



รายงานโครงการวิจัยฉบับสมบูรณ์
มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

การแยกและจัดจำแนกยีสต์จากผลไม้ที่เหลือทิ้งในท้องถิ่นเพื่อเป็น
ฐานข้อมูลทางทรัพยากรชีวภาพสู่การพัฒนาเศรษฐกิจฐานชีวภาพของ
ชุมชน และแนวทางการนำมาใช้ประโยชน์

รหัสโครงการ TSRI2567/51

โดย

นางสาวพิณทิพย์ แก้วแกมทอง และคณะ
สาขาการจัดการทรัพยากรธรรมชาติ และสิ่งแวดล้อม
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์
เดือนตุลาคม พ.ศ. 2568

งบประมาณสนับสนุนงานมูลฐาน (Fundamental Fund)
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2568
จากกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม

รายงานโครงการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การแยกและจัดจำแนกยีสต์จากผลไม้ที่เหลือทิ้งในท้องถิ่นเพื่อเป็น
ฐานข้อมูลทางทรัพยากรชีวภาพสู่การพัฒนาเศรษฐกิจฐานชีวภาพของ
ชุมชน และแนวทางการนำมาใช้ประโยชน์

Isolation and identification of yeasts from local fruits waste
as a bio-resources database for biodiversity based economy
development of community and utilization guidelines

นางสาวพิณทิพย์ แก้วแกมทอง	สาขาวิชาการจัดการทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
นางสาวธนาวรรณ สุขเกษม	สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
นายกมล อยู่สุข	สาขาวิชาสาธารณสุขศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
นางสุภาพร วิสูงเร	สาขาวิชาแพทย์แผนไทย คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
นายกานต์ แยมพงษ์	สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
นางสาวศิริรักษ์ เกียรติณรงค์	สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

ทุนอุดหนุนงานวิจัย พัฒนาวิทยาศาสตร์ วิจัย และนวัตกรรม

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2568

มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

กิตติกรรมประกาศ

รายงานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยคำแนะนำต่าง ๆ จากคณาจารย์ในมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ และความร่วมมือช่วยเหลืออย่างดียิ่งจากบุคคลหลายที่สละเวลาให้คำแนะนำ คำปรึกษา รวมถึงข้อเสนอแนะต่าง ๆ อันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการดำเนินการวิจัยในครั้งนี้

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณคุณพ่อคุณแม่ที่ให้อำลังใจในการทำวิจัย ขอขอบคุณเพื่อน ๆ และพี่ ๆ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการสาขาวิชาการจัดการทรัพยากรธรรมชาติ และสิ่งแวดล้อม และสาขาวิชาชีววิทยา รวมถึงนักศึกษาสาขาวิชาชีววิทยาซึ่งเป็นผู้ช่วยนักวิจัยที่ช่วยเหลือในระหว่างทำงานวิจัยให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ขอขอบพระคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ที่ได้จัดสรรงบประมาณสนับสนุนการทำโครงการวิจัย และนวัตกรรมจากงบประมาณเงินรายได้ของมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. ๒๕๖๘ มา ณ ที่นี้ด้วย

พิณทิพย์ แก้วแกมทอง และคณะ

สิงหาคม ๒๕๖๘

ชื่อเรื่อง	การแยกและจัดจำแนกยีสต์จากผลไม้ที่เหลือทิ้งในท้องถิ่นเพื่อเป็นฐานข้อมูลทางทรัพยากรชีวภาพสู่การพัฒนาเศรษฐกิจฐานชีวภาพของชุมชน และแนวทางการนำมาใช้ประโยชน์
ผู้วิจัย	พินทิพย์ แก้วแกมทอง และคณะ

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดแยกและศึกษาลักษณะของยีสต์จากผลไม้ท้องถิ่น 5 ชนิด ได้แก่ อินทผลัม (DP) ส้ม (OR) กล้วย (BN) อ้อยพันธุ์น้ำผึ้ง (SH) และอ้อยสุพรรณ 50 (SS) โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ YEPDA พบยีสต์ทั้งหมด 14 ไอโซเลต ซึ่งจำแนกเป็น 7 กลุ่มตามลักษณะโคโลนี และรูปร่างเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ การจำแนกสายพันธุ์ดำเนินการด้วยเทคนิคอณูชีววิทยา โดยเพิ่มปริมาณยีน 5.8S-ITS rDNA ด้วย PCR Products มีขนาด 370–750 bp และการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของสายพันธุ์ที่เลือก 7 สายพันธุ์ (DP2, OR1, OR2, BN1, SH2, SS1, SS2) พบว่ามีความคล้ายคลึงกับข้อมูลใน GenBank โดยสามารถระบุสายพันธุ์ เช่น *Saccharomyces cerevisiae* และ *Ogataea kudriavzevii*

การศึกษาการเจริญเติบโตภายใต้สภาวะแวดล้อมต่าง ๆ พบว่ายีสต์ส่วนใหญ่เจริญได้ดีที่สุดในอุณหภูมิ 30–35 องศาเซลเซียส โดยสายพันธุ์ BN1 เจริญได้คงที่ในช่วง 25–30 องศาเซลเซียส การทดสอบความทนทานต่อเอทานอลพบว่า การเจริญเติบโตลดลงเมื่อความเข้มข้นของเอทานอลเพิ่มขึ้น โดย DP2 และ BN1 ยังคงเจริญได้ในระดับปานกลางที่ 5–8% และยังตรวจพบการเจริญเติบโตที่ 12% แสดงถึงศักยภาพในการใช้ในกระบวนการหมักที่ต้องการผลผลิตเอทานอลสูง การใช้แหล่งคาร์บอนพบว่า fructose และ sucrose ส่งเสริมการเจริญเติบโตได้ดีที่สุด ขณะที่ galactose และ glycerol มีประสิทธิภาพต่ำในบางสายพันธุ์ สำหรับคุณสมบัติการตกตะกอนของเซลล์ พบว่า OR1 (*O. kudriavzevii*) มีประสิทธิภาพสูงสุด (85–90%) รองลงมาคือ SS2 (58–60%) ซึ่งเหมาะสมต่อการใช้ในกระบวนการหมักที่ต้องการการแยกเซลล์อย่างมีประสิทธิภาพ ผลการศึกษานี้สะท้อนถึงความหลากหลายทางชีวภาพและศักยภาพของยีสต์ท้องถิ่นในการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมหมัก โดยเฉพาะด้านการผลิตเอทานอลและการลดต้นทุนการแยกเซลล์ในกระบวนการผลิต

คำสำคัญ: ยีสต์, การคัดแยกสายพันธุ์, ผลไม้ท้องถิ่น, การหมัก, *Saccharomyces cerevisiae*, *Ogataea kudriavzevii*

Title Isolation and identification of yeasts from local fruits waste
 as a bio-resources database for biodiversity based economy
 development of community and utilization guidelines

Author Pintip Kaewgamthong

ABSTRACT

This study aimed to isolate and characterize yeast strains from five types of local fruits: Date Plam (DP), Orange (OR), Banana (BN), Namphueng sugarcane (SH), and Suphan 50 sugarcane (SS), using YEPDA medium. A total of 14 yeast isolates were obtained and classified into seven groups based on colony morphology and microscopic cell structure. Species identification was performed using molecular techniques by amplifying the 5.8S-ITS rDNA region via PCR. The PCR products ranged from 370 to 750 bp. Nucleotide sequence analysis of seven selected strains (DP2, OR1, OR2, BN1, SH2, SS1, SS2) revealed high similarity to GenBank database entries, identifying species such as *Saccharomyces cerevisiae* and *Ogataea kudriavzevii*.

Growth performance under various environmental conditions showed that most strains grew optimally at 30–35 °C, with BN1 maintaining stable growth at 25–30 °C. Ethanol tolerance tests indicated a significant decrease in growth with increasing ethanol concentrations. However, strains DP2 and BN1 exhibited moderate growth at 5–8% ethanol and remained viable even at 12%, suggesting their potential for high-ethanol fermentation processes. Carbon source utilization varied among strains. Fructose and sucrose supported the highest growth rates, while galactose and glycerol were less effective in some strains. Flocculation analysis revealed that OR1 (*O. kudriavzevii*) had the highest flocculation efficiency (85–90%), followed by SS2 (58–60%), indicating suitability for fermentation processes requiring efficient cell separation. These findings highlight the biodiversity and industrial potential of local yeast strains, particularly in ethanol production and cost-effective cell separation in fermentation systems.

Keywords: Yeast, Strain isolation, Local fruits, Fermentation, *Saccharomyces cerevisiae*, *Ogataea kudriavzevii*

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อไทย	ข
บทคัดย่ออังกฤษ	ค
สารบัญเรื่อง	ง
สารบัญตาราง	ช
สารบัญภาพ	ซ
บทที่ 1 บทนำ	1
ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
สมมติฐานการวิจัย	2
ขอบเขตของการวิจัย	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
นิยามศัพท์เฉพาะ	4
บทที่ 2 การทบทวนวรรณกรรม	5
ผลไม้ท้องถิ่น	5
ยีสต์	26
การศึกษาทางชีวโมเลกุล	34
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	38
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย	42
วัตถุดิบ	42
อาหารเลี้ยงเชื้อ	42
ไพรเมอร์	42
วิธีการทดลอง	42
ระยะเวลา และสถานที่ทำการวิจัย	47

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 4	
ผลการวิจัยและวิจารณ์	48
ผลการศึกษาลักษณะรูปร่างทางสัณฐานวิทยาของโคโลนี	48
ผลการศึกษาการจำแนกชนิดของสายพันธุ์ยีสต์ด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุล	51
ผลการศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตของยีสต์แต่ละสายพันธุ์	52
บทที่ 5	
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	57
การจัดจำแนก และระบุชนิดของยีสต์	57
การศึกษาความทนทานของยีสต์	57
ข้อเสนอแนะ	58
บรรณานุกรม	59
ภาคผนวก	
ภาคผนวก ก อาหารเลี้ยงเชื้อ และสารเคมี	64
ภาคผนวก ข ลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อแต่ละไอโซเลต	68
ภาคผนวก ค ฐานข้อมูลทรัพยากรชีวภาพ (Database of bioresource)	72
ประวัตินักวิจัย	78

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
4.1	แสดงชนิดของผลไม้และจำนวนไอโซเลตที่แยกได้	48
4.2	ลักษณะทางกายภาพที่มีความจำเพาะของไอโซเลตเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกมาจากผลไม้	49
4.3	ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มีลักษณะความคล้ายคลึงกับเปรียบเทียบับฐานข้อมูล GenBank	51

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1.1	กรอบแนวความคิดของแผนงานวิจัย
2.1	ลักษณะโคโลนีของเชื้อยีสต์แบบต่าง ๆ
2.2	ลักษณะโคโลนีของเชื้อยีสต์บางสายพันธุ์บนอาหารแข็ง
2.3	Phylogeny บริเวณ ITS ของสายพันธุ์ยีสต์ที่มีความสำคัญทางเทคโนโลยีชีวภาพ
2.4	ตำแหน่งของไพรเมอร์บริเวณ ITS1 และ ITS2 และความยาวของลำดับเบสใน ITS-LSU
3.1	ลำดับเบสของส่วน Internal Transcribed Spacer (ITS) ได้แก่ ITS1 และ ITS2
3.2	ฐานข้อมูล NCBI ในการระบุชนิดของสายพันธุ์ยีสต์
4.1	สัณฐานวิทยาลักษณะโคโลนีของยีสต์ที่แยกได้แต่ละสายพันธุ์ที่แยกได้ที่มีลักษณะแตกต่างกัน 7 ไอโซเลต
4.2	สัณฐานวิทยาลักษณะรูปร่างเซลล์ยีสต์ที่แยกได้แต่ละสายพันธุ์ที่แยกได้ที่มีลักษณะแตกต่างกัน 7 ไอโซเลต
4.3	ลักษณะ DNA profile ของผลิตภัณฑ์ PCR ของยีสต์ 7 สายพันธุ์บน เจลอะกาโรส 1.2% ด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิส
4.4	ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงสำหรับการรอดชีวิตของยีสต์ของไอโซเลตที่แยกได้ ณ อุณหภูมิต่าง ๆ
4.5	ความทนทานของยีสต์ในแต่ละไอโซเลตที่แยกได้ต่อความเข้มข้นของเอทานอลต่าง ๆ
4.6	การเจริญเติบโตของยีสต์ในแต่ละไอโซเลตที่แยกได้ต่อแหล่งคาร์บอนชนิดต่าง ๆ
4.7	ลักษณะของการตกตะกอนของยีสต์ในแต่ละไอโซเลตที่แยกได้
4.8	ประสิทธิภาพของการตกตะกอนของยีสต์ในแต่ละไอโซเลตที่แยกได้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ผลไม้ในท้องถิ่นจังหวัดเพชรบูรณ์ ที่มีการเพาะปลูกและนิยมนำรับประทานมีมากมายหลายชนิด เช่น ส้ม มะขาม อินทผลัม อ้อย และกล้วย ซึ่งในแต่ละชุมชนมีการเพาะปลูกเป็นจำนวนมากเพื่อนำมาใช้ในการบริโภคภายในครัวเรือน และจัดจำหน่ายในเชิงการค้า แต่ในบางฤดูกาลมีผลผลิตเป็นจำนวนมากจึงทำให้เกิดการเน่าเสียและเป็นขยะให้กับสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้ยังเป็นแหล่งเพาะเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ จากแผนปฏิบัติการระยะ 5 ปี (พ.ศ. 2566-2570) เร่งเห็นถึงความสำคัญถึงทรัพยากรทางชีวภาพตามแผนงานทางการพัฒนา แผนงานที่ 2 พัฒนาศักยภาพ องค์กรความรู้ และนวัตกรรม ด้านความหลากหลายทางชีวภาพ และภูมิปัญญาท้องถิ่นเพื่อปกป้อง คุ้มครอง เผยแพร่ และใช้ประโยชน์ความหลากหลายทางชีวภาพ (สำนักงานพัฒนาเศรษฐกิจจากฐานชีวภาพ, 2565) และตามแผนแม่บทกระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม ระยะ 20 ปี (พ.ศ. 2561-2580) ยุทธศาสตร์ที่ 2 บริหารจัดการทรัพยากรธรรมชาติ และสิ่งแวดล้อมให้เกิดประโยชน์อย่างยั่งยืนเพื่อพัฒนาเศรษฐกิจจากฐานความหลากหลายทางชีวภาพ ทรัพยากรชีวภาพ และทรัพยากรพันธุกรรมต่อการพัฒนาขีดความสามารถในการแข่งขันในระดับชาติหรือนานาชาติได้ จึงเป็นกรอบแนวคิดที่สำคัญในการอนุรักษ์ โดยทำการคัดแยกและจัดจำแนกเชื้อยีสต์ที่มีความสำคัญทางอุตสาหกรรมจากผลไม้ในท้องถิ่นเพื่อจัดเก็บข้อมูลทรัพยากรชีวภาพของสายพันธุ์เชื้อจุลินทรีย์ของท้องถิ่น และสามารถนำเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้มาต่อยอดในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ในเชิงอุตสาหกรรมด้านต่าง ๆ เช่น การผลิตไบโอดีเซล การผลิตอาหารหมักดอง การผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ การผลิตกรดอินทรีย์ การผลิตโปรตีนเซลล์เดี่ยว และการผลิตอุตสาหกรรมเบเกอรี่ เป็นต้น

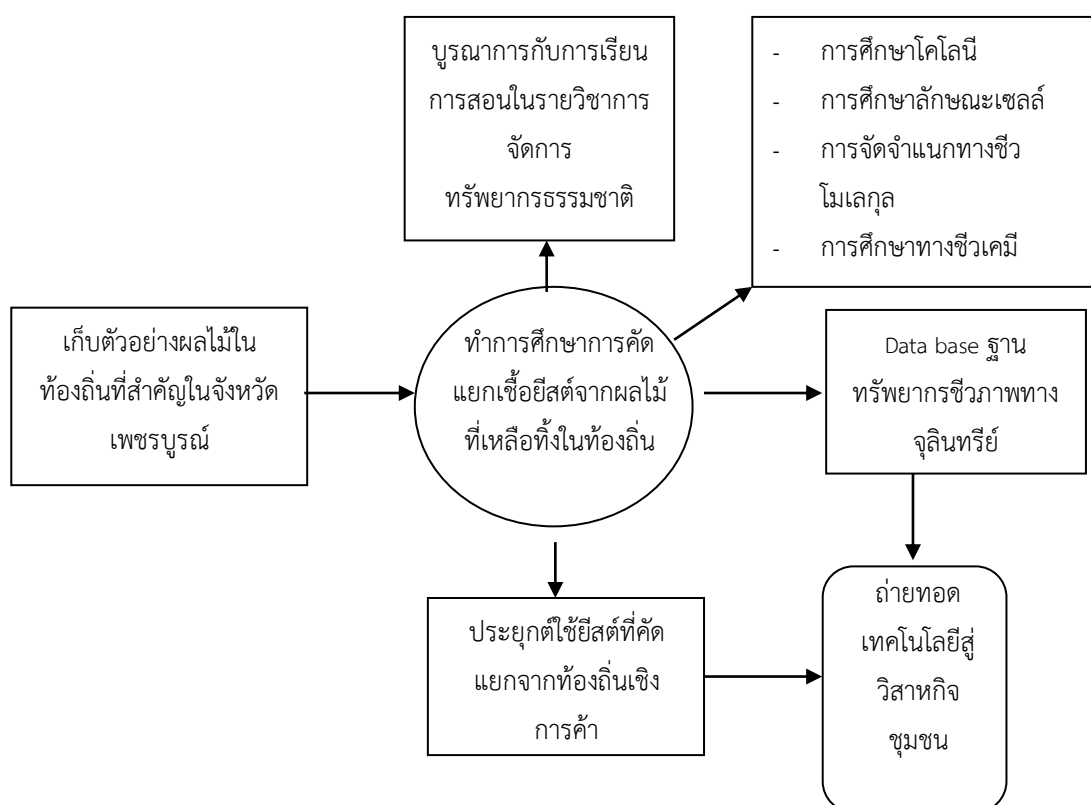
ดังนั้น ผู้วิจัยจึงเกิดแนวคิดในการคัดแยก และจัดจำแนกเชื้อยีสต์สายพันธุ์ที่มีความสำคัญทางอุตสาหกรรมจากผลไม้ที่เหลือทิ้งในท้องถิ่น ซึ่งมีสาเหตุมาจากการเน่าเสียของผลไม้ที่เป็นปัญหาและส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม และสุขอนามัยของคนในชุมชน ด้วยวิธีการจำแนกสายพันธุ์จุลินทรีย์ในผลไม้โดยอาศัยเทคนิคอนุกรมวิธานระดับโมเลกุล บริเวณ ITS1/ITS2 ของ rRNA gene โดยศึกษาลักษณะและความคล้ายคลึงในระดับพันธุกรรม (genetic material) พร้อมทั้งทดสอบความทนทานของยีสต์ ศึกษาความสัมพันธ์ของยีสต์จากต้นไม้วิวัฒนาการ (phylogenetic tree) และศึกษาการนำยีสต์ที่แยกได้มาต่อยอดในการผลิตขนมปัง นอกจากนี้ยังเป็นแนวทางหนึ่งในการเพิ่มมูลค่าให้กับของเหลือทิ้งให้เป็นแหล่งทรัพยากรทางชีวภาพที่มีประโยชน์สู่เศรษฐกิจฐานชีวภาพโดยอาศัยองค์ความรู้ทางด้านจุลชีววิทยาและด้านเทคโนโลยีชีวภาพ จากข้อมูลที่ทำการศึกษาสามารถนำไปสู่การต่อยอดการผลิตผลิตภัณฑ์ทั้งผลิตภัณฑ์อาหาร และผลิตภัณฑ์ที่มีใช้อาหารโดยใช้ยีสต์เป็นเชื้อตั้งต้นในกระบวนการหมัก เช่น การทำไวน์ผลไม้ การทำขนมปัง และการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ เป็นต้น

1.2 วัตถุประสงค์

1. ศึกษาการคัดแยก และจัดจำแนกเชื้อยีสต์จากผลไม้ที่เหลือทิ้งในท้องถิ่น
2. ศึกษาลักษณะสัณฐาน เก็บรวบรวมสายพันธุ์ของยีสต์และจำแนกสายพันธุ์ยีสต์ด้วยเทคนิคอนุกรมวิธานระดับโมเลกุล
3. ศึกษาความสัมพันธ์ของเชื้อยีสต์ด้วยต้นไม้วิวัฒนาการ (phylogenetic tree)
4. ศึกษาความเป็นไปได้ในการนำยีสต์ที่คัดแยกได้มาพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์ใหม่
5. เพื่อจัดทำฐานข้อมูลทางทรัพยากรชีวภาพสู่การพัฒนาเศรษฐกิจฐานชีวภาพของชุมชน
6. เพื่อจัดการกับขยะมูลฝอยของท้องถิ่นโดยการหาแหล่งทรัพยากรชีวภาพ (เชื้อจุลินทรีย์) ผ่านกระบวนการทางชีวโมเลกุล

1.3 สมมติฐานการวิจัย

จากทฤษฎีและสมมติฐานดังกล่าวสามารถกำหนดเป็นกรอบแนวคิดของโครงการวิจัยได้ดังนี้



ภาพที่ 1.1 กรอบแนวความคิดของแผนงานวิจัย

1.4 ขอบเขตของการวิจัย

1. ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

ตัวอย่างผลไม้ท้องถิ่นที่เหลือทิ้งที่นำมาใช้ในการทดลองมี 5 ชนิด ได้แก่ อินทผลัม ส้ม กล้วย อ้อยสายพันธุ์น้ำผึ้ง และอ้อยสุพรรณ เก็บรวบรวมในพื้นที่ตำบลในเมือง อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์

2. ระยะเวลาที่ใช้ในการวิจัย คือ เดือนกุมภาพันธ์ 2568 – เดือนสิงหาคม 2568

3. ตัวแปรที่ใช้ในการค้นคว้า ได้แก่

3.1 ตัวแปรต้น

3.1.1 ผลไม้ท้องถิ่นที่เหลือทิ้งที่นำมาใช้ในการทดลองมี 5 ชนิด ได้แก่ อินทผลัม ส้ม กล้วย อ้อยสายพันธุ์น้ำผึ้ง และอ้อยสุพรรณ

3.1.2 การเพิ่มปริมาณชิ้นส่วน DNA ใช้ไพรเมอร์ ITS1 (5'-CAAGGTTTCCGTAGGTGAAC-3') และ ITS4 (5'-CGGGTACTCCTACCTGATTT-3')

3.2 ตัวแปรตาม ได้แก่

3.2.1 คัดเลือกชนิดของเชื้อยีสต์ โดยการสังเกตโคโลนี และลักษณะเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

3.2.2 จัดจำแนกเชื้อยีสต์โดยเทคนิคชีวโมเลกุลบนฐานข้อมูล NCBI

3.2.3 ศึกษาความทนทานต่อการเจริญเติบโตของยีสต์ที่คัดแยกได้

3.3 ตัวแปรควบคุม ได้แก่

อาหารเลี้ยงเชื้อ ระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อ และเทคนิคการเพิ่มจำนวน DNA

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

จากการวิจัยประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ มีดังนี้

1. สามารถจัดทำแหล่งรวบรวมฐานทรัพยากรท้องถิ่นทางชีวภาพจากผลไม้ในชุมชน
2. สามารถทราบถึงชนิดของยีสต์ที่พบในผลไม้
3. อาจใช้ยีสต์ที่คัดแยกได้สำหรับการควบคุมการเกิดโรคเน่าจากเชื้อชนิดอื่นในผลไม้ได้
4. อาจนำยีสต์ที่คัดแยกได้ไปสู่การประยุกต์ใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์อื่น ๆ เช่น เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ ผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ และยีสต์ไอโซเลต
5. สามารถนำไปถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตสู่ชุมชนเพื่อสร้างรายได้เสริม
6. สามารถนำมาบูรณาการร่วมกับการเรียนการสอนในรายวิชา จุลชีววิทยา และจุลชีววิทยาอุตสาหกรรมต่อนักศึกษาหลักสูตรสาขาวิชาชีววิทยา
7. เป็นแนวทางในการจัดการของผลไม้เหลือทิ้งในชุมชนแล้วต่อยอดในการสร้างมูลค่าเพิ่ม

1.6 นิยามศัพท์เฉพาะ

1. **การจัดจำแนก (Identification)** หมายถึง การจำแนกประเภทของสิ่งมีชีวิตโดยอาศัยหลักเกณฑ์ต่างๆ เช่น ลักษณะทางชีววิทยา (การแตกหน่อ การสร้างสปอร์) ความสามารถในการหมักหรือสลายน้ำตาล การปรับตัวต่อสภาวะแวดล้อม และลักษณะทางพันธุกรรม (การวิเคราะห์ลำดับเบสดีเอ็นเอ) เพื่อระบุชนิดและกลุ่มของสิ่งมีชีวิต

2. **ทรัพยากรชีวภาพ (Bioresource)** หมายถึง สิ่งมีชีวิต และผลิตภัณฑ์ที่มาจากสิ่งมีชีวิต ซึ่งรวมถึงพืช สัตว์ จุลินทรีย์ เซลล์ และยีนต่างๆ ที่มีศักยภาพในการนำมาใช้ประโยชน์เพื่อการดำรงชีวิต การวิจัย พัฒนา และสร้างมูลค่าทางเศรษฐกิจ ทรัพยากรเหล่านี้เป็นองค์ประกอบสำคัญของความหลากหลายทางชีวภาพ และจำเป็นต่อการพัฒนาเศรษฐกิจฐานชีวภาพ (Bioeconomy) อย่างยั่งยืน

3. **ยีสต์ (Yeast)** หมายถึง ราเซลล์เดี่ยว (จุลินทรีย์เซลล์เดี่ยว) ที่จัดอยู่ในอาณาจักรฟังไจ ซึ่งมีรูปร่างหลากหลาย เช่น กลม รี หรือรูปไข่ พบได้ทั่วไปตามธรรมชาติ โดยเฉพาะในแหล่งที่มีน้ำตาลสูง เช่น น้ำผลไม้

4. **เทคนิค PCR (Polymerase chain reaction)** หมายถึง เทคนิคทางห้องปฏิบัติการที่ใช้เพิ่มปริมาณ (ขยาย) ชิ้นส่วนดีเอ็นเอ (DNA) เป้าหมายจำนวนน้อย ให้มีปริมาณมากขึ้นมหาศาลอย่างรวดเร็ว เพื่อใช้ในการศึกษาและวิเคราะห์ดีเอ็นเอในด้านต่างๆ เช่น การวินิจฉัยโรคติดเชื้อ โรคเมะเร็ง โรคทางพันธุกรรม การตรวจหาหลักฐานทางนิติวิทยาศาสตร์ หรือการวิเคราะห์ทางสิ่งแวดล้อม

5. **ฐานข้อมูล NCBI (National Center for Biotechnology Information)** หมายถึง เป็นหน่วยงานที่ก่อตั้งขึ้นเพื่อรวบรวม จัดระเบียบ และเผยแพร่ข้อมูลทางชีววิทยา และเทคโนโลยีชีวภาพที่สำคัญสำหรับนักวิจัยทั่วโลก โดยเฉพาะข้อมูลลำดับกรดนิวคลีอิก (DNA และ RNA) และโปรตีน ซึ่งจัดอยู่ในฐานข้อมูลหลัก เช่น Genbank และให้บริการเครื่องมือต่างๆ เช่น Blast เพื่อช่วยวิเคราะห์และสืบค้นข้อมูล

บทที่ 2

เอกสารและรายงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ผลไม้ท้องถิ่น

จังหวัดเพชรบูรณ์ตั้งอยู่ในเขตภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย มีลักษณะภูมิประเทศที่หลากหลายทั้งที่ราบสูงและเทือกเขา มีสภาพอากาศที่ค่อนข้างเย็นโดยเฉพาะในฤดูหนาว ซึ่งเอื้ออำนวยต่อการปลูกผลไม้เมืองหนาวและผลไม้ท้องถิ่นที่มีคุณภาพเป็นอย่างมาก ทำให้เพชรบูรณ์เป็นจังหวัดที่มีความหลากหลายทางชีวภาพทางการเกษตร (Agrobiodiversity) สูงแห่งหนึ่ง ซึ่งผลไม้ที่นำมาใช้ในการศึกษา มีดังนี้

2.1.1 มะขาม

มะขาม มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Tamarindus indica* L. เป็นไม้พันธุ์ยืนต้นที่มีขนาดกลางจนถึงขนาดใหญ่ มีใบเขียวทั้งปี ปลูกง่าย ทนทานต่อลมพายุไม่หักโค่นง่าย ประโยชน์ของมะขามจากผล ผลเป็นฝักรูปรางยาวและโค้ง นิยมใช้ในการปรุงอาหาร โดยฝักอ่อนจะมีสีเขียวอมเทา ส่วนฝักที่แก่แล้วจะกรอบหักง่าย และมีสีน้ำตาลเข้ม ผลมีรสเปรี้ยวหรือหวาน มะขามนิยมปลูกไว้ในบริเวณรอบๆบ้านเพื่อให้ร่มเงาและนำผลที่ออกมาไปใช้ในการปรุงอาหารได้นั่นเองโดยเฉพาะบริเวณริมถนนราชดำเนินนอก ที่สามารถพบเห็นต้นมะขามปลูกไว้อย่างมากมายในศตวรรษที่ 17 จักรวรรดินิยมสเปนได้นำต้นมะขามเข้าไปปลูกแพร่ในแถบหมู่เกาะอินเดียตะวันตก และยังนำเข้าไปยังดินแดนลาตินอเมริกาอย่าง ทวีปอเมริกากลางและอเมริกาใต้ด้วย มะขามจึงปลูกแพร่หลายในดินแดนแถบนี้ โดยเฉพาะในประเทศเม็กซิโก และประเทศกัวเตมาลาทำให้เกิดเมนูอาหารยอดนิยมที่ปรุงด้วยมะขามและเป็นที่ยอดนิยมของคนไทย เช่น น้ำมะขาม เครื่องดื่มรสมะขาม ไอศกรีมมะขาม แยมมะขาม และกระทั่งไวน์มะขามส่วนในทวีปเอเชียตะวันออกเฉียงใต้

ประเภทของมะขาม

1. **มะขามหวาน (Sweet Tamarind)** หารับประทานได้ทั่วไป นิยมรับประทานเนื้อมะขาม พบมากที่จังหวัดเพชรบูรณ์มะขามหวานมีหลายสายพันธุ์เช่น พันธุ์น้ำผึ้ง พันธุ์สีชมพู พันธุ์อินทผลัม พันธุ์ขันตี พันธุ์สีทอง (นายหยัด) พันธุ์หมื่นจง พันธุ์เพชรเกษตร เป็นต้น แต่พันธุ์ที่มีชื่อเสียงมากที่สุดคือสายพันธุ์ประกายทอง หรือ ที่ชาวบ้านเรียกว่าพันธุ์ตาแป๊ะ ซึ่งเป็นมะขามหวานที่มีขนาดฝักตรงและใหญ่กว่าฝักมะขามปกติให้เนื้อนุ่มหนาชุ่มฉ่ำและรสชาติหวานมาก

2. **มะขามเปรี้ยว (Sour Tamarind)** มะขามเปรี้ยว เป็นมะขามที่ให้เนื้อรสเปรี้ยว ฝักใหญ่กว่ามะขามหวาน นิยมนำมาประกอบอาหารและแปรรูป เช่น ใช้ทำน้ำมะขามใส่อาหารจำพวกต้มยำเพื่อให้รสชาติเปรี้ยวเป็นธรรมชาติ บางเมนูใช้แทนมะนาว เนื้อมะขามเปรี้ยวยังนำมาแปรรูปเป็นมะขามดองและมะขามกวน

ประโยชน์ของมะขาม

1. อาจช่วยรักษาอาการตาแห้งและเพิ่มความชุ่มชื้นในพื้นผิวกระจกตาได้
2. มะขามอาจช่วยส่งผลคล้ายยาระบายที่อาจช่วยในระบบขับถ่าย
3. อาจมีผลช่วยต้านเชื้อราและแบคทีเรียในร่างกาย
4. มะขามอาจใช้รักษาอาการปวดไขหรือหวัดได้ด้วย
5. การบริโภคมะขามเพื่อช่วยลดอาการคลื่นไส้ในผู้หญิงที่ตั้งครรภ์
6. มะขามอาจรักษาพยาธิลำไส้ในเด็ก

2.1.2 อินทผลัม

อินทผลัม มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Phoenix dactylifera* L. เป็นพืชตระกูลปาล์ม มีชื่อเรียกท้องถิ่นแตกต่างกันไป อาทิ ฝรั่ง เรียก ตั้มร มลายู เรียก กุหลาบ มีหลายสายพันธุ์ มีถิ่นกำเนิดในแถบตะวันออก สามารถเจริญเติบโตได้ดีในภูมิอากาศที่มีอากาศร้อนและแห้งแล้งแบบทะเลทราย ลำต้นมีความสูงประมาณ 30 เมตร มีขนาดลำต้นประมาณ 30–50 เซนติเมตร มีใบติดอยู่บนต้นประมาณ 40–60 ก้าน ใบยาว 3–4 เมตร ใบเป็นแบบขนนก ใบย่อยพุ่งออกหลายทิศทาง ช่อดอกจะออกจากโคนใบ ผลทรงกลมรี ออกเป็นช่อ ความยาวผล 2-4 เซนติเมตร มีรสหวานฉ่ำ รับประทานได้ทั้งผลดิบและผลสุก โดยผลสดจะมีสีเหลืองไปจนถึงสีส้ม เมื่อแก่จัดจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลถึงน้ำตาลเข้มขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ ทั้งนี้ พัฒนาการของผลแบ่งเป็น 4 ระยะ ได้แก่ ระยะผลดิบ ระยะสมบูรณ์ ระยะสุกแก่ ระยะผลแห้ง โดยผลสุกสามารถนำไปตากแห้งเก็บไว้รับประทานได้หลายปี และจะมีรสชาติหวานจัดเหมือนกับนำไปเชื่อมด้วยน้ำตาล จัดเป็นผลไม้ที่มีองค์ประกอบทางโภชนาการที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ โดยเฉพาะในกระบวนการหมัก ซึ่งต้องอาศัยแหล่งคาร์บอนและสารอาหารที่สามารถย่อยสลายได้ง่าย โดยรายงานวิจัยของ Jayamma และคณะ (2022) ได้ทำการแยกและจำแนกสายพันธุ์ยีสต์ที่ทนต่ออุณหภูมิจากเศษผลไม้หลายชนิด พบว่ายีสต์บางสายพันธุ์มีความสามารถในการเจริญเติบโตภายใต้สภาวะที่มีความร้อนสูง ซึ่งสะท้อนถึงศักยภาพในการนำไปใช้ในกระบวนการหมักและการผลิตเอนไซม์ที่ต้องการความทนทานต่ออุณหภูมิ

ข้อมูลจากการศึกษาทางโภชนาการเพิ่มเติมพบว่า อินทผลัมมีคาร์โบไฮเดรตคิดเป็นสัดส่วนประมาณ 66–88% ของน้ำหนักแห้ง โดยมีฟรุกโตสและกลูโคสรวมกันมากกว่า 60% ซึ่งเป็นแหล่งพลังงานหลักสำหรับจุลินทรีย์ในกระบวนการหมัก นอกจากนี้ยังมีโปรตีนในระดับต่ำ (ประมาณ 2–5%) และไขมันต่ำมาก (0.2–0.5%) ซึ่งช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่ไม่พึงประสงค์ อินทผลัมยังมีไฟเบอร์ในปริมาณสูง ซึ่งแม้จะไม่ถูกใช้โดยจุลินทรีย์โดยตรง แต่สามารถช่วยปรับสภาพแวดล้อมของการหมักให้เหมาะสม เช่น การควบคุมความชื้นของสารละลาย และการดูดซับสารพิษที่อาจเกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมัก นอกจากนี้ยังพบสารประกอบฟีนอลิกและสารต้านอนุมูลอิสระในอินทผลัม ซึ่งมีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์บางชนิด แต่ในระดับที่ไม่ส่งผลต่อยีสต์ที่ใช้ในกระบวนการหมัก (Maqsood et al., 2020; Akhter et al., 2025)

ประโยชน์ของอินทผลัม

1. อินทผลัมมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ลดความเสี่ยงของการเกิดโรคมะเร็งในช่องท้อง
2. ช่วยให้อิ่มท้องได้นาน เหมาะกับคนที่ลดความอ้วน (ทานในปริมาณที่เหมาะสม)
3. เป็นผลไม้ที่ให้พลังงานสูง ช่วยลดอาการอ่อนเพลีย
4. ลดอาการของโรคหัวใจและหลอดเลือด
5. อุดมไปด้วยวิตามินและแร่ธาตุที่สำคัญต่อร่างกาย
6. ด้านการอักเสบ ช่วยลดเสมหะภายในลำคอ
7. ช่วยบำรุง รักษาสายตา ช่วยลดความเสี่ยงของดวงตา
8. ควบคุมระดับคอเลสเตอรอลในเลือด ลดไขมันในเส้นเลือด ลดระดับไตรกลีเซอไรด์

ช่วยควบคุม และระดับน้ำตาลในเลือด

2.1.3 อ้อย

อ้อย มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Saccharum officinarum* L. เป็นพืชเศรษฐกิจของไทยโดยเฉพาะในภาคกลางและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ นิยมใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมอ้อย น้ำตาล และเอทานอลในระดับอุตสาหกรรม อ้อยมีปริมาณน้ำตาลสูง โดยเฉพาะซูโครส กลูโคส และฟรุคโตส ซึ่งเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและคู่ที่สามารถนำไปใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในงานวิจัยด้านจุลชีววิทยาได้อย่างมีประสิทธิภาพ มีแหล่งกำเนิดที่เกาะนิวกินีในมหาสมุทรแปซิฟิก เป็นพืชที่เจริญเติบโตได้ดีในเขตร้อนและกึ่งร้อน มีปริมาณน้ำฝนและแสงแดดเพียงพอ

ประโยชน์ของอ้อย

คุณค่าทางโภชนาการ อ้อย มีน้ำตาลซูโครสสูงมาก มีธาตุแคลเซียม ฟอสฟอรัสเล็กน้อย และมีสารอื่นๆใช้เป็นยา น้ำเชื่อม ที่มีความเข้มข้นความหนืดที่ฟาร์มาโคเปียกำหนดไว้ สามารถใช้เป็นสารกันบูด และฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ ใส่แผลเรื้อรัง ทั้งต้น ใช้รักษาปัสสาวะพิการ รักษาขัดเบา แก้อาการไข้ รักษาโรคผิวหนัง ออการไอ ต้น แก้ไข้ แก้คอแห้งกระหายน้ำ รักษาอาการโรคไซนัส เป็นยาบำรุงหัวใจ

2.1.4 ส้ม

ส้ม มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Citrus* spp. เป็นไม้พุ่มหรือไม้ต้นขนาดเล็กหลายชนิด เป็นพืชใบเลี้ยงคู่ เดิบโตกระจายอยู่ทั่วโลก โดยมากจะมีน้ำมันหอมระเหยในใบ ดอก และผล และมีกลิ่นฉุน หากนำไปขึ้นสับกับแสงแดด จะเห็นจุดเล็กๆ เต็มไปหมด ซึ่งจุดเหล่านั้นก็คือแหล่งน้ำมันนั่นเอง ส้มหลายชนิดรับประทานได้ ผลมีรสเปรี้ยวหรือหวาน มักจะมีแคลเซียม โพแทสเซียม วิตามินเอ และ วิตามินซี มากเป็นพิเศษ ซึ่งช่วยเสริมสร้างความแข็งแรงของเซลล์จลินทรีย์ และมีบทบาทในการป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่อาจยับยั้งการเจริญเติบโตของจลินทรีย์ มีกรดอินทรีย์ เช่น กรดซิตริก ซึ่งสามารถปรับ pH ของสภาพแวดล้อมให้เหมาะสมต่อการเจริญของจลินทรีย์บางชนิด โดยเฉพาะในกระบวนการหมักแบบแลคติก รวมถึงไฟเบอร์ใน

ส้ม เช่น เพคติน มีบทบาทในการควบคุมความหนืดของสารละลายหมัก และอาจช่วยในการดูดซับสารพิษที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมัก

ในรายงานวิจัยปี 2024 รายงานการแยกและจำแนกยีสต์จากตัวอย่างผลไม้หลายชนิด รวมถึงส้ม โดยพบสายพันธุ์ที่สามารถผลิตเอนไซม์ไฮโดรไลติกหลายชนิด เช่น เซลลูเลส และเพกทิเนส ซึ่งมีประโยชน์ต่อการสลายโครงสร้างผลไม้และการหมัก โดยยีสต์จากส้มมักมีความทนกรดสูง เนื่องจากสภาพแวดล้อมของผลไม้มี pH ต่ำ

ประโยชน์ของส้ม

1. บำรุงผิวพรรณให้ดูสดใส ไม่แห้งกร้าน
2. กระตุ้นภูมิคุ้มกัน ลดความเจ็บป่วย เมื่อเชื้อหวัดเข้าสู่ร่างกาย
3. ช่วยให้ขับถ่ายสะดวก
4. ปรับสมดุลระดับน้ำตาลในเลือด
5. ควบคุมความดันโลหิต
6. สารสกัดในเปลือกส้ม แก้อาการวิงเวียนศีรษะ เป็นยากันยูงจากธรรมชาติ

2.1.5 กล้วย

กล้วย มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Musa sapientum* L. เป็นพรรณไม้ล้มลุก มีหลายชนิดในสกุล บางชนิดก็ออกหน่อแต่บางชนิดก็ไม่ออกหน่อ ใบแบนยาวใหญ่ ก้านใบตอนล่างเป็นกาบยาวหุ้มห่อซ้อนกันเป็นลำต้น ออกดอกที่ปลายลำต้นเป็น ปลี และมักยาวเป็นวง มีลูกเป็นหวี ๆ รวมเรียกว่า เครือ พืชบางชนิดมีลำต้นคล้ายปาล์ม ออกใบเรียงกันเป็นแถวทำนองพัดคลี่ คล้ายใบกล้วย เช่น กล้วยพัด

ประโยชน์ของกล้วย

กล้วยเป็นอาหารช่วยลดความอ้วนที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง อุดมด้วยโพแทสเซียม ซึ่งเมื่อรับประทานอย่างพอเหมาะจะช่วยลดความเสี่ยงของโรคเกี่ยวกับความดันโลหิต รวมทั้งช่วยควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด ลดการเกิดมะเร็งลำไส้ ช่วยควบคุมน้ำหนัก บำรุงหัวใจ บำรุงไต ต้านอนุมูลอิสระ มีน้ำตาลธรรมชาติสูง เช่น กลูโคส ฟรุคโตส และซูโครส ซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนที่จุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ในกระบวนการหมักแบบอลิซึมได้อย่างมีประสิทธิภาพ มีไฟเบอร์ชนิดละลายน้ำ เช่น อินนูลิน และฟรุคโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ (FOS) ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติก ช่วยกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ เช่น *Lactobacillus* และ *Saccharomyces* นอกจากนี้กล้วยยังอุดมไปด้วยวิตามิน B6 และวิตามิน C ในกล้วยมีบทบาทในการสนับสนุนการทำงานของเอนไซม์ในจุลินทรีย์ และช่วยลดความเครียดออกซิเดชันในสภาพแวดล้อมของการหมัก

การเน่าเสียของผลไม้จะทำให้เกิดการสูญเสียทางเศรษฐกิจเป็นอย่างมาก ถึงแม้ว่า องค์ประกอบของผลไม้จะแตกต่างกันไปตามชนิดและสายพันธุ์ พื้นที่ที่ปลูก และฤดูกาลในการเก็บเกี่ยว การเน่าเสียของผลไม้ในแต่ละชนิดแต่ละสายพันธุ์นั้นก็มีความโน้มที่จะเกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ชนิดเดียวกันด้วย เนื่องจากโครงสร้าง

ของผนังเซลล์พืชถึงแม้จะต่างสายพันธุ์กัน แต่มีลักษณะและองค์ประกอบ เหมือนกันคือ ประกอบด้วย เซลลูโลสและ เพคติน (Salunkhe และ Deshpande, 1991) จุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการเน่าเสียของผลไม้ส่วนใหญ่ จึงต้องเป็นจุลินทรีย์ที่มีสมบัติในการย่อยสลาย เซลลูโลส และเพคตินได้ ซึ่งส่วนใหญ่ก็คือ เชื้อรา และเชื้อยีสต์ ส่วนใหญ่แล้วโรคมักจะเกิด จากเชื้อรา เช่น *Peronophythora litchii* เป็นสาเหตุของโรคผลเน่า (fruit rot) *Oidium* sp. ทำให้เกิด โรคราแป้ง (powdery mildew) และสาเหตุโรคของผลลิ้นจี่ในระยะหลังการเก็บเกี่ยวเกิดจากเชื้อรา หลายชนิด ได้แก่ *Aspergillus flavus* ตัวอย่างเช่น *A. niger*, *Lasiodiplodia theobromae* เป็นต้น (นิพนธ์, 2554)

การลดการเน่าเสียของผลไม้ต่าง ๆ นั้นสามารถทำได้หลายวิธีได้แก่ การห่อผล ตั้งแต่หลังการผสมเกสร การใช้สารเคมีฉีดพ่นผลไม้อย่างต่อเนื่อง การควบคุมดูแลผลไม้ ภายหลังการเก็บเกี่ยวให้อยู่ในสภาพที่เหมาะสม เช่น การห่อผลไม้เพื่อลดปริมาณเชื้อก่อโรคที่เข้าทำลายผลไม้ภายหลังการเก็บเกี่ยว (สุรชาติ และ วิชชา, 2543) แต่วิธีที่ควบคุมการเน่าเสียของ ผลไม้ได้ดีที่สุด และนิยมใช้กันมากที่สุด คือ การใช้สารเคมีฉีดพ่นผลไม้อย่างต่อเนื่อง ตั้งแต่ ออกดอกจนกระทั่งผลแก่พร้อมเก็บเกี่ยวไปจำหน่าย แต่วิธีการดังกล่าวจะทำให้ สารพิษตกค้างบน ผิวผลไม้ ทำลายระบบนิเวศวิทยา ซึ่งรวมไปถึงแมลงที่เป็นประโยชน์ เช่น ตัวเบียน เกิดปัญหากับ ผู้ใช้ฉีบลันเมื่อสัมผัสกับสารพิษ (acute effect) หรือเกิดการสะสมสารพิษในร่างกายและทำให้เกิด เป็นโรคในภายหลัง (chronic effect) และเมื่อสารพิษตกค้างในผลไม้จะส่งผลให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภคได้ นอกจากนี้ยังทำให้เกิดมลพิษในอากาศ ดิน และน้ำบริเวณรอบแปลงอีกด้วย ทำให้มี นักวิจัยหลายท่านพยายามคิดค้นหาวิธีการทางกายภาพ และทางชีวภาพ หรือวิธีรวมระหว่าง กายภาพและชีวภาพ สำหรับเพื่อกำจัดหรือลดปัญหาดังกล่าวซึ่งหนึ่งในบรรดาวิธีนี้ คือ การใช้ จุลินทรีย์ทั้ง ยีสต์ รา หรือ แบคทีเรีย ที่ไม่เป็นอันตรายต่อมนุษย์ที่พบในธรรมชาติสำหรับใช้ ควบคุมจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการเน่าเสีย ซึ่งวิธีดังกล่าวเรียกว่า การควบคุมจุลินทรีย์สาเหตุ การเน่าเสียโดยใช้ชีววิธี (biocontrol) ซึ่งผลที่ได้จากงานวิจัยนี้มีศักยภาพอย่างมากที่จะนำไปใช้ ประโยชน์ในด้านการควบคุมการเน่าเสียของผลไม้ โดยอาจนำ จุลินทรีย์ดังกล่าวฉีดพ่นในปริมาณมากๆ (mass) เพื่อให้ไปกับยั้งการเข้าทำลายของจุลินทรีย์ก่อโรคของผลไม้ได้ เป็นต้น

ในงานวิจัยปี 2025 (PLOS One) รายงานการแยกยีสต์จากผลไม้ตลาดท้องถิ่น รวมถึงกล้วย เพื่อตรวจสอบความสามารถในการทำให้แบ่งขนมปังฟู พบสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพในการสร้าง CO₂ และเอทานอล จึงมีศักยภาพทั้งในอาหารและเครื่องดื่ม กล้วยสุกเป็นแหล่งยีสต์ที่เจริญได้ดี เนื่องจากมีน้ำตาลสูงและสภาวะกรดอ่อน

2.2 ยีสต์ (Yeast)

ยีสต์เป็นสิ่งมีชีวิตประเภทยูคาริโอต อยู่ในอาณาจักรฟังไจ ซึ่งจัดเป็นราชนิดหนึ่งที่มีการดำเนินชีวิตเป็นแบบเซลล์เดี่ยว (unicellular form) เมื่อนำไปส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ยีสต์จะมีลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยวที่มีรูปร่างได้หลากหลายแบบ เช่น กลม (round) รี (ellipsoidal) รูปไข่ (oval ovoidal) สามเหลี่ยม

(triangular) ทรงกระบอก (cylindrical) ทรงปลายมนแบบเลมอน (apiculate) คนโทหรือฟลาสก์ (flask) หรือเป็นเส้นสาย (filament) เป็นต้น ยีสต์บางชนิดมีการสร้างเส้นใยเทียม (pseudo-mycelium) เช่น *Candida albicans* และ *C. boidinii* บางชนิดสร้างเส้นใยแท้ (true mycelium) เช่น ทุกสปอร์ของ *Trichosporon* สร้างเส้นใยที่มีผนังกัน สำหรับเส้นใยเทียมอาจเกิดเมื่อมีการเพิ่มจำนวนโดยการแตกหน่อ แล้วหน่อที่เกิดขึ้นไม่หลุดจากเซลล์แม่ทำให้มีการเรียงต่อของเซลล์เป็นสาย เส้นใยเทียมที่เกิดจากเซลล์ซึ่งมีรูปร่างคล้ายกันเป็นสายสั้น ๆ จัดเป็นเส้นใยเทียมที่มีการพัฒนาน้อย (rudimentary pseudo-mycelium) ในบางชนิดเซลล์ที่เป็นแกนกลางยาวกว่าเซลล์อื่นและระหว่างรอยต่อของเซลล์มีกลุ่มของหน่อแตกออกมา เส้นใยเทียมประเภทนี้จัดว่าเป็นเส้นใยเทียมที่พัฒนาเป็นอย่างดี (สาวิตรีลิมทอง, 2549)

2.2.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของโคโลนีของเชื้อยีสต์จะมีลักษณะแตกต่างกันไปตามสปีชีส์ (ภาพที่ 2) และลักษณะโคโลนีของยีสต์บางสายพันธุ์บนอาหารแข็ง YPD (ภาพที่ 3) โดยสังเกตตามปัจจัยต่าง ๆ ดังนี้

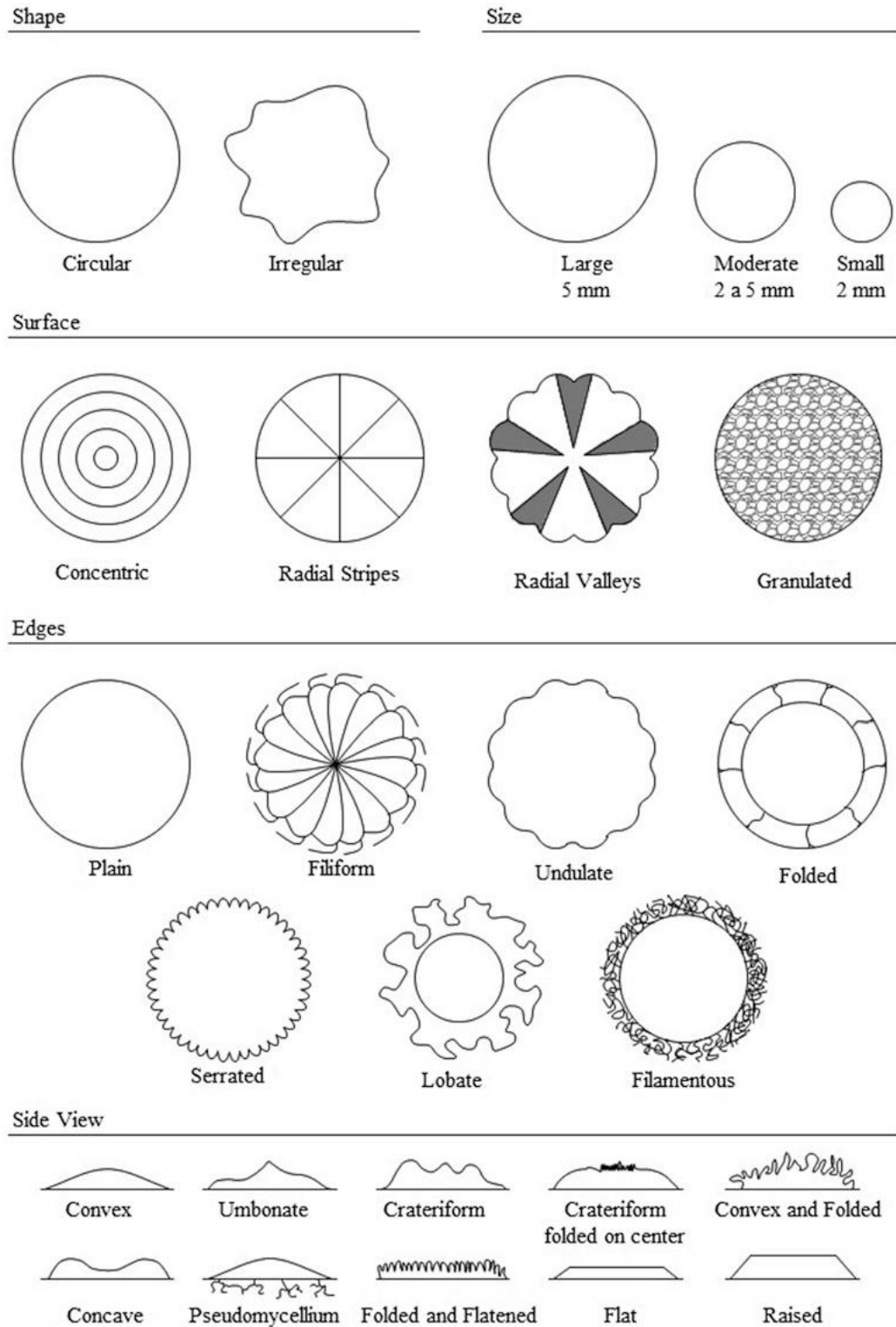
รูปร่าง : กลม หรือไม่สม่ำเสมอ

ขนาด : ใหญ่ (5 mm), กลาง (2-5 mm) หรือเล็ก (2 mm)

ผิวหน้า : แฉวาว, ขุ่นทึบ, นูน, ซ้อนเป็นชั้น หรือเป็นเม็ดเล็ก ๆ

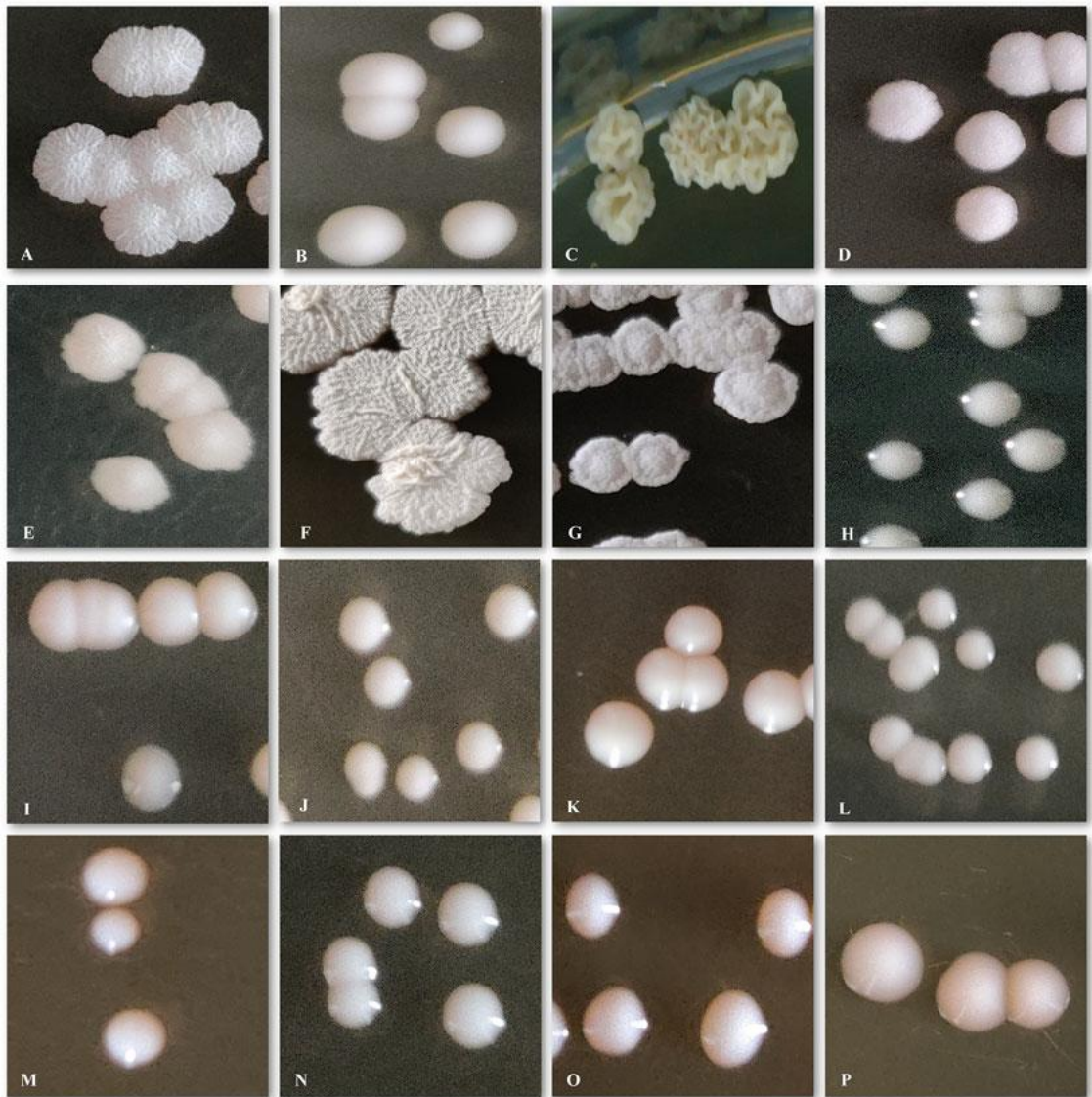
ขอบ : เรียบ, หยักเป็นเส้น, หยักเป็นคลื่น, หยักเป็นแฉก หรือเป็นเส้นสาย

มุมมองด้านข้าง : นูน, ทรงปุ่ม, ทรงหลุม, ทรงหลุมปัดตรงกลาง, มีเส้นสาย, ทรงเว้า, ทรงแบน หรือยกขึ้น



ภาพที่ 2.1 ลักษณะโคโลนีของเชื้อยีสต์แบบต่าง ๆ

ที่มา : (De Souza *et al.*, 2021)



ภาพที่ 2.2 ลักษณะโคโลนีของเชื้อยีสต์บางสายพันธุ์บนอาหารแข็ง YPD (a) *Wickerhamomyces anomalus*; (b) *Kazachstania exigua*; (c) *Kodamaea ohmeri*; (d) *Yarrowia lipolytica*; (e) *Candida rugosa*; (f) *Schwanniomyces vanriijiae*; (g) *Candida ethanolica*; (h) *Pichia guilliermondii*; (i) *Saturnispora* sp.; (j) *Cyberlindnera saturnus*; (k) *Candida tropicalis*; (l) *Candida parapsilosis*; (m) *Schizosaccharomyces pombe*; (n) *Torulaspora delbrueckii*; (o) *Saccharomyces cerevisiae*; (p) *Hanseniaspora uvarum*

ที่มา : (De Souza *et al.*, 2021)

ยีสต์เป็นสิ่งมีชีวิตที่สามารถดำรงชีวิตแบบใช้สารอินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอน และแหล่งพลังงาน จัดเป็นพวกเฮเทอโรโทรฟ (heterotroph) นอกจากนี้ยังทำหน้าที่เป็นผู้ช่วยสลาย (decomposer) และแบบปรสิต (parasite)

2.2.2 ภายในเซลล์ของยีสต์ประกอบด้วยโครงสร้างต่าง ๆ ดังนี้

1) ผนังเซลล์(cell wall) ของยีสต์เป็นโครงสร้างที่มีความแข็งแรงเช่นเดียวกับผนังเซลล์ของสิ่งมีชีวิตอื่น ค่อนข้างหนาโดยมีความหนาประมาณ 100-200 นาโนเมตร และมีน้ำหนัก 10-25 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเซลล์แห้ง ประกอบด้วยพอลิแซ็กคาไรด์ประมาณ 80-90 เปอร์เซ็นต์ ของผนังเซลล์โดยส่วนใหญ่เป็นกลูแคน (glucan) และแมนแนน (mannan) หน้าที่ของผนังเซลล์ที่สำคัญคือป้องกันโปรโตพลาสต์และทำให้เซลล์คงรูปร่าง

2) เยื่อหุ้มเซลล์(cell membrane หรือ plasma membrane) ของยีสต์มีความหนาประมาณ 7.5 นาโนเมตร มีบางส่วนของเยื่อหุ้มเซลล์ยื่นเข้าไป (invagination) ในไซโตพลาสซึม ซึ่งทำให้ต่างจากเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย ส่วนที่ยื่นเข้าไปนี้มีความยาวแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิด อายุ และระยะการเจริญของเซลล์

3) เพอริพลาสซึม (periplasm) เป็นบริเวณแคบ ๆ มีความกว้าง 35-45 อังสตรอม อยู่ระหว่างผนังเซลล์และเยื่อหุ้มเซลล์

4) นิวเคลียส (nucleus) มีรูปร่างกลมรีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1.5 ไมโครเมตรเป็นโครงสร้างของยีสต์ที่เห็นได้ชัดด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบเฟสคอนทราสต์ (phase contrast microscope) โดยเฉพาะในเซลล์ที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งมีเจลาติน 18-21 เปอร์เซ็นต์

5) ไมโทคอนเดรีย (mitochondria) ของยีสต์เป็นโครงสร้างที่ล้อมรอบด้วยเยื่อ 2 ชั้น เยื่อชั้นนอกประกอบด้วยเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึมกรดไขมัน และเยื่อชั้นใน ประกอบด้วยไซโทโครม (cytochrome) ของลูกโซ่หายใจ ATP ซักซิเนตดีไฮโดรจีเนส (succinate dehydrogenase) และ H^+ - ATPase โดยเยื่อชั้นในมีส่วนที่เรียกว่าคริสตา (crista) ซึ่งเกิดจากการยื่นของผนังชั้นในเข้าไปในไมโทคอนเดรียที่เรียกว่าสโตรมา (stroma) ในสโตรมามีเอนไซม์สำหรับออกซิเดชันไขมัน และเอนไซม์ในวงจรกรดซิตริก (citric acid cycle) รวมทั้งส่วนประกอบสำหรับการสังเคราะห์โปรตีน ไรโบโซมของไมโทคอนเดรีย (mitochondrial ribosome) และดีเอ็นเอของไมโทคอนเดรีย (mitochondrial DNA) โดยทั่วไปเซลล์มีไมโทคอนเดรียขนาดใหญ่และในแต่ละเซลล์มี 1-3 ไมโทคอนเดรีย

6) เอนโดพลาสมิกเรติคูลัมและโครงสร้างที่เกี่ยวข้อง (endoplasmic reticulum) เป็นโครงสร้างภายในไซโทพลาสซึมที่ล้อมรอบด้วยเยื่อสองชั้น ช่องว่างระหว่างเยื่อทั้งสองเรียกว่าลูเมน (lumen) มีขนาดกว้างประมาณ 20 นาโนเมตร ภายในบรรจุด้วยของเหลวซึ่งเรียกว่าเอนไคลมา (enchylema) ที่ผิวของเยื่อมีลักษณะเป็นอนุภาคจำนวนมาก ประกอบด้วยเม็ดเล็ก ๆ ซึ่งอาจอยู่เดี่ยว ๆ หรือเป็นกลุ่ม มีขนาดประมาณ 10-15 นาโนเมตร เข้าใจว่ากลุ่มใหญ่ที่สุดของอนุภาคบนเยื่อเป็นกลุ่มของไรโบโซมที่เรียกว่า พอลิโซม (polysome) หรือพอลิไรโบโซม (polyribosome) ซึ่งเป็นตำแหน่งที่มีการสังเคราะห์โปรตีน ความสัมพันธ์ของเอนโดพลาสมิกเรติคูลัมกับออร์แกเนลล์อื่น ไม่ชัดเจนแต่พบว่าบางครั้งเชื่อมกับเยื่อหุ้มนิวเคลียสชั้นนอกหรือเยื่อหุ้มเซลล์

7) แวกิวโอล (vacuole) ไม่ใช่โครงสร้างอิสระแต่เป็นส่วนประกอบที่เกิดจากการรวมกันของโครงสร้างที่ล้อมรอบด้วยเยื่อซึ่งอยู่ภายในเซลล์ คือ เอนโดพลาสมิกเรติคูลัม กอลจิบอดี และเวซิเคิล แวกิว

โอดเป็นโครงสร้างที่เปลี่ยนแปลงได้โดยอาจอยู่เป็นแควคิวโอลขนาดใหญ่เพียง 1 แควคิวโอล หรืออยู่เป็นแควคิวโอลเล็ก ๆ ที่เรียกว่าพรีแควคิวโอล (prevacuole) จำนวนมาก นอกจากนั้น ขนาดของแควคิวโอลเปลี่ยนแปลงตามการเจริญของเซลล์

8) ไซโทพลาสซึมเป็นของเหลวที่มีลักษณะคล้ายวุ้นและมีความเป็นกรด ไซโทพลาสซึมมีส่วนประกอบที่มีน้ำหนักร้อยละต่ำ ปานกลาง และใหญ่ที่ละลายได้ รวมทั้งมีโปรตีนที่สามารถละลายได้และไกลโคเจนละลายอยู่ ส่วนที่พบแขวนลอยอยู่ในไซโทพลาสซึม คือ ไมโครบอดี ซึ่งเป็นโมเลกุลขนาดใหญ่ที่เกิดจากการรวมกลุ่มกัน เช่น ไรโบโซม โปรทีโซม และอนุภาคลิพิด นอกจากนั้นในไซโทพลาสซึมยังประกอบไมโครทิวบูล และไมโครฟิลาเมน ซึ่งเป็นโครงสร้างของเซลล์ยีสต์ (สาวิตรี ลิ้มทอง, 2549)

2.2.3 การสืบพันธุ์ การเจริญ และไมออร์พิซึม

การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศด้วยการแตกหน่อ (budding) เป็นกลไกหลักของยีสต์ ขณะที่บางชนิดสามารถเข้าสู่วงจรอาศัยเพศเพื่อสร้างสปอร์เมื่อเผชิญความเครียดทางสภาพแวดล้อม ความสามารถในการเปลี่ยนรูปร่างเป็น pseudo-hyphae หรือเส้นใยสั้นเป็นส่วนหนึ่งของไมออร์พิซึมที่ช่วยให้ยีสต์ยึดเกาะเคลื่อนที่ หรือแทรกซึมในเมทริกซ์อาหาร ซึ่งมีผลต่อการเจริญเติบโตและคุณภาพกระบวนการหมักในสภาวะต่าง ๆ (Biology Insights, 2025)

2.2.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของยีสต์

การเจริญเติบโตของยีสต์ภายใต้สภาวะแวดล้อมที่แตกต่างกันเป็นปัจจัยสำคัญในงานวิจัยด้านจุลชีววิทยาและเทคโนโลยีชีวภาพ โดยเฉพาะในบริบทของการคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีศักยภาพในการหมักในระดับอุตสาหกรรม งานวิจัยของ Xuan Tuy et al. (2023) ได้รายงานการศึกษาการตอบสนองของสายพันธุ์ยีสต์ต่อปัจจัยแวดล้อมหลัก ได้แก่ ความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ อุณหภูมิ และชนิดของแหล่งคาร์บอน ซึ่งมีผลโดยตรงต่ออัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการหมักของสายพันธุ์ที่ศึกษา ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของยีสต์ ได้แก่

(1) ความเข้มข้นของแอลกอฮอล์

พบว่ายีสต์ส่วนใหญ่มีการเจริญเติบโตลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อความเข้มข้นของแอลกอฮอล์เพิ่มขึ้น โดยเฉพาะที่ระดับ 8% และ 12% (v/v) อย่างไรก็ตาม สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* และ *Meyerozyma guilliermondii* บางสายพันธุ์สามารถทนต่อแอลกอฮอล์ได้สูงถึง 12% และยังคงมีการเจริญเติบโตในระดับปานกลาง ความสามารถในการทนต่อแอลกอฮอล์มีความสัมพันธ์กับการสร้างเยื่อหุ้มเซลล์ที่แข็งแรงและการปรับตัวของระบบเมแทบอลิซึมภายในเซลล์

(2) อุณหภูมิ

สายพันธุ์ที่ศึกษาแสดงการเจริญเติบโตดีที่สุดในช่วงอุณหภูมิ 30–35 °C โดยเฉพาะสายพันธุ์ที่มีความทนร้อน เช่น *Pichia kudriavzevii* และ *Candida tropicalis* ที่อุณหภูมิสูงถึง 40–45 °C พบว่าสายพันธุ์ที่มีความทนร้อนสามารถเจริญเติบโตได้ต่อเนื่อง และยังคงผลิตเอทานอลในระดับสูง การทนต่ออุณหภูมิสูงมีความสำคัญต่อการหมักในเขตร้อน และช่วยลดต้นทุนการควบคุมอุณหภูมิในกระบวนการผลิต

(3) แหล่งคาร์บอน

การใช้แหล่งคาร์บอนมีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตและผลผลิตของยีสต์อย่างชัดเจน โดยพบว่า Fructose และ Sucrose เป็นแหล่งคาร์บอนที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในหลายสายพันธุ์ โดยเฉพาะ *S. cerevisiae* และ *P. kudriavzevii* ส่วน Galactose มีการเจริญเติบโตในระดับปานกลาง โดยขึ้นอยู่กับ การแสดงออกของยีน GAL ในสายพันธุ์นั้น ๆ นอกจากนี้ Glycerol เป็นแหล่งคาร์บอนที่มีประสิทธิภาพต่ำใน สายพันธุ์ส่วนใหญ่ แต่บางสายพันธุ์ เช่น *Yarrowia lipolytica* และ *M. guilliermondii* สามารถใช้ glycerol ได้ดี โดยต้องอาศัยการเสริมกรดอะมิโนและสารตั้งต้นร่วม

2.2.5 อนุกรมวิธานของเชื้อยีสต์ (Taxonomy of Yeast)

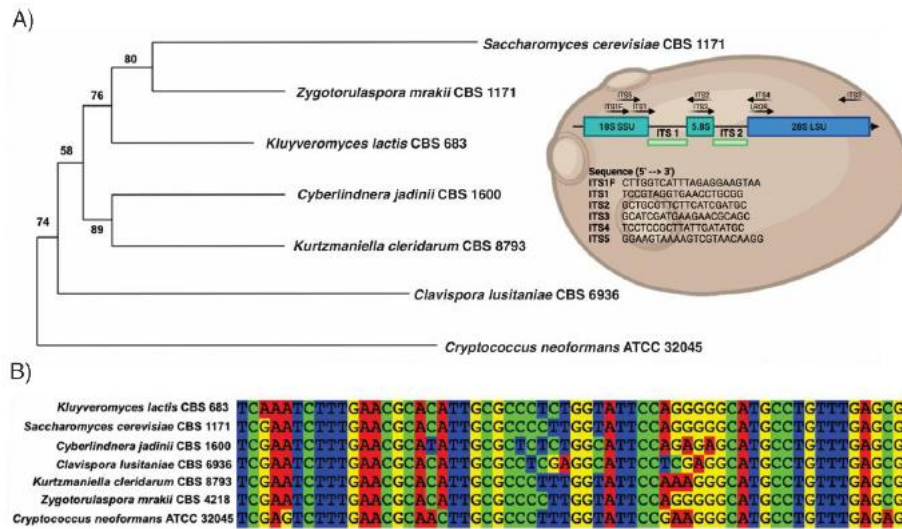
อนุกรมวิธานของเชื้อยีสต์ สามารถจัดจำแนกสายวิวัฒนาการออกเป็นหมวดหมู่ตามหลักการของคาโรลัส ลินเนียส (ปฏิพล ชัยเทพ และคณะ, 2555) ดังนี้

Kingdom	Fungi
Phylum	Ascomycota
Subphylum	Saccharomycotina (true yeast)
Class	Ascomycetes
Order	Saccheomycetaceae
Genus	<i>Saccharomyces</i>

2.2.6 อนุกรมวิธานระดับโมเลกุลของเชื้อยีสต์ (Molecular taxonomy of Yeast)

การจัดจำแนกชนิดของสายพันธุ์ยีสต์ระดับโมเลกุลเป็นวิธีที่นิยมนำมาใช้ศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของแอสโคไมซีเตสยีสต์โดยศึกษาองค์ประกอบของเบสใน DNA หรือปริมาณของ CG ซึ่งจะบอกความแตกต่างกันของสิ่งมีชีวิต แต่ไม่สามารถบอกความคล้ายคลึงกันทางสายวิวัฒนาการ โดยทำการศึกษาบริเวณ ribosomal ของยีสต์ได้หลากหลายบริเวณ แต่ที่นิยม คือ บริเวณของ 26S ribosomal RNA (26S rRNA หรือ 26S/28S LSU) ได้แก่ บริเวณ D1/D2 และ ITS1/ITS2 (ภาพที่ 4) โดยบริเวณ ITS เป็นบริเวณที่นำมาใช้ในการจัดจำแนกและสร้างสายวิวัฒนาการของเชื้อราและยีสต์ได้ดี โดยเฉพาะเชื้อที่ยังไม่เคยจัดจำแนกได้ (Hernandez-Garcia, *et. al.*, 2022).

การคัดแยก ตรวจนับ และจัดจำแนกเชื้อยีสต์จากอาหาร และน้ำอ้าคัยขั้นตอนพื้นฐานในการตรวจลักษณะเหมือนเชื้อจุลินทรีย์ทั่วไป การเพาะเลี้ยงเชื้อยีสต์บนอาหารร่วนเป็นวิธีการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ และจำแนกชนิดของสายพันธุ์เชื้อยีสต์ในระดับยีน สปีชีส์ หรือสายพันธุ์ เป็นต้น (De Souza *et al.*, 2021)



ภาพที่ 2.3 Phylogeny บริเวณ ITS ของสายพันธุ์ยีสต์ที่มีความสำคัญทางเทคโนโลยีชีวภาพ
ที่มา : (Hernandez-Garcia, et. al., 2022).

2.2.7 ยีสต์และการใช้ประโยชน์

จากที่กล่าวข้างต้นจะเห็นได้ว่ายีสต์เป็น fungi ชนิดหนึ่งที่สามารถเจริญได้เป็นเซลล์เดี่ยวๆ และ สร้างเซลล์ใหม่ (daughter cells) ได้โดยการแตกหน่อ (budding yeasts) หรือการแบ่งตัวเป็นสอง (binary fission) ที่เรียกว่า fission yeast ต่างจาก fungi ส่วนใหญ่ คือ ไม่สามารถสร้างเส้นใยได้ แต่ บางสายพันธุ์ของ fungi อาจมีสภาพเป็นได้ทั้ง 2 เฟส คือ ทั้งสภาพเส้นใย และเป็นเซลล์เดี่ยวๆ กับ สภาพแวดล้อม ที่เรียกว่า dimorphic shape ยีสต์มักจะเจริญได้ในสภาพที่มีความชื้นที่มีแหล่งของ สารอาหารที่มีโครงสร้างง่ายๆ ละลายได้ เช่น น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว และกรดอะมิโน ด้วยเหตุนี้จึง พบเชื้อยีสต์อยู่ได้ทั้งบนผิวใบ และผลไม้ บนรากไม้ และอาหารหลายชนิดที่มีสารอาหารดังกล่าว เป็นองค์ประกอบ ยีสต์ส่วนใหญ่ไม่สามารถสลายสาร โมเลกุลใหญ่ ๆ หรือพอลิเมอร์ได้ เช่น สตาร์ช เซลลูโลส เป็นต้น แตกต่างจากเชื้อราที่มีเส้นใยซึ่งสามารถย่อย สารประกอบที่เป็นโมเลกุล ใหญ่ ๆ และยีสต์คือจุลินทรีย์ อีกชนิดหนึ่งที่พบได้ทั่วไป โดยเฉพาะอย่างยิ่งในผัก และผลไม้ ที่มีสภาพที่เหมาะสมกับการเจริญของยีสต์ ตั้งแต่สมัยโบราณได้นำยีสต์ไปใช้ประโยชน์หลายๆ ด้าน เช่น เป็นจุลินทรีย์สำหรับการผลิตไวน์ ซึ่งเดิมเป็นยีสต์จากธรรมชาติ ต่อมาภายหลังได้คัดแยกยีสต์จากธรรมชาติและนำมาทำให้บริสุทธิ์ ซึ่งเชื้อยีสต์บริสุทธิ์ดังกล่าวสามารถนำมาผลิตไวน์ได้ไวน์ที่มีความคงตัว มี กลิ่น และ รสเฉพาะตัวสำหรับยีสต์แต่ละสายพันธุ์

นอกจากนี้ยีสต์ยังเป็นจุลินทรีย์ที่สำคัญที่ทำให้เกิดโครงสร้างในขนมปัง โดยจะใช้น้ำตาล และ ส่วนประกอบอื่นๆ ในส่วนผสมของขนมปังและนำไปสร้างเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ดันโครงสร้างของ โปรตีนให้ขยายตัวขึ้น ซึ่งจะคงสภาพเช่นนั้นเป็นโครงสร้างแข็งหลังจากผ่านกระบวนการอบแล้วและในด้าน โภชนาการถือว่ายีสต์มีประโยชน์นอกจากประโยชน์ทั้งสองข้อ ดังกล่าวแล้ว คือตัวยีสต์เองมีประโยชน์ต่อ ร่างกายมนุษย์และสัตว์ ในปัจจุบันได้นำยีสต์มาเป็นส่วนผสมของอาหารสัตว์เพื่อประโยชน์ 2 ทางด้วยกัน คือ เป็นแหล่งโปรตีนในรูปของโปรตีนเซลล์เดี่ยว (single cell protein) และอีกแห่งหนึ่งคือเป็นตัวช่วยเสริม

สุขภาพสัตว์ที่เรียกว่า โพรไบโอติก (probiotic) ซึ่งทำให้สัตว์แข็งแรงและมีภูมิคุ้มกันโรคที่สูงขึ้น เชื้อยีสต์ดังกล่าวอาจ มีประโยชน์กับอุตสาหกรรมอาหาร เช่น นำมาใช้ในผลิตภัณฑ์ไวน์จากผลไม้ดังกล่าว ซึ่งมีข้อดีคือ สามารถทนสภาพแวดล้อมในประเทศไทยได้และอาจมีความสำคัญต่อกระบวนการหมักไวน์ (ประดิษฐ์, 2543) โดยมักจะพบยีสต์บางชนิดที่พบในผลไม้ ในลำดับแรกของการหมักให้เกิดแอลกอฮอล์ และอาจจะเป็นสายพันธุ์ที่ให้กลิ่นรสที่ดีกว่าเชื้อยีสต์ที่มีสายพันธุ์จากต่างประเทศได้ ยีสต์ถูกใช้ประโยชน์ในการหมักอาหารและเครื่องดื่มมาตั้งแต่โบราณ และในปัจจุบันถูกยกระดับให้เป็น “microbial cell factory” สำหรับผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ กรดอินทรีย์ เทอร์พีนอยด์ และสารเคมีเฉพาะทาง โดยความก้าวหน้าของเครื่องมือพันธุวิศวกรรม เช่น CRISPR-Cas และ modular cloning ได้ขยายศักยภาพทั้งในยีสต์สายพันธุ์ดั้งเดิมอย่าง *Saccharomyces cerevisiae* และสายพันธุ์ไม่ดั้งเดิม เช่น *Yarrowia lipolytica* และ *Rhodotorula toruloides* (Yook และ Alper, 2025)

2.3 การศึกษาทางชีวโมเลกุล (Molecular study)

การศึกษาชีวโมเลกุลของเชื้อจุลินทรีย์ได้ปฏิวัติวงการจุลชีววิทยา โดยเลื่อนจากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและชีวเคมี (Phenotypic approach) ไปสู่การวิเคราะห์สารพันธุกรรม (Genotypic approach) ซึ่งให้ความละเอียด แม่นยำ และความสามารถในการแยกแยะสายพันธุ์ในระดับที่ลึกกว่ามาก

การวิเคราะห์ทางชีวโมเลกุลเพื่อนำมาศึกษาในด้านต่าง ๆ ดังนี้

- (1) การระบุชนิด (Identification): การจำแนกเชื้อจุลินทรีย์ไปจนถึงระดับสายพันธุ์ (species) หรือแม้แต่ระดับสายพันธุ์ย่อย (strain)
- (2) การหาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ (Phylogenetics): การสร้างแผนภูมิวิวัฒนาการเพื่อทำความเข้าใจที่มาและความเชื่อมโยงระหว่างเชื้อต่างๆ
- (3) การทำนายลักษณะทางหน้าที่ (Functional Prediction): การทำนาย metabolic potential, virulence factors, และ antibiotic resistance genes จากข้อมูลจีโนม
- (4) การศึกษาจุลชีววิทยาสิ่งแวดล้อม (Microbial Ecology): การศึกษาความหลากหลายและโครงสร้างของชุมชนจุลินทรีย์ (Microbiome) ในสิ่งแวดล้อมต่างๆ โดยไม่ต้องเลี้ยงเชื้อ (Culture-independent approach)

การจัดจำแนกสายพันธุ์ยีสต์จากแหล่งธรรมชาติด้วยเทคนิคระดับโมเลกุลได้รับความนิยมกันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากสามารถให้ผลที่แม่นยำ และรวดเร็วเมื่อเทียบกับการจำแนกยีสต์ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาแบบดั้งเดิม การใช้เทคนิค PCR (Polymerase Chain Reaction) ร่วมกับการใช้บริเวณยีนที่มีความจำเพาะเจาะจงสูงในการเพิ่มจำนวนซึ่งจะนิยมใช้บริเวณ Internal Transcribed Spacer (ITS) ได้แก่ ITS1 และ ITS4 ซึ่งเป็นไพรเมอร์สากลที่นิยมใช้ในการเพิ่มปริมาณของ rDNA ที่มีความแปรปรวนสูงเหมาะ

สำหรับการจัดจำแนกชนิดของเชื้อรา และยีสต์ จากงานวิจัยของ Ho et al. (2023) และ Otani et al. (2024) ได้ประยุกต์ใช้ไพรเมอร์ ITS1 และ ITS4 ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากตัวอย่างยีสต์ที่แยกได้จากแหล่งธรรมชาติ เช่น ดิน ป่าไม้ ผลไม้หมัก และแหล่งน้ำ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อจำแนกชนิดของยีสต์ที่มีอยู่ในระบบนิเวศต่าง ๆ ผ่านการวิเคราะห์ลำดับเบสของบริเวณ ITS

2.3.1 การสกัด DNA

การสกัดดีเอ็นเอ (DNA Extraction) เป็นกระบวนการพื้นฐานที่สำคัญที่สุดกระบวนการหนึ่งในอณูชีววิทยา พันธุศาสตร์ และชีววิทยาด้านโอมิกส์ (Omics) เป้าหมายสูงสุดของการสกัดดีเอ็นเอคือการได้มาซึ่งดีเอ็นเอที่มีความบริสุทธิ์ (purity) และความสมบูรณ์ (integrity) ในปริมาณที่เพียงพอสำหรับการวิเคราะห์ downstream ต่างๆ เช่น ปฏิกริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (PCR) การหาลำดับเบส (DNA Sequencing) และการโคลนนิ่ง (Cloning) ประสิทธิภาพและคุณภาพของการวิเคราะห์ในขั้นตอนต่อมัล้วนขึ้นอยู่กับคุณภาพของดีเอ็นเอที่สกัดได้ในขั้นตอนแรกเริ่มนี้ (Ali et al., 2017)

หลักการสำคัญของการสกัดดีเอ็นเอประกอบด้วยสามขั้นตอนหลัก ดังนี้

1. การทำลายเซลล์ (Cell Lysis): การทำลายโครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) และเยื่อหุ้มนิวเคลียส (nuclear membrane) เพื่อปลดปล่อยดีเอ็นเอที่อยู่ภายใน โดยทั่วไปใช้วิธีการทางกายภาพ นิยมใช้ ultrasonic homogenization หรือ grinding ด้วย ส่วนทางเคมี นิยมใช้ detergent อย่างเช่น Sodium Dodecyl Sulfate (SDS) เพื่อละลาย lipid ในเยื่อหุ้มเซลล์ และทางชีวภาพ นิยมใช้ เอนไซม์ proteinase K และ lysozyme เพื่อย่อยโปรตีนและผนังเซลล์ (Green & Sambrook, 2017)

2. การแยกและทำให้บริสุทธิ์ (Separation and Purification): หลังจากดีเอ็นเอถูกปล่อยออกมาแล้ว จะต้องแยกมันออกจากส่วนประกอบอื่นๆ ของเซลล์ เช่น โปรตีน อาร์เอ็นเอ ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต วิธีการดั้งเดิมใช้ สารสกัดฟีนอล-คลอโรฟอร์ม (phenol-chloroform extraction) โดยดีเอ็นเอจะละลายในเฟสน้ำ (aqueous phase) ในขณะที่โปรตีนและ lipids ถูกแยกออกไปในเฟสอินทรีย์ (organic phase) (Green & Sambrook, 2017) ในขณะ่วิธีสมัยใหม่นิยมนำใช้ คอลัมน์ silica-based column chromatography) หลักการ คือ ใน buffer chaotropic concentration สูง (guanidinium thiocyanate) ดีเอ็นเอจะจับกับเมทริกซ์ซิลิกา ขณะที่สิ่งปนเปื้อนถูกล้างออกไป จากนั้นดีเอ็นเอจึงถูกชะออกมาด้วย buffer ที่เป็น ionic strength เช่น น้ำ TE buffer (Tan & Yiap, 2009)

3. การตกตะกอนและการคืนตัว (Precipitation and Rehydration): สำหรับวิธีการใช้ฟีนอล-คลอโรฟอร์ม เมื่อต้องการ concentrate ดีเอ็นเอ มักใช้ ethanol หรือ isopropanol ในการตกตะกอนดีเอ็นเอ ดีเอ็นเอที่ตกตะกอนแล้วจะถูกล้างด้วย ethanol 70% เพื่อเอาเกลือที่ตกค้างออกไป จากนั้นจึงนำไปละลายใน buffer ที่เหมาะสม เช่น Tris-EDTA (TE) buffer หรือน้ำไร้ ions (nuclease-free water)

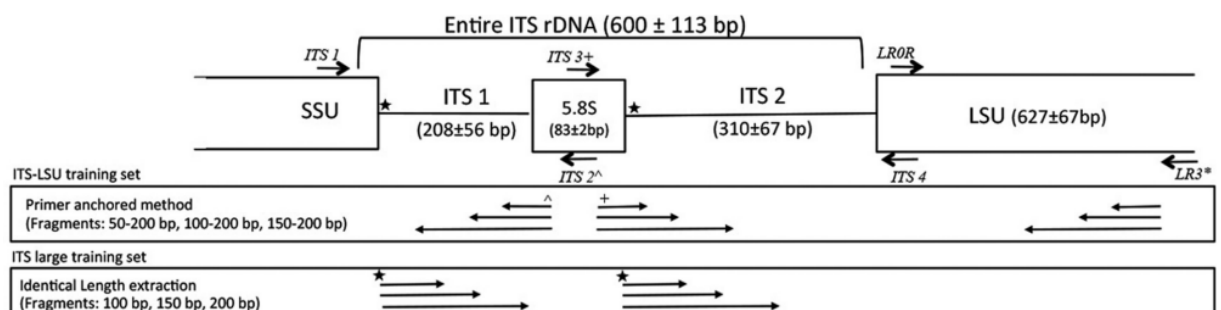
2.3.2 การเพิ่มขึ้นส่วน DNA

1. ไพรเมอร์ ITS (ITS primer)

ไพรเมอร์ ITS เป็นบริเวณยีนที่นำมาใช้ในการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (amplification) ในปฏิกิริยา polymerase Chain Reaction (PCR) โดยเฉพาะการทำจีโนมของตัวอย่าง เมื่อไม่นานมานี้มีการใช้ไพรเมอร์ ITS ในการกำหนดขอบเขตของการจัดจำแนกสายพันธุ์ความหลากหลายของเชื้อราในสิ่งแวดล้อม โดยทั่วไปบริเวณ ITS (ITS1, ITS4, 5S tRNA และ ITS2) จะมีความคล้ายคลึงกันเฉพาะในสกุลเดียวกันเท่านั้น ความยาวของบริเวณยีน ITS จะมีขนาดของยีนที่แตกต่างกันตั้งแต่ระดับวงศ์ขึ้นไป เช่น ยีสต์ *Saacharomycotina* จะมีความแตกต่างของบริเวณ ITS อยู่ระหว่าง 250-980 นิวคลีโอไทด์ ความแตกต่างกันเหล่านี้ไม่ส่งผลต่อการจัดจำแนกชนิดของยีสต์ในระดับ genus หรือ species โดยอาศัยความคล้ายคลึงกันระหว่างสิ่งมีชีวิต

การใช้ไพรเมอร์ ITS1 และ ITS4 เป็นบริเวณเป้าหมาย ITS1-5.8S-ITS2 ซึ่งเป็นบริเวณที่อยู่ระหว่างยีน 18s และ 28s rDNA ซึ่งขนาดของชิ้นส่วน PCR product มีขนาด 600-700 bp การเลือกใช้ไพรเมอร์บริเวณนี้เนื่องจากมีความแปรปรวนระหว่างสายพันธุ์ทำให้สามารถจัดจำแนกสายพันธุ์ของยีสต์ได้อย่างแม่นยำ นอกจากนี้ยังมีลำดับเบสที่อนุรักษ์ในบางตำแหน่งทำให้สามารถนำมาออกแบบเป็นไพรเมอร์สากลที่ใช้ในการดำเนินการจัดจำแนกชนิดของยีสต์

อย่างไรก็ตาม การจัดหมวดหมู่ของสิ่งมีชีวิตในสายวิวัฒนาการนั้นหมายถึงรวมสิ่งมีชีวิตหลาย ๆ วงศ์หรือหลาย ๆ กลุ่มเข้าด้วยกัน อีกปัญหาหนึ่งในการกำหนดจีโนมไทป์ของสายพันธุ์แต่ละสายพันธุ์ก็ค่อนข้างซับซ้อนโดยการใช้ยีนบริเวณ D1/D2 และ ITS เนื่องจากลำดับไรโบโซมมีการอนุรักษ์ในระดับสูงในการจัดจำแนกลักษณะของสายพันธุ์ภายในสปีชีส์เดียวกัน ดังนั้นลักษณะจีโนมไทป์ของสายพันธุ์อาจจะไม่สามารถอ้างอิงเครื่องหมายโมเลกุลเหล่านี้ได้ ในทำนองเดียวกัน บางสายพันธุ์สามารถจำแนกได้ด้วยระดับความคล้ายคลึงกันมากกว่า 99% ที่แสดงให้เห็นว่าลักษณะฟีโนไทป์มีความแตกต่างกัน และมีเปอร์เซ็นต์การไฮบริดโดเซชันระหว่างชิ้นส่วน DNA ต่ำ (Hernandez-Garcia, *et. al.*, 2022) ในงานวิจัยเรื่องนี้สนใจในการนำเอาบริเวณ ITS1/ITS2 มาใช้ในการจัดจำแนกสายพันธุ์ยีสต์จากผลไม้ (ภาพที่ 5)



ภาพที่ 2.4 ตำแหน่งของไพรเมอร์บริเวณ ITS1 และ ITS2 และความยาวของลำดับเบสใน ITS-LSU

ที่มา : (Porras-Alfaro, *et. al.*, 2013).

ในการออกซิไดส์เอทานอลไปเป็นกรดอะซิติกจะทำให้เกิด NADPH_2 ขึ้น 2 โมเลกุล ซึ่งจะถูกนำไปออกซิไดส์กับออกซิเจนในกระบวนการหายใจ ทำให้ได้พลังงานทั้งหมด 6 ATP สำหรับการออกซิไดส์เอทานอลจำนวน 1 โมลจะทำให้เกิดผลผลิตเป็นกรดอะซิติกจำนวน 1 โมล (ภาพที่ 2.7) ดังนั้นถ้าใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ลิตรที่มีปริมาณเอทานอลร้อยละ 12 (v/v) จะทำให้ได้ผลิตภัณฑ์เป็นน้ำส้มสายชูปริมาตร 1 ลิตรที่มีปริมาณกรดอะซิติกร้อยละ 12.4 (w/v)

2.3.3 การตรวจชิ้นส่วน DNA

เมื่อมีการสกัด DNA และทำการเพิ่มจำนวนชิ้นส่วน DNA เป็นที่เรียบร้อยแล้ว ก่อนที่จะนำชิ้นส่วน DNA ไปวิเคราะห์ลำดับเบสของสิ่งมีชีวิต ต้องมีการนำเอาชิ้นส่วน DNA มาตรวจสอบคุณภาพของการสกัด DNA โดยนำมาวิเคราะห์ด้วยการรันเจลในเครื่อง electrophoresis เพื่อแยกชิ้นส่วนของ DNA ของเชื้อยีสต์ที่สกัดได้ว่ามีขนาดชิ้นส่วนปริมาณเท่าใด และมีความบริสุทธิ์เพียงใด

การประเมินคุณภาพและปริมาณของดีเอ็นเอ

หลังการสกัด DNA และการเพิ่มจำนวนชิ้นส่วน DNA จำเป็นต้องประเมินคุณภาพและปริมาณของชิ้นส่วน DNA

- (1) การวัดปริมาณ (Quantification) โดยใช้เครื่อง spectrophotometry (หรือ Nanodrop) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 260 nm เพื่อคำนวณความเข้มข้น และดูอัตราส่วน A_{260}/A_{280} และ A_{260}/A_{230} เพื่อประเมินความบริสุทธิ์ (ค่าที่เหมาะสมควรอยู่ที่ ~ 1.8 และ > 2.0 ตามลำดับ) สำหรับการวิเคราะห์ที่ละเอียดอ่อนอาจจะใช้วิธี NGS, fluorescence-based methods (Qubit assay) ซึ่งมีความจำเพาะต่อดีเอ็นเอสูงกว่าและแม่นยำกว่า
- (2) การประเมินความสมบูรณ์ (Integrity Assessment) จะใช้เทคนิคการตรวจด้วย agarose gel เพื่อทำการตรวจสอบว่าดีเอ็นเอเสื่อมสภาพหรือไม่ โดยดูจาก band ที่ชัดเจนของ genomic DNA (สำหรับตัวอย่างคุณภาพดี) หรือใช้เครื่องมือที่เรียกว่า Agilent Bioanalyzer/Tape-Station สำหรับการวิเคราะห์ที่ให้ข้อมูลเป็น digital (DNA Integrity Number - DIN) ซึ่งสำคัญมากสำหรับการเตรียม library ของ NGS
- (3) การวิเคราะห์ผล PCR product ที่ได้จะถูกนำไปวิเคราะห์หาลำดับเบส (base sequencing) จากบริษัทที่ได้รับความน่าเชื่อถือ เช่น สหรัฐอเมริกา ยุโรป ญี่ปุ่น และเกาหลี
- (4) นำข้อมูลลำดับเบสที่วิเคราะห์ได้มาเปรียบเทียบกับลำดับเบสในฐานข้อมูลที่มีการเก็บรวบรวมแล้วทั่วโลก เช่น UNITE หรือ NCBI หรือ Gen Bank เพื่อระบุหาชนิดของสายพันธุ์ยีสต์ที่คัดแยกได้

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

นิรมล ปัญญาบุษยกุล (2544) ได้ทำการศึกษาการคัดแยกเชื้อจากยีสต์บนผิวเปลือกลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย ในพื้นที่เขตจังหวัด เชียงราย โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อจะทำเอาเชื้อยีสต์ดังกล่าวไปใช้ในการศึกษากระบวนการควบคุม โรคพืชโดยวิธีต่อไป ในการทดลองพบว่าสามารถคัดแยกเชื้อยีสต์ได้เพียง 12 สายพันธุ์ ซึ่งมี ลักษณะของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่คล้ายคลึงกัน คือ มีลักษณะรี กลม หรือ ยาวรี ที่มีขนาด ต่าง ๆ กัน และมีการเจริญพันธุ์แบบแตกหน่อและแบ่งเซลล์เป็นสอง เมื่อเจริญบนอาหารแข็ง YM เชื้อยีสต์ที่ได้มีการสร้างรงควัตถุให้แตกต่างกันไป

ชุติกานุจน์ สิริวัฒนวิมลชัย และคณะ (2556) ศึกษาโดยนำผลไม้ชนิดเปลือกบาง เช่น องุ่น ฝรั่ง ชมพู และอื่นๆ ได้นำมาบดทั้งเปลือกเพื่อคัดแยกยีสต์โดยเลี้ยงบนอาหารสูตร Yeast Peptone Dextrose (YPD) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส การเกิดยีสต์โคโลนีเดียวได้ถูกคัดเลือกเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอล การผลิตสารหอมระเหยและการทำขนมปัง เมื่อหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีสต์ที่คัดเลือกด้วยไพรเมอร์ (TS4 และ TS5 พบว่ายีสต์ที่คัดแยกได้จากผลองุ่นเขียวคือ *Hanseniaspora uvarum*, *Metschikowia pulcherrima* และ *Candida sp.* และยีสต์จากผลฝรั่ง คือ *Cryptococcus flavescens* นอกจากนี้ พบยีสต์ที่ยังไม่ทราบชนิดอีกจำนวน 7 สายพันธุ์ จากคุณลักษณะ ของยีสต์ที่คัดแยกได้ พบว่า *H. uvarum* สามารถผลิตสารหอมระเหยประเภทกลิ่นผลไม้ได้ดีกว่ายีสต์ชนิดอื่น *M. pulcherrima* สามารถผลิตตรงควัตถุสีแดงเมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร YPD และ *H. uvarum* เมื่อทดสอบในการผลิตขนมปัง พบว่าสามารถทำให้ขนมปังมีสีขาว ส่วนการผลิตเอทานอลของยีสต์ทั้ง 4 ชนิด ในอาหารที่มีน้ำตาล 5 เปอร์เซ็นต์กรัมสารตั้งต้น พบว่า *H. uvarum* ให้ปริมาณเอทานอล 2 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร แต่ไม่ทนต่อความเข้มข้นเอทานอลในระหว่างการหมักไม่เกิน 5 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร และยีสต์ทุกสายพันธุ์ที่คัดแยกในงานวิจัยนี้ไม่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิสูงกว่า 37 องศาเซลเซียส บนอาหารสูตร YPD

Ho, T.X.T และคณะ (2023) ได้ทำการศึกษาหาเชื้อยีสต์ที่แยกได้ทั้งหมด 30 ไอโซเลตจากผลไม้ท้องถิ่น ในจังหวัดเถื่อนเทียนเหว ลักษณะทางพันธุกรรมตามลำดับ ITS ที่ระบุไอโซเลตของ 3 สปีชีส์ ได้แก่ *Saccharomyces cerevisiae*, *Lachancea fermentati* และ *Clavispora fructus* โดยมีลำดับคล้ายคลึงกันสูง (มากกว่า 99%) เมื่อ เปรียบเทียบกับลำดับที่เผยแพร่ใน GenBank เชื้อ *S. cerevisiae* ที่แยกได้ทั้งหมดสามารถเจริญเติบโต ได้ดีที่อุณหภูมิ 30°C และหมักน้ำตาลหลายชนิด รวมถึงฟรุคโตส, กาแลคโตส, ซูโครส, แมนโนส, มอลโตส และราฟฟิโนสด้วยประสิทธิภาพที่แตกต่างกัน แต่ถูกยับยั้งที่อุณหภูมิสูงกว่า 35°C สายพันธุ์ ยังเจริญเติบโตได้ดีในตัวอย่างที่ประกอบด้วยเอทานอล 5% (ปริมาตร/ปริมาตร) และกลูโคส 200 กรัม/ลิตร แต่ความสามารถในการเจริญเติบโตลดลงที่น้อยเมื่อความเข้มข้นของเอทานอล และกลูโคสเพิ่มขึ้น สิ่งที่น่าสนใจคือ สายพันธุ์ D14 สามารถเจริญเติบโตในตัวอย่างที่เสริม ด้วยเอทานอล 12% และกลูโคส 500 กรัม/ลิตรที่ 45°C ในขณะที่สายพันธุ์ D7 สามารถใช้ทั้งแมนนิทอลและกลีเซอรอลได้ในระดับต่ำ ผลลัพธ์ของเราจึงระบุว่าบางสายพันธุ์มีประสิทธิภาพในการตกตะกอน ค่อนข้างสูง ซึ่งเป็นเงื่อนไขที่

เอื้ออำนวยต่อการหมักเบียร์และการนำชีวมวลกลับมาใช้ใหม่ ยีสต์สายพันธุ์ที่ แยกได้ซึ่งมีคุณสมบัติความทนทานที่ดีอาจเป็นแหล่งวัตถุดิบที่มีคุณค่าสำหรับ การใช้งานในการผลิตเครื่องดื่มและการแปรรูปอาหาร

วรรณิสา ปันสุข และคณะ (2024) ศึกษาการแยกเชื้อและคัดเลือกเชื้อยีสต์จากตัวอย่างดิน และวัสดุชนิดต่าง ๆ ในพื้นที่โรงงานอุตสาหกรรมน้ำมันปาล์ม พบว่าเชื้อสายพันธุ์ SLP27 สามารถผลิตเอนไซม์ไลเปสได้มากที่สุด โดยอาศัยกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสเท่ากับ 0.28 หน่วย/มล. ซึ่ง 1 หน่วยของเอนไซม์ คือ ปริมาณเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายพาราไนโตรฟีนอลให้กลายเป็นพาราไนโตรฟีนอล 1 ไมโครโมลต่อนาทีที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส จากนั้นนำมาฉายพันธุ์ด้วยการฉายรังสีอัลตราไวโอเล็ต เป็นเวลา 38 วินาทีตามด้วยสารเอทิลมีเทนซัลโฟเนต เป็นเวลา 58 นาที และการฉายพันธุ์ด้วยรังสีแกมมาด้วยความเข้มข้น 2 กิโลเกรย์ ได้เชื้อสายพันธุ์ UV79, EM107 และ GAM47 มีกิจกรรมเอนไซม์ไลเปสสูงสุดเท่ากับ 0.30, 0.36 และ 0.70 หน่วย/มล. ตามลำดับ เมื่อนำเอนไซม์ไลเปสจากเชื้อสายพันธุ์ GAM47 มาทดสอบการเร่งปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันเพื่อผลิตไบโอดีเซล พบว่าสามารถเร่งปฏิกิริยาเพื่อการผลิตไบโอดีเซลได้ และผลการจัดจำแนกชนิดเชื้อยีสต์สายพันธุ์ที่คัดเลือกในระดับสปีชีส์ด้วยวิธี D1/D2 domain of 26S ribosomal RNA sequence ซึ่งสามารถระบุชนิดของยีสต์ชนิดนี้ได้ คือ *Candida orthopsilosis*

Komatsuzaki, และคณะ (2016) ศึกษาการลักษณะของเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* หรือ wild yeast ที่แยกได้จากผลไม้และฮิวส์ และนำมาใช้ในการผลิตขนมปัง โดยใช้โคลนนิ่งของเซลล์ยีสต์มาทำ PCR ความสามารถในการย่อยคาร์โบไฮเดรต และลำดับ 18S rRNA จากตัวอย่าง 70 ตัวอย่าง มีอยู่ 7 สายพันธุ์ ระบุว่าเป็น *Saccharomyces cerevisiae* ความสามารถในการผลิตเอทานอล และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จากสายพันธุ์ยีสต์ 10-2 จะให้ผลผลิตมากที่สุดเมื่อเทียบกับสายพันธุ์อื่น ๆ ค่าความเป็นกรด-ด่าง และการใช้น้ำตาลกลูโคสของสายพันธุ์ทั้งหมด มีค่าเท่ากับ 3.00-3.60 และ 99.99% ตามลำดับ ปริมาณกรดทั้งหมดของสายพันธุ์ 9-3 มีค่ามากที่สุด (82.7 mg/100 mL) เมื่อเทียบกับอีก 7 สายพันธุ์ ปริมาณกรดอะซิติกของสายพันธุ์ 9-3 และ 10-2 มี 56.8 mg/100 mL และ 56.3 mg/100 mL ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสายพันธุ์ 9-3 และ 10-2 ที่แยกได้จากผลไม้มีความเหมาะสมในการนำมาใช้ในกระบวนการหมักขนมปัง

Otani และคณะ (2024) ศึกษาการระบุชนิด และคุณลักษณะของสปีชีส์ยีสต์ที่คัดแยกมาจากผลไม้ *Cornus kousa* ในประเทศญี่ปุ่น ผลไม้ที่มีลักษณะสุก และเน่าเสียที่ร่วงตกลงพื้นตามธรรมชาติ ถูกเก็บนำมาบ่มในอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วนำมา spread plate เพื่อให้จุลินทรีย์เจริญเติบโตเป็นโคโลนี การตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาแสดงให้เห็นว่าโคโลนีมีลักษณะแตกต่างกัน 3 แบบ โดย 2 โคโลนีมาจากผลไม้สุก และอีก 1 โคโลนีได้จากผลไม้เน่า เมื่อนำมาวิเคราะห์ด้วยวิธี internal transcribed spacer 1 บริเวณสามารถบ่งชี้ชนิดของยีสต์จากโคโลนีทั้ง 3 แบบ เป็นเชื้อยีสต์ *Torulaspora delbrueckii* และ *Pichia kluyveri* จากผลไม้สุก และ *Saccharomyces cerevisiae* จากผลไม้เน่า คุณลักษณะทางเมแทบอลิซึมของยีสต์ทั้ง 3 ชนิด พบว่ามีประสิทธิภาพในการใช้น้ำตาลกลูคอส และมีความสามารถในการผลิตแอลกอฮอล์ได้ *S. cerevisiae* มีความทนทานต่อกระบวนการหมัก และมีอัตราการเจริญเติบโตสูง

Abd Al Halim, Hemeda และ Serag (2024) ได้ทำการศึกษาความหลากหลายของยีสต์จากแหล่งธรรมชาติ โดยเก็บตัวอย่างจากผลไม้และสิ่งแวดล้อมที่มีความหลากหลายทางชีวภาพ โดยศึกษาการคัดแยก การจัดจำแนก การวิเคราะห์ทางสัณฐานวิทยา และชีวเคมีร่วมกับการทดสอบความสามารถในการผลิตเอนไซม์ พบว่าสายพันธุ์ยีสต์ที่สามารถผลิตเอนไซม์หลายชนิด เช่น อะไมเลส โปรตีเอส และเซลลูเลส ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายสารชีวโมเลกุล

Jayamma และคณะ (2022) ได้ทำการแยกและจำแนกสายพันธุ์ยีสต์ที่ทนต่อความร้อน (thermotolerant yeasts) จากเศษผลไม้หลากหลายชนิดตามธรรมชาติ ศึกษาการเพาะเลี้ยงและจำแนกสายพันธุ์ยีสต์ด้วยการทดสอบสัณฐานวิทยาและชีวเคมี รวมถึงการทดสอบความทนทานต่ออุณหภูมิสูง พบสายพันธุ์ยีสต์หลายชนิดที่สามารถเจริญเติบโตได้ดีในสภาวะอุณหภูมิสูง และยังคงรักษาความสามารถในการหมักน้ำตาล

Kurtzman และ Boekhout (2020) ศึกษาความหลากหลายและอนุกรมวิธานของยีสต์ ศึกษาการจัดจำแนกสายพันธุ์ การปรับปรุงระบบอนุกรมวิธานสมัยใหม่ และการเชื่อมโยงข้อมูลทางสัณฐานวิทยา ชีวเคมี และจีโนมิกส์เพื่อสร้างความเข้าใจที่แม่นยำยิ่งขึ้นเกี่ยวกับความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของยีสต์ งานวิจัยนี้ยังได้ชี้ให้เห็นถึงบทบาทสำคัญของยีสต์ในระบบนิเวศและการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เครื่องดื่ม และชีวเทคโนโลยี

Nathaniel และคณะ (2025) ได้ทำการแยกและวิเคราะห์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* จากผลไม้ท้องถิ่นในภูมิภาคต่าง ๆ ของไนจีเรียที่คัดเลือกมา โดยศึกษาการเพาะเลี้ยงและจำแนกสายพันธุ์ยีสต์ พร้อมการวิเคราะห์องค์ประกอบทางโภชนาการ เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน และแร่ธาตุ พบว่ายีสต์ที่แยกได้มีองค์ประกอบทางโภชนาการที่หลากหลาย โดยเฉพาะโปรตีนและวิตามินที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ ซึ่งสะท้อนถึงศักยภาพในการใช้เป็นอาหารเสริมและการประยุกต์ในอุตสาหกรรมอาหาร

Nielsen และ Keasling (2021) ได้ศึกษาการใช้ยีสต์เป็น microbial cell factory สำหรับการผลิตสารเคมีที่มีมูลค่าสูง โดยเฉพาะกลุ่ม โอเลโอเคมีคัล (oleochemicals) โดยศึกษาการปรับแต่งเส้นทางเมตาบอลิซึม (metabolic engineering), synthetic biology และการใช้เครื่องมือพันธุวิศวกรรมสมัยใหม่ พบว่ายีสต์สามารถผลิตสารเคมี เช่น กรดไขมัน แอลกอฮอล์ และสารประกอบชีวโมเลกุลอื่น ๆ ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้นเมื่อใช้การออกแบบเส้นทางชีวสังเคราะห์ที่เหมาะสมและงานวิจัยนี้เน้นการออกแบบและปรับปรุงเส้นทางเมตาบอลิซึมของ *Saccharomyces cerevisiae* และยีสต์ชนิดอื่น ๆ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตสารชีวโมเลกุลจากวัตถุดิบชีวภาพ

Tesfaye, Tefera และ Muleta (2025) ได้ทำการศึกษาการแยกและประเมินความสามารถของยีสต์สายพันธุ์ธรรมชาติที่สกัดจากผลไม้ซึ่งเก็บจากตลาดท้องถิ่น โดยมุ่งเน้นการตรวจสอบศักยภาพของยีสต์เหล่านี้ในการทำให้แป้งฟู (bread-leavening ability) อันเป็นคุณสมบัติสำคัญในอุตสาหกรรมเบเกอรี่ ผลการวิจัยพบว่า ยีสต์ที่แยกได้มีความหลากหลายทั้งทางสัณฐานวิทยาและชีวเคมี โดยบางสายพันธุ์สามารถทำให้แป้งฟูได้ใกล้เคียงกับ *Saccharomyces cerevisiae* ซึ่งเป็นสายพันธุ์มาตรฐานที่ใช้ในเชิงอุตสาหกรรม การค้นพบนี้

สะท้อนถึงศักยภาพของยีสต์จากผลไม้ท้องถิ่นในการนำไปใช้เป็นทางเลือกใหม่ในกระบวนการผลิตอาหารหมัก โดยเฉพาะในผลิตภัณฑ์เบเกอรี่และอาหารที่ต้องการการเจริญเติบโตของยีสต์เพื่อสร้างเนื้อสัมผัสและรสชาติที่เหมาะสม

Yook และ Alper (2025) ศึกษาการพัฒนาวิธีการทางพันธุวิศวกรรมเพื่อปรับปรุงสายพันธุ์ยีสต์ โดยการแก้ไขยีนด้วย CRISPR-Cas, การออกแบบ metabolic pathways และการใช้ synthetic biology พบว่ายีสต์หลายสายพันธุ์สามารถถูกปรับแต่งให้ผลิตสารเคมีได้ในปริมาณสูงขึ้นและมีความเสถียรมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการดั้งเดิม

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 วัตถุดิบ

ผลไม้ท้องถิ่น 5 ชนิด ได้แก่ กล้วย อ้อย 2 สายพันธุ์ ส้ม และอินพาลัม

3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

3.5.1 สูตรอาหาร Potato dextrose agar (PDA)

3.5.2 สูตรอาหาร Plate count agar (PCA)

3.5.3 สูตรอาหาร Nutrient agar (NA)

3.3 ไพรเมอร์

3.6.1 ITS1 (5'-CAAGGTTTCCGTAGGTGAAC-3')

3.6.2 ITS4 (5'-CGGGTACTCCTACCTGATTT-3')

3.4 วิธีการทดลอง

ในการทดลองการแยกและจัดจำแนกยีสต์จากผลไม้ที่เหลือทิ้งในท้องถิ่นเพื่อเป็นฐานข้อมูลทางทรัพยากรชีวภาพสู่การพัฒนาเศรษฐกิจฐานชีวภาพของชุมชน และแนวทางการนำมาใช้ประโยชน์ ในการศึกษาครั้งนี้จะดำเนินการวิจัยเป็น 8 ขั้นตอน คือ

ตอนที่ 1 การเตรียมตัวอย่าง

ตอนที่ 2 การแยกสายพันธุ์ยีสต์จากผลไม้เหลือทิ้ง

ตอนที่ 3 ศึกษาลักษณะรูปร่างทางสัณฐานวิทยาของโคโลนีเชื้อยีสต์ที่คัดแยกได้

ตอนที่ 4 การสังเกตลักษณะทางสัณฐานวิทยาของยีสต์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

ตอนที่ 5 การจัดจำแนกสายพันธุ์ยีสต์ด้วยเทคนิคอนุกรมวิธานระดับโมเลกุล

ตอนที่ 6 ศึกษาความสามารถในการทนร้อนของเชื้อที่คัดเลือกได้ที่สภาวะต่าง ๆ

ตอนที่ 7 การวิเคราะห์ข้อมูล

ตอนที่ 1 การเตรียมตัวอย่างผลไม้

ทำการเก็บตัวอย่างผลไม้ที่ตกเกรดจากตลาดในท้องถิ่น จังหวัดเพชรบูรณ์ โดยตัวอย่างที่นำมาใช้ในการทดลองมี 5 ชนิด ได้แก่ ส้ม มะขาม อินพาลัม อ้อย และกล้วย นำตัวอย่างผลไม้มาล้างทำความสะอาด ปอกเปลือกออก และเก็บไว้ในถุงพลาสติกหุ้มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (30-35 องศาเซลเซียส) เป็น

เวลา 36 ชั่วโมง เมื่อผลไม้เน่าจะมีลักษณะเละ เยิ้ม และมีกลิ่นหมัก รอนำมาทำการเลี้ยงเชื้อเพื่อคัดเลือกเชื้อยีสต์ต่อไป

ตอนที่ 2 การแยกสายพันธุ์ยีสต์จากผลไม้ที่เหลือทิ้ง (Yeast isolation from residue fruits)

การคัดเลือกเชื้อยีสต์ทำตามวิธีของ Nguyen *et al.*, (2020) ชั่งตัวอย่างผลไม้ที่หมักแล้วมา 40 กรัม ผสมกับสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.85% ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ให้เข้ากัน แล้วนำมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 1 นาที และเทส่วนของสารละลายส่วนใส (supernatant) ที่ใส่นำตะกอนมาละลายในอาหารเหลว YEPD (1% yeast extract, 1% peptone และ 2% dextrose) แล้วทำการเจือจางตัวอย่าง หลังจากนั้นนำสารแขวนลอย 100 ไมโครลิตร ใส่บนผิวหน้าของอาหารแข็ง YEPDA (YEPD เติม 1.5% agar, 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ampicillin และ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร chloramphenicol) ด้วยเทคนิค spread plate นำจานเพาะเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส 24-48 ชั่วโมง

ตอนที่ 3 ศึกษาลักษณะรูปร่างทางสัณฐานวิทยาของโคโลนีเชื้อยีสต์ที่คัดแยกได้

การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาเบื้องต้นของเชื้อยีสต์อ้างอิงถึงวิธีของ ชูติมา แก้วกระจาย และ อานนท์ ทวีทรัพย์ (2560) และการจัดหมวดหมู่ตามวิธีของ Kurtzman *et al.*, (2011) โดยคัดเลือกเชื้อยีสต์ที่เลี้ยงบนอาหารแข็ง YEPDA มาศึกษาลักษณะโคโลนีที่เจริญบนอาหารแข็ง รูปร่าง ขนาด สี ขอบ ความนูนของโคโลนี และดูรูปร่างของเซลล์ (ภาคผนวก) และทำการบันทึกภาพ

หลังจากนั้นนำโคโลนีที่คัดเลือกมาเลี้ยงในอาหารเหลว YEPD แล้วรอนำมาจัดจำแนกสายพันธุ์ยีสต์ด้วยเทคนิคอนุกรมวิธานระดับโมเลกุลในขั้นตอนต่อไป

ตอนที่ 4 การสังเกตลักษณะทางสัณฐานวิทยาของยีสต์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

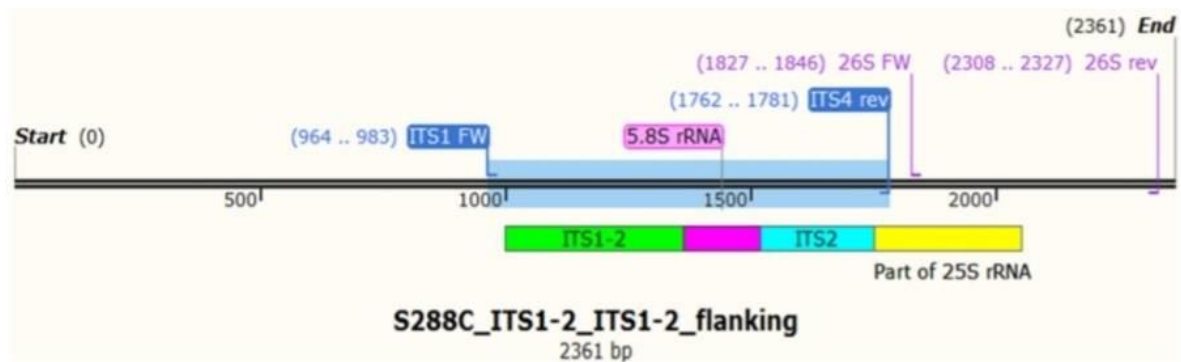
การศึกษาลักษณะ และการจัดเรียงตัวของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ อ้างอิงวิธีของ Mamun. *et al.*, (2022) และ Umeh, *et al.*, (2019) โดยทำการเชื้อโคโลนียีสต์ที่แยกได้บนอาหารแข็ง YEPDA 1 ลูกบาศก์ ลงบนสไลด์ หยดน้ำกลั่นบนตัวอย่าง แล้วสเมียร์ตัวอย่างจนแห้ง นำไปย้อมสีด้วยสีย้อมเมธิลีน บลู (methylene blue) ทำให้แห้ง แล้วนำส่องดูลักษณะของเซลล์ยีสต์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงที่กำลังขยาย 100 เท่า

ตอนที่ 5 การจัดจำแนกสายพันธุ์ยีสต์ด้วยเทคนิคอนุกรมวิธานระดับโมเลกุล

ก. การสกัด DNA (DNA extraction)

การจำแนกสายพันธุ์ยีสต์ด้วยเทคนิคระดับโมเลกุลโดยการสกัด DNA ดัดแปลงวิธีของ Ho, *et al.*, 2023 เลือกโคโลนีเดี่ยวที่มีลักษณะคล้ายยีสต์จากอาหารแข็ง YEPDA ปริมาณ 1 ลูกบาศก์ มาเลี้ยงในอาหารเหลว YEPD ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำมาเขย่าที่ความเร็วรอบ 160 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 ชั่วโมง เก็บเซลล์โดยนำสารละลายแขวนลอยมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที เทสารละลายทิ้ง นำตะกอนเซลล์มาละลายกลับ (resuspension) ใน

สารละลายบัฟเฟอร์ ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ที่ประกอบด้วย 2% Triton x-100, 1% SDS, 100 mM NaCl, 10 mM Tris-HCl และ 1 mM EDTA นำสารละลายเซลล์แขวนลอยมาแช่ตู้ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำมาต้มใน water bath ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำมาเขย่าให้สารละลายเซลล์แขวนลอยเข้ากันเป็นเวลา 30 วินาที ทำซ้ำในขั้นตอนนี้ เติมสารละลายฟีนอล คลอโรฟอร์มลงในสารละลายตัวอย่าง ปริมาตร 200 ไมโครลิตร และนำสารละลายเซลล์มาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที เก็บสารละลายใสด้านบนลงในหลอด enppendorf และทิ้งตะกอนเซลล์ส่วนด้านล่าง เติมเอทานอล 95% ปริมาตร 400 ไมโครลิตร แล้วนำสารละลายเซลล์มาแช่ตู้ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นนำสารละลายเซลล์มาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ล้างตะกอนเซลล์ตัวอย่างด้วยเอทานอล 70% ที่แช่เย็นจัด ปริมาตร 0.5 มิลลิตร จำนวน 2 ครั้ง และตากตะกอนเซลล์ตัวอย่างให้แห้ง (สังเกตเห็นจะคอนเป็นเงา ๆ) แล้วจึงทำการเติม Ultra-pure water และทำการเก็บสารละลายเซลล์ตัวอย่างในตู้ -20 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 3.1 ลำดับเบสของส่วน Internal Transcribed Spacer (ITS) ได้แก่ ITS1 และ ITS2
ที่มา: Xuan Tuy, *et al.*, 2023

ข. การเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอ (DNA amplification)

การเพิ่มปริมาณชิ้นส่วน DNA ด้วยเทคนิค PCR โดยทำตามขั้นตอนของวิธี Ho, *et al.*, (2023) และ Otani, *et al.*, (2024)

ดีเอ็นเอจีโนมที่สกัดได้จากสายพันธุ์ยีสต์ถูกนำมาเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนบริเวณ Internal Transcribed Spacer (ITS) ด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) โดยปรับใช้ตามวิธีของ Ho และคณะ (2023) และ Otani และคณะ (2024) ซึ่งบริเวณ ITS เป็นบริเวณที่มีความแปรปรวนสูง เหมาะสำหรับการจำแนกชนิดของเชื้อราและยีสต์ในระดับสายพันธุ์

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอใช้ไพรเมอร์ ITS1 (5'-CAAGGTTTCCGTAGGTGAAC-3') และ ITS4 (5'-CGGGTACTCCTACCTGATTT-3') ซึ่งครอบคลุมบริเวณ 5.8S rDNA โดยส่วนผสมของปฏิกิริยา PCR ในปริมาตรรวม 25 ไมโครลิตร ประกอบด้วย

- (1) บัฟเฟอร์ PCR ความเข้มข้น 1×
- (2) แมกนีเซียมคลอไรด์ ($MgCl_2$) ความเข้มข้น 2.0 mM
- (3) dNTPs ความเข้มข้น 0.2 mM
- (4) ไพรเมอร์แต่ละตัวความเข้มข้น 0.5 μM
- (5) เอนไซม์ Taq DNA polymerase ปริมาณ 1.25 ยูนิต
- (6) ดีเอ็นเอแม่แบบ ปริมาณ 50 นาโนกรัม

การทำปฏิกิริยาในเครื่อง Thermal Cycler ประกอบด้วย

- (1) การแยกสายดีเอ็นเอเริ่มต้นที่อุณหภูมิ 95°C เป็นเวลา 5 นาที
- (2) ตามด้วย 35 รอบของการทำปฏิกิริยา โดยแต่ละรอบประกอบด้วย
- (3) การแยกสายที่ 95°C เป็นเวลา 30 วินาที
- (4) การจับคู่ไพรเมอร์ที่ 55°C เป็นเวลา 30 วินาที
- (5) การยืดสายดีเอ็นเอที่ 72°C เป็นเวลา 1 นาที
- (6) การยืดสายสุดท้ายที่ 72°C เป็นเวลา 7 นาที

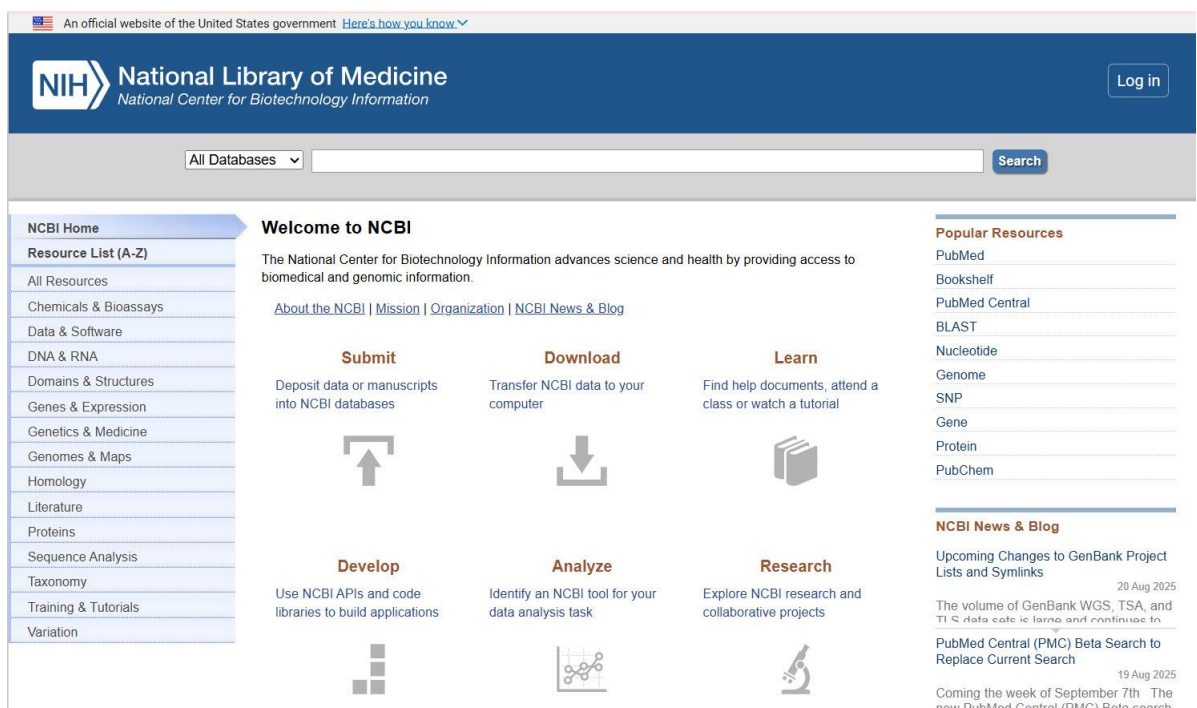
PCR Product จะถูกตรวจสอบด้วยการรันบนเจลอะกาโรส 1.5% ที่ย้อมด้วย ethidium bromide และดูภาพภายใต้แสง UV โดยชิ้นส่วนที่ได้มีขนาดประมาณ 600–750 bp จากนั้นนำไปทำการทำบริสุทธิ์และส่งตรวจลำดับเบสเพื่อใช้ในการจำแนกสายพันธุ์

ค. การทำให้ดีเอ็นเอบริสุทธิ์ (DNA purification)

- (1) การตกตะกอนดีเอ็นเอ
 - 1.1) เติม FADF Buffer ผสมกับตัวอย่าง DNA อัตราส่วน 1:5
 - 1.2) เทส่วนผสมลงใน FavorPrepTM Column และปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที
 - 1.3) เทสารละลายส่วนบนออกและนำคอลัมน์ไปวางในหลอดใหม่
- (2) การล้างดีเอ็นเอ
 - 2.1) เติม wash Buffer 750 ไมโครลิตรลงในคอลัมน์ และปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที
 - 2.2) เทสารละลายส่วนบนออกและนำคอลัมน์ไปวางในหลอดใหม่
- (3) การทำให้ดีเอ็นเอแห้ง

- 3.1) ปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 3.5 นาที เพื่อกำจัดสารตกค้าง
- 3.2) นำคอลัมน์ออกและปล่อยให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง
- 3.3) ย้าย Column ใส่ในหลอด 1.5 มิลลิลิตร หลอดใหม่
- (4) การละลายและเก็บดีเอ็นเอบริสุทธิ์
 - 4.1) เติมน้ำ Elution ลงตรงกลาง Column ปริมาตร 30-50 ไมโครลิตร ลงไปที่เยื่อกรอง
 - 4.2) บ่มที่อุณหภูมิห้อง 2-5 นาที เพื่อให้ดีเอ็นเอหลุดจากเยื่อกรอง
 - 4.3) ปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 3.5 นาที
 - 4.4) เก็บสารละลายดีเอ็นเอบริสุทธิ์ไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส
- ง. การระบุชนิดของสายพันธุ์ยีสต์ (Yeast identification)

เมื่อทำการเพิ่มจำนวนชิ้นส่วน DNA แล้ว ตรวจสอบคุณภาพของชิ้นส่วน DNA จะนำชิ้นส่วน DNA ไปวิเคราะห์หาลำดับเบส แล้วนำข้อมูลที่วิเคราะห์ได้ไปเปรียบเทียบหาชนิดของสายพันธุ์ยีสต์จากฐานข้อมูล NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)



ภาพที่ 3.2 ฐานข้อมูล NCBI ในการระบุชนิดของสายพันธุ์ยีสต์
ที่มา: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

ตอนที่ 6 ศึกษาความสามารถในการทนร้อนของเชื้อที่คัดเลือกได้ที่สภาวะต่าง ๆ

- (1) การศึกษาความทนต่อความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ 3 ความเข้มข้น ได้แก่ 1%, 3% และ 5% ตามวิธีของ Xuan Tuy, *et al.*, 2023

(2) การศึกษาความสามารถในการเจริญเติบโตที่อุณหภูมิต่าง ๆ 3 อุณหภูมิ ได้แก่ 30, 37 และ 40 องศาเซลเซียส ตามวิธีของ Xuan Tuy, *et al.*, 2023

(3) การศึกษาความสามารถในการเจริญเติบโตในแหล่งคาร์บอนต่าง ๆ 3 แหล่ง ได้แก่ glycerol, fructose และ maltose ตามวิธีของ Xuan Tuy, *et al.*, 2023 และ Otani, *et al.*, 2024

ตอนที่ 7 การวิเคราะห์ข้อมูล (Data Analysis)

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design, CRD) ทรีทเมนต์ละ 3 ซ้ำ นำค่าที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ข้อมูล และวิเคราะห์ผลการทดลองโดยใช้สถิติทดสอบเปรียบเทียบความแปรปรวนทางเดียว (One Way Anova) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยโปรแกรม SPSS ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P < 0.05$)

3.5 ระยะเวลา และสถานที่ทำการวิจัย

3.5.1 ระยะเวลาในการทำวิจัย คือ 7 เดือน ตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์ 2568 ถึงสิงหาคม 2568

3.5.2 สถานที่ทำการทดลองและเก็บข้อมูลสำหรับการทดลองนี้ คือ ห้องปฏิบัติการสาขาวิชาชีววิทยา อาคารสิรินธร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

บทที่ 4

ผลการวิจัยและวิจารณ์

จากการทดลองการแยกและจัดจำแนกยีสต์จากผลไม้ที่เหลือทิ้งในท้องถิ่นเพื่อเป็นฐานข้อมูลทางทรัพยากรชีวภาพสู่การพัฒนาเศรษฐกิจฐานชีวภาพของชุมชน และแนวทางการนำมาใช้ประโยชน์ซึ่งมีการวิเคราะห์ผล ดังนี้

4.1 การศึกษาลักษณะรูปร่างทางสัณฐานวิทยาของโคโลนี

จากการศึกษาการแยกไอโซเลตของยีสต์จากผลไม้ชนิดต่าง ๆ พบว่าสามารถแยกไอโซเลตได้ทั้งหมด 14 ตัวอย่าง จากผลไม้ 5 ชนิด ได้แก่ อินทผาลัม ส้ม กล้วย อ้อยสายพันธุ์น้ำผึ้ง และอ้อยสุพรรณ 50 โดย ซึ่งจะแสดงชนิดของผลไม้และจำนวนไอโซเลตที่แยกได้ ข้อมูลแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 แสดงชนิดของผลไม้และจำนวนไอโซเลตที่แยกได้

ชนิดผลไม้	จำนวนไอโซเลต	รหัสตัวอย่าง
อินทผาลัม	2	DP1, DP2
ส้ม	3	OR1, OR2 และ OR3
กล้วย	3	BN1, BN2 และ BN3
อ้อย สายน้ำผึ้ง	3	SH1, SH2 และ SH3
อ้อย สุพรรณ 50	3	SS1, SS2 และ SS3

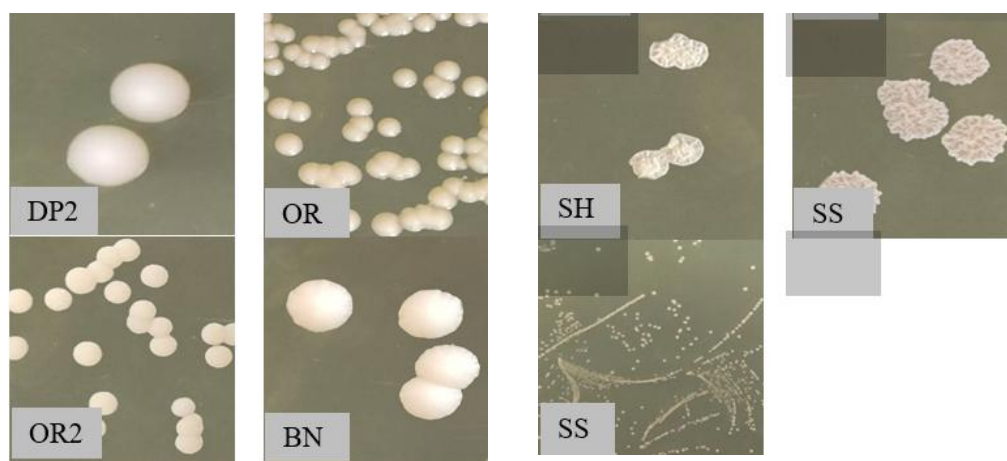
จากตารางที่ 4.1 แสดงให้เห็นว่า ผลไม้จากอินทผาลัม (DP) สามารถคัดแยกเชื้อได้ 2 ไอโซเลต ส่วนตัวอย่างส้ม (OR) กล้วย (BN) อ้อยสายพันธุ์น้ำผึ้ง (SH) และอ้อยสายพันธุ์สุพรรณ 50 (SS) สามารถคัดแยกเชื้อได้ตัวอย่างละ 3 ไอโซเลต จากการนำเอาผลไม้ที่เหลือทิ้งมาคัดแยกโดยการเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ YEPDA ด้วยเทคนิค spread plate นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส 24-48 ชั่วโมง

หลังจากที่ทำการบ่มเชื้อตามระยะเวลาที่กำหนด จะมีโคโลนีเชื้อเกิดขึ้นที่บริเวณผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อจากตัวอย่างผลไม้ทั้ง 5 ชนิด ได้แก่ อินทผาลัม ส้ม กล้วย อ้อยสายพันธุ์น้ำผึ้ง และอ้อยสุพรรณ 50 มาคัดแยกสายพันธุ์ บนอาหาร YEPDA จากการคัดแยกเชื้อยีสต์ได้จำนวน 14 ไอโซเลต แล้วทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาจากโคโลนีของเชื้อยีสต์ซึ่งสามารถแบ่งกลุ่มลักษณะโคโลนีที่มีความจำเพาะได้ 7 กลุ่ม แสดงผลดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ลักษณะทางกายภาพที่มีความจำเพาะของไอโซเลตเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกมาจากผลไม้

กลุ่ม 1	กลุ่ม 2	กลุ่ม 3	กลุ่ม 4	กลุ่ม 5	กลุ่ม 6	กลุ่ม 7
ลักษณะสี ขาว, กลม และพื้นผิว เรียบ	ลักษณะสี ขาวขุ่น, กลมและนูน	ลักษณะสีขุ่น ทึบ, กลม และพื้นผิว เรียบ	ลักษณะสี ขาวขุ่นทึบ, กลมและ พื้นผิวเรียบ	ลักษณะสี ขาวขุ่นทึบ, หยักเป็นเส้น , ทรงปุ่ม	ลักษณะสี ขาวขุ่นทึบ, หยักเป็นเส้น , ทรงปุ่ม	ลักษณะสี ขาวขุ่นทึบ, เป็นเม็ด เล็กๆ
Isolates: DP2	TM1, TM2, TM3, OR1, SH1,	OR2	BN1	SH2	SS1	DP1, Or3, BN2, BN3, SH3, SS2, SS3

ผลการสังเกตนี้สอดคล้องกับรายงานของ Kurtzman *et al.* (2011) ที่ระบุว่ายีสต์สามารถแสดงลักษณะสีที่หลากหลายตั้งแต่สีขาวครีมไปจนถึงสีแทน รวมถึงลักษณะพื้นผิวและขอบโคโลนีที่แตกต่างกัน

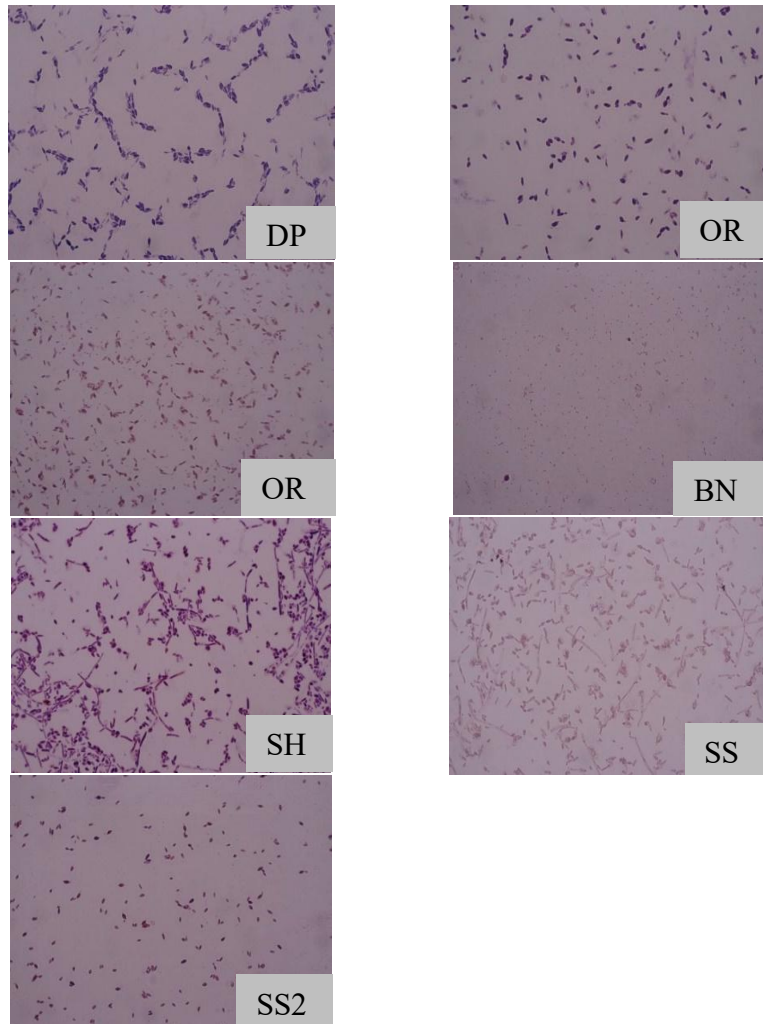


ภาพที่ 4.1 สันฐานวิทยาลักษณะโคโลนีของยีสต์ที่แยกได้แต่ละสายพันธุ์ที่แยกได้ที่มีลักษณะแตกต่างกัน 7 ไอโซเลต (DP2, OR1, OR2, BN1, SH2, SS1, และ SS2)

หมายเหตุ; DP = อินทผลาล้ม OR = ส้ม BN = กล้วย SH = อ้อยสายพันธุ์น้ำผึ้ง SS = อ้อยสายพันธุ์สุพรรณ 50

การศึกษาทางสันฐานวิทยาของโคโลนีและเซลล์ยีสต์ที่แยกได้ แสดงให้เห็นถึงความหลากหลายของลักษณะพื้นผิวและขอบโคโลนี แม้ว่าส่วนใหญ่จะมีสีขาวหรือครีมและรูปร่างกลม ซึ่งสอดคล้องกับคุณสมบัติของยีสต์โดยทั่วไป ความแตกต่างทางสันฐานวิทยาเบื้องต้นนี้เป็นพื้นฐานในการจำแนกกลุ่มยีสต์ที่แตกต่างกัน

นอกจากลักษณะของโคโลนีแล้ว ยังมีการศึกษาทางสัณฐานวิทยาของเซลล์ยีสต์แต่ละสายพันธุ์ที่แยกได้ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (Olympus, กำลังขยาย 100X) เพื่อวิเคราะห์รูปร่างของเซลล์ ซึ่งเป็นข้อมูลเพิ่มเติมที่ช่วยในการจำแนกเบื้องต้นและบ่งชี้ถึงความแตกต่างทางชีวภาพของยีสต์ที่คัดแยกได้

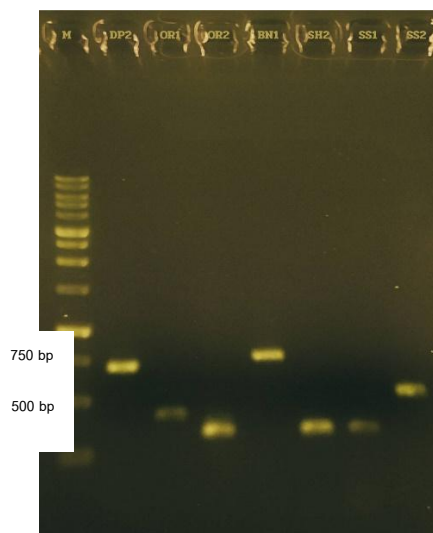


ภาพที่ 4.2 สัณฐานวิทยาลักษณะรูปร่างเซลล์ยีสต์ที่แยกได้แต่ละสายพันธุ์ที่แยกได้ที่มีลักษณะแตกต่างกัน 7 ไอโซเลต

หมายเหตุ; DP = อินทผาลัม OR = ส้ม BN = กล้วย SH = อ้อยสายพันธุ์น้ำผึ้ง SS = อ้อยสายพันธุ์สุพรรณ 50

4.2 การศึกษาการจำแนกชนิดของสายพันธุ์ยีสต์ด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุล

การจำแนกชนิดของยีสต์ที่แยกได้ดำเนินการโดยอาศัยเทคนิคทางอณูชีววิทยา ด้วยการ amplification บริเวณ 5.8S-ITS rDNA ของยีสต์จำนวน 17 ไอโซเลต ผลการทำ PCR และการตรวจสอบด้วย electrophoresis บน 1.2% agarose gel (ภาพที่ 4.3) ยืนยันว่าได้ PCR product ที่มีขนาดอยู่ระหว่าง 370-750 bp ซึ่งเป็นขนาดที่คาดหวังสำหรับยีน 5.8S-ITS rDNA ของยีสต์



ภาพที่ 4.3 ลักษณะ DNA profile ของผลิตภัณฑ์ PCR ของยีสต์ 7 สายพันธุ์บน เจลอะกาโรส 1.2% ด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิส

ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 5.8S-ITS จากยีสต์ที่คัดเลือกมา 7 สายพันธุ์ (DP2, OR1, OR2, BN1, SH2, SS1, SS2) ถูกนำไปวิเคราะห์หาความคล้ายคลึง (sequence homology) กับข้อมูลในฐานข้อมูล GenBank (ตารางที่ 4.3)

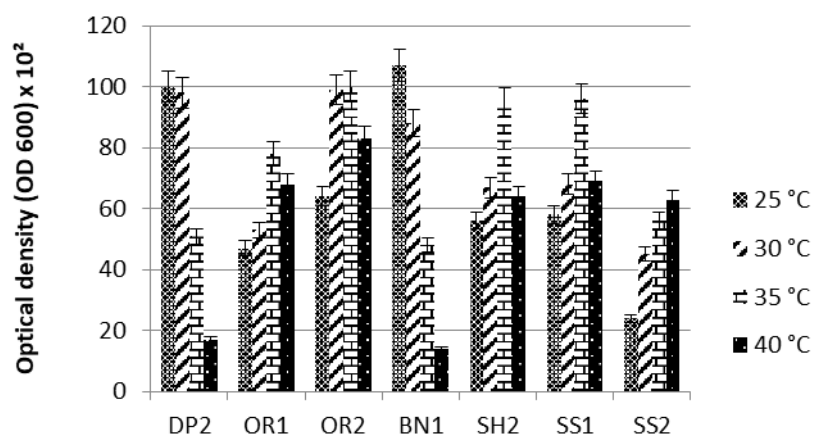
ตารางที่ 4.3 ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มีลักษณะความคล้ายคลึงกับเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล GenBank

รหัสตัวอย่าง	Sequence homology		
	Identity	GenBank ID	Strain description
DP2	87.88	NR_132207	<i>S. cerevisiae</i>
OR1	97.39%	XR_003834618	<i>P. kudriavzevii</i>
OR2	100%	XR_010715658	<i>C. lusitaniae</i>
BN1	99.75	NR_132207	<i>S. cerevisiae</i>
SH2	90.73%	XR_005013741	<i>C. parapsilosis</i>
SS1	90.73%	XR_005013741	<i>C. parapsilosis</i>
SS2	91.42%	XR_001314120	<i>O. parapolymorpha</i>

ผลการจำแนกชนิดด้วยการวิเคราะห์ยีน 5.8S-ITS rDNA (ตารางที่ 4.3) ยืนยันว่าผลไม้เป็นแหล่งอาศัยของยีสต์หลากหลายสปีชีส์ ทั้ง *Saccharomyces cerevisiae* (DP2, BN1) ซึ่งเป็นยีสต์ที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมการหมัก และยีสต์ชนิดอื่น ๆ ที่ไม่ใช่ *Saccharomyces* เช่น *Candida* และ *Ogataea* ซึ่งบ่งชี้ถึงความหลากหลายทางชีวภาพของยีสต์ที่ยังไม่ถูกนำมาใช้ประโยชน์อย่างเต็มที่ การพบ *S. cerevisiae* ในแหล่งธรรมชาติสอดคล้องกับบทบาทของยีสต์ชนิดนี้ในระบบนิเวศของผลไม้และการหมักตามธรรมชาติ

4.3 การศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตของยีสต์แต่ละสายพันธุ์ ในสภาวะที่แตกต่างกัน

(1) ผลการศึกษาความสามารถในการเจริญเติบโตที่อุณหภูมิต่าง ๆ 4 อุณหภูมิ ได้แก่ 25, 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียส



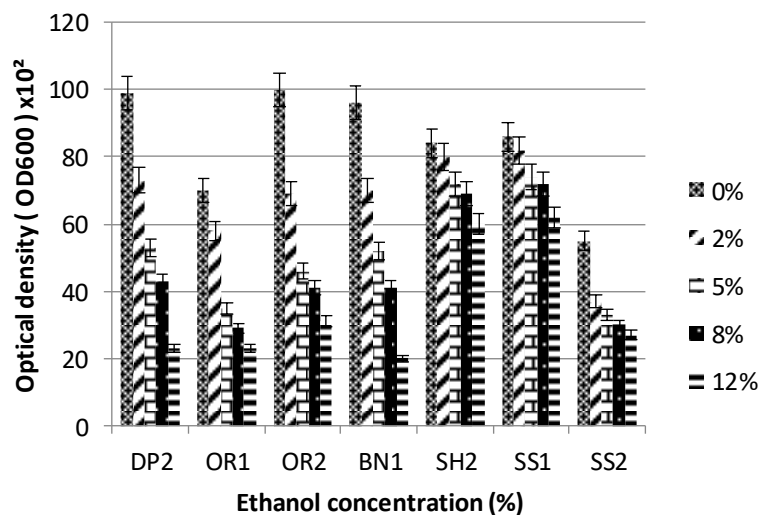
ภาพที่ 4.4 ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงสำหรับการรอดชีวิตของยีสต์ของไอโซเลตที่แยกได้ ณ อุณหภูมิต่าง ๆ

ยีสต์ที่คัดแยกได้จากผลไม้ทั้ง 5 ชนิด สามารถเจริญเติบโตได้ในช่วงอุณหภูมิ 30-35 องศาเซลเซียส โดยมีค่า Optical density (OD_{600}) สูงสุดในกลุ่มนี้ เช่น DP2, Or2, BN1, SH2 และ SS1 ในขณะที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และ 40 องศาเซลเซียส ส่งผลให้การเจริญเติบโตลดลงสำหรับยีสต์ส่วนใหญ่ โดยเฉพาะที่ 40 องศาเซลเซียส ที่พบการยับยั้งการเจริญเติบโตอย่างมีนัยสำคัญในทุกสายพันธุ์ อย่างไรก็ตาม BN1 แสดงการเจริญเติบโตที่ดีค่อนข้างคงที่ในช่วง 25-30 องศาเซลเซียส แสดงถึงช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมที่แตกต่างกันของแต่ละสายพันธุ์

ผลการศึกษาการเจริญเติบโตภายใต้อุณหภูมิที่แตกต่างกัน แสดงให้เห็นว่ายีสต์ส่วนใหญ่มีการเจริญเติบโตที่ดีที่สุดในช่วง 30-35 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสม (optimum

temperature) สำหรับยีสต์หลายชนิด อย่างไรก็ตาม การที่ยีสต์ BN1 มีการเจริญเติบโตที่ดีเยี่ยมที่ 25 องศาเซลเซียส บ่งชี้ว่าสายพันธุ์นี้อาจเหมาะสำหรับกระบวนการหมักในอุณหภูมิต่ำ ซึ่งเป็นที่ต้องการในอุตสาหกรรมบางประเภท (Gibson *et al.*, 2007) การที่การเจริญเติบโตของยีสต์ทุกชนิดลดลงอย่างรุนแรงที่ 40 องศาเซลเซียส เป็นการยืนยันว่าอุณหภูมิที่สูงเกินไปมีผลยับยั้งการทำงานของเซลล์ยีสต์อย่างมีนัยสำคัญ

(2) ผลการศึกษาความสามารถในการเจริญเติบโตที่ความเข้มข้นของเอทานอลระดับต่าง ๆ

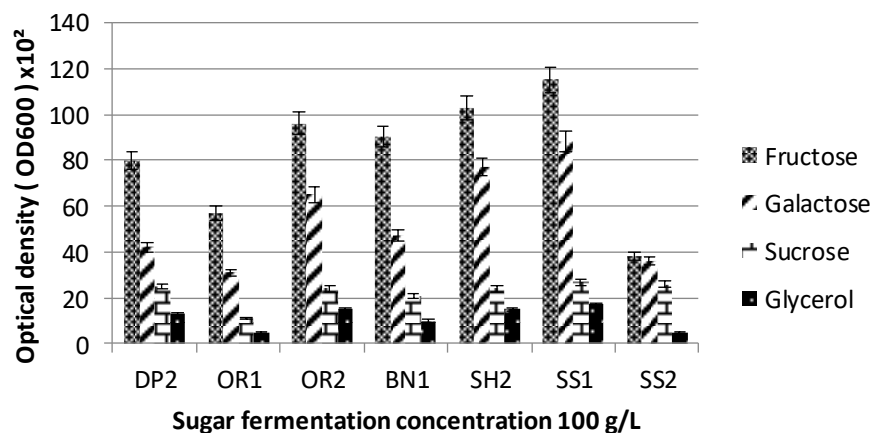


ภาพที่ 4.5 ความทนทานของยีสต์ในแต่ละไอโซเลตที่แยกได้ต่อความเข้มข้นของเอทานอลต่าง ๆ

การเจริญเติบโตของยีสต์ทุกสายพันธุ์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อความเข้มข้นของเอทานอลเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ความเข้มข้น 8% และ 12% เอทานอล อย่างไรก็ตาม บางสายพันธุ์แสดงความทนทานต่อเอทานอลได้ดีกว่ากลุ่มอื่น โดยเฉพาะ DP2 และ BN1 (*S. cerevisiae*) ที่ยังคงมีการเจริญเติบโตได้ในระดับปานกลางที่ความเข้มข้น 5% และ 8% เอทานอล และยังสามารถตรวจพบการเจริญเติบโตได้แม้ที่ 12% เอทานอล ซึ่งบ่งชี้ถึงศักยภาพในการนำไปใช้ในกระบวนการหมักที่ให้ผลผลิตเอทานอลสูง

จากการศึกษาความทนทานต่อเอทานอล มีความสำคัญอย่างยิ่งในการประเมินศักยภาพของยีสต์สำหรับการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์และเอทานอลในปริมาณมาก ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเอทานอลมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์ทุกสายพันธุ์ อย่างไรก็ตาม ยีสต์ DP2 และ BN1 (*S. cerevisiae*) แสดงความทนทานต่อเอทานอลสูงกว่าสายพันธุ์อื่น และยังคงมีการเจริญเติบโตได้แม้ในความเข้มข้น 12% ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่สำคัญของยีสต์หมักที่ดี การคัดเลือกยีสต์ที่ทนทานต่อเอทานอลสูงจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพและผลผลิตในกระบวนการหมัก (Casey and Ingledew, 1986)

(3) ผลการศึกษาความสามารถในการเจริญเติบโตที่ในแหล่งคาร์บอนชนิดต่าง ๆ

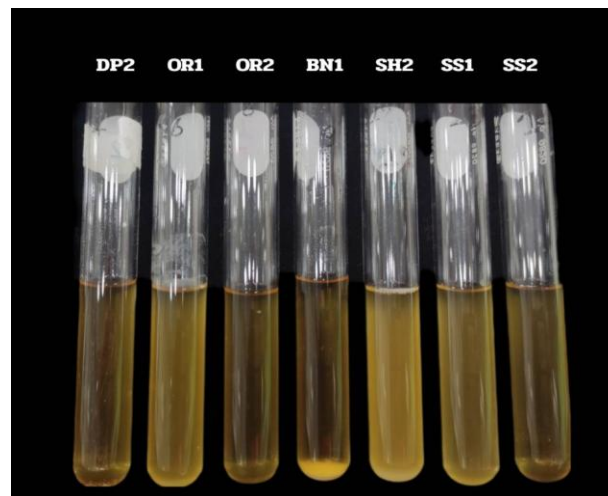


ภาพที่ 4.6 การเจริญเติบโตของยีสต์ในแต่ละไอโซเลตที่แยกได้ต่อแหล่งคาร์บอนชนิดต่าง ๆ

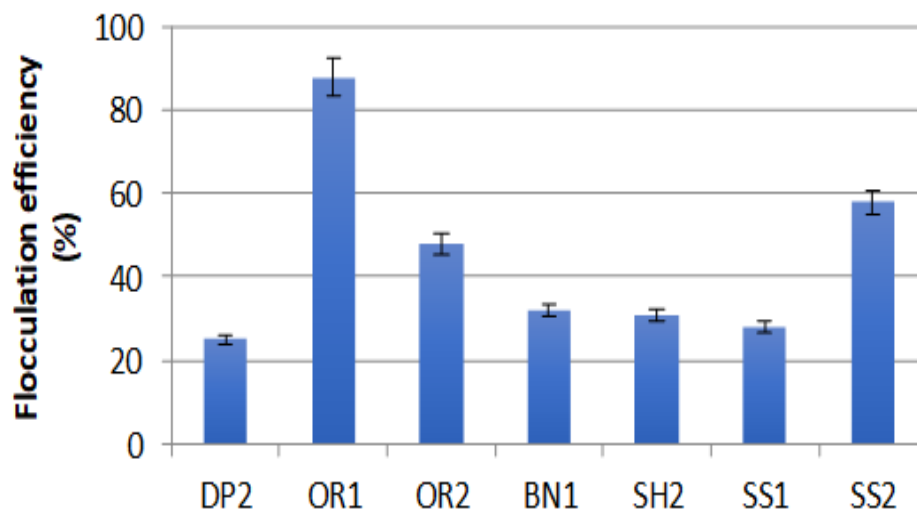
ยีสต์แต่ละสายพันธุ์มีความสามารถในการใช้แหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกัน ซึ่งสะท้อนถึงความหลากหลายทางเมแทบอลิซึม โดยรวมแล้ว Fructose และ Sucrose จะเป็นแหล่งคาร์บอนที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตได้ดีที่สุดสำหรับยีสต์หลายสายพันธุ์ เช่น DP2, OR2, BN1, SH2, SS1 และ SS2 ในขณะที่ Galactose และ Glycerol เป็นแหล่งคาร์บอนที่ถูกใช้ได้น้อยกว่าสำหรับบางสายพันธุ์

ดังนั้นแหล่งคาร์บอนที่เชื้อยีสต์ส่วนใหญ่ใช้เพื่อใช้เป็นแหล่งอาหารสำหรับการเจริญเติบโตพบว่า Fructose และ Sucrose เป็นแหล่งคาร์บอนที่ยีสต์สามารถใช้ได้ดี แสดงให้เห็นถึงความสามารถของยีสต์ในการหมักน้ำตาลหลักที่พบในผลไม้

(4) ผลการศึกษาคุณสมบัติการตกตะกอนของเซลล์ (Flocculation)



ภาพที่ 4.7 ลักษณะของการตกตะกอนของยีสต์ในแต่ละไอโซเลตที่แยกได้



ภาพที่ 4.8 ประสิทธิภาพของการตกตะกอนของยีสต์ในแต่ละไอโซเลตที่แยกได้

ประสิทธิภาพการตกตะกอนของยีสต์มีความแตกต่างกันอย่างมากในแต่ละสายพันธุ์ โดย Or1 (*Ogataea kudriavzevii*) แสดงประสิทธิภาพการตกตะกอนที่โดดเด่นที่สุดสูงถึงประมาณ 85-90% ซึ่งสูงกว่าสายพันธุ์อื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญ รองลงมาคือ SS2 (ประมาณ 58-60%) ในขณะที่ DP2, BN1, SH2, SS1 และ OR2 มีประสิทธิภาพการตกตะกอนอยู่ในระดับต่ำถึงปานกลาง การที่ OR1 มีประสิทธิภาพการตกตะกอนสูงบ่งชี้ถึงศักยภาพในการนำไปใช้ในกระบวนการหมักที่ต้องการการแยกเซลล์ออกได้ง่าย และลดความจำเป็นในการใช้เทคนิคการแยกที่มีราคาแพง

จากการศึกษาคุณสมบัติการตกตะกอนของเซลล์ เป็นปัจจัยสำคัญในการเก็บเกี่ยวเซลล์ยีสต์หลังการหมัก การที่ยีสต์ OR1 (*O. kudriavzevii*) แสดงประสิทธิภาพการตกตะกอนที่สูงที่สุด (85–90%) เป็นคุณสมบัติที่น่าสนใจอย่างยิ่งสำหรับอุตสาหกรรมที่ต้องการการแยกเซลล์อย่างมีประสิทธิภาพ เช่น การผลิตไวน์หรือเบียร์ เนื่องจากช่วยลดต้นทุนและเวลาในการกรองผลิตภัณฑ์ (Verstrepen *et al.*, 2003) ในทางตรงกันข้าม ยีสต์ที่มีประสิทธิภาพการตกตะกอนต่ำอาจเหมาะสมสำหรับการหมักที่ต้องการการกระจายของเซลล์ในสารละลายหรือผลิตภัณฑ์ที่ต้องการยีสต์แขวนลอย

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาการแยกและจัดจำแนกยีสต์จากผลไม้ที่เหลือทิ้งในท้องถิ่นเพื่อเป็นฐานข้อมูลทางทรัพยากรชีวภาพสู่การพัฒนาเศรษฐกิจฐานชีวภาพของชุมชน และแนวทางการนำมาใช้ประโยชน์ โดยทำการเก็บตัวอย่างผลไม้ที่ตกเกรดจากตลาดในท้องถิ่น จังหวัดเพชรบูรณ์ โดยตัวอย่างที่นำมาใช้ในการทดลองมี 5 ชนิด ได้แก่ อินทผลัม ส้ม กล้วย อ้อยสายพันธุ์น้ำผึ้ง และอ้อยสุพรรณ 50 เพื่อนำมาศึกษาคัดแยกเชื้อยีสต์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วทำการจัดจำแนกชนิดของเชื้อยีสต์ด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุล แล้วนำมาระบุชนิดของสายพันธุ์ยีสต์ที่ทำการคัดแยกมาจากผลไม้ที่เหลือทิ้งด้วยฐานข้อมูล NCBI นอกจากนี้ยังศึกษาความทนทานต่อสภาวะแวดล้อมของสายพันธุ์ที่คัดแยกได้ ดังนี้

5.1 การจำแนก และระบุชนิดของยีสต์ (Identification of yeast)

ทำการแยกและจำแนกยีสต์จำนวน 14 ไอโซเลต โดยใช้เทคนิคทางสัณฐานวิทยาของโคโลนีและเซลล์ และยืนยันด้วยการวิเคราะห์ทางอณูชีววิทยาผ่านการหาลำดับเบสของยีน 5.8S-ITS rDNA ผลการจำแนกยืนยันความหลากหลายของยีสต์ที่พบในผลไม้ โดยยีสต์หลัก 7 สายพันธุ์ที่นำมาศึกษาต่อ ได้แก่ DP2, BN1 (*Saccharomyces cerevisiae*), OR1 (*Ogataea kudriavzevii*), OR2 (*Candida lusitanae*), SH2, SS1 (*Candida parapsilosis*), และ SS2 (*Ogataea parapolymorpha*)

5.2 การศึกษาความทนทานของยีสต์ (Yeast tolerance)

5.2.1 การเจริญเติบโตภายใต้สภาวะอุณหภูมิต่าง ๆ

ยีสต์ส่วนใหญ่มีการเจริญเติบโตสูงสุดในช่วง 30–35 องศาเซลเซียส โดยยีสต์ BN1 แสดงการเจริญเติบโตได้ดีในช่วง 25–30 องศาเซลเซียส ซึ่งชี้ให้เห็นถึงความสามารถในการปรับตัวต่ออุณหภูมิที่แตกต่างกันของแต่ละสายพันธุ์ อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์ทุกชนิด

5.2.2 ความทนทานต่อเอทานอล

การเจริญเติบโตของยีสต์ลดลงอย่างชัดเจนเมื่อความเข้มข้นของเอทานอลเพิ่มขึ้น สายพันธุ์ DP2 และ BN1 (*S. cerevisiae*) มีความทนทานต่อเอทานอลสูงกว่าสายพันธุ์อื่น และยังสามารถเจริญเติบโตได้แม้ในความเข้มข้นเอทานอล 12% ซึ่งแสดงถึงศักยภาพในการใช้สำหรับการหมักที่ให้ผลผลิตเอทานอลสูง

5.2.3 ความสามารถในการใช้แหล่งคาร์บอน

Fructose และ Sucrose เป็นแหล่งคาร์บอนที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของยีสต์ส่วนใหญ่ได้ดีกว่า Galactose และ Glycerol ซึ่งบ่งชี้ถึงความหลากหลายของกระบวนการเมแทบอลิซึมในการนำน้ำตาลไปใช้ ประสิทธิภาพการตกตะกอนของเซลล์ (Flocculation)

5.2.4 ความสามารถในการตกตะกอนของเซลล์ยีสต์

ยีสต์ OR1 (*O. kudriavzevii*) มีประสิทธิภาพการตกตะกอนสูงที่สุด (85–90%) ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่สำคัญอย่างยิ่งในการแยกเซลล์ออกจากผลิตภัณฑ์ในกระบวนการหมัก โดยการแยกและจำแนกยีสต์หลากหลายสายพันธุ์จากผลไม้ มีคุณสมบัติทางสรีรวิทยาที่สำคัญของยีสต์แต่ละชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งสายพันธุ์ที่มีคุณสมบัติโดดเด่น เช่น *S. cerevisiae* (DP2, BN1) ที่มีความทนทานต่อเอทานอลสูง และ *O. kudriavzevii* (OR1) ที่มีประสิทธิภาพการตกตะกอนดีเยี่ยม

5.3 ข้อเสนอแนะ

5.3.1 ยีสต์ที่ทนทานต่อเอทานอลสูง (DP2 และ BN1) ควรมีการศึกษาคุณสมบัติการหมัก (Fermentation kinetics) ของยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ DP2 และ BN1 อย่างละเอียดในระดับห้องปฏิบัติการและระดับนําร่อง เพื่อประเมินประสิทธิภาพในการผลิตเอทานอลในปริมาณและอัตราที่สูง ภายใต้สภาวะการหมักที่เลียนแบบอุตสาหกรรม

5.3.2 ยีสต์ที่มีประสิทธิภาพการตกตะกอนสูง (OR1) ควรมีการศึกษาปัจจัยทางพันธุกรรมหรือกลไกที่ควบคุมการตกตะกอนของ *Ogataea kudriavzevii* สายพันธุ์ OR1 เพื่อทำความเข้าใจคุณสมบัติดังกล่าว และพิจารณาการนำไปใช้ในกระบวนการหมักที่ต้องการการเก็บเกี่ยวเซลล์อย่างง่าย เช่น การผลิตเบียร์หรือไวน์

5.3.3 การหมักในอุณหภูมิต่ำ ยีสต์ BN1 ซึ่งมีการเจริญเติบโตที่ดีที่ 25 องศาเซลเซียส มีศักยภาพในการนำไปใช้ในการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ที่ต้องการการหมักในอุณหภูมิต่ำ ซึ่งช่วยรักษากลิ่นรสและคุณภาพของผลิตภัณฑ์

บรรณานุกรม

- กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. (2551). ข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับอ้อย: พืชเศรษฐกิจของประเทศไทย. กรุงเทพฯ: กรมวิชาการเกษตร
- ชุดิภาณูจน์ สิริวัฒนวิมลชัย. (2556). การคัดแยกและคุณลักษณะของยีสต์จากผลไม้เปลือกบางโดยใช้เทคนิค ITS sequencing และการประเมินคุณสมบัติทางสรีรวิทยา. วารสาร Genomics and Genetics, 6(2), 425–432.
- ชุดิภาณูจน์ สิริวัฒนวิมลชัย, ธนัยชนก ร่วมกระโทก, ณัฐพร ชานินาวากุล, วิภาพร โพธิ์จาศีล, และ กมลชัย ชะเอม.(2556). การคัดแยกและคุณลักษณะของยีสต์จากผลไม้และการใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหาร. การประชุมวิชาการพันธุศาสตร์แห่งชาติ ครั้งที่ 18 (NGC2013), หน้า 425–432.
- ธนัยชนก ร่วมกระโทก, ชุดิภาณูจน์ สิริวัฒนวิมลชัย, ณัฐพร ชานินาวากุล, วิภาพร โพธิ์จาศีล, และ กมลชัย ชะเอม.(2556). การคัดแยกและคุณลักษณะของยีสต์จากผลไม้และการใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหาร. วารสารพันธุศาสตร์ไทย, 6(S1), 425–432. การประชุมวิชาการพันธุศาสตร์แห่งชาติ ครั้งที่ 18 (NGC2013)
- นิพนธ์. (2554). การพัฒนาตัวชี้วัดการเน่าเสียของอาหาร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. สืบค้นจาก คลังความรู้ดิจิทัล มก.
- นิรมล ปัญญาบุศยกุล. (2544). การคัดแยกเชื้อยีสต์จากผิวเปลือกลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวยในจังหวัดเชียงรายเพื่อการควบคุมโรคพืช. รายงานวิจัย, ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร, มหาวิทยาลัยบูรพา.
- ประดิษฐ์. (2543). ยีสต์และการหมักไวน์. สืบค้นจาก สุราไทย
- เมตไทย. (2563). 28 สรรพคุณและประโยชน์ของอินทผลัม (อินทผลัม). สืบค้นจาก เว็บไซต์เมตไทย
- วรชา ชำนาญพันธุ์, และคณะ. (2566). การส่งเสริมการผลิตและการเพิ่มมูลค่ามะขามของเกษตรกรในอำเภอนาน้อย จังหวัดน่าน. มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช
- สาวิตรี ลิ้มทอง. (2549). ชีววิทยาของเซลล์. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- สุดาร์ตน์ แซ่โจว. (2555). บทที่ 2 แนวคิด ทฤษฎี และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง. ใน รายงานวิจัยเรื่องการคัดแยกและจำแนกสายพันธุ์ยีสต์จากผลไม้เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร.มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี. สืบค้นจาก เอกสารวิชาการ RBRU
- สุดาร์ตน์ แซ่โจว, & พิมเพ็ญ พรเฉลิมวงศ์. (2560). บทที่ 2 แนวคิด ทฤษฎี และงานวิจัยที่เกี่ยวข้องเกี่ยวกับยีสต์ในอาหาร.ในรายงานวิจัยเรื่องการคัดแยกและจำแนกสายพันธุ์ยีสต์จากผลไม้เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร. มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี. สืบค้นจาก คลังวิจัย RBRU
- สุดสาย ตริวานิช, & วราภา มหากาญจนกุล. (2555). การเน่าเสียของอาหาร. สืบค้นจาก วิชาสอนของอาจารย์เจริญ

- สุรชาติ และ วิชชา. (2543). การลดการเน่าเสียของผลไม้โดยใช้วิธีทางกายภาพและชีวภาพ. กรุงเทพฯ: กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์
- อำนาจ ภักดีโต, สุรพล พหลภาคย์, & สันธิตา ตังคจิวงกูร. (2554). การพิสูจน์เอกลักษณ์และคุณลักษณะของแบคทีเรีย ยีสต์ และราที่แยกจากเนื้อตาลโตนดสุก น้ำตาลสด และน้ำตาลเมาในจังหวัดชัยนาท. มหาวิทยาลัยราชภัฏจันทรเกษม.
- Abd Al Halim, L. R., Hemeda, N. F., & Serag, A. M. (2024). Isolation, characterization, and screening of yeast biodiversity for multi-hydrolytic enzymes. *Journal of Umm Al-Qura University for Applied Sciences*, 10, 474–484.
- Abdel-Banat B, Hoshida H, Ano A, Nonklang S., & Akada R. (2010). High-temperature fermentation: how can processes for ethanol production at high temperatures become superior to the traditional process using mesophilic yeast. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 85(4). 861-7.
- Akhter, J., Ali, M. R., Talukder, F., & Sayem, S. M. (2025). Agricultural adaptation actions to address climate change in the coastal region of Bangladesh: A systematic review. *Climate Services*, 39, 100599.
- Cubillos FA, Gibson B, Grijalva-Vallejos N. Krogerus K., & Nikulin J. (2019). Bioprospecting for brewers: Exploiting natural diversity for naturally diverse beers. *Yeast*. 36(6). 383-98.
- Ding J, Huang X, Zhang L, Zhao N, Yang D., & Zhang K. (2019) Tolerance and stress response to ethanol in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 85(2). 253-63.
- FARM.co.th. (2568). ส้มสายน้ำผึ้ง (Sai Nam Phueng Orange). สืบค้นจาก FARM.co.th
- Flores MG, Rodriguez ME, Oteiza JM, Barbagelata RJ., & Lopes CA. (2017) Physiological characterization of *Saccharomyces uvarum* and *Saccharomyces eubayanus* from Patagonia and their potential for cidermaking. *International Journal of Food Microbiology*. 249. 9-17.
- Grijalva-Vallejos N, Krogerus K, Nikulin J. Magalhães F. Aranda A, Matallana E, et al. (2021). Potential application of yeasts from Ecuadorian chichas in controlled beer and chicha production, *Food Microbiology*. 98. 103644.
- Ho, T. X., Nguyen, T. K. C., Le, C. T., & Nguyen, V. P. (2023). Isolation and identification of yeasts from local fruits in Thua Thien Hue province, Vietnam. *Hue University Journal of Science: Natural Science*, 132(1D), 43–53

- Jayamma, G., Shirnalli, G., Goudar, D., & Olekar, S. N. (2022). Isolation and identification of thermotolerant yeast isolates from different fruit wastes. *The Pharma Innovation Journal*, 11(1), 855–859.
- Kurtzman, C. P., Fell, J. W., & Boekhout, T. (Eds.). (2011). *The yeasts: A taxonomic study* (5th ed., Vols. 1–3).
- Nathaniel, L. K., Karamba, K. I., Abba, M., Mustapha, T., Yakubu, N., & Abdullahi, M. (2025). Nutritional composition of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) isolated from selected local fruits. *Dutse Journal of Pure and Applied Sciences*, 11(1a), 28–36.
- Nielsen, J., & Keasling, J. D. (2021). Yeast-based biorefineries for oleochemical production. *Current Opinion in Biotechnology*, 67, 26–34.
- Nonklang S, Abdel-Banat BMA, Cha-Aim K, Moonjai N, Hoshida H, Limtong S, et al. (2008). High-temperature ethanol fermentation and transformation with linear DNA in the thermotolerant yeast *Kluyveromyces marxianus* DMKU3-1042. *Applied and Environmental Microbiology*. 74(24). 7514-7521.
- Nuanpeng S, Thanonkeo S, Yamada M., & Thanonkeo P. (2016). Ethanol production from sweet sorghum juice at high temperatures using a newly isolated thermotolerant yeast *Saccharomyces cerevisiae* DBKKU Y-53. *Energies*.9(4), 253.
- Oberoi HS, Vadlani PV, Brijwani K., & Bhargav VK. Patil RT. (2010). Enhanced ethanol production via fermentation of rice straw with hydrolysate-adapted *Candida tropicalis* ATCC 13803. *Process Biochemistry*. 45(8). 1299-306.
- Otani et al. (2024)
- Qvirist LA, De Filippo C, Strati F, Stefanini I, Sordo M, Andlid T, et al. (2016). Isolation, identification and characterization of yeasts from fermented goat milk of the Yaghnob Valley in Tajikistan. *Frontiers in Microbiology*. 7. 1690.
- Ramalingham A., & Finn RK. (1977). Vacuform process: a new approach to fermentation ethanol. *Biotechnol Bioeng (United States)*. 19(4).
- Salunkhe, D. K., & Deshpande, S. S. (1991). *Storage, processing, and nutritional quality of fruits and vegetables* (2nd^{ed}).
- Wu W-H, Hung W-C, Lo K-Y, Chen Y-H, Wan H-P., & Cheng K-C. (2016). Bioethanol production from taro waste using thermo-tolerant yeast *Kluyveromyces marxianus* K21. *Bioresource Technology*. 201. 27-32

- Ho, T. X. T., Nguyen, T. K. C., Le, C. T., & Nguyen, V. P. (2023). Isolation and identification of yeasts from local fruits in Thua Thien Hue province, Vietnam. *Hue University Journal of Science: Natural Science*, 132(1D), 43-53.
- Yook, S., & Alper, H. S. (2025). Recent advances in genetic engineering and chemical production in yeast species. *FEMS Yeast Research*, 25.
- Yuangsaard N, Yongmanitchai W, Yamada M., & Limtong S. (2013). Selection and characterization of a newly isolated thermotolerant *Pichia kudriavzevii* strain for ethanol production at high temperature from cassava starch hydrolysate. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 103(3). 577-88.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
อาหารเลี้ยงเชื้อ และสารเคมี
(Media and chemical)

ภาคผนวก ก
อาหารเลี้ยงเชื้อ และสารเคมี (Media and chemical)

1. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.1 Yeast extract Peptone Dextrose (YPD) broth 1 ลิตร

Yeast extract	10.0 กรัม
Peptone	10.0 กรัม
Dextrose	10.0 กรัม

ผสมให้เข้ากันปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง

1.2 Yeast extract Peptone Dextrose Agar (YPDA) 1 ลิตร

Yeast extract	10.0 กรัม
Peptone	10.0 กรัม
Dextrose	20.0 กรัม
Agar	15.0 กรัม
Ampicillin 50µl/ml	10 มิลลิลิตร
Amoxicillin 50µl/ml	10 มิลลิลิตร

ผสมให้เข้ากันปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง

2. การเตรียมสารเคมีสำหรับสกัดดีเอ็นเอ

2.1 การเตรียม Stock Triton x-100

Triton x-100 ความเข้มข้น 2%	2 มิลลิลิตร
Phosphate buffer	100 มิลลิลิตร

ผสมให้เข้ากันปรับปริมาตรด้วย Phosphate buffer ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส

2.2 PBS pH 8.0

NaCl	0.799 กรัม
KCl	0.020 กรัม
Na ₂ HPO ₄	0.142 กรัม

KH_2PO_4	0.025 กรัม
DI water	100 มิลลิลิตร

ผสมให้เข้ากันละลายด้วย DI water ปริมาตร 80 มิลลิลิตร ปรับ pH โดยการใส่เบส concentrated NaOH จนกระทั่งได้ pH 8.0 แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร นิ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส

2.3 Ethylene diamine tetraacetic acid (EDTA) ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์

EDTA	29.20 มิลลิกรัม
DI water	100 มิลลิลิตร

ผสมด้วย DI water ปริมาตร 80 มิลลิลิตร กวนจนละลายด้วย Magnetic stirrer เติมนเกล็ด NaOH ลงไปจนกระทั่งได้ pH 8.0 ซึ่งเป็น pH ที่ EDTA ละลายหมดพอดี ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร นิ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง

2.4 Sodium dodecyl sulfate (SDS) ความเข้มข้น 1%

SDS	1 กรัม
DI water	100 มิลลิลิตร

ผสมด้วย DI water ปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง

2.5 Sodium chloride (NaCl) ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์

NaCl	0.584 กรัม
DI water	100 มิลลิลิตร

ผสมด้วย DI water ปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส

2.6 Tris-HCl pH 8.0 ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์

Tris base	0.158 กรัม
DI water	100 มิลลิลิตร

ผสมด้วย DI water ปริมาตร 80 มิลลิลิตร ปรับ pH โดยการใส่กรด concentrated HCl จนกระทั่งได้ pH 8.0 แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร นิ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง

2.7 1X TBE buffer

TBE 10X	16.5 กรัม
DI water	100 มิลลิลิตร

ผสมด้วย DI water ปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร จากนั้นละลายใน DI water ปริมาตร 800 มิลลิลิตร และปรับ pH จนกระทั่งได้ pH 8.0 แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1000 มิลลิลิตร นิ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส

ภาคผนวก ข

ลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อแต่ละไอโซเลต
(Nucleotide of Yeast Isolate)

ภาคผนวก ข

ลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อแต่ละไอโซเลต (Nucleotide of Yeast Isolate)

1. ลำดับเบสของบริเวณ D1/D2 ของยีน 26s rRNA ของไอโซเลต DP2

TCAATCAGAAGACGGCATAACGAGATGACCAGGTGTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGC
 TCCTACCTGATTTGAGGTCAAACCTTGATGAATATTAAGCAACCCTTGCCTAAGGTACATTACCATT
 TCCCTTGTAAGTAAACGAATAAATTCATAAATACATCACAGCGAGAACAGCGTCTCCAAAGAAGCTA
 AGTGTTGAATTAAGAAAGATTGAAACAATCTTCAATTTCAAGCTAACCTGAGTATCGCCACAACCAA
 AAAATAAAAAATTATCTTTTGAGAAGGAAATGACGCTCAAACAGGCATGCCCTTGAGAATGCTCAAGGG
 CGCAATGTGCGTTCAAAATTCAATGATTCACGAGTATCTGCAATTCACATTACTTATCGCAATTCGCT
 ACGTTCTTCATCGATGCGAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTAAATTATTTTAAATTTCCGT
 TAGGAATTTTGTTTTAGTTTAAAAATTATAATAAAATAAAATTGTTTGTGTTTGTGTTTTGCCTTGAAC
 CTTTCGATTCAAAGCAGAAAGAATTAAGTTAAAGTAAAAAACTCCAATGTGTGTAAACGTTGACTGAGA
 TTCAAGCAAGATTACTTCTACTGCGACACTTTAAAGAAGCAGCGCAATTAAGCGCACATCTTCAATAAA
 GATACACATTATTGTAAAGATCTAAACTAGAACTCGAGCAACAATGATAATTCAATCTAATGATCCT
 TCCGCAGGTTACCACTGTCTCTTATACACATCTCCGAGCCACGAGACACCTGGTCATCTCGTATGCC
 GTCTTCTGATTGA

2. ลำดับเบสของบริเวณ D1/D2 ของยีน 26s rRNA ของไอโซเลต BN1

TCAATCAGAAGACGGCATAACGAGATGCGATGTGGTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGG
 GTGAACCTGCGGAAGGATCATTAAGAAATTTAATAATTTTGAAAATGGATTTTTTTGTTTTGGCAAGA
 GCATGAGAGCTTTTACTGGGCAAGAAGACAAGAGATGGAGAGTCCAGCCGGGCCTGCGCTTAAGTGCG
 CGGTCTTGCTAGGCTTGTAAGTTTCTTCTTGCTATTCCAAACGGTGAGAGATTTCTGTGCTTTTGTTA
 TAGGACAATTAACCGTTTCAATACAACACACTGTGGAGTTTTCATATCTTTGCACTTTTTCTTTGGG
 CATTGAGCAATCGGGGCCAGAGGTAACAAACACAAACAATTTTATTTATTCATTAAATTTTTGTCAA
 AAACAAGAATTTTCGTAACCTGGAAATTTTAAATATTAATAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTCG
 CATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATACGTAATGTGAATTGCAGAATTCCGTGAATCATCGAATCT
 TTGAACGCACATTGCGCCCCCTTGGTATTCCAGGGGGCATGCCTGTTTGAGCGTCATTTCTTCTCAAAC
 ATTCTGTTTGGTAGTGAGTGATACTCTTTGGAGTTAACTTGAAATTGCTGGCCTTTTCATTGGATGTTTT

TTTTCAAAGAGAGGTTTCTCTGCGTGCTTGAGGTATAATGCAAGTACGGTCGTTTTAGGTTTTACCAA
CTGCGGCTAATCTTTTTTATACTGAGCGTATTGGAACGTTATCGATAAGAAGAGAGCGTCTAGGCGAAC
AATGTTCTTAAAGTTTGACCTCAAATCAGGTAGGAGCTGTCTCTTATACACATCTCCGAGCCCACGAGA
CCACATCGCATCTCGTATGCCGTCTTCTGATTGA

3. ลำดับเบสของบริเวณ D1/D2 ของยีน 26s rRNA ของไอโซเลต or1

TCATTCAGAAGACGGCATAACGAGATCCGGATCAGTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGC
TCTACCTGATTTGAGGTCGAGCTCAATGATATATATTTTCGCTCGGCGGCAAAAGCGTCCCGATGTAGT
TCGCTTCGTCCGCAACGTTTCTTTTCGGCCGGGCCAGTGGCACGGCCAGCTCTGGATCTTTCTTTAACA
AAAGTTCCAAGAAGGAAACGACGCTCAGACAGGCATGCCCGCCGAATACCGACGGGCGCAATGTGCG
TTCAAGAACTCGATGATTCACGATGGCTGCAATTCACACTAGGTATCGCATTTTCGCTGCGCTCTTCATC
GATGCGGAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTGTATTTTTTTTTTTCAAGTTTCGACTAGAAATA
CTCACGGTTTATGTGTTTTGTGCGCTCACGCATGTGTGGAAGTTATATTCACAGTAATGATCCTGTCTC
TTATACACATCTCCGAGCCCACGAGACTGATCCGGATCTCGTATGCCGTCTTCTGATTGA

4. ลำดับเบสของบริเวณ D1/D2 ของยีน 26s rRNA ของไอโซเลต Or2

GACAGTAATAGGCTGCAGCATCCTCCTCCTTTTTTTTTTTCAATCAGAAGACGGCATAACGAGATGCC
GAGCTGTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGCTCCTACCTGATTTGAGGGCGAAATGTCTG
TGCTGTAAACGTGTTTGACAGCGCGGTTGATATTTTCGGAGCAACGCCTAACCGGGGGTTAGAGGGGAT
GCGACGCTCAAACAGGCATGCCTCGAGGAATGCCTCGAGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGAT
TCACGTCTGCAAGTCATACTACGTATCGCAATTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCGAGAACCAAGAGATC
CGTTGTTGAAAGTTTTGATATTAAGAAATTCGAATAAAAAAATTTATTTTTTTGTTGCGAAATGCAAAGT
GTATAATGTTTTTAATGATCCTTCCGAGGTTACCTAACTGTCTCTTATACACATCTCCGAGCCCAC
GAGACAGCTCGGCATCTCGTATGCCGTCTTCTGATTGA

6. ลำดับเบสของบริเวณ D1/D2 ของยีน 26s rRNA ของไอโซเลต SH2

GCGTAGAACAATGGATCTCTGCCTGCAGAATAGAAATTCCCCATGTCTTCTGAATGTGGCTGTCTTTTG
TCTCCACACCATCTATGAATCGGGGTATGAGGAATGTTCTCAATGGCACCCATTCCAGGACTGGGATTA
TCACCAGCACGGTAGGCCGCTCCATGGAAAAGAGTAGGGGTCTTGTTGACACCATCTGCCTGTACAT
AACTTTGAGATTACTTTTTATTTGATCTCTTTGTTGATTCTTCCTCAGTGCCATTGTAATCAAGATCA

ACCAATACTGGTGGCTGGTGGTTCACATTGCGCTTTTCGTCGTAGAGTGGAGAGATAGGGTTAACATAT
 ATGGCAGGTATAGGCATGCCCAGAGGAGCATCCCAATTCCAAAATGGCATGGCAAATTCTGGATCACC
 AATCAACTTGCCCCAAATCCTTTCATAGAAATAAAGATATAATCTATGGGCTGTCTCTTATACACATCTC
 CGAGCCACGAACGCACC

7. ลำดับเบสของบริเวณ D1/D2 ของยีน 26s rRNA ของไอโซเลต SS1

TTTTTTACAACAAAACAAATCTATCTAAAAACAATTCTTTACAAGAAATTCTTAAACTTTCAACAACGG
 ATCTCTTGGTTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATACGTAATACGAATCGCAGCTCTCGG
 AATCATCGAATCTTTGAACGCACA

8. ลำดับเบสของบริเวณ D1/D2 ของยีน 26s rRNA ของไอโซเลต SS2

AATTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTCAATCAGAAGACGGCATAACGAGATTCTCTACGTCTCGTGGGCT
 CGGAGATGTGTATAAGAGACAGTACCTGCGGAAGGATCATTACAGTATTCTTTGCCAGCGCTTAACCTG
 CGCGGCGAAAAACCTTACACACAGTGTCTTTTGTACAGAACTCTTGCTTTGGTTTGGCCTAGAGATA
 GGTTGGGCCAGAGGTTTAACAAAACACAATTTAATTATTTTTATTGATAGTCAAATTTGAATTAATCTT
 CAAAACCTTCAACAACGGATCTCTTGTTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAAT
 ATGAATTGCAGATTTTCGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCTCTGGTATTCCAGAGGG
 CATGCCTGTTTGAGCGTCATTTCTCTCTCAAACCCCCGGGTTTGGTATTGAGTGATACTCTTAGTCGAA
 CTAGGCGTTTGCTTGAAAAGTATTGGCATGGGTAGTACTGGATAGTGCTGTCGACCTCTCAATGTATTA
 GGTTTATCCAACCTCGTTGAATGGTGTGGCGGGATATTTCTGGTATTGTTGGCCCGGCCTTACAACAACC
 AAACAAGTTTGACCTCAAATCAGGTAGGAGCTGTCTCTTATACACATCTCCGAGCCACGAGACGTAGA
 GGAATCTCGTATGCCGTCTTCTGATTGAAAAAAAAAAAAACACCATCGCCAGCC

ภาคผนวก ค
ฐานข้อมูลทรัพยากรชีวภาพ
(Database of bioresource)

ภาคผนวก ค

ฐานข้อมูลทรัพยากรชีวภาพ (Database of bioresource)



ติดต่อ พศ.ดร.ธนาวรรณ สุขเกษม
 หลักสูตรชีววิทยา(เอกจุลชีววิทยา) มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์
 FB: หลักสูตรชีววิทยา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์



Date plam

อนุกรมวิธาน 
อาณาจักร: Fungi
ไฟลัม: Ascomycota
แฟล่งที่แบ่งเชื้อได้: อินทผาลัม สาขพันธ์
บารี่

การนำไปใช้ประโยชน์
ใช้ขบวนการหมักใน
อุตสาหกรรมการหมัก (Fermentation)
เช่น อุตสาหกรรมเครื่องดื่มแอลกอฮอล์
เช่น เบียร์ (Beer) ไวน์ (Wine)
อุตสาหกรรมขนมปัง (Bakery) นอกจากนี้
ยังเป็นแหล่งเอนไซม์ที่ใช้ในอุตสาหกรรม
โปรตีน และสารอาหารอื่น ๆ ช่วยรักษา
โรคระบบทางเดินอาหาร เสริมสร้างภูมิคุ้ม
กัน และบำรุงผิว

Saccharomyces cerevisiae

 หลักสูตรสาขาชีววิทยา  Biobrand  Biobrand

Tangerine

อนุกรมวิธาน 
อาณาจักร: Fungi
ไฟลัม: Ascomycota
แฟล่งที่แบ่งเชื้อได้: สมเชื้อขหวาน

การนำไปใช้ประโยชน์
เป็นโปรไบโอติก ที่สามารถผลิตสารไมโค
ซิน (mycosin) ที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย
ก่อโรคได้ เช่น Escherichia coli และ
Staphylococcus aureus มีฤทธิ์ต้านอนุมูล
อิสระ ลดคอเลสเตอรอล ใช้ผลิตกรดอินทรีย์
ผลิตเอทานอลจากวัตถุดิบทางการเกษตร เป็น
ยีสต์ที่ทนต่อความร้อน สามารถใช้ในการบ่ม
รสชาติอาหารอินทรีย์ได้ ใช้เป็นโอสถในการผลิต
โปรตีนหรือสารชีวภาพที่มีมูลค่าสูง

Pichia kudriavzevii

 หลักสูตรสาขาชีววิทยา  Biobrand  Biobrand

Tangerine



อนุกรมวิธาน

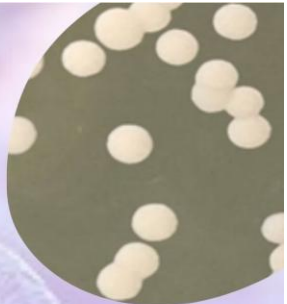
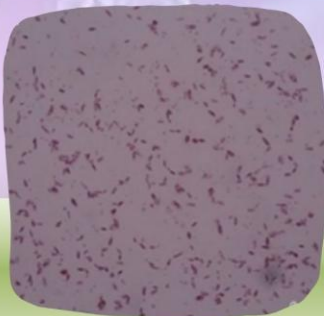
อาณาจักร: Fungi

ไฟลัม: Ascomycota

แหล่งที่แยกเชื้อได้: ส้มเขียวหวาน

การนำไปใช้ประโยชน์

สามารถผลิตเอทานอล (สภาวะ anaerobic) และไซลิทอล (สภาวะ microaerobic) จากวัสดุชีวมวล เป็นโอสต์สำหรับผลิตไซโรส (Xylose) และเซลโลไบโอส (Cellobiose) ผลิตพลังงานชีวภาพจากวัสดุเหลือใช้จากการเกษตร

Clavispora lusitaniae

[หลักสูตรสาขาชีววิทยา](#)
[Biobrand](#)
[Biobrand](#)

Banana



อนุกรมวิธาน

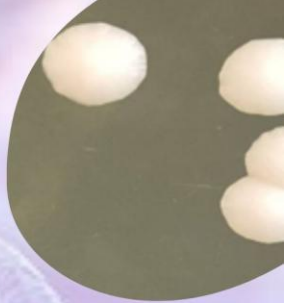
อาณาจักร: Fungi

ไฟลัม: Ascomycota

แหล่งที่แยกเชื้อได้: กลัวยับน้ำว้า

การนำไปใช้ประโยชน์

นิยมใช้อย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรมการหมัก (Fermentation) เช่น อุตสาหกรรมเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ เช่น เบียร์ (Beer) ไวน์ (Wine) สาเก (Sake) อุตสาหกรรมขนมปัง (Baker) นอกจากนี้ยังเป็นแหล่งเอนไซม์การที่สัตว์ตามินปัสววม โปรตีน และสารอาหารอื่น ๆ ช่วยรักษาโรคระบบทางเดินอาหาร เสริมสร้างภูมคุ้มกัน และบำรุงผิว




Saccharomyces cerevisiae

[หลักสูตรสาขาชีววิทยา](#)
[Biobrand](#)
[Biobrand](#)

Sugarcane

อนุกรมวิธาน 
 อาณาจักร: Fungi
 ไฟลัม: Ascomycota
 แพล่งที่แยกเชื้อได้: ออช สาขาพันธุ์สุพรรณ 50

การนำไปใช้ประโยชน์

ใช้เป็น whole cell สำหรับปฏิกิริยา oxidation และ reduction ผลิตเอนไซม์ oxidoreductase ที่สามารถเปลี่ยนสารอินทรีย์ให้เป็นสารตั้งต้นทางเภสัชกรรม เช่น beta-hydroxy esters

Candida parapsilosis

 พลิกสูตรจากชีววิทยา  Biobrand  Biobrand

Sugarcane

อนุกรมวิธาน 
 อาณาจักร: Fungi
 ไฟลัม: Ascomycota
 แพล่งที่แยกเชื้อได้: ออช สาขาพันธุ์สุพรรณ 50

การนำไปใช้ประโยชน์

เป็นยีสต์ที่ใช้ในการผลิตโปรตีนรีคอมบิแนนท์ เช่น อินซูลิน วัคซีน และเอนไซม์ในอุตสาหกรรม มีความสามารถในการทนต่ออุณหภูมิสูง สามารถผลิตไซโลส (Xylose) และเซลโลไบโอส (Cellobiose) เพื่อผลิตเอทานอลชีวภาพ พัฒนาโมเดลเมตาบอลิซึมระดับจีโนมเพื่อปรับแต่งสายพันธุ์ให้ผลิตสารชีวภาพ เช่น succinic acid และ lactate

Ogataea parapolymorpha

 พลิกสูตรจากชีววิทยา  Biobrand  Biobrand



Sugarcane

อนุกรมวิธาน 

อาณาจักร: Fungi
 ไฟลัม: Ascomycota
 แพลงที่แยกเชื้อได้: ออช สาขพันธุ์น้ำผึ้ง

การนำไปใช้ประโยชน์

ใช้เป็น whole cell สำหรับปฏิกิริยา oxidation และ reduction ผลิตเอนไซม์ oxidoreductase ที่สามารถเปลี่ยนสารอินทรีย์ให้เป็นสารตั้งต้นทางเภสัชกรรม เช่น beta-hydroxy esters

Candida parapsilosis

 หลักสูตรสาขาชีววิทยา  Biobrand  Biobrand

ประวัตินักวิจัย

1. ชื่อ-นามสกุล

นางสาวพินทิพย์ แก้วแกมทอง

Miss Pintip Kaewkamthong

2. หมายเลขบัตรประจำตัวประชาชน

3679900039547

3. ตำแหน่งปัจจุบัน

อาจารย์ผู้รับผิดชอบหลักสูตรสาขาวิชาการจัดการทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

4. ตำแหน่งทางวิชาการ

อาจารย์

5. หน่วยงานและสถานที่อยู่ติดต่อได้สะดวก

หลักสูตรสาขาวิชาการจัดการทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ อ.เมือง จ. เพชรบูรณ์ 76000

โทรศัพท์ 056-717100, 086-929-9290 E-mail : Pintip.kae@pcru.ac.th

6. ประวัติการศึกษา

วศ.บ. (วิศวกรรมเคมี)

มหาวิทยาลัยรังสิต

วศ.ม. (วิศวกรรมสิ่งแวดล้อม)

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

7. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ

Wastewater treatment, Biosorption, Natural rubber, Hazardous waste, Integrated Solid waste management, Eco-products, Remediation, Clean technology

8. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัย

- การศึกษาและพัฒนาการผลิตเครื่องสำอางสมุนไพรของกลุ่มบ้านเนินพัฒนา อำเภอนนทบุรี จังหวัดนนทบุรี แหล่งทุน สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

- ความพึงพอใจของผู้ใช้บัณฑิต แหล่งทุน สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

- Removal of Heavy Metals from Wastewater by Adsorption Using Egg Shell Membrane (ESM) (วิทยานิพนธ์)

- การศึกษาระบบนิเวศบริเวณสวนสาธารณะหนองนารีเพื่อใช้เป็นฐานข้อมูลในการรักษาระบบนิเวศให้สมดุล แหล่งทุน สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

- การพัฒนาศักยภาพพลังงานทดแทนของตำบลน้ำก้อ อำเภอหล่มสักจังหวัดเพชรบูรณ์ แหล่งทุน สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

-
การศึกษาการใช้เปลือกข้าวโพดเพื่อดูดซับน้ำมันในน้ำทิ้งจากโรงอาหารมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์
แหล่งทุน สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

- การทำน้ำหมักจุลินทรีย์จากดอกจอกและเศษอาหารเพื่อประยุกต์ใช้ในการออกแบบระบบบำบัด
น้ำเสียของโรงอาหารที่เหมาะสมภายในมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

- การศึกษาความพึงพอใจของนักศึกษาที่เรียนรู้แบบร่วมมือวิชาเคมีเบื้องต้น แหล่งทุน
สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

- เครื่องสกัดสารจากใบยูคาลิปตัสเพื่อกำจัดแมลงศัตรูพืชโดยใช้พลังงานแสงอาทิตย์ แหล่งทุน
โครงการวิจัยและนวัตกรรมเพื่อถ่ายทอดเทคโนโลยีสู่ชุมชนฐานราก สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา
(สกอ.)

- การจัดการพลังงานและสิ่งแวดล้อมชุมชนเพื่อส่งเสริมการท่องเที่ยว อำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์
แหล่งทุน สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

- การศึกษาและพัฒนาการผลิตเครื่องสำอางสมุนไพรของกลุ่มบ้านเนินพัฒนา อำเภอชนแดน
จังหวัดเพชรบูรณ์ แหล่งทุน สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

- การพัฒนากระบวนการผลิตและการจัดการด้านสิ่งแวดล้อมเพื่อต่อยอดภูมิปัญญาท้องถิ่นใน
การแปรรูปมะขามด้วยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จังหวัดเพชรบูรณ์ แหล่งทุน สถาบันวิจัยและพัฒนา
มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

- เทคโนโลยีการกำจัดขยะแบบครบวงจรที่เหมาะสมกับองค์กรปกครองท้องถิ่น แหล่งทุน
สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

- การออกแบบและพัฒนากังหันน้ำหัวน้ำต่ำที่เหมาะสมสำหรับผลิตกระแสไฟฟ้าในตำบลน้ำก้อ
อำเภอหล่มสัก จังหวัดเพชรบูรณ์ ผ่านกระบวนการมีส่วนร่วมของชุมชน แหล่งทุน สถาบันวิจัยและพัฒนา
มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

- โครงการพัฒนาการสื่อสารเพื่อสร้างการมีส่วนร่วมของชุมชนในการป้องกันยาเสพติด
แหล่งทุน สำนักงานคณะกรรมการป้องกันและปราบปรามยาเสพติด

- สิน ทร พ ย ์ ท า ง ว ัฒ น ธิ ร ร ม แ ล ะ น วั ต ก ร ร ม จ ั ङ ห วั ต เพ ช ร บู ร ณ ์
เพื่อสร้างความเข้มแข็งสู่ชุมชนภายใต้แนวคิดเศรษฐกิจสร้างสรรค์ แหล่งทุน สถาบันวิจัยและพัฒนา
มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

- การศึกษาผลกระทบและการเปลี่ยนแปลงหลังจากการเปลี่ยนกฎหมายเกี่ยวกับสุราพื้นบ้าน/ชุมชน
ต่อพลวัตการผลิต การจำหน่าย และการบริโภคสุราในประเทศไทย:กรณีศึกษาเชิงพื้นที่แบบพหุภูมิภาค
แหล่งทุน ศูนย์วิจัยปัญหาสุรา

- การแยกและจัดจำแนกยีสต์จากผลไม้ที่เหลือทิ้งในท้องถิ่นเพื่อเป็นฐานข้อมูลทางทรัพยากรชีวภาพสู่
การพัฒนาเศรษฐกิจฐานชีวภาพ ของชุมชน และแนวทางการนำมาใช้ประโยชน์ แหล่งทุน
สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

9. ประสบการณ์ในการเผยแพร่ผลงานวิจัยและทางวิชาการ

พรทวิ กองร้อย, พิณทิพย์ แก้วแกมทอง, อิสระ ตั้งสุวรรณ และธนาวรรณ พิณะเวศน์. (2560).

การถ่ายทอดองค์ความรู้การบริหารจัดการขยะชุมชนเพื่อพัฒนาต่อยอดสู่เชิงพาณิชย์. รายงานการประชุมวิชาการระดับชาติและนานาชาติ ครั้งที่ 4 “บูรณาการงานวิจัยสู่ไทยแลนด์ 4.0” ณ มหาวิทยาลัยภาคตะวันออกเฉียงเหนือ. 21 กรกฎาคม 2560. หน้า 1176-1183

ทิวา แก้วเสริม, และพิณทิพย์ แก้วแกมทอง. (2562).

การพัฒนาผลิตภัณฑ์หัตถกรรมตกแต่งบ้านพักอาศัยจากเส้นใยเศษของวัชพืชและวัสดุเหลือใช้จากการเกษตรโดย การมีส่วนร่วมของชุมชนเพื่อพัฒนาไปสู่ผลิตภัณฑ์เชิงพาณิชย์. รายงานสืบเนื่องการประชุมวิชาการระดับชาติพะเยาวิจัย ครั้งที่ 8 “Education Disruption” ณ มหาวิทยาลัยพะเยา. วันที่ 24-25 มกราคม 2562. หน้า 421-431

Teema Muekthong, Kanittha Thaikla, Pintip Kaewkamthong, and Kriengkrai Peungchuer. (2018). Motion Graphic for Community Participation Enhancement in Drug Abuse Prevention in Thailand The Proceedings of :The 5th Social Sciences, Arts and Media International Conference 2018, June 14 – 15, 2018 at Srinakharinwirot University, Bangkok, Thailand. page 59-64

พิณทิพย์ แก้วแกมทอง, และทิวา แก้วเสริม.(2564). สินทรัพย์ทางวัฒนธรรมและนวัตกรรมจังหวัดเพชรบูรณ์ เพื่อสร้างความเข้มแข็งสู่ชุมชนภายใต้แนวคิดเศรษฐกิจสร้างสรรค์.รายงานสืบเนื่องการประชุมวิชาการระดับชาติพะเยาวิจัย ครั้งที่ 10 ณ มหาวิทยาลัยพะเยา

พิณทิพย์ แก้วแกมทอง, และทิวา แก้วเสริม.(2564). การออกแบบ และหาประสิทธิภาพการทำงานของกังหันน้ำหัวน้ำต่ำสำหรับผลิตกระแสไฟฟ้าขนาดเล็ก รายงานสืบเนื่องการประชุมวิชาการระดับชาติ “ราชภัฏกรุงเก่า” ครั้งที่ 5 (ARUCON2022) วันที่ 15 – 16 ธันวาคม พ.ศ. 2565 ณ มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนครศรีอยุธยา

พิณทิพย์ แก้วแกมทอง. (2024). แนวทางการป้องกันมลพิษและการลดของเสียจากกระบวนการแปรรูปมะขามแช่อิ่ม:กรณีศึกษาในพื้นที่ตำบลหินฮาว อำเภอหล่มเก่า จังหวัดเพชรบูรณ์. *Life Sciences and Environmental Journal*. 25(2). 534-545.

ปิยะพร บรรเทา, อิสระ ตั้งสุวรรณ, พิณทิพย์ แก้วแกมทอง, ธนาวรรณ พิณะเวศน์, ฤทัยรัตน์ น้อยคนดี และพรทวิ กองร้อย. (2567). ความรู้ และพฤติกรรมการคัดแยกขยะมูลฝอยของพนักงานในสถานประกอบการแขวงท่าข้าม เขตบางขุนเทียน กรุงเทพมหานคร. *วารสาร มรภ.กพ. วิทยาศาสตร์ คณิตศาสตร์ และเทคโนโลยี*. 3(1). 37-46.

พิณทิพย์ แก้วแกมทอง. (2025). การใช้ประโยชน์จากขยะพลาสติก และเศษคอนกรีตจากการรื้อถอนสิ่งปลูกสร้างเป็นส่วนผสมในวัสดุบล็อกปูพื้นทางเท้า. *วารสารวิชาการเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยราชภัฏสุรินทร์*, 10(1), 12-20.