สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การประยุกต์ใช้กากสับปะรดเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตสารแคโรทีนอยด์จากยีสต์ *Rhodotorula glutinis*

นางสาวพรทิพย์ สอนวงษ์

นายวชิระ แซ่หลี

ว339ก
2550

ตท.ปร.....
เลขทะเบียน.....83757
วัน,เดือน,ปี.....15 ก.ย. 2551

b.11983A13
i.....

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Application of Pineapple Waste as Substrate for Carotenoid Production by *Rhodotorula glutinis*

Miss Pontip Sonwong

Mr. Wachira Saelee

A Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement

for the Degree of Bachelor of Science

Department of Applied Biology

Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

Academic Year 2007

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษเรื่อง การประยุกต์ใช้กากสับปะรดเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตสารแคโรทีนอยด์จากยีสต์ *Rhodotorula glutinis*

นักศึกษา นางสาวพรทิพย์ สอนวงษ์ รหัสประจำตัว 47050518

นายวชิระ แซ่หลี รหัสประจำตัว 47050894

สาขาวิชา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

อาจารย์ที่ปรึกษา ดร. จิดาภา ทิน้อย

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตร**บัณฑิต**

คณะกรรมการตรวจสอบ	ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ รศ. ดวงใจ โอชัยกุล	
กรรมการ อาจารย์ดนึงกานต์ กลั่นบุศย์	
กรรมการ ดร. จิดาภา ทิน้อย	

.....

(รศ.ดร. นวลพรรณ ณ ระนอง)

หัวหน้าภาควิชาชีววิทยาประยุกต์

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษเรื่อง การประยุกต์ใช้กากสับปะรดเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตสารแคโรทีนอยด์จากยีสต์ *Rhodotorula glutinis*

นักศึกษา นางสาวพรทิพย์ สอนวงษ์

นายวชิระ แซ่หลี

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

สาขาวิชา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

อาจารย์ที่ปรึกษา ดร.จิดาภา ทิน้อย

บทคัดย่อ

จากการศึกษาการเจริญเติบโตและการผลิตสารแคโรทีนอยด์จากเชื้อ *Rhodotorula glutinis* ในอาหารที่เป็นสารสกัดจากกากสับปะรด โดยศึกษาหาวิธีในการเตรียมสารสกัด 2 วิธี คือ การสกัดด้วยน้ำร้อน และการย่อยสลายด้วยกรดซัลฟูริกเข้มข้น 0.2 นอร์มอล พบว่าสารสกัดจากกากสับปะรดที่สกัดด้วยการสกัดด้วยน้ำร้อนและสารสกัดที่ได้จากการย่อยสลายด้วยสารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้น 0.2 นอร์มอล พบว่ามีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 2.50 กรัมต่อลิตรและ 5.98 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และพบว่าเชื้อ *R. glutinis* สามารถเจริญเติบโตและผลิตสารแคโรทีนอยด์ได้ดีเมื่อเลี้ยงในสารสกัดจากกากสับปะรดที่เตรียมได้ด้วยการย่อยสลายด้วยสารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้น 0.2 นอร์มอล และพบว่าสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการผลิตสารแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *R. glutinis* ในอาหารที่เป็นสารสกัดจากกากสับปะรด คือ ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารสกัดจากกากสับปะรดร้อยละ 15 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ค่าพีเอชเท่ากับ 6.0 อุณหภูมิในการเพาะเลี้ยง 30 องศาเซลเซียส และพบว่าปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงสูงเท่ากับ 3.32 กรัมต่อลิตรเมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 72 ชั่วโมง และเชื้อสามารถผลิตสารแคโรทีนอยด์สูงที่สุดเมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 96 ชั่วโมง โดยปริมาณสารแคโรทีนอยด์ที่ผลิตได้มีค่าเท่ากับ 2.98 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ 0.91 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special project name Application of pineapple waste as substrate for carotenoid production by *Rhodotorula glutinis*

Name Miss Pontip Sonwong

Mr. Wachira Saelee

Department Applied Biology

Program Industrial Microbiology

Academic Year 2007

Special project advisor Dr. Jidapha Tinoi

Abstract

Pineapple waste extract were prepared as substrate for growth of *Rhodotorula glutinis* and carotenoid production. The preparation of pineapple waste extracts used the two different methods such as extraction by hot water and hydrolyzation with 0.2 N H_2SO_4. The pineapple waste extract medium and hydrolyzed pineapple waste medium were obtained and contained reducing sugar contents 2.50 g/L and 5.98 g/L, respectively. The growth and carotenoid production in hydrolyzed pineapple waste medium was better than in pineapple waste extract medium. The optimal condition for growth and carotenoid production of *R. glutinis* in hydrolyzed pineapple waste was 15 % initial concentration of hydrolyzed pineapple waste, the optimum pH of 6.0 and optimum temperature at 30 °C. The highest dry cell weight was 3.32 g/L for cultivation time 72 h and the highest carotenoid content was 2.98 mg/L or 0.91 mg/g cell dry for cultivation time 96 h.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษเล่มนี้จัดทำขึ้นตามหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต ซึ่งสำเร็จได้ด้วยการสนับสนุนและช่วยเหลือจากผู้มีอุปการคุณ ดังนี้

ขอขอบพระคุณ ดร.จิดาภา ทิน้อย อาจารย์ที่ปรึกษาและกรรมการตรวจสอบโครงงานพิเศษนี้ ซึ่งได้ให้ความรู้ คำปรึกษา คำแนะนำในการแก้ปัญหาและความอนุเคราะห์ต่างๆ ด้วยดีเสมอมา

ขอขอบพระคุณ รศ. ดวงใจ โอชัยกุล ประธานคณะกรรมการตรวจสอบโครงงานพิเศษ ที่ได้ดูแลและให้คำปรึกษาในเรื่องต่างๆ

ขอขอบพระคุณ อาจารย์ดนึงกานต์ กลั่นบุศย์ กรรมการตรวจสอบโครงงานพิเศษที่ได้ให้คำแนะนำ และได้ตรวจสอบโครงงานพิเศษนี้

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านที่อบรมสั่งสอนและให้ความรู้ที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการทำโครงงานพิเศษ

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่นักวิทย์ศาสตร์ คุณพยอม เกียรติกำจร คุณประสิทธิ์ แผ้วบาง คุณวิทยา เขียวเชิน คุณพงษ์ศักดิ์ ประสานศักดิ์ คุณอนิทัต ทองจันทร์ และคุณเอกภพ ภาเรือง ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์เอื้อเฟื้อเครื่องมือ อุปกรณ์ ในการทำโครงงานพิเศษ

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ ที่เอื้อเฟื้อเครื่องมือ อุปกรณ์และสถานที่ในการทำโครงงานพิเศษจนบรรลุไปได้ด้วยดี

นางสาวพรทิพย์ สอนวงษ์

นายวชิระ แซ่หลี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป	ซ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการที่เกี่ยวข้อง	5
2.1 สารแคโรทีนอยด์ (Carotenoid)	5
2.1.1 ชนิดและโครงสร้างของสารแคโรทีนอยด์	6
2.1.2 การสังเคราะห์สารแคโรทีนอยด์	6
2.1.3 คุณสมบัติของสารแคโรทีนอยด์	10
2.1.4 หน้าที่ของสารแคโรทีนอยด์	11
2.1.5 แหล่งของสารแคโรทีนอยด์	13
2.1.6 ประโยชน์ของสารแคโรทีนอยด์	14
2.2 ยีสต์ *Rhodotorula glutinis*	16
2.2.1 ลักษณะทั่วไปของเชื้อ *Rhodotorula glutinis*	16
2.2.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างสารแคโรทีนอยด์จากเชื้อ *Rhodotorula glutinis*	17
2.2.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสารแคโรทีนอยด์จากเชื้อ *Rhodotorula glutinis*	19
2.3 กากสับปะรด (pineapple waste)	21
2.3.1 สับปะรด (pineapple)	21
2.3.2 กากสับปะรด (pineapple waste)	23
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการดำเนินการวิจัย	26
3.1 เชื้อจุลินทรีย์	26
3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ	26

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.3 สารเคมี	26
3.4 เครื่องมือและอุปกรณ์	26
3.5 วิธีการทดลอง	27
3.5.1 การเตรียมตัวอย่างกากสับปะรดแห้ง	27
3.5.2 การศึกษาหาวิธีการเตรียมสารสกัดจากกากสับปะรดเพื่อใช้เป็นอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อ	27
3.5.3 การศึกษาการเจริญเติบโตและการผลิตสารแคโรทีนอยด์จากยีสต์ *R. glutinis* ที่เลี้ยงในอาหารที่เป็นสารสกัดจากกากสับปะรด	28
3.5.4 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและผลิตสารแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *R. glutinis* เมื่อเลี้ยงในอาหารที่เป็นสารสกัดจากกากสับปะรด	30
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง	32
4.1 การศึกษาวิธีการเตรียมสารสกัดจากกากสับปะรดเพื่อใช้เป็นอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อ	32
4.2 การศึกษาความเป็นไปได้ในการนำสารสกัดจากกากสับปะรดมาใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับยีสต์ *R. glutinis* เพื่อผลิตสารแคโรทีนอยด์	33
4.2.1 การเจริญเติบโตของเชื้อ *R. glutinis* ในอาหารที่เป็นสารสกัดจากกากสับปะรด	33
4.2.2 การผลิตสารแคโรทีนอยด์จากเชื้อ *R. glutinis* เมื่อเลี้ยงในอาหารที่เป็นสารสกัดจากกากสับปะรด	36
4.3 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและผลิตสารแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *R. glutinis* เมื่อเลี้ยง ในอาหารที่เป็นสารสกัดจากกากสับปะรดที่เตรียมได้จากการย่อยสลายด้วยสารละลายกรด	39
4.3.1 ผลของความเข้มข้นเริ่มต้นของสารสกัดจากกากสับปะรดที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตสารแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *R. glutinis*	39

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.3.2 ผลของค่าความเป็นกรดด่างของอาหารที่เป็นสารสกัดจากกาก สับปะรดที่มีต่อการเจริญเติบโตและการผลิตสาร แคโรทีนอยด์ ของเชื้อ *R. glutinis* 42

4.3.3 ผลของอุณหภูมิที่มีต่อการเจริญเติบโตและการผลิตสาร แคโรทีนอยด์ของเชื้อยีสต์ *R. glutinis* ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เป็น สารสกัดจากกากสับปะรด 44

4.3.4 ผลของเวลาที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการผลิตสาร แคโรทีนอยด์ของเชื้อยีสต์ *R. glutinis* ในอาหารที่เป็นสาร สกัดจากกากสับปะรด 46

บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง 49

5.1 การเตรียมสารสกัดจากกากสับปะรดเพื่อใช้เป็นอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อ 49

5.2 การศึกษาความเป็นไปได้ในการนำสารสกัดจากกากสับปะรดมาใช้เป็น อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับยีสต์ *R. glutinis* เพื่อผลิตสารแคโรทีนอยด์ 50

5.3 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและผลิตสาร แคโรทีนอยด์ของเชื้อยีสต์ *R. glutinis* เมื่อเลี้ยง ในอาหารที่เป็นสาร สกัดจากกากสับปะรดที่เตรียมได้จากการสกัดด้วยสารละลายกรด 51

เอกสารอ้างอิง 54

ภาคผนวก ก 57

ภาคผนวก ข 58

ภาคผนวก ค 68

ภาคผนวก ง 71

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	น้ำหนักเซลล์แห้งได้จากเชื้อยีสต์ *R. glutinis* เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารที่เตรียมจากสารสกัดจากกากสับปะรดด้วยวิธีน้ำร้อนและกรดซัลฟูริกเข้มข้น 0.2 นอร์มอล โดยค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.5 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที	34
2	ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ที่ผลิตได้จากเชื้อยีสต์ *R. glutinis* เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารที่เตรียมจากสารสกัดจากกากสับปะรดด้วยสารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้น 0.2 นอร์มอล โดยค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.5 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที	37
3	น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณสารแคโรทีนอยด์ที่ผลิตได้จากเชื้อยีสต์ *R. glutinis* ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารสกัดจากกากสับปะรดต่างกัน	40
4	ผลของความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของสารสกัดจากกากสับปะรดที่มีต่อการเจริญและการผลิตสารแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *R. glutinis*	42
5	แสดงผลของอุณหภูมิที่มีต่อการเจริญและการผลิตสารแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *R. glutinis* ในอาหารที่เป็นสารสกัดจากกากสับปะรด	44
6	ผลของเวลาที่มีต่อการเจริญและการผลิตสารแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *R. glutinis* ในอาหารที่เป็นสารสกัดจากกากสับปะรด	47

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ

รูปที่		หน้า
1	โครงสร้างของไอโซพรีน	5
2	โครงสร้างของ acyclic $C_{40}H_{56}$carotene (lycopene)	5
3	โครงสร้างของเบต้าแคโรทีน (β-carotene), ลูทีน (lutein), ซีแซนทีน (zeaxanthin) แคนทาแซนทีน (canthaxanthin), แอสทาแซนทีน (astaxanthin) และเอคไคนีโนน (echinenone)	7
4	ขั้นตอนการสังเคราะห์ไลโคพีน (lycopene)	8
5	ขั้นตอนการสังเคราะห์สารในกลุ่มแคโรทีนอยด์	9
6	ลักษณะการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆ ของคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี และแคโรทีนอยด์	11
7	antenna system ทำหน้าที่ในรับการพลังงานแสงซึ่งเป็นองค์ประกอบหนึ่งของระบบแสง	12
8	ขั้นตอนการสังเคราะห์วิตามินเอจากสารเบต้าแคโรทีน	15
9	ลักษณะของยีสต์ *R.glutinis*	17
10	แสดงน้ำหนักเซลล์แห้งทั้งหมดที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *R. glutinis* ในอาหารที่เตรียมด้วยวิธีน้ำร้อน และอาหารที่เตรียมด้วยวิธีการใช้กรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.2 นอร์มอล โดยค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.5 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที	35
11	แสดงปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *R. glutinis* ในอาหารที่เตรียมด้วยวิธีน้ำร้อน และอาหารที่เตรียมด้วยวิธีการใช้กรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.2 นอร์มอลโดยค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.5 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที	38
12	แสดงน้ำหนักเซลล์แห้งและความเข้มข้นสารแคโรทีนอยด์เมื่อเลี้ยงเชื้อ *R. glutinis* ในอาหารที่เป็นสารสกัดจากกากสับปะรดที่สกัดด้วยสารละลายกรดโดยใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารสกัดจากกากสับปะรดที่แตกต่างกัน	40
13	แสดงผลของค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารที่เป็นสารสกัดจากกากสับปะรดที่มีต่อน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณของสารแคโรทีนอยด์ที่ได้จากเชื้อยีสต์ *R. glutinis*	43

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ (ต่อ)

รูปที่		หน้า
14	แสดงผลของอุณหภูมิที่มีต่อน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณของสารแคโรทีนอยด์ที่ได้จากเชื้อยีสต์ *R. glutinis* ในอาหารที่เป็นสารสกัดจากกากสับปะรดจากกากย่อยสลายด้วยสารละลายกรด	45
15	ผลของเวลาที่มีต่อน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณของสารแคโรทีนอยด์ที่ได้จากเชื้อยีสต์ *R. glutinis* ในอาหารที่เป็นสารสกัดจากกากสับปะรดที่สกัดด้วยสารละลายกรด	48

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญที่มาของโครงงานพิเศษ

สารแคโรทีนอยด์ (Carotenoid) เป็นรงควัตถุที่พบแพร่หลายในธรรมชาติทั้งในพืชและสัตว์ โดยสารแคโรทีนอยด์เป็นรงควัตถุที่มีสีเหลือง ส้ม ชมพูและแดง โมเลกุลประกอบด้วยคาร์บอน 40 อะตอม มีหมู่ไอโซพรีน (isoprene group) 8 หมู่ มาเชื่อมต่อกันด้วยพันธะคู่ โดยโครงสร้างหลักประกอบด้วย acyclic $C_{40}H_{56}$carotene สมบัติการดูดกลืนแสงของสารแคโรทีนอยด์ขึ้นอยู่กับสายของ conjugated double bond ที่ทำหน้าที่เสมือนโครโมฟอร์ (chromophore) โดยคาร์บอนจะเชื่อมต่อกันเป็นสายยาว และที่ปลายข้างใดข้างหนึ่งหรือทั้งสองข้างจะมีอะตอมของคาร์บอนมาเกาะกันเป็นวงเรียกว่า วงแหวนไอโอโนน (ionone-ring) สารกลุ่มแคโรทีนอยด์แบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ แซนโทฟิลล์ (xanthophyll) เป็นสารแคโรทีนอยด์ที่โมเลกุลประกอบด้วย คาร์บอน ไฮโดรเจนและมีการเพิ่มอนุพันธ์ของออกซิเจนเป็นองค์ประกอบของแคโรทีนอยด์ด้วย ตัวอย่าง ได้แก่ เอคไคนี-โนน (echinenone), แคนทาแซนทีน (canthaxanthin) และแอสทาแซนทีน (astaxanthin) เป็นต้น และสารอีกกลุ่มหนึ่ง คือ แคโรทีน (carotene) เป็นโมเลกุลของ acyclic $C_{40}H_{56}$ carotene ที่ประกอบด้วยคาร์บอนและไฮโดรเจน ตัวอย่างเช่น เบต้าแคโรทีน (β-carotene)

ในปัจจุบันผู้บริโภคได้ให้ความสนใจเกี่ยวกับสารในกลุ่มแคโรทีนอยด์มากขึ้นโดยเฉพาะสารเบต้าแคโรทีน (β-carotene) เป็นสารสีธรรมชาติที่มีสีเหลืองหรือเหลืองส้ม สามารถพบได้ทั่วไปในธรรมชาติ หรือสร้างขึ้นจากสิ่งมีชีวิต ต่าง ๆ เช่น พืช ที่มีสีเขียวและสีเหลือง พบว่าพืชที่พบเบต้าแคโรทีนมากที่สุด คือ แครอท นอกจากนี้เบต้าแคโรทีนสามารถผลิตได้โดยเชื้อจุลินทรีย์หลายชนิด ในสาหร่าย *Dunaliella salina* (Phadwal และ Singh., 2003) พบว่าสามารถผลิตสารเบต้าแคโรทีนได้ เชื้อราที่สามารถผลิตแคโรทีนอยด์พบว่ามีปริมาณน้อย เช่น *Blakeslea trispora* (Mantzouridou และคณะ., 2002) เป็นเชื้อราที่สามารถผลิตเบต้าแคโรทีนในปริมาณที่สูงในระดับอุตสาหกรรม ส่วนสารแคโรทีนอยด์ที่ผลิตจากเชื้อยีตส์ พบในกลุ่ม *Rhodotorulaceae* เช่น *Rhodotorula glutinis* (Buzzini และ Martini.,1999; Bhosale และ Gadre., 2001; Tinoi และคณะ., 2005) พบว่าสามารถผลิตสารแคโรทีนอยด์ได้ในปริมาณสูง สามารถผลิตสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ได้ คือ β-carotene, torularhodin และ torulene ซึ่งขึ้นอยู่กับสภาวะของการทดลอง ยีตส์ *R. glutinis* จัดอยู่ใน Family *Rhodotorulaceae* ลักษณะของโคโลนีที่ปรากฏมีสีครีมถึงส้มหรือแดงเกี่ยวเนื่องจากสารแคโรทีนอยด์ที่เชื้อสร้างขึ้น การผลิตสารแคโรทีนอยด์นิยมผลิตจากยีสต์เนื่องจากสามารถ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพิ่มปริมาณในการผลิตได้ เช่น ผลิตในถังหมัก นอกจากนี้ยีตส์เป็นเซลล์เดี่ยวและมีอัตราในการเจริญเติบโตสูงและสามารถผลิตสารที่มีความจำเพาะต่อความต้องการได้ตามสภาวะการผลิต

แคโรทีนอยด์สามารถนำมาประยุกต์ใช้ได้อย่างกว้างขวาง เช่น อุตสาหกรรมอาหารโดยผสมลงในอาหาร (food colorant) เพื่อเพิ่มมูลค่าของผลิตภัณฑ์ให้สูงขึ้น ซึ่งสีแคโรทีนอยด์โดยส่วนใหญ่ใช้ผสมในเครื่องดื่มประเภทต่าง ๆ เค้ก และคุกกี้ เป็นต้น ส่วนในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์จะใช้ผสมในอาหารสัตว์ เช่น อาหารปลา อาหารสุกร รวมทั้งอาหารสัตว์ปีก ซึ่งทำให้เนื้อและผลิตภัณฑ์จากสัตว์เหล่านี้มีสีสันเป็นที่น่าสนใจต่อการบริโภค และการนำแคโรทีนอยด์มาใช้ในอุตสาหกรรมทางการแพทย์และเภสัชกรรม พบว่าแคโรทีนอยด์เป็นสารที่มีคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถยับยั้งการเกิดเนื้องอก ใช้เป็นสารต้านมะเร็ง นอกจากนี้ยังสามารถนำมาใช้ในการเคลือบเม็ดยาให้มีสีต่าง ๆ สำหรับในอุตสาหกรรมด้านความงามยังพบว่าแคโรทีนอยด์ถูกนำมาใช้เป็นสีผสมในลิปสติกแทนสีสังเคราะห์จากกระบวนการทางเคมีอีกด้วย (Mantzouridou และคณะ., 2002; Aksu และ Tuğba Eren., 2007)

สำหรับการผลิตสารแคโรทีนอยด์จากยีสต์ *R. glutinis* สภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตถือว่าเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการผลิต ได้แก่ สารอาหาร อุณหภูมิ ค่าพีเอช เป็นต้น เพราะการผลิตในสภาวะที่เหมาะสมแท้จริงเท่านั้นจะทำให้เชื้อจุลินทรีย์สามารถผลิตแคโรทีนอยด์ในปริมาณสูงที่สุด โดยเฉพาะสารอาหารที่เป็นแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่เชื้อสามารถนำไปใช้ในการเจริญเติบโตและเพื่อการผลิตสารแคโรทีนอยด์ จากการศึกษาพบว่าได้มีการศึกษาในการนำกากที่เหลือจากการแปรรูปทางเกษตรมาประยุกต์ใช้เป็นสารอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิตสารแคโรทีนอยด์ เช่น กากน้ำตาล (Molasses), กากอ้อย (sugar cane molasses), กากถั่วเขียว (mung bean waste) เป็นต้น

Buzzini และ Martini (1999) ได้ศึกษาการผลิตสารแคโรทีนอยด์จากเชื้อ *Rhodotorula glutinis* จากวัตถุดิบทางอุตสาหกรรมการเกษตร เช่น น้ำคั้นจากองุ่น (grape must), กลูโคสไซรัป (glucose syrup), กากน้ำตาลจากหัวบีท (sugar beet molasses), สารสกัดจากแป้งถั่วเหลือง (soybean flour extract) และสารสกัดจากแป้งข้าวโพด (maize flour extract) จากผลการทดลองพบว่าจะได้รับผลผลิตสูงสุดเมื่อใช้เชื้อ *R. glutinis* เพาะเลี้ยงเชื้อแบบ batch เป็นเวลา 120 ชั่วโมง ที่มีน้ำคั้นจากองุ่น (grape must) เป็นแหล่งอาหารเลี้ยงเชื้ออย่างเดียว โดยปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดที่ได้คือ 5.95 มิลลิกรัมต่อลิตรของอาหารเหลว หรือ 630 ไมโครกรัมต่อกรัมของน้ำหนักเซลล์แห้ง

Bhosale และ Gadre (2001) ได้ศึกษาการผลิตสารแคโรทีนอยด์ที่เป็นสารกลุ่ม β-carotene จากเชื้อ *R. glutinis* mutant 32 โดยใช้กากน้ำตาลอ้อยเป็นแหล่งอาหารและสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิต คือ กากน้ำตาลอ้อยปริมาณ 40 กรัมต่อลิตร ที่พีเอชเท่ากับ 6 จะได้ผลผลิตเป็นแคโรทีนอยด์ 14 มิลลิกรัมต่อลิตร และมี β-carotene 70 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พบว่าเมื่อใช้ถังหมักแบบใบกวนปริมาตร 14 ลิตร จะทำให้ปริมาณสาร torulene เพิ่มขึ้น 20 เปอร์-เซ็นต์ด้วย นอกจากนี้พบว่าการเติม yeast extract รวมกับอาหารจากกากน้ำตาลอ้อยจะเป็นการลดปริมาณของ torulene และจากผลการทดลองพบว่าเมื่อใช้กากน้ำตาลอ้อยร่วมกับ yeast extract จะทำให้ได้ผลผลิตแคโรทีนอยด์ทั้งหมด 97 และ183 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อทำการหมักแบบ double and triple – strength fed – batch ตามลำดับ และทำให้β-carotene เพิ่มขึ้น 30 เปอร์เซ็นต์ ในขณะเดียวกันจะทำให้ลดปริมาณของ torulene ลง 40 เปอร์เซ็นต์

Tinoi และคณะ (2005) ได้ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการผลิตสารแคโรทีนอยด์จากเชื้อ *R. glutinis* โดยใช้สารสกัดจากน้ำทิ้งของกากถั่วเขียวที่ได้จากการผลิตวุ้นเส้นเป็นแหล่งไนโตรเจนและสารสกัดจากมันเทศเป็นแหล่งคาร์บอน ซึ่งในการทดลองพบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตแคโรทีนอยด์ คือ ความเข้มข้นน้ำทิ้งของกากถั่วเขียว 23.63 กรัมต่อลิตร ความเข้มข้นสารสกัดจากมันเทศ 51.76 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.91 อุณหภูมิ 30.3 องศาเซลเซียส อัตราเร็วในการเขย่า 258 รอบต่อนาที และระยะเวลาในการบ่ม 94.78 ชั่วโมง จากผลการทดลองจะได้น้ำหนักเซลล์แห้ง 10.35 ± 0.13 กรัมต่อลิตร และปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด 3.48 ± 0.02 มิลลิกรัมต่อลิตร

ในปัจจุบันการเพาะปลูกสับปะรดซึ่งเป็นพืชที่มีความสำคัญในอุตสาหกรรมเกษตร พบว่าทั้งประเทศมีพื้นที่ปลูกสับปะรดประมาณ 552,456 ไร่ และให้ผลผลิตประมาณ 3,582 กิโลกรัมต่อไร่ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2545) และพบว่ามีโรงงานแปรรูปสับปะรดมากขึ้น จึงทำให้มีเศษเหลือจากการแปรรูปสับปะรด ได้แก่ ส่วนเปลือก แกนกลาง และเศษเนื้อสับปะรดปนกัน โดยจะพบว่าสับปะรดหนึ่งผลหนักประมาณ 1,754.4 กรัมต่อผล เมื่อแปรรูปในโรงงานจะมีเศษเหลือใช้จากกระบวนการแปรรูปสับปะรดประมาณ 1,228.1 กรัมต่อผล ในพื้นที่ 1 ไร่ จะได้เปลือกสับปะรดเฉลี่ย 2,700.55 กิโลกรัม หรือถ้าคิดเป็นปริมาณเปลือกทั้งประเทศประมาณ 2.8 ล้านตัน ส่วนของใบสับปะรดประมาณ 4.0 ล้านตัน และจุกสับปะรดประมาณ 0.370 ล้านตัน เศษเหลือและผลพลอยได้เหล่านี้ก่อให้เกิดการบูดเน่า และเป็นแหล่งเพาะแมลงและเชื้อโรค ซึ่งของเหลือใช้จากโรงงานแปร-รูปสับปะรดเหล่านี้เมื่อนำไปวิเคราะห์ทางเคมีพบว่า ยังมีคุณค่าทางอาหารอยู่บ้าง คือ ส่วนเปลือก มีโปรตีนประมาณร้อยละ 0.69, ไขมันร้อยละ 0.53, กากร้อยละ 2.27, เถ้าร้อยละ 1.01 และคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 15.0 ส่วนที่เป็นแกนกลางมีโปรตีนประมาณร้อยละ 1.62, ไขมันร้อยละ 1.32, กากร้อยละ 7.42, เถ้าร้อยละ 1.97 และคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 74.73 ซึ่งสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้โดยเฉพาะส่วนมากนิยมใช้เป็นอาหารสัตว์ (กรมปศุสัตว์ 2520) เพื่อให้เกิดประโยชน์มากยิ่งขึ้นทั้งในแง่เศรษฐกิจ และเป็นการลดต้นทุนการผลิต จึงเล็งเห็นว่าสามารถนำไปใช้ประโยชน์อื่นได้อีกเพื่อเป็นการช่วยลดมลภาวะของเสียที่เกิดจากการแปรรูปผลิตภัณฑ์จากโรงงาน และนำกากที่เหลือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทิ้งกลับมาใช้ให้เกิดประโยชน์ที่มีคุณค่ามากยิ่งขึ้น นั่นคือ การประยุกต์ใช้กากสับปะรดเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อในการผลิตสารแคโรทีนอยด์จากเชื้อยีสต์ *R. glutinis*

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

1. หาวิธีที่เหมาะสมในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมได้จากกากสับปะรด
2. เพื่อประยุกต์ใช้กากสับปะรดเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตสารแคโรทีนอยด์จากเชื้อ *R. glutinis*
3. หาสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตเพื่อผลิตสารแคโรทีนอยด์จากเชื้อ *R. glutinis*

1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

ศึกษาค้นคว้าวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อจากกากสับปะรด เพื่อนำไปประยุกต์ใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตสารแคโรทีนอยด์จากเชื้อ *R. glutinis*

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

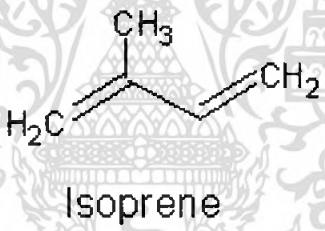
1. ได้วิธีที่เหมาะสมในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อจากกากสับปะรด
2. สามารถประยุกต์ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อจากกากสับปะรด เพื่อผลิตสารแคโรทีนอยด์จากเชื้อ *R. glutinis*
3. เพื่อเป็นการลดต้นทุนในด้านวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตสารแคโรทีนอยด์
4. เป็นการลดปัญหาสิ่งแวดล้อมเป็นพิษอันเนื่องมาจากของเหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและหลักการที่เกี่ยวข้อง

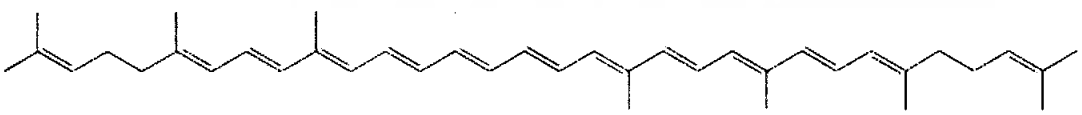
2.1 สารแคโรทีนอยด์ (Carotenoid)

สารแคโรทีนอยด์ (Carotenoid) เป็นรงควัตถุที่พบแพร่หลายในธรรมชาติทั้งในพืชและสัตว์ โดยสารแคโรทีนอยด์เป็นรงควัตถุที่มีสีเหลือง ส้ม ชมพูและแดง เป็นสารประกอบเตเตระเทอร์พีนส์ (tetraterpenes) ที่มีโมเลกุลประกอบด้วยคาร์บอน 40 อะตอม ประกอบด้วยหมู่ไอโซพรีน (isoprene group) ซึ่งประกอบด้วยคาร์บอน 5 อะตอม (รูปที่1) มาเชื่อมต่อกัน 8 หมู่ด้วยพันธะคู่ เกิดเป็น C_{40} เรียก ไลโคพีน (lycopene) โดยโครงสร้างหลักประกอบด้วย acyclic $C_{40}H_{56}$carotene (รูปที่ 2) และสมบัติการดูดกลืนแสงของสารแคโรทีนอยด์ขึ้นอยู่กับสายของ conjugated double bond ที่ทำหน้าที่เสมือนโครโมฟอร์ (chromophore)



รูปที่ 1 โครงสร้างของไอโซพรีน

ที่มา : www.food-info.net/uk/qa/qa-fi69.htm



รูปที่ 2 โครงสร้างของ acyclic $C_{40}H_{56}$carotene (lycopene)

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.1 ชนิดและโครงสร้างของสารแคโรทีนอยด์

แคโรทีนอยด์แบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ

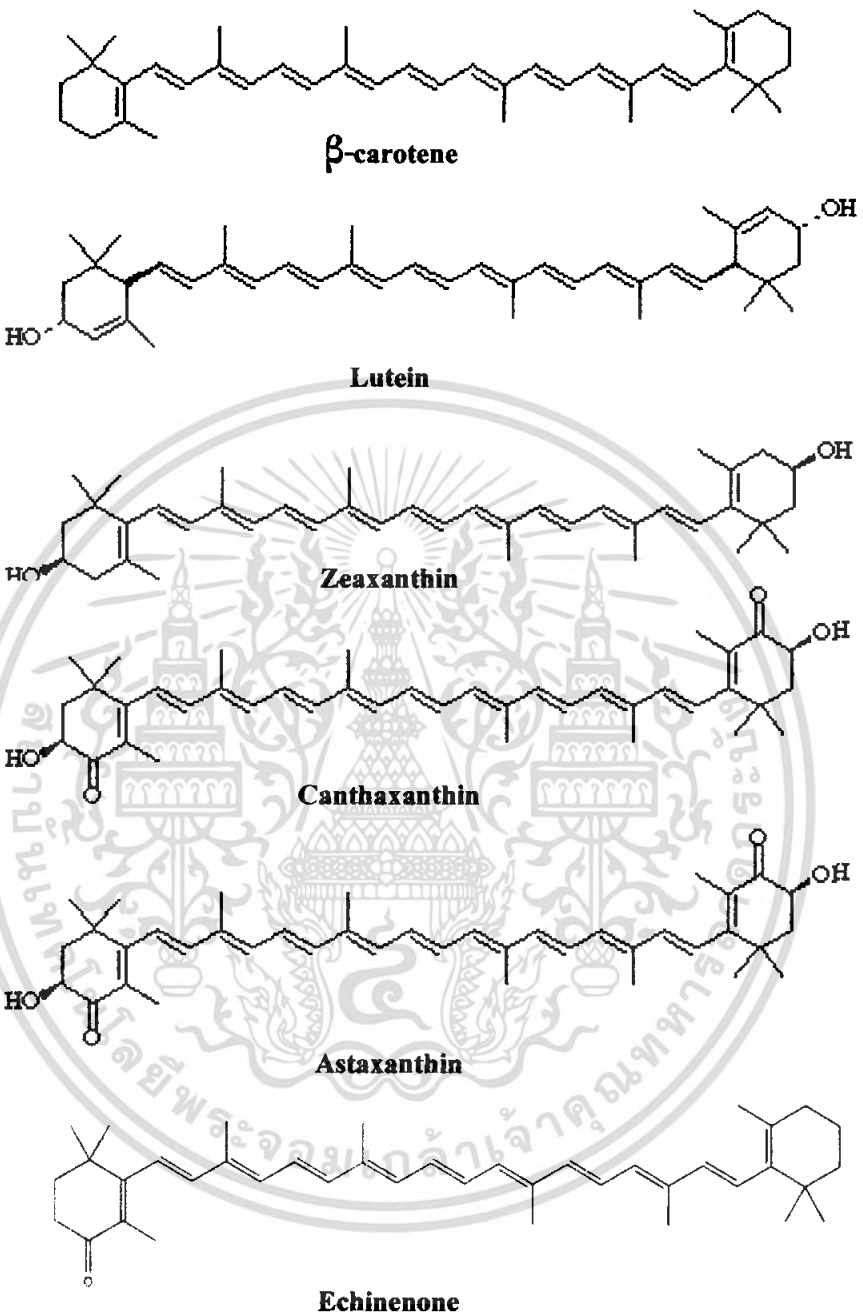
ก. แคโรทีน (carotene) เป็นโมเลกุลของ acyclic $C_{40}H_{56}$ carotene ที่ประกอบด้วยคาร์บอนและไฮโดรเจน โดยคาร์บอนจะเชื่อมต่อกันเป็นสายยาวด้วยพันธะเดี่ยวสลับพันธะคู่ และที่ปลายข้างใดข้างหนึ่งหรือทั้งสองข้างจะมีอะตอมของคาร์บอนมาเกาะกันเป็นวงเรียกว่า วงแหวนไอโอโนน (ionone ring) ตัวอย่างเช่น เบต้าแคโรทีน (β-carotene), แอลฟาแคโรทีน (α- carotene) และไลโคพีน (lycopene) เป็นต้น

ข. แซนโทฟิลล์ (xanthophyll) เป็นแคโรทีนอยด์ที่โมเลกุลประกอบด้วย คาร์บอน ไฮโดรเจน และมีการเพิ่มอนุพันธ์ของออกซิเจนเป็นองค์ประกอบของแคโรทีนอยด์ด้วย เช่น คีโตน (-C=O), ไฮดรอกซี (-OH), อัลดีไฮด์ (-CHO), คาร์บอกซี (-COOH) หรือ อีพอกไซด์ (epoxide group) ตัวอย่างได้แก่ ซีแซนทีน (zeaxanthin), เอคไคนีโนน (echinenone), แคนทาแซนทีน (canthaxanthin), ลูทีน (lutein) และแอสทาแซนทีน (astaxanthin) เป็นต้น

2.1.2 การสังเคราะห์สารแคโรทีนอยด์ (Britton และคณะ 2001)

สารแคโรทีนอยด์เป็นไขมันในกลุ่มเทอร์พีนอยด์ (terpenoids) ที่เป็นสารประกอบอะไซคลิค (acyclic) และไซคลิค (cyclic) ที่ไม่ละลายน้ำ โดยสร้างจากเทอร์พีนอยด์คาร์บอน 5 อะตอม ที่เชื่อมกับไอโซเพนทีนิลไดฟอสเฟต (isopentenyl diphosphate : IPP) แล้วจะเปลี่ยนจากไอโซเพนทีนิลไดฟอสเฟตไปเป็นเจอรานิลเจอรานิลไพโรฟอสเฟต (geranylgeranyl pyrophosphate : GGPP) ซึ่งประกอบด้วยคาร์บอน 20 อะตอม จากนั้นจะเกิดการรวมตัวกันของเจอรานิลเจอรานิลไพโรฟอสเฟต 2 โมเลกุล เกิดเป็นไฟโตอีน (phytoene) โดยเอนไซม์ไฟโตอีนซินเทส (phytoene synthase) ไฟโตอีนจะเกิดปฏิกิริยาดีไฮโดรจีเนชัน (dehydrogenation) ดึงเอาหมู่ไฮโดรเจนออกเกิดเป็นไฟโตฟลูอิน (phytofluene) , ซีตาแคโรทีน (zeta-carotene) และนิวโรสปอร์รีน (neurosporene) แล้วจึงเกิดเป็นไลโคพีน (lycopene) (รูปที่ 4) ไฟโตอีนจะถูกเปลี่ยนกลับเป็นไลโคพีน ซึ่งไลโคพีนจะเป็นสารตั้งต้น (precursor) ในกระบวนการสังเคราะห์แคโรทีนอยด์หลายชนิด (รูปที่ 5) เช่น การเกิดปฏิกิริยาไซไคลเซชัน (cyclization) ที่ปลายโมเลกุลเกิดเป็นโมเลกุลของแคโรทีน หลังจากที่เกิดปฏิกิริยาไซไคลเซชันโมเลกุลจะถูกเปลี่ยนเป็นสารแคโรทีนอยด์ในกลุ่มของแซนโทฟิลล์ ด้วยการเติมหมู่ออกซิเจนเพิ่มเข้าไปในโมเลกุล เช่น หมู่ไฮดรอกซี (hydroxy) หรือคีโตน (ketone) เป็นต้น

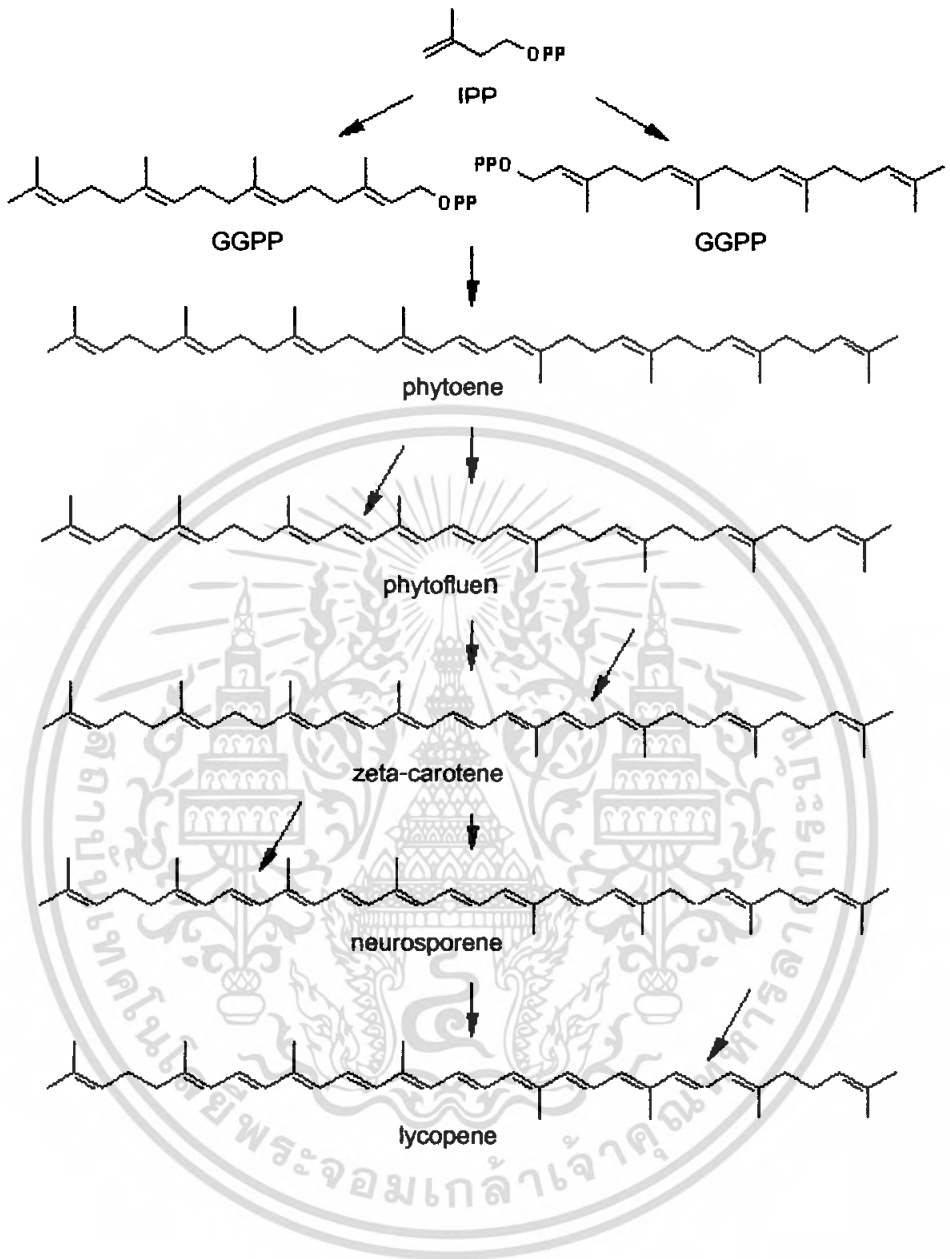
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3 โครงสร้างของเบต้าแคโรทีน (β-carotene), ลูทีน (lutein), ซีแซนทีน (zeaxanthin), แคนทาแซนทีน (canthaxanthin), แอสทาแซนทีน (astaxanthin) และเอคไคนีโนน (echinenone)

ที่มา : www.food-info.net/uk/caro/stru.htm

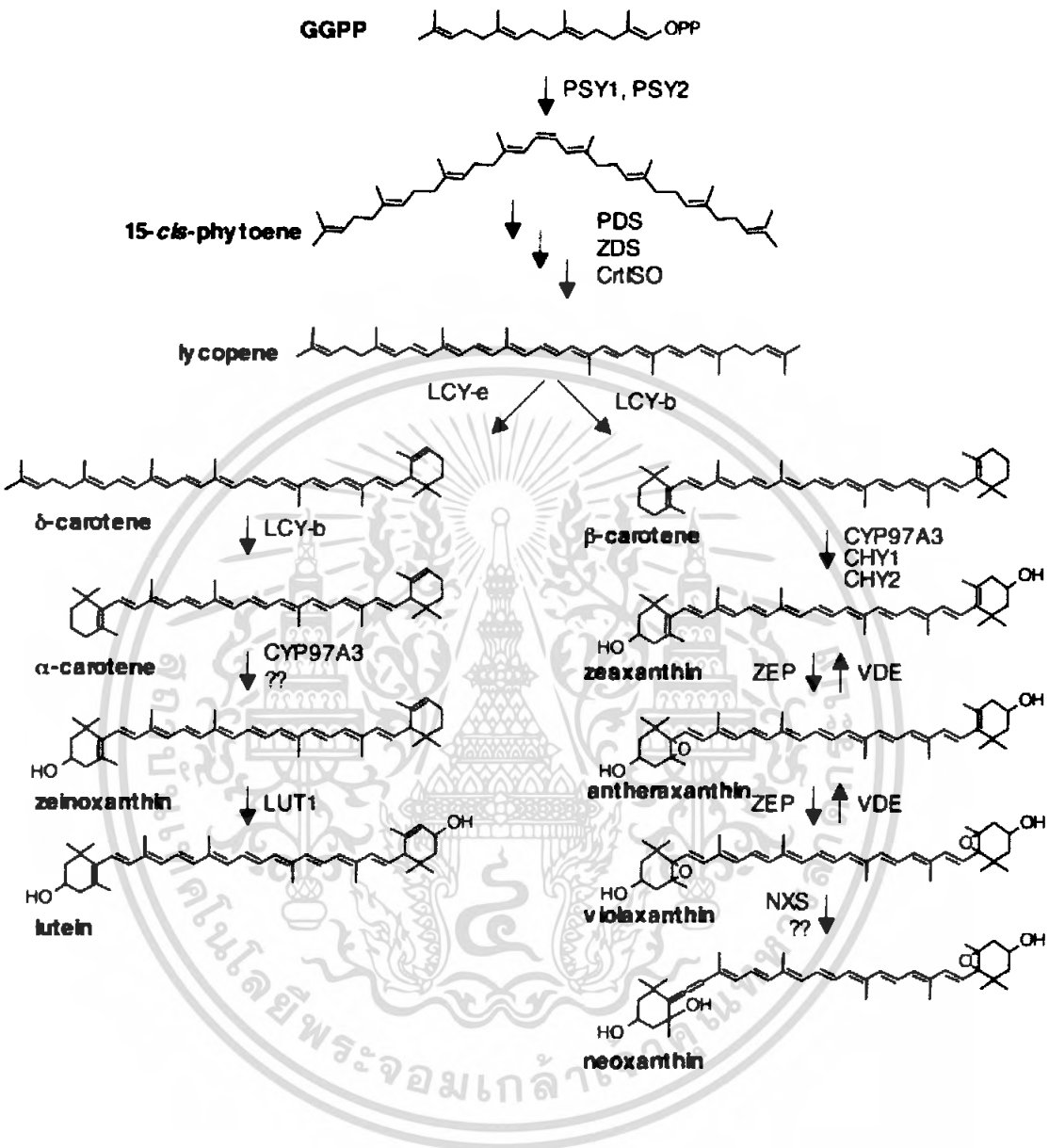
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4 ขั้นตอนการสังเคราะห์ไลโคพีน (lycopene)

ที่มา : http://dcb-carot.unibe.ch/Biosynth.htm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 5 ขั้นตอนการสังเคราะห์สารในกลุ่มแคโรทีนอยด์

ที่มา : www.biomedcentral.com/1471-2229/6/13/figure/F1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.3 คุณสมบัติของสารแคโรทีนอยด์

แคโรทีนอยด์เป็นรงควัตถุของสิ่งมีชีวิตที่พบในธรรมชาติแพร่หลายมากที่สุดทั้งในพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ แต่สัตว์ไม่สามารถสังเคราะห์สารแคโรทีนอยด์ได้เอง จึงต้องได้รับจากพืชหรือสัตว์ที่เป็นอาหารโดยตรง และสามารถเก็บเอาเม็ดสีนี้สะสมไว้ในเซลล์ ซึ่งจะติดอยู่ในพลาสติด (plastid) ภายในไซโตพลาสซึม (cytoplasm) ของเซลล์หรืออาจเปลี่ยนเป็นรงควัตถุรูปอื่นได้ แคโรทีนอยด์มีเป็นรงควัตถุที่มีความสำคัญต่อกระบวนการสังเคราะห์แสง โดยเป็นสารที่ช่วยในการดูดซับพลังงานรังสีที่รับและถ่ายทอดพลังงานรังสีที่รับไปยังคลอโรฟิลล์ นอกจากนี้ยังมีบทบาทต่อกระบวนการป้องกันแสงแก่แบคทีเรียและมนุษย์ในบางสภาวะแวดล้อม

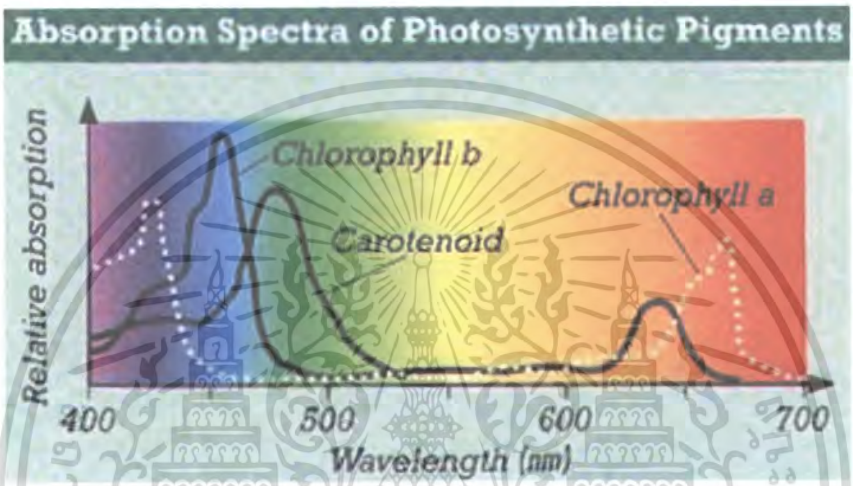
แคโรทีนอยด์เป็นสารประเภทไฮโดรคาร์บอนจึงสามารถละลายในไขมันและตัวทำละลายไขมัน (lipid solvent) เช่น อะซิโตน (acetone) แอลกอฮอล์ (alcohol) ไดเอทิลอีเทอร์ (diethylether) และคลอโรฟอร์ม (chloroform) นอกจากนี้ยังสามารถละลายได้ในตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว (nonpolar solvents) เช่น ปิโตรเลียมอีเทอร์ (petroleum ether) และเฮกเซน (hexane) ยกเว้นแคโรทีน ในพวกที่ไม่อิ่มตัว (unsaturated carotene) เช่น ไฟโตอีน (phytoene) ไฟโตฟลูอีน (phytofluene) และแกมมาแคโรทีน (δ-carotene) ซึ่งไม่สามารถละลายได้ในตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว ในการสกัดสารแคโรทีนอยด์ออกมาจากเนื้อเยื่อสิ่งมีชีวิตทำได้โดยใช้ตัวทำละลายที่มีขั้ว เช่น อะซิโตน แอลกอฮอล์ และสารละลายผสมทั้งสองชนิด สารแคโรทีนอยด์ทุกชนิดเป็นของแข็งที่อุณหภูมิห้องและทำให้เป็นผลึกได้โดยใช้ตัวทำละลายผสมที่เหมาะสม

แคโรทีนอยด์เป็นสารที่ละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ สำหรับสารในกลุ่มแคโรทีนละลายได้ดีในปิโตรเลียมอีเทอร์ ส่วนสารในกลุ่มแซนโทรฟิลล์จะละลายได้ดีในเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 90 แซนโทรฟิลล์จะละลายอยู่ในเมทานอล ส่วนแคโรทีนจะยังคงอยู่ในปิโตรเลียมอีเทอร์ สารแคโรทีนอยด์ที่พบทั่วไปส่วนใหญ่จะเป็นสารเบต้าแคโรทีน ซึ่งจะประกอบด้วยโมเลกุลของ acyclic $C_{40}H_{56}$ carotene ที่ประกอบด้วยคาร์บอนและไฮโดรเจน โดยคาร์บอนจะเชื่อมต่อกันเป็นสายยาว และที่ปลายข้างใดข้างหนึ่งหรือทั้งสองข้างจะมีอะตอมของคาร์บอนมาเกาะกันเป็นวงเรียกว่า วงแหวนไอโอโนน (ionone ring) มีน้ำหนักโมลเลกุล 536.9 ให้สีม่วงแดง แต่ถ้าอยู่ในสารละลายพวกไขมันจะให้สีเหลืองอ่อนถึงส้ม และถ้าอยู่ในสารละลายน้ำจะให้สีส้ม

แคโรทีนอยด์ที่สกัดออกมาแล้ว จะไวต่อแสงสว่าง ความร้อนและกรด โดยทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงไอโซเมอร์ (cis-trans isomerization) นอกจากนั้นยังไวต่อด่าง ซึ่งทำให้เกิดการออกซิไดซ์ภายในโมเลกุล (autoxidation) และไวต่อออกซิเจนในอากาศ จะทำให้เกิดการออกซิไดซ์บริเวณพันธะคู่ (oxidation bleaching) (กนกอร, 2543)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การดูดกลืนแสงของสารแคโรทีนอยด์จะอยู่ในช่วงที่มองเห็น (visible light) และความสามารถการดูดกลืนแสงจะเปลี่ยนไปตามชนิดของตัวทำละลาย โดยธรรมชาติจะดูดกลืนแสงในช่วงแสงสีน้ำเงินและเขียวได้ดีที่สุดดังภาพ และจะปล่อยแสงสีเหลืองและแดงออกมาจึงเห็นเป็นสีเหลือง ส้ม หรือ แดง ดังในรูปที่ 6



รูปที่ 6 ลักษณะการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆ ของคลอโรฟิลล์ a , b และแคโรทีนอยด์
ที่มา : 68.90.81.6/ScienceTAKS/Photosynthesis.htm

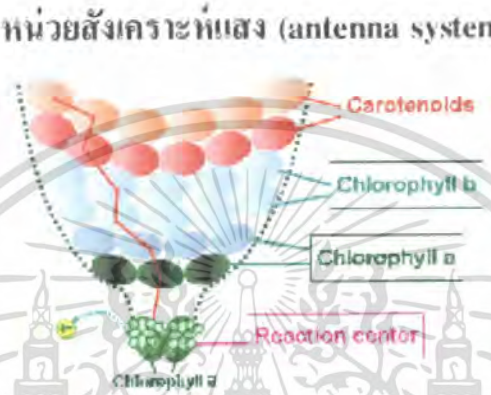
2.1.4 หน้าที่ของสารแคโรทีนอยด์

2.1.4.1 การสังเคราะห์ด้วยแสง (photosynthesis)

แคโรทีนอยด์เป็นเม็ดสีที่ทำหน้าที่รับพลังงานแสง แล้วส่งต่อไปยังคลอโรฟิลล์ เอ ในระบบ photosystem I ในแบคทีเรียแคโรทีนอยด์ คลอโรฟิลล์ และรงควัตถุอื่นๆ จะรวมตัวกันอยู่ในโครมาโตฟอร์ (chromatophore) บนเยื่อเซลล์ ส่วนในพืชสีเขียวและสาหร่ายจะเป็นส่วนหนึ่งของคลอโรพลาสต์โดยรวมกันเป็นแผ่น เรียก แผ่นไทลาคอยด์ (thylakoid disk) แคโรทีนอยด์จะทำหน้าที่ดูดกลืนแสงในช่วงที่คลอโรฟิลล์ไม่มีประสิทธิภาพ ได้แก่ ความยาวคลื่นสูงกว่า 680 นาโนเมตร ในระบบแสงจะมีหน่วยรับพลังงานแสง (antenna complex) ซึ่งประกอบด้วยรงควัตถุหลายชนิด ทั้งแคโรทีนอยด์ คลอโรฟิลล์ บี และคลอโรฟิลล์ เอ ที่ทำงานร่วมกันในการรับพลังงานแสงแล้วส่งพลังงานนั้นจะเข้าสู่ศูนย์กลางปฏิกิริยา (reaction center) ซึ่งคือโมเลกุลของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คลอโรฟิลล์ เอ ชนิดพิเศษชนิดหนึ่ง ซึ่งโมเลกุลของคลอโรฟิลล์ เอ นี้เมื่อถูกกระตุ้นด้วยคลื่นแสงที่พอเหมาะอิเล็กตรอนในโมเลกุลของโมเลกุลของคลอโรฟิลล์ เอ ชนิดพิเศษจะถูกกระตุ้นให้มีพลังงานสูงขึ้น พร้อมที่จะปลดปล่อยอิเล็กตรอนนี้ให้กับตัวรับอิเล็กตรอนดังภาพในรูปที่ 7



รูปที่ 7 antenna system ทำหน้าที่ในรับการพลังงานแสงซึ่งเป็นองค์ประกอบหนึ่งของระบบแสง
ที่มา : www.ipst.ac.th/.../mag-content21.html

2.1.4.2 การป้องกันแสง (photoprotection)

เซลล์ของพืชชั้นสูง แบคทีเรีย และรา จะถูกทำลายได้ง่ายขึ้นเมื่อมีส่วนที่ไวต่อแสง (photosensitizing agent) รวมอยู่ด้วย สารเหล่านี้ได้แก่ ฮีม และโปรตีนที่ประกอบด้วยฮีม เช่น ไซโตรโครม (cytochrome) โดยผ่านกระบวนการทำให้เกิดโมเลกุลของออกซิเจนถูกกระตุ้น (excited oxygen molecule) แคโรทีนอยด์จะทำหน้าที่เป็นตัวป้องกัน ซึ่งสมารถระงับโมเลกุลออกซิเจนที่ถูกกระตุ้นเหล่านี้ได้ จึงสามารถป้องกันอันตรายแก่เซลล์ที่เกิดจากความไวต่อแสง (photosensitization) ได้ ยังมีแคโรทีนอยด์บางตัว คือ แอลฟาแคโรทีน ที่มีความสามารถกระจายแสง เพื่อลดอันตรายและป้องกันการออกซิไดซ์โดยแสง (photo-oxidation) ได้ด้วย

2.1.4.3 การรับแสง (photoreception)

กระบวนการมองเห็นภาพขึ้นอยู่กับกลุ่มเม็ดสีที่ไวต่อแสง (photosensitive pigment) คือ โรดอปซิน (rhodopsin) ซึ่งอยู่ที่เรตินาของดวงตา โรดอปซินเป็นสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างออปซิน (opsin) กับ 11-ซิส-เรตินัลดีไฮด์ (11-cis-retinaldehyde) โดยสารประกอบทั้งสองเป็นไอโซเมอร์ของวิตามินเอ ซึ่งได้มาจากสารเบต้าแคโรทีน ถ้าขาดวิตามินเอ ปริมาณโรดอปซินในเรตินาจะลดลง ทำให้เกิดสภาวะมองไม่เห็นในที่มืดหรือสลัว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.4.4 การทำให้เกิดสีในเนื้อเยื่อต่างๆ

แคโรทีนอยด์สามารถทำให้เกิดสีขึ้นในเนื้อเยื่อต่างๆ ในสิ่งมีชีวิตทั้งที่สามารถสังเคราะห์สารแคโรทีนอยด์ขึ้นได้เองและที่สังเคราะห์ไม่ได้ สีที่เกิดขึ้นอาจเกิดจากแคโรทีนอยด์เพียงอย่างเดียว หรือเป็นสีจากสารประกอบเชิงซ้อนแคโรทีนอยด์กับรงควัตถุชนิดอื่น เมื่อสัตว์ได้รับสารแคโรทีนอยด์ปริมาณมากจะเกิดการสะสมที่ผิวหนัง เช่นปลาเทราท์ และปลาแซลมอล จะสะสมสารในกลุ่มลูทีนที่บริเวณผิวหนัง ไข่ ตับ และเนื้อ ส่วนไก่จะสะสมลูทีนไว้ใต้ผิวหนังจนทำให้มีสีเหลืองเข้ม

2.1.5 แหล่งของสารแคโรทีนอยด์

สารแคโรทีนอยด์ (Carotenoid) เป็นรงควัตถุที่พบแพร่หลายในธรรมชาติทั้งในพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ แต่สัตว์ไม่สามารถสังเคราะห์สารแคโรทีนอยด์ได้เอง จึงต้องได้รับจากพืชหรือสัตว์ที่เป็นอาหารโดยตรง

2.1.5.1 สัตว์

สารแคโรทีนอยด์ทำให้เกิดสีในสัตว์ได้ ยกเว้นสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เช่น ทำให้เนื้อปลามีสีสันสวยงาม ได้แก่ ปลาแซลมอล และปลาเทราท์ ทำให้ขนนกมีสีเหลือง และยังพบในแมลง สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังน้ำเค็มเกือบทุกชนิด เช่น กุ้ง กั้ง ปู เป็นต้น รวมถึงฟองน้ำในทะเลด้วย

2.1.5.2 พืช

ในคลอโรพลาสต์ของเนื้อเยื่อพืชที่มีสีเขียว จะประกอบไปด้วยสารแคโรทีนอยด์ชนิดต่างๆ เช่น เบต้าแคโรทีน ลูทีน ไวโอลาแซนทิน และนีโอแซนทิน เป็นต้น นอกจากนั้นยังพบเม็ดสีแคโรทีนอยด์ในโครโมพลาสต์ (chromoplast) ทำให้เกิดสีในดอกไม้และผลไม้ โดยจะพบมากในผลไม้ที่มีสีเหลืองและส้ม ตามปกติจะไม่ค่อยพบแคโรทีนอยด์ในรากพืช แต่พบว่ามีเบต้าแคโรทีน และแอลฟาแคโรทีนในปริมาณมากในหัวแครอท

2.1.5.3 แบคทีเรีย

แคโรทีนอยด์ที่พบส่วนใหญ่จะเป็นสารในกลุ่มแซนโทฟิลล์มากกว่าสารในกลุ่มแคโรทีน โดยจะพบอยู่ที่ผนังเซลล์ของแบคทีเรียที่ไม่สังเคราะห์แสงบางสายพันธุ์ และพบมากในแบคทีเรียสังเคราะห์แสงเนื่องมาจากแคโรทีนอยด์มีสารสำคัญในกระบวนการสังเคราะห์แสง เช่น *Corynebacterium* sp. พบว่าสามารถผลิตสารแคนทาแซนทินได้ *Altermonas* sp. และ *Flexibacter* sp. ก็พบว่าสามารถผลิตสารซีแซนทินได้ (Ausich, 1997)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.5.4 รา

ราส่วนใหญ่จะไม่สังเคราะห์สารแคโรทีนอยด์ ยกเว้นในราชั้นต่ำ (lower fungi) โดยจะสังเคราะห์สารแคโรทีนอยด์เกิดขึ้นที่ไมซีเลียม เช่น *Blakeslea trispora*, *Phycomyces blakesleeanus* เป็นต้น

2.1.5.5 ยีสต์

พบในยีสต์สีแดงที่จัดอยู่ในกลุ่ม basidiomycetous ได้แก่ ยีสต์ในสกุล *Rhodotorula* ซึ่งสามารถผลิตสารแคทีนอยด์ได้หลายชนิด ได้แก่ โทลูลาร์โฮดิน, เบต้าแคโรทีน และลูทีน ส่วนยีสต์อีกสกุล ได้แก่ *Phaffia* สามารถผลิตสารในกลุ่มแคโรทีนอยด์พวกแอสตาแซนทินซึ่งขึ้นอยู่กับสภาวะที่เชื้อเจริญ โดยจะพบแคโรทีนอยด์ชนิดต่างๆ ได้ภายในเซลล์ของยีสต์

2.1.5.6 สาหร่าย

พบว่าทุกดิวิชันของสาหร่ายจะสร้างสารเบต้าแคโรทีน ยกเว้นในสาหร่ายไฟลัม Cryptophyta ที่จะสร้างแอลฟ่าแคโรทีน สำหรับสารในกลุ่มแซนโทฟิลล์นั้นจะแตกต่างกันออกไปในแต่ละดิวิชัน สาหร่ายที่พบว่าสามารถผลิตสารแคโรทีนอยด์ได้ในปริมาณสูงได้แก่ *Dunaliella salina*

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (blue-green algae) หรือไซยาโนแบคทีเรีย (cyanobacteria) จะสร้างสารเบต้าแคโรทีน และอนุพันธุ์ไฮดรอกซี (hydroxy)และคีโตน (keton) ได้ นอกจากนี้พบว่าหลายสายพันธุ์สามารถผลิตมิกโซแซนโธฟิลล์ (myxoxanthophyll) ได้ด้วย เช่น *Aphanocapsa, Microcystis aeruginosa* และ *Synechosystis* sp. (กนกอร, 2543; Ivanov และคณะ, 2000)

2.1.6 ประโยชน์ของสารแคโรทีนอยด์

2.1.6.1 อุตสาหกรรมอาหาร

ใช้เป็นสีผสมอาหาร (food colorant) โดยเฉพาะสารเบต้าแคโรทีน จะใช้ผสมในอาหารประเภทไขมันต่างๆ เช่น เนยแข็ง เนยเหลว มาร์การีน และผลิตภัณฑ์มักกะโรนี เป็นต้น นอกจากนี้ยังใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องดื่ม เช่น น้ำส้ม เป็นต้น รวมไปถึงอุตสาหกรรมเบอเกอรี่ เช่น ขนมปัง คุกกี้ เป็นต้น และผลิตภัณฑ์อื่นๆ เช่น ลูกอม เป็นต้น

2.1.6.2 อุตสาหกรรมอาหารสัตว์

การใช้เป็นอาหารสัตว์จะใช้ชีวมวลโดยตรงเติมลงไปเป็นส่วนผสมของอาหาร ไม่จำเป็นต้องนำไปสกัดแยกแคโรทีนอยด์แต่ละชนิดออกมา ซึ่งส่วนมากจะนำไปเป็นส่วนผสมของอาหารปลาหลายชนิด เช่น ปลาแซลมอล ปลาเทราท์ รวมไปถึงสัตว์จำพวก กุ้ง กั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

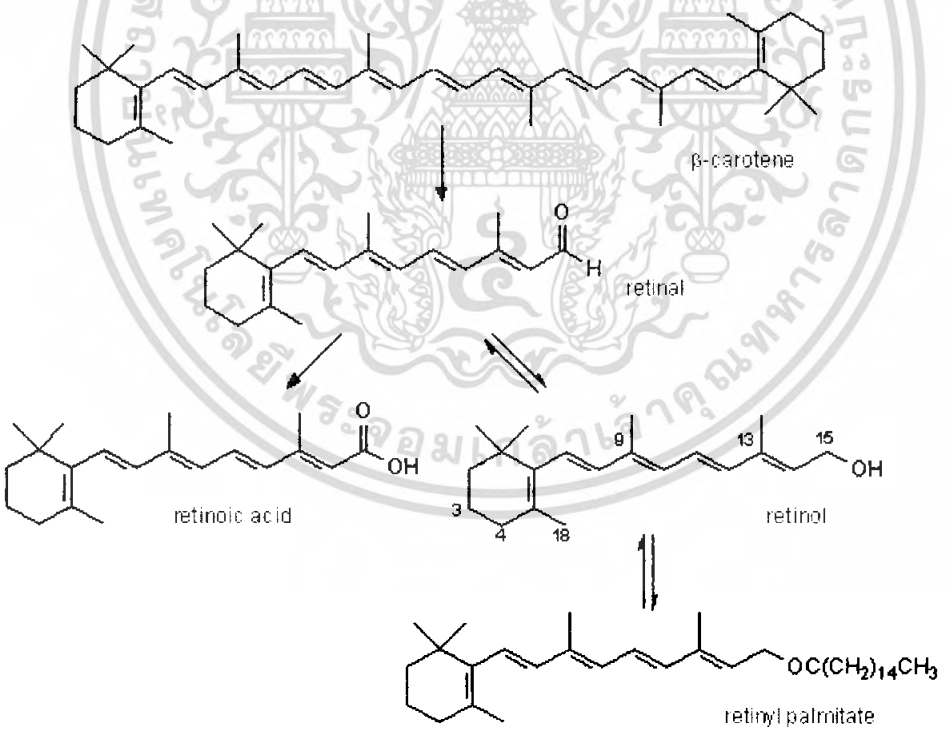
และปูต่างๆ นอกจากนี้ยังนำไปเป็นส่วนประกอบของอาหารสุกร รวมไปถึงอาหารสำหรับสัตว์ปีกอีกด้วย ตามธรรมชาติสัตว์เหล่านี้จะได้รับรงควัตถุเหล่านี้จากอาหารที่มีอยู่จำกัด ทำให้สีของเนื้อผลิตภัณฑ์มีสีสันจืดจาง ไม่สวยงามและขายได้ในราคาต่ำ ดังนั้นสารแคโรทีนอยด์ที่เติมลงไปในอาหารเพาะเลี้ยง จะช่วยทำให้เนื้อผลิตภัณฑ์ ไข่ มีสีสันสวยงาม ทำให้มีราคาสูงขึ้นและเป็นที่ต้องการในท้องตลาดจึงเป็นที่นิยมของผู้เพาะเลี้ยง

2.1.6.3 อุตสาหกรรมด้านความงาม

พบว่าแคโรทีนอยด์ถูกนำมาใช้เป็นสีผสมในลิปสติกแทนสีสังเคราะห์จากกระบวนการทางเคมี

2.1.6.4 เป็นสารตั้งต้นวิตามินเอ (Provitamin A)

สารในกลุ่มแคโรทีนอยด์บางชนิด เช่น เบต้าแคโรทีน, คริปโตแซนทีน และลูทีน มีคุณสมบัติเป็นสารตั้งต้นของวิตามินเอ (Provitamin A) (รูปที่ 8) โดยสารเบต้าแคโรทีนเป็นสารตั้งต้นวิตามินเอที่สำคัญที่สุด



รูปที่ 8 ขั้นตอนการสังเคราะห์วิตามินเอจากสารเบต้าแคโรทีน

ที่มา : www.lipidlibrary.co.uk/Lipids/isoprene/index.htm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.6.5 สารต่อต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant)

สารแคโรทีนอยด์ ได้แก่ เบต้าแคโรทีน แอสตาแซนทีน ไลโคปีน เป็นต้น มีคุณสมบัติเป็นสารต่อต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ซึ่งเป็นสารที่เกิดจากปฏิกิริยาย้อนกลับของออกซิเจน ที่เป็นของเสียจากการที่ร่างกายเปลี่ยนสารอาหารให้เป็นพลังงาน โดยอนุมูลอิสระนี้เป็นสารตั้งต้นที่ทำให้เกิดกระบวนการทำลายเซลล์ต่างๆ ของร่างกาย อันเป็นสาเหตุความเสื่อมของร่างกายที่ก่อให้เกิดโรคร้ายต่าง ๆ ที่เกิดจากสภาพเซลล์เสื่อม เช่น โรคหลอดเลือด หัวใจ และโรคมะเร็ง เป็นต้น โดยสารแคโรทีนอยด์จะมีฤทธิ์ยับยั้งการเกิดเนื้องอก และใช้เป็นสารป้องกันการเกิดโรคมะเร็งได้ นอกจากนี้ยังสามารถลดการขยายตัวของก้อนมะเร็งในปอดและกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ในการต้านมะเร็ง

2.1.6.6 ทางการแพทย์และเภสัชกรรม

เนื่องจากที่สารแคโรทีนอยด์มีคุณสมบัติเป็นสารตั้งต้นวิตามินเอได้ จึงสามารถนำมาใช้ในการปรับสภาพและป้องกันการขาดวิตามินเอได้ นอกจากนี้ยังใช้เป็นสารป้องกันแสงเพื่อปกป้องผิวหนังจากอาการคัน ไหม้ และเป็นผื่น ที่เกิดจากการรับแสงแดดของคนที่เป็นโรคไวต่อแสง (photosensitive diseases) ในอุตสาหกรรมการผลิตยาจะใช้สารแคโรทีนอยด์ เช่น เบต้าแคโรทีน และแคนทาแซนทีน เป็นสีผสมในน้ำตาลที่เคลือบเม็ดยา และผสมลงในเจลาตินที่ใช้ทำแคปซูล

2.2 ยีสต์ *Rhodotorula glutinis*

2.2.1 ลักษณะทั่วไปของเชื้อ *Rhodotorula glutinis*

Rhodotorula glutinis เป็นยีสต์ที่ถูกจัดอยู่ในกลุ่ม basidiomycetous โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการสร้างสี รวมไปถึงคุณสมบัติทางเมทาบอลิกบางประการ เช่น การใช้อินโนซิทอล (inositol) เป็นต้น ในการจัดจำแนก

R. glutinis เป็นยีสต์สีแดงพบที่ทั่วไปในดินและน้ำ มีการดำรงชีวิตเป็นแบบเซลล์เดี่ยว มีรูปร่างหลายแบบ คือ เซลล์มีรูปร่างกลม (spheroidal) รูปไข่ (ovoidaL) หรือทรงยาว (elongate) จัดเป็นพวกที่ต้องการอากาศในการเจริญ (aerobe) มีการสืบพันธุ์โดยการแตกหน่อหลายทิศทาง (multilateral budding) สร้างเส้นใยที่แท้จริง (true mycelium) แต่ไม่มีการสร้างแอสโค-สปอร์ (ascospores) บางครั้งพบว่ามีการสร้างแคปซูล (capsule) จึงทำให้ผิวหน้าโคโลนีมีลักษณะเป็นเมือก และโคโลนีที่ปรากฏจะมีสีส้มจนถึงแดง มีเมือก เนื่องมาจากสารแคโรทีนอยด์ที่เชื้อสร้างขึ้นภายในเซลล์ดังที่แสดงในรูปที่ 9 พบว่ายีสต์ชนิดนี้สามารถสร้างสารในกลุ่มแคโรทีนอยด์ได้หลายชนิด ได้แก่ เบต้าแคทีน (β-carotene) โทรูลีน (torulene) และโทรูลาร์โฮดิน (torularhodin)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ซึ่งจัดเป็นลักษณะเด่นของยีสต์ชนิดนี้ โดยจากการศึกษาพบว่าเชื้อชนิดนี้สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่ช่วงพีเอชเท่ากับ 6 และมีน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน (Aksu และ Tuğba Eren., 2005) *R. glutinis* เมื่อนำมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ malt agar จะไม่สามารถใช้อินโน-ซิทอล (inositol) รวมไปถึงอาหารที่มีส่วนประกอบมาจากแป้งเป็นแหล่งคาร์บอนได้ และขาดคุณสมบัติหมัก (non-fermenting)

รูปที่ 9 ลักษณะของยีสต์ *R. glutinis*

ที่มา : www.vscht.cz/kch/galerie/kvasinky.htm

2.2.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างสารแคโรทีนอยด์จากเชื้อ *Rhodotorula glutinis*

ในการเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิตสารแคโรทีนอยด์นั้นปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเจริญเติบโตของเชื้อยีสต์และการผลิตสารแคโรทีนอยด์ ได้แก่

2.2.2.1 แหล่งคาร์บอน

แหล่งคาร์บอนจำเป็นอย่างยิ่งในการสังเคราะห์ตัวเซลล์ยีสต์ ส่วนใหญ่คาร์บอนใช้เป็นแหล่งพลังงานของเซลล์ แหล่งคาร์บอนมีหลายประเภท เช่น คาร์โบไฮเดรต ไขมัน แอลกอฮอล์ เป็นต้น ตัวอย่างกลุ่มเคมีบริสุทธิ์ (chemical refined carbon sources) เช่น น้ำตาล แป้ง เป็นต้น นอกจากนี้จากการศึกษาพบว่าวัตถุดิบทางธรรมชาติที่ให้คาร์โบไฮเดรต ได้แก่ ข้าวโอ๊ต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

83757

(oats) ข้าวบาร์เล่ย์ (barley) ข้าวโพด (corn) ข้าว (rice) น้ำตาลจากกากอ้อย (sugar cane molasses) และ หางนมจากชีส (cheese whey) (Shin และ Hang., 1996; Buzzini และ Martini., 2000; Bhosale และ Gadre., 2001) พบว่าการควบคุมการใช้คาร์บอนของยีสต์ *R. glutinis* จะมีผลต่อการสร้างสารแคโรทีนอยด์ในกระบวนการหมัก ส่วนมากการเติมน้ำตาลกลูโคสเข้าไปจะทำให้ยีสต์มีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุด เนื่องจากเชื้อสามารถนำกลูโคสไปใช้ได้ทันที ซึ่งแหล่งคาร์บอนที่จำกัดจะเป็นตัวกำหนดอัตราการเจริญของเชื้อ

2.2.2.2 แหล่งไนโตรเจน

เซลล์ของจุลินทรีย์นั้น มีความต้องการแหล่งไนโตรเจนในรูปสารอินทรีย์และอนินทรีย์ เพื่อการสังเคราะห์กรดอะมิโน พิวรีน ไพริมิดีน แหล่งไนโตรเจนที่ใช้กันมาก คือ แอมโมเนียหรือเกลือแอมโมเนียและไนเตรต การเจริญเติบโตของเซลล์จะเร็วขึ้นหากใช้แหล่งไนโตรเจนอินทรีย์ซึ่งอาจเป็นสารอินทรีย์เดี่ยวๆ เช่น กรดอะมิโน สารประกอบไนโตรเจนอินทรีย์ที่เหมาะสมใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อมีราคาค่อนข้างสูง ส่วนแหล่งที่ราคาถูกจะเป็นถั่วเหลือง ถั่วลิสง ข้าวมอลล์ สารสกัดยีสต์ หางนม เป็นต้น

2.2.2.3 ปัจจัยทางกายภาพ (Aksu และ Tuğba Eren, 2007)

1 ค่าความเป็นกรดด่าง (pH)

ค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อไม่ได้เพียงแต่ส่งผลในด้านการสังเคราะห์สารเท่านั้น แต่จะส่งผลต่ออัตราการเจริญของเชื้อด้วย โดยอาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคสและแอมโมเนียมซัลเฟตที่มีค่าความเป็นกรดเบสเริ่มต้นเท่ากับ 6 จะมีผลทำให้การเจริญและอัตราการผลิตแคโรทีนอยด์นอยด์ของเชื้อมากที่สุด ซึ่งเปลี่ยนแปลงของผลิตภัณฑ์แคโรทีนอยด์ที่ผลิตได้นั้นจะขึ้นอยู่กับค่าพีเอช และความเข้มข้นเซลล์สูงสุดควบคู่กันไป

2 อุณหภูมิ

อุณหภูมิเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อการเจริญของเซลล์และการสร้างผลิตภัณฑ์ พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการผลิตสารแคโรทีนอยด์มากที่สุดคือ 30 องศาเซลเซียส และการเจริญของเชื้อรวมไปถึงการผลิตสารแคโรทีนอยด์จะลดลงทันทีเมื่ออุณหภูมิเกิน 30 องศาเซลเซียส เนื่องจากระบบเอนไซม์ของจุลินทรีย์เกิดการเสียสภาพเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น เพราะฉะนั้นอุณหภูมิของอาหารเลี้ยงเชื้อถือว่ามีผลอย่างมากต่อการเจริญเติบโตและการผลิตสารแคโรทีนอยด์ของยีตส์ *R. glutinis*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3 อัตราการให้อากาศ

R. glutinis จัดเป็นยีสต์ที่ต้องการอากาศในการเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ จากการศึกษาพบว่าในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอัตราการให้อากาศเท่ากับ 2.4 ปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาที จะทำให้มีการเจริญและการผลิตสารแคโรทีนอยด์มากกว่าในอาหารที่ไม่มีการให้อากาศ เพราะฉะนั้นการให้อากาศจึงเป็นประโยชน์ต่อการเจริญของเชื้อและช่วยปรับปรุงลักษณะการถ่ายโอนมวลสารของจุลินทรีย์ระหว่างสารตั้งต้น ผลิตภัณฑ์ และออกซิเจน

4 การเจริญและการสร้างสารแคโรทีนอยด์

จากการศึกษาจลนพลศาสตร์การเจริญและการผลิตสารแคโรทีนอยด์ของเชื้อพบว่า ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบไปด้วยน้ำตาลกลูโคสแหล่งคาร์บอน เชื้อจะจะเริ่มมีการสังเคราะห์สารแคโรทีนอยด์ในช่วงระยะการเจริญแบบทวีคูณจนกระทั่งสิ้นสุดระยะการเจริญคงที่ ซึ่งกล่าวได้ว่าการผลิตสารแคโรทีนอยด์จะเกิดควบคู่ไปกับการเจริญของเซลล์

2.2.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสารแคโรทีนอยด์จากเชื้อ *Rhodotorula glutinis*

นักวิจัยหลายท่านได้มีการศึกษาการผลิตสารแคโรทีนอยด์จากเชื้อ *R. glutinis* อย่างกว้างขวางเนื่องจากยีสต์ชนิดนี้สามารถกำหนดสภาวะให้ผลิตสารผลิตภัณฑ์ตามที่ต้องการได้ รวมทั้งยังศึกษาความเป็นไปได้ที่จะมีประยุกต์ใช้กากที่เหลือจากการแปรรูปทางการเกษตรมาประยุกต์เป็นอาหารเพื่อเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิตสารแคโรทีนอยด์จากเชื้อ *R. glutinis* เพื่อเป็นการลดต้นทุนด้านวัตถุดิบที่ใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อในการผลิต โดยทดแทนสารตั้งต้นสังเคราะห์สำเร็จรูปที่มีราคาแพง รวมไปถึงช่วยลดปัญหามลภาวะที่มาจากกากที่เหลือทิ้งจากการแปรรูปทางการเกษตร โดย Frengova และคณะ (1994) ได้ศึกษาการสังเคราะห์สารแคโรทีนอยด์จากยีสต์ *R. glutinis* โดยใช้หางนม (Whey) เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งทำการเพาะเลี้ยงเชื้อในถังหมักขนาด 15 ลิตร ที่มีอัตราการให้อากาศ 0.5 ลิตรต่อนาที และมีอัตราการกวนเท่ากับ 220 รอบต่อนาที เป็นเวลา 6 วัน พบว่าจะได้รับผลิตภัณฑ์แคโรทีนอยด์ทั้งหมด 268 ไมโครกรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง โดยการผลิตสารแคโรทีนอยด์นั้นจะเป็นไปในทิศทางเดียวหรือเกิดควบคู่ไปกับการเจริญของเซลล์ และจะมีผลิตภัณฑ์มากที่สุดเมื่อเข้าสู่ระยะการเจริญคงที่ (Stationary phase) ต่อมา Buzzini และ Martini (1999) ได้ ศึกษาการผลิตสารแคโรทีนอยด์จากเชื้อ *R. glutinis* จากวัตถุดิบทางการเกษตร เช่น น้ำคั้นจากองุ่น (grape must) กลูโคสไซรัป (glucose syrup) กากน้ำตาลจากหัวบีท (Sugar beet molasses) สารสกัดจากแป้งถั่วเหลือง (soybean flour extract) และสารสกัดจากแป้งข้าวโพด (maize flour extract) จากผลการทดลองพบว่าจะได้รับผลผลิตสูงสุดเมื่อใช้เชื้อ *R. glutinis* เพาะเลี้ยงเชื้อแบบ batch เป็นเวลา 120 ชั่วโมง ที่มี grape must เป็นแหล่งอาหารเลี้ยงเชื้ออย่างเดียว โดยปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ได้ คือ 5.95 มิลลิกรัมต่อลิตรของอาหารเหลว หรือ 630 ไมโครกรัมต่อกรัมของน้ำหนักเซลล์แห้ง

นอกจากนี้ Bhosale และ Gadre (2001) ได้ศึกษาการผลิตสารเบต้าแคโรทีน (β-caroten) จากสายพันธุ์กลายของเชื้อ *R. glutinis* โดยจากการศึกษาพบว่าเชื้อ *R. glutinis* สายพันธุ์ NCIM 3353 สามารถผลิตสารแคโรทีนอยด์ได้ 2.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ภายใน 72 ชั่วโมง โดยมีประกอบไปด้วยสารเบต้าแคโรทีน 14 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด แต่เมื่อทำการปรับปรุงเชื้อ *R. glutinis* สายพันธ์ NCIM 3353 ให้เป็นสายพันธุ์กลายโดยใช้รังสีอัลตร้า-ไวโอเลต เชื้อจะสามารถผลิตสารเบต้าแคโรทีนได้มากกว่าสายพันธุ์ปกติ โดยสามารถผลิตสารเบต้าแคโรทีนออกมาได้ถึง 82 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 36 ชั่วโมง ในปีเดียวกัน Bhosale และ Gadre (2001) ได้ศึกษาการผลิตสารเบต้าแคโรทีน (β-caroten) จากเชื้อ *R. glutinis* mutant 32 โดยใช้กากน้ำตาลอ้อยเป็นแหล่งอาหารและสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิต คือ กากน้ำตาลอ้อยปริมาณ 40 กรัมต่อลิตร ที่พีเอช 6 จะได้ผลผลิตเป็นแคโรทีนอยด์ 14 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีปริมาณเบต้าแคโรทีนเท่ากับ 70 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด และเมื่อไม่นานมานี้ Aksu และ Tuğba Eren (2007) ได้ศึกษาการผลิตสารแคโรทีนอยด์ (Carotenoids) จากเชื้อ *R. glutinis* โดยใช้กากน้ำตาลซูโครสและหางนมเป็นแหล่งคาร์บอน ซึ่งจากการศึกษาพบว่ากระบวนการหมักแบบเบ็ดเสร็จ (batch fermentation) พบว่าการเพิ่มขึ้นของความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสและซูโครสจากกากน้ำตาล (Molasses sucrose) จะเป็นตัวกำหนดการเจริญเติบโตของยีสต์และปริมาณการผลิตสารแคโรทีนอยด์ที่ผลิตได้ โดยที่ความเข้มข้นของน้ำตาลแลกโตสในหางนม (Whey lactose sugars) จะไม่มีส่งผลดังกล่าว การใช้กากน้ำตาลซูโครสจะทำให้ได้ปริมาณความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์สูงสุดเท่ากับ 125.0 มิลลิกรัมทั้งหมดต่อลิตรของน้ำหมัก เมื่อใช้ความเข้มข้นซูโครสจากกากน้ำตาล (Molasses sucrose) ที่มีความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอน ขณะที่ถ้าใช้น้ำตาลแลกโตสในหางนม (Whey lactose) เป็นแหล่งคาร์บอนจะได้ผลผลิตแคโรทีนอยด์ที่มากที่สุดบนความเข้มข้นของเซลล์สูงสุดเพียงแค่ 35.5 มิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักเซลล์แห้ง เมื่อใช้น้ำตาลแลกโตสที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 13.2 กรัมต่อลิตร

จากการศึกษาของ Tinoi และคณะ (2005) พบว่าสภาวะที่เหมาะสมของการผลิตสารแคโรทีนอยด์จากเชื้อ *R. glutinis* โดยใช้สารสกัดจากน้ำทิ้งของกากถั่วเขียวที่ได้จากการผลิตวุ้นเส้นเป็นแหล่งไนโตรเจนและสารสกัดจากมันเทศเป็นแหล่งคาร์บอน ซึ่งในการทดลองพบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตแคโรทีนอยด์ คือ ความเข้มข้นน้ำทิ้งของกากถั่วเขียว 23.63 กรัมต่อลิตร ความเข้มข้นสารสกัดจากมันเทศ 51.76 กรัมต่อลิตร พีเอช 5.91 อุณหภูมิ 30.3 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อัตราเร็วในการเขย่า 258 รอบต่อนาที และระยะเวลาในการบ่ม 94.78 ชั่วโมง จากผลการทดลองจะได้น้ำหนักเซลล์แห้ง 10.35 ± 0.13 กรัมต่อลิตร และปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด 3.48 ± 0.02 มิลลิกรัมต่อลิตร

นอกจากนี้ งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสารแคโรทีนอยด์จากเชื้อ *Rhodotorula glutinis* ได้ศึกษาการเพิ่มความสามารถในการผลิตสารแคโรทีนอยด์ โดยการเติมสารบางชนิดลงไปเพื่อเป็นตัวกระตุ้นให้เชื้อมีการผลิตสารแคโรทีนอยด์มากขึ้น เช่น สารซักฟอก (detergent) น้ำมัน (oil) สารเพิ่มแรงตึงผิว (surfactants) พบว่าตัวกระตุ้นที่มีผลช่วยกระตุ้นให้ยีสต์มีการผลิตแคโรทีนอยด์มากขึ้น คือ น้ำมันจากเมล็ดฝ้าย (Cotton seed oil) ความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยปริมาตร โดยจะใช้น้ำมันจากเมล็ดฝ้าย (Cotton seed oil) เติมลงไปในน้ำตาลกลูโคสที่มีความเข้มข้น 5 กรัมต่อลิตร

ความสามารถของยีตส์ *R. glutinis* ในการเจริญในแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกัน จัดเป็นจุดเด่นหรือลักษณะพิเศษของยีสต์ชนิดนี้ และเมื่อเปรียบเทียบกับผลการศึกษาที่ผ่านมาจากเอกสารที่เกี่ยวข้อง พบว่าแคโรทีนอยด์ที่ผลิตได้ในปริมาณสูงจากยีสต์ *R. glutinis* เป็นสิ่งที่มีประโยชน์และคุ้มค่าเป็นอย่างมาก เพราะฉะนั้นยีสต์ *R. glutinis* จึงเป็นหนึ่งที่ในยีสต์ที่ใช้สำหรับการผลิตสารแคโรทีนอยด์โดยใช้วัตถุที่เหลือใช้จากการเกษตรที่มีราคาถูกเป็นแหล่งคาร์บอน เพื่อผลผลิตทางด้านการค้าและเป็นการพัฒนาการกระตุ้นให้เกิดแหล่งคาร์บอนจากผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรและเป็นแหล่งคาร์บอนที่ซับซ้อนในการผลิตแคโรทีนอยด์โดยกระบวนการหมักจากของเสีย (wastes) จากโรงงานอุตสาหกรรม

2.3 กากสับปะรด (pineapple waste)

2.3.1 สับปะรด (pineapple)

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Ananas comosus Merr.*

ชื่อวงศ์ : Bromeliaceae

ชื่อสามัญ : Pineapple

ถิ่นกำเนิด : บราซิล โคลัมเบีย

ชื่ออื่น : สับปะรด (ภาคกลาง) ขนุนทอง ยานัด ย่านนัด (ภาคใต้), บ่อนัด มะขะ-นัด มะนัด (ภาคเหนือ) บักนัด (ภาคอีสาน) และมาเนื่อ (เขมร)

2.3.1.1 ลักษณะทั่วไป

สับปะรดเป็นพืชล้มลุก และจัดเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวจำพวกไม้เนื้ออ่อนที่มีอายุหลายปี สามารถทนต่อสภาพแวดล้อมต่างๆ ได้ดี ปลูกได้ในดินแทบทุกแห่งในประเทศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไทย ลำต้นสั้นและแข็ง ใบออกสลับโดยรอบต้น ใบเรียวยาว ปลายแหลม ดอกออกเป็นช่อสีอยู่ที่ส่วนยอดของลำต้นโดยช่อดอกมีก้านยาว ซึ่งเมื่อเจริญเป็นผลแล้วจะเจริญต่อไปโดยตาที่ลำต้น จะเติบโตเป็นต้นใหม่ได้อีก และผลมีรูปร่างเป็นรูปไข่หรือทรงกระบอก

สับปะรดที่ปลูกกันทั่วโลกสามารถจำแนกเป็นกลุ่มพันธุ์ตามเกณฑ์การพิจารณาจากลักษณะทางด้านรูปร่าง รูปทรง คุณภาพ และรสชาติ ซึ่งเป็นรูปพรรณสัณฐานภายนอกที่สังเกตได้เป็นเกณฑ์มาตรฐาน ได้เป็น 5 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่ม Smooth cayenne กลุ่ม Queen กลุ่ม Spanish กลุ่ม Maipure หรือ Perolera และกลุ่ม Abacaxi หรือ Pernambuco สำหรับในประเทศไทยสามารถจำแนกสับปะรดที่ปลูกในประเทศไทยได้ประมาณ 10 สายพันธุ์ และแบ่งเป็นกลุ่มได้ 3 กลุ่มพันธุ์ คือ (จินดา, 2547)

1. **กลุ่ม Smooth cayenne** ได้แก่ พันธุ์ปัตตาเวียนางแล และลักกะตา
2. **กลุ่ม Queen** สับปะรดในกลุ่มนี้มีรสชาติดีมีกลิ่นหอม เนื้อกรอบมีสีทองปนส้มสม่ำเสมอได้แก่ พันธุ์สวี ภูเก็ต ตราดสีทอง สิงคโปร์ปัตตาเวีย และปัตตานี
3. **กลุ่ม Spanish** สับปะรดในกลุ่มนี้มีรสเปรี้ยว ได้แก่ พันธุ์อินทรชิตแดงและอินทรชิตขาว

ในบรรดาสับปะรดทั้ง10 พันธุ์ สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียหรือที่นิยมเรียกในนามสับปะรดศรีราชาเป็นพันธุ์ที่นิยมปลูกกันแพร่หลายและใช้ประโยชน์มากที่สุด เนื่องจากมีคุณลักษณะประจำพันธุ์เฉพาะเหมาะสมที่จะใช้ในด้านอุตสาหกรรมแปรรูปได้เป็นอย่างดี

2.3.1.2 สภาพแวดล้อม

สับปะรดต้องการอากาศค่อนข้างร้อนอุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 23.9 ถึง 29.4 องศาเซลเซียส ปริมาณน้ำฝนที่ต้องการอยู่ในช่วง 1,000 ถึง 1,500 มิลลิเมตรต่อปี แต่ต้องตกกระจายสม่ำเสมอตลอดปี และมีความชื้นในอากาศสูง สับปะรดขึ้นได้ในดินแทบทุกชนิด ที่มีการระบายน้ำดี แต่ชอบดินร่วน ดินร่วนปนทราย ดินปนลูกรัง ดินทรายชายทะเล และชอบที่ลาดเท เช่น ที่ลาดเชิงเขา ส่วนสภาพความเป็นกรดด่าง ของดินควรเป็นกรดเล็กน้อย คือ ตั้งแต่ 4.5 ถึง 5.5 แต่ไม่เกิน 6.6 และมีความต้องการธาตุอาหารหลัก ได้แก่ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม โดยในแต่ละฤดูกาลผลิต สับปะรดต้องการไนโตรเจน 6 ถึง 9 กรัม N ต่อต้น ฟอสฟอรัส 2 ถึง 4 กรัม P_2O_5 ต่อต้น และโพแทสเซียม 8 ถึง 15 กรัม K_2O ต่อต้น การปลูกสับปะรดในพื้นที่ 6,160 ต้นต่อไร่ จะให้ผลผลิตเฉลี่ย 8.8 ตันต่อไร่

2.3.1.3 แหล่งที่ปลูก

ในประเทศไทยเริ่มนำสับปะรดเข้ามาปลูกครั้งแรกเมื่อปี พ.ศ.2193 และต่อมาเมื่อปี พ.ศ.2455 ได้มีผู้นำสับปะรดพันธุ์ Smooth cayenne มาปลูกครั้งแรก แหล่งปลูกที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำคัญแบ่งเป็น3 เขต คือ จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ และเพชรบุรีมีพื้นที่ปลูกประมาณร้อยละ 57 ถึง 60 ของพื้นที่ปลูกทั้งหมด จังหวัดชลบุรี ระยอง และลำปาง ซึ่งเขตเหล่านี้จะปลูกสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียเป็นหลัก จังหวัดฉะเชิงเทรา พันธุ์อื่นๆ ใช้ประกอบอาหารและรับประทานผลสด คือ พันธุ์ภูเก็ตหรือสวีปลูกมากที่จังหวัดชุมพร พันธุ์นางแล และพันธุ์น้ำผึ้งปลูกที่ตำบลนางแล อำเภอเมือง จังหวัดเชียงราย

2.3.2 กากสับปะรด (pineapple waste)

2.3.2.1 ปริมาณผลพลอยได้และเศษเหลือ

กากสับปะรดเป็นผลพลอยได้จากกระบวนการแปรรูปสับปะรด เช่น สับปะรดกระป๋อง และผลิตภัณฑ์อื่นๆ มีโรงงานแปรรูปสับปะรดเกิดขึ้นหลายโรงงาน เศษเหลือที่จากการแปรูปสับปะรด จะประกอบด้วย ส่วนเปลือก แกนกลาง และเศษเนื้อสับปะรดปนกัน

สับปะรดเมื่อเข้าโรงงานจะทำการปลิดจุกและก้านออกคิดเป็นน้ำหนักประมาณร้อยละ 30 ของน้ำหนักทั้งผล สับปะรดหนึ่งผลจะหนักประมาณ 1,754.4 กรัมต่อผล ผลผลิตต่อไร่ประมาณ 3,870.00 กิโลกรัมต่อไร่ สับปะรดหนึ่งผลเมื่อเข้าแปรรูปในโรงงาน จะมีเศษเหลือใช้จากการทำสับปะรดกระป๋องประมาณ 1,228.1 กรัมต่อผล ในพื้นที่ 1 ไร่ จะได้เปลือกสับปะรดเฉลี่ย 2,700.55 กิโลกรัม หรือถ้าคิดเป็นปริมาณเปลือกทั้งประเทศประมาณ 2.8 ล้านตัน ส่วนของใบสับปะรดประมาณ 4.0 ล้านตัน และจุกประมาณ 0.370 ล้านตัน เศษเหลือและผลพลอยได้เหล่านี้จะมีออกมากทุกปีระหว่างเดือน เม.ย. ถึง มิ.ย. และระหว่าง พ.ย. ถึง มี.ค. ในช่วงเวลาอื่นจะมีน้อย (รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2547 กองอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์)

2.3.2.2 ส่วนประกอบทางเคมีและคุณค่าทางอาหาร

เศษเหลือของสับปะรดจากโรงงานจะมีส่วนประกอบทางเคมีที่แตกต่างกัน กากสับปะรดประกอบไปด้วยส่วนต่าง ๆ คือ เปลือกด้านข้าง ส่วนหัว ส่วนล่าง ไส้ (แกนกลาง) และเศษเนื้อ เมื่อนำไปวิเคราะห์ทางเคมีพบว่า ยังมีคุณค่าทางอาหารอยู่บ้าง คือ ส่วนเปลือก มีโปรตีนประมาณร้อยละ 0.69 ไขมันร้อยละ 0.53 กากร้อยละ 2.27 เถ้าร้อยละ 1.01 และคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 15.0 ส่วนที่เป็นแกนกลางมีโปรตีนประมาณร้อยละ 1.62 ไขมันร้อยละ 1.32 กากร้อยละ 7.42 เถ้าร้อยละ 1.97 และคาร์โบไฮเดรทร้อยละ 74.73 (กรมปศุสัตว์, 2520) เศษเนื้อมีโปรตีนประมาณร้อยละ 0.42 คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 11.64 เถ้าร้อยละ 0.38 และไฟเบอร์ร้อยละ 1.78 (Guerra และคณะ., 1986) อาจจะมีส่วนใดส่วนหนึ่งมาก น้อยแล้วแต่โรงงาน ซึ่งจะทำให้ส่วนประกอบทางเคมีจากเศษเหลือของสับปะรด หรือเปลือกสับปะรดมีราค่าแตกต่างกัน และพบว่าโดยทั่วไปเปลือกสับปะรดสดจากโรงงานแปรรูปสับปะรดกระป๋องจะมีปริมาณน้ำอยู่สูง มีวัตถุ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แห้งประมาณร้อยละ 10 ถึง 12 มีค่าความเป็นกรดด่าง (pH) อยู่ระหว่าง 3.2 ถึง 3.4 มียอดโภชนะย่อยได้ (total digestible nutrient : TDN) 65 ถึง 74 มีโปรตีนปริมาณแร่ธาตุต่างๆ และวิตามินอีปริมาณน้ำตาลที่พบมาก ส่วนใหญ่ เป็นพวกซูโครสร้อยละ 70 กลูโคสร้อยละ 20 และฟรุคโตสร้อยละ 10 (จินดา, 2547)

2.3.2.3 ข้อดีของกากสับปะรด

1. มีน้ำตาลสูงถึง 6 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งพลังงานอย่างดี ซึ่งเหมาะที่จะใช้เป็นสารตั้งต้นในการหมัก เช่น การผลิตเอทานอล

2. มีปริมาณของเส้นใยสูง

3. ราคาถูกเมื่อเทียบกับคุณค่าทางอาหารที่ได้โดยสามารถเก็บได้นาน 3 ถึง 4 เดือนและมีให้ตลอดปี

4. เหมาะสำหรับสัตว์เคี้ยวเอื้องทุกชนิด เช่น วัวขุน วัวนม แพะ แกะ กวาง ควาย รวมทั้งม้าและนกกระจอกเทศ เนื่องจากมีกลิ่นหอมทำให้วัวกินอาหารได้มากขึ้นและไม่ทำให้ท้องอืด

2.3.2.4 ประโยชน์ของกากสับปะรด

1 อาหารสัตว์

จากการสังเกตของผู้เลี้ยงโคใกล้ ๆ โรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปสับปะรด บริเวณที่ทางโรงงานนำกากและสิ่งเหลือจากโรงงานไปทิ้ง พบว่าโคที่เลี้ยงในบริเวณนั้นชอบไปกินอยู่ประจำในต่างประเทศจึงมีการใช้กากสับปะรดและส่วนที่เหลืออื่นๆ ผสมกับอาหารสัตว์ชนิดอื่นใช้เป็นอาหารสำหรับสัตว์ และยังพบว่าในบางบริษัทมีการนำกากสับปะรดที่เหลือมาอัดให้เป็นเม็ดหรือเป็นแท่งเพื่อความสะดวกในการขนส่งในการที่จะขายต่อให้พ่อค้าคนกลางที่มารับไปทำเป็นส่วนประกอบของอาหารสัตว์ ในการเลี้ยงโคที่ได้ผลมาแล้วได้มีผู้พยายามทดลองใช้ผลิตผลพลอยได้จากโรงงานอุตสาหกรรมต่าง ๆ เช่น กากสับปะรดเป็นอาหารสัตว์ และใช้ NPN (Non-Protein Nitrogen) เป็นแหล่งของไนโตรเจนบางส่วนในอาหารปรากฏว่าได้ผลดี สามารถลดค่าใช้จ่ายเนื่องจากอาหารลงได้มากโดยเฉพาะในสัตว์เคี้ยวเอื้อง (กองอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์ 2520)

2 ปุ๋ยหมัก

กากสับปะรดที่เหลือจากโรงงานแปรรูปสับปะรดสามารถนำมาเป็นส่วนผสมในการทำปุ๋ยหมัก โดยผสมร่วมกับวัสดุทางการเกษตรอื่น ๆ เช่น กากอ้อยจากโรงงานน้ำตาล ขุยมะพร้าวจากโรงงานกะเทาะมะพร้าว กากมันสำปะหลังจากโรงงานแป้งมันสำปะหลัง เปลือกผลไม้จากโรงงานอาหารกระป๋อง เป็นต้น เพื่อเป็นการลดปริมาณการใช้ปุ๋ยเคมีที่จะต้อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สั่งซื้อมาจากต่างประเทศใน ราคาแพงและเป็นการลดปริมาณกากที่เหลือจากการแปรรูปให้น้อยลง เพื่อลดการเกิดมลภาวะเน่าเสีย รวมไปถึงการเป็นแหล่งเพาะแมลงและเชื้อโรคอีกด้วย

3 นำมาประยุกต์ใช้เป็นสารตั้งต้นในการหมัก

จากการวิเคราะห์ทางเคมีพบว่ากากสับปะรกจากโรงงานแปรรูปสับปะรด มีไฟเบอร์ร้อยละ 29.33 และมีน้ำตาลรีดิวซ์ร้อยละ 5.77 ซึ่งเป็นน้ำตาลกลูโคสร้อยละ 2.10 และน้ำตาล ฟรุคโตสร้อยละ 2.45 เมื่อนำมาศึกษาหาความเป็นไปได้ในการผลิตเอธานอลจากกากสับปะรดพบว่า ในการหมักซึ่งผ่านการย่อย (saccharification) โดยใช้เอนไซม์ผสมจะให้เปอร์เซ็นต์ของเอธานอสูงขึ้นเมื่อเวลาของการหมักเพิ่มขึ้นและมีแนวโน้มที่จะเพิ่มขึ้นอีก เมื่อมีการหมักนานขึ้น (นฤมล, 2530)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 เชื้อจุลินทรีย์

เชื้อยีสต์ *Rhodotorula glutinis* จากหน่วยบริการเชื้อพันธุ์จุลินทรีย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย เก็บไว้ในอาหารวุ้นเอียง (YM slant) เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และทำการเขี่ยเชื้อใหม่ทุกๆ 1 เดือน

3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ	บริษัท
Yeast extract	Scharlar Chemic S.A.
Malt extract	Scharlar Chemic S.A.
Peptone	HiMedia Laboratory
Glucose	Fluka Biochemical
Agar	

3.3 สารเคมี	บริษัท
ไดเมทิลซัลโฟไซด์ (DMSO)	Merck Schuchardt OHG
เฮกเซน (hexane)	Asia Pacific Specialty Chemical
อะซีโตน (acetone)	Asia Pacific Specialty Chemical
โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)	VWR Internation. Ltd
กรดซัลฟูริก (sulfuric acid)	Merck
กรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid)	Merck
กรดบอริก (boric acid)	sigma
กรดไดไนโตรซาลิไซลิก (DNS)	

3.4 เครื่องมือและอุปกรณ์	บริษัท
เครื่องชั่งไฟฟ้าแบบละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง	Mettler-Todedo, Thailand
หม้อนึ่งความดัน	Tomy-seiko
ตู้ปลอดเชื้อ	Internationnal Scientific Supply

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตู้อบลมร้อน	Sheldon Manufacturing, Inc
เครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิได้	Scientific Promotion
เครื่องหมุนเหวี่ยงปรับความเย็น	Hermle Labortech
เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง	United Instrument
เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง	Shimadzu
เครื่องทำแห้งแบบเยือกแข็ง	Labconco Corporation
เครื่องวัดไนโตรเจน	Gerhardt Bonn
เครื่องย่อยโปรตีน	Tecator
เครื่องแก้ว	Pyrex

3.5 วิธีการทดลอง

3.5.1 การเตรียมตัวอย่างกากสับปะรดแห้ง

นำกากสับปะรดที่ได้จากโรงงานนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปทำการสกัดในขั้นตอนต่อไป

3.5.2 การศึกษาหาวิธีการเตรียมสารสกัดจากกากสับปะรดเพื่อใช้เป็นอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อ

3.5.2.1 การเตรียมสารสกัดจากกากสับปะรดด้วยวิธีการสกัดด้วยน้ำร้อน (Tinoi และคณะ, 2004)

ชั่งกากสับปะรดที่เตรียมได้จากข้อ 3.5.1 ประมาณ 100 กรัม จากนั้นเติมน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร แล้วนำไปให้ความร้อนด้วยการต้มให้เดือดเป็นเวลา 30 นาทีพร้อมกวนตัวอย่างตลอดเวลา จากนั้นปล่อยให้เย็น แล้วนำมากรองด้วยผ้าขาวบาง 2 ชั้น และนำส่วนใสที่กรองได้ไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงอีกครั้งด้วยความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที จะได้สารสกัดจากกากสับปะรดเพื่อใช้เป็นอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อต่อไป

3.5.2.2 การเตรียมสารสกัดจากกากสับปะรดด้วยวิธีการสกัดด้วยสารละลายกรดซัลฟูริก 0.2 นอร์มอล (Tinoi และคณะ, 2004; Bhosale และ Gadre, 2001)

ชั่งกากสับปะรดจากข้อ 3.5.1 ประมาณ 100 กรัม จากนั้นเติมสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.2 นอร์มอล ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร แล้วนำไปสกัดภายใต้หม้อนึ่งอัดความดัน (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที และปล่อยให้เย็น และนำมากรองด้วยผ้าขาวบาง 2 ชั้น แล้วนำส่วนใสที่เตรียมได้ไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่มีความเร็ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รอบ 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที จะได้สารสกัดจากกากสับปะรดที่สกัดด้วยสารละลายกรดซัลฟูริกเพื่อใช้เป็นอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อต่อไป

3.5.2.3 การหาปริมาณคาร์บอนที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัดจากกากสับปะรด

นำสารสกัดจากกากสับปะรดที่เตรียมได้จากข้อ 3.5.2.1 และ 3.5.2.2 มาทำการหาปริมาณคาร์บอนในรูปของน้ำตาลกลูโคสด้วยวิธี Dinitrosalicylic acid method (DNS method) โดยนำตัวอย่างสารสกัดจากกากสับปะรดมาเจือจางให้เหมาะสม จากนั้นปิเปตตัวอย่างที่เจือจางแล้วใส่ลงในหลอดทดลองหลอดละ 1 มิลลิลิตร จากนั้นปิเปตสารละลาย Dinitrosalicylic acid (DNS) ปริมาตร 2 มิลลิลิตรลงไป และเขย่าให้เข้ากัน นำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นทำให้เย็นอย่างรวดเร็ว แล้วเขย่าให้เข้ากัน จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร นำค่าที่ได้มาคำนวณเทียบกับกราฟมาตรฐานสารละลายน้ำตาลกลูโคส

3.5.2.4 การหาปริมาณไนโตรเจนที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัดจากกากสับปะรด

นำสารสกัดจากกากสับปะรดที่เตรียมได้จากข้อ 3.5.2.1 และ 3.5.2.2 มาทำการหาปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Macro - Kjeldahl method โดยปิเปตสารสกัดจากกากสับปะรด 5 มิลลิลิตรลงในหลอดย่อย จากนั้นเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 25 มิลลิลิตร และเติม $CuSO_4$ 2 กรัมเป็นตัวเร่ง (catalyst) แล้วนำไปย่อยในเครื่องย่อยโปรตีนที่อุณหภูมิ 350 - 400 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 5 ถึง 6 ชั่วโมง หรือจนสารตัวอย่างเปลี่ยนเป็นสีฟ้าใส จากนั้นปล่อยให้เย็นจนหมดควันของกรด เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ 30 มิลลิลิตรและน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร แล้วนำไปต่อกับชุดกลั่นแล้วทำการกลั่น ไอระเหยของตัวอย่างที่อยู่ในรูปแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์จะถูกจับด้วยสารละลายกรดบอริก 2 เปอร์เซ็นต์ เมื่อกลั่นเสร็จนำไปไทเทรตทันทีด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล นำปริมาตรที่ได้จากการไทเทรตมาคำนวณหาปริมาณโปรตีน

3.5.3 การศึกษาความเป็นไปได้ในการนำสารสกัดจากกากสับปะรดมาใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับยีสต์ *R. glutinis* เพื่อผลิตสารแคโรทีนอยด์

3.5.3.1 การเลี้ยงเชื้อ *R. glutinis* เพื่อผลิตสารแคโรทีนอยด์

1 การเตรียมอาหารสำหรับหัวเชื้อ

ชั่งกลูโคส 1 กรัม yeast extract 0.3 กรัม malt extract 0.3 กรัม และเปปโตน 0.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร ขวดละ 30 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งอัดความดัน (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที และทิ้งไว้ให้เย็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2 การเตรียมหัวเชื้อ (preculture)

เขี่ยเชื้อ *R. glutinis* ที่เจริญบนอาหารวุ้นเอียงลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมในข้อ 3.5.3.1(1) ไว้ 1 ลูปเต็มลงในอาหารสำหรับหัวเชื้อที่เตรียมไว้ จากนั้นนำไปเลี้ยงเชื้อในเครื่องเขย่าที่มีความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำเชื้อที่ได้ไปทำการปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกเซลล์ และล้างเซลล์ยีสต์ที่ได้ด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง จากนั้นเติมน้ำเกลือ 0.3 เปอร์เซ็นต์ ลงไป 5 มิลลิลิตร และเขย่าให้เชื้อกระจายทั่วกัน จะได้สารละลายหัวเชื้อ 1 มิลลิลิตรที่มีเซลล์ประมาณ 10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (Tinoi และคณะ, 2004)

3 การเตรียมสารสกัดจากกากสับปะรดเพื่อเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตสารแคโรทีนอยด์จากเชื้อ *R. glutinis*

นำสารสกัดจากกากสับปะรดที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำร้อน (หรือสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยสารละลายกรด) ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร ขวดละ 30 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นปล่อยให้เย็น แล้วปิเปตสารละลายหัวเชื้อใส่ลงไป 1 มิลลิลิตร และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และเขย่าด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที จากนั้นเก็บตัวอย่างทุก ๆ 12 ชั่วโมง เพื่อนำไปศึกษาการเจริญเติบโตและการผลิตสารแคโรทีนอยด์ต่อไป

4 การหาปริมาณเซลล์ยีสต์แห้ง (cell dry weight)

ทำการเก็บตัวอย่างทุก ๆ 12 ชั่วโมง โดยปิเปตอาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อ 15 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที เทสารละลายใสทิ้ง ล้างเซลล์ด้วยน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร 2 ครั้ง จากนั้นนำเซลล์ยีสต์ที่ได้ไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วทำการชั่งน้ำหนักจนได้น้ำหนักเซลล์คงที่

5 การหาปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ผลิตได้ทั้งหมดจากเชื้อยีสต์ *R. glutinis* โดยการสกัดด้วย DMSO (Dimethylsulfoxide extraction) (Sedmark และคณะ, 1990)

ปิเปตตัวอย่างอาหารเลี้ยงเชื้อ 15 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกเอาเซลล์ยีสต์ที่ความเร็วรอบ 3500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที เทสารละลายใสทิ้ง ล้างเซลล์โดยการเติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร แล้วเขย่าและนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที โดยทำการล้างเซลล์ยีสต์ด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง จากนั้นนำเซลล์ยีสต์ที่ได้ไปทำให้แห้งด้วยเครื่อง Freeze dryer จากนั้นนำผงแห้งของเซลล์ยีสต์ไปสกัดสารแคโรทีนอยด์ด้วยการเติม DMSO 5 มิลลิลิตร เขย่านาน 10 นาที แล้วเทสารลงในกรวยแยกจากนั้นสกัดสารโดยเติมอะซีโตน 5 มิลลิลิตร และเติมเฮกเซน 10 มิลลิลิตร เขย่านาน 5 นาที จะได้สารสกัดสีส้มอยู่ในชั้นของเฮกเซน จากนั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำไปไล่เฮกเซนออกด้วยก๊าซไนโตรเจนให้สารสกัดแคโรทีนอยด์เหลือประมาณ 5 มิลลิลิตร แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 450 นาโนเมตร โดยกำหนดให้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดกลืนแสง (absorption coefficient) ของแคโรทีนอยด์เท่ากับ 2659 แล้วคำนวณหาปริมาณสารแคโรทีนอยด์จากสูตร

$$\text{แคโรทีนอยด์ทั้งหมด (ไมโครกรัมต่อกรัมเซลล์ของยีสต์)} = \frac{\text{ปริมาตรของเฮกเซน(มล.)} \times \text{ค่าการดูดกลืนแสง 450 นาโนเมตร} \times 100}{26.59 \times \text{น้ำหนักเซลล์แห้งของยีสต์ (กรัม)}}$$

หมายเหตุ 26.59 คือ ค่าสัมประสิทธิ์ของการดูดกลืนแสงมาตรฐานของสารละลายเบต้าแคโรทีน 1 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ในตัวทำละลาย เมื่อใช้แสงที่มีความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร

3.5.4 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและผลิตสารแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *R. glutinis* เมื่อเลี้ยงในอาหารที่เป็นสารสกัดจากกากสับปะรด

3.5.4.1 การศึกษาผลของความเข้มข้นเริ่มต้นของสารสกัดจากกากสับปะรดที่มีต่อการเจริญและการผลิตสารแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *R. glutinis*

ชั่งกากสับปะรด 2 5 10 12 15 และ 20 กรัม ละลายในน้ำร้อนและสารละลายกรดปริมาตร 100 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร ขวดละ 30 มิลลิลิตร ปรับค่าความเป็นกรดด่างด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์และกรดซัลฟูริกของ (Tuğba Eren., 2007) อาหารให้เท่ากับ 5.5 จากนั้นปิเปตหัวเชื้อที่เตรียมได้จากข้อ 3.5.3.1 (2) ปริมาตร 1 มิลลิลิตรลงไป แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และเขย่าบนเครื่องเขย่าด้วยความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที จากนั้นทำการเก็บเซลล์เพื่อนำไปหาปริมาณเซลล์แห้ง และสกัดและหาปริมาณสารแคโรทีนอยด์ต่อไป โดยความเข้มข้นของสารสกัดจากกากสับปะรดที่เหมาะสมของแต่ละชนิดจะนำไปใช้ศึกษาผลของตัวแปรอื่นๆ ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการผลิตสารแคโรทีนอยด์ต่อไป

3.5.4.2 การศึกษาผลของค่าความเป็นกรดด่างของสารสกัดจากกากสับปะรดที่มีต่อการเจริญและการผลิตสารแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *R. glutinis*

นำสารสกัดจากกากสับปะรดที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำร้อนและการสกัดด้วยสารละลายกรดที่ความเข้มข้นเริ่มต้นที่เหมาะสม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร ขวดละ 30 มิลลิลิตร ปรับค่าความเป็นกรดด่างสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์และกรดซัลฟูริก (Tuğba

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Eren., 2007) ของอาหารเริ่มต้นเป็น 3.0, 4.0, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5 และ7.0 จากนั้นปิเปตหัวเชื้อที่เตรียมได้จากข้อ 3.5.3.1 (2) ปริมาตร 1 มิลลิลิตรลงไป แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และเขย่าบนเครื่องเขย่าด้วยความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที จากนั้นทำการเก็บเซลล์เพื่อนำไปหาปริมาณเซลล์แห้งและสกัดและหาปริมาณสารแคโรทีนอยด์ต่อไป

3.5.4.3 การศึกษาผลของอุณหภูมิที่มีต่อการเจริญและการผลิตสารแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *R. glutinis*

นำสารสกัดจากกากสับปะรดที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำร้อนและการสกัดด้วยสารละลายกรดที่ความเข้มข้นเริ่มต้นที่เหมาะสม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร ขวดละ 30 มิลลิลิตร และปรับค่าความเป็นกรดด่างของอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการผลิตสารแคโรทีนอยด์ จากนั้นปิเปตหัวเชื้อที่เตรียมได้จากข้อ 3.5.3.1 (2) ปริมาตร 1 มิลลิลิตรลงไป แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25, 28, 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียส และเขย่าบนเครื่องเขย่าด้วยความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที จากนั้นทำการเก็บเซลล์เพื่อนำไปหาปริมาณเซลล์แห้งและสกัดและหาปริมาณสารแคโรทีนอยด์ต่อไป

3.5.4.4 การศึกษาผลของเวลาในการบ่มที่มีต่อการเจริญและการผลิตสารแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *R. glutinis*

นำสารสกัดจากกากสับปะรดที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำร้อนและการสกัดด้วยสารละลายกรดที่ความเข้มข้นเริ่มต้นที่เหมาะสม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร ขวดละ 30 มิลลิลิตร และปรับค่าความเป็นกรดด่างของอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการผลิตสารแคโรทีนอยด์ จากนั้นปิเปตหัวเชื้อที่เตรียมได้จากข้อ 3.5.3.1 (2) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงไป แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิที่เหมาะสมและเขย่าบนเครื่องเขย่าด้วยความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที โดยทำการบ่มเป็นระยะเวลานาน 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84, 96, 108, 120, 132 และ 144 ชั่วโมง จากนั้นทำการเก็บเซลล์เพื่อนำไปหาปริมาณเซลล์แห้งและสกัดและหาปริมาณสารแคโรทีนอยด์ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 การศึกษาวิธีการเตรียมสารสกัดจากกากสับปะรดเพื่อใช้เป็นอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อ

ในการศึกษาวิธีการเตรียมสารสกัดจากกากสับปะรดเพื่อใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อยีสต์ *Rhodotorula glutinis* สำหรับผลิตสารแคโรทีนอยด์ โดยได้ศึกษาวิธีการในการเตรียมสารสกัดจากกากสับปะรด 2 วิธี คือ การเตรียมสารสกัดด้วยการสกัดด้วยน้ำร้อนและการย่อยสลายด้วยสารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้น 0.2 นอร์มอล จากนั้นนำสารสกัดจากกากสับปะรดที่ได้ไปหาปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดด้วยวิธี Dinitrosalicylic acid method (DNS method) และหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดด้วยวิธี Macro - Kjeldahl method พบว่าการเตรียมสารสกัดจากกากสับปะรดโดยการต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 30 นาที ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดในสารสกัดจากกากสับปะรดมีค่าเท่ากับ 2.50 กรัมต่อลิตร และปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดมีค่าเท่ากับ 0.14 กรัมต่อลิตร โดยพบว่าสารสกัดจากกากสับปะรดที่สกัดได้มีลักษณะเป็นของเหลวใสและมีสีเหลืองอ่อน (ภาคผนวก ค)

จากการทดลองได้เตรียมสารสกัดจากกากสับปะรดโดยการสกัดด้วยสารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้น 0.2 นอร์มอล ภายใต้สภาวะหม้อนึ่งอัดความดัน (autoclave) เป็นเวลา 15 นาที และนำสารสกัดจากกากสับประรดที่ได้ไปหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดด้วยวิธี Dinitrosalicylic acid method (DNS method) พบว่าปริมาณน้ำตาลน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดมีค่าเท่ากับ 5.98 กรัมต่อลิตร และเมื่อนำไปหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดด้วยวิธี Macro - Kjeldahl method พบว่าปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดมีค่าเท่ากับ 0.15 กรัมต่อลิตร และสารสกัดที่สกัดได้จากการย่อยด้วยสารละลายกรดซัลฟูริกมีลักษณะสีเหลืองเข้มและขุ่น (ภาพแสดงในภาคผนวก ค)

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดและปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของสารสกัดจากกากสับปะรดที่เตรียมได้จาก 2 วิธี พบว่าสารสกัดจากกากสับปะรดที่เตรียมได้นั้นมีปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดและปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่เชื้อ *R. glutinis* สามารถนำไปใช้เพื่อการเจริญเติบโตได้ เนื่องจากน้ำตาลรีดิวซ์ถือว่าเป็นแหล่งของคาร์บอนที่สำคัญในการที่เชื้อ *R. glutinis* จะนำไปใช้ในการสร้างเป็นส่วนประกอบของเซลล์ และยังเป็นแหล่งคาร์บอนที่สำคัญในการสร้างสารแคโรทีนอยด์อีกด้วย และถึงแม้ว่าปริมาณของไนโตรเจนทั้งหมดในสารสกัดจากกากสับปะรดมีปริมาณน้อย ยังถือว่าเพียงพอที่เชื้อสามารถนำไปใช้สร้างเซลล์เพื่อการเจริญเติบโตได้ ทั้งนี้เนื่องจากในการผลิตสารแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *R. glutinis* สามารถผลิตได้ดีเมื่อค่าสัดส่วนของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณคาร์บอนต่อปริมาณไนโตรเจนมีค่าสูง ซึ่งสอดคล้องกับค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัดจากกากสับปะรดที่เตรียมได้

4.2 การศึกษาความเป็นไปได้ในการนำสารสกัดจากกากสับปะรดมาใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับยีสต์ *R. glutinis* เพื่อผลิตสารแคโรทีนอยด์

ในการศึกษาความเป็นไปได้ในการนำสารสกัดจากกากสับปะรดมาใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อได้ศึกษาการเจริญเติบโตของเชื้อ *R. glutinis* และการผลิตสารแคโรทีนอยด์ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เป็นสารสกัดจากกากสับปะรด โดยการเลี้ยงเชื้อ *R. glutinis* ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เป็นสารสกัดจากกากสับปะรดที่เตรียมด้วยวิธีการสกัดด้วยน้ำร้อนและการย่อยสลายด้วยสารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้น 0.2 นอร์มอล โดยใช้ปริมาณของกากสับปะรดเริ่มต้นร้อยละ 10 คือ กากสับปะรด 10 กรัมสกัดด้วยน้ำร้อนหรือย่อยสลายด้วยสารละลายกรดซัลฟูริก 0.2 นอร์มอลปริมาตร 100 มิลลิลิตร และปรับสภาวะให้เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อตามการทดลองของ Tinoi และคณะ (2005) จากนั้นเก็บเชื้อทุกๆ 12 ชั่วโมง เป็นเวลา 144 ชั่วโมง และคำนวณหาปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง (cell dry weight) (กรัมต่อลิตร) และปริมาณสารแคโรทีนอยด์ (Total Carotenoids) (มิลลิกรัมต่อลิตร และมิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง)

4.2.1 การเจริญเติบโตของเชื้อ *R. glutinis* ในอาหารที่เป็นสารสกัดจากกากสับปะรด

จากการศึกษาการเจริญเติบโตของเชื้อ *R. glutinis* ในสารสกัดจากกากสับปะรดที่เตรียมจากการสกัดด้วยน้ำร้อน พบว่าในช่วงแรกของการเจริญเติบโตของเชื้อ *R. glutinis* เมื่อเริ่มถ่ายเชื้อจนถึงชั่วโมงที่ 24 พบว่าเชื้อ *R. glutinis* อยู่ในช่วงระยะปรับตัว (lag phase) จึงทำให้มีการเจริญเติบโตค่อนข้างช้า จะได้ว่าปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าน้อย (1.02 – 1.05 กรัมต่อลิตร) และเมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลานานมากขึ้นที่เวลามากกว่า 24 ชั่วโมง พบว่าการเจริญเติบโตของเชื้อจะเพิ่มขึ้นโดยพบว่าน้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อจะมีค่าเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ จนถึงที่เวลา 96 ชั่วโมง ซึ่งน้ำหนักเซลที่มีค่าเพิ่มขึ้นจะอยู่ในช่วง 2.05 ถึง 2.55 กรัมต่อลิตร และหลังจากชั่งโมงที่ 96 พบว่าน้ำหนักเซลล์แห้งเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย แสดงว่าการเจริญเติบโตของยีสต์ *R. glutinis* ได้เข้าสู่ช่วงการเจริญเติบโตคงที่ (stationary phase) จึงส่งผลทำให้น้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้มีการเปลี่ยนแปลงเพียง โดยการเจริญเติบโตของเชื้อ *R. glutinis* ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เป็นสารสกัดจากกากสับปะรดที่ได้จากการเตรียมด้วยการสกัดด้วยน้ำร้อนดังแสดงในตารางที่ 1 และรูปที่ 10

เมื่อเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อ *R. glutinis* ในอาหารที่เป็นสารสกัดจากกากสับปะรดที่ได้จากการย่อยสลายด้วยสารละลายกรดซัลฟูริก 0.2 นอร์มอล และได้แสดงการเจริญเติบโตของเชื้อในตารางที่ 1 และรูปที่ 10 พบว่าในช่วงแรกของการเจริญเติบโตของเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

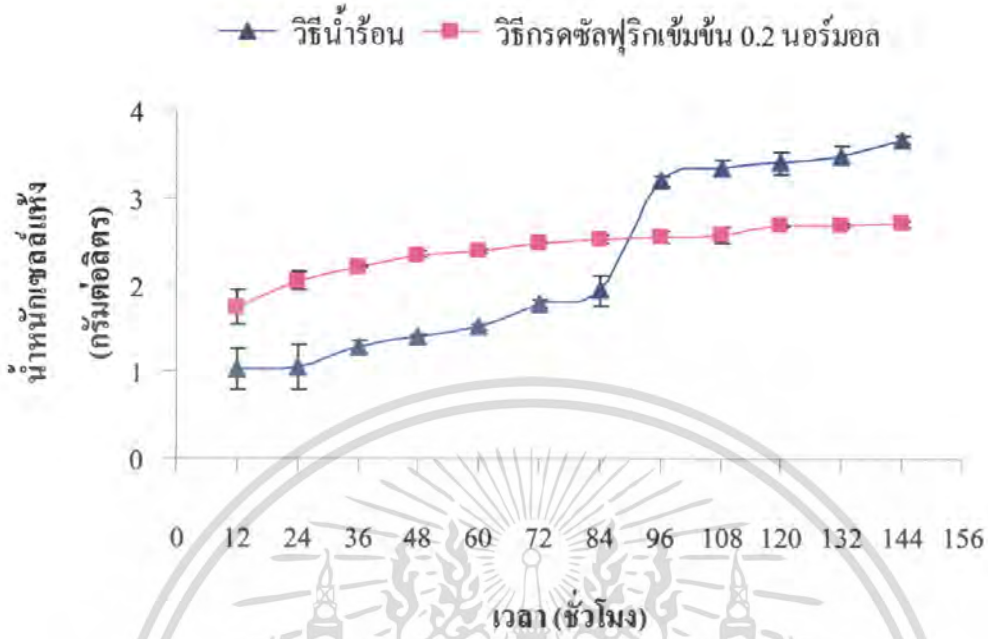
R. glutinis มีการปรับตัวของเชื้อในอาหารได้ดีกว่าการเจริญของเชื้อในอาหารที่เตรียมได้จากการสกัดด้วยน้ำร้อน เนื่องจากใช้เวลาเริ่มต้นค่อนข้างสั้น และหลังจากนั้นเชื้อมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ อย่างเห็นได้ชัดจนถึงที่เวลา 120 ชั่วโมง หลังจากนั้นเชื้อยีสต์ *R. glutinis* เข้าสู่ระยะการเจริญเติบโตคงที่ (stationary phase) ซึ่งเห็นได้จากน้ำหนักเซลล์แห้งเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยโดยมีค่าเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยเท่านั้น

ตารางที่ 1 น้ำหนักเซลล์แห้งได้จากเชื้อยีสต์ *R. glutinis* เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารที่เตรียมจากสารสกัดจากกากสับปะรดด้วยวิธีน้ำร้อนและกรดซัลฟูริกเข้มข้น 0.2 นอร์มอล โดยค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.5 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที

ชั่วโมง	น้ำหนักเซลล์ (กรัมต่อลิตร)	
	การสกัดด้วยน้ำร้อน	การย่อยสลายด้วยกรดซัลฟูริกเข้มข้น 0.2 นอร์มอล
12	1.02^{g}	1.74^{f}
24	1.05^{fg}	2.05^{e}
36	1.29^{ef}	2.21^{e}
48	1.41^{e}	2.35^{d}
60	1.51^{e}	2.39^{d}
72	1.78^{d}	2.48^{cd}
84	1.93^{d}	2.53^{c}
96	3.20^{c}	2.55^{bc}
108	3.37^{bc}	2.57^{bc}
120	3.41^{bc}	2.67^{ab}
132	3.49^{ab}	2.68^{ab}
144	3.68^{a}	2.71^{a}

หมายเหตุ: a b c d e f และ g แสดงถึงความสัมพันธ์ในสดมภ์เดียวกัน ตัวอักษรกำกับที่แตกต่างกันแสดง ถึงค่าความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 10 แสดงน้ำหนักเซลล์แห้งทั้งหมดที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *R. glutinis* ในอาหารที่เตรียมด้วยวิธีน้ำร้อน และอาหารที่เตรียมด้วยวิธีการใช้กรดซัลฟูริก ความเข้มข้น 0.2 นอร์มอล โดยค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.5 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที

และเมื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อ *R. glutinis* ในอาหารที่เตรียมจากกากสับปะรดทั้งสองชนิดพบว่า เชื้อ *R. glutinis* มีการเจริญเติบโตในอาหารที่เตรียมได้จากการสกัดด้วยน้ำร้อนได้ดีกว่าอาหารที่ได้จากการย่อยสลายด้วยสารละลายกรดซัลฟูริก เข้มข้น 0.2 นอร์มอล โดยพบว่าน้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากการเลี้ยงในอาหารที่เตรียมด้วยการสกัดด้วยน้ำร้อนมีค่าเท่ากับ 3.68 กรัมต่อลิตร ที่ชั่วโมงที่ 144 ซึ่งในทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อเทียบกับชั่วโมงอื่น ยกเว้นชั่วโมงที่ 132 พบว่าน้ำหนักเซลล์ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และน้ำหนักเซลล์แห้งเมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารที่ได้จากการย่อยด้วยสารละลายกรดพบว่ามีค่าเท่ากับ 2.71 กรัมต่อลิตรที่ชั่วโมงที่ 144 และพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อเทียบกับชั่วโมงที่ 120 และ 132 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2 การผลิตสารแคโรทีนอยด์จากเชื้อ *R. glutinis* เมื่อเลี้ยงในอาหารที่เป็นสารสกัดจากกากสับปะรด

ในการผลิตสารแคโรทีนอยด์จากเชื้อ *R. glutinis* โดยการเลี้ยงเชื้อในอาหารที่เป็นสารสกัดจากกากสับปะรดที่เตรียมด้วยการสกัดด้วยน้ำร้อนและเก็บเชื้อทุกๆ 12 ชั่วโมง พบว่าในการผลิตสารแคโรทีนอยด์ของเชื้อจะเริ่มต้นตั้งแต่เชื้อมีการเจริญเติบโตแบบทวีคูณ (exponential phase) คือในช่วงเวลาตั้งแต่ชั่วโมงที่ 36 ถึงชั่วโมงที่ 96 โดยมีปริมาณของแคโรทีนอยด์เท่ากับ 0.71 - 1.41 มิลลิกรัมต่อลิตร และพบว่ามีการผลิตแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยในช่วงระยะการเจริญเติบโตคงที่ (stationary phase) โดยปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ผลิตได้สูงสุดมีค่าเท่ากับ 1.52 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 144 ชั่วโมง และพบว่าปริมาณแคโรทีนอยด์ในหน่วยมิลลิกรัมต่อลิตร มีค่ามากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อเทียบกับชั่วโมงอื่น แต่พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับชั่วโมงที่ 132 ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และปริมาณผลผลิตสารแคโรทีนอยด์ที่ได้ในหน่วยมิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง ในช่วงเวลา 60-84 ชั่วโมง และ 108-132 ชั่วโมง พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังแสดงในตารางที่ 2 และรูปที่ 11 และเมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารที่เป็นสารสกัดจากกากสับปะรดที่ย่อยสลายด้วยสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.2 นอร์มอล และเก็บเชื้อทุก 12 ชั่วโมง พบว่าใน 12 ชั่วโมงแรก เชื้อมีการผลิตสารแคโรทีนอยด์เพียงเล็กน้อยเท่านั้นโดยมีค่าเท่ากับ 0.64 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากนั้นพบว่าเชื้อมีการผลิตสารแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ จนถึงชั่วโมงที่ 132 และปริมาณของสารแคโรทีนอยด์ที่เชื้อผลิตได้มีค่าอยู่ในช่วง 0.97 - 1.90 มิลลิกรัมต่อลิตร และหลังจากนั้นการผลิตสารแคโรทีนอยด์ของเชื้อเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย โดยปริมาณสารแคโรทีนอยด์สูงสุดที่เชื้อ *R. glutinis* ผลิตได้มีปริมาณเท่ากับ 1.92 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 144 ชั่วโมง เมื่อเทียบทางสถิติพบว่าปริมาณสารแคโรทีนอยด์ที่เชื้อผลิตได้ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 120 ถึงชั่วโมงที่ 144 พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แต่จะแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบปริมาณแคโรทีนอยด์ที่เชื้อผลิตได้เมื่อเลี้ยงเชื้อในชั่วโมงที่น้อยกว่า 120 ชั่วโมง และพบว่าปริมาณผลผลิตแคโรทีนอยด์ที่ได้ในหน่วยมิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์แห้งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังที่แสดงในตารางที่ 2 และรูปที่ 11

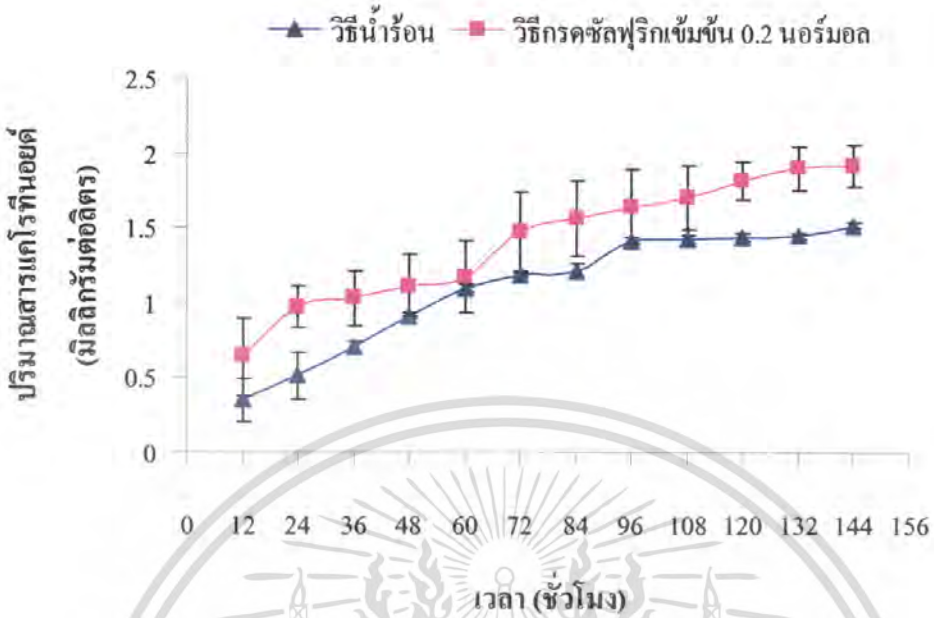
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ที่ผลิตได้จาก *R. glutinis* เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารที่เป็นสารสกัดจากกากสับปะรดด้วยสารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้น 0.2 นอร์มอล โดยค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.5 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที

ชั่วโมง	ปริมาณสารแคโรทีนอยด์			
	การสกัดด้วยน้ำร้อน		การสกัดด้วยกรดซัลฟูริก เข้มข้น 0.2 นอร์มอล	
	ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง)	ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง)
12	0.35^{h}	0.20^{g}	0.64^{f}	0.36^{b}
24	0.51^{g}	0.25^{f}	0.97^{ef}	0.47^{ab}
36	0.71^{f}	0.32^{e}	1.03^{def}	0.47^{ab}
48	0.92^{e}	0.39^{d}	1.11^{cdef}	0.47^{ab}
60	1.09^{d}	0.46^{ab}	1.17^{bcdef}	0.49^{ab}
72	1.19^{c}	0.48^{a}	1.48^{abcde}	0.60^{a}
84	1.21^{c}	0.48^{a}	1.57^{abcd}	0.62^{a}
96	1.41^{b}	0.44^{bc}	1.64^{abc}	0.64^{a}
108	1.43^{b}	0.43^{cd}	1.70^{ab}	0.66^{a}
120	1.44^{b}	0.42^{cd}	1.82^{a}	0.68^{a}
132	1.45^{b}	0.41^{cd}	1.90^{a}	0.70^{a}
144	1.52^{a}	0.41^{cd}	1.91^{a}	0.70^{a}

หมายเหตุ: a b c d e f g และ h แสดงถึงความสัมพันธ์ในสดมภ์เดียวกัน ตัวอักษรกำกับที่แตกต่างกันแสดงถึงค่าความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 11 แสดงปริมาณสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *R. glutinis* ในอาหารที่เตรียมด้วยวิธีน้ำร้อน และอาหารที่เตรียมด้วยวิธีการใช้กรดซัลฟูริก ความเข้มข้น 0.2 นอร์มอล โดยค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.5 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที

จากการทดลองพบว่าเมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารที่เป็นสารสกัดจากกากสับปะรดที่เตรียมด้วยการสกัดด้วยน้ำร้อน และการย่อยสลายด้วยสารละลายกรดซัลฟูริก 0.2 นอร์มอล จะได้ว่า *R. glutinis* มีการผลิตสารแคโรทีนอยด์เพียงเล็กน้อยในช่วงแรกของการเจริญเติบโต และผลิตสารแคโรทีนอยด์ได้มากขึ้นเรื่อย ๆ ในช่วงระยะการเจริญแบบทวีคูณและการผลิตสารแคโรทีนอยด์เริ่มคงที่เมื่อเข้าสู่ระยะการเจริญคงที่ จึงกล่าวได้ว่าการผลิตสารแคโรทีนอยด์นั้นเกิดควบคู่ไปกับการเจริญของเซลล์ และพบว่าความสามารถในการผลิตสารแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *R. glutinis* เมื่อเลี้ยงในอาหารที่เป็นสารสกัดจากกากสับปะรดที่เตรียมได้จากการย่อยสลายด้วยสารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้น 0.2 นอร์มอลเกิดขึ้นได้มากกว่าเมื่อเลี้ยงในอาหารที่เตรียมด้วยการสกัดด้วยน้ำร้อน โดยปริมาณสารแคโรทีนอยด์ที่ผลิตได้เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารจากกากสับปะรดที่สกัดด้วยน้ำร้อนและการย่อยสลายด้วยสารสะลายกรดมีค่าเท่ากับ 1.52 และ 1.92 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (ปริมาณคาร์บอน) ที่พบในสารสกัดที่เตรียมจากการย่อยสลายด้วยสารละลายกรดนั้นมีปริมาณสูงกว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่พบในสารสกัดที่เตรียมด้วยการสกัดด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำร้อนประมาณ 2 เท่า และเนื่องจากปริมาณคาร์บอนถือเป็นปัจจัยที่สำคัญในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อใช้ในการผลิตสารแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *R. glutinis*

ดังนั้นเมื่อพิจารณาถึงความเป็นไปได้ในการนำสารสกัดจากกากสับปะรดมาประยุกต์ใช้เพื่อเป็นอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อ *R. glutinis* และเพื่อให้สามารถผลิตสารแคโรทีนอยด์ได้นั้น พบว่าสารสกัดจากกากสับปะรดสามารถนำมาใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อได้ เนื่องจากเชื้อสามารถนำองค์ประกอบต่าง ๆ ในสารสกัดจากกากสับปะรดมาใช้ในการเจริญเติบโตและผลิตสารแคโรทีนอยด์ได้ โดยเฉพาะเมื่อเลี้ยงในอาหารที่เตรียมได้จากการย่อยสลายด้วยสารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้น 0.2 นอร์มอล ซึ่งถือว่าเป็นสารสกัดที่เหมาะสมที่จะนำไปใช้เพื่อการเลี้ยงเชื้อและการผลิตสารแคโรทีนอยด์ต่อไปได้ โดยในการผลิตสารแคโรทีนอยด์ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมจากการสับปะรดจะมากขึ้นเมื่อทำการเลี้ยงเชื้อภายใต้สภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการผลิตสารแคโรทีนอยด์ ดังนั้นจึงศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตสารแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *R. glutinis* ในอาหารที่เป็นสารสกัดจากกากสับปะรดต่อไป

4.3 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและผลิตสารแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *R. glutinis* เมื่อเลี้ยงในอาหารที่เป็นสารสกัดจากกากสับปะรดที่เตรียมได้จากการย่อยสลายด้วยสารละลายกรด

4.3.1 ผลของความเข้มข้นเริ่มต้นของสารสกัดจากกากสับปะรดที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตสารแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *R. glutinis*

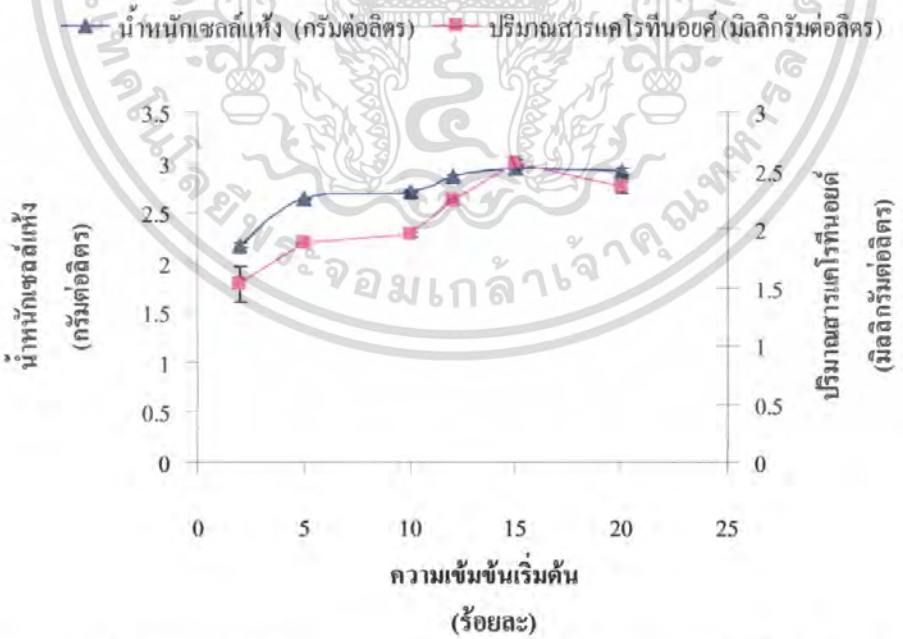
จากการทดลองนำกากสับปะรดปริมาณ 2, 5, 10, 12, 15 และ 20 กรัมละลายในสารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้น 0.2 นอร์มอลปริมาตร 100 มิลลิลิตร และนำไปย่อยสลายภายใต้สภาวะของหม้อนึ่งอัดความดัน (autoclave) เป็นเวลา 15 นาที จะได้สารสกัดจากกากสับปะรดที่ความเข้มข้นร้อยละ 2, 5, 10, 15 และ 20 (น้ำหนักต่อปริมาตร) แล้วนำไปหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของแต่ละความเข้มข้นด้วยวิธี Dinitrosalicylic acid method (DNS method) ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 3 ซึ่งพบว่าที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารสกัดจากกากสับปะรดร้อยละ 15 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มากที่สุดเท่ากับ 10.38 กรัมต่อลิตร และพบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นเริ่มต้นในการเตรียมสารสกัดจากกากสับปะรดให้มากขึ้น ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จะมีปริมาณมากขึ้นด้วย และเมื่อเลี้ยงเชื้อ *R. glutinis* ในอาหารที่เป็นสารสกัดจากกากสับปะรดที่มีความเข้มข้นเริ่มต้นต่าง ๆ กัน โดยเพาะเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 120 ชั่วโมง จากนั้นนำไปหาน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณสารแคโรทีนอยด์ ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 3 และรูปที่ 12

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณสารแคโรทีนอยด์ที่ผลิตได้จากเชื้อยีสต์ *R. glutinis* ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารสกัดจากกากสับปะรดต่างกัน

ความเข้มข้นเริ่มต้น (ร้อยละ)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อกรัม)
2	0.94	2.17^{e}	1.53^{d}	0.70^{c}
5	2.50	2.63^{d}	1.88^{c}	0.71^{c}
10	5.87	2.71^{c}	1.95^{c}	0.72^{c}
12	6.46	2.85^{b}	2.24^{b}	0.78^{b}
15	10.34	2.94^{a}	2.57^{a}	0.87^{a}
20	6.89	2.91^{a}	2.36^{b}	0.81^{b}

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



รูปที่ 12 แสดงน้ำหนักเซลล์แห้งและความเข้มข้นสารแคโรทีนอยด์เมื่อเลี้ยงเชื้อ *R. glutinis* ในอาหารที่เป็นสารสกัดจากกากสับปะรดที่สกัดด้วยสารละลายกรด โดยใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารสกัดจากกากสับปะรดที่แตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 3 และรูปที่ 12 จะได้ว่าน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณสารแคโรทีน-นอยด์ของเชื้อยีสต์ *R. glutinis* ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารสกัดจากกากสับปะรดแตกต่างกัน พบว่าน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณสารแคโรทีนอยด์มีค่าแตกต่างกันเมื่อใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารสกัดจากกากสับปะรดที่แตกต่างกัน โดยพบว่าที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของกากสับปะรดร้อยละ 2 (น้ำหนักต่อปริมาตร) จะได้น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณของสารแคโรทีนอยด์มีค่าน้อยที่สุด เท่ากับ 2.17 กรัมต่อลิตร และ 1.53 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ 0.70 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง ตามลำดับ และพบว่าน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณของแคโรทีนอยด์ที่ผลิตได้จะเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นเริ่มต้นของสารสกัดจากกากสับปะรด โดยพบว่าน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณของสารแคโรทีน-นอยด์ มีค่าสูงสุดเมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารที่เป็นสารสกัดจากกากสับปะรดที่ความเข้มข้นเริ่มต้นร้อยละ 15 (น้ำหนักต่อปริมาตร) โดยมีค่าเท่ากับ 2.94 กรัมต่อลิตร และ 2.57 มิลลิกรัมต่อลิตรหรือ 0.87 มิลลิกรัมต่กรัมเซลล์แห้ง ตามลำดับ โดยพบว่าน้ำหนักเซลล์แห้งที่ความเข้มข้นเริ่มต้นร้อยละ 15 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อเทียบกับที่ความเข้มข้นเริ่มต้นร้อยละ 20 และพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อเทียบกับสารสกัดจากกากสับปะรดที่ความเข้มข้นเริ่มต้นที่น้อยกว่าร้อยละ 15 และพบว่าปริมาณสารแคโรทีนอยด์ในหน่วยมิลลิกรัมต่อลิตรและปริมาณผลผลิตแคโรทีนอยด์ที่ได้ในหน่วยมิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์แห้งที่ความเข้มข้นเริ่มต้นร้อยละ 15 มีค่ามากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อเทียบกับทุกความเข้มข้นเริ่มต้นของสารสกัดจากกากสับปะรด และเมื่อที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารสกัดจากกากสับปะรดมากกว่าร้อยละ 15 คือ ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นร้อยละ 20 (น้ำหนักต่อปริมาตร) พบว่าน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณของสารแคโรทีนอยด์มีค่าลดลงโดยมีค่าเท่ากับ 2.91 กรัมต่อลิตร 2.36 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ 0.81 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง ตามลำดับ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์ที่พบในสารสกัดจากกากสับปะรดที่ความเข้มข้นเริ่มต้นต่างกันมีค่าที่แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 3 ทำให้การเจริญเติบโตและการผลิตสารแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *R. glutinis* แตกต่างกันด้วย โดยพบว่าที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารสกัดจากกากสับปะรดร้อยละ 15 (น้ำหนักต่อปริมาตร) มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุดคือ 10.34 กรัมต่อลิตร ทำให้เชื้อ *R. glutinis* สามารถเจริญเติบโตและสามารถผลิตสารแคโรทีนอยด์ให้มากที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.2 ผลของค่าความเป็นกรดด่างของอาหารที่เป็นสารสกัดจากกากสับปะรดที่มีต่อการเจริญเติบโตและการผลิตสาร แคโรทีนอยด์ของเชื้อ *R. glutinis*

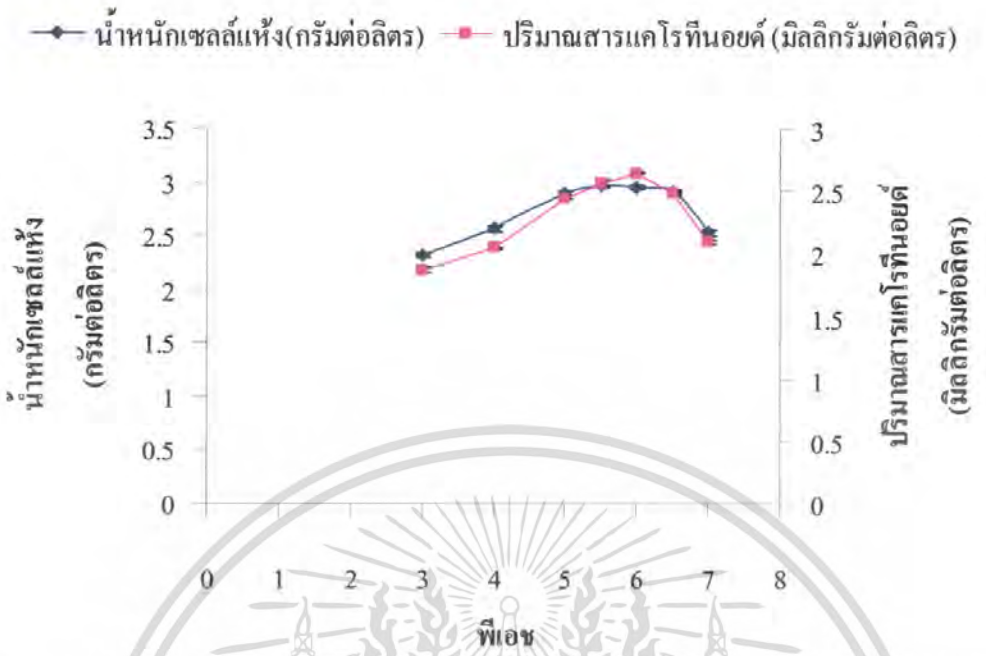
จากการศึกษาค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของสารสกัดจากกากสับปะรดที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการผลิตสารแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *R. glutinis* ที่มีความเข้มข้นเริ่มต้นของสารสกัดจากกากสับปะรดร้อยละ 15 (น้ำหนักต่อปริมาตร) จากนั้นนำไปปรับค่าความเป็นกรดด่างของสารสกัดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 6 นอร์มอล โดยให้มีค่าความเป็นกรดด่าง 3.0, 4.0, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5 และ 7.0 จากนั้นนำไปเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 120 ชั่วโมง แล้วนำไปคำนวณหาน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณสารแคโรทีนอยด์ ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4 และรูปที่ 13

ตารางที่ 4 ผลของความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของสารสกัดจากกากสับปะรดที่มีต่อการเจริญและการผลิตสารแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *R. glutinis*

พีเอช	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อกรัม)
3.0	2.32^{e}	1.87^{g}	0.80^{e}
4.0	2.57^{d}	2.05^{f}	0.80^{e}
5.0	2.90^{c}	2.44^{d}	0.84^{cd}
5.5	2.98^{a}	2.57^{b}	0.86^{b}
6.0	2.96^{ab}	2.65^{a}	0.89^{a}
6.5	2.92^{bc}	2.49^{c}	0.85^{bc}
7.0	2.53^{d}	2.10^{e}	0.83^{c}

หมายเหตุ: a b c d e f และ g แสดงถึงความสัมพันธ์ในสดมภ์เดียวกัน ตัวอักษรกำกับที่แตกต่างกันแสดงถึงค่าความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 13 แสดงผลของค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารที่เป็นสารสกัดจากกากสับปะรดที่มีต่อน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณของสารแคโรทีนอยด์ที่ได้จากเชื้อยีสต์ *R. glutinis*

จากตารางที่ 4 และรูปที่ 13 จะได้ว่าการเจริญเติบโตและการผลิตแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *R. glutinis* ในสารสกัดจากกากสับปะรด พบว่าค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของสารสกัดจากกากสับปะรด ที่ 3.0 น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณของแคโรทีนอยด์มีค่าน้อยที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 2.32 กรัมต่อลิตร และ 1.87 มิลลิกรัมต่อลิตรหรือ 0.80 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากสารสกัดจากกากสับปะรดมีความเป็นกรดสูง ทำให้ไม่เหมาะต่อการเจริญเติบโตและการผลิตสารแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *R. glutinis* และเมื่อเพิ่มค่าความเป็นกรดด่างของสารสกัดจากกากสับปะรดให้มากขึ้นพบว่า น้ำหนักเซลล์ แห้งและปริมาณของแคโรทีนอยด์จะเพิ่มขึ้นด้วย และพบว่าน้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงเมื่อค่าความเป็นกรดด่างของสารสกัดจากกากสับปะรดอยู่ในช่วง 5.0 - 6.0 ซึ่งเมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าน้ำหนักเซลล์ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และพบว่าน้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงที่สุดเมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารที่เป็นสารสกัดจากกากสับปะรดที่มีค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.5 และมีค่าเท่ากับ 2.98 กรัมต่อลิตร โดยมีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อเทียบกับที่ค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 3.0, 4.0, 5.0, 6.5 และ 7.0 และในการผลิตสารแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *R. glutinis* พบว่าปริมาณของสารแคโรทีนอยด์จะถูกผลิตออกมามากเมื่อค่าความเป็นกรดด่างของสารสกัดจากกากสับปะรดอยู่ในช่วง 5.5 - 6.0 เช่นเดียวกัน แต่พบว่าปริมาณสารแคโรทีนอยด์จะมากที่สุดเมื่อค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของสารสกัดจากกากสับปะรดมีค่าเท่ากับ 6.0 และมีค่าเท่ากับ 2.65

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มิลลิกรัมต่อลิตรหรือ 0.89 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง ซึ่งพบว่าปริมาณของสารแคโรทีนอยด์ในหน่วยมิลลิกรัมต่อลิตรและปริมาณผลผลิตที่ได้แคโรทีนอยด์ที่ได้ในหน่วยมิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์แห้งมีค่ามากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับทุกค่าความเป็นกรดด่างที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อปรับค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของสารสกัดจากกากสับปะรดให้มีค่ามากกว่า 6.0 พบว่าเชื้อ *R. glutinis* มีการเจริญเติบโตได้น้อยลงและสร้างสารแคโรทีนอยด์ได้ลดลงด้วย ทั้งนี้อาจเนื่องจากมีความเป็นด่างสูงจึงไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและผลิตสารแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *R. glutinis*

4.3.3 ผลของอุณหภูมิที่มีต่อการเจริญเติบโตและการผลิตสาร แคโรทีนอยด์ของเชื้อยีสต์ *R. glutinis* ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เป็นสารสกัดจากกากสับปะรด

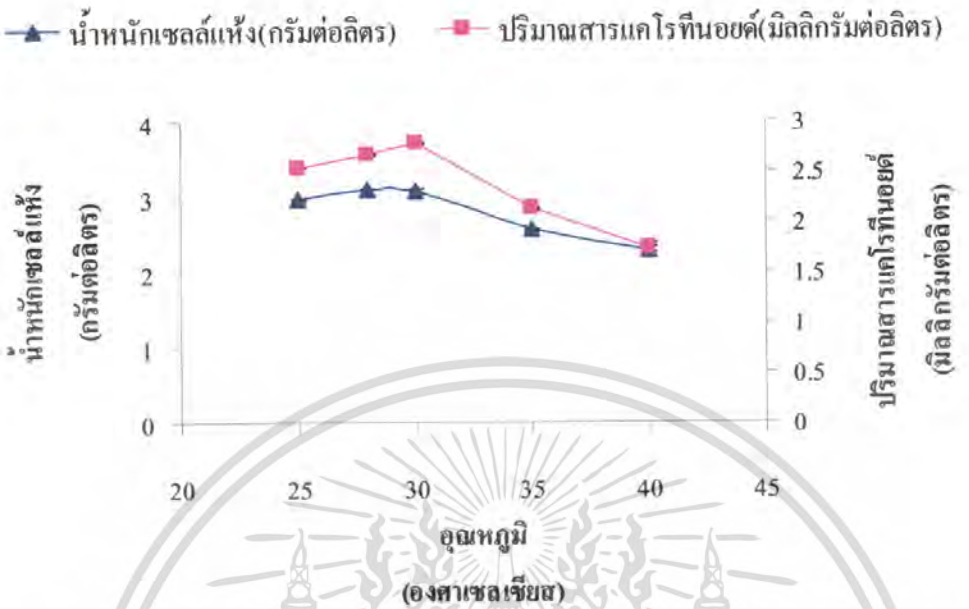
จากการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการผลิตสารแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *R. glutinis* ที่มีความเข้มข้นเริ่มต้นของสารสกัดจากกากสับปะรดร้อยละ 15 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของสารสกัดเท่ากับ 6.0 จากนั้นนำไปเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 25, 28, 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 120 ชั่วโมง แล้วนำไปคำนวณหาน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณสารแคโรทีนอยด์ จะได้ผลดังตารางที่ 5 และรูปที่ 14

ตารางที่ 5 แสดงผลของอุณหภูมิที่มีต่อการเจริญและการผลิตสารแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *R. glutinis* ในอาหารที่เป็นสารสกัดจากกากสับปะรด

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อกรัม)
25	2.97^{b}	2.54^{c}	0.85^{b}
28	3.10^{a}	2.67^{b}	0.86^{b}
30	3.08^{a}	2.78^{a}	0.90^{a}
35	2.56^{c}	2.13^{d}	0.83^{b}
40	2.29^{d}	1.74^{e}	0.75^{b}

หมายเหตุ: a b c และ d แสดงถึงความสัมพันธ์ในสดมภ์เดียวกัน ตัวอักษรกำกับที่แตกต่างกันแสดงถึงค่าความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 14 แสดงผลของอุณหภูมิที่มีต่อน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณของสารแคโรทีนอยด์ที่ได้จากเชื้อยีสต์ *R. glutinis* ในอาหารที่เป็นสารสกัดจากกากสับปะรดจากกากย่อยสลายด้วยสารละลายกรด

จากตารางที่ 5 และรูปที่ 14 จะได้ว่าการเจริญเติบโตและการผลิตสารแคโรทีน-นอยด์ของเชื้อ *R. glutinis* ในสารสกัดจากกากสับปะรดที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารสกัดจากกากสับปะรดเท่ากับร้อยละ 15 และค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 6.0 โดยมีการแปรผันของอุณหภูมิที่ใช้เลี้ยงเชื้ออยู่ในช่วง 25 - 40 องศาเซลเซียส เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นพบว่าน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณของสารแคโรทีนอยด์จะเพิ่มขึ้นด้วย และพบว่าจะมีค่าลดลงเมื่ออุณหภูมิที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อมากกว่า 30 องศาเซลเซียส โดยช่วงอุณหภูมิที่เชื้อมีการเจริญเติบโตได้ดี คืออุณหภูมิในช่วง 28 - 30 องศาเซลเซียส และพบว่าน้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และพบว่าเชื้อจะเจริญได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียสอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับอุณหภูมิที่น้อยกว่า 28 องศาเซลเซียสและมากกว่า 30 องศาเซลเซียสที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ซึ่งมีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 3.10 กรัมต่อลิตร ในการผลิตสารแคโรทีน-นอยด์ของเชื้อ *R. glutinis* พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับเชื้อในการผลิตสารแคโรทีนอยด์ โดยมีปริมาณสารแคโรทีนอยด์ที่เชื้อผลิตได้มากที่สุดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยมีค่าเท่ากับ 2.78 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ 0.90 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง ซึ่งพบว่าปริมาณแคโรทีนอยด์ในหน่วยมิลลิกรัมต่อลิตรและปริมาณผลผลิตแคโรทีนอยด์ที่ได้ในหน่วยมิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์แห้งที่ผลิตได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีค่ามากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส พบว่าเชื้อ *R. glutinis* มีการเจริญเติบโตและผลิตสารแคโรทีนอยด์ได้น้อยที่สุดอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าเท่ากับ 2.29 กรัมต่อลิตร และมีปริมาณสารแคโรทีนอยด์เท่ากับ 1.74 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ 0.75 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง และพบว่าปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ผลิตได้ที่อุณหภูมิต่างๆ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากอุณหภูมิในการเพาะเลี้ยงเชื้อสูงมากเกินไปเชื้อไม่สามารถที่จะเจริญเติบโตและผลิตสารแคโรทีนอยด์ได้

4.3.4 ผลของเวลาที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการผลิตสาร แคโรทีนอยด์ของเชื้อยีสต์ *R. glutinis* ในอาหารที่เป็นสารสกัดจากกากสับปะรด

จากการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการผลิตสารแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *R. glutinis* ที่มีความเข้มข้นเริ่มต้นของสารสกัดจากกากสับปะรดร้อยละ 15 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 6.0 และนำไปเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 12, 24, 48, 60, 72, 84, 96, 108, 120, 132 และ 144 ชั่วโมง จากนั้นนำไปคำนวณหาน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณสารแคโรทีนอยด์ ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 6 และรูปที่ 15

จากตารางที่ 6 และรูปที่ 15 จะได้ว่าการเจริญเติบโตและการผลิตสารแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *R. glutinis* ในสารสกัดจากกากสับปะรด และเก็บเชื้อทุกๆ 12 ชั่วโมง ตั้งแต่เวลา 12 ชั่วโมง ถึง 144 ชั่วโมง พบว่าที่เวลา 12 ชั่วโมงจะมีการเจริญเติบโตและการผลิตสารแคโรทีนอยด์เพียงเล็กน้อยเนื่องจากอยู่ในระยะปรับตัว (lag phase) โดยน้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้มีค่าเท่ากับ 2.21 กรัมต่อลิตร และปริมาณของแคโรทีนอยด์มีค่าเท่ากับ 1.68 มิลลิกรัมต่อลิตร และเมื่อเวลาเพิ่มขึ้นจะส่งผลให้น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณของแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้นด้วย โดยพบว่าเมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 72-108 ชั่วโมง จะมีผลทำให้มีปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และพบว่าที่เวลา 72 ชั่วโมง พบว่าน้ำหนักแห้งของ *R. glutinis* มีค่าสูงที่สุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ 3.32 กรัมต่อลิตร จากนั้นเมื่อเวลาเพิ่มขึ้นน้ำหนักเซลล์จะเริ่มมีค่าลดลงและคงที่ ในการผลิตสารแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *R. glutinis* พบว่าปริมาณของสารแคโรทีนอยด์จะถูกผลิตออกมามากที่สุดเมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 96 ชั่วโมง และพบว่าที่เวลา 96-132 ชั่วโมง มีปริมาณแคโรทีนอยด์ในหน่วยมิลลิกรัมต่อลิตร ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับการเลี้ยงเชื้อที่เวลาน้อยกว่า 96 ชั่วโมง ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และพบว่าปริมาณผลผลิตแคโรทีนอยด์ที่ได้ในหน่วยมิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง มีค่ามากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 เมื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

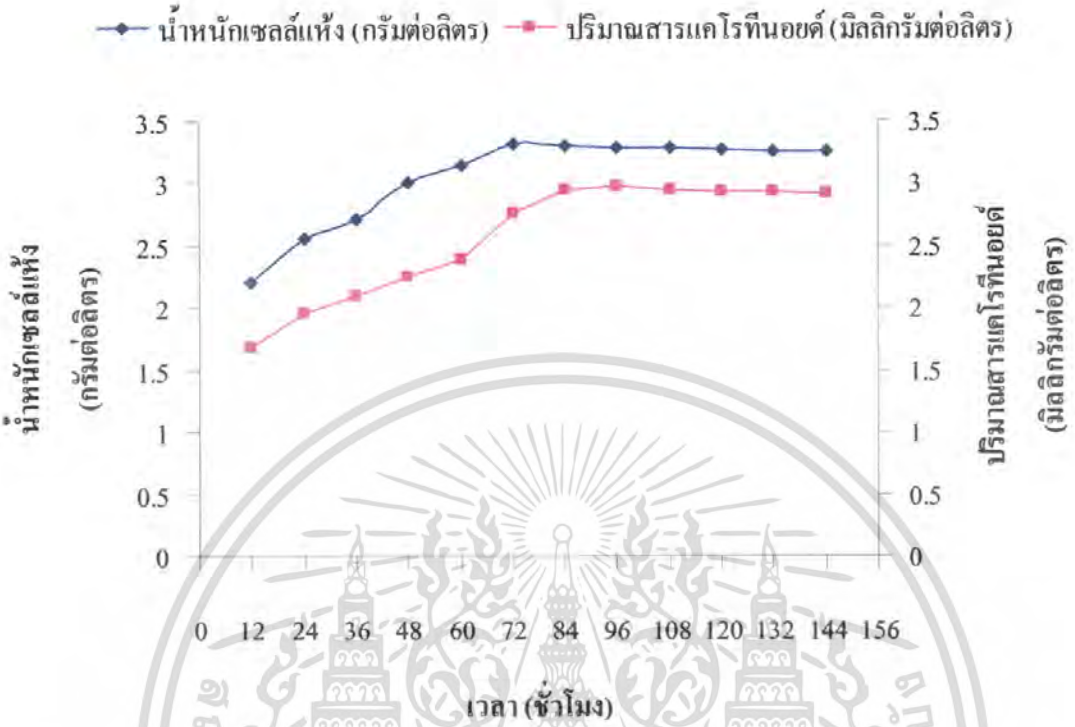
เลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 96 ชั่วโมงโดยมีปริมาณสารแคโรทีนอยด์เท่ากับ 2.98 กรัมต่อลิตร หรือ 0.91 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง หลังจากนั้นจะมีค่าลดลงเล็กน้อยและคงที่ เนื่องจากเข้าสู่ระยะการเจริญคงที่ (stationary phase) ดังนั้นที่ช่วงเวลา 72 ชั่วโมง จึงเป็นเวลาที่จะส่งผลให้เชื้อมีการเจริญเติบโตมากที่สุด และที่เวลา 96 ชั่วโมง เป็นเวลาที่ส่งผลให้เชื้อมีการผลิตสารแคโรทีนอยด์ออกมาได้สูงที่สุด

ตารางที่ 6 ผลของเวลาที่มีต่อการเจริญและการผลิตสารแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *R. glutinis* ในอาหารที่เป็นสารสกัดจากกากสับปะรด

เวลา (ชั่วโมง)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อกรัม)
12	2.21^{g}	1.68^{i}	0.76^{e}
24	2.56^{f}	1.96^{h}	0.76^{e}
36	2.71^{e}	2.09^{g}	0.77^{d}
48	3.00^{d}	2.25^{f}	0.75^{e}
60	3.15^{c}	2.39^{e}	0.75^{e}
72	3.32^{a}	2.76^{d}	0.83^{c}
84	3.30^{ab}	2.94^{b}	0.89^{b}
96	3.28^{ab}	2.98^{a}	0.91^{a}
108	3.28^{ab}	2.95^{ab}	0.90^{b}
120	3.27^{b}	2.93^{ab}	0.89^{b}
132	3.26^{b}	2.93^{ab}	0.89^{b}
144	3.26^{b}	2.91^{c}	0.89^{b}

หมายเหตุ: a b c d e f g h และ i แสดงถึงความสัมพันธ์ในสดมภ์เดียวกัน ตัวอักษรกำกับที่แตกต่างกันแสดงถึงค่าความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 15 ผลของเวลาที่มีต่อน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณของสารแคโรทีนอยด์ที่ได้จากเชื้อยีสต์ *R. glutinis* ในอาหารที่เป็นสารสกัดจากกากสับปะรดที่สกัดด้วยสารละลายกรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปและอภิปรายผลการทดลอง

5.1 การเตรียมสารสกัดจากกากสับปะรดเพื่อใช้เป็นอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อ

จากคุณสมบัติทางเคมีของกากสับปะรดพบว่ามีปริมาณคาร์โบไฮเดรตประมาณร้อยละ 57.18 และปริมาณโปรตีนมีค่าร้อยละ 6.79 โดยจะเห็นว่ามีปริมาณของคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบในปริมาณที่สูง ซึ่งถือว่าเป็นแหล่งคาร์บอนที่สำคัญที่เชื้อสามารถนำไปใช้ในการเจริญเติบโตและสร้างสารแคโรทีนอยด์ได้ จึงได้ศึกษาการเตรียมสารสกัดจากกากสับปะรดเพื่อนำมาประยุกต์ใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ *Rhodotorula glutinis* เพื่อผลิตสารแคโรทีนอยด์

จากการศึกษาวิธีการเตรียมสารสกัดจากกากสับปะรดเพื่อใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการเจริญเติบโตและการผลิตสารแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *R. glutinis* โดยศึกษาวิธีการเตรียมสารสกัด 2 วิธี คือ วิธีการเตรียมสารสกัดด้วยน้ำร้อนและการย่อยสลายกรดซัลฟูริกเข้มข้น 0.2 นอร์มอลโดยจากการศึกษาหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดด้วยวิธี Dinitrosalicylic acid method (DNS method) และหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดด้วยวิธี Macro - Kjeldahl metho พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในสารสกัดจากกากสับปะรดที่เตรียมได้จาก 2 วิธีมีปริมาณที่แตกต่างกัน โดยพบว่าสารสกัดที่เตรียมได้จากกากสับปะรดที่สกัดด้วยน้ำร้อนมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 2.50 กรัมต่อลิตร และมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดเท่ากับ 0.14 กรัมต่อลิตร และสารสกัดจากกากสับปะรดที่เตรียมด้วยการย่อยสลายด้วยสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.2 นอร์มอล มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 5.98 กรัมต่อลิตร และมีปริมาณไนโตรเจนเท่ากับ 0.15 กรัมต่อลิตร

จากการศึกษาของ Buzzini และ Martini (1999) ซึ่งได้ศึกษาการผลิตสารแคโรทีนอยด์จากเชื้อยีสต์ *R. glutinis* ในอาหารที่เป็นวัตถุดิบทางการเกษตร ได้แก่ สารสกัดจากแป้งถั่วเหลือง (soybean flour extract) กากน้ำตาลจากหัวบีท (beet molasses) สารสกัดจากแป้งข้าวโพด (maize flour extract) น้ำคั้นจากองุ่นดำ (grape must) และกลูโคสไซรัป (glucose syrup) โดยเลือกใช้วิธีการย่อยสลายด้วยสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.2 นอร์มอล (soybean flour extract) พบว่าสารสกัดจากแป้งถั่วเหลือง เมื่อนำไปหาองค์ประกอบทางเคมีพบว่ามีปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด 52 กรัมต่อลิตร โดยมีอัตราส่วนระหว่างปริมาณคาร์บอนต่อปริมาณไนโตรเจน (C/N) เท่ากับ 80 และจากการศึกษาของ Tinoi และคณะ (2004) ซึ่งได้ศึกษาการผลิตสารแคโรทีนอยด์จากเชื้อยีสต์ *Xanthophylomyces dendrorhous* ในอาหารที่เป็นของเหลือจากโรงงานอุตสาหกรรม ได้แก่ กากมัสตาร์ด (Mustard meal) และกากโปรตีนถั่วเขียวจากกระบวนการผลิตวุ้นเส้น (Mung bean meal

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

powder) โดยใช้วิธีการย่อยสลายด้วยสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.2 นอร์มอลและการสกัดด้วยน้ำร้อน จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีพบว่าการสกัดกากมัสตาร์ดด้วยวิธีน้ำร้อนประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 7.45 และโปรตีนร้อยละ7.01 ส่วนการสกัดกากมัสตาร์ดด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.2 นอร์มอล จะประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 2.75 และโปรตีนร้อยละ 4.85 และจากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของกากโปรตีนถั่วเขียวจากกระบวนการผลิตวุ้นเส้นพบว่าการสกัดกากโปรตีนถั่วเขียวด้วยวิธีน้ำร้อนประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 6.75 และโปรตีนร้อยละ 5.53 ส่วนการสกัดกากโปรตีนถั่วเขียวด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.2 นอร์มอล จะประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 8.75 และโปรตีนร้อยละ 7.79

5.2 การศึกษาความเป็นไปได้ในการนำสารสกัดจากกากสับปะรดมาใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับยีสต์ *R. glutinis* เพื่อผลิตสารแคโรทีนอยด์

จากการทดลองได้ศึกษาความเป็นไปได้ในการนำสารสกัดจากกากสับปะรดมาใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อและการผลิตสารแคโรทีนอยด์และการเจริญเติบโตของเชื้อ *R. glutinis* โดยใช้สารสกัดจากกกากสับปะรดเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยการเลี้ยงเชื้อ *R. glutinis* ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เป็นสารสกัดจากกากสับปะรดที่เตรียมด้วยวิธีการสกัดด้วยน้ำร้อนและย่อยสลายด้วยกรดซัลฟูริกเข้มข้น 0.2 นอร์มอล ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 144 ชั่วโมง พบว่าเมื่อเลี้ยงเชื้อในสารสกัดจากกากสับปะรดที่สกัดด้วยวิธีน้ำร้อน จะมีปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดที่เวลา 144 ชั่วโมง โดยมีค่าเท่ากับ 3.68 กรัมต่อลิตร และปริมาณของสารแคโรทีนอยด์ที่ผลิตได้จากเชื้อ *R. glutinis* มีปริมาณสูงสุดเมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 144 ชั่วโมง เช่นกัน และมีค่าเท่ากับ 1.52 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ 0.41 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง ในขณะที่เมื่อเลี้ยงเชื้อในสารสกัดจากกากสับปะรดที่จากการย่อยสลายด้วยกรดซัลฟูริกเข้มข้น 0.2 นอร์มอล จะมีปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณของสารแคโรทีนอยด์มากที่สุดเท่ากับ 2.71 กรัมต่อลิตร และ 1.92 มิลลิกรัมต่อลิตรหรือ 0.70 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง ตามลำดับ เมื่อทำการเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 144 ชั่วโมง จากค่าความแตกต่างกันของน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณแคโรทีนอยด์ที่เชื้อผลิตได้ จะเห็นว่าในอาหารที่เป็นสารสกัดจากกากสับปะรดที่เตรียมได้จากการย่อยสลายด้วยกรดซัลฟูริกเข้มข้น 0.2 นอร์มอล เชื้อ *R. glutinis* สามารถนำสารอาหารไปใช้ในการผลิตสารแคโรทีนอยด์ได้ดีกว่าสารสกัดจากกากสับปะรดที่เตรียมด้วยการสกัดด้วยน้ำร้อน เนื่องจากมีปริมาณสารแคโรทีนอยด์ที่ผลิตได้มากกว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้องพบว่าวิธีการสกัดทั้ง 2 วิธี Tinoi และคณะ (2004) ได้นำไปใช้ในการศึกษาการผลิตสารแคโรทีนอยด์จากเชื้อ *Xanthophylomyces dendrorhous* ในอาหารที่เป็นของเหลือจากโรงงานอุตสาหกรรม ซึ่งได้แก่ กากมัสตาร์ด (Mustard meal) และกากโปรตีนถั่วเขียวจากกระบวนการผลิตวุ้นเส้น (Mung bean meal powder) และพบว่าการสกัดกากมัสตาร์ดด้วยวิธีน้ำร้อนจะมีการเจริญเติบโตและผลิตสารแคโรทีนอยด์ของเชื้อได้ดีที่สุดเมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 120 ชั่วโมง โดยน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณสารแคโรทีนอยด์มีค่าเท่ากับ 6.25 กรัมต่อลิตร และ 3.83 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และ ในกากโปรตีนถั่วเขียวเชื้อจะมีการเจริญเติบโตและผลิตสารแคโรทีนอยด์ได้มากที่สุดที่เวลา 120 ชั่วโมงเช่นกัน โดยพบว่าปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าเท่ากับ 3.48 กรัมต่อลิตร และปริมาณสารแคโรทีนอยด์มีค่าเท่ากับ 2.27 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนวิธีการเตรียมสารสกัดจากกากด้วยการใช้กรดซัลฟูริก 0.2 นอร์มอล ในการย่อยสลายพบว่าสารสกัดจากกากมัสตาร์ดจะทำให้เชื้อมีการเจริญเติบโตและสารแคโรทีนอยด์ได้มากที่สุดเมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 120 ชั่วโมง โดยน้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้มีค่าเท่ากับ 1.59 กรัมลิตร และปริมาณสารแคโรทีนอยด์มีค่าเท่ากับ 0.62 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนกากโปรตีนถั่วเขียวเชื้อจะมีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุดที่ 132 ชั่วโมง ซึ่งวัดปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งได้เท่ากับ 5.45 กรัมต่อลิตร และในผลิตสารแคโรทีนอยด์พบว่าเมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 120 ชั่วโมง จะทำให้เชื้อมีการผลิตสารแคโรทีนอยด์ได้มากที่สุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ 3.54 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยพบว่าเชื้อสามารถเจริญเติบโตและผลิตสารแคโรทีนอยด์ในอาหารที่เตรียมโดยการย่อยสลายด้วยสารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้น 0.2 นอร์มอลได้ดีกว่าอาหารที่เตรียมได้จากกการสกัดด้วยน้ำร้อนเช่นเดียวกัน

5.3 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและผลิตสารแคโรทีนอยด์ของเชื้อยีสต์ *R. glutinis* เมื่อเลี้ยงในอาหารที่เป็นสารสกัดจากกากสับปะรดที่เตรียมได้จากการสกัดด้วยสารละลายกรด

การผลิตสารแคโรทีนอยด์โดยยีสต์ *R. glutinis* จากการศึกษาโดยใช้อาหารที่เป็นสารสกัดจากกากสับปะรดที่สกัดด้วยสารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้น 0.2 นอร์มอล พบว่าการเพิ่มขึ้นของปริมาณน้ำตาลในสารสกัดจากกากสับปะรดจะส่งผลให้การเจริญเติบโตและการผลิตสารแคโรทีนอยด์ของเชื้อเพิ่มขึ้น เนื่องมาจากปริมาณของน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัดจากกากสับปะรดที่เชื้อนำไปใช้ในการเจริญเติบโตและผลิตสารแคโรทีนอยด์นั้นมีค่าที่แตกต่างกัน ซึ่งพบว่าสารสกัดจากกากสับปะรดที่มีความเข้มข้นของกากสับปะรดเริ่มต้นร้อยละ 15 (น้ำหนักต่อปริมาตร) เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการผลิตสารแคโรทีนอยด์ เนื่องจากมีปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์ที่เพียงพอต่อความต้องการของเชื้อในการเจริญเติบและผลิตสารแคโรทีนอยด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(10.34 กรัมต่อลิตร) และจากงานวิจัยของ Aksu และ Tuğba Eren (2007) พบว่าน้ำตาลซูโครสจากกากน้ำตาลจะทำให้เชื้อมีการผลิตสารแคโรทีนอยด์ได้มากที่สุด โดยปริมาณน้ำตาลเริ่มต้นที่เหมาะสมจะอยู่ระหว่าง 15 - 20 กรัมต่อลิตร โดยที่ปริมาณน้ำตาลความเข้มข้นเริ่มต้นเท่ากับ 20 กรัมต่อลิตร ที่ทำให้เชื้อมีการผลิตสารแคโรทีนอยด์มากที่สุด ซึ่งจะเห็นว่าการหาปริมาณน้ำตาลที่เหมาะสมนั้นมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตและการผลิตสารแคโรทีนอยด์ เนื่องจากความเข้มข้นที่เหมาะสมจะมีปริมาณสารอาหารเพียงพอที่เชื้อจะสามารถนำไปใช้ได้

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการผลิตสารแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *R. glutinis* ในอาหารที่เตรียมได้จากกากสับปะรด คือ ที่พีเอชเท่ากับ 6 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยพบว่าเชื้อ *R. glutinis* จะมีการเจริญเติบโตมากที่สุดเมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 72 ชั่วโมง และมีการผลิตสารแคโรทีนอยด์มากที่สุดที่เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 96 ชั่วโมง จากสภาวะที่เหมาะสมดังกล่าวพบว่าน้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าเท่ากับ 3.32 กรัมต่อลิตร และปริมาณสารแคโรทีนอยด์ที่ผลิตได้มีค่าเท่ากับ 2.98 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ 0.91 มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง จากการศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้องในการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตสารแคโรทีนอยด์จากเชื้อ *R. glutinis* โดยมีกากเหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่าจากการศึกษาของ Bhosale และ Gadre (2001) ได้ศึกษาการผลิตสารเบต้าแคโรทีนโดยเชื้อยีสต์ *R. glutinis* สายพันธุ์กลายในกากน้ำตาลที่ได้จากอ้อย พบว่ากากน้ำตาลอ้อยที่ผ่านการสกัดแล้วจะส่งผลให้เชื้อมีการเจริญได้ดีที่สุด และมีสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตสารแบต้าแคโรทีน คือ ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิซ์เริ่มต้นในสารสกัดจากกากน้ำตาลอ้อยเท่ากับ 40 กรัมต่อลิตร พีเอชเท่ากับ 6 และอุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ต่อมา Aksu และ Tuğba Eren (2005) ได้ศึกษาการผลิตสารแคโรทีนอยด์จากยีสต์ *R. mucilaginosa* โดยใช้กากวัตถุดิบที่ได้จากพืชทางการเกษตรที่แตกต่างกันเป็นแหล่งคาร์บอน ได้แก่ กากน้ำตาลจากหัวบีท และหางนม พบว่าเชื้อ *R. mucilaginosa* มีสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต ที่ค่าพีเอชเท่ากับ 7 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และพบว่าเชื้อสามารถผลิตสารแคโรทีนอยด์ได้มากที่สุดเท่ากับ 89 มิลลิกรัมต่อลิตร และในปีต่อมา Aksu และ Tuğba Eren (2007) ได้ศึกษาการผลิตสารแคโรทีนอยด์จากเชื้อ *R. glutinis* พบว่าสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ คือ ที่พีเอชเท่ากับ 6 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารที่เติมซูโครสจากกากน้ำตาล โดยความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์ทั้งหมดที่วัดได้มีค่าเท่ากับ 125.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

จากผลการศึกษาและเปรียบเทียบพบว่ายีสต์ *R. glutinis* สามารถผลิตสารแคโรทีนอยด์ได้ดีในสารสกัดจากกากสับปะรดที่เตรียมจากการย่อยสลายด้วยกรดซัลฟูริก 0.2 นอร์มอล โดยมีความเข้มข้นของกากสับปะรดเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 15 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ในสภาวะที่มีค่าความเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรดด่างเท่ากับ 6.0 และที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากกากสับปะรดสามารถที่จะนำมาประยุกต์ใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อได้ เพื่อเป็นการลดปริมาณของกากเหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมที่อาจก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กนกอร จารุจารีต. 2543. ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของไซยาโนแบคทีเรียเพื่อผลิตสารแคโรทีนอยด์. โครงงานพิเศษวิทยาศสาตร์มหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

จินดา สนิทวงศ์ ณ อยุธยา .2547. การใช้เศษเหลือและผลพลอยได้จากสับปะรดเป็นอาหารสำหรับสัตว์เคี้ยวเอื้อง. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2547 กองอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 562 - 581.

ณัฐวุติ ปัญญานะ, ณัษฐภรณ์ ไม่อ่อนมือ และคนุพล เทแก้ว. 2547. ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตสารแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายสีเขียว. โครงงานพิเศษวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

Guerra, N.B., Stamford, T.M.M., de Medeiros, R.B., de Freitas, C.P., Maia, S.R. and Cavalcante, M.L. 2004. Protein enrichment of pineapple waste for animal feeds. Laboratory of Food Sciences, Department of Nutrition, Health Science Centre, Federal University of Pernambuco, Recife, Brazil.

Rose, A.H. and Harrison, J.S. 1987. The Yeast vol. 1: Biology of Yeast. School of Biological Sciences, UK. *The Quarterly Review of Biology*. 46: 427-428

Britton, G., Liaaen-Jensen, S. and Pfander, H. 1998. Carotenoids Biosynthesis and Metabolism. vol 3. *The Quarterly Review of Biology* . 76: 227-228.

Aksu, Z. and Tuğba Eren, A. 2007. Production of carotenoids by the isolated yeast of *Rhodotorula glutinis* . *Biochem. Eng. J.* 35: 107-113.

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

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.

Tinoi, J., Rakariyatham, N. and Deming, R.L. 2004. Use of mustard meal media as substrate for astaxanthin production by *Xanthophyllomyces dendrorhous*. *Chiang Mai J. Sci.* 31: 293-302.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Davoli, P., Mierau, V. and Weber, R.W.S. 2004. Carotenoids and Fatty Acids in Red Yeasts *Sporobolomyces roseus* and *Rhodotorula glutinis*. *Appl. Biochem. Microbiol.* 40: 392–397.

Bhosale, P. and Gadre, R.V. 2001. Production of β-carotene by a *Rhodotorula glutinis* mutant in sea water medium. *Bioresource Technol.* 76: 53-55.

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

Mantzouridou, F., Roukas, T. and Kotzekidou, P. 2001. Effect of the aeration rate and agitation speed on -carotene production and morphology of *Blakeslea trispora* in a stirred tank reactor : mathematical modeling. *Biochem. Eng. J.* 10: 123–135.

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

Patil, B.G., Gokhale, D.V., Bastawde, K.B. , Puntambekar , U.S. and Patil , S.G. 1998. The use of tamarind waste to improve ethanol production from cane molasses. *Ind. Microbiol. Biotech.* 21: 307–310.

Edge, R., McGarvey, D.J. and Truscott, T.G. 1997. The carotenoids as anti – oxidants - a review. *J. Photochem. Photobiol. Bio.* 41: 189-200.

Shih, C.T. and Hang, Y.D. 1996. Production of Carotenoids by *Rhodotorula rubra* from Sauerkraut Brine. *Lebensm.-Wiss. u. Technol.* 29: 570–572.

Perrier, V., Dubreucq, E. and Galzy, P. 1995. Fatty acid and carotenoid composition of *Rhodotorula* strains. *Arch. Microbiol.* 164: 173-179.

Frengova, G., Simova, E., Pavlova, K., Beshkova, B. and Grigorova, D. 1994. Formation of carotenoids by *Rhodotorula glutinis* in whey ultrafiltrate. *Biotechnol. Bioeng.* 44: 888–894.

Ban-Koffi, L. and Han, Y.W. 1990. Alcohol production from pineapple waste. *Microbiol. Biotech.* 6: 281-284.

Sedmark, J.J., Weerasinghe, D.K. and Jolly, S.O. 1990. Extraction and quantitation of astaxanthin from *Phaffia rhodozyma*. *Biotechnol. Tech.* 4: 107-112

http://209.85.129.104/search?q=cache:YJEsUsG2ldUJ:en.wikipedia.org/wiki/Carotenoid+structural+of+carotenoids&hl=en&ct=clnk&cd=4&gl=th.06/05/2007.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

http://www.agro.cmu.ac.th/e_books/602122/E-learning%20PDF/Sasithon2.pdf.06/07/2007

http://www.astaxanthin.org/carotenoids.htm.06/07/2007

http://dcb-carot.unibe.ch/carbook.htm.25/08/2007

http://www.dld.go.th/nutrition/exhibision/RESEARCH/research_full/2524/R2406.doc.20/09/2007

http://www.doae.go.th/library/html/detail/Pineappl/Mainpine.htm.19/09/2007

http://www.doctorfungus.org/thefungi/Rhodotoruls.htm.06/07/2007

http://www.herbalchem.net/Carotenoids_Advanced.htm.17/09/2007

http://www.ldd.go.th/new_hp/vichakarn/manual/pine/p3.html.19/09/2007

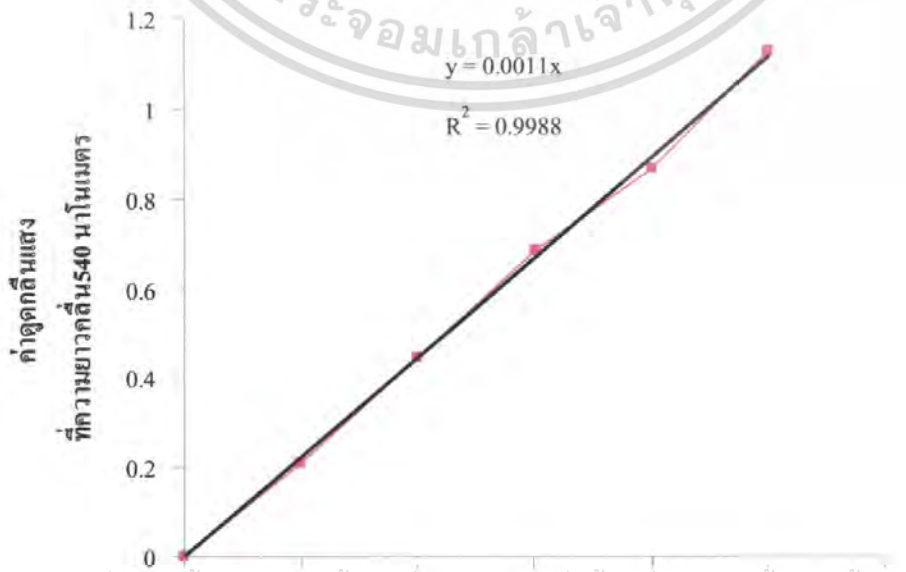
http://www.tistr.or.th/t/publication/page_area_show_bc.asp?i1=76&i2=11.19/09/2007

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

กราฟสารละลายกลูโคสมาตรฐานสามารถทำได้โดยนำน้ำตาลไปอบให้แห้งจากนั้นเตรียมสารละลายกลูโคสโดยให้มีปริมาณน้ำตาลกลูโคสเท่ากับ 200, 400, 600, 800 และ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร นำสารละลายกลูโคสที่เตรียมได้ 1 มิลลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองที่มีสารละลาย Dinitrosalicylic acid (DNS) ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที และทำให้เย็นทันที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ได้ผลดังนี้

ปริมาณน้ำตาลกลูโคสมาตรฐาน (ไมโครกรัม)	ค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร
0	0.0000
200	0.2082
400	0.4430
600	0.6836
800	0.8674
1000	1.1233



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

ตารางที่ 1 น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณสารแคโรทีนอยด์ที่ได้จากเชื้อยีสต์ *R. glutinis* เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารที่เตรียมจากสารสกัดจากกากสับปะรดด้วยวิธีน้ำร้อนโดยค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.5 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที

ชั่วโมง	ชุดการทดลอง	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้งเฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณสารแคโรทีนอยด์เฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)
12	1	1.2533	1.0233	0.351	0.350
	2	0.7933		0.348	
	3	1.0233		0.351	
24	1	1.3000	1.0533	0.511	0.510
	2	0.8067		0.508	
	3	1.0532		0.511	
36	1	1.3600	1.2900	0.720	0.712
	2	1.2200		0.704	
	3	1.2900		0.712	
48	1	1.4333	1.4133	0.929	0.921
	2	1.3933		0.914	
	3	1.4134		0.920	
60	1	1.5533	1.1533	1.193	1.093
	2	1.4733		0.994	
	3	1.1532		1.092	
72	1	1.7200	1.7766	1.200	1.190
	2	1.8333		1.180	
	3	1.7765		1.190	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 (ต่อ) น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณสารแคโรทีนอยด์ที่ได้จากเชื้อยีสต์ *R. glutinis* เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารที่เตรียมจากสารสกัดจากกากสับปะรดด้วยวิธีน้ำร้อนโดยค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.5 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที

84	1	1.7533	1.9333	1.239	1.214
	2	2.1133		1.189	
	3	1.9335		1.214	
96	1	3.1400	3.2000	1.437	1.416
	2	3.2600		1.395	
	3	3.2000		1.416	
108	1	3.2533	3.3700	1.452	1.425
	2	3.4868		1.399	
	3	3.3699		1.424	
120	1	3.2733	3.4099	1.464	1.439
	2	3.5466		1.415	
	3	3.4098		1.438	
132	1	3.3866	3.4899	1.471	1.448
	2	3.5933		1.425	
	3	3.4898		1.448	
144	1	3.7333	3.6799	1.499	1.519
	2	3.6266		1.539	
	3	3.6798		1.519	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณสารแคโรทีนอยด์ที่ได้จากเชื้อยีสต์ *R. glutinis* เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารที่เตรียมจากสารสกัดจากกากสับปะรดด้วยสารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้น 0.2 นอร์มอล โดยค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.5 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที

ชั่วโมง	ชุดการทดลอง	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้งเฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณสารแคโรทีนอยด์เฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)
12	1	1.9333	1.7399	0.905	0.641
	2	1.5466		0.378	
	3	1.7398		0.640	
24	1	2.1533	2.0467	1.103	0.967
	2	1.9400		0.508	
	3	2.0468		1.290	
36	1	2.1933	2.2033	1.210	1.031
	2	2.1233		0.704	
	3	2.2033		1.179	
48	1	2.3800	2.3467	1.326	1.113
	2	2.3133		0.914	
	3	2.3468		1.099	
60	1	2.4200	2.3867	1.406	1.170
	2	2.3533		0.994	
	3	2.3868		1.110	
72	1	2.4800	2.4766	1.740	1.477
	2	2.4733		1.180	
	3	2.4765		1.511	
84	1	2.5733	2.5233	1.820	1.565
	2	2.4733		1.189	
	3	2.5233		1.686	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 (ต่อ) น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณสารแคโรทีนอยด์ที่ได้จากเชื้อยีสต์ *R. glutinis* เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารที่เตรียมจากสารสกัดจากกากสับปะรดด้วยสารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้น 0.2 นอร์มอล โดยค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.5 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที

96	1	2.6267	2.5500	1.892	1.644
	2	2.4733		1.395	
	3	2.5500		1.645	
108	1	2.6533	2.5667	1.928	1.703
	2	2.4800		1.399	
	3	2.5668		1.782	
120	1	2.6933	2.6767	1.945	1.817
	2	2.6600		1.415	
	3	2.6768		2.091	
132	1	2.7066	2.6833	2.048	1.901
	2	2.6600		1.425	
	3	2.6833		2.230	
144	1	2.7333	2.7133	2.055	1.915
	2	2.6933		1.539	
	3	2.7132		2.151	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 ปริมาณน้ำตาลที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารสกัดจากกากสับปะรดต่างกัน

ความเข้มข้นเริ่มต้น (ร้อยละ)	ความเจือจาง	ค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร	ปริมาณน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)
2	1:5	0.207	0.94
5	1:10	0.275	2.50
10	1:10	0.324	5.87
12	1:15	0.474	6.46
15	1:15	0.758	10.34
20	1:20	0.378	6.89

ตารางที่ 4 ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณสารแคโรทีนอยด์ที่ได้จากเชื้อ *R. glutinis* เมื่อเลี้ยงในสารสกัดจากกากสับปะรดที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารสกัดจากกากสับปะรดที่แตกต่างกัน

ความเข้มข้น (เปอร์เซ็นต์)	ชุดการทดลอง	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้งเฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณสารแคโรทีนอยด์เฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)
2	1	2.196	2.17	1.68	1.53
	2	2.166		1.54	
	3	2.148		1.38	
5	1	2.648	2.63	1.91	1.88
	2	2.626		1.89	
	3	2.616		1.85	
10	1	2.724	2.71	1.97	1.95
	2	2.706		1.95	
	3	2.700		1.93	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 (ต่อ) ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณสารแคโรทีนอยด์ที่ได้จากเชื้อ *R. glutinis* เมื่อเลี้ยงในสารสกัดจากกากสับปะรด ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารสกัดจากกากสับปะรดที่แตกต่างกัน

12	1	2.876	2.85	2.28	2.24
	2	2.846		2.25	
	3	2.828		2.20	
15	1	2.952	2.94	2.60	2.57
	2	2.940		2.56	
	3	2.928		2.54	
20	1	2.940	2.91	2.41	2.36
	2	2.914		2.37	
	3	2.876		2.31	

ตารางที่ 5 ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณสารแคโรทีนอยด์ที่ได้จากเชื้อ *R. glutinis* เมื่อเลี้ยงในสารสกัดจากกากสับปะรดที่มีค่าความเป็นกรดด่างที่แตกต่างกัน

พีเอช	ชุดการทดลอง	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้งเฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณสารแคโรทีนอยด์เฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)
3.0	1	2.336	2.32	1.88	1.87
	2	2.320		1.87	
	3	2.304		1.85	
4.0	1	2.600	2.57	2.05	2.05
	2	2.566		2.06	
	3	2.544		2.04	
5.0	1	2.924	2.90	2.44	2.44
	2	2.900		2.45	
	3	2.876		2.43	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 (ต่อ) ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณสารแคโรทีนอยด์ที่ได้จากเชื้อ *R. glutinis* เมื่อเลี้ยงในสารสกัดจากกากสับปะรดที่มีค่าความเป็นกรดด่างที่แตกต่างกัน

5.5	1	2.980	2.98	2.57	2.57
	2	3.012		2.59	
	3	2.948		2.54	
6.0	1	2.980	2.96	2.65	2.65
	2	2.950		2.66	
	3	2.940		2.64	
6.5	1	2.944	2.92	2.51	2.49
	2	2.920		2.49	
	3	2.896		2.46	
7.0	1	2.552	2.53	2.11	2.10
	2	2.526		2.11	
	3	2.512		2.08	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6 ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณสารแคโรทีนอยด์ที่ได้จากเชื้อ *R. glutinis* ในสารสกัดจากกากสับปะรดเมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิแตกต่างกัน

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ชุดการทดลอง	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้งเฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณสารแคโรทีนอยด์เฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)
25	1	2.988	2.97	2.53	2.54
	2	2.966		2.55	
	3	2.956		2.54	
28	1	3.108	3.10	2.65	2.67
	2	3.103		2.69	
	3	3.092		2.68	
30	1	3.096	3.08	2.77	2.78
	2	3.080		2.78	
	3	3.064		2.78	
35	1	2.576	2.56	2.12	2.13
	2	2.560		2.14	
	3	2.544		2.13	
40	1	2.324	2.29	1.68	1.74
	2	2.286		1.75	
	3	2.260		1.79	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 7 ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณสารแคโรทีนอยด์ที่ได้จากเชื้อ *R. glutinis* ในสารสกัดจากกากสับปะรดเมื่อเลี้ยงที่ช่วงเวลาต่างๆ

ชั่วโมง	ชุดการทดลอง	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้งเฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณสารแคโรทีนอยด์เฉลี่ย (กรัมต่อลิตร)
12	1	2.20	2.21	1.67	1.68
	2	2.21		1.68	
	3	2.22		1.68	
24	1	2.55	2.56	1.92	1.96
	2	2.56		1.98	
	3	2.57		1.98	
36	1	2.70	2.71	2.07	2.09
	2	2.71		2.09	
	3	2.72		2.11	
48	1	2.99	3.00	2.24	2.25
	2	3.00		2.25	
	3	3.01		2.26	
60	1	3.14	3.15	2.38	2.39
	2	3.15		2.39	
	3	3.16		2.40	
72	1	3.31	3.32	2.75	2.76
	2	3.32		2.76	
	3	3.33		2.77	
84	1	3.28	3.30	2.93	2.94
	2	3.30		2.94	
	3	3.32		2.95	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 7 (ต่อ) ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณสารแคโรทีนอยด์ที่ได้จากเชื้อ *R. glutinis* ในสารสกัดจากกากสับปะรดเมื่อเลี้ยงที่ช่วงเวลาต่างๆ

96	1	3.25	3.28	2.98	2.98
	2	3.29		2.97	
	3	3.30		2.99	
108	1	3.23	3.28	2.95	2.95
	2	3.31		2.94	
	3	3.30		2.96	
120	1	3.26	3.27	2.94	2.93
	2	3.26		2.92	
	3	3.29		2.93	
132	1	3.24	3.26	2.93	2.93
	2	3.25		2.93	
	3	3.29		2.92	
144	1	3.22	3.26	2.90	2.91
	2	3.29		2.92	
	3	3.27		2.91	

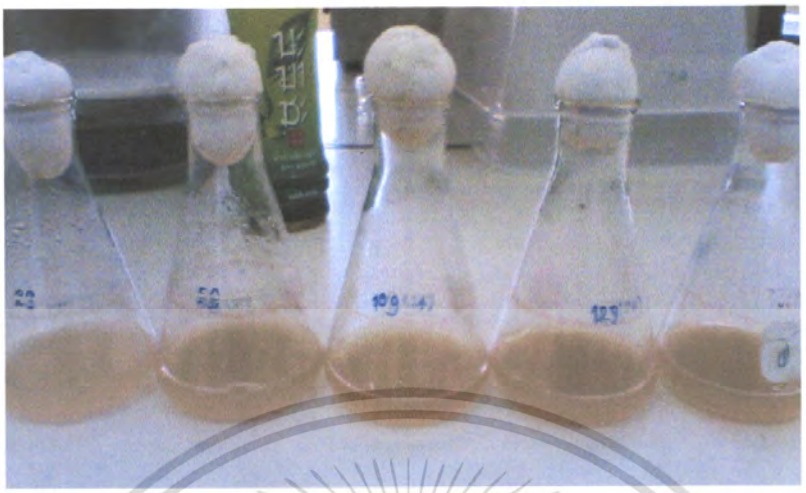
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

รูปที่ 1 ลักษณะของสารสกัดจากกากสับปะรดที่ใช้วิธีสกัดด้วยน้ำร้อน

รูปที่ 2 ลักษณะของสารสกัดจากกากสับปะรดที่ใช้วิธีสกัดด้วยการย่อยสลายด้วยกรดซัลฟูริกเข้มข้น 0.2 นอร์มอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3 แสดงการผลิตสารแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *R. glutinis* ในสารสกัดจากกากสับปะรดที่ใช้วิธีสกัดด้วยด้วยกรดซัลฟูริก เข้มข้น 0.2 นอร์มอล ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของกากสับปะรดที่แตกต่างกัน

รูปที่ 4 แสดงการผลิตสารแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *R. glutinis* ในสารสกัดจากกากสับปะรดที่ค่าความเป็นกรดด่างที่แตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 5 แสดงตัวอย่างการผลิตสารแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *R. glutinis* ในสารสกัดจากกากสับปะรด เมื่อเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

รูปที่ 6 แสดงสารแคโรทีนอยด์ของเชื้อ *R. glutinis* ที่สกัดได้ เมื่อเลี้ยงเชื้อในสารสกัดจากกากสับปะรดที่เวลาต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง
การวิเคราะห์ทางสถิติ

ตารางที่ 1 การวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากเชื้อยีสต์ *R. glutinis* เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารที่เตรียมจากสารสกัดจากกากสับปะรดด้วยวิธีน้ำร้อน

Anova

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	38.103	11	3.464	167.002	.000
Within Groups	.498	24	.021		
Total	38.601	35			

Duncan

Time	N	Subset for alpha = .05						
		1	2	3	4	5	6	7
12	3	1.0233						
24	3	1.0533	1.0533					
36	3		1.2900	1.2900				
60	3			1.3933				
48	3			1.4133				
72	3				1.7766			
84	3				1.9334			
96	3					3.2000		
108	3					3.3700	3.3700	
120	3					3.4099	3.4099	
132	3						3.4899	3.4899
144	3							3.6799
Sig.		.801	.055	.332	.195	.103	.346	.119

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 การวิเคราะห์ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ที่ได้จากเชื้อยีสต์ *R. glutinis* เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารที่เตรียมจากสารสกัดจากกากสับปะรดด้วยวิธีน้ำร้อน

ตารางที่ 2.1 ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)

Anova

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5.194	11	.472	421.987	.000
Within Groups	.027	24	.001		
Total	5.221	35			

Duncan

Time	N	Subset for alpha = .05							
		1	2	3	4	5	6	7	8
12	3	.3500							
24	3		.5100						
36	3			.7120					
48	3				.9210				
60	3					1.0930			
72	3						1.1900		
84	3						1.2140		
96	3							1.4160	
108	3							1.4250	
120	3							1.4390	
132	3							1.4480	
144	3								1.5190
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	.388	.295	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 (ต่อ) การวิเคราะห์ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ที่ได้จากเชื้อยีสต์ *R. glutinis* เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารที่เตรียมจากสารสกัดจากกากสับปะรดด้วยวิธีน้ำร้อน

ตารางที่ 2.2 ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์)

Anova

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.260	11	.024	63.127	.000
Within Groups	.009	24	.000		
Total	.269	35			

Duncan

time	N	Subset for alpha = .05						
		1	2	3	4	5	6	7
12	3	.2000						
24	3		.2500					
36	3			.3200				
48	3				.3900			
132	3				.4100	.4100		
144	3				.4100	.4100		
108	3				.4200	.4200		
120	3				.4200	.4200		
96	3					.4400	.4400	
60	3						.4600	.4600
72	3							.4800
84	3							.4800
Sig.		1.000	1.000	1.000	.101	.101	.218	.244

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 การวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากเชื้อยีสต์ *R. glutinis* เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารที่เตรียมจาก สารสกัดจากกากสับปะรดด้วยสารละลายกรดซัลฟูริก 0.2 นอร์มอล

Anova

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.822	11	.257	43.978	.000
Within Groups	.140	24	.006		
Total	2.962	35			

Duncan

Time	N	Subset for alpha = .05					
		1	2	3	4	5	6
12	3	1.7399					
24	3		2.0467				
36	3		2.1733				
48	3			2.3467			
60	3			2.3867			
72	3			2.4766	2.4766		
84	3				2.5233		
96	3				2.5500	2.5500	
108	3				2.5667	2.5667	
120	3					2.6767	2.6767
132	3					2.6833	2.6833
144	3						2.7133
Sig.		1.000	.054	.059	.198	.060	.586

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 การวิเคราะห์ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ที่ได้จากเชื้อยีสต์ *R. glutinis* เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารที่เตรียมจากสารสกัดจากกากสับปะรดด้วยสารละลายกรดซัลฟูริก 0.2 นอร์มอล

ตารางที่ 4.1 ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)

Anova

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5.724	11	.520	5.460	.000
Within Groups	2.287	24	.095		
Total	8.011	35			

Duncan

Time	N	Subset for alpha = .05					
		1	2	3	4	5	6
12	3	.6410					
24	3	.9670	.9670				
36	3	1.0310	1.0310	1.0310			
48	3	1.1130	1.1130	1.1130	1.1130		
60	3	1.1700	1.1700	1.1700	1.1700	1.1700	
72	3		1.4770	1.4770	1.4770	1.4770	1.4770
84	3			1.5650	1.5650	1.5650	1.5650
96	3				1.6440	1.6440	1.6440
108	3					1.7030	1.7030
120	3						1.8170
132	3						1.9010
144	3						1.9150
Sig.		.070	.081	.068	.069	.068	.141

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 (ต่อ) การวิเคราะห์ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ที่ได้จากเชื้อยีสต์ *R. glutinis* เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารที่เตรียมจากสารสกัดจากกากสับปะรดด้วยสารละลายกรดซัลฟูริก 0.2 นอร์มอล

ตารางที่ 4.1 ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์)

Anova

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.428	11	.039	2.691	.021
Within Groups	.347	24	.014		
Total	.776	35			

Duncan

time	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
12	3	.3600	
24	3	.4700	.4700
36	3	.4700	.4700
48	3	.4700	.4700
60	3	.4900	.4900
72	3		.6000
84	3		.6200
96	3		.6400
108	3		.6600
120	3		.6800
144	3		.7000
132	3		.7000
Sig.		.248	.056

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 การวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณสารแคโรทีนอยด์ที่ได้จากเชื้อยีสต์ *R. glutinis* เมื่อเลี้ยงในสารสกัดจากกากสับปะรด ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารสกัดจากกากสับปะรดที่แตกต่างกัน

ตารางที่ 5.1 น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)

Anova

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.230	5	.246	531.043	.000
Within Groups	.006	12	.000		
Total	1.236	17			

Duncan

Concentrate	N	Subset for alpha = .05				
		1	2	3	4	5
2	3	2.1700				
5	3		2.6300			
10	3			2.7100		
12	3				2.8500	
20	3					2.9100
15	3					2.9400
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	.114

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 (ต่อ) การวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณสารแคโรทีนอยด์ที่ได้จากเชื้อยีสต์ *R. glutinis* เมื่อเลี้ยงในสารสกัดจากกากสับปะรด ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารสกัดจากกากสับปะรดที่แตกต่างกัน

ตารางที่ 5.2 ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)

Anova

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.093	5	.419	86.701	.000
Within Groups	.058	12	.005		
Total	2.151	17			

Duncan

Concentrate	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
2	3	1.5333			
5	3		1.8833		
10	3		1.9500		
12	3			2.2433	
20	3			2.3633	
15	3				2.5667
Sig.		1.000	.263	.056	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 (ต่อ) การวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณสารแคโรทีนอยด์ที่ได้จากเชื้อยีสต์ *R. glutinis* เมื่อเลี้ยงในสารสกัดจากกากสับปะรด ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารสกัดจากกากสับปะรดที่แตกต่างกัน

ตารางที่ 5.3 ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์)

Anova

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.068	5	.014	21.097	.000
Within Groups	.008	12	.001		
Total	.076	17			

Duncan

concentrate	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
2	3	.7033		
5	3	.7167		
10	3	.7167		
12	3		.7867	
20	3		.8100	
15	3			.8733
Sig.		.552	.282	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณสารแคโรทีนอยด์ที่ได้จากเชื้อ *R. glutinis* เมื่อเลี้ยงในสารสกัดจากกากสับปะรดที่มีค่าความเป็นกรดด่างที่แตกต่างกัน

ตารางที่ 6.1 น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)

Anova

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.236	6	.206	353.961	.000
Within Groups	.008	14	.001		
Total	1.244	20			

Duncan

pH	N	Subset for alpha = .05				
		1	2	3	4	5
3	3	2.3200				
7	3		2.5300			
4	3		2.5700			
5	3			2.9000		
6.5	3			2.9200	2.9200	
6	3				2.9567	2.9567
5.5	3					2.9800
Sig.		1.000	.062	.327	.084	.256

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6 (ต่อ) การวิเคราะห์ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณสารแคโรทีนอยด์ที่ได้จากเชื้อ *R. glutinis* เมื่อเลี้ยงในสารสกัดจากกากสับปะรดที่มีค่าความเป็นกรดด่างที่แตกต่างกัน

ตารางที่ 6.2 ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)

Anova

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.613	6	.269	896.365	.000
Within Groups	.004	14	.000		
Total	1.618	20			

Duncan

pH	N	Subset for alpha = .05						
		1	2	3	4	5	6	7
3	3	1.8667						
4	3		2.0500					
7	3			2.1000				
5	3				2.4400			
6.5	3					2.4867		
5.5	3						2.5667	
6	3							2.6500
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6 (ต่อ) การวิเคราะห์ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณสารแคโรทีนอยด์ที่ได้จากเชื้อ *R. glutinis* เมื่อเลี้ยงในสารสกัดจากกากสับปะรดที่มีค่าความเป็นกรดด่างที่แตกต่างกัน

ตารางที่ 6.3 ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์)

Anova

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.019	6	.003	47.757	.000
Within Groups	.001	14	.000		
Total	.020	20			

Duncan

ph	N	Subset for alpha = .05				
		1	2	3	4	5
4	2	.7950				
3	4	.8025				
7	3		.8300			
5	3		.8400	.8400		
6.5	3			.8500	.8500	
5.5	3				.8600	
6	3					.8900
Sig.		.286	.161	.161	.161	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 7 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณสารแคโรทีนอยด์ที่ได้จากเชื้อ *R. glutinis* ในสารสกัดจากกากสับปะรดเมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิแตกต่างกัน

ตารางที่ 7.1 น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)

Anova

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.547	4	.387	1026.820	.000
Within Groups	.004	10	.000		
Total	1.551	14			

Duncan

tem	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
40	3	2.2900			
35	3		2.5600		
25	3			2.9700	
30	3				3.0800
28	3				3.1010
Sig.		1.000	1.000	1.000	.215

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 7 (ต่อ) การวิเคราะห์ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณสารแคโรทีนอยด์ที่ได้จากเชื้อ *R. glutinis* ในสารสกัดจากกากสับปะรดเมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิแตกต่างกัน

ตารางที่ 7.2 ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)

Anova

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.222	4	.556	737.491	.000
Within Groups	.008	10	.001		
Total	2.230	14			

Duncan

tem	N	Subset for alpha = .05				
		1	2	3	4	5
40	3	1.7400				
35	3		2.1300			
25	3			2.5400		
28	3				2.6733	
30	3					2.7767
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 7 (ต่อ) การวิเคราะห์ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณสารแคโรทีนอยด์ที่ได้จากเชื้อ *R. glutinis* ในสารสกัดจากกากสับปะรดเมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิแตกต่างกัน

ตารางที่ 7.3 ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)

Anova

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.064	4	.016	5.109	.017
Within Groups	.031	10	.003		
Total	.095	14			

Duncan

tem	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
40	3	.7600	
35	3	.8333	
25	3	.8533	
28	3	.8600	
30	3		.9633
Sig.		.068	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 8 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณสารแคโรทีนอยด์ที่ได้จากเชื้อ *R. glutinis* ในสารสกัดจากกากสับปะรดเมื่อเลี้ยงที่ช่วงเวลาต่างๆ

ตารางที่ 8.1 น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)

Anova

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4.355	11	.396	805.202	.000
Within Groups	.012	24	.000		
Total	4.367	35			

Duncan

time	N	Subset for alpha = .05						
		1	2	3	4	5	6	7
12	3	2.2100						
24	3		2.5600					
36	3			2.7100				
48	3				3.0000			
60	3					3.1500		
144	3						3.2600	
132	3						3.2600	
120	3						3.2700	
96	3						3.2800	3.2800
108	3						3.2800	3.2800
84	3						3.3000	3.3000
72	3							3.3200
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	.061	.052

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 8 (ต่อ) การวิเคราะห์ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณสารแคโรทีนอยด์ที่ได้จากเชื้อ *R. glutinis* ในสารสกัดจากกากสับปะรดเมื่อเลี้ยงที่ช่วงเวลาต่างๆ

ตารางที่ 8.2 ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)

Anova

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7.178	11	.653	3174.677	.000
Within Groups	.005	24	.000		
Total	7.183	35			

Duncan

time	N	Subset for alpha = .05								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
12	3	1.6767								
24	3		1.9600							
36	3			2.0900						
48	3				2.2500					
60	3					2.3900				
72	3						2.7600			
144	3							2.9100		
132	3							2.9267	2.9267	
120	3							2.9300	2.9300	
84	3								2.9400	
108	3								2.9500	
96	3									2.9800
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	.118	.079	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 8 (ต่อ) การวิเคราะห์ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณสารแคโรทีนอยด์ที่ได้จากเชื้อ *R. glutinis* ในสารสกัดจากกากสับปะรดเมื่อเลี้ยงที่ช่วงเวลาต่างๆ

ตารางที่ 8.3 ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อกรัมเซลล์)

Anova

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.154	11	.014	420.811	.000
Within Groups	.001	24	.000		
Total	.155	35			

Duncan

time	N	Subset for alpha = .05				
		1	2	3	4	5
48	3	.7500				
12	3	.7600				
24	3	.7600				
60	3	.7600				
36	3		.7733			
72	3			.8300		
84	3				.8900	
144	3				.8900	
120	3				.8967	
132	3				.8967	
108	3				.9000	
96	3					.9100
Sig.		.062	1.000	1.000	.068	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้