สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การผลิตแคโรทีนอยด์จาก *Rhodotorula mucilaginosa*

Production of Carotenoids by *Rhodotorula mucilaginosa*

T117226

นายณัฐพล ศรีมติมานนท์
นางสาวเรวดี เซะวิเศษ
นายอภิสิทธิ์ บรรจบ

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

สถาบันฯ
เลขทะเบียน 117226
วัน,เดือน,ปี 19 ก.ค. 2554

b 12310637
i

โครงงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2553

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Production of Carotenoids by *Rhodotorula mucilaginosa*

Nuttapol Srimatimanon

Raewadee Sehvisade

Apisit Bunjob

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIREMENT FOR DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE

IN INDUSTRIAL MICROBIOLOGY

FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2010

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การผลิตแคโรทีนอยด์จาก *Rhodotorula mucilaginosa*

Production of Carotenoids by *Rhodotorula mucilaginosa*

ชื่อนักศึกษา นายณัฐพล ศรีมติมานนท์

นางสาวเรวดี เซะวิเศษ

นายอภิสิทธิ์ บรรจบ

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

อาจารย์ที่ปรึกษา รศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ประจำปีการศึกษา 2553

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ ผศ.วีนา ชูโชติ	
กรรมการ รศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง	
กรรมการ รศ.ดวงใจ โอชัยกุล	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การผลิตแคโรทีนอยด์จาก *Rhodotorula mucilaginosa*
Production of Carotenoids by *Rhodotorula mucilaginosa*
ชื่อนักศึกษา นายณัฐพล ศรีมติมานนท์
นางสาวเรวดี เซะวิเศษ
นายอภิสิทธิ์ บรรจบ
ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม
อาจารย์ที่ปรึกษา รศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง

บทคัดย่อ

ศึกษาการผลิตแคโรทีนอยด์ของเชื้อยีสต์ *Rhodotorula mucilaginosa* ในสูตรอาหารดัดแปลงของ Aksu และ Eren ในเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ ที่ความเร็ว 180 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน คัดเลือกแหล่งคาร์บอนที่มีผลต่อการเจริญและการผลิตแค-โรทีนอยด์ ได้แก่ น้ำตาลกลูโคส ซูโครส แลคโตส แมนนิทอลและกาแลคโตส ที่ความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร พบว่าเมื่อใช้น้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร ได้ปริมาณแคโรทีนอยด์เท่ากับ 2075.29 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และมีอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์เท่ากับ 415.06 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อวัน ทำการศึกษาหาความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสที่เหมาะสมต่อการผลิตแคโรทีนอยด์โดยใช้ความเข้มข้นที่ 20 35 50 65 กรัมต่อลิตร พบว่าเมื่อใช้กลูโคส 65 กรัมต่อลิตร ให้ปริมาณแคโรทีนอยด์และอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์สูงสุดเท่ากับ 2290.22 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และ 458.04 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อวันตามลำดับ แหล่งไนโตรเจนที่มีผลต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ ได้แก่ ยีสต์สกัด 5.5 กรัมต่อลิตร แอมโมเนียมซัลเฟต 5.5 กรัมต่อลิตร และ ยีสต์สกัด 2.5 กรัมต่อลิตรร่วมกับแอมโมเนียมซัลเฟต 3 กรัมต่อลิตรแทนแหล่งไนโตรเจนในสูตรอาหารเดิม พบว่าเมื่อใช้ยีสต์สกัด 2.5 กรัมต่อลิตรร่วมกับแอมโมเนียมซัลเฟต 3 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งไนโตรเจน ให้ปริมาณแคโรทีนอยด์ คือ 2833.58 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และเมื่อใช้แหล่งไนโตรเจนเดิมผลิตแคโรทีนอยด์เท่ากับ 2290.22 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง

คำสำคัญ : แคโรทีนอยด์ ยีสต์สีแดง *Rhodotorula mucilaginosa* น้ำตาลกลูโคส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title Production of Carotenoids by *Rhodotorula mucilaginosa*

Student Nuttaphol Srimatimanon

Raewadee Sehvisade

Apisit Bunjob

Degree Bachelor

Major Program Industrial Microbiology

Academic Year 2010

Advisor Assoc.Prof Dr.Naunphan Naranong

ABSTRACT

Carotenoids production by *Rhodotorula mucilaginosa* was studied in a modified Aksu and Eren's medium. The yeast was cultivated in 30 °C of a rotary shaking incubator at 180 rpm for 7 days. Glucose, sucrose, lactose, mannitol and galactose were chosen as carbon source with the concentration of 20 g/l for growth and carotenoids production. It was found that the highest carotenoids content of 2075.29 µg/g dry weight and productivity of 415.06 µg/g dry weight d. were obtained at 20 g/l glucose. The glucose concentration was also evaluated at 20, 35,50 and 65 g/l. The maximum carotenoids production of 2290.22 µg/g dry weight and productivity of 458.04 µg/g dry weight d were obtained when 65 g/l glucose was used in the medium. Effect of nitrogen source was also investigated from carotenoids production. Yeast extract 5.5 g/l, ammonium sulfate 5.5 g/l and combination of yeast extract 2.5 g/l with ammonium sulfate 3 g/l instead of the original nitrogen source in the medium. Carotenoids concentration of 2833.58 µg/g dry weight was produced when 2.5 g/l yeast extract and 3 g/l ammonium sulfate were used as nitrogen source, while the original nitrogen source gave carotenoids production of 2290.22 µg/g

Keywords : carotenoids, red yeast, *Rhodotorula mucilaginosa*, glucose

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีโดยความกรุณาของ รศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง ที่ได้ให้ความช่วยเหลือ ให้คำปรึกษาและข้อเสนอแนะในการศึกษา ค้นคว้า ตลอดจนตรวจข้อแก้ไขบกพร่องต่างๆให้ความรู้และประสบการณ์ที่ดี ขอกราบขอบพระคุณอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ รศ.ดร.ดวงใจ โอชัยกุล และ ผศ.วีนา ชูโชติ ซึ่งเป็นคณะกรรมการในการสอบโครงงานพิเศษที่ได้กรุณาให้คำแนะนำตลอดจนชี้แนะแก้ไขโครงงานพิเศษสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ธุรการ พี่นักวิทยาศาสตร์ คุณเอกภพ ภาเรือง คุณประสิทธิ์ แผ้วบาง และคุณวิทยา เขียวเขินที่ได้ให้ความสะดวกและคำแนะนำในการใช้เครื่องมืออุปกรณ์ในโครงงานพิเศษ

ขอขอบคุณพี่ปริญญาโทตึกวิทย์เก่าทุกคน รวมทั้งเพื่อนนักศึกษาภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ทุกคนที่คอยให้คำปรึกษาในเรื่องต่างๆ คอยให้ข้อคิดเห็นและเป็นกำลังใจตลอดมา

ที่สำคัญขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ซึ่งเป็นที่รักและเคารพยิ่ง ที่คอยให้กำลังและความช่วยเหลือด้านต่างๆตลอดมา

คุณค่าและประโยชน์อันพึงมีจากโครงงานพิเศษฉบับนี้ผู้วิจัยขอมอบแด่บิดา มารดาและผู้มีอุปการะทุกท่าน

ณัฐพล ศรีมติมานนท์

เรวดี เซะวิเศษ

อภิสิทธิ์ บรรจบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญรูป	ฉ
สารบัญตาราง	ซ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของโครงงานพิเศษ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 แคโรทีนอยด์	3
2.1.1 โครงสร้างทางเคมีและประเภทของแคโรทีนอยด์	3
2.2 ประโยชน์ของแคโรทีนอยด์	6
2.3 การผลิตสารแคโรทีนอยด์จากเชื้อ *Rhodotorula* sp.	7
2.4 ลักษณะทั่วไปของยีสต์ *Rhodotorula mucilaginosa*	10
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	12
3.1 เชื้อจุลินทรีย์	12
3.2 อุปกรณ์และสารเคมี	12
3.3 วิธีการวิจัย	14
3.4 วิธีการวิเคราะห์	16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 4 ผลการทดลองและการอภิปรายผล	20
4.1 ผลการศึกษาชนิดของแหล่งคาร์บอนที่มีผลต่อการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์	20
4.2 ผลการศึกษาปริมาณความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนที่มีผลต่อการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์	29
4.3 ผลการศึกษาแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์	37
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	46
เอกสารอ้างอิง	48
ภาคผนวก ก	52
การวิเคราะห์ทางสถิติ	52
ภาคผนวก ข	58
สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ	58

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 2.1 ผักและผลไม้ที่มีสีแดง ส้ม เหลือง และเขียว ซึ่งเป็นแหล่งที่พบสารแคโรทีนอยด์ตามธรรมชาติ 3

รูปที่ 2.2 โครงสร้างโมเลกุลของเบต้าแคโรทีน 4

รูปที่ 2.3 โครงสร้างโมเลกุลของแอสตาแซนทีน 5

รูปที่ 2.4 โครงสร้างโมเลกุลของลูทีน 5

รูปที่ 2.5 ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ในอุตสาหกรรมอาหารที่มีการนำแคโรทีนอยด์มาใช้ประโยชน์ 6

รูปที่ 2.6 แสดงลักษณะโคโลนีของเซลล์ยีสต์ *Rhodotorula. mucilaginosa* 10

รูปที่ 3.1 กราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส 18

รูปที่ 4.1 น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* โดยใช้น้ำตาลกลูโคส ความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร 21

รูปที่ 4.2 น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* โดยใช้น้ำตาลกาแลคโตส ความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร 23

รูปที่ 4.3 น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* โดยใช้น้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร 24

รูปที่ 4.4 น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* โดยใช้น้ำตาลแลคโตส ความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร 25

รูปที่ 4.5 น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* โดยใช้น้ำตาลแมนนิทอล ความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร 27

รูปที่ 4.6 น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* โดยใช้น้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร 31

รูปที่ 4.7 น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* โดยใช้น้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 35 กรัมต่อลิตร 32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป(ต่อ)

หน้า

รูปที่ 4.8 น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ 33
R. mucilaginosa โดยใช้น้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร
รูปที่ 4.9 น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ 35
R. mucilaginosa โดยใช้น้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 65 กรัมต่อลิตร
รูปที่ 4.10 น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ 38
R. mucilaginosa โดยใช้แหล่งไนโตรเจนเดิม
รูปที่ 4.11 น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ 40
R. mucilaginosa โดยใช้ยีสต์สกัด 5.5 กรัมต่อลิตร
รูปที่ 4.12 น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ 41
R. mucilaginosa โดยใช้แอมโมเนียมซัลเฟต 5.5 กรัมต่อลิตร
รูปที่ 4.13 น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ 43
R. mucilaginosa โดยใช้ยีสต์สกัด 2.5 กรัมต่อลิตรและแอมโมเนียมซัลเฟต
3 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 4.1 น้ำหนักเซลล์แห้ง แคโรทีนอยด์ ค่าพีเอชและปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* โดยใช้น้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร 21

ตารางที่ 4.2 น้ำหนักเซลล์แห้ง แคโรทีนอยด์ ค่าพีเอชและปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* โดยใช้น้ำตาลกาแลคโตสความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร 23

ตารางที่ 4.3 น้ำหนักเซลล์แห้ง แคโรทีนอยด์ ค่าพีเอชและปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* โดยใช้น้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร 24

ตารางที่ 4.4 น้ำหนักเซลล์แห้ง แคโรทีนอยด์ ค่าพีเอชและปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* โดยใช้น้ำตาลแลคโตสความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร 25

ตารางที่ 4.5 น้ำหนักเซลล์แห้ง แคโรทีนอยด์ ค่าพีเอชและปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* โดยใช้น้ำตาลแมนนิทอลความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร 27

ตารางที่ 4.6 การเปรียบเทียบอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์และปริมาณแคโรทีนอยด์ของเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* เมื่อเลี้ยงในอาหารที่ใช้แหล่งคาร์บอนต่างกัน 28

ตารางที่ 4.7 น้ำหนักเซลล์แห้ง แคโรทีนอยด์ ค่าพีเอชและปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* โดยใช้น้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร 31

ตารางที่ 4.8 น้ำหนักเซลล์แห้ง แคโรทีนอยด์ ค่าพีเอชและปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* โดยใช้น้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 35 กรัมต่อลิตร 32

ตารางที่ 4.9 น้ำหนักเซลล์แห้ง แคโรทีนอยด์ ค่าพีเอชและปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* โดยใช้น้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร 33

ตารางที่ 4.10 น้ำหนักเซลล์แห้ง แคโรทีนอยด์ ค่าพีเอชและปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* โดยใช้น้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 65 กรัมต่อลิตร 35

ตารางที่ 4.11 การเปรียบเทียบอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์และปริมาณแคโรทีนอยด์ของเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* เมื่อเลี้ยงในอาหารที่ใช้แหล่งคาร์บอนที่มีความเข้มข้นต่างกัน 36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง(ต่อ)

หน้า

ตารางที่ 4.12 น้ำหนักเซลล์แห้ง แคโรทีนอยด์ ค่าพีเอชและปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* โดยใช้แหล่งไนโตรเจนเดิม 38

ตารางที่ 4.13 น้ำหนักเซลล์แห้ง แคโรทีนอยด์ ค่าพีเอชและปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ได้จากการเลี้ยงยีสต์ *R. mucilaginosa* โดยใช้ยีสต์สกัด 5.5 กรัมต่อลิตร 40

ตารางที่ 4.14 น้ำหนักเซลล์แห้ง แคโรทีนอยด์ ค่าพีเอชและปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ได้จากการเลี้ยงยีสต์ *R. mucilaginosa* โดยใช้แอมโมเนียมซัลเฟต 5.5 กรัมต่อลิตร 41

ตารางที่ 4.15 น้ำหนักเซลล์แห้ง แคโรทีนอยด์ ค่าพีเอชและปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ได้จากการเลี้ยงยีสต์ *R. mucilaginosa* โดยใช้ยีสต์สกัด 2.5 กรัมต่อลิตรและ แอมโมเนียมซัลเฟต 3 กรัมต่อลิตร 43

ตารางที่ 4.16 การเปรียบเทียบอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์และปริมาณแคโรทีนอยด์ของเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* เมื่อเลี้ยงในอาหารที่ใช้แหล่งคาร์บอนที่มีความเข้มข้นต่างกัน 44

ภาคผนวก ก 52

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาของโครงงานพิเศษ

แคโรทีนอยด์เป็นสารสีเหลืองจากธรรมชาติ พบได้จากสิ่งมีชีวิตตามธรรมชาติ เช่น ในพืชที่มีสีเหลืองและสีส้ม ได้แก่ หัวแครอท หัวผักกาดแดง และมะเขือเทศ นอกจากนี้ยังพบสารแคโรทีนอยด์ในสาหร่าย รา เช่น *Blakeslea trispora* และ *Phycomyces* และยีสต์ เช่น *Rhodotorula mucilaginosa R.glutinis* โดพบว่าสารแคโรทีนอย์ที่ยีสต์มีการผลิตส่วนใหญ่คือ β-carotene และ torularhodin โดยจะขึ้นอยู่กับสภาวะการเพาะเลี้ยง (Aksu และ Eren, 2005) ลักษณะโคโลนีของยีสต์ *R. mucilaginosa* มีสีชมพู แดง หรือส้ม เนื่องจากสารแคโรทีนอยด์ที่ยีสต์สร้างขึ้น การผลิตสารแคโรทีนอยด์นิยมผลิตจากยีสต์เนื่องจากสามารถเพิ่มปริมาณในการผลิตได้ง่าย นอกจากนี้ยีสต์เป็นเซลล์เดี่ยว มีอัตราในการเจริญเติบโตสูง และสามารถผลิตแคโรทีนอยด์ได้ตามสภาวะที่กำหนด (http://www.doctorfungus.org/thefungi/Rhodotorula_mucilaginosa.php)

ในทางอุตสาหกรรม นิยมใช้แคโรทีนอยด์ในอาหารสัตว์และอาหารบริโภค เช่น เนยเทียม เครื่องดื่ม ลูกอม ขนมอบ ซุป ผลิตภัณฑ์เนื้อ ผลิตภัณฑ์นม และผลิตภัณฑ์ไข่ เป็นต้น และพบว่าแคโรทีนอยด์เป็นสารตั้งต้นในกระบวนการสังเคราะห์วิตามินเอ ซึ่งเป็นสารที่มีความสำคัญต่อการมองเห็น การสร้างสเปิร์ม การซ่อมแซมเนื้อเยื่อ การสร้างกระดูกและฟัน ซึ่งปัจจุบันมีความต้องการใช้แคโรทีนอยด์สารแคโรทีนอยด์ในอุตสาหกรรมต่างๆโดยเฉพาะอุตสาหกรรมอาหาร สำหรับประเทศไทยมีการใช้แคโรทีนอยด์เพิ่มมากขึ้นและจำเป็นต้องสั่งซื้อจากต่างประเทศ (พัชรินทร์, 2551)

Rhodotorula mucilaginosa สามารถเจริญได้ในอาหารที่ใช้แหล่งคาร์บอนหลายชนิด จากการศึกษาของ Aksu และ Eren (2005) พบว่า เชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* สามารถผลิตแคโรทีนอยด์ได้ในปริมาณมาก นอกจากนี้ยังสามารถใช้วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่มีราคาถูกมาเป็นแหล่งคาร์บอนได้ด้วย ดังนั้น *R. mucilaginosa* จึงเป็นยีสต์ที่น่าสนใจและเหมาะที่จะนำมาเพาะเลี้ยงสำหรับการผลิตแคโรทีนอยด์เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ อาหารและยา เนื่องจากยีสต์สายพันธุ์นี้สามารถเจริญได้เร็วและมีการเพาะเลี้ยงได้ง่าย จึงเป็นยีสต์ที่น่าสนใจที่จะนำมาผลิตในระดับอุตสาหกรรมในประเทศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

1.2.1 ศึกษาแหล่งคาร์บอนและความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ของเชื้อยีสต์ *Rhodotorula mucilaginosa*

1.1.2 ศึกษาแหล่งอินทรีย์และแหล่งอนินทรีย์ไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ของเชื้อยีสต์ *Rhodotorula mucilaginosa*

1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

1.3.1 ศึกษาการผลิตแคโรทีนอยด์จากเชื้อ *R. mucilaginosa* ในอาหารเหลวโดยใช้น้ำตาลชนิดต่างๆเป็นแหล่งคาร์บอน

1.3.2 ศึกษาการผลิตแคโรทีนอยด์จากเชื้อ *R. mucilaginosa* โดยใช้แหล่งอินทรีย์และอนินทรีย์ไนโตรเจน

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ทราบสูตรอาหารเหลวที่มีแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการผลิตสารแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *R. mucilaginosa*

1.4.2 เป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับศึกษาการผลิตแคโรทีนอยด์จาก *R. mucilaginosa* ในระดับถังหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและหลักการ

2.1 แคโรทีนอยด์

แคโรทีนอยด์ (carotenoid) เป็นสารสีตามธรรมชาติ สามารถพบได้ในผักผลไม้ที่มีสีแดง ส้ม เหลือง และเขียว เช่น ฟักทอง แครอท มะเขือเทศ และหัวผักกาดแดง เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบสารแคโรทีนอยด์ในสาหร่าย รา และยีสต์ เช่น สาหร่าย *Chlorella* sp. *Dunaliella* sp. เชื้อรา *Blakeslea trispora* และยีสต์ในกลุ่ม *Rhodotorulaceae* เช่น *Rhodotorula glutinis* และ *Rhodotorula mucilaginosa* เป็นต้น แคโรทีนอยด์สามารถนำมาใช้เป็นสีผสมอาหารตามธรรมชาติ โดยใช้เป็นสารให้สีเหลืองและใช้เป็นแหล่งสีในอาหารปลา นอกจากนี้มีการใช้แคโรทีนอยด์ทางด้านเภสัชกรรมกันอย่างกว้างขวาง เนื่องจากแคโรทีนอยด์มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เป็นสารตั้งต้นในกระบวนการสังเคราะห์วิตามินเอ (provitamin A) ซึ่งเป็นสารที่มีความสำคัญต่อการมองเห็น การสร้างสเปิร์ม การซ่อมแซมเนื้อเยื่อ การสร้างกระดูกและฟัน และได้มีการค้นพบว่าแคโรทีนอยด์เป็นสารต้านมะเร็งและช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของเนื้องอกได้ (Park และคณะ, 2007)

รูปที่ 2.1 ผักและผลไม้ที่มีสีแดง ส้ม เหลือง และเขียว ซึ่งเป็นแหล่งที่พบสารแคโรทีนอยด์ตามธรรมชาติ

ที่มา : http://www.gacfruitfarm.com/?paged=2

2.1.1 โครงสร้างทางเคมีและประเภทของแคโรทีนอยด์

แคโรทีนอยด์เป็นสารประกอบจำพวกไขมัน (lipid) ที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่และมีสูตรทางเคมี คือ $C_{40}H_{56}$ จัดเป็นสารจำพวกไอโซพรีนอยด์ (isoprenoid) ประกอบด้วยหน่วยไอโซพรีน (isoprene unit) จำนวน 8 หน่วยที่ต่อกันด้วยพันธะโควาเลนต์ เกิดเป็นสายยาว โมเลกุลของแคโรทีนอยด์อาจเป็นเส้นตรง ดังที่พบในไลโคพีน (lycopene) หรือมีวงแหวน (ring) ที่ปลายสายโซ่ของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

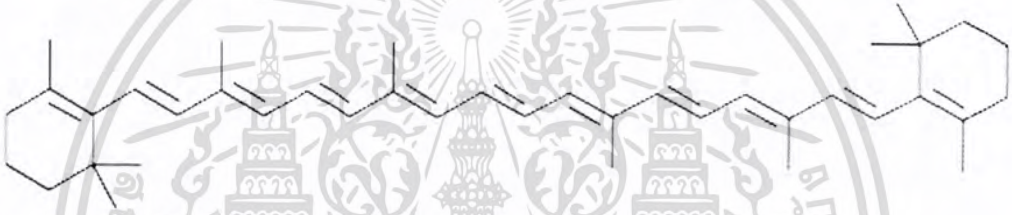
โมเลกุล ดังที่พบในเบต้าแคโรทีน (beta-carotene) สามารถจำแนกแคโรทีนอยด์เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มแคโรทีน (carotene) และกลุ่มแซนโทฟิลล์ (xanthophyll) (Ninet และ Renaut, 1992)

2.1.1.1 กลุ่มแคโรทีน (carotene)

เป็นโมเลกุลที่ประกอบด้วยสายไฮโดรคาร์บอน (hydrocarbon) ทำให้เป็นสารไม่มีขั้วและละลายได้ในไขมัน ได้แก่ เบต้าแคโรทีน และ ไลโคพีน เป็นต้น (Britton, 1983)

2.1.1.1.1 เบต้าแคโรทีน (β-carotene)

เบต้าแคโรทีนเป็นรงควัตถุที่ให้สีส้ม เหลือง หรือแดง พบในพืช ผัก ผลไม้ เช่น แครอท ฟักทอง มะเขือเทศ แตงโม และพบในผักที่มีสีเขียวเข้ม เช่น ผักบุ้ง ตำลึง ผักคะน้า เป็นต้น มีโครงสร้างพื้นฐานที่ประกอบด้วยหน่วยไอโซพรีน8 หน่วยเข้าด้วยกันได้เป็นโมเลกุลของไฮโดรคาร์บอนที่มีจำนวนคาร์บอน 40 อะตอมโดยที่ปลายทั้งสองข้างของสายไฮโดรคาร์บอนมีลักษณะเป็นวงแหวนเบต้าไอโอโนน (Britton, 1983) ดังแสดงในรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.2 โครงสร้างโมเลกุลของเบต้าแคโรทีน
ที่มา : http://www.benbest.com/nutrceut/phytochemicals.html

เบต้าแคโรทีนมีคุณสมบัติที่ไม่ละลายในน้ำแต่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ที่ไม่มีขั้ว เช่น เฮกเซน ปิโตรเลียมอีเทอร์ อะซีโตน เป็นต้น สามารถดูดกลืนคลื่นแสงได้สูงสุดที่ความยาวคลื่น 3 ช่วง ได้แก่ 427 449 และ 477 นาโนเมตรขึ้นอยู่กับชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติในการเป็นสารตั้งต้นของวิตามินเอ (provitamin A) ซึ่งมีความสำคัญต่อการมองเห็นและมีส่วนช่วยในการป้องกันโรคมะเร็งด้วย

เบต้าแคโรทีนนิยมนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร โดยใช้เป็นสารแต่งสีของอาหารจำพวกเนยเทียม เครื่องดื่ม ลูกอม ขนมอบ ผลิตภัณฑ์เนื้อ ผลิตภัณฑ์นม และผลิตภัณฑ์ไข่ เป็นต้น และจากคุณสมบัติของเบต้าแคโรทีนอยด์ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ จึงทำให้มีการนำเบต้าแคโรทีนไปใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง (http://www.vcharkarn.com/varticle/41573)

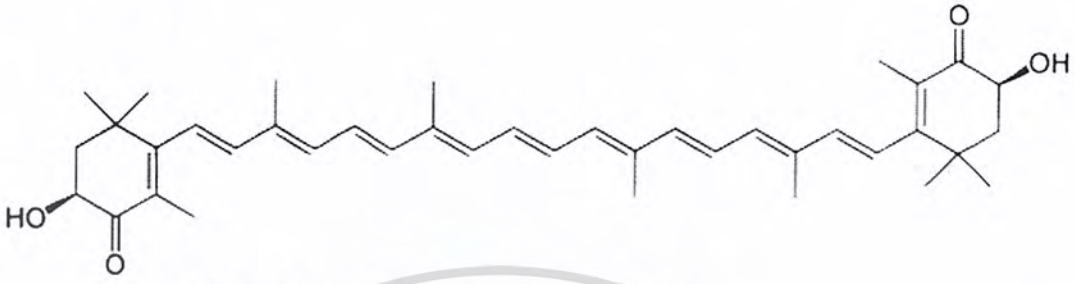
2.1.1.2 กลุ่มแซนโทฟิลล์ (xanthophyll)

โมเลกุลของกลุ่มแซนโทฟิลจะมีอะตอมของออกซิเจนอยู่ภายในโมเลกุลนอกเหนือจากไฮโดรเจนและคาร์บอน จึงทำให้มีความเป็นขั้วมากกว่าและละลายในไขมันได้น้อยกว่ากลุ่มแคโร-ทีน ได้แก่ แอสตาแซนทีน และ ลูทีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.1.2.1 แอสตาแซนทีน (astaxanthin)

โมเลกุลของแอสตาแซนทีนเกิดจากการเชื่อมต่อกันของหน่วยไอโซพรีน บริเวณปลายทั้งสองข้างของโมเลกุลจะมีวงแหวนของคาร์บอนมาเกาะ เรียกวงแหวนนั้นว่า **วงแหวนไอโอโนน** ดังแสดงในรูปที่ 2.3



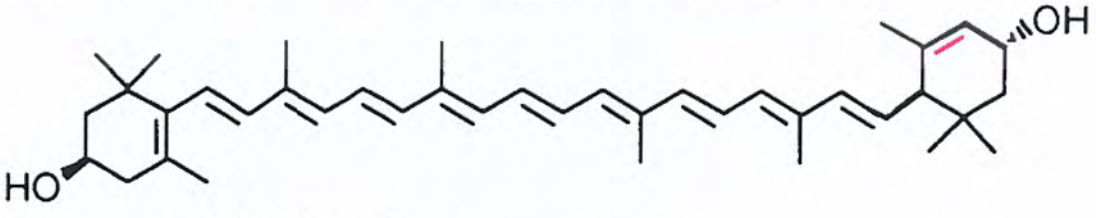
รูปที่ 2.3 โครงสร้างโมเลกุลของแอสตาแซนทีน

ที่มา : http://www.benbest.com/nutrceut/phytochemicals.html

ในปัจจุบันมีการศึกษาจุลินทรีย์ที่ผลิตสารแอสตาแซนทีนจากแหล่งต่างๆ พบว่าแบคทีเรียจากทะเลสามารถผลิตแคโรทีนอยด์ชนิดต่างๆได้ เช่น แอคติโนมัยซีท และสาหร่าย *Haematococcus* sp. แอสตาแซนทินเป็นสารสีตามธรรมชาติที่มีความสำคัญในอุตสาหกรรมหลากหลายชนิด เช่น อุตสาหกรรมเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำและอุตสาหกรรมเพาะเลี้ยงสัตว์ปีก เป็นต้น นอกจากนี้สารแอสตาแซนทีนยังมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ สารต้านมะเร็ง สารกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันอีกด้วย (Fogg และคณะ, 1973)

2.1.1.2.2 ลูทีน (lutene)

ลูทีนเป็นกลุ่มของแคโรทีนอยด์ที่มีออกซิเจนอยู่ภายในโมเลกุลนอกเหนือจากไฮโดรเจนและคาร์บอน เป็นรงควัตถุให้สารสีเหลือง มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพสูง ลูทีนพบมากในเนื้อเยื่อสังเคราะห์แสงของพืช นอกจากนี้ยังพบในเซลล์เนื้อเยื่อภายในดวงตาและบริเวณเรตินา จึงมาส่วนช่วยในการส่งเสริมสุขภาพของดวงตาให้เป็นปกติ โครงสร้างโมเลกุลของลูทีนแสดงในรูปที่ 2.4 (http://www.megawecare.co.th/thai/brochure.asp?id=8)



รูปที่ 2.4 โครงสร้างโมเลกุลของลูทีน

ที่มา : http://www.mellerio.org.uk/macpig/macpig2.htm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 ประโยชน์ของแคโรทีนอยด์

2.2.1 เป็นสารตั้งต้นของวิตามินเอ

สารในกลุ่มแคโรทีนอยด์บางชนิด ได้แก่ เบต้าแคโรทีน พบว่าเป็นสารตั้งต้นของวิตามินเอที่สำคัญที่สุด โดยโมเลกุลของเบต้าแคโรทีนจะถูกเปลี่ยนในเป็นวิตามินเอภายในตับและลำไส้ของสัตว์ ซึ่งวิตามินเอจะช่วยในการบำรุงสุขภาพของดวงตา เนื่องจากเมื่อตับทำการย่อยสลายได้เป็นวิตามินเอแล้ว ร่างกายจะนำไปใช้สร้างสารโรดอปซินที่บริเวณเรตินา ทำให้สามารถในการมองเห็นในตอนกลางคืนได้ อีกทั้งยังช่วยลดความเสื่อมของเซลล์ของลูกตา และลดความเสี่ยงต่อการเป็นต้อกระจกด้วย (http://www.lovevitamin.net/มารู้จัก%20เบต้าแคโรทีน%20กันเถอะ)

2.2.2 อุตสาหกรรมอาหาร

ในอุตสาหกรรมอาหารมีการใช้แคโรทีนอยด์เป็นสีผสมอาหาร โดยจะใช้ผสมในอาหารประเภทไขมันต่างๆ เช่น เนยเทียม ใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องดื่ม เช่น น้ำส้ม ใช้ในการผลิตขนมต่างๆ เช่น คุกกี้ ขนมอบ ลูกอม นอกจากนี้ยังมีการนำแคโรทีนอยด์มาใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อ ผลิตภัณฑ์นม และผลิตภัณฑ์ไข่ด้วย (พัชรินทร์, 2551)

รูปที่ 2.5 ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ในอุตสาหกรรมอาหารที่มีการนำแคโรทีนอยด์มาใช้ประโยชน์

ที่มา : http://idealplus1.blogspot.com/2009/04/blog-post_08.html

2.2.3 อุตสาหกรรมอาหารสัตว์

ในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์มีการใช้แคโรทีนอยด์ผสมลงไปในอาหารสัตว์ ซึ่งจะทำให้สีของเนื้อผลิตภัณฑ์มีสีสันที่สวยงาม น่ารับประทาน จึงทำให้ผลิตภัณฑ์มีราคาสูงขึ้นและเป็นที่ต้องการให้ท้องตลาด อีกทั้งยังมีการใช้แคโรทีนอยด์ในอุตสาหกรรมเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ โดยจะใช้แค-โรทีนอยด์เป็นแหล่งสีในอาหารปลา (Park และคณะ, 2007)

2.2.4 ทางการแพทย์และเภสัชกรรม

จากการที่แคโรทีนอยด์มีคุณสมบัติเป็นสารตั้งต้นของวิตามินเอและเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระนี้จะเป็นสารตั้งต้นที่ทำให้เกิดกระบวนการทำลายเซลล์ต่างๆของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ร่างกาย สารแคโรทีนอยด์จึงมีฤทธิ์ยับยั้งการเกิดเนื้องอกและป้องปันการเกิดโรคมะเร็ง นอกจากนี้ยังช่วยชะลอความแก่ ลดความเหี่ยวย่นของผิวหนัง บำรุงรักษาดวงตา ป้องกันการเกิดโรคหัวใจ และป้องกันความผิดปกติของผิวหนังอันเนื่องมาจากแสงแดดได้อีกอีกด้วย (Park และคณะ, 2007)

2.3 การผลิตสารแคโรทีนอยด์จากเชื้อ *Rhodotorula* sp.

Margalith และ Meydav (1968) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ของเชื้อ *Rhodotorula mucilaginosa* โดยเป็นการทดสอบสารประกอบบางชนิดที่มีผลต่อการสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ของ *R. mucilaginosa* โดยเลี้ยงในสภาวะที่มีเอทานอล ไดฟีนิลลามีน และไอโซโพรพานอล ซึ่งพบว่าสารไดฟีนอลลามีนและไอโซโพรพานอลมีผลต่อการผลิตสารโทรูลาโรดีนต่อโทรูลีน ยกเว้นเพียงเอทานอลเท่านั้นที่มีผลต่อการกระตุ้นการสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ทั้งหมด และคลอแรมฟีนิคอลไม่มีผลต่อการเจริญหรือการผลิตแคโรทีนอยด์

Buzzini และ Martini (1999) ได้ศึกษาการผลิตแคโรทีนอยด์จากเชื้อ *R. glutinis* จากวัตถุดิบทางการเกษตร เช่น น้ำคั้นจากองุ่น (grape must) กลูโคสไซรัป (glucose syrup) กากน้ำตาลจากหัวบีท (sugar beet molasses) สารสกัดจากแป้งถั่วเหลือง (soybean flour extract) และสารสกัดจากแป้งข้าวโพด (maize flour extract) จากผลการทดลองพบว่าจะได้ผลผลิตสูงสุดเมื่อทำการเพาะเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 120 ชั่วโมง ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำคั้นองุ่นเป็นแหล่งอาหารเพียงชนิดเดียว โดยปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดที่ได้คือ 5.95 มิลลิกรัมต่อลิตรของอาหารเหลว หรือ 630 ไมโครกรัมของน้ำหนักเซลล์แห้ง

Vijayalakshmi และคณะ (1999) ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตแคโรทีนอยด์จากยีสต์ *R. gracilis* ในอาหารตามสูตรของ Enebos (1946) พบว่ายีสต์สามารถผลิตแคโรทีนอยด์ได้สูงสุดเมื่อเลี้ยงในกลูโคสเข้มข้นร้อยละ 10 ใช้หัวเชื้อร้อยละ 2 และเลี้ยงเป็นเวลา 9 วัน

Vijayalakshmi และคณะ (2001) ได้ออกแบบการทดลองเพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตแคโรทีนอยด์ในยีสต์กลายพันธุ์ของ *R. glutinis* ในอาหารตามสูตรของ Enebos (1946) พบว่ายีสต์สามารถผลิตแคโรทีนอยด์ได้สูงสุดเมื่อเลี้ยงในกลูโคสเข้มข้นร้อยละ 8 ที่พีเอช 7.5 ใช้หัวเชื้อร้อยละ 6 และเลี้ยงเป็นเวลา 12 วัน อุณหภูมิ 24 องศาเซลเซียส

Aksu และ Eren (2005) ได้ทำการศึกษาการผลิตแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *R. mucilaginosa* โดยใช้ของเหลือทิ้งจากการเกษตรเป็นแหล่งคาร์บอน ซึ่งได้แก่ น้ำตาลกลูโคส กากน้ำตาล ซูโครส และน้ำตาลแลคโตสในหางนม จากการทดลองพบว่าการเลี้ยงเชื้อในสภาวะที่มีอุณหภูมิ 30 องศา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซลเซียส พีเอชเท่ากับ 7 แอมโมเนียมซัลเฟต 2 กรัมต่อลิตร และมีอัตราการให้อากาศเป็น 2.4 ปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาที พบว่ามีปริมาณการผลิตแคโรทีนอยด์สูงสุด ส่วนการใช้น้ำมันเมล็ดฝ้ายเป็นตัวกระตุ้นพบว่าสามารถกระตุ้นการผลิตแคโรทีนอยด์ได้ที่สภาวะที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสต่ำ และการใช้กากน้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอนพบว่ามีความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์สูงสุด คือ 89 มิลลิกรัมของแคโรทีนอยด์ทั้งหมดต่อลิตร ในขณะที่เมื่อใช้น้ำตาลแลคโตสในหางนมเป็นแหล่งคาร์บอนพบว่ามีปริมาณผลผลิตแคโรทีนอยด์สูงที่สุด คือ 35 กรัมของแคโรทีนอยด์ทั้งหมดต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง

Aksu และ Eren (2007) ได้ศึกษาการผลิตสารแคโรทีนอยด์จากเชื้อ *R. glutinis* โดยใช้กากน้ำตาลซูโครสและหางนมเป็นแหล่งคาร์บอน ซึ่งจากการศึกษาพบว่ากระบวนการหมักแบบแบทช์ พบว่าการเพิ่มขึ้นของความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสและซูโครสจากกากน้ำตาลจะเป็นตัวกำหนดการเจริญเติบโตของยีสต์และปริมาณการผลิตสารแคโรทีนอยด์ที่ผลิตได้ โดยที่ความเข้มข้นของน้ำตาลแลกโตสในหางนมจะไม่มีส่งผลดังกล่าว การใช้กากน้ำตาลซูโครสจะทำให้ได้ปริมาณความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์สูงสุดเท่ากับ 125.0 มิลลิกรัมของแคโรทีนอยด์ทั้งหมดต่อลิตรของน้ำหมัก เมื่อใช้ความเข้มข้นซูโครสจากกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอน ขณะที่ถ้าใช้น้ำตาลแลคโตสในหางนมเป็นแหล่งคาร์บอนจะได้ผลผลิตแคโรทีนอยด์ที่มากที่สุดบนความเข้มข้นของเซลล์สูงสุดเพียงแค่ 35.5 มิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักเซลล์แห้ง เมื่อใช้น้ำตาลแลคโตสที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 13.2 กรัมต่อลิตร

Malisorn และ Suntornsuk (2007) ได้ศึกษาการหาสภาวะที่เหมาะสมในการสังเคราะห์สารเบต้าแคโรทีนจากยีสต์ *R. glutinis* โดยใช้น้ำเกลือที่ใช้หมักหัวไชเท้าเป็นสารตั้งต้นในถังหมักแบบแบทช์ โดยศึกษา 3 สภาวะ คือ อุณหภูมิ พีเอช และปริมาณออกซิเจนละลาย พบว่าสภาวะที่ดีที่สุดในการผลิตเบต้าแคโรทีนจากเชื้อชนิดนี้คือที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พีเอชเท่ากับ 6 และมีปริมาณออกซิเจนละลายน้ำร้อยละ 80 ในสภาวะดังกล่าวจะมีผลได้จากการเจริญ 2.7 กรัมต่อลิตร ปริมาณเบต้าแคโรทีน 201 ไมโครกรัมต่อลิตร ซึ่งจะได้สูงสุดภายหลังจากการหมัก 24 ชั่วโมง

Maldonade และคณะ (2008) ได้ทำการศึกษาองค์ประกอบทั้งในเชิงคุณภาพและปริมาณของแคโรทีนอยด์ของยีสต์ที่แยกได้จากระบบนิเวศวิทยาของประเทศบราซิล โดยพบว่าเบต้าแคโร-ทีนจะพบมากใน *R. graminis*-125 *R. glutinis* และ *Sporobolomyces roseus* ส่วนโทรูลีนจะพบมากใน *R. mucilaginosa* นอกจากนี้ยังพบว่า *R. glutinis* ให้ผลผลิตแคโรทีนอยด์สูงสุด ตามด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

R. graminis R. mucilaginosa-137 และ *R. mucilaginosa*-135 ส่วน *R. minuta* และ *S. roseus* ให้ผลผลิตแคโรทีนอยด์น้อยสุด

ดิเรกฤกธิ์ และคณะ (2551) ทำการศึกษาการผลิตแคโรทีนอยด์จาก *R. glutinis* TISTR 5159 โดยเลี้ยงยีสต์อาหารเหลว YM เปรียบเทียบกับสูตรอาหารของ Aksu และ Eren (2005) ในฟลาสก์แบบเขย่าที่ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาที บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน พบว่ายีสต์ *R. glutinis* TISTR 5159 เจริญได้ดีในสูตรอาหารของ Aksu และ Eren (2005) โดยให้น้ำหนักเซลล์แห้ง 5.85 กรัมต่อลิตร และปริมาณแคโรทีนอยด์ 303.97 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้งตามลำดับ จากการศึกษาผลของชนิดของน้ำตาล อนินทรีย์ไนโตรเจน และความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่มีผลต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการผลิตแคโรทีนอยด์ประกอบด้วย ซูโครส 15 กรัมต่อลิตร แอมโมเนียมซัลเฟต 1 กรัมต่อลิตร ยีสต์สกัด 2.5 กรัมต่อลิตร มอลต์สกัด 2 กรัมต่อลิตร โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 1 กรัมต่อลิตร และแมกนีเซียมซัลเฟต 0.25 กรัมต่อลิตร

วิจิตรา (2551) ได้ทำการศึกษาคุณสมบัติเชิงคุณภาพและปริมาณแคโรทีนอยด์จากยีสต์ *R. mucilaginosa* จากน้ำทิ้งจากอุตสาหกรรมอาหารประเภทต่างๆ เช่น น้ำทิ้งมะม่วงดองเค็ม น้ำทิ้งมะม่วงดองหวาน น้ำทิ้งน้ำนม และน้ำกะทิเจือจาง จากการทดลองพบว่ายีสต์ที่เลี้ยงด้วยน้ำทิ้งมะม่วงดองเค็มมีอัตราการเจริญสูงสุด โดยมีการเจริญในระยะ stationary phase นานที่สุด (5 วัน) และให้ผลผลิตน้ำหนักเซลล์ยีสต์แห้งสูงสุดคือ 11.2 กรัมต่อลิตร และมีรูปแบบของแคโรทีนอยด์ประกอบด้วย โทรูลีนในปริมาณสูงสุด และมีโทรูลาโรดิน เบต้าแคโรทีนเป็นองค์ประกอบรองตามลำดับ

นิรชร และคณะ (2552) ได้ทำการศึกษาการผลิตแคโรทีนอยด์จากน้ำมะพร้าวโดยเชื้อ *R. glutinis* TISTR 5159 ในอาหารสูตรดัดแปลงของ Aksu และ Eren (2007) ที่ความเร็ว 180 รอบต่อนาที บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 วัน จากการทดลองพบว่าเมื่อใช้น้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอน มีน้ำหนักเซลล์แห้งและการผลิตแคโรทีนอยด์ได้สูงสุดเท่ากับ 24.35 กรัมต่อลิตรและ 1483.58 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง เมื่อทำการศึกษาปริมาณความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสที่เหมาะสมต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ พบว่า ความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสที่ 60 กรัมต่อลิตร มีปริมาณแคโรทีนอยด์และอัตราการผลิตสูงสุดเท่ากับ1781.98 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และ 296.99 ไมโครกรัมแคโรทีนอยด์ต่อกรัมเซลล์แห้งต่อวัน ตามลำดับ จากนั้นทำการศึกษาแหล่งอินทรีย์ไนโตรเจนที่เลือกใช้ได้แก่ ยีสต์สกัด มอลล์สกัด และเปปโตนที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 5.5 กรัมต่อลิตร พบว่าเปปโตนมีอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์สูงสุดเท่ากับ 224.69

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไมโครกรัมแคโรทีนอยด์ต่อกรัมเซลล์แห้งและมีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดเท่ากับ 1123.49 ไมโครกรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง ดังนั้นสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและผลิตแคโรทีนอยด์ของเชื้อยีสต์ *R. glutinis* TISTR 5159 มีสูตรดังนี้ น้ำตาลซูโครส 60 กรัมต่อลิตร เปปโตน 5.5 กรัมต่อลิตร โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) 1 กรัมต่อลิตร และแมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4 . 7H_2O$) 0.25 กรัมต่อลิตร ในน้ำมะพร้าว 1 ลิตร ที่ค่าพีเอชเริ่มต้น 6.5

2.4 ลักษณะทั่วไปของยีสต์ *Rhodotorula mucilaginosa*

Taxonomic: Classification

Kingdom: Fungi

Phylum: Basidiomycota

Class: Urediniomycetes

Order: Sporidiales

Family: Sporidiobolaceae

Genus: *Rhodotorula*

Species: *mucilaginosa*

รูปที่ 2.6 แสดงลักษณะโคโลนีของเซลล์ยีสต์ *Rhodotorula mucilaginosa*

ที่มา : http://www.doctorfungus.org/thefungi/rhodotorula.htm

Rhodotorula mucilaginosa เป็นยีสต์ในกลุ่ม basidiomycetes โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา การสร้างสี รวมไปถึงคุณสมบัติทางเมตาบอลิกบางประการ เช่น การใช้อินโนซิทอลในการจัดจำแนก *R. mucilaginosa* เป็นยีสต์ที่มีโคโลนีมีสีครีมชมพูจนถึงสีส้มที่พบทั่วไปทั้งในอากาศ ดิน น้ำจืด น้ำเค็ม พืชบางชนิด และในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Bhosale และ Gadre, 2001)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยีสต์ชนิดนี้มีการดำรงชีวิตเป็นแบบเซลล์เดี่ยว เซลล์ของ *R. mucilaginosa* โดยเซลล์มีรูปร่างหลายแบบ คือ รูปร่างกลม (spheroidal) รูปไข่ (ovidal) หรือทรงยาว (Elongate) จัดเป็นพวกที่ต้องการอากาศในการเจริญ (aerobe) สืบพันธุ์โดยวิธีการแตกหน่อแบบหลายทิศทาง (multilateral budding) มีการสร้างเส้นใยที่แท้จริง แต่ไม่มีการสร้างแอสโคสปอร์ (ascospores) บางครั้งพบว่ามีการสร้างแคปซูล จึงทำให้ผิวหน้าของโคโลนีมีลักษณะเป็นเมือก มีการสร้างสารสีแคโรทีนอยด์ ทำให้โคโลนีมีสีครีมชมพูจนถึงสีส้ม (http://www.doctorfungus.org/thefungi/Rhodotorula.php)

สารสีแคโรทีนอยด์ที่ *R. mucilaginosa* สร้างขึ้นนั้น พบว่ามีหลายชนิด ได้แก่ เบต้าแคโรทีน โทรูลีน และโทรูลาโรดิน ซึ่งเป็นลักษณะเด่นของยีสต์ชนิดนี้ และจากการศึกษาพบว่า ยีสต์ชนิดนี้สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ช่วงพีเอชเท่ากับ 7 และมีน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน (Aksu และ Eren, 2005)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 เชื้อจุลินทรีย์

เชื้อยีสต์ *Rhodotorura mucilaginosa* เก็บไว้ในอาหารวุ้นเอียง YM ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และทำการเขี่ยเชื้อใหม่ทุกๆ 2 เดือน

3.2 อุปกรณ์และสารเคมี

3.2.1 อุปกรณ์

	บริษัท
กรวยแยก ขนาด 250 มิลลิลิตร	Isolab
กระบอกตวง ขนาด 50 100 และ 500 มิลลิลิตร	Diffico
ฟลาสก์แก้ว ขนาด 250 มิลลิลิตร	Pyrex
โถดูดความชื้น	Glasweek Wertheim
บีกเกอร์ ขนาด 50 250 และ 500 มิลลิลิตร	Pyrex
ปิเปตต์ ขนาด 1 5 และ 10 มิลลิลิตร	HBG
หลอดทดลอง	Pyrex
เครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ	Gallenkamp
หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอ	Hirayama
ตู้ปลอดเชื้อ	Faster bio 48
ตู้อบแห้ง	WTB binder
เครื่องมือวัดความเป็นกรด-ด่าง	Unico
เครื่องหมุนเหวี่ยงปรับอุณหภูมิ	Falcon 6/300
เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง	Unico
เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง	Advanture
ไมโครปิเปตต์ 1 และ 5 มิลลิลิตร	Biohit

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เครื่องไมโครเวฟ	Samsung
ตู้เย็น	Sanyo

3.2.2 สารเคมี

	บริษัท
โซเดียมคลอไรด์	Ajax Finechem Rty Ltd
ปิโตรเลียมอีเทอร์	Asia Pacific Spacialty Chemical
อะซีโตน	Asia Pacific Spacialty Chemical
เปปโตน	Himedis Laboratory
ยีสต์สกัด	Scharlar Chemic S.A
มอลท์สกัด	Scharlar Chemic S.A
วุ้นผง	Fluka Biochemical
แอมโมเนียมซัลเฟต	Ajax Finechem Rty Ltd
โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต	Ajax Finechem Rty Ltd
แมกนีเซียมซัลเฟต	BDH Analar
ฟีนอล	Ajax Finechem Rty Ltd
กรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 96%	Ajax Finechem Rty Ltd
กลูโคส	Fluka Bochemical
ซูโครส	Fluka Bochemical
แลคโตส	Fluka Bochemical
กาแลคโตส	Fluka Bochemical
แมนนิทอล	Fluka Bochemical

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 วิธีการวิจัย

3.3.1 การเตรียมหัวเชื้อ

เขี่ยเชื้อยีสต์อายุ 24 ชั่วโมงที่เจริญในอาหารวุ้นเอียง ลงในอาหารเหลว YM ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร จำนวน 1 ลูป นำมาเลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 180 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมาวัดค่าความขุ่นของเชื้อยีสต์ที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร ปรับค่าความขุ่นโดยเจือจางกับอาหารเหลว YM ให้ได้ค่าความขุ่น 0.5±0.05 เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการศึกษาการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์ต่อไป

3.3.2 การศึกษาชนิดของแหล่งคาร์บอนที่มีผลต่อการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์ของ *Rhodotorula mucilaginosa*

เตรียมอาหารโดยดัดแปลงจากสูตรของ Aksu และ Eren (2005) ซึ่งมีสูตรอาหารดังนี้ น้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร ยีสต์สกัด 2.5 กรัมต่อลิตร มอลต์สกัด 2 กรัมต่อลิตร แอมโมเนียมซัลเฟต $(NH_4)_2SO_4$ 1 กรัมต่อลิตร โดยใช้แหล่งคาร์บอนเป็นน้ำตาลชนิดต่างๆ ได้แก่ น้ำตาลกลูโคส ซูโครส แลกโตส แมนนิทอล และกาแลกโตส แทนน้ำตาลในสูตรเดิม จากนั้นทำการปรับค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารแต่ละสูตรเท่ากับ 6.0 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก (HCl) 0.1 โมลาร์ หรือโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 0.1 โมลาร์ นำอาหารปริมาตร 50 มิลลิลิตร มาบรรจุลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร (อาหารแต่ละสูตรทำ 2 ซ้ำ) ทำการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที หลังจากการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วเมื่ออาหารเย็นให้เติมหัวเชื้อจากข้อ 3.3.1 ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร (5 เปอร์เซ็นต์) ลงในอาหาร นำอาหารทั้งหมดไปเลี้ยงบนเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิความเร็ว 180 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน เก็บตัวอย่างทุกวัน เพื่อวิเคราะห์หาน้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าพีเอช ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ปริมาณแคโรทีนอยด์และอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์ นำแหล่งคาร์บอนที่ให้ปริมาณแคโรทีนอยด์และอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์สูงสุดศึกษาต่อไป

3.3.3 การศึกษาความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนที่มีผลต่อการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์ของ *Rhodotorula mucilaginosa*

เตรียมอาหารตามสูตรที่ให้ปริมาณแคโรทีนอยด์และอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์สูงสุดจากข้อ 3.3.2 โดยแปรผันความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอน ดังนี้ 20 35 50 และ 65 กรัมต่อลิตร ทำการปรับปริมาตรอาหารด้วยน้ำกลั่น ทำการปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6.0 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก (HCl) 0.1 โมลาร์ หรือโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 0.1 โมลาร์ (อาหารแต่ละสูตรทำ 2 ซ้ำ) แล้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำอาหารปริมาตร 50 มิลลิลิตร มาบรรจุลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ทำการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที เมื่ออาหารเย็นให้เติมหัวเชื้อจากข้อ 3.3.1 ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร (5 เปอร์เซ็นต์) ลงในอาหารแต่ละสูตร จากนั้นนำไปเลี้ยงบนเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิความเร็ว 180 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน เก็บตัวอย่างทุกวัน เพื่อทำการวิเคราะห์หาน้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าพีเอช ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ปริมาณแคโรทีนอยด์และอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์ แล้วนำความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนที่ให้ปริมาณแคโรทีนอยด์และอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์สูงสุดศึกษาต่อไป

3.3.4 การศึกษาแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์ของ *Rhodotorula mucilaginosa*

นำอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่ให้ปริมาณแคโรทีนอยด์และอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์สูงสุดจากข้อ 3.3.3 มาเลี้ยงเชื้อยีสต์โดยเปลี่ยนแหล่งไนโตรเจนในสูตรเดิมออก (ยีสต์สกัด มอลต์สกัด และแอมโมเนียมซัลเฟต) เป็นแหล่งอนินทรีย์ไนโตรเจน ได้แก่ แอมโมเนียมซัลเฟต ปริมาณ 5.5 กรัมต่อลิตร แหล่งอินทรีย์ไนโตรเจน ได้แก่ ยีสต์สกัด 5.5 กรัมต่อลิตร และแหล่งอินทรีย์ร่วมกับอนินทรีย์ไนโตรเจน ได้แก่ ยีสต์สกัดปริมาณ 2.5 กรัมต่อลิตรร่วมกับแอมโมเนียมซัลเฟตปริมาณ 3 กรัมต่อลิตร และแหล่งไนโตรเจนเดิม (ยีสต์สกัด 2.5 กรัมต่อลิตร มอลต์สกัด 1 กรัมต่อลิตร และแอมโมเนียมซัลเฟต 2 กรัมต่อลิตร) ทำการปรับค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารแต่ละสูตรเท่ากับ 6.00 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก (HCl) 0.1 โมลาร์หรือโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 0.1 โมลาร์ (อาหารแต่ละสูตรทำ 2 ซ้ำ) นำอาหารปริมาตร 50 มิลลิลิตร มาบรรจุลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ทำการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที เมื่ออาหารเย็นให้เติมหัวเชื้อจากข้อ 3.3.1 ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร (5 เปอร์เซ็นต์) ลงในอาหารแต่ละสูตร จากนั้นนำไปเลี้ยงบนเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิความเร็ว 180 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน เก็บตัวอย่างทุกวัน เพื่อทำการวิเคราะห์หาน้ำหนักเซลล์แห้ง พีเอช ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ปริมาณแคโรทีนอยด์และอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์ และทำการเปรียบเทียบกับสูตรอาหารควบคุม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 วิธีการวิเคราะห์

3.4.1 ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง (Dried cell weight)

1. เก็บตัวอย่างน้ำหมักที่ได้จากการเลี้ยงยีสต์ *Rhodotorula mucilaginosa* ปริมาตร 20 มิลลิลิตร หรือปริมาตรของตัวอย่างน้ำหมักตามความเหมาะสม บรรจุในหลอดเซนตริฟิวต์ขนาด 50 มิลลิลิตร ที่อบแห้งและชั่งน้ำหนักที่แน่นอนแล้ว

2. ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เทส่วนใสทิ้งแล้วล้างเซลล์ด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง

3. นำหลอดเซนตริฟิวต์ไปอบแห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง หรือจนน้ำหนักหลอดคงที่

4. นำมาตั้งทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น

5. นำหลอดเซนตริฟิวต์ที่มีเซลล์แห้งไปชั่งหาน้ำหนักที่คงที่โดยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง จากนั้นคำนวณหาปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง จากสูตรต่อไปนี้

$$\text{น้ำหนักเซลล์แห้ง(กรัมต่อลิตร)} = \frac{\text{น้ำหนักเซลล์แห้งและหลอดหลังอบ - น้ำหนักหลอดก่อนอบ X 1000}}{\text{ปริมาตรของตัวอย่างน้ำหมัก (มิลลิลิตร)}}$$

3.4.2 การสกัดแคโรทีนอยด์จากเซลล์ยีสต์

การสกัดและวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์ ดัดแปลงจากวิธีของ Calo และคณะ (1995) นำตัวอย่างน้ำหมัก 20 มิลลิลิตร (โดยอาจลดปริมาตรของตัวอย่างน้ำหมักในแต่ละวันลงได้ตามความเหมาะสมแต่ไม่ควรทำการเก็บตัวอย่างต่ำกว่า 5 มิลลิลิตร) มาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นทำการล้างเซลล์ด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง แล้วนำมาทำให้เซลล์แตกด้วยสารละลายไดเมทิลซัลฟอกไซด์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ทำการเขย่าด้วยเครื่องสั่น (vortex) 1 นาที และสกัดแคโรทีนอยด์ด้วยอะซีโตนปริมาตร 5 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่องสั่น 1 นาที แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แยกส่วนที่มีสีออกจากเศษเซลล์ นำส่วนที่มีสีใส่ในกรวยแยก จากนั้นเติมปิโตรเลียมอีเทอร์ 10 มิลลิลิตร และเติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์อิ่มตัว (sodium chloride) เล็กน้อย ทำการเขย่ากรวยแยก ให้สารละลายผสมกัน ทำการทดลองทั้งหมด 2 ซ้ำ โดยสารแคโรทีนอยด์จะละลายอยู่ในชั้นของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปิโตรเลียมอีเทอร์ แล้วทำการวิเคราะห์องค์ประกอบของแคโรทีนอยด์ต่อไป โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ใช้ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร และคำนวณโดยใช้ 1% extinction coefficient = 2500 โดยใช้สูตรของ Grosa (1991)

$$\text{แคโรทีนอยด์ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง} = \frac{A_{450} \times V \times 10^6}{A^{1\%}_{1\,cm1} \times 100 \times G}$$

A = ค่าการดูดกลืนแสง

V = ปริมาตรทั้งหมดของสารละลายที่สกัดได้ (มิลลิลิตร)

G = จำนวนกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม)

$A^{1\%}_{1\,cm1}$ = specific absorbance/extinction coefficient ($E^{1\%}_{1\,cm}$)

3.4.3 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดโดยวิธีฟีนอล-ซัลฟิวริก ตามวิธีของ Dubois และคณะ (1956)

สารเคมี

1. กรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 96 เปอร์เซ็นต์

2. สารละลายฟีนอล 5 เปอร์เซ็นต์

ชั่งสารฟีนอล 50 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร และนำสารละลายที่ได้บรรจุในขวดสีชา และเก็บรักษาโดยหลีกเลี่ยงจากแสงแดด

3. สารละลายมาตรฐานกลูโคส

ชั่งน้ำตาลกลูโคส ปริมาณ 0.1 กรัม มาละลายด้วยน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร

วิธีการ

1. ปิเปตสารละลายตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง ทำแบลงค์ (blank) ควบคู่ได้ด้วยการใช้น้ำกลั่นแทนสารละลายตัวอย่าง เพื่อเป็นตัวเปรียบเทียบ

2. เติมสารละลายฟีนอล 5 เปอร์เซ็นต์ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าหลอดทดลองเพื่อผสมให้สารละลายเข้ากัน แช่หลอดทดลองในน้ำเย็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
117226

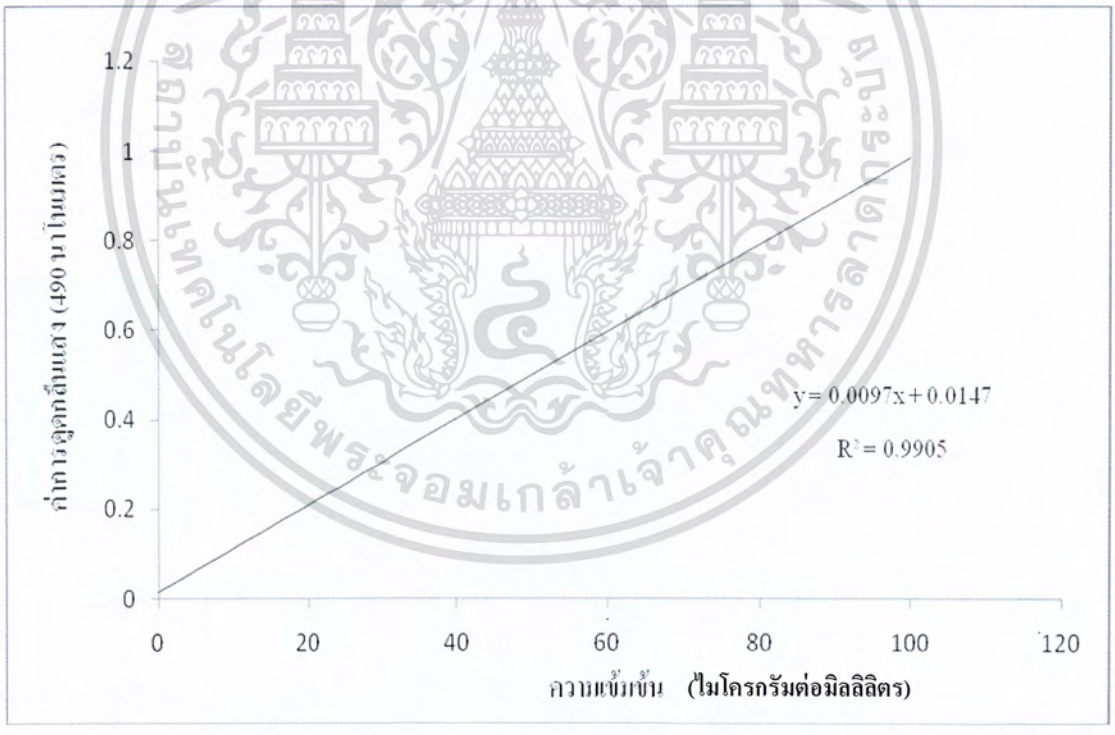
3. เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 96 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันทันที ตั้งทิ้งไว้ 20 นาที แล้วทำการเขย่าอีกครั้ง

4. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร

5. ทำกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้นต่างๆกันคือ 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการวิเคราะห์ตามวิธีการในนี้ และนำมาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (A_{490}) และความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคส ดังแสดงในรูปที่ 3.1

6. คำนวณหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดจากสูตรต่อไปนี้

$$\text{ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)} = \frac{A_{490} \times \text{ระดับความเจือจาง}}{\text{ความชันของกราฟมาตรฐาน}}$$



รูปที่ 3.1 กราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลจากผลการทดลองจากผลการทดลองมาทำการวิเคราะห์ทางสถิติ วิเคราะห์ความแปรปรวน(Analysis of Variance , ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS / PC version 17 และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธีวิเคราะห์ของ Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลองและการอภิปรายผล

4.1 ผลการศึกษาชนิดของแหล่งคาร์บอนที่มีผลต่อการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์

ทำการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *Rhodotorula mucilaginosa* ในอาหารที่ดัดแปลงจากสูตรอาหารของ Aksu และ Eren (2005) โดยใช้แหล่งคาร์บอนชนิดต่างๆและมีความเข้มข้นเริ่มต้นของแหล่งคาร์บอนเป็น 20 กรัมต่อลิตร พบว่าการเจริญของเชื้อ *R. mucilaginosa* แสดงได้ดังนี้

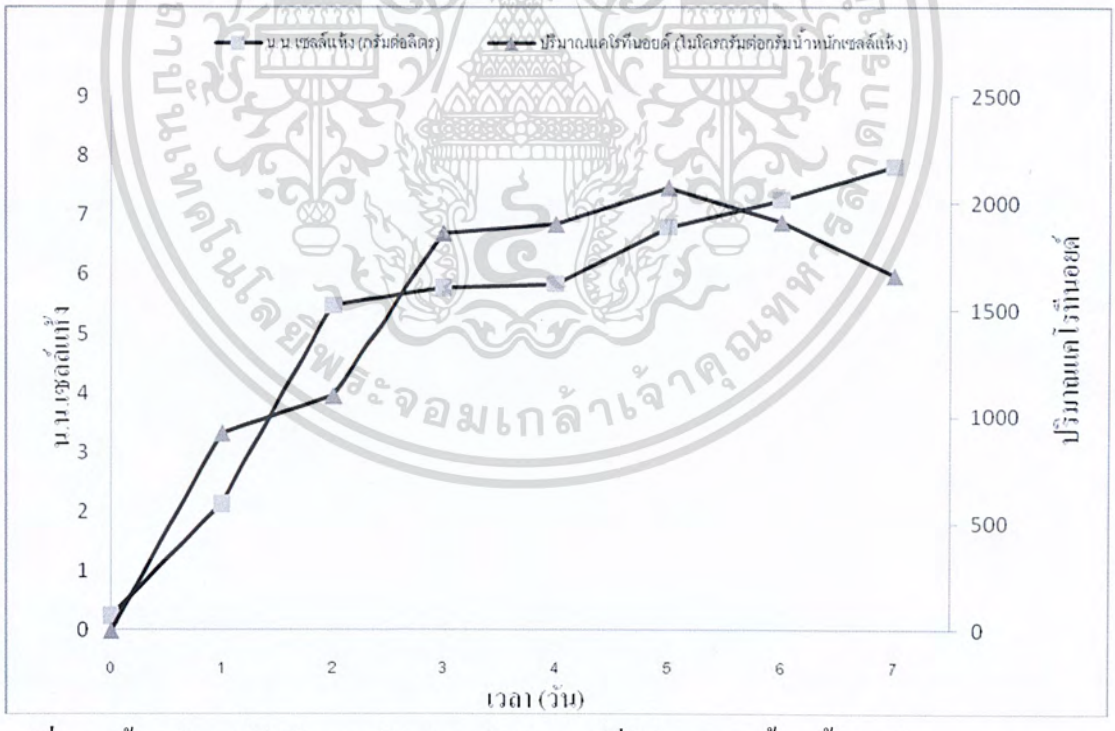
เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารโดยใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าเชื้อมีการเจริญเพิ่มขึ้นเป็น 2.13 กรัมต่อลิตรในวันที่ 1 น้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆและเริ่มคงที่ในวันที่ 6-7 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งอยู่ระหว่าง 7.26-7.82 กรัมต่อลิตร และมีน้ำหนักเซลล์แห้งมากที่สุดในวันที่ 7 ของการเพาะเลี้ยง มีค่าเท่ากับ 7.82 กรัมต่อลิตร สำหรับการผลิตแคโรทีนอยด์พบว่าในวันที่ 1 ของการเพาะเลี้ยง ปริมาณแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้นเป็น 924.38 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง หลังจากนั้นปริมาณแคโรทีนอยด์จะเพิ่มขึ้นและเริ่มคงที่ในวันที่ 3-4 ของการเพาะเลี้ยง คือมีค่าปริมาณแคโรทีนอยด์ระหว่าง 1862.07-1903.45 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และมีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีค่าเท่ากับ 2075.29 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณแคโรทีนอยด์จะเริ่มลดลงลดลงในวันที่ 6-7 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์เท่ากับ 415.06 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อวัน ดังแสดงในตารางที่ 4.1 และรูปที่ 4.1

เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารโดยใช้น้ำตาลกาแลคโตสเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าเชื้อมีการเจริญเพิ่มขึ้นเป็น 4.50 กรัมต่อลิตรในวันที่ 1 น้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆและเริ่มคงที่ในวันที่ 3-7 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งอยู่ระหว่าง 8.05-8.98 กรัมต่อลิตร และมีน้ำหนักเซลล์แห้งมากที่สุดในวันที่ 7 ของการเพาะเลี้ยง มีค่าเท่ากับ 8.98 กรัมต่อลิตร สำหรับการผลิตแคโรทีนอยด์พบว่าในวันที่ 1 ของการเพาะเลี้ยง ปริมาณแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้นเป็น 1105.88 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง หลังจากนั้นปริมาณแคโรทีนอยด์จะเพิ่มขึ้นและเริ่มคงที่ในวันที่ 3-4 ของการเพาะเลี้ยง คือมีค่าปริมาณแคโรทีนอยด์ระหว่าง 1622.22-1780.36 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และมีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีค่าเท่ากับ 1869.02 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณแคโรทีนอยด์จะเริ่มลดลงลดลงในวันที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 น้ำหนักเซลล์แห้ง แคโรทีนอยด์ ค่าพีเอชและปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* โดยใช้น้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร

เวลา (วัน)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (กรัมต่อลิตร)	พีเอช
0	0.25	0	20.08	5.82
1	2.13	924.38	10.04	4.2
2	5.48	1098.29	9.61	2.81
3	5.77	1862.07	8.21	2.57
4	5.84	1903.45	5.81	2.4
5	6.80	2075.29	3.99	2.53
6	7.26	1911.11	2.58	2.45
7	7.82	1661.54	1.84	2.51



รูปที่ 4.1 น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* โดยใช้น้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6-7 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีอัตราการเจริญผลิตแคโรทีนอยด์เท่ากับ 372.00 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อวัน ดังแสดงในตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.2

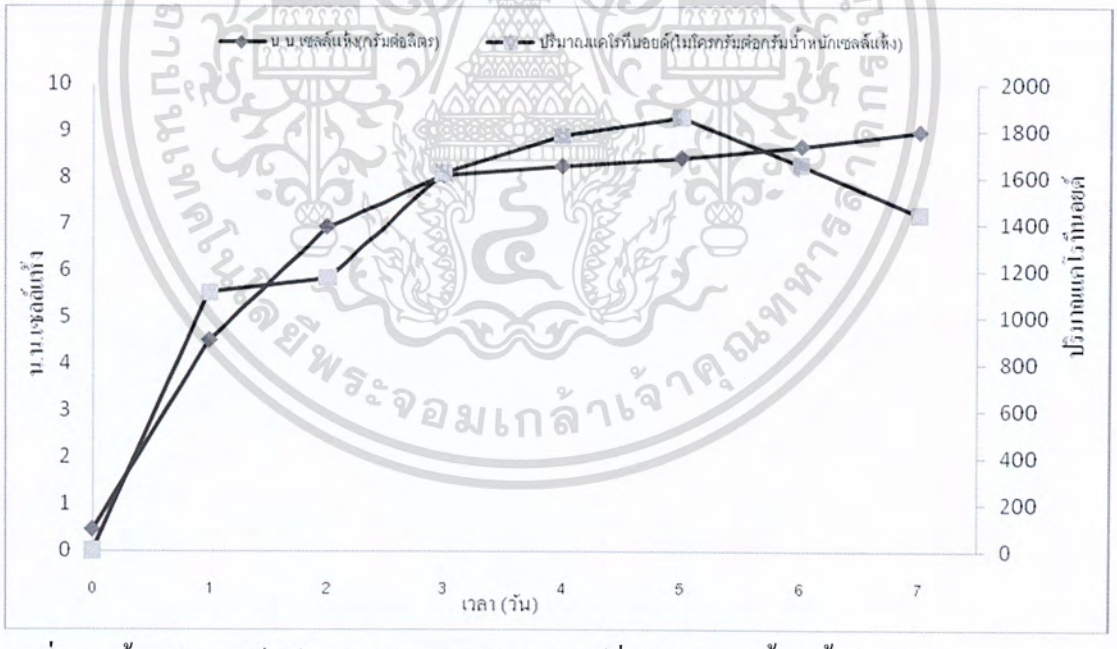
เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารโดยใช้น้ำตาลซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าเชื้อมีการเจริญเพิ่มขึ้นเป็น 2.2 กรัมต่อลิตรในวันที่ 1 น้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆและเริ่มคงที่ในวันที่ 5-7 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งอยู่ระหว่าง 6.88-7.18 กรัมต่อลิตร และมีน้ำหนักเซลล์แห้งมากที่สุดในวันที่ 7 ของการเพาะเลี้ยง มีค่าเท่ากับ 7.18 กรัมต่อลิตร สำหรับการผลิตแคโรทีนอยด์พบว่าในวันที่ 1 ของการเพาะเลี้ยง ปริมาณแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้นเป็น 1054.55 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง หลังจากนั้นปริมาณแคโรทีนอยด์จะเพิ่มขึ้นและเริ่มคงที่ในวันที่ 3-4 ของการเพาะเลี้ยง คือมีค่าปริมาณแคโรทีนอยด์ระหว่าง 1600-1615.14 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และมีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีค่าเท่ากับ 1813.95 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณแคโรทีนอยด์จะเริ่มลดลงลดลงในวันที่ 6-7 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์เท่ากับ 362.79 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อวัน ดังแสดงในตารางที่ 4.3 และรูปที่ 4.3

เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารโดยใช้น้ำตาลแลคโตสเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าเชื้อมีการเจริญเพิ่มขึ้นเป็น 2.58 กรัมต่อลิตรในวันที่ 1 น้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆและเริ่มคงที่ในวันที่ 5-7 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งอยู่ระหว่าง 3.47-3.54 กรัมต่อลิตร และมีน้ำหนักเซลล์แห้งมากที่สุดในวันที่ 7 ของการเพาะเลี้ยง มีค่าเท่ากับ 3.54 กรัมต่อลิตร สำหรับการผลิตแคโรทีนอยด์พบว่าในวันที่ 1 ของการเพาะเลี้ยง ปริมาณแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้นเป็น 930.23 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง หลังจากนั้นปริมาณแคโรทีนอยด์จะเพิ่มขึ้นและเริ่มคงที่ในวันที่ 3-4 ของการเพาะเลี้ยง คือมีค่าปริมาณแคโรทีนอยด์ระหว่าง 1529.80-1553.07 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และมีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีค่าเท่ากับ 1583.29 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณแคโรทีนอยด์จะเริ่มลดลงลดลงในวันที่ 6-7 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์เท่ากับ 316.66 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อวัน ดังแสดงในตารางที่ 4.4 และรูปที่ 4.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 น้ำหนักเซลล์แห้ง แคโรทีนอยด์ ค่าพีเอชและปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* โดยใช้น้ำตาลกาแลคโตสความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร

เวลา (วัน)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (กรัมต่อลิตร)	พีเอช
0	0.45	0	19.96	6.12
1	4.50	1105.88	19.18	6.26
2	6.94	1169.23	12.21	2.17
3	8.05	1622.22	7.54	2.10
4	8.25	1780.36	6.82	2.04
5	8.43	1860.02	6.41	2.16
6	8.67	1655.83	5.67	2.24
7	8.98	1440.00	5.01	2.34

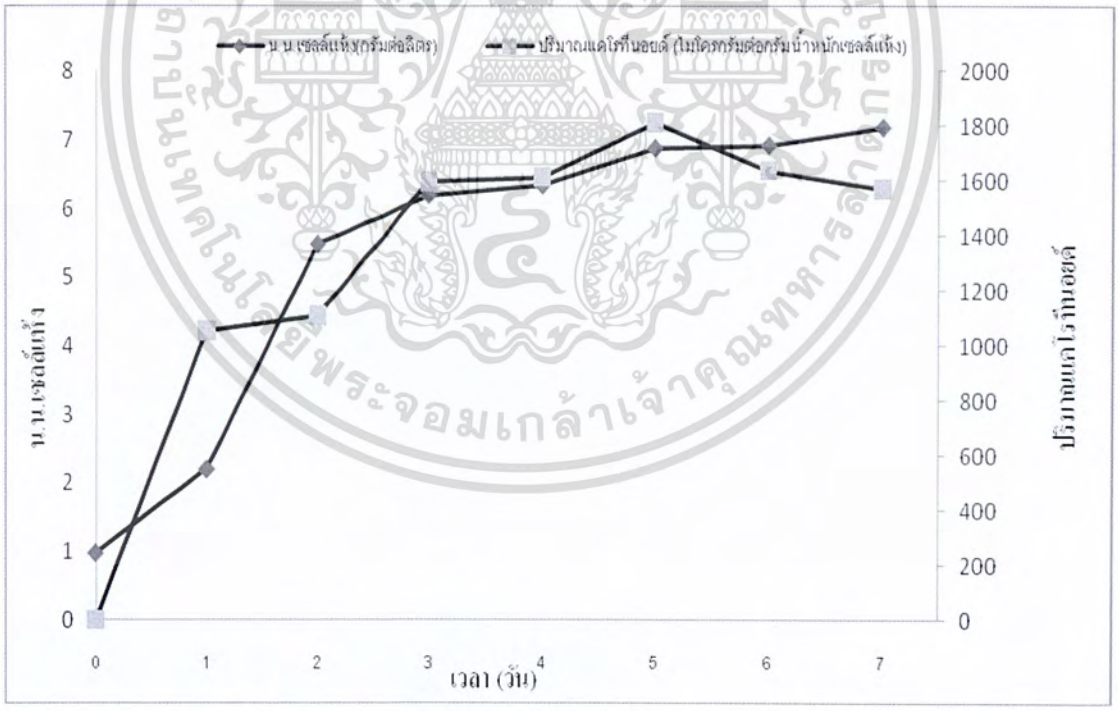


รูปที่ 4.2 น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* โดยใช้น้ำตาลกาแลคโตสความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 น้ำหนักเซลล์แห้ง แคโรทีนอยด์ ค่าพีเอชและปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* โดยใช้น้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร

เวลา (วัน)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (กรัมต่อลิตร)	พีเอช
0	0.98	0	20.02	5.73
1	2.20	1054.55	14.41	3.07
2	5.48	1109.49	11.48	2.48
3	6.20	1600.00	9.28	2.33
4	6.34	1615.14	6.99	2.38
5	6.88	1813.95	5.13	2.38
6	6.92	1638.73	3.12	2.40
7	7.18	1572.15	2.87	2.57

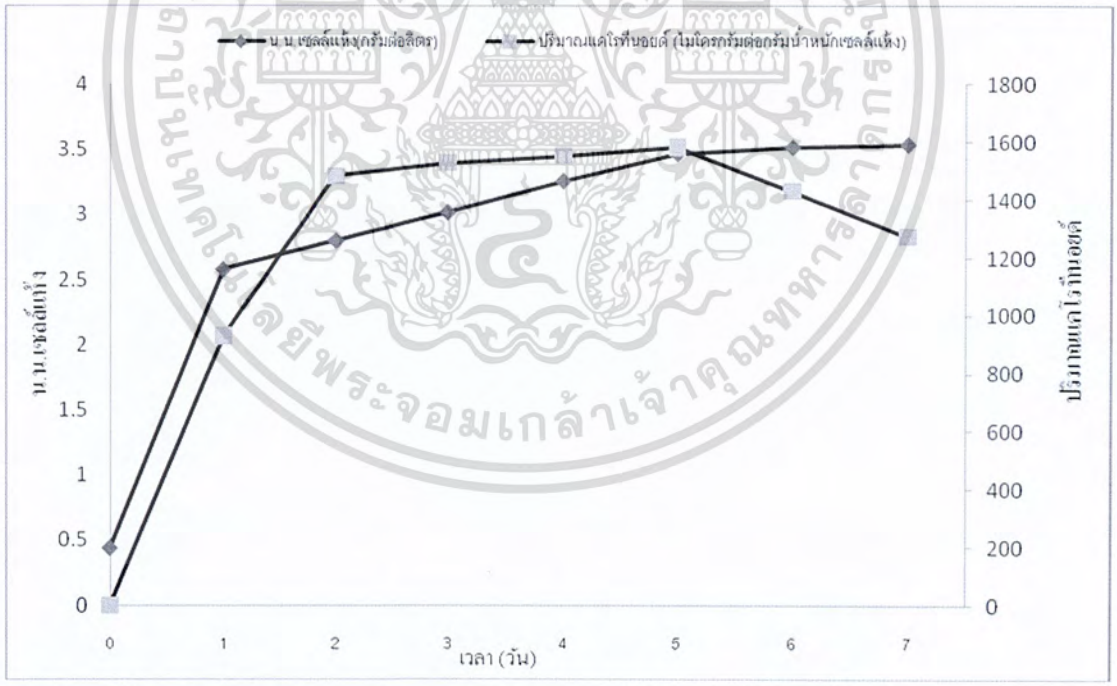


รูปที่ 4.3 น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* โดยใช้น้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 น้ำหนักเซลล์แห้ง แคโรทีนอยด์ ค่าพีเอชและปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* โดยใช้น้ำตาลแลคโตสความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร

เวลา (วัน)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (กรัมต่อลิตร)	พีเอช
0	0.44	0	19.96	6.12
1	2.58	930.23	19.18	7.19
2	2.80	1483.81	18.76	7.25
3	3.02	1529.80	18.52	6.99
4	3.26	1553.07	17.20	6.92
5	3.47	1583.29	16.58	6.88
6	3.52	1431.82	15.38	6.60
7	3.54	1274.01	14.14	4.02



รูปที่ 4.4 น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* โดยใช้น้ำตาลแลคโตสความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

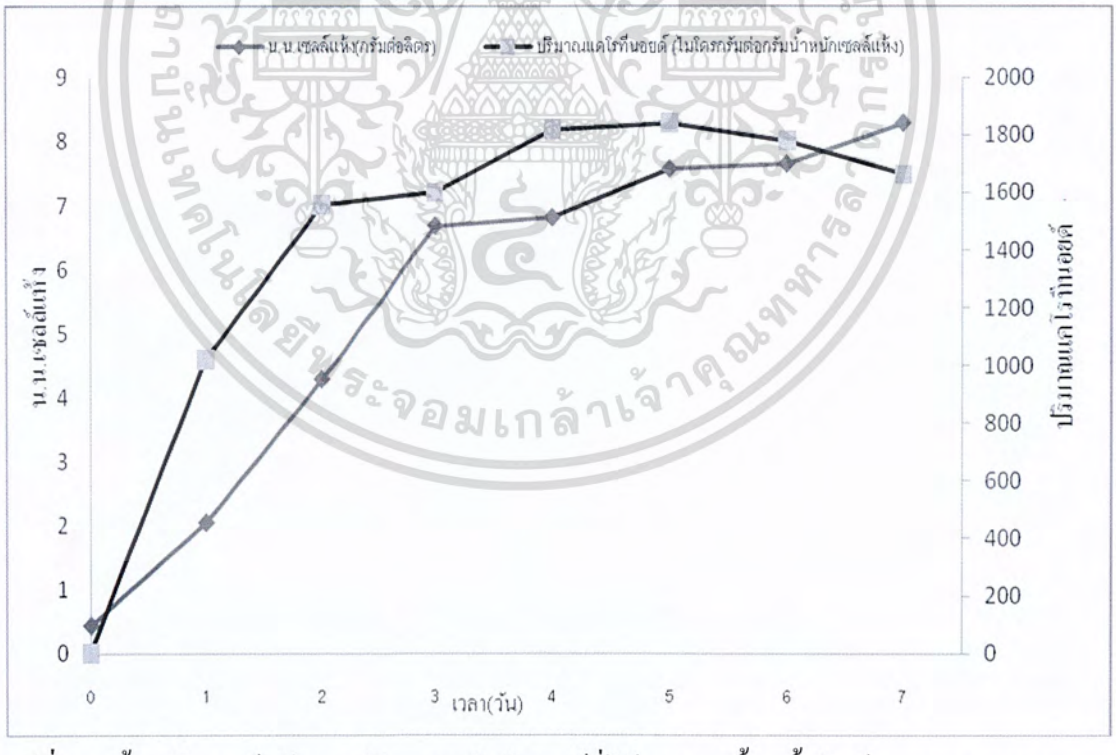
เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารโดยใช้น้ำตาลแมนนิทอลเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าเชื้อมีการเจริญเพิ่มขึ้น เป็น 2.04 กรัมต่อลิตรในวันที่ 1 น้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆและเริ่มคงที่ในวันที่ 5-7 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งอยู่ระหว่าง 7.56-8.28 กรัมต่อลิตร และมีน้ำหนักเซลล์แห้งมากที่สุดในวันที่ 7 ของการเพาะเลี้ยง มีค่าเท่ากับ 8.28 กรัมต่อลิตร สำหรับการผลิตแคโรทีนอยด์พบว่าในวันที่ 1 ของการเพาะเลี้ยง ปริมาณแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้นเป็น 1019.61 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง หลังจากนั้นปริมาณแคโรทีนอยด์จะเพิ่มขึ้นและเริ่มคงที่ในวันที่ 4-5 ของการเพาะเลี้ยง คือมีค่าปริมาณแคโรทีนอยด์ระหว่าง 1818.68-1841.27 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และมีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีค่าเท่ากับ 1841.27 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณแคโรทีนอยด์จะเริ่มลดลงลดลงในวันที่ 6-7 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์เท่ากับ 368.34 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อวัน ดังแสดงในตารางที่ 4.5 และรูปที่ 4.5

ผลของการศึกษาชนิดของแหล่งคาร์บอนที่มีผลต่อการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์ของเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* จากการทดลองพบว่า น้ำตาลกลูโคสให้ปริมาณแคโรทีนอยด์และอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์สูงสุด โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 7.82 กรัมต่อลิตร ปริมาณแคโรทีนอยด์เท่ากับ 2075.29 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์เท่ากับ 415.06 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อวัน รองลงมาคือ น้ำตาลกาแลคโตส ซึ่งมีน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 8.98 กรัมต่อลิตร ปริมาณแคโรทีนอยด์เท่ากับ 1860.02 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์เท่ากับ 372.00 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อวัน และเมื่อนำปริมาณแคโรทีนอยด์และอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์จากแหล่งคาร์บอนชนิดต่างๆมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติ พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังแสดงในตารางที่ 4.6 จะเห็นว่าเมื่อใช้น้ำตาลกลูโคสอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์สูงกว่าการใช้น้ำตาลชนิดอื่นๆ ดังนั้นจึงเลือกน้ำตาลกลูโคสมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการผลิตแคโรทีนอยด์ การที่เชื้อ *R. mucilaginosa* สามารถใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนที่ดีที่สุด เนื่องมาจากน้ำตาลกลูโคสเป็นน้ำตาลประเภทน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ซึ่งจุลินทรีย์สามารถนำน้ำตาลไปใช้เป็นแหล่งพลังงานของเซลล์และใช้ในการสังเคราะห์เซลล์ได้โดยง่าย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 น้ำหนักเซลล์แห้ง แคโรทีนอยด์ ค่าพีเอชและปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* โดยใช้น้ำตาลแมนนิทอลความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร

เวลา (วัน)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (กรัมต่อลิตร)	พีเอช
0	0.43	0	19.98	6.06
1	2.04	1019.61	12.68	6.20
2	4.28	1557.63	10.84	2.66
3	6.67	1600.00	8.90	2.40
4	6.80	1818.68	6.48	2.32
5	7.56	1841.27	4.77	2.26
6	7.64	1780.11	2.92	2.36
7	8.28	1661.84	2.75	2.38



รูปที่ 4.5 น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* โดยใช้น้ำตาลแมนนิทอลความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 การเปรียบเทียบอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์และปริมาณแคโรทีนอยด์ของเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* เมื่อเลี้ยงในอาหารที่ใช้แหล่งคาร์บอนต่างกัน

แหล่งคาร์บอน	อัตราการผลิตแคโรทีนอยด์ (ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อวัน)	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)
กลูโคส	415.06[a]	2075.29[a]
กาแลคโตส	372.00[b]	1860.02[b]
ซูโครส	362.79[d]	1813.95[d]
แลคโตส	316.66[e]	1583.29[e]
แมนนิทอล	368.34[c]	1841.27[c]

หมายเหตุ : a b c d และ e แสดงถึงความสัมพันธ์ในสดมภ์เดียวกัน ตัวอักษรกำกับที่แตกต่างกัน แสดงถึงค่าความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

สำหรับผลการทดลองที่ได้มีความสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Bhosale และ Gadre (2001) ที่ทำการศึกษาการผลิตเบต้าแคโรทีนจากเชื้อ *R. glutinis* สายพันธุ์กลายโดยใช้กากน้ำตาลอ้อยเป็นแหล่งคาร์บอน โดยพบว่าน้ำตาลกลูโคสจากกากน้ำตาลอ้อยความเข้มข้น 40 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอนที่ให้ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดสูงที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 12.2±0.5 กรัมต่อลิตร และ 22.0±0.9 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ รองลงมาคือ น้ำตาลซูโครสจากกากน้ำตาลอ้อย โดยมีปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 11.7±0.5 กรัมต่อลิตร และปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 18.3±0.9 มิลลิกรัมต่อลิตร และผลการทดลองในครั้งนี้มีความแตกต่างจากงานวิจัยของ Andersen และคณะ (2003) ที่ทำการศึกษาการผลิตกรดโรโดโทรูลิก (Rhodotorulic acid) จากเชื้อ *R. mucilaginosa* ในสภาวะที่มีปริมาณเหล็กจำกัดตามสูตรอาหารของ Vogel (1956) พบว่าน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอนที่ดีที่สุดในการผลิตกรดโรโดโทรูลิก โดยมีปริมาณกรดโรโดโทรูลิกเท่ากับ 287±11 ไมโครโมลต่อกรัมเซลล์ รองลงมาคือ น้ำตาลฟรุกโตส และ น้ำตาลกลูโคส ที่มีปริมาณกรดโรโดโทรูลิกเท่ากับ 184±4 และ 181±7 ตามลำดับ (โดยปริมาณการผลิตกรดโรโดโทรูลิกของน้ำตาลฟรุกโตสและน้ำตาลกลูโคสไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อนำมาวิเคราะห์ด้วยวิธีของ Scheffe ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95) ผลการทดลองที่แตกต่างกัน เนื่องมาจากผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการศึกษาเป็นผลิตภัณฑ์คนละชนิดกัน ดังนั้นความ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต้องการแหล่งคาร์บอนและชนิดของแหล่งคาร์บอนที่ใช้ในการผลิตจึงแตกต่างกัน จากการศึกษาของนิรชร และ คณะ (2009) ที่ทำการศึกษาการผลิตแคโรทีนอยด์จากน้ำมะพร้าวโดยเชื้อ *R. glutinis* เมื่อเลี้ยงเชื้อ *R. glutinis* โดยใช้น้ำตาลกลูโคส มอลโตส และซูโครส ความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าเชื้อยีสต์มีปริมาณแคโรทีนอยด์และอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์สูงสุดเมื่อใช้น้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอน โดยมีปริมาณการผลิตแคโรทีนอยด์และอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์เท่ากับ 1483.59 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และ 247.26 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อวัน (ตามลำดับ) รองลงมาคือน้ำตาลกลูโคสซึ่งมีปริมาณการผลิตแคโรทีนอยด์และอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์เท่ากับ 1385.50 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และ 230.91 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อวันตามลำดับ ผลการทดลองที่แตกต่างกันเนื่องมาจากเชื้อยีสต์ที่ใช้ในการศึกษาเป็นเชื้อต่างชนิดกัน ดังนั้นความสามารถในการใช้แหล่งคาร์บอนในการผลิตแคโรทีนอยด์จึงอาจแตกต่างกันได้

4.2 ผลการศึกษาปริมาณความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนที่มีผลต่อการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์

จากผลการศึกษาข้อ 4.1 การศึกษาชนิดของแหล่งคาร์บอนที่มีผลต่อการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์พบว่าการเลี้ยงเชื้อ *R. mucilaginosa* ในสูตรอาหารที่ใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนจะให้ปริมาณแคโรทีนอยด์และอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์สูงสุด ดังนั้นจึงนำน้ำตาลกลูโคสมาทำการศึกษาต่อด้วยการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* ในอาหารเลี้ยงเชื้อโดยใช้แหล่งคาร์บอนที่มีความเข้มข้นต่างกัน เป็นเวลา 7 วัน พบว่าการเจริญเติบโตของเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* แสดงได้ดังนี้

เมื่อเลี้ยงเชื้อโดยใช้น้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าเชื้อยีสต์มีการเจริญเพิ่มขึ้น เป็น 2.13 กรัมต่อลิตรในวันที่ 1 น้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆและเริ่มคงที่ในวันที่ 6-7 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งอยู่ระหว่าง 7.26-7.82 กรัมต่อลิตร และมีน้ำหนักเซลล์แห้งมากที่สุดในวันที่ 7 ของการเพาะเลี้ยง มีค่าเท่ากับ 7.82 กรัมต่อลิตร สำหรับการผลิตแคโรทีนอยด์พบว่าในวันที่ 1 ของการเพาะเลี้ยง ปริมาณแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้นเป็น 924.38 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง หลังจากนั้นปริมาณแคโรทีนอยด์จะเพิ่มขึ้นและเริ่มคงที่ในวันที่ 3-4 ของการเพาะเลี้ยง คือมีค่าปริมาณแคโรทีนอยด์ระหว่าง 1862.07-1903.45 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และมีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยมีค่าเท่ากับ 2075.29 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณแคโรทีนอยด์จะเริ่มลดลง ลดลงในวันที่ 6-7 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์เท่ากับ 415.06 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อวัน ดังแสดงในตารางที่ 4.7 และรูปที่ 4.6

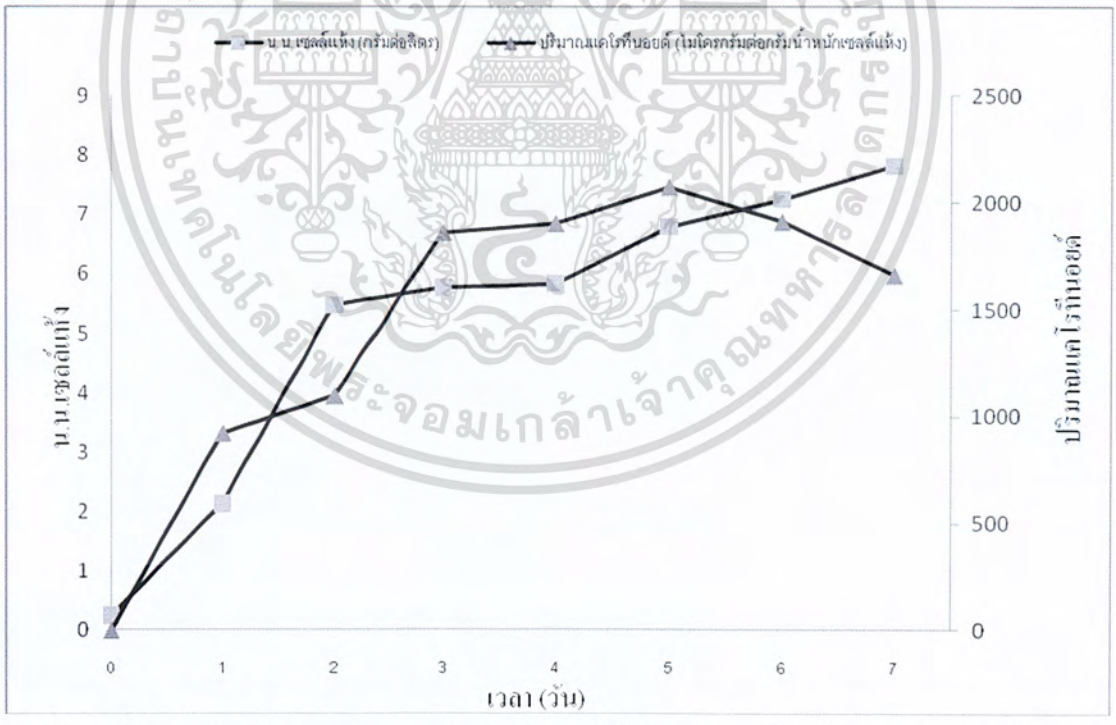
เมื่อเลี้ยงเชื้อโดยใช้น้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้น 35 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าเชื้อยีสต์มีการเจริญเพิ่มขึ้นเป็น 3.72 กรัมต่อลิตรในวันที่ 1 น้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆและเริ่มคงที่ในวันที่ 5-7 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งอยู่ระหว่าง 11.54-12.40 กรัมต่อลิตร และมีน้ำหนักเซลล์แห้งมากที่สุดในวันที่ 7 ของการเพาะเลี้ยง มีค่าเท่ากับ 12.40 กรัมต่อลิตร สำหรับการผลิตแคโรทีนอยด์พบว่าในวันที่ 1 ของการเพาะเลี้ยง ปริมาณแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้นเป็น 1460.22 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง หลังจากนั้นปริมาณแคโรทีนอยด์จะเพิ่มขึ้นและเริ่มคงที่ในวันที่ 3-4 ของการเพาะเลี้ยง คือมีค่าปริมาณแคโรทีนอยด์ระหว่าง 1720.81-1753.29 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และมีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีค่าเท่ากับ 2162.91 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณแคโรทีนอยด์จะเริ่มลดลงในวันที่ 6-7 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์เท่ากับ 432.06 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อวัน ดังแสดงในตารางที่ 4.8 และรูปที่ 4.7

เมื่อเลี้ยงเชื้อโดยใช้น้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าเชื้อยีสต์มีการเจริญเพิ่มขึ้น เป็น 4.20 กรัมต่อลิตรในวันที่ 1 น้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆและเริ่มคงที่ในวันที่ 5-7 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งอยู่ระหว่าง 12.08-12.90 กรัมต่อลิตร และมีน้ำหนักเซลล์แห้งมากที่สุดในวันที่ 7 ของการเพาะเลี้ยง มีค่าเท่ากับ 12.90 กรัมต่อลิตร สำหรับการผลิตแคโรทีนอยด์พบว่าในวันที่ 1 ของการเพาะเลี้ยง ปริมาณแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้นเป็น 1066.67 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง หลังจากนั้นปริมาณแคโรทีนอยด์จะเพิ่มขึ้นและเริ่มคงที่ในวันที่ 3-4 ของการเพาะเลี้ยง คือมีค่าปริมาณแคโรทีนอยด์ระหว่าง 1265.54-1369.26 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณแคโรทีนอยด์จะเพิ่มขึ้นและมีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีค่าเท่ากับ 2237.75 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณแคโรทีนอยด์จะเริ่มลดลงลดลงในวันที่ 6-7 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์เท่ากับ 447.55 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อวัน ดังแสดงในตารางที่ 4.9 และรูปที่ 4.8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 น้ำหนักเซลล์แห้ง แคโรทีนอยด์ ค่าพีเอชและปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* โดยใช้น้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร

เวลา (วัน)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (กรัมต่อลิตร)	พีเอช
0	0.25	0	20.08	5.82
1	2.13	924.38	10.04	4.2
2	5.48	1098.29	9.61	2.81
3	5.77	1862.07	8.21	2.57
4	5.84	1903.45	5.81	2.4
5	6.8	2075.29	3.99	2.53
6	7.26	1911.11	2.58	2.45
7	7.82	1661.54	1.84	2.51

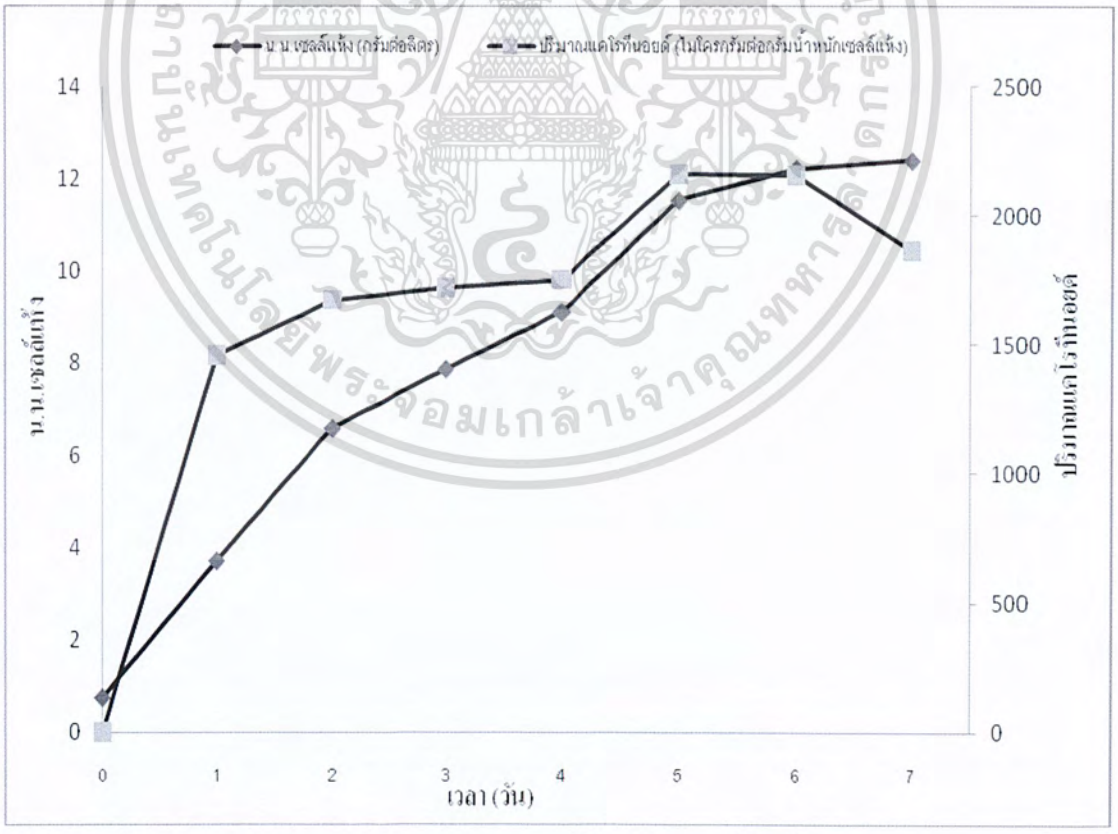


รูปที่ 4.6 น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* โดยใช้น้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 น้ำหนักเซลล์แห้ง แคโรทีนอยด์ ค่าพีเอชและปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* โดยใช้น้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 35 กรัมต่อลิตร

เวลา (วัน)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (กรัมต่อลิตร)	พีเอช
0	0.76	0	34.97	5.92
1	3.72	1460.22	28.02	2.88
2	6.59	1674.42	24.00	2.40
3	7.88	1720.81	10.97	2.32
4	9.12	1753.29	4.04	2.38
5	11.54	2162.91	4.01	2.45
6	12.23	2156.86	3.84	2.34
7	12.40	1864.26	3.49	2.37

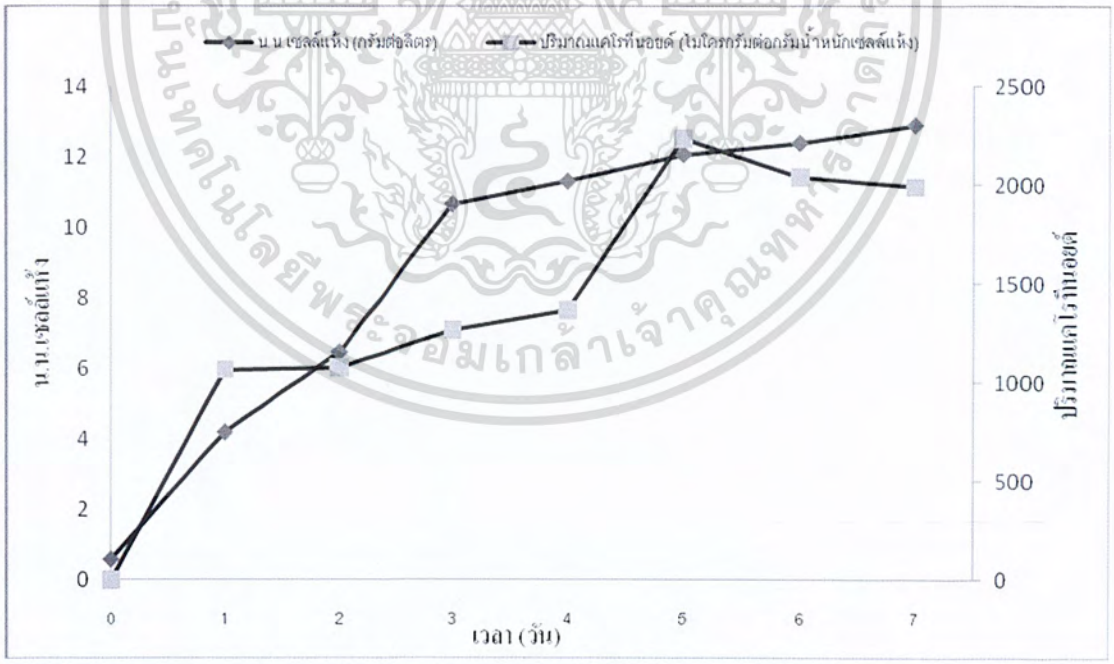


รูปที่ 4.7 น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* โดยใช้น้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 35 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.9 น้ำหนักเซลล์แห้ง แคโรทีนอยด์ ค่าพีเอชและปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* โดยใช้น้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร

เวลา (วัน)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (กรัมต่อลิตร)	พีเอช
0	0.59	0	49.30	5.84
1	4.20	1066.67	43.30	2.81
2	6.47	1076.29	26.23	2.39
3	10.68	1265.54	17.57	2.31
4	11.32	1369.26	13.32	2.35
5	12.08	2237.75	9.73	2.39
6	12.40	2040.00	8.01	2.34
7	12.90	1990.70	5.42	2.36



รูปที่ 4.8 น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* โดยใช้น้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

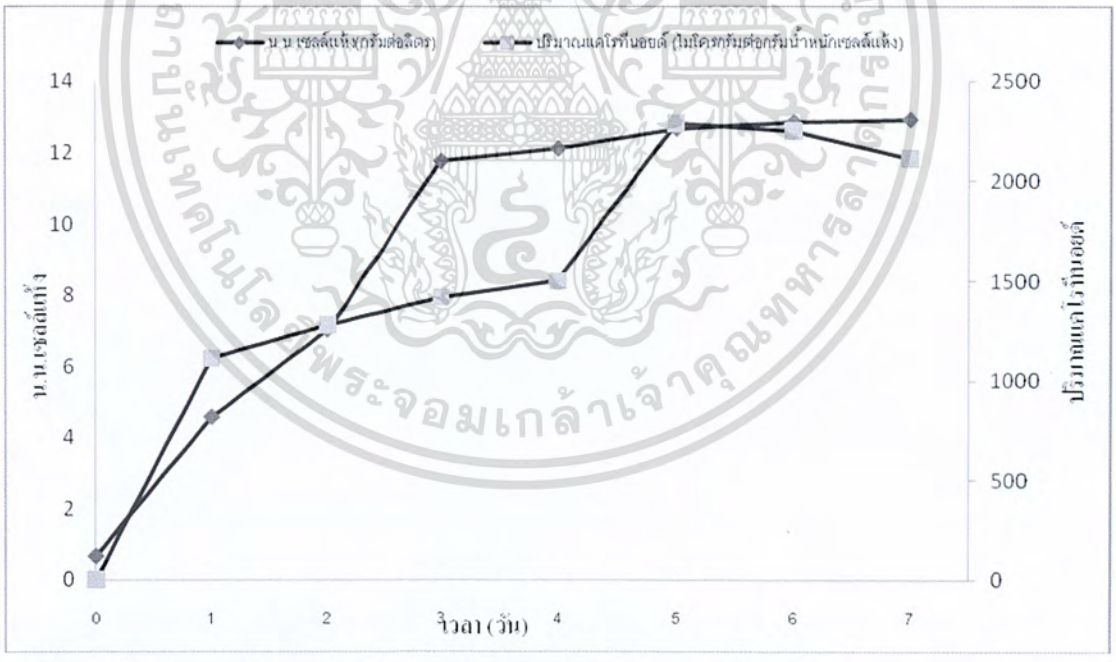
เมื่อเลี้ยงเชื้อโดยใช้น้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้น 65 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าเชื้อยีสต์มีการเจริญเพิ่มขึ้นเป็น 4.58 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 1 น้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆและเริ่มคงที่ในวันที่ 5-7 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งอยู่ระหว่าง 12.67-12.92 กรัมต่อลิตร และมีน้ำหนักเซลล์แห้งมากที่สุดในวันที่ 7 ของการเพาะเลี้ยง มีค่าเท่ากับ 12.92 กรัมต่อลิตร สำหรับการผลิตแคโรทีนอยด์พบว่าในวันที่ 1 ของการเพาะเลี้ยง ปริมาณแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้นเป็น 1112.66 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง หลังจากนั้นปริมาณแคโรทีนอยด์จะเพิ่มขึ้นและเริ่มคงที่ในวันที่ 3-4 ของการเพาะเลี้ยง คือมีค่าปริมาณแคโรทีนอยด์ระหว่าง 1419.87-1500.91 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณแคโรทีนอยด์จะเพิ่มขึ้นและมีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีค่าเท่ากับ 2290.22 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณแคโรทีนอยด์จะเริ่มลดลงลดลงในวันที่ 6-7 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์เท่ากับ 458.04 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อวัน ดังแสดงในตารางที่ 4.10 และรูปที่ 4.9

การศึกษาความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนที่มีผลต่อการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์ของเชื้อยีสต์ *R.mucilaginosa* จากการศึกษาพบว่า ปริมาณแคโรทีนอยด์และอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์แปรผันตรงกับความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอน กล่าวคือเมื่อทำการเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสมากขึ้น เชื้อยีสต์จะมีปริมาณแคโรทีนอยด์และอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์เพิ่มมากขึ้นด้วย และความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนที่ให้ปริมาณแคโรทีนอยด์และอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์สูงสุด คือ น้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 65 กรัมต่อลิตร โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 12.92 กรัมต่อลิตร ปริมาณแคโรทีนอยด์เท่ากับ 2290.22 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์เท่ากับ 458.04 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อวัน รองลงมาคือความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตรตาม โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 12.92 กรัมต่อลิตร ปริมาณแคโรทีนอยด์เท่ากับ 2237.75 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์เท่ากับ 447.55 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อวัน และเมื่อนำปริมาณแคโรทีนอยด์และอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์มาวิเคราะห์ค่าทางสถิติ พบว่าปริมาณแคโรทีนอยด์และอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังแสดงในตารางที่ 4.11 ดังนั้นจึงเลือกน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้น 65 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.10 น้ำหนักเซลล์แห้ง แคโรทีนอยด์ ค่าพีเอชและปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* โดยใช้น้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 65 กรัมต่อลิตร

เวลา (วัน)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (กรัมต่อลิตร)	พีเอช
0	0.67	0	64.94	5.70
1	4.58	1112.66	56.21	2.22
2	7.03	1279.62	49.68	2.28
3	11.76	1419.87	27.42	2.18
4	12.11	1500.91	15.63	2.35
5	12.67	2290.22	9.96	2.28
6	12.85	2249.46	6.36	2.08
7	12.92	2113.00	5.44	2.25



รูปที่ 4.9 น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* โดยใช้น้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 65 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.11 การเปรียบเทียบอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์และปริมาณแคโรทีนอยด์ของเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* เมื่อเลี้ยงในอาหารที่ใช้แหล่งคาร์บอนที่มีความเข้มข้นต่างกัน

น้ำตาลกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	อัตราการผลิตแคโรทีนอยด์ (ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อวัน)	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)
20	415.06[d]	2075.29[d]
35	432.58[c]	2162.91[c]
50	447.55[b]	2237.75[b]
65	458.04[a]	2290.22[a]

หมายเหตุ : a b c d และ e แสดงถึงความสัมพันธ์ในสดมภ์เดียวกัน ตัวอักษรกำกับที่แตกต่างกัน แสดงถึงค่าความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

สำหรับผลการทดลองที่ได้พบว่ามีความสอดคล้องกับการศึกษาของ Maldonade (2009) ที่ทำการศึกษาการเจริญเติบโตและการผลิตแคโรทีนอยด์ที่เหมาะสมทางสถิติของเชื้อ *R. mucilaginosa* ในอาหาร YM พบว่าการเจริญเติบโตของเซลล์มีความต้องการน้ำตาลกลูโคสที่มีความเข้มข้นสูง โดยจากการศึกษาของ Maldonade (2009) พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสมากขึ้น ปริมาณการผลิตแคโรทีนอยด์และมวลชีวภาพจะเพิ่มมากขึ้น ดังเช่นการใช้น้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้น 40 กรัมต่อลิตร ยีสต์สกัด 1 กรัมต่อลิตร และโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 8 กรัมต่อลิตร จะได้ปริมาณการผลิตแคโรทีนอยด์เท่ากับ 142 ไมโครกรัมต่อลิตร และ มวลชีวภาพเท่ากับ 1.1 กรัมต่อลิตร ในขณะที่การใช้น้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร ยีสต์สกัด 1 กรัมต่อลิตร และโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 8 กรัมต่อลิตร จะได้ปริมาณการผลิตแคโรทีนอยด์เท่ากับ 59.0 ไมโครกรัมต่อลิตร และ มวลชีวภาพเท่ากับ 2.1 กรัมต่อลิตร นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับการศึกษาของ นิรชร และคณะ (2009) ที่ทำการศึกษาการผลิตแคโรทีนอยด์จากน้ำมะพร้าวโดยเชื้อ *R. glutinis* TISTR 5159 พบว่าเมื่อทำการเลี้ยงเชื้อ *R. glutinis* ในสูตรอาหารที่มีความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกัน น้ำตาลซูโครสความเข้มข้น60 กรัมต่อลิตรจะให้ปริมาณการผลิตแคโรทีนอยด์และอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์สูงสุด โดยมีปริมาณการผลิตแคโรทีนอยด์เท่ากับ 1781.99 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้งและอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์เท่ากับ 296.99 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อวัน รองลงมาคือความเข้มข้น 40 โดยมีปริมาณการผลิตแคโรทีนอยด์เท่ากับ 1719.28

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้งและอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์เท่ากับ 286.54 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อวัน โดยจะเห็นได้ว่าเมื่อทำการเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอนมากขึ้นปริมาณการผลิตและอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *R. glutinis* TISTR 5159 ก็เพิ่มมากขึ้น

4.3 ผลการศึกษาแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์

ผลของการศึกษาแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์โดยการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* ในสูตรอาหารที่ใช้แหล่งไนโตรเจนชนิดต่างๆที่แตกต่างกัน เป็นเวลา 7 วัน แสดงได้ดังนี้

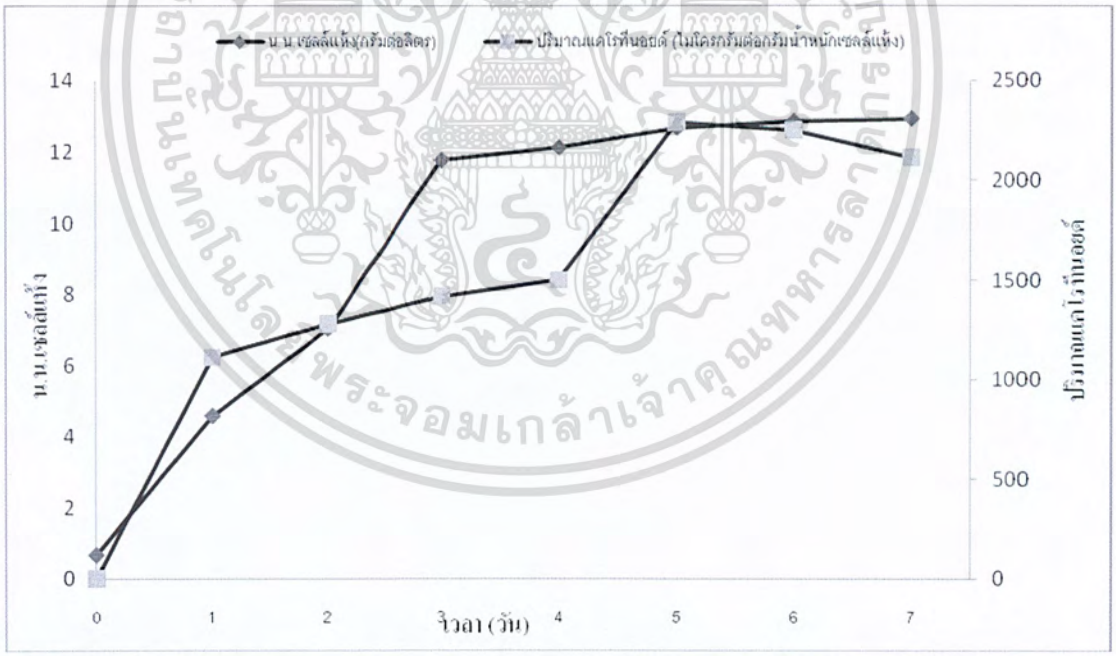
เมื่อเลี้ยงเชื้อโดยใช้แหล่งไนโตรเจนเดิม คือ แอมโมเนียมซัลเฟต 1 กรัมต่อลิตร ยีสต์สกัด 2.5 กรัมต่อลิตร และมอลต์สกัด 2 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งอินทรีย์และอนินทรีย์ไนโตรเจน พบว่าเชื้อมีการเจริญและมีการปรับตัวได้ดี โดยในวันที่ 1 ของการเพาะเลี้ยง น้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อเพิ่มขึ้นเป็น 4.58 กรัมต่อลิตร จากนั้นน้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆและเริ่มคงที่ในวันที่ 5-7 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งอยู่ระหว่าง 12.67-12.92 กรัมต่อลิตร และมีน้ำหนักเซลล์แห้งมากที่สุดในวันที่ 7 ของการเพาะเลี้ยง มีค่าเท่ากับ 12.92 กรัมต่อลิตร สำหรับการผลิตแคโรทีนอยด์พบว่าในวันที่ 1 ของการเพาะเลี้ยง ปริมาณแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้นเป็น 1112.66 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง หลังจากนั้นปริมาณแคโรทีนอยด์จะเพิ่มขึ้นและเริ่มคงที่ในวันที่ 3-4 ของการเพาะเลี้ยง คือมีค่าปริมาณแคโรทีนอยด์ระหว่าง 1419.87-1500.91 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณแคโรทีนอยด์จะเพิ่มขึ้นและมีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีค่าเท่ากับ 2290.22 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณแคโรทีนอยด์จะเริ่มลดลงลดลงในวันที่ 6-7 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์เท่ากับ 458.04 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อวัน ดังแสดงในตารางที่ 4.12 และรูปที่ 4.10

เมื่อเลี้ยงเชื้อโดยใช้ยีสต์สกัด 5.5 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งอินทรีย์ไนโตรเจน พบว่าในวันที่ 1 ของการเพาะเลี้ยง น้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อเพิ่มขึ้นเป็น 4.79 กรัมต่อลิตร จากนั้นน้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆและเริ่มคงที่ในวันที่ 4-6 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งอยู่ระหว่าง 13.57-15.10 กรัมต่อลิตร และมีน้ำหนักเซลล์แห้งมากที่สุดในวันที่ 7 ของการเพาะเลี้ยง มีค่าเท่ากับ 16.08 กรัมต่อลิตร สำหรับการผลิตแคโรทีนอยด์พบว่าในวันที่ 1 ของการเพาะเลี้ยง ปริมาณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.12 น้ำหนักเซลล์แห้ง แคโรทีนอยด์ ค่าพีเอชและปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* โดยใช้แหล่งไนโตรเจนเดิม

เวลา (วัน)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (กรัมต่อลิตร)	พีเอช
0	0.67	0	64.94	5.70
1	4.58	1112.66	56.21	2.22
2	7.03	1279.62	49.68	2.28
3	11.76	1419.87	27.42	2.18
4	12.11	1500.91	15.63	2.35
5	12.67	2290.22	9.96	2.28
6	12.85	2249.46	6.36	2.08
7	12.92	2113.00	5.44	2.25



รูปที่ 4.10 น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* โดยใช้แหล่งไนโตรเจนเดิม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้นเป็น 1337.05 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง หลังจากนั้นปริมาณแคโรทีนอยด์จะเพิ่มขึ้นและมีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดในวันที่ 6 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีค่าเท่ากับ 2120.32 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณแคโรทีนอยด์จะเริ่มลดลงลดลงในวันที่ 7 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์เท่ากับ 353.87 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อวัน ดังแสดงในตารางที่ 4.13 และรูปที่ 4.11

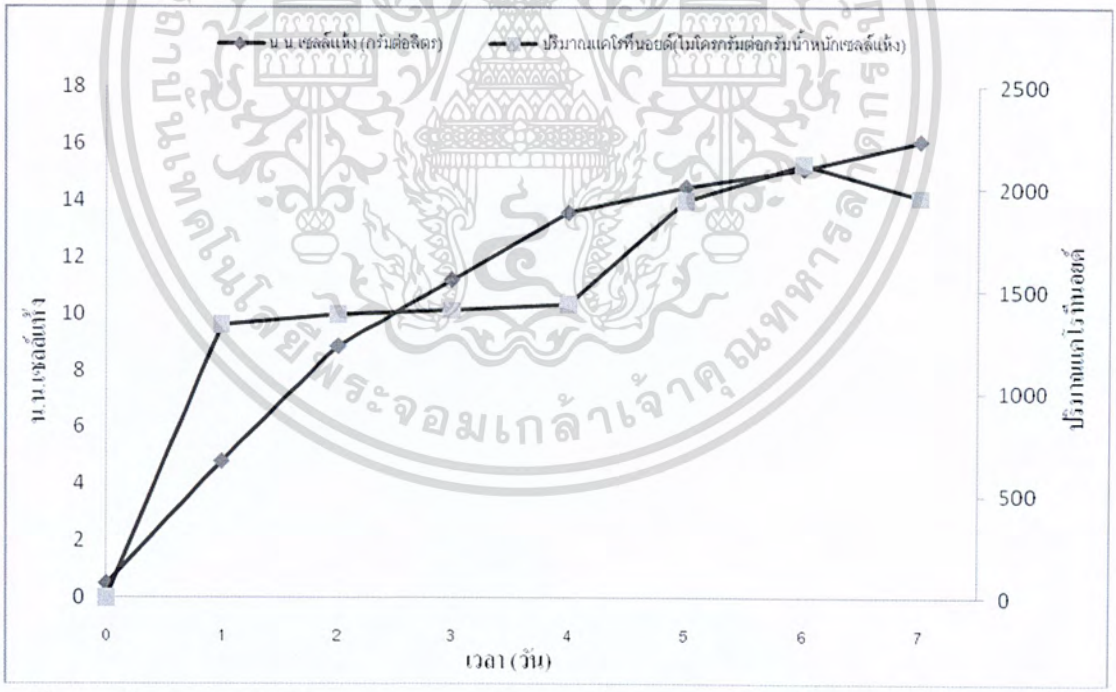
เมื่อเลี้ยงเชื้อโดยใช้แอมโมเนียมซัลเฟต 5.5 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งอนินทรีย์ไนโตรเจน พบว่าในวันที่ 1 ของการเพาะเลี้ยง น้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อเพิ่มขึ้นเป็น 3.06 กรัมต่อลิตร จากนั้นน้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆและเริ่มคงที่ในวันที่ 3-5 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งอยู่ระหว่าง 7.85-8.36 กรัมต่อลิตร และมีน้ำหนักเซลล์แห้งมากที่สุดในวันที่ 7 ของการเพาะเลี้ยง มีค่าเท่ากับ 10.42 กรัมต่อลิตร สำหรับการผลิตแคโรทีนอยด์พบว่าในวันที่ 1 ของการเพาะเลี้ยง ปริมาณแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้นเป็น 1058.82 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง หลังจากนั้นปริมาณแคโรทีนอยด์จะเพิ่มขึ้นและเริ่มคงที่ในวันที่ 3-4 ของการเพาะเลี้ยง คือมีค่าปริมาณแคโรทีนอยด์ระหว่าง 1723.80-1774.56 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณแคโรทีนอยด์จะเพิ่มขึ้นและมีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีค่าเท่ากับ 2050.24 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณแคโรทีนอยด์จะเริ่มลดลงลดลงในวันที่ 6-7 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีอัตราการเจริญเติบโตเท่ากับ 410.05 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อวัน ดังแสดงในตารางที่ 4.14 และรูปที่ 4.12

เมื่อเลี้ยงเชื้อโดยใช้ยีสต์สกัด 2.5 กรัมต่อลิตรรวมกับแอมโมเนียมซัลเฟต 3 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งอินทรีย์และอนินทรีย์ไนโตรเจน พบว่าในวันที่ 1 ของการเพาะเลี้ยง น้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อเพิ่มขึ้นเป็น 4.61 กรัมต่อลิตร จากนั้นน้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆและเริ่มคงที่ในวันที่ 5-6 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งอยู่ระหว่าง 10.96-11.44 กรัมต่อลิตร และมีน้ำหนักเซลล์แห้งมากที่สุดในวันที่ 7 ของการเพาะเลี้ยง มีค่าเท่ากับ 11.68 กรัมต่อลิตร สำหรับการผลิตแคโรทีนอยด์พบว่าในวันที่ 1 ของการเพาะเลี้ยง ปริมาณแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้นเป็น 1565.32 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง หลังจากนั้นปริมาณแคโรทีนอยด์จะเพิ่มขึ้นและเริ่มคงที่ในวันที่ 3-4 ของการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.13 น้ำหนักเซลล์แห้ง แคโรทีนอยด์ ค่าพีเอชและปริมาณน้ำตาลหมดที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* โดยใช้ยีสต์สกัด 5.5 กรัมต่อลิตร

เวลา (วัน)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (กรัมต่อลิตร)	พีเอช
0	0.49	0	64.73	5.56
1	4.79	1337.05	51.40	4.75
2	8.85	1386.60	48.37	4.50
3	11.20	1405.71	30.19	4.27
4	13.57	1437.70	19.71	4.40
5	14.48	1941.46	11.42	4.41
6	15.10	2120.32	7.18	4.52
7	16.08	1957.39	3.27	4.59

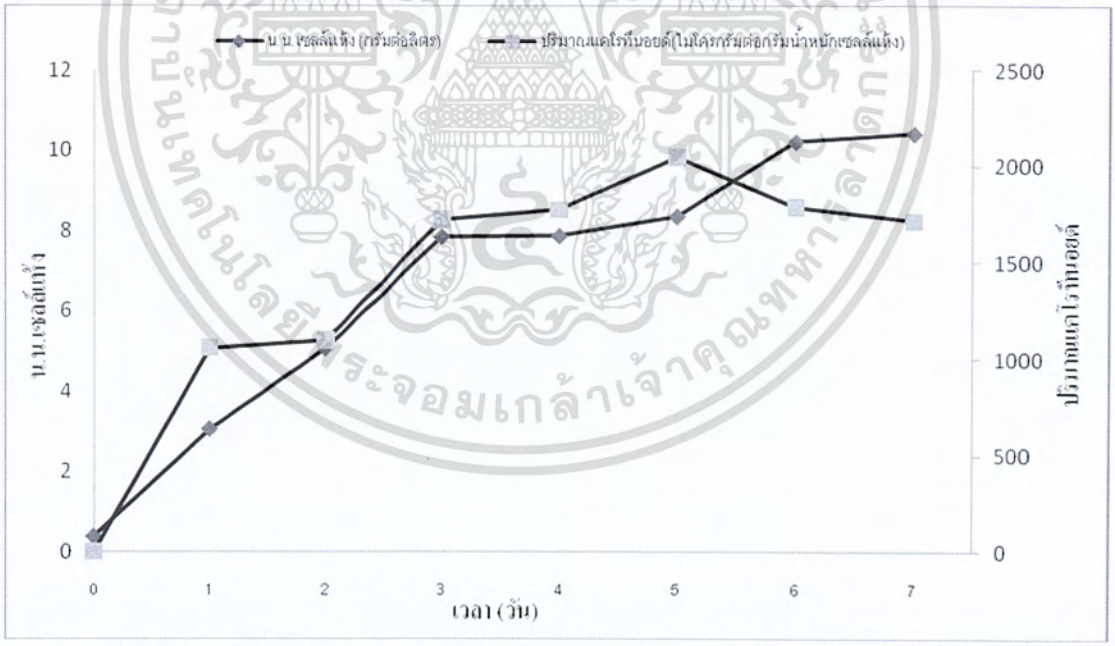


รูปที่ 4.11 น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* โดยใช้ยีสต์สกัด 5.5 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.14 น้ำหนักเซลล์แห้ง แคโรทีนอยด์ ค่าพีเอชและปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* โดยใช้แอมโมเนียมซัลเฟต 5.5 กรัมต่อลิตร

เวลา (วัน)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (กรัมต่อลิตร)	พีเอช
0	0.38	0	64.81	5.32
1	3.06	1058.82	55.30	2.80
2	5.07	1097.83	48.49	1.96
3	7.85	1723.80	33.96	1.98
4	7.87	1774.56	22.58	1.99
5	8.36	2050.24	19.24	2.01
6	10.22	1788.65	8.03	1.93
7	10.42	1715.93	4.38	1.89



รูปที่ 4.12 น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* โดยใช้แอมโมเนียมซัลเฟต 5.5 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

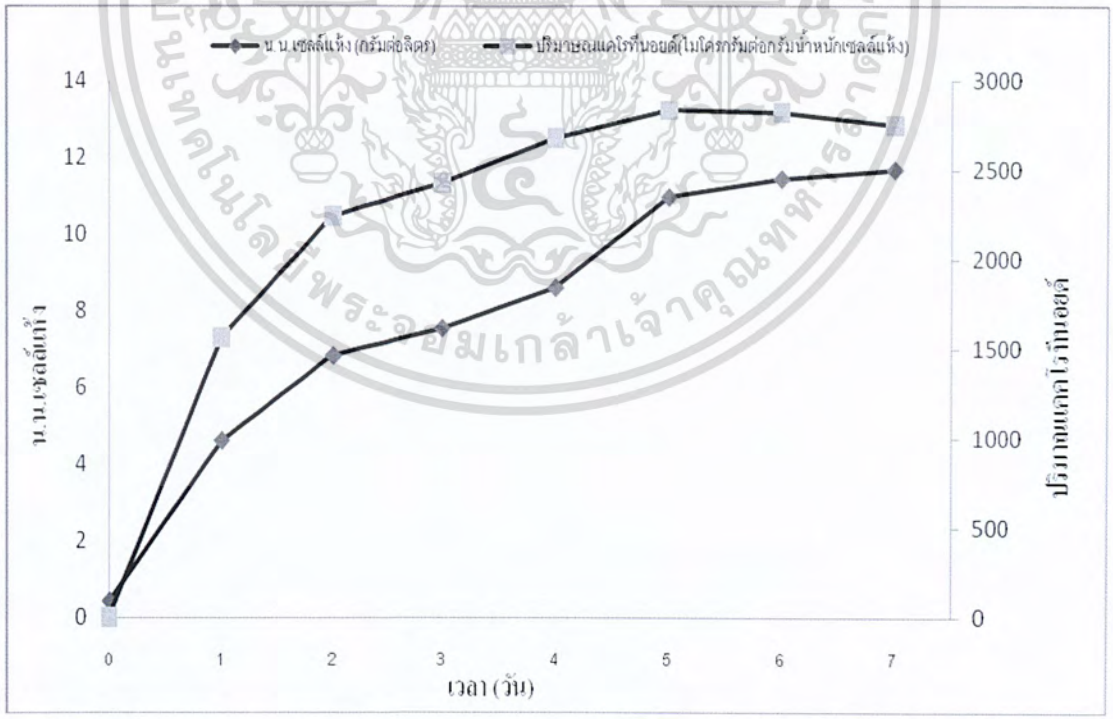
เพาะเลี้ยง คือมีค่าปริมาณแคโรทีนอยด์ระหว่าง 2428.17-2677.44 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์จะเพิ่มขึ้นและมีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีค่าเท่ากับ 2833.58 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณแคโรทีนอยด์จะเริ่มลดลงลดลงในวันที่ 6-7 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์เท่ากับ 566.72 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อวัน ดังแสดงในตารางที่ 4.15 และรูปที่ 4.13

การศึกษาชนิดของแหล่งไนโตรเจนที่มีผลต่อการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *R. mucilaginosa* จากการทดลองพบว่าการเลี้ยงเชื้อ *R. mucilaginosa* ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแหล่งไนโตรเจนเป็นยีสต์สกัด 2.5 กรัมต่อลิตรรวมกับแอมโมเนียมซัลเฟต 3 กรัมต่อลิตรจะให้ปริมาณแคโรทีนอยด์และอัตรการผลิตแคโรทีนอยด์สูงสุด โดยมีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 11.68 กรัมต่อลิตร ปริมาณแคโรทีนอยด์เท่ากับ 2833.58 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์เท่ากับ 566.72 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อวัน รองลงมาคือ แหล่งไนโตรเจนเดิม (แอมโมเนียมซัลเฟต 1 กรัมต่อลิตร ยีสต์สกัด 2.5 กรัมต่อลิตร และมอลต์สกัด 2 กรัมต่อลิตร) มีน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 12.92 กรัมต่อลิตร ปริมาณแคโรทีนอยด์เท่ากับ 2290.22 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์เท่ากับ 458.04 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อวัน และเมื่อนำปริมาณแคโรทีนอยด์และอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์มาวิเคราะห์ค่าทางสถิติ พบว่าปริมาณแคโรทีนอยด์และอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังแสดงในตารางที่ 4.16 ดังนั้นจึงเลือกยีสต์สกัด 2.5 กรัมต่อลิตรและแอมโมเนียมซัลเฟต 3 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งไนโตรเจน ซึ่งจะเห็นได้ว่ายีสต์สกัดมีผลต่อการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์ โดยในการเลี้ยงเชื้อยีสต์ในอาหารที่มีแหล่งไนโตรเจนเพียงชนิดเดียว คือ ยีสต์สกัดความเข้มข้น 5.5 กรัมต่อลิตร จะค่าน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 16.08 กรัมต่อลิตร และปริมาณแคโรทีนอยด์เท่ากับ 2120.32 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง ซึ่งผลการทดลองที่ได้มีค่าสูงกว่าการใช้แอมโมเนียมซัลเฟตความเข้มข้น 5.5 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งไนโตรเจนเพียงชนิดเดียว โดยมีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 10.42 กรัมต่อลิตร และปริมาณแคโรทีนอยด์เท่ากับ 2050.24 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และเมื่อทำการทดลองโดยการใช้แหล่งไนโตรเจนผสมเป็นยีสต์สกัด 2.5 กรัมต่อลิตร มอลต์สกัด 2 กรัมต่อลิตร และแอมโมเนียมซัลเฟต 1 กรัมต่อลิตร และการใช้ยีสต์สกัด 2.5 กรัมต่อลิตรร่วมกับแอมโมเนียมซัลเฟต 3 กรัมต่อลิตรเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.15 น้ำหนักเซลล์แห้ง แคโรทีนอยด์ ค่าพีเอชและปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* โดยใช้ยีสต์สกัด 2.5 กรัมต่อลิตรและแอมโมเนียมซัลเฟต 3 กรัมต่อลิตร

เวลา (วัน)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (กรัมต่อลิตร)	พีเอช
0	0.42	0	64.66	5.65
1	4.61	1565.32	51.40	4.52
2	6.82	2244.99	50.78	4.51
3	7.54	2428.17	20.82	4.47
4	8.60	2677.44	15.42	4.50
5	10.96	2833.58	7.18	3.21
6	11.44	2823.78	3.19	2.75
7	11.68	2749.32	1.49	3.32



รูปที่ 4.13 น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* โดยใช้ยีสต์สกัด 2.5 กรัมต่อลิตรและแอมโมเนียมซัลเฟต 3 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.16 การเปรียบเทียบอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์และปริมาณแคโรทีนอยด์ของเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* เมื่อเลี้ยงในอาหารที่ใช้แหล่งไนโตรเจนต่างกัน

แหล่งคาร์บอน	อัตราการผลิตแคโรทีนอยด์ (ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อวัน)	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)
แหล่งไนโตรเจนเดิม	458.04[b]	2290.22[b]
ยีสต์สกัด 5.5 กรัมต่อลิตร	353.39[d]	2120.32[c]
แอมโมเนียมซัลเฟต 5.5 กรัมต่อลิตร	410.05[c]	2050.24[d]
ยีสต์สกัด 2.5 กรัมต่อลิตรและแอมโมเนียมซัลเฟต 3 กรัมต่อลิตร	566.72[a]	2833.58[a]

หมายเหตุ : a b c d และ e แสดงถึงความสัมพันธ์ในสดมภ์เดียวกัน ตัวอักษรกำกับที่แตกต่างกันแสดงถึงค่าความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

แหล่งไนโตรเจน พบว่าเมื่อความเข้มข้นของยีสต์สกัดมีค่าเท่าเดิมและทำการเพิ่มความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้เป็นแหล่งไนโตรเจน โดยเพิ่มจากความเข้มข้น 1 กรัมต่อลิตร เป็นความเข้มข้น 3 กรัมต่อลิตร ปริมาณแคโรทีนอยด์และอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์จะเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งผลการทดลองที่ได้มีความสอดคล้องกับการศึกษาของ Maldonade และคณะ (2009) ที่ทำการศึกษาการเจริญเติบโตและการผลิตแคโรทีนอยด์ที่เหมาะสมทางสถิติของเชื้อ *R. mucilaginosa* ในอาหาร YM โดยใช้ยีสต์สกัดเป็นแหล่งไนโตรเจน พบว่าแหล่งไนโตรเจนมีผลต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ของยีสต์และยีสต์สกัดมีผลต่อการผลิตแคโรทีนอยด์อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยพบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของปริมาณยีสต์สกัดที่ใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนมากขึ้น ปริมาณการผลิตแคโรทีนอยด์และมวลชีวภาพจะเพิ่มมากขึ้นด้วย ดังเช่นการใช้น้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้น 40 กรัมต่อลิตร และยีสต์สกัด 5 กรัมต่อลิตร จะได้ปริมาณการผลิตแคโรทีนอยด์เท่ากับ 904 ไมโครกรัมต่อลิตร และ มวลชีวภาพเท่ากับ 5.6 กรัมต่อลิตร ในขณะที่การใช้น้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้น 40 กรัมต่อลิตร และยีสต์สกัด 1 กรัมต่อลิตร จะได้ปริมาณการผลิตแคโรทีนอยด์เท่ากับ 160 ไมโครกรัมต่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลิตร และ มวลชีวภาพเท่ากับ 2.1 กรัมต่อลิตร นอกจากนี้ผลการทดลองที่ได้ในครั้งนี้ยังมีความสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Aksu และ Eren (2005) ที่ทำการศึกษาการผลิตแคโรทีนอยด์จากเชื้อ *R. mucilaginosa* โดยใช้ของเสียจากการเกษตรเป็นแหล่งคาร์บอน เมื่อศึกษาความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตที่มีผลต่อการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์ของยีสต์ โดยใช้แอมโมเนียมซัลเฟตเป็นแหล่งไนโตรเจนเพียงชนิดเดียว ความเข้มข้นที่ใช้ในการศึกษาคือ 0.5 1 2 3 4 และ 5 กรัมต่อลิตร พบว่าน้ำหนักเซลล์แห้งของยีสต์และปริมาณแคโรทีนอยด์เพิ่มสูงขึ้นเมื่อความเข้มข้นเริ่มต้นของแอมโมเนียมซัลเฟตเพิ่มขึ้นจนถึง 2 กรัมต่อลิตร ดังนั้นความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตที่ให้น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณแคโรทีนอยด์และผลได้ของแคโรทีนอยด์สูงสุด คือ ความเข้มข้น 2 กรัมต่อลิตร โดยมีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 4.9 กรัมต่อลิตร ปริมาณแคโรทีนอยด์เท่ากับ 63.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีผลได้ของแคโรทีนอยด์เท่ากับ 12.9 มิลลิกรัมต่อกรัม รองลงมา คือ 3 กรัมต่อลิตร โดยที่ความเข้มข้น 3 กรัมต่อลิตรมีค่าผลได้ของแคโรทีนอยด์เท่ากับ 12.8 มิลลิกรัมต่อกรัม ซึ่งมีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 4.7 กรัมต่อลิตร ปริมาณแคโรทีนอยด์เท่ากับ 60.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีผลได้ของแคโรทีนอยด์เท่ากับ 12.8 มิลลิกรัมต่อกรัม โดยจากผลการศึกษาของ Aksu และ Eren (2005) จะเห็นได้ว่าการใช้แอมโมเนียมซัลเฟตความเข้มข้น 2 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งไนโตรเจนมีค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณแคโรทีนอยด์และผลได้ของแคโรทีนอยด์ใกล้เคียงกับการใช้แอมโมเนียมซัลเฟต 3 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งไนโตรเจน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาการเจริญของเชื้อยีสต์ *Rhodotorula mucilaginosa* โดยนำมาเลี้ยงในอาหารเหลวที่ดัดแปลงจากสูตรอาหารของ Aksu และ Eren และศึกษาผลของแหล่งคาร์บอน เข้มข้นของแหล่งคาร์บอน และแหล่งอินทรีย์และอนินทรีย์ไนโตรเจนที่มีผลต่อการผลิตสารแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *R. mucilaginosa*

ผลของการศึกษาแหล่งคาร์บอนชนิดต่างๆ คือ กลูโคส กาแลคโตส ซูโครส แลคโตส และแมนนิทอลความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร ที่มีผลต่อการเจริญและการผลิตสารแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *R. mucilaginosa* พบว่าอาหารสูตรที่มีน้ำตาลกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร ยีสต์สกัด 2.5 กรัมต่อลิตร มอลต์สกัด 2 กรัมต่อลิตร แอมโมเนียมซัลเฟต 1 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 7 วัน เชื้อ *R. mucilaginosa* สามารถผลิตสารแคโรทีนอยด์ได้ดีที่สุดในสูตรอาหารที่ใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 7.82 กรัมต่อลิตร ปริมาณแคโรทีนอยด์เท่ากับ 2075.29 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์เท่ากับ 415.06 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อวัน รองลงมาคือ น้ำตาลกาแลคโตส ซึ่งมีน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 8.98 กรัมต่อลิตร ปริมาณแคโรทีนอยด์เท่ากับ 1860.02 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์เท่ากับ 372.00 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อวัน

ผลของการศึกษาปริมาณความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนที่มีผลต่อการเจริญและการผลิตสารแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *R. mucilaginosa* ที่เลี้ยงในอาหารที่ดัดแปลงจากสูตรอาหารของ Aksu และ Eren โดยทำการแปรผันปริมาณความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอน ดังนี้ 20 35 50 และ 65 กรัมต่อลิตร พบว่าเชื้อยีสต์สามารถผลิตสารแคโรทีนอยด์ได้ดีที่สุดในสูตรอาหารที่มีความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอน 65 กรัมต่อลิตร มีน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 12.92 กรัมต่อลิตร ปริมาณแคโรทีนอยด์เท่ากับ 2290.22 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์เท่ากับ 458.04 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อวัน รองลงมาคือ ความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 12.90 กรัมต่อลิตร ปริมาณแคโรทีนอยด์เท่ากับ 2237.75 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์เท่ากับ 447.55 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อวัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลของการศึกษาแหล่งไนโตรเจนชนิดต่างๆ คือ แหล่งไนโตรเจนเดิม (แอมโมเนียมซัลเฟต 1 กรัม ยีสต์สกัด 2.5 กรัม และมอลต์สกัด 2 กรัม) ยีสต์สกัด 5.5 กรัม แอมโมเนียมซัลเฟต 5.5 กรัม และยีสต์สกัด 2.5 กรัมร่วมกับแอมโมเนียมซัลเฟต 3 กรัม ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการผลิตสารแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *R. mucilaginosa* ที่เลี้ยงในอาหารที่ดัดแปลงจากสูตรอาหารของ Aksu และ Eren พบว่าการเลี้ยงเชื้อในอาหารที่ใช้ยีสต์สกัด 2.5 กรัมรวมกับแอมโมเนียมซัลเฟต 3 กรัมเป็นแหล่งไนโตรเจนทำให้เชื้อยีสต์สามารถผลิตสารแคโรทีนอยด์ได้สูงที่สุด มีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 11.68 กรัมต่อลิตร ปริมาณแคโรทีนอยด์เท่ากับ 2833.58 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์เท่ากับ 566.72 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อวัน รองลงมาคือ แหล่งไนโตรเจนเดิม มีน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 12.92 กรัมต่อลิตร ปริมาณแคโรทีนอยด์เท่ากับ 2290.22 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์เท่ากับ 458.04 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อวัน

ดังนั้นสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *R. mucilaginosa* มีสูตรดังนี้ น้ำตาลกลูโคส 65 กรัมต่อลิตร ยีสต์สกัด 2.5 กรัมต่อลิตร แอมโมเนียมซัลเฟต 3 กรัมต่อลิตร พีเอช 6.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กนกอร จารุจารีต. 2543. ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของไซยาโนแบคทีเรียเพื่อผลิตสารแคโรทีนอยด์, วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

จิรชา ค้งตระกูล. 2549. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตแอสตาแซนทินของ *Phaffia rhodozyma*, วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

ดิเรกฤทธิ์ จันทรวงษ์. บดิน สุนิภาษา และ เยาวลักษณ์ เหลืองวัฒนวิไล. 2551. การผลิตแคโรทีนอยด์จาก *Rhodotorula glutinis* TISTR 5159, โครงงานพิเศษ วิทยศาสตรบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

พัชรินทร์ ระวียัน. 2551. แคโรทีนอยด์และวิตามินอีจากน้ำมันปาล์ม. รายงานฉบับสมบูรณ์เสนอต่อสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย.

วิจิตรา สานพภา. 2551. ผลของน้ำทิ้งจากอุตสาหกรรมอาหารประเภทต่างๆที่นำมาใช้เป็นอาหารเลี้ยงยีสต์ *Rhodotorula mucilaginosa* ต่อสมบัติเชิงคุณภาพและปริมาณของคาโรทีนอยด์จากยีสต์, วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีทางอาหาร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

นิรชร สังคพันธุ์. วิไลวรรณ จรรย์สืบศรี และ สาลินี ลำดับจุด. 2552. การผลิตแคโรทีนอยด์จากน้ำมะพร้าวโดยเชื้อ *Rhodotorula glutinis* TISTR 5159, โครงงานพิเศษ วิทยศาสตรบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

Aksu. Z. and Eren T. A 2005. Caroteniods production by the yeast *Rhodotorula mucilaginosa*: Use of agricultural wastes as a carbon source, Process Biochem., 40 : 2985-2991.

Aksu. Z. and Eren T. A. 2007. Production of Carotenoid by the Isolated Yeast of *Rhodotorula glutinis*, Biochem. Eng. J., 35 : 107-113.

Andersen, D., Renshaw, J. C. and Wiebe, M. G. 2003. Rhodotorulic acid production by *Rhodotorula mucilaginosa*, Mycol. Res. 107 (8): 949–956

Bhosale, P. and Gadre, RV. 2001. Beta-carotene production in sugarcane molasses by *Rhodotorula glutinis* mutant, Microbiol Biotechnol., 26(6). 327-332

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Britton, G. 1983. Carotenoids. The Biochemistry of Natural Pigment, Van Nastrand : Reinhold Campana, PP. 23-72

Buzzini, P. and Martini, A. 1999. Production of carotenoids by strains of *Rhodotorula glutinis* cultured in raw materials of agro-industrial origin, Bioresour. Technol., 71 : 41–44

Calo, P., Vela'Zues, J. B., Sieiro, C., Blanco, P., Long, E. and Villa, T. G.1995. Analysis of Astaxanthin and other Carotenoids from Several *Phaffia rhodozyma* mutants , J. Agric. Food Chem., 43(5): 1396-1399.

Ciegler, A. 1965. Microbial Carotenogenesis, Adv. Appl. Microbiol., 7 : 1-29

Dubois, M. K., Gils, J.K., Hanniton, P.A., Robes, and Smith, F. Use of phenol reagent for the determination of total sugar. Anal. Chem., 28 : 350 (1956).

Defosse. L. 2006. Microbial production of food grade pigments, Food technol. Biotechnol., 44 : 313-321.

El-Agamey. A., Lowe. G. M., McGarvey. D. J., Mortensen. A., Phillip. D. M., Truscott. G. and Young. J. 2004 Carotenoid radical chemistry and antioxidant/pro-oxidant properties, Arch. Biochem. Biophys., 430 : 37-48

Fogg, G. E., Stewart, W. D. P., Fay, P. and Walsby, A. E., 1973. The blue-green algae, London: Academic Press. Pp. 40-72

Grosa, J. 1991. Pigment in Vegetable : Chlorophylls and Carotenoids, Carotenoids New York, Van Nostrand Reinhold, PP., 75 – 278

Maldonade, I. R., Rodriguez-Amaya D. B. and Scamparini A. R. P., 2008. Carotenoids of yeasts isolated from the Brazilian ecosystem, Food Chem., 107 : 145-150

Maldonade, I. R., Rodriguez-Amaya D. B. and Scamparini A. R. P., 2009.Statistical optimization of growth and carotenoid production by *Rhodotorula mucilaginosa*, J. Biot., PP., 1-16

Malisorn, C. and Suntornsuk, W. 2007. Optimization of β-carotene production by *Rhodotorula glutinis* DM28 in fermented radish brine, Bioresour. Technol., 99 : 2281-2287

Margalith, P. and Meydev, S. 1968. Some observations on the carotenogenesis in the yeast *Rhodotorula mucilaginosa*, Phytochem., 7 (5) : 765-768

Ninet, L. and Renaut, J. 1992. Carotenoids, In: Peppler, H.J.(Ed.), Microbial Technology. Academic Press, New York, PP., 529-542

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Park. P. K., Kim E. Y. and Chu K. H. 2007. Chemical disruption of yeast cells for the isolation of carotenoid pigment, Seppur., 53 : 148-152

Phadwal, K. and Singh, P.K. 2003. Isolation and Characterization of an Indigenous Issolate of *Dunaliella* sp. For β-carotene and glycerol Production from a Hupersaline Lake in India, J. Basic Microbiol., 43(5) : 423-429

Pietro, B. and Alessandro, M. 1999. Production of carotenoids by strains of *Rhodotorula glutinis* cultured in raw materials of agro-industrial origin, Bioresour. Technol., 71 : 41-44

Shin, C. T. and Hang, Y. D., 1996. Production of Carotenoids by *Rhodotorula rubra* from Sauerkraut Brine, Lebensm.-wiss. U. Technol, 29 : 70-572

Simova. E. D., Frengova G. I. and Beshkova D. M. 2003. Effect of Aeration on the Production of Carotenoid Pigments by *Rhodotorula rubra-lactobacillus casei* Subsp. *casei* Co-Cultures in Whey Ultrafiltrate, Z. Naturforsch. 58c, 225-229

Vijayalakshmi, G., Vanajakshi, V. and Divakar, S. 1999. Optimization of growth parameters for the production of carotenoids by *Rhodotorula gracilis*, Z. Lebensm. Forsch.,208 : 121-124

Vijayalakshmi, G., Shobha, B., Vanajakshi, V., Divakar, S. and Manohar, B. 2001. Response surface methodology for optimization of growth parameters for the production of carotenoids by a mutant strain of *Rhodotorula gracillis*, Eur. Food Res. Technol., 213 : 234–239.

[Online]. Available : http://www.food-info.net/images/isoprene.jpg

[Online]. Available : http://blog.eduzones.com/hanger/1192

[Online]. Available : http://idealplus1.blogspot.com/2009/04/blog-post_08.html

[Online]. Available : http://www.bakeinfo.co.nz/school/school_info/bread_ingredients.php

[Online]. Available : http://www.benbest.com/nutrceut/phytochemicals.html

[Online]. Available : http://www.biyolojiegitim.yyu.edu.tr/k/Rhod/index.htm

[Online]. Available : http://www.doctorfungus.org/thefungi/rhodotorula.htm

[Online]. Available : http://www.doctorfungus.org/thefungi/Rhodotorula_mucilaginosa.php

[Online]. Available : http://www.gacfruitfarm.com/?paged=2

[Online]. Available : http://www.kow-krua.com/knowledge/Betacarotene.htm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[Online]. Available : http://www.lovevitamin.net/มารู้จัก%20เบต้าแคโรทีน%20กันเถอะ

[Online]. Available : http://www.megawecare.co.th/thai/brochure.asp?id=8

[Online]. Available : http://www.mellerio.org.uk/macpig/macpig2.htm

[Online].Available : http://www.nasa.gov/mission_pages/station/science/experiments/Yeast-GAP.html

[Online]. Available : http://www.vcharkarn.com/varticle/41573

[Online]. Available : http://www.wormsteps.com/2010/03/05/carotene-and-carotenoids/

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ตารางภาคผนวก ก 1 การวิเคราะห์การผลิตสารแคโรทีนอยด์ของเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* เมื่อเลี้ยงในอาหารที่ใช้แหล่งคาร์บอนต่างกัน

แหล่งคาร์บอนกับปริมาณแคโรทีนอยด์

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	244407.677	4	61101.919	1.113E10	.000
Within Groups	.000	5	.000		
Total	244407.677	9			

Duncan

คาร์บอน	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
แลคโตส	2	1583.292100				
ซูโครส	2		1813.950250			
แมนนิทอล	2			1841.271950		
กาแลคโตส	2				1860.020300	
กลูโคส	2					2075.289000
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แหล่งคาร์บอนกับอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9775.999	4	2444.000	9.927E8	.000
Within Groups	.000	5	.000		
Total	9775.999	9			

Duncan

คาร์บอน	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
แลคโตส	2	316.663650				
ซูโครส	2		362.790700			
แมนนิทอล	2			368.339900		
กาแลคโตส	2				372.002650	
กลูโคส	2					415.059500
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ก 2 การวิเคราะห์การผลิตสารแคโรทีนอยด์ของเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* เมื่อเลี้ยงในอาหารที่ใช้แหล่งคาร์บอนที่มีความเข้มข้นต่างกัน

แหล่งคาร์บอนกับปริมาณแคโรทีนอยด์

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	52413.939	3	17471.313	5.829E9	.000
Within Groups	.000	4	.000		
Total	52413.939	7			

Duncan

น้ำตาลกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
20	2	2075.289000			
35	2		2162.909600		
50	2			2237.749750	
65	2				2290.219450
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แหล่งคาร์บอนกับอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2096.481	3	698.827	2.107E8	.000
Within Groups	.000	4	.000		
Total	2096.481	7			

Duncan

น้ำตาลกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
20	2	415.059500			
35	2		432.581800		
50	2			447.551850	
65	2				458.044000
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ก 3 การวิเคราะห์การผลิตสารแคโรทีนอยด์ของเชื้อยีสต์ *R. mucilaginosa* เมื่อเลี้ยงในอาหารที่ใช้แหล่งอินทรีย์และอนินทรีย์ไนโตรเจนที่ต่างกัน

แหล่งอินทรีย์และอนินทรีย์ไนโตรเจนกับปริมาณแคโรทีนอยด์

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	754483.322	3	251494.441	2.717E10	.000
Within Groups	.000	4	.000		
Total	754483.322	7			

Carotenoid

อินทรีย์และอนินทรีย์ไนโตรเจน	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
แอมโมเนียมซัลเฟต 5.5 กรัมต่อลิตร	2	2050.239500			
ยีสต์สกัด 5.5 กรัมต่อลิตร	2		2120.317500		
แหล่งไนโตรเจนเดิม	2			2290.219450	
ยีสต์สกัด 2.5 กรัมต่อลิตร และแอมโมเนียมซัลฟต 3 กรัมต่อลิตร	2				2833.578100
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แหล่งอินทรีย์และอนินทรีย์ไนโตรเจนกับอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	48986.265	3	16328.755	1.654E11	.000
Within Groups	.000	4	.000		
Total	48986.265	7			

Duncan

อินทรีย์และอนินทรีย์ไนโตรเจน	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
ยีสต์สกัด 5.5 กรัมต่อลิตร	2	353.386645			
แอมโมเนียมซัลเฟต 5.5 กรัมต่อลิตร	2		410.047850		
แหล่งไนโตรเจนเดิม	2			458.044000	
ยีสต์สกัด 2.5 กรัมต่อลิตร และแอมโมเนียมซัลฟต 3 กรัมต่อลิตร	2				566.716150
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารที่ใช้เก็บรักษาเชื้อ (YM Agar)

-น้ำตาลกลูโคส	10	กรัม
-เปปโตน	5	กรัม
-ยีสต์สกัด	3	กรัม
-มอลท์สกัด	3	กรัม
-วุ้นผง	15	กรัม

ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1 ลิตร และ ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6.00 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก 0.1 โมลาร์ หรือโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 โมลาร์ ทำการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้