บทที่ 1
บทนำ

1.1 โปรตีนเซลล์เดียว

โปรตีนเซลล์เดียว (Single Cell Protein) เป็นโปรตีนจากจุลินทรีย์ ซึ่งอาจจะเป็นจุลินทรีย์เซลล์เดียว (Unicellular microorganism) ได้แก่ แบคทีเรีย, ยีสต์ และสาหร่ายบางชนิด หรือจุลินทรีย์ที่มีหลายเซลล์ (Multicellular microorganism) ได้แก่ สาหร่ายและเชื้อรา รดย จุลินทรีย์ที่เหมาะสมในการผลิตเป็นโปรตีนเซลล์เดียว ควรมีคุณสมบัติดังนี้คือ

1.1.1 เจริญได้เร็วในอาหารที่มีราคาถูกและหาง่าย

1.1.2 เจริญได้ดีในอาหารที่มีส่วนประกอบง่ายๆ

1.1.3 คงลักษณะทางพันธุกรรมได้ดี ไม่กลายพันธุ์ง่ายเมื่อเลี้ยงติดต่อกันเป็นเวลานาน

1.1.4 มีความทนทานต่อการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ชนิดอื่น

1.1.5 ทราบคุณสมบัติทางพันธุกรรม สรีรวิทยา สามารถปรับปรุงทางด้านพันธุกรรมได้

1.1.6 มีวัสดุเหลือทิ้งน้อยหรือไม่มีเลย หลังจากที่ผ่านกระบวนการเลี้ยง

1.1.7 แยกและเก็บเกี่ยวเซลล์ได้ง่าย

1.1.8 ให้ปริมาณโปรตีนสูง

1.1.9 ไม่เป็นพิษและทำให้เกิดอาการภูมิแพ้

1.1.10 เก็บรักษาได้ง่าย

1.2. การผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

1.2.1 การผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจะต้องคำนึงถึงองค์ประกอบต่างๆ ดังต่อไปนี้คือ

1.2.1.1 ราคาวัตถุดิบต้องถูก ซึ่งสามารถใช้วัตถุดิบได้หลายชนิดตามท้องถิ่นนั้นๆ รวมถึงวัสดุเหลือใช้จากโรงงานอุตสาหกรรมและการเกษตร

1.2.1.2 ระยะเวลาที่ใช้เลี้ยงต้องสั้น ซึ่งต้องใช้อัตราการเจริญเร็ว ถ้าพิจารณาดูจากค่าการแบ่งตัวในแต่ละชั่วรุ่น (generation time) จะพบว่าแบคทีเรียมีอัตราการเจริญสูงสุดคือประมาณ 0.3-2.0 ชม. ยีสต์มีอัตราการเจริญรองลงมาคือประมาณ 1-3 ชม. ส่วนเชื้อรา (filamentous fungi) และสาหร่ายจะใช้เวลาประมาณ 4-12 ชม. และ 2-6 ชม. ตามลำดับ

1.2.1.3 ประหยัดเนื้อที่ในการผลิต ซึ่งถ้าเปรียบเทียบกับพืชหรือสัตว์จะเห็นว่าการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวใช้พื้นที่น้อยกว่ามากในการผลิต เพื่อให้ได้ปริมาณโปรตีนเท่ากัน

1.2.1.4 มีปริมาณโปรตีนสูง และส่วนประกอบของกรดอะมิโนจำเป็นคล้ายกับของสัตว์ และที่สำคัญอีกอย่างคือสังเคราะห์ได้เร็วกว่าพืชหรือสัตว์ ในโปรตีนเซลล์เดียวจะมีไลซีน เมทิโอนิน และทริปโตเฟน ซึ่งโปรตีนพืชมักจะขาด

1.2.1.5 ความปลอดภัยในการนำไปใช้สำหรับผู้บริโภค ซึ่งต้องมีปริมาณกรดนิวคลีอิคต่ำ และไม่เป็นอันตราย

1.2.1.6 คุณภาพของโปรตีนเซลล์เดียว ซึ่งจะต้องคำนึงถึงว่าจะผลิตเป็นอาหารคนหรืออาหารสัตว์

1.2.1.7 สถานที่ตั้งโรงงานเพื่อผลิตโปรตีนเซลล์เดียว จะต้องไม่ห่างไกลจากแหล่งวัตถุดิบ มิฉะนั้นจะไม่สะดวกในการดำเนินการ อีกทั้งยังเสียค่าใช้จ่ายในการขนส่งวัตถุดิบอีกด้วย

1.2.1.8 ต้องพิจารณาถึงความสามารถในการที่จะแข่งขันกับโปรตีนจากแหล่งอื่น

1.2.1.9 เทคโนโลยีที่เหมาะสมในการผลิต รวมถึงพลังงานและวิธีการที่ใช้ในการผลิต เช่น การให้ออกซิเจน การกวน เป็นต้น

1.2.1.10 ความเป็นไปได้ทางเศรษฐศาสตร์ในการผลิต อีกทั้งราคาของผลิตภัณฑ์ที่ได้

1.2.2 จุลินทรีย์ที่ใช้ผลิตเป็นโปรตีนเซลล์เดียว แต่ละประเภทจะมีคุณสมบัติต่างๆตลอดจนข้อดี-ข้อเสียที่แตกต่างกันไปคือ

1.2.2.1 <u>สาหร่าย</u> เป็น phototrophic microorganism คือ ใช้แสงอาทิตย์เป็นแหล่งพลังงานในการออกซิไดซ์สารอินทรีย์ (CO_2) ให้เป็นสารอินทรีย์ ข้อดีของสาหร่ายคือ มีปริมาณโปรตีนสูงประมาณ 50-65%, มีวิตามินต่างๆในปริมาณที่สูง, ใช้ CO_2 เป็นแหล่งคาร์บอน, ใช้แสงอาทิตย์เป็นแหล่งพลังงาน, สามารถตรึง N_2 จากอากาศเพื่อใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนได้, อาหารที่ใช้เลี้ยงมีเพียงเกลืออนินทรีย์เท่านั้น,ทนทานต่อการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ชนิดอื่น และเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ง่ายส่วนข้อเสียของสาหร่ายคือ อัตราการเจริญต่ำ, มีปัญหาเกี่ยวกับการตกตะกอนของเซลล์ในระหว่างการเลี้ยง, มีกลิ่นรสไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค และมีค่าdigestibility (การย่อยอาหารได้ง่าย) ต่ำกว่าจุลินทรีย์ประเภทอื่นๆ สาหร่ายที่ใช้ผลิต เช่น *Chlorella sp., Spirulina sp., Scenedesmus sp., Uronema sp.* เป็นต้น

1.2.2.2 <u>แบคทีเรีย</u> แบคทีเรียมีข้อดีคือ มีอัตราการเจริญสูงที่สุด, ใช้วัตถุดิบได้หลายชนิด, มีปริมาณโปรตีนสูง, ง่ายต่อการปรับปรุงพันธุ์ และมี sulfur amino acid สูง ส่วนข้อเสียของแบคทีเรียคือ เซลล์มีขนาดเล็ก ทำให้เก็บเกี่ยวผลผลิตได้ยาก แบคทีเรียที่ใช้ผลิต เช่น *Corynebacterium sp., Rhodopseudomonas sp., Enterobacter sp., Methylomonas sp.* เป็นต้น

1.2.2.3 เชื้อรา ข้อดีของเชื้อราคือ มีคุณค่าทางอาหารสูง, เป็นที่ยอมรับโดยทั่วไป แต่ข้อเสียของเชื้อรา คือมีอัตราการเจริญต่ำ, มีปัญหาในการให้อากาศแก่เชื้อเพราะเส้นใยที่เจริญในสภาพ submerged culture จะเป็นกลุ่มก้อน(pellet), มีการเจริญของเส้นใยติดอยู่ที่ข้างถังหมัก (wall growth) และมี sulfur amino acid ในระดับที่ต่ำ เชื้อราที่ใช้ผลิต เช่น *Rhizopus sp.,Eotricum candidium, Aspergillus niger, Trichoderma viride,Fusarium sp.* เป็นต้น

1.2.2.4 ยีสต์ เป็นโปรตีนเซลล์เดียวที่นิยมใช้ในการผลิตมากที่สุด เนื่องจากเป็นแหล่งโปรตีนและวิตามินที่ดี จึงมีการผลิตในเชิงการค้าเพื่อเป็นอาหารสัตว์ และบางชนิดก็เป็นที่ยอมรับของมนุษย์ นอกจากนี้ยีสต์ยังมีอัตราการเจริญสูง มีกลิ่นรสเป็นที่ยอมรับมากกว่าจุลินทรีย์ชนิดอื่น และมีการย่อยอาหารได้สูง แต่ข้อเสียของยีสต์คือ มีปริมาณกรดนิวคลีอิคค่อนข้างสูงประมาณ 10-12% ของน้ำหนักแห้ง เชื้อยีสต์ที่นิยมใช้ผลิต เช่น *Candida utilis, C. tropicalis, C. lipolyticum, C.pseudotropicalis, Kluyveromyces fragilis, Rhodotorula sp.,Saccharomyces sp.*

ในปัจจุบัน ได้มีการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวเป็นอุตสาหกรรม เพื่อใช้เป็นอาหารคนและสัตว์ โดยมีโรงงานต่างๆ ในหลายๆ ประเทศ ดังแสดงในตารางที่ 1 ส่วนในตารางที่ 2 จะแสดงถึงประเภทของจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ และอาหารที่ใช้เลี้ยงเพื่อผลิตโปรตีนเซลล์เดียว ซึ่งจะเห็นได้ว่าการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากเชื้อยีสต์สามารถผลิตได้จากวัตถุดิบหลายชนิด และ จากงานวิจัยที่ผ่านมามีรายงานว่ายีสต์มีคุณสมบัติเหมาะสมที่สุดในบรรดาจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ใช้เป็นแหล่งโปรตีน และใช้กันอย่างแพร่หลายมาตั้งแต่สงครามโลกครั้งที่ 2 เนื่องจากประชาชนอยู่ในสภาวะยากจน และอดอยาก และขาดแคลนโปรตีน ยีสต์ที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายคือ *Candida utilis* นอกจากนี้ก็มี *Rhodotorula gracilis, Saccharomyces cerevisiae, S.carlsbergenesis, C. tropicalis, Trichosporon pullulans*

1.3 ยีสต์

1.3.1 ลักษณะโดยทั่วไปของยีสต์

ยีสต์มีรูปร่างของเซลล์หลายแบบ ได้แก่ กลม รีคล้ายผลส้มหรือมะนาว (lemon-shaped) คล้ายลูกแพร์ (pear-shaped) คล้ายทรงขวด (flask - shaped) ทรงกระบอก หรือบางครั้งพบเซลล์รูปร่างยาวต่อกันเป็นเส้นใย เรียกว่า pseudomycelium ดังแสดงในรูปที่ 1

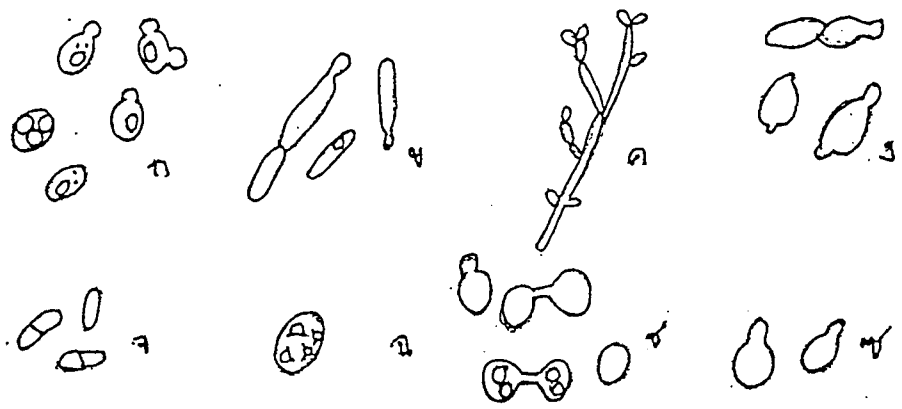
ตารางที่ 1 แสดงรายชื่อของโรงงานที่ทำการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวในประเทศต่างๆ (6)

Type	Plant class	Company	Plant location	Substrate	Type of organism	Plant size Thousands of tons per year
Feed grade	Demonstration	British Petroleum	U.K.	n-Paraffin	Yeast	4
		Chinese Petroleum	Taiwan	n-Paraffin	Yeast	1
		Dal Nippon	Japan	n-Paraffin	Yeast	9
		ICI	U.K.	Methanol	Bacteria	1
		Kanegaluchi	Japan	n-Paraffin	Yeast	5
		Kohjin	Japan	?	Yeast	2.4
		Kyowa Hukko	Japan	n-Paraffin	Yeast	1.5
		Milbrew	U.S.	Whey	Yeast	5
		Sholl	Holland	Methane	Bacteria	1
		Svenska-Socker	Sweden	Potato starch	Yeast	2
	Semicommercial	British Petroleum	France	Gas oil	Yeast	20
		United Paper Mills	France	Sulfite waste	Yeast	10
		USSR	USSR	?	Yeast	20
	Commercial	British Petroleum	Italy	n-Paraffin	Yeast	100
		Liquichimica	Italy	n-Paraffin	Yeast	100
	Other systems under consideration	LSU-Bechtel		Cellulose waste	Bacteria	
		Tate & Lyle		Citric acid waste	Fungi	
		ICAITI	Guatemala	Coffee waste	Fungi	
		IFP		CO_2, Sunlight	Algae	
		General Electric		Feed-lot waste	Bacteria	
		Mitsubishi		Methanol	Yeast	
		Finnish Pulp and Paper		Paper Pulp waste	Fungi	
Food Grade	Demonstration	AMOCO	U.S.	Ethanol	Yeast	6
		Bolse Cascade	U.S.	Sulfite waste	Yeast	6
		St. Regis Paper	U.S.	Sulfite waste	Yeast	5
		Slovnaft-Kojtla	Czechoslovakia	Ethanol	Yeast	1
	Other systems under consideraton	Exxon-Nestle		Ethanol	Bacteria	
		Dat Nippon		Molasses	Yeast	
		RHM-Dupnt		Starch	Fungi	
		Krait Co.		Whey	Yeast	

ตารางที่ 2 ประเภทจุลินทรีย์และอาหารที่ใช้เลี้ยงเพื่อผลิตรปรตีนเซลล์เดียว (6)

ประเภทจุลินทรีย์	อาหารที่ใช้เลี้ยง	โปรตีน (กรัม/กรัมอาหาร)	โปรตีน (กรัม/ลิตร)
ยีสต์			
Candida rugusa	ปาล์มน้ำมัน	0.65	-
Candida utilis	ส่าเหล้า	-	8
Candida utilis	ส่าเหล้า	-	19.43
Hansenula anomara		-	19.81
Saccharomyces cerevisiae	มะม่วง-หิมพานต์	0.5	-
รา			
Aspergillus niger*	คารอบ (carob)	-	-
Trichoderma viride	ฟางข้าว-บาเลย์	0.4-0.56	-
Trichosporum cutaneum	ปาล์มน้ำมัน	0.85	-
แบคทีเรีย			
Cellulomonas sp.	ชานอ้อย	0.5	-
Rhodopseudomonas spheeroides	สับปะรด	-	26.5
สาหร่าย			
Spirula maxima	คาร์บอน-ไดออกไซด์	-	

* 45 เปอร์เซ็นต์ (คิดจากน้ำตาลที่ถูกใช้ไป)



ก. Saccharomyces cerevisiae ที่มี budding cells และ ascospore 4 สปอร์ ภายใน ascus

ข. Candida ที่มีรูปร่างเซลล์ยาว

ค. Pseudo-mycelium ของ Candida

ง. Lemon-shaped yeast

จ. Shizosaccharomyces ที่เพิ่มจำนวนโดยการแบ่งเซลล์

ฉ. Hansenula ที่มี ascospore รูปร่างคล้ายหมวก

ช. Zygosaccharomyces ที่สร้าง ascospore 4 สปอร์ ภายใน ascus ซึ่งเกิดจาก conjugation

ซ. flask-shaped yeast

รูปที่ 1 แสดงรูปร่างของเซลล์ยีสต์

การสืบพันธุ์ของยีสต์จะสืบพันธุ์โดยการแตกหน่อ (budding) เป็นส่วนใหญ่และพบการสืบพันธุ์โดยการแบ่งเซลล์ตามแนวขวาง (transerve fission) ด้วย ซึ่งการสืบพันธุ์ทั้งสองแบบนี้เป็นการสืบพันธุ์แบบไม่มีเพศ และยีสต์สามารถสืบพันธุ์แบบมีเพศโดยใช้วิธี conjugation ของ haploid yeast สองเซลล์ ซึ่งเกิดขึ้นเมื่อเซลล์สองเซลล์ดังกล่าวมาจับคู่กันแล้วมีการรวมตัวของนิวเคลียสของเซลล์ทั้งสองเกิดเป็น diploid yeast จากนั้นจะมีการแบ่งนิวเคลียสออกเป็น 2,4 หรือ 8 นิวเคลียส ที่มีโซโตพลาสซึมล้อมรอบ ต่อมามีการสร้างผนังหนาห่อหุ้มนิวเคลียสแต่ละอัน เรียกว่า ascospore ส่วนเซลล์ของยีสต์เดิมจะทำหน้าที่เป็นโครงสร้างที่ห่อหุ้มascospore เรียกว่า ascus สปอร์ชนิดนี้มีรูปร่างหลายแบบ เช่น รูปคล้ายไต รูปเข็มคล้ายหมวก และทรงกลม ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะใช้ในการจำแนกชนิดของยีสต์ด้วย

1.3.2 ยีสต์ที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ในกลุ่มอะไมเลส

มียีสต์หลายชนิดสามารถผลิตเอนไซม์ในกลุ่มของอะไมเลส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ส่งออกนอกเซลล์ (Extracellular enzymes) ดังแสดงไว้ในตารางที่ 3 ซึ่งสรุปได้ว่ายีสต์พวกนี้สามารถใช้แป้งเป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานในการเจริญเติบโต รวมถึงการผลิตสารประกอบที่ต้องการได้ จากตารางจะเห็นว่ามีกลุ่มของยีสต์สายพันธุ์ *Schwanniomyces occidentalis* หลายสายพันธุ์สามารถผลิตเอนไซม์อัลฟาอะไมเลสและกลูโคอะไมเลสได้ โดยเอนไซม์ที่ผลิตได้มีค่า Km ต่างๆกัน ซึ่งยีสต์กลุ่มนี้จะรวมทั้ง *Schwanniomyces alluvius* และ *Schwanniomyces castelli* ด้วย จากตาราง 4 จะเห็นได้ว่ามีการนำยีสต์หลายชนิดที่มีคุณสมบัติในการใช้แป้งเป็นวัตถุดิบมาผลิตเป็นโปรตีนเซลล์เดียว และสามารถใช้วัตถุดิบที่มีแป้งเป็นส่วนประกอบได้หลายชนิด

1.3.3 ทฤษฎีการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากยีสต์

ยีสต์เป็นจุลินทรีย์ที่เจริญได้ทั้งในที่มีอากาศและไม่มีอากาศ ในสภาพไม่มีอากาศยีสต์จะหมักกลูโคสได้เร็วกว่าในสภาพที่มีอากาศ เหตุที่เป็นดังนี้เพราะกลูโคสขัดขวางกระบวนการหายใจของยีสต์ในสภาพมีอากาศ เรียกปรากฏการณ์นี้ว่า Pasteur Effect พบว่า กลูโคสเข้มข้น 5% สามารถกด (Suppress) การสังเคราะห์เอนไซม์ในกระบวนการหายใจได้

สภาวะที่เหมาะสมในการเจริญของยีสต์โดยทั่วไปคือ อุณหภูมิ 30°ซ pH 3.5-5.0 ในสภาพไม่มีอากาศ ยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ ส่วนในสภาพมีอากาศยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นพลังงานได้เซลล์จำนวนมาก

ตารางที่ 3 แสดงลักษณะของเอนไซม์กลุ่มอะไมเลสที่ผลิตจากยีสต์ (9)

Species[a]	Strain	Enzyme	Optimum pH	Optimum temperature (°C)	M_r ($\times 10^{-3}$)[b]	K_m[c]	Other data[d]
A. monospora[e]		Glucoamylase I	5.5	65	47.8 (A)	0.5 (ST) 2.5 (ST)	Glycoprotein
		Glucoamylase II	5.5	60	50.1 (A)		
C. antarctica	CBS 6678	α-Amylase	4.2	62	50 (A, B, C)	3.3 (ST) 6.5 (G3) 3.1 (G5) 2.7 (G7)	Glycoprotein (2.4%); s = 4.9 S; pI = 10.3
		Glucoamylase	4.2	57	48.5 (A,B,C)	0.44 (ST) 15.8 (G2) 10.6 (G3) 5.1 (G5) 3.3 (G7)	Glycoprotein (7.4%) s = 4.7 S; pI = 10.1
C. tsukubaensis	CBS 6389	Glucoamylase	2.4-4.8	55	56 (B)		Glycoprotein
F. capsuligenum[f]	CCY 64-5-1	α-Amylase	5.6	50	64 (B)		Glycoprotein
		Glucoamylase I	5-5.6	55	60 (B)		Glycoprotein
		Glucoamylase II	4.8-5.3	50	60 (B)		
L. kononenkoae	CBS 5608	α Amylase	5.5	40	38 (A)	2.7 (ST) 216 (G3)	pI = 7.1
		Glucoamylase	4.5	50	81.5 (A)	16.2 (ST) 1.0 (G2)	pI = 6.1
	IGC 4052	Cyclodextrinase	5.0	60	345 (A)	0.12 (α CD) 0.16 (β-CD) 0.16 (γ-CD)	Glycoprotein; pI = 5.2-5.4
	IGC 4051	Isoamylase	5.6	30	65 (A)	9.0 (ST)	Glycoprotein; pI = 4.7-4.8
L. starkeyi	CBS 1809	α-Amylase	4.0	70	76 (A)		
		α-Glucosidase	4.5	60	35 (A)		
S. cerevisiae var. *diastaticus*[g]	5206-1B (*STA2*)	Glucoamylase II	5.1		300 (B) 670 (C)	3.2 (G2) 2.4 (G3) 0.98 (G6)	Glycoprotein (80%)
	SPX-101-1C (*STA2*)	Glucoamylase	5.5	60	306 (D) 186 (B)	18 (G2)	Glycoprotein; pI = 4.1
	5108-7A (*STA1*)	Glucoamylase I			68 (E)		Glycoprotein; s = 4.25S
	5205-10A (*STA2*)	Glucoamylase II			84 (E)		Glycoprotein; s = 4.58S
	5301-14D (*STA3*)	Glucoamylase III			79 (E)		Glycoprotein; s = 4.38S
	J132b (*DEX1*)	Glucoamylase	4.2-4.8	50	107-315 (B)	10 (G2)	Glycoprotein (80-89%)
	J1741C (*DEX2*)	Glucoamylase	4.8-5.4	50	98.5-305 (B)	7-13 (G2)	Glycoprotein (67-87%)
	5106-9A (*STA1*)	Glucoamylase I			80, 66 (A)		Glycoprotein with 2 subunits (H, Y)
	YIY2-12D (*STA1*)	Glucoamylase I	5.0	55	250 (B)		Glycoprotein (28%)
Sacch. capsularis[h]	311/1	α-Amylase	4.5	40-50			
		Glucoamylase	4.5	40-50		2.9 (G2)	
		Transglucosidase	4.6	40			
Sacch. fibuligera[i]	IFO 0111	Glucoamylase	4.5-5.0		40 (A)	20 (ST)	Glycoprotein (9.5%) s = 4.14S
		Glucoamylase	4.8-5.0				Glycoprotein; s = 4.37S
		Glucoamylase	5.0		55		

ตารางที่ 3 (ต่อ)

Species[a]	Strain	Enzyme	Optimum pH	Optimum temperature (°C)	M_r ($\times 10^{-3}$)[b]	K_m[c]	Other data[d]
	IFO 1665	Glucoamylase	5.5	60	58 (A)		
	R1	Glucoamylase	5-6	50-60	57 (B)		
	sp. 20-9	Glucoamylase			53 (A)		Glycoprotein (8.5%); s = 4.3S; pI = 3.8
	LCC 241	α-Amylase	6-6.5	40-50		1.5 (ST)	
		Glucoamylase	5.2-6.5	50		7.1 (ST)	
Schw. occidentalis[j]	UCD 54-83	α-Amylase	6.3	40	61.9 (B)	0.36 (ST)	
		Glucoamylase	5.0	50	155 (B)	12.7 (ST)	
	ATCC 26074	α-Amylase	4-6	45-40	52 (B)		
					39 (A)		
		Glucoamylase I	4-6	40-50	155 (B)		
		Glucoamylase II	4.5-5.2	40-48	135 (B)		
	IGC 2829	α-Amylase	6.3	40	62 (A)	2.7 (ST)	
		Glucoamylase	4.5	50	117 (A)	22.2 (ST)	
	CBS 2863	α-Amylase	6.0	60	40 (A)		
		Glucoamylase I	6.0	60	90 (A)		
		Glucoamylase II	6.0	60	45 (A)		
	LCC 1402	α-Amylase	5.5-6.5	30-40		1.2 (ST)	Glycoprotein (56%)
		Glucoamylase	4.2-4.5	40-50		10.3 (ST)	

[a]Abbreviations for genera: *A.* = *Ambrosiozyma*; *C.* = *Candida*; *F.* = *Filobasidium*; *L.* = *Lipomyces*; *S.* = *Saccharomyces*; *Sacch.* = *Saccharomycopsis*; *Schw.* = *Schwanniomyces*.
[b]Methods for determining relative molecular mass: A = gel filtration; B = sodium dodecyl sulfate/polyacrylamide gel electrophoresis; C = fast protein liquid chromatography; D = high-pressure size-exclusion chromatography; E = ultracentrifugation.
[c]Substrates are indicated in parentheses: ST = soluble starch; G2 = maltose, . . . ; G7 = maltoheptaose, α-, β-, and γ-CD = α-, β-, and γ-cyclodextrin. Values are given in mM except for soluble starch (g/L).
[d]Carbohydrate content of glycoproteins indicated in parentheses; pI = isoelectric point; *s* = sedimentation coefficient.
[e]Also called *Endomycopsis bispora*.
[f]Also called *Candida japonica*, *Leucosporidium capsuligenum*.
[g]Also called *Saccharomyces cerevisiae*, *S. diastaticus*.
[h]Also called *Endomycopsis capsularis*.
[i]Also called *Endomyces fibuliger*, *Endomycopsis fibuligera*.
[j]Also called *Schwanniomyces alluvius*, *Schw. castellii*.

ตารางที่ 4 แสดงการผลิตโปรตีนเซลล์เดี่ยวจากยีสต์โดยใช้แป้งจากซับสเตรต (9)

Species[a]	Strain	Substrate	Culture[b]	μ or D (h^{-1})[c]	Temperature (°C)	pH	Yield (g/g)[d]
C. utilis	NCYC 707	Hydrolyzed potato waste	B	0.49-0.53	30	4.0	0.51-0.58
C. tropicalis	CBS 6948	Cassava (1%)	C	0.26	35	4.0	0.42
		Corn (0.2%)	C	0.10	32	5.1	0.74
		Cassava (9%)	B		32	5.1	0.46(0.60)
		Corn (2%)	B		32	5.1	0.47(0.60)
L. kononenkoae	IGC 4052	Soluble starch (0.2%)	B	0.12	25		0.58
		Soluble starch (0.5%)	C	0.04	28.5	5.7	0.38
	IGC 4052-B	Soluble starch (0.5%)	C	0.04	28.5	5.7	0.48
S. cerevisiae var. *diastaticus*	BRG 530	Soluble starch (0.45%)	B		25		0.50(0.83)
Sacch. fibuligera		Corn starch (4%)	B		28-30	4.7	0.54
	NRRL Y-76	Soluble starch (3%)	B	0.35	30	4.5	0.50
	NRRL Y-1062	Potato extract	C	0.35	32	4.8	0.84
		Potato extract	C	0.25	32	4.8	0.95
	IMAT 3812	Peeled potato (10%)	B		28	5.5	0.39(0.40)
Schw. occidentalis	ATCC 26074	Soluble starch (4%)	B		30-32	5.5	0.51
	IGC 2829	Soluble starch (2%)	B	0.21	30		0.59
		Soluble starch (0.2%)	B		25		0.50(0.90)
	UCD 54-83	Soluble starch (2%)	B	0.25	30		0.62
	IMAT 3754	Potato flour (0.94%)	B	0.25	30	5.3	0.43
	IMAT 2196	Potato peels	B		28	5.5	0.54(0.54)
	CBS 2863	Cassava flour (1.5%)	B	0.23	28	3.5	0.44(0.48)
Sp. holsaticus	FRI Y-5	Soluble starch (6.75%)	B	0.14	23	6.9	-(0.43)
C. utilis +	NRRL Y-1084 +	Potato extract	C (mixed)	0.31	32	4.3-4.8	0.61
	Y-1062	Potato extract	C (2-stage)	0.12-0.34	32	4.8	0.81
Sacch. fibuligera	NCYC 707 + ATCC 9947	Potato waste	B	0.09-0.13	30	4.0	0.53

[a]Abbreviations for genera: *C.* = *Candida*; *L.* = *Lipomyces*; *S.* = *Saccharomyces*; *Saccn.* = *Saccharomycopsis*; *Schw.* = *Schwanniomyces*; *Sp.* = *Sporobolomyces*.
[b]Method of cultivation: B = batch; C = continuous.
[c]μ = specific growth rate (batch culture); D = dilution rate (continuous culture).
[d]Cell yield from supplied or from consumed starch (in parentheses).

ยีสต์ที่นำมาใช้มากทางด้านอุตสาหกรรมคือ

1.3.3.1 *Saccharomyces* sp. ใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตเครื่องดื่มประเภทแอลกอฮอล์ เช่น เบียร์ ไวน์ เหล้าต่างๆ เซลล์ยีสต์ที่ผ่านกระบวนการผลิตแล้วสามารถนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์ได้ นอกจากนี้ยังใช้เซลล์ยีสต์ในการทำขนมปัง

1.3.3.2 *Torula yeast* (Fodder yeast) คือเชื้อ *Candida utilis* ใช้ผลิตเป็นโปรตีนเซลล์เดียวมากที่สุด เพราะเจริญเร็ว เลี้ยงง่าย มีโปรตีนสูง ใช้อาหารได้หลายชนิด รวมทั้งน้ำตาลที่มีคาร์บอน 5 อะตอม ซึ่งเป็นน้ำตาลที่ใช้ยากสำหรับเชื้อชนิดอื่นๆ

1.3.4 กระบวนการที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวโดยยีสต์

สามารถผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากยีสต์ได้หลายวิธี ซึ่งขึ้นกับวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิต และชนิดของเชื้อในการที่จะสามารถใช้วัตถุดิบต่างๆ กันได้ ตัวอย่างของกระบวนการที่ใช้ผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากยีสต์ ได้แก่

1.3.4.1 Swedish Symba process ใช้เชื้อ *Endomycopsis fibuligera* ที่มีเอนไซม์ amylase เป็นส่วนใหญ่ ย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล ส่วนเชื้อ *Candida utilis* จะใช้น้ำตาลที่ได้จากเชื้อชนิดแรกในการเจริญเพื่อเป็นโปรตีนเซลล์เดียว

1.3.4.2 Amylo Process ใช้จุลินทรีย์ 2 ชนิดคือ *Rhizopus* sp. และ *Saccharomyces cerevisiae* โดยใช้แป้งเป็นวัตถุดิบ ราจะย่อยแป้งเป็นน้ำตาลซึ่งเป็นอาหารของยีสต์ ได้เซลล์ของยีสต์เป็นโปรตีนเซลล์เดียว

1.3.4.3 Waldhof Process ใช้ *Candida utilis* หมัก sulfite Waste liquor ในถังหมักแบบต่อเนื่องของ Waldhof

1.3.4.4 DSM Oxanene-water Process ใช้ *Candida lipolytica* และ *Trichosporon cutaneum* ในน้ำทิ้งจากการออกซิไดซ์ Cyclohexane

1.3.4.5 n-paraffin and gas oil process ใช้ *Candida lipolytica* โดยใช้ n-paraffin เป็นวัตถุดิบ

1.3.5 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากยีสต์

การผลิตโปรตีนเซลล์เดียวเพื่อให้ได้ผลผลิตที่สูงนั้น จะต้องจัดสภาวะต่างๆให้เหมาะสมกับการเจริญของยีสต์ เช่น อุณหภูมิ pH ปริมาณสารอาหารที่เหมาะสมเช่น ความเข้มข้นของกลูโคสที่เหมาะสม นอกจากนี้จะต้องคำนึงถึงความสามารถของยีสต์แต่ละชนิดในการใช้สารอาหารให้เหมาะสม รวมทั้งการให้อากาศและการกวนที่เหมาะสมด้วย อาจมีปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตทำให้ผลิตลดลง ได้แก่

1.3.5.1 การให้ออกซิเจนไม่เพียงพอกับความต้องการในการเจริญของยีสต์

1.3.5.2 เมื่อเซลล์ยีสต์เพิ่มจำนวนขึ้น ความหนืดจะเพิ่มขึ้น ทำให้การละลายของออกซิเจนและการกระจายตัวของอาหารลดลง

1.3.5.3 เกิดแรงดันออสโมติคเพิ่มขึ้น

1.3.5.4 มีการสะสมของสารยับยั้งการเจริญที่อาจติดมากับสารอาหารหรือที่ยีสต์สร้างขึ้น

1.3.5.5 เกิดการยับยั้งการเจริญเนื่องมาจากเซลล์อยู่ชิดกันอย่างหนาแน่น

1.3.6 คุณค่าทางอาหารของเซลล์ยีสต์

ส่วนประกอบของสารอาหารและเกลือแร่หลายชนิด จะมีในเซลล์ยีสต์เป็นปริมาณมาก ซึ่งเหมาะที่จะใช้เป็นอาหารของคนและสัตว์ โดยเฉพาะโปรตีน ซึ่งเฉลี่ยแล้วในเซลล์ยีสต์จะประกอบด้วยโปรตีนทั้งหมดประมาณ 45-50% ของน้ำหนักแห้ง ดังแสดงในตารางที่ 5 และคุณค่าทางอาหารยังขึ้นกับชนิดและปริมาณของกรดอะมิโนซึ่งเป็นหลายชนิด ซึ่งได้เปรียบเทียบกรดอะมิโนจากเซลล์ยีสต์ชนิดต่างๆไว้ในตารางที่ 6

1.3.7 การเก็บเกี่ยวเซลล์ยีสต์ (Harvesting)

เมื่อมีการเลี้ยงยีสต์ถึงเวลาที่ต้องการคือ เวลาที่เซลล์มีปริมาณมากที่สุดและไม่มีการเพิ่มจำนวนเซลล์อีกแล้ว ก็จะทำการแยกเอาตัวเซลล์ออกจากอาหารที่ใช้เลี้ยง วิธีการที่แยกเซลล์จากอาหารเลี้ยงเซลล์ก็ทำได้หลายวิธี อาจโดยการกรอง หรือการเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge) ในอุตสาหกรรมส่วนมากจะนิยมใช้วิธีการหมุนเหวี่ยงโดยใช้เครื่องหมุนเหวี่ยงที่มีความเร็วรอบ 4,000 ถึง 5,000 รอบต่อนาที หลักการเหวี่ยงเซลล์ซึ่งมีมวลมากจะตกตะกอนลงมา เมื่อทำการแยกออกก็จะล้างเซลล์ด้วยน้ำเพื่อชะเอาสิ่งแปลกปลอมออก นำไปเหวี่ยงอีกครั้งจะได้เซลล์ที่มีความบริสุทธิ์มากขึ้น ลักษณะของเซลล์ที่ได้คล้ายครีมและหนืดมาก ถ้าต้องการให้น้ำออกให้มากที่สุดก็จะผ่านเข้าเครื่องกรองประเภท filter press แรงอัด 125-150 psi

ยีสต์ที่ได้สามารถเก็บที่อุณหภูมิ 0°ซ ได้นานหลายวันโดยไม่เสีย และอัตรารอดชีวิตของเซลล์ยังสูงอยู่ อายุการเก็บของยีสต์ขึ้นกับปริมาณไนโตรเจนของเซลล์ ยีสต์จะเก็บได้นานเมื่อเซลล์มีไนโตรเจน8.9% แต่ในทางปฏิบัติแล้วสามารถเก็บยีสต์ไว้ได้นานไม่ว่ายีสต์จะมีองค์ประกอบของไนโตรเจนอยู่สูงหรือต่ำก็ตาม

ปกติในเซลล์ยีสต์จะมีคาร์โบไฮเดรต 22-23% ซึ่งเป็น Trehalose 33% , glucan 27%, mannan 21% และ glycogen ส่วนไขมันจะมีปริมาณ 2-3% ซึ่งประกอบด้วย triglyceride, lecithin และ ergosterol เกลือแร่ที่พบในยีสต์มีประมาณ 6-8% ส่วนมากเป็นโปแตสเซียมและฟอสฟอรัส ที่พบน้อยก็มีแคลเซี่ยม แมกนีเซี่ยม ซิลิคอน คลอไรด์ เหล็กและทะกั่ว

ตารางที่ 5 แสดงส่วนประกอบต่างๆ ของเซลล์ยีสต์ที่ใช้เป็นอาหาร (กรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง) (6)

Constituent	*S.cerevisiae* molasses	*Candida utilis* sulphite liquor	*S.fragilis* milk whey	*S.cerevisiae* beer
Protein	50	55	54	45
Lipids	6	5	1	6
Moisture	5	5	1	6
Ash	7	8	9	8
Sodium	0.3	0.001	-	0.2

ตารางที่ 6 เปรียบเทียบกรดอะมิโนจากเซลล์ยีสต์ชนิดต่างๆ และ FAO reference protein (6)

Amino acid	FAO reference protein	Content in yeast (g/16 gN)		
		S.cerevisiae in molasses	*C.utilis* sulfite liquor	*C.utilis* in molasses
Lysine	4.2	8.2	6.7	10.7
Valine	4.2	5.5	6.3	5.7
Leucine	4.8	7.9	7.0	8.1
Isoleucine	4.2	5.5	5.3	7.3
Threonine	2.8	4.8	5.5	4.8
Methionine	2.2	2.5	1.3	1.4
Phenylalanine	2.8	4.4	4.3	4.1
Cystene	2.0	2.6	0.7	0.3
Tryptophan	-	1.2	1.2	0.5
Histidine	-	4.0	1.9	2.8
Tyrosine	-	5.0	3.3	1.4
Arginine	-	5.0	5.4	4.7

1.3.8 ข้อดี-ข้อเสียของการใช้ยีสต์นำมาผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

ข้อดี

1. อัตราการเจริญเติบโตสูงเมื่อเทียบกับราหรือสาหร่าย
2. มีปริมาณโปรตีนสูง ประมาณ 50% น้ำหนักแห้ง
3. เป็นจุลินทรีย์ที่คุ้นเคยและยอมรับมานาน
4. ทราบถึงคุณสมบัติทางพันธุกรรมและชีวเคมี
5. มีปริมาณของวิตามินสูง
6. การเก็บเกี่ยวเซลล์ทำได้ไม่ยาก เพราะเซลล์มีขนาดใหญ่ ซึ่งอาจทำโดยการ centrifuge ที่ 3,000-5,000 รอบต่อนาที ก็สามารถแยกได้แล้ว
7. ใช้น้ำตาลเพนโตสเป็นแหล่งอาหารได้
8. ใช้ sulfite waste liquor หรือ wood hydrolysates ได้ดี
9. ยีสต์บางสายพันธ์สามารถใช้แป้งเป็นแหล่งคาร์บอนได้

ข้อเสีย

1. มีกรดนิวคลีอิคสูง ประมาณ 12%
2. มีปริมาณโปรตีนน้อยกว่าแบคทีเรียบางสายพันธุ์

1.4 วัตถุดิบ (Substrate)

วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตมีอยู่มากมายหลายชนิด ซึ่งในการเลือกใช้วัตถุดิบชนิดใดจะต้องคำนึงถึงปัจจัยในการผลิตหลายๆ ประการ เช่น ปริมาณของวัตถุดิบ ราคา ความยากง่ายในการจัดหา เชื้อยีสต์ที่ใช้ผลิต กระบวนการในการปรับสภาพวัตถุดิบ ลักษณะของกระบวนการผลิตและการเก็บเกี่ยวผลผลิต ปริมาณของผลผลิต รวมทั้งความคุ้มค่าในเชิงเศรษฐศาสตร์ วัตถุดิบที่นิยมใช้ในการผลิตมีหลายชนิด เช่น

1.4.1 กากน้ำตาล (molasses)

เป็นผลพลอยได้จากการผลิตน้ำตาลทราย ซึ่งจะมีปริมาณน้ำตาลประมาณ 50-60% ดังนั้นจึงต้องทำการเจือจางก่อนที่จะนำไปใช้ เชื้อยีสต์ที่ใช้ผลิต เช่น *Candida utilis, C. tropicalis, Saccharomyces cerevesiae* โดย *S. cerevisiae* มักเป็นผลพลอยได้จากการผลิตแอลกอฮอล์และเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ ในการใช้กากน้ำตาลในการผลิตมักจะประสบปัญหาเกี่ยวกับการเก็บเกี่ยวผลผลิต ซึ่งจะต้องล้างเอากากน้ำตาลที่ติดกับเซลล์ออกให้หมด เพื่อไม่ให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีสีและกลิ่นของกากน้ำตาล

1.4.2 วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร (agricultural waste)

วัตถุดิบเหล่านี้จะประกอบด้วย เซลลูโลส, เฮมิเซลลูโลส และลิกนินเป็นส่วนใหญ่ เช่น ฟางข้าว ผักตบชวา ชานอ้อย ซังข้าวโพด เป็นต้น ซึ่งจะต้องผ่านกระบวนการปรับสภาพ (pretreatment) ก่อน โดยการใช้กรด-ด่างในการย่อยให้เป็นน้ำตาล หรือใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลส เช่น *Trichoderma viride* ย่อยเสียก่อน หลังจากการปรับสภาพจะได้น้ำตาลที่มีห้าอะตอมและหกอะตอม เช่น ไซโลส, อะราบิโนส, แมนโนส, กลูโคส เป็นต้นโดยเชื้อยีสต์ที่นำมาใช้ผลิตเช่น *Candida utilis* และ *C. tropicalis*

1.4.3 น้ำทิ้งจากโรงงานกระดาษ (sulfite waste liquor)

น้ำทิ้งจากโรงงานกระดาษจะมีน้ำตาลประมาณ 3% ขึ้นไป โดยประกอบด้วยน้ำตาลที่มีคาร์บอนห้าและหกอะตอม เช่น ไซโลส, อะราบิโนส ดังนั้นเชื้อยีสต์ที่ใช้ผลิตคือ *Candida utilis* ปัญหาที่พบในการผลิตคือ ต้องทำการปรับสภาพวัตถุดิบก่อน และในการเก็บเกี่ยวเซลล์ต้องทำการล้าง lignosulfonic acid ที่เกิดขึ้นออก

1.4.4 น้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมเกษตร (agro-industry waste water)

มักจะมีน้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอนเช่น น้ำทิ้งจากโรงงานสับปะรดกระป๋อง น้ำทิ้งจากโรงงานสุรา เป็นต้น ซึ่งหลังจากการเลี้ยงนอกจากจะได้เซลล์เป็นผลิตภัณฑ์แล้ว ยังเกิดผลพลอยได้จากการลดค่า BOD และ COD ในน้ำทิ้งลงอีกด้วย ทำให้ลดขั้นตอนและค่าใช้จ่ายในการบำบัดลง เชื้อยีสต์ที่นิยมใช้ผลิตคือ *Candida utilis*

1.4.5 สารประกอบไฮโดรคาร์บอน (hydrocarbon compound)

เป็นผลพลอยได้จากการกลั่นน้ำมันดิบ ดังนั้นจึงเหมาะสมสำหรับผลิตในประเทศที่มีอุตสาหกรรมการกลั่นน้ำมันมาก ผลพลอยได้ที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว เช่น อัลเคน (alkane), อัลคีน (alkene), พาราฟิน (n-parafin), เมทธานอล (methanol) และ gas oil เป็นต้น เชื้อที่ใช้ในการผลิต เช่น *Candida lipolytica, C. intermedia, C. guilliermonii* เป็นต้น

1.4.6 เวย์ (Whey)

เป็นผลพลอยได้จากการผลิตเนยแข็ง (cheese) ซึ่งประกอบด้วยน้ำตาลแลคโตสประมาณ 5%, โปรตีน 0.8% และมีกรดแลคติคเล็กน้อย เชื้อยีสต์ที่สามารถใช้น้ำตาลแลคโตสได้ดีคือ *Kluyveromyces fragilis* และนอกจากนี้ยังมีเชื้อยีสต์ *Candida pseudotropicalis* อีกตัวหนึ่งที่นิยมใช้ผลิต

1.4.7 สารประกอบจำพวกแป้ง (starchy material)

เป็นโพลิเมอร์ของน้ำตาลกลูโคสที่ต่อกันเป็นสายยาวด้วยพันธะ α-1,6-glycosidic linkage หรือ α-1,4-glycosidic linkage หรือมีทั้งสองพันธะ ซึ่งจะต้องทำการปรับสภาพโดยใช้เอนไซม์อะไมเลสย่อยให้ได้เป็นน้ำตาลเสียก่อน แต่มีเชื้อยีสต์บางชนิดที่สามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลสได้ เช่น *Endomycopsis fibuligera* ดังนั้นจึงมักจะเลี้ยงเชื้อชนิดนี้ร่วมกับเชื้อยีสต์ชนิดอื่น โดยจะเลี้ยงร่วมกับ *Saccharomyces cerevisiae* เพื่อผลิตแอลกอฮอล์ เรียกว่า Simultaneous Saccharification Fermentation (SSF) หรือเลี้ยงร่วมกับเชื้อ *Candida utilis* เพื่อผลิตโปรตีนเซลล์เดียว เรียกว่า Symba Yeast Process วัตถุดิบที่นิยมใช้ เช่น แป้งมันสำปะหลัง, แป้งมันฝรั่ง, หัวมันสำปะหลัง, มันเส้น, กากมัน, น้ำทิ้งจากโรงงานแป้ง เป็นต้น

1.5 มันสำปะหลังและแป้งมันสำปะหลัง

มันสำปะหลังเป็นพืชหัวที่มีคาร์โบไฮเดรตสูง แต่มีปริมาณโปรตีนต่ำ โดยจะประกอบไปด้วยน้ำ 60-65% คาร์โบไฮเดรต 30-35%, โปรตีน 1-2%, ไขมัน 0.3% ซึ่งคาร์โบไฮเดรตในหัวมันสำปะหลังประกอบด้วย แป้ง, น้ำตาล, เฮมิ-เซลลูโลส เซลลูโลส โดยมีแป้งเป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ (ประมาณ 64-72% ของคาร์โบไฮเดรต) และแป้งที่มีในมันสำปะหลังจะมีอะไมโลสประมาณ 16-18% และอะไมโลเปคติน ประมาณ 82-84% ประเทศไทยมีการปลูกมันสำปะหลังมาก ทำให้ราคาของแป้งมันสำปะหลังมีราคาถูก จึงมีการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์หลายชนิดโดยผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการแปรรูปหัวมันสำปะหลังที่สำคัญมีดังนี้คือ

1.5.1 <u>มันเส้น</u> เป็นผลิตภัณฑ์จากการสับหรือหั่นหัวมันสำปะหลังทั้งเปลือกให้เป็นชิ้นเล็กๆ แล้วตากแดดให้แห้ง นิยมนำไปใช้เป็นอาหารสัตว์

1.5.2 <u>มันอัดเม็ด</u> เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำมันเส้นไปเข้าเครื่องอัดให้เป็นเม็ด นิยมนำไปใช้ผสมเป็นอาหารสัตว์

1.5.3 <u>แป้งมันสำปะหลัง</u> เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการสกัดน้ำแป้งจากหัวมันสำปะหลัง และทำให้น้ำแป้งที่ได้แห้งลงจนมีลักษณะเป็นผงละเอียดสีขาว ซึ่งกรรมวิธีการผลิตแป้งมันสำปะหลังจะแตกต่างกันไปในแต่ละโรงงาน แต่ส่วนใหญ่จะประกอบด้วยขั้นตอนดังนี้

1.5.3.1 <u>การทำความสะอาดและจัดเตรียมหัวมัน</u> เริ่มตั้งแต่นำหัวมันสดเข้าสู่เครื่องร่อนเพื่อแยกเอาดินทรายออก จากนั้นจะลำเลียงเข้าเครื่องล้างเพื่อทำความสะอาดหัวมัน แล้วนำเข้าเครื่องสับและขูดเปลือก

1.5.3.2 <u>การสกัดเอาน้ำแป้งออก</u> นำท่อนมันที่ขูดเปลือกออกแล้วเข้าสู่เครื่องบด เมื่อทำการบดเสร็จแล้วก็นำเข้าเครื่องแยกกาก ซึ่งจะแยกกากมันและน้ำแป้งออกจากกัน กากมันที่ได้จะนำไปตากแห้ง เพื่อใช้เป็นส่วนประกอบในอาหารสัตว์ หรือนำไปผสมกับมันเส้นเพื่อผลิตเป็นมันอัดเม็ด

1.5.3.3 <u>การทำน้ำแป้งให้บริสุทธิ์</u> น้ำแป้งที่ได้จากเครื่องแยกกากจะถูกนำไปฟอกสี โดยใช้ไอก๊าซคลอรีนหรือสารฟอกสี (bleaching agent) จะทำให้ได้น้ำแป้งที่มีสีขาว สะอาดขึ้น

1.5.3.4 <u>การทำให้แห้ง</u> น้ำแป้งที่ฟอกสีแล้วจะผ่านเข้าสู่เครื่องเหวี่ยง เพื่อกำจัดน้ำออก จะทำให้ได้น้ำแป้งที่เข้มข้นขึ้น จากนั้นจึงนำเข้าสู่เครื่องทำให้แห้งแบบพ่นฝอย (spray dryer) ซึ่งจะได้เป็นแป้งที่เป็นผงละเอียดสีขาว

แป้งมันสำปะหลังที่ผลิตได้จากโรงงานต่างๆจะมีองค์ประกอบต่างกัน แต่จะมีองค์ประกอบส่วนใหญ่ดังนี้

ความชื้น	10-13%	
แป้ง	90-98%	(ของน้ำหนักเมื่ออบแห้ง)
โปรตีน	0.2-0.3%	(ของน้ำหนักเมื่ออบแห้ง)
เถ้า	0.2-0.4%	(ของน้ำหนักเมื่ออบแห้ง)

สิ่งมีชีวิตที่สามารถใช้แป้งได้จะมีเอนไซม์กลุ่มอะไมเลส เพื่อใช้ในการย่อยแป้ง แต่เนื่องจากจุลินทรีย์ทุกชนิดไม่สามารถผลิตเอนไซม์นี้ได้เสมอไป ดังนั้นความสามารถในการย่อยแป้ง จึงใช้บ่งบอกสายพันธุ์ของจุลินทรีย์

1.6 เอนไซม์อะไมเลส (Amylases)

เป็นเอนไซม์ที่ย่อยสลายซับสเตรทจำพวกแป้ง, ไกลโคเจน เป็น extracellular enzyme ที่ย่อยแป้งให้เป็น dextrin, maltose และ glucose พบในรา แบคทีเรีย ยีสต์ สัตว์ และพืช มีหลายชนิด ดังแสดงไว้ในตารางที่ 7 และแบ่งเป็นกลุ่มใหญ่ๆ ได้ตามหัวข้อ 1.6.1

1.6.1 ชนิดของเอนไซม์อะไมเลส

1.6.1.1. α-amylase

มีชื่อทางการค้าเป็นที่รู้จักกันว่า Termamyl® และมีชื่อสามัญว่า diastase และมีชื่อตามระบบว่า 1,4-α-D-Glucan glucanohydrolase, EC 3.2.1.1 พบทั่วไปทั้งในอาณาจักรพืชและสัตว์ ตลอดทั้งในคน จะพบในส่วนของน้ำลาย ตับอ่อน ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายแป้ง เป็นรอลิริก-และได-ซัคคาไรด์

ลักษณะที่สำคัญของเอนไซม์ในการย่อยสลายก็คือเจาะจงต่อการย่อยสลายพันธะไกลโคซิดิคของแป้งที่ 1,4 ในลักษณะตัดภายในสายโพลิเมอร์อย่างอิสระ (endosplitting amylase) ได้ผลผลิตเป็น glucan และ limit dextrin ที่มีหน่วยกลูโคสประมาณ 2-6 หน่วย และยังคงมี configurationเดิม (α-configuration)

$$\text{Starch} \xrightarrow{\alpha\text{-amylase}} \text{glucan} + \text{dextrin}$$

1.6.1.2. β -amylase

มีชื่อเรียกตามระบบว่า 1,4-α-D-glucan maltohydrolase, EC 3.2.1.2 ซึ่งพบทั่วไปในพืชชั้นสูง เช่น ข้าวบาร์เลย์ ในลักษณะกำลังงอกเป็นข้าวมอลท์, ข้าวสาลี, ข้าวไรย์, ถั่วเหลือง และมันเทศ และมักพบร่วมกับ α-amylase

ปฏิกิริยาการย่อยสลายของ β-amylase จะเจาะจงต่อพันธะไกลโคซิลของแป้งที่ 1,4 ในลักษณะการตัดสายโพลิเมอร์อย่างเป็นระเบียบจากปลายสาย ด้านไม่มีหมู่รีดิวซ์เข้าสู่ภายในสายไปทีละ 1 หน่วยของมอลโตส หรือทีละ 2 หน่วยของกลูโคสและจะหยุดปฏิกิริยาที่พันธะไกลโคซิลที่ α-1,6 ดังนั้นผลผลิตที่ได้จากปฏิกิริยาย่อยสลายแป้งหรือไกลโคเจนจะเป็น glucan, limit dextrin และส่วนใหญ่เป็นมอลโตสที่มี configuration ต่างไปจากเดิมคือได้ β-configuration หรือ β-maltose

$$\text{Starch} \xrightarrow{\beta\text{-amylase}} \text{maltose + dextrin}$$

1.6.1.3. γ-amylase (glucoamylase)

มีชื่อเรียกตามระบบว่า 1,4-α-D-glucan glucohydrolase, EC 3.2.1.3 เป็นเอนไซม์ที่พบทั่วไปในจุลินทรีย์ เช่น แบคทีเรีย รา

ลักษณะที่สำคัญของปฏิกิริยาการย่อยสลายแป้งก็คือ สามารถย่อยสลายได้หลายพันธะ ไม่ว่าจะเป็นพันธะไกลโคซิลที่เป็น α-1,4, α-1,6 และ α-1,3 แต่จะช้ากว่า α-1,4 การตัดสายโพลิเมอร์จะเหมือนกับ β-amylase แต่ตัดปลายสายเข้าไปทีละ 1 หน่วยของกลูโคส ดังนั้นผลผลิตที่ได้ส่วนใหญ่จะเป็นกลูโคสที่มี configuration ต่างไปจากเดิมคือได้ β-configuration หรือ β-D-glucose และส่วนของ glucan, limit dextrin

$$\text{Starch} \xrightarrow{\gamma\text{- amylase}} \text{glucose}$$

ตารางที่ 7 แสดงชนิดของเอ็นไซม์จากสิ่งมีชีวิตที่มีคุณสมบัติในการย่อยแป้ง (9)

EC number	Recommended name[a]	Systematic name	Origin[b]	Reactions catalyzed
3.2.1.1	α-Amylase	1,4-α-D-Glucan glucanohydrolase	A, B, F, P, Y	Endohydrolysis of 1,4-α-D-glucosidic linkages in starch, glycogen, and related poly- and oligosaccharides, liberating reducing groups in α-configuration.
3.2.1.2	β-Amylase	1,4-α-D-Glucan maltohydrolase	B, P	Hydrolysis of 1,4-α-D-glucosidic linkages, successively, from the nonreducing ends of starch, glycogen, and related poly- and oligosaccharides, producing β-D-maltose.
3.2.1.3	Exo-1,4-α-D-glucosidase (glucoamylase, amyloglucosidase)	1,4-α-D-Glucan glucohydrolase	A, B, F, Y	Hydrolysis of terminal 1,4-linked α-D-glucose residues, successively, from nonreducing ends producing β-D-glucose. Most forms of the enzyme also hydrolyze 1,6-α-D-glucosidic bonds next to an α-1,4 linkage. More rapid action on poly- than on oligosaccharides.
3.2.1.20	α-D-Glucosidase (maltase)	α-D-Glucoside glucohydrolase	A, B, F, P, Y	Hydrolysis of terminal, nonreducing 1,4-linked α-D-glucose residues with release of α-D-glucose. Action on polysaccharides, if any, is very slow compared with oligosaccharides.
3.2.1.41	Pullulanase (debranching enzyme, limit dextrinase, R-enzyme)	Pullulan 6-glucanohydrolase	B, P	Hydrolysis of 1,6-α-D-glucosidic linkages in pullulan, amylopectin, and in α- and β-amylase limit dextrins of amylopectin. Limited action on glycogen.
3.2.1.54	Cyclomaltodextrinase (cyclodextrinase)	Cyclomaltodextrin dextrinhydrolase	B, Y	Hydrolysis of cyclomaltodextrins to linear maltodextrin, which can be further hydrolyzed.
3.2.1.68	Isoamylase (debranching enzyme)	Glycogen 6-glucanohydrolase	B, Y	Hydrolysis of α-1,6-glucosidic branch linkages in glycogen, amylopectin, and their β-limit dextrins; 1,6 linkage hydrolyzed only if at a branch point. Unable to attack pullulan, and limited action on α-limited dextrins.
2.4.1.24	1,4-α-D-Glucan 6-α-D-glucosyltransferase (transglucosidase)	1,4-α-D-Glucan: 1,4-α-D-glucan (D-glucose) 6-α-D-glucosyltransferase	F, P, Y	Transfers an α-D-glucosyl residue in a 1,4-α-D-glucan to the primary hydroxyl group of glucose, free or combined in a 1,4-α-D-glucan.

[a] Names other than those recommended by IUB are given in parentheses.
[b] A = animals; B = bacteria; F = filamentous fungi; P = plants; Y = yeasts.