# สารบัญเรื่อง

หน้า


กิตติกรรมประกาศ ก

ABSTRACT ข

บทคัดย่อ ง

สารบัญเรื่อง ฉ

สารบัญรูป ฌ

สารบัญตาราง ฎ

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ความเป็นมาของโครงการวิจัย 1

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ 2

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย 2

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2

บทที่ 2 ทฤษฎี 4

2.1 โปรตีนเซลล์เดียว 4

2.2 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว 6

2.2.1 สาหร่าย 6

2.2.2 ยีสต์ 9

2.2.3 รา 10

2.2.4 แบคทีเรีย 10

2.3 การผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากยีสต์ 14

2.3.1 กระบวนการที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากยีสต์ 15

2.3.2 แหล่งวัตถุดิบสำหรับการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากยีสต์ 15

2.3.3 ปัจจัยที่จำเป็นต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากยีสต์ 17

2.3.4 คุณค่าทางอาหารของยีสต์ 19

2.4 การใช้ยีสต์เป็นแหล่งโปรตีนในอาหารสัตว์ 21

2.4.1 การใช้ยีสต์เป็นแหล่งโปรตีนในอาหารสัตว์ปีก 22

# สารบัญเรื่อง (ต่อ)


| | หน้า |
|---|---|
| 2.5 การเพิ่มโปรตีนในมันสำปะหลังด้วยจุลินทรีย์ | 24 |
| บทที่ 3 วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง | 26 |
| 3.1 เครื่องมือ วัสดุอุปกรณ์ และสารเคมี | 26 |
| 3.1.1 เครื่องมือ | 26 |
| 3.1.2 วัสดุอุปกรณ์ | 27 |
| 3.1.3 สารเคมี | 27 |
| 3.2 จุลินทรีย์ และการเตรียมจุลินทรีย์เริ่มต้น | 28 |
| 3.2.1 จุลินทรีย์ | 28 |
| 3.2.2 อาหารเลี้ยงจุลินทรีย์ | 28 |
| 3.2.3 การเตรียมจุลินทรีย์เริ่มต้น | 28 |
| 3.3 วิธีการทดลอง | 29 |
| 3.3.1 การคัดเลือกวัตถุดิบเพื่อนำมาใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว | 29 |
| 3.3.2 การคัดเลือกจุลินทรีย์เพื่อนำมาใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว | 29 |
| 3.3.3 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว | 29 |
| 3.3.4 การศึกษาถึงองค์ประกอบทางเคมีในโปรตีนเซลล์เดียวที่ผลิตได้ | 33 |
| 3.3.5 การทดสอบใช้โปรตีนเซลล์เดียวเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนกากถั่วเหลืองบางส่วนในสูตรอาหารสำหรับเลี้ยงนกกระทาไข่ | 36 |
| บทที่ 4 ผลการทดลอง | 39 |
| 4.1 การคัดเลือกวัตถุดิบเพื่อนำมาใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว | 39 |
| 4.2 การคัดเลือกจุลินทรีย์เพื่อนำมาใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว | 41 |
| 4.3 ผลของ pH ต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว | 45 |
| 4.4 ผลของความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว | 53 |
| 4.5 ผลของชนิดและความเข้มข้นที่เหมาะสมของแหล่งไนโตรเจนต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว | 59 |

# สารบัญเรื่อง (ต่อ)


หน้า

4.6 ผลของความเข้มข้นที่เหมาะสมของโปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว 85

4.7 ผลของความเข้มข้นของ yeast extract ต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว 92

4.8 ผลของความเข้มข้นของ malt extract ต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว 98

4.9 ผลของการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวในถังหมักขนาด 5 ลิตร และ 10 ลิตร 104

4.10 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนเซลล์เดียว 110

4.11 ผลการนำโปรตีนเซลล์เดียวไปใช้เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนกากถั่วหลืองในสูตรอาหารสำหรับเลี้ยงนกกระทาไข่ 113

บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ 118

5.1 สรุปผลการทดลอง 118

5.2 ข้อเสนอแนะ 120

เอกสารอ้างอิง 122

ภาคผนวก 124

ภาคผนวก ก. อาหารเลี้ยงเชื้อและวิธีการเตรียม 125

ภาคผนวก ข. สารเคมีและวิธีการวิเคราะห์ 127

ภาคผนวก ค. สูตรอาหารและองค์ประกอบทางเคมีของสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงนกกระทาไข่ 139

ภาคผนวก ง. การวิเคราะห์ทางสถิติ 140

# สารบัญรูป


| | | หน้า |
|---|---|---|
| รูปที่ 2.1 | ไดอะแกรมแสดงถึงขั้นตอนการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว | 5 |
| รูปที่ 2.2 | การเตรียมวัตถุดิบเพื่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว | 6 |
| รูปที่ 2.3 | การเพาะเลี้ยงและกระบวนการผลิตสาหร่ายเป็นอาหารโปรตีน | 7 |
| รูปที่ 3.1 | *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ที่เลี้ยงในอาหารวุ้น | 29 |
| รูปที่ 3.2 | กล้าเชื้อ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ที่เลี้ยงในอาหารเหลวสูตร YM broth | 30 |
| รูปที่ 3.3 | การผลิตโปรตีนเซลล์เดียวในถังหมักปฏิกรณ์ชีวภาพ | 35 |
| รูปที่ 3.4 | ลักษณะของเซลล์ยีสต์ก่อนและหลังการอบแห้ง | 36 |
| รูปที่ 3.5 | การเลี้ยงนกกระทาไข่ในกรงตับเพื่อทดสอบสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยง | 38 |
| รูปที่ 4.1 | บริเวณวงใสรอบโคโลนีของยีสต์ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5346 ที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร starch agar เพื่อทดสอบความสามารถในการย่อยแป้ง | 44 |
| รูปที่ 4.2 | บริเวณวงใสรอบโคโลนีของยีสต์ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร starch agar เพื่อทดสอบความสามารถในการย่อยแป้ง | 44 |
| รูปที่ 4.3 | ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์ ปริมาณแป้ง ปริมาณน้ำตาลและการเปลี่ยนแปลงของ pH กับเวลาในการเลี้ยงยีสต์ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ในสูตรอาหารที่มี pH เริ่มต้นเป็น 4.5, 5.0 และ 5.5 | 47 |
| รูปที่ 4.4 | ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์ ปริมาณแป้ง ปริมาณน้ำตาลและการเปลี่ยนแปลงของ pH กับเวลาในการเลี้ยงยีสต์ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ในสูตรอาหารที่มี pH เริ่มต้นเป็น 5.5 | 51 |
| รูปที่ 4.5 | ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณแป้ง ปริมาณน้ำตาลและปริมาณโปรตีน กับเวลาในการเลี้ยงยีสต์ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ในสูตรอาหารที่มีแป้งความเข้มข้นต่างๆ กัน | 57 |

# สารบัญรูป (ต่อ)

หน้า


| | | |
|---|---|---|
| รูปที่ 4.6 | ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาล ปริมาณโปรตีน และการเปลี่ยนแปลงของ pH กับเวลาในการเลี้ยงยีสต์ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ในสูตรอาหารที่มี $(NH_4)_2SO_4$ เป็นแหล่งไนโตรเจนที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน | 63 |
| รูปที่ 4.7 | ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาล ปริมาณโปรตีน และการเปลี่ยนแปลงของ pH กับเวลา ในการเลี้ยงยีสต์ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ในสูตรอาหารที่มี $NH_4NO_3$ เป็นแหล่งไนโตรเจนที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน | 69 |
| รูปที่ 4.8 | ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาล ปริมาณโปรตีน และการเปลี่ยนแปลงของ pH ที่เวลาต่างๆกัน ในการเลี้ยงยีสต์ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ในสูตรอาหารที่มี Urea เป็นแหล่งไนโตรเจนที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน | 75 |
| รูปที่ 4.9 | ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาล ปริมาณโปรตีน และการเปลี่ยนแปลงของ pH ที่เวลาต่างๆกัน ในการเลี้ยงยีสต์ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ในสูตรอาหารที่มี Peptone เป็นแหล่งไนโตรเจนที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน | 81 |
| รูปที่ 4.10 | ปริมาณโปรตีนสูงสุดที่ผลิตได้จากการเลี้ยงยีสต์ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ในสูตรอาหารที่แปรผันชนิดและความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสม | 84 |
| รูปที่ 4.11 | ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาล ปริมาณโปรตีน และการเปลี่ยนแปลงของ pH ที่เวลาต่างๆกัน ในการเลี้ยงยีสต์ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ในสูตรอาหารที่เติม $KH_2PO_4$ ที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน | 90 |
| รูปที่ 4.12 | ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาล ปริมาณโปรตีน และการเปลี่ยนแปลงของ pH กับเวลา ในการเลี้ยงยีสต์ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ในสูตรอาหารที่มี yeast extract ที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน | 96 |

# สารบัญรูป (ต่อ)

หน้า


| | | |
|---|---|---|
| รูปที่ 4.13 | ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาล ปริมาณโปรตีน และการเปลี่ยนแปลงของ pH กับเวลา ในการเลี้ยงยีสต์ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ในสูตรอาหารที่มี malt extract ที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน | 102 |
| รูปที่ 4.14 | ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาล ปริมาณโปรตีน และการเปลี่ยนแปลงของ pH กับเวลา ในการเลี้ยงยีสต์ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร | 106 |
| รูปที่ 4.15 | ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาล ปริมาณโปรตีน และการเปลี่ยนแปลงของ pH กับเวลา ในการเลี้ยงยีสต์ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ในถังหมักขนาด 10 ลิตร | 109 |
| รูปที่ ข.1 | ตัวอย่างช่องสี่เหลี่ยมภายในสไลด์ | 129 |

# สารบัญตาราง


| | | หน้า |
|---|---|---|
| ตารางที่ 2.1 | ส่วนประกอบทางเคมีของสาหร่ายแต่ละชนิดเปรียบเทียบกับถั่วเหลือง (%น้ำหนักแห้ง) | 7 |
| ตารางที่ 2.2 | ส่วนประกอบทางเคมีของสาหร่าย (กรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง) | 8 |
| ตารางที่ 2.3 | กรดอะมิโนต่างๆ ในสาหร่าย เปรียบเทียบกับโปรตีนมาตรฐานของ FAO (กรัมต่อ 100 กรัม โปรตีน) | 8 |
| ตารางที่ 2.4 | ปริมาณวิตามินต่างๆ ในสาหร่าย (มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม น้ำหนักแห้ง) | 9 |
| ตารางที่ 2.5 | กรดอะมิโนจำเป็นของเชื้อ *Methylophilus sp.* เมื่อเปรียบเทียบกับกรดอะมิโนจำเป็นจากปลาป่นและถั่วเหลืองป่น | 11 |
| ตารางที่ 2.6 | ปริมาณโปรตีนของแบคทีเรียที่สามารถใช้สารไฮโดรคาร์บอนได้ | 12 |
| ตารางที่ 2.7 | เปรียบเทียบองค์ประกอบของแบคทีเรีย *R. shaeroides*, Chlorella sp. และ ยีสต์ *Saccharomyces sp.* | 13 |
| ตารางที่ 2.8 | ส่วนประกอบของเซลล์และองค์ประกอบของกรดอะมิโนภายในเซลล์ของเชื้อ *R. shaeroides* P47 | 13 |
| ตารางที่ 2.9 | ส่วนประกอบต่างๆ ของเซลล์ยีสต์ที่ใช้เป็นแหล่งอาหารโปรตีน (กรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง) | 19 |
| ตารางที่ 2.10 | เปรียบเทียบกรดอะมิโนจากเซลล์ยีสต์ชนิดต่างๆ กับโปรตีนมาตรฐานของ FAO | 20 |
| ตารางที่ 2.11 | ปริมาณเกลือแร่ของยีสต์ Candida ingens (น้ำหนักแห้ง) | 21 |
| ตารางที่ 2.12 | ปริมาณวิตามินของยีสต์ Candida ingens (น้ำหนักแห้ง) | 21 |
| ตารางที่ 4.1 | พื้นที่เพาะปลูกและปริมาณผลผลิตทางการเกษตรที่นิยมนำมาใช้เป็นวัตถุดิบเพื่อผลิตอาหารสัตว์ (ข้อมูลประจำปี 2536) | 40 |
| ตารางที่ 4.2 | องค์ประกอบทางเคมีของมันสำปะหลัง และผลิตภัณฑ์จากมันสำปะหลัง (เปอร์เซ็นต์) | 41 |
| ตารางที่ 4.3 | การใช้แหล่งคาร์บอนโดยยีสต์สายพันธุ์ต่างๆ | 42 |
| ตารางที่ 4.4 | อัตราส่วนระหว่างเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณวงใสต่อเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีของยีสต์ทั้งสองสายพันธุ์ที่เวลาต่างๆ กัน | 43 |

# สารบัญตาราง (ต่อ)


หน้า

ตารางที่ 4.5 จำนวนเซลล์ ปริมาณแป้ง ปริมาณน้ำตาล และการเปลี่ยนแปลงของ pH ที่เวลาต่างๆ กันในการเลี้ยงยีสต์ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ในสูตรอาหารที่มี pH เริ่มต้นเป็น 4.5, 5.0 และ 5.5 46

ตารางที่ 4.6 จำนวนเซลล์ ปริมาณแป้ง ปริมาณน้ำตาล และการเปลี่ยนแปลงของ pH ที่เวลาต่างๆ กันในการเลี้ยงยีสต์ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ในสูตรอาหารที่มี pH เริ่มต้นเป็น 5.5 50

ตารางที่ 4.7 น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณแป้ง ปริมาณน้ำตาล และปริมาณโปรตีนในการเลี้ยงยีสต์ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ในสูตรอาหารที่มีแป้งความเข้มข้นต่างๆ กัน 55

ตารางที่ 4.8 จำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาล ปริมาณโปรตีน และการเปลี่ยนแปลงของ pH ที่เวลาต่างๆ กันในการเลี้ยงยีสต์ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ในสูตรอาหารที่มี $(NH_4)_2SO_4$ เป็นแหล่งไนโตรเจนที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน 60

ตารางที่ 4.9 จำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาล ปริมาณโปรตีน และการเปลี่ยนแปลงของ pH ที่เวลาต่างๆ กันในการเลี้ยงยีสต์ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ในสูตรอาหารที่มี $NH_4NO_3$ เป็นแหล่งไนโตรเจนที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน 66

ตารางที่ 4.10 จำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาล ปริมาณโปรตีน และการเปลี่ยนแปลงของ pH ที่เวลาต่างๆ กันในการเลี้ยงยีสต์ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ในสูตรอาหารที่มี urea เป็นแหล่งไนโตรเจนที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน 72

ตารางที่ 4.11 จำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาล ปริมาณโปรตีน และการเปลี่ยนแปลงของ pH ที่เวลาต่างๆ กันในการเลี้ยงยีสต์ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ในสูตรอาหารที่มี peptone เป็นแหล่งไนโตรเจนที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน 78

# สารบัญตาราง (ต่อ)


| | | หน้า |
|---|---|---|
| ตารางที่ 4.12 | เปรียบเทียบปริมาณโปรตีนสูงสุดที่ผลิตได้จากการเลี้ยง *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ในสูตรอาหารที่แปรผันชนิดและความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสม | 83 |
| ตารางที่ 4.13 | จำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาล ปริมาณโปรตีน และการเปลี่ยนแปลงของ pH ที่เวลาต่างๆ กันในการเลี้ยงยีสต์ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ในสูตรอาหารที่เติม $KH_2PO_4$ ที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน | 87 |
| ตารางที่ 4.14 | จำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาล ปริมาณโปรตีน และการเปลี่ยนแปลงของ pH ที่เวลาต่างๆ กันในการเลี้ยงยีสต์ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ในสูตรอาหารที่มี yeast extract ที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน | 93 |
| ตารางที่ 4.15 | จำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาล ปริมาณโปรตีน และการเปลี่ยนแปลงของ pH ที่เวลาต่างๆ กันในการเลี้ยงยีสต์ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ในสูตรอาหารที่มี malt extract ที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน | 99 |
| ตารางที่ 4.16 | จำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาล ปริมาณโปรตีน และการเปลี่ยนแปลงของ pH ที่เวลาต่างๆ กันในการเลี้ยงยีสต์ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร | 105 |
| ตารางที่ 4.17 | จำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาล ปริมาณโปรตีน และการเปลี่ยนแปลงของ pH ที่เวลาต่างๆ กันในการเลี้ยงยีสต์ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ในถังหมักขนาด 10 ลิตร | 108 |
| ตารางที่ 4.18 | องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนเซลล์เดียวที่ผลิตได้ | 111 |
| ตารางที่ 4.19 | ชนิดและปริมาณของกรดอะมิโนที่วิเคราะห์ได้จากโปรตีนเซลล์เดียว | 111 |
| ตารางที่ 4.20 | กรดไขมันบางชนิดที่วิเคราะห์ได้จากโปรตีนเซลล์เดียว | 112 |
| ตารางที่ 4.21 | ปริมาณอาหารที่นกกระทากินต่อตัวต่อวัน (กรัม) | 115 |
| ตารางที่ 4.22 | ปริมาณอาหารที่นกกระทาใช้ต่อการผลิตไข่ 1 ฟอง (กรัม) | 115 |
| ตารางที่ 4.23 | เปอร์เซ็นต์การไข่ของนกกระทา | 116 |
| ตารางที่ 4.24 | น้ำหนักไข่นกกระทา (กรัม) | 116 |
| ตารางที่ 4.25 | สีของไข่แดงของนกกระทา | 117 |
| ตารางที่ 4.26 | องค์ประกอบทางเคมีของไข่นกกระทา | 117 |

# สารบัญตาราง (ต่อ)

หน้า


| | | |
|---|---|---|
| ตารางที่ 4.27 | องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกไข่นกกระทา | 117 |
| ตารางที่ ค.1 | วัตถุดิบในสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงนกกระทาไข่ | 139 |
| ตารางที่ ค.2 | องค์ประกอบทางเคมีของสูตรอาหารแต่ละสูตร | 139 |
| ตารางที่ ง.1 | ตัวอย่างการวิเคราะห์ความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์การไข่ | 140 |
| ตารางที่ ง.2 | ตัวอย่างการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณอาหารที่นกกระทากินต่อตัวต่อวัน | 142 |
| ตารางที่ ง.3 | ตัวอย่างการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณอาหารต่อการผลิตไข่นกกระทา 1 ฟอง | 143 |
| ตารางที่ ง.4 | ตัวอย่างการวิเคราะห์ความแปรปรวนของน้ำหนักไข่นกกระทา | 144 |