การเลี้ยงยีสต์ในน้ำนึ่งปลาทูน่าหลังการแยกโปรตีนและไขมัน

Cultivation of Yeast in Tuna Condensate after Protein and Fat Separation

ชุตินุช สุจริต

Chutinut Sujarit

วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

Master of Science Thesis in Biotechnology

Prince of Songkla University

2540

เลขหมู่ TP248.65.P46 ช๖๒ ๒๕๔๐ ฉ.2

139896

ชื่อวิทยานิพนธ์ การเลี้ยงยีสต์ในน้ำนึ่งปลาทูน่าหลังการแยกโปรตีนและไขมัน

ผู้เขียน นางสาวชุตินุช สุจริต

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ

คณะกรรมการที่ปรึกษา

.....ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรัญ หันพงศ์กิตติกูล)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วุฒิพร พรหมขุนทอง)

.....(ลาศึกษาต่อ).....กรรมการ
(อาจารย์ ปิยะรัตน์ ธนโกเศศ)

คณะกรรมการสอบ

.....ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรัญ หันพงศ์กิตติกูล)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วุฒิพร พรหมขุนทอง)

.....(ลาศึกษาต่อ).....กรรมการ
(อาจารย์ ปิยะรัตน์ ธนโกเศศ)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรรณา ชูฤทธิ์)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เยาวลักษณ์ ดิสระ)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.ก้าน จันทร์พรหมมา)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อวิทยานิพนธ์ การเลี้ยงยีสต์ในน้ำนึ่งปลาทูน่าหลังการแยกโปรตีนและไขมัน
ผู้เขียน นางสาวชุตินุช สุจริต
สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ
ปีการศึกษา 2540

บทคัดย่อ

น้ำนึ่งปลาทูน่าเป็นน้ำทิ้งที่เกิดจากการนึ่งปลาโดยใช้ไอน้ำ มีสารอินทรีย์ต่าง ๆ ในปริมาณสูง น้ำนึ่งปลาทูน่าพันธุ์โอแถบ (*Kastsuwonus pelamis*) ใช้เป็นวัตถุดิบในการทดลองและได้แยกไขมันโดยการตักไขมันที่ผิวหน้าทิ้งและตกตะกอนโปรตีนโดยการปรับพีเอช 4.5 ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ประกอบด้วย โปรตีน ร้อยละ4.90 น้ำมันและกรีส 235 มิลลิกรัมต่อลิตร ของแข็งทั้งหมด 81,503 มิลลิกรัมต่อลิตร ของแข็งแขวนลอย 2,983 มิลลิกรัมต่อลิตร ซีโอดี 52,416 มิลลิกรัมต่อลิตร เถ้าร้อยละ 1.60 น้ำตาลรีดิวซ์ 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

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 ในน้ำนึ่งปลาทูน่าหลังการแยกโปรตีนและไขมันในฟลาสก์บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่า *C. tropicalis* TISTR 5146 เจริญได้ดีที่สุด มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด 3.27 กรัมต่อลิตร และปริมาณโปรตีนในเซลล์ร้อยละ 58.15 หลังการเลี้ยงเชื้อสามารถลดค่าซีโอดี น้ำมันและกรีสได้ร้อยละ 18.23 และ 46.96 ตามลำดับ

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 องศาเซลเซียส และอาหารมีพีเอชเริ่มต้น 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

เมื่อนำเซลล์ยีสต์แห้งของ *C. tropicalis* TISTR 5146 เลี้ยงปลากดเหลืองโดยใช้ทดแทนปลาป่นในสูตรอาหาร ร้อยละ 25 และ50 พบว่า ปลากดเหลืองมีน้ำหนักเฉลี่ย อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และอัตราการรอดตาย ไม่แตกต่างกับเมื่อเลี้ยงด้วยอาหารสูตรชุดควบคุมที่ใช้โปรตีนจากปลาป่น เมื่อทดแทนปลาป่นด้วยยีสต์ร้อยละ 25 พบว่าปลากดเหลืองมีค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และค่าการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ ดีกว่าชุดควบคุมและสูตรอาหารที่ทดแทนปลาป่นด้วยยีสต์ร้อยละ 50

Thesis Title	Cultivation of Yeast in Tuna Condensate after Protein and Fat Separation
Author	Miss Chutinut Sujarit
Major Program	Biotechnology
Academic Year	1997

Abstract

Tuna condensate is wastewater generated by cooking tuna with steam which contains a high organic load. The condensate used in the experiments was from skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*). Pretreament of the condensate was done by skimming out the fat and precipitation of some protein by adjusting the pH to 4.5 and autoclaving at 121° C for 15 min. After pretreatment the condensate 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 P^{3-}, 64.94 mg/L Ca^{2+}, 182.1 mg/L Mg^{2+}, 0.36 mg/l $Fe^{2+ \text{ or } 3+}$ 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%. After 48 hours COD and oil and grease were reduced by 18.23% and 46.96%, respectively.

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

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยความช่วยเหลือจากคณาจารย์หลายท่าน โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อรัญ หันพงศ์กิตติกูล ประธานกรรมการที่ปรึกษาที่กรุณาให้คำแนะนำ คำปรึกษาตลอดในการทำวิจัย การค้นคว้าและเขียนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วุฒิพร พรหมขุนทอง และอาจารย์ปิยะรัตน์ ธนโกเศศ กรรมการที่ปรึกษาร่วมที่ให้คำแนะนำต่าง ๆ และช่วยตรวจทานแก้ไขข้อบกพร่องจนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วรรณา ชูฤทธิ์ กรรมการผู้แทนคณะอุตสาหกรรมเกษตร และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เยาวลักษณ์ ดิสระ กรรมการผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัย ที่กรุณาให้คำแนะนำและแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณสถาบันเทคโนโลยีราชมงคล วิทยาเขตตรัง ที่ให้ทุนอุดหนุนการศึกษา และขอบคุณโรงงานโชติวัฒน์อุตสาหกรรมการผลิต จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์ด้านวัตถุดิบ

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อพิชัย - คุณแม่เสริมศรี สุจริต คุณมธุรส ทองกัน คุณดวงพร ดวงสอดศรี คุณกรทนงค์ สุจริต และพี่ทุกคนในครอบครัว ที่ให้ความช่วยเหลือค่าใช้จ่ายในการทำวิจัยและเป็นกำลังใจที่สำคัญยิ่งแก่ผู้วิจัยตลอดมา

ขอขอบคุณ คุณวรากร วิศพันธ์ ที่คอยช่วยเหลือในด้านต่าง ๆ มาด้วยดี และเป็นกำลังใจให้ตลอดมา ขอบคุณ คุณสุภฎา คีรีรัฐนิคม และคุณ สาวิตรี ศิลาเกษ ที่ให้คำแนะนำต่าง ๆ และให้ความช่วยเหลือในการเลี้ยงปลากดเหลืองจนเสร็จการทดลอง

ขอขอบคุณ บัณฑิตวิทยาลัยที่ให้ทุนอุดหนุนการวิจัยครั้งนี้ รวมไปถึงเจ้าหน้าที่คณะอุตสาหกรรมเกษตรและเจ้าหน้าที่โรงเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะทรัพยากรธรรมชาติ ทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือและให้ความสะดวกในทุก ๆ ด้าน

ท้ายที่สุด ขอบคุณ พี่ ๆ เพื่อน ๆ และน้อง ๆ นักศึกษาปริญญาโท สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ และสาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร ที่เป็นกำลังใจ คุณประโยชน์ที่เกิดจากงานวิจัยนี้ขอมอบแก่บิดา มารดา คณาจารย์ และผู้มีพระคุณทุกท่าน

ชุตินุช สุจริต

สารบาญ

หน้า

บทคัดย่อ..... (3)

Abstract..... (5)

กิตติกรรมประกาศ..... (7)

สารบาญ..... (8)

รายการตาราง..... (11)

รายการรูป..... (17)

บทที่

1. บทนำ

บทนำต้นเรื่อง..... 1

ตรวจเอกสาร..... 2

1. แหล่งที่มาของน้ำนึ่งปลาทูน่าบรรจุกระป๋อง..... 2

2. การแยกโปรตีนจากน้ำทิ้ง..... 11

3. การแยกไขมัน..... 13

4. โปรตีนเซลล์เดียว..... 14

5. คุณค่าทางอาหารของยีสต์..... 30

6. ปลากดเหลือง..... 33

วัตถุประสงค์..... 36

2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ..... 37

วัสดุ..... 37

อุปกรณ์..... 38

วิธีการ..... 41

1. การแยกไขมันออกจากน้ำนึ่งปลาทูน่า..... 41

2. การตกตะกอนโปรตีนออกจากน้ำนึ่งปลาทูน่า..... 41

สารบาญ(ต่อ)

หน้า

3. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและทางกายภาพของน้ำนึ่งปลาทูน่าก่อนและหลังการแยกไขมันและโปรตีน 41

4. การเตรียมเชื้อยีสต์เริ่มต้น 42

5. การคัดเลือกยีสต์ที่เจริญในน้ำนึ่งปลาทูน่าหลังการแยกโปรตีนและไขมัน 42

6. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์ในฟลาสก์บนเครื่องเขย่า 42

7. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์ในถังหมัก 43

8. การเตรียมเซลล์ยีสต์แห้งเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ 44

9 ศึกษาการใช้ยีสต์ทดแทนปลาป่นในอาหารเลี้ยงปลากดเหลือง 44

3. ผลและวิจารณ์ 50

1. การแยกไขมันออกจากน้ำนึ่งปลาทูน่า 50

2. การตกตะกอนโปรตีนออกจากน้ำนึ่งปลาทูน่า 50

3. ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและทางกายภาพของน้ำนึ่งปลาทูน่าก่อนและหลังการแยกไขมันและโปรตีน 52

4. การเตรียมเชื้อยีสต์เริ่มต้น 55

5. การคัดเลือกยีสต์ที่เจริญในน้ำนึ่งปลาทูน่าหลังการแยกโปรตีนและไขมัน 56

6. สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์ในฟลาสก์บนเครื่องเขย่า 60

7. สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์ในถังหมัก 67

8. ผลการศึกษาองค์ประกอบของยีสต์แห้ง 81

9. การใช้ยีสต์ทดแทนปลาป่นในอาหารเลี้ยงปลากดเหลือง 83

4. สรุป 93

ข้อเสนอแนะ 95

เอกสารอ้างอิง 96

ภาคผนวก 109

สารบาญ(ต่อ)

หน้า

ก สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อและอาหารปลากดเหลือง..... 109

ข วิธีการวิเคราะห์..... 113

ค ตารางผลการทดลองและการวิเคราะห์ทางสถิติของยีสต์..... 132

ง ตารางผลการทดลองและการวิเคราะห์ทางสถิติของปลากดเหลือง..... 149

ประวัติผู้เขียน..... 155

รายการตาราง

ตารางที่ หน้า

1. ปริมาณการใช้วัตถุดิบ ผลผลิตและวัสดุเศษเหลือที่เกิดขึ้นจาก
อุตสาหกรรมปลาทูน่าบรรจุกระป๋องของโรงงานในจังหวัดสงขลา.....7
2. องค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำนึ่งปลาทูน่าจาก
โรงงานทรอปิคอลแคนนิ่งและโรงงานโชติวัฒน์อุตสาหกรรมการผลิต จำกัด.....9
3. องค์ประกอบของกากน้ำตาล.....18
4. ความสามารถของยีสต์ในการใช้แหล่งคาร์บอนต่าง ๆ.....19
5. องค์ประกอบของกรดอะมิโนในเซลล์ของยีสต์.....31
6. องค์ประกอบของวิตามินในเซลล์ยีสต์ต่าง ๆ.....32
7. องค์ประกอบของน้ำนึ่งปลาทูน่าก่อนและหลังการแยกโปรตีนและไขมัน.....54
8. ผลของการเลี้ยงยีสต์ 7 สายพันธุ์ในน้ำนึ่งปลาทูน่าหลังการแยกโปรตีนและ
ไขมัน (เลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง) ต่อ
การลดค่าซีโอดีและไขมันและกรีสในน้ำนึ่งปลาทูน่าน้ำหนักเซลล์แห้งและ
ปริมาณโปรตีนในเซลล์ยีสต์..... 59
9. องค์ประกอบทางเคมีของน้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกโปรตีนและไขมันที่เจือจางด้วย
น้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1 เติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 พีเอช 5.5 ก่อนและหลัง
การเลี้ยงยีสต์ในฟลาสก์ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง.....70
10.องค์ประกอบทางเคมีของน้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกโปรตีนและไขมันที่เจือจางด้วย
น้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1 เติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 พีเอช 5.5 ก่อนและหลัง
การเลี้ยงยีสต์ในถังหมัก เป็นเวลา 24 ชั่วโมง.....80
11.องค์ประกอบของกรดอะมิโนในเซลล์ยีสต์ *Candida tropiecalis* TISTR 5146 เปรียบ
เทียบกับ FAO reference protein.....82
12.น้ำหนักเฉลี่ยทุก ๆ 2 สัปดาห์ของปลากดเหลืองที่ได้รับอาหารอาหารทดลอง 3 สูตร.....84

รายการตาราง(ต่อ)

หน้า

13. น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน การใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิและอัตราการรอดตาย ของปลากดเหลืองที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ทดแทนปลาป่นด้วยยีสต์ที่ระดับต่าง ๆ 88

14. องค์ประกอบทางเคมีของปลากดเหลืองก่อนและหลังการทดลองบนพื้นฐานของน้ำหนักแห้ง..... 91

ตารางภาคผนวกที่

ก1 ส่วนประกอบของอาหารทดลองแต่ละสูตร..... 110

ก2 ส่วนผสมของวิตามินในอาหารทดลองแต่ละสูตร..... 111

ก3 ส่วนผสมของแร่ธาตุในอาหารแต่ละสูตร..... 111

ก4 องค์ประกอบของอาหารทดลอง..... 112

ค1 ปริมาณโปรตีนในส่วนใสหลังจากแยกไขมัน ตกตะกอนโปรตีนโดยใช้พีเอชและอุณหภูมิที่ระดับต่าง ๆ 132

ค2 ผลของการเจือจางน้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกโปรตีนและไขมัน โดยเจือจางด้วยน้ำกลั่นที่อัตราส่วนต่าง ๆ ได้แก่ 1:0, 1:1, 1:4 และ 1:9 ตามลำดับ เลี้ยง *C. tropicalis* TISTR 5146 ที่พีเอชเริ่มต้น 4.5 บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง..... 133

ค3 ผลของพีเอชของน้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกโปรตีนและไขมัน โดยเจือจางด้วยน้ำกลั่นที่อัตราส่วน 1:1 ที่พีเอชต่าง ๆ ได้แก่ 4.5, 5.5, 6.5 และ7.5 ตามลำดับ เลี้ยง *C. tropicalis* TISTR 5146 บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง..... 134

รายการตาราง(ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่ หน้า

ค4 ผลของกลูโคสที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการเลี้ยง *C. tropicalis* TISTR 5146 ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นที่อัตราส่วน 1:1 ที่พีเอชเริ่มต้น 5.5 เติมกลูโคสในระดับต่าง ๆ ได้แก่ ร้อยละ 1, 5 และ 10 ตามลำดับ บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง..... 135

ค5 ผลของซูโคสที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการเลี้ยง *C. tropicalis* TISTR 5146 ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นที่อัตราส่วน 1:1 ที่พีเอชเริ่มต้น 5.5 เติมซูโคสในระดับต่าง ๆ ได้แก่ ร้อยละ 1, 5 และ 10 ตามลำดับ บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง..... 136

ค6 ผลของกากน้ำตาลที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการเลี้ยง *C. tropicalis* TISTR 5146 ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นที่อัตราส่วน 1:1 ที่พีเอชเริ่มต้น 5.5 เติมกากน้ำตาลในระดับต่าง ๆ ได้แก่ ร้อยละ 1, 5 และ 10 ตามลำดับ บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง..... 137

ค7 การเปรียบเทียบแหล่งคาร์บอนในการเลี้ยง *C. tropicalis* TISTR 5146 พีเอชเริ่มต้นที่ 5.5 เติมแหล่งคาร์บอนต่าง ๆ ที่ร้อยละ 1 บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง..... 138

ค8 การเปรียบเทียบแหล่งคาร์บอนในการเลี้ยง *C. tropicalis* TISTR 5146 พีเอชเริ่มต้นที่ 5.5 เติมแหล่งคาร์บอนต่าง ๆ ร้อยละ 5 บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง..... 139

รายการตาราง(ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่ หน้า

ค9 การเปรียบเทียบแหล่งคาร์บอนในการเลี้ยง *C. tropicalis* TISTR 5146 พีเอชเริ่มต้นที่ 5.5 เติมแหล่งคาร์บอนต่าง ๆ ร้อยละ 10 บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง..... 140

ค10 ผลของแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟทเป็นแหล่งไนโตรเจนที่ระดับต่าง ๆ ในการเลี้ยง *C. tropicalis* TISTR 5146 ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นที่อัตราส่วน 1:1 พีเอชเริ่มต้นที่ 5.5 และเติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง..... 141

ค11 ผลของแอมโมเนียมซัลเฟทเป็นแหล่งไนโตรเจนที่ระดับต่าง ๆ ในการเลี้ยง *C. tropicalis* TISTR 5146 ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นที่อัตราส่วน 1:1 พีเอชเริ่มต้นที่ 5.5 และเติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง..... 142

ค12 ผลของแอมโมเนียมไนเตรทเป็นแหล่งไนโตรเจนที่ระดับต่าง ๆ ในการเลี้ยง *C. tropicalis* TISTR 5146 ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นที่อัตราส่วน 1:1 พีเอชเริ่มต้นที่ 5.5 และเติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง..... 143

ค13 ผลของยีสต์สกัดเป็นแหล่งไนโตรเจนที่ระดับต่าง ๆ ในารการเลี้ยง *C. tropicalis* TISTR 5146 พีเอชเริ่มต้นที่ 5.5 และเติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง..... 144

รายการตาราง(ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่ หน้า

ค14 ผลการให้อากาศที่ระดับต่าง ๆ ได้แก่ 0.66,1.00 และ 2.00 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที ในถังหมักเลี้ยง *C. tropicalis* TISTR 5146 ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นที่อัตราส่วน 1:1 เติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 พีเอชเริ่มต้น 5.5 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราเร็วการกวน 400 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง..... 145

ค15 ผลของอัตราการกวนที่ระดับต่าง ๆ ได้แก่ 300, 400 และ 500 รอบต่อนาที ในถังหมักเลี้ยง *C. tropicalis* TISTR 5146 ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นที่อัตราส่วน 1:1 เติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 ปริมาณอากาศ 2.00 ปริมาตรอากาศต่อปริมาณอาหารต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง..... 146

ค16 ผลของการศึกษาพีเอชที่ควบคุมและไม่ควบคุมในถังหมักโดยเลี้ยง *C. tropicalis* TISTR 5146 ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นที่อัตราส่วน 1:1 เติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 พีเอชเริ่มต้น 5.5 อัตราเร็วการกวน 400 รอบต่อนาที ปริมาณอากาศ 2.00 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง..... 147

ค17 ผลของอุณหภูมิที่ 30 และ35 องศาเซลเซียส โดยเลี้ยง *C. tropicalis* TIST 5146 ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นที่อัตราส่วน 1:1 เติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 พีเอชเริ่มต้น 5.5 ปริมาณอากาศ 2.00 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที อัตราเร็วการกวน 400 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง..... 148

ง1 อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อทุก ๆ 2 สัปดาห์ตลอดการทดลอง..... 149

ง2 น้ำหนักอาหารที่ใช้เลี้ยงปลากดเหลืองในแต่ละชุดการทดลองในการทดลองตลอด 8 สัปดาห์..... 150

ง3 ปริมาณอาหารที่ใช้เลี้ยงปลากดเหลืองในแต่ละชุดการทดลองในทุก 2 สัปดาห์..... 151

รายการตาราง(ต่อ)

ตารางภาคผนวกที่		หน้า
ง4	อัตรารอดตายของปลากดเหลืองตลอดช่วงการเลี้ยง 8 สัปดาห์	152
ง5	condition factor (W/L^3)	153
ง6	คุณภาพน้ำระหว่างการทดลองในการเลี้ยงปลากดเหลือง	154

รายการรูป

รูปที่ หน้า

1. กระบวนการผลิตและวัสดุเศษเหลือจากโรงงานผลิตปลาทูน่าบรรจุกระป๋อง..... 3
2. ขั้นตอนการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว..... 16
3. สูตรอาหารต่าง ๆ ที่ใช้เลี้ยงปลากดเหลือง..... 46
4. ไขมันบริเวณผิวหน้าของน้ำนึ่งปลาทูน่าเมื่อเก็บที่ 4 องศาเซลเซียส..... 51
5. น้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกไขมันออกแล้ว..... 51
6. น้ำนึ่งปลาทูน่าตกตะกอนโปรตีนที่พีเอช 4.5 และอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นำไปหมุนเหวี่ยง ได้ส่วนใส(ใช้ในการทดลอง)และตะกอน..... 53
7. การเจริญของยีสต์ 7 สายพันธุ์ในอาหาร YM broth (เลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง)..... 57
8. การเจริญของยีสต์ 7 สายพันธุ์ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกโปรตีนและไขมัน พีเอชเริ่มต้น 4.5 (เลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง)..... 58
9. การเจริญของ *Candida tropicalis* TISTR 5146 ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่มีการเจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วนต่าง ๆ กันพีเอชเริ่มต้น 4.5 (บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง)..... 61
10. ผลของพีเอชเริ่มต้นต่อการเจริญของ *Candida tropicalis* TISTR 5146 ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่มีการเจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1 (เลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง)..... 62
11. ผลของแหล่งคาร์บอนต่อการเจริญของ *Candida tropicalis* TISTR 5146 ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1 พีเอชเริ่มต้น 5.5 เลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง)..... 64

รายการรูป

รูปที่ หน้า

12. ผลของแหล่งไนโตรเจนอนินทรีย์ต่อการเจริญของ *Candida tropicalis* TISTR 5146 ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นอัตราส่วน 1:1 เติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 พีเอชเริ่มต้น 5.5 (เลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง).....66

13. ผลของยีสต์สกัดต่อการเจริญของ *Candida tropicalis* TISTR 5146 ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่น1:1 เติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 พีเอชเริ่มต้น 5.5 (เลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง) 68

14. การเปลี่ยนแปลงพีเอช น้ำหนักเซลล์แห้ง และการใช้สารอาหารของ *Candida tropicalis* TISTR 5146 ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่น 1:1 เติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 พีเอชเริ่มต้นที่ 5.5 (เลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง)..... 69

15. ผลของการให้อากาศต่อการเจริญ *Candida tropicalis* TISTR 5146 (ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1 เติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 พีเอชเริ่มต้น 5.5 ในถังหมักที่มีอัตราเร็วการกวน 400 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาสเซลเซียส)..... 72

16. ผลของอัตราเร็วการกวนต่อการเจริญของ *Candida tropicalis* TISTR 5146 (ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นอัตราส่วน 1:1 เติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 พีเอชเริ่มต้น 5.5 ในถังหมักที่ให้อากาศ 2.00 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาสเซลเซียส)..... 74

17. ผลของพีเอชในระหว่างการหมักต่อการเจริญของ *Candida tropicalis* TISTR 5146 (ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1 เติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 ในถังหมักที่มีอัตราเร็วการกวน 400 รอบต่อนาที ให้อากาศ 2.00 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส)..... 76

18. ผลของอุณหภูมิในระหว่างการหมักต่อการเจริญของ *Candida tropicalis* TISTR 5146 (ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1 เติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 พีเอชเริ่มต้น 5.5 ในถังหมักที่มีอัตราเร็วการกวน 400 รอบต่อนาที ให้อากาศ 2.00 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที.)..... 78

รายการรูป

รูปที่ หน้า

19. การเปลี่ยนแปลงพีเอช น้ำหนักเซลล์แห้ง และการใช้สารอาหารของ *Candida tropicalis* TISTR 5146 (ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่น 1:1 เติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 พีเอชเริ่มต้น 5.5 ในถังหมักที่มีอัตราเร็วการกวน 400 รอบต่อนาที ให้อากาศ 2.00 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส)..... 79
20. ปลากดเหลืองก่อนทำการทดลอง..... 85
21. ปลากดเหลืองหลังการทดลองใช้ระยะเวลาการเลี้ยง 8 สัปดาห์..... 85

บทที่ 1

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 โรงงานทั้งในภาคใต้และบริเวณรอบ ๆ กรุงเทพมหานคร (กรมโรงงานอุตสาหกรรม, 2537) การส่งออกปลาทูน่าบรรจุกระป๋องขยายตัวมากขึ้น ส่งผลให้ปริมาณวัสดุเศษเหลือจากกระบวนการผลิตเพิ่มขึ้นตามไปด้วย ทั้งนี้เนื่องจากในกระบวนการแปรรูปปลาทูน่ากระป๋องมีเพียงประมาณร้อยละ 40 ของน้ำหนักปลาที่กลายเป็นผลิตภัณฑ์ (Prasertsan, *et al.*,1988) ที่เหลือจะเป็นวัสดุเศษเหลือมีทั้งที่เป็นของแข็ง และของเหลว ซึ่งส่วนใหญ่มาจากขั้นตอนการนึ่งปลาในหม้อนึ่ง ทำให้มีมีน้ำนึ่งปลาออกมาในปริมาณมาก น้ำนึ่งปลาทูน่านี้มีปริมาณสารอินทรีย์ค่อนข้างสูงโดยเฉพาะโปรตีนและไขมัน จึงจำเป็นต้องมีการจัดการที่เหมาะสม มิฉะนั้นจะก่อปัญหาต่อสิ่งแวดล้อมได้ โดยเฉพาะต่อคุณภาพของแหล่งรับน้ำ หากได้มีการนำวัสดุเศษเหลือส่วนนี้มาใช้ประโยชน์ ก็จะลดภาระในการบำบัดน้ำทิ้งให้แก่โรงงานเป็นอย่างมาก นอกจากนี้ยังเป็นการเพิ่มศักยภาพการใช้ประโยชน์จากทรัพยากรและช่วยรักษาสภาวะแวดล้อม แนวทางการนำน้ำนึ่งปลาทูน่ามาใช้ประโยชน์ที่มีผู้ศึกษาไว้ เช่น การทำน้ำสกัดจากปลา(fish extract) (นิรนาม, 2534) การแยกโปรตีนจากน้ำทิ้งแล้วใช้เป็นอาหารสัตว์ (กรมโรงงานอุตสาหกรรม, 2537) การนำไปใช้ในการเลี้ยงแบคทีเรียสังเคราะห์แสง *Rhodocyclus gelatinosus* R7 (มาริสา จาตุพรพิพัฒน์, 2537) การผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากน้ำนึ่งปลาทูน่าโดย *Candida tropicalis* TISTR 5136 (สุวิทย์ สุวรรณโณ, 2539)

งานวิจัยนี้มุ่งที่จะใช้ประโยชน์จากน้ำนึ่งปลาทูน่าเป็นสารอาหารเลี้ยงเชื้อยีสต์เพื่อผลิตโปรตีนเซลล์เดียวและนำเซลล์ยีสต์ที่ผลิตได้ไปใช้ประโยชน์เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนปลาป่นผสมในอาหารปลากดเหลือง ซึ่งนับว่าเป็นแนวทางหนึ่งในการใช้ประโยชน์จากวัสดุเศษเหลือของโรงงานผลิตปลาทูน่าบรรจุกระป๋องผลิตเป็นผลิตภัณฑ์มูลค่าเพิ่ม อันจะใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานนำไปสู่การผลิตในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

ตรวจเอกสาร

1. แหล่งที่มาของน้ำนึ่งปลาทูน่าบรรจุกระป๋อง

1.1 พันธุ์ปลาทูน่า

ปลาทูน่าเป็นปลากระดูกแข็งและเป็นปลาผิวน้ำที่มีลักษณะรูปร่างปราดเปรียว ว่ายน้ำได้เร็ว ออกหากินเป็นฝูงและเคลื่อนที่ว่องไว มีกล้ามเนื้อแข็งแรง อาศัยอยู่ทั้งบริเวณชายฝั่งและเขตน้ำลึก กินอาหารประเภทแพลงก์ตอน บางพันธุ์กินเนื้อ เช่น ปลาปลาหมึก และกุ้งเป็นอาหาร ปลาทูน่าจัดอยู่ในครอบครัว Scombroidae วงศ์ Thunnidae (วิมล เหมะจันทร, 2528) ปลาทูน่า หรือ ปลาโอ ที่สำคัญมี 5 ชนิด คือ

1. ปลาโอดำ หรือ โอหม้อ (Longtail tuna, *Thunnus tonggol*)
2. ปลาโอลาย (Kawakawa หรือ Bonito, *Euthynus affinis*)
3. ปลาโอแกลบ หรือ โอกล้วย (Frigate tuna, *Auxis thazard*)
4. ปลาโอแถบ (Skipjack tuna, *Katsuwonus pelamis*)
5. ปลาโอครีบเหลือง (Yellowfin tuna, *Thunnus albacares*)

1.2 กระบวนการผลิตปลาทูน่าบรรจุกระป๋องในอุตสาหกรรม

กระบวนการผลิตปลาทูน่ากระป๋อง มีขั้นตอนการผลิตดังนี้ (รูปที่ 1)

1. การตรวจสอบคุณภาพวัตถุดิบ (Raw material) ก่อนการนำวัตถุดิบเข้าสู่กระบวนการผลิต ต้องมีการตรวจสอบคุณสมบัติทางกายภาพต่าง ๆ ของปลา คือ เหงือก ตา ผิวหนัง และความยืดหยุ่นของเนื้อปลา ต้องอยู่ในสภาพที่ดี ไม่มีลักษณะการเสื่อมเสีย

กระบวนการผลิต	วัสดุเศษเหลือ
ปลาทูน่าแช่เยือกแข็ง	
↓	
ละลายน้ำแข็ง	น้ำ , เครื่องใน ,เลือด
↓	
ล้างทำความสะอาด	น้ำ , น้ำมัน ,เมือกปลา
↓	
นึ่ง	น้ำนึ่งปลาทูน่า*
↓	
ทิ้งให้เย็น	น้ำ
↓	
แยกเนื้อขาว	หัว,กระดูก ,หนัง,เนื้อสีดำ ,เศษเนื้อสีขาว
↓	
บรรจุกระป๋อง	เศษเนื้อสีขาว
↓	
เติมน้ำมันหรือน้ำเกลือ	น้ำมันหรือน้ำเกลือ
↓	
เปิดฝากระป๋อง	
↓	
ล้างทำความสะอาดกระป๋อง	น้ำ , น้ำมัน
↓	
ฆ่าเชื้อ	น้ำ
↓	
ทำเย็น	น้ำเย็น
↓	
ผลิตภัณฑ์ปลาทูน่าบรรจุกระป๋อง	

* วัสดุเศษเหลือที่นำมาใช้เป็นวัตถุดิบเลี้ยงยีสต์

รูปที่ 1. กระบวนการผลิตและวัสดุเศษเหลือจากโรงงานผลิตปลาทูน่าบรรจุกระป๋อง

ที่มา : ดัดแปลงมาจาก Soderguist และคณะ(1970)

2. การละลายน้ำแข็ง (Thawing) ภายหลังการตรวจสอบคุณภาพ จะนำปลาซึ่งปกติมักจะถูกแช่แข็งมาละลายน้ำแข็งโดยใส่ปลาในบ่อพักปลาแล้วเติมน้ำลงไปใช้เวลา 2-6 ชั่วโมง เพื่อลดอุณหภูมิในตัวปลาลงเหลือประมาณ 5 องศาเซลเซียส ถ้าหากอุณหภูมิของปลาหลังการละลายน้ำแข็งสูงกว่า 5 องศาเซลเซียส จะทำให้เกิดการเสื่อมเสียของปลาเนื่องจากจุลินทรีย์ และเอนไซม์ วัสดุเศษเหลือจากขั้นตอนนี้ได้แก่ เลือด ไขมัน เมือกและน้ำ

3. การตัดตัวปลา (Butchering, Cutting) ปลาที่ผ่านการละลายน้ำแข็งจะถูกนำมาผ่าท้อง เพื่อควักไส้และล้าง เพื่อลดปริมาณจุลินทรีย์ลง ในขั้นตอนนี้จะทำให้เสียน้ำหนักตัวปลาไปประมาณร้อยละ 3-6 วัสดุเศษเหลือจากตอนนี้ ได้แก่ น้ำ เครื่องในปลา เลือด เมือก

4. การนึ่งปลา (Pre-cooking) ปลาที่ถูกควักไส้และทำความสะอาดแล้ว จะถูกนำมานึ่งในหม้อนึ่งไอน้ำ (retort) เพื่อทำให้หนังและกระดูกแยกออกจากเนื้อปลาและทำให้ขูดปลาได้ง่าย ทั้งยังเป็นการเพิ่มความเหนียวและตกตะกอนโปรตีน ปลาจะถูกนำเข้าไปในหม้อนึ่งไอน้ำ และผ่านไอน้ำเข้าไปเพื่อให้อุณหภูมิบริเวณกึ่งกลางตัวปลาเท่ากับ 95 องศาเซลเซียส ทั้งนี้ระยะเวลาให้ความร้อน จะขึ้นกับขนาดและชนิดของปลา วัสดุเศษเหลือจากขั้นตอนนี้ได้แก่ น้ำนึ่งปลาทูน่า (condensate) เป็นน้ำที่ออกจากโปรตีนกล้ามเนื้อปลา จึงมีปริมาณสารอินทรีย์สูง

5. การลดอุณหภูมิ (Cooling) ปลาที่ผ่านการนึ่งด้วยไอน้ำเรียบร้อยแล้ว จะถูกนำไปที่ห้องพักปลา และฉีดพ่นน้ำลงไปบนตัวปลา เพื่อลดอุณหภูมิตัวปลาให้ต่ำลง ป้องกันการเกิด overcooking ในขั้นตอนนี้น้ำจะระเหยเป็นไอมีผลทำให้น้ำหนักของปลาลดลง กล้ามเนื้อปลาเหนียวและน้ำมันในตัวปลามารวมอยู่ที่บริเวณผิวหนังปลา วัสดุเศษเหลือจากขั้นตอนนี้ได้แก่ น้ำ น้ำมัน

6. การขูดปลา (Cleaning) ปลาที่ผ่านการนึ่งและถูกลดอุณหภูมิลงแล้ว จะถูกนำมาขูดหนัง แยกตัวปลาและก้างออกเหลือเพียงเนื้อปลาที่สะอาด วัสดุเศษเหลือจากขั้นตอนนี้ได้แก่ หัวปลา หนังปลา กระดูกปลา และเนื้อดำ

7. การบรรจุ (Packing) เป็นขั้นตอนการบรรจุเนื้อปลาลงในกระป๋องขนาด

ต่าง ๆ อาจใช้เครื่องจักรหรือมือ จากนั้นอาจเติมน้ำมัน น้ำเกลือ หรือซอสมะเขือ ลงไป ขึ้นกับชนิดของผลิตภัณฑ์ วัสดุเศษเหลือจากขั้นตอนนี้ได้แก่ เนื้อปลาชิ้นเล็ก ๆ (flake)

8. การเติมสารที่ใช้บรรจุหรือปรุงรส (Filling) วัสดุเศษเหลือจากขั้นตอนนี้ ขึ้นอยู่กับ สารที่ใช้บรรจุ เช่น น้ำ น้ำมัน เกลือ เป็นต้น

9. การไล่อากาศและการปิดผนึก (Exhausting and Seaming) กระป๋องที่ผ่านการบรรจุเรียบร้อยแล้ว ถูกวางบนสายพาน เพื่อผ่านไปบนราง ซึ่งมีการพ่นไอน้ำบนช่องว่างเหนือกระป๋อง เพื่อไล่อากาศออกก่อนการปิดผนึก เมื่อไอน้ำเกิดการควบแน่นจะเกิดเป็นสุญญากาศขึ้นภายในกระป๋อง

10. การล้างกระป๋อง (Washing cans) กระป๋องที่ออกจากเครื่องปิดฝา จำเป็นต้องล้างคราบสกปรกออก เพราะเมื่อผ่านหม้อฆ่าเชื้อแล้วจะล้างไม่ออก นอกจากนี้มีตำหนิแล้วยังมีผลให้กระป๋องเสื่อมสภาพก่อนกำหนด วัสดุเศษเหลือจากขั้นตอนนี้ได้แก่ น้ำและน้ำมัน

11. การนึ่งฆ่าเชื้อ (Retoring) ภายหลังการปิดผนึก ปลากระป๋องจะผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ เพื่อทำลายจุลินทรีย์ที่อาจทำให้เกิดโรคและพวกที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสีย วัสดุเศษเหลือจากขั้นตอนนี้ได้แก่ น้ำ

12. การลดอุณหภูมิของปลากระป๋อง (Cooling) หลังจากนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ต้องลดอุณหภูมิของปลากระป๋องโดยเร็ว เพื่อป้องกันความร้อนที่สะสมทำให้เนื้อปลาเปื่อยยุ่ย เกิดการเปลี่ยนแปลงด้านสีหรือรสชาติและคุณค่าของอาหารลดต่ำลง ทั้งยังป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์พวกเจริญที่อุณหภูมิสูงที่ลงเหลือจากการทำลายด้วยความร้อน ในช่วงการลดอุณหภูมิจะเกิดสภาวะสุญญากาศขึ้นภายในกระป๋อง น้ำที่ใช้ในการลดอุณหภูมิต้องใช้น้ำสะอาดที่มีคลอรีน 5 ส่วนในล้านส่วน และทำการลดอุณหภูมิของกระป๋องลงเหลือ 35-40 องศาเซลเซียส เพื่อทำให้ความร้อนที่เหลืออยู่ทำให้กระป๋องแห้ง หรืออาจใช้พัดลมเป่าที่ด้านนอกกระป๋อง เพื่อป้องกันการเกิดสนิมได้ง่าย วัสดุเศษเหลือจากขั้นตอนนี้ได้แก่ น้ำ

13. การปิดสลากและบรรจุกล่อง (Label and packing) หลังจากปลากระป๋องผ่านการลดอุณหภูมิลงจนเท่ากับอุณหภูมิห้องและแห้งสนิทแล้วจะถูกนำมาปิดสลาก และ

บรรจุในกล่องกระดาษ เพื่อทำการเก็บรักษาและขนส่งต่อไป

ในอุตสาหกรรมปลาทูน่านอกจากบรรจุกระป๋องแล้วสามารถแปรรูปได้อีกหลายรูปแบบ พูลทรัพย์ วิรุฬกุล (2534) กล่าวว่า ผลิตภัณฑ์จากปลาทูน่าประกอบด้วย ปลาดิบ เนื้อปลาทูน่าแช่เยือกแข็ง ผลิตภัณฑ์สำเร็จรูป ผลิตภัณฑ์รมควัน คัทซึโอบูชิ และ ไส้กรอกปลา แต่ปลาทูน่าบรรจุกระป๋องเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีการผลิตและจำหน่ายมากที่สุด และมีรูปแบบดังนี้

1. สำหรับคนบริโภค ชนิดปลาที่นำไปบรรจุ ได้แก่ ปลาโอแถบ ปลาโอลาย ปลาโอดำ ปลาทูน่าครีบเหลือง โดยส่วนผสมที่เป็นของเหลว ได้แก่ น้ำเกลือ น้ำมัน น้ำต้มผัก และซอสมะเขือเทศ บรรจุในกระป๋องขนาดต่าง ๆ

2. สำหรับอาหารสัตว์ เช่น ผลิตภัณฑ์ทูน่าในน้ำเกลือหรือเจลลี่หรือน้ำผักทูน่าผสมไก่บดในน้ำเกลือหรือในเจลลี่ เป็นต้น

1.3 วัสดุเศษเหลือของโรงงานปลาทูน่าบรรจุกระป๋อง

ในขั้นตอนการผลิตปลาทูน่าบรรจุกระป๋องจะมีส่วนเหลือทิ้งชนิดต่าง ๆ เช่น น้ำนึ่งปลาทูน่า เศษกระดูก หัว เครื่องใน เป็นต้น ซึ่งสามารถนำมาดัดแปลงเพื่อเพิ่มมูลค่าให้แก่ผลิตภัณฑ์ใหม่ ก่อให้เกิดการใช้ทรัพยากรสัตว์น้ำอย่างคุ้มค่า

Prasertsan และ คณะ (1988) ทำการสำรวจ ปริมาณวัสดุเศษเหลือจากโรงงานอุตสาหกรรมอาหารทะเลในจังหวัดสงขลา พบว่า มีโรงงานผลิตปลาทูน่าบรรจุกระป๋อง 4 โรงงาน มีปริมาณการใช้วัตถุดิบสูงถึง 135 ตันต่อวัน และให้ผลผลิตร้อยละ 35 ของประมาณวัตถุดิบเริ่มต้น ส่วนที่เหลือเป็นวัสดุเศษเหลือ ซึ่งจะมี 2 ส่วนคือ วัสดุเศษเหลือที่เป็นของแข็ง มีปริมาณร้อยละ 25-30 ของวัตถุดิบเริ่มต้น ได้แก่ เศษกระดูก หัว เครื่องใน และหนังปลา ซึ่งสามารถส่งขายให้แก่โรงงานปลาป่น เพื่อทำเป็นอาหารสัตว์โดยตรง อีกส่วนหนึ่งคือ วัสดุเศษเหลือที่เป็นของเหลวมีปริมาณร้อยละ 30-35 ของวัตถุดิบ (ตารางที่ 1) ยังไม่ได้มีการนำมาใช้ประโยชน์ และปล่อยลงสู่ระบบกำจัดน้ำเสีย ซึ่งพบว่าประกอบด้วยสารอินทรีย์ รวมทั้งสารอาหารที่สำคัญหลายชนิดที่นำมาใช้ประโยชน์ได้ เช่น โปรตีน ไขมัน

ตารางที่ 1 ปริมาณการใช้วัตถุดิบ ผลผลิตและวัสดุเศษเหลือที่เกิด ขึ้นจากอุตสาหกรรมปลาทูน่าบรรจุกระป๋องของโรงงานในจังหวัดสงขลา

ชื่อโรงงาน	วัตถุดิบ (ตัน / วัน)	ผลผลิต (ร้อยละ)	วัสดุเศษเหลือ (ร้อยละ)	
			ของแข็ง	ของเหลว
โชติวัฒน์อุตสาหกรรม	35-40	35	25-30	30-35
ไทยมารีน	12-15	30-37	20-25	25
รอแยลแคนนิ่ง	30	30-35	30	20-30
ทรอปิคอลแคนนิ่ง	50	35	25-30	-

ที่มา : ดัดแปลงจาก Prasertsan และคณะ (1988)

เอนไซม์และวิตามินต่าง ๆ ซึ่งเป็นส่วนที่เกิดขึ้นในขั้นตอนการทำให้สุกในระยะเริ่มต้นโดยการนึ่ง

1.3.1 น้ำนึ่งปลาทูน่า

ในขั้นตอนการทำปลาทูน่าบรรจุกระป๋องให้สุกโดยการนึ่ง จะให้ความร้อนโดยใช้ไอน้ำ ทำให้น้ำ ไขมัน และสารประกอบพวกโปรตีนที่ละลายน้ำเช่น เจลาติน ถูกสกัดออกจากตัวปลาและสะสมอยู่ในน้ำนึ่งปลา ส่วนสารประกอบที่ระเหยได้จะออกไปทางท่อไอน้ำ การนึ่งปลาทูน่าในหม้อซึ่งจะมีน้ำนึ่งปลาออกมาในปริมาณมากและมีปริมาณสารอินทรีย์สูง รวมทั้งสารอาหารที่สำคัญ คือ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส น้ำมันและกรีส เป็นต้น

ประพน ดลกิจ และสัญชิต แสงกล้า (2535) รายงานลักษณะน้ำนึ่งปลาทูน่าซึ่งนำมาจากโรงงานโชติวัฒน์อุตสาหกรรมการผลิต จำกัด มีลักษณะเป็นสีน้ำตาลอ่อนถึงน้ำตาลเข้ม มีความข้นหนืด มีกลิ่นคาวจัดและมีชั้นไขมันบาง ๆ ลอยอยู่บริเวณผิวหน้า องค์ประกอบทางเคมีและทางกายภาพของน้ำนึ่งปลาทูน่าจากโรงงานทรอปิคอลแคนนิ่งและโชติวัฒน์อุตสาหกรรมการผลิต จำกัด ดังแสดงในตารางที่ 2 (สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2534; สุวิทย์ สุวรรณโณ, 2535;ประพน ดลกิจ และสัญชิต แสงกล้า, 2535; ธรรมรัตน์ ธรรมเดชศักดิ์และ แกมกาญจน์ รักษาพราหมณ์, 2536;) จะเห็นได้ว่าน้ำนึ่งปลาทูน่ามีปริมาณ สารอินทรีย์ต่าง ๆ อยู่ในปริมาณที่สูงโดยเฉพาะโปรตีนและไขมัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความแตกต่างของปลาที่ใช้ได้แก่ เพศ อายุ ฤดูกาลที่จับ ความแตกต่างในเรื่องการปฏิบัติหลังจับ การเก็บรักษาและกระบวนการแปรรูป (Besedits and Netzer, 1982) น้ำทิ้งที่เกิดจากกระบวนการแปรรูปปลานี้จะถูกทิ้งไปโดยเปล่าประโยชน์ซึ่งจะทำให้เป็นปัญหาสิ่งแวดล้อมและเกิดภาระในการบำบัดน้ำทิ้งของโรงงานเป็นอย่างมาก

1.3.2 การใช้ประโยชน์จากวัสดุเศษเหลือโรงงานปลาทูน่าบรรจุกระป๋อง

วัสดุเศษเหลือจากโรงงานปลาทูน่าบรรจุกระป๋อง สามารถนำมาดัดแปลงและแปรรูปได้ผลิตภัณฑ์หลายประเภท (นิรนาม, 2534) เช่น

1. น้ำสกัดเข้มข้นจากปลา เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำน้ำนึ่งปลาทูน่ามาย่อยสลายด้วยเอ็นไซม์โปรติเอส งการย่อยโปรตีนทำให้ได้สารเปปไทด์สายสั้นและกรดอะมิโนอิสระ ทำให้มีสมบัติการละลายดี มีคุณค่าทางโภชนาการสูง นำมาทำให้อยู่ในรูป

ตารางที่ 2 องค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำนึ่งปลาทูน่าจากโรงงานทรอปิคอลแคนนิ่งและ โรงงานโชติวัฒน์อุตสาหกรรมการผลิต จำกัด

องค์ประกอบ	1	2	3	4
พีเอช	4.89	6.05	5.97	6.14
บีโอดี	-	-	-	-
ซีโอดี	139,125±3,316	157,080±500	9,5604±31018	7,004±2048
ไนโตรเจนทั้งหมด	7,390±58	7,616±124	7,694±536.6	3,484±5
ของแข็งตกตะกอน	9.50±1.20	-	6.54±0.6	1.70±0.08
ของแข็งแขวนลอย	6,793±1,249	6,678±124	6,340±598.6	1,60±100
ของแข็งละลาย	80,127±1,249	-	75,320±19569	30,750±100
ของแข็งทั้งหมด	86,920±1,200	82,218±775	81,600±2065	32,355±244
ของแข็งคงตัว	19,800±1,120	-	-	3,366±100
ของแข็งระเหย	67,120±1,010	-	6.54±0.6	28,988±244
กรีส	-	32,182±11	-	9,815±165
ฟอสเฟต	-	378±3.2	-	-

หน่วย มก/ล ยกเว้นพีเอช

หมายเหตุ: 1: สุทธวัฒน์ เบญจกุล (2534) รง. ทรอปิลคอลแคนนิ่ง 2: สุวิทย์ สุวรรณโณ (2535) รง. ทรอปิลคอลแคนนิ่ง 3: ธรรมรัตน์ ธรรมเดชศักดิ์และ แกมกาญจน์ รักษาพราหมณ์ (2536) รง. โชติวัฒน์อุตสาหกรรมการผลิต 4: ประพน ดลกิจ และสัญชิต แสงกล้า (2535) รง. ทรอปิลคอลแคนนิ่ง

เข้มข้น สามารถใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสหรือทำเป็นเครื่องจิ้มอาหาร

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

3. ไส้กรอกปลา ส่วนของเนื้อปลาทูน่าที่มีสีดำสามารถนำมาผลิตเป็นไส้กรอกปลา โดยการปรับสีของเนื้อปลาด้วยแอสคอร์บิกและโซเดียมไนไตรท์และใช้ซูริมิเป็นเป็นส่วนผสมเพื่อให้ได้ไส้กรอกเหนียว 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 เซลล์มีปริมาณโปรตีนร้อยละ 52.6 แคโรทีนอยด์ 1.2 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้งและวิตามินบี 12 เท่ากับ 1.27 ไมโครกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง นอกจากนี้ยังสามารถลดค่าซีโอดีของน้ำนึ่งปลาทูน่าเจือจางได้ร้อยละ 85.8 ส่วนการเติมแหล่งคาร์บอนและกรดไขมันในน้ำนึ่งปลาทูน่า ไม่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณชีวมวลและองค์ประกอบภายในของเซลล์ของเชื้อ

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 พบว่า ซีโอดีที่เหมาะสมต่อการเจริญ มีค่าเท่ากับ 15,000 มิลลิกรัมต่อลิตร เติมยีสต์สกัดเท่ากับ 3 กรัมต่อลิตร เชื้อให้มวลชีวภาพ 5.48 กรัมต่อลิตร เซลล์มีปริมาณแคโรทีนอยด์และแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ เท่ากับ 2.37 และ 21.18 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้งตามลำดับ 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

2. การแยกโปรตีนจากน้ำทิ้ง

การแยกโปรตีน (protein isolation) หลักการแยกโปรตีนมี 4 ขั้นตอน (Meinke and Mattil, 1973) คือ

1. สกัดโปรตีน (extraction) ด้วยน้ำที่มี พีเอช หรือความเข้มเกลือที่เหมาะสม
2. แยกส่วนที่ไม่ละลาย (กระดูก เกล็ด กรวด) ออกจากสารละลายโปรตีนโดยการหมุนเหวี่ยงหรือการกรอง
3. ตกตะกอนโปรตีนออกมาจากสารละลาย
4. ทำให้โปรตีนที่แยกได้มีความบริสุทธิ์ ได้แก่ การกำจัดกลิ่น สี ไขมัน และเกลือออกไปแล้วทำแห้ง

การแยกโปรตีนจากน้ำทิ้งเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ ควรเลือกใช้วิธีการแยกสารประกอบจากน้ำทิ้งให้เหมาะสม โดยพิจารณาปัจจัยดังต่อไปนี้ (Nettli, 1982)

1. ควรเป็นวิธีการที่สามารถนำมาใช้กับน้ำทิ้งได้หลายชนิด
2. ควรเป็นวิธีการที่ใช้ต้นทุนต่ำและไม่ต้องใช้ทักษะพิเศษมาก
3. สารเคมีที่นำมาใช้จะต้องไม่ตกค้าง ในสารประกอบที่แยกได้

4. ผลผลิตที่ได้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้เลยโดยไม่ต้องผ่านกระบวนการอื่นอีก

Meister และ Thompson (1976) กล่าวว่า การบำบัดน้ำทิ้งเพื่อต้องการนำโปรตีนมาใช้ประโยชน์โดยวิธีการตกตะกอนนั้น ประกอบด้วย 3 วิธีการคือ

1. การปรับพีเอช ของน้ำทิ้งให้เท่ากับจุดไอโซอิเลกตริกของโปรตีน

2. การใช้ความร้อน เพื่อเหนี่ยวนำให้เกิดการตกตะกอน

3. การใช้สารช่วยตกตะกอนชนิดต่าง ๆ เพื่อทำให้เกิดความเป็นกลางทางประจุของโปรตีน

ที่จุดไอโซอิเลกตริก ประจุบวกและประจุลบของโปรตีนจะเท่ากัน ซึ่งจะทำให้โปรตีนมีการละลายต่ำมาก จุดไอโซอิเลกตริกมีค่ามากน้อยขึ้นอยู่กับธรรมชาติของน้ำทิ้ง เช่น น้ำทิ้งจากกระบวนการแปรรูปปลา จะมีจุดไอโซอิเลกตริกอยู่ในช่วง 4.5-5.0 (Ertz, *et al.*, 1977)

ได้มีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการตกตะกอนของสารประกอบโปรตีนในน้ำทิ้งต่าง ๆ เช่น Knorr (1977) ศึกษาการตกตะกอนของสารประกอบโปรตีน สามารถทำได้โดยใช้ความร้อนเพียงอย่างเดียวแต่ประสิทธิภาพจะสูงขึ้นถ้ามีการใช้ร่วมกับการปรับ pH เช่น การตกตะกอนโปรตีนจากน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปมันฝรั่ง โดยการใช้อุณหภูมิ 203-212 องศาฟาเรนไฮต์ ร่วมกับการปรับพีเอช 3.5-6.0

Tagawa และคณะ (1977) ได้ทำการทดลองตกตะกอนสารประกอบอินทรีย์ในน้ำทิ้งจากการผลิตคามาโบโกะโดยปรับพีเอชให้มีค่าเท่ากับ 2.0 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 3 แล้วทำให้เป็นกลาง สามารถลดของแข็งแขวนลอยได้มากกว่าร้อยละ 85 ลดซีโอดีได้ร้อยละ 60-70 และสามารถตกตะกอนโปรตีนได้ร้อยละ 70-80

Shimizu และ Nishioka (1978) พบว่า สามารถตกตะกอนโปรตีนได้ ร้อยละ 88 จากน้ำล้างปลาแมคเคอรอล เมื่อปรับพีเอชให้มีค่าเท่ากับ 3.1 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก แล้วเพิ่มพีเอชเป็น 6.4 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์

Civit และคณะ (1982) ได้ทำการทดลองแยกโปรตีนและไขมัน จากน้ำเลือดที่เป็นน้ำทิ้ง โดยมีการปรับพีเอชในช่วง 5.6-5.9 และใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 75-80 องศาเซลเซียส นำไปหมุนเหวี่ยงจะได้น้ำทิ้งที่มีปริมาณโปรตีนและไขมันลดลงร้อยละ 90 ซึ่งสามารถลดค่า

ซีโอดีลงร้อยละ 15

Nishioka และ Shimizu (1983) ทำการแยกโปรตีนจากน้ำล้างเนื้อปลาโดยปรับพีเอชให้อยู่ช่วงที่เป็นกรด คือ 4-5 และ อยู่ในช่วงเป็นด่าง คือ 9-11 แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงได้ตะกอนโปรตีนประมาณร้อยละ 70

Marti และคณะ (1994) ได้ศึกษาการแยกโปรตีนจากน้ำทิ้งโรงงานปลาป่นมีการแยกโปรตีนหลายวิธีด้วยกัน เช่น การตกตะกอนโปรตีนด้วยการปรับพีเอชให้มีจุดไอโซอิเลกตริกเท่ากับ 4.3 ซึ่งสามารถลดปริมาณโปรตีนได้ร้อยละ 30 และใช้อุณหภูมิในการตกตะกอนโปรตีน ได้ที่ 60, 70 และ 100 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที พบว่า อุณหภูมิที่ใช้ได้ดีในการตกตะกอนโปรตีนคือ 100 องศาเซลเซียส

3. การแยกไขมัน

วิธีที่นิยมในการสกัดแยกไขมัน มี 3 วิธี (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2529) คือ

1. การบีบ (Pressing หรือ Expelling)

2. การเจียว (Rendering)

3. การสกัดด้วยตัวทำละลาย (Solvent extraction)

นอกจากนี้มีอีกวิธีที่น่าสนใจ คือ การ Freeze-thaw โดยมีหลักการคือ ทำให้เนื้อเยื่อของเม็ดไขมันแตกโดยใช้ความเย็น ทำให้สามารถแยกน้ำมันออกจากวัตถุดิบได้ ซึ่งเรียกวิธีนี้ว่า Roxas process การทำ freeze-thaw บ่อย ๆ จะเกิดการฉีกขาดของเนื้อเยื่อมากขึ้น ทำให้แยกไขมันได้ง่ายขึ้น (Gunetileke and Laurentius, 1974)

Klyhn (1979) ศึกษาทำการแยกโปรตีนและไขมันในน้ำทิ้งจากโรงงานฆ่าสัตว์โดยนำน้ำทิ้งก่อนจะเข้าสู่ระบบบำบัดมาหมุนเหวี่ยงที่อุณหภูมิสูง หลังจากนั้นกวนเพื่อให้เป็นเนื้อเดียวกันและพักไว้ในบ่อพักน้ำประมาณ 1-2 วัน หลังจากนั้นจะทำการกวาดไขมันด้วยเครื่องกวาดไขมันซึ่งสามารถลดไขมันในน้ำทิ้งร้อยละ 80

Civit และคณะ (1982) ได้ศึกษาการแยกโปรตีนและไขมันในน้ำเลือดปลาที่เป็นน้ำทิ้ง โดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส แล้วนำไปหมุนเหวี่ยง ทิ้งไว้สักระยะหนึ่งจะเกิดการแยกชั้นระหว่างไขมันและน้ำส่วนที่มีสารประกอบอินทรีย์ต่าง ๆ ซึ่งอยู่ด้านล่าง วิธีนี้เป็นวิธีที่ง่ายในการแยกไขมันออกจากน้ำทิ้ง

4. 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

ยีสต์เป็นจุลินทรีย์ที่มีความสัมพั นธ์กับมนุษย์ในด้านที่เป็นประโยชน์มานานแล้ว การใช้ยีสต์ในอุตสาหกรรมการหมัก เช่น ใช้ยีสต์ในการผลิตเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ เบียร์และเหล้าชนิดต่าง ๆ ใช้ยีสต์ทำขนมปัง ใช้ยีสต์เป็นทั้งอาหารคนและสัตว์ ยีสต์เป็นที่ยอมรับและนิยมในการผลิตเป็นแหล่งอาหารเสริมโปรตีนมากกว่าจุลินทรีย์อื่น ๆ เนื่องมาจากมีปริมาณกรดนิวคลีอิกในเซลล์ต่ำ ตัวเซลล์ยีสต์มีขนาดใหญ่เก็บเกี่ยวได้ง่ายกว่าจุลินทรีย์ อื่น ๆ สามารถเจริญได้ในวัตถุดิบที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำ ตลอดจนเป็นที่ต้องการของตลาดทั้งในแง่นำไปผสมเป็นอาหารเลี้ยงสัตว์และนำไปพัฒนาเป็นอาหารของมนุษย์ การผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากยีสต์สามารถใช้วัตถุดิบได้หลายชนิด เช่น น้ำทิ้งจากขบวนการแปรรูปอาหารถั่วเหลือง (ปราโมทย์ ศิริโรจน์, 2521) น้ำมะพร้าว (อโณทัย คมเศวต, 2519) น้ำทิ้งจากโรงงานผลิตเยื่อกระดาษ (Noonai, 1981) และวัสดุเศษเหลือใช้จากโรงงานปลาทูน่าบรรจุกระป๋องโดยเฉพาะน้ำนึ่งปลาทูน่า (สุวิทย์ สุวรรณโณ, 2539)

หลักการพิจารณาการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากของเสีย

1. ชนิดของจุลินทรีย์ที่ใช้ จะต้องเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตในของเสียนั้นได้และควรเป็นจุลินทรีย์ที่มีการยอมรับในด้านต่าง ๆ ด้วยเช่นคุณค่าอาหาร ปริมาณโปรตีน และกรดอะมิโน เป็นต้น

2. ปริมาณของเสียจะต้องมีมากพอที่จะลงทุนผลิต

3. กรรมวิธีการผลิตที่เหมาะสมที่สุดต้องได้รับการคัดเลือกอย่างดี ต้องสามารถควบคุมสภาวะแวดล้อมต่าง ๆ ได้ โดยผลิตภายใต้สภาวะที่ปลอดเชื้อ และสามารถป้องกันการปะปนของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการได้อย่างมีประสิทธิภาพ เพื่อให้จุลินทรีย์ที่เลี้ยงเจริญเติบโต

ได้เป็นอย่างดี

4. ต้องคำนึงถึงตลาดและราคาผลผลิตที่ได้ให้เหมาะสม

5. มีการทดสอบด้านความปลอดภัย ในการบริโภค เช่น ปริมาณสารพิษ โดยทดลองกับสัตว์ทดลองก่อนที่จะจำหน่าย

ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวต้องการเซลล์ที่ประกอบด้วยโปรตีนสูง ส่วนคาร์โบไฮเดรท กรดนิวคลีอิก ไขมันต้องการปริมาณต่ำ และสามารถแข่งขันกับโปรตีนจากพืชหรือปลาป่นได้ มีกลิ่นรสดีและที่สำคัญคือมีไลซีน เมทไธโอนีน ทริปโตเฟนสูง ซึ่งโปรตีนจากพืชมักขาด ส่วนประกอบทางเคมีของจุลินทรีย์นอกจากขึ้นกับชนิดของเชื้อที่ใช้ ยังขึ้นอยู่กับชนิดของอาหารและสภาพของการเจริญเติบโต กระบวนการที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวแบบมาตรฐานทั่ว ๆ ไป จะมีขั้นตอนต่าง ๆ ดังรูปที่ 2

4.1.คุณสมบัติของจุลินทรีย์ที่ใช้เป็นแหล่งอาหารเสริมโปรตีน

มีดังนี้ (วราวุฒิ ครูส่ง, 2529)

1. เจริญได้เร็วในอาหารที่มีราคาถูก เป็นวัตถุดิบที่หาได้ในแหล่งนั้น ๆ

2. เจริญได้ในอาหารที่มีส่วนประกอบแบบง่าย ๆ มีความต้องการวิตามินหรือสารที่ช่วยในการเจริญ ต่าง ๆ น้อยหรือไม่ต้องการเลย

3. คงลักษณะทางพันธุกรรมได้ดีไม่กลายพันธุ์ง่าย เมื่อเลี้ยงติดต่อกันเป็นเวลานาน

4. การแยกและเก็บเกี่ยวเซลล์ง่าย

5. มีความต้านทานต่อการปะปนของจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ

6. ทราบคุณสมบัติทางพันธุกรรม และทางสรีรวิทยาและสามารถปรับปรุงทางด้านพันธุกรรมได้

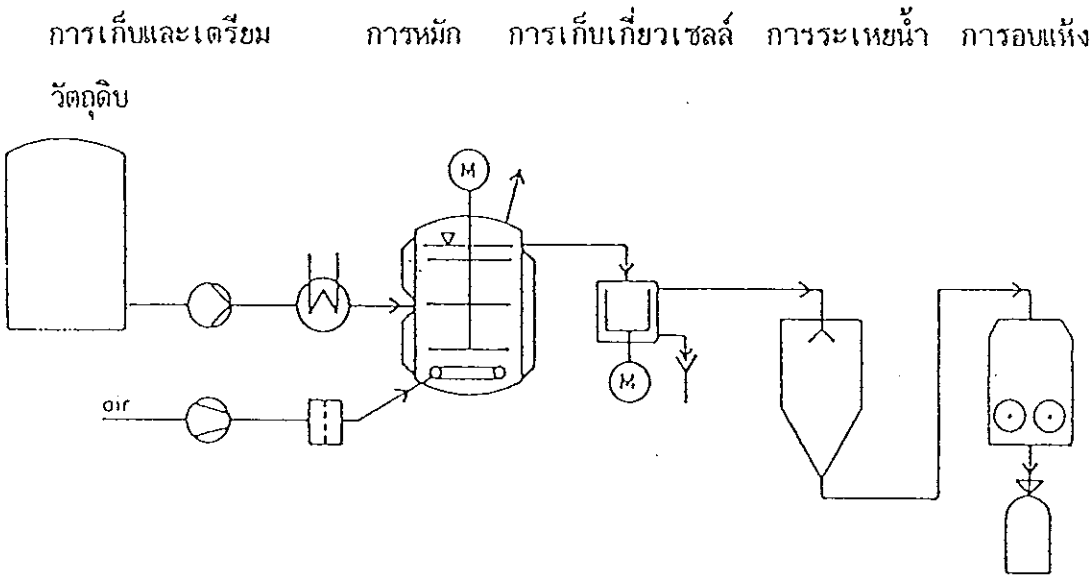
7. สามารถใช้แหล่งพลังงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ

8. หลังจากผ่านกระบวนการผลิตแล้วมีวัสดุเหลือทิ้งน้อยหรือไม่มีเลย

9. ไม่เป็นพิษและทำให้เกิดอาการภูมิแพ้

10. ให้ปริมาณโปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรทสูง

11. เก็บรักษาง่าย เช่น โดยการทำให้แห้ง



รูปที่ 2 ขั้นตอนการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

ที่มา : ดัดแปลงจาก Faust และ Prave (1979)

4.2 ปัจจัยที่สำคัญต่อการเจริญของยีสต์

4.2.1 อาหาร

แหล่งคาร์บอนและพลังงาน สารอินทรีย์ที่เป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานมีปริมาณมาก และนิยมใช้กันอย่างกว้างขวางนั้นได้แก่ แป้งจากข้าวชนิดต่าง ๆ ข้าวโพด มันสำปะหลัง พวกน้ำตาลจากอ้อย และ น้ำเวย์(whey) เป็นต้น ยีสต์ใช้สารอินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอน และพลังงาน ทั้งในสภาพที่มีออกซิเจนและปราศจากออกซิเจนได้ น้ำตาลที่ยีสต์เกือบทุกสายพันธุ์สามารถใช้ได้ ได้แก่ ดี-กลูโคส ดี-ฟรุกโตส ดี-แมนโนส และ ซูโครส เป็นต้น สำหรับแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานที่ใช้ผลิตยีสต์เพื่อเป็นอาหารเสริมโปรตีนมักนิยมใช้วัสดุที่มีราคาถูกหรือของเหลือทิ้งจากกระบวนการอุตสาหกรรมต่าง ๆ เช่น กากน้ำตาล (molasses) คือ ของเหลวข้นที่ได้จากการแยกผลึกน้ำตาล โดยวิธีการปั่น กากน้ำตาลแบ่งออกได้เป็นชนิดต่าง ๆ ตามกรรมวิธีการผลิต เช่น first molasses (A-molasses) second molasses (B-molasses) ส่วนกากน้ำตาลที่ไม่ใช้ทำน้ำตาลอีกต่อไปเรียกว่า กากน้ำตาลสุดท้าย (final molasses หรือ exhausted molasses หรือ blackstrap molasses) มีองค์ประกอบของกากน้ำตาลดังตารางที่ 3 (จุฑามาศ บุญมาแย้ม, 2539)

นอกจากนี้ยีสต์สามารถใช้แป้งเป็นแหล่งคาร์บอน ซึ่งอาจนำมาใช้โดยตรงหรือผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ หรือใช้จุลินทรีย์ในการย่อยสลายแป้งเอง เช่น *Sch. castellii* เป็นยีสต์สามารถใช้แป้งมันสำปะหลังเป็นแหล่งคาร์บอน ผลผลิตที่ได้ใช้เป็นแหล่งโปรตีนในอาหารสัตว์ (ทิพรัตน์ หงภัทรคีรี, 2534) นอกนี้พบว่า ยีสต์ *Candida utilis*, *C. tropicalis* สามารถใช้น้ำตาลเพนโตสได้ (Rose and Harrison ,1971) รายละเอียดของแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานของยีสต์ชนิดต่าง ๆ จะแตกต่างกันไปตามความต้องการของยีสต์นั้น ๆ ดังตารางที่ 4 ซึ่งความต้องการแหล่งคาร์บอนและพลังงานอาจจะใช้ประกอบในการจำแนกชนิดของยีสต์ได้อีกด้วย

ได้มีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับผลของแหล่งคาร์บอนต่อการเจริญของยีสต์ ได้แก่

Rydin และคณะ (1990) ศึกษาการเจริญของ *C. tropicalis* S001 ในน้ำทิ้ง จะเจริญได้ดีในแหล่งคาร์บอนต่าง ๆ กัน พบว่า เจริญได้ดีใน triolein สามารถให้ผลผลิตสูงสุด 0.68 กรัมต่อกรัม ในขณะที่ให้ผลผลิตต่ำสุด 0.57 กรัมต่อกรัม เมื่อเลี้ยงในกลูโคส

ตารางที่ 3 องค์ประกอบของกากน้ำตาล

ส่วนประกอบ	Blackstraps molasses
ธาตุอาหาร (ร้อยละ ของน้ำหนัก)	
น้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมด	50 - 65
ไนโตรเจนทั้งหมด	0.4 - 1.5
แอลฟา-อะมิโนไนโตรเจน	0.05
ฟอสฟอรัส	0.2 - 2.0
แคลเซียม	0.1 - 1.3
แมกนีเซียม	0.3 - 1.0
โปตัสเซียม	2.6 - 5.0
สังกะสี	10 - 20
คาร์บอน	4
เถ้าทั้งหมด	7 - 11
ซัลเฟอร์	–
วิตามิน (ไมโครกรัมต่อกรัม)	
ไบโอติน	0.6 - 3.2
แคลเซียม แพนโททีเนท	20 - 120
อินโนซิทอล	6,000
ไทอะมิน	14 - 8.3
ไพริดอกซีน	6 - 7
ไรโบฟลาวิน	2.5
นิโคตินามาย	20 - 25
กรดโฟลิก	0.04
อื่นๆ	
น้ำ	20
ขี้ผึ้ง สเตอรอล และไขมัน	0.4

ที่มา ดัดแปลงจาก จุฑามาศ บุญมาแย้ม (2539)

ตารางที่ 4 ความสามารถของยีสต์ในการใช้แหล่งคาร์บอนต่าง ๆ

Nutrient	*S. cerevisiae*	*S. carlsbergensis*	*S. fragilis*	*C. utilis*	*C. tropicalis*
Glucose	+	+	+	+	+
Galactose	+	+	+	-	+
Maltose	+	+	+	+	+
Sucrose	+	+	-	+	+
Lactose	-	-	+	-	-
Xylose	-	-	-	+	+
Ethanol	- +	-	-	+	-

หมายเหตุ

+ = มีการเจริญ

- + = มีการเจริญน้อย

- = ไม่มีการเจริญ

ที่มา : ดัดแปลงจาก Rose และ Harrison (1971)

ฝ่ายหอสมุด
คุณหญิงหลง อรรถกระวีสุนทร

Lee และคณะ (1993) พบว่า *C. tropicalis* F 129 สามารถเจริญได้ดีในน้ำมันปาล์ม พบว่าอุณหภูมิและพีเอชที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของเชื้อ คือ 38 องศาเซลเซียส และ 6 ตามลำดับ เมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีน้ำมันปาล์มร้อยละ 2 ได้มวลชีวภาพเท่ากับ 1.01 กรัมต่อเซลล์ต่อกรัมน้ำมันปาล์ม หลังเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 12 ชั่วโมง

อนุเทพ ภาสุระ และปราโมทย์ ศิริโรจน์ (2534) ศึกษาการเจริญของ *C. tropicalis* สายพันธุ์ DMKU-9 , 10 ; 17 ,19 และ *C. utilis* NRRL 900 ในอาหารเหลว ที่เติมแป้งมันสำปะหลังร้อยละ 1.5 พบว่า *C. tropicalis* DMKU-10 เจริญได้ดีและมีโปรตีนในเซลล์สูงร้อยละ 38.57 ของน้ำหนักเซลล์แห้ง

Lucca และคณะ (1995) เลี้ยง *C.utilis* แบบต่อเนื่องในอาหารที่มีแอมโมเนียมซัลเฟทเป็นแหล่งไนโตรเจน(เข้มข้น 100-1,100 มิลลิกรัมต่อลิตร) พบว่าความเข้มข้นของไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อมีผลต่อองค์ประกอบของเซลล์ มวลชีวภาพ อัตราการเจริญสูงสุด และรูปร่างภายนอกของเซลล์ การเจริญของเชื้อในอาหารที่มีไนโตรเจนจำกัด (ความเข้มข้นต่ำกว่า 420 มิลลิกรัมต่อลิตร) มีผลให้คาร์โบไฮเดรท(กลูแคน แมนแนน) ที่ผนังเซลล์เพิ่มขึ้น ปริมาณกรดนิวคลีอิกในเซลล์ลดลงและให้ผลผลิตเซลล์สูงเท่ากับ13.3 กรัมต่อกรัมไนโตรเจน ดังนั้นสภาวะการเลี้ยงเชื้อที่จำกัดไนโตรเจนจึงเหมาะที่จะผลิตเซลล์ยีสต์เพื่อให้เป็นแหล่โปรตีนเซลล์เดียว

สุวิทย์ สุวรรณโณ (2539) ศึกษาการเลี้ยงยีสต์ในน้ำนึ่งปลาทูน่า พบว่าเชื้อ *C. tropicalis* TISTR 5136 เจริญได้ดีในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เติมน้ำตาลซูโครสร้อยละ 2 โดยให้ปริมาณมวลชีวภาพสูงสุดเท่ากับ 8.0 กรัมต่อลิตรในเวลา 3 วัน ลดค่าซีโอดีได้สูงสุดร้อยละ 78.5 และมีอัตราการเจริญจำเพาะเท่ากับ 0.42 ต่อชั่วโมง

แหล่งไนโตรเจน ยีสต์ต้องการไนโตรเจน เนื่องจากไนโตรเจนเป็นแร่ธาตุที่สำคัญในการสร้างโปรตีนของเซลล์ ความต้องการไนโตรเจนของยีสต์แต่ละชนิดจะแตกต่างกันไป ยีสต์บางชนิดเจริญได้ในอาหารที่มีไนโตรเจนอนินทรีย์ แต่บางชนิดต้องการไนโตรเจนอินทรีย์ แหล่งไนโตรเจนอนินทรีย์ที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมการหมัก ได้แก่ ก๊าซแอมโมเนีย เกลือแอมโมเนียม และไนเตรท เป็นต้น ส่วนแหล่งไนโตรเจนอินทรีย์ อาจใช้ในรูปกรดอะมิโน

โปรตีน หรือ ยูเรีย โดยปกติแล้วยีสต์ใช้แอมโมเนียมอิออนเป็นแหล่งไนโตรเจนได้เร็วกว่าสารไนโตรเจนรูปอื่น ๆ (Rose and Harrison, 1971) ไนโตรเจนของแอมโมเนียมที่เข้าสู่เซลล์ยีสต์ถูกเปลี่ยนเป็นกรดอะมิโน โปรตีน กรดนิวคลีอิก และองค์ประกอบอื่น ๆ ภายในเซลล์อย่างรวดเร็ว สัดส่วนที่เปลี่ยนไปนี้ขึ้นอยู่กับความสามารถของยีสต์ในการนำเอาไนโตรเจนที่เติมในสารอาหารไปใช้และขึ้นอยู่กับสภาวะที่ใช้เลี้ยง แต่อย่างไรก็ดีถ้ามีไนไตรท์อยู่ในปริมาณที่ค่อนข้างสูงจะเป็นพิษมาก *Hansenula* sp. ทุกชนิดสามารถใช้ไนเตรท และ ไนไตรท์ได้ (ปรียา วิบูลย์เศรษฐ์, 2525) สำหรับปริมาณไนโตรเจนภายในเซลล์ยีสต์แตกต่างกันอยู่ในช่วงร้อยละ 5-10 ของน้ำหนักยีสต์แห้ง และขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ ดังนั้นการเติมสารไนโตรเจนในการเลี้ยงยีสต์ควรอยู่ในช่วง 0.05-0.1 กรัมต่อกรัมยีสต์แห้ง (Rose and Harrison, 1971)

อโณทัย คมเศวต (2519) เลี้ยงยีสต์ *C. utilis* ในน้ำมะพร้าว เปรียบเทียบระหว่างสารอนินทรีย์ที่ใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนด้วยกัน คือ แอมโมเนียมซัลเฟท ยูเรีย โซเดียม-ไนเตรท และ โปตัสเซียมไนเตรท พบว่า ยีสต์ *C. utilis* จะเจริญได้ดีที่สุดเมื่อใช้น้ำมะพร้าวเติมแอมโมเนียมซัลเฟทร้อยละ 0.1

อนุเทพ ภาสุระ และปราโมทย์ ศิริโรจน์ (2534) ศึกษาปริมาณแหล่งไนโตรเจนต่อการเจริญของยีสต์ *C. tropicalis* DMKU-10 ในอาหาร YM สูตรดัดแปลงเติมแป้งมันสำปะหลังมีการเติมแหล่งไนโตรเจนต่าง ๆ ได้แก่ โปตัสเซียมไนเตรท แอมโมเนียมไนเตรท แอมโมเนียมซัลเฟท และยูเรีย ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1 พบว่า ยีสต์เจริญได้ดีในอาหารที่มีแอมโมเนียมซัลเฟทร้อยละ 1 และมีปริมาณโปรตีนในเซลล์สูงที่สุดร้อยละ 43.63 ของน้ำหนักแห้ง

แหล่งฟอสฟอรัส ฟอสฟอรัสเป็นแร่ธาตุที่จำเป็นสำหรับการเจริญของยีสต์ ฟอสเฟทเป็นธาตุอาหารที่สำคัญอาจเติมในรูปของไดแอมโมเนียมฟอสเฟท กรดฟอสฟอริก หรือรูปอื่น ๆ กากน้ำตาลทุกชนิดมีไนโตรเจนและฟอสเฟท แต่ปริมาณไม่เพียงพอบางส่วนรวมอยู่กับสารอินทรีย์ทำให้ยีสต์นำไปใช้ไม่ได้ จึงต้องเติมฟอสเฟทเพิ่มลงไปในรูปที่ละลายน้ำได้ เช่น กรดฟอสฟอริก แอมโมเนียมฟอสเฟท โซเดียมฟอสเฟท พวกนี้จะถูกนำไปใช้

โดยยีสต์ได้รวดเร็ว ปริมาณฟอสเฟทที่ถูกนำไปใช้ขึ้นกับปริมาณที่ให้และสภาวะที่ใช้ พบว่า *C. utilis* สามารถเจริญได้ดีในอาหารที่มีปริมาณ ฟอสเฟทอยู่ในระดับต่ำ (Callieri ,*et al.*, 1984) จากการศึกษาของ อนุเทพ ภาสุระ และปราโมทย์ ศิริโรจน์ (2534) ได้ทดลองเลี้ยงยีสต์ *C. tropicalis* โดยเพิ่มธาตุฟอสฟอรัสในรูปของโปตัสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟท ที่มีความเข้มข้นในระดับต่าง ๆ พบว่าที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.7 ของโปตัสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟท ได้ปริมาณโปรตีนสูงสุดร้อยละ 56.42 ของน้ำหนักแห้ง

แหล่งซัลเฟอร์ ยีสต์ส่วนใหญ่ใช้สารซัลเฟทอนินทรีย์ได้ดี และซัลเฟอร์เป็นส่วนประกอบของกรดอะมิโนจำเป็น เช่น ซีสเตอีน เมทไธโอนีนและ ซีสทีน (Rose and Harrison, 1971)

วิตามิน เป็นสารที่จำเป็นสำหรับการเจริญของสิ่งมีชีวิตและการทำงานของโคแฟตเตอร์ ซึ่งวิตามินบางชนิดยีสต์สามารถสังเคราะห์ได้เอง เช่น ไบโอติน แพนโททีเนท ไทอามีน เป็นต้น บางชนิดไม่สามารถสังเคราะห์ได้เอง ดังนั้นจึงต้องมีการเติมลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งจะช่วยให้เอนไซม์ทำงานได้ดีขึ้น แหล่งวิตามินที่ใช้ในอาหารเลี้ยงเชื้ออาจเพียงพอสำหรับกระบวนการผลิตหนึ่ง ๆ ถ้าต้องการวิตามินชนิดใดชนิดหนึ่งเพียงชนิดเดียวในปริมาณระดับหนึ่งนั้นอาจจำเป็นต้องเติมวิตามินในรูปสารบริสุทธิ์ลงไปในกระบวนการผลิตจะดีกว่าการใช้แหล่งคาร์บอนหรือแหล่งไนโตรเจนหลายชนิดผสมกันเพื่อให้ได้วิตามินครบถ้วน (สมใจ ศิริโภค, 2537)

นอกจากนี้ยังมีสารอาหารอื่น ๆ ได้แก่ แร่ธาตุต่าง ๆ เพื่อใช้เป็นโคแฟคเตอร์ของเอนไซม์ เช่น แมกนีเซียมเพื่อเป็นสารกระตุ้นเอนไซม์ โปแตสเซียมเป็นสารที่จำเป็นสำหรับการเจริญของยีสต์ในอาหารที่มีกลูโคสซึ่งเกี่ยวกับการดูดซึมของสารเข้าสู่ผนังเซลล์ ทองแดงและเหล็ก เป็นสารช่วยในกิจกรรมการหายใจในการเจริญของยีสต์ โคบอลท์เป็นสารช่วยในการผลิตวิตามินบี 12 เป็นต้น (Rose and Harrison, 1971)

4.2.2 สภาพความเป็นกรดด่าง (pH) ของอาหาร

โดยทั่วไปยีสต์เป็นจุลินทรีย์ที่ชอบความเป็นกรด และทนกรดได้ดีกว่าจุลินทรีย์พวกอื่น ๆ ยีสต์ส่วนใหญ่จะเจริญได้ในช่วงพีเอช 3.5-7.0 พีเอชเป็นกรดนี้จะยับยั้งการเจริญ

ของแบคทีเรียที่ปะปนมาด้วย ทำให้การหมักสามารถเกิดได้ดีตลอดเวลาและมีผลต่อปฏิกิริยาของเอนไซม์ที่จุลินทรีย์สร้างขึ้นด้วย (สมศรี ศิริพิทยางกูร, 2525) แต่พีเอชเหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์แต่ละสายพันธุ์จะแตกต่างกันไป เช่น *C. tropicalis* S001 เจริญได้ดีที่พีเอช อยู่ในช่วง 3.2 - 4.0 (Rydin, *et al.*, 1990) *S. castellii* B 5285 เจริญได้ดีและ ให้ผลผลิตโปรตีนสูงสุดที่พีเอชเริ่มต้นที่ 5.0 (ทิพรัตน์ หงภัทรคีรี, 2534) *C. tropicalis* F 129 เจริญได้ดีที่พีเอช 6 (Lee, *et al.*, 1993) และ *C. tropicalis* TISTR 5136 เจริญได้ดีที่พีเอช 4.5 (สุวิทย์ สุวรรณโณ , 2539)

4.2.3 อุณหภูมิ

ยีสต์มีอุณหภูมิที่เหมาะต่อการเจริญแตกต่างกัน โดย ยีสต์ส่วนใหญ่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 20-35 องศาเซลเซียส เช่น การผลิต *C. utilis* ในขั้นอุตสาหกรรมนิยมใช้อุณหภูมิ 25-35 องศาเซลเซียส (Rose and Harrison, 1971) อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญคือ 30 องศาเซลเซียส ในระยะเริ่มต้นของการหมัก แต่ระยะหลังอุณหภูมิจะสูงขึ้นเป็น 35 องศาเซลเซียส เพราะว่าขณะเกิดกระบวนการหมักจะเกิดความร้อนขึ้นนั้นเอง *C. tropicalis* เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (Rose and Harrison, 1971) สำหรับยีสต์สายพันธุ์ *Sch. catellii* สามารถเจริญได้ดีในช่วงอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 23-38 องศาเซลเซียส (Rossi and Clementi, 1985) *S. cerevisae* เจริญได้ดีที่สุด ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส (Yang and Tung, 1996) *C. utilis* NRRL Y 900 เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (ปราโมทย์ ศิริโรจน์, 2521) และ *C. tropicalis* TISTR 5136 เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (สุวิทย์ สุวรรณโณ, 2539)

4.2.4 ปริมาณและวิธีการให้อากาศ

ยีสต์เป็นจุลินทรีย์ที่เจริญได้ทั้งที่มีออกซิเจนและปราศจากออกซิเจน ดังนั้น การผลิตยีสต์ให้มีปริมาณมาก ๆ จำเป็นต้องให้ออกซิเจนในปริมาณที่เหมาะสม วิธีการให้อากาศแก่ยีสต์ทำได้สองวิธี คือ วิธีแรกใช้เครื่องเขย่า เหมาะสำหรับใช้ในห้องปฏิบัติการ ยีสต์มีโอกาสได้รับอากาศตามปริมาณช่องว่างของอาหารในฟลาสก์และอัตราเร็วของการเขย่าเพื่อให้เซลล์สัมผัสกับอากาศและอาหารให้ทั่วถึง วิธีที่สองใช้เครื่องอัดอากาศ มักใช้ศึกษาทั้งในห้องทดลองและระดับอุตสาหกรรมโดยอัดอากาศที่ปราศจากเชื้อในลักษณะฟอง

อากาศลงไป ฟองอากาศยิ่งเล็กเท่าไรจะทำให้เพิ่มพื้นที่ผิวเท่านั้นและทำให้ออกซิเจนละลายในอาหารมากขึ้น โดยปกติเครื่องพ่นอากาศระดับอุตสาหกรรมสามารถพ่นฟองอากาศที่มีที่มีขนาดตั้งแต่ 0.0001-1 นิ้ว โดยใช้ท่ออากาศขนาด 1/64-1/32 นิ้ว อากาศถูกพ่นใกล้ ๆ ฐานของถังหมัก ซึ่งมีระบบการกวนหรือการกระจายที่สม่ำเสมอทั่วทั้งถังหมัก นอกจากนี้ถังหมักหมักยังมีใบพัดกวนให้อากาศและฟองอากาศให้กระจายได้ดีสม่ำเสมอทั่วถังหมัก ถังหมักที่มีลักษณะดีควรจะเป็นถังหมักแคบและสูงเนื่องจากจะทำให้ฟองอากาศได้สัมผัสกับอาหารและเชื้อได้นานขึ้น ปริมาณอากาศที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์ โดยทั่วไปพบว่า 1.00 หน่วยปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที (Vananuvat and Kinsella, 1975)

ในการหมักโดยใช้กากน้ำตาล มักจะเกิดฟองที่ผิวหน้าสารอาหารมากมาย ซึ่งทำให้อากาศละลายในสารอาหารเลี้ยงยีสต์ได้ต่ำลงและถ้ามีฟองเกิดขึ้นมาก ๆ ก็อาจทำให้อาหารไหลล้นออกจากถังหมักผ่านช่องทางออกของอากาศ หรือ ช่องทางเก็บตัวอย่างการเกิดฟองมาก ๆ ทำให้อัตราการกวนผสมอาหารเหลวในถังหมักไม่ดีและมีผลต่ออัตราการส่งผ่านออกซิเจนอีกด้วย ดังนั้นสิ่งที่สำคัญที่ต้องเติมลงไปในระหว่างการหมัก คือ สารกำจัดฟอง (antifoam) เป็นสารประกอบพวกซิลิโคน น้ำมันพืช เป็นต้น สารกำจัดฟองที่ดีควรมีคุณสมบัติกระจายตัวได้ดีและทำให้ฟองแตกสลายได้อย่างรวดเร็ว โดยความเข้มข้นต่ำไม่เป็นพิษต่อจุลินทรีย์ มนุษย์ และสัตว์ ไม่ทำให้เกิดปัญหาในการเก็บเกี่ยวผลผลิต ไม่มีผลต่อการส่งผ่านออกซิเจน ทนความร้อนที่ใช้ในการทำให้ปราศจากเชื้อได้ และราคาถูก (สมใจ ศิริโภค, 2537)

นอกจากนี้ยังมีการศึกษา เกี่ยวกับอัตราเร็วในการกวน และการให้อากาศ เช่น ปราโมทย์ ศิริโรจน์ (2521) เลี้ยงยีสต์ *C. utilis* NRRL Y 900 ในถังหมักขนาด 1 ลิตร พบว่ามีอัตราการเจริญและได้ปริมาณเซลล์สูงสุด เมื่อให้ความเร็วรอบของการกวน 500 รอบต่อนาที ให้ปริมาตรอากาศ 1.00 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที

ทิพรัตน์ หงภัทรคีรี (2534) ได้ทดลองเลี้ยงยีสต์ *Sch. castellii* B 5285 ในถังหมัก โดยใช้อาหารเหลวที่มีแป้งมันสำปะหลัง 20 กรัมต่อลิตร ยีสต์สกัด 0.1 กรัมต่อลิตร ไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟท 3 กรัมต่อลิตร และโซเดียมกลูตาเมท 2 กรัมต่อลิตร

อัตราเร็วในการกวน 200 รอบต่อนาที โดยให้อากาศ 0.83, 1.03 และ 1.67 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที พบว่า ยีสต์มีอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด 0.045 ต่อชั่วโมง เมื่อให้อากาศ 1.67 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที ให้น้ำหนักเซลล์แห้ง 3.4 กรัมต่อลิตร ผลผลิตโปรตีน 5.55 กรัมต่อแป้ง 100 กรัม และเมื่อมีการศึกษา ผลของอัตราเร็วในการกวน 200, 300 และ 400 รอบต่อนาที พบว่าอัตราเร็วในการกวน 400 รอบต่อนาที ยีสต์มีอัตราการเจริญจำเพาะสูงสูงสุด เป็น 0.113 ต่อชั่วโมง โดยน้ำหนักเซลล์แห้ง 5.43 กรัมต่อลิตร ผลผลิตเซลล์ 27.78 กรัมต่อแป้ง 100 กรัม ผลผลิตโปรตีน 8.88 กรัมต่อแป้ง 100 กรัม

Yang และ Tung (1996) เลี้ยง *S. cerevisiae* ใช้ถังหมักขนาด 2 ลิตร ในน้ำทิ้งจากโรงงานสุรา ซึ่งมีปริมาตร 0.9 ลิตร มีการกวน 400 รอบต่อนาที ให้อากาศ 1.00 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที ใช้ระยะเวลาหมัก192 ชั่วโมง ได้เซลล์แห้ง 6.8 กรัมต่อลิตร

4.3. ชนิดของยีสต์ และวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

4.3.1 genus *Candida* โดยทั่วไปเซลล์มีรูปร่างยาวรีหรือรูปไข่ สามารถสร้างเส้นใยเทียมและคลามัยโดสปอร์ มีการสืบพันธ์แบบไม่ใช้เพศโดยการแตกหน่อ *Candida* ที่รู้จักกันดีในอุตสาหกรรมอาหาร ได้แก่ *C. utilis* ซึ่งนำมาเพาะเลี้ยงเพื่อใช้เป็นแหล่งอาหาร ใช้เป็นอาหารเสริมทั้งในคนและสัตว์ เนื่องจากยีสต์สกุลนี้มีอัตราเจริญเร็วมีโปรตีนสูง และสามารถใช้สารต่าง ๆ ได้ง่าย เช่น พวก sulfite waste liquor และ wood hydrolysates และ เพนโตส เป็นต้น และนอกจากนี้ยังต้องการสารช่วยการเจริญน้อยมากสามารถเจริญแข่งขันกับแบคทีเรียได้ 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 โป-

ตัสเซียม 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 2:1 เชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 กวนด้วยความเร็ว 120 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง 26 องศาเซลเซียส พบว่าที่อัตราการเจือจาง 1:1 ยีสต์ทำให้ค่าซีโอดีของน้ำทิ้งลดลงร้อยละ 84 ภายในเวลา 3 วัน และได้เซลล์ยีสต์ซึ่งมีโปรตีนร้อยละ 60 ได้เซลล์ยีสต์หนัก 128 กรัมต่อลิตร

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)และมีการกวน เลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 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* ในน้ำมะพร้าวเพื่อผลิตยีสต์เป็นอาหารสัตว์ พบว่าได้น้ำหนักแห้ง 12.02 กรัมต่อลิตร มีโปรตีนในเซลล์ ร้อยละ 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 กรัม

น้ำหนักแห้งต่อกรัมไขมัน

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 ให้มวลชีวภาพสูงสุด15.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และสามารถลดค่าซีโอดีได้ร้อยละ 84 ในเวลา 3 วัน เซลล์ประกอบด้วยโปรตีนและไขมันร้อยละ 45 และ 1.0 ตามลำดับ

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

หนึ่งซึ่งมีผู้ทดลองใช้เป็นแหล่งโปรตีนเซลล์เดียว 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 และโปตัสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟทร้อยละ 0.1 เลี้ยงในถังหมักให้อากาศ 1 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที กวนด้วยอัตราความเร็วของการกวน 500 รอบต่อนาที พีเอช 4.5-5.5 อุณหภูมิ 30 องศา-เซลเซียส 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

4.3.3 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)

4.3.4 genus *Schawanniomyces* รูปร่าง กลม รี ไข่ แต่บางครั้งเป็นรูปยาว หรือทรงกระบอก 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 มีอัตราการเจริญจำเพาะเป็น 0.25, 0.0 และ 0.0 ต่อชั่วโมง ตามลำดับ โดยที่ *Sch. alluvius* มีประสิทธิภาพของการเปลี่ยนอาหารเป็นเซลล์สูงกว่ายีสต์ทั้ง 2 ชนิด คือ ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารแป้งและกลูโคสเป็นเซลล์มีค่าร้อยละ 62 และ 54 ตามลำดับ

Rossi และ Clementi (1985) ศึกษาการผลิตโปรตีนโดยการหมัก *Sch. castellii* บนอาหารแข็ง อาหารกึ่งแข็ง และอาหารเหลว โดยในอาหารเหลวมีมันฝรั่งและเปลือกมันฝรั่งเป็นแหล่งคาร์บอน เมื่อเปรียบเทียบการใช้ยีสต์สกัดร้อยละ 0.3 กับน้ำแช่ข้าวโพด ซึ่งเป็นวัสดุเศษเหลือใช้ร้อยละ 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 เมื่ออาหารมีความชื้น

ร้อยละ 60-64 เติมแอมโมเนียมซัลเฟท ร้อยละ 0.5 เป็นแหล่งไนโตรเจน เมื่อใช้ยีสต์เริ่มต้นร้อยละ 5 ความหนาของอาหาร 0.5 เซนติเมตร ที่อุณหภูมิห้อง พบว่ามันสำปะหลังหมักมีโปรตีนเพิ่มขึ้นจากเดิมร้อยละ 2.01 เป็นร้อยละ 12.41

4.3.5 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 โดยเลี้ยงแบบผสมภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ในน้ำทิ้งโรงงานหัวผักกาด พบว่าผลิตโปรตีนเซลล์เดียวได้สูงสุดร้อยละ 54

5. คุณค่าทางอาหารของยีสต์

ยีสต์มีคุณค่าทางอาหารที่เหมาะสมสำหรับใช้เป็นอาหารเสริมในอาหารสัตว์ และใช้พื้นที่ในการผลิตน้อย เลี้ยงง่าย เป็นที่ยอมรับมากกว่าจุลินทรีย์อื่น ๆ ในเซลล์ยีสต์ประกอบด้วยกรดอะมิโน วิตามินและแร่ธาตุต่าง ๆ ดังตารางที่ 5และ 6 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 กรัมต่อ

ตารางที่ 5 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 6 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)

ลิตร 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 ไขมันและเถ้าร้อยละ 50.12, 1.31 และ 18.17 ตามลำดับ มีกรดอะมิโนครบทุกชนิด

ทิพรัตน์ หงภัทรคีรี (2534) เลี้ยง *Sch. castellii* B 5285 บนอาหารแข็งซึ่งประกอบด้วย มันสำปะหลังอัดเม็ดเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่า มันสำปะหลังหมักที่ได้มีโปรตีนสูงสุด เมื่อใช้ยีสต์เริ่มต้นร้อยละ 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

6. ปลากดเหลือง

ปลากดเหลือง (*Mystus nemurus*) เป็นปลาน้ำจืดชนิดไม่มีเกล็ดจัดอยู่ในประเภทปลากินเนื้อ แต่สามารถนำมาฝึกให้กินอาหารทั้งพืชและสัตว์ได้ เป็นปลาที่ทนต่อสภาพแวดล้อมเกือบทุกลักษณะ ปลากดเหลืองเป็นปลาที่ได้รับความนิยมเป็นอย่างมากเนื่องจากมีรสชาติที่อร่อย นุ่ม และสามารถบริโภคเนื้อปลาทั้งในรูปของปลาสด และปลาแปรรูป

เมื่อมีผู้บริโภคเนื้อปลาชนิดนี้มากขึ้น ทำให้ขยายการเลี้ยงในบ่อดินเพิ่มขึ้น โดยวิธีปล่อยปลาอย่างหนาแน่น และมีการให้อาหารเสริมเพื่อเพิ่มผลผลิตต่อหน่วยพื้นที่ ในการเลือกใช้อาหารที่ให้การเจริญเติบโตสูงจะมีการสร้างสูตรอาหารโดยใช้วัสดุอาหารหลายอย่างผสมกันได้แก่ปลาป่น รำข้าว กากถั่วเหลือง และ ปลายข้าว เป็นต้น ปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนหลักในอาหารสัตว์น้ำ ทั้งในอาหารกุ้งและอาหารปลา แต่เนื่องจากปลาป่นที่มีคุณภาพดีมี

ปริมาณระดับโปรตีนร้อยละ 60 ขึ้นไปที่ประเทศไทยผลิตได้นั้นไม่เพียงพอ จึงต้องมีการนำเข้าปลาป่นจากต่างประเทศ โดยในปี 2537 มีการนำเข้าปลาป่น 208,300 ตัน คิดเป็นมูลค่า 3,000 ล้านบาทจากประเทศชิลี และ เดนมาร์ก (กองเศรษฐกิจการประมง, 2537) ปลาป่นที่มีคุณภาพดีมีราคาค่อนข้างแพง ในปัจจุบันจึงมีการพยายามลดปริมาณปลาป่นด้วยการใช้โปรตีนสำรองจากพืชหรือสัตว์อื่น ๆ เช่น โปรตีนจากถั่วเหลือง ข้าวโพด โปรตีนจากเลือดป่น เนื้อป่น เป็นต้น

การใช้ยีสต์เพื่อทดแทนแหล่งโปรตีนจากปลาป่นจึงมีแนวโน้มที่ดีในอนาคต เนื่องจากยีสต์เลี้ยงง่าย ใช้พื้นที่น้อย สามารถผลิตได้ครั้งละจำนวนมาก ไม่ขึ้นกับฤดูกาลตลอดจนมีความสม่ำเสมอในการผลิต (Martin, *et al.*, 1993)

งานวิจัยที่ใช้ยีสต์ในการเป็นอาหารเสริมและทดแทนปลาป่นในสูตรอาหารเลี้ยงปลา เช่น

Mahnken และคณะ (1980) ศึกษาการทดแทนปลาป่นในสูตรอาหารโดยใช้ยีสต์ *C. utilis* sp. เลี้ยงปลาเรนโบว์ เทร้า (rainbow trout, *Salmo gairdneri*) ในน้ำจืด โดยใช้ยีสต์ทดแทนปลาป่นร้อยละ 25 และ 40 พบว่า ปลาเรนโบว์ เทร้า ที่ได้รับอาหารที่ทดแทนปลาป่นป่นด้วยยีสต์ร้อยละ 40 เจริญได้ดีกว่าที่ทดแทนด้วยยีสต์ร้อยละ 25 และจากการทดลองเลี้ยงปลาโคโฮ แซลมอน (coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*) ในน้ำทะเล ในสูตรอาหารที่มียีสต์ทดแทนร้อยละ 25, 50, 75 และ 100 พบว่าปลาที่ได้รับอาหารที่ทดแทนปลาป่นด้วยยีสต์ร้อยละ 25 เจริญเติบโตได้ดีกว่าที่ทดแทนด้วยยีสต์ที่ระดับอื่น ๆ

Martin และคณะ (1993) ทดลองใช้ *C. utilis* ATCC 9950 ทดแทนโปรตีนในปลาป่นในการเลี้ยงปลาเรนโบว์ เทร้า โดยทดแทนร้อยละ 0, 25และ 35 พบว่า ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนและองค์ประกอบอื่น ๆ เมื่อเลี้ยงปลาด้วยอาหารทดแทนปลาป่นด้วยยีสต์ร้อยละ 35 มีแนวโน้มที่ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบปลาที่ได้รับอาหารเสริมยีสต์ในระดับอื่น ๆ

Martin (1994) ทดลองเลี้ยงปลาเรนโบว์ เทร้า 2 สูตร คือ สูตรที่ไม่มีการเสริมยีสต์และสูตรที่มีการเสริมยีสต์ (*C. utilis* sp) ร้อยละ 20 ของน้ำหนักแห้ง พบว่า ปลายอมรับและกินอาหารได้มาก การเจริญเติบโตของปลาที่ได้รับอาหารทั้ง 2 สูตรไม่มีความแตกต่าง

กัน ซึ่งจากการทดลองนี้เป็นแนวทางหนึ่งในการใช้เซลล์ยีสต์ที่ผลิตเป็นโปรตีนเซลล์เดียวนำเป็นอาหารเสริมร่วมกับการใช้ปลาป่น

วัตถุประสงค์

1. คัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์ที่สามารถเจริญได้ดีในน้ำนึ่งปลาทูน่าหลังการแยกโปรตีนและไขมัน

2. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงยีสต์ที่คัดเลือกได้ในน้ำนึ่งปลาทูน่าหลังการแยกโปรตีนและไขมัน

3. ผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากน้ำนึ่งปลาทูน่าหลังการแยกโปรตีนและไขมัน

4. นำโปรตีนเซลล์เดียวที่ผลิตได้ไปใช้ประโยชน์ ในการเลี้ยงปลากดเหลือง

บทที่ 2

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. ปลากดเหลือง (*Mystus nemurus*)

นำมาจากสถานีพัฒนาประมงน้ำจืด กิ่งอำเภอคลองหอยโข่ง จ. สงขลา

4. อาหารเลี้ยงเชื้อและอาหารปลากดเหลือง (ภาคผนวก ก)

4.1 อาหารวุ้นเอียงเก็บยีสต์ (PDA)

4.2 อาหารเลี้ยงยีสต์เริ่มต้น (YM broth)

4.3 อาหารสำหรับเลี้ยงปลากดเหลือง

5. สารเคมี (ภาคผนวก ข)

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

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ที่ใช้เลี้ยงยีสต์

1.1 ฟลาสก์ ขนาด 250 และ 500 มิลลิลิตร

1.2 ปิเปต ขนาด 1, 5 และ 10 มิลลิลิตร

1.3 หลอดทดลองขนาด 12 x 100 มิลลิเมตร และ 16 x 150 มิลลิเมตร

1.4 กระบอกตวง ขนาด 100, 250 และ 500 มิลลิลเตร

1.5 ถังหมักขนาด 3 ลิตร (total volume) พร้อมระบบควบคุม ของบริษัท B. Braun Biotech International จำกัด

2. อุปกรณ์ที่ใช้ในการเลี้ยงปลา

2.1 ตู้ทดลอง ขนาด 46 x 50 x 47 เซนติเมตร ปิดตู้ทดลองด้วยผ้าพลาสติกสีทึบทั้ง 3 ด้าน เพื่อป้องกันการรบกวนในขณะทำการทดลอง วางแผนผังการจัดตู้ทดลองแบบสุ่มตลอด

2.2 เครื่องให้อากาศ สายยาง หัวทราย

2.3 เครื่องอัดเม็ดอาหารยี่ห้อ Kenwood electronic พร้อมหน้าแว่นขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2.0 มิลลิเมตร

2.4 เครื่องตรวจวัดอุณหภูมิของน้ำ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ ค่าความกระด้าง และค่าความเป็นด่างของน้ำ ยี่ห้อ YSI Model 57 oxygen meter ของบริษัทเทคนิคคอล ซายน์ แอนด์ เซอร์วิส จำกัด

3. อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์

3.1 สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer) Model U-2000 พร้อมเครื่องพิมพ์ของบริษัท Hitachi จำกัด

3.2 เครื่องวัดพีเอช (pH meter) Model 320 ของบริษัท Laboratory Equipment จำกัด

3.3 เครื่องหมุนเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิ Type SCR 20B ของบริษัท Hitachi Koki จำกัด

3.4 เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ ของบริษัท Lab-Line Instruments,Inc.

3.5 ตู้อบ (hot air oven) รุ่น 500 ของบริษัท Memmert GmbH Co.

3.6 เครื่องชั่งไฟฟ้าชนิด 4 ตำแหน่ง รุ่น 4210 P ของบริษัท Sartorius GmbH Gottingen

3.7 เครื่องทำให้แห้ง รุ่น Freezone 6 ของบริษัท Labcon co.

3.8 เครื่องวัดสี Juki รุ่น JP 7100F ของบริษัท Juki

วิธีการวิเคราะห์ (ภาคผนวก ข)

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 วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ (เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของแต่ละชุดการทดลอง) โดยวิธี Duncans New Multiple Range Test (DMRT) (ไพศาล เหล่าสุวรรณ, 2351)แต่ละชุดการทดลองโดยใช้โปรแกมคอมพิวเตอร์ IRRISTAT เวอร์ชัน 93

วิธีการ

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

การตกตะกอนโปรตีนออกจากน้ำนึ่งปลาทูน่า ปัจจัยที่ศึกษา 2 ปัจจัยคือ พีเอช และอุณหภูมิ

2.1 ปรับพีเอชในน้ำนึ่งปลาทูน่าด้วย 6 N HCl มี 3 ระดับ คือ 3.5, 4.0 และ 4.5

2.2 อุณหภูมิ ในการตกตะกอนโปรตีนมี 3 ระดับ คือ 100, 110 และ 121 องศาเซลเซียส โดยใช้เวลา 15 นาที

นำน้ำนึ่งปลาทูน่าที่ผ่านการแยกไขมันแล้ว (ข้อ1) ตกตะกอนโปรตีนโดยการปรับพีเอชและอุณหภูมิสภาวะต่าง ๆ นำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 7,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิห้อง วิเคราะห์โปรตีนในน้ำนึ่งปลาทูน่าก่อนและหลังการแยกโปรตีน โดยวางแผนการทดลองแบบแฟกทอเรียล (3x3) คัดเลือกชุดการทดลองที่ตกตะกอนโปรตีนสูงสุด เพื่อทำการทดลองต่อไป

3. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและทางกายภาพของน้ำนึ่งปลาทูน่าก่อนและหลังการแยกไขมันและโปรตีน

ก่อนเลี้ยงยีสต์นำน้ำนึ่งปลาทูน่าก่อนและหลังการแยกโปรตีนและไขมัน วัดค่าความขุ่นที่660 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 ที่บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อยีสต์เริ่มต้น 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 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง 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 เลี้ยงบนเครื่องเขย่ามีความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง ในการศึกษาแต่ละชุดการทดลองเก็บตัวอย่างที่เวลา 0, 6, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง นำมาวัดค่าพีเอช ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร น้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณโปรตีนในเซลล์ คัดเลือกชุดการทดลอง

ที่เหมาะสมที่สุด เพื่อใช้ศึกษาในขั้นต่อไป 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 แล้วหาน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณโปรตีนในเซลล์

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

8. การเตรียมเซลล์ยีสต์แห้งเพื่อนำไปใช้ประโยชน์

ทำการเลี้ยงยีสต์ที่คัดเลือกโดยใช้สารอาหารและในสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์ แล้วนำเซลล์มาหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 7,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที รินส่วนใสทิ้ง ล้างเซลล์ด้วยน้ำ หลังจากนั้นนำเซลล์ที่ได้อบแห้งในตู้อบ โดยใช้อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บดเป็นผงกรองโดยใช้ตะแกรงขนาด 40 เมช แล้วนำเซลล์ยีสต์แห้งที่ได้เก็บไว้เพื่อทำการทดลองต่อไป โดยวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณโปรตีน ไขมัน ความชื้น เถ้าและกรดอะมิโน

9. ศึกษาการใช้ยีสต์ทดแทนปลาป่นในอาหารเลี้ยงปลากดเหลือง

นำยีสต์แห้งที่ได้จากการทดลองไปใช้ประโยชน์เป็นแหล่งโปรตีนโดยใช้ทดแทนปลาป่นในสูตรอาหารสำหรับเลี้ยงปลากดเหลือง

9.1 ปลาที่ใช้ทดลอง

9.1.1 ใช้ปลากดเหลือง ขนาด 1 นิ้ว น้ำหนักเฉลี่ยประมาณ 0.6 กรัม จำนวน 225 ตัว

9.1.2 อัตราการปล่อย 25 ตัวต่อตู้ทดลอง

9.2 การเตรียมลูกปลาสำหรับทำการทดลอง

ลูกปลากดเหลืองที่ใช้ทดลองนำมาจากสถานีพัฒนาประมงน้ำจืด กิ่งอำเภอคลองหอยโข่ง จ.สงขลา ประมาณ 1,000 ตัว นำมาอนุบาลในถังไฟเบอร์กลาสขนาดความจุของน้ำ 2 ลูกบาศก์เมตร โดยใส่น้ำ 0.8 ลูกบาศก์เมตร เพื่อเป็นการปรับให้ลูกปลาคุ้นเคยกับสภาพการทดลองและอาหารทดลองเป็น เวลา 1 สัปดาห์ โดยให้อาหารวันละ 2 ครั้ง คือ ช่วงเช้า เวลา 09.30 น. และเย็นเวลา 16.30 น. อาหารที่ให้เป็นอาหารเม็ดแบบจม ซึ่งเตรียมขึ้นโดยใช้สูตรอาหารที่ใช้อ้างมาจาก วุฒิพร พรหมขุนทอง (2539) (ตารางภาคผนวกที่ ก1) ฝึกให้ปลากินอาหารทดลองเป็นเวลา 3 วัน

9.3 การเตรียมอาหารทดลอง

9.3.1 ในการทดลองนี้เตรียมอาหารทั้งหมด 3 สูตร ได้แก่

สูตรที่ 1 อาหารที่มีปลาป่นเป็นแหล่งของโปรตีนหลัก (กลุ่มควบคุม)

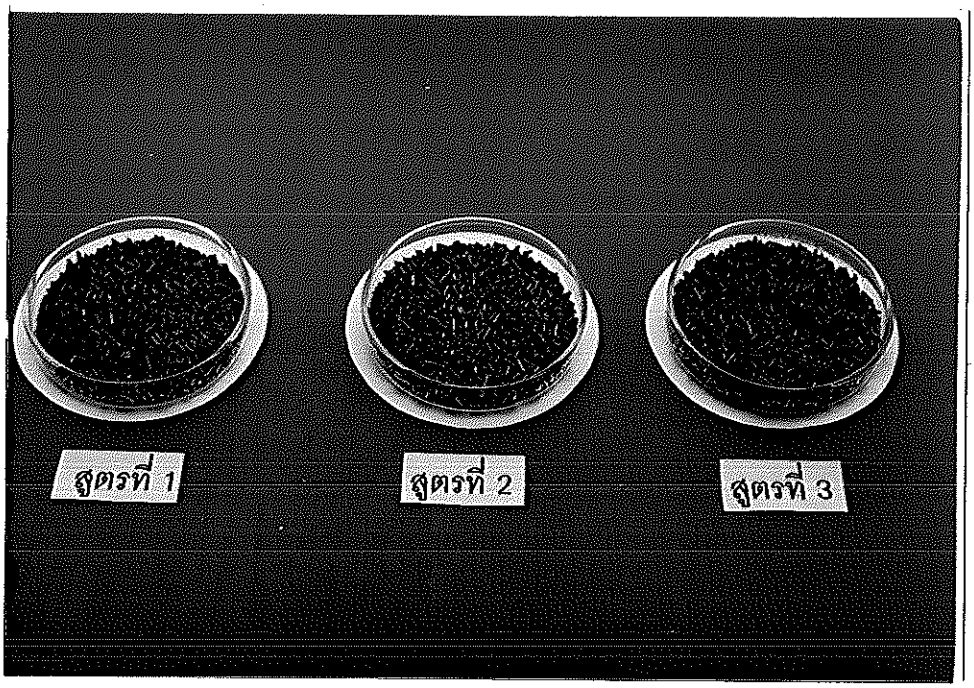
สูตรที่ 2 ยีสต์แห้งทดแทนปลาป่นร้อยละ 25

สูตรที่ 3 ยีสต์แห้งทดแทนปลาป่นร้อยละ 50

วิธีทำอาหารทดลองโดยการชั่งวัสดุอาหารแต่ละอย่าง ได้แก่ ปลาป่น ยีสต์ กากถั่วเหลือง รำละเอียด ปลายข้าว น้ำมันตับปลา เซลลูโลส วิตามินและแร่ธาตุ ตามสูตรในตารางภาคผนวกที่ ก1 ชั่งวิตามินและแร่ธาตุแต่ละตัวด้วยเครื่องชั่งละเอียด โดยมีปริมาณวิตามินและแร่ธาตุดังตารางภาคผนวกที่ ก2 และ ก3 จากนั้นนำวิตามินและแร่ธาตุมาบดให้ละเอียดผสมให้ทุกส่วนเข้ากันดี วิตามินที่ละลายน้ำจะต้องนำไปละลายน้ำก่อนแล้วค่อยผสมกับวัสดุอาหารชนิดอื่น ๆ ทำการผสมอาหารด้วยเครื่องผสมอาหาร โดยเติมน้ำ 300 มิลลิลิตร จนวัสดุอาหารผสมกันดีแล้ว นำไปเข้าเครื่องอัดเม็ดอาหารผ่านหน้าแว่นขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 มิลลิเมตร ตากอาหารโดยวางผึ่งลมไว้ประมาณ 12 ชั่วโมง เพื่อให้อาหารแห้งแล้วนำไปบรรจุในถุงพลาสติก แล้วเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

9.3.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

9.3.2.1 นำวัสดุอาหารที่ใช้ในการทำอาหารทดลอง ได้แก่ กากถั่วเหลือง รำละเอียด ปลายข้าว ปลาป่น และยีสต์ มาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีได้แก่ โปรตีน ไขมัน ความชื้น และเถ้า



รูปที่ 3 สูตรอาหารต่าง ๆ ที่ใช้เลี้ยงปลากดเหลือง

สูตรที่ 1 : มีปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนหลัก (ชุดควบคุม)

สูตรที่ 2 : ยีสต์แห้งทดแทนปลาป่นร้อยละ 25

สูตรที่ 3 : ยีสต์แห้งทดแทนปลาป่นร้อยละ 50

9.3.2.2 นำอาหารทดลองทุกสูตรมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีได้แก่ โปรตีน ไขมัน ความชื้น และเถ้า

9.3.2.3 นำปลาทั้งก่อนและหลังการทดลองมาวิเคราะห์ความชื้น และส่วนหนึ่งนำไปผ่านกระบวนการทำให้แห้งด้วยความเย็นโดยเครื่องทำแห้ง (Freeze dryer) เพื่อทำให้ปลาปราศจากความชื้น หลังจากนั้นก็นำไปวิเคราะห์หาปริมาณของ โปรตีน ไขมัน และเถ้า แล้วคำนวณหาเปอร์เซ็นต์คาร์โบไฮเดรทและพลังงานที่ย่อยได้ตามสูตรของ National Research Council (1983)

% คาร์โบไฮเดรท = 100 - (% โปรตีน + % ไขมัน + % เถ้า + % ความชื้น)

พลังงานที่ย่อยได้ = (%โปรตีน x 3.5) + (%ไขมัน x 8.10) + (% คาร์โบไฮเดรท x2.5)

9.4 การให้อาหารและการดูแล

9.4.1 การให้อาหารปลากดเหลืองให้อาหารวันละ 2 ครั้งคือช่วงเช้าเวลา 9.30 น. และเย็นเวลา 16.30 น.โดยให้ปลากินอาหารจนอิ่ม ดูดเศษตะกอนและเศษอาหารที่เหลือทุกวัน และเปลี่ยนถ่ายน้ำทุก ๆ วัน ประมาณ 3 ใน 4 ของตู้เลี้ยงปลา

9.4.2 การเตรียมน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงปลา โดยใช้น้ำประปาซึ่งนำมาพักไว้ในถังไฟเบอร์กลาสขนาด 2 ลูกบาศก์เมตร เป็นเวลา 3-4 วัน และให้อากาศตลอดเวลา

9.4.3 การตรวจสอบคุณภาพน้ำในตู้ทดลอง ระหว่างทำการทดลองทุก ๆ 2 สัปดาห์ ก่อนชั่งน้ำหนักปลา เก็บน้ำจากตู้ทดลองทุกตู้ปริมาณ 150 มิลลิลิตร นำไปวิเคราะห์ค่าความเป็นด่างของน้ำ ความกระด้างของน้ำ วัดอุณหภูมิของน้ำ วัดค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำ และ ค่าออกซิเจนที่ละลายน้ำ

9.5 การบันทึกผลการทดลอง

ชั่งน้ำหนักปลาทั้ง 9 ตู้ ทุก 2 สัปดาห์ โดยการชั่งน้ำหนักรวมของปลาแต่ละตู้ใช้เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง พร้อมทั้งสำรวจอัตราการรอดตายของปลาในแต่ละชุดการทดลองด้วย แล้วนำมาคิดค่าเฉลี่ยของปลาแต่ละตัว ในขณะเดียวกันสังเกตอาการและพฤติกรรมของปลาในแต่ละตู้ทุก ๆ วัน

9.6 การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่บันทึกเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ได้แก่ การเจริญเติบโต อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และอัตราการรอดตาย ไปวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) (ไพศาล เหล่าสุวรรณ, 2531) นำข้อมูลที่ได้ไปคำนวณหาน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และการใช้ประโยชน์จากโปรตีน จากสูตร

$$\text{น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักสุดท้าย - น้ำหนักเริ่มต้น}}{\text{น้ำหนักเริ่มต้น}} \times 100$$

$$\text{อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ} = \frac{\text{น้ำหนักอาหารที่ใช้ (กรัม)}}{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น (กรัม)}}$$

$$\text{อัตราการรอดตาย (\%)} = \frac{\text{จำนวนปลาที่เหลือ}}{\text{จำนวนปลาทั้งหมด}} \times 100$$

$$\text{อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (\%/วัน)} = \frac{(\ln\text{น้ำหนักสุดท้าย} - \ln\text{น้ำหนักเริ่มต้น}) \times 100}{\text{ระยะเวลาทดลอง(วัน)}}$$

$$\text{ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน} = \frac{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น (กรัม)}}{\text{น้ำหนักโปรตีนที่ปลากิน (กรัม)}}$$

$$\text{การใช้ประโยชน์จากโปรตีน} = \frac{\text{โปรตีนของตัวปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง - โปรตีนของตัวปลาเมื่อเริ่มทดลอง}}{\text{น้ำหนักโปรตีนที่ปลากินตลอดการทดลอง}} \times 100$$

9.7 ระยะเวลาทดลอง

เริ่มการทดลอง วันที่ 13 เมษายน 2540 สิ้นสุดการทดลองวันที่ 8 มิถุนายน 2540 รวมระยะเวลาในการทดลอง 8 สัปดาห์

9.8 สถานที่ทำการทดลองเลี้ยงปลา

โรงเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ, ศูนย์วิจัยสุขภาพสัตว์น้ำ ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่

บทที่ 3

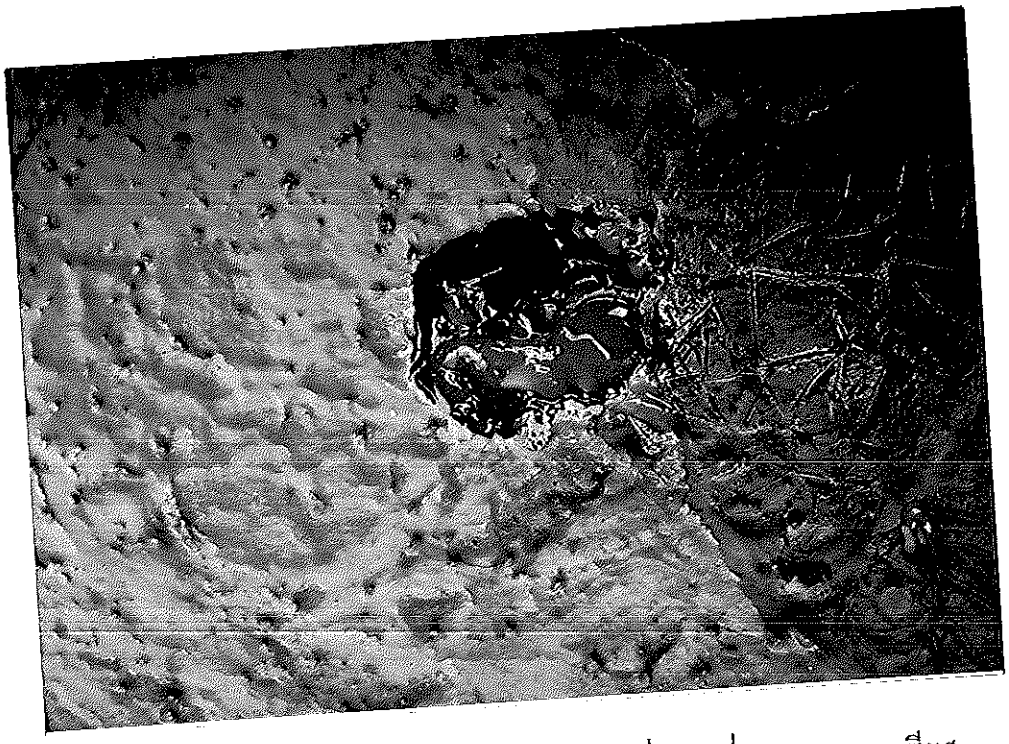
ผลและวิจารณ์

1. การแยกไขมันออกจากน้ำนึ่งปลาทูน่า

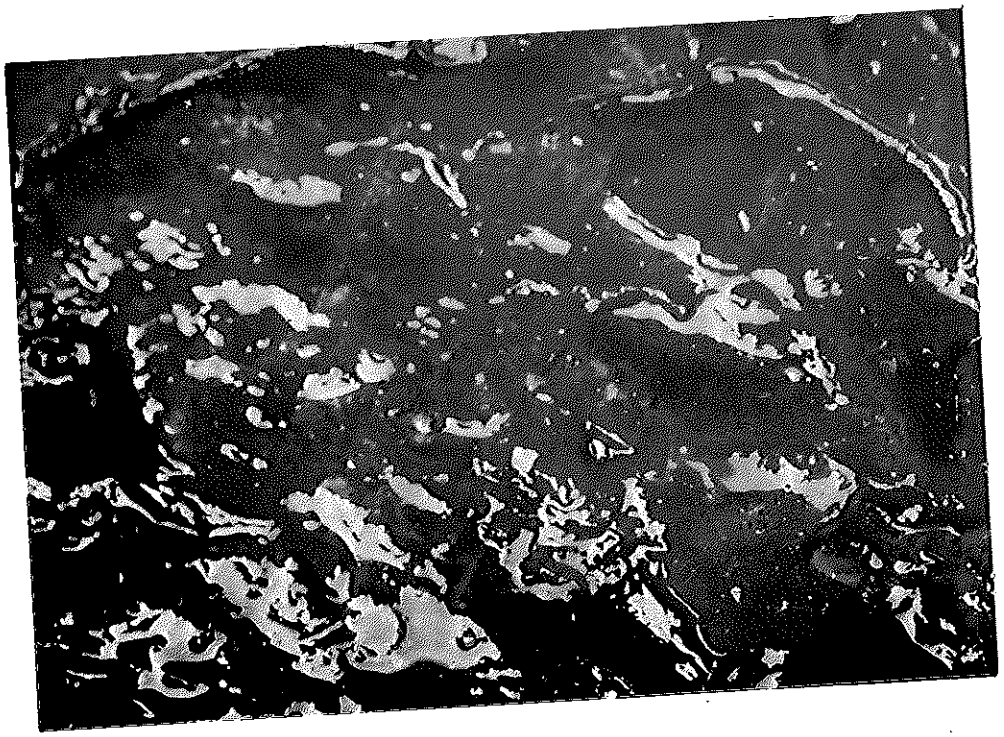
น้ำนึ่งปลาทูน่าก่อนการแยกไขมัน มีไขมันและกรีสอยู่เท่ากับ 1,890 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากนำน้ำนึ่งปลาทูน่ามาให้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียสเพื่อให้น้ำนึ่งปลาทูน่ารวมตัวเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วนำไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 คืน พบว่าชั้นไขมันลอยตัวทำให้สะดวกในการตักไขมันที่ผิวหน้าทิ้งไป ชั้นไขมันลอยอยู่ที่บริเวณผิวหน้า มีความหนาประมาณ 0.5 เซนติเมตร (รูปที่ 4) แล้วตักไขมันออก น้ำนึ่งปลาทูน่ายังคงมีลักษณะเป็นเจล (รูปที่ 5) ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 3-4 ชั่วโมง น้ำนึ่งปลาทูน่าจะกลับสู่สภาพเดิมคือมีลักษณะเป็นของเหลว น้ำนึ่งปลาทูน่าทั้งหมดที่ได้หลังการแยกไขมันออกแล้ว พบว่า มีไขมันและกรีสเหลืออยู่เท่ากับ 235 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางที่ 7) ผลจากการให้ความร้อน การทำให้ไขมันลอยตัวและตักไขมันที่ผิวหน้าทิ้งไป สามารถลดไขมันและกรีสได้ร้อยละ 87.57 นำน้ำนึ่งปลาทูน่าบรรจุขวดขนาด 2.5 ลิตร เก็บไว้ในห้องเย็น -20 องศาเซลเซียส เพื่อจะนำไปใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

2. การตกตะกอนโปรตีนออกจากน้ำนึ่งปลาทูน่า

นำน้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกไขมันออกแล้วมาตกตะกอนโปรตีน โดยใช้พีเอชและความร้อน ที่ระดับต่าง ๆ ลักษณะน้ำนึ่งปลาทูน่าก่อนการปรับพีเอช สีน้ำตาลค่อนมาทางเหลืองขุ่น มีกลิ่นเหม็นคาวของน้ำนึ่งปลา และมีไขมันบาง ๆ ลอยอยู่ที่ผิวหน้าน้ำนึ่งปลาทูน่าเมื่อใช้กรดไฮโดรคลอริก 6 นอร์มอล ปรับพีเอชในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่ผ่านการแยกไขมันมาก่อนให้ได้พีเอชที่ต้องการคือ 3.5, 4.0 และ 4.5 ตามลำดับ ลักษณะน้ำนึ่งปลาทูน่าหลังปรับพีเอชจะมีสีเหลืองขึ้น ขุ่นมากขึ้นจากนั้นนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100, 110 และ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาทีนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 7,000 รอบต่อนาที เป็น



รูปที่ 4 ไขมันบริเวณผิวหน้าของน้ำนึ่งปลาทูน่าเมื่อเก็บที่ 4 องศาเซลเซียส



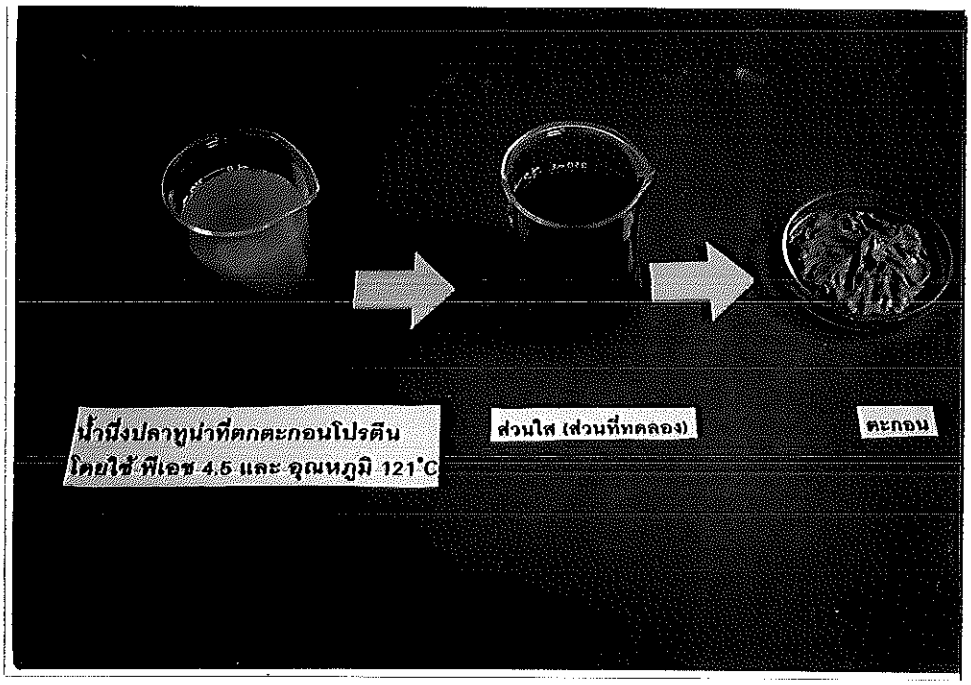
รูปที่ 5 น้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกไขมันออกแล้ว

เวลา 10 นาที ได้น้ำนึ่งปลาทูน่าที่ใส เมื่อเปรียบเทียบความใสและการลดลงของปริมาณโปรตีนในน้ำนึ่งปลา พบว่า การปรับพีเอช 4.5 และ ใช้อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จะมีค่าความขุ่นน้อยที่สุด (ตารางภาคผนวกที่ ค1) และสามารถลดปริมาณโปรตีนในได้มากที่สุด คือ ร้อยละ 12.96 (ตารางที่ 7) จากการทดลองของ Civit และคณะ (1982) แยกโปรตีนจากน้ำเลือดที่เป็นน้ำทิ้ง ปรับพีเอชในช่วง 5.6-5.9 และใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 75-80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที นำไปหมุนเหวี่ยง ปริมาณโปรตีนลดลงร้อยละ 90 ส่วน Marti และคณะ(1994) ได้ศึกษาการแยกโปรตีนจากน้ำทิ้งโรงงานปลาป่นโดยใช้การปรับพีเอชให้มีจุดไอโซอิเลกตริกเท่ากับ 4.3 และให้ความร้อนในการตกตะกอนโปรตนที่ 100 องศาเซลเซียส สามารถลดปริมาณโปรตีนได้ร้อยละ 30

ดังนั้นในการทดลองขั้นต่อไป จึงทำการตกตะกอนโปรตีนในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่พีเอช 4.5 และใช้อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที (รูปที่ 6) สำหรับตะกอนโปรตีนที่ตกตะกอนได้จากน้ำนึ่งปลาทูน่าหนึ่งลิตร จะได้ตะกอนแห้ง 6.37 กรัม เมื่อนำวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนได้ร้อยละ 9.74 และส่วนที่เหลืออาจจะเป็นพวกของแข็งทั้งหมด และสารอื่น ๆ

3.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 7) พบว่า มีค่าพีเอช 6.09 ค่าความขุ่น 2.23 ซีโอดี เท่ากับ 66,573 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งค่าที่ได้ใกล้เคียงกับผลการวิเคราะห์น้ำนึ่งปลาทูน่าจากโรงงานทรอปิคอลแคนนิ่ง จำกัด มีค่าพีเอชและซีโอดีเท่ากับ 6.05 และ 73,612 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (มาริสา จาตุพรพิพัฒน์, 2537) เมื่อ



รูปที่6 น้ำนึ่งปลาทูน่าที่ตกตะกอนโปรตีนที่พีเอช 4.5 และอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นำไปหมุนเหวี่ยง ได้ส่วนใส (ใช้ในการทดลอง) และ ตะกอน

ตารางที่ 7 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

วิเคราะห์ น้ำตาลรีดิวซ์ และน้ำตาลทั้งหมด มีค่าเท่ากับ 2,037 และ 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 ที่ได้แตกต่างจากผลการวิเคราะห์โดย 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 7) จากการศึกษาของ Civit และคณะ (1982) แยกโปรตีนและไขมันในน้ำเลือด ลดค่าซีโอดีลงร้อยละ 15 และค่าอื่น ๆ มีแนวโน้มลดลง

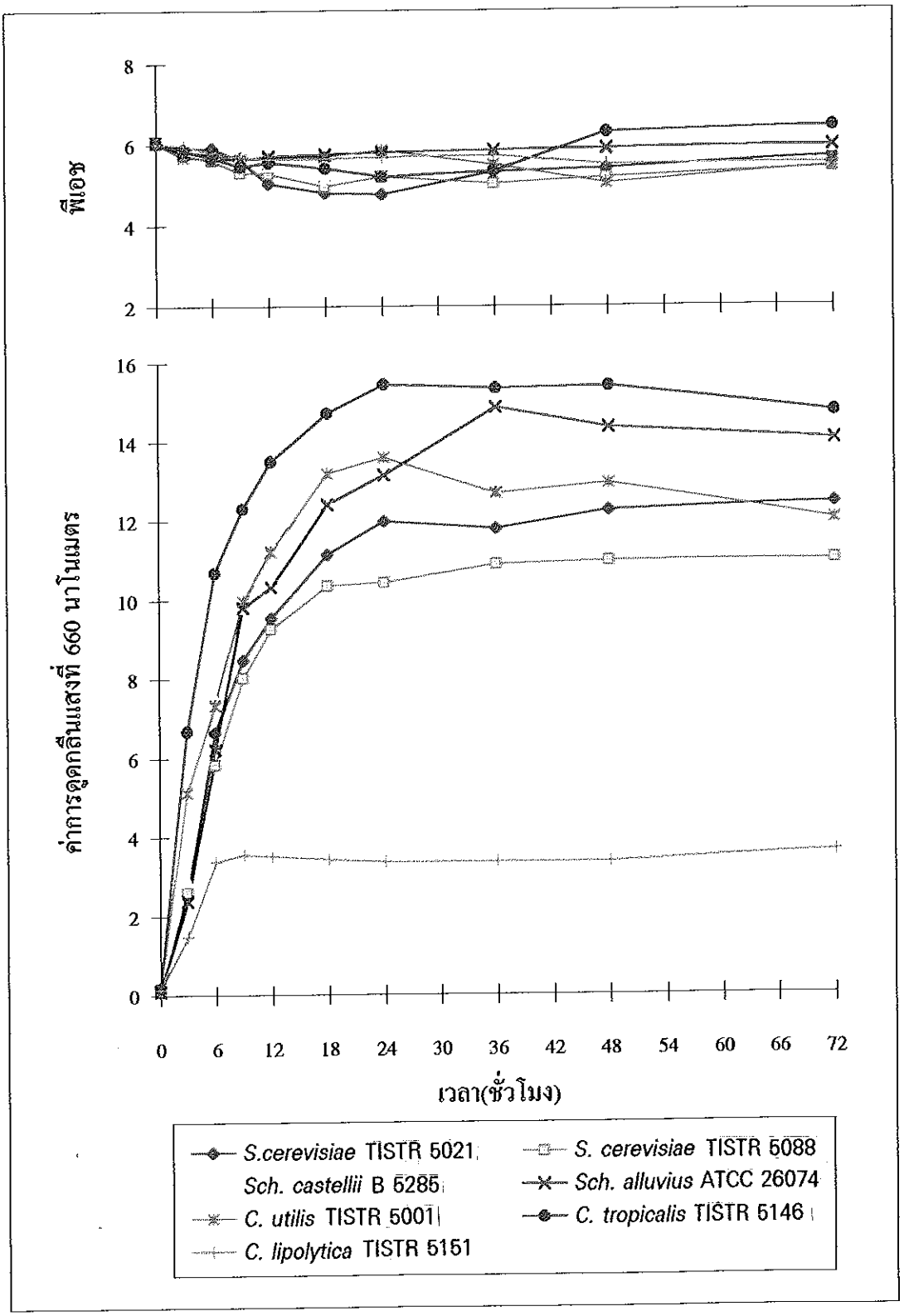
4. การเตรียมเชื้อยีสต์เริ่มต้น

จากการทดลองเลี้ยงยีสต์ 7 สายพันธุ์ ได้แก่ *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 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ YM broth ปริมาตร 50 มิลลิลิตร บรรจุฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร เขย่า 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ

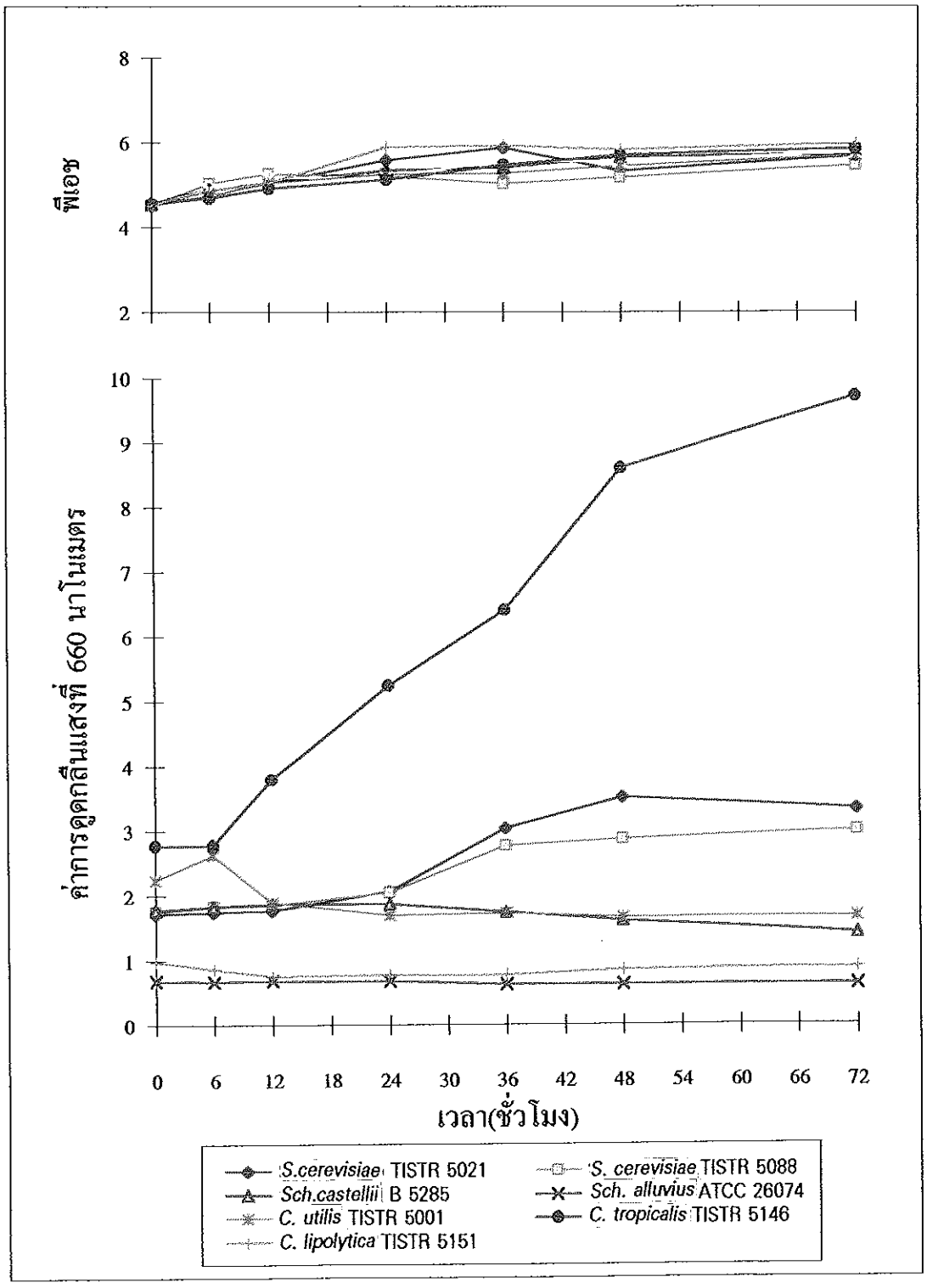
ห้อง เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ยีสต์ 7 สายพันธุ์มีการเจริญที่แตกต่างกันไป (รูปที่ 7)คือ ยีสต์ทุกสายพันธุ์เจริญเข้าสู่ระยะ stationary phase ในเวลา 24 ชม. โดย *C. tropicalis* TISTR 5146 เจริญสูงสุด วัดเป็นค่าการเจริญในรูปการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร เท่ากับ 15.30 การเปลี่ยนแปลงพีเอชอยู่ในช่วง 6.5-6.7 และ *C. lipolytica* TISTR 5151 เจริญได้ต่ำสุด วัดเป็นค่าการเจริญในรูปการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร เท่ากับ 3.50 มีการเปลี่ยนแปลงพีเอชลดลงอยู่ในช่วง 6.0 เป็น 5.8 ดังนั้นในการทดลองต่อไปจึงเตรียมหัวเชื้อยีสต์เริ่มต้นเมื่อเชื้อยีสต์อายุ 18 ชั่วโมง

5. 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 8) โดยมีค่าการเจริญในรูปการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร เท่ากับ 9.72 ในขณะที่ *S. cerevisiae* TISTR 5021, *S. cerevisiae* TISTR 5088 เจริญได้ปานกลาง ซึ่งมีค่าการเจริญในรูปการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร เท่ากับ 3.3 , 3.0 และ *C. utilis* TISTR 5001 *C. lipolytica* TISTR 5151และ *Sch. alluvius* ATCC 26074 เจริญได้ต่ำ มีค่าการเจริญในรูปการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร เท่ากับ 1.67 , 0.88 และ 0.62 ตามลำดับ พบว่า *C. tropicalis* TISTR 5146 มีอัตราการเจริญจำเพาะ 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 8) 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



รูปที่7 การเจริญของยีสต์ 7 สายพันธุ์ในอาหาร YM broth (เลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง)



รูปที่ 8 การเจริญของยีสต์ 7 สายพันธุ์ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกโปรตีนและไขมัน พีเอชเริ่มต้น 4.5 (เลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง

ตารางที่ 8 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

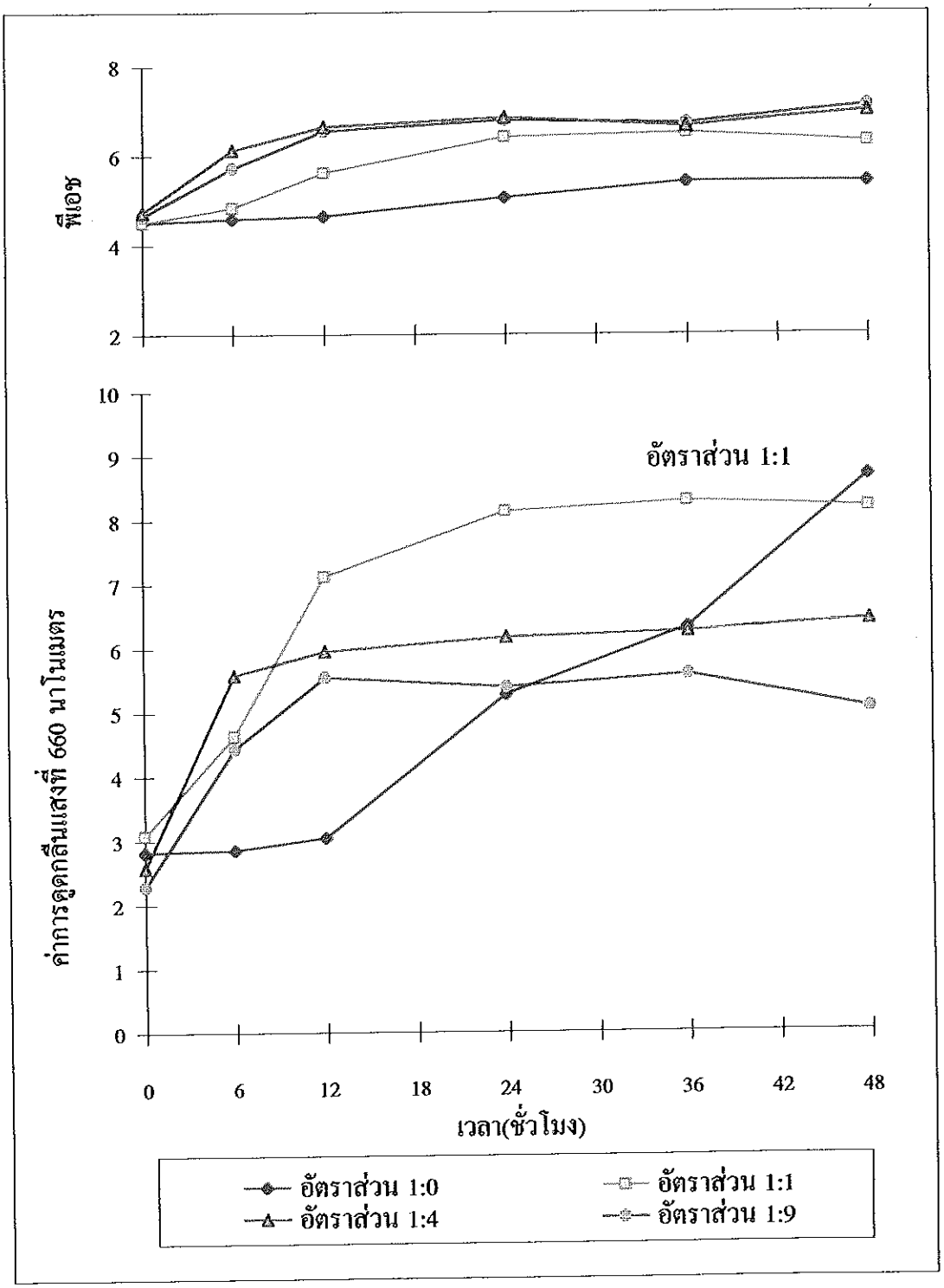
6. สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์ในฟลาสก์บนเครื่องเขย่า

6.1 ผลของการเจือจางน้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกโปรตีนและไขมันด้วยน้ำกลั่น

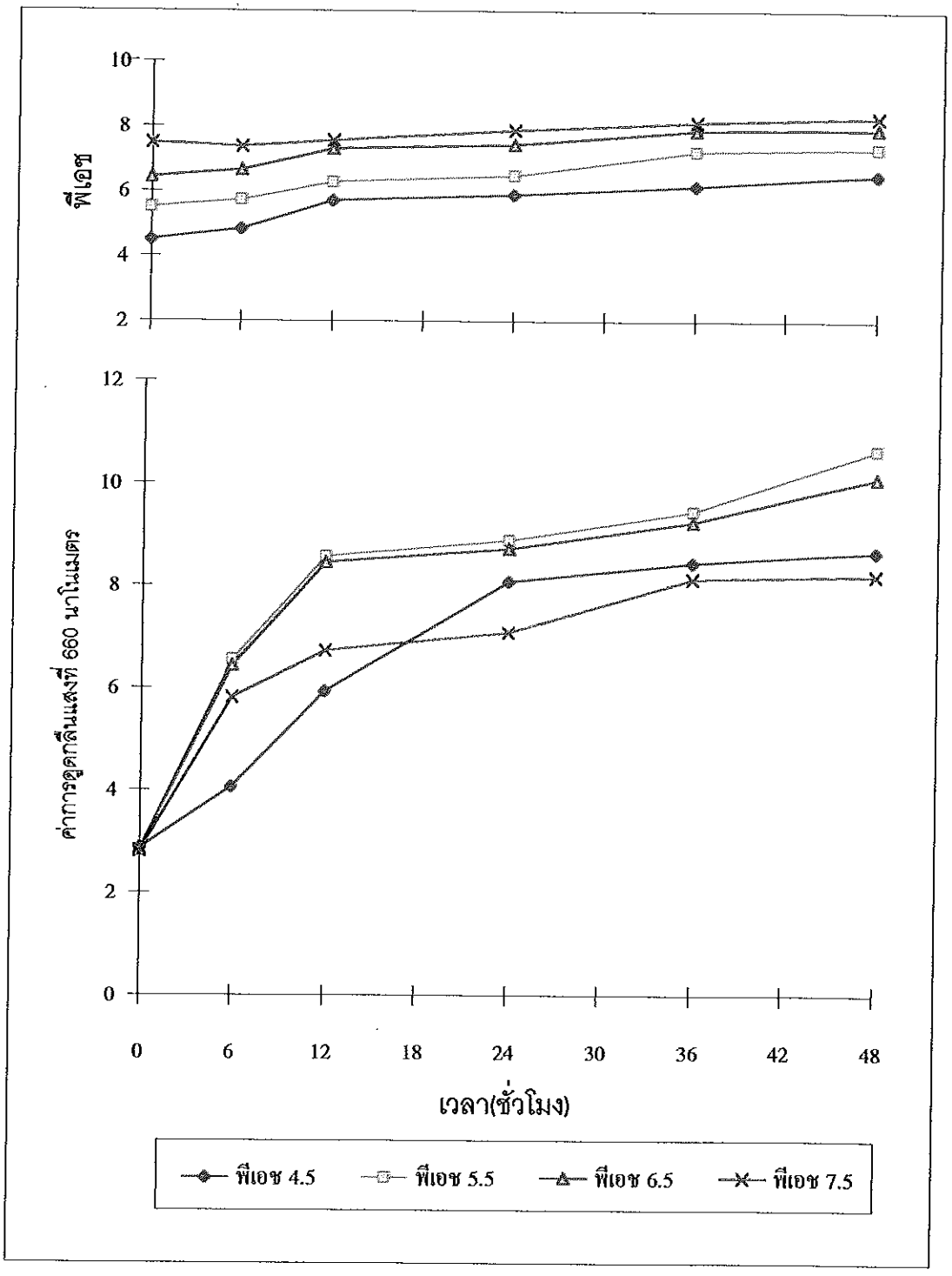
ผลของการเลี้ยงเชื้อ *C. tropicalis* TISTR 5146 ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกโปรตีนและไขมันที่เจือจางด้วยน้ำอัตราส่วน 1:0, 1:1, 1:4 และ 1:9 ตามลำดับ พีเอชเริ่มต้น 4.5 บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แสดงดังรูปที่ 9 พบว่า ยีสต์ *C. tropicalis* TISTR 5146 เจริญได้ดีที่สุดเมื่อเลี้ยงในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 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

6.2 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 10) Lemmel และคณะ (1979) พบว่า ยีสต์โดยทั่วไปสามารถเจริญได้ดีช่วงพีเอช 4.5-6.5 และ Lee (1993) พบว่า *C. tropicalis* F 129 ที่เลี้ยงในอาหาร



รูปที่ 9 การเจริญของ *Candida tropicalis* TISTR 5146 ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วนต่าง ๆ กัน พีเอชเริ่มต้น 4.5 (เลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง)

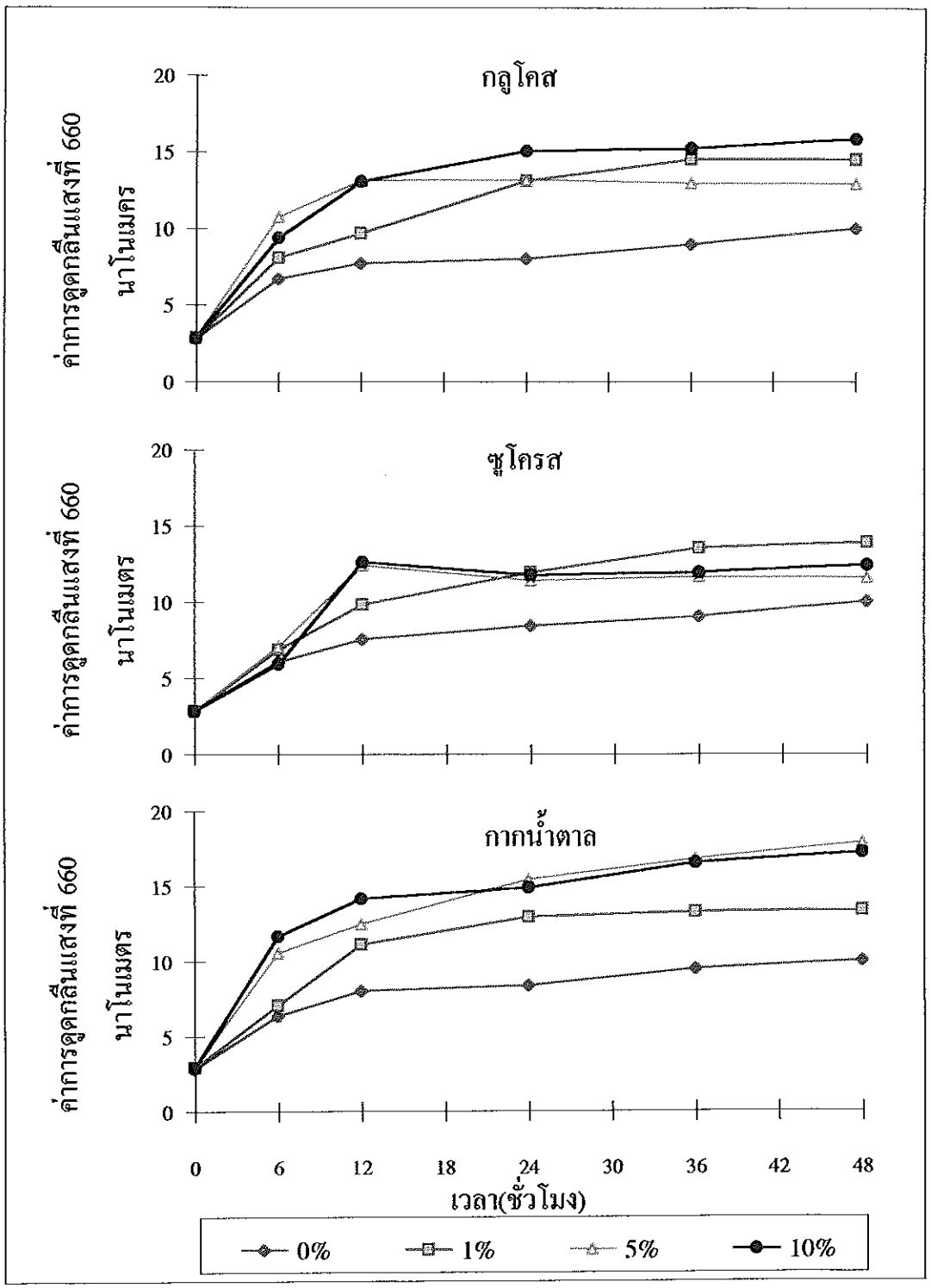


รูปที่ 10 ผลของพีเอชเริ่มต้นต่อการเจริญของ *Candida tropicalis* TISTR 5146 ในน้ำนึ่งปลาทูน่าเจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1 (เลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง)

เลี้ยงเชื้อที่เติมน้ำมันปาล์มร้อยละ 2 เจริญได้ดีที่พีเอช 5.5- 6.0 ดังนั้นในการทดลองขั้นต่อไปจึงปรับพีเอชเริ่มต้นของ น้ำนึ่งปลาทูน่าเป็น 5.5

6.3 ผลของชนิดและปริมาณแหล่งคาร์บอน

ในการศึกษาเปรียบเทียบผลของแหล่งคาร์บอน 3 ชนิด คือ กลูโคส ซูโครส และกากน้ำตาล 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 11) และการเปลี่ยนแปลงพีเอชอยู่ในช่วง 5.5-6.3 เมื่อเปรียบเทียบความเข้มข้นของกลูโคสที่ระดับ 1, 5 และ 10 กับชุดควบคุม พบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ดังตารางภาคผนวกที่ ค4 เมื่อเติมซูโครสที่ระดับความเข้มข้น 1, 5 และ 10 ในน้ำนึ่งปลาทูน่า พบว่าเติมซูโครสร้อยละ1 ยีสต์ *C. tropicalis* TISTR 5146 เจริญได้ดีที่สุด วัดค่าการเจริญในรูปการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร เท่ากับ 13.95 (รูปที่ 11) มีการเปลี่ยนแปลงพีเอชอยู่ในช่วง 5.5-7.29 เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นของซูโครสที่ระดับ 1, 5 และ 10 กับชุดควบคุม พบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ดังตารางภาคผนวกที่ ค5 สำหรับกากน้ำตาลเมื่อเติมในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่ระดับความเข้มข้น 1, 5 และ 10 พบว่ายีสต์ *C. tropicalis* TISTR 5146 เจริญได้ดีที่สุดเมื่อเติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 วัดค่าการเจริญในรูปการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตรเท่ากับ 17.91 (รูปที่ 11) มีการเปลี่ยนแปลงพีเอชอยู่ในช่วง 5.5-6.3 เมื่อเปรียบเทียบชนิดและปริมาณน้ำตาลที่เติม พบว่าการเติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 จะให้ผลการทดลองดีกว่าการเติมกลูโคสและซูโครสที่ระดับต่าง ๆ ดังตารางภาคผนวกที่ ค8 กากน้ำตาลนอกจากจะประกอบด้วยแหล่งคาร์บอนแล้วยังมีวิตามินที่จำเป็นต่อการเจริญของยีสต์ เช่น ไบโอติน อินโนซิทอล เป็นต้น (จุฑามาศ บุญมาแย้ม, 2539)



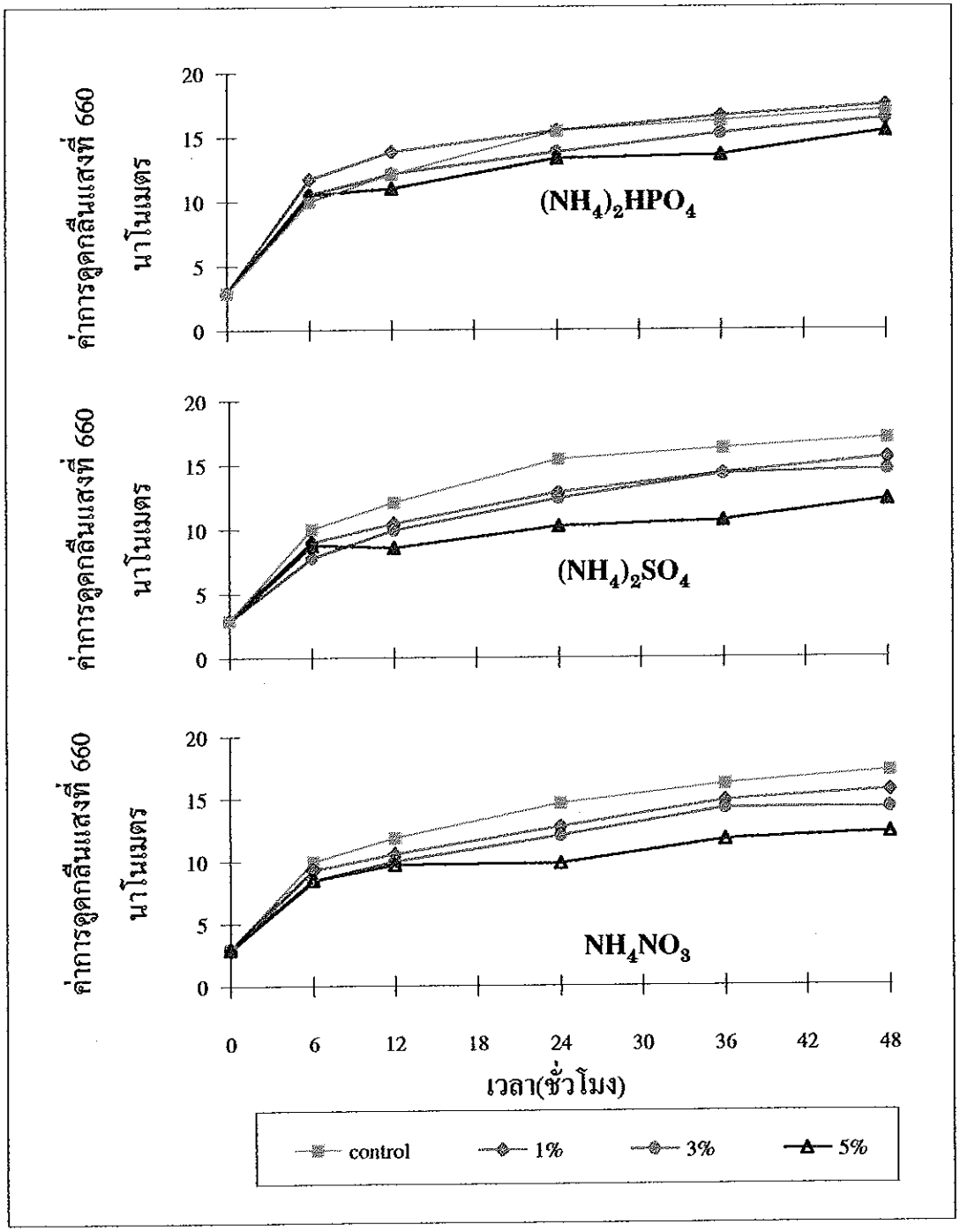
รูปที่ 11 ผลของแหล่งคาร์บอนต่อการเจริญของ *Candida tropicalis* TISTR 5146 ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นอัตราส่วน 1:1 พีเอชเริ่มต้น 6.5 (เลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง)

ซึ่งมีผลช่วยให้ยีสต์เจริญได้มากขึ้น จากการทดลองของ ปราโมทย์ ศิริโรจน์ (2522) ยีสต์ *C. utilis* NRRL-Y 900 เจริญได้ดีเมื่อเติมกากน้ำตาลร้อยละ 12 เป็นแหล่งคาร์บอน มีค่าการเจริญในรูปการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตรเท่ากับ 8.75 ดังนั้นในการทดลองขั้นต่อไปจะเติมกากน้ำตาลปริมาณร้อยละ 5 เป็นแหล่งคาร์บอน

6.4 ผลของชนิดและปริมาณไนโตรเจน

ผลของแหล่งไนโตรเจนอนินทรีย์ ในการศึกษาเปรียบเทียบผลของแหล่งไนโตรเจนอนินทรีย์ 3 ชนิด คือ ไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟท แอมโมเนียมซัลเฟท และแอมโมเนียมไนเตรท เติมลงในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกโปรตีนและไขมันเจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1 เติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 ปรับพีเอช 5.5 เลี้ยงบนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง (รูปที่ 12) พบว่าการเติมแหล่งไนโตรเจนอนินทรีย์ต่าง ๆ ทำให้เชื้อ *C. tropicalis* TISTR 5146 เจริญได้น้อยกว่าชุดควบคุม ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางภาคผนวกที่ 10, 11 และ 12) แสดงว่าในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกโปรตีนและไขมันมีปริมาณไนโตรเจนอยู่เพียงพอต่อการเจริญของ *C. tropicalis* TISTR 5146 นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อเติมแหล่งไนโตรเจนอนินทรีย์ที่ระดับความเข้มข้น ร้อยละ 5 การเจริญของเชื้อจะต่ำที่สุด ดังนั้นการเติมแหล่งไนโตรเจนอนินทรีย์ปริมาณมากยังมีผลไปยับยั้งการเจริญของ *C. tropicalis* TISTR 5146 ได้ Hill และ Thommel (1982) พบว่าการเติมแอมโมเนียมที่มากเกินพอลงไปในอาหารที่เลี้ยงยีสต์ที่ใช้กากน้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอนมีผลทำให้ปริมาณโปรตีนของเซลล์ลดลงเนื่องจากแอมโมเนียมไปยับยั้งการใช้กรดอะมิโนในกากน้ำตาล ดังนั้นในการทดลองขั้นต่อไปจึงไม่ได้เติมแหล่งไนโตรเจนอนินทรีย์ลงไปในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกโปรตีนและไขมัน

ผลของยีสต์สกัด ผลการศึกษาการเติมยีสต์สกัดซึ่งมีไนโตรเจนอินทรีย์ วิตามินและแหล่งแร่ธาตุที่จำเป็นต่อการเจริญของยีสต์ลงไปในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกโปรตีนและไขมัน เจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1 เติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 พีเอชเริ่มต้น 5.5 เลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง พบว่าการเติมยีสต์สกัดร้อยละ 0.1 และ 0.5 จะให้ผลการเจริญของ *C. tropicalis* TISTR 5146 ไม่แตกต่างกับชุดควบ



รูปที่ 12 ผลของแหล่งไนโตรเจนอนินทรีย์ต่อการเจริญของ *C. tropicalis* TISTR 5146 ใน น้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่น 1:1 มีกากน้ำตาลร้อยละ 5 พีเอชเริ่มต้น 5.5 (เลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง)

คุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) แต่เมื่อเติมยีสต์สกัดร้อยละ 1 ยีสต์ *C. tropicalis* TISTR 5146 จะเจริญได้ดีกว่าและมีความแตกต่างกับชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) การเปลี่ยนแปลงพีเอชอยู่ในช่วง 5.5-6.11 ดังรูปที่ 13 อย่างไรก็ตามการเติมยีสต์สกัดร้อยละ 1 แม้จะทำให้ยีสต์เจริญได้ดี แต่หากนำไปใช้ในการผลิตในอุตสาหกรรมก็จะทำให้ต้นทุนการผลิตสูงได้ ดังนั้นจึงไม่ได้เติมยีสต์สกัดลงไปในน้ำนึ่งปลาทูน่าเพื่อเลี้ยง *C. tropicalis* TISTR 5146 ในการทดลองต่อ ๆ ไป

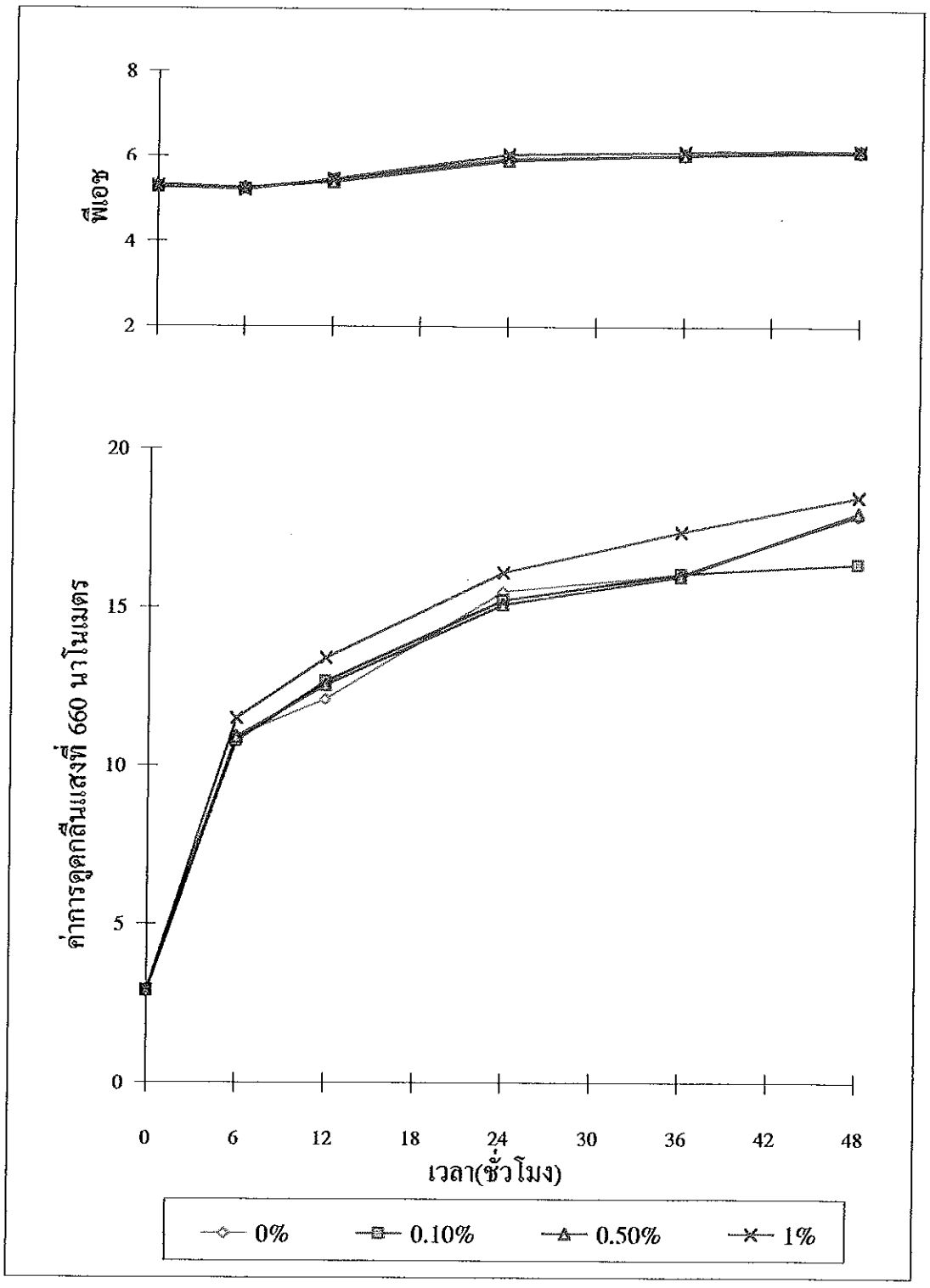
การเจริญของยีสต์ *C. tropicalis* TISTR 5146 ในสภาวะที่เหมาะสม เมื่อเลี้ยงยีสต์ *C. tropicalis* TISTR 5146 ในฟลาสก์ 250 มิลลิลิตร ที่บรรจุอาหาร 50 มิลลิลิตร โดยอาหารประกอบด้วย น้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกโปรตีนและไขมันที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1 เติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 พีเอชเริ่มต้น 5.5 พบว่า *C. tropicalis* 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 14) สามารถลดค่าซีโอดี น้ำมันและกรีส น้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์ และโปรตีนในน้ำนึ่งปลาทูน่า ได้ร้อยละ 57.18, 76.71 , 93.12, 88.75 และ 33.33 ตามลำดับ (ตารางที่ 9)

7. สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์ในถังหมัก

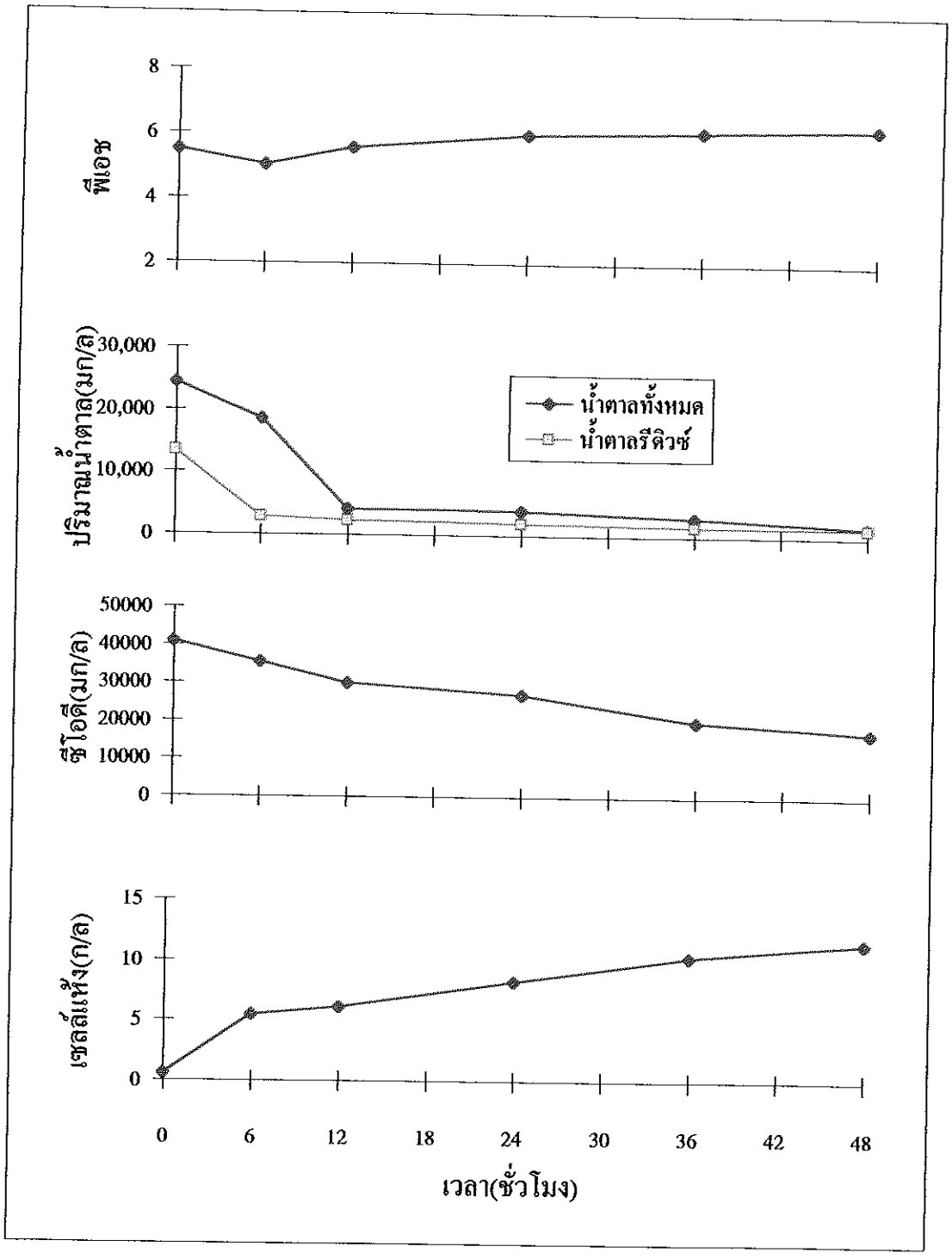
หลังจากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์ *C. tropicalis* TISTR 5146 โดยการเลี้ยงในฟลาสก์บนเครื่องเขย่า แล้วจึงได้ทดลองเลี้ยงยีสต์ในปริมาณที่มากขึ้นขึ้น ในถังหมักซึ่งในการหมักใช้ถังหมักขนาด 3 ลิตร ใช้ปริมาตรในการหมัก 1.5 ลิตร โดยอาหารเลี้ยงยีสต์ประกอบด้วย น้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกโปรตีนและไขมันที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตรา ส่วน 1:1 เติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 พีเอชเริ่มต้น 5.5

7.1 ผลของการให้อากาศ

เมื่อเลี้ยง *C. tropicalis* TISTR 5146 ในถังหมักให้อัตราเร็วในการกวน 400 รอบต่อ



รูปที่ 13 ผลของยีสต์สกัดต่อการเจริญของ *Candida tropicalis* TISTR 5146 ในน้ำนึ่งปลาทูน่า ปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่น 1:1 เติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 พีเอชเริ่มต้นที่ 5.5 (เลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง)

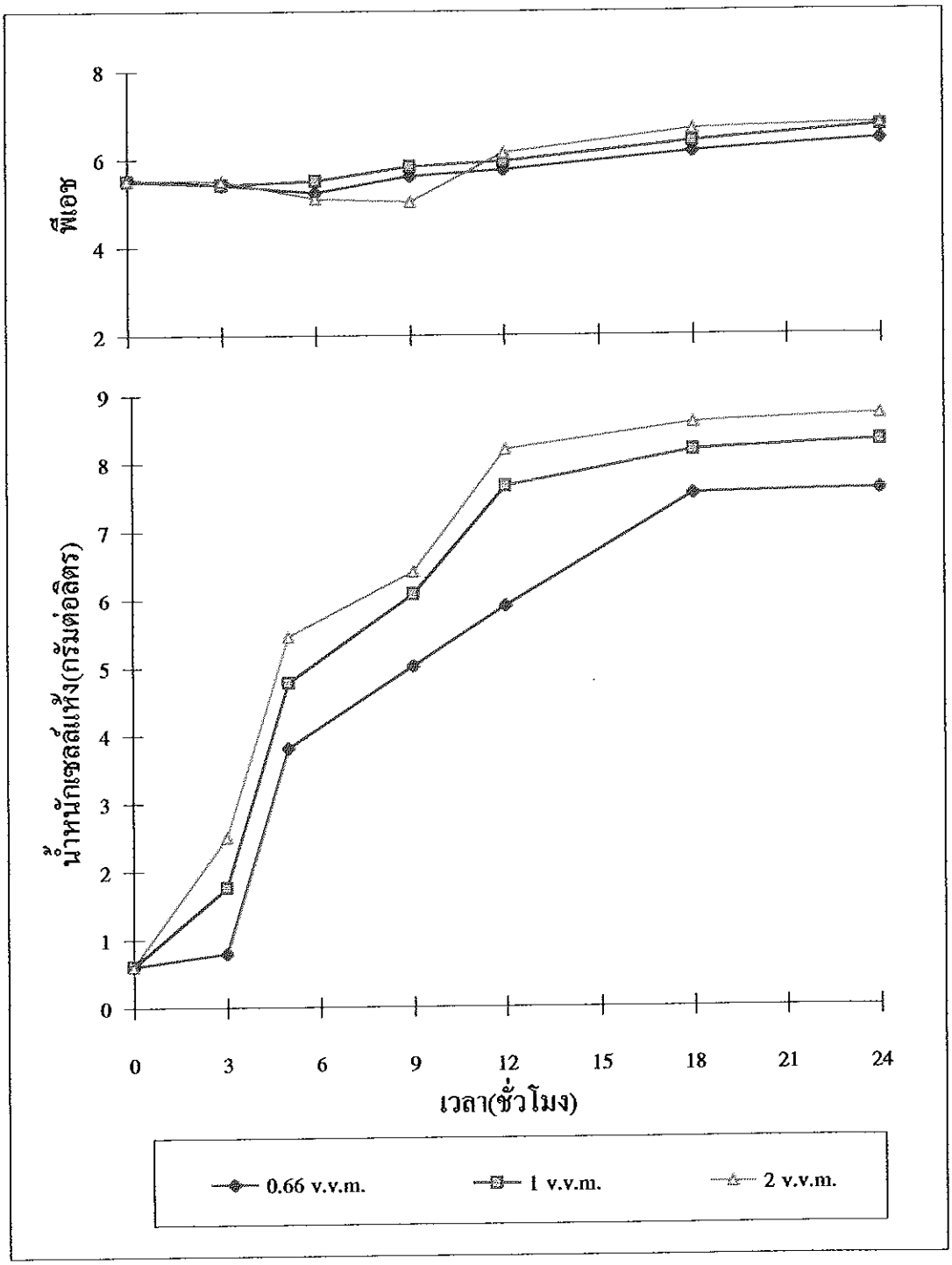


รูปที่ 14 การเปลี่ยนแปลงพีเอช น้ำหนักเซลล์แห้ง และการใช้สารอาหารของ *Candida tropicalis* TISTR 5146 ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่น 1:1 เติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 พีเอชเริ่มต้นที่ 5.5 (เลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง)

ตารางที่ 9 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

นาที 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 ส่วนการเปลี่ยนแปลงพีเอชในระหว่างการหมักอยู่ในช่วง 5.5-6.45 ซึ่งการเปลี่ยนแปลงพีเอชจะเพิ่มขึ้นในทิศทางเดียวกันทั้งหมดทุกชุดการทดลอง (รูปที่ 15) ส่วนการให้อากาศ 0.66 และ1.00 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที มีอัตราการเจริญจำเพาะ สูงสุดเท่ากับ 0.25 และ 0.33 ต่อชั่วโมง ตามลำดับ และยีสต์มีการเจริญได้น้อยกว่าการให้อากาศที่ 2.00 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที เมื่อเปรียบเทียบการเจริญของยีสต์ โดยให้อากาศที่ 0.66 , 1.00 และ 2.00 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที พบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ดังตารางภาคผนวกที่ ค14 เนื่องจากการให้อากาศนั้นต้องมีการผสมเป็นอย่างดีระหว่างเชื้อและสารอาหารรวมทั้งออกซิเจนกระจายสม่ำเสมอ และการเพิ่มออกซิเจนควรทำให้เหมาะสม ถ้ามากเกินไปจะทำให้ยีสต์มีการหายใจเพิ่มขึ้นได้ความร้อนออกมาซึ่งอาจจะมีผลทำให้ได้เซลล์ลดลง(สุมาลี เหลืองสกุล , 2527) และเมื่อให้อากาศ 2.00 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที ยีสต์สามารถใช้ออกซิเจนจากฟองอากาศโดยที่อัตราการละลายของออกซิเจนจากฟองอากาศเพียงพอหรือมากกว่าอัตราการใช้ออกซิเจนของยีสต์ในขณะที่มีการเจริญ ทำให้อัตราการเจริญถึงระดับสูงสุด 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 ปริมาณโปรตีน ร้อยละ 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 ปริมาตรอากาศต่อ

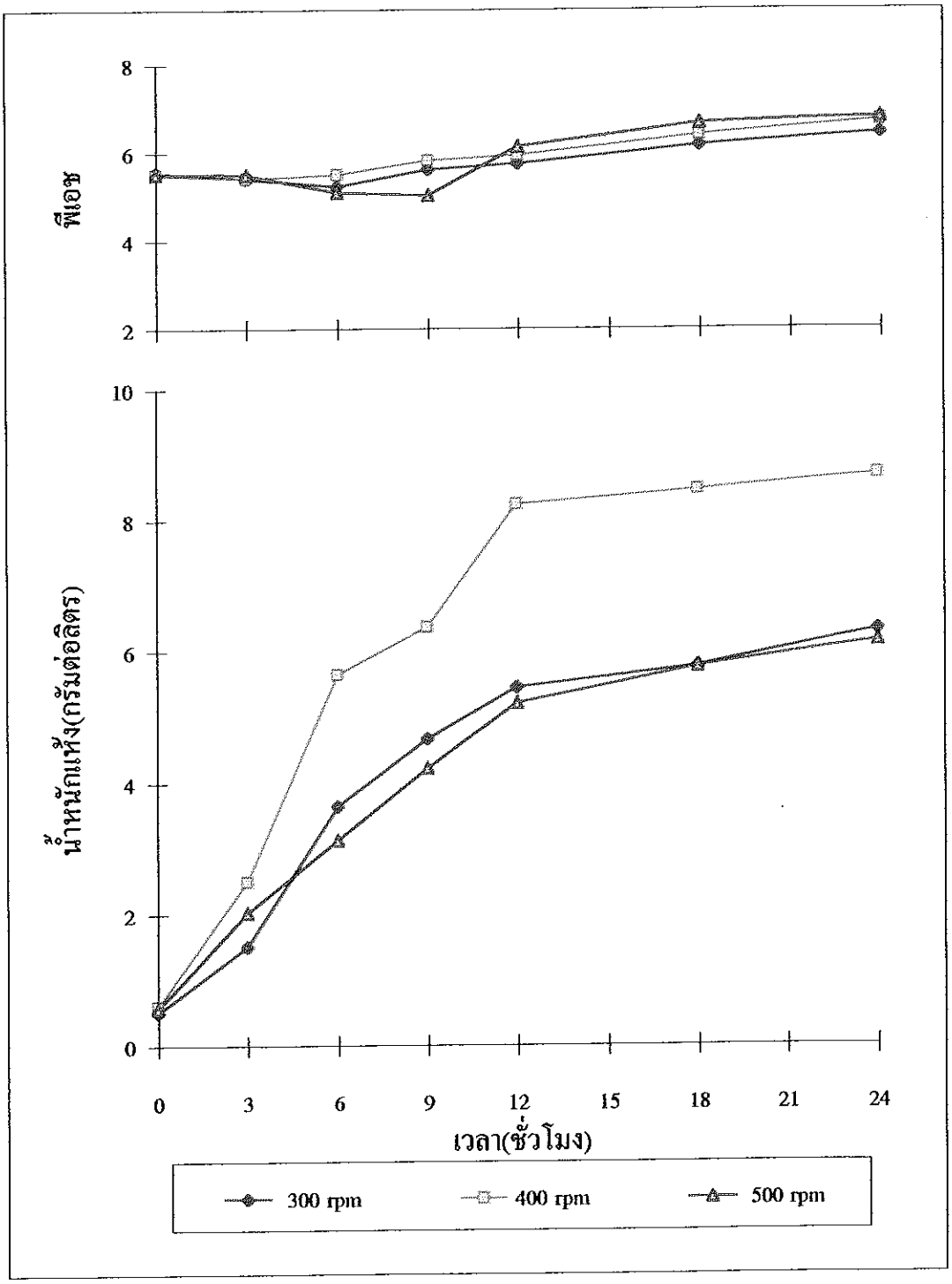


รูปที่ 15 ผลของการให้อากาศต่อการเจริญของ *Candida tropicalis* TISTR 5146 (ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1 เติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 พีเอชเริ่มต้น 5.5 ในถังหมักที่มีอัตราเร็วการกวน 400 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส)

ปริมาตรอาหารต่อนาที ได้น้ำหนักเซลล์แห้ง 3.4 กรัมต่อลิตร ที่เวลา 72 ชั่วโมง (ทิพรัตน์ หงภัทรคีรี, 2534) Martin (1993) เลี้ยง *C. utilis* ATCC 9950 ในอาหารที่มียีสต์สกัดเป็นองค์ประกอบหลัก ใช้ถังหมักขนาด 14 ลิตร ใช้ปริมาณอาหาร 9 ลิตร ให้อากาศ 1.6 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที ที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส ได้น้ำหนักเซลล์แห้งทั้งหมด 142.5 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

7.2 ผลของอัตราเร็วของใบพัดกวน

การเลี้ยงยีสต์ในถังหมักโดยให้อากาศ 2 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที ที่อัตราเร็วในการกวน 300, 400 และ 500 รอบต่อนาที โดยใช้ระยะเวลาในการหมัก 24 ชั่วโมง ผลดังในรูปที่ 16 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 ออกซิเจน และยีสต์คลุกเคล้าได้ทั่วตลอดถังหมักก็ตาม แต่สิ่งที่ต้องคำนึงถึงยีสต์มีการเพิ่มปริมาณเซลล์อยู่ตลอดเวลาของการหมัก การกวนด้วยความเร็วรอบสูง ๆ อาจจะทำให้เซลล์ยีสต์ที่มีการแตกหน่อจะถูกดึงให้แยกออกจากยีสต์ตัวแม่ (mother cell) ด้วยแรงของการกวนทำให้เซลล์บาดเจ็บและตายได้ อาจส่งผลทำให้อัตราการเจริญของยีสต์ต่ำลงได้ (ปรียา วิบูลย์เศรษฐ์, 2525) ในกรณีที่ความเร็วรอบของการกวนเป็นไปอย่างช้า ๆ จะทำให้ออกซิเจนจากฟองอากาศละลายในอาหารได้น้อย เซลล์ของยีสต์เกาะกันเป็นกลุ่มทำให้เซลล์ที่อยู่ภายในกลุ่มได้รับออกซิเจนและอากาศน้อยจึงมีอัตราการเจริญไม่เต็มที่ จากการทดลองนี้

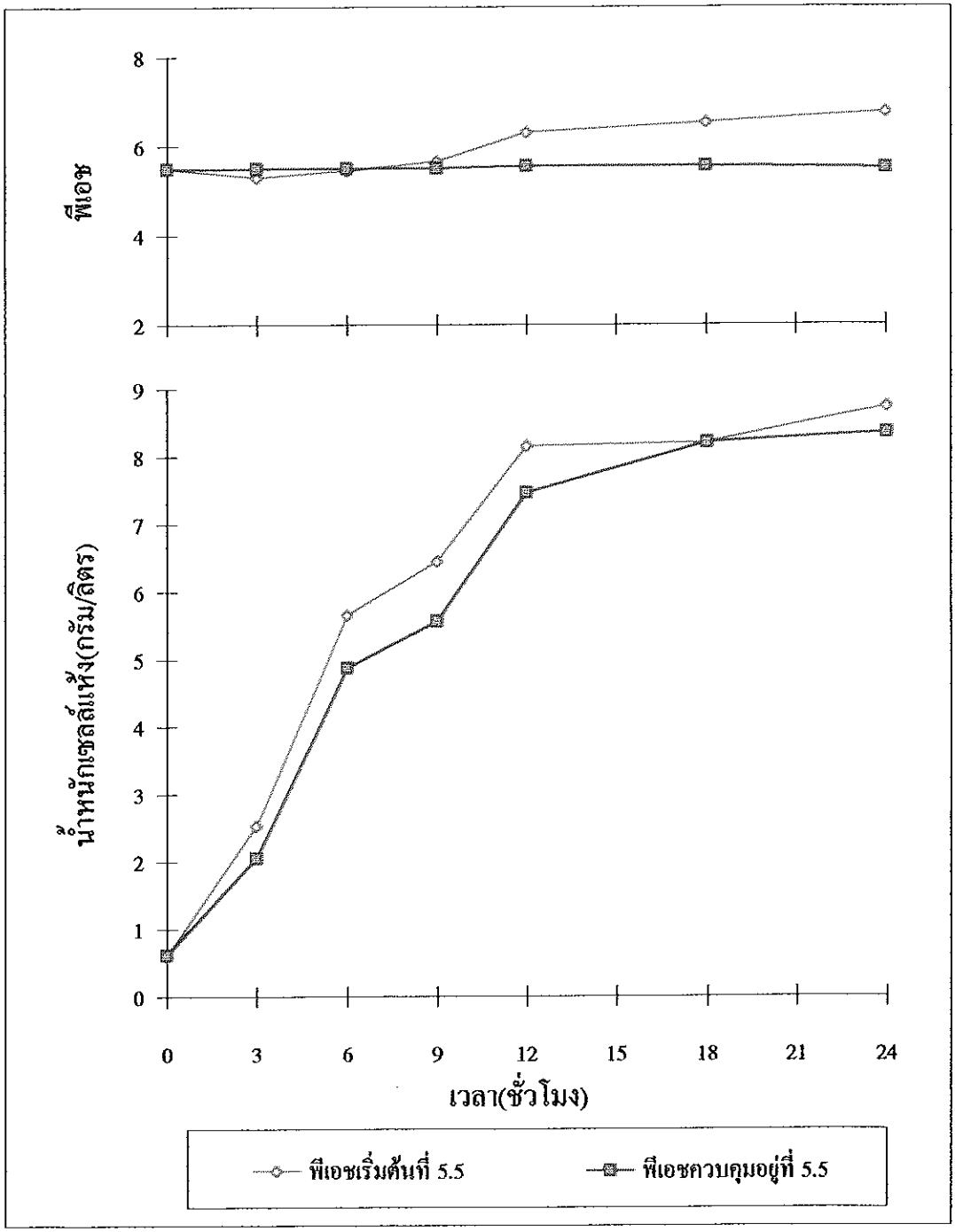


รูปที่ 16 ผลของอัตราเร็วการกวนต่อการเจริญของ *Candida tropicalis* TISTR 5146 (ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1เติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 พีเอชเริ่มต้น 5.5 ในถังหมักที่ให้อากาศ 2.00 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส)

จะเห็นได้ว่าเมื่อใช้ความเร็วในการกวน 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

7.3 ผลของพีเอชในระหว่างการหมัก

เมื่อเปรียบเทียบการเลี้ยงเชื้อยีสต์ *C. tropicalis* TISTR 5146 ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกโปรตีนและไขมันที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1 เติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 ในสภาพที่มีการควบคุมพีเอชอยู่ที่ 5.5 ตลอดการทดลองกับชุดที่ไม่มีการควบคุมพีเอช พบว่า การควบคุมพีเอชจะให้ผลการเจริญของยีสต์ได้น้อยกว่าชุดที่ไม่ควบคุมพีเอช (รูปที่ 17) 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 โดยมีความแตกต่างอย่างมีมีนัยสำคัญทางสถิติ($p<0.05$) ดังตารางภาคผนวกที่ ค16 ทิพรัตน์ หงภัทรคีรี (2534) เลี้ยง *Sch. castellii* B 5285 ในอาหารเหลวซึ่งประกอบด้วยแป้งมันสำปะหลัง 20 กรัมต่อลิตร ยีสต์สกัด 0.1 กรัมต่อลิตร 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 ในน้ำต้มถั่ว



รูปที่ 17 ผลของพีเอชในระหว่างการหมักต่อการเจริญของ *Candida tropicalis* TISTR 5146 (น้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1 เติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 ในถังหมักที่มีอัตราเร็วการกวน 400 รอบต่อนาที ให้อากาศ 2.00 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อปริมาตรอากาศต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส)

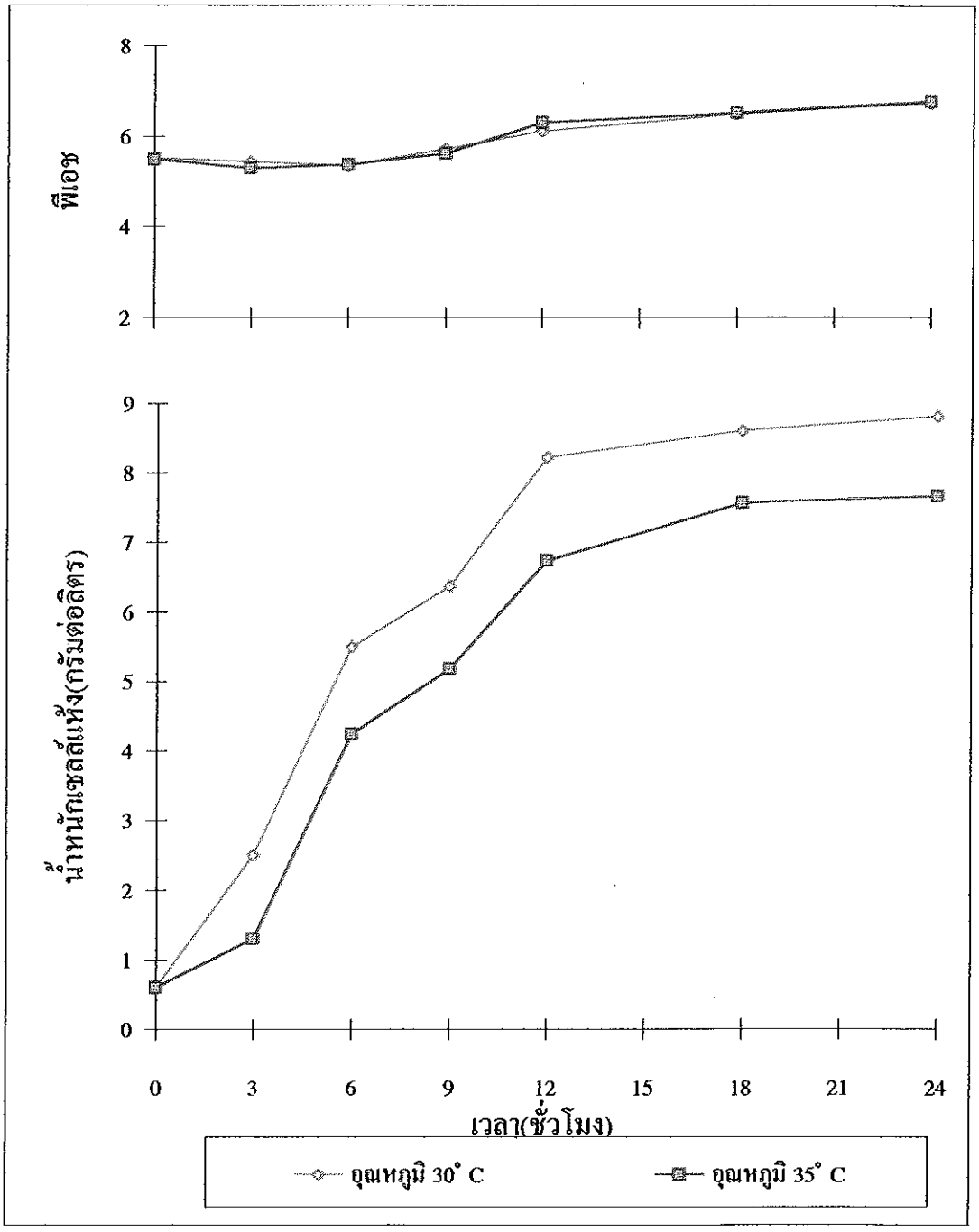
น้ำต้มถั่วเติมกากน้ำตาลร้อยละ 12 ที่พีเอช 5.9, 6.5 และ7.0 พบว่า พีเอชเริ่มต้นที่เหมาะสมที่สุดคือ 6.5 และไม่มีการควบคุมพีเอชในระหว่างการหมัก เมื่อวัดค่าการเจริญในรูปการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร เท่ากับ 15.20 ดังนั้นพีเอชที่ใช้ในการหมักไม่ควรมีการควบคุมพีเอชในระหว่างการหมัก

7.4 ผลของอุณหภูมิ

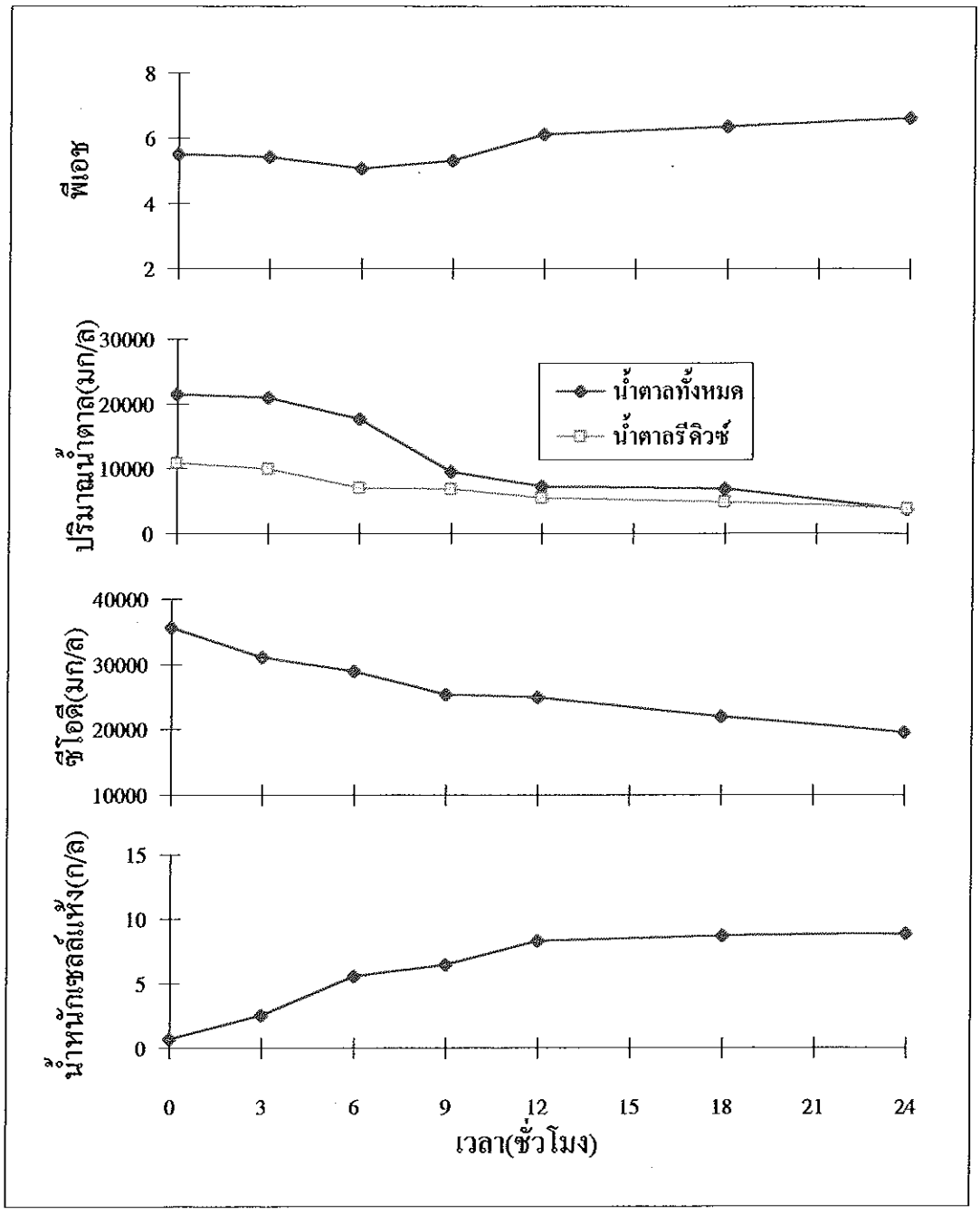
จากการเลี้ยงยีสต์ *C. tropicalis* TISTR 5146 ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกโปรตีนและไขมันที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1 เติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 พีเอชเริ่มต้น 5.5 ใช้ระยะเวลาในการหมัก 24 ชั่วโมง โดยควบคุมอุณหภูมิ 30 และ 35 องศาเซลเซียส พบว่าที่ 30 องศาเซลเซียส *C. tropicalis* TISTR 5146 เจริญได้ดีกว่าที่ 35 องศาเซลเซียส (รูปที่ 18) มีอัตราการเจริญจำเพาะ 0.37 ต่อชั่วโมง และมีน้ำหนักเซลล์แห้ง 8.89 กรัมต่อลิตร ผลผลิตของเซลล์ต่อสารอาหาร (Y x/s) สูงสุดเท่ากับ 0.44 กรัมเซลล์ต่อกรัมซีโอดี ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส มีอัตราการเจริญจำเพาะ 0.33 ต่อชั่วโมง และมีน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 7.67 กรัมต่อลิตร ผลผลิตของเซลล์ต่อสารอาหาร (Yx/s) สูงสุดเท่ากับ 0.38 กรัมเซลล์ต่อกรัมซีโอดี 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) จากการทดลองของ Yang และ Tung (1995) เลี้ยง *S. cerevisiae* THB 002 ในถังหมักขนาด 2 ลิตร ให้อากาศ 1 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที ความเร็วในการกวน 400 รอบต่อนาที พีเอชเริ่มต้น 4.0 ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส เจริญดีที่สุด มีน้ำหนักเซลล์แห้ง 6.80 กรัมต่อลิตร ดังนั้นจึงใช้อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสในการหมักเพื่อผลิตเซลล์ยีสต์

7.5 ผลการวิเคราะห์น้ำนึ่งปลาทูน่าหลังการเลี้ยงยีสต์ในถังหมัก

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบน้ำนึ่งปลาทูน่าหลังการเลี้ยงยีสต์ *C. tropicalis* TISTR 5146 ในถังหมัก เมื่อเปรียบเทียบกับค่าองค์ประกอบเริ่มต้นของน้ำนึ่งปลาทูน่าดังตารางที่ 10 พบว่าสามารถลดค่าซีโอดี น้ำมันและกรีส น้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณโปรตีน ได้ร้อยละ 45.14, 61.91, 68.00, 63.54 และ 17.13 ตามลำดับ (รูปที่ 19) เมื่อพิจารณา



รูปที่ 18 ผลของอุณหภูมิในระหว่างการหมักต่อการเจริญของ *Candida tropicalis* TISTR 5146 (ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1 เติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 พีเอชเริ่มต้น 6.5 ในถังหมักที่มีอัตราเร็วการกวน 400 รอบต่อนาที ให้อากาศ 2.00 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที)



รูปที่ 19 การเปลี่ยนแปลงพีเอช น้ำหนักเซลล์แห้ง และการใช้สารอาหารของ *Candida tropicalis* TISTR 5146 (ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่น 1:1 เติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 พีเอชเริ่มต้น 6.5 ในถังหมักที่อัตราเร็วการกวน 400 รอบต่อนาที ให้อากาศ 2.00 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส)

ตารางที่ 10 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

ผลการวิเคราะห์น้ำหนึ่งปลาทูน่าหลังการเลี้ยงยีสต์ในฟลาสก์ ดังแสดงตารางที่ 9และตารางที่ 10 ผลการวิเคราะห์น้ำนึ่งปลาทูน่าหลังการเลี้ยงยีสต์ในถังหมัก จะเห็นได้ว่าค่าองค์ประกอบเคมีเริ่มต้นในการเลี้ยงยีสต์ของทั้ง 2 สภาวะ มีปริมาณสารอาหารที่แตกต่างกัน ทั้งนี้เนื่องมาจากน้ำนึ่งปลาทูน่าที่ได้จากโรงงานแต่ละครั้งจะมีความแตกต่างกันและผันแปรไปตามวัตถุดิบที่ใช้ แต่การนำสารอาหารไปใช้ในการเจริญของยีสต์ในน้ำนึ่งปลาทูน่าทั้ง 2 สภาวะมีแนวโน้มลดลงในทิศทางเดียวกัน ซึ่งสัมพันธ์กับปริมาณเชื้อยีสต์ที่เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาของการหมัก

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์ *C. tropicalis* TISTR 5146 ในถังหมัก พบว่า มีอัตราการเจริญจำเพาะ 0.37 ต่อชั่วโมง เมื่อวัดค่าการเจริญในรูปการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร เท่ากับ 15.43 น้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 8.89 กรัมต่อลิตร ผลผลิตต่อสารอาหาร (Y x/s) สูงสุดเท่ากับ 0.44 กรัมเซลล์ต่อกรัมซีโอดี จากการทดลองน้ำหนักแห้งของเซลล์ยีสต์ที่ได้ไม่สูงอาจเนื่องมาจากการใช้น้ำตาลทั้งหมดและน้ำตาลรีดิวซ์ของยีสต์ จากตารางที่ 10 พบว่ายีสต์ใช้น้ำตาลทั้ง 2 เพียงร้อยละ 68.00 และ 63.54 ตามลำดับ สอดคล้องกับการลดลงของปริมาณสารอินทรีย์และปริมาณโปรตีนร้อยละ 45.14 และ 1.79 ตามลำดับ ค่าอื่น ๆ มีแนวโน้มลดลงได้น้อยในทิศทางเดียวกัน ซึ่งค่าการใช้สารอาหารน้อยก็สัมพันธ์กับการเจริญของเชื้อซึ่งนำไปใช้ในการเจริญได้น้อยเช่นกัน ดังรูปที่ 18 และตารางที่ 10 น้ำหนักเซลล์แห้งของ *C. tropicalis* TISTR 5146 จากการเลี้ยงในถังหมักจะมีค่าต่ำกว่าเมื่อเลี้ยงในฟลาสก์บนเครื่องเขย่า อาจจะเนื่องมาจากน้ำนึ่งปลาทูน่าที่ใช้ทดลองที่ได้จากโรงงานมีความผันแปรเรื่องวัตถุดิบและวัตถุดิบที่ใช้เป็นคนละชุดกัน

8. 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 12 ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Faust และ Prave (1979) ว่า โดยทั่วไปโปรตีนเซลล์เดียว มักขาดกรดอะมิโนที่มีซัลเฟอร์

ตารางที่ 11 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

เป็นองค์ประกอบ กรดอะมิโนของยีสต์ *C. tropicalis* TISTR 5146 เลี้ยงในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกโปรตีนและไขมันมีกรดอะมิโนบางค่าสูงกว่ามาตรฐานกรดอะมิโนในเซลล์ยีสต์ คือ ฮีสทิดีน ไลซีน ทรีโอนีน และ อาร์จีนีน เป็นต้น ดังตารางที่ 11 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)

9. การใช้ยีสต์ทดแทนปลาป่นในอาหารเลี้ยงปลากดเหลือง

เมื่อเลี้ยงยีสต์ *C. tropicalis* TISTR 5146 ในสภาวะที่เหมาะสมในถังหมัก เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงเพื่อให้ได้เซลล์ยีสต์และนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาบดให้ละเอียดแล้วผสมในอาหารเลี้ยงปลากดเหลืองโดยทดแทนปลาป่นร้อยละ 25 และ 50 เปรียบเทียบกับอาหารที่ใช้ปลาป่นเป็นแหล่งของโปรตีน ระยะเวลาเลี้ยง 8 สัปดาห์ ปรากฏผลการทดลองดังนี้

9.1 องค์ประกอบทางเคมีของอาหารที่ใช้ทดลอง

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของวัสดุอาหารใช้ในการทำอาหารทดลอง ดังตารางภาคผนวกที่ ก4 พบว่า ยีสต์แห้ง *C. tropicalis* TISTR 5146 มีโปรตีนสูงสุดร้อยละ 58.20 ปลาป่นมีโปรตีนรองลงมาร้อยละ 49.40 และปลายข้าวมีโปรตีนน้อยที่สุดร้อยละ 7.66 ส่วนรำข้าวมีไขมันปริมาณร้อยละ 20.55 ปลาป่นมีไขมันรองลงมาร้อยละ 6.28 และปลายข้าวมีไขมันน้อยที่สุดร้อยละ 0.10 สำหรับเถ้า ปลาป่นมีปริมาณสูงสุด 36.6 และปลายข้าวมีค่าน้อยที่สุดร้อยละ 0.59 ค่าความชื้นในปลายข้าวมีความชื้นสูงสุดร้อยละ 11.77 และยีสต์มีค่าความชื้นน้อยที่สุดร้อยละ 1.26 ปลายข้าวมีค่าคาร์โบไฮเดรทมากที่สุดสุดร้อยละ 79.88 และปลาป่นมีค่าคาร์โบไฮเดรทน้อยที่สุดร้อยละ 3.81 ส่วนพลังงานที่ย่อยได้ รำข้าวมีค่า

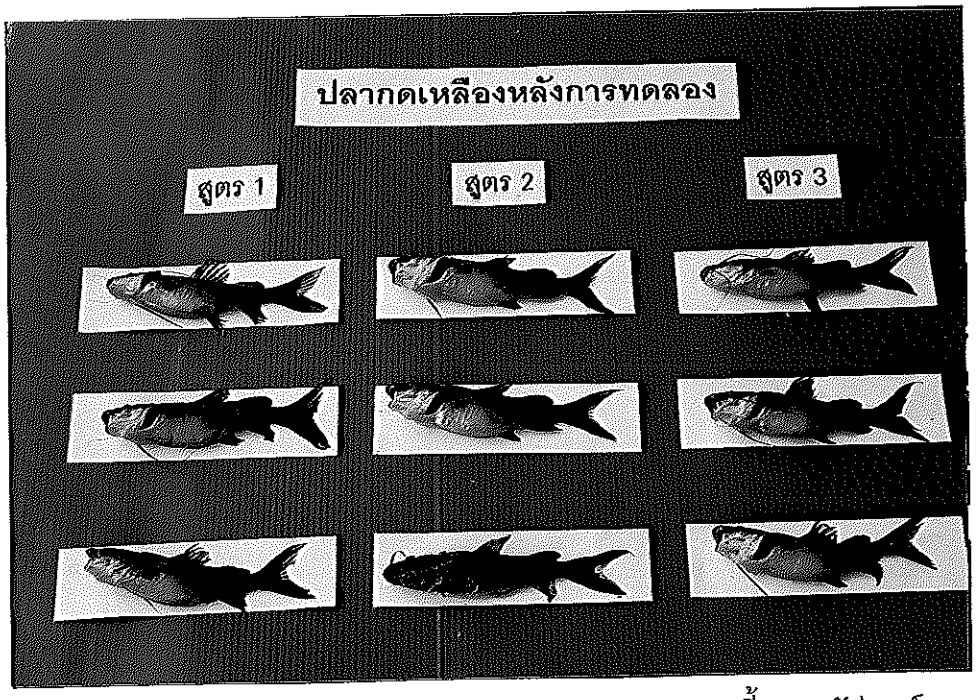
ตารางที่ 12 น้ำหนักเฉลี่ยทุก ๆ 2 สัปดาห์ของปลากดเหลืองที่ได้รับอาหารทดลอง 3 สูตร

สูตรอาหาร	น้ำหนักเฉลี่ย (กรัมต่อตัว) สัปดาห์ที่				
	0	2	4	6	8
ชุดควบคุม	0.60±0.01[a]	1.94±0.22[a]	4.39±0.66[a]	9.10±1.74[a]	14.48±1.15[a]
ทดแทนปลาป่น ด้วยยีสต์ร้อยละ25	0.60±0.01[a]	1.96±0.01[a]	4.47±0.12[a]	8.81±0.48[a]	14.98±1.08[a]
ทดแทนปลาป่น ด้วยยีสต์ร้อยละ50	0.60±0.01[a]	1.88±0.11[a]	4.41±0.43[a]	8.42±0.51[a]	14.64±1.40[a]

[1]ค่าเฉลี่ย ± ค่าความผิดพลาด

ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$)

รูปที่ 20 ปลากดเหลืองก่อนทำการทดลอง



รูปที่ 21 ปลากดเหลืองหลังการทดลองใช้ระยะเวลาการเลี้ยง 8 สัปดาห์

สูงสุดเท่ากับ 333.43 กิโลแคลอรีต่อ 100 กรัม และกากถั่วเหลืองมีค่าพลังงานที่ย่อยได้น้อยที่สุด เท่ากับ 257.94 กิโลแคลอรีต่อ 100 กรัม

องค์ประกอบทางเคมีของสูตรอาหารแต่ละสูตรดังแสดงตารางภาคผนวกที่ ก4 พบว่าในอาหารทดลองทุกสูตรมีค่าโปรตีนอยู่ในช่วงร้อยละ 30.68-30.95 ส่วนค่าไขมันอยู่ในช่วงร้อยละ 4.94-5.49 ค่าเถ้าอยู่ในช่วงร้อยละ 8.15-15.64 ค่าความชื้นอยู่ในช่วงร้อยละ 13.61-20.49 สำหรับค่าคาร์โบไฮเดรทอยู่ในช่วงร้อยละ 34.33-38.09 และพลังงานที่ย่อยได้อยู่ในช่วงร้อยละ 233.46-244.63 กิโลแคลอรีต่อ100ก รัม

9.2 น้ำหนักเฉลี่ยของปลากดเหลือง

ก่อนการทดลองการทดแทนปลาป่นด้วยยีสต์ที่ระดับต่าง ๆ น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของปลากดเหลืองทุกชุดการทดลอง มีค่าเท่ากับ 0.6 กรัม(ตารางที่ 12) และปลากดเหลืองมีลักษณะดังรูปที่ 20 น้ำหนักตัวปลาจะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเลี้ยง ในสัปดาห์ที่ 2 น้ำหนักเฉลี่ยของปลาอยู่ในช่วง 1.88-1.96 กรัม ในสัปดาห์ที่ 4 น้ำหนักเฉลี่ยของปลาอยู่ในช่วง 4.39-4.47 กรัม ในสัปดาห์ที่ 6 น้ำหนักเฉลี่ยของปลาเพิ่มขึ้นจากสัปดาห์ที่ 4 เป็นสองเท่า โดยมีน้ำหนักเฉลี่ยอยู่ในช่วง 8.42-9.10 กรัม ในสัปดาห์ที่ 8 น้ำหนักเฉลี่ยของปลาอยู่ในช่วง 14.48-14.98 กรัม (ตารางที่ 12) และปลากดเหลืองมีลักษณะดังรูปที่ 21 น้ำหนักเฉลี่ยของปลาในทุกชุดการทดลองตั้งแต่สัปดาห์ที่ 0 ถึง 8 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) (ตารางที่ 12) จากการทดลองการทดแทนปลาป่นด้วยยีสต์ร้อยละ 25 และ 50 ในสูตรอาหารให้ผลการเจริญเติบโตดีเทียบเท่ากับอาหารชุดควบคุม กล่าวได้ว่าเนื่องจากคุณค่าทางโภชาการของยีสต์ในอาหารอยู่ในเกณฑ์ดีเมื่อเปรียบเทียบกับปลาป่นโดยเฉพาะปริมาณสูงเท่าปลาป่นที่ใช้ เนื่องมาจากคุณค่าทางโภชนาการของอาหารแต่ละสูตรใกล้เคียงกัน (ตารางภาคผนวกที่ ก4) ผลการทดลองที่ได้นี้สอดคล้องกับการทดลองของ Mahnken (1980) พบว่าสามารถทดแทนปลาป่นด้วยยีสต์ *C. utilis* sp.ร้อยละ 25 ในปลาโคโฮ แซลมอน (coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*) และได้ทดแทนปลาป่นด้วยยีสต์ร้อยละ 40 ในปลาเรนโบว์ เทร้า (rainbow trout, *Salmo gairdneri*) ได้น้ำหนักเฉลี่ยของปลาดีเท่าชุดควบคุม ส่วน Rumsey และ Hughes (1990) ใช้ *S. cerevisiae* ทดแทนปลาป่นร้อยละ 50 ในอาหารปลา เล็ค เทร้า (lake trout, *Salvelinus namaycush*) มีน้ำหนักเฉลี่ยของปลาไม่แตกต่างกับ

ชุดควบคุม และ Martin และคณะ (1993) ทดลองใช้ *C. utilis* ATCC 9950 ทดแทนปลาป่น โดยทดแทนด้วยยีสต์ร้อยละ 35 ในอาหารปลาเรนโบว์ เทร้า ได้น้ำหนักเฉลี่ยของปลาไม่แตกต่างกับชุดควบคุม เนื่องจากยีสต์ที่ใช้ในการทดลองมีปริมาณโปรตีนสูงซึ่งใกล้เคียงกับปลาป่น และมีกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อการเจริญครบทุกชนิด

9.3 อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ

เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ปลากดเหลืองที่ได้รับอาหาร 3 สูตร คือ ชุดควบคุมและทดแทนปลาป่นด้วยยีสต์ร้อยละ 25 และ 50 มีค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ เท่ากับ 1.09, 1.19 และ 1.26 ตามลำดับ (ตารางที่ 13) อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของปลาที่ได้รับอาหารแต่ละสูตรไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) จากผลการทดลองปลากดเหลืองที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยยีสต์ร้อยละ 25 และ 50 มีอัตราการแลกเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อไม่แตกต่างกับชุดควบคุม ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Martin และคณะ (1993) ซึ่งใช้ยีสต์ *C. utilis* ทดแทนปลาป่นร้อยละ 25 และ 35 มีค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อไม่แตกต่างกับชุดควบคุม ส่วน Rumsey และ Hughes (1990) ทดลองใช้ยีสต์ *S. cerevisiae* ทดแทนปลาป่นร้อยละ 50 มีค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อไม่ดีเท่าชุดควบคุม แต่เมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองของ Mahnken และคณะ (1980) เลี้ยงปลาเรนโบว์ เทร้า ด้วยอาหารที่ทดแทนยีสต์ *C. utilis* ร้อยละ 25 มีอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อค่อนข้างสูงซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่ทดแทนปลาป่นด้วยยีสต์ *C. tropicalis* TISTR 5146 ร้อยละ 25 และ50 ทั้งนี้เนื่องจากสรีรวิทยา การดำรงชีวิตของปลาที่อยู่ในบริเวณต่าง ๆ และความต้องการกรดอะมิโนในปลาแต่ละชนิดจะแตกต่างกัน ซึ่งสิ่งเหล่านี้ล้วนมีผลต่อการกินอาหารของปลาแทบทั้งสิ้น เมื่อพิจารณาน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นและค่าการใช้ประโยชน์จากโปรตีนของปลาที่ได้รับอาหารที่ทดแทนปลาป่นด้วยยีสต์ร้อยละ 25 มีค่าดังกล่าวมากกว่าชุดควบคุม (ตารางภาคผนวกที่ ก4) แสดงว่า สูตรอาหารที่ทดแทนปลาป่นด้วยยีสต์แห้ง *C. tropicalis* TISTR 5146 ร้อยละ 25 นั้นให้ผลการทดลองที่ดีกว่าชุดควบคุม

9.4 ค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีน

เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ปลากดเหลืองที่ได้รับอาหารทดลอง 3 สูตร คือ ชุดควบคุม และทดแทนปลาป่นด้วยยีสต์ร้อยละ 25 และ 50 มีค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีนอยู่ในช่วง 2.55-2.94 โดยปลาที่ได้รับอาหารชุดควบคุมมีค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีนสูงที่สุดและ

ตารางที่ 13 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น , อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ , ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน , การใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ และอัตราการรอดตาย ของปลากดเหลืองที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ทดแทนปลาป่นโดยใช้ยีสต์ที่ระดับต่าง ๆ

สูตรอาหาร	น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (Weight gain) (%)	อัตราการเจริญเติบโต (Specific growth rate) (%/วัน)	อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR)	ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (PER)	การใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ (ANPU) (%)	อัตราการรอดตาย (Survival rate) (%)
ชุดควบคุม	2,324.10±22.0[a]	5.75±0.26[a]	1.09±0.32[a]	2.94±0.6[b]	63.82±2.59[a]	98±2.83[a]
ทดแทนปลาป่นด้วยยีสต์ 25%	2,427.52±38.91[a]	5.73±0.14[a]	1.19±0.15[a]	2.74±0.16[a]	66.43±0.09[b]	98±2.83[a]
ทดแทนปลาป่นด้วยยีสต์ 50%	2,398.71±41.09[a]	5.62±0.17[a]	1.26±0.04[a]	2.55±0.06[a]	63.98±0.6[a]	97±2.83[a]

[1] ค่าเฉลี่ย ± ค่าความผิดพลาด

ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$)

และเมื่อทดสอบทางสถิติพบว่า ค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีนของปลาที่ได้รับอาหารปลาป่นด้วยยีสต์ร้อยละ 25 และ 50 จะแตกต่างกับชุดควบคุม ซึ่งแตกต่างกับการทดลองของ Martin และคณะ (1993) ซึ่งใช้ *C. utilis* ATCC 9950 ทดแทนปลาป่นร้อยละ 35 ในอาหารเลี้ยงปลาเรนโบว์ เทร้า ได้ผลการเจริญเติบโตดีเท่ากับอาหารสูตรชุดควบคุม ซึ่งมีปลาป่นเป็นองค์ประกอบเพียงอย่างเดียว พบว่า มีค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีนเท่ากับ 21 และสามารถย่อยโปรตีนจากยีสต์ได้สูงถึงร้อยละ 89 และสอดคล้องกับการทดลองของ Mahnken และคณะ (1980) ซึ่งรายงานใช้ยีสต์ทดแทนปลาป่นร้อยละ 40 เลี้ยงปลาเรนโบว์ เทร้า มีค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีนดีเท่ากับชุดควบคุมเช่นกัน ส่วน Rumsey และ Hughes (1990) ใช้ยีสต์ *S. cerevisiae* ทดแทนปลาป่นร้อยละ 50 เลี้ยงปลาเล็ค เทร้า พบว่ามีค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีนที่ได้ไม่แตกต่างกับชุดควบคุม แต่จากการทดลองกับปลากดเหลืองครั้งนี้พบว่า ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนในอาหารลดลง เมื่อมีปริมาณยีสต์ในอาหารสูงขึ้น ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนเป็นตัวชี้ถึงคุณภาพของโปรตีนในอาหาร แต่อย่างไรก็ตามค่านี้มิได้หมายความว่าปลาจะนำเอาโปรตีนจากอาหารที่กินเข้าไปทั้งหมดไปสะสมเป็นโปรตีนในเนื้อปลาเพราะนอกจากจะประกอบด้วยโปรตีนแล้ว องค์ประกอบของตัวปลายังมีส่วนประกอบอื่น ๆ ด้วย ได้แก่ ไขมัน คาร์โบไฮเดรทและน้ำ เป็นต้น (วุฒิพร พรหมขุนทอง, 2540)

9.5 การใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ

เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ค่าการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิของปลาเมื่อได้รับอาหาร 3 สูตร อยู่ในช่วงร้อยละ 63.82-66.43 โดยปลาที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยยีสต์ร้อยละ 25 จะมีค่าการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสูงสุด และเมื่อทดสอบทางสถิติพบว่าค่าการใช้ประโยชน์จากโปรตีนของปลาที่ได้รับอาหารที่ทดแทนปลาป่นด้วยยีสต์ร้อยละ 25 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับชุดควบคุมและอาหารที่ทดแทนปลาป่นด้วยยีสต์ร้อยละ 50 (ตารางที่ 13) ผลที่ได้สอดคล้องกับการทดลองของ Mahnken และคณะ (1980) ซึ่งรายงานว่าค่าการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสูงสุดเมื่อทดแทนปลาป่นด้วยยีสต์ร้อยละ 25 ในการเลี้ยงปลาโคโฮ แซลมอน แต่ให้ผลไม่แตกต่างกับชุดควบคุมทางสถิติ

($p>0.05$) ส่วนการทดลองของ Martin และคณะ(1993) ใช้ *C. utilis* ATCC 9950 ทดแทนปลาป่นร้อยละ 25 และ 35 เลี้ยงปลาเรนโบว์ เทร้า พบว่าค่าการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ เมื่อทดแทนปลาป่นด้วยยีสต์ร้อยละ 35 มีค่าเท่ากับร้อยละ 87 ซึ่งเป็นค่าที่สูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมและไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าสามารถใช้ยีสต์แห้งแทนที่ปลาป่นในปริมาณร้อยละ 25

9.6 อัตราการรอดตาย

จากการทดลองเลี้ยงปลากดเหลืองด้วยอาหาร 3 สูตร คือ ชุดควบคุม ทดแทนปลาป่นด้วยยีสต์ร้อยละ 25 และ 50 มีอัตราการรอดตายร้อยละ 98, 98 และ 97 ตามลำดับ (ตารางที่ 13) ซึ่งในระหว่างทำการทดลอง ไม่พบว่าปลาในชุดการทดลองใดแสดงอาการผิดปกติให้เห็นเนื่องจากอาหารทดลอง อัตราการรอดตายของปลาที่ได้รับอาหารแต่ละสูตรไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Mahhken และคณะ (1980) ซึ่งทดแทนปลาป่นด้วยยีสต์ที่ระดับต่าง ๆ เมื่อสิ้นสุดการทดลองอัตราการรอดตายทุกสูตรร้อยละ 99 ส่วน Martin และคณะ (1993) ทดแทนปลาป่นด้วยยีสต์ที่ ร้อยละ 25 และ 35 เมื่อสิ้นสุดการทดลองอัตราการรอดตายทุกสูตรการทดลองอยู่ในช่วงร้อยละ 97-98

9.7 องค์ประกอบทางเคมีของปลากดเหลือง

องค์ประกอบทางเคมีของปลากดเหลืองก่อนการทดลอง พบว่า มีองค์ประกอบทางเคมีดังนี้ ปริมาณโปรตีน ไขมัน ความชื้น และเถ้า ร้อยละ 60.40, 16.78, 81.13 และ 14.54 แสดงไว้ในตารางที่ 14 เมื่อเลี้ยงปลากดเหลืองด้วยอาหารทดลอง 3 สูตร เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ แล้วนำปลากดเหลืองนั้นมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี พบว่า ปลากดเหลืองที่ได้รับอาหารทดลอง 3 สูตรซึ่งทดแทนปลาป่นด้วยยีสต์ที่ระดับต่างกันจะมีค่าองค์ประกอบทางเคมีของตัวปลาที่แตกต่างกันออกไป คือ โปรตีนในร่างกายปลาอยู่ในช่วงร้อยละ 60.53-62.42 ปลาที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยยีสต์ร้อยละ 50 มีค่าโปรตีนในร่างกายตัวปลาสูงร้อยละ 62.42 สูงกว่าทุก ๆ สูตรที่ทดลองและเมื่อทดสอบทางสถิติ พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Martin และ

ตารางที่ 14 องค์ประกอบทางเคมีของปลากดเหลืองก่อนและหลังการทดลองบนพื้นฐานของน้ำหนักแห้ง

องค์ประกอบทางเคมี (ร้อยละ)	ก่อนการทดลอง	การทดแทนปลาป่นด้วยยีสต์ที่ระดับต่าง ๆ ร้อยละ 0	ร้อยละ 25	ร้อยละ 50
		หลังการทดลอง		
โปรตีน	60.40 ±1.04	60.53±6.13[b]	60.94±1.17[b]	62.42±1.46[a]
ไขมัน	16.78±0.25	20.00±0.62[a]	20.08±0.40[a]	19.95±1.00[a]
ความชื้น	81.13±0.11	97.49±0.41[a]	96.53±0.40[b]	96.91±0.31[b]
เถ้า	14.54±0.33	13.36±0.90[a]	11.86±0.34[b]	12.15±0.43[b]

[1]ค่าเฉลี่ย ± ค่าความผิดพลาด

ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$)

คณะ(1993) ได้วิเคราะห์องค์ประกอบของปลาเรนโบว์ เทร้า ที่ได้รับอาหารที่ทดแทนปลาป่นด้วยยีสต์ร้อยละ 25 และ35 นั้นจะให้ค่าปริมาณโปรตีนสูงกว่าชุดควบคุม

ส่วนไขมันในร่างกายของปลากดเหลืองเมื่อสิ้นสุดการทดลองทุกชุดการทดลอง มีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 19.95-20.08 ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) สอดคล้องกับการทดลองของ Martin และคณะ (1993) ค่าไขมันในร่างกายปลาที่ได้รับอาหารที่ทดแทนปลาป่นด้วยยีสต์ร้อยละ 25 และ35 มีค่าไม่แตกต่างกันทุกชุดการทดลอง

ความชื้นในร่างกายของตัวปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่า เมื่อปลาได้รับอาหารที่ทดแทนปลาป่นด้วยยีสต์ร้อยละ 25 และ 50 มีความชื้นร้อยละ 96.53 และ 96.91 ตามลำดับ และปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดควบคุมมีความชื้นร้อยละ 34.62 เมื่อทดสอบทางสถิติพบว่าปลาที่ได้รับอาหารทดแทนด้วยยีสต์ร้อยละ 25 และ 50 จะแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับชุดควบคุม สำหรับเถ้าในร่างกายของตัวปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่า ปลาได้รับอาหารที่ทดแทนปลาป่นด้วยยีสต์ร้อยละ 25 และ50 มีค่าเถ้าร้อยละ 11.86 และ 12.15 ตามลำดับ และปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารชุดควบคุมมีเถ้าร้อยละ 13.36 เมื่อทดสอบทางสถิติพบว่า ปลาที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยยีสต์ร้อยละ 25 และ 50 จะแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับชุดควบคุม เนื่องจากสูตรควบคุมมีปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนหลัก และ จากการวิเคราะห์องค์ประกอบวัสดุอาหาร ปลาป่นมีปริมาณเถ้าร้อยละ 36.6 ซึ่งมีปริมาณเถ้าค่อนข้างสูง อาจเป็นเพราะปลาป่นที่นำมาทดลองมีสิ่งปลอมปนด้วยวัสดุราคาถูก อื่น ๆ ซึ่งมีคุณค่าทางอาหารต่ำหรือไม่มีคุณค่าทางอาหารเลย เช่น เปลือกหอย ทรายละเอียด ยูเรีย ขนไก่ป่น เป็นต้น (จุอะดี พงศ์มณีรัตน์ และ มะลิ บุณยรัตผลิน, 2539)

บทที่ 4

สรุป

1. ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกไขมันออกโดยตักไขมันผิวหน้าทิ้งและแยกโปรตีนโดยใช้พีเอช 4.5 อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที น้ำนึ่งปลาทูน่ามีสีค่อนมาทางเหลือง ซึ่งประกอบด้วยโปรตีนร้อยละ 4.90 น้ำมันและกรีส 235 มิลลิกรัมต่อลิตร ของแข็งทั้งหมด 81,503 มิลลิกรัมต่อลิตร ของแข็งแขวนลอย 2,983 มิลลิกรัมต่อลิตร ซีโอดี 52,416 มิลลิกรัมต่อลิตร เถ้าร้อยละ 1.60 น้ำตาลตาลรีดิวซ์ 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 2.00 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที อัตราการกวน 400 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ใช้ระยะเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า ยีสต์มีอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด 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. ผลการศึกษาประสิทธิภาพของการบำบัดน้ำนึ่งปลาทูน่าหลังการเลี้ยงยีสต์ *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

8. ผลจากการนำเซลล์ยีสต์แห้ง *C. tropicalis* TISTR 5146 ผสมในอาหารสำหรับเลี้ยงปลากดเหลือง โดยทดแทนร้อยละ 25 และ 50 พบว่า น้ำหนักเฉลี่ย อัตราการแลกเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และ อัตราการรอดตายของปลากดเหลืองที่ได้รับอาหารทดแทนปลาป่นด้วยยีสต์ร้อยละ 25 และ 50 ดีเทียบเท่าอาหารสูตรควบคุม ส่วนการทดแทนปลาป่นด้วยยีสต์ที่ร้อยละ 25 มีค่าประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และ ค่าการใช้ประโยชน์จากโปรตีนสุทธิ สูงกว่าอาหารสูตรควบคุมและอาหารสูตรที่ทดแทนปลาป่นด้วยยีสต์ร้อยละ 50

ข้อเสนอแนะ

1. น้ำทิ้งที่ได้จากการเลี้ยง *Candida tropicalis* TISTR 5146 ยังมีค่าซีโอดีสูง จึงควรหาทางบำบัดเพื่อลดค่าซีโอดี และกำจัดสี ให้ใกล้เคียงกับค่ากำหนดในมาตรฐานน้ำทิ้งกระทรวงอุตสาหกรรม

2. ในการทดลองเพื่อผลิตในปริมาณมากและนำไปใช้ประโยชน์ควรจะมีการพิจารณาถึงต้นทุนของการผลิตด้วย

3. ควรมีการศึกษาการนำยีสต์ที่ผลิตได้นำไปใช้ประโยชน์ในการเลี้ยงสัตว์เศรษฐกิจอื่น ๆ เช่น ไก่ไข่ ไก่เนื้อ และไก่กระทง เป็นต้น ซึ่งการนำยีสต์มาใช้ในการเลี้ยงสัตว์จึงเป็นแนวทางหนึ่งที่น่าสนใจในอุตสาหกรรมการผลิตอาหารสัตว์

เอกสารอ้างอิง

กรรณิการ์ สิริสิงห. 2522. เคมีของน้ำโสโครกและวิธีการวิเคราะห์ คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

กรมโรงงานอุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม องค์กรความร่วมมือไทย-เยอรมัน (GTZ). 2537. การสัมมนาเรื่องการแยกโปรตีนจากน้ำทิ้งโรงงานอุตสาหกรรมปลากระป๋อง. สถาบันพัฒนาและฝึกอบรมโรงงานต้นแบบ. ศูนย์การศึกษาต่อเนื่อง สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี. 25 พฤษภาคม 2537. หน้า 1-6.

กองเศรษฐกิจการประมง. 2537. ข้อมูลสถิติการนำเข้าระหว่างประเทศของสินค้าสัตว์น้ำ กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เอกสารเผยแพร่. หน้า 11-12

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

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

จูอะดี พงศ์มณีรัตน์ และ มะลิ บุณยรัตผลิน. 2539. ศึกษาการจับ การเก็บรักษาปลาเป็ดและขบวนการผลิตปลาป่น. เอกสารวิชาการ. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง. หน้า 5

ณัฐ อ่อนศรี. 2538. ความต้องการปลาทูน่าและทูน่ากระป๋อง. เอกสารเผยแพร่กรมประมง และหอการค้าจังหวัดภูเก็ต. หน้า 23-24.

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

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

ธรรมรัตน์ ธรรมเดชศักดิ์ และ แกมกาญจน์ รักษาพราหมณ์. 2536. การตกตะกอนสารประกอบอินทรีย์จากน้ำทิ้งโรงงานแปรรูปสัตว์น้ำด้วยไคโตแซน. ปัญหาพิเศษ ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลา-นครินทร์.

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

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

นิธิยา รัตนาปนนท์. 2529. การผลิตไขมันและน้ำมันในอุตสาหกรรม ใน วิทยาศาสตร์การอาหารของไขมันและน้ำมัน. หน้า 83-86. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ประพน ดลกิจ และ สัญชิต แสงกล้า. 2535. การศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับการแยกไขมันและโปรตีนจากน้ำนึ่งปลาทูน่า. ปัญหาพิเศษ ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ .

ปราโมทย์ ศิริโรจน์. 2521. การคัดเลือกสายพันธุ์และการเลี้ยงยีสต์ที่มีโปรตีนสูงในน้ำทิ้งจากขบวนการแปรรูปอาหารถั่วเหลือง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ปรียา วิบูลย์เศรษฐ์. 2525. โภชนาการและการเจริญเติบโตของยีสต์. ใน จุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์เกษตร. หน้า 142-147. : กรุงเทพฯ : ภาควิชาวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัเกษตรศาสตร์.

พรชัย นพนาคีพงษ์. 2527. การผลิตโปรตีนจากยีสต์โดยใช้น้ำทิ้งจากการผลิตเยื่อกระดาษเป็นวัตถุดิบ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พูลทรัพย์ วิรุฬกุล. 2534. อุตสาหกรรมปลาทูน่ากระป๋อง. ว. อุตสาหกรรมเกษตร. 2(1) : 5-12.

ไพศาล เหล่าสุวรรณ. 2531 สถิติสำหรับการวิจัยทางเกษตร. คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

มาริสา จาตุพรพิพัฒน์. 2537. สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและการสังเคราะห์ รงควัตถุของ *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.

วราวุฒิ ครูส่ง. 2529. จุลินทรีย์โปรตีน ใน เทคโนโลยีชีวภาพ. หน้า 254-163. คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

วิมล เหมะจันทร. 2528. ชีววิทยาปลา. หน้า 99-127. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

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

วีรพงศ์ วุฒิพงศ์ชัย. 2536. โปรตีน ใน อาหารปลา ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา. หน้า 70 - 71.

วุฒิพร พรหมขุนทอง. 2539. ผลของวิตามินซีระดับต่าง ๆ ต่อการเจริญเติบโต อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และอัตราการรอดตายของปลากดเหลือง (*Mystus nemurus*). ว. สงขลานครินทร์. วทท. 8(4) : 413 - 420.

วุฒิพร พรหมขุนทอง วิมล จันทรโรทัย นรินทร์ สงสีจันทร์ และ นพพร มานะจิตต์. 2540. ระดับโปรตีนในอาหารที่เหมาะสมต่อปลากดเหลืองขนาดปลานิ้ว. ว. สงขลานครินทร์. วทท. 19(3) : 327-335.

สมใจ ศิริโภค. 2537. การให้อากาศและการกวน ใน เทคโนโลยีการหมัก. หน้า 179-188. มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.

สมศรี ศิริพิทยางกูร. 2525. จุลชีวอุตสาหกรรม. ใน จุลชีววิทยาประยุกต์. หน้า 74-114. ภาควิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สุทธวัฒน์ เบญจกุล. 2534. แนวทางการใช้ประโยชน์จากเปลือกกุ้ง : ไคตินและไคโตแซน วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สุมาลี เหลืองสกุล. 2527. อาหารและเอนไซม์จากจุลินทรีย์. ใน จุลชีววิทยาอาหาร. หน้า 278-279. : กรุงเทพฯ : ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร.

สุวิทย์ สุวรรณโณ. 2535. การเลี้ยงแบคทีเรียสังเคราะห์แสงในน้ำเสียของโรงงานแปรรูปอาหารทะเล. 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(1-3) : 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 utiliaztion. Proecss Biochem. 16(5): 10-14.

Besedits, S. and Netzer, A. 1982. Protein Recovery from Food Processing Wastewaters. B & L Information Services. Toronto, Ontario. Canada.

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

Calleja, G. B., Levy-Rick, S., Lusena C. V., Nasim, A. and Maranelli, F. 1982. Direct and quantitative conversion of starch to ethanol by the yeast *Schwanniomyces alluvius*. Biotechnol. Lett.. 4 :543-547

Callieri, D. A. S., Nunez, C.G,. Ricci, D. J. C. and Scida, L.A. 1984. Batch culture of *Candida utilis* in a medium deprived of phosphorous source. Appl. Microbiol. Biotechnol. 19 : 267-271.

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.

Civit, E. M., Parin, M.A. and Lupin, H. M. 1982. Recovery of protein and oil from fishery bloodwater waste. Water Res. 16 : 809 - 814.

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

Ertz, D.B., Atwell, J.S. and Forsht, H.E. 1977. Dissolved air flotation treatment of seafood processing wastes-An Assessment. Proc. 8th Natl.Symp.Food Processing Wastes. Epa-600/2-77-184 Cincinnati, OH : 98-118.

Faust, U. and Prave, P. 1979. Process alternatives in SCP fermentation. Process Biochem. 14 : 28-33.

Feliu, J. A., Gonzalec, G. and MAS, C. D. 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 Biochem. 15 :150-160.

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

Gunetileke, K. G. and Laurentius, S.F. 1974. Conditions for the separation of oil and protein from coconut milk emulsion. J. Food. Sci. 39(2) : 230-233.

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. Application of atomic absorption spectroscopy to the analysis of biological materials. Department of Agriculture. University of Queensland. 12 pp.

Klyhn, F.A. 1979. Protein and oil recovery from waste waters. Water Serv. 230-234.

Knorr, D. 1977. Protein recovery from waste effluents of potato processing plants. J. Fd. Technol. 12(6) : 563-580.

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.

Lucca, M. E., Romero, M. E. and Callieri, D. A. S. 1995. Continous culture of *Candida utilis* : influence of medium nitrogen concentration. World J. Microbiol. Biotechnol. 11: 515-518.

Mahnken, C. V. W., Spinelli, J. and Waknitz, F.W. 1980. Evaluation of an alkane yeast *Candida* sp. as a substitute for fish meal in Oregon Moist Pellet : feeding trials with coho salmon (*Oncorhynchus kusutch*) and rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Aquaculture. 20 : 41-56.

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

Marti, C., Roeckel, M., Aspe, E. and kanda, H. 1994. Recovery of protein from fishmeal factory wastewaters. Process Biochem. 29 : 39-46.

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

Martin, A. M. 1994. Microbial biomass as a source of protein in the feeding of cultivated fish. In Fisheries Processing. (Chapman and Hall). pp. 371-390. London : Applied Science Publishers

Meinke, W. W. and Mattil, K.F. 1973. Autolysis as a factor in the production of protein isolates from whole fish. J. Food Sci. 38 : 864-866.

Meister, E. and Thompson, R.N. 1976. Physical chemical methods for the recovery of protein from waste effluent of potato chip processing. J. Agri. Food Chem. 24(5) : 919-923.

National Research Council. 1983. Nutrient Requirements of Warm Water Fishes and Shellfish. pp 120. Washington, DC : National Academy Press.

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

Nettli, O. P. 1982. Protein recovery from food factory waste using lignosulphonates. In Food Protein ed. P. F. Fox and J. J. London : pp. 659-663. Applied Science Publishers.

Nishioka, F. and Shimizu Y. 1983. Recovery of proteins from washings of minced fish meat by pH-shifting method. Bull. Japaness Soc. Fish. 49(5) : 795-800

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

Prasetsan, P., Wuttijumnong, P., Sophanodora, P. and Choorit, W. 1988. Seafood processing industries within Songkhla-Hatyai region: the survey of basic data emphasis on wastes. Songkhlanakarin J. Sci. Technol. 10 : 447-451.

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

Rose, A. H. and Harrison, J.S. 1971. The Yeast vol.2 Physiology and Biochemistry of Yeast. London: Academic Press.

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

Rumsey, G.L and Hughes, S.G. 1990. Use of dietary yeast *Saccharomyces cerevisiae*, nitrogen by lake trout.. J. World Aquaclt. Soc, 21(3) : 205-209.

Rydin, S., Molin .G. and Nilsson. I. 1990. Conversion of fat into yeast biomass in protein-containing wastewater. Appl. 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.

Shimizu, H. and Nishioka, F. 1978. Protein receive from meat and fish rinse. Japan KoKo 78 35 080. (Ca 90 : 28673d).

Soderguist, 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.

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

Tagawa, S., Kochi, M., Oba, Y., Yamada, K. and Kojima, Y. 1977. Removal of constituents from the wastewater discharged from " Kamaboko" processing plants by an pH shifting method. Chem. Abs. 87172326Y.

Vananuvat, P. and Kinsella, J.E. 1975. Production of yeast protein from crude lactose by *Saccharomyces fragilis* batch culture stuides. J. Food Sci. 40 :336-361.

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* amylolytic enzymes. Appl. Environ. 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 Biochem. 31(6) : 617-620.

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

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อและอาหารปลากดเหลือง

อาหารวุ้นเอียง PDA (Potato dextrose agar)

ประกอบด้วย

มันฝรั่ง	200	กรัม
น้ำตาลเด็กซ์โทรส	20	กรัม
ผงวุ้น	15	กรัม

วิธีการ

ต้มมันฝรั่งในน้ำจนเดือด กรองด้วยผ้าขาวบาง น้ำส่วนของเหลวที่ได้มาเติมน้ำตาลเดกซ์โทรสและผงวุ้น ต้มจนวุ้นละลาย ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร บรรจุในหลอดฝาเกลียว ขนาด 16x 150 มม. หลอดละ 5 มล. ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที (ขณะที่วุ้นยังไม่แข็งตัวให้นำหลอดมาวางเอียงไว้จนกระทั่งวุ้นแข็งตัวดี)

อาหารเลี้ยงเชื้อยีสต์ YMB (Yeast Malt broth)

ประกอบด้วย

Yeast extract	4	กรัม
Malt extract	10	กรัม
กลูโคส	4	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

วิธีการ

นำมาละลายน้ำตามส่วนต่าง ๆ แล้ว ทำการปรับพีเอช ให้ได้ 7.2

ตารางภาคผนวกที่ ก1 ส่วนประกอบของอาหารทดลองแต่ละสูตร

ชนิดของวัสดุอาหาร	ปริมาณของวัสดุอาหารที่ใช้ในการทดลองแต่ละสูตร (กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม)		
	สูตรที่ 1	สูตรที่ 2	สูตรที่3
เซลล์ยีสต์	-	57.5	115
ปลาป่น	334	172.5	115
กากถั่วเหลือง	334	457.8	443.7
รำละเอียด	172	152.1	160.2
ปลายข้าว	86	76.1	80.1
วิตามิน	18	18	18
แร่ธาตุ	55	55	55
วิตามินซี	1	1	1
น้ำมันตับปลา	-	10	12

ตารางภาคผนวกที่ ก2 ส่วนผสมของวิตามินในอาหารทดลองแต่ละสูตร

ชนิดของวิตามิน	มก.ต่ออาหาร 1 กก.
A- palmitate	2.29(4000 IU)
D3 (cholecalciferol)	0.05 (2000 IU)
E (DL-α-tocopherol)	45.45 (50 IU)
K (menadione sodium bisulfite)	10.00
B_1 (thiamin)	20.00
B_2 (riboflavin)	20.00
Niacin	150.00
B_5 (calcium panthothenate)	200.00
Folic acid	5.00
B_6 (pyridoxine)	20.00
B_{12} (cyanocobalamin)	0.20
Biotin	2.00
Inositol (myo- inosital)	400.00

ที่มา : วุฒิพร พรหมขุนทอง (2539)

ตารางภาคผนวกที่ ก3 ส่วนผสมของแร่ธาตุในอาหารแต่ละสูตร

แร่ธาตุ	มก.ต่ออาหาร 1 กก.
Manganese	25.00
Zinc	20.00
Copper	5.00
Iodine	5.00
Cobalt	0.05
Selenium	0.30
Iron	30.00

ที่มา : วุฒิพร พรหมขุนทอง (2539)

ตารางภาคผนวกที่ ก4 องค์ประกอบของอาหารทดลอง

	องค์ประกอบทางเคมี(ร้อยละ)					
	โปรตีน	ไขมัน	เถ้า	ความชื้น	คาร์โบไฮเดรท	พลังงานที่ย่อยได้ (กิโลแคลอรีต่อ100กรัม)
วัตถุอาหาร (ร้อยละ)						
รำข้าว	14.33	20.55	8.70	9.69	46.73	333.43
กากถั่วเหลือง	38.23	2.25	6.14	11.02	42.36	257.94
ปลายข้าว	7.66	0.10	0.59	11.77	79.88	227.32
ปลาป่น	49.40	6.28	36.6	3.91	3.81	233.30
ยีสต์	58.20	0.36	9.59	1.26	30.59	283.10
สูตรอาหารทดลอง						
สูตรที่ 1	30.95	5.49	15.64	13.61	34.33	238.46
สูตรที่ 2	30.68	4.94	9.54	20.49	34.35	230.27
สูตรที่ 3	30.93	5.08	8.15	17.75	38.09	244.63

หมายเหตุ

สูตรที่ 1 : มีปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนหลัก (ชุดควบคุม)

สูตรที่ 2 : ยีสต์แห้งทดแทนปลาป่นร้อยละ 25

สูตรที่ 3 : ยีสต์แห้งทดแทนปลาป่นร้อยละ 50

ภาคผนวกข วิธีการวิเคราะห์

1. การวัดค่าพีเอช

นำตัวอย่างอาหารเหลววัดโดยตรงด้วยเครื่องวัดพีเอช

2. การวัดค่าความขุ่น (วัดการเจริญของยีสต์)

วิธีการ

1. เจือจางตัวอย่างให้ได้ความเข้มข้นที่เหมาะสมด้วยน้ำกลั่น
2. วัดค่าความขุ่นด้วยสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร

3. น้ำหนักเซลล์แห้ง (ดัดแปลงจาก เยาวมาลย์ ค้าเจริญ, 2523)

วิธีการ

1. นำหลอดทดสอบ ล้างสะอาดแล้วมาอบที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส 5 ชั่วโมง แล้วนำมาใส่ในโถดูดความชื้นจนเย็น ชั่งจนได้น้ำหนักที่แน่นอน

2. ปิเปตตัวอย่างอาหารที่มียีสต์เจริญเต็มที่แล้ว 5 มล. ใส่หลอดทดสอบที่ทราบน้ำหนักแน่นอน ปั่นด้วยความเร็ว 7,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที แยกส่วนใสไว้วิเคราะห์ พีเอช ค่าซีโอดี และปริมาณโปรตีน

3. ล้างเซลล์ด้วยน้ำกลั่นปั่นแยกเซลล์เหมือนข้อ 2 แล้วล้างซ้ำอีกครั้ง นำตัวอย่างที่เป็นเซลล์ไปอบในตู้อบแห้งที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8-12 ชั่วโมง

4. นำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้นจนเย็นแล้วนำมาชั่งน้ำหนักจนกระทั่งได้น้ำหนักคงที่

5. บันทึกค่าความขุ่นกับน้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้ (กรัมต่อลิตร) และพล็อตกราฟของค่าที่ได้เพื่อใช้เป็นกราฟมาตรฐานในการคำนวนหาปริมาณน้ำหนักแห้ง

การคำนวณ

$$\text{น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)} = \frac{(A-B) \times 1000}{5}$$

เมื่อ A = น้ำหนักหลอด + ยีสต์ หลังจากอบแห้งแล้ว
B = น้ำหนักหลอดที่อบแห้งแล้ว

4. เถ้า (A.O.A.C., 1990)

อุปกรณ์

1. เตาเผา (muffle furnace)
2. ถ้วยกระเบื้องเคลือบ (porcelain crucible)
3. โถดูดความชื้น
4. เครื่องชั่งไฟฟ้าชนิด 4 ตำแหน่ง

วิธีการ

1. เผาถ้วยกระเบื้องเคลือบในเตาเผาที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 3 ชั่วโมง ปิดสวิทซ์เตาเผาแล้วรอประมาณ 30-45 นาที เพื่อให้อุณหภูมิภายในเตาเผาลดลงก่อน แล้วนำออกจากเตาเผาใส่ในโถดูกความชื้นปล่อยให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง แล้วชั่งน้ำหนัก

2. เผาซ้ำอีกครั้งละประมาณ 30 นาที และกระทำเช่นข้อ 1 จนได้ผลต่างของน้ำหนักทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

3. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักแน่นอน (2.0 กรัม) ใส่ในถ้วยกระเบื้องเคลือบ ซึ่งทราบน้ำหนักแล้ว นำไปเผาในตู้ควันจนหมดควัน แล้วจึงนำเข้าเตาเผาอุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส และกระทำเช่นเดียวกับข้อ 1-2

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณเถ้า (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างหลังการเผา}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}} \times 100$$

5. ความชื้น (A.O.A.C., 1990)

อุปกรณ์

1. ภาชนะอะลูมิเนียมสำหรับหาความชื้น
2. ตู้อบไฟฟ้า

3. โถดูดความชื้น

4. เครื่องชั่งไฟฟ้าชนิด 4 ตำแหน่ง

วิธีวิเคราะห์

1. อบภาชนะสำหรับหาความชื้นในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 2-3 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น จนกระทั่งอุณหภูมิของภาชนะถึงที่อุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก

2. กระทำเช่นข้อ 1 ซ้ำ จนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

3. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นนอน 1-3 กรัม ใส่ลงในภาชนะหาความชื้นซึ่งทราบน้ำหนักแล้ว

4. นำไปอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 5-6 ชั่วโมง

5. นำออกจากตู้อบใส่ในโถดูดความชื้น ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นแล้วชั่งน้ำหนัก

6. อบซ้ำอีกครั้งละประมาณ 30 นาทีและกระทำเช่นเดิมจนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

7. คำนวนหาปริมาณความชื้นจากสูตร

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)} = \frac{\text{ผลต่างของน้ำหนักตัวอย่างก่อนอบและหลังอบ} \times 100}{\text{น้ำหนักเริ่มต้น}}$$

6. **น้ำตาลรีดิวซ์** ตามวิธีการ Nelson-Somogyi (Nelson, 1944)

สารเคมี

1. การเตรียม Lowry-alkalinity of Somogyi (สารละลาย A) การเตรียมสารละลายนี้แบ่งออกเป็น 2 ส่วนคือ

1.1 ละลายโปตัสเซียม-โซเดียมทาร์เทรท 12 กรัม และโซเดียมคาร์บอเนต 24 กรัม ในน้ำกลั่นที่ต้มแล้วโดยใช้ปริมาตร 250 มิลลิลิตร เติม $CuSO_4 . 5H_2O$ 4 กรัม ซึ่งละลายในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร กวนให้สารละลายผสมกัน จากนั้นเติม $NaHCO_3$ 16 กรัม

1.2 ละลาย anhydrous Na_2SO_4 180 กรัม ในน้ำกลั่นปริมาตร 500 มิลลิลิตร นำไปต้มให้เดือด ทิ้งไว้ให้เย็น

นำสารละลายในข้อ 1.2 เติมลงในสารละลายข้อ 1.1 แล้วเติมน้ำกลั่นให้ครบ 1 ลิตร เก็บในขวดสีชา สารละลายนี้ต้องเก็บที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์ ก่อนนำไปใช้

2. การเตรียม Arsenomolybdate reagent of Nelson (สารละลาย B) การเตรียมสารละลายนี้แบ่งออกเป็น 2 ส่วนคือ

2.1 ละลาย ammoniummolybdate 25 กรัม ในน้ำกลั่นปริมาตร 450 มิลลิลิตร เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 21 มิลลิลิตร

2.2 ละลาย $Na_2HAsO_4 .7H_2O$ 3 กรัม ในน้ำกลั่นปริมาตร 25 มิลลิลิตร

นำสารละลายในข้อ 2.2 เติมในสารละลายข้อ 2.1 เติมน้ำกลั่นให้ครบ 1 ลิตร เก็บในขวดสีชา สารละลายนี้ต้องเก็บที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมงก่อนใช้

3. การเตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐาน

ชั่งน้ำตาลกลูโคสด้วยเครื่องชั่งอย่างละเอียด ให้ได้ปริมาณ 0.75 กรัม ใส่ใน volumetric flask เติมน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร เขย่าจนละลายดีแล้วดูดมา 2 มิลลิลิตร ใส่ใน volumetric flask เติมน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร จาก stock solution นี้ นำมาเจือจางให้ได้สารละลายมาตรฐานที่มีน้ำตาลกลูโคส ความเข้มข้น 15-150 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

วิธีการ

1. ใช้สารละลายน้ำตาลกลูโคสมาตรฐาน ความเข้มข้น 15-150 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

2. ใส่สารละลายตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ในหลอดทดสอบ

3. เติมสารละลาย Somogyi ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปต้มในน้ำเดือดนาน 10 นาที แล้วทำให้เย็นทันที

4. เติมสารละลาย Nelson ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันทันที ทิ้งไว้ 15 นาที

5. เติมน้ำกลั่นปริมาตร 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 500 นาโนเมตร เขียนกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณน้ำตาล

6. สำหรับตัวอย่างที่จะหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ก็วิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 2-5 ถ้าตัวอย่างมีปริมาณน้ำตาลอยู่สูงต้องเจือจางให้อยู่ในช่วงที่วิเคราะห์ได้ และหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน

7. **น้ำตาลทั้งหมด** (ใช้ phenol sulfuric acid method ดัดแปลงจาก A.O.A.C., 1990)

สารเคมี

1. สารละลายน้ำตาลกลูโคสมาตรฐาน ชั่งน้ำตาลกลูโคสด้วยเครื่องชั่งอย่างละเอียดให้ได้ปริมาณ 0.35 กรัม ใส่ใน volumetric flask เติมน้ำกลั่นให้เป็น 100 มิลลิลิตร เขย่าให้ทั่วจาก stock solution ดูดมา 1, 5, 5, 2 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปริมาณ 6, 5, 2, 0 มิลลิลิตร ตามลำดับ จะได้สารละลายมาตรฐานกลูโคส 10, 35, 50 และ70 ไมโครกรัมต่อ 2 มิลลิลิตร

2. สารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้นสารละลายนี้นำมาใช้ได้เลย

3. สารละลายฟีนอล 5 % ละลาย ฟีนอล 5 กรัม ลงในน้ำกลั่นเติมน้ำจนได้ปริมาณ 100 มิลลิลิตร

วิธีวิเคราะห์

1. หา standard curve โดยใช้สารละลายกลูโคสมาตรฐานปริมาณดังนี้ 10, 35, 50 และ 70 ไมโครกรัมต่อ 2 มิลลิลิตร และหาปริมาณ total sugar ของตัวอย่าง โดยเทียบกับ standard curve

2. แช่หลอดทดสอบในน้ำแข็งใส่สารละลายตัวอย่าง 2 มิลลิลิตร (ปริมาณน้ำตาลอยู่ในช่วงที่วิเคราะห์ได้)

3. เติมสารละลายฟีนอล 5% ใช้ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 2-3 นาที แล้วเอาหลอดทดสอบออกจากน้ำแข็งที่แช่มาวางที่อุณหภูมิห้อง

4. เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น ปริมาณ 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันทันที ทิ้งไว้ 10 นาที แล้วเขย่าอีก วางไว้อีกไม่เกิน 20 นาที นำไปวัดค่า O.D. ที่ความยาวคลื่นแสง 490 นาโนเมตร เอาค่าที่ได้มา plot curve ระหว่างค่า O.D. กับปริมาณน้ำตาล

5. สำหรับตัวอย่างที่จะหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดก็วิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 2-4 ถ้าตัวอย่างมีปริมาณน้ำตาลอยู่สูงต้องเจือจางให้อยู่ในช่วงที่วิเคราะห์ได้ และหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด โดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน

8. ของแข็งทั้งหมด (APHA, AWWA. and WPCF, 1985)

อุปกรณ์

1. ถ้วยกระเบื้องสำหรับระเหย
2. ตู้อบที่ควบคุมอุณหภูมิได้ที่ 103 องศาเซลเซียส
3. อ่างไอน้ำ
4. โถดูดความชื้น
5. เครื่องชั่งไฟฟ้าชนิด 4 ตำแหน่ง

วิธีการ

1. นำถ้วยกระเบื้องล้างให้สะอาด อบให้แห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทำให้เย็นในโถดูดความชื้นแล้วชั่งน้ำหนักที่แน่นอน
2. ตวงตัวอย่าง 50 มิลลิลิตรหรือน้อยกว่า ใส่ลงในถ้วยระเหยที่ทราบน้ำหนักแน่นอน
3. นำไประเหยให้แห้งในอ่างไอน้ำ
4. อบให้แห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
5. ทำให้เย็นในโถดูดความชื้นประมาณ 45 นาที
6. ชั่งน้ำหนัก

การคำนวณ

$$\text{ของแข็งทั้งหมด (มิลลิกรัมต่อลิตร)} = \frac{\text{น้ำหนักของแข็ง}}{\text{มิลลิลิตรตัวอย่าง}} \times 1000$$

9. ของแข็งแขวนลอยทั้งหมด (APHA, AWWA. and WPCF, 1985)

อุปกรณ์

1. Glass fibre filter disk (Whatman GF/C , 5.5 cm.)
2. filter holder อาจจะใช้ Menbrane filter holder หรือ gooch crucible

3. เครื่องสูญญาศ

4. ตู้อบที่ควบคุมอุณหภูมิได้ที่ 103 องศาเซลเซียส

5. โถดูดความชื้น

6. เครื่องชั่งไฟฟ้าชนิด 4 ตำแหน่ง

วิธีการ

1. การเตรียม gooch crucible วางกระดาษกรองลงใน gooch crucible ผ่านน้ำกลั่นลงไปใช้เครื่องดูดอากาศให้แห้ง นำไปอบให้แห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้องในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก

2. สำหรับตัวอย่างมาทำให้กรองได้ช้า ให้เลือกปริมาตรของตัวอย่างที่จะใช้ซึ่งจะต้องเท่ากับ 14 มิลลิลิตรต่อลูกบาศก์เซนติเมตรของกระดาษกรอง

3. นำเอา gooch crucible ซึ่งเตรียมใส่ในที่สำหรับดูดอากาศ ทำกระดาษกรองให้เปียกด้วยน้ำกลั่น เปิดเครื่องดูด วัดปริมาตรตัวอย่างโดยใช้ปิเปตหรือกระบอกตวงแล้ว แล้วกรองล้าง 3 ครั้งด้วยน้ำกลั่น ครั้งละ 10 มิลลิลิตร ใช้เครื่องดูดอากาศดูดจนแห้ง นำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่งโมง ทำให้เย็นเท่าอุณหภูมิห้องในโถดูดความชื้น

4. ทำการชั่งให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน

การคำนวณ

$$\text{ของแข็งแขวนลอยทั้งหมด (มิลลิกรัมต่อลิตร)} = \frac{\text{มิลลิกรัมของแข็งแขวนลอย} \times 1000}{\text{มิลลิลิตรของตัวอย่าง}}$$

10. น้ำมันและกรีสในน้ำทิ้ง (ดัดแปลงจากกรรณิการ์ สิริสิงห, 2522)

อุปกรณ์

1. ชุดที่ใช้สำหรับสกัด (Soxhlet)

2. เครื่องดูดสูญญากาศ

3. Buchner funnel

4. ขวดสกัด ขนาด 250 มิลลิลิตร

5. เครื่องชั่งไฟฟ้าชนิด 4 ตำแหน่ง

6. โถดูดความชื้น

7. ตู้อบ

สารเคมี

1. ปิโตรเลียม อีเทอร์ (petroleum ether)

2. กระดาษกรอง เบอร์ 40

3. Diatomaceous - silica filter aid suspension 10 กรัมต่อลิตรน้ำกลั่น

4. ผ้าขาวบาง

วิธีการ

1. วางกระดาษกรองใน Buchner funnel แล้วเทสารละลาย filter aid ที่เตรียมไว้ 100 มิลลิลิตร ใช้เครื่องดูดสูญญากาศดูด ล้างด้วยน้ำกลั่นประมาณ 10 มิลลิลิตร จนกระ - ทั่งแห้ง

2. กรองตัวอย่างที่เตรียมไว้ และดูดให้แห้ง

3. ใช้ปากคีบหยิบกระดาษกรองออกมา ม้วนกระดาษกรองเข้าด้วยกัน แล้วห่อด้วยผ้าขาวบาง นำไปอบให้แห้งที่ 103 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

4. ใส่ลงในซอคเลต

5. เติมสารตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ ลงในขวดสกัดไขมัน 150 มิลลิลิตรแล้ววางบนเตา

6. ประกอบอุปกรณ์ชุดสกัด พร้อมทั้งเปิดน้ำหล่ออุปกรณ์ควบแน่น และเปิดสวิทซ์ให้ความร้อน

7. ใช้เวลาในการสกัด 4 ชั่วโมง เมื่อครบแล้ว กลั่นเก็บสารละลายจนเหลือสารละลายในขวดสกัดเพียงเล็กน้อย นำตัวอย่างที่ใส่ในหลอดใส่ตัวอย่างออกจากซอคเลต

8. นำขวดสกัดนั้นไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส จนแห้งใช้เวลาประมาณ 30 นาที ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น

9. ชั่งน้ำหนัก

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณของกรีสหรือ น้ำมัน (มิลลิกรัม/ลิตร)} = \frac{\text{น้ำหนักของสารที่สกัดได้} \times 1000}{\text{มิลลิลิตรของตัวอย่าง}}$$

11. ไขมัน (A.O.A.C., 1990)

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ชุดสกัดไขมัน (soxhlet appartus) ประกอบด้วย ขวดสกัดสำหรับใสตัวทำละลาย ซอคเลต(soxhlet) เครื่องควบแน่น(condenser) และเตาให้ความร้อน (heating mentle)

2. หลอดใส่ตัวอย่าง (extraction thimble)

3. สำสี

4. ตู้อบไฟฟ้า

5. เครื่องชั่งไฟฟ้าชนิด 4 ตำแหน่ง

6. โถดูดความชื้น

สารเคมี

1. ปิโตรเลียม อีเทอร์ (petroleum ether)

วิธีการ

1. อบขวดสกัดสำหรับหาปริมาณไขมัน ซึ่งมีขนาด 250 มล. ในตู้อบไฟฟ้าทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น และชั่งน้ำหนักที่แน่นอน

2. ชั่งตัวอย่างบนกระดาษกรองให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน (2.0 กรัม) ห่อให้มิดชิดโดยคลุมด้วยสำลีเพื่อให้สารละลายมีการกระจายอย่างสม่ำเสมอในหลอดใส่ตัวอย่าง

3. นำหลอดตัวอย่างใส่ลงในซอคเลต

4. เติมสารปิโตรเลียม อีเทอร์ ลงในขวดหาไขมัน 150 มล. แล้ววางบนเตา

5. ประกอบอุปกรณ์ชุดสกัดไขมันพร้อมทั้งเปิดน้ำหล่ออุปกรณ์ควบแน่น และเปิดสวิทซ์ให้ความร้อน

6. ใช้เวลาในการสกัดไขมัน 14 ชั่วโมง โดยปรับความร้อนให้หยดของสารละลายกลั่นตัวจากอุปกรณ์ควบแน่นด้วยอัตรา 150 หยดต่อนาที

7. เมื่อครบ 14 ชั่วโมงแล้ว กลั่นเก็บสารละลายจนเหลือสารละลายในขวดสกัดเพียงเล็กน้อย นำหลอดใส่ตัวอย่างออกจากซอคเลต

8. นำขวดหาไขมันนั้นไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 80-90 องศาเซลเซียส จนแห้งใช้เวลาประมาณ 30 นาที ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น

9. ชั่งน้ำหนัก แล้วอบซ้ำนานครั้งละ 30 นาที จนกระทั่งผลต่างของน้ำหนักสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณไขมัน (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักไขมันหลังอบ}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}} \times 100$$

12. ซีโอดี (APHA, AWWA. and WPCF, 1985)

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์กลั่นไหลกลับ

- ขวดกลมขนาด 250 มิลลิลิตร
- เครื่องควบแน่น
- เตาให้ความร้อน (hot plate)

2. บิวเรต

สารเคมี

1. สารละลายมาตรฐานโปตัสเซียมไดโครเมตเข้มข้น 0.025 นอร์มอล

ละลายโปตัสเซียมไดโครเมต ($K_2Cr_2O_7$) ซึ่งอบแห้งที่ 103 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จำนวน 12.259 กรัมในน้ำกลั่น เติมกรดซัลฟามิก (NH_2SO_3H) 0.12 กรัม แล้วปรับปริมาตรด้วยการเติมน้ำกลั่นจนครบ 1,000 มิลลิลิตร

2. Sulfuric acid reagent

ละลายซิลเวอร์ซัลเฟท 22 กรัม ในกรดซัลฟูริกเข้มข้น บรรจุขวดขนาด 1 ปอนด์ (2.65 ลิตร) เนื่องจากซิลเวอร์ซัลเฟตละลายยากมาก อาจต้องใช้เวลา 1-2 วัน จึงจะละลายหมด

3. สารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟทเข้มข้น 0.10 นอร์มอล

3.1 การเตรียมสารละลาย

ละลายเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟท $\{Fe(NH_4)_2(SO_4)_2.6H_2O\}$ จำนวน 39 กรัม ในน้ำกลั่นเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 20 มิลลิลิตร ทำให้เย็นแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1,000 มิลลิลิตร

3.2 การหาความเข้มข้นของสารละลาย

ปิเปตสารละลายมาตรฐานโปตัสเซียมไดโครเมต (0.25 นอร์มอล) จำนวน 10 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เติม sulfuric acid reagent 30 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ให้เย็น ไตเตรทด้วยสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟทเติมเฟอร์โรอิน 2-3 หยด เป็นอินดิเคเตอร์

การคำนวณ

$$\text{ความเข้มข้น (นอร์มอล)} = \frac{\text{ปริมาณสารละลายโปตัสเซียมไดโครเมต (มล.)} \times 0.25}{\text{ปริมาณสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟท (มล.)}}$$

4. สารละลายเฟอร์โรอิน

ละลาย 1-10 ฟีแนนโทรลีนโมโนไฮเดรต $(C_{12}H_6N_2.H_2O)$ จำนวน 1.485 กรัมและเฟอร์รัสซัลเฟท $(FeSO_4.7H_2O)$ จำนวน 0.695 กรัม เติมน้ำจนปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

5. ซิลเวอร์ซัลเฟท (Ag_2SO_4) ชนิดผง

6. เมอร์คิวรี่ซัลเฟท $(HgSO_4)$ ชนิดผลึกบริสุทธิ์หรือเป็นผง ใช้เป็นตัวกำจัดอนุภาคคลอไรด์ (Cl^-) ในอัตราส่วน $HgSO_4$ ต่อ Cl^- = 10:1

7. กรดซัลฟามิก (suflamic acid) ใช้ในกรณีที่กำจัดไนไตรท์เท่านั้น

วิธีการวิเคราะห์

1. เติมเมอร์คิวรี่ซัลเฟท 0.4 กรัม ลงในขวดกลม

2. เติมตัวอย่าง 20 มิลลิลิตร หรือส่วนของตัวอย่างที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 20 มิลลิลิตร

3. เติมสารละลายมาตรฐานโปตัสเซียมไดโครเมต 10 มิลลิลิลตร และลูกแก้ว(glass bead) 3-5 เมล็ด

4. ค่อย ๆ เติม sulfuric acid reagent 30 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันเพื่อละลายเมอร์คิวรี่ซัลเฟทควรทำให้เย็นขณะเขย่า เพื่อหลีกเลี่ยงการสูญเสียของสารที่เป็นไอในตัวอย่าง (อาจแช่ในอ่างน้ำ)

5. กลั่นด้วยอุปกรณ์กลั่นไหลกลับ ประมาณ 2 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็น

6. ไตเตรทสารละลายโปตัสเซียมไดโครเมตที่เกินพอด้วยสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟท ใช้เฟอร์โรอีนเป็นอินดิเคเตอร์ เมื่อถึงจุดยุติสีจะเปลี่ยนจากเขียวปนน้ำเงินเป็นสีน้ำตาลปนแดง

7. ทำ blank โดยใช้น้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร แทนตัวอย่างน้ำ ทำเช่นเดียวกับตัวอย่าง (ข้อ 1-6)

การคำนวณ

$$\text{ซีโอดี (มิลลิกรัมต่อลิตร)} = \frac{(A-B) \times N \times 8 \times 1000}{\text{ปริมาณตัวอย่าง (มล.)}}$$

เมื่อ A คือ ปริมาณสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟทที่ใช้ไตเตรท blank

B คือ ปริมาณสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟทที่ใช้ไตเตรทตัวอย่าง

N คือ ความเข้มข้นของสารละลายเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟท (นอร์มอล)

13. โปรตีน โดยวิธี Kjeldahl method (ดัดแปลงจาก A.O.A.C., 1984)

อุปกรณ์

1. หลอดย่อยตัวอย่างขนาด 2.5 x 31 ซม.

2. หลอดกลั่นตัวอย่างขนาด 4.0 x 30 ซม.

3. เครื่อง Kjeltech ซึ่งประกอบด้วย เครื่องย่อย เครื่องกลั่น และเครื่องจับไอกรด

สารเคมี

1. กรดซัลฟูริก (H_2SO_4)

2. สารช่วยเร่งการย่อย (catalyst) ประกอบด้วย $CuSO_4$ 1 ส่วนและ K_2SO_4 10 ส่วน

3. โซเดี่ยมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เข้มข้น 10 และ 40 %

4. กรดบอริก (H_3BO_3) เข้มข้น 2 %

5. mixed indicator

5.1 ชั่ง 0.125 กรัม เมทิลเรด และ 0.082 กรัม เมทิลีนบลู ละลายในเอทิลแอลกอฮอร์ 95 % ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

5.2 ชั่ง 0.1 กรัม โปรโมครีซอลารีนละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

5.3 ผสมสารละลายข้อ1 และ 2 ในอัตราส่วนสารข้อ 1: สารข้อ 2 เท่ากับ 5:1

วิธีการ

การย่อยตัวอย่าง

1. ชั่งตัวอย่าง 0.2-0.5 กรัมหรือ 5-10 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดย่อยตามปริมาณไนโตรเจนที่คาดว่าจะมี ถ้ามีมากก็ใช้น้อย มีน้อยใช้มาก (ทำ blank ทุกครั้ง)

2. ใส่สารช่วยเร่งการย่อย จำนวน 1-2 กรัม

3. เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 5-10 มิลลิลิตร สวมหลอดย่อยเข้ากับเครื่องจับไอกรดและเปิดเครื่องจับไอกรด

4. ย่อยที่อุณหภูมิเริ่มต้นประมาณ 200 องศาเซลเซียส (หมายเลข 3-5) ประมาณ 1 ชั่วโมงและเพิ่มขึ้นจนถึง 350 องศาเซลเซียส (หมายเลข 8-9) จะใช้เวลาประมาณ 4 ชั่วโมง

5. เมื่อย่อยจนใสหรือได้สารละลายสีฟ้าหรือสีเขียวอมฟ้า ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น

6. นำไปกลั่น

การกลั่นตัวอย่าง

1. ใส่ตัวอย่างลงในหลอดกลั่น เติมน้ำประมาณ 60-100 มิลลิลิตร เขย่าเบา ๆ เพื่อผสมกรด

2. ใส่หลอดเข้ากับเครื่องกลั่นที่พร้อมจะกลั่นเปิดน้ำหล่อเย็นอัตราการไหลประมาณ 3-4 ลิตรต่อนาที

3. เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 40 %ลงไปช้า ๆ จนได้สารละลายสีดำ

4. เริ่มกลั่นโดยใช้กรดบอริก (2 %) ที่มีการเติม mixed indicator (2-3 หยด) ประมาณ 10 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร รองรับ condensate โดยให้ปลายท่อจมอยู่ใต้

กรดบอริก

5. กลั่นให้ได้ condensate ประมาณ 100-150 มิลลิลิตร ก่อนเสร็จการกลั่นในแต่ละครั้งให้เลื่อนฟลาสก์เก็บตัวอย่างลง ให้ท่อพ้นของเหลว กลั่นต่อประมาณ 1 นาที เพื่อล้างเครื่องกลั่น

6. ไตเตรทกับ 0.02-0.1 N HCl หรือ H_2SO_4 หักค่า blank ออกเพื่อนำไปคำนวณ

การคำนวณ

ปริมาณโปรตีนคิดเป็นร้อยละโดยน้ำหนัก $= \frac{(A-B) \times N \times 1.4007 \times F}{W}$

เมื่อ

A คือ ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไ ตเตรท กับตัวอย่าง

B คือ ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้การไ ตเตรทกับ blank

W คือ น้ำหนักตัวอย่าง

N คือ ความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริก (นอร์มอล)

F คือ แฟกเตอร์ (x6.25)

14. เกลือ (A.O.A.C., 1990)

สารเคมีและการเตรียม

1. สารละลายปรอทไนเทรท 0.2 โมลาร์

1.1 ชั่ง $Hg(NO_3)_2 .H_2O$ น้ำหนักแน่นอน 68 กรัม

1.2 ละลายในน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร ที่มีกรดไนตริกความเข้มข้น 2 โมลาร์ 20 มิลลิลิตร ถ่ายสารละลายใส่ใน volumemetric flask และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1 ลิตร

2. สารละลายอินดิเคเตอร์

2.1 ชั่งไดฟีนิลคาร์บาโซน 0.1 กรัม

2.2 ละลายในเอทธานอล 100 มิลลิลิตร

3. สารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.1 โมลาร์

3.1 ชั่ง NaCl ที่อบแห้งแล้ว 5.844 กรัม

3.2 ละลายในน้ำกลั่น ถ่ายใส่ใน vometric flask และปรับปริมาตร ด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1 ลิตร

การสแตนดาร์ดไดซ์ความเข้มข้นของปรอทไนเตรท

1. ปิเปตสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 25 มิลลิลิตร ใส่ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร

2. เติมอินดิเคเตอร์ไดฟีนิลคาร์บาโซน 1 มิลลิลิตร

3. ไตเตรทสารละลายนี้กับสารละลายปรอทไนเตรท จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน -ม่วง จดปริมาตรสารละลายที่ใช้ในการไทเตรท

การคำนวณ

$$\text{ความเข้มข้นของปรอทไนเตรท} = \frac{\text{ความเข้มข้นของ NaCl x ปริมาตรของ NaCl}}{(\text{ปริมาตรของ } Hg(NO_3)_2) \text{ ที่ใช้ x } 2}$$

วิธีการ

1. ปิเปตสารละลายตัวอย่างที่เจือจาง (1:100) 25 มิลลิลิตร ใส่ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร

2. เติมสารละลายอินดิเคเตอร์ 1 มิลลิลิตร

3. ไทเตรทกับสารละลายปรอทไนเตรท (ที่ทราบความเข้มข้นแน่นอน) จนถึงจุดยุติ คือสารละลายเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน-ม่วง จดปริมาตรปรอทไนเตรท ที่ใช้ในการไตเตรท

การคำนวณ

$$M_1V_1 \text{ (เกลือ)} = 2\ M_2V_2 \text{ (ปรอท)}$$

$$\text{ปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์ (ก/ล)} = \frac{2M_2V_2 \times W \times 10}{V_1}$$

เมื่อ

V_1 = ปริมาตรของสารละลายตัวอย่าง 25 มิลลิลิตร

V_2 = ปริมาตรของปรอทไนเตรทที่ใช้

M_2 = ความเข้มข้นของปรอทไนเตรท

W = น้ำหนักโมเลกุลของ NaCl = 58.44

15. ค่าความเป็นด่างของน้ำ (Boyd and Tucker, 1982)

วิธีการ

ก สารเคมี และวิธีการเตรียมสารละลาย

1. ฟีนอลฟ์ทาลีน อินดิเคเตอร์ (phenolphthalein indicator)

ละลายฟีนอลฟ์ทาลีน 0.5 กรัม ในเอทธิลแอลกอฮอล์ 95 % จนได้ปริมาตรครบ 100 มิลลิลิตร

2. เมทธิลออเรนจ์ อินดิเคเตอร์ (methyl orange indicator)

ละลายเมทธิลออเรนจ์ 0.5 กรัม ในน้ำกลั่นที่กำจัดอิออนแล้ว จนได้ปริมาตรครบ 100 มิลลิลิตร

3. เมทธิลเรด อินดิเคเตอร์ (methyl red indicator)

ละลายเมทธิลเรด 0.5 กรัม ในน้ำกลั่นที่กำจัดอิออนแล้ว จนได้ปริมาตรครบ 100 มิลลิลิตร

4. สารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริก 0.2 N (standard sulphuric acid solution , H_2SO_4)

ค่อย ๆ เทกรดซัลฟูริกเข้มข้น 6 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่น (ที่ต้มเดือดใหม่ ๆ แล้วปิดฝาทิ้งให้เย็น) ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร

5. สารละลายมาตรฐานโซเดียมคาร์บอเนต 0.2 N (standard sodium carbonate solution)

ชั่งโซเดียมคาร์บอเนตซึ่งอบแห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 90 นาที หรือที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที แล้วทำให้เย็นในโถดูดความชื้นจำนวน 10.600 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ที่ต้มเดือดใหม่ ๆ ปิดผาแล้วทำให้เย็นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร

ข การตรวจหาความเข้มข้นของสารละลาย

1. ดูดสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 0.2 N 25 มิลลิลิตร ใส่ลงไปในฟลาสก์ขนาด 125 มิลลิลิตร

2. หยดเมทธิลเรด อินดิเคเตอร์ 5 หยด เขย่าให้ผสมกันจะได้สารละลายสีเหลือง

3. ไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริกจนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพู

4. นำส่วนผสมทั้งหมดไปต้มจนเดือดเป็นเวลาประมาณ 3-5 นาที เพื่อไล่ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ให้หมด สารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอีกครั้งหนึ่ง

5. ไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริกต่อไปจนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพูอีกครั้งหนึ่ง

6. บันทึกปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริกทั้งหมดที่ใช้ไป

การคำนวณ

$$\text{ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริก (N)} = \frac{0.2 \times 25}{\text{ปริมาตร (มล.)ของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริกที่ใช้ไป}}$$

หลังจากนั้นทำการปรับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริกให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.02 N โดยใช้สูตร $N_1V_1 = N_2V_2$

(N_1 = ความเข้มข้นของสารละลายที่จะปรับค่า . N_2 = ความเข้มข้นของสารละลายที่ต้องการ , V_1 = ปริมาตรของสารละลายที่จะปรับค่า ,V_2 = ปริมาตรของสารละลายที่ต้องการ)

ค การวิเคราะห์ความเป็นด่างของน้ำ

1. นำตัวอย่างน้ำ 50 มิลลิลิตร ใส่ลงในฟลาสก์ขนาด 125 มิลลิลิตร

2. หยดฟีนอลท์ทาลีน อินดิเคเตอร์ 10 หยด เขย่าให้ผสมกัน

2.1 ถ้าสารละลายใส ทำต่อไปในข้อ 3

2.2 ถ้าสารละลายสีชมพู จะต้องไตเตรทด้วยสารละลายมาตราฐานกรดซัลฟูริก จนกระทั่งสีชมพูนั้นหายไป บันทึกปริมาตรที่ใช้ไป (นำไปรวมกับปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริกที่ใช้ไปในข้อ 4) ทำต่อไปในข้อ 3

3. หยดเมทธิล ออเรนจ์ 2-3 หยด เขย่าให้ผสมกันจะได้สารละลายสีเหลือง

4. ไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริก 0.02 N จนกระทั่งสารละลายเปลี่ยน

เป็นสีส้ม จดปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริกทั้งหมดที่ใช้ไป

คำนวณ

ค่าความเป็นด่างของน้ำ (มิลลิกรัมต่อลิตร) = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟูริกที่ใช้ x 20

16. ความกระด้างของน้ำ (Boyd and Tucker, 1982)

วิธีการ

ก สารเคมีและวิธีการเตรียมสารเคมี

1. สารละลายบัฟเฟอร์ (buffer solution)

ละลายแอมโมเนียมคลอไรด์ 67.5 กรัม ในแอมโมเนียมไฮดรอกไรด์ 570 กรัม แล้วเติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรครบ 1 ลิตร

2. อินดิเคเตอร์ (indicator)

ละลายไฮดรอกซีลามีน ไฮโดรคลอไรด์ 4.5 กรัม และอีโรไอโครมแบล็กที 0.5 กรัม ในเอทิลแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ จนได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

3. สารละลายมาตรฐานโซเดียม เอทีลีนไดอะมีน เตตราอะซีเตท 0.01 โมลาร์ ชั่งอีดีทีเอ 4.000 กรัม และแมกนีเซียมคลอไรด์ 0.1000 กรัม ละลายในน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรครบ 1 ลิตร

4. สารละลายมาตรฐานแคลเซียมคาร์บอเนต 0.01 M

นำแคลเซียมคาร์บอเนตไปอบที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 90 นาที ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น นำมา 1.0 กรัม นำมาละลายในกรดไฮโดรคลอริก ซึ่งเจือจางด้วยน้ำกลั่น 50 เปอร์เซ็นต์ จนได้สารละลายใส หรือจนกระทั่งแคลเซียมคาร์บอเนตหมดไป แล้วเติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรครบ 1 ลิตร ซึ่ง 1 มิลลิลิตร = 1.0 มิลลิกรัม ของแคลเซียมคาร์บอเนต

ข วิธีการตรวจความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน

1. ดูดสารละลายของมาตรฐานแคลเซียมคาร์บอเนตมา 50 มิลลิลิตร ใส่ลงฟลาสก์ขนาด 125 มิลลิลิตร

2. เติมสารละลายบัฟเฟอร์ลงไปประมาณ 1-2 มิลลิลิตรเขย่าให้ผสมกัน

3. หยดอินดิเคเตอร์ ลงไปประมาณ 6 หยด เขย่าให้ผสมกันจะได้สารละลายสีม่วงแดง

4. ไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐาน อีดีทีเอ จนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนสีจากสีม่วงแดงเป็นสีน้ำเงิน

5. จดปริมาตรของ อีดีทีเอที่ใช้ไป ปรับความเข้มข้นของสารละลาย โดยสูตร $N_1V_1 = N_2V_2$

ค การวิเคราะห์ค่าความกระด้างของน้ำ

1. นำตัวอย่างน้ำมา 50 มิลลิลิตร ใส่ลงในฟลาสก์ขนาด 125 มิลลิลิตร

2. เติมสารละลายบัฟเฟอร์ลงไปประมาณ 1-2 มิลลิลิตร เขย่าให้ผสมกัน

3. หยดอินดิเคเตอร์ลงไปประมาณ 6 หยด เขย่าให้ผสมกันจะได้สารละลายสีม่วงแดง

4. ไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐาน อีดีทีเอ จนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนสีจากสีม่วงแดงเป็นสีน้ำเงิน

5. บันทึกปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน อีดีทีเอ ที่ใช้ไป

ค่าความกระด้างของน้ำ = ปริมาตรของสารละลาย มาตรฐาน อีดีทีเอ

(มิลลิกรัมต่อลิตรของแคลเซียมคาร์บอเนต)

ภาคผนวก ค ตารางผลการทดลองและการวิเคราะห์ทางสถิติของยีสต์

ตารางภาคผนวกที่ ค1 ปริมาณโปรตีนในส่วนใสหลังจากแยกไขมัน ตกตะกอนโปรตีนโดยใช้พีเอช และอุณหภูมิที่ระดับต่าง ๆ

พีเอช	อุณหภูมิที่ระดับต่าง ๆ ในการตกตะกอนโปรตีน					
	100 องศาเซลเซียส		110 องศาเซลเซียส		121 องศาเซลเซียส	
	ปริมาณโปรตีน *	ความขุ่น**	ปริมาณโปรตีน*	ความขุ่น**	ปริมาณโปรตีน*	ความขุ่น**
3.5	4.96[b]	2.12[bc]	4.94[b]	1.45[b]	4.92[b]	1.11[c]
4.0	4.95[b]	2.33[b]	4.93[b]	1.16[b]	4.93[b]	1.42[b]
4.5	4.97[a]	2.00[c]	4.91[c]	1.12[c]	4.90[c]	0.11[d]
ชุดควบคุม	5.63[a]	3.40[a]	5.55[a]	3.00[a]	5.50[a]	1.70[a]

หมายเหตุ

[1] ค่าเฉลี่ย±ค่าความผิดพลาด

ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$)

* หน่วย ปริมาณโปรตีน เป็นร้อยละ

** หน่วยความขุ่น : unit

ตารางภาคผนวกที่ ค2 ผลของการเจือจางน้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกโปรตีนและไขมัน โดยเจือจางด้วยน้ำกลั่นที่อัตราส่วนต่าง ๆ ได้แก่ 1:0, 1:1, 1:4 และ 1:9 ตามลำดับ เลี้ยง *C. tropicalis* TISTR 5146 พีเอชเริ่มต้นที่ 4.5 บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

อัตราการเจือจาง ที่ระดับต่าง ๆ	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร ระยะเวลาทดลอง (ชั่วโมง)					
	0	6	12	24	36	48
1:0	2.81±0.01[a]	2.87±0.01[d]	3.07±0.02[d]	5.30±0.05[a]	6.33±0.06[b]	8.77±0.01[a]
1:1	2.81±0.01[a]	4.90±0.04[b]	7.71±0.03[a]	8.14±0.03[a]	8.29±0.01[a]	8.62±0.03[a]
1:4	2.81±0.01[a]	5.86±0.03[a]	5.95±0.08[b]	6.17±0.01[b]	6.26±0.09[b]	6.44±0.02[b]
1:9	2.81±0.01[a]	4.43±0.01[c]	5.55±0.06[c]	5.46±0.03[c]	5.58±0.09*[c]	5.05±0.01[c]

หมายเหตุ

[1] ค่าเฉลี่ย±ค่าความผิดพลาด

ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ ($p>0.05$)

ตารางภาคผนวกที่ ค3 ผลของพีเอชของน้ำนึ่งปลาทูน่าที่แยกโปรตีนและไขมัน โดยเจือจางด้วยน้ำกลั่นที่อัตราส่วน 1:1 ที่พีเอชต่าง ๆ ได้แก่ 4.5, 5.5, 6.5 และ 7.5 ตามลำดับ เลี้ยง *C. tropicalis* TISTR 5146 บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

พีเอชระดับต่าง ๆ	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร ระยะเวลาทดลอง (ชั่วโมง)					
	0	6	12	24	36	48
4.5	2.82±0.01[a]	4.07±0.01[d]	5.93±0.03[b]	8.08±0.06[c]	8.55±0.07[c]	8.67±0.02[c]
5.5	2.82±0.01[a]	6.44±0.01[b]	8.07±0.01[a]	8.72±0.05[a]	9.24±0.02[a]	10.58±0.01[a]
6.5	2.82±0.01[a]	6.76±0.01[b]	8.46±0.01[a]	8.27±0.01[b]	9.05±0.03[b]	10.11±0.03[b]
7.5	2.82±0.01[a]	5.82±0.04[c]	6.42±0.09[b]	7.88±0.02[d]	8.13±0.04[d]	8.2.±0.03[d]

หมายเหตุ

[1] ค่าเฉลี่ย±ค่าความผิดพลาด

ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ ($p>0.05$)

ตารางภาคผนวกที่ ค4 ผลของกลูโคสที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการเลี้ยง *C. tropicalis* TISTR 5146 ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นที่อัตราส่วน 1:1 พีเอชเริ่มต้น 5.5 เติมกลูโคสในระดับต่าง ๆ ได้แก่ร้อยละ 1, 5 และ10 ตามลำดับ บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

กลูโคสที่ระดับต่าง ๆ	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร ระยะเวลาทดลอง (ชั่วโมง)					
	0	6	12	24	36	48
ชุดควบคุม	2.82±0.01[a]	6.29±0.01[d]	7.72±0.04[c]	8.03±0.03[d]	8.48±0.01[d]	9.95±0.01[d]
1	2.82±0.01[a]	8.57±0.01[c]	9.96±0.01[b]	13.11±0.02[c]	14.52±0.02[a]	14.54±0.08[b]
5	2.82±0.01[a]	9.38±0.07[a]	13.11±0.02[a]	13.22±0.04[b]	12.97±0.03[a]	12.93±0.07[c]
10	2.82±0.01[a]	10.74±0.01[a]	13.37±0.10[a]	15.05±0.04[a]	15.30±0.03[a]	14.70±0.09[a]

หมายเหตุ

[1] ค่าเฉลี่ย±ค่าความผิดพลาด

ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ ($p>0.05$)

ตารางภาคผนวกที่ ค5 ผลของซูโครสใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการเลี้ยง *C. tropicalis* TIRST 5146 ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นที่อัตราส่วน 1:1 พีเอชเริ่มต้น 5.5 เติมซูโครสในระดับต่าง ๆ ได้แก่ร้อยละ 1, 5 และ 10 ตามลำดับ บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ซูโครสที่ระดับต่าง ๆ	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร ระยะเวลาทดลอง (ชั่วโมง)					
	0	6	12	24	36	48
ชุดควบคุม	2.84±0.01[a]	7.55±0.05[c]	8.46±0.01[d]	9.06±0.01[d]	9.45±0.03[d]	9.92±0.05[d]
1	2.84±0.01[a]	8.19±0.03[b]	11.95±0.02[b]	13.65±0.05[a]	13.95±0.01[a]	14.62±0.03[a]
5	2.84±0.01[a]	9.38±0.02[a]	11.42±0.01[c]	11.67±0.08[c]	11.62±0.01[c]	11.93±0.01[c]
10	2.84±0.01[a]	7.04±0.02[c]	12.61±0.01[a]	11.79±0.04[b]	12.27±0.09[b]	12.45±0.05[b]

หมายเหตุ

[1] ค่าเฉลี่ย±ค่าความผิดพลาด

ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ ($p>0.05$)

ตารางภาคผนวกที่ ค6 ผลของกากน้ำตาลที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการเลี้ยง *C. tropicalis* TISTR 5146 ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นที่อัตราส่วน 1:1 พีเอชเริ่มต้น 5.5 เติมกากน้ำตาล ในระดับต่าง ๆ ได้แก่ ร้อยละ1, 5 และ 10 ตามลำดับ บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

กากน้ำตาลที่ระดับต่าง ๆ	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร ระยะเวลาทดลอง (ชั่วโมง)					
	0	6	12	24	36	48
ชุดควบคุม	2.84±0.01[a]	5.29±0.05[d]	7.95±0.03[d]	8.09±0.01[d]	9.08±0.08[d]	9.90±0.03[d]
1	2.84±0.01[a]	7.06±0.05[c]	11.16±0.05[c]	12.95±0.03[c]	13.30±0.02[c]	13.37±0.01[c]
5	2.84±0.01[a]	10.57±0.03[b]	12.45±0.07[b]	15.45±0.04[a]	16.75±0.03[a]	17.91±0.01[a]
10	2.84±0.01[a]	11.64±0.05[a]	13.37±0.05[a]	14.66±0.07[b]	16.48±0.03[b]	17.00±0.01[b]

หมายเหตุ

[1] ค่าเฉลี่ย±ค่าความผิดพลาด

ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ ($p>0.05$)

ตารางภาคผนวกที่ ค7 การเปรียบเทียบแหล่งคาร์บอนในการเลี้ยง *C. tropicalis* TISTR 5146 พีเอชเริ่มต้น 5.5 เติมแหล่งคาร์บอนต่าง ๆ ร้อยละ 1 บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

แหล่งคาร์บอนต่าง ๆ	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร ระยะเวลาทดลอง (ชั่วโมง)					
	0	6	12	24	36	48
กลูโคส	2.84±0.01[a]	8.57±0.03[a]	9.96±0.01[c]	13.11±0.01[c]	14.53±0.02[a]	14.54±0.02[a]
ซูโครส	2.84±0.01[a]	8.19±0.02[b]	11..94±0.09[a]	13.55±0.03[b]	13.95±0.03[b]	13.94±0.02[b]
กากน้ำตาล	2.84±0.01[a]	7.06±0.02[c]	11.15±0.09[b]	15.45±0.05[a]	13.30±0.06[c]	13.37±0.01[c]

หมายเหตุ

[1] ค่าเฉลี่ย±ค่าความผิดพลาด

ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ ($p>0.05$)

ตาราภาคผนวกที่ ค8 การเปรียบเทียบแหล่งคาร์บอนในการเลี้ยง *C. tropicalis* TISTR 5146 พีเอชเริ่มต้น 5.5 เติมแหล่งคาร์บอนต่าง ๆ ร้อยละ 5 บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

แหล่งคาร์บอนต่าง ๆ	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร ระยะเวลาทดลอง (ชั่วโมง)					
	0	6	12	24	36	48
กลูโคส	2.84±0.01[a]	9.39±0.02[b]	13.11±0.04[a]	13.22[b]±0.04	12.97±0.01[b]	14.70±0.07[b]
ซูโครส	2.84±0.01[a]	9.38±0.06[b]	12.61±0.05[b]	11.65±0.05[c]	12.35±0.03[c]	12.45±0.05[c]
กากน้ำตาล	2.84±0.01[a]	10.54±0.05[a]	12.45±0.05[b]	15.45[a]±0.05	16.75±0.06[a]	17.91±0.01[a]

หมายเหตุ

[1] ค่าเฉลี่ย±ค่าความผิดพลาด

ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ ($p>0.05$)

ตารางภาคผนวกที่ ค9 การเปรียบเทียบแหล่งคาร์บอนในการเลี้ยง *C. tropicalis* 5146 พีเอชเริ่มต้น 5.5 เติมแหล่งคาร์บอนต่าง ๆ ร้อยละ 10 บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

แหล่งคาร์บอนต่าง ๆ	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร ระยะเวลาทดลอง (ชั่วโมง)					
	0	6	12	24	36	48
กลูโคส	2.84±0.01[a]	10.74±0.03[c]	13.11±0.02[b]	13.22±0.03[b]	11.42±0.04[c]	11.63±0.02[c]
ซูโครส	2.84±0.01[a]	12.38±0.07[a]	11.42±0.08[c]	11.67±0.08[b]	12.97±0.03[b]	12.94±0.03[b]
กากน้ำตาล	2.84±0.01[a]	11.64±0.03[b]	14.45±0.05[a]	14.66±0.05[a]	16.48±0.05[a]	17.00±0.08[a]

หมายเหตุ

[1] ค่าเฉลี่ย±ค่าความผิดพลาด

ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ ($p>0.05$)

ตารางภาคผนวกที่ ค10 ผลของแอมโมเนียไฮโดรเจนฟอสเฟทเป็นแหล่งไนโตรเจนที่ระดับต่าง ๆ ในการเลี้ยง *C. tropicalis* TISTR 5146 ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นที่อัตราส่วน 1:1 พีเอชเริ่มต้น 5.5 และเติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

แอมโมเนียไฮโดรเจนฟอสเฟท ที่ระดับต่าง ๆ	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร ระยะเวลาทดลอง (ชั่วโมง)					
	0	6	12	24	36	48
ชุดควบคุม	2.83±0.01[a]	9.83±0.01[c]	12.08±0.03[b]	13.43±0.02[c]	16.22±0.03[ab]	17.03±0.10[b]
1	2.83±0.01[a]	11.17±0.05[a]	13.68±0.02[a]	15.49±0.10[a]	16.59±0.09[a]	17.45±0.04[a]
3	2.83±0.01[a]	10.48±0.05[b]	12.13±0.02[b]	13.80±0.08[b]	15.36±0.10[b]	17.08±0.10[b]
5	2.83±0.01[a]	10.50±0.02[b]	10.94±0.03[c]	13.31±0.03[c]	13.95±0.05[c]	17.05±0.01[b]

หมายเหตุ

[1] ค่าเฉลี่ย±ค่าความผิดพลาด

ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ ($p>0.05$)

ตารางภาคผนวกที่ ค11 ผลของแอมโมเนียซัลเฟทเติมเป็นแหล่งไนโตรเจนที่ระดับต่าง ๆ ในการเลี้ยง *C. tropicalis* TISTR 5146 ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นที่อัตราส่วน 1:1 พีเอชเริ่มต้น 5.5 และเติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

แอมโมเนียซัลเฟทที่ระดับต่าง ๆ	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร ระยะเวลาทดลอง (ชั่วโมง)					
	0	6	12	24	36	48
ชุดควบคุม	2.85±0.01[a]	9.83±0.03[a]	12.08±0.03[a]	13.43±0.03[a]	16.23±0.03[a]	17.03±0.01[a]
1	2.85±0.01[a]	8.97±0.02[b]	10.42±0.02[b]	12.85±0.03[b]	14.29±0.01[b]	15.52±0.10[b]
3	2.86±0.01[a]	8.73±0.01[b]	9.86±0.01[c]	10.55±0.05[c]	14.26±0.03[b]	14.61±0.01[c]
5	2.87±0.01[a]	7.73±0.10[c]	8.53±0.04[d]	10.09±0.10[d]	10.69±0.09[c]	12.31±0.03[d]

หมายเหตุ

[1] ค่าเฉลี่ย±ค่าความผิดพลาด

ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ ($p>0.05$)

ตารางภาคผนวกที่ ค12 ผลของแอมโมเนียไนเตรทเป็นแหล่งไนโตรเจนที่ระดับต่าง ๆ ในการเลี้ยง *C. tropicalis* TISTR 5146 ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นที่อัตราส่วน 1:1 พีเอชเริ่มต้น 5.5 และเติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

แอมโมเนียไนเตรทที่ระดับต่าง ๆ	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร ระยะเวลาทดลอง (ชั่วโมง)					
	0	6	12	24	36	48
ชุดควบคุม	2.83±0.01[a]	9.94±0.01[a]	11.84±0.04[a]	4.60±0.06[a]	6.04±0.03[a]	17.20±0.20[a]
1	2.83±0.01[a]	9.27±0.10[b]	10.56±0.07[b]	12.71±0.20[b]	14.79±0.01[b]	15.66±0.11[b]
3	2.83±0.01[a]	8.45±0.01[c]	9.94±0.07[c]	11.98±0.20[c]	14.20±0.05[b]	14.28±0.07[c]
5	2.83±0.01[a]	8.44±0.01[c]	9.70±0.08[d]	10.23±0.10[d]	11.70±0.07[c]	12.26±0.13[d]

หมายเหตุ

[1] ค่าเฉลี่ย±ค่าความผิดพลาด

ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ ($p>0.05$)

ตารางภาคผนวกที่ ค13 ผลของยีสต์สกัดเป็นแหล่งไนโตรเจนที่ระดับต่าง ๆ ในการเลี้ยง *C. tropicalis* TISTR 5146 พีเอชเริ่มต้น 5.5 และเติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ยีสต์สกัดที่ระดับต่าง ๆ	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร ระยะเวลาทดลอง (ชั่วโมง)					
	0	6	12	24	36	48
ชุดควบคุม	2.83±0.01[a]	10.90±0.07[b]	12.09±0.06[c]	15.50±0.04[b]	16.16±0.10[b]	17.47±0.01[b]
0.1	2.83±0.01[a]	10.75±0.01[b]	12.67±0.05[b]	15.23±0.30[b]	15.83±0.30[b]	17.28±0.10[b]
0.5	2.83±0.01[a]	10.86±0.08[b]	12.35±0.30[c]	15.08±0.30[b]	15.98±0.02[b]	17.26±0.22[c]
1	2.83±0.01[a]	11.60±0.01[a]	13.41±0.01[a]	15.80±0.20[a]	16.33±0.02[a]	17.80±0.01[a]

หมายเหตุ

[1] ค่าเฉลี่ย±ค่าความผิดพลาด

ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ ($p>0.05$)

ตารางภาคผนวกที่ ค14 ผลของการให้อากาศที่ระดับต่าง ๆ ได้แก่ 0.66, 1.00 และ 2.00 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที ในถังหมักเลี้ยง *C. tropicalis* TISTR 5146 ในน้ำหนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นที่อัตราส่วน 1:1 เติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 พีเอชเริ่มต้น 5.5 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และอัตราเร็วการกวน 400 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

อัตราการให้อากาศ ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร) ระยะเวลาการทดลอง (ชั่วโมง)						
	0	3	6	9	12	18	24
0.66	0.60±0.01[a]	0.76±0.05[c]	3.80±0.01[c]	5.09±0.05[c]	5.89±0.01[c]	7.50±0.07[c]	7.62±0.02[c]
1.00	0.60±0.01[a]	1.74±0.04[b]	4.76±0.02[b]	6.04±0.03[b]	7.63±0.03[b]	8.17±0.03[b]	8.31±0.02[b]
2.00	0.60±0.01[a]	2.49±0.01[a]	5.46±0.02[a]	6.43±0.03[a]	8.23±0.03[a]	8.67±0.01[a]	8.72±0.03[a]

หมายเหตุ

[1] ค่าเฉลี่ย±ค่าความผิดพลาด

ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ ($p>0.05$)

ตารางภาคผนวกที่ ค15 ผลของอัตราการกวนที่ระดับต่าง ๆ ได้แก่ 300, 400 และ 500 รอบต่อนาที ในถังหมักโดยเลี้ยง *C. tropicalis* TISTR 5146 ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นที่อัตราส่วน 1:1 เติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 ปริมาณอากาศ 2.00 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

อัตราเร็วของใบพัดของการกวนที่ระดับต่าง ๆ (รอบต่อนาที)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร) ระยะเวลาการทดลอง (ชั่วโมง)						
	0	3	6	9	12	18	24
300	0.60±0.01[a]	1.51±0.01[b]	3.63±0.03[b]	4.65±0.05[b]	5.49±0.03[b]	5.74±0.03[c]	6.31±0.01[b]
400	0.60±0.01[a]	1.64±0.03[a]	5.64±0.04[a]	7.36±0.03[a]	8.63±0.03[a]	8.46±0.03[a]	8.77±0.03[a]
500	0.60±0.01[a]	2.00±0.01[a]	31.7±0.04[c]	4.23±0.04[c]	5.24±0.03[c]	5.86±0.03[b]	6.16±0.02[c]

หมายเหตุ

[1] ค่าเฉลี่ย±ค่าความผิดพลาด

ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ ($p>0.05$)

ตารางภาคผนวกที่ ค16 ผลของการศึกษาพีเอชที่ควบคุมและไม่ควบคุมในถังหมักเลี้ยง *C. tropicalis* TISTR 5146 ในน้ำนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นที่อัตราส่วน 1:1 เติมกากน้ำตาลร้อยละ 5 พีเอชเริ่มต้น 5.5 อัตราเร็วการกวน 400 รอบต่อนาที ปริมาณอากาศ 2.00 ปริมาตรอากาศต่อปริมารตอาหารต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

พีเอชที่ทดลอง	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร) ระยะเวลาการทดลอง (ชั่วโมง)						
	0	3	6	9	12	18	24
พีเอชเริ่มต้นที่ 5.5	0.60±0.01[a]	2.52±0.02[a]	5.66±0.02[a]	6.45±0.03[a]	8.16±0.02[a]	8.21±0.03[a]	8.76±0.03[a]
พีเอชควบคุมการทดลองที่ 5.5	0.60±0.01[a]	2.04±0.03[b]	4.87±0.01[b]	5.54±0.04[b]	7.46±0.02[b]	8.11±0.02[b]	8.34±0.03[b]

หมายเหตุ

[1] ค่าเฉลี่ย±ค่าความผิดพลาด

ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ ($p>0.05$)

ตารางภาคผนวกที่ ค 17 ผลของอุณหภูมิที่ 30 และ 35 องศาเซลเซียส โดยเลี้ยง *C. tropicalis* TISTR 5146 ในน้ำหนึ่งปลาทูน่าที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นที่อัตราส่วน 1:1 น้ำตาลร้อยละ 5 พีเอชเริ่มต้นที่ 5.5 ปริมาณอากาศ 2.00 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที และอัตราเร็วการกวน 400 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร) ระยะเวลาการทดลอง (ชั่วโมง)						
	0	3	6	9	12	18	24
30	0.60±0.01[a]	2.51±0.01[a]	5.53±0.04[a]	6.77±0.01[a]	8.24±0.02[a]	8.63±0.03[a]	8.85±0.04[a]
35	0.60±0.01[a]	1.31±0.01[b]	4.23±0.01[b]	5.13±0.01[b]	6.74±0.03[b]	7.54±0.04[b]	7.67±0.02[b]

หมายเหตุ

[1] ค่าเฉลี่ย±ค่าความผิดพลาด

ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$)

ภาคผนวก ง ตารางผลการทดลองและการวิเคราะห์ทางสถิติของปลากดเหลือง

ตารางภาคผนวกที่ ง1 อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อทุก ๆ 2 สัปดาห์ตลอดการทดลอง

สูตรอาหาร	อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ สัปดาห์ที่				
	0-2	2-4	4-6	6-8	0-8
ชุดควบคุม	0.88±0.05[a]	0.82±0.045[a]	0.84±0.11[a]	1.30±0.02[a]	0.96±0.22[a]
ทดแทนปลาป่น ด้วยยีสต์ร้อยละ25	0.99±0.06[a]	0.92±0.09[a]	0.93±0.25[a]	1.54±0.30[a]	1.10±0.30[a]
ทดแทนปลาป่น ด้วยยีสต์ร้อยละ50	1.06±0.13[a]	1.04±0.14[a]	0.99±0.17[a]	1.48±0.05[a]	1.14±0.23[a]

[1]ค่าเฉลี่ย ± ค่าความผิดพลาด

ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตารางภาคผนวกที่ ง2 น้ำหนักอาหารที่ใช้เลี้ยงปลากดเหลืองในแต่ละชุดการทดลองในการทดลองตลอด 8 สัปดาห์

สูตรอาหาร	น้ำหนักอาหารที่ให้ทั้งหมด (กรัม)					
	ซ้ำที่ 1		ซ้ำที่ 2		ซ้ำที่ 3	
	น.น.ทั้งหมด (T1R1)	น.น.เฉลี่ย (ต่อตัว)	น.น.ทั้งหมด (T1R2)	น.น.เฉลี่ย (ต้อตัว)	น.น.ทั้งหมด (T1R3)	น.น.เฉลี่ย (ต่อตัว)
ชุดควบคุม	372.04	15.50	331.20	13.25	487.3	20.30
ทดแทนปลาป่น ด้วยยีสต์ร้อยละ25	486.95	19.48	434.69	18.11	394.43	15.78
ทดแทนปลาป่น ด้วยยีสต์ร้อยละ50	428.48	18.27	473.13	18.93	376.58	15.69

ตารางภาคผนวกที่ ง3 ปริมาณอาหารที่ใช้เลี้ยงปลากดเหลืองในแต่ละชุดการทดลองในทุก ๆ 2 สัปดาห์

สูตรอาหาร	ปริมาณอาหาร (กรัม) สัปดาห์ที่				
	0-2	2-4	4-6	6-8	0-8
ชุดควบคุม	88.39	146.99	294.2	660.96	1,190.54
ทดแทนปลาป่นด้วยยีสต์ร้อยละ25	104.22	173.44	340.12	701.29	1,319.07
ทดแทนปลาป่นด้วยยีสต์ร้อยละ50	94.17	170.02	330.86	683.15	1,278.20

ตารางภาคผนวกที่ ง4 อัตราการรอดตายของปลากดเหลืองตลอดช่วงการเลี้ยง 8 สัปดาห์

สูตรอาหาร	อัตราการรอดตาย (%)		
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่3
ชุดควบคุม	98(24)	100(25)	100(25)
ทดแทนปลาป่น ด้วยยีสต์ร้อยละ25	100(25)	98(24)	100(25)
ทดแทนปลาป่น ด้วยยีสต์ร้อละ 50	98(24)	100(25)	98(24)

*ข้อมูลในวงเล็บเป็นจำนวนปลากดเหลืองที่รอดตาย(ตัว)

ตารางภาคผนวกที่ ง5 condition factor (W/L^3)

สูตรอาหาร	condition factor (W/L^3)		
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่3
ชุดควบคุม	0.10	0.11	0.11
ทดแทนปลาป่น ด้วยยีสต์ร้อยละ25	0.11	0.11	0.11
ทดแทนปลาป่น ด้วยยีสต์ร้อยละ50	0.11	0.11	0.11

หมายเหตุ

W : น้ำหนัก (กรัมต่อตัว)

L : ความยาว (เซนติเมตรต่อตัว)

ค่าบ่งบอกความอ้วน และ ผอมของตัวปลา

ตารางภาคผนวกที่ ง6 คุณภาพน้ำระหว่างการทดลองในการเลี้ยงปลากดเหลือง

สูตรอาหาร	ค่าความเป็นกรด-ด่าง	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ความเป็นด่างของน้ำ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ความกระด้างของน้ำ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ออกซิเจนที่ละลายน้ำ (มิลลิกรัมต่อลิตร)
ชุดควบคุม	6.99±0.11[a]	27.26±0.31[a]	32.67±8.35[a]	66.60±7.89[a]	5.99±0.62[c]
ทดแทนปลาป่นด้วยยีสต์ร้อยละ 25	6.90±0.12[b]	27.19±0.32[a]	30.75±8.67[a]	61.69±12.79[b]	6.44±0.77[a]
ทดแทนปลาป่นด้วยยีสต์ร้อยละ 50	6.89±0.68[b]	27.25±0.29[a]	31.15±7.65[b]	59.89±11.01[c]	6.31±0.44[b]

[1]ค่าเฉลี่ย ± ค่าความผิดพลาด

ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$)

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ นางสาวชุตินุช สุจริต

วัน เดือน ปี เกิด 4 กันยายน 2514

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (ชีววิทยา)	มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ภาคใต้	2536

ทุนการศึกษา (ที่ได้รับระหว่างการศึกษา)

ทุนของสถาบันเทคโนโลยีราชมงคล วิทยาเขตตรัง