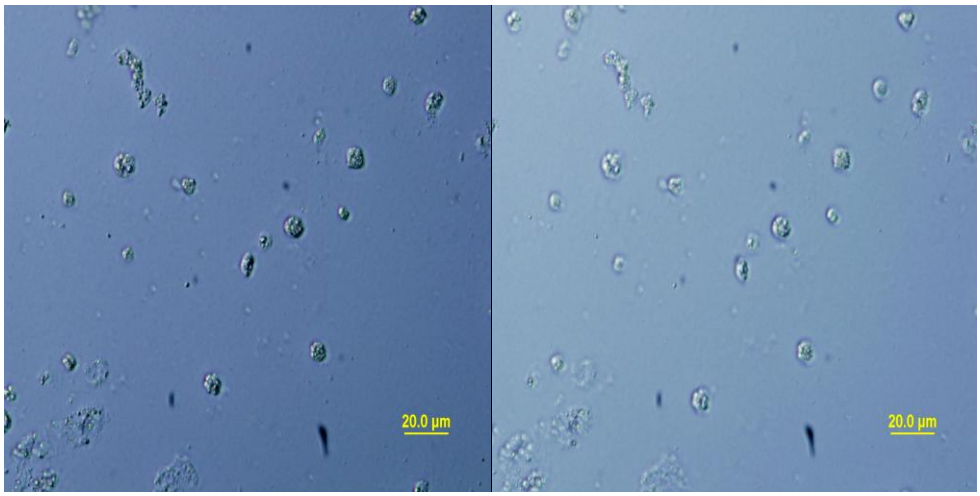
# บทที่ 4

# ผลการทดลองและการวิจารณ์ผลการทดลอง

## 4.1 การคัดแยกจุลินทรีย์กลุ่ม *Schizochytrium* จากธรรมชาติ

รูปที่ 4.1

ลักษณะสัณฐานวิทยาของจุลินทรีย์ *Schizochytrium* sp. ที่คัดแยกได้จากป่าชายเลน 3 แหล่งในประเทศไทยเปรียบเทียบกับ *Schizochytrium mangrovei* Sk-02




หมายเหตุ: ภาพด้านซ้ายคือ *Schizochytrium* sp.

ภาพด้านขวาคือ *Schizochytrium mangrovei* Sk-02 (Unagul, 2006)

จากรูปที่ 4.1 พบว่าจุลินทรีย์กลุ่ม *Schizochytrium* มีลักษณะพิเศษที่แตกต่างจากจุลินทรีย์อื่นๆ คือ ขณะที่เป็น vegetative cell จะมีรูปร่างแบบ amoeboid (ความยาว 12-20 ไมโครเมตร และกว้าง 5-8 ไมโครเมตร) ต่อมาจุลินทรีย์จะสร้าง biflagellate zoospore ภายใน zoosporangium (ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 12-24 ไมโครเมตร) เมื่อเซลล์ที่มีการเจริญเต็มที่จะมีการแบ่งตัวแบบ binary เพื่อเพิ่มจำนวน จากนั้นเซลล์จะมีการพัฒนาไปเป็น sporangium (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 25-30 ไมโครเมตร) เพื่อผลิต zoospores จำนวนมาก ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะที่สำคัญของจุลินทรีย์กลุ่ม *Schizochytrium* (Kamlangdee & Fan, 2003, p.646) นอกจากนี้ภายในเซลล์ยังมีการสะสมไขมันในรูปของเม็ดไขมัน (Oil droplets) อีกด้วย

ตารางที่ 4.1

องค์ประกอบกรดไขมันของ *Schizochytrium* ที่คัดแยกได้จากป่าชายเลน 3 แหล่งในประเทศไทย

| แหล่งที่เก็บ | ตัวอย่างที่เก็บ | BCC code | Dry Weight Cell (g/L) | Fatty Acid Composition (%FA) | | | | | | TFA (%w/w) | DHA (%w/w) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | C14:0 | C15:0 | C16:0 | C17:0 | C22:5 | C22:6 | | |
| บางขุนเทียน | ใบไม้ | 25505 | 16.00 | 3.70 | 3.95 | 44.45 | 0.85 | 6.55 | 39.60 | 55.45 | 21.97 |
| | ใบไม้ | 25506 | 17.50 | 5.60 | 3.50 | 45.00 | 0.50 | 6.70 | 37.80 | 54.80 | 20.71 |
| | ใบไม้ | 25507 | 17.50 | 4.90 | 3.60 | 44.30 | 0.70 | 7.10 | 38.20 | 52.50 | 20.06 |
| | ใบไม้ | 25508 | 19.40 | 5.45 | 3.50 | 44.90 | 0.60 | 6.85 | 37.75 | 51.80 | 19.56 |
| | ใบไม้ | 25509 | 20.90 | 5.90 | 3.00 | 52.20 | 0.60 | 5.70 | 31.60 | 52.35 | 16.54 |
| | ใบไม้ | 25510 | 19.15 | 5.30 | 3.60 | 52.80 | 0.80 | 5.45 | 31.00 | 59.45 | 18.41 |
| เกาะช้าง | ดอกไม้ | 25511 | 16.78 | 5.35 | 5.25 | 43.35 | 0.80 | 6.80 | 37.40 | 50.05 | 18.71 |
| อ่าวตกเกาะแตน | ใบไม้ | 25512 | 16.66 | 5.50 | 5.87 | 43.36 | 0.75 | 6.76 | 37.76 | 53.17 | 20.08 |
| | ใบไม้ | 25513 | 16.50 | 4.94 | 5.59 | 46.22 | 0.68 | 6.66 | 35.91 | 51.55 | 18.51 |
| | ใบไม้ | 25514 | 16.90 | 4.70 | 5.56 | 46.04 | 0.83 | 6.09 | 36.78 | 51.76 | 19.04 |

จากตารางที่ 4.1 เป็นการคัดแยกจุลินทรีย์ทะเลกลุ่ม *Schizochytrium* จากป่าชายเลน 3 แหล่งในประเทศไทยได้แก่ ป่าชายเลนบางขุนเทียน จังหวัดกรุงเทพมหานคร เกาะช้าง จังหวัดตราด และอ่าวตก เกาะแตน จังหวัดพังงา พบว่าสามารถคัดแยกจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตกรดไขมัน DHA ได้ทั้งหมด 10 สายพันธุ์ คือ *Schizochytrium* sp. BCC 25505-25514 ซึ่งคัดแยกจากใบไม้ในบริเวณบางขุนเทียนและอ่าวตก เกาะแตน ได้ทั้งหมด 9 สายพันธุ์ และดอกไม้จากเกาะช้างอีก 1 สายพันธุ์ และจากการวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้งพบว่า จุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ทั้งหมดสามารถผลิตมวลเซลล์อยู่ในช่วง 16-21 กรัมต่อลิตร โดย *Schizochytrium* sp. BCC 25509 สามารถผลิตมวลเซลล์ได้สูงที่สุดคือ 20.9 กรัมต่อลิตร

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมันภายในเซลล์โดยแก๊สโครมาโตกราฟี พบกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบหลักอยู่ 5 ชนิด คือ C14:0, C15:0, C16:0, C22:5 และ C22:6 โดยกรดไขมันที่พบมากที่สุดคือ C16:0 (Palmitic acid) ซึ่งพบในเซลล์มากถึง 43-53 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์กรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาว รองลงมาคือ C22:6 (DHA) ซึ่งพบอยู่ภายในเซลล์ 31-40 เปอร์เซ็นต์ โดย *Schizochytrium* sp. BCC 25505 สามารถผลิต DHA ได้มากที่สุดคือ 39.6 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณ DHA ในหน่วยเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก (%w/w) พบว่าสายพันธุ์นี้สามารถผลิต DHA ได้สูงถึง 21.97 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ซึ่งปริมาณ DHA สูงสุดเมื่อเทียบกับสายพันธุ์อื่นๆ ที่คัดแยกได้

จากการวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันทั้งหมดภายในเซลล์ (TFA) พบว่าจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ทั้งหมดสามารถผลิต TFA อยู่ในช่วง 50-60 กรัมต่อลิตร โดย *Schizochytrium* sp. BCC 25510 สามารถผลิต TFA ได้สูงที่สุดคือ 59.45 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก รองลงมาคือ *Schizochytrium* sp. BCC 25505 สามารถผลิต TFA ได้ 55.45 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก

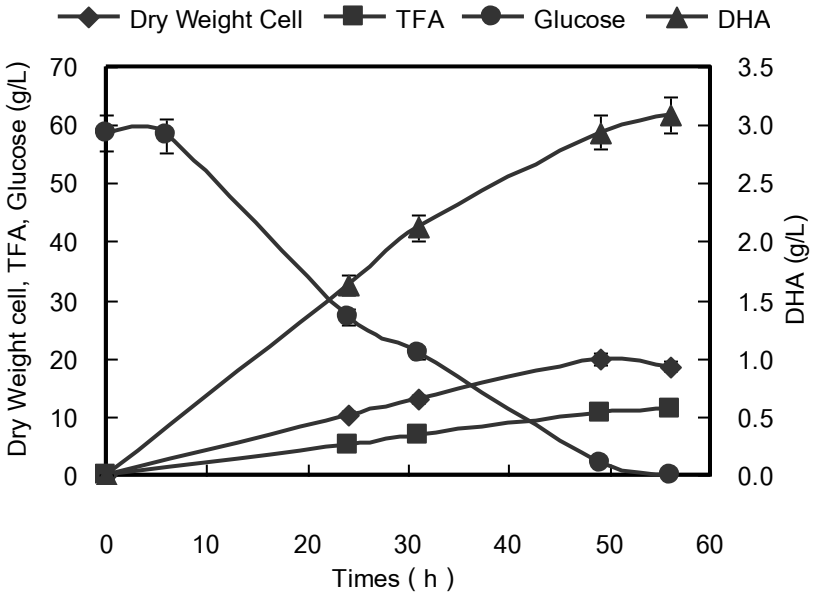
จากงานวิจัยของ Kamlangdee & Fan ในปี 2003 มีการคัดแยกจุลินทรีย์กลุ่ม *Schizochytrium* ได้ทั้งหมด 5 สายพันธุ์ จากป่าชายเลน ประเทศฮ่องกง พบว่า *Schizochytrium* sp. N-2 สามารถผลิตมวลเซลล์ได้สูงสุด 13.2 กรัมต่อลิตร และพบกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบหลักภายในเซลล์อยู่ 4 ชนิด คือ C15:0, C16:0, C22:4 และ C22:6 โดยจุลินทรีย์สายพันธุ์นี้สามารถผลิต C22:6 (DHA) ได้สูงสุด 36.1 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับ *Schizochytrium* ที่คัดแยกได้จากป่าชายเลนในประเทศไทยทั้ง 3 แหล่ง ที่สามารถผลิตมวลเซลล์ได้ในช่วง 16-21 กรัมต่อลิตร และ C22:6 (DHA) ได้ 31-40 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นจึงเลือก *Schizochytrium* sp. BCC 25505 ที่คัดแยกจากป่าชายเลนบางขุนเทียน มาใช้ในการหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิต DHA ต่อไป เนื่องจากสามารถผลิตมวลเซลล์ได้ 16 กรัมต่อลิตร และ DHA 39.6 เปอร์เซ็นต์

## 4.2 การหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและผลิต DHA

### 4.2.1 ผลของความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคส

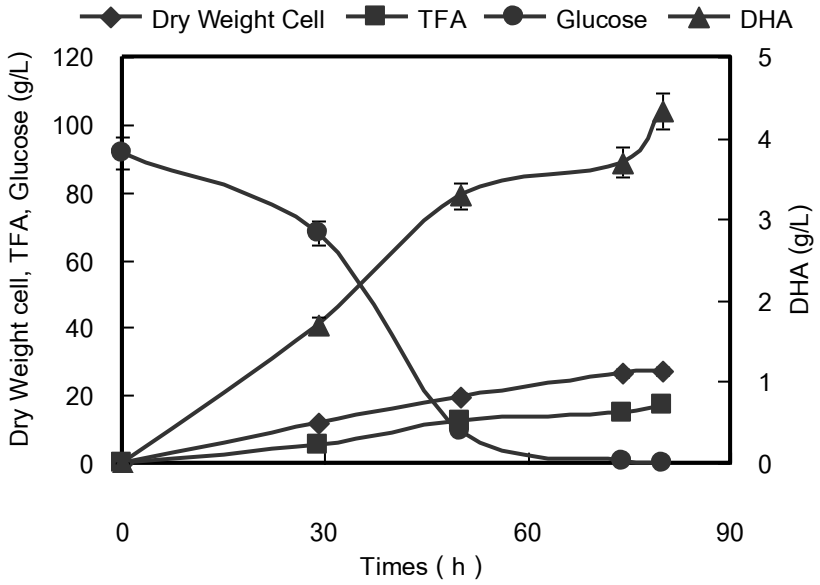
จากการทดลองเลี้ยง *Schizochytrium* sp. BCC 25505 โดยการใช้น้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่า เซลล์มีการเพิ่มปริมาณอย่างรวดเร็ว (log phase) ในช่วงเวลา 5-30 ชั่วโมง และ สามารถสร้างมวลเซลล์ในรูปน้ำหนักเซลล์แห้งได้สูงสุด 12.54 กรัมต่อลิตร เมื่อพิจารณาถึงการผลิต TFA ของจุลินทรีย์ พบว่าการสะสม TFA เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงปลาย log phase ของการเลี้ยง โดยสามารถผลิต TFA ได้สูงสุด 6.94 กรัมต่อลิตร และการผลิต DHA พบว่าจุลินทรีย์สามารถผลิต DHA ได้เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเลี้ยงเช่นเดียวกับการผลิต TFA โดยจุลินทรีย์สายพันธุ์นี้สามารถผลิต DHA ได้สูงสุด 2.19 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 31 ชั่วโมง

รูปที่ 4.2
ผลของน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 60 กรัมต่อลิตร ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA



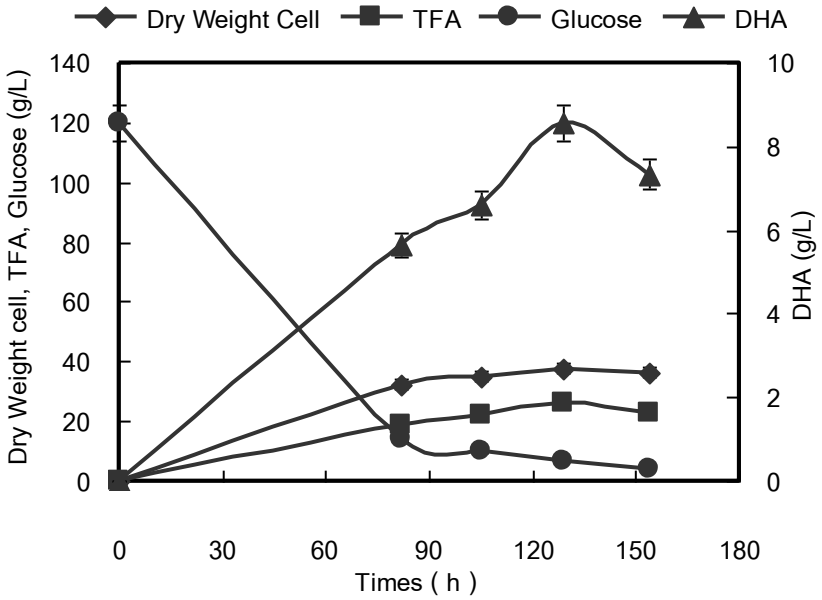

จากรูปที่ 4.2 แสดงผลของการเลี้ยง *Schizochytrium* sp. BCC 25505 โดยการใช้น้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 60 กรัมต่อลิตร พบว่าช่วง log phase ของการเจริญอยู่ในช่วงเวลา 10-50 ชั่วโมงแรกของการเลี้ยง และจุลินทรีย์สามารถสร้างมวลเซลล์ได้สูงสุดเมื่อการเจริญอยู่ในช่วง stationary phase คือ 18.62 กรัมต่อลิตร และการผลิต TFA ของจุลินทรีย์ พบว่าเซลล์มีการสร้าง TFA เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงท้ายการเจริญแบบ log phase และมีการสะสมสูงสุดเมื่อจุลินทรีย์เจริญอยู่ในช่วง stationary phase คือ 11.43 กรัมต่อลิตร เช่นเดียวกันกับการผลิต DHA ของจุลินทรีย์ พบว่าจุลินทรีย์สายพันธุ์นี้สามารถผลิต DHA ได้สูงสุด 3.08 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 56 ชั่วโมง ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการทดลองของ Unagul พบว่าจุลินทรีย์ *Schizochytrium mangrovei* Sk-02 สามารถผลิตมวลเซลล์ได้ 16.9 กรัมต่อลิตร และ DHA 3.51 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้น้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 60 กรัมต่อลิตร (Unagul, 2006)

รูปที่ 4.3
ผลของน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 90 กรัมต่อลิตร ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA



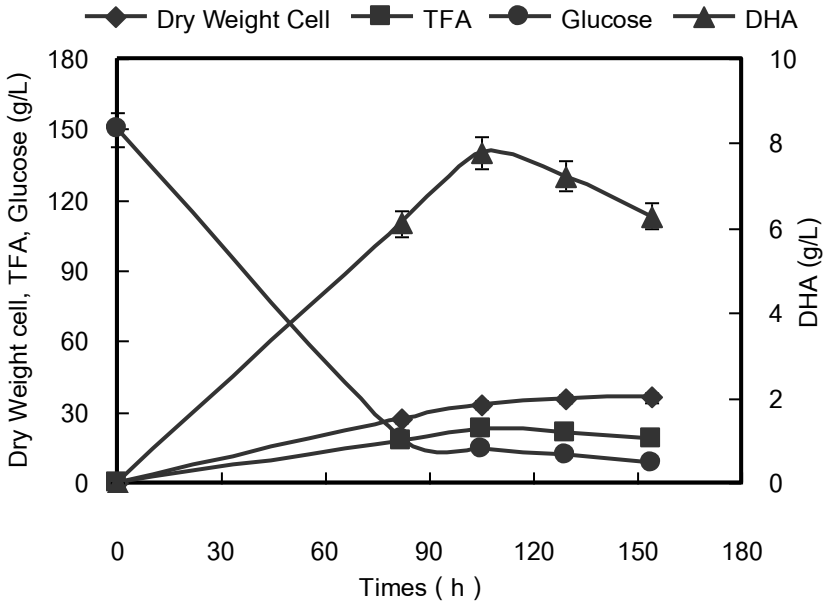

จากรูปที่ 4.3 แสดงผลของการเลี้ยง *Schizochytrium* sp. BCC 25505 โดยการใช้น้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 90 กรัมต่อลิตร พบว่า ระยะเวลาการเลี้ยง 20-70 ชั่วโมง เซลล์มีการเจริญอยู่ในช่วง log phase และจุลินทรีย์สามารถสร้างมวลเซลล์ได้สูงสุด 27.2 กรัมต่อลิตร และเมื่อพิจารณาถึงการผลิต TFA ของจุลินทรีย์ พบว่า ในช่วงท้ายการเจริญแบบ log phase เซลล์มีการสะสม TFA เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และมีการสะสมสูงสุดเมื่อจุลินทรีย์เจริญอยู่ในช่วง stationary phase โดยสามารถผลิต TFA ได้สูงสุด 17.15 กรัมต่อลิตร เช่นเดียวกันกับการผลิต DHA ของจุลินทรีย์ พบว่าสามารถผลิต DHA ได้สูงสุด 4.33 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 80 ชั่วโมง

รูปที่ 4.4
ผลของน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 120 กรัมต่อลิตร ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA



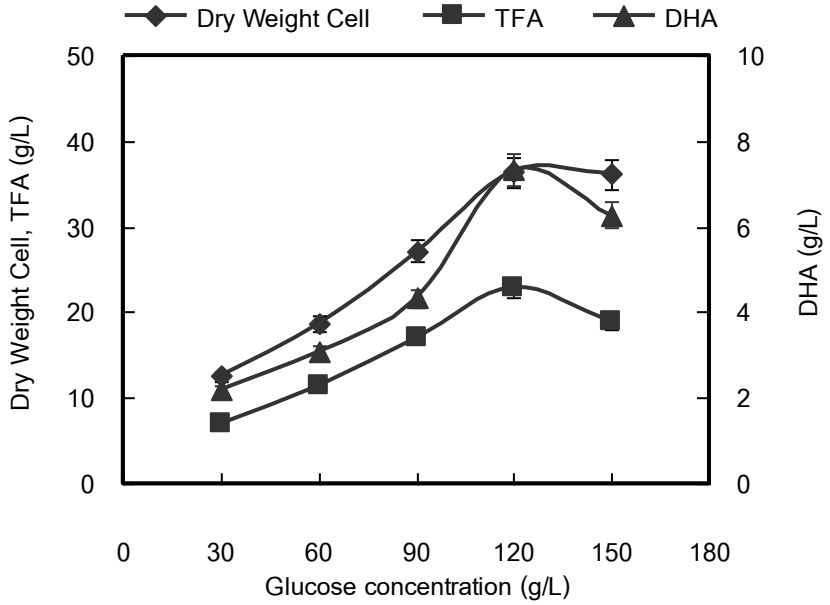

จากรูปที่ 4.4 แสดงผลของการเลี้ยง *Schizochytrium* sp. BCC 25505 โดยการใช้น้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 120 กรัมต่อลิตร พบว่าเซลล์มี ช่วงการเจริญแบบ log phase ที่ช่วงเวลา 50-100 ชั่วโมงแรกของการเลี้ยง จากนั้นการเจริญของจุลินทรีย์เข้าสู่ช่วง stationary phase โดยจุลินทรีย์สามารถสร้างมวลเซลล์ได้สูงสุด 37.73 กรัมต่อลิตร จากนั้นมวลเซลล์จะเริ่มลดลงเพราะเริ่มขาดแคลนสารอาหารเนื่องจากน้ำตาลกลูโคสที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอนหมด และการผลิต TFA ของจุลินทรีย์ พ บว่ามีการสะสม TFA เพิ่มขึ้นอย่างมากในช่วงท้ายการเจริญแบบ log phase และมีการสะสมสูงสุดเมื่อจุลินทรีย์เจริญอยู่ในช่วง stationary phase โดยสามารถผลิต TFA ได้สูงสุด 26.1 กรัมต่อลิตร และ เมื่อพิจารณาถึงการผลิต DHA ของจุลินทรีย์ พบว่าจุลินทรีย์สายพันธุ์นี้สามารถผลิต DHA ได้สูงสุด 8.55 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 129 ชั่วโมง

รูปที่ 4.5
ผลของน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 150 กรัมต่อลิตร ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA




จากรูปที่ 4.5 แสดงผลของการเลี้ยง *Schizochytrium* sp. BCC 25505 โดยการใช้น้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 150 กรัมต่อลิตร พบว่า จุลินทรีย์มีการเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วในช่วงเวลา 50-120 ชั่วโมง ซึ่งเป็นช่วงการเจริญแบบ log phase และสามารถสร้างมวลเซลล์ได้สูงสุด เมื่อการเจริญ เข้าสู่ช่วง stationary phase คือ 33.2 กรัมต่อลิตร และการผลิต TFA ของจุลินทรีย์ พบว่าการสะสม TFA ของจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นอย่างมากในช่วงปลายของการเจริญแบบ log phase และเมื่อการเจริญของจุลินทรีย์เข้าสู่ช่วง stationary phase สามารถผลิต TFA ได้สูงสุด 23.26 กรัมต่อลิตร และจากการวิเคราะห์ผลของ DHA ที่จุลินทรีย์ผลิตได้ พบว่าสามารถผลิต DHA ได้สูงสุด 7.78 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 154 ชั่วโมง

รูปที่ 4.6
ผลของน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 30-150 กรัมต่อลิตร ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA




จากรูปที่ 4.6 เป็นการเปรียบเทียบมวลเซลล์ เมื่อเลี้ยงจุลินทรีย์โดยใช้น้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 30-150 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่า เมื่อน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้นสูงขึ้น จุลินทรีย์สายพันธุ์นี้สามารถเจริญเติบโตและผลิตมวลเซลล์ได้เพิ่มขึ้น จากการทดลองเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วยน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 30 พบว่าสามารถผลิตมวลเซลล์ได้เพียง 12.54 กรัมต่อลิตร เท่านั้น แต่เมื่อทำการเลี้ ยงจุลินทรีย์ด้วยน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 120 กรัมต่อลิตร พบว่าสามารถผลิตมวลเซลล์ได้เพิ่มขึ้นเป็น 37.73 กรัมต่อลิตร เนื่องจากแหล่งคาร์บอนเพิ่มขึ้น แต่เมื่อเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วยน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 150 กรัมต่อลิตร พบว่ามวลเซลล์ที่จุลินทรีย์ผลิตได้คือ 33.2 กรัมต่อลิตร เมื่อเทียบกับการเลี้ยงด้วยการเติมน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 120 กรัมต่อลิตร พบว่าปริมาณมวลเซลล์ที่จุลินทรีย์ผลิตได้ลดลงไป 4.53 กรัมต่อลิตร เนื่องจากค่า pH ที่ลดลงเมื่อเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วยปริมาณน้ำตาลกลูโคสสูงขึ้น โดยการเปรียบเทียบค่า pH ที่ได้จากการเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วยน้ำตาลกลูโคส 30 กรัมต่อลิตร และ 120 กรัมต่อลิตร พบว่าค่า pH จะลดลงจาก 7.25 เป็น 4.45 เนื่องจากการเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วยน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้นสูงขึ้น ทำให้จุลินทรีย์มีการเจริญสูงขึ้น และจากวิถีการสังเคราะห์กรดไขมันพบว่าเมื่อมีการใช้กลูโค สสูงขึ้นเพื่อสร้างพลังงาน ทำให้เกิดสภาวะขาดแคลนอากาศจึงมีการผลิตกรดแลคติกเพิ่มขึ้นด้วย ส่งผลให้ค่า pH ลดลง เมื่อเพิ่มปริมาณน้ำตาลกลูโคส (Nelson & Cox, 2000)

การผลิต TFA ภายในเซลล์ พบว่าเมื่อเลี้ยงจุลินทรีย์สายพันธุ์นี้โดยการใช้น้ำตาลกลูโคสที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน คือ 30-120 กรัมต่อลิตร พบว่า เซลล์มีการผลิต TFA เพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบระหว่างการเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วยน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 30 และ 120 กรัมต่อลิตร โดยเซลล์มีการผลิต TFA ได้ 6.94 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้น้ำตาลกลูโคส 30 กรัมต่อลิตร แต่เมื่อทำการเลี้ยงด้วยน้ำตาลกลูโคส 120 กรัมต่อลิตร เซลล์สามารถผลิต TFA ได้เพิ่มขึ้นเป็น 26.1 กรัมต่อลิตร ซึ่งสอดคล้องกับทฤษฎีการสะสมไขมันของจุลินทรีย์นี้เกิดขึ้นเมื่ออาหารมีแหล่งคาร์บอนที่มากเกินพอ และมีการจำกัดปริมาณไนโตรเจนเพื่อใช้ในการเจริญของเซลล์ ดังนั้นไนโตรเจนจะ หมดอย่างรวดเร็ว ในขณะที่แหล่งคาร์บอนจะถูกนำมาสังเคราะห์ไขมัน โดยจะสร้างในรูปของ Triacylglycerols เป็น Oil droplets ภายในเซลล์ (Ratledge, 2004, p. 809) ดังนั้นการเติมแหล่งคาร์บอนมากจึงทำให้ปริมาณกรดไขมันเพิ่มสูงขึ้น

เมื่อพิจารณาถึงการผลิต DHA พบว่า *Schizochytrium* sp. BCC 25505 สามารถผลิต DHA ได้ 2.19 กรัมต่อลิตร เมื่อเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วยน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร และจากการทดลองเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วยน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้นสูงขึ้น พบว่าปริมาณ DHA ที่จุลินทรีย์สามารถผลิตได้เพิ่มขึ้น โดยการเลี้ยงจุลิน ทรีย์ด้วยน้ำตาลกลูโคส 120 กรัมต่อลิตร ปริมาณ DHA ที่เซลล์สามารถผลิตได้เพิ่มขึ้นถึง 2 เท่า เมื่อเทียบกับการเลี้ยงด้วยน้ำตาลกลูโคส 90 กรัมต่อลิตร ซึ่งปริมาณ DHA สูงสุดที่จุลินทรีย์สามารถผลิตได้คือ 8.55 กรัมต่อลิตร มาจากการเลี้ยงด้วยน้ำตาลกลูโคส 120 กรัมต่อลิตร แต่เมื่อทำการเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วยน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้นสูงกว่า 120 กรัมต่อลิตร พบว่า การผลิต DHA จะลดลง เนื่องจากเกิดการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์เมื่อน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้นสูงเกินไป (Jiang & Chen, 2000, p. 1206)

ตารางที่ 4.2

ผลของ Yield และ Volumetric Productivity ต่อการเจริญของจุลินทรีย์

| Glucose (g/L) | Times (h) | Yx/s | Yp/s | $P_{biomass}$ (g/L.h) | $P_{DHA}$ (g/L.h) |
|---|---|---|---|---|---|
| 30 | 31 | 0.40 | 0.07 | 0.40 | 0.07 |
| 60 | 56 | 0.35 | 0.05 | 0.33 | 0.06 |
| 90 | 80 | 0.30 | 0.05 | 0.34 | 0.05 |
| 120 | 129 | 0.31 | 0.06 | 0.29 | 0.07 |
| 150 | 154 | 0.26 | 0.06 | 0.22 | 0.05 |

จากตารางที่ 4.2 พบว่า ค่า Yield (Yx/s) ณ จุดสิ้นสุดการทดลอง ที่ได้จากการเลี้ยงด้วยอาหารที่เติมน้ำตาลกลูโคส 30 กรัมต่อลิตร มีค่า Yx/s สูงสุดคือ 0.40 หมายความว่าการเติมน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร จุลินทรีย์สายพันธุ์นี้มีสามารถในการสร้างมวลเซลล์ 1 กรัมมวล จากน้ำตาลกลูโคส 1 กรัมมวล ได้ดีที่สุด เนื่องจาก ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสต่ำทำให้ช่วง lag phase สั้น การเจริญของจุลินทรีย์จึงเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว เพื่อสร้างมวลเซลล์จากกลูโคส ส่วนการเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วยอาหารที่เติมน้ำตาลกลูโคส 60 กรัมต่อลิตร พบว่า Yx/s มีค่าเท่ากับ 0.35 เมื่อพิจารณาการเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วยอาหารที่เติมน้ำตาลกลูโคส 90 กรัมต่อลิตร พบว่า Yx/s มีค่าเท่ากับ 0.30 ส่วนการเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วยอาหารที่เติมน้ำตาลกลูโคส 120 กรัมต่อลิตร พบว่า Yx/s มีค่าเท่ากับ 0.31 และการเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วยอาหารที่มีน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 150 กรัมต่อลิตร จะได้ Yx/s คือ 0.26 ซึ่งมีค่าน้อยที่สุด เมื่อเทียบกับการเลี้ยงด้วยอาหารที่มีน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้นต่างๆ กัน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Unagul ที่พบว่าการเลี้ยง *Schizochytrium mangrovei* Sk-02 โดยการเติมน้ำตาลกลูโคส 60 กรัมต่อลิตร ได้ Yx/s เท่ากับ 0.28 (Unagul, 2006)

ค่า Yield (Yp/s) ณ จุดสิ้นสุดการทดลอง พบว่าค่า Yp/s สูงสุดจากการทดลองนี้คือ 0.07 ซึ่งได้จากการเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วยอาหารที่เติมน้ำตาลกลูโคส 30 กรัมต่อลิตร หมายความว่าการเติมน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน จุลินทรีย์สายพันธุ์นี้มีสามารถในการสร้าง DHA 1 กรัมมวล จาก น้ำตาลกลูโคส 1 กรัมมวล ได้ดีที่สุด ส่วนการเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วยการเติมน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 60 และ 90 กรัมต่อลิตร พบว่าค่า Yp/s ที่ได้มีค่าเท่ากันคือ 0.05 ส่วนการเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วยอาหารที่มีน้ำตาลกลูโคส 120 กรัมต่อลิตร จะได้ Yp/s

คือ 0.06 ซึ่งมีค่าน้อยกว่าการเลี้ยงด้วยอาหารที่มีน้ำตาลกลูโคส 30 กรัมต่อลิตร แต่สามารถผลิตมวลเซลล์ TFA และ DHA ได้สูงสุด เมื่อเทียบกับการเลี้ยงด้วยอาหารที่มีระดับความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสต่างๆ กัน ส่วนการเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วยอาหารที่มีน้ำตาลกลูโคส 150 กรัมต่อลิตร จะได้ Yp/s คือ 0.05 ซึ่งเท่ากับการเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วยอาหารที่มีน้ำตาลกลูโคส 120 กรัมต่อลิตร แต่มวลเซลล์ TFA และ DHA ที่จุลินทรีย์ผลิตได้มีค่าลดลง

ค่า Volumetric productivity ของมวลเซลล์ ($P_{biomass}$) เมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่าการเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วยการเติมน้ำตาลกลูโคส 30 กรัมต่อลิตร มีค่าสูงสุดคือ 0.4 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง หมายความว่า จุลินทรีย์สายพันธุ์นี้มีประสิทธิภาพในการสร้างมวลเซลล์ได้สูงสุดเมื่อเทียบกับระยะเวลาที่ใช้ไปเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ส่วนการเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วยการเติมน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 60 และ 90 กรัมต่อลิตร พบว่ามีค่า $P_{biomass}$ ใกล้เคียงกันคือ 0.33 และ 0.34 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาการเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วยการเติมน้ำตาลกลูโคส 120 กรัมต่อลิตร พบว่า $P_{biomass}$ มีค่าเท่ากับ 0.29 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และการเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วยการเติมน้ำตาลกลูโคส 150 กรัมต่อลิตร พบว่ามีประสิทธิภาพในการสร้างมวลเซลล์เมื่อเทียบกับระยะเวลาที่ใช้ไปเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าต่ำที่สุดคือ 0.22 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

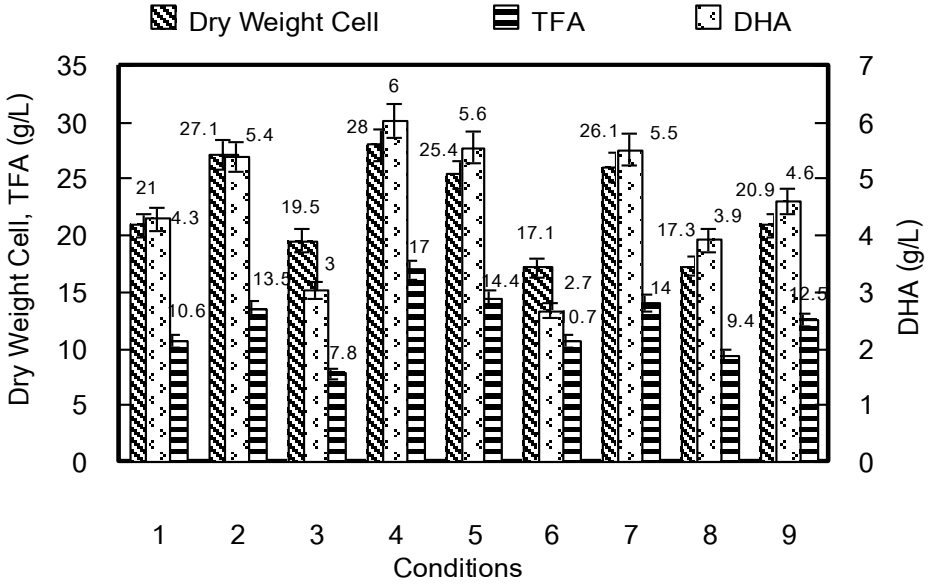
ค่า Volumetric productivity ของ DHA ($P_{DHA}$) เมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่าประสิทธิภาพในการสร้าง DHA ได้สูงสุดของจุลินทรีย์ได้มาจากการเลี้ยงด้วยการเติมน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 30 และ 120 กรัมต่อลิตร คือ 0.07 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ส่วนการเลี้ยงโดยการใช้น้ำตาลกลูโคส 60 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่า $P_{DHA}$ มีค่าเท่ากับ 0.06 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และการเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วยการเติมน้ำตาลกลูโคส 90 และ150 กรัมต่อลิตร พบว่ามีประสิทธิภาพในการสร้าง DHA เท่ากันคือ 0.05 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

#### 4.2.2 ผลของ NaCl, $Na_2SO_4$ และ $MgSO_4$

*Schizochytrium* sp. จัดว่าเป็นจุลินทรีย์ทะเลจึงต้องการเกลือในการเจริญ ทำให้การเลี้ยงจุลินทรีย์ชนิดนี้จำเป็นต้องเติมเกลือทะเลสังเคราะห์ ซึ่งมีองค์ประกอบหลักคือ NaCl, $Na_2SO_4$ และ $MgSO_4$ (ตารางภาคผนวก ข .2) ดังนั้นการทดลองนี้จึงศึกษาผลขององค์ประกอบหลักที่พบในเกลือทะเลสังเคราะห์ที่มีผลต่อการเจริญ และ การผลิต DHA ของจุลินทรีย์ *Schizochytrium* sp. BCC 25505 นอกจากนี้ยังมีวัตถุประสงค์เพื่อลดปริมาณการใช้เกลือทะเล เนื่องจากธาตุคลอไรด์ ($Cl^-$) ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของเกลือทะเลทำให้เกิดการกัดกร่อนของโลหะที่เป็นส่วนประกอบหลักของถังหมัก (Fermenter) (Barclay, Meager & Abril, 1994, p. 126)

รูปที่ 4.7

ผลของปริมาณ NaCl, $Na_2SO_4$ และ $MgSO_4$ ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA




หมายเหตุ: 1 คือ ผลของการเติม $Na_2SO_4$ 6 mM และ $MgSO_4$ 1 mM

2 คือ ผลของการเติม $MgSO_4$ 10 mM

3 คือ ผลของการเติม NaCl 12 mM, $Na_2SO_4$ 6 mM และ $MgSO_4$ 1 mM

4 คือ ผลของการเติม NaCl 12 mM และ $MgSO_4$ 10 mM

5 คือ ผลของการเติม NaCl 12 mM, $Na_2SO_4$ 6 mM และ $MgSO_4$ 10 mM

6 คือ ผลของการเติม $MgSO_4$ 1 mM

7 คือ ผลของการเติม$Na_2SO_4$ 6 mM และ $MgSO_4$ 10 mM

8 คือ ผลของการเติม NaCl 12 mM และ $MgSO_4$ 1 mM

9 คือ ผลของการเติมเกลือทะเลสังเคราะห์ 15 กรัมต่อลิตร (การทดลองควบคุม)

จากรูปที่ 4.7 พบว่าเมื่อเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วยอาหารที่มีการเติม NaCl 12 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับการเติม $MgSO_4$ 10 มิลลิโมลาร์ (Condition ที่ 4) จุลินทรีย์สายพันธุ์นี้สามารถเจริญเติบโตและผลิตมวลเซลล์ในรูปน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดคือ 28 กรัมต่อลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับการเติม $MgSO_4$ 10 มิลลิโมลาร์ เพียงอย่างเดียว (Condition ที่ 2) พบว่าจุลินทรีย์สามารถผลิตมวลเซลล์ได้ 27 กรัมต่อลิตร และเมื่อ เลี้ยงด้วยอาหารที่มีการเติมเกลือทะเลสังเคราะห์ (การทดลองควบคุม) 15 กรัมต่อลิตร จุลินทรีย์สามารถผลิ ตมวลเซลล์ได้ 21 กรัมต่อลิตร แต่เนื่องจากการเติม NaCl ทำให้เกิดการกัดกร่อนของโลหะซึ่งเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของถังหมักจากธาตุคลอไรด์ ดังนั้นใน

การผลิตควรเลือกเติม $MgSO_4$ 10 มิลลิโมลาร์ เพียงอย่างเดียว เพราะมวลเซลล์มีค่าน้อยกว่าเพียง 1 กรัมต่อลิตร เท่านั้น และเมื่อเทียบกั บการเติมเกลือทะเลสังเคราะห์ 15 กรัมต่อลิตร พบว่า สามารถผลิตมวลเซลล์ได้มากกว่าถึง 6 กรัมต่อลิตร เมื่อมีการเติม $MgSO_4$ 10 มิลลิโมลาร์ เพียงอย่างเดียว

การผลิต TFA ภายในเซลล์ พบว่าเมื่อเลี้ยงจุลินทรีย์สายพันธุ์นี้โดย การเติม NaCl 12 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับการเติม $MgSO_4$ 10 มิลลิโมลาร์ ลงในอาหาร เซลล์มีการผลิต TFA ได้สูงสุดคือ 17 กรัมต่อลิตร เมื่อเทียบกับการเลี้ยงด้วยการเติม $MgSO_4$ 10 มิลลิโมลาร์ เพียงอย่างเดียว พบว่า เซลล์มีการผลิต TFA ได้ 13.5 กรัมต่อลิตร ซึ่งค่าดังกล่าวสูงกว่าการเลี้ยงด้วยเกลือทะเลสังเคราะห์ 1 กรัมต่อลิตร

เมื่อพิจารณาการผลิต DHA ของจุลินทรีย์ พบว่าเมื่อเลี้ยงจุลินทรีย์สายพันธุ์นี้โดย การเติม NaCl 12 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับการเติม $MgSO_4$ 10 มิลลิโมลาร์ ลงในอาหาร เซลล์มีการผลิต DHA ได้สูงสุดคือ 6 กรัมต่อลิตร ซึ่งสูงกว่าการเติม $MgSO_4$ 10 มิลลิโมลาร์ เพียงอย่า งเดียว 0.6 กรัมต่อลิตร เท่านั้น แต่เมื่อเทียบกับ การเลี้ยงด้วยการเติมเกลือทะเลสังเคราะห์ที่สามารถผลิต DHA ได้ 4.6 กรัมต่อลิตร พบว่าการเติม $MgSO_4$ 10 มิลลิโมลาร์ เพียงอย่างเดียว จุลินทรีย์สามารถผลิต DHA ได้สูงกว่าถึง 1.4 กรัมต่อลิตร

ตารางที่ 4.3

ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Tests of Between-Subjects Effects) เพื่อศึกษาอิทธิพลของเกลือต่อการเจริญของ *Schizochytrium* sp. BCC 25505

Dependent Variable: DHA

| Source | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Corrected Model | 14.445(a) | 3 | 4.815 | 15.321 | .000 |
| Intercept | 369.985 | 1 | 369.985 | 1177.258 | .000 |
| NaCl | .004 | 1 | .004 | .011 | .917 |
| $Na_2SO_4$ | .714 | 1 | .714 | 2.272 | .158 |
| $MgSO_4$ | 13.727 | 1 | 13.727 | 43.678 | .000 |
| Error | 3.771 | 12 | .314 | | |
| Total | 388.201 | 16 | | | |
| Corrected Total | 18.216 | 15 | | | |

หมายเหตุ: a หมายถึง ค่า R Squared = .993 (Adjusted R Squared = .941)

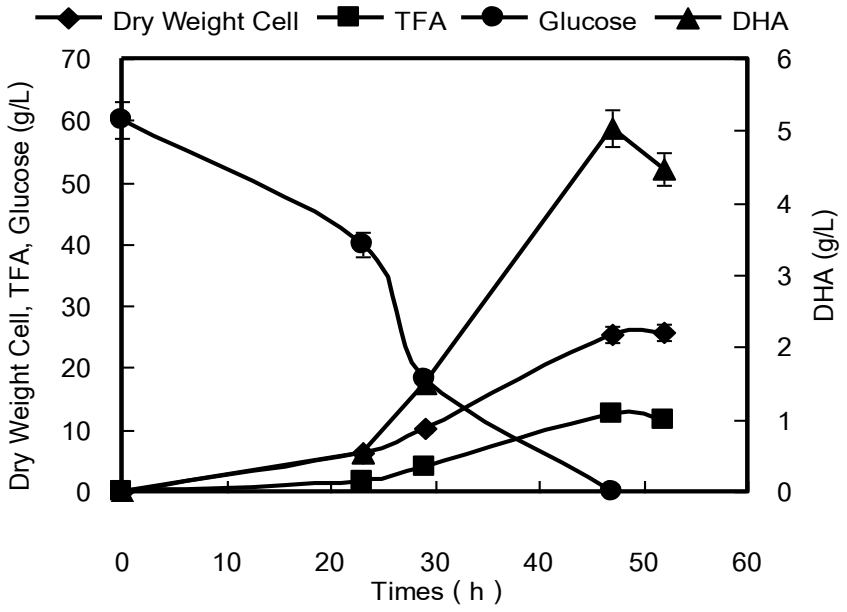
จากตารางที่ 4.3 เป็นการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติเพื่อศึกษาอิทธิพลของเกลือ โดยการดูจากค่า Sig. (Significant) ถ้ามีค่ามากกว่า 0.05 หมายความว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ถ้ามีค่าน้อยกว่า 0.05 หมายความว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Apiratkamon, 2004) และจากการคำนวณพบว่า $MgSO_4$ มีค่า Sig. เท่ากับ 0.00 แสดงว่า $MgSO_4$ มีผลต่อการเจริญและสร้างกรดไขมันของ *Schizochytrium* sp. BCC 25505 มากที่สุดในทดลองนี้ที่ระดับความเชื่อมั่น 99.3 เปอร์เซ็นต์ ส่วน $Na_2SO_4$ และ NaCl มีค่า Sig. เท่ากับ 0.158 และ 0.917 ตามลำดับ หมายความว่าเกลือทั้ง 2 ชนิดไม่มีผลต่อการเจริญของ *Schizochytrium* sp. BCC 25505 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Unagul ที่พบว่าการเติม $MgSO_4$ และ trace elements มีผลต่อการสร้างมวลเซลล์ของ *Schizochytrium mangrovei* Sk-02 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Unagul, 2006)

จากการศึกษาอิทธิพลของเกลือทั้ง 3 ชนิดคือ NaCl, $Na_2SO_4$ และ $MgSO_4$ ต่อการเจริญของ *Schizochytrium* sp. BCC 25505 พบว่า $MgSO_4$ มีผลต่อการเจริญ การสร้างกรดไขมัน และ DHA มากที่สุด เนื่องจาก $Mg^{2+}$ เป็น Co-factor ที่สำคัญในวิถี Glycolysis ทำให้น้ำตาลกลูโคสถูกเปลี่ยนไปเป็น Pyruvate (Nelson & Cox, 2004, p. 525) จากนั้นจะเกิดปฏิกิริยา Oxidative Decarboxylation เพื่อเปลี่ยน Pyruvate ไปเป็น Acetyl-CoA โดยเอนไซม์ Pyruvate Dehydrogenase (PDH) Complex ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์กรดไขมัน ดังนั้นการเติม $MgSO_4$ จึงทำให้เกิดการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสไปเป็นอะซิทิลโคเอ (Acetyl-CoA) เพื่อสร้างกรดไขมันได้มากขึ้น

### 4.2.3 ผลของธาตุ (Elements) ที่เป็นองค์ประกอบหลักในเกลือทะเล

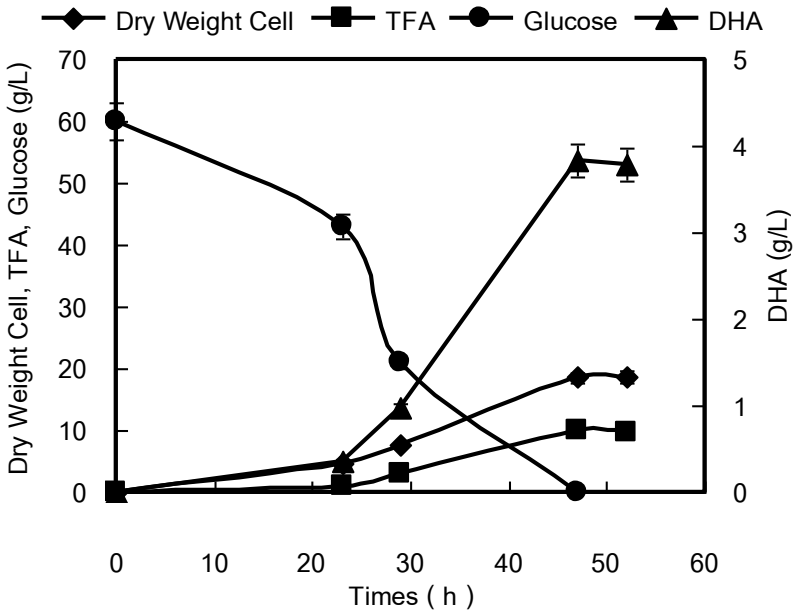
จากผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของการทดลองที่ 4.2.2 พบว่า $MgSO_4$ มีผลการเจริญของจุลินทรีย์ *Schizochytrium* sp. BCC 25505 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 99.3 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นการทดลองนี้จึงศึกษาการลดลงของธาตุแต่ละชนิด เมื่อเลี้ยงที่ช่วงเวลาต่างๆ ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 ประเภทคือ 1. Cation ได้แก่ $Na^+$ และ $Mg^{2+}$ วิเคราะห์ด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectroscopy (AAS) 2. Anion ได้แก่ $Cl^-$ และ $SO_4^{2-}$ วิเคราะห์ด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

รูปที่ 4.8
ผลของการเติม $MgSO_4$ 10 มิลลิโมลาร์ ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA



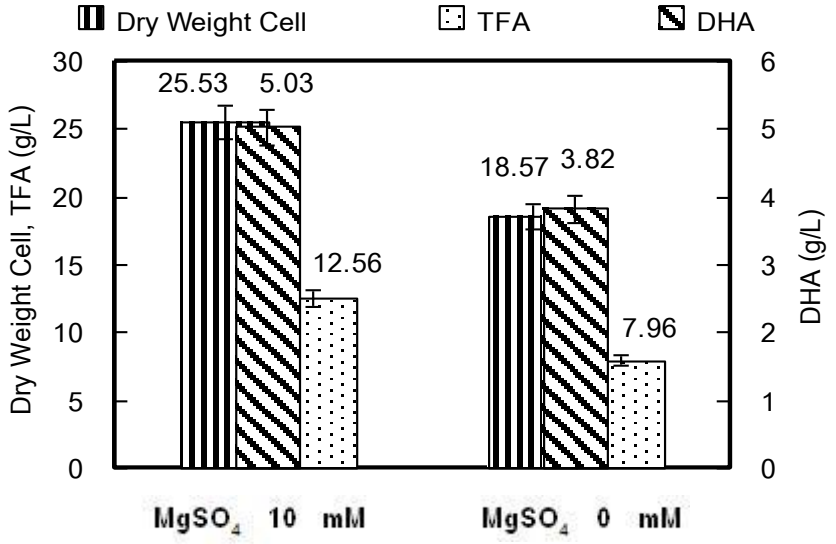

จากรูปที่ 4.8 แสดงผลของการเลี้ยง *Schizochytrium* sp. BCC 25505 โดยการเติม $MgSO_4$ 10 มิลลิโมลาร์ พบว่าในช่วงเวลา 20-40 ชั่วโมงแรกของการเลี้ยง เซลล์มีการเจริญแบบ log phase โดยมีการเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว และสามารถสร้างมวลเซลล์ได้สูงสุด 25.5 กรัมต่อลิตร เมื่อพิจารณา ถึงการผลิต TFA พบว่าการสะสม TFA ของเซลล์มีการเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วในช่วงท้ายของการเจริญแบบ stationary phase สามารถผลิต TFA ได้สูงสุด 12.6 กรัมต่อลิตร และการผลิต DHA พบว่าจุลินทรีย์สามารถผลิต DHA ได้เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเลี้ยงเช่นเดียวกับ TFA โดยสามารถผลิต DHA ได้สูงสุด 5 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 47 ชั่วโมง

รูปที่ 4.9
ผลของการเลี้ยงโดยไม่มีการเติม $MgSO_4$ 10 มิลลิโมลาร์ ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA




จากรูปที่ 4.9 แสดงผลของการเลี้ยง *Schizochytrium* sp. BCC 25505 ด้วยอาหารที่ไม่มีการเติม $MgSO_4$ พบว่า เซลล์มีการเจริญแบบ log phase ที่ช่วงเวลา 30-45 ชั่วโมงแรกของการเลี้ยง โดยเซลล์มีการ เพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว และสามารถสร้างมวลเซลล์ได้สูงสุด 18.6 กรัมต่อลิตร และการผลิต TFA ของจุลินทรีย์ พบว่าในช่วงปลายของการเจริญแบบ log phase เซลล์มีการสะสม TFA สูงขึ้น โดยสามารถผลิต TFA ได้สูงสุด 9.9 กรัมต่อลิตร และเมื่อพิจารณาการผลิต DHA พบว่าจุลินทรีย์สามารถผลิต DHA ได้สูงสุด 3.8 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 47 ชั่วโมง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Unagul ที่พบว่าการเลี้ยง *Schizochytrium mangrovei* Sk-02 โดยไม่มีการเติม $MgSO_4$ จุลินทรีย์จะสร้างมวลเซลล์ได้ 13.8 กรัมต่อลิตร และ DHA 2.8 กรัมต่อลิตร และเมื่อเติม $MgSO_4$ 4.8 มิลลิโมลาร์ พบว่ามวลเซลล์จะเพิ่มขึ้นเป็น 20 กรัมต่อลิตร (Unagul, 2006)

รูปที่ 4.10
ผลของการเติมและไม่เติม $MgSO_4$ 10 มิลลิโมลาร์ ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA



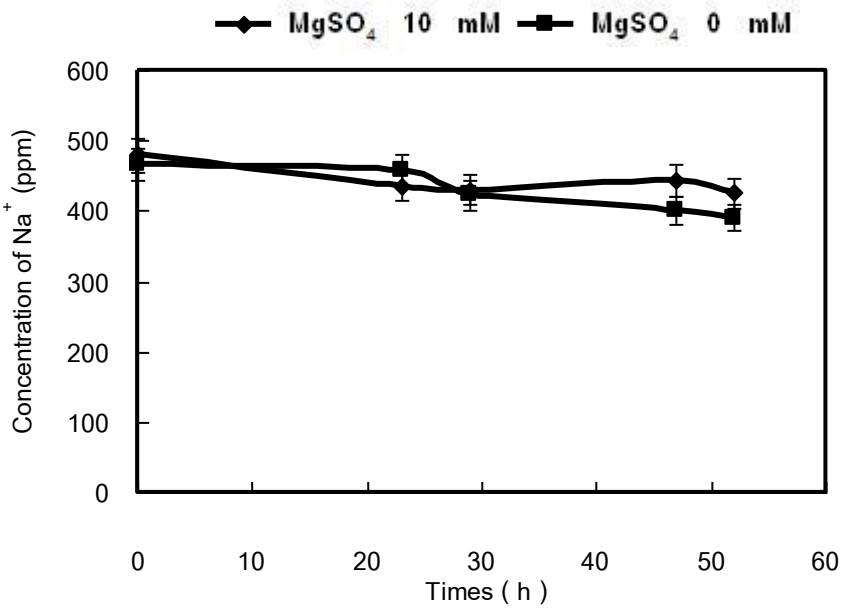

จากรูปที่ 4.10 แสดงผลของการเติม $MgSO_4$ 10 มิลลิโมลาร์ เปรียบเทียบกับอาหารที่ไม่มีการเติม $MgSO_4$ ต่อการเจริญเติบโตของ *Schizochytrium* sp. BCC 25505 พบว่าการเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วยอาหารที่มีการเติม $MgSO_4$ 10 มิลลิโมลาร์ สามารถผลิตมวลเซลล์ได้ 25.53 กรัมต่อลิตร และการเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วยอาหารที่มีไม่มีการเติม $MgSO_4$ พบว่าสามารถผลิตมวลเซลล์ได้ 18.57 กรัมต่อลิตร ซึ่งเห็นได้ว่าจุลินทรีย์ สามารถผลิตมวลเซลล์ได้สูงขึ้นถึง 6.9 กรัมต่อลิตร เมื่อเลี้ยงด้วยอาหารที่มีการเติม $MgSO_4$ 10 มิลลิโมลาร์ และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Unagul ที่พบว่าการเติม $MgSO_4$ มีผลต่อการสร้างมวลเซลล์ของ *Schizochytrium mangrovei* Sk-02 (Unagul, 2006)

การผลิต TFA ภายในเซลล์ พบว่าเมื่อเลี้ยงจุลินทรีย์สายพันธุ์ นี้โดยการเติม $MgSO_4$ 10 มิลลิโมลาร์ ทำให้เซลล์มีการผลิต TFA เพิ่มขึ้น เมื่อเทียบกับการเลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่มีการเติม $MgSO_4$ จาก 9.9 เป็น 12.6 กรัมต่อลิตร ซึ่งสูงขึ้นถึง 2.7 กรัมต่อลิตร ซึ่งจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า $MgSO_4$ มีผลต่อการสร้าง TFA ของจุลินทรีย์สายพันธุ์นี้ด้วย

เมื่อพิจารณาถึงการผลิต DHA พบว่า *Schizochytrium* sp. BCC 25505 สามารถผลิต DHA ได้เพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มปริมาณ $MgSO_4$ จาก 0 เป็น 10 มิลลิโมลาร์ โดยการเลี้ยงด้วยอาหารที่มี $MgSO_4$ 10 มิลลิโมลาร์ จุลินทรีย์จะสามารถผลิต DHA ได้ 5 กรัมต่อลิตร ซึ่งสูงกว่าการเลี้ยง

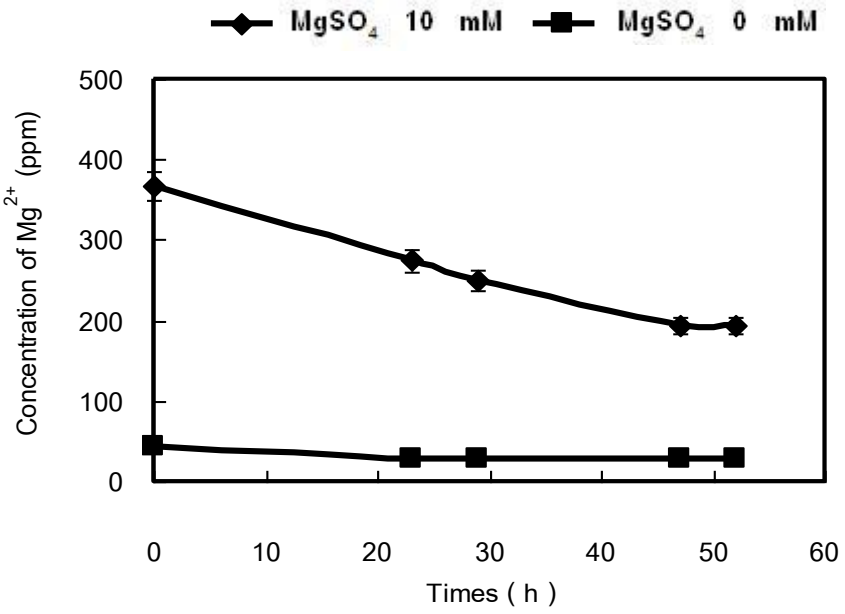
ด้วยอาหารที่ไม่มีการเติม $MgSO_4$ ถึง 1.2 กรัมต่อลิตร ดังนั้นจึงได้มีศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณของธาตุต่างๆ ในอาหารคือ $Na^+$, $Mg^{2+}$, $Cl^-$ และ $SO_4^{2-}$

รูปที่ 4.11
การเปลี่ยนแปลงปริมาณ $Na^+$ ที่เวลาต่างๆ ในอาหารที่มีการเติมและไม่เติม $MgSO_4$ 10 mM



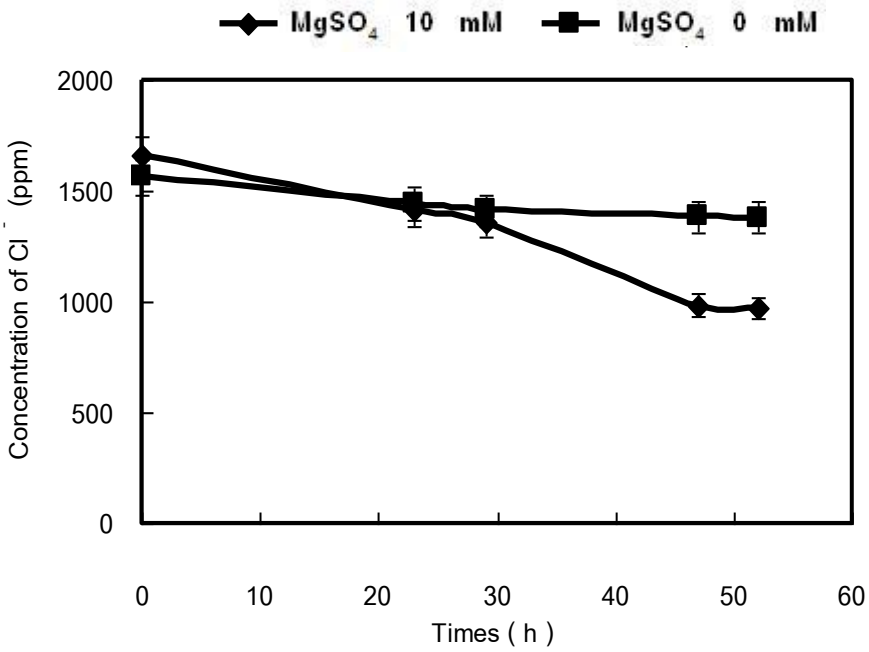

จากรูปที่ 4.11 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณ $Na^+$ พบว่าปริมาณ $Na^+$ เริ่มต้นในอาหารทั้ง 2 ขวด (อาหารที่มีการเติม $MgSO_4$ 10 มิลลิโมลาร์ และอาหารที่ไม่มีการเติม $MgSO_4$) มีปริมาณใกล้เคียงกัน ซึ่งเป็น $Na^+$ ที่ได้จากอาหารเตรียมกล้าเชื้อ โดยเริ่มต้นมี $Na^+$ ปริมาณ 479.20 ppm ในอาหารที่มีการเติม $MgSO_4$ 10 มิลลิโมลาร์ จากนั้นปริมาณ $Na^+$ จะค่อยๆ ลดลง จนกระทั่งเหลือ $Na^+$ ปริมาณ 443.85 ppm โดยจุลินทรีย์มีการใช้ $Na^+$ ไป 35.35 ppm เมื่อทำการเลี้ยงไป 47 ชั่วโมง และ อาหารที่มีไม่มีการเติม $MgSO_4$ เริ่มต้นมี $Na^+$ ปริมาณ 466.27 ppm จากนั้นปริมาณ $Na^+$ จะค่อยๆ ลดลง จนกระทั่งเหลือ $Na^+$ ปริมาณ 400.33 ppm โดยจุลินทรีย์มีการใช้ $Na^+$ ไป 65.94 ppm เมื่อทำการเลี้ยงไป 47 ชั่วโมง ซึ่งกระบวนการเลี้ยงเกี่ยวข้องกับกระบวน Na-K pump ของเซลล์ เพื่อทำให้เซลล์อยู่ในสภาวะสมดุลของพลังงานที่ได้รับและนำออกจากเซลล์ (Nelson & Cox, 2000, p. 398) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Shabala ที่พบว่า *Thraustochytrium* sp. มีการใช้ $Na^+$ เพื่อการพัฒนาเซลล์ ทำให้ปริมาณ $Na^+$ ในอาหารลดลง (Shabala, Shabala, Ross & McMeekin, 2001)

รูปที่ 4.12
การเปลี่ยนแปลงปริมาณ $Mg^{2+}$ ที่เวลาต่างๆ ในอาหารที่มีการเติมและไม่เติม $MgSO_4$ 10 mM



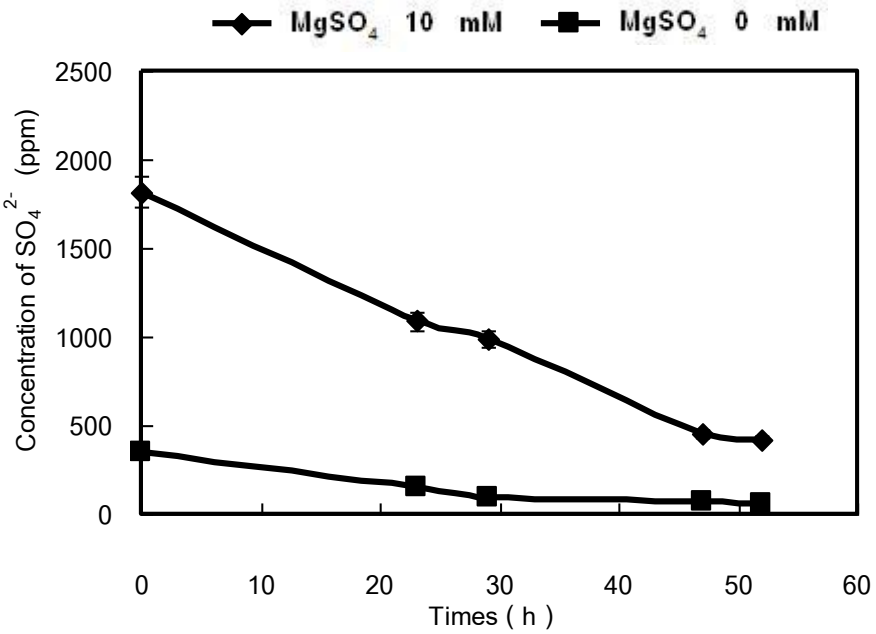

จากรูปที่ 4.12 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณ $Mg^{2+}$ ในอาหารที่มีการเติม $MgSO_4$ 10 มิลลิโมลาร์ เริ่มต้น 366.8 ppm (ตารางที่ ง.7) และอาหารที่ไม่มีการเติม $MgSO_4$ พบปริมาณ $Mg^{2+}$ เริ่มต้นคือ 42.380 ppm ซึ่งเป็น $Mg^{2+}$ ที่ได้รับจากอาหารเตรียมกล้าเชื้อ และจากการวิเคราะห์ในอาหารที่มีการเติม $MgSO_4$ 10 มิลลิโมลาร์ ที่ระยะเวลาต่างๆ พบว่าปริมาณ $Mg^{2+}$ ลดลงอย่างรวดเร็วในช่วงการเจริญแบบ log phase จนกระทั่ง $Mg^{2+}$ เหลือ 193.44 ppm ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 47 ชั่วโมง ซึ่งพบว่ามีการใช้ $Mg^{2+}$ ไป 173.36 ppm ส่วนอาหารที่ไม่มีการเติม $MgSO_4$ และทำการเลี้ยงที่ 47 ชั่วโมงเช่นเดียวกัน พบว่ามีปริมาณ $Mg^{2+}$ เหลือ 27.15 ppm โดยจุลินทรีย์มีการใช้ $Mg^{2+}$ ไป 15.23 ppm ดังนั้น $Mg^{2+}$ น่าจะถูกนำไปใช้ในกระบวนการเจริญเติบโตของเซลล์ เนื่องจาก $Mg^{2+}$ เป็น Co-factor ที่สำคัญในกระบวนการสร้างพลังงานของเซลล์ในวัฏจักร Kreb's (Nelson & Cox, 2000, p. 525) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Unagul ที่พบว่าการเพิ่มปริมาณ $MgSO_4$ จาก 0.8-4.8 มิลลิโมลาร์ ทำให้มวลเซลล์มีปริมาณสูงขึ้นถึง 4 เท่า (Unagul, 2006)

รูปที่ 4.13
การเปลี่ยนแปลงปริมาณ $Cl^-$ ที่เวลาต่างๆ ในอาหารที่มีการเติมและไม่เติม $MgSO_4$ 10 mM




จากรูปที่ 4.13 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณ $Cl^-$ พบว่าอาหารที่มีและไม่มีการเติม $MgSO_4$ 10 มิลลิโมลาร์ มี ปริมาณ $Cl^-$ เริ่มต้นใกล้เคียงกันคือ 1661.86 และ 1561.99 ppm ตามลำดับ (ตารางที่ ง.8) โดยปริมาณดังกล่าวมาจากอาหารเตรียมกล้าเชื้อ ทำให้เริ่มต้นก่อนการเลี้ยงมี $Cl^-$ อยู่ในปริมาณใกล้เคียงกัน จากนั้นปริมาณ $Cl^-$ ในอาหารที่ไม่มีการเติม $MgSO_4$ ลดลงเพียงเล็กน้อยจาก 1561.99 เป็น 1412.68 ppm จนกระทั่งคงที่เมื่อเวลาผ่านไป 29 ชั่วโมง แต่อาหารที่มีการเติม $MgSO_4$ 10 มิลลิโมลาร์ พบว่า $Cl^-$ จะลดลงอย่างรวดเร็วจนกระทั่งคงที่เมื่อน้ำตาลกลูโคสหมด และเนื่องจาก $MgSO_4$ มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์สายพันธุ์นี้ทำให้การเลี้ยงด้วยอาหารที่มีการเติม $MgSO_4$ มีการเจริญสูงกว่าการเลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่มีการเติม $MgSO_4$ ดังนั้นจุลินทรีย์จึงมีการใช้ $Cl^-$ ในกระบวนการเจริญเติบโตของเซลล์มากกว่า ทำให้ปริมาณ $Cl^-$ มีการลดลงมากกว่าการเลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่มีการเติม $MgSO_4$ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Unagul ที่พบว่า $Cl^-$ เป็นธาตุที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของ *Schizochytrium mangrovei* Sk-02 (Unagul, 2006)

รูปที่ 4.14
การเปลี่ยนแปลงปริมาณ $SO_4^{2-}$ ที่เวลาต่างๆ ในอาหารที่มีการเติมและไม่เติม $MgSO_4$ 10 mM

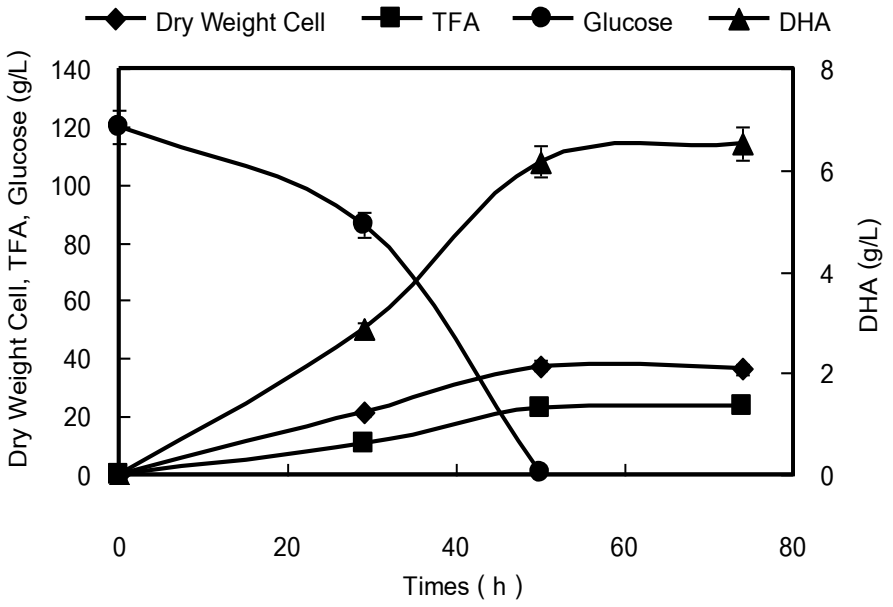



จากรูปที่ 4.14 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณ $SO_4^{2-}$ ในอาหารที่มีการเติม $MgSO_4$ 10 มิลลิโมลาร์ พบว่า $SO_4^{2-}$ เริ่มต้นมีปริมาณ 1819.36 ppm (ตารางที่ ง.8) และลดลงอย่างรวดเร็วจนกระทั่งเหลือปริมาณ $SO_4^{2-}$ 450.50 ppm เมื่อระยะเวลาการเลี้ยงผ่านไป 47 ชั่วโมง ซึ่งเป็นจุดที่น้ำตาลกลูโคสหมด จากนั้นปริมาณ $SO_4^{2-}$ ค่อนข้างคงที่ ส่วนอาหารที่ไม่มีการเติม $MgSO_4$ มีปริมาณ $SO_4^{2-}$ เริ่มต้นเพียง 348.71 ppm ซึ่งมาจาก $SO_4^{2-}$ ในผงยีสต์สกัดซึ่งเป็นองค์ประกอบหนึ่งของอาหาร ในระหว่างการเจริญปริมาณ $SO_4^{2-}$ ลดลงอย่างรวดเร็วจนกระทั่งเหลือปริมาณ $SO_4^{2-}$ 93.72 ppm เมื่อระยะเวลาการเลี้ยงผ่านไป 29 ชั่วโมง จากนั้นปริมาณ $SO_4^{2-}$ ค่อนข้างคงที่เมื่อจุลินทรีย์มีการเจริญเข้าสู่ช่วง stationary phase ก่อนที่จะเข้าสู่ช่วง death phase ซึ่งเป็นช่วงที่เซลล์เริ่มตายเนื่องจากการขาดอาหาร จากผลการทดลองดังกล่าว แสดงให้เห็นว่า $SO_4^{2-}$ มีผลต่อกระบวนการเจริญเติบโตของเซลล์เป็นอย่างมาก ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Darley ที่พบว่าผนังเซลล์ของ *Schizochytrium aggregatum* ประกอบด้วย galactose-sulfate ทำให้การเติม $SO_4^{2-}$ มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่มนี้ (Darley, Porter & Fuller, 1973, p.101)

### 4.2.4 ผลของปริมาณ $MgSO_4$ และความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสที่เหมาะสม

จากผลการทดลองที่ 4.2.2 พบว่า $MgSO_4$ มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ *Schizochytrium* sp. BCC 25505 มากที่สุด การทดลองนี้จึงทำการเพิ่มปริมาณ $MgSO_4$ ตั้งแต่ 10-40 มิลลิโมลาร์ และ น้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 120-180 กรัมต่อลิตร เพื่อศึกษาปริมาณ $MgSO_4$ ที่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์สายพันธุ์นี้

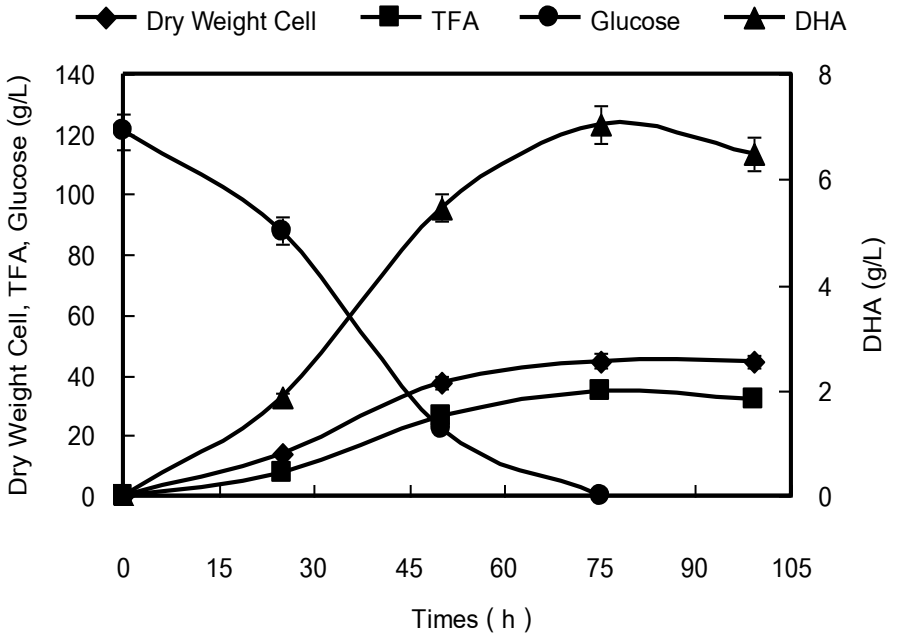
รูปที่ 4.15
ผลของน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 120 กรัมต่อลิตร และ $MgSO_4$ 10 มิลลิโมลาร์
ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA




จากรูปที่ 4.15 แสดงผลของการเลี้ยง *Schizochytrium* sp. BCC 25505 โดยการใช้น้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 120 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน และ $MgSO_4$ ปริมาณ 10 มิลลิโมลาร์ พบว่า การเจริญในช่วง log phase ของจุลินทรีย์ เริ่มต้นตั้งแต่ 10 ชั่วโมงแรกของการเลี้ยง จนกระทั่งถึง 50 ชั่วโมง จากนั้นการเจริญเข้าสู่ช่วง stationary phase และสามารถสร้างมวลเซลล์สูงสุด คือ 36.6 กรัมต่อลิตร และเมื่อพิจารณาถึงการผลิต TFA ของจุลินทรีย์ พบว่าการสะสม TFA เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงปลายของการเจริญแบบ log phase และมีปริมาณสูงสุดเมื่อจุลินทรีย์เจริญอยู่ในช่วง stationary phase โดยสามารถผลิต TFA ได้ 23.6 กรัมต่อลิตร และการผลิต DHA ของจุลินทรีย์ พบว่าสามารถผลิต DHA ได้เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเลี้ยง

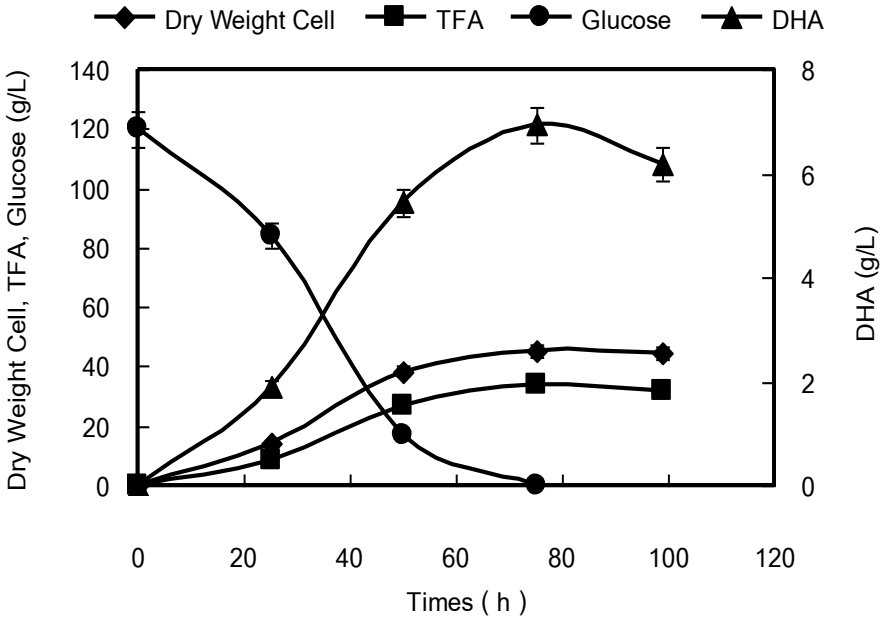
เช่นเดียวกับการผลิต TFA โดยสามารถผลิต DHA ได้สูงสุด 6.52 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 74 ชั่วโมง

รูปที่ 4.16
ผลของน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 120 กรัมต่อลิตร และ $MgSO_4$ 20 มิลลิโมลาร์
ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA



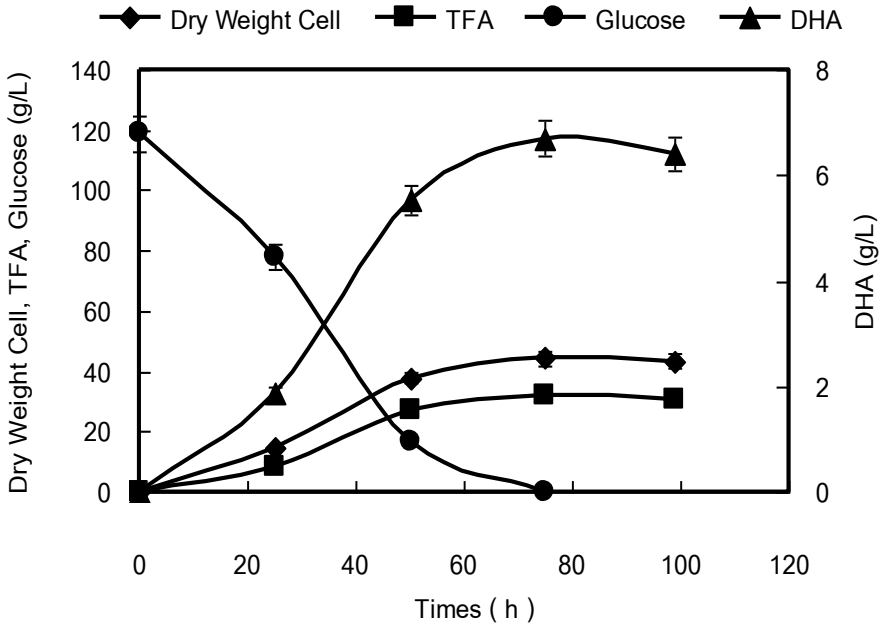

จากรูปที่ 4.16 แสดงผลของการเลี้ยง *Schizochytrium* sp. BCC 25505 โดยการเติมน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 120 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ $MgSO_4$ ปริมาณ 20 มิลลิโมลาร์ พบว่าจุลินทรีย์สามารถสร้างมวลเซลล์ได้สูงสุด คือ 44.9 กรัมต่อลิตร เมื่อการเจริญอยู่ในช่วง log phase ที่เวลา 15-75 ชั่วโมงแรกในระหว่างการเลี้ยง และการผลิต TFA ของจุลินทรีย์ พบว่าเซลล์มีการสะสม TFA เพิ่มขึ้นมากเมื่อการเจริญเข้าสู่ช่วง stationary phase โดยจุลินทรีย์สามารถผลิต TFA ได้สูงสุด 34.8 กรัมต่อลิตร และ เมื่อพิจารณาถึงการผลิต DHA ของจุลินทรีย์ พบว่ามีการสร้าง DHA เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเลี้ยง โดยจุลินทรีย์สามารถผลิต DHA ได้สูงสุด 7.1 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 75 ชั่วโมง

รูปที่ 4.17
ผลของน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 120 กรัมต่อลิตร และ $MgSO_4$ 30 มิลลิโมลาร์
ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA



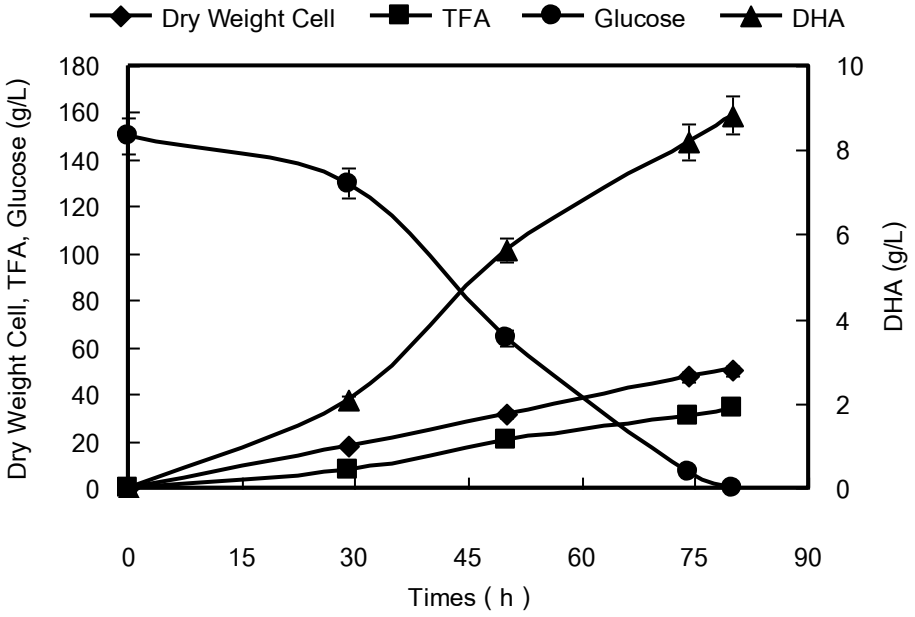

จากรูปที่ 4.17 แสดงผลของการเลี้ยง *Schizochytrium* sp. BCC 25505 โดยการเติมน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 120 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ $MgSO_4$ ปริมาณ 30 มิลลิโมลาร์ พบว่า ที่ระยะเวลาการเลี้ยงตั้งแต่ 20 ชั่วโมงแรก จนกระทั่ง 70 ชั่วโมงของการเลี้ยง เซลล์มีการเจริญอยู่ในช่วง log phase ต่อมาจุลินทรีย์มีการเจริญเข้าสู่ช่วง stationary phase และสามารถสร้างมวลเซลล์ได้สูงสุด 45.4 กรัมต่อลิตร และเมื่อพิจารณาถึงการผลิต TFA ของจุลินทรีย์ พบว่าช่วงการเจริญแบบ stationary phase จุลินทรีย์มีการสะสม TFA สูงสุด 33.6 กรัมต่อลิตร และการผลิต DHA ของจุลินทรีย์ พบว่าจุลินทรีย์สายพันธุ์นี้สามารถผลิต DHA ได้สูงสุด 6.9 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 75 ชั่วโมง

รูปที่ 4.18
ผลของน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 120 กรัมต่อลิตร และ $MgSO_4$ 40 มิลลิโมลาร์
ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA



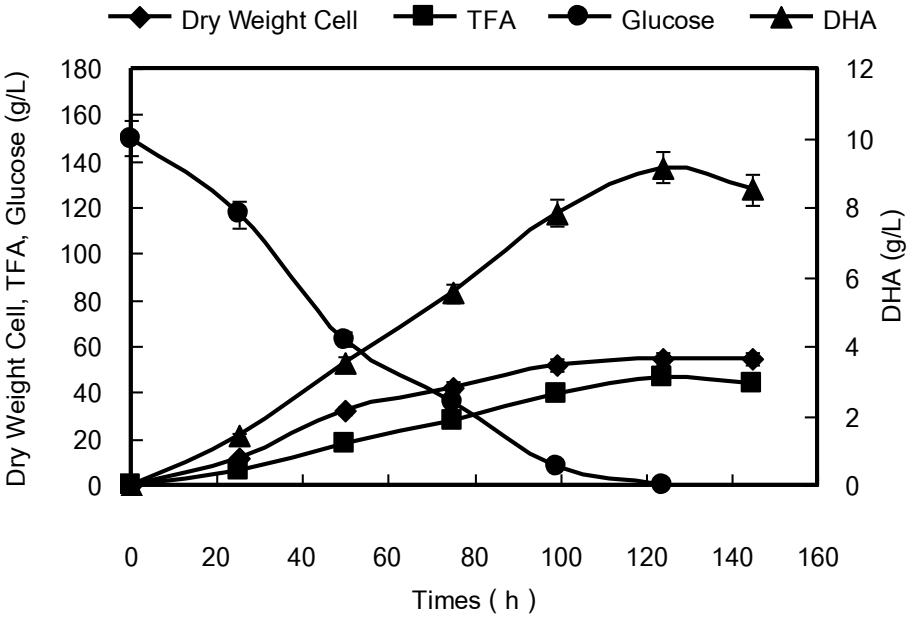

จากรูปที่ 4.18 แสดงผลของการเลี้ยง *Schizochytrium* sp. BCC 25505 โดยการเติมน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 120 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ $MgSO_4$ ปริมาณ 40 มิลลิโมลาร์ พบว่าการเจริญแบบ log phase อยู่ในช่วงเวลาการเลี้ยงระหว่าง 20-70 ชั่วโมงแรก โดย เซลล์มีการเพิ่มปริมาณอย่างรวดเร็ว และสามารถสร้างมวลเซลล์ได้สูงสุด คือ 44.2 กรัมต่อลิตร เมื่อการเจริญอยู่ในช่วง stationary phase และเมื่อพิจารณาถึงการผลิต TFA พบว่าเซลล์สามารถสะสม TFA ได้ปริมาณสูงสุดเมื่อจุลินทรีย์เจริญอยู่ในช่วง stationary phase คือ 32.4 กรัมต่อลิตร และจากการวิเคราะห์ปริมาณ DHA ที่จุลินทรีย์สามารถผลิตได้ พบว่า DHA มีปริมาณเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเลี้ยงเช่นเดียวกับการผลิต TFA โดยจุลินทรีย์สามารถผลิต DHA ได้สูงสุด 6.7 กรัมต่อลิตร ลิตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 75 ชั่วโมง

รูปที่ 4.19
ผลของน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 150 กรัมต่อลิตร และ $MgSO_4$ 10 มิลลิโมลาร์
ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA



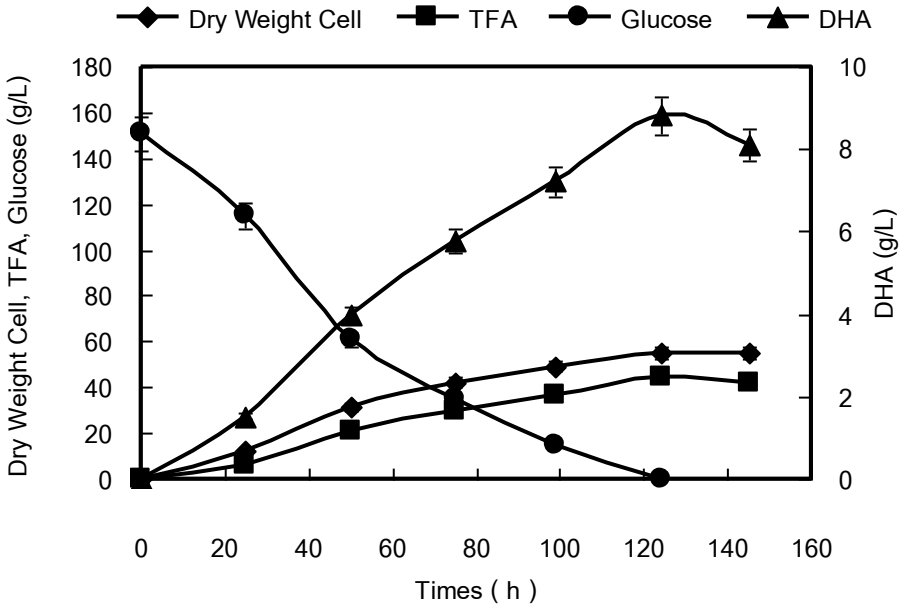

จากรูปที่ 4.19 แสดงผลของการเลี้ยง *Schizochytrium* sp. BCC 25505 โดยการใช้น้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 150 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ $MgSO_4$ ปริมาณ 10 มิลลิโมลาร์ พบว่าช่วงที่เซลล์มีการเจริญดีที่สุดคือช่วงการเจริญแบบ log phase โดยเริ่มต้นตั้งแต่เวลา 30 จนถึง 70 ชั่วโมงแรกของการเลี้ยง จาก นั้นการเจริญของจุลินทรีย์เข้าสู่ช่วง stationary phase และสามารถสร้างมวลเซลล์ได้สูงสุด 49.9 กรัมต่อลิตร และการผลิต TFA ของจุลินทรีย์ พบว่าเซลล์มีการสะสม TFA ได้สูงสุด คือ 34.4 กรัมต่อลิตร เมื่อการเจริญของจุลินทรีย์เข้าสู่ช่วง stationary phase และเมื่อพิจารณาถึงการผลิต DHA ของจุลินทรีย์ พบว่าสามารถผลิต DHA ได้เพิ่มขึ้น ในช่วงท้ายของการเจริญแบบ log phase โดยเซลล์สามารถสะสม DHA ได้สูงสุด 8.8 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 80 ชั่วโมง

รูปที่ 4.20
ผลของน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 150 กรัมต่อลิตร และ $MgSO_4$ 20 มิลลิโมลาร์
ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA



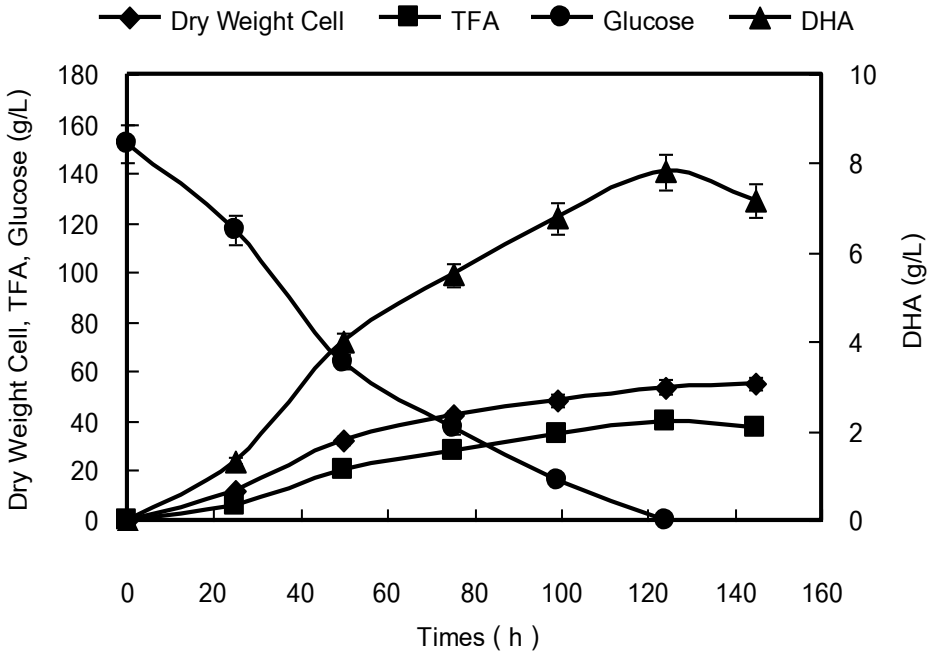

จากรูปที่ 4.20 แสดงผลของการเลี้ยง *Schizochytrium* sp. BCC 25505 โดยการเติมน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 150 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ $MgSO_4$ ปริมาณ 20 มิลลิโมลาร์ พบว่าเริ่มต้นจุลินทรีย์จะมีการเจริญแบบ lag phase ซึ่งเป็นช่วงที่เซลล์เริ่มมีการปรับสภาพก่อนที่จะมีการเจริญเพื่อเพิ่มจำนวน จากนั้นเซลล์มีการเพิ่มปริมาณอย่างรวดเร็วในช่วงเวลา 30-120 ชั่วโมง ซึ่งเป็นช่วงการเจริญแบบ log phase โดยจุลินทรีย์สามารถสร้างมวลเซลล์ได้สูงสุด 54.9 กรัมต่อลิตร เมื่อการเจริญเข้าสู่ช่วง stationary phase และเมื่อพิจารณาถึงการผลิต TFA ของจุลินทรีย์ พบว่าเซลล์มีการสะสม TFA เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงท้ายการเจริญแบบ log phase และมีการสะสม TFA ได้สูงสุดเมื่อจุลินทรีย์เจริญอยู่ในช่วง stationary phase คือ 46.2 กรัมต่อลิตร และการผลิต DHA ของจุลินทรีย์ พบว่าสามารถผลิต DHA ได้เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเลี้ยงเช่นเดียวกับการผลิต TFA โดยจุลินทรีย์ *Schizochytrium* sp. BCC 25505 สามารถผลิต DHA ได้สูงสุด 9.15 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 124 ชั่วโมง

รูปที่ 4.21
ผลของน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 150 กรัมต่อลิตร และ $MgSO_4$ 30 มิลลิโมลาร์
ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA



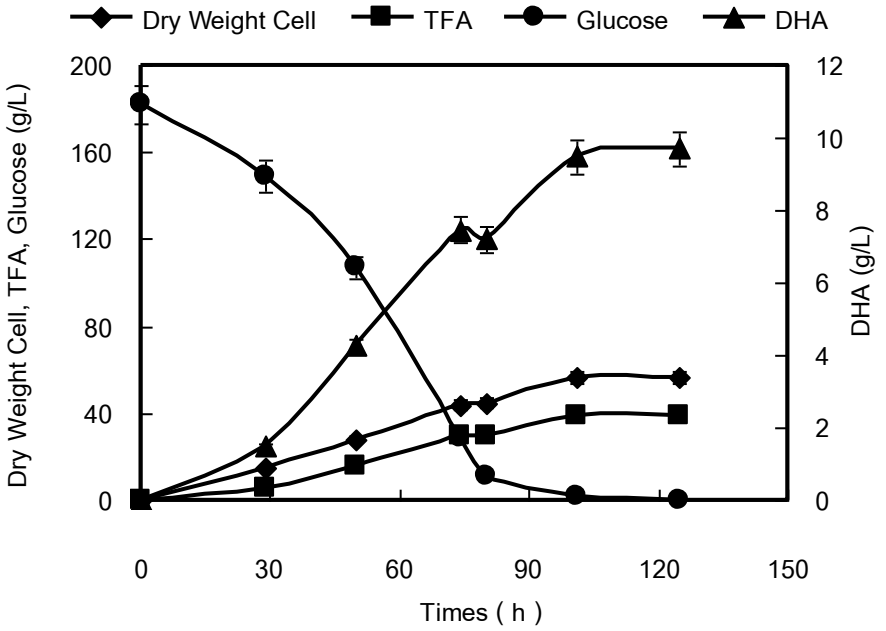

จากรูปที่ 4.21 แสดงผลของการเลี้ยง *Schizochytrium* sp. BCC 25505 โดยการใช้น้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 150 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ $MgSO_4$ ปริมาณ 30 มิลลิโมลาร์ พบว่าช่วงการเจริญแบบ log phase ของจุลินทรีย์ อยู่ระหว่างช่วงเวลาการเลี้ยงที่ 30-120 ชั่วโมง โดยที่เซลล์มีการเพิ่มปริมาณอย่างมาก จากนั้นการเจริญของจุลินทรีย์จะเข้าสู่ช่วง stationary phase และสามารถสร้างมวลเซลล์ได้สูงสุดคือ 54.9 กรัมต่อลิตร และจากการพิจารณาถึงการผลิต TFA ของจุลินทรีย์ พบว่าเมื่อการเจริญเข้าสู่ช่วง stationary phase เซลล์มีการสะสม TFA ได้สูงสุดคือ 44.9 กรัมต่อลิตร และการผลิต DHA ของจุลินทรีย์ พบว่าสามารถผลิต DHA ได้สูงสุด 8.8 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 124 ชั่วโมง

รูปที่ 4.22
ผลของน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 150 กรัมต่อลิตร และ $MgSO_4$ 40 มิลลิโมลาร์
ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA



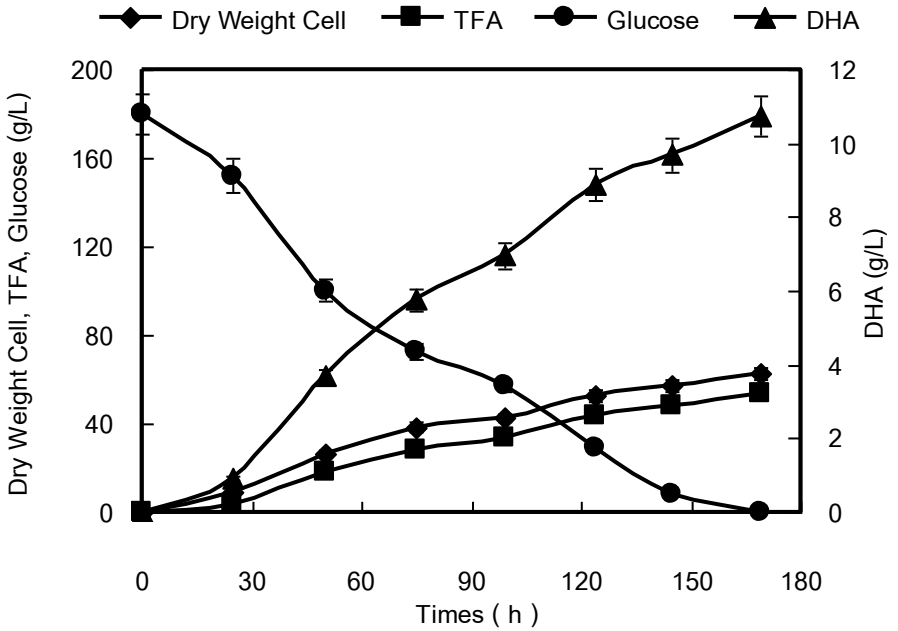

จากรูปที่ 4.22 แสดงผลของการเลี้ยง *Schizochytrium* sp. BCC 25505 โดยการเติมน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 150 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ $MgSO_4$ ปริมาณ 40 มิลลิโมลาร์ พบว่าในช่วงเวลา 30-120 ชั่วโมงแรกของการเลี้ยง เซลล์ มีการเจริญแบบ log phase เพื่อเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว และสามารถสร้างมวลเซลล์ได้สูงสุด เมื่อการเจริญ เข้าสู่ช่วง stationary phase คือ 53.8 กรัมต่อลิตร และเมื่อพิจารณาถึงการผลิต TFA ของจุลินทรีย์ พบว่า เซลล์มีการสะสม TFA เพิ่มมากขึ้น เมื่อเข้าสู่ช่วงท้ายของการเจริญแบบ log phase จากนั้นการเจริญของจุลินทรีย์เข้าสู่ช่วง stationary phase และสามารถสะสม TFA ได้สูงสุดคือ 39.9 กรัมต่อลิตร และการผลิต DHA ของจุลินทรีย์ พบว่าเซลล์มีการสะสม DHA ได้เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเลี้ยงเช่นเดียวกับการผลิต TFA โดยจุลินทรีย์สามารถสะสม DHA ได้สูงสุด 7.8 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 124 ชั่วโมง

รูปที่ 4.23
ผลของน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 180 กรัมต่อลิตร และ $MgSO_4$ 10 มิลลิโมลาร์
ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA



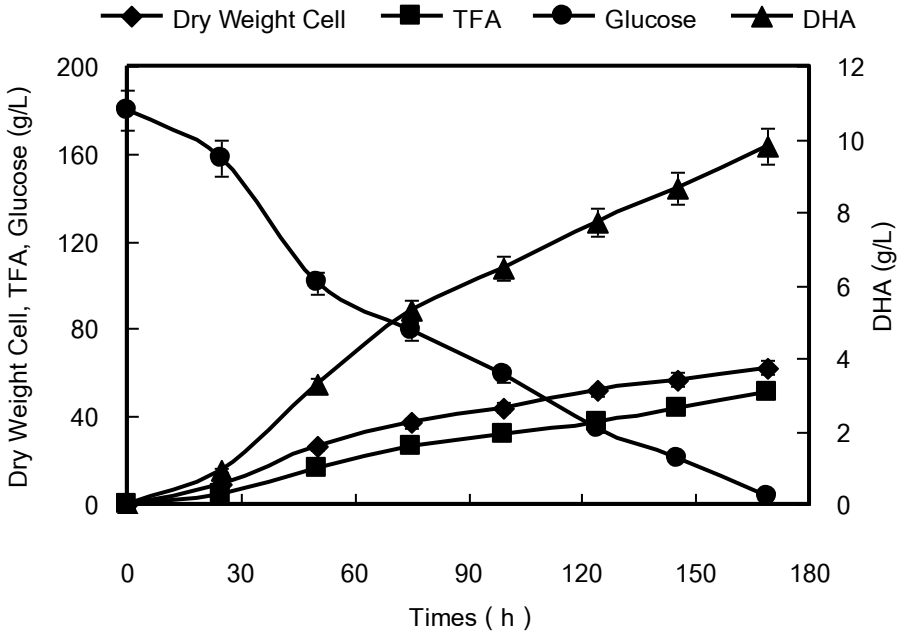

จากรูปที่ 4.23 แสดงผลของการเลี้ยง *Schizochytrium* sp. BCC 25505 โดยการเติมน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 180 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ $MgSO_4$ ปริมาณ 10 มิลลิโมลาร์ พบว่าช่วงการเจริญแบบ log phase ของจุลินทรีย์เกิดขึ้นเมื่อระยะเวลาการเลี้ยงอยู่ในช่วง 30-120 ชั่วโมงแรกของการเลี้ยง ซึ่งการเจริญในช่วงนี้ทำให้จุลินทรีย์มีการเพิ่มปริมาณอย่างรวดเ ร็ว จากนั้นการเจริญเข้าสู่ช่วง stationary phase และสามารถสร้างมวลเซลล์ได้สูงสุด 56.4 กรัมต่อลิตร และจากการพิจารณาการผลิต TFA ของจุลินทรีย์ พบว่าเซลล์มีการสะสม TFA ได้สูงสุด 38.9 กรัมต่อลิตร เมื่อจุลินทรีย์เจริญอยู่ในช่วง stationary phase และการผลิต DHA ของจุลินทรีย์ พบว่าสามารถผลิต DHA ได้สูงสุด 9.7 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 125 ชั่วโมง

รูปที่ 4.24
ผลของน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 180 กรัมต่อลิตร และ $MgSO_4$ 20 มิลลิโมลาร์
ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA



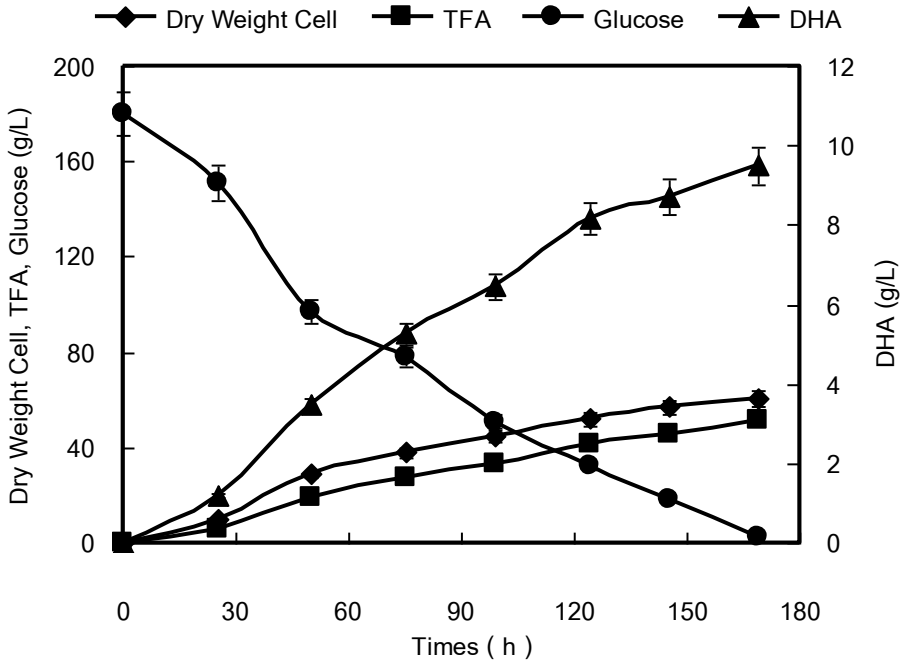

จากรูปที่ 4.24 แสดงผลของการเลี้ยง *Schizochytrium* sp. BCC 25505 โดยการเติมน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 180 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ $MgSO_4$ ปริมาณ 20 มิลลิโมลาร์ พบว่า ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 30 ชั่วโมงแรก จุลินทรีย์มีการเปลี่ยนแปลงการเจริญจาก lag phase เข้าสู่ช่วง log phase โดยเซลล์มีการเพิ่มปริมาณอย่างรวดเร็ว จนกระทั่งถึงระยะเวลาการเลี้ยง 160 ชั่วโมง จุลินทรีย์มีการเปลี่ยนแปลงการเจริญจาก log phase เข้าสู่การเจริญแบบ stationary phase โดยสามารถสร้างมวลเซลล์ได้สูงสุดคือ 62.8 กรัมต่อลิตร และการผลิต TFA พบว่าจุลินทรีย์มีการสร้าง TFA ได้สูงสุดเมื่อการเจริญเข้าสู่ช่วง stationary phase คือ 49.4 กรัมต่อลิตร และเมื่อพิจารณาถึงการผลิต DHA ของจุลินทรีย์ พบว่าจุลินทรีย์สายพันธุ์นี้สามารถผลิต DHA ได้สูงสุด 9.9 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 169 ชั่วโมง

รูปที่ 4.25
ผลของน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 180 กรัมต่อลิตร และ $MgSO_4$ 30 มิลลิโมลาร์
ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA



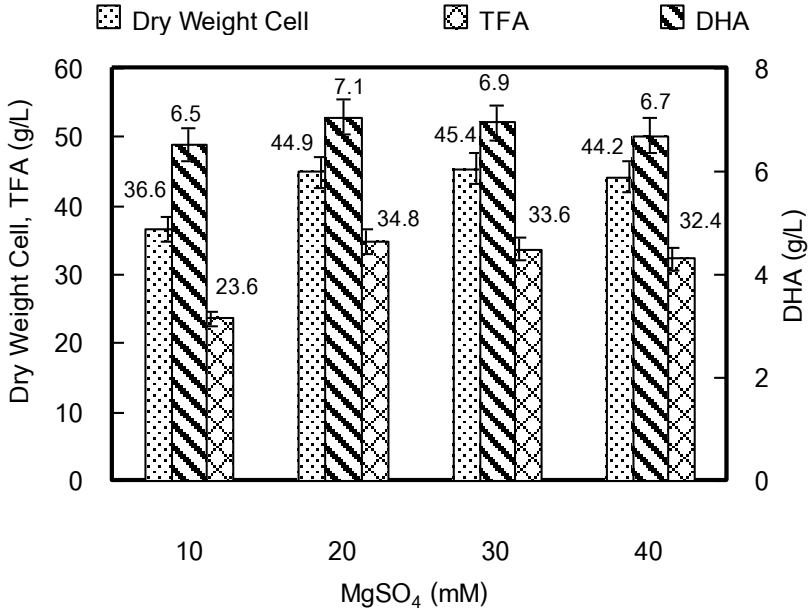

จากรูปที่ 4.25 แสดงผลของการเลี้ยง *Schizochytrium* sp. BCC 25505 โดยการเติมน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 180 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ $MgSO_4$ ปริมาณ 30 มิลลิโมลาร์ พบว่าเซลล์มีการเจริญแบบ log phase ในช่วงเวลา 30-160 ชั่วโมงของการเลี้ยง จากนั้นเซลล์มีการเปลี่ยนแปลงการเจริญเข้าสู่ช่วง stationary phase และสามารถสร้างมวลเซลล์ได้สูงสุด 62.2 กรัมต่อลิตร การผลิต TFA ของจุลินทรีย์ พบว่า เซลล์มีการสะสม TFA เพิ่มขึ้นในช่วงท้ายการเจริญแบบ log phase และมีการสะสมสูงสุดเมื่อจุลินทรีย์เจริญอยู่ในช่วง stationary phase คือ 51.5 กรัมต่อลิตร และการผลิต DHA ของจุลินทรีย์ พบว่าสามารถผลิต DHA ได้สูงสุด 9.8 กรัมต่อลิตร และเหลือน้ำตาลกลูโคสปริมาณ 3.4 กรัมต่อลิตร ณ จุดที่มีการเจริญสูงสุดคือ 169 ชั่วโมง

รูปที่ 4.26
ผลของน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 180 กรัมต่อลิตร และ $MgSO_4$ 40 มิลลิโมลาร์
ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA




จากรูปที่ 4.26 แสดงผลของการเลี้ยง *Schizochytrium* sp. BCC 25505 โดยการเติมน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 180 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ $MgSO_4$ ปริมาณ 40 มิลลิโมลาร์ พบว่าเซลล์มีการเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วในช่วงการเจริญแบบ log phase ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 30-160 ชั่วโมง และสามารถสร้างมวลเซลล์ได้สูงสุด เมื่อการเจริญอยู่ในช่วง stationary phase คือ 60.6 กรัมต่อลิตร และเมื่อพิจารณาถึงการผลิต TFA ของจุลินทรีย์ พบว่าเซลล์มีการสะสม TFA เพิ่มขึ้นในช่วงท้ายของการเจริญแบบ log phase จากนั้นการเจริญของจุลินทรีย์เข้าสู่ช่วง stationary phase และสามารถผลิต TFA ได้สูงสุด 51.3 กรัมต่อลิตร และการผลิต DHA ของจุลินทรีย์ พบว่าสามารถผลิต DHA ได้เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเลี้ยงเช่นเดียวกับการผลิต TFA โดยจุลินทรีย์สามารถผลิต DHA ได้สูงสุด 9.5 กรัมต่อลิตร และเหลือน้ำตาลกลูโคสปริมาณ 2.4 กรัมต่อลิตร ณ จุดที่มีการเจริญสูงสุดคือ 169 ชั่วโมง

รูปที่ 4.27
ผลของการเติมน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 120 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ $MgSO_4$ ปริมาณ 10-40 มิลลิโมลาร์ ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA

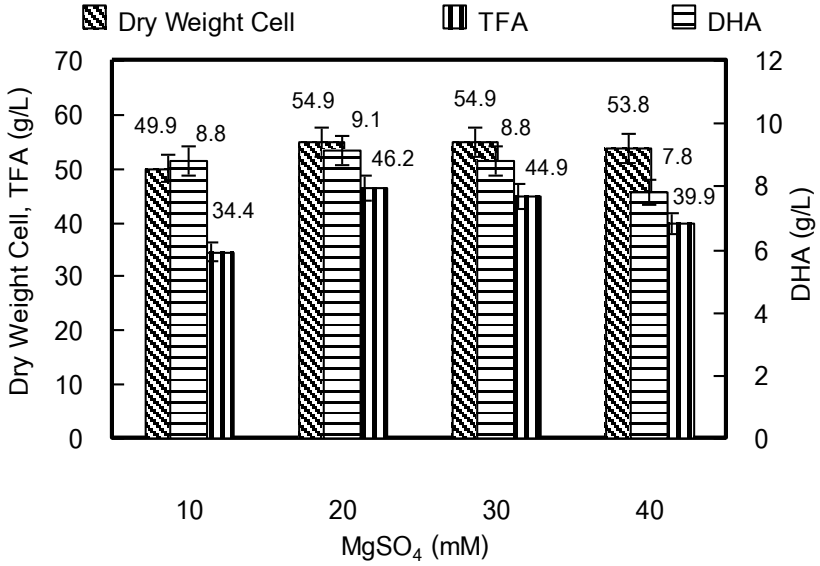



จากรูปที่ 4.27 เป็นการเปรียบเทียบมวลเซลล์ เมื่อเลี้ยงจุลินทรีย์โดย การเติมน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 120 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ $MgSO_4$ ปริมาณ 10, 20, 30 และ 40 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ พบว่าการเพิ่มปริมาณ $MgSO_4$ จาก 10 เป็น 20 มิลลิโมลาร์ มีผลต่อการสร้ างมวลเซลล์ของจุลินทรีย์ โดยมวลเซลล์มีปริมาณเพิ่มขึ้นถึง 8.3 กรัมต่อลิตร ณ จุดที่มีการเจริญสูงสุด แต่เมื่อเพิ่มปริมาณ $MgSO_4$ จาก 20 เป็น 30 และ 40 มิลลิโมลาร์ พบว่าไม่มีผลต่อการเจริญและสร้างมวลเซลล์ของจุลินทรีย์สายพันธุ์นี้ เนื่องจากปริมาณมวลเซลล์ที่จุลินทรี ย์ผลิตได้มีค่าคงที่ ดังนั้นการเติม $MgSO_4$ ปริมาณ 20 มิลลิโมลาร์ ช่วยส่งเสริมการเจริญและสร้างมวลเซลล์ของจุลินทรีย์มากที่สุด

เมื่อพิจารณาการผลิต TFA ภายในเซลล์ พบว่าการเพิ่มปริมาณ $MgSO_4$ จาก 10 เป็น 20 มิลลิโมลาร์ มีผลต่อการสร้าง TFA เนื่องจากจุลินทรีย์สามารถผลิต TFA ได้สูงสุดเมื่อมีการเติม $MgSO_4$ ปริมาณ 20 มิลลิโมลาร์ คือ 34.8 กรัมต่อลิตร ณ จุดที่มีการเจริญสูงสุด เมื่อเทียบกับการเติม $MgSO_4$ ปริมาณ 10 มิลลิโมลาร์ จุลินทรีย์สามารถผลิต TFA ได้เพียง 17.8 กรัมต่อลิตร เท่านั้น และเมื่อทำการเพิ่มปริมาณ $MgSO_4$ จาก 20 เป็น 30 และ 40 มิลลิโมลาร์ พบว่าไม่มีผลต่อการสร้าง TFA ภายในเซลล์ เนื่องจาก TFA ที่จุลินทรีย์สามารถผลิตได้มีปริมาณลดลง

การผลิต DHA ของจุลินทรีย์ พบว่าปริมาณ $MgSO_4$ ที่เหมาะสมต่อการผลิต DHA คือ 10-20 มิลลิโมลาร์ เนื่องจากปริมาณ DHA ที่จุลินทรีย์สามารถผลิตได้สูงขึ้น โดยการเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วย $MgSO_4$ ปริมาณ 10 มิลลิโมลาร์ สามารถผลิต DHA ได้ 6.5 กรัมต่อลิตร และเมื่อเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วย $MgSO_4$ ปริมาณ 20 มิลลิโมลาร์ สามารถผลิต DHA ได้ 7.1 กรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นค่าสูงสุดที่ได้จากการทดลองนี้ ณ จุดที่มีการเจริญสูงสุด และเมื่อมีการเพิ่มปริมาณ $MgSO_4$ จาก 20 เป็น 30 และ 40 มิลลิโมลาร์ พบว่าไม่มีผลต่อการสร้าง DHA ภายในเซลล์ เนื่องจาก DHA ที่จุลินทรีย์สามารถผลิตได้มีปริมาณลดลงจาก 7.1 เป็น 6.9 และ 6.7 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

รูปที่ 4.28
ผลของการเติมน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 150 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ $MgSO_4$ ปริมาณ 10-40 มิลลิโมลาร์ ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA



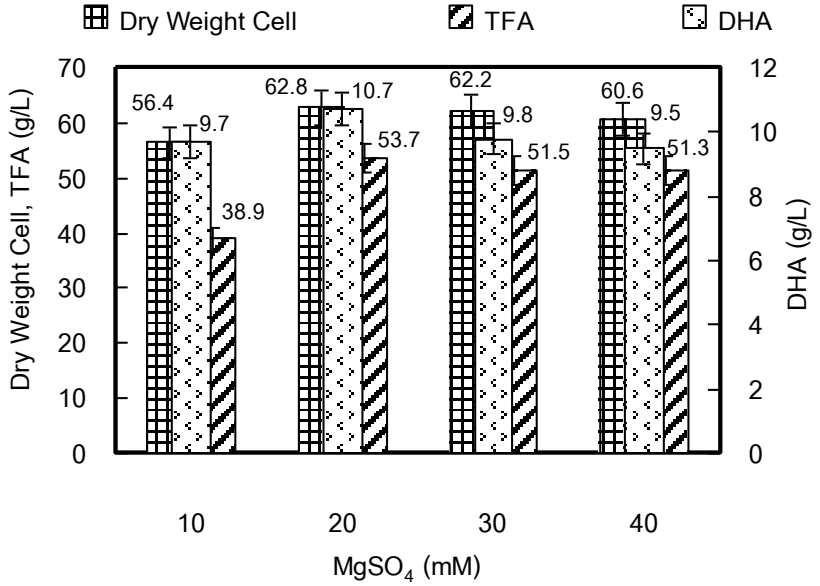

จากรูปที่ 4.28 เป็นการเปรียบเทียบมวลเซลล์ เมื่อเลี้ยงจุลินทรีย์โดย เติมน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 150 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ $MgSO_4$ ปริมาณ 10, 20, 30 และ 40 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ พบว่ามวลเซลล์ที่จุลินทรีย์ผลิตได้มีปริมาณเพิ่มขึ้นถึง 5 กรัมต่อลิตร ณ จุดที่มีการเจริญสูงสุด เมื่อมีการเพิ่มปริมาณ $MgSO_4$ จาก 10 เป็น 20 มิลลิโมลาร์ แต่เมื่อปริมาณ $MgSO_4$ เพิ่มขึ้นมากกว่า 20 มิลลิโมลาร์ พบว่าไม่มีผลต่อการเจริญและสร้างมวลเซลล์ของจุลินทรีย์ โดยปริมาณมวลเซลล์ที่จุลินทรีย์ผลิตได้มีแนวโน้มลดลง เนื่องจากการเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วยการเติม $MgSO_4$ ปริมาณ 30 มิลลิโมลาร์ สามารถผลิตมวลเซลล์ได้เท่ากับการเลี้ยงด้วยการเติม $MgSO_4$ ปริมาณ 20

มิลลิโมลาร์ คือ 54.9 กรัมต่อลิตร และการเลี้ยงด้วยการเติม $MgSO_4$ ปริมาณ 40 มิลลิโมลาร์ จุลินทรีย์สามารถสร้างมวลเซลล์ได้ 53.84 กรัมต่อลิตร

การผลิต TFA ของจุลินทรีย์ พบว่าการสร้าง TFA เพิ่มขึ้นถึง 11.8 กรัมต่อลิตร เมื่อมีการเพิ่มปริมาณ $MgSO_4$ จาก 10 เป็น 20 มิลลิโมลาร์ โดยค่า TFA สูงสุดที่จุลินทรีย์สามารถผลิตได้คือ 46.2 กรัมต่อลิตร ซึ่งได้มาจากการเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วยการเติม $MgSO_4$ ปริมาณ 20 มิลลิโมลาร์ เมื่อเทียบกับการเติม $MgSO_4$ ปริมาณ 10 มิลลิโมลาร์ จุลินทรีย์สามารถผลิต TFA ได้เพียง 34.4 กรัมต่อลิตร เท่านั้น และเมื่อมีการเพิ่มปริมาณ $MgSO_4$ จาก 20 เป็น 30 และ 40 มิลลิโมลาร์ พบว่าค่า TFA ที่จุลินทรีย์สามารถผลิตได้ลดลง โดยการเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วยการเติม $MgSO_4$ ปริมาณ 30 มิลลิโมลาร์ สามารถผลิต TFA ได้ 44.9 กรัมต่อลิตร และการเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วยการเติม $MgSO_4$ ปริมาณ 40 มิลลิโมลาร์ สามารถผลิต TFA ได้ 39.9 กรัมต่อลิตร ณ จุดที่มีการเจริญสูงสุด

เมื่อพิจารณาการผลิต DHA ของจุลินทรีย์ พบว่าการเพิ่มปริมาณ $MgSO_4$ จาก 10 เป็น 20 มิลลิโมลาร์ มีผลต่อการสร้าง DHA เนื่องจากจุลินทรีย์สามารถผลิต DHA ได้สูงสุดเมื่อมีการเติม $MgSO_4$ ปริมาณ 20 มิลลิโมลาร์ คือ 9.1 กรัมต่อลิตร เมื่อเทียบกับการเติม $MgSO_4$ ปริมาณ 10 มิลลิโมลาร์ จุลินทรีย์สามารถผลิต DHA ได้เพียง 8.8 กรัมต่อลิตร เท่านั้น และเมื่อมีการเพิ่มปริมาณ $MgSO_4$ จาก 20 เป็น 30 และ 40 มิลลิโมลาร์ พบว่าปริมาณ DHA ที่จุลินทรีย์ผลิตได้มีค่าลดลง โดยการเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วยการเติม $MgSO_4$ ปริมาณ 30 มิลลิโมลาร์ สามารถผลิ ต DHA ได้เท่ากับการเติม $MgSO_4$ ปริมาณ 10 มิลลิโมลาร์ คือ 8.8 กรัมต่อลิตร และการเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วยการเติม $MgSO_4$ ปริมาณ 40 มิลลิโมลาร์ สามารถผลิต TFA ได้ 7.8 กรัมต่อลิตร ณ จุดที่มีการเจริญสูงสุด

รูปที่ 4.29
ผลของการเติมน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 180 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ $MgSO_4$ ปริมาณ 10-40 มิลลิโมลาร์ ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA




จากรูปที่ 4.29 เป็นการเปรียบเทียบมวลเซลล์ เมื่อเลี้ยงจุลินทรีย์โดย เติมน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 180 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ $MgSO_4$ ปริมาณ 10, 20, 30 และ 40 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ พบว่าการเพิ่มปริมาณ $MgSO_4$ จาก 10 เป็น 20 มิลลิโมลาร์ มีผลต่อการสร้างมวลเซลล์ของจุลินทรีย์ เนื่องจากมวลเซลล์ที่ผลิตได้มีปริมาณเพิ่มขึ้นถึง 6.4 กรัมต่อลิตร โดยปริมาณมวลเซลล์สูงสุด (62.8 กรัมต่อลิตร) ได้มาจากการเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วย $MgSO_4$ ปริมาณ 20 มิลลิโมลาร์ แต่เมื่อเพิ่มปริมาณ $MgSO_4$ สูงกว่า 20 มิลลิโมลาร์ พบว่าไม่มีผลต่อการเจริญและสร้างมวลเซลล์ของจุลินทรีย์สายพันธุ์นี้ เนื่องจากปริมาณมวลเซลล์ที่จุลินทรีย์ผลิตได้มี แนวโน้มลดลง โดยการเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วย $MgSO_4$ ปริมาณ 30 มิลลิโมลาร์ สามารถผลิตมวลเซลล์ได้ 62.2 กรัมต่อลิตร และเมื่อเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วย $MgSO_4$ ปริมาณ 40 มิลลิโมลาร์ พบว่าสามารถผลิตมวลเซลล์ได้ 60.6 กรัมต่อลิตร ณ จุดที่มีการเจริญสูงสุด ดังนั้นการเติม $MgSO_4$ ปริมาณ 20 มิลลิโมลาร์ ช่วยส่งเสริมการเจริญและสร้างมวลเซลล์ของจุลินทรีย์มากที่สุด

เมื่อพิจารณาการผลิต TFA ภายในเซลล์ พบว่าการเพิ่มปริมาณ $MgSO_4$ จาก 10 เป็น 20 มิลลิโมลาร์ มีผลต่อการสร้าง TFA เนื่องจากจุลินทรีย์สามารถผลิต TFA ได้สูงสุดเมื่อมีการเติม $MgSO_4$ ปริมาณ 20 มิลลิโมลาร์ คือ 49.2 กรัมต่อลิตร ณ จุดที่มีการเจริญสูงสุด เมื่อเทียบกับการเติม $MgSO_4$ ปริมาณ 10 มิลลิโมลาร์ จุลินทรีย์สามารถผลิต TFA ได้เพียง 38.9 กรัมต่อลิตร เท่านั้น

และเมื่อมีการเพิ่มปริมาณ $MgSO_4$ จาก 20 เป็น 30 และ 40 มิลลิโมลาร์ พบว่าไม่มีผลต่อการสร้าง TFA ภายในเซลล์ เนื่องจาก TFA ที่จุลินทรีย์สามารถผลิตได้มีค่าคงที่คือ 51 กรัมต่อลิตร

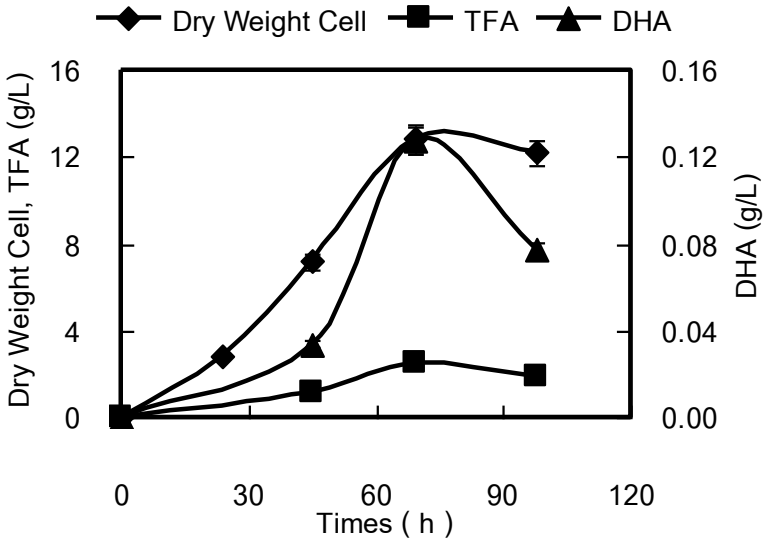
การผลิต DHA ของจุลินทรีย์ พบว่ามีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อทำการเพิ่มปริมาณ $MgSO_4$ จาก 10 เป็น 20 มิลลิโมลาร์ โดยจุลินทรีย์สามารถผลิต DHA ได้สูงสุด 10.7 กรัมต่อลิตร เมื่อมีการเติม $MgSO_4$ ปริมาณ 20 มิลลิโมลาร์ และเมื่อเทียบกับการเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วยการเติม $MgSO_4$ ปริมาณ 10 มิลลิโมลาร์ สามารถผลิต DHA ได้เพียง 9.7 กรัมต่อลิตร เท่านั้น และเมื่อมีการเพิ่มปริมาณ $MgSO_4$ จาก 20 เป็น 30 และ 40 มิลลิโมลาร์ พบว่าไม่มีผลต่อการสร้าง DHA ภายในเซลล์ เนื่องจาก DHA ที่จุลินทรีย์สามารถผลิตได้มีปริมาณลดลง โดยการเติม $MgSO_4$ ปริมาณ 30 มิลลิโมลาร์ สามารถผลิต DHA ได้ 9.8 กรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นค่าใกล้เคียงกับการเลี้ยงด้วยการเติม $MgSO_4$ ปริมาณ 10 มิลลิโมลาร์ และเมื่อเพิ่มปริมาณ $MgSO_4$ จาก 30 เป็น 40 มิลลิโมลาร์ พบว่าจุลินทรีย์สามารถผลิต DHA ได้เพียง 9.5 กรัมต่อลิตร ณ จุดที่มีการเจริญสูงสุด

## 4.3 การศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้ประโยชน์จากผลพลอยได้ (By-product) ในกระบวนการผลิตน้ำมันพืช

### 4.3.1 ผลของการใช้ผลพลอยได้ต่อการเจริญและการผลิต DHA

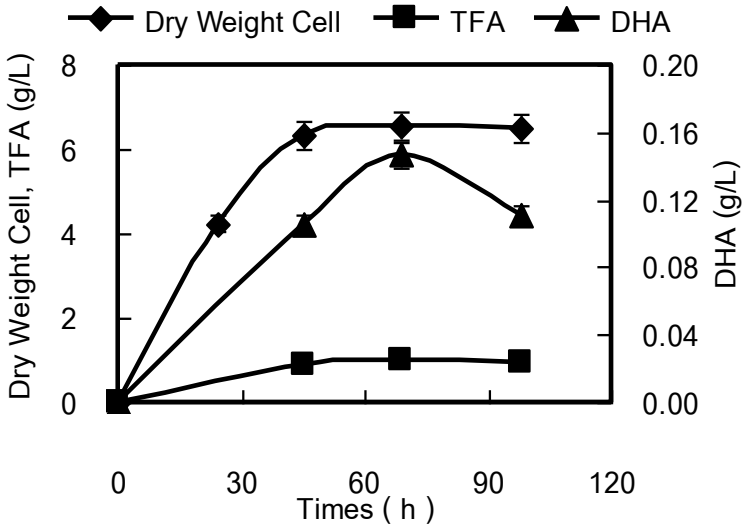
ประเทศไทยสามารถผลิตน้ำมันพืชได้จำนวนมาก ทำให้มีผลพลอยได้เหลือจากกระบวนการผลิตค่อนข้างมาก เช่น acid oil, deodorizer distillate และ crude lecithin ซึ่งส่วนใหญ่จะมีการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์เพียงอย่างเดียว ดังนั้นเพื่อเป็นการเพิ่มมูลค่าให้แก่สินค้าเหล่านี้ จึง ออกแบบการทดลองโดยนำผลพลอยได้จากกระบวนการผลิตน้ำมันพืชเหล่านี้มาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการเลี้ยง *Schizochytrium* sp. BCC 25505 แทนน้ำตาลกลูโคส

รูปที่ 4.30
ผลของการเติม acid oil 10 กรัมต่อลิตร ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA



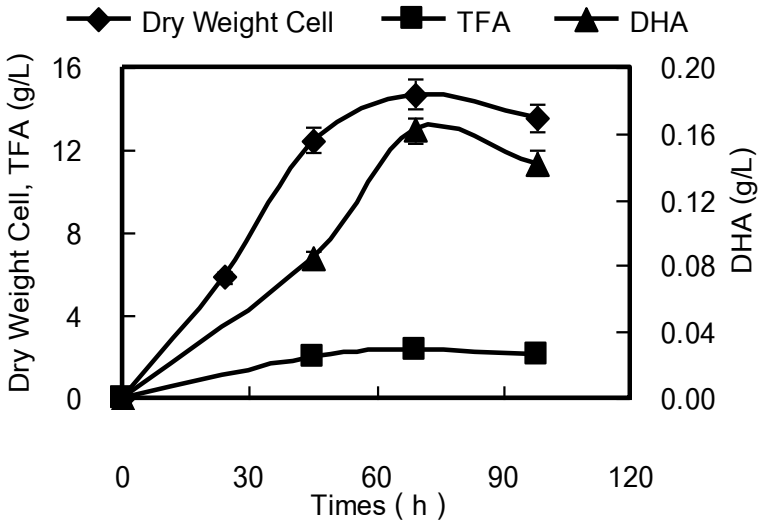

จากรูปที่ 4.30 แสดงผลของการเลี้ยง *Schizochytrium* sp. BCC 25505 โดยการใช้ acid oil ความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าเซลล์มีการเพิ่มปริมาณ (log phase) อย่างรวดเร็วในช่วงเวลา 20-60 ชั่วโมง และสามารถสร้างมวลเซลล์ในรูปน้ำหนักเซลล์แห้งได้สูงสุด เมื่อการเจริญอยู่ในช่วง stationary phase คือ 12.9 กรัมต่อลิตร และเมื่อพิจารณาถึงการผลิต TFA ของจุลินทรีย์ พบว่าจุลินทรีย์มีการสะสม TFA เพิ่มขึ้นในช่วงท้ายของการเจริญแบบ log phase และมีการสะสมสูงสุดเมื่อจุลินทรีย์เจริญอยู่ในช่วง stationary phase คือ 2.5 กรัมต่อลิตร และการผลิต DHA ของจุลินทรีย์ พบว่าสามารถผลิต DHA ได้เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเลี้ยง เช่นเดียวกับการผลิต TFA โดยจุลินทรีย์สายพันธุ์นี้สามารถผลิต DHA ได้สูงสุด 0.13 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 69 ชั่วโมง

รูปที่ 4.31
ผลของการเติม distillate 10 กรัมต่อลิตร ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA



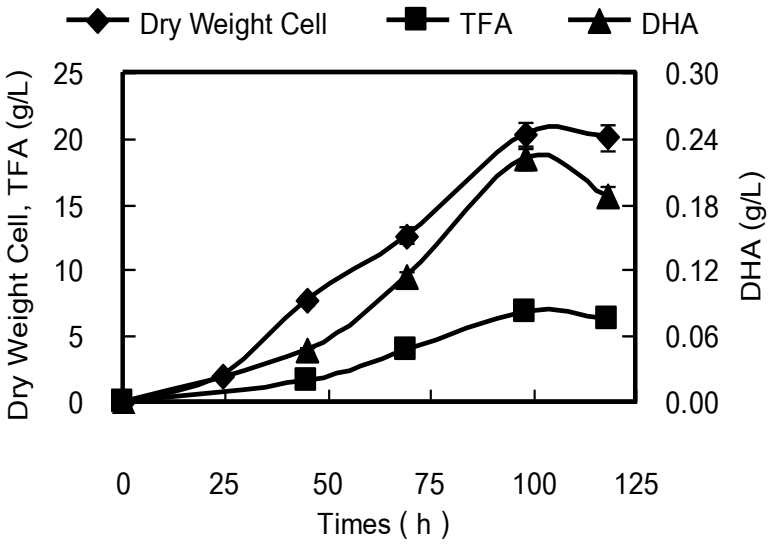

จากรูปที่ 4.31 แสดงผลของการเลี้ยง *Schizochytrium* sp. BCC 25505 โดยการใช้ distillate ความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่า เริ่มต้นเซลล์มีการเจริญแบบ lag phase เพื่อปรับสภาพของจุลินทรีย์ก่อนการเจริญ ต่อมาการเจริญเข้าสู่ช่วง log phase ซึ่งเป็นช่วงที่เซลล์มีการเพิ่มปริมาณอย่างรวดเร็วในช่วงเวลา 10-40 ชั่วโมงแรกของการเลี้ยง โดยสามารถสร้างมวลเซลล์ได้สูงสุด เมื่อการเจริญอยู่ในช่วง stationary phase คือ 6.6 กรัมต่อลิตร และเมื่อพิจารณาถึงการผลิต TFA ของจุลินทรีย์ พบว่าการสะสม TFA เพิ่มขึ้นในช่วงปลายของการเจริญแบบ log phase และมีการสะสม TFA สูงสุด เมื่อจุลินทรีย์เจริญอยู่ในช่วง stationary phase คือ 1 กรัมต่อลิตร และการผลิต DHA ของจุลินทรีย์ พบว่าสามารถผลิต DHA ได้เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเลี้ยง โดยจุลินทรีย์สายพันธุ์นี้สามารถผลิต DHA ได้สูงสุด 0.15 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 69 ชั่วโมง

รูปที่ 4.32
ผลของการเติม crude lecithin 10 กรัมต่อลิตร ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA



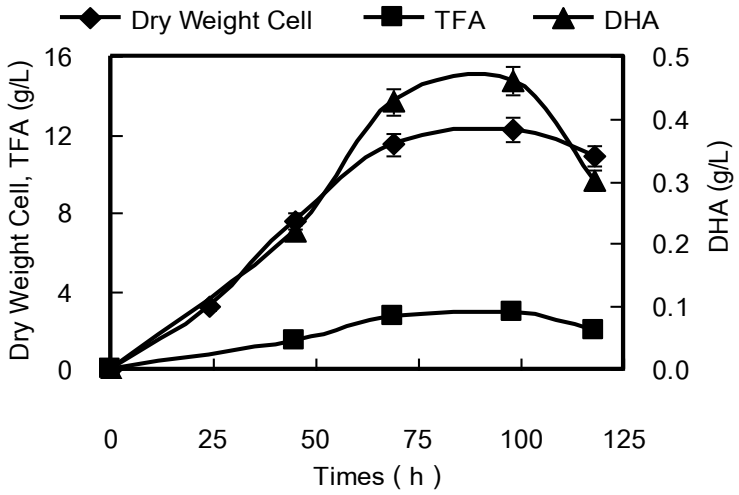

จากรูปที่ 4.32 แสดงผลของการเลี้ยง *Schizochytrium* sp. BCC 25505 โดยการใช้ crude lecithin ความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าที่ระยะเวลาการเลี้ยง 10-60 ชั่วโมง เซลล์มีการเพิ่มปริมาณอย่างรวดเร็ว เนื่องจากเป็นช่วงการเจริญแบบ log phase ต่อมาการเจริญของจุลินทรีย์เข้าสู่ช่วง stationary phase โดยสามารถสร้างมวลเซลล์ได้สูงสุด 14.7 กรัมต่อลิตร และเมื่อพิจารณาถึงการผลิต TFA ของจุลินทรีย์ พบว่า ช่วงปลายของการเจริญแบบ log phase เซลล์มีการสะสม TFA เพิ่มขึ้น และสามารถผลิต TFA ได้สูงสุด 2.4 กรัมต่อลิตร เมื่อจุลินทรีย์เจริญอยู่ในช่วง stationary phase และการผลิต DHA ของจุลินทรีย์ พบว่าสามารถผลิต DHA ได้เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเลี้ยงเช่นเดียวกับการผลิต TFA โดยจุลินทรีย์สายพันธุ์นี้สามารถผลิต DHA ได้สูงสุด 0.16 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 69 ชั่วโมง

รูปที่ 4.33
ผลของการเติม acid oil 30 กรัมต่อลิตร ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA



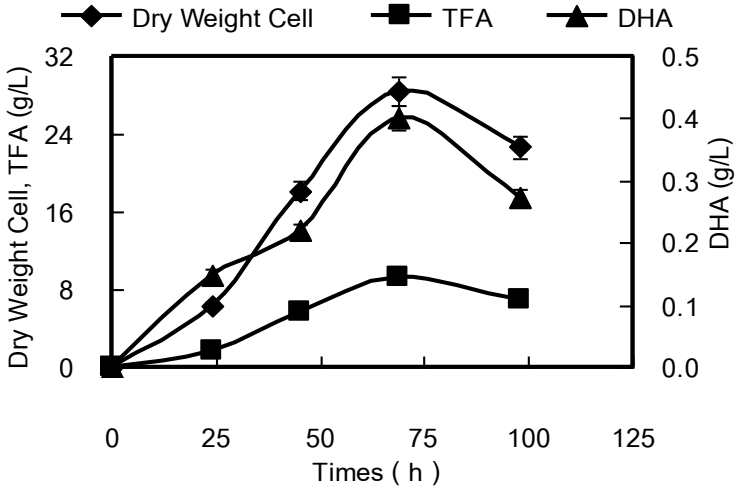

จากรูปที่ 4.33 แสดงผลของการเลี้ยง *Schizochytrium* sp. BCC 25505 โดยการเติม acid oil ความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร พบว่าเซลล์มีการเพิ่ม ปริมาณอย่างรวดเร็วในช่วงระยะเวลาการเลี้ยง 25-90 ชั่วโมง เนื่องจากจุลินทรีย์มีการเจริญเข้าสู่ช่วง log phase เมื่อสิ้นสุดการเจริญแบบlog phase จุลินทรีย์มีการเจริญเข้าสู่ช่วง stationary phase และสามารถสร้างมวลเซลล์ได้สูงสุด 20.3 กรัมต่อลิตร และเมื่อพิจารณาถึงการผลิต TFA ของจุลินทรีย์ พบว่าเมื่อจุลินทรีย์เจริญอยู่ในช่วง stationary phase จุลินทรีย์มีการสะสม TFA ได้สูงสุด 6.8 กรัมต่อลิตร และการผลิต DHA ของจุลินทรีย์ พบว่าสามารถผลิต DHA ได้สูงสุด 0.22 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 98 ชั่วโมง

รูปที่ 4.34
ผลของการเติม distillate 30 กรัมต่อลิตร ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA



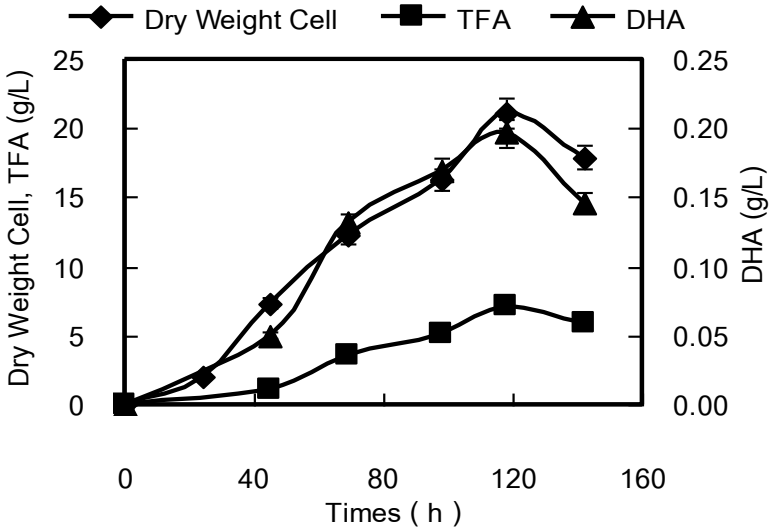

จากรูปที่ 4.34 แสดงผลของการเลี้ยง *Schizochytrium* sp. BCC 25505 โดยการเติม distillate ความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร พบว่า ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 25 ชั่วโมง จุลินทรีย์เริ่มมีการเจริญเข้าสู่ช่วง log phase ซึ่งเป็นช่วงการเจริญที่มีการสร้างมวลเซลล์ได้จำนวนมาก โดยการเจริญในช่วงนี้สิ้นสุดเมื่อเข้าสู่ระยะเวลาการเลี้ยง 90 ชั่วโมง เพื่อเข้าสู่ช่วงการเจริญแบบ stationary phase และสามารถสร้างมวลเซลล์ได้สูงสุด 12.3 กรัมต่อลิตร และเมื่อพิจารณาถึงการผลิต TFA ของจุลินทรีย์ พบว่าจุลินทรีย์มีการสะสมสูงสุดเมื่อจุลินทรีย์เจริญอยู่ในช่วง stationary phase และสามารถผลิต TFA ได้สูงสุด 2.9 กรัมต่อลิตร และการผลิต DHA ของจุลินทรีย์ พบว่าสามารถผลิต DHA ได้เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเลี้ยง โดยจุลินทรีย์สายพันธุ์นี้สามารถผลิ ต DHA ได้สูงสุด 0.46 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 98 ชั่วโมง

รูปที่ 4.35
ผลของการเติม crude lecithin 30 กรัมต่อลิตร ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA



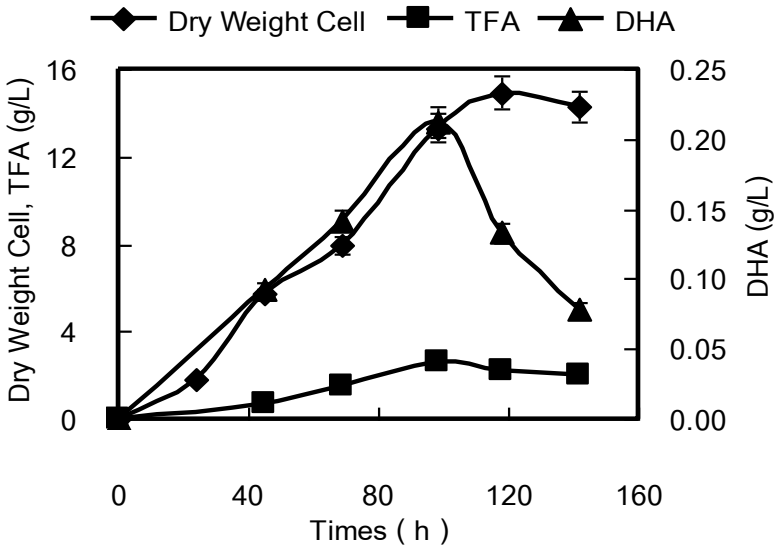

จากรูปที่ 4.35 แสดงผลของการเลี้ยง *Schizochytrium* sp. BCC 25505 โดยการเติม crude lecithin ความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร พบว่า จุลินทรีย์มีการเปลี่ยนช่วงการเจริญจาก lag phase เป็น log phase ที่ระยะเวลา 20 ชั่วโมงแรกของการเลี้ยง เพื่อ เพิ่มปริมาณเซลล์ และเมื่อระยะเวลาการเลี้ยงเข้าสู่ชั่วโมงการเลี้ยงที่ 70 ชั่วโมง จุลินทรีย์มีการเปลี่ยนแปลงช่วงการเจริญจาก lag phase เป็น stationary phase โดยสามารถสร้างมวลเซลล์ได้สูงสุด 28.5 กรัมต่อลิตร และเมื่อพิจารณาถึงการผลิต TFA ของจุลินทรีย์ พบว่า เซลล์มีการสะสม TFA เพิ่มขึ้นในช่วงท้ายของการเจริญแบบ log phase และมีการสะสม TFA ได้สูงสุด เมื่อจุลินทรีย์เจริญอยู่ในช่วง stationary phase คือ 9.3 กรัมต่อลิตร และการผลิต DHA ของจุลินทรีย์ พบว่าจุลินทรีย์สายพันธุ์นี้สามารถผลิต DHA ได้สูงสุด 0.4 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 69 ชั่วโมง

รูปที่ 4.36
ผลของการเติม acid oil 50 กรัมต่อลิตร ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA



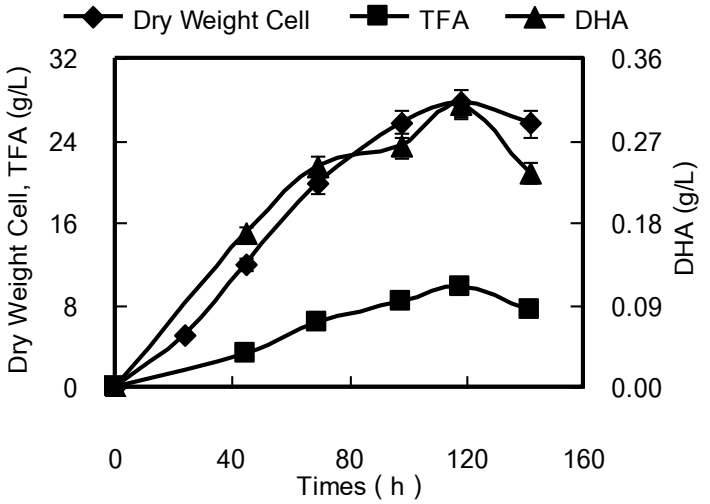

จากรูปที่ 4.36 แสดงผลของการเลี้ยง *Schizochytrium* sp. BCC 25505 โดยการเติม acid oil ความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร พบว่าเซลล์มีการเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วในช่วงการเจริญแบบlog phase ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 30-110 ชั่วโมง และสามารถสร้างมวลเซลล์ได้สูงสุด เมื่อการเจริญอยู่ในช่วง stationary phase คือ 21.1 กรัมต่อ และเมื่อพิจารณาถึงการผลิต TFA ของจุลินทรีย์ พบว่า เซลล์มีการสะสม TFA ได้สูงสุด 7.1 กรัมต่อลิตร เมื่อจุลินทรีย์เจริญอยู่ในช่วง stationary phase และการผลิต DHA ของจุลินทรีย์ พบว่าเซลล์มีการผลิต DHA ได้เพิ่มขึ้นในช่วงท้ายการเจริญแบบ log phase โดยจุลินทรีย์สายพันธุ์นี้สามารถผลิต DHA ได้สูงสุด 0.2 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 118 ชั่วโมง

รูปที่ 4.37
ผลของการเติม distillate 50 กรัมต่อลิตร ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA



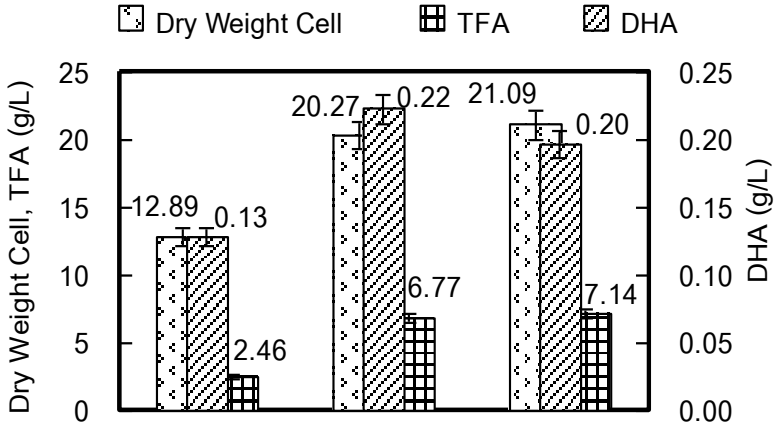

จากรูปที่ 4.37 แสดงผลของการเลี้ยง *Schizochytrium* sp. BCC 25505 โดยการเติม distillate ความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร พบว่าช่วงระยะเวลาการเลี้ยง 0-20 ชั่วโมงแรกของการเลี้ยงเป็นช่วงการเจริญแบบ lag phase เพื่อปรับสภาพจุลินทรีย์ในอาหารก่อนการเจริญ จากนั้นการเจริญเข้าสู่ช่วง log phase เพื่อเพิ่มปริมาณเซลล์ ในช่วงเวลา 20-100 ชั่วโมงของการเลี้ยง และเข้าสู่ช่วงการเจริญแบบ stationary phase โดยสามารถสร้างมวลเซลล์ได้สูงสุด 13.3 กรัมต่อลิตร และเมื่อพิจารณาถึงการผลิต TFA ของจุลินทรีย์ พบว่า เซลล์มีการสะสม TFA เพิ่มขึ้นในช่วงท้ายของการเจริญแบบ log phase และมีการสะสม TFA ได้สูงสุด 2.7 กรัมต่อลิตร และการผลิต DHA ของจุลินทรีย์ พบว่า *Schizochytrium* sp. BCC 25505 สามารถผลิต DHA ได้สูงสุด 0.21 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 98 ชั่วโมง

รูปที่ 4.38
ผลของการเติม crude lecithin 50 กรัมต่อลิตร ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA




จากรูปที่ 4.38 แสดงผลของการเลี้ยง *Schizochytrium* sp. BCC 25505 โดยการเติม crude lecithin ความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร พบว่าเซลล์มีการเพิ่มปริมาณอย่างมากในช่วงเวลา 20-110 ชั่วโมงแรกของการเลี้ยง ซึ่งเป็นช่วงการเจริญแบบ log phase และสามารถสร้างมวลเซลล์ได้สูงสุด เมื่อการเจริญอยู่ในช่วง stationary phase คือ 27.7 กรัมต่อลิตร และเมื่อพิจารณาถึงการผลิต TFA ของจุลินทรีย์ พบว่า ช่วงท้ายของการเจริญแบบ log phase เซลล์มีการสะสม TFA เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และมีการสะสม TFA ได้สูงสุด 9.7 กรัมต่อลิตร เมื่อจุลินทรีย์เจริญอยู่ในช่วง stationary phase และการผลิต DHA ของจุลินทรีย์ พบว่าจุลินทรีย์สายพันธุ์นี้สามารถผลิต DHA ได้สูงสุด 0.31 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 118 ชั่วโมง

รูปที่ 4.39
ผลของ acid oil ความเข้มข้น 10-50 กรัมต่อลิตร ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA




จากรูปที่ 4.39 เป็นการเปรียบเทียบผลของการเติม acid oil ความเข้มข้น 10-50 กรัมต่อลิตร ณ จุดที่มีการเจริญสูงสุด ต่อการสร้างมวลเซลล์ในรูปน้ำหนักเซลล์แห้ง พบว่าความเข้มข้น acid oil ที่เพิ่มขึ้น ทำให้จุลินทรีย์สามารถผลิตมวลเซลล์ได้สูงขึ้น โดยการเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วยกา รเติม acid oil ความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร สามารถผลิตมวลเซลล์ได้เพียง 12.89 กรัมต่อลิตร แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ acid oil เป็น 30 กรัมต่อลิตร พบว่าจุลินทรีย์สามารถผลิตมวลเซลล์ได้สูงขึ้นเป็น 20.27 กรัมต่อลิตร และเมื่อเลี้ยงด้วยการเติม acid oil ความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร พบว่าจุลินทรีย์สามารถผลิตมวลเซลล์ได้เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยเท่านั้นคือ 21.09 กรัมต่อลิตร

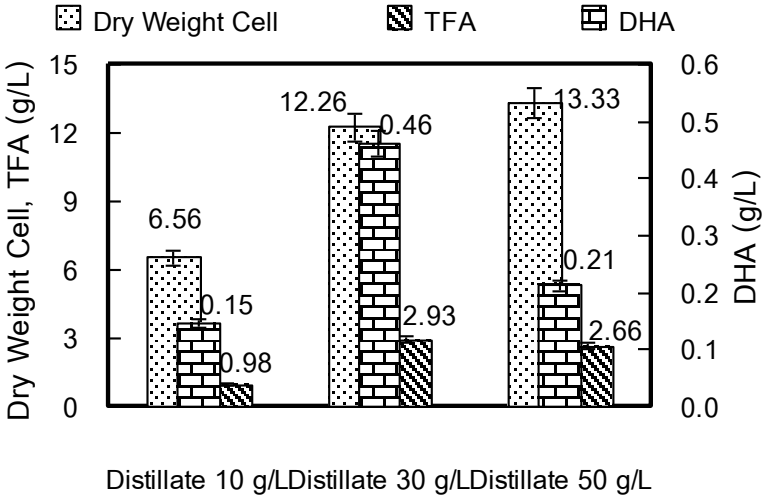
การผลิต TFA ของจุลินทรีย์ *Schizochytrium* sp. BCC 25505 เมื่อมีการเติม acid oil ความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร พบว่าจุลินทรีย์สามารถผลิต TFA ได้เพียง 2.46 กรัมต่อลิตร เท่านั้น แต่เมื่อทำการทดลองเพิ่มความเข้มข้นของ acid oil จาก 10 เป็น 30 กรัมต่อลิตร พบว่า TFA ที่จุลินทรีย์สามารถผลิตได้เพิ่มขึ้นจาก 2.46 เป็น 6.77 กรัมต่อลิตร และเมื่อเลี้ยงด้วยการเติม acid oil ความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร พบว่าจุลินทรีย์สามารถผลิ ต TFA ได้ 7.14 กรัมต่อลิตร ซึ่งเพิ่มขึ้นจากการเลี้ยงโดยการเติม acid oil ความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร เพียง 0.37 กรัมต่อลิตร เท่านั้น

เมื่อพิจารณาถึงการผลิต DHA ของจุลินทรีย์ พบว่าสามารถผลิต DHA ได้ปริมาณสูงสุด 0.22 กรัมต่อลิตร เมื่อเลี้ยงด้วย acid oil ความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับการเลี้ยงด้วย acid oil ความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร พบว่าจุลินทรีย์สามารถผลิต DHA ได้เพียง 0.13

กรัมต่อลิตร เท่านั้น และการเลี้ยงด้วย acid oil ความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร สามารถผลิต DHA ได้ 0.2 กรัมต่อลิตร

รูปที่ 4.40

ผลของ distillate ความเข้มข้น 10-50 กรัมต่อลิตร ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA




จากรูปที่ 4.40 เป็นการเปรียบเทียบผลของการเติม distillate ความเข้มข้น 10-50 กรัมต่อลิตร ณ จุดที่มีการเจริญสูงสุด ต่อการสร้างมวลเซลล์ พบว่า จุลินทรีย์สามารถผลิตมวลเซลล์ได้สูงขึ้น เมื่อความเข้มข้น distillate เพิ่มขึ้น โดยจุลินทรีย์ สามารถผลิตมวลเซลล์ได้ 6.56 กรัมต่อลิตร เมื่อเลี้ยง ด้วย distillate ความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ distillate เป็น 30 กรัมต่อลิตร พบว่ามวลเซลล์ที่จุลินทรีย์ผลิตได้สูงขึ้นเป็น 12.26 กรัมต่อลิตร และเมื่อเลี้ยงด้วย distillate ความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร พบว่าจุลินทรีย์ ผลิตมวลเซลล์ได้เพิ่มขึ้นเล็กน้อยคือ 13.33 กรัมต่อลิตร

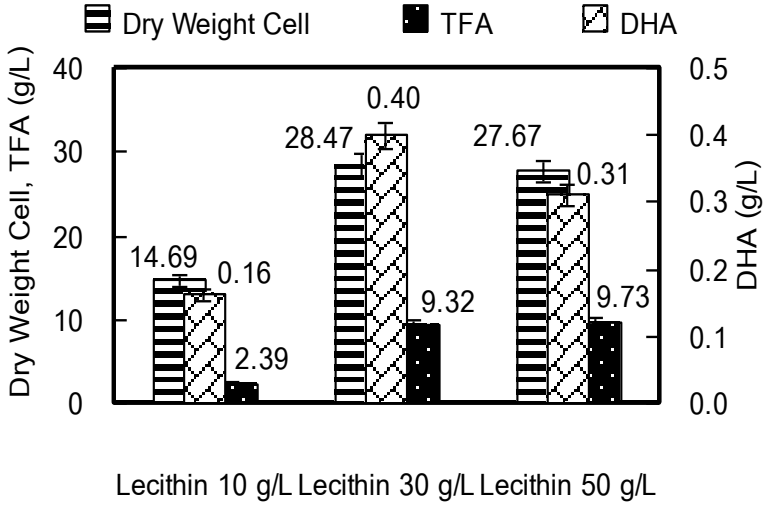
เมื่อพิจารณาถึงการผลิต TFA ของจุลินทรีย์ *Schizochytrium* sp. BCC 25505 เมื่อมีการเติม distillate ความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร พบว่าจุลินทรีย์ผลิต TFA ได้ 0.98 กรัมต่อลิตร แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ distillate เป็น 30 กรัมต่อลิตร พบว่า TFA เพิ่มขึ้นเป็น 2.93 กรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นค่าที่สูงสุดในการทดลองนี้ และเมื่อเลี้ยงด้วยการเติม distillate ความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร พบว่าจุลินทรีย์สามารถผลิต TFA ได้ลดลงเป็น 2.66 กรัมต่อลิตร

การผลิต DHA ของจุลินทรีย์ พบว่า การเลี้ยงด้วย distillate ความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร จุลินทรีย์ สามารถผลิต DHA ได้ 0.15 กรัมต่อลิตร และเมื่อเลี้ยงด้วย distillate ความเข้มข้น

30 กรัมต่อลิตร พบว่าสามารถผลิต DHA ได้ปริมาณสูงสุดคือ 0.46 กรัมต่อลิตร แต่เมื่อเลี้ยงด้วย distillate ความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร พบว่าจุลินทรีย์สามารถผลิต DHA ได้ลดลง 2 เท่า คือ 0.21 กรัมต่อลิตร

รูปที่ 4.41

ผลของ crude lecithin ความเข้มข้น 10-50 กรัมต่อลิตร ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA



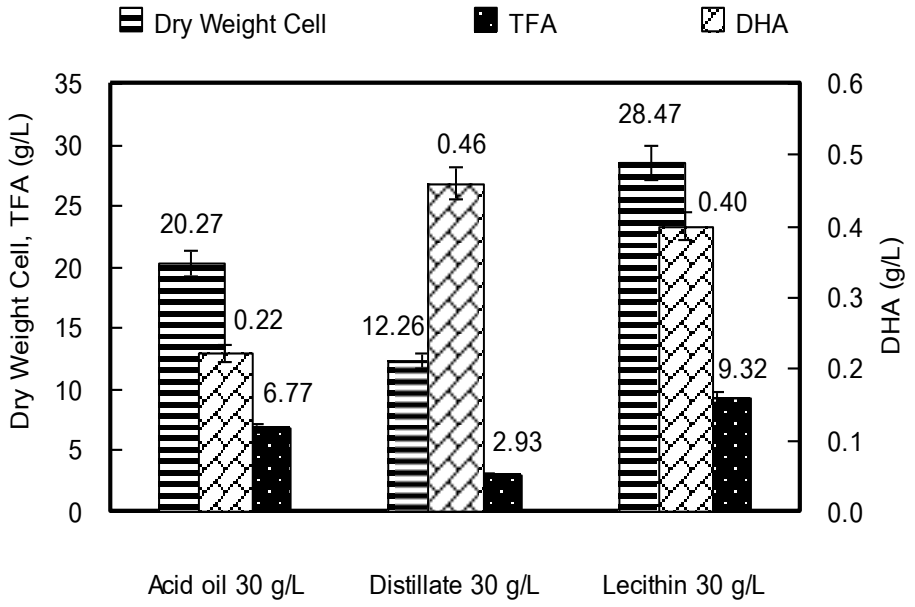

จากรูปที่ 4.41 เป็นการเปรียบเทียบผลของการเติม crude lecithin ความเข้มข้น 10-50 กรัมต่อลิตร ณ จุดที่มีการเจริญสูงสุด ต่อการสร้างมวลเซลล์ ของจุลินทรีย์ พบว่าเมื่อเลี้ยงด้วย crude lecithin ความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร สามารถผลิตมวลเซลล์ได้ 14.69 กรัมต่อลิตร เมื่อเพิ่มความเข้มข้น crude lecithin เป็น 30 กรัมต่อลิตร จุลินทรีย์สามารถผลิตมวลเซลล์ได้สูงสุด 28.47 กรัมต่อลิตร และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ crude lecithin เป็น 50 กรัมต่อลิตร พบว่าจุลินทรีย์สามารถผลิตมวลเซลล์ได้ลดลงเป็น 27.67 กรัมต่อลิตร

การผลิต TFA ของจุลินทรีย์ *Schizochytrium* sp. BCC 25505 พบว่าสามารถผลิต TFA ได้สูงสุดคือ 9.73 กรัมต่อลิตร เมื่อเลี้ยงด้วย crude lecithin ความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร และเมื่อเปรียบเทียบกับการเลี้ยงด้วย crude lecithin ความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร พบว่าสามารถผลิต TFA ได้เพียง 2.39 กรัมต่อลิตร เท่านั้น และเมื่อเลี้ยงด้วย crude lecithin ความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร พบว่าจุลินทรีย์สามารถผลิต TFA ได้ลดลงเพียงเล็กน้อยคือ 9.32 กรัมต่อลิตร

เมื่อพิจารณาถึงการผลิต DHA ของจุลินทรีย์ พบว่า การเลี้ยงด้วย crude lecithin ความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร จุลินทรีย์สามารถผลิต DHA ได้สูงสุดคือ 0.40 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีค่า

ใกล้เคียงกับการเลี้ยงด้วย crude lecithin ความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร คือ 0.31 กรัมต่อลิตร เมื่อเทียบกับการเลี้ยงจุลินทรีย์ crude lecithin ความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร พบว่าจุลินทรีย์สามารถผลิต DHA ได้น้อยที่สุดคือ 0.16 กรัมต่อลิตร

รูปที่ 4.42
ผลของ acid oil, distillate และ crude lecithin 30 กรัมต่อลิตร
ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA

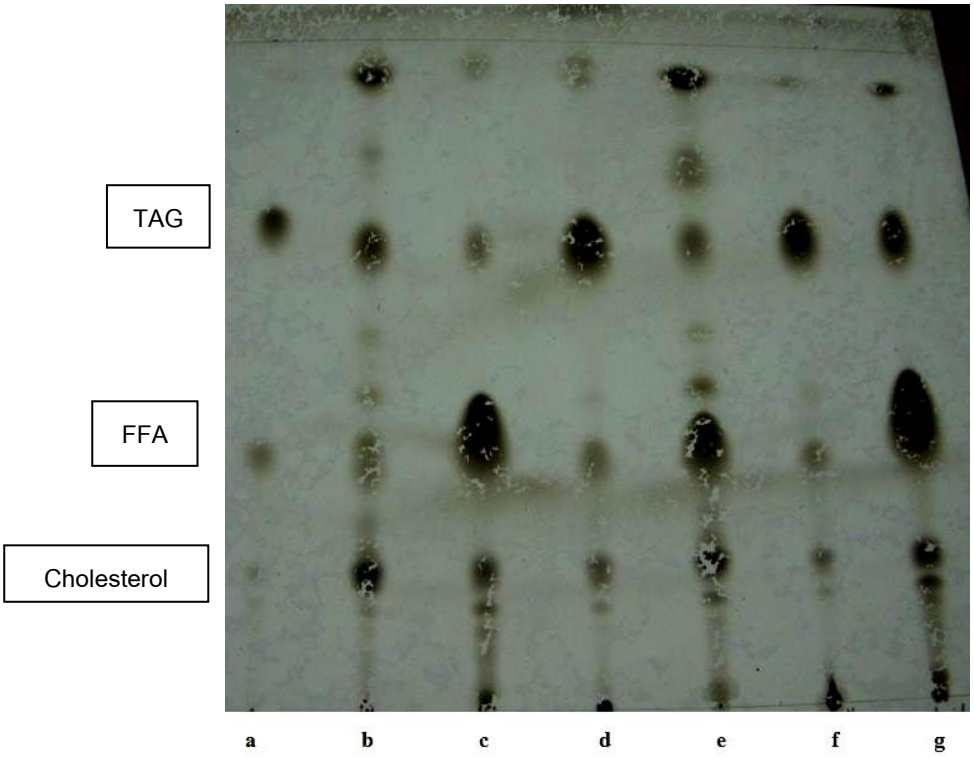



จากรูปที่ 4.42 เป็นการเปรียบเทียบผลของการเติม acid oil, distillate และ crude lecithin ความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร ต่อการสร้างมวลเซลล์ เนื่องจากการเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วยผลพลอยได้ทั้ง 3 ชนิด ความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร สามารถผลิตมวลเซลล์ได้สูงสุด พบว่าการเติม crude lecithin ซึ่งได้จากขั้นตอนกำจัดยางเหนียว (Gum) ของกระบวนการผลิตน้ำมันพืช ความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร จุลินทรีย์สายพันธุ์นี้สามารถผลิตมวลเซลล์ได้สูงสุด 28.47 กรัมต่อลิตร เมื่อเทียบกับการเติม acid oil และ distillate จุลินทรีย์สามารถผลิตมวลเซลล์ได้เพียง 20.27 และ 12.26 กรัมต่อลิตร เท่านั้น เนื่องจาก crude lecithin จัดเป็นไขมันประเภทฟอสโฟลิปิด (phospholipid) ซึ่งเป็นองค์ประกอบของเซลล์เมมเบรนของจุลินทรีย์ (Nelson & Cox, 2004, p. 354) ทำให้จุลินทรีย์มีการนำฟอสโฟลิปิดเหล่านี้ไปช่วยในการสร้างเมมเบรน ทำให้จุลินทรีย์สามารถสร้างมวลเซลล์ได้สูงขึ้น

การผลิต TFA ของจุลินทรีย์ *Schizochytrium* sp. BCC 25505 เมื่อมีการเติม acid oil, distillate และ crude lecithin ความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าการเติม crude lecithin ความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร จุลินทรีย์สายพันธุ์นี้สามารถผลิต TFA ได้สูงสุด 9.32 กรัมต่อลิตร เมื่อเทียบกับการเติม acid oil และ distillate จุลินทรีย์สามารถผลิต TFA ได้เพียง 6.77 และ 2.93 กรัมต่อลิตร เท่านั้น

เมื่อพิจารณาถึงการผลิต DHA ของจุลินทรีย์สายพันธุ์นี้ โดยการเติม acid oil, distillate และ crude lecithin ความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร พบว่าการเติม crude lecithin และ distillate ความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร จุลินทรีย์สายพันธุ์นี้สามารถผลิต DHA ได้สูงสุด 0.4 กรัมต่อลิตร ซึ่งสูงกว่าการเติม acid oil ถึง 2 เท่า คือ 0.2 กรัมต่อลิตร เนื่องจาก crude lecithin จัดเป็นไขมันประเภทฟอสโฟลิปิด ซึ่งมีองค์ประกอบเป็นหมู่ฟอสเฟต และหมู่ฟอสเฟต จำเป็นต่อกระบวนการสร้าง ATP เพื่อใช้ในการสังเคราะห์กรดไขมัน ดังนั้นการเติม crude lecithin ช่วยส่งเสริมจุลินทรีย์ให้สามารถสร้างกรดไขมันได้เพิ่มขึ้น (Nelson & Cox, 2004, p. 496)

รูปที่ 4.43
ผลของไขมันทั้งหมดในเซลล์แห้งที่เลี้ยงด้วย acid oil, distillate และ crude lecithin 30 กรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับผลพลอยได้ทั้ง 3 ชนิด




หมายเหตุ: a คือสารละลายมาตรฐานที่ประกอบไปด้วย TAG, FFA และ CH
b คือเซลล์ที่ได้จากการเลี้ยงด้วยอาหารที่มี distillate 30 กรัมต่อลิตร
c คือเซลล์ที่ได้จากการเลี้ยงด้วยอาหารที่มี acid oil 30 กรัมต่อลิตร
d คือเซลล์ที่ได้จากการเลี้ยงด้วยอาหารที่มี crude lecithin 30 กรัมต่อลิตร
e คือ distillate ที่ได้จากโรงงานน้ำมันพืช
f คือ crude lecithin ที่ได้จากโรงงานน้ำมันพืช
g คือ acid oil ที่ได้จากโรงงานน้ำมันพืช

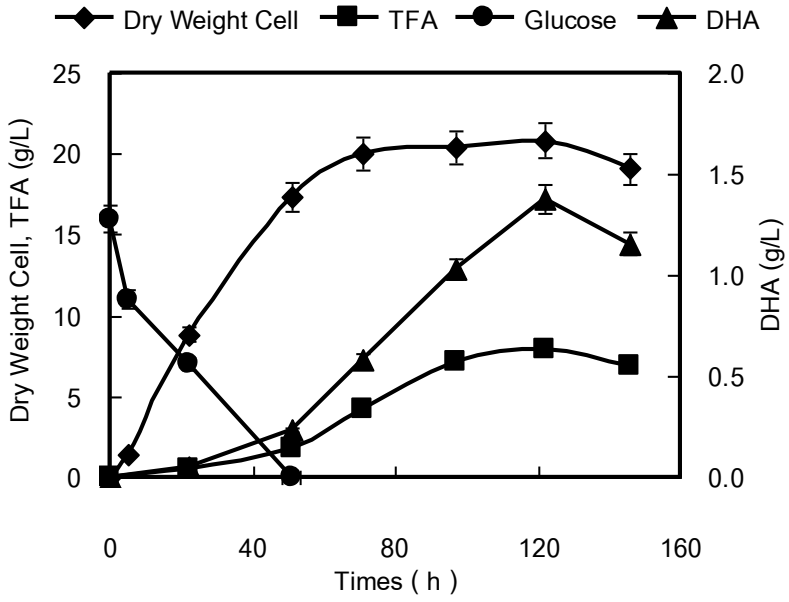
จากรูปที่ 4.43 แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณไขมันทั้งหมดในผลพลอยได้ทั้ง 3 ชนิด เปรียบเทียบกับเซลล์แห้งที่ได้จากการเลี้ยงจุลินทรีย์ *Schizochytrium* sp. BCC 25505 ด้วยอาหารที่มี acid oil, distillate และ crude lecithin 30 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ มาวิเคราะห์ด้วยวิธีการ TLC เปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐาน (Standard) ที่ประกอบด้วย Triacylglycerol (TAG), Free Fatty acid (FFA) และ Chlolesterol (CH) พบว่า distillate อยู่ในรูปของกรดไขมัน

อิสระ (FFA) และ TAG เมื่อนำมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าจุลินทรีย์สะสมไขมันในรูปของ TAG เนื่องจากจุลินทรีย์มีการนำกรดไขมันอิสระเข้าสู่วิถีการสังเคราะห์กรดไขมันและเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของ TAG ก่อน จากนั้นจึงนำมาสะสมอยู่ภายในเซลล์ ส่วน crude lecithin อยู่ในรูปของ TAG เมื่อนำมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าจุลินทรีย์สะสมไขมันในรูปของ TAG เช่นเดียวกันกับสารตั้งต้น ส่วน acid oil อยู่ในรูปของ FFA เมื่อนำมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าจุลินทรีย์สะสมไขมันในรูปของ FFA เช่นเดียวกันกับสารตั้งต้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Chen มีการศึกษาองค์ประกอบของ acid oil โดยวิธีการ TLC พบว่า องค์ประกอบไขมันหลักคือ TAG และ FFA (Chen, Du & Liu, 2008,p. 428)

### 4.3.2 ผลของการใช้ผลพลอยได้ร่วมกับน้ำตาลกลูโคสต่อการเจริญและการผลิต DHA

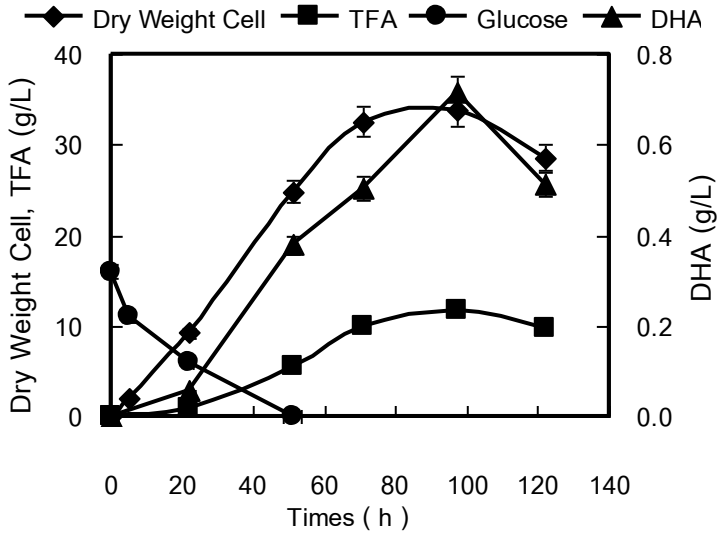
จากการทดลอง 4.3.1 พบว่า *Schizochytrium* sp. BCC 25505 สามารถเจริญและผลิต DHA ได้สูงสุด เมื่อเติมผลพลอยได้ปริมาณ 30 กรัมต่อลิตร แต่ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง กรดไขมันทั้งหมด และ DHA ที่จุลินทรีย์ผลิตได้มีปริมาณน้อย ดังนั้นการทดลองนี้จึง มีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มปริมาณมวลเซลล์ กรดไขมันทั้งหมด และ DHA โดยการเติมน้ำตาลกลูโคสร่วมกับการเติมผลพลอยได้ทั้ง 3 ชนิด และศึกษาอิทธิพลร่วมกันระหว่างแหล่งคาร์บอนทั้ง 2 ชนิดต่อการสร้างมวลเซลล์ และการผลิต DHA

รูปที่ 4.44
ผลของการเติม distillate 30 กรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 15 กรัมต่อลิตร ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA



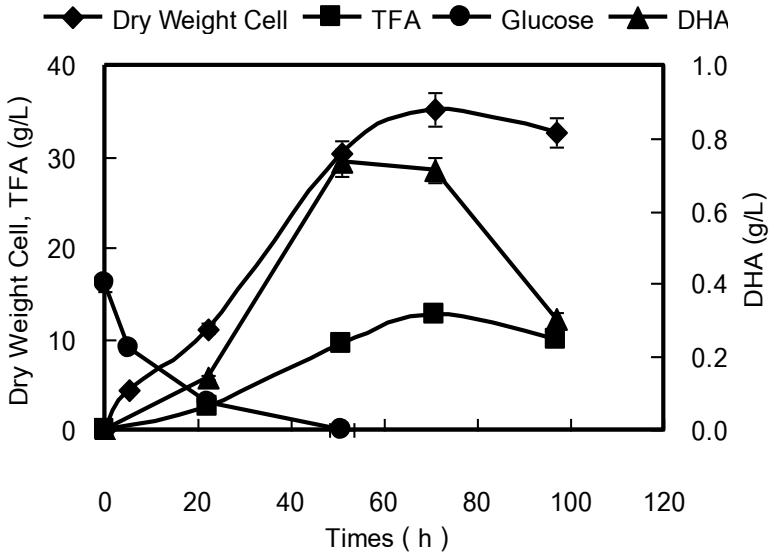

จากรูปที่ 4.44 แสดงผลของการเลี้ยง *Schizochytrium* sp. BCC 25505 โดยการเติม distillate 30 กรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำตาลกลูโคสควา มเข้มข้น 15 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าช่วงเวลา 0-5 ชั่วโมงแรกของการเลี้ยง จุลินทรีย์มีการเจริญแบบ lag phase จากนั้นการเจริญเข้าสู่ log phase เพื่อเพิ่มปริมาณ ในช่วงระยะเวลาการเลี้ยง 6-100 ชั่วโมง และเข้าสู่ช่วงการเจริญแบบ stationary phase โดยจุลินทรีย์สามารถสร้างมวลเซลล์ในรูปน้ำหนักเซลล์แห้งได้สูงสุด 20.8 กรัมต่อลิตร และเมื่อพิจารณาถึงการผลิต TFA ของจุลินทรีย์ พบว่าการสะสม TFA เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงปลายของการเจริญแบบ log phase และมีการสะสม TFA ได้สูงสุด 7.9 กรัมต่อลิตร เมื่อจุลินทรีย์เจริญอยู่ในช่วง stationary phase และการผลิต DHA ของจุลินทรีย์ พบว่าสามารถผลิต DHA ได้เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเลี้ยงเช่นเดียวกับการผลิต TFA โดยจุลินทรีย์สายพันธุ์นี้สามารถผลิต DHA ได้สูงสุด 1.38 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 122 ชั่วโมง

รูปที่ 4.45
ผลของการเติม acid oil 30 กรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 15 กรัมต่อลิตร ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA



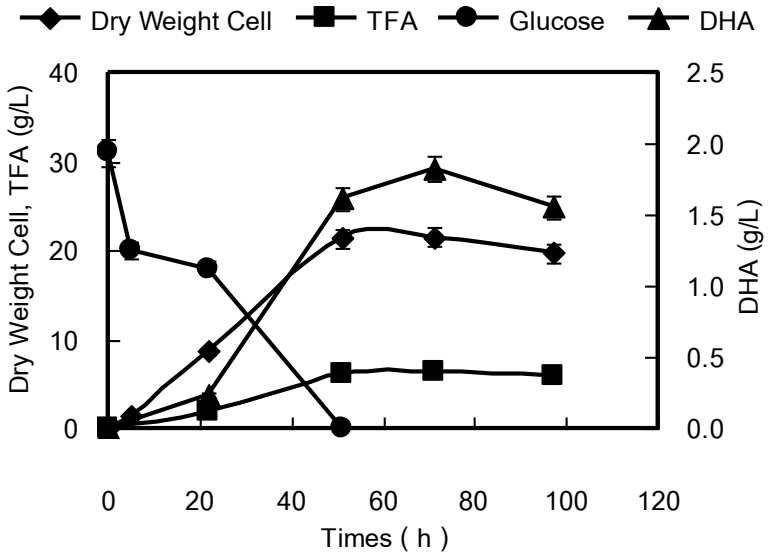

จากรูปที่ 4.45 แสดงผลของการเลี้ยง *Schizochytrium* sp. BCC 25505 โดยการเติม acid oil 30 กรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 15 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าเซลล์มีการเพิ่มปริมาณอย่างรวดเร็วในช่วงการเจริญแบบ log phase ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 10-90 ชั่วโมง โดยสามารถสร้างมวลเซลล์ได้สูงสุด 33.7 กรัมต่อลิตร เมื่อการเจริญอยู่ในช่วง stationary phase และเมื่อพิจารณาถึงการผลิต TFA ของจุลินทรีย์ พบว่าเซลล์มีการสะสม TFA สูงสุดเมื่อการเจริญอยู่ในช่วง stationary phase คือ 11.8 กรัมต่อลิตร และการผลิต DHA ของจุลินทรีย์ พบว่าสามารถผลิต DHA ได้เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเลี้ยง โดยจุลินทรีย์สายพันธุ์นี้สามารถผลิต DHA ได้สูงสุด 0.72 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 97 ชั่วโมง

รูปที่ 4.46
ผลของการเติม crude lecithin 30 กรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 15 กรัมต่อลิตร ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA



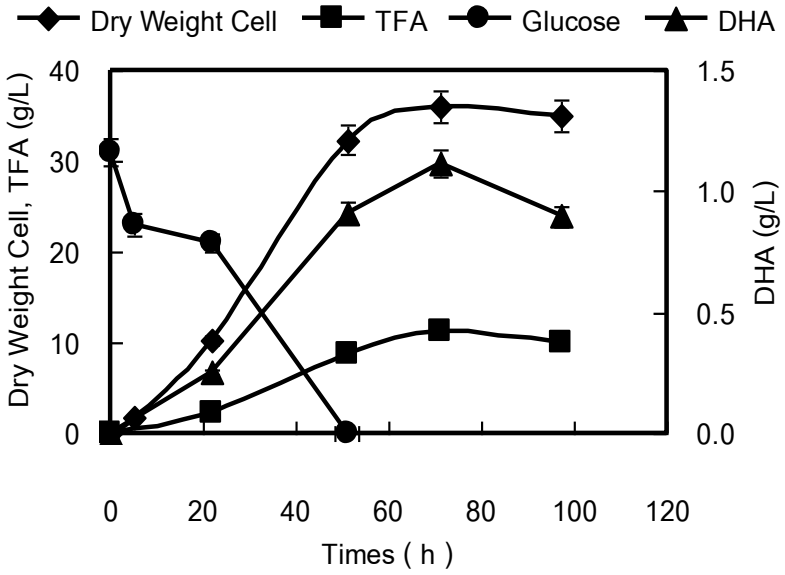

จากรูปที่ 4.46 แสดงผลของการเลี้ยง *Schizochytrium* sp. BCC 25505 โดยการเติม crude lecithin 30 กรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 15 กรัมต่อลิตร พบว่าช่วงเวลา 10-70 ชั่วโมงแรกของการเลี้ยง จุลินทรีย์มีการเจริญแบบ log phase จากนั้นการเจริญของจุลินทรีย์เข้าสู่ช่วง stationary phase และสามารถสร้างมวลเซลล์ได้สูงสุด 35.2 กรัมต่อลิตร การผลิต TFA ของจุลินทรีย์ พบว่าช่วงการเจริญแบบ stationary phase เซลล์มีการสะสม TFA ได้สูงสุด 12.7 กรัมต่อลิตร และเมื่อพิจารณาถึงการผลิต DHA ของจุลินทรีย์ พบว่าสามารถผลิต DHA ได้เพิ่มขึ้นในช่วงท้ายของการเจริญแบบ log phase โดยจุลินทรีย์สามารถผลิต DHA ได้สูงสุด 0.7 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 71 ชั่วโมง

รูปที่ 4.47
ผลของการเติม distillate 30 กรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA



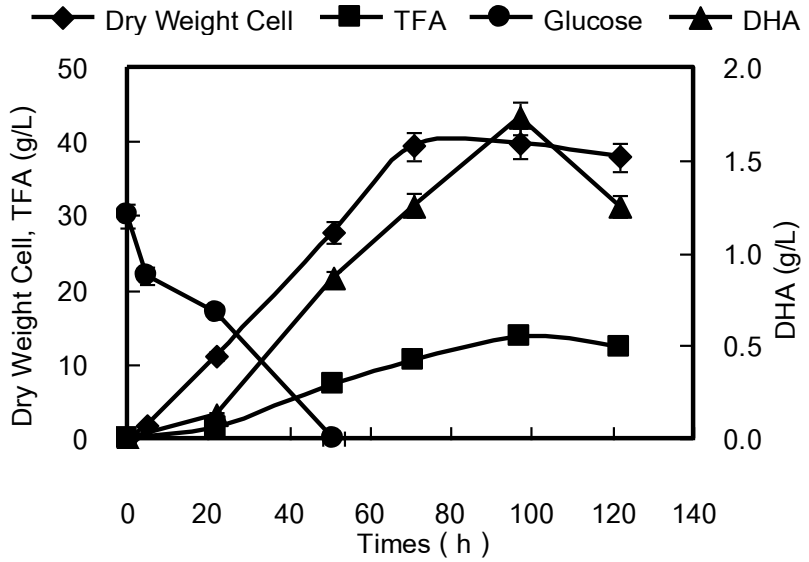

จากรูปที่ 4.47 แสดงผลของการเลี้ยง *Schizochytrium* sp. BCC 25505 โดยการเติม distillate 30 กรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร พบว่า การเจริญแบบ log phase เกิดขึ้นที่ช่วงเวลา 10-70 ชั่วโมงแรกของการเลี้ยง เพื่อ เพิ่มปริมาณเซลล์ และสามารถสร้างมวลเซลล์ได้สูงสุด 21.4 กรัมต่อลิตร และเมื่อพิจารณาถึงการผลิต TFA ของจุลินทรีย์ พบว่าการสร้าง TFA เพิ่มขึ้นอย่างมากในช่วงท้ายการเจริญแบบ log phase และมีการสะสม TFA ได้สูงสุด 6.5 กรัมต่อลิตร เมื่อจุลินทรีย์เจริญอยู่ในช่วง stationary phase และการผลิต DHA ของจุลินทรีย์ พบว่าสามารถผลิต DHA ได้สูงสุด 1.8 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 71 ชั่วโมง

รูปที่ 4.48
ผลของการเติม acid oil 30 กรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA



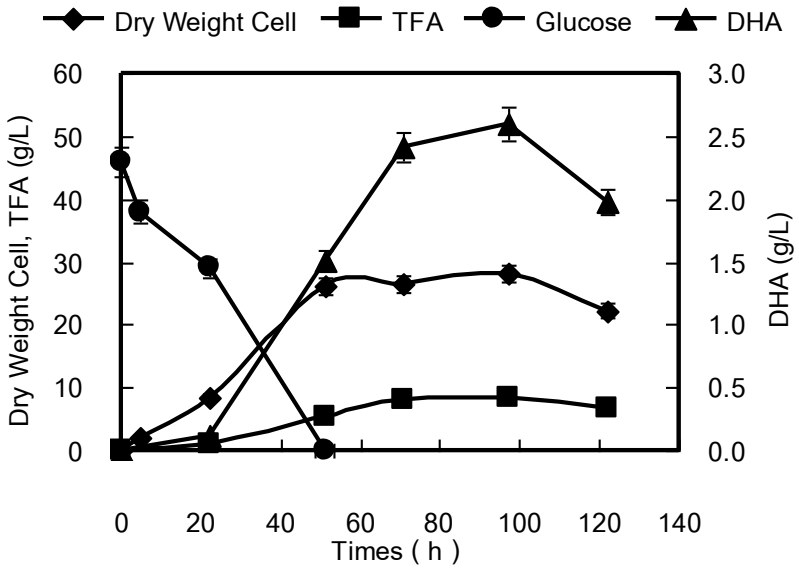

จากรูปที่ 4.48 แสดงผลของการเลี้ยง *Schizochytrium* sp. BCC 25505 โดยการเติม acid oil 30 กรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร พบว่าที่ระยะเวลาการเลี้ยง 10 ชั่วโมงแรก จุลินทรีย์เริ่มมีการเจริญเข้าสู่ช่วง log phase จนกระทั่งถึงระยะเวลาการเลี้ยง 70 ชั่วโมง จุลินทรีย์มีการเจริญเข้าสู่ช่วง stationary phase และสามารถสร้างมวลเซลล์ได้สูงสุด 36 กรัมต่อลิตร และการผลิต TFA ของจุลินทรีย์ พบว่ามีการสะสม TFA ได้สูงสุดเมื่อการเจริญอยู่ในช่วง stationary phase คือ 11.2 กรัมต่อลิตร และ เมื่อพิจารณาถึงการผลิต DHA ของจุลินทรีย์ พบว่าสามารถผลิต DHA ได้เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเลี้ยง โดยจุลินทรีย์สามารถผลิต DHA ได้สูงสุด 1.1 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 71 ชั่วโมง และจากการวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสพบว่า จุลินทรีย์ น่าจะมีการนำกลูโคสมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนก่อน เมื่อกลูโคสหมดที่ระยะเวลาการเลี้ยง 50 ชั่วโมง จุลินทรีย์จึงนำ acid oil มาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อเพิ่มปริมาณมวลเซลล์ TFA และ DHA

รูปที่ 4.49
ผลของการเติม crude lecithin 30 กรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA



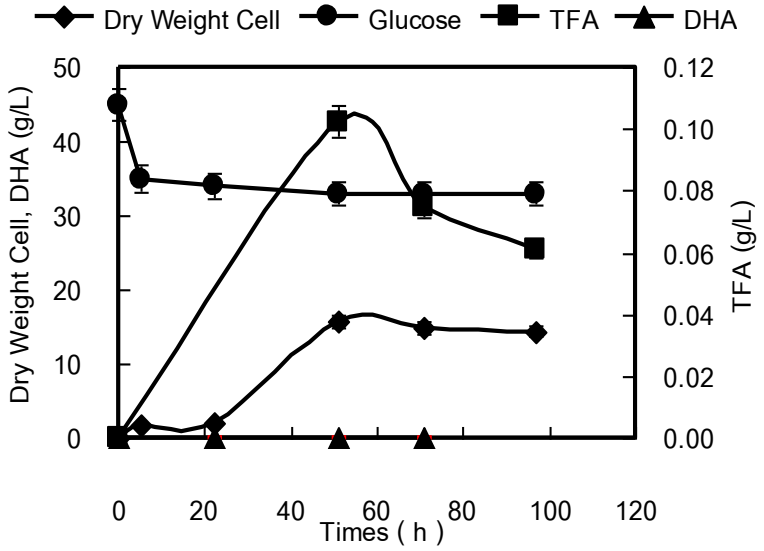

จากรูปที่ 4.49 แสดงผลของการเลี้ยง *Schizochytrium* sp. BCC 25505 โดยการเติม crude lecithin 30 กรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร พบว่าเซลล์มีการเพิ่มปริมาณอย่างรวดเร็วในช่วงการเจริญแบบ log phase ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 10-90 ชั่วโมง จากนั้นการเจริญเข้าสู่ช่วง stationary phase โดยสร้างมวลเซลล์ได้สูงสุด คือ 39.7 กรัมต่อลิตร และเมื่อพิจารณาถึงการผลิต TFA ของจุลินทรีย์ พบว่าการสะสม TFA เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงปลายของการเจริญแบบ log phase โดยมีการสะสม TFA ได้สูงสุด 13.7 กรัมต่อลิตร และการผลิต DHA ของจุลินทรีย์ พบว่าสามารถผลิต DHA ได้สูงสุด 1.7 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 97 ชั่วโมง และจากการวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสพบว่า จุลินทรีย์ น่าจะมีการนำกลูโคสมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนก่อน เมื่อกลูโคสหมดที่ระยะเวลาการเลี้ยง 50 ชั่วโมง จุลินทรีย์จึงนำ crude lecithin มาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อเพิ่มปริมาณมวลเซลล์ TFA และ DHA

รูปที่ 4.50
ผลของการเติม distillate 30 กรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 45 กรัมต่อลิตร ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA



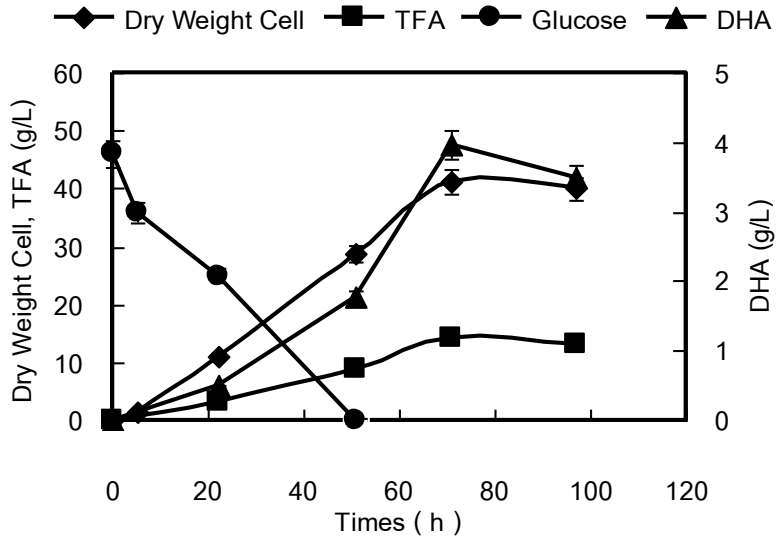

จากรูปที่ 4.50 แสดงผลของการเลี้ยง *Schizochytrium* sp. BCC 25505 โดยการเติม distillate 30 กรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 45 กรัมต่อลิตร พบว่า การเจริญแบบ lag phase เริ่มต้นที่ระยะเวลาการเลี้ยง 0-30 ชั่วโมงแรกของการเลี้ยง จากนั้นเซลล์มีการเพิ่มปริมาณอย่างรวดเร็วเมื่อการเจริญเข้าสู่ช่วง log phase ที่เวลา 30-90 ชั่วโมง และการเจริญของจุลินทรีย์เข้าสู่ช่วง stationary phase โดยมีการสร้างมวลเซลล์ได้สูงสุด 28.2 กรัมต่อลิตร และการผลิต TFA ของจุลินทรีย์ พบว่า ในช่วงท้ายของการเจริญแบบ stationary phase เซลล์มีการสะสม TFA ได้ปริมาณสูงสุด 8.5 กรัมต่อลิตร และ เมื่อพิจารณาถึงการผลิต DHA ของจุลินทรีย์ พบว่า สามารถผลิต DHA ได้เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเลี้ยงเช่นเดียวกับการผลิต TFA โดยจุลินทรีย์สายพันธุ์นี้สามารถผลิต DHA ได้สูงสุด 2.6 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 97 ชั่วโมง และจากการวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสพบว่า จุลินทรีย์น่าจะมีการนำกลูโคสมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนก่อน เมื่อน้ำตาลกลูโคสหมดที่ระยะเวลาการเลี้ยง 50 ชั่วโมง จาก นั้นมวลเซลล์มีแนวโน้มลดลงแต่ TFA สูงขึ้นอีกเล็กน้อยจาก 5.3 เป็น 8 กรัมต่อลิตร และ DHA สูงขึ้นอีกเล็กน้อยจาก 1.5 เป็น 2.4 กรัมต่อลิตร

รูปที่ 4.51
ผลของการเติม acid oil 30 กรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 45 กรัมต่อลิตร ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA



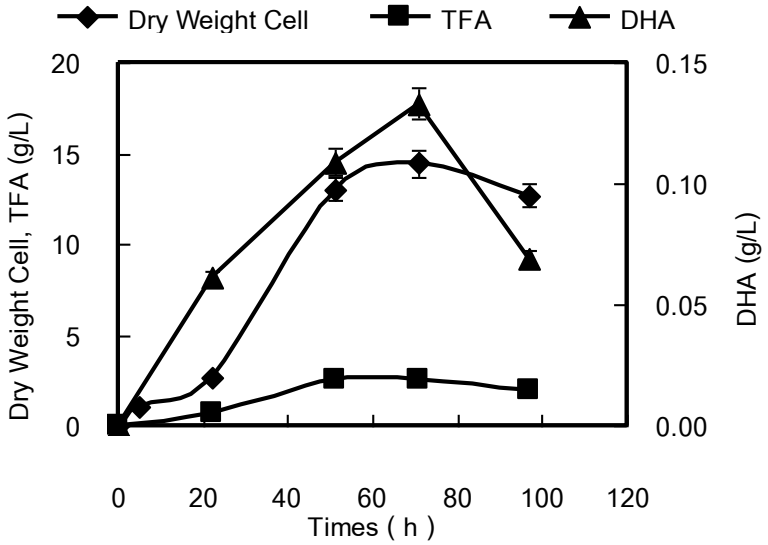

จากรูปที่ 4.51 แสดงผลของการเลี้ยง *Schizochytrium* sp. BCC 25505 โดยการเติม acid oil 30 กรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 45 กรัมต่อลิตร พบว่าช่วงเวลา 20-45 ชั่วโมงแรกของการเลี้ยง จุลินทรีย์มีการเจริญแบบ log phase เพื่อเพิ่มปริมาณ และเมื่อผ่านระยะการเลี้ยงไปแล้ว 45 ชั่วโมง เซลล์มีการเจริญเข้าสู่ช่วง stationary phase และสร้างมวลเซลล์ได้สูงสุดคือ 15.7 กรัมต่อลิตร และเมื่อพิจารณาถึงการผลิต TFA ของจุลินทรีย์ พบว่าปริมาณ TFA ที่จุลินทรีย์ผลิตได้มีปริมาณน้อยคือ 0.1 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 51 ชั่วโมง และการผลิต DHA ของจุลินทรีย์ พบว่าไม่สามารถผลิต DHA ได้ จากการวิเคราะห์ปริมาณกลูโคส พบว่าจุลินทรีย์มีการนำกลูโคสมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนที่ช่วงระยะเวลา 0-22 ชั่วโมงแรกของการเลี้ยง จากนั้นปริมาณน้ำตาลกลูโคสคงที่ แสดงว่าที่ช่วงระยะเวลาการเลี้ยง 22-51 ชั่วโมง จุลินทรีย์น่าจะมีการนำ acid oil มาใช้ในการสร้างมวลเซลล์ และ TFA

รูปที่ 4.52
ผลของการเติม crude lecithin 30 กรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 45 กรัมต่อลิตร ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA



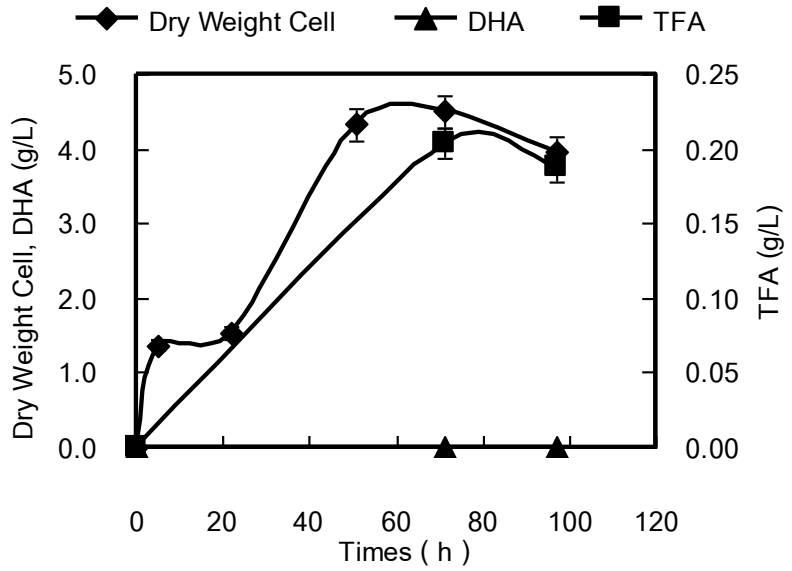

จากรูปที่ 4.52 แสดงผลของการเลี้ยง *Schizochytrium* sp. BCC 25505 โดยการเติม crude lecithin 30 กรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 45 กรัมต่อลิตร พบว่าเซลล์มีการเพิ่มปริมาณอย่างมากในช่วงเวลา 20-70 ชั่วโมง เนื่องจากเป็นช่วงการเจริญแบบ log phase โดยจุลินทรีย์สามารถสร้างมวลเซลล์ได้สูงสุด เมื่อการเจริญอยู่ในช่วง stationary phase คือ 41.1 กรัมต่อลิตร และการผลิต TFA ของจุลินทรีย์ พบว่า เซลล์มีการสะสม TFA ได้สูงสุด 14 กรัมต่อลิตร และ เมื่อพิจารณาถึงการผลิต DHA ของจุลินทรีย์ พบว่าสามารถผลิต DHA ได้เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเลี้ยงเช่นเดียวกับการผลิต TFA โดยจุลินทรีย์สามารถผลิต DHA ได้สูงสุด 4 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 71 ชั่วโมง และจากการวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสพบว่า จุลินทรีย์มีการนำกลูโคสมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนก่อน เมื่อกลูโคสหมดที่ระยะเวลาการเลี้ยง 50 ชั่วโมง จากนั้นจุลินทรีย์น่าจะมีการนำ crude lecithin มาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อเพิ่มปริมาณมวลเซลล์ TFA และ DHA

รูปที่ 4.53
ผลของการเติม distillate 30 กรัมต่อลิตร ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA



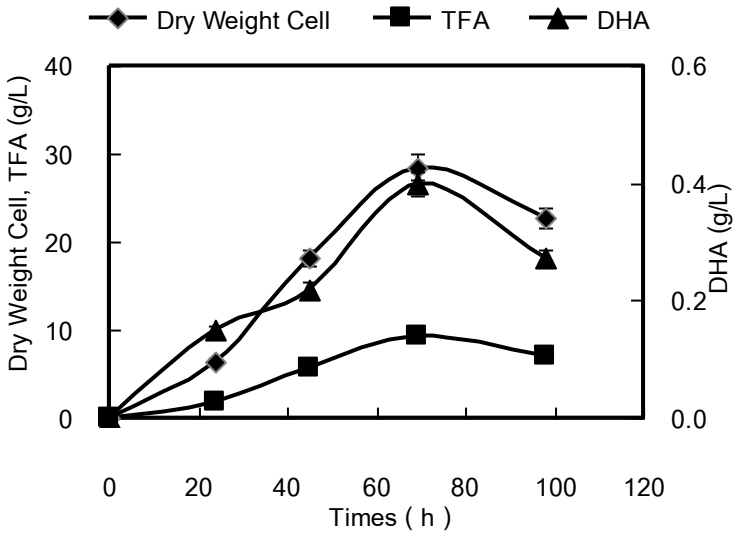

จากรูปที่ 4.53 แสดงผลของการเลี้ยง *Schizochytrium* sp. BCC 25505 โดยการเติม distillate 30 กรัมต่อลิตร (ชุดทดลองควบคุมที่ 2) เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าช่วงการเจริญแบบ log phase ของจุลินทรีย์เกิดขึ้นเมื่อระยะเวลาการเลี้ยงผ่านไป 20-70 ชั่วโมง โดย เซลล์มีการเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว จากนั้นการเจริญเข้าสู่ช่วง stationary phase และสร้างมวลเซลล์ได้สูงสุด 14.4 กรัมต่อลิตร และการผลิต TFA ของจุลินทรีย์ พบว่ามีการสะสม TFA ได้สูงสุด 2.5 กรัมต่อลิตร และ เมื่อพิจารณาถึงการผลิต DHA ของจุลินทรีย์ พบว่าสามารถผลิต DHA ได้สูงสุด 0.13 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 71 ชั่วโมง

รูปที่ 4.54
ผลของการเติม acid oil 30 กรัมต่อลิตร ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA



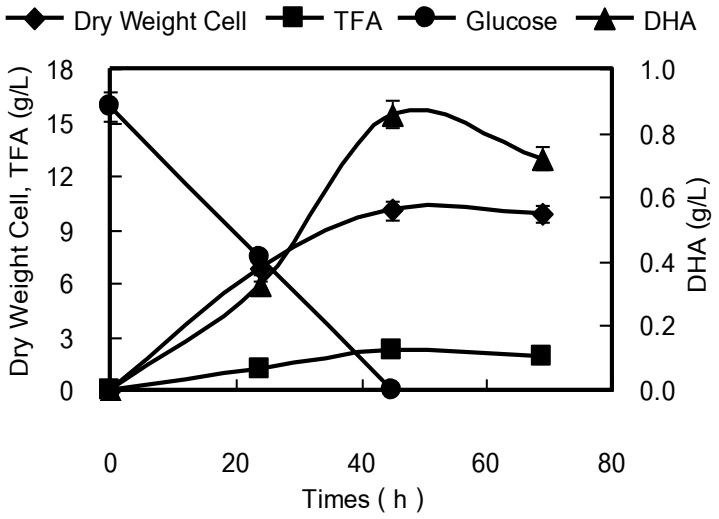

จากรูปที่ 4.54 แสดงผลของการเลี้ยง *Schizochytrium* sp. BCC 25505 โดยการเติม acid oil 30 กรัมต่อลิตร (ชุดทดลองควบคุมที่ 2) เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าช่วง 20 ชั่วโมงแรกของการเลี้ยง จุลินทรีย์มีการเจริญแบบ lag phase จากนั้นเซลล์มีการเพิ่มจำนวนขึ้นในช่วงเวลา 20-70 ชั่วโมง ซึ่งเป็นช่วงการเจริญแบบ log phase และเข้าสู่ช่วงการเจริญแบบ stationary phase โดยสามารถสร้างมวลเซลล์ได้สูงสุด 4.5 กรัมต่อลิตร และการผลิต TFA พบว่าจุลินทรีย์สามารถผลิต TFA ได้น้อยมากคือ 0.1 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 71 ชั่วโมง เนื่องจากสภาวะการเลี้ยงมี pH เป็นกรด และไม่มีการปรับค่า pH ก่อนการเลี้ยง และเมื่อพิจารณาถึงการผลิต DHA ของจุลินทรีย์พบว่าไม่สามารถผลิต DHA ได้

รูปที่ 4.55
ผลของการเติม crude lecithin 30 กรัมต่อลิตร ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA



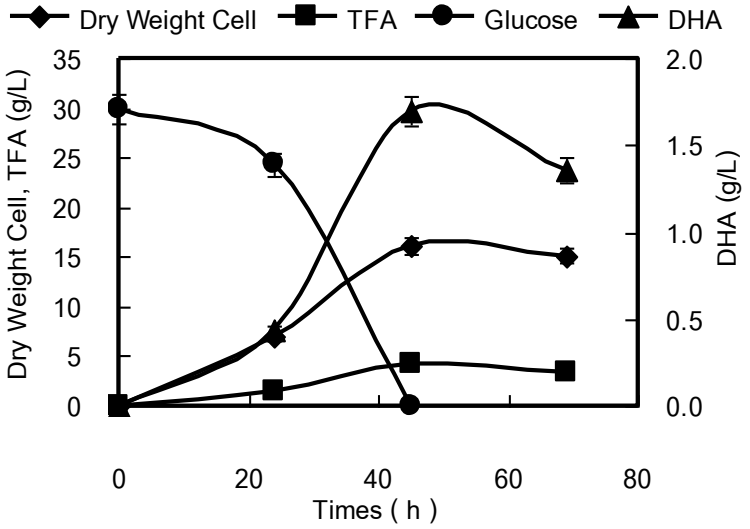

จากรูปที่ 4.55 แสดงผลของการเลี้ยง *Schizochytrium* sp. BCC 25505 โดยการเติม crude lecithin 30 กรัมต่อลิตร (ชุดทดลองควบคุมที่ 2) เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าเซลล์มีการเพิ่มปริมาณขึ้นในช่วงการเจริญแบบ log phase ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 20-70 ชั่วโมง โดยสามารถสร้างมวลเซลล์ได้สูงสุด เมื่อการเจริญอยู่ในช่วง stationary phase คือ 29.9 กรัมต่อลิตร และเมื่อพิจารณาถึงการผลิต TFA ของจุลินทรีย์ พบว่า เซลล์มีการสะสม TFA เพิ่มขึ้นในช่วงท้ายของการเจริญแบบ log phase และมีการสะสม TFA ได้สูงสุด 10 กรัมต่อลิตร และการผลิต DHA ของจุลินทรีย์ พบว่าสามารถผลิต DHA ได้เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเลี้ยงเช่นเดียวกับการผลิต TFA โดยจุลินทรีย์สายพันธุ์นี้สามารถผลิต DHA ได้สูงสุด 0.4 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 71 ชั่วโมง

รูปที่ 4.56
ผลของการเติมน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 15 กรัมต่อลิตร ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA



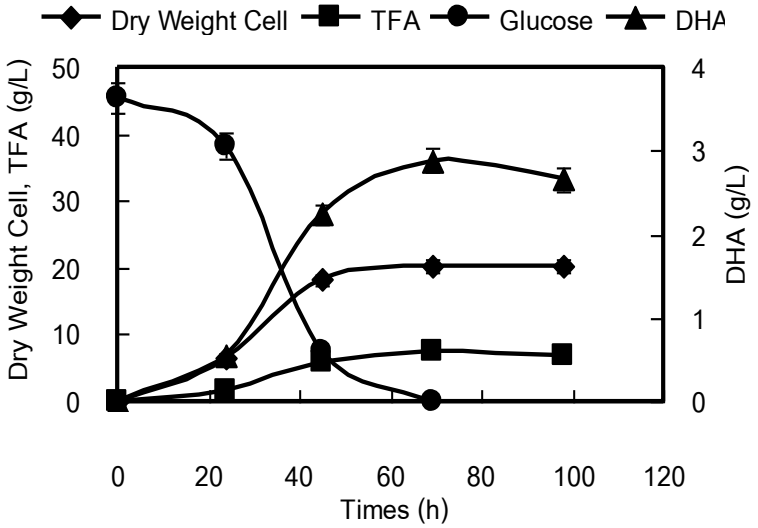

จากรูปที่ 4.56 แสดงผลของการเลี้ยง *Schizochytrium* sp. BCC 25505 โดยการเติมน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 15 กรัมต่อลิตร (ชุดทดลองควบคุมที่ 1) เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าช่วง 5 ชั่วโมงแรกของการเลี้ยง เซลล์มีการเจริญแบบ lag phase เพื่อปรับสภาพในอาหารใหม่ จากนั้นการเจริญเข้าสู่ช่วง log phase เพื่อเพิ่มปริมาณ ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 5-40 ชั่วโมง และเข้าสู่ช่วงการเจริญแบบ stationary phase โดยสร้างมวลเซลล์ได้สูงสุด 10.1 กรัมต่อลิตร และเมื่อพิจารณาถึงการผลิต TFA ของจุลินทรีย์ พบว่าสามารถผลิต TFA ได้สูงสุด 2.2 กรัมต่อลิตร และการผลิต DHA ของจุลินทรีย์ พบว่าสามารถผลิต DHA ได้สูงสุด 0.9 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 45 ชั่วโมง

รูปที่ 4.57
ผลของการเติมน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA




จากรูปที่ 4.57 แสดงผลของการเลี้ยง *Schizochytrium* sp. BCC 25505 โดยการเติมน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร (ชุดทดลองควบคุมที่ 1) เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าระยะเวลาการเลี้ยง 20-40 ชั่วโมง เซลล์มีการเจริญแบบ log phase เพื่อเพิ่มปริมาณ และสามารถสร้างมวลเซลล์ได้สูงสุด 16.1 กรัมต่อลิตร เมื่อการเจริญอยู่ในช่วง stationary phase และเมื่อพิจารณาถึงการผลิต TFA ของจุลินทรีย์ พบว่า เซลล์มีการสะสม TFA เพิ่มขึ้นอย่างมากในช่วงปลายของการเจริญแบบ log phase และมีการสะสม TFA ได้สูงสุด 4.15 กรัมต่อลิตร และการผลิต DHA ของจุลินทรีย์ พบว่าสามารถผลิต DHA ได้เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเลี้ยง โดยจุลินทรีย์สามารถผลิต DHA ได้สูงสุด 1.7 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 45 ชั่วโมง

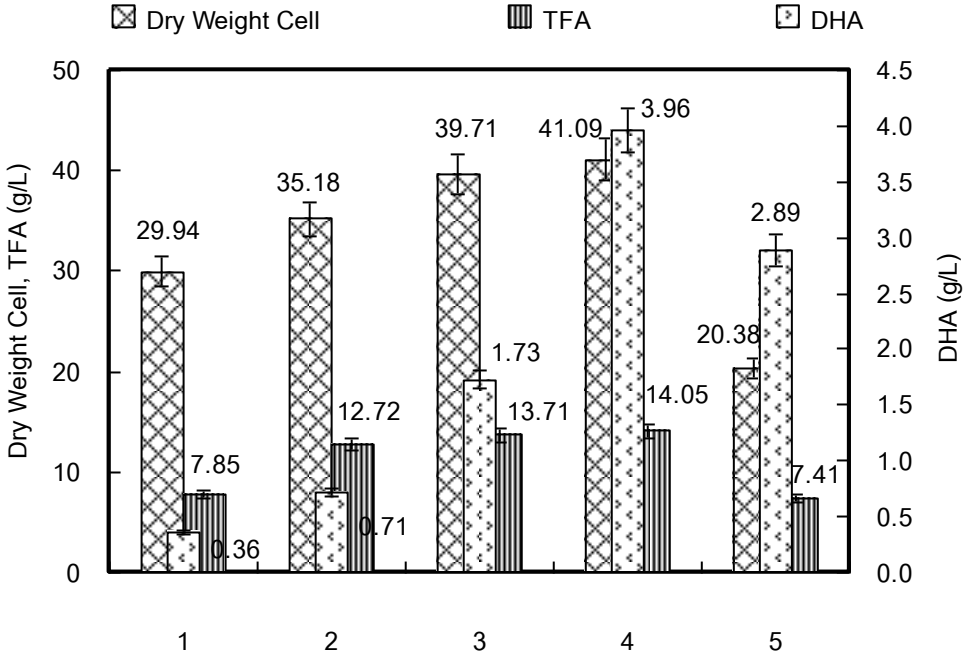
รูปที่ 4.58
ผลของการเติมน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 45 กรัมต่อลิตร ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA




จากรูปที่ 4.58 แสดงผลของการเลี้ยง *Schizochytrium* sp. BCC 25505 โดยการเติมน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 45 กรัมต่อลิตร (ชุดทดลองควบคุมที่ 1) เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าเซลล์มีการเพิ่มปริมาณขึ้นในช่วงการเจริญแบบ log phase ที่ช่วงเวลา 20-60 ชั่วโมง จากนั้นการเจริญเข้าสู่ช่วง stationary phase และสามารถสร้างมวลเซลล์ได้สูงสุด 20.4 กรัมต่อลิตร และการผลิต TFA ของจุลินทรีย์ พบว่าเซลล์มีการสะสม TFA ได้สูงสุด 7.4 กรัมต่อลิตร และเมื่อพิจารณาถึงการผลิต DHA ของจุลินทรีย์ พบว่าสามารถผลิต DHA ได้สูงสุด 2.9 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยง 69 ชั่วโมง

จากการศึกษาโดยการเติมผลพลอยได้ความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้นต่างๆ คือ 15, 30 และ 45 กรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับชุดทดลองที่ 1 และ 2 พบว่าการเติม crude lecithin 30 กรัมต่อลิตร ร่วมกับการเติมน้ำตาลกลูโคส 45 กรัมต่อลิตร จุลินทรีย์ชนิดนี้สามารถเจริญได้อย่างรวดเร็ว และสามารถสร้างมวลเซลล์ TFA และ DHA ได้สูงสุด คือ 41.09, 14.05 และ 3.96 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อเทียบกับการเติมผลพลอยได้อื่นๆ ร่วมกับน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้นต่างๆ

รูปที่ 4.59
ผลของการเติม crude lecithin 30 กรัมต่อลิตร ร่วมกับการเติมน้ำตาลกลูโคส 45 กรัมต่อลิตร
เปรียบเทียบกับชุดทดลองที่ 1 และ2 ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA




หมายเหตุ: 1 คืออาหารที่เติม crude lecithin 30 กรัมต่อลิตร
2 คืออาหารที่เติม crude lecithin 30 กรัมต่อลิตร ร่วมกับกลูโคส 15 กรัมต่อลิตร
3 คืออาหารที่เติม crude lecithin 30 กรัมต่อลิตร ร่วมกับกลูโคส 30 กรัมต่อลิตร
4 คืออาหารที่เติม crude lecithin 30 กรัมต่อลิตร ร่วมกับกลูโคส 45 กรัมต่อลิตร
5 คืออาหารที่เติมน้ำตาลกลูโคส 45 กรัมต่อลิตร

จากรูปที่ 4.59 แสดงผลเปรียบเทียบการเติม crude lecithin 30 กรัมต่อลิตร ร่วมกับการเติมน้ำตาลกลูโคส 45 กรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับชุดทดลองที่ 1 และ 2 ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA พบว่าการเลี้ยงด้วย crude lecithin เพียงอย่างเดียว จุลินทรีย์สามารถผลิตมวลเซลล์ได้ 29.94 กรัมต่อลิตร และเมื่อเติมน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้นสูงขึ้น พบว่ามวลเซลล์ที่จุลินทรีย์ผลิตได้มีปริมาณสูงขึ้น จากกราฟ พบว่า การเติม crude lecithin ร่วมกับการเติมน้ำตาลกลูโคส 15 กรัมต่อลิตร จุลินทรีย์ผลิตมวลเซลล์ได้ 35.18 กรัมต่อลิตร และเมื่อทำการเลี้ยงโดยการเติมน้ำตาลกลูโคสเป็น 30 กรัมต่อลิตร จุลินทรีย์ผลิตมวลเซลล์ได้ 39.71 กรัมต่อลิตร และเมื่อเลี้ยง

ด้วยการเติมน้ำตาลกลูโคสจากความเข้มข้น 30 เป็น 45 กรัมต่อลิตร จุลินทรีย์ผลิตมวลเซลล์ได้สูงสุดคือ 41.09 กรัมต่อลิตร เมื่อเทียบกับการเติมน้ำตาลกลูโคส 45 กรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียว จุลินทรีย์สามารถผลิตมวลเซลล์ได้ 20.38 กรัมต่อลิตร เนื่องจากปริมาณคาร์บอนทั้งหมดในอาหารมีปริมาณสูงขึ้น ดังนั้นจุลินทรีย์จึงสามารถผลิตมวลเซลล์ได้มากขึ้น

เมื่อพิจารณาถึงการผลิต TFA พบว่าการเลี้ยงด้วย crude lecithin หรือน้ำตาลกลูโคสเพียงอย่างเดียว ปริมาณ TFA ที่จุลินทรีย์ผลิตได้ไม่มีความแตกต่างกันคือ 7 กรัมต่อลิตร แต่เมื่อมีการเติม crude lecithin ร่วมกับน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้นต่างๆ ตั้งแต่ 15-45 กรัมต่อลิตร พบว่าจุลินทรีย์สามารถผลิต TFA ได้เพิ่มขึ้น 1 กรัมต่อลิตร เมื่อเพิ่มความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสจาก 15 เป็น 30 กรัมต่อลิตร แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นจาก 30 เป็น 45 กรัมต่อลิตร ปริมาณ TFA ที่จุลินทรีย์ผลิตได้เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยเท่านั้น (0.3 กรัมต่อลิตร)

การผลิต DHA ของจุลินทรีย์ เมื่อเลี้ยงด้วย crude lecithin เพียงอย่างเดียว จุลินทรีย์สามารถผลิต DHA ได้ 0.36 กรัมต่อลิตร เมื่อเติมน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้นสูงขึ้น พบว่า DHA ที่จุลินทรีย์ผลิตได้มีปริมาณสูงขึ้น จากกราฟพบว่า การเติม crude lecithin ร่วมกับการเติมน้ำตาลกลูโคส 15 กรัมต่อลิตร จุลินทรีย์ผลิต DHA ได้ 0.71 กรัมต่อลิตร เมื่อเพิ่มน้ำตาลกลูโคสเป็น 30 กรัมต่อลิตร จุลินทรีย์ผลิต DHA ได้ 1.73 กรัมต่อลิตร และเมื่อเพิ่มน้ำตาลกลูโคสจากความเข้มข้น 30 เป็น 45 กรัมต่อลิตร จุลินทรีย์ผลิต DHA ได้สูงสุดคือ 3.96 กรัมต่อลิตร เมื่อเทียบกับการเติมน้ำตาลกลูโคส 45 กรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียว ที่จุลินทรีย์สามารถผลิต DHA ได้เพียง 2.89 กรัมต่อลิตร เท่านั้น เนื่องจากวิถีการสังเคราะห์กรดไขมันของจุลินทรีย์กลุ่มนี้มีการสลายกลูโคสไปเป็นไพรูเวท จากนั้นไพรูเวทจะถูกเปลี่ยนไปเป็น Acetyl-CoA เพื่อใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์กรดไขมัน และ crude lecithin ซึ่งเป็นผลพลอยได้จากกระบวนการผลิตน้ำมันพืช จัดว่าเป็นไขมันในกลุ่มฟอสโฟลิปิด ที่มีองค์ประกอบเป็นหมู่ฟอสเฟต และหมู่ฟอสเฟตจำเป็นต่อกระบวนการสร้าง ATP ของเซลล์เพื่อใช้ในการสังเคราะห์กรดไขมัน ดังนั้นการเติม crude lecithin ช่วยส่งเสริมจุลินทรีย์ให้สามารถสร้างกรดไขมันได้เพิ่มขึ้น (Nelson & Cox, 2004, p. 496) และจากการวิเคราะห์ crude lecithin พบว่ายังมีธาตุต่างๆ (Trace elements) ที่มีความจำเป็นในการเจริญของจุลินทรีย์ เช่น Biotin, Folic acid, Thiamin, Riboflavin, Phnothenic acid, Pyridoxine และ Niacin ดังตารางที่ ง .5 ทำให้การเติมน้ำตาลกลูโคสร่วมกับ crude lecithin เพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอน ทำให้จุลินทรีย์สายพันธุ์นี้มีการเจริญและการสร้างกรดไขมันได้ดีกว่าการใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนเพียงอย่างเดียว

การเติม distillate เพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าจุลินทรีย์สายพันธุ์นี้มีการเจริญต่ำกว่าการใช้ crude lecithin เนื่องจาก distillate จัดเป็นกรดไขมันอิสระ ซึ่งจะมีจำนวนคาร์บอนไม่เกิน 14 อะตอม แต่จุลินทรีย์ต้องมีการ ตัดคาร์บอนออกทีละ 2 อะตอม โดยผ่านกระบวนการ β-oxidation เพื่อให้ได้ acetyl-CoA ก่อนจึงจะมีการเริ่มสร้างไขมัน (Nelson & Cox, 2004) ดังนั้น การเจริญจึงต่ำกว่าการใช้ crude lecithin เป็นแหล่งคาร์บอน และการเติม acid oil เพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่ามีอัตราการเจริญต่ำที่สุด เนื่องจาก acid oil อยู่ในสภาวะที่เป็นกรด โดยมี pH เริ่มต้น 5.76 และไม่ได้มีการปรับ pH เริ่มต้นก่อนการเลี้ยง เมื่อนำมาเลี้ยงจุลินทรีย์สายพันธุ์นี้จึงมีการเจริญต่ำมาก เนื่องจากจุลินทรีย์นี้จะมีการเจริญได้ดีที่สภาวะที่เป็นกลาง (Unagul, 2005, p. 45)