บทที่ 2

เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 น้ำเสียที่มีไขมันและน้ำมันเป็นองค์ประกอบ

น้ำเสียที่มีไขมันและน้ำมันเป็นองค์ประกอบจะก่อให้เกิดปัญหามลภาวะเช่นเดียวกับน้ำเสียจากแหล่งอื่นๆ โดยจะก่อให้เกิดปัญหาอย่างมากในโรงงานอุตสาหกรรมที่เกี่ยวข้องกับการแปรรูปอาหารและอุตสาหกรรมการผลิตผลิตภัณฑ์ที่มาจากพืชหรือสัตว์ เช่น โรงงานฆ่าสัตว์ โรงงานนมและเนย โรงงานอาหารแช่แข็ง โรงงานอาหารกระป๋อง และโรงงานน้ำมันพืช เป็นต้น ไขมันและน้ำมันที่เกิดจากกระบวนการผลิตจะถูกรวบรวมมายังบ่อรวมน้ำเสีย ขณะเดียวกันไขมันส่วนหนึ่งที่ตกค้างจะเกิดการสะสมตามท่อส่งน้ำเสีย ทำให้ท่อน้ำเสียอุดตันและเป็นปัญหาในกระบวนการบำบัดน้ำเสีย ปัจจุบันโรงงานอุตสาหกรรมส่วนใหญ่จำเป็นต้องสร้างบ่อดักไขมันแยกจากบ่อรวมน้ำเสียในระบบแอกติเวดเต็ดสลัดจ์ ซึ่งบ่อดักไขมันจะมีระบบแยกไขมันออกจากน้ำเสียโดยอาศัยหลักความแตกต่างของความหนาแน่นระหว่างน้ำและไขมัน ไขมันจึงลอยมาสะสมเป็นแผ่นบริเวณผิวน้ำและถูกแยกหรือกวาดออกเพื่อนำไปทิ้งได้ แต่อย่างไรก็ดีวิธีการดังกล่าวยังมีประสิทธิภาพต่ำในการกำจัดไขมันที่อยู่ในรูปแขวนลอยซึ่งเจือปนอยู่ในน้ำเสีย ดังนั้นจึงมีการศึกษาเพื่อหาแนวทางการนำหลักการทางชีวภาพมาใช้ในการกำจัดไขมันเหล่านี้เพื่อให้ได้ระบบที่มีความเหมาะสม มีประสิทธิภาพสูงสุด และก่อให้เกิดประโยชน์ทั้งทางด้านเศรษฐศาสตร์และการบำบัดของเสียด้วย

2.2 ไขมันและกรดไขมัน

ไขมันและน้ำมันในน้ำเสีย หมายถึง ไขมัน น้ำมัน ขี้ผึ้ง น้ำมันสบู่จากแร่ธรรมชาติ (Mineral soap oils) และสารพวกที่ไม่ระเหย (Non volatile) อื่นๆ ที่ละลายน้ำและสามารถสกัดได้ด้วยเฮกเซน ในน้ำเสียชุมชนจะมีไขมันและน้ำมันเป็นส่วนประกอบประมาณร้อยละ 10 ของสารอินทรีย์ทั้งหมด โดยมีน้ำมัน ไขมัน ขี้ผึ้ง และกรดไขมันที่มาจากน้ำมันพืช น้ำมันสัตว์ เนย และเนยเทียมเป็นสารหลัก ไขมันและน้ำมันเหล่านี้จะต้องทำการกำจัดออกก่อนที่น้ำเสียจะเข้าสู่ระบบบำบัดน้ำเสียในขั้นตอนต่อไป โดยน้ำทิ้งภายหลังการบำบัดที่จะปล่อยออกสู่แหล่งน้ำธรรมชาติได้จะต้องเป็นไปตามเกณฑ์มาตรฐานที่กฎหมายกำหนด นั่นคือไม่เกิน 20 มก./ล. สำหรับอาคารประเภท ก ข ค ง และไม่เกิน 100 มก./ล. สำหรับอาคารประเภท จ (ประกาศกระทรวงวิทยาศาสตร์

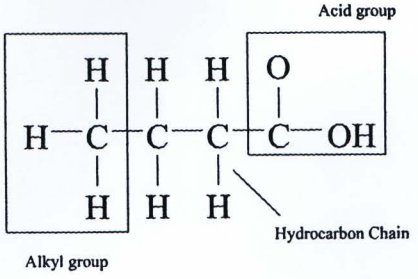
เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม, 2537) และค่ามาตรฐานน้ำทิ้งสำหรับโรงงานอุตสาหกรรมและนิคมอุตสาหกรรมจะกำหนดเกณฑ์สูงสุดสำหรับไขมันและน้ำมันอยู่ในช่วง 5 - 15 มก./ล. โดยใช้กับประเภทของโรงงานอุตสาหกรรม (ประกาศกระทรวงวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม, 2539) ดังตารางแสดงรายละเอียดในภาคผนวก ก.

2.2.1 ไขมัน (Fat)

ไขมันเป็นเอสเทอร์ของกรดไขมันกับกลีเซอรอล เกิดจากหมู่ไฮดรอกซิลของกลีเซอรอลทำปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันกับกรดไขมัน หนึ่ง สอง หรือ สามหมู่ ถ้าหมู่ไฮดรอกซิลของกลีเซอรอลเกิดเอสเทอร์กับกรดไขมันหนึ่งหมู่ เรียกว่า โมโนกลีเซอไรด์ (Monoglyceride) สองหมู่เรียกว่า ไดกลีเซอไรด์ (Diglyceride) และสามหมู่เรียกว่า ไตรกลีเซอไรด์ (Triglyceride) โดยถ้าไดกลีเซอไรด์หรือไตรกลีเซอไรด์ที่เกิดขึ้นประกอบด้วยกรดไขมันต่างชนิดกันจะเรียกว่า กลีเซอไรด์ผสม (Mixed glyceride) ซึ่งไขมันที่มีสถานะธรรมชาติทั่วไปจะมีโครงสร้างประเภทนี้ ไขมันอาจมีสถานะเป็นของแข็งหรือของเหลวที่อุณหภูมิปกติก็ได้ขึ้นอยู่กับจุดหลอมเหลวของไขมันนั้นๆ ไขมันที่มีสถานะเป็นของเหลวที่อุณหภูมิห้องนั้นเรียกว่า น้ำมัน (Oils) เช่น น้ำมันมะกอก (Olive oil) และน้ำมันเมล็ดฝ้าย (Cotton seed oil) เป็นต้น (White, 1968) ส่วนไขมันที่มีสถานะเป็นของแข็งที่อุณหภูมิเดียวกันจะเรียกว่า ไขมัน (Fat) โดยโรงงานทำสบู่ได้จำแนกไขมันออกเป็น 2 ประเภทเมื่อทำการวัดอุณหภูมิ ณ จุดที่ไขมันเริ่มแข็งตัว ถ้าอุณหภูมิสูงกว่า 38 องศาเซลเซียส เรียกว่า ไขมันสัตว์ (Tallow) ถ้าอุณหภูมิต่ำกว่า 38 องศาเซลเซียส เรียกว่า ไขมันชนิดข้น (Grease) โดยไขมันแต่ละชนิดที่มีจุดหลอมเหลวเท่ากันอาจมีปริมาณกรดไขมันอิสระ สี ความชื้น และสารที่ทำปฏิกิริยากับด่างในปริมาณต่างกัน (พันทิพา พงษ์เพียงจันทร์, 2539)

2.2.2 กรดไขมัน (Fatty acid)

กรดไขมันเป็นส่วนประกอบสำคัญของไขมัน โดยทั่วไปจะมีจำนวนคาร์บอนเป็นเลขคู่ตั้งแต่ 4 - 22 อะตอม ไขมันจากสัตว์และพืชจะประกอบด้วยกรดไขมันแตกต่างกัน มีจำนวนคาร์บอนแตกต่างกันหลายชนิด โมเลกุลของกรดไขมันประกอบด้วยสองส่วน คือ ส่วนที่มีขั้วละลายได้ในน้ำ (Hydrophilic group) ได้แก่ หมู่คาร์บอกซิล (-COOH) และส่วนไม่มีขั้วไม่ละลายน้ำ (Hydrophobic group) ได้แก่หมู่อัลคิล (-R) ดังนั้นกรดไขมันจึงมีสูตรทั่วไป คือ R-COOH แสดงดังรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 โครงสร้างทั่วไปของกรดไขมัน
(ที่มา : British Nutrition Foundation)

สำหรับลักษณะของกรดไขมันที่เป็นส่วนประกอบของไขมันพืชและสัตว์ ได้แก่

1) เป็นกรดไขมันที่มีส่วนประกอบเป็นหมู่คาร์บอกซิล 1 หมู่ (Monocarboxylic acid) ส่วนที่เป็นไฮโดรคาร์บอน (Hydrocarbon residue) มีโครงสร้างเป็นสายยาวแตกกิ่งหรือเป็นวงแหวน
2) จำนวนคาร์บอนโมเลกุลของกรดไขมันที่พบในธรรมชาติ ส่วนใหญ่มีคาร์บอนอะตอมเป็นเลขคู่
3) เป็นกรดไขมันชนิดอิ่มตัวและไม่อิ่มตัว

กรดไขมันแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ

1) กรดไขมันอิ่มตัว (Saturated fatty acid) คือกรดไขมันที่มีพันธะระหว่างคาร์บอนเป็นพันธะเดี่ยว ไม่สามารถรับไฮโดรเจนได้อีก กรดไขมันอิ่มตัวทั่วไปมีสูตรคือ $C_nH_{2n}O_2$ เช่น กรดสเตียริก และกรดปาลมิติก เป็นต้น
2) กรดไขมันไม่อิ่มตัว (Unsaturated fatty acid) คือกรดไขมันที่มีพันธะระหว่างคาร์บอนเป็นพันธะคู่ 1 พันธะหรือมากกว่า กรดไขมันประเภทนี้จึงสามารถรับไฮโดรเจนได้อีกและกลายเป็นกรดไขมันอิ่มตัวได้ เช่น กรดปาล์มิโตเลอิก กรดโอเลอิก และกรดลิโลเลนิก เป็นต้น

ไขมันจะประกอบด้วยกรดไขมันหลายชนิดที่มีส่วนประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางฟิสิกส์แตกต่างกัน โดยกรดไขมันที่ปรากฏตามธรรมชาติส่วนใหญ่ประกอบด้วยจำนวนคาร์บอนอะตอมเลขคู่ ถ้าโมเลกุลใหญ่ขึ้นจากการที่มีสายยาวขึ้นจะทำให้จุดหลอมเหลวสูงขึ้น ซึ่งตำแหน่งและจำนวนพันธะคู่มีผลต่อจุดหลอมเหลว ดังแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ตำแหน่งและจำนวนพันธะคู่ที่มีผลต่อจุดหลอมเหลวของไขมัน

จำนวนคาร์บอนอะตอม	กรดไขมัน	จุดหลอมเหลว (องศาเซลเซียส)	แหล่งไขมัน
4	บิวทีริก (Butyric)	-5.3	ไขมันนม
6	คาร์โพรอิก (Carpoic)	-3.2	ไขมันนม
8	คาร์พรีอิก (Carpryic)	16.5	ไขมันนมและน้ำมันเมล็ดปาล์ม
10	คาร์พริก (Carpric)	31.6	น้ำนมแกะและน้ำนมแพะ
12	ลูริก (Lauric)	44.8	น้ำมันมะพร้าว
14	มายริสติก (Myristic)	54.4	น้ำมันปาล์มและน้ำมันมะพร้าว
16	ปาล์มิติก (Palmitic)	69.2	ไขมันสัตว์
18	สเตียริก (Stearic)	70.1	ไขมันสัตว์
20	อะแรชชิดิก (Arachidic)	76.1	ไขมันสัตว์บางชนิด
22	เบเฮนิก (Behenic)	80.0	น้ำมันจากเมล็ดพืช
24	ลิกโนเซอริก (Lignoceric)	84.2	น้ำมันจากเมล็ดพืช
26	เซอโรติก (Cerotic)	87.8	ไขมันพืช
28	มอนตานิก (Montanic)	90.9	ไขมันพืช
30	เมลิสสิก (Melissic)	93.6	ไขมันพืช

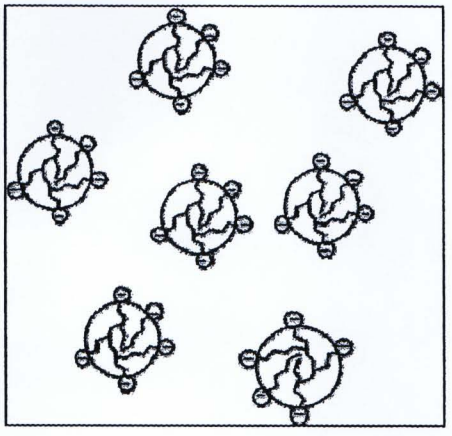
ที่มา : Johnson และ Peterson (1974)

2.2.3 สภาพทางกายภาพของไขมันและน้ำมันในน้ำเสีย

โดยไขมันและน้ำมันจะปะปนอยู่ในน้ำเสียในรูปต่างๆ คือ

1) สารแขวนลอย (Suspended fat or oil) มีเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาคประมาณ 10^{-3} ซม. บางครั้งจะเรียกว่า Catchable fat ซึ่งแยกส่วนออกจากน้ำได้อย่างชัดเจนโดยลอยอยู่บริเวณผิวหน้าน้ำ
2) อีมัลชัน (Emulsified fat or oil) หมายถึง ไขมันที่อยู่ใน Heterogeneous system คืออนุภาคที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 10^{-5} ซม. ที่กระจายอยู่ในน้ำ โดยลักษณะของไขมันที่เป็นอีมัลชันนั้นประกอบไปด้วย 2 ส่วน ได้แก่ ส่วนที่ไม่มีขั้วซึ่งมีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic) จะหันเข้าหากัน และส่วนมีขั้วซึ่งชอบน้ำ (Hydrophilic) จะหันออกสู่ด้านนอกและมีประจุลบอยู่รอบๆ อนุภาค แสดงดังรูปที่ 2.2 ไขมันในรูปนี้จะละลายน้ำได้บางส่วน

3) สารละลาย (Dissolved fat or oil) เป็นพวกกรดไขมันซึ่งประกอบด้วย Oleophilic hydrocarbon chain และ Hydrophilic head group ทำให้ละลายอยู่ในน้ำได้



รูปที่ 2.2 ลักษณะทางกายภาพของไขมันและน้ำมันในสภาพที่เป็นอีมัลชัน
(ที่มา : Chemical Diagram)

โดยส่วนใหญ่แล้วรูปแบบของไขมันและน้ำมันที่พบทั่วไปตามธรรมชาติจะอยู่ในสภาพของสารแขวนลอยเนื่องจากธรรมชาติของไขมันและน้ำมันมีความหนาแน่นน้อยกว่าน้ำ หากมีการเติมอิมัลซิฟายเออร์ซึ่งเป็นสารในกลุ่มที่ช่วยลดแรงตึงผิวเช่น น้ำยาล้างจาน ผงซักฟอก จะทำให้ไขมันและน้ำมันอยู่ในรูปของสารที่เป็นอิมัลชันซึ่งบำบัดได้ยากขึ้น โดยรูปแบบของไขมันและน้ำมันต่างๆ ที่พบนี้จะมีความสำคัญต่อการเลือกแนวทางการบำบัดที่เหมาะสม การกำจัดไขมันและน้ำมันด้วยวิธีการต่างๆ ดังจะได้กล่าวในหัวข้อต่อไป

2.2.4 วิธีการกำจัดไขมันและน้ำมันออกจากน้ำเสีย

การกำจัดไขมันและน้ำมันโดยการแยกออกจากน้ำเสียนั้นสามารถทำได้หลายวิธี ได้แก่ วิธีการทางกายภาพ วิธีการทางเคมี และวิธีการทางชีวภาพ ซึ่งการที่จะเลือกวิธีใดนั้นขึ้นกับองค์ประกอบหลายๆ ประการ เช่น ปริมาณ สภาพ และชนิดของไขมันและน้ำมัน เป็นต้น

2.2.4.1 วิธีการทางกายภาพ (Physical method)

เป็นวิธีที่ได้รับความนิยมใช้กันมากและแพร่หลาย เนื่องจากทำได้รวดเร็ว ค่าใช้จ่ายในการดำเนินการต่ำและกระบวนการไม่ซับซ้อน แต่ทั้งนี้จะขึ้นกับคุณสมบัติทางด้านกายภาพของไขมันและน้ำมันซึ่งแตกต่างกันไปตามแหล่งกำเนิดและขนาดโมเลกุล โดยไขมันชนิดที่มีโมเลกุลใหญ่ระยะเวลาเก็บกักน้อยจะสามารถแยกชั้นได้รวดเร็ว อาจใช้ถังดักไขมัน

และน้ำมันในการกำจัด แต่ถ้าอยู่ในรูปโมเลกุลขนาดเล็ก เช่นคอลลอยด์หรืออีมัลชัน ซึ่งโมเลกุลมีขนาดใกล้เคียงกับโมเลกุลของน้ำหรือเล็กกว่าทำให้แยกออกมาได้ยาก จึงต้องใช้กรรมวิธีอื่น เช่น วิธีการใช้อากาศเป่าลงไปในน้ำเสีย (Air floatation) ซึ่งเป็นวิธีทางกายภาพอีกวิธีหนึ่งที่ใช้ได้กับไขมันและน้ำมันทุกชนิด โดยเฉพาะที่มีโมเลกุลขนาดเล็กและความหนาแน่นน้อย การเป่าอากาศลงไปในน้ำเสียจะเป็นการแยกน้ำมันออกจากน้ำโดยอัดอากาศให้เป็นฟองขนาดเล็กๆ ฟองเหล่านี้จะเป็นตัวช่วยยก พา และแยกโมเลกุลของไขมันและน้ำมันออกจากน้ำเสีย (วิทยา อยู่สุข, 2537)

2.2.4.2 วิธีการทางเคมี (Chemical method)

สามารถทำได้โดยการเติมสารเคมี เช่น คลอรีน ในถังตกตะกอนแรกหรือถังเติมอากาศโดยมีความเข้มข้นทั่วไป 2 - 5 มก./ล. แต่วิธีนี้มักไม่ค่อยได้รับความนิยมเพราะจะก่อให้เกิดการตกค้างของสารเคมีในระบบ และยังไม่เหมาะกับระบบบำบัดน้ำเสียแบบเลี้ยงตะกอนเพราะสารเคมีจะไปทำลายจุลินทรีย์ในระบบ

2.2.4.3 วิธีการทางชีวภาพ (Biological method)

เป็นการใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์ในการย่อยสลายไขมันและน้ำมัน เพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานในการเจริญเติบโต โดยวิธีการนี้สามารถทำได้ 2 วิธีคือ

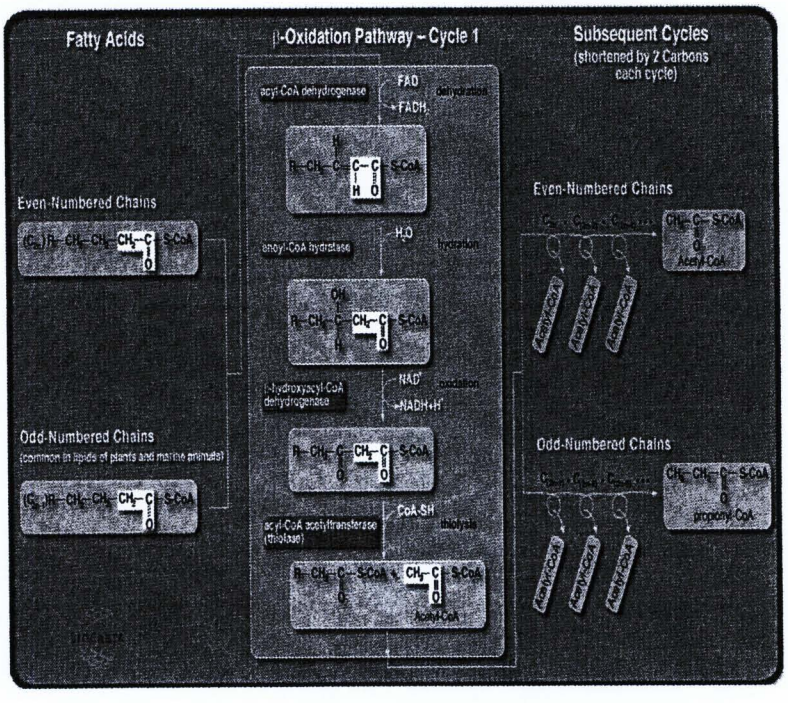
1) การสลายโดยวิธีธรรมชาติ (Biodegradation) เป็นกระบวนการที่ใช้จุลินทรีย์ที่มีอยู่แล้วตามธรรมชาติ เช่น ยีสต์ รา แอคทิโนมัยซิส และแบคทีเรีย ช่วยในการย่อยสลายไขมันและน้ำมันและนำเอาไปใช้ในกระบวนการเมทาบอลิซึมของตัวมันเอง ซึ่งกระบวนการนี้จะเป็นไปอย่างช้าๆ และใช้เวลานานกว่าจะกำจัดหมดได้ แต่จะก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมน้อยหรือแทบไม่เกิดเลย (สมรัตน์ ยินดีพิธ, 2533)

2) การเร่งธรรมชาติ (Bioremediation) ทำได้ 2 วิธี ดังนี้

- การเติมธาตุอาหาร (Nutrient enrichment or Fertilization) เช่น การเติมไนโตรเจนและฟอสฟอรัสลงในน้ำที่มีไขมันและน้ำมันเพื่อเพิ่มการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายไขมันและน้ำมันที่มีอยู่แล้วตามธรรมชาติให้มีจำนวนเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในการใช้สารอาหารหรือการย่อยสลายสารอินทรีย์ โดยในการทำงานอาจประกอบด้วยจุลินทรีย์หลายชนิดร่วมกันทำงานก็ได้ จุลินทรีย์บางชนิดจะเริ่มทำการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่ซับซ้อนก่อน จากนั้นจะมีชนิดอื่นๆ มาทำการย่อยสลายส่วนที่เหลือ หรืออาจจะเป็นการนำเอาผลหรือของเสียที่เกิดจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ของจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ มาทำการย่อยสลายต่อจนเป็นสารที่ไม่สามารถย่อยสลายต่อไปได้อีก

- การเติมเชื้อจุลินทรีย์ (Seeding) เป็นการเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายไขมันและน้ำมันให้มากขึ้น โดยใช้จุลินทรีย์ที่เติมลงไปแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มคือ เชื้อที่มีอยู่แล้วในธรรมชาติและผ่านการคัดเลือกแยกออกมา กับเชื้อที่ได้รับการปรับปรุงสายพันธุ์แล้ว (จิราภรณ์ สุขุมาวาสี, 2536)

สำหรับกลไกการย่อยสลายไขมันและน้ำมันของจุลินทรีย์กลุ่มยีสต์นั้น จะเริ่มจากการผลิตเอนไซม์ไลเปสภายในเซลล์และขับออกมาภายนอกเพื่อให้เอนไซม์ทำปฏิกิริยากับไขมันน้ำมัน โดยหากการย่อยสลายเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ ผลิตภัณฑ์ที่ได้คือ กลีเซอรอล และกรดไขมัน ซึ่งกรดไขมันที่เกิดขึ้นจะถูกใช้โดยจุลินทรีย์และนำเข้าสู่กระบวนการย่อยสลายภายในเซลล์ผ่านวิถีเบต้า-ออกซิเดชัน (β-oxidation) จนกระทั่งได้อะซิทิลโคเอ (Acetyl CoA) ที่สามารถเข้าสู่วัฏจักรไตรคาร์บอกซิลิกแอซิด (Tricarboxylic acid cycle) และถูกย่อยสลายต่อได้เป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ ดังแสดงในรูปที่ 2.3 ส่วนกลีเซอรอลจะถูกเติมหมู่ฟอสเฟตและออกซิไดส์เป็นไดไฮดรอกซีอะซีโตนฟอสเฟต (Dihydroxy acetone phosphate) และเปลี่ยนแปลงต่อไปอีกไอโซเมอร์หนึ่งคือ กลีเซอราลดีไฮด์-3-ฟอสเฟต (Glyceroldehyde-3-phosphate) ซึ่งเป็นตัวกลางของวิถีไกลโคไลซีส ดังนั้นกลีเซอรอลจึงถูกเปลี่ยนเป็นไพรูเวต (Piruvate) และเข้าสู่วัฏจักรไตรคาร์บอกซิลิกแอซิดได้เป็นคาร์บอนไดออกไซด์เช่นกัน (อาภัสรา ชมิดท์ , 2543 และ Campbell, 1992)



รูปที่ 2.3 วิถีเบต้าออกซิเดชันของการย่อยสลายกรดไขมันและน้ำมันโดยยีสต์

(ที่มา : Biocarta)

2.3 ชีวมวลของจุลินทรีย์

จากการเพิ่มขึ้นของประชากรโลกอย่างรวดเร็วนำมาสู่ความสำคัญของปัญหาการขาดแคลนอาหารประเภทโปรตีน จะเห็นได้ว่าในปี ค.ศ. 2000 มีประชากรโลกเพิ่มขึ้นถึง 6.5 พันล้านคน ซึ่งประชากรส่วนใหญ่อยู่ในประเทศที่ยากจนทำให้เกิดความอดอยากขึ้น ในปี ค.ศ. 1985 องค์การอนามัยโลกรายงานว่า ประชากรมากกว่า 1.1 พันล้านคนอดอยากและและขาดแคลนอาหารประเภทโปรตีน โดยเฉพาะอย่างยิ่งประชากรในกลุ่มประเทศโลกที่ 3 ปัจจุบันพบว่ามาตรฐานการผลิตอาหารทั่วโลกอยู่ในระดับที่ต่ำ ควรมีการผลิตเพิ่มขึ้นอีก 1.5 เท่าจึงจะพอเพียงกับความต้องการอาหารของประชากรทั่วโลก และอีก 2.5 เท่าเพื่อให้เพียงพอกับการใช้เป็นอาหารสัตว์ แสดงดังในตารางที่ 2.2 แต่อย่างไรก็ดีพบว่าผลผลิตมวลรวมทั้งหมดส่วนใหญ่มาจากประเทศกำลังพัฒนา (United Nation, 1977 อ้างถึงใน Senez, 1987)

ตารางที่ 2.2 การคาดหมายความต้องการโปรตีนของประชากรโลก

	ค.ศ. 1980	ค.ศ. 2000	ปัจจัยเพิ่มขึ้น
แนวโน้มจำนวนประชากรโลกทางสถิติ (ล้านคน)	4,400	64,05	1.46
ผลผลิตมวลรวม (ดอลลาร์สหรัฐ)	1,165	2,071	1.78
ความต้องการโปรตีน			
- สำหรับมนุษย์	48.6	78.4	1.61
- สำหรับสัตว์	43.1	106.3	2.47

ที่มา : United Nations, 1977 (อ้างถึงใน Senez, 1987)

Bhatacharjee (1970) รายงานว่าโปรตีนอาจได้จากชีวมวลของจุลินทรีย์ทั้งสาหร่าย ราแบคทีเรีย และยีสต์ โดยคุณสมบัติและข้อดีของชีวมวลจุลินทรีย์ที่เหมาะสมในการผลิตเป็นโปรตีนสามารถรวบรวมได้ ดังนี้

1) เติบโตได้เร็วในอาหารที่มีราคาถูกและเป็นวัตถุดิบที่หาได้ง่ายในท้องถิ่น
2) เติบโตได้ดีในอาหารที่มีส่วนประกอบง่ายๆ มีความต้องการวิตามินและสารสำหรับการเจริญเติบโต (Growth factor) ต่างๆ น้อย หรือไม่ต้องการเลย
3) คงลักษณะทางพันธุกรรมได้ดี ไม่กลายพันธุ์ง่ายเมื่อเลี้ยงติดต่อกันเป็นเวลานาน
4) การแยกและเก็บเกี่ยวเซลล์ทดแทนสามารถทำได้โดยวิธีการเหวี่ยงตกตะกอน หรือตกตะกอนเพื่อนำไปใช้ประโยชน์

5) มีความต้านทานต่อการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ
6) ทราบคุณสมบัติทางพันธุกรรม สรีรวิทยา และสามารถปรับปรุงทางด้านพันธุกรรมได้
7) ใช้แหล่งพลังงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ
8) หลังจากผ่านกระบวนการเพาะเลี้ยงแล้ว มีวัสดุเหลือทิ้งน้อยหรือไม่มีเลย
9) ไม่เป็นพิษ
10) ให้ปริมาณโปรตีนสูง โดยเฉพาะโปรตีนต้องมีกรดอะมิโนที่มีคุณค่า
11) เก็บรักษาได้ง่าย เช่น การทำให้แห้ง

ถึงแม้ว่าการผลิตโปรตีนจากชีวมวลของจุลินทรีย์จะเป็นแหล่งอาหารโปรตีนที่มีข้อดีหลายประการ แต่การผลิตโปรตีนด้วยวิธีนี้จะต้องอาศัยปัจจัยต่างๆ ในการผลิตสูงมาก รวมทั้งต้องมีบุคลากรในการผลิตและการควบคุม ตลอดจนอุปกรณ์ที่ใช้มีราคาสูง ดังนั้นในการผลิตโปรตีนจากชีวมวลของจุลินทรีย์จึงต้องมีการศึกษาในแง่เศรษฐศาสตร์ควบคู่ไปด้วยเช่นเดียวกับการลงทุนอื่นๆ โดยถ้าพิจาณาถึงผลระยะยาวจะเห็นได้ว่าการผลิตโปรตีนจากมวลชีวภาพของจุลินทรีย์จะได้ผลตอบแทนที่คุ้มค่า แต่ต้องดำเนินการโดยใช้เทคโนโลยีที่เหมาะสม (ดวงพร คันธโชติ, 2530)

ในการผลิตโปรตีนจากชีวมวลของจุลินทรีย์ต้องการเซลล์ที่มีองค์ประกอบของโปรตีนสูง ส่วนคาร์โบไฮเดรต กรดนิวคลิอิค และไขมันต้องมีปริมาณที่ต่ำ เพื่อให้สามารถแข่งขันกับโปรตีนจากพืชหรือปลาป่นได้ มีกลิ่นรสดี และที่สำคัญต้องมีกรดอะมิโนที่จำเป็นได้แก่ ไลซีน เมไธโอนีน และทริปโตเฟน ในปริมาณสูง โดยส่วนประกอบทางเคมีของเซลล์เหล่านี้นอกจากจะขึ้นกับชนิดของจุลินทรีย์แล้ว โดยทั่วไปจะขึ้นกับอาหารเลี้ยงเชื้อและสภาวะในการเติบโตด้วย ตัวอย่างเช่น สัดส่วนของโปรตีนต่อไขมันจะเป็นผลจากสัดส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่มีในอาหารเลี้ยงเชื้อ ถ้าไนโตรเจนน้อยจะเป็นตัวจำกัดการเจริญเติบโต ไขมันจึงสะสมอยู่ภายในเซลล์ ซึ่งโดยทั่วไปโปรตีนจากชีวมวลของจุลินทรีย์มักขาดกรดอะมิโนที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบ ซึ่งจากการเปรียบเทียบพบว่าแบคทีเรียมีแนวโน้มผลิตเมไธโอนีนได้มากกว่ายีสต์ แต่ยีสต์มีไลซีนมากกว่าโปรตีนในข้าวสาลี จึงมีการเติมกรดอะมิโนจำเป็นบ้างในการผลิตชีวมวลของจุลินทรีย์บางชนิด สำหรับวิตามินพบว่าส่วนใหญ่ที่ได้จากจุลินทรีย์กลุ่มยีสต์คือ วิตามินบี ยกเว้น บี 12 ที่ได้จากแบคทีเรีย (Scrimshaw และ Young, 1979)

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

2.4 ประเภทของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตชีวมวล

2.4.1 สาหร่าย

สาหร่ายดำรงชีวิตโดยใช้พลังงานในการรีดิวซ์สารอนินทรีย์ให้เป็นสารอินทรีย์ ข้อดีของสาหร่ายคือมีปริมาณโปรตีนสูงถึงประมาณ 55 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเซลล์แห้ง เป็นโปรตีนที่มีคุณภาพ อุดมด้วยวิตามินซี และวิตามินบีรวม แต่มีข้อเสียคือ อัตราการเจริญเติบโตต่ำกว่าจุลินทรีย์กลุ่มอื่นๆ และถ้าเลี้ยงในถังหมักมักมีปัญหาการให้คาร์บอนไดออกไซด์และแสงแก่สาหร่าย สาหร่ายที่ได้รับความสนใจในการเป็นแหล่งอาหารประเภทโปรตีนได้แก่ *Chlorella sp., Scenedesmus sp., Coelastrum sp., Uronema sp.* และ *Dunaliella sp.* โดยเฉพาะ *Spirulina maxima* ชาวพื้นเมืองแอฟริกาและบางส่วนของเม็กซิโกใช้ผสมอาหารเนื่องจากสาหร่ายสายพันธุ์นี้มีกรดอะมิโนที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบ และมีกรดนิวคลิอิกภายในเซลล์ต่ำ (Reed และ Nagodawithana, 1995)

สำหรับราคาในการผลิต เช่น การผลิตสาหร่าย *Chlorella sp.* มีการศึกษาพบว่าราคาประมาณ 20 - 50 เซนต์ต่อปอนด์ ซึ่งเป็นราคาที่สูง แต่ถ้าเลี้ยงในน้ำเสียจะมีราคาประมาณ 3 - 6 เซนต์ต่อปอนด์ (Udall และคณะ, 1984) สำหรับประเทศไทยบริษัทสยามแอลจีทำการผลิต *Spirulina sp.* แล้วส่งไปขายยังประเทศญี่ปุ่นเพื่อจำหน่ายเป็นอาหารบำรุงสุขภาพและอาหารเสริมในอาหารสัตว์ ส่วนการเลี้ยงสาหร่ายในน้ำเสียเป็นการกำจัดความสกปรกในน้ำเสียโดยได้เซลล์ของสาหร่ายมาเป็นแหล่งอาหารสัตว์ ใช้ทำปุ๋ย หรือใช้หมักแก๊สชีวภาพ (ดวงพร คันธโชติ, 2530)

2.4.2 รา

ราที่ใช้เป็นแหล่งอาหารของมนุษย์มานานก็คือ เห็ด ซึ่งเป็นโปรตีนที่มนุษย์สามารถบริโภคได้โดยตรง เช่น *Agaricus campestris* ถูกใช้เป็นอาหารแถวยุโรป ส่วนประเทศจีนนิยมบริโภคเห็ด *Cortinellus berkelyanus* ในสมัยสงครามโลกครั้งที่ 2 ประเทศเยอรมันได้เลี้ยงราพวก *Geotrichum candidum* เป็นอาหารเสริมสำหรับมนุษย์ (Goldberg, 1985) การใช้ราในการผลิตโปรตีนจำเป็นต้องเสริมด้วยเมไธโอนีน กรดกลูตามิก วิตามินบี 2 และวิตามินบี 12 ทั้งนี้เพราะรามีกรดอะมิโนที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบ มีกรดนิวคลีอิกและวิตามินบีรวมต่ำ ส่วนข้อดีของราคือราเป็นที่ยอมรับได้ง่าย ตลอดจนมีคุณค่าทางอาหารใกล้เคียงกับยีสต์ แต่อัตราการเจริญเติบโตต่ำกว่ายีสต์และแบคทีเรีย และมีปัญหาในการเลี้ยงเนื่องจากเมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวเส้นใยราจะอยู่ในสภาพเป็นกลุ่มก้อน (Pellet) ทำให้เกิดปัญหาในการให้ออกซิเจนแก่เซลล์

ราที่มีแนวโน้มว่าสามารถนำมาใช้เป็นแหล่งอาหารโปรตีนคือ ราในกลุ่ม Imperfect fungi เพราะว่ามีอัตราการเติบโตดีและสามารถใช้วัสดุต่างๆ เป็นแหล่งคาร์บอนได้ เช่น

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ห้องสมุดงานวิจัย
วันที่ 18 ก.ค. 2555
เลขทะเบียน 217855
เลขเรียกหนังสือ

มันฝรั่ง ข้าว ข้าวโพด มันสำปะหลัง กากน้ำตาล เยื่อกระดาษ และของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร ส่วนแหล่งของไนโตรเจนคือเกลืออนินทรีย์ สำหรับ *Fusarium sp.* และ *Rhizopus sp.* เหมาะสำหรับนำมาใช้เป็นแหล่งอาหารโปรตีนเพราะมีซีสตินและเมไธโอนีนในปริมาณที่สูง โดยเมื่อทำการเพาะเลี้ยงด้วยถังหมัก 2 ถังจะผลิตเส้นใยแห้งได้ 1.5 - 16.5 ตันต่อถังต่อวัน เมื่อทำการเก็บเกี่ยวเซลล์โดยการกรองจะได้ผลผลิตประมาณ 0.55 กรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อกรัมอาหาร และมีโปรตีนร้อยละ 52 - 57 จึงเหมาะสำหรับใช้เป็นอาหารสัตว์ (Singh และคณะ, 1991)

2.4.3 แบคทีเรีย

ปัจจุบันการใช้แบคทีเรียเป็นแหล่งอาหารโปรตีนเป็นที่น่าสนใจมากขึ้นเนื่องจากแบคทีเรียมีอัตราการเจริญเติบโตสูงกว่าจุลินทรีย์กลุ่มอื่น คือ 20 - 30 นาที ขณะที่ยีสต์หรือรามีอัตราการเจริญเติบโตถึง 2 - 3 ชั่วโมง และ 4 - 16 ชั่วโมงตามลำดับ มีปริมาณโปรตีนที่สูง ซึ่งโปรตีนในแบคทีเรียแต่ละชนิดมีปริมาณแตกต่างกันตั้งแต่ร้อยละ 47 - 87 ขณะที่โปรตีนจากสาหร่าย รา และยีสต์มีประมาณร้อยละ 40 40 และ 50 ตามลำดับ แบคทีเรียมีกรดอะมิโนจำเป็นคือ เมไธโอนีน ทริปโตเฟน และซิสติน การปรับปรุงสายพันธุ์ของแบคทีเรียทำได้ง่ายเพื่อนำมาใช้ทางอุตสาหกรรม แต่มีข้อเสียคือมีกรดนิวคลีอิกภายในเซลล์ค่อนข้างสูงคือร้อยละ 10 - 16 (ดวงพร คันธโชติ, 2530) แบคทีเรียที่ใช้เป็นแหล่งโปรตีนในระดับอุตสาหกรรมที่พบมากใช้เมธานอลเป็นสารอาหาร เช่น บริษัท Imperial Chemical Industries ทำการผลิต *Methylophilus methylotrophus* โดยผลิตแบบต่อเนื่องได้ผลผลิต 30 กรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อลิตร (Reed และ Nagodawithana, 1985)

2.4.4 ยีสต์

ยีสต์มีความเหมาะสมที่สุดในบรรดาจุลินทรีย์ที่ใช้เป็นแหล่งโปรตีนและใช้กันแพร่หลายมาตั้งแต่สมัยสงครามโลกครั้งที่ 2 เนื่องจากปัญหาขาดแคลนแหล่งอาหารโปรตีน ยีสต์ที่นิยมใช้อย่างแพร่หลายคือ *Candida utilis, Rhodotorula gracilis, Saccharomyces cerevisiae Saccharomyces carlsbergenesis, Candida tropicalis* และ *Trichosporon pullulans* โดยทั่วไปเซลล์ยีสต์ประกอบด้วยโปรตีน 45 - 50 เปอร์เซนต์ของน้ำหนักเซลล์แห้ง คาร์โบไฮเดรต 22 - 23 เปอร์เซนต์ ไขมันประมาณร้อยละ 2 - 3 และเกลือแร่ประมาณร้อยละ 6 - 8 โดยส่วนมากเป็นโพแทสเซียมและฟอสฟอรัส อาจพบแคลเซียม แมกนีเซียม ซิลิคอน เหล็ก และตะกั่วบ้างเล็กน้อย (Boze และคณะ, 1992) โดยคุณค่าทางอาหารของเซลล์ยีสต์ยังขึ้นกับชนิดและปริมาณของกรดอะมิโนหลายชนิด และพบว่ากรดอะมิโนในยีสต์แต่ละชนิดแตกต่างกัน นอกจากนั้นเซลล์ยีสต์ยังประกอบด้วยวิตามินต่างๆ เช่น ไธอะมีน ไรโบเฟลวิน กรดนิโคตินิก กรดแพนโตเธนิก ไพริดอกซิน และไบโอติน เป็นต้น

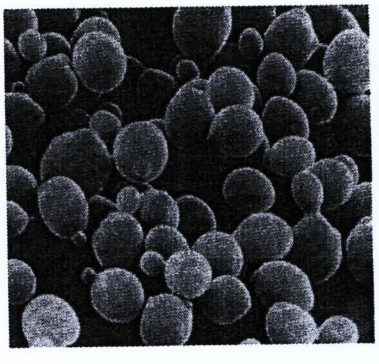
2.5 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับยีสต์ (สำนักงานนวัตกรรมแห่งชาติ, 2549)

ยีสต์ คือ จุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่มนุษย์รู้จักและนำมาใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวางเป็นเวลานานมาแล้ว ถึงกับมีผู้กล่าวไว้ว่ายีสต์เป็นจุลินทรีย์ชนิดแรกที่มนุษย์นำมาใช้ประโยชน์ โดยนำมาใช้ในการผลิตเบียร์ชนิดหนึ่งที่เรียกว่า Boozah เมื่อประมาณ 6,000 ปีก่อนคริสต์ศักราช ปัจจุบันได้มีการนำยีสต์มาใช้ประโยชน์ในหลายๆ ด้าน ได้แก่ อุตสาหกรรมอาหาร อุตสาหกรรมเครื่องสำอางและเภสัชกรรม การแพทย์ การเกษตร และสิ่งแวดล้อม การใช้ประโยชน์ของเซลล์ยีสต์ในอุตสาหกรรมอาหารจึงนับว่ามีบทบาทที่สำคัญเป็นอย่างมากและสามารถสร้างมูลค่าเพิ่มให้เซลล์ยีสต์ได้อย่างคุ้มค่า ตัวอย่างเช่น การผลิตยีสต์สกัด (Yeast Extract หรือ Autolysed Yeast Extract หรือ Yeast Autolysate) สำหรับใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสคล้ายเนื้อสัตว์ สารให้กลิ่น และสารเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ โดยยีสต์สกัดที่ได้นี้ถือว่าเป็นสารธรรมชาติที่สามารถใช้ผสมในอาหาร ซึ่งได้รับการตรวจสอบจากองค์การอาหารและยาประเทศสหรัฐอเมริกา (Food and Drug Administration ; FDA) และยังเป็นที่ยอมรับโดยทั่วกันว่าปลอดภัย (GRAS ; General Recognized as Safe) นอกจากนี้ยังสามารถนำไปใช้ในกระบวนการหมักเพื่อผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ชนิดต่างๆ (อาทิ เบียร์ ไวน์ และวิสกี้) การผลิตเอทานอลสำหรับใช้เป็นสารเคมีและเชื้อเพลิง หรือแม้กระทั่งการผลิตเซลล์ยีสต์เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมเบเกอรี สำหรับประเทศไทยพบว่ามีการใช้ประโยชน์จากยีสต์เพื่อการผลิตอาหารซึ่งถือว่าเป็นภูมิปัญญาระดับท้องถิ่น เช่น การทำข้าวหมาก สาโท หรือกระแช่ เป็นต้น

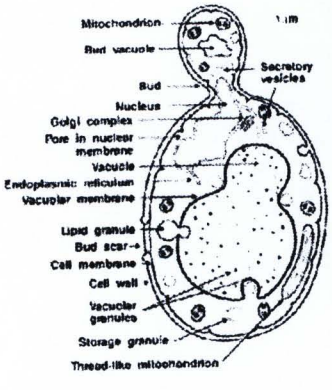
ยีสต์จัดเป็นจุลินทรีย์ในกลุ่มของราชนิดหนึ่งที่มีการดำรงชีวิตเป็นเซลล์แบบเดี่ยว มีหลายรูปร่าง เช่น รูปร่างกลม ทรงรี สามเหลี่ยม รูปร่างคล้ายผลมะนาวแถบประเทศตะวันตก (Lemon) และรูปร่างยาว เป็นต้น ยีสต์จะมีการสืบพันธุ์ทั้งแบบไม่อาศัยเพศโดยวิธีการแตกหน่อ (Budding) หรือแบบอาศัยเพศโดยวิธีการสร้างสปอร์ชนิดแอสโคสปอร์ (Ascospore) หรือแบสิดิโอสปอร์ (Basidiospore) ยีสต์ส่วนใหญ่จะมีการใช้สารอินทรีย์เป็นแหล่งพลังงานและเป็นแหล่งคาร์บอน มนุษย์รู้จักนำยีสต์มาใช้ประโยชน์มากในกระบวนการหมัก (Fermentation) อย่างแพร่หลาย โดยเซลล์ยีสต์จะมีการเจริญเติบโตและแพร่ขยายจำนวนอย่างรวดเร็วภายใต้สภาวะต่างๆ เช่น อาหาร อุณหภูมิ และปัจจัยแวดล้อมในกระบวนการหมักที่เหมาะสม ด้วยการเปลี่ยนแปลงน้ำตาลซึ่งเป็นสารอินทรีย์ที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอน ให้เป็นคาร์บอนไดออกไซด์ และแอลกอฮอล์ เซลล์ยีสต์สามารถพบได้มากมายในธรรมชาติ เช่น ในน้ำ ดิน พืช หรือแม้กระทั่งในอากาศ นอกจากนี้ยังพบว่ายีสต์บางชนิดจะอยู่รวมกับแมลงหรือในกระเพาะของสัตว์บางชนิด แหล่งที่มักพบเชื้อยีสต์เจริญปะปนอยู่บ่อยๆ คือ แหล่งที่มีปริมาณความเข้มข้นของน้ำตาลสูง เช่น น้ำผลไม้ น้ำผึ้ง และผลไม้ที่มีรสหวาน นอกจากนี้ยังสามารถพบยีสต์เจริญได้ในเมล็ดธัญพืช หญ้าฟาง หรือแม้กระทั่งอาหารสัตว์ การปนเปื้อนของเชื้อยีสต์ในอาหารเหล่านี้อาจจะก่อให้เกิดสาเหตุการเน่าเสียของอาหารอีกด้วย

อย่างไรก็ตามมียีสต์หลายสายพันธุ์ที่ได้ทำการพิสูจน์และศึกษาค้นคว้าวิจัยว่ามีประโยชน์ต่อมนุษย์ แต่ยีสต์ที่นำมาใช้ในระดับอุตสาหกรรมมีเพียงไม่กี่ชนิดเท่านั้น เช่น *Saccharomyces, Candida* และ *Yarrowia* เป็นต้น

ลักษณะทั่วไปของเซลล์ยีสต์มีลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยว ซึ่งมีรูปร่างเป็นไข่ค่อนข้างกลม ไม่มีสี ทั้งนี้หากอายุของเซลล์ยีสต์ยังไม่มากจะพบเซลล์ที่กำลังแตกหน่อ แสดงดังรูปที่ 2.4 โดยจะมีความกว้างของเซลล์ประมาณ 2.5 - 10.5 ไมครอน และมีความยาวประมาณ 4.5 - 21 ไมครอน ซึ่งเซลล์ยีสต์ 1 เซลล์จะมีปริมาตรประมาณ 40 ลูกบาศก์ไมครอน มีน้ำหนักแห้งโดยเฉลี่ยประมาณ 1×10^{-10} กรัม อย่างไรก็ตามขนาดของเซลล์ยีสต์ยังขึ้นอยู่กับการเจริญเติบโตอีกด้วย โดยทั่วไปเราสามารถแบ่งส่วนประกอบของเซลล์ยีสต์ออกเป็นส่วนหลักๆ ได้แก่ ส่วนที่ทำหน้าที่ห่อหุ้มเซลล์และเป็นโครงสร้างเซลล์กับส่วนที่เป็นของเหลวภายในเซลล์ คือ นิวเคลียสและไซโตพลาสซึม ที่ประกอบด้วยโปรตีน ไขมัน วิตามิน แร่ธาตุชนิดต่างๆ และกรดนิวคลีอิคเป็นองค์ประกอบ แสดงดังรูปที่ 2.5



รูปที่ 2.4 ลักษณะรูปร่างของเซลล์ยีสต์
(ที่มา : สำนักงานนวัตกรรมแห่งชาติ, 2549)



รูปที่ 2.5 เซลล์ยีสต์และองค์ประกอบต่างๆ ภายใน
(ที่มา : สำนักงานนวัตกรรมแห่งชาติ , 2549)

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

2.6 วัตถุดิบในการผลิตชีวมวลของยีสต์

วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตชีวมวลของยีสต์ควรเป็นแหล่งอาหารและพลังงานที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของยีสต์ โดยพบว่าวัตถุดิบที่ได้จากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรและอุตสาหกรรม ซึ่งมีปริมาณมากและก่อให้เกิดปัญหาต่อสิ่งแวดล้อมสามารถนำไปใช้เป็นแหล่งอาหารและพลังงานที่สำคัญสำหรับยีสต์ได้ เนื่องจากวัสดุเหลือใช้ส่วนใหญ่เหล่านี้มีองค์ประกอบของสารอินทรีย์สูง โดยเป็นที่ยอมรับของนักเทคโนโลยีชีวภาพว่าการแปรรูปสารอินทรีย์และอื่นๆ ในวัสดุเหลือใช้ที่มีประโยชน์และมีราคาถูกโดยใช้จุลินทรีย์เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงสุด โดยเฉพาะอย่างยิ่งการแปรรูปเป็นเซลล์จุลินทรีย์ที่มีโปรตีนและคุณค่าทางอาหารอื่นๆ สูง ซึ่งเหมาะสำหรับนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์หรืออาหารเสริมให้สัตว์ (Goldberg, 1995) สำหรับวัสดุเหลือใช้ทางธรรมชาติมีหลายประเภทที่นำมาใช้ในการผลิตชีวมวลของยีสต์ได้ ส่วนใหญ่เป็นวัสดุประเภทคาร์โบไฮเดรตที่สามารถแยกออกเป็นแซคคาไรด์ (Saccaride) และโพลีแซคคาไรด์ (Polysaccharide) ควรมีสารอาหารที่เหมาะสำหรับการเจริญเติบโตของยีสต์โดยอยู่ในรูปที่ง่ายต่อการนำไปใช้ พบว่าวัตถุดิบเหลือใช้ประเภทโพลีแซคคาไรด์ต้องผ่านกระบวนการปรับปรุง (Pre-treatment) ก่อนนำไปใช้ ทำให้ต้นทุนการผลิตสูงขึ้น โดย Gaden (1974) ได้แบ่งวัตถุดิบในการผลิตชีวมวลของยีสต์ออกเป็น 2 ประเภทใหญ่ๆ คือ ไฮโดรคาร์บอน และคาร์โบไฮเดรต

2.6.1 ไฮโดรคาร์บอน

มีทั้งที่อยู่ในสภาพเป็นของเหลว เช่น เมทานอล เอทานอล พาราฟิน และไฮโดรคาร์บอนในสถานภาพก๊าซ เช่น มีเทน บิวเทน โพรเพน และอีเทน เป็นต้น จุดเริ่มต้นของการใช้สารประกอบนี้ได้มีการสนใจใช้สารประกอบอัลเคนของปิโตรเลียมเป็นวัตถุดิบ เพราะว่ามีปริมาณมาก ราคาถูก ความบริสุทธิ์สูง แต่ในช่วงนั้นอยู่ในภาวะวิกฤตน้ำมันทำให้ความสนใจในการนำสารพวกนี้มาเป็นวัตถุดิบในการผลิตชีวมวลเปลี่ยนไป สำหรับยีสต์ที่นำมาใช้ในการผลิตชีวมวลโดยใช้สารประกอบไฮโดรคาร์บอนเป็นแหล่งอาหาร ได้แก่ *Candida utilis, Candida tropicalis* และ *Candida lipolytica* โดยได้มีการศึกษาความเป็นพิษของชีวมวลของยีสต์เมื่อใช้สารประกอบไฮโดรคาร์บอนเป็นแหล่งอาหาร พบว่าองค์ประกอบภายในเซลล์ยีสต์มีสารพวกโลหะหนักรวมทั้งสารโพลีไซคลิก (Polycyclic) ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งสะสมอยู่ทำให้สารไฮรโดรคาร์บอนไม่ได้รับความนิยมในการผลิตชีวมวลของยีสต์

2.6.2 คาร์โบไฮเดรต

ได้แก่ น้ำตาล แป้ง เซลลูโลส รวมทั้งของเหลือใช้ทางเกษตรและอุตสาหกรรม พบว่านิยมนำกากน้ำตาลและน้ำเสียจากโรงงานทำกระดาษมาเป็นอาหารสำหรับเลี้ยงยีสต์ (Synder, 1970) สำหรับกากน้ำตาลเป็นของเหลือจากโรงงานน้ำตาล โดยเป็นส่วนที่ไม่ตกผลึกของน้ำอ้อยเมื่อ

นำไปเคี่ยวทำน้ำตาล ซึ่งกากน้ำตาลที่นิยมใช้ในการผลิตชีวมวลของยีสต์มี 2 ประเภท คือ กากน้ำตาลจากอ้อยและกากน้ำตาลจากหัวบีท นิยมนำมาเป็นแหล่งอาหารในการเลี้ยงยีสต์ *Candida utilis* สำหรับผลิตโปรตีนจากชีวมวลของยีสต์ และ *Saccharomyces cerevisiae* สำหรับใช้เป็นแหล่งอาหารในการผลิตเอทานอลและยีสต์อบขนม (Bakery yeast) ส่วนน้ำเสียจากโรงงานทำกระดาษมีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบร้อยละ 15 - 22 ซึ่งโดยส่วนใหญ่เป็นน้ำตาลเฮกโซส ซึ่งนิยมนำมาใช้เลี้ยงยีสต์ *Candida utilis* และโดยเฉพาะในยุโรปนิยมเลี้ยงยีสต์ *Candida tropicalis* เพื่อใช้ประโยชน์ในการเป็นอาหารทดแทนประเภทโปรตีน เพื่อแก้ปัญหาเรื่องการขาดแคลนอาหารได้อย่างมีประสิทธิภาพ

2.7 การผลิตชีวมวลของยีสต์จากน้ำทิ้งที่มีไขมันและน้ำมันเป็นองค์ประกอบ

โดยกระบวนการผลิตจำเป็นต้องอาศัยสภาวะต่างๆ ที่เหมาะสมได้แก่ สภาวะในการเลี้ยงเชื้อ ลักษณะทางสรีรวิทยาของยีสต์ ปฏิกิริยาของเอนไซม์ไลเปส และปัจจัยต่างๆ ทางกายภาพของระบบหมัก ไขมันที่ใช้เป็นแหล่งอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับควรอยู่ในรูปของเหลว (Aqueous phase) ซึ่งจะทำให้ยีสต์สัมผัสกับไขมันได้ทั่วถึง โดยหากอยู่ในรูปของแข็งจะยากต่อการย่อยสลายและกำจัด ดังนั้นไขมันที่อยู่ในรูปของแข็งจึงไม่นิยมในการนำมาใช้ผลิตชีวมวลของยีสต์ (Koh และคณะ, 1983) โดย Hottinger และคณะ (1974) รายงานว่าการเลี้ยงเชื้อในขวดเขย่าที่อัตราเขย่าสูงๆ ทำให้ไขมันแพร่กระจายในน้ำทิ้งได้ดี โดยควรใช้น้ำทิ้งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อในปริมาณที่น้อยเมื่อเทียบกับปริมาตรขวดเขย่าและสัดส่วนความเข้มข้นของไขมันที่เหมาะสม ในอาหารเลี้ยงเชื้ออาจต้องมีการเติมสารลดแรงตึงผิวที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงเชื้อ ซึ่งสารลดแรงตึงผิวที่ดีต้องไม่มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ยีสต์ และคงสภาพไม่เปลี่ยนเป็นสารอื่นขณะทำการเลี้ยงเชื้อ นอกจากนั้น Tan และ Gill (1985) ศึกษาการเจริญเติบโตของยีสต์ *Saccharomycopsis lipolytica* ที่เลี้ยงแบบแบทช์ในถังหมักขนาด 3 ลิตร โดยใช้ไขมันสัตว์เป็นแหล่งอาหาร พบว่าอัตราการกวนทำให้การย่อยสลายไขมันเร็วขึ้น ที่อัตราการกวน 1,200 รอบต่อนาที ยีสต์มีอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดเท่ากับ 0.32 1/ชั่วโมง เมื่อมีปริมาณไขมันในน้ำทิ้ง 8 กรัม/ลิตร และหากเพิ่มอัตราการกวนเป็น 1,400 รอบต่อนาที หรือเพิ่มความเข้มข้นของไขมันเป็น 20 กรัม/ลิตร ก็ไม่ทำให้อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดเปลี่ยนแปลงไป

2.8 โปรตีนเซลล์เดียว (Single cell protein)

โปรตีนเซลล์เดียว คือ เซลล์จุลินทรีย์ที่ทำให้แห้งเพื่อใช้เป็นแหล่งโปรตีนในอาหารมนุษย์และสัตว์ ผลิตมาจากจุลินทรีย์หลายประเภทได้แก่ ยีสต์ แบคทีเรีย รา และสาหร่าย ซึ่งจุลินทรีย์แต่ละประเภทนั้นจะมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบของเซลล์ในปริมาณที่แตกต่างกัน โดยทั่วไปพบว่ายีสต์จะมีโปรตีนประมาณร้อยละ 45 - 55 เช่น *Candida utilis* มีโปรตีนร้อยละ 50 - 52 แบคทีเรียจะมีโปรตีนประมาณร้อยละ 50 - 83 เช่น *Methyllomonas clara* มีโปรตีนร้อยละ 70 - 72 ราจะมีโปรตีนประมาณร้อยละ 31 - 35 เช่น *Fusarium graminearum* มีโปรตีนร้อยละ 45 และสาหร่ายจะมีโปรตีนประมาณร้อยละ 47 - 63 เช่น *Chlorella ellpisoildes* มีโปรตีนร้อยละ 55 (Goldberg และ Witliams,1991; Litchfield,1991)

ในการแปรรูปไขมันและน้ำมัน ในน้ำเสียให้อยู่ในรูปชีวมวลของจุลินทรีย์ มีข้อดีหลายประการ โดย Moss และ Smith (1997) เสนอว่าโปรตีนจากชีวมวลของจุลินทรีย์เป็นแหล่งอาหารโปรตีนที่สำคัญของโลก เนื่องจากเหตุผลหลายประการ ได้แก่

1) มีราคาถูก เนื่องจากใช้วัตถุดิบที่มีราคาถูกและสามารถใช้วัตถุดิบได้หลายชนิด รวมทั้งวัสดุเหลือใช้จากโรงงานอุตสาหกรรมและการเกษตร
2) การเลี้ยงจุลินทรีย์ใช้ระยะเวลาสั้น เนื่องจากจุลินทรีย์มีอัตราการเจริญเติบโตที่รวดเร็ว โดยถ้าพิจารณาจากค่าการแบ่งตัวในแต่ละช่วงรุ่น (Generation time) จะพบว่าแบคทีเรียมีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดประมาณ 0.3 - 2.0 ชั่วโมง รองลงมาคือยีสต์เท่ากับ 1 - 3 ชั่วโมง ส่วนราและสาหร่ายใช้เวลาในการเพิ่มชีวมวลเป็น 2 เท่าประมาณ 4 - 12 ชั่วโมง และ 2 - 6 ชั่วโมง ตามลำดับ
3) ประหยัดเนื้อที่ในการผลิต โดยถ้าเปรียบเทียบกับพืชหรือสัตว์จะพบว่าการผลิตโปรตีนจากชีวมวลของจุลินทรีย์ใช้พื้นที่น้อยกว่ามากในการผลิตเพื่อให้ได้โปรตีนในปริมาณที่เท่ากัน
4) ชีวมวลของจุลินทรีย์มีโปรตีนสูงคือประมาณ 7 - 12 กรัมโปรตีนไนโตรเจนต่อ 100 กรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และมีกรดอะมิโนจำเป็นคล้ายสัตว์ โดยโปรตีนจากชีวมวลของจุลินทรีย์ประกอบด้วยกรดอะมิโนจำเป็น คือ ไลซีน เมไธโอนีน และทริบโตเฟน ซึ่งไม่พบในเซลล์พืช และประการสำคัญคือการสังเคราะห์โปรตีนโดยจุลินทรีย์เกิดขึ้นเร็วกว่าในเซลล์พืชและสัตว์

ยีสต์เป็นจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเหมาะสมที่สุดในการใช้เป็นแหล่งอาหารโปรตีนโดยมีคุณสมบัติดีกว่าจุลินทีย์ประเภทอื่นๆ (Litchfield, 1980; Boze และคณะ, 1992) คือ

1) มีอัตราการเจริญเติบโตเร็วในอาหารที่มีส่วนประกอบง่ายๆ และมีความต้องการวิตามินหรือธาตุอาหารต่างๆ น้อย
2) เซลล์สามารถคลุกเคล้ากับอาหารได้ดีและแยกเซลล์ออกจากอาหารที่เลี้ยงได้ง่าย เนื่องจากเซลล์มีขนาดใหญ่จึงสามารถแยกออกจากน้ำหมักได้ง่ายโดยการตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอนหรือปั่นเหวี่ยงตามแรงโน้มถ่วง ซึ่งเป็นการลดค่าใช้จ่ายในการผลิตได้
3) สามารถต้านต่อการทำลายของไวรัสและเชื้ออื่นๆ ที่ปนเปื้อน เนื่องจากสามารถเติบโตในสภาวะที่เป็นกรดคือพีเอช ประมาณ 3.5 - 5.0 จึงเป็นการป้องกันการปนเปื้อนได้ดี ทำให้สามารถเพาะเลี้ยงยีสต์ได้ทั้งในระบบปลอดเชื้อและระบบที่ไม่ปลอดเชื้อ
4) มีความคงตัวต่อการหมัก สามารถใช้เป็นแหล่งอาหารและพลังงานได้อย่างมีประสิทธิภาพและผลิตได้ดีในระดับอุตสาหกรรม
5) มีกลิ่นรสที่ดี ไม่เป็นพิษ และสามารถย่อยสลายได้ง่าย
6) องค์ประกอบของเซลล์มีปริมาณสารอาหารต่างๆ ทั้งโปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน และเกลือแร่ในปริมาณสูงโดย ประกอบด้วยวิตามินและกรดอะมิโนที่สำคัญหลายชนิด แสดงดังในตารางที่ 2.3
7) ยีสต์สามารถปรับปรุงพันธุ์ให้มีคุณสมบัติตามต้องการได้ง่าย
8) ภายหลังผ่านกระบวนการผลิตแล้วมีวัสดุเหลือทิ้งน้อยหรือไม่มีเลย

ตารางที่ 2.3 ปริมาณกรดอะมิโนที่ได้จากยีสต์สายพันธุ์ต่างๆ เมื่อเทียบกับมาตรฐานอาหารสัตว์ขององค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ

สายพันธุ์	Lysine	Threonine	Methionine	Isoleucine	Leucine	Protein
	(g. amino acid/16 g. N)					
C. utilis	7.1	4.7	1.0	4.3	7.0	48.0
K .fragilis	6.9	5.8	1.9	4.0	6.1	56.2
C .lipolytica	7.8	5.4	1.6	5.3	7.8	66.0
S. cerevisiae	8.2	4.8	2.5	5.5	7.9	53.7
FAO reference	**4.2**	**2.8**	**2.2**	**4.2**	**4.8**	-

(ที่มา : United Nation, 1980)

เซลล์ยีสต์ประกอบด้วยโปรตีนร้อยละ 45 - 55 ของน้ำหนักแห้ง มีส่วนประกอบเป็นกรดอะมิโนที่สำคัญหลายชนิด มีปริมาณไลซีนสูง และมีคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 30 - 35 ซึ่งประกอบด้วยไกลโคเจนซึ่งเป็นแหล่งพลังงานของมนุษย์ มีกลูแคนและแมนแนนซึ่งเป็นแหล่งของเส้นใยละลาย (Soluble fiber) มีไนโตรเจนร้อยละ 7.5 - 9 กรดนิวคลีอิคร้อยละ 6 - 12 เถ้าร้อยละ 5 - 9.5 และไขมันร้อยละ 2 - 6 นอกจากนี้ยังประกอบด้วยวิตามินหลายชนิด เช่น วิตามินบีรวมและธาตุอาหารอื่นที่สิ่งมีชีวิตต้องการในปริมาณน้อยแต่ขาดไม่ได้ (Trace element) ดังนั้นจึงทำให้เซลล์ยีสต์เหมาะสมที่จะเป็นอาหารเสริมแก่มนุษย์และเป็นอาหารสัตว์ นั่นคือมีปริมาณธาตุอาหารต่างๆ อย่างครบถ้วนเมื่อเปรียบเทียบกับมาตรฐานอาหารอาหารสัตว์ขององค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (Food and Agriculture Organism ; FAO) สำหรับข้อบกพร่องของโปรตีนจากยีสต์คือ มีปริมาณเมไทโอนีนและซิสเทอีนต่ำ นอกจากนี้การนำมาเป็นอาหารสำหรับมนุษย์ยังมีข้อจำกัดคือ ยีสต์มีปริมาณกรดนิวคลีอิคสูง เมื่อมนุษย์ได้รับกรดนิวคลีอิคปริมาณมากอาจทำให้ระดับของกรดยูริกในเลือดสูงจนมีการตกผลึกและก่อให้เกิดโรคได้หลายชนิด เช่น เก๊าท์ ไขข้ออักเสบ และนิ่วในทางเดินปัสสาวะ ซึ่งระดับที่ปลอดภัยสำหรับการบริโภค คือ 2 กรัมต่อวัน ซึ่งคิดเป็นน้ำหนักแห้งของยีสต์ประมาณ 20 - 30 กรัม ดังนั้นในปัจจุบันจึงมีการศึกษาเพื่อลดปริมาณกรดนิวคลีอิคในเซลล์ยีสต์ด้วยวิธีการต่างๆ เช่น การให้ความร้อน การใช้เอนไซม์ และการใช้สารเคมีเป็นต้น (วราวุฒิ ครูส่ง, 2529; สาวิตรี ลิ่มทอง, 2539)

2.9 ทฤษฎีที่ใช้ในการวิเคราะห์ค่าจลนพลศาสตร์

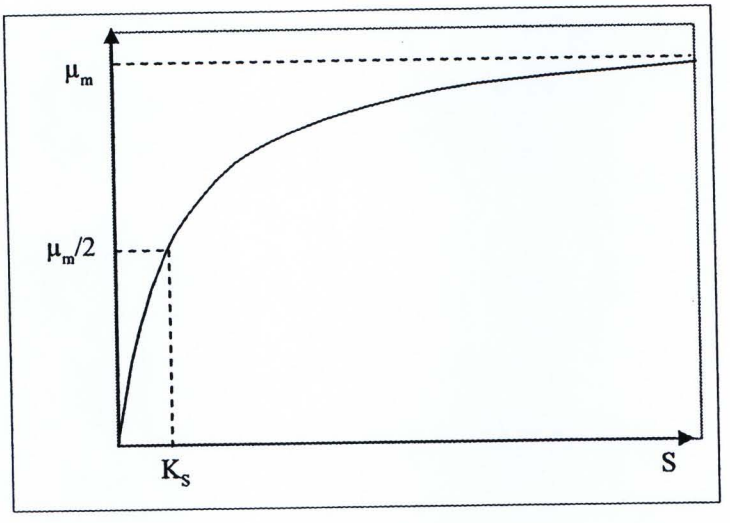
ทฤษฎีที่ใช้ในการวิเคราะห์ค่าจลนพลศาสตร์โดยใช้กราฟข้อมูลการทดลองมาวิเคราะห์นั้นมี 4 ทฤษฎี ได้แก่

2.9.1 ทฤษฎีของ Monod (Grady, Daigger และ Lim, 1999)

สมการของทฤษฎีนี้เป็นสมการที่ได้จากการทดลอง ซึ่งได้รับการยอมรับ และเป็นที่นิยมใช้ในการวิเคราะห์ค่าจลนพลศาสตร์ โดยจะมีลักษณะดังสมการที่ 2.1

$$\mu = \frac{1}{X} r_{GX} = \frac{\mu_m \cdot S}{K_S + S} \qquad \text{..... (2.1)}$$

กราฟที่ได้จากสมการที่ (1) จะแสดงดังรูปที่ 2.6 ซึ่งเมื่อประมาณค่าของ μ_m ในกราฟนี้ ก็จะสามารถหาค่า K_S จากกราฟนี้ได้เช่นกัน



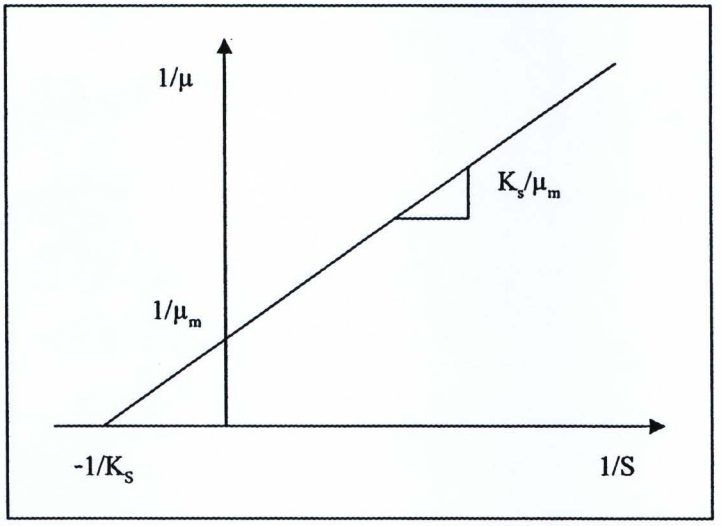
รูปที่ 2.6 อัตราการเกิดปฏิกิริยาที่ความเข้มข้นสารอาหารต่างๆ จากทฤษฎีของ Monod

2.9.2 ทฤษฎีของ Lineweaver-Burk (Grady, Daigger และ Lim, 1999)

ทฤษฎีนี้มาจากการนำสมการของ Monod มาหาส่วนกลับต่อ ซึ่งสมการที่ได้จะเป็นดังสมการที่ 2.2

$$\frac{1}{\mu} = \frac{1}{\mu_m} + \frac{K_S}{\mu_m} \cdot \left(\frac{1}{S}\right) \qquad \text{..... (2)}$$

สมการที่ได้นี้จะอยู่ในรูปของสมการเส้นตรง ซึ่งสามารถหาค่าจลนพลศาสตร์ได้จากสมการนี้ โดยการสร้างกราฟของส่วนกลับอัตราการเกิดปฏิกิริยาเทียบกับส่วนกลับความเข้มข้นสารอาหาร ซึ่งจะได้กราฟแสดงดังรูปที่ 2.7 และสามารถหาค่าจลนพลศาสตร์ได้จากจุดตัดที่แกน X และค่าความชันของเส้นกราฟ ข้อเสียของทฤษฎีนี้ก็คือ ข้อมูลที่ได้มีการกระจายตัวที่ไม่ดี โดยไปรวมกลุ่มอยู่แค่สองตำแหน่ง คือ ข้อมูลที่มีความคลาดเคลื่อนต่ำจะรวมตัวอยู่ใกล้กับตำแหน่งจุดตัดแกน Y ของกราฟ เนื่องจากเป็นตำแหน่งที่มีความเข้มข้นของสารอาหารสูงทำให้การทดลองวิเคราะห์ค่าในบริเวณนี้สามารถหาได้ง่าย และมีความถูกต้องสูง ส่วนข้อมูลที่มีความคลาดเคลื่อนสูงจะอยู่ไกลออกไปที่ปลายเส้นกราฟ เนื่องจากเป็นตำแหน่งที่มีความเข้มข้นของสารอาหารต่ำทำให้การทดลองวิเคราะห์ค่าในบริเวณนี้ให้มีความถูกต้องนั้นทำได้ยาก ดังนั้นเส้นกราฟที่สร้างขึ้นจึงคลาดเคลื่อนได้ง่าย และทำให้ความชันของเส้นกราฟคลาดเคลื่อนตามไปด้วย ส่งผลให้ค่าจลนพลศาสตร์ที่ได้เกิดความคลาดเคลื่อนขึ้น



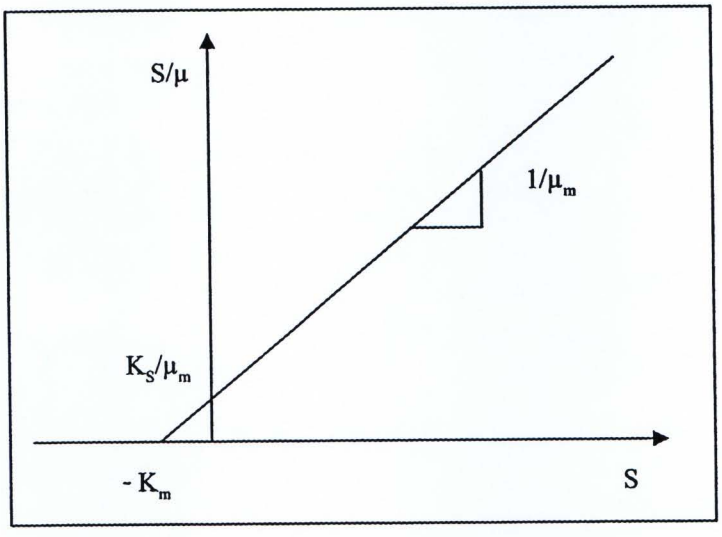
รูปที่ 2.7 อัตราการเกิดปฏิกิริยาที่ความเข้มข้นสารอาหารต่างๆ จากทฤษฎีของ Lineweaver-Burk

2.9.3 ทฤษฎีของ Hanes (Grady, Daigger และ Lim, 1999)

ทฤษฎีนี้มาจากการนำสมการของ Lineweaver-Burk มาปรับแก้ลดความคลาดเคลื่อนของสมการโดยการคูณด้วย S เข้าไปในสมการ ซึ่งจะได้สมการที่ 2.3 ออกมา

$$\frac{S}{\mu} = \frac{1}{\mu_m} \cdot S + \frac{K_S}{\mu_m} \qquad \text{..... (2.3)}$$

สมการที่ได้นี้จะอยู่ในรูปของสมการเส้นตรงเช่นกัน แต่ให้ค่าที่แม่นยำมากขึ้น อันเนื่องมาจากการกระจายตัวที่ดีของข้อมูลตลอดเส้นกราฟโดยไม่ไปรวมตัวอยู่ที่ตำแหน่งใดตำแหน่งเดียว โดยกราฟที่ได้จากสมการนี้จะมาจากอัตราส่วนของความเข้มข้นสารอาหารต่ออัตราการเกิดปฏิกิริยาเทียบกับความเข้มข้นสารอาหาร ซึ่งกราฟที่ได้จะแสดงดังรูปที่ 2.8 การหาค่าจลนพลศาสตร์จากทฤษฎีนี้หาได้จากจุดตัดแกน Y และค่าความชันของเส้นกราฟ โดยข้อดีของทฤษฎีนี้คือ ข้อมูลที่ได้มีการกระจายตัวที่ดี ทำให้กราฟที่ได้มีความแม่นยำกว่าของ Lineweaver-Burk และได้ค่าความชันที่ถูกต้องกว่า โดยเฉพาะเมื่อใช้คอมพิวเตอร์ในการสร้างกราฟจะให้ข้อมูลที่ดีขึ้นแต่ข้อเสียที่เกิดขึ้นคือ ค่าที่ได้จากจุดตัดแกน Y อยู่ใกล้จุดพิกัด (0,0) มากทำให้อ่านค่าจากกราฟได้ยาก แต่สามารถแก้ไขได้โดยการใช้คอมพิวเตอร์สร้างกราฟและทำการถดถอยเชิงเส้น



รูปที่ 2.8 อัตราการเกิดปฏิกิริยาที่ความเข้มข้นสารอาหารต่างๆ จากทฤษฎีของ Hanes

2.9.4 ทฤษฎีของ Hofstee (Grady, Daigger และ Lim, 1999)

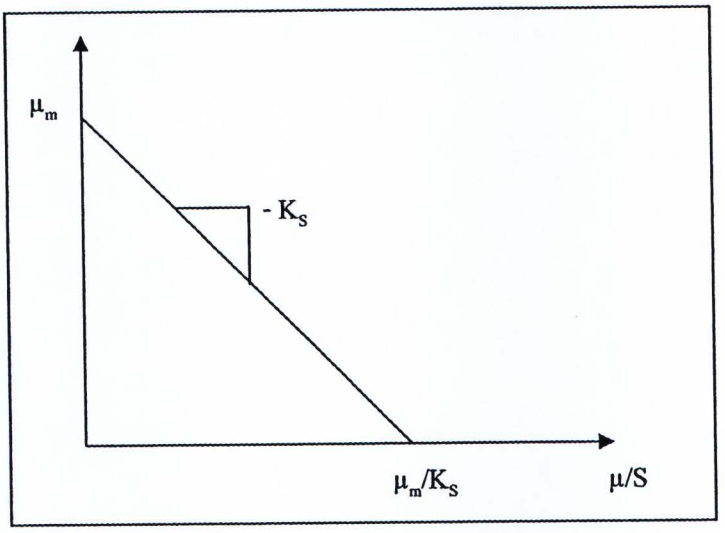
ทฤษฎีนี้มาจากการนำสมการของ Monod มาคูณกับพจน์ $(K_S+S)/S$ ได้ออกมาเป็นสมการที่ 2.4

$$\mu \cdot \left(\frac{K_S + S}{S} \right) = \mu_m \qquad \text{..... (2.4)}$$

จัดรูปสมการที่ 2.4 ใหม่ได้เป็นสมการที่ 2.5

$$\mu = \mu_m - K_S \cdot \left(\frac{\mu}{S} \right) \qquad \text{..... (2.5)}$$

สมการที่ได้จะอยู่ในรูปสมการเส้นตรง ซึ่งสามารถสร้างกราฟจากสมการนี้ได้โดยการสร้างกราฟของอัตราการเกิดปฏิกิริยาเทียบกับอัตราส่วนของอัตราการเกิดปฏิกิริยาต่อความเข้มข้นของสารอาหาร กราฟที่ได้จะแสดงดังรูปที่ 2.9 สามารถหาค่าจลนพลศาสตร์ได้จากจุดตัดแกน Y และค่าความชันของเส้นกราฟ โดยข้อดีของทฤษฎีนี้คือ ข้อมูลที่ได้มีการกระจายตัวดี และสามารถสร้างเส้นกราฟได้เองโดยไม่จำเป็นต้องใช้คอมพิวเตอร์ช่วย แต่มีข้อเสียคือ เส้นกราฟที่ได้จะให้ค่าของ μ_m อยู่ในจุดตัดของทั้งแกน Y และ X ทำให้ใช้คอมพิวเตอร์ทำการถดถอยเชิงเส้นไม่ได้



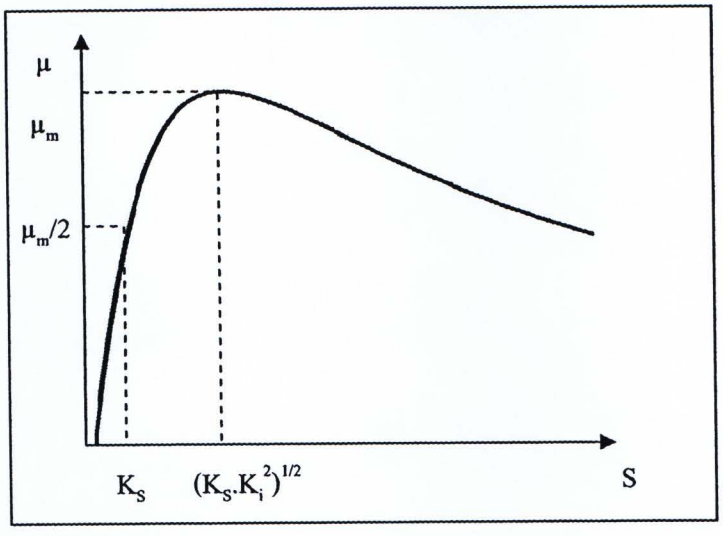
รูปที่ 2.9 อัตราการเกิดปฏิกิริยาที่ความเข้มข้นสารอาหารต่างๆ จากทฤษฎีของ Hofstee

2.9.5 ทฤษฎีของ Haldane (Haldane และ Briggs, 1925)

ทฤษฎีนี้ถูกดัดแปลงมาจากแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ของ Monod โดย Andrew ในปี 1968 โดยศึกษากระบวนการขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ในรูปของสารยับยั้งเชิงซ้อน ทฤษฎีนี้ได้แสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (μ) กับความเข้มข้นของของสารอาหาร (S) ภายใต้อิทธิพลการยับยั้ง (Inhibition) เกิดภาวะความเป็นพิษของสารอาหารที่ความเข้มข้นสูงทำให้อัตราการเจริญเติบโตลดลงในช่วงดังกล่าว โดยสมการของ Haldane แสดงดังสมการที่ 2.6

$$\mu = \frac{\mu_m . S}{K_m + S + \frac{S^2}{K_i}} \qquad \text{..... (2.6)}$$

จากสมการที่ 2.6 จะแสดงกราฟดังรูปที่ 2.10 จากสมการเมื่อนำมาหาความสัมพันธ์ระหว่างสารอาหารและอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ จะได้กราฟที่มีเส้นโค้งเพิ่งขึ้นที่ความเข้มของสารอาหารต่ำและลดลงเมื่อสารอาหารมีความเข้มข้นสูงขึ้น



รูปที่ 2.9 อัตราการเกิดปฏิกิริยาที่ความเข้มข้นสารอาหารต่างๆ จากทฤษฎีของ Haldane

ในงานวิจัยนี้ได้เลือกทฤษฎีที่เหมาะสมเพื่อนำมาใช้ในการวิเคราะห์ คือ ทฤษฎีของ Haldane โดยเป็นสมการที่มีความน่าเชื่อถือและกราฟมีความแม่นยำมากที่สุดกว่าทฤษฎีอื่นๆ ซึ่งจะทำให้การวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อหาค่าจลนพลศาสตร์ได้โดยง่าย

2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.10.1 การศึกษาการคัดแยกจุลินทรีย์ที่ใช้ในการย่อยสลายไขมันและน้ำมัน

Norris และ Ribbons (1971) ทำคัดเลือกแบคทีเรียที่สร้างไลเปสจากคุณสมบัติการสร้าง Pearly layer เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารที่มีนมหรือไข่แดงเป็นส่วนประกอบ โดย *Clostridia* และ *Staphylococci* จะย่อยสารประกอบเชิงซ้อนของไขมันที่มีอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อให้เป็นกรดไขมันอิสระ และสามารถทดสอบความจำเพาะในการย่อยสลายกลีเซอรอลไตรบิวทีเรทโดยการนำมาเลี้ยงในอาหารแข็งชนิด Tributyrin Agar

Peppler และ Perlman (1976) รายงานว่าจุลินทรีย์ที่มีเอนไซม์ย่อยสลายไขมันนั้นสามารถแยกได้จากแหล่งดินทั่วไป โรงงานเนื้อสัตว์ แหล่งบำบัดน้ำเสีย (Sewage treatment plant) จากโรงอาหาร และระบบบำบัดน้ำเสียตามบ้าน (Septic tank) โดยทำการคัดแยกจากดินในบริเวณใกล้เคียงพื้นที่เหล่านี้

Fatima และคณะ (2000) ได้ศึกษาการผลิตเอนไซม์ไลเปสด้วยยีสต์สายพันธุ์ *Yarrowia lipolytica* ที่เลี้ยงในระบบต่อเนื่อง พบว่าเซลล์จะเริ่มปลดปล่อยเอนไซม์ออกมาเมื่อปริมาณคาร์บอนในแหล่งอาหารลดลงเหลือประมาณร้อยละ 50 (น้ำมันปาล์มหรือน้ำตาลกลูโคส) และจะมีความเข้มข้นสูงที่สุดเมื่อเซลล์อยู่ในระยะที่ผ่านพ้นระยะพักตัว (Stationary phase) ไปแล้ว

Takeshi และคณะ (2001) ได้ทำการคัดแยกแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์ไลเปสจากดินในบริเวณที่ราบที่ไม่มีต้นไม้ในเขตไซบีเรียน (Siberian tundra) ที่เจริญเติบโตที่ 4 องศาเซลเซียส แต่ไม่เจริญเติบโตที่ 37 องศาเซลเซียส ซึ่งเหมาะสมกับการไปใช้ในการบำบัดของเสียประเภทไขมันที่สภาวะที่หนาวเย็น และพบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานของแบคทีเรียได้แก่ 20 องศาเซลเซียสโดยแบคทีเรียนี้มีลักษณะเป็นทรงกลมรีที่ย้อมสีติดแกรมลบ

2.10.2 การศึกษาการผลิตชีวมวลของจุลินทรีย์

Han และคณะ (1971) ทำการเพาะเลี้ยง *Cellulomonas sp.* และ *Alcaligenes faecalis* ด้วยชานอ้อยจากโรงงานน้ำตาลเพื่อให้เป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ โดยชีวมวลที่ได้นั้นมีปริมาณโปรตีนเป็นองค์ประกอบสูงถึงร้อยละ 46.2 ของน้ำหนักเซลล์แห้ง และมีกรดอะมิโนครบถ้วนเหมาะสำหรับการนำไปใช้เป็นแหล่งอาหารทดแทนประเภทโปรตีนที่มีประสิทธิภาพ

Tannenbaum และ Wang (1975) ทำการเพาะเลี้ยง *Methylomonas methanolica* โดยใช้มีเทนเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าได้ผลผลิตมากกว่า 0.5 กรัมน้ำหนักเซลล์แห่งต่อกรัมเมทานอล โดยมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดในระบบการเลี้ยงเชื้อแบบต่อเนื่องเท่ากับ 0.52 ลิตร/ชั่วโมง มีโปรตีนร้อยละ 81 ของน้ำหนักเซลล์แห้งและมีกรดอะมิโนครบถ้วน

Anon (1976) ศึกษาการผลิตชีวมวลของยีสต์จากน้ำเสียที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบโดยอาศัยการอยู่ร่วมกับแบบพึ่งพา (Symbiosis) ระหว่าง *Candida utilis* และ *Endomycosis fibuligera* เนื่องจากในการผลิตชีวมวลของยีสต์จำเป็นต้องอาศัยเอนไซม์อะไมเลสจาก *Candida utilis* เพื่อย่อยสลายแป้งเป็นกลูโคส สำหรับน้ำเสียที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบจะมีคาร์โบไฮเดรตประมาณร้อยละ 1.5 โดยส่วนใหญ่เป็นน้ำเสียจากโรงงานแปรรูปมันฝรั่งและธัญพืชโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังและเม็ดสาคู พบว่าให้ผลผลิตชีวมวลของยีสต์ในปริมาณที่สูงและสามารถลดค่าบีโอดีของน้ำเสียลงได้ระดับหนึ่ง

Forage (1978) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของยีสต์ *Candida utilis* ในการผลิตชีวมวลของยีสต์จากน้ำเสียโรงงานผลิตลูกกวาดเพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์ พบว่า *Candida utilis* สามารถเติบโตได้ดีในน้ำเสีย โดยน้ำเสียโรงงานผลิตลูกกวาดมีสารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตอยู่ในระดับสูง มีค่าบีโอดีมากกว่า 10,000 มก./ล. สามารถเป็นแหล่งอาหารเพื่อผลิตชีวมวลที่มีคุณค่าอาหารในระดับสูง ซึ่งยีสต์ที่ได้มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบร้อยละ 48.35 และมีวิตามินซึ่งสามารถนำไปใช้เป็นส่วนผสมในอาหารสัตว์แทนถั่วเหลือง จึงใช้เป็นแหล่งอาหารโปรตีนที่สำคัญสำหรับเลี้ยงสัตว์ได้

Chareonsak และคณะ (1980) ผลิตโปรตีนจากชีวมวลของ *Candida utilis* จากน้ำเสียโรงงานสับปะรดกระป๋อง โดยเมื่อศึกษาลักษณะทางเคมีและกายภาพของน้ำเสียพบว่าเป็นแหล่งวัตถุดิบที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนจากชีวมวลของยีสต์ น้ำเสียนี้มีน้ำตาลสูงซึ่งส่วนใหญ่ได้แก่ กลูโคส ฟรุกโตส และซูโครส ทำให้มีค่าซีโอดีสูง แต่มีปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสต่ำมาก (น้อยกว่าร้อยละ 0.005) โดย *Candida utilis* สามารถเจริญเติบโตได้ดีในน้ำเสียที่ผ่านการเจือจางที่อัตราการกวน 500 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 1 วีวีเอ็ม ค่าพีเอชในช่วง 4.5 - 5.5 และอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ได้ผลผลิตชีวมวลเท่ากับ 11. 5 กรัม/ลิตร และลดค่าซีโอดีของน้ำเสียลงได้ร้อยละ 91 เมื่อเปรียบเทียบกับ *Saccharomyces cerevisiae* ที่ได้ผลผลิตชีวมวลต่ำกว่า 3 กรัม/ ลิตร

Gharsallah (1993) ศึกษาการผลิตชีวมวลของยีสต์จากน้ำเสียโรงงานน้ำมันมะกอก โดยน้ำเสียชนิดนี้มีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบ 16.8 กรัม/ลิตร และสารอินทรีย์อื่นๆ ประมาณ 10 กรัม /ลิตร เพื่อทำการทดสอบโดยใช้ยีสต์ 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Candida krusei, Saccharomyces chevalierie* และ *Saccharomyces rouxii* ในถังหมักขนาด 2 ลิตร ที่อัตราการให้อากาศ 2 วีวีเอ็ม ค่าพีเอชเท่ากับ 5.5 ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส โดยภายหลังจากการเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า *Saccharomyces rouxii* ให้ผลผลิตชีวมวล 0.45 กรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อกรัมน้ำตาลที่ใช้ มีโปรตีนภายในเซลล์ 3.35 กรัม / ลิตร และสามารถลดค่าบีโอดีในน้ำเสียได้ 40 - 50 เปอร์เซ็นต์

Zheng และคณะ (2004) ทำการแยกเชื้อยีสต์ 5 สายพันธุ์ได้แก่ *Rhodotorula rubra, Candida utilis, Candida boidinii* และ *Trichosporon cutanium* จากดินที่มีการปนเปื้อนไขมันและน้ำมัน และศึกษาการเปลี่ยนรูปน้ำมันในน้ำเสียจากโรงงานน้ำมันสลัดโดยยีสต์ดังกล่าว ผลการศึกษาพบว่า *Candida utilis* มีอัตราการใช้น้ำมันเพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนสูงสุด (Oil uptake rate) เท่ากับ 0.96 กก. ต่อ กก. ชีวมวล และมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงที่สุดเท่ากับ 0.25 ชม.$^{-1}$ โดยอัตราส่วนไนโตรเจนต่อคาร์บอนมีผลโดยตรงต่อประสิทธิภาพการลดน้ำมัน (Oil reduction efficiency) การผลิตชีวมวล และปริมาณโปรตีนภายในเซลล์ของยีสต์สายพันธุ์ดังกล่าว ซึ่งอัตราส่วนไนโตรเจนต่อคาร์บอนที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 1 : 6 ถึง 1 : 8

2.10.3 การศึกษาการหาค่าจลนพลศาสตร์ของจุลินทรีย์

Goudar และคณะ (1998) ศึกษาการประมาณค่าพารามิเตอร์ทางชีวภาพของ *Penicillium chrysogenum* ที่เจริญเติบโตในกลูโคส ด้วยการหมักแบบแบทช์ โดยใช้เทคนิค non-linear regression ในสมการ Contois equation ผลการทดลองพบว่า *Penicillium chrysogenum* มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด เท่ากับ 0.103 ชั่วโมง$^{-1}$ K_c = 0.145 มก./ล. และ Y = 0.445

Pungsungvorn (1999) ศึกษาการจลนพลศาสตร์การเติบโตของ *Candida utilis* TISTR 5001 ภายใต้การเพาะเลี้ยงแบบให้อากาศในถังปฏิกิริยาแบบแบทช์และถังปฏิกิริยาแบบฟีดแบทช์ (Fed batch) พบว่าความเข้มข้นของกลูโคสที่เหมาะสมที่สุดคือ 24.42 และ 10 กรัม/ลิตร โดยมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเท่ากับ 0.362 และ 0.343 ชั่วโมง$^{-1}$ แต่ได้ผลผลิตเซลล์จากกลูโคสเท่ากับ 0.475 และ 2.8 กรัม/กรัม ตามลำดับ แต่ถ้าเพิ่มความเข้มข้นของกลูโคสสูงขึ้นจะได้อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะและผลผลิตของเซลล์ที่ได้จากกลูโคสลดลง

Loperena และคณะ (2005) ทำการศึกษาคุณสมบัติทางจลนพลศาสตร์ของหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการบำบัดน้ำเสียที่มีไขมันนมเป็นองค์ประกอบ โดยทำการเปรียบเทียบระหว่างหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในระบบ (Native inoculum) และหัวเชื้อจุลินทรีย์เชิงพาณิชย์ที่เติมลงไป (Commercial inoculum) เมื่อทำการประมาณค่าทางจลนพลศาสตร์โดยใช้สมการของ Monod และ Haldane ผลการทดลองพบว่าหัวเชื้อจุลินทรีย์เดิมที่อยู่ในระบบจะมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดสูงกว่าหัวเชื้อจุลินทรีย์เชิงพาณิชย์ที่เติมลงไป

2.12.4 การทดลองใช้ชีวมวลแทนอาหารสัตว์

Zheng และคณะ (2004) ทำการทดลองแยกเชื้อยีสต์จากดินที่ปนเปื้อนไขมันและน้ำมัน ซึ่งเก็บตัวอย่างดินจากบริเวณใกล้เคียงโรงงานผลิตน้ำมันสลัด หลังจากการทดลองเลี้ยงยีสต์ที่แยกได้ดังกล่าวภายหลังการเจริญเติบโตเต็มที่ และทำการวิเคราะห์องค์ประกอบภายในเซลล์ของชีวมวลพบว่าประกอบด้วย โปรตีนร้อยละ 21 ไขมันร้อยละ 9 และคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 55 นอกจากนี้ยังพบว่ามีกรดอะมิโนครบถ้วนเหมาะแก่การใช้เป็นอาหารสัตว์เมื่อทำการเปรียบเทียบกับมาตรฐานขององค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (FAO guideline)

Obeta (2007) ได้ทำการศึกษาการย่อยสลายของเสียจากเกษตรกรรมด้วยจุลินทรีย์ที่สามารถทำงานได้ดีในช่วงอุณหภูมิที่สูง (Thermophilic aerobic digestion) ได้แก่ *Bacillus coagulan, Bacillus licheniformis* และ *Bacillus stearothermophilus* พบว่าการผลิตชีวมวลของแบคทีเรียกลุ่มนี้ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและอัตราการเติมอากาศ โดย *Bacillus stearothermophilus*

มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดคือ 2.63 ชั่วโมง$^{-1}$ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และอัตราการเติมอากาศ 1 วีวีเอ็ม อัตราผลผลิตสูงที่สุดคือ 0.404 กรัม/กรัม ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส การผลิตโปรตีนสามารถผลิตได้สูงสุดถึงร้อยละ 79 ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส โดยปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นจะเพิ่มมากขึ้นตามอุณหภูมิ นอกจากนี้ยังพบว่ากรดอะมิโนทั้งหมดของชีวมวลเมื่อเปรียบเทียบกับมาตรฐานขององค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (FAO) สามารถใช้เป็นอาหารสัตว์ได้

จากการศึกษาและรวบรวมผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้องให้ข้อมูลที่สามารถระบุได้ว่าจุลินทรีย์กลุ่มยีสต์มีความเหมาะสมและมีศักยภาพที่จะนำมาใช้ในการบำบัดน้ำเสียที่มีไขมันและน้ำมันเป็นองค์ประกอบได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยกลไกที่เกิดขึ้นจะเป็นกระบวนการทางชีวภาพที่เซลล์ยีสต์สร้างและปลดปล่อยเอนไซม์ไลเปสออกมาย่อยสลายไขมันและน้ำมัน โดยเปลี่ยนรูปให้เล็กลงและมีโครงสร้างง่ายๆ ที่เซลล์สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ นอกจากนี้ชีวมวลของยีสต์ที่ได้ภายหลังกระบวนการบำบัดน้ำเสียจะเป็นผลพลอยได้ที่สำคัญที่สามารถนำมาใช้ให้เกิดมูลค่าในเชิงเกษตรกรรมและพาณิชย์ได้ นั่นคือ ใช้เป็นอาหารเสริมประเภทโปรตีนสำหรับเลี้ยงสัตว์เพื่อลดต้นทุนอาหารสัตว์ได้เป็นอย่างดี และการศึกษาค่าจลนพลศาสตร์จะสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการออกแบบระบบบัดน้ำเสียที่มีประสิทธิภาพในขั้นต่อไป