

การผลิตจุลินทรีย์โปรตีนจากน้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อนโดย *Saccharomyces cerevisiae* M30

Single Cell Protein Production from Baby Corn Boiled Water Using *Saccharomyces cerevisiae* M30

วรรณภา ไผ่พันธ์ สวรรยา เม้งเกร็ด และ วราวุฒิ คุรุสง

ชื่อผู้วิจัย และ ชื่อหัวหน้าโครงการ

โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

Email : wkrusong @ hotmail.com.

บทคัดย่อ

การผลิตจุลินทรีย์โปรตีนจากน้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อน ซึ่งเป็นน้ำเสียจากกระบวนการผลิตข้าวโพดฝักอ่อน สามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตจุลินทรีย์โปรตีนจากเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* M30 ทั้งนี้ในการปรับสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญโดยใช้น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อน ในระดับฟลaskโดยเติม Yeast extract 0.1%, Malt extract 0.1%, และ Glucose 1.5% เปรียบเทียบกับ MY broth พบว่าที่เวลา 24 ชั่วโมง ได้จำนวนเซลล์ยีสต์ใกล้เคียงกัน ในการขยายขนาดการผลิตจุลินทรีย์โปรตีนที่ระดับ 5 ลิตร ลงในถังหมัก Airlift ขนาด 7 ลิตร ที่เติม Yeast extract 0.1%, Malt extract 0.1%, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.9% และปรับความหวาน 1 องศาบริกซ์ด้วยน้ำตาลซูโครส ทำการควบคุมอัตราการหมุนวนที่ระดับ 7 รอบต่อนาที ทำการหมักเป็นเวลา 3 วันให้ค่าผลผลิตเซลล์ยีสต์สูงสุดคือ 0.4623 และได้จำนวนเซลล์ยีสต์เท่ากับ 9.6258 Log CFU/ml. เมื่อทำการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีของจุลินทรีย์โปรตีนพบว่า จุลินทรีย์โปรตีนที่เก็บเกี่ยวได้มีโปรตีน 46 %, ไขมัน 6.69% และ ความชื้น 7.52%

คำสำคัญ : *Saccharomyces cerevisiae* M30, น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อน, ยีสต์ตกตะกอน, ถังหมักแบบยกอากาศ, จุลินทรีย์โปรตีน

1.บทนำ

“น้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมอาหารเป็นสาเหตุหนึ่งที่อาจก่อให้เกิดปัญหาด้านมลภาวะทางน้ำ (ประภา,2521)” การนำน้ำเสียที่ได้จากโรงงานมาใช้ประโยชน์จึงเป็นแนวทางหนึ่งที่น่าสนใจ

“จุลินทรีย์โปรตีนหรือที่เรียกว่าSingle Cell Protein(SCP) โดยหมายถึงมวลชีวภาพ (biomass) ของจุลินทรีย์ที่ใช้เป็นอาหารทั้งคนและสัตว์ (วราวุฒิ,2539)” “ได้เริ่มผลิตเป็นอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ในประเทศเยอรมัน ตั้งแต่สมัยสงครามโลกครั้งที่สอง เพื่อใช้เป็นอาหารของมนุษย์เป็นปริมาณถึง 16,000 ตันต่อปี จุลินทรีย์ที่ใช้เพื่อผลิตคือ *Candida utilis* และ *Saccharomyces cerevisiae* เนื่องจากเป็นยีสต์ที่เจริญได้เร็ว มีปริมาณโปรตีนสูงและอุดมด้วยวิตามินบีรวม ส่วนประเทศไทยเริ่มมีการทดลองใช้ยีสต์เป็นแหล่งโปรตีนในอาหารสัตว์เนื่องจากแหล่งโปรตีนในอาหารสัตว์ในขณะนี้ได้จากกากถั่วและปลาป่นซึ่งมีราคา

สูงขึ้นทุกปี ดังนั้นจุลินทรีย์โปรตีนจึงเป็นโปรตีนแหล่งใหญ่ อีกแหล่งหนึ่งที่สมควรจะนำมาใช้เป็นอาหารคนและสัตว์ เนื่องจากมีโปรตีนสูงสามารถเลี้ยงได้ในระยะเวลาอันสั้น จากวัตถุดิบราคาถูกและประหยัดเนื้อที่ในการผลิต(วิชชุพร ,2523)” “ในการผลิตจุลินทรีย์โปรตีนวัตถุดิบที่นำมาใช้ในการผลิตเป็นแหล่งของสารอาหารต่างๆ สำหรับการเจริญของจุลินทรีย์ (สุมาลี ,2520)”วัตถุดิบที่นิยมใช้ส่วนมากจะเป็นของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมและการเกษตร เช่น “ผลพลอยได้จากการผลิตแป้งจากข้าวโพด (Fodaและคณะ ,1973)” “น้ำมะพร้าว(อโณทัย,2519)” “น้ำต้มถั่วเหลือง (ปราโมทย์ ,2521)” “น้ำทิ้งจากโรงงานแปรงมันสำปะหลัง (ประภาและคณะ,2521)” “เมทานอล (Hitzman ,1976;US Patent 3982998)” “วัสดุเหลือใช้จากอุตสาหกรรมแปรรูปมันฝรั่ง (Kent K.L.,1977 ; US Patent4144132)” “มันสำปะหลัง(วิชชุพร , 2523)” “น้ำสับปะรด(สุมาลี ,2520)” เป็นต้น ดังนั้นการใช้น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อนเป็นแหล่ง

วัตถุดิบเพื่อผลิตเป็นจุลินทรีย์โปรตีนสำหรับอาหารคนและสัตว์โดยใช้เชื้อที่คัดเลือกไว้จึงนับว่ามีความเหมาะสมกับความต้องการและสถานการณ์ของประเทศ

“*S. cerevisiae* M30 เป็นยีสต์สายพันธุ์หนึ่งของ *S. cerevisiae* ซึ่งกลายพันธุ์ (mutant) เกิดจาก spontaneous mutation แยกจากการหมักเอทานอลโดย *S. cerevisiae* Sc 90 ในโรงงานสุราอยุธยา (จุญ, 2526 และ นงพงา, 2530)” “และเป็นสายพันธุ์หนึ่งที่มีปริมาณโปรตีนทั้งหมดภายในเซลล์สูงกว่าสายพันธุ์ตกตะกอนอื่นๆ ยกเว้นสายพันธุ์ AM12 และ N1 (รัฐดา, 2539)”

2. อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

2.1 จุลินทรีย์และการเตรียมหัวเชื้อ

การหมักเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* M30 ซึ่งเป็นเชื้อยีสต์สายพันธุ์ตกตะกอน ได้รับจากห้องปฏิบัติการการหมัก แอลกอฮอล์ รศ.ดร. สาวิตรี ลิ้มทอง ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เชื้อยีสต์เก็บรักษาไว้ในอาหาร MY agar slant และแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

การเตรียมหัวเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* M30 เลี้ยงใน MY broth ที่ผ่านการฆ่าเชื้อลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาตร 150 มิลลิลิตร บ่มในเครื่องเขย่า 100 รอบ/นาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง

2.2 การปรับสูตรอาหารจากน้ำตาลข้าวโพดฝักอ่อนที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *S. cerevisiae* M30 เพื่อใช้ในการผลิต จุลินทรีย์โปรตีน

โดยแปรความเข้มข้นของ Yeast extract เป็น 0.1% 0.2% 0.3% , น้ำตาลกลูโคส 0.5% 1.0% 1.5% , Malt extract 0.1% 0.2% 0.3% และเติมสารอาหาร $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 3, 5, 7, 9 กรัม/ลิตร แล้วเตรียม MY medium เป็นสูตรอาหารมาตรฐาน จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอน้ำอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที รอให้เย็นแล้วถ่ายเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* M30 “2% ของน้ำหมัก (ศุภินิตย์และสัญญาชัย, 2532)” แล้วนำไปเขย่าที่ความเร็ว 100 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิห้องและทำการเก็บตัวอย่างทุกๆ 0, 6, 12, 18, 24 ชั่วโมง “นำตัวอย่างมาวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้ง (Cell dry weight) ความเข้มข้นของน้ำตาลและเปรียบเทียบอัตราส่วนน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณ

น้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี Somogyi-Nelson เพื่อคัดเลือกสูตรอาหารที่เหมาะสมที่ให้ค่า Y_x / s สูงสุด (วรรณรัตน์และ อัมภาพร , 2545)”

2.3 ศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการผลิตจุลินทรีย์

โปรตีนด้วยเชื้อยีสต์ตกตะกอน (Flocculation yeast) สภาวะ Batch culture ในถังหมัก Air lift ที่ให้อากาศอย่างต่อเนื่อง

2.3.1 ความหวานที่เหมาะสม

เตรียมน้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อนที่มีส่วนประกอบเหมาะสม ให้มีความหวานเท่ากับ 1, 3, 5 และ 9 องศาบริกซ์ ปรับ pH เท่ากับ 4.5 ถ่ายเชื้อ *S. cerevisiae* M30 2% ของน้ำหมัก ทำการหมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน “โดยทำการเก็บตัวอย่างทุก 0, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง (บุญเทียม, 2523)”

2.3.2 อัตราการหมุนวน

ทำการศึกษาอัตราการหมุนวนที่ระดับ 3.5, 7 และ 10.5 รอบ/นาที ภายหลังจากถ่ายหัวเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* M30 ลงในถังหมัก ทำการเปรียบเทียบผลการเจริญของยีสต์ในช่วงเวลาดังกล่าว

2.4 การผลิตจุลินทรีย์โปรตีนด้วยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* M30 ระดับ 2.5 ลิตร ในถังหมักแบบ Air lift ขนาด 7 ลิตร ที่ให้อากาศอย่างต่อเนื่อง

ศึกษาอัตราการผลิตจุลินทรีย์โปรตีนโดยใช้สูตรอาหารจากน้ำตาลข้าวโพดฝักอ่อนที่ผ่านการฆ่าเชื้อปริมาตร 2.5 ลิตร ทำการหมักที่อุณหภูมิห้อง เก็บตัวอย่างทุกๆ 6 ชั่วโมง เป็นเวลา 60 ชั่วโมง

2.5 การขยายขนาดการผลิตจุลินทรีย์โปรตีนเป็นระดับ 5 ลิตรในถังหมักแบบ Air lift ขนาด 7 ลิตร ที่ให้อากาศอย่างต่อเนื่อง

ขยายขนาดการหมักน้ำตาลข้าวโพดฝักอ่อนระดับ 5 ลิตร เพื่อผลิตจุลินทรีย์โปรตีนโดยใช้สภาวะการหมักที่เหมาะสมจากการศึกษาในห้องปฏิบัติการระดับ 2.5 ลิตรข้างต้น เพื่อศึกษาข้อมูลพื้นฐานในการขยายขนาดการผลิตในระดับกึ่งโรงงานต่อไป

2.6 พัฒนาระบบการผลิตจุลินทรีย์โปรตีนด้วยการหมักแบบ Repeated Batch

ทำการหมักน้ำตาลข้าวโพดฝักอ่อนปริมาตร 5 ลิตร แบบ Repeated Batch โดยนำวัตถุดิบมาผลิตได้อีกหลายๆ ครั้งอย่างต่อเนื่อง โดยเติมสารอาหาร (Yeast extract 0.1%,

Malt extract 0.1%, (NH₄)₂SO₄ 0.9%, ปรับความหวาน 1 องศาบริกซ์) ทุกๆ 30 ชั่วโมง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง

2.7 การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีของจุลินทรีย์โปรตีน

นำจุลินทรีย์โปรตีนผงมา “วิเคราะห์หองค์ประกอบทางเคมีดังนี้ โปรตีน, ไขมัน และ ความชื้น ด้วยวิธี Proximate analysis (A.O.A.C., 1980)”

3. ผลการทดลองและวิจารณ์

3.1 การปรับสูตรอาหารจากน้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อนที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *S. cerevisiae* M30 เพื่อใช้ในการผลิตจุลินทรีย์โปรตีน

3.1.1 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เหมาะสม

นำต้มข้าวโพดฝักอ่อนซึ่งเป็นน้ำเสียจากโรงงานแปรรูปข้าวโพดฝักอ่อนสามารถใช้เป็นวัตถุดิบหลักในการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* M30 ได้ โดยอาศัยการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตในอาหาร MY broth ในระดับฟลask

ผลการศึกษาแสดงในตารางที่ 1 พบว่า น้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อนที่เติม Yeast extract 0.1%, Malt extract 0.1% และ เติมน้ำตาลกลูโคส 1.5% ให้ปริมาณเซลล์ยีสต์ได้ใกล้เคียงกับที่ได้รับจากที่เลี้ยงใน MY broth โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ แสดงให้เห็นว่าน้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อนสามารถใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับเลี้ยงเชื้อยีสต์ได้ ถึงแม้ว่าจำเป็นต้องเติม Yeast extract และ Malt extract บ้างก็ตาม

ตารางที่ 1 การเปลี่ยนแปลงจำนวนเซลล์ยีสต์ ความหวาน และ pH เมื่อเลี้ยงเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* M30 ในอาหารน้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อนที่แปรปริมาณน้ำตาลโดยเทียบกับ MY ในสภาพการเขย่า 100 รอบ/นาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

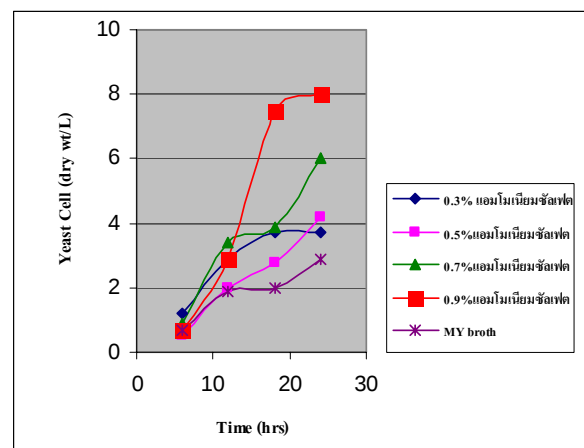
ปริมาณน้ำตาลกลูโคส (%)	เวลา (hr.)	จำนวนเซลล์ยีสต์* (Log CFU/ml.)	ความหวาน (°Brix)	pH
0.5%	0	-	0	4.81
	24	7.652 ^{ab}	0	4.53
1.0%	0	-	0.1	4.23
	24	7.701 ^{ab}	0	3.97
1.5%	0	-	0.5	4.36
	24	8.064 ^a	0	3.76
MY broth	0	-	1.0	4.62
	24	8.143 ^a	0	4.39

*ตัวอักษรที่เหมือนกันตามแนวตั้งแสดงถึงความไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดย DMRT

ซึ่งผลการศึกษาในลักษณะเดียวกับการศึกษาของ “รัฐดา (2539) ซึ่งทำการปรับสูตรอาหารโดยการแปรปริมาณน้ำตาลกลูโคสพบว่าที่ 1.0% สามารถเลี้ยงเชื้อ *S. cerevisiae* ในระดับ Flask ให้เมทไธโอนีนซึ่งเป็นกรดอะมิโนสูง”

3.1.2 ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต (NH₄)₂SO₄ ที่เหมาะสม

จากผลการทดลองที่ได้รับจากตารางที่ 1 ทำให้ต้องพิจารณาประสิทธิภาพการเพิ่มปริมาณของเซลล์ยีสต์ในน้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อนได้ โดยมุ่งเน้นให้มีปริมาณเซลล์ยีสต์ให้มากกว่าที่ได้รับจากที่เลี้ยงใน MY broth เป็นสำคัญ ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาโดยอาศัยการเติมสารอาหาร (NH₄)₂SO₄ ในปริมาณความเข้มข้นต่างๆ ซึ่งแสดงในภาพที่ 1



ภาพที่ 1 ผลของปริมาณ (NH₄)₂SO₄ ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อ น้ำหนักเซลล์แห้ง เมื่อเลี้ยงเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* M30 ในอาหารน้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อน และ ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MY ในสภาพเขย่า 100 รอบ/นาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

จากผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่าปริมาณ (NH₄)₂SO₄ ที่เติมลงในอาหารน้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อนมีผลต่อปริมาณเซลล์ยีสต์อย่างมีนัยสำคัญ โดยในทุกระดับความเข้มข้นของ (NH₄)₂SO₄ ที่ใช้ ได้ปริมาณเซลล์ยีสต์ที่มากกว่าในอาหาร MY broth อย่างมีนัยสำคัญ โดยที่ “สฤณณี (2525) ได้ทำการทดลองในลักษณะเดียวกัน ในการเพิ่มผลผลิตจุลินทรีย์โปรตีนแต่ใช้น้ำสั้ทั้งเป็นวัตถุดิบ โดยใช้เชื้อยีสต์สายพันธุ์ *Candida valida* K001 โดยการเติมแอมโมเนียมซัลเฟต 0.15% เป็นการทดแทน Yeast extract ที่มีราคาแพง เพื่อให้ได้ปริมาณน้ำหนักแห้งสูงขึ้น และมีปริมาณโปรตีนสูง”

อย่างไรก็ตามในกลุ่มที่เติม $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ พบว่า ปริมาณ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 9 กรัมต่อลิตร ให้ค่าน้ำหนักเซลล์แห้งของ ยีสต์สูงสุด เท่ากับ 8.0 กรัมต่อลิตร จากผลการทดลองนี้ สอดคล้องกับการทดลองของ “Koji (1986) ซึ่งเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* สามารถใช้แอมโมเนียมซัลเฟตในการเจริญได้ดี”

3.2 ศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการผลิตจุลินทรีย์

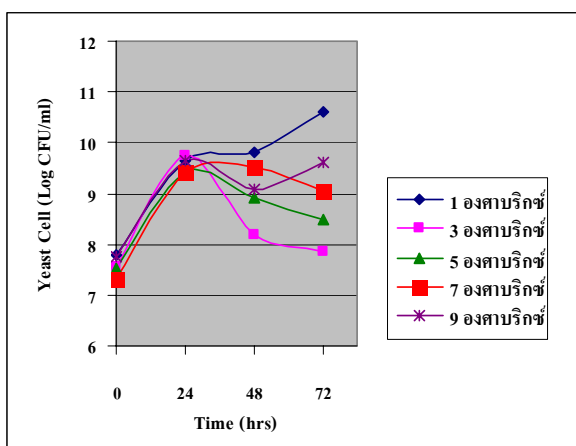
โปรตีนด้วยเชื้อยีสต์ตกตะกอน(Flocculation yeast) สภาวะ Batch culture ในถังหมัก Air lift ที่ให้อากาศอย่างต่อเนื่อง

3.2.1 ความหวานที่เหมาะสม

จากผลการทดลองที่แสดงในภาพที่ 2 พบว่าน้ำตาล ข้าวโพดฝักอ่อนที่ปรับความหวานเท่ากับ 1 องศาบริกซ์ได้ จำนวนเซลล์ยีสต์สูงสุดเท่ากับ $10.601 \text{ Log CFU/ml}$ (หรือ $3.99 \times 10^{10} \text{ CFU/ml}$) และในตารางที่ 2 แสดงค่าผลผลิตเซลล์ยีสต์สูงสุด ($Y_{x/s}$) เท่ากับ 0.5617

ตารางที่ 2 ผลของความหวานที่ปรับในน้ำตาลข้าวโพดฝักอ่อนที่มีต่อค่าผลผลิตเซลล์ยีสต์เมื่อเลี้ยงเซลล์ยีสต์ *S. cerevisiae* M30 เป็นเวลา 3 วัน ในถังหมักแบบ Air lift

ความหวาน (°Brix)	1	3	5	7	9
$Y_{x/s}$	0.5617	0.1712	0.2392	0.1839	0.2416

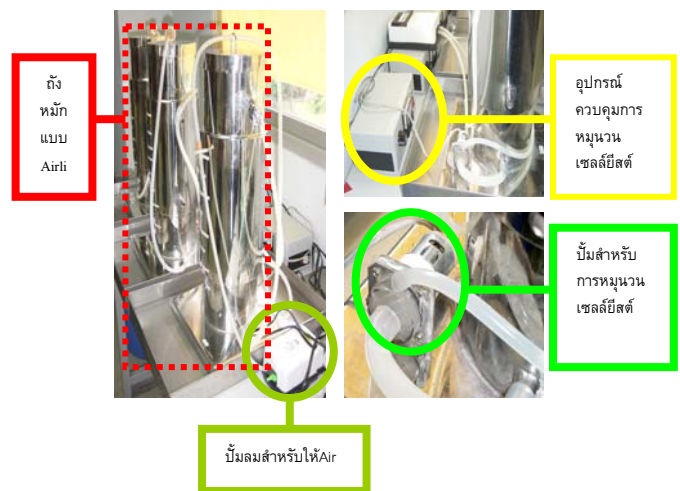


ภาพที่ 2 ผลของความหวานที่ปรับในน้ำตาลข้าวโพดฝักอ่อนที่มีผลต่อจำนวนเซลล์ยีสต์ เมื่อเลี้ยงเซลล์ยีสต์ *S. cerevisiae* M30 เป็นเวลา 3 วัน ในถังหมักแบบ Air lift

3.2.2 อัตราการหมุนวนที่เหมาะสมต่อน้ำหมัก

ศึกษาอัตราการหมุนวนน้ำหมักที่เหมาะสมพบว่าที่ 3.5 รอบ/นาที แต่เมื่อทำการทดลองปรากฏว่าอัตราการหมุนวนที่ 3.5 รอบ/นาที ไม่สามารถหมุนวนเซลล์ยีสต์ได้ตามที่ต้องการ ดังนั้นในการศึกษาจึงสามารถควบคุมได้เพียง 2 ระดับ (คือที่ 7 และ 10.5 รอบ/นาที)

สำหรับลักษณะถังหมัก และอุปกรณ์ควบคุมการหมุนวนแสดงอยู่ในภาพที่ 3 โดยถังหมักใช้ Stainless Steel จำนวน 3 ใบพร้อมทั้งมีอุปกรณ์สำหรับการให้อากาศ(รวมแผ่นกรองอากาศขนาด 0.4 ไมครอนเพื่อกรองอากาศให้ปราศจากเชื้อปนเปื้อน) ระบบควบคุมการหมุนวนเซลล์ยีสต์ (ประกอบด้วยอุปกรณ์ควบคุม และปั๊มสำหรับหมุนวนเซลล์ยีสต์)

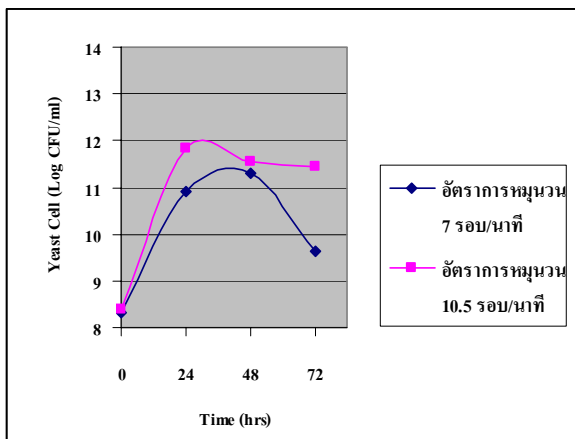


ภาพที่ 3 ลักษณะถังหมัก Airlift และอุปกรณ์ควบคุมการหมุนวนเซลล์ยีสต์ เพื่อใช้ในการหมัก เพื่อผลิตจุลินทรีย์โปรตีนจากเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* M30

ตารางที่ 3 พบว่าอัตราการหมุนวนเซลล์ยีสต์ 7 รอบ/นาที ให้ปริมาณเซลล์ยีสต์ คิดเป็นน้ำหนักแห้งมากกว่าที่ 10.5 รอบ/นาที ทั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ “สฤณณี (2525) ซึ่งพบว่าอัตราการหมุนวน 100 รอบ/นาที ให้ผลเหมาะสมที่สุด” แต่เมื่อพิจารณาจากภาพที่ 4 กลับพบว่าจำนวนเซลล์ยีสต์(Log cfu/ml) ที่อัตราการหมุนวนที่ 10.5 รอบ/นาที มีค่ามากกว่าที่อัตราการหมุนวนที่ 7 รอบ/นาที ทั้งนี้แสดงให้เห็นว่าน่าจะเกิดปัญหาด้านการปนเปื้อนของแบคทีเรียขึ้นในระหว่างกระบวนการหมัก

ตารางที่ 3 ผลของอัตราการหมวนเซลล์ยีสต์ *S. cerevisiae* M30 ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลที่ใช้ และค่าผลผลิตเซลล์ยีสต์ ในระหว่างการหมัก ในอาหารน้ำตาลมข้าวโพดฝักอ่อนปรับความหวานเท่ากับ 1 องศาบริกซ์ ด้วยน้ำตาลทราย ในถังหมักแบบ Airlift ที่อุณหภูมิห้อง

อัตราการหมวน เซลล์ยีสต์ (รอบ/นาที)	เวลา (hr.)	น้ำหนัก เซลล์แห้ง (g/L)	ปริมาณ น้ำตาลที่ใช้ (g/L)	ค่าผลผลิต เซลล์ยีสต์ (Yx/s)
7	0	0.05	0	0.4623
	24	1.55	3.89	
	48	1.75	3.91	
	72	2.12	3.92	
10.5	0	0.18	0	0.1748
	24	1.27	8.06	
	48	1.60	9.12	
	72	1.75	9.14	



ภาพที่ 4 ผลของอัตราการหมวนเซลล์ยีสต์ *S. cerevisiae* M30 ต่อจำนวนเซลล์ยีสต์ ระหว่างการหมักในอาหารน้ำตาลมข้าวโพดฝักอ่อน ปรับความหวานเท่ากับ 1 องศาบริกซ์ ด้วยน้ำตาลทราย ในถังหมักแบบ Airlift ที่อุณหภูมิห้อง

3.3 การผลิตจุลินทรีย์โปรตีนด้วยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* M30 ระดับ 2.5 ลิตร ในถังหมักแบบ Air lift ขนาด 7 ลิตร ที่ให้อากาศอย่างต่อเนื่อง

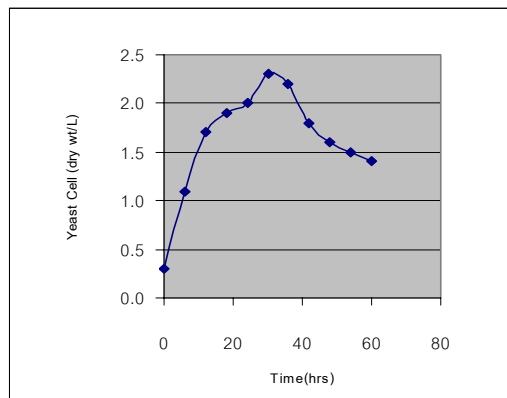
จากการศึกษาการสร้างถังหมัก Air lift ระดับ 2.5 ลิตร ที่มีการให้อากาศแบบต่อเนื่องสำหรับผลิต จุลินทรีย์โปรตีน จากน้ำตาลมข้าวโพดฝักอ่อนที่เหมาะสมลงในถังหมักแบบ Airlift เพื่อศึกษาอัตราการเจริญของเซลล์ยีสต์ในช่วงเวลา

ที่มีอัตราการผลิตจุลินทรีย์โปรตีนสูงที่สุด เพื่อใช้เป็นเวลาที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวเซลล์ยีสต์ เพื่อทำการขยายขนาดการผลิตในถังหมักแบบ Air lift ระดับ 5 ลิตร ทั้งนี้ผลการทดลองสอดคล้องกับ “พรชัย (2527)” ซึ่งศึกษาอัตราการเจริญของยีสต์ ในการผลิตจุลินทรีย์โปรตีนโดยใช้น้ำตาลจากการผลิตเยื่อกระดาษเป็นวัตถุดิบ โดยพบว่าเชื้อยีสต์มีระยะเวลาการสร้างเซลล์สูงสุดในชั่วโมงที่ 36”

ตารางที่ 4 ผลจำนวนเซลล์ยีสต์ ปริมาณน้ำตาลที่ใช้และ ค่าผลผลิตเซลล์ยีสต์ในระหว่างการหมักในอาหารน้ำตาลมข้าวโพดฝักอ่อนที่มีอัตราการหมวนน้ำหมัก 7 รอบ/นาที ระดับ 2.5 ลิตร ในถังหมักแบบ Airlift ขนาด 7 ลิตร ที่อุณหภูมิห้อง

เวลา (hr.)	จำนวนเซลล์ยีสต์ (Log CFU/ml.)	ปริมาณ น้ำตาลที่ใช้ (g/L)	Yx/s
0	9.524	0	0.0000
6	11.290	5.91	0.1438
12	12.175	8.48	0.1710
18	12.216	8.62	0.1914
24	12.218	9.16	0.1583
*30	12.220	9.43	0.2121
36	11.962	9.48	0.2057
42	11.938	9.51	0.1577
48	11.815	9.51	0.1420
54	11.719	9.52	0.1628
60	10.906	9.53	0.1364

จากผลการทดลองที่แสดงในตารางที่ 4 พบว่าเชื้อยีสต์มีระยะเวลาการสร้างเซลล์สูงสุดในชั่วโมงที่ 30 ได้จำนวนเซลล์ยีสต์เท่ากับ 12.220 LogCFU/ml. (หรือ 1.66×10^{12} cfu/ml.) น้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 2.3 g/L. และอัตราน้ำหนักเซลล์แห้งต่อปริมาณน้ำตาลที่ใช้หรือค่าผลผลิตเซลล์ยีสต์สูงสุด (Yx/s) เท่ากับ 0.2121



ภาพที่ 5 แสดงน้ำหนักเซลล์แห้งของ *S. cerevisiae* M30 ในระหว่างการหมักในอาหารน้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อนที่มีอัตราการหมุนวนน้ำหมัก 7 รอบ/นาที ในถังหมัก Air lift ขนาด 2.5 ลิตร เป็นเวลา 60 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง

จากภาพที่ 5 พบว่า ช่วงเวลาที่ 30 ถึง 36 เซลล์ยีสต์มีอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์เพียงเล็กน้อยและลดต่ำลงตั้งนั้น ชั่วโมงที่ 30 จึงเหมาะสมที่จะนำมาทำการหมักแบบ Repeated Batch

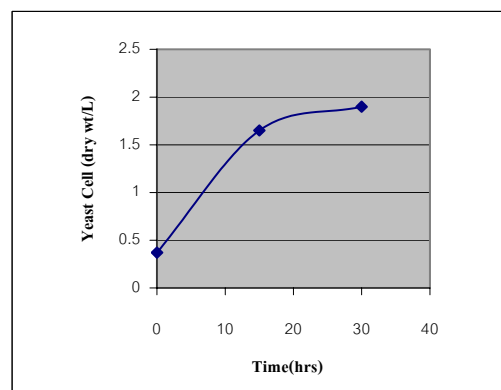
3.4 การขยายขนาดการผลิตจุลินทรีย์โปรตีนเป็นระดับ 5 ลิตรในถังหมักแบบ Air lift ขนาด 7 ลิตร ที่ให้อากาศอย่างต่อเนื่อง

จากผลการทดลองที่แสดงในตารางที่ 5 พบว่าเชื้อยีสต์ในชั่วโมงที่ 30 ได้จำนวนเซลล์ยีสต์เท่ากับ 13.193 Log CFU/ml (หรือ 2.125×10^{13} cfu/ml) น้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 1.90 g/l และอัตราส่วนน้ำหนักเซลล์แห้งต่อปริมาณน้ำตาลที่ใช้ หรือค่าผลผลิตเซลล์ยีสต์สูงสุด (Yx/s) เท่ากับ 0.3995 เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับผลในตารางที่ 4 ที่ทำการหมักจุลินทรีย์โปรตีนที่ระดับ 2.5 ลิตร พบว่าอัตราส่วนน้ำหนักเซลล์แห้งต่อปริมาณน้ำตาลที่ใช้หรือค่าผลผลิตเซลล์ยีสต์สูงสุด (Yx/s) มีค่าที่ต่ำกว่า กรณีนี้อาจเกิดจากการนำน้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อน ที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตจุลินทรีย์โปรตีนนำกลับมาใช้ใหม่อีกครั้ง จากภาพที่ 6 แสดงน้ำหนักเซลล์แห้งและ จำนวนเซลล์ยีสต์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นสอดคล้องกัน ช่วงเวลาที่ 0 ถึง 30 ชั่วโมง เซลล์ยีสต์อยู่ในช่วง Log phase เซลล์ยีสต์เริ่มมีอัตราการเจริญคงที่ (Stationary phase) ดังนั้นจึงทำการทดลองหมักแบบ Repeated Batch ในขั้นต่อไป

ตารางที่ 5 ผลของการหมักจุลินทรีย์โปรตีนระดับ 5 ลิตร ในถังหมัก

Air lift ขนาด 7 ลิตร จาก *S. cerevisiae* M30 ต่อจำนวนเซลล์ยีสต์ปริมาณน้ำตาลที่ใช้และค่าผลผลิตเซลล์ยีสต์ในระหว่างการหมักในอาหารน้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อนที่มีอัตราการหมุนวนน้ำหมัก 7 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิห้อง

เวลา (hr.)	จำนวนเซลล์ยีสต์ (Log cfu/ml)	ปริมาณน้ำตาลที่ใช้ (g/l)	ค่าผลผลิตเซลล์ยีสต์ (Yx/s)
0	7.634	0	0.3995
15	12.778	3.73	
30	13.193	3.83	



ภาพที่ 6 แสดงน้ำหนักเซลล์แห้งของ *S. cerevisiae* M30 ในระหว่างการหมักในอาหารน้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อน ใช้อัตราการหมุนวนน้ำหมัก 7 รอบ/นาที ระดับ 5 ลิตร ในถังหมักแบบ Air lift ขนาด 7 ลิตร เป็นเวลา 30 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง

3.5 พัฒนาระบบการผลิตจุลินทรีย์โปรตีนด้วยการหมักแบบ Repeated Batch

จากผลการทดลองที่แสดงในตารางที่ 6 ทำการหมักแบบ Repeated Batch ทุกๆ 30 ชั่วโมง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง พบว่าค่าผลผลิตเซลล์ยีสต์เท่ากับ 0.1315, 0.1956 และ 0.2005 ในช่วงการทำ Repeated Batch แต่ละรอบตามลำดับ ทั้งนี้ในแต่ละช่วงเวลาที่ทำการหมักแบบ Repeated Batch ได้ค่าผลผลิตเซลล์ยีสต์ที่ค่อนข้างใกล้เคียงกันแสดงว่าน้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อนสามารถนำกลับมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตได้หลายครั้งอย่างต่อเนื่อง

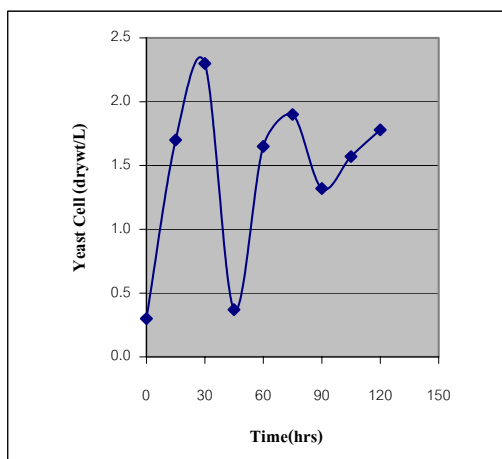
จากภาพที่ 7 เมื่อทำการหมักแบบ Repeated Batch ถึงเวลา 120 ชั่วโมง พบว่าน้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าเท่ากับ 7.05 g/L (35.25 g/5L) เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับค่าใช้จ่าย เช่น

ค่าไฟฟ้า (บีมล์สำหรับให้อากาศ, บีมล์สำหรับการหมุนวน เซลล์ยีสต์) ค่าวัตถุดิบ(น้ำตาลทราย, แอมโมเนียมซัลเฟต) พบว่าต้นทุนในการผลิตในแต่ละครั้งมีต้นทุนที่ค่อนข้างสูง เมื่อเทียบกับผลผลิตที่ผลิตจุลินทรีย์ได้

ตารางที่ 7 ผลของการพัฒนากระบวนการการผลิตจุลินทรีย์โปรตีน ด้วยการหมักแบบ Repeated Batch

เวลา (hrs)	จำนวนเซลล์ยีสต์ (Log CFU/ml)	ปริมาณ น้ำตาลที่ใช้ (g/L)	ค่าผลผลิตเซลล์ ยีสต์ (Yx/s)
0	9.524	0	0.0000
15	12.259	8.53	0.1823
30	12.220	9.43	0.2121
45	7.634	0.30	0.0020
60	12.778	3.73	0.3895
75	13.193	3.83	0.3992
90	6.894	2.59	0.0018
105	12.386	3.43	0.2976
120	12.895	4.14	0.2957

* เวลาที่ทำการหมักแบบ Repeated Batch โดยที่จะนำผลมาคำนวณ มาหาค่าผลผลิตเซลล์ยีสต์เป็นช่วงๆ (ทุกๆ 30 ชั่วโมง)



ภาพที่ 7 แสดงน้ำหนักเซลล์แห้งของ *S. cerevisiae* M30 ในระหว่างการหมักในอาหารน้ำตาลข้าวโพดฝักอ่อนในสภาวะที่เหมาะสมจากการศึกษาข้างต้น ทำการหมักต่อแบบ Repeated Batch (โดยการปรับความหวาน 1 องศาบริกซ์ และ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.9%) ทุกๆ 30 ชั่วโมงเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

3.6การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีของจุลินทรีย์โปรตีน

จากการทดลองผลิตจุลินทรีย์โปรตีน จากน้ำตาลข้าวโพดฝักอ่อน โดยอาศัยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* M30 ในถังหมักแบบ Air lift ในระบบหมุนวนเซลล์ยีสต์และผ่านการทำให้แห้งจนได้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์โปรตีนผง ทั้งนี้ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีแสดงในตารางที่ 6 พบว่าประกอบด้วยโปรตีน 46%, ไขมัน 6.69% และ ความชื้น 7.52%

ตารางที่ 6 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของจุลินทรีย์โปรตีน (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง) จากเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* M30 ในสภาพที่ใช้น้ำตาลข้าวโพดฝักอ่อนเป็นวัตถุดิบ

Analysis	Single Cell Protein
Protein	46
Fat	6.69
Moisture	7.52

4.สรุปผลการทดลองและวิจารณ์

น้ำตาลข้าวโพดฝักอ่อนซึ่งเป็นน้ำเสียจากโรงงาน โดยปรุงแต่งด้วย Yeast extract 0.1%, Malt extract 0.1%, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.9% และปรับความหวาน 1 องศาบริกซ์ด้วยน้ำตาลซูโครสเป็นสภาพที่เหมาะสมในการผลิตจุลินทรีย์โปรตีนจากเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* M30 ในถังหมัก Air lift สภาพการหมุนวนเซลล์ ซึ่งสามารถทำการหมักแบบ Repeated Batch ได้ แสดงให้เห็นศักยภาพในการผลิตจุลินทรีย์โปรตีนที่ใช้น้ำตาลข้าวโพดฝักอ่อนเป็นวัตถุดิบอย่างต่อเนื่อง อย่างไรก็ตามต้นทุนในการผลิตในแต่ละครั้งมีต้นทุนสูง เมื่อทำการเก็บเกี่ยวเซลล์ยีสต์ด้วยการกรองและผ่านการทำให้แห้งจนได้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์โปรตีนผงสำหรับการผลิตจุลินทรีย์โปรตีนที่ได้พบว่าประกอบด้วยโปรตีน 46 %, ไขมัน 6.69 % และ ความชื้น 7.52 % ซึ่งน่าจะสามารถนำไปประยุกต์ใช้สำหรับเป็นอาหารสัตว์ได้

5.กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้จัดทำกราบขออนุญาตขอบคุณสำนักงานกองทุนการสนับสนุนงานวิจัย (สกว.) ที่ได้ให้การสนับสนุน ภายใต้โครงการ IRPUS และขอขอบคุณ บริษัท แอคโกร-ออน (ไทยแลนด์) จำกัด ที่ได้ให้การสนับสนุนในด้านวัตถุดิบ (น้ำตาลข้าวโพดฝักอ่อน)

เอกสารอ้างอิง

- บุญเทียม พันธุ์เพ็ง .2523. การคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์ เพื่อหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลและน้ำอ้อย. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต(จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย) วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต(จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย)เกษตรศาสตร์ . กรุงเทพฯ ฯ
- ปราโมทย์ ศิริโรจน์ . 2521 . การคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์ ที่มีโปรตีนสูงในน้ำทิ้งจากขบวนการแปรรูปอาหารถั่วเหลือง.วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ . กรุงเทพฯ ฯ
- ประภา เพื่องฟูพงษ์ และคณะ .2521.การผลิตยีสต์โดยใช้น้ำทิ้งจากโรงงานแปรงไม้สำหรับล้าง.รวมเรื่องย่อการประชุมทางวิชาการครั้งที่ 16 สาขาพืช.กรุงเทพฯ.มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- พรชัย นพนาถพงษ์.2527.การผลิตโปรตีนจากยีสต์โดยใช้น้ำทิ้งจากการผลิตเยื่อกระดาษเป็นวัตถุดิบ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ . กรุงเทพฯ ฯ
- วรารุณ คุรุสรวงและกรวิกา สุขศรีวงศ์.2539.เทคโนโลยีชีวภาพ.ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
- วรรณรัตน์ สว่าง และ อัมภาพร ภาตะนันท์ .2545. อิทธิพลของแบคทีเรียแลคติกต่อการเจริญของ *Saccharomyces cerevisiae* M30 ในกระบวนการผลิตโปรตีนเซลล์เดี่ยว.ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
- วิชชุพร ว่องสุวรรณเลิศ .2523. จุลินทรีย์โปรตีนจากมันสำปะหลังโดย *Rhizopus* และ *Yeast*. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ ฯ , หน้า 1-2 ,107-109
- รัฐดา จันทร์กลั่น .2539. การปรับปรุงพันธุ์กรรมและการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเลี้ยง *Saccharomyces cerevisiae* ที่มีเมทไธโอนีนภายในเซลล์สูง.วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ . กรุงเทพฯ ฯ
- ศุภนิตย์ หิรัญประดิษฐ์ และสณชัย ตันตยาภรณ์ .2532 ศึกษาวิธีการเตรียมน้ำอ้อยก่อนนำมาหมักเป็นแอลกอฮอล์ด้วยยีสต์ที่40องศาเซลเซียส.วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร.22 (1) ; 47-56.
- สฤณณี กุณทียะ .2525. การเลี้ยงจุลินทรีย์ในน้ำสาทิ้ง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.กรุงเทพฯ ฯ , หน้า 11-12 ,15-23
- สมาลี ตั้งพัฒน์เจริญ.2520.การผลิตยีสต์โปรตีนโดย *Candida utilis* จากน้ำสับปะรด . วิทยานิพนธ์ปริญญาโทจุฬา ลงกรณ์มหาวิทยาลัย . กรุงเทพฯ ฯ .
- อโณทัย คมเสวต . 2519 . การศึกษาการเจริญของยีสต์อาหารสัตว์โดยใช้น้ำมะพร้าวเป็นวัตถุดิบ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ . กรุงเทพฯ ฯ , หน้า 1-2 ,27
- A.O.A.C.1980.Official methode of analysis .13 th ed. Washington D.C. : Association of official Analytical Chemists.
- Foda , M.S. , S.A. Salem , S.M. Hegazi and S.M. Badr – Eldin . 1973 . Biochemical studies for utilization of corn steep liquor in production of protein . J . Sci . Fd . Agric . 24 : 17-22
- Hitzman D. O. 1976 . Methanol from fermentation to Single cell protein by Microorganisms , Patent US 3,982,998
- Kent K. L . 1977 . Production of Single cell protein from potato processing waste , Patent US 4,144,132
- Koji,M.A.1986.Sulphur up take in methionine biosynthesis in *S. cerevisiae*. Zanco.4:41-49