บทที่ 4

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์จากน้ำทิ้งที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบหลัก เพื่อใช้เป็นแหล่งอาหารเสริมให้สัตว์ ทดแทนอาหารเสริมที่มีราคาสูง เป็นการลดต้นทุนค่าอาหารสัตว์ และเป็นการบำบัดน้ำทิ้งได้ในขณะเดียวกัน การผลิตมวลชีวภาพของยีสต์โดยยีสต์สายพันธุ์ที่รวบรวมได้ในอาหารที่มีน้ำทิ้งเป็นองค์ประกอบ โดยคัดเลือกยีสต์ที่มีสมบัติเหมาะสมมาใช้ในการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ ทั้งในขวดเขย่าและถังหมัก ในขั้นแรกเป็นการศึกษาการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ในขวดเขย่า เพื่อให้ได้ข้อมูลเบื้องต้นสำหรับการศึกษาในถังหมักทั้งในกระบวนการหมักแบบ batch และแบบต่อเนื่อง

4.1 การเก็บตัวอย่างน้ำทิ้ง การวิเคราะห์องค์ประกอบทางกายภาพและทางเคมีของน้ำทิ้ง

ขั้นตอนแรกได้เก็บตัวอย่างน้ำทิ้งที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบจากบ่อดักไขมัน และวิเคราะห์องค์ประกอบทางกายภาพและทางเคมีของน้ำทิ้ง พบว่าน้ำทิ้งประกอบด้วยไขมัน โปรตีน และน้ำตาล โดยมีไขมันเป็นองค์ประกอบในปริมาณสูงสุด โดยมีปริมาณเฉลี่ยเท่ากับ 3.27, 1.44 และ 1.19 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้ค่าบีโอดีและค่าซีโอดีของน้ำทิ้งสูง ไขมันในน้ำทิ้งมีกรดไขมันเป็นองค์ประกอบคือ กรดปาล์มิติก กรดโอเลอิก กรดสเตียริก กรดลิโนเลอิก กรดปาล์มิโตเลอิก กรดมายริสติก และกรดไลโนลินิอิก โดยมีกรดปาล์มิติกเป็นองค์ประกอบในปริมาณสูงสุดคือ 46.16 เปอร์เซนต์ของไขมันทั้งหมด กรดปาล์มิติกเป็นกรดไขมันอิ่มตัว มีสูตรโมเลกุลคือ $C_{16}H_{32}O_2$ จุดหลอมเหลว 62.9 องศาเซลเซียส (Johnson และ Peterson, 1974) เป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ในไขมันสัตว์ (Tan และ Gill, 1985) การนำไขมันไปใช้เป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ เป็นการย่อยสลายกรดไขมันผ่านวิถีเบต้าออกซิเดชัน เช่น การย่อยสลายกรดปาล์มิติกทำให้ได้พลังงานในรูป ATP เท่ากับ 130 โมลต่อกรดปาล์มิติก 1 โมล (Ratledge และ Evans, 1989 ; Ratledge และ Tan, 1989 ; Reed และ Nagodawithana, 1995)

สำหรับการเก็บตัวอย่างน้ำทิ้งทั้ง 10 ครั้ง ณ บริเวณเดียวกัน พบว่าอุณหภูมิและค่าความเป็นกรดด่างของน้ำทิ้งค่อนข้างคงที่ โดยอุณหภูมิของน้ำทิ้งอยู่ในช่วง 28 ถึง 31 องศาเซลเซียส และมีค่าความเป็นกรดด่างค่อนข้างเป็นกรดเล็กน้อย โดยอยู่ในช่วง 5.5 ถึง 6.7 มีค่าบีโอดีและค่าซีโอดีเฉลี่ยเท่ากับ 558 และ 941 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ขณะที่ข้อมูลการวิเคราะห์น้ำทิ้งจากบ่อดักไขมันของห้องปฏิบัติการ โรงงานสหฟาร์ม จำกัด รายงานว่ามีค่าบีโอดีและค่าซีโอดีประมาณ 640 และ 1,080 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (ข้อมูลไม่ได้ตีพิมพ์) เมื่อเปรียบเทียบค่าบีโอดีและค่าซีโอดีของน้ำทิ้งกับน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมอาหารอื่นๆ เช่น น้ำทิ้งจากโรงงานน้ำตาลจากหัวบีท มีค่าบีโอดีและค่าซีโอดีเท่ากับ 850 และ 1,150 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ น้ำทิ้งจากโรงงานนมและเนย มีค่าบีโอดีเท่ากับ 600 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำทิ้งจากแหล่งชุมชน มีค่าบีโอดีและค่าซีโอดีเท่ากับ 350 และ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (Abson และ Todhunter, 1967 อ้างถึงใน Bailey และ Ollis, 1985) น้ำทิ้งจากโรงงานผลิตลูกกวาด มีค่าบีโอดีมากกว่า 10,000 มิลลิกรัมต่อลิตร มีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบหลักในน้ำทิ้งประมาณ 50 กรัมต่อลิตร (Forage, 1978) น้ำทิ้งจากโรงงานสับปะรดกระป๋อง มีค่าซีโอดีอยู่ในช่วง 4,000 ถึง 7,000 มิลลิกรัมต่อลิตร มีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบหลักในน้ำทิ้งประมาณ 20 ถึง 50 กรัมต่อลิตร (Chareonsak และคณะ, 1980) และน้ำทิ้งโรงงานน้ำมันมะกอก มีค่าบีโอดีประมาณ 10,000 มิลลิกรัมต่อลิตร มีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบหลักในน้ำทิ้งประมาณ 20 กรัมต่อลิตร (Gharsallah, 1993) เป็นต้น ขณะที่น้ำทิ้งจากโรงงานฆ่าสัตว์ที่ใช้ในการวิจัยนี้มีค่าบีโอดีและค่าซีโอดีค่อนข้างต่ำ แต่ยังไม่ได้มาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้งโดยมีไขมันสัตว์เป็นองค์ประกอบหลักในน้ำทิ้งประมาณ 3.27 กรัมต่อลิตร

จากข้อมูลผลงานวิจัยที่ผ่านมา การศึกษาเกี่ยวกับการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์จากน้ำทิ้งที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบยังมีน้อยมาก ขณะที่ไขมันในน้ำทิ้งก่อให้เกิดปัญหามลภาวะ เนื่องจากกำจัดและย่อยสลายได้ยาก ดังนั้นจึงสนใจศึกษาการนำน้ำทิ้งที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบมาใช้ในการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ เพื่อนำมวลชีวภาพของยีสต์มาใช้เป็นแหล่งอาหารเสริมโปรตีนและสารอาหารที่จำเป็นในอาหารสัตว์ ทดแทนอาหารเสริมที่มีราคาสูงและนับวันจะหาได้ยาก ซึ่งจะเป็นการลดต้นทุนค่าอาหารสัตว์และเป็นการบำบัดน้ำทิ้งได้ระดับหนึ่ง

4.2 การคัดแยกและการรวบรวมสายพันธุ์ยีสต์ที่เติบโตได้ในน้ำทิ้ง เปรียบเทียบสมบัติการเติบโตและองค์ประกอบภายในเซลล์ยีสต์ที่รวบรวมได้

การนำน้ำทิ้งมาคัดแยกยีสต์ที่เติบโตได้ โดยใช้อาหารแข็งที่เตรียมจากน้ำทิ้งและอาหารที่เตรียมจากน้ำทิ้งที่เติมแหล่งคาร์บอน สามารถรวบรวมสายพันธุ์ยีสต์ได้ 7 สายพันธุ์ และได้นำ

สายพันธุ์ยีสต์ทั้งหมดมาศึกษาสมบัติการเติบโตในอาหารเหลวที่เตรียมจากน้ำทิ้งและอาหารเหลวที่เตรียมจากน้ำทิ้งที่เติมแหล่งคาร์บอนในขวดเขย่า เพื่อนำมาคัดเลือกยีสต์สายพันธุ์ที่มีสมบัติเหมาะสมในการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ต่อไป สำหรับแหล่งคาร์บอนที่เติมในน้ำทิ้งได้แก่ กลีเซอรอลหรือกลูโคส เนื่องจากต้องการเปรียบเทียบความสามารถของยีสต์แต่ละสายพันธุ์ ในการนำสารดังกล่าวและไขมันในน้ำทิ้งไปใช้เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่ายีสต์สายพันธุ์ *Y* 8662, *C* 5045, *C* 5046 และ *N* 0001 เติบโตได้ดีในน้ำทิ้งและน้ำทิ้งเติมกลีเซอรอล โดยยีสต์ *Y* 8662 มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับยีสต์สายพันธุ์อื่นๆ ขณะที่ *S* 0001 เติบโตได้ดีในน้ำทิ้งเติมกลูโคส การเติมสารดังกล่าวในน้ำทิ้งมีผลทำให้การเติบโตของยีสต์ทั้ง 7 สายพันธุ์สูงขึ้น แต่วัตถุประสงค์ของงานวิจัยต้องการบำบัดน้ำทิ้งที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบ โดยนำมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ และลดค่าบีโอดีและค่าซีโอดีอันเนื่องมาจากปริมาณไขมัน จึงให้ความสนใจเฉพาะยีสต์ที่ใช้ไขมันได้และได้น้ำหนักเซลล์แห้ง หลักเกณฑ์ในการคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์เพื่อนำไปผลิตมวลชีวภาพ ได้แก่ น้ำหนักเซลล์แห้ง ความสามารถในการนำไขมันในน้ำทิ้งไปใช้เป็นแหล่งคาร์บอน ความสามารถในการลดค่าบีโอดีและค่าซีโอดีของน้ำทิ้งภายหลังจากการเลี้ยงเชื้อ องค์ประกอบภายในเซลล์ที่สำคัญคือ มีปริมาณโปรตีนสูง ชนิดและปริมาณวิตามิน ชนิดและปริมาณกรดอะมิโนภายในเซลล์ครบถ้วน และปริมาณกรดนิวคลีอิกต่ำ จากผลการวิจัยพบว่า เมื่อเลี้ยงเชื้อในน้ำทิ้งที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 4.5 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ยีสต์สายพันธุ์ *Y* 8662 เติบโตและใช้ไขมันในน้ำทิ้งได้ดีที่สุด โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด เท่ากับ 2.58 กรัมต่อลิตร สามารถลดปริมาณไขมันในน้ำทิ้งลงได้ 92 เปอร์เซนต์ของปริมาณไขมันเริ่มต้น (3.5 กรัมต่อลิตร) อัตราการเติบโตจำเพาะ 0.105 ต่อชั่วโมง ค่าสัมประสิทธิ์ของผลผลิตมวลเซลล์เมื่อเทียบกับสับสเตรททั้งหมดที่ใช้ 0.554 กรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อกรัมสับสเตรททั้งหมด ปริมาณโปรตีนรวมภายในเซลล์ 1.60 กรัมต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง หรือเท่ากับ 62 กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง (62 เปอร์เซนต์) และมีปริมาณกรดนิวคลีอิกทั้งหมดภายในเซลล์ 10.56 เปอร์เซนต์โดยน้ำหนัก ขณะที่ Chareonsak และคณะ (1980) ศึกษาการผลิตโปรตีนจากมวลชีวภาพของยีสต์จากน้ำทิ้งโรงงานสับปะรดกระป๋อง โดยเชื้อ *S. cerevisiae* และ *C. utilis* ได้ปริมาณโปรตีนรวมภายในเซลล์ 60.60 และ 60.59 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ มีปริมาณกรดนิวคลีอิกทั้งหมดภายในเซลล์ 11.15 และ 10.78 เปอร์เซนต์โดยน้ำหนัก ตามลำดับ โดยทั่วไปกรดนิวคลีอิกทั้งหมดภายในเซลล์ยีสต์จะอยู่ในช่วง 6 ถึง 12 เปอร์เซนต์โดยน้ำหนัก ซึ่งขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ยีสต์และองค์ประกอบในอาหารเลี้ยงเชื้อ ยีสต์ที่ใช้เป็นอาหารสำหรับมนุษย์ไม่ควรมีปริมาณกรดนิวคลีอิกทั้งหมดภายในเซลล์สูง (Burton, 1956 ; Hedenskog และคณะ, 1973 ; Kihlberg, 1972) นอกจากนั้นภายในเซลล์ *Y* 8662

ยังประกอบด้วยชนิดและปริมาณวิตามิน รวมทั้งชนิดและปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมดภายในเซลล์ครบถ้วนและเหมาะสมต่อการนำไปใช้เป็นแหล่งอาหารสำหรับสัตว์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งมีไรโบเฟลวิน กรดแพนโตเธนิก ไลซีน เมไธโอนีน และทริปโตเฟนเป็นองค์ประกอบภายในเซลล์สูง ซึ่งสารอาหารดังกล่าวมีราคาสูง และมีความต้องการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมยาและอาหารสัตว์จำนวนมาก ในการผลิตอาหารสัตว์จำเป็นต้องเติมสารอาหารเหล่านี้ลงไปเพื่อเป็นอาหารเสริมแทนโปรตีนจากพืช ความต้องการสารอาหารดังกล่าวมีเพิ่มมากขึ้นตลอดเวลา เนื่องจากการขยายตัวของอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์ (Suomalainen และคณะ, 1971 ; Anna, 1990 ; Reed และ Nagodawithana, 1995)

เชื้อ *Y* 8662 เป็นสายพันธุ์ยีสต์ที่สามารถใช้กรดไขมันเป็นแหล่งอาหารในการเติบโตได้ ดังนั้นการนำยีสต์สายพันธุ์ *Y* 8662 ในการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์จากน้ำทิ้งที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบ เพื่อใช้เป็นแหล่งอาหารสำหรับสัตว์ จึงเป็นแนวทางหนึ่งซึ่งสามารถลดต้นทุนการผลิตอาหารสัตว์ เนื่องจากสามารถเติบโตได้ในแหล่งอาหารที่มีราคาถูกสามารถนำไปใช้ทดแทนอาหารเสริมซึ่งมีราคาสูง และจำเป็นต้องเติมลงไปในอาหารสัตว์ นอกจากนั้นยีสต์สายพันธุ์ *Y* 8662 สามารถลดค่าบีโอดีและค่าซีโอดีในน้ำทิ้งภายหลังนำไปใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ได้ในปริมาณสูงคือ 90.7 และ 88.3 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ และมีค่าอยู่ในช่วงมาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้ง ตามประกาศกระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม ฉบับที่ 3 (สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ, 2539) Chareonsak และคณะ (1980) รายงานว่า สามารถลดค่าซีโอดีในน้ำทิ้งโรงงานสับปะรดกระป๋องลงได้ 91 เปอร์เซนต์ โดยเชื้อ *C. utilis* ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเลือกยีสต์สายพันธุ์ *Y* 8662 ในการศึกษาต่อไป

4.3 การเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ในขวดเขย่า

หลังจากคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์ได้แล้ว จึงศึกษาลักษณะการเติบโตในอาหารสำหรับการเตรียมหัวเชื้อพบว่า *Y* 8662 อยู่ในระยะการพักตัวในช่วงเวลาสั้นๆ โดยเริ่มเข้าสู่ระยะของการเติบโตแบบทวีคูณตั้งแต่ชั่วโมงที่ 6 และเข้าสู่ระยะของการเติบโตแบบคงที่ในชั่วโมงที่ 15 มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 7.75 กรัมต่อลิตร ซึ่งรูปแบบการเติบโตในอาหารสำหรับเตรียมหัวเชื้อของ *Y* 8662 มีระยะของการเติบโตแบบทวีคูณอยู่ในช่วงชั่วโมงที่ 6 ถึง 15 จึงเลือกช่วงเวลาการเลี้ยงเชื้อดังกล่าวนำมาคัดเลือกอายุกล้าเชื้อที่เหมาะสมในน้ำทิ้ง ซึ่งใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ พบว่าการเติบโตของกล้าเชื้ออายุ 15 ชั่วโมง อยู่ในระยะการพักตัวในช่วงเวลาสั้นๆ ระยะเวลาในช่วงการพักตัวนี้ ในกระบวนการหมักระดับอุตสาหกรรมต้องทำให้สั้นที่สุดเพื่อลดต้นทุนการผลิต โดยใช้เชื้อเริ่มต้นที่เหมาะสม หลังจากนั้นเชื้อจึงมี

อัตราการเติบโตเพิ่มขึ้นโดยลำดับ โดยเริ่มเข้าสู่ระยะของการเติบโตแบบทวีคูณตั้งแต่ชั่วโมงที่ 6 หลังจากนั้นเชื้อจะเติบโตเพิ่มปริมาณขึ้นอย่างรวดเร็ว จนถึงชั่วโมงที่ 12 เชื้ออยู่ในช่วงท้ายของระยะการเติบโตแบบทวีคูณ ได้น้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 2.62 กรัมต่อลิตร ขณะที่มีการใช้ไขมันในน้ำทิ้งเป็นสารอาหารอย่างรวดเร็ว และเข้าสู่ระยะของการเติบโตแบบคงที่ในชั่วโมงที่ 18 ได้น้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 2.81 กรัมต่อลิตร ดังนั้นจึงเลือกกล้าเชื้ออายุ 15 ชั่วโมง ซึ่งได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 2.81 กรัมต่อลิตร เป็นอายุกล้าเชื้อในการเตรียมกล้าเชื้อเพื่อการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ ในการศึกษาขั้นตอนต่อไป

เมื่อได้สายพันธุ์ยีสต์ที่เหมาะสม และทราบรูปแบบการเติบโต รวมทั้งอายุกล้าเชื้อแล้ว จึงหาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ ในระดับขวดเขย่า โดยปัจจัยที่ศึกษาได้แก่ ปริมาณแหล่งไนโตรเจนในการเติมในน้ำทิ้ง เพื่อให้ได้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสม เป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ โดยเลือกใช้แอมโมเนียมซัลเฟตเป็นแหล่งอนินทรีย์ไนโตรเจน และสารสกัดจากยีสต์เป็นแหล่งอินทรีย์ไนโตรเจน โดยศึกษาอิทธิพลและอิทธิพลร่วมของแหล่งไนโตรเจนทั้งสอง เปรียบเทียบกับการเติบโตของเชื้อในน้ำทิ้งที่ไม่มีการเติมแหล่งไนโตรเจน สำหรับแอมโมเนียมซัลเฟตเป็นแหล่งอนินทรีย์ไนโตรเจนที่หาง่ายและมีราคาถูก ยีสต์สามารถนำมาใช้เป็นสารอาหารได้ง่าย โดยมีผลต่อการเติบโตและการสังเคราะห์โปรตีนเป็นองค์ประกอบภายในเซลล์ (Boze และคณะ, 1992) ส่วนสารสกัดจากยีสต์เป็นแหล่งอินทรีย์ไนโตรเจนที่สำคัญในอาหารเลี้ยงเชื้อ เนื่องจากอุดมด้วยกรดอะมิโน และยังประกอบด้วยวิตามิน และแร่ธาตุหลายชนิด ซึ่งส่งเสริมการเติบโตของยีสต์ Y 8662 (Hottinger และคณะ, 1974 ; Koh และคณะ, 1983) แต่เนื่องจากสารสกัดจากยีสต์เป็นสารอาหารที่มีราคาสูง จึงควรเติมในปริมาณจำกัด เพื่อมิให้ต้นทุนในการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์มีราคาสูง ดังนั้นในการทดลองนี้จึงได้ศึกษาหาปริมาณที่เหมาะสมในการเติมแอมโมเนียมซัลเฟตและสารสกัดจากยีสต์ในน้ำทิ้งที่มีต่อการเติบโตของเชื้อ Y 8662 พบว่าแหล่งไนโตรเจนทั้งสองต่างมีอิทธิพลและมีอิทธิพลร่วมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ โดยในชุดทดลองที่ไม่เติมแหล่งไนโตรเจน เชื้อ Y 8662 เติบโตได้น้ำหนักเซลล์แห้ง และโปรตีนจริงภายในเซลล์น้อยกว่าชุดทดลองอื่น ในชุดทดลองที่เติมแอมโมเนียมซัลเฟตปริมาณเริ่มต้น 10.0 กรัมต่อลิตร ได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 4.28 กรัมต่อลิตร และโปรตีนจริงภายในเซลล์ยีสต์เท่ากับ 2.05 กรัมต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ส่วนชุดทดลองที่เติมสารสกัดจากยีสต์ปริมาณเริ่มต้น 1.0 กรัมต่อลิตร ได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 3.45 กรัมต่อลิตร และโปรตีนจริงภายในเซลล์ยีสต์เท่ากับ 1.78 กรัมต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง และในชุดทดลองที่มีการเติมแอมโมเนียมซัลเฟตร่วมกับสารสกัดจากยีสต์ปริมาณเริ่มต้น 10.0 และ 1.0 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ได้น้ำหนักเซลล์แห้ง

สูงสุดเท่ากับ 6.48 กรัมต่อลิตร และโปรตีนจริงภายในเซลล์ยีสต์เท่ากับ 3.21 กรัมต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง โดยได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดและโปรตีนจริงภายในเซลล์ยีสต์สูงกว่าชุดทดลองที่เติมแอมโมเนียมซัลเฟตและชุดทดลองที่เติมสารสกัดจากยีสต์ในน้ำทิ้งเพียงอย่างเดียว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ดังนั้นจึงเลือกใช้แอมโมเนียมซัลเฟตปริมาณเริ่มต้น 10.0 กรัมต่อลิตรร่วมกับสารสกัดจากยีสต์ปริมาณเริ่มต้น 1.0 กรัมต่อลิตร เติมในน้ำทิ้งเพื่อนำไปใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อและศึกษาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ในถังหมักต่อไป

4.4 การเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ในถังหมัก

จากผลการศึกษาการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์จากน้ำทิ้งที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบ โดยเชื้อ *Y* 8662 ในขวดเขย่า สรุปได้ดังนี้ อาหารสำหรับการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ โดยใช้น้ำทิ้งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อในปริมาตร 1 ลิตร ประกอบด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตปริมาณเริ่มต้น 10.0 กรัมต่อลิตร ร่วมกับสารสกัดจากยีสต์ปริมาณเริ่มต้น 1.0 กรัมต่อลิตร อายุหลักเชื้อ 15 ชั่วโมง เลี้ยงเชื้อด้วยเครื่องเขย่าด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที ควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส และค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 4.5 ภายใต้ภาวะดังกล่าวนี้ ในระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อ 48 ชั่วโมง เชื้อเติบโตได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 6.48 กรัมต่อลิตร อัตราการเติบโตจำเพาะเท่ากับ 0.125 ต่อชั่วโมง และกำลังการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์เท่ากับ 0.322 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง สามารถลดปริมาณไขมันในน้ำทิ้งลงได้ 93 เปอร์เซนต์ของปริมาณเริ่มต้น (3.66 กรัมต่อลิตร) หลังจากได้ภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ในขวดเขย่าแล้ว จึงได้นำภาวะที่เหมาะสมดังกล่าวใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับการศึกษาการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยปัจจัยต่างๆ ที่ศึกษาได้แก่ การเติบโตและการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ในถังหมัก การแปรผันภาวะในการหมัก ได้แก่ อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรดด่าง อัตราการกวนและอัตราการให้อากาศ รวมทั้งค่าบีโอดีและค่าซีโอดีในน้ำทิ้งภายหลังนำมาใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อในการหมัก พบว่าเมื่อเลี้ยงเชื้อ *Y* 8662 ในถังหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ปริมาตรอาหารเริ่มต้น 3 ลิตร โดยมีองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อเช่นเดียวกับในขวดเขย่า ควบคุมค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 4.5 ตลอดเวลาการเลี้ยงเชื้อ อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 1.0 vvm ภายใต้ภาวะดังกล่าวนี้ ในระยะเวลาการหมัก 48 ชั่วโมง เชื้อเติบโตได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 8.35 กรัมต่อลิตร อัตราการเติบโตจำเพาะเท่ากับ 0.136 ต่อชั่วโมง และกำลังการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์เท่ากับ 0.424 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง สามารถลดไขมันในน้ำทิ้งลงได้ 100 เปอร์เซนต์ของปริมาณเริ่มต้น (3.66 กรัมต่อลิตร) ที่เวลา 42 ชั่วโมง ผลการศึกษานี้พบว่า เชื้อมีการเติบโตได้

ดีกว่าและไขมันในน้ำทิ้งถูกใช้ได้เร็วกว่าการเลี้ยงเชื้อในขวดเขย่า เนื่องจากการเลี้ยงเชื้อในถังหมักสามารถควบคุมภาวะในการหมักที่เหมาะสมสำหรับการเติบโตของเชื้อ มีการกวนและการให้อากาศซึ่งสามารถให้ออกซิเจนแก่เชื้อได้อย่างเพียงพอ นอกจากนั้นไขมันในถังหมักยังแพร่กระจายได้ดีในน้ำหมัก ไขมันจึงสัมผัสกับเซลล์ได้ทั่วถึงและไขมันถูกนำไปใช้ได้ง่ายขึ้น

จากนั้นทดลองแปรผันภาวะในการหมักได้แก่ อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรดด่าง อัตราการกวนและอัตราการให้อากาศ ตามลำดับ อุณหภูมิเป็นตัวแปรที่มีบทบาทสำคัญต่อการเติบโตและการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ โดยมีผลต่ออัตราการเติบโต กระบวนการเมตาบอลิซึม และองค์ประกอบภายในเซลล์ ในระหว่างการหมักจำเป็นต้องควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ในระดับที่เหมาะสมสำหรับการเติบโตของเชื้อ เนื่องจากในระหว่างการเติบโตของเชื้อในขณะหมักจะเกิดพลังงานความร้อนขึ้น อันเป็นผลมาจากปฏิกิริยาทางชีวเคมีในการออกซิไดส์สารอาหาร อุณหภูมิที่นิยมใช้ในการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์อยู่ในช่วง 25 ถึง 38 องศาเซลเซียส ซึ่งขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ยีสต์ที่ใช้ (Boze และคณะ, 1992) จากการเลี้ยงเชื้อ *Y* 8662 ในถังหมัก ควบคุมค่าความเป็นกรดด่าง 4.5 ตลอดเวลาการเลี้ยงเชื้อ อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที และอัตราการให้อากาศ 1.0 vvm พบว่าอุณหภูมิของการหมักที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเติบโต โดยได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 8.35 กรัมต่อลิตร และอัตราการเติบโตจำเพาะเท่ากับ 0.136 ต่อชั่วโมง นอกจากนี้การเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นภาวะที่สะดวกต่อการควบคุมอุณหภูมิตลอดเวลาการเลี้ยงเชื้อ

สำหรับค่าความเป็นกรดด่างขึ้นอยู่กับปริมาณไฮโดรเจนอิออนในอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งมีบทบาทสำคัญต่อการเติบโต กระบวนการเมตาบอลิซึม และองค์ประกอบภายในเซลล์เช่นเดียวกัน (Boze และคณะ, 1992) ในระหว่างการหมักจำเป็นต้องควบคุมค่าความเป็นกรดด่างให้คงที่ในระดับที่เหมาะสมสำหรับการเติบโตของเชื้อ เนื่องจากในระหว่างการเติบโตของเชื้อในขณะหมักค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมักจะเปลี่ยนแปลงไปจากค่าที่เหมาะสม ซึ่งจะทำให้เชื้อเติบโตช้าลงหรือผลิตสารที่ต้องการได้น้อยลง จากการเลี้ยงเชื้อ *Y* 8662 ในถังหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที และอัตราการให้อากาศ 1.0 vvm พบว่าเมื่อควบคุมค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมักที่ 5.0 ตลอดเวลาการเลี้ยงเชื้อ เชื้อ *Y* 8662 เติบโตได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 8.58 กรัมต่อลิตร และอัตราการเติบโตจำเพาะเท่ากับ 0.140 ต่อชั่วโมง ดังนั้นจึงเลือกภาวะดังกล่าวในการหาอัตราการกวนและอัตราการให้อากาศที่เหมาะสมต่อการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ต่อไป

Snyder (1970) รายงานว่า กระบวนการหมักเพื่อผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ ส่วนใหญ่เป็นการหมักแบบต้องการออกซิเจน ภายใต้ภาวะเช่นนี้ยีสต์สามารถออกซิไดส์แหล่งคาร์บอนได้

คาร์บอนไดออกไซด์และน้ำอย่างสมบูรณ์ ทำให้ได้ผลผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ต่อปริมาณสับสเตรทที่ใช้สูง ดังนั้นจึงต้องให้ออกซิเจนมากพอในระหว่างกระบวนการหมัก และเพื่อให้มีการกระจายของออกซิเจน จึงต้องมีการกวนพร้อมกับการให้อากาศ Tan และ Gill (1985) รายงานว่าการเพิ่มอัตราการกวนทำให้ไขมันย่อยสลายเร็วขึ้น เนื่องจากไขมันแพร่กระจายได้ดีในน้ำหมัก ไขมันจึงสัมผัสกับเซลล์ได้ทั่วถึงและถูกนำไปใช้เป็นแหล่งอาหารได้ง่ายขึ้น จากการเลี้ยงเชื้อ *Y* 8662 ในถังหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมักที่ 5.0 ตลอดเวลาการเลี้ยงเชื้อ พบว่า ที่อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที และอัตราการให้อากาศ 1.0 vvm เชื้อ *Y* 8662 เติบโตได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 8.64 กรัมต่อลิตร Singh และคณะ (1948) (อ้างถึงใน Reed และ Nagodowithana, 1995) รายงานว่าการแปรผันอัตราการกวนและอัตราการให้อากาศมีอิทธิพลน้อยมากต่อปริมาณโปรตีนภายในเซลล์ยีสต์ ขณะที่อัตราการให้อากาศต่ำเกินไปจะทำให้สปอร์ใหม่ที่งอกจากเซลล์หลุดออกได้ยาก ส่วนที่อัตราการให้อากาศสูงเกินความต้องการของเชื้อเป็นการสิ้นเปลืองพลังงานในการผลิต ดังนั้นในการวิจัยนี้จึงใช้อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที พร้อมกับอัตราการให้อากาศ 1.0 vvm การผลิตมวลชีวภาพของยีสต์จากน้ำทิ้งที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบ โดยเชื้อ *Y* 8662 ในถังหมัก ภายใต้ภาวะที่เหมาะสม สรุปได้ดังนี้ อาหารสำหรับการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์มีองค์ประกอบเช่นเดียวกันกับในขวดเขย่า ควบคุมภาวะในการหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่าง 5.0 อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที และอัตราการให้อากาศ 1.0 vvm ตลอดเวลาการเลี้ยงเชื้อ ภายใต้ภาวะดังกล่าวนี้นำมาเลี้ยงเชื้อ *Y* 8662 เป็นระยะเวลาในการหมัก 72 ชั่วโมง เชื้อ *Y* 8662 เติบโตเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว ได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 8.61 กรัมต่อลิตร อัตราการเติบโตจำเพาะเท่ากับ 0.138 ต่อชั่วโมง และกำลังการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์เท่ากับ 0.438 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง หลังจากการหมักเป็นเวลา 42 ชั่วโมง สามารถลดปริมาณไขมันในน้ำทิ้งลงได้ 100 เปอร์เซนต์ของปริมาณเริ่มต้น (3.60 กรัมต่อลิตร) และสามารถลดค่าบีโอดีและค่าซีโอดีในน้ำทิ้งลงได้เกือบ 100 เปอร์เซนต์ ซึ่งมีค่าบีโอดีและค่าซีโอดีของน้ำทิ้งภายหลังจากการหมักเป็นเวลา 72 ชั่วโมง เหลืออยู่ 12 และ 48 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ขณะที่ข้อมูลการวิเคราะห์น้ำทิ้งของห้องปฏิบัติการ โรงงานสหฟาร์ม จำกัด รายงานว่าภายหลังจากการบำบัดน้ำทิ้งในระบบ activated sludge พบว่าน้ำทิ้งมีค่าบีโอดีและค่าซีโอดีประมาณ 5 และ 18 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (ข้อมูลไม่ได้ตีพิมพ์) จากค่าบีโอดีและค่าซีโอดีดังกล่าว พบว่าได้ตามมาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้ง ดังนั้นการนำน้ำทิ้งชนิดนี้มาใช้ในการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์จึงเป็นการบำบัดน้ำทิ้ง และลดปัญหามลภาวะอันเกิดจากไขมันในน้ำทิ้งได้ตรงตามวัตถุประสงค์ของงานวิจัย

สำหรับการเลี้ยงเชื้อ *Y* 8662 ด้วยกระบวนการหมักแบบต่อเนื่อง เพื่อเพิ่มผลผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ เมื่อแปรผันอัตราการเจือจาง พบว่าที่อัตราการเจือจาง 0.217 ต่อชั่วโมง เป็นอัตราการเจือจางที่ทำให้ได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดของยีสต์ที่ภาวะคงที่ มีปริมาณเพิ่มขึ้นคือ 10.07 กรัมต่อลิตร และได้กำลังการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ มีค่าเท่ากับ 2.19 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ซึ่งสูงกว่ากำลังการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์เมื่อเลี้ยงเชื้อแบบ batch ขณะที่ความเข้มข้นของไขมันที่เหลือในน้ำหมักที่ภาวะคงที่มีการเปลี่ยนแปลงน้อยมากและมีแนวโน้มเพิ่มสูงที่อัตราการเจือจางสูงขึ้น เนื่องจากเมื่อเพิ่มอัตราการเจือจาง ระบบจะเข้าสมดุลย์ที่ภาวะคงที่ใหม่ ซึ่งเป็นภาวะที่อัตราการเจือจางน้อยกว่าอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด อัตราการเติบโตจึงมีค่าเป็นบวก จำนวนเชื้อจึงเพิ่มขึ้น การเพิ่มขึ้นของเชื้อจะต่อเนื่องกันจนกว่าอัตราการเติบโตถูกจำกัดโดยความเข้มข้นของสารอาหารที่เข้าไปในถังหมัก ณ จุดนี้ อัตราการเจือจางเท่ากับอัตราการเติบโต ปริมาณเชื้อในถังหมักจึงคงที่ เมื่ออัตราการเจือจางสูงขึ้น ความเข้มข้นมวลชีวภาพของยีสต์และกำลังการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์จะลดลงอย่างรวดเร็ว ขณะที่ความเข้มข้นของไขมันที่เหลือในน้ำหมักเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ณ จุดนี้ อัตราการเจือจางมากกว่าอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด ทำให้อัตราการเติบโตจึงมีค่าเป็นลบ จึงเกิดการชะล้างเซลล์ออกนอกระบบอย่างรวดเร็ว พบว่าอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด มีค่าเท่ากับ 0.308 ต่อชั่วโมง ค่าคงที่ (K_s) เท่ากับ 0.25 กรัมต่อลิตร อัตราการเจือจางวิกฤต เท่ากับ 0.289 ต่อชั่วโมง อัตราการเจือจางที่ให้กำลังการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์สูงสุด เท่ากับ 0.218 ต่อชั่วโมง และกำลังการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์สูงสุด เท่ากับ 3.24 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Y* 8662 ที่อัตราการเจือจาง 0.218 ต่อชั่วโมง และเพิ่มอัตราการเจือจางเป็น 0.800 ต่อชั่วโมง ซึ่งเป็นภาวะที่ทำให้เกิดระบบการชะล้างเซลล์ออกนอกระบบอย่างรวดเร็ว พบว่าอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด เท่ากับ 0.283 ต่อชั่วโมง นอกจากนั้นยังพบว่าเชื้อต้องการใช้สารอาหารส่วนหนึ่งในการเก็บรักษาเซลล์ให้มีความมั่นคงและอยู่รอดได้ โดยมีค่าพลังงานที่ใช้ในการเก็บรักษาเท่ากับ 0.023 กรัมไขมันต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อชั่วโมง และได้ค่าผลผลิตมวลชีวภาพของการเติบโตจริงเท่ากับ 4.57 กรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อกรัมไขมัน Rydin และ Nilsson (1990) ศึกษาการเลี้ยงเชื้อ *C. tropicalis* ด้วยกระบวนการหมักแบบต่อเนื่องในไขมันสัตว์จากน้ำทิ้ง พบว่าได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 6 กรัมต่อลิตร อัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด เท่ากับ 0.36 ต่อชั่วโมง และกำลังการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ เท่ากับ 2.78 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

ในการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ จำเป็นต้องพิจารณาถึงต้นทุนการผลิต เพื่อให้คุ้มทุนทางเศรษฐกิจเมื่อนำมาใช้เป็นแหล่งอาหารโปรตีนทั้งของคนและสัตว์ เมื่อเปรียบเทียบกับโปรตีนจากแหล่งอื่น เช่น ปลาป่น ข้าวโพด ถั่วเหลือง และผลิตภัณฑ์จากนม เป็นต้น ต่างผลิตออกมาจำหน่าย

ตลอดเวลา แต่มีราคาสูงขึ้น ในขณะที่ประชากรจากประเทศยากจนจำนวนมากยังขาดแคลนแหล่งอาหารโปรตีนจากพืชและสัตว์ การพยายามผลิตมวลชีวภาพของยีสต์จึงมีความจำเป็นต้องศึกษาหาแนวทางเพื่อทำให้ราคาหรือต้นทุนการผลิตต่ำลงเท่าที่จะทำได้ ควบคู่ไปกับการรักษาสภาพแวดล้อมทางธรรมชาติให้ดีขึ้น การคุ้มทุนในด้านรักษาสภาพแวดล้อมอาจไม่คุ้มทุนในการนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์ ดังนั้นหากมีการปรับปรุงกระบวนการผลิตให้ดีขึ้นและใช้วัตถุดิบที่มีราคาถูกในการผลิต ราคาจะถูกลงและเป็นที่ยอมรับในการเป็นแหล่งโปรตีนที่สำคัญในอนาคต (Official Publication, 1992) ปัจจุบันมีบริษัทผู้ผลิตโปรตีนจากมวลชีวภาพของยีสต์จำนวนมาก เพื่อใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ในเชิงพาณิชย์และอาหารเสริมในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ เช่น บริษัท British Petroleum ประเทศอังกฤษ ผลิตยีสต์ *C. lipolytica* จากพาราฟิน ปริมาณการผลิต 100,000 ตันต่อปี ให้ชื่อผลิตภัณฑ์ว่าโทพรินา (toprina) บริษัท United Paper Mills ประเทศฟินแลนด์ ผลิตยีสต์ *Torulopsis sp.* จากน้ำทิ้งโรงงานทำกระดาษ ปริมาณการผลิต 10,000 ตันต่อปี ให้ชื่อผลิตภัณฑ์ว่าโทรูลายีสต์ (torula yeast) และบริษัท Liquichimica Biosintesi ประเทศอิตาลี ผลิตยีสต์ *Candida sp.* จากอัลเคน ปริมาณการผลิต 100,000 ตันต่อปี ให้ชื่อผลิตภัณฑ์ว่าลิควิพรอน (liquipron) เป็นต้น (Waterworth, 1990)

จากผลการวิจัยนี้การผลิตมวลชีวภาพของยีสต์จากน้ำทิ้งที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบสามารถผลิตมวลชีวภาพของยีสต์สูงสุดในกระบวนการหมักแบบต่อเนื่อง และสามารถลดปัญหามลภาวะอันเกิดจากไขมันในน้ำทิ้งได้ตรงตามวัตถุประสงค์ของงานวิจัย ซึ่งเป็นการแสดงให้เห็นว่าเมื่อเลือกใช้สายพันธุ์ยีสต์ที่เหมาะสมสำหรับการเติบโตในน้ำทิ้งซึ่งมีสารอาหารที่ยีสต์สามารถนำไปใช้ได้และมีราคาถูก จัดเป็นแนวทางหนึ่งในการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์เพื่อเป็นแหล่งอาหารเสริมและเป็นการบำบัดน้ำทิ้งได้ไปพร้อมกัน ข้อเสนอแนะในการวิจัยต่อไปคือการศึกษาและหาแนวทางในการเพิ่มประสิทธิภาพของการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ให้สูงขึ้น ได้แก่ การปรับปรุงกระบวนการ เช่น การนำเซลล์ยีสต์กลับเข้าสู่ระบบอีก (cell recycle) หรือการปรับปรุงสายพันธุ์ยีสต์ให้เหมาะสมยิ่งขึ้น เป็นต้น

สรุปผลงานวิจัย

1. เก็บและวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำทิ้งที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบจากบ่อดักไขมัน ของโรงงานอุตสาหกรรมเลี้ยงสัตว์ พบว่ามีไขมันเป็นองค์ประกอบปริมาณเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 3.27 กรัมต่อลิตร กรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบในไขมันจากน้ำทิ้งได้แก่ กรดปาล์มิติก กรดโอเลอิก กรดสเตียริก กรดลิโนเลอิก กรดปาล์มิโตเลอิก กรดมายริสติก และกรดไลโนลินิอิก โดยมีกรดปาล์มิติกเป็นองค์ประกอบปริมาณสูงสุดคือ 46.16 เปอร์เซนต์ของปริมาณไขมันทั้งหมด อุณหภูมิของน้ำทิ้งอยู่ในช่วง 28 ถึง 31 องศาเซลเซียส และมีค่าความเป็นกรดด่างอยู่ในช่วง 5.5 ถึง 6.7 มีค่าบีโอดีและค่าซีโอดีเฉลี่ยเท่ากับ 558 และ 941 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

2. คัดแยกยีสต์ที่เติบโตได้ในน้ำทิ้ง โดยใช้อาหารแข็งที่เตรียมจากน้ำทิ้งและอาหารที่เตรียมจากน้ำทิ้งที่เติมแหล่งคาร์บอนบางชนิด สามารถรวบรวมยีสต์ได้ 7 สายพันธุ์ ได้แก่ *C* 5045 *C* 5046 *S* 0001 *T* 0001 *Y* 8662 *N* 0001 และ *N* 0002

3. เลี้ยงเชื้อยีสต์แต่ละสายพันธุ์ในอาหารเลี้ยงเชื้อจากน้ำทิ้งที่ไม่เติมแหล่งคาร์บอน เปรียบเทียบกับอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้น้ำทิ้งที่เติมแหล่งคาร์บอนได้แก่ กลีเซอรอลหรือกลูโคส ในขวดเขย่า พบว่ายีสต์ *Y* 8662 เติบโตได้ดีกว่ายีสต์สายพันธุ์อื่นๆ เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อจากน้ำทิ้ง และน้ำทิ้งเติมกลีเซอรอล ได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 2.58 และ 8.40 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนยีสต์ *S* 0001 เติบโตได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อจากน้ำทิ้งเติมกลูโคส ได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 4.63 กรัมต่อลิตร

4. เปรียบเทียบองค์ประกอบภายในเซลล์ยีสต์ที่รวบรวมได้ พบว่ายีสต์ *Y* 8662 มีปริมาณโปรตีนภายในเซลล์เท่ากับ 62 กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง ชนิดและปริมาณกรดอะมิโนรวมทั้งชนิดและปริมาณวิตามินภายในเซลล์ครบถ้วนและเหมาะสมต่อการนำไปใช้เป็นแหล่งอาหารสำหรับสัตว์มากกว่ายีสต์สายพันธุ์อื่นๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งมีไรโบเฟลวิน กรดแพนโตเธนิก ไลซีน เมไธโอนีน และทริปโตเฟนเป็นองค์ประกอบในปริมาณสูง ซึ่งสารอาหารดังกล่าวมีราคาแพง และมีความต้องการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมยาและอาหารสัตว์เป็นปริมาณมาก ดังนั้นจึงเลือกยีสต์สายพันธุ์ *Y* 8662 มาใช้ผลิตมวลชีวภาพของยีสต์จากน้ำทิ้งที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบ

5. พบว่ากล้าเชื้อ *Y* 8662 ที่เหมาะสมสำหรับการผลิตมวลชีวภาพคือ กล้าเชื้ออายุ 15 ชั่วโมง ซึ่งเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อจากน้ำทิ้ง

6. เลี้ยงเชื้อ *Y* 8662 ในขวดเขย่าเมื่อใช้กล้าเชื้อที่เหมาะสม โดยใช้อาหารที่เตรียมจากน้ำทิ้งซึ่งเติมแอมโมเนียมซัลเฟตและสารสกัดจากยีสต์ ปริมาณ 10 และ 1 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 6.48 กรัมต่อลิตร อัตราการเติบโตจำเพาะเท่ากับ 0.125 ต่อชั่วโมง และกำลังการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ เท่ากับ 0.322 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

7. ภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ *Y* 8662 ในถังหมัก ได้แก่ อุณหภูมิเท่ากับ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.0 อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที และอัตราการให้อากาศ 1 vvm เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Y* 8662 แบบ batch ได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 8.61 กรัมต่อลิตร อัตราการเติบโตจำเพาะเท่ากับ 0.138 ต่อชั่วโมง และกำลังการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ เท่ากับ 0.438 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ไขมันถูกใช้หมดหลังการเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 42 ชั่วโมง และหลังจากการเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 72 ชั่วโมง ค่าบีโอดีและค่าซีโอดีลดลง 97.9 และ 94.2 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ

8. เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Y* 8662 แบบต่อเนื่อง อัตราการเจือจางที่ให้กำลังการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์สูงสุดเท่ากับ 0.218 ต่อชั่วโมง น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดที่ภาวะคงที่เท่ากับ 10.07 กรัมต่อลิตร กำลังการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์สูงสุดเท่ากับ 3.20 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และมีอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดเท่ากับ 0.283 ต่อชั่วโมง พบว่าการเลี้ยงเชื้อ *Y* 8662 แบบต่อเนื่องมีประสิทธิภาพสูงกว่าการเลี้ยงเชื้อแบบ batch และการเลี้ยงเชื้อในขวดเขย่า ตามลำดับ

การผลิตมวลชีวภาพของยีสต์จากน้ำทิ้งที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบ สามารถผลิตมวลชีวภาพของยีสต์สูงสุดในกระบวนการหมักแบบต่อเนื่อง และสามารถลดปัญหามลภาวะอันเกิดจากไขมันในน้ำทิ้งได้ตรงตามวัตถุประสงค์ของงานวิจัย ซึ่งเป็นการแสดงให้เห็นว่าเมื่อเลือกใช้สายพันธุ์ยีสต์ที่เหมาะสมสำหรับการเติบโตในน้ำทิ้งซึ่งมีสารอาหารที่ยีสต์สามารถนำไปใช้ได้ และมีราคาถูก จัดเป็นแนวทางหนึ่งในการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์เพื่อเป็นแหล่งอาหารเสริมและเป็นการบำบัดน้ำทิ้งในขณะเดียวกัน

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย