

การคัดแยกยีสต์ที่สะสมไขมันในเซลล์จากแหล่งธรรมชาติ  
ในประเทศไทย

ISOLATION OF OLEAGINOUS YEASTS FROM NATURAL  
RESOURCE IN THAILAND

พัชณีย์ลีดา    พิพัฒน์กุลภักดี  
พิชญา    เมธากุลวงศ์

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)  
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
ปีการศึกษา 2560

การคัดแยกยีสต์ที่สะสมไขมันในเซลล์จากแหล่งธรรมชาติ  
ในประเทศไทย

ISOLATION OF OLEAGINOUS YEASTS FROM NATURAL  
RESOURCE IN THAILAND

พัชญ์สิตา พิพัฒน์กุลภักดี  
พิชญา เมธากุลวงศ์

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)  
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
ปีการศึกษา 2560

ISOLATION OF OLEAGINOUS YEASTS FROM NATURAL  
RESOURCE IN THAILAND

PATSITA PIPATKULPAKDI  
PICHAYA METHAKULWONG

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF  
THE REQUIREMENT FOR  
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE  
(INDUSTRIAL MICROBIOLOGY)  
DEPARTMENT OF BIOLOGY, FACULTY OF SCIENCE  
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG  
ACADEMIC YEAR 2017

**หัวข้อโครงการพิเศษ** การคัดแยกยีสต์ที่สะสมไขมันในเซลล์จากแหล่งธรรมชาติในประเทศไทย  
Isolation of oleaginous yeasts from natural resource in Thailand

**ชื่อนักศึกษา** นางสาวพัชญ์สิตา พิพัฒน์กุลภักดี รหัส 57050860  
นางสาวพิชญา เมธากุลวงศ์ รหัส 57050865

**ปริญญา** วิทยาศาสตร์บัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)  
**ภาควิชา** ชีววิทยา  
**ปีการศึกษา** 2560  
**อาจารย์ที่ปรึกษา** ผศ.ดร.สมพิศ สอนโยธา

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยา-อุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2560

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.ดวงกมล เรือนงาม ประธานกรรมการ	
อ.ชนาวดี ก่ออานันต์ กรรมการ	
ผศ.ดร.สมพิศ สอนโยธา กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

หัวข้อโครงการพิเศษ	การคัดแยกยีสต์ที่สะสมไขมันในเซลล์จากแหล่งธรรมชาติในประเทศไทย Isolation of oleaginous yeasts from natural resource in Thailand	
ชื่อนักศึกษา	นางสาวพัชณัฐิตา พิพัฒน์กุลภักดี	รหัส 57050860
	นางสาวพิชญา เมธากุลวงศ์	รหัส 57050865
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)	
ภาควิชา	ชีววิทยา	
คณะ	วิทยาศาสตร์	
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)	
ปีการศึกษา	2560	
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.สมพิศ สอนโยธา	

### บทคัดย่อ

โครงการพิเศษนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดแยกและคัดเลือกยีสต์ที่สะสมไขมันภายในเซลล์ปริมาณสูง (oleaginous yeast) โดยคัดแยกจากแหล่งธรรมชาติต่างๆ ได้แก่ ผลไม้ ดิน และแหล่งน้ำ จำนวนทั้งหมด 57 ตัวอย่าง พบว่าสามารถคัดแยกยีสต์ได้ทั้งหมด 145 ไอโซเลต ซึ่งส่วนใหญ่คัดแยกได้จากดิน และจากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของยีสต์ที่คัดแยกได้สามารถแบ่งออกเป็น 26 จีโนส จากนั้นนำไปคัดเลือกยีสต์ที่สามารถสะสมไขมันในเซลล์ปริมาณสูง พบยีสต์ที่มีค่าการเรืองแสงสัมพันธ์สูงกว่า *Saccharomyces cerevisiae* ซึ่งใช้เป็นชุดควบคุมจำนวน 71 ไอโซเลต และคาดว่าอาจจัดเป็นยีสต์ที่สะสมไขมันภายในเซลล์ปริมาณสูง โดยยีสต์ที่มีค่าการเรืองแสงสัมพันธ์สูงที่สุด 3 อันดับแรก คือ ไอโซเลต CL ซึ่งคัดแยกได้จากดินใต้ต้นพริก ที่แฟลช 19 ถ.นวมินทร์ แขวงนวลจันทร์ เขตบึงกุ่ม จ.กรุงเทพฯ และคาดว่าอาจจัดอยู่ในจีโนส *Filobasidium* spp. รองลงมาคือไอโซเลต T1 ซึ่งคัดแยกได้จากดินใต้ถนนบ้าน 40/26 รามอินทรา 77 แยก 2 เขตคันทนา ยาว กทม. และคาดว่าอาจจัดอยู่ในจีโนส *Rhodotorula* spp. และไอโซเลต DW2 ซึ่งคัดแยกได้จากดินบริเวณ ต. โพนแดงใต้ อ. บางไทร จ. พระนครศรีอยุธยา และคาดว่าอาจจัดอยู่ในจีโนส *Candida* spp. ตามลำดับ

**คำสำคัญ :** การคัดแยกยีสต์ การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา ค่าการเรืองแสงสัมพันธ์ ยีสต์ที่สะสมไขมันภายในเซลล์สูง

Title	Isolation of oleaginous yeasts from natural resource in Thailand	
Students	Miss Patsita Pipatkulpakdi	Student ID 57050860
	Miss Pichaya Methakulwong	Student ID 57050865
Degree	Bachelor of Science (Industrial Microbiology)	
Department	Biology	
Faculty	Science	
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)	
Academic Year	2016	
Advisor	Asst.Prof.Dr. Somphit Sornyotha	

### Abstract

The purpose of this special project was to isolate and select the oleaginous yeasts from natural resources. The 57 samples were collected from fruits, soils and water sources, cultivated and screened for this proposes. The result showed that the 145 yeasts were isolated and almost isolated yeasts were from soils. From morphological study cloud be classified a total of 145 isolates belonging to 26 genera. In addition, the 71 yeast isolates could show relative fluorescence unit higher than *Saccharomyces cerevisiae* as control and were classified as oleaginous yeasts. The first three isolates, designated as the isolate CL was isolated from soil under the chili tree at flat 19 Nawamin Road, Nuanchan, Bueng Kum, Bangkok and might belong to a genus *Filobasidium*, the isolate T1 was isolated from soil under the house at 40/26 Ramintra 77, Intersection 2, Khanna Youa, Bangkok and might belong to a genus *Rhodotorula*, and the isolate NG6 was isolated from soil in front of a house at Photangtai, Bang Sai, Ayutthaya and might belong to a genus *Candida*, respectively, were able to show the highest relative fluorescence unit.

**Keywords** : Isolation of yeast, Morphological study, Relative fluorescence unit, Oleaginous yeast

## กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษฉบับนี้สำเร็จได้อันเนื่องมาจากความกรุณาและคำแนะนำของท่านอาจารย์ที่ปรึกษา ขอขอบพระคุณ ดร.สมพิศ สอนโยธา ที่ดูแล ให้ความช่วยเหลือและให้คำปรึกษาสำหรับการปรับปรุงข้อบกพร่องต่างๆ และความรู้ในการทำโครงการพิเศษให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณท่านอาจารย์ประธานกรรมการสอบโครงการพิเศษ ผศ.ดร.ดวงกมล เรือนงาม และท่านอาจารย์กรรมการสอบโครงการพิเศษ อ.ธนาวัต ก่ออนันต์ ที่ให้คำแนะนำและตรวจสอบพร้อมทั้งชี้แนะแนวทางในการทำโครงการพิเศษนี้ให้มีความเรียบร้อยสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาชีววิทยา เจ้าหน้าที่ธุรการ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และเจ้าหน้าที่ศูนย์วิทยาศาสตร์และวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา สำหรับการช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกด้านอุปกรณ์และสารเคมีในการทำโครงการพิเศษ

ขอขอบพระคุณ บิดา มารดา พี่ น้องที่เป็นกำลังใจเป็นแรงผลักดันในการทำโครงการพิเศษให้สำเร็จในครั้งนี้ รวมถึงเพื่อนๆ และ บุคคลอื่นๆ ที่ไม่ได้กล่าวมา ผู้จัดทำโครงการขอขอบคุณเป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้

พัชญ์สิตา พิพัฒน์กุลภักดิ์

พิชญญา เมธากุลวงศ์

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย .....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ .....	ข
กิตติกรรมประกาศ .....	ค
สารบัญ .....	ง
สารบัญตาราง .....	ช
สารบัญรูป .....	ซ
<b>บทที่ 1 บทนำ</b> .....	<b>1</b>
1.1 ความสำคัญ/ที่มาของโรงงานพิเศษ .....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย .....	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย .....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ .....	3
<b>บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง</b> .....	<b>4</b>
2.1 ยีสต์ (Yeasts) .....	4
2.2 การจัดจำแนกยีสต์ .....	4
2.2.1 Ascosporegenous yeasts .....	4
2.2.2 Basidiosporegenous yeasts .....	17
2.2.3 Imperfect yeasts .....	20
2.3 ยีสต์ที่สะสมไขมันในเซลล์ (Oleaginous yeast) .....	22
2.3.1 ประวัติของการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับยีสต์ที่สะสมไขมันในเซลล์ .....	22
2.3.2 แหล่งที่สามารถพบยีสต์ที่สะสมไขมันในเซลล์ .....	23
2.3.3 สปีชีส์และสายพันธุ์ของยีสต์ที่สะสมไขมันในเซลล์ .....	23
2.4 องค์ประกอบของไขมันภายในเซลล์ยีสต์ .....	31
2.5 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตไขมันของยีสต์ที่สะสมไขมันในเซลล์ .....	39
2.5.1 ชนิดและปริมาณแหล่งไนโตรเจน .....	39
2.5.2 อัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N) .....	39
2.5.3 แร่ธาตุและวิตามิน .....	40
2.5.4 ชนิดและความเข้มข้นของน้ำตาล .....	40
2.5.5 อุณหภูมิ .....	40

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.5.6 ค่าพีเอช .....	41
2.5.7 การเติมอากาศ .....	41
2.5.8 ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง .....	41
2.6 ประโยชน์ประโยชน์ของยีสต์ที่สะสมไขมันในเซลล์ .....	42
2.6.1 เป็นแหล่งสะสมไขมันในการนำไปผลิตไบโอดีเซล .....	42
2.6.2 เป็นอาหารเสริมและส่วนประกอบอาหาร .....	43
2.7 การตรวจสอบไขมันในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ .....	44
<b>บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย .....</b>	<b>45</b>
3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำโครงการพิเศษ .....	45
3.2 สารเคมี .....	46
3.3 วิธีดำเนินงานวิจัย .....	47
3.3.1 แหล่งตัวอย่างที่นำมาคัดแยกยีสต์ .....	47
3.3.2 การคัดแยกยีสต์จากแหล่งธรรมชาติ .....	47
3.3.3 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของยีสต์ที่คัดแยกได้ .....	48
3.3.4 การคัดเลือกยีสต์ที่มีการสะสมไขมันในเซลล์ (Oleaginous yeasts) .....	48
<b>บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล .....</b>	<b>51</b>
4.1 การคัดแยกยีสต์จากแหล่งธรรมชาติ .....	51
4.2 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของยีสต์ที่คัดแยกได้ .....	55
4.3 การคัดเลือกยีสต์ที่มีการสะสมไขมันในเซลล์ปริมาณสูง (Oleaginous Yeasts) .....	74
<b>บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ .....</b>	<b>80</b>
5.1 สรุปผลการวิจัย .....	80
5.2 ข้อเสนอแนะ .....	80
เอกสารอ้างอิง .....	82
ภาคผนวก .....	105
ภาคผนวก ก .....	106

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
ภาคผนวก ข .....	107
ภาคผนวก ค .....	108
ภาคผนวก ง .....	158

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 แสดงปริมาณไขมันที่สะสมในเซลล์ (ร้อยละโดยมวล) ของยีสต์ที่สะสมไขมันในเซลล์ (Oleaginous yeasts) ในกลุ่ม Ascosporogenous .....	24
2.2 แสดงปริมาณไขมันที่สะสมในเซลล์ (ร้อยละโดยมวล) ของยีสต์ที่สะสมไขมันในเซลล์ (Oleaginous yeasts) ในกลุ่ม Basidiomycetous .....	26
2.3 แสดงชนิดและปริมาณของกรดไขมันที่สะสมอยู่ในเซลล์ของยีสต์เมื่อมีการเพาะเลี้ยง ในอาหารที่มีแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกัน .....	32
4.1 แสดงแหล่งตัวอย่างจากธรรมชาติ จำนวนไอโซเลตยีสต์และชื่อไอโซเลตยีสต์ที่คัดแยก ได้ .....	52
4.2 การจัดจำแนกยีสต์ที่คัดแยกได้โดยใช้ข้อมูลลักษณะทางสัณฐานวิทยา .....	73
4.3 ยีสต์ที่มีค่าการเรืองแสงสัมพัทธ์สูงกว่ายีสต์ควบคุม <i>S. cerevisiae</i> ซึ่งวัดค่าการเรืองแสงโดยใช้เครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท รุ่น FLUOstar Omega โดยใช้ Excitation wavelength เท่ากับ 544 นาโนเมตรและใช้ Emission wavelength เท่ากับ 590 นาโนเมตร .....	76
ค1 ตารางแสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ของยีสต์ที่แยกได้จากผลไม้ น้ำ และดิน ณ สถานที่ต่างๆภายในประเทศไทย .....	109
ง1 แสดงค่าการเรืองแสงที่อ่านได้จากเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลทของยีสต์ที่คัดแยกได้ ค่าการเรืองแสงของ Blank ค่าการเรืองแสงของยีสต์ Control ค่าเฉลี่ยการเรืองแสงของ ยีสต์ที่คัดแยกได้ ค่าเฉลี่ยการเรืองแสงของ Blank ค่าเฉลี่ยการเรืองแสงของยีสต์ Control และค่าการเรืองแสงสัมพัทธ์ (Relative fluorescence unit, RFU) .....	159

## สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 ภาพตัวอย่างแสดงลักษณะ Ascus และ Ascospores ที่อยู่ภายใน Ascus .....	5
2.2 ภาพตัวอย่างแสดงการสืบพันธุ์ของยีสต์ <i>Schiz. octosporus</i> .....	6
2.3 ภาพตัวอย่างจากกล้องจุลทรรศน์แสดงรูปร่าง Ascus และ Ascospores ของยีสต์ <i>Schiz. octosporus</i> .....	6
2.4 ภาพตัวอย่างจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแสดงรูปร่าง Ascus และ Ascospores ของยีสต์ <i>H. saturnus</i> .....	10
2.5 ภาพตัวอย่างจากกล้องจุลทรรศน์แสดงรูปร่าง Ascus และ Ascospores ของยีสต์ <i>D. hansenii</i> .....	10
2.6 ภาพตัวอย่างจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแสดงรูปร่าง Ascus และ Ascospores ของยีสต์ <i>Cla. lusitaniae</i> .....	11
2.7 ภาพตัวอย่างจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแสดงรูปร่าง Ascus และ Ascospores ของยีสต์ <i>Sporo. cereana</i> .....	12
2.8 ภาพตัวอย่างจากกล้องจุลทรรศน์แสดงรูปร่าง Ascus และ Ascospores ของยีสต์ <i>L. starkeyi</i> .....	15
2.9 ภาพตัวอย่างแสดงการสืบพันธุ์ของยีสต์ <i>N. commutate</i> .....	16
2.10 ภาพตัวอย่างแสดงลักษณะ Basidiospores .....	17
2.11 ภาพแสดงตัวอย่างลักษณะของ Teliospores .....	18
2.12 ภาพแสดงตัวอย่างลักษณะของ Chlamydospores .....	20
2.13 การเปลี่ยนไตรกลีเซอไรด์ (TAG) ไปเป็นกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ (FAME) และกลีเซอรอลโดยวิธี transesterification .....	43
4.1 แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของยีสต์จีนัส <i>Ambrosiozyma</i> spp. และไอโซเลต WH5 .....	55
4.2 แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของยีสต์จีนัส <i>Blastobotrys</i> spp. และไอโซเลต HF1 .....	56
4.3 แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของยีสต์จีนัส <i>Schizosaccharomyces</i> spp. และไอโซเลต KK2 .....	56
4.4 แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของยีสต์จีนัส <i>Debaryomyces</i> spp. และไอโซเลต PK4 .....	57

## สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.5 แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของยีสต์จีนัส <i>Hansenula</i> spp. และไอโซเลต PJ1 .....	58
4.6 แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของยีสต์จีนัส <i>Hanseniaspora</i> sp. และไอโซเลต OI6 .....	58
4.7 แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของยีสต์จีนัส <i>Kluyveromyces</i> spp. และไอโซเลต M4 .....	59
4.8 แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของยีสต์จีนัส <i>Metschnikowia</i> sp. และไอโซเลต Y <sub>1</sub> 2 .....	60
4.9 แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของยีสต์จีนัส <i>Meyerozyma</i> spp. และไอโซเลต BJ4 .....	60
4.10 แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของยีสต์จีนัส <i>Ogataea</i> spp. และไอโซเลต TK1 .....	61
4.11 แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของยีสต์จีนัส <i>Pichia</i> spp. และไอโซเลต KT3 .....	62
4.12 แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของยีสต์จีนัส <i>Priceomyces</i> spp. และไอโซเลต NK2 .....	62
4.13 แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของยีสต์จีนัส <i>Saccharomyces</i> spp. และไอโซเลต AB1 .....	63
4.14 แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของยีสต์จีนัส <i>Saccharomycopsis</i> spp. และไอโซเลต WF4 .....	64
4.15 แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของยีสต์จีนัส <i>Schwanniomyces</i> spp. และไอโซเลต BJ3 .....	65
4.16 แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของยีสต์จีนัส <i>Yamadazyma</i> sp. และไอโซเลต G3 .....	65
4.17 แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของยีสต์จีนัส <i>Yarrowia</i> spp. และไอโซเลต Y <sub>1</sub> 1 .....	66
4.18 แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของยีสต์จีนัส <i>Filobasidium</i> spp. และไอโซเลต WE1 .....	67

## สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.19 แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของยีสต์จีนัส <i>Kazachstania</i> spp. และไอโซเลต NM2 .....	67
4.20 แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของยีสต์จีนัส <i>Candida</i> spp. และไอโซเลต PW2 .....	68
4.21 แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของยีสต์จีนัส <i>Cryptococcus</i> sp. และไอโซเลต PP2 .....	69
4.22 แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของยีสต์จีนัส <i>Cyberlindnera</i> spp. และไอโซเลต W1 .....	69
4.23 แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของยีสต์จีนัส <i>Rhodospiridium</i> sp. และไอโซเลต M3 .....	70
4.24 แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของยีสต์จีนัส <i>Rhodotorula</i> spp. และไอโซเลต T1 .....	71
4.25 แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของยีสต์จีนัส <i>Trichosporon</i> spp. และไอโซเลต WP3 .....	71
4.26 แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของยีสต์จีนัส <i>Trigonopsis</i> sp. และไอโซเลต RS2 .....	72
4.27 แสดงค่าการเรืองแสงสัมพัทธ์ของยีสต์จำนวน 74 ไอโซเลตเมื่อสัมผัสกับ Nile red และมีค่าการเรืองแสงสัมพัทธ์ต่ำกว่า <i>S. cerevisiae</i> .....	77
4.28 แสดงค่าการเรืองแสงสัมพัทธ์ของยีสต์จำนวน 71 ไอโซเลตเมื่อสัมผัสกับ Nile red และมีค่าการเรืองแสงสัมพัทธ์สูงกว่า <i>S. cerevisiae</i> .....	78
4.29 แสดงลักษณะเซลล์ของไอโซเลต CL ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงและกล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนซ์ .....	79
4.30 แสดงลักษณะเซลล์ของไอโซเลต T1 ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงและกล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนซ์ .....	79

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความสำคัญ/ที่มาของโครงการพิเศษ

น้ำมันดิบจัดเป็นเชื้อเพลิงฟอสซิล (Fossil fuels) ซึ่งในปัจจุบันมีความสำคัญต่อชีวิตประจำวันของมนุษย์และถูกนำมาใช้ประโยชน์มากมาย เช่น ใช้ในอุตสาหกรรม ใช้ในครัวเรือน ใช้ในระบบขนส่ง และใช้ในเครื่องยนต์ เครื่องบิน เป็นต้น แต่อย่างไรก็ตามการใช้เชื้อเพลิงฟอสซิลนั้นยังส่งผลเสียต่างๆ มากมาย เช่น ทำให้เกิดมลภาวะในอากาศซึ่งทำให้เกิดทั้งปัญหาด้านสุขภาพ และปัญหาต่อสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดภาวะโลกร้อนในปัจจุบัน (Shah และคณะ, 2018) แต่อย่างไรก็ตามความต้องการใช้น้ำมันของมนุษย์ยังคงเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ส่งผลให้น้ำมันลดลงอย่างรวดเร็วและราคาน้ำมันสูงขึ้น จากที่กล่าวมาข้างต้นนี้จึงเป็นเหตุผลให้มีการศึกษาพลังงานทดแทนทางเลือกใหม่ และหนึ่งในนั้นก็คือไบโอดีเซล (Corach และคณะ, 2017) ซึ่งไบโอดีเซลเป็นเชื้อเพลิงที่ผลิตได้จากแหล่งทรัพยากรหมุนเวียน เช่น น้ำมันพืช และน้ำมันสัตว์ เป็นต้น นำไปผ่านกระบวนการทางเคมีโดยการเติมแอลกอฮอล์และตัวเร่งปฏิกิริยาเพื่อเปลี่ยนโครงสร้างทางเคมีให้มีคุณสมบัติใกล้เคียงกับน้ำมันดีเซล จึงเรียกว่า ไบโอดีเซล ซึ่งข้อดีของไบโอดีเซลเมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อเพลิงฟอสซิลคือ ไบโอดีเซลเป็นเชื้อเพลิงชีวภาพ หรือเป็นแหล่งพลังงานทดแทนสามารถผลิตได้ง่าย ไบโอดีเซลมีค่าการเผาไหม้ที่สูงขึ้น ทำให้มีความปลอดภัยสูง ไม่เป็นพิษต่อสภาพแวดล้อมและย่อยสลายได้ง่าย (Feofilova และคณะ, 2010) โดยในปัจจุบันได้มีการนำน้ำมันพืชซึ่งเป็นสารประกอบไตรกลีเซอไรด์มาใช้ในการผลิตไบโอดีเซล ซึ่งข้อดีของน้ำมันพืชคือมีคุณสมบัติใกล้เคียงกับน้ำมันดีเซล แต่มีข้อเสียคือมีความหนืดสูง จึงทำให้หัวฉีดน้ำมันเป็นฝอยยาก การสันดาปไม่สมบูรณ์ เกิดคราบเขม่าหลังการเผาไหม้ และที่อุณหภูมิต่ำอาจจะเกิดไขขึ้นได้ (Knothe และคณะ, 1997 และ Demirbas และคณะ, 2009) นอกจากนี้ยังมีการนำไขมันจากสัตว์ เช่น น้ำมันหมู ไขวัว และไขปลาขาว เป็นต้น มาใช้ในการผลิตไบโอดีเซล ซึ่งสามารถช่วยลดมลพิษจากท่อไอเสียของรถยนต์ได้มากกว่ารถที่ใช้ น้ำมันดีเซล ร้อยละ 40 - 50 มีราคาถูก แต่มีข้อเสียคือต้องทำการปรับเปลี่ยนอุปกรณ์ในการจ่ายน้ำมันของเครื่องยนต์ (Sathiyagnanam และคณะ, 2012) นอกจากนี้ยังมีการนำจุลินทรีย์ ได้แก่ สาหร่าย แบคทีเรีย และยีสต์ มาเป็นแหล่งวัตถุดิบในการผลิตไบโอดีเซลอีกด้วย โดยเฉพาะยีสต์จำพวก Oleaginous yeast ซึ่งเป็นยีสต์ที่สามารถสะสมไขมันในเซลล์มากกว่าร้อยละ 20 ของน้ำหนักเซลล์แห้ง (Ratledge, 1979) ตัวอย่างของยีสต์ที่จัดเป็น Oleaginous yeast ได้แก่ ยีสต์ *Guehomyces pullulans*, *Candida sake*, *C. glabrosa*, *Cryptococcus aerius*, *Cr. gilvescens*, *Cr. victoriae*, *Cr. albidosimilis*, *Cr. tephrensensis*, *Cr. Curvatus*, *Cystofilobasidium infirmominiatum*, *Cutaneotrichosporon curvatus*, *Debaryomyces hansenii*, *Leucosporidiella fragaria*, *L. muscorum*, *Lipomyces*

*starkeyi*, *Metschnikowia australis*, *Rhodotorula larynges*, *R. kratochvilovae*, *R. dairenensis*, *R. mucilaginosa*, *Rhodospiridium toruloides* และ *Yarrowia lipolytica* เป็นต้น (Martinez และคณะ, 2016 และ Tanimura และคณะ, 2014) ในการนำยีสต์มาใช้เป็นแหล่งของการผลิตไบโอดีเซลนั้น ยีสต์จะเก็บสะสมไขมันในรูปของไตรกลีเซอไรด์ไว้ภายในเซลล์ ซึ่งภายในเซลล์ยีสต์ประกอบไปด้วยกรดไขมันที่มีความคล้ายคลึงกับน้ำมันจากพืชที่สามารถนำไปผลิตเป็นน้ำมันไบโอดีเซลได้ ซึ่งข้อดีของการนำยีสต์มาใช้เป็นแหล่งผลิตไบโอดีเซลเมื่อเทียบกับสาหร่ายคือ ยีสต์มีวงจรชีวิตสั้นจึงใช้เวลาในการเพาะเลี้ยงไม่นาน ไม่ต้องใช้แรงงานในการเพาะเลี้ยงมาก ไม่ต้องการพื้นที่ในการเพาะเลี้ยง กระบวนการผลิตไม่ยุ่งยาก การเพาะเลี้ยงไม่ขึ้นอยู่กับสภาพภูมิอากาศ สามารถควบคุมการปนเปื้อนแบคทีเรียในสภาวะการเจริญโดยปรับพีเอชให้ต่ำ และสามารถขยายระดับการผลิตได้ง่าย ในขณะที่สาหร่ายต้องใช้พื้นที่ในการเพาะเลี้ยงมาก ต้องใช้แสงตลอดการเพาะเลี้ยง ปนเปื้อนแบคทีเรียและโปรโตซัวง่ายในการเพาะเลี้ยงแบบบ่อเปิด และมีระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงนานประมาณ 7-14 วัน (Meng และคณะ, 2009; Chisti, 2007; Huang และคณะ, 2013) และข้อดีของการใช้แบคทีเรียเป็นแหล่งของการผลิตไบโอดีเซลคือมีการเติบโตไว แต่ข้อเสียคือมีขนาดเล็กกว่ายีสต์ทำให้ได้ปริมาณไขมันน้อยกว่ายีสต์ (Huang และคณะ, 2013) นอกจากนี้ยีสต์ยังเจริญได้ดีในวัตถุดิบชนิดต่างๆ ที่มีราคาถูก ไม่ว่าจะเป็นวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรหรืออุตสาหกรรม (Chao และคณะ, 2009; Sitepu และคณะ, 2014) จากเหตุผลข้างต้นจึงทำให้โครงการพิเศษนี้สนใจคัดเลือกและคัดเลือกยีสต์ที่สะสมไขมันในเซลล์ได้สูงจากแหล่งธรรมชาติต่างๆ ภายในประเทศไทยเพื่อนำมาเป็นวัตถุดิบตั้งต้นสำหรับการผลิตพลังงานทดแทนน้ำมันฟอสซิลที่กำลังจะหมดไปในอนาคต

## 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อคัดแยกและคัดเลือกยีสต์ที่สะสมไขมันในเซลล์ปริมาณสูงจากแหล่งธรรมชาติต่างๆ ได้แก่ ผลไม้ ดิน และแหล่งน้ำ เป็นต้น
2. เพื่อวิเคราะห์ไขมันภายในเซลล์ยีสต์ที่คัดแยกได้จากธรรมชาติโดยวิธีวัดค่าการเรืองแสงเมื่อไขมันในเซลล์สัมผัสกับสารเรืองแสง Nile red
3. เพื่อศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของยีสต์ที่คัดแยกได้

## 1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1. คัดแยกยีสต์จากแหล่งธรรมชาติต่างๆ ภายในประเทศไทย ได้แก่ ผลไม้ ดิน และแหล่งน้ำ โดยวิธี Spread plate และทำให้ยีสต์บริสุทธิ์โดยวิธี Cross streak (Martinez และคณะ, 2016; Troncoso และคณะ, 2017)

2. ทำการศึกษาลักษณะโคโลนีของยีสต์ที่คัดแยกได้ โดยการดูลักษณะรูปร่าง สี ขอบ ความนูน หรือแบนของโคโลนีที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร YM agar ที่สังเกตได้ด้วยตาเปล่าและศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา ได้แก่ ขนาดและรูปร่างเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เป็นต้น
3. ทำการวิเคราะห์ไขมันในเซลล์ยีสต์โดยวิธีวัดค่าการเรืองแสง (Sitepu และคณะ, 2012)

#### 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. พบยีสต์ที่สามารถสะสมไขมันในเซลล์ปริมาณสูงจากแหล่งธรรมชาติต่างๆ ภายในประเทศไทย
2. สามารถนำยีสต์ที่คัดแยกได้มาเป็นแหล่งวัตถุดิบตั้งต้นสำหรับการผลิตไบโอดีเซลต่อไปในอนาคต

## บทที่ 2

# ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 2.1 ยีสต์ (Yeasts)

ยีสต์เป็นเชื้อราที่มีการสืบพันธุ์ทั้งแบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศโดยการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ คือ การสร้างสปอร์ และแบบไม่อาศัยเพศ คือ การแตกหน่อหรือแบ่งเซลล์ ส่งผลให้ยีสต์ส่วนใหญ่เจริญเติบโตลักษณะเซลล์เดี่ยว (Kurtzman และคณะ, 2011) โดยส่วนใหญ่รูปร่างเซลล์ยีสต์มีลักษณะเป็นรูปไข่แต่บางชนิดมีลักษณะที่ยาวคล้ายเข็ม บางชนิดเป็นทรงกลม ทั้งนี้ความแตกต่างของเซลล์ยีสต์ขึ้นอยู่กับอายุและสภาพแวดล้อมที่เซลล์เจริญเติบโต ยีสต์บางชนิดมีการปล่อยสารที่เป็นเมือกออกมาห่อหุ้มเซลล์ เรียกว่าแคปซูล (Capsules) ซึ่งเป็นโครงสร้างหนึ่งและเป็นลักษณะเด่นของเซลล์ยีสต์ (Becze, 1955) ในการจัดจำแนกยีสต์ในระดับจิ้นัส (Genus) ได้มีการนำข้อมูลทั้งทางด้านสรีรวิทยาและลักษณะทางสัณฐานวิทยามาใช้ร่วมกันในการจัดจำแนก นอกจากนี้การจัดจำแนกในระดับสปีชีส์ (Species) ของยีสต์มีการนำข้อมูลความสามารถในการหมักหรือการใช้แหล่งคาร์บอน (Stelling-Dekker, 1931) การใช้ไนโตรเจนเป็นแหล่งไนโตรเจน (Lodder, 1934) รวมไปถึงการวิจัยดีเอ็นเอโดยใช้ร้อยละของ Nitrogenous bases ที่เป็นทั้ง Guanine หรือ Cytosine (G+C content) ในดีเอ็นเอ และลำดับเบสของดีเอ็นเอที่เหมือนกันในการบอกความเหมือนหรือแตกต่างพื้นฐานระหว่างสายพันธุ์ของยีสต์ร่วมกับการดูลักษณะทางสัณฐานวิทยาเพื่อใช้ในการจัดจำแนกอีกด้วย (Wickerham และ Burton, 1948)

ยีสต์ถูกนำมาใช้ประโยชน์ในงานด้านเทคโนโลยีชีวภาพมาเป็นเวลาหลายพันปีโดยการนำยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ไปใช้ในการผลิตเบียร์ ขนปัง ไวน์และผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มอื่นๆ ได้รับการขนานนามว่าเป็น “สิ่งมีชีวิตแรก” ที่ใช้ในการประยุกต์ด้านเทคโนโลยีชีวภาพเพราะมีพันธุกรรมที่ดัดแปลงได้ง่ายต่อการเพาะเลี้ยง มีประวัติศาสตร์อันยาวนานของการใช้งานที่ปลอดภัย (Vaughan-Martini และ Martini, 1995)

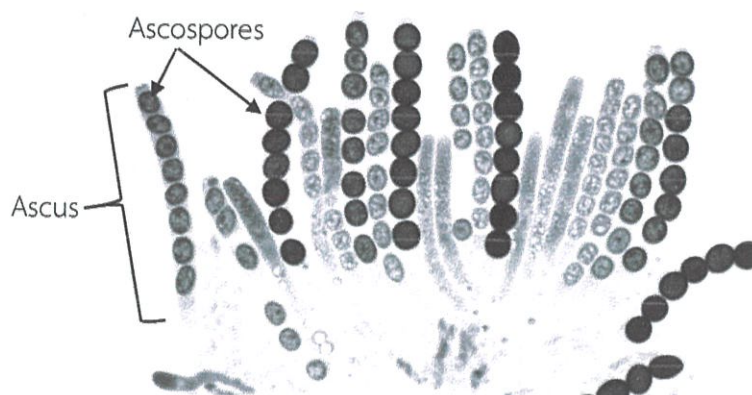
### 2.2 การจัดจำแนกยีสต์

การจัดจำแนกยีสต์สามารถจำแนกได้เป็น 3 กลุ่มตามการสืบพันธุ์โดยการสร้างสปอร์ ได้แก่ Ascosporengous yeasts, Basidiomycetous yeasts และ Imperfect yeasts โดยมีรายละเอียดของยีสต์แต่ละกลุ่ม ดังนี้

#### 2.2.1 Ascosporengous yeasts

ยีสต์ Ascosporengous เป็นยีสต์ที่จัดอยู่ในชั้น (Class) Hemiascomycetes ซึ่งเป็น Ascomycotina ที่มี Ascocarps และ Ascogenous hyphae (Ainsworth, 1973) โดย Ascocarps

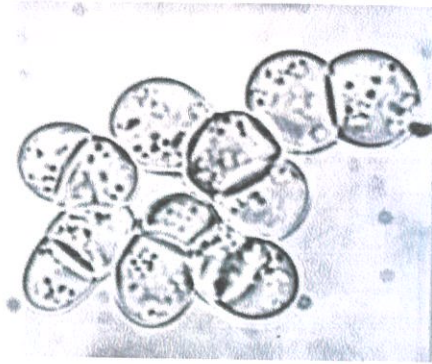
หรือ Fruiting bodies จะห่อหุ้มส่วนที่มีลักษณะคล้ายถุงเรียกว่า Ascus และในถุง Ascus มีสปอร์ที่เรียกว่า Ascospores อยู่ภายใน (รูปที่ 2.1) (Richardson, 1970) ยีสต์ในชั้น Hemiascomycetes แบ่งออกเป็น 2 วงศ์ (Family) ได้แก่ Saccharomycetaceae และ Spermophthoraceae ทั้ง 2 วงศ์ มีลักษณะที่แตกต่างกัน ในวงศ์ Spermophthoraceae มีการสร้าง Ascospores ที่มีรูปร่างเหมือนเข็ม ส่วนวงศ์ Saccharomycetaceae มีความแตกต่างในด้านของการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ โดยมีลักษณะการสืบพันธุ์เป็นการแตกหน่อแบบเซลล์เดี่ยว (single budding cells) (Kreger-van Rij, 1973)



รูปที่ 2.1 ภาพตัวอย่างแสดงลักษณะ Ascus และ Ascospores ที่อยู่ภายใน Ascus  
ที่มา: Raju (1992)

2.2.1.1 วงศ์ Saccharomycetaceae ประกอบด้วย 4 อนุวงศ์ (Subfamilies) ได้แก่ Schizosaccharomycetoideae, Saccharomycetoideae, Lipomycetoideae และ Nadsonioideae โดยรายละเอียดของแต่ละอนุวงศ์แสดงดังนี้

2.2.1.1.1 อนุวงศ์ Schizosaccharomycetoideae มีเพียงยีสต์เดี่ยวคือ ยีสต์ *Schizosaccharomyces* มีลักษณะการสืบพันธุ์ทั้งแบบไม่อาศัยเพศและอาศัยเพศ โดยการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ เซลล์มีการแบ่งตัว (fission) (รูปที่ 2.2) มีทั้งการแบ่งตัวของเซลล์เดี่ยวหรือการแบ่งตัวของเส้นใยแท้ โดยเส้นใยแท้จะเกิดการแตกออกเป็นสปอร์ส่วนเล็กๆ เรียกว่า Arthrospores



รูปที่ 2.2 ภาพตัวอย่างแสดงการสืบพันธุ์ของยีสต์ *Schiz. octosporus* มีลักษณะการสืบพันธุ์แบบแบ่งตัว (fission) ที่กำลังขยาย 1550 เท่า

ที่มา: Kreger-van Rij และ Veenhuis (1969)

และการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ ยีสต์ในกลุ่มนี้จะมีการสร้าง Ascus โดยเกิดจากการรวมกันระหว่างเส้นใยที่อยู่ตรงข้ามกัน (Somatogamous conjugation) และในหนึ่ง Ascus ประกอบไปด้วย Ascospores จำนวน 4 หรือ 8 สปอร์ ซึ่งรูปร่าง Ascospores มีลักษณะเป็นทรงกลม รูปไข่ หรือรูปไต (รูปที่ 2.3)



รูปที่ 2.3 ภาพตัวอย่างจากกล้องจุลทรรศน์แสดงรูปร่าง Ascus และ Ascospores ของยีสต์ *Schiz. pombe* สปีชีส์นี้ Ascus เกิดจากการรวมตัวของเซลล์สองเซลล์ กลายเป็นสปอร์คล้ายรูปไข่ (oval spores) ที่กำลังขยาย 2350 เท่า

ที่มา: Kreger-van Rij และ Veenhuis (1969)

ยีสต์ในกลุ่มนี้ เช่น *Schiz. malidevorans* มี Ascospores ที่นูนออกและถูกปล่อยออกจาก Ascus ซึ่งสปีชีส์นี้ส่วนใหญ่ในการทดสอบแบ่งกับสารละลายไอโอดีนจะให้ผลเป็นบวก และในยีสต์ *Schiz.* มี 4 สปีชีส์ที่ต้องการ Inositol และต้องการอุณหภูมิ 40-42 องศาเซลเซียสสำหรับการเจริญเติบโต (Slooff, 1970) ได้แก่ *Schiz. pombe*, *Schiz. malidevorans*, *Schiz. octosporus* และ *Schiz. japonicas* ซึ่ง Ascus ของสปีชีส์ *Schiz. pombe* และ *Schiz. malidevorans* ประกอบ

ไปด้วย 4 Ascospores ในขณะที่ Ascus ของสปีชีส์ *Schiz. octosporus* และ *Schiz. japonicas* ประกอบด้วย 8 Ascospores (Yamada และคณะ, 1973)

2.2.1.1.2 อนุวงศ์ Saccharomycetoideae มี 26 จีนัส ซึ่งมีสมาชิกเพียง 6 จีนัสที่มีการสร้างเส้นใยแท้ และมีการสืบพันธุ์โดยการแตกหน่อแบบเซลล์เดียว ได้แก่ จีนัส *Saccharomycopsis*, *Guilliermondella*, *Ambrosiozyma*, *Arthroascus*, *Stephanoascus* และ *Yarrowia*

จีนัส *Saccharomycopsis* มีทั้งการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศและอาศัยเพศ โดยการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ เป็นการเจริญและแตกออกของเส้นใยแท้ หรือเป็นการแตกหน่อแบบรอบเซลล์ และที่ผนังกันเส้นใยมีช่องว่างเล็กๆ จำนวนมาก (Plasmodesmata) ในขณะที่การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ ยีสต์ในกลุ่มนี้จะมีการสร้าง Ascus และในหนึ่ง Ascus ประกอบไปด้วย Ascospores จำนวน 1 – 4 สปอร์ หรือ 8 สปอร์ หรืออาจไม่มีสปอร์เลย ซึ่งรูปร่าง Ascospores มีลักษณะคล้ายรูปหมวก รูปไต เป็นทรงกลม หรือรูปวงรี ลักษณะผิวของ Ascospores มีทั้งแบบเรียบหรือแบบขรุขระ (Schionning, 1903)

จีนัส *Guilliermondella* มีสมาชิกเพียงสปีชีส์เดียวคือ *G. selenospora* ซึ่งแยกได้จากการหมักน้ำตาล (Stelling-Dekker, 1931) มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศโดยการสร้าง Ascus ซึ่ง Ascus เกิดจากการเชื่อมกันของเซลล์เส้นใยและถูกแยกออกโดยผนังเซลล์ (Kreger-van Rij และ Veenhuis, 1976) รูปร่างของ Ascospores ที่อยู่ภายใน Ascus มีลักษณะเป็นรูปทรงกลม รูปไข่หรือรูปไต ซึ่ง Ascospores มีผิวที่หนาเนื่องจากผนังที่ขี้ทั้งของสปอร์หนาชั้น สปอร์ในจีนัสนี้จะถูกปล่อยออกจาก Ascus และที่ผนังกันเส้นใยมีช่องว่างเล็กๆจำนวนมาก

จีนัส *Stephanoascus* มีสมาชิกเพียงสปีชีส์เดียว คือ *Step. ciferrii* ซึ่งแยกได้จากวัช สุกร และดิน (Smith และคณะ, 1976) มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศโดยการสร้าง Ascus ซึ่ง Ascus เกิดจากการรวมกันของเซลล์เส้นใย มีช่องว่างเล็กๆ จำนวนมากที่ผนังกันเส้นใย โดยลักษณะของ Ascus มีรูปร่างเป็นทรงกลม รูปร่าง Ascospores แรกเริ่มจะมีลักษณะค่อนข้างแบนและเป็นรูปคล้ายหมวก ต่อมาในระหว่างการเจริญผนังสปอร์จะขยายตัวที่ด้านใดด้านหนึ่งและเมื่อเจริญเต็มที่สปอร์จะเป็นรูปครึ่งวงกลมโดยที่ด้านบนจะมีผนังหนา และสปอร์ของจีนัสจะไม่ถูกปล่อยออกจาก Ascus

จีนัส *Ambrosiozyma* มีทั้งการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศและอาศัยเพศ โดยการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ เป็นการเจริญและแตกออกของเส้นใยแท้ หรือเป็นการแตกหน่อแบบรอบเซลล์ และที่ผนังกันของเส้นใยมีช่องว่างรูปถังเปียร์ สามารถมองเห็นได้ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงซึ่งเห็นเป็นจุดดำๆ ขนาดเล็กอยู่ตรงกลางของผนังกัน และการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศยีสต์ในกลุ่มนี้มีการสร้าง Ascus และในหนึ่ง Ascus ประกอบไปด้วย Ascospores จำนวน 1–4 สปอร์ ซึ่งรูปร่าง Ascospores มีลักษณะคล้ายหมวก (van der Walt, 1972) ในจีนัสนี้มี 4 สปีชีส์ ได้แก่ *A. platypodis*, *A. philentoma*, *A. monospora* และ *A. cicatricosa* ซึ่งแยกได้จากเปลือกของแมลงปีกแข็ง

แต่ von Arx (1972) จัดจำแนกสปีชีส์ *A. platypodis* ไว้ในจีนัส *Hormoascus* เนื่องจากสปีชีส์ *A. platypodis* และ *A. philentoma* มีความคล้ายคลึงกันมากแต่ความแตกต่าง คือ สปีชีส์ *A. platypodis* สามารถใช้ในเตรตได้

จีนัส *Yarrowia* มีทั้งการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศและอาศัยเพศ โดยการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ เป็นการแตกหน่อแบบรอบเซลล์ เมื่อเซลล์เจริญเติบโตมาจะมีลักษณะเป็นทรงกลมหรือวงรี มีการสร้างทั้งเส้นใยแท้และเส้นใยเทียม โดยเส้นใยแท้มีผนังกันเส้นใยและที่ผนังกันจะมีรูตรงกลางขนาดเล็ก และการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศยีสต์ในกลุ่มนี้มีการสร้าง Ascus ในหนึ่ง Ascus ประกอบไปด้วย Ascospores จำนวน 1-4 สปอร์ ซึ่งรูปร่าง Ascospores มีลักษณะเป็นทรงกลม ลักษณะคล้ายหมวก หรือมีลักษณะครึ่งวงกลม ซึ่งจีนัสนี้มีสมาชิกเพียงสปีชีส์เดียวคือ *Y. lipolytica* ซึ่งแยกได้จากสิ่งแวดล้อมบริเวณที่มีไขมันสูง และมักพบในสภาพแวดล้อมทางทะเล (Hagler และ Mendonca-Hagler, 1979) รวมทั้งน้ำทะเลที่มีความเข้มข้นเกลือสูง เช่น Dead sea และ Great salt lake ในสหรัฐอเมริกา เป็นต้น (Butinar และคณะ, 2005)

จีนัส *Arthroascus* มีสมาชิกเพียงสปีชีส์เดียว คือ *Ar. javanensis* ซึ่งแยกได้จากดิน ยางและแอปเปิ้ลเน่า มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศและอาศัยเพศ โดยการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศจะเกิดการแตกหน่อ มีการสร้างเส้นใยแท้ และการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ มีการสร้าง Ascus โดยการรวมกันระหว่างสองเส้นใย และในหนึ่ง Ascus ประกอบไปด้วย Ascospores จำนวน 1-4 สปอร์ ซึ่งรูปร่าง Ascospores มีลักษณะเป็นทรงกลมหรือค่อนข้างแบน (Kreger-van Rij และ Veenhuis, 1976)

จีนัส *Pichia* เป็นจีนัสที่ใหญ่ที่สุดในกลุ่ม Ascosporogenous ซึ่งมี 56 สปีชีส์ (Kurtzman, 1984) มีทั้งการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศและอาศัยเพศ โดยการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศเป็นการแตกหน่อแบบรอบเซลล์ ซึ่งรูปร่างของเซลล์มีลักษณะเป็นทรงกลม หรือรูปไข่ ไม่มีการสร้างเส้นใยแท้ แต่มีการสร้างเส้นใยเทียมในบางสปีชีส์ และการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศมีการสร้าง Ascus โดยการรวมกันระหว่างเซลล์แม่ (Parent cell) และหน่อ (Bud) และในหนึ่ง Ascus ประกอบไปด้วย Ascospores จำนวน 1-4 สปอร์ หรือในบางทีพบ 5-8 สปอร์ ซึ่งรูปร่าง Ascospores มีลักษณะเป็นทรงกลมหรือรูปร่างคล้ายหมวก มีทั้งผิวเรียบและขรุขระ (Hansen, 1904) บางสปีชีส์ถ้ามี Ascospores ปริมาณมากอาจเกิดเป็นสีชมพูหรือสีแดง ซึ่งในแต่ละสปีชีส์มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาแตกต่างกัน จีนัสนี้ส่วนใหญ่สามารถแยกได้ง่ายจากจีนัสอื่นโดยใช้คุณสมบัติของรูปร่างทางสัณฐานวิทยา ความแตกต่างของ G+C content ในลำดับดีเอ็นเอรวมไปถึงแหล่งที่มาของจีนัส *Pichia* เช่น แผลงเปลือกแข็ง แผลงหิว ของเหลวที่ซับจากพืช ผลไม้ เป็นต้น

จีนัส *Pachysolen* มีสมาชิกเพียงสปีชีส์เดียว คือ *Pa. tannophilus* มีทั้งการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศและอาศัยเพศ โดยการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศมีเป็นการแตกหน่อแบบรอบเซลล์ ซึ่งรูปร่างของเซลล์มีลักษณะเป็นทรงกลม หรือรูปไข่ ไม่มีการสร้างเส้นใยแท้ และการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ มีการสร้าง Ascus ลักษณะเป็นรูปทรงวงรียาว ผนังเซลล์ส่วนใหญ่มีความหนาหนามากยกเว้นส่วนปลายของเซลล์ และในหนึ่ง Ascus มี Ascospores จำนวน 4 สปอร์ มีรูปร่างของ Ascospores ลักษณะคล้าย

รูปหมวก มีการปล่อย Ascospores ออกจาก Ascus และจีสน์สามารถใช้ในเตรตเป็นแหล่งไนโตรเจนและหมักน้ำตาลได้ (Boidin และ Adzet, 1957)

จีสน์ *Wickerhamiella* มีทั้งการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศและอาศัยเพศ โดยการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศมีเป็นการแตกหน่อแบบรอบเซลล์ ไม่มีการสร้างทั้งเส้นใยแท้และเส้นใยเทียม และการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ มีการสร้าง Ascus ซึ่ง Ascospores ที่อยู่ภายใน Ascus มีรูปร่างเป็นรูปไข่ มีผิวขรุขระ โดยจีสน์ Ascospores จะถูกปล่อยออกจาก Ascus และเป็นอีกหนึ่งจีสน์ที่สามารถใช้ในเตรตได้ (van der Walt และ Liebenberg, 1973)

จีสน์ *Dekkera* มีทั้งการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศและอาศัยเพศ โดยการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศมีเป็นการแตกหน่อแบบรอบเซลล์ โดยรูปร่างเซลล์มีลักษณะเป็นทรงกลม หรือวงรี มีการสร้างเส้นใยเทียม ไม่มีผนังกันเส้นใย เซลล์มีการเจริญเติบโตช้าและมีอายุสั้นเนื่องจากการผลิตกรดอะซิติก ในการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ Ascus สามารถเกิดขึ้นได้โดยที่เซลล์เส้นใยไม่มีการรวมตัวกัน ในหนึ่ง Ascus ประกอบด้วย Ascospores จำนวน 1-4 สปอร์ ซึ่งรูปร่าง Ascospores มีลักษณะคล้ายรูปหมวก เมื่อ Ascus ปล่อย Ascospores แล้วจากนั้น Ascus จะค่อยๆ สลายไป จีสน์สามารถใช้ในเตรตเป็นแหล่งไนโตรเจนได้ และในการเพาะเลี้ยงจะมีกลิ่นเฉพาะ ซึ่งสามารถแยกยีสต์จีสน์ได้จากเปียร์และไวน์ (van der Walt, 1964)

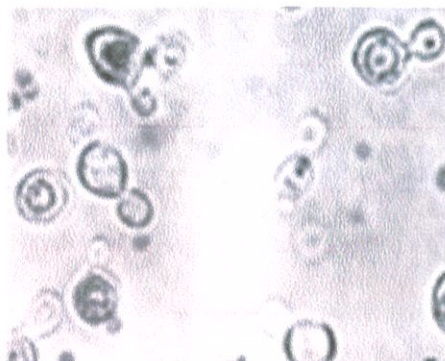
จีสน์ *Citeromyces* มีสมาชิกเพียงหนึ่งสปีชีส์คือ *Ci. matritensis* ซึ่งแยกได้จากวัสดุที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลสูง เช่น น้ำหวานของผลไม้และนมข้นหวาน (Wickerham, 1958) มีทั้งการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศและอาศัยเพศ โดยการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศมีเป็นการแตกหน่อแบบรอบเซลล์ ซึ่งรูปร่างเซลล์มีลักษณะเป็นทรงกลมหรือวงรี ไม่มีการสร้างทั้งเส้นใยแท้และเส้นใยเทียม และในการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ Ascus จะเกิดจากเซลล์ที่เป็น Diploid (2n) Ascus มีผนังที่หนามากและในหนึ่ง Ascus ประกอบด้วย 1 หรือ 2 Ascospores ซึ่งรูปร่าง Ascospores มีลักษณะเป็นทรงกลม มีผิวขรุขระ และไม่มีการปล่อย Ascospores ออกจาก Ascus (Santa Maria, 1957) โดยจีสน์มีความสามารถในการใช้ในเตรต และหมักน้ำตาลกลูโคสและซูโครสได้

จีสน์ *Hansenula* มีทั้งการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศและอาศัยเพศ โดยการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศบางสปีชีส์อาจมีการสร้างเส้นใยแท้หรือเส้นใยเทียม ซึ่งเส้นใยแท้ในจีสน์ไม่มีช่องว่างเล็กๆ จำนวนมากที่ผนังกันเส้นใย และการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ มีการสร้าง Ascus ซึ่ง Ascospores ที่อยู่ภายใน Ascus มีลักษณะคล้ายหมวก คล้ายรูปดาวเสาร์หรือครึ่งวงกลม (รูปที่ 2.4) บางสปีชีส์ในจีสน์ เช่น *H. capsulata* และ *H. holstii* มีการสร้างแคปซูลออกมาห่อหุ้มเซลล์ (Gorin, 1973; Seymour และคณะ, 1976)



รูปที่ 2.4 ภาพตัวอย่างจากกล้องจุลทรรศน์แสดงรูปร่าง Ascus และ Ascospores ของยีสต์ *H. saturnus* มี Ascospores คล้ายรูปดาวเสาร์ (Saturn-shaped spores) ที่กำลังขยาย 1850 เท่า  
ที่มา: Rose A.H. และ Harrison J.S. (1987)

ยีสต์ *Debaryomyces* มีทั้งการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศและอาศัยเพศ โดยการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ เซลล์มีการแตกหน่อแบบรอบเซลล์ ไม่มีการสร้างเส้นใยเทียมหรือสร้างน้อยมาก และการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ Ascus เกิดจากการรวมกันระหว่างเซลล์และหน่อของเซลล์ ซึ่งในหนึ่ง Ascus ประกอบด้วย Ascospores จำนวน 1-2 สปอร์ แต่บางสปีชีส์พบว่ามี Ascospores จำนวน 4 สปอร์ขึ้นไป รูปร่างของ Ascospores มีลักษณะกลม เป็นวงรี หรือรูปร่างกลมแบน มีผิวที่เรียบ (รูปที่ 2.5) ไม่มีการปล่อย Ascospores ออกจาก Ascus ยกเว้น สปีชีส์ *D. udonii* และยีสต์ส่วนใหญ่ไม่สามารถใช้ในไตรต์ได้ (Lodder และ Kreger-van Rij, 1952)



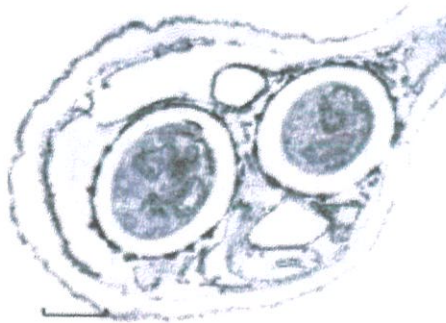
รูปที่ 2.5 ภาพตัวอย่างจากกล้องจุลทรรศน์แสดงรูปร่าง Ascus และ Ascospores ของยีสต์ *D. hansenii* มี Ascus เป็นรูปทรงกลม มี Ascospores ลักษณะกลมนูน (Warty spores) ที่กำลังขยาย 1600 เท่า

ที่มา: Rose A.H. และ Harrison J.S. (1987)

จีโนม *Schwanniomyces* มีทั้งการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศและอาศัยเพศ โดยการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ เซลล์มีการแตกหน่อแบบรอบเซลล์ ซึ่งเซลล์มีลักษณะเป็นทรงกลม มีการสร้างเส้นใยเทียมแต่ไม่มีผนังกันเส้นใย และการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ Ascus เกิดจากการรวมกันระหว่างเซลล์แม่และหน่อของเซลล์ ซึ่งในหนึ่ง Ascus ประกอบด้วย Ascospores จำนวน 1-4 สปอร์ ซึ่งรูปร่าง Ascospores มีลักษณะกลม มีผิวเรียบ (Kurtzman และ Suzuki, 2010) ไม่มีการปล่อย Ascospores ออกจาก Ascus และสามารถแยกจีโนมนี้ได้จากดิน (Kreger-van Rij, 1977)

จีโนม *Issatchenkia* มี 4 สปีชีส์ ได้แก่ *I. orientalis*, *I. occidentalis*, *I. scutulata* และ *I. terricola* (Kudriavzev, 1960; Kurtzman และคณะ, 1980; Phaff และคณะ, 1976; van der Walt, 1957) ซึ่งสามารถแยกจีโนมนี้ได้จากน้ำผลไม้และเบียร์ โดย Ascus ในกลุ่มนี้จะไม่มีการรวมกันหรืออยู่แบบเดี่ยวๆ และรูปร่าง Ascospores ที่อยู่ใน Ascus มีลักษณะเป็นทรงกลม

จีโนม *Clavispora* มีทั้งการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศและอาศัยเพศ โดยการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ เซลล์มีการแตกหน่อแบบรอบเซลล์ ซึ่งเซลล์มีลักษณะเป็นวงรี มีการสร้างเส้นใยเทียมแต่ไม่มีการสร้างเส้นใยแท้ และการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ Ascus เกิดจากการรวมกันระหว่างเซลล์แม่และหน่อของเซลล์ และในหนึ่ง Ascus ประกอบด้วย Ascospores จำนวน 1-2 สปอร์ ซึ่งรูปร่างของ Ascospores มีลักษณะเป็นรูปทรงกระบอก ไม่ค่อยมีรูปร่างวงรีหรือทรงกลม สปอร์มีขนาดเล็กโดยสามารถมองเห็นได้ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (รูปที่ 2.6) แต่ไม่เห็นภายใต้กล้องจุลทรรศน์ใช้แสง (Rodrigues de Miranda, 1979) ซึ่งจีโนมนี้เป็นอีกหนึ่งจีโนมที่ Ascospores จะถูกปล่อยออกจาก Ascus ตัวอย่างสปีชีส์ในจีโนมนี้ ได้แก่ *Cl. lusitaniae* มีความสามารถในการหมักและเจริญเติบโตที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเชื้อก่อโรคฉวยโอกาส และสามารถแยกได้จากมนุษย์ สัตว์ ข้าวโพด และน้ำมะนาว (Holzschu และคณะ, 1979)



รูปที่ 2.6 ภาพตัวอย่างจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแสดงรูปร่าง Ascus และ Ascospores ของยีสต์ *Cl. lusitaniae* ตัดผ่านส่วน Ascus และ Ascospores ผนังด้านหลังมีลักษณะนูนมีดเล็ก  
ที่มา: Rose A.H. และ Harrison J.S. (1987)

จีโนม *Sporopachydermia* มีการสืบพันธุ์ทั้งแบบไม่อาศัยเพศและอาศัยเพศ โดยการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ เซลล์มีการแตกหน่อแบบรอบเซลล์ ซึ่งเซลล์มีลักษณะเป็นวงรี หรือทรงกลม ไม่มีการสร้างทั้งเส้นใยแท้และเส้นใยเทียม และการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ Ascus อาจมีการรวมกันของเซลล์หรือไม่มีการรวมกันของเซลล์ ซึ่งในหนึ่ง Ascus ประกอบด้วย Ascospores จำนวน 1-2 สปอร์ โดยรูปร่างของ Ascospores มีลักษณะกลม รี หรือรูปท่อนยาว และมีผนังที่หนา (Rodrigues de- Miranda, 1978; Kreger-van Rij, 1978) (รูปที่ 2.7) จีโนมนี้เป็นอีกหนึ่งจีโนมที่มีการปล่อย Ascospores ออกจาก Ascus ตัวอย่างสปิซิสในจีโนมนี้เป็นสปิซิสที่สามารถใช้สาร Inositol ได้ ได้แก่ *Sporo. lactativora* และ *Sporo. cereana* ซึ่งสามารถแยก 2 สปิซิสนี้ได้จากกระบองเพชร น้ำทะเลและจากผู้ป่วยที่เป็นมนุษย์ เป็นต้น



รูปที่ 2.7 ภาพตัวอย่างจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน แสดงรูปร่าง Ascus และ Ascospores ของยีสต์ *Sporo. cereana* โดย Ascospores ปล่อยออกจาก Ascus ผนังสปอร์มีชั้นภายในที่มีแสง ชั้นนอกไม่มีแสง และระหว่างชั้นไม่สม่ำเสมอมีสีเทา

ที่มา: Rose A.H. และ Harrison J.S. (1987)

จีโนม *Wingea* มีสมาชิกเพียงสปิซิสเดียว คือ *W. robertsii* ซึ่งแยกได้จากตัวอ่อนของผึ้งในแอฟริกาใต้ มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ โดย Ascus เกิดจากการรวมกันระหว่างเซลล์แม่และหน่อของเซลล์ ซึ่งรูปร่าง Ascospores ที่อยู่ใน Ascus มีลักษณะคล้ายเลนส์ ผิวเรียบ มีสีเหลืองหรือสีน้ำตาล

จีโนม *Lodderomyces* มีสมาชิกเพียงสปิซิสเดียว คือ *Lod. Elongisporus* ซึ่งแยกได้จากน้ำส้ม ในหนึ่ง Ascus โดยทั่วไปไม่ค่อยมีการสร้าง Ascospores หรืออาจพบ 1-2 สปอร์ รูปร่างของ Ascospores ที่อยู่ใน Ascus มีลักษณะเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้ามุมป้านตอนปลาย และจีโนมนี้ยังมีความสามารถในการหมักน้ำตาลได้

จีโนม *Cyniclomyces* มีสมาชิกเพียงสปิซิสเดียว คือ *Cyn. guttulatus* ซึ่งแยกได้จากกระเพาะอาหารของกระต่าย มีการสืบพันธุ์ทั้งแบบไม่อาศัยเพศและอาศัยเพศ โดยการสืบพันธุ์แบบไม่

อาศัยเพศ เซลล์มีการแตกหน่อที่ขั้วข้างใดข้างหนึ่งของเซลล์ ซึ่งรูปร่างเซลล์มีลักษณะเป็นวงรียาว และการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ ในหนึ่ง Ascus ประกอบด้วย Ascospores จำนวน 1-4 สปอร์ ซึ่งรูปร่างของ Ascospores มีลักษณะเป็นรูปวงรี หรือรูปทรงกระบอก (van der Walt และ Scott, 1971) โดยใน สปีชีส์นี้มีคุณสมบัติทางสรีรวิทยาที่โดดเด่น คือ มีการเจริญเติบโตที่อุณหภูมิระหว่าง 35 ถึง 40 องศาเซลเซียส ที่พีเอช 2.0-6.5 และต้องใช้กรดอะมิโนสำหรับการเจริญเติบโต (Phaff, 1984)

จีโนส *Pachytichospora* มีสมาชิกเพียงสปีชีส์เดียว คือ *Pac. transvaalensis* ซึ่งเดิมมีชื่อว่า *Saccharomyces transvaalensis* (van der Walt, 1956) สามารถแยกได้จากดิน และในหนึ่ง Ascus ประกอบด้วย Ascospores จำนวน 1 หรือ 2 สปอร์ โดยรูปร่าง Ascospores มีลักษณะเป็นรูปไข่ มีผนังหนา สปีชีส์ *Pac. transvaalensis* ยังมีความสามารถในการหมักน้ำตาลได้อีกด้วย

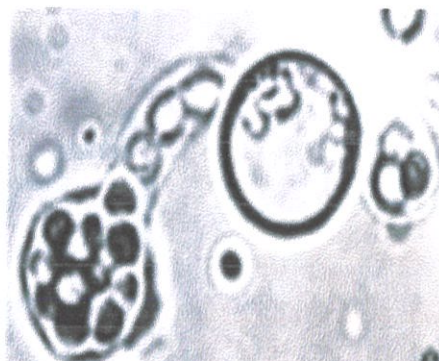
จีโนส *Kluyveromyces* มีการสืบพันธุ์ทั้งแบบไม่อาศัยเพศและอาศัยเพศ โดยการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ เซลล์มีการแตกหน่อแบบรอบเซลล์ ซึ่งเซลล์มีลักษณะเป็นวงรีคล้ายรูปไข่ ทรงกลม หรือทรงกระบอก มีการสร้างเส้นใยเทียมแต่ไม่สร้างเส้นใยแท้ และการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ Ascus อาจมีการรวมกันของเซลล์หรือไม่มีการรวมกันของเซลล์ ซึ่งในหนึ่ง Ascus ประกอบด้วย Ascospores จำนวน 1-4 สปอร์ โดยรูปร่างของ Ascospores มีลักษณะคล้ายรูปไต เป็นรูปท่อนยาว รูปวงรี หรือทรงกลม โดยมีการปล่อย Ascospores ออกจาก Ascus และมักพบการหมักน้ำตาลกลูโคสส่วนใหญ่ในจีโนสนี้ (van der Walt, 1971)

จีโนส *Saccharomyces* มีการสืบพันธุ์ทั้งแบบไม่อาศัยเพศและอาศัยเพศ โดยการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ เซลล์มีการแตกหน่อแบบรอบเซลล์ ซึ่งเซลล์มีลักษณะเป็นวงรีคล้ายรูปไข่ ทรงกลม หรือทรงกระบอก มีการสร้างเส้นใยเทียมแต่ไม่มีเส้นใยกัน และการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ โดย Ascus เกิดจากการรวมกันของเซลล์สองเซลล์ ซึ่งในหนึ่ง Ascus ประกอบด้วย Ascospores จำนวน 1-4 สปอร์ โดยรูปร่างของ Ascospores มีลักษณะกลม หรือวงรีสั้น มีผิวเรียบ (Meyen, 1870) และจีโนสนี้ประกอบด้วย 7 สปีชีส์ ดังนี้ *S. cerevisiae*, *S. bayanus*, *S. uvarum*, *chevalieri*, *S. italicus*, *S. acetii* และ *S. diastaticus* (Barnett และคณะ, 1979)

จีโนส *Zygosaccharomyces* มีการสืบพันธุ์ทั้งแบบไม่อาศัยเพศและอาศัยเพศ โดยการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ เซลล์มีการแตกหน่อแบบรอบเซลล์ ซึ่งเซลล์มีลักษณะเป็นทรงกลม หรือรูปวงรี มีการสร้างเส้นใยเทียมแต่ไม่มีการสร้างเส้นใยแท้ และการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ Ascus เกิดจากการรวมกันระหว่างเซลล์แม่และหน่อของเซลล์ หรือบางครั้งเกิดจากการรวมกันระหว่างเซลล์ทำให้ Ascus มีรูปร่างคล้ายดัมเบล และในหนึ่ง Ascus ประกอบด้วย Ascospores จำนวน 1-4 สปอร์โดยรูปร่างของ Ascospores มีลักษณะเป็นทรงกลม หรือวงรี มีผิวเรียบ และในจีโนสนี้พบการหมักน้ำตาลกลูโคส แต่ไม่มีการหมักน้ำตาลกาแลคโตส อีกทั้งยังไม่มีการใช้ในเตรต (Barker, 1901) ตัวอย่างยีสต์ในจีโนสนี้ เช่น *Zyg. bailii* ซึ่งเป็นยีสต์ที่สามารถทนต่อสารกันบูดได้หลายชนิด และอาจพบได้ในผลิตภัณฑ์ที่มีการดองหรือหมักเป็นส่วนประกอบ (Kurtzman และคณะ, 1971) และสปีชีส์ *Zyg. rouxii* สามารถเติบโตได้ในอาหารที่มีน้ำตาลกลูโคสร้อยละ 70 โดยมีมวลต่อปริมาตร เป็นต้น

จันีส *Torulaspora* มี 3 สปีชีส์ ได้แก่ *T. Delbrueckii*, *T. globosa* และ *T. Pretoriensis* (Barnett และคณะ, 1979) มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศและอาศัยเพศ โดยการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ เซลล์มีการแตกหน่อแบบรอบเซลล์ ซึ่งเซลล์มีลักษณะเป็นทรงกลม หรือรูปร่างรี มีการสร้างเส้นใยเทียมแต่ไม่มีการสร้างเส้นใยแท้ และการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ Ascus เกิดจากการรวมกันระหว่างเซลล์แม่และหน่อของเซลล์ และในหนึ่ง Ascus ประกอบด้วย Ascospores จำนวน 1-4 สปอร์ โดยรูปร่างของ Ascospores มีลักษณะเป็นทรงกลม มีทั้งผิวเรียบและผิวขรุขระ (Linder, 1904) นอกจากนี้จันีสยังสามารถหมักน้ำตาลกลูโคส และในบางสปีชีส์อาจมีการหมักน้ำตาลประเภทอื่นได้ เช่น น้ำตาลกาแลคโตส ซูโครสและมอลโตส เป็นต้น (Klöcker, 1909)

2.2.1.1.3 อนุวงศ์ Lipomycetoideae มีสมาชิกเพียงจันีสเดียว คือจันีส *Lipomyces* ซึ่งแยกได้จากดิน (Phaff และ Kurtzman, 1984) มีการสืบพันธุ์ทั้งแบบไม่อาศัยเพศและอาศัยเพศ โดยการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ เซลล์มีการแตกหน่อแบบรอบเซลล์ ซึ่งรูปร่างเซลล์มีลักษณะกลม หรือวงรี และที่ผนังกันเส้นใยมีช่องว่างเล็กๆ จำนวนมาก (van der Walt และคณะ, 1991) ไม่มีการสร้างเส้นใยเทียม ลักษณะโคโลนีของนี้เป็นน้ำหรือเป็นเมือกเหนียวๆ และการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศในจันีสนี้ Ascus เกิดได้หลายวิธี โดยอาจเกิดจากการรวมกันของเซลล์ที่แยกออกจากกัน หรืออาจเกิดจากหน่อที่แตกออกจากเซลล์ เมื่อ Ascus เจริญจากหน่อที่แตกออกจากเซลล์ จะมีลักษณะคล้ายลูกแพร์แต่มีรูปร่างยาว ผนังของ Ascus มีความบาง และในหนึ่ง Ascus ประกอบด้วย Ascospores จำนวน 1-20 สปอร์ หรือมากกว่านั้น ซึ่งรูปร่างของ Ascospores มีลักษณะกลม วงรี หรือวงรียาว มีสีเหลืองหรือสีน้ำตาล มีผิวเรียบ (Lodder และ Kreger-van Rij, 1952) ซึ่งในแต่ละสปีชีส์อาจมีการปล่อยหรือไม่ปล่อยสปอร์ออกจาก Ascus (รูปที่ 2.8) ในปี ค.ศ.1946 Starkey เป็นคนแรกที่รายงานเชื้อยีสต์ในจันีส *Lipomyces* ที่มีการสร้างสปอร์โดยไม่ใช่แหล่งไนโตรเจน นอกจากนี้การเพาะเลี้ยงยีสต์จันีสนี้ในอาหารที่จำเพาะพบว่ายีสต์ให้ผลบวกในการย่อยแป้ง และ Slodki และ Wickerham (1966) พบว่าสปีชีส์ *L. starkey*, *L. kononenkoeae* และ *L. tetrasporus* มีน้ำตาลกาแลคโตสเป็นองค์ประกอบในโพลีแซคคาไรด์บนผนังเซลล์ แต่ไม่พบในสปีชีส์ *L. lipofer* (Nieuwdorp และคณะ, 1974)



รูปที่ 2.8 ภาพตัวอย่างจากกล้องจุลทรรศน์แสดงรูปร่าง Ascus และ Ascospores ของยีสต์ *L. starkeyi* มีเซลล์และ Ascus ที่มี Ascospores อยู่ภายใน Ascus ที่กำลังขยาย 2000 เท่า  
ที่มา: Rose A.H. และ Harrison J.S. (1987)

2.2.1.1.4 อนุวงศ์ Nadsonioideae มีสมาชิกจำนวน 4 จินัส ได้แก่ *Nadsonia*, *Hanseniaspora*, *Saccharomycodes* และ *Wickerhamia* โดยรายละเอียดของแต่ละจินัสแสดง ดังนี้

จินัส *Nadsonia* มีทั้งการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศและอาศัยเพศ โดยการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ มีการแบ่งตัวที่ขั้วทั้งสองด้านของเซลล์ (รูปที่ 2.9) ซึ่งรูปร่างเซลล์มีลักษณะคล้ายรูปกลมหรือรูปไข่ ไม่มีการสร้างเส้นใยเทียม และการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ มีการสร้าง Ascus จากการรวมกันระหว่างเซลล์แม่และหน่อที่แตกออกจากเซลล์ ในหนึ่ง Ascus ประกอบด้วย Ascospores จำนวน 1 หรือ 2 สปอร์ โดยรูปร่างของ Ascospores มีลักษณะกลม มีสีน้ำตาล และมีหยดไขมันอยู่ภายใน Ascospores (Sydow, 1912) ไม่มีการปล่อย Ascospores ออกจาก Ascus ในจินัสนี้มีสมาชิก 2 สปีชีส์ ได้แก่ *N. commutate* และ *N. elongate* ซึ่งแยกได้จากดินและเมือกที่เกิดจากรอยแตกของเปลือกต้นไม้ (Slime flux) ในสหรัฐอเมริกาและญี่ปุ่น ซึ่งยีสต์สปีชีส์เหล่านี้ไม่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยอุณหภูมิที่สูงที่สุดในการเจริญเติบโตของสปีชีส์ *N. commutate* อยู่ที่ 24 องศาเซลเซียส และสปีชีส์ *N. elongate* อยู่ที่ 26 องศาเซลเซียส (Miller และ Phaff, 1984) นอกจากนี้จินัสนี้เป็นอีกจินัสที่มีความสามารถในการหมักน้ำตาล ยกเว้นสปีชีส์ *N. commutate* (Golubev, 1973)



รูปที่ 2.9 ภาพตัวอย่างแสดงการสืบพันธุ์ของยีสต์ *N. commutata* มีการสืบพันธุ์โดยการแตกหน่อที่ขั้วทั้งสองด้านของเซลล์ (Bipolar) ที่กำลังขยาย 1250 เท่า

ที่มา: Kreger-van Rij และ Veenhuis (1969)

ยีสต์ *Hanseniaspora* มีการสืบพันธุ์ทั้งแบบไม่อาศัยเพศและอาศัยเพศ โดยการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ เซลล์มีการแตกหน่อที่ขั้วทั้งสองด้านของเซลล์ ซึ่งรูปร่างเซลล์มีลักษณะ วงรีคล้ายรูปไข่หรือวงรียาว มีการสร้างเส้นใยเทียม โคลโคนีมีลักษณะเรียบ มีสีครีม และการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ Ascus ประกอบด้วย Ascospores จำนวน 1-4 สปอร์ โดยรูปร่างของ Ascospores มีลักษณะคล้ายรูปหมวกก้นน็อก หรือกลมมน หรือทรงกลม มีผิวที่เรียบ (Zikes, 1912) ต่อมาในปีค.ศ. 1978 Meyer และคณะ พบว่าในยีสต์นี้มีสมาชิกจำนวน 6 สปีชีส์ ได้แก่ *Hans. guilliermondii*, *Hans. valbyensis*, *Hans. uvarum*, *Hans. occidentalis*, *Hans. osmophila* และ *Hans. vineae* ทั้ง 6 สปีชีส์มีคุณสมบัติที่คล้ายคลึงกันทางสรีรวิทยา คือ มีความสามารถในการหมัก และต้องการ Inositol สำหรับการเจริญเติบโต (Phaff, 1970) นอกจากนี้ทั้ง 6 สปีชีส์ยังมีความแตกต่างกันในด้านลักษณะของ Ascospores โดยในหนึ่ง Ascus ของสปีชีส์ *Hans. guilliermondii* ประกอบด้วย Ascospores จำนวน 4 สปอร์ สปีชีส์ *Hans. valbyensis* ในหนึ่ง Ascus มี Ascospores จำนวน 2 สปอร์ ซึ่งรูปร่างของ Ascospores มีลักษณะเป็นรูปหมวก และมีการปล่อย Ascospores ออกจาก Ascus สปีชีส์ *Hans. uvarum* และ *Hans. occidentalis* ส่วนใหญ่ในหนึ่ง Ascus มี Ascospores จำนวน 1 สปอร์ โดยรูปร่าง Ascospore มีลักษณะกลม และไม่มีการปล่อย Ascospores ออกจาก Ascus (Smith, 1974) และในสปีชีส์ *Hans. osmophila* และ *Hans. vineae* ในหนึ่ง Ascus มี Ascospores จำนวน 1 สปอร์โดยรูปร่าง Ascospore มีลักษณะกลมมน และไม่มีการปล่อย Ascospores ออกจาก Ascus (Meyer และคณะ, 1978)

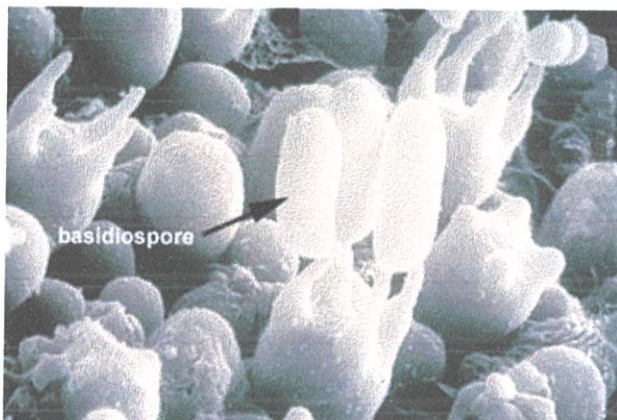
ยีสต์ *Saccharomyces* มีสมาชิกเพียงสปีชีส์เดียว คือ *Sac. ludwigii* ซึ่งแยกได้จากไวน์องุ่น มีทั้งการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศและอาศัยเพศ โดยการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ เซลล์มีการแตกหน่อที่ขั้วทั้งสองด้านของเซลล์ รูปร่างเซลล์มีลักษณะคล้ายรูปเลมอน ไม่มีการสร้างเส้นใยเทียม และการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ ในหนึ่ง Ascus ประกอบด้วย Ascospore จำนวน 1-4 สปอร์ ซึ่งผิวของ

Ascospores มีลักษณะขรุขระเป็นปุ่มเล็กๆ สามารถมองเห็นได้ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน และเป็นอีกจีสหนึ่งที่มีความสามารถในการหมักน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลซูโครส (Hansen, 1904)

จีส *Wickerhamia* มีสมาชิกเพียงสปีชีส์เดียว คือ *Wi. fluorescens* ซึ่งคัดแยกได้จากมูลของกระรอกป่า (Soneda, 1959) มีการสืบพันธุ์ทั้งแบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ เซลล์มีการแตกหน่อที่ขั้วทั้งสองด้านของเซลล์ ซึ่งเซลล์มีลักษณะคล้ายรูปไข่ ไม่มีการสร้างทั้งเส้นใยแท้และเส้นใยเทียม และการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ ในหนึ่ง Ascus ประกอบด้วย Ascospores จำนวน 1-2 สปอร์ หรือไม่มีเลย ซึ่งรูปร่างของ Ascospores มีลักษณะคล้ายรูปหมวกหรือคล้ายฝาคอรอบ (Soneda, 1960)

## 2.2.2 Basidiosporogenous yeasts

ยีสต์ในกลุ่มนี้มีการสร้าง Basiospores ซึ่งมีรูปร่างกลมหรือวงรียาว (รูปที่ 2.10) มีการผลิตเอนไซม์ Deoxyribonuclease และ Urease และมี  $\alpha$ -glucan เป็นองค์ประกอบในผนังเซลล์ สามารถจัดจำแนกออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ Teliospore-forming yeasts, Filobasidiaceae และ Sterigmatosporidium



รูปที่ 2.10 ภาพตัวอย่างแสดงลักษณะ Basidiospores

ที่มา: Kronmiller (2010)

2.2.2.1 Teliospore-forming yeasts ยีสต์กลุ่มนี้มีผนังเซลล์หนา บางครั้งเส้นใยมีการเจริญบริเวณขอบของโคโลนีบนอาหารแข็งที่เพาะเลี้ยง มีการสร้าง Teliospores ซึ่งพัฒนามาจากเส้นใย รูปร่างของ Teliospores มีหลายลักษณะ เช่น กลม วงรีหรือเป็นวงรีเชิงมุม (รูปที่ 2.11) หรือบางสปีชีส์ Teliospores มีสี่เข็ม แบ่งออกเป็น 3 จีส ได้แก่ *Sporidiobolus*, *Rhodosporidium* และ *Leucosporidium* โดยรายละเอียดของแต่ละจีสแสดงดังนี้



ลักษณะวงรีเชิงมุม

### รูปที่ 2.11 ภาพแสดงตัวอย่างลักษณะของ Teliospores

ที่มา: Hennen J. F. (1986)

จีนัส *Sporidiobolus* มีทั้งการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศและอาศัยเพศ โดยการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ เซลล์มีการแตกหน่อ ซึ่งรูปร่างเซลล์มีลักษณะเป็นรูปไข่หรือทรงกลม สามารถสร้างเมดูลีแคโรทีนอยด์ และเมื่อเพาะเลี้ยงยีสต์จีนัสนี้บนอาหารที่เพาะเลี้ยงจะเป็นสีส้มหรือสีชมพู และการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ มีการสร้างเส้นใยเชื่อมระหว่างเส้นใย (Clamp connections) รูปร่างของ Teliospores มีลักษณะกลม (Nyland, 1949) จีนัสนี้เป็นจีนัสเดียวที่มีการสร้างสปอร์จาก Basidiospore (Ballistospore) ตัวอย่างของสปีชีส์ในจีนัสนี้ ได้แก่ *Spori. johnsonii*, *Spori. ruinenii*, *Spori. pararoseus* และ *Spori. salmonicolor* เป็นต้น โดยสปีชีส์ *Spori. johnsonii* และ *Spori. ruinenii* คัดแยกได้จากพืช (Ruinen, 1963) และทั้งสองสปีชีส์นี้มีลักษณะทางสรีรวิทยาคคล้ายคลึงกัน แต่ *Spori. johnsonii* มีการเจริญเติบโตที่ 37 องศาเซลเซียส แต่ *Spori. ruinenii* ไม่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ซึ่งทั้ง 4 สปีชีส์ มีการรวมกันของเส้นใย (Dikaryotic mycelium) ที่มีการเชื่อมต่อกันและสามารถคัดแยกได้จากแหล่งต่างๆ เช่น อากาศ ดินและน้ำทะเล เป็นต้น

จีนัส *Rhodospiridium* มีทั้งการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศและอาศัยเพศ โดยการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ เซลล์มีการแตกหน่อแบบรอบเซลล์หรือแตกหน่อที่ขั้วทั้งสองด้านของเซลล์ ซึ่งรูปร่างเซลล์มีลักษณะกลมหรือรูปไข่ สามารถสร้างเมดูลีแคโรทีนอยด์ และเมื่อเพาะเลี้ยงยีสต์จีนัสนี้บนอาหารที่เพาะเลี้ยงจะเป็นสีส้มหรือสีชมพู และการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ มีการสร้างเส้นใยเชื่อมระหว่างเส้นใย (Clamp connections) รูปร่างของ Teliospores และ Basidiospores มีลักษณะกลมหรือรูปไข่ (Banno, 1967) จีนัสนี้สามารถแบ่งออกเป็น 3 สปีชีส์ ได้แก่ *Rh. toruloides*, *Rh. sphaerocarpaceum* และ *Rh. diobovatum* (Fell และ Statzell Tallman, 1984) มีการใช้ในเตรตและ Inositol สำหรับการเจริญ

จิ้นส์ *Leucosporidium* มีทั้งการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศและอาศัยเพศ โดยการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ เซลล์มีการแตกหน่อ ซึ่งรูปร่างเซลล์มีลักษณะรูปไข่หรือทรงกลม มีการสร้างเส้นใยแท้และเส้นใยเทียม เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง โคโลนีมีสีขาวหรือครีมและบางครั้งโคโลนีมีเส้นใย จิ้นส์นี้ไม่สามารถสร้างเม็ดสีแคโรทีนอยด์ได้ และการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ มีการสร้างเส้นใยเชื่อมระหว่างเส้นใย (Clamp connections) รูปร่างของ Teliospores มีลักษณะเป็นทรงกลม รูปร่างของ Basidiospores มีลักษณะเป็นรูปไข่หรือท่อนยาว (Fell และคณะ, 1969) จิ้นส์นี้สามารถแบ่งออกเป็น 6 สปีชีส์ ได้แก่ *Leu. antarcticum*, *Leu. scotti*, *Leu. frigidum*, *Leu. gelidum*, *Leu. nivalis* และ *Leu. stokes* ซึ่งคัดแยกได้จากดิน หิมะและน้ำทะเลในภูมิภาคแอนตาร์กติก (Fell และ Statzell Tallman, 1984; di Menna, 1966) ยีสต์ทั้ง 6 สปีชีส์มีการใช้ในเตรต แต่มีเพียงบางสปีชีส์ที่สามารถใช้น้ำตาล Inositol สำหรับการเจริญได้ และมีเพียงสปีชีส์ *Leu. scottii* ที่ไม่สามารถเจริญเติบโตที่อุณหภูมิสูงกว่า 20 องศาเซลเซียส

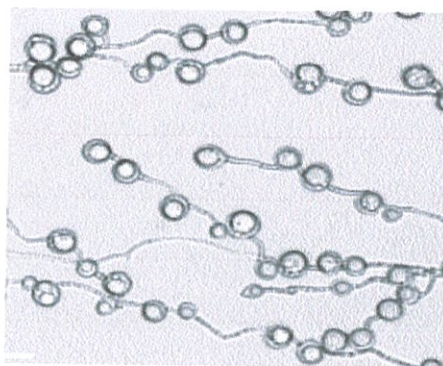
2.2.2.2 Filobasidiaceae แบ่งออกเป็น 2 จิ้นส์ ได้แก่ *Filobasidium* และ *Filobasidiella* โดยรายละเอียดของแต่ละจิ้นส์แสดงดังนี้

จิ้นส์ *Filobasidium* มีการสร้าง Basidiospores ที่มีผนังหนา คงทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เส้นใยไม่มีผนังกัน ไม่มีการสร้าง Teliospores ตัวอย่างสปีชีส์ของจิ้นส์นี้ เช่น *F. floriforme* ซึ่ง คัด แยก ได้ จาก พืช (Olive, 1968) และ สปีชีส์ *F. capsuligenum* ซึ่งเป็นเพียงสปีชีส์เดียวที่มีความสามารถในการหมักน้ำตาล เป็นต้น (Rodrigues de Miranda, 1972)

จิ้นส์ *Filobasidiella* การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ เซลล์จะมีการแตกหน่อ ซึ่งรูปร่างของเซลล์มีลักษณะกลมหรือรูปไข่ เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง โคโลนีจะมีสีขาวหรือครีม ซึ่งบางครั้งโคโลนีมีเส้นใย สามารถสร้างเม็ดสีแคโรทีนอยด์ได้ อีกทั้งสามารถเพาะเลี้ยงยีสต์จิ้นส์นี้ได้ในอาหารจำพวก Malt extract, Yeast extract และ Peptone glucose agar และไม่มีการสร้างเส้นใยเชื่อมระหว่างเส้นใย (Clamp connections) ที่ขอบของโคโลนียีสต์เมื่อยีสต์เจริญบนอาหารที่ไม่มีไนโตรเจนและบ่มในที่มืด จิ้นส์นี้มีสมาชิกจำนวน 4 สปีชีส์ ได้แก่ *Fi. neoformans*, *Fi. bacillispora*, *Fi. depauperata* และ *Fi. lutea* (Kwon-Chung, 1975)

### 2.2.2.3 Sterigmatosporidium

โดย Kraepelin และ Schulze (1982) ได้อธิบายเกี่ยวกับยีสต์สปีชีส์ *Steri. Polymorphum* คือมี Chlamydospores 2 รูปแบบ รูปแบบที่หนึ่ง Chlamydospores มีรูปทรงกลมหรือรูปไข่ (รูปที่ 2.12) และรูปแบบที่สอง เรียกว่า แครีโอแกมมี (Karyogamy) เกิดจากการที่นิวเคลียสของเซลล์สองเซลล์มารวมกันเป็นหนึ่งนิวเคลียส และอีกหนึ่งจิ้นส์ในกลุ่มนี้ คือ จิ้นส์ *Sterigmatomyces* เซลล์มีรูปร่างทรงกลม หรือรูปไข่ ไม่มีการสร้างเส้นใยแท้ มีการใช้ในเตรต ไม่มีการหมักน้ำตาลกลูโคส และไม่ต้องการ Inositol สำหรับการเจริญ (Fell, 1966)



รูปที่ 2.12 ภาพแสดงตัวอย่างลักษณะของ Chlamydozooids

ที่มา: Thanh และคณะ, 2013

### 2.2.3 Imperfect yeasts

ยีสต์กลุ่มนี้ไม่มีการสร้าง Ascospores หรือ Basidiospores และอาจไม่มีการสร้างสปอร์ ในสิ่งแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม หลายสปีชีส์ของยีสต์กลุ่มนี้มีลักษณะใกล้เคียงกับยีสต์ในสองกลุ่มแรก แต่มีความแตกต่างกันเพียงสิ่งเดียวคือ Imperfect yeast ไม่มีการสร้างสปอร์ในการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ สามารถจำแนกยีสต์กลุ่มนี้ออกเป็นจีนัสต่างๆ โดยขึ้นอยู่กับลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะทางสรีรวิทยา เช่น การผลิตกรดและความสามารถในการใช้ Inositol เป็นต้น แบ่งได้เป็น 2 วงศ์ ได้แก่ Sporobolomycetaceae และ Cryptococcaceae โดยรายละเอียดของแต่ละวงศ์แสดงดังนี้

#### 2.2.3.1 วงศ์ Sporobolomycetaceae แบ่งเป็น 2 จีนัส ได้แก่

จีนัส *Sporobolomyces* มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ โดยเซลล์มีการแตกหน่อที่ขั้วทั้งสองด้านของเซลล์หรือบางครั้งมีการแตกหน่อแบบรอบเซลล์ ซึ่งรูปร่างเซลล์มีลักษณะกลม วงรีหรือทรงกระบอก ไม่มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ มีการสร้างเส้นใยแท้หรือเส้นใยเทียมในบางสปีชีส์ ลักษณะโคโลนีของยีสต์จีนัสนี้มีสีชมพู สีส้มแดง สีแดง สีครีม หรือสีเหลืองน้ำตาลโดยขึ้นกับอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยง และมีการสร้างเอนไซม์ Urease (Kluyver และ van Niel, 1924) โดยส่วนใหญ่สามารถคัดแยกยีสต์จีนัสนี้ได้จากใบไม้แห้ง เช่น สปีชีส์ *Spor. dimennae* คัดแยกได้จากใบของต้นพริกไทยที่ตายแล้ว (Hamamoto และ Nakase, 1995) หรือสปีชีส์ *Spor. diospyroris* คัดแยกได้จากใบแห้งของต้นมะพลับ เป็นต้น (Nakase และคณะ, 2005)

จีนัส *Bullera* มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการแตกหน่อ ซึ่งรูปร่างเซลล์มีลักษณะกลม วงรีหรือทรงกระบอก ไม่มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ มีการสร้างเส้นใยแท้หรือเส้นใยเทียมในบางสปีชีส์ แต่ไม่มีการสร้างเส้นใยเชื่อมระหว่างเส้นใย ลักษณะโคโลนีของยีสต์จีนัสนี้ค่อนข้างขาว หรือค่อนข้างเหลืองออกน้ำตาล มีผิวที่เรียบ มีเส้นใย หรือค่อนข้างแห้ง ซึ่งขึ้นกับอาหารที่เพาะเลี้ยง มีการใช้ Inositol สำหรับการเจริญเติบโตซึ่งแตกต่างกันไปในแต่ละสปีชีส์ (Derx, 1930) ตัวอย่างยีสต์ใน

จีโนมนี้ ได้แก่ สปีชีส์ *B. anomala* คัดแยกได้จากใบของต้นเถาวัลซึ่งเป็นต้นที่อยู่ในวงศ์งุ่น (Bai และคณะ, 2003) หรือสปีชีส์ *B. arundinariae* คัดแยกได้จากใบของต้นไผ่ (Fungsin และคณะ, 2002) เป็นต้น

#### 2.2.3.2 วงศ์ Cryptococcaceae มีจีโนมที่สำคัญ ดังนี้

จีโนม *Brettanomyces* มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ โดยการแตกหน่อแบบรอบเซลล์หรือบางครั้งมีการแตกหน่อที่ขั้วทั้งสองด้านของเซลล์ ซึ่งรูปร่างเซลล์มีลักษณะทรงกลม วงรีหรือทรงกระบอกยาว ไม่มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ มีการสร้างเส้นใยเทียม เมื่อเพาะเลี้ยงมีการเจริญเติบโตช้าและมีวงจรชีวิตสั้นเนื่องจากมีการสร้างกรดอะซิติกจากการใช้น้ำตาลกลูโคส และเกิดการหมักเมื่อมีการกระตุ้นด้วยออกซิเจน (Kufferath และ van Laer, 1921) แหล่งที่สามารถคัดแยกยีสต์จีโนมนี้ได้ เช่น น้ำผลไม้ที่มีพีเอชต่ำ เบียร์เปรี้ยว (lambic beer) และไวน์งุ่น เป็นต้น (Kofschoten และ Yarrow, 1970)

จีโนม *Rhodotorula* มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ โดยการแตกหน่อแบบรอบเซลล์ หรือแตกหน่อที่ขั้วทั้งสองด้านของเซลล์ ซึ่งรูปร่างเซลล์มีลักษณะทรงกลม รูปไข่หรือวงรี มีการสร้างเส้นใยเทียมหรือเส้นใยแท้ ไม่มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ บางสปีชีส์มีการสังเคราะห์เมดิสีเหลืองหรือเมดิสีแดง ส่วนใหญ่จีโนมนี้ไม่มีความสามารถในการหมัก และส่วนน้อยที่สามารถใช้ Inositol ได้ (Harrison, 1928) แหล่งที่สามารถพบยีสต์จีโนมนี้ ตัวอย่างเช่น พืช อากาศและน่านน้ำทะเล เป็นต้น

จีโนม *Phaffia* มีสมาชิกเพียงสปีชีส์เดียวคือ *Ph. rhodozyma* ซึ่งแยกได้จากน้ำเมือก (slime fluxes) ของต้นผักทอง มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการแตกหน่อ ซึ่งรูปร่างเซลล์มีลักษณะเป็นวงรี ไม่มีการสร้างเส้นใยเทียมและเส้นใยแท้ ไม่มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ สามารถสร้างเมดิสีแคโรทีนอยด์ได้ โดยลักษณะโคโลนิของยีสต์จีโนมนี้มีสีส้ม หรือส้มแดง มีความสามารถในการหมักน้ำตาลได้เล็กน้อย ไม่มีการใช้ในเตรตและ Inositol สำหรับการเจริญ และสามารถสร้างเอนไซม์ Urease ได้ (Miller และคณะ, 1976)

จีโนม *Candida* มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการแตกหน่อ ซึ่งรูปร่างเซลล์มีลักษณะเป็นทรงกลม วงรีหรือทรงกระบอก มีการสร้างเส้นใยเทียมที่มีผนังกันเส้นใย ไม่มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ มีความสามารถในการหมักน้ำตาลกลูโคส และมีการใช้ในเตรตสำหรับการเจริญเติบโต จีโนมนี้จัดเป็นจีโนมที่ใหญ่ที่สุดในกลุ่ม Imperfect yeast โดยมีสมาชิกจำนวน 314 สปีชีส์ (Berkhout, 1923) ตัวอย่างสปีชีส์ของจีโนมนี้ เช่น *C. aglyptinia* ซึ่งคัดแยกได้จากลำไส้ของแมลง (Suh และคณะ, 2006) สปีชีส์ *C. albicans* ซึ่งแยกได้จากผู้ป่วยที่เป็นมนุษย์หรือบางครั้งพบในวัสดุจากพืช (Lachance และคณะ, 2001) และ *C. asparagi* ซึ่งแยกได้จากผลของต้นหน่อไม้ฝรั่ง เป็นต้น (Lu และคณะ, 2004)

## 2.3 ยีสต์ที่สะสมไขมันในเซลล์ (Oleaginous yeast)

Oleaginous yeast คือยีสต์ที่สามารถผลิตและสะสมน้ำมันในรูปไขมันมากกว่าร้อยละ 20 ของชีวมวล บางสายพันธุ์สามารถสะสมไขมันในเซลล์ได้สูงถึงร้อยละ 70 ของชีวมวล เช่น *Rhodospiridium*, *Rhodotorula*, *Lipomyces*, *Yarrowia*, *Candida*, *Cryptococcus* และ *Trichosporon* เป็นต้น (Ageitos และคณะ, 2011) น้ำมันของยีสต์เป็นวัตถุดิบที่มีศักยภาพในการผลิตไบโอดีเซลเนื่องจากมีส่วนประกอบของกรดไขมันคล้ายกับน้ำมันพืช ซึ่ง Li และคณะ (2008) ระบุว่าน้ำมันของยีสต์เหล่านี้สามารถใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตไบโอดีเซลได้โดยใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาไลเปสหรือสารเคมี

### 2.3.1 ประวัติของการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับยีสต์ที่สะสมไขมันในเซลล์

ในปี ค.ศ. 1878 มีรายงานฉบับแรกของยีสต์ที่สะสมไขมันในเซลล์ (Nageli และ Loew, 1878) และมีรายงานเกี่ยวกับองค์ประกอบของกรดไขมันใน *S. cerevisiae* ในปี ค.ศ. 1899 Lindner สังเกตเห็นว่า *Torula pulcherrima* (ปัจจุบันเรียกว่า *Metschnikowia pulcherrima*) สามารถสะสมไขมันในเซลล์ได้ในปริมาณสูง (Woodbine, 1959) ต่อมาในปลายทศวรรษที่ 1930 ณ ประเทศเยอรมัน Kaufmann และ Schmidt มีการวิจัยและตรวจสอบไขมันเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณที่ผลิตโดยยีสต์ *Oidium lactis* (ปัจจุบันเรียกว่า *Galactomyces candidus*) (Piskur, 1939) ในปี ค.ศ. 1959 มีการสังเกตเห็นการสะสมของก้อนไขมันภายใน *T. pulcherrima* (Woodbine, 1959) นักวิจัยจากสถาบันวิจัยเยอรมันรวมทั้ง Mannheim-Waldhof ได้ศึกษายีสต์ที่สะสมไขมันโดยเฉพาะช่วงสงครามโลกครั้งที่หนึ่งและสอง รวมถึงการระบุชนิดของยีสต์ที่สะสมไขมันในเซลล์ปริมาณสูง เช่น *Lipomyces lipofera* (Nilsson และคณะ, 1943) *Lipomyces starkeyi* (Lodder และ Kreger-van Rij, 1952; Starkey, 1946) และ *Rhodotorula glutinis* เป็นต้น (Enebo และคณะ, 1944)

ในปี ค.ศ. 1946 มีรายงานจากหน่วยสืบราชการลับของอังกฤษ (Stanier, 1946) จากการสัมภาษณ์นักวิทยาศาสตร์ชาวเยอรมันกล่าวถึงงานที่ทำในเยอรมันในช่วงสงครามโลกครั้งที่สองเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์จากจุลินทรีย์หลายชนิดรวมถึงไขมันสำหรับอาหารมนุษย์ อาหารสัตว์และเชื้อเพลิง นักวิจัยจากสถาบัน Mikrobiologisches ที่ Göttingen ได้ทำการตรวจสอบจุลินทรีย์จำนวนมากและพบว่ายีสต์บางสายพันธุ์สามารถสะสมไขมันระดับสูงในเซลล์ได้

ประวัติและแนวโน้มของการผลิตน้ำมันโดยยีสต์ที่สะสมไขมันในเซลล์ ในการพัฒนายีสต์ที่สะสมไขมันเป็นอาหารเสริมและส่วนประกอบอาหารในช่วงครั้งแรกของศตวรรษที่ 20 มีผลทำให้เกิดนวัตกรรมทางเทคโนโลยีมากมาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งยีสต์ที่ผลิตเบียร์ (*S. cerevisiae*) และยีสต์ *Torula* (*Candida utilis*) เป็นส่วนผสมของอาหารสามารถผลิตโปรตีน ช่วงสงครามโลกครั้งที่หนึ่งและครั้งที่สอง ทหารและพลเรือนในประเทศเยอรมันใช้โปรตีนนี้แทนเนื้อสัตว์ (Goldberg, 1985) ในช่วงสงครามโลกครั้งที่หนึ่ง Lindner ได้ทำการศึกษาในประเทศเยอรมัน โดยทำการเพาะเลี้ยง *Endomycopsis vernalis* (ปัจจุบันเรียกว่า *Guehomyces pullulans*) บนพื้นผิวที่เป็นของแข็ง เช่น

ฟางหรือเศษไม้ (Woodbine, 1959) ซึ่งสามารถสะสมไขมันได้ถึงร้อยละ 45 โดยชีวมวล (Lindner, 1922) Lindner ใช้ภาษาเยอรมันคำว่า "Fetthefe" (ยีสต์ไขมัน) เพื่ออธิบายถึงน้ำมันในอาหารที่ผลิตโดยยีสต์ *Endomyces vernalis* (ปัจจุบันเรียกว่า *Guehomyces pullulans*) (Lindner, 1922) ในปี ค.ศ. 1950 Lundin สังเกตว่ามีการผลิตโปรตีนในอาหารที่มีไนโตรเจนสูงแต่มีการผลิตไขมันภายใต้สภาวะที่มีไนโตรเจนต่ำ (Lundin, 1950) มีการก่อตั้งโรงงานสองแห่งขึ้นในเมือง Marburg และ Danzig สำหรับผลิตไขมันโดยใช้ยีสต์ *Endomycopsis vernalis* (Lundin, 1950) มีการตรวจสอบสภาวะการเจริญเติบโตของยีสต์ในเรื่องของการเติมอากาศ พบว่าจะช่วยปรับปรุงให้ยีสต์มีการเจริญมากขึ้นและผลิตไขมันได้ดีขึ้น ปัจจัยที่สำคัญสำหรับการให้ผลผลิตสูงในการเพาะเลี้ยงคือ การหาแหล่งคาร์บอนต่างๆให้เหมาะสมกับยีสต์ที่เพาะเลี้ยง และการเติมอากาศ (Hesse, 1949; Woodbine, 1959)

ยีสต์ที่สะสมไขมันในเซลล์นอกจากที่กล่าวมายังมีรายงานเพิ่มเติม อาทิเช่น คนงานในประเทศสวีเดนพัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Rhodospodium glutinis* โดยการเพาะเลี้ยงภายใต้การเติมอากาศส่งผลให้มีไขมันสะสมร้อยละ 35 โดยชีวมวล (Nilsson และคณะ, 1943) อย่างไรก็ตาม *R. glutinis* ยังผลิตเมือกที่ไม่พึงปรารถนาอีกด้วย จึงได้ทำการเปรียบเทียบกับ 11 สปีชีส์อื่นๆในจีนีสี่พบว่าสปีชีส์ *Rhodotorula gracilis* (ปัจจุบันเรียกว่า *Rhodospodium toruloides*) มีอัตราการเติบโต ความสามารถในการผลิตไขมันที่ดีกว่า *R. glutinis* (Enebo และคณะ, 1944, 1946)

### 2.3.2 แหล่งที่สามารถพบยีสต์ที่สะสมไขมันในเซลล์

Oleaginous yeast สามารถพบได้ทั่วไปในธรรมชาติ เช่น ดิน น้ำ เป็นต้น ในด้านนิเวศวิทยา ยีสต์ที่สะสมไขมันในเซลล์มักอาศัยอยู่ในสภาพแห้งแล้ง ที่ขาดแคลนสารอาหาร เช่น พื้นผิวของดินที่แห้งแล้ง (Kurtzman และคณะ, 2011) ยีสต์ที่สะสมไขมันในเซลล์มีความสามารถในการใช้แหล่งคาร์บอนได้หลายชนิดจึงเป็นข้อได้เปรียบในสภาพแวดล้อมที่แห้งแล้ง แต่แหล่งที่สามารถพบยีสต์ที่สะสมไขมันในเซลล์ได้มากที่สุด คือ แหล่งที่มีน้ำตาลเข้มข้นสูงหรือแหล่งธรรมชาติที่มีการปนเปื้อนของไขมันสูง เช่น น้ำเสียที่มีการปนเปื้อนของไขมัน ยกเว้นยีสต์ *Yarrowia lipolytica* ซึ่งค่อนข้างมีความจำเพาะในด้านของแหล่งอาหาร (Zhu และ Jackson, 2015) ยีสต์ที่สะสมไขมันในเซลล์เป็นส่วนประกอบมากจึงมีความสามารถในการดูดซึมและเก็บคาร์บอนเพื่อช่วยให้มีชีวิตรอดครั้งต่อไป โดยปกติการเจริญและการสะสมหรือผลิตไขมันของยีสต์ประเภทนี้จะมีการผลิตและสะสมไขมันที่แตกต่างกันตามสายพันธุ์หรือชนิดของยีสต์ รวมไปถึงแหล่งวัตถุดิบที่นำมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการเพาะเลี้ยงก็เป็นอีกปัจจัยในการทำให้การสะสมและการผลิตไขมันของยีสต์แต่ละสายพันธุ์แตกต่างกันไปด้วย (Chao และคณะ, 2009)

### 2.3.3 สปีชีส์และสายพันธุ์ของยีสต์ที่สะสมไขมันในเซลล์

งานตีพิมพ์ส่วนใหญ่ที่กล่าวถึงสปีชีส์และสายพันธุ์ของยีสต์ที่สะสมไขมันในเซลล์ พบว่ามียีสต์กว่า 70 สปีชีส์ที่รู้จักกันดีและในการกำหนดว่าเป็นยีสต์ที่สะสมไขมันในเซลล์ได้นั้นจะต้องมีน้ำมันอย่างน้อยร้อยละ 20 โดยน้ำหนักเซลล์แห้งของชีวมวล ดังที่แสดงในตารางที่ 2.1 และ 2.2

ตารางที่ 2.1 แสดงปริมาณไขมันที่สะสมในเซลล์ (ร้อยละโดยมวล) ของยีสต์ที่สะสมไขมันในเซลล์ (Oleaginous yeasts) ในกลุ่ม Ascosporogenous

จีโนส, สปีชีส์, สายพันธุ์	ไขมันที่สะสมในเซลล์ (ร้อยละโดยมวล)	ที่มา
<i>Myxozyma melibiosi</i> UCDFST 52-87	ร้อยละ 23	Sitepu และคณะ (2013)
<i>Myxozyma udenii</i> NRRL Y-17387	ร้อยละ 20.3	B. Dien (2016)
<i>Lipomyces lipofer</i> NCYC strain not given (syn. <i>Torulopsis lipofera</i> )	ร้อยละ 43	Kleinzeller (1944)
<i>Lipomyces lipofer</i> CBS 944	ร้อยละ 40	McElroy และ Stewart (1967)
<i>Lipomyces tetrasporus</i> IBPhM y-695 (syn. <i>Zygolipomyces lactosus</i> )	ร้อยละ 66.5	Eroshin และ Krylova (1983)
<i>Lipomyces starkeyi</i> Starkey strain 74	ร้อยละ 62	Starkey (1946)
<i>Lipomyces doorenjongii</i> CBS 7542	ร้อยละ 72.3	Oguri และคณะ (2012)
<i>Lipomyces kockii</i> CBS 7729	ร้อยละ 77.8	Oguri และคณะ (2012)
<i>Kodamaea ohmeri</i> BY4-523 (syn. <i>Candida guilliermondii</i> )	ร้อยละ 53.28	Kitcha และ Cheirsilp (2011)
<i>Metschnikowia pulcherrima</i> J2-4 (anamorph <i>Candida pulcherrima</i> )	ร้อยละ 30	Pan และคณะ (2009)
<i>Metschnikowia gruessii</i> No strain ID (syn. <i>Nectaromyce reukaufii</i> )	ร้อยละ 34	Stanier (1946)
<i>Cyberlindnera jadinii</i> (na) (syn. <i>Candida utilis</i> , <i>Pichia jadinii</i> , <i>Candida guilliermondii</i> )	ร้อยละ 20-30	Schmidt (1947)
<i>Cyberlindnera jadinii</i> Y-1289 (syn. <i>Candida utilis</i> , <i>Pichia jadinii</i> , <i>Candida guilliermondii</i> )	ร้อยละ 22	Jigami และคณะ (1979)
<i>Cyberlindnera saturnus</i> CBS 5761 (syn. <i>Lindnera saturnus</i> )	ร้อยละ 25	Boulton และ Ratledge (1981)

ตารางที่ 2.1 (ต่อ) แสดงปริมาณไขมันที่สะสมในเซลล์ (ร้อยละโดยมวล) ของยีสต์ที่สะสมไขมันในเซลล์ (Oleaginous yeasts) ในกลุ่ม Ascosporogenous

จีโนส, สปีชีส์, สายพันธุ์	ไขมันที่สะสมในเซลล์ (ร้อยละโดยมวล)	ที่มา
<i>Candida freyschussii</i> DBVPG 6208	ร้อยละ 32	Amaretti และคณะ (2012)
<i>Wickerhamomyces ciferrii</i> NRRL Y-1031 (syn. <i>Hansenula ciferrii</i> )	ร้อยละ 22	Hopton และ Woodbine (1960)
<i>Schwanniomyces occidentalis</i>	ร้อยละ 23	Guerzoni และคณะ (1985)
<i>Kurtzmaniella cleridarum</i> UCDFST 76-729.2	ร้อยละ 33	Sitepu และคณะ (2013)
<i>Candida diddensiae</i> Moscow Technical Institute of Food Industry collection, strain 2	ร้อยละ 37	Malkhas'ian และคณะ (1982)
<i>Candida aff. tenuis</i> LEB-M3	ร้อยละ 20.46-56.58	Duarte และ Paim de Andrade (2013)
<i>Candida tropicalis</i> (na)	ร้อยละ 23	Andreevskaya และ Zalashko (1979)
<i>Geotrichum fermentans</i> IBPhM y-481 (syn. <i>Trichosporon fermentans</i> )	ร้อยละ 19.50	Eroshin และ Krylova (1983)
<i>Geotrichum histeridarum</i> CBS 9892	ร้อยละ 33.77	Franklin และคณะ (2011)
<i>Magnusiomyces magnusii</i> VKPM Y-261 (syn. <i>Endomyces magnusii</i> )	ร้อยละ 27	Zhelifonova และคณะ (1983)
<i>Galactomyces candidus</i> "Group L" (anamorph <i>Geotrichum candidum</i> , syn. <i>Oospora lactis</i> , <i>Oidium</i> )	ร้อยละ 50	Geffers (1937)

ตารางที่ 2.1 (ต่อ) แสดงปริมาณไขมันที่สะสมในเซลล์ (ร้อยละโดยมวล) ของยีสต์ที่สะสมไขมันในเซลล์ (Oleaginous yeasts) ในกลุ่ม Ascosporogenous

จีโนส, สปีชีส์, สายพันธุ์	ไขมันที่สะสมในเซลล์ (ร้อยละโดยมวล)	ที่มา
<i>Galactomyces pseudocandidus</i> CBS 10073 (syn. <i>Geotrichum vulgare</i> )	ร้อยละ 28.04	Franklin และคณะ (2011)
<i>Torulasporea delbrueckii</i> CBS 2924	ร้อยละ 40	Franklin และคณะ (2011)
<i>Trigonopsis variabilis</i> CBS 1040	ร้อยละ 20-43.7	Sentheshanmuganathan และ Nickerson (1962)
<i>Yarrowia lipolytica</i> NRRL Y-1094 (syn. <i>Candida lipolytica</i> )	ร้อยละ 37.6-54.8	Bati และคณะ (1984)

หมายเหตุ: ยีสต์สายพันธุ์อื่นๆ หรือสายพันธุ์เดียวกันที่เจริญภายใต้สภาวะที่แตกต่างกันอาจมีการผลิตไขมันมากกว่าหรือน้อยกว่าดังที่กล่าวในตารางนี้

ที่มา: Sitepu และคณะ, 2014

ตารางที่ 2.2 แสดงปริมาณไขมันที่สะสมในเซลล์ (ร้อยละโดยมวล) ของยีสต์ที่สะสมไขมันในเซลล์ (Oleaginous yeasts) ในกลุ่ม Basidiomycetous

จีโนส, สปีชีส์, สายพันธุ์	ไขมันที่สะสมในเซลล์ (ร้อยละโดยมวล)	ที่มา
<i>Rhodotorula minuta</i> H3-2	ร้อยละ 24.62	Pan และคณะ (2009)
<i>Leucosporidiella creatinivora</i> DBVPG 4753, 4799	ร้อยละ 61-62	Rossi และคณะ (2009)
<i>Leucosporidiella creatinivora</i> UCDFST 62-1032	ร้อยละ 49	Sitepu และคณะ (2013)
<i>Rhodospiridium paludigenum</i> UCDFST 09-163	ร้อยละ 31	Sitepu และคณะ (2012)

ตารางที่ 2.2 (ต่อ) แสดงปริมาณไขมันที่สะสมในเซลล์ (ร้อยละโดยมวล) ของยีสต์ที่สะสมไขมันในเซลล์ (Oleaginous yeasts) ในกลุ่ม Basidiomycetous

จีโนส, สปีชีส์, สายพันธุ์	ไขมันที่สะสม ในเซลล์ (ร้อยละ โดยมวล)	ที่มา
<i>Rhodospiridium sphaerocarpum</i> CBS 2371	ร้อยละ 43	Franklin และ Decker (2011)
<i>Rhodospiridium sphaerocarpum</i> UCDFST 68-43	ร้อยละ 15-37	Sitepu และคณะ (2013)
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	ร้อยละ 28	Borisova และ Atamanyuk (1980)
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> UCDFST 40 129	ร้อยละ 33	Sitepu และคณะ (2012)
<i>Rhodotorula colostri</i> UCDFST 67-113	ร้อยละ 26.89	Sitepu และคณะ (2013)
<i>Rhodotorula graminis</i> NCYC 502	ร้อยละ 41.40	Tatsumi และคณะ (1977)
<i>Rhodotorula graminis</i> UCDFST 04-862	ร้อยละ 40	Sitepu และคณะ (2012)
<i>Rhodotorula glutinis</i>	ร้อยละ 35.4	Nilsson และคณะ (1943)
<i>Rhodotorula glutinis</i> NRRL Y-1091	ร้อยละ 57.2	Yoon และ Rhee (1983)
<i>Rhodospiridium babjevae</i> UCDFST 05-775	ร้อยละ 65	Sitepu และคณะ (2013)
<i>Rhodospiridium diobovatum</i> UCDFST 04-830, 08-225, 67-405, 70-46	ร้อยละ 20-41	Sitepu และคณะ (2012)
<i>Rhodospiridium toruloides</i> สายพันธุ์จาก Seagram และ Sons, KY (syn. <i>Rhodotorula gracilis</i> )	ร้อยละ 19.0-51.1	Husain และ Hardin (1952)
<i>Rhodospiridium toruloides</i> IFO 0413 (syn. <i>Rhodotorula gracilis</i> )	ร้อยละ 59.80	Tatsumi และคณะ (1977)
<i>Rhodospiridium toruloides</i> UCDFST 68-264	ร้อยละ 45	Sitepu และคณะ (2012)
<i>Rhodospiridium fluviale</i> UCDFST 81-485.4	ร้อยละ 25	Sitepu และคณะ (2012)
<i>Rhodotorula glacialis</i> DBVPG 4785	ร้อยละ 68	Amaretti และคณะ (2010)
<i>Rhodotorula terpenoidalis</i> CBS 8445	ร้อยละ 27	Franklin และคณะ (2011)

ตารางที่ 2.2 (ต่อ) แสดงปริมาณไขมันที่สะสมในเซลล์ (ร้อยละโดยมวล) ของยีสต์ที่สะสมไขมันในเซลล์ (Oleaginous yeasts) ในกลุ่ม Basidiomycetous

จีโนม, สปีชีส์, สายพันธุ์	ไขมันที่สะสม ในเซลล์ (ร้อยละ โดยมวล)	ที่มา
<i>Cryptococcus terreus</i> UCDFST 61-443	ร้อยละ 51	Sitepu และคณะ (2013)
<i>Cryptococcus terricola</i> Strain No. 1 (syn. <i>Cr. terricolus</i> )	ร้อยละ 69.30	Pedersen (1961)
<i>Cryptococcus aerius</i> IBPhM y-229 (syn. <i>Cr. albidus</i> var. <i>aerius</i> )	ร้อยละ 63.3	Eroshin และ Krylova (1983)
<i>Cryptococcus adeliensis</i> Strain 3-1	ร้อยละ 32.10	Li และคณะ (2012)
<i>Cryptococcus albidus</i> CBS 4517	ร้อยละ 40.1	Hansson และ Dostalek (1986)
<i>Cryptococcus albidus</i> UCDFST 63-203	ร้อยละ 34	Sitepu และคณะ (2013)
<i>Cryptococcus wieringae</i> UCDFST 05-544	ร้อยละ 23-53	Sitepu และคณะ (2013)
<i>Cryptococcus oeirensis</i> UCDFST 05-864	ร้อยละ 25	Sitepu และคณะ (2013)
<i>Hannaella</i> aff. <i>zeae</i> UCDFST 92-112	ร้อยละ 25	Sitepu และคณะ (2013)
<i>Tremella encephala</i> UCDFST 68-887.2	ร้อยละ 41	Sitepu และคณะ (2013)
<i>Cryptococcus victoriae</i> UCDFST 10-939	ร้อยละ 22	Sitepu และคณะ (2012)
<i>Cryptococcus</i> aff. <i>taibaiensis</i> UCDFST 73-750	ร้อยละ 37	Sitepu และคณะ (2013)
<i>Cryptococcus laurentii</i>	ร้อยละ 23	Guerzoni และคณะ (1985)
<i>Cryptococcus aureus</i> (syn. <i>Rhodotorula aurea</i> )	ร้อยละ 21.10	Enebo และคณะ (1944)
<i>Filobasidiella neoformans</i> CBS 132 (syn. <i>Cryptococcus neoformans</i> )	ร้อยละ 21.3	Itoh และคณะ (1975)
<i>Cryptococcus podzolicus</i> JCM 24505	ร้อยละ 55	Tanimura และคณะ (2014)
<i>Guehomyces pullulans</i> (syn. <i>Trichosporon pullulans</i> IFO 0114, <i>Endomycopsis vernalis</i> , <i>Endomyces vernalis</i> )	ร้อยละ 29.3 ร้อยละ 30.9	Nilsson และคณะ (1943) Tatsumi และคณะ (1977)

ตารางที่ 2.2 (ต่อ) แสดงปริมาณไขมันที่สะสมในเซลล์ (ร้อยละโดยมวล) ของยีสต์ที่สะสมไขมันในเซลล์ (Oleaginous yeasts) ในกลุ่ม Basidiomycetous

จีโนม, สปีชีส์, สายพันธุ์	ไขมันที่สะสม ในเซลล์ (ร้อยละ โดยมวล)	ที่มา
<i>Trichosporon cacaoliposimilis</i> ATCC 20505	ร้อยละ 64.50	Gujjari และคณะ(2011), Matsuo และคณะ (1981)
<i>Trichosporon loubieri</i> CBS 8265	ร้อยละ 22.39	Franklin และคณะ (2011)
<i>Trichosporon guehoae</i> UCDFST 60-59	ร้อยละ 37	Sitepu และคณะ (2013)
<i>Trichosporon oleaginosus</i> ATCC 20508	ร้อยละ 51	Gujjari และคณะ (2011), Moon และ Hammond (1980)
<i>Trichosporon cutaneum</i> Strain 40,	ร้อยละ 45,20	Moon และ Hammond (1980)
<i>Trichosporon dermatis</i> ATCC 20506	ร้อยละ 60.80	Matsuo และคณะ (1981)
<i>Cryptococcus humicola</i> stain. <i>Candida humicola</i> , 2043 (syn. <i>Candida humicola</i> )	ร้อยละ 23	Zotova และคณะ (1985)
<i>Cryptococcus humicola</i> UCDFST 10-1004	ร้อยละ 35	Sitepu และคณะ (2013)
<i>Cryptococcus musci</i> JCM 24512	ร้อยละ 44.7	Tanimura และคณะ (2014)
<i>Cryptococcus ramirezgomezianus</i> UCDFST 54-11.224	ร้อยละ 23	Sitepu และคณะ (2012)
<i>Trichosporon coremiiiforme</i> CH005	ร้อยละ 37.80	Huang และคณะ (2013)
<i>Trichosporon domesticum</i> CBS 8111	ร้อยละ 35.16	Franklin และคณะ (2011)
<i>Trichosporon montevidense</i> CBS 8261	ร้อยละ 25.60	Franklin และคณะ (2011)

ตารางที่ 2.2 (ต่อ) แสดงปริมาณไขมันที่สะสมในเซลล์ (ร้อยละโดยมวล) ของยีสต์ที่สะสมไขมันในเซลล์ (Oleaginous yeasts) ในกลุ่ม Basidiomycetous

จีนัส, สปีชีส์, สายพันธุ์	ไขมันที่สะสม ในเซลล์ (ร้อยละ โดยมวล)	ที่มา
<i>Trichosporon brassicae</i> CBS 6382	ร้อยละ 20.34	Franklin และคณะ (2011)
<i>Cryptococcus curvatus</i> stain. <i>Candida curvata</i> D (syn. <i>Candida curvata</i> , <i>Apiotrichum curvatum</i> )	ร้อยละ 57	Moon และคณะ (1978)
<i>Pseudozyma aphidis</i> stain. <i>Candida</i> sp. 107, NCYC 911	ร้อยละ 44	Gill และคณะ (1977)
<i>Moniliella spathulata</i> JU4-57 (syn. <i>Trichosporonoides spathulata</i> )	ร้อยละ 41.50	Kitcha และ Cheirsilp (2011)

หมายเหตุ ยีสต์สายพันธุ์อื่นๆ หรือสายพันธุ์เดียวกันที่เจริญภายใต้สภาวะที่แตกต่างกันอาจมีการผลิตไขมันมากกว่าหรือน้อยกว่าดังที่กล่าวในตารางนี้

ที่มา: Sitepu และคณะ, 2014

## 2.4 องค์ประกอบของไขมันภายในเซลล์ยีสต์

ไขมันมีโครงสร้างโมเลกุลทางชีวภาพที่มีความหลากหลาย ไม่ละลายในน้ำและสามารถละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ แบ่งออกเป็น 2 ประเภท ได้แก่ ประเภท 1 คือ โมเลกุลที่ได้จาก Isoprene ตัวอย่างเช่น สเตียรอยด์ (Steroids) และแคโรทีนอยด์ (Carotenoids) และประเภทที่ 2 คือ กรดไขมันและกรดไขมันสายยาว ตัวอย่างเช่น แอลกอฮอล์ไขมัน (Fatty alcohols) Alkanes และ Alkenes ซึ่งไขมันและน้ำมันที่ใช้น้ำมันทั่วไปที่ได้จากพืชและสัตว์ก็ถูกจัดอยู่ในประเภทที่ 2 นี้

ยีสต์ที่สะสมไขมันในเซลล์มีการเก็บไขมันทั้งในรูปของโมโนเอซิลกลีเซอรอล (Monoacylglycerols, MAG) ไดเอซิลกลีเซอรอล (Diacylglycerols, DAG) และไตรเอซิลกลีเซอรอล (Triacylglycerols, TAG) ซึ่งส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของ TAG กรดไขมันหลักในไขมันที่ยีสต์เก็บสะสมจึงคล้ายกับที่พบในน้ำมันพืชทำให้มีการนำมาทดแทนน้ำมันพืชที่ใช้สำหรับผลิตไบโอดีเซล โดยองค์ประกอบของไขมันที่ผลิตได้โดยยีสต์ที่สะสมไขมันในเยื่อหุ้มเซลล์ (Plasma membrane) แต่ละลายกันมีความแตกต่างกัน (Henderson และคณะ, 2011; 2012) เนื่องจากอาหารและสภาวะที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง (Patel และคณะ, 2017) ดังตัวอย่างที่แสดงในตารางที่ 2.3 เมื่อเพาะเลี้ยง *Rhodospiridium toruloides* Y4 ในอาหารที่มีกลูโคสและสารยับยั้งบางชนิด เช่น กรดอะซิติก หรือไฮดรอกซีเมทิลฟูรัล (Hydroxymethylfurfural, HMF) เป็นต้น จะส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของกรดไขมันต่างๆ ดังนี้ ปริมาณร้อยละของกรดไมริสติก (C14:0) และกรดปาล์มิติก (C16:0) มีค่าลดลงเมื่อเทียบกับอาหารที่ไม่ได้ใส่กรดอะซิติก หรือสาร HMF ปริมาณร้อยละของกรดสเตียริก (C18:0) มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่ออาหารใส่กรดอะซิติก และปริมาณร้อยละของกรดโอเลอิก (C18:1) กรดไลโนเลอิก (C18:2) และแกมมาลิโนเลนิก (C18:3) มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่ออาหารใส่ HMF

ตารางที่ 2.3 แสดงชนิดและปริมาณของกรดไขมันที่สะสมอยู่ในเซลล์ของยีสต์เมื่อมีการเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกัน

ยีสต์	แหล่งคาร์บอน	ปริมาณกรดไขมันที่สะสมอยู่ในเซลล์ของยีสต์ (ร้อยละโดยมวล)									ที่มา
		C14:0	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C20:0	C22:0	
<i>Rhodospiridium toruloides</i> 21167	แป้งมันสำปะหลัง	1.9	21.6	-	5.8	51.6	17.7	-	-	-	Gen Q และคณะ (2014)
<i>Cryptococcus curvatus</i> ATCC 20509	กรดไขมันที่ ระเหยง่าย		13.2	-	22.62	50.72	11.2	0.89	-	-	Xu X และคณะ, (2015)
<i>Rhodospiridium toruloides</i> 2F5	อินูลิน	0.01	22.14	-	13.79	52.19	10.96	-	-	-	Wang R และ คณะ (2014)
<i>Rhodospiridium toruloides</i> AS 2.1389	อาหาร Glucose soybean (GSM)	1.4	30.4	-	16.1	47.3	1.1	3.3	-	-	Huang C และ คณะ (2013)
<i>R. toruloides</i> AS 2.1389	GSM	1.28	25.9	-	9.53	49.93	10.53	1.72	0.41	0.25	Zhao X และ คณะ (2012)
<i>Rhodospiridium toruloides</i>	โซเดียมลิกโน- ซิลโฟเนต	1.6	27.5	3.1	11.9	44.2	9.5	2.3	-	-	Xu X และคณะ (2015)
<i>Rhodospiridium toruloides</i> Y4	GSM	1.8	33.8	0.5	13.4	48.3	1.1	-	-	-	Hu C และคณะ (2009)

ตารางที่ 2.3 (ต่อ) แสดงชนิดและปริมาณของกรดไขมันที่สะสมอยู่ในเซลล์ของยีสต์เมื่อมีการเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกัน

ยีสต์	แหล่งคาร์บอน	ปริมาณกรดไขมันที่สะสมอยู่ในเซลล์ของยีสต์ (ร้อยละโดยมวล)									ที่มา
		C14:0	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C20:0	C22:0	
<i>Rhodospordium toruloides</i> Y4	GSM และ กรดอะซิติก (120 mM)	1.5	29.8	0.4	16	50.4	0.9	-	-	-	Hu C และคณะ (2009)
<i>Rhodospordium toruloides</i> Y4	GSM และ HMF (15 mM)	1.4	27.7	0.6	11.2	53.3	4.5	0.8	-	-	Hu C และคณะ (2009)
<i>Rhodospordium toruloides</i> 21167	แป้งมันสำปะหลัง ที่ผ่านการย่อย	1.66	30.51	1.5	5.59	53.34	7.4	-	-	-	Wang Q และ คณะ (2012)
<i>R. toruloides</i>	กลูโคส	1.5	26.1	0	13	46.4	9.2	3.8	-	-	Xu J และคณะ (2012)
<i>R. toruloides</i>	กลีเซอรอล	1.6	28.7	0.2	15.3	41.5	10.1	2.6	-	-	Xu J และคณะ (2012)
<i>R. toruloides</i>	กลีเซอรอลและ โซเดียมคลอไรด์	1.2	25.9	0.9	12.1	46.3	11.7	2	-	-	Xu J และคณะ (2012)

ตารางที่ 2.3 (ต่อ) แสดงชนิดและปริมาณของกรดไขมันที่สะสมอยู่ในเซลล์ของยีสต์เมื่อมีการเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกัน

ยีสต์	แหล่งคาร์บอน	ปริมาณกรดไขมันที่สะสมอยู่ในเซลล์ของยีสต์ (ร้อยละโดยมวล)									ที่มา
		C14:0	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C20:0	C22:0	
<i>R. toruloides</i>	กลีเซอรอลและเมทานอล	1.3	25.4	2.3	12.6	45.4	11.3	1.8	-	-	Xu J และคณะ (2012)
<i>R. toruloides</i>	กลีเซอรอลและโซเดียมโอเลเอต	1.6	27.2	2.1	12.1	44.1	11.3	1.6	-	-	Xu J และคณะ (2012)
<i>R. toruloides</i>	กลีเซอรอลและเมทิลโอเลเอต	1.7	25.2	3.2	10.8	43.1	13.4	2.6	-	-	Xu J และคณะ (2012)
<i>R. toruloides</i>	กลีเซอรอลและกลีเซอริลโมโนโอเลเอต	1.6	23.5	3.5	11	47.1	11	2.3	-	-	Xu J และคณะ (2012)
<i>Y. lipolytica</i>	ฟางข้าวสาลีที่ผ่านการย่อยโดยไม่ฆ่าเชื้อ	-	6	-	2	56	19.9	-	-	-	Yu X และคณะ (2011)
<i>Y. lipolytica</i>	ฟางข้าวสาลีที่ผ่านการย่อยโดยมีการฆ่าเชื้อ	-	5.7	-	0.8	55.3	20.9	-	-	-	Yu X และคณะ (2011)

ตารางที่ 2.3 (ต่อ) แสดงชนิดและปริมาณของกรดไขมันที่สะสมอยู่ในเซลล์ของยีสต์เมื่อมีการเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกัน

ยีสต์	แหล่งคาร์บอน	ปริมาณกรดไขมันที่สะสมอยู่ในเซลล์ของยีสต์ (ร้อยละโดยมวล)									ที่มา
		C14:0	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C20:0	C22:0	
<i>C. curvatus</i>	ฟางข้าวสาลีที่ผ่านการย่อยโดยไม่ฆ่าเชื้อ	-	25.9	-	15.2	47.7	6.42	-	-	-	Yu X และคณะ (2011)
<i>C. curvatus</i>	ฟางข้าวสาลีที่ผ่านการย่อยโดยมีการฆ่าเชื้อ	-	27	-	15.3	45	7.3	-	-	-	Yu X และคณะ (2011)
<i>R. glutinis</i>	ฟางข้าวสาลีที่ผ่านการย่อยโดยไม่ฆ่าเชื้อ	-	23.5	-	9	43.4	15.4	-	-	-	Yu X และคณะ (2011)
<i>R. glutinis</i>	ฟางข้าวสาลีที่ผ่านการย่อยโดยมีการฆ่าเชื้อ	-	22.4	-	9.3	42.7	17	-	-	-	Yu X และคณะ (2011)
<i>Rhodospiridium fluviale</i> DMKU-RK253	กลีเซอรอลและอาหาร YM	0.7	17.8	5.1	31.1	26.8	7.9	-	-	-	Polburee P และคณะ (2016)

ตารางที่ 2.3 (ต่อ) แสดงชนิดและปริมาณของกรดไขมันที่สะสมอยู่ในเซลล์ของยีสต์เมื่อมีการเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกัน

ยีสต์	แหล่งคาร์บอน	ปริมาณกรดไขมันที่สะสมอยู่ในเซลล์ของยีสต์ (ร้อยละโดยมวล)									ที่มา
		C14:0	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C20:0	C22:0	
<i>Rhodospordium toruloides</i> AS 2.1389	กรดอะซิติก	1.08	19.29	0.35	16.28	44.51	10.57	3.32	0.59	0.00	Huang XF และ คณะ (2016)
<i>R. diobovatum</i> (08-225)	น้ำตาล Pinewood pyrolytic	14.3	1.6	-	4.6	66.6	2.7	-	-	3.5	Luque L และ คณะ (2016)
<i>Rhodospordium fluviale</i> DMKU-SP314	กลูโคสและไซโลส	1.3	25.2	0.8	11.1	40.2	17.9	3.3	-	-	Poontawee R และคณะ (2017)
<i>Lipomyces starkeyi</i> ATCC 56304	เพาะเลี้ยงใน ระบบ Biphasic โดยให้กลูโคสเพื่อ การเจริญเติบโต และให้ไซโลสเพื่อ การผลิตน้ำมัน	-	21	3.1	6	64.7	3.1	0.9	-	-	Probst KV และ คณะ (2017)
<i>Rhodospordium toruloides</i> DEBB 5533	น้ำอ้อย	1	21.5	0.7	4.6	62.1	7.6	0.7	0.4	0.3	Soccol CR และ คณะ (2017)

ตารางที่ 2.3 (ต่อ) แสดงชนิดและปริมาณของกรดไขมันที่สะสมอยู่ในเซลล์ของยีสต์เมื่อมีการเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกัน

ยีสต์	แหล่งคาร์บอน	ปริมาณกรดไขมันที่สะสมอยู่ในเซลล์ของยีสต์ (ร้อยละโดยมวล)									ที่มา
		C14:0	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C20:0	C22:0	
<i>R. toruloides</i> ATCC 10788	กลีเซอรอล	–	24.39	–	16.38	47.16	12.05	–	–	–	Uprety BK และคณะ (2017)
<i>R. kratochvilovae</i> HIMPA1	น้ำที่สกัดได้จากผลของต้นราชพฤกษ์	0.78	43.06	–	28.74	17.34	0.48	–	–	–	Patel A และคณะ(2015)
<i>R. kratochvilovae</i> HIMPA1	น้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมกระดาษและเยื่อกระดาษ	–	21.86	–	0.5	45.43	15.91	–	0.12	–	Patel A และคณะ (2017)

หมายเหตุ – คือ ไม่พบกรดไขมันชนิดอื่นๆ สะสมอยู่ในเซลล์

ที่มา: Patel และคณะ, 2017

ยีสต์ที่สะสมไขมันในเซลล์สามารถสังเคราะห์ TAG เป็นลักษณะหยดไขมันซึ่งอาจคิดเป็นร้อยละ 70 ของชีวมวล ในขณะที่ยีสต์ที่ไม่สะสมไขมัน เช่น *S. cerevisiae* และ *Candida utilis* สะสมไขมันในเซลล์ได้ต่ำกว่าร้อยละ 10 ของชีวมวล (Seraphim, 2012) อย่างไรก็ตามเมื่อเพาะเลี้ยงยีสต์ที่ไม่สะสมไขมันในอาหารที่มีการจำกัดปริมาณแหล่งไนโตรเจน พบว่ามีการเพิ่มขึ้นของปริมาณ Mannans และ Glucans ที่ผนังเซลล์ ในขณะที่ยีสต์ที่สะสมไขมันในเซลล์เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีปริมาณแหล่งคาร์บอนมากเกินไปจะเปลี่ยนไปเป็นไขมัน (Ratledge และ Wynn, 2002)

การจำกัดไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อส่งผลต่อการผลิตไขมันในเซลล์ปริมาณสูงของยีสต์บางชนิด เนื่องจากการใช้ไนโตรเจนจากอาหารเลี้ยงเชื้อจนหมด เอนไซม์ Adenosine monophosphate deaminase ในยีสต์ที่สะสมไขมันจะได้รับการกระตุ้นเปลี่ยน Adenosine monophosphate (AMP) เป็น Inosine 5'-monophosphate และแอมโมเนียม (Evans และคณะ, 1983; Papanikolaou และคณะ, 2011) เมื่อความเข้มข้น AMP ลดลงทำให้เอนไซม์ Isocitrate dehydrogenase ไม่ทำงาน ส่งผลให้กระบวนการ Tricarboxylic acid cycle ถูกยับยั้ง ทำให้ความเข้มข้นของ Isocitrate มากขึ้น และถูกเปลี่ยนเป็น Citrate (Ageitos และคณะ, 2011) จากนั้น Citrate จะถูกขับออกจากไมโทคอนเดรียมายังไซโทพลาสซึมผ่านระบบ Malate/Citrate translocase แล้ว Citrate จะถูกเปลี่ยนเป็น Acetyl-CoA และ Oxaloacetate โดยเอนไซม์ ATP: citrate lyase (ACL) ซึ่ง Oxaloacetate จะถูกเปลี่ยนเป็น Malate โดยเอนไซม์ Malate dehydrogenase จากนั้น Malate จะถูกส่งกลับไปไมโทคอนเดรียอีกครั้งเพื่อส่ง Citrate จากไมโทคอนเดรียเข้าสู่ไซโทพลาสซึม ในขณะที่ Acetyl-CoA จะถูกเปลี่ยนไปเป็น Malonyl-CoA โดยเอนไซม์ Acetyl-Co A carboxylase ซึ่งเอนไซม์นี้ มีความสำคัญในการควบคุมอัตราการผลิตไขมันของยีสต์ อัตราการผลิตไขมันจะเพิ่มขึ้นเมื่อมีการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ Acetyl-Co A carboxylase (Boulton และ Ratledge, 1981) และการสังเคราะห์กรดไขมัน NADPH มีความสำคัญอย่างมากเนื่องจากแต่ละขั้นตอนของการเพิ่มความยาวของสายคาร์บอนต้องใช้ NADPH 2 โมเลกุล (Beopoulos และคณะ, 2011) ซึ่งในยีสต์ที่ไม่มีการสะสมไขมันส่วนใหญ่ไม่มีเอนไซม์ ACL แต่พบว่ามี การสังเคราะห์ไตรกลีเซอรอล (Ratledge และ Wynn, 2002) ในขณะที่ยีสต์บางชนิดสามารถสะสมไขมันในเซลล์ได้มากเมื่อมีการจำกัดปริมาณฟอสเฟตในอาหาร เช่น Gill และคณะ (1977) พบว่า *Candida* 107 สามารถสะสมไขมันได้มากขึ้นในสภาวะที่จำกัดฟอสเฟต หรืองานวิจัยของ Granger และคณะ (1993) พบว่า *Rhodotorula glutinis* สะสมไขมันสูงสุดภายใต้สภาวะการจำกัดฟอสเฟตในอาหารและ *R. glutinis* มีเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตน้อยภายใต้การจำกัดปริมาณไนโตรเจน และหยุดการเจริญเติบโตเมื่อไนโตรเจนหมดลง (Gu และ Shick, 1986) เป็นต้น นอกจากนี้ชนิดและปริมาณแหล่งไนโตรเจน อัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจน ชนิดของแร่ธาตุ ชนิดและความเข้มข้นของน้ำตาล อุณหภูมิ ค่าพีเอช การเติมอากาศ และระยะเวลาการเพาะเลี้ยงก็ยังมีส่งผลกระทบต่อการผลิตไขมันของยีสต์ที่สะสมไขมันในเซลล์อีกด้วยเช่นกัน (Ratledge และคณะ, 2002; Li และคณะ, 2008; Zhao และคณะ, 2008)

## 2.5 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตไขมันของยีสต์ที่สะสมไขมันในเซลล์

ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตและเก็บสะสมไขมันของยีสต์มีหลากหลายปัจจัย ได้แก่ สายพันธุ์ของยีสต์ที่ผลิตไขมัน ชนิดและปริมาณแหล่งไนโตรเจน อัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจน ชนิดของแร่ธาตุ ชนิดและความเข้มข้นของน้ำตาล อุณหภูมิ ค่าพีเอช การเติมอากาศ และระยะเวลาการเพาะเลี้ยง เป็นต้น

### 2.5.1 ชนิดและปริมาณแหล่งไนโตรเจน

การสะสมไขมันของยีสต์ที่สะสมไขมันในเซลล์เกิดขึ้นเมื่อมีแหล่งคาร์บอนปริมาณสูงและมีการจำกัดปริมาณแหล่งไนโตรเจน (Wu และคณะ, 2011) โดยแหล่งไนโตรเจนที่ถูกนำมาเพาะเลี้ยงเพื่อการสะสมไขมันในเซลล์ เช่น ยีสต์สกัด เปปโตเน โซเดียมไนเตรตและแอมโมเนียมซัลเฟต เป็นต้น ซึ่งการใช้ยีสต์สกัดเป็นแหล่งไนโตรเจนในการเพาะเลี้ยงมักพบบ่อยที่สุด อีกทั้งยังสามารถช่วยผลิตชีวมวลของเซลล์ได้จำนวนมากและผลิตไขมันปริมาณสูง โดย Kumar และคณะ (2010) มีการศึกษาปริมาณความเข้มข้นของยีสต์สกัดในช่วงร้อยละ 0.5-1.75 โดยมวลต่อปริมาตร พบว่าความเข้มข้นยีสต์สกัดที่ส่งผลให้ยีสต์มีการผลิตไขมันสูงที่สุดและผลิตชีวมวลของเซลล์มากที่สุด อยู่ที่ความเข้มข้นต่ำกว่าร้อยละ 0.75 โดยมวลต่อปริมาตร แต่ไขมันและชีวมวลจะลดลงเมื่อความเข้มข้นของยีสต์สกัดมากกว่าร้อยละ 1.00 โดยมวลต่อปริมาตร ตัวอย่างเมื่อเพาะเลี้ยงยีสต์ในอาหารที่มียีสต์สกัดเป็นแหล่งไนโตรเจนความเข้มข้นต่ำกว่าร้อยละ 0.75 โดยมวลต่อปริมาตร เช่น *Rhodotorula glutinis* มีการผลิตไขมันเพิ่มขึ้นร้อยละ 7.48 ของชีวมวล *Rhodospiridium toruloides* มีการผลิตไขมันเพิ่มขึ้นร้อยละ 7.19 ของชีวมวลและ *Lipomyces starkeyi* มีการผลิตไขมันเพิ่มขึ้นร้อยละ 6.29 ของชีวมวล เป็นต้น (Kumar และคณะ, 2010)

### 2.5.2 อัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N)

อัตราส่วน C/N ในอาหารเลี้ยงเชื้อมีแนวโน้มที่ส่งผลต่อการผลิตไขมันในยีสต์หลายชนิด (Lundin, 1950) ยีสต์บางชนิดจะสะสมไขมันได้มากขึ้นเมื่ออัตราส่วน C/N เพิ่มขึ้น และเมื่อถึงจุดหนึ่งที่ไนโตรเจนหมดจะเกิดการสะสมของไขมัน ตัวอย่างเช่น เมื่อเพิ่มอัตราส่วน C/N จาก 150 เป็น 350 เซนติโมลของกลูโคสต่อโมลของไนโตรเจน ( $\text{Cmol}_{\text{glu}} \text{mol}_{\text{N}}^{-1}$ ) ทำให้ *Rhodotorula glutinis* มีผลผลิตที่เปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสเป็นไขมันจาก 0.25 ถึง 0.40 เซนติโมลของไขมันต่อเซนติโมลของกลูโคส ( $\text{Cmol}_{\text{lip}} \text{Cmol}_{\text{glu}}^{-1}$ ) แต่อัตราส่วน C/N ยังส่งผลต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ โดยที่อัตราส่วน C/N 350 กรัมของคาร์บอนต่อกรัมของไนโตรเจน ( $\text{gC/gN}$ ) ทำให้เซลล์ขาดปริมาณไนโตรเจนอย่างมากนำไปสู่การลดลงอย่างรวดเร็วของเซลล์ก่อนที่เซลล์จะมีการสะสมไขมัน (Beopoulos และคณะ, 2009) การวัดมวลเซลล์และการผลิตไขมันของสปีชีส์ *Rhodospiridium toruloides* ภายใต้สภาวะที่อัตราส่วน C/N แตกต่างกัน พบว่าการเพิ่มอัตราส่วน C/N ทำให้มวลเซลล์ลดลงแต่ปริมาณไขมันเพิ่มมากขึ้น โดยมีการผลิตไขมันเพิ่มขึ้นเล็กน้อยที่อัตราส่วน C/N เท่ากับ 140 กรัมของคาร์บอนต่อกรัมของไนโตรเจนซึ่งมีปริมาณไขมันในเซลล์ร้อยละ 62.3 ของชีวมวล (Kraisintu และคณะ, 2010)

### 2.5.3 แร่ธาตุและวิตามิน

แร่ธาตุ เช่น แมกนีเซียม โพแทสเซียมและแคลเซียม เป็นต้น เป็นปัจจัยทั่วไปสำหรับการเจริญเติบโตของยีสต์หรือการสะสมไขมัน (Spencer และคณะ, 1997) นอกจากนี้สารประกอบอื่นๆ ยังส่งผลต่อการสะสมไขมันในเซลล์ยีสต์โดยมีปริมาณไขมันลดลง เช่น Inositol, Pantothenic acid และ biotin เป็นต้น (Ratray และคณะ, 1975) และการขาดวิตามินบี 6 ในอาหารที่เพาะเลี้ยงยีสต์ *Hanseniaspora valbyensis* ทำให้การผลิตไขมันทั้งหมดลดลง รวมทั้งมีการลดลงอย่างรวดเร็วของกรด Palmitoleic (Haskell และคณะ, 1965)

### 2.5.4 ชนิดและความเข้มข้นของน้ำตาล

ยีสต์สายพันธุ์ต่างๆ สามารถใช้คาร์โบไฮเดรตที่เป็นองค์ประกอบของ Lignocellulosic ที่ย่อยสลายแล้วได้แตกต่างกัน ดังนั้นควรเลือกยีสต์สายพันธุ์ที่สามารถเปลี่ยนน้ำตาลส่วนใหญ่ที่ได้จากการย่อยสลายให้เป็นไขมันที่ต้องการได้ นอกจากนี้ต้องเลือกยีสต์ที่สามารถทนต่อความเข้มข้นของน้ำตาลที่ได้จากการย่อยสลายได้สูง ตัวอย่างเช่น ยีสต์ *Rhodosporidium toruloides* DMKU3-TK16 มีผลผลิตไขมันเพิ่มขึ้นในอาหารที่มีน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 70 กรัมต่อลิตร แต่การผลิตไขมันและมวลเซลล์จะลดลงเมื่อความเข้มข้นของกลูโคสสูงขึ้น (Kraisintu และคณะ, 2010) ในทางกลับกันยีสต์ *Rhodotorula glacialis* DBVPG 4785 ยังคงมีการผลิตไขมันและมวลเซลล์เพิ่มขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีกลูโคสความเข้มข้น 120 กรัมต่อลิตร (Amaretti และคณะ, 2010)

Sitepu และคณะ (2012) ได้เปรียบเทียบมวลเซลล์โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตรกับน้ำหนักแห้งของเซลล์ และการสะสมไขมันของยีสต์ 6 สายพันธุ์ ได้แก่ *Candida intermedia* UCDFST 11-455 และ UCDFST 11-472, *Candida cf. kazuoi* UCDFST 10-874, *Candida cf. sagamina* UCDFST 10-1002, *Candida cf. tenuis* UCDFST 11-461 และ *Cryptococcus magnus* UCDFST 10-900 เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารปริมาตร 100 มิลลิลิตรที่มี Hydroxymethylfurfural 0.15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ Furfural 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นส่วนประกอบและใช้น้ำตาลกลูโคสหรือน้ำตาลไซโลสหรือน้ำตาลทั้งสองชนิดเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่ามีความหนาแน่นของเซลล์เจริญในน้ำตาลกลูโคสสูงกว่าน้ำตาลไซโลส แต่มีการผลิตน้ำมันในน้ำตาลไซโลสสูงกว่าน้ำตาลกลูโคส และพบว่าสายพันธุ์ *Cryptococcus magnus* UCD-FST 10-900 มีผลผลิตไขมันสูงสุดในทุกสายพันธุ์ที่ทำการทดสอบจากอาหารเลี้ยงเชื้อ 3 ชนิด

### 2.5.5 อุณหภูมิ

อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับอัตราการเติบโตที่สูงของยีสต์แต่ละสายพันธุ์มีความแตกต่างกัน แต่โดยทั่วไปอยู่ที่อุณหภูมิประมาณ 25 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่สูงเกินไปหรือต่ำเกินไปทำให้ส่งผลต่อการเจริญเติบโตและการสะสมของไขมันของเซลล์ ในระหว่างการสะสมไขมันของเซลล์ยีสต์ อุณหภูมิที่ลดลงจากอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตจนถึง 10 องศาเซลเซียส ส่งผลให้มีการเพิ่มปริมาณไขมันและมีผลต่อองค์ประกอบของชนิดไขมัน โดยปกติจุดหลอมเหลวของกรดไขมันไม่อิ่มตัวจะต่ำกว่ากรดไขมันอิ่มตัว และกรดไขมันสายสั้นจะมีจุดหลอมเหลวต่ำกว่ากรดไขมันสายยาว

ดังนั้นอุณหภูมิที่ลดลงส่งผลให้ระดับกรดไขมันไม่อิ่มตัวและกรดไขมันสายสั้นเพิ่มขึ้น (Ratray และคณะ, 1975)

### 2.5.6 ค่าพีเอช

ค่าพีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของยีสต์มีความแตกต่างกันไปในแต่ละสายพันธุ์โดยมีค่าตั้งแต่พีเอช 3.0 ถึง 7.0 (Ratray และคณะ, 1975) อย่างไรก็ตามพบว่าค่าพีเอชที่เหมาะสมต่อการสะสมไขมันโดยทั่วไปมีค่าต่ำกว่าพีเอชที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโต ตัวอย่างเช่น เมื่อใช้กากตะกอนน้ำเสียเป็นแหล่งคาร์บอนในการเพาะเลี้ยงยีสต์ *Lipomyces starkeyi* เพื่อสะสมไขมัน พบว่าปริมาณไขมันสูงที่สุดอยู่ที่พีเอช 5.0 ขณะที่การเจริญเติบโตสูงสุดอยู่ที่พีเอช 6.5 (Angerbauer และคณะ, 2008) และเมื่อใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนในการเพาะเลี้ยงยีสต์ *Trichoderma reesei* พบว่ามีปริมาณไขมันสูงที่สุดที่พีเอช 3.2 ในขณะที่การเจริญเติบโตสูงสุดอยู่ที่พีเอช 4.0 เป็นต้น (Brown และคณะ, 1990)

### 2.5.7 การเติมอากาศ

การเติมอากาศเป็นปัจจัยที่สำคัญมากสำหรับการเจริญเติบโตของเซลล์ยีสต์และปริมาณไขมันทั้งหมด ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อมีผลต่อองค์ประกอบของกรดไขมันอย่างมาก ภายใต้เงื่อนไขการจำกัดปริมาณออกซิเจน ทำให้ปริมาณพอสโพลีปิดและสเตอรอลลดลง การเปลี่ยนแปลงเหล่านี้ส่งผลโดยตรงต่อการเพิ่มปริมาณกรดไขมันอิ่มตัวซึ่งเป็นส่วนประกอบหลักของไขมัน ในการเพาะเลี้ยงเชื้อที่มีการเติมอากาศ เซลล์มีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นและเกิดการออกซิโดซ์กรดไขมันอิสระให้เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัว เนื่องจากเซลล์ยีสต์ต้องการกรดไขมันไม่อิ่มตัวสำหรับการเจริญเติบโตอย่างต่อเนื่อง ตัวอย่างเช่น หลังจากที่เติมออกซิเจนในปริมาณมากๆ ในการเพาะเลี้ยง *Candida utilis* พบว่าจะมีการผลิตกรด Linolenic ปริมาณสูง (Babji และคณะ, 1969) และพบกรด Palmitoleic มากที่สุดใน *S. cerevisiae* (Valero และคณะ, 2001)

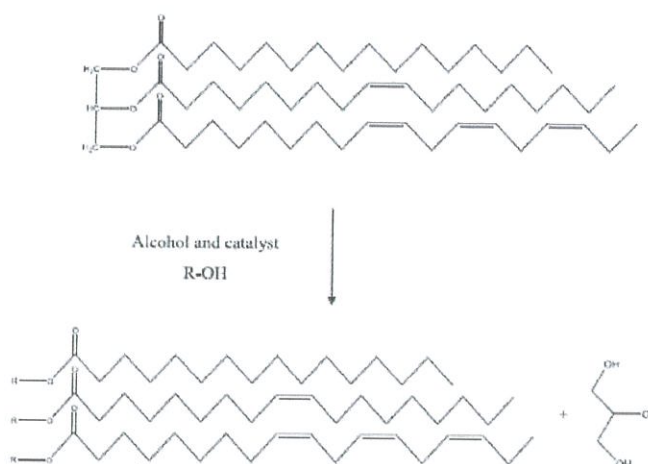
### 2.6.8 ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง

การศึกษาก่อนหน้านี้แสดงให้เห็นว่าการสะสมไขมันในเซลล์ยีสต์เพิ่มขึ้นอย่างมากในระยะเวลาการเจริญเติบโตช่วงลอการิทึม เนื่องจากไขมันถูกนำมาใช้ในการสังเคราะห์ไขมันที่เยื่อหุ้มเซลล์เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของเซลล์แรกเริ่ม เมื่อเซลล์มีขนาดโตเต็มที่เซลล์จะเปลี่ยนมาสะสมไขมันเป็นฟองน้ำมันภายในเซลล์ ปริมาณไขมันในเซลล์มีค่าสูงสุดในระยะ Stationary phase และเมื่อสารอาหารหมดอัตราการสะสมกรดไขมันจะลดลงเรื่อยๆ ดังนั้นเมื่อเวลาการเพาะเลี้ยงเพิ่มขึ้นการสะสมไขมันจะลดลง และไขมันจะถูกย่อยสลายเป็นกรดไขมันอิสระอย่างรวดเร็ว ในการเก็บเกี่ยวเซลล์ ควรเก็บที่ช่วง Stationary phase จะได้ปริมาณไขมันสูงที่สุดและเป็นการป้องกันการย่อยสลายของไขมัน (Beopoulos และคณะ, 2008)

## 2.6 ประโยชน์ของยีสต์ที่สะสมไขมันในเซลล์

### 2.6.1 เป็นแหล่งสะสมไขมันในการนำไปผลิตไบโอดีเซล

ในปัจจุบันน้ำมันมีความจำเป็นต่อชีวิตประจำวันของมนุษย์อย่างมาก โดยเฉพาะการนำน้ำมันมาใช้ในด้านการขนส่ง หรือใช้เป็นพลังงานขับเคลื่อนของพาหนะ เช่น รถยนต์ เครื่องบิน เป็นต้น แต่เนื่องจากทั่วโลกมีความกังวลเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศ ความมั่นคงทางด้านพลังงานและการลดลงของปริมาณปิโตรเลียมสำรอง จึงเป็นที่มาในการหาพลังงานทดแทนทางเลือกใหม่คือ ไบโอดีเซล โดยไบโอดีเซลเป็นเชื้อเพลิงที่ผลิตได้จากแหล่งทรัพยากรหมุนเวียน เช่น น้ำมันพืช และน้ำมันสัตว์ เป็นต้น นำไปผ่านกระบวนการทางเคมีโดยการเติมแอลกอฮอล์และตัวเร่งปฏิกิริยาเพื่อเปลี่ยนโครงสร้างทางเคมีให้มีคุณสมบัติใกล้เคียงกับน้ำมันดีเซล จึงเรียกว่า ไบโอดีเซล ซึ่งข้อดีของไบโอดีเซล คือ สามารถย่อยสลายได้สูง ไม่มีพิษ ปล่อยซัลเฟตต่ำ สามารถนำมาใช้ทดแทนและยั่งยืน มีคุณสมบัติการเผาไหม้คล้ายกับน้ำมันดีเซลปิโตรเลียม เป็นเชื้อเพลิงทดแทนสำหรับเครื่องยนต์ดีเซล (Sitepu และคณะ, 2014) ในปัจจุบันไบโอดีเซลได้รับความสนใจมากเนื่องจากประโยชน์ด้านสิ่งแวดล้อมและสามารถผลิตจากแหล่งพลังงานทดแทนไม่ก่อให้เกิดคาร์บอนไดออกไซด์ในชั้นบรรยากาศและปล่อยมลพิษที่เป็นก๊าซน้อยกว่าน้ำมันดีเซลปกติ โดยทั่วไปแล้วไบโอดีเซลเตรียมโดยใช้วิธี Transesterification (รูปที่ 2.13) โดยใช้น้ำมันพืช ไขมันสัตว์หรือน้ำมันที่ไม่ใช้แล้วกับแอลกอฮอล์ (Meng และคณะ, 2009) การผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันพืชที่บริโภคได้ขยายตัวอย่างรวดเร็วแต่ข้อเสียคือ ต้นทุนในการใช้น้ำมันพืชสำหรับการผลิตไบโอดีเซลสูงถึงร้อยละ 70-85 ของต้นทุนการผลิตทั้งหมด น้ำมันพืชที่ใช้สำหรับผลิตไบโอดีเซลทั่วโลก ได้แก่ น้ำมันเมล็ดเรพซิด (ร้อยละ 84) ดอกทานตะวัน (ร้อยละ 13) น้ำมันปาล์ม (ร้อยละ 1) ถั่วเหลืองและอื่นๆ (ร้อยละ 2) (Atabani และคณะ, 2012) เนื่องจากน้ำมันเหล่านี้มีปริมาณกรดโอเลอิกสูงซึ่งเป็นกรดไขมันที่มีคุณภาพการเผาไหม้ที่ดีกว่า (Knothe, 2005,2008; Steen และคณะ, 2010)



รูปที่ 2.13 การเปลี่ยนไตรกลีเซอไรด์ (TAG) ไปเป็นกรดไขมันเมทิลเอสเทอร์ (FAME) และกลีเซอรอลโดยวิธี transesterification

ที่มา: Sitepu และคณะ (2014)

ดังนั้นเพื่อเติมเต็มความต้องการในการใช้เชื้อเพลิงทดแทนที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม และลดความกังวลเกี่ยวกับการใช้สินค้าที่บริโภคได้มาเป็นแหล่งเชื้อเพลิงผลิตไบโอดีเซลนั้นจึงมีการศึกษาและพัฒนาน้ำมันที่ได้จากยีสต์ที่สะสมไขมันในเซลล์ ที่สามารถสะสมน้ำมันในรูปไขมันมากกว่าร้อยละ 20 โดยชีวมวลของยีสต์เหล่านั้น มาใช้แทนที่น้ำมันพืช ข้อดีของการนำยีสต์มาเป็นแหล่งสะสมไขมัน คือใช้เวลาเพาะเลี้ยงไม่นาน ไม่ต้องการพื้นที่ในการเพาะเลี้ยงมาก สามารถขยายระดับการผลิตได้ง่าย และสามารถสะสมน้ำมันได้สูงถึงร้อยละ 70 โดยน้ำหนักแห้ง และสามารถควบคุมการปนเปื้อนของแบคทีเรียโดยการปรับค่าพีเอชของสภาวะการเจริญให้มีความเป็นกรดหรือที่พีเอชต่ำ

### 2.6.2 เป็นอาหารเสริมและส่วนประกอบอาหาร

ในช่วงสงครามโลกครั้งที่หนึ่งและสอง ยีสต์ที่สะสมไขมันในเซลล์มีความจำเป็นต่อทหารและพลเรือนในประเทศเยอรมันอย่างมากในเรื่องของการนำยีสต์ที่ใช้ผลิตเบียร์ *S. cerevisiae* และยีสต์ *Torula (Candida utilis)* มาใช้เป็นแหล่งโปรตีนในอาหารแทนเนื้อสัตว์ เนื่องจากยีสต์ดังกล่าวสามารถผลิตโปรตีนได้ (Goldberg, 1985)

Lindner เสนอวิธีการแยกน้ำมันออกจากเซลล์จุลินทรีย์ 3 วิธี ได้แก่ การบดด้วยทรายตามด้วยสกัดด้วยอีเทอร์ การเติมกรดไฮโดรคลอริกเจือจาง หรือการสลายตัวเองของเซลล์ (Autolysis) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จากนั้นจะทำให้ได้ไขมันบริโภคได้และมีโปรตีนสูงซึ่งสามารถนำไปใช้เป็นส่วนผสมในอาหารได้ (Hesse, 1949) แต่ไขมันของจุลินทรีย์มีแนวโน้มที่จะเกิดกลิ่นหืนค่อนข้างรวดเร็วซึ่งเป็นผลเนื่องมาจากน้ำมันมีกรดไขมันอิสระสูง และกรดไขมันอิสระของน้ำมันในจุลินทรีย์มีปริมาณค่อนข้างสูงจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับสภาวะการเจริญเติบโต (Damm, 1943; Reichel, 1940)

## 2.7 การตรวจสอบไขมันในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ

ในปัจจุบันมีวิธีการมากมายที่สามารถใช้ในการวิเคราะห์เพื่อตรวจสอบไขมันได้ทั้งเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ เช่น การใช้ Gas chromatography-flame ionization (GC-FID), Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), โครมาโตกราฟีแบบเยื่อบางที่มี Detector คือ Flame ionization detector (Thin-layer chromatography-flame ionization detection, TLC-FID), Nuclear magnetic resonance (NMR) และ High-performance liquid chromatography (HPLC) เป็นต้น โดยแต่ละวิธีการมีความเหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ไขมันแต่ละชนิดแตกต่างกัน (Volkman และคณะ, 1986) ตัวอย่างเช่น การใช้ TLC-FID ในการตรวจสอบไขมันเชิงคุณภาพและหาปริมาณไขมันที่ไม่มีขี้ในตัวอย่างน้ำทะเล การใช้ GC-FID เพื่อตรวจสอบเชิงคุณภาพและหาปริมาณ Methyl ester ของกรดไขมัน (FAME) ที่ได้จากยีสต์ (Mondello และคณะ, 2004) นอกจากนี้พบว่า Matrix assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF-MS) มีประสิทธิภาพในการวิเคราะห์ส่วนผสมของไขมันในตัวอย่างทางชีวภาพ เช่น เยื่อหุ้มเซลล์ เป็นต้น (Schiller และคณะ, 1999) การใช้ High-performance liquid chromatography-charged Aerosol Detector (HPLC-CAD) หาปริมาณของโมเลกุลไขมันอิ่มตัวและไขมันไม่อิ่มตัว (Moreau, 2006) การใช้ Ion-trap mass spectrometry เพื่อตรวจสอบองค์ประกอบไขมันในเยื่อหุ้มเซลล์ของยีสต์สายพันธุ์ *S. cerevisiae* (Henderson และคณะ, 2011) การใช้ Spectrofluorometry เพื่อวัดเชิงปริมาณของไขมันภายในเซลล์ยีสต์หรือใช้กล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนซ์ (Fluorescence microscope) เพื่อให้เห็นถึงลักษณะของไขมันภายในเซลล์ยีสต์ เป็นต้น (Elle และคณะ, 2010; Fink และคณะ, 2012; Melo และคณะ, 2011; Radulovic และคณะ, 2013; Yen และคณะ, 2010)

Kimura และคณะ (2004) ได้รายงานวิธี Spectrofluorometry สำหรับการประมาณปริมาณไขมันในเซลล์ยีสต์โดยใช้การย้อมสี Nile red ซึ่งต่อมาได้มีการปรับปรุงประสิทธิภาพของการทดสอบนี้โดยการปรับค่าความเข้มข้นของ Nile red และใช้การอ่านค่า แบบ Kinetic มากกว่าการอ่านค่าแบบ Single time point (Sitepu และคณะ, 2012) และมีการตรวจสอบวิธีการโดยการเปรียบเทียบกับวิธีการชั่งน้ำหนัก ซึ่งการหาปริมาณไขมันทั้งหมดด้วยวิธีการชั่งน้ำหนักเป็นวิธีการที่เกี่ยวข้องกับการใช้ตัวทำละลายมาสกัด้วิสดูทางชีวภาพ (Bligh และ Dyer, 1959; Elsey และคณะ, 2007; Folch และคณะ, 1957) เป็นการนำเซลล์ที่เจริญในอาหารเพาะเลี้ยงที่มีการจำกัดปริมาณไนโตรเจน มาเก็บ แช่แข็งและชั่งน้ำหนักเพื่อตรวจสอบน้ำหนักเซลล์แห้ง ไขมันจะถูกสกัดด้วยตัวทำละลาย Chloroform-methanol (Folch และคณะ, 1957) โดยใช้กลาสบีดเพื่อทำให้เซลล์แตกง่ายขึ้น จากนั้นนำไปประเหยและชั่งน้ำหนักเพื่อตรวจสอบปริมาณไขมันทั้งหมดและรายงานเป็นค่าร้อยละของน้ำหนักเซลล์แห้ง

## บทที่ 3

# วิธีการดำเนินงานวิจัย

### 3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำโครงการพิเศษ

- 3.1.1 ขวดรูปชมพู่ขนาด 125 และ 250 มิลลิลิตร
- 3.1.2 บีกเกอร์ขนาด 250, 600 และ 1,000 มิลลิลิตร
- 3.1.3 ขวดบรรจุอาหาร (Duran) ขนาด 500 มิลลิลิตร
- 3.1.4 ปีเปตขนาด 1, 5, 10 มิลลิลิตร
- 3.1.5 กระจกตวงขนาด 100 และ 500 มิลลิลิตร
- 3.1.6 Micropipettes ขนาด 2-20, 20-200 และ 100-1,000 ไมโครลิตร
- 3.1.7 แท่งแก้ว และแท่งแก้วตัวแอล
- 3.1.8 ซ้อนตักสาร
- 3.1.9 จานเพาะเชื้อ (Plate)
- 3.1.10 ปีเปตทีป (Pipette tips)
- 3.1.11 ตะเกียงแอลกอฮอล์
- 3.1.12 หลอดทดลอง
- 3.1.13 ที่วางหลอดทดลอง (Rank)
- 3.1.14 หลอดฝาเกลียว
- 3.1.15 หลอด Eppendorf
- 3.1.16 กล่องเก็บหลอด Eppendorf
- 3.1.17 ลูกยางดูดสาร
- 3.1.18 ลูปเขี่ยเชื้อ (Loop)
- 3.1.19 กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Compound Light Microscope) ยี่ห้อ Olympus ประเทศญี่ปุ่น
- 3.1.20 กล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนต์ (Fluorescent Microscope) ยี่ห้อ Nikon รุ่น eclipse 90i ประเทศเยอรมนี
- 3.1.21 กระจกสไลด์ (Microscope slides) ยี่ห้อ Sail ประเทศจีน
- 3.1.22 กระจกปิดสไลด์ ยี่ห้อ Menzel-Glaser ประเทศเยอรมนี
- 3.1.23 กระจกฉีดยาขนาด 3 มิลลิลิตร ยี่ห้อ Nipro ประเทศไทย
- 3.1.24 ตัวกรองที่มีขนาดช่องผ่าน 0.45 ไมครอน ยี่ห้อ Sterlitech ประเทศสหรัฐอเมริกา

- 3.1.25 เครื่องผสมสารละลาย (Vortex) ยี่ห้อ Velp scientific ประเทศอิตาลี
- 3.1.26 เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave) ยี่ห้อ Hirayama รุ่น HV-25/50/85/110 ประเทศญี่ปุ่น
- 3.1.27 เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (Incubator shaker) ยี่ห้อ New brunswick รุ่น innova 4230 ประเทศแคนาดา
- 3.1.28 เครื่องชั่ง 3 ตำแหน่ง ยี่ห้อ ดิเคเอสเอช ประเทศไทย
- 3.1.29 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Mettler Toledo ประเทศสวิสเซอร์แลนด์
- 3.1.30 หลอดสำหรับปั่นเหวี่ยง (Centrifuge tubes) ยี่ห้อ Extragene ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 3.1.31 เครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท ยี่ห้อ BMG Labtech รุ่น FLUOstar Omega ประเทศเยอรมนี
- 3.1.32 ไมโครเพลทเพาะเลี้ยงเซลล์ 96 หลุม สีดำ ยี่ห้อ Nunc ประเทศเดนมาร์ก
- 3.1.33 ตู้บลมร้อน ยี่ห้อ Memmert ประเทศเยอรมนี
- 3.1.34 เครื่องปั่นเหวี่ยง ยี่ห้อ Hermle รุ่น Z 216 M ประเทศเยอรมนี

### 3.2 สารเคมี

- 3.2.1 Yeast extract ยี่ห้อ i-YEAST ประเทศญี่ปุ่น
- 3.2.2 Malt extract ยี่ห้อ Himedia ประเทศอินเดีย
- 3.2.3 Peptone ยี่ห้อ SRL ประเทศอินเดีย
- 3.2.4 Glucose ยี่ห้อ Huakang ประเทศจีน
- 3.2.5 Agar ยี่ห้อ Himedia ประเทศอินเดีย
- 3.2.6 Dipotassium hydrogenphosphate ( $K_2HPO_4$ ) ยี่ห้อ Univar reagent ประเทศออสเตรเลีย
- 3.2.7 Calcium chloride dihydrate ( $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ ) ยี่ห้อ Univar reagent ประเทศออสเตรเลีย
- 3.2.8 Magnesium sulphate ( $MgSO_4$ ) ยี่ห้อ Fluka chemika ประเทศสวิสเซอร์แลนด์
- 3.2.9 ยาปฏิชีวนะ Ampicillin ยี่ห้อ M&h manufacturing ประเทศไทย
- 3.2.10 ยาปฏิชีวนะ Kanamycin ยี่ห้อ Thai meiji pharmaceutical ประเทศไทย
- 3.2.11 Methylene blue ยี่ห้อ Merck milipor ประเทศเยอรมนี
- 3.2.12 Tween 20 ยี่ห้อ Loba chemie ประเทศอินเดีย
- 3.2.13 แอลกอฮอล์ 95%
- 3.2.14 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ยี่ห้อ Univar reagent ประเทศออสเตรเลีย

- 3.2.15 กลีเซอรอล ยี่ห้อ Fisher scientific ประเทศอังกฤษ
- 3.2.16 Dimethyl sulfoxide (DMSO) ยี่ห้อ Fisher scientific ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 3.2.17 อะซิโตน (Acetone) ยี่ห้อ Macron fine chemicals ประเทศอังกฤษ
- 3.2.18 Nile red ยี่ห้อ SLR ประเทศอินเดีย

### 3.3 วิธีดำเนินงานวิจัย

#### 3.3.1 แหล่งตัวอย่างที่นำมาคัดแยกยีสต์

- 3.3.1.1 เก็บตัวอย่างจากผลไม้ที่มีเปลือกบาง และเริ่มเน่าเสียภายในประเทศไทย เช่น องุ่น มะละกอ ฝรั่ง เป็นต้น (Tikka, 2013)
- 3.3.1.2 เก็บตัวอย่างดินและแหล่งน้ำในสถานที่ต่างๆ ในประเทศไทย โดยเก็บตัวอย่างดินที่อยู่ในสภาพที่แห้งแล้ง มีน้ำตาลความเข้มข้นสูง หรือดินที่มีการปนเปื้อนของไขมัน (Pan และคณะ, 2009; Uma และ Polasa, 1990)
- 3.3.1.3 เก็บตัวอย่างน้ำโดยเก็บลึกลงจากผิวน้ำประมาณ 1 เซนติเมตร (Karimi และ Hassanshahian, 2016)

#### 3.3.2 การคัดแยกยีสต์จากแหล่งธรรมชาติ

##### 3.3.2.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อตามสูตร ดังนี้

เตรียมอาหาร YM agar (Wickerham และ Rettger, 1939)

Yeast extract	3	กรัมต่อลิตร
Malt extract	3	กรัมต่อลิตร
Peptone	5	กรัมต่อลิตร
Glucose	10	กรัมต่อลิตร
Agar	20	กรัมต่อลิตร

ผสมส่วนประกอบต่างๆ ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งไว้ให้อุณหภูมิลดลงประมาณ 60 องศาเซลเซียส และใส่ยาปฏิชีวนะ Ampicillin ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ Kanamycin ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันจากนั้นเทลงจานอาหารทิ้งให้อาหารแข็ง และเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 วัน

3.3.2.2 การคัดแยกยีสต์จากแหล่งธรรมชาติโดยดัดแปลงจากวิธีของ Martinez และคณะ (2016) และ Troncoso และคณะ (2017) เริ่มจากนำตัวอย่างดินหรือผลไม้ปริมาณ 10 กรัมใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีน้ำกลั่นปริมาตร 90 มิลลิลิตรและ Tween20 ร้อยละ 0.02 โดยปริมาตร เพื่อลดแรงตึงผิวของตัวอย่าง จากนั้นนำไปเขย่าความเร็ว 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30

องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นทำการเจือจางตัวอย่างที่ระดับความเจือจาง 1:10, 1:100, 1:1000, 1:10000 เท่า โดยเจือจางด้วยน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 0.9 โดยมวลต่อปริมาตร และนำตัวอย่างดินหรือผลไม้แต่ละระดับความเจือจาง 1:100, 1:1000 และ 1:10000 เท่า มาปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ไปทำการ Spread ให้ทั่วบริเวณผิวหน้าจานอาหาร YM agar ที่มียาปฏิชีวนะ Ampicillin ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ Kanamycin ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน จากนั้นสังเกตลักษณะโคโลนีของยีสต์ และนำมาทำให้บริสุทธิ์โดยวิธี Cross streak ลงบนอาหาร YM agar บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน เมื่อคัดแยกได้ยีสต์ที่บริสุทธิ์ทำการเก็บรักษาด้วยกลีเซอรอลความเข้มข้นร้อยละ 80 โดยปริมาตรที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสเพื่อใช้ในการทดสอบต่อไป

3.3.2.3 นำตัวอย่างน้ำมาทำการเจือจางที่ระดับความเจือจาง 1:10, 1:100 เท่า โดยเจือจางด้วยน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 0.9 โดยมวลต่อปริมาตร จากนั้นนำน้ำที่ไม่เจือจางปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ที่ระดับความเจือจาง 1:10 และ 1:100 เท่า ปริมาตรละ 0.1 มิลลิลิตร ไป Spread ให้ทั่วบริเวณผิวหน้าจานอาหาร YM agar ที่มียาปฏิชีวนะ Ampicillin ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ Kanamycin ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน จากนั้น สังเกตลักษณะโคโลนีของยีสต์ และนำมาทำให้บริสุทธิ์โดยวิธี Cross streak ลงบนอาหาร YM agar บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน เมื่อคัดแยกได้ยีสต์ที่บริสุทธิ์ทำการเก็บรักษาด้วยกลีเซอรอลความเข้มข้นร้อยละ 80 โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการทดสอบต่อไป (Martinez และคณะ, 2016 และ Troncoso และคณะ 2017)

### 3.3.3 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของยีสต์ที่คัดแยกได้

3.3.3.1 นำยีสต์ที่คัดแยกได้ทั้งหมดจากข้อ 3.2.2.2 และข้อ 3.3.2.3 มา Cross streak ลงบนอาหาร YM agar บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน จากนั้นสังเกตลักษณะโคโลนีของยีสต์โดยดูรูปร่าง เช่น มีลักษณะกลม เส้นใย หรือรูปร่างไม่แน่นอน เป็นต้น สังเกตสี ขอบ ผิว ความนูน-แบน เช่น นูนสูง นูนตรงกลางหรือแบน เป็นต้น ขนาดของโคโลนี และทำการจัดจำแนกยีสต์

3.3.3.2 นำยีสต์ที่ Cross streak ลงบนอาหาร YM agar บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน จากข้อ 3.3.3.1 มาดูลักษณะและขนาดของเซลล์ยีสต์โดยใช้วิธี Wet mount เริ่มจากหยดสี Methylene blue ลงบนสไลด์ จากนั้นเขี่ยเชื้อยีสต์มาเกลี่ยลงบนสไลด์ที่หยดไว้ให้ทั่ว ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ และส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงที่กำลังขยาย 400 เท่า

### 3.3.4 การคัดเลือกยีสต์ที่มีการสะสมไขมันในเซลล์ (Oleaginous yeasts)

3.3.4.1 ทำการคัดเลือกยีสต์ที่มีการสะสมไขมันในเซลล์โดยวิธีการของ Martinez และคณะ (2016) เริ่มจากเตรียมกล้าเชื้อยีสต์โดยการนำยีสต์ที่เก็บในกลีเซอรอลมาเลี้ยงบนจานอาหาร

YM agar ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 วัน จากนั้นใช้ loop เชี่ยเชื้อไปลงในหลอดอาหาร YM agar (Agar slant) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 วัน จากนั้นทำการเชี่ยเชื้อยีสต์ที่อยู่ในหลอดอาหาร YM agar ไปเพาะเลี้ยงในอาหารที่อยู่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร โดยอาหารประกอบไปด้วยกลูโคส 40 กรัมต่อลิตร, ไคโทพอสเฟอรัสไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $K_2HPO_4$ ) 0.75 กรัมต่อลิตร, ยีสต์สกัด (Yeast Extract) 1.5 กรัมต่อลิตร, แอมโมเนียมไนเตรท ( $NH_4NO_3$ ) 0.285 กรัมต่อลิตร, แคลเซียมคลอไรด์ไดไฮเดรต ( $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ ) 0.4 กรัมต่อลิตรและแมกนีเซียมซัลเฟต ( $MgSO_4$ ) 0.4 กรัมต่อลิตร (Thakur และคณะ, 1989) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร นำไปเขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงและเทส่วนใส่ออก ล้างตะกอนโดยการใส่น้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อ 2 ครั้งและเทส่วนใส่ออก และนำตะกอนเซลล์ที่ได้มาใส่น้ำกลั่นปราศจากเชื้อทำการผสมให้เข้ากัน เจือจางให้มีค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร เท่ากับ 0.1 โดยมีสายพันธุ์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ซึ่งเป็นยีสต์ที่ไม่มีการสะสมไขมันภายในเซลล์เป็นตัวควบคุม (Control) (Vorapreeda และคณะ, 2012)

3.3.4.2 การวิเคราะห์การผลิตไขมันภายในเซลล์โดยวิธีวัดค่าการเรืองแสงตามวิธีของ Sitepu และคณะ (2012) เริ่มจากนำยีสต์ที่เตรียมได้จากข้อ 3.3.4.1 (ตัวอย่างหรือ Control) ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ใส่ลงในไมโครเพลทสีดำ เติมสาร DMSO (Dimethyl sulfoxide) ปริมาตร 12.5 ไมโครลิตร ทำ 3 ซ้ำ และใช้น้ำกลั่นปราศจากเชื้อเป็น Blank แทนเชื้อยีสต์ปริมาตร 250 ไมโครลิตร และเติมสาร DMSO ปริมาตร 12.5 ไมโครลิตร ทำ 3 ซ้ำเช่นเดียวกัน จากนั้นเติมสารละลาย Nile red ในอะซิโตนที่ความเข้มข้น 0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 25 ไมโครลิตรลงในหลุมของตัวอย่างหรือ Control และ Blank ทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 2 นาที จากนั้นวัดค่าการเรืองแสงโดยใช้เครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท รุ่น FLUOstar Omega โดยใช้ Excitation wavelength เท่ากับ 544 นาโนเมตรและใช้ Emission wavelength เท่ากับ 590 นาโนเมตร (Brar และคณะ, 2017) และคำนวณค่าการเรืองแสงสัมพัทธ์ (Relative fluorescence unit, RFU) (Greenspan และคณะ, 1985) ดังนี้

1. ค่าการเรืองแสงยีสต์ *S. cerevisiae* (Control)

= ค่าการเรืองแสงของยีสต์ Control ที่เครื่องอ่านได้ - ค่าการเรืองแสงของ Blank ที่เครื่องอ่านได้

2. ค่าการเรืองแสงยีสต์ที่คัดแยกได้ (ตัวอย่าง)

= ค่าการเรืองแสงของยีสต์ตัวอย่างที่เครื่องอ่านได้ - ค่าการเรืองแสงของ Blank ที่เครื่องอ่านได้

และกำหนดให้ค่าการเรืองแสงของยีสต์ *S. cerevisiae* (Control) ที่  $48,470.05 \pm 11,623.49$  มีค่าเท่ากับ 1

ดังนั้น ค่าการเรืองแสงสัมพัทธ์ของยีสต์ที่คัดแยกได้ (ตัวอย่าง)

$$= \frac{\text{ค่าการเรืองแสงของยีสต์ที่คัดแยกได้ (ตัวอย่าง)}}{\text{ค่าการเรืองแสงของยีสต์ *S. cerevisiae* (Control)}} \times 1$$

3.3.4.3 การวิเคราะห์การผลิตไขมันภายในเซลล์โดยวิธีสังเกตการเรืองแสงภายใต้กล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนซ์ (Fluorescence microscope) โดยดัดแปลงจากวิธีของ Rattanapoltee และ Kaewkannetra (2013) เริ่มจากนำยีสต์ที่เตรียมได้จากข้อ 3.3.4.1 ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ใส่ลงใน DMSO (Dimethyl sulfoxide) ปริมาตร 400 ไมโครลิตร จากนั้นเติมสารละลาย Nile red ในอะซิโตน (Acetone) ที่ความเข้มข้น 0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำมาหยดลงบนสไลด์ และปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ โดยทำในที่มืด จากนั้นวัดค่าการเรืองแสงภายใต้กล้องจุลทรรศน์ Fluorescence microscope ที่กำลังขยาย 400 เท่า (Rattanapoltee และ Kaewkannetra, 2013; Chen และคณะ, 2009)

## บทที่ 4

### ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

#### 4.1 การคัดแยกยีสต์จากแหล่งธรรมชาติ

จากการคัดแยกยีสต์จากแหล่งธรรมชาติ ได้แก่ ตัวอย่างผลไม้ น้ำ และดินในประเทศไทย จำนวน 57 ตัวอย่าง โดยนำตัวอย่างผลไม้และดินที่ระดับความเจือจาง 1:10, 1:100, 1:1000 และ 1:10000 เท้า มา Spread บนผิวหน้าจานอาหาร YM agar ที่ใส่ยาปฏิชีวนะ Ampicillin และ Kanamycin หลังจากบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 วัน พบว่าที่ระดับความเจือจาง 1:10 เท้า ไม่สามารถแยกยีสต์ออกได้เนื่องจากมียีสต์ปริมาณสูงกว่า 250 cfu/ml และไม่พบโคโลนียีสต์ที่ระดับความเจือจาง 1:10000 เท้า ดังนั้นยีสต์ที่คัดแยกได้จากผลไม้และดินส่วนใหญ่คัดแยกได้จากระดับความเจือจาง 1:100 และ 1:1000 เท้า ในขณะที่ตัวอย่างน้ำนำมา Spread บนผิวหน้าจานอาหาร YM agar ที่ใส่ยาปฏิชีวนะ Ampicillin และ Kanamycin ที่ระดับความเจือจาง 1:1, 1:10, 1:100, 1:1000 และ 1:10000 เท้า พบว่าไม่มีการเจริญของโคโลนียีสต์ที่ระดับความเจือจาง 1:1000 และ 1:10000 เท้า จึงแยกยีสต์ส่วนใหญ่ได้จากระดับความเจือจาง 1:1, 1:10 และ 1:100 เท้า ซึ่งสามารถคัดแยกยีสต์ได้ทั้งหมด 145 ไอโซเลต โดยคัดแยกได้จากผลไม้จำนวน 7 ไอโซเลต จากน้ำจำนวน 7 ไอโซเลต และได้จากดินจำนวน 131 ไอโซเลต โดยส่วนใหญ่คัดแยกได้จากดินเนื่องจากมีรายงานการพบยีสต์ที่สะสมไขมันในเซลล์ปริมาณสูงในสภาพที่แห้งแล้ง खाตสารอาหาร บริเวณที่มีน้ำตาลความเข้มข้นสูงหรือแหล่งธรรมชาติที่มีการปนเปื้อนของไขมันสูง (Pan และคณะ, 2009; Uma และ Polasa, 1990) ดังนั้นในการศึกษานี้จึงมีการเก็บตัวอย่างดินจากสถานที่ต่างๆ เช่น ดินจากชายเลน บางแสน จังหวัดชลบุรี ดินจากโรงงานน้ำตาลวังขนาย จังหวัดลพบุรี และดินบริเวณร้านที่มีการซ่อมบำรุงเครื่องยนต์ จากอำเภอเมือง จังหวัดเลย เป็นต้น มากกว่าการเก็บตัวอย่างผลไม้หรือตัวอย่างน้ำ

นอกจากนี้ในการคัดแยกยีสต์จากแหล่งธรรมชาติต่างๆ จำนวนทั้งหมด 57 ตัวอย่าง ยังพบว่าแหล่งตัวอย่างดินที่สามารถคัดแยกยีสต์ได้มากที่สุด คือ ตัวอย่างดินใต้ต้นไม้ข้างตึกแอล จากคณะเทคโนโลยีเกษตร ลาดกระบังและดินทรายจากโรงงานน้ำตาลวังขนาย จ.ลพบุรี ซึ่งคัดแยกได้แหล่งละ 6 ไอโซเลต ดังตารางที่ 4.1 ซึ่งรายงานส่วนใหญ่พบว่าสามารถคัดแยกยีสต์ได้จากแหล่งธรรมชาติต่างๆ เช่น ใบไม้ ดอกไม้ น้ำยางของพืช ธัญพืช แมลง มูล ดิน และในสภาพแวดล้อมที่อุดมไปด้วยน้ำตาล เช่น น้ำหวานในดอกไม้และผลไม้หวาน เป็นต้น (Thapa และคณะ, 2015; Spencer และ Spencer, 1997; Uma และ Polasa, 1990)

ตารางที่ 4.1 แสดงแหล่งตัวอย่างจากธรรมชาติ จำนวนไอโซเลตยีสต์และชื่อไอโซเลตยีสต์ที่คัดแยกได้

ตัวอย่าง	จำนวนไอโซเลตยีสต์ที่คัดแยกได้	ชื่อไอโซเลตยีสต์ที่คัดแยกได้
ฝรั่ง	3	F1 F4 F7
องุ่น	4	G1 G2 G3 G4
น้ำผึ้ง	1	H1
น้ำขัง ซอยนวมินทร์ 74	3	WA1 WA2 WA3
น้ำกักน้ำตาลจากโรงงานน้ำตาล วังขนาย จ.ลพบุรี	1	WK1
น้ำหมัก	1	NM2
น้ำปุ๋ยหมัก	1	PM1
ดินท่อน้ำทิ้งข้างร้านก๋วยเตี๋ยวเรือ ร.ร.บดินทร์ 2	4	PW1 PW2 PW3 PW4
ดินท่อน้ำครัวบ้านเลขที่ 343 ซอยมิตร อนันต์ แขวงถนนนครไชยศรี เขตดุสิต จ.กรุงเทพ	3	TK1 TK2 TK3
ดินข้างบ้าน อ. ทับคล้อ จ. พิจิตร	2	AB1 AB2
ดินใต้ต้นไม้ข้างตึกแอล คณะเทคโนโลยีเกษตร ลาดกระบัง	6	AR1 AR2 AR3 AR4 AR5 AR6
ดินหลังบ้าน อ. ทับคล้อ จ. พิจิตร	4	BJ1 BJ2 BJ3 BJ4
ดินหลังบ้าน อ.บรรพตพิสัย จ. นครสวรรค์	2	BN1 BN2
ดินบางปู อ. เมือง จ.สมุทรปราการ	3	BP2 BP3 BP6
ดินชายเลน บางแสน จ. ชลบุรี	2	BS1 BS2
ดินใต้ต้นพริก ที่แฟลช19 ถ.นวมินทร์ แขวงนวลจันทร์ เขตบึงกุ่ม จ.กรุงเทพฯ	1	CL
ดินสวนสนบ่อแก้ว อ.ฮอด จ. เชียงใหม่	1	CM1
ดินหน้าบ้าน ต. โพนแดงใต้ อ. บางไทร จ. พระนครศรีอยุธยา	2	DW1 DW2
ดินหลังบ้าน ต. โพนแดงใต้ อ.บางไทร จ.พระนครศรีอยุธยา	3	HF1 HF2 HF3
ดินครัวร้านเสพศิลป์ อ.สะเมิง จ.เชียงใหม่	2	K1 K2
ดินบนเขาค้อ จ. เพชรบูรณ์	2	KK1 KK2

ตารางที่ 4.1 (ต่อ) แสดงแหล่งตัวอย่างจากธรรมชาติ จำนวนไอโซเลตยีสต์และชื่อไอโซเลตยีสต์ที่คัดแยกได้

ตัวอย่าง	จำนวนไอโซเลตยีสต์ที่คัดแยกได้	ชื่อไอโซเลตยีสต์ที่คัดแยกได้
ดินเขื่อนป่าสักชลสิทธิ์ จ. ลพบุรี	2	KL1 KL2
ดินข้างบ้านที่ อ. ทับคล้อ จ. พิจิตร	1	KP1
ดินข้างรางรถไฟ ลาดกระบัง	2	KT2 KT3
ดินอุทยานประวัติศาสตร์พระนครศรีอยุธยา อ.เมือง จ. เพชรบุรี	1	KW2
ซีเลน ที่ 40/26 รามอินทรา 77 แยก 2 เขตคันนายาว	1	L1
ดินวัดพระธาตุผาซ่อนแก้ว จ. เพชรบูรณ์	4	LK1 LK2 LK3 LK4
ดินวัดลาดพร้าว	3	LP1 LP2 LP5
ดินข้างร้านนมสด หน้า ร.บดินทร์ 2	4	M1 M2 M3 M4
ดินตลาดมีนบุรี	1	MB1
ดินสวนมะม่วง สวนเกียรติอัมพร อ.แปดริ้ว จ. ฉะเชิงเทรา	3	MG1 MG3 MG4
ดินข้างร้านก๋วยเตี๋ยวหน้า ร.บดินทร์ 2	3	NB2 NB3 NB4
ดินข้างร้านก๋วยเตี๋ยวเรือ ร.ร. บดินทร์ 2	3	ND1 ND2 ND3
ดินข้างน้ำเขื่อนแก่งกระจาน จ. เพชรบุรี	5	NK1 NK2 NK3 NK4 NK5
ดินร้านรัตนสินการช่าง อ.เมือง จ.เลย	4	OI3 OI4 OI5 OI6
ดินสถานีรถไฟพระจอมเกล้าลาดกระบัง	4	PJ1 PJ2 PJ4 PJ6
ดินแปลงเกษตรข้างบ่อบัว คณะเทคโนโลยีเกษตร ลาดกระบัง	3	PK1 PK3 PK4
น้ำปุ๋ยหมัก	1	PM1
ดินร้านอาหารภิรมพร อ.เมือง จ.เลย	2	PP1 PP2
ดินร้านส้มตำปากซอยมิตรอนันต์ แขวง ถนนนครไชยศรี เขตดุสิต จ.กรุงเทพฯ	2	PY1 PY3
ดินริมน้ำตกกวางโจว อ.หนองหญ้าปล้อง จ. เพชรบุรี	2	RS1 RS2
หินบริเวณรางรถไฟ ลาดกระบัง	1	S1
ดินข้างถังขยะหน้า ร.ร.บดินทร์ 2	3	SB3 SB4 SB6

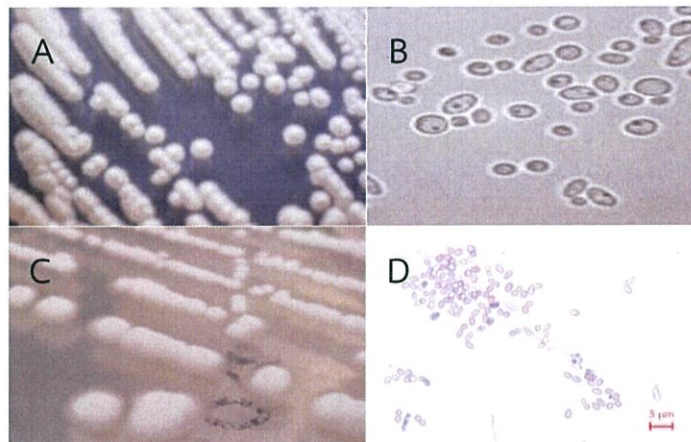
ตารางที่ 4.1(ต่อ) แสดงแหล่งตัวอย่างจากธรรมชาติ จำนวนไอโซเลตยีสต์และชื่อไอโซเลตยีสต์ที่คัดแยกได้

ตัวอย่าง	จำนวนไอโซเลตยีสต์ที่คัดแยกได้	ชื่อไอโซเลตยีสต์ที่คัดแยกได้
ดินหมักไต้อ้อย	1	SC1
ดินใต้ต้นไทรสวนพฤกษชาติ การเคหะคลองจั่น ถ.นวมินทร์ แขวงนวลจันทร์ เขตบึงกุ่ม จ.กรุงเทพฯ	1	SI1
ดินร่องเศษอาหาร อ.ไชโย จ.อ่างทอง	3	SL2 SL3 SL4
ดินข้างน้ำซัง ซอยนวมินทร์ 74	4	SW1 SW2 SW4 SW6
ดินใต้ถุนบ้าน 40/26 रामอินทรา 77 แยก 2 เขตคันนายาว กทม.	1	T1
ดินข้างทางลพบุรี กม.142 อ.ชัยบาดาล	1	TL1
ดินใต้ต้นไม้ในบ้าน อ. ทับคล้อ จ. พิจิตร	1	UT1
ดินทางเชื่อมหอใน ลาดกระบัง	3	W1 W2 W3
ฟางละเอียดโรงงานน้ำตาลวังขนาย จ.ลพบุรี	2	WE1 WE3
ฟางหยาบโรงงานน้ำตาลวังขนาย จ.ลพบุรี	5	WF2 WF3 WF4 WF5 WF6
ดินทรายโรงงานน้ำตาลวังขนาย จ.ลพบุรี	6	WH1 WH2 WH5 WH6 WH7 WH10
ดินเหนียวเปียกโรงงานน้ำตาลวังขนาย จ.ลพบุรี	4	WP1 WP2 WP3 WP6
ดินเหนียวเปียกโรงงานน้ำตาลวังขนาย จ.ลพบุรี	2	WS2 WS4
ดินหลังครัว ต. แม่สูน อ. ฝาง จ. เชียงใหม่	2	Y <sub>1</sub> 1 Y <sub>1</sub> 2
ดินใต้ต้นไม้ ต. แม่สูน อ. ฝาง จ. เชียงใหม่	2	Y <sub>2</sub> 1 Y <sub>2</sub> 2
ดินน้ำพุร้อนฝาง อ. ฝาง จ. เชียงใหม่	2	Y <sub>3</sub> 1 Y <sub>3</sub> 2

#### 4.2 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของยีสต์ที่คัดแยกได้

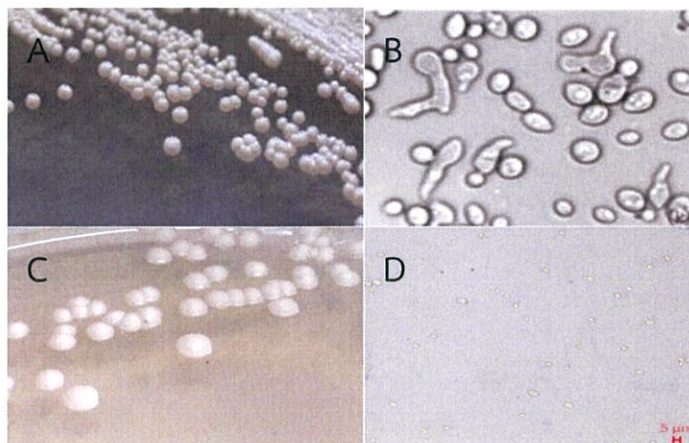
ในการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของยีสต์ที่คัดแยกได้ โดยการดูลักษณะรูปร่าง สี ขอบ ความหนูน หรือแบนของโคโลนียีสต์ที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร YM agar ที่สังเกตได้ด้วยตาเปล่าและลักษณะหรือขนาดของเซลล์ที่ส่องใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงที่กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า ไปเปรียบเทียบกับยีสต์ใน Japan Collection of Microorganisms หรือ JCM เนื่องจากข้อมูลลักษณะทางสัณฐานวิทยาเป็นการจัดจำแนกในระดับจีนัส (Baron, 1996) ทำให้คาดว่ายีสต์ที่คัดแยกได้จำนวนทั้งหมด 145 ไอโซเลต จัดอยู่ในจีนัสต่างๆ จำนวน 26 จีนัส ดังนี้

จีนัส *Ambrosiozyma* spp. ลักษณะโคโลนีมีสีขาว ชุ่ม หนูน ผิวและขอบโคโลนีมีลักษณะเป็นเส้นใย (รูป 4.1A) และลักษณะเซลล์มีรูปร่างทรงกลมยาว (Kurtzman และ Robnett, 2013) (รูป 4.1B) ซึ่งลักษณะโคโลนีของไอโซเลต WH5 และ LP5 มีรูปร่างกลม สีขาว ด้าน หนูน ผิวและขอบเป็นเส้นใย (รูป 4.1C) และลักษณะเซลล์มีรูปร่างทรงกลม หรือรูปไข่ (รูป 4.1D) จึงคาดว่าอาจจัดอยู่ในจีนัส *Ambrosiozyma* spp.



รูปที่ 4.1 แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของยีสต์จีนัส *Ambrosiozyma* spp. และไอโซเลต WH5 โดยรูป A แสดงลักษณะโคโลนีของ *Ambrosiozyma* spp. รูป B แสดงลักษณะเซลล์ของ *Ambrosiozyma* spp. รูป C แสดงลักษณะโคโลนีของไอโซเลต WH5 และรูป D แสดงลักษณะเซลล์ของไอโซเลต WH5 ที่กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า  
ที่มา: Wickerham, 1983; Kurtzman และ Robnett, 2013

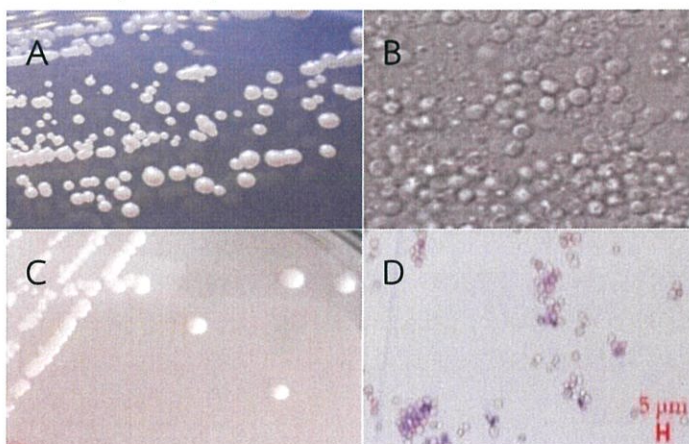
จีนัส *Blastobotrys* spp. ลักษณะโคโลนีมีสีขาว ชุ่ม ผิวและขอบเรียบ ตรงกลางโคโลนีหนูน สูงกว่าบริเวณขอบ (รูป 4.2A) และลักษณะเซลล์มีรูปร่างเป็นทรงกลม รูปไข่หรือวงรี (Kurtzman, 2007) (รูป 4.2B) ซึ่งลักษณะโคโลนีของไอโซเลต HF1 SW6 G2 S1 WA2 และ W2 มีรูปร่างกลม ขาว ชุ่ม ตรงกลางโคโลนีมีสีขาวเงา (รูป 4.2C) และลักษณะเซลล์มีรูปร่างเป็นวงรีคล้ายรูปไข่ (รูป 4.2D) จึงคาดว่าอาจจัดอยู่ในจีนัส *Blastobotrys* spp.



รูปที่ 4.2 แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของยีสต์จีนัส *Blastobotrys* spp. และไอโซเลต HF1 โดยรูป A แสดงลักษณะโคโลนีของ *Blastobotrys* spp. รูป B แสดงลักษณะเซลล์ของ *Blastobotrys* spp. รูป C แสดงลักษณะโคโลนีของไอโซเลต HF1 และรูป D แสดงลักษณะเซลล์ของไอโซเลต HF1 ที่กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า

ที่มา: Fell, 1994; Kurtzman, 2007

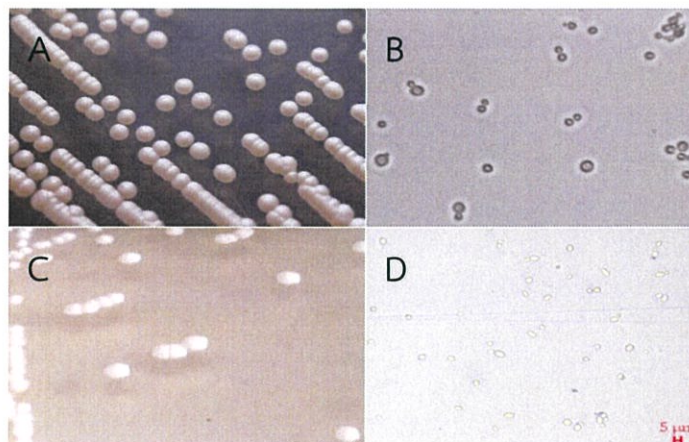
จีนัส *Schizosaccharomyces* spp. ลักษณะโคโลนีมีสีขาว รูปร่างกลม เงาม นูน ผิวและขอบเรียบ (รูป 4.3A) และลักษณะเซลล์มีรูปร่างเป็นทรงกลม รูปไข่ วงรีหรือทรงกระบอก (Coluccio, 2008) (รูป 4.3B) ซึ่งลักษณะโคโลนีของไอโซเลต KK2 และ Y<sub>2</sub>1 มีรูปร่างกลม ขาว เงาม นูน ผิวและขอบเรียบ (รูป 4.3C) และลักษณะเซลล์มีรูปร่างเป็นทรงกลมหรือวงรี (รูป 4.3D) จึงคาดว่าอาจจัดอยู่ในจีนัส *Schizosaccharomyces* spp.



รูปที่ 4.3 แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของยีสต์จีนัส *Schizosaccharomyces* spp. และไอโซเลต KK2 โดยรูป A แสดงลักษณะโคโลนีของ *Schizosaccharomyces* spp. รูป B แสดงลักษณะเซลล์ของ *Schizosaccharomyces* spp. รูป C แสดงลักษณะโคโลนีของไอโซเลต KK2 และรูป D แสดงลักษณะเซลล์ของไอโซเลต KK2 ที่กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า

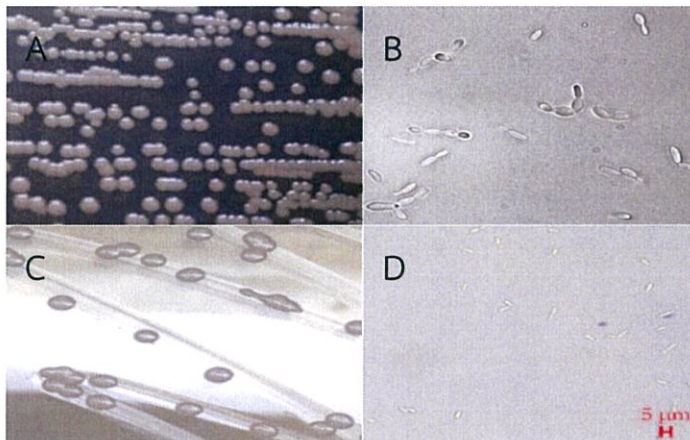
ที่มา: Král, 1992; Coluccio, 2008

ยีสต์ *Debaryomyces* spp. ลักษณะของโคโลนีมีรูปร่างกลม สีขาว นูน ขอบเรียบ ผิวเรียบ ตรงกลางโคโลนีมีความนูนกว่าขอบโคโลนี (รูปที่ 4.4A) และลักษณะเซลล์มีรูปร่างทรงกลม วงรีคล้ายรูปไข่ หรือทรงกระบอก (รูปที่ 4.4B) (Kreger van Rij และ Veenhuis, 1975) ซึ่งลักษณะโคโลนีของไอโซเลต PK4 และ HF3 มีรูปร่างกลม สีขาวนูน นูน ขอบเรียบ ผิวเรียบ ตรงกลางโคโลนีมีสีขาวเงา (รูปที่ 4.4C) และลักษณะเซลล์มีรูปร่างทรงกลม หรือวงรีคล้ายรูปไข่ (รูปที่ 4.4D) จึงคาดว่าอาจจัดอยู่ในยีสต์ *Debaryomyces* spp.



รูปที่ 4.4 แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของยีสต์ยีสต์ *Debaryomyces* spp. และไอโซเลต PK4 โดยรูป A แสดงลักษณะโคโลนีของ *Debaryomyces* spp. รูป B แสดงลักษณะเซลล์ของ *Debaryomyces* spp. รูป C แสดงลักษณะโคโลนีของไอโซเลต PK4 และรูป D แสดงลักษณะเซลล์ของไอโซเลต PK4 ที่กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า  
ที่มา: van der Walt., 1990; Kreger van Rij และ Veenhuis, 1975

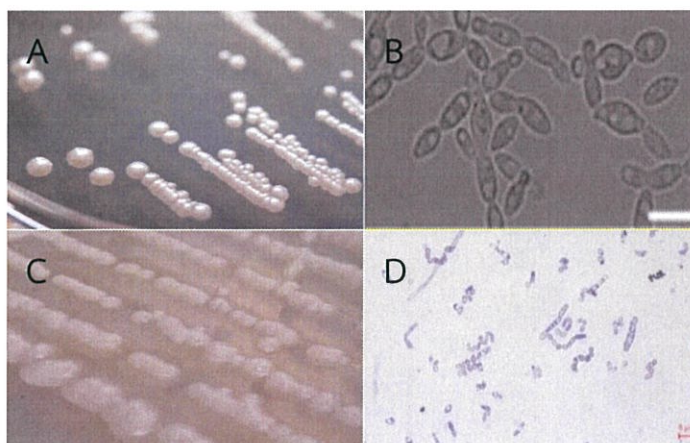
ยีสต์ *Hansenula* spp. ลักษณะของโคโลนีมีรูปร่างกลม สีขาว ขอบเรียบ ผิวเรียบเงาวาว (รูปที่ 4.5A) และลักษณะเซลล์มีรูปร่างวงรียาว (รูปที่ 4.5B) (Stöckmann และคณะ, 2009) ซึ่งลักษณะโคโลนีของไอโซเลต PJ1 และ PJ6 มีรูปร่างกลม สีขาว ขอบเรียบ ผิวเรียบ เงา (รูปที่ 4.5C) และลักษณะเซลล์มีรูปร่างเป็นวงรียาว (รูปที่ 4.5D) จึงคาดว่าอาจจัดอยู่ในยีสต์ *Hansenula* spp.



รูปที่ 4.5 แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของยีสต์จีนัส *Hansenula* spp. และไอโซเลต PJ1 โดยรูป A แสดงลักษณะโคโลนีของ *Hansenula* spp. รูป B แสดงลักษณะเซลล์ของ *Hansenula* spp. รูป C แสดงลักษณะโคโลนีของไอโซเลต PJ1 และรูป D แสดงลักษณะเซลล์ของไอโซเลต PJ1 ที่กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า

ที่มา: Kurtzman, 1985; Stöckmann และคณะ, 2009

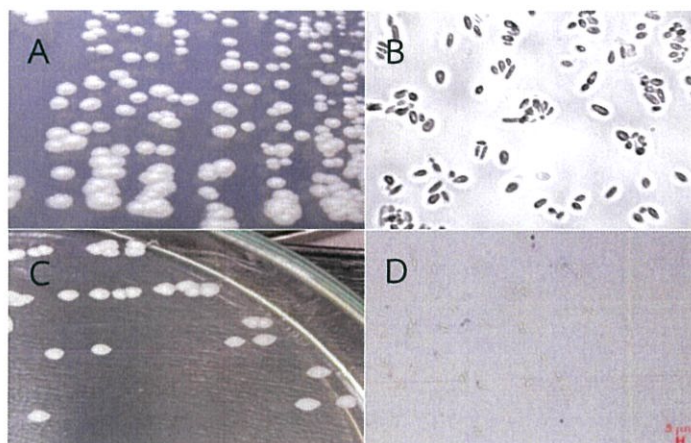
ยีสต์ *Hanseniaspora* sp. ลักษณะของโคโลนีมีรูปร่างกลม สีขาวขุ่น นูน ผิวเงาวาว (รูปที่ 4.6A) และลักษณะเซลล์มีรูปร่างวงรีคล้ายรูปไข่ หรือทรงกระบอก (รูปที่ 4.6B) (Jindamorakot, 2009) ซึ่งลักษณะโคโลนีของไอโซเลต OI6 มีรูปร่างกลม สีขาวขุ่น นูน ผิวเงาวาว (รูปที่ 4.6C) และลักษณะเซลล์มีรูปร่างวงรีคล้ายรูปไข่ หรือทรงกระบอก (รูปที่ 4.6D) จึงคาดว่าอาจจัดอยู่ในจีนัส *Hanseniaspora* sp.



รูปที่ 4.6 แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของยีสต์จีนัส *Hanseniaspora* sp. และไอโซเลต OI6 โดยรูป A แสดงลักษณะโคโลนีของ *Hanseniaspora* sp. รูป B แสดงลักษณะเซลล์ของ *Hanseniaspora* sp. รูป C แสดงลักษณะโคโลนีของไอโซเลต OI6 และรูป D แสดงลักษณะเซลล์ของไอโซเลต OI6 ที่กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า

ที่มา: Tokuoka, 1986; Jindamorakot, 2009

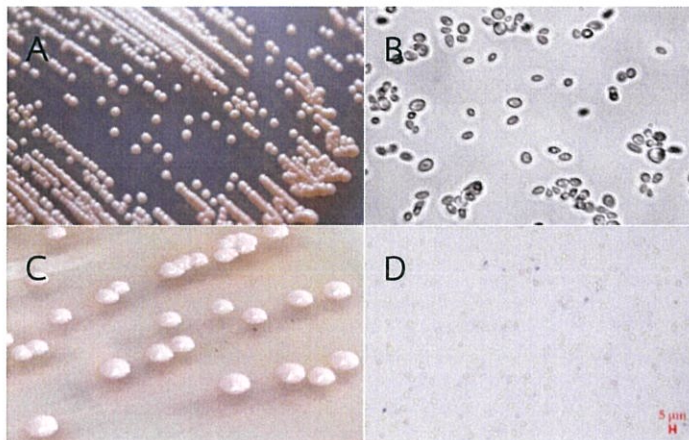
ยีสต์ *Kluyveromyces* spp. ลักษณะของโคโลนีมีรูปร่างไม่แน่นอน สีขาว ด้าน แบน ขอบ เรียบ (รูปที่ 4.7A) และลักษณะเซลล์มีรูปร่างทรงกลม หรือทรงกระบอก (รูปที่ 4.7B) (Gajalakshmi, 2002) ซึ่งลักษณะโคโลนีของไอโซเลต M4 และ MB มีรูปร่างไม่แน่นอน สีขาว ด้าน แบน (รูปที่ 4.7C) และลักษณะเซลล์มีรูปร่างทรงกลม หรือทรงกระบอก (รูปที่ 4.7D) จึงคาดว่าอาจจัดอยู่ในยีสต์ *Kluyveromyces* spp.



รูปที่ 4.7 แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของยีสต์ยีสต์ *Kluyveromyces* spp. และไอโซเลต M4 โดยรูป A แสดงลักษณะโคโลนีของ *Kluyveromyces* spp. รูป B แสดงลักษณะเซลล์ของ *Kluyveromyces* spp. รูป C แสดงลักษณะโคโลนีของไอโซเลต M4 และรูป D แสดงลักษณะเซลล์ของไอโซเลต M4 ที่กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า

ที่มา: Kodama, 1995; Gajalakshmi, 2002

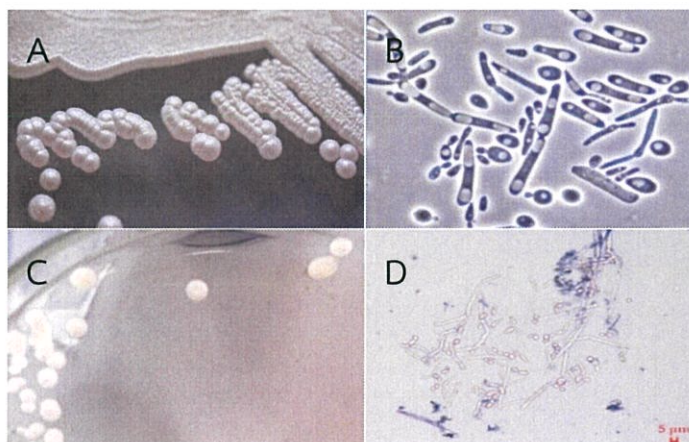
ยีสต์ *Metschnikowia* sp. ลักษณะของโคโลนีมีรูปร่างกลม สีชมพูอ่อน เงาม นูน ขอบเรียบ ผิวเรียบ (รูปที่ 4.8A) (Cocolin และคณะ, 2003) และลักษณะเซลล์มีรูปร่างทรงกลม วงรีคล้ายรูปไข่ (รูปที่ 4.8B) ซึ่งลักษณะโคโลนีของไอโซเลต Y<sub>12</sub> มีรูปร่างกลม สีชมพูอ่อน เงาม นูน (รูปที่ 4.8C) และลักษณะเซลล์มีรูปร่างทรงกลม วงรีคล้ายรูปไข่ (รูปที่ 4.8D) จึงคาดว่าอาจจัดอยู่ในยีสต์ *Metschnikowia* sp.



รูปที่ 4.8 แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของยีสต์จีนัส *Metschnikowia* sp. และไอโซเลต Y<sub>12</sub> โดยรูป A แสดงลักษณะโคโลนีของ *Metschnikowia* sp. รูป B แสดงลักษณะเซลล์ของ *Metschnikowia* sp. รูป C แสดงลักษณะโคโลนีของไอโซเลต Y<sub>12</sub> และรูป D แสดงลักษณะเซลล์ของไอโซเลต Y<sub>12</sub> ที่กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า

ที่มา: Nakase, 2007; Cocolin และ Mills, 2003

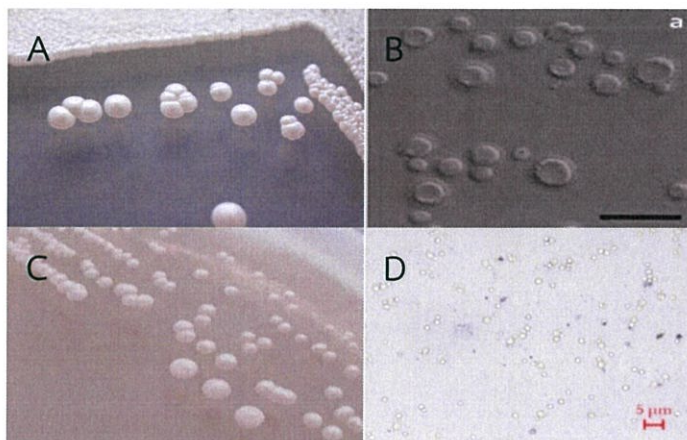
จีนัส *Meyerozyma* spp. ลักษณะของโคโลนีมีรูปร่างกลม สีขาว ด้าน ตรงกลางโคโลนีมีความหนากว่าขอบโคโลนี (รูปที่ 4.9A) และลักษณะเซลล์มีรูปร่างวงรีคล้ายรูปไข่ หรือทรงกระบอก (รูปที่ 4.9B) (Romi และคณะ, 2014) ซึ่งลักษณะโคโลนีของไอโซเลต BJ4 DW1 BS2 และ SW2 มีรูปร่างกลม สีขาว ด้าน ภายในกลมขาวนูน (รูปที่ 4.9C) และลักษณะเซลล์มีรูปร่างวงรีคล้ายรูปไข่ หรือทรงกระบอก (รูปที่ 4.9D) จึงคาดว่าอาจจัดอยู่ในจีนัส *Meyerozyma* spp.



รูปที่ 4.9 แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของยีสต์จีนัส *Meyerozyma* spp. และไอโซเลต BJ4 โดยรูป A แสดงลักษณะโคโลนีของ *Meyerozyma* spp. รูป B แสดงลักษณะเซลล์ของ *Meyerozyma* spp. รูป C แสดงลักษณะโคโลนีของไอโซเลต BJ4 และรูป D แสดงลักษณะเซลล์ของไอโซเลต BJ4 ที่กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า

ที่มา: Tsuchiya และ Naganishi, 1983; Romi และคณะ, 2014

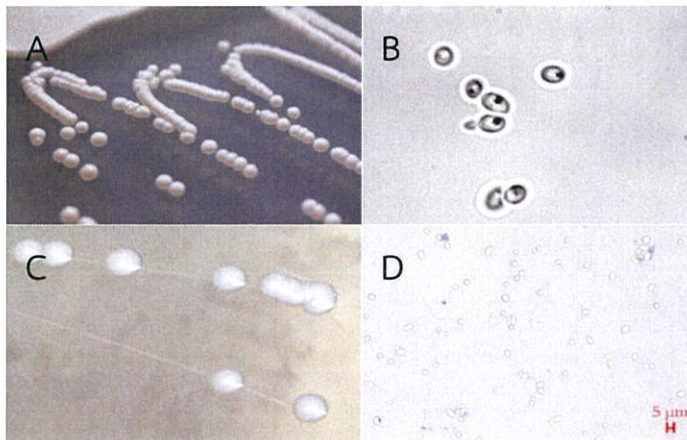
ยีสต์ *Ogataea* spp. ลักษณะของโคโลนีมีรูปร่างกลม สีขาว นูน ขอบเรียบ (รูปที่ 4.10A) และลักษณะเซลล์มีรูปร่างทรงกลม (รูปที่ 4.10B) (Limtong และคณะ, 2008) ซึ่งลักษณะโคโลนีของไอโซเลต TK1 LK1 และ WP2 มีรูปร่างกลม สีขาว นูน (รูปที่ 4.10C) และลักษณะเซลล์มีรูปร่างทรงกลม (รูปที่ 4.10D) จึงคาดว่าอาจจัดอยู่ในยีสต์ *Ogataea* spp.



รูปที่ 4.10 แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของยีสต์ยีสต์ *Ogataea* spp. และไอโซเลต TK1 โดยรูป A แสดงลักษณะโคโลนีของ *Ogataea* spp. รูป B แสดงลักษณะเซลล์ของ *Ogataea* spp. รูป C แสดงลักษณะโคโลนีของไอโซเลต TK1 และรูป D แสดงลักษณะเซลล์ของไอโซเลต TK1 ที่กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า

ที่มา: Limtong และคณะ, 2008; Yamada และคณะ, 1985

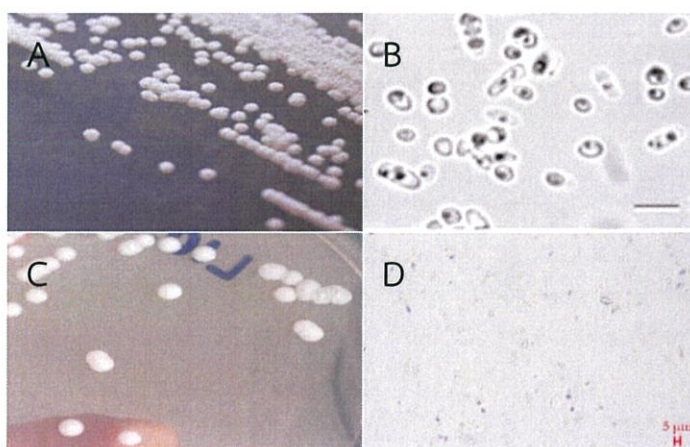
ยีสต์ *Pichia* spp. ลักษณะของโคโลนีมีรูปร่างกลม สีขาว ผิวเงาวาว ขอบเรียบ ผิวเรียบ (รูปที่ 4.11A) และลักษณะเซลล์มีรูปร่างทรงกลม วงรีคล้ายรูปไข่ (รูปที่ 4.11B) (Kurtzman, 1998) ซึ่งลักษณะโคโลนีของไอโซเลต KT3 Y<sub>2</sub> RS1 F7 WH10 BN1 WF2 K1 WP1 MG3 KT2 KL2 SL2 WE3 WF3 WS4 ND1 G1 PY1 และ F1 มีรูปร่างกลม สีขาว เงา (รูปที่ 4.11C) และลักษณะเซลล์มีรูปร่างทรงกลม วงรีคล้ายรูปไข่ (รูปที่ 4.11D) จึงคาดว่าอาจจัดอยู่ในยีสต์ *Pichia* spp.



รูปที่ 4.11 แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของยีสต์จีโนม *Pichia* spp. และไอโซเลต KT3 โดยรูป A แสดงลักษณะโคโลนีของ *Pichia* spp. รูป B แสดงลักษณะเซลล์ของ *Pichia* spp. รูป C แสดงลักษณะโคโลนีของไอโซเลต KT3 และรูป D แสดงลักษณะเซลล์ของไอโซเลต KT3 ที่กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า

ที่มา: Kurtzman และ Fell, 1998; Tanner, 1982

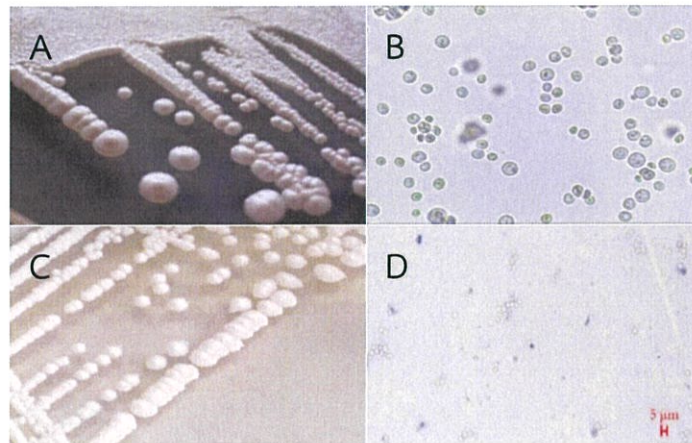
จีโนม *Priceomyces* spp. ลักษณะของโคโลนีมีรูปร่างกลม สีขาว ด้าน ขอบเรียบ ผิวเรียบนูน (รูปที่ 4.12A) และลักษณะเซลล์มีรูปร่างทรงกลม วงรีคล้ายรูปไข่ (รูปที่ 4.12B) (Kurtzman, 1998) ซึ่งลักษณะโคโลนีของไอโซเลต NK2 และ F4 มีรูปร่างกลม สีขาว ด้าน นูน (รูปที่ 4.12C) และลักษณะเซลล์มีรูปร่างทรงกลม วงรีคล้ายรูปไข่ (รูปที่ 4.12D) จึงคาดว่าอาจจัดอยู่ในจีโนม *Priceomyces* spp.



รูปที่ 4.12 แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของยีสต์จีโนม *Priceomyces* spp. และไอโซเลต NK2 โดยรูป A แสดงลักษณะโคโลนีของ *Priceomyces* spp. รูป B แสดงลักษณะเซลล์ของ *Priceomyces* spp. รูป C แสดงลักษณะโคโลนีของไอโซเลต NK2 และรูป D แสดงลักษณะเซลล์ของไอโซเลต NK2 ที่กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า

ที่มา: Kurtzman, 1998; Boidin, 2000

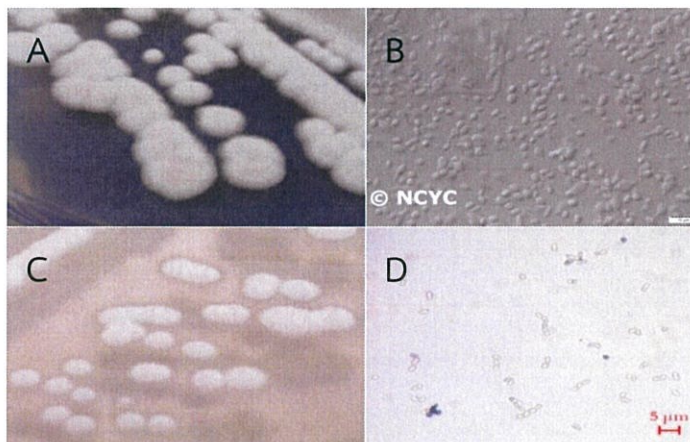
ยีสต์ *Saccharomyces* spp. ลักษณะของโคโลนีมีรูปร่างกลม สีขาว นูน ขอบเรียบ ผิวเรียบ (รูปที่ 4.13A) และลักษณะเซลล์มีรูปร่างทรงกลม วงรีคล้ายรูปไข่ หรือทรงกระบอก (รูปที่ 4.13B) (Meyen, 1870) ซึ่งลักษณะโคโลนีของไอโซเลต AB1 และ LP2 มีรูปร่างกลม สีขาว นูน ขอบเรียบ ผิวเรียบ (รูปที่ 4.13C) และลักษณะเซลล์มีรูปร่างทรงกลม (รูปที่ 4.13D) จึงคาดว่าอาจจัดอยู่ในยีสต์ *Saccharomyces* spp.



รูปที่ 4.13 แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของยีสต์ยีสต์ *Saccharomyces* spp. และไอโซเลต AB1 โดยรูป A แสดงลักษณะโคโลนีของ *Saccharomyces* spp. รูป B แสดงลักษณะเซลล์ของ *Saccharomyces* spp. รูป C แสดงลักษณะโคโลนีของไอโซเลต AB1 รูป D แสดงลักษณะเซลล์ของไอโซเลต AB1 ที่กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า

ที่มา: Tsuchiya, 1983; Bonneau, 2008

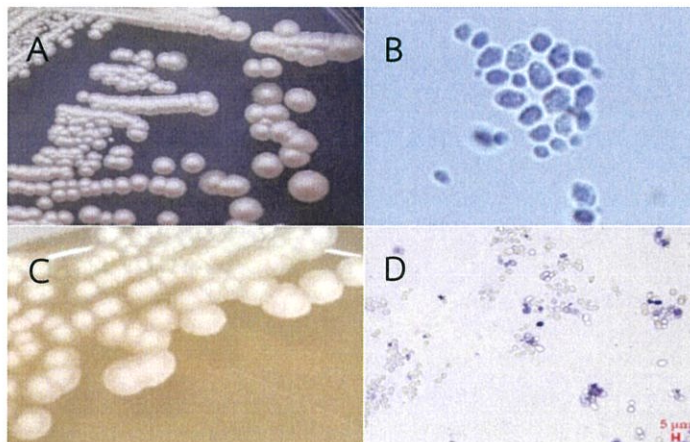
ยีสต์ *Saccharomycopsis* spp. ลักษณะของโคโลนีมีรูปร่างกลม สีขาว นูน ขอบและผิวมีลักษณะเป็นเส้นใย (รูปที่ 4.14A) และลักษณะเซลล์มีรูปร่างทรงกลม รูปไข่หรือวงรี (รูปที่ 4.14B) ซึ่งลักษณะโคโลนีของไอโซเลต WF4 AR3 และ AR4 มีรูปร่างกลม สีขาว นูน ขอบและผิวมีลักษณะเป็นเส้นใย (รูปที่ 4.14C) และลักษณะเซลล์มีรูปร่างทรงกลม รูปไข่หรือวงรี (รูปที่ 4.14D) จึงคาดว่าอาจจัดอยู่ในยีสต์ *Saccharomycopsis* spp.



รูปที่ 4.14 แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของยีสต์จีส *Saccharomyces* spp. และไอโซเลต WF4 โดยรูป A แสดงลักษณะโคโลนีของ *Saccharomyces* spp. รูป B แสดงลักษณะเซลล์ของ *Saccharomyces* spp. รูป C แสดงลักษณะโคโลนีของไอโซเลต WF4 รูป D แสดงลักษณะเซลล์ของไอโซเลต WF4 ที่กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า

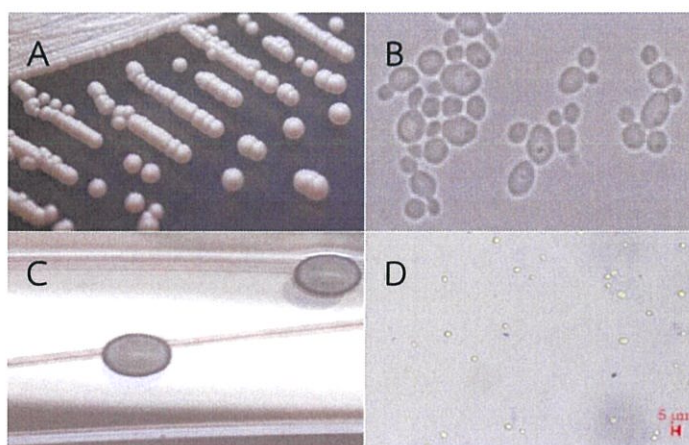
ที่มา: Goto S., 1989; Harrington, 2016

ยีสต์ *Schwanniomyces* spp. ลักษณะของโคโลนีมีรูปร่างกลม สีขาว ผิวเรียบ ขอบแบน เรียบและตรงกลางโคโลนีนูนกว่าขอบเล็กน้อย (รูปที่ 4.15A) และลักษณะเซลล์มีรูปร่างทรงกลม รูปไข่หรือวงรี (รูปที่ 4.15B) ซึ่งลักษณะโคโลนีของไอโซเลต BJ3 WS2 และ NK5 มีรูปร่างกลม สีขาวขุ่น ด้าน ผิวเรียบ ขอบแบนเรียบและตรงกลางโคโลนีนูนกว่าขอบเล็กน้อย (รูปที่ 4.15C) และลักษณะเซลล์มีรูปร่างทรงกลม รูปไข่หรือวงรี (รูปที่ 4.15D) จึงคาดว่าอาจจัดอยู่ในยีสต์ *Schwanniomyces* spp.



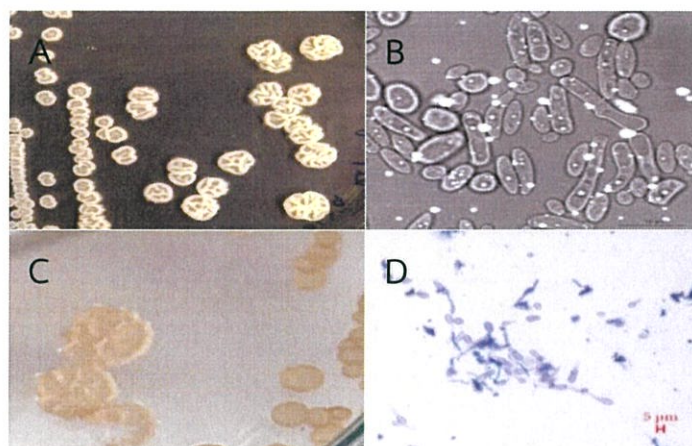
รูปที่ 4.15 แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของยีสต์จิ้นีส *Schwanniomyces* spp. และไอโซเลต BJ3 โดยรูป A แสดงลักษณะโคโลนีของ *Schwanniomyces* spp. รูป B แสดงลักษณะเซลล์ของ *Schwanniomyces* spp. รูป C แสดงลักษณะโคโลนีของไอโซเลต BJ3 รูป D แสดงลักษณะเซลล์ของไอโซเลต BJ3 ที่กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า  
ที่มา: Suzuki และ Kurtzman, 1985; Relich, 2016

ยีสต์ *Yamadazyma* sp. ลักษณะของโคโลนีมีรูปร่างกลม สีขาว ด้าน นูน ขอบแบน (รูป 4.16A) และลักษณะเซลล์มีรูปร่างทรงกลม รูปไข่หรือวงรี (Jindamorakot, 2015) (รูป 4.16B) ซึ่งลักษณะโคโลนีของไอโซเลต G3 มีรูปร่างกลม สีขาว ด้าน นูน (รูป 4.16C) และลักษณะเซลล์มีรูปร่างทรงกลม หรือรูปไข่ (รูป 4.16D) จึงคาดว่าอาจจัดอยู่ในยีสต์ *Yamadazyma* sp.



รูปที่ 4.16 แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของยีสต์จิ้นีส *Yamadazyma* sp. และไอโซเลต G3 โดยรูป A แสดงลักษณะโคโลนีของ *Yamadazyma* sp. รูป B แสดงลักษณะเซลล์ของ *Yamadazyma* sp. รูป C แสดงลักษณะโคโลนีของไอโซเลต G3 รูป D แสดงลักษณะเซลล์ของไอโซเลต G3 ที่กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า  
ที่มา: Jindamorakot, 2015; Golubev, 2000

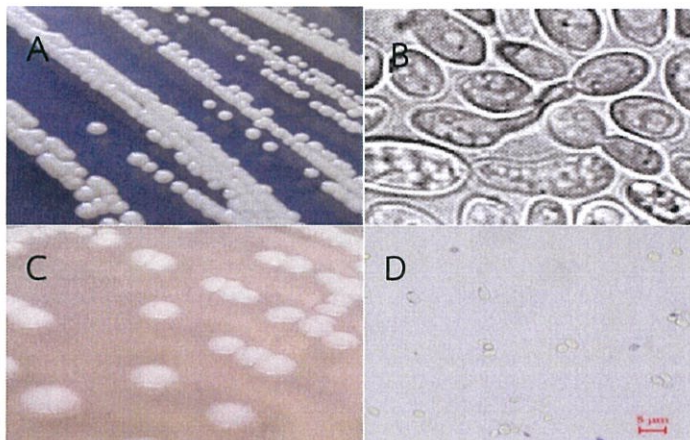
ยีสต์ *Yarrowia* spp. ลักษณะของโคโลนีมีรูปร่างไม่แน่นอน สีครีม ด้าน บน ขอบนูน (รูป 4.17A) และลักษณะเซลล์มีรูปร่างรูปไข่หรือวงรี หรือทรงกระบอก (Coelho, 2010) (รูป 4.17B) ซึ่งลักษณะโคโลนีของไอโซเลต Y<sub>1</sub> Y<sub>3</sub>2 และ PM มีรูปร่างไม่แน่นอน ครีมน ด้าน บน (รูป 4.17C) และลักษณะเซลล์มีรูปร่างรูปไข่หรือวงรี หรือทรงกระบอก (รูป 4.17D) จึงคาดว่าอาจจัดอยู่ในยีสต์ *Yarrowia* spp.



รูปที่ 4.17 แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของยีสต์ยีสต์ *Yarrowia* spp. และไอโซเลต Y<sub>1</sub> โดยรูป A แสดงลักษณะโคโลนีของ *Yarrowia* spp. รูป B แสดงลักษณะเซลล์ของ *Yarrowia* spp. รูป C แสดงลักษณะโคโลนีของไอโซเลต Y<sub>1</sub> รูป D แสดงลักษณะเซลล์ของไอโซเลต Y<sub>1</sub> ที่กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า

ที่มา: Coelho, 2010; Wickerham และคณะ, 1983

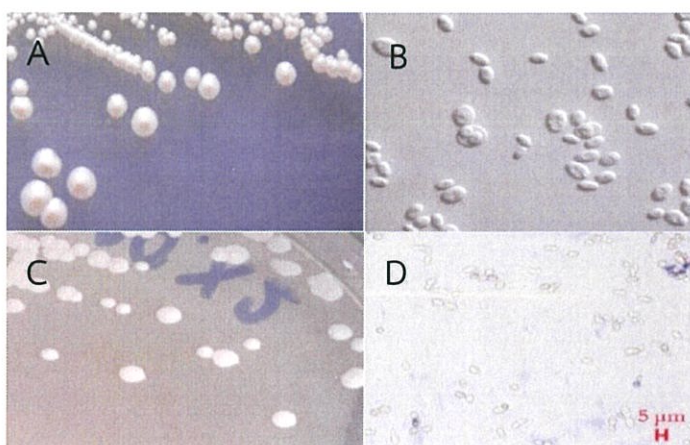
ยีสต์ *Filobasidium* spp. ลักษณะของโคโลนีมีรูปร่างกลม สีขาว เงาม ด้าน บน ขอบเรียบ (รูปที่ 4.18A) และลักษณะเซลล์มีรูปร่างทรงกลม รูปไข่หรือวงรี (รูปที่ 4.18B) ซึ่งลักษณะโคโลนีของไอโซเลต WE1 และ CL มีรูปร่างกลม สีขาว เงาม ด้าน บน ขอบเรียบ (รูปที่ 4.18C) และลักษณะเซลล์มีรูปร่างทรงกลม รูปไข่หรือวงรี (รูปที่ 4.18D) จึงคาดว่าอาจจัดอยู่ในยีสต์ *Filobasidium* spp.



รูปที่ 4.18 แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของยีสต์ยีสต์ *Filobasidium* spp. และไอโซเลต WE1 โดยรูป A แสดงลักษณะโคโลนีของ *Filobasidium* spp. รูป B แสดงลักษณะเซลล์ของ *Filobasidium* spp. รูป C แสดงลักษณะโคโลนีของไอโซเลต WE1 รูป D แสดงลักษณะเซลล์ของไอโซเลต WE1 ที่กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า

ที่มา: Cochet, 1985; Rodrigues de Miranda, 1972

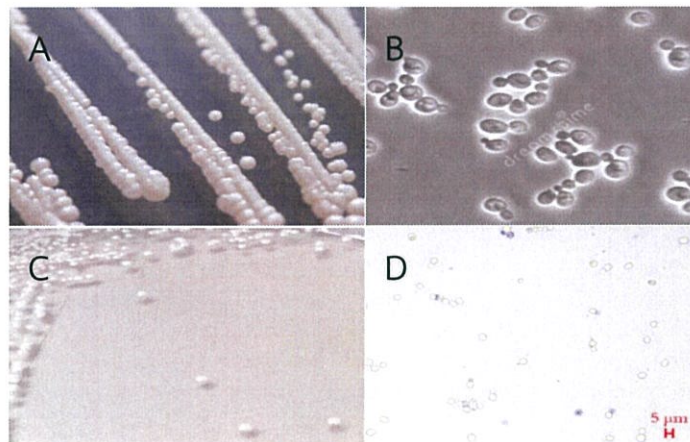
ยีสต์ *Kazachstania* spp. ลักษณะของโคโลนีมีรูปร่างกลม สีน้ำตาล แบน ผิวเรียบ ขอบแบนเรียบและตรงกลางโคโลนีนูนกว่าขอบเล็กน้อย (รูปที่ 4.19A) และลักษณะเซลล์มีรูปร่างทรงกลม รูปไข่หรือวงรี (รูปที่ 4.19B) ซึ่งลักษณะโคโลนีของไอโซเลต NM2 และ NK4 มีรูปร่างกลม สีน้ำตาล ด้าน ผิวเรียบ ขอบแบนเรียบและตรงกลางโคโลนีนูนกว่าขอบเล็กน้อย (รูปที่ 4.19C) และลักษณะเซลล์มีรูปร่างทรงกลม รูปไข่หรือวงรี (รูปที่ 4.19D) จึงคาดว่าอาจจัดอยู่ในยีสต์ *Kazachstania* spp.



รูปที่ 4.19 แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของยีสต์ยีสต์ *Kazachstania* spp. และไอโซเลต NM2 โดยรูป A แสดงลักษณะโคโลนีของ *Kazachstania* spp. รูป B แสดงลักษณะเซลล์ของ *Kazachstania* spp. รูป C แสดงลักษณะโคโลนีของไอโซเลต NM2 รูป D แสดงลักษณะเซลล์ของไอโซเลต NM2 ที่กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า

ที่มา: Kurtzman, 1985; Chen, 2010

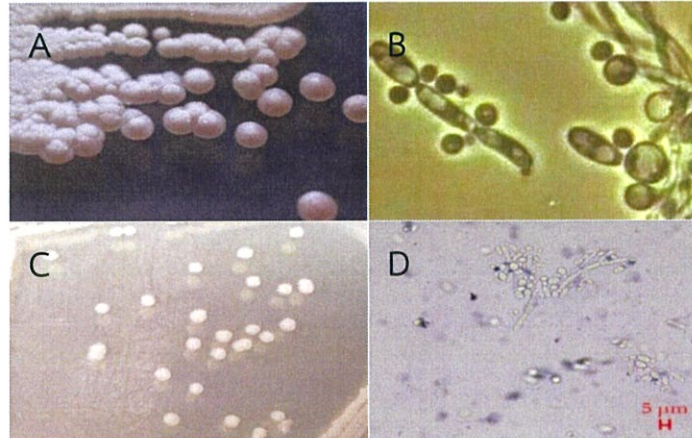
ยีสต์ *Candida* spp. ลักษณะของโคโลนีมีรูปร่างกลม ขาว เงามีผิวเรียบ ขอบเรียบ (รูปที่ 4.20A) และลักษณะเซลล์มีรูปร่างทรงกลมหรือวงรี (รูปที่ 4.20B) ซึ่งลักษณะโคโลนีของไอโซเลต PW2 AR1 BP2 KP Y<sub>3</sub>1 SB4 LP1 NB3 SW1 KW2 OI3 BS1 PP1 LK3 AR5 AR6 KL1 WH3 PW3 UT DW2 AR2 AB2 BN2 G4 SL4 TK1 TK3 PW1 ND3 OI4 LK2 WP6 WF6 MG1 TK3 BJ1 TL1 ND2 WA1 L1 TK1 M2 LK4 HF2 CM1 BJ2 WA3 PY3 SL3 WH1 PW4 PK1 NB2 SW4 OI5 SB6 PK3 และ HF3 มีรูปร่างกลม สีขาว เงามีผิวเรียบ และขอบเรียบ (รูปที่ 4.20C) และลักษณะเซลล์มีรูปร่างทรงกลมหรือวงรี (รูปที่ 4.20D) จึงคาดว่าอาจจัดอยู่ในยีสต์ *Candida* spp.



รูปที่ 4.20 แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของยีสต์ยีสต์ *Candida* spp. และไอโซเลต PW2 โดยรูป A แสดงลักษณะโคโลนีของ *Candida* spp. รูป B แสดงลักษณะเซลล์ของ *Candida* spp. รูป C แสดงลักษณะโคโลนีของไอโซเลต PW2 รูป D แสดงลักษณะเซลล์ของไอโซเลต PW2 ที่กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า

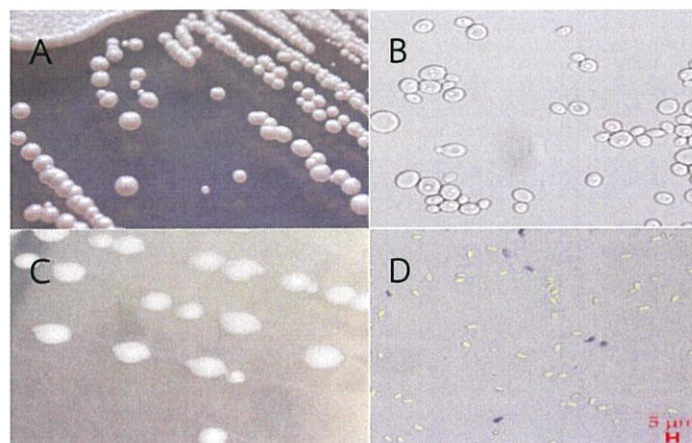
ที่มา: Tokuoka, 1986; Nantel, 2017

ยีสต์ *Cryptococcus* sp. ลักษณะของโคโลนีมีรูปร่างกลม สีขาว นูน ผิวโคโลนีมีลักษณะเป็นเส้นใย ขอบเรียบและตรงกลางโคโลนีนูนกว่าขอบเล็กน้อย (รูปที่ 4.21A) และลักษณะเซลล์มีรูปร่างทรงกลมหรือวงรียาว (รูปที่ 4.21B) ซึ่งลักษณะโคโลนีของไอโซเลต PP2 มีรูปร่างกลม ขาวนูน ด้านตรงกลางโคโลนีนูนกว่าขอบเล็กน้อย (รูปที่ 4.21C) และลักษณะเซลล์มีรูปร่างทรงกลม หรือวงรียาว (รูปที่ 4.21D) จึงคาดว่าอาจจัดอยู่ในยีสต์ *Cryptococcus* sp.



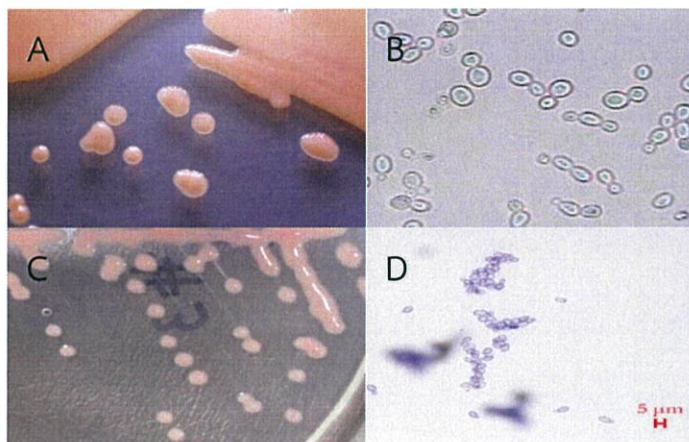
รูปที่ 4.21 แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของยีสต์จีนัส *Cryptococcus* sp. และไอโซเลต PP2 โดยรูป A แสดงลักษณะโคโลนีของ *Cryptococcus* sp. รูป B แสดงลักษณะเซลล์ของ *Cryptococcus* sp. รูป C แสดงลักษณะโคโลนีของไอโซเลต PP2 รูป D แสดงลักษณะเซลล์ของไอโซเลต PP2 ที่กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า  
ที่มา: Kocková, 1982; Deacon, 2017

จีนัส *Cyberlindnera* spp. ลักษณะของโคโลนีมีรูปร่างกลม ขาว เงาม ขอบเรียบ และผิวโคโลนีเรียบ (รูป 4.22A) และลักษณะเซลล์มีรูปร่างทรงกลม รูปไข่หรือวงรี (รูป 4.22B) ซึ่งลักษณะโคโลนีของไอโซเลต W1 และ M1 มีรูปร่างกลม ขาว ขอบเรียบ ผิวเรียบ (รูป 4.22C) และลักษณะเซลล์มีรูปร่างวงรียาว หรือรูปไข่ (รูป 4.22D) จึงคาดว่าอาจจัดอยู่ในจีนัส *Cyberlindnera* spp.



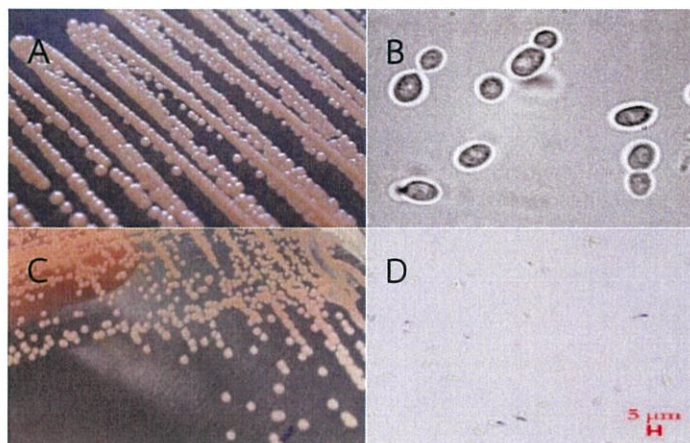
รูปที่ 4.22 แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของยีสต์จีนัส *Cyberlindnera* spp. และไอโซเลต W1 โดยรูป A แสดงลักษณะโคโลนีของ *Cyberlindnera* spp. รูป B แสดงลักษณะเซลล์ของ *Cyberlindnera* spp. รูป C แสดงลักษณะโคโลนีของไอโซเลต W1 รูป D แสดงลักษณะเซลล์ของไอโซเลต W1 ที่กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า  
ที่มา: Tsuchiya, 1983; Katagiri และคณะ, 2016

ยีสต์ *Rhodosporidium* sp. ลักษณะของโคโลนีมีรูปร่างกลม มีสีชมพู เงามีขอบเรียบ (รูป 4.23A) และลักษณะเซลล์มีรูปร่างทรงกลม รูปไข่หรือวงรี (Banno, 1967) (รูป 4.23B) ซึ่งลักษณะโคโลนีของไอโซเลต M3 มีรูปร่างกลม มีสีชมพู ขอบเรียบ เงามีขอบเรียบ (รูป 4.23C) และลักษณะเซลล์มีรูปร่างทรงกลม หรือรูปไข่ (รูป 4.23D) จึงคาดว่าอาจจัดอยู่ในยีสต์ *Rhodosporidium* sp.



รูปที่ 4.23 แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของยีสต์ยีสต์ *Rhodosporidium* sp. และไอโซเลต M3 โดยรูป A แสดงลักษณะโคโลนีของ *Rhodosporidium* sp. รูป B แสดงลักษณะเซลล์ของ *Rhodosporidium* sp. รูป C แสดงลักษณะโคโลนีของไอโซเลต M3 รูป D แสดงลักษณะเซลล์ของไอโซเลต M3 ที่กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า  
ที่มา: Reiersöl, 2002; Marova และคณะ, 2011

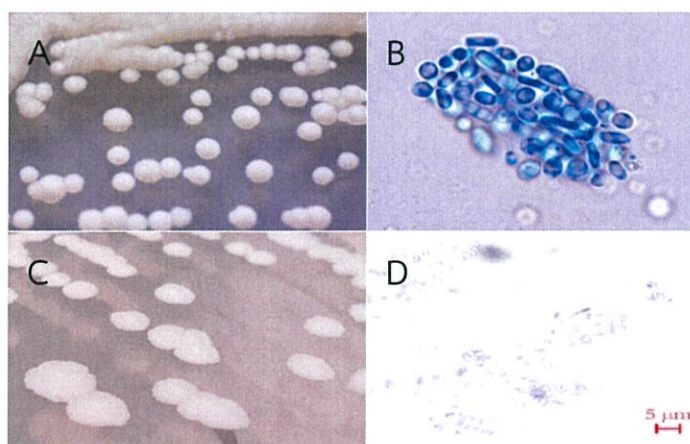
ยีสต์ *Rhodotorula* spp. ลักษณะของโคโลนีมีรูปร่างกลม มีสีชมพูอ่อน มีผิวและขอบโคโลนีเรียบ (รูป 4.24A) และลักษณะเซลล์มีรูปร่างทรงกลม รูปไข่หรือวงรี (Harrison, 1928) (รูป 4.24B) ซึ่งลักษณะโคโลนีของไอโซเลต T1 NK3 BP6 SC1 NK1 BP3 PJ4 H1 NB4 MG4 WH6 PJ2 W3 และ WH7 มีรูปร่างกลม มีสีชมพูอ่อน ขอบเรียบ ผิวโคโลนีเรียบ (รูป 4.24C) และลักษณะเซลล์มีรูปร่างทรงกลม หรือรูปไข่ (รูป 4.24D) จึงคาดว่าอาจจัดอยู่ในยีสต์ *Rhodotorula* spp.



รูปที่ 4.24 แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของยีสต์จีนัส *Rhodotorula* spp. และไอโซเลต T1 โดยรูป A แสดงลักษณะโคโลนีของ *Rhodotorula* spp. รูป B แสดงลักษณะเซลล์ของ *Rhodotorula* spp. รูป C แสดงลักษณะโคโลนีของไอโซเลต T1 รูป D แสดงลักษณะเซลล์ของไอโซเลต T1 ที่กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า

ที่มา: Yamazaki, 1991; Quesada และ Cenis, 1995

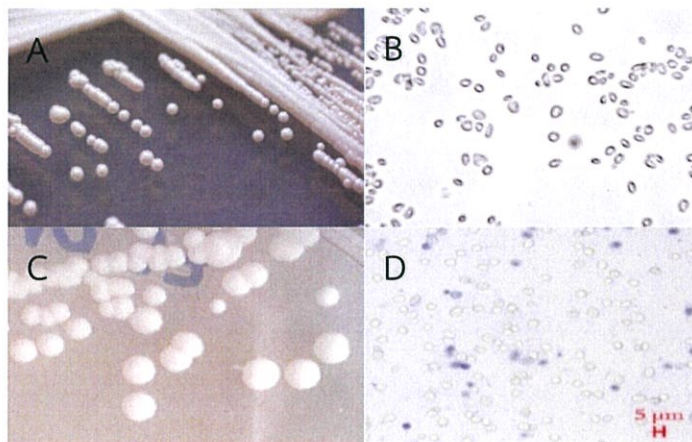
จีนัส *Trichosporon* spp. ลักษณะของโคโลนีมีรูปร่างกลม สีขาว ผิวด้าน ขอบหยัก (รูป 4.25A) และลักษณะเซลล์มีรูปร่างทรงกลม รูปไข่ วงรียาวหรือทรงกระบอก (รูป 4.25B) ซึ่งลักษณะโคโลนีของไอโซเลต WP3 SI TK2 และ WF5 มีรูปร่างกลม สีขาว ผิวด้าน ขอบหยัก (รูป 4.25C) และลักษณะเซลล์มีรูปร่างคล้ายรูปไข่ หรือวงรียาว (รูป 4.25D) จึงคาดว่าอาจจัดอยู่ในจีนัส *Trichosporon* spp.



รูปที่ 4.25 แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของยีสต์จีนัส *Trichosporon* spp. และไอโซเลต WP3 โดยรูป A แสดงลักษณะโคโลนีของ *Trichosporon* spp. รูป B แสดงลักษณะเซลล์ของ *Trichosporon* spp. รูป C แสดงลักษณะโคโลนีของไอโซเลต WP3 รูป D แสดงลักษณะเซลล์ของไอโซเลต WP3 ที่กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า

ที่มา: Nakase, 1982; Yuri, 2014

ยีสต์ *Trigonopsis* sp. ลักษณะของโคโลนีมีรูปร่างกลม สีขาว ผิวเรียบเงา ขอบเรียบ (รูป 4.26A) และลักษณะเซลล์มีรูปร่างทรงกลม รูปไข่หรือวงรี (รูป 4.26B) ซึ่งลักษณะโคโลนีของไอโซเลต RS2 มีรูปร่างกลม สีขาว ผิวโคโลนีเงาเรียบ ขอบเรียบ (รูป 4.26C) และลักษณะเซลล์มีรูปร่างทรงกลมหรือรูปไข่ (รูป 4.26D) จึงคาดว่าอาจจัดอยู่ในยีสต์ *Trigonopsis* sp.



รูปที่ 4.26 แสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของยีสต์ยีสต์ *Trigonopsis* sp. และไอโซเลต RS2 โดยรูป A แสดงลักษณะโคโลนีของ *Trigonopsis* sp. รูป B แสดงลักษณะเซลล์ของ *Trigonopsis* sp. รูป C แสดงลักษณะโคโลนีของไอโซเลต RS2 รูป D แสดงลักษณะเซลล์ของไอโซเลต RS2 ที่กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า

ที่มา: van der Walt, 1992; Nia, 2016

จากการดูลักษณะทางสัณฐานวิทยาตามที่กล่าวไปข้างต้น คาดว่ายีสต์ที่คัดแยกได้อาจจัดอยู่ในยีสต์ต่างๆ จำนวน 26 ยีสต์ และเมื่อนำยีสต์ที่ได้มาจัดกลุ่ม สามารถจัดออกเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่ม Ascosporegenous yeasts Basidiomycetous yeasts และ Imperfect yeasts ดังตารางที่ 4.2 อย่างไรก็ตามควรนำยีสต์ที่คัดแยกได้ไปศึกษาลักษณะทางชีวเคมี เช่น การใช้ไนเตรตเป็นแหล่งไนโตรเจน การหมักน้ำตาลหรือการใช้แหล่งคาร์บอน เป็นต้น ควรศึกษาลักษณะทางสรีรวิทยาและวิเคราะห์ระดับโมเลกุลโดยใช้ลำดับ D1/D2 domains ที่ปลาย 5' ของ large subunit (LSU) ของ rDNA gene เพิ่มนอกจากการดูลักษณะทางสัณฐานวิทยาเพื่อเป็นการจัดจำแนกยีสต์ที่คัดแยกได้ (Baron, 1996; Martinez, 2016)

ตารางที่ 4.2 การจัดจำแนกจีโนมของยีสต์ที่คัดแยกได้โดยใช้ข้อมูลลักษณะทางสัณฐานวิทยา

กลุ่มยีสต์	จีโนมยีสต์	จำนวน ไอโซเลต	ไอโซเลตยีสต์ที่คัดแยกได้
Ascosporogenous yeasts	<i>Ambrosiozyma</i>	2	WH5 LP5
	<i>Blastobotrys</i>	6	SW6 G2 HF1 S1 WA2 W2
	<i>Schizosaccharomyces</i>	2	Y <sub>2</sub> 1 KK2
	<i>Debaryomyces</i>	2	PK4 HF3
	<i>Hansenula</i>	2	PJ1 PJ6
	<i>Hanseniaspora</i>	1	OI6
	<i>Kluyveromyces</i>	2	M4 MB
	<i>Metschnikowia</i>	1	Y <sub>1</sub> 2
	<i>Meyerozyma</i>	4	BJ4 DW1 BS2 SW2
	<i>Ogataea</i>	3	LK1 TK1 WP2
	<i>Pichia</i>	20	Y <sub>2</sub> 2 RS1 F7 KT3 WH10 BN1 WF2 K1 WP1 MG3 KT2 KL2 SL2 WE3 WF3 WS4 ND1 G1 PY1 F1
	<i>Priceomyces</i>	2	F4 NK2
	<i>Saccharomyces</i>	2	AB1 LP2
	<i>Saccharomycopsis</i>	3	WF4 AR3 AR4
	<i>Schwanniomyces</i>	3	WS2 BJ3 NK5
	<i>Yamadazyma</i>	1	G3
<i>Yarrowia</i>	3	Y <sub>1</sub> 1 Y <sub>3</sub> 2 PM	
Basidiomycetous yeasts	<i>Filobasidium</i>	2	CL WE1
	<i>Kazachstania</i>	2	NM2 NK4

ตารางที่ 4.2 (ต่อ) การจัดจำแนกยีสต์ที่คัดแยกได้โดยใช้ข้อมูลลักษณะทางสัณฐานวิทยา

กลุ่มยีสต์	ยีสต์	จำนวน ไอโซเลต	ไอโซเลตยีสต์ที่คัดแยกได้
Imperfect yeasts	<i>Candida</i>	58	AR1 BP2 KP Y <sub>3</sub> 1 SB4 LP1 NB3 SW1 KW2 PW2 OI3 BS1 PP1 LK3 AR5 AR6 KL1 WH3 PW3 UT DW2 AR2 AB2 BN2 G4 SL4 TK1 TK3 PW1 ND3 OI4 LK2 WP6 WF6 MG1 TK3 BJ1 TL1 ND2 WA1 L1 TK1 M2 LK4 HF2 CM1 BJ2 WA3 PY3 SL3 WH1 PW4 PK1 NB2 SW4 OI5 SB6 PK3 HF3
	<i>Cryptococcus</i>	1	PP2
	<i>Cyberlindnera</i>	2	M1 W1
	<i>Rhodosporidium</i>	1	M3
	<i>Rhodotorula</i>	14	NK3 T1 BP6 SC1 NK1 BP3 PJ4 H1 NB4 MG4 WH6 PJ2 W3 WH7
	<i>Trichosporon</i>	4	SI TK2 WP3 WF5
	<i>Trigonopsis</i>	1	RS2

#### 4.3 การคัดเลือกยีสต์ที่มีการสะสมไขมันในเซลล์ปริมาณสูง (Oleaginous Yeasts)

การคัดเลือกยีสต์ที่มีการสะสมไขมันในเซลล์ปริมาณสูงหรือยีสต์ที่สะสมไขมันมากกว่าร้อยละ 20 ของชีวมวล (Ratledge, 1979) โดยมียีสต์ *S. cerevisiae* ซึ่งจัดเป็นสายพันธุ์ที่ไม่มีการสะสมไขมันในเซลล์เป็นตัวควบคุม โดย *S. cerevisiae* มีการสะสมไขมันในเซลล์คิดเป็นร้อยละ 17 ของชีวมวล (Martinez และคณะ, 2016) เมื่อวัดค่าการเรืองแสงของยีสต์ที่คัดแยกได้โดยดัดแปลงวิธีของ Sitepu และคณะ (2012) พบว่ามียีสต์ 74 ไอโซเลตที่มีค่าการเรืองแสงสัมพันธ์ต่ำกว่า *S. cerevisiae* (รูปที่ 4.27) ดังนั้นจึงจัดว่าเป็นยีสต์ที่ไม่มีการสะสมไขมันในเซลล์ปริมาณสูง และมียีสต์ 71 ไอโซเลตที่มีค่า

การเรืองแสงสัมพันธ์สูงกว่า *S. cerevisiae* (ดังตารางที่ 4.3 และรูปที่ 4.28) ดังนั้นจึงอาจจัดเป็นยีสต์ที่มีการสะสมไขมันในเซลล์ปริมาณสูง และยีสต์ที่มีค่าการเรืองแสงสัมพันธ์สูงที่สุดคือไอโซเลต CL ซึ่งคาดว่าอยู่ในยีสต์ *Filobasidium* spp. คัดแยกได้จากดินใต้ต้นพริก ที่แฟลช 19 ถ.นวมินทร์ แขวง นวลจันทร์ เขตบึงกุ่ม จ.กรุงเทพฯ รองลงมาคือไอโซเลต T1 ซึ่งคาดว่าอยู่ในยีสต์ *Rhodotorula* spp. คัดแยกได้จากใต้ถุนบ้าน 40/26 รามอินทรา 77 แยก 2 เขตคันนายาว กทม. และไอโซเลต DW2 ซึ่งคาดว่าอยู่ในยีสต์ *Candida* spp. คัดแยกได้จากดินหน้าบ้าน ต. โปแตงใต้ อ. บางไทร จ. พระนครศรีอยุธยา ตามลำดับ ซึ่งในปัจจุบันมีการค้นพบยีสต์ยีสต์ *Filobasidium* spp. *Rhodotorula* spp. และ *Candida* spp. เป็นยีสต์ที่สามารถสะสมไขมันในเซลล์ปริมาณสูงได้ โดยพบยีสต์ *Filobasidium* spp. จำนวน 4 สปีชีส์ที่สามารถสะสมไขมันในเซลล์ปริมาณสูง ได้แก่ *F. floriforme*, *F. globisporum*, *F. inconspicuum* และ *F. uniguttulatus* (Sitepu และคณะ, 2013) ยีสต์ *Rhodotorula* spp. จำนวน 11 สปีชีส์ ได้แก่ *R. aurantiaca*, *R. bogoriensis*, *R. colostri*, *R. dairenensis*, *R. glacialis*, *R. glutinis*, *R. graminis*, *R. kratochvilovae*, *R. minuta*, *R. mucilaginous* และ *R. terpenoidalis* (Garay และคณะ, 2016; Sitepu และคณะ, 2014; Jiru, 2016) และยีสต์ *Candida* spp. จำนวน 5 สปีชีส์ ได้แก่ *C. curvata*, *C. freyschussii*, *C. guilliermondii*, *C. pulcherrim* และ *C. tropicalis* (Sitepu และคณะ, 2014; Evans และ Ratledge, 1983; Gientka และคณะ, 2017)

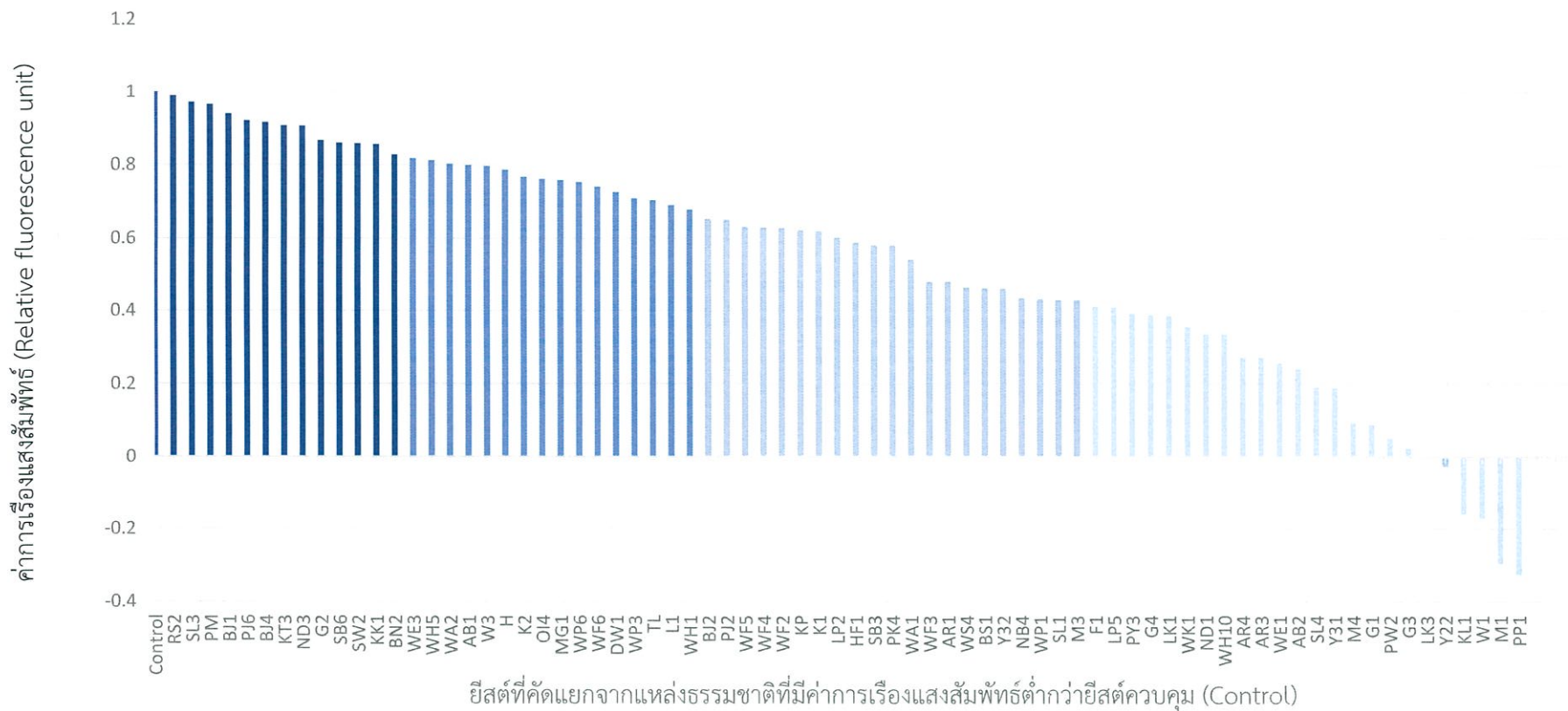
ในการตรวจสอบการสะสมไขมันในเซลล์ของยีสต์ที่คัดแยกได้ในการศึกษานี้โดยวิธีการวัดค่าการเรืองแสงตามวิธีของ Sitepu และคณะ (2012) โดยใช้สารเรืองแสง คือ Nile red หรือ 9-(diethylamino)-5H-benzo[a]phenoxazin-5-one โดย Nile red มีความสามารถในการเรืองแสงสูงเมื่ออยู่ในสภาพแวดล้อมที่ไม่มีขั้วหรือในตัวทำละลายที่มีขั้วต่ำ เนื่องจาก Nile red เป็นสารที่ไม่มีขั้วหรือไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic) จึงสามารถละลายได้ดีในไขมันที่ไม่มีขั้ว หรือละลายได้ในตัวทำละลาย เช่น อะซิโตน เอทานอล และคลอโรฟอร์ม เป็นต้น แต่ไม่สามารถละลายในน้ำได้ และ Nile red จะไม่ทำปฏิกิริยากับส่วนประกอบอื่นๆ ในเนื้อเยื่อหรือในเซลล์ สีเรืองแสงของ Nile red มีตั้งแต่สีเหลืองทองไปจนถึงแดงเข้ม โดยสีเหลืองทองวัดได้ที่ Excitation wavelength 450-500 นาโนเมตร Emission wavelength มากกว่า 528 นาโนเมตร และสีแดงวัดที่ Excitation wavelength 515-560 นาโนเมตร Emission wavelength มากกว่า 590 นาโนเมตร แต่จะมีการเปลี่ยนแปลงของสีเมื่อสิ่งแวดล้อมเปลี่ยนไป เช่น สัมผัสกับแสง เป็นต้น นอกจากนี้ในการคำนวณค่าการเรืองแสงของตัวอย่างต่างๆ (Relative fluorescence unit) ต้องนำค่าการเรืองแสงของตัวอย่างลบกับค่าการเรืองแสงของ Nile red เพียงอย่างเดียวหรือไม่มีตัวอย่างอยู่ เนื่องจากสีของ Nile red ที่ละลายในตัวทำละลายมีการเรืองแสงแต่ในปริมาณที่น้อยมาก (Greenspan และคณะ, 1985; Tajalli และคณะ, 2007)

ตารางที่ 4.3 ยีสต์ที่มีค่าการเรืองแสงสัมพันธ์สูงกว่ายีสต์ควบคุม *S. cerevisiae* ซึ่งวัดค่าการเรืองแสงโดยใช้เครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท รุ่น FLUOstar Omega โดยใช้ Excitation wavelength เท่ากับ 544 นาโนเมตรและใช้ Emission wavelength เท่ากับ 590 นาโนเมตร

ค่าการเรืองแสงสัมพันธ์	จำนวนไอโซเลต	ไอโซเลตยีสต์ที่คัดแยกได้
+	32	Y <sub>1</sub> 1 AR2 OI6 OI3 SW1 PY1 M2 SW6 KW2 WA3 PP2 NK1 HF2 PW4 PK3 LP1 AR6 TK2 F7 BS2 NB3 NK4 WH3 KT2 WS2 W2 AR5 NM2 F4 OI5 PK1 BJ3
++	20	SC1 WP2 NK5 Y <sub>1</sub> 2 MB MG3 BP6 LK4 NB2 SW4 CM1 BP3 MG4 UT KK2 Y <sub>2</sub> 1 BP2 PW1 NK2 NK3
+++	11	RS1 ND2 SB4 S1 HF3 KL2 PJ4 WH6 BN1 PW3 PJ1
++++	7	WH7 SI LK2 TK3 TK1 DW2 T1
+++++	1	CL

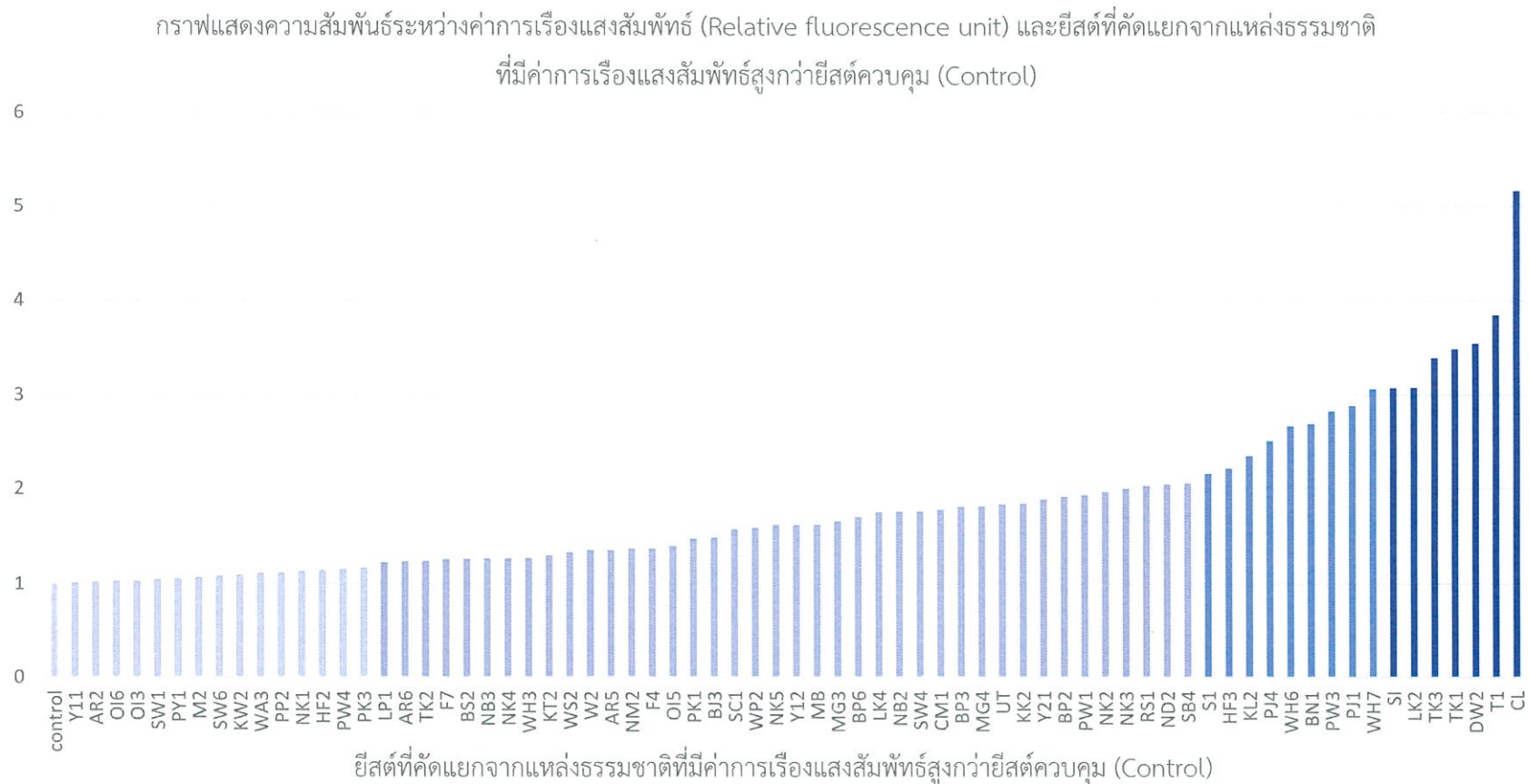
หมายเหตุ + คือ มีค่าการเรืองแสงสัมพันธ์อยู่ในช่วง 1.00 – 1.50  
 ++ คือ มีค่าการเรืองแสงสัมพันธ์อยู่ในช่วง 1.50 – 2.00  
 +++ คือ มีค่าการเรืองแสงสัมพันธ์อยู่ในช่วง 2.00 – 3.00  
 ++++ คือ มีค่าการเรืองแสงสัมพันธ์อยู่ในช่วง 3.00 – 4.00  
 +++++ คือ มีค่าการเรืองแสงสัมพันธ์อยู่ในช่วง 5.00 – 6.00

กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการเรืองแสงสัมพันธ์ (Relative fluorescence unit) และยีสต์ที่คัดแยกจากแหล่งธรรมชาติ  
ที่มีค่าการเรืองแสงสัมพันธ์ต่ำกว่ายีสต์ควบคุม (Control)



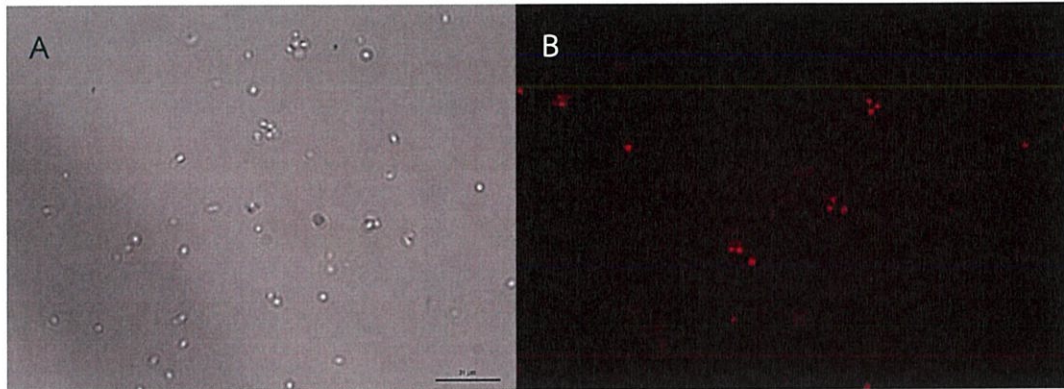
รูปที่ 4.27 แสดงค่าการเรืองแสงสัมพันธ์ของยีสต์จำนวน 74 ไอโซเลตเมื่อสัมผัสกับ Nile red และมีค่าการเรืองแสงสัมพันธ์ต่ำกว่า *S. cerevisiae* (กำหนดให้ *S. cerevisiae* มีค่าการเรืองแสงสัมพันธ์เท่ากับ 1)

ค่าการเรืองแสงสัมพันธ์ (Relative fluorescence unit)

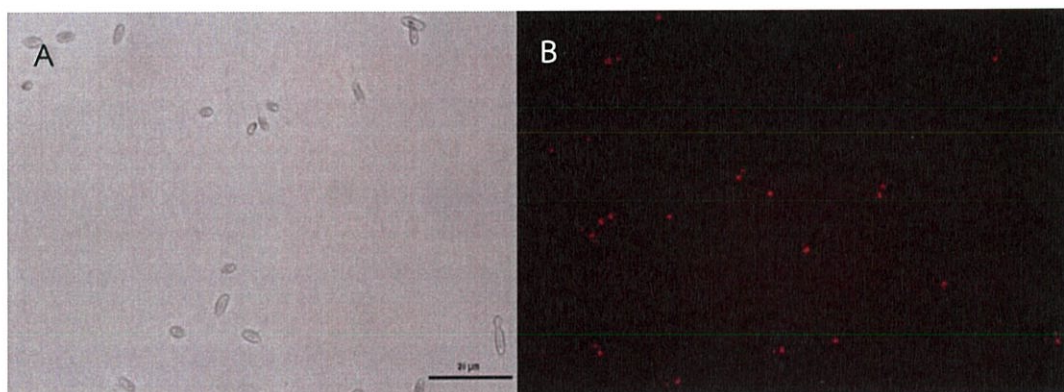


รูปที่ 4.28 แสดงค่าการเรืองแสงสัมพันธ์ของยีสต์จำนวน 71 ไอโซเลตเมื่อสัมผัสกับ Nile red และมีค่าการเรืองแสงสัมพันธ์สูงกว่า *S. cerevisiae* (กำหนดให้ *S. cerevisiae* มีค่าการเรืองแสงสัมพันธ์เท่ากับ 1)

เมื่อนำยีสต์ที่คัดแยกได้ 2 ไอโซเลต คือไอโซเลต CL และ T1 ที่ให้ค่าการเรืองแสงสูงสุด 2 อันดับแรกไปส่องใต้กล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนซ์ที่กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า พบว่ามีการเรืองแสงของไขมันภายในเซลล์ยีสต์ที่ย้อมด้วยสีย้อม Nile red ดังรูปที่ 4.29 และ 4.30



รูปที่ 4.29 แสดงลักษณะเซลล์ของไอโซเลต CL ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงและกล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนซ์ โดยรูป A แสดงลักษณะเซลล์ของไอโซเลตยีสต์ CL ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า และรูป B แสดงลักษณะการเรืองแสงของไอโซเลตยีสต์ CL ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนซ์ที่กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า



รูปที่ 4.30 แสดงลักษณะเซลล์ของไอโซเลต T1 ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงและกล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนซ์ โดยรูป A แสดงลักษณะเซลล์ของไอโซเลตยีสต์ T1 ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า และ B แสดงลักษณะการเรืองแสงของไอโซเลตยีสต์ T1 ที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนซ์ที่กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า

## บทที่ 5

# สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

### 5.1 สรุปผลการวิจัย

1. จากการคัดแยกยีสต์จากแหล่งธรรมชาติต่างๆ ในประเทศไทย ได้แก่ ผลไม้ ดิน และน้ำ จากตัวอย่างทั้งหมด 57 ตัวอย่าง สามารถคัดแยกยีสต์ได้ทั้งหมด 145 ไอโซเลต โดยคัดแยกได้จากผลไม้จำนวน 7 ไอโซเลต จากน้ำจำนวน 7 ไอโซเลต และจากดินจำนวน 131 ไอโซเลต
2. จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา สามารถจำแนกยีสต์ที่คัดแยกได้ออกเป็น 26 กลุ่ม
3. จากการคัดเลือกยีสต์ที่มีการสะสมไขมันในเซลล์ปริมาณสูง พบว่ามี 71 ไอโซเลตที่คาดว่า เป็น Oleaginous yeast
4. จากการศึกษาผลของการสะสมไขมันภายในเซลล์ของยีสต์ที่คัดแยกได้โดยวิธีการวัดการเรืองแสงโดยใช้สารเรืองแสง Nile red พบว่ายีสต์ที่ผลิตไขมันได้สูงสุดคือ ไอโซเลต CL แยกได้จากดินใต้ต้นพริก แพลช 19 ถ. นวมินทร์ แขวง นวลจันทร์ เขต บึงกุ่ม กทม. ซึ่งคาดว่า เป็นยีสต์ *Filobasidium* spp. รองลงมาคือ ไอโซเลต T1 แยกได้จากดินใต้ถุนบ้าน 40/26 รามอินทรา 77 แยก 2 เขต คันนายาว กทม. ซึ่งคาดว่า เป็นยีสต์ *Rhodotorula* spp. และ ไอโซเลต DW2 แยกได้จากดินหน้าบ้าน ต. โพนแดงใต้ อ. บางไทร จ. พระนครศรีอยุธยา ซึ่งคาดว่า เป็นยีสต์ *Candida* spp. ตามลำดับ

### 5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ในการศึกษาผลของการสะสมไขมันภายในเซลล์นอกจากใช้วิธีการวัดการเรืองแสงแล้ว (Sitepu และคณะ, 2012) ควรศึกษาการวัดปริมาณไขมันโดยการชั่งน้ำหนักแห้งควบคู่ไปด้วย (Pereyra และคณะ, 2014) เพื่อเป็นการหาปริมาณไขมันภายในเซลล์ยีสต์
2. ควรศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตไขมันในเซลล์ยีสต์ เช่น อัตราส่วนระหว่างคาร์บอนกับไนโตรเจน ชนิดและความเข้มข้นของน้ำตาล อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรด-ด่าง การเติมอากาศ และระยะเวลาการเพาะเลี้ยง เป็นต้น (Sha, 2013; Sitepu และคณะ, 2014)
3. ควรศึกษาองค์ประกอบของกรดไขมันภายในเซลล์ยีสต์โดยการใช้เครื่อง Gas chromatography-flame ionization (Sitepu และคณะ, 2013)
4. ในการจัดจำแนกยีสต์ นอกจากศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของยีสต์ที่คัดแยกได้ โดยการสังเกตลักษณะโคโลนียีสต์ที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร YM agar ด้วยตาเปล่า และดูลักษณะเซลล์โดย

การส่องไตกล้องจุลทรรศน์ ควบคู่กับลักษณะทางชีวเคมี เช่น การใช้ไนเตรตเป็นแหล่งไนโตรเจน การหมักน้ำตาลหรือการใช้แหล่งคาร์บอน เป็นต้น ควบคู่กับลักษณะทางสรีรวิทยาและวิเคราะห์ระดับโมเลกุลโดยใช้ลำดับ D1/D2 domains ที่ปลาย 5' ของ large subunit (LSU) ของ rDNA gene เพื่อเป็นการจัดจำแนกยีสต์ที่คัดแยกได้ (Baron, 1996)

## เอกสารอ้างอิง

- Ageitos, J.J. Vallejo, J.A. Veiga, C.P. Villa, T.G. 2011. "Oily yeasts as oleaginous cell factories." *Applied Microbiology and Biotechnology*. 90 : 1219–1227.
- Ainsworth, G.C. 1973. **The Fungi**. 4 : 1–7. New York and London. Academic press.
- Amaretti, A. Raimondi, S. Sala, M. Roncaglia, L. De Lucia, M. Leonardi, A. 2010. "Single cell oils of the cold-adapted oleaginous yeast *Rhodotorula glacialis* DBVPG 4785." *Microbial Cell Factories*. 9 : 73–78.
- Angerbauer, C. Siebenhofer, M. Mittelbach, M. Guebitz, G.M. 2008. "Conversion of sewage sludge into lipids by *Lipomyces starkeyi* for biodiesel production." *Bioresource Technology*. 99 : 3051–3056.
- Atabani, A. Silitonga, A. Badruddin, I. Mahlia, T. Masjuki, H. Mekhilef, S. 2012. "A comprehensive review on biodiesel as an alternative energy resource and its characteristics." *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 16 : 2070–2093.
- Babij, T. Moss, F.J. Ralph, B.J. 1969. "Effects of oxygen and glucose levels on lipid composition of yeast *Candida utilis* grown in continuous culture." *Biotechnology and Bioengineering*. 11 : 593–603.
- Bai, F.Y. Takashima, M. Zhao, J.H. Jia, J.H. Nakase, T. 2003. "*Bullera anomala* sp. nov. and *Bullera pseudovariabilis* sp. nov., two new ballistoconidium-forming yeast species from Yunnan, China." *Antonie van Leeuwenhoek*. 83 : 257–263.
- Banno, I. 1967. "Studies on the sexuality of *Rhodotorula*." *The Journal of General and Applied Microbiology*. 13 : 167–196.
- Barker, B.T.P. 1901. "A conjugating "yeast". " *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B*. 194 : 467–485.
- Baron, S. 1996. **Medical Microbiology**. 4th edition. Galveston. Texas.
- Barnett, J.A. Payne, R.W. Yarrow, D. 1979. **A guide to identifying and classifying yeasts**. Cambridge University Press. Cambridge.
- Becze, G.I. 1955. "Yeasts: I. Morphology." A Microbiological Process Report. 4 : 1–12.
- Beopoulos, A. Mrozova, Z. 2008. "Control of lipid accumulation in the yeast *Yarrowia lipolytica*." *Applied and Environmental Microbiology*. 74 : 7779–7789.

- Beopoulos, A. Cescut, J. Haddouche, R. Uribelarrea, J.L. Molina-Jouve, C. Nicaud, J.M. 2009. "Yarrowia lipolytica as a model for bio-oil production." *Progress in Lipid Research*. 48 : 375–387.
- Beopoulos, A. Nicaud, J.M. Gaillardin, C. 2011. "An overview of lipid metabolism in yeasts and its impact on biotechnological process." *Applied Microbiology and Biotechnology*. 90 : 1193–1206.
- Berkhout, C.M. 1923. "De Schimmelgeschlachten *Monilia*, *Oidium*, *Oospora* en *Torula*." Thesis of University of Utrecht, The Netherlands. 95 : 1–95.
- Bligh, E. Dyer, W.J. 1959. "A rapid method of total lipid extraction and purification." *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*. 37 : 911–917.
- Boidin, J. Adzet, J.M. 1957. "Deux curieuses levures isolées d'extraits tannants d'origine végétale: *Pachysolen* (nov. gen.) *tannophilus* nov. sp. et *P. pelliculatus* nov. sp." *Bulletin de la Société Mycologique de France*. 73 : 332–342.
- Boidin, J. 2000. *Priceomyces medius*. [Online]. Available :  
[http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm\\_keyword?AN=Priceomyces&BN=medius&CN=&DN=](http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm_keyword?AN=Priceomyces&BN=medius&CN=&DN=)สืบค้นเมื่อ 2 กรกฎาคม 2561.
- Bonneau. 2008. *Saccharomyces cerevisiae*. [Online]. Available :  
<http://forum.mikroskopia.com/topic/7390-saccharomyces-cerevisiae/>  
 สืบค้นเมื่อ 26 มิถุนายน 2561.
- Botham, P.P. Ratledge, C. 1979. "A biochemical explanation for lipid accumulation in *Candida* 107 and other oleaginous micro-organisms." *Journal of General Microbiology*. 114 : 361–375.
- Boulton, C.A. Ratledge, C. 1981. "Correlation of lipid accumulation in yeasts with possession of ATP: Citrate lyase." *Journal of General Microbiology*. 127 : 169–176.
- Brar, K.K. Sarma, A.K. Aslam, M. Polikarpov, I. Chadha, B.S. 2017. "Potential of oleaginous yeast *Trichosporon* sp., for conversion of sugarcane bagasse hydrolysate into biodiesel." *Bioresource Technology*. 242 : 161–168.
- Brown, D.E. Hasan, M. Casillas, M.L. Thornton, A.J. 1990. "Effect of temperature and pH on lipid accumulation by *Trichoderma reesei*." *Applied Microbiology and*

- Biotechnology*. 34 : 335–339.
- Butinar, L. Santos, S. Spencer-Martins, I. Oren, A. Gunde-Cimarman, N. 2005. “Yeast diversity in hypersaline habitats.” *The Federation of European Microbiological Societies Microbiology Letters*. 244 : 229–234.
- Chao, A. Colwell, R.K. Lin, C.W. Nicholas, J.G. 2009. “Sufficient sampling for asymptotic minimum-species richness estimators.” *The Ecological Society of America*. 90(4) : 1125–1133.
- Chen, R. Wei, S.C. Jiang, Y.M. Wang, Q.M. Bai, F.Y. 2010. “*Kazachstania taianensis* sp. nov., a novel ascomycetous yeast species from orchard soil.” *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 60 : 1473–1476.
- Chen, W. Zhang, C. Song, L. Sommerfeld, M. Hu, Q. 2009. “A high throughput Nile red method for quantitative measurement of neutral lipids in microalgae.” *Journal of Microbiological Methods*. 77 : 41–47.
- Chisti, Y. 2007. “Biodiesel from microalgal.” *Biotechnology Advances*. 25 : 294–306.
- Cochet, G. 1985. *Filobasidium*. [Online]. Available : [http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm\\_keyword?AN=Filobasidium&BN=uniguttulatum&CN=&DN](http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm_keyword?AN=Filobasidium&BN=uniguttulatum&CN=&DN)  
สืบค้นเมื่อ 3 กรกฎาคม 2561.
- Cocolin, L. Mills, D.A. 2003. “Wine yeast inhibition by sulfur dioxide: a comparison of culture-dependent and independent methods.” *American Society for Enology and Viticulture*. 54 : 125–130.
- Coelho, M.A.Z. Amaral, P.F.F. Belo, I. 2010. “*Yarrowia lipolytica*: an industrial workhorse.” *Technology and Education in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology*. 81 : 930–944.
- Coluccio, A.E. Rodriguez, R.K. Kernan, M.J. Neiman, A.M. 2008. “The yeast spore wall enables spores to survive passage through the digestive tract of *Drosophila*” *Plos One*. 3(8) : 2873–2880.
- Corach, J. Colman, M. Sorichetti, P.A. Romano, S.D. 2017. “Kinematic viscosity of soybean biodiesel and diesel fossil fuel blends: Estimation from permittivity and temperature.” *Fuel*. 207 : 488–492.
- Damm, H. 1943. “A new biochemical fat synthesis.” *Chemiker-Zeitung*. 67 : 47–49.

- Deacon, J. 2017. **The Microbial World: Yeasts and yeast-like fungi.** [Online]. Available : <http://archive.bio.ed.ac.uk/jdeacon/microbes/yeast.htm>  
สืบค้นเมื่อ 3 กรกฎาคม 2561.
- Demirbas, A. 2009. "Progress and recent trends in biodiesel fuels." *Energy Conversion and Management.* 50 : 14–34.
- Derx, H.G. 1930. "Étude sur les Sporobolomycètes." *Annates Mycologici.* 28 : 1–23.
- di Menna, M.E. 1966. "Yeasts in Antarctic soils." *Antonie van Leeuwenhoek.* 32 : 29–38.
- Downes, F.P. Ito, K. 2001. **Compendium of methods for the Microbiological examination of Foods.** 4th Ed. APHA Inc. Washington DC.
- Elle, I.C. Olsen, L.C.B. Pultz, D. Rødkær, S.V. Færgeman, N.J. 2010. "Something worth dyeing for: molecular tools for the dissection of lipid metabolism in *Caenorhabditis elegans*." *FEBS Letters.* 584 : 2183–2193.
- Elsey, D. Jameson, D. Raleigh, B. Cooney, M.J. 2007. "Fluorescent measurement of microalgal neutral lipids." *Journal of Microbiological Methods.* 68 : 639–642.
- Enebo, L. Elander, M. Berg, F. Lundin, H. Nilsson, R. Myrbäck, K. 1944. "Mikrobielle Fettsynthese durch Lufthefezüchtung von *Rhodotorula*arten." *Journal of Microbiological Methods.* 6 : 1-7.
- Enebo, L. Anderson, L. Lundin, H. 1946. "Microbiological fat synthesis by means of *Rhodotorula* yeast." *Archives of Biochemistry.* 11 : 383–395.
- Evans, C.T. Ratledge, C. 1983. "A comparison of the oleaginous yeast, *Candida curvata*, grown on different carbon sources in continuous and batch culture." *Lipids.* 18 : 623–629.
- Fell, J.W. 1966. "*Sterigmatomyces*, a new fungal genus from marine areas." *Antonie van Leeuwenhoek.* 32 : 99–104.
- Fell, J.W. 1994. ***Blastobotrys*.** [Online]. Available : [http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm\\_keyword?AN=Blastobotrys&BN=parvus&CN=&DN](http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm_keyword?AN=Blastobotrys&BN=parvus&CN=&DN)  
สืบค้นเมื่อ 29 มิถุนายน 2561.
- Fell, J.W. Statzell-Tallman, A. 1984. **The yeast, a taxonomic study.** 3<sup>rd</sup> Edition. 532-540. Elsevier. Amsterdam.

- Fell, J.W. Statzell-Tallman, A. Hunter, I.L. Phaff, H.J. 1969. "Leucosporidium gen. nov. The heterobasidiomycetous stage of several yeasts of the genus *Candida*." *Antonie van Leeuwenhoek*. 35 : 433–462.
- Feofilova, E.P. Sergeeva, Y.E. Ivashechkin, A.A. 2010. "Biodiesel fuel: content, production, producers, contemporary biotechnology (Review)." *Applied Biochemistry and Microbiology*. 46(4) : 369–378.
- Fink, H. Brackmann, C. Enejder, A. 2012. "Imaging lipid metabolism in *Aenornabditis elegans* and other model organisms." *Coherent Raman Scattering Microscopy*. 1 : 405–410.
- Folch, J. Lees, M. Sloane Stanley, G.H. 1957. "A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues." *The Journal of Biological Chemistry*. 226(1) : 497–509.
- Fungsin, B. Takashima, M. Artjariyasripong, S. Arunpaiojana, V. Hamamoto, M. Nakase, T. 2002. "*Bullera arundinariae* sp. nov., a new yeast species of ballistoconidium-forming yeast isolated from a plant in Thailand." *Microbiological Culture Collection*. 18 : 83–90.
- Gajalakshmi, S. 2002. **Bioresouces Technology**. 82(2) : 177-181. Elsevier. Amsterdam.
- Garay, L.A. Sitepu, I.R. Cajka, T. Chandra, I. Shi, S. Lin, T. German, J.B. Fiehn, O. Boundy-Mills, K.L. 2016 "Eighteen new oleaginous yeast species" *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 43(7) : 887–900.
- Gientka, I. Kieliszek, M. Jermacz, K. Blahejak, S. 2017. "Identification and characterization of oleaginous yeast isolated from kefir and its ability to accumulate intracellular fats in deproteinated potato wastewater with different carbon sources" *BioMed Research International*. 2017 : 1–19.
- Gill, C.O. Hall, M.J. Ratledge, C. 1977. "Lipid accumulation in an oleaginous yeast (*Candida* 107) growing on glucose in single stage continuous culture." *Applied and Environmental Microbiology*. 33 : 231–239.
- Goldberg, I. 1985. "Organisms and substrates. single cell protein." *Springer*. 11–66.

- Golubev, W.I. 1973. "*Nadsonia commutata* nov. sp." *Mikrobiologia*. 42 : 1058–1061.
- Golubev, W.I. 2000. *Yamadazyma insecticola*. [Online]. Available : [http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm\\_keyword?AN=Babjeviella&BN=inositovora&CN=&DN](http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm_keyword?AN=Babjeviella&BN=inositovora&CN=&DN) สืบค้นเมื่อ 2 กรกฎาคม 2561.
- Gorin, P.A.J. 1973. "Rationalization of carbon-13 magnetic resonance spectra of yeast mannans and structurally related oligosaccharides." *Canadian Journal of Chemistry*. 51 : 2105–2109.
- Goto, S. 1989. *Saccharomycopsis*. [Online]. Available : [http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm\\_keyword?AN=Saccharomycopsis&BN=fibuligera&CN=&DN](http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm_keyword?AN=Saccharomycopsis&BN=fibuligera&CN=&DN) สืบค้นเมื่อ 29 มิถุนายน 2561.
- Granger, L.M. Perlot, P. Goma, G. Pareilleux, A. 1993. "Effect of various nutrient limitations on fatty acid production by *Rhodotorula glutinis*." *Applied Microbiology and Biotechnology*. 38 : 784–789.
- Greenspan, P. Mayer, E.P. Fowler, S.D. 1985. "Nile red: a selective fluorescent stain for intracellular lipid droplets." *The Journal of Cell Biology*. 100 : 965–973.
- Gu, P.J. Shick, R.J. 1986. "Kinetic and energetic analyses of lipid accumulation in batch culture of *Rhodotorula glutinis*." *Journal of Fermentation Technology*. 64 : 557–560.
- Hagler, A.N. Mendonça-Hagler, L.C. 1979. "*Candida lipolytica* isolated from Guanabara bay and its ability to grow in marine and estuarine conditions." *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 12 : 273–277.
- Hamamoto, M. Nakase, T. 1995. "Ballistosporous yeasts found on the surface of plant materials collected in New Zealand. 1. Six new species in the genus *Sporobolomyces*." *Antonie van Leeuwenhoek*. 67 : 151–171.
- Hansen, E.C. 1904. "Grundlinien zur Systematik der Saccharomyceten." *Zentralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde Abteilung*. 12 : 529–538.
- Harrington. 2016. *Saccharomycopsis*. [Online]. Available : <https://catalogue.ncyc.co.uk/saccharomycopsis-sp-nov-4100> สืบค้นเมื่อ 29 มิถุนายน 2561.

- Harrison, F.C. 1928. "A systematic study of some torulae." *Transactions of the Royal Society of Canada. Section V.* 22 : 187–225.
- Haskell, B.E. Snell, E.E. 1965. "Effect of vitamin B6 deficiency on the composition of yeast lipids" *Archives of Biochemistry and Biophysics.* 112 : 494–505.
- Henderson, C.M. Lozada, C.M. Naravane, Y. Longo, M.L. Block, D.E. 2011. "Analysis of major phospholipid species and ergosterol in fermenting industrial yeast strains using atmospheric pressure ionization ion-trap mass spectrometry." *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 59 : 12761–12770.
- Henderson, C.M. Lozada, C.M. Jiranek, V. Longo, M.L. Block, D.E. 2012. "Ethanol production and maximum cell growth are highly correlated with membrane lipid composition during fermentation as determined by lipidomic analysis of 22 *Saccharomyces cerevisiae* strains." *Applied and Environmental Microbiology.* 79 : 91–104.
- Hennen, J.F. 1986. "Teliospores of the sugar cane rust *Puccinia kuehnii* Butler on *Saccharum officinarum* L. in Taiwan." *Acta Ecologica Sinica.* 1 : 149–152.
- Hesse, A. 1949. "Industrial biosyntheses: Part I. Fats." *Advances in Enzymology and Related Areas of Molecular Biology.* 9 : 653–704.
- Holzschu, D.L. Presley, H.L. Miranda, M. Phaff, H.J. 1979. "Identification of *Candida lusitanae* as an opportunistic yeast in humans." *Journal of Clinical Microbiology.* 10(2) : 202–205.
- Huang, C. Chen, X.F. Xiong, L. Chen, X. Ma, L. Chen, Y. 2013. "Single cell oil production from low-cost substrates: The possibility and potential of its industrialization." *Biotechnology Advances.* 31 : 129–139.
- Jha, S.N. 2013. "IAS mains general studies." Bokaro Steel, India. 1 : 1–17.
- Jindamorakot, S. Ninomiya, S. Limtong, S. Yongmanitchai, W. Tuntirungkij, M. Potacharoen, W. Tanaka, K. Kawasaki, H. Nakase, T. 2009. "Three new species of bipolar budding yeasts of the genus *Hanseniaspora* and its anamorph *Kloeckera* isolated in Thailand." *Federation of European Microbiological Societies Published.* 9 : 1564–1567.

- Jindamorakot, S. Am-In, S. Kaewwichian, R. Limtong, S. 2015. "Yamadazyma insecticola f.a., sp. nov. and Yamadazyma epiphylla f.a., sp. nov., two novel yeast species." *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 65 : 1290–1296.
- Jiru, T.M. Abate, D. Kiggundu, N. Pohl, C. Groenewald, M. 2016. "Oleaginous yeasts from Ethiopia." *AMB Express*. 6 : 78–88.
- Karimi, M. Hassanshahian, M. 2016. "Isolation and characterization of phenol degrading yeasts from wastewater in the coking plant of Zarand, Kerman." *Brazilian Journal of Microbiology*. 47 : 18–24.
- Katagiri, S. GotohKazuya, M. Akahane, T. Ito, Y. Ohyashiki, K. Makimura, K. 2016. "Fatal *Cyberlindnera fabianii* fungemia in a patient with mixed phenotype acute leukemia after umbilical cord blood transplantation." *International Journal of Hematology*. 103(5) : 592–595.
- Kitchaa, S. Cheirsilpb, B. 2011. "Screening of oleaginous yeasts and optimization for lipid production using crude glycerol as a carbon source." *Energy Procedia*. 9 : 274–282.
- Kimura, K. Yamaoka, M. Kamisaka, Y. 2004. "Rapid estimation of lipids in oleaginous fungi and yeasts using Nile red fluorescence." *Journal of Microbiological Methods*. 56 : 331–338.
- Klöcker, A. 1909. "Deux nouveaux genes de la famille des *Saccharomyces*." *Comptes Rendus des Travaux du Laboratoire Carlsberg*. 7 : 273–289.
- Kluyver, A.J. van Niel, C.B. 1924. "Über Spiegelbilder erzeugende Hefenarten und die neue Hefengattung *Sporobolomyces*." *Centralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten, Zweite Abteilung*. 63 : 1–20.
- Knothe, G. Dunn, R.O. Bagby, M.O. 1997. "Biodiesel: The use of vegetable oils and their derivatives as alternative diesel fuels." *American Chemical Society Symposium Series*. 666(10) : 172–208.
- Knothe, G. 2005. "Dependence of biodiesel fuel properties on the structure of fatty acid alkyl esters." *Fuel Processing Technology*. 86 : 1059–1070.

- Knothe, G. 2008. "Designer" biodiesel: optimizing fatty ester composition to improve fuel properties." *Energy and Fuels*. 22 : 1358–1364.
- Kocková, A. 1982. *Cryptococcus*. [Online]. Available :  
[http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm\\_keyword?AN=Asterotremella&BN=humicola&CN=&DN](http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm_keyword?AN=Asterotremella&BN=humicola&CN=&DN) สืบค้นเมื่อ 3 กรกฎาคม 2561.
- Kodama, 1995. *Kluyveromyces lactis*. [Online]. Available :  
[http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm\\_keyword?AN=Kluyveromyces&BN=lactis&CN=&DN](http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm_keyword?AN=Kluyveromyces&BN=lactis&CN=&DN) สืบค้นเมื่อ 3 กรกฎาคม 2561.
- Kolfschoten, G.A. Yarrow, D. 1970. "*Brettanomyces naardenensis*, a new yeast from soft drinks." *Antonie van Leeuwenhoek*. 36 : 458–460.
- Kraepelin, G. Schulze, U. 1982. "*Sterigmatosporidium* gen. nov., a new heterothallic basidiomycetous yeast, the perfect state of a new species of *Sterigmatomyces* Fell." *Antonie van Leeuwenhoek*. 48 : 471–483.
- Kraisintu, P. Yongmanitchai, W. Limtong, S. 2010. "Selection and optimization for lipid production of a newly isolated oleaginous yeast, *Rhodospiridium toruloides* DMKU3-TK16." *Kasetsart Journal: Natural Science*. 44 : 436–445.
- Král, 1992. *Schizosaccharomyces*. [Online]. Available :  
[http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm\\_keyword?AN=Schizosaccharomyces&BN=pombe&CN=&DN](http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm_keyword?AN=Schizosaccharomyces&BN=pombe&CN=&DN) สืบค้นเมื่อ 1 กรกฎาคม 2561.
- Kreger, D.R. 1954. *Biochimica et Biophysica Acta*. 13 : 1–602. London.
- Kreger-van Rij, N.J.W. 1973. *The Fungi*. 4 : 11–32. Academic press. New York and London.
- Kreger-van Rij, N.J.W. 1977. "Electron microscopy of sporulation in *Schwanniomyces alluvius*." *Antonie van Leeuwenhoek*. 43 : 55–64.
- Kreger-van Rij, N.J.W. 1978. "Ultrastructure of the ascospores of the new yeast genus *Sporopachydermia* Rodrigues de Miranda." *Antonie van Leeuwenhoek*. 44 : 451–456.
- Kreger-van Rij, N.J.W. Veenhuis, M. 1969. "Septal pores in *Endomycopsis platypodis* and *Endomycopsis monospora*." *Journal of General Microbiology*. 57 : 91–96.
- Kreger van Rij, N.J.W. Veenhuis, M. 1975. "Electron microscopy of ascus formation in

- the yeast *debaryomyces hansenii*." *Journal of general microbiology*.  
2 : 256–264.
- Kreger-van Rij, N.J.W. Veenhuis, M. 1976. "Conjugation in the yeast *Guilliermondella selenospora* Nadson et Krassilnikov." *Canadian Journal of Microbiology*.  
22 : 960–966
- Kronmiller, S. 2010. **Basidiospore**. [Online]. Available :  
<http://www.apsnet.org/edcenter/illglossary/Article%20Images/Forms/DispForm.aspx?ID=385>. สืบค้นเมื่อ 9 มิถุนายน 2561.
- Kudriavzev, V.I. 1960. **Die Systematik der Hefen**. Akademie Verlag, Berlin.
- Kufferath, H. van Laer, M.H. 1921. "Études sur les levures de lambic. Leur action chimique sur les milieux de culture." *Bulletin de la Societe Chimique de Belgique*. 30 : 270–276.
- Kumar, S.V. Kumutha, K. Krishnan, P.S. Gopal, H. 2010. "Influence of nitrogen on lipid and biomass production by oleaginous yeast culture." *Asian Journal of Biological Sciences*. 5 : 87–91.
- Kurtzman, C.P. 1984. "Resolution of varietal relationships within the species *Hansenula anomala*, *Hansenula bimundalis* and *Pichia nakazawae* through comparisons of DNA relatedness." *Mycotaxon*. 19 : 271–279.
- Kurtzman, C.P. 1985. **Hansenula**. [Online]. Available : [http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm\\_keyword?AN=Wickerhamomyces&BN=canadensis&CN=&DN](http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm_keyword?AN=Wickerhamomyces&BN=canadensis&CN=&DN)  
สืบค้นเมื่อ 1 กรกฎาคม 2561.
- Kurtzman, C.P. 1985. **Kazachstania**. [Online]. Available : [http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm\\_keyword?AN=Kazachstania&BN=unispora](http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm_keyword?AN=Kazachstania&BN=unispora)  
&CN=&DN สืบค้นเมื่อ 3 กรกฎาคม 2561.
- Kurtzman, C.P. 2007. "*Blastobotrys americana* sp. nov., *Blastobotrys illinoisensis* sp. nov., *Blastobotrys malaysiensis* sp. nov., *Blastobotrys muscicola* sp. nov., *Blastobotrys peoriensis* sp. nov. and *Blastobotrys raffinosisfermentans* sp. nov., novel anamorphic yeast species" *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 57 : 1154–1162.

- Kurtzman, C.P. Fell, J.W. 1998. *The Yeasts - A Taxonomic Study*. 4<sup>th</sup> Edition. United States of America.
- Kurtzman, C.P. Fell, J.W. Boekhout, T. 2011. *The Yeasts - A Taxonomic Study*. 1–3. 5<sup>th</sup> Edition. Elsevier Biomedical Press. United States of America.
- Kurtzman, C.P. and Robnett, C.J. 2013. “Description of *Ambrosiozyma oregonensis* sp. nov., and reassignment of *Candida* species of the *Ambrosiozyma* clade to *Ambrosiozyma kashinagacola* f.a., comb. nov., *Ambrosiozyma llanquihuensis* f.a., comb. nov., *Ambrosiozyma maleeae* f.a., comb. nov., *Ambrosiozyma pseudovanderkliftii* f.a., comb. nov., and *Ambrosiozyma vanderkliftii* f.a., comb. nov.” *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 63 : 3877–3883.
- Kurtzman, C.P. Roger, R. Hesseltine, C.W. 1971. “Microbiological spoilage of mayonnaise and salad dressings.” *Applied Microbiology*. 21(5) : 870–874.
- Kurtzman, C.P. Smiley, M.J. Johnson, C.J. 1980. “Emendation of the genus *Issalchenkia* Kudriavzev and comparison of species by deoxyribonucleic acid reassociation, mating reaction, and ascospore ultrastructure.” *International Journal of Systematic Bacteriology*. 30 : 503–513.
- Kurtzman, C.P. Suzuki, M. 2010. “Phylogenetic analysis of ascomycete yeasts that form coenzyme Q-9 and the proposal of the new genera *Babjeviella*, *Meyerozyma*, *Millerozyma*, *Priceomyces* and *Scheffersomyces*.” *Mycoscience*. 51(1) : 2–14.
- Kwon-Chung, K.J. 1975. “A new genus, *Filobasidiella*, the perfect state of *Cryptococcus neoformans*.” *Mycologia*. 67 : 1197–1200.
- Lachance, M.A. Starmer, W.T. Rosa, C.A. Bowles, J.M. Barker, J.S.F. Janzen, D.H. 2001. “Biogeography of the yeasts of ephemeral flowers and their insects.” *The Federation of European Microbiological Societies Yeast Research*. 1 : 1–8.
- Leeuwenhoek, A.V. 1997. “Prediction of lipid accumulation-degradation in oleaginous micro-organisms growing on vegetable oils.” Athens, Greece. 72 : 159–165.
- Limtong, S. Srisuk, N. Yongmanitchai, W. Yurimoto, H. Nakase, T. 2008. “*Ogataea chonburiensis* sp. nov. and *Ogataea nakhonphanomensis* sp. nov., thermotolerant, methylotrophic yeast species isolated in Thailand, and transfer

- of *Pichia siamensis* and *Pichia thermomethanolica* to the genus *Ogataea*.” *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 58 : 302–307.
- Lindner, P. 1904. “Neue Erfahrungen aus dem letzten Jahre in Bezug der Hefen und Gärung.” *Angewandte Chemie International Edition*. 7 : 441–464.
- Lindner, P. 1922. “Das problem der biologischen fettbildung und fettgewinnung.” *Angewandte Chemie International Edition*. 35 : 110–114.
- Li, Q. Du, W. Dehua, L. 2008. “Perspectives of microbial oils for biodiesel production.” *Applied Microbiology and Biotechnology*. 80 : 749–756.
- Lodder, J. 1934. *Verhandelingen der Koninklijke Akademie van Wetenschappen, Afdeling Natuurkunde*. Amsterdam. 32 : 1–256.
- Lodder, J. Kreger-van Rij, N.J.W. 1952. **The yeasts, A taxonomic study**. North-Holland. Amsterdam.
- Lu, H.Z. Jia, J.H. Wang, Q.M. Bai, F.Y. 2004. “*Candida asparagi* sp. nov., *Candida diospyri* sp. nov. and *Candida qinlingensis* sp. nov., novel anamorphic, ascomycetous yeast species.” *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 54 : 1409–1414.
- Lundin, H. 1950. “Fat synthesis by micro-organisms and its possible applications in industry.” *Journal of the Institute of Brewing*. 56 : 17–28.
- Marova, I. Certik, M. Breierova, E. 2011. **Production of enriched biomass by carotenogenic yeasts - application of whole-cell yeast biomass to production of pigments and other lipid compounds**. [Online]. Available : <https://www.intechopen.com/books/biomass-detection-production-and-usage/production-of-enriched-biomass-by-carotenogenic-yeasts-application-of-whole-cell-yeast-biomass-to-pr> สืบค้นเมื่อ 26 มิถุนายน 2561.
- Martinez, A. Cavello, I. Garmendia, G. Rufo, C. Cavalitto, S. Vero, S. 2016. “Yeasts from sub-Antarctic region: biodiversity, enzymatic activities and their potential as oleaginous microorganisms.” *Extremophiles*. 20 : 759–769.
- Melo, R. D'Avila, H. Bozza, P. Weller, P. 2011. “Imaging lipid bodies within leucocytes with different light microscopy techniques.” *Methods in Molecular Biology*.

689 : 149–161.

- Meng, X. Yang, J. Xu, X. Zhang, L. Nie, Q. Xian, M. 2009. “Biodiesel production from oleaginous microorganisms.” *Renewable Energy*. 34 : 1–5.
- Meyen ex Reess, E.C. 1870. **The yeasts, a taxonomic study.** 733-746. Elsevier Biomedical Press. Amsterdam.
- Meyer, S.A. Smith, M.T. Simione, Jr.F.P. 1978. “Systematics of *Hanseniaspora* Zikes and *Kloeckera* Janke.” *Antonie van Leeuwenhoek*. 44(1) : 79–96.
- Miller, M.W. Phaff, H.J. 1984. **The yeasts, a taxonomic study.** 279–284. Elsevier Biomedical Press. Amsterdam.
- Miller, M.W. Yoneyama, M. Soneda, M. 1976. “*Phaffia*, a new yeast genus of Deuteromycotina (Blastomycetes).” *International Journal of Systematic Bacteriology*. 26 : 286–291.
- Mondello, L. Casilli, A. Tranchida, P.Q. Costa, R. Chiofalo, B. Dugo, P. 2004. “Evaluation of fast gas chromatography and gas chromatography–mass spectrometry in the analysis of lipids.” *Journal of Chromatography A*. 1035 : 237–247.
- Moreau, R. 2006. “The analysis of lipids via HPLC with a charged aerosol detector.” *Lipids*. 41 : 727–734.
- Nakase, T. 1982. *Trichosporon*. [Online]. Available : [http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm\\_keyword?AN=Trichosporon&BN=sp.&CN=&DN](http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm_keyword?AN=Trichosporon&BN=sp.&CN=&DN)  
สืบค้นเมื่อ 3 กรกฎาคม 2561.
- Nakase, T. 2007. *Metschnikowia pulcherrima*. [Online]. Available : [www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm\\_keyword?AN=Metschnikowia&BN=pulcherrima&CN=&DN](http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm_keyword?AN=Metschnikowia&BN=pulcherrima&CN=&DN) สืบค้นเมื่อ 2 กรกฎาคม 2561.
- Nakase, T. Tsuzuki, S. Lee, F.L. Jindamorakot, S. Jan-ngam, H. Am-in, S. Potacharoen, W. Tanticharoen, M. Takashima, M. 2005. “*Sporobolomyces diospyroris* sp. nov., *Sporobolomyces lophatheri* sp. nov. and *Sporobolomyces pyrosiae* sp. nov., three new species of ballistoconidium-forming yeasts in the *Agaricostilbum* lineage isolated from plants in Taiwan.” *The Journal of General and Applied Microbiology*. 51 : 277–286.

- Nageli, C. Loew, O. 1878. "Ueber die chemische Zysammensetzung der Hefe." *Justus Liebigs Annalen der Chemis.* 193 : 322–348.
- Nantel, A. 2017. Photomicrograph of the yeast form of the fungal pathogen *Candida albicans*. Taken with a phase-contrast microscope and normarski optics. [Online]. Available : <https://www.dreamstime.com/stock-photos-stock-photo-candida-albicans-image894353> สืบค้นเมื่อ 3 กรกฎาคม 2561.
- Nia, D. 2016. *Trigonopsis*. [Online]. Available : <https://www.studyblue.com/notes/note/n/organisms/deck/12666423> สืบค้นเมื่อ 3 กรกฎาคม 2561.
- Nieuwdorp, P.J. Bos, P. Slooff, W.Ch. 1974. "Classification of *Lipomyces*." *Antonie van Leeuwenhoek.* 40(2) : 241–254.
- Nilsson, R. Enebo, L. Lundin, H. Myrback, K. 1943. "Mikrobielle fettsynthese unter Verwendung von *Rhodotorula glutinis* nach dem Lufthefeverfahren (Microbial synthesis of fat with *Rhodotorula glutinis*)." *Svensk Kemisk Tidskrift.* 55 : 41–51.
- Nyland, G. 1949. "Studies on some unusual Heterobasidiomycetes from Washington State." *Mycologia.* 41 : 686–701.
- Olive, L.S. 1968. "An unusual Heterobasidiomycete with *Tilletia*-like basidia." *Journal of the Elisha Mitchell Scientific Society.* 84 : 261–266.
- Papanikolaou, S. Aggelis, G. 2011. "Lipids of oleaginous yeasts. Part I: biochemistry of single cell oil production." *European Journal of Lipid Science and Technology.* 113 : 1031–1051.
- Pan, L.X. Yang, D.F. Shao, L. Li, W. Chen, G.G. Liang, Z.Q. 2009. "Isolation of the oleaginous yeasts from the soil and studies of their lipid-producing capacities." *Food Technology and Biotechnology.* 47(2) : 215–220.
- Patel, A. Arora, N. Mehtani, J. Pruthi, V. Pruthi, A.P. 2017. "Assessment of fuel properties on the basis of fatty acid profiles of oleaginous yeast for potential biodiesel production." *Renewable and Sustainable Energy Reviews.* 77 : 604–616.

- Pereyra, V. Martinez, A. Rufo, C. Vero, S. 2014. "Oleaginous yeasts from Uruguay and Antarctica as renewable raw material for biodiesel production." *American Journal of BioScience*. 2 : 251–257.
- Phaff, H.J. 1970. **The yeasts, a taxonomic study**. 209–225. North-Holland Publishing Company, Amsterdam.
- Phaff, H.J. 1984. **The yeasts, a taxonomic study**. 125–129. Elsevier Biomedical Press. Amsterdam.
- Phaff, H.J. Kurtzman, C.P. 1984. **The yeasts, a taxonomic study**. 252–262. Elsevier Biomedical Press. Amsterdam.
- Phaff, H.J. Miller, M.W. Miranda, M. 1976. "*Pichia scutulata*, a new species from tree exudates." *International journal of systematic bacteriology*. 26 : 326–331.
- Piskur, M. 1939. "Review of literature on fats, oils and soaps for 1938." *Oil and Soap*. 16 : 73–83.
- Quesada, M. and Cenis, J. 1995. "Use of random amplified polymorphic dna in the characterization of wine yeasts." *The American Journal of Enology and Viticulture*. 46(2) : 204–208.
- Radulovic, M. Knittelfelder, O. Cristobal-Sarramian, A. Kolb, D. Wolinski, H. Kohlwein, S.D. 2013. "The emergence of lipid droplets in yeast: current status and experimental approaches." *Current Genetics*. 59 : 231–242.
- Raju, N.B. 1992. "Genetic control of the sexual cycle in *Neurospora*." *Mycological Research*. 96 : 241–262.
- Ratledge, C. 1979. "Resources conservation by novel biological processes I. Grow fats from wastes." *Chemical Society Reviews*. 8 : 283–296.
- Ratledge, C. Wynn, JP. 2002. "The biochemistry and molecular biology of lipid accumulation in oleaginous microorganisms." *Advances in Applied Microbiology*. 51 : 1–51.
- Rattapoltee, P. Kaewkannetra, P. 2013. "Nile red, an alternative fluorescence method for quantification of neutral lipids in microalgae." *International Scholarly and Scientific Research and Innovation*. 7(9) : 889–893.

- Rattrat, J.B. Schibeci, A. Kidby, D.K. 1975. "Lipids of Yeasts." *American Society for Microbiol.* 39 : 197–231.
- Reichel, L. 1940. "Biologische fettsynthese." *Angewandte Chemie.* 53 : 577–579.
- Reiersöl, 2002. *Rhodospordium*. [Online]. Available :  
[http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm\\_keyword?AN=Rhodotorula&BN=glutinis&CN=&DN](http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm_keyword?AN=Rhodotorula&BN=glutinis&CN=&DN) สืบค้นเมื่อ 26 มิถุนายน 2561.
- Relich, R.F. Schmitt, B.H. Koehlinger, J. Wiederhold, N.P. May, M. 2016.  
 "Schwanniomycetes etchellsii: an unusual cause of fungemia in a patient with cholecystitis." *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease.* 84 : 221–222.
- Richardson, D.H.S. 1970. "Ascus and ascocarp structure in Lichens." *Lichenologist.* 4 : 350–361.
- Rodrigues de Miranda, L. 1972. "*Filobasidium capsuligenum* nov. comb." *Antonie Van Leeuwenhoek.* 38(1) : 91–99.
- Rodrigues de Miranda, L. 1978. "A new genus: *Sporopachydermia*." *Antonie Van Leeuwenhoek.* 44(3-4) : 439–450.
- Rodrigues de Miranda, L. 1979. "*Clavispora*, a new yeast genus of the Saccharomycetales." *Antonie van Leeuwenhoek.* 45 : 479–483.
- Romi, W. Keisam, S. Ahmed, G. Jeyaram, K. 2014. "Reliable differentiation of *Meyerozyma guilliermondii* from *Meyerozyma caribbica* by internal transcribed spacer restriction fingerprinting." *BioMed Central Microbiology.* 14(52) : 1471–2180.
- Rose, A.H. Harrison, J.S. 1987. **The yeasts.** 2<sup>nd</sup> Edition. Great Britain at the Alden Press Oxford. London and Northampton.
- Ruinen, J. 1963. "The phyllosphere. II. Yeast from the phyllosphere of tropical foliage." *Antonie van Leeuwenhoek.* 29 : 425–438.
- Santa María, J. 1957. "Un nuevo género de levaduras: *Citeromyces*." *Boletín del Instituto Nacional de Investigaciones Agronomicas (Madrid).* 37 : 269–276.
- Sathiyagnanam, A.P. Vijayaraj, K. Saravanan, C.G. 2012. "Biodiesel production from waste pork lard and an experimental investigation of its use as an alternate fuel

- in a di diesel engine.” *International Journal of Mechanical Engineering and Robotics Research*. 1(3) : 2149–2278.
- Schiller, J. Arnhold, J. Benard, S. Müller, M. Reichl, S. Arnold, K. 1999. “Lipid analysis by matrix assisted laser desorption and ionization mass spectrometry: a methodological approach.” *Analytical Biochemistry*. 267 : 46–56.
- Schiønning, H. 1903. Nouveaux Genres de la Famille des Saccharomycetes. *Comptes rendus des travaux du laboratoire Carlsberg*. 6 : 101–125.
- Seraphim, P. 2012. “Oleaginous yeasts: biochemical events related with lipid synthesis and potential biotechnological applications.” *Journal of Fermentation Technology*. 1 : 1–3.
- Seymour, F.R. Slodki, M.E. Plattner, R.D. Stodola, R.M. 1976. “Methylation and acetolysis of extracellular D-mannans from yeast.” *Carbohydrate Research*. 48(2) : 225–237.
- Sha, Q. 2013. “A comparative study on four oleaginous yeasts on their lipid accumulating capacity.” *Faculty of Natural Resources and Agricultural Sciences*. 2013 : 1-32.
- Shah, S.H. Rajaa, I.A. Rizwanb, M. Rashidc, N. Mahmooda, Q. Shaha, F.A. Perveza, A. 2018. “Potential of microalgal biodiesel production and its sustainability perspectives in Pakistan.” *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 81 : 76–92.
- Sitepu, I.R. Ignatia, L. Franz, A.K. Wong, D.M. Faulina, S.A. Tsui, M. Kanti, A. Boundy, M. K. 2012. “An improved high-throughput Nile red fluorescence assay for estimating intracellular lipids in a variety of yeast species.” *Journal of Microbiological Methods*. 91 : 321–328.
- Sitepu, I.R. Sestric, R. Ignatia, L. Levin, D. Bruce, J. Gillies, L.A. Almada, L.A.G. Boundy-Mills, K.L. 2013. “Manipulation of culture conditions alters lipid content and fatty acid profiles of a wide variety of known and new oleaginous yeast species.” *Bioresource Technology*. 144 : 360–369.
- Sitepu, I.R. Garay, L.A. Sestric, R. Levin, D. Block, D.E. German, J.B. Kyria, L. Boundy-Mills, K.L. 2014. “Oleaginous yeasts for biodiesel: Current and future trends in biology

- and production.” *Biotechnology Advances*. 32 : 1336–1360.
- Slodki, M.E. Wickerham, L.J. 1966. “Extracellular Polysaccharides and Classification of the Genus *Lipomyces*.” *Journal of General Microbiology*. 42 : 381–385.
- Slooff, W.Ch. 1970. **The yeast a taxonomic study**. 733–755. North-Holland Publishing Company, Amsterdam.
- Smith, J.L. 1907. “On the simultaneous staining of neutral fat and fatty acids by oxazine dyes.” *The Journal of Pathology and Bacteriology*. 12 : 1–4.
- Smith, M.T. 1974. “*Hanseniaspora occidentalis* sp. nov.” *Antonie Van Leeuwenhoek*. 40(3) : 441–444.
- Smith, M.T. van der Walt, J.P. Johannsen, E. 1976. “The genus *Stephanoascus* gen. nov. (Ascoideaceae).” *Antonie Van Leeuwenhoek*. 42(1-2) : 119–127.
- Soneda, M. 1959. “Studies on animal-dung inhabiting yeasts.” *Mycological Journal of Nagao Institute*. 6 : 1–24.
- Soneda, M. 1960. “On a new yeast genus *Wickerhamia*.” *Mycological Journal of Nagao Institute*. 7 : 9–13.
- Spencer, J.F.T. and Spencer, D.M. 1997. “Yeasts in Natural and Artificial Habitats.” *Springer-Verlag Berlin Heidelberg*. 4 : 1–382.
- Stanier, R. 1946. Some aspects of microbiological research in Germany. BIOS Final Report No 691, Item No 24. British Intelligence Objectives Sub-Committee. London.
- Starkey, R.L. “Lipid production by a soil yeast.” *Journal of Bacteriology*. 51 : 33–50.
- Steen, E. Kang, Y. Bokinsky, G. Hu, Z. Schirmer, A. McClure, A. 2010. “Microbial production of fatty-acid-derived fuels and chemicals from plant biomass.” *Nature*. 463 : 559–562.
- Stöckmann, C. Scheidle, M. Dittrich, B. Merckelbach, A. Hehmann, G. Melmer, G. Klee, D. Büchs, J. Kang, H.A. Gellissen, G. 2009 “Process development in *Hansenula polymorpha* and *Arxula adenivorans*, a re-assessment.” *Microbial Cell Factories*. 8 : 22–31.
- Stelling-Dekker, N.M. 1931. **Verhandelingen der Koninklijke Akademie van Wetenschappen**. 28 : 1. Afdeling Natuurkunde. Amsterdam.

- Suh, S.O. Nguyen, N.H. Blackwell, M. 2006. "A yeast clade near *Candida kruisii* uncovered: nine novel *Candida* species associated with basidioma feeding beetles." *Mycological Research*. 110 : 1379–1394.
- Suleeporn, K. Benjamas, C. 2011. "Screening of oleaginous yeasts and optimization for lipid production using crude glycerol as a carbon source." *Energy Procedia*. 9 : 274–282.
- Suzuki, M. Kurtzman, C.P. 1985. *Schwanniomyces*. [Online]. Available : [http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm\\_keyword?AN=Schwanniomyces&BN=pseudopolymorphus&CN=&DN](http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm_keyword?AN=Schwanniomyces&BN=pseudopolymorphus&CN=&DN) สืบค้นเมื่อ 1 กรกฎาคม 2561.
- Sydow, H. 1912. "Guilliermondia, un nouveau genre da la famille Saccharomycètes à copulation hétérogamique." *Annales Mycologici*. 10 : 347-348.
- Tajalli, H. Gilani, A.G. Zakerhamidi, M.S. Tajalli, P. 2007. "The photophysical properties of Nile red and Nile blue in ordered anisotropic media." *Dyes and Pigments*. 78 : 15–24.
- Tanimura, A. Takashima, M. Sugita, T. Endoh, R. Kikukawa, M. Yamaguchi, S. Sakuradani, E. Ogawa, J. Shima, J. 2014. "Selection of oleaginous yeasts with high lipid productivity for practical biodiesel production." *Bioresource Technology*. 153 : 230–235.
- Tanner, F.W. 1982. *Pichia anomala*. [Online]. Available : [http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm\\_keyword?AN=Pichia&BN=anomala&CN=&DN](http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm_keyword?AN=Pichia&BN=anomala&CN=&DN) สืบค้นเมื่อ 2 กรกฎาคม 2561.
- Thakur, M.S. Prapulla, S.G. Karanth, N.G. 1989. "Estimation of intracellular lipids by the measurement of absorbance of yeast cells stained with Sudan black B." *Enzyme and Microbial Technology*. 11 : 252–254.
- Thanh, V.N. Hien, D.D. Thom, T.T. 2013. "*Moniliella byzovii* sp. nov., a chlamydospore-forming black yeast isolated from flowers." *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 63 : 1192–1196.
- Thapa, S. Shrestha, R. Tibrewal, A. Sharma, A. Yuvraj, K.C. 2015. "Isolation of yeast from soil and different food samples and its characterization based on fermentation." *Nepal Journal of Biotechnology*. 3(1) : 29–34.

- Tikka, C. Osuru, H.P. Atluri, N. Chakravarthi, P. Raghavulu, V. Yellapu, N.K. Mannur, I.S. Prasad, U.V. Aluru, S. Varma, N.K. Bhaskar, M. 2013. "Isolation and characterization of ethanol tolerant yeast strains." *Bioinformation*. 9(8) : 421–425.
- Tokuoka, K. 1986 *Candida*. [Online]. Available : [http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm\\_keyword?AN=Candida&BN=apicola&CN=&DN](http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm_keyword?AN=Candida&BN=apicola&CN=&DN)  
สืบค้นเมื่อ 30 มิถุนายน 2561.
- Tokuoka, K. 1986. *Hanseniaspora guilliermondii*. [Online]. Available : [http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm\\_keyword?AN=Hanseniaspora&BN=guilliermondii&CN=&DN](http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm_keyword?AN=Hanseniaspora&BN=guilliermondii&CN=&DN) สืบค้นเมื่อ 2 กรกฎาคม 2561.
- Troncoso, E. Barahona, S. Carrasco, M. Villarreal, P. Alcai, J. Cifuentes, V. Baeza, M. 2017. "Identification and characterization of yeasts isolated from the south shetland islands and the Antarctic peninsula." *Polar Biology*. 40 : 649–658.
- Tsuchiya, T. 1983. *Saccharomyces*. [Online]. Available : [http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm\\_keyword?AN=Kluyveromyces&BN=marxianus&CN=&DN](http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm_keyword?AN=Kluyveromyces&BN=marxianus&CN=&DN)  
สืบค้นเมื่อ 30 มิถุนายน 2561.
- Tsuchiya, T. 1983. *Cyberlindnera*. [Online]. Available : [http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm\\_keyword?AN=Cyberlindnera&BN=jadinii&CN=&DN](http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm_keyword?AN=Cyberlindnera&BN=jadinii&CN=&DN)  
สืบค้นเมื่อ 3 กรกฎาคม 2561.
- Tsuchiya, T. and Naganishi, H. 1983. *Meyerozyma caribbica*. [Online]. Available : [http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm\\_keyword?AN=Meyerozyma&BN=caribbica&CN=&DN](http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm_keyword?AN=Meyerozyma&BN=caribbica&CN=&DN) สืบค้นเมื่อ 2 กรกฎาคม 2561.
- Uma, V. Polasa, H. 1990. "*S.cerevisiae* of palm wine enhanced ethanol production by using mutagens." *The Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 5 : 1–4.
- Valero, E. Millan, C. Ortega, J.M. 2001. "Influence of oxygen addition during growth phase on the biosynthesis of lipids in *Saccharomyces cerevisiae* (M(3)30-9) in enological fermentations." *The Journal of Bioscience and Bioengineering*. 92 : 33–38.
- van der Walt, J.P. 1956. "*Saccharomyces transvaalensis* nov. spec.; a new yeast from soil." *Antonie van Leeuwenhoek*. 22(2) : 190–192.

- van der Walt, J.P. 1957. "Three new sporogenous yeasts from soil." *Antonie van Leeuwenhoek*. 23 : 23–29.
- van der Walt, J.P. 1964. "*Dekkera*, a new yeast genus of the Saccharomycetaceae." *Antonie van Leeuwenhoek*. 30 : 271–280.
- van der Walt, J.P. 1971. "New combinations in the genera *Brettanomyces*, *Kluyveromyces*, *Lodderomyces* and *Wingea*." *Bothalia*. 10 : 417–418.
- van der Walt, J.P. 1972. "The yeast genus *Ambrosiozyma* gen.nov. (Ascomycetes)." *Mycopathologia Et Mycologia Applicata*. 46 : 305–316.
- van der Walt, J.P. 1990. *Debaryomyces*. [Online]. Available :  
[http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm\\_keywordAN=Debaryomyces&BN=udenii&CN=&DN](http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm_keywordAN=Debaryomyces&BN=udenii&CN=&DN) สืบค้นเมื่อ 1 กรกฎาคม 2561.
- van der Walt, J.P. 1992. *Trigonopsis*. [Online]. Available :  
[http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm\\_keyword?AN=Trigonopsis&BN=cantarellii&CN=&DN](http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm_keyword?AN=Trigonopsis&BN=cantarellii&CN=&DN) สืบค้นเมื่อ 3 กรกฎาคม 2561.
- van der Walt, J.P. 2000. *Millerozyma acacia*. [Online]. Available :  
[http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm\\_keyword?AN=Millerozyma&BN=acaciae&CN=&DN](http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm_keyword?AN=Millerozyma&BN=acaciae&CN=&DN) สืบค้นเมื่อ 2 กรกฎาคม 2561.
- van der Walt, J.P. Liebenberg, N.V.D.W. 1973. "The yeast genus *Wickerhamiella* gen. nov. (Ascomycetes)." *Antonie van Leeuwenhoek*. 39 : 121–128.
- van der Walt, J.P. Scott, D.B. 1971. "The yeast genus *Saccharomycopsis* Schionning." *Mycopathologia et Mycologia Applicata*. 43 : 279–288.
- van der Walt, J.P. Wingfield, M.J. Smith, M.Th. Batenburg-van der Vegte. 1991. "Septal micropores in *Zygozoma* and their taxonomic significance." *Antonie van Leeuwenhoek*. 59 : 77–80.
- Volkman, J.K. Everitt, D.A. Allen, D.I. 1986. "Some analyses of lipid classes in marine organisms, sediments and seawater using thin-layer chromatography-flame ionisation detection." *Journal of Chromatography A*. 356 : 147–162.
- Von Arx, J.A. 1972. "On endomyces, *Endomycopsis* and related yeast-like fungi." *Antonie van Leeuwenhoek*. 38(3) : 289–309.

- Vorapreeda, T. Thammamongtham, C. Cheevadhanarak, S. Laoteng, K. 2012. "Alternative routes of acetyl-CoA synthesis identified by comparative genomic analysis: involvement in the lipid production of oleaginous yeast and fungi." *Microbiology*. 158 : 217–228.
- Wickerham, L.J. 1958. "Sexual agglutination of heterothallic yeasts in diverse taxonomic areas." *Science*. 128(3337) : 1504–1505.
- Wickerham, L.J. 1983. *Ambrosiozyma spp.* [Online]. Available : [http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm\\_keyword?AN=Ambrosiozyma&BN=platypodis&CN=&DN](http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm_keyword?AN=Ambrosiozyma&BN=platypodis&CN=&DN) สืบค้นเมื่อ 29 มิถุนายน 2561.
- Wickerham, L.J. Burton, K.A. 1948. "Carbon Assimilation Tests for the Classification of Yeasts." *Journal of Bacteriology*. 56 : 363–371.
- Wickerham, L.J. Rettger, L.F. 1939. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 42 : 174–179.
- Wickerham, L.J. van der Walt, J.P. Von Arx, J.A. 1983. *Yarrowia lipolytica*. [Online]. Available : [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Yarrowia\\_lipolytica\\_YGC\\_colonies\\_56.jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Yarrowia_lipolytica_YGC_colonies_56.jpg) สืบค้นเมื่อ 2 กรกฎาคม 2561.
- Woodbine, M. 1959. "Microbial fat: micro-organisms as potential fat producers." *Progress in Industrial Microbiology*. 9 : 179–245.
- Wu, S. Zhao, X. Shen, H. Wang, Q. Zhao, Z.K. 2011. "Microbial lipid production by *Rhodospiridium toruloides* under sulfate-limited conditions." *Bioresource Technology*. 102 : 1803–1807.
- Yamada, Y. Arimoto, M. Kondo, K. 1973. "Coenzyme Q system in the classification of the ascosporegenous yeast genus *Schizosaccharomyces* and yeast-like genus *Endomyces*." *Journal of General and Applied Microbiology*. 19 : 353–358.
- Yamada, Y. 1985. *Ogataea henricii*. [Online]. Available : [http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm\\_keyword?AN=Ogataea&BN=henricii&CN=&DN](http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm_keyword?AN=Ogataea&BN=henricii&CN=&DN) สืบค้นเมื่อ 2 กรกฎาคม 2561.
- Yamazaki, M. 1991. *Rhodotorula*. [Online.] Available : [http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm\\_keyword?AN=Rhodotorula&BN=minuta&CN=&DN](http://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm_keyword?AN=Rhodotorula&BN=minuta&CN=&DN) สืบค้นเมื่อ 3 กรกฎาคม 2561.

- Yen, K. Le, T.T. Bansal, A. Narasimhan, S.D. Cheng, J.X. Tissenbaum, H.A. 2010. “A comparative study of fat storage quantitation in nematode *Caenorhabditis elegans* using label and label-free methods.” *Plos One*. 5(9) : 12810–12820.
- Yuri, 2014. **Trichosporon species**. [Online.] Available : <http://thunderhouse4-yuri.blogspot.com/2014/08/trichosporon-species.html> สืบค้นเมื่อ 3 กรกฎาคม 2561.
- Zhao, X. Kong, X. Hua, Y. Feng, B. Zhao, Z. Kent, K. 2008. “Medium optimization for lipid production through co-fermentation of glucose and xylose by the oleaginous yeast *Lipomyces starkeyi*.” *European Journal of Lipid Science and Technology*. 110 : 405–412.
- Zhu, Q. and Jackson, E.N. 2015. “Metabolic engineering of *Yarrowia lipolytica* for industrial applications.” *Current Opinion in Biotechnology*. 36 : 65–72.
- Zikes, H. 1912. **The yeasts, a taxonomic study**. 5<sup>th</sup> Edition. Elsevier Biomedical Press. Amsterdam. 2 : 421–434.

ภาคผนวก

## ภาคผนวก ก

### สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

#### 1. สูตรอาหารสำหรับการคัดแยกยีสต์จากธรรมชาติ

##### 1.1 สูตรอาหาร Yeast extract-Malt extract Agar (Wickerham และ Rettger, 1939)

Yeast extract	3 กรัมต่อลิตร
Malt extract	3 กรัมต่อลิตร
Peptone	5 กรัมต่อลิตร
Glucose	10 กรัมต่อลิตร
Agar	20 กรัมต่อลิตร

ผสมส่วนประกอบต่างๆ ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งไว้ให้อุณหภูมิลดลงประมาณ 60 องศาเซลเซียส และใส่ยาปฏิชีวนะ Ampicillin ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ Kanamycin ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันจากนั้นเทลงจานอาหารทิ้งให้อาหารแข็ง และเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 วัน

#### 2. สูตรอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงยีสต์เพื่อคัดแยกยีสต์ที่สะสมไขมันในเซลล์ (Thakur และคณะ, 1989)

Glucose	40 กรัมต่อลิตร
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.75 กรัมต่อลิตร
Yeast Extract	1.5 กรัมต่อลิตร
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	0.285 กรัมต่อลิตร
CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	0.4 กรัมต่อลิตร
MgSO <sub>4</sub>	0.4 กรัมต่อลิตร

## ภาคผนวก ข

### การเตรียมยาปฏิชีวนะ Kanamycin

### การเตรียมยาปฏิชีวนะ Ampicillin

### การเตรียมสารละลาย Nile red

#### 1. การเตรียมยาปฏิชีวนะ Kanamycin ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ชั่งยาปฏิชีวนะ Kanamycin 0.5 กรัม ในน้ำกลั่นปราศจากเชื้อปริมาตร 10 มิลลิลิตรผสมให้เข้ากัน จากนั้นกรองยาปฏิชีวนะ Kanamycin โดยใช้ตัวกรองที่มีขนาดช่องผ่าน 0.45 ไมครอน และแบ่งใส่หลอด Eppendorf หลอดละ 1 มิลลิลิตร จำนวน 10 หลอด ห่อหลอด Eppendorf ด้วยฟอยล์อะลูมิเนียมเพื่อป้องกันแสง และนำไปเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

#### 2. การเตรียมยาปฏิชีวนะ Ampicillin ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ชั่งยาปฏิชีวนะ Ampicillin 1 กรัม ในน้ำกลั่นปราศจากเชื้อปริมาตร 10 มิลลิลิตรผสมให้เข้ากัน จากนั้นกรองยาปฏิชีวนะ Ampicillin โดยใช้ตัวกรองที่มีขนาดช่องผ่าน 0.45 ไมครอน และแบ่งใส่หลอด Eppendorf หลอดละ 1 มิลลิลิตร จำนวน 10 หลอด ห่อหลอด Eppendorf ด้วยฟอยล์อะลูมิเนียมเพื่อป้องกันแสง และนำไปเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

#### 3. การเตรียมสารละลาย Nile red

เตรียม Stock สารละลาย Nile red ในอะซิโตนที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยการชั่งสาร Nile red 0.1 มิลลิกรัม ละลายในอะซิโตน 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันในหลอด Eppendorf และห่อด้วยฟอยล์อะลูมิเนียมเพื่อป้องกันแสง และนำไปเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

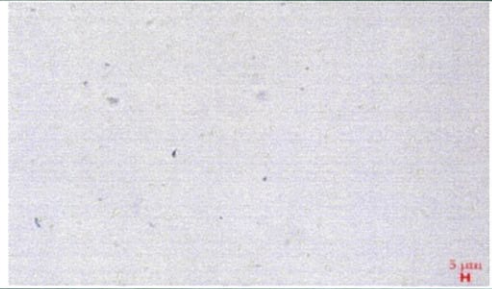
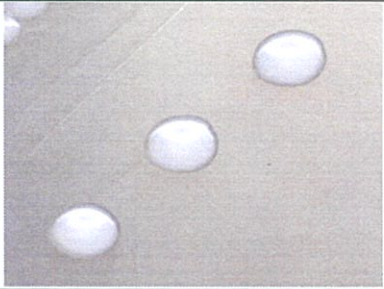
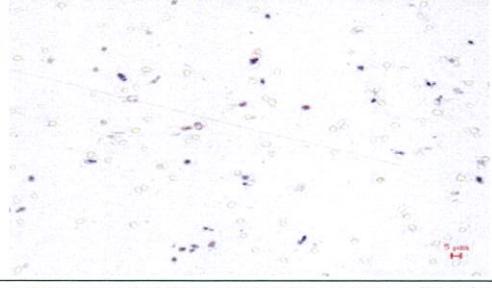
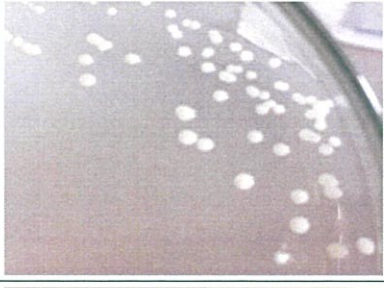
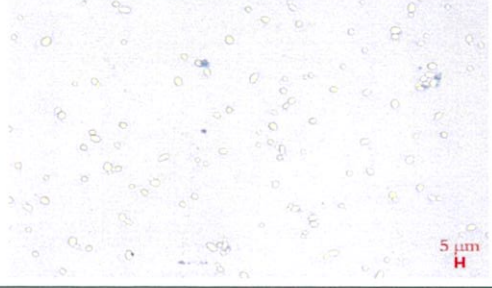
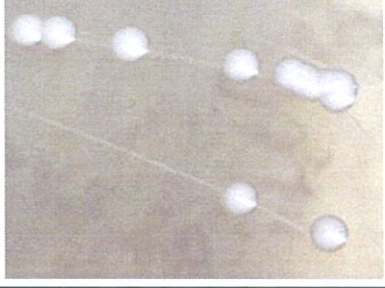
## ภาคผนวก ค

### การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของยีสต์ที่คัดแยกได้

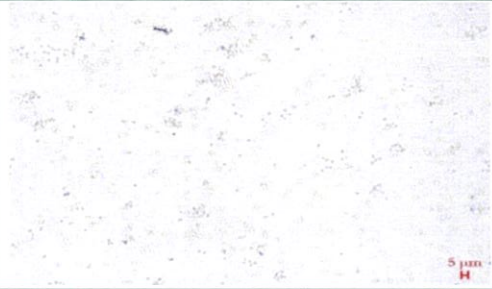
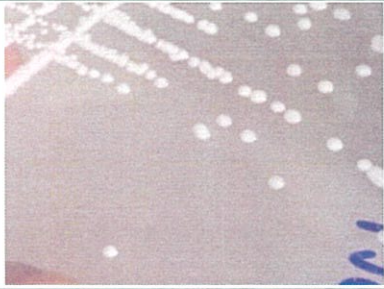
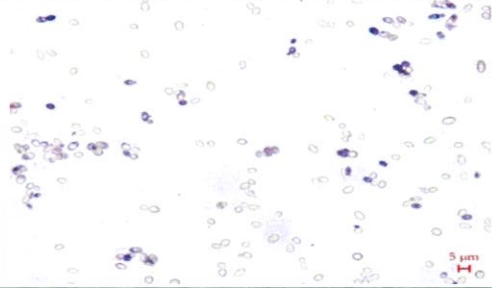

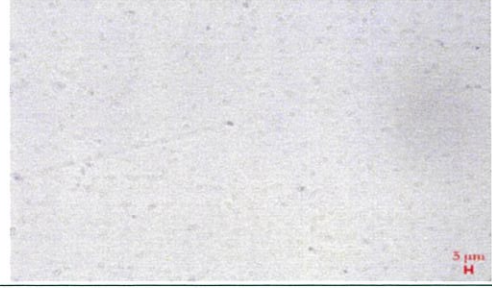

#### 1. การคัดแยกยีสต์จากแหล่งธรรมชาติ

จากการคัดแยกยีสต์โดยนำตัวอย่างดินหรือผลไม้หรือน้ำที่เจือจางไปทำการ Spread ให้ทั่วบริเวณผิวหน้าจานอาหาร YM agar ที่มียาปฏิชีวนะ Ampicillin ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรและ Kanamycin ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร หลังจากบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 วัน และนำมาทำให้บริสุทธิ์โดยวิธี Cross streak ลงบนอาหาร YM agar บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน เมื่อคัดแยกได้ยีสต์ที่บริสุทธิ์นำไปดูลักษณะโคโลนีโดยดูรูปร่าง เช่น ลักษณะกลม มีเส้นใย หรือรูปร่างไม่แน่นอน เป็นต้น สังเกตสี ขอบ ผิว ความนูน-แบน เช่น นูนสูง นูนตรงกลางหรือแบน เป็นต้น รวมไปถึงขนาดของโคโลนี และดูลักษณะและขนาดของเซลล์ยีสต์ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงโดยวิธี Wet mount ส่องที่กำลังขยาย 400 เท่า ได้รูปดังตารางที่ ค1



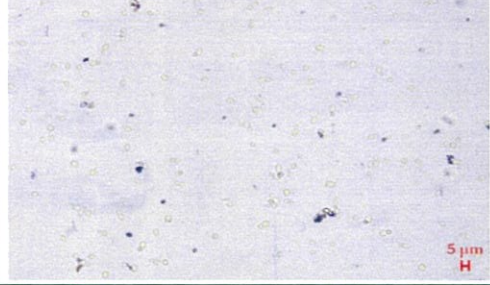
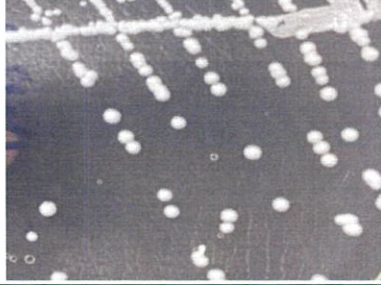


ตารางที่ ค1 ตารางแสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ของยีสต์ที่แยกได้จากผลไม้ น้ำ และดิน ณ สถานที่ต่างๆภายในประเทศไทย

ลำดับที่	แหล่งตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	รูปภาพเซลล์ กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า	รูปภาพโคโลนี	ลักษณะโคโลนี
1	ฝรั่ง	F7 (L01.3A)			กลม ขาว เงา
2	ดินข้างบ้านที่ อ. ทับคล้อ จ. พิจิตร	KP1			กลม ขาว เงา
3	ดินข้างรางรถไฟ ลาดกระบัง	KT3 (L05.2K3)			กลม ขาว เงา

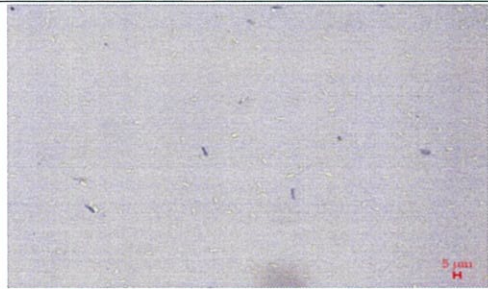
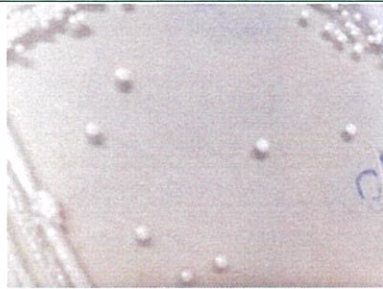
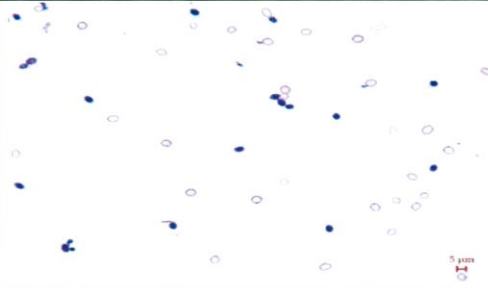

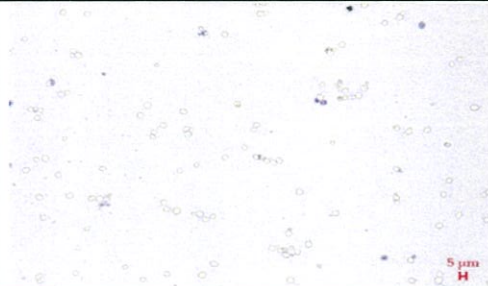
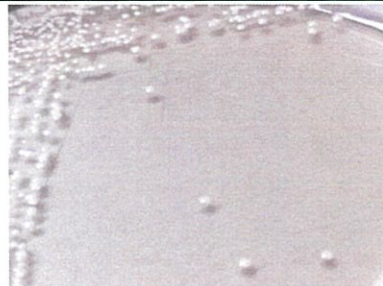
ตารางที่ ค1 (ต่อ) ตารางแสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ของยีสต์ที่แยกได้จากผลไม้ น้ำ และดิน ณ สถานที่ต่างๆภายในประเทศไทย

ลำดับที่	แหล่งตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	รูปภาพเซลล์ กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า	รูปภาพโคโลนี	ลักษณะโคโลนี
4	ดินหลังบ้าน อ.บรรพตพิสัย จ. นครสวรรค์	BN1 (L10.2U1)			กลม ขาว เงาม
5	ดินน้ำพุร้อนฝาง อ. ฝาง จ. เชียงใหม่	Y <sub>3</sub> 1			กลม ขาว เงาม
6	ดินบางปู อ. เมือง จ.สมุทรปราการ	BP2			กลม ขาว เงาม

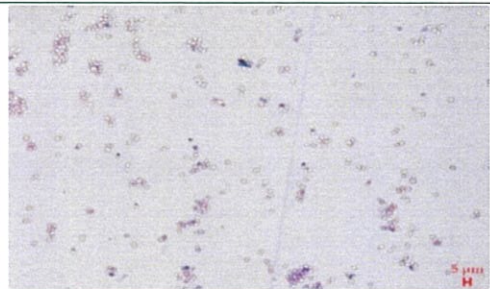

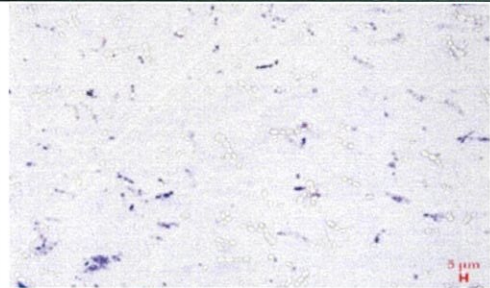

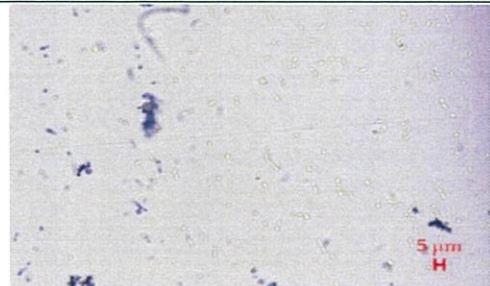
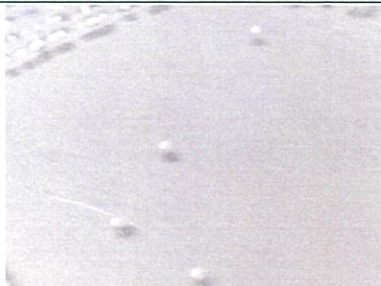
ตารางที่ ค1 (ต่อ) ตารางแสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ของยีสต์ที่แยกได้จากผลไม้ น้ำ และดิน ณ สถานที่ต่างๆภายในประเทศไทย

ลำดับที่	แหล่งตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	รูปภาพเซลล์ กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า	รูปภาพโคโลนี	ลักษณะโคโลนี
7	ดินข้างถังขยะหน้า ร.ร.บดินทร์ 2	SB4			กลม ขาว เงาม
8	ดินข้างร้านก๋วยเตี๋ยว หน้าร.ร.บดินทร์2	NB3			กลม ขาว เงาม
9	ดินวัดลาดพร้าว	LP1			กลม ขาว เงาม


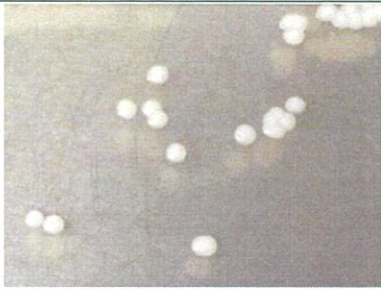

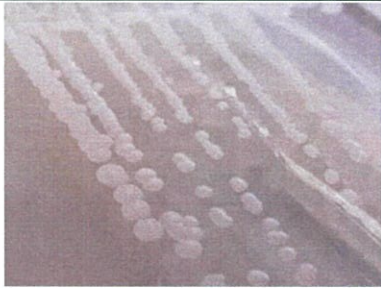
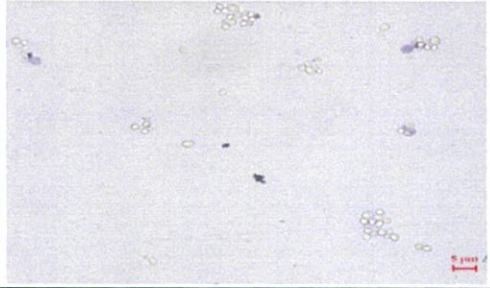
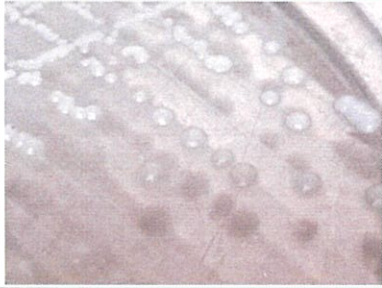
ตารางที่ ค1 (ต่อ) ตารางแสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ของยีสต์ที่แยกได้จากผลไม้ น้ำ และดิน ณ สถานที่ต่างๆภายในประเทศไทย

ลำดับที่	แหล่งตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	รูปภาพเซลล์ กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า	รูปภาพโคโลนี	ลักษณะโคโลนี
10	ดินข้างน้ำซัง ซอยนวมินทร์ 74	SW1			กลม ขาว เงา
11	ดินอุทยาน ประวัติศาสตร์ พระนครศรีบุรี อ.เมือง จ. เพชรบุรี	KW2			กลม ขาว เงา
12	ดินท่อน้ำทิ้งข้างร้าน กวยเตี้ยวเรือ ร.ร.บดินทร์ 2	PW2			กลม ขาว เงา


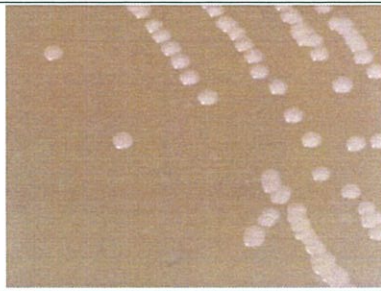
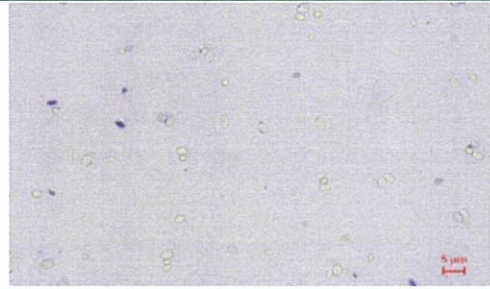

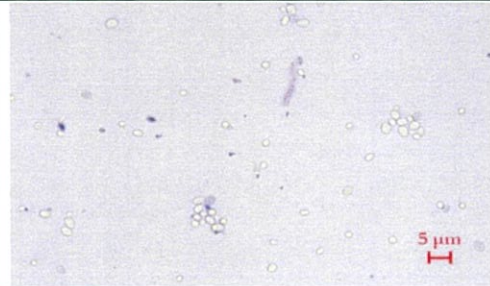

ตารางที่ ค1 (ต่อ) ตารางแสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ของยีสต์ที่แยกได้จากผลไม้ น้ำ และดิน ณ สถานที่ต่างๆภายในประเทศไทย

ลำดับที่	แหล่งตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	รูปภาพเซลล์ กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า	รูปภาพโคโลนี	ลักษณะโคโลนี
13	ดินบนเขาค้อ จ. เพชรบูรณ์	KK2 (L10.2M2)			กลม ขาว เงาม นูน
14	ดินใต้ต้นไม้ในบ้าน อ. ทับคล้อ จ. พิจิตร	UT (L11.3ต)			กลม ขาว เงาม นูน
15	ดินท่อน้ำทิ้งข้างร้าน ก๋วยเตี๋ยวเรือ ร.ร.บดินทร์ 2	PW3			กลม ขาว เงาม นูน

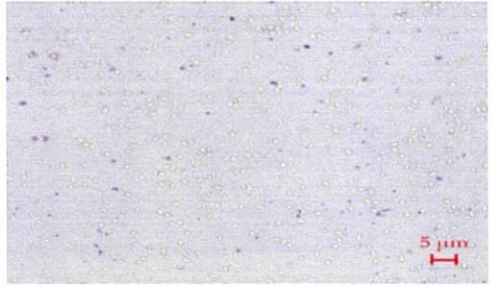
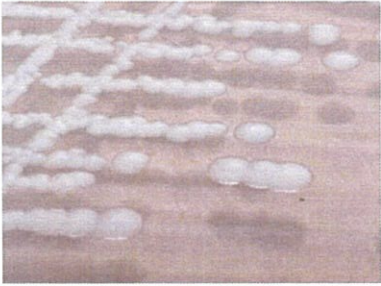
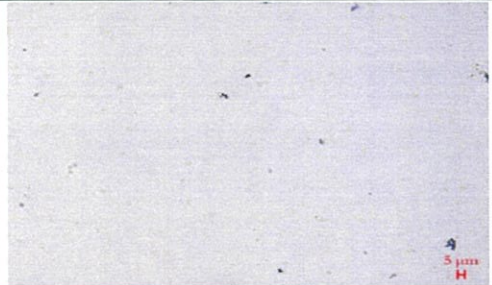
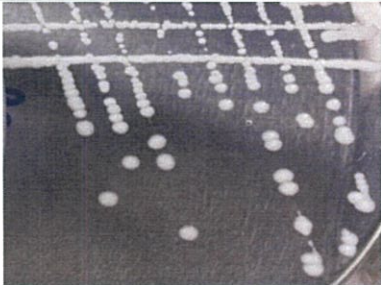
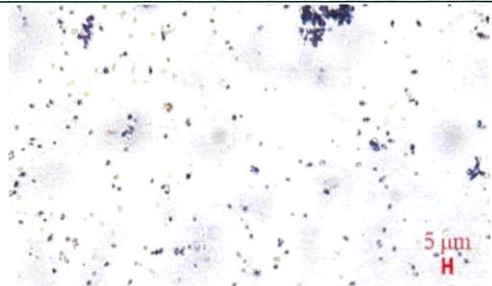

ตารางที่ ค1 (ต่อ) ตารางแสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ของยีสต์ที่แยกได้จากผลไม้ น้ำ และดิน ณ สถานที่ต่างๆภายในประเทศไทย

ลำดับที่	แหล่งตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	รูปภาพเซลล์ กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า	รูปภาพโคโลนี	ลักษณะโคโลนี
16	ร้านอาหารภิรมพร อ.เมือง จ.เลย	PP1			กลม ขาว เงาม นูน
17	ดินใต้ต้นพริก แฟลช19 ถ.นวมินทร์ แขวงนวลจันทร์ เขตบึงกุ่ม จ.กรุงเทพฯ	CL			กลม ขาว เงาม นูน
18	น้ำกากน้ำตาล โรงงานน้ำตาล วังขนาย จ.ลพบุรี	WK1			กลม ขาว เงาม นูน

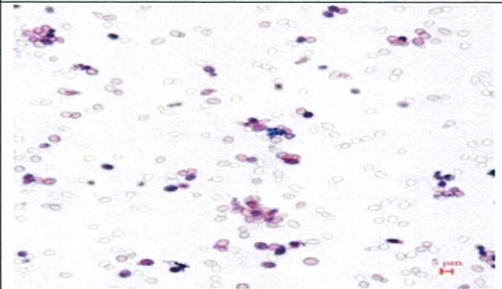
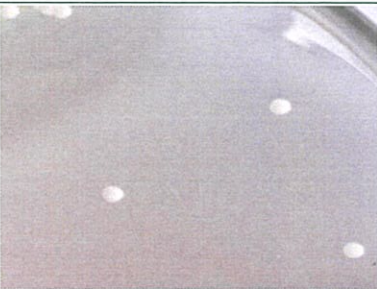
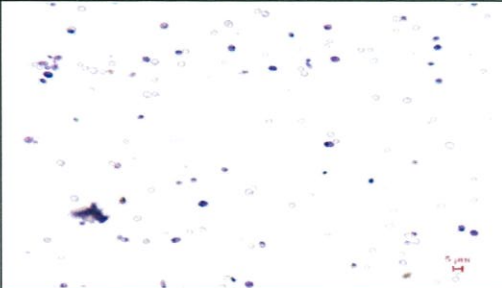
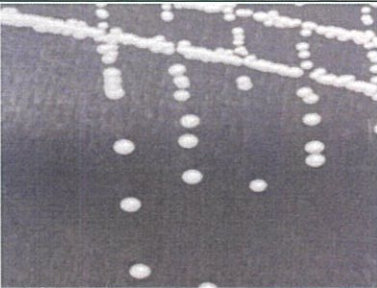


ตารางที่ ค1 (ต่อ) ตารางแสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ของยีสต์ที่แยกได้จากผลไม้ น้ำ และดิน ณ สถานที่ต่างๆภายในประเทศไทย

ลำดับที่	แหล่งตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	รูปภาพเซลล์ กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า	รูปภาพโคโลนี	ลักษณะโคโลนี
19	ดินครัว ร้านเสพศิลป์ อ.สะเมิง จ.เชียงใหม่	K2 (L08.3B3)			กลม ขาว เงาม นูน
20	ฟางละเอียด โรงงานน้ำตาลวัง นาย จ.ลพบุรี	WE1			กลม ขาว เงาม แบน
21	ฟางหยาบ โรงงานน้ำตาลวัง นาย จ.ลพบุรี	WF2			กลม ขาว เงาม แบน


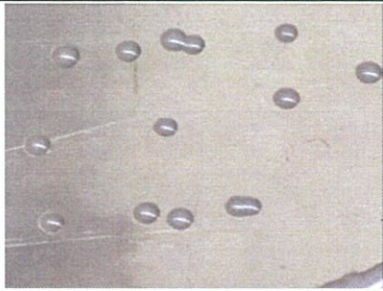
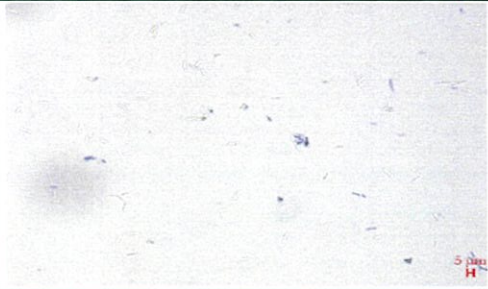
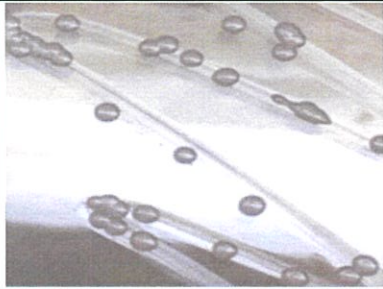
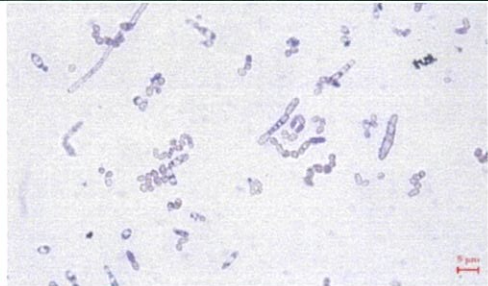
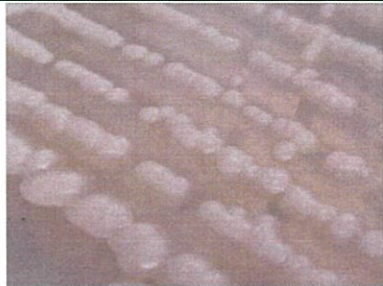
ตารางที่ ค1 (ต่อ) ตารางแสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ของยีสต์ที่แยกได้จากผลไม้ น้ำ และดิน ณ สถานที่ต่างๆภายในประเทศไทย

ลำดับที่	แหล่งตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	รูปภาพเซลล์ กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า	รูปภาพโคโลนี	ลักษณะโคโลนี
22	ดินทราย โรงงานน้ำตาลวัง ขนาย จ.ลพบุรี	WH10			กลม ขาว เงาม แบน
23	ดินใต้ต้นไม้ ข้างตึกแอล คณะเทคโนโลยี เกษตร ลาดกระบัง	AR2			กลม ขาว เงาม แบน
24	ดินวัดพระธาตุผา ซ้อนแก้ว จ. เพชรบูรณ์	LK1 (L12.3T1)			กลม ขาว เงาม แบน


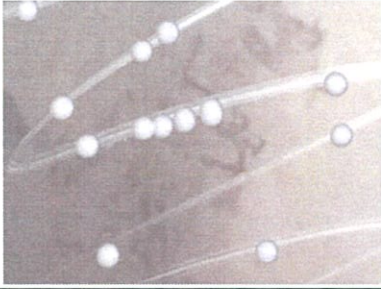



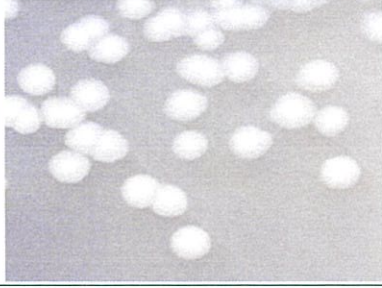
ตารางที่ ค1 (ต่อ) ตารางแสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ของยีสต์ที่แยกได้จากผลไม้ น้ำ และดิน ณ สถานที่ต่างๆภายในประเทศไทย

ลำดับที่	แหล่งตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	รูปภาพเซลล์ กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า	รูปภาพโคโลนี	ลักษณะโคโลนี
25	ดินข้างบ้านที่ อ. ทับคล้อ จ. พิจิตร	AB2 (L11.2ร)			กลม ขาว เงาม แบน
26	ดินหลังบ้าน อ.บรรพตพิสัย จ. นครสวรรค์	BN2 (L10.2U2)			กลม ขาว เงาม แบน
27	ดินร้านรัตนสิน การช่าง อ.เมือง จ.เลย	OI3			กลม ขาว เงาม แบน

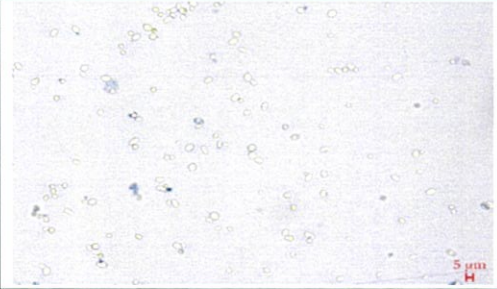
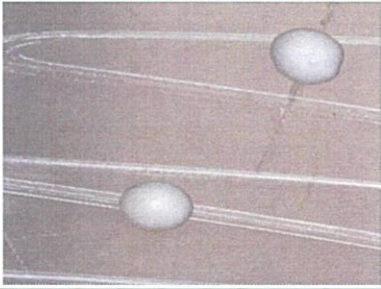
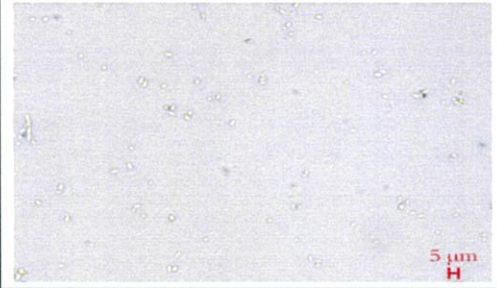
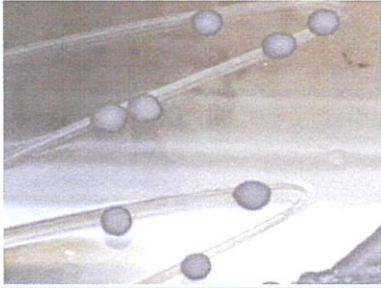
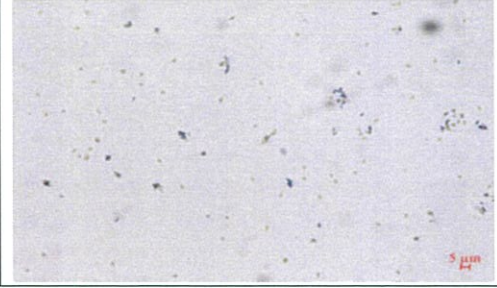

ตารางที่ ค1 (ต่อ) ตารางแสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ของยีสต์ที่แยกได้จากผลไม้ น้ำ และดิน ณ สถานที่ต่างๆภายในประเทศไทย

ลำดับที่	แหล่งตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	รูปภาพเซลล์ กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า	รูปภาพโคโลนี	ลักษณะโคโลนี
28	ดินสถานีรถไฟ พระจอมเกล้า ลาดกระบัง	PJ6 (L05.3J)			กลม ขาวใส เงาม
29	ดินสถานีรถไฟ พระจอมเกล้า ลาดกระบัง	PJ1			กลม ขาวใส แบน เงาม
30	ดินร้านรัตนสิน การช่าง อ.เมือง จ.เลย	O16			กลม ขาวขุ่น เงาม นูน

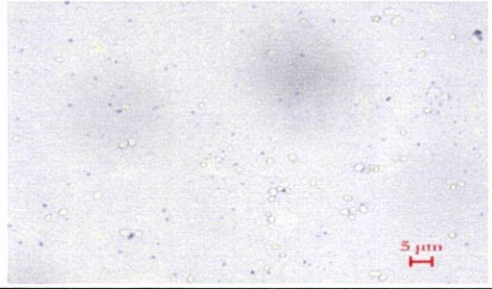

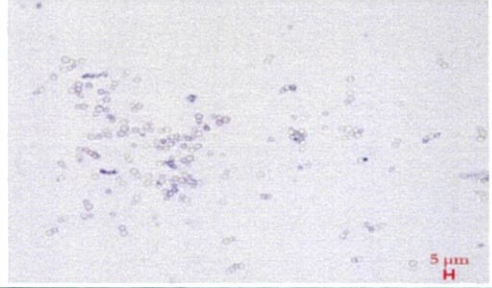
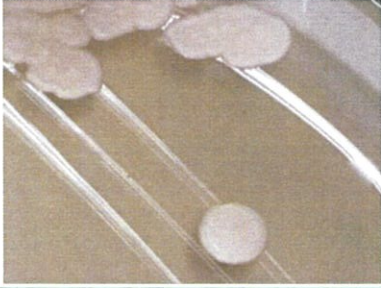
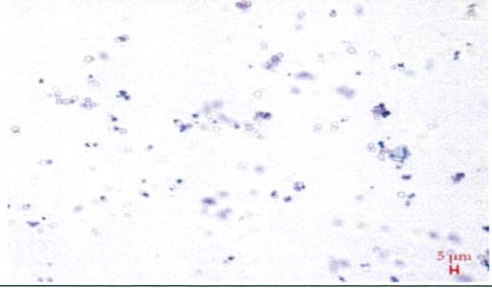

ตารางที่ ค1 (ต่อ) ตารางแสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ของยีสต์ที่แยกได้จากผลไม้ น้ำ และดิน ณ สถานที่ต่างๆภายในประเทศไทย

ลำดับที่	แหล่งตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	รูปภาพเซลล์ กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า	รูปภาพโคโลนี	ลักษณะโคโลนี
31	ดินครัว ร้านเสพศิลป์ อ.สะเมิง จ.เชียงใหม่	K1 (L08.4B3)			กลม ขาวขุ่น เงาม แบน
32	ดินบางปู อ. เมือง จ.สมุทรปราการ	BP3			กลม ขาวใส เงาม
33	ฝรั่ง	F4 (L01.4A4)			กลม ขาว ด้าน แบน

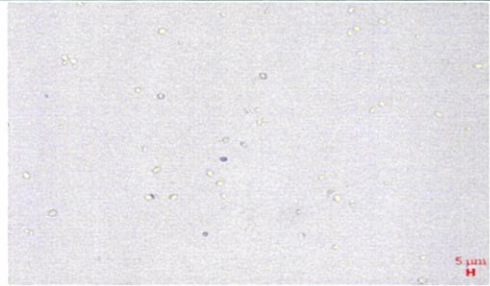
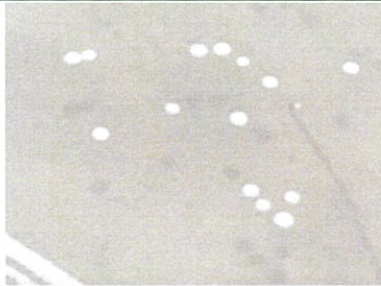
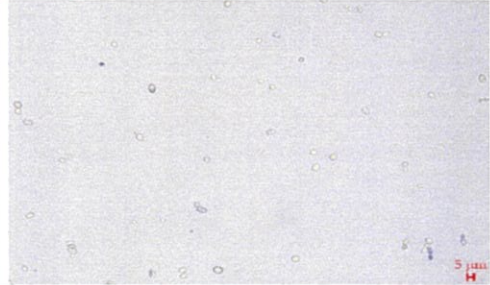

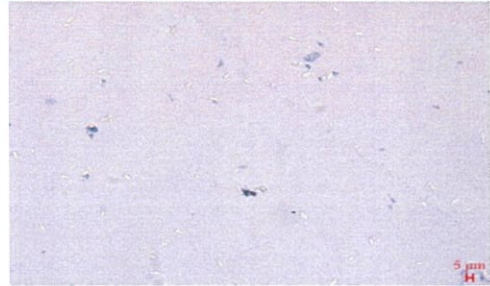
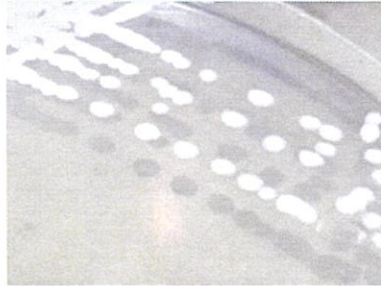
ตารางที่ ค1 (ต่อ) ตารางแสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ของยีสต์ที่แยกได้จากผลไม้ น้ำ และดิน ณ สถานที่ต่างๆภายในประเทศไทย

ลำดับที่	แหล่งตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	รูปภาพเซลล์ กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า	รูปภาพโคโลนี	ลักษณะโคโลนี
34	ดินร่องเศษอาหาร อ.ไชโย จ.อ่างทอง	SL2 (L01.4S2)			กลม ขาว ด้าน แบน
35	ดินข้างรางรถไฟ ลาดกระบัง	KT2 (L05.2K2)			กลม ขาว ด้าน แบน
36	ดินบนเขาค้อ จ. เพชรบูรณ์	KK1			กลม ขาว ด้าน แบน



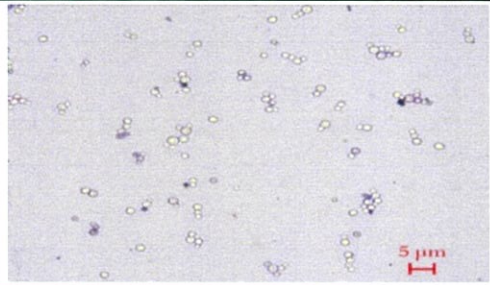



ตารางที่ ค1 (ต่อ) ตารางแสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ของยีสต์ที่แยกได้จากผลไม้ น้ำ และดิน ณ สถานที่ต่างๆภายในประเทศไทย

ลำดับที่	แหล่งตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	รูปภาพเซลล์ กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า	รูปภาพโคโลนี	ลักษณะโคโลนี
37	ดินทราย โรงงานน้ำตาล วังขนาย จ.ลพบุรี	WH1			กลม ขาว ด้าน แบน
38	ดินหลังบ้านที่ อ. ทับคล้อ จ. พิจิตร	BJ1 (L11.3ห1)			กลม ขาว ด้าน แบน
39	ดินชายเลน บางแสน จ. ชลบุรี	BS1 (L12.2ล)			กลม ขาว ด้าน แบน


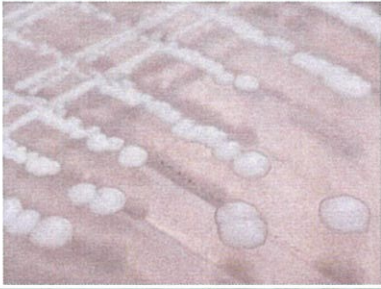
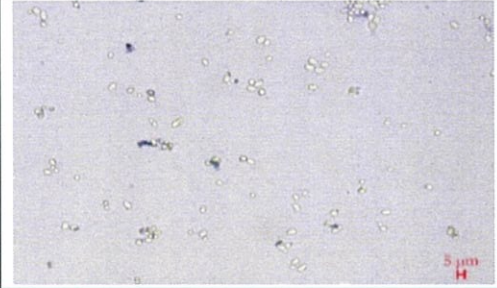
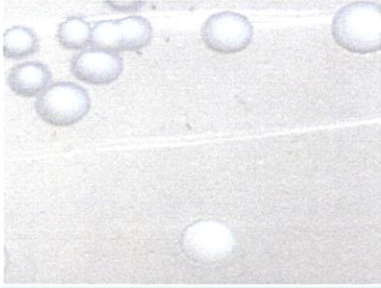
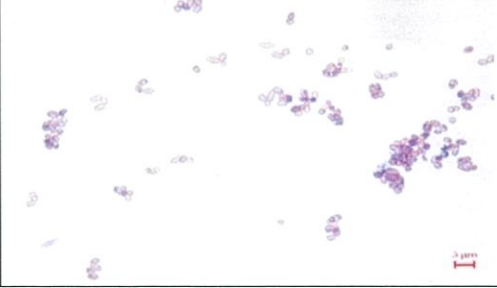

ตารางที่ ค1 (ต่อ) ตารางแสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ของยีสต์ที่แยกได้จากผลไม้ น้ำ และดิน ณ สถานที่ต่างๆภายในประเทศไทย

ลำดับที่	แหล่งตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	รูปภาพเซลล์ กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า	รูปภาพโคโลนี	ลักษณะโคโลนี
40	ดินหลังบ้าน ตำบลโพแดงใต้ อ.บางไทร จ. พระนครศรีอยุธยา	HF3			กลม ขาว ด้าน แบน
41	ดินแปลงเกษตร ข้างบ่อบัวคณะ เทคโนโลยีเกษตร ลาดกระบัง	PK3			กลม ขาว ด้าน แบน
42	ดินข้างถังขยะหน้า ร.ร.บดินทร์ 2	SB6			กลม ขาว ด้าน แบน

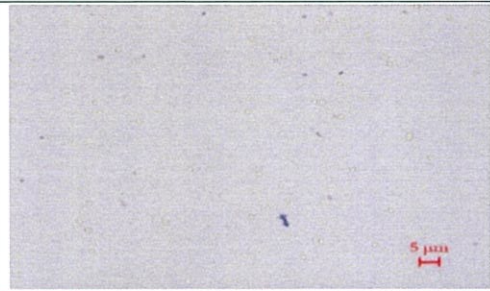
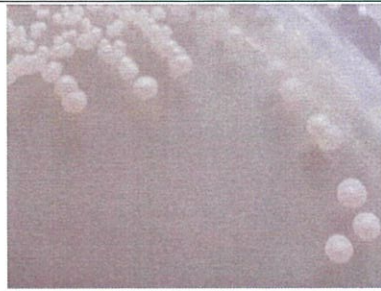
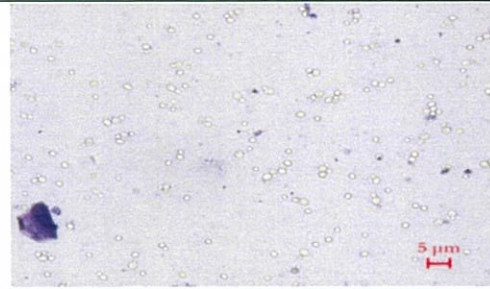
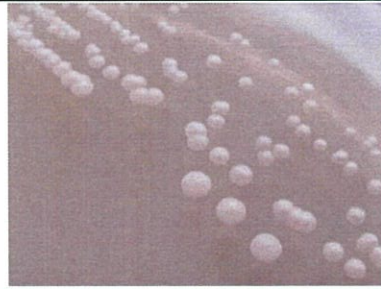
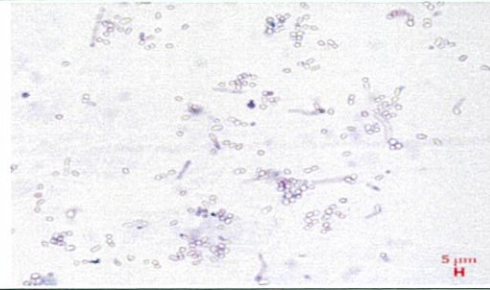
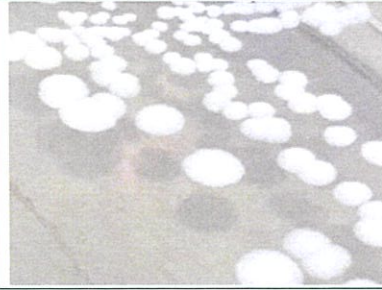
ตารางที่ ค1 (ต่อ) ตารางแสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ของยีสต์ที่แยกได้จากผลไม้ น้ำ และดิน ณ สถานที่ต่างๆภายในประเทศไทย

ลำดับที่	แหล่งตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	รูปภาพเซลล์ กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า	รูปภาพโคโลนี	ลักษณะโคโลนี
43	ดินข้างน้ำซัง ซอยนวมินทร์ 74	SW2			กลม ขาว ด้าน แบน
44	ดินร้านส้มตำ ปากซอยมิตรอนันต์ ถนนนครไชยศรี แขวงถนนนครไชยศรี เขตดุสิต จ.กรุงเทพฯ	PY3			กลม ขาว ด้าน แบน
45	ดินเหนียวเปียก โรงงานน้ำตาล วังขนาย จ.ลพบุรี	WS4			กลม ขาว ด้าน แบน

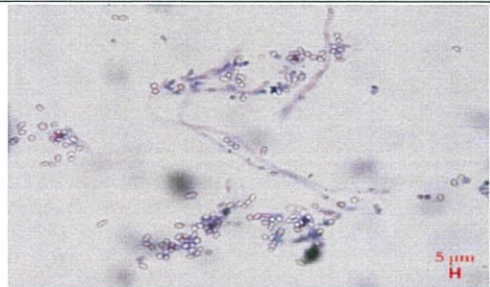
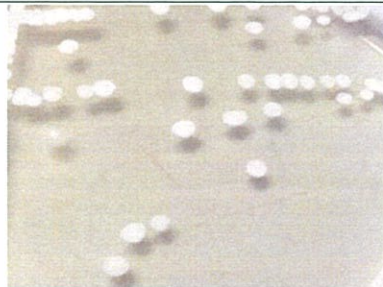

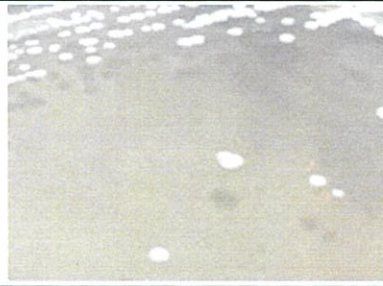
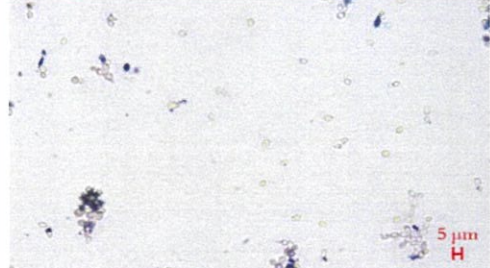
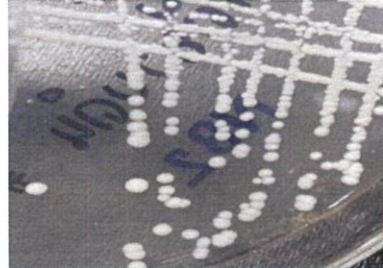
ตารางที่ ค1 (ต่อ) ตารางแสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ของยีสต์ที่แยกได้จากผลไม้ น้ำ และดิน ณ สถานที่ต่างๆภายในประเทศไทย

ลำดับที่	แหล่งตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	รูปภาพเซลล์ กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า	รูปภาพโคโลนี	ลักษณะโคโลนี
46	ดินเหนียวเปียก โรงงานน้ำตาล วังขนาย จ.ลพบุรี	WP2			กลม ขาว ด้าน แบน
47	อู่จัน	G1 (L01.4G1)			กลม ขาว ด้าน นูน
48	ดินร้านรัตนสิน การช่าง อ.เมือง จ.เลย	OI5			กลม ขาว ด้าน นูน

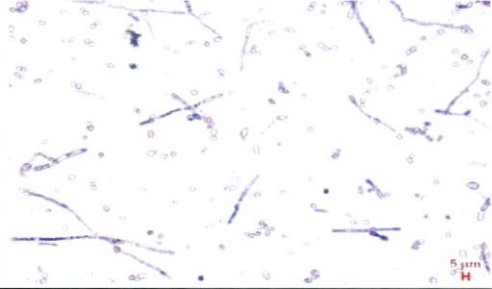

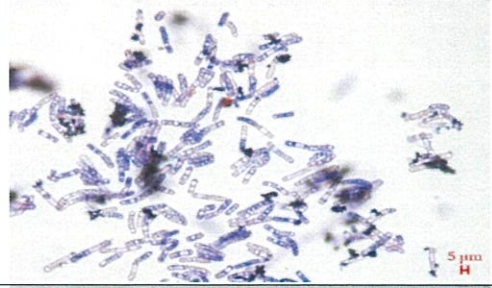
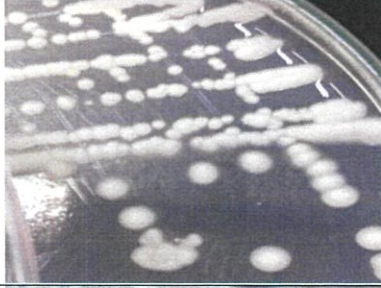

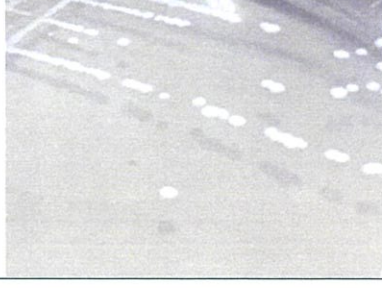
ตารางที่ ค1 (ต่อ) ตารางแสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ของยีสต์ที่แยกได้จากผลไม้ น้ำ และดิน ณ สถานที่ต่างๆภายในประเทศไทย

ลำดับที่	แหล่งตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	รูปภาพเซลล์ กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า	รูปภาพโคโลนี	ลักษณะโคโลนี
49	ดินท่อน้ำคร้ว บ้านเลขที่ 343 ซอย มิตรอนันต์ แขวง ถนนนครไชยศรี เขต ดุสิต จ.กรุงเทพฯ	TK3			กลม ขาว ด้าน นูน
50	ดินท่อน้ำคร้ว บ้านเลขที่ 343 ซอย มิตรอนันต์ แขวง ถนนนครไชยศรี เขต ดุสิต จ.กรุงเทพฯ	TK1			กลม ขาว ด้าน นูน
51	ดินท่อน้ำทิ้งข้างร้าน ก๋วยเตี๋ยวเรือ ร.ร.บดินทร์ 2	PW4			กลม ขาว ด้าน นูน

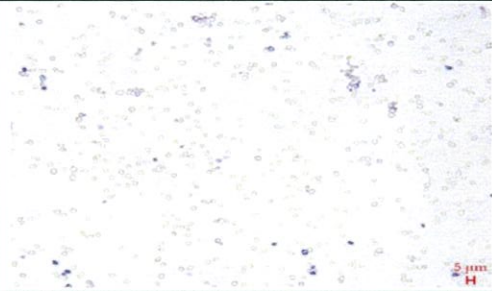

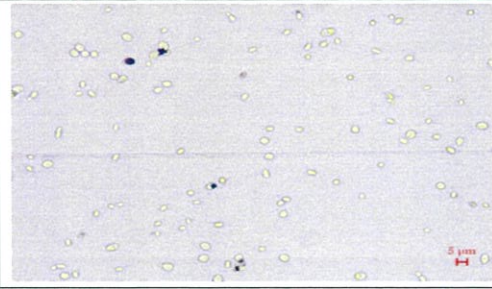

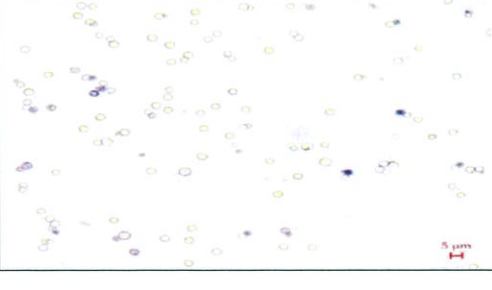

ตารางที่ ค1 (ต่อ) ตารางแสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ของยีสต์ที่แยกได้จากผลไม้ น้ำ และดิน ณ สถานที่ต่างๆภายในประเทศไทย

ลำดับที่	แหล่งตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	รูปภาพเซลล์ กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า	รูปภาพโคโลนี	ลักษณะโคโลนี
52	น้ำขัง ซอยนวมินทร์ 74	WA2			กลม ขาว ด้าน นูน
53	ดินข้างน้ำขัง ซอยนวมินทร์ 74	SW4			กลม ขาว ด้าน นูน
54	ดินข้างร้านก๋วยเตี๋ยว หน้าร.ร.บดินทร์2	NB2			กลม ขาว ด้าน นูน

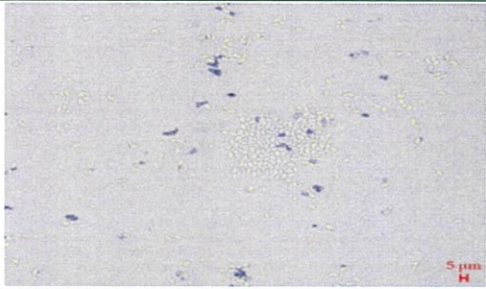
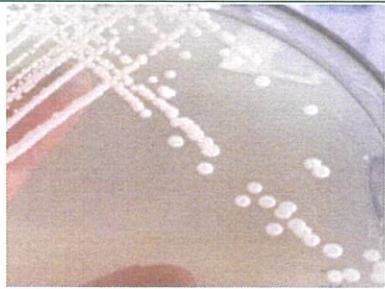
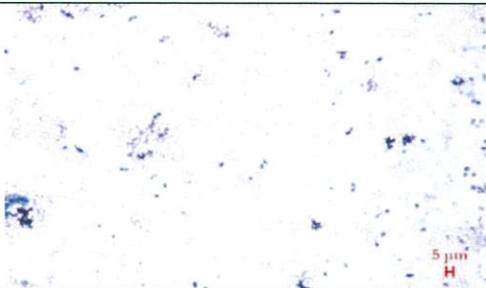
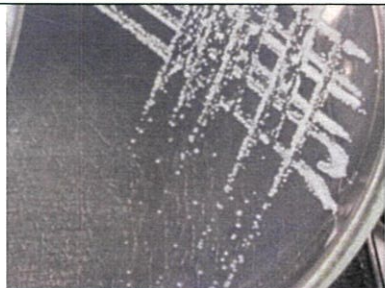

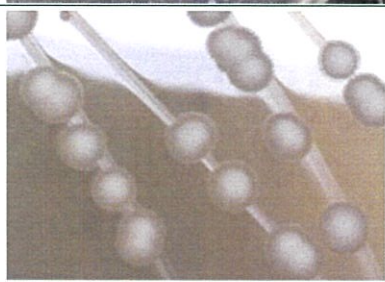
ตารางที่ ค1 (ต่อ) ตารางแสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ของยีสต์ที่แยกได้จากผลไม้ น้ำ และดิน ณ สถานที่ต่างๆภายในประเทศไทย

ลำดับที่	แหล่งตัวอย่าง	รหัสชื่อ	รูปภาพเซลล์ กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า	รูปภาพโคโลนี	ลักษณะโคโลนี
55	ดินข้างร้านนมสด หน้าร.ร.บดินทร์2	M2			กลม ขาว ด้าน นูน
56	ดินใต้ต้นไม้ ข้างตึกแอล คณะ เทคโนโลยีเกษตร ลาดกระบัง	AR1			กลม ขาว ด้าน นูน
57	ดินแปลงเกษตร ข้างบ่อบัวคณะ เทคโนโลยีเกษตร ลาดกระบัง	PK1			กลม ขาว ด้าน นูน

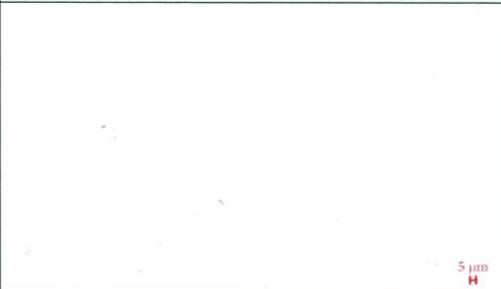
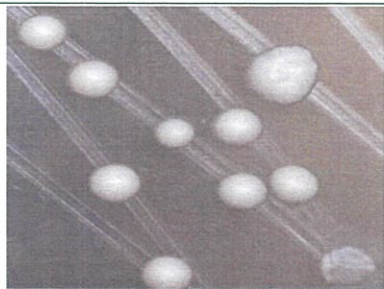
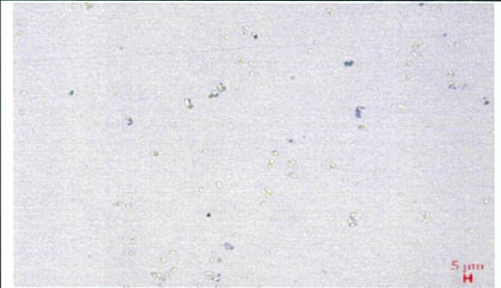
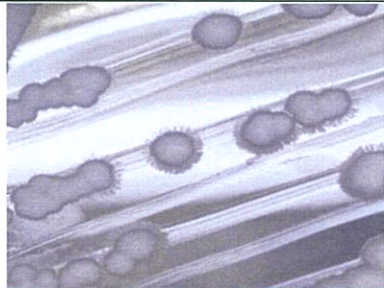

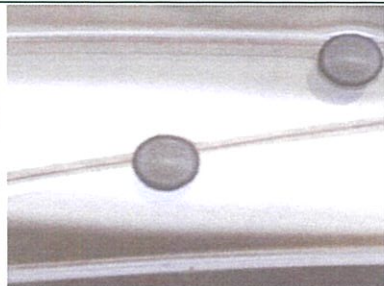
ตารางที่ ค1 (ต่อ) ตารางแสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ของยีสต์ที่แยกได้จากผลไม้ น้ำ และดิน ณ สถานที่ต่างๆภายในประเทศไทย

ลำดับที่	แหล่งตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	รูปภาพเซลล์ กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า	รูปภาพโคโลนี	ลักษณะโคโลนี
58	ดินสวนสนบ่อแก้ว อ.ฮอด จ. เชียงใหม่	CM1 (L06.3C <sub>2</sub> )			กลม ขาว ด้าน นูน
59	ดินวัดพระธาตุผา ซ้อนแก้ว จ. เพชรบูรณ์	LK3 (L12.3T3)			กลม ขาว ด้าน นูน
60	ดินชายเลน บางแสน จ.ชลบุรี	BS2			กลม ขาว ด้าน นูน

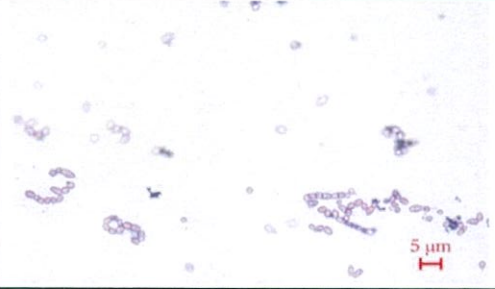


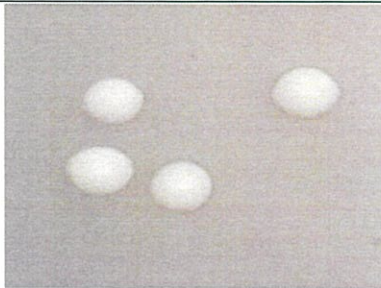


ตารางที่ ค1 (ต่อ) ตารางแสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ของยีสต์ที่แยกได้จากผลไม้ น้ำ และดิน ณ สถานที่ต่างๆภายในประเทศไทย

ลำดับที่	แหล่งตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	รูปภาพเซลล์ กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า	รูปภาพโคโลนี	ลักษณะโคโลนี
61	ดินสวนมะม่วง สวนเกียรติอัมพร อ.แปดริ้ว จ. ฉะเชิงเทรา	MG1 (L11.2S1)			กลม ขาว ด้าน นูน
62	ดินทางเชื่อมหอโน ลาดกระบัง	W2 (L03.2W2)			กลม ขาว ด้าน นูน
63	ดินร่องเศษอาหาร อ.ไชโย จ.อ่างทอง	SL4 (L01.4S4)			กลม ขาว ด้าน นูน



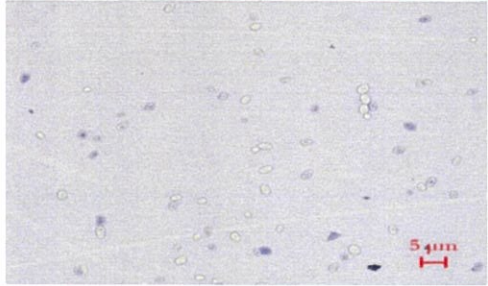

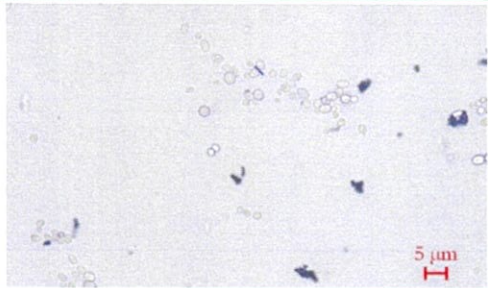

ตารางที่ ค1 (ต่อ) ตารางแสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ของยีสต์ที่แยกได้จากผลไม้ น้ำ และดิน ณ สถานที่ต่างๆภายในประเทศไทย

ลำดับที่	แหล่งตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	รูปภาพเซลล์ กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า	รูปภาพโคโลนี	ลักษณะโคโลนี
64	ดินร่องเศษอาหาร อ.ไชโย จ.อ่างทอง	SL3 (L01.4S3)			กลม ขาว ด้าน นูน
65	ongun	G4 (L01.4G4)			กลม ขาว ด้าน นูน
66	ongun	G3 (L01.4G3)			กลม ขาว ด้าน นูน

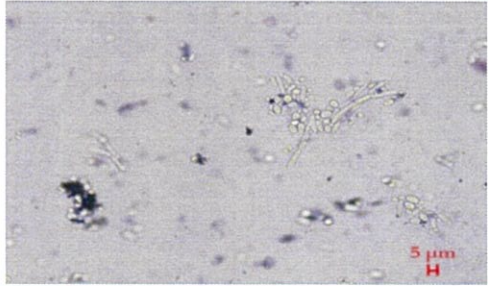

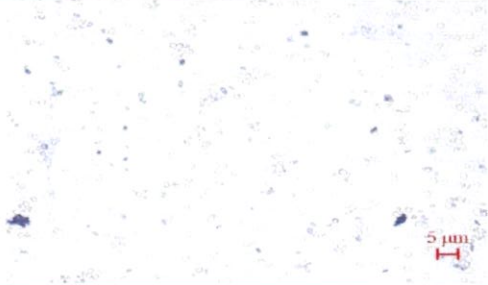

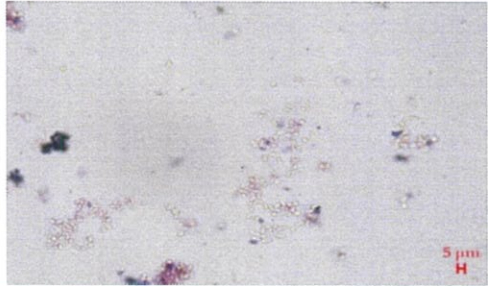

ตารางที่ ค1 (ต่อ) ตารางแสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ของยีสต์ที่แยกได้จากผลไม้ น้ำ และดิน ณ สถานที่ต่างๆภายในประเทศไทย

ลำดับที่	แหล่งตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	รูปภาพเซลล์ กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า	รูปภาพโคโลนี	ลักษณะโคโลนี
67	ดินร้านรัตนสิน การช่าง อ.เมือง จ.เลย	OI4			กลม ขาวขุ่น ด้าน นูน
68	ฝรั่ง	F1 (L01.4A1)			กลม ขาวขุ่น ด้าน นูน
69	ดินวัดพระธาตุผา ซ้อนแก้ว จ. เพชรบูรณ์	LK2 (L12.3T2)			กลม ขาวขุ่น ด้าน นูน

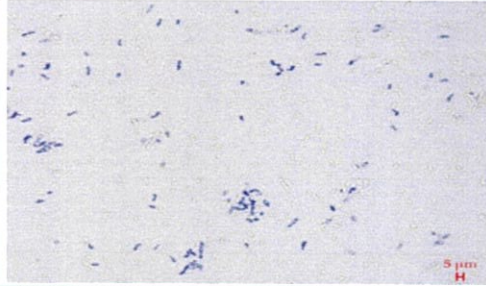

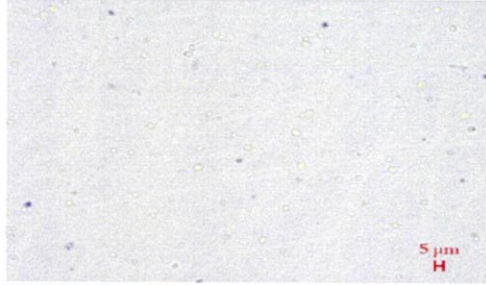

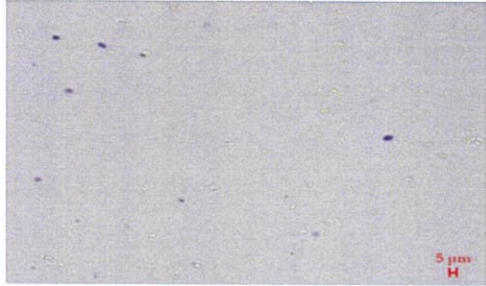

ตารางที่ ค1 (ต่อ) ตารางแสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ของยีสต์ที่แยกได้จากผลไม้ น้ำ และดิน ณ สถานที่ต่างๆภายในประเทศไทย

ลำดับที่	แหล่งตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	รูปภาพเซลล์ กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า	รูปภาพโคโลนี	ลักษณะโคโลนี
70	ดินร้านส้มตำปาก ซอยมิตรอนันต์ แขวงถนนนครไชยศรี เขตดุสิต จ.กรุงเทพฯ	PY1			กลม ขาวขุ่น ด้าน นูน
71	ดินเหนียวเปียก โรงงานน้ำตาล วังขนาย จ.ลพบุรี	WP1			กลม ขาวขุ่น ด้าน นูน
72	ฟางละเอียด โรงงานน้ำตาล วังขนาย จ.ลพบุรี	WE3			กลม ขาวขุ่น ด้าน นูน

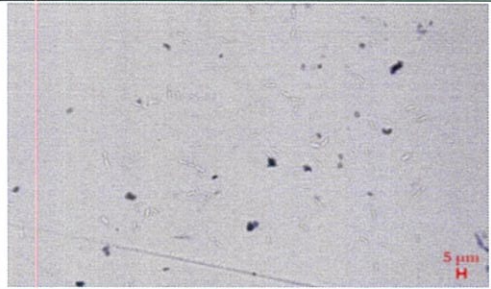
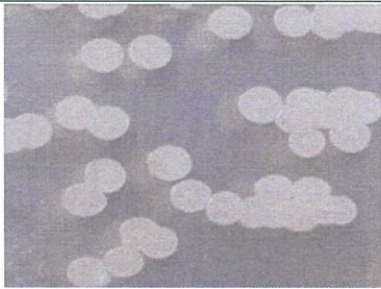
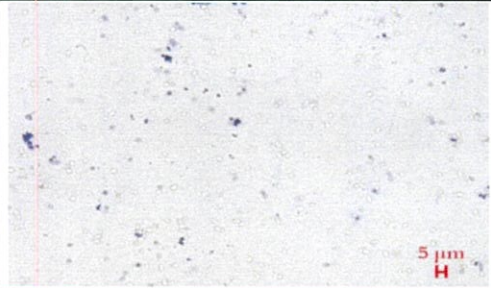
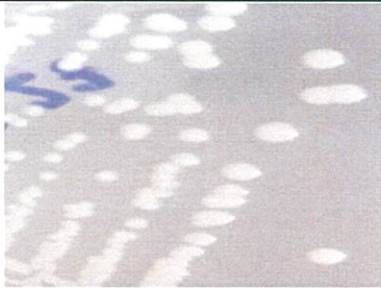
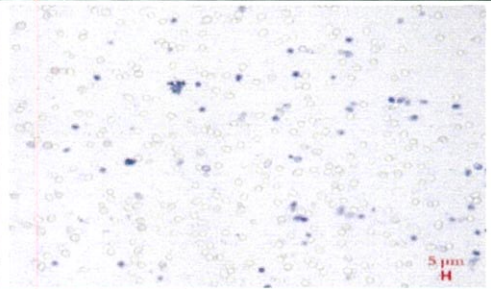

ตารางที่ ค1 (ต่อ) ตารางแสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ของยีสต์ที่แยกได้จากผลไม้ น้ำ และดิน ณ สถานที่ต่างๆภายในประเทศไทย

ลำดับที่	แหล่งตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	รูปภาพเซลล์ กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า	รูปภาพโคโลนี	ลักษณะโคโลนี
73	ดินร้านอาหาร ภิรมพร อ.เมือง จ.เลย	PP2			กลม ขาวขุ่น ด้าน นูน
74	ฟางหยาบ โรงงานน้ำตาล วังขนาย จ.ลพบุรี	WF3			กลม ขาวขุ่น ด้าน แบน
75	ดินหน้าบ้าน ตำบล โปแดงใต้ อ. บางไทร จ. พระนครศรีอยุธยา	DW1 (L10.2E)			กลม ขาวขุ่น ด้าน แบน

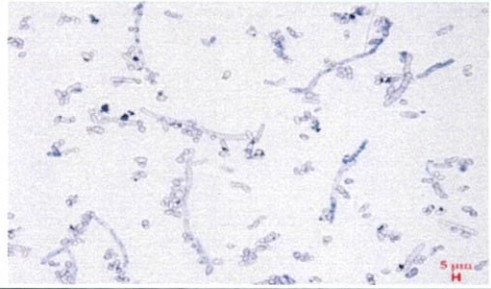

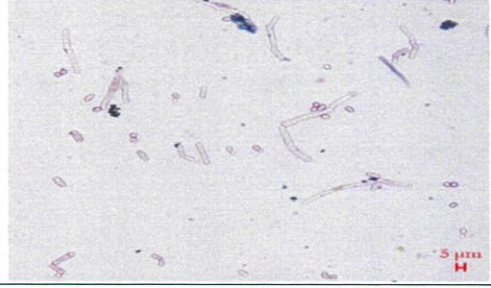



ตารางที่ ค1 (ต่อ) ตารางแสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ของยีสต์ที่แยกได้จากผลไม้ น้ำ และดิน ณ สถานที่ต่างๆภายในประเทศไทย

ลำดับที่	แหล่งตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	รูปภาพเซลล์ กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า	รูปภาพโคโลนี	ลักษณะโคโลนี
76	ดินข้างน้ำ เขื่อนแก่งกระจาน จ. เพชรบุรี	NK5 (L10.1F1)			กลม ขาวขุ่น ด้าน แบน
77	ดินข้างน้ำข้าง ซอยนวมินทร์ 74	SW6			กลม ขาวขุ่น ด้าน แบน
78	ดินข้างร้าน ก๋วยเตี๋ยวเรือ ร.ร. บดินทร์ 2	ND3			กลม ขาวขุ่น ด้าน แบน

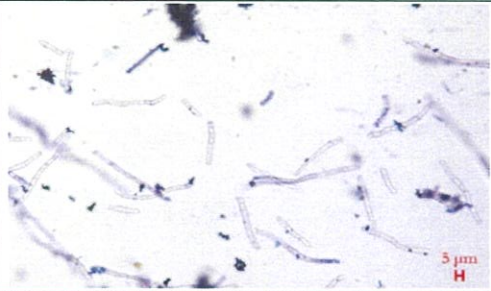
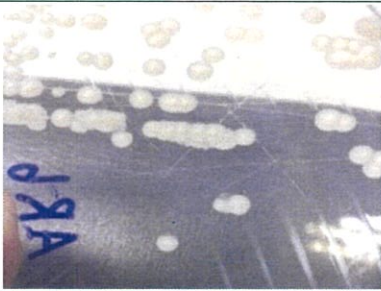
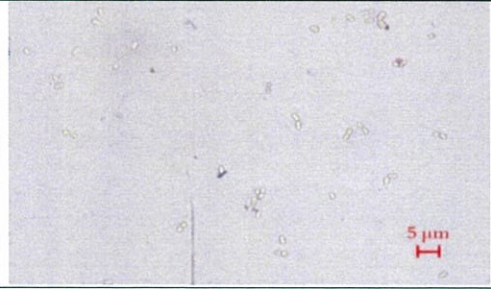

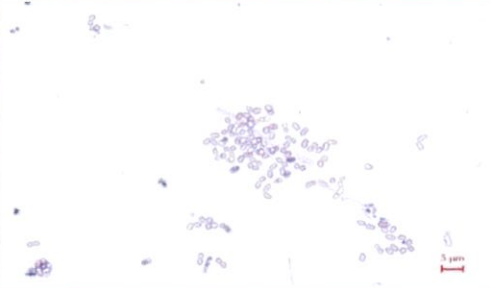
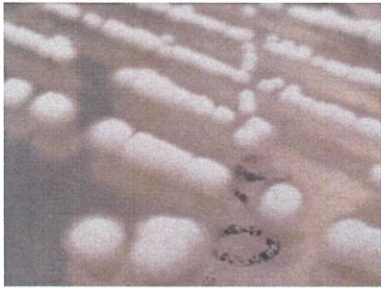
ตารางที่ ค1 (ต่อ) ตารางแสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ของยีสต์ที่แยกได้จากผลไม้ น้ำ และดิน ณ สถานที่ต่างๆภายในประเทศไทย

ลำดับที่	แหล่งตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	รูปภาพเซลล์ กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า	รูปภาพโคโลนี	ลักษณะโคโลนี
79	หินบริเวณรางรถไฟ ลาดกระบัง	S1 (L05.Q1)			กลม ขาวขุ่น ด้าน แบน
80	ดินริมน้ำตกกวางโจว อ.หนองหญ้าปล้อง จ. เพชรบุรี	RS1 (L10.2Z)			กลม ครีမ် เงาม แบน
81	ดินริมน้ำตกกวางโจว อ.หนองหญ้าปล้อง จ. เพชรบุรี	RS2 (L10.3Z)			กลม ครีမ် เงาม นูน

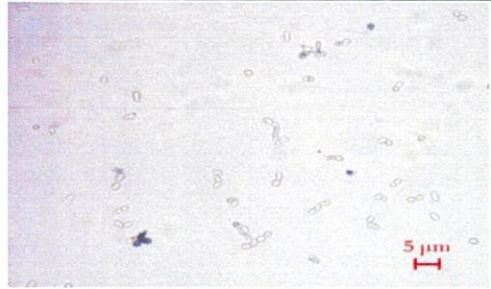


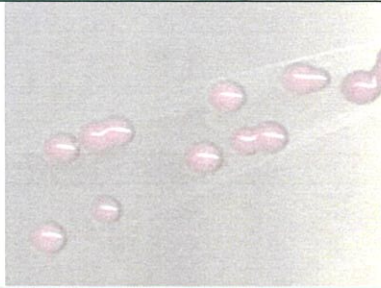
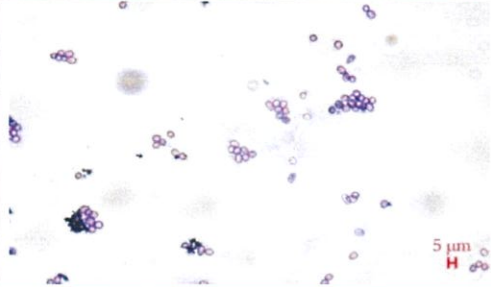
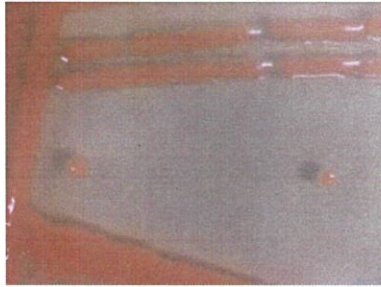
ตารางที่ ค1 (ต่อ) ตารางแสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ของยีสต์ที่แยกได้จากผลไม้ น้ำ และดิน ณ สถานที่ต่างๆภายในประเทศไทย

ลำดับที่	แหล่งตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	รูปภาพเซลล์ กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า	รูปภาพโคโลนี	ลักษณะโคโลนี
82	ดินใต้ต้นไม้ ต. แม่สุ่น อ. ฝาง จ. เชียงใหม่	Y <sub>2</sub> 1			กลม ครีမ် ด้าน นูน
83	ดินเขื่อนป่าสัก ชลสิทธิ์ จ. ลพบุรี	KL1			กลม ครีမ် ด้าน นูน
84	ดินใต้ต้นไม้ข้าง ตึกแอล คณะ เทคโนโลยีเกษตร ลาดกระบัง	AR5			กลม ครีမ် ด้าน นูน

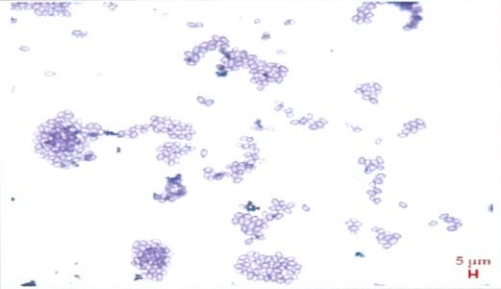
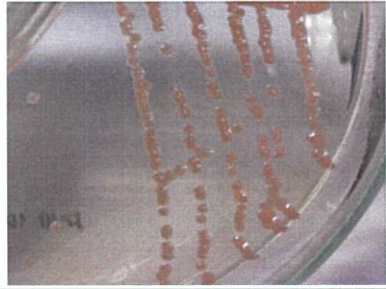
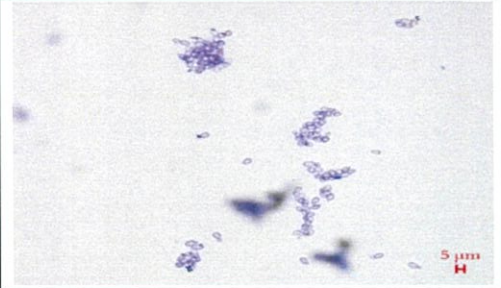
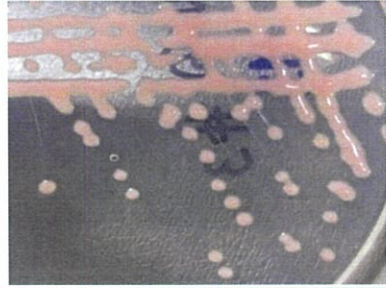
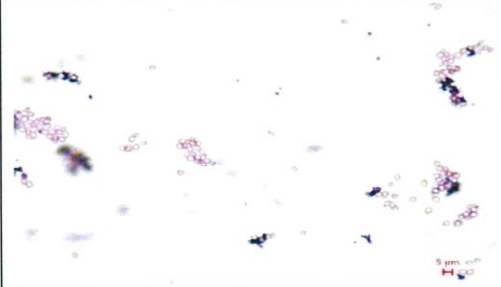
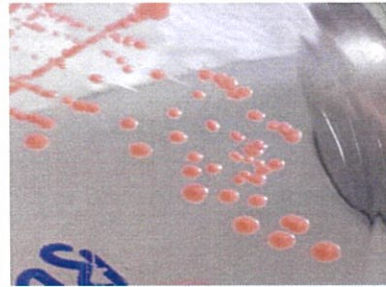
ตารางที่ ค1 (ต่อ) ตารางแสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ของยีสต์ที่แยกได้จากผลไม้ น้ำ และดิน ณ สถานที่ต่างๆภายในประเทศไทย

ลำดับที่	แหล่งตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	รูปภาพเซลล์ กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า	รูปภาพโคโลนี	ลักษณะโคโลนี
85	ดินใต้ต้นไม้ข้าง ตึกแอล คณะ เทคโนโลยีเกษตร ลาดกระบัง	AR6			กลม ครีမ် ด้าน นูน
86	ดินทราย โรงงานน้ำตาล วังขนาย จ.ลพบุรี	WH3			กลม ขาว ด้าน นูน พู
87	ดินทราย โรงงานน้ำตาล วังขนาย จ.ลพบุรี	WH5			กลม ขาว ด้าน นูน พู

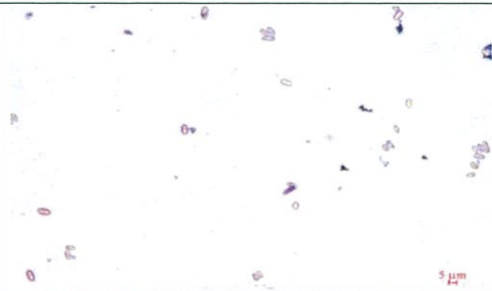
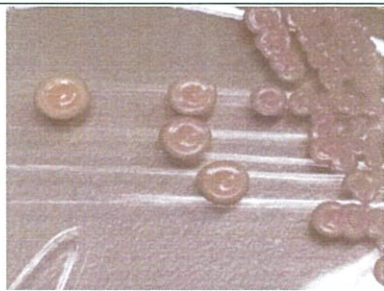
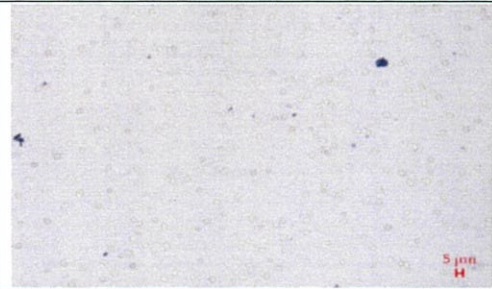


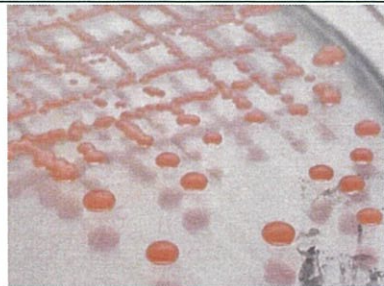
ตารางที่ ค1 (ต่อ) ตารางแสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ของยีสต์ที่แยกได้จากผลไม้ น้ำ และดิน ณ สถานที่ต่างๆภายในประเทศไทย

ลำดับที่	แหล่งตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	รูปภาพเซลล์ กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า	รูปภาพโคโลนี	ลักษณะโคโลนี
88	ฟางหยาบ โรงงานน้ำตาล วังขนาย จ.ลพบุรี	WF4			กลม ขาว ด้าน นูน พู
89	น้ำผึ้ง	H1 (L03.2H)			กลม ชมพู เงาม
90	ดินข้างน้ำ เขื่อนแก่งกระจาน จ. เพชรบุรี	NK1			กลม ชมพู เงาม

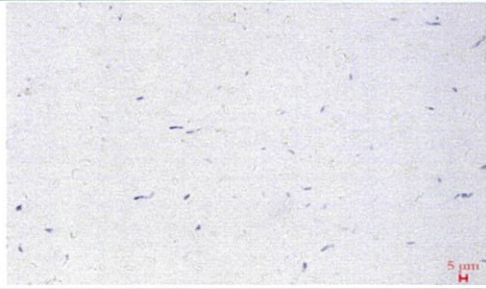
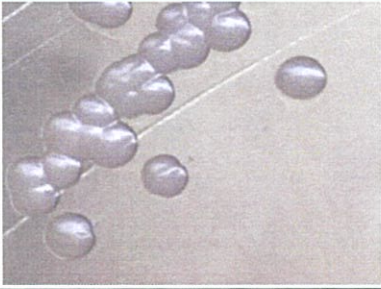
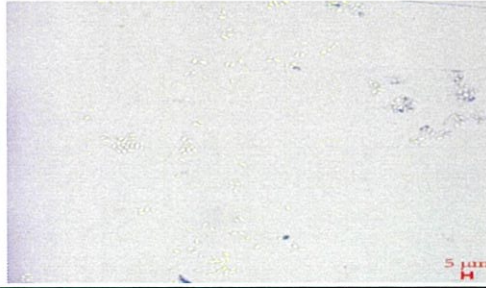


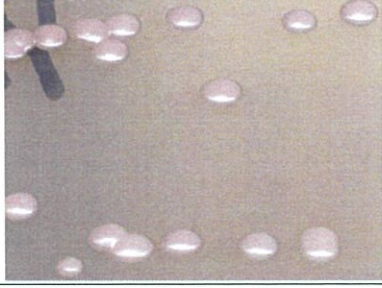
ตารางที่ ค1 (ต่อ) ตารางแสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ของยีสต์ที่แยกได้จากผลไม้ น้ำ และดิน ณ สถานที่ต่างๆภายในประเทศไทย

ลำดับที่	แหล่งตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	รูปภาพเซลล์ กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า	รูปภาพโคโลนี	ลักษณะโคโลนี
91	ดินข้างร้านก๋วยเตี๋ยว หน้าร.ร.บดินทร์2	NB4			กลม ชมพู เงาม
92	ดินข้างร้านนมสด หน้าร.ร.บดินทร์2	M3			กลม ชมพู เงาม
93	ดินบางปู อ. เมือง จ.สมุทรปราการ	BP6			กลม ชมพู เงาม

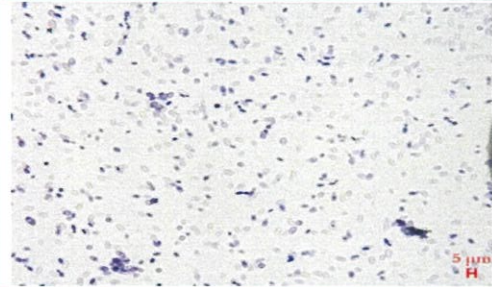
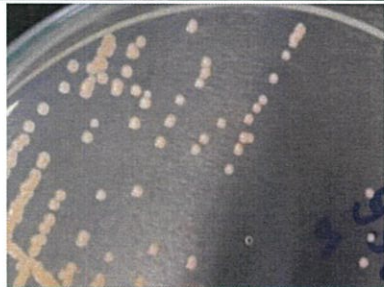
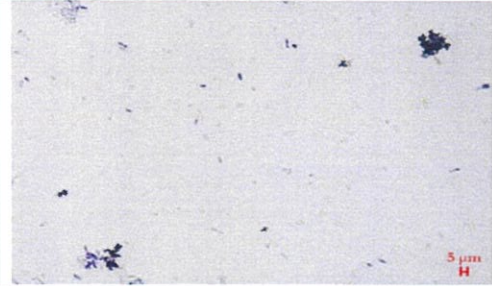

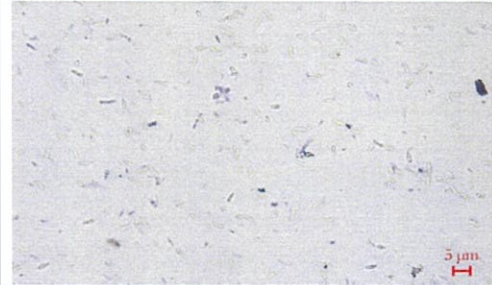
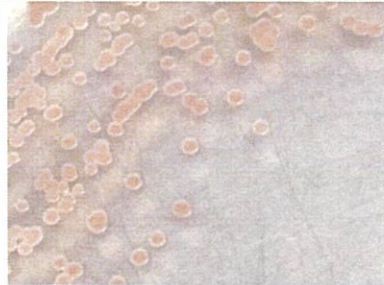
ตารางที่ ค1 (ต่อ) ตารางแสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ของยีสต์ที่แยกได้จากผลไม้ น้ำ และดิน ณ สถานที่ต่างๆภายในประเทศไทย

ลำดับที่	แหล่งตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	รูปภาพเซลล์ กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า	รูปภาพโคโลนี	ลักษณะโคโลนี
94	ดินสวนมะม่วง สวนเกียรติอัมพร อ.แปดริ้ว จ. ฉะเชิงเทรา	MG4			กลม ชมพูอ่อน เงาม
95	ดินหลังครัว ต. แม่สุ่น อ. ฝาง จ. เชียงใหม่	Y <sub>12</sub> (L11.3ย1)			กลม ชมพูอ่อน เงาม นูน
96	ดินทราย โรงงานน้ำตาล วังขนาย จ.ลพบุรี	WH6			กลม ชมพู เงาม แบน

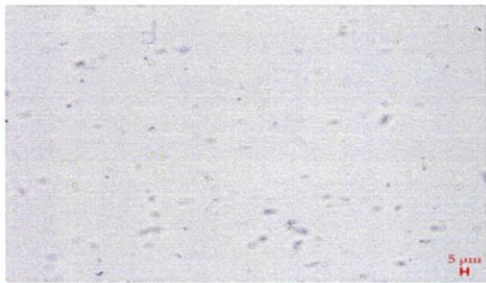
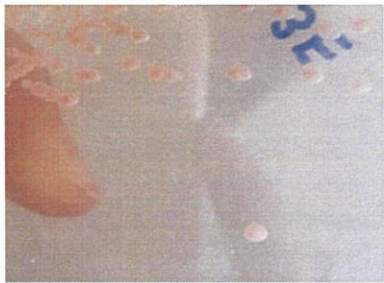
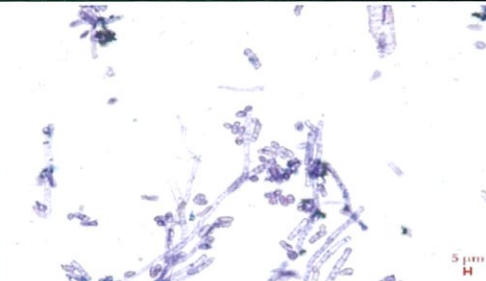

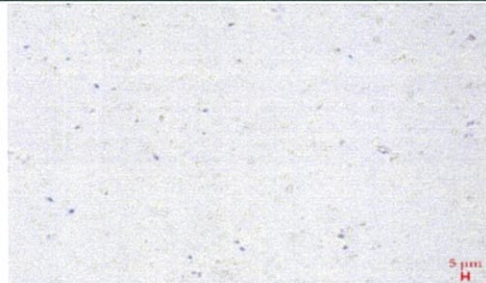

ตารางที่ ค1 (ต่อ) ตารางแสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ของยีสต์ที่แยกได้จากผลไม้ น้ำ และดิน ณ สถานที่ต่างๆภายในประเทศไทย

ลำดับที่	แหล่งตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	รูปภาพเซลล์ กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า	รูปภาพโคโลนี	ลักษณะโคโลนี
97	ดินสถานีรถไฟ พระจอมเกล้า ลาดกระบัง	PJ4 (L05.2J4)			กลม ชมพูจาง เงาม แบน
98	ดินสถานีรถไฟ พระจอมเกล้า ลาดกระบัง	PJ2 (L05.2J2)			กลม ชมพู เงาม แบน
99	ดินทางเชื่อมท่อใน ลาดกระบัง	W3 (L03.3W1)			กลม ชมพู เงาม แบน ขอบขาว

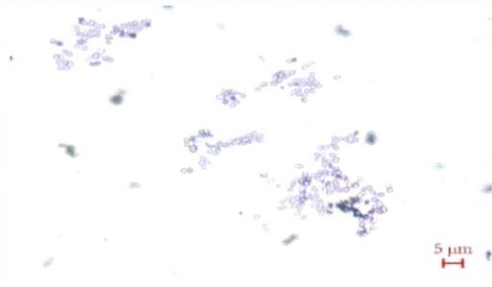
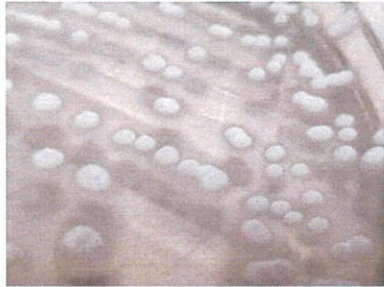
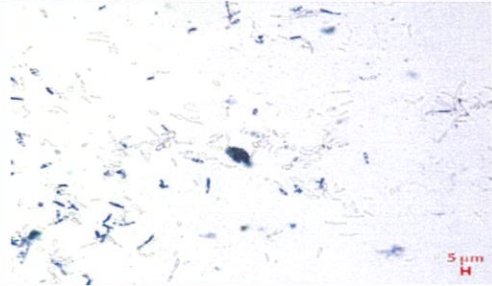
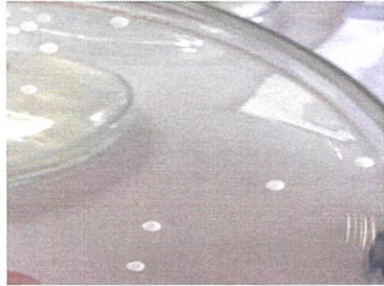
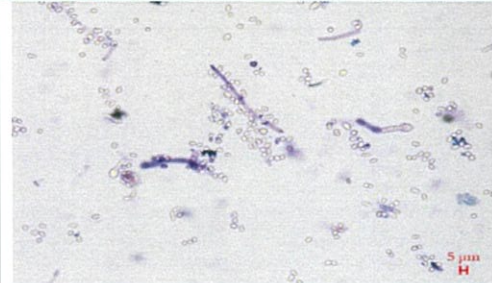

ตารางที่ ค1 (ต่อ) ตารางแสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ของยีสต์ที่แยกได้จากผลไม้ น้ำ และดิน ณ สถานที่ต่างๆภายในประเทศไทย

ลำดับที่	แหล่งตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	รูปภาพเซลล์ กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า	รูปภาพโคโลนี	ลักษณะโคโลนี
100	ดินหมักได้อ้อย	SC1			กลม ชมพู ต้าน
101	ใต้ถุนบ้าน 40/26 รามอินทรา 77 แยก 2 เขตคันทนายาว กทม.	T1 (L12.0ถ)			กลม ชมพู ต้าน
102	ดินทราย โรงงานน้ำตาล วังขนาย จ.ลพบุรี	WH7			ข้างนอกครีม เงาม ข้างในชมพู กลม

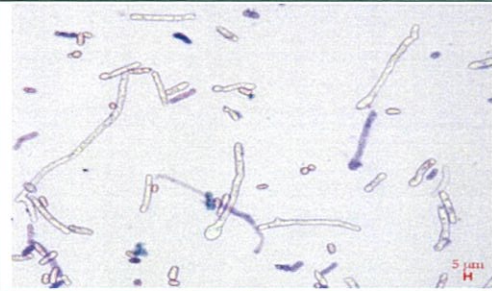
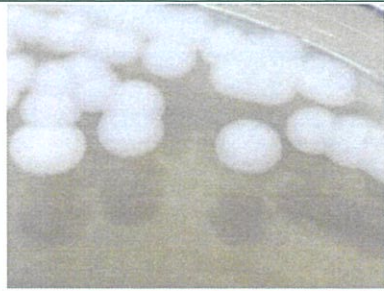
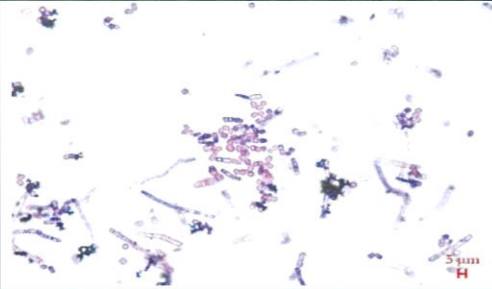



ตารางที่ ค1 (ต่อ) ตารางแสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ของยีสต์ที่แยกได้จากผลไม้ น้ำ และดิน ณ สถานที่ต่างๆภายในประเทศไทย

ลำดับที่	แหล่งตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	รูปภาพเซลล์ กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า	รูปภาพโคโลนี	ลักษณะโคโลนี
103	ดินหน้าบ้าน ตำบล โปแดงใต้ อ. บางไทร จ. พระนครศรีอยุธยา	DW2 (L10.3E)			ข้างนอกครีม เงาม ข้างในชมพู กลม
104	ดินข้างน้ำ เขื่อนแก่งกระจาน จ. เพชรบุรี	NK3 (L10.1F2)			รูปร่างไม่แน่นอน ชมพู เงาม
105	ดินข้างน้ำ เขื่อนแก่งกระจาน จ. เพชรบุรี	NK2 (L10.2F2)			กลม ขาว ด้าน นูน



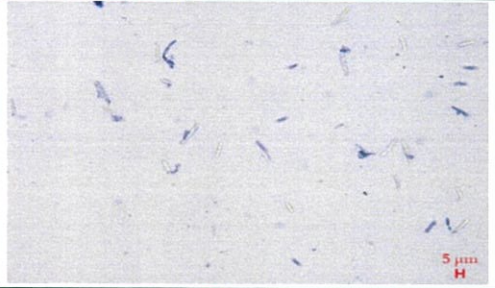

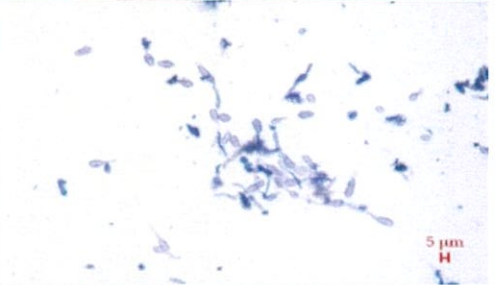
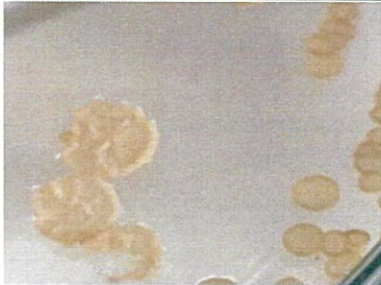
ตารางที่ ค1 (ต่อ) ตารางแสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ของยีสต์ที่แยกได้จากผลไม้ น้ำ และดิน ณ สถานที่ต่างๆภายในประเทศไทย

ลำดับที่	แหล่งตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	รูปภาพเซลล์ กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า	รูปภาพโคโลนี	ลักษณะโคโลนี
106	ดินเหนียวเปียก โรงงานน้ำตาล วังขนาย จ.ลพบุรี	WS2			กลม ขาว ด้าน นูน
107	ดินใต้ต้นไม้ ต. แม่สุ่น อ. ฝาง จ. เชียงใหม่	Y <sub>2</sub> 2			กลม ขาว ด้าน นูน
108	ดินท่อน้ำที่ข้างร้าน ก๋วยเตี๋ยวเรือ ร.ร.บดินทร์ 2	PW1			กลม ขาว ด้าน นูน

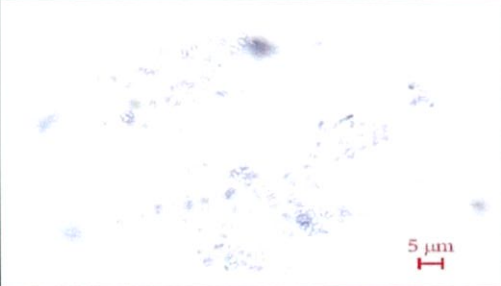



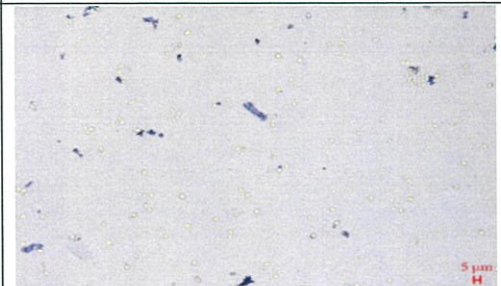
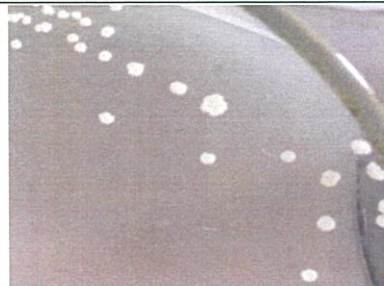
ตารางที่ ค1 (ต่อ) ตารางแสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ของยีสต์ที่แยกได้จากผลไม้ น้ำ และดิน ณ สถานที่ต่างๆภายในประเทศไทย

ลำดับที่	แหล่งตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	รูปภาพเซลล์ กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า	รูปภาพโคโลนี	ลักษณะโคโลนี
109	ดินวัดลาดพร้าว	LP5			กลม ขาว ด้าน นูน
110	ดินข้างร้านนมสด หน้าร.ร.บดินทร์2	M1			กลม ขาว นูน ด้าน
111	ดินใต้ต้นไทรสวน พฤกษชาติ การเคหะ คลองจั่น ถ.นวมินทร์ แขวงนวลจันทร์ เขต บึงกุ่ม จ.กรุงเทพฯ	SI1			กลม ขาวขุ่น ด้าน นูน

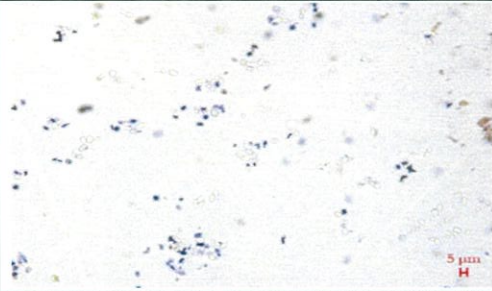
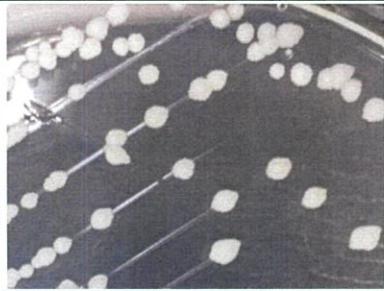
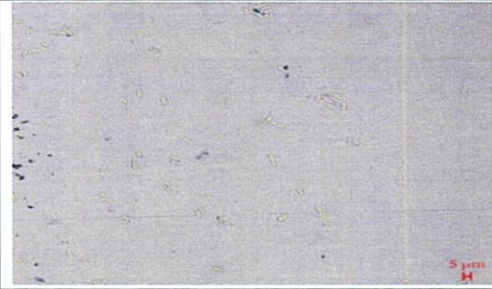
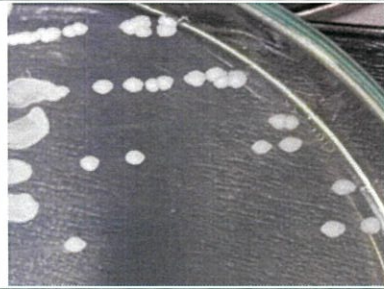
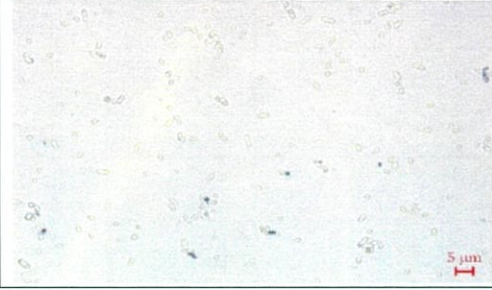

ตารางที่ ค1 (ต่อ) ตารางแสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ของยีสต์ที่แยกได้จากผลไม้ น้ำ และดิน ณ สถานที่ต่างๆภายในประเทศไทย

ลำดับที่	แหล่งตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	รูปภาพเซลล์ กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า	รูปภาพโคโลนี	ลักษณะโคโลนี
112	ดินเขื่อนป่าสัก ชลสิทธิ์ จ. ลพบุรี	KL2			กลม ขาว ด้าน แบน
113	น้ำพุร้อนฝาง อ. ฝาง จ. เชียงใหม่	Y <sub>3</sub> 2			กลม ครีမ် แบน
114	ดินหลังครัว ต. แม่สุ่น อ. ฝาง จ. เชียงใหม่	Y <sub>1</sub> (L11.2ย1)			รูปร่างไม่แน่นอน ครีမ် ด้าน แบน

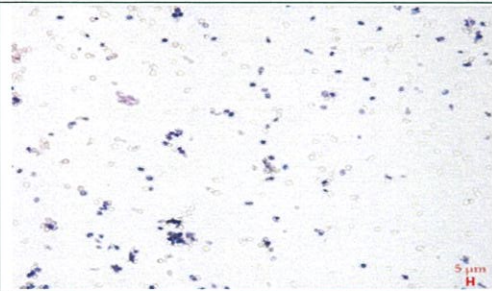

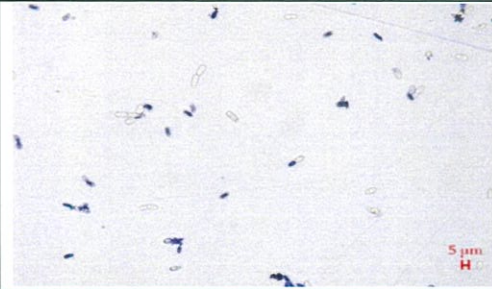

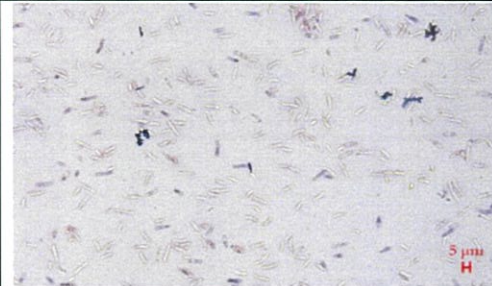

ตารางที่ ค1 (ต่อ) ตารางแสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ของยีสต์ที่แยกได้จากผลไม้ น้ำ และดิน ณ สถานที่ต่างๆภายในประเทศไทย

ลำดับที่	แหล่งตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	รูปภาพเซลล์ กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า	รูปภาพโคโลนี	ลักษณะโคโลนี
115	ดินเหนียวเปียก โรงงานน้ำตาล วังขนาย จ.ลพบุรี	WP3			รูปร่างไม่เนียนอน ขาว ด้าน
116	องุ่น	G2 (L01.4G2)			รูปร่างไม่เนียนอน ขาว ด้าน แบน
117	ดินสวนมะม่วง สวนเกียรดิอัมพร อ.แปดริ้ว จ. ฉะเชิงเทรา	MG3 (L11.2ส3)			รูปร่างไม่เนียนอน ขาว ด้าน แบน

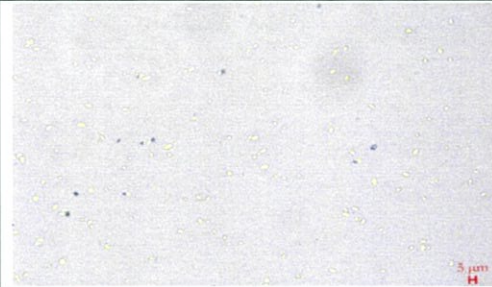

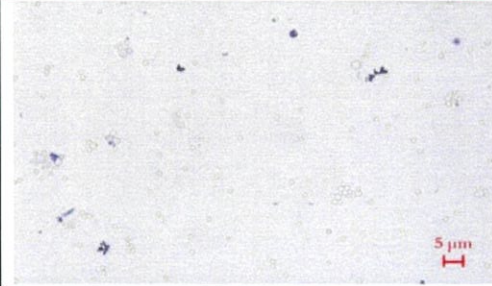
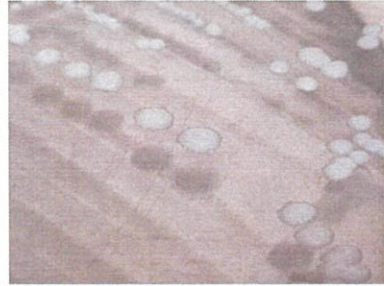
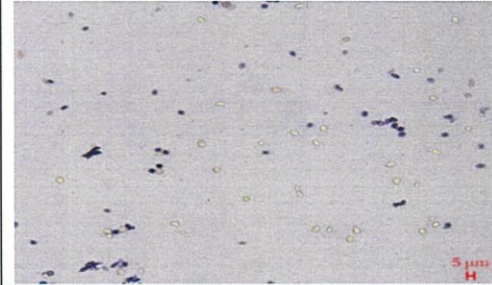
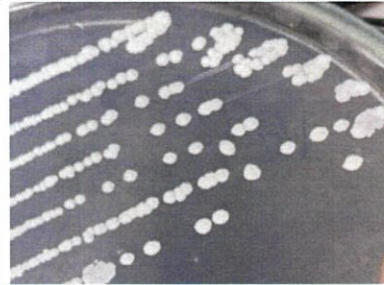
ตารางที่ ค1 (ต่อ) ตารางแสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ของยีสต์ที่แยกได้จากผลไม้ น้ำ และดิน ณ สถานที่ต่างๆภายในประเทศไทย

ลำดับที่	แหล่งตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	รูปภาพเซลล์ กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า	รูปภาพโคโลนี	ลักษณะโคโลนี
118	ดินใต้ต้นไม้ข้าง ตึกแอล คณะ เทคโนโลยีเกษตร ลาดกระบัง	AR3			รูปร่างไม่แน่นอน ขาว ด้าน แบน
119	ดินข้างร้านนมสด หน้าร.ร.บดินทร์2	M4			รูปร่างไม่แน่นอน ขาว ด้าน แบน
120	ดินเหนียวเปียก โรงงานน้ำตาล วังขนาย จ.ลพบุรี	WP6			รูปร่างไม่แน่นอน ขาว ด้าน แบน


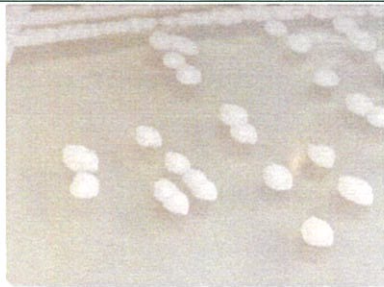
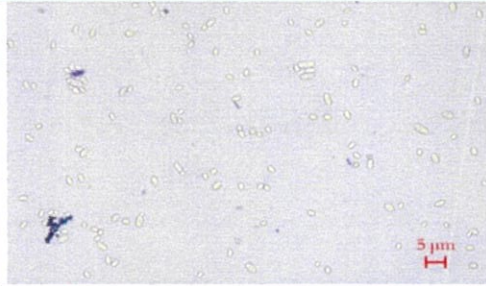

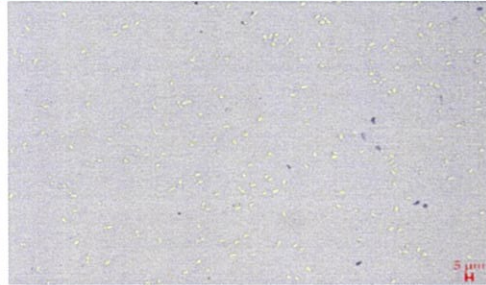
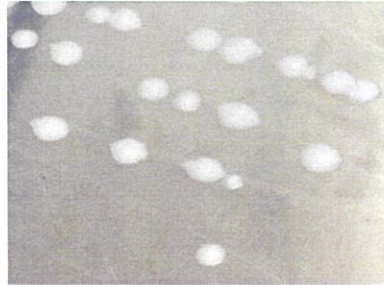
ตารางที่ ค1 (ต่อ) ตารางแสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ของยีสต์ที่แยกได้จากผลไม้ น้ำ และดิน ณ สถานที่ต่างๆภายในประเทศไทย

ลำดับที่	แหล่งตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	รูปภาพเซลล์ กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า	รูปภาพโคโลนี	ลักษณะโคโลนี
121	ดินใต้ต้นไม้ข้าง ตึกแอล คณะ เทคโนโลยีเกษตร ลาดกระบัง	AR4			รูปร่างไม่แน่นอน ขาว ด้าน แบน
122	น้ำปุ๋ยหมัก	PM1			รูปร่างไม่แน่นอน ขาว ด้าน แบน
123	ดินตลาดมีนบุรี	MB1			รูปร่างไม่แน่นอน ขาว ด้าน แบน

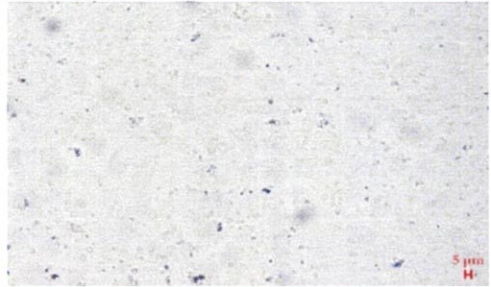
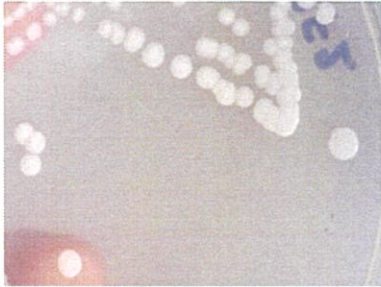
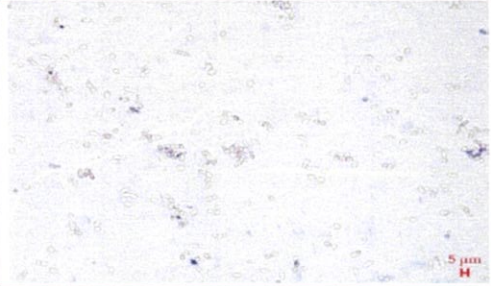
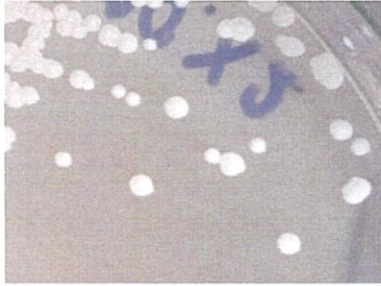
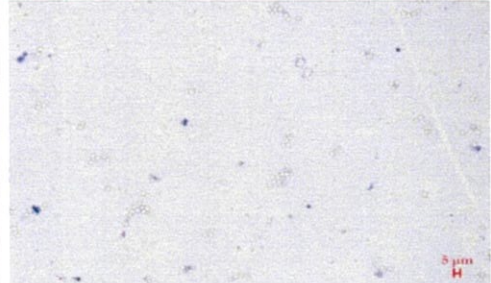
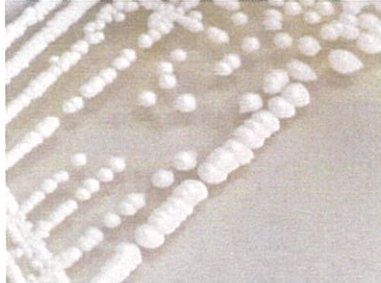
ตารางที่ ค1 (ต่อ) ตารางแสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ของยีสต์ที่แยกได้จากผลไม้ น้ำ และดิน ณ สถานที่ต่างๆภายในประเทศไทย

ลำดับที่	แหล่งตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	รูปภาพเซลล์ กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า	รูปภาพโคโลนี	ลักษณะโคโลนี
124	ดินข้างถังขยะหน้า ร.ร.บดินทร์ 2	SB3			รูปร่างไม่แน่นอน ขาว ด้าน แบน
125	ฟางหยาบ โรงงานน้ำตาล วังขนาย จ.ลพบุรี	WF6			รูปร่างไม่แน่นอน เงาม ขาว
126	ดินวัดพระธาตุผา ซ้อนแก้ว จ. เพชรบูรณ์	LK4 (L12.3T4)			รูปร่างไม่แน่นอน ขาวขุ่น ด้าน แบน

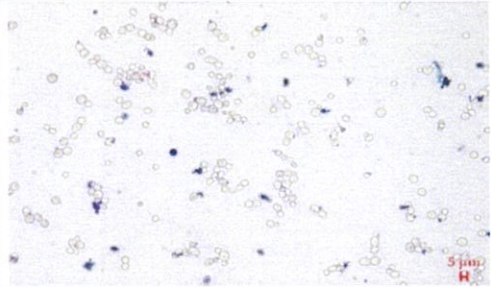
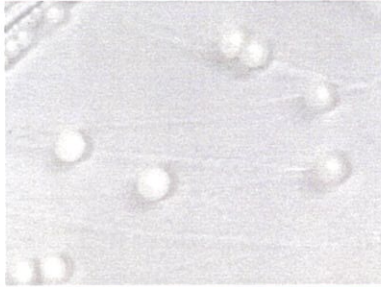
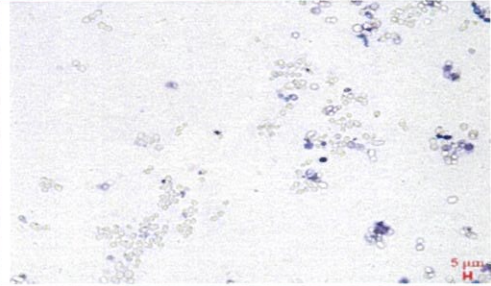
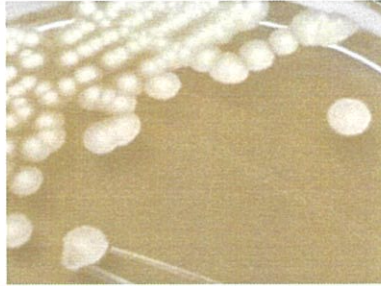
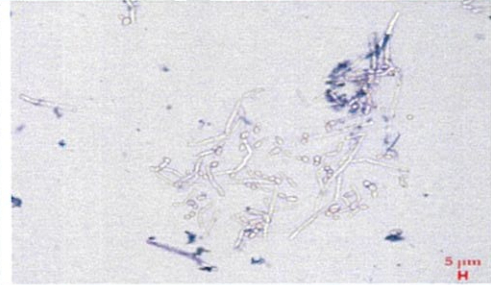
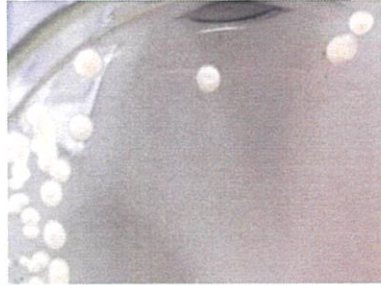
ตารางที่ ค1 (ต่อ) ตารางแสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ของยีสต์ที่แยกได้จากผลไม้ น้ำ และดิน ณ สถานที่ต่างๆภายในประเทศไทย

ลำดับที่	แหล่งตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	รูปภาพเซลล์ กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า	รูปภาพโคโลนี	ลักษณะโคโลนี
127	ดินหลังบ้าน ตำบล โพนแดงใต้ อำเภอ บางไทร จ. พระนครศรีอยุธยา	HF2			รูปร่างไม่แน่นอน ขาวขุ่น ด้าน แบน
128	ดินท่อน้ำคร้ว บ้านเลขที่ 343 ซอย มิตรอนันต์ แขวง ถนนนครไชยศรี เขต ดุสิต จ.กรุงเทพฯ	TK2			รูปร่างไม่แน่นอน ขาว ด้าน นูน
129	ดินทางเชื่อมหอโน ลาดกระบัง	W1 (L03.2W1)			กลม ขาว ด้าน ข้างในนูน

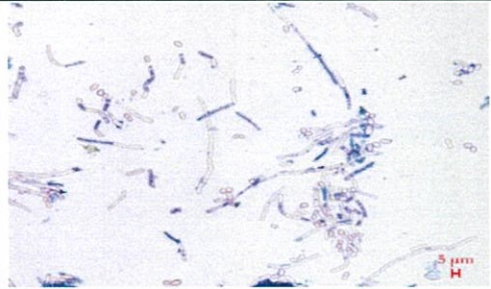


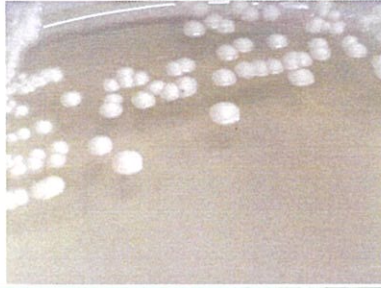


ตารางที่ ค1 (ต่อ) ตารางแสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ของยีสต์ที่แยกได้จากผลไม้ น้ำ และดิน ณ สถานที่ต่างๆภายในประเทศไทย

ลำดับที่	แหล่งตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	รูปภาพเซลล์ กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า	รูปภาพโคโลนี	ลักษณะโคโลนี
130	ดินข้างน้ำ เขื่อนแก่งกระจาน จ. เพชรบุรี	NK4 (L10.0F)			กลม ครีม แบน ข้างในขาว
131	น้ำหมัก	NM2 (L10.X2)			กลม น้ำตาล ด้าน แบน ข้างใน ขาว
132	ดินข้างบ้าน อ. ทับคล้อ จ. พิจิตร	AB1 (L11.2r)			กลม ขาวขุ่น ภายในกลมขาว เงา


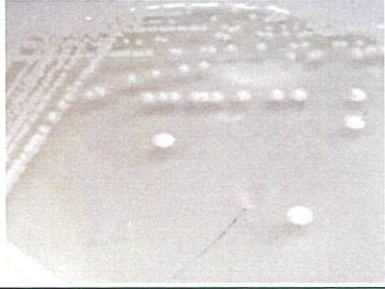


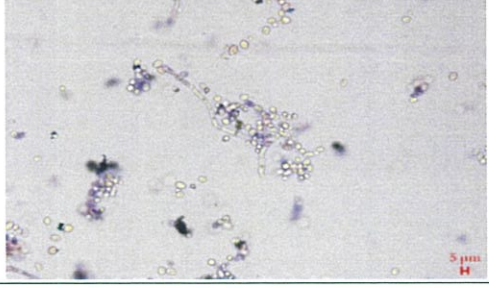

ตารางที่ ค1 (ต่อ) ตารางแสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ของยีสต์ที่แยกได้จากผลไม้ น้ำ และดิน ณ สถานที่ต่างๆภายในประเทศไทย

ลำดับที่	แหล่งตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	รูปภาพเซลล์ กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า	รูปภาพโคโลนี	ลักษณะโคโลนี
133	ดินหลังบ้าน อ. ทับคล้อ จ. พิจิตร	BJ2 (L11.2ท2)			กลม ขาว ชุ่น ด้าน ภายในกลม ขาวนูน
134	ดินหลังบ้าน อ. ทับคล้อ จ. พิจิตร	BJ3 (L11.3ท2)			กลม ขาว ชุ่น ด้าน ภายในสีขา วแบน
135	ดินหลังบ้าน อ. ทับคล้อ จ. พิจิตร	BJ4 (L11.3ท3)			กลม ขาว ด้าน ภายในกลมขาว นูน

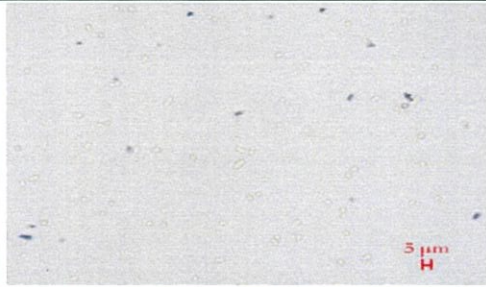
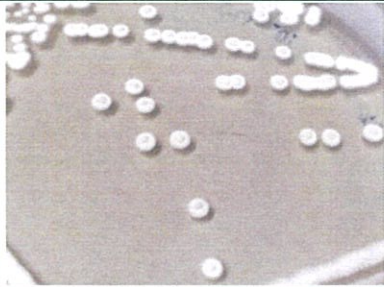
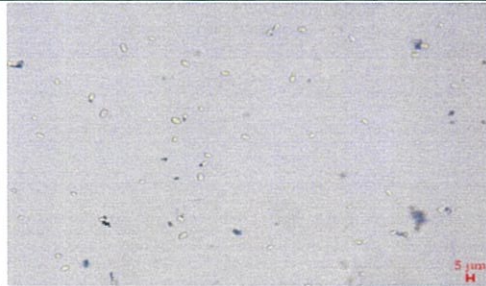
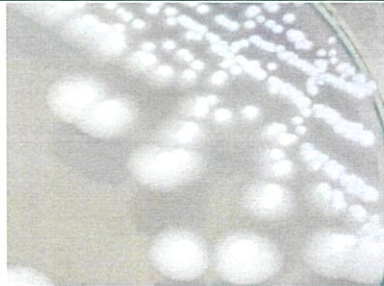
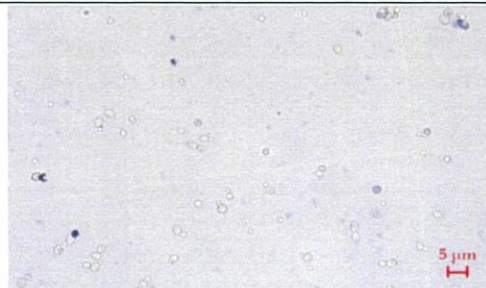
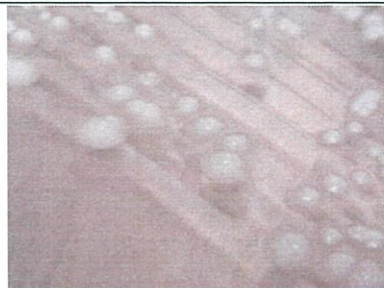
ตารางที่ ค1 (ต่อ) ตารางแสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ของยีสต์ที่แยกได้จากผลไม้ น้ำ และดิน ณ สถานที่ต่างๆภายในประเทศไทย

ลำดับที่	แหล่งตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	รูปภาพเซลล์ กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า	รูปภาพโคโลนี	ลักษณะโคโลนี
136	ดินข้างทางลพบุรี กม.142 อ.ชัยบาดาล	TL1			กลม ขาว ด้าน ภายในกลมขาว นูน
137	ดินหลังบ้าน ตำบล โพนแดงใต้ อ. บางไทร จ. พระนครศรีอยุธยา	HF1			กลม ขาวขุ่น ภายในกลมขาว เงา
138	ดินแปลงเกษตร ข้างบ่อบัวคณะ เทคโนโลยีเกษตร ลาดกระบัง	PK4			กลม ขาวขุ่น ภายในกลมขาว เงา

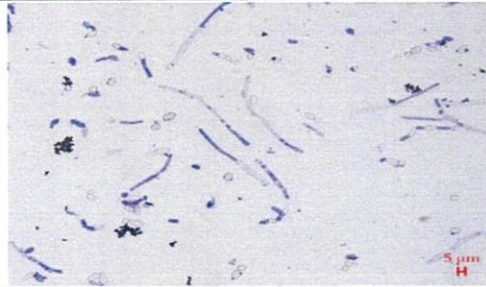
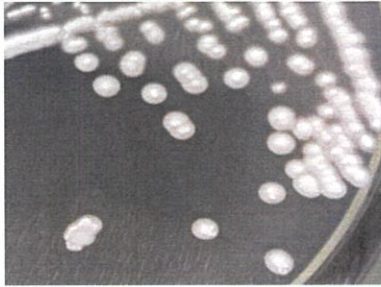
ตารางที่ ค1 (ต่อ) ตารางแสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ของยีสต์ที่แยกได้จากผลไม้ น้ำ และดิน ณ สถานที่ต่างๆภายในประเทศไทย

ลำดับที่	แหล่งตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	รูปภาพเซลล์ กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า	รูปภาพโคโลนี	ลักษณะโคโลนี
139	ดินวัดลาดพร้าว	LP2			กลม ขาวขุ่น ภายในกลมขาว ด้าน
140	ดินข้างร้าน ก๋วยเตี๋ยวเรือ ร.ร. บดินทร์ 2	ND1			กลม ขาวขุ่น ภายในกลมขาว ด้าน
141	ดินข้างร้าน ก๋วยเตี๋ยวเรือ ร.ร. บดินทร์ 2	ND2			กลม ขาว ด้าน ภายในนูน

ตารางที่ ค1 (ต่อ) ตารางแสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ของยีสต์ที่แยกได้จากผลไม้ น้ำ และดิน ณ สถานที่ต่างๆภายในประเทศไทย

ลำดับที่	แหล่งตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	รูปภาพเซลล์ กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า	รูปภาพโคโลนี	ลักษณะโคโลนี
142	น้ำขัง ซอยนวมินทร์ 74	WA1			กลม ขาว ด้าน ภายในนูน
143	น้ำขัง ซอยนวมินทร์ 74	WA3			กลม ขาวขุ่น ด้าน ภายในกลมขาว นูน เงา
144	ฟางหยาบ โรงงานน้ำตาล วังขนาย จ.ลพบุรี	WF5			กลม ขาวขุ่น ด้าน แบน ภายในเงา

ตารางที่ ค1 (ต่อ) ตารางแสดงลักษณะโคโลนีและลักษณะเซลล์ของยีสต์ที่แยกได้จากผลไม้ น้ำ และดิน ณ สถานที่ต่างๆภายในประเทศไทย

ลำดับที่	แหล่งตัวอย่าง	รหัสเชื้อ	รูปภาพเซลล์ กำลังขยายทั้งหมด 400 เท่า	รูปภาพโคโลนี	ลักษณะโคโลนี
145	ซีเลน 40/26 รามอินทรา 77 แยก 2 เขตคันนายาว	L1 (L12.2ข)			กลม ขาวขุ่น ด้าน ภายในกลมขาว นูน

## ภาคผนวก ง

### การวิเคราะห์การผลิตไขมันภายในเซลล์โดยวิธีวัดค่าการเรืองแสง

#### 1. การวิเคราะห์การผลิตไขมันภายในเซลล์โดยวิธีวัดค่าการเรืองแสง

การวิเคราะห์การผลิตไขมันภายในเซลล์โดยวิธีวัดค่าการเรืองแสงตามวิธีของ Sitepu และคณะ (2012) วัดค่าการเรืองแสงโดยใช้เครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท รุ่น FLUOstar Omega โดยใช้ Excitation wavelength เท่ากับ 544 นาโนเมตรและใช้ Emission wavelength เท่ากับ 590 นาโนเมตร (Brar และคณะ, 2017) เครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลทสามารถอ่านค่าได้ตามตารางที่ ง1

ตารางที่ ง1 แสดงค่าการเรืองแสงที่อ่านได้จากเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลทของยีสต์ที่คัดแยกได้ ค่าการเรืองแสงของ Blank ค่าการเรืองแสงของยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ซึ่งใช้เป็นชุดควบคุม ค่าเฉลี่ยการเรืองแสงของยีสต์ที่คัดแยกได้ ค่าเฉลี่ยการเรืองแสงของ Blank ค่าเฉลี่ยการเรืองแสงของยีสต์ *S. cerevisiae* และค่าการเรืองแสงสัมพัทธ์ (Relative fluorescence unit, RFU)

ไอโซเลต ยีสต์	ค่าการเรืองแสงของยีสต์ที่คัดแยกได้			ค่าเฉลี่ย $\pm$ S.D.	ค่าการเรืองแสงของ Blank			ค่าเฉลี่ย $\pm$ S.D.	ค่าการเรืองแสงของ <i>S. cerevisiae</i>			ค่าเฉลี่ย <i>S. cerevisiae</i> $\pm$ S.D.	ค่าหน่วยเรือง แสงสัมพัทธ์
	1	2	3		1	2	3		1	2	3		
M2	157,489	156,910	161,398	157,199.5 $\pm$ 409.4	90,677	94,954	100,234	92,815.5 $\pm$ 3,024.3	133,456	150,277	156,018	153,147.5 $\pm$ 4,059.5	1.0672
MB	189,469	191,402	203,680	190,435.5 $\pm$ 1,366.8	90,677	94,954	100,234	92,815.5 $\pm$ 3,024.3					1.6181
NK3	244,291	215,124	211,064	213,094.0 $\pm$ 2,870.9	90,677	94,954	100,234	92,815.5 $\pm$ 3,024.3					1.9936
SW2	145,137	143,911	133,384	144,524.0 $\pm$ 866.9	90,677	94,954	100,234	92,815.5 $\pm$ 3,024.3					0.8571
BJ2	138,663	131,936	132,406	132,171.0 $\pm$ 332.3	90,677	94,954	100,234	92,815.5 $\pm$ 3,024.3					0.6523
KW2	151,513	158,710	158,950	158,830.0 $\pm$ 169.7	90,677	94,954	100,234	92,815.5 $\pm$ 3,024.3					1.0942
DW1	120,082	139,362	133,737	136,549.5 $\pm$ 3,977.5	90,677	94,954	100,234	92,815.5 $\pm$ 3,024.3					0.7249
ND1	125,103	114,667	111,252	112,959.5 $\pm$ 2,414.8	90,677	94,954	100,234	92,815.5 $\pm$ 3,024.3					0.3339
KL1	88,521	81,684	84,663	83,173.5 $\pm$ 2,106.5	90,677	94,954	100,234	92,815.5 $\pm$ 3,024.3					-0.1598
LK3	88,954	93,094	92,512	92,803.0 $\pm$ 411.5	90,677	94,954	100,234	92,815.5 $\pm$ 3,024.3					-0.0002
W1	86,105	78,852	68,417	82,478.5 $\pm$ 5,128.7	90,677	94,954	100,234	92,815.5 $\pm$ 3,024.3					-0.1713
M1	71,622	75,528	74,507	75,017.5 $\pm$ 722.0	90,677	94,954	100,234	92,815.5 $\pm$ 3,024.3					-0.2950
PJ2	149,425	151,704	156,353	154,028.5 $\pm$ 3,287.3	150,938	113,885	115,795	114,840.0 $\pm$ 1,350.6					0.6496
BS1	150,994	142,571	142,792	142,681.5 $\pm$ 156.3	150,938	113,885	115,795	114,840.0 $\pm$ 1,350.6					0.4615
Y <sub>1</sub> 1	172,107	156,700	150,168	153,434.0 $\pm$ 4,618.8	150,938	113,885	115,795	114,840.0 $\pm$ 1,350.6					1.0048
Y <sub>3</sub> 2	136,115	142,990	142,114	142,552.0 $\pm$ 619.4	150,938	113,885	115,795	114,840.0 $\pm$ 1,350.6	0.4593				
PP1	184,224	154,771	144,941	149,856.0 $\pm$ 6,950.9	126,458	159,542	169,445	164,493.5 $\pm$ 7,002.5	216,203	202,651	231,408	209,427.0 $\pm$ 9,582.7	-0.3258
PY3	125,086	188,347	175,808	182,077.5 $\pm$ 8,866.4	126,458	159,542	169,445	164,493.5 $\pm$ 7,002.5					0.3913
Y <sub>2</sub> 2	158,433	168,209	108,172	163,321.0 $\pm$ 6,912.7	126,458	159,542	169,445	164,493.5 $\pm$ 7,002.5					-0.0261

ตารางที่ ง1 (ต่อ) แสดงค่าการเรืองแสงที่อ่านได้จากเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลทของยีสต์ที่คัดแยกได้ ค่าการเรืองแสงของ Blank ค่าการเรืองแสงของยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ซึ่งใช้เป็นชุดควบคุม ค่าเฉลี่ยการเรืองแสงของยีสต์ที่คัดแยกได้ ค่าเฉลี่ยการเรืองแสงของ Blank ค่าเฉลี่ยการเรืองแสงของยีสต์ *S. cerevisiae* และค่าการเรืองแสงสัมพัทธ์ (Relative fluorescence unit, RFU)

ไอโซเลต ยีสต์	ค่าการเรืองแสงของยีสต์ที่คัดแยกได้			ค่าเฉลี่ย $\pm$ S.D.	ค่าการเรืองแสงของ Blank			ค่าเฉลี่ย $\pm$ S.D.	ค่าการเรืองแสงของ <i>S. cerevisiae</i>			ค่าเฉลี่ย <i>S. cerevisiae</i> $\pm$ S.D.	ค่าหน่วยเรือง แสงสัมพัทธ์
	1	2	3		1	2	3		1	2	3		
SI	94,573	196,179	192,375	194,277.0 $\pm$ 2,689.8	210,302	110,966	113,079	112,022.5 $\pm$ 1,494.1	216,203	202,651	231,408	209,427.0 $\pm$ 9,582.7	3.0738
TK3	125,401	201,992	203,824	202,908.0 $\pm$ 1,295.4	210,302	110,966	113,079	112,022.5 $\pm$ 1,494.1					3.3963
BN1	181,661	186,244	129,421	183,952.5 $\pm$ 3,240.7	210,302	110,966	113,079	112,022.5 $\pm$ 1,494.1					2.6880
PK4	109,848	128,442	126,625	127,533.5 $\pm$ 1,284.8	210,302	110,966	113,079	112,022.5 $\pm$ 1,494.1					0.5796
CL	201,869	256,642	244,028	250,335.0 $\pm$ 8,919.5	210,302	110,966	113,079	112,022.5 $\pm$ 1,494.1					5.1686
MG1	152,603	125,589	139,012	132,300.5 $\pm$ 9,491.5	210,302	110,966	113,079	112,022.5 $\pm$ 1,494.1					0.7578
HF3	196,999	167,118	175,127	171,122.5 $\pm$ 5,663.2	210,302	110,966	113,079	112,022.5 $\pm$ 1,494.1					2.2085
TK1	197,430	207,934	203,026	205,480.0 $\pm$ 3,470.5	210,302	110,966	113,079	112,022.5 $\pm$ 1,494.1					3.4924
M3	128,914	117,990	228,275	123,452.0 $\pm$ 7,724.4	210,302	110,966	113,079	112,022.5 $\pm$ 1,494.1					0.4271
H	130,384	135,740	209,404	133,062.0 $\pm$ 3,787.3	210,302	110,966	113,079	112,022.5 $\pm$ 1,494.1					0.7862
WP6	133,684	130,274	128,544	129,409.0 $\pm$ 1,223.3	99,080	99,268	102,800	99,174.0 $\pm$ 132.9	141,383	137,348	131,408	139,365.5 $\pm$ 2,853.2	0.7523
WF6	127,202	129,269	128,620	128,944.5 $\pm$ 458.9	99,080	99,268	102,800	99,174.0 $\pm$ 132.9					0.7407
OI4	135,397	131,636	127,916	129,776.0 $\pm$ 2,630.4	99,080	99,268	102,800	99,174.0 $\pm$ 132.9					0.7614
OI6	132,069	141,604	139,060	140,332 $\pm$ 1,798.9	99,080	99,268	102,800	99,174.0 $\pm$ 132.9					1.0241
WH1	157,850	124,531	128,266	126,398.5 $\pm$ 2,641.0	99,080	99,268	102,800	99,174.0 $\pm$ 132.9					0.6774
OI3	164,906	142,840	138,137	140,488.5 $\pm$ 3,325.5	99,080	99,268	102,800	99,174.0 $\pm$ 132.9					1.0279
WS4	128,736	117,712	117,824	117,768.0 $\pm$ 79.2	99,080	99,268	102,800	99,174.0 $\pm$ 132.9					0.4626
WK1	116,867	114,164	112,622	113,393.0 $\pm$ 1,090.4	99,080	99,268	102,800	99,174.0 $\pm$ 132.9					0.3538
WH3	146,194	149,115	151,504	150,309.5 $\pm$ 1,689.3	99,080	99,268	102,800	99,174.0 $\pm$ 132.9					1.2723

ตารางที่ ง1 (ต่อ) แสดงค่าการเรืองแสงที่อ่านได้จากเครื่องอ่านปฏิกิริยาแบบไมโครเพลทของยีสต์ที่คัดแยกได้ ค่าการเรืองแสงของ Blank ค่าการเรืองแสงของยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ซึ่งใช้เป็นชุดควบคุม ค่าเฉลี่ยการเรืองแสงของยีสต์ที่คัดแยกได้ ค่าเฉลี่ยการเรืองแสงของ Blank ค่าเฉลี่ยการเรืองแสงของยีสต์ *S. cerevisiae* และค่าการเรืองแสงสัมพัทธ์ (Relative fluorescence unit, RFU)

ไอโซเลต ยีสต์	ค่าการเรืองแสงของยีสต์ที่คัดแยกได้			ค่าเฉลี่ย $\pm$ S.D.	ค่าการเรืองแสงของ Blank			ค่าเฉลี่ย $\pm$ S.D.	ค่าการเรืองแสงของ <i>S. cerevisiae</i>			ค่าเฉลี่ย <i>S. cerevisiae</i> $\pm$ S.D.	ค่าหน่วยเรือง แสงสัมพัทธ์
	1	2	3		1	2	3		1	2	3		
WF4	163,802	124,867	124,011	124,439.0 $\pm$ 605.3	99,080	99,268	102,800	99,174.0 $\pm$ 132.9	141,383	137,348	131,408	139,365.5 $\pm$ 2,853.2	0.6286
WP1	116,086	116,842	132,092	116,464.0 $\pm$ 534.6	99,080	99,268	102,800	99,174.0 $\pm$ 132.9					0.4302
WE1	111,085	109,608	109,344	109,476.0 $\pm$ 186.7	99,080	99,268	102,800	99,174.0 $\pm$ 132.9					0.2563
WE3	140,866	133,686	133,438	133,562.0 $\pm$ 175.4	102,738	98,766	107,500	100,752.0 $\pm$ 2,808.6					0.8163
OI5	152,062	153,837	159,951	156,894.0 $\pm$ 4,323.3	102,738	98,766	107,500	100,752.0 $\pm$ 2,808.6					1.3969
WP3	129,082	129,363	128,803	129,222.5 $\pm$ 198.7	102,738	98,766	107,500	100,752.0 $\pm$ 2,808.6					0.7084
WP2	164,972	164,423	167,297	164,697.5 $\pm$ 388.2	102,738	98,766	107,500	100,752.0 $\pm$ 2,808.6					1.5910
WS2	189,719	185,118	198,629	187,418.5 $\pm$ 3,253.4	131,147	136,486	121,521	133,816.5 $\pm$ 3,775.2					1.3337
WF2	156,809	161,254	166,110	159,031.5 $\pm$ 3,143.1	131,147	136,486	121,521	133,816.5 $\pm$ 3,775.2					0.6274
AR2	141,372	139,566	112,731	140,469.0 $\pm$ 1,277.0	129,143	131,756	110,316	130,449.5 $\pm$ 1,847.7					140,181
BN2	136,304	125,682	112,560	130,993.0 $\pm$ 7,510.9	129,143	131,756	110,316	130,449.5 $\pm$ 1,847.7	0.8264				
WF3	113,425	114,478	130,611	113,951.5 $\pm$ 744.6	129,143	131,756	110,316	130,449.5 $\pm$ 1,847.7	0.4791				
AB2	98,566	103,339	105,161	104,250.0 $\pm$ 1,288.4	129,143	131,756	110,316	130,449.5 $\pm$ 1,847.7	0.2409				
WH5	104,670	129,952	130,550	130,251.0 $\pm$ 422.9	129,143	131,756	110,316	130,449.5 $\pm$ 1,847.7	0.8113				
WF5	136,780	120,799	122,044	121,421.5 $\pm$ 880.4	129,143	131,756	110,316	130,449.5 $\pm$ 1,847.7	0.6313				
BJ4	126,492	137,330	133,484	135,407.0 $\pm$ 2,719.5	129,143	131,756	110,316	130,449.5 $\pm$ 1,847.7	0.9164				
KP	120,713	121,224	114,824	120,968.5 $\pm$ 361.3	89,590	91,302	95,522	90,446.0 $\pm$ 1,210.6	0.6221				
BS2	150,476	154,276	130,667	152,376.0 $\pm$ 2,687.0	89,590	91,302	95,522	90,446.0 $\pm$ 1,210.6	1.2623				
PM	138,036	137,549	99,268	137,792.5 $\pm$ 344.4	89,590	91,302	95,522	90,446.0 $\pm$ 1,210.6	0.9650				

ตารางที่ ง1 (ต่อ) แสดงค่าการเรืองแสงที่อ่านได้จากเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลทของยีสต์ที่คัดแยกได้ ค่าการเรืองแสงของ Blank ค่าการเรืองแสงของยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ซึ่งใช้เป็นชุดควบคุม ค่าเฉลี่ยการเรืองแสงของยีสต์ที่คัดแยกได้ ค่าเฉลี่ยการเรืองแสงของ Blank ค่าเฉลี่ยการเรืองแสงของยีสต์ *S. cerevisiae* และค่าการเรืองแสงสัมพัทธ์ (Relative fluorescence unit, RFU)

ไอโซเลต ยีสต์	ค่าการเรืองแสงของยีสต์ที่คัดแยกได้			ค่าเฉลี่ย $\pm$ S.D.	ค่าการเรืองแสงของ Blank			ค่าเฉลี่ย $\pm$ S.D.	ค่าการเรืองแสงของ <i>S. cerevisiae</i>			ค่าเฉลี่ย <i>S. cerevisiae</i> $\pm$ S.D.	ค่าหน่วยเรือง แสงสัมพัทธ์
	1	2	3		1	2	3		1	2	3		
AR4	104,423	103,038	100,940	103,730.5 $\pm$ 979.3	89,590	91,302	95,522	90,446.0 $\pm$ 1,210.6	140,181	138,839	143,761	139,510 $\pm$ 948.9373	0.2708
Y <sub>3</sub> 1	105,450	99,523	99,836	99,679.5 $\pm$ 221.3	89,590	91,302	95,522	90,446.0 $\pm$ 1,210.6					0.1882
AR1	113,024	114,850	106,092	113,937.0 $\pm$ 1291.2	89,590	91,302	95,522	90,446.0 $\pm$ 1,210.6					0.4788
WH10	97,491	104,559	109,078	106,818.5 $\pm$ 3195.4	89,590	91,302	95,522	90,446.0 $\pm$ 1,210.6					0.3337
AR3	100,940	104,423	103,038	103,730.5 $\pm$ 979.3	89,590	91,302	95,522	90,446.0 $\pm$ 1,210.6					0.2708
LK1	113,330	108,014	110,633	109,323.5 $\pm$ 1851.9	89,590	91,302	95,522	90,446.0 $\pm$ 1,210.6					0.3848
SW4	187,414	188,686	171,640	188,050.0 $\pm$ 899.4	84,005	86,189	89,104	85,097.0 $\pm$ 1,544.3					143,455
BJ1	189,701	134,799	145,459	140,129.0 $\pm$ 7,537.8	84,005	86,189	89,104	85,097.0 $\pm$ 1,544.3	0.9396				
CM1	195,356	182,889	165,713	189,122.5 $\pm$ 8,815.5	84,005	86,189	89,104	85,097.0 $\pm$ 1,544.3	1.7762				
ND2	206,944	202,035	148,121	204,489.5 $\pm$ 3,471.2	84,005	86,189	89,104	85,097.0 $\pm$ 1,544.3	2.0386				
Y <sub>1</sub> 2	65,764	188,552	171,040	179,796.0 $\pm$ 12,382.9	84,005	86,189	89,104	85,097.0 $\pm$ 1,544.3	1.6169				
PW1	195,377	200,767	181,415	198,072.0 $\pm$ 3,811.3	84,005	86,189	89,104	85,097.0 $\pm$ 1,544.3	1.9290				
ND3	139,085	137,220	223,972	138,152.5 $\pm$ 1,318.8	84,005	86,189	89,104	85,097.0 $\pm$ 1,544.3	0.9059				
UT	131,162	152,370	144,066	148,218.0 $\pm$ 5,871.8	36,415	45,178	65,693	40,796.5 $\pm$ 6,196.4	1.8342				
SC1	134,541	131,434	140,504	132,987.5 $\pm$ 2,197.0	36,415	45,178	65,693	40,796.5 $\pm$ 6,196.4	1.5741				
PW3	185,749	200,899	211,349	206,124.0 $\pm$ 7,389.3	36,415	45,178	65,693	40,796.5 $\pm$ 6,196.4	2.8229				
PW2	40,753	44,175	43,411	43,793.0 $\pm$ 540.2	36,415	45,178	65,693	40,796.5 $\pm$ 6,196.4	0.0512				
SW6	173,310	106,328	102,077	104,202.5 $\pm$ 3,005.9	36,415	45,178	65,693	40,796.5 $\pm$ 6,196.4	1.0826				
W2	80,153	126,141	114,186	120,163.5 $\pm$ 8,453.5	36,415	45,178	65,693	40,796.5 $\pm$ 6,196.4	1.3551				

ตารางที่ ง1 (ต่อ) แสดงค่าการเรืองแสงที่อ่านได้จากเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลทของยีสต์ที่คัดแยกได้ ค่าการเรืองแสงของ Blank ค่าการเรืองแสงของยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ซึ่งใช้เป็นชุดควบคุม ค่าเฉลี่ยการเรืองแสงของยีสต์ที่คัดแยกได้ ค่าเฉลี่ยการเรืองแสงของ Blank ค่าเฉลี่ยการเรืองแสงของยีสต์ *S. cerevisiae* และค่าการเรืองแสงสัมพัทธ์ (Relative fluorescence unit, RFU)

ไอโซเลต ยีสต์	ค่าการเรืองแสงของยีสต์ที่คัดแยกได้			ค่าเฉลี่ย ± S.D.	ค่าการเรืองแสงของ Blank			ค่าเฉลี่ย ± S.D.	ค่าการเรืองแสงของ <i>S. cerevisiae</i>			ค่าเฉลี่ย <i>S. cerevisiae</i> ± S.D.	ค่าหน่วยเรือง แสงสัมพัทธ์
	1	2	3		1	2	3		1	2	3		
BJ3	101,745	170,422	176,878	173,650.0 ± 4,565.1	81,149	91,912	118,634	86,530.5 ± 7,610.6	143,455	143,874	173,127	143,664.5 ± 296.3	1.4875
AB1	132,582	133,935	143,555	133,258.5 ± 956.7	81,149	91,912	118,634	86,530.5 ± 7,610.6					0.7979
NM2	135,070	145,911	140,636	143,273.5 ± 3,730.0	78,252	80,212	73,618	79,232.0 ± 1,385.9	137,889	127,861	124,142	126,001.5 ± 2,629.7	1.3693
T1	255,613	259,439	259,146	259,292.5 ± 207.2	78,252	80,212	73,618	79,232.0 ± 1,385.9					3.8500
PY1	194,187	127,786	129,086	128,436.0 ± 919.2	78,252	80,212	73,618	79,232.0 ± 1,385.9					1.0521
NK1	135,258	129,316	173,260	132,287.0 ± 4,201.7	78,252	80,212	73,618	79,232.0 ± 1,385.9					1.1344
RS2	126,440	124,552	119,926	125,496.0 ± 1,335.0	78,252	80,212	73,618	79,232.0 ± 1,385.9					0.9892
BP3	194,658	164,417	163,188	163,802.5 ± 869.0	78,252	80,212	73,618	79,232.0 ± 1,385.9					1.8082
RS1	259,494	172,963	174,986	173,974.5 ± 1,430.5	78,252	80,212	73,618	79,232.0 ± 1,385.9					2.0257
S1	193,691	182,555	177,202	179,878.5 ± 3,785.1	78,252	80,212	73,618	79,232.0 ± 1,385.9					2.1520
KK1	155,433	116,957	121,486	119,221.5 ± 3,202.5	78,252	80,212	73,618	79,232.0 ± 1,385.9					0.8550
AR5	147,543	137,726	113,734	142,634.5 ± 6,941.7	78,252	80,212	73,618	79,232.0 ± 1,385.9					1.3556
PJ4	199,162	193,536	179,027	196,349.0 ± 3,978.2	78,252	80,212	73,618	79,232.0 ± 1,385.9					2.5041
WH6	205,540	201,934	222,620	203,737.0 ± 2,549.8	78,252	80,212	73,618	79,232.0 ± 1,385.9					2.6621
PJ1	198,073	214,452	213,745	214,098.5 ± 499.9	78,252	80,212	73,618	79,232.0 ± 1,385.9					2.8836
WH7	199,492	207,348	209,126	208,237.0 ± 1,257.2	87,015	83,696	108,145	85,355.5 ± 2,346.9					146,896
F7	114,225	135,884	136,056	135,970.0 ± 121.6	87,015	83,696	108,145	85,355.5 ± 2,346.9	1.2605				
AR6	140,645	136,211	133,862	135,036.5 ± 1,661.0	87,015	83,696	108,145	85,355.5 ± 2,346.9	1.2372				
DW2	240,876	232,238	223,702	227,970.0 ± 6035.9	87,015	83,696	108,145	85,355.5 ± 2,346.9	3.5515				

ตารางที่ ง1 (ต่อ) แสดงค่าการเรืองแสงที่อ่านได้จากเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลทของยีสต์ที่คัดแยกได้ ค่าการเรืองแสงของ Blank ค่าการเรืองแสงของยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ซึ่งใช้เป็นชุดควบคุม ค่าเฉลี่ยการเรืองแสงของยีสต์ที่คัดแยกได้ ค่าเฉลี่ยการเรืองแสงของ Blank ค่าเฉลี่ยการเรืองแสงของยีสต์ *S. cerevisiae* และค่าการเรืองแสงสัมพัทธ์ (Relative fluorescence unit, RFU)

ไอโซเลต ยีสต์	ค่าการเรืองแสงของยีสต์ที่คัดแยกได้			ค่าเฉลี่ย $\pm$ S.D.	ค่าการเรืองแสงของ Blank			ค่าเฉลี่ย $\pm$ S.D.	ค่าการเรืองแสงของ <i>S. cerevisiae</i>			ค่าเฉลี่ย <i>S. cerevisiae</i> $\pm$ S.D.	ค่าหน่วยเรือง แสงสัมพัทธ์
	1	2	3		1	2	3		1	2	3		
NK2	185,426	187,540	181,362	186,483.0 $\pm$ 1,494.8	94,866	100,590	105,360	102,975.0 $\pm$ 3,372.9	141,360	162,702	149,800	145,580.0 $\pm$ 5,968.0	1.9601
KL2	191,587	201,652	203,850	202,751.0 $\pm$ 1,554.2	94,866	100,590	105,360	102,975.0 $\pm$ 3,372.9					2.3419
NB3	155,582	158,432	160,917	157,007.0 $\pm$ 2,015.3	94,866	100,590	105,360	102,975.0 $\pm$ 3,372.9					1.2682
PK3	152,540	156,535	153,527	153,033.5 $\pm$ 697.9	94,866	100,590	105,360	102,975.0 $\pm$ 3,372.9					1.1749
TK2	158,414	166,397	153,345	155,879.5 $\pm$ 3,584.3	94,866	100,590	105,360	102,975.0 $\pm$ 3,372.9					1.2417
PP2	158,518	148,714	152,372	150,543.0 $\pm$ 2,586.6	94,866	100,590	105,360	102,975.0 $\pm$ 3,372.9					1.1165
BP2	184,237	192,987	184,802	184,519.5 $\pm$ 399.5	94,866	100,590	105,360	102,975.0 $\pm$ 3,372.9					1.9140
BP6	173,611	177,057	185,509	175,334.0 $\pm$ 2,436.7	94,866	100,590	105,360	102,975.0 $\pm$ 3,372.9					1.6984
SB4	190,714	190,060	193,049	190,387.0 $\pm$ 462.5	94,866	100,590	105,360	102,975.0 $\pm$ 3,372.9					2.0517
TL	122,251	99,901	100,997	100,449.0 $\pm$ 775.0	71,825	69,228	55,800	70,526.5 $\pm$ 1,836.4					0.7023
NB2	147,674	142,968	138,179	145,321.0 $\pm$ 3,327.7	71,825	69,228	55,800	70,526.5 $\pm$ 1,836.4					1.7555
LK4	119,169	146,602	143,615	145,108.5 $\pm$ 2,112.1	71,825	69,228	55,800	70,526.5 $\pm$ 1,836.4					1.7506
Y <sub>2</sub> 1	141,304	152,341	149,083	150,712.0 $\pm$ 2,303.8	71,825	69,228	55,800	70,526.5 $\pm$ 1,836.4					1.8821
LK2	203,328	199,936	207,498	201,632.0 $\pm$ 2,398.5	71,825	69,228	55,800	70,526.5 $\pm$ 1,836.4					3.0772
MG3	133,505	140,782	141,268	141,025.0 $\pm$ 343.7	71,825	69,228	55,800	70,526.5 $\pm$ 1,836.4					1.6547
PK1	136,582	110,926	135,321	135,951.5 $\pm$ 891.7	88,392	72,488	73,778	73,133.0 $\pm$ 912.2	1.4744				
KT3	154,781	181,762	155,488	155,134.5 $\pm$ 499.9	104,843	92,334	93,583	92,958.5 $\pm$ 883.2	217,192	163,798	159,234	161,516.0 $\pm$ 3,227.2	0.9069
KT2	183,702	197,384	180,538	182,120.0 $\pm$ 2,237.3	104,843	92,334	93,583	92,958.5 $\pm$ 883.2					1.3005
SL3	172,499	161,240	157,870	159,555.0 $\pm$ 2,383.0	104,843	92,334	93,583	92,958.5 $\pm$ 883.2					0.9714

ตารางที่ ง1 (ต่อ) แสดงค่าการเรืองแสงที่อ่านได้จากเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลทของยีสต์ที่คัดแยกได้ ค่าการเรืองแสงของ Blank ค่าการเรืองแสงของยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ซึ่งใช้เป็นชุดควบคุม ค่าเฉลี่ยการเรืองแสงของยีสต์ที่คัดแยกได้ ค่าเฉลี่ยการเรืองแสงของ Blank ค่าเฉลี่ยการเรืองแสงของยีสต์ *S. cerevisiae* และค่าการเรืองแสงสัมพัทธ์ (Relative fluorescence unit, RFU)

ไอโซเลต ยีสต์	ค่าการเรืองแสงของยีสต์ที่คัดแยกได้			ค่าเฉลี่ย $\pm$ S.D.	ค่าการเรืองแสงของ Blank			ค่าเฉลี่ย $\pm$ S.D.	ค่าการเรืองแสงของ <i>S. cerevisiae</i>			ค่าเฉลี่ย <i>S. cerevisiae</i> $\pm$ S.D.	ค่าหน่วยเรือง แสงสัมพัทธ์
	1	2	3		1	2	3		1	2	3		
HF1	165,794	137,084	129,471	133,277.5 $\pm$ 5,383.2	104,843	92,334	93,583	92,958.5 $\pm$ 883.2	217,192	163,798	159,234	161,516.0 $\pm$ 3,227.2	0.5881
HF2	149,920	168,571	174,679	171,625.0 $\pm$ 4,319.0	104,843	92,334	93,583	92,958.5 $\pm$ 883.2					1.1475
WA2	141,594	154,281	170,976	147,937.5 $\pm$ 8,971.1	104,843	92,334	93,583	92,958.5 $\pm$ 883.2					0.8019
K2	159,503	142,985	148,005	145,495.0 $\pm$ 3,549.7	104,843	92,334	93,583	92,958.5 $\pm$ 883.2					0.7663
K1	140,698	137,096	133,671	135,383.5 $\pm$ 2,421.8	104,843	92,334	93,583	92,958.5 $\pm$ 883.2					0.6188
W3	125,299	150,698	144,320	147,509.0 $\pm$ 4,509.9	104,843	92,334	93,583	92,958.5 $\pm$ 883.2					0.7957
WA1	150,763	127,827	132,191	130,009.0 $\pm$ 3,085.8	104,843	92,334	93,583	92,958.5 $\pm$ 883.2					0.5404
SL1	105,328	117,565	126,986	122,275.5 $\pm$ 6,661.7	104,843	92,334	93,583	92,958.5 $\pm$ 883.2					0.4276
LP2	131,315	137,027	117,928	134,171.0 $\pm$ 4,039.0	104,843	92,334	93,583	92,958.5 $\pm$ 883.2					0.6011
NB4	122,353	122,967	106,540	122,660.0 $\pm$ 434.2	104,843	92,334	93,583	92,958.5 $\pm$ 883.2					0.4332
MG4	208,409	208,882	219,748	208,645.5 $\pm$ 334.5	94,933	83,823	85,058	84,440.5 $\pm$ 873.3					1.8117
PW4	169,611	163,844	163,822	163,833.0 $\pm$ 15.6	94,933	83,823	85,058	84,440.5 $\pm$ 873.3					1.1580
LP1	170,064	168,710	168,487	168,598.5 $\pm$ 157.7	94,933	83,823	85,058	84,440.5 $\pm$ 873.3					1.2276
KK2	230,710	210,490	210,664	210,577.0 $\pm$ 123.0	94,933	83,823	85,058	84,440.5 $\pm$ 873.3					1.8399
NK4	168,054	171,011	171,883	171,447.0 $\pm$ 616.6	94,933	83,823	85,058	84,440.5 $\pm$ 873.3					1.2691
NK5	173,918	175,578	190,544	17,474.0 $\pm$ 1,173.8	84,748	86,184	73,224	85,466.0 $\pm$ 1,015.4	161,714	139,710	141,690	140,700.0 $\pm$ 1,400.1	1.6164
F4	161,827	160,547	190,899	161,187.0 $\pm$ 905.1	84,748	86,184	73,224	85,466.0 $\pm$ 1,015.4					1.3709
WA3	154,206	148,357	145,195	146,776.0 $\pm$ 2,235.9	84,748	86,184	73,224	85,466.0 $\pm$ 1,015.4					1.1100
PJ6	140,754	136,069	136,522	136,295.5 $\pm$ 320.3	84,748	86,184	73,224	85,466.0 $\pm$ 1,015.4					0.9203

ตารางที่ ง1 (ต่อ) แสดงค่าการเรืองแสงที่อ่านได้จากเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลทของยีสต์ที่คัดแยกได้ ค่าการเรืองแสงของ Blank ค่าการเรืองแสงของยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ซึ่งใช้เป็นชุดควบคุม ค่าเฉลี่ยการเรืองแสงของยีสต์ที่คัดแยกได้ ค่าเฉลี่ยการเรืองแสงของ Blank ค่าเฉลี่ยการเรืองแสงของยีสต์ *S. cerevisiae* และค่าการเรืองแสงสัมพัทธ์ (Relative fluorescence unit, RFU)

ไอโซเลต ยีสต์	ค่าการเรืองแสงของยีสต์ที่คัดแยกได้			ค่าเฉลี่ย $\pm$ S.D.	ค่าการเรืองแสงของ Blank			ค่าเฉลี่ย $\pm$ S.D.	ค่าการเรืองแสงของ <i>S. cerevisiae</i>			ค่าเฉลี่ย <i>S. cerevisiae</i> $\pm$ S.D.	ค่าหน่วยเรือง แสงสัมพัทธ์
	1	2	3		1	2	3		1	2	3		
G2	151,782	136,262	136,438	136,350.0 $\pm$ 124.5	84,748	86,184	73,224	85,466.0 $\pm$ 1,015.4	161,714	139,710	141,690	140,700.0 $\pm$ 1,400.1	0.8659
SW1	139,496	148,586	144,567	146,576.5 $\pm$ 2,841.9	84,748	86,184	73,224	85,466.0 $\pm$ 1,015.4					1.0462
M4	131,300	90,485	95,036	92,760.5 $\pm$ 3,218.0	84,748	86,184	73,224	85,466.0 $\pm$ 1,015.4					0.0936
G1	82,402	89,681	91,056	90,368.5 $\pm$ 972.3	84,748	86,184	73,224	85,466.0 $\pm$ 1,015.4					0.0888
SB6	157,622	141,379	144,526	142,952.5 $\pm$ 2,225.3	101,784	95,710	95,288	95,499.0 $\pm$ 298.4					0.8591
SB3	121,115	126,141	128,992	127,566.5 $\pm$ 2,016.0	101,784	95,710	95,288	95,499.0 $\pm$ 298.4					0.5806
L1	134,148	132,999	126,505	133,573.5 $\pm$ 812.5	101,784	95,710	95,288	95,499.0 $\pm$ 298.4					0.6893
F1	111,319	118,072	118,215	118,143.5 $\pm$ 101.1	101,784	95,710	95,288	95,499.0 $\pm$ 298.4					0.4100
G3	97,093	96,504	88,100	96,798.5 $\pm$ 416.5	101,784	95,710	95,288	95,499.0 $\pm$ 298.4					0.0235
SL4	121,624	107,775	104,290	106,032.5 $\pm$ 2,464.3	101,784	95,710	95,288	95,499.0 $\pm$ 298.4					0.1907
G4	112,912	117,736	116,014	116,875.0 $\pm$ 1,217.7	101,784	95,710	95,288	95,499.0 $\pm$ 298.4					0.3871
LP5	119,622	116,545	128,102	118,083.5 $\pm$ 2,175.8	101,784	95,710	95,288	95,499.0 $\pm$ 298.4					0.4089



งานทะเบียนคณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
คำรับรองเล่มโครงการพิเศษ

วันที่ 12 เดือน กรกฎาคม พ.ศ. 2561

ข้าพเจ้า นางสาวพัชฎ์สิตา พิพัฒน์กุลภักดี รหัสประจำตัว 57050860

นางสาวพิชญา เมธากุลวงศ์ รหัสประจำตัว 57050865

นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ภาควิชาชีววิทยา

ขอรับรองว่าโครงการพิเศษ เรื่อง

ชื่อภาษาไทย การคัดแยกยีสต์ที่สะสมไขมันในเซลล์จากแหล่งธรรมชาติในประเทศไทย

ชื่อภาษาอังกฤษ Isolation of oleaginous yeasts from natural resource in Thailand

ปีการศึกษา 2560

เป็นผลงานวิจัยที่มีได้คัดลอกหรือละเมิดลิขสิทธิ์ของผู้อื่นและได้ผ่านการตรวจสอบความซ้ำซ้อนเรียบร้อยแล้ว และได้แนบเอกสารการตรวจสอบการลอกเลียนงานวรรณกรรมที่ตรวจสอบจากเล่มโครงการพิเศษฉบับสมบูรณ์แล้ว

โปรแกรมอักขราวิสุทธิ์ ..... 0.36 ..... %

ลงชื่อ.....พัชฎ์สิตา พิพัฒน์กุลภักดี..... ลงชื่อ.....พิชญา เมธากุลวงศ์.....

(นางสาวพัชฎ์สิตา พิพัฒน์กุลภักดี) (นางสาวพิชญา เมธากุลวงศ์)

นักศึกษา

นักศึกษา

ข้าพเจ้า ผศ.ดร.สมพิศ สอนโยธา อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษ ได้ตรวจสอบโครงการพิเศษของ

นักศึกษาข้างต้นแล้ว ขอรับรองว่าเป็นผลงานวิจัยของนักศึกษาจริงและมีเนื้อหาสมบูรณ์ จึงลงชื่อไว้เป็นหลักฐาน

ลงชื่อ.....ดร.ดว. เรืองงาม..... ลงชื่อ.....ดร.สมพิศ สอนโยธา..... ลงชื่อ.....ดร.อานาวดี ก่ออานันต์.....

(ผศ.ดร.ดว. เรืองงาม)

(ผศ.ดร.สมพิศ สอนโยธา)

(อ.อานาวดี ก่ออานันต์)

ประธานกรรมการ

อาจารย์ที่ปรึกษา

กรรมการ