

บทที่ 2

วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 จุลินทรีย์สะสมไขมัน (Oleaginous microorganisms)

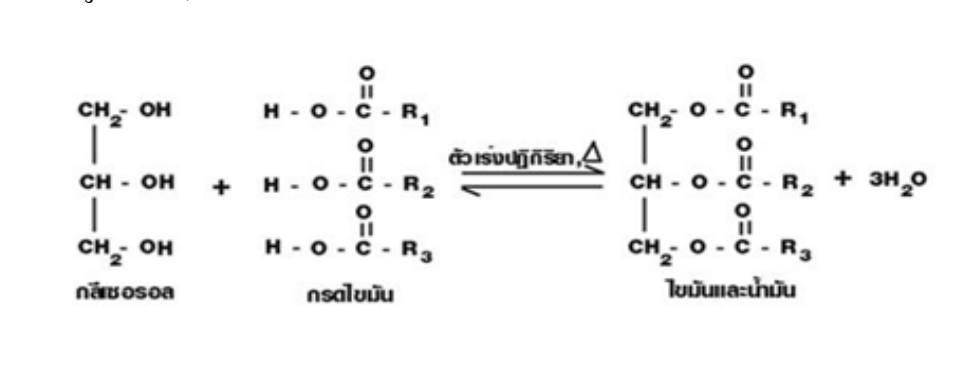
จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตและสะสมไขมันได้สูงกว่า 20 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง เรียกว่า จุลินทรีย์ไขมันสูง หรือจุลินทรีย์สะสมไขมัน (oleaginous microorganism) ซึ่งการสะสมไขมันของจุลินทรีย์พบได้ทั้งในยีสต์ รา และแบคทีเรีย โดยจุลินทรีย์จะมีการผลิตไขมันและสะสมไขมันอยู่ในรูปหยดน้ำมันเล็กๆ (microdroplet oils) ภายในเซลล์ของจุลินทรีย์ ส่วนใหญ่มักพบการสะสมไขมันของจุลินทรีย์เมื่อเลี้ยงเซลล์จุลินทรีย์ในอาหารที่มีแหล่งคาร์บอนเกินพอ และจำกัดปริมาณสารอาหารอื่นๆ ที่มีผลต่อการสะสมไขมันในเซลล์จุลินทรีย์ (Ratledge et al., 1984) ไขมันหรือน้ำมันที่ผลิตได้จากจุลินทรีย์สะสมไขมันเหล่านี้ เรียกว่าไขมันเซลล์เดียว (single cell oil) โดยองค์ประกอบของไขมันประมาณ 95 เปอร์เซ็นต์เป็นไตรกลีเซอไรด์หรือไตรเอซิลกลีเซอรอล (triacylglycerol: TAG) ที่มีคุณสมบัติใกล้เคียงกับน้ำมันจากเมล็ดพืช และเชื่อว่ามีศักยภาพสูงสำหรับการพัฒนาการผลิตน้ำมันไบโอดีเซลได้ และยังพบว่ายีสต์บางสายพันธุ์สามารถสะสมไขมันได้สูงมากถึง 70 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง ที่เรียกว่ายีสต์ไขมันสูง (oleaginous yeasts) ตัวอย่างเช่น *Cryptococcus* sp., *Rhodospiridium* sp., *Lipomyces* sp. และ *Rhodotorula* sp. โดยการสะสมไขมันของยีสต์สะสมไขมันจะมีการสะสมไว้ในไซโทพลาสซึมเป็นหยดน้ำมันเล็กๆ และการสะสมไขมันของยีสต์จะมีความแตกต่างกันตามสายพันธุ์และอาหารในการเพาะเลี้ยงของยีสต์ (Cuimin et al., 2009) ยีสต์สะสมไขมันสามารถพบได้ทั่วไปในธรรมชาติ ในดิน ในน้ำ ในส่วนต่างๆ ของพืชยีสต์บางชนิดพบอยู่กับแมลงและในกระเพาะของสัตว์บางชนิด (ไพฑูริย์ สุขสถาวรพันธุ์, 2537) แต่แหล่งที่สามารถพบยีสต์สะสมไขมันสูงได้มากที่สุดคือ แหล่งที่มีน้ำตาลเข้มข้นสูงหรือแหล่งธรรมชาติที่มีการปนเปื้อนของไขมันสูง เช่น น้ำเสียที่มีการปนเปื้อนของไขมัน และตะกอนน้ำเสียที่มาจาก การปนเปื้อนของไขมัน ยีสต์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติมักจะปนเปื้อนลงในอาหาร เป็นเหตุให้อาหารเน่าเสียได้ โดยปกติการเจริญและการสะสมหรือผลิตไขมันของยีสต์สะสมไขมันจะมีการผลิตและสะสมไขมันที่แตกต่างกันตามสายพันธุ์หรือชนิดของยีสต์ รวมไปถึงแหล่งวัตถุดิบที่นำมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการเพาะเลี้ยงก็เป็นปัจจัยในการทำให้การสะสมและการผลิตไขมันของยีสต์แต่ละสายพันธุ์แตกต่างกันไปด้วย (Chao et al., 2009) กรดไขมันที่ได้จากยีสต์สามารถเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจมาก เนื่องจากยีสต์มีวงจรชีวิตสั้น ใช้เนื้อที่ในการเพาะเลี้ยงน้อย และยีสต์มีการให้ปริมาณของกรดไขมันที่สูงเมื่อเทียบกับน้ำหนักแห้ง และกรดไขมันที่ได้จากยีสต์สะสมไขมันมีองค์ประกอบของกรดไขมันที่คล้ายคลึงกับไขมันที่ได้จากพืช ซึ่งถือว่าสามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตน้ำมันไบโอดีเซลได้ และเป็นแหล่งวัตถุดิบทางเลือกหนึ่งที่นำมาผลิตพลังงานทดแทน คุณสมบัติโดยทั่วไปของจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตไขมันหรือน้ำมันในระดับอุตสาหกรรมจะแตกต่างจากจุลินทรีย์ที่ผลิตสารหรือผลิตภัณฑ์อื่นๆ ในระดับอุตสาหกรรม กล่าวคือ จุลินทรีย์ต้องมีความเสถียรทางพันธุกรรมนั่นคือ สามารถให้ผลิตภัณฑ์คงที่เมื่อใช้ผลิตสารนั้นๆ เป็นเวลานานๆ จุลินทรีย์ต้องไม่เป็นจุลินทรีย์ก่อโรค (pathogenic microorganisms) หรือผลิตสารพิษซึ่งทั้งสองลักษณะต้องปลอดภัยต่อผู้ทำงานในโรงงานที่ผลิตและปลอดภัยต่อการนำไปใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ และจุลินทรีย์นั้นต้องมีความทนต่อแรงเฉือน การกวน การให้อากาศและการผสมผสาน และจุลินทรีย์ต้องมีอัตราการเจริญสูงและให้ผลิตภัณฑ์สูง ซึ่งคุณสมบัติที่พึง

ประสงค์อย่างยิ่งของจุลินทรีย์ที่สามารถนำมาผลิตไขมันหรือน้ำมันในระดับอุตสาหกรรมนั้น มีดังนี้คือมีความสามารถในการสะสมไขมันในปริมาณสูง สามารถเจริญแบบ heterotrophic growth กรณีที่จุลินทรีย์คัดแยกมาจากน้ำทะเลต้องสามารถเจริญได้ดีในสภาวะที่มีความเข้มข้นของเกลือต่ำๆ สามารถเจริญและให้ผลผลิตได้ในที่มีอุณหภูมิสูงมากกว่า 30 องศาเซลเซียส ผลิตและสะสมไขมันเป็นส่วนประกอบหลัก และไขมันที่ได้ต้องอยู่ในรูปไตรกลีเซอไรด์และไขมันที่ผลิตได้ต้องสามารถสกัดออกจากเซลล์ได้ง่าย (Raltledge, 2004)

2.2 ยีสต์และไขมันที่พบในยีสต์

ปัจจุบันมีการศึกษาเกี่ยวกับการผลิตไขมันหรือน้ำมันที่ได้จากจุลินทรีย์กันอย่างแพร่หลาย และพบว่ายีสต์ก็เป็นจุลินทรีย์อีกชนิดหนึ่งที่มีศักยภาพในการผลิตไขมันได้สูง ยีสต์ (yeast) คือ รากลุ่มหนึ่งที่มีส่วนใหญเป็นเซลล์เดียว มีรูปร่างหลายแบบ เช่น รูปร่างกลมรี เหลี่ยม เป็นต้น ส่วนใหญ่เป็นการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ โดยวิธีการแตกหน่อ สามารถพบทั่วไปในธรรมชาติในดิน ในน้ำ ในส่วนต่างๆของพืช ยีสต์บางชนิดยังสามารถพบได้ในแมลงและกระเพาะของสัตว์บางชนิด แต่แหล่งที่สามารถพบยีสต์ได้อยู่บ่อยๆ คือ แหล่งที่มีน้ำตาลความเข้มข้นสูง เช่น น้ำผลไม้ที่มีรสหวาน ยีสต์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติมักจะปนลงไปในการเป็นสาเหตุของอาหารเน่าเสียได้ ยีสต์เป็นจุลินทรีย์พวกยูคาริโอต มีการนำยีสต์มาใช้ในการอุตสาหกรรมอย่างแพร่หลายและยาวนานแล้ว เช่น การผลิตโปรตีนเซลล์เดี่ยว (single cell protein: SCP) ใช้ผลิตแอลกอฮอล์ในกระบวนการหมักใช้ในการผลิตขนมปัง เป็นต้น (Cuimin et al., 2009) องค์ประกอบของไขมันประมาณ 95 เปอร์เซ็นต์เป็นไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) และยังพบฟอสโฟลิปิด (phospholipids) ไฮโดรคาร์บอน (hydrocarbon) สฟิงโกลิปิด (sphingolipids) และสเตียรอยด์ (steroid compound) ชนิดของกรดไขมันส่วนใหญ่จะมีความคล้ายกับน้ำมันจากพืช โดยองค์ประกอบและปริมาณที่พบที่คล้ายกับไขมันพืชนั้น ทำให้ไขมันจากจุลินทรีย์มีศักยภาพในการนำไปผลิตเป็นไบโอดีเซลได้เช่นเดียวกับน้ำมันพืช โดยผ่านกระบวนการทรานเอสเทอริฟิเคชัน (tranesterification) และเนื่องจากจุลินทรีย์มีข้อได้เปรียบกว่าการปลูกพืชน้ำมัน คือ ยีสต์สะสมไขมันสามารถเจริญเติบโตได้ดีและเร็ว มีช่วงการเจริญเติบโตสั้นทั้งยังเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ง่าย ซึ่งมีความเหมาะสมกับการนำมาเป็นทางเลือกในการผลิตไขมันเพื่อใช้ผลิตไบโอดีเซล กรดไขมันที่ผลิตได้จากยีสต์สะสมไขมัน (oleaginous yeasts) ส่วนใหญ่เป็นกรดไขมัน ที่มีองค์ประกอบคล้ายกับองค์ประกอบของน้ำมันจากพืชโดยองค์ประกอบของไขมันประมาณ 95 เปอร์เซ็นต์เป็นไตรกลีเซอไรด์ (Chao et al., 2009) โดยกรดไขมันเป็นสารประกอบอินทรีย์ในกลุ่มสารประกอบไฮโดรคาร์บอน (Hydrocarbon compounds) ซึ่งประกอบด้วยธาตุคาร์บอนต่อกันเป็นโซ่ยาวและมีหมู่คาร์บอกซิล (-COOH) ต่อที่ปลายข้างหนึ่งของโมเลกุลซึ่งเป็นตัวชี้สมบัติของกรดอินทรีย์ซึ่งกรดไขมันมีลักษณะเป็นโซ่ตรง มีจำนวนคาร์บอนเป็นเลขคู่ 12 - 24 อะตอม และกรดไขมันหลักที่พบในยีสต์สะสมไขมันส่วนใหญ่ประกอบด้วยกรดปาล์มมาติก (palmitic acid; C16:0) กรดโอเลอิก (oleic acid; C18:1) และกรดสเตียริก (stearic acid; C18:0) และ กรดไขมันชนิดอื่นที่พบ เช่น กรดไมริสติก (myristic acid; C14:0) กรดเฮปตาเดคาโนอิก (heptadecanoic acid; C17:0) กรดปาล์มิโตเลอิก (palmitoleic acid; C16:1) กรดลิโนเลอิก (linoleic acid; C18:2) และกรดลิโนเลนิก (linolenic acid; C18:3) ซึ่งกรดเหล่านี้ที่พบในยีสต์สะสมไขมันมีปริมาณและองค์ประกอบที่ใกล้เคียงกับองค์ประกอบของน้ำมันพืชที่มีคุณสมบัติในการนำมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตไบโอดีเซลได้ โดยไขมันที่พบในยีสต์ส่วนใหญ่จะสะสมในเซลล์เมมเบรน (intracellular lipid) แต่ในยีสต์สะสมไขมัน (oleaginous yeasts) ไขมันอยู่ในรูปของหยดน้ำมัน (oil droplet) อยู่ภายในเซลล์นอกจากนี้แล้วยีสต์ยังมี

คุณสมบัติอื่นๆที่เหมาะสมในการที่จะคัดเลือกเพื่อนำมาใช้ในการผลิตไขมัน คือ สามารถเจริญได้เร็วให้ความหนาแน่นของเซลล์สูง (high cell density) ซึ่งให้ผลผลิตสูงนอกจากนั้นยังสามารถใช้วัตถุดิบราคาถูกเป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญ ทำการเก็บเกี่ยวเซลล์ได้ง่ายโดยการกรองหรือปั่นเหวี่ยง การสกัดน้ำมันออกจากเซลล์ก็ทำได้ง่าย (บำเพ็ญ นิมเขียน, 2545)



ภาพที่ 2.1 โครงสร้างของกรดไขมัน

กลีเซอไรด์เป็นเอสเทอร์ของกรดไขมันกับกลีเซอรอล ซึ่งหมู่ไฮดรอกซิลของกลีเซอรอลจะถูกแทนที่กรดไขมันตั้งแต่ 1, 2 และ 3 ตำแหน่ง ซึ่งเรียกว่า โมโนกลีเซอไรด์ ไดกลีเซอไรด์ และไตรกลีเซอไรด์ ตามลำดับ โดยกลีเซอไรด์เป็นกรดไขมันที่พบมากที่สุดเซลล์ มีถึง 80 เปอร์เซ็นต์ของไขมันทั้งหมดและกลีเซอไรด์ที่พบมากที่สุดคือ ไตรกลีเซอไรด์ โดยกรดไขมันที่พบในไตรกลีเซอไรด์ในยีสต์มีจำนวนคาร์บอนอะตอมตั้งแต่ 8-24 อะตอม โดยชนิดที่มีคาร์บอนอะตอม 16-18 อะตอม พบมากที่สุดโดยมีทั้งกรดไขมันอิ่มตัวและกรดไขมันไม่อิ่มตัว (Ratledge, 1992)

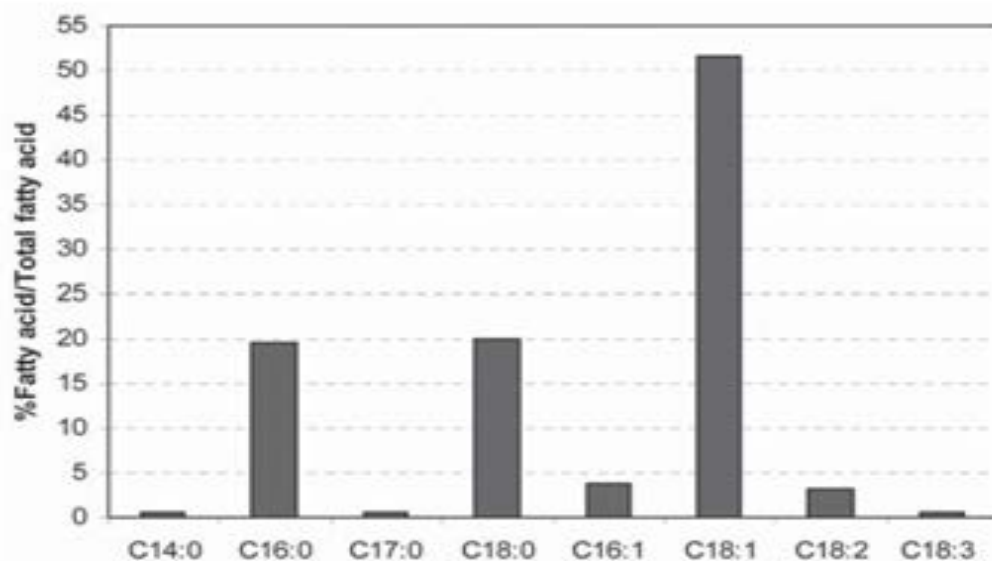
ในการศึกษาการเพาะเลี้ยงยีสต์ที่สามารถสะสมไขมันโดยทั่วไปพบว่ามีการงานถึงองค์ประกอบของกรดไขมันที่ได้จากยีสต์สะสมไขมันที่คล้ายกัน โดยกรดไขมันหลักที่พบประกอบด้วยกรดปาล์มมาติก (palmitic acid; C16:0) กรดโอเลอิก (oleic acid; C18:1) และกรดสเตียริก (stearic acid; C18:0) ซึ่งองค์ประกอบของกรดไขมันหลักนี้มีความคล้ายกับกรดไขมันที่พบในน้ำมันพืชซึ่งเหมาะกับการนำมาผลิตน้ำมันไบโอดีเซล

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบของกรดไขมันในยีสต์ *C.lipolytica*, *C. tropicalis* และ *R. mucilaginosa* ในอาหารเลี้ยงที่มีกากน้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอน

Fatty Acid (%)	<i>C.lipolytica</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>R. mucilaginosa</i>
Lauric acid	15.1	-	-
Myristic acid	-	5.3	2.8
Palmitic acid	21.6	29.7	26.2
Palmitoleic acid	5.2	5.0	-
Heptadecanoic acid	-	1.5	-
Cis-10-heptadecanoic acid	-	-	4.9
Stearic acid	27.1	56.2	37.3
Oleic acid	19.0	2.3	22.3
Linoleic acid	12.0	-	6.5

ที่มา : Sevgi et al. (2010)

รัตนารักษ์ ลิสิงห์ (2551ข) ได้ศึกษาการผลิตไขมันจากจุลินทรีย์โดยยีสต์พื้นถิ่นไขมันสูง พบว่ายีสต์สะสมไขมันไอโซเลท OYS3 ประกอบด้วยกรดไขมันหลัก คือ กรดปาล์มาติก กรดโอเลอิก กรดสเตียริกและกรดลิโนเลนิก ซึ่งมีศักยภาพในการนำมาผลิตไขมันไตรกลีเซอไรด์เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตไบโอดีเซล เนื่องจากองค์ประกอบของน้ำมันที่สกัดได้ ประกอบด้วยกรดไขมันหลักที่มีความคล้ายคลึงกับกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบหลักที่พบในน้ำมันพืช ดังภาพที่ 2.2 ซึ่งสอดคล้องกับ Li et al. (2007) ที่ศึกษาองค์ประกอบของน้ำมันจากยีสต์ *Rhodospiridium toruloides* Y4 ที่ประกอบด้วยกรดไขมันหลักคือ กรดโอเลอิก กรดปาล์มาติก กรดสเตียริก และกรดลิโนเลนิก โดยไขมันที่สกัดได้มีคุณสมบัติที่เหมาะสมกับการผลิตไบโอดีเซล



ภาพที่ 2.2 ชนิดและปริมาณกรดไขมันที่พบในยีสต์ไขมันสูง OYSr เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีกลูโคส 90 กรัม/ลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน บ่มแบบเขย่าที่ 130 รอบ/นาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน
ที่มา: รัตนภรณ์ ลีสิงห์ (2551ข)

Cuimin et al. (2009) ได้ศึกษาผลของการย่อยสลายชีวมวลที่เป็นแหล่งคาร์บอนในการเพาะเลี้ยงยีสต์สะสมไขมัน *Rhodospiridium toruloides* โดยในงานวิจัยนี้ใช้ชีวมวลเป็นประเภทลิกโนเซลลูโลสที่ได้จากของเหลือทิ้งทางการเกษตรโดยการย่อยสลาย ในส่วนของการสะสมไขมันและองค์ประกอบของไขมันที่ผลิตได้ในการทดลองนี้พบว่า ในสภาวะที่มีตัวยับยั้งแต่ละตัว และในสภาวะที่ไม่มีตัวยับยั้ง ให้ค่าการสะสมไขมันและองค์ประกอบของกรดไขมันไม่แตกต่างกัน โดยมีกรดไขมันหลัก คือกรดโอเลอิก กรดปาล์มาติก และ กรดสเตียริก ซึ่งพบในปริมาณที่มากตามลำดับเช่นเดียวกับ Mei et al. (2010) และ Chun-Hai et al. (2010) ได้ศึกษาองค์ประกอบของกรดไขมันที่สกัดได้จากเชื้อยีสต์ *Rhodotorula mucilaginosa* TJY15a ในแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกัน คือ แป้งมันสำปะหลังและหัวแค้นตะวัน พบว่า กรดไขมันที่ได้มีกรดโอเลอิก กรดสเตียริก กรดลิโนเลนิกและปาล์มาติก เป็นองค์ประกอบหลัก โดยเป็นกรดไขมันชนิดสายยาวที่มีคาร์บอน 16 และ 18 อะตอม ที่สามารถนำมาใช้ในการผลิตน้ำมันไบโอดีเซลได้ ดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 องค์ประกอบของกรดไขมัน (% of total fatty acids) จาก *Rhodotorula mucilaginosa* TJY15a

Carbon source	Fatty acid	C 14:0	C 16:0	C16:1	C 18:0	C 18:1	C 18:2
Cassava starch	%	1.5±0.1	22.3±0.4	1.8±0.1	5.2±0.5	63.5±1.8	5.7±0.2
Jerusalem artichoke	%	1.43±0.1	21.56±0.2	1.96±1.5	9.1±0.3	54.68±1	11.27±0.4

ที่มา: Mei et al. (2010), Chun-Hai et al. (2010)

พบว่าปริมาณและองค์ประกอบของยีสต์สะสมไขมันแต่ละชนิดมีความคล้ายคลึงกันทำให้คุณสมบัติที่สามารถนำไปเป็นวัตถุดิบในการผลิตเป็นไบโอดีเซลที่มีคุณภาพดีได้ ซึ่งคุณภาพของน้ำมันไบโอดีเซลจะมีคุณภาพดีหรือไม่ดีนั้น ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบและปริมาณของกรดไขมันที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเป็นน้ำมันไบโอดีเซล รวมถึงขั้นตอนและกระบวนการผลิตน้ำมันไบโอดีเซลด้วยที่สามารถส่งผลต่อคุณภาพของน้ำมันไบโอดีเซลที่ได้

ไขมัน (lipid) คือ สารประกอบอินทรีย์ที่ประกอบด้วยธาตุหลัก คือ คาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน บางครั้งอาจมีไนโตรเจนและฟอสฟอรัสประกอบด้วย และเป็นสารชีวโมเลกุลที่มีอยู่ในสิ่งมีชีวิตและมีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำ แต่ละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดไม่มีขั้ว (non-polar) เช่น คลอโรฟอร์ม (chloroform) อีเทอร์ (ether) ปิโตรเลียมอีเทอร์ (petroleum ether) ไดเอทิลอีเทอร์ (diethylether) เบนซีน (benzene) และเฮกเซน (hexane) เป็นต้น และตัวทำละลายชนิดที่มีขั้วน้อย เช่น แอลกอฮอล์ อะซิโตน เป็นต้น ในโมเลกุลของไขมันจะประกอบด้วยส่วนที่เป็นไฮโดรคาร์บอนซึ่งมีลักษณะไม่มีขั้วมีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำ (hydrophobicity) อยู่ในโครงสร้างไขมันบางชนิดจะมีหมู่ที่มีขั้วซึ่งมีคุณสมบัติชอบน้ำ (hydrophilicity) ต่อกับส่วนไม่มีขั้ว ทำให้สมบัติไขมันนั้นมีลักษณะเป็นแอมฟิฟิลล์ (amphiphile or amphipathic molecule) ไขมันทำหน้าที่ที่สำคัญในสิ่งมีชีวิต เช่น เป็นโครงสร้างเมมเบรนของสิ่งมีชีวิตต่างๆ เป็นแหล่งพลังงาน และหน้าที่เฉพาะอื่นๆ ที่จำเป็นต่อการดำรงชีพ ปัจจุบันมีการจำแนกชนิดของไขมันออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ (รัตนกรรณ ลีสิงห์, 2551ก) คือ

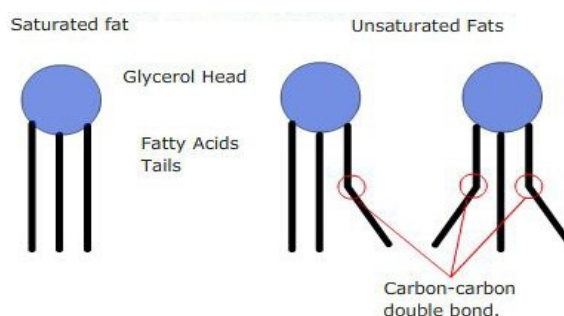
1) ไขมันธรรมดา (simple lipids) เป็นเอสเทอร์ของกรดไขมันกับแอลกอฮอล์ชนิดต่างๆ ได้แก่ ไขมัน (fats) และไข (waxes) ไขมันเป็นเอสเทอร์ของกรดไขมันกับกลีเซอรอลเมื่อเป็นของเหลวที่อุณหภูมิห้องเรียกว่าน้ำมัน (oil) ส่วนไขเป็นเอสเทอร์ของกรดไขมันกับ monohydric alcohol

2) ไขมันเชิงประกอบ (compound lipids) เป็นเอสเทอร์ของกรดไขมันกับแอลกอฮอล์และมีสารอื่นๆ รวมอยู่ด้วย ได้แก่ ฟอสโฟลิปิด (phospholipids) ไกลโคลิปิด (glycolipids)

3) อนุพันธ์ไขมัน (derived lipids) เป็นสารประกอบที่ได้จากการเกิดไฮโดรไลซิส (hydrolysis) ของไขมันธรรมดาและไขมันเชิงประกอบ ได้แก่ กรดไขมัน กลีเซอรอล โมโนกลีเซอไรด์ ไตรกลีเซอไรด์ สเตอรอยด์ คลอเรสเตอรอล คาร์ดิโนอยด์ เป็นต้น

2.3 กรดไขมัน (Fatty acid)

กรดไขมันเป็นสารประกอบอินทรีย์ในกลุ่มสารประกอบคาร์บอน (carbon compounds) ซึ่งประกอบด้วย ธาตุคาร์บอนต่อกันเป็นโซ่ยาวและมีหมู่คาร์บอกซิล ($-\text{COOH}$) ต่อที่ปลายข้างหนึ่งของโมเลกุลซึ่งจะเป็นตัวชี้ สมบัติของกรดอินทรีย์ และทำหน้าที่เป็นหมู่ฟังก์ชันในการเกิดปฏิกิริยากับสารชนิดต่างๆ เนื่องจากกรดไขมันเป็น ส่วนประกอบหนึ่งในสองส่วนที่ประกอบขึ้นเป็นไขมัน คุณสมบัติของไขมันจะเปลี่ยนแปลงตามชนิดของกรด ไขมันเป็นสำคัญ เมื่อย่อยสลายด้วยเอนไซม์ จะได้กรดไขมันจากโครงสร้าง (ภาพที่ 2.3) จึงทำให้กรดไขมัน ไม่ละลายน้ำ



ภาพที่ 2.3 โครงสร้างของกรดไขมัน

ที่มา: กุสุมา พรหมสิดา (2550)

จำนวนอะตอมของคาร์บอนของกรดไขมันส่วนใหญ่เป็นเลขคู่ และบางครั้งมีหมู่ไฮดรอกซิลคาร์บอนิล- เมทิลติดอยู่กับโซ่คาร์บอนด้วย กรดไขมันบางชนิดมีโครงสร้างเป็นไซคลิก (cyclic) และมีโครงสร้างซับซ้อนซึ่ง มักพบในพืชและแบคทีเรีย แต่ในสัตว์มักเป็นโครงสร้างที่ไม่ซับซ้อน เรียงตัวเป็นเส้นตรงและมีคาร์บอนอะตอม 16 หรือ 18 อะตอมเป็นส่วนมาก โมเลกุลของกรดไขมัน แบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนที่มีขั้ว (polar) ได้แก่ หมู่คาร์บอกซิลิก กับส่วนไม่มีขั้ว (non-polar) ได้แก่ โซ่คาร์บอน ปกติกรดไขมันมีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำ ถ้าอยู่ใน รูปของเกลือคาร์บอกซิเลตมีประจุลบสามารถจับกับโมเลกุลของน้ำได้ โดยหันหมู่คาร์บอกซิเลตเข้าหาน้ำ และเอา โซ่คาร์บอนหนี ซ่อนไว้ในหยดน้ำมันเกิดเป็นไมเซลล์ (กุสุมา พรหมสิดา, 2550)

2.3.1 การจำแนกชนิดของกรดไขมัน

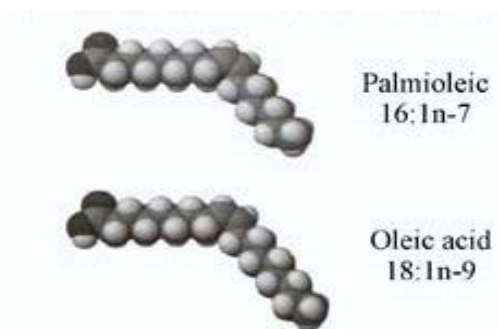
กรดไขมันที่ได้จากการนำไตรกลีเซอไรด์มาไฮโดรไลซ์จะเป็นโซ่ตรง และมีจำนวนคาร์บอน เป็นเลขคู่อยู่ระหว่าง 12-24 อะตอม กรดไขมันที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติมีประมาณ 40 ชนิด ซึ่งโครงสร้างของ กรดไขมันประกอบด้วยส่วนของไฮโดรคาร์บอนและ หมู่คาร์บอกซิล กรดไขมันอาจมีพันธะเดี่ยว หรือพันธะคู่ ดังนั้นจึงจำแนกชนิดของกรดไขมันออกเป็น 2 ชนิด คือ

2.3.1.1 กรดไขมันอิ่มตัว (saturated fatty acid, SFA) กรดไขมันอิ่มตัว เป็นกรดไขมันที่เกิด พันธะระหว่างอะตอมคาร์บอนกับคาร์บอนชิดกันด้วยพันธะเดี่ยว (single bond) ทั้งหมด พบทั้งในพืชและสัตว์ แต่ในสัตว์จะมีกรดไขมันอิ่มตัวมากกว่าพืช เช่น น้ำมันหมู ไข่ไก่ และน้ำมันมะพร้าว กรดไขมันอิ่มตัวเหล่านี้ ร่างกายสังเคราะห์ขึ้นได้ ในทางโภชนาการจึงจัดอยู่ในประเภทกรดไขมันที่ไม่จำเป็นไขมันชนิดนี้จะมีอยู่ใน อาหารจำพวกที่เราเห็นเป็นชั้นสีขาวติดอยู่ในเนื้อสัตว์ หรือหนังสัตว์ปีก ไข่แดง น้ำมันหมู เนย นม ผลิตภัณฑ์จาก

นม รวมถึงน้ำมันที่ได้จากพืช บางชนิดก็เป็นแหล่งไขมันอิ่มตัวด้วย เช่น กรดไขมันปาล์มติก (palmitic acid) ที่มีมากในน้ำมันปาล์ม น้ำมันมะพร้าว ในไขมันสัตว์และผลิตภัณฑ์นมเนย กรดไขมันชนิดนี้จะมีสถานะอันเนื่องมาจากในกระบวนการเคมีของร่างกาย ถ้าไม่ถูกย่อยไปใช้เป็นพลังงานก็จะตกตะกอนในหลอดเลือดทำให้ไขมันในเลือดสูง เกิดความเสี่ยงที่จะอุดตันในหลอดเลือดได้ เป็นต้นเหตุของโรคความดันโลหิตสูง หัวใจและสมองขาดเลือด เป็นอัมพฤกษ์ อัมพาต ฯลฯ มีสูตรทั่วไปเป็น $C_nH_{2n}O$ หรือ $C_nH_{2n+1}COOH$ หรือเขียนสูตรได้เป็น $CH_3(CH_2)_nCOOH$ กรดไขมันอิ่มตัวที่พบมากที่สุด ได้แก่ กรดปาล์มติก (palmitic acid) และกรดสเตียริก (stearic acid)

2. 3.1.2 กรดไขมันไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid, UFA) กรดไขมันไม่อิ่มตัวเป็นกรดไขมันที่มีพันธะระหว่างอะตอมคาร์บอนกับคาร์บอน ซิดเห็นร่วมกันและเรียงตัวกันเกิดมีบางตำแหน่งที่จับไฮโดรเจนไม่ได้ ทำให้เกิดมีแกมมา (double bond) อยู่บางตำแหน่ง ทำให้กรดไขมันไม่อิ่มตัวมีความว่องไวในปฏิกิริยาทางเคมี พร้อมทั้งจะเปิดรับปฏิกิริยาต่าง ๆ ด้านหนึ่งก็เป็นประโยชน์แก่ร่างกาย ซึ่งกรดไขมันไม่อิ่มตัวเหล่านี้ร่างกายสังเคราะห์ขึ้นเองไม่ได้ ในทางโภชนาการจึงจัดอยู่ในประเภทกรดไขมันที่จำเป็น (essential fatty acid) การบริโภคกรดไขมันไม่อิ่มตัวนี้จะช่วยให้คอเลสเตอรอลในเลือดลดลงแต่อีกด้านหนึ่งก็จะทำปฏิกิริยากับออกซิเจนเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกลายเป็นอนุมูลอิสระทำให้เกิดเป็นปัญหาทางสุขภาพ มีสูตรทั่วไปเป็น $C_nH_{2n-2}O_2$ หรือ $C_nH_{2n-1}COOH$ กรดไขมันไม่อิ่มตัวที่พบมากที่สุดได้แก่ กรดโอเลอิก (oleic acid) และกรดไลโนเลอิก (linoleic acid) และกรดไขมันไม่อิ่มตัวสามารถแบ่งออกได้ เป็น 2 ประเภท คือ

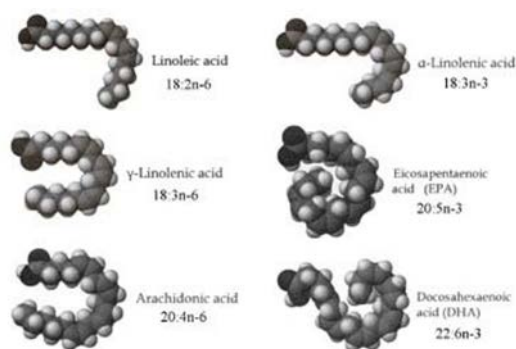
- กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (monounsaturated fatty acid, MUFA) กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวเป็นกรดไขมันที่มีธาตุคาร์บอนต่อกันด้วยพันธะคู่เพียงหนึ่งตำแหน่ง การรับประทานไขมันประเภทนี้ทดแทนไขมันอิ่มตัวจะช่วยลดระดับ LDL Cholesterol ซึ่งเป็นไขมันที่ไม่ดีก่อให้เกิดโรคหลอดเลือดตีบ



ภาพที่ 2.4 ตัวอย่างกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว

ที่มา: กุสุมา พรหมลีดา (2550)

- กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (polyunsaturated fatty acid, PUFA) กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนเป็นกรดไขมันที่มีธาตุคาร์บอนต่อกันด้วยพันธะคู่หลายตำแหน่ง หากรับประทานแทนกรดไขมันอิ่มตัวจะไม่เพิ่มระดับไขมันในร่างกาย



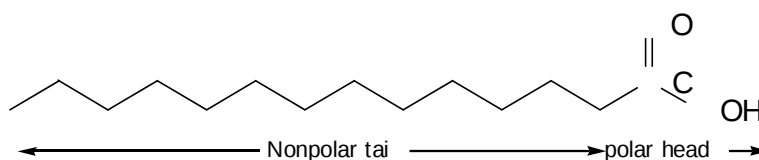
ภาพที่ 2.5 ตัวอย่างกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน
ที่มา: กุสุมา พรหมสีดา (2550)

ไขมันและน้ำมันที่ได้จากสัตว์และพืชประกอบด้วยของผสมของกรดไขมันหลายชนิดของผสมที่มีร้อยละของกรดไขมันอิ่มตัวสูงจะเป็นของแข็ง ก็คือเป็นไขมัน เช่น ไขวัว แต่ถ้ามีร้อยละของกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงก็จะเป็นน้ำมัน เช่น น้ำมันพืช

2.3.2 สมบัติทางกายภาพและทางเคมีของกรดไขมัน

สมบัติทางกายภาพของกรดไขมัน

1) โครงสร้างของกรดไขมันประกอบด้วยส่วนที่มีขั้ว คือ หมู่คาร์บอกซิลกรดไขมัน และส่วนที่ไม่มีขั้ว คือสายโซ่ไฮโดรคาร์บอนที่ต่อกับหมู่คาร์บอกซิล ดังนั้นยิ่งสายโซ่ยาวขึ้น ยิ่งทำให้กรดไขมันมีขั้วน้อยลง



ภาพที่ 2.6 โครงสร้างของกรดไขมัน

2) จุดเดือดและจุดหลอมเหลวของกรดไขมันชนิดอิ่มตัวจะเพิ่มขึ้นตามความยาวของสายโซ่ไฮโดรคาร์บอนหรือเพิ่มขึ้นตามจำนวนอะตอมคาร์บอน ส่วนกรดไขมันไม่อิ่มตัวจะมีจุดเดือด และจุดหลอมเหลวต่ำกว่าของกรดไขมันอิ่มตัวที่มีจำนวนอะตอมคาร์บอนเท่ากัน เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีจำนวนคาร์บอนเท่ากันแต่มีพันธะคู่ต่างกัน จะพบว่ากรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่มากกว่าจะมีจุดเดือดและจุดหลอมเหลวต่ำกว่า

3) กรดไขมันที่มีจำนวนอะตอมคาร์บอนเท่ากัน แต่มีจำนวนพันธะคู่ต่างกัน จำนวนพันธะคู่ที่เพิ่มขึ้นจะมีผลทำให้จุดหลอมเหลวลดลง

สมบัติทางเคมีของกรดไขมัน

- ปฏิกริยาไฮโดรลิซิส ปฏิกริยาไฮโดรลิซิสเป็นปฏิกริยาของไขมันและน้ำมันเกิดได้ทั้งในสภาวะกรดและเบส เมื่อทำการไฮโดรลิซิสไขมันหรือน้ำมันโดยใช้กรดเป็นตัวเร่งปฏิกริยาจะได้กลีเซอรอลและกรดไขมัน 3 โมเลกุล ในการย่อยอาหารพวกไขมันก็จะเกิดปฏิกริยาไฮโดรลิซิสเช่นเดียวกันโดยใช้เอนไซม์ไลเปส (lipase) เป็นตัวเร่งปฏิกริยา ปฏิกริยาไฮโดรลิซิสเป็นปฏิกริยาที่ทำให้เกิดการเสื่อมสภาพของไขมัน (deteriorative) เช่นเดียวกับการเกิดปฏิกริยาออกซิเดชัน (oxidation) ของกรดไขมัน ซึ่งเกิดขึ้นในกรณีที่น้ำมันหรือ ไขมันถูกเก็บไว้และสัมผัสกับอากาศเป็นเวลานาน ทำให้มีกลิ่นและรสชาติที่ไม่พึงประสงค์ ไม่เหมาะสำหรับการบริโภคและอาจจะทำให้คุณภาพของน้ำมันเสียไป

- ปฏิกริยาเอสเทอร์ริฟิเคชัน เป็นปฏิกริยาการสร้างพันธะเอสเทอร์ระหว่างแอลกอฮอล์กับกรดไขมัน ตรงตำแหน่งหมู่คาร์บอกซิล

- ปฏิกริยาการเติมไฮโดรเจน ปฏิกริยาการเติมไฮโดรเจน (hydrogenation) ลงในพันธะคู่ของกรดไขมัน หรือ เอสเทอร์ของกรดไขมัน โดยมีโลหะ เช่น Pt, Pd, Ni หรือ Cu เป็นตัวเร่งปฏิกริยา

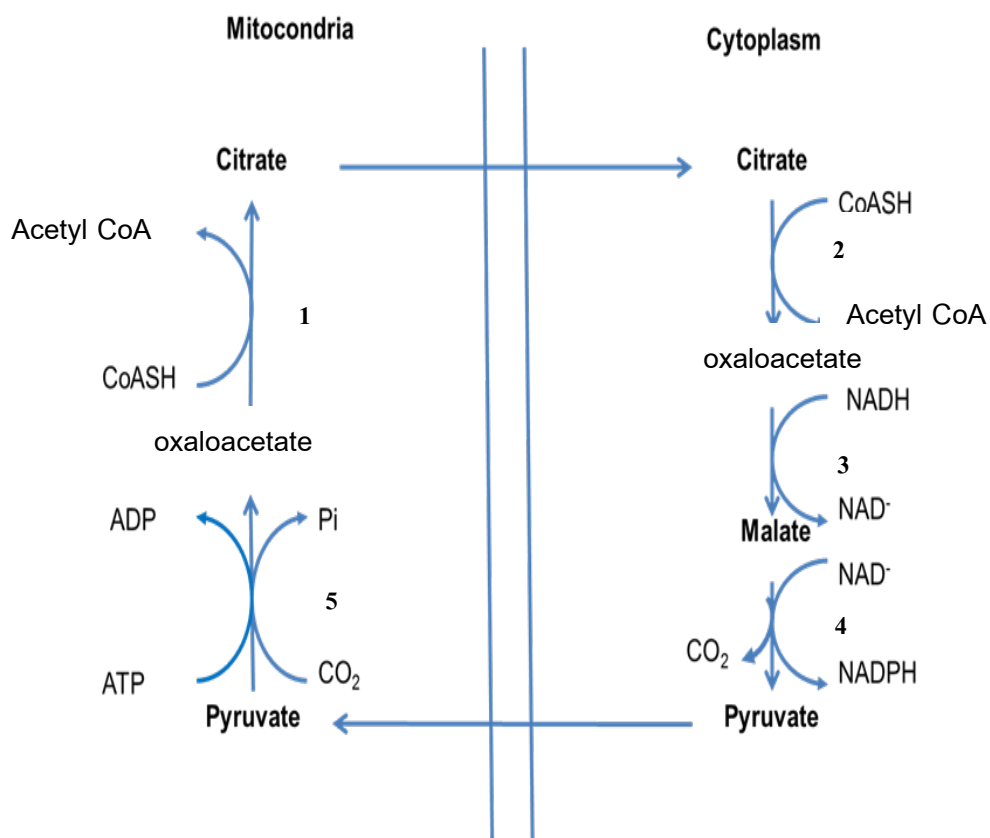
- ปฏิกริยาการเติมฮาโลเจน พันธะคู่ที่อยู่ในไขมันหรือน้ำมันชนิดไม่อิ่มตัวเกิดปฏิกริยาการเติมฮาโลเจน เช่น คลอรีน ไอโอดีน และโบรมีนตรงตำแหน่งของพันธะคู่ของกรดไขมัน สารที่เกิดขึ้นมีความสำคัญไม่มากนัก แต่ปฏิกริยาที่เกิดขึ้นนำไปใช้วิเคราะห์เชิงปริมาณเพื่อหาว่าไขมันหรือน้ำมันนั้น ๆ มีความอิ่มตัวมากน้อยเพียงใด

2.4 การผลิตไขมันในจุลินทรีย์สะสมไขมัน

จุลินทรีย์จะสะสมไขมันก็ต่อเมื่อมีการเลี้ยงจุลินทรีย์ในสภาวะที่มีปริมาณแหล่งคาร์บอนที่มีมากเกินไป และมีการจำกัดปริมาณแหล่งไนโตรเจน ดังนั้นจุลินทรีย์ที่สามารถสะสมไขมันและผลิตไขมันได้ในปริมาณมาก ๆ ในเซลล์ต้องสามารถเข้าสู่การสังเคราะห์ไขมันได้ทันที โดยจุลินทรีย์ที่สังเคราะห์ไขมันต้องมีคุณสมบัติดังนี้ คือ มีความสามารถในการผลิต acetyl-CoA ได้อย่างต่อเนื่องภายในเซลล์ซึ่งจะเป็นสารตั้งต้นสำหรับการสังเคราะห์กรดไขมัน และมีความสามารถในการผลิต NADPH มากเพียงพอเพื่อใช้ในการสังเคราะห์กรดไขมัน การสังเคราะห์ acetyl-CoA ในจุลินทรีย์สะสมไขมันจะเกิดขึ้นเมื่อมีเอนไซม์ ATP: citrate lyase (ACL) (Ratledge, 1981; Ratledge, 2004)

การผลิตไขมันในยีสต์ผลิตไขมันสูงเมื่อถูกจำกัดปริมาณไนโตรเจนจะทำให้ภายในเซลล์มีความเข้มข้นของ AMP (adenosine monophosphate) ต่ำ ทำให้เอนไซม์ NAD (dependent isocitrate dehydrogenase) ซึ่งเมตาบอลิซึมซิเตรทผ่าน TCA ในไมโทคอนเดรีย ถูกยับยั้งทำให้ isocitrate ถูกสะสมในรูป citrate จากนั้นเอนไซม์ ATP: citrate lyase จะเปลี่ยนซิเตรทไปเป็นอะซิติกโคเอ (acetyl-CoA) ซึ่งต้องอาศัย ATP สูงและออกซาโลอะซิเตรท (oxaloacetate) จะถูกเปลี่ยนเป็นมาเลท (malate) โดยเอนไซม์ malate dehydrogenase จากนั้นจะถูกส่งเข้าไปในไมโทคอนเดรีย เพื่อทำหน้าที่ในการสังเคราะห์จากไมโทคอนเดรียเข้าสู่ไซโทพลาสซึม (Ratledge, 1981) และ Botlton and Ratledge (1981) พบว่าเอนไซม์อะซิติกโคเอคาร์บอกซิเลส มีบทบาทในการควบคุมอัตราการผลิตไขมันของยีสต์ไขมันสูง อัตราการผลิตไขมันจะเพิ่มขึ้นเมื่อมีการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์อะซิติกโคเอคาร์บอกซิเลส โดยจะพบเอนไซม์ชนิดนี้เฉพาะในองค์ประกอบของเซลล์ของจุลินทรีย์ไขมันสูง เมื่อไนโตรเจนมีปริมาณลดลงเท่านั้นซึ่งช่วงการผลิตไขมันเอนไซม์นี้จะมีกิจกรรมเพิ่มขึ้น (Ratledge and Evans, 1984; Walker, 1998)

ในขบวนการสังเคราะห์ไขมันจะเริ่มจากการสังเคราะห์กรดไขมันจาก acetyl-CoA ซึ่งใช้พลังงานจาก ATP และ NADPH จาก pentose phosphate pathway ขบวนการนี้เกิดขึ้นในไซโตพลาสซึม เริ่มจากการนำเอา acetyl-CoA ที่สังเคราะห์ได้จากวิถีไกลโคไลซิสซึ่งอยู่ในไมโทคอนเดรียเข้าสู่ไซโตพลาสซึม ดังภาพที่ 2.7

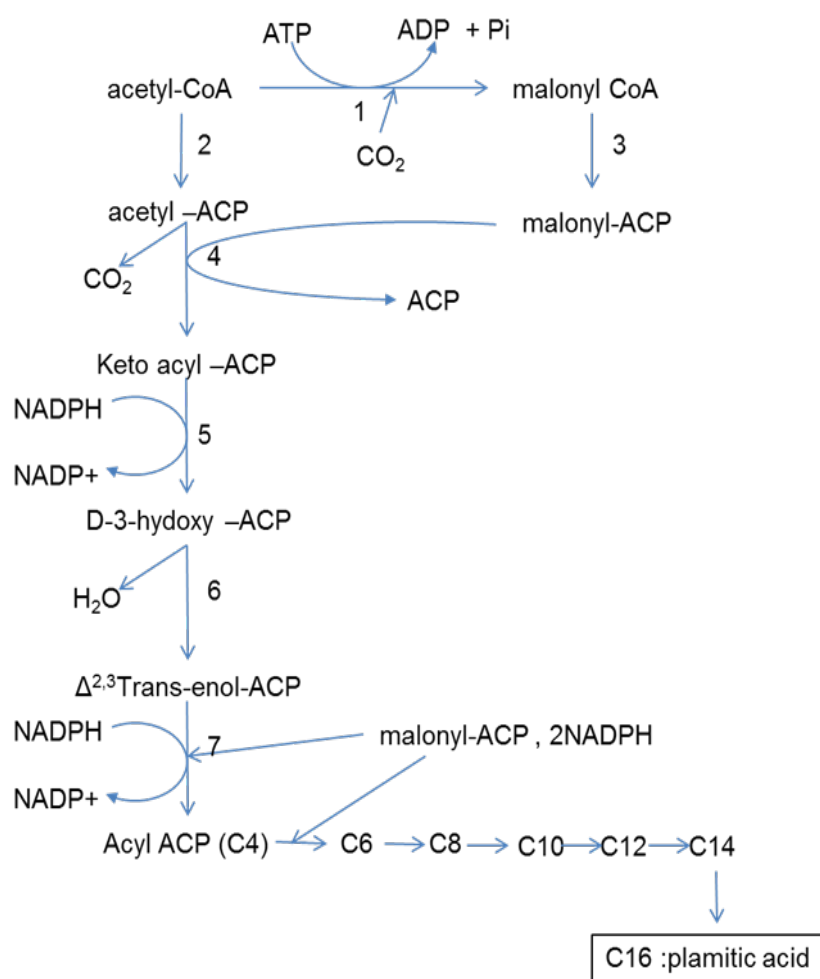


1. Citrate synthetase
2. Citrate lyase
3. Malate dehydrogenase
4. Malic enzyme
5. Pyruvate decarboxylase

ภาพที่ 2.7 การนำเอา acetyl-CoA จากไมโทคอนเดรียเข้าสู่ไซโตพลาสซึมเพื่อใช้ในการสังเคราะห์กรดไขมัน
ที่มา : Ratledge and Evans (1984)

จากนั้นเข้าสู่กระบวนการสังเคราะห์กรดไขมันในไซโทพลาสซึมซึ่งถูกควบคุมโดยเอนไซม์ fatty acid synthase เริ่มจาก acetyl-CoA ทำปฏิกิริยากับ CO_2 ได้เป็น malonyl CoA โดยใช้พลังงานจาก ATP จากนั้น acetyl-CoA และ malonyl CoA จะทำปฏิกิริยากับ Acyl carrier protein (ACP) ได้เป็น acetyl-ACP และ malonyl-ACP ซึ่งจะรวมกันได้ Acyl ACP (C4) ซึ่งจะต้องใช้ NADPH 2 โมเลกุล จากนั้นปฏิกิริยาก็ดำเนินซ้ำแบบเดิม 4 ขั้นตอน คือ คาร์บอนที่ละ 2 อะตอมไปเรื่อยๆ จนได้กรดปาล์มิติก ดังภาพที่ 2.8

การสังเคราะห์กรดไขมันต้องใช้ ATP และ NADP เป็นจำนวนมาก ซึ่ง ATP นี้ได้มาจาก catabolism ส่วน NADPH ได้มาจาก malic enzyme และ pentose phosphate pathway



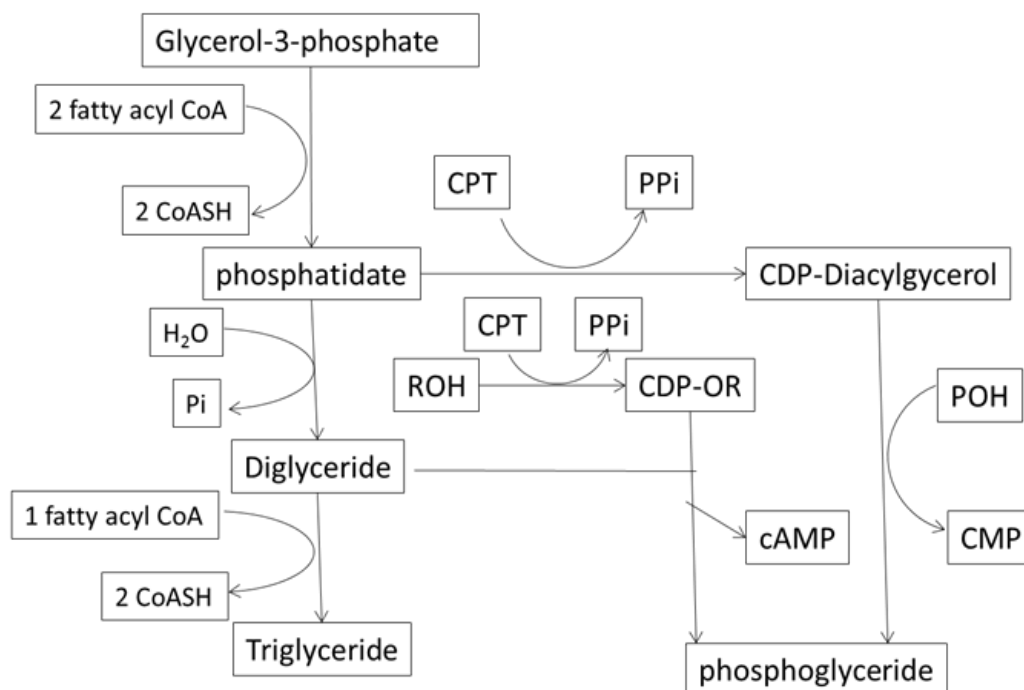
- | | |
|---|--|
| 1. Acetyl CoA carboxylase | 2. Acetyl transferase |
| 3. Malonyltransferase | 4. Synthase (β -ketoacyl ACP synthetase) |
| 5. Reductase (β -ketoacyl ACP reductase) | 6. Hydratase (β -Hydroxyacyl dehydratase) |
| 7. Reductase (enol-ACP reductase) | |

ภาพที่ 2.8 การสังเคราะห์กรดไขมันปาล์มิติกในไซโทพลาสซึม

ที่มา : Ratledge and Evans (1984)

สิ่งมีชีวิตส่วนใหญ่สังเคราะห์กรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีคาร์บอน 16 หรือ 18 อะตอม จากนั้นกรดไขมันเหล่านี้จะถูกเปลี่ยนเป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวโดยเอนไซม์ desaturases และ elongases การเพิ่มพันธะคู่ในกรดไขมันจะเริ่มจาก palmitoyl-CoA (palmitic acid; C16:0) เปลี่ยนเป็น stearoyl-CoA (stearic acid; C18:0) จากนั้นถูกเปลี่ยนเป็น oleoyl-CoA (oleic acid; C18:1) การเพิ่มพันธะคู่ในกรดไขมันจะมีปฏิกิริยา chain elongation โดยเอนไซม์ elongase ทำหน้าที่เพิ่มจำนวนคาร์บอนอะตอมและ desaturation โดยเอนไซม์ desaturase ทำหน้าที่ในการเพิ่มหรือเติมพันธะคู่ตามลำดับ จากนั้นกระบวนการก็จะดำเนินการในการเพิ่มจำนวนคาร์บอนอะตอมและพันธะคู่ไปเรื่อยๆ จนได้กรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาว (LCPUFAs) ในการสร้างพันธะคู่ในกรดไขมันโดยการใช้ออกซิเจนอาศัย electron transport system เรียกกระบวนการนี้ว่า microsomal desaturase system ยีสต์มีแนวโน้มในการผลิตเพียง mono-unsaturated fatty acid และ di-unsaturated fatty acid ของ C16 และ C18 (รัตนภรณ์ ลิสิงห์, 2551^๖)

กรดไขมันที่สังเคราะห์ได้จุลินทรีย์จะเก็บสะสมในรูปของไตรกลีเซอไรด์และฟอสโฟกลีเซอไรด์ เนื่องจากกรดไขมันละลายน้ำได้ยากและจะอยู่ในรูปไมเซลล์ (micelle) อีกทั้งคุณสมบัติของการเป็นกรดและเป็นพิษต่อเซลล์ จึงสร้างพันธะเอสเทอร์กับสารประกอบอื่นๆ ซึ่งพบว่าส่วนใหญ่เป็นกลีเซอรอลได้เป็นกลีเซอไรด์ โดย fatty acyl-CoA รวมตัวกับ glycerol-3-phosphate เกิดเป็น phosphatidate เมื่อกำจัดหมู่ฟอสเฟตออกจะได้กลีเซอไรด์ซึ่งสามารถรวมตัวกับสารอื่น เช่น โคลีน (choline) ซีรีน (serine) และอินซิทอล (inositol) กลายเป็นฟอสโฟกลีเซอไรด์ (phosphoglyceride) แต่การรวมตัวกันนั้น phosphatidate จะถูกเปลี่ยนไปเป็นรูป active form ในรูปอนุพันธ์ของ cytidinediphosphate (CDP) คือ CDP-diacylglycerol แล้วจึงรวมตัวกับสารอื่นๆ ดังภาพที่ 2.9



ภาพที่ 2.9 การสังเคราะห์ไตรกลีเซอไรด์และฟอสโฟกลีเซอไรด์

ที่มา: Ratledge and Evans (1984)

2.5 ปัจจัยที่มีผลต่อการเพาะเลี้ยงยีสต์สะสมไขมัน

การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมกับการเจริญและการผลิตไขมันของยีสต์ ซึ่งปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับอัตรา การเจริญปริมาณและองค์ประกอบของไขมันในเชื้อยีสต์ จะประกอบด้วยปัจจัยดังนี้ปัจจัยทางกายภาพ ได้แก่ สภาวะการเพาะเลี้ยง อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ปริมาณออกซิเจน ปัจจัยทางเคมี ได้แก่ องค์ประกอบ ของสารอาหาร แหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน โดยปัจจัยเหล่านี้ล้วนมีความสำคัญเป็นอย่างมาก และเป็นตัวที่จะ กำหนดการเจริญเติบโตและการผลิต ผลผลิตของจุลินทรีย์ โดยควรมีการใช้สภาวะที่เหมาะสมเพื่อเป็นการเพิ่ม ประสิทธิภาพการทำงานของจุลินทรีย์ เพื่อให้มีประสิทธิภาพตามต้องการ โดยตามธรรมชาติของจุลินทรีย์แต่ละ ชนิดแต่ละสายพันธุ์จะมีสภาวะการเจริญที่แตกต่างกันและไม่เหมือนกัน ทำให้ต้องมีการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสม ของจุลินทรีย์ชนิดนั้นๆ ก่อน เพื่อให้จุลินทรีย์ทำงานอย่างมีประสิทธิภาพตามต้องการ ปัจจัยทางด้านเคมีในด้าน ขององค์ประกอบของอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงและวัตถุดิบที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอน รวมทั้งแหล่งไนโตรเจนที่ ควรมีปริมาณที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์สะสมไขมัน โดยทั่วไปแล้วยีสต์สะสมไขมันจะมีการเจริญได้ดีใน อาหารที่มีแหล่งคาร์บอนมากเกินไป เช่น กลีเซอรอล น้ำตาลชนิดต่างๆ พวกน้ำตาลกลูโคส น้ำตาลไซโลส น้ำตาลซูโคส เป็นต้น และมีแหล่งไนโตรเจนที่จำกัดซึ่งถือเป็นปัจจัยที่สำคัญที่มีผลต่อการสะสมไขมันและการ เจริญเติบโตของเชื้อยีสต์ได้ จากการศึกษาถึงการเจริญเติบโตของเชื้อยีสต์ การสะสมไขมันรวมถึงองค์ประกอบ ของกรดไขมันของยีสต์สะสมไขมันชนิดต่างๆ จะเห็นได้ว่า การเจริญเติบโต การสะสมไขมัน ปริมาณและ องค์ประกอบของกรดไขมันที่พบในยีสต์สะสมไขมันมีความแตกต่างกันตามปัจจัยในการเพาะเลี้ยง ทั้งปัจจัยทาง กายภาพและปัจจัยทางเคมีซึ่งปัจจัยเหล่านี้ส่งผลต่อด้านต่างๆของยีสต์สะสมไขมัน

2.5.1 ปัจจัยทางเคมี ได้แก่ องค์ประกอบของสารอาหาร แหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน โดยสาร อาหารหลักที่มีผลต่อการผลิตไขมันของยีสต์สะสมไขมัน คือ แหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจน โดยเมื่อเลี้ยง ยีสต์ในอาหารที่มีแหล่งคาร์บอนต่างกัน ปริมาณและชนิดของกรดไขมันที่ผลิตโดยยีสต์สายพันธุ์นั้นๆจะแตกต่าง กัน การเพาะเลี้ยงยีสต์สะสมไขมันในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วยวัตถุดิบที่ใช้แทนน้ำตาลเพื่อเป็นแหล่ง คาร์บอนในการเจริญและการสะสมไขมันของยีสต์สะสมไขมัน โดยวัตถุดิบแต่ละชนิดก็จะมีผลต่อการเจริญและ การสะสมไขมันของยีสต์ชนิดที่ต่างกันเพราะอยู่ในแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกัน ในการเลือกใช้วัตถุดิบเพื่อ ใช้เป็นแหล่งคาร์บอนของยีสต์ควรให้มีปริมาณและองค์ประกอบที่เหมาะสมกับยีสต์สะสมไขมัน เพื่อให้การ เพาะเลี้ยงยีสต์มีศักยภาพในการสะสมไขมันและผลิตไขมันได้ในปริมาณมาก (Chao et al., 2009) ดังแสดงใน ตารางที่ 2.3 วัตถุดิบที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอนให้แก่จุลินทรีย์ควรเป็นวัตถุดิบที่มีราคาถูกเพื่อเป็นการลดต้นทุนใน การผลิต เช่น วัตถุดิบทางการเกษตรก็เป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการนำมาเป็นวัตถุดิบเพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนให้กับ จุลินทรีย์ และยังเป็นการใช้วัตถุดิบที่มีราคาถูก และเพิ่มมูลค่าวัตถุดิบทางการเกษตรอีกด้วย โดยวัตถุดิบที่เลือกใช้ สามารถนำมาใช้ทดแทนน้ำตาลได้เพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนให้แก่จุลินทรีย์ในการเจริญและการสะสมไขมัน (Chun-Hai et al., 2010) ยีสต์สามารถเจริญและสะสมไขมันได้ในแหล่งคาร์บอนที่หลากหลาย แหล่งคาร์บอนที่ใช้ ในการเพาะเลี้ยงยีสต์เพื่อผลิตไขมันเซลล์เดียวส่วนใหญ่เป็นกลูโคส หรือแหล่งวัตถุดิบที่ใช้แทนกลูโคสได้ เช่น ซูโคส ไซโลส และแหล่งวัตถุดิบทางการเกษตรที่สามารถแทนน้ำตาลได้ เช่น มันสำปะหลัง มันเทศ อ้อยและ หัวแค้นตะวัน เป็นต้น ซึ่งแหล่งคาร์บอนเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อยีสต์เพื่อนำไปใช้ในการเจริญเติบโตและการผลิต ไขมัน

ตารางที่ 2.3 การผลิตไขมันของยีสต์สะสมไขมันต่างชนิดกันในแหล่งคาร์บอนที่ต่างกัน

Strain	Carbon source	Biomass (g/l)	Lipid content (%)	Lipid yield (g/l)	Reference
<i>Y. lipolytica</i>	Industrial fats	8.7	44.0	3.8	Papanikolaou et al. (2001)
<i>M. isabellina</i>	Glycerol	7.8	25.6	2.0	Fakes et al. (2009)
<i>Mucor</i> sp.	Tapioca starch	28.0	17.8	5.0	Ahmed et al. (2006)
RRL001					
<i>C. echinulata</i>	Glycerol	6.2	35.2	3.3	Fakes et al. (2009)
<i>T. Fermentans</i>	Molasses	36.4	35.3	12.8	Zhu et al. (2008)
<i>L. starkeyi</i>	Sewage sludge	9.4	68.0	6.4	Angerbauer et al. (2008)
<i>C. echinulata</i>	Starch	13.5	28.0	3.8	Papanikolaou et al. (2007)
<i>M. isabellina</i>	Starch	10.4	36.0	3.7	Papanikolaou et al. (2007)
<i>C. echinulata</i>	Pectin	4.1	10.0	0.4	Papanikolaou et al. (2007)
<i>M. isabellina</i>	Pectin	8.4	24.0	2.0	Papanikolaou et al. (2007)
<i>R. glutinis</i>	Monosodium glutamate wastewater	25	20	5.0	Xue et al. (2008)
<i>Y. fermentans</i>	Rice straw hydrolysate	28.6	40.1	11.5	Chao Huang et al. (2009)

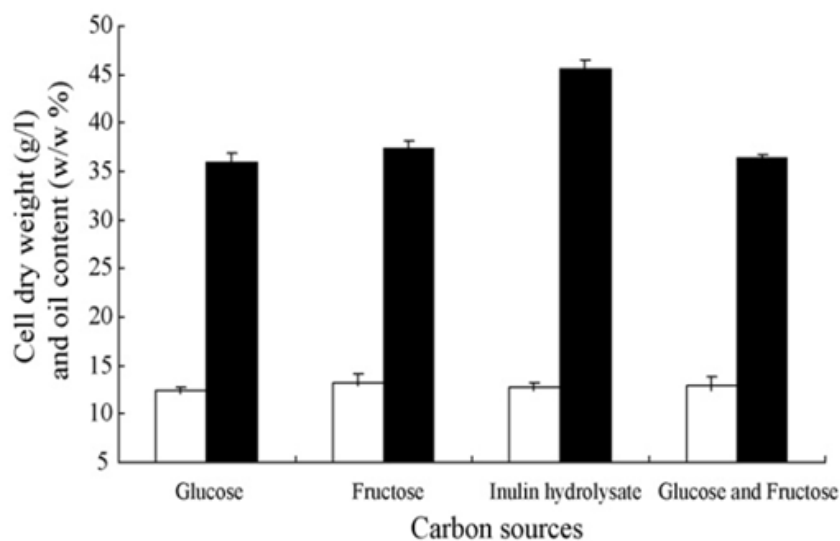
ที่มา: Chao et al. (2009)

2.5.2 ปัจจัยทางกายภาพ ได้แก่ สภาพการเพาะเลี้ยง อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ปริมาณออกซิเจนเป็นองค์ประกอบและปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการเจริญและการผลิตไขมันของยีสต์สะสมเป็นอย่างมาก ซึ่งปัจจัยเหล่านี้จะให้ผลที่แตกต่างกันในสายพันธุ์ของยีสต์สะสมไขมันที่แตกต่างกันไปด้วย โดยการให้อากาศเพิ่มขึ้นพบว่ายีสต์มีการผลิตเซลล์และปริมาณไขมันเพิ่มขึ้น อุณหภูมิลดลง พบว่าจะมีผลทำให้ปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวมีปริมาณเพิ่มขึ้น (รัตนกรณธ์ ลิลสิงห์, 2551ก)

จากงานวิจัยหลายงานวิจัยพบว่าสภาพการเพาะเลี้ยง เป็นสิ่งสำคัญในการกำหนดการเจริญเติบโตและการสะสมไขมันของยีสต์สะสมไขมัน ดังนั้นแหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนและค่าปัจจัยอื่นๆที่มีความสำคัญ ควรมีการใช้ในสภาวะที่เหมาะสม จากงานวิจัยของ Mei et al. (2010) ซึ่งศึกษาการผลิตกรดไขมันจากการย่อยแป้งมันสำปะหลังโดยเชื้อยีสต์ *Rhodotorula mucilaginosa* TJY15a ที่คัดเลือกได้จากธรรมชาติ โดยงานวิจัยนี้ได้มีการทดสอบการเพาะเลี้ยงเชื้อในแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจน พบว่าแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยสามารถทำให้ยีสต์ *Rhodotorula mucilaginosa* TJY15a สะสมไขมันได้มากกว่าแหล่งคาร์บอนที่เป็นกลูโคส ซูโครส และ โซลอส แต่การเจริญเติบโตต่ำกว่าแหล่งคาร์บอนอื่น ในส่วนของแหล่งไนโตรเจนพบว่า peptone เป็นแหล่งไนโตรเจนที่มีความเหมาะสมกับการสะสมไขมันของยีสต์ *Rhodotorula mucilaginosa* TJY15a แต่ไม่เหมาะต่อการเจริญเติบโต ซึ่งสอดคล้องกับการใช้อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N ratio) ที่เหมาะสมและจากงานวิจัยนี้ยังกล่าวไว้ว่า

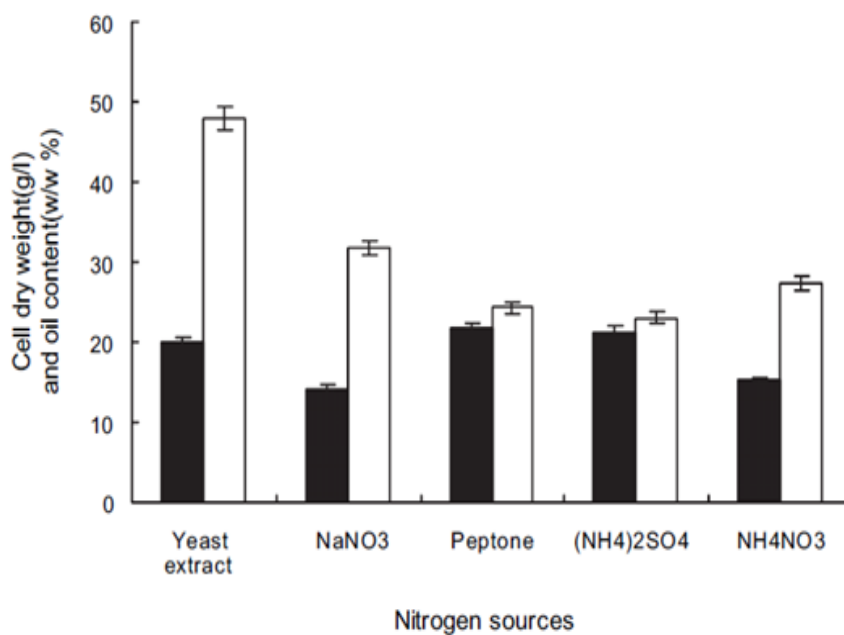
ยีสต์สะสมไขมันจะสามารถสะสมไขมันได้สูง เมื่อมีแหล่งคาร์บอนที่เพียงพอและมีแหล่งไนโตรเจนที่จำกัด คือควรมีค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N ratio) ที่สูง เช่นเดียวกับรัตนกรรณ สีสงห์ (2551ข) ศึกษาการผลิตไขมันจากจุลินทรีย์โดยยีสต์พื้นถิ่นไขมันสูง ได้กล่าวไว้เช่นกันว่า ค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N ratio) ที่สูงจะเหมาะสมสำหรับการผลิตและสะสมไขมันมากกว่าการเจริญหรือการเพิ่มปริมาณเซลล์ ซึ่งสรุปได้ว่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N ratio) ต่ำหรือในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณไนโตรเจนสูงนั้นเหมาะสมต่อการเจริญหรือการเพิ่มปริมาณเซลล์ แต่ในช่วงของการผลิตไขมันนั้นเซลล์ต้องการคาร์บอนสูงเพื่อนำไปเปลี่ยนเป็นไขมัน จึงต้องการค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N ratio) ที่สูง และจากผลการทดลองจากงานวิจัยนี้ในส่วนการศึกษาผลของค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N ratio) ที่มีผลต่อการเจริญและการสะสมไขมัน พบว่าปริมาณกลูโคสสูงขึ้นหรือค่า C/N ratio สูงขึ้น อัตราการเจริญของยีสต์ลดลงโดยยีสต์มีอัตราการเจริญสูงสุดเมื่อ C/N ratio มีค่าเท่ากับ 88 ซึ่งเป็นค่าต่ำสุดในการทดลองนี้ และเมื่อยีสต์เจริญในอาหารที่มีค่า C/N ratio เป็น 219 ซึ่งเป็นค่าสูงสุดในการทดลองนี้ พบว่ายีสต์มีอัตราการเจริญต่ำสุด แต่เมื่อค่า C/N ratio เป็น 197 จะมีอัตราการผลิตและสะสมไขมันสูงสุดแต่อัตราการเจริญไม่สูงมากนัก และเช่นเดียวกับ Chun-Hai et al. (2010) ได้ศึกษาการผลิตไขมันเซลล์เดียวจากการย่อยอินนูลิน (inulin) ในหัวแค้นตะวัน โดยยีสต์ *Rhodotorula mucilaginosa* TJY15a โดยงานวิจัยนี้ใช้หัวแค้นตะวันเป็นแหล่งคาร์บอนในการเพาะเลี้ยง *R. mucilaginosa* TJY15a ในการผลิตไขมัน ซึ่งในองค์ประกอบหลักของหัวแค้นตะวัน คือ อินนูลิน ที่เป็นสารประกอบฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ (β -2,1-linked d-fructofuranose) ที่ให้รสหวานที่สามารถใช้แทนน้ำตาล ผลการทดลองพบว่า เมื่อเปรียบเทียบกับแหล่งคาร์บอนอื่น คือ กลูโคส ฟรุกโตส และกลูโคสกับฟรุกโตส พบว่า การย่อยหัวแค้นตะวันเป็นแหล่งคาร์บอนสามารถทำให้ *R. mucilaginosa* TJY15a สะสมไขมันได้มากกว่าแหล่งคาร์บอนอื่นๆ โดยมีการสะสมไขมันในเซลล์ (lipid content) สูงถึง 48.8 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง มีน้ำหนักเซลล์แห้ง (Cell dry weight) 14.8 กรัม/ลิตร ดังในภาพที่ 2.10

แหล่งไนโตรเจนก็มีผลต่อการเจริญและการสะสมไขมันของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยเช่นกัน โดย Mei et al. (2010) ได้ศึกษาการผลิตไขมันเซลล์เดียวจากการย่อยแป้งมันสำปะหลังโดยยีสต์ *Rhodotorula mucilaginosa* TJY15a ได้ทดสอบผลของแหล่งไนโตรเจนที่มีผลต่อการสะสมไขมันและการเจริญของ *R. mucilaginosa* TJY15a โดยในการเพาะเลี้ยงใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วยแหล่งไนโตรเจนที่ต่างกัน คือ Yeast extract, NaNO_3 , Peptone, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ และ NH_4NO_3 พบว่าแหล่งไนโตรเจนที่สามารถทำให้ยีสต์ *Rhodotorula mucilaginosa* TJY15a เจริญและการสะสมไขมันได้ดีที่สุดมากกว่าแหล่งไนโตรเจนอื่น คือ Yeast extract โดยมีการสะสมไขมันในเซลล์ที่ 47.9 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง และน้ำหนักเซลล์แห้ง 20.2 กรัม/ลิตร ดังภาพที่ 2.11



ภาพที่ 2.10 ผลของแหล่งคาร์บอนต่อการเจริญและสะสมไขมันของ *Rhodotorula mucilaginosa* TJY15a, ความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอน 2.0 เปอร์เซ็นต์ (w/v) และเพาะเลี้ยง 72 ชั่วโมง, ■: น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l); □: ไขมันสะสม (w/w, เปอร์เซ็นต์)

ที่มา: Chun-Hai et al. (2010)



ภาพที่ 2.11 ผลของแหล่งไนโตรเจนต่อการเจริญและสะสมไขมันของ *Rhodotorula mucilaginosa* TJY15a, ความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจน 0.33 เปอร์เซ็นต์ (w/w), ■: น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l); □: ไขมันสะสม (w/w, เปอร์เซ็นต์)

ที่มา: Chun-Hai et al. (2010)

ปัจจัยทางกายภาพถือว่าเป็นปัจจัยที่สำคัญมาก เช่น ในการเพาะเลี้ยงยีสต์เพื่อผลิตไขมันซึ่ง Zhu et al. (2009) ได้ศึกษาประสิทธิภาพการผลิตไขมันของเชื้อ *Trichosporon fermentans* เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตไบโอดีเซลโดยทำการศึกษาร้อยละของประกอบของอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงและสภาวะที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงโดยเป็นการหาสภาวะที่เหมาะสมที่สามารถทำให้ยีสต์ไขมันสูง *Trichosporon fermentans* มีประสิทธิภาพในการผลิตและสะสมไขมันมากที่สุด จากตารางที่ 2.4 แสดงให้เห็นว่าสภาวะที่แตกต่างกันในการเพาะเลี้ยงยีสต์สะสมไขมัน *Trichosporon fermentans* จะมีผลต่อการเจริญเติบโต การสะสมไขมันและปริมาณไขมันที่ได้มีความแตกต่างกัน จากงานวิจัยนี้สามารถสรุปสภาวะที่เหมาะสมได้ดังนี้ อุณหภูมิที่เหมาะสม คือ 25 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นที่เหมาะสมอยู่ที่ 6.5 และยังมีรายงานการศึกษาแหล่งไนโตรเจนและแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสม โดยการใช้เชื้อ *Trichosporon fermentans* ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรด-ด่าง 6 ความเร็วรอบในการเขย่า 160 รอบ/นาที และใช้ระยะเวลาในการบ่ม 7 วัน จากการรายงานผลพบว่า peptone คือแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมที่สุดที่สามารถให้ปริมาณไขมันสูงกว่าแหล่งไนโตรเจนตัวอื่นๆ โดยสามารถสะสมไขมันได้ปริมาณไขมัน 10.8 กรัม/ลิตร หรือ 54.9 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง ส่วนแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมที่สุดคือน้ำตาลกลูโคส ที่สามารถทำให้เชื้อ *Trichosporon fermentans* ผลิตไขมันได้สูงสุด โดยปริมาณความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนที่ใช้ที่ 100 กรัม/ลิตร สามารถสะสมไขมันได้ปริมาณไขมัน 13.6 กรัม/ลิตร หรือ 56.6 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง ซึ่งให้ผลใกล้เคียงกับการใช้น้ำตาลซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอน ดังนั้นในการเพาะเลี้ยงยีสต์สะสมไขมันควรมีการใช้สภาวะที่เหมาะสม ทั้งปัจจัยทางด้านกายภาพและปัจจัยทางด้านเคมีกับยีสต์สะสมไขมันนั้นเพื่อให้ได้มีประสิทธิภาพมากที่สุด

ตารางที่ 2.4 ผลของอุณหภูมิและค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นของการเจริญและการสะสมไขมัน

Trichosporon fermentans

Culture condition	Biomass (g/l)	Lipid content (%)	Lipid yield (g/l)
Temperature (°C)			
20	20.7	55.2	11.4
25	27.5	60.6	16.7
28	20.9	54.9	11.5
30	18.7	53.8	10.1
35	13.5	36.5	4.8
Initial pH			
4.0	17.8	52.4	9.3
4.5	18.1	56.9	10.0
5.0	18.4	57.5	10.6
5.5	19.7	58.7	11.6
6.0	23.1	60.9	14.1
6.5	28.1	62.4	17.5
7.0	27.9	61.9	17.3
7.5	26.0	61.8	16.1
8.0	24.7	61.3	15.1
8.5	22.8	59.5	13.6
9.0	21.2	58.8	12.5
9.5	19.9	58.8	11.7
10.0	18.7	58.6	11.0

ที่มา: Zhu et al. (2009)

Anaamnart et al. (1998) ได้ศึกษาองค์ประกอบของกรดไขมันในยีสต์ *Hansenula polymorpha* ที่อุณหภูมิที่แตกต่างกัน พบว่าเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นปริมาณของกรดไขมันอิ่มตัวเพิ่มสูงขึ้นแต่ปริมาณของกรดไขมันไม่อิ่มตัวจะลดลง และเมื่ออุณหภูมิต่ำลงปริมาณของกรดไขมันอิ่มตัวจะลดลง และปริมาณของกรดไขมันไม่อิ่มตัวจะเพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากเซลล์ของยีสต์จะรักษาความยืดหยุ่นของเยื่อหุ้มเซลล์ให้เหมาะสมต่อการดำรงชีวิต ดังแสดงในตารางที่ 2.5 โดยสามารถเห็นได้ว่าในสภาวะอุณหภูมิที่แตกต่างกัน จะส่งผลต่อการสะสมหรือการผลิตไขมันที่แตกต่างกัน รวมทั้งปริมาณไขมันแต่ละชนิดก็มีปริมาณต่างกันไปด้วย แม้มีการใช้ยีสต์ที่เป็นชนิดหรือสายพันธุ์เดียวกันก็ตาม โดยในงานวิจัยนี้สามารถบ่งบอกได้ว่าอุณหภูมิหรือสภาวะในการเพาะเลี้ยงก็มีผลต่อการสะสมไขมันและองค์ประกอบของไขมันด้วยเช่นกัน

ตารางที่ 2.5 องค์ประกอบของกรดไขมันในยีสต์ *Hansenula polymorpha* ในอุณหภูมิที่แตกต่างกัน

กรดไขมัน	องค์ประกอบกรดไขมัน (เปอร์เซ็นต์) ของไขมันทั้งหมด*			
	20 องศาเซลเซียส	30 องศาเซลเซียส	37 องศาเซลเซียส	40 องศาเซลเซียส
16:0	13.4	13.2	18.2	24.3
16:1	0.9	0.7	0.8	1.2
18:0	3.3	4.0	4.1	7.7
18:1	19.9	39.8	41.1	33.1
18:2	47.9	35.7	32.6	31.4
18:1	12.6	5.6	1.7	0
Total (UFAs)	81.3	81.8	76.2	65.7

*เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 วัน ในอาหาร YPD ที่อุณหภูมิต่างๆ

ที่มา: Anaamnart et al. (1998)

Gutierrez et al. (1993) ได้ศึกษาถึงปริมาณไขมันและองค์ประกอบของกรดไขมันในยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* และพบว่าถึงแม้จะเพาะเลี้ยงในสภาวะที่เหมือนกันและเป็นยีสต์ สายพันธุ์เดียวกันแต่เป็นไอโซเลตต่างก็ทำให้ปริมาณและองค์ประกอบของไขมันแตกต่างกันไปด้วย ดังจะเห็นได้ว่า *Saccharomyces cerevisiae* M-300-A พบกรดไขมันชนิดปาล์มิติก (C16:0) และ กรดลิโนเลอิก (C18:2) มากที่สุด แต่ก็มีปริมาณน้อยกว่าใน *Saccharomyces cerevisiae* Iz-1904

Ratlidge and Evans (1992) ศึกษาแหล่งคาร์บอนในรูปคาร์โบไฮเดรตและเอทานอลที่มีผลต่อองค์ประกอบของกรดไขมันใน *Candida curvata* ที่เลี้ยงในระบบปิด พบว่าการเจริญ ปริมาณไขมันและกรดไขมันที่ได้ต่างกัน โดยในเอทานอลและกลูโคสจะให้กรดไขมัน C18:0 สูงกว่าน้ำตาลชนิดอื่น โดยยีสต์จะนำคาร์บอนที่เหมาะสมจากแหล่งอาหารไปสังเคราะห์ไขมันโดยตรงจึงมีผลต่อการสะสมไขมันในเซลล์ ซึ่งแสดงผลการทดลองดังตารางที่ 2.6

ตารางที่ 2.6 องค์ประกอบของกรดไขมันในยีสต์ *Candida curvata* ที่เจริญในแหล่งคาร์บอนต่างกันในสภาวะจำกัดแหล่งไนโตรเจน

Carbon source (30g/l)	Biomass (g/l)	Lipid (w/w)	Lipid yield (g/100g.substrate)	Fatty acid composition (%)			
				16:0	18:0	18:1	18:2
Glucose	10.2	33.2	11.9	33.0	12.0	43.9	7.3
Sucrose	11.2	37.4	14.8	32.4	11.3	42.0	6.7
Lactose	12.5	39.2	16.3	32.5	11.0	49.0	6.0
Xylose	9.9	43.6	17.4	41.2	14.0	43.0	3.5
Ethanol	8.5	30.1	10.0	26.5	12.5	49.0	8.9

ที่มา: Ratledge and Evans (1992)

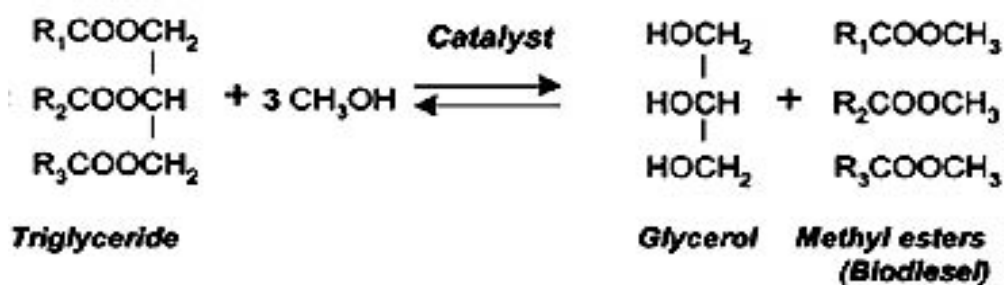
2.6 ไบโอดีเซล (Biodiesel)

ไบโอดีเซล เป็นเชื้อเพลิงดีเซลที่ผลิตจากแหล่งทรัพยากรหมุนเวียน เช่น น้ำมันพืช ไขมันสัตว์ หรือสาหร่าย ไบโอดีเซลเป็นเชื้อเพลิงดีเซลทางเลือก นอกเหนือจากดีเซลที่ผลิตจากปิโตรเลียม โดยมีคุณสมบัติการเผาไหม้ เหมือนกับดีเซลจากปิโตรเลียมมาก และสามารถใช้ทดแทนกันได้ คุณสมบัติสำคัญของไบโอดีเซลคือสามารถย่อยสลายได้เอง ตามกระบวนการชีวภาพในธรรมชาติ และไม่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อมไบโอดีเซลเป็นพลังงานทดแทน เชื้อเพลิงดีเซล จัดเป็นสารประเภทเอสเทอร์ทำจากน้ำมันพืชที่ผ่านกระบวนการทางเคมีที่เรียกว่า กระบวนการทรานส์เอสเตอริฟิเคชัน (Transesterification Process) โดยให้น้ำมันพืชทำปฏิกิริยากับแอลกอฮอล์ เช่นเมทานอล หรือเอทานอล และมีด่างเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา มีลักษณะเป็นเอสเทอร์ของกรดไขมัน เรียกว่า Fatty Acid Methyl Ester การเรียกชื่อประเภทของไบโอดีเซลขึ้นกับชนิดของแอลกอฮอล์ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา เช่น เมทิลเอสเทอร์ เป็นเอสเทอร์ที่ได้จากการใช้เมทานอลเป็นสารในการทำปฏิกิริยา หรือเอทิลเอสเทอร์ เป็นเอสเทอร์ที่ได้จากการใช้เอทานอล เป็นสารในการทำปฏิกิริยา เป็นต้น ไบโอดีเซลแบ่งได้เป็น 3 ชนิดคือ

ไบโอดีเซลที่ได้จากน้ำมันพืชหรือไขมันสัตว์ซึ่งสามารถนำมาใช้กับเครื่องยนต์ดีเซลได้เลย

ไบโอดีเซลแบบผสม เป็นการนำน้ำมันพืชหรือน้ำมันจากสัตว์มาผสมกับน้ำมันก๊าด หรือน้ำมันดีเซลก่อนนำไปใช้เช่น โคโคดีเซล (Coco-diesel) และปาล์มดีเซล (Palm-diesel) เป็นต้น

ไบโอดีเซลแบบเอสเทอร์ ได้จากปฏิกิริยาเคมีที่เรียกว่า ทรานส์เอสเตอริฟิเคชัน (Transesterification process) ซึ่งนำแอลกอฮอล์มาทำปฏิกิริยากับน้ำมันจากพืชหรือสัตว์โดยใช้กรด หรือด่างเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา



ภาพที่ 2.12 กระบวนการทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน

ที่มา: ชาลิต งามจรัสศรีวิชัย (2551)

การยอมรับไบโอดีเซลจากน้ำมันจุลินทรีย์ของผู้บริโภค ไบโอดีเซลจากน้ำมันจากจุลินทรีย์ต้องมีมาตรฐานเดียวกับไบโอดีเซลที่ผลิตจากแหล่งอื่นๆ ในสหรัฐอเมริกาได้กำหนดมาตรฐานตาม the ASTM Biodiesel standard D6751 เช่นเดียวกันกับในสหภาพยุโรปมาตรฐานน้ำมันไบโอดีเซลแบ่งออกเป็น 2 มาตรฐาน ตามลักษณะการใช้น้ำมัน โดยเป็นมาตรฐานไบโอดีเซลเพื่อการใช้กับยานยนต์ และเพื่อการใช้เป็นเชื้อเพลิงให้ความร้อน โดยมาตรฐานของน้ำมันไบโอดีเซลต้องมีจุดวาบไฟ (Flash point) อยู่ที่ 130 ถ้าหากสูงกว่านี้ คือเป็น 150 หรือ 170 จะทำให้ลดสตาร์ทติดยากและความบริสุทธิ์ของไบโอดีเซล ในประเทศไทยได้มีการริเริ่มโครงการไบโอดีเซลเมื่อ ปีพ.ศ. 2543 และได้มีการติดตั้งระบบผลิตเอทิลเอสเทอร์โดยโครงการส่วนพระองค์สวนจิตรลดา ตั้งแต่ 7 พฤษภาคม พ.ศ. 2547 และได้มีการพัฒนาโครงการไบโอดีเซลชุมชนที่ จ.เชียงใหม่ ปัจจุบัน (มีนาคม พ.ศ. 2549) มีไบโอดีเซล 5 เปอร์เซ็นต์ จำหน่ายในสถานีของ ปตท. และบางจากในกรุงเทพมหานคร และเชียงใหม่ (ตามโครงการลั่นนาฟ้าไบโอดีเซล) ทั้งหมด 15 สถานี

2.7 มันเทศ (Sweet potato) วัตถุดิบทางเลือกที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอน

มันเทศเป็นพืชของอเมริกาเขตร้อน ปัจจุบันนำมาปลูกทั้งในแถบร้อนและแถบกึ่งร้อน เช่นประเทศในหมู่เกาะทะเลใต้จีน ญี่ปุ่น อินโดนีเซีย อินเดีย มาเลเซีย ไทย ฯลฯ หัวมันเทศมีรูปร่างและสีต่างๆ กันอาจเป็นสีแดงม่วง สีม่วง และขาว ในทางพฤกษศาสตร์ถือว่าเป็นพืชชนิดเดียวกันหมด มันเทศมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Ipomoea batatas* Lamk. วงศ์ convolvulaceae มันเทศใช้เป็นอาหารแทนข้าวได้ มีปริมาณของคาร์โบไฮเดรตสูง แต่มีปริมาณของโปรตีนและแคลเซียมต่ำ ธาตุเหล็กมีปานกลาง ปริมาณของวิตามิน เอ บี และซี พอประมาณ พันธุ์มันเทศแบ่งตามอายุการเก็บเกี่ยวได้ 3 พวก คือ พันธุ์เบา (อายุประมาณ 90 วัน หลังจากปลูกจนถึงเก็บเกี่ยว เช่น พันธุ์พิจิตร 1 พจ. 113-7, พจ. 115-1, พจ. 166-5) พันธุ์กลาง (อายุประมาณ 120 วัน หลังจากปลูกจนถึงเก็บเกี่ยว เช่น พันธุ์แม่โจ้ พันธุ์ห้วยสีทน) และพันธุ์หนัก (อายุประมาณ 150 วัน หลังจากปลูกจนถึงเก็บเกี่ยว เช่น พันธุ์โอกูด (เกษตร)) มันเทศสามารถปลูกได้ในทุกที่ เพียงมีความชื้นได้ดินก็สามารถเจริญได้ หนึ่งปีสามารถปลูกได้ 3 ครั้ง และให้ผลผลิต 2-4 ตันต่อไร่ มันเทศเป็นพืชในสกุลเดียวกับผักบุ้ง เป็นไม้เลื้อยที่สะสมอาหารไว้ในราก เรียกว่าหัว ลำต้นและใบมักเป็นสีม่วงแดง ใบเดี่ยว เรียงสลับ รูปหัวใจถึงรูปไข่ ขอบใบเรียบ หรือหยักซี่ฟัน หรือหยักเป็น 3 พู บางพันธุ์ไม่พบว่าออกดอก ช่อดอกออกที่ซอกใบ มีจำนวนดอกน้อย กลีบเลี้ยงรูปขอบขนานถึงรูปไข่ ปลายเรียวแหลม กลีบดอกสีขาวถึงสีม่วงอ่อน โคนหลอดดอกด้านในสีม่วงแดงเข้ม บางครั้งสีขาว ติดผลยาก

ผลรูปไข่ โดยปกติแล้วมันเทศจะประกอบด้วยแป้งเป็นองค์ประกอบหลักที่เป็นคาร์โบไฮเดรต ซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนในการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ได้เป็นอย่างดี ซึ่งถือว่าเป็นวัตถุดิบที่สามารถนำมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนของจุลินทรีย์ได้อีกทางเลือกหนึ่ง ประเทศไทยเองก็มีการปลูกมันเทศอยู่ทุกภูมิภาคและมีจำนวนมาก สามารถหาได้ง่าย



ภาพที่ 2.13 มันเทศ (Sweet potato)

ที่มา : กิริยา สังข์ทองวิเศษ (2552)

ตารางที่ 2.7 ปริมาณค่าองค์ประกอบของสารอาหารในมันเทศ

องค์ประกอบ	เปอร์เซ็นต์น้ำหนักเปียก
Moisture	71.1
Protein	1.43
Starch	20.1
Sugar	2.38
Dietary fiber	1.64
Fat	0.17
Ash	0.74

ที่มา: Bradbury and Holloway (1998)

จากการศึกษาเบื้องต้นพบว่า มันเทศสามารถใช้เป็นแหล่งคาร์บอนให้กับการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ได้ โดยเมื่อนำน้ำเชื่อมที่ข่อยได้จากมันเทศมาใช้ผลิตเอทานอลแทนการใช้น้ำตาลกลูโคส โดยกำหนดให้มีปริมาณน้ำตาลเริ่มต้นเท่าๆกัน พบว่ายีสต์สามารถเจริญในอาหารที่มีน้ำเชื่อมที่ข่อยได้จากมันเทศได้ดีกว่าในอาหารสูตรอุดม (yeast extract, peptone และกลูโคส) ที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน และได้ปริมาณเอทานอลสูงสุดไม่แตกต่างกันมากนัก แต่อัตราการผลิตเอทานอลในน้ำเชื่อมที่ข่อยได้จากมันเทศสูงกว่า 1.7 เท่าของอาหารสูตรอุดมที่มีน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ซึ่งเป็นไปได้ว่าในน้ำเชื่อมที่ข่อยได้จากมันเทศมีสารอาหารที่ช่วยเร่งการเจริญของยีสต์ ทำให้ระยะเวลาในการหมักสั้นลง ซึ่งเป็นข้อได้เปรียบกว่าการใช้มันสำปะหลังในการผลิต เมื่อทดลองนำน้ำแช่มันเทศมาใช้เตรียมอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงยีสต์แทนน้ำกลั่นพบว่าน้ำแช่มันเทศที่เดิมเพียงกลูโคสสามารถให้การเจริญของยีสต์สูงใกล้เคียงกับอาหารสูตรอุดมที่มีการเติม yeast extract, peptone และกลูโคส ซึ่ง

สนับสนุนผลที่ว่าน้ำเชื่อมจากมันเทศส่งผลให้ยีสต์เจริญได้เร็วขึ้น ดังนั้นอาจสรุปได้ว่าในน้ำเชื่อมที่ข่อยได้จากมันเทศมีสารอาหารที่เป็นทั้งแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจน ดังนั้นจึงมีความเหมาะสมที่จะนำมาใช้เป็นอาหารเลี้ยงยีสต์สะสมไขมันได้ ทั้งในด้านการเจริญเติบโตและการสะสมไขมันของยีสต์สะสมไขมัน Yung-Chang et al. (2011) ได้ศึกษาองค์ประกอบของน้ำตาลในมันเทศทั้ง 7 สายพันธุ์ พบว่าองค์ประกอบของน้ำตาลหลักประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคส (Glucose) น้ำตาลซูโครส (Sucrose) น้ำตาลมอลโทส (Maltose) และน้ำตาลฟรุกโตส (Fructose) โดยแต่ละสายพันธุ์ของมันเทศจะมีปริมาณของน้ำตาลแต่ละชนิดที่แตกต่างกัน โดยทั่วไปน้ำตาลรวมทั้งหมดของมันเทศมีอยู่ประมาณ 15-20 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง ซึ่งถือว่ามียังมีปริมาณน้ำตาลสูงแสดงดังตารางที่ 2.8

ตารางที่ 2.8 องค์ประกอบของน้ำตาลในมันเทศสด 7 สายพันธุ์

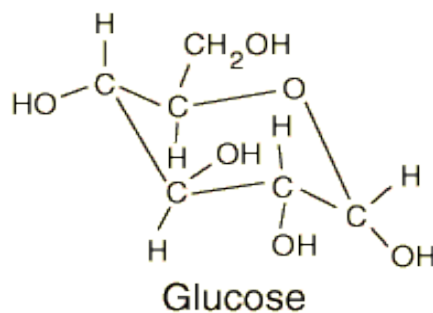
Sweet potato cultivars	Fructose (%)	Sucrose (%)	Maltose (%)	Glucose (%)	Total Sugar (%)
CYY95-26	0.24±0.02 ^{dz}	7.77±0.32 ^a	0.00±0.00 ^c	0.39±0.04 ^c	8.14±0.38 ^a
CYY95-66	0.85±0.03 ^b	3.75±0.47 ^d	0.02±0.01 ^c	1.51±0.08 ^{bc}	6.13±0.58 ^c
TARI97-01	0.66±0.05 ^c	2.62±0.05 ^e	0.39±0.25 ^a	1.59±0.13 ^b	5.26±0.59 ^{cd}
TNG57	0.25±0.02 ^d	4.35±0.01 ^c	0.09±0.02 ^{bc}	0.38±0.03 ^c	5.08±0.06 ^d
TNG64	1.06±0.02 ^a	4.50±0.07 ^c	0.05±0.00 ^{bc}	2.02±0.03 ^a	7.63±0.11 ^{ab}
TNG66	0.56±0.09 ^c	5.48±0.09 ^b	0.30±0.18 ^{ab}	0.98±0.13 ^d	7.33±0.49 ^b
TNG73	0.59±0.04 ^c	2.52±0.13 ^e	0.09±0.06 ^{bc}	1.30±0.13 ^c	4.50±0.09 ^d

ที่มา: Yung-Chang Lai et al. (2011)

2.8 กลูโคส (Glucose)

มีความสำคัญที่สุดในกลุ่มคาร์โบไฮเดรตด้วยกันน้ำตาลกลูโคสเป็นคาร์โบไฮเดรต (carbohydrate) ประเภทน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (monosaccharide) มีคาร์บอน 6 อะตอม (hexose) ชนิดแอลโดส (aldose) เซลล์ของสิ่งมีชีวิตทุกชนิดใช้กลูโคสเป็นแหล่งพลังงาน และสารเผาผลาญขั้นกลาง (metabolic intermediate) กลูโคสเป็นหนึ่งในผลผลิตหลักของการสังเคราะห์แสง (photosynthesis) และเป็นแหล่งพลังงานสำหรับการหายใจของเซลล์ (cellular respiration) โครงสร้างโมเลกุลตามธรรมชาติของ D-glucose จะอยู่ในรูปที่เรียกว่า เดกซ์โตรส (dextrose) กลูโคสเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugar) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในอุตสาหกรรมอาหารกลูโคสสามารถผลิตเป็นการค้าได้โดยการไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) แป้งที่มีเอ็นไซม์ ช่วยเร่งปฏิกิริยา พืชผักมากมายสามารถใช้เป็นแหล่งของแป้งได้เช่น ข้าว ข้าวโพด ข้าวสาลี มันเทศ มันสำปะหลัง (cassava) ต้นไม้เท้าขม (arrowroot) และสาเก การใช้แป้งจากพืชจะแตกต่างกันไปตามส่วนต่างๆของโลก ในสหรัฐอเมริกาแป้งส่วนใหญ่จะเป็นแป้งข้าวโพด ในประเทศแถบเอเชียอย่างประเทศไทย จะใช้ข้าวทำแป้งเช่น แป้งข้าวเจ้าและแป้งข้าวเหนียว กลูโคสเป็นหน่วยเล็กที่สุดของสารประกอบพอลิไฮโดรคาร์บอน มีสูตรโครงสร้างคือ $C_6H_{12}O_6$ และมีน้ำหนักโมเลกุล 180.2 กรัม มีจุดหลอมเหลว 146 องศาเซลเซียส และผลึกกลูโคสที่ปราศจากน้ำจะเป็นรูปขนมเปียกปูน น้ำตาล

กลูโคส เป็นสารให้ความหวาน (sweetener) มีความหวานสัมพัทธ์ (relative sweetness) เท่ากับ 70-80 เมื่อเทียบกับ น้ำตาลซูโครส ซึ่งมีความหวานสัมพัทธ์เท่ากับ 100 ที่ความหวานสัมพันธ์ของน้ำตาลชนิดต่างๆ แสดงไว้ใน ตารางที่ 2.9 ส่วน โครงสร้างของกลูโคสแสดงไว้ในรูปที่ 2.14



ภาพที่ 2.14 โครงสร้างของกลูโคส

ตารางที่ 2.9 แสดงการเปรียบเทียบความหวานของน้ำตาลชนิดต่างๆ

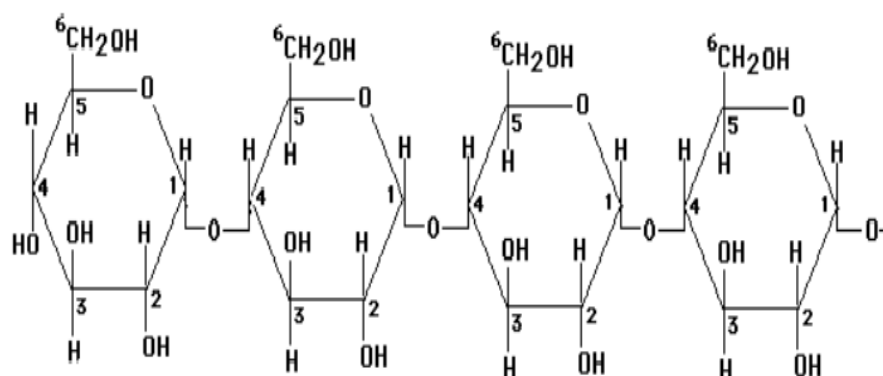
ชนิดน้ำตาล	เปอร์เซ็นต์ความหวาน
Latose	16.0
Galactose	32.1
Maltose	32.5
Glucose	74.3
Surcose	100 (เป็นตัวเปรียบเทียบ)
Fructose	173.3

ที่มา: สุนีย์ สหัสโพธิ์ (2543)

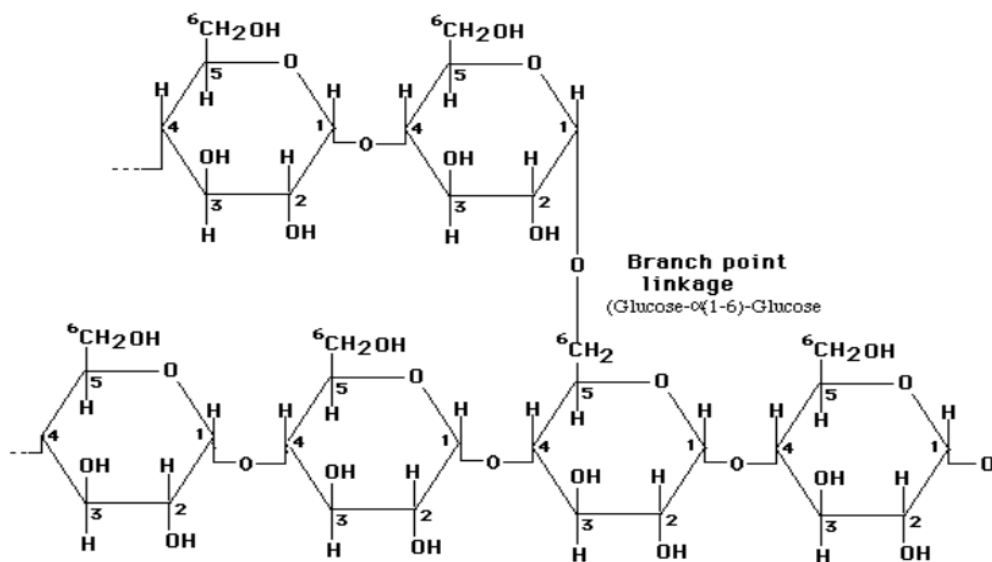
2.9 กลไกการย่อยแป้งเพื่อผลิตกลูโคส

แป้งเป็นผลิตภัณฑ์หลักที่ได้จากพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ เช่น มันสำปะหลัง มันฝรั่ง ข้าว ข้าวโพดและมันเทศ เป็นต้น ในอุตสาหกรรมการผลิตแป้ง นอกจากจะนำแป้งมาใช้ประโยชน์โดยตรงแล้ว ยังนำแป้งมาเป็นวัตถุดิบหลักในการผลิตน้ำตาลกลูโคส เดกโทส และน้ำตาลฟรุกโตส เป็นต้น เมื่อสิบปีที่ผ่านมาได้มีการนำเอนไซม์มาใช้ในการย่อยแป้งเพื่อผลิต maltodextrin แทนการใช้กรด เนื่องจากการย่อยแป้งด้วยกรดต้องทำปฏิกิริยาร่วมกับความร้อนที่มีอุณหภูมิสูง ซึ่งประสิทธิภาพในการย่อยนั้นขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของกรด เวลาและอุณหภูมิที่ใช้ในการย่อย ทั้งยังก่อให้เกิดผลิตภัณฑ์อื่นที่ไม่ต้องการในการย่อยแป้ง ดังนั้นในการย่อยแป้งด้วยกรดจึงถูกแทนที่ด้วยการใช้เอนไซม์เพราะใช้สภาวะที่ไม่รุนแรง การเกิดปฏิกิริยาความจำเพาะต่อผลิตภัณฑ์ ควบคุมการเกิดปฏิกิริยาง่ายไม่เกิดผลิตภัณฑ์ข้างเคียง องค์ประกอบของแป้งประกอบด้วยโพลิเมอร์พื้นฐาน 2 ชนิด คือ อะไมโลส และอะไมโลเพคติน โดยอะไมโลสเป็นโพลิเมอร์เชิงเส้น (ภาพที่ 2.15) ที่ประกอบด้วยกลูโคสไม่เกิน 6,000 หน่วย เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ α -1, 4 กลูโคซิดิก ส่วนอะไมโลเพคตินเป็นโพลิเมอร์เชิงกิ่งประกอบด้วยโพลิเมอร์เชิงเส้นของกลูโคส 10-60 หน่วย เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ α -1,4 กลูโคซิดิก และ โพลิเมอร์เชิงเส้นของกลูโคส 15-45

หน่วยที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ α -1, 6 กลูโคซิดิก (ภาพที่ 2.16) (พัคตร์ประไพ ประจำเมือง, 2546) กลูโคสไซรัป (Glucose syrup) เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยสลายแป้งมีลักษณะเป็นของเหลวเหนียวข้น ที่รสหวานเล็กน้อย ไม่มียีส ใช้เป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์อาหารหลายชนิด เช่น ลูกกวาด ท็อปปิ้งต่างๆ ผลไม้กวน น้ำผลไม้ผง ไอศกรีม และเครื่องดื่มต่างๆ



ภาพที่ 2.15 โครงสร้างอะไมเลส



ภาพที่ 2.16 โครงสร้างอะไมโลเพคติน

กระบวนการผลิตกลูโคสโดยกลไกการย่อยแป้ง ในอดีตมีการย่อยแป้งเพื่อการผลิตกลูโคสโดยการใช้กรด ในปัจจุบันการผลิตในเชิงการค้า จะต้องมีการลดต้นทุนในการผลิต มีความสะดวกในการใช้ และรวดเร็ว จึงนิยมใช้เอนไซม์ในการย่อยแป้ง เพื่อเป็นการรักษาเครื่องมือและเครื่องจักรของกระบวนการผลิต (ใช้กรดจะเกิดการกัดกร่อนของเครื่องจักรและอุปกรณ์ได้ง่าย) และเป็นการช่วยอนุรักษ์สิ่งแวดล้อม เอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยแป้งมี 2 ชนิดได้แก่ แอลฟาอะไมเลส (α -Amylase) ในขั้นตอนที่เรียกว่า liquefaction และกลูโคอะไมเลส หรือ แกรมมาอะไมเลส (Glucoamylase หรือ γ -Amylase) ในขั้นตอนที่เรียกว่า saccharification กลไกการย่อยแป้งโดยทั่วไปประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ดังต่อไปนี้

1) การเกิดเจลาตินในเซชัน (Gelatinization) เจลาตินในเซชันเป็นกระบวนการเกิดการพองตัว เนื่องจากการดูดซึมน้ำของเม็ดแป้ง ทำให้เกิดการพองตัวของเม็ดแป้ง ช่วงอุณหภูมิที่แป้งมีการดูดซึมน้ำอย่างรวดเร็วและพองตัวขึ้น เรียกว่า อุณหภูมิการเกิดเจล

2) การเกิดลิเควแฟชัน (Liquefaction) เป็นขั้นตอนการลดความหนืด โดยการย่อยโมเลกุลของแป้งแบบสุ่ม ทำให้โมเลกุลของแป้งถูกแยกเป็นสายสั้นๆ มีขนาดโมเลกุลเล็กลงและมีความหนืดลดลง ก่อนหน้านี้ได้มีการใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส แทนการใช้กรดย่อยที่อุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียส หรือสูงกว่า

3) การเกิดแซ็กคาริฟิเคชัน (saccharification) ขั้นตอนนี้จะไฮโดรไลซ์แป้งบางส่วนและไฮโดรไลซ์กลูโคสอย่างสมบูรณ์โดยใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลส (glucoamylase) จากเชื้อรา *Aspergillus niger* สภาพของปฏิกิริยาจะต้องควบคุมให้อยู่ที่ pH 4.0-4.5, 60 องศาเซลเซียส และความเข้มข้นของคาร์โบไฮเดรตจะต้องอยู่ที่ 30-35 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ภายใต้สภาวะนี้แป้งจะถูกเปลี่ยนเป็นกลูโคสประมาณ 96% หลังจากใช้เวลา 1-4 วัน ถ้าจะให้ผลผลิตสูงกว่านี้สามารถทำได้โดยการทำให้สารละลายจางลง แต่จะต้องใช้หม้อต้มที่ใหญ่กว่าและต้องการน้ำมากกว่า สารละลายกลูโคสที่ได้จะถูกทำให้บริสุทธิ์โดย การกรอง และเคี้ยวแห้งในเครื่องระเหยเอนกประสงค์ (multiple-effect evaporator) ดี-กลูโคสที่เป็นของแข็งจะทำได้โดยการตกผลึก (crystallization)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องในการผลิตกลูโคสใช้เอนไซม์ส่วนมากมาจากการย่อยแป้ง เนื่องจากแป้งเป็นผลผลิตทางการเกษตรที่มีมากที่สุด โดยได้จาก ข้าวโพด ข้าวสาลี มันสำปะหลัง และมันเทศ เป็นต้น สามารถใช้แป้งเป็นสารตั้งต้นในการผลิตผลิตภัณฑ์หลายชนิดด้วยกัน นอกจากนี้แป้งยังเป็นแหล่งวัตถุดิบที่สำคัญในการผลิตกลูโคส (Inglett, 1974) และงานวิจัยที่กล่าวถึงต่อไปนี้จะเกี่ยวข้องกับการย่อยแป้งด้วยเอนไซม์

Arasaratnam et al. (1993) ได้ศึกษาการทำงานร่วมกันของเอนไซม์อะไมเลสและกลูโคอะไมเลสต่อการย่อยแป้งข้าวโพด โดยแปรผันอัตราส่วนเอนไซม์ทั้ง 2 เพื่อย่อยแป้งข้าวโพด 16 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง ที่ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง พบว่าเมื่อเพิ่มอัตราส่วนของกลูโคอะไมเลสและแอลฟาอะไมเลส จาก 0-1.8 AGU/KNU (AGU=Amyloglucosidase Unit, KNU= Kilo Novo Unit) ทำให้เกิดกลูโคสเพิ่มขึ้น จาก 6 เปอร์เซ็นต์ เป็น 13.1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง และเมื่อเพิ่มอัตราส่วนของเอนไซม์ทั้ง 2 พบว่าปริมาณกลูโคสที่เกิดขึ้นมีปริมาณที่คงที่ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า อัตราของกลูโคอะไมเลสและแอลฟาอะไมเลส ที่เหมาะสมต่อการย่อยแป้งข้าวโพดคือ 1.8 AGU/1.0 KNU จากการทำงานร่วมกันของกลูโคอะไมเลสและแอลฟาอะไมเลสไม่เพียงแต่มีความสำคัญต่อการย่อยสลายในสิ่งมีชีวิตเท่านั้น แต่ยังมีความสำคัญต่ออุตสาหกรรมการผลิตน้ำตาลจากแหล่งโพลีแซ็กคาไรด์ เช่น แป้งและ เซลลูโลส (Fuji et al., 1981)

Karakatsanis et al. (1997) ได้ศึกษาการย่อยแป้งต่างชนิดกัน คือ soluble starch แป้งข้าว และแป้งข้าวโพด ด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร่วมกับกลูโคอะไมเลส ในถังหมักขนาด 2 ลิตร มีการกวน 150 รอบ/นาที และแปรผันอุณหภูมิที่ใช้เป็น 30 40 50 และ 60 องศาเซลเซียส จากการทดลองพบว่า แป้งข้าวโพด ย่อยที่ 40 องศาเซลเซียส จะทำให้เกิดการผลิตกลูโคสดีที่สุดในที่สุด

Machal et al. (1999) ได้ศึกษาผลของอุณหภูมิที่มีต่อน้ำตาลซึ่งเป็นส่วนประกอบของโอลิโกแซคคาไรด์ (oligosaccharide) หลังจากการย่อยด้วยแอลฟาอะไมเลส พบว่า ที่ค่าสมมูลเดกโตรสเท่ากัน ส่วนประกอบของโอลิโกแซคคาไรด์จะแตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิของการทำปฏิกิริยา โดยเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นการกระจายตัวของโอลิโกแซคคาไรด์ดีขึ้น และมีค่า degree of polymerization ลดลงด้วย

Zainab et al. (2011) ได้ศึกษาการผลิตกลูโคสไซรัปจากการย่อยแป้งข้าวโพดโดยใช้เอนไซม์ทางการค้า อะไมโลกลูโคซิเดสที่มีค่ากิจกรรมการทำงานที่ 21,000 หน่วย/กรัม โดยย่อยที่ความเข้มข้นของแป้ง 40 เปอร์เซ็นต์ สามารถย่อยได้ความเข้มข้นของน้ำตาลสูงสุดที่ 18 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในระยะเวลาการย่อย 30 นาที

ลิขิต ศิริสันติเมธาคม และคณะ (2543) ได้ศึกษาการผลิตน้ำเชื่อมกลูโคสจากการย่อยกากมันสำปะหลัง ด้วยเอนไซม์ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพระดับต้นแบบ ขนาด 50 ลิตร โดยได้ศึกษาทั้งในระดับห้องปฏิบัติการก่อนการขยายการผลิตในระดับต้นแบบพบว่า สภาวะที่เหมาะสมในระดับห้องปฏิบัติการ คือ ใช้กากมันสำปะหลังแห้ง 5 กรัมผสมน้ำในอัตราส่วน 1 กรัมต่อ 8 มิลลิลิตร ใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (เอนไซม์ BAN) 500 หน่วย ทำการย่อย 40 นาทีและย่อยด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลส (เอนไซม์ AMG) ความเข้มข้น 300 หน่วย เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ให้กลูโคสเท่ากับ 19.56 เปอร์เซ็นต์ และได้น้ำเชื่อมที่มีความเข้มข้น 12.73 กรัม/ลิตร จากนั้นขยายการผลิตในถังปฏิกรณ์ขนาด 50 ลิตร โดยใช้สภาวะที่ได้ในห้องปฏิบัติการ เมื่อใช้ปริมาตรการย่อยเป็น 35 ลิตร ความเร็วรอบของการกวน 75 รอบ/นาที ซึ่งได้กลูโคสเป็น 17.54 เปอร์เซ็นต์ และได้น้ำเชื่อมกลูโคสที่มีความเข้มข้น 13.63 กรัม/ลิตร

จิรวรรณ อภิรักษากร (2540) ศึกษาการผลิตน้ำเชื่อมกลูโคสจากการย่อยกากมันสำปะหลัง ด้วยวิธีการต่างๆทั้งโดยการใช้กรดและใช้เอนไซม์ จากการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิตของการย่อยกากมันสำปะหลัง ด้วยกรด 3 ชนิด คือ กรดซัลฟิวริก กรดออกซาลิก และกรดซัลฟิวริก พบว่า ประสิทธิภาพสูงสุดได้จากการย่อยมันสดที่มีมวลแห้ง 5 กรัม ด้วยกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ภายใต้สภาวะอุณหภูมิ 115 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เกิดการเปลี่ยนแปลงได้ 52.6 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้งเริ่มต้น และเกิดน้ำเชื่อมกลูโคสเข้มข้น 158.55 กรัม/ลิตร ส่วนการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์มีสภาวะที่เหมาะสมที่ การใช้กากมันสำปะหลัง 5 กรัมโดยน้ำหนักแห้ง ทำให้เกิดลิเคอฟเลชันด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (เอนไซม์ BAN) 500 หน่วย เป็นเวลา 40 นาที จากนั้นทำให้เกิดแซคคาริฟิเคชันต่อด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลส (เอนไซม์ SPEZYME) 300 หน่วย เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เกิดการเปลี่ยนกากมันเป็นน้ำตาลได้ 56.65 เปอร์เซ็นต์ ได้น้ำเชื่อมกลูโคสที่มีความเข้มข้น 54.45 กรัม/ลิตร

พัคตร์ประไพ ประจำเมือง และคณะ (2546) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกลูโคสไซรัปจากการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส มีกระบวนการทดลองที่สำคัญ คือ การศึกษาความเข้มข้นของกากมันสำปะหลังและปริมาณเอนไซม์อะไมเลสต่อประสิทธิภาพการเกิด Liquefied Cassava Pulp (LCP) โดยนำกากมันสำปะหลังที่มีความเข้มข้น 50, 100 และ 150 กรัม/ลิตร ในน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 โมลาร์ บ่มที่ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที แล้วจึงย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ระดับต่างๆ นำตัวอย่างที่ได้มาทำการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี DNS method และวิเคราะห์ปริมาณแป้งด้วยวิธีไอโอดีน พบว่าในระดับห้องปฏิบัติการ ที่ความเข้มข้นกากมันสำปะหลัง 150 กรัม/ลิตร ปริมาณการย่อย 100 กรัมต่อลิตรความเข้มข้นเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 1000 หน่วย ภายใต้สภาวะอุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที แล้วย่อยต่อด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลส (Optimax™7525) 600 หน่วยภายใต้สภาวะอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ให้เกิดการเปลี่ยนกากมันสำปะหลังเป็นน้ำตาลกลูโคส 69.80 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเทียบเท่ากับประสิทธิภาพการย่อย 72.71 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นขยายการผลิตสู่ระดับปฏิบัติการ ณ โรงงานระดับโรงงานต้นแบบขนาด 50 ลิตร ที่ความเข้มข้นกากมันสำปะหลัง 100 กรัม/ลิตร ปริมาณการย่อย 35 ลิตร เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 100 หน่วยต่อปริมาตรการย่อย 100 มิลลิลิตร นาน 40 นาที อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส แล้วย่อยต่อด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลส 150 หน่วยต่อปริมาตรการย่อย 100 มิลลิลิตร นาน 18 ชั่วโมง อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ให้ประสิทธิภาพการย่อยสูงถึง 106.35 เปอร์เซ็นต์

