

บทคัดย่อ

ชื่อโครงการ การผลิตแอสทาแซนทีนจากยีสต์เพื่อนำมาใช้เพิ่มคุณค่าทางอาหารและเป็นสีผสมอาหาร และ/หรือสีย้อมผ้า

ผู้เขียนรายงานการวิจัย รองศาสตราจารย์ ดร.สุรีย์ พูตระกูล

ยีสต์ผลิตสี 73 ไอโซเลทที่แยกได้จากแหล่งธรรมชาติโดยใช้อาหาร YM (Yeast extract Malt extract medium) ยีสต์ 3 ไอโซเลทคือ 3B1, 3F2 และ 3R4 สามารถผลิตคาร์โรทีนอยด์ได้สูงกว่าไอโซเลทอื่นๆ และได้รับการบ่งชี้สายพันธุ์เป็น *Rhodotorula glutinis* เซลล์ยีสต์ของไอโซเลทเหล่านี้ประมาณไอโซเลทละ 10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ถูกเลี้ยงในอาหารที่เติมเอทิลมีเทนซัลโฟเนต (ethylmetanesulfonate, EMS) ปริมาณ 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 1 ชั่วโมงพบว่าอัตราการรอดชีวิตของเซลล์ยีสต์ 0.002-1.56 % และมีจำนวนยีสต์กลายพันธุ์ (มิวแทนท์) ทั้งหมด 53 มิวแทนท์ นำมิวแทนท์ที่มีโคโลนีสีต่างๆกันคือ แดงเข้ม ชมพูเข้ม เหลือง และส้มมาเลี้ยงในอาหารเหลว YM เพื่อเลือกมิวแทนท์ที่ผลิตคาร์โรทีนอยด์สูงสุด พบว่ามิวแทนท์ *Rhodotorula glutinis* mB34 ผลิตคาร์โรทีนอยด์สูงสุดและสูงกว่าสายพันธุ์เดิมประมาณ 1.7 เท่า

การเพิ่มผลผลิตคาร์โรทีนอยด์ศึกษาโดยเลี้ยงมิวแทนท์ *Rhodotorula glutinis* mB34 ในอาหารเหลว YM ในถังหมัก โดยแปรผันปริมาณสารอาหารต่างๆ ของอาหาร YM เป็นยีสต์สกัด 0.1, 0.3, 0.5 และ 10 % (w/v) มอลท์สกัด 0.05, 0.1, 0.3 และ 0.5 % (w/v) เปปโตน 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 % (w/v) และ กลูโคส 1, 3, 5 และ 7 % (w/v) โดยมีค่าพีเอชเริ่มต้นเป็น 5.0 ในถังหมักที่ใช้ปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อ 1.5 ลิตร อัตราการให้อากาศ 1.5 vvm และอัตราการกวน 300 รอบต่อนาที เก็บเกี่ยวเซลล์ยีสต์ mB34 และสกัดสารคาร์โรทีนอยด์มาวิเคราะห์หาปริมาณโดย UV-visible spectrophotometry วัดปริมาณ β -carotene และ astaxanthin ที่ความยาวคลื่นการดูดกลืนแสงสูงสุด 448 และ 474 นาโนเมตรตามลำดับ ผลการทดลองพบว่า มิวแทนท์ mB34 เจริญได้ดีและผลิตคาร์โรทีนอยด์ได้สูงในอาหารเหลว YM ที่ประกอบด้วย ยีสต์สกัด 0.3 % (w/v) มอลท์สกัด 0.3 % (w/v) เปปโตน 0.5 % (w/v) และกลูโคส 3.0 % (w/v) ปริมาณคาร์โรทีนอยด์ทั้งหมดที่ผลิตได้และปริมาณเซลล์เมื่อเลี้ยงในอาหารดังกล่าวเป็นเวลา 72 ชั่วโมง คือ 1,657.58 ไมโครกรัมต่อลิตร และ 9.8 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในภาวะการเลี้ยงนี้มิวแทนท์ *Rhodotorula glutinis* mB34 จะผลิต astaxanthin ได้ในปริมาณที่สูงกว่า β -carotene

Abstract

Title Production of Astaxanthin from Yeast for Food Enrichment and Natural Dye for Food and/or Textile Use

Report by Assoc. Prof. Dr. Suree Phutrakul

Seventy-three isolates of pigmented yeasts were isolated from natural sources by using Yeast extract Malt extract (YM) medium. The three isolates of pigmented yeast, 3B1, 3F2, and 3R4 produced higher carotenoids than the other isolates and were classified as *Rhodotorula glutinis*. The yeast cells of these isolates about 10^8 cells/ml were treated with 30 $\mu\text{g/ml}$ ethylmethanesulfonate (EMS) for 1 h which gave 0.002-1.56 % survival rate and 53 mutants were obtained. Sixteen mutants with deep-red, deep-pink, yellow and orange colonies were cultured in YM medium to select the one that could produce highest carotenoid content. The *Rhodotorula glutinis* mB34 mutant gave highest carotenoid production and higher than the parent strain (*Rhodotorula glutinis* 3B1) about 1.7 times.

The increase production of carotenoids pigment was studied by culturing *Rhodotorula glutinis* mB34 mutant in yeast-malt extract medium in fermenter. The mB34 strain was cultivated in various concentrations of ingredient of yeast-malt extract broth containing 0.1, 0.3, 0.5 and 1.0 % (w/v) yeast extract; 0.05, 0.1, 0.3 and 0.5 % (w/v) malt extract; 0.2, 0.3, 0.4 and 0.5 % (w/v) peptone and 1, 3, 5 and 7 % (w/v) glucose with initial pH at 5.0 in fermenter working volume 1.5 litres with aeration rate 1.5 vvm and stirrer speed 300 rpm. The yeast mB34 was harvested and carotenoids were extracted and analyzed by UV-visible spectrophotometry. β -carotene and astaxanthin were determined at maximum absorbance at 448 and 474 nm, respectively. It was found that the mB34 grew well and produced higher carotenoids pigment in yeast-malt extract medium containing 0.3 % (w/v) yeast extract, 0.3 % (w/v) malt extract, 0.5 % (w/v) peptone and 3 % (w/v) glucose than other concentration. The total pigments of mB34 and dry cell mass was 1,657.58 $\mu\text{g/L}$ and 9.8 g/L, respectively at 72 h. The *Rhodotorula glutinis* mB34 produced more astaxanthin content than β -carotene at this culture condition.