บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

ยีสต์ (yeast)

ประนอม (2549) ยีสต์จัดเป็นสิ่งมีชีวิตพวกยูแคริโอต (eukaryotes) เซลล์เดียวที่มีความน่าสนใจเป็นพิเศษ มีความสำคัญทั้งในด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ยีสต์ได้ถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมหลายอย่าง เช่น การผลิตอาหาร เครื่องดื่ม ยารักษาโรค ตลอดจนนำมาใช้ในทางการแพทย์หลายด้าน ในขณะเดียวกันยีสต์หลายชนิดก่อให้เกิดโรคในมนุษย์ ปัจจุบันมีการศึกษาสรีรวิทยาของเซลล์ยีสต์ (yeast cell physiology) เพื่อนำมาพัฒนาความรู้ทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพ (biotechnology) พันธุวิศวกรรม (genetic engineering) และชีววิทยาระดับโมเลกุล (molecular biology) เช่น ศึกษาการเติบโต (growth) การเจริญ (development) เมแทบอลิซึม (metabolism) เพื่อพัฒนาสายพันธุ์ยีสต์ให้เหมาะสมสำหรับนำมาใช้ในทางอุตสาหกรรม ทำให้ได้ผลผลิตที่มีคุณภาพและได้ปริมาณสูง

ขนาดของเซลล์ยีสต์

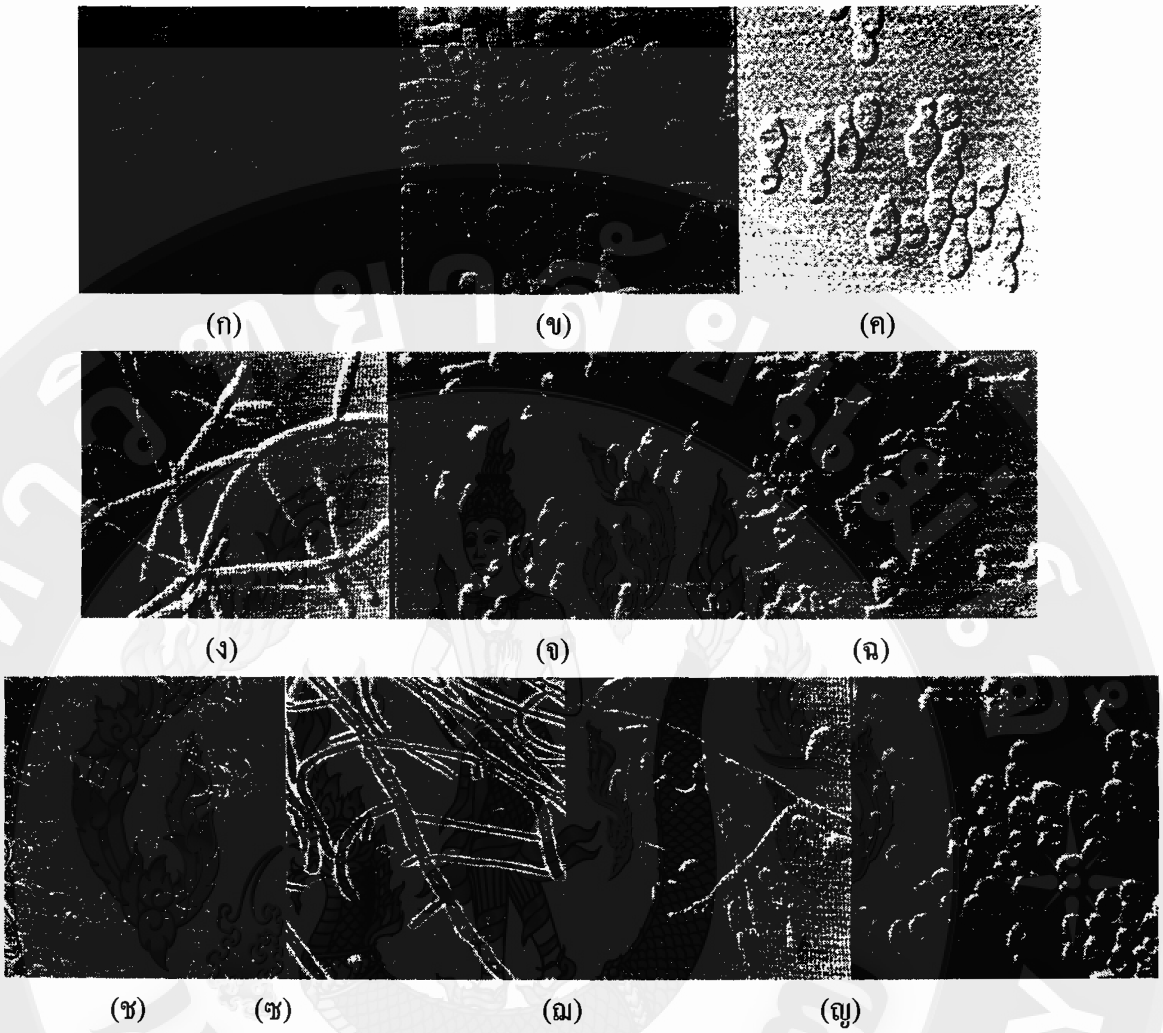
ขนาดของยีสต์มีแตกต่างกันตั้งแต่ความยาว 2-3 μm ไปจนถึง 20-50 μm ความกว้างประมาณ 1-10 μm ยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* มีรูปร่างรีหรือรูปไข่ (ellipsoidal หรือ ovoid) เซลล์ขนาดเล็กมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 1-3 μm หรือในเซลล์ที่มีขนาดใหญ่ขึ้นมามีขนาด 5-10 μm ยีสต์ *S. cerevisiae* ที่ใช้ผลิตแอลกอฮอล์ มักมีขนาดเซลล์ใหญ่กว่ายีสต์สายพันธุ์เดียวกันที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ ตัวอย่างเช่น ยีสต์ที่ใช้ในการผลิตเบียร์จำพวกเอล (ale) สายพันธุ์ NCYC 1006 มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 13.4 μm ขนาดของเซลล์ยีสต์ยังอาจเพิ่มขึ้นตามอายุของเซลล์

รูปร่างของเซลล์ยีสต์

ยีสต์แต่ละสปีชีส์มีลักษณะแตกต่างกันทั้งด้าน ขนาด รูปร่างและสีของเซลล์ บางครั้งอาจพบยีสต์สปีชีส์เดียวกันมีความแตกต่างกันทั้งด้านสัณฐานวิทยา และสีของเซลล์ อาจเกิดจากสภาพแวดล้อมทางด้านเคมีและฟิสิกส์ เซลล์ยีสต์บางชนิดอาจมีรูปร่างได้หลายรูปแบบ (cell types) เช่น *Saccharomyces cerevisiae* มีรูปร่างแบบ a, x และ a/x รูปแบบที่เป็น a และ x จะเป็นแฮพลอยด์ (haploid) พบในขณะที่ยีสต์มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ ทำให้เกิดการรวมนิวเคลียสได้เซล์ที่มีรูปแบบเป็น a/x ที่เป็นดิพลอยด์ (diploid) โดยทั่วไปรูปร่างของเซลล์ยีสต์ แบ่งออกได้ดังนี้ (ภาพ 1)

1. รูปร่างรี หรือรูปไข่ ได้แก่ *Saccharomyces* sp.
2. รูปร่างทรงกระบอกที่มีปลายมน (cylindral with hemi-spherical ends) ตัวอย่างเช่น *Schizosaccharomyces*
3. รูปร่างแบบกลม ปลายมีลักษณะนูนคล้ายผลมะนาว (apiculate/lemon-shaped) ตัวอย่างเช่น *Hanseniaspora* และ *Saccharomycodes* sp.
4. รูปร่างยาว ปลายมนด้านหนึ่ง ส่วนอีกด้านหนึ่งปลายแหลมคล้ายดินสอ (ogival) ตัวอย่างเช่น *Dekkera* และ *Brettanomyces*
5. รูปร่างแบบชมพู่ (flask-shaped) เช่น *Pityrosporum* sp.
6. รูปร่างแบบสามเหลี่ยม (triangular) เช่น *Trigonopsis* sp.
7. รูปร่างโค้ง (curved) เช่น *Cryptococcus cereanus*
8. รูปร่างเป็นเส้น เรียกว่า แบบฟิลาเมนทัส (filamentous) มีไฮฟาที่มีการผนังกั้นแบ่งเป็นห้อง (septate hypha) และซูโดไฮฟา (pseudohypha) เช่น *Candida albicans* และ *Yarrowia lipolytica*
9. เซลล์มีก้านยื่นออกมา เช่น *Sterigmatomyces* sp.
10. รูปร่างกลม (spherical) เช่น *Debaryomyces* sp.
11. รูปร่างยืดยาวออกไป (elongated) ยีสต์หลายชนิดในขณะที่อยู่ในระยะการเจริญ

ในสภาพแวดล้อมต่าง ๆ กัน เซลล์ปกติ หรือ เวเจทเททีฟเซลล์ (vegetative cell) จะมีการเปลี่ยนสภาพ หรือ ดิฟเฟอเรนทิเอชัน (differentiation) ทำให้มีรูปร่างแบบฟิลาเมนทัส มีการสร้างหลอดสปอร์ หรือ เยิร์มทิวบ์ (germ tubes) ซูโดไฮฟา และไฮฟา จึงดูมีรูปร่างหลายแบบ



ภาพ 1 รูปร่างของเซลล์ยีสต์แบบต่าง ๆ

(ก) แบบไข่ของ *S. cerevisiae*

(ข) ทรงกระบอกของ *Schizosaccharomyces* sp.

(ค) คล้ายผลมะนาวของ *Hanseniaspora* sp.

(ง) คล้ายดินสอของ *Dekkera*

(จ) แบบชมพู่ของ *Pityrosporum* sp.

(ฉ) แบบสามเหลี่ยมของ *Trigonopsis* sp.

(ช) โค้งงอของ *Cryptococcus cereanus*

(ซ) ฟิลาเมนทัสของ *Yarrowia* sp.

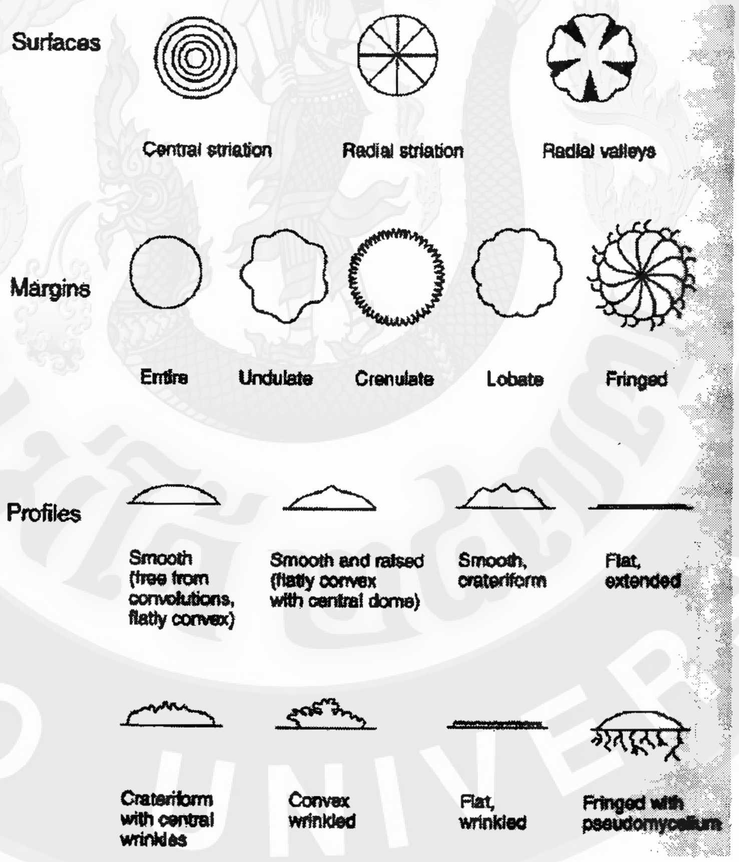
(ฌ) เซลล์มีก้านของ Sterigmatomyces sp.

(ญ) รูปร่างกลมของ *Debaryomyces* sp.

ที่มา : Barnett *et al.* (2000)

ลักษณะโคโลนีของยีสต์

คุณลักษณะทางสัณฐานวิทยา และจลนพลศาสตร์ (kinetics) ของโคโลนียีสต์ที่ปรากฏบนอาหารวุ้น เป็นสิ่งแรกที่นำมาพิจารณาในการนำยีสต์มาใช้ในทางเทคโนโลยีชีวภาพ ทั้งด้านอุตสาหกรรมการหมัก และในทางการแพทย์ เช่น การสังเกตลักษณะทางสัณฐานวิทยาของโคโลนี ไม่ว่าจะเป็นสี ขนาด ลักษณะขอบโคโลนี การยกนูนขึ้นของโคโลนี ความมันวาวหรือความด้าน การเกิดเมือก การแผ่กระจายของโคโลนี เป็นต้น (ภาพ 2) ส่วนเซลล์ที่เจริญเป็นโคโลนีดังกล่าวจะมีหลายลักษณะ ขึ้นอยู่กับอายุของเซลล์ จลนพลศาสตร์ของการเติบโต และเมแทบอลิซึม ตัวอย่างเช่น *S. cerevisiae* และ *K. marxianus* ที่เจริญในอาหารเหลวจะพบในลักษณะเซลล์ที่กำลังแตกหน่อ แต่ถ้าเจริญบนอาหารวุ้น จะพบว่ามีการสร้างซูโดมัยซีเลียม (pseudomycelium) คาดกันว่า ใช้สำหรับแทงเข้าสู่เนื้อวุ้นเพื่อการเติบโตของเซลล์


Surfaces
Central striation
Radial striation
Radial valleys
Margins
Entire
Undulate
Crenulate
Lobate
Fringed
Profiles
Smooth (free from convolutions, flatly convex)
Smooth and raised (flatly convex with central dome)
Smooth, crateriform
Flat, extended
Crateriform with central wrinkles
Convex wrinkled
Flat, wrinkled
Fringed with pseudomycelium

ภาพ 2 ลักษณะโคโลนีของยีสต์แบบต่าง ๆ
ที่มา : Walker (1998)

ความต้องการสารอาหารของยีสต์

สารอาหารที่ยีสต์ต้องการประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรต สารอาหารที่เป็นแหล่งไนโตรเจน วิตามิน และแร่ธาตุ ยีสต์ต่างสายพันธุ์กันต้องการสารอาหารที่แตกต่างกัน เกณฑ์ในการแบ่งความต้องการสารอาหารของยีสต์ขึ้นอยู่กับชนิดสารเคมีที่จำเป็นสำหรับเซลล์ และวัตถุประสงค์ของการจำแนก โดยทั่วไปแบ่งสารอาหารออกเป็น 2 ประเภท คือ

ก. สารอาหารหลัก (macronutrient elements) ได้แก่ คาร์บอนไฮโดรเจน ออกซิเจน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แมงกานีส และซัลเฟอร์ (C, H, O, N, P, K, Mg และ S) ยีสต์ต้องการประมาณ 10^{-3} M

ข. สารอาหารรอง (micronutrient elements) ได้แก่ แคลเซียม คอปเปอร์ เหล็ก นิกเกิล แมงกานีส สังกะสี และโมลิบดินัม (Ca, Fe, Ni, Mn, Zn และ Mo) ยีสต์ต้องการประมาณ10^{-6} M

สำหรับการเพาะลี้ยงยีสต์ในห้องปฏิบัติการ จะคำนึงถึงสารเคมีที่จะใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ และแหล่งอาหารที่เหมาะสมกับความต้องการของยีสต์ แบ่งได้ดังนี้

1. สารเคมีที่จำเป็นสำหรับเซลล์ยีสต์ ประกอบด้วย

1.1 สารเคมีพื้นฐาน

ได้แก่ คาร์บอน ไฮโดรเจน ออกซิเจน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัสและซัลเฟอร์ ที่เป็นองค์ประกอบของแมโครโมเลกุลพวกโปรตีน โพลีแซคคาไรด์ กรดนิวคลีอิก และลิพิด

1.2 ไอออนของสารอนินทรีย์

ได้แก่ โพแทสเซียม และแมกนีเซียม

1.3 สารอาหารรองที่ต้องการในปริมาณน้อยมาก (trace element)

เป็นสารเคมีที่เซลล์ต้องการแต่เพียงในปริมาณน้อย ยีสต์ต้องการสารดังกล่าวจากแหล่งอาหารในสิ่งแวดล้อม เช่น ฟอสฟอรัส แมกนีเซียม แคลเซียม แมงกานีส ซัลเฟอร์ สังกะสี นิกเกิลโมลิบดินัม คอปเปอร์ ยีสต์หลายสปีชีส์เจริญได้ดีในอาหารเหลว pH 5.5 ที่ ประกอบด้วยน้ำตาลเฮกโซส (hexose sugar) เกลือแอมมอเนียม (ammonium salt) วิตามิน และเทรซเอเลเมนท์อื่น ๆ ที่จำเป็นอีกหลายชนิด

2. แหล่งอาหารของยีสต์

2.1 คาร์บอน

ยีสต์เป็นสิ่งมีชีวิตพวกเคโมออร์กาโนทรอฟ (chemoorganotroph) คือ ได้คาร์บอน และพลังงานจากสารอินทรีย์ แหล่งคาร์บอนโดยทั่วไป ได้แก่ สารประกอบอะซีเตท (acetate compound) และจากสารอาหารพวกคาร์โบไฮเดรต ได้แก่ น้ำตาลชนิดต่าง ๆ ที่มีน้ำหนัก

โมเลกุลต่ำ ทั้งที่เป็นโมโนแซคคาไรด์ ไดแซคคาไรด์ และโอลิโกแซคคาไรด์ โดยเฉพาะน้ำตาลกลูโคส ในสภาพที่มีออกซิเจนยีสต์อาจใช้สารประกอบคาร์บอนพวกเอธานอลสารประกอบอะซีเตท หรือกลีเซอรอล ถ้ามีปริมาณออกซิเจนพอเพียงปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารดังกล่าวจะเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ แต่ในสภาพไร้ออกซิเจนหรือมีออกซิเจนต่ำ ยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นคาร์บอนไดออกไซด์ และเอธานอล จะให้พลังงานออกมาในปริมาณน้อยมาก อาจทำให้เกิดทอกซินสะสมในอาหารและเป็นพิษต่อเซลล์

2.2 ไฮโดรเจน

ยีสต์ได้ไฮโดรเจนจากคาร์โบไฮเดรต และแหล่งอื่น ๆ ไฮโดรเจนไอออนหรือโปรตอน (proton) มีความสำคัญต่อสรีรวิทยาของเซลล์ยีสต์ มีผลต่อการควบคุม pH การเติบโต และเมแทบอลิซึม โดยปกติยีสต์จะเจริญได้ดีถ้า pH ของอาหารอยู่ระหว่าง 4-6 แต่ยีสต์หลายชนิดเจริญได้ที่ระดับ pH ค่อนข้างกว้าง ตั้งแต่ 2-8 ความสามารถในการทนกรดของยีสต์สูงกว่าแบคทีเรีย ทำให้พบยีสต์ได้ในแหล่งอาศัยที่มีความเป็นกรดสูง เช่น อาหารหมักดอง แต่ยีสต์ไม่ค่อยทนต่อสภาวะที่มีความเป็นเบสสูง

2.3 ออกซิเจน

มีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของยีสต์ในระยะที่มีการดำรงชีวิตในสภาวะปกติ ยีสต์ต้องการออกซิเจนมาใช้เป็นซับสเตรทสำหรับเอนไซม์ในกระบวนการหายใจ ทำให้กระบวนการไฮดรอกซิลเลชัน (hydroxylation) ดำเนินไปตามปกติ ช่วยเกี่ยวกับชีวสังเคราะห์ของสเทรอล และกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัว ยีสต์ต่างชนิดกันมีความต้องการออกซิเจน แตกต่างกัน ในสภาวะที่มีความดันบรรยากาศสูง และปริมาณออกซิเจนมากเกินไป จะทำให้หยุดยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ยีสต์ เกิดสภาพที่เป็นพิษต่อเซลล์ดังนั้น ในกระบวนการผลิตทางอุตสาหกรรมที่ต้องใช้ยีสต์จึงต้องควบคุมให้มีปริมาณออกซิเจนที่เหมาะสม เพื่อให้ยีสต์เพิ่มจำนวนและเจริญเติบโตได้ดี

2.4 ไนโตรเจน

ปริมาณไนโตรเจนในเซลล์ยีสต์มีประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง ยีสต์ไม่สามารถตรึงไนโตรเจนจากบรรยากาศได้ จึงได้มาจากกรดอะมิโน เปปไทด์ เกลือไนเตรท และเกลือแอมมอเนียม ยีสต์ประมาณ 1 ใน 4 ใช้ไนเตรทเป็นแหล่งไนโตรเจน ส่วนอาหารเลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติการนิยมเติมแอมมอเนียมซัลเฟต ซึ่งจะเป็นได้ทั้งแหล่งไนโตรเจน และซัลเฟอร์ ยีสต์บางชนิดไม่สามารถใช้ไนเตรทเป็นแหล่งไนโตรเจนได้ เพราะการใช้ไนเตรททำให้เกิดไนไตรท์ (nitrite) ที่เป็นพิษต่อเซลล์ ดังนั้นจึงแบ่งยีสต์ออกเป็นกลุ่มที่ใช้ไนเตรทได้ (nitrate positive) เช่น *Hansenula* sp. และกลุ่มที่ไม่สามารถใช้ไนเตรทได้ (nitrate negative) เช่น *Pichia* sp. นอกจากนี้ยีสต์บางชนิดใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจน ยีสต์ในกลุ่มเบสิดิโอมัยซีทัสจัดเป็น urease-positive ในขณะที่ยีสต์ในกลุ่มแอสโคมัยซีทัสจัดเป็น urease-negative

2.5 ซัลเฟอร์

พบประมาณ 0.3 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง ยีสต์ต้องการซัลเฟอร์เพื่อนำมาใช้ในชีวสังเคราะห์ แหล่งซัลเฟอร์อาจมาจากสารประกอบที่มีซัลเฟอร์ เช่น ซัลเฟต (sulphate) ไธโอซัลเฟต (thiosulphate) เมไธโอนีน (methionine) กลูทาไธโอน (glutathione) และซัลไฟท์ (sulphite) โดยส่วนใหญ่มักเป็นเมไธโอนีน และกรดอะมิโนที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบ เพื่อนำมาใช้ในกระบวนการเมแทบอลิซึม ในขณะเดียวกันซัลเฟอร์ก็จำเป็นต่อการสังเคราะห์เมไธโอนีน ซิสเทอีน กลูทาไธโอน โคเอนไซม์ เอ และไธอามีน เช่นเดียวกัน

2.6 ฟอสฟอรัส

เป็นส่วนประกอบของกรดนิวคลีอิก และฟอสโฟลิพิด สารอินทรีย์ฟอสเฟตที่พบในเซลล์ยีสต์มีประมาณ 3-5 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักแห้ง โดยอยู่ในรูปของออร์โธฟอสเฟต (orthophosphate, H_2PO_4) ทำหน้าที่เป็นซับสเตรทของเอนไซม์หลายชนิด ฟอสเฟตมีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ช่วยในการสะสมพลังงาน และถ่ายทอดพลังงานภายในเซลล์

2.7 แร่ธาตุต่าง ๆ

ได้แก่ โพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม และเทรซเอเลเมนท์ โพแทสเซียมมีคามสำคัญในการเป็นโคแฟคเตอร์ของเอนไซม์ ไอออนของโพแทสเซียมจำเป็นต่อการรับฟอสเฟตเข้าสู่เซลล์ ช่วยในกระบวนการออกซิเดทีฟฟอสฟอรีเลชัน (oxidative-phosphorylation) ในชีวสังเคราะห์ของโปรตีน และเมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรต แคลเซียมช่วยการจับกันเป็นก้อน (flocculation) ของยีสต์ ควรเติมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อมากกว่า 50 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับแมกนีเซียมพบประมาณ 3 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง มีความจำเป็นในกระบวนการ เมแทบอลิซึม ทำหน้าที่เป็นตัวกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ เช่น การทำงานของเอนไซม์ทรานส์ฟอสฟอรีเลชัน (transposphorylation enzyme) ขึ้นอยู่กับ Mg^{2+} จึงจะทำให้เกิดการสร้างพลังงานในรูป ATP แมกนีเซียมจึงจำเป็นต่อการเติบโตของยีสต์

2.8 สารเร่งการเจริญหรือปัจจัยที่เกี่ยวกับการเจริญ (growth factor)

เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่ยีสต์ต้องการในระดับความเข้มข้นต่ำ เพื่อเสริมการทำงานของเซลล์ แต่ไม่ใช่เพื่อเป็นแหล่งพลังงาน ตัวอย่างเช่น วิตามิน ใช้เป็นองค์ประกอบของโคเอนไซม์ นอกจากนี้ยังมี พิวรีน ไพริมิดีน นิวคลีโอไซม์ (nucleoside) กรดอะมิโน กรดไขมัน สเทรอล และสารประกอบอื่น ๆ อีกหลายชนิด ยีสต์ไม่สามารถสังเคราะห์สารดังกล่าวได้เอง ดังนั้นจึงต้องเติมสารเหล่านี้ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ

ราเน่าขาว (white-rot fungi)

นิวัฒ (2526) จัดอยู่ใน Sub-division Basidiomycotina เป็น Sub-division ใหญ่ ที่รวมเอาราที่สร้าง Basidiospore ที่สร้างบนโครงสร้างที่เรียกว่า Basidium มีทั้งหมด 900 Genera 12,000 สปีชีส์ เช่น พวกเห็ดต่าง ๆ Puff Balls, Stink Horns, Rust, Smut และพวก Jelly Fungi ซึ่งเป็นพวกโบราณที่สุดในบรรดาพวก Basidiomycotina ด้วยกัน ราเหล่านี้มีความสำคัญ พบว่ามีทั้งพวกที่เป็น Saprobe ดูดกินอาศัยอยู่บนเศษซากพืช และมูลสัตว์ บางพวกเป็นปรสิตของพืช เช่น พวกราสนิม (Rust) และพวกราเขม่าดำ (Smut) เข้าทำลายพืชเศรษฐกิจ และบางพวกเข้าทำลายป่าไม้ แต่มีอีกหลาย ๆ ชนิดที่เป็นประโยชน์ เช่น พวก Mycorrhiza

ลักษณะสำคัญของราเน่าขาว

ราใน Sub-division นี้มีการสร้าง Basidium ที่มีรูปร่าง 2 แบบ คือ

1. Heterobasidium (Phragmobasidium)
   คือ Basidium ที่มีการแบ่งเป็นหลายส่วนโดยมีผนังกั้นหรือบางชนิดแบ่งเป็นลอนหรือพูนและมีหลายลอน
2. Holobasidium (Homobasidium)
   มีลักษณะของ Basidium ที่ตรงกันข้ามกับ Heterobasidium คือ ไม่มีการแบ่งเป็นส่วน และไม่มี Septate โดย Basidium มีหน้าที่ คือ
   - เป็นที่เกิดของขบวนการ Karyogamy และการแบ่งตัวแบบ Meiosis
   - เป็นที่สร้างอาหารสะสม เช่น Glycogen, Fat และ Oil
   - เป็นที่เกิดของ Basidiospore

Basidiospore เกิดนอก Basidium โดยมีก้านสั้น ๆ เรียกว่า Sterigma การปล่อย Basidiospore จาก Sterigma อาจเป็นแบบมีแรงดันหรือในบางกลุ่มปล่อยโดยไม่มีแรงดันก็ได้

การจำแนกหมวดหมู่ของราใน Sub-division Basidiomycotina จำแนกจากลักษณะการเจริญของ Basidiocarp ซึ่งบางชนิดอาจสร้างหรือไม่สร้างก็ได้ ลักษณะของ Basidium และวิธีการปล่อย Spore ของเชื้อแบ่งออกได้เป็น 3 Classes ดังนี้

1. Class Hemibasidiomycetes (Teliomycetes)
2. Class Hymenomycetes (white-rot fungi)

3. Class Gasteromycetes

โดยในแต่ละคลาสมีลักษณะสำคัญ ดังนี้

1. Class Hemibasidiomycetes (Teliomycetes รากลุ่มนี้สร้าง Basidium โดยไม่มี Basidiocarp ห่อหุ้ม Basidium เกิดจากเซลล์ที่ผนังหนา ซึ่งอาจเป็นเซลล์ที่ปลายเส้นใยก็ได้ เซลล์ผนังหนาเหล่านี้ คือ Chlamy Dospore หรือ Teliospore

2. Class Hymenomycetes ราในกลุ่มนี้สร้าง Basidium จากปลายเส้นใย Basidiospore ปล่อยออกจาก Sterigma โดยมีแรงดัน มีชั้นของ Hymenium ปิดอยู่ เมื่อแก่ชั้น Hymenium จะเปิดออก แล้วปล่อยสปอร์ออกไป รากลุ่มนี้จะสร้าง Basidiospore

3. Class Gasteromycetes สร้าง Basidium จากปลายเส้นใยในลักษณะเช่นเดียวกับ Class Hymenomycetes แต่มีสปอร์แก่ชั้น Hymenium ปิดตลอดเวลา และจะถูกหุ้มโดย Basidiocarp ที่เชื้อสร้างขึ้น การปล่อยสปอร์เป็นแบบไม่มีแรงดัน

ลักษณะโครงสร้าง (Somatic Structure)

ราใน Sub-division นี้มีเส้นใยที่เจริญได้ดี มีผนังกั้นเจริญอยู่ระหว่างอาหารต่าง ๆ สามารถสังเกตเห็นได้ง่ายเมื่อมีความชื้น เช่น ตามไม้ผุ เปลือกไม้เน่า อาจพบว่าบางชนิดมีเส้นใยรวมกันแน่นลักษณะคล้ายเชือกผูกรองเท้า ซึ่งเรียกลักษณะแบบนี้ว่า Rhizomorph เส้นใยมี 3 ระยะด้วยกัน คือ

1. Primary mycelium (1° Mycelium) เป็นเส้นใยที่งอกออกจาก Basidiospore มีนิวเคลียสเพียง 1 อัน หรือหลายนิวเคลียสก็ได้ แต่แบ่ง Haploid number หรือ Homokaryon แต่ลักษณะ Homokaryon นี้จะเกิดในช่วงสั้น ๆ แต่ในบาง Species จะสร้างผนังกั้น ตั้งแต่เริ่มแรก ทำให้ 1° Mycelium เป็น Uninucleate คือ มีนิวเคลียสเพียง 1 อันต่อ 1 เซลล์

2. Secondary Mycelium (2° Mycelium) ส่วนใหญ่มักจะเกิดจาก 1° Mycelium 2 เส้นที่ต่างชนิดกันมารวมกัน ทำให้เกิดเซลล์ที่มี Binucleate Nucleus 2 ชนิดอยู่ด้วยกัน แต่ไม่รวมกันหรือเรียกว่า Dikaryon (n+n)

3. Tirtiary Mycelium เป็น Dikaryotic Mycelium (n+n) หรือ 2° Mycelium นั่นเองแต่รวมตัวกันแน่นเพื่อสร้างเป็น Fruiting Body หรือดอกเห็ด (Basidocarp)

Class Hymenomycetes (white-rot fungi)

มีวิวัฒนาการต่ำที่สุด ส่วนใหญ่สร้าง Basidiocarp Basidia อาจแบ่งเป็น 4 Segmant หรือไม่แบ่งก็ได้ ปล่อยสปอร์แบบมีแรงดันแบ่งเป็น 2 Subclass คือ

1. Sub-class Phragmobasidiomycetidae

สร้าง Basidia บนแต่ละ Basidial Segment มี 4 ส่วน อาจแบ่งได้ตามขวาง และตามยาว แบ่งได้เป็น 3 Orders คือ

- Order Tremellales
- Order Auriculariales
- Order Septobasidiales

2. Sub-class Holobasidiomycetidae

แบ่งได้เป็น 3 Order คือ

- Order Exobasidiales ไม่สร้าง Basidiocarp
- Order Aphyllophorales (Polyporales) Basidiocarp แข็ง
- Order Agaricales Basidiocarp อ่อนนุ่ม

Order Agaricales Basidiocarp

ราใน Order นี้การเจริญของ Basidiocarp มีขอบเขตจำกัด (Determinated Growth) Hymenium เกิดอยู่บนส่วนของ Gill ด้านล่างของ Basidocarp ปล่อยสปอร์แบบมีแรงดัน แบ่งราใน Order Agaricales Basidiocarp ออกเป็น 5 Family คือ

1. Family Cantharellaceae
2. Family Paxillacae
3. Family Boletaceae
4. Family Russulaceae
5. Family Agaricaceae

โดยในแต่ละ Family มีลักษณะสำคัญ ดังนี้

1. Family Cantharellaceae

Basidiocarp ลักษณะ Funnel-Shaped จัดเป็น Gymnocarpic Basidiocarp ลักษณะ Hymenium มีตั้งแต่เรียบจนถึงขรุขระ (Smoot&Wringkled) ไม่เจริญเป็น Gill หรือ Lamella Hymenium เจริญแบบ Dichotomously Branch Gill-Like Ridge ถือว่าเป็นพวกที่ Primitive ที่สุดในพวก Order Agaricales เพราะไม่สร้าง Gill เช่น *Craterellus*, *Cantharellus*

2. Family Paxillacae

สร้างเส้นใยที่เรียกว่า Hypha ซึ่งเป็น Septate Hypha มีระยะที่เป็น Asexual State สร้าง Conidia หรือ Conidiospore เซลล์เดียวหรือหลายเซลล์ เคลื่อนที่ไม่ได้ ส่วนประกอบของผนังเซลล์ส่วนใหญ่เป็นไคตินและกลูแคน บางชนิดมี Basidiocarp

3. Family Boletaceae

Basidiocarp อ่อนนุ่ม ลักษณะคล้ายทรงร่ม Stalk แยกจาก Pileus ชัดเจน Hymenium อยู่ในรู (Pores) ไม่เป็น Gill มีทั้งเป็นพิษและกินได้ Basidiocarp เน่าเปื่อยผุพังได้รวดเร็ว เช่น *Boletus* sp., *Boletinus* sp., *Strobilomyces* sp., *Tylopilus* sp.

4. Family Russulaceae

มีโครงสร้างที่เรียกว่า Sphaerocysts ลักษณะเป็น Hyphal Segment กระจายอยู่ทั่วไปปนกับ Hypha อื่น ๆ Basidiospore หนา เป็นรอยที่ผนัง เรียก 2° Thickening Spore จะให้ Amylo Reaction ดำรงชีวิตเป็น Mycorrhiza กับรากพืชชั้นสูง เช่น *Lactarius* ภายใน Basidiocarp มีสารเหนียวเรียก Latex เป็นสารเหลว ๆ ซึ่งเมื่อ Hypha แตกขาด Latex จะไหลออกมา Hypha พวกนี้เรียก Lactiferous Hypha Latex อาจไม่มีสีจนกระทั่งมีสีอื่น ๆ เช่น เหลือง แดง หรือเขียว ซึ่งมีความสำคัญต่อทาง Taxomomy มาก

5. Family Agaricaceae

สร้าง Basidiocarp ที่อ่อนนุ่มจนกระทั่งเหนียว ก้าน Stalk ติดแน่นกับ Pileus ไม่พบ Sphaerocysts จัดเป็น Family ใหญ่ มีหลาย Genus มีทั้งชนิดที่นำมาประกอบอาหารได้ และเป็นพิษต่อมนุษย์อย่างรุนแรง Genus ต่าง ๆ ที่พบใน Family Agaricaceae เช่น

- *Pleurotus Ostreatus* - Oyster Mushroom พบตามตอไม้ผุ อยู่ข้ามฤดูในรูปของ Chlamydospore แล้วสร้างดอกเห็ดเมื่ออากาศชื้น มี Basidiocarp แบบหิ้ง อาจมีก้าน (Shelf Like) อาจมีก้าน (Stalk Or Stripe) อยู่ตรงกลาง หรือเป็นแบบ Eccentric Stripe คือ Stripe ไม่อยู่ตรงกลาง อาจเอียงไปด้านใดด้านหนึ่งก็ได้ Basidiocarp สีขาวนวล หรือสีน้ำตาล
- *Armillari Mellea* - Honey Mushroom เป็นปรสิตกับพืชหลายชนิด ทำให้ต้นไม้ตายได้โดยเข้าทำลาย Cortex Cell มักพบ Basidiocarp เจริญอยู่บริเวณโคนต้น เป็นกลุ่มใหญ่ ๆ Basidiocarp สีขาว Stripe แบบ Decurrent อ่อนนุ่มใช้เป็นอาหารได้ สามารถอยู่ในดินได้หลายปีในรูปของ 2° Mycelium

- *Aanita* เป็นเห็ดที่มีพิษร้ายแรง ลักษณะ Basidiospore สีขาว Basidiocarp มีครบทุกส่วน Stripitate, Volva, Annulus Ring อาจเห็นได้ไม่ชัดเพราะฝังตัวอยู่ในดินหรือสลายตัวอย่างรวดเร็ว เช่น *A. muscaria*-Fly agaric ลักษณะ Pilius สีแดง มี Cuticle เหนียวเป็นเมือก มี Scale บนหมวก โคนมักโตแล้วค่อย ๆ เรียวขึ้นไปทางด้านบน เข้าใจว่าสารพิษมีอยู่เฉพาะที่ Cuticle เท่านั้น ลักษณะที่เป็นเมือกเพื่อใช้ล่อแมลงวัน

- *A.verna - Destroying Angel* หมวกลักษณะโค้ง ถึงแบน สีขาวล้วน เมื่อเปียกจะหนืด ภายในต้นกลวง ชอบเจริญอยู่ตามแหล่งที่มีอินทรียวัตถุมาก

ความสัมพันธ์ระหว่างยีสต์กับฟังใจ

ความสัมพันธ์ระหว่างยีสต์กับฟังใจอาจเป็นการอาศัยร่วมกันแบบภาวะพึ่งพากัน (mutualism) เช่น ยีสต์ *Pichia pini, Hansenula capsulate* และ *H. holstii* อาศัยอยู่รวมกับพวก *Ceratocytis montia* และ *Europhium clavigerum* ที่เป็นฟังใจที่ย้อมติดสีน้ำเงิน (blue-stain fungi) พบตามบริเวณรอยแผลของต้นสนในอเมริกาเหนือที่ถูกด้วงปีกแข็งทำลาย ยีสต์บางชนิดเป็นโฮสท์ของฟังใจ เช่น เชื้อราในกลุ่มเบสิดิโอมัยโคตา (basidiomycota) ที่พบบริเวณซากไม้ผุเป็นปรสิตในเซลล์ยีสต์ *Candida*, *Cryptococcus*, *Pichia*, *Rhodotorula* และ *Sporidiobolus* ทอกซินจากเชื้อรา (mycotoxin) บางชนิดยับยั้งการเจริญของยีสต์ เช่น trichothecene mycotoxin และ deoxynivalenol (DON) ที่ผลิตจากรา *Fusarium* sp. พบปนเปื้อนในมอลท์ และบาร์เลย์ ยับยั้งการเจริญของยีสต์ที่ใช้ในการผลิตเบียร์ในอัตราความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในขณะเดียวกันสารที่ผลิตจากคิลเลอร์ยีสต์ ยับยั้งการเจริญของฟังใจที่ทำให้เนื้อไม้ผุ หรือฟังใจที่ก่อโรคในพืช จึงมีการนำมาประยุกต์ใช้ในการควบคุมพืชจากเชื้อราโดยวิธีชีวภาพ (biological contriol) เช่น สารจากยีสต์ *Debaryomyces hansenii* และ *Candida guilliermondii* ใช้ป้องกันเชื้อรา *Penicillium digitatum* ที่ก่อโรคในองุ่น

มหาวิทยาลัยแม่โจ้ MAEJO UNIVERSITY

ลักษณะทั่วไปของน้ำกากส่า

น้ำกากส่าเป็นของเสียที่เกิดขึ้นจากกระบวนการผลิตสุราและแอลกอฮอล์ที่ใช้กากน้ำตาลเป็นวัตถุดิบในการผลิต โดยน้ำกากส่านี้ มีค่าความเป็นกรด–ด่าง เท่ากับ 4.1–4.7 อุณหภูมิสูงมากกว่า $40^{o}C$ ค่าซีโอดี 90,000–130,000 มิลลิกรัม/ลิตร ค่าบีโอดี 29,000–45,000 มิลลิกรัม/ลิตร และนอกจากนี้ยังมีสีน้ำตาลเข้มถึงดำเป็นที่น่ารังเกียจ และกำจัดได้ยาก ซึ่งเกิดขึ้นในขั้นตอนของการกลั่นแยกเอาสุราหรือแอลกอฮอล์ออกจากน้ำหมักของเครื่องกลั่นสุราหรือแอลกอฮอล์ โดยในน้ำกากส่ามีค่าองค์ประกอบต่าง ๆ ดังนี้

ตาราง 1 คุณลักษณะของน้ำกากส่า

คุณลักษณะ	ค่าโดยประมาณ	หน่วย
ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)	4.1-4.7	-
อุณหภูมิ (Temperature)	>40	องศาเซลเซียส
ค่าซีโอดี (COD)	90,000-130,000	มิลลิกรัม/ลิตร
ค่าบีโอดี (BOD)	29,000-45,000	มิลลิกรัม/ลิตร
สารที่แขวนลอย (Suspended Solids)	14,000	มิลลิกรัม/ลิตร
ปริมาณของแข็งทั้งหมด (Total Solids)	75,000-110,000	มิลลิกรัม/ลิตร
ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (Total-N)	2,000-2,400	มิลลิกรัม/ลิตร
ฟอสเฟต (PO_3^{3-}-P)	85-200	มิลลิกรัม/ลิตร
โพแทสเซียม (K)	2,500-10,000	มิลลิกรัม/ลิตร
ซัลเฟต (SO_4^{-2})	3,000-5,000	มิลลิกรัม/ลิตร
ปริมาตรน้ำกากส่าจากการผลิต	800-1,200	ลูกบาศก์เมตร/วัน

ที่มา : ธีรนุช (2539)

ตาราง 2 องค์ประกอบของน้ำกากส่าที่ทำให้แห้งแล้ว

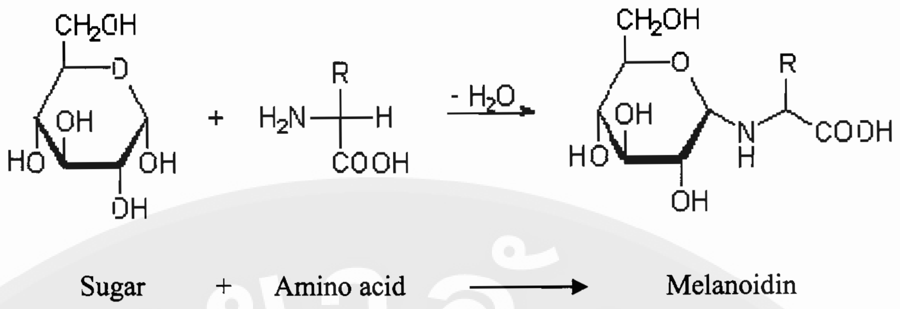
องค์ประกอบ	เปอร์เซ็นต์
แร่ธาตุต่าง ๆ (Mineral matter)	28.5 – 29.0
น้ำตาลคอปเปอร์รีดิวซ์ (Copper reducing sugar)	10.0 – 12.0
โปรตีน (Protein)	8.0 – 10.0
กรดระเหยง่าย (Volatile acids)	1.0 – 2.0
กัม (Gums)	19.0 – 20.0
กรดแลคติก (Combined lactic acid)	4.0 – 5.0
กรดอินทรีย์ (Other combine organic acid)	1.0 – 2.0
กลีเซอรอล (Glycerol)	5.0 – 6.0
ขี้ผึ้งและอื่น ๆ (Wax, phenolic bodies, lignin, glucoside, etc.)	12.0 – 22.0

ที่มา : Underkofler and Hickley (1954)

ถึงแม้ว่าจะไม่มีมาตรฐานกำหนดสีของน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมที่แน่นอน แต่น้ำทิ้งจากโรงงานสุราหรือน้ำกากส่าเมื่อปล่อยออกสู่สิ่งแวดล้อมแล้วทำให้สีของแหล่งน้ำที่รองรับมีค่าความสกปรกเพิ่มขึ้นและมีสีเข้มขึ้น

สีน้ำตาลของน้ำกากส่า

สีในกากน้ำตาล หรือน้ำกากส่าเกิดขึ้นเนื่องจากกระบวนการที่ใช้ในการแปรรูปกากน้ำตาลที่ใช้อุณหภูมิสูง ซึ่งทำให้เกิดกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของสารต่าง ๆ ที่มีอยู่ในกากน้ำตาล สีน้ำตาลเข้มส่วนใหญ่เป็นสารพวกเมลานอยดิน (melanoidin) ซึ่งเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่เกิดจากการรวมตัวกันระหว่างน้ำตาลรีดิวซ์กับสารประกอบที่มีกลุ่มอะมิโนอิสระ (free amino group) ชนิดต่าง ๆ ในอุณหภูมิที่สูง โดยผ่านกระบวนการ browning reaction หรือ mailard reaction (ภาพ 3) (Hudson, 1992) โดยสารเมลานอยดินนี้เป็นสารที่ถูกย่อยสลายได้ยากทางชีวภาพ (Denac and Dunn, 1988)



ภาพ 3 กระบวนการ browning reaction หรือ mailard reaction
ที่มา : Hudson (1992)

สีน้ำตาลเข้มในน้ำกากส่าส่วนใหญ่เกิดจากสารเมลานอยดิน ซึ่งสามารถสังเคราะห์ขึ้นได้ในห้องทดลอง โดยผสมกลูโคส 1 โมล ไกลซีน 1 โมล และสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 0.5 โมล ละลายในน้ำ 1 ลิตร แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ปรับความเป็นกรด-ด่างให้เท่ากับ 7 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 โมลาร์ จากนั้นกรองด้วยอุลตราฟิลเตอร์ (Ultrafilter UK-10 และ UH-1) สารละลายเมลานอยดินที่สังเคราะห์ได้ จะมีมวลโมเลกุลอยู่ในช่วง 1,000-10,000 นอกจากนี้ยังทำเป็นผงหรือใช้วิธีทำแห้งแบบเยือกแข็ง (lyophilized) เพื่อเก็บไว้ใช้ในการทดลองลดความเข้มสีของน้ำกากส่าได้ (Sirianuntapiboon *et al.*, 1990)

แหล่งที่มาที่ทำให้เกิดน้ำกากส่า

บริษัท แสงโสม จำกัด (2541) ในการผลิตสุรา และแอลกอฮอล์ จะต้องใช้วัตถุดิบในการผลิต คือ กากน้ำตาล โดยนำมาหมักในถังหมักในอัตราความเข้มข้นที่เหมาะสม พร้อมกับใส่เชื้อยีสต์ หรือเชื้อหมัก เมื่อหมักได้นาน 48 ชั่วโมง เชื้อยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลให้กลายเป็นแอลกอฮอล์ (เอทิลแอลกอฮอล์) 51.1% และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 48.9% โดยน้ำหนักของน้ำตาล การแยกเอาแอลกอฮอล์ออกจากของเหลวรวม ทำได้โดยวิธีการกลั่น เพราะจุดเดือดของแอลกอฮอล์อยู่ที่อุณหภูมิ 78.5 องศาเซลเซียส แต่ของเหลวอื่น ๆ หรือน้ำจะมีอุณหภูมิประมาณ 100 องศาเซลเซียส โดยใช้ไอน้ำแยกเอาแอลกอฮอล์ออกจากขั้นตอนการกลั่น ซึ่งในขั้นตอนนี้จะมีน้ำกากส่าที่เป็นของเหลวที่เหลือจากการแยกเอาแอลกอฮอล์ออกไป มีสีน้ำตาลไหม้ และน้ำกากส่าอีกส่วนหนึ่งจะได้จากการล้างถังหมัก ซึ่งสามารถแบ่งประเภทของน้ำเสียจากโรงงานสุรา และแอลกอฮอล์ออกเป็น 2 ประเภท ดังนี้

1. น้ำเสียประเภทเจือจาง เป็นน้ำเสียที่มีอุณหภูมิสูง ได้แก่ น้ำจากการพ่นเข้า (blow down) เครื่องกำเนิดไอน้ำ และน้ำที่ใช้สำหรับหล่อเย็น มีอุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส จะถูกนำไปรวมยังบ่อพักน้ำร้อน และถูกปั๊มไปฉีดสเปรย์ที่บ่อ polishing เพื่อลดอุณหภูมิ และเพิ่มการละลายของออกซิเจนในน้ำ น้ำที่สเปรย์แล้วจะมีอุณหภูมิ 30-40 องศาเซลเซียส และน้ำล้างขวดกับน้ำโสโครกอื่น ๆ ที่ได้จากการล้างขวดเก่า และขวดใหม่ น้ำจากการล้างเรซินของเครื่องทำน้ำบริสุทธิ์ และน้ำที่ใช้ภายในโรงงาน

2. น้ำเสียประเภทเข้มข้น ได้แก่ น้ำกากส่าซึ่งได้มาจากเครื่องกลั่นสุรา และแอลกอฮอล์ มีความเข้มข้นของสารอินทรีย์สูง เช่น น้ำตาลต่าง ๆ อาทิ ซูโครส กลูโคส ฟรุกโตส และราฟฟิโนส น้ำกากส่าที่ได้จะมีสีน้ำตาลเข้ม

การแก้ไขปัญหาน้ำกากส่า

1. การนำไปใช้ประโยชน์ (ไชยยุทธ, 2524)

การใช้เป็นวัตุดิบในการผลิตอาหารสัตว์และในการผลิตปุ๋ยอินทรีย์ แต่ต้องใช้เงินลงทุนสูงมาก จึงไม่เหมาะสมที่จะใช้กับโรงงานที่มีขนาดเล็ก และนอกจากนี้ผลผลิตที่ได้ยังมีปัญหาเรื่องตลาดอีกด้วย ส่วนการใช้ประโยชน์ที่ง่ายกว่า เช่น การนำไปผสมกับอินทรียวัตถุเพื่อทำเป็นปุ๋ยหมัก การนำไปใช้ในไร่นาโดยตรง และการนำไปใช้ปรับสภาพถนนลูกรังนั้น ยังมีข้อจำกัดอยู่ คือ ค่าขนส่งน้ำกากส่า (ถ้านำไปปรับสภาพถนนลูกรัง) แหล่งอินทรียวัตถุ (ถ้านำไปทำปุ๋ย) การเสื่อมคุณภาพของดิน (ถ้านำไปใช้ในไร่นาโดยตรง) ข้อจำกัดเหล่านี้จึงส่งผลให้การนำน้ำกากส่าไปใช้ประโยชน์เป็นเพียงมาตรการการแก้ปัญหาในระยะสั้น ๆ เท่านั้น ไม่เป็นการแก้ปัญหาที่ได้ผลในระยะยาว

2. การกำจัด

น้ำกากส่าจากโรงงานผลิตสุราและแอลกอฮอล์ก่อให้เกิดปัญหามลภาวะในแหล่งน้ำ จึงจำเป็นต้องนำน้ำกากส่ามาผ่านกระบวนการปรับปรุงคุณภาพน้ำให้อยู่ในระดับที่ไม่ก่อให้เกิดปัญหาทั้งในเรื่องปริมาณสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ รวมถึงความเข้มสีก่อนปล่อยสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ ด้วยวิธีการกำจัด ดังนี้

2.1 การเผา

คือ การนำน้ำกากส่ามาระเหยน้ำออกแล้วเผาที่อุณหภูมิ 1,000 องศาเซลเซียส ที่ความดันบรรยากาศ

2.2 การทิ้งให้ย่อยสลายในบ่อหมัก

คือ การนำน้ำกากส่ามากักเก็บไว้ในบ่อดินที่มีความลึกตั้งแต่ 3 เมตรขึ้นไป เพื่อป้องกันออกซิเจนไม่ให้ละลายลงไปถึงส่วนล่างของบ่อ ทำให้เกิดการย่อยสลายไปเองตามธรรมชาติ

2.3 การระเหย

คือ การนำน้ำกากส่ามาระเหยเอาน้ำออกด้วยวิธีการเคี่ยวในกระทะขนาดใหญ่ที่ด้านบนมีปล่องสำหรับระบายควันออก จะใช้ได้กับน้ำกากส่าปริมาณน้อย ๆ เท่านั้น เพราะวิธีนี้ต้องใช้พลังงานมาก

2.4 การหมักในถังไร้อากาศ

คือ การนำน้ำกากส่ามาหมักในถังหมักชีวภาพ เพื่อให้ได้ก๊าซมีเทนมาใช้แทนน้ำมันเตา จากนั้นจึงนำน้ำกากส่าดังกล่าวไปบำบัดด้วยกระบวนการเติมอากาศแบบเลี้ยงตะกอน แต่น้ำกากส่าที่ผ่านการบำบัดแล้ว ยังมีสีเข้มอยู่ และมีค่าบีโอดีสูงกว่าที่กำหนดไว้ในมาตรฐานน้ำทิ้งของกระทรวงอุตสาหกรรม และระบบการกำจัดนี้ค่อนข้างจะซับซ้อน ต้องใช้ผู้เชี่ยวชาญควบคุมการทำงานของระบบ แต่ใช้เนื้อที่ในการจัดการน้อย

2.5 การตากแห้งและการระเหยบนดิน

คือ การนำน้ำกากส่ามาทำการระเหยเอาน้ำออกด้วยแสงอาทิตย์ และลม คล้ายกับการทำนาเกลือ มีผลเสีย คือ มีกลิ่นเหม็น และทำได้ในช่วงฤดูแล้งเท่านั้น ดังนั้นระบบนี้จึงต้องมีบ่อกักเก็บน้ำเสีย เพื่อให้สามารถกักเก็บน้ำเสียได้ตลอดฤดูฝน และต้องมีพื้นที่สำหรับใช้ในการระเหยมาก

การใช้เชื้อจุลินทรีย์ในการบำบัดน้ำทิ้งจากอุตสาหกรรมการผลิตสุราและแอลกอฮอล์

Miranda *et al.* (1996) ได้ทำการศึกษาการกำจัดสีของน้ำกากส่าโดยใช้เชื้อรา *Aspergillus niger* พบว่าสามารถกำจัดสีของน้ำกากส่าได้ 69% และลดค่าซีโอดีได้ 75% เมื่อมีการเติมน้ำตาลซูโครส 10 กรัม/ลิตร NH_4NO_3 1.8 กรัม/ลิตร KH_2PO_4 1 กรัม/ลิตร และ $MgSO_4.7H_2O$ 0.5 กรัม/ลิตร ลงไปในน้ำกากส่า ที่ค่าพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 5 เมื่อทำการเพาะเลี้ยงได้ 4 วัน ในระบบการหมักแบบกะ

Benito *et al.* (1997) ได้ทำการศึกษาการกำจัดสีของของเสียที่เกิดจากกระบวนการผลิตแอลกอฮอล์หรือน้ำกากส่าโดยใช้เชื้อราขาว *Trametes versicolor* พบว่าสามารถกำจัดสีของน้ำกากส่าได้ 82% ลดค่าซีโอดีได้ 77% และสามารถลดแอมโมเนียมไนเตรทได้ 36% เมื่อมีการเติมน้ำตาลซูโครส 3 กรัม/ลิตร KH_2PO_4 1.0 กรัม/ลิตร ลงไปในน้ำกากส่า ที่ค่าพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 5 ในระบบการหมักแบบกะ

Nakajima-Kambe *et al.* (1999) ได้ทำการคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการกำจัดสีของน้ำกากส่าภายใต้สภาวะที่มีอุณหภูมิสูง (thermophilic) และไม่ใช้อากาศ (anaerobic) จากตัวอย่างดิน พบว่า สายพันธุ์ MD-32 ซึ่งทำการทดสอบสายพันธุ์แล้วว่าเป็นเชื้อแบคทีเรียในจีนัส *Bacillus* และมีความใกล้เคียงกับ *Bacillus smithii* โดย *Bacillus* sp. สามารถกำจัดสีในน้ำกากส่าได้ 35.5% ในเวลา 20 วัน ที่อุณหภูมิ 55°C ภายใต้สภาวะที่ไม่มีอากาศ (anaerobic) แต่เชื้อดังกล่าวจะไม่สามารถกำจัดสีได้ในสภาวะที่มีอากาศ (aerobic) และยังได้ทำการศึกษาอนุภาคของน้ำกากส่าในช่วงความเข้มข้นที่ให้ผลในการกำจัดสีสูงสุด คือ ช่วงที่มีการกำจัดสี 15% ในเวลา 2 วัน โดยใช้วิธี filltration chromatography พบว่าการกำจัดสีที่เกิดขึ้นไม่เพียงแต่จะเป็นการลดขนาดของโมเลกุลขนาดเล็กเท่านั้น แต่ยังเกิดกับโมเลกุลขนาดใหญ่ด้วย

Jiminez *et al.* (2003) ได้ทำการศึกษาวิธีการกำจัดน้ำเสียที่เกิดจากกระบวนการผลิตแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลที่ได้จากหัวบีทที่ผ่านการเจือจาง 50% และมีค่าซีโอดี 82 กรัม/ลิตร โดยการใช้ระบบการบำบัดแบบใช้อากาศ และไม่ใช้อากาศ เริ่มจากระบบการบำบัดแบบใช้อากาศ ซึ่งใช้เชื้อรา 4 สายพันธุ์ คือ *Penicillium* sp., *Penicillium decumbens*, *Penicillium lignorum* และ *Aspergillus niger* แล้วพบว่าเชื้อราทั้ง 4 สายพันธุ์สามารถกำจัดสีของน้ำกากส่าได้ตั้งแต่วันแรก และเพิ่มสูงสุดในวันที่ 4 โดย *Penicillium decumbens* สามารถกำจัดสีได้สูงสุด คือ 40% และเชื้อทั้ง 4 สายพันธุ์สามารถลดสารพวกฟีนอลได้ในเวลาเดียวกัน และมีค่าเฉลี่ยของการลดสารพวกฟีนอลอยู่ที่ 70% อีกทั้งยังสามารถลดค่าซีโอดีได้โดยเชื้อ *Penicillium* sp. และ *Penicillium decumbens* สามารถลดได้ 52.1 และ 50.7% ตามลำดับในวันที่ 5 ของการหมัก ส่วนในระบบการบำบัดแบบไม่ใช้อากาศที่ใช้จุลินทรีย์พวกมีโซไฟล์ ได้ทำการศึกษาโดยเปรียบเทียบกันระหว่างน้ำกากส่าที่ผ่านการบำบัดด้วย *Penicillium decumbens* จากระบบการบำบัดแบบใช้อากาศกับน้ำกากส่าที่ไม่ผ่านการบำบัด แล้วพบว่าน้ำกากส่าที่ผ่านการบำบัดด้วย *Penicillium decumbens* จากระบบการบำบัดแบบใช้อากาศ เมื่อเข้าสู่ระบบการบำบัดแบบไม่ใช้อากาศจะสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัดสีให้สูงขึ้น สามารถลดเวลาและเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัดซีโอดีจาก 90% เป็น 96.5%

Sirianuntapiboon *et al.* (2004) ได้ทำการคัดเลือกเชื้อยีสต์ 205 สายพันธุ์จากตัวอย่างผลไม้ของประเทศไทย พบว่ายีสต์สายพันธุ์ WR-43-6 มีความสามารถในการกำจัดสีสูงสุด คือ 68.91% ที่อุณหภูมิ 30°C ในวันที่ 8 ของการเพาะเลี้ยงในน้ำกากส่าสังเคราะห์ที่มีการเติมกลูโคส 2.0% โซเดียมไนเตรท 0.1% และ KH_2PO_4 0.1% ที่มีการปรับค่าพีเอชให้เท่ากับ 6 เมื่อทำการจำแนกเชื้อยีสต์ดังกล่าวแล้วพบว่า คือ *Citeromyces* sp. และเมื่อนำไปทดสอบกับน้ำกากส่าที่ได้จากโรงงานผลิตแอลกอฮอล์ก็ยังคงมีประสิทธิภาพในการกำจัดสีที่สูง โดยมีค่าประสิทธิภาพของการกำจัดสี ค่าประสิทธิภาพของการลดซีโอดี และค่าประสิทธิภาพของการลดบีโอดี เท่ากับ 75% เกือบ 100% และ 76% ตามลำดับ และเมื่อทำการทดสอบประสิทธิภาพของการกำจัดสีในระบบการให้

อาหารแบบต่อเนื่อง ที่มีการเติมน้ำกากส่าใหม่ลงไปครั้งละ 10% พบว่าเชื้อ *Citeromyces* sp. WR-43-6 สามารถลดความเข้มสีได้ 60-70% ในระยะเวลาตั้งแต่ 8 วันขึ้นไป และเมื่อทำการทดสอบประสิทธิภาพในการกำจัดสีในระบบการให้อาหารแบบแทนที่พบว่าเชื้อ *Citeromyces* sp. WR-43-6 สามารถลดความเข้มสีได้ 75% และคงประสิทธิภาพนี้ไว้ได้ใน 4 รอบ ของการเติมน้ำกากส่าใหม่ลงไปครึ่งหนึ่งต่อการเอาน้ำกากส่าเก่าออกครึ่งหนึ่ง

Sirianuntapiboon *et al.* (2004) ได้ทำการศึกษา acetogenic bacteria จำนวน 170 สายพันธุ์ พบว่าสายพันธุ์ NO.BP103 สามารถกำจัดสีได้สูงสุด คือ 76.4±3.2% ที่อุณหภูมิ $30^{\circ}C$ ในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยงในน้ำกากส่าสังเคราะห์ที่มีการเติมกลูโคส 3.0% yest extract 0.5% KH_2PO_4 0.1% และ $MgSO_4.7H_2O$ 0.05% ที่มีการปรับค่าพีเอชให้เท่ากับ 6 เมื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพการกำจัดสีในน้ำกากส่าที่ออกมาจากเครื่องกลั่นแอลกอฮอล์และน้ำกากส่าที่ผ่านระบบการบำบัดน้ำเสียแบบไม่ใช้อากาศที่มีการเติมกลูโคส 3.0% yest extract 0.5% KH_2PO_4 0.1% และ $MgSO_4.7H_2O$ 0.05% พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ NO.BP103 สามารถกำจัดสีได้ 32.3±3.2% และ 73.5±3.5% ตามลำดับ แต่ถ้าไม่มีการเติมสารอาหารประสิทธิภาพในการกำจัดสีจะอยู่ที่ 9.75±3.0% และ 44.36±3.4% ตามลำดับ เมื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพการกำจัดสีในระบบการให้อาหารแบบแทนที่พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ NO.BP103 สามารถลดความเข้มสีได้ 72.0±3.2-84.0±3.2% และคงประสิทธิภาพนี้ไว้ได้ใน 6 รอบของการเปลี่ยนอาหาร (เป็นเวลา 30 วัน) และยังสามารถลดค่าบีโอดีและซีโอดีได้ 58.5±6.4-82.2±7.1% และ 35.5±0.42-71.2±0.58% ตามลำดับ เมื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพการกำจัดสีในระบบการให้อาหารแบบต่อเนื่อง สามารถลดความเข้มสีได้ 30.0±2.1-45.0±3.5%

Raghukuma *et al.* (2004) ได้ทำการศึกษาการกำจัดสีน้ำตาลของเมลานอยดิน (melanoidin) และการกำจัดสารพิษในน้ำกากส่าที่ได้จากโรงงานผลิตแอลกอฮอล์โดยใช้เชื้อราในกลุ่ม whit-rot fungi คือ *Flavadon flavus* ที่คัดแยกได้จากทะเล ด้วยวิธีการตรึงเซลล์ความเข้มข้น 10% กับ polyurethane foam พบว่า *Flavadon flavus* สามารถกำจัดสีได้ 60 และ 70% ในวันที่ 5 และ 7 ตามลำดับ และสามารถกำจัด polycyclic aromatic hydrocarbon ซึ่งเป็นสารพิษในน้ำกากส่าให้ลดลงได้ 68% ในวันที่ 5 และจากการศึกษาด้วย gel filtration chromatography พบว่า อนุภาคของสีเมลานอยดินในน้ำกากส่าถูกทำให้หายไป

Tondee *et al.* (2007) ได้ทำการคัดเลือกเชื้อยีสต์ 2402 สายพันธุ์จากตัวอย่างต่าง ๆ ในประเทศไทย พบว่า ยีสต์สายพันธุ์ SF9-246 ที่จัดจำแนกแล้วว่าเป็นเชื้อ *Issatchenkia orientalis* มีความสามารถในการกำจัดสีในน้ำกากส่าสูงสุด คือ 60.2% ที่อุณหภูมิ $30^{\circ}C$ ในวันที่ 7 ของการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MYGP (malt extract-glucose-peptone broth) ที่ผสมสีเมลานอยดินด้วยวิธีการย่อยสลาย และดูดซับสีเมลานอยดิน และเมื่อนำไปทดสอบกับน้ำกากส่าที่ได้จากบ่อ

บำบัดแบบไร้อากาศของโรงงานผลิตแอลกอฮอล์ที่มีการเติมกลูโคส 2.5%, NH_4Cl 0.1% และ KH_2PO_4 0.1% ที่มีการปรับค่าพีเอชให้เท่ากับ 7 พบว่า มีค่าประสิทธิภาพของการกำจัดสี ค่าประสิทธิภาพของการลดซีโอดี และค่าประสิทธิภาพของการลดบีโอดีเท่ากับ 91.2%, 80.0% และ 77.4% ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 30°C ในวันที่ 7 ของการเพาะเลี้ยงแบบครั้งคราว และเมื่อทำการทดสอบประสิทธิภาพของการกำจัดสีในระบบการให้อาหารแบบต่อเนื่องที่มีการเติมน้ำกากส่าที่ออกจากบ่อบำบัดแบบไร้อากาศใหม่ลงไปครั้งละ 10% พบว่าเชื้อ *Issatchenkia orientalis* SF9-246 สามารถลดความเข้มสีได้ 75-80% ในระยะเวลาตั้งแต่ 7 วันขึ้นไป และเมื่อทำการทดสอบประสิทธิภาพในการกำจัดสีในระบบการให้อาหารแบบแทนที่พบว่าเชื้อ *Issatchenkia orientalis* SF9-246 สามารถลดความเข้มสีได้ประมาณ 70% และคงประสิทธิภาพนี้ไว้ได้ใน 3 รอบ ของการเติมน้ำกากส่าใหม่ลงไปครึ่งหนึ่งต่อการเอาน้ำกากส่าเก่าออกครึ่งหนึ่ง และจากการศึกษาด้วย gel filtration chromatography พบว่า อนุภาคของสีเมลานอยดินในน้ำกากส่าที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงจะถูกกำจัดอย่างรวดเร็ว ในขณะที่ในน้ำกากส่ายังคงมีอนุภาคของสีเมลานอยดินที่มีน้ำหนักโมเลกุลน้อยอยู่

กรอบแนวความคิด

ในปัจจุบันนี้การขยายตัวของโรงงานผลิตแอลกอฮอล์ และโรงงานสุราได้เพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากรัฐบาลมีนโยบายการใช้พลังงานทดแทนเพื่อใช้แทนพลังงานที่ได้จากน้ำมัน และกฎหมายเปิดเสรีการผลิตสุรา จากการขยายตัวดังกล่าวได้ส่งผลให้มีน้ำกากส่าที่เป็นของเสียที่เกิดขึ้นจากกระบวนการผลิตเพิ่มสูงขึ้นตามไปด้วย โดยน้ำกากส่าที่เกิดขึ้นนี้มีความสกปรกสูงมาก และนอกจากนี้ยังมีสีน้ำตาลเข้มถึงดำเป็นที่น่ารังเกียจ และกำจัดได้ยาก ซึ่งจะเกิดขึ้นในขั้นตอนของการกลั่นแยกเอาแอลกอฮอล์หรือสุราออกจากน้ำหมักของเครื่องกลั่นแอลกอฮอล์หรือสุรา ถึงแม้ว่าจะไม่มีมาตรฐานกำหนดสีของน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมที่แน่นอน แต่น้ำทิ้งจากโรงงานผลิตแอลกอฮอล์ และโรงงานสุรา เมื่อปล่อยออกสู่สิ่งแวดล้อมแล้วทำให้สีของแหล่งน้ำที่รองรับมีค่าความสกปรกเพิ่มขึ้นและมีสีเข้มขึ้น ดังนั้นจึงจำเป็นที่จะต้องมีการป้องกันหรือควบคุมการปล่อยน้ำกากส่าจากอุตสาหกรรมการผลิตสุราและแอลกอฮอล์ โดยทำการบำบัดน้ำกากส่าด้วยวิธีการที่เหมาะสมก่อนปล่อยลงสู่แหล่งน้ำตามธรรมชาติ ซึ่งจัดได้ว่าเป็นการจัดการและแก้ไขปัญหาสิ่งแวดล้อมของประเทศในอีกทางหนึ่ง และเป็นการช่วยลดปัญหามลพิษที่อาจเกิดขึ้นได้