การใช้ประโยชน์น้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังเพื่อผลิตแคโรทีนอยด์ของ *Rhodotorula* sp.

อมรรัตน์ กนกรุ่ง[1], จักรพันธ์ นาน่วม[2], ศศิประภา ครองแดง[3], นงนุช ศรีสุข[3],
ฉัตรกมล สิงห์น้อย[4] และสาลินี ผลมาตย์[2*]

[1]สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา
[2]สำนักงานการศึกษา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
[3]คณะวิทยาศาสตร์และสังคมศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตสระแก้ว
[4]คณะวิทยาศาสตร์การกีฬา มหาวิทยาลัยบูรพา
*salinee@buu.ac.th

บทคัดย่อ

น้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังประกอบด้วยสารอินทรีย์ปริมาณสูง สารแขวนลอย ฟอสฟอรัส สารประกอบไนโตรเจน และแร่ธาตุชนิดต่าง ๆ ได้แก่ แมกนีเซียม แคลเซียม แมงกานีส เหล็ก และสังกะสี วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการนำน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังมาใช้เป็นอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงยีสต์ *Rhodotorula* sp. เพื่อผลิตแคโรทีนอยด์ โดยเพาะเลี้ยงยีสต์ *Rhodotorula* sp. TISTR 5089 ในน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังและน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังที่เติมกลูโคสเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับอาหารเหลว YM ที่ความเป็นกรดด่างเริ่มต้นเท่ากับ 5.0 บ่มเพาะด้วยเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 168 ชั่วโมง พบว่ายีสต์ *Rhodotorula* sp. ผลิตแคโรทีนอยด์เมื่อเจริญในน้ำทิ้งที่ไม่เติมและเติมกลูโคสได้เท่ากับ 128.96$\pm$10.02 และ 128.39$\pm$12.54 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในขณะที่ยีสต์ผลิตแคโรทีนอยด์เมื่อเจริญบนอาหารเหลว YM เท่ากับ 135.52$\pm$11.33 ไมโครกรัมต่อลิตร จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังมีศักยภาพที่สามารถนำมาประยุกต์ใช้เป็นแหล่งอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงยีสต์ *Rhodotorula* sp. เพื่อผลิตแคโรทีนอยด์ต้นทุนต่ำได้

คำสำคัญ: น้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลัง *Rhodotorula* sp. แคโรทีนอยด์

Utilization of Cassava Wastewater for Carotenoid Production of *Rhodotorula* sp.

Amonrat kanokrung [1], Jakkaphun Nanaum[2], Sasiprapa Krongdang[3] Nongnuch Srisuk[3], Chatkamon Singhnoy[4] and Salinee Phonmat[2*]

[1]Institute of Marine Science, Burapha University, Chonburi
[2]Office of Educational Affairs, Faculty of Science, Burapha University, Chonburi
[3]Faculty of Science and Social Sciences, Burapha University Sakaeo Campus, Sakaeo
[4]Faculty of Sport Science, Burapha University, Chonburi
*salinee@buu.ac.th

Abstract

Cassava wastewater (CW) contains high amounts of organic substances, suspended matter, phosphorus, nitrogen compounds and various minerals such as magnesium, calcium, manganese, iron and zinc. The study aimed to evaluate of the potential using cassava wastewater as a low-cost alternative substrate for the growth of *Rhodotorula* sp. TISTR 5089 intended for the production of carotenoids. The yeast *Rhodotorula* sp. was cultivated in CW and CW with 10 g/L glucose supplementation by comparing in YM at initial pH 5.0, 150 rpm and room temperature for 168 h. The carotenoid productions of *Rhodotorula* sp. were found in CW and CW with 10 g/ L glucose supplementation as 128. 96$\pm$10. 02 and 128. 39$\pm$12. 54 ug/g, respectively. While carotenoid productions of *Rhodotorula* sp. in YM was 135.52$\pm$11.33 ug/g. Results suggest that cassava wastewater presents the potential to be applied as a sole source of nutrients to support and reduce the cost of *Rhodotorula* sp. carotenoid production.

Keywords: Cassava wastewater, *Rhodotorula* sp., Carotenoid

1. บทนำ

น้ำเป็นปัจจัยสำคัญสำหรับอุตสาหกรรมการผลิตแป้งมันสำปะหลัง น้ำจำนวนมากถูกใช้ในกระบวนการผลิตซึ่งหลังจากกระบวนการผลิตน้ำเกือบทั้งหมดจะกลายเป็นน้ำทิ้งที่มีปริมาณสารอินทรีย์สูง มีค่าบีโอดีประมาณ 55-200 กิโลกรัม ค่าซีโอดีประมาณ 130-400 กิโลกรัม สารแขวนลอยประมาณ 40-140 กิโลกรัม ฟอสฟอรัสทั้งหมดประมาณ 0.2-0.6 กิโลกรัม และไนโตรเจนทั้งหมดประมาณ 3-10 กิโลกรัม [1] น้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังจะถูกนำไปผ่านระบบบำบัดน้ำก่อนปล่อยออกสู่สิ่งแวดล้อมภายนอกหรือนำไปใช้ประโยชน์ด้านการเกษตร เช่น การเพาะปลูกข้าวหรือการเพาะปลูกหญ้าเนเปียร์ [2] หรือนำไปผลิตเป็นก๊าซมีเทนเพื่อใช้เป็นพลังงานหมุนเวียนในโรงงานผลิตแป้งผลิตแป้งมันสำปะหลัง ทั้งนี้จะขึ้นอยู่กับเทคโนโลยีที่โรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังนั้น ๆ เลือกใช้ จากการรายงานของ de Andrade et al. [3] พบว่าน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังสามารถนำมาใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ได้ เนื่องจากประกอบด้วยธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรองได้แก่ น้ำตาลเด็กซ์โทรส น้ำตาลฟรุกโทส แซคคาโรส แมกนีเซียม แคลเซียม แมงกานีส เหล็กและสังกะสี ดังนั้น การสร้างมูลค่าน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังด้วยการนำมาใช้เป็นซับสเตรทในการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ เช่น จุลินทรีย์โปรตีนเซลล์เดียว จุลินทรีย์ผลิตสี และจุลินทรีย์ไขมันสูงน่าที่จะเป็นทางเลือกหนึ่งที่นอกจากจะช่วยลดปริมาณสารอินทรีย์ในน้ำทิ้งแล้ว จุลินทรีย์ดังกล่าวยังสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในรูปแบบของอาหารสัตว์ได้อีกด้วย

ยีสต์เป็นจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่เจริญเร็วและเจริญได้ในอุณหภูมิปกติ ตัวเซลล์มีขนาดใหญ่ ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงสั้นเก็บเกี่ยวได้ง่ายกว่าจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ และสามารถใช้แหล่งคาร์บอนได้หลากหลายชนิด เช่น สารประกอบอะซีเตท (acetate

compound) และสารอาหารจากพวกคาร์โบไฮเดรต ได้แก่ น้ำตาลชนิดต่าง ๆ ทั้งที่เป็นโมโนแซคคาไรด์ ไดแซคคาไรด์และโอลิโกแซคคาไรด์ รวมไปถึงของเสียจากภาคการเกษตรและภาคอุตสาหกรรม เช่น เศษพืชผักผลไม้ กากน้ำตาลหรือแม้แต่กลีเซอรอลดิบ [4] ยีสต์เป็นที่ยอมรับและนิยมในการผลิตเป็นแหล่งอาหารเสริมโปรตีนมากกว่าจุลินทรีย์ชนิดอื่น เนื่องจากภายในเซลล์ประกอบไปด้วยโปรตีนและเกลือแร่หลายชนิดในปริมาณสูง ซึ่งเหมาะสำหรับใช้เป็นอาหารเสริมในอาหารสัตว์ [5] นอกจากนี้ยีสต์บางชนิดมีสารสี (pigment) และได้รับการยอมรับว่าเป็นแหล่งผลิตสารสีที่ดีแหล่งหนึ่ง โดยเฉพาะแคโรทีนอยด์ (carotenoid) ตัวอย่างยีสต์ที่สามารถผลิตแคโรทีนอยด์ได้ เช่น *Rhodotorula, Sporobolomyces, Rhodosporium* และ *Cryptococus* โดยพบว่ายีสต์ *Rhodotorula* sp. สามารถผลิตเบต้า-แคโรทีน (ß-carotene) ได้สูงถึงร้อยละ 70 ของปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด [6] งานวิจัยนี้สนใจที่จะศึกษาถึงความเป็นไปได้ในการนำน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังมาใช้เป็นแหล่งอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงยีสต์ *Rhodotorula* sp. เพื่อผลิตแคโรทีนอยด์ ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการศึกษาจะนำใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาและต่อยอดการผลิตแคโรทีนอยด์ของยีสต์ *Rhodotorula* sp. ในน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังต่อไป

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1. การเตรียมเชื้อตั้งต้น *Rhodotorula* sp.

นำยีสต์ *Rhodotorula* sp. TISTR 5089 จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย 1 ลูป (loop) ผสมลงในอาหารเหลว Yeast malt (YM) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร บ่มเพาะด้วยเครื่องเขย่าความเร็ว 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จำนวนเซลล์เริ่มต้นอยู่ในช่วง $1x10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร

2.2 การเตรียมน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลัง

ต้มน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังเพื่อกำจัดไซยาโนจีนิค ไกลโคไซด์ (cyanogenic glycoside) และสารแขวนลอย (granular materials) ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 25 นาที จากนั้นทำให้เย็น กรองด้วยผ้าขาวบางและกำจัดของแข็งแขวนลอยออกด้วยการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 6,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เก็บส่วนใสด้านบนเพื่อนำไปใช้เป็นสารตั้งต้นในการเพาะเลี้ยงยีสต์ต่อไป [7]

2.3 การผลิตแคโรทีนอยด์ของยีสต์ *Rhodotorula* sp. ในอาหารเหลว YM และน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลัง

นำเชื้อตั้งต้นจากข้อ 2.1 ร้อยละ 10 โดยปริมาตร (v/v) ถ่ายลงในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังและน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังที่เติมกลูโคสความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 90 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่ความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 5.0 บ่มเพาะด้วยเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 168 ชั่วโมง โดยมีอาหารเหลว YM เป็นชุดควบคุม วัดการเจริญของยีสต์ด้วยสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร (OD600nm) ทุก ๆ 24 ชั่วโมง จากนั้นเก็บเกี่ยวเซลล์เพื่อนำไปวัดน้ำหนักเซลล์แห้ง (cell dry weight) และวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด (total carotenoid)

2.4 การวิเคราะห์

การวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้งตามวิธีของ Sriwongchai et al. [8] โดยนำสารละลายเซลล์ยีสต์จากข้อ 2.3 ปริมาตร 10.0 มิลลิลิตร ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 6,000 รอบต่อนาที เวลา 20 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำตะกอนเซลล์มาล้างด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ 3 ครั้ง จากนั้นนำตะกอนเซลล์ยีสต์ผสมด้วยนน้ำกลั่นปราศจากเชื้อเทลงบนถ้วยระเหยที่ทราบน้ำหนักและนำไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ชั่งน้ำหนักและบันทึกน้ำหนักเซลล์แห้งของยีสต์ แล้วนำคำนวณน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)

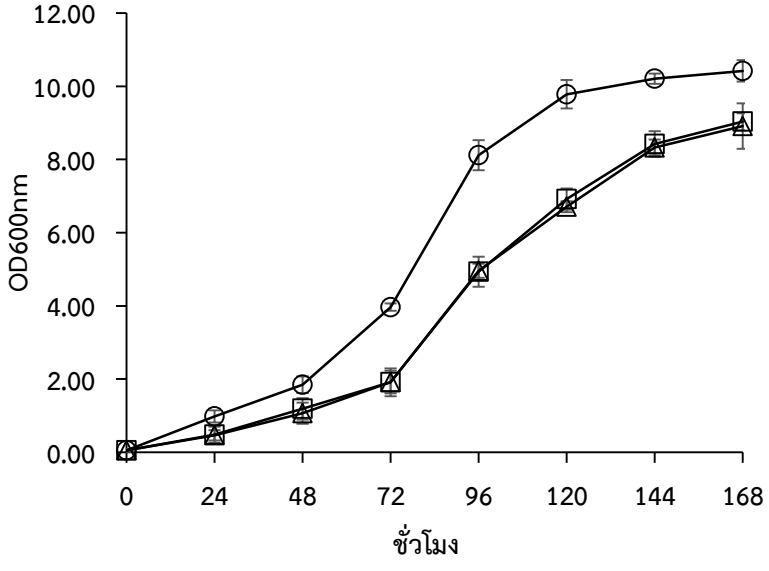
การวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดดัดแปลงตามวิธีของ Amonrat et al. [9] ชั่งน้ำหนักเซลล์ยีสต์เปียก 3-5 กรัม ใส่ลงไปในโกร่งและบดตัวอย่างให้ละเอียด จากนั้นเติมสารละลาย acetone ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันดีด้วยแท่งแก้วคนสาร ถ่ายสารละลายลงในหลอดทดลองและนำไปใส่ในเครื่องอัลตร้าโซนิค (Ultrasonic) เป็นเวลา 10 นาที และนำปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 2,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที ดูดสารละลายส่วนที่มีสีด้านบนเก็บใส่ในหลอดทึบแสง และเติมสารละลายอะซิโตน (acetone) นำไปปั่นเหวี่ยงความเร็วรอบ 2,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที และดูดสารละลายส่วนบนที่มีสีเก็บใส่ในขวดเก็บตัวอย่างทำเช่นนี้หลายครั้งจนกว่าน้ำตัวอย่างจะใส แล้วจึงนำเอาตัวอย่างที่ได้ไปทำการแยกเอาน้ำออกจากตัวอย่างด้วยโซเดียมซัลเฟต ($NaSO_4$) จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-

visible spectrophotometry) ที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร บันทึกผลและนำไปคำนวณหาปริมาณของแคโรทีนอยด์ทั้งหมด คำนวณความเข้มข้นแคโรทีนอยด์ตามกฎของ Lambert-Beer law (E1cm 2500, acetone)

ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ และนำข้อมูลทั้งหมดวิเคราะห์ทางสถิติโดยหาค่าเฉลี่ย (mean) ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) วิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One-way ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของชุดการทดลองในแต่ละพารามิเตอร์ด้วยวิธีตูกี (Turkey's Honestly Significant Difference (HSD)) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

3. ผลการศึกษา

จากการศึกษาการใช้ประโยชน์น้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังเพื่อผลิตแคโรทีนอยด์ของยีสต์ *Rhodotorula* sp. โดยเพาะเลี้ยงยีสต์ในอาหารเหลว YM น้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลัง และน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังที่เติมกลูโคสเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร ที่ความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 5.0 บ่มเพาะด้วยเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 168 ชั่วโมง พบว่าการเจริญ น้ำหนักเซลล์แห้ง และการผลิตแคโรทีนอยด์ทั้งหมดของยีสต์ *Rhodotorula* sp. มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยยีสต์สามารถเจริญได้ดีในอาหารเหลว YM การเจริญจะค่อย ๆ เพิ่มขึ้นหลังจากชั่วโมงที่ 0 ของการศึกษา และการเจริญเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วหลังจากชั่วโมงที่ 72 ของการศึกษา และเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนถึงชั่วโมงที่ 168 ค่า OD ที่วัดได้สูงสุดเท่ากับ 10.42±0.29 (ภาพที่ 1) น้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าเท่ากับ 6.74±045 กรัมต่อลิตร และสามารถผลิตแคโรทีนอยด์ทั้งหมดได้ 135.52±11.33 ไมโครกรัมต่อกรัม (ตารางที่ 1) ในขณะที่การเจริญ น้ำหนักเซลล์แห้งและการผลิตแคโรทีนอยด์ของยีสต์ *Rhodotorula* sp. ในน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังที่เติมและไม่เติมกลูโคสไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) โดยการเจริญของยีสต์มีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกัน ซึ่งการเจริญจะ ค่อย ๆ เพิ่มขึ้นและเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วหลังจากชั่วโมงที่ 72 ของการศึกษา เมื่อเข้าสู่ชั่วโมงที่ 168 ของการศึกษา ค่า OD สูงสุดที่วัดได้มีค่าเท่ากับ 8.91±0.23 และ 9.03±62 (ภาพที่ 1) ตามลำดับ น้ำหนักเซลล์แห้งของยีสต์ที่เจริญในน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังที่ไม่เติมและเติมกลูโคสมีค่าเท่ากับ 5.12±0.34 และ 5.16±0.93 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และสามารถผลิตแคโรทีนอยด์ทั้งหมดได้ 128.96±10.02 และ 128.39±12.54 ไมโครกรัมต่อกรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 1)



ภาพที่ 1 กราฟการเจริญของยีสต์ *Rhodotorula* sp. ในอาหารเหลว YM (⊖), น้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลัง (△) และน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังที่เติมกลูโคสเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร (⊟)

ตารางที่ 1 ปริมาณแคโรทีนอยด์และน้ำหนักเซลล์แห้งของยีสต์ *Rhodotorula* sp. ที่เจริญในซับสเตรทชนิดต่าง ๆ

ซับสเตรท	แคโรทีนอยด์ทั้งหมด (ไมโครกรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)
YMB	135.52 ± 11.33[a]	6.74 ± 0.45[a]
น้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลัง	128.96 ± 10.12[b]	5.12 ± 0.34[b]
น้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังที่เติมกลูโคสเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร	128.39 ± 12.54[b]	5.16 ± 0.50[b]

[a] และ [b] หมายถึง ค่าเฉลี่ยคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อทดสอบด้วยวิธีตูกี (P=0.05)
ค่าที่แสดง คือ ค่าเฉลี่ย ± SD (n=3)

4. อภิปรายผลการทดลอง

ผลจากการศึกษาการเพาะเลี้ยงยีสต์ *Rhodotorula* sp. ในน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังที่ไม่เติมและเติมกลูโคสโดยเปรียบเทียบกับยีสต์ *Rhodotorula* sp. ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว YM พบว่ายีสต์ *Rhodotorula* sp. เจริญและผลิตแคโรทีนอยด์ในอาหารเหลว YM ได้ดีกว่าในน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังที่ไม่เติมและเติมกลูโคส ทั้งนี้เป็นเพราะอาหารเหลว YM เป็นอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์ ในขณะที่น้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังมีแป้งเป็นส่วนประกอบหลักซึ่งเป็นสารอินทรีย์โมเลกุลใหญ่ ยีสต์จำเป็นต้องปรับตัวและมีการชักนำให้เกิดการสร้างเอนไซม์ออกมาย่อยสลายแป้งให้กลายเป็นสารอินทรีย์ที่มีโมเลกุลขนาดเล็กลงอย่างน้ำตาลกลูโคสเพื่อนำไปใช้เป็นแหล่งอาหารและแหล่งพลังงานในการเจริญ ส่วนการทดลองที่มีการเติมกลูโคสเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตรลงไปในน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังเพื่อส่งเสริมให้ยีสต์เจริญและเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็วในช่วงแรกของการศึกษา เนื่องจากกลูโคสเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่ยีสต์สามารถลำเลียงเข้าสู่เซลล์และเข้าสู่กระบวนการไกลโคไลซิส (glycolysis) เพื่อให้ได้พลังงานของเซลล์ได้ทันที [10] ซึ่งการเติมกลูโคสลงในน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังไม่มีผลต่อการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์ของยีสต์ *Rhodotorula* sp. จากผลการศึกษาจะเห็นได้ว่ายีสต์ *Rhodotorula* sp. สามารถเจริญและผลิตแคโรทีนอยด์ในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังที่ไม่เติมและเติมกลูโคสไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) ที่เป็นเช่นนี้อาจเป็นเพราะในขั้นตอนการกำจัดไกลโคไซด์และการนึ่งฆ่าเชื้อน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังมีการให้ความร้อน โดยความร้อนจะทำให้โมเลกุลของแป้งเปลี่ยนเป็นน้ำตาลกลูโคส [11] ยีสต์สามารถนำน้ำตาลกลูโคสที่เกิดจากขั้นตอนดังกล่าวไปใช้เป็นแหล่งพลังงานเพื่อการเจริญและการผลิตแคโรทีนอยด์ได้ เมื่อพิจารณาการเจริญของยีสต์ในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังที่มีการเติมกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร จะเห็นได้ว่ากลูโคสที่มากเกินไปในสภาวะที่มีแหล่งไนโตรเจนอยู่อย่างจำกัด ไม่ได้ส่งเสริมให้ยีสต์เจริญได้ดีกว่า นอกจากนี้ ยังพบว่าน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังประกอบด้วยธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรองที่สามารถส่งเสริมการเจริญของยีสต์ได้อีกด้วย [3] จากหลายงานวิจัยได้นำเสนอการนำน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังมาใช้เป็นซับสเตรทร่วมกับแหล่งคาร์บอนชนิดอื่นสำหรับใช้เพาะเลี้ยงยีสต์เพื่อให้ผลิตสารชีวโมเลกุลชนิดต่าง ๆ เช่น Machado et al. [7] ศึกษาการเพาะเลี้ยงยีสต์ *Rhodotorula mucilaginosa* ในซับสเตรทที่เป็นส่วนผสมระหว่างกากน้ำตาล (25 ถึง 55 กรัมต่อลิตร) ต่อน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลัง (20 ถึง 50 กรัมต่อลิตร) พบว่าส่วนผสมระหว่างกากน้ำตาล 54 กรัมต่อลิตร ต่อน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลัง 41.5 กรัมต่อลิตร เป็นส่วนผสมที่ยีสต์เจริญได้ดีที่สุด โดยน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 7.94 กรัมต่อลิตร และยีสต์ผลิตลิพิดและแคโรทีนอยด์ได้สูงสุด (ร้อยละ 48.14 ของน้ำหนักเซลล์แห้ง และ 2958.32 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ) โดยมีแอมโมเนียมซัลเฟต 3 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งไนโตรเจน และ Dardani et al. [12] ศึกษาการสกัดแคโรทีนอยด์จากยีสต์ *R. mucilaginosa* ที่เพาะเลี้ยงในซับสเตรทผสมระหว่างกลูโคส 25.86-54.14 กรัมต่อลิตร และน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังความเข้มข้นร้อยละ 3.17-8.83 ด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ ได้แก่ เอทานอล เมทานอลและ DMSO ผลการทดลองพบว่ายีสต์ผลิตแคโรทีนอยด์ได้มากขึ้นจากเดิมร้อยละ 92.82 เมื่อเพาะเลี้ยงในน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังเข้มข้นร้อยละ 3 ผสมกับกลูโคสเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับยีสต์ที่เพาะเลี้ยงในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังเข้มข้นร้อยละ 4 ผสมกับกลูโคสเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร และพบว่าเอทานอลเป็นตัวทำละลายที่สกัดแคโรทีนอยด์ได้ดีและเป็น

มิตรต่อสิ่งแวดล้อม จากการศึกษาครั้งนี้ทำให้ทราบว่าน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังสามารถนำมาพัฒนาต่อยอดและประยุกต์ใช้เป็นแหล่งอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงยีสต์ *Rhodotorula* sp. เพื่อผลิตแคโรทีนอยด์ต้นทุนต่ำต่อไปได้

5. สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาการใช้ประโยชน์น้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังเพื่อผลิตแคโรทีนอยด์ของยีสต์ *Rhodotorula* sp. โดยเพาะเลี้ยงยีสต์ในอาหารเหลว YM น้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังและน้ำทิ้งโรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลังที่เติมกลูโคสเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร ที่ความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 5.0 บ่มเพาะด้วยเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง ระยะเวลา 168 ชั่วโมง พบว่ายีสต์ *Rhodotorula* sp. ผลิตแคโรทีนอยด์เมื่อเจริญในอาหารเหลว YM เท่ากับ 135.52$\pm$11.33 ไมโครกรัมต่อลิตร และผลิตแคโรทีนอยด์เมื่อเจริญในน้ำทิ้งที่ไม่เติมและเติมกลูโคสได้เท่ากับ 128.96$\pm$10.02 และ 128.39$\pm$12.54 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

6. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัย ประเภททุนสนับสนุนการวิจัยสำหรับนักวิจัยที่ผ่านการอบรมหลักสูตร BUU Research Sandbox มหาวิทยาลัยบูรพา ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2566 ขอขอบคุณบริษัท วีพี สตาร์ช(2000) จำกัด จังหวัดนครราชสีมา ที่อนุเคราะห์น้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลัง และขอบขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา คณะวิทยาศาสตร์และสังคมศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตสระแก้ว และสถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา ที่เอื้อเฟื้อสถานที่และอำนวยความสะดวกในการทำวิจัย

7. เอกสารอ้างอิง

[1] Kunlaya, Rojpanit., Nipon, Tungkananuruk. & Kanita, Tungkananuruk. (2017). Tapioca Flour Plant Wastewater Treatment with isolated effective indigenous bacteria from wastewater. *Thai Journal of Science and Technology,* 6(2), 140-151. (In Thai)

[2] Arthit Lhroklang. (2016). Utilization of wastewater from the tapioca starch factory for growing napier grass in saline soil. *DRIRDI Research for Community Service Journal,* 2(2), 1-16. (In Thai)

[3] de Andrade, C. J., Barros, F. F. C., de Andrade, L. M., Rocco, S. A., Luis Sforça, M., Pastore, G. M.& Jauregi, P., (2016). Ultrafiltration based purification strategies for surfactin produced by *Bacillus subtilis* LB5A using cassava wastewater as substrate. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 91, 3018–3027. https://doi.org/10.1002/jctb.4928.

[4] Salinee Sriwongchai., Chanisa Aksornsamai & Rujirat Kitleartpornpairoat. (2019). Screening of xylose-utilizing oleaginous yeasts from fermented bio-extracts for microbial oil production. *Burapha Science Journal,* 24(1), 331-325. (In Thai)

[5] Theerawut Taveesap. (2005). *Production of Feed Yeast from Palm Oil Mill Effluent*. [Master of Science]. Prince of Songkla University. (In Thai)

[6] Marova, I., Certik, M., & Breierova, E. (2011). *Production of enriched biomass by carotenogenic yeasts-Application of whole cell yeast biomass to production of pigments and other lipid compound*. In D. Matovic. (Ed.), Biomass - Detection, Production and Usage, (pp. 345-384). Shanghai: In Tech China.

[7] Machado, W. R. C., Murari, C. S., Duarte, A. L. F. & Bianchi, V. L. D. (2022). Optimization of agro-industrial coproducts (molasses and cassava wastewater) for the simultaneous production of lipids and carotenoids by *Rhodotorula mucilaginosa. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 42, 102342.

[8] Sriwongchai, S., Pokethitiyook, P., Kruatrachue, M., Bajwa, P. K. & Lee, H. (2013). Screening of selected oleaginous yeasts for lipid production from glycerol and some factors which affect lipid

production by *Yarrowia lipolytica* strains. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences,* 2(5), 2344-2348.

[9] Amonrat Kanokrung, Akeapot Srifa & Warangkhana Sinsap, (2019). Effect of Cultivated Microalgae, *Tetraselmis gracilis* in Different Salinity on Total Carotenoids Content of Rotifer. *Khon Kaen Agriculture Journal*, 47 (SUPPL. 1), 1317-1324. (In Thai)

[10] Hopson, J. L. & Wessells, N. K. (1990). *Essentials of Biology*. New York: McGraw-Hill Pub.

[11] Supachai Udchachon. (2001). Uses of Cassava Starch. *Department of Science Service Ministry of Higher Education, Science, Research and Innovation,* 49(1), 8-11. (In Thai)

[12] Dardani, C. S., Machado, W. R. C., Duarte, A. L. F., da Costa Oliveira, G.., de Castilhos, M. B. M. and Bianchi, V. L. D. (2024). Production of carotenoids by *Rhodotorula mucilaginosa* using glucose and cassava wastewater and a comparison between ethanol, methanol and DMSO in their extraction. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology,* https://doi.org/10.1016/j.bcab.2024.103167.