รายงานการวิจัยเรื่อง

การเลี้ยงยีสต์ในน้ำนึ่งปลาทูน่าหลังการแยกโปรตีนและไขมัน

Cultivation of Yeasts in Tuna Condensate after Protein and Fat Separation

โดย

ผศ. ดร. อรัญ หันพงศ์กิตติกูล

อาจารย์ ทิพรัตน์ หงภัทรดีรี

อาจารย์ ปิยะรัตน์ ธนโกเศศ

คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

โดยงบประมาณแผ่นดินหมวดเงินอุดหนุนการวิจัย

ประจำปีงบประมาณ 2536

Order Key

BIB Key

เลขหมู่ TP248.65.P34 ท946

เลขทะเบียน 2541 ฉ 1

21 ต.ค. 2541

โครงการวิจัยเรื่อง การเลี้ยงยีสต์ในน้ำนึ่งปลาทูน่าหลังการแยกโปรตีนและไขมัน

อรัญ หันพงศ์กิตติกูล ทิพรัตน์ หงภัทรคีรี และ ปิยะรัตน์ ธนโกเศศ
ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพอุตสาหกรรม คณะอุตสาหกรรมเกษตร
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ หาดใหญ่ 90110

บทคัดย่อ

เมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบน้ำนึ่งปลาทูน่าจากปลาโอแถบ (*Kastsuwonus pelamis*) หลังจากแยกไขมันและโปรตีน พบว่ามี โปรตีนร้อยละ 4.90 น้ำมันและกรีส 235 มิลลิกรัมต่อลิตร ของแข็งทั้งหมด 81,503 มิลลิกรัมต่อลิตร ของแข็งแขวนลอย 2,983 มิลลิกรัมต่อลิตร ซีโอดี 52,416 มิลลิกรัมต่อลิตร เถ้าร้อยละ 1.60 น้ำตาลทั้งหมด 4,700 มิลลิกรัมต่อลิตร และเกลือ(NaCl) 1,461 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนแร่ธาตุต่าง ๆ ได้แก่ ฟอสฟอรัส แคลเซียม แมกนีเซียม เหล็กและทองแดง มีค่าเท่ากับ 1,080 , 64.94 , 182.1, 0.36 และ 6.07 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

เมื่อเลี้ยงยีสต์ 7 สายพันธุ์ ได้แก่ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088, *S.cerevisiae* TISTR 5088, *Schwanniomyces castellii* B 5285, *Sch. alluvius* ATCC 26074, *Candida utilis* TISTR 5001, *C. tropicalis* TISTR 5146 และ *C. lipolytica* TISTR 5151 ในน้ำนึ่งปลาทูน่าหลังการแยกไขมันและโปรตีนในฟลาสก์บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่า *C. tropicalis* TISTR 5146 เจริญได้ดีที่สุด มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด 3.27 กรัมต่อลิตร และปริมาณโปรตีนในเซลล์ร้อยละ 58.15

เมื่อศึกษาอัตราการเจือจางน้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกโปรตีนและไขมัน โดยใช้น้ำนึ่งปลาทูน่าต่อน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:0, 1:1, 1:4 และ 1:9 แล้วเลี้ยงยีสต์ *C. tropicalis* TISTR 5146 ในฟลาสก์บนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่า *C. tropicalis* TISTR 5146 เจริญได้ดีที่สุดในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1 เติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 พีเอชเริ่มต้นเป็น 5.5 ได้ปริมาณเซลล์ยีสต์ 11.51 กรัมต่อลิตร การเติมแหล่งไนโตรเจนอนินทรีย์และยีสต์สกัดไม่มีผลต่อการเจริญ

ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *C. tropicalis* TISTR 5146 ในถังหมักที่มีอาหาร 1.5 ลิตร พบว่า *C. tropicalis* TISTR 5146 เจริญได้ดีที่สุด เมื่อให้อากาศ 2.0 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที อัตราเร็วในการกวน 400 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสและอาหารมีพีเอชเริ่มต้น 5.5 โดยมีอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด 0.37 ต่อชั่วโมง ได้เซลล์แห้งเท่ากับ 8.89 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 58.20 ไขมันร้อยละ 0.36 เถ้าร้อยละ 9.59 และความชื้นร้อยละ 1.26 ยีสต์แห้งที่ได้มีกรดอะมิโนที่จำเป็นครบทุกชนิด น้ำนึ่งปลาทูน่าหลังการเลี้ยงยีสต์ มีค่าซีโอดี น้ำมันและกรีสลดลงร้อยละ 45.14 และ 61.91 ตามลำดับ

Research Project Cultivation of Yeast in Tuna Condensate after Protein and Fat Separation

Aran H-Kittikun, Tiparat Hongpattarakeree and Piyarat Ratanakoses
Department of Industrial Biotechnology, Faculty of Agro-Industry
Prince of Songkla University, Hat Yai 90110

Abstract

The tuna condensate from skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) after fat and protein separation contained 4.90% protein, 235 mg/l oil and grease, 81,503 mg/l total solids, 2,983 mg/l suspensded solids, 52,416 mg/l COD, 1.60% ash, 1,831 mg/l reducing sugars, 4,700 mg/l total sugars and 1,461 mg/l salt (NaCl). The concentrations of minerals present in tuna condensate after protein and fat separation were 1,080 mg/L PO_4^{3-}, 64.94 mg/L Ca^{2+}, 182.1 mg/L Mg^{2+}, 0.36 mg/l $Fe^{2+,3+}$ and 6.07 mg/l Cu^{2+}.

Seven yeast strains, *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5021, *S. cerevisiae* TISTR 5088, *Schwanniomyces castellii* B 5285, *Sch. alluvius* ATCC 26074, *Candida utilis* TISTR 5001, *C. tropicalis* TISTR 5146 and *C. lipolytica* TISTR 5151 were cultivated in the pretreated tuna condensate at room temperature on the shaker with a speed of 200 rpm. It was found that *C. tropicalis* TISTR 5146 gave the highest biomass of 3.27 g/l with a protein content of 58.15%.

The pretreated tuna condensate was diluted with water in the ratios of 1:0, 1:1, 1:4 and 1:9 and used for shaking flask cultivation (200 rpm) of *C. tropicalis* TISTR 5146 at room temperature. It was observed that after 48 h cultivation *C. tropicalis* TISTR 5146 gave the highest growth with a biomass of 11.51 g/l in the pretreated tuna condensate to water ratio of 1:1 containing 5% molasses with an initial medium pH of 5.5. The addition of an inorganic nitrogen source and yeast extract had no effect on growth.

When *C. tropicalis* TISTR 5146 was cultivated in the fermentor with a working volume of 1.5l, optimal conditions were obtained using an aeration rate of 2 v/v/m, an agitation speed of 400 rpm at 30°C and an inital medium pH of 5.5. Under these conditions the yeast had the specific growth rate of 0.37 per hour. After 24 hour cultivation the cell dry mass was 8.89 g/l and containted 58.20% protein, 0.36% fat, 9.59 % ash and all essential amino acids. The used broth had COD and oil and grease decreased 45.14% and 61.91% , respectively.

สารบาญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(1)
Abstract	(3)
กิตติกรรมประกาศ	(5)
สารบัญ	(6)
รายการตาราง	(9)
รายการรูป	(10)
บทนำ	1
บทนำต้นเรื่อง	1
ตรวจเอกสาร	2
วัสดุเศษเหลือของโรงงานปลาทูน่าบรรจุกระป๋อง	2
น้ำนึ่งปลาทูน่า	2
การใช้ประโยชน์จากวัสดุเศษเหลือจากโรงงานปลาทูน่าบรรจุกระป๋อง	4
โปรตีนเซลล์เดียว	6
ชนิดของยีสต์และวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว	7
คุณค่าทางอาหารของยีสต์	12
วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ	15
วัสดุ	15
1. วัตถุดิบ	15
2. ยีสต์	15
3. อาหารเลี้ยงเชื้อ	15
4. สารเคมี	16
วิธีการวิเคราะห์	16
วิธีการทดลอง	17
1. การแยกไขมันออกจากน้ำนึ่งปลาทูน่า	17
2. การตกตะกอนโปรตีนออกจากน้ำนึ่งปลาทูน่า	17

สารบาญ (ต่อ)

	หน้า
3. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและทางกายภาพของน้ำนึ่งปลาทูน่าก่อนและหลังการแยกไขมันและโปรตีน	17
4. การเตรียมเชื้อยีสต์เริ่มต้น	17
5. การคัดเลือกยีสต์ที่เจริญได้ดีในน้ำนึ่งปลาทูน่าหลังการแยกไขมันและโปรตีน	18
6. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์ในฟลาสก์บนเครื่องเขย่า	18
7. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์ในถังหมัก	19
ผลการทดลองและวิจารณ์	
1. การแยกไขมันและตกตะกอนโปรตีนออกจากน้ำนึ่งปลาทูน่า	21
2. ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและทางกายภาพของน้ำนึ่งปลาทูน่าก่อนและหลังการแยกไขมันและโปรตีน	21
3. การคัดเลือกยีสต์ที่เจริญในน้ำนึ่งปลาทูน่าหลังการแยกไขมันและโปรตีน	23
4. สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์ในฟลาสก์บนเครื่องเขย่า	25
4.1 ผลของการเจือจางน้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกไขมันและโปรตีนด้วยน้ำกลั่น	25
4.2 ผลของพีเอชเริ่มต้นของน้ำนึ่งปลาทูน่า	28
4.3 ผลของชนิดและปริมาณแหล่งคาร์บอน	28
4.4 ผลของชนิดและปริมาณไนโตรเจน	31
5. สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์ในถังหมัก	34
5.1 ผลของการให้อากาศ	34
5.2 ผลของอัตราเร็วของใบพัดกวน	37
5.3 ผลของพีเอชในระหว่างการหมัก	40
5.4 ผลของอุณหภูมิ	42
6. ผลการวิเคราะห์น้ำนึ่งปลาทูน่าหลังการเลี้ยงยีสต์ในถังหมัก	42

สารบาญ (ต่อ)

	หน้า
7. ผลการศึกษาองค์ประกอบของยีสต์แห้ง	46
สรุป	48
เอกสารอ้างอิง	50

รายการตาราง

ตารางที่	หน้า
1. องค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำนึ่งปลาทูน่าจากโรงงานทรอปิคอลแคนนิง	5
2. องค์ประกอบของกรดอะมิโนในเซลล์ของยีสต์	13
3. องค์ประกอบของวิตามินในเซลล์ยีสต์ต่าง ๆ	14
4. องค์ประกอบของน้ำนึ่งปลาทูน่าก่อนและหลังการแยกโปรตีนและไขมัน	22
5. ผลการเลี้ยงยีสต์ 7 สายพันธุ์ ในน้ำนึ่งปลาทูน่าหลังการแยกไขมันและโปรตีนต่อการลดของซีโอดีและไขมันและกรีสในน้ำนึ่งปลาทูน่า น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณโปรตีนในเซลล์ยีสต์	26
6. องค์ประกอบทางเคมีของน้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกโปรตีนและไขมันที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1 เติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 พีเอช 5.5 ก่อนและหลังการเลี้ยงยีสต์ฟ ฟลาสก์ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง	36
7. องค์ประกอบทางเคมีของน้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกโปรตีนและไขมันที่เจือจางน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1 เติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 พีเอช 5.5 ก่อนและหลังการเลี้ยงยีสต์ในถังหมัก เป็นเวลา 24 ชั่วโมง	45
8. องค์ประกอบกรดอะมิโนในเซลล์ยีสต์ชนิดต่าง ๆ	47

รายการรูป

รูปที่ หน้า

1. กระบวนการผลิตและวัสดุเศษเหลือจากโรงงานผลิตปลาทูน่าบรรจุกระป๋อง 3
2. การเจริญของยีสต์ 7 สายพันธุ์ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกโปรตีนและไขมัน พีเอช เริ่มต้น 4.5 (เลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง) 24
3. การเจริญของ *Candida tropicalis* TISTR 5146 ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่มีการเจือจาง ด้วยน้ำกลั่น ที่อัตราส่วนต่าง ๆ (พีเอชเริ่มต้น 4.5 บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง) 27
4. ผลของพีเอชเริ่มต้นต่อการเจริญของ *Candida tropicalis* TISTR 5146 ในน้ำนึ่งปลา ทูน่าที่มีการเจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1 (เลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง) 29
5. ผลของแหล่งคาร์บอนต่อการเจริญของ *Candida tropicalis* TISTR 5146 ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1 พีเอชเริ่มต้น 5.5 เลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง) 30
6. ผลของแหล่งไนโตรเจนอนินทรีย์ต่อการเจริญของ *Candida tropicalis* TISTR 5146 ในน้ำนึ่งปลาทูน่าทีเจือจางด้วยน้ำกลั่นอัตราส่วน 1:1 พีเอช เริ่มต้น 5.5 มีกากน้ำตาล ร้อยละ 5 พีเอชเริ่มต้น 5.5 (เลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง 32
7. ผลของยีสต์สกัดต่อการเจริญของ *Candida tropicalis* TISTR 5146 ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นอัตราส่วน 1:1 เติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 พีเอชเริ่มต้น 5.5 (เลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง) 33
8. การเปลี่ยนแปลงพีเอช น้ำหนักแห้ง และการใช้สารอาหารของ *Candida tropicalis*_TISTR 5146 ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่น 1:1 มีกากน้ำตาลร้อยละ 5 พีเอชเริ่มต้นที่ 5.5 (เลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง 35

รายการรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
9.	ผลของการให้อากาศต่อการเจริญ *Candida tropicalis* TISTR 5146 (ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1 เติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 พีเอชเริ่มต้น 5.5 ในถังหมักที่มีอัตราการในการกวน 400 รอบต่อนาที และ อุณหภูมิ 30 องศาสเซลเซียส)	38
10.	ผลของอัตราเร็วในการกวนต่อการเจริญของ *Candida tropicalis* TISTR 5146 (ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นอัตรา ส่วน 1:1 เติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 พีเอชเริ่มต้น 5.5 ในถังหมักที่ให้อากาศ 2 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตาอาหารต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาสเซลเซียส	39
11.	ผลของพีเอชในระหว่างการหมักต่อการเจริญของ *Candida tropicalis* TISTR 5146 (ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตรา ส่วน 1:1 เติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 ในถังหมักที่มีอัตราเร็วในการกวน 400 รอบต่อนาที ให้อากาศ 2.0 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที อุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส	41
12.	ผลของอุณหภูมิในระหว่างการหมักต่อการเจริญของ *Candida tropicalis* TISTR 5146 (ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตรา ส่วน 1:1 เติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 พีเอชเริ่มต้น 5.5 ในถังหมักที่มีอัตราเร็วในการกวน 400 รอบต่อนาที ให้อากาศ 2.0 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที)	43
13.	การเปลี่ยนแปลงพีเอช น้ำหนักเซลล์แห้ง และการให้สารอาหารของ *Candida tropicalis* TISTR 5146 (ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่น 1:1 เติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 พีเอชเริ่มต้น 5.5 ในถังหมักมีอัตราเร็วในการกวน 400 รอบต่อนาที ให้อากาศ 2.00 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที และอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส	44

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

อุตสาหกรรมปลาทูน่าบรรจุกระป๋อง เป็นอุตสาหกรรมการผลิตเพื่อการส่งออกที่สำคัญของไทย ปีหนึ่ง ๆประเทศไทยมีรายได้จากการส่งออกปลาทูน่าบรรจุกระป๋องกว่าหนึ่งหมื่นล้านบาท โดยเป็นแหล่งผลิตและเป็นผู้ส่งออกปลาทูน่าบรรจุกระป๋องรายใหญ่ของโลกติดต่อกันมาตั้งแต่ปี 2528 จนถึงปัจจุบัน จากรายงานของ ณัฐ อ่อนศรี (2538) ในปี 2538 มียอดส่งออกถึง 283,215 ตัน คิดเป็นมูลค่า 15,562 ล้านบาท จากความต้องการผลิตภัณฑ์ของลูกค้ามีมากขึ้นจึงได้มีการขยายโรงงานอุตสาหกรรมเพิ่มจาก 16 โรงงานเป็น 22 โรงงาน ทั้งในภาคใต้และบริเวณรอบ ๆ กรุงเทพมหานคร (กรมโรงงานอุตสาหกรรม, 2537) การส่งออกปลาทูน่าบรรจุกระป๋องขยายตัวมากขึ้น ส่งผลให้ปริมาณวัสดุเศษเหลือจากกระบวนการผลิตเพิ่มขึ้นตามไปด้วย ทั้งนี้เนื่องจากในกระบวนการแปรรูปปลาทูน่ากระป๋องมีเพียงประมาณร้อยละ 40 ของน้ำหนักปลาที่กลายเป็นผลิตภัณฑ์ (Prasertsan, *et al.*,1988) ที่เหลือจะเป็นวัสดุเศษเหลือมีทั้งที่เป็นของแข็ง และของเหลวซึ่งส่วนใหญ่มาจากขั้นตอนการนึ่งปลาในหม้อนึ่ง ทำให้มีมีน้ำนึ่งปลาออกมาในปริมาณมาก น้ำนึ่งปลาทูน่านี้มีปริมาณสารอินทรีย์ค่อนข้างสูงโดยเฉพาะโปรตีนและไขมัน จึงจำเป็นต้องมีการจัดการที่เหมาะสม มิฉะนั้นจะก่อปัญหาต่อสิ่งแวดล้อมได้ โดยเฉพาะต่อคุณภาพของแหล่งรับน้ำ หากได้มีการนำวัสดุเศษเหลือส่วนนี้มาใช้ประโยชน์ ก็จะลดภาระในการบำบัดน้ำทิ้งให้แก่โรงงานเป็นอย่างมาก นอกจากนี้ยังเป็นการเพิ่มศักยภาพการใช้ประโยชน์จากทรัพยากรและช่วยรักษาสภาวะแวดล้อม แนวทางการนำน้ำนึ่งปลาทูน่ามาใช้ประโยชน์ที่มีผู้ศึกษาไว้ เช่น การทำน้ำสกัดจากปลา(fish extract) (นิรนาม, 2534) การแยกโปรตีนจากน้ำทิ้งแล้วใช้เป็นอาหารสัตว์ (กรมโรงงานอุตสาหกรรม, 2537) การนำไปใช้ในการเลี้ยงแบคทีเรียสังเคราะห์แสงโดย *Rhodocyclus gelatinosus* R7 (มาริสา จาตุพรพิพัฒน์, 2537) การผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากน้ำนึ่งปลาทูน่าโดย *Candida tropicalis* TISTR 5136 (สุวิทย์ สุวรรณโณ, 2539)

งานวิจัยนี้มุ่งที่จะใช้ประโยชน์จากน้ำนึ่งปลาทูน่าเป็นสารอาหารเลี้ยงเชื้อยีสต์เพื่อผลิตโปรตีนเซลล์เดียวและนำเซลล์ยีสต์ที่ผลิตได้ไปใช้ประโยชน์เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลา

ปนผสมในอาหารปลากดเหลือง ซึ่งนับว่าเป็นแนวทางหนึ่งในการใช้ประโยชน์จากวัสดุเศษเหลือของโรงงานผลิตปลาทูน่าบรรจุกระป๋องผลิตเป็นผลิตภัณฑ์มูลค่าเพิ่ม อันจะใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานนำไปสู่การผลิตในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

ตรวจเอกสาร

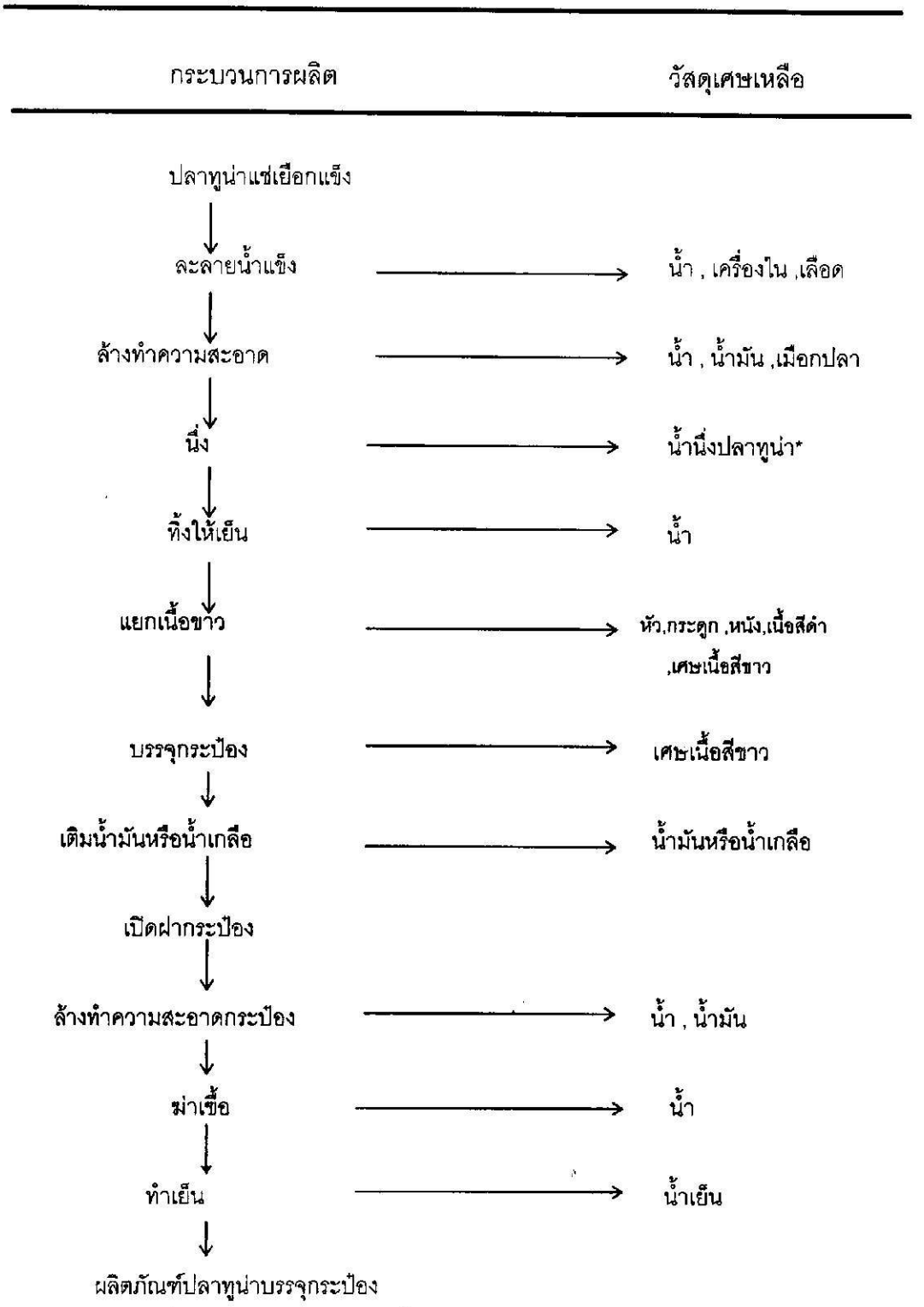
วัสดุเศษเหลือของโรงงานปลาทูน่าบรรจุกระป๋อง

กระบวนการผลิตปลาทูน่ากระป๋อง มีขั้นตอนการผลิตและในวัสดุเศษเหลือแสดงดังรูปที่ 1 โดยในขั้นตอนการผลิตปลาทูน่าบรรจุกระป๋อง จะมีวัสดุเศษเหลือชนิดต่าง ๆ เช่น น้ำนึ่งปลาทูน่า เศษกระดูก หัว เครื่องใน เป็นต้น ซึ่งสามารถนำมาดัดแปลงเพื่อเพิ่มมูลค่าให้แก่ผลิตภัณฑ์ใหม่ ก่อให้เกิดการใช้ทรัพยากรสัตว์น้ำอย่างคุ้มค่า

Prasertsan และคณะ (1988) ทำการสำรวจ ปริมาณวัสดุเศษเหลือจากโรงงานอุตสาหกรรมอาหารทะเลในจังหวัดสงขลา พบว่า มีโรงงานผลิตปลาทูน่าบรรจุกระป๋อง 4 โรงงาน มีปริมาณการใช้วัตถุดิบสูงถึง 135 ตันต่อวัน และให้ผลผลิตร้อยละ 35 ของประมาณวัตถุดิบเริ่มต้น ส่วนที่เหลือเป็นวัสดุเศษเหลือ ซึ่งจะมี 2 ส่วนคือ วัสดุเศษเหลือที่เป็นของแข็งมีปริมาณร้อยละ 25-30 ของวัตถุดิบเริ่มต้น ได้แก่ เศษกระดูก หัว เครื่องในและหนังปลา ซึ่งสามารถส่งขายให้แก่โรงงานปลาปน เพื่อทำเป็นอาหารสัตว์โดยตรง อีกส่วนหนึ่งคือ วัสดุเศษเหลือที่เป็นของเหลวมีปริมาณร้อยละ 30-35 ของวัตถุดิบ ได้แก่ เลือดปลา น้ำนึ่งปลา ยังไม่ได้มีการนำมาใช้ประโยชน์ และปล่อยลงสู่ระบบกำจัดน้ำเสีย

น้ำนึ่งปลาทูน่า

ในขั้นตอนการทำปลาทูน่าบรรจุกระป๋องให้สุกโดยการนึ่ง จะให้ความร้อนโดยใช้ไอน้ำ ทำให้น้ำ ไขมัน และสารประกอบพวกโปรตีนที่ละลายน้ำเช่น เจลาติน ถูกสกัดออกจากตัวปลาและสะสมอยู่ในน้ำนึ่งปลา ส่วนสารประกอบที่ระเหยได้จะออกไปทางท่อไอน้ำ การนึ่งปลาทูน่าจะมีน้ำนึ่งปลาออกมาในปริมาณมากและมีปริมาณสารอินทรีย์สูง มีลักษณะเป็นสีน้ำตาลอ่อนถึงน้ำตาลเข้ม มีความข้นหนืด มีกลิ่นคาวจัดและมีชั้นไขมันบาง ๆ ลอยอยู่บริเวณผิวหน้าองค์ประกอบทางเคมีและทางกายภาพของน้ำนึ่งปลาทูน่า ดังแสดงใน



* วัสดุเศษเหลือที่นำมาใช้เป็นวัตถุดิบเลี้ยงยีสต์

รูปที่ 1. กระบวนการผลิตและวัสดุเศษเหลือจากโรงงานผลิตปลาทูน่าบรรจุกระป๋อง

ที่มา : ดัดแปลงมาจาก Soderguist และคณะ(1970)

ตารางที่ 1 (สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2534; สุวิทย์ สุวรรณโณ, 2535) จะเห็นได้ว่าน้ำนึ่งปลาทูน่ามีปริมาณสารอินทรีย์ต่าง ๆ อยู่ในปริมาณที่สูงโดยเฉพาะโปรตีนและไขมัน น้ำทิ้งที่เกิดจากกระบวนการแปรรูปปลานี้จะถูกทิ้งไปโดยเปล่าประโยชน์ ซึ่งจะทำให้เป็นปัญหาสิ่งแวดล้อมและเกิดภาระในการบำบัดน้ำทิ้งของโรงงานเป็นอย่างมาก

การใช้ประโยชน์จากวัสดุเศษเหลือโรงงานปลาทูน่าบรรจุกระป๋อง

วัสดุเศษเหลือจากโรงงานปลาทูน่าบรรจุกระป๋อง สามารถนำมาดัดแปลงและแปรรูปได้ผลิตภัณฑ์หลายประเภท (นิรนาม, 2534) เช่น

1. น้ำสกัดเข้มข้นจากปลา เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำน้ำนึ่งปลาทูน่ามาย่อยสลายด้วยเอ็นไซม์โปรติเอส การย่อยโปรตีนทำให้ได้สารเปปไทด์สายสั้นและกรดอะมิโนอิสระ ทำให้มีสมบัติการละลายดี มีคุณค่าทางโภชนาการสูง นำมาทำให้อยู่ในรูปเข้มข้น สามารถใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสหรือทำเป็นเครื่องจิ้มอาหาร

2. น้ำมันปลา น้ำมันปลาสามารถแยกได้จากส่วนของเครื่องใน และของเหลวที่ออกจากตัวปลาในช่วงของการให้ความร้อน มีการนำมาใช้ประโยชน์ได้หลายประการเช่น ใช้เป็นน้ำมันบริโภค ใช้ในอุตสาหกรรมยา เครื่องสำอาง อาหารสัตว์ อุตสาหกรรมฟอกหนังเพื่อทำให้หนังนิ่ม ใช้ทำหมึกพิมพ์เพื่อช่วยให้หมึกติดทน ใช้ในอุตสาหกรรมผงซักฟอกเพื่อให้ความคงตัวของสีและสะดวกต่อการทำความสะอาด นอกจากนี้ยังใช้ในอุตสาหกรรมหล่อลื่น และอุตสาหกรรมสีทาเรือ เป็นต้น

3. ไส้กรอกปลา ส่วนของเนื้อปลาทูน่าที่มีสีดำสามารถนำมาผลิตเป็นไส้กรอกปลาโดยการปรับสีของเนื้อปลาด้วยแอสคอร์บิกและโซเดียมไนไตรท์และใช้ซูริมิเป็นเป็นส่วนผสมเพื่อให้ได้ไส้กรอกเหนียว เมื่อทดสอบการชิม ผู้ชิมยอมรับในระดับปานกลาง(วิจิตรา แดงปรก และวรรณวิบูลย์ กาญจนกุญชร, 2539)

4. แหล่งอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ น้ำนึ่งปลาทูน่าสามารถใช้เป็นแหล่งอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์เพื่อผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

สุวิทย์ สุวรรณโณ (2535) ได้ทำการทดลองเลี้ยงเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* R7 ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำต้มกุ้ง 10 เท่า ภายใต้สภาวะไร้อากาศ-มีแสง เลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน ได้ปริมาณมวลชีวภาพสูงสุดเท่ากับ 5.6 กรัมต่อลิตร เซลล์มี

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำนึ่งปลาทูน่าจากโรงงานทรอปิคอลแคนนิ่ง

องค์ประกอบ	1	2
พีเอช	4.89	6.05
บีโอดี	-	-
ซีโอดี	139,125±3,316	157,080±500
ไนโตรเจนทั้งหมด	7,390±58	7,616±124
ของแข็งตกตะกอน	9.50±1.20	-
ของแข็งแขวนลอย	6,793±1,249	6,678±124
ของแข็งละลาย	80,127±1,249	-
ของแข็งทั้งหมด	86,920±1,200	82,218±775
ของแข็งคงตัว	19,800±1,120	-
ของแข็งระเหย	67,120±1,010	-
กรีส	-	32,182±11
ฟอสเฟต	-	378±3.2

หน่วย มก/ล ยกเว้นพีเอช

หมายเหตุ: 1: สุทธวัฒน์ เบญจกุล (2534) 2: สุวิทย์ สุวรรณโณ (2535)

ปริมาณโปรตีนร้อยละ 52.6 แคโรทีนอยด์ 1.2 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้งและวิตามินบี 12 เท่ากับ 1.27 ไมโครกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง

มาริสา จาตุพรพิพัฒน์ (2537) เลี้ยงเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* R7 เป็นเวลา 7 วัน ภายใต้สภาวะไร้อากาศ- มีแสง ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ โดยมีการเติมยีสต์สกัดในน้ำนึ่งปลาทูน่าเจือจาง ความเข้มข้นที่เหมาะสมเท่ากับ 3.0 กรัมต่อลิตร ได้ปริมาณมวลชีวภาพ 6.24 กรัมต่อลิตร แคโรทีนอยด์ และแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์เท่ากับ 3.09 และ26.35 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้งตามลำดับ ค่าซีโอดีลดลงร้อยละ 38.5

รพีพร แสงศรี (2539) เลี้ยงเชื้อ *Rhodocyclus gelatinosus* R7 ในน้ำนึ่งปลาทูน่า ภายใต้สภาวะไร้อากาศ- มีแสง (3,000 ลักซ์) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 8 วัน พบว่าซีโอดีที่เหมาะสมต่อการเจริญ มีค่าเท่ากับ 15,000 มิลลิกรัมต่อลิตร เติมยีสต์สกัดเท่ากับ 3 กรัมต่อลิตร เชื้อให้มวลชีวภาพ 5.48 กรัมต่อลิตร เซลล์มีปริมาณแคโรทีนอยด์ และแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ เท่ากับ 2.37 และ 21.18 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง ตามลำดับ มีวิตามินบี 12 เท่ากับ 0.247 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง

สุวิทย์ สุวรรณโณ (2539) เลี้ยง *C. tropicalis* TISTR 5136 ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่ไม่เจือจาง โดยเติมกลูโคสร้อยละ 2 เป็นแหล่งคาร์บอน ปรับพีเอชให้ได้ 4.5 ภายใต้สภาวะให้อากาศบนเครื่องเขย่าความเร็ว 130 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ได้มวลชีวภาพสูงสุด 15.1 กรัมต่อลิตร และสามารถลดค่าซีโอดีได้ร้อยละ 84 ในเวลา 3 วัน ออกไปแล้วทำแห้ง

โปรตีนเซลล์เดียว

โปรตีนเซลล์เดียว (Single Cell Protein : SCP) บัญญัติศัพท์ขึ้นโดยศาสตราจารย์ C.L. Wilson จาก Massachusett Institute of Technology ในปี ค.ศ. 1966 หมายถึงโปรตีนจากจุลินทรีย์ ได้แก่ สาหร่าย รา ยีสต์ และ แบคทีเรีย ซึ่งไม่จำเป็นต้องเป็นจุลินทรีย์ที่มีเซลล์เดียว (unicellular cell) แต่รวมถึงจุลินทรีย์ที่มีหลายเซลล์ด้วย (multicellular cell) (ดวงพร คันธโชติ, 2530) โดยผลิตจากแหล่งอาหารราคาต่ำแต่มีปริมาณมาก เช่น ของเสียที่มีสารอินทรีย์อยู่สูง หรือวัสดุเศษเหลือใช้ทางการเกษตร และอุตสาหกรรม ให้อยู่ในรูปของอาหารโปรตีน เพื่อเป็นอาหารสัตว์หรือมนุษย์

ยีสต์เป็นจุลินทรีย์ที่มีความสัมพันธ์กับมนุษย์ในด้านที่เป็นประโยชน์มานานแล้ว การใช้ยีสต์ในอุตสาหกรรมการหมัก เช่น ใช้ยีสต์ในการผลิตเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ เบียร์และเหล้าชนิดต่าง ๆ ใช้ยีสต์ทำขนมปัง ใช้ยีสต์เป็นทั้งอาหารคนและสัตว์ ยีสต์เป็นที่ยอมรับและนิยมในการผลิตเป็นแหล่งอาหารเสริมโปรตีนมากกว่าจุลินทรีย์อื่น ๆ เนื่องมาจากมีปริมาณกรดนิวคลีอิกในเซลล์ต่ำ ตัวเซลล์ยีสต์มีขนาดใหญ่เก็บเกี่ยวได้ง่ายกว่าจุลินทรีย์อื่น ๆ สามารถเจริญได้ในวัตถุดิบที่มีพีเอชค่อนข้างต่ำ ตลอดจนเป็นที่ต้องการของตลาดทั้งในแง่นำไปผสมเป็นอาหารเลี้ยงสัตว์และนำไปพัฒนาเป็นอาหารของมนุษย์ การผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากยีสต์สามารถใช้วัตถุดิบได้หลายชนิด เช่น น้ำทิ้งจากขบวนการแปรรูปอาหาร ถั่วเหลือง (ปราโมทย์ ศิริโรจน์, 2521) น้ำมะพร้าว (อโณทัย คมเศวต, 2519) น้ำทิ้งจากโรงงานผลิตเยื่อกระดาษ (Noonai, 1981) และวัสดุเศษเหลือใช้จากโรงงานปลาทูน่าบรรจุกระป๋องโดยเฉพาะน้ำนึ่งปลาทูน่า (สุวิทย์ สุวรรณโณ, 2539)

ชนิดของยีสต์ และวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

genus *Candida* โดยทั่วไปเซลล์มีรูปร่างยาวรีหรือรูปไข่ สามารถสร้างเส้นใยเทียมและคลามัยโดสปอร์ มีการสืบพันธ์แบบไม่ใช้เพศโดยการแตกหน่อ *Candida* ที่รู้จักกันดีในอุตสาหกรรมอาหาร ได้แก่ *C. utilis* ซึ่งนำมาเพาะเลี้ยงเพื่อใช้เป็นแหล่งอาหารเสริมทั้งในคนและสัตว์ เนื่องจากยีสต์สกุลนี้มีอัตราเจริญเร็วมีโปรตีนสูง และสามารถใช้สารต่าง ๆ ได้ง่าย เช่น พวก sulfite waste liquor และ wood hydrolysates และ เพนโตส เป็นต้น นอกจากนี้ยังต้องการสารช่วยการเจริญน้อยมากและสามารถเจริญแข่งขันกับแบคทีเรียได้ ดังนั้นจึงไม่มีปัญหาในเรื่องการปะปนของเชื้อแบคทีเรีย(Snyder,1970)*Candida* ที่นิยมใช้ได้แก่ *C. utilis, C. tropicalis, C. arborea , C. lipolytia, C. pulcherrima,C. rugosa , C. periphelosum , C. guilliermodii* และ *C. intermedia* (Cooney and Levine, 1972; Snyder, 1970)

Reiser (1954) ได้ทำการทดลองเลี้ยง *C. utilis* NRRL Y 900 ในน้ำทิ้งแป้งมัน พบว่าในน้ำทิ้งที่มีโปรตีนร้อยละ 37 น้ำตาลร้อยละ 12 แป้งร้อยละ 8 มีฟอสฟอรัส โปตัสเซียม โซเดียม ปริมาณมากพอ ที่ยีสต์เจริญได้ ที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส พีเอช 5 หรืออาจจะต่ำกว่านี้ ได้เซลล์ยีสต์มีโปรตีนร้อยละ 55 นอกจากนี้ยังสามารถลดค่าบีโอดีได้ถึงร้อยละ 60

Welsh และ Zall (1984) ได้ทดลองเลี้ยงยีสต์ *C. utilis* ในน้ำเกลือที่ได้จากการดองปลาในเรือ เพื่อบำบัดน้ำส่วนนี้ ก่อนที่จะปล่อยทิ้งลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ โดยการเจือจางน้ำเกลือที่ใช้ดองปลาด้วยน้ำกลั่น ในอัตราส่วน 1:0, 1:1 และ 1:2 เชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 กวนด้วยความเร็ว 120 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง 26 องศาเซลเซียส พบว่าที่อัตราการเจือจาง 1:1 ยีสต์ทำให้ค่าซีโอดีของน้ำทิ้งลดลงร้อยละ 84 ภายในเวลา 3 วัน

Yiao (1988) ใช้น้ำทิ้งจากโรงงานผลิตผงชูรสที่มีปริมาณสารอินทรีย์สูง (ซีโอดีเริ่มต้น 114,240 มิลลิกรัมต่อลิตร) และพีเอช 3.5 เลี้ยงยีสต์ 5 สายพันธุ์ ได้แก่ *C. tropicalis, C. utilis, C. candidum, S. cerevisiae, S. fermentati* เพื่อผลิตเป็นโปรตีนเซลล์เดียว โดยเลี้ยงในถังหมักปริมาตร 50 ลิตร(ปริมาตรน้ำทิ้งที่ใช้ 30 ลิตร)และมีการกวนเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 10 ชั่วโมง ให้อากาศ 1 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที อุณหภูมิที่ใช้ 35-40 องศาเซลเซียส พบว่า *C. tropicalis* เจริญได้ดีที่สุด ให้น้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 12.35 กรัมต่อลิตร สามารถลดค่าซีโอดีได้ร้อยละ 68.33 ให้ผลผลิตเซลล์ที่มีปริมาณโปรตีนร้อยละ 54.4

อโณทัย คมเศวต (2519) ได้ศึกษาการเจริญของ *C. utilis* ในน้ำมะพร้าว เพื่อผลิตยีสต์เป็นอาหารสัตว์ พบว่าได้น้ำหนักแห้ง 12.02 กรัมต่อลิตร มีโปรตีนในเซลล์ร้อยละ 49.03 ของน้ำหนักแห้ง

ปราโมทย์ ศิริโรจน์ (2521) ได้ทดลองคัดเลือกยีสต์ในน้ำต้มถั่วซึ่งเป็นน้ำทิ้งจากกระบวนการแปรรูปผลิตภัณฑ์อาหารถั่วเหลือง พบว่า ยีสต์ *C. utilis* NRRL Y 900 ให้โปรตีนในเซลล์สูงสุด ร้อยละ 45.3

Rydin และคณะ (1990) เลี้ยงยีสต์ *C. tropicalis* S001 ในน้ำทิ้งโรงฆ่าสัตว์ที่แยกไขมันออกแล้ว เติม triolein เป็นแหล่งคาร์บอน พีเอชอยู่ในช่วง 3.2-4.0 อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญอยู่ในช่วง 30-38 องศาเซลเซียส พบว่า ได้มวลชีวภาพสูงสุด 0.70 กรัมน้ำหนักแห้งต่อกรัมไขมัน

Carlotti และคณะ (1991) ได้ทดลองเลี้ยง *C. kefyr* LY496 ในน้ำทิ้งโรงงานทำเนยแข็ง ได้มวลชีวภาพ 43 กรัมต่อลิตร และเลี้ยง *C. valida* LY497 ร่วมกับ *C. kefyr* LY496 ภายใต้สภาวะไม่ปลอดเชื้อในน้ำทิ้งโรงงานทำเนยแข็ง ได้มวลชีวภาพเพิ่มขึ้นร้อยละ 20

Lee และคณะ (1993) เลี้ยง *C. tropicalis* F-129 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมน้ำมันปาล์มร้อยละ 2 (ปริมาตรต่อปริมารตร) พบว่าเชื้อยีสต์มีอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด 0.92 ต่อชั่วโมง ให้มวลชีวภาพสูงสุด 1.01 กรัมเซลล์ต่อกรัมน้ำมันปาล์ม

อนุเทพ ภาสุระ และปราโมทย์ ศิริโรจน์ (2534) เลี้ยงยีสต์ *C. tropicalis* DMKU-10 ในอาหาร YM medium เติมแป้งมันสำปะหลัง 15 กรัม แอมโมเนียมซัลเฟท 10 กรัม ยีสต์สกัด 5 กรัม โปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟท 7 กรัม น้ำประปา 1 ลิตร ปรับพีเอช 4.5 ปริมาณเซลล์ที่ได้หลังจากการเลี้ยงประมาณ 5.1 กรัมต่อลิตร และมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 56.4

สุวิทย์ สุวรรณโณ (2539) เลี้ยง *C. tropicalis* TISTR 5136 ในน้ำนึ่งปลาทูน่ามีค่าซีโอดีเริ่มต้น 246,000 มิลลิกรัมต่อลิตร คือการใช้น้ำนึ่งปลาทูน่าที่ไม่เจือจาง ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 4.5 เติมกลูโคสร้อยละ 2 เป็นแหล่งคาร์บอน เลี้ยงภายใต้สภาวะให้อากาศบนเครื่องเขย่าความเร็ว 130 รอบต่อนาที บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ภายใต้สภาวะดังกล่าว เชื้อยีสต์มีอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด 0.89 ต่อชั่วโมง ให้มวลชีวภาพสูงสุด 15.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และสามารถลดค่าซีโอดีได้ร้อยละ 84 ในเวลา 3 วัน เซลล์ประกอบด้วยโปรตีนและไขมันร้อยละ 45 และ 1.0 ตามลำดับ

genus *Saccharomyces* ปกติทั่วไปเซลล์จะมีรูปร่างกลมรูปไข่ หรือค่อนข้างยาว สามารถสร้างเส้นใยเทียม มีการสืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศโดยการแตกหน่อ และมีการสืบพันธุ์แบบใช้เพศโดยสร้างแอสโคสปอร์ซึ่งมีรูปกลมหรือรูปไข่บรรจุในแอสคัสจำนวน 1-4 สปอร์ ยีสต์ชนิดนี้มีความสำคัญในอุตสาหกรรมอาหารมากและใช้ในอุตสาหกรรมอาหารหลายชนิด ได้แก่ *S. cerevisiae* ใช้ในการทำขนมปัง เบียร์ ไวน์ เป็นต้น และเป็นยีสต์อีกชนิดหนึ่งซึ่งมีผู้ทดลองใช้เป็นแหล่งโปรตีนเซลล์เดียว เช่น

Shannon และ Stevenson (1975) ทดลองเลี้ยงยีสต์ *S. cerevisiae* Y-25 ในน้ำทิ้งโรงงานเบียร์ ได้น้ำหนักแห้ง 5.02-8.74 กรัมต่อลิตร มีโปรตีนร้อยละ 26.77-32.91 ลดค่าบีโอดี ได้ร้อยละ 34.4

จุฑามาศ เจริญศักดิ์ และ ขจร เจริญศิริ (2520) ได้ทดลองเลี้ยง *S. cerevisiae* ในน้ำทิ้งโรงงานสับปะรดกระป๋องพบว่า เมื่อนำน้ำทิ้ง มาทำให้เจือจางลงจนเหลือปริมาณน้ำตาลร้อยละ 2 เติมแอมโมเนียมซัลเฟท ร้อยละ 0.5 และโปตัสเซียม

ไฮโดรเจนฟอสเฟทร้อยละ 0.1 เลี้ยงในถังหมักให้อากาศ 1 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที กวนด้วยอัตราความเร็วของการกวน 500 รอบต่อนาที พีเอช 4.5-5.5 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่าได้น้ำหนักเซลล์ยีสต์แห้ง 3 กรัมต่อลิตร

รำไพ เกณฑ์สาคู (2535) ทดลองผลิต *S. cerevisiae* S5 ในกากน้ำตาล โดยใช้ฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร และถังหมักขนาด 2.5 ลิตร ระบบแบบกะ น้ำหนักเซลล์แห้งเมื่อเลี้ยงในฟลาสก์ และ ในถังหมัก เท่ากับ 10 และ 15.62 กรัมต่อลิตร มีโปรตีนในเซลล์ร้อยละ 37.60

Yang และ Tung (1996) ทดลองเลี้ยงยีสต์ *S. cerevisiae* THR002 โดยเลี้ยงในน้ำทิ้งจากโรงงานกลั่นสุรา ใช้ถังหมักขนาด 2 ลิตร มีการหมักหลายแบบเช่น การหมักแบบกะ แบบต่อเนื่อง เป็นต้น พบว่าการหมักแบบต่อเนื่องจะให้ผลผลิตเซลล์ที่มากกว่าการหมักแบบกะ

genus *Hansenula* ปกติมีรูปร่างกลมหรือรูปไข่ มีการศึกษาใช้ผลิตโปรตีนเซลล์เดียว เช่น *Hansenula polymorpha, H. saturnus, H. anomala* เป็นต้น การศึกษาการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากยีสต์ *H polymorpha* โดยใช้น้ำตาลไซโลสที่ได้จากการย่อยฟางข้าวสาลี ด้วยกรดเกลือมีพีเอช 4.8 พบว่า การเจริญของเชื้อไม่แตกต่างกับการเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์จึงมีความเป็นไปได้ที่จะใช้วัตถุดิบที่มีราคาถูกสำหรับการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว (Feliu, *et al.*, 1990)

genus *Schawanniomyces* รูปร่าง กลม รี ไข่ แต่บางครั้งเป็นรูปยาวหรือทรงกระบอก มีการสืบพันธุ์โดยการแตกหน่อทุกทิศทาง เป็นยีสต์ที่สามารถใช้แป้งเป็นแหล่งคาร์บอนได้โดยตรงเพราะสามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลสและกลูโคอะไมเลส ย่อยแป้งได้ จึงมีแนวโน้มที่จะนำยีสต์มาใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

Wilson และ Ingledew (1982) ได้ศึกษาการเจริญของ *Sch. alluvius* เปรียบเทียบกับ *S. cerevisiae* และ *S. uvarum* พบว่าเมื่อเจริญในอาหารที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ยีสต์ทั้ง 3 ชนิด มีอัตราการเจริญจำเพาะเป็น 0.26, 0.21 และ 0.21 ต่อชั่วโมง ตามลำดับ เมื่อเจริญในอาหารที่มีแป้งเป็นแหล่งคาร์บอน เฉพาะ *Sch. alluvius* เท่านั้นที่เจริญโดยมีอัตราการเจริญจำเพาะเป็น 0.25 ต่อชั่วโมง โดยที่ *Sch. alluvius* มีประสิทธิภาพ

ของการเปลี่ยนอาหารเป็นเซลล์สูงกว่ายีสต์ทั้ง 2 ชนิด คือ ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารแป้งและกลูโคสเป็นเซลล์มีค่าร้อยละ 62 และ 54 ตามลำดับ

Rossi และ Clementi (1985) ศึกษาการผลิตโปรตีนโดยการหมัก *Sch. castellii* บนอาหารแข็ง อาหารกึ่งแข็ง และอาหารเหลว โดยในอาหารเหลวมีมันฝรั่งและเปลือกมันฝรั่งเป็นแหล่งคาร์บอน เมื่อเปรียบเทียบการใช้ยีสต์สกัดร้อยละ 0.3 กับน้ำแช่ข้าวโพด ร้อยละ 0.5 เป็นแหล่งไนโตรเจน พบว่า ได้ผลผลิตเซลล์แห้ง 8.16 และ 8.07 กรัมต่อลิตร มีโปรตีนร้อยละ 48.2 และ 49.5 ของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

Calleja (1982) ได้ทำการศึกษาถึงสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของยีสต์ *Sch. alluvius* ATCC 26074 เพื่อเปลี่ยนแป้งมันฝรั่งเป็นโปรตีนเซลล์เดียว พบว่าการเจริญในแป้งหรือน้ำตาลจะให้ผลการเจริญได้เท่า ๆ กัน โดยเจริญสูงสุดเมื่อเพาะเลี้ยงได้นาน 8 ชั่วโมง และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำแป้งจากร้อยละ 0.1 เป็น 4.0 พบว่ามวลชีวภาพที่ได้จะแปรผันโดยตรงกับปริมาณแป้งที่เติม จะเห็นว่า การเจริญของเชื้อ *Sch. alluvius* ATCC 26074 เมื่อใช้น้ำแป้งร้อยละ 4 ในการเพาะเลี้ยง ได้ผลผลิตมวลชีวภาพเป็นโปรตีนร้อยละ 52.7 และน้ำหนักแห้ง 24.4 กรัมต่อลิตร

ทิพรัตน์ หงภัทรคีรี (2534) ศึกษาการเลี้ยงยีสต์ *Sch. castellii* B 5285 บนอาหารแข็งซึ่งประกอบด้วยมันสำปะหลังอัดเม็ดเป็นแหล่งคาร์บอนได้ดีที่สุด เมื่ออาหารมีความชื้นร้อยละ 60-64 เติมแอมโมเนียมซัลเฟท ร้อยละ 0.5 เป็นแหล่งไนโตรเจน เมื่อใช้ยีสต์เริ่มต้นร้อยละ 5 ความหนาของอาหาร 0.5 เซนติเมตร ที่อุณหภูมิห้อง พบว่ามันสำปะหลังหมักมีโปรตีนเพิ่มขึ้นจากเดิมร้อยละ 2.01 เป็นร้อยละ 12.41

ยีสต์สกุลอื่น ๆ นอกจากนี้ยังมียีสต์อีกหลายสกุลที่ใช้ผลิตโปรตีนเซลล์เดียว เช่น

Manial และคณะ (1991) ได้ทดลองเลี้ยง *Endomycopsis fibuligera* ร่วมกับ *C. utilis* ในน้ำทิ้งจากโรงงานแป้งมันสำปะหลัง พบว่าลดค่า บีโอดี และ ซีโอดี ได้ร้อยละ 91 และ 94 ตามลำดับ และได้มวลชีวภาพ 20 กรัมต่อลิตร หลังการเลี้ยง 96 ชั่วโมง

Ghrane และคณะ (1992) ได้ทดลองเลี้ยงเชื้อ *Trichoderma reesei* ร่วมกับ *Kluyveromyces marxianus* ในน้ำทิ้งโรงงานหัวผักกาด พบว่าผลิตโปรตีนเซลล์เดียวได้สูงสุดร้อยละ 54

คุณค่าทางอาหารของยีสต์

ยีสต์มีคุณค่าทางอาหารที่เหมาะสมสำหรับใช้เป็นอาหารเสริมในอาหารสัตว์ และใช้พื้นที่ในการผลิตน้อย เลี้ยงง่าย เป็นที่ยอมรับมากกว่าจุลินทรีย์อื่น ๆ ในเซลล์ยีสต์ประกอบด้วยกรดอะมิโน วิตามินและแร่ธาตุต่าง ๆ ดังตารางที่ 2 และ 3 ตลอดจนสามารถกำจัดของเสียเพื่อป้องกันปัญหามลภาวะและใช้ของเหลือทิ้งจากการเกษตรและอุตสาหกรรมให้อยู่ในรูปของอาหารโปรตีนเพื่อเป็นอาหารแหล่งใหม่ของคนและสัตว์ (นัยทัศน์ ภู่ศรันย์, 2532)

Forage (1978) ซึ่งศึกษาองค์ประกอบของเซลล์ *C. utilis* ที่เลี้ยงในน้ำทิ้งโรงงานทำขนมปัง พบว่า เชื้อยีสต์ให้ปริมาณโปรตีน ไขมัน และความชื้น ร้อยละ 48.35, 1.35 และ 8.9 ตามลำดับ ซึ่งโดยส่วนใหญ่ยีสต์จะให้โปรตีนภายในเซลล์ประมาณร้อยละ 50.5 ไขมันร้อยละ 1.0 ตามลำดับ

พรชัย นพนาคีพงษ์ (2527) ได้ทำการวิเคราะห์ค่าต่าง ๆ ภายในเซลล์ยีสต์รหัส 4R-39.2 และ ct-4 ในน้ำทิ้งเยื่อกระดาษ มีน้ำหนักเซลล์แห้ง 2.57 และ 2.41 กรัมต่อลิตร สูงสุดที่ 36 ชั่วโมง จะมีปริมาณคาร์โบไฮเดรทร้อยละ 45.14 และ 40.66 ของน้ำหนักแห้งซึ่งมีโปรตีนร้อยละ 52.82 และ 50.67 และกรดนิวคลีอิกมีร้อยละ 6.07 และ 5.23 ของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

Martin และ คณะ (1993) ศึกษาองค์ประกอบของ *C. utilis* ATCC 9950 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มียีสต์สกัดเป็นองค์ประกอบหลัก พบว่า มีปริมาณโปรตีน ไขมันและเถ้า ร้อยละ 50.12, 1.31 และ 18.17 ตามลำดับ มีกรดอะมิโนครบทุกชนิด

ทิพรัตน์ หงภัทรคีรี (2534) เลี้ยง *Sch. castellii* B 5285 บนอาหารแข็งซึ่งประกอบด้วย มันสำปะหลังอัดเม็ดเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่า มันสำปะหลังหมักที่ได้มีโปรตีนสูงสุดเมื่อใช้ยีสต์เริ่มต้นร้อยละ 5 เลี้ยงในอาหารความหนา 0.5 เซนติเมตร ที่มีความชื้นร้อยละ 60-64 และมีแอมโมเนียมซัลเฟทร้อยละ 0.5 เป็นแหล่งไนโตรเจน โดยสามารถเพิ่มโปรตีนมันสำปะหลังจากร้อยละ 2.01 เป็นร้อยละ 12.41 และมีองค์ประกอบของกรดอะมิโนทุกชนิดเพิ่มขึ้น

สุวิทย์ สุวรรณโณ (2539) เลี้ยง*C. tropicalis* TISTR 5136 ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่ไม่เจือจาง พบว่าให้มวลชีวภาพสูงสุด 15.1 กรัมต่อลิตร เซลล์ประกอบด้วยโปรตีนและไขมันร้อยละ 45 และ 1.0 ตามลำดับ

ตารางที่ 2 องค์ประกอบของกรดอะมิโนในเซลล์ของยีสต์

Amino acid	FAO reference protein	Content in yeast (g/16 gN)					
		S.cerevisiae in molasses	*C.utilis* in sulphite liquor	*C. utilis* in molasses	*Candida* spp. in broth medium	*Hansenula* sp. in broth medium	*S. fragilis* in both medium
Lysine	4.2	8.2	6.7	10.7	7.4	7.2	8.0
Valine	4.2	5.5	6.3	5.7	-	-	5.6
Leucine	4.8	7.9	7.0	8.1	-	-	8.1
Isoleucine	4.2	5.5	5.3	7.3	-	-	4.8
Threonine	2.8 4.8	5.5	4.8	-	-	5.3	
Methionine	2.2	2.5	1.3	1.4	1.2	1.0	1.5
Phenylalanine	2.8	4.4	4.3	4.1	-	-	4.2
Cystine	2.0	2.6	0.7	0.3	-	-	1.7
Tryptophan	-	1.2	1.2	0.5	0.8	0.9	1.7
Histidine	-	4.0	1.9	2.8	-	-	2.0
Tyrosine	-	5.0	3.3	1.4	-	-	3.9
Arginine	-	5.0	5.4	4.7	-	-	4.9

ที่มา : ดัดแปลงจาก Rose และ Harrison (1971)

- : ไม่วิเคราะห์

ตารางที่ 3 องค์ประกอบของวิตามินในเซลล์ยีสต์ต่าง ๆ

Vitamin	Content in dry product (ug/g)		
	S. cerevisiae in molasses	*C.utilis* in molasses	*C.utilis* in sulphite liquor
Thiamine HCL	165	130	25
Riboflavin	100	45	50
Niacin	585	400	355
Pyridoxine HCL	20	30	-
Folacin	13	21	20
Calcium-d-pantothenate	100	40	120
Biotin	0.6	0.8	2
P-Aminobenzoic acid	160	11	-
Choline chloride	2,710	2,860	5,500
Inositol	3,000	4,500	-

ที่มา : Rose และ Harrison (1971)

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

วัสดุ

1. วัตถุดิบ

น้ำนึ่งปลาทูน่า (ปลาโอแถบ, *Katsuwonus pelamis*)ได้รับความอนุเคราะห์จากโรงงานโชติวัฒน์อุตสาหกรรมการผลิต จำกัด ตำบลคอหงส์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา โดยรองรับน้ำนึ่งปลาทูน่าจากหม้อนึ่งโดยตรงใส่ในถังพลาสติกทนร้อนขนาด 30 ลิตร จำนวน 6 ใบ หลังจากนั้นนำมาเทรวมกันและกวนให้เป็นเนื้อเดียวกัน ก่อนนำไปใช้ในการทดลอง กรองด้วยผ้าขาวบางเพื่อกำจัดตะกอนขนาดใหญ่ออก หลังจากแยกไขมัน บรรจุน้ำนึ่งปลาทูน่าในขวดพลาสติกขนาด 2.5 ลิตร เก็บรักษาในห้องเย็นอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เมื่อต้องการใช้จึงนำออกมาละลาย

2. ยีสต์

Saccharomyces cerevisiae TISTR 5021

Saccharomyces cerevisiae TISTR 5088

Schwanniomyces alluvius ATCC 26074

Schwanniomyces castellii B 5285

Candida utilis TISTR 5001

Candida tropicalis TISTR 5146

Candida lipolytica TISTR 5151

เก็บเชื้อยีสต์ที่เจริญเต็มที่ในหลอดอาหารวุ้นเอียง PDA เก็บรักษาในตู้เย็น ถ่ายเชื้อทุก ๆ เดือน เพื่อใช้เป็นเชื้อเริ่มต้น

3. อาหารเลี้ยงเชื้อ

3.1 อาหารวุ้นเอียงเก็บยีสต์ (PDA)

3.2 อาหารเลี้ยงยีสต์เริ่มต้น (YM broth)

4. **สารเคมี**

สารเคมีระดับ analytical grade ใช้ในการวิเคราะห์ โปรตีน น้ำมันและกรีส ไขมัน ซีโอดี น้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์ เกลือ(NaCl) ค่าความเป็นด่างของน้ำ และความกระด้างของน้ำ

วิธีการวิเคราะห์

1. น้ำหนักเซลล์แห้ง (ดัดแปลงจาก เยาวมาลย์ ค้าเจริญ, 2523)
2. เถ้า (A.O.A.C., 1990)
3. ความชื้น (A.O.A.C., 1990)
4. น้ำตาลรีดิวซ์ โดยวิธี Nelson- Somogyi (Nelson, 1944)
5. น้ำตาลทั้งหมด โดยวิธี phenol sufuric acid (ดัดแปลงจาก A.O.A.C., 1990)
6. ของแข็งทั้งหมด (APHA, AWWA and WPCF, 1985)
7. ของแข็งแขวนลอยทั้งหมด (APHA, AWWA and WPCF, 1985)
8. น้ำมันและกรีส ในน้ำทิ้ง (ดัดแปลงจากกรรณิการ์ สิริสิงห, 2522)
9. ไขมัน (A.O.A.C., 1990)
10. ซีโอดี (APHA, AWWA and WPCF, 1985)
11. โปรตีน โดยวิธี Kjeldahl method (ดัดแปลงจาก A.O.A.C., 1990)
12. เกลือ (A.O.A.C., 1990)
13. ค่าความเป็นด่างของน้ำ (Boyd and Tucker, 1992)
14. ความกระด้างของน้ำ (Boyd and Tucker, 1992)
15. แร่ธาตุต่างๆ ได้แก่ ฟอสฟอรัส (A.O.A.C., 1990) แคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก และทองแดง โดยเครื่อง Atomic Absorption Spectroscopy (Kerven, 1980) ส่งตัวอย่างไปวิเคราะห์ที่หน่วยปฏิบัติการกลางคณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
16. กรดอะมิโน ส่งตัวอย่างวิเคราะห์ที่ศูนย์เครื่องมือรวม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล วิเคราะห์โดย Ion-exchange chromatograph เครื่องมือที่ใช้ของบริษัท Becaman 6300

วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ และทำการทดลอง 2 ครั้ง วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของแต่ละชุดการทดลอง

โดยวิธี Duncans New Multiple Range Test(DMRT) (ไพศาล เหล่าสุวรรณ, 2351) โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์IRRISTAT เวอร์ชัน 93

วิธีการทดลอง

1. การแยกไขมันออกจากน้ำนึ่งปลาทูน่า

การแยกไขมันบางส่วนออกจากน้ำนึ่งปลาทูน่าซึ่งผ่านการกรองด้วยผ้าขาวบาง ให้ความร้อนน้ำนึ่งปลาทูน่าที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 10 นาที กวนตลอดเวลา แล้วตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง นำไปเก็บที่ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลาหนึ่งคืนแล้วตักไขมันที่ผิวหน้าทิ้งไป ผสมน้ำนึ่งปลาทูน่าทั้งหมดให้เข้ากัน บรรจุน้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกไขมันลงในขวดขนาด 2.5 ลิตร เก็บไว้ในห้องเย็นอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ก่อนนำมาใช้นำมาละลายโดยตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง วิเคราะห์ไขมันในน้ำนึ่งปลาทูน่าก่อนและหลังการแยกไขมัน

2. การตกตะกอนโปรตีนออกจากน้ำนึ่งปลาทูน่า

นำน้ำนึ่งปลาทูน่าที่ผ่านการแยกไขมันแล้ว (ข้อ1) ตกตะกอนโปรตีนโดยการปรับพีเอชเป็น 4.5 และให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที นำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 7,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิห้อง แล้ววิเคราะห์โปรตีนในน้ำนึ่งปลาทูน่าก่อนและหลังการแยกโปรตีน

3. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและทางกายภาพของน้ำนึ่งปลาทูน่าก่อนและหลังการแยกไขมันและโปรตีน

ก่อนเลี้ยงยีสต์นำน้ำนึ่งปลาทูน่าก่อนและหลังการแยกโปรตีนและไขมัน วัดค่าความขุ่นที่ 660 นาโนเมตร และวิเคราะห์ค่าต่าง ๆ คือ พีเอช สี ซีโอดี ของแข็งทั้งหมด ของแขวนลอย น้ำมันและกรีส เถ้า ปริมาณโปรตีน เกลือ และวิเคราะห์แร่ธาตุต่าง ๆ ได้แก่ ฟอสฟอรัส แคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก และทองแดง

4. การเตรียมเชื้อยีสต์เริ่มต้น

ศึกษาระยะเวลาการเจริญที่เหมาะสมของเชื้อยีสต์แต่ละสายพันธุ์ ถ่ายเชื้อยีสต์แต่ละสายพันธุ์จากหลอดวุ้นเอียง PDA ลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่บรรจุอาหารเลี้ยง

เชื้อยีสต์เริ่มต้น YM broth 50 มิลลิลิตร นำไปเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 18 ชั่วโมง แล้วใช้เป็นเชื้อยีสต์เริ่มต้น

5. การคัดเลือกยีสต์ที่เจริญได้ดีในน้ำนึ่งปลาทูน่าหลังการแยกโปรตีนและไขมัน

โดยศึกษาการเจริญของยีสต์ *C. utilis* TISTR 5001 *C. tropicalis* TISTR 5146 *C. lipolytica* TISTR 5151 *Sch. castellii* B 5285 *Sch. alluvius* ATCC 26074 *S. cerevisiae* TISTR 5088 และ *S. cerevisiae* TISTR 5021 รวม 7 สายพันธุ์ โดยเลี้ยงในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกโปรตีนและไขมันที่ฆ่าเชื้อแล้ว 50 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร โดยเติมเชื้อยีสต์เริ่มต้นฟลาสก์ละ 5 มิลลิลิตร เลี้ยงบนเครื่องเขย่ามีความเร็ว 200 รอบต่อนาทีที่อุณหภูมิห้อง เก็บตัวอย่างที่เวลา 0, 6, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง นำไปวัดค่าพีเอชและวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร เมื่อครบ 72 ชั่วโมงนำน้ำนึ่งปลาทูน่าไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 7,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิห้อง เพื่อแยกส่วนเป็นเซลล์ยีสต์และส่วนใสออกจากกัน นำเซลล์ยีสต์ที่ได้หาน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณโปรตีนและนำส่วนใสวิเคราะห์หาค่าซีโอดี และ ไขมัน แล้วคัดเลือกยีสต์ที่มีอัตราการเจริญ และมีโปรตีนในเซลล์สูง เพื่อใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

6. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์ในฟลาสก์บนเครื่องเขย่า

ทดลองเลี้ยงยีสต์ที่คัดเลือกได้ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกโปรตีนและไขมันบางส่วนออก ซึ่งบรรจุปริมาณ 50 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร เลี้ยงบนเครื่องเขย่ามีความเร็ว รอบ 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง ในการศึกษาแต่ละชุดการทดลองเก็บตัวอย่างที่เวลา 0, 6, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง นำมาวัดค่าพีเอช ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น660 นาโนเมตร น้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณโปรตีนในเซลล์ คัดเลือกชุดการทดลองที่เหมาะสมที่สุดเพื่อใช้ศึกษาในขั้นต่อไป ปัจจัยต่าง ๆ ที่ทำการศึกษามีดังต่อไปนี้

6.1 ผลของการเจือจางน้ำนึ่งปลาทูน่า

โดยเจือจางน้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกโปรตีนและไขมันด้วยน้ำกลั่น ใช้อัตราส่วน คือ 1:0, 1:1, 1:4 และ1:9 ตามลำดับ

6.2 ผลของพีเอชเริ่มต้นของน้ำนึ่งปลาทูน่า

ปรับพีเอชน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางที่เหมาะสมให้มีพีเอช 4 ระดับ คือ 4.5, 5.5 และ 6.5 และ 7.5 ตามลำดับ

6.3 ผลของชนิดและปริมาณแหล่งคาร์บอน

ชนิดของแหล่งคาร์บอนที่เติมลงในน้ำนึ่งปลาทูน่า ได้แก่ กลูโคส, ซูโครส และ กากน้ำตาล ปริมาณที่ศึกษา 4 ระดับ คือ ร้อยละ 0, 1, 5 และ 10 ตามลำดับ

6.4 ผลของชนิดและปริมาณไนโตรเจน

6.4.1 ชนิดและปริมาณของแหล่งไนโตรเจนอนินทรีย์ ที่เติมลงในน้ำนึ่งปลาทูน่า ได้แก่ การใช้ไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนออโทฟอสเฟท {$(NH_4)_2HPO_4$)}, แอมโมเนียซัลเฟท {$(NH_4)_2SO_4$} และแอมโมเนียไนเตรท (NH_4NO_3) ปริมาณแหล่งไนโตรเจน 4 ระดับคือ ร้อยละ 0, 1, 3 และ 5 ตามลำดับ

6.4.2 ปริมาณของยีสต์สกัด ที่เติมลงในน้ำนึ่งปลาทูน่า มี 4 ระดับ คือร้อยละ 0, 0.1, 0.5 และ 1.0 ตามลำดับ

7. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์ในถังหมัก

ทดลองเลี้ยงยีสต์ในถังหมัก โดยใช้น้ำนึ่งปลาทูน่าที่มีสภาวะและสารอาหารที่เหมาะสมจากการทดลองข้อ 6.1-6.4 ใช้อาหารปริมาตร 1.5 ลิตร ทำการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง ศึกษาหาสภาวะต่าง ๆ ในถังหมัก เก็บตัวอย่างครั้งละ 30 มิลลิลิตร ทุกเวลา 3 ชั่วโมง จนครบ 24 ชั่วโมง วัดค่า พีเอช ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร แล้วหาน้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณโปรตีนในเซลล์

7.1 ผลของการให้อากาศ

ให้อากาศ 0.66, 1.00 และ2.00 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที ใช้ความเร็วของใบพัดในการกวน 400 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

7.2 ผลของอัตราเร็วของใบพัดกวน

โดยใช้ความเร็ว 300, 400 และ 500 รอบต่อนาที

7.3 ผลของพีเอชในระหว่างการหมัก

โดยใช้พีเอชเริ่มต้นที่ 5.5 และควมคุมพีเอช 5.5 ตลอดการทดลอง

7.4 ผลของอุณหภูมิ

เปรียบเทียบการหมักโดยควบคุมอุณหภูมิ 30 และ 35 องศาเซลเซียส

7.5 การวิเคราะห์องค์ประกอบน้ำนึ่งหลังการเลี้ยงยีสต์ในสภาวะที่เหมาะสม

นำน้ำนึ่งที่เลี้ยงยีสต์แล้วมาทำวิเคราะห์ วัดค่าพีเอช ซีโอดี ปริมาณโปรตีน น้ำมันและกรีส น้ำตาลทั้งหมด และน้ำตาลรีดิวซ์

7.6 การเตรียมเซลล์ยีสต์แห้ง

ทำการเลี้ยงยีสต์ที่คัดเลือกโดยใช้สารอาหารและในสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์ แล้วนำเซลล์มาหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 7,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที รินส่วนใสทิ้ง ล้างเซลล์ด้วยน้ำ หลังจากนั้นนำเซลล์ที่ได้อบแห้งในตู้อบ ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บดเป็นผงกรองโดยใช้ตะแกรงขนาด 40 เมช แล้วนำเซลล์ยีสต์แห้งที่ได้เก็บไว้ โดยวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณโปรตีน ไขมัน ความชื้น เถ้าและกรดอมิโน

ผลและวิจารณ์

1. การแยกไขมันและตกตะกอนโปรตีนออกจากน้ำนึ่งปลาทูน่า

น้ำนึ่งปลาทูน่าก่อนการแยกไขมัน มีไขมันและกรีสอยู่เท่ากับ 1,890 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากนำน้ำนึ่งปลาทูน่ามาให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียสเพื่อให้น้ำนึ่งปลาทูน่ารวมตัวเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วนำไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 คืน พบว่าชั้นไขมันลอยตัวทำให้สะดวกในการตักไขมันที่ผิวหน้าทิ้งไป หากตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 3-4 ชั่วโมง น้ำนึ่งปลาทูน่าจะกลับสู่สภาพเดิมคือมีลักษณะเป็นของเหลว น้ำนึ่งปลาทูน่าทั้งหมดที่ได้หลังการแยกไขมันออกแล้ว พบว่า มีไขมันและกรีสเหลืออยู่เท่ากับ 235 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางที่ 4) ผลจากการให้ความร้อน การทำให้ไขมันลอยตัวและตักไขมันที่ผิวหน้าทิ้งไป สามารถลดไขมันและกรีสได้ร้อยละ 87.57 นำน้ำนึ่งปลาทูน่าบรรจุขวดขนาด 2.5 ลิตร เก็บไว้ในห้องเย็น -20 องศาเซลเซียส เพื่อจะนำไปใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

นำน้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกไขมันออกแล้วมาตกตะกอนโปรตีน โดยปรับพีเอชเป็น 4.5และใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 7,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ได้น้ำนึ่งปลาทูน่าที่ใส และสามารถลดปริมาณโปรตีนได้ ร้อยละ 12.96 (ตารางที่ 4)

2. ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและทางกายภาพของน้ำนึ่งปลาทูน่าก่อนและหลังการแยกไขมันและโปรตีน

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและลักษณะทางกายภาพของน้ำนึ่งปลาทูน่าของโรงงานโชติวัฒน์อุตสาหกรรมการผลิต จำกัด พบว่าลักษณะทางกายภาพของน้ำนึ่งปลาทูน่าที่นำมาวิเคราะห์ มีสีเหลือง (วัดสีในระบบ HVC เท่ากับ 1.14 Y 3.00/1.82) ข้นหนืด มีกลิ่นคาวจัดและมีชั้นไขมันบาง ๆ ลอยอยู่บริเวณผิวหน้า เมื่อเก็บที่อุณหภูมิต่ำที่ 4 องศาเซลเซียส จะมีลักษณะข้นหนืดคล้ายเจล เนื่องจากประกอบด้วยเจลาติน ซึ่งเป็นโปรตีนจากกล้ามเนื้อปลาเมื่อได้รับความร้อนในระหว่างการนึ่งปลาทูน่า โปรตีนที่ละลายน้ำได้จะถูกสกัดออกมาสะสมอยู่ในน้ำนึ่งปลาทูน่า เมื่อวิเคราะห์ทางเคมี (ตารางที่ 4) พบว่า มีค่าพีเอช 6.09 ค่าความขุ่น 2.23 ซีโอดี เท่ากับ 66,573 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งค่าที่ได้ใกล้เคียงกับผลการ

ตารางที่ 4 องค์ประกอบของน้ำนึ่งปลาทูน่าก่อนและหลังการแยกโปรตีนและไขมัน

องค์ประกอบ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ก่อนการแยก	หลังการแยก	ปริมาณการลดลง(ร้อยละ)
พีเอช	6.09	4.5	---
ความขุ่น	2.230	0.118	94.71
ซีโอดี	66,573	52,416	21.27
ปริมาณโปรตีน [ก]	5.63	4.90	12.96
ของแข็งทั้งหมด	93,470	81,503	12.80
ของแข็งแขวนลอย	5,660	2,983	47.30
ไขมันและกรีส	1,890	235	87.57
เถ้า [ก]	1.68	1.60	4.76
น้ำตาลรีดิวซ์	2,037	2,031	0.29
น้ำตาลทั้งหมด	4,900	4,700	4.08
เกลือ	2,192	1,461	33.35
ฟอสฟอรัส	1,080	1,080	0.0
แคลเซียม	69.53	64.94	6.60
แมกนีเซียม	189.2	182.1	3.90
เหล็ก	6.89	0.36	94.77
ทองแดง	6.95	0.07	98.99

หมายเหตุ

ยกเว้น พีเอช ค่าความขุ่น ไม่มีหน่วย

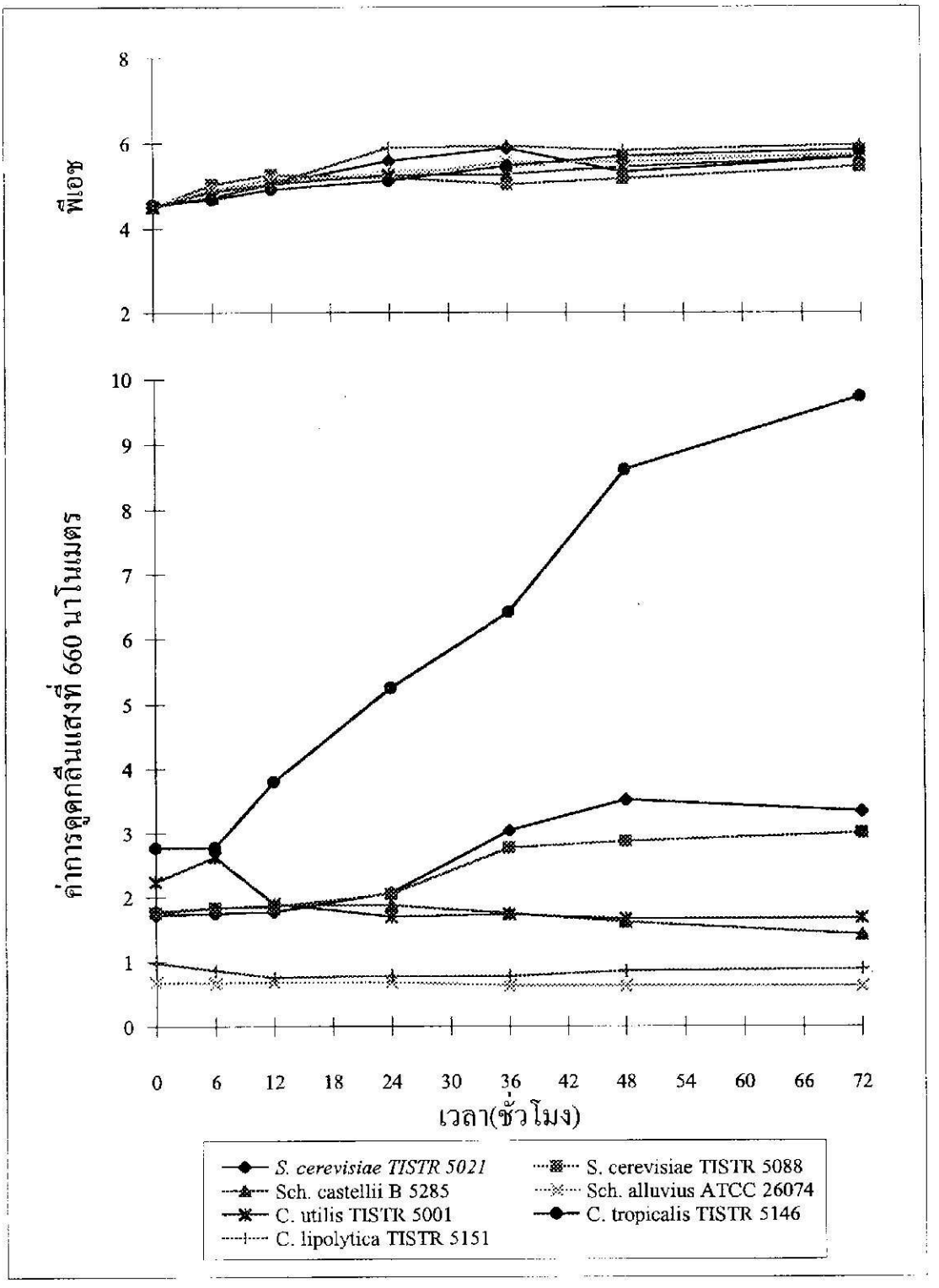
ก : หน่วยเป็น ร้อยละ

วิเคราะห์น้ำนึ่งปลาทูน่าจากโรงงานทรอปิคอลแคนนิ่ง จำกัด มีค่าพีเอชและซีโอดี เท่ากับ 6.05 และ 73,612 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (มาริสา จาตุพรพิพัฒน์, 2537) เมื่อวิเคราะห์น้ำตาลทั้งหมด มีค่าเท่ากับ 4,900 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ รพีพร แสงศรี (2539) ได้วิเคราะห์น้ำนึ่งปลาทูน่าจากโรงงานโชติวัฒน์อุตสาหกรรมการผลิต จำกัด พบว่ามี พีเอช 6.1 ซีโอดีและน้ำตาลรีดิวซ์ เท่ากับ 49,476 และ 1,976 มิลลิกรัมต่อลิตร จากการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในน้ำนึ่งปลาทูน่ามีร้อยละ 5.63 และปริมาณของแข็งทั้งหมดที่มีค่าสูงเท่ากับ 93,470 มิลลิกรัมต่อลิตร ของแข็งแขวนลอย ไขมันและกรีส และเกลือ มีค่าเท่ากับ 5,660 , 1,890 และ 2,192 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เถ้าร้อยละ 1.60 ส่วนแร่ธาตุต่าง ๆ ที่มีอยู่ในน้ำนึ่งปลาทูน่าประกอบด้วย ฟอสฟอรัส แคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก ทองแดง มีค่าเท่ากับ 1,080, 69.53, 189.2, 6.89 และ 6.95 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ มาริสา จาตุพรพิพัฒน์ (2537) วิเคราะห์แมกนีเซียม และเหล็ก ได้ค่าเท่ากับ 95 และ 5.80 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนค่าเหล็ก แมกนีเซียม แคลเซียม ที่ได้แตกต่างจากกาวิเคราะห์โดย รพีพร แสงศรี(2539) มีปริมาณเท่ากับ 1.54, 85.11 และ 33.88 มิลลิกรัมต่อลิตร ความแตกต่างนี้อาจขึ้นอยู่กับชนิดของปลาทูน่า ระยะเวลาของการนึ่งปลา จุดเก็บตัวอย่างน้ำนึ่งปลาทูน่ามาทำการทดลองและวิธีการวิเคราะห์

ส่วนน้ำนึ่งปลาทูน่าหลังการแยกโปรตีนและไขมัน มีสีเหลือง(วัดสีในระบบ H: hue V: value C: croma เท่ากับ 0.66 Y 2.97/1.91) เมื่อนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบต่าง ๆ พบว่ามีค่าซีโอดี 52,416 มิลลิกรัมต่อลิตร มีปริมาณการลดลงร้อยละ 21.27 และของแข็งทั้งหมด ของแขวนลอย เถ้า น้ำตาลรีดิวซ์ น้ำตาลทั้งหมด และเกลือ(NaCl) มีการลดลงร้อยละ 12.80, 47.30, 4.76, 0.29, 4.08 และ 33.35 ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

3. การคัดเลือกยีสต์ที่เจริญในน้ำนึ่งปลาทูน่าหลังการแยกโปรตีนและไขมัน

จากการทดลองเลี้ยงยีสต์ทั้ง 7 สายพันธุ์ คือ *S. cerevisiae* TISTR 5021 *S. cerevisiae*TISTR 5088 *Sch. castellii* B 5285 *Sch.alluvius* ATCC 26074 *C. utilis* TISTR 5001 *C.tropicalis* TISTR 5146 และ *C. lipolytica* TISTR 5151 ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกโปรตีนและไขมัน (ค่าซีโอดี เท่ากับ 52,416 มิลลิกรัมต่อลิตร) พีเอช 4.5 บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 72 ชั่วโมง พบว่า *C. tropicalis* TISTR 5146 เจริญได้ดีที่สุด (รูปที่ 2) โดยมีค่าการเจริญในรูปการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร



รูปที่ 2 การเจริญของยีสต์ 7 สายพันธุ์ในน้ำนึ่งปลาทูน่าหลังแยกโปรตีนและไขมัน พีเอชเริ่มต้น 4.5 (เลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง

เท่ากับ 9.72 และมีอัตราการเจริญจำเพาะ 0.035 ต่อชั่วโมง มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด 3.27 กรัม และมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 58.15 เมื่อวิเคราะห์ค่าซีโอดี และ น้ำมันและกรีส ในน้ำนึ่งปลาทูน่าหลังการเลี้ยงเซลล์ยีสต์ พบว่า *C. tropicalis* TISTR 5146 สามารถลดซีโอดี และน้ำมันและกรีส ได้ร้อยละ 18.23 และ 49.96 ตามลำดับ (ตารางที่ 5) สุวิทย์ สุวรรณโณ (2539) ได้เลี้ยง *C.tropicalis* TISTR 5136 ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่ไม่เจือจาง (1:0) พีเอชเริ่มต้น 3.5 บนเครื่องเขย่า 130 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน ได้มวลชีวภาพสูงสุด 3.0 กรัมต่อลิตร ดังนั้นจึงเลือกยีสต์สายพันธุ์ *C. tropicalis* TISTR 5146 ไว้ทำการทดลองต่อไป

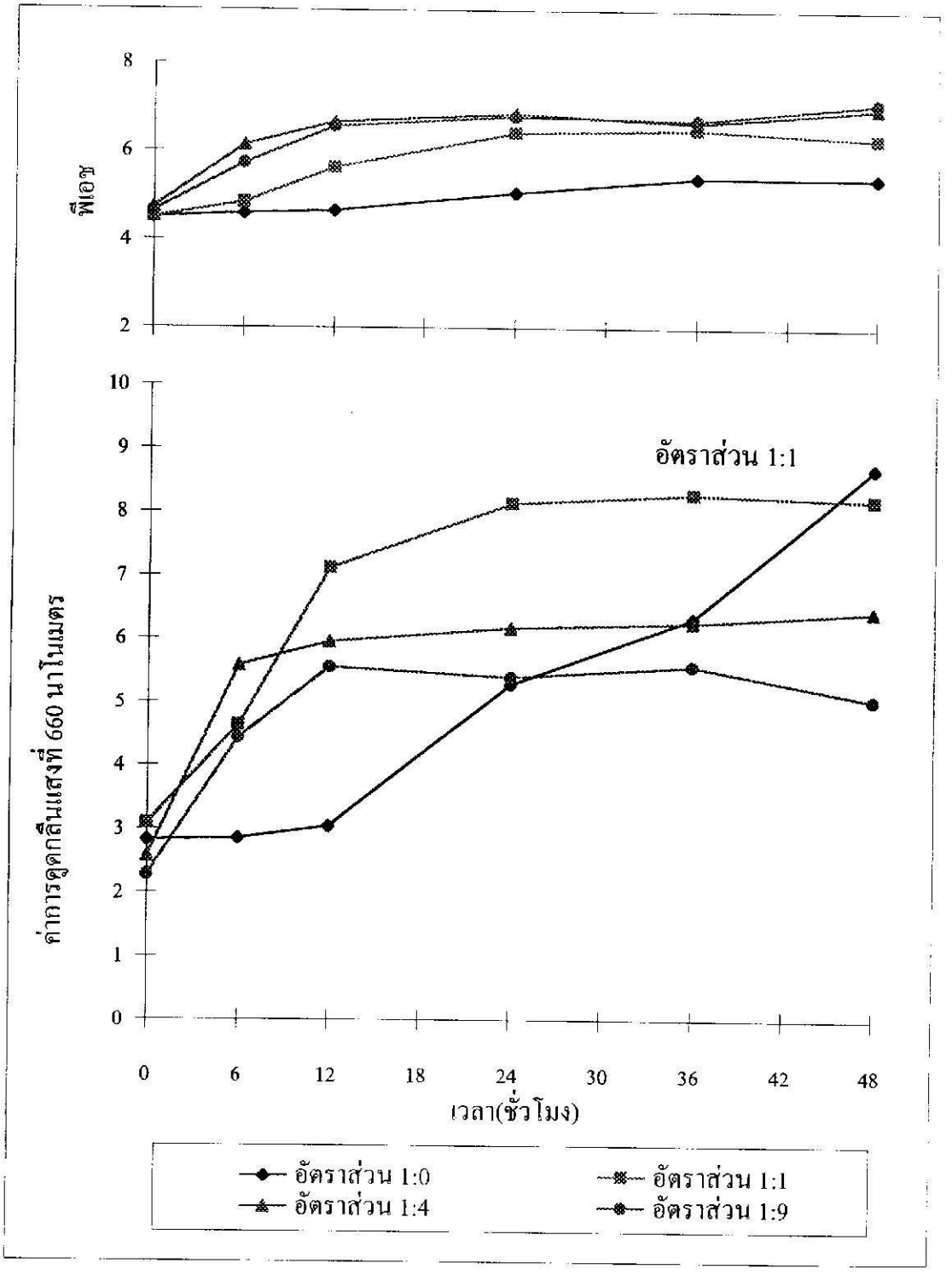
4. สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์ในฟลาสก์บนเครื่องเขย่า

4.1 ผลของการเจือจางน้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกโปรตีนและไขมันด้วยน้ำกลั่น

ผลของการเลี้ยงเชื้อ *C. tropicalis* TISTR 5146 ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกโปรตีนและไขมันที่เจือจางด้วยน้ำอัตราส่วน 1:0, 1:1, 1:4 และ 1:9 ตามลำดับ พีเอชเริ่มต้น 4.5 บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แสดงดังรูปที่ 3 พบว่า ยีสต์ *C. tropicalis* TISTR 5146 เจริญได้ดีที่สุดเมื่อเลี้ยงในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1 (มีค่าซีโอดีเท่ากับ 32,920 มิลลิกรัมต่อลิตร) มีค่าการเจริญในรูปการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร เท่ากับ 8.14 โดยมีระยะ lag phase สั้นแสดงว่าเชื้อใช้ระยะเวลาในการปรับตัวสั้น และเข้าสู่ระยะ stationary phase ในเวลา 24 ชั่วโมง ทำให้เวลาที่ใช้ในการผลิตเซลล์สั้นลงด้วย ซึ่งถ้าพิจารณาต้นทุนการผลิตสามารถที่จะลดระยะเวลาและได้ผลผลิตเร็ว ถือว่าเป็นผลดีต่อการลงทุน การเปลี่ยนแปลงพีเอชอยู่ในช่วง 4.5-6.3 ในขณะที่การเจริญในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่น 1:4 และ 1:9 มีการเจริญที่ต่ำกว่าและในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่ไม่เจือจางจะมีการเจริญช้ากว่าในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจาง 1:1 ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Welsh และZall (1984) พบว่ายีสต์ *C. utilis* เจริญได้ดีในน้ำเกลือที่ใช้ดองปลาเจือจางด้วยน้ำในอัตราส่วน 1:1 เชื้อเจริญสูงสุดชั่วโมงที่ 48 ค่าการเจริญในรูปการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร เท่ากับ 8.70 การเปลี่ยนแปลงพีเอชอยู่ในช่วง 4.5-5.4 ดังนั้นในการทดลองขั้นต่อไปจึงเลือกการเจือจางน้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกโปรตีนและไขมันด้วยน้ำในอัตราส่วน 1:1

ตารางที่ 5 ผลของการเลี้ยงยีสต์ 7 สายพันธุ์ในน้ำนึ่งปลาทูน่าหลังการแยกโปรตีนและไขมัน (เลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง ต่อการลดค่าซีโอดีและไขมันและกรีสในน้ำนึ่งปลาทูน่า น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณโปรตีนในเซลล์ยีสต์

สายพันธุ์	น้ำนึ่งปลาทูน่า		ยีสต์	
	ซีโอดีลดลง (ร้อยละ)	น้ำมันและกรีส ลดลง (ร้อยละ)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	ปริมาณโปรตีน (ร้อยละ)
S.cerevisiae TISTR 5021	16.27	63.04	1.82	52.91
S.cerevisiae TISTR 5088	8.52	45.22	1.43	51.43
Sch.catellii B 5285B	6.61	8.70	0.35	42.67
Sch.alluvius ATCC 26074	4.65	95.65	0.44	46.89
C.utilis TISTR 5001	15.99	44.35	1.29	43.35
C.tropicalis TISTR 5146	18.23	46.96	3.27	58.15
C.lipolytica TISTR 5151	6.47	95.22	0.84	50.09



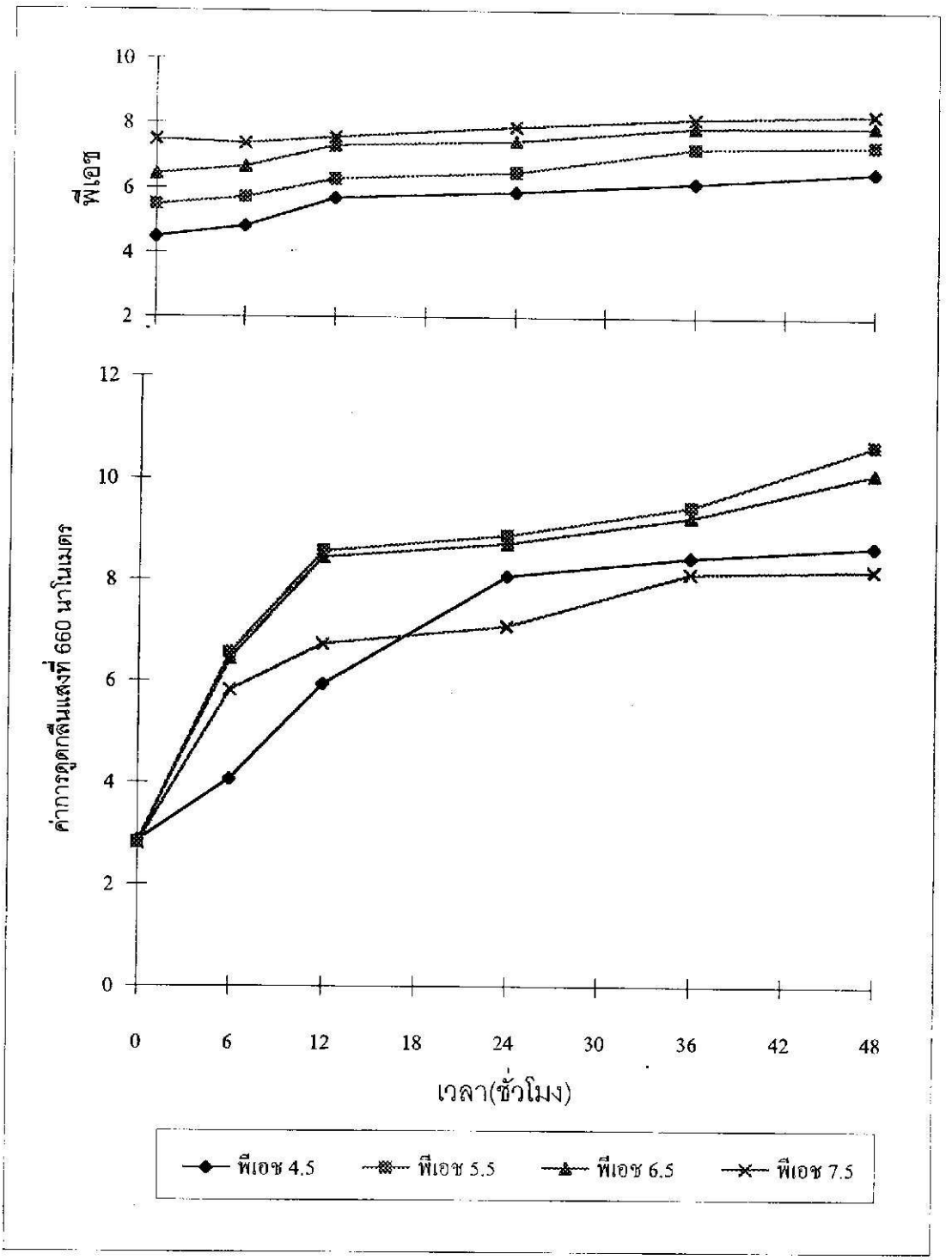
รูปที่ 3 การเจริญของ *Candida tropicalis* TISTR 5146 ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วนต่าง ๆ กัน (พีเอชเริ่มต้น 4.5 เลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง)

4.2 ผลของพีเอชเริ่มต้นของน้ำนึ่งปลาทูน่า

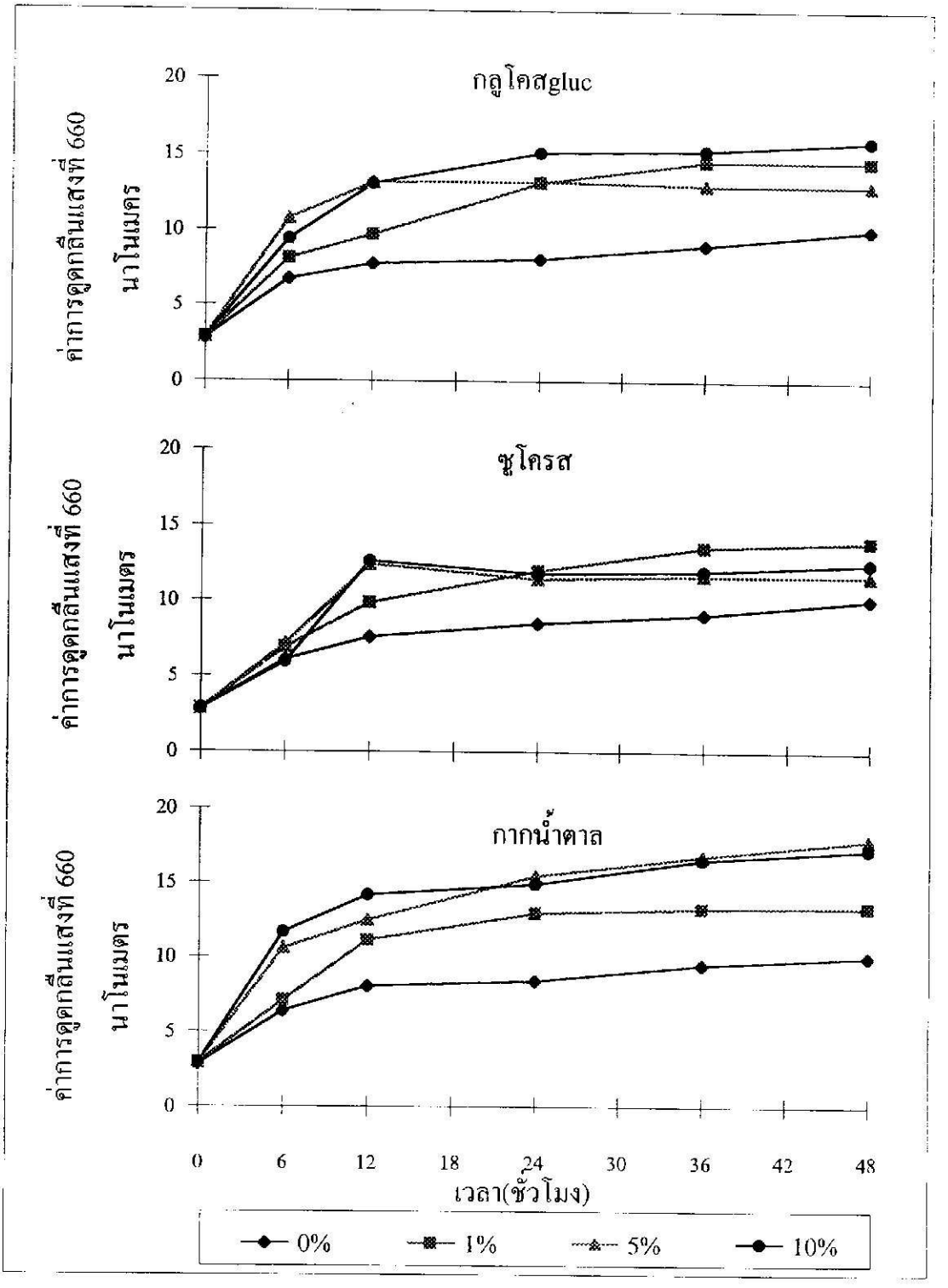
จากการเลี้ยงเชื้อ *C. tropicalis* TISTR 5146 ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกโปรตีนและไขมัน เจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1 มีพีเอชเริ่มต้นต่าง ๆ กัน ได้แก่ 4.5 , 5.5, 6.5 และ 7.5 ตามลำดับ บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่า *C. tropicalis* TISTR 5146 เจริญได้ในพีเอชช่วงกว้าง แต่พีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญคือ พีเอช 5.5 โดยมีการเจริญวัดเป็นค่าการเจริญในรูปการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร เท่ากับ 11.00 (รูปที่ 4) Lemmel และคณะ (1979) พบว่า ยีสต์โดยทั่วไปสามารถเจริญได้ดีช่วงพีเอช 4.5-6.5 และ Lee (1993) พบว่า *C. tropicalis* F 129 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมน้ำมันปาล์มร้อยละ 2 เจริญได้ดีที่พีเอช 5.5- 6.0 ดังนั้นในการทดลองขั้นต่อไปจึงปรับพีเอชเริ่มต้นของ น้ำนึ่งปลาทูน่าเป็น 5.5

4.3 ผลของชนิดและปริมาณแหล่งคาร์บอน

ในการศึกษาเปรียบเทียบผลของแหล่งคาร์บอน 3 ชนิด คือ กลูโคส ซูโครส และ กากน้ำตาล ปริมาณที่ใช้ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1, 5 และ 10 ตามลำดับ เติมลงในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกโปรตีนและไขมัน ซึ่งเจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1 พีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 5.5 เลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่า ยีสต์ *C. tropicalis* TISTR 5146 เจริญได้ในทุกระดับความเข้มข้นของน้ำตาลที่ใช้ในการทดลอง พบว่าเมื่อเติมกลูโคสที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1 , 5 และ 10 ในน้ำนึ่งปลาทูน่า พบว่า *C. tropicalis* TISTR 5146 เจริญได้ดีที่สุดในอาหารที่มีกลูโคสร้อยละ 10 โดยวัดค่าการเจริญในรูปการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตรเท่ากับ 15.85 (รูปที่ 5) และการเปลี่ยนแปลงพีเอชอยู่ในช่วง 5.5-6.3 เมื่อเปรียบเทียบความเข้มข้นของกลูโคสที่ระดับ 1, 5 และ 10 กับชุดควบคุม พบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเติมซูโครสที่ระดับความเข้มข้น 1, 5 และ 10 ในน้ำนึ่งปลาทูน่า พบว่า เติมซูโครสร้อยละ1 ยีสต์ *C. tropicalis* TISTR 5146 เจริญได้ดีที่สุด วัดค่าการเจริญในรูปการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร เท่ากับ 13.95 (รูปที่ 5) มีการเปลี่ยนแปลงพีเอชอยู่ในช่วง 5.5-7.29 เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นของซูโครสที่ระดับ 1, 5 และ 10 กับชุดควบคุม พบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) สำหรับกากน้ำตาลเมื่อเติมในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่ระดับความเข้มข้น 1, 5 และ 10 พบว่า ยีสต์ *C. tropicalis* TISTR 5146 เจริญได้ดีที่สุดเมื่อเติม



รูปที่ 4 ผลของพีเอชเริ่มต้นต่อการเจริญของ *C. tropicalis* TISTR 5146 ในน้ำนึ่งปลาทูน่าเจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1 (เลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง)

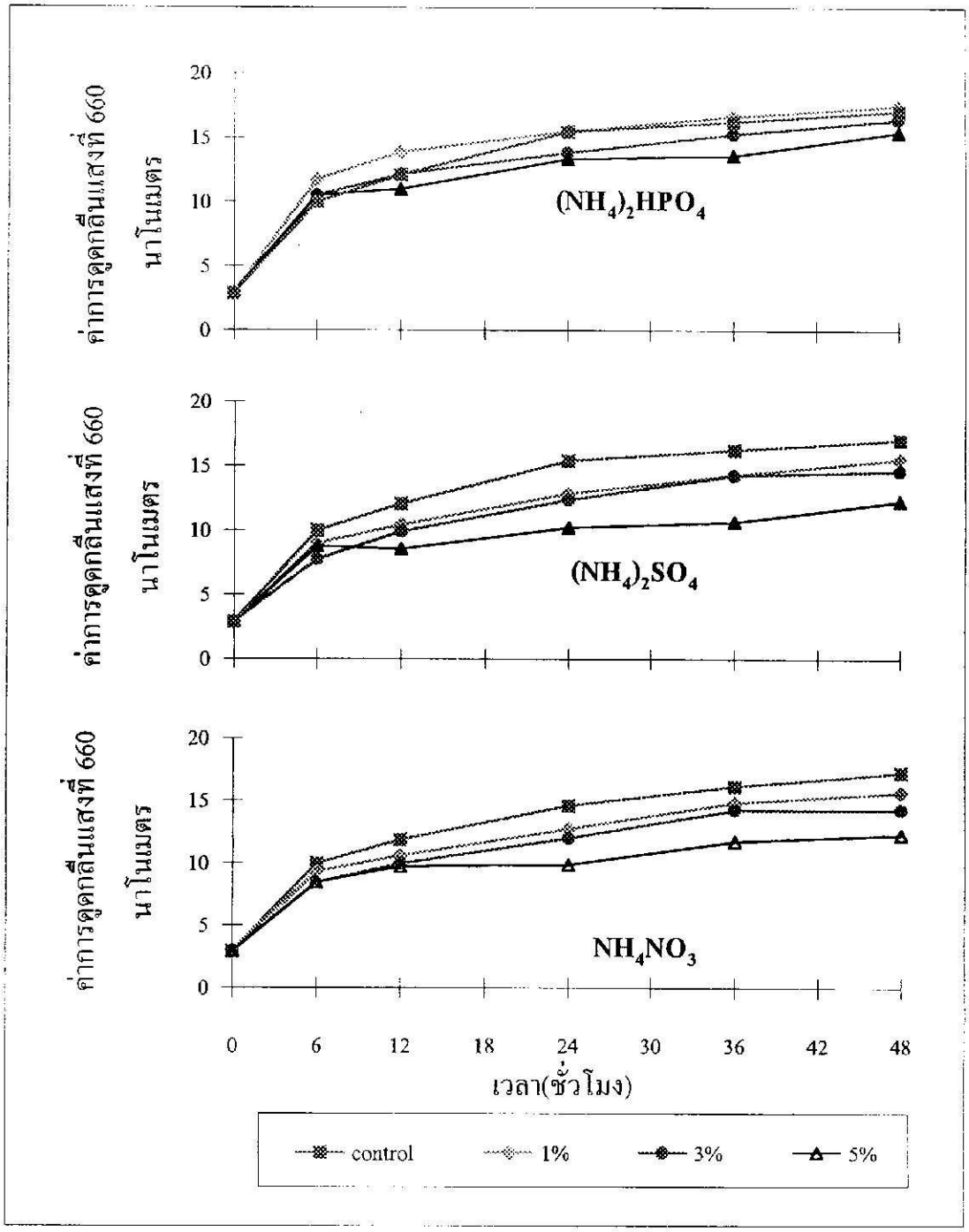


รูปที่ 5 ผลของแหล่งคาร์บอนต่อการเจริญของ *C. tropicalis* TISTR 5146 ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นอัตราส่วน 1:1 พีเอชเริ่มต้น 5.5 (เลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง)

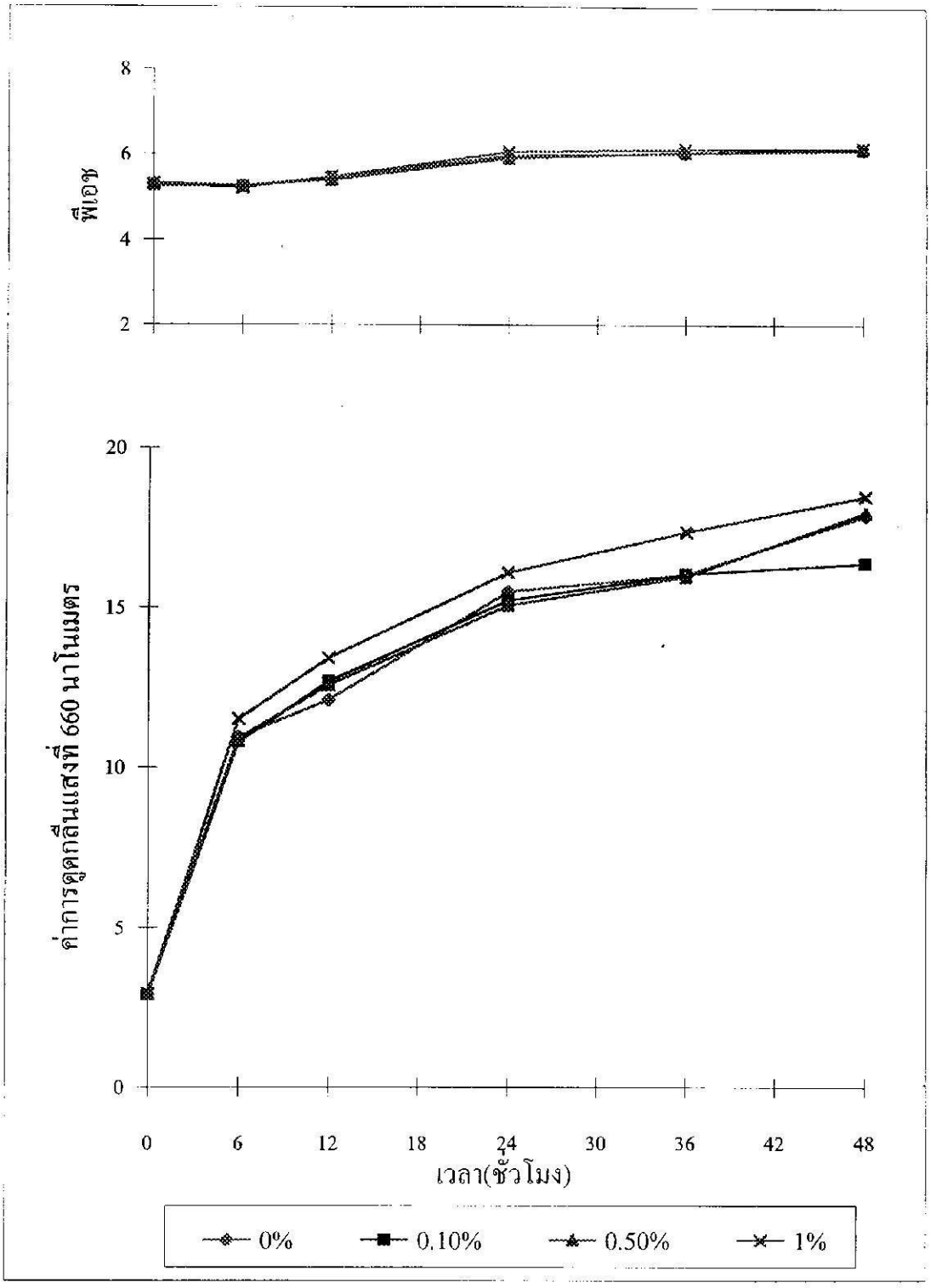
กากน้ำตาลร้อยละ 5 วัดค่าการเจริญในรูปการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตรเท่ากับ 17.91 (รูปที่ 5) มีการเปลี่ยนแปลงพีเอชอยู่ในช่วง 5.5-6.3 เมื่อเปรียบเทียบชนิดและปริมาณน้ำตาลที่เติม พบว่าการเติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 จะให้ผลการทดลองดีกว่าการเติมกลูโคสและซูโครสที่ระดับต่าง ๆ กากน้ำตาลนอกจากจะประกอบด้วยแหล่งคาร์บอนแล้วยังมีวิตามินที่จำเป็นต่อการเจริญของยีสต์ เช่น ไบโอติน อินโนซิทอล เป็นต้น (จุฑามาศ บุญมาแย้ม, 2539) ซึ่งมีผลช่วยให้ยีสต์เจริญได้มากขึ้น จากการทดลองของ ปราโมทย์ ศิริโรจน์ (2522) ยีสต์ *C. utilis* NRRL-Y 900 เจริญได้ดีเมื่อเติมกากน้ำตาลร้อยละ 12 เป็นแหล่งคาร์บอน มีค่าการเจริญในรูปการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตรเท่ากับ 8.75 ดังนั้นในการทดลองขั้นต่อไปจะเติมกากน้ำตาลปริมาณร้อยละ 5 เป็นแหล่งคาร์บอน

4.4 ผลของชนิดและปริมาณไนโตรเจน

ผลของแหล่งไนโตรเจนอนินทรีย์ ในการศึกษาเปรียบเทียบผลของแหล่งไนโตรเจนอนินทรีย์ 3 ชนิด คือ ไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟท แอมโมเนียมซัลเฟท และแอมโมเนียมไนเตรท เติมลงในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกโปรตีนและไขมันเจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1 เติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 ปรับพีเอช 5.5 เลี้ยงบนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง (รูปที่ 6) พบว่าการเติมแหล่งไนโตรเจนอนินทรีย์ต่าง ๆ ทำให้เชื้อ *C. tropicalis* TISTR 5146 เจริญได้น้อยกว่าชุดควบคุม แสดงว่าในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกโปรตีนและไขมันมีปริมาณไนโตรเจนอยู่เพียงพอต่อการเจริญของ *C. tropicalis* TISTR 5146 นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อเติมแหล่งไนโตรเจนอนินทรีย์ที่ระดับความเข้มข้น ร้อยละ 5 การเจริญของเชื้อจะต่ำที่สุด ดังนั้นการเติมแหล่งไนโตรเจนอนินทรีย์ปริมาณมากยังมีผลไปยับยั้งการเจริญของ *C. tropicalis* TISTR 5146 ได้ Hill และ Thommel (1982) พบว่าการเติมแอมโมเนียมที่มากเกินพอลงไปในอาหารที่เลี้ยงยีสต์ที่ใช้กากน้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอน มีผลทำให้ปริมาณโปรตีนของเซลล์ลดลงเนื่องจากแอมโมเนียมไปยับยั้งการใช้กรดอะมิโนในกากน้ำตาล ดังนั้นในการทดลองขั้นต่อไปจึงไม่ได้เติมแหล่งไนโตรเจนอนินทรีย์ลงไปในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกโปรตีนและไขมันแต่เมื่อเติมยีสต์สกัดร้อยละ 1.0 ยีสต์ *C. tropicalis* TISTR 5146 จะเจริญได้ดีกว่า โดยมีการเปลี่ยนแปลงพีเอชอยู่ในช่วง 5.5-6.11 ดังรูปที่ 7 อย่างไรก็ตามการเติมยีสต์สกัดร้อยละ 1 แม้จะทำให้ยีสต์เจริญได้ดี แต่หากนำไปใช้ในการผลิตในอุตสาหกรรมก็



รูปที่ 6 ผลของแหล่งไนโตรเจนอนินทรีย์ต่อการเจริญของ *C. tropicalis* TISTR 5146 ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่น 1:1 มีกากน้ำตาลร้อยละ 5 พีเอชเริ่มต้น 5.5 (เลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง)



รูปที่ 7 ผลของยีสต์สกัดต่อการเจริญของ *C. tropicalis* TISTR 5146 ในน้ำนึ่งปลาทูน่า ปลาทูน่าที่เจืองจางด้วยน้ำกลั่น 1:1 มีกากน้ำตาลร้อยละ 5 พีเอชเริ่มต้นที่ 5.5 (เลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง)

จะทำให้ต้นทุนการผลิตสูงได้ ดังนั้นจึงไม่ได้เติมยีสต์สกัดลงไปในน้ำนึ่งปลาทูน่าเพื่อเลี้ยง *C. tropicalis* TISTR 5146 ในการทดลองต่อ ๆ ไป

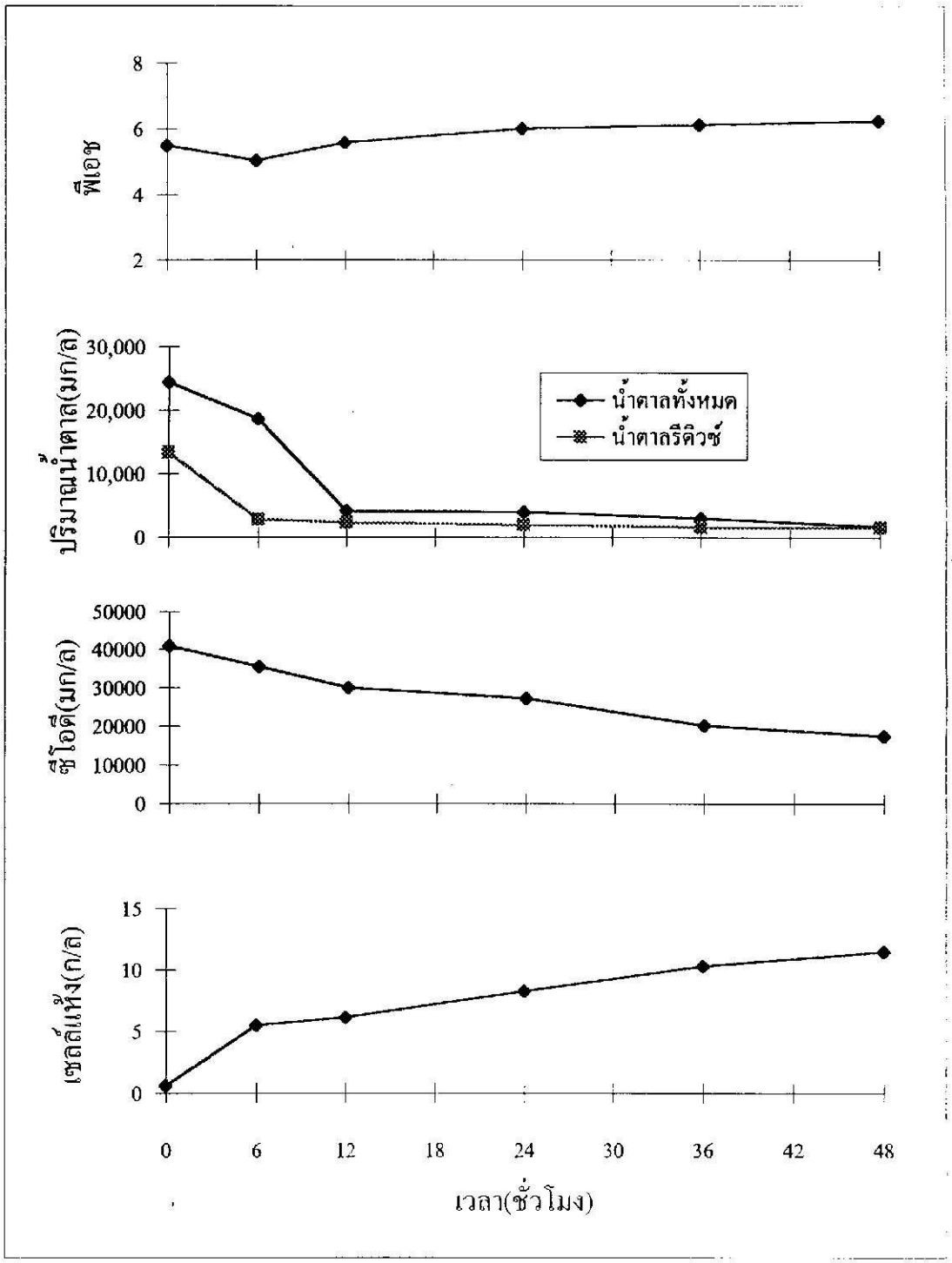
การเจริญของยีสต์ *C. tropicalis* TISTR 5146 ในสภาวะที่เหมาะสม เมื่อเลี้ยงยีสต์ *C. tropicalis* TISTR 5146 ในฟลาสก์ 250 มิลลิลิตร ที่บรรจุอาหาร 50 มิลลิลิตร โดยอาหารประกอบด้วย น้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกโปรตีนและไขมันที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1 เติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 พีเอชเริ่มต้น 5.5 พบว่า *C. tropicalis* TISTR 5146 มีปริมาณเซลล์เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาของการเลี้ยง มีอัตราการเจริญจำเพาะ 0.36 ต่อชั่วโมง มีน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 11.51 กรัมต่อลิตร ที่ 48 ชั่วโมง และผลผลิตของเซลล์ต่อสารอาหาร (Y x/s) สูงสุดเท่ากับ 0.66 กรัมเซลล์ต่อกรัมซีโอดี ปริมาณสารอาหารต่าง ๆ มีปริมาณลดลงทั้งหมด ซึ่งมีแนวโน้มในทิศทางเดียวกัน ตลอดจนสัมพันธ์กับปริมาณยีสต์ที่เพิ่มขึ้น ตามระยะเวลาของการหมัก (รูปที่ 8) สามารถลดค่าซีโอดี น้ำมันและกรีส น้ำตาลทั้งหมดน้ำตาลรีดิวซ์ และโปรตีนในน้ำนึ่งปลาทูน่า ได้ร้อยละ 57.58, 76.71 , 93.12, 88.75 และ 33.33 ตามลำดับ (ตารางที่ 6)

5. สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์ในถังหมัก

หลังจากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์ *C. tropicalis* TISTR 5146 โดยการเลี้ยงในฟลาสก์บนเครื่องเขย่า แล้วจึงได้ทดลองเลี้ยงยีสต์ในปริมาณที่มากขึ้นในถังหมักซึ่งในการหมักใช้ถังหมักขนาด 3 ลิตร ใช้ปริมาตรในการหมัก 1.5 ลิตร โดยอาหารเลี้ยงยีสต์ประกอบด้วย น้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกโปรตีนและไขมันที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1 เติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 พีเอชเริ่มต้น 5.5

5.1 ผลของการให้อากาศ

เมื่อเลี้ยง *C. tropicalis* TISTR 5146 ในถังหมักให้อัตราเร็วในการกวน 400 รอบต่อนาที และให้อากาศ 0.66, 1.00 และ 2.00 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ใช้ระยะเวลาในการหมัก 24 ชั่วโมง พบว่า ยีสต์มีการเจริญสูงเมื่อให้อากาศ 2.00 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที โดยมีอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด 0.37 ต่อชั่วโมง และเจริญเข้าสู่ระยะ stationary phase หลังจาก 12 ชั่วโมง ได้น้ำหนักเซลล์แห้ง 8.89 กรัมต่อลิตร ที่ 24 ชั่วโมง ปริมาณโปรตีนร้อยละ 58.20 ส่วนการ



รูปที่ 8 การเปลี่ยนแปลงพีเอช น้ำหนักเซลล์แห้ง และการใช้สารอาหารของ *C. tropicalis* TISTR 5146 ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่น 1:1 มีกากน้ำตาลร้อยละ 5 พีเอชเริ่มต้นที่ 5.5 (เลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง)

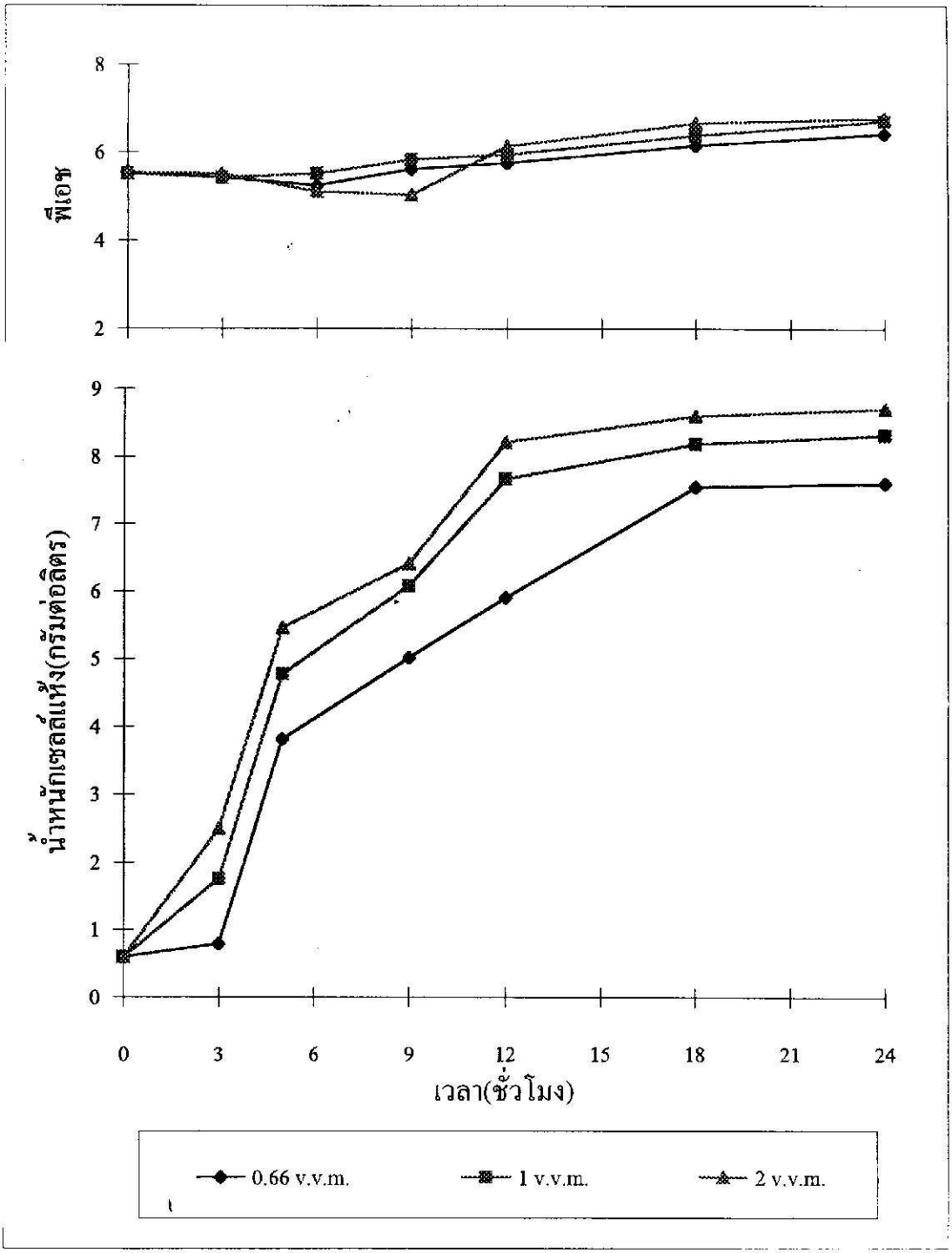
ตารางที่ 6 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกโปรตีนและไขมันที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1 เติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 พีเอช 5.5 ก่อนและหลังการเลี้ยงยีสต์ในฟลาสก์ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

องค์ประกอบทางเคมี	ก่อนการทดลอง	หลังการทดลอง	การลดลง (ร้อยละ)
พีเอช	5.5	6.25	---
ซีโอดี (มก/ล)	40,970	17,379	57.58
น้ำมันและกรีส (มก/ล)	146	34	76.71
น้ำตาลทั้งหมด(มก/ล)	24,450	1,682	93.12
น้ำตาลรีดิวซ์(มก/ล)	12,392	1,506	88.75
ปริมาณโปรตีน (ร้อยละ)	2.31	1.54	33.33

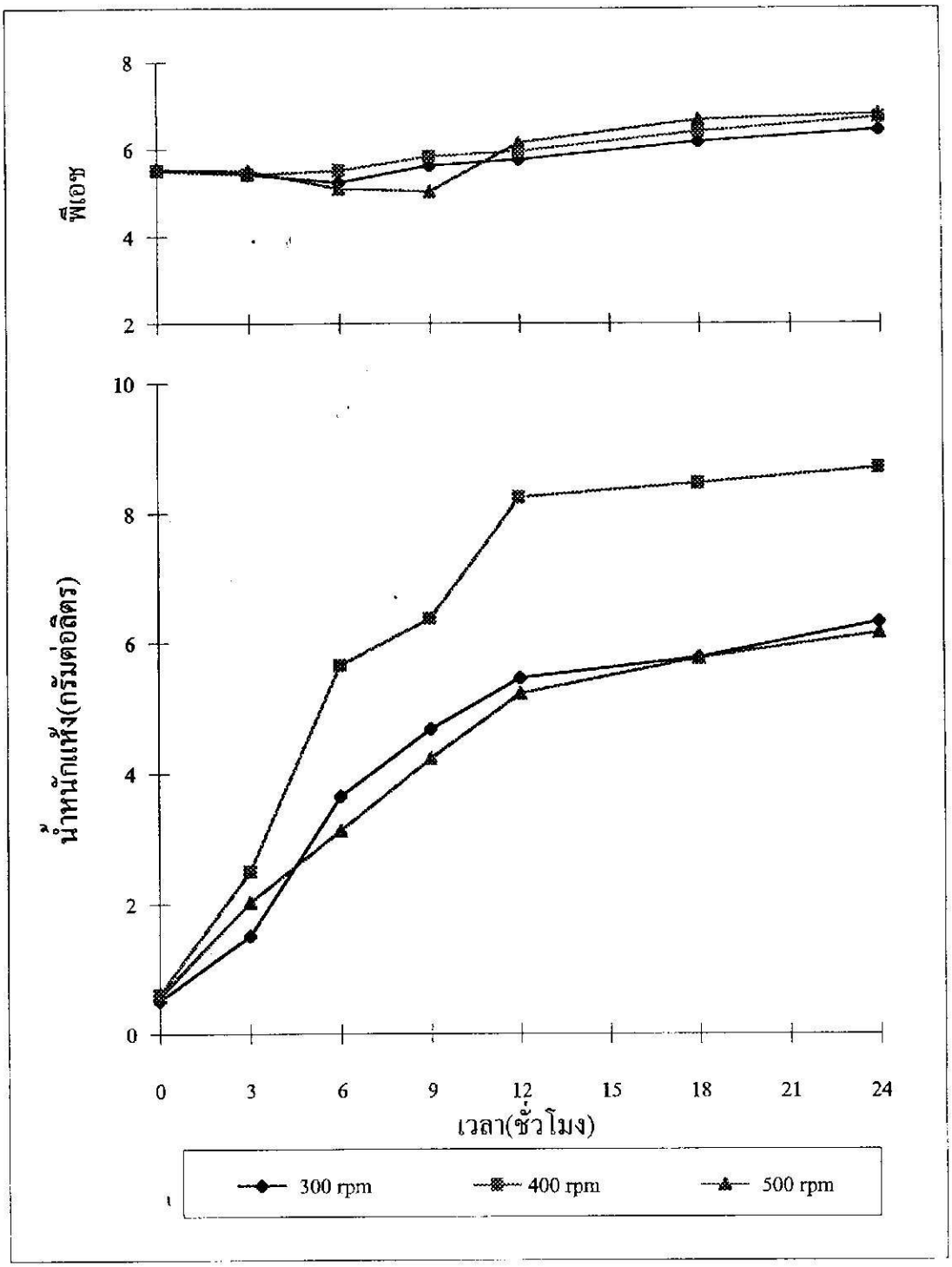
เปลี่ยนแปลงพีเอชในระหว่างการหมักอยู่ในช่วง 5.5-6.45 ซึ่งการเปลี่ยนแปลงพีเอชจะเพิ่มขึ้นในทิศทางเดียวกันทั้งหมดทุกชุดการทดลอง (รูปที่ 9) เมื่อเลี้ยงยีสต์ *C. utilis* NRRL-Y 900 ในอาหารน้ำต้มถั่วเติมกากน้ำตาลร้อยละ 12 ปรับพีเอช 6.5 ในถังหมัก 1 ลิตร ปริมาณอาหารที่ใช้ 250 มิลลิลิตร อัตราเร็วในการกวน 500 รอบต่อนาที ให้อากาศ 1.00 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที ได้น้ำหนักเซลล์แห้ง 13.4 กรัมต่อลิตร ปริมาณโปรตีนร้อยละ 52.2 (ปราโมทย์ ศิริโรจน์, 2521)ส่วนยีสต์ *Sch. castellii* B 5285 เลี้ยงในถังหมักขนาด 2 ลิตร ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ให้อากาศ 0.83 , 1.33 และ 1.67 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที พบว่า ยีสต์มีอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด 0.045 ต่อชั่วโมง เมื่อให้อากาศ 1.67 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที ได้น้ำหนักเซลล์แห้ง 3.4 กรัมต่อลิตร ที่เวลา 72 ชั่วโมง (ทิพรัตน์ หงภัทรคีรี, 2534) Martin และคณะ (1993) เลี้ยง *C. utilis* ATCC 9950 ในอาหารที่มียีสต์สกัดเป็นองค์ประกอบหลัก ใช้ถังหมักขนาด 14 ลิตร ใช้ปริมาณอาหาร 9 ลิตร ให้อากาศ 1.6 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที ที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส ได้น้ำหนักเซลล์แห้งทั้งหมด142.5 กรัม ส่วน Yang และ Tung (1996) เลี้ยงยีสต์ *S. cerevisiae* THB 002 ในอาหาร YM broth 0.9 ลิตร ใช้ถังหมักขนาด 2 ลิตร ให้อากาศ 1.00 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส ได้น้ำหนักเซลล์แห้ง 6.70 กรัมต่อลิตร ที่เวลา 140 ชั่วโมง ดังนั้นในการทดลองนี้จึงเลือกเลี้ยงยีสต์เลือกเลี้ยงยีสต์ *C. tropicalis* TISTR 5146 โดยให้อากาศในถังหมัก เท่ากับ 2.00 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที

5.2 ผลของอัตราเร็วของใบพัดกวน

การเลี้ยงยีสต์ในถังหมักโดยให้อากาศ 2 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาทีที่อัตราเร็วในการกวน 300, 400 และ 500 รอบต่อนาที โดยใช้ระยะเวลาในการหมัก 24 ชั่วโมง ผลดังในรูปที่ 10 พบว่า ที่อัตราเร็วในการกวน 400 รอบต่อนาที ยีสต์มีอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด เป็น 0.37 ต่อชั่วโมง โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้งที่ 8.89 กรัมต่อลิตร เมื่อมีการกวนด้วยอัตราเร็ว 300 และ 500 รอบต่อนาที ยีสต์มีอัตราการเจริญจำเพาะ 0.29 และ 0.15 ต่อชั่วโมง โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้ง 6.32 และ 6.14 กรัมต่อลิตร ที่ 24 ชั่วโมง อัตราเร็วในการกวน 400 รอบต่อนาที จะได้อัตราการเจริญและปริมาณเซลล์สูงสุด การกวนด้วยความเร็วรอบสูง ๆ ถึงแม้ว่าจะทำให้ออกซิเจนละลายได้ดี และช่วยให้อาหาร ออกซิเจนและยีสต์คลุกเคล้าได้



รูปที่ 9 ผลของการให้อากาศต่อการเจริญของ *C. tropicalis* TISTR 5146 (ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1 มีกากน้ำตาลร้อยละ 5 พีเอชเริ่มต้น 5.5 ในถังหมักที่มีอัตราเร็วในการกวน 400 รอบต่อนาที และอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส)

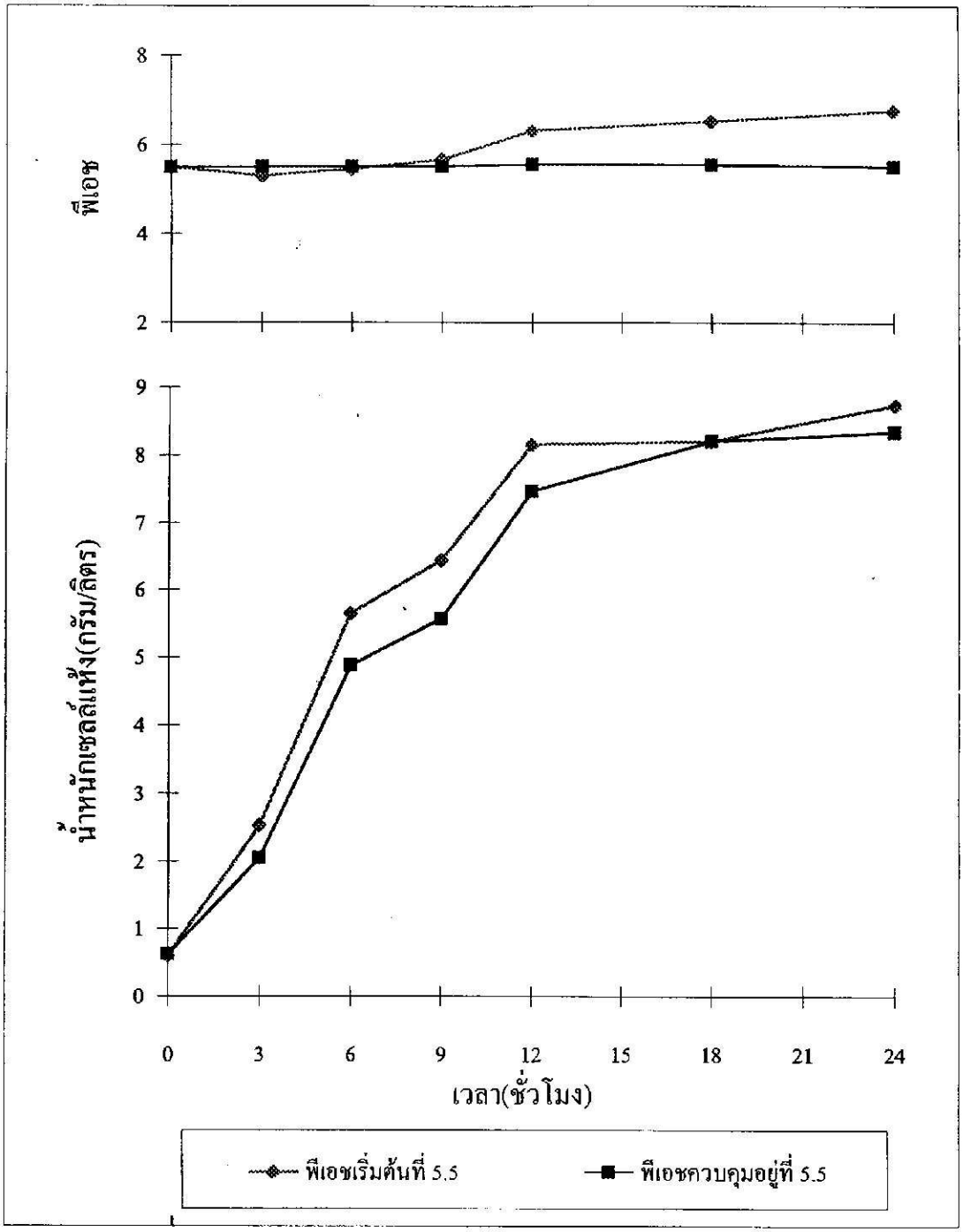


รูปที่ 10 ผลของอัตราเร็วการกวนต่อการเจริญของ *C. tropicalis* TISTR 5146 (ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1เติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 พีเอชเริ่มต้น 5.5 ในถังหมักที่ให้อากาศ 2 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส)

ทั่วตลอดถังหมักก็ตาม แต่สิ่งที่ต้องคำนึงถึงยีสต์มีการเพิ่มปริมาณเซลล์อยู่ตลอดเวลาของการหมัก การกวนด้วยความเร็วรอบสูง ๆ อาจจะทำให้เซลล์ยีสต์ที่มีการแตกหน่อจะถูกดึงให้แยกออกจากยีสต์ตัวแม่ (mother cell) ด้วยแรงของการกวนทำให้เซลล์บาดเจ็บและตายได้ อาจส่งผลทำให้อัตราการเจริญของยีสต์ต่ำลงได้ (ปรียา วิบูลย์เศรษฐ์, 2525) ในกรณีที่ความเร็วรอบของการกวนเป็นไปอย่างช้า ๆ จะทำให้ออกซิเจนจากฟองอากาศละลายในอาหารได้น้อย เซลล์ของยีสต์เกาะกันเป็นกลุ่มทำให้เซลล์ที่อยู่ภายในกลุ่มได้รับออกซิเจนและอากาศน้อยจึงมีอัตราการเจริญไม่เต็มที่ จากการทดลองนี้จะเห็นได้ว่าเมื่อใช้ความเร็วในการกวน 300 รอบต่อนาที อัตราการเจริญของยีสต์จะต่ำกว่าที่อัตราเร็วในการกวน 400 รอบต่อนาที ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ ทิพรัตน์ หงภัทรคีรี (2534) ซึ่งทดลองเลี้ยงยีสต์ *Sch. castellii* B 5285 ในถังหมักที่อัตราเร็วในการกวน 200, 300 และ 400 รอบต่อนาที พบว่าอัตราเร็วในการกวน 400 รอบต่อนาที *Sch. castellii* B 5285 สูงสุดเป็น 0.113 ต่อชั่วโมง น้ำหนักเซลล์แห้ง 4.5 กรัมต่อลิตร ในขณะที่ Yang และ Tung (1996) เลี้ยงยีสต์ *S. cerevisiae* THB 002 ในอาหาร YM broth ที่อัตราเร็วในการกวน 400 รอบต่อนาที น้ำหนักเซลล์สูงสุด 6.70 กรัมต่อลิตร ดังนั้นจึงเลือกอัตราเร็วในการกวน 400 รอบต่อนาที เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

5.3 ผลของพีเอชในระหว่างการหมัก

เมื่อเปรียบเทียบการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *C. tropicalis* TISTR 5146 ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกโปรตีนและไขมันที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1 เติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 ในสภาพที่มีการควบคุมพีเอชอยู่ที่ 5.5 ตลอดการทดลองกับชุดที่ไม่มีการควบคุมพีเอช พบว่าการควบคุมพีเอชจะให้ผลการเจริญของยีสต์ได้น้อยกว่าชุดที่ไม่ควบคุมพีเอช (รูปที่ 11) โดยชุดการทดลองที่ไม่ควบคุมพีเอช ในระหว่างการหมักมีการเปลี่ยนแปลงพีเอชจาก 5.5 เป็น 6.44 เมื่อสิ้นสุดการหมัก อัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด เท่ากับ 0.37 ต่อชั่วโมง มีน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 8.89 กรัมต่อลิตร ที่ 24 ชั่วโมง ชุดควบคุมพีเอชมีอัตราการเจริญจำเพาะเท่ากับ 0.30 ต่อชั่วโมง มีน้ำหนักเซลล์แห้ง 8.20 กรัมต่อลิตร ที่ 24 ชั่วโมง ค่าน้ำหนักเซลล์แห้งชุดที่ไม่ควบคุมพีเอชจะมีค่ามากกว่าชุดทดลองที่ควบคุมพีเอช โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($p<0.05$) ทิพรัตน์ หงภัทรคีรี (2534) เลี้ยง *Sch. castellii* B 5285 ในอาหารเหลวซึ่งประกอบด้วยแป้งมันสำปะหลัง 20 กรัมต่อลิตร ยีสต์สกัด 0.1 กรัมต่อลิตร



รูปที่ 11 ผลของพีเอชในระหว่างการหมักต่อการเจริญของ *C. tropicalis* TISTR 5146 (น้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1 เติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 ในถังหมักมีอัตราเร็วในการกวน 400 รอบต่อนาที ให้อากาศ 2.0 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส)

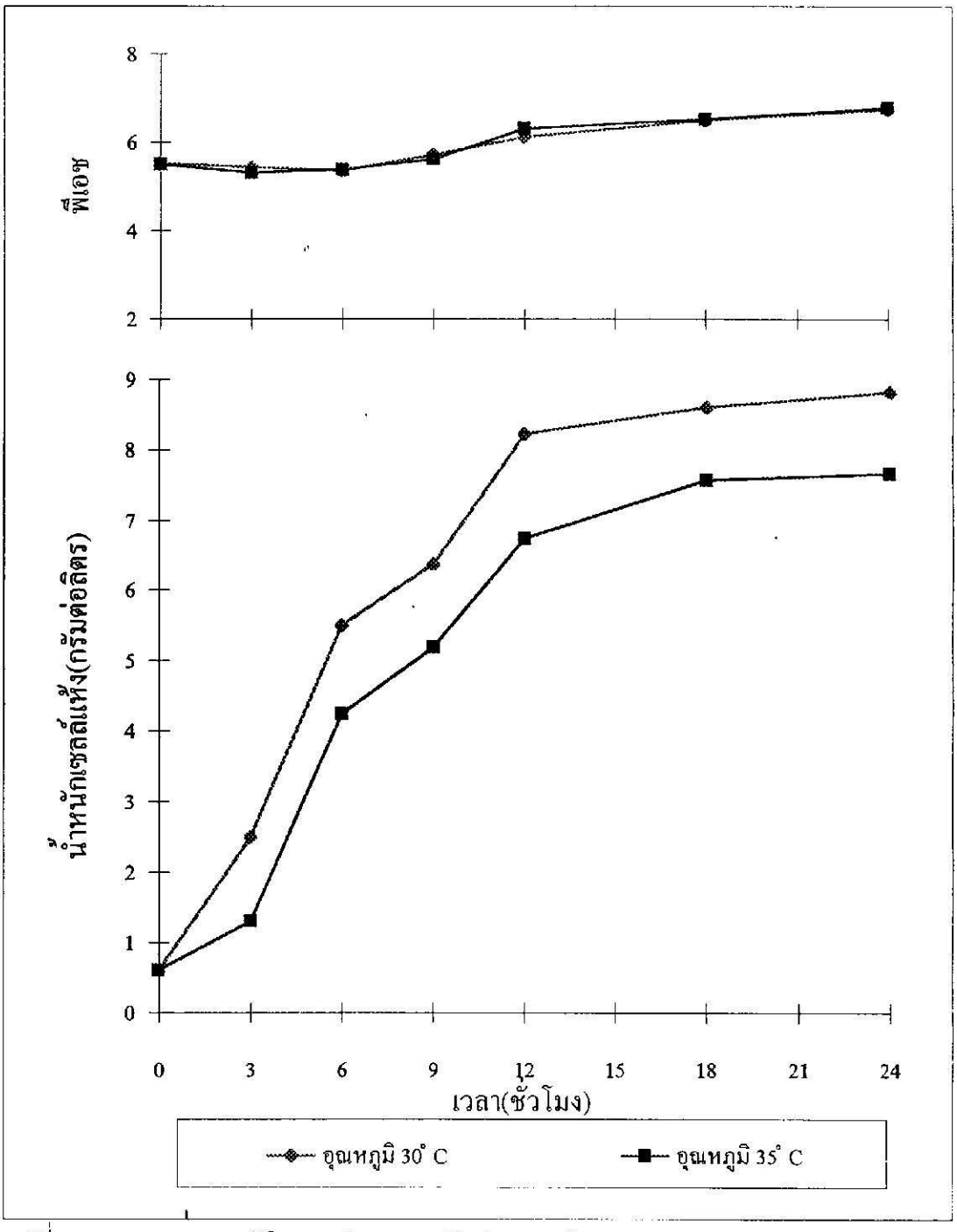
ไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนออโธฟอสเฟท 3 กรัมต่อลิตร และโซเดียมกลูตาเมท 2 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีพีเอช 4.0 และ 5.0 พบว่า ในอาหารที่มีพีเอชเริ่มต้น 5.0 ยีสต์มีอัตราการเจริญจำเพาะ 0.135 ต่อชั่วโมง ซึ่งสูงกว่าการเลี้ยงยีสต์ที่พีเอช 4.0 ซึ่งมีอัตราการเจริญจำเพาะ 0.113 ต่อชั่วโมง ได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงขึ้นจาก 4.5 กรัมต่อลิตร เป็น 5.43 กรัมต่อลิตร ส่วนปราโมทย์ ศิริโรจน์ (2521) เลี้ยงยีสต์ Yk 32 ในน้ำต้มถั่วน้ำต้มถั่วเติมกากน้ำตาลร้อยละ 12 ที่พีเอช 5.9, 6.5 และ7.0 พบว่า พีเอชเริ่มต้นที่เหมาะสมที่สุดคือ 6.5 และไม่มีการควบคุมพีเอชในระหว่างการหมัก เมื่อวัดค่าการเจริญในรูปการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร เท่ากับ 15.20 ดังนั้นในระหว่างการหมักไม่ควรมีการควบคุมพีเอช

5.4 ผลของอุณหภูมิ

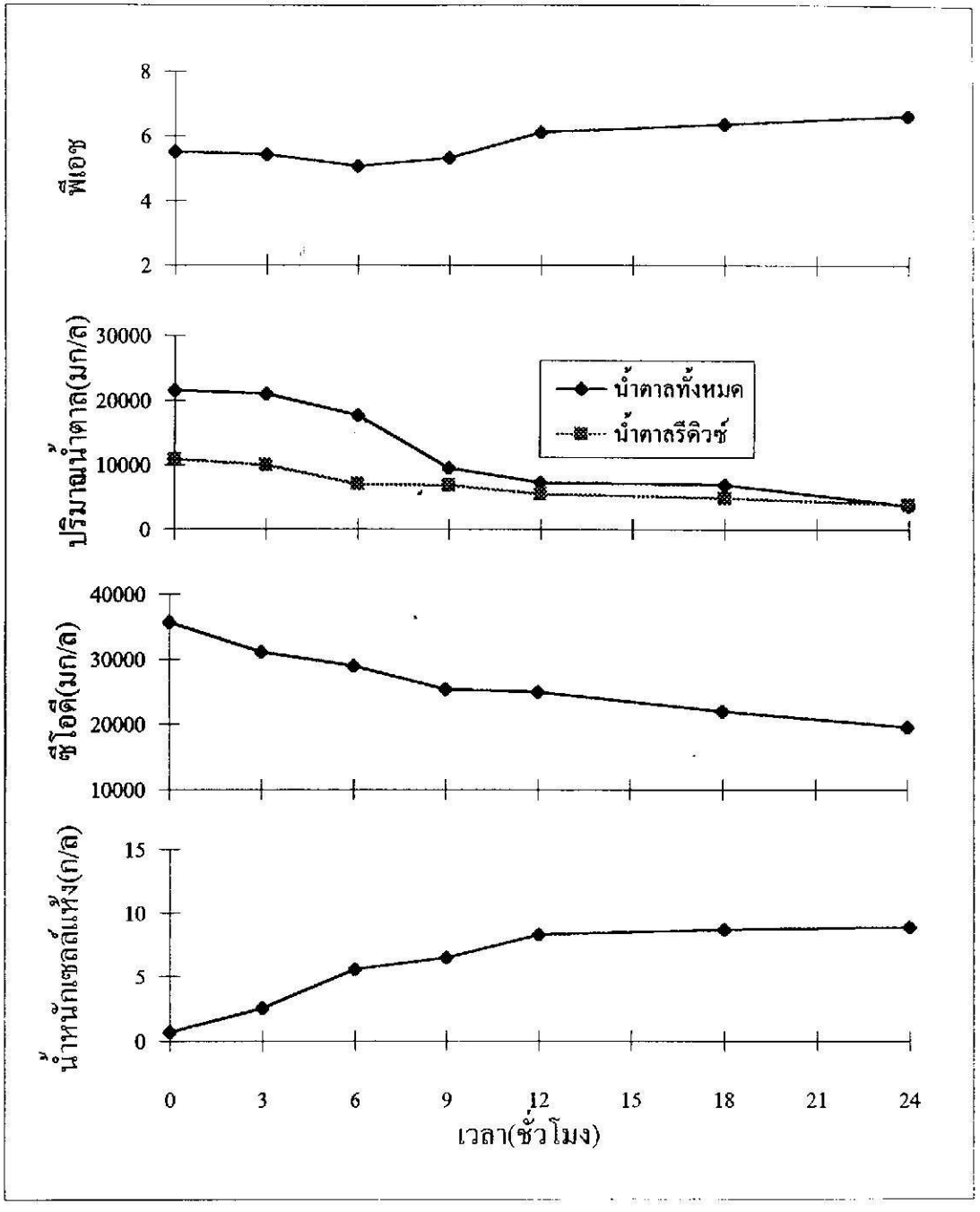
จากการเลี้ยงยีสต์ *C. tropicalis* TISTR 5146 ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกโปรตีนและไขมันที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1 เติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 พีเอชเริ่มต้น 5.5 ใช้ระยะเวลาในการหมัก 24 ชั่วโมง โดยควบคุมอุณหภูมิ 30 และ 35 องศาเซลเซียส พบว่าที่ 30 องศาเซลเซียส *C. tropicalis* TISTR 5146 เจริญได้ดีกว่าที่ 35 องศาเซลเซียส (รูปที่ 12) โดยมีอัตราการเจริญจำเพาะ 0.37 ต่อชั่วโมง และมีน้ำหนักเซลล์แห้ง 8.89 กรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส มีอัตราการเจริญจำเพาะ 0.33 ต่อชั่วโมง และมีน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 7.67 กรัมต่อลิตร ที่ 24 ชั่วโมง ส่วนยีสต์ Yk 32 และ Yk 43 ในอาหารน้ำต้มถั่วเติมกากน้ำตาลร้อยละ 12 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พีเอช 6.5 ความเร็วรอบของการกวน 500 รอบต่อนาที ให้อากาศ 1 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที มีการเจริญสูงสุดที่ 36 ชั่วโมง น้ำหนักแห้ง 28.8 กรัมต่อลิตร (ปราโมทย์ ศิริโรจน์ , 2521)

6. ผลการวิเคราะห์น้ำนึ่งปลาทูน่าหลังการเลี้ยงยีสต์ในถังหมัก

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบน้ำนึ่งปลาทูน่าหลังการเลี้ยงยีสต์ *C. tropicalis* TISTR 5146 ในถังหมัก เมื่อเปรียบเทียบกับค่าองค์ประกอบเริ่มต้นของน้ำนึ่งปลาทูน่าดังตารางที่ 7 พบว่าสามารถลดค่าซีโอดี น้ำมันและกรีส น้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณโปรตีน ได้ร้อยละ 45.14, 61.91, 68.00, 63.54 และ 17.13 ตามลำดับ (รูปที่ 13) เมื่อพิจารณาผลการวิเคราะห์น้ำหนึ่งปลาทูน่าหลังการเลี้ยงยีสต์ในฟลาสก์ ตารางที่ 6 และผลการวิเคราะห์น้ำนึ่งปลาทูน่าหลังการเลี้ยงยีสต์ในถังหมักตารางที่7 จะเห็นว่าค่าซีโอดี



รูปที่ 12 ผลของอุณหภูมิในระหว่างการหมักต่อการเจริญของ *C.tropicalis* TISTR 5146 (ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1 เติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 มีพีเอชเริ่มต้น 5.5 ในถังหมักมีอัตราเร็วในการกวน 400 รอบต่อนาที ให้อากาศ 2.0 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที)



รูปที่ 13 การเปลี่ยนแปลงพีเอช น้ำหนักเซลล์แห้ง และการใช้สารอาหารของ *C. tropicalis* TISTR 5146 (ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่น 1:1 เติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 พีเอชเริ่มต้น 5.5 ในถังหมักมีอัตราเร็วในการกวนกวน 400 รอบต่อนาที ให้อากาศ 2.0 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที) และอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 7 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกโปรตีนและไขมันด้วยเจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1 เติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 พีเอช 5.5 ก่อนและหลังการเลี้ยงยีสต์ในถังหมัก เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

องค์ประกอบทางเคมี	ก่อนการทดลอง	หลังการทดลอง	การลดลง (ร้อยละ)
พีเอช	5.5	6.53	---
ซีโอดี (มก/ล)	35,688	19,578	45.14
น้ำมันและกรีส (มก/ล)	105	40	61.90
น้ำตาลทั้งหมด(มก/ล)	22,229	3,702	68.00
น้ำตาลรีดิวซ์ (มก/ล)	10,792	3,855	63.54
ปริมาณโปรตีน (ร้อยละ)	2.16	1.79	17.13

ประกอบเคมีเริ่มต้นในการเลี้ยงยีสต์ของทั้ง 2 สภาวะ มีปริมาณสารอาหารที่แตกต่างกัน ทั้งนี้เนื่องมาจากน้ำนึ่งปลาทูน่าที่ได้จากโรงงานแต่ละครั้งจะมีความแตกต่างกันและผันแปรไปตามวัตถุดิบที่ใช้ แต่การนำสารอาหารไปใช้ในการเจริญของยีสต์ในน้ำนึ่งปลาทูน่าทั้ง 2 สภาวะมีแนวโน้มลดลงในทิศทางเดียวกัน ซึ่งสัมพันธ์กับปริมาณเชื้อยีสต์ที่เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาของการหมัก

7. ผลการศึกษาองค์ประกอบของยีสต์แห้ง

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบของเซลล์แห้ง พบว่า เซลล์ยีสต์ *C. tropicalis* TISTR 5146 มีปริมาณโปรตีน ไขมัน เถ้า ความชื้น ร้อยละ 58.20, 0.36, 9.59 และ 1.26 ตามลำดับ และมีกรดอะมิโนที่จำเป็นแก่ร่างกาย (essential amino acid : EAA) ครบทุกชนิด เช่น ไลซีน เมทไธโอนีน และวาลีน เป็นต้น ส่วนกรดอะมิโนที่ไม่จำเป็นแก่ร่างกาย (non essential amino acid :NEAA) นั้นไม่พบซีสตีน ดังแสดงในตารางที่ 8 กรดอะมิโนของยีสต์ *C. tropicalis* TISTR 5146 เลี้ยงในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกโปรตีนและไขมันมีกรดอะมิโนบางค่าสูงกว่ามาตรฐานกรดอะมิโนในเซลล์ยีสต์ คือ ฮีสทิดีน ไลซีน ทรีโอนีน และ อาร์จีนีน เป็นต้น ดังตารางที่ 8 โดยทั่วไปยีสต์จะให้โปรตีนภายในเซลล์ประมาณร้อยละ 50.5 ไขมันร้อยละ 1.0 ตามลำดับ (Becker, 1981) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Forage (1978) ซึ่งศึกษาองค์ประกอบของเซลล์ *C. utilis* ที่เลี้ยงในน้ำทิ้งโรงงานทำขนม พบว่า มีปริมาณโปรตีน ไขมัน และความชื้น ร้อยละ 18.35, 1.35 และ 8.9 ตามลำดับ Martin และคณะ (1993) เลี้ยง *C. utilis* ATCC 9500 ในอาหารเลี้ยงเชื้อมียีสต์สกัดเป็นองค์ประกอบหลัก พบว่ามีปริมาณโปรตีน ไขมัน เถ้า เท่ากับ 50.12, 1.31 และ 18.17 ตามลำดับ มีกรดอะมิโนครบทุกชนิด เมื่อเลี้ยง *C. tropicalis* TISTR 5136 ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่ไม่เจือจางเซลล์ยีสต์ประกอบด้วยโปรตีนและไขมัน ร้อยละ 45 และ 1.0 ตามลำดับ (สุวิทย์ สุวรรณโณ, 2539)

ตารางที่ 8 องค์ประกอบของกรดอะมิโนในเซลล์ยีสต์ *Candida tropicalis* TISTR 5146 เปรียบเทียบกับ FAO reference protein

Amino acid	FAO reference protein* (g/16 gN)	*Candida tropicalis* TISTR 5146 (g/16 gN) ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกโปรตีนและไขมัน
Lysine	4.2	5.26
Valine	4.2	3.60
Leucine	4.8	4.77
Isoleucine	4.2	3.36
Threonine	2.8	3.55
Methionine	2.2	0.87
Phenylalanine	2.8	2.79
Cystine	2.0	#
Alanine	-	4.26
Histidine	-	8.68
Tyrosine	-	2.17
Arginine	-	1.55
Glutamic acid	-	8.48
Proline	-	2.63

หมายเหตุ

* : Rose และ Harrison (1971)

- : ไม่วิเคราะห์

: ไม่มีกรดอะมิโน

สรุป

1. ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกไขมันออกโดยตักไขมันผิวหน้าทิ้งและแยกโปรตีนโดยการปรับพีเอชเป็น 4.5 อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที น้ำนึ่งปลาทูน่ามีสีค่อนมาทางเหลือง ซึ่งประกอบด้วย โปรตีนร้อยละ 4.90 น้ำมันและกรีส 235 มิลลิกรัมต่อลิตร ของแข็งทั้งหมด 81,503 มิลลิกรัมต่อลิตร ของแข็งแขวนลอย 2,983 มิลลิกรัมต่อลิตร ซีโอดี 52,416 มิลลิกรัมต่อลิตร เถ้า ร้อยละ 1.60 น้ำตาลตารีดิวซ์ 2,031 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลทั้งหมด 4,700 มิลลิกรัมต่อลิตร และเกลือ (NaCl) 1,461 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนแร่ธาตุ ต่าง ๆ ได้แก่ ฟอสฟอรัส แคลเซียม แมกนีเซียม เหล็กและทองแดง มีค่าเท่ากับ 1,080 , 64.94 , 182.1, 0.36 และ 6.07 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

2. ผลการคัดเลือกยีสต์ที่เจริญได้ดีในน้ำนึ่งปลาทูน่าหลังการแยกโปรตีนและไขมันจากยีสต์ 7 สายพันธุ์ ได้แก่ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 *S. cerevisiae* TISTR 5088 *Schwanniomyces castellii* B5285 *Sch. alluvius* ATCC 26074 *Candida utilis* TISTR 5001 *C. tropicalis* TISTR 5146 และ *C. lipolytica* TISTR 5151 โดยวัดปริมาณโปรตีน ค่าการดูดกลืนแสง และน้ำหนักเซลล์แห้ง พบว่า *C. tropicalis* TISTR 5146 มีอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด คือ 0.035 ต่อชั่วโมง น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด 3.27 กรัมต่อลิตร

3. อาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมประกอบด้วย น้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกโปรตีนและไขมันเจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1 เติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 พีเอชที่ 5.5

4. สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์ *C.tropicalis* TISTR 5146 ในฟลาสก์บนเครื่องเขย่า พบว่ายีสต์เจริญได้ดีที่สุดเมื่อ ปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อ 50 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร อุณหภูมิห้อง เขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ยีสต์มีอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด 0.36 ต่อชั่วโมง น้ำหนักเซลล์แห้ง 11.51 กรัมต่อลิตร มีปริมาณโปรตีนในเซลล์ร้อยละ 58.15

5. เมื่อเลี้ยง *C. tropicalis* TISTR 5146 ในอาหารเลี้ยงยีสต์ที่เหมาะสมบรรจุ 1.5 ลิตร ในถังหมักขนาด 3 ลิตร พบว่า ยีสต์เจริญได้ดีที่สุดเมื่อ หมักที่พีเอชเริ่มต้น 5.5 ให้

อากาศ 2 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที อัตราการกวน 400 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ใช้ระยะเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า ยีสต์มีอัตราการเจริญจำเพาะ สูงสุด 0.37 ต่อชั่วโมง เซลล์แห้ง เท่ากับ 8.89 กรัมต่อลิตร

6. เซลล์ยีสต์แห้งที่ได้มีปริมาณโปรตีน ไขมัน เถ้า และความชื้น ร้อยละ 58.20, 0.36, 9.59 และ 1.26 ตามลำดับ และมีกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตครบทุกชนิด

7. ผลการศึกษาประสิทธิภาพของการบำบัดน้ำนึ่งปลาทูน่าหลังหลังการเลี้ยงยีสต์ *C. tropicalis* TISTR 5146 สามารถลดปริมาณสารอินทรีย์ต่าง ๆ ลงได้ พบว่า สามารถลดค่าซีโอดี น้ำมันและกรีส น้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์ และโปรตีน ได้ร้อยละ 45.14, 61.91, 68.00, 63.54 และ 17.13 ตามลำดับ

เอกสารอ้างอิง

กรรณิการ์ สิริสิงห. 2522. เคมีของน้ำโสโครกและวิธีการวิเคราะห์ คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

กรมโรงงานอุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม องค์กรความร่วมมือไทย-เยอรมัน (GTZ). 2537. การสัมมนาเรื่องการแยกโปรตีนจากน้ำทิ้งโรงงานอุตสาหกรรมปลากระป๋อง. สถาบันพัฒนาและฝึกอบรมโรงงานต้นแบบ. ศูนย์การศึกษาต่อเนื่อง สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

จุฑามาศ เจริญศักดิ์ และขจร เจริญศิริ. 2520. การผลิตยีสต์โปรตีนโดยการเลี้ยงด้วยน้ำทิ้งจากโรงงานสับปะรด. บทคัดย่อการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์การวิจัยทางวิทยาศาสตร์. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ. หน้า 351.

จุฑามาศ บุญมาแย้ม. 2539. ผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมอ้อยและน้ำตาล. วารสารน้ำตาล. 32(4) : 1-12.

ณัฐ อ่อนศรี. 2538. ความต้องการปลาทูน่าและทูน่ากระป๋อง. เอกสารเผยแพร่กรมประมงและหอการค้าจังหวัดภูเก็ต. หน้า 23-24.

ดวงพร คันธโชติ. 2530. ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ในรูปเซลล์. ใน จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ผลิตภัณฑ์จากจุลินทรีย์. หน้า 1-45. กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์.

ทิพรัตน์ หงภัทรคีรี. 2534. การเสริมโปรตีนในมันสำปะหลังโดยใช้ยีสต์ *Schwanniomyces castellii*. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

นิรนาม. 2534. อุตสาหกรรมเกษตรสินค้าจากเศษเหลือ by product จากโรงงานปลาทูน่าบรรจุกระป๋อง. เอกสารเผยแพร่จากกองพัฒนาอุตสาหกรรม. กรมส่งเสริมอุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม.

นัยทัศน์ ภู่ศรันย์. 2532. อุตสาหกรรมหมักดอง. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร. คณะทรัพยากรธรรมชาติ. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ปราโมทย์ ศิริโรจน์. 2521. การคัดเลือกสายพันธุ์และการเลี้ยงยีสต์ที่มีโปรตีนสูงในน้ำทิ้งจากขบวนการแปรรูปอาหารถั่วเหลือง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ปรียา วิบูลย์เศรษฐ์. 2525. โภชนาการและการเจริญเติบโตของยีสต์. ใน จุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์เกษตร. หน้า 142-147. : กรุงเพทฯ : ภาควิชาวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พรชัย นพนาคีพงษ์. 2527. การผลิตโปรตีนจากยีสต์โดยใช้น้ำทิ้งจากการผลิตเยื่อกระดาษเป็นวัตถุดิบ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ไพศาล เหล่าสุวรรณ. 2531 สถิติสำหรับการวิจัยทางเกษตร. คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

มาริสา จาตุพรพิพัฒน์. 2537. สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและการสังเคราะห์รงควัตถุของ *Rhodocyclus gelatinous* R7 ที่เลี้ยงในน้ำนึ่งปลาทูน่า. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

เยาวมาลย์ ค้าเจริญ. 2523. คู่มือปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารสัตว์. มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

รำไพ เกณฑ์สาคู.2535. การหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตยีสต์ขนมปังจากกากน้ำตาล. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

รพีพร แสงศรี. 2539. การผลิตแบคทีเรียสังเคราะห์แสง *Rhodocyclus geatinosus* R7 จากน้ำนึ่งปลาทูน่าด้วยกระบวนการแบบขั้นตอนเดียวและสองขั้นตอน. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

วิจิตรา แดงปรก และ วรรณวิบูลย์ กาญจนกุญชร. 2539. การใช้ประโยชน์จากของเหลือโรงงานปลาทูน่าบรรจุกระป๋อง : ไส้กรอกปลา. เอกสารการประชุมวิชาการ FoTAT/PROPAk Food Conference 1996 กรุงเทพมหานคร สมาคมวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีทางอาหารแห่งประเทศไทย หน้า 145-154.

สุทธวัฒน์ เบญจกุล. 2534. แนวทางการใช้ประโยชน์จากเปลือกกุ้ง : ไคตินและไคโตแซน วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สุวิทย์ สุวรรณโณ. 2535. การเลี้ยงแบคทีเรียสังเคราะห์แสงในน้ำเสียจากโรงงานแปรรูปอาหารทะเล. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สุวิทย์ สุวรรณโณ. 2539. การผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากน้ำนึ่งปลาทูน่าโดย *Candida tropicalis* TSITR 5136. ว. สงขลานครินทร์. 18(1) : 43-48.

อนุเทพ ภาสุระ และ ปราโมทย์ ศิริโรจน์. 2534. การคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์ *Candida tropicalis* เพื่อการผลิตเป็นอาหารโปรตีนเซลล์เดียวจากแป้งมันสำปะหลัง. ว. วิทยาศาสตร์ ม.ก. 9(1--2-3) : 48-53.

อโณทัย คมเศวต. 2519. การศึกษาการเจริญของยีสต์อาหารสัตว์โดยใช้น้ำมะพร้าวเป็นวัตถุดิบ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

A.O.A.C. 1990. Official Methods of Analysis of the Association of Official Chemists.15th ed. the Association of Official Analytical Chemists, Inc., Verginia.

APHA, AWWA and WPCF. 1985. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 16th ed. American Public Health Association. Washington, D. C.

Becker, E. W. 1981. Algae mass cultivation production and utilzation. Process Biochem. 16(5) : 10-14.

Boyd C. E. and C.S. Tucker. 1992. Water quality and pond soil analysis for aquaculture. Alabama Aqricultural Experiment Station, Auburn University, Auburn, Alabama. pp. 183.

Calleja, G. B., Levy-RicH, S., Lusena C. V., Nasim, A. and Maranelli, F. 1984. Direct and quantitative conversion of starch to ethanol by the yeast *Schwanniomyces alluvius*. Biotechnol. Lett.. 4 : 543-547.

Caroltti, A., Jacob, F., Perries, J. and Poncet, S. 1991. Yeast production from crude sweet whey by a mixed culture of *Candida kufyr* LY496 and Candida valida LY497. Biotechnol Lett.. 13(6) : 437-440.

Cooney, G. L. and Lerine, D.W. 1972. Microbial utilization of methanol Adv. Appl. Microbial. 15 : 337-364.

Feliu, J. A., Gonzalec, G. and MAS, C.De. 1990. SCP Production by *Hansenula polymorpha* from xylose. Process Biochem Inter. 8 :136-140.

Forage, A. J. 1978. Recovery of yeast from confectionary effluent. Process Biotechnol 15 :150-160.

Ghrane, K. M. 1992. Single cell protein production from beet pulp by mixed culture. J. Qatar University Science. 12(0) : 85-88.

Hill, F. I. and Thommel, J. 1982. Continuous measurement of the ammonium concentration during the propagation of baker's yeast. Process Biochem. 17 : 16-18.

Kerven, G. 1980. Applications of atomic absorption apectroscopy to the analysis of biological materials. Dpartment of Agriculture. University of Queensland 12 pp.

Lee, C., Yamakawa, T. and Kodama. T. 1993. Rapid growth of a thermotolerant yeast on palm oil. World J. Microbiol. Biotechnol. 9 : 187-190.

Lemmel, S. A., Heimsch, R.C. and Edward, L.I. 1979. Optimizing the continuous production of *Candida utiilis* and *Saccharomycopsis fibuliger* on potato processing wastewater. Appl. & Environ. Microbiol. 37(2) : 227-232.

Manial, V. B., Narayanan, C.S. and Balagopalan, C. 1991. Cassava starch effluent treatment with concomitant SCP production. World J. Micro Biotechnol. 7(2) :185-190.

Martin, A. M., Goddard, S. and Bemister, P. 1993. Production of *Candida utilis* biomass as aquaculture feed. J. Sci Food Agric. 61 : 363-370.

Nelson, N. 1944. A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. J. Biol. Cnem. 153 : 375-380.

Noonai, A. 1981. Single cell protein production from spent sulfite liquor. M.S. Thesis, Mahidol University.

Prasertsan, P., Wuttijumnon, P., Sophanodorn, P. and Choorit, W.1988. Seafood processing industries within Songkhla-Hatyai region : The survey of basic data emphasison wastes Songkhlanakarin. J. Sci Technol. 10 : 447-451.

Reiser, C. O. 1954. Torula yeast from potato starch waste. Agir. Food Chem 2 : 70-74.

Rose, A. S. and Harrison, J.S. 1971. The Yeast. Vol.2. New York : Academic Press.

Rossi, J. and Clementi, F. 1985. Protein production by *Schwanniomyces castellii* on starchy substrates in liquid and solid cultivation. J. Food Technol. 20 : 319-330.

Rydin, S., Molin .G. and Nilsson. I. 1990. Conversion of fat into yeast biomass in protein- containing wastewater. App Microbiol Biotechnol. 33 : 473-476.

Shannon, L. J. and Stevenson, K.E. 1975. Growth of fungi and B.O.D. reduction in selected brewery wastes. J. Food Sci. 40 : 826-829.

Soderquist, M. R., Williamson, K.J., Bianton, I.G. Phillips, D.C. Low, K.D. and Rowford, D.L., 1970. Current practice in seafoods processing waste pollution control research series 12060 ECFOU/70. Enviromental Protection Agency, Corvallis, OR.

Syder, H. E. 1970. Microbial source of protein. Adv in Food Res. 18 : 85-140.

Welsh, F. W. and Zall, R.R. 1984. Single cell protein from waste fishery refrigeration brines. Process Biochem. 19 : 122-123.

Wilson, J. J. and Ingledew, W.N. 1982. Isolation and characterization of *Schwanniomyces alluvius* amylotic enzymes. App. Env. Microbio. 44 : 301-307.

Yang, F. and Tung, H. 1996. Reuse of thin stillage from rice spirit for the culture of the yeast *Saccharomyces cervisiae*. Process Biochemistry. 31(6) : 617-620.

Yiao, H. 1988. Single cell protein from wastewater of monosodium glutamate manufacture. Process. Biochem. 23 : 176- 177.