ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

รายการคำย่อ

DHA	=	ดีเอชเอ (docosahexaenoic acid)
PUFA	=	กรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาว (polyunsaturated fatty acid)
TFA	=	ปริมาณกรดไขมันทั้งหมด (Total Fatty acid)
g	=	กรัม (gram)
L	=	ลิตร (liter)
mM	=	มิลลิโมลาร์ (millimolar)
ppm	=	ส่วนในล้านส่วน (part per million)
rpm	=	รอบต่อนาที (revolution per minute)
h	=	ชั่วโมง (hour)
^{o}C	=	องศาเซลเซียส (degree Celsius)
mg	=	มิลลิกรัม
‰	=	ส่วนในพันส่วน (part per thousand)
µg	=	ไมโครกรัม
BCC	=	Biotec Culture Collection
C	=	คาร์บอน (Carbon)
%w/w	=	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก
%v/v	=	เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร
DW	=	น้ำหนักเซลล์แห้ง (Dry weight cell)

รายการคำอธิบาย

$Y_{x/s}$	=	ค่าที่บอกถึงประสิทธิภาพของการผลิตมวลเซลล์ต่อ1หน่วยมวลของซับสเตรทที่ใช้ไป
$Y_{p/s}$	=	ค่าที่บอกถึงประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ที่ผลิตขึ้นต่อ1หน่วยมวลของซับสเตรทที่ใช้ไป
$P_{Biomass}$	=	ค่าที่บอกถึงประสิทธิภาพของการผลิตมวลเซลล์ต่อเวลาที่ใช้ไป (Volumetric biomass productivity)
P_{DHA}	=	ค่าที่บอกถึงประสิทธิภาพของการผลิต DHA ต่อเวลาที่ใช้ไป (Volumetric DHA productivity)

ภาคผนวก ข

สารเคมี

ตารางที่ ข.1

แสดงองค์ประกอบของ Trace elements ในหน่วยมิลลิกรัมต่อลิตร

Trace elements	(per liter)
$ZnSO_4.7H_2O$	4.5 mg
$CoCl_2.6H_2O$	0.3 mg
$MnCl_2.4H_2O$	1.0 mg
$CuSO_4.5H_2O$	0.3 mg
$CaCl_2.2H_2O$	4.5 mg
$FeSO_4.7H_2O$	3.0 mg
$NaMoO_4.2H_2O$	0.4 mg
H_3BO_4	1.0 mg
KI	0.1 mg

การเตรียม Stock trace elements

ชั่งสารตามตาราง ข .1 และเติมน้ำกลั่น จากนั้นปรับปริมาตรสารเป็น 1 ลิตร จะได้ Stock trace elements ความเข้มข้น 100 เท่า

ตารางที่ ข.2

แสดงองค์ประกอบของเกลือทะเล (Sigma) ในหน่วยกรัมต่อลิตร

สารเคมี	Sea salts (Sigma)
Chloride	7.79
Sodium	4.32
Sulfate	1.07
Magnesium	0.52
Calcium	0.17
Potassium	0.15
Bicarbonate	0.059
Borate $(BO_3)^{3-}$	0.011
Strontium	0.003
Fluoride	
Iodide	
$B(OH)_3 + B(OH_4)^-$	
$Si(OH)_4 + SiO(OH)_3$	
$H_2PO_4 + HPO^{3-} + PO^{4=}$	
Solids total	84.96%
water	14.99%

ภาคผนวก ค

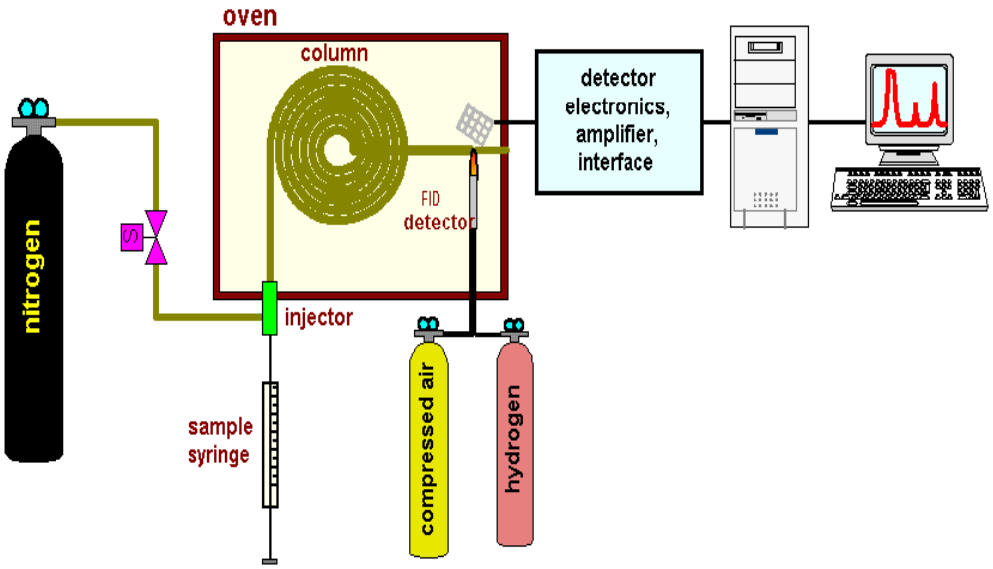
วิธีการวิเคราะห์

1. การวิเคราะห์กรดไขมัน

หลักการ

แก๊สโครมาโตกราฟี (Gas Chromatography) เป็นอีกเทคนิคหนึ่งของการแยกทางโครมาโตกราฟี ที่ใช้เฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) เป็นแก๊ส นิยมใช้กันอย่างกว้างขวาง ทั้งในวงการอุตสาหกรรม การศึกษาและการวิจัย เพราะมีความสามารถในการแยกและวิเคราะห์องค์ประกอบที่ซับซ้อนได้ มีความเฉพาะเจาะจงและความไวสูง ให้ผลเที่ยงตรงและรวดเร็ว โดยอาศัยหลักการแยกสลายสารด้วยความร้อน เมื่อสารตัวอย่างถูกทำให้เป็นไอที่ inlet จะถูกพาเข้าไปในคอลัมน์ (Column) ด้วยแก๊สตัวพา (Carrier gas) ซึ่งเป็นแก๊สเฉื่อย (Inert gas) ไม่ทำปฏิกิริยากับตัวอย่าง สารตัวอย่างผสมจะแยกออกจากกันได้โดยอาศัยหลักการ “likes dissolve likes” ของตัวอย่างกับเฟสอยู่กับที่ (Stationary phase) ดังรูปที่ ค.1

รูปที่ ค.1
แสดงส่วนประกอบของเครื่องมือแก๊สโครมาโตกราฟี



อุปกรณ์

1. แก๊สโครมาโตกราฟี
2. Water bath
3. Vortex
4. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)
5. Volumetric flask ขนาด 5 มิลลิลิตร

สารเคมี

1. กรดซัลฟูริค (Conc. H_2SO_4) 4 เปอร์เซ็นต์ ในเมทานอล (Methanol)
2. เฮกเซน (Hexane)
3. น้ำกลั่น
4. โซเดียมซัลเฟต (Na_2SO_4)
5. Nonadecanoic acid (C19:0)
6. BHT

วิธีการทดลอง

1. การเตรียมกรดซัลฟูริค 4 เปอร์เซ็นต์ ในเมทานอล โดยการตวง Conc. H_2SO_4 25 มิลลิลิตร เติมลงในเมทานอล 475 มิลลิลิตร จากนั้นเติม BHT 0.01 เปอร์เซ็นต์ ใช้แท่งแก้วคนให้เข้ากัน แล้วเก็บในขวดสีชา

2. เตรียม Internal standard โดยชั่ง Nonadecanoic acid (C19:0) 50 มิลลิกรัม ใส่ Volumetric flask และเติมเฮกเซนเล็กน้อย นำไปแช่ใน Water bath เพื่อให้สารในขวดละลายเป็นเนื้อเดียวกับเฮกเซน จากนั้นปรับปริมาตรด้วยเฮกเซน แล้วเขย่าให้เข้ากัน

3. ชั่งเซลล์แห้ง 10-20 มิลลิกรัม ลงในขวดสกัด (Vial) ขนาด 5 มิลลิลิตร และเติม Internal standard 100 ไมโครลิตร จากนั้นเติมกรดซัลฟูริค 4 เปอร์เซ็นต์ ในเมทานอล 2 มิลลิลิตร จากนั้นนำไป Vortex ให้เข้ากัน

4. นำไปใส่ Water bath อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

5. ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น

6. เติมเฮกเซนและน้ำกลั่นอย่างละ 1 มิลลิลิตร จากนั้นนำไป Vortex

7. ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 1,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที เพื่อให้เกิดการแยกชั้น

8. ดูดส่วนบนออกใส่ขวดสกัดใบใหม่ จากนั้นเติม Na_2SO_4 ปริมาณเล็กน้อย
9. ดูดสารตัวอย่างออกจากขวดเดิมใส่ลงในขวดสำหรับการฉีด GC
10. นำไปฉีดที่เครื่อง GC เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานของบริษัท Supelco

วิธีการคำนวณกรดไขมัน

$$\% \text{ กรดไขมันแต่ละชนิด (\% FA)} = \frac{\text{พื้นที่ของกรดไขมันแต่ละชนิด}}{\text{พื้นที่รวมของกรดไขมันทั้งหมด}} \times 100$$

$$\text{ปริมาณ Internal Standard (C19:0) ต่อ 1 ตัวอย่าง} = \frac{\text{น้ำหนักที่ชั่ง C19:0 (mg)}}{\text{ปริมาณที่เตรียม (mL)}} \times 100 \text{ (µL)}$$

$$= A \quad \text{(mg)}$$

$$\text{กรดไขมันทั้งหมด (mg)} = \frac{A \times \text{พื้นที่รวมของกรดไขมันทั้งหมด}}{\text{พื้นที่ของ C19:0}} = B \quad \text{(mg)}$$

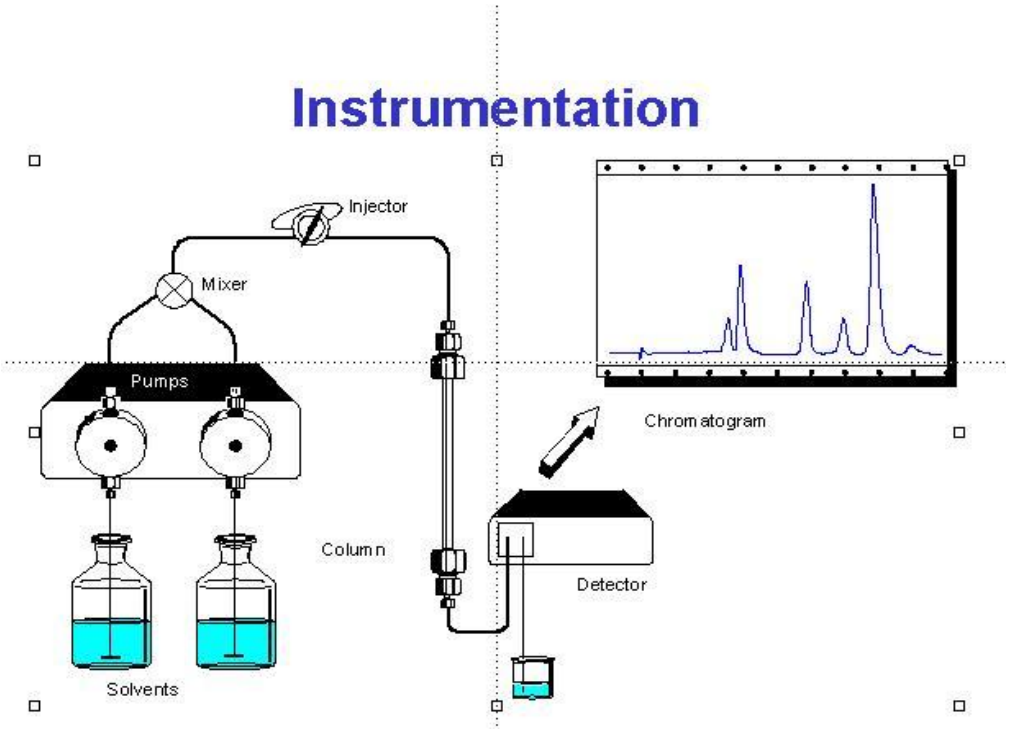
$$\text{กรดไขมันทั้งหมด (\%w/w)} = \frac{B \times 100}{\text{น้ำหนักเซลล์แห้ง}} = C \quad \text{(\%w/w)}$$

2. การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาล

หลักการ

น้ำตาลกลูโคสในส่วนใส (Supernatant) ที่แยกได้จากการปั่นเหวี่ยงจะวิเคราะห์โดยโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography: HPLC) ซึ่งจะใช้ของเหลวเป็นเฟสเคลื่อนที่ และเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของคอลัมน์ จึงใช้ขนาดอนุภาคของเฟสอยู่กับที่ขนาดเล็กมากๆ เมื่อเฟสอยู่กับที่มีขนาดเล็ก การไหลของเฟสเคลื่อนที่จึงต้องใช้แรงดัน (Pressure) เข้าช่วย เพื่อทำให้เกิดการเคลื่อนที่ ของตัวถูกละลายและตัวทำละลาย และทำให้การแยกเกิดได้เร็วขึ้น ดังรูป ค.2

รูปที่ ค.2
แสดงส่วนประกอบของเครื่องมือโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง



อุปกรณ์

1. โครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง
2. ชุดกรองเมมเบรนขนาด 0.2 ไมครอน (μm)
3. Syringe ขนาด 1 มิลลิลิตร

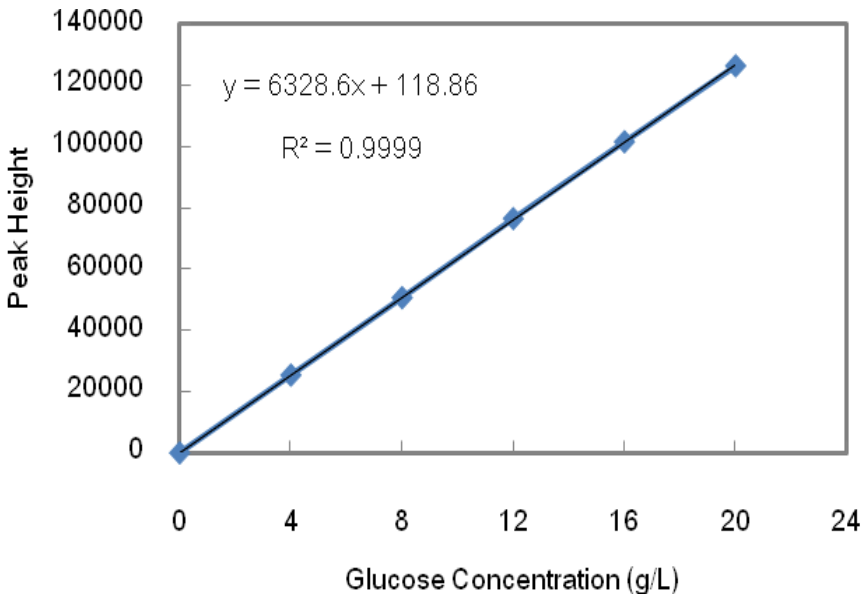
สารเคมี

1. สารละลายมาตรฐานกลูโคสความเข้มข้น 0-20 กรัมต่อลิตร
2. น้ำที่ผ่านการกำจัดไอออน (Deionized water)
3. คลอโรฟอร์ม ($CHCl_3$)
4. อะซิโตไนเตรท 3 เปอร์เซ็นต์ (Acetonitrate)

วิธีการทดลอง

1. กรองน้ำนาโนเพียวด้วยแผ่นกรองเมมเบรนขนาด 0.2 ไมครอน
2. น้ำส่วนใสที่ได้จากการปั่นเหวี่ยงมาทำการเจือจางให้อยู่ในช่วง 0-20 กรัมต่อลิตร โดยใช้ Deionized water ที่ผ่านการกรองแล้วในการเจือจางตัวอย่าง
3. เติมคลอโรฟอร์มในอัตราส่วน 1:1 เพื่อสกัดไขมันที่ปนอยู่ในส่วนใส
4. ดูดส่วนบนออกมากรองด้วยแผ่นกรองเมมเบรนขนาด 0.2 ไมครอน
5. นำไปฉีดที่เครื่อง HPLC เปรียบเทียบกับกราฟของสารละลายกลูโคสมาตรฐาน (รูปที่ ค.3)

รูปที่ ค.3
แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคสและความสูงของพีค



วิธีการคำนวณ

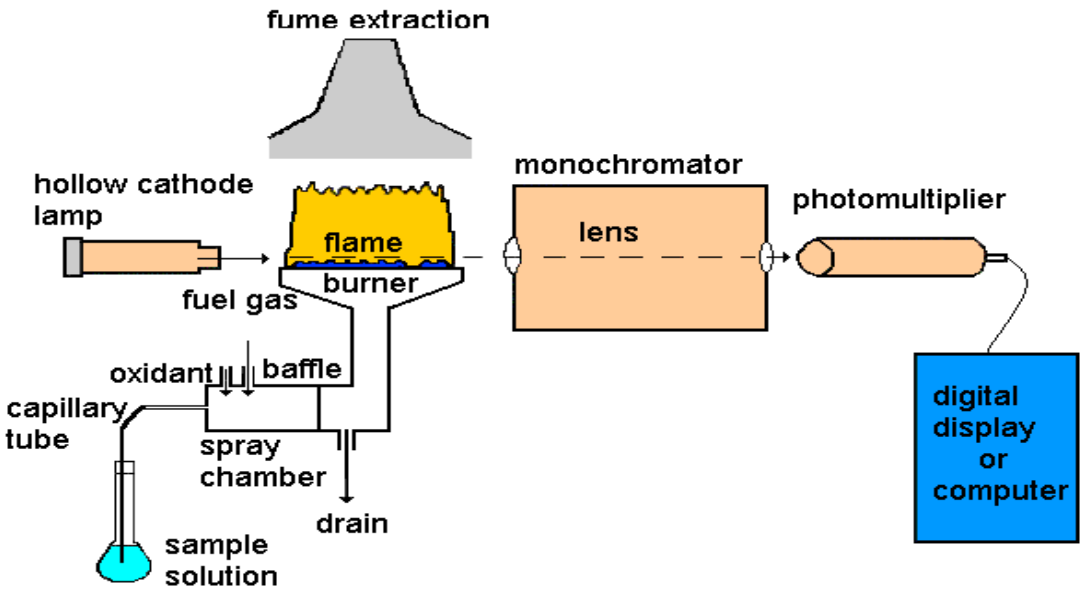
ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคส (g/L) = $\frac{\text{ความสูงของพีค} - 118.86}{6328.6}$

3. การวิเคราะห์หาปริมาณธาตุ (Elements)

หลักการ

อะตอมมิคแอบซอร์บชัน (Atomic Asorption Spectroscopy: AAS) เป็นเทคนิคที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณธาตุที่มีประสิทธิภาพและเป็นที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากมีความไว (Sensitivity) และความเฉพาะเจาะจง (Specific) สูง โดยอาศัยหลักการดูดกลืนแสงของอะตอมอิสระในสภาวะก๊าซจากสถานะพื้น (Ground state) และเมื่อมีคลื่นจากแหล่งกำเนิดแสดง (หรือพลังงาน) ที่เหมาะสม อะตอมอิสระจะดูดกลืนพลังงานหรือปริมาณแสงไว้และกลายเป็นอะตอมในสถานะกระตุ้น (Excited state) ที่ความยาวคลื่น (Wavelength) ค่าหนึ่งซึ่งเป็นค่าเฉพาะและขึ้นอยู่กับชนิดของธาตุ ดังนั้นการตรวจวัดปริมาณแสงที่ถูกดูดกลืนในแต่ละความยาวคลื่น จะสามารถบ่งบอกถึงชนิดและปริมาณของธาตุที่มีอยู่ในตัวอย่างได้ ดังรูปที่ ค.3

รูปที่ ค.3
แสดงส่วนประกอบของเครื่องมืออะตอมมิคแอบซอร์บชัน



อุปกรณ์

1. เครื่องอะตอมมิคแอบซอร์บชัน
2. แก๊สอะเซทิลีน
3. แหล่งกำเนิดแสงโซเดียมและแมกนีเซียม
4. Vortex

สารเคมี

1. กรดไนตริกความเข้มข้น 1เปอร์เซ็นต์
2. น้ำที่ผ่านการกำจัดไอออน (Deionized water)
3. สารมาตรฐานโพแทสเซียมความเข้มข้น 10-300 ppm
4. สารมาตรฐานสตอนเซียมความเข้มข้น 0-20 ppm

วิธีการทดลอง

1. เตรียมกรดไนตริกความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ โดยการตวง Conc. HNO_3 1 มิลลิลิตร ใส่ลงใน Deionized water 99 มิลลิลิตร

2. นำส่วนใสที่ได้จากการปั่นเหวี่ยงมาทำการเจือจางให้อยู่ในช่วง 0-20 ppm เพื่อวิเคราะห์ปริมาณโซเดียม และช่วง 10-300 ppm เพื่อวิเคราะห์ปริมาณแมกนีเซียม โดยใช้ Deionized water ในการเจือจางตัวอย่าง

3. นำหลอดเนบิวไลร์เซอร์จุ่มลงในสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ตั้งแต่ 10-300 ppm จากนั้นจึงทำการวัดตัวอย่างที่ผ่านการเจือจางแล้วเพื่อวิเคราะห์ปริมาณโซเดียม

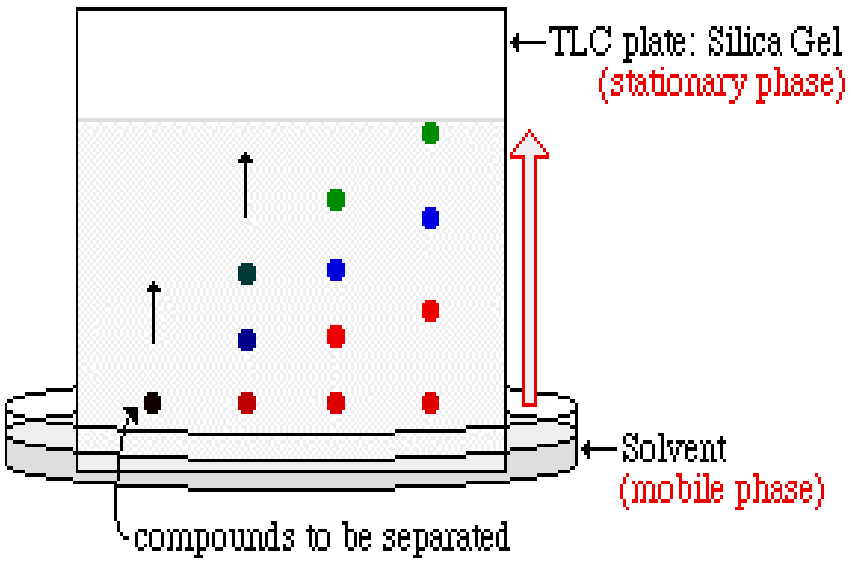
4. นำหลอดเนบิวไลร์เซอร์จุ่มลงในสารละลายมาตรฐานสตอนเซียมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ตั้งแต่ 0-20 ppm จากนั้นจึงทำการวัดตัวอย่างที่ผ่านการเจือจางแล้วเพื่อวิเคราะห์ปริมาณแมกนีเซียม

4. การวิเคราะห์ไขมัน

หลักการ

ทินเลเยอร์โครมาโตกราฟี (Thin Layer Chromatography: TLC) เป็นเทคนิคที่ใช้ในการแยกสารเช่น ไขมัน (Lipid) โดยการใช้ตัวค้ำจุน หรือ supporting medium เป็นแผ่นกระจกที่ถูกเคลือบด้วยตัวดูดซับ หรือ Adsorbent เช่น ซิลิกาเจล (SiO_2) และอะลูมินาเจล (Al_2O_3) โดยสารที่ต้องการนำมาแยกโดยวิธีนี้จะต้องมีคุณสมบัติการละลายในตัวทำละลายได้ไม่เท่ากัน นอกจากนี้การเคลื่อนที่ของสารบนตัวดูดซับจะขึ้นอยู่กับความสามารถในการละลายของสารแต่ละชนิดในตัวทำละลาย และความสามารถในการดูดซับที่มีต่อสารนั้น จึงทำให้การเคลื่อนที่ไปบนตัวค้ำจุนเกิดขึ้นด้วยอัตราเร็วที่ไม่เท่ากัน กล่าวคือ สารที่ละลายในตัวทำละลายได้ดี และถูกดูดซับน้อยจะถูกเคลื่อนที่ออกมาก่อน ส่วนสารที่ละลายได้น้อยและถูกดูดซับได้ดี จะเคลื่อนที่ออกมาทีหลัง ถ้าใช้ตัวดูดซับมากๆ จะสามารถแยกสารออกจากกันได้ดี

รูปที่ ค.4
แสดงส่วนประกอบของทินเลเยอร์โครมาโตกราฟี



อุปกรณ์

1. TLC plates 20 x 20 cm Silica gel 60
2. โถแก้วสำหรับเติมตัวทำละลายและใส่แผ่นกระจก
3. Sonicator
4. Centrifuge
5. ตู้อบ (Oven) อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส
6. Capillary Tubes

สารเคมี

1. คลอโรฟอร์ม(Chloroform)
2. เมทานอล (Methanol)
3. 1 M NaCl
4. น้ำกลั่น
5. ไดเอทิลอีเทอร์ (Diethyl ether)
6. กรดอะซิติก (Acetic acid)
7. เฮกเซน (Hexane)
8. $CuSO_4$ 3 เปอร์เซ็นต์ ใน H_2SO_4 30 เปอร์เซ็นต์

วิธีการสกัดไขมันโดยวิธี Bligh and Dryer

1. ชั่งเซลล์แห้งประมาณ 50 มิลลิกรัม ใส่ขวดสีชา
2. เติมคลอโรฟอร์ม 1 มิลลิลิตร
3. เติมเมทานอล 2 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 0.8 มิลลิลิตร
4. Sonicate 2 รอบๆ ละ 15 นาที
5. ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) 18 ชั่วโมง
6. เติมคลอโรฟอร์ม 1.25 มิลลิลิตร และนำไป Vortex
7. เติม 1 M NaCl 1.25 มิลลิลิตร และนำไป Vortex
8. ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 1,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที
9. ดูดส่วนล่าง (Lower phase) ใส่ขวดสีชาที่อบและชั่งน้ำหนักแล้ว
10. อบในตู้อบอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง
11. ชั่งน้ำหนักหลังอบ จะได้น้ำหนักจริงของไขมันในหน่วยมิลลิกรัม

วิธีการทำทินเลเยอร์โครมาโตกราฟี

1. นำตัวอย่างในขวดสีชาที่ได้จากการสกัดด้วยวิธี Bligh and Dryer มาเติม คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (2:1) 100 ไมโครลิตร ต่อน้ำหนักตัวอย่าง 10 มิลลิกรัม และนำไป Vortex
2. ดูดใส่หลอด Eppendorf 10 ไมโครลิตร
3. Spot ตัวอย่างลงบน Plate โดยใช้ Capillary Tubes

วิธีการเตรียม Plate

1. ล้าง Plate ในโถแก้วที่มีคลอโรฟอร์ม : เมทานอล (1:1 %v/v) 100 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ ประมาณ 2 ชั่วโมง
2. วาง Plate ทิ้งไว้ให้แห้ง
3. ใส่เฮกเซน : ไดเอทิลอีเทอร์ : กรดอะซิติก (70:30:1) 100 มิลลิลิตร ในโถแก้ว
4. Spot ตัวอย่างและสารละลายมาตรฐานที่ประกอบด้วย Triacylglycerol, Free Fatty Acid และ Chlolesterol ลงบน Plate จุดละ 10 ไมโครลิตร รอให้แห้ง
5. นำ Plate ไปแช่ในโถแก้ว (ข้อที่ 3) ประมาณ 1 ชั่วโมง
6. สเปรย์ Plate ด้วย $CuSO_4$ 3 เปอร์เซ็นต์ ใน H_2SO_4 30 เปอร์เซ็นต์
7. อบในตู้อบอุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

ภาคผนวก ง

ข้อมูลการทดลอง

ตารางที่ ง.1

ผลของน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 30-150 กรัมต่อลิตร ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA

Glucose (g/L)	Times (h)	pH	Dry Weight Cell (g/L)	TFA (%w/w)	TFA (g/L)	DHA (%w/w)	DHA (g/L)
30	31	7.25	12.54 ± 0.42	55.37 ± 1.48	6.94 ± 0.23	17.47 ± 1.81	2.19 ± 0.07
60	56	6.25	18.62 ± 0.48	61.35 ± 0.94	11.43 ± 0.29	16.55 ± 0.44	3.08 ± 0.08
90	80	5.20	27.20 ± 0.48	63.05 ± 0.67	17.15 ± 0.30	15.93 ± 0.18	4.33 ± 0.08
120	129	4.66	37.73 ± 0.47	69.18 ± 0.97	26.1 ± 0.33	22.67 ± 0.31	8.55 ± 0.11
150	154	4.45	33.20 ± 0.57	70.07 ± 2.43	23.26 ± 0.40	23.44 ± 0.56	7.78 ± 0.13

ตารางที่ ง.2

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

NaCl (mM)	Na_2SO_4 (mM)	$MgSO_4$ (mM)	Dry Weight Cell (g/L)	TFA (%w/w)	TFA (g/L)	DHA (%w/w)	DHA (g/L)
0	6	1	20.93 ± 1.13	50.73 ± 0.46	10.62 ± 0.57	20.52 ± 0.34	4.29 ± 0.23
0	0	10	27.10 ± 1.84	49.86 ± 0.70	13.51 ± 0.92	19.88 ± 0.32	5.39 ± 0.37
12	6	1	19.53 ± 0.57	39.81 ± 0.86	7.77 ± 0.23	15.56 ± 0.21	3.04 ± 0.09
12	0	10	28.03 ± 0.14	55.52 ± 2.54	16.96 ± 0.09	21.45 ± 1.16	6.01 ± 0.03
12	6	10	25.37 ± 1.27	56.85 ± 2.53	14.42 ± 0.72	21.88 ± 1.08	5.55 ± 0.28
0	0	1	17.13 ± 0.00	62.35 ± 1.74	10.68 ± 0.00	15.57 ± 0.63	2.67 ± 0.00
0	6	10	26.10 ± 0.81	53.70 ± 1.82	14.02 ± 0.43	21.13 ± 1.10	5.52 ± 0.17
12	0	1	17.27 ± 0.09	54.54 ± 1.35	9.42 ± 0.05	22.72 ± 0.70	3.92 ± 0.02
Artificial sea salts 15 g/L			20.94 ± 0.76	59.80 ± 0.11	12.52 ± 0.45	21.97 ± 0.96	4.60 ± 0.17

ตารางที่ ง.3

ผลของการเติมและไม่เติม $MgSO_4$ 10 มิลลิโมลาร์ ต่อน้ำหนักเซลล์ TFA และ DHA

Salt	Concentration (mM)	Dry Weight Cell (g/L)	TFA (%w/w)	TFA (g/L)	DHA (%w/w)	DHA (g/L)
$MgSO_4$	10	25.53 ± 0.28	49.22 ± 0.95	12.56 ± 0.14	19.70 ± 0.28	5.03 ± 0.06
	0	18.57 ± 0.05	53.21 ± 0.52	9.88 ± 0.03	20.60 ± 0.19	3.82 ± 0.01

ตารางที่ ง.4
การเปลี่ยนแปลงปริมาณ Na^{+} และ Mg^{2+} ที่เวลาต่างๆ ในอาหาร
ที่มี $MgSO_4$ 10 mM และไม่มี $MgSO_4$

Salts	Concentration (mM)	Times (h)	$[Na^{+}]$ ± RSD (ppm)	$[Mg^{2+}]$ ± RSD (ppm)
$MgSO_4$	10	0	479.20 ± 5.34	366.80 ± 4.70
		23	436.26 ± 8.11	274.56 ± 2.73
		29	430.28 ± 6.18	249.48 ± 3.68
		47	443.85 ± 1.42	193.44 ± 1.95
		52	426.18 ± 2.62	194.02 ± 2.32
$MgSO_4$	0	0	466.27 ± 9.89	42.38 ± 5.72
		23	456.49 ± 1.51	29.01 ± 6.05
		29	422.57 ± 0.71	28.75 ± 2.72
		47	400.33 ± 1.16	27.15 ± 8.67
		52	390.89 ± 1.68	27.67 ±8.94

ตารางที่ ง.5

การเปลี่ยนแปลงปริมาณ Cl^- และ SO_4^{2-} ที่เวลาต่างๆ ในอาหาร ที่มี $MgSO_4$ 10 mM และไม่มี $MgSO_4$

Salts	Concentration (mM)	Times (h)	$[Cl^-]$ (ppm)	$[SO_4^{2-}]$ (ppm)
$MgSO_4$	10	0	1661.86	1819.36
		23	1411.67	1089.78
		29	1356.63	988.54
		47	983.87	450.50
		52	972.50	424.13
$MgSO_4$	0	0	1455.66	348.71
		23	1443.84	152.76
		29	1412.68	93.72
		47	1383.35	70.94
		52	1379.82	59.05

ตารางที่ ง.6

ผลของน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 120-150 กรัมต่อลิตร และปริมาณ $MgSO_4$ 10-40 มิลลิโมลาร์ ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA

Glucose (g/L)	$MgSO_4$ (mM)	Times (h)	Dry Weight Cell (g/L)	TFA (%w/w)	TFA (g/L)	DHA (%w/w)	DHA (g/L)
120	10	74	36.58 ± 1.71	64.42 ± 0.48	23.56 ± 1.10	17.84 ± 0.29	6.52 ± 0.31
	20	75	44.90 ± 0.42	77.47 ± 0.70	34.78 ± 0.33	15.71 ± 0.04	7.06 ± 0.07
	30	75	45.40 ± 0.18	74.11 ± 0.40	33.65 ± 0.14	15.29 ± 0.07	6.94 ± 0.03
	40	75	44.23 ± 0.14	73.17 ± 0.40	32.36 ± 0.10	15.13 ± 0.00	6.69 ± 0.02
150	10	80	49.91 ± 0.91	69.02 ± 0.68	34.45 ± 0.63	17.68 ± 0.40	8.83 ± 0.16
	20	124	54.94 ± 0.09	84.16 ± 0.19	46.23 ± 0.08	16.66 ± 0.03	9.15 ± 0.02
	30	124	54.87 ± 0.37	81.86 ± 0.27	44.91 ± 0.31	16.06 ± 0.10	8.81 ± 0.06
	40	124	53.84 ± 0.05	74.17 ± 0.55	39.93 ± 0.04	14.51 ± 0.13	7.81 ± 0.01
180	10	125	56.42 ± 0.77	68.98 ± 0.04	38.92 ± 0.53	17.20 ± 0.25	9.70 ± 0.13
	20	169	62.77 ± 0.05	85.55 ± 0.20	49.42 ± 0.04	17.09 ± 0.41	9.87 ± 0.01
	30	169	62.20 ± 0.38	82.78 ± 0.01	51.49 ± 0.32	15.74 ± 0.25	9.79 ± 0.06
	40	169	60.60 ± 0.66	84.65 ± 0.32	51.29 ± 0.56	15.66 ± 0.24	9.49 ± 0.10

ตารางที่ ง.7

ผลของการเติมผลพลอยได้ความเข้มข้น 10-50 กรัมต่อลิตร

ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA

By-products	Concentration (g/L)	Times (h)	Dry Weight Cell (g/L)	TFA (%w/w)	TFA (g/L)	DHA (%w/w)	DHA (g/L)
acid oil	10	69	12.89 ± 0.5	19.12 ± 0.75	2.46 ± 0.09	0.99 ± 0.13	0.13 ± 0
distillate	10	69	6.56 ± 0.1	14.98 ± 0.15	0.98 ± 0.02	2.24 ± 0.05	0.15 ± 0
crude lecithin	10	69	14.69 ± 0.27	16.26 ± 0.64	2.39 ± 0.04	1.1 ± 0.04	0.16 ± 0
acid oil	30	98	20.27 ± 0.44	33.38 ± 0.87	6.77 ± 0.15	1.1 ± 0.22	0.22 ± 0
distillate	30	98	12.26 ± 0.42	23.9 ± 0.9	2.93 ± 0.1	3.75 ± 0.11	0.46 ± 0.02
crude lecithin	30	69	28.47 ± 0.36	32.75 ± 0.47	9.32 ± 0.12	1.41 ± 0.2	0.4 ± 0
acid oil	50	118	21.09 ± 0.47	33.84 ± 0.62	7.14 ± 0.16	0.93 ± 0.06	0.2 ± 0
distillate	50	98	13.33 ± 0.48	19.93 ± 0.68	2.66 ± 0.1	1.59 ± 0.11	0.21 ± 0.01
crude lecithin	50	118	27.67 ± 0.81	35.18 ± 0.31	9.73 ± 0.28	1.12 ± 0.24	0.31 ± 0.01

ตารางที่ ง.8

ผลของการเติมผลพลอยได้ 30 กรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 15-45 กรัมต่อลิตร ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA

Glucose (g/L)	By-products	Times (h)	Dry Weight Cell (g/L)	TFA (%w/w)	TFA (g/L)	DHA (%w/w)	DHA (g/L)
0	distillate	71	14.44 ± 0.52	17.24 ± 0.80	2.49 ± 0.09	0.92 ± 0.14	0.13 ± 0.00
0	acid oil	71	4.50 ± 0.04	4.52 ± 0.40	0.14 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
0	crude lecithin	71	29.94 ± 0.66	33.54 ± 0.71	10.04 ± 0.22	1.19 ± 0.16	0.36 ± 0.01
15	distillate	122	20.84 ± 0.93	37.99 ± 0.86	7.92 ± 0.35	6.60 ± 0.14	1.38 ± 0.06
15	acid oil	97	33.73 ± 0.43	34.86 ± 0.92	11.76 ± 0.15	2.12 ± 0.29	0.72 ± 0.01
15	crude lecithin	71	35.18 ± 0.10	36.15 ± 0.78	12.72 ± 0.04	2.02 ± 0.13	0.7 ± 0.0
30	distillate	71	21.45 ± 0.54	30.14 ± 0.45	6.46 ± 0.16	8.48 ± 0.29	1.82 ± 0.05
30	acid oil	71	35.98 ± 0.45	31.08 ± 0.41	11.18 ± 0.14	3.09 ± 0.22	1.11 ± 0.01
30	crude lecithin	97	39.71 ± 0.23	34.52 ± 0.66	13.71 ± 0.08	4.35 ± 0.33	1.73 ± 0.01
45	distillate	97	28.22 ± 0.67	30.28 ± 0.69	8.55 ± 0.20	9.19 ± 0.21	2.59 ± 0.06
45	acid oil	51	15.67 ± 0.70	0.65 ± 0.09	0.10 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
45	crude lecithin	71	41.09 ± 0.37	34.19 ± 0.83	14.05 ± 0.13	9.64 ± 0.15	3.96 ± 0.04

ตารางที่ ง.9

ผลของการเติมน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 15-45 กรัมต่อลิตร (ชุดทดลองควบคุมที่ 1)
ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง TFA และ DHA

Glucose (g/L)	Times (h)	Dry Weight Cell (g/L)	TFA (%w/w)	TFA (g/L)	DHA (%w/w)	DHA (g/L)
15	45	10.07 ± 0.12	21.8 ± 0.33	2.19 ± 0.03	8.52 ± 0.15	0.86 ± 0.01
30	45	16.13 ± 0.14	25.75 ± 0.8	4.15 ± 0.03	10.51 ± 0.49	1.7 ± 0.01
45	69	20.38 ± 0.27	36.36 ± 0.57	7.41 ± 0.1	14.17 ± 0.26	2.89 ± 0.04

ตารางที่ ง.10

ผลการวิเคราะห์กรดไขมันจากผลพลอยได้บริษัทธนากรผลิตภัณฑ์น้ำมันพืช

By-products	TFA	Fatty Acid Composition (%FA)										
	(%w/w)	C14:0	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C20:0	C22:0	C23:0	C24:0	others
distillate	68.87 ± 0.90	1.06 ± 0.04	14.09 ± 0.32	3.57 ± 0.10	24.04 ± 0.56	50.64 ± 0.93	4.67 ± 0.11	0.45 ± 0.01	0.95 ± 0.03	0.07 ± 0.02	0.22 ± 0.05	0.22 ± 0.01
crude lecithin	74.03 ± 0.99	0.08 ± 0.01	14.67 ± 0.08	2.94 ± 0.01	17.99 ± 0.09	57.28 ± 0.17	5.76 ± 0.01	0.39 ± 0.04	0.38 ± 0.02	0.08 ± 0.01	0.17 ± 0.14	0.27 ± 0.04
acid oil	89.68 ± 0.76	0.12 ± 0.00	8.96 ± 0.06	2.64 ± 0.08	22.29 ± 0.26	58.68 ± 0.21	5.94 ± 0.15	0.27 ± 0.03	0.41 ± 0.08	0.05 ± 0.02	0.08 ± 0.03	0.55 ± 0.14

หมายเหตุ: ค่าที่ปรากฏในตารางคือ ค่าเฉลี่ย ± ค่าคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (Mean ± SD)

ตารางที่ ง.11

ส่วนประกอบหลักของ Soybean lecithin จากบริษัทธนากรผลิตภัณฑ์น้ำมันพืช

ส่วนประกอบหลัก	ปริมาณ (%)
Phosphatidylcholine	16-21
Phosphatidyl ethanolamine	8-20
Phosphatidylinositol	10-21
Phosphatidylglycerol	1-2
Phosphatidic acid	5-8
Other phosphatide	5-17
Soybean oil	33-35
Sterols	2-5
Carbohydrates (free)	5-7
Moisture	1

ตารางที่ ง.11 (ต่อ)

ส่วนประกอบย่อยของ Soybean lecithin จากบริษัทธนากรผลิตภัณฑ์น้ำมันพืช

ส่วนประกอบย่อย	ปริมาณ (µg/g)
Tocopherol	1.30
Biotin	0.40
Folic acid	0.60
Thiamin	0.12
Riboflavin	0.33
Phnothenic acid	5.59
Pyridoxine	0.29
Niacin	0.12