คำนำ

ปัจจุบันขนมขบเคี้ยวประเภทมันฝรั่งทอดกรอบได้รับความนิยมเป็นอย่างมากจากผู้บริโภค ดังจะเห็นได้จากมีผลิตภัณฑ์หลากหลายยี่ห้อ และหลากหลายรูปแบบในท้องตลาด จากข้อมูลของเวปไซต์ http://www.marketeer.co.th/ พบว่าในปี 2550 มูลค่าการตลาดรวมกันในประเทศมีมากกว่า 4,000 ล้านบาท อย่างไรก็ตามหลังกระบวนการผลิตมันฝรั่งแผ่นทอดกรอบจะมีน้ำทิ้งที่เกิดจากกระบวนการล้างแป้งออกจากแผ่นมันฝรั่งก่อนนำไปทอด ในแต่ละวันจะมีน้ำแป้งที่ได้จากกระบวนการนี้เป็นจำนวนมาก ซึ่งจะถูกส่งไปบำบัดในบ่อบำบัดน้ำเสียของโรงงานจนกระทั่งมีระดับสารอินทรีย์ในระดับที่ได้มาตรฐานก่อนจะระบายสู่สิ่งแวดล้อมต่อไป กระบวนการบำบัดน้ำเสียนี้ก็จะมีค่าใช้จ่ายในการดำเนินการที่ทางโรงงานต้องรับผิดชอบอีกเช่นกัน

เมื่อพิจารณาในส่วนของน้ำแป้งนี้ คาดว่าน่าจะมีสารอาหารชนิดอื่น นอกเหนือจากแป้งที่ละลายออกมาจากแผ่นมันฝรั่ง ไม่ว่าจะเป็น โปรตีน และวิตามิน ซึ่งเพียงพอต่อการเจริญของเชื้อรา โดยทั่วไปห้องปฏิบัติการในสถาบันวิจัยหรือห้องปฏิบัติการของบางมหาวิทยาลัยจะใช้อาหารสำเร็จรูปสูตร potato dextrose agar (PDA) ที่เตรียมจากมันฝรั่งมาเป็นอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อรา เนื่องจากมีมาตรฐานและความคงที่ที่แน่นอน แต่มีราคาค่อนข้างสูงเนื่องจากต้องนำเข้าจากต่างประเทศ โดยราคาของอาหาร PDA สำเร็จรูปนี้จะอยู่ระหว่าง 1,800-3,000 บาท ดังนั้นเพื่อลดค่าใช้จ่ายในการเรียนการสอนให้กับนักศึกษาจึงต้องเตรียมอาหารดังกล่าวจากหัวมันฝรั่งขึ้นมาใช้เอง ซึ่งมีราคาถูกแต่ต้องใช้เวลาในการเตรียมพอสมควรทั้งยังพบว่า PDA ที่เตรียมในแต่ละครั้งอาจมีสารอาหารไม่คงที่ จึงอาจไม่เหมาะหากจะใช้ในงานวิจัยระดับสูง

ดังนั้นการใช้ประโยชน์จากน้ำทิ้งจากโรงงานมันฝรั่งทอดมาผลิตเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อราสำเร็จรูปสูตร PDA ให้มีคุณภาพทัดเทียมกับผลิตภัณฑ์นำเข้าเพื่อใช้ในการเรียนการสอนและงานวิจัย เพิ่มความสะดวกแก่นักศึกษาและนักวิจัยจึงมีความน่าสนใจเป็นอย่างยิ่ง ไม่เพียงเท่านั้นยังสามารถพัฒนาต่อยอดไปเป็นผลิตภัณฑ์ที่จัดจำหน่ายให้กับสถาบันต่างๆ โดยเป็นการ สร้างรายได้ให้กับองค์กรอีกทางหนึ่ง การศึกษาการผลิตอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA จากน้ำทิ้งโรงงานผลิตมันฝรั่งทอดกรอบครั้งนี้ก็จะเกิดผลดีต่อหลายๆ ภาคส่วน ไม่ว่าจะเป็นการลดค่าใช้จ่ายในการบำบัดน้ำเสียของโรงงาน การลดปัญหาสิ่งแวดล้อมในชุมชนโดยรอบโรงงาน การลดค่าใช้จ่ายของห้องปฏิบัติในการสั่งซื้ออาหารสำเร็จรูปจากต่างประเทศ และยังเป็นการสร้างรายได้ให้กับองค์กรหากมีการต่อยอดทำในเชิงธุรกิจ

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อหาองค์ประกอบของสารอาหารและแป้งในน้ำทิ้งจากโรงงานมันฝรั่งทอดกรอบ
2. เพื่อผลิตอาหารเลี้ยงเชื้อราที่มีราคาถูกจากของเสียจากโรงงานมันฝรั่งทอดกรอบ
3. เพื่อหาคุณภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อราที่ผลิตได้

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถพัฒนาอาหารเลี้ยงเชื้อรา Potato dextrose agar (PAD) ที่เตรียมจากของเหลือทิ้งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA สำเร็จรูปที่มีคุณภาพเทียบเท่าหรือใกล้เคียงกับที่ใช้ในห้องปฏิบัติการทั่วไป
2. ได้อาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PAD) สำหรับใช้ในห้องปฏิบัติการเพื่อทดแทนอาหารที่ใช้ประจำที่มีราคาแพง
3. ลดปัญหาของเสียจากกระบวนการผลิตมันฝรั่งทอด และเป็นการรักษาสภาพแวดล้อม

การตรวจเอกสาร

จากข้อมูลขององค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา (FDA) พบว่ามันฝรั่งเป็นพืชผักที่ประชาชนชาวอเมริกานิยมซื้อบริโภคกันมากที่สุดเป็นอันดับหนึ่ง โดยจะมีการแปรรูปทั้งที่เป็น มันฝรั่งบด (mashed potato) มันฝรั่งแผ่นทอดกรอบ (potato chip) มันฝรั่งเกร็ด (potato flakes) และแป้งมันฝรั่งมันฝรั่ง 1 หัว (หนักประมาณ 148 กรัม) ประกอบไปด้วยคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด 26 กรัม เส้นใยอาหาร 2 กรัม น้ำตาล 1 กรัม โปรตีน 3 กรัม โปแทสเซียม 620 มิลลิกรัม แคลเซียม 2%DV เหล็ก 6 %DV วิตามินซี 45% DV (หมายเหตุ: %DV คือ percent daily values ซึ่งคำนวณบนพื้นฐานของสารอาหาร 2,000 Cal.)

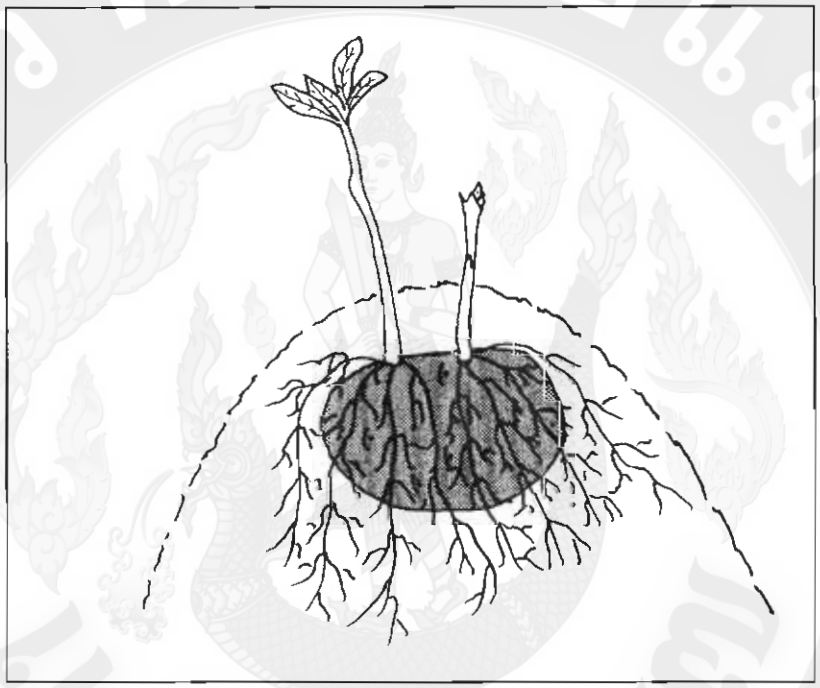
มันฝรั่ง (Potato)

มันฝรั่ง เป็นพืชหัวใต้ดินที่ให้คุณค่าทางอาหารประเภทแป้งสูง มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Solanum tuberosum* L. มีชื่อเรียกอย่างอื่นว่า Irish potato หรือ White potato สำหรับประเทศไทยเรานั้นเกษตรกรทางภาคเหนือเรียกว่า มันอาลู หรือ มันอะลู มันฝรั่งจัดอยู่ใน Family Solanaceae ส่วนของมันฝรั่งที่ถูกนำมาใช้ประโยชน์ คือ หัวที่สะสมอาหารอยู่ใต้ผิวดินมาเป็นอาหารของมนุษย์และสัตว์ ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตแอลกอฮอล์ รวมทั้งใช้แป้งมันฝรั่งมาเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อราและแบคทีเรีย (บุญธรรม, 2547) มันฝรั่งจัดเป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของโลกชนิดหนึ่ง รองลงมาจากธัญพืช มีผลผลิตทั่วโลกประมาณ 300 ล้านตันต่อปี (ศิริพร, 2544) และในปัจจุบันมันฝรั่งได้กลายเป็นพืชเศรษฐกิจในทางภาคเหนือ ที่ทำรายได้สูงมากแก่เกษตรกรเมื่อเปรียบเทียบกับพืชชนิดอื่นๆ จากการขยายตัวของกระแสการบริโภคมันฝรั่งภายในประเทศและต่างประเทศ จึงทำให้เกิดการขยายตัวในด้านการผลิตและอุตสาหกรรมการแปรรูปมันฝรั่งภายในประเทศ ซึ่งมีบริษัทผู้ผลิตมันฝรั่งแผ่นทอดกรอบ (Potato chip) ประมาณ 7-8 บริษัท หลังจากการแปรรูปเสร็จแล้วก็จำหน่ายทั้งตลาดภายในประเทศและต่างประเทศ

1. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

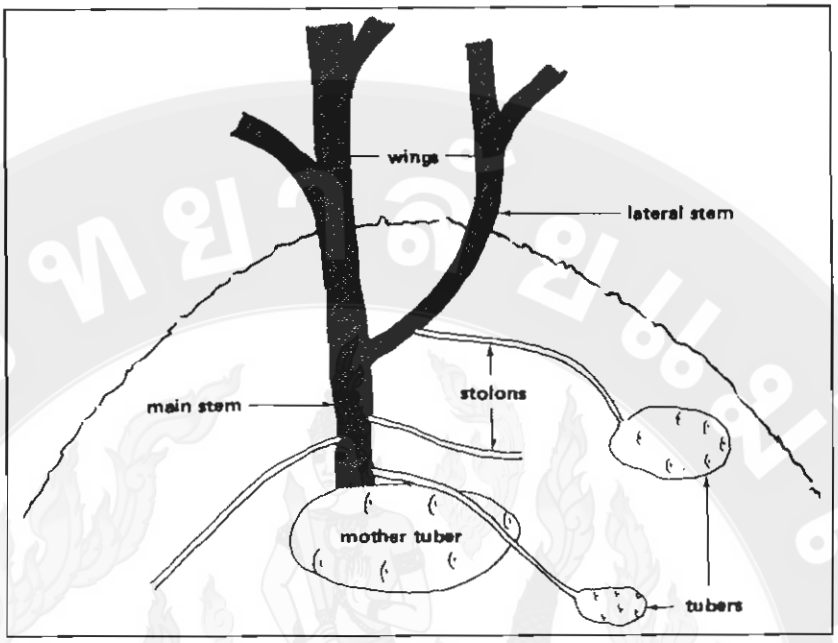
ราก (Root) มันฝรั่งมีระบบเป็นแบบ Fibrous root system เป็นรากพิเศษ (Adventitious root) เกิดจากข้อของลำต้นที่อยู่ใต้ดิน ซึ่งโดยปกติแล้วรากจะแผ่กระจายอยู่บริเวณดินชั้นบนที่มีความลึกประมาณ 20-25 เซนติเมตร ในกรณีที่ปลูกมันฝรั่งในดินที่มีความร่วนซุยและมี

ความอุดมสมบูรณ์สูง รากอาจแผ่ขยายไปด้านข้างได้ถึง 100 เซนติเมตร ดังนั้น การพรวนดินในระยะหลังของการเจริญเติบโต จึงทำการพรวนดินในระดับตื้นเพื่อหลีกเลี่ยงการตัดรากที่อยู่ลึกลงไป หากการปลูกมันฝรั่งด้วยเมล็ด (True seed) ก็จะมีรากแก้ว (Tap root) เล็กๆ และมีรากแขนง (Lateral roots) แผ่ขยายออกด้านข้าง



ภาพที่ 1 รากพิเศษ (Adventitious root)
ที่มา : Zosimo, 1986

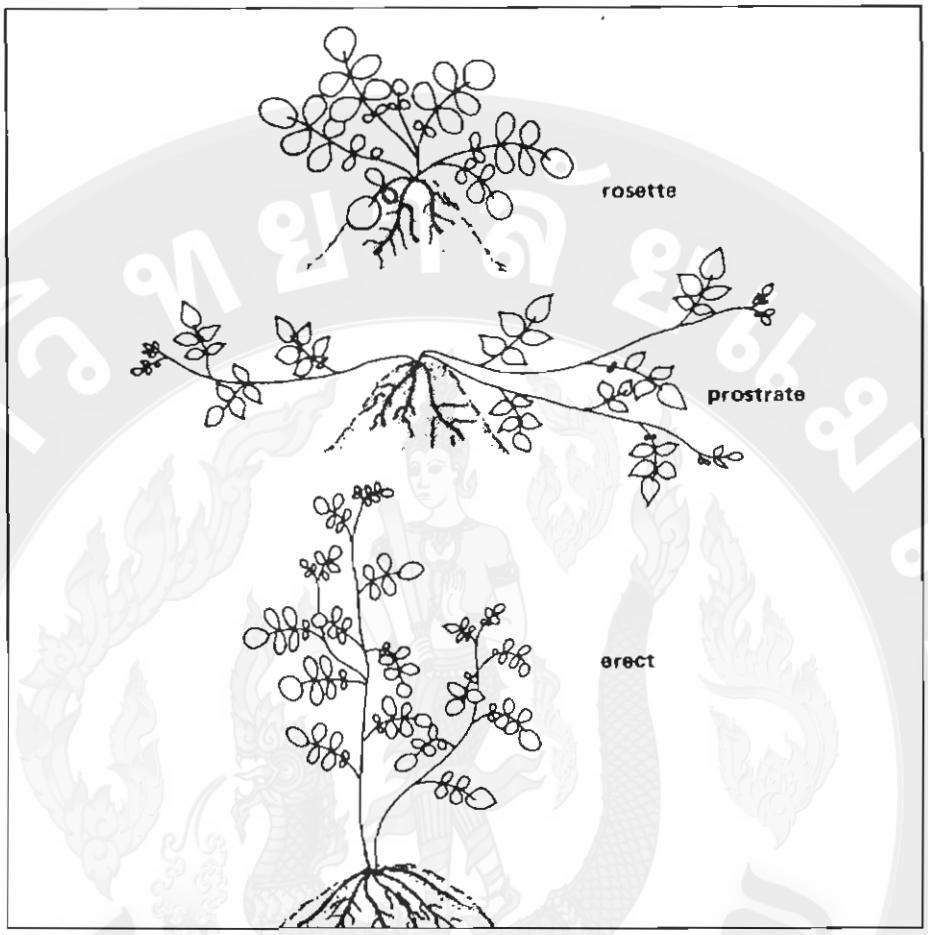
ลำต้น (Stem or stolon) มันฝรั่งเป็นพืชที่มีลำต้น 2 แบบ คือ แบบที่อยู่เหนือดิน (Stem) และแบบที่อยู่ใต้ดิน (Stolon) ลำต้นที่อยู่เหนือดินส่วนที่เป็นลำต้นหลัก (Main stem) และลำต้นแขนง (Lateral stem) ลำต้นของมันฝรั่งโดยทั่วไป มีลักษณะเป็นรูปเหลี่ยมมีสีขาวอมเขียวม่วงปนเขียวหรือเขียวเข้มทั้งนี้ขึ้นอยู่กับพันธุ์



ภาพที่ 2 ลำต้นของมันฝรั่งที่ประกอบด้วย Stem และ Stolon

ที่มา : Zosimo, 1986

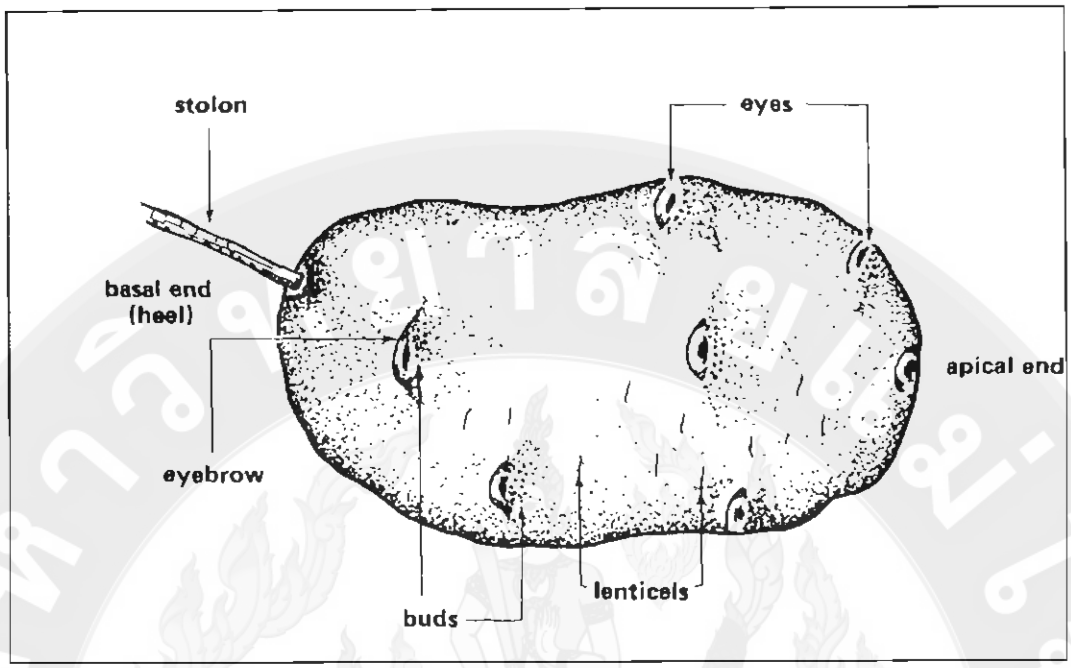
เริ่มแรกของการเจริญเติบโตลำต้นจะตั้งตรง เมื่อมีการเจริญเติบโตทางกิ่งก้านสาขามากขึ้น อาจจะแผ่หรือโน้มไปตามแนวราบมองเป็นลักษณะเลื้อยทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ ลำต้นของมันฝรั่งจะมีความสูงอยู่ระหว่าง 60-130 เซนติเมตร ภายในลำต้นส่วนโคนต้นมักจะกลวง แต่ส่วนปลายของยอดมักจะตัน การแตกกิ่งก้าน (Axillary branch) แตกต่างกันไปตามลักษณะพันธุ์ ดังนั้นเราจึงสามารถแบ่งการเจริญเติบโตของทรงต้นมันฝรั่งบนผิวดินโดยทั่วไปได้ 3 ลักษณะ คือ แบบตั้งตรง(Erect) แบบเอนราบ (Prostrat) และแบบทรงพุ่ม (Rosette) ส่วนลำต้นที่อยู่ใต้ดินนั้นประกอบไปด้วยไหล (Stolon) และส่วนสะสมอาหารที่เรียกว่าหัว (Tuber) ไหลเจริญจากลำต้นหลักและลำต้นแขนงที่อยู่ต่ำกว่าระดับดินขนาดประมาณไส้ดินสอดำและแผ่ออกด้านข้างตามแนวราบ ความยาวของไหลประมาณ 1-4 นิ้ว ส่วนหัว เกิดการขยายตัวจากการสะสมอาหารจำพวกแป้ง ที่ส่วนปลายสุดของไหลซึ่งหัวจะมีขนาดและรูปร่างที่มีความแปรปรวนขึ้นอยู่กับพันธุ์ เช่น รูปไข่ (Oval) รูปยาวรี (Oblong) หรือรูปกลม (Round) ส่วนของหัวด้านที่อยู่ใกล้กับลำต้นใต้ดินเรียกว่า (Heel) หรือ Atachment end ส่วนปลายด้านตรงข้ามเรียกว่า Apcical portion



ภาพที่ 3 การเจริญเติบโตของทรงต้นมันฝรั่งบนผิวดิน

ที่มา : Zosimo, 1986

ที่บริเวณผิวเปลือกของหัวจะมี Eye ซึ่งเป็นที่อยู่ของตา (Buds) แต่ละ Eye จะมีตาอยู่ 3 ตา และหัวมันฝรั่งแต่ละหัวจะมี Eye มากกว่าด้าน Heel มันฝรั่งต้นหนึ่งจะมีจำนวนหัวอยู่ระหว่าง 6-10 หัว ซึ่งแล้วแต่พันธุ์ ความอุดมสมบูรณ์ของดิน ตลอดจนการจัดการดูแลรักษาของเกษตรกรผู้ปลูกเลี้ยง หัวของมันฝรั่งจะประกอบไปด้วยสารจำพวกแป้ง (Carbohydrate) และจะให้พลังงานที่สูง



ภาพที่ 4 ส่วนสะสมอาหารของมันฝรั่ง (Tuber)
ที่มา : Zosimo, 1986

เมื่อผ่าตัดตามขวางของส่วนหัวมันฝรั่งจะพบส่วนต่างๆ เรียงตามลำดับ จากภายนอกเข้าไปด้านใน ดังนี้

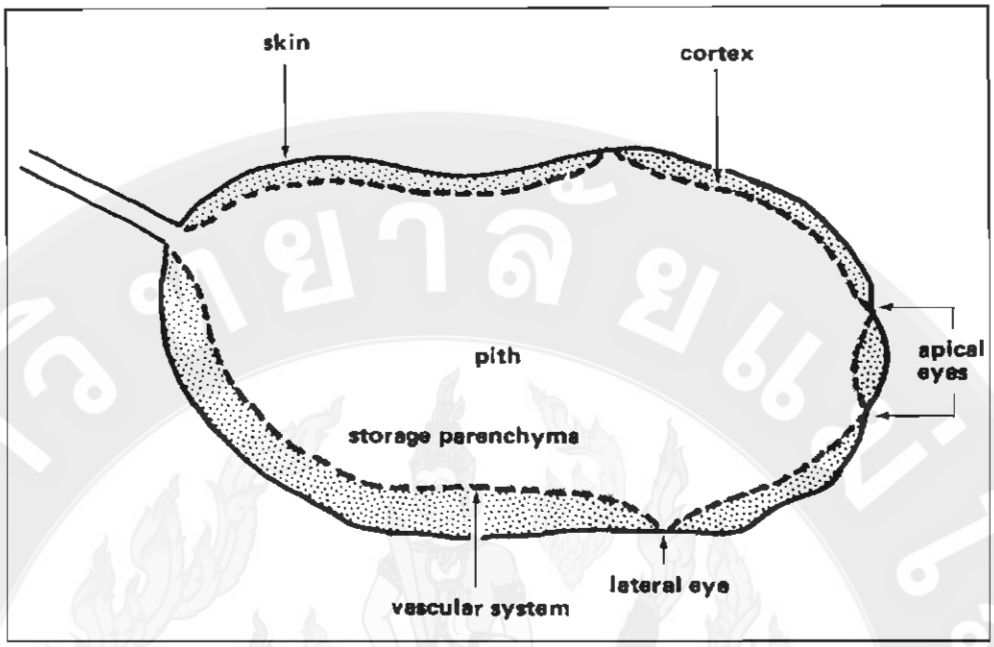
1. Periderm เป็นส่วนของผิวเปลือก (Skin) ด้านนอกสุด ซึ่งจะมีความหนาแตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ ซึ่งผิวเปลือกนอกสุดนี้จะมีหน้าที่ช่วยป้องกันการเข้าไปทำลายของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคเน่าได้ รวมทั้งช่วยรักษาน้ำไม่ให้สูญเสียไปจากหัว

2. Cortex เป็นเนื้อส่วนนอกถัดจากชั้นของ Periderm เป็นชั้นของ Storage tissue ซึ่งจะประกอบไปด้วยสารจำพวกแป้ง

3. Vascular ring เป็นส่วนที่อยู่ถัดจากชั้นของ Cortex เข้าไป

4. Vascular storage parenchyma เป็นส่วนที่ช่วยสะสมอาหารจำพวกแป้ง ซึ่งจะประกอบไปด้วย Parenchyma cell

5. Pith คือ ส่วนบริเวณแกนกลางของหัวเป็นส่วนที่มีการสะสมน้ำมากสีค่อนข้างจะใสกว่าส่วนอื่นๆ ของหัว



ภาพที่ 5 ส่วนต่าง ๆ ของหัวมันฝรั่งเมื่อตัดตามขวาง

ที่มา : Zosimo, 1986

ภาพที่ 6 หัวมันฝรั่งสด

ที่มา : Robert, 2009

ใบ (Leaf) ใบของมันฝรั่งเป็นใบประกอบแบบ Pinnately compound ประกอบไปด้วยใบย่อยหลายคู่เรียงไปตามความยาวของก้านใบ (Petiole) ใบย่อยสุดท้ายที่อยู่ส่วนปลายสุดจะเป็นใบเดี่ยว ซึ่งจะมีขนาดใหญ่ที่สุดและมีรูปร่างแตกต่างกันไป เช่น Lanceolate, Narrowly lanceolate, Ovate lanceolate, Ovate และ Oval ผิวใบจะมีขนเส้นสั้นและเล็ก ซึ่งขนตามผิวใบในมันฝรั่งจะมีไม่มากมายเท่ากับพืชพวกมะเขือเทศ ส่วนของใบที่เกิดจากลำต้นใต้ดินจะมีลักษณะคล้ายเกล็ดปลาเรียกว่า คิ้ว (Eye brows) ภายใต้ใบนี้จะมีตา (Buds) อยู่ โดยจะเป็นส่วนที่ใช้ขยายพันธุ์ด้วยการแตกหน่อ (Sprout) ออกมาเป็นต้นใหม่ ตาที่มีอยู่ใต้คิ้วจะมีอยู่สามตาย่อยและตาที่อยู่ตรงกลางจะแข็งแรงและพัฒนาได้เร็วกว่าอีก 2 ตาที่อยู่ด้านข้าง ดังนั้นถ้าหากตาทั้ง 3 ตาย่อยนี้อยู่ในสภาพที่เหมาะสมและผ่านการพักตัวแล้ว ตาที่อยู่ตรงกลางจะพัฒนาและงอกเป็นหน่อใหม่โดยจะข่มตาข้างทั้ง 2 ไว้ไม่ให้พัฒนา แต่ถ้าตาที่อยู่ตรงกลางถูกทำลาย หรือถูกเด็ดทิ้งไป ตาด้านข้างก็จะงอกออกมาเป็นหน่อและเจริญเติบโตต่อไปได้

ภาพที่ 7 ใบของมันฝรั่ง

ที่มา : Selman. *et.al*, 2008

ดอก (Flower of inflorescence) ดอกของมันฝรั่งเกิดเป็นดอกช่อที่ยอด อาจจะเป็นดอกเดี่ยว (Simple) หรือดอกรวม (Compound) เป็นดอกสมบูรณ์เพศ (Complete flower) โดยมีกลีบเลี้ยง (Sepal) ที่มีฐานเชื่อมติดต่อกันประมาณครึ่งหนึ่งของความยาว เรียกว่า Calyx ถัดจากกลีบเลี้ยงเข้าไปมีกลีบดอก (Petal) จำนวน 5 กลีบ ที่มีเชื่อมติดกันและแยกออกจากกันที่ปลายกลีบ เรียกว่า Corolla tube มันฝรั่งมีสีของกลีบดอกแตกต่างกันไปตามพันธุ์ เช่น ขาว ม่วง ม่วงแดงหรือชมพูม่วง เป็นต้น ภายในมีเกสรตัวผู้ (Anther) อยู่ 5 อัน โดยมีส่วนฐานติดกับ Corolla tube และมีสีแตกต่างกันไปตามพันธุ์ ตั้งแต่สีเหลืองจนถึงสีส้ม เกสรตัวผู้ทั้ง 5 อันจะล้อมรอบก้านเกสรตัวเมีย (Style) ซึ่งเกสรตัวเมีย (Pistil) จะประกอบไปด้วย 1 รังไข่ (Ovary) ภายในรังไข่จะประกอบไปด้วยไข่จำนวนมาก มันฝรั่งเป็นพืชที่ผสมตัวเอง โอกาสที่จะมีการผสมข้ามดอกมีน้อยมาก

ผลและเมล็ด (Fruit and seed) ผลของมันฝรั่งเป็นแบบ Berry โดยขนาด รูปร่าง และสีของผลแตกต่างกันไปตามพันธุ์ โดยทั่วไปผลอาจมีรูปร่างค่อนข้างกลมหรือรูปไข่ มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของผลประมาณ 1.5-3.0 เซนติเมตร ผิวเปลือกของผลมีสีเขียวเข้มหรือเขียวอมม่วง ผลของมันฝรั่งหนึ่งผลจะประกอบไปด้วยเมล็ด 100-300 เมล็ด ซึ่งเมล็ดจะมีรูปร่างคล้ายกับรูปหัวใจยาวรีและแบน สีของเมล็ดมีสีเหลืองจนถึงน้ำตาล มีเส้นผ่านศูนย์กลางของเมล็ดประมาณ 1.5 มิลลิเมตร น้ำหนักของเมล็ด 1 กรัมมีมากกว่า 1,000 เมล็ด ภายในเมล็ดมีคัพภะ (Embryo) เป็นรูปโค้งคล้ายกับตัวยู (U) เมล็ดของมันฝรั่งมีลักษณะคล้ายกับเมล็ดมะเขือและมะเขือเทศ (บุญธรรม, 2547)

2. คุณค่าทางอาหารของมันฝรั่ง

เมื่อวิเคราะห์คุณค่าทางอาหารของมันฝรั่งจะพบว่า หัวมันฝรั่งประกอบไปด้วยธาตุอาหารในปริมาณต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 1 ต่อไปนี้ (บุญธรรม, 2547)

ตารางที่ 1 คุณค่าทางอาหารของหัวมันฝรั่ง (ปริมาณต่อ 100 กรัม)

รายการ	ปริมาณต่อ 100 กรัม
1. น้ำ (%)	77.8
2. Food energy (Cal.)	83.0
3. Protein (gm.)	2.0
4. Fat (gm.)	0.1
5. Carbohydrate - Total (gm.)	19.1
- Fiber (gm.)	0.4
- Sugar (gm.)	1.0
- Other (gm.)	15.0
6. Ash (gm.)	1.0
7. Ca (mg.)	19.0
8. Mg (mg.)	20.0
9. P (mg.)	56.0
10. K (mg.)	370.0
11. Na (mg.)	9.0
12. Vitamin A (IU)	20.0
13. Thiamin (mg.)	0.11
14. Riboflavin (mg.)	0.04
15. Niacin (mg.)	1.2
16. Ascorbic acid (mg.)	38.0

ที่มา : ประสิทธิ์, 2542 อ้างโดย บุญธรรม, 2547

3. การใช้ประโยชน์จากมันฝรั่ง

มันฝรั่งเป็นพืชชนิดหัวใต้ดินที่ใช้เป็นอาหารของมนุษย์มายาวนาน เป็นพืชที่สามารถให้ผลเร็ว ทนต่อสภาพดินฟ้าอากาศได้ทั้งร้อนและหนาว นักโภชนาการกล่าวว่าโปรตีนที่ได้จากมันฝรั่งมีคุณภาพดีกว่าโปรตีนที่ได้จากพืชอื่นๆ เช่น ถั่วลิสง มันฝรั่ง 100 กรัม ให้พลังงาน 85 แคลอรี่ และ 99.9% ของผลผลิตไม่มีไขมัน นอกจากนี้มันฝรั่งยังมีธาตุแคลเซียม โปแตสเซียม ฟอสฟอรัส เหล็ก ไอโอดีน แมกนีเซียม กรดโฟลิก และวิตามิน ซี, บี-1 และบี-2 โดยประโยชน์ของมันฝรั่งมีดังนี้

การใช้เป็นอาหาร มันฝรั่งสามารถนำมาแปรรูปเป็นอาหารได้หลายรูปแบบ ที่นิยมได้แก่ ผลิตเป็นมันฝรั่งแผ่นทอด (potato chips) และมันฝรั่งเส้น (french fires) ทั้งในรูปแช่แข็งและทอด อีกทั้งสามารถนำมาใช้เป็นส่วนประกอบในการทำอาหารทั้งคาวและหวานได้อีกด้วย

การใช้เป็นยารักษาโรค การใช้มันฝรั่งในการรักษาโรคมีมานาน มันฝรั่งมีคุณสมบัติเป็นกลาง มีรสหวาน ช่วยย่อย ชาวเปรูเป็นชาติแรกที่นำมันฝรั่งมาเป็นยาพอกกระดูก เมื่อกระดูกหัก นอกจากนี้ยังมีการนำมันฝรั่งมาทาบริเวณหัวเพื่อรักษาอาการปวดหัว หรือกินร่วมกับอาหารอื่นเพื่อช่วยย่อย จากการศึกษาวิจัยพบว่า มันฝรั่งมีโปแตสเซียมจำนวนมาก ซึ่งมีคุณสมบัติช่วยย่อย อีกทั้งยังรักษาโรคคางทูม แผลไฟไหม้ น้ำร้อนลวก ฯลฯ

การใช้ในด้านอุตสาหกรรม เป็นส่วนผสมในการทำแอลกอฮอล์ ฟิล์ม สีน้ำมัน เป็นต้น (ออนไลน์เข้าถึงได้จาก www.learners.in.th/blog/kamonchanok, 12 มิ.ย. 54)

4. สตาร์ชจากมันฝรั่ง

สตาร์ชจากมันฝรั่งมีข้อดีกว่าสตาร์ชอื่นๆหลายประการ ที่สำคัญได้แก่ (กล้าณรงค์ และเกื้อกูล. 2542) มีความหนืดสูงเมื่อนำไปให้ความร้อน และความหนืดจะลดลงเมื่อให้ความร้อน และกวนต่อไปเกิดเป็นฟิล์มที่มีสมบัติหลายประการ (excellent flexible film formation) มีความสามารถในการอุ้มน้ำ (binding power) มีอุณหภูมิเจลาติไนเซชันต่ำ การใช้งานของสตาร์ชจากมันฝรั่งมีหลายประการ ดังนี้

1. แป้งดัดแปรและอนุพันธุ์ เช่น cationnic potato starch, dextrinized potato starch, carboxy- หรือ hydroxyethylated potato starch และที่พบมาก คือ แป้งพรีเจล (pre-gelatinized starch) ที่มีสมบัติกระจายตัวหรือละลายในน้ำเย็น

2. กระดาษ โดยทำหน้าที่เป็นสารเชื่อม (binder)

3. อาหาร เช่น ในซุป (โดยเฉพาะซุปกระป๋อง) ใน instant pudding และในอาหารแป้งโดยมีการใช้ทั้งแป้งดิบและแป้งดัดแปร

4. สารเกาะติด (adhesive) ในกระดาษทราย (sand paper) หรือเสื้อผ้า รวมทั้งในการเข้าเล่มหนังสือ แสตมป์ (gumming stamps) ฉลาก ซองจดหมาย หรือเทปกาวต่างๆ

5. น้ำมัน (oil field) โดยทำหน้าที่เป็นสารตวบคุมการหนืดและการไหล

6. อื่นๆ เช่น ใช้เป็นส่วนช่วยตกตะกอน (flocculant) ในการบำบัดน้ำเสีย

5. องค์ประกอบของแป้งมันฝรั่ง

มันฝรั่งเป็นอาหารที่ให้พลังงานมากชนิดหนึ่ง นอกจากมีคาร์โบไฮเดรตแล้ว ยังมีโปรตีน วิตามิน และแร่ธาตุอยู่ในขั้นสูง โดยเฉพาะโปรตีน จะสามารถดูดซึมได้ในร่างกายของมนุษย์ถึง 85% ของสารประกอบไนโตรเจน เปอร์เซ็นต์แป้งในมันฝรั่งจะเปลี่ยนแปลงได้เนื่องจาก ฤดูกาล และสภาพที่แตกต่างกันของดินที่ปลูก ทำให้คุณค่าทางอาหารของมันฝรั่งแตกต่างไปด้วย แป้งมันฝรั่ง (Starch) เป็นพอลิแซ็กคาไรด์ (Polysaccharides) ลักษณะของเม็ดแป้งที่มีขนาดเล็กมาก (Granule) จะประกอบไปด้วย อะไมโลส (Amy lose) และ อะไมโลแพกทิน (Amylopecin) เป็นส่วนใหญ่ (ประมาณ 97-99%) และองค์ประกอบส่วนน้อย (ประมาณ 1-3%) ได้แก่ โปรตีน ไขมัน และเถ้า นอกจากนี้ยังมีแร่ธาตุเล็กน้อย เม็ดแป้งมีการจัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบของโมเลกุลอะไมโลแพกทินออกไปตามแนวรัศมีภายในเม็ดแป้ง จากจุดไฮลัมไปสู่ขอบเม็ดแป้ง ภายในจะประกอบด้วยบริเวณของชั้นผลึก (Crystalline) สลับกับชั้นอสัณฐาน (Amorphous)เป็นชั้นสลับกันไป จึงทำให้สามารถมองเห็นปรากฏการณ์การหักเหของแสงสองแนว (Birefringence) ของเม็ดแป้งได้เมื่อส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์แสงโพลาไรซ์ (วรรณา, 2549)

6. เจลาทิไนเซชัน (Gelatinization) ของแป้ง

การต้มแป้งในภาวะที่มีน้ำมากเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 55 °C ขึ้นไป มีผลให้เกิดการเปลี่ยนสมบัติทางกายภาพต่างๆ ของเม็ดแป้ง (Granule) ให้ได้สารละลายหนืด ที่เรียกว่า แป้งเปียก หรือสตาร์ชเพสต์ (Starch Paste) เจลาทิไนเซชัน จึงเป็นคำที่ใช้หมายถึงการเปลี่ยนแปลงโดยรวมที่

เกิดขึ้นจากการที่เม็ดแป้งไฮเดรตน้ำ จนได้สารละลายหนืด และการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นผันกลับไม่ได้

ตามปกติเม็ดแป้งที่สมบรูณ์จะไม่ละลายน้ำ (ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 50 °C) แต่โมเลกุลน้ำสามารถเข้าสู่ภายในเม็ดแป้ง เม็ดแป้งจึงไฮเดรตน้ำไว้ได้ และขยายหรือพองตัว (Swell) เล็กน้อยประมาณ 5% เมื่อเทน้ำออก และนำแป้งไปอบแห้งจะได้แป้งที่มีคุณสมบัติปกติ แต่ถ้าให้ความร้อนแก่สารละลายแป้งจนมีอุณหภูมิสูงกว่าอุณหภูมิเจลาทีไนเซชันจะทำให้เม็ดแป้งส่วนใหญ่ขยาย ไฮเดรตน้ำได้มากขึ้น โครงสร้างที่มีระเบียบภายในเม็ดแป้งถูกทำลายไป เม็ดแป้งเกิดการขยายใหญ่ รวมถึงการละลายอะไมโลสบางส่วนออกสู่ภายนอกเม็ดแป้ง ทำให้ความหนืดเพิ่มขึ้น เจลาทิไนเซชันเมื่อเกิดขึ้นแล้วจะผันกลับไม่ได้ คือไม่สามารถนำมาอบแห้งเพื่อให้ได้เม็ดแป้งเช่นเดิม

ในขณะที่ให้ความร้อนแก่แป้ง ความร้อนจะทำลายพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุลแป้ง โดยเริ่มบริเวณอสัณฐานก่อน น้ำจะเข้าสู่ภายในเม็ดแป้งได้มากขึ้น เมื่อน้ำถูกไฮเดรตมากขึ้น เม็ดแป้งเกิดการขยายใหญ่ขึ้น เมื่อให้ความร้อนต่อไป อุณหภูมิสูงขั้น จะมีผลให้เกิดการหลอมละลายบริเวณภายผลึกภายในเม็ดแป้ง น้ำก็จะเข้าได้มากขึ้น จนเม็ดแป้งขยายเต็มที่และความมีระเบียบของโครงสร้างภายในถูกทำลายหมดไป ช่วงอุณหภูมิที่การหักเหของแสงสองแนวของเม็ดแป้งเริ่มหายไป (2%) จนกระทั่งหมดไป 98% เรียกว่าอุณหภูมิเจลาทิไนเซชัน เม็ดแป้งทุกเม็ดจะขยายหรือพองตัวไม่พร้อมกน เม็ดแป้งที่ขนาดใหญ่กว่าจะพองตัวได้ง่ายกว่าแป้งเม็ดเล็ก แป้งต่างชนิดกันจะมีช่วงอุณหภูมิเจลาทิไนเซชันแตกต่างกัน (วรรณา, 2549)

7. รีโทรเกรเดชัน (Retrogradation) ของแป้ง

รีโทรเกรเตชันของแป้ง คือ กระบวนการที่โมเลกุลที่อยู่ในแป้งต้มสุก (Gelatinized Starch) เริ่มมีการรวมกลุ่มกลับไปสู่โครงสร้างมีระเบียบใหม่ (Ordered structure) ใหม่ ในระยะแรกสายโซ่แป้งตั้งแต่สองสายขึ้นไปอาจจะสร้างเป็นขอบรอยต่อก่อนแล้วพัฒนาเป็นบริเวณที่มีระเบียบมากขึ้น จนในที่สุดภายใต้ภาวะที่เหมาะสมจะเกิดเป็นลักษณะผลึก (Crystalline) (Atwell และคณะ 1988) โมเลกุลที่มีผลโดยตรงต่อการเกิด รีโทรเกรเดชัน คือ อะมิโลส ส่วนอะไมโลแพกทินซึ่งมีโมเลกุลใหญ่และค่อนข้างเกะกะ เพราะมีสายกิ่งมาก เกิดรีโทรเกรเดชันได้ช้ากว่า ปัจจัยอื่นที่มีผลต่อการเกิดรีโทรเกรเดชัน ได้แก่ ชนิดของแป้ง (ปริมาณอะไมโลส ขนาดโมลเลกุลของอะไมโลส อัตราส่วนระหว่างอะไมโลส และอะไมโลแพกทิน เป็นต้น) อุณหภูมิ ปริมาณแป้งที่ใช้ ปริมาณน้ำในเจลและองค์ประกอบอื่นในสูตร เช่น น้ำตาล โปรตีน ไขมัน กรด และเกลือ การเกิดรีโทเกรเดชันมีผลเจลของให้แป้งขุ่นมากขึ้น (วรรณา, 2549)

มันฝรั่งแผ่นทอดกรอบ (Potato chips)

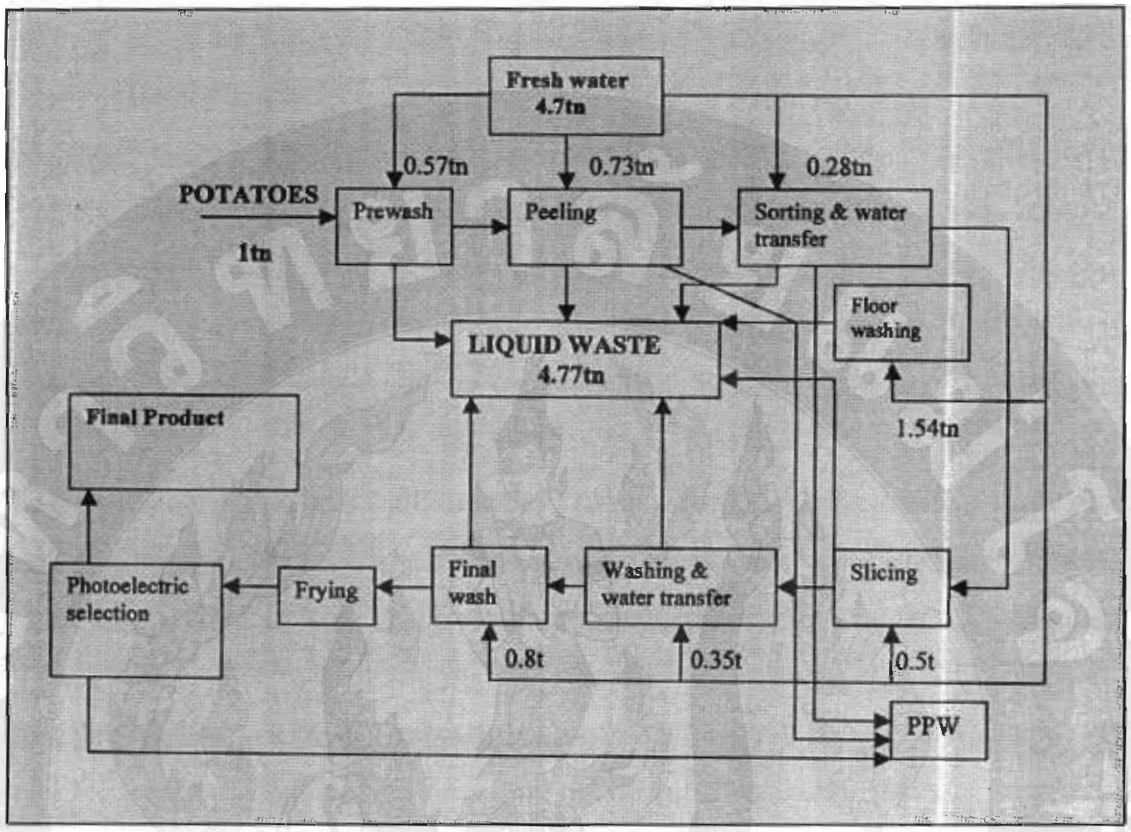
จากแนวโน้มการบริโภคมันฝรั่งที่เพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้การแปรรูปผลิตภัณฑ์จากมันฝรั่งมากขึ้นตามไปด้วย เช่น มันฝรั่งแผ่นทอดกรอบ (Potato chips) และมันฝรั่งเส้น (French fries) ทั้งในรูปแช่แข็งและทอด อุตสาหกรรมผลิตมันฝรั่งทอดกรอบ เป็นหนึ่งในอุตสาหกรรมผลิตอาหารว่างประเภทขนมขบเคี้ยว ที่ได้รับความนิยมบริโภคอย่างแพร่หลายในประเทศไทย โดยทั่วไปกระบวนการผลิตมันฝรั่งทอดกรอบมี 4 ขั้นตอน คือ การทำความสะอาด การหั่น การทอด และการบรรจุ (จันทร์จิรา, 2553) ดังนี้

1. การทำความสะอาด เริ่มต้นจากหัวมันฝรั่งดิบถูกปล่อยออกมาจากเครื่องป้อนมันฝรั่งลงสู่สายพานลำเลียง ที่มีเครื่องฉีดน้ำทำการล้างเศษดินออกจากเปลือกหัวมันฝรั่งและถูกขัดให้เปลือกหลุดออกด้วยเครื่องขัดผิวมันฝรั่ง จากนั้นหัวมันฝรั่งจะถูกส่งตามสายพานลำเลียง ซึ่งจะมีผู้ทำการตรวจสอบ คอยตรวจสอบตำหนิและตัดแต่งหัวมันฝรั่งโดยใช้มีดเฉือนส่วนที่มีตำหนิออก หรือส่วนเกินให้ได้ขนาดตามต้องการ

2. การหั่น เริ่มต้นจากหัวมันฝรั่งที่ผ่านการตรวจสอบและตกแต่งเรียบร้อยแล้วเลื่อนเข้าสู่เครื่องหั่นหัวมันฝรั่ง ซึ่งจะทำการหั่นหัวมันฝรั่งดิบให้เป็นแผ่นที่มีความหนา 0.6-0.7 มิลลิเมตร จากนั้นมันฝรั่งแผ่นจะเคลื่อนตามสายพานลำเลียง โดยผ่านน้ำเพื่อล้างน้ำแป้งที่เกิดจากการหั่นหัวมันฝรั่งซึ่งติดกับแผ่นมันฝรั่งออก

3. การทอด เริ่มต้นจากมันฝรั่งแผ่นที่ผ่านการล้างเอาน้ำแป้งออกเรียบร้อยแล้ว ถูกลำเลียงเข้าสู่เครื่องทอดซึ่งเป็นแบบระบบปิด โดยมีความร้อนภายในเครื่องทอดประมาณ 185 องศาเซลเซียส และใช้ระยะเวลาทอด 15 - 20 วินาที ความร้อนจากเครื่องทอดจะถูกระบายด้วยเครื่องดูดอากาศออกสู่บรรยากาศภายนอก จากนั้นแผ่นมันฝรั่งทอดกรอบจะถูกเลื่อนไปตามสายพานลำเลียงซึ่งจะผ่านเครื่องตรวจสอบและคัดแยกมันฝรั่งทอดกรอบที่มีรอยดำทิ้ง และมันฝรั่งทอดกรอบจะเคลื่อนมายังผู้ตรวจสอบเพื่อทำการตรวจสอบคุณภาพ โดยผู้ตรวจสอบจะต้องสวมถุงมือในการหยิบแผ่นมันฝรั่งที่ไม่ได้คุณภาพทิ้ง เช่น แผ่นมันฝรั่งที่มีรอยดำและไม่ได้ขนาดตามมาตรฐาน เมื่อแผ่นมันฝรั่งผ่านการตรวจสอบแล้ว จะถูกปรุงรสด้วยเครื่องปรุงรสตามความต้องการ

4. การบรรจุ เริ่มจากแผ่นมันฝรั่งทอดกรอบที่ผ่านการปรุงรสเลื่อนตามสายพานลำเลียงไปยังห้องบรรจุ ซึ่งเครื่องบรรจุพร้อมปิดผนึกจะทำการชั่งน้ำหนักมันฝรั่งทอดกรอบให้ได้ตามกำหนดและทำการปิดผนึกอัตโนมัติ จากนั้นซองมันฝรั่งทอดกรอบที่บรรจุแล้วจะเลื่อนไปตามสายพานลำเลียง (ดังภาพที่ 8)



ภาพที่ 8 กระบวนการผลิตมันฝรั่งแผ่นทอดกรอบ และน้ำทิ้งที่เกิดขึ้นในระบบ
ที่มา : Arapoglou. *et.al*, 2010

ในกระบวนการผลิตมันฝรั่งแผ่นทอดกรอบ มีการใช้น้ำปริมาณมากในขั้นตอนการล้างหัวมันฝรั่ง และการล้างมันฝรั่งก่อนเข้าเตาทอด เพื่อจำกัดแป้งและน้ำตาลในมันฝรั่งออกไป ซึ่งจะทำให้มันฝรั่งที่ทอดออกมาไม่เป็นสีน้ำตาล หรือมีรสเกรียม โดยมีสัดส่วนของแป้งที่ถูกล้างออกมามีประมาณ 1-2% ของน้ำหนักมันฝรั่งที่เป็นวัตถุดิบ (ฟริโตเลย์. 2552) ลักษณะของน้ำทิ้งจากโรงงานมันฝรั่งแผ่นทอดกรอบจึงมีค่า Bilogical Oxygen Demand (BOD), Chemical Oxygen Demand (COD), Total Dissolved Solids (TDS), Total Suspended Solid (TSS) และ Total organic carbon (TOC) ในปริมาณสูง ซึ่งส่งผลให้เกิดกลิ่นเหม็นจากระบบบำบัดน้ำเสีย เกิดปัญหามลภาวะทางกลิ่นกระจายไปยังโรงงานและบ้านเรือนประชาชนที่อยู่ใกล้เคียง (Azab. 2008) เมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบในน้ำทิ้งที่มาจากโรงงานมันฝรั่งแผ่นทอดกรอบ จะพบว่ามีสมบัติดังแสดงในตารางที่ 2 ดังนี้

ตารางที่ 2 คุณสมบัติของน้ำทิ้งจากโรงงานมันฝรั่งแผ่นทอดกรอบ

ส่วนประกอบ	ปริมาณ
Total suspended solids (TSS)	0.64 g/L
Total carbohydrates	19.47 g/L
Reducing sugars	0.04 g/L
Total protein	2.88 g/L
Nitrogen	0.46 g/L
Phosphorus	0.22 g/L
Potassium	0.15 g/L
Biological oxygen demand (BOD)	1,950 g/L
Chemical oxygen demand (COD)	8,122 g/L
pH	7.5

ที่มา : Mishra. *et.al*, 2004

พบว่าในกระบวนการแปรรูปมันฝรั่งนั้นจะมีส่วนที่เหลือทิ้งเป็นจำนวนมากประมาณ 20-50% ของวัตถุดิบที่เข้าสู่กระบวนการผลิต โดยส่วนที่ทิ้งนั้นได้มาจากกระบวนการปอกเปลือก (peeling) ตัดแต่ง (trimming) การฝาน (slicing) และการล้าง (cleaning) (Mahmood *et al*., 1998) ซึ่งอาจจะเรียกโดยรวมว่า ของเหลือทิ้งจากกระบวนการแปรรูปมันฝรั่ง (Potato processing wastes) ทั้งนี้ของเหลือทิ้งดังกล่าวได้ถูกนำไปใช้ประโยชน์กันอย่างกว้างขวางมาเป็นเวลานาน เช่นส่วนของเปลือกที่เกิดจากกระบวนการขูด (caustic peel waste) ก็ได้มีการนำไปเป็นอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Aspergillus foetidus* NRRL337 เพื่อผลิตเอนไซม์อะมัยเลส และสามารถต่อยอดไปถึงการผลิตเป็นเอทานอล (Bloch *et al*., 1973) ไม่เพียงเท่านั้น เปลือกมันฝรั่งก็สามารถนำไปใช้เป็นอาหารสัตว์ได้ เช่นจากงานวิจัยของ Onwubuemeli *et al*., (1985) ที่มีการนำเศษมันฝรั่งมาเลี้ยงโคนมร่วมกับอาหารหลักคือข้าวโพด ซึ่งก็พบว่าไม่ได้ทำให้ปริมาณน้ำนมที่ได้และองค์ประกอบต่างๆ ในน้ำนมไม่เปลี่ยนแปลงไปจากเดิมที่เลี้ยงด้วยข้าวโพดเพียงอย่างเดียว นอกจากนี้ยังพบว่า เมื่อเลี้ยงด้วยเศษมันฝรั่งในสัดส่วน 20% ของอาหารจะช่วยลดไขมันในน้ำนมและเกิดการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนของ acetate: propionate ซึ่งเป็น volatile fatty acid ในกระเพาะรูเมนด้วย ในปี 1998 Mahmood และคณะก็ได้นำเปลือกมันฝรั่งมาปั่นผสมกับกากส้มในอัตราส่วนต่างๆ และใช้เป็นอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ

Bacillus เพื่อผลิตเอนไซม์ต่างๆ ได้แก่ แอลฟา-อะมัยเลส โปรติเอส และโพลิกาแลคโตลูเนท ไลเอส (polygalactoronate lyase) ในประเทศไทยก็มีการศึกษาการผลิตเอนไซม์จากเปลือกมันฝรั่งเช่นกัน โดยใช้เปลือกมันฝรั่งผสมกับรำข้าวเจ้าในสัดส่วน 7: 3 จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงเชื้อ *Aspergillus niger, Rhizopus oligosporus* เพื่อผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและอะไมโลกลูโคซิเดส (ภูวนัฐ, 2538) แม้กระทั่งสารกันหืนธรรมชาติในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) ก็มีการสกัดได้จากเปลือกมันฝรั่งที่เหลือจากกระบวนการแปรรูป สารที่สกัดได้มีหลายชนิดและที่มีปริมาณมากที่สุดคือ gallic acid รองลงมาคือ caffeic acid, chlorogenic acid, protocatechuic acid และ vanillin ตามลำดับ (ณัฏฐินี, 2546)

ในส่วนของน้ำทิ้งจากกระบวนการแปรรูปมันฝรั่งก็พบว่ายังคงมีสารอาหารอยู่เป็นจำนวนมากดังแสดงในตารางที่ 3 ซึ่งเป็นตัวอย่างน้ำทิ้งจากโรงงาน Kellogg-Salada Foods ดังนั้นจึงมีรายงานการใช้ประโยชน์ในการใช้เป็นแหล่งอาหารเพื่อผลิตโปรตีนเซลล์เดียว (single cell protein) สำหรับเสริมในอาหารสัตว์ เช่นการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวของเชื้อรา *Cephalosporium eichhorniae* จากน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปมันฝรั่ง แต่ก็ต้องมีการเสริมแอมโมเนียมฟอสเฟต (0.506 g/L) และธาตุเหล็ก (0.1 g/L) ผลที่ได้ก็คือสามารถผลิตมวลเซลล์ 0.61 กรัมน้ำหนักแห้ง (โปรตีน 0.3 กรัม) ต่อกรัมคาร์โบไฮเดรตของสับสเตรท (Stevens and Gregory, 1987) Yeast; *Torula utilis* ก็มีการเพาะเลี้ยงจากน้ำทิ้งฯ เช่นกันเพื่อใช้เป็นโปรตีนเซลล์เดียว พบว่าสามารถผลิตมวลเซลล์ที่มีโปรตีนสูงถึง 50% จากสับสเตรทนี้ ต้นทุนการผลิตก็เพียง 5 เปอร์เซ็นต์ ต่อน้ำหนักปอนด์ จึงมีศักยภาพที่จะใช้ทดแทนปลาป่นในอาหารสัตว์ได้ (Reiser, 1954) ในประเทศไทยก็มีการนำน้ำล้างแผ่นมันฝรั่งจากบริษัทอาหารยอดคุณ จำกัด มาศึกษาใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อยีสต์ *Candida tropicalis* TISTR5136 เพื่อผลิตเป็นโปรตีนเซลล์เดียว พบว่ายีสต์มีอัตราการเจริญจำเพาะ 0.47 ต่อชั่วโมง ให้ปริมาณมวลเซลล์สูงสุด 1.212 กรัมต่อลิตรของน้ำทิ้ง เซลล์ยีสต์ที่ได้ประกอบด้วยโปรตีนและไขมันร้อยละ 32.19 และ 0.454 ตามลำดับ

ตารางที่ 3 สารอาหารที่หลงเหลือในน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปมันฝรั่ง

องค์ประกอบ	ปริมาณ (%DW)	
	น้ำทิ้งที่ไม่ผ่านการกรอง	**น้ำทิ้งที่ผ่านการกรอง**
Dry matter (%w/v)	10.3-13.7	8.1-9.8
Total carbohydrate	44.1-59.2	39.7-47.3
Reducing sugar	3.6-6.7	4.3-5.8
Crude protein	12.1-15.5	13.0-15.5
Calcium	0.10-0.19	0.09-0.17
Phosphorus	0.22-0.30	0.26-0.38
Magnesium	0.09-0.10	0.09-0.15
Potassium	1.6-2.5	2.1-3.7
Manganese	0.0022-0.0051	0.0022-0.0063
Copper	0.0007-0.0016	0.0014-0.0034
zinc	0.0025-0.0052	0.027-0.095

ที่มา: Stevens and Gregory, 1987

Meister and Thompson (1976) ได้เสนอวิธีการทางเคมีร่วมกับกายภาพในการเก็บเกี่ยวโปรตีนจากน้ำทิ้งของโรงงานมันฝรั่งแผ่นทอดกรอบ พบว่าสามารถเก็บเกี่ยวโปรตีนได้ถึง 170 กิโลกรัมจากหัวมันฝรั่งที่เข้าสู่กระบวนการผลิตทั้งสิ้น 31 ตัน การให้ความร้อนที่ 80-90 องศาเซลเซียส และปรับ pH ให้เป็น 4-4.5 พบว่าเป็นวิธีที่ทำให้ได้โปรตีนมากที่สุด ต่อมาในปี 1980 Strolle และคณะก็ได้เสนอวิธีการเก็บเกี่ยวสารอาหารต่างๆ ในน้ำทิ้งนี้โดยการระเหยและ Spray drying ซึ่งสิ่งที่ได้มาสามารถนำไปเลี้ยงสัตว์และจุลินทรีย์ได้

ฟังไจ (Fungi)

เป็นสิ่งมีชีวิต หรือจุลินทรีย์จำพวกยูคาริโอต ซึ่งแบ่งตามลักษณะของเซลล์ได้ 2 กลุ่ม คือ รา และยีสต์

1. รา (Mold)

ราจัดอยู่ในพวกเห็ดรา (Fungi) เช่นเดียวกับยีสต์ รามีลักษณะทั่วไปแตกต่างจากยีสต์ โดยรามีลักษณะเป็นเส้นใยมากกว่ายีสต์ ใยราเกิดจากเซลล์หลายเซลล์ต่อกัน หรือใยราอาจติดต่อทะลุถึงกันตลอดเป็นเซลล์เดียวขนาดยาวมากก็ได้ ดังนั้นใยราจึงแบ่งเป็นใยรามีผนังกั้น และใยราไม่มีผนังกั้น ราไม่มีคอลโรฟิลล์ จึงไม่สามารถสังเคราะห์แสงและสร้างอาหารเองได้ ต้องได้รับพลังงานและสารอาหารจากแหล่งอาหารอื่น โดยมีลักษณะการได้รับอาหารที่เรียกว่า Heterotrop ราส่วนใหญ่ดำรงชีพแบบทั้งที่เป็นอิสระหรือ Saprophyte คือ หลั่งเอนไซม์ออก นอกเซลล์ เพื่อย่อยสลายสารอินทรีย์ที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ และซับซ้อนให้ได้เป็นโมเลกุลที่เล็กที่สุดแล้วจึงดูดซับเข้าไปภายในเซลล์ ราเติบโตในภาวะที่มีอากาศเท่านั้น (Obligate arobe) จึงพบเจริญเติบโตบริเวณผิวหน้าของอาหาร รวมไปถึงเจริญบนสิ่งมีชีวิตอื่น เช่น ซากพืช ซากสัตว์ หรือพืช สัตว์ที่ยังมีชีวิตอยู่ หากพืชหรือสัตว์ที่ยังมีชีวิตอยู่ถูกราใช้เป็นอาหารก็จะเป็นโรคพืช โรคสัตว์ชนิดต่างๆ แต่ราบางชนิดให้ประโยชน์ในการผลิตสารเคมีหลายชนิดที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจและการแพทย์ หรือเราอาจใช้ราเป็นอาหารได้โดยตรง เช่น เห็ด (Mushroom) ชนิดต่าง ซึ่งเป็นราพวกที่มีขนาดใหญ่ลักษณะเป็นเส้นใยและสามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า เกิดจากเส้นใยของเชื้อรามาอยู่รวมกันและอัดแน่นเป็นดอกเห็ดขนาดใหญ่ เช่น เห็ดฟาง *Volvariella volvaceae* (ดวงพร, 2554)

1.1 สัณฐานวิทยาของรา

ราเป็นจุลินทรีย์พวกยูคาริโอต ประกอบด้วยเซลล์หลายเซลล์ และมีการเรียงตัวกันเป็นเส้นใย (Multicellular filamentous fungi) เซลล์มีเยื่อหุ้มนิวเคลียสประกอบด้วยเยื่อ 2 ชั้น ภายในนิวเคลียสมี 1 นิวคลีโอลัส ที่ล้อมด้วยไซโทรพลาสซึม มีโครโมโซมเพียงชุดเดียว (haploid) ผนังเซลล์ประกอบด้วยสาร โพลิแซคคาไรด์ (Polysaccharides) ที่สำคัญคือ ไคติน (Chitin), กลูแคน (Glucan), เซลลูโลส (Cellulose) และแมนแนน (Mannan) นอกจากนี้ยังมีโปรตีนและไขมัน โดยโปรตีนที่พบมักเป็นไกลโคโปรตีน (Glycoprotein) ซึ่งโปรตีนบางชนิดสามารถทำหน้าที่เป็นเอนไซม์ได้ (นงนุช, 2540) เซลล์ของรามีลักษณะเป็นใยรายาว เส้นใยราแต่ละเส้นนั้นจะเรียกว่าไฮฟา (Hypha) เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 5-10 ไมครอน อาจแตกแขนงได้มากมาย เมื่อรวมกลุ่ม

จำนวนมากจนมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าจะเรียกว่า ไมซีเลียม (Mycelium) (บุษกร, 2545) ไฮฟาอาจเป็นเซลล์ติดต่อกันหลายเซลล์มีผนังกั้น หรือมีลักษณะคล้ายท่อยาวตลอดไม่มีผนังกั้น ภายในประกอบด้วยส่วนประกอบของเซลล์ ใยรามีลักษณะแตกต่างกัน 3 ลักษณะ คือ ไฮฟาไม่มีผนังกั้น (Nonseptate hypha) ไฮฟามีผนังกั้น (Septate hypha) และมีหนึ่งนิวเคลียส (Uninucleate) ไฮฟามีผนังกั้นและมีหลายนิวเคลียส (Multinucleate) กลุ่มไฮฟาอาจมีลักษณะหลวมๆ หรือแน่นมากๆ ก็ได้ เช่น พวกเห็ด ไฮฟา อาจแบ่งหน้าที่เป็นสองส่วน คือ ส่วนสืบพันธุ์ (Fertile hypha) กับส่วนเวเจเตติฟ (Vegetative part) ส่วนสืบพันธุ์สามารถสร้างสปอร์ซึ่งตามปกติสปอร์จะชูขึ้นไปในอากาศ เกิดจากกลุ่มใยราซึ่งเป็นส่วนเวเจเตตีฟ ส่วนเวเจเตตีฟนี้ อาจอยู่บนผิวอาหารหรือแทงลงไปในอาหารก็ได้ เพื่อดูดสารอาหารไปเลี้ยงส่วนต่างๆ ของรา ตามปกติราสืบพันธุ์โดยการสร้างสปอร์ หรือใช้ใยราก็ได้ ราส่วนใหญ่ไม่เคลื่อนที่แต่บางชนิดมีเซลล์สืบพันธุ์เคลื่อนที่ได้ การสร้างสปอร์ทำได้สองแบบคือ แบบอาศัยเพศ (Non-asexual spore) และแบบไม่อาศัยเพศ (Asexual spore) แบบอาศัยเพศได้แก่ Cospore, Zygospore, Ascospore และ Basidospore จะสร้างสปอร์มีนิวเคลียสมากมาย ซึ่งแบ่งตัวแบบไมโอซิส (Meiosis) จากนิวเคลียสเดิม โดยทั่วไปเซลล์เดิมและสปอร์เป็นแฮพลอยด์ มีการรวมกันของนิวเคลียสเซลล์เดิมเข้าด้วยกันเกิดเป็นแฮพลอยด์ซึ่งเป็นไซโกตสปอร์ มีนิวเคลียสแฮพลอยด์เกิดจากไซโกตดิพลอยด์ โดยการแบ่งแบบไมโอซิสของไซโกต (Zygotic meiosis) ส่วนการสร้างสปอร์แบบอาศัยเพศมีลักษณะแตกต่างจากสปอร์แบบไม่อาศัยเพศ คือ สปอร์แบบไม่อาศัยเพศได้แก่ Sporangiospore, Conidia หรือ Connidiospore, Clamydospore และ Arthrospore เป็นต้น สร้างขึ้นโดยการเปลี่ยนแปลงของใยราที่เติบโตเต็มที่หลุดออกเป็นท่อนๆ ซึ่งไม่เกิดการรวมนิวเคลียสหรือการแบ่งนิวเคลียสแต่อย่างใด (บุษกร, 2545)

1.2 ลักษณะการเจริญของรา

เมื่อราเติบโตบนอาหารอาจเห็นกลุ่มใยมีลักษณะคล้ายกับสำสี มีสีต่างๆ สีของราอาจขึ้นอยู่กับชนิดของรานั้นๆ หรือขึ้นอยู่กับอายุของรา หรือขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมที่ราเติบโต ราเป็นพวกเติบโตในที่ที่มีออกซิเจน จึงพบที่ผิวหน้าของอาหารซึ่งมีออกซิเจนมากกว่าภายในเนื้อของอาหาร แต่ใยราบางส่วนจะแทงลงไปในเนื้อของอาหารเพื่อนำไปเลี้ยงส่วนต่างๆ ราบางชนิดกลุ่มใยรามีลักษณะฟูแต่บางชนิดอัดตัวกันแน่น ลักษณะราด้านบนที่ปรากฏอาจคล้ายกำมะหยี่ หรือมีลักษณะแห้งและเป็นผง ในขณะที่ราบางชนิดอาจมีลักษณะเปียกหรือคล้ายวุ้น ราบางชนิดมีลักษณะการเจริญจำกัดในขณะที่บางชนิดลักษณะการเจริญไม่จำกัด สารสีในใยซึ่งมีสีแดง ม่วง เหลือง น้ำตาล เทาและดำ เป็นลักษณะค่อนข้างเฉพาะ เช่นเดียวกับสารสีในสปอร์แบบไม่อาศัยเพศ ซึ่งอาจ

มีสีเขียว น้ำเงิน-เขียว เหลือง ส้ม ชมพู น้ำตาล เทาและดำ ลักษณะโคโลนีด้านบนจะแตกต่างจากด้านล่าง ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของรา

1.3 สรีรวิทยาและอาหารของรา

ราสามารถทนอยู่ได้และเติบโตในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ดีกว่าจุลินทรีย์ประเภทอื่นๆ ราสามารถเติบโตในอาหารที่มีน้ำตาลอยู่มากกว่าแบคทีเรีย เนื่องจากราทนทานต่อแรงดันออสโมซิสได้ดีกว่า ราทนอยู่ได้และเติบโตในอาหารที่มีช่วงความเป็น กรด-เบส กว้างกว่าแบคทีเรียโดยเฉพาะความเป็นกรดจะทนได้มากกว่า คือ อยู่ในช่วงระหว่าง 2-9 ในขณะที่แบคทีเรียมีช่วงอยู่ระหว่าง 4-9 เท่านั้น ความเป็นกรดเบสที่เหมาะสมของราส่วนมาก คือ 5.6 แต่แบคทีเรียส่วนมาก คือ 7.0 ราสามารถทนและเติบโตในอาหาร หรือวัตถุที่มีความชื้นต่ำกว่าแบคทีเรีย (ยกเว้นสปอร์แบคทีเรีย) เมื่อมีความชื้นจำกัดราจะสร้างสปอร์ หรือระยะพักตัวชนิดอื่นๆ ราส่วนมากต้องการออกซิเจนในการเติบโต ต้องการช่วงอุณหภูมิค่อนข้างกว้าง คือ ตั้งแต่ 0-62 องศาเซลเซียส แต่ช่วงที่เหมาะสม คือ 22-23 องศาเซลเซียส ดังนั้นอาหารที่เก็บไว้ในอุณหภูมิต่ำ เช่นในตู้เย็นอาจเสื่อมเสียได้เนื่องจากการเติบโตของรา ราบางชนิดเติบโตได้ดีในที่อุณหภูมิสูง 62 องศาเซลเซียส ราบางชนิดสร้าง สเคลอโรเตีย (Sclerotia) ซึ่งแข็งและแห้ง สามารถทนต่อความร้อนสูงได้ อาหารของรามีหลายชนิด กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน และพลังงานที่ดีสำหรับราทุกชนิด น้ำตาลชนิดอื่นๆ เช่น ซูโครส และมอลโทส รวมทั้งสารประกอบคาร์บอนอินทรีย์อื่นๆ เช่น สตาร์ท และเซลลูโลส นั้นมีราหลายชนิดสามารถใช้ได้ ไนโตรเจนอนินทรีย์อยู่ในรูปของเกลือแอมโมเนียม หรือไนเตรต ราบางชนิดสามรถใช้ได้แต่บางชนิดต้องการไนโตรเจนอินทรีย์ เช่น เพปโทน แร่ธาตุ เช่น เหล็ก โพแทสเซียม สังกะสี ทองแดง แมงกานีส โมลิบดีนัม จำเป็นต่อการเติบโต ราบางชนิดต้องการวิตามินด้วย

ราที่เป็นปรสิตมีโครงสร้างพิเศษยื่นออกจากใยราส่งเข้าไปภายในเซลล์ตัวให้อาศัย เรียกโครงสร้างนี้ว่า ฮอสตอเรีย (Haustoria) เพื่อดูดสารอาหารจากเซลล์ตัวให้อาศัยเข้าไปเลี้ยงส่วนต่างๆ ของรา

ราเติบโตช้ากว่าแบคทีเรีย ดังนั้นอาหารเลี้ยงเชื้อราจึงอาจมีแบคทีเรียเติบโตและแย่งอาหารได้ เมื่อต้องการเลี้ยงราอย่างเดียวจึงควรปรับสภาพอาหารให้มีความเป็น กรด-เบส ที่ 5.6 และมีน้ำตาลประกอบอยู่มากประมาณ ร้อยละ 4 จะยับยั้งการเติบโตของแบคทีเรียทั่ว ๆ ไปได้ ดังนั้นถ้าสภาวะแวดล้อมเหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ทุกชนิดแล้ว รามักจะต้องพ่ายแพ้ในการแข่งขันการเจริญ แต่ถ้าราเจริญได้แล้วราจะเจริญได้อย่างรวดเร็วมาก (สุมาลี. 2541)

อาหารที่ใช้เลี้ยงราอาจเป็นอาหารจากธรรมชาติ เช่น ผลไม้บด ผักบด เมล็ดธัญญาพืช หรือเนื้อสัตว์ แต่ไม่นิยมใช้กัน อาหารสังเคราะห์เป็นที่นิยมใช้กันมากกว่า ซึ่งมีส่วนประกอบของมันฝรั่งบด หรือต้มสุกผสมกับวุ้นและกลูโคส หรืออาจมีสูตรอื่นๆ อีกที่ประกอบด้วยเพปโทน คาร์โบไฮเดรต และวุ้น แต่สำหรับราที่เป็นปรสิต หรือเชื้อโรคต้องใส่สารอื่นๆ อีกมาก

1.4 การเพาะเลี้ยงเชื้อราในห้องปฏิบัติการทั่วไป

อาหารเลี้ยงเชื้อราไม่ว่าจะเป็นอาหารเหลว หรืออาหารแข็งจะประกอบไปด้วยธาตุอาหารที่จำเป็น และความแตกต่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ สามารถจำแนกเป็น

1.4.1 Undefined media เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วยสารอาหารที่ได้จากพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ โดยทั่วไปจะให้สารอาหารจากธรรมชาติ ประกอบด้วย Malt extract Yeast extract และ Com meal ซึ่งสารอาหารที่ได้จากธรรมชาตินี้จะประกอบไปด้วยน้ำตาล โปรตีน วิตามิน และแร่ธาตุต่างๆ ที่สามารถย่อยสลายและดูดซึมไปใช้ได้ง่าย และรวดเร็ว อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีส่วนประกอบจากธรรมชาตินั้นจะมีความสำคัญมากสำหรับการเพาะเลี้ยงฟังไจส่วนมากเพราะราคาถูก และที่สำคัญฟังไจส่วนมากสามารถเจริญได้ดี แต่อย่างไรก็ตามจะมีข้อเสีย คือองค์ประกอบทางเคมีมักมีการเปลี่ยนแปลง ไม่แน่นอน และทำให้ผลการทดลองได้ผลไม่เหมือนเดิมทุกครั้ง

1.4.2 Defined media เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่ทราบองค์ประกอบทางเคมีของอาหารที่แน่นอน และในการทราบองค์ประกอบทางเคมีที่แน่นอนนี้เหมาะสำหรับการศึกษาทางด้านสรีรวิทยาของเชื้อ (Moor-Landecker, 1996 อ้างโดย วิไลลักษณ์, 2549)

การเพาะเลี้ยงราในแต่ละสปีชีส์เพื่อการจัดจำแนก จำเป็นต้องเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและสร้างสปอร์ อาหารที่เหมาะสมกับราส่วนใหญ่ คือ Malt extract agar (MEA) หรือ Oatmeal agar (OA) ซึ่ง Centraalbureau voor Schimmelcultures Utrecht (CBS), An institute of the Royal Netherlands Academy of Arts and Science นิยมใช้ MEA ที่เพิ่มน้ำตาลซูโครสลงไปอีก 20 หรือ 40 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้นังมีราบางสปีชีส์ที่ต้องการอาหารพิเศษ เช่น Potato-Carrot Agar (PCA), Czapek Yeast autolysate agar (CYA) Carnation leaf agar (CLA) c และสำหรับ *Penicillium* ในบางสปีชีส์ใช้อาหาร Creatine agar อีกด้วย

การบ่มเชื้อราให้บ่มในที่มีแสงสว่าง หรือที่มืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 5-10 วัน ราบางชนิดสร้างสปอร์ในที่สว่าง เช่น *Fusarium*, *Trichoderma* และ *Epicoccum* ส่วน *Phoma* ควรบ่มในที่มืดก่อนแล้วตามด้วยบ่มสลับกันในที่มืดและสว่าง สำหรับการสร้างสปอร์สามารถกระตุ้นได้โดยรังสีที่มีความยาวคลื่นแสงใกล้เคียงกับรังสีอัลตราไวโอเลต (Black light) (เสาวนิตย์, 2550)

1.5 การได้รับสารอาหารของรา

ฟังไจมีการดูดซึมสารอาหารผ่าน Plasmalemma ซึ่งสารประกอบที่จะผ่านได้นั้นจะต้องมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำและละลายน้ำได้ เพราะถ้าเป็นสารที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ และไม่สามารถละลายน้ำได้ เชื้อราจะมีการปลดปล่อยเอนไซม์ออกมาภายนอกเซลล์เพื่อทำการย่อยสลายสารที่มีโมเลกุลใหญ่ ซึ่งเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยสลายจะมีคุณสมบัติที่จำเพาะกับโมเลกุลนั้นๆ (Griffin, 1994 อ้างโดย วิไลลักษณ์, 2549)

1.5.1 การย่อยสลายสารอาหารภายนอกเซลล์ สารที่มีโมเลกุลเล็กๆ เช่นน้ำตาลและกรดอะมิโน เป็นสารที่สามารถละลายน้ำได้ แล้วไฮฟาของเชื้อราสามารถดูดซึมไปไว้ใช้ได้ ส่วนสารที่มีโมเลกุลใหญ่จะเป็นพอลิเมอร์ที่ไม่ละลายน้ำ เช่น เซลลูโลส แป้งและโปรตีน ส่วนมากมักถูกย่อยสลายก่อนที่จะนำไปใช้ประโยชน์ได้ โดยกระบวนการปลดปล่อยเอนไซม์ออกมาภายนอกเซลล์เพื่อทำการดัดสารที่มีโมเลกุลใหญ่ ซึ่งภายในจะประกอบด้วยสารประกอบต่างๆ ที่ซับซ้อนและในการย่อยของเอนไซม์นั้นจะมีความจำเพาะสูง และสามารถควบคุมการย่อยสลายของโมเลกุลสารที่จำเพาะเท่านั้น ดังนั้น กระบวนการย่อยสลายของสารประกอบที่มีโมเลกุลใหญ่จะสมบรูณ์ได้ต้องมีกระบวนการที่เป็นขั้นตอนโดยจะเกี่ยวข้องกับเอนไซม์ที่แตกต่างกัน จนกระทั่งได้สารที่มีโมเลกุลไม่ซับซ้อนและละลายน้ำได้ เชื้อราจึงสามารถดูดซึมเข้าสู่เซลล์ได้ จากนั้นสารโมเลกุลเล็กๆ นี้จะถูกย่อยสลายต่อโดยเอนไซม์ภายในเซลล์อีกครั้งหนึ่ง ความสามารถในการใช้ประโยชน์จากสารโมเลกุลใหญ่นั้นจะขึ้นอยู่กับความสามารถในการย่อยของเชื้อรา แล้วเชื้อราจะไม่สามารถเจริญได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วยสับสเตรทที่ไม่สามารถย่อยสลายได้

1.5.2 การเคลื่อนย้ายธาตุอาหารเข้าสู่เซลล์ ไอออนทั้งหมดและโมเลกุลของสารอาหารผ่านเข้าไปในเซลล์ของเชื้อราได้โดยผ่านทั้งผนัง และ Plasmalemma ซึ่งในตัวของผนังเซลล์เองจะมีรูพรุนที่ยอมให้ไอออน หรือโมเลกุลของสารผ่านได้ ส่วน Plasmalemma มีคุณสมบัติเป็นเยื่อเลือกผ่านที่สามารถควบคุมการเคลื่อนที่ของสารภายในเซลล์และสารที่เป็น Nonelectrolyte ในสารละลายจะสามารถผ่าน Plasmalemma ได้โดยตอบสนอง Gradient ของความเข้มข้น ซึ่งจะเคลื่อนที่จาก Gradient ที่มีความเข้มข้นน้อย แล้วไอออนที่อยู่ในสารละลายก็จะข้ามผ่านเยื่อหุ้มเซลล์จาก Gradient ที่มีความเข้มข้นต่ำ แต่ในการเคลื่อนที่นั้นจะขึ้นอยู่กับความแตกต่างของแรงใน Electrohemical potential active transport ซึ่งกลไกนี้จะเกี่ยวข้องกับการจับกันของสารละลายกับตัวขนส่งโมเลกุลที่อยู่ใน Plasmalemma ทำหน้าที่ขนส่งและลำเลียงสารละลายข้าม Plasmalemma แล้วปลดปล่อยโมเลกลุลของสารอาหารเข้าสู่เซลล์ ซึ่งจะเกี่ยวข้องกับระบบการขนส่งนี้จะต้องการพลังงานในรูปของ ATP ส่วนอีกวิธีหนึ่ง คือ Facilitated diffusion ซึ่งจะเกี่ยวข้องกับระบบการขนส่งสารแต่ละชนิดจะไม่เหมือนกับกระบวนการ active transport โดยสารละลายจะมีการเคลื่อนที่

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยแม่โจ้

ตรงข้ามกับ Gradient และสารละลายจะถูกลำเลียงข้าม Plasmalemma จาก Gradient ที่มีความเข้มข้นสูงไปยัง Gradient ความเข้มข้นต่ำ (Moor-Landecker, 1996 อ้างโดย วิไลลักษณ์, 2549)

ไอออนที่มีความสำคัญที่เข้าสู่เซลล์โดยกระบวนการ active transport ประกอบด้วยไอออนที่มีประจุบวก เช่น โพแทสเซียม, แมกนีเซียม, แมงกานีส, เหล็กและแอมโมเนียมไอออน ส่วนไอออนที่มีประจุลบที่สำคัญ เช่น ฟอสเฟต และซัลเฟต ในการนำโพแทสเซียมไอออน (K^+) เข้าสู่เซลล์นั้นจะเกิดจาก Gradient ที่มีความเข้มข้นสูงประมาณ 500 : 1 และต้องใช้พลังงานจากกระบวนการหายใจ และในการนำโพแทสเซียมไอออนเข้าสู่เซลล์จะมีกลไกที่ตรงข้ามกับการลำเลียงไฮโดรเจนไอออน (H^+) เข้าสู่เซลล์ ซึ่งในบางครั้งการลำเลียงไอออนชนิดหนึ่งเข้าสู่เซลล์อาจจะต้องได้รับอิทธิพลจากการลำเลียงไอออนตัวอื่นเข้าสู่เซลล์ด้วย เช่น การลำเลียง MG^{2+}, Ca^{2+}, และ Mn^{2+} เกิดขึ้นเมื่อมีการลำเลียงฟอสเฟต โดยมีโพแทสเซียมไอออนเป็นตัวกระตุ้น เช่นเดียวกับการลำเลียงฟอสเฟตทั้งหมด (Griffin, 1994 อ้างโดย วิไลลักษณ์, 2549)

ในการลำเลียงน้ำตาลชนิดต่างๆ จะเกิดขึ้นโดยกระบวนการที่เรียกว่า Active transport หรือ Facilitated diffusion ขึ้นอยู่กับความแตกต่างของเชื้อราแต่ละชนิดซึ่งการลำเลียงกรดอะมิโนเกิดขึ้นโดยกระบวนการที่เรียกว่า Active transport และการลำเลียงสารอินทรีย์ที่เป็นกรดเกิดได้ทั้งกระบวนการ Specialized transport และ Passive diffusion โดยโมเลกุลที่ทำหน้าที่ในการขนส่งจะถูกสร้างขึ้นมาจำเพาะสำหรับการขนส่งสารอาหารแต่ละชนิด ส่วนมากจะขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ เช่น พีเอช อุณหภูมิและองค์ประกอบของอาหาร หรือสภาวะแวดล้อมของเชื้อราที่จะมีผลต่อการลำเลียงอาหาร ส่วนการดูดซึมสารอาหารเข้าสู่เซลล์ขึ้นอยู่กับการทำงานของเอนไซม์ ซึ่งการย่อยของเอนไซม์นั้นจะตอบสนองสำหรับการทำให้สารที่มีโมเลกุลใหญ่ในอาหารเลี้ยงเชื้อเกิดการแตกตัว ซึ่งเซลล์จะไม่ได้มีการสร้างเอนไซม์อยู่ทุกเวลา แต่การสังเคราะห์เอนไซม์นั้นจะถูกสร้างขึ้นเมื่อมีส่วนประกอบของอาหารที่จำเพาะกับเอนไซม์ แล้วเอนไซม์ส่วนมากไม่จำเป็นต้องมีเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการย่อยแป้งอยู่ แต่ถ้ามีการลำเลียงอาหารที่ในการย่อยแป้งอยู่ แต่ถ้ามีการลำเลียงอาหารที่ประกอบด้วยแป้งจึงจะมีการสร้างเอนไซม์ขึ้นมาเพื่อทำการย่อยแป้งนั้น (Moor-Landecker, 1996 อ้างโดย วิไลลักษณ์, 2549)

1.6 ธาตุอาหารที่จำเป็นสำหรับเชื้อรา

เชื้อราส่วนมากสามารถเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีส่วนประกอบจากธรรมชาติ เช่น อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (น้ำสกัดจากมันฝรั่งต้ม และน้ำตาลกลูโคส 2%), MEA (ประกอบด้วย Malt extract 2%) และ CMA ซึ่งอาหารเลี้ยงเชื้อต่างๆ เหล่านี้ใช้สำหรับการศึกษาเพื่อดูพัฒนาการของเชื้อรา นอกจากนี้อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้สำหรับการเจริญของเชื้อรานั้นควรเป็นกรด pH 5-6 และมี

ส่วนประกอบที่เป็นสารอินทรีย์จำพวกไนโตรเจนมาก อย่างไรก็ตามในการเจริญของเชื้อราบางชนิดอาจต้องการปริมาณธาตุอาหารน้อย แต่เชื้อราส่วนใหญ่ก็สามารถเจริญในอาหารเหลวที่มีเกลือและกลูโคสน้อยได้ แต่เชื้อราบางชนิดต้องการวิตามิน 1 ชนิดหรือมากกว่าในการเจริญ เช่น Thiamine หรือ Biotin หรือทั้ง 2 ชนิด นอกจากนี้ฟังไจบางชนิดก็ไม่สามารถใช้ไนเตรต (Nitrate) หรือแอมโมเนียม (Ammonium) เป็นแหล่งไนโตรเจนได้ แต่ฟังไจบางชนิดก็ต้องการสารพวกสเตอร์รอยด์สำหรับการเจริญ เช่น *Phytophythora infestans* หรือ *Laptomitis lacteus* ซึ่งต้องการซัลเฟอร์ (Sulfur) สำหรับเป็นส่วนประกอบของกรดอะมิโน เช่น Cysteine ได้ (วิไลลักษณ์, 2549)

1.7 ลักษณะทั่วไปของเชื้อราที่ใช้ในการศึกษาและวิจัย

1) *Rhizopus oryzae*

จัดอยู่ใน Division Mycota, Subdivision Zygomycotina, Class Zygomycete, Order Mucorales, Family Mucorceae, Genus *Rhizopus* (Bagyaraj and Arpana, 2006) เชื้อราใน Genus *Rhizopus* จะมีโคโลนีที่เจริญได้อย่างรวดเร็ว มีสโตลอน มีรงควัตถุที่ไรซอยด์และสปอร์แรงจิโอฟอร์ สปอร์แรงจิโอฟอร์มีลักษณะเดี่ยวๆ หรือเป็นกลุ่ม โดยส่วนใหญ่ไม่แตกแขนง ภายในสปอร์แรงเจียมีสปอร์ที่มีขนาดใหญ่มาก เมื่อมีอายุยังน้อยมีสีขาว เมื่อแก่เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอมดำ คอลัมเมลามีสีน้ำตาล รูปร่างกลมหรือครึ่งวงกลมและมีอะโปไฟซีส สปอร์มีรูปร่างแบบรูปไข่กลมสั้นๆ มุมไม่สม่ำเสมอ มักมีร่องเล็กๆ บนผิวสปอร์ (บางครั้งไม่มีร่อง หากพบสปอร์ในน้ำ)

เชื้อรา Species *R. oryzae* ช่วงแรกโคโลนีมีสีขาว ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีเทาอมน้ำตาล เมื่อมีอายุมากขึ้น มีความสูงถึง 10 มิลลิเมตร มีสโตนลอนผนังเรียบหรือขรุขระเล็กน้อย เกือบไม่มีสี ถึงสีน้ำตาลอมเหลือง มีไรซอยด์สีน้ำตาลที่ตำแหน่งตรงกับบริเวณที่สร้างสปอร์แรงจิโอฟอร์ หรือพบสปอร์แรงจิโอฟอร์สร้างขึ้นโดยตรงจากสโตลลอนบริเวณไม่มีไรซอยด์ สปอร์แรงจิโอฟอร์มีลักษณะเดียวๆ หรือเป็นกลุ่มๆ ละ 5 อัน บางครั้งมีลักษณะคล้ายส้อมหรือง่าม ผนังเรียบ มีความยาวถึง 150-2,000 ไมครอน และมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 6-14 ไมครอน สปอร์แรงจิโอเจียมีรูปร่างกลมหรือค่อนข้างกลมและผนังมีหนามแหลม เมื่ออายุมากขึ้นมีสีน้ำตาลเข้มจนถึงสีน้ำตาลอมดำ มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 50-200 ไมครอน คอลัมเมลามีรูปร่างกลมหรือรูปไข่ มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 30-120 ไมครอน ผนังเรียบหรือขรุขระเล็กน้อย

สปอร์แรงจิโอสปอร์มีรูปร่างกลม รูปไข่ หรือรูปร่างไม่แน่นอน มักพบรูปร่างมีหลายเหลี่ยม ผนังมีร่องเล็กๆ คลาไมโดสปอร์มีรูปร่างกลม มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10-35 ไมครอน และยังพบรูปร่างรีหรือทรงกระบอก มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8-13 × 16-24 ไมครอน

อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโต คือ 30-35 องศาเซลเซียส อุณหภูมิต่ำสุดที่เจริญเติบโตได้ คือ 5-7 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิสูงสุดที่เจริญเติบโตได้ คือ 44 (ถึง 49) องศาเซลเซียส (เสาวนิตย์, 2550)

2) *Aspergillus oryzae*

จัดอยู่ใน Division Mycota, Subdivision Deuteromycotina, Class Hyphomycetes, Order Mucorales, Family Mucoraceae, Genus *Aspergillus* เชื้อราใน Genns *Asper* จะมีโคโลนีที่เจริญอย่างรวดเร็ว ซึ่งส่วนใหญ่ประกอบด้วยกลุ่มโคนิดิโอฟอร์ที่ชูตั้งตรง โคนิดิโอฟอร์ไม่มีผนังกั้น ไม่แตกแขนงและโป่งพองที่ปลายเรียกว่าเวสซิเคิล (Vesicle) เฟียไลด์กำเนิดขึ้นโดยตรงจากเวสซิเคิล (Unisertate) หรืออาจกำเนิดบนเมตูเล (Biserate) โดยโครงสร้างทั้งหมดที่ประกอบด้วยเวสซิเคิลเฟียไลด์ เมตูลา (ถ้ามี) และโคนิเดีย รวมเรียกว่า หัวโคนิเดีย (Conidia head) โคนิเดียเป็นชนิดแห้งต่อยาวเป็นสายโซ่อัดกันแน่นอยู่ในลักษณะลำ หรือคอลัมน์ เรียกว่า คอลัมนา (Columnar) หรือสายโซ่ของโคนิเดียมีการกระจายเรียงตัวในแนวรัศมี เรียกว่า เรดิเอท (Radiate) โคนิเดียเป็นเซลล์เดี่ยวผิวเรียบหรือไม่เรียบมีการประดับประดา (Ornamented) ใสไม่มีสีหรือมีรงควัตถุ บางสปีชีส์สร้างเซลล์พิเศษที่มีลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยวหรือสายโซ่ ผนังหนาและผิวเรียบ เรียกว่า ฮูลลีเซลล์ หรือสร้างเคลอโรเตีย (Sclerotia) ซึ่งเกิดจากการรวมตัวของกลุ่มเส้นใยและอัดแน่นหนาและแข็ง โดยปกติมีรูปร่างกลม

Aspergillus เปนราที่ปนเปื้อนทั่วไปบนวัสดุต่างๆ ในเขตกึ่งร้อนและเขตร้อนพบราจีนัสนี้มากกว่า *Peniceillium* ซึ่งบางสปีชีส์ก่อให้เกิดโรคกับคนและสัตว์ได้ เนื่องจากสามารถผลิตสารพิษได้ บางสปีชีส์มีความสำคัญในการทำอาหารหมักของชาวตะวันออก หรือบางชนิดใช้ผลิตกรดอินทรีย์หรือเอนไซม์ในระดับอุตสาหกรรม

เชื้อรา Species *A. oryzae* มักพบในผลิตภัณฑ์อาหารหมัก หรือในบริเวณโรงงานอาหารหมัก เมื่อเลี้ยงบนอาหาร Czapek agar จะมีโคโลนีบนอาหารขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4-5 เซนติเมตร เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน ประกอบด้วยโคนิดิโอฟอร์ที่ยาว และมักปนอยู่กับเส้นใยอากาศ หัวโคนิเดียมีลักษณะแบบเรดิเอท มีสีเหลืองเขียวอ่อน ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลสว่างจนถึงน้ำตาลมัวๆ โคนิดิโอฟอร์ใสไม่มีสี มีความยาวถึง 4-5 มิลลิเมตร ส่วนใหญ่ผนังขรุขระ เวสซิเคิลมีรูปร่างค่อนข้างกลม มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 40-80 ไมครอน เฟียไลด์มักเกิดขึ้นโดยตรงจากเวสซิเคิล หรือเมตูเล มีขนาด 3-5 × 10-15 ไมครอน เมตูเลมีขนาด 4-5 × 8-12 ไมครอน โคนิเดียเป็นรูปไข่กลมในขณะที่ยังอ่อน เมื่อแก่มีรูปร่างกลมถึงค่อนข้างกลม มีขนาดเสนผ่านศูนย์กลาง 4.5-8 ไมครอน สีเขียว ผนังเรียบถึงขรุขระเล็กน้อย โคโลนีบนอาหาร MEA เจริญได้

รวดเร็วกว่า ส่วนบนอาหาร Czapek agar ค่อนข้างบางกว่า และเจริญได้น้อยบนอาหาร CREA ด้านใต้โคโลนีบนอาหาร AFPA มีสีครีม (เสาวนิตย์, 2550)

2. ยีสต์ (Yeast)

ยีสต์เป็นจุลินทรีย์ยูคาริโอต (Eukaryotic microorganisms) เช่นเดียวกับเชื้อรา เซลล์ปกติมักเป็นเซลล์เดียว (Unicellular fungi) มีรูปร่างหลายแบบ เช่น รูปร่างกลม ทรงรี สามเหลี่ยม รูปร่างคล้ายผลมะนาวแถบประเทศตะวันตก (Lemon) หรือรูปร่างยาว เป็นต้น ยีสต์จะมีการสืบพันธ์ทั้งแบบไม่อาศัยเพศโดยวิธีแตกหน่อ (Budding) หรือแบบอาศัยเพศโดยวิธีการสร้างสปอร์ชนิดแอสโคสปอร์ (Ascospore) หรือแบสิดิโอสปอร์ (Basidiospore) ยีสต์ส่วนใหญ่จะมีการใช้สารอินทรีย์ (Organic) เป็นแหล่งพลังงานและแหล่งคาร์บอน มนุษย์รู้จักนำยีสต์มาใช้ประโยชน์ในแง่ของกระบวนการหมัก (Fermentation) โดยเซลล์ยีสต์จะมีการเจริญเติบโตและแพร่ขยายจำนวนภายใต้สภาวะต่างๆ เช่น อาหาร อุณหภูมิ และปัจจัยแวดล้อมในกระบวนการหมักที่เหมาะสมด้วยการเปลี่ยนแปลงน้ำตาล (สารอินทรีย์ที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอน) เป็นคาร์บอนไดออกไซด์และแอลกอฮอล์ เซลล์ยีสต์สามารถพบได้มากมายตามธรรมชาติ เช่น ในน้ำ ดิน พืช หรือแม้กระทั่งในอากาศ นอกจากนี้ ยังพบว่ายีสต์บางชนิดจะอยู่รวมกับแมลง หรือในกระเพาะของสัตว์บางชนิด แหล่งที่มักจะพบเชื้อยีสต์เจริญปะปนอยู่บ่อยๆ คือ แหล่งที่มีปริมาณความเข้มข้นของน้ำตาลสูงๆ เช่น น้ำผลไม้ น้ำผึ้ง และผลไม้ที่มีรสหวาน นอกจากนี้ ยังสามารถพบยีสต์เจริญได้ในเมล็ดธัญญาพืช หญ้าฟาง หรือแม้กระทั่งอาหารสัตว์ การปนเปื้อนของยีสต์ในอาหารเหล่านี้อาจก่อให้เกิดเป็นสาเหตุของการเน่าเสียของอาหารอีกด้วย แต่อย่างไรก็ตาม มียีสต์หลายสายพันธุ์ที่ได้ทำการพิสูจน์และศึกษาค้นคว้าวิจัยว่ามีประโยชน์ต่อมนุษย์ และมีการนำมาใช้ในระดับอุตสาหกรรมอาหารหลายๆ อย่างมานานแล้ว

2.1 สัณฐานวิทยาของเชื้อยีสต์

เซลล์ยีสต์จะมีลักษณะเป็นเซลล์เดียว ซึ่งมีรูปร่างเป็นไข่ค่อนข้างกลม ไม่มีสี ทั้งนี้หากอายุของเซลล์ยีสต์ยังไม่มากจะพบเซลล์ที่กำลังแตกหน่อ โดยจะมีความกว้างของเซลล์ประมาณ 2.5-10.5 ไมครอน ซึ่งเซลล์ยีสต์ 1 เซลล์ จะมีปริมาตรประมาณ 40 ลูกบาศก์ไมครอน และมีน้ำหนักแห้งประมาณ 1×10^{-10} กรัม โดยเฉลี่ย อย่างไรก็ตาม ขนาดเซลล์ยีสต์ขึ้นกับการเจริญเติบโต โดยทั่วไปสามารถแบ่งส่วนประกอบของเซลล์ยีสต์ออกได้เป็นสองส่วนหลักๆ ได้แก่ ส่วนของผนังเซลล์ที่ทำหน้าที่ห่อหุ้มและเป็นโครงสร้างเซลล์ กับส่วนที่เป็นของเหลวภายในเซลล์ คือ นิวเคลียส

และไซโตพลาสซึมที่ประกอบด้วยโปรตีน ไขมัน วิตามิน แร่ธาตุ ชนิดต่างๆ และกรดนิวคลีอิคเป็นองค์ประกอบ

ผนังเซลล์ของยีสต์ (Yeast cell wall) สามารถแบ่งย่อยได้เป็นสองส่วนหลักๆ ได้แก่ ผนังเซลล์ (Cell wall) และเซลล์เมมเบรน (Cell membrane) ผนังเซลล์มีโครงสร้างเป็นตาข่าย (Sieve like structure) ของสารพอลิแซคคาไรด์ ได้แก่ กลูแคน (Glucan) แมนแนน (Mannan) และไคติน (Chitin) และอาจพบสารพวกพอลิแซคคาไรด์จับอยู่กับสารประกอบอื่นๆ เช่น ไขมัน และโปรตีน ซึ่งจะอยู่ในรูปสารประกอบไกลโคโปรตีน (Glycoprotein) และไลโปพอลิแซคคาร์ไรด์ (Lipopolysaccharide) ส่วนเซลล์เมมเบรนเป็นส่วนที่ล้อมรอบเซลล์ยีสต์โดยอยู่ถัดจากผนังเซลล์ชั้นนอกเข้ามา มีหน้าที่หลัก คือ ช่วยรักษาสมดุลของเซลล์ยีสต์ (Osmotic structure) นอกจากนี้ ยังทำหน้าที่เป็นเยื่อเลือกผ่าน (Semipermeable membrane) และป้องกันผิวหน้าของเซลล์ (สำนักงานนวัตกรรมแห่งชาติ กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 2549)

ส่วนใหญ่ยีสต์จะสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ โดยการแตกหน่อ ซึ่งการแตกหน่ออาจจะเกิดขึ้นได้ที่ทุกส่วนของเซลล์ เรียกว่า Mutipolar (Multilateral) budding ยีสต์ที่มีการแตกหน่อแบบนี้ เช่น *Saccharomyces*, *Pichia* และ *Hansenula* หรือเกิดได้เฉพาะที่ขั้วของเซลล์เท่านั้น (Polar budding) ซึ่งมีสองแบบ คือ Monopolar (Unipolar) budding เกิดเฉพาะปลายด้านเดียวและเกิดซ้ำๆ กันที่ปลายด้านหนึ่ง ยีสต์ที่พบมีการแตกหน่อแบบนี้ เช่น *Pityrosporum* และ Biopolar budding เป็นการแตกหน่อที่เกิดขึ้นที่ปลายทั้งสองข้างของเซลล์ยีสต์ที่มีการแตกหน่อแบบนี้ เช่น Kloeckera และ *Saccharomycodes* กระบวนการเกิดขึ้นโดยโปรโทพลาสซึมจะดันผนังเซลล์ให้โป่งออกไปกลายเป็นหน่อซึ่งจะมีขนาดใหญ่ขึ้นเรื่อยๆ จนมีขนาดเท่าเซลล์แม่ ในยีสต์บางชนิด เช่น ฟิล์มยีส หน่อจะมีลักษณะคล้ายท่อยื่นออกมาจากเซลล์แม่ มีการเพิ่มจำนวนนิวเคลียสแล้วแบ่งกันในเซลล์แม่และลูก มียีสต์ไม่กี่สปีชีส์ที่สืบพันธุ์โดยวิธีฟิชชัน (Fission) และวิธีฟิชชันผสมกับการแตกหน่อ (Bub fission) (Walker, 1999 อ้างโดย วิไลลักษณ์, 2549)

ยีสต์แท้ (True yeasts, Ascomycotina) จะมีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ โดยสร้างแอสโคสปอร์ เซลล์ของยีสต์เปรียบเสมือนแอสคัส การเกิดแอสโคสปอร์ของยีสต์แท้ส่วนใหญ่จะเกิดขึ้นภายหลังการเกิดคอนจูเกต (Conjugation) ของเซลล์ 2 เซลล์ แต่ในยีสต์บางชนิดอาจเกิดแอสโคสปอร์ได้โดยไม่ต้องมีการคอนจูเกต หลังจากนี้ก็จะมีการคอนจูเกตของแอสโคสปอร์ จำนวนของแอสโคสปอร์ในแอลคัสและลักษณะของแอสโคสปอร์จะเป็นตัวบอกชนิดของยีสต์ สีผิว และรูปร่างของแอสโคสปอร์จะแตกต่างกันไปแล้วแต่ชนิดของยีสต์ ส่วนยีสต์เทียม (False yeasts) เป็นยีสต์ที่ไม่สร้างแอสโคสปอร์ หรือไม่มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ จัดเป็นพวกฟังไจไม่สมบูรณ์ ยีสต์พวกนี้มักจะสร้างคลาไมโดสปอร์ (สุมาลี, 2541)

2.2 ลักษณะการเจริญของเชื้อยีสต์

โคโลนีของยีสต์ที่เจริญบนอาหาร หากเป็นโคโลนีอายุน้อยจะชื้นมากหรือเป็นเมือก ส่วนใหญ่จะมีสีขาว ครีมและชมพู บางโคโลนีเมื่อมีอายุมากขึ้นจะมีการเปลี่ยนแปลงไปเล็กน้อย ในขณะที่บางโคโลนีจะเริ่มแห้งและย่น

ยีสต์เป็นทั้งพวกออกซิเดทีฟ และเฟอร์เมนเททีฟ หรือทั้ง 2 อย่าง พวกออกซิเดทีฟจะเจริญอยู่เฉพาะที่ผิวของอาหารเหลวจึงเรียกว่าฟิล์มยีสต์ แต่พวกเฟอร์เมนเททีฟจะเจริญอยู่ในทุกส่วนของอาหาร (สุมาลี, 2541) ลักษณะการเจริญที่ปรากฏเป็นการยากที่จะแยกโคโลนีของยีสต์ออกจากแบคทีเรียที่อยู่บนอาหารเลี้ยงเชื้อ เพราะมีลักษณะใกล้เคียงกันมาก วิธีที่แน่นอน คือ การใช้กล้องจุลทรรศน์ดูลักษณะเซลล์ว่าเป็นยีสต์หรือแบคทีเรีย

ในการตรวจสอบรูปร่างของเซลล์ยีสต์สามารถทำได้จากการศึกษาเซลล์ยีสต์ที่เจริญในอาหารเหลว ซึ่งการศึกษาสัณฐานวิทยาของเซลล์ในอาหารเหลวส่วนใหญ่นิยมใช้อาหาร YM, YPD broth หรือ Malt extract broth ตรวจผลโดยพิจารณารูปร่างของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และลักษณะการเจริญเติบโตของเซลล์ยีสต์ โดยพิจารณาว่าการเจริญในอาหารเหลวมีลักษณะการเจริญที่ผิวหน้าของอาหารเหลวว่าเป็นแบบใด การตรวจสอบสัณฐานวิทยาของโคโลนีที่เจริญบนอาหารแข็งเป็นอีกคุณสมบัติหนึ่งที่ใช้ในการพิสูจน์เพื่อระบุชื่อยีสต์ อาหารทดสอบที่ใช้ส่วนใหญ่จะใช้ YM agar, YPD agar,Malt extract agar และ Morphology agar โดยศึกษาสัณฐานวิทยาของโคโลนี เช่น ลักษณะเนื้อโคโลนี (Colony texture) สีของโคโลนี (Colony color) ผิวหน้าโคโลนี (Colony surface) ความนูนของโคโลนี (Colony elevation) และขอบของโคโลนี (Colony margin) (ธวัชชัย, 2549)

2.3 สรีรวิทยาและอาหารของเชื้อยีสต์

ยีสต์ทั่วๆ ไปจะเจริญได้ดีในที่มีความชื้นเพียงพอแต่เนื่องจากยีสต์หลายชนิดสามารถเจริญได้ในอาหารที่มีความเข้มข้นของตัวถูกละลายสูงได้มากกว่าแบคทีเรีย ซึ่งอาจสรุปได้ว่ายีสต์มีความต้องการความชื้นน้อยกว่าแบคทีเรียส่วนใหญ่ แต่อย่างไรก็ตามยีสต์ต้องการความชื้นมากกว่ารา สามารถจำแนกยีสต์ได้เป็น 2 พวกตามความต้องการความชื้นของยีสต์ ได้แก่ พวกยีสต์ทั่วไปกับพวกออสโมฟีลิก (Osmophilic yeast) พวกยีสต์ทั่วไปต้องการความชื้นสูง พบว่ามี a_w ขั้นต่ำอยู่ระหว่าง 0.88 ถึง 0.94 เช่น ยีสต์ที่ใช้ในการผลิตเบียร์ (Beer yeast) ยีสต์จากนมข้นหวาน และยีสต์ที่ใช้ในการทำเบเกอรี (Baker's yeast) จะต้องการ a_w ขั้นต่ำ 0.94, 0.90 และ 0.905 ตามมลำดับ ในขณะที่ออสโมฟีลิกยีสต์เจริญอย่างช้าๆ ในน้ำเชื่อมที่มีค่า a_w 0.78 ยีสต์แต่ละชนิดจะมี a_w

เหมาะสมเฉพาะตัว และค่า a_w ที่ยีสต์เจริญได้อาจเปลี่ยนแปลงไปตามสภาพแวดล้อม เช่น พีเอช ชนิดของอาหาร อุณหภูมิ ปริมาณออกซิเจน และสารยับยั้งการเจริญ

ยีสต์เจริญในช่วงอุณหภูมิเดียวกันกับรา ช่วงที่เหมาะสมอยู่ที่ 25-35 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิขั้นสูงที่เจริญได้ คือ 35-47 องศาเซลเซียส หรือต่ำกว่า ยีสต์เจริญได้ดีที่พีเอช 4-4.5 และเจริญได้ไม่ดีในอาหารที่เป็นด่าง การเจริญในสภาวะที่มีออกซิเจนจะเป็นไปได้ดีมาก ในขณะที่พวกเฟอร์เมนเททีฟจะเจริญช้า ๆ ในสภาวะที่ไร้ออกซิเจน

ตามปกตินำ้ตาลเป็นแหล่งพลังงานที่ดีที่สุดของยีสต์ (แม้ว่าพวกออกซิเดทีฟ เช่น ฟิล์มยีสต์จะออกซิไดซ์กรดอินทรีย์และแอลกอฮอล์ได้พลังงานออกมาใช้) คาร์บอนไดออกไซด์ที่ทำให้ขนมปังฟูและนุ่มเป็นผลผลิตจากยีสต์ขนมปัง และแอลกอฮอล์ในอุตสาหกรรมเหล้าไวน์ เบียร์ แอลกอฮอล์ ก็ได้จากกิจกรรมของเฟอร์เมนเททีฟยีสต์ นอกจากนี้ยีสต์ยังช่วยทำให้กลิ่นและรสของไวน์ดีขึ้นด้วย

ยีสต์ใช้อาหารที่มีไนโตรเจนเป็นแหล่งของไนโตรเจนได้หลายอย่าง เช่น แอมโมเนีย ยูเรีย กรดอะมิโน จนถึงโพลีเปปไทด์ นอกจากนี้ยีสต์ยังต้องการสารช่วยในการเจริญบางอย่างด้วย (สุมาลี, 2541) ยีสต์หลายชนิดสามารถใช้สารแตกต่างกัน เช่น อาจใช้เพนโตส (Pentose) บางชนิดอาจใช้พอลิแซ็กคาไรด์ (สตาร์ช) นำ้ตาลแอลกอฮอล์ (แมนนิทอล, ซอร์บิทอล) กรดอินทรีย์ (กรดแล็กติก, กรดแอซีติก, กรดซิตริก, และกรดอื่นๆ)

ยีสต์ต้องการกำมะถันในรูปของซัลเฟต แต่บางชนิดต้องการกำมะถันอินทรีย์ เช่น ซีสตีอิน (Cysteine) หรือ เมไทโอนีน (Methionine) แร่ธาตุต่าง ๆ ที่ยีสต์ต้องการ เช่น โพแทสเซียม โซเดียม แคลเซียม แมกนีเซียม และแร่ธาตุที่ต้องการน้อยมากแต่ขาดไม่ได้ เช่น โบรอน ทองแดง สังกะสี เหล็ก ไอโอดีน โมลิบดีนัม แมงกานีส เพื่อการเติบโตที่ดี

ยีสต์ โดยเฉพาะพวกยีสต์แท้อาจมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสรีรวิทยาได้ โดยวิธีการสืบพันธุ์แบบใช้เพศซึ่งนำไปสู่การผ่าเหล่า ยีสต์อาจสามารถพัฒนาตัวเองให้สามารถเจริญในอาหารบางอย่างได้ สปีชีส์ที่มีการนำไปใช้ประโยชน์มากที่สุดเพราะมีลักษณะทางสรีรวิทยาแตกต่างกันมาก ได้แก่ *Saccharomyces cerevisiae* ซึ่งจำแนกได้หลายสายพันธุ์ เช่น สายพันธุ์ที่ใช้ในการทำขนมปัง สายพันธุ์ที่ใช้ในการผลิตเบียร์ เป็นต้น (สุมาลี, 2541)

อาหารเลี้ยงยีสต์ในห้องปฏิบัติการนั้นอาจใช้วุ้นอาหารมอลต์ (Malt agar) ซึ่งใช้ในการแยกเฉพาะยีสต์ หรืออาจใช้อาหารของวิกเกอร์แฮม (Wicker's medium) ก็ได้ หรืออาจใช้อาหารจากแหล่งธรรมชาติ เช่น ผลไม้และผักเพื่อเลี้ยงยีสต์ก็ได้ อาหารบางชนิดช่วยให้ยีสต์สร้างสปอร์ได้ดีขึ้น เช่น อาหารสร้างสปอร์ (Sporulation medium) เป็นต้น

2.4 การเจริญและการแบ่งเซลล์ของเชื้อยีสต์

การเจริญของเชื้อยีสต์เกิดขึ้นโดยการเพิ่มขนาด เมื่อขนาดเพิ่มจนถึงจุดหนึ่งเซลล์จะมีการแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวน ในระหว่างที่มีการแบ่งเซลล์ นิวเคลียสจะมีการแบ่งแบบไมโตซิส (Mitosis) และการสังเคราะห์ไซโตพลาสซึมก็เกิดขึ้น สำหรับการแบ่งเซลล์ของยีสต์ที่เป็นการเพิ่มจำนวนแบบไม่อาศัยเพศนั้น พบว่ายีสต์ส่วนใหญ่มักมีการแตกหน่อ (Budding) พบจำนวนน้อยที่จะเกิดจากการแบ้งเซลล์จากหนึ่งเป็นสองโดยวิธีฟิชชัน (Fission) และมีบางพวกที่เพิ่มจำนวนโดยวิธีอื่นๆ เช่น การสร้างคอนิเดีย (Conidia) ปกติการเพิ่มจำนวนจะเกิดในสภาวะที่เหมาะสมเท่านั้นในกรณีของเชื้อ *S. cerevisiae* ถ้าเชื้อเจริญอยู่ในอาหารเพียงพอก็จะเพิ่มจำนวนได้เป็นสองเท่าภายในเวลาสั้นๆ แต่ถ้าอาหารหมดลงยีสต์นั้นจะเข้าสู่ระยะที่ไม่มีการแตกหน่อ (Unbudded phase) แต่เซลล์ยังคงมีชีวิตอยู่ และเมื่อกลับมามีอาหารขึ้นอีก เซลล์จะสามารถเจริญได้ต่อไป (สาวิตรี, 2539)

วงจรเซลล์ของ *S. cerevisiae* จะเกิดขึ้นได้เมื่อเซลล์นั้นเจริญถึงขนาดที่เรียกว่า ขนาดวิกฤต (Critial size) อัตราการเพิ่มมวลเซลล์จะเป็นตัวกำหนดการเข้าถึงสัญญาณเริ่มต้น ซึ่งเป็นสัญญาณที่จำเป็นต่อการโผล่ออกมาของหน่อ การสังเคราะห์ DNA และการเข้าวงจรเซลล์ระยะเวลาที่ใช้ในการเพิ่มมวลเซลล์จนถึงขนาดวิกฤตนั้นขึ้นอยู่กับธาตุอาหาร ก่อนที่เซลล์จะเริ่มมีสัญญาณเริ่มต้น ข้อมูลเกี่ยวกับสภาวะของอาหารเลี้ยงเชื้อ และ เมตาบอลิกสเตท (Metabolic state) ของเซลล์จะถูกวิเคราะห์โดยกลไกการควบคุมหลายอย่าง ซึ่งกลไกเหล่านี้เป็นวิธีการที่เซลล์จะจำกัดการเพิ่มมวลของเซลล์ เมื่อเซลล์เข้าสู่วงจรเซลล์สัญญาณเริ่มต้นก็จะเริ่มขึ้นโดยจะเกิดควบคู่ไปกับการเพิ่มจำนวนของสปินเดิลโพลบอดี้ (Spindle pole body) หรือ สปินเดิลพลัค (Spindle plaque) ซึ่งเป็นโครงสร้างที่มีรูปร่างคล้ายจานฝังตัวอยู่ในเยื่อหุ้มนิวเคลียส จากนั้นจะเกิดหน่อบริเวณสปินเดิลพลัคนี้ เมื่อมีการเพิ่มจำนวนสปินเดิลพลัคเป็นสองและแยกจากกัน กลุ่มของไมโครทิวบูล (Microtubule) หรือสปินเดิลที่เกิดจากพลัค จะขยายผ่านไซโตพลาสซึมไปยังผนังเซลล์ที่มีวงแหวนไคตินอยู่ นอกจากนี้ยังมีไมโครทิวบูล หรือสปินเดิลที่ยื่นผ่านเข้าไปในนิวเคลียสจนในที่สุดก็มีการเชื่อมกันระหว่างไมโครทิวบูลจากพลัคทั้งสองเป็น อินทรานิวเคลียร์ไมโครทิวบูล (Intranuclear microtubule) สั้นๆ ซึ่งจะสร้างอย่างรวดเร็วในช่วงต้นของวงจรเซลล์ จากนั้นเมื่อเซลล์เกิดการยืดยาวออกก็จะมีการเคลื่อนที่ไปยังบริเวณระหว่างเซลล์แม่กับหน่อแล้ว ไมโครทิวบูลจะยืดยาวออกและเกิดการแบ่งนิวเคลียส เมื่อผนังกั้นระหว่างเซลล์เกิดขึ้นนั้นเยื่อหุ้มนิวเคลียสก็จะถูกแบ่งออกเป็นสอง แล้วเกิดการแยกเซลล์ทั้งสองออกอย่างรวดเร็ว และวงแหวนไคตินจะถูกทิ้งไว้บนรอยแผลที่เกิดจากการแตกหน่อที่เซลล์แม่ (สาวิตรี, 2539)

2.5 การขนส่งธาตุอาหารเข้าสู่เซลล์ของเชื้อยีสต์

1) การขนส่งน้ำตาล (Sugar transport)

ยีสต์สามารถนำน้ำตาลโมโลกุลเดี่ยวไปใช้ประโยชน์ได้โดยเริ่มจากน้ำตาลจะผ่านเยื่อหุ้มเซลล์เข้าไปภายในเซลล์ หรือโดยการย่อยสลายน้ำตาลภายนอกเยื่อหุ้มเซลล์ก่อน แล้วผลผลิตที่ได้จึงผ่านเข้าสู่เซลล์ภายหลัง ซึ่งเชื้อ *S. cerevisiae* มีความสามารถในการนำน้ำตาลเฮกโซสหลายชนิดเข้าสู่เซลล์โดยวิธี Carrier mediated diffusion system ได้แก่น้ำตาลกลูโคส แมนโนส และฟรุคโตส โดยมีระบบการขนส่งแบบคอนสติติวทีฟ (Constitutive) ซึ่งจะมีเอนไซม์ Constitutive permease เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ส่วนระบบการขนส่งน้ำตาลกาแลกโตสและน้ำตาลมอลโทสเป็นแบบอินดิวซิเบิล (Inducible) แล้วการขนส่งน้ำตาลซูโครสจะเกิดขึ้นโดยที่น้ำตาลซูโครสจะถูกย่อยสลายภายในเซลล์ก่อน ด้วยเอนไซม์อินเวอร์เตสที่อยู่ภายนอกเซลล์ได้เป็นกลูโคสและฟรุคโตส จึงจะสามารถผ่านเข้าสู่เซลล์ได้ การสังเคราะห์เอนไซม์อินเวอร์เตสไม่ได้ถูกเหนี่ยวนำโดยสับสเตรท เช่น น้ำตาลซูโครส หรือราฟฟิโนส แต่จะถูกควบคุมโดยความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสภายในเซลล์

2) การขนส่งกรดอะมิโนและเปปไทด์ (Amino acid and peptide transport)

การขนส่งกรดอะมิโนเข้าสู่เซลล์ยีสต์สายพันธุ์ *S. cerevisiae* จะมีกลไกในการขนส่ง 2 แบบ คือ อะมิโนแอซิดเปอร์มีเอส (Amino acid permease ; GAP) ซึ่งใช้สสำหรับการส่งกรดอะมิโนที่มีฤทธิ์เป็นด่างและกรดอะมิโนที่มีฤทธิ์เป็นกลางทุกชนิด ยกเว้นโปรลีนและระบบการขนส่งที่จำเพาะซึ่งมีถึง 11 ระบบ โดยที่แต่ละระบบจะจำเพาะกับกรดอะมิโนเพียง 1 ชนิด หรือ 2-3 ชนิด ส่วนการขนส่งเปปไทด์จะเป็นแบบ Non-inducible ซึ่งในการขนส่งมีระบบการขนส่งเพียงระบบเดียวที่ใช้ร่วมกัน และแอมโมเนียทำให้เกิดการคาตาบอไลต์รีเพรสชั่น (Catabolite repression) ต่อเอนไซม์ที่ใช้ในระบบ ดังนั้นถ้ามีแอมโมเนียจะไม่มีการขนส่งเปปไทด์

2.6 ธาตุอาหารที่จำเป็นสำหรับเชื้อยีสต์

1) แหล่งคาร์บอนและพลังงาน

ยีสต์ทุกชนิดสามารถใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานได้ นอกจากนี้ยีสต์บางชนิดก็ยังสามารถใช้น้ำตาลเฮกโซสชนิดอื่นๆ เช่น แมนโนส กาแลคโตส และราฟฟิโนสได้เช่นกัน จึงทำให้ความสามารถในการใช้น้ำตาลเป็นลักษณะหนึ่งที่มีความสำคัญในการจัดหมวดหมู่ของยีสต์ ส่วนน้ำตาลเพนโตสมียีสต์บางชนิดเท่านั้นที่สามารถใช้ประโยชน์ได้ เนื่องจากน้ำตาลเพนโตสโดยเฉพาะ D-xylose เป็นน้ำตาลที่พบมากในเฮมิเซลลูโลสซึ่งพบได้ในพืช

ส่วนน้ำตาลโมเลกุลคู่นั้นมีหลายชนิดที่ยีสต์บางชนิดสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ เช่น น้ำตาลซูโครส, แลคโตส และเซลโลไบโอล เป็นต้น สำหรับพวกสารโพลีแซคคาไรด์ พบว่ามียีสต์สามารถใช้ประโยชน์ได้ โดยสามารถเปลี่ยนแป้งเป็นเอธานอลได้ แต่การใช้แป้งนี้เกิดไม่สมบรูณ์ เพราะไม่มีเอนไซม์ที่ทำหน้าที่เร่งการย่อยสลายตรงส่วนที่เป็นแขนงของแป้งได้

ยีตส์มีความสามารถในการหมักคาร์โบไฮเดรต ซึ่งมีความแตกต่างกันขึ้นกับสปีชีส์ของยีสต์ โดยทั่วไปยีสต์ที่มีความสามารถในการหมักกลูโคส อาจมีความสามารถในการหมักคาร์โบไฮเตตรชนิดอื่นๆ ได้ด้วย ทั้งนี้ขึ้นกับสปีชีส์ของยีสต์ แต่ถ้ายีสต์ใดขาดความสามารถในการหมักกลูโคส มักจะขาดความสามารถในการหมักคาร์โบไฮเดรตชนิดอื่นเช่นเดียวกัน (ธวัชชัย, 2549)

2) แหล่งไนโตรเจน

ได้แก่ สารอนินทรีย์ไนโตรเจน (Inorganic nitrogen) เช่น แอมโมเนีย คือสารที่ยีสต์ทุกชนิดสามารถใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนได้ แต่ยีสต์บางชนิดสามารถใช้ไนเตรตได้ ในขณะที่ยีสต์บางชนิดไม่สามารถใช้ไนเตรตได้ เช่น *Debaryomyces*, *Pichia*, *Saccharomyces* และ *Candida* บางสายพันธุ์ โดยปกติยีสต์ชนิดใดที่ใช้ไนเตรตได้ก็จะสามารถใช้ไนดตรท์ได้ด้วยเสมอ นอกจากนี้ยีสต์ยังสามารถใช้สารอินทรีย์ไนโตรเจนเป็นแหล่งไนโตรเจนได้ เช่น กรดอะมิโน เปปไทด์ โปรตีน และเอมีนเป็นต้น โดยที่กรดอะมิโนมีใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อนั้น จะอยู่ในรูปของกรดอะมิโนหลายๆ ชนิดผสมกันเพื่อเพียงพอต่อความต้องการของเชื้อยีสต์ มียีสต์น้อยชนิดมากที่สามารถย่อยสลายโปรีตีนภายนอกเซลล์ได้

2.7 ลักษณะทั่วไปของเชื้อยีสต์ที่ใช้ในการศึกษาและวิจัย

Saccharomyces cerevisiae

จัดอยู่ใน Division Eumycota, Subdivision Ascomycotina, Class Hemiascomycetes, Family Saccharomycetaceae และ Genus *Saccharomyces* เป็นยีสต์แท้ (Hemiascomycetes) เซลล์ของยีสต์ในจีนัสนี้จะเป็นรูปกลม รูปไข่ หรือค่อนข้างยาว อาจมีการสร้างไมซีเลียม การสืบพันธุ์จะเป็นแบบแตกหน่อชนิดที่เกิดได้ที่ขั้วของเซลล์ และโดยการสร้างแอสโคสปอร์ซึ่งเกิดขึ้นภายหลังจากคอนจูเกชัน หรืออาจพัฒนาจากเซลล์ดิพลอย (Diploid cell) ที่อยู่ในระยะเวเจตเททีฟ แอสโคสปอร์มักมีรูปกลม หรือไข่ มีจำนวน 1 ถึง 4 ต่อแอสคัส *Saccharomyces cerevisiae* เป็นยีสต์ที่สำคัญในจีนัสนี้ ซึ่งมีบทบาทในอุตสาหกรรมหลายชนิด เช่น ขนมปัง ไวน์ กลีเซอรอล และอินเวอร์เตส (Invertase) (สุมาลี, 2541)

อาหารเลี้ยงเชื้อฟังไจ

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงฟังไจมีมากมายหลายชนิด ซึ่งอาหารเลี้ยงเชื้อเหล่านี้จะมีผลต่อการเจริญของฟังไจโดยที่ฟังไจแต่ละชนิดจะมีความต้องการสารอาหารที่แตกต่างกัน ดังนั้น ในการเพาะเลี้ยงฟังไจจึงควรที่จะต้องเลือกชนิดของอาหารให้เหมาะสม ซึ่งอาหารเลี้ยงเชื้อที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงฟังไจทั่วๆ ไป คือ Potato Dextrose Agar (PDA) เป็นหลัก ซึ่งจะมีปริมาณของสารอาหารค่อนข้างสูง อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงฟังไจสามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภทใหญ่ๆ คือ กลุ่มอาหารที่เป็น Non-synthetic media หรือ Complete media คือ อาหารที่ไม่ทราบองค์ประกอบทางเคมีที่แน่นอน เช่น อาจมีส่วนผสมบางอย่างที่ได้จากธรรมชาติจากพืชหรือสัตว์ เช่น Yeast extract, Beef extract หรือ Corn meal ผสมอยู่ ได้แก่อาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA), Corn meal agar (CMA) และอีกกลุ่มหนึ่ง คือ อาหารที่เป็น Synthetic media หรืออาหารสังเคราะห์ หมายถึงอาหารที่ทราบส่วนประกอบทางเคมีที่แน่นอน เช่น Czapek's medium, Glucose medium เป็นต้น (วิไลลักษณ์, 2549)

1. อาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA)

ในการเลี้ยง หรือแยกเชื้อราส่วนใหญ่มักใช้อาหาร Potato dextrose agar (PDA) เป็นหลัก ซึ่งสามารถเตรียมได้เองจากการนำน้ำสกัดของมันฝรั่งที่ได้จากการต้ม และกรองเอาเศษมันฝรั่งออกมาเติมน้ำตาล Dextrose กับวุ้น (Agar) ลงไป หรือเตรียมได้จากอาหาร PDA สำเร็จรูปทางการค้า วิธีเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA สองวิธีดังกล่าว เป็นวิธีที่ใช้ในห้องปฏิบัติการทั่วไป ซึ่งจะได้อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ประกอบไปด้วยคาร์โบไฮเดรด คือ น้ำตาล Dextrose เป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานแก่ฟังไจ อีกส่วนหนึ่งคือ น้ำสกัดจากมันฝรั่งที่อุดมไปด้วยคุณค่าทางโภชนาการ ช่วยสนับสนุนการเจริญเติบโตของฟังไจ อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA นี้ควรมีค่าพีเอชที่ต่ำ เพื่อยับยั้งการเจริญของพวกแบคทีเรียปนเปื้อน และถ้าจะใช้อาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป PDA ในการนับจำนวนของฟังไจจะต้องมีค่าพีเอชประมาณ 3.5 โดยฟังไจที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อนี้จะสามารถพัฒนาลักษณะทางด้านโครงสร้าง หรือรูปร่าง (Mophology) ได้ดีและจะใช้เวลาในการเจริญประมาณ 5-7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียสสำหรับการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่มีวัตถุดิบที่สำคัญ ดังนี้ (กรัม/ลิตร) คือ Potato infusion 4.0 กรัม (น้ำสกัดที่ได้จากมันฝรั่ง 200 กรัม) น้ำตาล Dextrose 20.0 กรัม และวุ้น (Agar) 15.0 กรัม

2. การควบคุมคุณภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูปทางจุลชีววิทยา

อาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูปทางการค้าต่างๆ ทุกชนิดต้องมีการควบคุมคุณภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อก่อนที่จะนำออกสู่ตลาด ซึ่งการทดสอบคุณภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อทางจุลชีววิทยากับฟังไจมาตรฐานต่างๆ ผลการทดสอบประสิทธิภาพดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ผลการทดสอบประสิทธิภาพ เพื่อใช้ในการควบคุมคุณภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA หลังจากการบ่มเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส โดยสังเกตการเจริญเติบโตตั้งแต่ 18- 24 ชั่วโมงหลังการเพาะเลี้ยง

Microorganisms	Growth
Aspergilus niger ATCC 16404	Good
Candida albicans ATCC 10231	Good
Saccharomyces cerevisiae ATCC 9763	Good

ที่มา : RCI Labscan Limited. 2007

ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เนื่องจากน้ำทิ้งที่เกิดจากกระบวนการแปรรูปมันฝรั่งได้ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม จึงได้มีการศึกษา และหาวิธีการที่เหมาะสมในการบำบัดน้ำทิ้งดังกล่าว เช่น ในปี ค.ศ. 2009 Hussein และคณะได้ทำการบำบัดน้ำทิ้งของโรงงานมันฝรั่งแผ่นทอดกรอบเพื่อลดปริมาณอินทรีย์สาร โดยใช้เชื้อราผสม (Mixed Culture of Fungi) โดยสามารถลดค่า BOD ของน้ำทิ้งจากเดิม คือ 1,740 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เหลือ 600 มิลลิกรัมต่อลิตร, ค่า COD จาก 8100 มิลลิกรัมต่อลิตร เหลือ 1,047 มิลลิกรัมต่อลิตร, ค่า TSS จาก 1.94 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็น 0.82 มิลลิกรัมต่อลิตร และค่า TOC จาก 930 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็น 622 มิลลิกรัมต่อลิตร

นอกจากความพยายามในบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปมันฝรั่งแล้ว ยังมีรายงานการนำของเหลือทิ้งจากขั้นตอนการแปรรูปมันฝรั่งไปใช้ประโยชน์ในหลายๆ ด้าน รวมไปถึงการเพิ่มมูลค่าให้กับของเหลือทิ้งที่เกิดขึ้นด้วย เช่น ในปี ค.ศ. 2007 Gelinas และ Barrette ได้ใช้แป้งมันฝรั่งที่ได้จากน้ำทิ้งที่เกิดจากขั้นตอนการผลิตมันฝรั่งทอด มาทำการเพิ่มปริมาณโปรตีนโดยการใช้ยีสต์ในการหมักแป้งดังกล่าว เพื่อนำไปใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตอาหารสัตว์ เป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับ

แป้งซึ่งเป็นของเหลือทิ้ง และนอกจากนี้ยังมีการนำน้ำที่ใช้แล้ว จากขั้นตอนการล้างแผ่นมันฝรั่งที่ผ่านการหั่น ซึ่งมีปริมาณแป้งแขวนลอยอยู่เป็นส่วนประกอบประมาณ 1% โดยน้ำหนัก และมีสารอินทรีย์ชนิดอื่นปะปนอยู่ด้วย เป็นต้นเหตุที่ก่อให้เกิดปัญหามลภาวะทางกลิ่น จึงได้มีการใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยแป้งเพื่อให้เปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์อื่นที่มีมูลค่าเพิ่มขึ้น อีกทั้งยังช่วยลดปริมาณแป้งในน้ำได้ด้วย ในปี ค.ศ. 1998 Bo Jin และคณะ ได้ทำการพัฒนาระบบบำบัดน้ำเสียของโรงงานผลิตแป้ง ร่วมกับการผลิต Fungal protein และ Glucoamylase ซึ่งเป็นผลผลิตที่ได้จากการใช้เชื้อ *Rhizopus oligosporus* มาทำการบำบัดน้ำเสียที่มีแป้งเป็นส่วนประกอบ พบว่าได้ปริมาณ fungal biomass ประมาณ 4.5-5.2 กรัมต่อน้ำเสียดังกล่าว 1 ลิตร ซึ่งผลผลิตที่ได้นี้มีความปลอดภัยในการบริโภคของคนและสัตว์ และในปีเดียวกันนี้ Jin และคณะ ก็ได้ทำการผลิต Biomass protein และ Fungal α-amylase จากการใช้เชื้อ *Aspergillus oryzae* เติมลงไปในระบบบำบัดน้ำเสียที่เกิดจากกระบวนการแปรรูปมันฝรั่ง ผลที่ได้คือ *Aspergillus oryzae* สามารถลดค่า COD ได้ถึง 95% ลดค่า BOD ได้ 93% และลดปริมาณของแข็งแขวนลอยได้ 98% นอกจากนี้ยังให้ผลผลิตเป็น Biomass protein 6.1 g ต่อน้ำเสีย 1 ลิตร จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า เชื้อจุลินทรีย์สามารถเติบโตและเพิ่มปริมาณ ในน้ำเสียที่เกิดจากกระบวนการแปรรูปแป้งมันฝรั่งได้ โดยการใช้แป้งเป็นแหล่งอาหารในการเจริญเติบโต ซึ่งวิเคราะห์ได้จากปริมาณแป้งที่ลดลงหลังจากการเติมเชื้อจุลินทรีย์ลงไป และในปี พ.ศ. 2547 เพ็ญศิริ และหทัยชนก ได้ใช้แป้งที่เป็นของเหลือจากการผลิตมันฝรั่งแผ่นทอด มาใช้ทดแทนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) เปรียบเทียบกับ PDA สำเร็จรูป แล้วศึกษาการเจริญของเชื้อรา *Penicllium sp.* โดยพบว่า *Penicillium sp.* สามารถเจริญและสร้างสีได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมจากแป้งมันฝรั่งที่มีการเติมยีสต์ลงไป 1%

งานวิจัยต่างๆ เหล่านี้ล้วนยืนยันให้เห็นว่าน้ำทิ้งจากโรงงานแปรรูปมันฝรั่งมีศักยภาพที่จะนำไปผลิตเป็นอาหารเลี้ยงจุลินทรีย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ เพียงแต่ต้องผลิตให้อยู่ในรูปที่สะดวกต่อการนำไปใช้และต้องยังคงสารอาหารที่จำเป็นในนั้นให้ครบถ้วน

อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้

1. อุปกรณ์

- ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)
- หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave)
- ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)
- เครื่องเขย่าสาร (Shaker)
- อ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)
- เครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย (Spray Dry)
- เครื่องชั่งดิจิตอล 1 - 4 ทศนิยม (Analytical and Preeision Balances)
- ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar Flow)
- เครื่องวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสง (Spectrophotometer)
- กล้องจุลทรรศน์ (Mieroscope)
- เครื่องวัดค่าพีเอช (pH meter)
- ปิเปดต์ (pipette)
- เครื่องแก้วและพลาสติก

2. อาหารเลี้ยงเชื้อ และเชื้อยีสต์/ รา

- อาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA)
- อาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose broth (PDB)
- อาหารเลี้ยงเชื้อ yeast extract peptone dextrose agar (YPD agar)

กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัย

1. ตัวอย่างน้ำทิ้งที่มาจากขั้นตอนการหั่นมันฝรั่ง ของโรงงานมันฝรั่งแผ่นทอดกรอบ ตำบลบ้านกลาง อำเภอเมือง จังหวัดลำพูน 51000

2. ตัวอย่างของฟังไจ เช่น ยีสต์ ได้แก่ *Saccharomyces cerevisiae* สำหรับเชื้อรา ได้แก่ *Aspergillus oryzae*

3. อาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูปยี่ห้อ RCI Labscan Limited

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำทิ้งและแป้งมันฝรั่ง

2.1 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugar) โดยวิธี DNS Method (Miller, 1959)

2.2 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Total sugar) โดยวิธี Phenol Sulfuric (Dobois, 1956)

2.3 ปริมาณโปรตีนทั้งหมด (Total Kjeldahl Nitrogen) ด้วยวิธี Kjeldahl ใช้วิธีวิเคราะห์ตาม A.O.A.C (1990)

2.4 ปริมาณฟอสฟอรัส (Phosphorus) โดยวิธี Colorimetric Method ใช้วิธีวิเคราะห์ตาม A.O.A.C (1959)

2.5 ปริมาณแมกนีเซียม (Magnesium) โดยใช้เครื่อง Flame ASS ใช้วิธีวิเคราะห์ตาม A.O.A.C (1959)

2.6 ปริมาณโพแทสเซียม (Potassium) โดยใช้เครื่อง Flame ASS ใช้วิธีวิเคราะห์ตาม A.O.A.C (1959)

2.7 ปริมาณ BOD โดยวิธีวิเคราะห์ตาม APHA-AWWA (2005)

2.8 ปริมาณ COD โดยวิธีวิเคราะห์ตาม APHA-AWWA (2005)

2.9 ปริมาณวิตามินซี, วิตามินบี 1, วิตามินบี2 ใช้วิธีวิเคราะห์ตาม A.O.A.C (1959)

2.10 ปริมาณสารตกค้างยาฆ่าแมลงกลุ่มออร์แกโนฟอสเฟต และกลุ่มคาร์บาเมต โดยใช้ชุด GT Pesticide Test Kit

2. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร Potato Dextrose Broth (PDB) จากน้ำทิ้งสำหรับเลี้ยงฟังไจ

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร PDB สูตรที่ 1 จากน้ำทิ้ง โดยนำน้ำทิ้งมากรองด้วยกระดาษกรอง เบอร์ 1 ไปผสมกับน้ำตาลเดกซ์โทรส (Dextrose) ปริมาณ 20 กรัม ปรับ pH ให้ประมาณ 5.6 ± 0.2 แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1 ลิตร จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

เตรียมเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร PDB สูตรที่ 2 จากน้ำทิ้ง โดยวิธีการเช่นเดียวกับการเตรียมสูตรที่ 1 แต่ลดปริมาณน้ำตาลเดกซ์โทรส (Dextrose) ที่เติมลงไปจากปริมาณ 20 กรัม เหลือ 10 กรัม

3. ศึกษาความเหมาะสมและความเป็นไปได้ของตัวอย่างอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่เตรียมจากน้ำทิ้งต่อการนำไปใช้ของเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*

3.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร Potato dextrose Broth จากน้ำทิ้ง

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร Potato dextrose Broth (PDB) จากน้ำทิ้ง โดยนำน้ำทิ้งมากรองด้วยกระดาษกรอง เบอร์ 1 ไปผสมกับน้ำตาลเดกซ์โทรส (Dextrose) ปริมาณ 20 กรัม ปรับ pH ให้ประมาณ 5.6 ± 0.2 แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1 ลิตร จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

3.2 การเตรียมเชื้อยีสต์

1. ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อยีสต์ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) โดยเทคนิค Streak plate จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2. ใช้ลูปถ่ายเชื้อจากข้อ 1 ลงในอาหารเหลว Potato Dextrose Broth (PDB) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่ความเร็วรอบ 150 rpm เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.3 ศึกษาความความเป็นไปได้ของตัวอย่างอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่เตรียมจากน้ำทิ้งต่อการนำไปใช้ของเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*

1. ปิเปตเชื้อยีสต์ที่เตรียมไว้ ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ลงในอาหารเหลว PDB ที่ใช้ทดสอบชนิดต่างๆ คือ PDB ที่เตรียมจากน้ำทิ้ง, PDB ที่เตรียมจากหัวมันฝรั่ง และ PDB สำเร็จรูปทางการค้า ปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่ความเร็วรอบ 150 rpm เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2. นำเชื้อที่ได้ มาทำ 10 Folds-serial dilution โดยทำการเจือจางเพื่อให้ได้ปริมาณเชื้อที่ระดับความเจือจางตั้งแต่ 10^{-1} – 10^{-6} ใน 0.85% NaOH ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นเลือกปิเปตเอา dilution 10^{-4} – 10^{-6} ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร มาทำการ Spread plate ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ YPDA แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิด และทำการเก็บผลทุกๆ 12 ชั่วโมง

3. นับจำนวนโคโลนีเพื่อเปรียบเทียบการเจริญของเชื้อยีสต์ที่ได้จากการเลี้ยงในอาหาร PDB ชนิดต่างๆ ของสูตรที่1 และสูตรที่ 2 โดยนับเฉพาะในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ (plate) ที่มีเชื้อระหว่าง 30 – 300 โคโลนี

4. ศึกษาความความเป็นไปได้ของตัวอย่างอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่เตรียมจากน้ำทิ้งต่อการนำไปใช้ของเชื้อรา *Aspergillus oryzae*

4.1 การเตรียมเชื้อราโดยการทำ Spore suspension

1. ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Potato Dextrose Agar (PDA) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน เชื้อราจะสร้างสปอร์ที่เป็นสีเขียวดำเต็มผิวหน้าอาหาร

2. เตรียม Spore suspension โดยใช้ 2% tween 20 ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ใส่ลงบนผิวหน้าอาหารที่มีเชื้อราเจริญอยู่ ปริมาณ 5 มิลลิลิตร จากนั้นใช้แท่งแก้วที่ผ่านการฆ่าเชื้อขูดไปมาบนผิวหน้าอาหารเบาๆ เพื่อให้สปอร์หลุดออก

3. เก็บ Spore suspension ที่ได้ โดยการดูดสปอร์แล้วนำไปกรองผ่านสำลีที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ใส่ในขวดใสที่ปราศจากเชื้อเก็บไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

4.2 การเปรียบเทียบการเจริญของเชื้อราในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ โดยการหาปริมาณน้ำหนักแห้ง (Dry cell weight)

1. หยด Spore suspension ความเข้มข้น 1×10^{-4} สปอร์/ มิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDB ปริมาณ 100 มิลลิลิตร ที่ใช้ทดสอบแต่ละชนิด ได้แก่ PDB ที่เตรียมจากน้ำทิ้ง PDB ที่เตรียมจากหัวมันฝรั่ง และ PDB สำเร็จรูปทางการค้า นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 150 rpm เป็นเวลา 7 วัน

2. กรองเส้นใยราที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ ผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 ที่ผ่านการอบโดยใช้อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นำไปใส่ไว้ในโถดูดความชื้นรอให้เย็นแล้วชั่งน้ำหนักที่คงที่ของกระดาษกรอง (บันทึกเป็น A) นำเส้นใยราที่กรองได้ไปล้างด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง

3. นำกระดาษกรองที่ได้ไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนักที่แน่นอนด้วยเครื่องชั่งชนิดละเอียด ทำซ้ำจนได้น้ำหนักคงที่ (บันทึกผลเป็น B) บันทึกผลและเปรียบเทียบการเจริญของเชื้อราที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิด ทุกๆ 24 ชั่วโมง โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ ในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิด

การคำนวณ ปริมาณ Dry cell weight = B –A

ผลการวิจัย

1. ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำทิ้งและแป้งมันฝรั่ง

1.1 การวิเคราะห์ทางเคมี

นำตัวอย่างน้ำล้างแป้งและผงแป้งจากโรงงานแปรรูปมันฝรั่งทอดกรอบมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้ผลดังตารางที่ 5 และ 6

ตารางที่ 5 ผลวิเคราะห์สารอาหารในน้ำทิ้ง

รายการ	ผลการทดสอบ
BOD	640 มก/ลิตร
COD	900 มก/ลิตร
Total sugar	408 มก/ลิตร
Reducing sugar	24 มก/ลิตร
Phosphorus	19.96 มก/ลิตร
Magnesium	7.43 มก/ลิตร
Potassium	149.58 มก/ลิตร
Protein	0.13%
C:N ratio	6:1
Vitamin C	ไม่พบ
Vitamin B1	ไม่พบ
Vitamin B2	ไม่พบ
Total aflatoxin	ไม่พบ
ความขุ่น 68.5	NTU
pH	7.1
ยาฆ่าแมลง	ไม่พบ

ตารางที่ 6 ผลวิเคราะห์สารอาหารในแป้งมันฝรั่ง

รายการ	ผลการทดสอบ
BOD	2730 มก/กรัม
COD	3800 มก/กรัม
Phosphorus	188.10 มก/กรัม
Magnesium	100.67 มก/กรัม
Potassium	435.70 มก/กรัม
C:N ratio	1122.1
Vitamin C	ไม่พบ
Vitamin B1	ไม่พบ
Vitamin B2	ไม่พบ
ความชื้น	35.3%
pH	7.54
Total aflatoxin	ไม่พบ
ยาฆ่าแมลง	ไม่พบ

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของตัวอย่างน้ำทิ้งและแป้งมันฝรั่ง (ตารางที่ 5 และ 6) พบว่า ในน้ำทิ้งและแป้งมันฝรั่ง มีปริมาณสารต่างๆ ดังนี้ ฟอสฟอรัส (Phosphorus) 19.96 มิลลิกรัม/ ลิตร และ 188.10 มิลลิกรัม/ ลิตร แมกเนเซียม (Magnesium) 7.43 มิลลิกรัม/ ลิตร และ 100.67 มิลลิกรัม/ ลิตร โพแทสเซียม (Potassium) 149.58 มิลลิกรัม/ ลิตร และ 435.70 มิลลิกรัม/ ลิตร ตามลำดับ โดยสารดังกล่าวพบว่ามีในแป้งมันฝรั่งปริมาณสูงกว่าในน้ำล้างมันฝรั่ง เนื่องจากน้ำทิ้งมีความเจือจางมากกว่าผงแป้ง ในขณะที่ไม่พบอัลฟาทอกซิน หรือยาฆ่าแมลงตกค้างในตัวอย่างทั้งสองชนิด นอกจากนี้ยังได้วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (Protein) ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Total sugar) และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugar) ในน้ำทิ้ง พบว่า ในน้ำทิ้งมีปริมาณโปรตีน 0.13% น้ำตาลทั้งหมด 408 มิลลิกรัม/ ลิตร และน้ำตาลรีดิวซ์ 24 มิลลิกรัม/ลิตร

1.2 การวิเคราะห์ทางชีวภาพ

นำตัวอย่างน้ำล้างแป้งและผงแป้งจากโรงงานแปรรูปมันฝรั่งทอดกรอบมาวิเคราะห์ทางทางชีวภาพ โดยวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด เชื้อแบคทีเรียสร้างกรดแลกติก *Salmonella* sp. *Escherichia coli* Yeast and mould ได้ผลดังตารางที่ 7 และ 8

ตารางที่ 7 ผลวิเคราะห์ผงแป้งมันฝรั่งโดยวิธีทางชีวาภาพ

เชื้อจุลินทรีย์	จำนวนโคโลนี (cfu/ml)
total plate count	$1.02X10^{8}$
lactic acid bacteria	$4.25X10^{5}$
Salmonella sp.	$1X10^{5}$
Escherichia coli	$3.4X10^{6}$

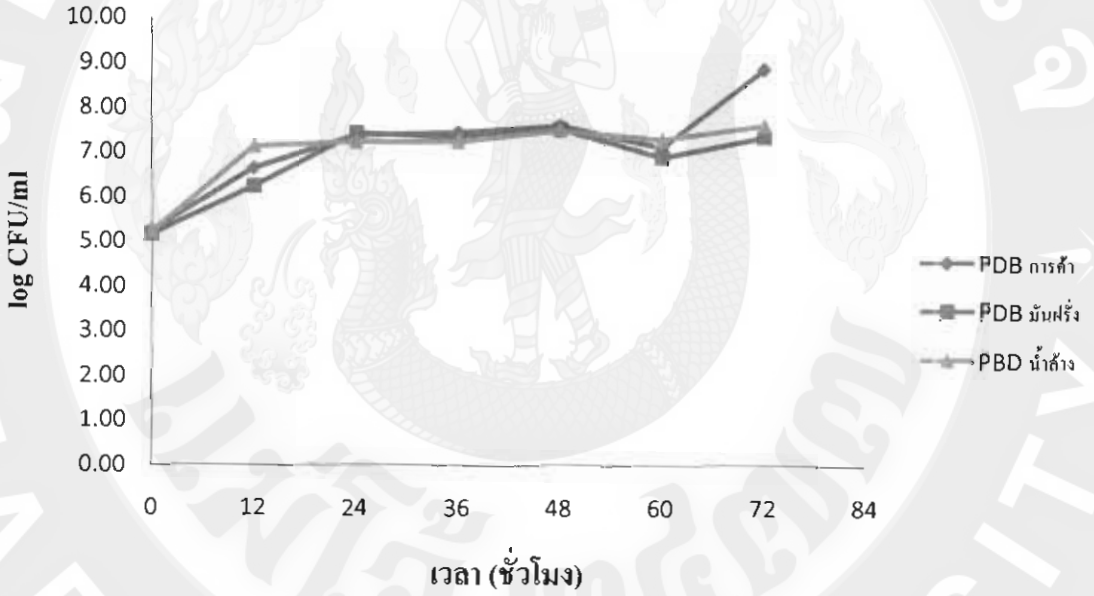
ตารางที่ 8 ผลวิเคราะห์น้ำล้างแป้งจากกระบวนการผลิตมันฝรั่งทอดกรอบ โดยวิธีทางชีวภาพ

เชื้อจุลินทรีย์	จำนวนโคโลนี (cfu/ml)
total plate count	$5.6X10^{6}$
lactic acid bacteria	$2.9X10^{7}$
Salmonella sp.	$5X10^{5}$
Escherichia coli	$1.85X10^{6}$

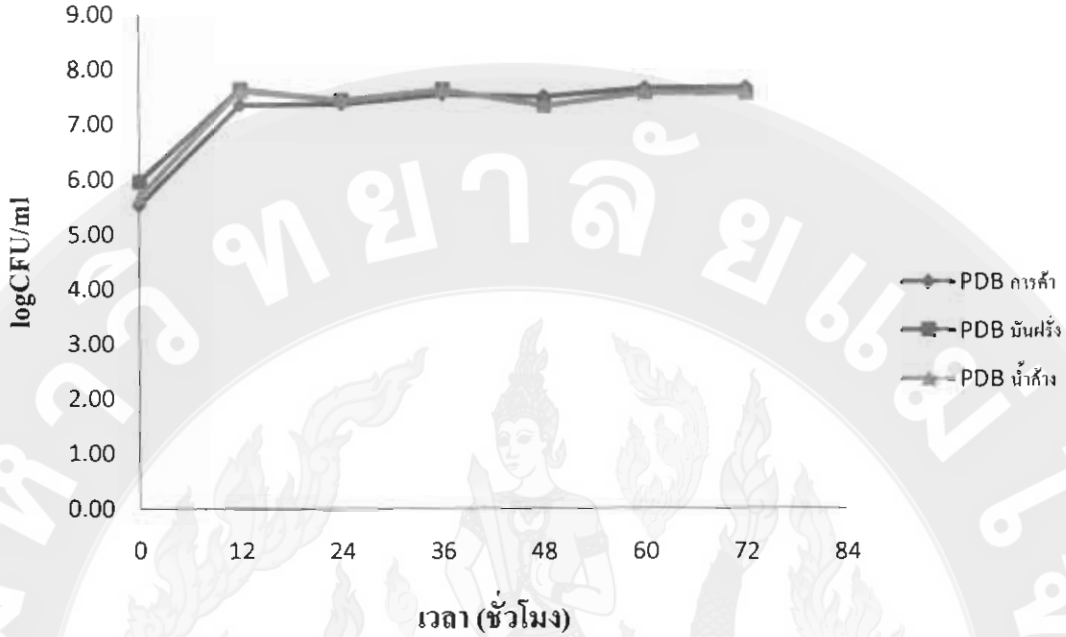
ผลการวิเคราะห์แสดงให้เห็นว่า ตัวอย่างน้ำทิ้ง และแป้งมันฝรั่งมีสารอาหารพื้นฐานที่คาดว่าจะเหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อราได้ แต่เนื่องจาก น้ำทิ้งสามารถนำมาใช้งานได้สะดวก ช่วยลดขั้นตอนในการกระบวนการเตรียมวัตถุดิบเพื่อให้มีสภาพเหมาะสมต่อการผลิต (Pre-treatment) ขณะที่ผงแป้งต้องผ่านกระบวนการ Pre-treatment ก่อนการนำไปใช้ในการผลิต เพื่อป้องกันการเกิดเจลาทิไนเซชัน (Gelatinization) และรีโทรเกรเดชัน (Retrogradation) ของแป้ง ซึ่งมีขั้นตอนที่ยุ่งยาก และยังเป็นการเพิ่มต้นทุนในผลิต ดังนั้น จึงได้เลือกน้ำทิ้งมาเป็นวัตถุดิบที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อในการทดลองขั้นต่อไป

2. ผลการศึกษาความเป็นไปได้ของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมจากน้ำทิ้ง ต่อการนำไปใช้ของเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*

การศึกษาเพื่อเปรียบเทียบการเจริญของเชื้อยีสต์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDB ที่เตรียมจากน้ำทิ้งกับอาหารเลี้ยงเชื้อ PDB ทางการค้า และอาหารเลี้ยงเชื้อ PDB ที่เตรียมจากหัวมันฝรั่ง โดยได้ศึกษาอัตราส่วนการเติมปริมาณน้ำตาลกลูโคสลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 สูตร คือ สูตรที่ 1 ปริมาณน้ำตาลกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร (ภาพที่ 9) และสูตรที่ 2 ปริมาณน้ำตาลเดกซ์โทรส 20 กรัมต่อลิตร (ภาพที่ 10)

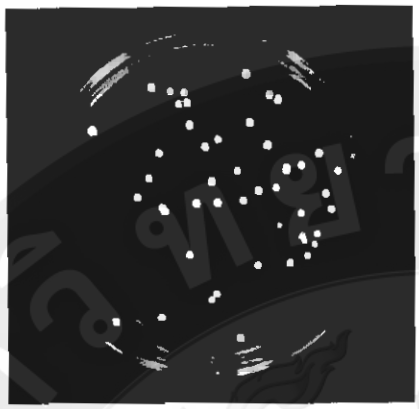


ภาพที่ 9 การเจริญของเชื้อยีสต์สายพันธุ์ *S. cerevisiae* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDB ทางการค้า PDB ที่เตรียมจากจากหัวมันฝรั่ง และ PDB ที่เตรียมน้ำทิ้ง ที่เติมน้ำตาลกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร

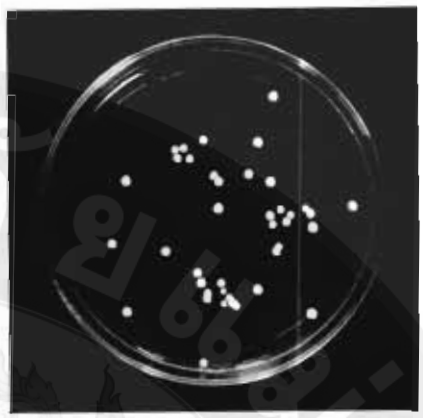


ภาพที่ 10 การเจริญของเชื้อยีสต์สายพันธุ์ *S. cerevisiae* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDB ทางการค้า PDB ที่เตรียมจากจากหัวมันฝรั่ง และ PDB ที่เตรียมน้ำทิ้ง ที่เติมน้ำตาลกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร

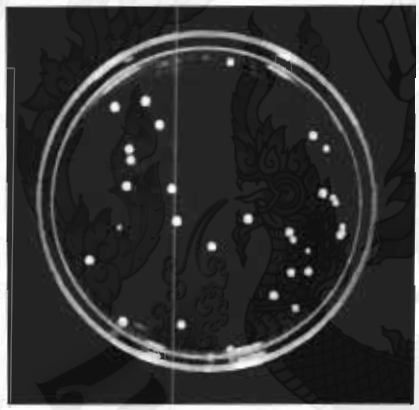
จากการทดลองพบว่า ยีสต์สายพันธุ์ *S. cerevisiae* ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDB ทั้ง 3 ชนิดนั้นมีอัตราการเจริญของเชื้อใกล้เคียงกัน ยีสต์สายพันธุ์นี้สามารถเจริญได้ดีทั้งในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมจากหัวมันฝรั่ง หรือเตรียมจากน้ำทิ้ง ทั้ง 2 สูตร และเมื่อเปรียบเทียบลักษณะการเจริญของเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเชื้อ PDB ทั้ง 3 ชนิดโดยดูจากขนาดของโคโลนี พบว่า ยีสต์สายพันธุ์ *S. cerevisiae* เมื่อนำมาเลี้ยงในอาหาร PDB ที่เตรียมจากน้ำทิ้งมีขนาดเทียบเท่าได้กับ เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDB ที่เตรียมจากหัวมันฝรั่ง และเลี้ยงเชื้อ PDB สำเร็จรูปทางการค้า (ภาพที่ 11)



PDB สำเร็จรูปทางการค้า



PDB ที่เตรียมจากหัวมันฝรั่ง

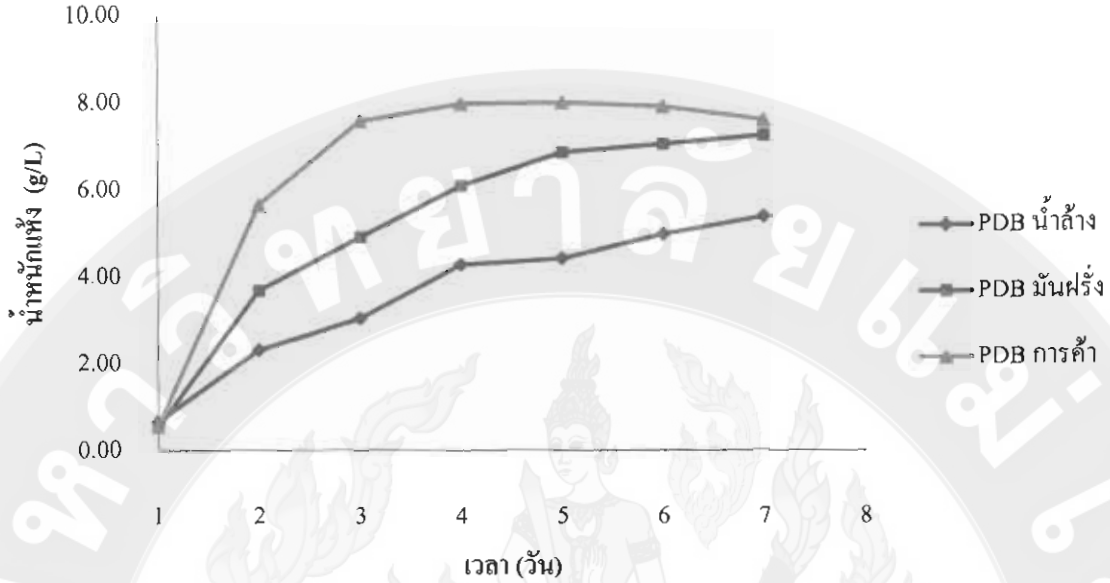


PDB ที่เตรียมจากน้ำทิ้ง

ภาพที่ 11 เปรียบเทียบลักษณะการเจริญของยีสต์สายพันธุ์ *S. cerevisiae* ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 3 ชนิดที่อายุ 60 ชั่วโมง

3. ผลการศึกษาความเป็นไปได้ของตัวอย่างอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมจากน้ำทิ้ง ต่อการนำไปใช้ของเชื้อรา *Aspergillus oryzae*

การศึกษา เพื่อเปรียบเทียบการเจริญของเชื้อราในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDB ที่เตรียมจากน้ำทิ้ง กับอาหารเลี้ยงเชื้อ PDB ทางการค้า และอาหารเลี้ยงเชื้อ PDB ที่เตรียมจากหัวมันฝรั่ง โดยการหาปริมาณน้ำหนักแห้ง (**Dry cell weight**) ผลการศึกษาแสดงดังภาพที่ 12



ภาพที่ 12 การเจริญของเชื้อราสายพันธุ์ *A. oryzae* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDB ทางการค้า PDB ที่เตรียมจากหัวมันฝรั่ง และ PDB ที่เตรียมน้ำทิ้ง

จากการวัดการเจริญของเชื้อรา *A. oryzae* ทุก 24 ชั่วโมงเป็นเวลา 7 โดยเลี้ยงเชื้อราในอาหาร PDB ที่เตรียมจากน้ำทิ้ง PDB ที่เตรียมจากหัวมันฝรั่ง และ PDB ทางการค้า จากนั้นทำการวัดการเจริญของเชื้อราโดยการหาปริมาณน้ำหนักแห้ง (Dry cell weight) พบว่า เชื้อราสายพันธุ์ *A. oryzae* สามารถเจริญเติบโตในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDB ทางการค้าได้ดีกว่า อาหารเลี้ยงเชื้อ PDB ที่เตรียมจากหัวมันฝรั่ง และอาหาร PDB ที่เตรียมจากน้ำทิ้ง ตามลำดับ

วิจารณ์ผลการวิจัย

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำทิ้งจากโรงงานมันฝรั่งทอดกรอบ พบว่า ในน้ำทิ้งมีน้ำตาล (408 มิลลิกรัม/ลิตร) และน้ำตาลรีดิวซ์ (24 มิลลิกรัม/ ลิตร) ซึ่งเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญต่อการเจริญของฟังไจ นอกจากนี้ยังประกอบไปด้วยโปรตีน (196.71 มิลลิกรัม/ ลิตร) ฟอสฟอรัส แมกเนเซียม และโพแทสเซียมหลงเหลืออยู่ และไม่พบอัลฟาทอกซินและยาฆ่าแมลงตกค้าง ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่จะนำมาใช้ประโยชน์ในการผลิตเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อราเพื่อเป็นการนำของเสียกลับมาใช้ให้เกิดประโยชน์และสามารถสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับของเสียได้

การศึกษาความเป็นไปได้ในการนำน้ำทิ้งจากโรงงานมันฝรั่งทอดกรอบมาเตรียมเป็นอาหาร Potato Dextrose Broth (PDB) สำหรับเลี้ยงเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* โดยเปรียบเทียบกับอาหาร PDB ทางการค้าและ PDB ที่เตรียมจากหัวมันฝรั่ง พบว่าเชื้อยีสต์สามารถเจริญได้ในอัตราที่ใกล้เคียงกันในอาหาร PDB ทั้ง 3 ชนิด ซึ่งแสดงให้เห็นว่าน้ำทิ้งจากโรงงานมันฝรั่งทอดกรอบสามารถนำมาใช้เตรียมเป็นอาหาร PDB สำหรับเลี้ยงเชื้อยีสต์ได้ดีเนื่องจากให้ผลการเจริญของเชื้อไม่แตกต่างกับอาหาร PDB ทางการค้าหรือ PDB ที่เตรียมจากหัวมันฝรั่ง สามารถลดต้นทุนในการเลี้ยงเชื้อยีสต์ได้อีกทางหนึ่ง ส่วนการศึกษาความเป็นไปได้ในการนำน้ำทิ้งจากโรงงานมันฝรั่งทอดกรอบมาเตรียมเป็นอาหาร PDB สำหรับเลี้ยงเชื้อรา ในการวิจัยนี้ได้เลือกเชื้อ *A. oryzae* เนื่องจากเป็นเชื้อราที่นิยมใช้ในการผลิตอาหารหมักหลายชนิด เช่น ซีอิ๊ว เต้าเจี้ยว และเป็นเชื้อที่ไม่สร้างสารพิษ นอกจากนี้ยังเป็นเชื้อที่สถาบันการศึกษาหลายแห่งใช้สำหรับการเรียนการสอนให้แก่นักศึกษา จากการวิจัยพบว่า เชื้อราสายพันธุ์ *A. oryzae* สามารถเจริญเติบโตในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDB ทางการค้าได้ดีกว่า อาหารเลี้ยงเชื้อ PDB ที่เตรียมจากหัวมันฝรั่ง และอาหาร PDB ที่เตรียมจากน้ำทิ้ง คือ มีน้ำหนักแห้ง 7.58, 7.22และ 5.36 กรัมต่อลิตร หลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน ตามลำดับ โดยในการวิจัยนี้วัดอัตราการเจริญของเชื้อโดยการหาปริมาณน้ำหนักแห้ง (Dry cell weight) ซึ่งวิธีนี้เป็นวิธีที่ง่าย สะดวก แต่อาจจะให้ผลการทดองที่คลาดเคลื่อนได้ง่าย ดังนั้นจึงควรที่จะหาวิธีการวัดอัตราการเจริญของเชื้อราที่ให้ผลแม่นยำมีความคลาดเคลื่อนน้อยที่สุด

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าน้ำทิ้งจากโรงงานมันฝรั่งทอดกรอบมีความเป็นไปได้ที่จะนำมาใช้ผลิตเป็นอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อยีสต์และรา โดยในการวิจัยปีต่อไปจะเป็นการศึกษาการหาสูตรการผลิตอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม การตรวจสอบคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์และการทดสอบประสิทธิภาพของอาหารโดยนำไปเลี้ยงเชื้อยีสต์และราชนิดต่าง ๆ

สรุปผลการวิจัย

องค์ประกอบทางเคมีของน้ำทิ้งจากโรงงานมันฝรั่งทอดกรอบมีน้ำตาล และน้ำตาลรีดิวซ์ โปรตีน ฟอสฟอรัส แมกเนเซียม และโพแทสเซียมหลงเหลืออยู่ และไม่พบอัลฟาทอกซินและยาฆ่าแมลงตกค้าง ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่จะนำมาใช้ประโยชน์ในการผลิตเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อราได้

การศึกษาความเป็นไปได้ในการนำน้ำทิ้งจากโรงงานมันฝรั่งทอดกรอบมาเตรียมเป็นอาหาร Potato Dextrose Broth (PDB) สำหรับเลี้ยงเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* และ *A. oryzae* พบว่ามีความเป็นไปได้เนื่องจากให้ค่าในการเจริญของเชื้อยีสต์และราเมื่อเปรียบเทียบกับอาหาร PDB ทางการค้าและ PDB ที่เตรียมจากหัวมันฝรั่งที่ใกล้เคียงกัน