บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 น้ำกากส่า

น้ำกากส่า (molasses wastewater) คือ ของเหลวที่เหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตสุราหรือแอลกอฮอล์ ซึ่งส่วนใหญ่ใช้กากน้ำตาล (molasses) เป็นวัตถุดิบ ซึ่งกากน้ำตาลที่ได้มาจากอ้อย ในปี 2518-2519 มีปริมาณอ้อยเข้าหีบถึง 19 ล้านตัน และได้ผลพลอยได้จากการหีบ เป็นกากน้ำตาลมากกว่า 9 แสนตัน กากน้ำตาลนับเป็นผลพลอยได้ที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจอย่างยิ่ง โดยส่งเป็นสินค้าออกปีละจำนวนมาก (ธนาคารกรุงเทพ จำกัด, 2524; สภาหอการค้าแห่งประเทศไทย, 2523; Prapecrapat, 1982) และนอกจากนี้ กากน้ำตาลประมาณร้อยละ 20 จะถูกนำมาใช้ในการผลิตแอลกอฮอล์ (ธนาคารกสิกรไทย จำกัด, 2522) ซึ่งโดยค่าเฉลี่ยจะได้กากน้ำตาล 47.62 กิโลกรัมต่ออ้อย 1 ตัน หรือคิดเป็นร้อยละ 4 - 6 ของปริมาณอ้อยที่เข้าหีบ (ภัทร, 2521) และในกระบวนการผลิตแอลกอฮอล์ จะมีน้ำเสียที่เรียกว่า น้ำกากส่า (Molasses Wastewater) เกิดขึ้นจากกระบวนการผลิตคิดเป็นปริมาณ 10 เท่าของปริมาณแอลกอฮอล์ที่ผลิตได้จากกากน้ำตาล (Frankel และคณะ, 1978; Chuang และ Lai, 1978; Wang และคณะ, 1980)

ตารางที่ 2.1 ปริมาณของอ้อยที่เข้าหีบและปริมาณกากน้ำตาล

ฤดูหีบ	ปริมาณอ้อย (ตัน)	กากน้ำตาลที่ได้ (กิโลกรัม)
2514 – 2515	5,915,476.553	341,579,919
2515 – 2516	9,503,392.216	524,541,291
2516 – 2517	12,681,654.612	701,804,480
2517 – 2518	13,399,512.760	677,674,460
2518 - 2519	19,100,383.341	909,551,745

ในกากน้ำตาล นอกจากจะมีน้ำตาลชนิดต่างๆ เช่น ซูโครส (sucrose) กลูโคส (glucose) ฟรุคโตส (fructose) ราฟฟีโนส (raffinose) ซึ่งเป็นสารคอปเปอร์รีดิวซ์ (copper reducing substance) หรือน้ำตาลที่ยีสต์สามารถนำมาใช้ในการหมักให้เกิดแอลกอฮอล์แล้ว ยังพบว่า มีสารคอปเปอร์รีดิวซ์บางตัวที่ยีสต์ไม่สามารถนำมาใช้ในการหมัก ซึ่งยังเป็นสสารที่มีสีด้วย เช่น คาราเมล (caramel) ของน้ำตาลชนิดต่างๆ ซึ่งเป็นสารประกอบที่ไม่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ และสารที่ก่อให้เกิดสีอีกชนิดก็คือเมลานอยดิน (melanoidin) ซึ่งเป็นสารประกอบที่มีไนโตรเจนเป็น

องค์ประกอบ เกิดจากการควบแน่นของน้ำตาลชนิดต่างๆ กับกรดอะมิโน มีสีน้ำตาลเข้ม และยังเป็นตัวที่ทำให้กากน้ำตาลหรือน้ำกากส่ามีสีเข้มมากขึ้นด้วย (บุญเทียม, 2523; สุจินต์, 2527; Underkofler และ Hickley 1954) นอกจากนี้มีรายงานกล่าวว่า สีน้ำตาลเข้มในน้ำกากส่าส่วนมากแล้วเกิดจากสารจำพวกเมลานอยดินนั่นเอง (Watanabe และคณะ, 1982) และยังได้ทำการเตรียมสารละลายเมลานอยดินสังเคราะห์ขึ้นจากกลูโคสความเข้มข้น 1 โมลาร์ กับกลูตาเมท 1 โมลาร์ ปรับสภาวะความเป็นกรด-ด่างให้เท่ากับ 9 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 นอร์มอล เพื่อใช้หาคุณสมบัติของเอ็นไซม์ที่แยกจากเชื้อเห็ดรา สายพันธุ์ *Coriolus* sp. No.20 ในการฟอกจางสีสังเคราะห์นี้ด้วย

เมลานอยดิน (melanoidin) เกิดจากน้ำตาลและกรดอะมิโนทำปฏิกิริยากันตามปฏิกิริยามิลลาร์ด (Millard Reaction) เป็นสารที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่าง ortho- meta- para- amino benzoic acid และน้ำตาล (กลูโคส , กาแลคโตส , อาราบิโนส หรือไซโลส) ซึ่งสามารถสรุปปฏิกิริยาหลักๆ ได้เป็น 3 ขั้นตอน ตามสมการ

$$\text{Aldose} \xrightarrow{k_1} \text{DH} \xrightarrow{k_2} \text{Int} \xrightarrow{k_3} \text{Melanoidin}$$

DH คือ 3-deoxyhexosulose ในปฏิกิริยาที่สารตั้งต้นเป็นกลูโคส และ Int คือสารประกอบที่ขึ้นกับชนิดของสารตั้งต้น (เช่น 3,4-dideoxyhexosulos-3-ene) อัตราการเกิดเมลานอยดินนั้นจะขึ้นกับประมาณสารตั้งต้นใน k_1 และ k_2 ส่วนโครงสร้างของเมลานอยดินนั้นจะขึ้นกันสารตั้งต้น k_3 นอกจากนี้แล้ว ปริมาณการเกิดเมลานอยดินยังแปรผันตรงกับอุณหภูมิ และแปรผกผันกับความชื้นอีกด้วย เราสามารถพบเมลานอยดินได้ในอาหารหรือเครื่องดื่ม ที่ผ่านกระบวนการผลิตที่เกี่ยวข้องกับความร้อน เช่น กาแฟ และชา เป็นต้น (University of Leeds, 2002 ; INSTITUTO DEL FRÍO, 2002)

2.2 วิธีการบำบัดน้ำกากส่า

สำหรับวิธีการลดค่าความสกปรกของน้ำกากส่านั้น เมื่อผ่านกระบวนการทางฟิสิกส์ เคมี และชีวภาพไปแล้ว ค่า BOD_5 และ COD จะลดลง แต่ไม่สามารถลดความเข้มสีของน้ำกากส่าลงได้ (Tozawa และคณะ, 1979) ดังนั้นน้ำกากส่าจึงต้องมีการผ่านกระบวนการกำจัดสีของน้ำกากส่าอีกครั้งก่อนปล่อยลงสู่ลำน้ำสาธารณะ ซึ่งโดยมากแล้วมักจะอาศัยวิธีทางเคมีตกตะกอนสีของน้ำกากส่า ซึ่งผลที่ได้นั้นยังไม่ดีนัก และต้องเสียค่าใช้จ่ายสูงถึง 197.4 บาท/น้ำกากส่า 1 ลูกบาศก์เมตร (Chuang และ Lai, 1978; สาขาวิจัยสิ่งแวดล้อมและทรัพยากร, 2524)

เนื่องจากสีและค่าความสกปรกของน้ำกากส่าเป็นปัญหาอย่างมากต่อสิ่งแวดล้อม เป็นที่น่ารังเกียจ เมื่อโรงงานที่มีกิจกรรมเกี่ยวข้องกับน้ำกากส่าทิ้งน้ำเสียลงสู่ลำคลองสาธารณะ ก่อให้เกิด

ปัญหาทางมลภาวะ จึงต้องมีการปรับปรุงคุณภาพของน้ำกากส่าก่อนที่จะปล่อยทิ้งโดยการบำบัดน้ำเสียให้มีค่าความสกปรกไม่เกินค่ามาตรฐาน หรือมี BOD_5 และ COD และอื่นๆ ไม่เกินจากมาตรฐานที่บังคับใช้โดยกระทรวงอุตสาหกรรม (ปราณี, 2539)

ตารางที่ 2.2 ค่ามาตรฐานคุณภาพน้ำทิ้งตามประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม (ปราณี, 2539)

ดัชนีคุณภาพน้ำ	ค่ามาตรฐาน
1. ค่าความเป็นกรดและด่าง (pH value)	5.5-9.0
2. ค่าทีดีเอส (TDS หรือ Total Dissolved Solids)	ไม่เกิน 3,000 มก/ล. หรืออาจแตกต่างแล้วแต่ละประเภทของแหล่งรองรับน้ำทิ้ง หรือประเภทของโรงงานอุตสาหกรรม ที่คณะกรรมการควบคุมมลพิษเห็นสมควรแต่ไม่เกิน 5,000 มก./ล. น้ำทิ้งที่จะระบายลงแหล่งน้ำกร่อยที่มีค่าความเค็ม (Salinity) เกิน 2,000 มก./ล. หรือลงสู่ทะเลค่าทีดีเอสในน้ำทิ้งจะมีค่ามากกว่าค่าทีดีเอสที่มีอยู่ในแหล่งน้ำกร่อยหรือน้ำทะเลได้ไม่เกิน 5,000 มก.ล.
3. สารแขวนลอย (Suspended Solids)	ไม่เกิน 50 มก./ล. หรืออาจแตกต่างแล้วแต่ประเภทของแหล่งรองรับน้ำทิ้ง หรือประเภทของโรงงานอุตสาหกรรม หรือประเภทของระบบบำบัดน้ำเสียตามที่คณะกรรมการควบคุมมลพิษเห็นสมควรแต่ไม่เกิน 150 มก./ล.
4. อุณหภูมิ (Temperature)	ไม่เกิน 40°C
5. สีหรือกลิ่น	ไม่เป็นที่พึงรังเกียจ
6. ซัลไฟด์ (Sulfide as H_2S)	ไม่เกิน 1.0 มก./ล.
7. ไซยาไนด์ (Cyanide as HCN)	ไม่เกิน 0.2 มก./ล.
8. น้ำมันและไขมัน (Fat, Oil and Grease)	ไม่เกิน 5.0 มก./ล. หรืออาจแตกต่างแล้วแต่ละประเภทของแหล่งรองรับน้ำทิ้ง หรือประเภทของโรงงานอุตสาหกรรมตามที่คณะกรรมการควบคุมมลพิษเห็นสมควรแต่ไม่เกิน 15 มก./ล.
9. ฟอร์มาลดีไฮด์ (Formaldehyde)	ไม่เกิน 1.0 มก./ล.
10. สารประกอบฟีนอล (Phenols)	ไม่เกิน 1.0 มก./ล.
11. คลอรีนอิสระ (Free Chlorine)	ไม่เกิน 1.0 มก./ล.
12. ค่าบีโอดี (5 วันที่อุณหภูมิ 20 °C (Biochemical Oxygen Demand : BOD)	ไม่เกิน 20 มก./ล. หรือแตกต่างแล้วแต่ละประเภทของแหล่งรองรับน้ำทิ้ง หรือประเภทของโรงงานอุตสาหกรรม ตามที่คณะกรรมการควบคุมมลพิษเห็นสมควร แต่ไม่เกิน 60 มก./ล.
13. ค่าทีเคเอ็น (TKN หรือ Total Kjeldahl Nitrogen)	ไม่เกิน 100 มก./ล. หรืออาจแตกต่างแล้วแต่ละประเภทของแหล่งรองรับน้ำทิ้ง หรือประเภทของโรงงานอุตสาหกรรม ตามที่คณะกรรมการควบคุมมลพิษ เห็นสมควร แต่ไม่เกิน 200 มก./ล.
14. ค่าซีโอดี (Chemical Oxygen Demand : COD)	ไม่เกิน 120 มก./ล.หรืออาจแตกต่างแล้วแต่ละประเภทของแหล่งรองรับน้ำทิ้ง หรือประเภทของโรงงานอุตสาหกรรม ตามที่คณะกรรมการควบคุมมลพิษ เห็นสมควร แต่ไม่เกิน 400 มก./ล.

ตารางที่ 2 ค่ามาตรฐานคุณภาพน้ำทิ้งตามประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม (ต่อ) (ปราณี, 2539)

ดัชนีคุณภาพน้ำ	ค่ามาตรฐาน
15. โลหะหนัก (Heavy Metal)	
1. สังกะสี (Zn)	ไม่เกิน 5.0 มก./ล.
2. โครเมียมชนิดเฮ็กซาวาเล้นท์ (Hexavalent Chromium)	ไม่เกิน 0.25 มก./ล.
3. โครเมียมชนิดไตรวาเล้นท์ (Trivalent Chromium)	ไม่เกิน 0.75 มก./ล.
4. ทองแดง (Cu)	ไม่เกิน 2.0 มก./ล.
5. แคดเมียม (Cd)	ไม่เกิน 0.03 มก./ล
6. แบเรียม (Ba)	ไม่เกิน 1.0 มก./ล
7. ตะกั่ว (Pb)	ไม่เกิน 0.2 มก./ล.
8. นิคเกิล (Ni)	ไม่เกิน 1.0 มก./ล.
9. แมงกานีส (Mn)	ไม่เกิน 5.0 มก./ล.
10. อาร์เซนิค (As)	ไม่เกิน 0.25 มก./ล.
11. เซเลเนียม (Se)	ไม่เกิน 0.02 มก./ล.
12. ปรอท (Hg)	ไม่เกิน 0.005 มก./ล.

จากค่ามาตรฐานจะเห็นได้ว่า มาตรฐานของสีในน้ำทิ้งนั้น ไม่ได้ถูกกำหนดในรูปแบบของค่าตายตัว เพียงแต่บอกไว้กว้างๆ ว่า ไม่เป็นที่รังเกียจ แต่จากสภาพเหตุการณ์ต่างๆ ที่เกิดจากโรงงานอุตสาหกรรมปล่อยน้ำเสียที่มีสีจากโรงงานลงสู่ลำน้ำสาธารณะ สีของน้ำทิ้งมักจะก่อความเดือดร้อนรำคาญต่อผู้ที่อาศัยลำน้ำในการสัญจร หรืออุปโภคบริโภคด้วยเสมอ จึงจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องมีการกำจัดสีของน้ำกากส่าก่อนปล่อยลงสู่ลำน้ำสาธารณะ

สำหรับในต่างประเทศ เช่น แถบทวีปยุโรป ได้นำน้ำกากส่าไปทำให้เข้มข้น หรือทำให้แห้งเพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์ หรือทำเป็นปุ๋ยอินทรีย์ (Underkofler และ Hickley, 1954; Chang และ Yang, 1973; Wang และคณะ, 1980) ซึ่งองค์ประกอบของน้ำกากส่าที่ทำให้แห้ง ดังตารางที่ 3

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2.3 องค์ประกอบของน้ำกากส่าที่ระเหยแห้ง

องค์ประกอบ	ร้อยละ
1. แร่ธาตุต่างๆ (Mineral Matter)	28.5-29.0
2. สารคอปเปอร์รีดิวซ์	10.0-12.0
3. โปรตีน	8.0-10.0
4. กรดระเหยง่าย (Volatile acid)	1.0-2.0
5. กรดแลคติค (Combined lactic acid)	4.0-5.0
6. กรดอินทรีย์ (Other combined organic acid)	1.0-2.0
7. กลีเซอรอล (Glycerol)	5.0-6.0
8. ขี้ผึ้ง และอื่นๆ	12.0-22.0

2.3 การนำน้ำกากส่าไปใช้ประโยชน์

ส่วนในประเทศไทย ได้มีการนำน้ำกากส่าไปใช้ในการราดถนนเพื่อลดฝุ่น เนื่องจากน้ำกากส่ายังมีความข้น ช่วยให้อนุภาคของดินจับตัวเป็นก้อน ไม่ฟุ้งกระจายเมื่อดินแห้ง นำไปใส่ในนาข้าวเป็นธาตุอาหารเสริมเพื่อช่วยเพิ่มผลผลิต นำไปเติมในบ่อเลี้ยงปลา เพื่อเพิ่มจุลินทรีย์หรือสิ่งมีชีวิตอื่นๆ ให้เป็นอาหารของปลาในบ่อ หรือแม้แต่ใส่ในวัสดุที่ใช้หมักเพื่อทำปุ๋ยอินทรีย์เพื่อเพิ่มธาตุอาหารให้แก่จุลินทรีย์ (สุจินต์, 2527) แต่เนื่องจากน้ำกากส่ามีปริมาณมาก และการนำไปใช้ยังมีน้อย จึงทำให้มีน้ำกากส่าเหลือรอการบำบัดอีกเป็นจำนวนมาก

การกำจัดสีของน้ำกากส่านั้น ส่วนใหญ่อาศัยวิธีการทางเคมี เช่น การดูดซึมสีของน้ำกากส่าด้วยผงถ่านกัมมันต์ (activated carbon) หรือการตกตะกอนสีด้วยสารเคมี เช่น แอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$) เฟอร์ริคซัลเฟต ($Fe_2(SO_4)_3$) สารส้ม หรือปูนขาว เป็นต้น (Sundstrom และ Klei 1979; Chuang และ Lai 1978; สาขาวิจัยสิ่งแวดล้อมและทรัพยากร, 2524) แต่ก็ได้มีผู้ที่สนใจได้ทำการทดลองหาวิธีกำจัดสีน้ำกากส่า เพื่อหาวิธีที่เหมาะสม และเสียค่าใช้จ่ายต่ำ จากรายงานของ Ueda (1983) พบว่า เชื้อเห็ดและแบคทีเรียบางชนิด สามารถกำจัดสีน้ำกากส่าได้ โดยเฉพาะเชื้อราจากเห็ดมีหลายสายพันธุ์ที่สามารถกำจัดสีน้ำกากส่าได้ดี เช่น *Coriolus versicolor* และ *Fumitopsis cytosine* ส่วนแบคทีเรียที่กำจัดสีน้ำกากส่าได้นั้น มักจะมีความสามารถในการย่อยวุ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อด้วย ดังนั้น จึงมีผู้ที่สนใจหาวิธีกำจัดสีของน้ำกากส่าทางชีววิธีขึ้น โดยการคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการกำจัดสีน้ำกากส่า

2.4 จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการกำจัดสีน้ำกากส่า

จากการสำรวจเอกสารเกี่ยวกับจุลินทรีย์ที่ใช้ในการกำจัดสีน้ำกากส่านั้น พบว่า มีการใช้จุลินทรีย์มากมายหลายชนิด เช่น แบคทีเรีย (Bacteria) , แอคติโนมัยซิส (Actinomycetes) , รา (Mold) และยีสต์ (Yeast) ดังเอกสารที่ทำการสำรวจต่อไปนี้

สกุณณี (2525) ได้ทำการศึกษาทดลองเพื่อผลิตโปรตีนจากยีสต์สายพันธุ์มาตรฐาน *Candida utilis* ATCC กับยีสต์สายพันธุ์อื่นๆ อีก 13 สายพันธุ์ โดยทำการเลี้ยงในน้ำกากส่าพบว่า มี 3 สายพันธุ์ที่มีความสามารถในการกำจัดสีได้เกิน 50 เปอร์เซ็นต์ โดยที่สายพันธุ์มาตรฐาน สามารถกำจัดสีได้เพียง 41 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น

สันทัด (2528) พบว่า ในกากน้ำตาลจะมีน้ำตาลชนิดต่างๆ ทั้งชนิดที่ราสามารถใช้ในการหมักได้และใช้ในการหมักไม่ได้ ซึ่งสารที่ไม่สามารถใช้ในการหมักได้ ได้แก่ คาราเมล และเมลานอยดิน ซึ่งเป็นสารที่ทำให้เกิดสีน้ำตาลในน้ำกากส่า นอกจากนี้ ยังได้ทำการแยกแยะและตรวจสอบหาจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการกำจัดสีน้ำตาลจากดินและน้ำในประเทศไทย โดยเฉพาะจากโรงงานสุรา พบว่ามี 9 สายพันธุ์ ที่มีความสามารถในการกำจัดสีน้ำตาลได้ตั้งแต่ 50% ขึ้นไป นอกจากนั้นยังพบว่า ราเหล่านี้มีความต้องการปริมาณน้ำตาลกลูโคส แหล่งอาหารไนโตรเจน และความเป็นกรดด่างที่แตกต่างกัน โดยเฉพาะรา D90 ที่แยกได้ สามารถเจริญและกำจัดสีน้ำตาลในน้ำกากส่าได้ดีที่สุด เมื่อเติมน้ำตาลกลูโคส 2.5% และผงยีสต์สกัด 0.2% เพื่อเป็นแหล่งอาหาร ปรับสภาวะความเป็นกรดด่างเท่ากับ 6.0 ปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ใช้ไม่ควรต่ำกว่า 0.15% ซึ่งสามารถกำจัดสีน้ำตาลได้สูงถึง 93% ในเวลา 10 วัน จากการศึกษาพบว่าเป็นราที่อยู่ในกลุ่ม Mitosporic fungi เนื่องจากมีลักษณะเป็นเส้นใยสีขาว มีผนังกั้นแต่ละเซลล์ ไม่พบการสร้างสปอร์และแคลมป์คอนเนคชั่น ถึงแม้จะเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ และในปี 1995 สันทัดและคณะ ได้ทำการศึกษา *Rhizoctonia* sp. D-90 ในการกำจัดเมลานอยดินสังเคราะห์ พบว่า เส้นใยของราได้เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล แต่สีน้ำตาลในเส้นใยของราสามารถกำจัดออกได้จากช่องว่างระหว่างเซลล์ และรอบๆ เยื่อหุ้มเซลล์ แต่บางส่วนจะถูกกำจัดโดยเอ็นไซม์

Tozawa และคณะ (1979) ทำการศึกษาการใช้จุลินทรีย์ในการกำจัดสีน้ำกากส่าโดยใช้เชื้อผสม พบว่ามีราที่แยกจากเห็ดหลายสายพันธุ์ ราที่มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ 1 สายพันธุ์ และแบคทีเรีย 2-3 สายพันธุ์ สามารถกำจัดสีน้ำกากส่าได้ โดยมีเชื้อเห็ดสายพันธุ์หนึ่งสามารถกำจัดสีน้ำกากส่าจากสีน้ำตาลเข้มเป็นสีเหลืองอ่อนๆ ได้ในระยะเวลา 5 วัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยเชื้อเห็ดนี้จะเจริญได้ดีในน้ำกากส่าที่มีกลูโคสเป็นองค์ประกอบ และมีความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6 โดยสามารถทำให้สีของน้ำกากส่าจางลงเมื่อกลูโคสถูกใช้หมด การกำจัดสีส่วนใหญ่เกิดขึ้นในเส้นใย เพราะเมื่อนำเส้นใยออกจะมีการลดลงของสีน้อยมาก สำหรับแบคทีเรีย เมื่อนำมาเลี้ยงบนอาหารน้ำกากส่าที่เป็นอาหารแข็ง จะเกิดบริเวณใส (clear zone) รอบๆ ของโคโลนี และวุ้นก็จะถูกย่อย

สลายให้เหลวไปด้วย แต่เมื่อเลี้ยงบนอาหารปกติ จะไม่พบการย่อยสลายวุ้นให้เหลว แสดงว่าการกำจัดสีนั้นจะเกิดขึ้นได้ก็ต่อเมื่อมีเมลานอยดินกระตุ้นด้วย

Atthasampunna และ Ohmomo, (1981) ได้ทำการเก็บตัวอย่างดินจากจังหวัดพระนครศรีอยุธยา มาทำการคัดแยกจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการกำจัดสีน้ำกากส่า พบว่าสามารถคัดเลือกยีสต์ได้ 1 สายพันธุ์ ซึ่งมีความสามารถในการกำจัดสีน้ำกากส่าได้ถึง 50 เปอร์เซ็นต์ ในเวลา 2 วัน ที่อุณหภูมิ 38-40 องศาเซลเซียส โดยยีสต์สายพันธุ์ดังกล่าวต้องการกลูโคสและผงสกัดยีสต์ (Yeast extract) ในการเจริญ

Itoh และ Ueda (1983) ได้ทำการศึกษาทดลองกำจัดสีน้ำกากส่าแบบต่อเนื่องในถังหมัก 2 แบบ แบบที่ 1 ใช้อากาศในการกวน (aeration column) แบบที่ 2 ใช้ใบพัดในการกวนโดยเติมเส้นใยของเห็ดสายพันธุ์ *Coriolus versicolor* ในรูปเม็ด (pellet form mycelium) เพื่อใช้เป็นเชื้อเริ่มต้นในการกำจัดสีน้ำกากส่าในถังหมักที่มีออกซิเจนละลายอยู่ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร กลูโคส 0.5 เปอร์เซ็นต์ ระดับความเข้มสีของน้ำกากส่า 3.5 หน่วยต่อมิลลิลิตร โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 475 นาโนเมตร ผลการทดลองพบว่าสามารถลดความเข้มสีของน้ำกากส่าลงเหลือ 0.9 หน่วยต่อมิลลิลิตร อัตราการกำจัดสีเท่ากับ 0.52 หน่วยต่อมิลลิลิตรต่อชั่วโมง

Watanabe และคณะ (1982) ได้ทำการศึกษาคุณสมบัติของเอ็นไซม์ที่แยกได้จากเส้นใยของเห็ดสายพันธุ์ *Coriolus* sp. No.20 ที่มีความสามารถในการกำจัดสีกากน้ำตาล โดยได้ทำการสังเคราะห์สีกากน้ำตาลจากการต้มกลั่น พบว่าถ้าเลี้ยงเชื้อเห็ดสายพันธุ์ดังกล่าวในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบไปด้วย แอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$) 1.5 กรัม โปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) 10 กรัม แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4$) 0.5 กรัม ในสารละลายสีกากน้ำตาล 3.6 เปอร์เซ็นต์ 1 ลิตร ความเป็นกรด-ด่าง 6.4 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 2 สัปดาห์ สามารถกำจัดสีได้ 77 เปอร์เซ็นต์ และเอ็นไซม์ที่ทำหน้าที่กำจัดสี คือ ซอร์โบสออกซิเดส (sorbose oxidase) โดยปฏิกิริยาของเอนไซม์นี้ จะไปออกซิไดซ์กลูโคสให้ได้ออกซิเจนอิสระ (active oxygen) และออกซิเจนนี้เองที่จะทำหน้าที่กำจัดสีต่อไป

Murata,M. และคณะ (1992) แยก *Streptomyces werraensis* TT14 จากดิน พบว่า *Streptomyces werraensis* TT14 มีความสามารถในการกำจัดเมลานอยดินสังเคราะห์ ซึ่งเป็นสารที่มีสีลงได้ 64% ที่สภาวะความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5.5 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีส่วนผสม คือ แป้ง 2% ยีสต์ 1% โซเดียมคลอไรด์ 0.3% แคลเซียมคาร์บอเนต 0.3%

Kumar,V. และคณะ (1997) ได้ทำการแยกแบคทีเรียสายพันธุ์ LA1 และ D-2 จากดินบริเวณโรงงานอุตสาหกรรมที่มีการใช้กากน้ำตาล พบว่า แบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดเจริญได้ดีในน้ำกากส่าที่ผ่านการบำบัดแล้วที่ความเข้มข้นของ 12.5% นอกจากนี้ยังพบว่า แบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์สามารถกำจัดสีของน้ำกากส่าได้ 36.5% และ 35.5% ตามลำดับ เมื่อน้ำกากส่ามีความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7.0

อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ปริมาณกลูโคส 0.3% (น้ำหนัก/ปริมาตร) และ peptone 0.5% (น้ำหนัก/ปริมาตร) โดยใช้เวลา 8 วัน

Kim,-S. และ Shoda,-M. (1998) ได้ทำการแยกรา *Geotrichum candidum* Dec1 สามารถกำจัดสีน้ำกากส่าได้ 87% ในเวลา 12 วัน ซึ่งประสิทธิภาพสูงสุดจะเกิดขึ้นในวันที่ 7 โดยรานี้อาศัยเอ็นไซม์เปอร์ออกซิเดส ในการกำจัดสีของน้ำกากส่า และ Kim,-S และ Shoda,-M. ได้ทำการศึกษาต่อเนื่อง (1999) พบว่า ให้ประสิทธิภาพในการกำจัดสีประมาณ 80% โดยทำการทดลองกับน้ำกากส่าสดที่ไม่ผ่านการปรับสภาพใน jar fermentor ทั้ง 2 การทดลองพบว่า การลดลงของสีน้ำกากส่านั้นเกิดจากปฏิกิริยาของเอ็นไซม์เปอร์ออกซิเดส

Benito,G.G. และคณะ (1997) ได้ทำการศึกษาโดยใช้ *Trametes versicolor* ในน้ำกากส่าที่มีการแปรผันปริมาณคาร์บอน ธาตุอาหาร ความเป็นกรด-ด่าง เพื่อศึกษาเปอร์เซ็นต์การกำจัดสี และค่า COD ที่ถูกกำจัด ผลคือ *T.versicolor* สามารถทำการกำจัดสีได้ 82% และกำจัด COD ได้ 77% แม้จะมีปริมาณคาร์บอนในรูปของน้ำตาลซูโครสที่เติมลงไปต่ำ และปริมาณโปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตที่ต่ำ

Kumar,V. และคณะ (1998) ทำการศึกษารา 4 ชนิด พบว่า มีราเพียง 2 ชนิด คือ *Coriolus versicolor* และ *Phanerochaete chrysosporium* มีความสามารถในการกำจัดสีและลดค่า COD ในน้ำกากส่าได้เมื่อใช้น้ำกากส่าที่เจือจางลดลงเหลือ 12.5% แต่จะต้องมีการเพิ่มแหล่งคาร์บอนในน้ำกากส่า โดยหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการกำจัดสี พบว่า ที่อุณหภูมิ 35-40 องศาเซลเซียส ความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5 ปริมาณกลูโคสในน้ำกากส่า 3-5% (น้ำหนัก/ปริมาตร) จะทำให้เกิดการกำจัดสีในน้ำกากส่าได้สูงสุดคือ 71.5% และ 53.5% ตามลำดับ

Terasawa,N. และคณะ (1996) ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบระหว่าง *Coriolus versicolor* IFO 30340 , *Paecilomyces canadensis* NC-1 และ *Streptomyces werraensis* TT14 ในการกำจัดสีน้ำตาลในผลิตภัณฑ์อาหารพบว่า *C. versicolor* IFO 30340 และ *Streptomyces werraensis* TT14 มีความสามารถในการกำจัดเมลานอยดิน ซึ่งเป็นสารที่ก่อให้เกิดสีในน้ำกากส่าได้

Martins,M.A.M. และคณะ (1999) ได้ทำการทดสอบยีสต์ *Candida zeylanoides* เพื่อทำการกำจัดสีจากโรงงานย้อมสีย้อม พบว่า *C. zeylanoides* สามารถทำการกำจัดสีลงได้ 67% ภายในเวลา 22 ชั่วโมง เมื่อมีการควบคุมความเป็นกรดด่างไว้ระหว่าง 5-5.2 และสามารถกำจัดสีได้ถึง 90% ภายในเวลา 7 วัน เมื่อไม่มีการควบคุมความเป็นกรดด่าง

2.5 ยีสต์

ยีสต์ได้เข้ามีบทบาทเข้ามาเกี่ยวข้องกับการดำรงชีวิตของมนุษย์มานานแล้ว โดยในสมัยโบราณ ยีสต์เป็นที่รู้จักในฐานะเป็นตัวทำให้เกิด "น้ำเมา" ปัจจุบัน ยีสต์มีทั้งที่เป็นประโยชน์และโทษต่อมนุษย์ แต่ส่วนใหญ่เราจะรู้จักในด้านของประโยชน์ของยีสต์เสียมากกว่า เช่น การทำขนมปัง ไวน์ เหล้า เบียร์ แอลกอฮอล์ ใช้ผลิตอาหารเสริมโปรตีน ใช้ในการการสังเคราะห์วิตามิน หรือเอนไซม์ เป็นต้น แต่ยีสต์ที่ให้โทษก็มีเช่น ทำให้อาหารต่างๆ เสียรสชาติ บูดเน่า หรือยีสต์ที่ก่อโรคในคน สัตว์ หรือพืช เช่น *Candida albican* , *Cryptococcus* sp. ในธรรมชาติเราสามารถพบยีสต์ได้ทั่วไป ทั้งในดิน น้ำ อากาศ ผลไม้ ต้นไม้ ใบไม้ เมล็ดธัญพืช อาหารที่มีน้ำตาล ผิวหนัง ลำไส้ หรือแม้แต่แมลง ดังนั้น โอกาสที่ยีสต์จะปะปนลงในสิ่งต่างๆ ระหว่างกันจึงเกิดขึ้นได้เสมอๆ

ยีสต์ เป็นสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียวขนาดเล็ก เซลล์มีหลายรูปร่าง เช่น กลม รี ทรงถั่ว ทรงกระบอก สามเหลี่ยม สี่เหลี่ยม เป็นต้น ยีสต์เป็นจุลินทรีย์ชนิดที่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส (eucaryotype) ทำให้สามารถเห็นนิวเคลียส (Nucleus) ได้อย่างชัดเจน มีการเจริญและสืบพันธุ์โดยการแตกหน่อ (Budding) และในบางครั้งหรือบางสายพันธุ์จะมีการเกาะกันเป็นกลุ่มคล้ายเส้นใย เรียกว่าเส้นใยเทียม (pusedomycelium) ทำให้มีลักษณะคล้ายคลึงกับราเส้นใย (Mold)

2.4.1 โครงสร้างของยีสต์ (structure of yeast) เซลล์ของยีสต์มีส่วนประกอบของเซลล์ที่คล้ายคลึงกับเซลล์ของสิ่งมีชีวิตอื่นๆ ดังนี้

ผนังเซลล์ (cell wall) เมื่ออายุยังน้อย เซลล์จะมีผนังบาง พอเมื่ออายุมากขึ้นผนังเซลล์ก็จะหนาตามไปด้วย บางครั้งอาจจะหนาถึง 1/7 ของเส้นผ่าศูนย์กลางเซลล์ ทำให้ทนต่อสภาวะที่ไม่เหมาะสมได้ดีกว่าเซลล์อ่อน ส่วนประกอบทางเคมีที่สำคัญคือ polysaccharide 2 ชนิด ได้แก่ glucan และ mannan ซึ่งมีอยู่มากถึง 2/3 ของสารในผนังเซลล์ทั้งหมด นอกนั้นเป็นโปรตีนและไขมัน ส่วน glucosamine ซึ่งพบในผนังเซลล์ของราหรือ fungi ก็จะพบในยีสต์ด้วยแต่เป็นส่วนน้อย สำหรับโปรตีนบางอย่างหรือเอนไซม์ เช่น invertest ก็พบในผนังเซลล์ยีสต์ด้วย

เยื่อหุ้มไซโตพลาสซึม (cytoplasmic membrane) หนาประมาณ 80 A ส่วนประกอบเป็นสารพวก Lipoprotein มี 3 ชั้น ซึ่งมีตั้งแต่ โมโน ได และไตรกลีเซอไรด์ (mono , di , triglyceride) หรืออาจจะเป็นกลีเซอโรฟอสเฟต (glycerophosphate) ชั้นนอกสุดเข้าใจว่าเป็น protein ชั้นกลางเป็น lipid

ไมโตคอนเดรีย(mitochondria)ลักษณะคล้ายเป็นเส้นพันกันอยู่ ประกอบด้วย lipoprotein เป็นส่วนใหญ่ และมี RNA เล็กน้อยทำหน้าที่เกี่ยวกับกระบวนการหายใจ มีเอนไซม์ที่พบอยู่ในกระบวนการหายใจหลายชนิด เป็นแหล่งผลิตพลังงานของเซลล์

แวคคิวโอล (vacuole) มีเพียงหนึ่งหรือมากกว่า เวลาแตกหน่อจะแบ่งให้เซลล์ใหม่ด้วย

แกรนูล (granule) มีลักษณะเป็นก้อนกลมๆ ภายในเซลล์ แกรนูลจะใช้ในการสะสมอาหารเมื่อเซลล์มีอายุมากขึ้น บางพวกสร้าง volutin (polyphosphate) บางพวกสะสมไขมันเป็นจำนวนมาก เช่น *Endomycopsis vernalis* ซึ่งประเทศเยอรมันเคยใช้เป็นแหล่อาหารไขมันเมื่อสงครามโลกครั้งที่ 1 ยีสต์พวก *Torulopsis lipofera* และ *Oospora lactis* มีไขมันมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักแห้ง บางพวกสะสม Glycogen หรือวิตามิน เช่น *Torulopsis utilis*

นิวเคลียส (nucleus) มีเยื่อหุ้มล้อมรอบเนื่องจากเป็น eukaryotic cell ขณะสืบพันธุ์จะเห็นได้อย่างชัดเจน

2.4.2 การสืบพันธุ์ของยีสต์ (reproduction of yeast)มีทั้งแบบไม่อาศัยเพศ (asexual reproduction) และแบบอาศัยเพศ (sexual reproduction)

2.4.2.1 การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (asexual reproduction) โดยมีลักษณะแบบใดแบบหนึ่ง ได้แก่ การแตกหน่อ (budding) อาจจะแตกตรงปลายเซลล์ (polar budding) หรือแตกรอบเซลล์ (multilateral budding) ยีสต์บางพวกเช่น film yeast จะงอกหน่อออกมาเป็น tube เช่น *Candida* sp. และการแบ่งตัว (Fission) เช่น *Schizosaccharomyces* sp. หรือมีทั้ง 2 แบบรวมกัน เรียกว่า bud fission เช่นพวก *Saccharomycodes* sp. และ *Nadsonia* sp.

2.4.2.2 การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (sexual reproduction) พบในยีสต์พวก Ascomycetes ซึ่งเป็น true yeast จะสร้าง ascospore ในเซลล์และเซลล์จะกลายเป็น ascus การสร้าง ascospore เริ่มโดยยีสต์ 2 เซลล์ งอกท่อมาเชื่อกัน (conjugation) แล้วนิวเคลียสของทั้ง 2 เซลล์จะมารวมกัน จากนั้นเซลล์แม่ทั้งสองจะทำการแบ่งตัวแบบ meiosis ได้สปอร์เล็กๆ อยู่ในเซลล์ แต่ยีสต์บางชนิดสร้าง ascospore โดยไม่ต้องเชื่อมต่อกับตัวอื่น

ยีสต์บางชนิดจะไม่สร้าง sexual spore จัดเป็นพวก imperfect fungi เซลล์ยีสต์บางชนิดจะสร้างผนังเซลล์หนาแล้วกลายเป็น chlamydospore ซึ่งทน ต่อสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่างๆ ได้ดีกว่าเซลล์ปกติ

2.4.3 สภาวะที่มีผลต่อสรีรวิทยาของยีสต์

ยีสต์แต่ละชนิดจะมีการเจริญโดยมีสภาวะแวดล้อมแตกต่างกันไป และผลต่อสภาวะแวดล้อมต่างๆ กัน ก็ส่งผลให้ยีสต์สายพันธุ์นั้นๆ มีการเจริญที่แตกต่างกันออกไปด้วย ไม่ว่าจะเป็นแหล่งคาร์บอน วิตามิน อุณหภูมิ และอื่นๆ

แหล่งคาร์บอน (carbon source) น้ำตาลเป็นแหล่งพลังงานที่ดีที่สุดของยีสต์ ยีสต์สามารถใช้น้ำตาลได้หลายชนิดขึ้นอยู่ที่ว่า เป็นยีสต์สายพันธุ์ใด ด้วยหลักการนี้ เราจึงสามารถใช้การทำปฏิกิริยากับคาร์บอนชนิดต่างๆ เป็นส่วนหนึ่งในการจัดจำแนกยีสต์ได้ แม้ว่าพวก oxidative yeast จะสามารถใช้กรดอินทรีย์ได้ก็ตาม ยีสต์สามารถใช้น้ำตาลได้ทั้งในสภาพมีออกซิเจน (aerobic) และสภาพไม่มีออกซิเจน (anaerobic) ดังสมการ

$$C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \rightarrow 6CO_2 + 6H_2O + ATP \quad \text{(Aerobic)}$$

$$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 6C_2H_5OH + 2CO_2 + ATP \quad \text{(Anaerobic)}$$

ยีสต์ที่ใช้ออกซิเจนในการย่อยสลายน้ำตาลนั้น เราเรียกว่า oxidative yeast ส่วนยีสต์ที่ไม่ใช้ออกซิเจนในการย่อยสลายน้ำตาลนั้น เราเรียกว่า fermentative yeast ซึ่งยีสต์บางสายพันธุ์นั้น จะมีความสามารถในการย่อยสลายน้ำตาลทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจน หรือไม่มีออกซิเจน

ในการหมักน้ำตาลของยีสต์นั้นนอกจากจะได้แอลกอฮอล์เป็นส่วนใหญ่ ก็ยังพบว่า ได้สารอื่นๆ อีก ได้แก่ เอสเทอร์ (ester) กลีเซอรอล (glycerol) และแอลดีไฮด์ (aldehyde) เกิดขึ้นอีกด้วย พวก fermentative yeast นี้ จะมีประโยชน์มากมายในเชิงอุตสาหกรรมเพื่อการผลิตแอลกอฮอล์ เบียร์ ไวน์ และสารชนิดอื่นๆ ยีสต์สามารถใช้แหล่งไนโตรเจนตั้งแต่รูปแบบง่ายๆ เช่น สารประกอบแอมโมเนีย และยูเรีย หรือในรูปของยูเรีย ในรูปของ แอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$) แอมโมเนียมฟอสเฟต ($(NH_4)_2PO_4$) หรือแอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl)จนถึงสารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจนที่มีโครงสร้างสลับซับซ้อนมาก เช่น กรดอะมิโน Polypeptide และเปปโตน เป็นแหล่งไนโตรเจนได้ดีอีกด้วย

ความชื้น (moisture) ยีสต์เจริญได้ดีที่สุดในอาหารเหลวหรือบริเวณที่มีความชื้นสูง โดยปกติแล้วยีสต์ต้องการความชื้นในการเจริญมากกว่าราที่สร้างเส้นใย แต่ยังน้อยกว่าแบคทีเรีย

แรงดันออสโมติก (osmotic pressure) มียีสต์หลายชนิดเจริญในบริเวณที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลหรือเกลือในปริมาณสูงๆ ได้ เราเรียกยีสต์ประเภทนี้ว่า osmophilic yeast ได้แก่ *Saccharomyces rouxii , Saccharomyces acidifaciens , Torulopsis halophila, Torulopsis sake, Torulopsis versatillis, Zygosaccharomyces* sp. เป็นต้น บางครั้งสามารถเจริญได้อย่างช้าๆ ในน้ำเชื่อที่มีค่า a_w ต่ำประมาณ 0.62-0.65 แต่บางตัวจะหยุดการเจริญเมื่อ a_w ต่ำประมาณ 0.78 จากการทดลองพบว่า ยีสต์ทั่วๆ ไปจะมี a_w อยู่ในช่วง 0.88-0.94 พวก baker yeast มีค่า a_w ต่ำสุดประมาณ 0.905 beer yeast มีค่า a_w ต่ำสุดประมาณ 0.90 ยีสต์แต่ละชนิดจะมีช่วง a_w ที่พอเหมาะสำหรับการเจริญแตกต่างกันตามคุณสมบัติของยีสต์นั้นๆ ค่า a_w จะเปลี่ยนแปลงไปตามชนิดของอาหาร , pH , อุณหภูมิ , ออกซิเจน และสารยับยั้งการเจริญ

อุณหภูมิ (temperature) อุณหภูมิที่พอเหมาะกับการเจริญของยีสต์จะคล้ายๆ ราที่สร้างเส้นใย คือ ประมาณ 25-30 องศาเซลเซียส แต่บางประเภท เช่นพวก

Saccharomyces rouxii ที่พบในถังหมักซีอิ้ว สามารถเจริญได้ในบริเวณที่มีอุณหภูมิสูงสุดประมาณ 35-47 องศาเซลเซียส แต่ก็ยังมียีสต์บางประเภทที่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำๆ

ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ยีสต์จะเจริญได้ดีในอาหารที่สภาวะเป็นกรด pH ที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์ อยู่ระหว่าง 4-4.5 หากสภาวะเป็นด่าง ยีสต์จะเจริญได้ไม่ดีนัก ยกเว้นในบางประเภทที่สามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้แล้ว

ออกซิเจน ยีสต์จะเจริญได้ดีในสภาพที่มีออกซิเจน ส่วนในสภาวะที่มีออกซิเจนต่ำหรือไม่มีออกซิเจน ยีสต์ก็สามารถเจริญได้เช่นกัน แต่จะเจริญช้ากว่าในสภาพมีออกซิเจน

ปัจจัยร่วมอื่นๆ (co-factor) นอกจากนี้แล้วยีสต์บางสายพันธุ์ยังต้องการกรดอะมิโน (Amino Acid) หรือสารบางอย่าง เช่นไทอะมีน ไบโอติน กรดนิโคโตนิค เพื่อใช้ในการเจริญด้วย คุณสมบัติทางด้านสรีรวิทยาของยีสต์อาจมีการเปลี่ยนแปลงได้ โดยเฉพาะพวก true yeast หรือยีสต์ที่สร้าง ascospore ยีสต์เหล่านี้จะมีการผสมพันธุ์กัน ทำให้ได้ยีสต์ที่มีคุณสมบัติผ่าเหล่า (mutant) ออกไป

2.4.4 การศึกษารูปร่างลักษณะของยีสต์ (morphology of yeast) สามารถศึกษารูปร่างลักษณะทั่วๆ ไปของยีสต์ได้ 2 อย่าง

2.4.4.1 Macroscopic study (cultural characteristics) เป็นการศึกษาลักษณะโคโลนีของยีสต์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ

ลักษณะโคโลนีของยีสต์บนอาหารแข็ง ได้แก่ สี รูปร่าง โครงสร้าง ขนาด ระดับความสูง ความเรียบ และขอบของโคโลนี ตลอดจนการสร้างสีของโคโลนี

ลักษณะการเจริญในอาหารเหลว เจริญที่ผิวหน้า ได้แก่พวก oxidative yeast หรือ film yeast เจริญทั่วทุกส่วนของอาหารและเจริญที่ก้นแล้วเป็นตะกอน ได้แก่ พวก fermentative yeast

2.4.4.2 Microscopic study เป็นการศึกษารูปร่างลักษณะของยีสต์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ อาจต้องย้อมสีแบบธรรมดา หรือแบบพิเศษเพื่อศึกษาลักษณะใดโดยเฉพาะ ซึ่งลักษณะที่ศึกษาได้แก่

รูปร่าง เซลล์ของยีสต์มีหลายรูปทรง เช่น รูปร่างกลม รูปไข่ เป็นท่อนยาว ยาวเรียงต่อกันเป็นเส้นสาย ยีสต์บางตัวเมื่อแตกหน่อแล้ว หน่อจะหลุดไปสร้างหน่อใหม่ แต่บางครั้งหน่อก็จะไม่หลุดและยังจะสร้างหน่อใหม่ต่อออกไปเรื่อยๆ หลายๆ เซลล์ติดกันเป็นเส้นสาย เรียกว่า สายใยเทียมหรือเส้นใยเทียม (pseudomycelium) เช่น *Candida* sp. แต่ยีสต์บางชนิดจะมีการแบ่งเซลล์ (fission) จากหนึ่งเป็นสอง จากสองเป็นสี่ ติดต่อกันเป็นเส้นสาย เรียกเส้นใย (mycelium) คล้ายราชั้นสูง เช่นพวก *Trichosporon* sp.

ขนาด โดยทั่วๆ ไป ยีสต์จะมีขนาดใหญ่กว่าแบคทีเรียแทบทุกชนิด แต่ยีสต์ตัวเล็กที่สุดจะมีขนาดใกล้เคียงกับแบคทีเรีย ขนาดของยีสต์แต่ละชนิดนั้นมีความแตกต่างกันมาก กล่าวคือ กว้างประมาณ 1-5 ไมครอน และยาว 5-30 ไมครอน ซึ่งจากขนาดที่แตกต่างนี่เอง เราจึงสามารถใช้ในการจำแนกยีสต์บางชนิดได้ด้วย เช่น *Saccharomyces cerivisiea* จะมีรูปร่างกลม ไปจนถึงยาวเรียว แต่ *Saccharomyces ellipsoideus* มีรูปร่างเป็นรูปไข่

การสร้างสปอร์ ยีสต์ที่มีการสร้างสปอร์นั้น เราจะทำการศึกษาถึงจำนวนสปอร์ต่อ ascus รูปทรงของสปอร์ และขนาดของสปอร์

โครงสร้างอื่นๆ ยีสต์ไม่มี flagella หรืออวัยวะที่ใช้ในการเคลื่อนที่ บางชนิดสามารถสร้าง capsule ได้ด้วย เช่น *Cryptococcus* sp.

การย้อมติดสีแกรม ยีสต์สามารถย้อมติดสีได้ทั้งแบบแกรมบวกและแบบ acid fast stain ทั้งนี้ ขึ้นกับว่า เราต้องการศึกษาอะไร

จากลักษณะทางสรีรวิทยาและรูปร่างลักษณะของยีสต์ จะทำให้เราสามารถจัดจำแนกชนิดของยีสต์ได้ โดยทำการเปรียบเทียบระหว่ายีสต์ที่เราสนใจทำการศึกษากับผลการศึกษาที่มีมาก่อน จะทำให้เราทราบว่า ยีสต์ที่เราทำการศึกษาเป็นยีสต์สายพันธุ์ใด มีคุณสมบัติ และลักษณะสำคัญอื่นๆ เพิ่มเติม แต่ทั้งนี้ การจัดจำแนกชนิดให้ละเอียดนั้น ต้องอาศัยวิธีการทางจุลชีววิทยาในระดับโมเลกุล (molecular microbiology) เพื่อศึกษาถึงลำดับเบสและปริมาณคู่ลำดับเบสของยีสต์ที่เราทำการศึกษา กับยีสต์สายพันธุ์ต่างๆ ที่มีการศึกษามาก่อน และนำมาเปรียบเทียบกันเพื่อจัดจำแนกต่อไป

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย