สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การผลิตแคโรทีนอยด์จากน้ำอ้อยโดยเชื้อ *Rhodotorula glutinis* TISTR 5159

Carotenoid production from sugar cane juice by *Rhodotorula glutinis* TISTR 5159

T117225

ชาติชาย กิตติวงศ์นารา
ณัฐณิชา พูลทรัพย์
ธนากร หฤทัยสดใส

เลขหมู่
เลขทะเบียน 117225
วัน,เดือน,ปี 19 ก.ค. 2554
b.........
i.........

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2553

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Carotenoid production from sugar cane juice

by *Rhodotorula glutinis* TISTR 5159

Chartchai Kitiwangnara

Natnicha Punsap

Tanakron Harithaisudsai

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	การผลิตแคโรทีนอยด์จากน้ำอ้อยโดยเชื้อ *Rhodotorula glutinis* TISTR 5159
	Carotenoid production from sugar cane juice by *Rhodotorula glutinis* TISTR 5159
ชื่อนักศึกษา	ชาติชาย กิตติวงศ์นารา
	ณัฐณิชา พูลทรัพย์
	ธนากร หฤทัยสดใส
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชา	จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม
อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ	รศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ประจำปีการศึกษา 2553

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ ผศ.วีนา ชูโชติ	[signature]
กรรมการ รศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง	[signature]
กรรมการ ผศ.มงคล เพ็ญสายใจ	[signature]

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การผลิตแคโรทีนอยด์จากน้ำอ้อยโดยเชื้อ *Rhodotorula glutinis* TISTR 5159
	Carotenoid production from sugar cane juice by *Rhodotorula glutinis* TISTR 5159
ชื่อนักศึกษา	ชาติชาย กิตติวงศ์นารา
	ณัฐณิชา พูลทรัพย์
	ธนากร หฤทัยสดใส
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขา	จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง

บทคัดย่อ

ศึกษาการผลิตแคโรทีนอยด์จากน้ำอ้อยโดยเชื้อ *Rhodotorula glutinis* TISTR 5159 ในฟลาสก์เขย่า ซึ่งบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาที ศึกษาอาหารที่เหมาะสมในการผลิตแคโรทีนอยด์ โดยใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสที่ 20 40 และ 60 กรัมต่อลิตร ในอาหารดัดแปลงสูตรของ Aksu และ Eren พบว่าเมื่อใช้น้ำตาลซูโครส 40 กรัมต่อลิตร จะให้ปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดเท่ากับ 7.36 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้งโดยมีอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์เท่ากับ 1.74 มิลลิกรัมกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อวัน ศึกษาแหล่งอินทรีย์ไนโตรเจนคือ ยีสต์สกัด เปปโตน และน้ำแช่ข้าวโพด ปริมาณ 5.5 กรัมต่อลิตร พบว่ายีสต์สกัด 5.5 กรัม เป็นแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมให้แคโรทีนอยด์เท่ากับ 8.65 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง โดยมีอัตราการการผลิตแคโรทีนอยด์เท่ากับ 2.16 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์ต่อวัน สูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *R. glutinis* มีสูตรดังนี้ น้ำตาลซูโครส 40 กรัมต่อลิตร ยีสต์สกัด 5.5 กรัมต่อลิตร โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) 1 กรัมต่อลิตร และแมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4 . 7H_2O$) 0.25 กรัมต่อลิตร ในน้ำอ้อย 1 ลิตร ที่ค่าพีเอช 6.5

คำสำคัญ : *Rhodotorula glutinis,* แคโรทีนอยด์, น้ำอ้อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Carotenoid production from sugar cane juice by *Rhodotorula glutinis* TISTR 5159
Students	Chartchai Kittivongnara
	Natnicha Punsap
	Thanakorn Haruthaisodsai
Degree	Bachelor of Science
Major Program	Industrial Microbiology
Academic Year	2010
Advisor	Assoc.Prof Dr.Naunphan Naranong

ABSTRACT

Carotenoid production using sugar cane juice by *Rhodotorula glutinis* TISTR 5159 was studied in shaking flask with a shaking speed of 180 rpm at 30°C in shaker. To optimize medium for carotenoid production, sucrose concentrations of 20, 40 and 60 g/l were added to a modified Akzu and Eren's medium. When 40 g/l sucrose was used in the medium, the maximum carotenoid concentration of 7.36 mg/g dry weight and productivity of 1.74 mg/g dry weigh d were obtained. The effect of organic nitrogen sources was also investigated using 5.5 g/l of yeast extract, peptone, corn steep liquor. It was found that yeast extract was suitable nitrogen source to give carotenoid content of 8.65 mg/g dry weigh with productivity of 2.16 mg/g dry weight d. The optimal medium for carotenoid production contained (g/l): sucrose, 40; yeast extract, 5.5; KH_2PO_4 1; $MgSO_4.7H_2O$, 0.25; sugar cane juice 1 l and pH 6.5

Keywords: *Rhodotorula glutinis***,** Carotenoid, sugar cane juice

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีโดยความเมตตากรุณาของ รศ.ดร.นวลพรรณ ระนอง ที่ได้ให้ความช่วยเหลือ ให้คำแนะนำ ให้คำปรึกษาและข้อเสนอแนะในการศึกษา ค้นคว้า ตลอดจนตรวจข้อแก้ไขบกพร่องต่างๆที่เกิดขึ้น รวมทั้งให้ความรู้และประสบการณ์ที่ดี ขอกราบขอบพระคุณอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ ผศ.วีนา ชูโชติ และ อ.มงคล เพ็ญสายใจ ซึ่งเป็นคณะกรรมการในการสอบโครงงานพิเศษที่ได้กรุณาให้คำแนะนำตลอดจนชี้แนะแก้ไขโครงงานพิเศษสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ธุรการ พี่นักวิทยาศาสตร์ คุณเอกภพ ภาเรือง คุณประสิทธิ์ แผ้วบาง และคุณวิทยา เขียวเงินที่ได้ให้ความสะดวกและคำแนะนำในการใช้เครื่องมืออุปกรณ์ทุกอย่างในโครงงานพิเศษ

ขอขอบคุณพี่ปริญญาโทตึกวิทยาศาสตร์ทุกคน รวมทั้งเพื่อนนักศึกษาภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ทุกคนที่คอยให้คำปรึกษาในเรื่องต่างๆ คอยให้ข้อคิดเห็นและเป็นกำลังใจตลอดมา

ที่สำคัญขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ซึ่งเป็นที่รักและเคารพยิ่ง ที่คอยให้กำลังใจและความช่วยเหลือด้านต่างๆตลอดมา

คุณค่าและประโยชน์อันพึงมีจากโครงงานพิเศษฉบับนี้ผู้วิจัยขอมอบแด่บิดา มารดาและผู้มีอุปการะทุกท่าน

ชาติชาย กิตติวงศ์นารา
ณัฐณิชา พูลทรัพย์
ธนากร หฤทัยสดใส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
กิตติกรรมประกาศ	III
สารบัญ	IV
สารบัญรูป	VI
สารบัญตาราง	VIII
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของโครงงานพิเศษ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ	2
1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 แคโรทีนอยด์	3
2.1.1 ชนิดและโครงสร้างของแคโรทีนอยด์	4
2.1.2 แหล่งของแคโรทีนอยด์	5
2.1.3 ประโยชน์ของสารแคโรทีนอยด์	6
2.2 ยีสต์ *Rhodotorula glutinis*	7
2.2.1 ลักษณะทั่วไปของยีสต์ *Rhodotorula glutinis*	7
2.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสารแคโรทีนอยด์	9
2.4 น้ำอ้อย	13
2.4.1 สารต่างๆที่พบในอ้อย	15
2.4.2 การใช้ประโยชน์จากอ้อย	15

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง 17
3.1 เชื้อจุลินทรีย์ 17
3.2 อุปกรณ์และสารเคมี 17
3.3 วิธีการทดลอง 19
3.4 วิธีการวิเคราะห์ 20
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล 24
4.1 ผลการศึกษาความเข้มข้นของน้ำตาลที่เหมาะสมต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ 24
4.2 ผลการศึกษาแหล่งอินทรีย์ไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ 32
บทที่ 5 สรุปผลวิจัย 40
เอกสารอ้างอิง 41
ภาคผนวก
ภาคผนวก ก การวิเคราะห์ทางสถิติ 44
ภาคผนวก ข อาหารเลี้ยงเชื้อ 48
ภาคผนวก ค วิธีการคำนวณ 49

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 2.1 โครงสร้างของไอโซพรีน 3

รูปที่ 2.2 โครงสร้างของ acyclic $C_{40}H_{56}$carotene 3

รูปที่ 2.3 โครงสร้างของ Xanthophyll 4

รูปที่ 2.4 แสดงลักษณะโคโลนีของเซลล์ยีสต์ *Rhodotorula glutinis* 8

รูปที่ 2.5 ลักษณะของลำต้นอ้อย 13

รูปที่ 3.1 กราฟมาตรฐานน้ำตาลซูโครส 23

รูปที่ 4.1 น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ได้จากเชื้อยีสต์ *R. glutinis* TISTR 5159 ในอาหารเหลวที่มีน้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร 25

รูปที่ 4.2 น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ได้จากเชื้อยีสต์ *R. glutinis* TISTR 5159 ในอาหารเหลวที่มีน้ำตาลซูโครส 40 กรัมต่อลิตร 27

รูปที่ 4.3 น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ได้จากเชื้อยีสต์ *R. glutinis* TISTR 5159 ในอาหารเหลวที่มีน้ำตาลซูโครส 60 กรัมต่อลิตร 28

รูปที่ 4.4 เปรียบเทียบน้ำหนักเซลล์แห้ง (ก.) ปริมาณแคโรทีนอยด์ (ข.) และปริมาณน้ำตาลที่เหลือ (ค.) จากเชื้อยีสต์ *R.. glutinis* TISTR 5159 ในอาหารเหลวที่มีน้ำตาลซูโครส 20 40 และ 60 กรัมต่อลิตร 29

รูปที่ 4.5 น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ได้จากเชื้อยีสต์ *R.. glutinis* TISTR 5159 ในอาหารเหลวที่มียีสต์สกัด 5.5 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งไนโตรเจน 33

รูปที่ 4.6 น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ได้จากเชื้อยีสต์ *R.. glutinis* TISTR 5159 ในอาหารเหลวที่มีเปปโตน 5.5 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งไนโตรเจน 34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป(ต่อ)

หน้า

รูปที่ 4.7 น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ได้จากเชื้อยีสต์ *R. glutinis* TISTR 5159 ในอาหารเหลวที่มีน้ำแช่ข้าวโพด 5.5 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งไนโตรเจน 36

รูปที่ 4.8 เปรียบเทียบน้ำหนักเซลล์แห้ง (ก.) ปริมาณแคโรทีนอยด์ (ข.) และปริมาณน้ำตาลที่เหลือ (ค.) จากเชื้อยีสต์ *R. glutinis* TISTR 5159 ในอาหารเหลวที่มียีสต์สกัด เปปโตนและน้ำแช่ข้าวโพด 37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 4.1 น้ำหนักเซลล์แห้ง แคโรทีนอยด์ น้ำตาลที่เหลือและค่าพีเอช เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Rhodotorula glutinis* TISTR 5159 ในอาหาร ที่มีน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร 25

ตารางที่ 4.2 น้ำหนักเซลล์แห้ง แคโรทีนอยด์ น้ำตาลที่เหลือและค่าพีเอช เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Rhodotorula glutinis* TISTR 5159 ในอาหาร ที่มีน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 40 กรัมต่อลิตร 27

ตารางที่ 4.3 น้ำหนักเซลล์แห้ง แคโรทีนอยด์ น้ำตาลที่เหลือและค่าพีเอช เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Rhodotorula glutinis* TISTR 5159 ในอาหาร ที่มีน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 60 กรัมต่อลิตร 28

ตารางที่ 4.4 แสดงปริมาณแคโรทีนอยด์ และอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์ของ *Rhodotorula glutinis*TISTR 5159 เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีความเข้มข้นน้ำตาลซูโครสต่างกัน 30

ตารางที่ 4.5 น้ำหนักเซลล์แห้ง แคโรทีนอยด์ น้ำตาลที่เหลือและค่าพีเอช เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Rhodotorula glutinis* TISTR 5159 ในอาหาร ที่มียีสต์สกัดเป็นแหล่งไนโตรเจน 33

ตารางที่ 4.6 น้ำหนักเซลล์แห้ง แคโรทีนอยด์ น้ำตาลที่เหลือและค่าพีเอช เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Rhodotorula glutinis* TISTR 5159 ในอาหาร ที่มีเปปโตนเป็นแหล่งไนโตรเจน 34

ตารางที่ 4.7 น้ำหนักเซลล์แห้ง แคโรทีนอยด์ น้ำตาลที่เหลือและค่าพีเอช เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Rhodotorula glutinis* TISTR 5159 ในอาหาร ที่มีน้ำแช่ข้าวโพดเป็นแหล่งไนโตรเจน 36

ตารางที่ 4.8 แสดงปริมาณแคโรทีนอยด์ และอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์ของ *Rhodotorula glutinis* TISTR 5159 เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีแหล่งไนโตรเจนอินทรีย์ต่างกัน 38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง(ต่อ)

หน้า

ตารางภาคผนวก ก 44

ตารางภาคผนวก ก 1 การวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้งและการผลิตสารแคโรทีนอยด์ ของ เชื้อยีสต์ *Rhodotorula glutinis* เมื่อเลี้ยงในอาหารที่ใช้แหล่งคาร์บอนที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน 44

ตารางภาคผนวก ก 2 การวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้งและการผลิตสารแคโรทีนอยด์ ของ เชื้อยีสต์ *Rhodotorula glutinis* เมื่อเลี้ยงในอาหารที่ใช้แหล่งอินทรีย์ไนโตรเจนที่แตกต่างกัน 45

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาของโครงงานพิเศษ

แคโรทีนอยด์ เป็นสารประกอบตามธรรมชาติที่มีอยู่ในพืชผัก ผลไม้ ที่มีสีแดง สีส้ม สีเขียว และสีเหลือง เช่นแครอท แคนตาลูป ผักโขม ฟักทอง สาหร่าย ที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ ที่เป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดการเสื่อมของเซลล์และอวัยวะต่างๆ สารกลุ่มแคโรทีนอยด์มีหลายชนิด เช่น อัลฟาคาร์โรทีน ลูทิอิน ซีแซนทิน แต่ที่รู้จักกันดีและมีอยู่ ในผัก ผลไม้ ส่วนใหญ่คือเบต้าคาร์โรทีน โดยแคโรทีนอยด์แต่ละชนิดจะทำงานร่วมกันในการออกฤทธิ์เพื่อประโยชน์ต่อร่างกายในด้านต่างๆ ดังนั้นควรต้องรับประทานผัก ผลไม้ในปริมาณสูง และต้องได้หลากหลายชนิด เพื่อให้ได้แคโรทีนอยด์ครบถ้วน ในปัจจุบันมีการศึกษาการผลิตแคโรทีนอยด์จากแหล่งจุลินทรีย์กันอย่างกว้างขวาง ในเชิงพาณิชย์มีการนำไปใช้ประโยชน์มากมาย และในปัจจุบันการผลิตแคโรทีนอยด์จากจุลินทรีย์ ได้รับความสนใจกันอย่างกว้างขวาง

Rhodotorula glutinis เป็นยีสต์ที่รู้จักกันอย่างกว้างขวางว่าสามารถผลิตแคโรทีนอยด์ได้และสามารถเจริญได้ในวัตถุดิบจากการเกษตรที่มีราคาถูก เช่น น้ำอ้อย หางนม น้ำองุ่นสด น้ำตาลอ้อย แป้งข้าวโพด แป้งถั่วเหลือง และกากน้ำตาล การผลิตแคโรทีนอยด์จากยีสต์มีข้อได้เปรียบมากกว่าผลิตจากสาหร่ายและรา เนื่องจากมีอัตราการเจริญสูงและใช้สารอาหารได้หลากหลาย (Malisorn และ Suntornsuk , 2007)

อ้อย (ชื่อวิทยาศาสตร์ *Saccharum officinarum* Linn. GRAMINEAE) เป็นพืชสำคัญอันดับ 4 ของโลกรองจากข้าวสาลี ข้าวโพด และข้าว อ้อยเป็นพืชเศรษฐกิจที่เกษตรกรนิยมปลูกกันมากในประเทศ อ้อยสามารถใช้ประโยชน์ได้มากมาย เช่น ใช้ในการผลิตน้ำตาลทราย ใช้สำหรับดื่มเพื่อแก้กระหาย อ้อยเป็นพืชเขตร้อนที่มีมวลชีวภาพสูง ประกอบด้วยน้ำตาล 12-17 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งคิดเป็นน้ำตาลซูโครส 90 เปอร์เซ็นต์ อีก 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นกลูโคสหรือฟรักโตส (Wheals ,1999) ซึ่งสามารถนำมาใช้เป็นแหล่งอาหารและพลังงานสำหรับเชื้อจุลินทรีย์โดยเฉพาะเชื้อยีสต์ที่สามารถใช้กลูโคสและซูโครสเป็นแหล่งอาหารในการเจริญ ดังนั้นการใช้น้ำอ้อยเป็นแหล่งอาหารสำหรับเชื้อ *Rhodotorula glutinis* เพื่อผลิตแคโรทีนอยด์ จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งเพื่อเป็นการลดต้นทุนการผลิตได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

1. ศึกษาการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์จากน้ำอ้อยโดย *Rhodotorula glutinis* TISTR 5159

2. ศึกษาความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสที่เหมาะสมต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ของ *R. glutinis* TISTR 5159

3. ศึกษาแหล่งอินทรีย์ไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ของ *R. glutinis* TISTR 5159

1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

1.3.1 เปรียบเทียบการผลิตแคโรทีนอยด์จากน้ำอ้อยเมื่อใช้น้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 20 40 และ 60 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอนโดยเชื้อ *R. glutinis* TISTR 5159 ในอาหารเหลว

1.3.2 ศึกษาการผลิตแคโรทีนอยด์เมื่อใช้แหล่งอินทรีย์ไนโตรเจนบางชนิด

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสและชนิดของอินทรีย์ไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ของ *R. glutinis* TISTR 5159

2. เป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับผลิตแคโรทีนอยด์จาก *R. glutinis* TISTR 5159 ในระดับถังหมัก

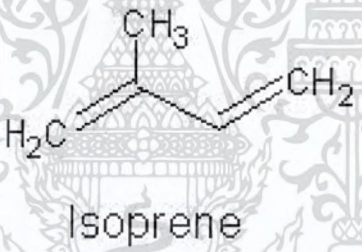
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

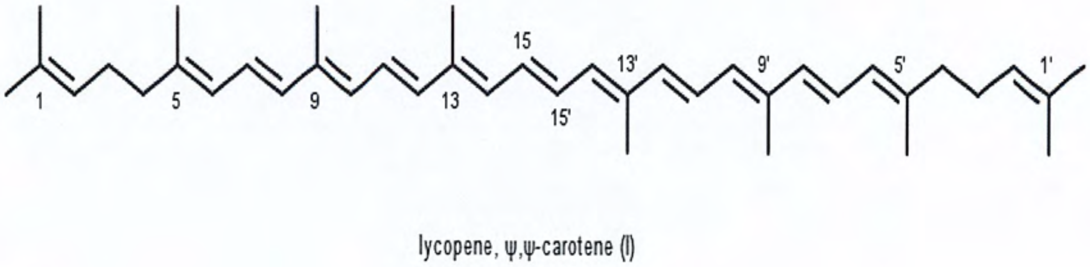
2.1 แคโรทีนอยด์ (Carotenoid)

สารแคโรทีนอยด์ (Carotenoid) เป็นรงควัตถุที่พบแพร่หลายในธรรมชาติทั้งในพืชและสัตว์ โดยสารแคโรทีนอยด์เป็นรงควัตถุที่มีสีเหลือง ส้ม ชมพูและแดง เป็นสารประกอบเตตระเทอร์ปีนส์ (Tetraterpenes) ที่มีโมเลกุลประกอบด้วยคาร์บอน 40 อะตอม ประกอบด้วยหมู่ไอโซพรีน (Isoprene group) ซึ่งประกอบด้วยคาร์บอน 5 อะตอม (รูปที่ 2.1) มาเชื่อมต่อกัน 8 หมู่ด้วยพันธะคู่ เกิดเป็น C_{40} เรียก ไลโคพีน (Lycopene) โดยโครงสร้างหลักประกอบด้วย acyclic $C_{40}H_{56}$ carotene (รูปที่ 2.2) และสมบัติการดูดกลืนแสงของสารแคโรทีนอยด์ขึ้นอยู่กับสายของ conjugated double bond ที่ทำหน้าที่เสมือนโครโมฟอร์ (Chromophore) (พรทิพย์ และวชิระ, 2550)



รูปที่ 2.1 โครงสร้างของไอโซพรีน

ที่มา : www.food-info.net/images/isoprene.jpg



รูปที่ 2.2 โครงสร้างของ acyclic $C_{40}H_{56}$carotene

ที่มา : www.lipidmaps.org/data/get_lm_lipids_dbgif.ph

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.1 ชนิดและโครงสร้างของแคโรทีนอยด์

แคโรทีนอยด์แบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ

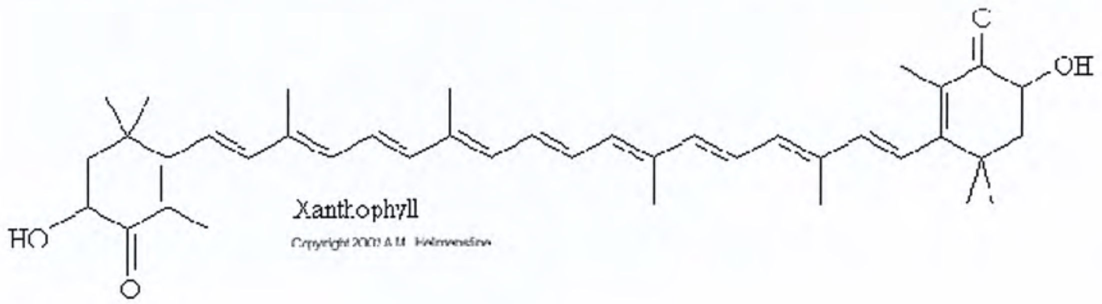
2.1.1.1 แคโรทีน (Carotene)

เป็นโมเลกุลของ acyclic $C_{40}H_{56}$ carotene ที่ประกอบด้วยคาร์บอนและไฮโดรเจน โดยคาร์บอนจะเชื่อมต่อกันเป็นสายยาวด้วยพันธะเดี่ยวสลับพันธะคู่ และที่ปลายข้างใดข้างหนึ่งหรือทั้งสองข้างจะมีอะตอมของคาร์บอนมาเกาะกันเป็นวงเรียกว่า วงแหวนไอโอโนน (Ionone ring) ตัวอย่างเช่น เบต้าแคโรทีน (Beta-carotene) แอลฟาแคโรทีน (alpha-carotene) และไลโคพรีน (Lycopene) เป็นต้น (พรทิพย์ และวชิระ, 2550) ที่รู้จักดี ได้แก่ เบต้าแคโรทีน

เบต้าแคโรทีน พบได้ทั่วไปทั้งในพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ เบต้าแคโรทีนสามารถนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร โดยใช้เป็นสารแต่งสีอาหารจำพวก เนย เครื่องดื่ม และเป็นอาหารเสริมทำให้สีของเนื้อสัตว์เข้มขึ้น เนื่องจากคุณสมบัติในการเป็นแอนติออกซิแดนท์ (Antioxidant) ของเบต้าแคโรทีน จึงมักนำสารนี้มาใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง เบต้าแคโรทีนเป็นสารตั้งต้นของวิตามินเอ (Vitamin A) ซึ่งจำเป็นต่อการมองเห็น นอกจากนี้เบต้าแคโรทีนยังมีส่วนในการป้องกันโรคมะเร็งอีกด้วย (Britton, 1983)

2.1.1.2 แซนโทฟิลล์ (Xanthophyll)

เป็นแคโรทีนอยด์ที่โมเลกุลประกอบด้วย คาร์บอน ไฮโดรเจน และมีการเพิ่มอนุพันธ์ของออกซิเจนเป็นองค์ประกอบของแคโรทีนอยด์ด้วย เช่น คีโตน ไฮดรอกซี อัลดีไฮด์ คาร์บอกซี หรืออีพอกไซด์ ตัวอย่างได้แก่ แคนทาแซนทีน ลูทีน เป็นต้น เป็นสารประกอบที่เกิดจากการเติมออกซิเจนเข้าไปในโมเลกุลของแคโรทีน สามารถเข้าไปสะสมในส่วนต่าง ๆ ของร่างกายสัตว์ปีกได้ (อุทัยและคณะ, 2539) ซึ่งจะให้สีตั้งแต่สีเหลืองจนถึงสีแดงอมส้ม



รูปที่ 2.3 โครงสร้างของ Xanthophyll

ที่มา : http://www.tutorvista.com/biology/xanthophyll

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.2 แหล่งของแคโรทีนอยด์

แคโรทีนอยด์เป็นรงควัตถุที่พบแพร่หลายในธรรมชาติทั้งในพืช และจุลินทรีย์

2.1.2.1 พืช

ในคลอโรพลาสต์ของเนื้อเยื่อพืชที่มีสีเขียว จะประกอบไปด้วยสารแคโรทีนอยด์ชนิดต่างๆ เช่น เบต้าแคโรทีน ลูทีน ไวโอลาแซนทิน และนีโอแซนทิน เป็นต้น นอกจากนั้นยังพบเม็ดสีแคโรทีนอยด์ในโครโมพลาสต์ซึ่งทำหน้าที่ในการสังเคราะห์แสง (Fox, 1957) ทำให้เกิดสีในดอกไม้และผลไม้ โดยจะพบมากในผลไม้ที่มีสีเหลืองและส้ม

2.1.2.2 สาหร่าย

แคโรทีนอยด์ที่พบในสาหร่ายส่วนใหญ่เป็นส่วนประกอบอยู่ภายในคลอโรพลาสต์และมีองค์ประกอบคล้ายกับแคโรทีนอยด์ที่พบในเนื้อเยื่อสังเคราะห์แสงของพืชชั้นสูง แคโรทีนอยด์บางส่วนพบอยู่นอกคลอโรพลาสต์ เช่น พบในอวัยวะที่ทำหน้าที่รับรู้แสง (eye spot) ของยูกลีนา (*Euglena*) นอกจากนี้สาหร่ายยังเป็นแหล่งของแคโรทีนอยด์ที่สำคัญอีกด้วย สาหร่ายที่พบแคโรทีนอยด์คือ *Dunaliella salina* และสาหร่ายสีแดงในกลุ่ม *Rhodophyceae* (Phadwal และ Singh, 2003)

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (blue-green algae) หรือไซยาโนแบคทีเรีย (cyanobacteria) จะสร้างสารเบต้าแคโรทีน และอนุพันธุ์ไฮดรอกซี (hydroxy) และคีโตน (keton) ได้ นอกจากนี้พบว่าหลายสายพันธุ์สามารถผลิตแคโรทีนอยด์ได้ เช่น *Anabaena siamensis* ANCG 1709, *Calothrix* sp. ANCG18, *Nostoc* sp. ANCG1660, *Calothrix* sp. ANCG14 และ *Calothrix* sp. ANCG1542 (กนกอร , 2543)

จากงานวิจัย การผลิตแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายสไปรูลินาโดยวิธีการเลี้ยงแบบต่างๆ จากการสำรวจและคัดแยกสาหร่ายสไปรูลินาจากแหล่งน้ำธรรมชาติ พบว่าวิธีการเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลินาที่มีผลต่อปริมาณแคโรทีนอยด์เมื่อในอาหารเหลวในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร ให้ปริมาณแคโรทีนอยด์มากที่สุด คือ 2.0 มิลลกรัมแคโรทีนอยด์/กรัมเซลล์ (ปรียาภรณ์ , 2538)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.2.4 แบคทีเรีย

แคโรทีนอยด์ในแบคทีเรียพบอยู่ในกลุ่มของแบคทีเรียทนเกลือ (halophilic bacteria) บางส่วนพบใน *Flavobacterium, Sarcinar* และ *Corynebacterium* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่พบได้ทั่วไป ขณะที่บางส่วนพบใน *Streptococcus* และ *Staphylococcus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค นอกจากนี้ยังพบในกลุ่มของแบคทีเรียที่สามารถสังเคราะห์แสงได้ (Ciegler, 1965)

2.1.2.5 ราและยีสต์

ราที่สร้างแคโรทีนอยด์มีมากมายหลายชนิดโดยเฉพาะ Order Mucorales จะเห็นการเจริญและสร้างสารสีในเส้นใย และก้านชูสปอร์ บนอาหารแข็ง หรือ ในอาหารเหลวในฟลาสก์ บนเครื่องเขย่าของ *Phycomyces blakesleeanus* และ *Blakeslea trispora* นอกจากนี้ก็ยังมี *Mucor mucedo, Ustilago violacea, Neurospora crassa* และ *Fusarium aquaeductum*

ยีสต์บางชนิดสามารถสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ได้ และนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารสัตว์เพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ เช่น *Phaffia* และ *Rhodotorula* โดยเฉพาะ *Rhodotorula glutinis* เป็นยีสต์ที่นิยมใช้ในการผลิตสารแคโรทีนอยด์ เนื่องจากมีอัตราการเจริญเติบโตที่รวดเร็วและสามารถเพิ่มปริมาณการผลิตในถังหมักขนาดใหญ่ได้ (Ciegler, 1965)

มีการศึกษาการใช้น้ำทิ้งมะม่วงดองเค็ม น้ำทิ้งมะม่วงดองหวาน น้ำทิ้งน้ำนม และน้ำกะทิเจือจางในการเพาะเลี้ยง *Rhodotorula mucilaginosa* ต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ของยีสต์พบว่า ยีสต์ที่เลี้ยงด้วยน้ำทิ้งมะม่วงดองหวานสามารถสร้างแคโรทีนอยด์ชนิดเบตาแคโรทีนที่สะสมไว้ในเซลล์สูงสุดเท่ากับ 77 ไมโครกรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง ส่วนยีสต์ที่เลี้ยงในน้ำทิ้งมะม่วงดองเค็ม น้ำนมและน้ำกะทิเจือจางจะผลิตแคโรทีนอยด์รวมเท่ากับ 76 72 และ 66 ไมโครกรัมต่อกรัมเซลล์แห้งตามลำดับ (วิจิตรา , 2551)

2.1.3 ประโยชน์ของสารแคโรทีนอยด์

แคโรทีนอยด์มีคุณสมบัติในการเป็นสารตั้งต้นของวิตามินเอ (Ninet และ Renaut, 1992) และจะเปลี่ยนเป็นวิตามินเอ เมื่อร่างกายต้องการ (pro vitamin A) ซึ่งวิตามินเอเป็นส่วนประกอบที่มีความสำคัญมากต่อตาของมนุษย์ นอกจากนี้ยังช่วยในการต้านสารอนุมูลอิสระ (antioxidant) ซึ่งเกิดขึ้นในร่างกายตลอดเวลา ทั้งจากปัจจัยภายในร่างกาย เช่น ความเครียด ปฏิกิริยาต่างๆ หรืออาจถูกกระตุ้นให้เกิดมากขึ้นจากปัจจัยภายนอกร่างกายเช่น แสงแดด มลภาวะ บุหรี่ พบว่าเบต้าแคโรทีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และแคโรทีนอยด์จะช่วยปกป้องเซลล์ เนื้อเยื่อและอวัยวะต่างๆ ของร่างกายจากอนุมูลอิสระที่เป็นสาเหตุสำคัญนำไปสู่การเกิด โรคเรื้อรัง เช่น การแก่ก่อนวัย โรคมะเร็ง โรคระบบหัวใจและหลอดเลือด โดยพบว่าถ้ารับประทานร่วมกับวิตามินอีและวิตามินซี จะช่วยเสริมประสิทธิภาพในการปกป้องเซลล์ เนื้อเยื่อและอวัยวะต่างๆ ของร่างกายได้ดียิ่งขึ้น (Munzel และ Fuller, 1961)

แคโรทีนอยด์ใช้ผสมลงในอาหารคนและสัตว์ได้ เช่น เป็นสีผสมอาหาร (food colorant) โดยเฉพาะสารเบต้าแคโรทีน จะใช้ผสมในอาหารประเภทไขมันต่างๆ เช่น เนยแข็ง เนยเหลว มาร์การีน นอกจากนี้ยังใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องดื่ม เช่น น้ำส้ม เป็นต้น รวมไปถึงอุตสาหกรรมเบเกอรี่ เช่น ขนมปัง คุกกี้ เป็นต้น และผลิตภัณฑ์อื่นๆ เช่น ลูกอม เป็นต้น (Britton, 1983) สำหรับการใช้เป็นอาหารสัตว์จะใช้เซลล์ยีสต์ผสมลงไปในอาหาร ซึ่งส่วนมากจะนำไปเป็นส่วนผสมของอาหารปลาหลายชนิด เช่น ปลาแซลมอล ปลาเทราท์ รวมไปถึงสัตว์จำพวก กุ้ง กั้ง และปูต่างๆ นอกจากนี้ยังนำไปเป็นส่วนประกอบของอาหารสุกร รวมไปถึงอาหารสำหรับสัตว์ปีกอีกด้วย ตามธรรมชาติสัตว์เหล่านี้จะได้รับรงควัตถุเหล่านี้จากอาหารที่มีอยู่จำกัด ทำให้สีของเนื้อผลิตภัณฑ์มีสีสันจืดจางไม่สวยงามและขายได้ในราคาต่ำ ดังนั้นสารแคโรทีนอยด์ที่เติมลงไปในอาหารเพาะเลี้ยงจะช่วยทำให้เนื้อผลิตภัณฑ์มีสีสันสวยงาม ทำให้มีราคาสูงขึ้น และเป็นที่ต้องการในท้องตลาดจึงเป็นที่นิยมของผู้เพาะเลี้ยง (พรทิพย์ และวชิระ, 2550)

2.2 ยีสต์ *Rhodotorula glutinis*

2.2.1 ลักษณะทั่วไปของยีสต์ *Rhodotorula glutinis*

การจัดจำแนกยีสต์ *Rhodotorula glutinis*

Taxonomic: Classification

Kingdom: Fungi

Phylum: Basidiomycota

Class: Urediniomycetes

Order: Sporidiales

Family: Sporidiobolaceae

Genus: *Rhodotorula*

Species: *glutinis*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Rhodotorula glutinis เป็นยีสต์สีแดงที่จัดอยู่ในกลุ่ม basidiomycetous พบทั่วไปในดินและน้ำมีการดำรงชีวิตเป็นแบบเซลล์เดี่ยวที่มีรูปร่างหลายแบบ คือ เซลล์มีรูปร่างกลม รูปไข่ หรือทรงยาว จัดเป็นพวกที่ต้องการอากาศในการเจริญ

รูปที่ 2.4 แสดงลักษณะโคโลนีของเซลล์ยีสต์ *Rhodotorula glutinis*
ที่มา : http://www.doctorfungus.org/thefungi/Rhodotorula.php

การสืบพันธุ์โดยการแตกหน่อหลายทิศทาง สร้างเส้นใยที่แท้จริง แต่ไม่มีการสร้างแอสโคสปอร์ บางครั้งพบว่ามีการสร้างแคปซูล จึงทำให้ผิวหน้าโคโลนีมีลักษณะเป็นเมือก และโคโลนีที่ปรากฏจะมีสีส้มจนถึงแดง มีเมือก เนื่องมาจากสารแคโรทีนอยด์ที่เชื้อสร้างขึ้นภายในเซลล์ และพบว่ายีสต์ชนิดนี้สามารถสร้างสารในกลุ่มแคโรทีนอยด์ได้หลายชนิด ได้แก่ เบต้าแคโร-ทีน (β-carotene) โทรูลีน (torulene) และโทรูลาโรดิน (torularhodin) ซึ่งจัดเป็นลักษณะเด่นของยีตส์ชนิดนี้ โดยจากการศึกษาพบว่าเชื้อชนิดนี้สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่ช่วงพีเอชเท่ากับ 6 และมีน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน (Aksu และ Eren, 2005)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสารแคโรทีนอยด์

นักวิจัยหลายท่านได้ศึกษาการผลิตสารแคโรทีนอยด์จากเชื้อ *Rhodotorula glutinis* อย่างกว้างขวาง เนื่องจากยีสต์ชนิดนี้สามารถกำหนดสภาวะในการเจริญและให้ผลิตภัณฑ์ที่ต้องการได้ รวมทั้งยังมีการศึกษาความเป็นไปได้ที่จะมีการนำกากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรและอุตสาหกรรมมาประยุกต์ใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิตสารแคโรทีนอยด์จากเชื้อ *Rhodotorula glutinis* เพื่อเป็นการลดต้นทุนด้านของวัตถุดิบในการนำมาใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งนำมาทดแทนสารตั้งต้นที่มีราคาแพง และยังช่วยลดปัญหามลภาวะที่มาจากกากที่เหลือทิ้งจากการเกษตรและอุตสาหกรรม

ดิเรกฤทธิ์ และคณะ (2551) ทำการศึกษาการผลิตแคโรทีนอยด์จาก *R. glutinis* TISTR 5159 โดยเลี้ยงยีสต์ในอาหารเหลว 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 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง ตามลำดับ จากการศึกษาผลของชนิดของน้ำตาล แหล่งอนินทรีย์ในโตรเจน และความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่มีผลต่อการผลิตแคโรทีนอยด์พบว่า อาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมที่ใช้ในการผลิตแคโรทีนอยด์ประกอบด้วย ซูโครส 15 กรัมต่อลิตร แอมโมเนียมซัลเฟต 1 กรัมต่อลิตร ยีสต์สกัด 2.5 กรัมต่อลิตร มอลต์สกัด 2 กรัมต่อลิตร โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 1 กรัมต่อลิตร และแมกนีเซียมซัลเฟต 0.25 กรัมต่อลิตร

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 มีปริมาณแคโรทีนอยด์และอัตราการผลิตสูงสุดเท่ากับ 1781.98 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และ 296.99 ไมโครกรัมแคโรทีนอยด์ต่อกรัมเซลล์แห้งต่อวัน ตามลำดับ จากนั้นทำการศึกษาแหล่งอินทรีย์ไนโตรเจนที่เลือกใช้ได้แก่ ยีสต์สกัด มอลล์สกัด และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปปโตนที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 5.5 กรัมต่อลิตร พบว่าเปปโตนมีอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์สูงสุดเท่ากับ 224.69 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

จิรชา และคณะ (2550) ได้ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตแอสตาแซนทินของ *Phaffia rhodozyma* โดยศึกษาแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจน จากการศึกษาผลของแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจน ต่อการเจริญของยีสต์ *P. rhodozyma* พบว่าน้ำตาลซูโครสและ fish soluble สามารถสนับสนุนการเจริญของเซลล์ยีสต์ได้ดี ในการศึกษาด้วยวิธี Response Surface Methodology (RSM) พบว่าความเข้มข้นน้ำตาลซูโครสและ fish soluble ที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของยีสต์เท่ากับ 36.64 และ 11.98 กรัมต่อลิตรตามลำดับ ซึ่งได้ปริมาณเซลล์เท่ากับ 11.45 กรัมต่อลิตร ที่ความเข้มข้นน้ำตาลซูโครสสูงกว่า 40 กรัมต่อลิตรทำให้เกิด substrate inhibition ซึ่งเป็นระดับความเข้มข้นที่สูงกว่าน้ำตาลกลูโคส ซึ่งมีรายงานว่าเกิด substrate inhibition ที่ความเข้มข้นสูงกว่า 20 กรัมต่อลิตรเท่านั้น (Bonfim, 1999) ในการเพาะเลี้ยง ยีสต์ *P. rhodozyma* ในถังหมักขนาด 2 ลิตรแบบกะด้วยสูตรอาหารที่ได้จากการศึกษาด้วยวิธี RSM ได้ปริมาณเซลล์ 15 กรัมต่อลิตร และจากการศึกษาผลของสารกระตุ้นการผลิตและสะสมแอสตาแซนทิน ได้แก่ เอทานอล กรดอะซิติก และกรดซิตริก พบว่าที่ความเข้มข้นของกรดซิตริก 43.35 mM ให้ผลส่งเสริมการผลิตแอสตาแซนทินได้ดีที่สุดเท่ากับ 320 ไมโครกรัมต่อกรัมยีสต์ หรือ 4.7 มิลลิกรัมต่อลิตร

วิจิตรา (2551) ได้ศึกษาผลของน้ำทิ้งจากอุตสาหกรรมอาหารประเภทต่างๆที่นำมาใช้เป็นอาหารเลี้ยงยีสต์ *Rhodotorula mucilaginosa* เพื่อผลิตสารแคโรทีนอยด์จากเชื้อยีสต์ โดยศึกษาการใช้น้ำทิ้งมะม่วงดองเค็ม น้ำทิ้งมะม่วงดองหวาน น้ำทิ้งน้ำนม และน้ำกะทิเจือจางในการเพาะเลี้ยง *Rhodotorula mucilaginosa* เมื่อนำน้ำทิ้งมาปรับสูตรเพื่อใช้ในการเลี้ยงยีสต์และทำการวิเคราะห์หาปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ยีสต์ผลิตขึ้น พบว่ายีสต์ที่เลี้ยงด้วยน้ำทิ้งมะม่วงดองเค็มมีอัตราการเจริญสูงสุด มีการเจริญในระยะ stationary phase นานที่สุด (5 วัน) และให้ผลผลิตน้ำหนักเซลล์ยีสต์แห้งสูงสุดคือ 11.2 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Aksu และ Eren (2005) ได้ทำการศึกษาการผลิตแคโรทีนอยด์จากเชื้อ *Rhodotorula mucilaginosa* โดยใช้กากน้ำตาลและน้ำตาลแลคโตสจากหางนม ซึ่งเป็นของเหลือทิ้งจากการเกษตร เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าค่าพีเอชที่เหมาะสมต่อการผลิตแคโรทีนอยด์คือพีเอช 6-7 เมื่อใช้ซูโครส เป็นแหล่งคาร์บอน และยังพบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการผลิตสารแคโรทีนอยด์มากที่สุดคือ 30 องศาเซลเซียส พบว่า การเจริญของเชื้อรวมไปถึงการผลิตสารแคโรทีนอยด์จะลดลงทันทีเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 30 องศาเซลเซียส เนื่องจากระบบเอนไซม์ของจุลินทรีย์เกิดการเสียสภาพเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น เพราะฉะนั้นอุณหภูมิของอาหารเลี้ยงเชื้อถือว่ามีผลอย่างมากต่อการเจริญเติบโตและการผลิตสารแคโรทีนอยด์ของยีสต์ *R. glutinis*

Aksu และ Eren (2007) ได้ศึกษาการผลิตสารแคโรทีนอยด์จากเชื้อ *R. glutinis* โดยใช้กากน้ำตาลและหางนมเป็นแหล่งคาร์บอน ซึ่งจากการศึกษากระบวนการหมักแบบแบทช์ พบว่า การเพิ่มขึ้นของความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสและซูโครสจากกากน้ำตาล (molasses sucrose) จะเป็นตัวกำหนดการเจริญเติบโตของยีสต์และปริมาณการผลิตสารแคโรทีนอยด์ที่ผลิตได้ โดยที่ความเข้มข้นของน้ำตาลแลกโตสในหางนม (whey lactose sugars) จะไม่มีส่งผลดังกล่าว การใช้กากน้ำตาลซูโครสจะทำให้ได้ปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดเท่ากับ 125.0 มิลลิกรัมทั้งหมดต่อลิตร เมื่อใช้ความเข้มข้นซูโครสจากกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอน ขณะที่ถ้าใช้น้ำตาลแลคโตสในหางนม (whey lactose) เป็นแหล่งคาร์บอนจะได้ผลผลิตแคโรทีนอยด์ที่มากที่สุดบนความเข้มข้นของเซลล์สูงสุดเพียงแค่ 35.5 มิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักเซลล์แห้ง เมื่อใช้น้ำตาลแลกโตสที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 13.2 กรัมต่อลิตร

Buzzini และ Martini (1999) ได้ศึกษาการผลิตแคโรทีนอยด์จากเชื้อ *R. glutinis* จากวัตถุดิบทางการเกษตรเช่น น้ำคั้นจากองุ่น (grape must) กลูโคสไซรัป (glucose syrup) กากน้ำตาลจากหัวบีท (sugar beet molasses) สารสกัดจากแป้งถั่วเหลือง (soybean flour extract) และสารสกัดจากแป้งข้าวโพด (maize flour extract) จากผลการทดลองพบว่าจะได้ผลผลิตสูงสุดเท่ากับ 5.95 มิลลิกรัมต่อลิตรหรือ 630 ไมโครกรัมของน้ำหนักเซลล์แห้ง เมื่อทำการเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 120 ชั่วโมง โดยที่มีน้ำคั้นองุ่นเป็นแหล่งอาหารเลี้ยงเชื้อเพียงอย่างเดียว

Bhosale และ Gadre (2000) ได้ทำการเลี้ยงเชื้อ *R. glutinis* โดยใช้น้ำทะเลเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่าปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดและปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง เท่ากับ 86 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 16 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งเมื่อเทียบกันกับอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้น้ำกลั่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้เท่ากับ 70 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 12 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ สังเกตเห็นว่าปริมาณเบต้าแคโรทีนเพิ่มขึ้น 2 เท่า โดยปริมาณพีเอชเท่ากับ 6.0 เมื่อเชื้อมีการเจริญในอาหารที่ใช้น้ำทะเล

Bhosale และ Gadre (2001) ได้ศึกษาการผลิตสารเบต้าแคโรทีน (β-carotene) จากสายพันธุ์กลายของเชื้อ *R. glutinis* โดยจากการศึกษาพบว่าเชื้อ *R. glutinis* สายพันธุ์ NCIM 3353 สามารถผลิตสารแคทีนอยด์ได้ 2.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ภายใน 72 ชั่วโมง แคโรทีนอยด์ที่เชื้อผลิตได้มีเบต้าแคโรทีนร้อยละ 14 โดยน้ำหนักของปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด แต่เมื่อทำให้เชื้อ *R. glutinis* NCIM 3353 กลายพันธุ์โดยใช้รังสีอัลตร้าไวโอเลต พบว่า เชื้อสายพันธุ์กลายจะสามารถผลิตสารเบต้าแคโรทีนได้มากกว่าสายพันธุ์เดิมโดยสามารถสร้างสารเบต้าแคโรทีนออกมามากกว่าสายพันธุ์เดิมร้อยละ 82 โดยน้ำหนักของปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 36 ชั่วโมง

Tinoi และคณะ (2005) ได้ทำการเพิ่มการผลิตแคโรทีนอยด์จากเชื้อ *R. glutinis* โดยใช้กากถั่วเขียวเป็นแหล่งไนโตรเจน และมีสารสกัดจากมันเทศเป็นแหล่งคาร์บอน โดยใช้กากถั่วเขียวที่แยกด้วยกรด 23.63 กรัมต่อลิตร และใช้สารสกัดจากมันเทศ 51.76 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.91 อุณหภูมิ 30.38 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบการเขย่า 258 รอบต่อนาที และใช้เวลาในการหมัก 94.78 ชั่วโมง ในสภาวะเหล่านี้ทำให้ได้น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์มากกว่าไม่จำกัดสภาวะถึง 43 เปอร์เซ็นต์และ 20 เปอร์เซ็นต์

Maldonade และคณะ (2008) ได้ทำการศึกษาองค์ประกอบทั้งในเชิงคุณภาพและปริมาณของแคโรทีนอยด์ของยีสต์ที่แยกได้จากระบบนิเวศวิทยาของประเทศบราซิล โดยพบว่าเบต้าแคโรทีนจะพบมากใน *R. graminis*-125 *R. glutinis* และ *Sporobolomyces roseus* ส่วนโทรูลีนจะพบมากใน *R. mucilaginosa* นอกจากนี้ยังพบว่า *R. glutinis* ให้ผลผลิตแคโรทีนอยด์สูงสุด ตามด้วย *R. graminis* *R. mucilaginosa*-137 และ *R. mucilaginosa*-135 ส่วน *R. minuta* และ *S. roseus* ให้ผลผลิตแคโรทีนอยด์น้อยที่สุด

Malisorn และ Suntornsuk (2007) ได้ศึกษาการหาสภาวะที่เหมาะสมในการสังเคราะห์สารเบต้าแคโรทีนจากยีสต์ *R. glutinis* โดยใช้น้ำเกลือที่ใช้หมักหัวไชเท้าเป็นสารตั้งต้นในถังหมักแบบแบทช์ โดยศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตคือ อุณหภูมิ พีเอช และปริมาณออกซิเจนละลาย พบว่าสภาวะที่ดีที่สุดในการผลิตเบต้าแคโรทีนจากเชื้อชนิดนี้คือที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พีเอชเท่ากับ 6 และมีปริมาณออกซิเจนละลาย 80 เปอร์เซ็นต์ ในสภาวะดังกล่าวจะมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลได้จากการเจริญ 2.7 กรัมต่อลิตร ปริมาณเบต้าแคโรทีน 201 ไมโครกรัมต่อลิตร ซึ่งจะได้สูงสุดภายหลังจากการหมัก 24 ชั่วโมง

Vijayalakshmi และคณะ (1999) ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตแคโรทีนอยด์จากยีสต์ *R. gracilis* ในอาหารตามสูตรของ Enebos (1946) พบว่ายีสต์สามารถผลิตแคโรทีนอยด์ได้สูงสุดเมื่อเลี้ยงในกลูโคสเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ใช้หัวเชื้อ 2 เปอร์เซ็นต์ และเลี้ยงเป็นเวลา 9 วัน

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

2.4 น้ำอ้อย

รูปที่ 2.5 ลักษณะของลำต้นอ้อย

ที่มา : http://xn--72cg1esa1b9c3c.blogspot.com

อ้อย หรือ อ้อยแดง (อังกฤษ:Sugar-cane, ชื่อวิทยาศาสตร์ *Saccharum officinarum* Linn. GRAMINEAE) เป็นพืชพวกหญ้าชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญต่อมนุษย์มาก อ้อยเป็นพืชสำคัญอันดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4 ของโลกรองจากข้าวสาลี ข้าวโพด และข้าว ตามลำดับ เมื่อพิจารณาผลผลิต คิดเป็นน้ำหนักแห้งที่เก็บเกี่ยวได้ต่อเนื้อที่ต่อปี อ้อยมาเป็นอันดับแรก ทั้งนี้เพราะอ้อยสามารถใช้ปัจจัยสำหรับการเจริญเติบโต เช่น แสงแดด น้ำ อากาศ และธาตุอาหารได้มีประสิทธิภาพมากกว่า นอกจากนี้อ้อยยังเป็นพืชที่ปลูกง่าย และเมื่อปลูกครั้งหนึ่งแล้ว สามารถเก็บเกี่ยวได้หลายครั้ง อ้อยชอบอากาศร้อนและชุ่มชื้น ดังนั้นประเทศไทยจึงมีภูมิลักษณะที่เหมาะสมในการเพาะปลูกอ้อยได้ดี

ในประเทศไทยมีการปลูกอ้อยทุกภาคยกเว้นภาคใต้ ทั้งนี้เพราะสภาพอากาศภาคใต้ไม่เหมาะแก่การปลูกอ้อย ประเทศไทยได้แบ่งเขตการปลูกอ้อยออกเป็น 4 ภาค คือ ภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มีเนื้อที่ปลูกอ้อยในปี พ.ศ. 2521 - 2522 รวม 3.13 ล้านไร่ และได้ผลผลิตอ้อยทั้งสิ้น 20.24 ล้านตัน เฉลี่ยผลผลิต อ้อยไร่ละ 6.46 ตัน

พันธุ์อ้อยที่นิยมปลูกเป็นการค้าในประเทศไทยแบ่งออกเป็น 2 ชนิดคือ อ้อยเคี้ยว (chewing cane) และอ้อยสำหรับทำน้ำตาล (industrial cane)

อ้อยเคี้ยว ได้แก่ อ้อยที่มีเปลือกนิ่ม ชานนิ่ม มีความหวานปานกลางถึงค่อนข้างสูง ปลูกเพื่อบีบเอาน้ำอ้อยสำหรับบริโภคโดยตรง หรือใช้สำหรับรับประทานสด อ้อยเคี้ยวที่นิยมปลูกกันมีหลายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์อ้อยสิงคโปร์ หรืออ้อยสำลี ซึ่งมีชานที่นิ่ม ลำต้นสีเหลืองอมเขียว เมื่อบีบแล้วได้น้ำอ้อยสีสวยน่ารับประทาน พันธุ์ที่สอง ได้แก่ พันธุ์มอริเชียสลำต้นสีม่วงแดง ไม่เหมาะสำหรับทำน้ำอ้อย จึงใช้สำหรับบริโภคโดยตรง อ้อย พันธุ์นี้เป็นที่นิยมมาก ส่วนใหญ่ปลูกในจังหวัดราชบุรี และนครปฐม อีกพันธุ์หนึ่ง ได้แก่ พันธุ์บาดิลาสีม่วงดำ แม้ว่าจะเป็นอ้อยเคี้ยว แต่ไม่ค่อยนิยมปลูกกัน เพราะโตช้า และปล้องสั้นมาก อ้อยทั้ง 3 พันธุ์นี้จัดเป็นพวกอ้อยดั้งเดิม ซึ่งมีถิ่นกำเนิดแถบเกาะนิวกินี

อ้อยทำน้ำตาลเป็นอ้อยลูกผสมซึ่งเกิดขึ้นโดยนักผสมพันธุ์อ้อยของประเทศต่างๆ ทั่วโลก พันธุ์อ้อยเหล่านี้ ได้ถูกนำเข้าไปยังประเทศต่างๆ สำหรับประเทศไทยได้มีการนำพันธุ์อ้อยลูกผสมเข้ามาจากต่างประเทศ ตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน รวมประมาณ 220 พันธุ์ ในจำนวนนี้มีเพียง 20 พันธุ์เท่านั้นที่ปลูกเป็นการค้าอยู่ในภาคต่างๆ ได้แก่ บี 4098 , ซีบี 38-22 , ซีโอ 419 , ซีโอ 421 , เอฟ 108 , เอฟ 134 , เอฟ 137 , เอฟ 138 , เอฟ 140 , เอฟ 148 , เอฟ 152 , เอฟ 156 , แอลพี (ลำปาง) 2495/4 , เอ็นซีโอ 310 , พีโอเจ 2878 , พินดาร์ , คิว 83 และ แร็กนาร์

(**ที่มา** : http://kanchanapisek.or.th/kp6/New/sub/book/book.php?book=5&chap=3&page=t5-3-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

infodetail10.html)

2.4.1 สารต่างๆที่พบในอ้อย

สารที่พบในอ้อย แบ่งตามส่วนต่างๆของต้นอ้อย มีดังนี้

ลำต้น ประกอบด้วย น้ำ 84 เปอร์เซ็นต์ โปรตีน 0.2 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 0.5 เปอร์เซ็นต์ เถ้าที่ละลายน้ำได้ 12 เปอร์เซ็นต์ แคลเซียม 8 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ เหล็ก 1.3 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์

ยอดอ่อน ประกอบด้วย วิตามินบีหนึ่ง 236 - 563 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง วิตามินบีสอง 110 – 330 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง วิตามินบีหก 10 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักสด

ชานอ้อย ประกอบด้วย ความชื้น 46 – 52 เปอร์เซ็นต์ เส้นใย 13 – 52 เปอร์เซ็นต์ ของแข็งที่ละลายน้ำได้ (ส่วนใหญ่เป็นน้ำตาล) 2 – 6 เปอร์เซ็นต์ กรดอะมิโน ได้แก่ aspartic acid 13.25 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ threonine 5.58 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ methionine 7.84 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ valine 3.33 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ leucine 5.75 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ tyrosine 1.51 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ alanine 3.56 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ ของโปรตีนทั้งหมด และ Antitumor substances 0.1 เปอร์เซ็นต์

(**ที่มา** : http://www.e-busitrade.com/Noble_Sugar_Cane_2_index.htm)

2.4.2 การใช้ประโยชน์จากอ้อย

1. ใช้ดื่มและปรุงอาหาร เป็นอาหารมนุษย์ เช่นทำเป็นอ้อยควั่น หรือบีบเอาน้ำอ้อยเพื่อบริโภคโดยตรง นอกจากนี้ยังใช้ลำต้นประกอบอาหารและยังใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับอุตสาหกรรมทำน้ำตาลในการบริโภคอีกด้วย

2. ใช้เป็นเชื้อเพลิง ใบอ้อยแห้งเป็นแหล่งของพลังงาน และเชื้อเพลิงที่สำคัญ เพราะใบอ้อยแห้งให้พลังงานค่อนข้างสูงมาก คุณค่าของพลังงานที่ได้จากใบอ้อยแห้งของอ้อยที่ให้ผลผลิตไร่ละ 16 ตัน นั้นเพียงพอสำหรับรถแทรกเตอร์ขนาดกลางทำงานได้ถึง 80 ชั่วโมง ดังนั้นใบอ้อยน่าจะถูกนำมาใช้เป็นพลังงานทดแทนได้อย่างคุ้มค่า

3. ใช้ในการเกษตร เป็นอาหารสัตว์ นำส่วนที่เหลือของอ้อยไปใช้เป็นอาหารสัตว์ เช่น วัวควายได้โดยตรง โดยอาจใช้วิธีการนำอ้อยไปหมักก่อนให้สัตว์กิน โดยใช้ยอดสด 100 กิโลกรัม กากน้ำตาล 5 กิโลกรัม แอมโมเนียมซัลเฟต 1 กิโลกรัม และน้ำ 1 กิโลกรัมและนอกจากนี้ยังใช้ทำปุ๋ย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หรือใช้เป็นวัตถุคลุมดิน บำรุงดิน โดยใบอ้อยแห้งจะช่วยรักษาความชื้น และป้องกันและยังเป็นอาหารของจุลินทรีย์ที่สามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้ ทำให้ไนโตรเจนในดินเพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นผลดีแก่อ้อย ในปัจจุบันมีการศึกษาการใช้น้ำอ้อยเพื่อเป็นอาหารลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ดังนี้

ประไพศรี และคณะ (2533) ทำการศึกษาการผลิตยีสต์ขนมปังจากน้ำอ้อยในระดับห้องปฏิบัติการจากยีสต์ทั้งหมด 58 สายพันธุ์ ได้คัดเลือกไว้ 2 สายพันธุ์ คือ TISTR 5019 และ TISTR 5276 โดยเปรียบเทียบความสามารถในการผลิตก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ การทำให้ขนมปังขึ้นฟู และลักษณะเนื้อขนมปังที่มีคุณภาพดีทัดเทียมกับยีสต์ที่มีขายอยู่ในท้องตลาด การศึกษาอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อใช้น้ำอ้อยเป็นวัตถุดิบ พบว่าความเข้มข้นของน้ำตาลเมื่อเริ่มต้นควรอยู่ที่ 2 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) แหล่งอาหารเสริมชนิดต่างๆ ได้แก่ ยูเรีย ไดแอมโมเนียมฟอสเฟต โพแทสเซียมคลอไรด์ ในปริมาตรที่เหมาะสม คือ 0.6 0.05 และ 0.01 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ตามลำดับ แหล่งอาหารเกลือแร่ ได้แก่ แคลเซียมซัลเฟต 0.01 เปอร์เซ็นต์ และแมกนีเซียมซัลเฟต 0.05 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) จากการศึกษาสภาวะการผลิตโดยกระบวนการหมักแบบแบทช์ และแบบฟีดแบทช์พบว่า ยีสต์สายพันธุ์ TISTR 5276 ให้ผลผลิตยีสต์แห้งในปริมาณ 7.67 และ 14.77 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในการเปรียบเทียบวัตถุดิบ 3 ชนิด คือ น้ำอ้อยจากโรงงานน้ำตาล กากน้ำตาล และไฮเทสต์โมลาส พบว่า เมื่อใช้โปรแกรมการป้อนอาหารแบบฟีดแบทช์ โดยทำการป้อนอาหารใหม่ทุกๆ 2 ชั่วโมง หลังจากเลี้ยงเชื้อในช่วงแรกครบ 4 ชั่วโมง ระยะเวลาเลี้ยงเชื้อทั้งสิ้น 17 ชั่วโมง ผลผลิตยีสต์แห้งที่ได้ คือ 15.8 14.7 และ 16.7 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

จุฑามาศ และ ภิชญา (2547) ได้ทำการศึกษาอัตราการเติมอากาศที่มีผลต่อการผลิตแซนแทนกัมจากเชื้อจุลินทรีย์ *Xanthomonas campestris* TISTR 1100 ในอาหารสังเคราะห์และน้ำอ้อย โดยติดตั้งชุดทดลองบนเครื่องเขย่าที่ควบคุมความเร็ว 250 รอบต่อนาทีในระยะเวลาการหมัก 35 ชั่วโมง ที่ 28 องศาเซลเซียส และทำการเติมอากาศที่อัตราการเติมอากาศ 0 5 10 และ 15 ppm ตามลำดับ เพื่อหาสภาวะการเติมอากาศที่เหมาะสมต่อการผลิตแซนแทนกัม โดยทำการเปรียบเทียบอาหารเลี้ยงเชื้อ สองชนิดระหว่างอาหารสังเคราะห์และน้ำอ้อย ผลการทดลองพบว่าอัตราการเติมอากาศที่เหมาะสมที่สุดคือ 15 ppm และในน้ำอ้อยจะผลิตแซนเทนกัมได้ดีกว่าในอาหารสังเคราะห์ โดยสามารถผลิตแซนเทนกัม ได้สูงสุด 117.3 กรัมต่อลิตร มีค่ามวลชีวภาพสูงสุด 6.8 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 เชื้อจุลินทรีย์

Rhodotorula glutinis TISTR 5159 เจริญในอาหารวุ้นเอียง (YM medium) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยเก็บรักษาเชื้อในลักษณะวุ้นเอียงในหลอดทดลอง แล้วเก็บรักษาเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และมีการถ่ายเชื้อทุกๆ 2 เดือน

3.2 อุปกรณ์และสารเคมี

3.2.1 อุปกรณ์

	บริษัท
เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ	Gallenkamp
หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอ	Hirayama
เครื่องมือวัดความเป็นกรด-ด่าง	Unico
เครื่องหมุนเหวี่ยงปรับอุณหภูมิ	Falcon 6/300
เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง	Unico
เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง	Advanture
ตู้ปลอดเชื้อ	Faster bio 48
ตู้อบแห้ง	WTB binder
ตู้เย็น	Sanyo
เครื่องไมโครเวฟ	Samsung
โถดูดความชื้น	Glasweek Wertheim
กรวยแยก ขนาด 250 , 500 มิลลิลิตร	Isolab
กระบอกตวง ขนาด 50 , 1,000 มิลลิลิตร	Diffico
ฟลาสก์แก้ว ขนาด 250 มิลลิลิตร	Pyrex
บีกเกอร์ ขนาด 50 , 100 , 250 , 1,000 มิลลิลิตร	Pyrex

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

117225

ปิเปต ขนาด 1 , 5 , 10 มิลลิลิตร	HBG
ไมโครปิเปต ขนาด 1,000 ไมโครลิตร	Biohit
หลอดทดลอง	Pyrex

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
น้ำแช่ข้าวโพด	Sigma
วุ้นผง	Fluka Biochemical
แอมโมเนียมซัลเฟต	Ajax Finechem Rty Ltd
โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต	Ajax Finechem Rty Ltd
แมกนีเซียมซัลเฟต	BDH Analar
ฟีนอล	Ajax Finechem Rty Ltd
กรดซัลฟิวริกเข้มข้น	Ajax Finechem Rty Ltd
กลูโคส	Fluka Bochemical
ซูโครส	Fluka Bochemical
น้ำอ้อยสด	พันธุ์สุพรรณบุรี 22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 วิธีการทดลอง

3.3.1 การเตรียมน้ำอ้อยเพื่อใช้เป็นส่วนประกอบในอาหารเลี้ยงเชื้อ

น้ำอ้อยที่นำมาทดลองได้จากรถขายน้ำอ้อยสดในเขตลาดกระบัง โดยนำน้ำอ้อยที่ได้มาตั้งทิ้งไว้ 2 ชั่วโมงเพื่อให้สารแขวนลอยขนาดใหญ่ตกตะกอน จากนั้นนำน้ำอ้อยมาปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาทีในหลอดเซนติฟิวส์ขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วนำมากรองด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 4 จากนั้นนำมาปั่นเหวี่ยงและกรองซ้ำอีก 1 รอบ จากนั้นนำน้ำอ้อยที่ได้นำไปเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อต่อไป

3.3.2 การเตรียมหัวเชื้อและอาหารเลี้ยงเชื้อ

เขี่ยเชื้อยีสต์ที่เจริญบนอาหารวุ้นเอียงที่บ่มที่อุณหภูมิห้องอายุ 24 ชั่วโมง จำนวน 1 ลูปใส่ในอาหารเหลว YM ปริมาตร 50 มิลลิลิตรในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตรจำนวน 1 ลูป นำมาเลี้ยงในเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 180 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาวัดค่าความขุ่นของเชื้อที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร โดยปรับค่าความขุ่น (เจือจางกับอาหารเหลว YM) ให้ค่าความขุ่น 0.5 ± 0.05 เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการศึกษาการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์ต่อไป

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อยีสต์ โดยใช้สูตรอาหารดัดแปลงของ Aksu และ Eren (2007) ซึ่งประกอบด้วยน้ำตาล 20 กรัม ยีสต์สกัด 2.5 กรัม มอลท์สกัด 2 กรัม แอมโมเนียมซัลเฟต ($[NH_4]_2SO_4$) 1 กรัม โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) 1 กรัม และแมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) 0.25 กรัม และน้ำอ้อย 1 ลิตร ปรับพีเอชเท่ากับ 6.5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก 0.1 โมลาร์ หรือโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 โมลาร์ จากนั้นนำอาหารปริมาตร 50 มิลลิลิตรมาใส่ลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ปิดด้วยจุกสำลีไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที เมื่ออาหารเย็นเติมหัวเชื้อยีสต์ลงในอาหารแต่ละฟลาสก์ 5 เปอร์เซ็นต์ เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้องด้วยเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาทีอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

3.3.3 ศึกษาความเข้มข้นของน้ำตาลต่อการผลิตแคโรทีนอยด์

เตรียมอาหารสูตรดัดแปลง Aksu และ Eren (2007) โดยใช้น้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 20 40 และ 60 กรัมต่อลิตรแทนน้ำตาลสูตรเดิม ตามหัวข้อ 3.3.2 แต่ละการทดลองทำ 2 ซ้ำ หลังจากฆ่าเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในอาหารแต่ละสูตรแล้ว เติมหัวเชื้อยีสต์ในข้อ 3.3.2 ลงในอาหารแต่ละสูตร ปริมาณร้อยละ 5 และบ่มในสภาวะเดียวกับข้อ 3.3.2 เก็บตัวอย่างทุกวันเป็นเวลา 7 วัน เพื่อทำการวิเคราะห์หาน้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าพีเอช และปริมาณแคโรทีนอยด์ โดยน้ำตาลที่ให้ปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดจะนำไปศึกษาหาแหล่งอินทรีย์ไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อไป

3.3.4 ศึกษาแหล่งอินทรีย์ไนโตรเจนต่อการผลิตแคโรทีนอยด์

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อโดยใช้สูตรอาหารที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลที่เหมาะสมที่ให้ปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดจากข้อ 3.3.3 มาศึกษาแหล่งไนโตรเจนอินทรีย์โดยใช้ยีสต์สกัด เปปโตน และน้ำแช่ข้าวโพด ความเข้มข้น 5.5 กรัมต่อลิตรแทนแหล่งไนโตรเจนเดิม (ยีสต์สกัด มอลท์สกัด และแอมโมเนียมซัลเฟต) ทำการบ่มเชื้อที่สภาวะเดียวกับข้อ 3.3.2 ทำการวิเคราะห์หาน้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าพีเอช และปริมาณแคโรทีนอยด์ทุกวันจนครบ 7 วัน

3.4 วิธีการวิเคราะห์

3.4.1 น้ำหนักเซลล์แห้ง (Dried cell weight)

1. เก็บตัวอย่างน้ำหมักที่ได้จากการเลี้ยงยีสต์ *Rhodotorula glutinis* TISTR 5159 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. นำหลอดเซนตริฟิวต์ที่มีเซลล์แห้งไปชั่งหาน้ำหนักโดยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง จากนั้นคำนวณหาปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง จากสูตรต่อไปนี้

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.2 การสกัดแคโรทีนอยด์จากเซลล์ยีสต์

การสกัดและวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์ ดัดแปลงจากวิธีของ Calo และคณะ (1995) นำอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 20 มิลลิลิตร หรือตามความเหมาะสม มาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 นาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นล้างเซลล์ด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง แล้วนำมาทำให้เซลล์แตกด้วยสารละลาย ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ทำการเขย่าด้วยเครื่องสั่น (vortex) 2 นาที และสกัดแคโรทีนอยด์ด้วยอะซีโตนปริมาตร 5 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่องสั่น 2 นาทีแล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แยกส่วนที่มีสีออกจากเศษเซลล์ นำส่วนที่มีสีใส่ในกรวยแยก ใส่ปิโตรเลียมอีเทอร์ 10 มิลลิลิตร และเติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์อิ่มตัว (sodium chloride) เล็กน้อย ทำการเขย่ากรวยแยก ให้สารละลายผสมกัน แคโรทีนอยด์จะละลายอยู่ในชั้นของปิโตรเลียมอีเทอร์ ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบของแคโรทีนอยด์ต่อไป โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ใช้ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร และคำนวณโดยใช้ 1% extinction coefficient = 2500 โดยใช้สูตรของ Grosa (1991)

$$\text{แคโรทีนอยด์ไมโครกรัมต่อกรัม} = \frac{A_{450} \times V \times 10^6}{A_{1\,cm}^{1\%} \times 100 \times G}$$

A = ค่าการดูดกลืนแสง

V = total volume (ml) ของสารละลายที่สกัดได้

G = จำนวนกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง

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

3.4.3 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดโดยวิธีฟีนอล-ซัลฟิวริก (Phenol-sulfuric acid) ดัดแปลงจากวิธีของ Dubois และคณะ (1956)

วิธีการนี้เป็นการใช้กรดเข้มข้นย่อยให้โพลิแซคคาไรด์เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ซึ่งสามารถวัดน้ำตาลได้ประมาณ 1-100 ไมโครกรัม และเป็นวิธีที่รวดเร็วที่ใช้วิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดอย่างไม่จำเพาะเจาะจง เพราะไม่ว่าน้ำตาลนั้นจะอยู่ในรูปของน้ำตาลรีดิวซ์หรือ neutral sugar ทั้งชนิดที่เป็นโมโนแซคคาไรด์และพอลิแซคคาไรด์ ก็สามารถวิเคราะห์ได้โดยวิธีนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารเคมี

1. กรดซัลฟิวริกเข้มข้น (H_2SO_4)
2. สารละลายฟีนอล 5 เปอร์เซ็นต์
   ชั่งสารฟีนอล 50 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร และนำสารละลายที่ได้บรรจุในขวดสีชาและเก็บรักษาโดยหลีกเลี่ยงจากแสงแดด
3. สารละลายมาตรฐานน้ำตาลซูโครส
   เตรียมสารละลายน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยชั่งน้ำตาลซูโครส 0.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตรในขวดปรับปริมาตร

วิธีการ

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

2. เติมสารละลายฟีนอล 5 เปอร์เซ็นต์ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าหลอดทดลองเพื่อผสมให้สารละลายเข้ากัน แช่หลอดทดลองในน้ำเย็น

3. เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 96 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันทันทีตั้งทิ้งไว้ 20 นาที แล้วทำการเขย่าอีกครั้ง

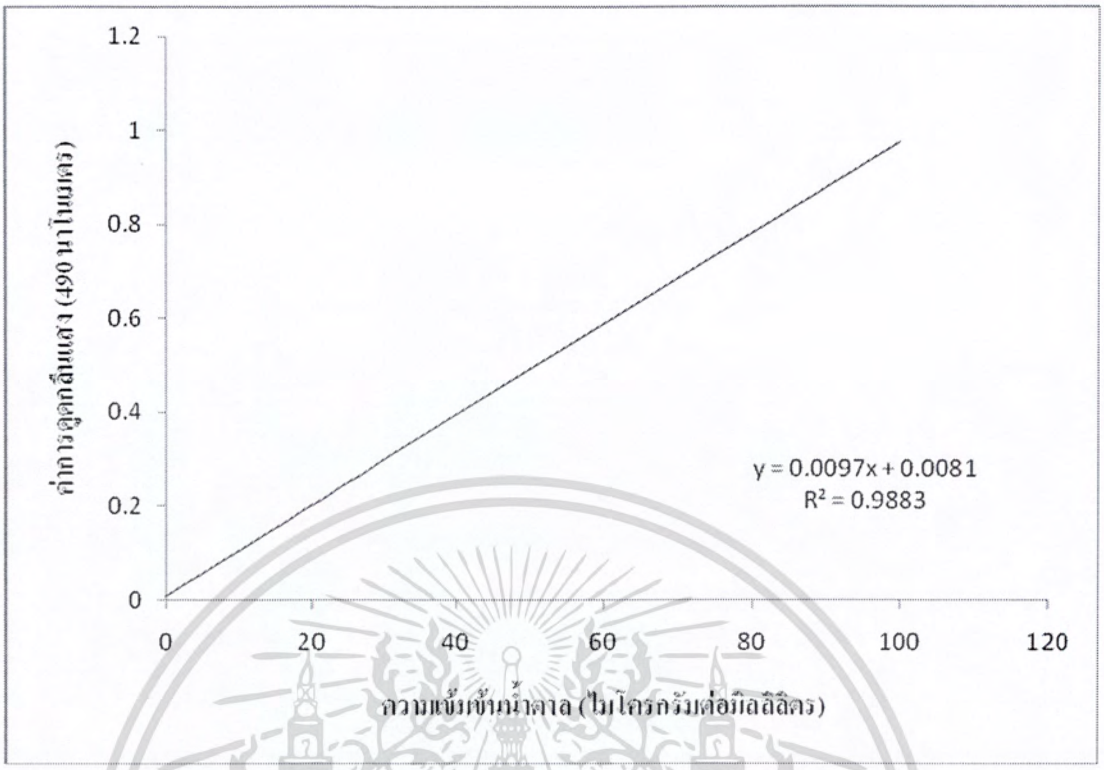
4. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร

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

6. คำนวณหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดจากสูตรต่อไปนี้

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.1 กราฟมาตรฐานน้ำตาลซูโครส

3.4.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 ผลการศึกษาความเข้มข้นของน้ำตาลที่เหมาะสมต่อการผลิตแคโรทีนอยด์

เมื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อยีสต์ *R. glutinis* TISTR 5159 ในอาหารเลี้ยงเชื้อโดยใช้แหล่งคาร์บอนเป็นน้ำตาลซูโครสที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน คือ 20 กรัมต่อลิตร 40 กรัมต่อลิตร และ 60 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 7 วัน พบว่าการเจริญเติบโตของเชื้อ *R. glutinis* TISTR 5159 มีดังนี้

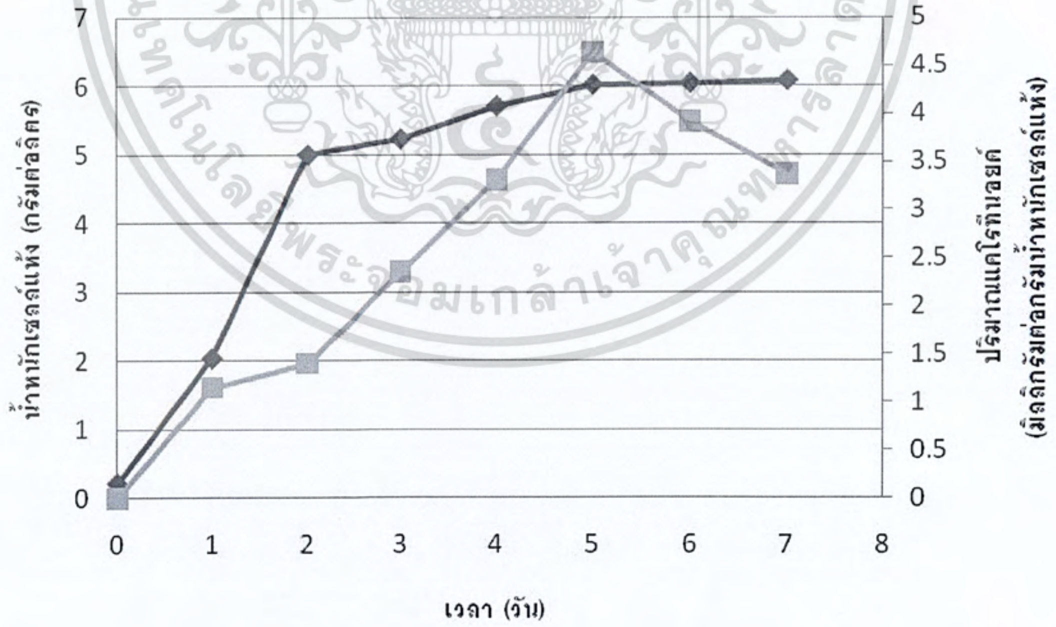
เมื่อเลี้ยงเชื้อโดยใช้น้ำตาลซูโครสที่ความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร พบว่า ในวันที่หนึ่งของการเพาะเลี้ยงมีปริมาณแคโรทีนอยด์ 1.15 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง และจะมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนถึงวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยงซึ่งมีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดคือ 4.63 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง ส่วนน้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อยีสต์ *R. glutinis* TISTR 5159 พบว่าในในวันแรกมีน้ำหนักเซลล์แห้ง 2.03 กรัมต่อลิตร และน้ำหนักจะเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆในช่วงวันที่ 2 – 4 และพบว่าเซลล์ปริมาณสูงสุดเท่ากับ 6.08 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 7 ของการเจริญ ดังแสดงในตารางที่ 4.1 เมื่อพิจารณาการใช้น้ำตาลพบว่าเซลล์เริ่มใช้น้ำตาลตั้งแต่วันแรกของการเจริญ และน้ำตาลลดลงตลอดเวลาในการเพาะเลี้ยงเนื่องจากเชื้อนำน้ำตาลไปใช้ในการสร้างและผลิตแคโรทีนอยด์ และมีน้ำตาลเหลืออยู่ 9.30 กรัมต่อลิตรในวันที่ 7 ของการเพาะเลี้ยง ในส่วนของพีเอช พบว่าวันที่หนึ่งของการเพาะเลี้ยงค่าพีเอชลดลงเหลือ 6.20 และลดลงอย่างรวดเร็วในวันที่ 2 ของการเพาะเลี้ยงคือ 4.03 ส่วนวันที่ 3 ถึงวันที่ 7 ของการเพาะเลี้ยงจะมีค่าพีเอชใกล้เคียงกัน โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 3.91 – 3.02 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.1

เมื่อเลี้ยงเชื้อโดยใช้น้ำตาลซูโครสที่ความเข้มข้น 40 กรัมต่อลิตร พบว่า วันแรกของการเพาะเลี้ยงมีปริมาณแคโรทีนอยด์เท่ากับ 0.98 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง และจะเพิ่มมากขึ้นตามจำนวนวันของการเพาะเลี้ยงจนกระทั่งถึงวันที่ 6 จะลดลง โดยมีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง คือ 7.36 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง แห้ง ส่วนน้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อยีสต์ *R. glutinis* TISTR 5159 พบว่าในวันแรกน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 2.01 กรัมต่อลิตรและจะเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆจนกระทั่งวันที่ 7 ของการเพาะเลี้ยง ในวันที่ 7 มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 6.13 กรัมต่อลิตร พิจารณาปริมาณน้ำตาลที่เหลือในวันแรกมีปริมาณ 41.64 กรัมต่อลิตรหลังจากนั้นปริมาณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 น้ำหนักเซลล์แห้ง แคโรทีนอยด์ น้ำตาลที่เหลือและค่าพีเอชเมื่อเลี้ยงเชื้อ *R. glutinis* TISTR 5159 ในอาหารที่มีน้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร

เวลา (วัน)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)	ปริมาณน้ำตาลที่เหลือ (กรัมต่อลิตร)	พีเอช
0	0.21	-	28.34	6.30
1	2.03	1.15	25.31	6.20
2	5.00	1.40	21.77	4.03
3	5.23	2.35	17.36	3.91
4	5.71	3.31	14.84	3.35
5	6.02	4.63	12.37	3.22
6	6.04	3.91	10.26	3.09
7	6.08	3.37	9.31	3.02



รูปที่ 4.1 น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ได้จากเชื้อยีสต์ *R. glutinis* TISTR 5159 ในอาหารเหลวที่มีน้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

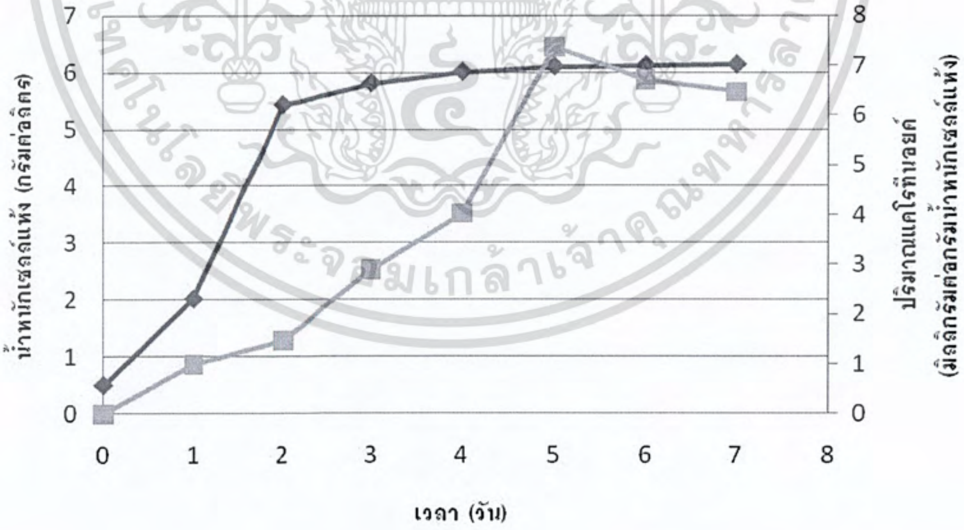
น้ำตาลจะลดลงเรื่อยๆจนกระทั่งถึงวันที่ 7 ของการเพาะเลี้ยงมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดต่ำสุดคือ 11.49 กรัมต่อลิตร ในส่วนของพีเอชนั้น พบว่ามีค่าพีเอชเท่ากับ 5.97 ในวันที่แรก ของการเพาะเลี้ยง วันที่ 2 ค่าพีเอชลดลงเท่ากับ 5.04 จนในวันที่ 7 ของการเพาะเลี้ยงค่าพีเอชเท่ากับ 2.82 ดังแสดงในตารางที่ 4.2

เมื่อเลี้ยงเชื้อโดยใช้น้ำตาลซูโครสที่มีความเข้มข้น 60 กรัมต่อลิตร ปริมาณแคโรทีนอยด์ ในวันแรกมีปริมาณแคโรทีนอยด์เท่ากับ 2.509 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง จากนั้นพบว่าปริมาณแคโรทีนอยด์จะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ตามจำนวนวันของการเพาะเลี้ยงจนกระทั่งถึงวันที่ 5 โดยจะมีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดอยู่ที่ 7.21 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์แห้งในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง และปริมาณแคโรทีนอยด์จะลดลงอยู่ที่ 6.11 และ 4.75 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์แห้งในวันที่ 6 และ 7 ของการเพาะเลี้ยงตามลำดับ ส่วนน้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อยีสต์ *R. glutinis* TISTR 5159 พบว่าในวันแรกมีปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 1.76 กรัมต่อลิตร จากนั้นจะเพิ่มอย่างช้าๆในวันที่ 1 และวันที่ 2 ของการเพาะเลี้ยง จากนั้นในวันที่ 3 ของการเพาะเลี้ยงจะมีน้ำหนักเซลล์แห้งเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วคือ 5.29 กรัมต่อลิตร และในวันที่ 4 จนกระทั่งถึงวันที่ 7 จะเริ่มมีน้ำหนักเซลล์แห้งที่คงที่อยู่ระหว่าง 6.01 – 6.12 กรัมต่อลิตร พิจารณาปริมาณน้ำตาลที่เหลือในวันแรกจะมีปริมาณน้ำตาล 66.89 กรัมต่อลิตร หลังจากนั้นปริมาณน้ำตาลจะลดลงเรื่อยๆจนกระทั่งถึงวันที่ 7 ของการเพาะเลี้ยงมีปริมาณน้ำตาลที่เหลือน้อยที่สุดคือ 17.81 กรัมต่อลิตร ในส่วนของพีเอช เมื่อพิจารณาถึงพีเอช พบว่าในวันที่แรกค่าพีเอชมีค่าเท่ากับ 6.01 ในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยงค่าพีเอชลดต่ำลงเท่ากับ 2.98 แต่หลังจากนั้นในวันที่ 6 และ 7 ของการเพาะเลี้ยงค่าพีเอชกลับมีค่าสูงขึ้นจากวันที่ 4 และวันที่ 5 ของคือ 3.09 และ 3.05 ตามลำดับดังแสดงในตารางที่ 4.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 น้ำหนักเซลล์แห้ง แคโรทีนอยด์ น้ำตาลที่เหลือ และค่าพีเอชเมื่อเลี้ยง *R. glutinis* TISTR 5159 ในอาหารที่มีน้ำตาลซูโครส 40 กรัมต่อลิตร

เวลา (วัน)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)	ปริมาณน้ำตาลที่เหลือ (กรัมต่อลิตร)	พีเอช
0	0.49	-	47.25	6.00
1	2.01	0.98	41.64	5.97
2	5.43	1.47	36.49	5.04
3	5.81	2.89	23.25	3.11
4	6.01	4.02	17.48	2.95
5	6.10	7.37	14.10	2.87
6	6.12	6.71	13.71	2.80
7	6.13	6.47	11.46	2.82

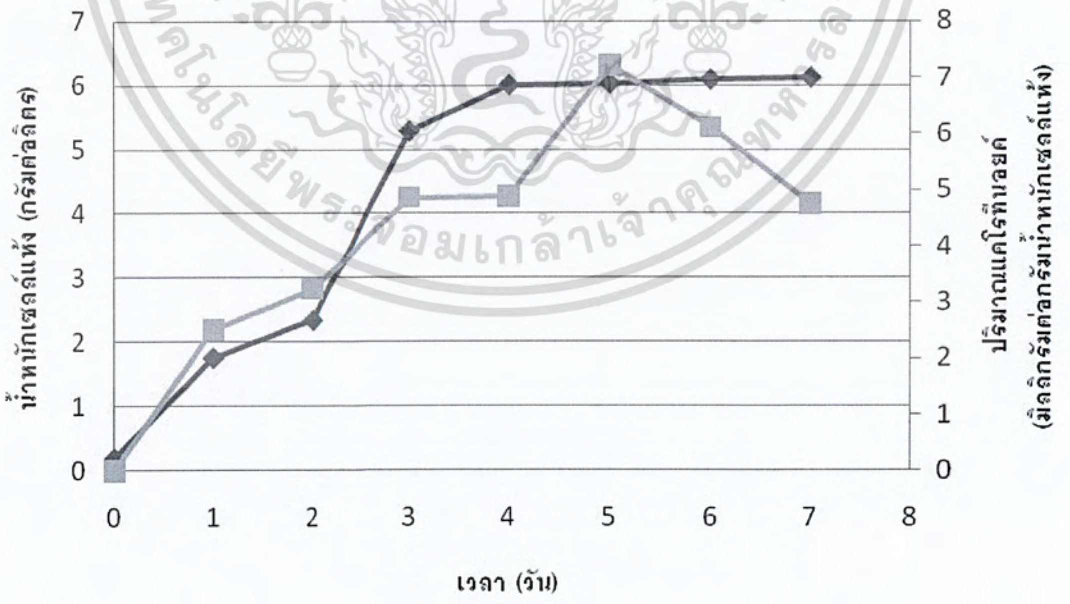


รูปที่ 4.2 น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ได้จากเชื้อยีสต์ *R. glutinis* TISTR 5159 ในอาหารเหลวที่มีน้ำตาลซูโครส 40 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

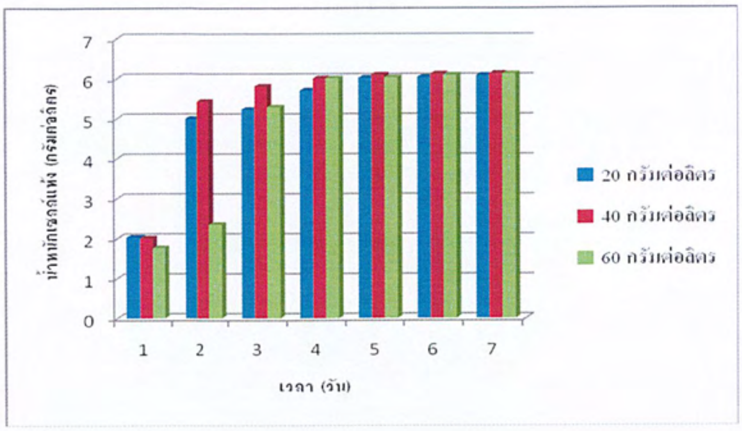
ตารางที่ 4.3 น้ำหนักเซลล์แห้ง แคโรทีนอยด์ น้ำตาลที่เหลือและค่าพีเอชเมื่อเลี้ยง *R. glutinis* TISTR 5159 ในอาหารที่มีน้ำตาลซูโครส 60 กรัมต่อลิตร

เวลา (วัน)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)	ปริมาณน้ำตาลที่เหลือ (กรัมต่อลิตร)	พีเอช
0	0.20	-	69.13	6.10
1	1.76	2.51	66.89	6.01
2	2.35	3.23	54.76	3.56
3	5.29	4.86	32.04	3.29
4	6.01	4.87	24.16	2.97
5	6.03	7.21	22.66	2.98
6	6.09	6.11	22.51	3.09
7	6.12	4.75	17.81	3.05

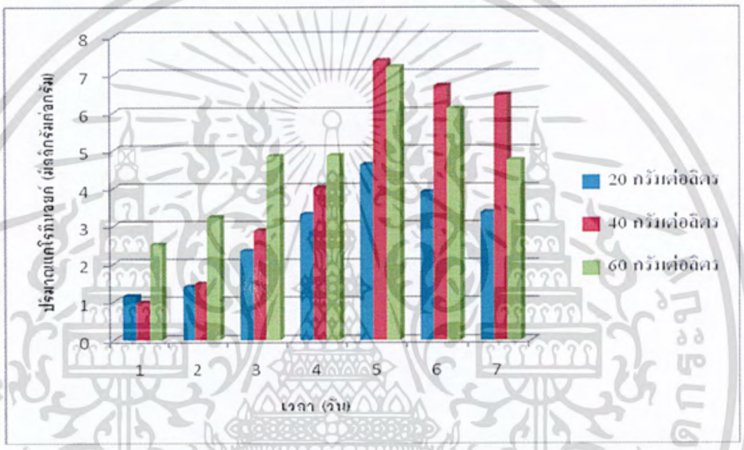


รูปที่ 4.3 น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ได้จากเชื้อยีสต์ *R. glutinis* TISTR 5159 ในอาหารเหลวที่มีน้ำตาลซูโครส 60 กรัมต่อลิตร

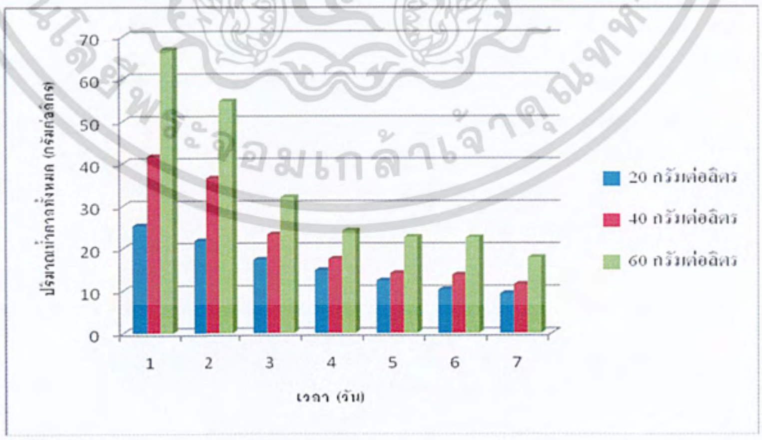
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ก.



ข.



ค.

รูปที่ 4.4 เปรียบเทียบน้ำหนักเซลล์แห้ง (ก.) ปริมาณแคโรทีนอยด์ (ข.) และปริมาณน้ำตาลที่เหลือ (ค.) จากเชื้อยีสต์ *R. glutinis* TISTR 5159 ในอาหารเหลวที่มีน้ำตาลซูโครส 20 40 และ 60 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จะเห็นว่าความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสที่เหมาะสม คือ ความเข้มข้นที่ 40 กรัมต่อลิตร ซึ่งให้ปริมาณแคโรทีนอยด์ เท่ากับ 7.36 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง โดยพบว่ามีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงกว่าความเข้มข้นที่ 20 กรัมต่อลิตร เมื่อเปรียบเทียบอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์ จะพบว่าน้ำตาลซูโครสที่ความเข้มข้น 40 กรัมต่อลิตร จะให้อัตราการผลิตแคโรทีนอยด์สูงที่สุด เท่ากับ 1.47 มิลลิกรัมแคโรทีนอยด์ต่อกรัมเซลล์แห้งต่อวัน ซึ่งมีค่ามากกว่าน้ำตาลซูโครสที่ความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร ซึ่งไม่มีความต่างจากการใช้น้ำตาลซูโครสที่ความเข้มข้น 60 กรัมต่อลิตรซึ่งเท่ากับ 1.44 มิลลิกรัมแคโรทีนอยด์ต่อกรัมเซลล์แห้งต่อวัน ดังแสดงในตารางที่ 4.4 จากการทดลองเมื่อวิเคราะห์ค่าทางสถิติ พบว่าปริมาณแคโรทีนอยด์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อพิจารณาน้ำตาลซูโครสที่ความเข้มข้น 40 และ 60 กรัมต่อลิตร พบว่าน้ำตาลที่เหลือในอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่าน้ำตาลซูโครสที่ความเข้มข้น 60 กรัมต่อลิตรนั้นมีน้ำตาลที่เหลือในอาหารเลี้ยงเชื้อมากกว่าน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 40 กรัมต่อลิตร ดังนั้นจึงเลือกใช้ความเข้มข้น 40 กรัมต่อลิตรมาทดลองต่อไป

ตารางที่ 4.4 แสดงปริมาณแคโรทีนอยด์ และอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์ของ *R. glutinis* TISTR 5159 เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีความเข้มข้นน้ำตาลซูโครสต่างกัน.

น้ำตาลกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	อัตราการผลิตแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อวัน)	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)
20	0.93^{c}	4.63^{c}
40	1.47^{a}	7.37^{a}
60	1.44^{b}	7.21^{b}

หมายเหตุ : ตัวอักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกัน มีค่าความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p < 0.05$)

ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของจิรชา (2549) ได้ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตแอสตาแซนทินของ *Phaffia rhodozyma* โดยศึกษาแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจน พบว่าน้ำตาล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซูโครสและ fish soluble สามารถสนับสนุนการเจริญของยีสต์ได้ดี ในการศึกษาด้วยวิธี Response Surface Methodology (RSM) พบว่าความเข้มข้นน้ำตาลซูโครสและ fish soluble ที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของยีสต์เท่ากับ 36.64 และ 11.98 กรัมต่อลิตรตามลำดับซึ่งจะได้ปริมาณเซลล์ 11.45 กรัมต่อลิตร ที่ความเข้มข้นน้ำตาลซูโครสสูงกว่า 40 กรัมต่อลิตร

Bhosale และ Gadre (2001) ได้ศึกษาการผลิตสารเบต้าจากเชื้อ *Rhodotorula glutinis* mutant 32 โดยใช้กากน้ำตาลเป็นแหล่งอาหารและสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิต คือ กากน้ำตาลอ้อยปริมาณ 40 กรัมต่อลิตร ที่พีเอช 6 จะได้ผลผลิตเป็นแคโรทีนอยด์ 14 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีปริมาณเบต้าแคโรทีนอยด์เท่ากับ 70 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด

แต่แตกต่างจากงานวิจัยของงานวิจัยของ Aksu และ Eren (2007) ที่ได้ศึกษาการผลิตสารแคโรทีนอยด์จากเชื้อ *R. glutinis* โดยใช้กากน้ำตาลและหางนมเป็นแหล่งคาร์บอน จากการศึกษาพบว่ากระบวนการหมักแบบแบทช์ การเพิ่มขึ้นของความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสและซูโครสจากกากน้ำตาลจะมีผลโดยตรงต่อการเจริญเติบโตของยีสต์และแคโรทีนอยด์ที่ผลิตได้ เมื่อใช้ความเข้มข้นซูโครสจากกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอนจะได้ปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดเท่ากับ 125.0 มิลลิกรัมต่อลิตรของน้ำหมัก ขณะที่ถ้าใช้น้ำตาลแลคโตสในหางนมเป็นแหล่งคาร์บอนที่มีความเข้มข้น 13.2 กรัมต่อลิตรจะได้ผลผลิตแคโรทีนอยด์เท่ากับ 35.5 มิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักเซลล์แห้ง

นิรชร (2552) ซึ่งทำการศึกษาการผลิตแคโรทีนอยด์จากน้ำมะพร้าวโดยเชื้อ *Rhodotorula glutinis* TISTR 5159 เมื่อทำการศึกษาปริมาณความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสที่เหมาะสมต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ พบว่า ความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสที่ 60 กรัมต่อลิตร มีปริมาณแคโรทีนอยด์และอัตราการผลิตสูงสุดเท่ากับ 1781.98 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และ 296.99 ไมโครกรัมแคโรทีนอยด์ต่อกรัมเซลล์แห้งต่อวัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลการศึกษาแหล่งอินทรีย์ไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการผลิตแคโรทีนอยด์

เมื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อยีสต์ *R. glutinis* TISTR 5159 ในอาหารเลี้ยงเชื้อโดยใช้แหล่งไนโตรเจน คือ ยีสต์สกัด เปปโตน และน้ำแช่ข้าวโพดที่ความเข้มข้น 5.5 กรัมต่อลิตร แทนแหล่งไนโตรเจนในสูตรอาหารเดิม (ยีสต์สกัด มอลท์สกัด และแอมโมเนียมซัลเฟต) เป็นเวลา 7 วัน พบว่าการเจริญเติบโตของเชื้อ *R. glutinis* TISTR 5159 แสดงได้ดังนี้

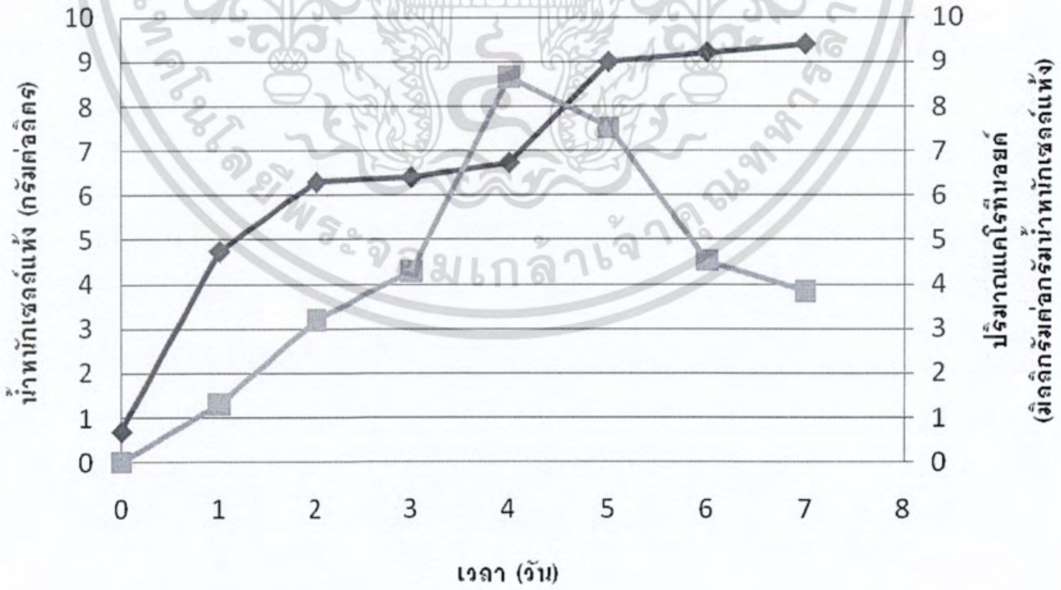
เมื่อเลี้ยงเชื้อโดยใช้ใช้ยีสต์สกัดเป็นแหล่งไนโตรเจน พบว่าปริมาณแคโรทีนอยด์ ในวันแรกของการเพาะเลี้ยงเท่ากับ 1.30 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง และจะมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนกระทั่งวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยงซึ่งมีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดคือ 7.52 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง ส่วนน้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อยีสต์ *R. glutinis* TISTR 5159 พบว่าในในวันแรกมีน้ำหนักเซลล์แห้ง 4.75 กรัมต่อลิตร และน้ำหนักจะเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆในช่วงวันที่ 2 – 4 และพบว่าเซลล์ปริมาณสูงสุดเท่ากับ 9.40 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 7 ของการเจริญ ดังแสดงในตารางที่ 4.5 เมื่อพิจารณาการใช้น้ำตาลพบว่าเซลล์เริ่มใช้น้ำตาลตั้งแต่วันแรกของการเจริญ และน้ำตาลลดลงตลอดเวลาในการเพาะเลี้ยง เนื่องจากเชื้อนำน้ำตาลไปใช้ในการสร้างและผลิตแคโรทีนอยด์ และมีน้ำตาลเหลืออยู่ 10.09 กรัมต่อลิตรในวันที่ 7 ของการเพาะเลี้ยง ในส่วนของพีเอช พบว่าวันแรกของการเพาะเลี้ยงมีค่าพีเอชเท่ากับ 6.20 และลดลงอย่างรวดเร็วในวันที่ 2 ของการเพาะเลี้ยงคือ 4.03 ส่วนวันที่ 3 ถึงวันที่ 7 ของการเพาะเลี้ยงจะมีค่าพีเอชใกล้เคียงกันโดยมีค่าอยู่ระหว่าง 3.91 – 3.02 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.5

เมื่อเลี้ยงเชื้อโดยใช้เปปโตนเป็นแหล่งไนโตรเจน พบว่าในวันแรกปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 1.86 กรัมต่อลิตร ซึ่งจะเห็นว่าปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และเพิ่มสูงขึ้นเรื่อยๆ โดยวันที่ 4 ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้ค่อนข้างคงที่ ประมาณ 6.00 – 6.02 กรัมต่อลิตร สำหรับการผลิตแคโรทีนอยด์ พบว่าวันแรกของการเพาะเลี้ยงมีปริมาณแคโรทีนอยด์ เท่ากับ 0.83 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง ต่อมาในวันที่ 2 กับวันที่ 3 ปริมาณแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย และหลังจากวันที่ 3 การผลิตแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยวันที่ 5 มีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดเท่ากับ 3.75 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์แห้งส่วนปริมาณน้ำตาลที่เหลือในวันที่ 7 ของการเพาะเลี้ยงมีปริมาณน้ำตาลที่เหลือในอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 17.63 กรัมต่อลิตร ดังแสดงในตารางที่ 4.6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 น้ำหนักเซลล์แห้ง แคโรทีนอยด์ น้ำตาลที่เหลือและค่าพีเอชเมื่อเลี้ยง *R. glutinis* TISTR 5159 ในอาหารเหลวที่มียีสต์สกัดเป็นแหล่งไนโตรเจน

เวลา (วัน)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)	ปริมาณน้ำตาลที่เหลือ (กรัมต่อลิตร)	พีเอช
0	0.70	-	48.09	6.14
1	4.75	1.30	31.71	6.00
2	6.30	3.19	23.21	6.00
3	6.41	4.29	22.82	6.05
4	6.74	8.65	19.97	5.98
5	9.00	7.52	14.72	5.94
6	9.21	4.53	12.51	5.34
7	9.40	3.84	10.09	5.57

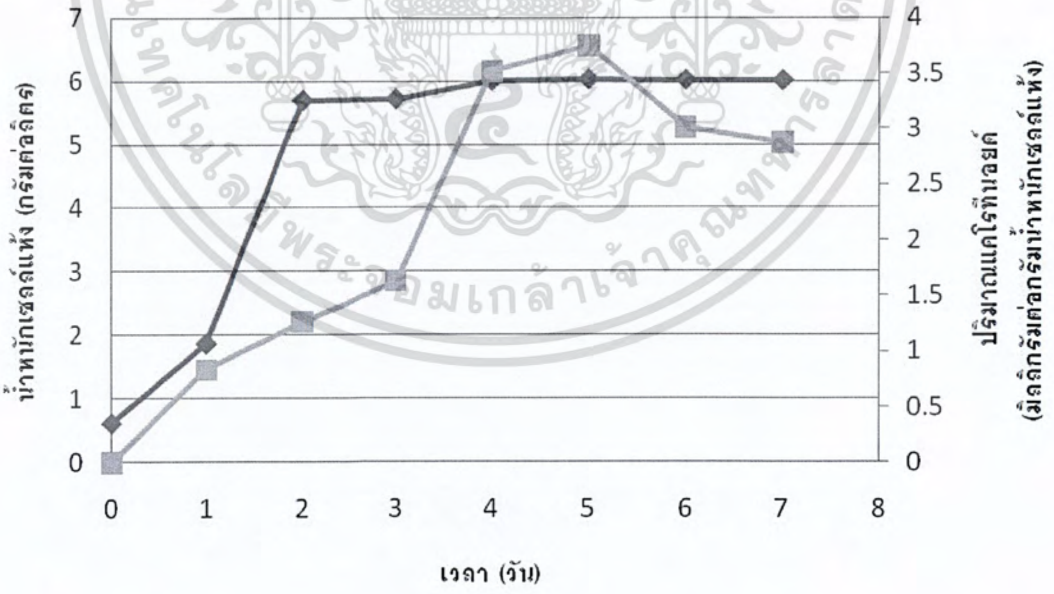


รูปที่ 4.5 น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ได้จากเชื้อยีสต์ *R. glutinis* TISTR 5159 ในอาหารเหลวที่มียีสต์สกัด 5.5 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งไนโตรเจน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 น้ำหนักเซลล์แห้ง แคโรทีนอยด์ น้ำตาลที่เหลือและค่าพีเอชเมื่อเลี้ยง *R. glutinis* TISTR 5159 ในอาหารเหลวที่มีเปปโตนเป็นแหล่งไนโตรเจน

เวลา (วัน)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)	ปริมาณน้ำตาลที่เหลือ (กรัมต่อลิตร)	พีเอช
0	0.61	-	47.03	6.25
1	1.86	0.83	39.26	6.00
2	5.69	1.26	27.40	5.54
3	5.71	1.63	25.98	5.30
4	6.00	3.52	20.23	5.00
5	6.02	3.75	18.70	5.30
6	6.01	3.01	18.01	5.23
7	6.00	2.87	17.63	5.09



รูปที่ 4.6 น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ได้จากเชื้อยีสต์ *R. glutinis* TISTR 5159 ในอาหารเหลวที่มีเปปโตน 5.5 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งไนโตรเจน

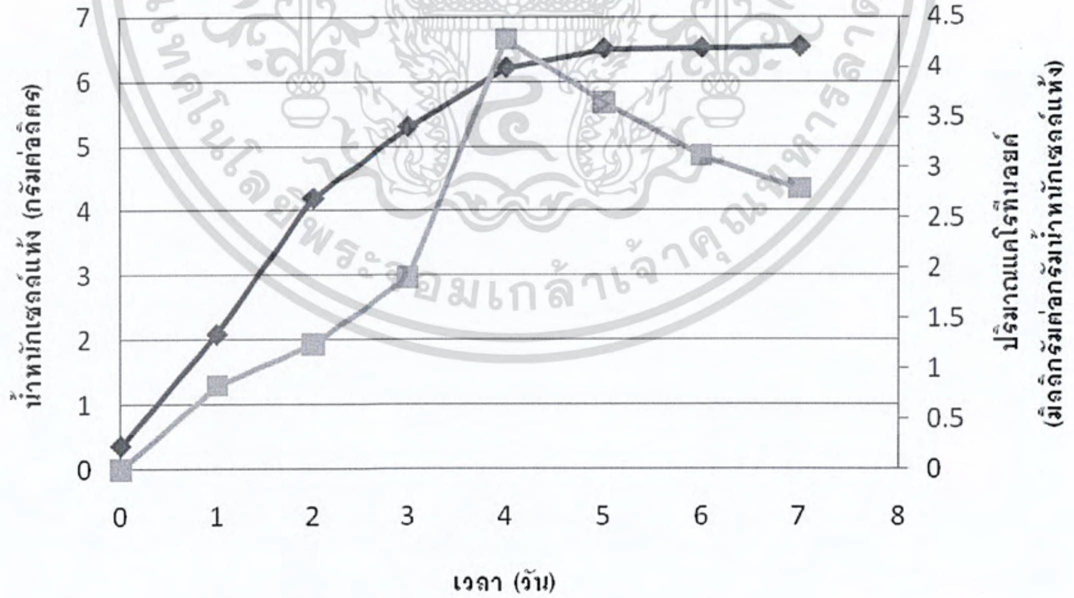
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อเลี้ยงเชื้อโดยใช้น้ำแช่ข้าวโพดเป็นแหล่งไนโตรเจน พบว่าวันแรก ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง เท่ากับ 2.08 กรัมต่อลิตร และเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ตั้งแต่วันที่ 2 จนสูงสุดในวันที่ 7 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 6.53 กรัมต่อลิตร พิจารณาที่ค่าพีเอชในวันที่ศูนย์ของการเพาะเลี้ยงมีค่าพีเอชเท่ากับ 6.10 จากนั้นจะลดลงในวันที่ 1 ถึงวันที่ 4 ของการเพาะเลี้ยงจะมีค่าพีเอชใกล้เคียงกัน ซึ่งอยู่ระหว่าง 6.03 – 5.71 จากนั้นในวันที่ 6 ของการเพาะเลี้ยงพีเอชเพิ่มสูงขึ้นเป็น 5.75 จากวันที่ 4 ของการเพาะเลี้ยง จากนั้นในวันสุดท้ายของการเพาะเลี้ยงพีเอชกลับสูงขึ้นอีกเท่ากับ 5.79 ส่วนปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในวันที่ศูนย์นั้นจะมีปริมาณน้ำตาลสูงสุดคือ 46.22 กรัมต่อลิตร หลังจากนั้นปริมาณน้ำตาลจะลดลงเรื่อยๆจนกระทั่งถึงวันที่ 7 ของการเพาะเลี้ยงมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดต่ำสุดคือ 16.26 กรัมต่อลิตร สำหรับการผลิตแคโรทีนอยด์ พบว่าวันแรกของการเพาะเลี้ยงมีปริมาณแคโรทีนอยด์เพิ่มเป็น 0.83 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง และมีปริมาณเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จนถึงวันที่ 4 ของการเพาะเลี้ยงจึงลดลง ซึ่งวันที่มีปริมาณแคโรทีนอยด์สูงสุดคือวันที่ 4 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีปริมาณแคโรทีนอยด์เท่ากับ 4.28 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง ดังแสดงในตารางที่ 4.7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

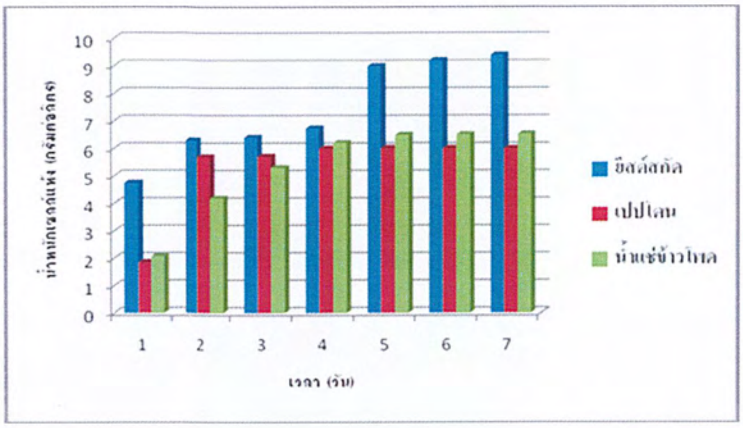
ตารางที่ 4.7 น้ำหนักเซลล์แห้ง แคโรทีนอยด์ น้ำตาลที่เหลือและค่าพีเอชเมื่อเลี้ยง *R. glutinis* TISTR 5159 ในอาหารเหลวที่มีน้ำแช่ข้าวโพดเป็นแหล่งไนโตรเจน

เวลา (วัน)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)	ปริมาณน้ำตาลที่เหลือ (กรัมต่อลิตร)	พีเอช
0	0.36	-	46.22	6.10
1	2.08	0.83	30.10	6.03
2	4.19	1.24	26.43	5.86
3	5.30	1.91	25.48	5.74
4	6.21	4.28	23.44	5.71
5	6.50	3.64	20.00	5.78
6	6.51	3.12	19.97	5.75
7	6.53	2.79	16.26	5.79

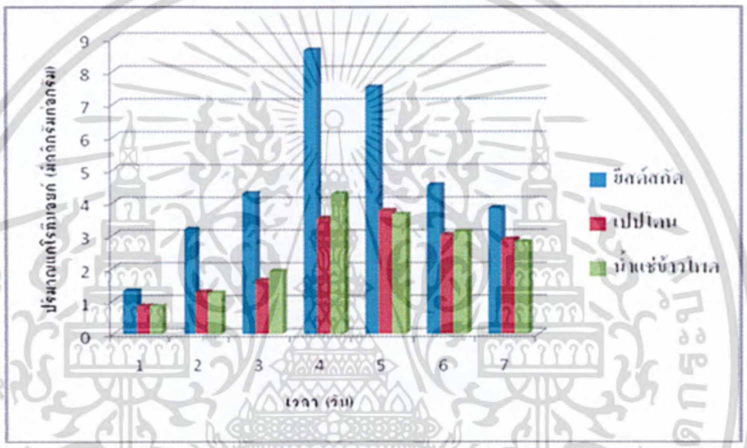


รูปที่ 4.7 น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ได้จากเชื้อยีสต์ *R. glutinis* TISTR 5159 ในอาหารเหลวที่มีน้ำแช่ข้าวโพด 5.5 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งไนโตรเจน

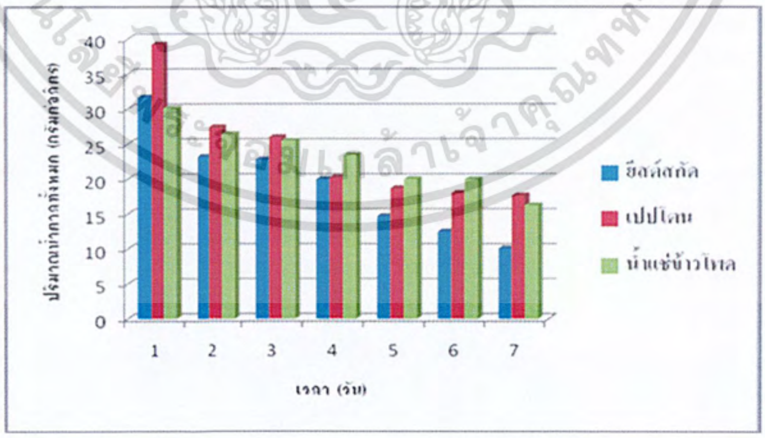
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ก.



ข.



ค.

รูปที่ 4.8 เปรียบเทียบน้ำหนักเซลล์แห้ง (ก.) ปริมาณแคโรทีนอยด์ (ข.) และปริมาณน้ำตาลที่เหลือ (ค.) ที่ได้จากเชื้อยีสต์ *R. glutinis* TISTR 5159 ในอาหารเหลวที่มียีสต์สกัด เปปโตนและน้ำแช่ข้าวโพด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อยีสต์ *R. glutinis* TISTR 5159 ในอาหารเลี้ยงเชื้อโดยใช้แหล่งไนโตรเจน คือ ยีสต์สกัด เปปโตนและน้ำแช่ข้าวโพดที่ความเข้มข้น 5.5 กรัมต่อลิตร พบว่าอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์ จากยีสต์สกัดมีปริมาณมากที่สุด เท่ากับ 2.16 มิลลิกรัมแคโรทีนอยด์ต่อกรัมเซลล์แห้งต่อวัน รองลงมาคือน้ำแช่ข้าวโพดที่มีอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์เท่ากับ 1.07 มิลลิกรัมแคโรทีนอยด์ต่อกรัมเซลล์แห้งต่อวัน และเปปโตนที่มีอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์เท่ากับ 0.75 มิลลิกรัมแคโรทีนอยด์ต่อกรัมเซลล์แห้งต่อวัน ดังแสดงในตารางที่ 4.8

ตารางที่ 4.8 แสดงปริมาณแคโรทีนอยด์ และอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์ของ *R. glutinis* TISTR 5159 เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีแหล่งไนโตรเจนอินทรีย์ต่างกัน

แหล่งไนโตรเจนอินทรีย์	อัตราการผลิตแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อวัน)	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)
ยีสต์สกัด	2.16^{a}	8.65^{a}
เปปโตน	0.75^{c}	3.75^{c}
น้ำแช่ข้าวโพด	1.07^{b}	4.28^{b}

หมายเหตุ : ตัวอักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกัน มีค่าความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p < 0.05$)

จะเห็นได้ว่าเชื้อยีสต์ที่เลี้ยงในอาหารที่ใช้ยีสต์สกัดเป็นแหล่งไนโตรเจนจะให้อัตราการผลิตแคโรทีนอยด์สูงกว่าเลี้ยงในอาหารที่ใช้แหล่งไนโตรเจนอื่น ยีสต์สกัดนั้นเป็นแหล่งไนโตรเจนที่ดีและมีสารส่งเสริมการเจริญสำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ จากองค์ประกอบหลักของยีสต์สกัดที่ประกอบด้วยไนโตรเจน วิตามิน และสารส่งเสริมการเจริญ ยีสต์สกัดจึงถูกนำมาใช้เป็นองค์ประกอบสำคัญในอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์อย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมหลายประเภท เช่น อุตสาหกรรมการผลิตสารปฏิชีวนะ ยาและอาหารเสริม อุตสาหกรรมผลิตผลิตภัณฑ์จากนม เป็นต้น
(**ที่มา :** http://zewsai.blogspot.com/2008/10/blog-post_01.html)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งแตกต่างกับงานวิจัยของ นิรชร และคณะ (2552) ได้ทำการศึกษาการผลิตแคโรทีนอยด์จากน้ำมะพร้าวโดยเชื้อ *R. glutinis* TISTR 5159 ในอาหารสูตรดัดแปลงของ Aksu และ Eren (2007) ที่ความเร็ว 180 รอบต่อนาที บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 วัน ทำการศึกษาแหล่งอินทรีย์ไนโตรเจนที่เลือกใช้ได้แก่ ยีสต์สกัด มอลล์สกัด และเปปโตนที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 5.5 กรัมต่อลิตร พบว่าเปปโตนมีอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์สูงสุดเท่ากับ 224.69 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

Tinoi และคณะ (2005) ได้ทำการเพิ่มการผลิตแคโรทีนอยด์จากเชื้อ *R. glutinis* โดยใช้กากถั่วเขียวเป็นแหล่งไนโตรเจน โดยใช้กากถั่วเขียวที่แยกด้วยกรด 23.63 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.91 อุณหภูมิ 30.38 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบการเขย่า 258 รอบต่อนาที และใช้เวลาในการหมัก 94.78 ชั่วโมง ในสภาวะเหล่านี้ทำให้ได้น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์มากกว่าไม่จำกัดสภาวะถึง 43 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลวิจัย

ศึกษาการเจริญของยีสต์ *Rhodotorula glutinis* TISTR 5159 โดยนำมาเลี้ยงในอาหารเหลวสูตรดัดแปลงของ Aksu และ Eren (2007) การใช้น้ำอ้อยแทนน้ำกลั่น ศึกษาผลของความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอน และแหล่งไนโตรเจนที่มีผลต่อการผลิตแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *R. glutinis* TISTR 5159 โดยทำการเพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่า ที่ความเร็วรอบของการเขย่าเท่ากับ 180 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน การศึกษาความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสที่ระดับต่างๆ ได้แก่ 20 40 และ 60 กรัมต่อลิตร พบว่าการใช้น้ำตาลซูโครสที่ความเข้มข้น 40 กรัมต่อลิตร เชื้อสามารถเจริญเติบโตและผลิตแคโรทีนอยด์มากที่สุด โดยมีปริมาณการผลิตแคโรทีนอยด์สูงถึง 7.37 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง อัตราการผลิตแคโรทีนอยด์เท่ากับ 1.47 มิลลิกรัมแคโรทีนอยด์ต่อกรัมเซลล์แห้งต่อวันและมีน้ำหนักเซลล์แห้ง 6.10 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือที่ความเข้มข้น 60 กรัมต่อลิตร เชื้อสามารถเจริญเติบโตและผลิตแคโรทีนอยด์ได้เท่ากับ 7.21 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง อัตราการผลิตแคโรทีนอยด์เท่ากับ 1.44 มิลลิกรัมแคโรทีนอยด์ต่อกรัมเซลล์แห้งต่อวัน และมีน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 6.03 กรัมต่อลิตร เมื่อศึกษาหาแหล่งอินทรีย์ไนโตรเจนชนิดต่างๆ ได้แก่ ยีสต์สกัด เปปโตนและน้ำแช่ข้าวโพด โดยใช้ความเข้มข้น 5.5 กรัมต่อลิตรในการผลิตแคโรทีนอยด์ พบว่าการใช้ยีสต์สกัดเป็นแหล่งไนโตรเจน เชื้อสามารถเจริญเติบโตได้ดี และผลิตแคโรทีนอยด์ได้มากที่สุด โดยมีปริมาณการผลิตแคโรทีนอยด์เท่ากับ 8.69 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง อัตราการผลิตแคโรทีนอยด์เท่ากับ 2.16 มิลลิกรัมแคโรทีนอยด์ต่อกรัมเซลล์แห้งต่อวัน และมีน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 6.74 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือน้ำแช่ข้าวโพด โดยมีปริมาณการผลิตแคโรทีนอยด์เท่ากับ 4.28 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง อัตราการผลิตแคโรทีนอยด์เท่ากับ 1.07 มิลลิกรัมแคโรทีนอยด์ต่อกรัมเซลล์แห้งต่อวัน และมีน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 6.21 กรัมต่อลิตร

ดังนั้นสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการผลิตแคโรทีนอยด์ของเชื้อยีสต์ *R. glutinis* TISTR 5159 ประกอบด้วยน้ำตาลซูโครส 40 กรัมต่อลิตร ยีสต์สกัด 5.5 กรัมต่อโปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 1 กรัมต่อลิตร และแมกนีเซียมซัลเฟต 0.25 กรัมต่อลิตร น้ำอ้อย 1 ลิตร ที่พีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 6.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

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

จิรชา คังตระกูล. 2549. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตแอสตาแซนทินของ *Phaffia rhodozyma.* วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

จุฑามาศ โคตรพันธ์ และภิชญา สิงห์หิรัญนุสรณ์. 2547. การศึกษาอัตราการเติมอากาศที่มีผลต่อการผลิตแซนแทนกัมจากเชื้อจุลินทรีย์ Xanthomonas campestris TISTR 1100 ในอาหารสังเคราะห์และน้ำอ้อย. ปริญญานิพนธ์ เทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัย เทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ.

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

นิรชร. 2552. การผลิตแคโรทีนอยด์จากน้ำมะพร้าวโดยเชื้อ *Rhodotorula glutinis* TISTR 5159. โครงงานพิเศษวิทยศาสตรบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

พรทิพย์ สอนวงษ์ และวชิระ แซ่หลี. 2550. การประยุกต์ใช้กากสับปะรดเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตสารแคโรทีนอยด์จากยีสต์ *Rhodotorula glutinis.* โครงงานพิเศษ วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ประไพศรี สมใจ และคณะ. 2535. การผลิตยีสต์ขนมปังจากน้ำอ้อยในระดับห้องปฏิบัติการ. โครงงานการวิจัย สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย.

ลูกจันทร์ ภัครัชพันธุ์. 2551. คู่มือการอบรมโครงการฝึกอบรมเพื่อพัฒนาคุณภาพสุราชนิดผลไม้และสุราพื้นบ้านที่มีแรงแอลกอฮอล์ไม่เกิน 15 ดีกรี และผลิตภัณฑ์จากผลผลิตทางการเกษตร. คณะอุตสาหกรรมเกษตรมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิจิตรา สานพภา. 2551. ผลของน้ำทิ้งจากอุตสาหกรรมอาหารประเภทต่างๆที่นำมาใช้เป็นอาหารเลี้ยงยีสต์ *Rhodotorula mucilaginosa* ต่อสมบัติเชิงคุณภาพและปริมาณของคาโรทีนอยด์จากยีสต์. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชา เทคโนโลยีทางอาหาร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สโรชา จิระวัฒนพงศ์. 2545. การศึกษาการผลิตอัลคาไลน์โปรติเอสของ *Aspergills oryzae* 1521ในการเลี้ยงแบบ 2 ขั้นตอน. โครงงานพิเศษวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

อุมารินทร์ พูลศรี. 2547. การศึกษาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของกูลโคสต่อการเจริญและการสร้างแคโรทีนอยด์รวมของสาหร่ายสไปรูไลนาในระบบการเลี้ยงแบบ semi fed-batch culture. โครงงานพิเศษวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ มหาวิทยาลัยทักษิณ.

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

Aksu Z. and Eren, A. T. 2007. Production of carotenoids by the isolated yeast of *Rhodotorula glutinis*, Biochem. Eng. J., 35: 107-228

Bhosale, P. and Gadre, R.V. 2000. Production of β-carotene by a *Rhodotorula glutinis* mutant in sea water medium, Bioresour. Tech., 76 : 53-55

Bhosale, P. and Gadre, R.V. 2001. β-carotene production in sugarcane molasses by a *Rhodotorula glutinis* mutant: Ind. Microbial, Biotech., 26 : 327-332

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

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

Child, B.M. and Nathanael, W.R.N. 1950. Changes in the sugar composition of coconut water during maturation and germination, J. Sci. Food Agri., 1 : 326 – 329

Fox, H. M. 1957. Physiology of fish, New York : Academic Press, PP., 138-155

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Goodwin, T.W. and Willme, J.s. 1962. Studies in Carotenogenesis 4. Nitrogen metabolism and Carotene Synthesis in *Phycomyced blakesleeanus*, Biochem. J., 51 : 213-217

Iriani, R. M., Delia, B. R. and Adilma, R.P.S. 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., 2008. Carotenoids of yeasts isolated from the Brazilian ecosystem, Food Chem., 107 : 145-150

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

Panida, U., Caetharin, A., Saranya, P., Manop, S., Morakot, T. and Cornelis, V. 2007. Coconut water as a medium additive for the production of docosahexaenoic acid (C22:6 n3) by Schizochytrium mangrovei Sk-02, Bioresor. Tech., 98 : 281-287

Paul, D. F., Maria, J. R., Maria, A. L., Maria, I. A., Arturo, P. E. and Peter, M. B. 1996. Carotenoid biosynthesis in wild type and mutant strains of *Mucor circinelloides*, Biochem., 1289 : 203- 208

Tinoi, J., Rakariyatham, N. and Deming, R.L. 2005. Simplex optimization of carotenoid production by *Rhodotorula glutinis* using hydrolyzed mung bean waste flour as substrate, Process Biochem., 40 : 2551-2557

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. Tech., 213 : 234–239.

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

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

[Online]. Available : http://www.lipidmaps.org/data/get_lm_lipids_dbgif.ph

[Online]. Available : http://www.jabchai.com/main/news_view.php?id=515

[Online]. Available : http://zewsai.blogspot.com/2008/10/blog-post_01.html

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ตารางภาคผนวก ก 1 การวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้งและการผลิตสารแคโรทีนอยด์ของเชื้อยีสต์ *R. glutinis* เมื่อเลี้ยงในอาหารที่ใช้แหล่งคาร์บอนที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน

แหล่งคาร์บอนที่มีความเข้มข้นแตกต่างกันกับปริมาณแคโรทีนอยด์

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9.474	2	4.737	965082.316	.000
Within Groups	.000	3	.000		
Total	9.474	5			

Duncan

น้ำตาลซูโครส (กรัมต่อลิตร)	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
ความเข้มข้น 20	2	4.627650		
ความเข้มข้น 40	2		7.370100	
ความเข้มข้น 60	2			7.209100
Sig.		1.000	1.000	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แหล่งคาร์บอนที่มีความเข้มข้นแตกต่างกันกับน้ำหนักเซลล์แห้ง

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.008	2	.004	1847.600	.000
Within Groups	.000	3	.000		
Total	.008	5			

Duncan

น้ำตาลซูโครส (กรัมต่อลิตร)	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
ความเข้มข้น 20	2	6.021650		
ความเข้มข้น 40	2		6.102050	
ความเข้มข้น 60	2			6.031350
Sig.		1.000	1.000	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ก 2 การวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้งและการผลิตสารแคโรทีนอยด์ของเชื้อยีสต์ *R. glutinis* เมื่อเลี้ยงในอาหารที่ใช้แหล่งอินทรีย์ไนโตรเจนที่แตกต่างกัน

แหล่งอินทรีย์ไนโตรเจนกับปริมาณแคโรทีนอยด์

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	28.937	2	14.469	3987693.212	.000
Within Groups	.000	3	.000		
Total	28.937	5			

Duncan

แหล่งอินทรีย์ไนโตรเจน	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
เปปโตน 5.5 กรัมต่อลิตร	2	3.751300		
น้ำแช่ข้าวโพด 5.5 กรัมต่อลิตร	2		4.279650	
ยีสต์สกัด 5.5 กรัมต่อลิตร	2			8.651600
Sig.		1.000	1.000	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แหล่งอินทรีย์ไนโตรเจนกับน้ำหนักเซลล์แห้ง

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.556	2	.278	337951.885	.000
Within Groups	.000	3	.000		
Total	.556	5			

Duncan

แหล่งอินทรีย์ไนโตรเจน	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
เปปโตน 5.5 กรัมต่อลิตร	2	6.020800		
น้ำแช่ข้าวโพด 5.5 กรัมต่อลิตร	2		6.210850	
ยีสต์สกัด 5.5 กรัมต่อลิตร	2			6.740550
Sig.		1.000	1.000	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข
อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. อาหาร YM (Yeast extract-Malt extract broth)

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

เตรียมส่วนผสมทั้งหมดละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร ปรับค่าพีเอชเท่ากับ 6 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก 0.1 โมลาร์ หรือโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 โมลาร์ และ ทำการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที สามารถเก็บได้ทั้งลักษณะวุ้นเอียงในหลอดทดลองและในจานเพาะเชื้อโดยเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และมีการถ่ายเชื้อทุกๆ 2 เดือน

2. อาหารดัดแปลงจากสูตรของ Aksu และ Eren (2007)

น้ำตาลซูโครส	20 กรัม
ยีสต์สกัด	2.5 กรัม
มอลท์สกัด	2 กรัม
$(NH_4)_2SO_4$	1 กรัม
(KH_2PO_4)	1 กรัม
$(MgSO_4.7H_2O)$	0.25 กรัม

เตรียมส่วนผสมทั้งหมดละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร ปรับค่าพีเอชเท่ากับ 6.5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก 0.1 โมลาร์ หรือโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 โมลาร์ และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1 ลิตร ทำการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

วิธีการคำนวณ

อัตราการผลิตแคโรทีนอยด์

$$P_x = \frac{P_{max} - P_0}{T_{max}}$$

เมื่อกำหนดให้

P_x = อัตราการผลิตแคโรทีนอยด์ (ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อวัน)

P_{max} = ปริมาณแคโรทีนอยด์ที่สูงที่สุด (ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)

P_0 = ปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ต่ำที่สุด (ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)

T_{max} = จำนวนวันที่ผลิตแคโรทีนอยด์ได้สูงที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้