:1 (หัวเชื้อ *E. fibuligera* TISTR 5097 ร้อยละ 2.5 กับ *C. utilis* TISTR 5046 ร้อยละ 2.5) 1:2 (หัวเชื้อ *E. fibuligera* TISTR 5097 ร้อยละ 1.6 กับ *C. utilis* TISTR 5046 ร้อยละ 3.34) 1:3 (หัวเชื้อ *E. fibuligera* TISTR 5097 ร้อยละ 1.25 กับ *C. utilis* TISTR 5046 ร้อยละ 3.75) และ 1:4 (หัวเชื้อ *E. fibuligera* TISTR 5097 ร้อยละ 1 กับ *C. utilis* TISTR 5046 ร้อยละ 4) โดยทำการเลี้ยง *E. fibuligera* TISTR 5097 ก่อน จากนั้นจึงเติม *C. utilis* TISTR 5046 ลงไป ที่เวลา 0 6 12 18 24 และ 30 ชั่วโมง ทำการเลี้ยงต่อนาน 48 ชั่วโมง โดยเลี้ยงบนเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จากนั้นเก็บตัวอย่าง นำมาวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้ง

วางแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียล (Factorial Experiment) ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) ทรีทเมนต์ละ 3 ซ้ำ นำค่าที่ได้มาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (Analysis of Variance) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของดันคัน (Duncan's New Multiple Range Test)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.7 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวโดยการเลี้ยง *E. fibuligera* TISTR 5097 ร่วมกับ *C. utilis* TISTR 5046 ในน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง

3.7.1 ศึกษาชนิดของแหล่งไนโตรเจนและความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีน-เซลล์เดียว

ใช้แหล่งไนโตรเจน 5 ชนิดคือ ไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต $(NH_4)_2HPO_4$ และแอมโมเนียมซัลเฟต $(NH_4)_2SO_4$ ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 0.3 และ 0.5 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ยีสต์สกัด (yeast extract) เปปโตน (peptone) ความเข้มข้นร้อยละ 0.2 0.5 0.7 1.0 1.3 และ 1.5 (น้ำหนักต่อปริมาตร) และน้ำแช่ข้าวโพด (corn steep liquor) ความเข้มข้นร้อยละ 0.2 0.5 0.7 1.0 1.3 และ 1.5 (ปริมาตรต่อปริมาตร) โดยใช้น้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลังปริมาตร 50 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีค่าพีเอชเริ่มต้น 3.5 ปรับให้เป็นกรดด้วยกรดไฮโดรคลอริก 1 นอร์มอล นำไปเลี้ยงบนเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ทำการเลี้ยงเชื้อทั้งสองตามอัตราส่วนและเวลาที่ศึกษาได้จากข้อ 3.6 ทำการเลี้ยงต่อเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นเก็บตัวอย่างนำมาวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณโปรตีน

วางแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียล (Factorial Experiment) ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) ทรีทเมนต์ละ 3 ซ้ำ นำค่าที่ได้มาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (Analysis of Variance) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของดันคัน (Duncan's New Multiple Range Test)

3.7.2 ศึกษาค่าพีเอชเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

เตรียมอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลังที่มีการเติมแหล่งไนโตรเจนและความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนที่คัดเลือกได้จากข้อ 3.7.1 ใช้ค่าพีเอชเริ่มต้นดังนี้ 3.0 3.5 4.0 4.5 5.0 5.5 6.0 6.5 7.0 โดยใช้น้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลังปริมาตร 50 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปเลี้ยงบนเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ทำการเลี้ยงเชื้อทั้งสองตามอัตราส่วนและเวลาที่ศึกษาได้จากข้อ 3.6 ทำการเลี้ยงต่อเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นเก็บตัวอย่างนำมาวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณโปรตีน

3.7.3 ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

เตรียมอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลังที่มีการเติมแหล่งไนโตรเจนและความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนที่คัดเลือกได้จากข้อ 3.7.1 ใช้ค่าพีเอชเริ่มต้นที่คัดเลือกได้จากข้อ 3.7.2 โดยใช้น้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลังปริมาตร 50 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปเลี้ยงบนเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุณหภูมิ 20 25 30 และ 35 องศาเซลเซียส ทำการเลี้ยงเชื้อทั้งสองตามอัตราส่วนและเวลาที่ศึกษาได้จากข้อ 3.6 ทำการเลี้ยงต่อเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นเก็บตัวอย่างนำมาวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณโปรตีน

3.7.4 ศึกษาความเร็วรอบในการเขย่าที่เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

เตรียมอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลังที่มีการเติมแหล่งไนโตรเจนและความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนที่คัดเลือกได้จากข้อ 3.7.1 ใช้ค่าพีเอชเริ่มต้นที่คัดเลือกได้จากข้อ 3.7.2 รวมทั้งอุณหภูมิที่คัดเลือกได้จากข้อ 3.7.3 โดยใช้น้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลังปริมาตร 50 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปเลี้ยงบนเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิที่ความเร็วรอบ 150 200 และ 250 รอบต่อนาที อุณหภูมิที่เหมาะสมจากข้อ 3.7.3 ทำการเลี้ยงเชื้อทั้งสองตามอัตราส่วนและเวลาที่ศึกษาได้จากข้อ 3.6 ทำการเลี้ยงต่อเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นเก็บตัวอย่างนำมาวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณโปรตีน

การทดลองข้อ 3.7.2 – 3.7.4 วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design,CRD) ทรีทเมนต์ละ 3 ซ้ำ นำค่าที่ได้มาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (Analysis of Variance) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของดันคัน (Duncan's New Multiple Range Test)

3.8 ศึกษาการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวในระดับฟลาสก์ในสภาวะที่เหมาะสม

เตรียมอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลังที่มีการเติมแหล่งไนโตรเจนและความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนที่คัดเลือกได้จากข้อ 3.7.1 โดยใช้น้ำทิ้งปริมาตร 50 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ใช้ค่าพีเอชเริ่มต้นที่คัดเลือกได้จากข้อ 3.7.2 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที เมื่ออาหารเย็นเติมหัวเชื้อยีสต์เริ่มต้นร้อยละ 5 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ในอัตราส่วนและเวลาที่ศึกษาได้จากข้อ 3.6 นำไปเลี้ยงบนเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ ที่มีอุณหภูมิและความเร็วรอบที่คัดเลือกได้จากข้อ 3.7.3 และ 3.7.4 ทำการเลี้ยงเชื้อทั้งสองตามอัตราส่วนและเวลาที่ศึกษาได้จากข้อ 3.6 ทำการเลี้ยงต่อเป็นเวลา 48 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก 6 ชั่วโมง นำมาวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้ง และวิเคราะห์องค์ประกอบของโปรตีนเซลล์เดียวที่ผลิตได้ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมดังกล่าวคือ ปริมาณโปรตีน ปริมาณไขมัน ความชื้นและปริมาณเถ้า

3.9 ศึกษาการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวในถังหมักขนาด 5 ลิตร

เตรียมอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลังที่มีการเติมแหล่งไนโตรเจนและความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนที่คัดเลือกได้จากข้อ 3.7.1 ใช้ค่าพีเอชเริ่มต้นที่ศึกษาได้จาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อ 3.7.2 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 25 นาที เมื่ออาหารเลี้ยงเชื้อเย็นเติมหัวเชื้อยีสต์เริ่มต้นร้อยละ 5 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ในอัตราส่วนและเวลาที่ศึกษาได้จากข้อ 3.6 ใช้อุณหภูมิที่ศึกษาได้จากข้อ 3.7.3 ทำการเลี้ยงต่อเป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยศึกษาปัจจัยต่างๆในถังหมัก ดังนี้ อัตราการกวนในระดับต่างๆ คือ 200 และ 300 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศระดับต่างๆ คือ 1.0 1.5 และ 2.0 ปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาที เก็บตัวอย่างทุก 6 ชั่วโมง นำมาวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้งและวิเคราะห์องค์ประกอบของโปรตีนเซลล์เดียวที่ผลิตได้ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมดังกล่าวคือ ปริมาณโปรตีน ปริมาณไขมัน ความชื้นและปริมาณเถ้า

วางแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียล (Factorial Experiment) ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) นำค่าที่ได้มาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (Analysis of Variance) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของดันคัน (Duncan's New Multiple Range Test)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 ผลการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำทิ้งจากโรงงานแป้งมันสำปะหลัง

ผลการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำทิ้งจากโรงงานแป้งมันสำปะหลัง พบว่าน้ำทิ้งจากโรงงานแป้งมันสำปะหลังมีค่าพีเอชเท่ากับ 4.55 ค่าซีโอดีเท่ากับ 13,536 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าบีโอดีเท่ากับ 14,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณฟอตเฟต 70 มิลลิกรัมต่อลิตร ของแข็งทั้งหมด (total solids, TS) เท่ากับ 5.06 กรัมต่อลิตร ของแข็งแขวนลอย (suspensioned solids, SS) 0.48 กรัมต่อลิตร ปริมาณโปรตีนร้อยละ 4.2 ปริมาณไนโตรเจนร้อยละ 0.67 ปริมาณแป้ง 0.24 กรัมต่อลิตร และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (ในรูปน้ำตาลกลูโคส) 4.21 กรัมต่อลิตร ดังตารางที่ 4.1 มีค่าใกล้เคียงกับผลการวิเคราะห์น้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตแป้งข้าวโพดของ Jin *et al.* (1999b) พบว่า น้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตแป้งข้าวโพดมีค่าพีเอชเท่ากับ 3.2 - 4.4 ค่าซีโอดีเท่ากับ 11,870 - 18,200 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าบีโอดีเท่ากับ 7,920 - 12,800 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณฟอตเฟต 60 - 81 มิลลิกรัมต่อลิตร ของแข็งทั้งหมด (total solids, TS) ร้อยละ 1.28-2.48 ของแข็งแขวนลอย (suspensioned solids, SS) 1.67 - 2.65 กรัมต่อลิตร ปริมาณโปรตีน 328 - 485 มิลลิกรัมต่อลิตร

ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำทิ้งจากโรงงานแป้งมันสำปะหลัง

พารามิเตอร์	ความเข้มข้น
พีเอช	4.55
ซีโอดี	13,536 mg/l
บีโอดี	14,000 mg/l
ฟอสเฟต	70 mg/l
ของแข็งทั้งหมด	5.06 g/l
ของแข็งแขวนลอย	0.48 g/l
ปริมาณแป้ง	0.24 g/l
ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (ในรูปน้ำตาลกลูโคส)	4.21 g/l
ปริมาณโปรตีน	ร้อยละ 4.2
ปริมาณไนโตรเจน	ร้อยละ 0.67

หมายเหตุ น้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลังผ่านการกรองแล้วก่อนนำมาวิเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลการศึกษาอัตราการเจริญของเชื้อ *E. fibuligera* TISTR 5097 ในอาหาร yeast starch และอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง

4.2.1 ผลการศึกษาอัตราการเจริญของเชื้อ *E. fibuligera* TISTR 5097 ในอาหาร yeast starch

จากการเลี้ยงเชื้อ *E. fibuligera* TISTR 5097 ในอาหาร yeast starch ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที วัดการเจริญของเชื้อ *E. fibuligera* TISTR 5097 โดยวัดน้ำหนักเซลล์แห้งควบคู่กับการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (ในรูปน้ำตาลกลูโคส) ปริมาณแป้ง และคำนวณอัตราการเจริญจำเพาะพบว่า *E. fibuligera* TISTR 5097 มีน้ำหนักเซลล์แห้งเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ และมีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด 2.66 กรัมต่อลิตรที่ 42 ชั่วโมง ซึ่งสัมพันธ์กับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร โดยจะมีค่าสูงสุดที่ 42 ชั่วโมงเช่นกัน ดังรูปที่ 4.1 หลังจากนั้นอัตราการเจริญค่อนข้างคงที่ อัตราการเจริญจำเพาะ(μ) ซึ่งคำนวณจากน้ำหนักเซลล์แห้งมีค่า 0.07 ต่อชั่วโมงซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับการทดลองของเล หว่าง เจี๋ยญ (2000) ซึ่งทำการเลี้ยงเชื้อ *E. fibuligera* TISTR 5097 ในอาหาร yeast starch ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที พบว่า มีอัตราการเจริญสูงสุดที่คำนวณจากน้ำหนักเซลล์แห้งคือ 0.08 ต่อชั่วโมง

สำหรับปริมาณแป้งลดลงอย่างรวดเร็วในระยะแรกของการเลี้ยงเชื้อเนื่องจากเชื้อ *E. fibuligera* TISTR 5097 มีการย่อยแป้งเพื่อเปลี่ยนเป็นน้ำตาล ระยะหลังปริมาณแป้งลดลงอย่างช้าๆ จนครบ 48 ชั่วโมง มีปริมาณแป้งเหลืออยู่ 5.36 กรัมต่อลิตร ขณะเดียวกันปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (ในรูปน้ำตาลกลูโคส) ได้เพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ และมีปริมาณสูงสุด 1.70 กรัมต่อลิตรที่ 42 ชั่วโมง เนื่องจากเชื้อ *E. fibuligera* TISTR 5097 มีการย่อยแป้งเพื่อเปลี่ยนเป็นน้ำตาลกลูโคส ดังรูปที่ 4.2

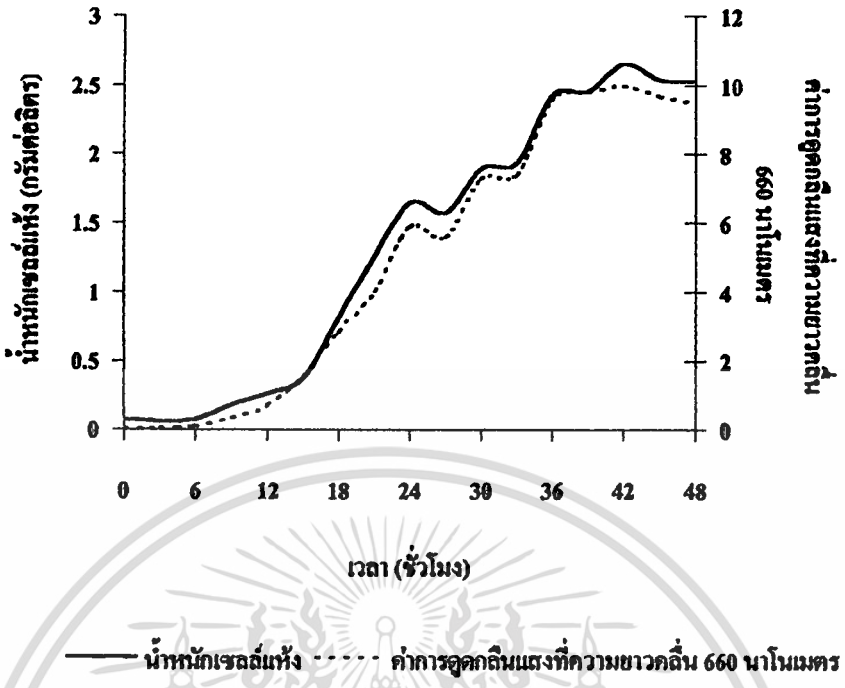
Jarl (1969) ได้รายงานว่าเชื้อ *Saccharomycopsis fibuligera* หรือ *Endomycopsis fibuligera* เป็นเชื้อที่มีความสำคัญเนื่องจาก *E. fibuligera* เป็นยีสต์พวก amylolytic ซึ่งสามารถผลิตเอนไซม์อะมัยเลสเพื่อย่อยแป้งได้ และ Touzi *et al.*(1982) ทำการคัดเลือกเชื้อที่สามารถเจริญเติบโตได้ดีในอาหารแป้งชนิดต่างๆ คือ starch-YNB, starch-YNB-buffer, starch-YE และ starch-YE.buffer พบว่า เมื่อเลี้ยงเชื้อ *E. fibuligera* ในอาหารแป้ง starch-YE ซึ่งประกอบด้วย ยีสต์สกัด 5 กรัมต่อลิตร และ soluble starch 4 กรัมต่อลิตร จะมีค่า generation time (tg) 2 ชั่วโมง และมีปริมาณแป้งที่เหลือ (residual starch (g/l)) 0 กรัมต่อลิตร แสดงว่า *E. fibuligera* สามารถย่อยแป้งได้อย่างสมบูรณ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

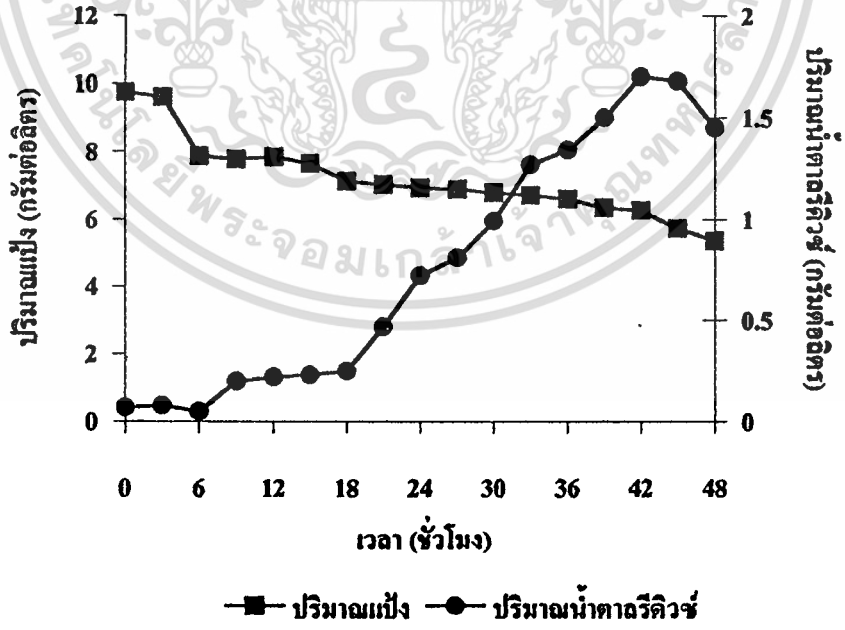
ตารางที่ 4.2 การเจริญของเชื้อ *E. fibuligera* TISTR 5097 ในอาหาร yeast starch ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบในการเขย่า 150 รอบต่อนาที นาน 48 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (ในรูปน้ำตาลกลูโคส) (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณแป้งที่เหลือ (กรัมต่อลิตร)
0	0.03	0.08	0.07	9.75
3	0.04	0.06	0.08	9.60
6	0.10	0.08	0.05	7.87
9	0.36	0.19	0.20	7.88
12	0.70	0.27	0.22	7.84
15	1.60	0.38	0.23	7.64
18	2.80	0.82	0.25	7.12
21	4.00	1.27	0.47	7.02
24	5.90	1.65	0.72	6.93
27	5.60	1.58	0.81	6.88
30	7.30	1.90	0.99	6.78
33	7.40	1.94	1.27	6.71
36	9.60	2.43	1.34	6.60
39	9.80	2.46	1.50	6.34
42	10.0	2.66	1.70	6.26
45	9.50	2.54	1.68	5.72
48	9.70	2.53	1.45	5.36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.1 น้ำหนักเซลล์แห้งและค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตรของเชื้อ *E. fibuligera* TISTR 5097 ในอาหาร yeast starch ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบในการเขย่า 150 รอบต่อนาที นาน 48 ชั่วโมง



รูปที่ 4.2 ปริมาณแป้งและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (ในรูปน้ำตาลกลูโคส) ของ *E. fibuligera* TISTR 5097 ในอาหาร yeast starch ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบในการเขย่า 150 รอบต่อนาที นาน 48 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2 ผลการศึกษาอัตราการเจริญของเชื้อ *E. fibuligera* TISTR 5097 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง

จากการเลี้ยงเชื้อ *E. fibuligera* TISTR 5097 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง ที่มีค่าพีเอช 3.5 เลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที วัดการเจริญของเชื้อ *E. fibuligera* TISTR 5097 โดยการวัดน้ำหนักเซลล์แห้งควบคู่กับการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (ในรูปน้ำตาลกลูโคส) ปริมาณแป้งและคำนวณอัตราการเจริญจำเพาะ พบว่า *E. fibuligera* TISTR 5097 มีน้ำหนักเซลล์แห้งเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงแรกของการเลี้ยงเชื้อ และมีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด 2.96 กรัมต่อลิตร ที่ 30 ชั่วโมง หลังจากนั้นอัตราการเจริญจะคงที่ ซึ่งสัมพันธ์กับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร โดยจะมีค่าสูงสุดที่ 30 ชั่วโมง เช่นเดียวกัน ดังรูปที่ 4.3 อัตราการเจริญจำเพาะ (μ) 0.08 ต่อชั่วโมง

สำหรับปริมาณแป้งและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (ในรูปน้ำตาลกลูโคส) มีค่าลดลงเรื่อยๆ ดังรูปที่ 4.4 เนื่องจากน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลังมีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบ (3.75 กรัมต่อลิตร) ดังนั้น เชื้อ *E. fibuligera* TISTR 5097 มีการใช้น้ำตาลที่มีอยู่ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลังและน้ำตาลที่ได้จากการย่อยแป้งในการเจริญทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลง ขณะเดียวกันมีการย่อยแป้งเพื่อเปลี่ยนไปเป็นน้ำตาล ดังนั้นปริมาณแป้งในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลังจึงมีค่าลดลงเช่นกัน

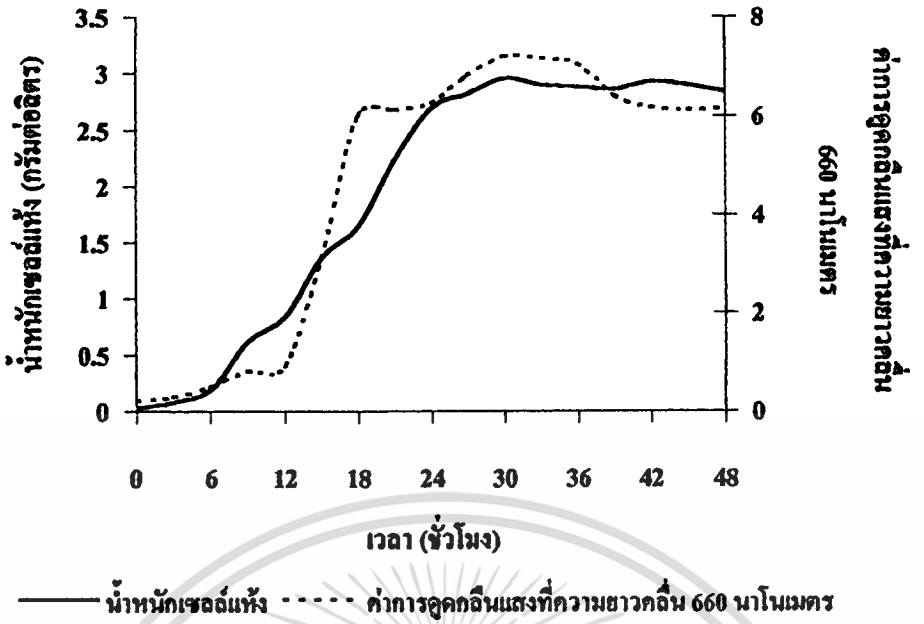
จากการทดลองของ Jin *et al.* (1999b) ได้คัดเลือกเชื้อราและยีสต์ที่สามารถผลิตโปรตีนได้โดยใช้น้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตแป้ง (starch processing wastewater) เป็นสับสเตรท ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะดังนี้ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบในการเขย่า 150 รอบต่อนาที เลี้ยงเชื้อนาน 24 ชั่วโมง สามารถคัดเลือกเชื้อราได้หลายชนิดรวมทั้งเชื้อยีสต์ *E. fibuligera* NRRL 4108 ซึ่งสามารถย่อยแป้งได้ร้อยละ 95.2 มีอัตราการเจริญจำเพาะ 0.18 ต่อชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

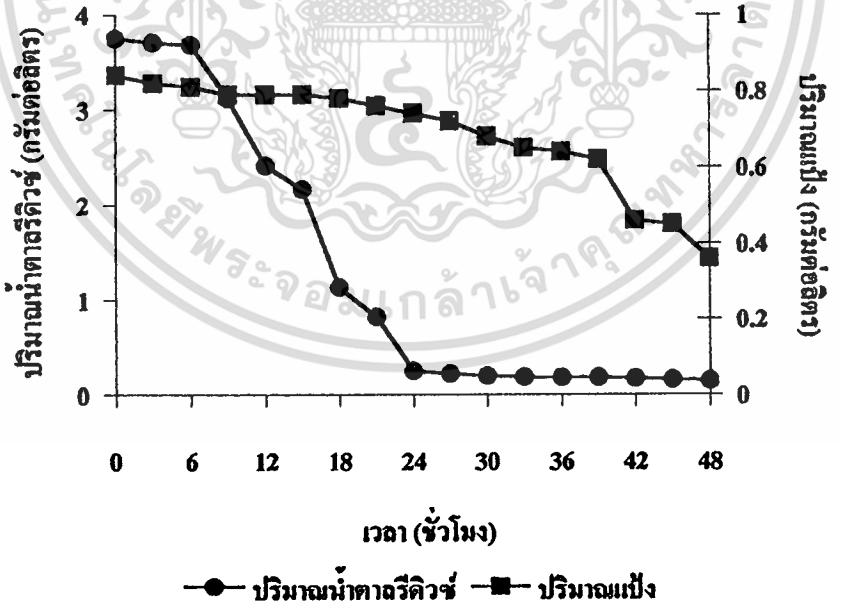
ตารางที่ 4.3 การเจริญของเชื้อ *E. fibuligera* TISTR 5097 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบในการเขย่า 150 รอบต่อนาที นาน 48 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (ในรูปน้ำตาลกลูโคส) (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณแป้งที่เหลือ (กรัมต่อลิตร)
0	0.22	0.03	3.75	0.84
3	0.30	0.08	3.71	0.82
6	0.51	0.2	3.68	0.81
9	0.82	0.62	3.12	0.79
12	0.93	0.84	2.41	0.79
15	3.10	1.37	2.16	0.79
18	6.00	1.65	1.14	0.78
21	6.10	2.25	0.82	0.76
24	6.30	2.70	0.25	0.74
27	6.80	2.82	0.22	0.72
30	7.20	2.96	0.20	0.68
33	7.10	2.90	0.19	0.65
36	7.00	2.88	0.18	0.64
39	6.40	2.86	0.18	0.62
42	6.20	2.93	0.17	0.46
45	6.10	2.90	0.16	0.45
48	6.20	2.84	0.15	0.36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.3 น้ำหนักเซลล์แห้งและค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตรของเชื้อ *E. fibuligera* TISTR 5097 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบในการเขย่า 150 รอบต่อนาที นาน 48 ชั่วโมง



รูปที่ 4.4 ปริมาณแป้งและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (ในรูปน้ำตาลกลูโคส) ของเชื้อ *E. fibuligera* TISTR 5097 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบในการเขย่า 150 รอบต่อนาที นาน 48 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ผลการศึกษาอัตราการเจริญของเชื้อ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหาร yeast starch และอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง

4.3.1 ผลการศึกษาอัตราการเจริญของเชื้อ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหาร yeast starch

จากการเลี้ยงเชื้อ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหาร yeast starch ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที วัดการเจริญของเชื้อ *C. utilis* TISTR 5046 โดยวัดน้ำหนักเซลล์แห้งควบคู่กับการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร วิเคราะห์ปริมาณแป้ง น้ำตาลรีดิวซ์ (ในรูปน้ำตาลกลูโคส) และคำนวณอัตราการเจริญจำเพาะ พบว่าเชื้อ *C. utilis* TISTR 5046 มีน้ำหนักเซลล์แห้งเพิ่มขึ้นในช่วง 18 ชั่วโมงแรกของการเลี้ยงเชื้อโดยมีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด 0.98 กรัมต่อลิตรที่ 18 ชั่วโมง หลังจากนั้นอัตราการเจริญจะคงที่ซึ่งสัมพันธ์กับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร โดยจะมีค่าสูงสุดที่ 18 ชั่วโมงเช่นเดียวกัน ดังรูปที่ 4.5 อัตราการเจริญจำเพาะซึ่งคำนวณจากน้ำหนักเซลล์แห้งมีค่า 0.05 ต่อชั่วโมง

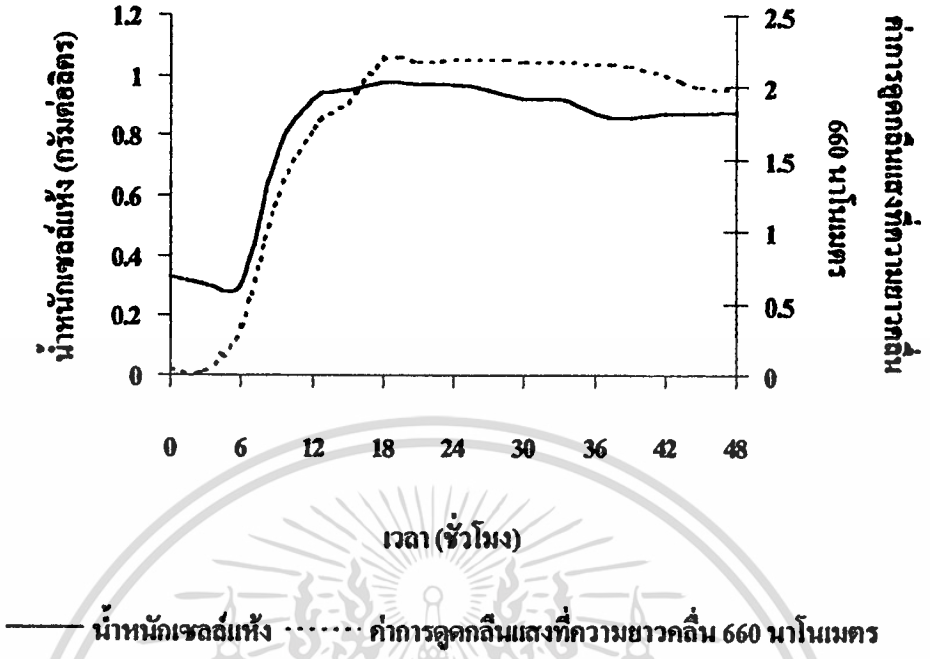
สำหรับปริมาณแป้ง พบว่า *C. utilis* TISTR 5046 ย่อยแป้งได้น้อยมากหรือไม่สามารถย่อยแป้งได้ ปริมาณแป้งจึงมีปริมาณไม่แตกต่างจากปริมาณแป้งเริ่มต้น ดังรูปที่ 4.6 Kennedy *et al.* (1987) รายงานว่า *C. utilis* ไม่สามารถย่อยแป้งได้ เมื่อเลี้ยง *C. utilis* ในวัตถุดิบจำพวกแป้งต้องมีการเลี้ยงร่วมกับเชื้อยีสต์ที่สามารถเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาลได้ เช่น เชื้อ *E. fibuligera* ซึ่งมีเอนไซม์อะมัยเลสที่ย่อยแป้งเพื่อเปลี่ยนเป็นน้ำตาลได้ และจากการรายงานของ Touzi *et al.* (1982) กล่าวถึงลักษณะเด่นของเชื้อที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากแป้ง พบว่าเชื้อ *C. utilis* ที่เลี้ยงในสภาวะดังนี้ ค่าพีเอชเริ่มต้น 4.0 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) เท่ากับ 0.5 ต่อชั่วโมง ไม่สามารถผลิตเอนไซม์อะมัยเลสออกมาย่อยแป้งได้ ดังนั้นเมื่อใช้แป้งเป็นสับสเตรตในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวควรมีการย่อยแป้งก่อนนำมาใช้ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (ในรูปน้ำตาลกลูโคส) พบว่า หลังจากการเลี้ยงเชื้อ *C. utilis* TISTR 5046 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงอย่างรวดเร็วเนื่องจากเชื้อ *C. utilis* TISTR 5046 ใช้น้ำตาลรีดิวซ์ในการเจริญ หลังจากนั้นอัตราการลดลงจะเกิดขึ้นอย่างช้าๆ ดังรูปที่ 4.6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

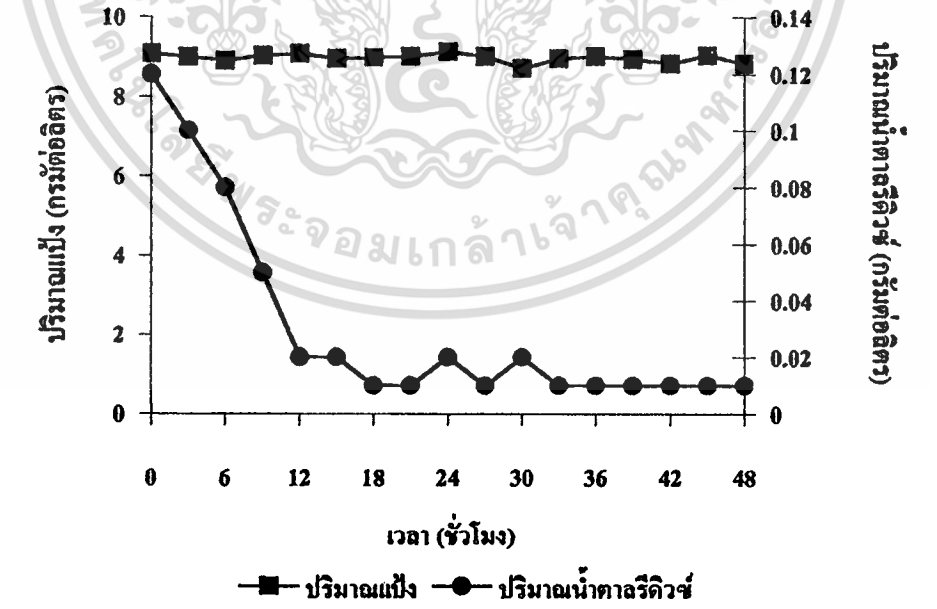
ตารางที่ 4.4 การเจริญของเชื้อ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหาร yeast starch ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบในการเขย่า 150 รอบต่อนาที นาน 48 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (ในรูปน้ำตาลกลูโคส) (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณแป้งที่เหลือ (กรัมต่อลิตร)
0	0.04	0.33	0.12	9.08
3	0.03	0.30	0.10	9.00
6	0.34	0.30	0.08	8.90
9	1.30	0.74	0.05	9.03
12	1.70	0.92	0.02	9.08
15	1.90	0.95	0.02	8.96
18	2.30	0.98	0.01	8.99
21	2.10	0.97	0.01	9.01
24	2.20	0.97	0.02	9.14
27	2.20	0.95	0.01	9.02
30	2.10	0.92	0.02	8.72
33	2.10	0.92	0.01	8.96
36	2.10	0.87	0.01	9.02
39	2.00	0.86	0.01	8.94
42	2.10	0.87	0.01	8.84
45	2.00	0.87	0.01	9.04
48	2.00	0.88	0.01	8.84

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.5 น้ำหนักเซลล์แห้งและค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตรของเชื้อ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหาร yeast starch ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบในการเขย่า 150 รอบต่อนาที นาน 48 ชั่วโมง



รูปที่ 4.6 ปริมาณแป้งและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (ในรูปน้ำตาลกลูโคส) ของเชื้อ *C. utilis* TISTR 5046ในอาหาร yeast starch ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบในการเขย่า 150 รอบต่อนาที นาน 48 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.2 ผลการศึกษาอัตราการเจริญของเชื้อ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง

จากการเลี้ยงเชื้อ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลังที่มีค่าพีเอช 3.5 อุณหภูมิในการเลี้ยง 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที วัดการเจริญของเชื้อ *C. utilis* TISTR 5046 โดยวัดน้ำหนักเซลล์แห้งควบคู่กับการวัดค่าการดูดกลืนแสงความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (ในรูปน้ำตาลกลูโคส) ปริมาณแป้งและคำนวณอัตราการเจริญจำเพาะ พบว่าเชื้อ *C. utilis* TISTR 5046 มีน้ำหนักเซลล์แห้งเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 18 ชั่วโมงแรกของการเลี้ยงเชื้อ และมีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด 2.82 กรัมต่อลิตรที่ 36 ชั่วโมง หลังจากนั้นการเจริญจะลดลง ซึ่งสัมพันธ์กับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร โดยมีค่าสูงสุดที่ 36 ชั่วโมงเช่นกัน ดังรูปที่ 4.7 อัตราการเจริญจำเพาะ(μ) ซึ่งคำนวณจากน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 0.03 ต่อชั่วโมง

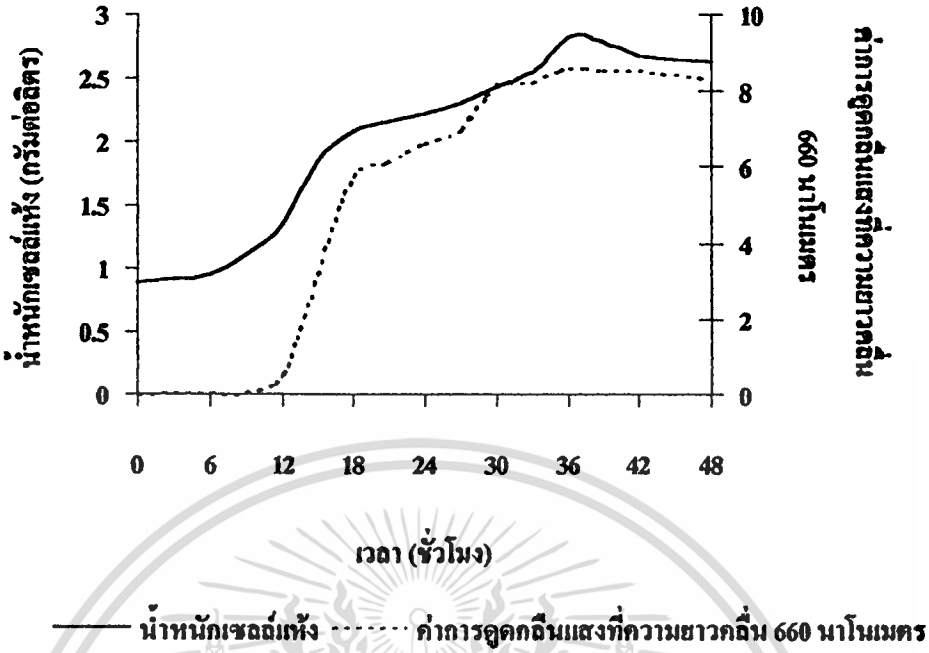
สำหรับปริมาณแป้งพบว่า เชื้อ *C. utilis* TISTR 5046 ย่อยแป้งได้น้อยมากหรือแทบย่อยไม่ได้เลย ปริมาณแป้งจึงมีปริมาณไม่แตกต่างจากปริมาณแป้งเริ่มต้น ดังรูปที่ 4.8 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (ในรูปน้ำตาลกลูโคส) ในช่วงแรกจะลดลงอย่างรวดเร็ว เนื่องจากเชื้อ *C. utilis* TISTR 5046 ใช้น้ำตาลที่มีอยู่ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง หลังจากนั้นปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (ในรูปน้ำตาลกลูโคส) มีปริมาณคงที่ ดังรูปที่ 4.8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

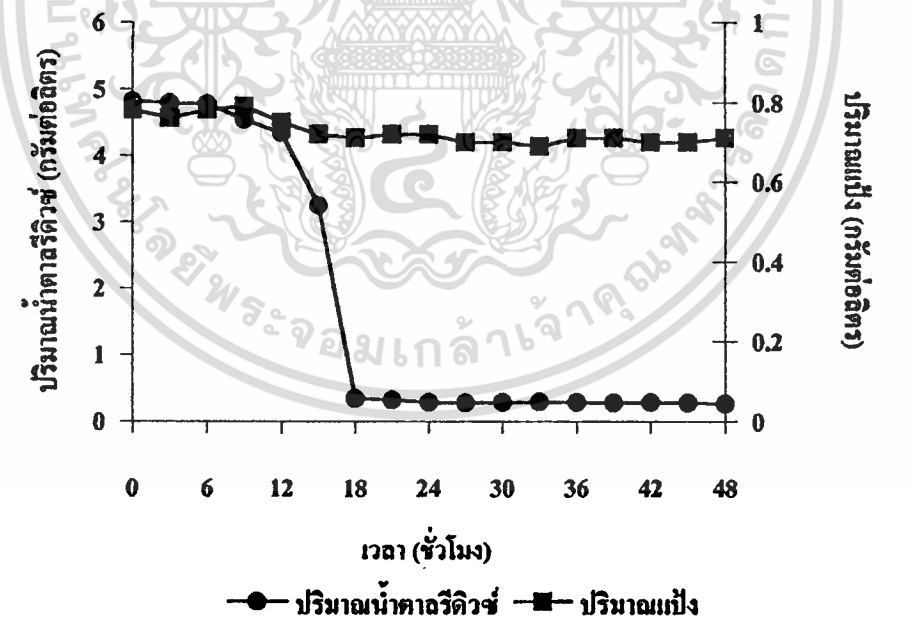
ตารางที่ 4.5 การเจริญของเชื้อ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบในการเขย่า 150 รอบต่อนาที นาน 48 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (ในรูปน้ำตาลกลูโคส) (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณแป้งที่เหลือ (กรัมต่อลิตร)
0	0.02	0.88	4.81	0.78
3	0.03	0.92	4.79	0.76
6	0.06	0.95	4.77	0.78
9	0.08	1.12	4.54	0.79
12	0.54	1.35	4.34	0.75
15	3.10	1.84	3.25	0.72
18	5.70	2.08	0.35	0.71
21	6.10	2.16	0.32	0.72
24	6.60	2.22	0.29	0.72
27	7.00	2.31	0.28	0.70
30	8.10	2.44	0.29	0.70
33	8.20	2.55	0.30	0.69
36	8.60	2.82	0.29	0.71
39	8.50	2.79	0.28	0.71
42	8.50	2.68	0.29	0.70
45	8.40	2.65	2.28	0.70
48	8.30	2.63	0.27	0.71

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.7 น้ำหนักเซลล์แห้งและค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตรของเชื้อ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบในการเขย่า 150 รอบต่อนาที นาน 48 ชั่วโมง



รูปที่ 4.8 ปริมาณแป้งและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (ในรูปน้ำตาลกลูโคส) ของเชื้อ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบในการเขย่า 150 รอบต่อนาที นาน 48 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 ผลของเวลาในการเติม *C. utilis* TISTR 5046 ภายหลังการเลี้ยง *E.fibuligera* TISTR 5097 ในน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง และอัตราส่วนของ *E.fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046

จากการเลี้ยงเชื้อ *E.fibuligera* TISTR 5097 ร่วมกับ *C. utilis* TISTR 5046 ในอัตราส่วน 1:1 1:2 1:3 และ 1:4 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง โดยทำการเลี้ยง *E.fibuligera* TISTR 5097 ก่อน จากนั้นจึงเติม *C. utilis* TISTR 5046 ที่ชั่วโมง 0 6 12 18 24 และ 30 ชั่วโมง เลี้ยงต่อเป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่า จากการเลี้ยงเชื้อ *E.fibuligera* TISTR 5097 ร่วมกับ *C. utilis* TISTR 5046 ในอัตราส่วน 1: 4 และเติม *C. utilis* TISTR 5046 ที่เวลา 18 ชั่วโมง ทำให้มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด 3.28 กรัมต่อลิตร ขณะที่การใช้อัตราส่วน 1: 1 1: 2 และ 1:3 และเวลาในการเติมเชื้อ *C. utilis* TISTR 5046 ที่ 0 6 12 24 และ 30 ชั่วโมง น้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้มีค่าดังแสดงในตารางที่ 4.6 และรูปที่ 4.9 เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ปัจจัยร่วม (อัตราส่วนของเชื้อทั้งสองและเวลาในการเติมเชื้อ *C. utilis* TISTR 5046 ภายหลังการเลี้ยง *E.fibuligera* TISTR 5097 ที่เวลาต่างๆ) มีอิทธิพลร่วมกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของน้ำหนักเซลล์แห้งโดยใช้วิธี DMRT พบว่า การใช้อัตราส่วนของเชื้อ *E.fibuligera* TISTR 5097 ร่วมกับ *C. utilis* TISTR 5046 ในอัตราส่วน 1:4 มีผลต่อน้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้แตกต่างกันกับ 1: 1 1: 2 และ 1:3 และจากการเติมเชื้อ *C. utilis* TISTR 5046 ที่เวลา 18 ชั่วโมง ภายหลังการเลี้ยง *E.fibuligera* TISTR 5097 มีผลต่อน้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้แตกต่างกันกับเวลาในการเติมเชื้อ *C. utilis* TISTR 5046 ที่เวลาต่างๆ ซึ่งการทดลองของ เล หว่าง เจี๋ยญ (2000) พบว่าอัตราส่วนที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อ *C. utilis* TISTR 5001 ร่วมกับ เชื้อ *E. fibuligera* TISTR 5097 ในแป้งมันสำปะหลัง โดยใช้อัตราส่วน 1:1 1:2 1:3 และ 1:4 น้ำหนักเซลล์แห้งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ขณะที่เวลาในการเติม *E.fibuligera* TISTR 5097 ภายหลังการเลี้ยง *C. utilis* TISTR 5001 ที่เวลาต่างๆ พบว่าที่ 18 ชั่วโมงมีการผลิตน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดซึ่งให้ผลการทดลองสอดคล้องกับการทดลองที่ได้

Laochareonsuk *et al.* (2003) ได้ปรับปรุงคุณค่าทางอาหารของเยื่อในลำต้นสาคูโดยใช้จุลินทรีย์หลายชนิด จากการทดลองสามารถคัดเลือกเชื้อยีสต์ 2 ชนิดที่สามารถย่อยแป้งได้คือ *E.fibuligera* และ *Schwanniomyces alluvius* TISTR 5164 โดยนำเชื้อทั้งสองมาใช้เป็นหัวเชื้อทำการเลี้ยงในอาหารเยื่อในลำต้นสาคูที่เติมยูเรียร้อยละ 5 ซึ่งใช้หัวเชื้อแบบผสมระหว่าง *E. fibuligera* กับ *Sch. alluvius* TISTR 5164 พบว่ามีอัตราการเจริญของเชื้อดีกว่าการเลี้ยงเชื้อทั้งสองแยกกัน เมื่อทำการเพิ่มปริมาณการผสมของหัวเชื้อ *E.fibuligera* กับ *Sch. alluvius* TISTR 5164 เป็นร้อยละ 25 ทำให้เพิ่มปริมาณโปรตีน (crude protein content) จากร้อยละ 6.6 เป็น 10 - 11.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

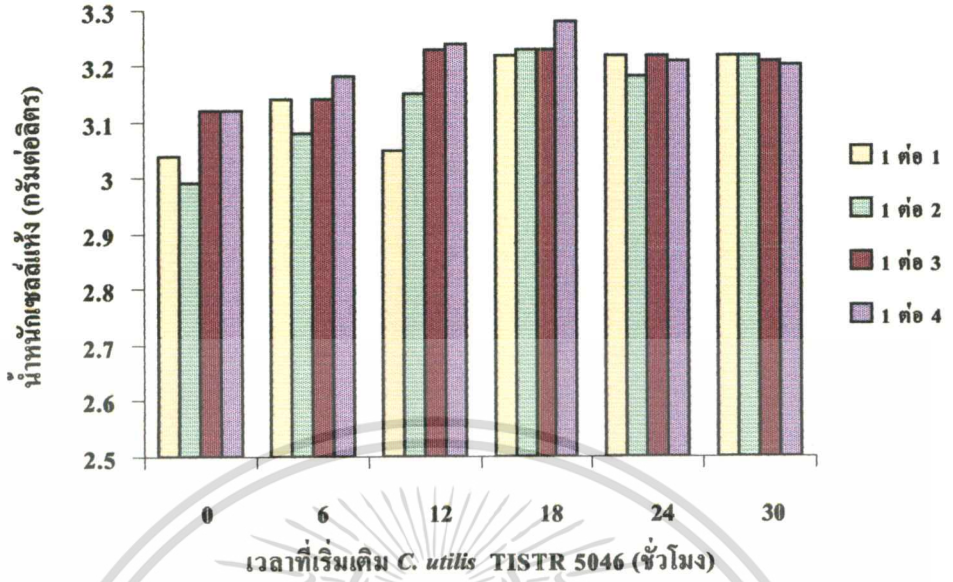
Jarl (1969) รายงานว่าเมื่อเลี้ยง *C.utilis* ในระยะแรก *C.utilis* มีประสิทธิภาพในการผลิตชีวมวลแห้งน้อย แต่เมื่อทำการเพาะเลี้ยงแบบ two stage โดยในระยะแรกทำการเลี้ยง *E.fibuligera* ประสิทธิภาพในการผลิตน้ำหนักเซลล์แห้ง (ชีวมวล) มีประสิทธิภาพดีขึ้น เนื่องจาก *E.fibuligera* มีเอนไซม์อะมัยเลสเพื่อย่อยแป้ง และใช้ *C.utilis* ในขั้นตอนที่ 2 เพื่อผลิตชีวมวลตามกระบวนการซิมบา (Symba process) ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Moreton (1978) กล่าวว่าเมื่อทำการเลี้ยง *C. utilis* ในอาหารแป้ง ควรทำการย่อยแป้งก่อน ทั้งการใช้วิธีทางเคมีหรือใช้เอนไซม์ จากนั้นนำไปเลี้ยงในสภาวะที่เหมาะสม จะมีอัตราการเจริญสูง และจากการย่อยแป้งด้วยเอนไซม์จากจุลินทรียจะเป็นการลดค่าใช้จ่ายในขั้นตอนการย่อยแป้ง ซึ่งเป็นขั้นตอนที่สำคัญอีกขั้นตอนหนึ่งในกระบวนการซิมบา

จากการทดลองจึงเลือกใช้อัตราส่วนของเชื้อ *E. fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 เท่ากับ 1:4 และเลี้ยง *E. fibuligera* TISTR 5097 ก่อน จากนั้นจึงเติม *C. utilis* TISTR 5046 ที่ชั่วโมงที่ 18 ซึ่งให้ค่าน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดและนำมาใช้ในการศึกษาในขั้นต่อไป

ตารางที่ 4.6 อัตราส่วนของเชื้อ *E. fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 และเวลาในการเติม *C. utilis* TISTR 5046 ภายหลังการเลี้ยง *E.fibuligera* TISTR 5097 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง

อัตราส่วนของเชื้อ *E.fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046	น้ำหนักเซลล์แห้งที่เวลาต่างๆ (ชั่วโมง) (กรัมต่อลิตร)					
	0	6	12	18	24	30
1 ต่อ 1	3.04^{de}	3.14^{bcd}	3.05^{de}	3.23^{ab}	3.22^{ab}	3.22^{ab}
1 ต่อ 2	2.99^{e}	3.08^{cde}	3.15^{bc}	3.24^{ab}	3.18^{abc}	3.22^{ab}
1 ต่อ 3	3.12^{bcd}	3.14^{bcd}	3.23^{ab}	3.25^{ab}	3.22^{ab}	3.21^{ab}
1 ต่อ 4	3.12^{bcd}	3.18^{abc}	3.25^{ab}	3.28^{a}	3.21^{ab}	3.20^{ab}

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.9 อัตราส่วนของเชื้อ *E. fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 และเวลาในการเติม *C. utilis* TISTR 5046 ภายหลังการเลี้ยง *E.fibuligera* TISTR 5097 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง

4.5 ผลของสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวโดยการเลี้ยง *E. fibuligera* TISTR 5097 ร่วมกับ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง

4.5.1 ผลของชนิดและความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสม

4.5.1.1 ชนิดและความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอินทรีย์

จากการทดลองเลี้ยง *E. fibuligera* TISTR 5097 ร่วมกับ *C. utilis* TISTR 5046 ในอัตราส่วน 1:4 โดยใช้แหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอินทรีย์ 3 ชนิดคือ ยีสต์สกัด เปปโตน ความเข้มข้นร้อยละ 0.2 0.5 0.7 1.0 1.3 และ 1.5 (น้ำหนักต่อปริมาตร) น้ำแช่ข้าวโพด (Corn steep liquor) ความเข้มข้นร้อยละ 0.2 0.5 0.7 1.0 1.3 และ 1.5 (ปริมาตรต่อปริมาตร) วิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณโปรตีน พบว่า ยีสต์สกัดความเข้มข้นร้อยละ 1.3 มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด 5.80 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือความเข้มข้นร้อยละ 1.5 และ 1.0 มีน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 5.57 และ 5.53 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อใช้น้ำแช่ข้าวโพดความเข้มข้นร้อยละ 1.3 และเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 1.3 มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 4.88 และ 4.84 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ดังรูปที่ 4.10 และตารางที่ 4.7 เมื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนพบว่า น้ำแช่ข้าวโพดความเข้มข้นร้อยละ 1.3 ยีสต์สกัดความเข้มข้นร้อยละ 1.3 และเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 1.3 มีปริมาณโปรตีนสูงสุด 0.46 0.39 และ 0.40 กรัมโปรตีน

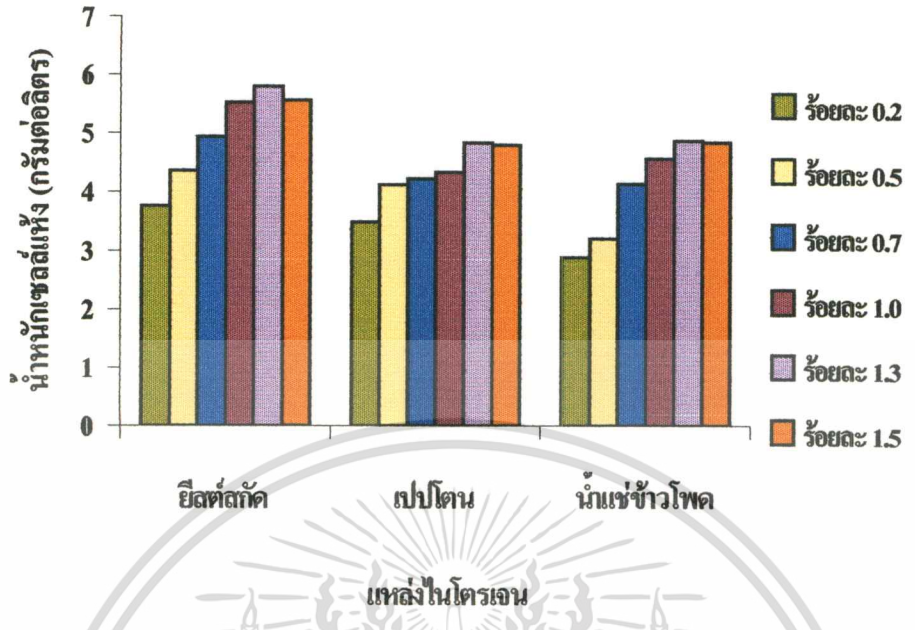
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ดังรูปที่ 4.11 และตารางที่ 4.7 จากการวิเคราะห์ค่าทางสถิติของแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอินทรีย์ พบว่า ปัจจัยร่วม (ชนิดและความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจน) มีอิทธิพลร่วมกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของปริมาณโปรตีน โดยใช้วิธี DMRT พบว่า น้ำแช่ข้าวโพดที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.3 มีผลต่อปริมาณโปรตีนแตกต่างกันกับเปปโตนและยีสต์สกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ (ภาคผนวก ง) เนื่องจากน้ำแช่ข้าวโพดที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.3 มีปริมาณโปรตีนสูงสุด จึงเลือกใช้น้ำแช่ข้าวโพดความเข้มข้นร้อยละ 1.3 ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวต่อไป

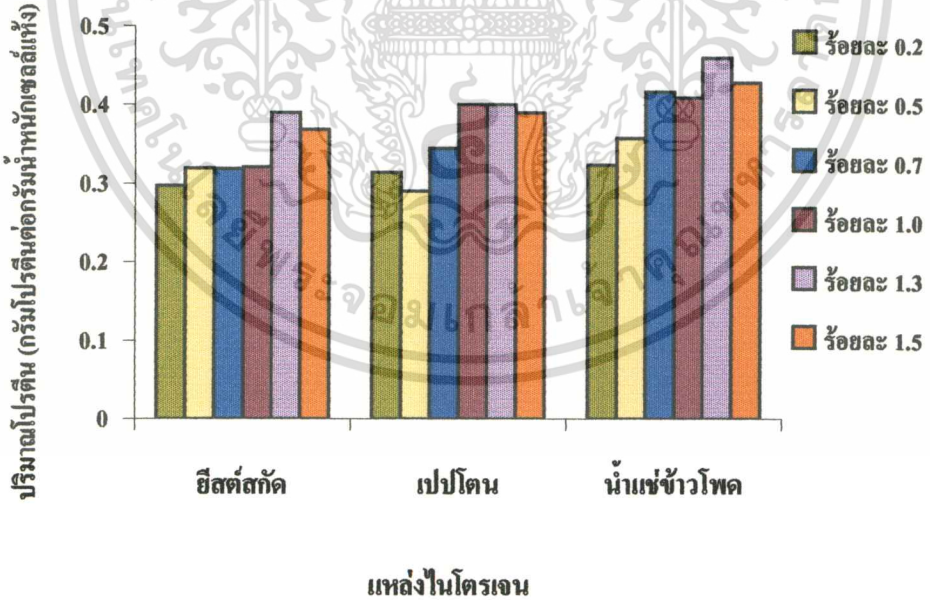
ตารางที่ 4.7 ผลของแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอินทรีย์ต่อการผลิตน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณโปรตีนของเชื้อผสมระหว่าง *E. fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง

ความเข้มข้น (ร้อยละ)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)			ปริมาณโปรตีน (กรัมโปรตีนต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)		
	ยีสต์สกัด	เปปโตน	น้ำแช่ข้าวโพด	ยีสต์สกัด	เปปโตน	น้ำแช่ข้าวโพด
0.2	3.77^{cdef}	3.48^{def}	2.89^{f}	0.30^{h}	0.31^{g}	0.32^{g}
0.5	4.37^{c}	4.12^{cde}	3.21^{ef}	0.32^{g}	0.29^{h}	0.36^{ef}
0.7	4.94^{abc}	4.23^{cd}	4.15^{cde}	0.32^{g}	0.34^{f}	0.42^{bc}
1.0	5.53^{ab}	4.34^{cd}	4.57^{bc}	0.33^{g}	0.40^{cd}	0.41^{bcd}
1.3	5.80^{a}	4.84^{abc}	4.88^{abc}	0.39^{d}	0.40^{cd}	0.46^{a}
1.5	5.57^{a}	4.80^{abc}	4.85^{abc}	0.37^{e}	0.39^{cd}	0.43^{b}

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.10 ผลของแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอินทรีย์ต่อการผลิตน้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อผสมระหว่าง *E. fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง



รูปที่ 4.11 ผลของแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอินทรีย์ต่อปริมาณโปรตีนของเชื้อผสมระหว่าง *E. fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

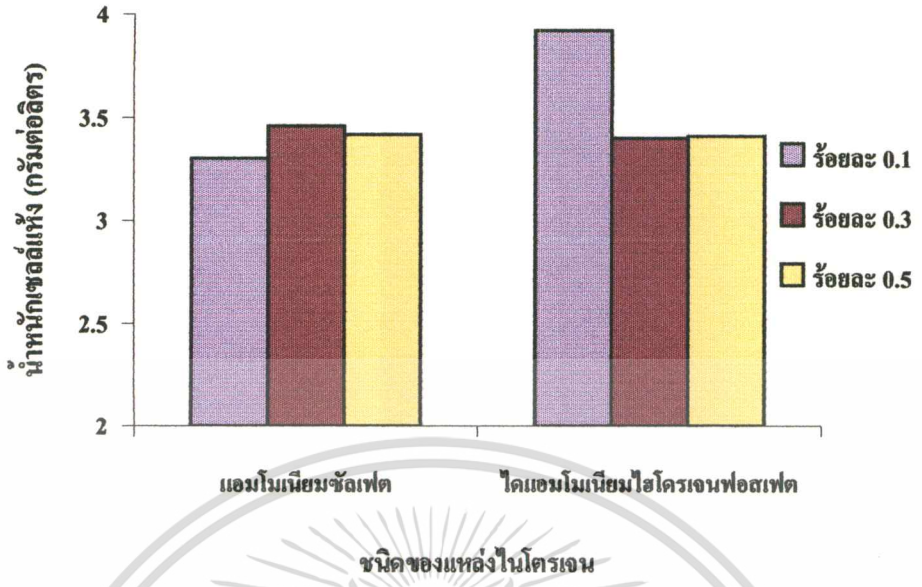
4.5.1.2 ชนิดและความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอนินทรีย์

จากการทดลองเลี้ยง *E.fibuligera* TISTR 5097 ร่วมกับ *C. utilis* TISTR 5046 ในอัตราส่วน 1:4 โดยใช้แหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอนินทรีย์ 2 ชนิด คือ แอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$) และไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต $(NH_4)_2HPO_4$ ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 0.3 และ 0.5 (น้ำหนักต่อปริมาตร) วิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณโปรตีน พบว่า จากการใช้แอมโมเนียมซัลเฟต ความเข้มข้นร้อยละ 0.3 มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด 3.46 กรัมต่อลิตร และไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด 3.92 กรัมต่อลิตร ดังรูปที่ 4.12 และตารางที่ 4.8 เมื่อวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน พบว่า การใช้แอมโมเนียม-ซัลเฟตความเข้มข้นร้อยละ 0.3 มีปริมาณโปรตีนสูงสุด 0.40 กรัมโปรตีนต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 มีปริมาณโปรตีนสูงสุด 0.39 กรัมโปรตีนต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ดังรูปที่ 4.13 และตารางที่ 4.8 จากการวิเคราะห์ค่าทางสถิติของแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอนินทรีย์ พบว่าปัจจัยร่วม (ชนิดและความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจน) มีอิทธิพลร่วมกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 พบว่า ความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจน มีอิทธิพลต่อปริมาณโปรตีนแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของปริมาณโปรตีน โดยใช้วิธี DMRT พบว่า ความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนร้อยละ 0.3 มีอิทธิพลต่อปริมาณโปรตีนแตกต่างจากความเข้มข้นร้อยละ 0.1 และ 0.5 ตามลำดับ ส่วนชนิดของแหล่งไนโตรเจนมีอิทธิพลต่อปริมาณโปรตีนไม่แตกต่างกัน (ภาคผนวก ง)

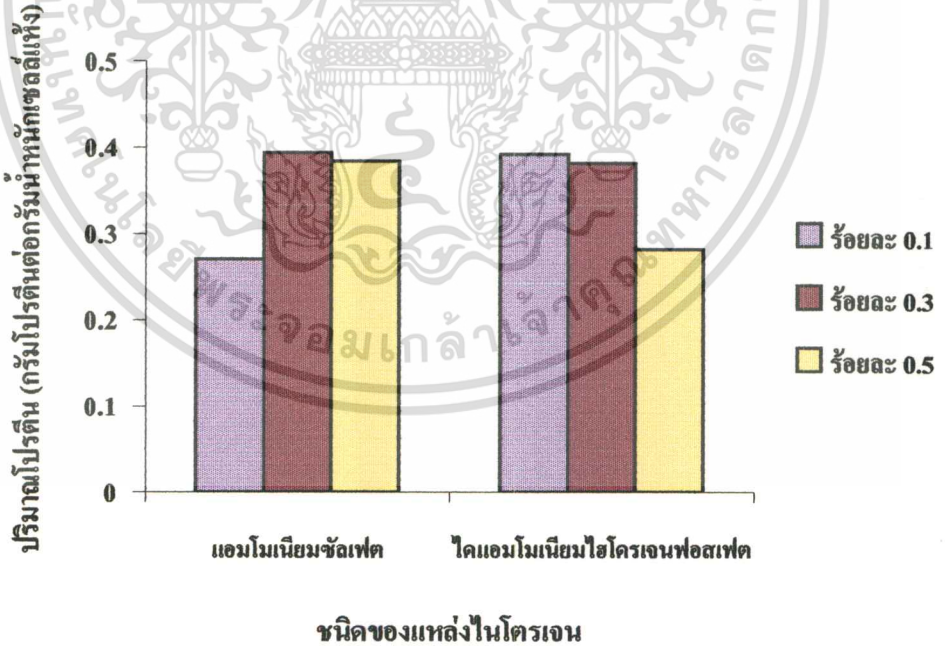
ตารางที่ 4.8 ผลของแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอนินทรีย์ต่อการผลิตน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณโปรตีนของเชื้อผสมระหว่าง *E. fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง

ความเข้มข้น (ร้อยละ)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)		ปริมาณโปรตีน (กรัมโปรตีนต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)	
	แอมโมเนียมซัลเฟต	ไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต	แอมโมเนียมซัลเฟต	ไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต
0.1	3.30^{b}	3.92^{a}	0.27^{b}	0.39^{b}
0.3	3.46^{b}	3.40^{b}	0.40^{a}	0.38^{a}
0.5	3.42^{b}	3.41^{b}	0.39^{b}	0.28^{b}

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.12 ผลของแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอนินทรีย์ต่อการผลิตน้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อผสมระหว่าง *E. fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง



รูปที่ 4.13 ผลของแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอนินทรีย์ต่อปริมาณโปรตีนของเชื้อผสมระหว่าง *E. fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลองพบว่า การใช้แหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอินทรีย์มีน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณโปรตีนสูงกว่าการใช้แหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอนินทรีย์ เนื่องจากสารอินทรีย์มีกรดอะมิโนเป็นองค์ประกอบสำคัญ เชื้อจุลินทรีย์สามารถใช้กรดอะมิโนในการเจริญและผลิตโปรตีนได้ ดังนั้นจะเห็นว่า เมื่อใช้น้ำแช่ข้าวโพดที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.3 เป็นแหล่งไนโตรเจนในอาหารสามาถผลิตโปรตีนและน้ำหนักเซลล์แห้งได้สูงกว่าการใช้แอมโมเนียมซัลเฟตและไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ดังนั้นจึงเลือกใช้น้ำแช่ข้าวโพดที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.3 มาใช้ทดลองในขั้นตอนต่อไป กำเนิด สุภัณวงษ์ (2534) กล่าวถึงผลของแหล่งไนโตรเจนต่อการผลิตผลิตภัณฑ์จากจุลินทรีย์ พบว่า เมื่อมีการใช้สารประกอบอนินทรีย์ไนโตรเจนจะใช้ในรูปของแก๊สแอมโมเนีย เกลือแอมโมเนียมไนเตรต ถ้าใช้เกลือแอมโมเนียม เช่น แอมโมเนียมซัลเฟตจะทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อเป็นกรดมากขึ้น เมื่อแอมโมเนียถูกใช้ไป และเมื่อใช้สารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจน จุลินทรีย์จะเจริญได้เร็วกว่าการใช้สารอนินทรีย์ไนโตรเจนซึ่งจุลินทรีย์บางชนิดต้องการกรดอะมิโนในการเจริญ ดังนั้น แหล่งของสารประกอบอินทรีย์ที่หาง่ายและราคาถูกที่นิยมใช้ในการเลี้ยงเชื้อ คือ น้ำแช่ข้าวโพด ยีสต์สกัด กากถั่วเหลือง เป็นต้น

จากการทดลองพบว่ายีสต์สกัดมีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงแต่เลือกน้ำแช่ข้าวโพดมาใช้ในการทดลองขั้นต่อไป เนื่องจากผลการทดลองน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณโปรตีนมีผลไม่สอดคล้องกัน จึงยึดปริมาณโปรตีนที่ผลิตได้เป็นหลักในการเลือกใช้แหล่งไนโตรเจนที่จะทำการทดลองขั้นต่อไป ดังนั้นจะเห็นว่า เมื่อใช้น้ำแช่ข้าวโพดที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.3 เป็นแหล่งไนโตรเจนในอาหารจึงสามาถผลิตโปรตีนและน้ำหนักเซลล์แห้งได้สูง และจากการรายงานของ Pandey *et al.* (1994) ทำการผลิตกลูโคอะมัยเลสโดย *Aspergillus niger* ในรำข้าวแบบ solid-state โดยใช้แหล่งไนโตรเจนทั้งสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ พบว่า น้ำแช่ข้าวโพดร้อยละ 2 สามารถผลิตเอนไซม์กลูโคอะมัยเลสได้สูงสุดเท่ากับ 359 IU/g dry substrate ซึ่งมีค่าสูงกว่าการใช้สารประกอบอนินทรีย์

4.5.2 ผลของค่าพีเอชเริ่มต้นที่เหมาะสม

จากการศึกษาผลค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลังที่ 3.0 3.5 4.0 4.5 5.0 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 โดยใช้น้ำแช่ข้าวโพดความเข้มข้นร้อยละ 1.3 เป็นแหล่งไนโตรเจนเติมในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง เลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที วิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณโปรตีน พบว่าค่าพีเอชเริ่มต้น 3.5 - 4.5 มีน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณโปรตีนสูง โดยเฉพาะที่พีเอช 4.0 มีน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณโปรตีนสูงสุดคือ 4.60 กรัมต่อลิตร และ 0.46 กรัมโปรตีนต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง เมื่อค่าพีเอชเริ่มต้นมีค่าสูงขึ้นน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณโปรตีนมีปริมาณลดลง ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.9 และดังรูปที่ 4.14 และ 4.15 ตามลำดับ เมื่อนำข้อมูลมา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

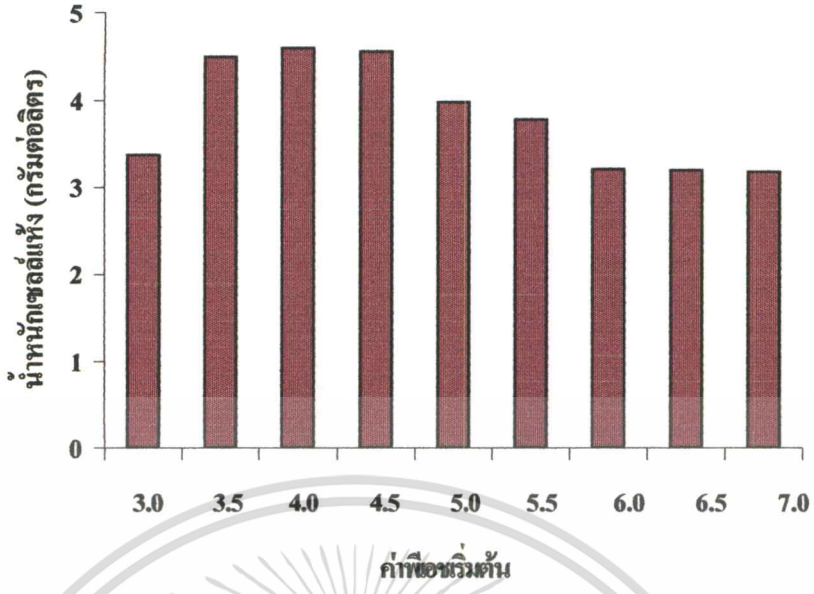
วิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่า ค่าพีเอชเริ่มต้นมีอิทธิพลต่อปริมาณโปรตีนได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของปริมาณโปรตีนโดยใช้วิธี DMRT พบว่า ค่าพีเอชเริ่มต้น 4.0 มีผลต่อปริมาณโปรตีนแตกต่างกันกับค่าพีเอชเริ่มต้น 3.0 3.5 4.5 5.0 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 ดังนั้นจึงเลือกค่าพีเอชเริ่มต้น 4.0 มาใช้ในการทดลองขั้นต่อไป ซึ่งการทดลองที่ได้สอดคล้องกับการทดลองของ Jin *et al.* (1999c) ได้เลี้ยง *Rhizopus oligosporus* DAR 2710 ในอาหารน้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตแป้ง (starch processing wastewater) โดยใช้ค่าพีเอชเริ่มต้น 3.0 3.5 4.0 4.5 5.0 5.5 และ 6 พบว่า ที่ค่าพีเอชเริ่มต้น 4.0 สามารถผลิตชีวมวลสูงสุดคือ 4.6 กรัมต่อลิตร และมีค่าซีโอดีลดลงสูงสุดร้อยละ 96 รองลงมาคือ พีเอชเริ่มต้น 4.5 และ 3.5 มีค่าเท่ากับ 3.95 และ 3.91 กรัมต่อลิตร และจากการรายงานของ Jin *et al.* (1999a) ทำการเลี้ยง *Aspergillus oryzae* DAR 3699 ในอาหารน้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตแป้ง โดยใช้ค่าพีเอชเริ่มต้น 3.0 3.5 4.0 4.5 5.0 5.5 และ 6 พบว่า ที่ค่าพีเอชเริ่มต้น 4.0 สามารถผลิตชีวมวลสูงสุดคือ 5.18 กรัมต่อลิตร และมีลักษณะสัณฐานวิทยาของชีวมวลเป็นลักษณะกลุ่มเส้นใยที่จับตัวกันเป็นก้อนแน่น (compact pellet)

Reed and Nagodawithana (1991) กล่าวว่าโดยทั่วไปเซลล์ยีสต์สามารถมีชีวิตอยู่ได้ภายใต้สภาวะแวดล้อมที่มีพีเอชตั้งแต่ 3.6-6.0 ความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของยีสต์อยู่ระหว่าง 4.5 - 5.5 ซึ่ง Oteng *et al.* (1980) กล่าวว่า ค่าพีเอชในอาหารเลี้ยงเชื้อมีผลต่อการเจริญและการผลิตชีวมวล ซึ่งค่าพีเอชที่เหมาะสมของยีสต์แต่ละสายพันธุ์ไม่จำเป็นต้องเหมือนกันทุกสายพันธุ์และค่าพีเอชที่เหมาะสมของเอนไซม์อะมัยเลสขึ้นอยู่กับแต่ละสายพันธุ์ด้วย

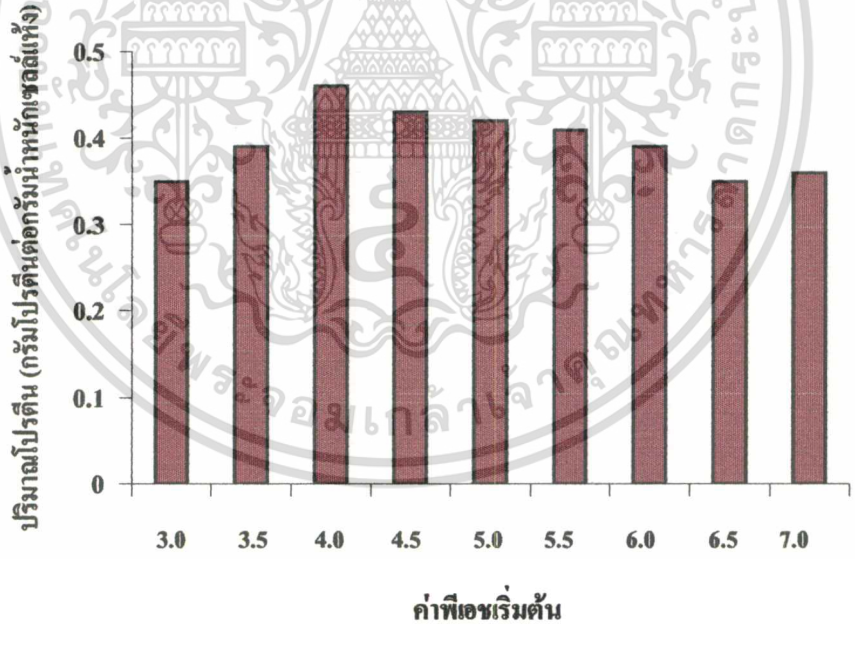
ตารางที่ 4.9 ค่าพีเอชเริ่มต้นที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากการเลี้ยงเชื้อผสมระหว่าง *E. fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง

ค่าพีเอช	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณโปรตีน (กรัมโปรตีนต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)
3.0	3.37^{d}	0.35^{f}
3.5	4.50^{a}	0.39^{cd}
4.0	4.60^{a}	0.46^{a}
4.5	4.56^{a}	0.43^{b}
5.0	3.98^{b}	0.42^{bc}
5.5	3.79^{c}	0.41^{bcd}
6.0	3.21^{e}	0.39^{de}
6.5	3.20^{e}	0.35^{ef}
7.0	3.18^{e}	0.36^{ef}

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.14 ค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตน้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อผสมระหว่าง *E.fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง



รูปที่ 4.15 ค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อปริมาณโปรตีนของเชื้อผสมระหว่าง *E.fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

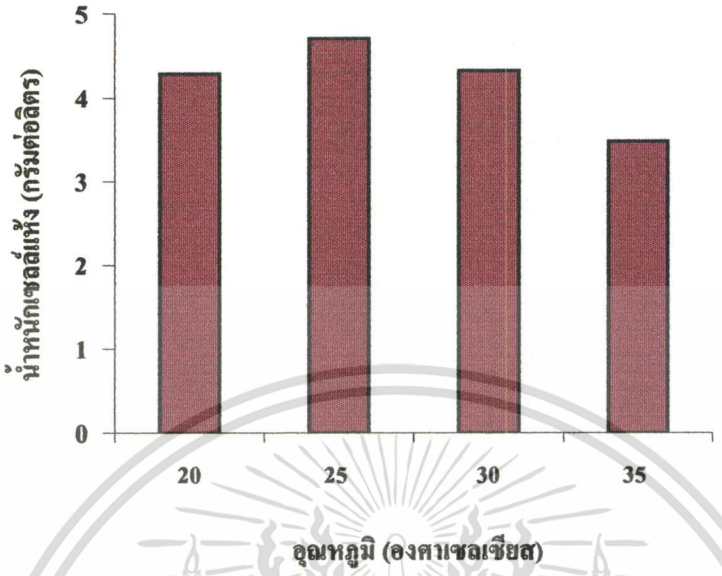
4.5.3 ผลของอุณหภูมิที่เหมาะสม

จากการศึกษาผลของอุณหภูมิ ซึ่งมีการแปรผันอุณหภูมิ คือ 20 25 30 และ 35 องศาเซลเซียส โดยใช้น้ำแช่ข้าวโพดความเข้มข้นร้อยละ 1.3 เป็นแหล่งไนโตรเจน ในสภาวะที่มีค่าพีเอชเริ่มต้น 4.0 ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที จากการวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้ง ผลแสดงดังรูปที่ 4.16 และตาราง 4.10 พบว่า ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดคือ 4.70 กรัมต่อลิตร รองลงมาคืออุณหภูมิ 30 20 และ 35 องศาเซลเซียส ซึ่งมีน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 4.33 4.29 และ 3.48 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ จากนั้นทำการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน พบว่าที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีปริมาณโปรตีนสูงสุด 0.46 กรัมโปรตีนต่อกรัมน้ำหนักแห้ง รองลงมาคือ อุณหภูมิ 30 20 และ 35 องศาเซลเซียส มีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 0.41 0.39 และ 0.38 กรัมโปรตีนต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ผลแสดงดังรูปที่ 4.17 และตารางที่ 4.10 เมื่อนำผลการทดลองมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ พบว่าที่อุณหภูมิต่างๆ มีอิทธิพลต่อการผลิตโปรตีนได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของปริมาณโปรตีน โดยใช้วิธี DMRT พบว่า อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีผลต่อปริมาณโปรตีนและน้ำหนักเซลล์แห้งแตกต่างกันกับอุณหภูมิ 20 30 และ 35 องศาเซลเซียส ดังนั้น อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสม เพื่อใช้ในการทดลองขั้นต่อไป ซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์จะอยู่ในช่วง 24-36 องศาเซลเซียส เพราะจะทำให้เซลล์ยีสต์มี generation time สั้น (Reed and Nagodawithana.1991)

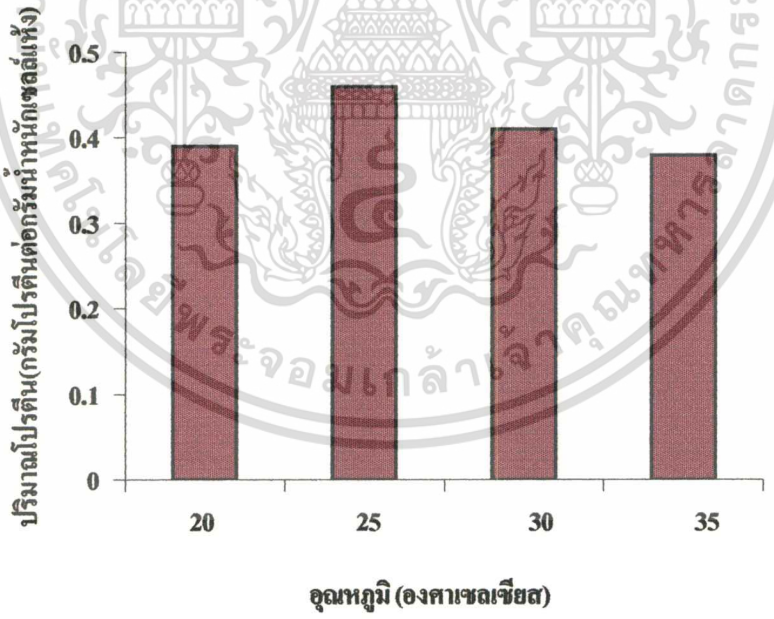
ตารางที่ 4.10 อุณหภูมิที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากการเลี้ยงเชื้อผสมระหว่าง *E.fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณโปรตีน (กรัมโปรตีนต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)
20	4.29[b]	0.39[b]
25	4.70[a]	0.46[a]
30	4.33[b]	0.41[b]
35	3.48[c]	0.38[b]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.16 อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการผลิตน้ำหนักเซลล์แห้งของการเลี้ยงเชื้อผสมระหว่าง *E.fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง



รูปที่ 4.17 อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อปริมาณโปรตีนของการเลี้ยงเชื้อผสมระหว่าง *E.fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

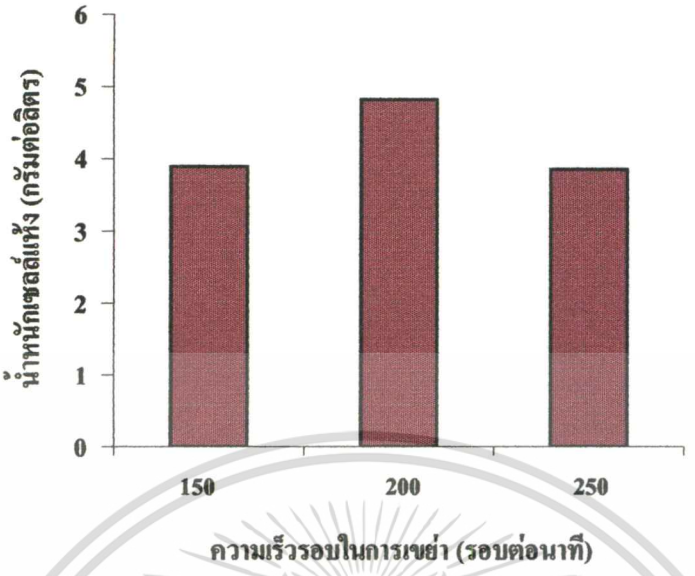
4.5.4 ผลของความเร็วรอบในการเขย่าที่เหมาะสม

จากการศึกษาผลของความเร็วรอบในการเขย่า ซึ่งมีการแปรผันความเร็วรอบ 150 200 และ 250 รอบต่อนาที โดยใช้น้ำแช่ข้าวโพดความเข้มข้นร้อยละ 1.3 เป็นแหล่งไนโตรเจน ในสภาวะที่มีค่าพีเอชเริ่มต้น 4.0 อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส จากการวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้ง ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.18 และตาราง 4.11 พบว่า ที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด 4.82 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือ 150 และ 250 รอบต่อนาที มีน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 3.90 และ 3.86 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ จากนั้นทำการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน พบว่า ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที มีปริมาณโปรตีนสูงสุดเท่ากับ 0.48 กรัมโปรตีนต่อกรัมน้ำหนักแห้ง รองลงมาคือ 150 และ 250 รอบต่อนาที ซึ่งมีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 0.44 และ 0.42 กรัมโปรตีนต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.19 และตารางที่ 4.11 เมื่อนำผลการทดลองมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ พบว่า ความเร็วรอบในการเขย่ามีอิทธิพลต่อการผลิตโปรตีนได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของปริมาณโปรตีนโดยใช้วิธี DMRT พบว่า ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที มีผลต่อการผลิตโปรตีนแตกต่างกันกับความเร็วรอบ 150 และ 250 รอบต่อนาที ดังนั้นความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เหมาะสมที่สุดในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวเนื่องจากมีปริมาณโปรตีนสูงสุด จากการรายงานของทิพรัตน์ หงภัทรคีรี (2534) ทำการเลี้ยงยีสต์ *Schawanniomyces castellii* B5285 ในอาหารแป้งมันสำปะหลัง 20 กรัมต่อลิตร ที่ความเร็วรอบในการเขย่า 100 150 200 และ 250 รอบต่อนาที พบว่า ที่ความเร็วรอบในการเขย่า 200 รอบต่อนาที ให้ผลผลิตโปรตีนสูงสุด 7.29 กรัมต่อแป้ง 100 กรัม มีน้ำหนักเซลล์แห้ง 5.14 กรัมต่อลิตร

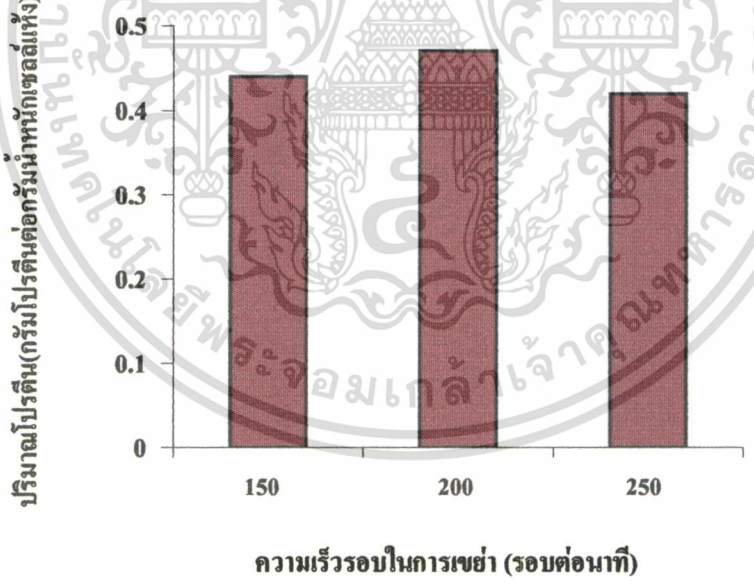
ตารางที่ 4.11 ความเร็วรอบในการเขย่าที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากการเลี้ยงเชื้อผสมระหว่าง *E.fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง

ความเร็วรอบ (รอบต่อนาที)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณโปรตีน (กรัมโปรตีนต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)
150	3.90^{b}	0.44^{b}
200	4.82^{a}	0.48^{a}
250	3.86^{b}	0.42^{b}

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.18 ความเร็วรอบในการเขย่าที่เหมาะสมต่อการผลิตน้ำหนักเซลล์แห้งจากการเลี้ยงเชื้อผสมระหว่าง *E.fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง



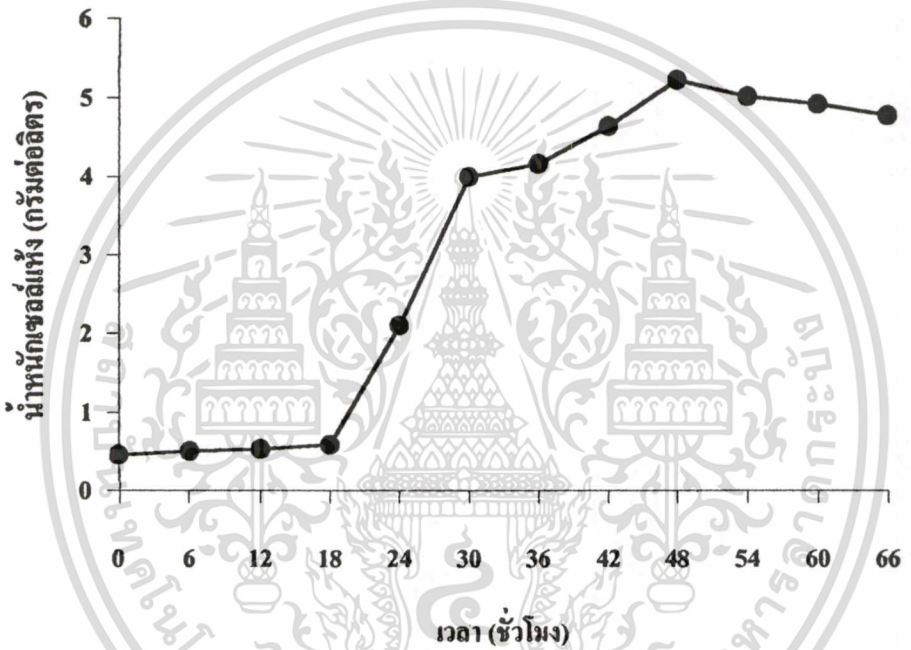
รูปที่ 4.19 ความเร็วรอบในการเขย่าที่เหมาะสมต่อปริมาณโปรตีนจากการเลี้ยงเชื้อผสมระหว่าง *E.fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.6 ผลการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวในระดับฟลาสก์

4.6.1 ผลการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวในระดับฟลาสก์ในสภาวะที่เหมาะสม

ทำการเลี้ยง *E. fibuligera* TISTR 5097 ร่วมกับ *C. utilis* TISTR 5046 ตามสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากการศึกษาในขั้นต้น วิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้ง พบว่า ในช่วง 18 ชั่วโมงแรกของการเพาะเลี้ยงปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อยีสต์เพิ่มขึ้นเล็กน้อย จากนั้นปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งจึงเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และในชั่วโมงที่ 48 มีปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด หลังจากนั้นการเจริญของเชื้อค่อนข้างคงที่ ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.20



รูปที่ 4.20 การเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อผสมระหว่าง *E. fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 เลี้ยงในสภาวะที่เหมาะสมในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลังในระดับฟลาสก์

4.6.2 ผลการศึกษาองค์ประกอบของโปรตีนเซลล์เดียวที่ผลิตได้ในสภาวะที่เหมาะสม

จากนั้นทำการวิเคราะห์องค์ประกอบของโปรตีนเซลล์เดียวที่ผลิตได้ พบว่าในสภาวะที่เหมาะสมมีน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 4.89 กรัมต่อลิตร ปริมาณโปรตีน 0.46 กรัมโปรตีนต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณไขมันร้อยละ 0.15 ความชื้นร้อยละ 2.3 และปริมาณเถ้าร้อยละ 7.49 ดังตารางที่ 4.12 ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของสุวิทย์ สุวรรณโณ (2538) ทำการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากน้ำนึ่งปลาทูน่าโดย *Candida tropicalis* TISTR 5136 พบว่ามีปริมาณโปรตีนร้อยละ 45 ปริมาณไขมันร้อยละ 1.0 และปริมาณความชื้นร้อยละ 4.2 และจากการรายงานของ Forage (1978) ซึ่งมีองค์ประกอบของเซลล์ *C. utilis* ที่เลี้ยงในน้ำเสียโรงงานทำขนม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พบว่าเชื้อให้ปริมาณโปรตีนร้อยละ 48.35 ปริมาณไขมันร้อยละ 1.35 และปริมาณความชื้นร้อยละ 8.9

ตารางที่ 4.12 องค์ประกอบของโปรตีนเซลล์เดียวที่ผลิตได้ในระดับฟลาสก์

องค์ประกอบของโปรตีนเซลล์เดียว	ความเข้มข้น
น้ำหนักเซลล์แห้ง	4.89 กรัมต่อลิตร
ปริมาณโปรตีน	0.46 กรัมโปรตีนต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง
ปริมาณไขมัน	ร้อยละ 0.15
ปริมาณความชื้น	ร้อยละ 2.30
ปริมาณเถ้า	ร้อยละ 7.49

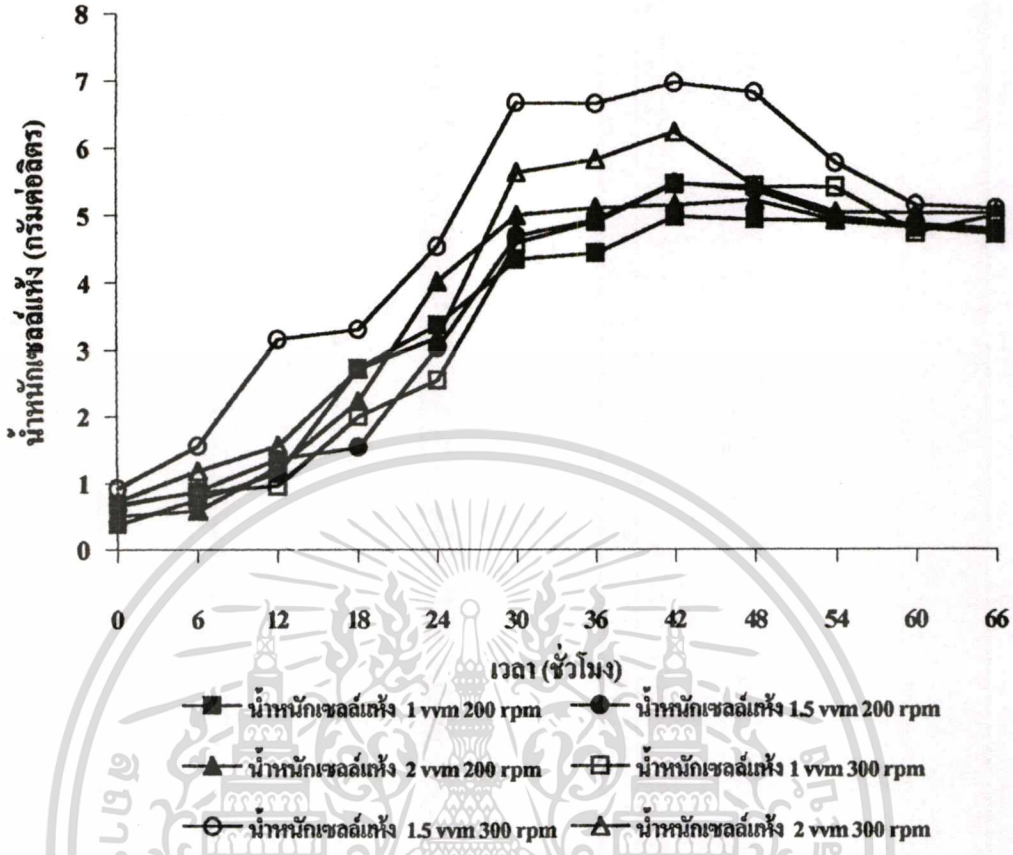
4.7 ผลการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวในถังหมักขนาด 5 ลิตร

จากการทดลองเลี้ยงเชื้อ *E. fibuligera* TISTR 5097 ร่วมกับ *C. utilis* TISTR 5046 ในอัตราส่วน 1 : 4 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยใช้น้ำแช่ข้าวโพดความเข้มข้นร้อยละ 1.3 เป็นแหล่งไนโตรเจน สภาวะที่ใช้ในการเลี้ยงคือ พีเอชเริ่มต้น 4.0 อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีการแปรผันอัตราการให้อากาศ 3 ระดับคือ 1.0 1.5 และ 2.0 ปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาที และแปรผันอัตราการกวน 200 และ 300 รอบต่อนาที พบว่า ในการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *E. fibuligera* TISTR 5097 ร่วมกับ *C. utilis* TISTR 5046 ที่อัตราการกวน 300 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 1.5 ปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาที มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด 6.97 กรัมต่อลิตร ที่เวลา 42 ชั่วโมง รองลงมาคืออัตราการให้อากาศ 2.0 และ 1.0 ปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาที โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 6.24 และ 5.46 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ สำหรับการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *E. fibuligera* TISTR 5097 ร่วมกับ *C. utilis* TISTR 5046 ที่อัตราการกวน 200 รอบต่อนาที มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเมื่อมีอัตราการให้อากาศ 1.5 ปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาที เท่ากับ 5.48 กรัมต่อลิตร ที่เวลา 42 ชั่วโมง รองลงมาคือ อัตราการให้อากาศ 2.0 และ 1.0 ปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาที โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 5.22 และ 4.98 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.21 และตารางที่ 4.13 จะเห็นว่า เมื่อเปรียบเทียบอัตราการให้อากาศที่ 1.0 1.5 และ 2.0 ปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาที พบว่าอัตราการให้อากาศ 1.5 ปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาที มีการผลิตน้ำหนักเซลล์แห้งสูงกว่าอัตราการให้อากาศที่ระดับ 2.0 และ 1.0 ปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาที และเมื่อเปรียบเทียบอัตราการกวนที่ 200 และ 300 รอบต่อนาที พบว่าที่อัตราการกวน 300 รอบต่อนาทีมีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงกว่าที่อัตราการกวน 200 รอบต่อนาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน พบว่า ที่อัตราการกวน 300 รอบต่อนาที มีอัตราการให้อากาศ 1.5 ปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาที มีปริมาณโปรตีนสูงสุดคือ 0.51 กรัมโปรตีนต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง รองลงมาคืออัตราการให้อากาศ 2.0 และ 1.0 ปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาที มีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 0.48 และ 0.47 กรัมโปรตีนต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง ตามลำดับ ส่วนที่อัตราการกวน 200 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 1.5 ปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาที มีปริมาณโปรตีนสูงสุดเท่ากับ 0.49 กรัมโปรตีนต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง รองลงมาคือที่อัตราการให้อากาศ 2.0 และ 1.0 ปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาที มีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 0.47 และ 0.44 กรัมโปรตีนต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง ตามลำดับ ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.22 และตารางที่ 4.13 ดังนั้น การเลี้ยง *E. fibuligera* TISTR 5097 ร่วมกับ *C. utilis* TISTR 5046 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยมีอัตราการให้อากาศ 1.5 ปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาทีและใช้อัตราการกวน 300 รอบต่อนาที มีการผลิตน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณโปรตีนสูงสุด จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติ พบว่าปัจจัยร่วม (อัตราการให้อากาศและอัตราการกวน)ไม่มีอิทธิพลร่วมกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของปริมาณโปรตีน โดยใช้วิธี DMRT อัตราการให้อากาศและอัตราการกวนมีอิทธิพลต่อปริมาณโปรตีนไม่แตกต่างกัน จากการทดลองของทิพรัตน์ หงภัทรคีรี (2534) ทำการเลี้ยง *Schwanniomyces castellii* B5285 โดยใช้แป้งมันสำปะหลังเป็นสับสเตรทในถังหมัก โดยแปรผันอัตราการให้อากาศ 0.83 1.33 และ 1.67 ปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาที ใช้อัตราการกวน 200 รอบต่อนาที พบว่า *Sch. castellii* B5285 มีอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด 0.045 ต่อชั่วโมง เมื่อให้อากาศ 1.67 ปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาที สามารถผลิตน้ำหนักเซลล์แห้ง 3.4 กรัมต่อลิตร ผลผลิตโปรตีน 5.55 กรัมต่อแป้ง 100 กรัม Natthanonworagan and Dissara (2003) ทำการเลี้ยง *Candida* sp. Y-47 โดยใช้ crude palm oil เป็นสับสเตรท ทำการเลี้ยงในถังหมัก แปรผันอัตราการให้อากาศ 0.5 1.0 และ 1.5 ปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาที พบว่า ที่อัตราการให้อากาศ 1.5 ปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาที มีผลในการผลิตชีวมวลแห้งสูงสุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

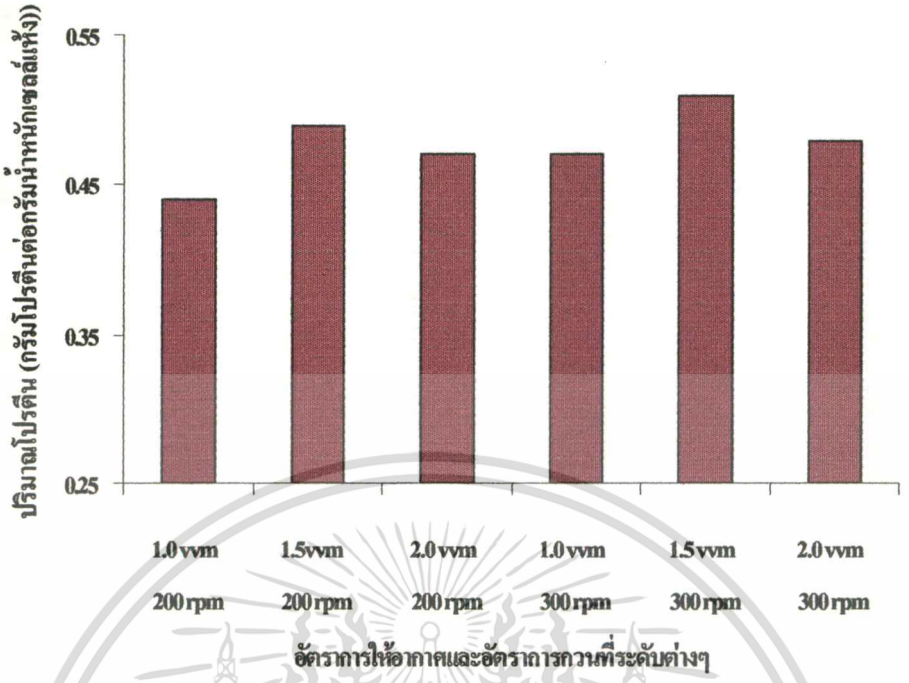


รูปที่ 4.21 การเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อผสมระหว่าง *E. fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง ที่อัตราการให้อากาศและอัตราการกวนที่ระดับต่างๆ ในถังหมักขนาด 5 ลิตร

ตารางที่ 4.13 ปริมาณโปรตีนและน้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อผสมระหว่าง *E. fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลังที่อัตราการให้อากาศและอัตราการกวนที่ระดับต่างๆ ในถังหมักขนาด 5 ลิตร

อัตราการให้อากาศและความเร็วรอบ (vvm,rpm)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณโปรตีน (กรัมโปรตีนต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)
1.0 vvm 200 rpm	4.98^{d}	0.44^{a}
1.5 vvm 200 rpm	5.48^{c}	0.49^{a}
2.0 vvm 200 rpm	5.22^{c}	0.47^{a}
1.0 vvm 300 rpm	5.46^{c}	0.47^{a}
1.5 vvm 300 rpm	6.97^{a}	0.51^{a}
2.0 vvm 300 rpm	6.24^{b}	0.48^{a}

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.22 ปริมาณโปรตีนของเชื้อผสมระหว่าง *E. fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลังที่อัตราการให้อากาศและอัตราการกวนที่ระดับต่างๆ ในถังหมักขนาด 5 ลิตร

4.8 ผลการศึกษาองค์ประกอบของโปรตีนเซลล์เดียวในถังหมักขนาด 5 ลิตร

จากการทดลองเลี้ยงเชื้อยีสต์ *E. fibuligera* TISTR 5097 ร่วมกับ *C. utilis* TISTR 5046 อัตราส่วน 1 : 4 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยใช้น้ำแช่ข้าวโพดความเข้มข้นร้อยละ 1.3 เป็นแหล่งไนโตรเจน สภาวะที่ใช้ในการเลี้ยงคือ พีเอชเริ่มต้น 4.0 อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบว่าที่อัตราการให้อากาศ 1.5 ปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาที อัตราการกวน 300 รอบต่อนาที เมื่อนำมาวิเคราะห์องค์ประกอบของโปรตีนเซลล์เดียวที่ได้คือ น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณโปรตีน ปริมาณไขมัน ความชื้นและปริมาณเถ้า ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.14

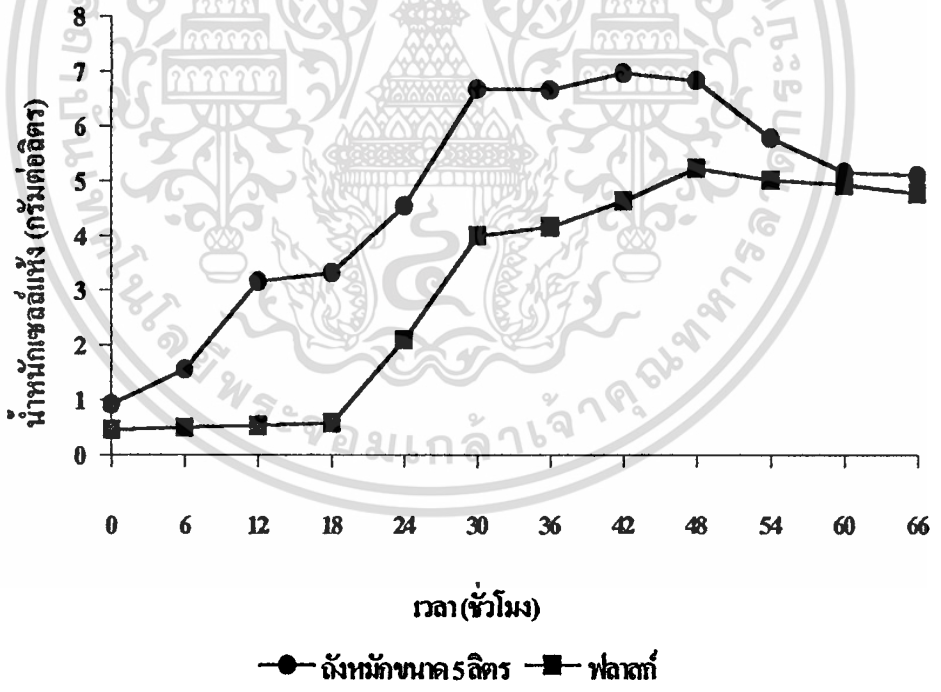
ตารางที่ 4.14 องค์ประกอบของโปรตีนเซลล์เดียวในถังหมักขนาด 5 ลิตร

องค์ประกอบของโปรตีนเซลล์เดียว	ความเข้มข้น
น้ำหนักเซลล์แห้ง	6.97 กรัมต่อลิตร
ปริมาณโปรตีน	0.51 กรัมโปรตีนต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง
ปริมาณไขมัน	ร้อยละ 0.33
ปริมาณความชื้น	ร้อยละ 5.16
ปริมาณเถ้า	ร้อยละ 7.47

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.9 เปรียบเทียบการผลิตน้ำหนักเซลล์แห้งจากอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อผสมระหว่าง *E. fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 ในระดับฟลาสก์และถังหมัก

จากการเลี้ยงเชื้อผสมระหว่าง *E. fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 ตามสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากการศึกษาในขั้นต้นในระดับฟลาสก์และถังหมัก พบว่า ในระดับฟลาสก์มีการผลิตน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด 5.22 กรัมต่อลิตร ที่ 48 ชั่วโมง ขณะที่การเลี้ยงในถังหมักในสภาวะที่เหมาะสม ซึ่งมีอัตราการให้อากาศ 1.5 ปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาที อัตราการกวน 300 รอบต่อนาที จะให้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด 6.97 กรัมต่อลิตร ที่ 42 ชั่วโมง สำหรับปริมาณโปรตีนมีค่าใกล้เคียงกันทั้งในระดับฟลาสก์และถังหมัก ดังนั้นการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลังในระดับถังหมัก จะให้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงกว่าและใช้เวลาในการผลิตน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดน้อยกว่าในระดับฟลาสก์คือจาก 48 ชั่วโมง ลดลงเป็น 42 ชั่วโมง ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.23



รูปที่ 4.23 การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อผสมระหว่าง *E. fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลังในระดับฟลาสก์และถังหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

1. จากการศึกษาอัตราการเจริญของ *E. fibuligera* TISTR 5097 ในอาหาร yeast starch พบว่า เชื้อ *E. fibuligera* TISTR 5097 มีการเจริญสูงสุดที่ 42 ชั่วโมง มีปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง 2.66 กรัมต่อลิตร และมีอัตราการเจริญจำเพาะ(μ) 0.07 ต่อชั่วโมง เมื่อทำการเลี้ยง *E. fibuligera* TISTR 5097 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง เชื้อ *E. fibuligera* TISTR 5097 มีการเจริญสูงสุดที่ 30 ชั่วโมง มีปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง 2.96 กรัมต่อลิตร และมีอัตราการเจริญจำเพาะ(μ) 0.08 ต่อชั่วโมง

จากการศึกษาอัตราการเจริญของ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหาร yeast starch พบว่า เชื้อ *C. utilis* TISTR 5046 มีการเจริญสูงสุดที่ 18 ชั่วโมง มีปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง 0.98 กรัมต่อลิตร และมีอัตราการเจริญจำเพาะ (μ) 0.05 ต่อชั่วโมงและไม่สามารถย่อยแป้งได้ เมื่อทำการเลี้ยง *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง เชื้อ *C. utilis* TISTR 5046 มีการเจริญสูงสุดที่ 36 ชั่วโมง มีปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง 2.82 กรัมต่อลิตร และมีอัตราการเจริญจำเพาะ (μ) 0.03 ต่อชั่วโมง

ดังนั้น จะเห็นว่าในอาหาร yeast starch และอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง เชื้อ *E. fibuligera* TISTR 5097 สามารถผลิตปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งได้สูงกว่า *C. utilis* TISTR 5046 และสามารถย่อยแป้งได้ดีกว่า *C. utilis* TISTR 5046

2. การศึกษาเวลาในการเติม *C. utilis* TISTR 5046 ภายหลังการเลี้ยง *E. fibuligera* TISTR 5097 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง และอัตราส่วนของ *E. fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 พบว่า ทำการเลี้ยง *E. fibuligera* TISTR 5097 เป็นเวลา 18 ชั่วโมง จึงเติม *C. utilis* TISTR 5046 โดยใช้อัตราส่วนของ *E. fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 เท่ากับ 1 : 4 ทำให้มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด 3.28 กรัมต่อลิตร

3. ผลการศึกษาสภาวะต่างๆ ที่เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวในระดับฟลาสก์ พบว่า เมื่อใช้น้ำแช่ข้าวโพดความเข้มข้นร้อยละ 1.3 เป็นแหล่งไนโตรเจน มีปริมาณโปรตีนสูงสุด คือ 0.46 กรัมโปรตีนต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 จากอาหารที่เติมยีสต์สกัด เปปโตน แอมโมเนียมซัลเฟตและไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ปรับพีเอชเริ่มต้นของอาหารเป็น 4.0 มีการผลิตน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณโปรตีนสูงสุด มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 จากอาหารที่ปรับค่าพีเอชเริ่มต้น 3.0 3.5 4.5 5.0 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 อุณหภูมิที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว 25 องศาเซลเซียส ซึ่งมีน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณโปรตีนสูงกว่าที่อุณหภูมิ 20 30 และ 35 องศาเซลเซียสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 การเลี้ยงเชื้อ *E. fibuligera* TISTR 5097 ร่วมกับ *C. utilis* TISTR 5046 ในอาหารน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง ในสภาวะการเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที มีปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณโปรตีนสูงกว่าสภาวะในการเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 และ 200 รอบต่อนาทีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อทำการเลี้ยงเชื้อ *E. fibuligera* TISTR 5097 ร่วมกับ *C. utilis* TISTR 5046 ตามสภาวะที่เหมาะสมดังกล่าว พบว่ามีน้ำหนักเซลล์แห้ง 4.89 กรัมต่อลิตร และมีองค์ประกอบของโปรตีนเซลล์เดียวที่ผลิตได้คือ มีปริมาณโปรตีน 0.46 กรัมโปรตีนต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณไขมันร้อยละ 0.15 ความชื้นร้อยละ 2.3 และปริมาณเถ้าร้อยละ 7.49

4. จากการเลี้ยงเชื้อ *E. fibuligera* TISTR 5097 ร่วมกับ *C. utilis* TISTR 5046 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยใช้น้ำแช่ข้าวโพดความเข้มข้นร้อยละ 1.3 เป็นแหล่งไนโตรเจน ค่าพีเอชเริ่มต้น 4.0 อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยศึกษาการให้อากาศและอัตราการกวน พบว่าอัตราการให้อากาศ 1.5 ปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาที อัตราการกวน 300 รอบต่อนาที มีการผลิตน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณโปรตีนสูงสุด และมีองค์ประกอบของโปรตีนเซลล์เดียวที่ผลิตได้คือ มีปริมาณโปรตีน 0.51 กรัมโปรตีนต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณไขมันร้อยละ 0.33 ความชื้นร้อยละ 5.16 และปริมาณเถ้าร้อยละ 7.47

จากการเลี้ยงเชื้อ *E. fibuligera* TISTR 5097 ร่วมกับ *C. utilis* TISTR 5046 ตามสภาวะที่เหมาะสมทั้งในระดับฟลาสก์และระดับถังหมัก พบว่า มีการผลิตปริมาณโปรตีนใกล้เคียงกัน แต่ในระดับถังหมักมีการผลิตน้ำหนักเซลล์แห้งสูงกว่าและใช้เวลาในการผลิตน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดน้อยกว่าในระดับฟลาสก์คือจาก 48 ชั่วโมง ลดลงเป็น 42 ชั่วโมง

ข้อเสนอแนะ

1. จากการวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลัง พบว่ามีปริมาณแป้งในน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลังน้อยมาก ดังนั้นควรมีการเติมแป้งเพิ่มเพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอน

2. การใช้น้ำแช่ข้าวโพดเป็นแหล่งไนโตรเจน ถ้าสามารถใช้น้ำแช่ข้าวโพดที่ได้จากกระบวนการผลิตโดยตรงได้ จะเป็นการลดค่าใช้จ่ายและปริมาณของเสียที่เกิดจากกระบวนการผลิต

3. โปรตีนเซลล์เดียวที่ผลิตได้ควรมีการพัฒนาต่อไป เพื่อนำไปผลิตเป็นอาหารสัตว์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

กล้าณรงค์ ศรีรอต. 2543. **เทคโนโลยีของแป้ง.** ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรม-เกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

กำเนิด สุภัณวงษ์. 2534. **จุลชีวอุตสาหกรรม.** ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

เจริญศักดิ์ โรจนฤทธิ์พิเชษฐ์. 2519. มันสำปะหลัง. ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัย-เกษตรศาสตร์.

จำลอง เจียมจำนรรจา. 2541. **พฤษศาสตร์ พืชเศรษฐกิจ.** ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ฐานความรู้ด้านการเกษตร กรมวิชาการเกษตร.// "สถานการณ์การผลิตและการตลาด."// (online).//Availble:http://www.doa.go.th/data-agri/CASS/1Stat/st02.html. 2003.

ดวงพร คันธโชติ. 2530. **จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม : ผลิตภัณฑ์จากจุลินทรีย์.** โอ เอส พริ้นเฮ้าส์. กรุงเทพฯ.

ดุษณี ธนะบริพัฒน์. 2537. จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม. ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ทิพรัตน์ หงภัทรคีรี. 2534. การเสริมโปรตีนในมันสำปะหลังโดยใช้ยีสต์ ***Schwanniomyces castellii.*** วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ปรเมศร์ ล้ำประเสริฐ และพรศักดิ์ ต่างประภา. 2538. **การศึกษาการผลิตซิมบายีสต์ในระดับ semi-pilot จากแป้งมันสำปะหลัง.** ปัญหาพิเศษวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

พวงเพชร นรินทราพร. 2538. **มันสำปะหลัง.** สถาบันวิจัยพืชไร่ กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

มนตรี เพ็ชรทองคำ. 2536. **พืชเศรษฐกิจ.** ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เล หว่าง เจี๋ยญ. 2537. **การผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากมันสำปะหลังโดยยีสต์ผสมระหว่าง *Endomycopsis fibuligera* และ *Candida utilis*.** วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วราวุฒิ ครูส่ง. 2529. **เทคโนโลยีชีวภาพ.** ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

สมใจ ศิริโภค. 2544. **จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม.** ศูนย์ส่งเสริมกรุงเทพฯ

สุวิทย์ สุวรรณโณ. 2539. การผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากน้ำนึ่งปลาทูน่าโดย *Candida tropicalis* TISTR 5136. **วารสารสงขลานครินทร์ วทท.** 18 (1) : 43-48.

A.O.A.C. 1980. **Official method of analysis,**16 Edition Washington D.C.,The Association of Official Analysis Chemist.

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

Azoulay, E., Jouanneau, F., Bertrand, J.C., Raphael, A., Janssens, J and J.M. Lebeault. 1980. Fermentation methods for protein enrichment of cassava and corn with *Candida tropicalis*. **Appl. Environ. Microbiol.** 39 (1) : 41 - 47.

Barnett, J.A., R.W. Payne, and D. Yarrow. 2000. **Yeasts : Characteristics and identification.** Third edition. Cambridge University press.

Boonaeksap, S., Chaisawadi, S., Tia, S and C. Nuengchaknin. " Starch extraction from cassava root."Online).Avaible:http://www.kmutt.ac.th/organization/Research/Intellect/prog17t.htm. 2003.

Burrows, S. 1979. Baker's yeast.In: Rose AH(ed) **Microbial biomass.** Academic Press, London, P 32.

Cleanthis."Nutrition-Single Cell Protein, Twenty Years Later. "(Online). Availble: http:// www. business.hol.gr/~bio/HTML/PUBS/Vol 1/isreali.htm. 2002.

Debaere, H. 1999. Starch policy in the European Community. **Starch/Stärke.** 51 : 189 - 193.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Forage, A.T. 1978. Recovery of yeast from confectionary effluent. **Process Biotechnol.** 15: 150 - 160.

Gaden EL. Jr. 1974. Substrates for SCP production. **In : DAVIS single cell protein.** Acadamic press, London.

Guilliermond, A., and F.W. Tanner. 1920. **The yeasts.** Wiley and Sons, New York.

Hussein, A.M., Elaside, H. and M.H Yasin. 1992. Bioconversion of Hull Black Liquor into Single Cell Protein. **J. Chem. Technol. Biotechnol.** 53 : 147 - 152.

http://www.foodmarketexchange.com/dalacenter/product/feedstuff/tapioca/0402.htm.2003

Jin., B., J. Leeuwen., and B. Patel. 1999a. Mycelium morphology and fungal protein production from starch processing wastewater in submerged cultures of *Aspergillus oryzae*. **Process Biochem.** 34 : 335 - 340.

Jin., B., J. Leeuwen., B. Patel, and Q. Yu. 1999b. Screening and selection of microfungi for microbial biomass protein production and water reclamation from starch processing wastewater. **J. Chem. Technol. Biotechnol.** 74 : 106 - 110.

Jin., B., J. Leeuwen., B. Patel.,H.W. Doelle and Q. Yu. 1999c. Production of fungal protein and glucoamylase by *Rhizopus oligosporus* from starch processing wastewater. **Process Biochem.** 34 : 59 - 65.

Kreger-van N.J.W. Rij. 1984. **The yeast a taxonomic study.** Third revised and enlarged Edition, Elsevier Science Publishers B.V. Amterdam.

Laochareonsuk, S., T. Laochareonsu., K. Longnapa.,J. Bamrungrat., P. Maneechote., and P. Suktongkaew. " Nutritional improvement of sago palm pith meal as poultry feed by using some microorganisms."(Online).Availble:http://www.clib.psu.ac.th/acad_42/lsoml.htm. 2001.

Lindner,P. 1907. *Endomyces fibuliger* n.sp.,ein neuer Gärungspilz und Erzeuger der sog. Kreidekrankheit des Brotes. Wochschr. Brau. 24 : 469 - 474.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lowry, O.H., Rosebrough, M.J., and R.J Randall. 1951. Protein Measurement with Folin Phenol Reagent. **J. Biol. Chem.** 193 : 265 - 275.

Ministry of Agriculture and Co-Operatives(MOAC):**Agricultural Statistics of Thailand :Crop** Year 1997-98. Agricultural Statistics No.31/2542. Center for Agricultural Information,Office of Agricultural Economics, MOAC. G.N.T. Publisher Ltd. Partnership, Bangkok.

Moreton, R.S. 1978. Growth of *Candida utilis* on enzymatically hydrolysed potato waste. **J. Appl. Microbiol. Biotechnol.** 15 : 232 - 236.

Natthanonworagan, K., and Y. Dissara. 2003 Protein production by *Candida* sp. Y47 from palm oil. The 14th annual meeting of the Thai Society for Biotechnilogy "Biotechnology for better Living in the New Economy"

Nelson,N. 1944. A Photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. **J. Bacteriol.** 48 : 413 - 427.

Nigam,P. 1994. Process selection for Protein-enrichment : Fermentation of the sugar industry by-products Molasses and sugar beet pulp. **Process Biochem.** 29 : 337 - 342.

Noonai,A. and T.W Flegel . 1981. Biomass production from acid hydrolysate of spent sulfite liquor. In:Taguchi H (ed) **Microbial Utilization of Renewable Resources** II. Osaka university, Osaka.

Oteng,K., G. Moulin and P. Galzy. 1980. Influence of amylase excretion on biomass production by amylolytic yeasts. **Acta Microbiol. Acad. Sci. Hung.** 27 : 155 - 159.

Pandey,A., P. Selvakumar and L. Ashakumary. 1994. Glucoamylase production by *Aspergillus niger* on rice bran is improved by adding nitrogen sources. **J. Microbiol. Biotechnol.** 10 : 348 - 349.

Pessoa,A.,I.M. Mancilha, and S. Sato. 1996. Cultivation of *Candida tropicalis* in sugar cane hemicellosic hydrolysate for microbial protein production. **J. Biotechnol.** 51 : 83 - 88

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Podjana Chumkhunthod. "Bioconversion of Cassava and Its Waste from Topioca Production for Animal Feed".(Online).Avaible:http://www.sut.ac.th//agritech/cybertool/Gibbresearch/review.html. 2002.

Reade,A.E., and K.F. Gregory. 1975. High Temperature Production of Protein-Enriched Feed from cassava by fungi. **Appl. Microbiol.** 30 (6) : 897 - 904.

Reed, G and T.W. Nagodawithana. 1991. **Yeast Technology.** 2nd ed. New York : Van Nostrand Reinhold.

Richad, K Robinson., Carl A. Batt, and Pradip D. Patel. 2000. **Encyclopedia of food microbiology.**V3 Academic press.

Rhodes, A., and DL. Fletcher. 1975. **Principles of industrial microbiology**. Pergamon Press, Oxford.

Romantschuk, H. 1975. The Pekilo process. Protein from spent sulfite liquor. In Tannenbaum SR, Wang DIC(eds) **Single cell Protein II**.MIT Press, Cambridge, MA.

Rose, A.H. 1981. The Microbiological production of food and drink. Scientific American Sept.pp. 95-104.

Sriroth, K.,S. Wanlatit., S.Chotineeranat., K.Pitachomkwan., and C.G. Oates. 2000. Cassava Starch Technology : The Thai Experience. **Starch/Stärke.** 52 : 439 - 449.

Stevens,C.A., and K.F Gregory. 1987. Production of microbial biomass protein from potato processing wastes by *Cephalosporium eichhorniae*. **Appl. Environ. Microbiol.** 53 : 284 - 291.

Skogman, H. 1976. Production of symba yeast from potato wastes. In:Birch GG, Parker KJ, Worgan JT (eds) Food from waste. **Applied Science**, London, P167.

Trien, L.H.,P. Tassakorn., S. Chavadej., T. Vitidsand and P. Piumsomboon . 2000. Production of Single Cell Protein from Cassava by Mixed Culture of *Endomycopsis fibuligera* TISTR 5097 *and Candida utilis* TISTR 5001. **J. Sci. Res. Chula. Univ.** 25(1) : 137 - 143.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Touzi, A., J.P. Prebois., G.Moulin., F. Deschamps., and P. Galzy. 1982. Production of food yeast from starchy substrates. **European J. Appl. Microbiol. Biotechnol.** 15 : 232 - 236.

White, P.S., Handler and E.L. Smith. 1964. **Principles of Biochemistry.** 3rd ed.McGraw Hill.

Wickerham,L.J., L.B.Lockwood.,O.G.Pettijohn., and G.E.Ward. 1944. Starch hydrolysis and fermentation by the yeast *Endomycopsis fibuliger*. **J. Bacteriol.** 48 : 413 - 427.

Wickerham and Kuchner. 1956. (U.S.Patent, 2, 764.487, Semtember.)

Yeehn, Y. 1996. Single Cell Protein of *Rhodotorula* sp. Y-38 from ethanol, acetic acid and acetaldehyde. **Biotechnol. Lett.** 18(4) : 411 - 416.

Zee,J.A. and R.E Simard. 1974. Simple process for the reduction in the nucleic acid content in yeast. **Appl. Microbiol.** 29(1) : 59 - 62.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
อาหารเลี้ยงเชื้อและวิธีการเตรียม

1. YM broth

ยีสต์สกัด (yeast extract)	3	กรัม
มอลท์สกัด (malt extract)	3	กรัม
เปปโตน (peptone)	5	กรัม
กลูโคส (glucose)	10	กรัม
น้ำกลั่น (distilled water)	1	ลิตร

pH 5.8

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร นำไปปรับพีเอช จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

2. YM agar

ยีสต์สกัด (yeast extract)	3	กรัม
มอลท์สกัด (malt extract)	3	กรัม
เปปโตน (peptone)	5	กรัม
กลูโคส (glucose)	10	กรัม
วุ้น (agar)	15	กรัม
น้ำกลั่น (distilled water)	1	ลิตร

pH 5.8

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร นำไปปรับพีเอช จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

3. yeast starch

ยีสต์สกัด (yeast extract)	2	กรัม
soluble starch	10	กรัม
น้ำกลั่น (distilled water)	1	ลิตร

pH 7.3

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร นำไปปรับพีเอช จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. วิธีการเตรียมอาหารน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลัง

นำน้ำทิ้งมากรองด้วยผ้าขาวบางเพื่อแยกกากขนาดใหญ่ออก จากนั้นนำไปกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 นำน้ำทิ้งที่กรองแล้วมาเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำทิ้ง

1. ค่าพีเอช (APHA,AWWA and WPCF,1992)

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องวัดพีเอช (pH meter)
2. น้ำกลั่น
3. สารละลายพีเอชมาตรฐาน พีเอช 4.0, 7.0 และ 10.0

วิธีวิเคราะห์

1. ใช้น้ำกลั่นฉีดล้างแท่งแก้วอิเล็คโทรดให้สะอาดใช้กระดาษทิชชูซับน้ำให้แห้ง
2. ปรับเครื่องวัดพีเอชให้ได้ค่ามาตรฐานตามคำแนะนำในคู่มือของเครื่องวัดค่าพีเอชโดยใช้สารละลายพีเอชมาตรฐานที่มีค่าพีเอชใกล้เคียงกับพีเอชของตัวอย่างน้ำ
3. ฉีดล้างแท่งอิเล็คโทรดด้วยน้ำกลั่นอีกครั้ง ซับน้ำให้แห้ง
4. นำแท่งอิเล็คโทรดจุ่มลงในตัวอย่างน้ำ วัดค่าพีเอชและจดบันทึกไว้
5. เมื่อวัดค่าเสร็จแล้ว ล้างหัวอิเล็คโทรดให้สะอาดด้วยน้ำกลั่นอีกครั้งหนึ่ง

2. สารแขวนลอย (Suspended solids, SS) (APHA, AWWA and WPCF, 1992)

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. กระดาษกรองใยแก้ว (whatman GF/C) เส้นผ่าศูนย์กลาง 4.7 เซนติเมตร
2. กรวยกรอง (buchner funnel) ความจุ 100 มิลลิลิตร
3. เครื่องดูดอากาศ (suction pump)
4. เตาอบแห้ง
5. โถดูดความชื้น (desiccator)
6. เครื่องชั่งอย่างละเอียด

วิธีวิเคราะห์

1. อบกระดาษกรองใยแก้วในเตาอบแห้งที่อุณหภูมิ 103-105 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง ทำให้เย็นในเดซิเคเตอร์ แล้วชั่งน้ำหนักกระดาษกรอง
2. เลือกปริมาตรน้ำตัวอย่างที่จะให้ค่าของแข็งแขวนลอยน้อยที่สุดประมาณ 2.5 มิลลิกรัม (ไม่รวมน้ำหนักใยแก้ว)
3. วางกระดาษกรองลงในกรวยที่ต่อเข้ากับเครื่องดูดอากาศ
4. ใช้น้ำกลั่นฉีดกระดาษกรองให้เปียกเพื่อให้ติดแน่นกับกรวย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. เทตัวอย่างน้ำปริมาตรตามต้องการผ่านกระดาษกรองโดยอาศัยแรงดูดจากเครื่องดูดอากาศ

6. ใช้น้ำกลั่นฉีดล้างของแข็งที่ติดอยู่ข้างกรวยและรอจนกว่าจะแห้ง

7. ปิดเครื่องดูดอากาศ ใช้ปากคีบ คีบกระดาษกรองใส่ภาชนะทนไฟ เช่น จานเพาะเชื้อถ้วยอะลูมิเนียม หรือกระจกนาฬิกา นำไปอบในตู้อบแห้งที่อบอุณหภูมิ 103-105 องศาเซลเซียส จนกว่าจะแห้ง ใช้เวลาประมาณ 1ชั่วโมง

8. ทิ้งให้เย็นเท่าอุณหภูมิห้องในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนักกระดาษกรอง

การคำนวณ

สารแขวนลอย (มิลลิกรัมต่อลิตร) = $\frac{\text{น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (B-A) X 1,000}}{\text{ปริมาตรตัวอย่างน้ำ (มิลลิลิตร)}}$

A = น้ำหนักกระดาษกรองก่อนอบ

B = น้ำหนักกระดาษกรองหลังอบ

3. ของแข็งทั้งหมด (Total solids,TS) (APHA,AWWA and WPCF,1992)

เครื่องมือและอุปกรณ์

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

วิธีวิเคราะห์

1. นำจานระเหยไปอบให้แห้งและมีน้ำหนักคงที่ในตู้อบแห้ง อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์และชั่งหาน้ำหนักของจานระเหย

2. เลือกใช้ปริมาตรตัวอย่างน้ำที่เหมาะสม (50-100 มิลลิลิตร)

3. ค่อยๆรินตัวอย่างน้ำที่ต้องการลงในจานระเหย นำไปตั้งบนเครื่องอังไอน้ำ เมื่อน้ำระเหยหมด นำจานไปอบที่อุณหภูมิ 103-105 องศาเซลเซียส จนแห้งและน้ำหนักคงที่ ทำให้เย็นในเดซิเคเตอร์

4. ชั่งหาน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นคือน้ำหนักของของแข็งทั้งหมด

ของแข็งทั้งหมด (มิลลิกรัมต่อลิตร) = $\frac{\text{น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (B-A) X 1,000}}{\text{ปริมาตรตัวอย่างน้ำ (มิลลิลิตร)}}$

A = น้ำหนักจานระเหยก่อนอบ

B = น้ำหนักจานระเหยหลังอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ซีโอดี (Chemical Oxygen Demand) (APHA, AWWA and WPCF, 1992)

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. ขวดก้นกลมขนาด 250 มิลลิลิตร
2. เครื่องควบแน่น (condenser)
3. เตาไฟฟ้า
4. บิวเรตต์ ขนาด 50 มิลลิลิตร

สารเคมี

1. กรดซัลฟิวริกเข้มข้น ละลายซิลเวอร์ซัลเฟต ($AgSO_4$) 22 กรัม ลงในกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1 ขวด ซึ่งมีน้ำหนัก 4 กิโลกรัม (ต้องใช้เวลาในการละลาย 1-2 วัน)

2. สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต ($K_2Cr_2O_7$) 0.0417 M สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต ซึ่งอบให้แห้งที่ 103 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หนัก 12.259 กรัม ลงในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

3. สารละลายมาตรฐานเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟตไทเทรนท์ เข้มข้น 0.25 M ละลายเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟต ($Fe(NH_4)_2 \cdot 6H_2O$) ชนิด เออาร์ 98 กรัม ในน้ำกลั่น เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 20 มิลลิลิตร ทำให้เย็น แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

4. สารละลายเฟอร์โรอินอินดิเคเตอร์

5. เมอร์คิวรีซัลเฟต ($HgSO_4$) ชนิดผง ใช้กำจัดหมู่คลอไรด์

6. กรดซัลฟามิก เอ อาร์ ใช้กำจัดไนไตรท์

การหาความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟต

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

การคำนวณ

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

วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งเมอร์คิวรีซัลเฟต 0.4 กรัม ใส่ลงในขวดก้นกลม

2. เติมตัวอย่างน้ำที่ต้องการวิเคราะห์ 20 มิลลิลิตร หรือส่วนของตัวอย่างน้ำที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 20 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. เติมสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต 10 มิลลิลิตร ค่อยๆเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้นที่มีซิลเวอร์ซัลเฟตเจือปนอยู่ลงไป 30 มิลลิลิตร ใส่ลูกแก้ว (glass beads) ลงไป 5-6 เม็ด เพื่อป้องกันเกิดการเดือดอย่างรุนแรง

4. เขย่าสารละลายทั้งหมดนี้ให้เข้ากันดี นำขวดต่อเข้ากับเครื่องควบแน่น กลั่นเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็น ล้างเครื่องควบแน่นด้วยน้ำกลั่นก่อนที่จะถอดเครื่องควบแน่นออกจากขวดก้นกลม

5. ทำส่วนผสมให้เจือจางด้วยน้ำกลั่น จนมีปริมาตร 150 มิลลิลิตร ทำให้เย็นลงเท่ากับอุณหภูมิห้อง แล้วจึงไทเทรตหาปริมาณของไดโครเมตที่มากเกินพอด้วยสารละลายมาตรฐานเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟต โดยใช้เฟอร์โรอินเป็นอินดิเคเตอร์ ใช้ไป 2-3 หยด จนกระทั่งสีของส่วนผสมเปลี่ยนจากสีน้ำเงินอมเขียวไปเป็นสีน้ำตาลแดง แสดงว่าถึงจุดยุติ

6. การทำแบลงก์ควรทำไปพร้อมกับตัวอย่าง ใช้น้ำกลั่น 20 มิลลิลิตรแทนตัวอย่าง เติมรีเอเจนต์ต่างๆที่ใช้และทำการรีฟลักซ์เช่นเดียวกับตัวอย่างทุกประการ

การคำนวณ

$$\text{ซีโอดี (มิลลิกรัมต่อลิตร)} = \frac{(A-B) \times C \times 8000}{\text{ปริมาตรตัวอย่างน้ำ (มิลลิลิตร)}}$$

A = มิลลิลิตรของสารละลายเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้กับแบลงค์

B = มิลลิลิตรของสารละลายเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้กับตัวอย่างน้ำ

C = โมลาริตี (M) ของสารละลายเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟต

5. บีโอดี (Biochemical Oxygen Demand) (APHA,AWWA and WPCF,1992)

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. ขวดบีโอดีขนาด 300 มิลลิลิตร มีจุกปิดสนิท
2. ตู้อบอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส
3. บิวเรตต์ขนาด 50 มิลลิลิตร
4. ฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลตร
5. กระบอกตวงขนาด 1000 มิลลิลิตร

สารเคมี

1. สำหรับเตรียมน้ำที่ใช้เจือจาง

1.1 น้ำกลั่นบริสุทธิ์

1.2 สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ละลายโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8.5 กรัม ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4) 21.75 กรัม ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ($Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$) 33.4 กรัม และแอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl) 1.7 กรัม ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

1.3 สารละลายแมกนีเซียมซัลเฟต ละลายแมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) 22.5 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

1.4 สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ละลายแคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$) ที่อบแห้งแล้ว 27.5 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

1.5 สารละลายเฟอริกคลอไรด์ ละลายไอร์ออน (III) คลอไรด์ ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$) 0.25 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

1.6 สารละลายกรดเข้มข้น 1 นอร์มอล และสารละลายด่างเข้มข้น 1 นอร์มอล เพื่อใช้ปรับพีเอช

2.สำหรับวิเคราะห์ออกซิเจนที่ละลายในน้ำ

2.1 สารละลายแมงกานีสซัลเฟต ละลายแมงกานีสซัลเฟต ($MnSO_4 \cdot 4H_2O$) 480 กรัม หรือแมงกานีสซัลเฟต ($MnSO_4 \cdot 2H_2O$) 400 กรัม ในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

2.2 สารละลายอัลคาไล-ไอโอไดด์-เอไซด์ (Alkali-iodide-azide reagent หรือ AIA) ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 500 กรัม และโซเดียมไอโอไดด์ (NaI) 135 กรัม ในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร จากนั้นเติมโซเดียมเอไซด์ (NaN_3) 10 กรัม ซึ่งละลายในน้ำกลั่น 40 มิลลิลิตรลงในสารละลายข้างต้น

2.3 กรดซัลฟูริกเข้มข้น

2.4 น้ำแป้ง ละลายแป้ง (soluble starch) 2 กรัมในน้ำกลั่นที่ร้อน 100 มิลลิลิตร เติมซาลิไซลิก 0.2 กรัม เพื่อให้เก็บไว้ได้นาน

2.5 สารละลายมาตรฐาน โซเดียมไทโอซัลเฟต 0.025 M ละลายโซเดียมไทโอซัลเฟต ($Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$) 6.205 กรัม ในน้ำกลั่น เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 6 M จำนวน 1.5 มิลลิลิตร หรือโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.4 กรัม แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร เก็บไว้ในขวดสีชา สารละลายนี้ต้องนำมาหาความเข้มข้นที่แน่นอนด้วยสารละลายมาตรฐานไบไอโอเดต

2.6 สารละลายมาตรฐานไบไอโอเดต 0.0021 M ละลายโพแทสเซียมไฮโดรเจนไบไอโอเดต ($KH(IO_3)_2$) 812.4 มิลลิกรัม ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

2.7 สารละลายโซเดียมซัลไฟต์ 0.0125 M ละลายแอนไฮดรัสโซเดียมซัลไฟต์ (Na_2SO_3) 1.575 กรัม ในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร สารละลายนี้ต้องเตรียมใหม่ก่อนใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การหาความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟต

ละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ (KI) 2 กรัม ด้วยน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตรในฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 2-3 หยด และสารละลายมาตรฐานไบไอโอเดต 20 มิลลิลิตร ทำให้เจือจางเป็น 200 มิลลิลิตร ไทเทรตไอโอดีนที่เกิดขึ้นด้วยสารละลายไทโอซัลเฟตที่เตรียมไว้ เติมน้ำแป้งเมื่อสารละลายมีสีเหลืองอ่อน ไทเทรตจนสีน้ำเงินหายไป ถ้าสารละลายมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟตมีความเข้มข้น 0.025 M ปริมาตรที่ใช้ในการไทเทรตจะเท่ากับ 20 มิลลิลิตร ถ้าความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟตไม่ได้ดังกล่าวให้ปรับความเข้มข้นเท่ากับ 0.025 M

3. วิธีวิเคราะห์

3.1 การเตรียมน้ำสำหรับใช้เจือจาง

3.1.1 ตวงน้ำกลั่นให้มีปริมาตรมากกว่าที่ใช้ใส่ขวดหรือภาชนะที่สะอาด

3.1.2 เป่าอากาศเพื่อเพิ่มปริมาณออกซิเจนในน้ำอย่างน้อย 1 ชั่วโมง

3.1.3 เติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ แมกนีเซียมซัลเฟต แคลเซียมคลอไรด์ และเฟอริกคลอไรด์ตามลำดับ ใช้สารละลายแต่ละชนิด 1 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 1ลิตร

3.2 การเตรียมตัวอย่างน้ำที่จะใช้วิเคราะห์ค่าบีโอดี

3.2.1 ตัวอย่างน้ำที่มีความเข้มข้นสูงจำเป็นต้องทำให้ตัวอย่างน้ำเจือจางลง เลือกร้อยละตัวอย่างในการเจือจางที่คาดว่าจะให้ค่าบีโอดีอยู่ในช่วงที่กำหนดและเลือกร้อยละตัวอย่างที่เจือจางสูงกว่าและต่ำกว่าที่อยู่ติดกันอีก 2 ขั้น ดังนั้นจึงควรรู้ค่าบีโอดีโดยประมาณซึ่งอาจหาได้จากค่าซีโอดี (ประมาณร้อยละ 60 ของซีโอดี)

3.2.2 ค่อยๆรินน้ำเจือจาง 300-500 มิลลิลิตร ลงในกระบอกตวงขนาด 1000 มิลลิลิตร โดยพยายามอย่าให้มีฟองอากาศ เติมหัวเชื้อจุลินทรีย์ในกรณีที่จำเป็นต้องเติม

3.2.3 เติมตัวอย่างน้ำทิ้งจำนวนที่ต้องการลงไป เติมน้ำเจือจางจนปริมาตร 1000 มิลลิลิตร ใช้แท่งแก้วค่อยๆคน จากนั้นนำไปใส่ขวดบีโอดี 3 ขวด จนเต็ม (อย่าให้มีฟองอากาศ) ปิดจุกขวด

3.2.4 นำขวดบีโอดี 1 ขวด ของแต่ละร้อยละความเจือจางไปหาค่าออกซิเจนละลาย (DO) เพื่อให้ทราบค่าออกซิเจนละลายที่เริ่มต้น (D1)

3.2.5 นำขวดบีโอดีสองขวดที่เหลือของแต่ละร้อยละความเจือจางไปบ่มในตู้บ่มอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน จากนั้นนำมาหาค่าออกซิเจนละลายที่เหลือ (D2)

3.3 การหาค่าออกซิเจนละลายโดยวิธี Iodometric method

3.3.1 จากตัวอย่างน้ำในขวดบีโอดี เติมสารละลายแมงกานีสซัลเฟต 1 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลายอัลคาไล-ไอโอไดด์-เอไซด์ 1 มิลลิลิตร ตามลงไปทันทีโดยให้ปิเปตอยู่ใต้ผิวของตัวอย่างน้ำ

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.2 ปิดจุกขวดบีโอดีระวังอย่าให้มีฟองอากาศ จับขวดคว่ำขึ้นลงอย่างน้อย 15 ครั้ง

3.3.3 ตั้งขวดบีโอดีไว้ให้ตะกอนที่เกิดขึ้นตกตะกอนจนได้ปริมาณน้ำใส1/2 ของขวด เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1 มิลลิลิตร โดยให้กรดค่อยๆไหลลงไปตามคอขวด ปิดจุกแล้วเขย่าขวดจนตะกอนละลายหมด

3.3.4 ตวงสารละลายที่ได้ 201 มิลลิลิตร ใส่ลงในฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร (ปริมาตรน้ำนี้จะแทนปริมาตรของตัวอย่างน้ำจริงๆ 200 มิลลิลิตร เนื่องจากปริมาตรของน้ำตัวอย่างถูกแทนที่ด้วยน้ำยาแมงกานีสซัลเฟต และอัลคาไล-ไอโอไดด์-เอไซด์ 2 มิลลิลิตร ดังนั้นปริมาตรที่จะนำมาใช้เพื่อไทเทรตเท่ากับ

$$\frac{200X300}{300-2} = 201 \text{ มิลลิลิตร}$$

3.3.5 ไทเทรตด้วยสารละลายมาตรฐานโซเดียมไทโอซัลเฟต 0.025 M จนกระทั่งสารละลายมีสีเหลืองอ่อน เติมน้ำแป้ง 2-3 หยด จะได้สีน้ำเงินไทเทรตจนกระทั่งสีน้ำเงินหายไป จดปริมาตรสารละลายที่ใช้ทั้งหมด

4. การคำนวณ

กรณีไม่เติมหัวเชื้อ

$$\text{บีโอดี (มิลลิกรัมต่อลิตร)} = \frac{D1-D2}{P}$$

D1 = ออกซิเจนละลายของตัวอย่างที่ทำการเจือจางแล้วของวันที่ 0

D2 = ออกซิเจนละลายของตัวอย่างที่ทำการเจือจางแล้วและบ่มเป็นเวลา 5 วัน

P = อัตราส่วนของตัวอย่างที่ใช้ต่อตัวอย่างที่เจือจางแล้ว

6. ปริมาณฟอสเฟต (APHA, AWWA and WPCF, 1992)

6.1 วิเคราะห์ปริมาณออร์โธฟอสเฟตฟอสฟอรัส

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร
2. ปิเปต
3. Spectrophotometer
4. Volumetric flask 100 มิลลิลิตร
5. กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 และ 42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารเคมี

1. ฟีนอฟทาลีนอินดิเคเตอร์

ละลาย Phenolphthalein disodium salt 0.5 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร หรือละลาย Phenolphthalein 0.5 กรัม ในเอทิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 95 50 มิลลิลิตร และเติมน้ำ 50 มิลลิลิตร

2. Strong acid solution

ค่อยๆรินกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 300 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่น 600 มิลลิลิตร แล้วเติม conc. HNO_3 4 มิลลิลิตร และทำให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร

3. Ammonium molybdate reagent (I)

ละลาย แอมโมเนียมโมลิบเดต $(NH_4)_6Mo_7O_{24}\cdot 4H_2O$ 25 กรัม ในน้ำกลั่น 175 มิลลิลิตร ค่อยๆริน กรดซัลฟิวริกเข้มข้น 280 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่น 400 มิลลิลิตร และทิ้งไว้ให้เย็น นำสารละลาย Molybdate เติมลงไป และทำให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

4. Stannous chloride reagent (I)

ละลาย $SnCl_2\cdot 2H_2O$ 25 กรัม ในกลีเซอรอล 100 มิลลิลิตร อุ่นบน water bath และคนด้วยแท่งแก้วจนละลายหมด

5. Standard potassium dihydrogen phosphate solution

ละลาย Anhydrous KH_2PO_4 219.5 มิลลิกรัม ในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร (1 มิลลิลิตร = 50 µg PO_4-P)

วิธีวิเคราะห์โดยวิธี Stannous chloride

1. Prelinary sample treatment

1.1 กรองน้ำด้วยกระดาษกรองให้ได้น้ำ 100 มิลลิลิตร ที่ไม่มีสีและไม่ขุ่น

1.2 เติมฟีนอฟทาลีนอินดิเคเตอร์ 1 หยด ถ้าน้ำเปลี่ยนเป็นสีชมพู เติม Strong acid solution ทีละหยดจนกระทั่งสีหายไป (ถ้าใช้กรดมากกว่า 5 หยด ให้ลดปริมาตรน้ำลงครึ่งหนึ่งและปรับให้เป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น)

2. Color development

2.1 เติม molybdate reagent (I) 4 มิลลิลิตร เขย่าให้ทั่ว

2.2 หยด Stannous chloride reagent (I) 0.5 มิลลิลิตร

3. Color measurement

วัด % Absorbance ด้วยสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ช่วงแสง 690 นาโนเมตร แต่ต้องทำภายในเวลา 10 นาที และเปรียบเทียบกับกราฟฟอสเฟตมาตรฐาน และมีน้ำกลั่นเป็นแบลงค์

วิธีการคำนวณ

$$\text{mg/l Orthophosphate-P} = \frac{\text{mg Orthophosphate P ที่วัดได้ X 1,000}}{\text{ปริมาตรตัวอย่าง}}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6.2 วิธีวิเคราะห์ฟอสฟอรัสรวม

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร
2. ปิเปต
3. Spectrophotometer
4. Microkjeldahl flask

สารเคมี

1. กรดซัลฟิวริกเข้มข้น
2. conc. HNO_3
3. ฟีนอฟทาลีนอินดิเคเตอร์

ละลาย Phenolphthalein disodium salt 0.5 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

4. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 1 นอร์มอล

ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10 กรัมลงในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร

5. Sulfuric acid solution

ค่อยๆรินกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 300 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่น 600 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร

วิธีการวิเคราะห์โดยใช้วิธี Sulfuric acid-Nitric acid Digestion method followed by Stannous Chloride

1. ตวงน้ำ 100 มิลลิลิตร ใส่ใน Microkjeldahl flask
2. เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1 มิลลิลิตร และ conc. HNO_3 5 มิลลิลิตร
3. ย่อยตัวอย่างจนเหลือปริมาตรประมาณ 1 มิลลิลิตร และปล่อยให้ย่อยต่อไปจนตัวอย่างไม่มีสี เพื่อกำจัด HNO_3 ให้หมด
4. ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้องและเติมน้ำกลั่นประมาณ 20 มิลลิลิตร
5. เติมฟีนอฟทาลีนอินดิเคเตอร์ 1 หยด
6. เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 นอร์มอล ในปริมาณที่เพียงพอให้สารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพูอ่อน (ถ้าสารละลายขุ่นต้องกรองเอาเฉพาะน้ำใส)
7. ตวงใส่ Volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น
8. วิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสโดยวิธี Stannous chloride วัดผลด้วยสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (จากข้อ 7.1)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

9. เตรียมกราฟมาตรฐาน โดยใช้สารละลายมาตรฐานโปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (1 มิลลิลิตร = 50 μg PO_4-P) ทำการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานพร้อมด้วยแบลงค์ ด้วยวิธีการตามข้อ 1-7

วิธีการคำนวณ

$$\text{Total P (mg/l)} = \frac{\text{mg } PO_4\text{-P} \times 1{,}000}{\text{ปริมาตรตัวอย่าง}}$$

7. ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดและปริมาณโปรตีนโดยวิธี Kjeldahl method (A.O.A.C., 1980)

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. ขวดย่อยโปรตีนขนาด 250-300 มิลลิลิตร
2. อุปกรณ์ให้ความร้อน
3. อุปกรณ์กลั่นโปรตีน (semi-micro distillation)
4. ขวดรูปชมพู่ขนาด 100 มิลลิลิตร
5. ขวดปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร
6. ปิเปต
7. บิวเรตขนาด 50 มิลลิลิตร
8. ลูกแก้ว (glass bead)
9. กระดาษกรอง

สารเคมี

1. โซเดียมซัลเฟต
2. เมอร์คิวรีซัลเฟต ละลายเมอร์คิวรีออกไซด์จำนวน 10 กรัม ในกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 12 มิลลิลิตรแล้วเติมน้ำ 92 มิลลิลิตร
3. กรดซัลฟิวริกเข้มข้น
4. โซเดียมไฮดรอกไซด์ 60 กรัมและโซเดียมไทโอซัลเฟต 5 กรัม ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร
5. กรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 4
6. กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.02 นอร์มอล
7. อินดิเคเตอร์ ละลายเมธิลเรด 0.2 กรัมและเมทิลีนบลู 0.1 กรัม ในเอธานอล 95 เปอร์เซนต์ 100 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่างบนกระดาษกรองให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน ประมาณ 0.5-1 กรัม ห่อให้มิดชิด ใส่ลงในขวดย่อยโปรตีน

2. เติมโซเดียมซัลเฟต 2 กรัมและเมอร์คิวรีซัลเฟต 5 มิลลิลิตร แล้วใส่ลูกแก้ว

3. เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 20 มิลลิลิตร

4. ย่อยบนอุปกรณ์ให้ความร้อน จนกระทั่งได้สารละลายใส ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น ล้างคอขวดด้วยน้ำกลั่น ทิ้งให้เย็นแล้วถ่ายลงในขวดปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

5. จัดอุปกรณ์กลั่น นำขวดรูปชมพู่ขนาด 100 มิลลิลิตร ที่บรรจุกรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 4 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร และเติมอินดิเคเตอร์ 1-2 หยด นำไปรองรับของเหลวที่กลั่นได้ โดยให้ส่วนปลายของอุปกรณ์ควบแน่นจุ่มลงในสารละลายกรดนี้

6. นำสารละลายตัวอย่างใส่ลงช่องตัวอย่าง เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 60 ปริมาตร 10 มิลลิลิตรลงในช่องใส่ตัวอย่าง

7. กลั่นนานประมาณ 10 นาที

8. ไทเทรตสารละลายที่กลั่นได้ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.02 นอร์มอล จนกระทั่งสีของสารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีม่วง ทำแบลงก์ตามวิธีการวิเคราะห์ตัวอย่างโดยใช้น้ำกลั่นแทนตัวอย่าง

การคำนวณ

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

A คือ ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไทเทรตกับตัวอย่าง

B คือ ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไทเทรตกับแบลงก์

W คือ น้ำหนักตัวอย่าง

N คือ ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก (นอร์มอล)

กรณีเป็นปริมาณโปรตีน (ร้อยละ) คูณด้วย 6.25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์องค์ประกอบของโปรตีนเซลล์เดียว

1. ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี Somogyi - Nelson (Nelson, 1944)

สารเคมี

1. สารละลาย Copper reagent

เตรียมคอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) 10 กรัมในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร จากนั้นเตรียมสารละลายฟอสเฟตทาเทรตโดย ชั่ง $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ 71 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 700 มิลลิลิตร เติมโซเดียมโพแทสเซียมทาร์เทรต ($NaKC_4H_4O_6 \cdot 4H_2O$) 40 กรัม เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 นอร์มอล ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เติม โซเดียมซัลเฟต (Na_2SO_4) 120 กรัม ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร เก็บในขวดสีชา 2 วัน กรองตะกอนออก จึงนำมาผสมกับสารละลายคอปเปอร์

2. สารละลาย Nelson's Arsenomolybdate color reagent

เตรียมโดยชั่ง $Na_2HAsO_4 \cdot 7H_2O$ 3 กรัม ในน้ำ 25 มิลลิลิตร นำไปผสมกับแอมโมเนียม-โมลิบเดต ($(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$) 25 กรัม ในน้ำ 450 มิลลิลิตร เติมกรดซัลฟิวริก 21 มิลลิลิตร เก็บใส่ขวดสีชา บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส 1 วัน

วิธีวิเคราะห์

1. เตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐาน เตรียมโดยชั่งน้ำตาลมา 0.02 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายน้ำตาลเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำมาเจือจางให้ได้สารละลายกลูโคสมาตรฐานความเข้มข้น ตั้งแต่ 0-200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำค่าที่ได้มาทำกราฟน้ำตาลกลูโคสมาตรฐาน

2. ปิเปตสารละลายตัวอย่างที่มีปริมาณกลูโคสไม่เกิน 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร หรือสารละลายกลูโคสมาตรฐาน ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง

3. เติมสารละลายคอปเปอร์ลงไป 1 มิลลิลิตร

4. นำไปต้มในน้ำร้อนเป็นเวลา 10 นาที แล้วทำให้เย็น

5. เติมสารละลายเนลสันลงไป 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

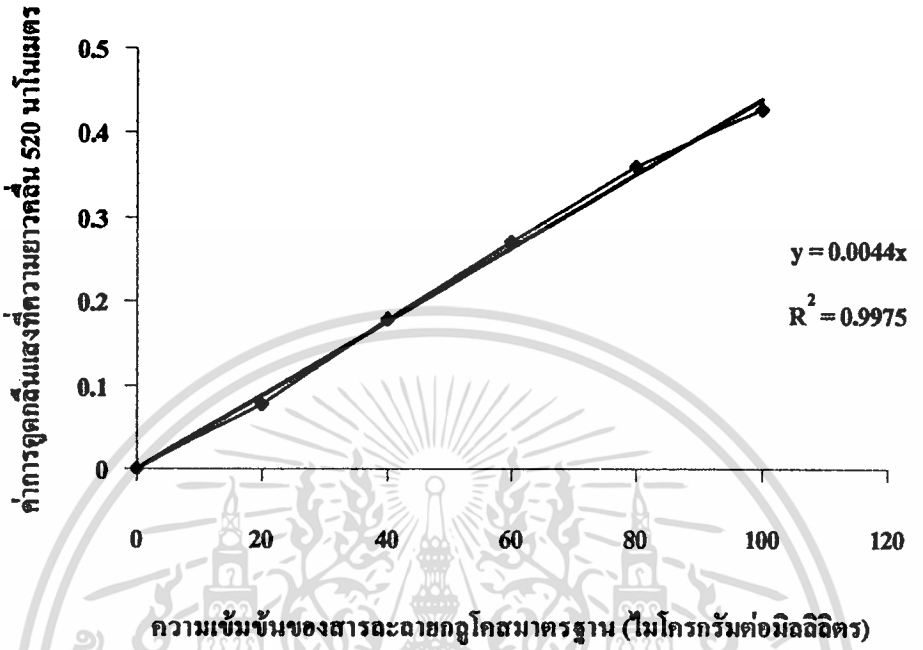
6. เติมน้ำกลั่นลงไป 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้อย่างน้อย 15 นาทีแต่ไม่ควรเกิน 40 นาที

7. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร

8. นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปเทียบกับกราฟมาตรฐาน เพื่อหาความเข้มข้นของกลูโคสในสารละลายตัวอย่าง หรือคำนวณได้จาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเข้มข้นของกลูโคส (กรัมต่อลิตร) = ค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร X อัตราการเจือจาง
ความชันของกราฟมาตรฐาน X 1000



รูปที่ ค.1 แสดงกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส

2. การวิเคราะห์ปริมาณแป้งที่เหลืออยู่ (กล้าณรงค์ ศรีรอดและเกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ. 2543)

วิธีการวิเคราะห์ปริมาณแป้งโดยวิธีการวัดค่าการดูดกลืนแสง (Optical method based on starch-iodine reaction) มีรายละเอียดดังนี้

อุปกรณ์

1. สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer)
2. เครื่องผสม (vortex mixer)

สารเคมี

1. กรดอะซิติกเข้มข้น 2 นอร์มอล
2. สารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ (KI) เข้มข้น 10 ร้อยละ
3. สารละลายโพแทสเซียมไตรไอโอเดท (KIO_3) เข้มข้น 1/600 โมลาร์

วิธีการวิเคราะห์

1. การเตรียมกราฟมาตรฐานความเข้มข้นแป้งกับค่าการดูดกลืนแสง

1.1 ชั่งแป้ง (soluble starch) จำนวน 50 มิลลิกรัม นำมาละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 50 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 นำสารละลายนี้ไปต้มเดือดเป็นเวลา 1 นาที จากนั้นปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร แล้วกรองสารละลายที่ได้ด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1

1.3 ปิเปตสารละลายมาจำนวน 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9 และ 1.0 มิลลิลิตรใส่ในหลอดทดลอง จากนั้นปรับปริมาตรแต่ละหลอดให้ได้ 1 มิลลิลิตร โดยเติมน้ำกลั่น จำนวน 0.9, 0.8, 0.7, 0.6, 0.5, 0.4, 0.3, 0.2, 0.1 และ 0 มิลลิลิตร ตามลำดับ

1.4 เติมกรดอะซิติกเข้มข้น 2 นอร์มอล จำนวน 1.2 มิลลิลิตร เติมสารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์เข้มข้นร้อยละ 10 จำนวน 0.25 มิลลิลิตรและเติมสารละลายโพแทสเซียมไตรไอโอเดทเข้มข้น 1/600 โมลาร์ จำนวน 2.5 มิลลิลิตรลงในแต่ละหลอด ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม

1.5 นำสารละลายข้างต้นไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร โดยเทียบกับสารละลาย blank ซึ่งเตรียมโดยใช้น้ำกลั่นจำนวน 1.0 มิลลิลิตรแทนสารละลายตัวอย่าง

1.6 นำค่าที่วัดได้มาเขียนความสัมพันธ์กราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร และความเข้มข้นของแป้ง (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) โดยให้แกนตั้งเป็นค่าการดูดกลืนแสง ส่วนแกนนอนเป็นค่าความเข้มข้นของน้ำแป้ง

2. การวิเคราะห์สารละลายตัวอย่าง

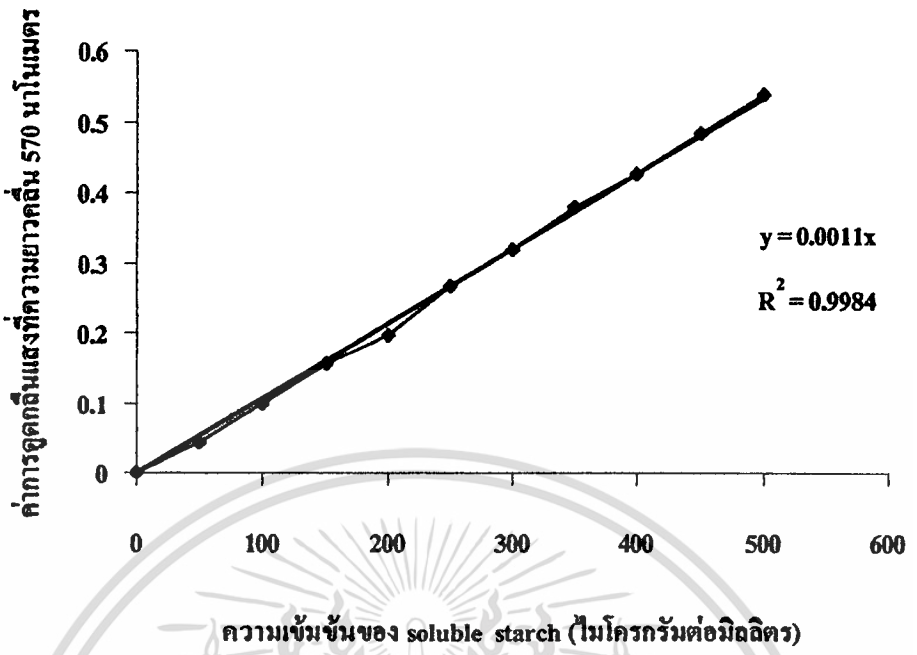
2.1 ทำการเตรียมสารละลายตัวอย่าง โดยเจือจางให้มีความเข้มข้นที่เหมาะสม

2.2 ปิเปตตัวอย่างมาปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายเช่นเดียวกันกับ ข้อ 1.4

2.3 นำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร โดยเทียบกับสารละลาย blank ซึ่งเตรียมโดยใช้น้ำกลั่นจำนวน 1.0 มิลลิลิตรแทนสารละลายตัวอย่าง

2.4 นำค่าที่วัดได้มาเทียบกับกราฟมาตรฐานแล้วทำการคำนวณหาปริมาณแป้งที่เหลืออยู่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ค.2 แสดงกราฟมาตรฐาน soluble starch

3. ปริมาณโปรตีนโดยวิธี Lowry method (Lowry *et al.* 1951)

สารเคมี

1. สารละลาย ก เตรียมโดยละลายโซเดียมคาร์บอเนต 2 กรัม ในโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มอล ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

2. สารละลาย ข เตรียมโดยชั่งโซเดียมโพแทสเซียมทาร์เทรต 2.7 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

3. สารละลาย ค เตรียมโดยละลายคอปเปอร์ซัลเฟต 1 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

4. สารละลาย ง เตรียมโดย ผสมสารละลาย ก ปริมาตร 100 มิลลิลิตร กับสารละลาย ข และสารละลาย ค อย่างละ 1 มิลลิลิตร สารละลาย ง ต้องเตรียมใหม่ก่อนใช้งานทุกครั้ง

5. Folin-ciocalteau reagent ทำการเจือจางกับน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1 ต่อ 1

6. สารละลายโปรตีนมาตรฐาน Bovine serum albumin,BSA

วิธีการวิเคราะห์

1. เตรียมสารละลายโปรตีนมาตรฐาน เตรียมโดยชั่ง BSA มา 0.02 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายโปรตีนเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำมาเจือจางให้ได้สารละลายโปรตีนมาตรฐานความเข้มข้น ตั้งแต่ 0-200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำค่าที่ได้มาทำกราฟโปรตีนมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ใช้ตัวอย่าง หรือโปรตีนมาตรฐาน ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เติมสารละลาย ง ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ 10 นาที จากนั้นเติม Folin-ciocalteau reagent ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 750 นาโนเมตร

3. นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปเทียบกับกราฟโปรตีนมาตรฐาน เพื่อหาค่าความเข้มข้นของโปรตีนในตัวอย่างหรือคำนวณจาก

ความเข้มข้นโปรตีน (กรัมต่อลิตร) = $\frac{\text{ค่าการดูดกลืนแสงที่ 750 นาโนเมตร X อัตราการเจือจาง}}{\text{ค่าความชันของกราฟมาตรฐาน X 1000}}$

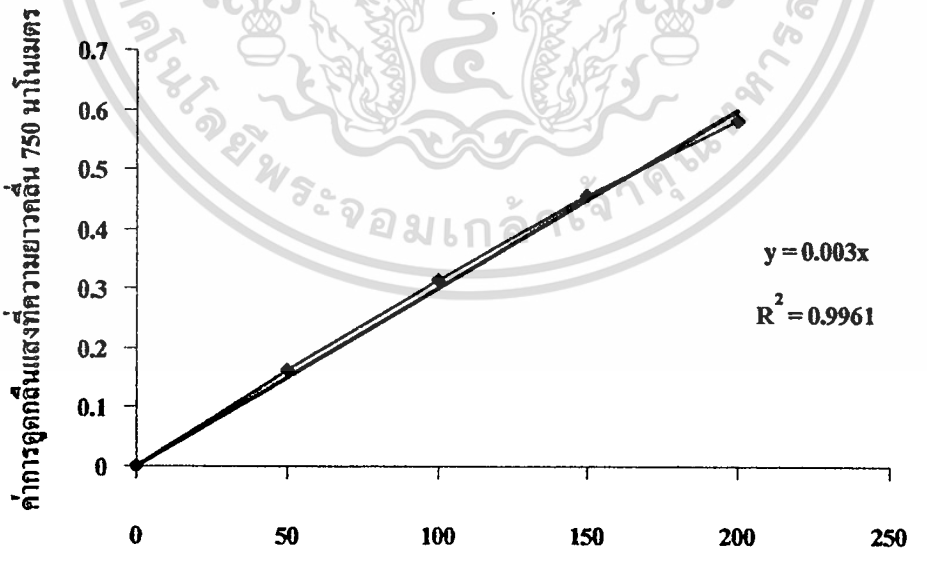
4. ปริมาณโปรตีนในชีวมวล (ดัดแปลงจากวิธีของ Lowry *et al.* 1951)

สารเคมี

1. โซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.5 นอร์มอล
2. สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์โปรตีนโดยวิธี Lowry method

วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่างเซลล์แห้งที่ผ่านการทำแห้งแล้ว 20 มิลลิกรัม เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.5 นอร์มอล ปริมาตร 2 มิลลิลิตร จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที และนำไปปั่นเหวี่ยง 5,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที แยกสารละลายส่วนใส ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ออกมา ทำการวิเคราะห์โปรตีนตามวิธีของ Lowry นำค่าที่ได้มาคำนวณปริมาณโปรตีน



รูปที่ ค.3 แสดงกราฟมาตรฐานปริมาณโปรตีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. น้ำหนักเซลล์แห้ง

1. อบกระทงฟอยด์ที่ 80 องศาเซลเซียส เวลา 12 - 16 ชั่วโมง แล้วนำไปทำให้เย็นในเดซิเคเตอร์ ประมาณ 30 นาที จึงนำมาชั่งน้ำหนักที่แน่นอน

2. ปิเปตตัวอย่างอาหารที่มียีสต์เจริญ 10 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดเซนตริฟิวส์ นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5,000 รอบต่อนาที นาน 15 นาที แยกส่วนใสไว้วิเคราะห์ ล้างเซลล์ด้วยน้ำกลั่น ปั่นแยกเซลล์เหมือนเดิม แล้วล้างซ้ำอีก

3. นำเซลล์ที่ล้างแล้วเทใส่กระทงฟอยด์ที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอน นำไปอบที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12-16 ชั่วโมง จนน้ำหนักคงที่ นำมาชั่งหนักเซลล์ที่ได้

การคำนวณ

$$\text{น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)} = \frac{\text{น้ำหนักกระทงหลังอบ - น้ำหนักกระทงก่อนอบ}}{\text{ปริมาตรตัวอย่าง}}$$

6. ความชื้น (A.O.A.C. 1980)

วิธีวิเคราะห์

1. นำภาชนะอะลูมิเนียมพร้อมฝาปิด นำไปอบในตู้อบอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักของภาชนะพร้อมฝา

2. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน (0.5 กรัม) ใส่ลงในภาชนะที่ชั่งน้ำหนักแล้ว เกลี่ยให้เนื้อสารกระจาย ปิดฝาและชั่งน้ำหนักอีกครั้ง

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

4. นำภาชนะดังกล่าวออกจากตู้อบ ปิดฝา แล้วนำไปใส่ในโถดูดความชื้น ทิ้งไว้จนเย็น ชั่งน้ำหนักอีกครั้ง

การคำนวณ

$$\text{ความชื้น (ร้อยละ)} = \frac{(W_2 - W_1) - (W_3 - W_1)}{(W_2 - W_1)} \times 100$$

W_1 = น้ำหนักภาชนะอะลูมิเนียม (กรัม)

W_2 = น้ำหนักภาชนะอะลูมิเนียมรวมกับน้ำหนักสารตัวอย่างที่ไม่ผ่านการอบ (กรัม)

W_3 = น้ำหนักภาชนะอะลูมิเนียมรวมกับน้ำหนักสารตัวอย่างที่ผ่านการอบ (กรัม)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. ปริมาณไขมันโดยวิธี Soxhlet (A.O.A.C. 1980)

สารเคมีและอุปกรณ์

1. ชุดสกัดไขมันประกอบด้วย ขวดใส่ตัวอย่าง ซอคเลต (soxhlet) เครื่องควบแน่นและเตาให้ความร้อน

2. ปิโตรเลียมอีเทอร์

3. หลอดใส่ตัวอย่าง (extraction thimble)

วิธีวิเคราะห์

1. อบถ้วยที่ใช้หาปริมาณไขมันที่มีขนาด 250 มิลลิลิตร ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นและชั่งน้ำหนักที่แน่นอน

2. ชั่งสารตัวอย่าง บนกระดาษกรองที่ทราบน้ำหนักแน่นอน ถ้าเป็นตัวอย่างที่มีไขมันมากให้ชั่ง 1-2 กรัม แต่หากเป็นตัวอย่างที่มีไขมันน้อยให้ชั่ง 3-5 กรัม ห่อให้มิดชิด แล้วใส่ลงในหลอดใส่ตัวอย่าง คลุมด้วยใยแก้วหรือสำลีเพื่อให้สารตัวทำละลายมีการกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ

3. นำหลอดใส่ตัวอย่างใส่ลงใน soxhlet

4. เติมสารตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ ลงในขวดหาปริมาณไขมันประมาณ 150 มิลลิลิตร แล้ววางลงบนเตา

5. ประกอบชุดสกัดไขมัน พร้อมเปิดอุปกรณ์ควบแน่น และเปิดสวิตซ์ไฟให้ความร้อน

6. ใช้เวลาในการสกัดไขมันนานประมาณ 2 ชั่วโมง ระหว่างสกัดอาจมีการระเหยของปิโตรเลียมอีเทอร์ ดังนั้นจึงควรระวัง หากเห็นว่าปริมาณปิโตรเลียมอีเทอร์ลดลงไปมากให้ทำการเติมปิโตรเลียมอีเทอร์ลงไปเพิ่ม

7. เมื่อครบ 2 ชั่วโมง นำหลอดใส่ตัวอย่างออกจาก soxhlet และกลั่นเก็บปิโตรเลียมอีเทอร์ที่ค้างอยู่ในเครื่องกลั่นออก

8. นำถ้วยที่ใช้หาปริมาณไขมันไปตั้งให้สารตัวทำละลายระเหยจนแห้งในตู้ควัน นำไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ใช้เวลาประมาณ 30 นาที ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น

9. ชั่งน้ำหนักและอบซ้ำนานครั้งละ 30 นาที จนกระทั่งผลต่างของค่าน้ำหนักสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

10. คำนวณหาปริมาณไขมันในตัวอย่าง

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณไขมัน (ร้อยละ)} = \frac{(\text{น้ำหนักถ้วยที่มีไขมัน} - \text{น้ำหนักถ้วยเปล่า}) \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. ปริมาณเถ้า (A.O.A.C. 1980)

อุปกรณ์

1. ครูซิเบิล
2. เตาเผา

วิธีวิเคราะห์

1. นำครูซิเบิลไปเผาที่อุณหภูมิ 500 - 600 องศาเซลเซียส แล้วทำให้เย็นในเดซิเคเตอร์ ชั่งน้ำหนักที่แน่นอน
2. นำตัวอย่างที่นำไปหาปริมาณไขมันแล้วใส่ลงในครูซิเบิล แล้วนำไปเผาที่อุณหภูมิ 500-600 องศาเซลเซียส จนกระทั่งได้เป็นเถ้าสีขาวทั้งหมด
3. ทำให้เย็นในเดซิเคเตอร์ ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนลบออกด้วยน้ำหนักครูซิเบิลในตอนแรก
4. คำนวณปริมาณเถ้า

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณเถ้า (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักเถ้า}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times 100$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

การวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยวิธี Duncan's New Multiple-Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ ง.1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งของอัตราส่วน *E. fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 และเวลาในการเติม *C. utilis* TISTR 5046

แหล่งความแปรผัน	df	SS	MS	F
ชั่วโมง	5	0.233	0.0466	22.286*
อัตราส่วน	3	0.0579	0.0193	9.22*
ชั่วโมง*อัตราส่วน	15	0.08071	0.00538	2.569*
ความคลาดเคลื่อน	48	0.101	0.00209	
ผลรวม	72	0.473		

ตารางที่ ง.2 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้งของอัตราส่วน *E. fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046 และเวลาในการเติม *C. utilis* TISTR 5046

เวลาในการเติม *C. utilis* TISTR 5046 (ชั่วโมง)	น้ำหนักเซลล์แห้งของการใช้อัตราส่วนระหว่าง *E. fibuligera* TISTR 5097 กับ *C. utilis* TISTR 5046			
	1 : 1	1 : 2	1 :3	1 :4
0	3.04^{de}	2.99^{e}	3.12^{bcd}	3.12^{bcd}
6	3.14^{bcd}	3.08^{cde}	3.14^{bcd}	3.18^{abc}
12	3.05^{de}	3.15^{bc}	3.23^{ab}	3.25^{ab}
18	3.23^{ab}	3.24^{ab}	3.25^{ab}	3.28^{a}
24	3.22^{ab}	3.18^{abc}	3.22^{ab}	3.21^{ab}
30	3.22^{ab}	3.22^{ab}	3.21^{ab}	3.20^{ab}

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง.3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณโปรตีนของชนิดและแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอินทรีย์ที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

แหล่งความแปรผัน	df	SS	MS	F
ชนิดแหล่งไนโตรเจน	2	0.0369	0.01845	184.081*
ความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจน	5	0.0773	0.01546	154.263*
ชนิด*ความเข้มข้น	10	0.01496	0.001496	14.926*
ความคลาดเคลื่อน	36	7.33	0.0001002	
ผลรวม	54	9.604		

ตารางที่ ง.4 ค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีนของแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอินทรีย์ที่เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

ความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจน (ร้อยละ)	ค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีน (กรัมโปรตีนต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)		
	ยีสต์สกัด	เปปโตน	น้ำแช่ข้าวโพด
0.2	0.30^{h}	0.31^{g}	0.32^{g}
0.5	0.32^{g}	0.29^{h}	0.36^{ef}
0.7	0.32^{g}	0.34^{f}	0.42^{bc}
1.0	0.33^{g}	0.40^{cd}	0.41^{bcd}
1.3	0.39^{d}	0.39^{cd}	0.46^{a}
1.5	0.37^{e}	0.40^{cd}	0.43^{b}

ตารางที่ ง.5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักเซลล์แห้งของชนิดและแหล่ง ไนโตรเจนที่เป็นสารอินทรีย์ที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

แหล่งความแปรผัน	df	SS	MS	F
ชนิดแหล่งไนโตรเจน	2	0.0369	0.01845	184.081*
ความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจน	5	0.0773	0.01546	154.263*
ชนิด*ความเข้มข้น	10	0.01496	0.001496	14.926*
ความคลาดเคลื่อน	36	7.33	0.0001002	
ผลรวม	54	9.604		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง.6 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้งของแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอินทรีย์ที่เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

ความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจน (ร้อยละ)	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)		
	ยีสต์สกัด	เปปโตน	น้ำแช่ข้าวโพด
0.2	3.77^{cdef}	3.48^{def}	2.89^{f}
0.5	4.37^{c}	4.12^{cde}	3.21^{ef}
0.7	4.94^{abc}	4.23^{cd}	4.15^{cde}
1.0	5.53^{ab}	4.34^{cd}	4.57^{bc}
1.3	5.80^{a}	4.84^{abc}	4.88^{abc}
1.5	5.57^{a}	4.80^{abc}	4.85^{abc}

ตารางที่ ง.7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณโปรตีนของชนิดและแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอนินทรีย์ที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

แหล่งความแปรผัน	df	SS	MS	F
ชนิดแหล่งไนโตรเจน	1	0.0000125	0.0000125	0.096^{ns}
ความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจน	2	0.01398	0.006989	53.736^{*}
ชนิด*ความเข้มข้น	2	0.03733	0.01867	143.527^{*}
ความคลาดเคลื่อน	12	0.001561	0.00013	
ผลรวม	18	2.274		

ตารางที่ ง.8 ค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีนของแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอนินทรีย์ที่เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

ชนิดของแหล่งไนโตรเจน	ค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีน (กรัมโปรตีนต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)
แอมโมเนียมซัลเฟต	0.349^{a}
ไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต	0.351^{a}

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง.9 ค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีนของแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอนินทรีย์ที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

ความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจน (ร้อยละ)	ค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีน (กรัมโปรตีนต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)
0.1	0.33[b]
0.3	0.39[a]
0.5	0.33[b]

ตารางที่ ง.10 การวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักเซลล์แห้งของชนิดและแหล่ง ไนโตรเจนที่เป็นสารอนินทรีย์ที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

แหล่งความแปรผัน	df	SS	MS	F
ชนิดแหล่งไนโตรเจน	1	0.114	0.114	7.926*
ความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจน	2	0.152	0.0758	5.293*
ชนิด*ความเข้มข้น	2	0.439	0.219	15.307*
ความคลาดเคลื่อน	12	0.172	0.01433	
ผลรวม	18	217.96		

ตารางที่ ง.11 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้งของแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอนินทรีย์ที่ความเข้มข้นต่างๆที่เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

ความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจน (ร้อยละ)	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	
	แอมโมเนียมซัลเฟต	ไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต
0.1	3.30[b]	3.92[a]
0.3	3.46[b]	3.40[b]
0.5	3.42[b]	3.41[b]

ตารางที่ ง.12 การวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณโปรตีนของค่าพีเอชเริ่มต้นที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

แหล่งความแปรผัน	df	SS	MS	F
ค่าพีเอช	8	0.032	0.004	13.641*
ความคลาดเคลื่อน	18	0.005	0.000	
ผลรวม	26	0.37		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง.13 ค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีนของค่าพีเอชเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

ค่าพีเอชเริ่มต้น	ค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีน (กรัมโปรตีนต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)
3.0	0.35^{f}
3.5	0.39^{cd}
4.0	0.46^{a}
4.5	0.43^{b}
5.0	0.42^{bc}
5.5	0.41^{bcd}
6.0	0.39^{de}
6.5	0.35^{ef}
7.0	0.36^{ef}

ตารางที่ ง.14 การวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักเซลล์แห้งของค่าพีเอชเริ่มต้นที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

แหล่งความแปรผัน	df	SS	MS	F
ค่าพีเอช	8	8.999	1.125	255.225*
ความคลาดเคลื่อน	18	0.079	0.004	
ผลรวม	26	9.078		

ตารางที่ ง.15 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้งของค่าพีเอชเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

ค่าพีเอชเริ่มต้น	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)
3.0	3.37^{d}
3.5	4.50^{a}
4.0	4.60^{a}
4.5	4.56^{a}
5.0	3.98^{b}
5.5	3.79^{c}
6.0	3.21^{e}
6.5	3.20^{e}
7.0	3.18^{e}

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง.16 การวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณโปรตีนของอุณหภูมิที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

แหล่งความแปรผัน	df	SS	MS	F
อุณหภูมิ	3	0.012	0.004	7.357*
ความคลาดเคลื่อน	8	0.004	0.001	
ผลรวม	11	0.017		

ตารางที่ ง.17 ค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีนของอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีน (กรัมโปรตีนต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)
20	0.39[b]
25	0.46[a]
30	0.41[b]
35	0.38[b]

ตารางที่ ง.18 การวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักเซลล์แห้งของอุณหภูมิที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

แหล่งความแปรผัน	df	SS	MS	F
อุณหภูมิ	3	2.436	0.812	48.972*
ความคลาดเคลื่อน	8	0.133	0.017	
ผลรวม	11	2.569		

ตารางที่ ง.19 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้งของอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)
20	4.29[b]
25	4.70[a]
30	4.33[b]
35	3.48[c]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง.20 การวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณโปรตีนของความเร็วรอบในการเขย่าที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

แหล่งความแปรผัน	df	SS	MS	F
ความเร็วรอบในการเขย่า	2	0.005	0.002	20.261*
ความคลาดเคลื่อน	6	0.001	0.000	
ผลรวม	8	0.005		

ตารางที่ ง.21 ค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีนของความเร็วรอบในการเขย่าที่เหมาะผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

ความเร็วรอบในการเขย่า (รอบต่อนาที)	ค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีน (กรัมโปรตีนต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)
150	0.44[b]
200	0.48[a]
250	0.42[b]

ตารางที่ ง.22 การวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักเซลล์แห้งของความเร็วรอบในการเขย่าที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

แหล่งความแปรผัน	df	SS	MS	F
ความเร็วรอบในการเขย่า	2	1.764	0.882	1202.561*
ความคลาดเคลื่อน	6	0.004	0.001	
ผลรวม	8	1.768		

ตารางที่ ง.23 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้งของความเร็วรอบในการเขย่าที่เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

ความเร็วรอบในการเขย่า (รอบต่อนาที)	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)
150	3.90[b]
200	4.82[a]
250	3.86[b]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง.24 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณโปรตีนของอัตราการกวนและอัตราการให้อากาศที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวในถังหมักขนาด 5 ลิตร

แหล่งความแปรปรวน	df	SS	MS	F
อัตราการกวน	1	0.0032	0.0032	0.099^{ns}
อัตราการให้อากาศ	2	0.0039	0.00195	0.185^{ns}
อัตราการกวน*อัตราการให้อากาศ	2	0.0013	0.00065	0.539^{ns}
ความคลาดเคลื่อน	12	0.0120	0.0010	
ผลรวม	18			

ตารางที่ ง.25 ค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีนของอัตราการกวนที่เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวในถังหมักขนาด 5 ลิตร

อัตราการกวน (รอบต่อนาที)	ค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีน (กรัมโปรตีนต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)
200	0.46^{a}
300	0.49^{a}

ตารางที่ ง.26 ค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีนของอัตราที่การให้อากาศที่เหมาะสมต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวในถังหมักขนาด 5 ลิตร

อัตราการให้อากาศ (ปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาที)	ค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีน (กรัมโปรตีนต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)
1.0	0.46^{a}
1.5	0.50^{a}
2.0	0.47^{a}

ตารางที่ ง.27 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของน้ำหนักเซลล์แห้งของอัตราการกวนและอัตราการให้อากาศที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวในถังหมักขนาด 5 ลิตร

แหล่งความแปรปรวน	df	SS	MS	F
อัตราการกวน	1	4.48	4.48	375.771*
อัตราการให้อากาศ	2	3.03	1.515	127.082*
อัตราการกวน*อัตราการให้อากาศ	2	0.767	0.383	32.148*
ความคลาดเคลื่อน	12	0.143	0.01192	
ผลรวม	18			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง.28 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร) ของอัตราการกวนและอัตราการให้อากาศที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

อัตราการให้อากาศ (ปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาที)	อัตราการกวน (รอบต่อนาที)	
	200	300
1.0	4.98[d]	5.46[c]
1.5	5.48[c]	6.97[a]
2.0	5.22[c]	6.24[b]

หมายเหตุ

F คำนวณ > F 0.05 จากตาราง แสดงโดยใช้ * (significant at 0.05 level of probability)

F คำนวณ < F 0.05 จากตาราง แสดงโดยใช้ ns (non significant)

ในแต่ละคอลัมน์ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ **เมื่อใช้** DMRT ระดับนัยสำคัญ 0.05

ในแต่ละคอลัมน์ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรต่างกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ **เมื่อใช้** DMRT ระดับนัยสำคัญ 0.05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

นางสาวพรรณวิภา แพงศรี เกิดเมื่อวันที่ 1 ธันวาคม พ.ศ. 2520 ในปี พ.ศ. 2542 สำเร็จการศึกษาวิทยาศาสตรบัณฑิต จากภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม จังหวัดมหาสารคาม หลังจากนั้น ในปี พ.ศ. 2543 ได้เข้าศึกษาต่อหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

การนำเสนอผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับวิทยานิพนธ์

Pangsri, P and D. Ochaikul. 2003. "Production of Single Cell Protein from Cassava Processing Wastewater by Mixed Culture of *Endomycopsis fibuligera* TISTR 5097 and *Candida utilis* TISTR 5046." **BioThailand 2003 Technology for life.** 17-20 July 2003. PEACH,Pattaya.Thailand. (นำเสนอแบบโปสเตอร์)

D, Ochaikul and P. Pangsri. 2004. "Optimization of Single Cell Protein Production from Cassava Processing Wastewater by Mixed Culture of *Endomycopsis fibuligera* TISTR 5097 and *Candida utilis* TISTR 5046." **2nd International Symposium on Biocontrol and Biotechnology.** 6-9 January 2004 King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang. Thailand. (นำเสนอแบบโปสเตอร์)

ดวงใจ โอชัยกุล และพรรณวิภา แพงศรี. 2547. "การผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากน้ำทิ้งโรงงานแป้งมันสำปะหลังโดยเลี้ยงเชื้อผสม *Endomycopsis fibuligera* TISTR 5097 และ *Candida utilis* TISTR 5046. การประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 42 "เกษตรศาสตร์เพื่อการพัฒนาคุณ ภาพชีวิต" 3-6 กุมภาพันธ์ 2547 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. (นำเสนอแบบโปสเตอร์)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้