

บทที่ 4

ผลการทดลองและอภิปราย

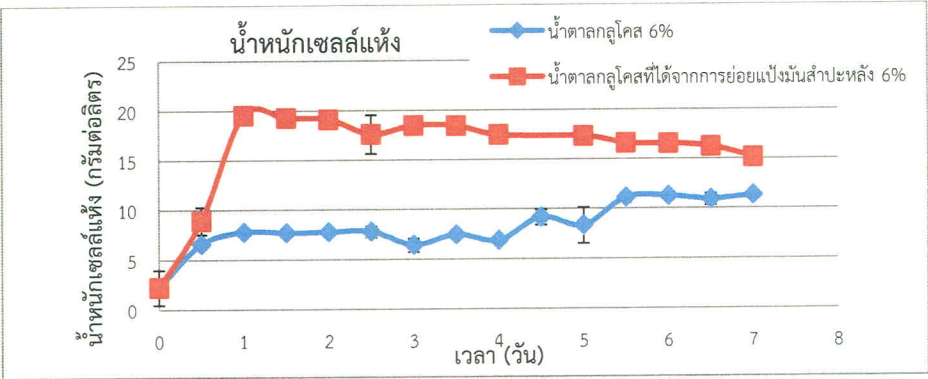
1. การเจริญของ *Aurantiochytrium mangrovei* S4TP 072 ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ใช้น้ำตาลกลูโคสทางการค้าความเข้มข้น 6% และน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลังที่ความเข้มข้น 6% ด้วยการเลี้ยงแบบเขย่าในขวดรูปชมพู่

การเจริญของ *A. mangrovei* S4TP 072 ที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารที่เติมน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 6% และน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลังความเข้มข้น 6% แสดงในตารางที่ 4.1 และภาพที่ 4.1-4.3 จะเห็นว่า *A. mangrovei* S4TP 072 ที่เลี้ยงด้วยน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลัง มีการเจริญสูงสุดเท่ากับ 19.08- 19.23 กรัม/น้ำหนักแห้งต่อลิตร ภายในเวลา 24-48 ชั่วโมง จากนั้นมวลชีวภาพมีปริมาณลดลงเหลือ 15.15 กรัม/น้ำหนักแห้งต่อลิตร ภายใน 7 วัน ในขณะที่ *A. mangroveii* S4TP 072 ที่เลี้ยงด้วยน้ำตาลกลูโคสทางการค้าความเข้มข้น 6% ที่ 24 ชั่วโมง มีมวลชีวภาพเท่ากับ 10.90-11.30 กรัม/น้ำหนักแห้งต่อลิตร ภายใน 132-168 ชั่วโมง อย่างไรก็ตาม ผลจากค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร ในการทดลองนี้ สอดคล้องกับมวลชีวภาพ (น้ำหนักเซลล์แห้ง) (ภาพที่ 4.2) เมื่อพิจารณาการเจริญของ *A. mangroveii* S4TP 072 กับปริมาณน้ำตาลที่ถูกใช้ไปพบว่า *A. mangroveii* S4TP 072 มีการเจริญสูงสุดในช่วงเวลาที่ปริมาณน้ำตาลลดลงอย่างชัดเจนภายใน 24 ชั่วโมง (ภาพที่ 4.3) Prabu, Raksha and Karuppuchamy (2012) รายงานการเลี้ยง *Thraustochytrium aureum* พบว่า แหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมในการเจริญและผลิตกรดไขมัน ได้แก่ กลูโคสและซูโคส ซึ่งดีกว่าฟลูคโตส กลีเซอรอลและเอทานอล

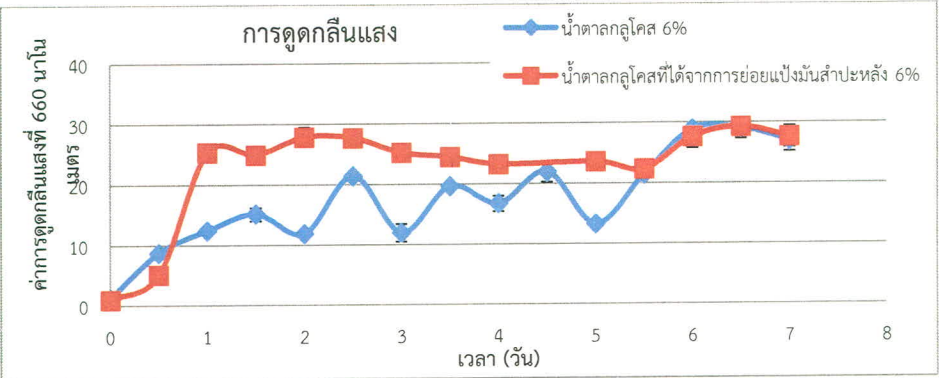
จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าอาหารที่ใช้กลูโคสที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลังมีผลทำให้ *A. mangrovei* S4TP 072 เจริญได้ดีกว่าอาหารที่ใช้น้ำตาลกลูโคสทางการค้า จึงเลือกกลูโคสที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลังมาเป็นแหล่งทางเลือกใหม่ของแหล่งคาร์บอนในการเจริญของ *A. mangrovei* S4TP 072 ในการทดลองขั้นต่อไป คือ ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกลูโคสที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลังต่อการเจริญและผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง โดยเฉพาะดีเอชเอ

ตารางที่ 4.1 น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร และปริมาณน้ำตาลกลูโคสของ *Aurantiochytrium mangrovei* S4TP 072 ที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารที่เติมน้ำตาลกลูโคส 6% และน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลัง 6%

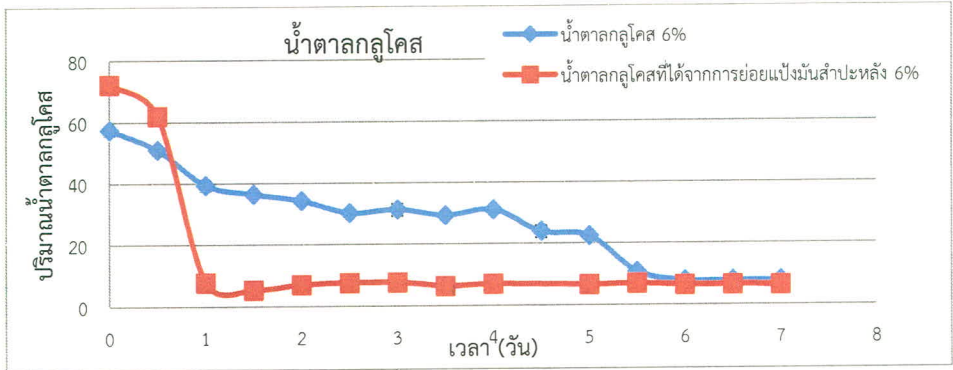
	น้ำตาลกลูโคส 6%			น้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลัง 6%		
Time	Cell (g/L)	OD ₆₆₀	Glucose (g/L)	Cell (g/L)	OD ₆₆₀	Glucose (g/L)
0	2.23±0.29	1.15±0.03	57.24±1.60	2.23±1.75	0.93±0.06	72.20±1.35
12	6.53±0.29	8.68±0.12	50.80±1.47	8.91±1.37	5.07±0.07	61.95±0.93
24	7.73±0.15	12.35±0.05	39.24±1.61	19.51±0.41	25.30±0.67	7.59±0.37
36	7.65±0.25	15.10±1.10	36.21±0.86	19.23±0.25	24.90±1.06	5.17±0.48
48	7.73±0.36	11.83±0.05	34.12±0.72	19.08±0.37	27.83±1.63	6.86±0.36
60	7.77±0.57	21.33±0.60	30.14±1.04	17.58±1.95	27.67±0.48	7.45±0.91
72	6.40±0.67	11.93±1.47	31.23±1.95	18.45±0.25	25.20±0.25	7.58±0.21
84	7.43±0.43	19.57±0.50	29.20±0.85	18.41±0.27	24.47±0.64	6.29±0.98
96	6.83±0.11	16.70±1.27	31.00±1.32	17.48±0.50	23.23±0.29	6.92±0.58
108	9.15±0.75	21.93±1.69	23.85±1.95	-	-	-
120	8.30±1.80	13.25±0.25	22.34±0.08	17.33±0.39	23.57±1.19	6.60±0.48
132	11.10±0.51	21.40±0.20	10.64±0.20	16.61±0.53	22.33±0.41	6.86±0.61
144	11.23±0.46	28.85±0.25	7.67±0.06	16.55±0.32	27.65±1.85	6.38±0.68
156	10.90±0.58	29.05±1.75	7.62±0.00	16.25±0.74	29.30±0.19	6.48±0.49
168	11.30±0.32	26.97±1.80	7.70±0.06	15.15±0.55	27.67±1.78	6.32±0.80



ภาพที่ 4.1 การเจริญของ *Aurantiochytrium mangrovei* S4TP 072 (น้ำหนักรเซลล์แห้ง) ที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารที่เติมน้ำตาลกลูโคสทางการค้า 6% และน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลัง 6%



ภาพที่ 4.2 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร ของการทดลองการเจริญของ *Aurantiochytrium mangrovei* S4TP 072 ที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารที่เติมน้ำตาลกลูโคสทางการค้า 6% และน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลัง 6%



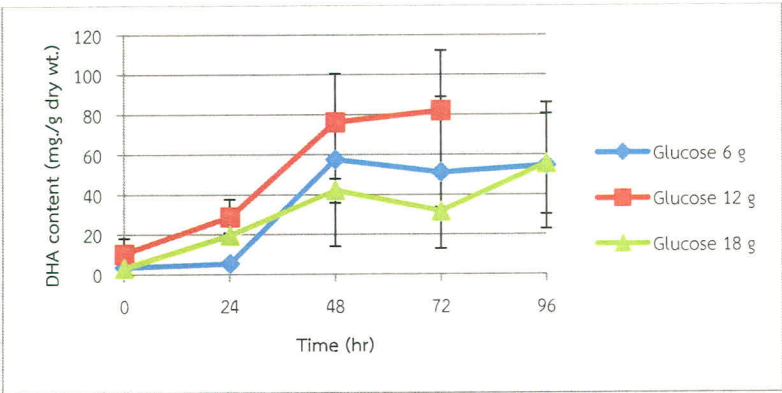
ภาพที่ 4.3 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสของการทดลองการเจริญของ *Aurantiochytrium mangrovei* S4TP 072 ที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารที่เติมน้ำตาลกลูโคสทางการค้า 6% และน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลัง 6%

2. การเจริญของ *Aurantiochytrium mangrovei* S4TP 072 ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ใช้น้ำตาลกลูโคสทางการค้า 6% และน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลังความเข้มข้น 6%, 12% และ 18% ด้วยการเลี้ยงแบบเขย่าในขวดรูปชมพู่

การเจริญของ *A. mangrovei* S4TP 072 ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ใช้น้ำตาลกลูโคสทางการค้า 6% และน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลังความเข้มข้น 6%, 12% และ 18% พบว่า *A. mangrovei* S4TP 072 เจริญได้ดีที่สุดเมื่อเลี้ยงด้วยน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลังความเข้มข้น 12% โดยพิจารณาจากค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร (ตารางที่ 4.2 และภาพที่ 4.5) รองลงมาคือ ความเข้มข้น 6% และ 18% ในขณะที่น้ำตาลกลูโคสทางการค้า 6% มีผลต่อการเจริญน้อยสุด สอดคล้องกับปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่วัดได้ ซึ่งพบว่า *A. mangrovei* S4TP 072 ที่เลี้ยงด้วยน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลัง 6%, 12% และ น้ำตาลกลูโคสทางการค้า 6% มีค่าลดลงอย่างมาก ส่วนน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลังความเข้มข้น 18% ยังมีปริมาณเหลืออยู่มากสุด (ตารางที่ 4-2 และภาพที่ 4.6)

สำหรับผลการเจริญในส่วนของมวลชีวภาพ พบว่า *A. mangrovei* S4TP 072 ที่เลี้ยงด้วยน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลัง 18% มีค่าสูงสุด (ภาพที่ 4.4) ทั้งนี้ ในการเก็บเซลล์ *A. mangrovei* S4TP 072 มาหาค่านักเซลล์แห้งมีการปนเปื้อนของน้ำตาลจำนวนมาก จึงทำให้น้ำหนักเซลล์แห้งมีค่ามากกว่าปกติ ในการทดลองนี้จึงไม่นำค่าน้ำหนักเซลล์แห้งมาพิจารณา

เมื่อพิจารณาปริมาณกรดไขมันที่เวลา 3 วัน พบว่า ปริมาณดีเอชเอมีค่าสูงสุดเมื่อเลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำตาล 12 % (81.86 ± 30.25 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) รองลงมาคืออาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำตาล 6% และ 18% (50.94 ± 38.07 และ 31.47 ± 2.16 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนัก) ตามลำดับ (ตารางภาคผนวกที่ 1 และภาพที่ 4.7) ส่วนปริมาณอีพีเอมีมากที่สุดที่อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำตาล 6% (0.93 ± 0.67 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนัก) รองลงมาคือ อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำตาล 12% และ 18% (0.65 ± 0.06 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนัก และ 0.41 ± 0.10 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนัก) ตามลำดับ



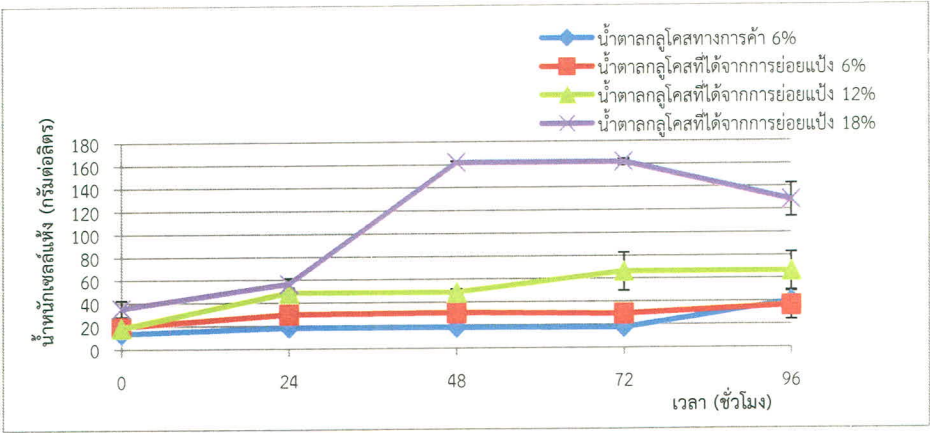
ภาพที่ 4.7 ปริมาณกรดไขมันชนิดดีเอชเอที่ได้จากการเลี้ยง *Aurantiochytrium mangrovei* S4TP 072 ด้วยอาหารที่ใช้น้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลังความเข้มข้น 6%, 12% และ 18% ด้วยการเลี้ยงแบบเขย่าในขวดรูปชมพู่

ตารางที่ 4.2 น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร และปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เหลือ จากการเลี้ยง *Aurantiochytrium mangrovei* S4TP 072 ด้วยสูตรอาหารที่เติมน้ำตาลกลูโคสทางการค้า 6% และน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลังความเข้มข้น 6%, 12% และ 18%

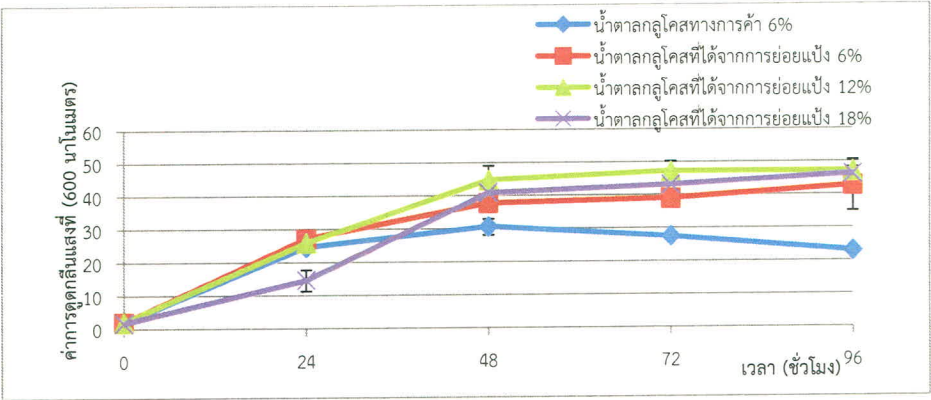
Time (hr)	น้ำตาลกลูโคสทางการค้า			น้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลังความเข้มข้น								
	6%			6%			12%			18%		
	Dry biomass (g/L)	OD ₆₆₀	Glucose (g/L)	Dry biomass (g/L)	OD ₆₆₀	Glucose (g/L)	Dry biomass (g/L)	OD ₆₆₀	Glucose (g/L)	Dry biomass (g/L)	OD ₆₆₀	Glucose (g/L)
0	13.05±0.05	1.69±0.03	62.81±1.48	19.00±0.10	1.85±0.11	77.16±0.00	17.95±4.75	1.85±0.12	157.01±1.26	35.10±7.20	1.59±0.50	214.03±3.24
24	17.85±0.85	24.45±0.15	25.76±0.40	29.45±0.25	27.05±2.45	18.30±3.55	48.30±4.70	25.80±0.50	111.42±1.89	56.30±5.00	14.50±3.20	213.31±2.88
48	17.60±1.50	30.50±2.40	8.63±0.54	30.50±0.40	37.70±0.90	7.78±0.13	48.25±3.15	44.60±4.40	20.77±0.45	161.75±1.15	40.75±2.55	124.82±7.02
72	17.20±0.30	27.40±0.10	8.72±0.54	29.15±1.25	38.95±0.65	8.45±0.72	66.10±16.70	47.05±3.15	21.40±0.00	161.70±2.80	43.00±0.20	140.65±3.96
96	39.80±0.00	11.45±11.45	7.64±0.00	36.20±12.30	42.75±7.75	10.43±1.08	66.10±16.70	47.05±3.15	21.40±0.00	128.15±14.45	46.15±2.05	106.47±0.00

ตารางที่ 4.3 น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร และปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เหลือ จากการเลี้ยง *Aurantiochytrium mangrovei* S4TP 072 ด้วยอาหารที่เติมน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลัง ความเข้มข้น 12% ที่ pH ต่าง ๆ

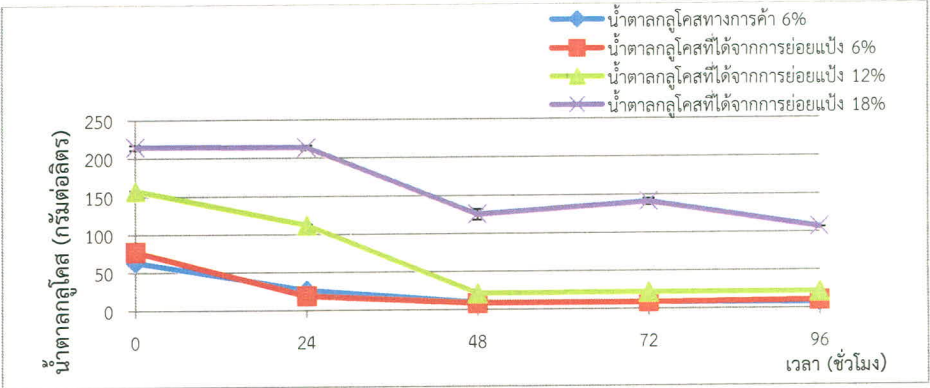
Time (hr)	pH 6.0			pH 6.5			pH 7.0			pH 7.5			pH 8.0		
	Dry biomass (g/L)	OD ₆₆₀	Glucose (g/L)	Dry biomass (g/L)	OD ₆₆₀	Glucose (g/L)	Dry biomass (g/L)	OD ₆₆₀	Glucose (g/L)	Dry biomass (g/L)	OD ₆₆₀	Glucose (g/L)	Dry biomass (g/L)	OD ₆₆₀	Glucose (g/L)
0	159.70±2.10	2.12±0.01	144.63±4.33	156.25±0.45	2.18±0.04	143.51±1.42	158.65±0.65	2.20±0.05	144.33±0.00	157.45±0.55	2.11±0.02	139.48±3.06	151.70±1.80	2.23±0.05	132.01±7.39
24	130.25±0.05	25.60±0.50	107.39±0.67	132.00±0.40	24.55±1.25	108.88±4.40	133.90±0.20	24.55±0.75	106.64±2.61	132.35±1.05	23.80±0.50	103.43±2.09	131.95±0.75	23.60±0.40	94.48±2.54
48	82.55±0.55	35.65±1.55	44.03±0.45	80.90±0.20	36.55±1.45	44.55±0.67	80.95±0.05	35.70±0.30	34.40±0.82	81.25±0.15	36.60±1.20	32.46±0.52	81.35±0.25	34.60±1.10	27.39±0.52
72	80.20±1.20	36.20±0.70	40.75±4.18	81.85±0.35	36.05±1.45	43.88±0.60	81.30±0.30	35.60±0.50	34.40±0.67	82.00±0.10	36.95±0.65	31.42±0.07	82.65±1.55	35.45±0.85	28.28±0.22
96	79.85±0.45	31.20±0.10	45.00±0.07	81.75±0.65	31.10±0.40	43.73±0.15	78.30±1.30	32.95±0.75	34.10±0.07	78.30±0.10	33.35±0.55	31.94±0.30	79.60±0.10	31.55±1.35	27.76±1.19



ภาพที่ 4.4 การเจริญของ *Aurantiochytrium mangrovei* S4TP 072 (น้ำหนักเซลล์แห้ง) ที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารที่เติมน้ำตาลกลูโคสทางการค้า 6% และน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลัง 6% 12% และ 18%



ภาพที่ 4.5 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ของการทดลองการเจริญของ *Aurantiochytrium mangrovei* S4TP 072 ที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารที่เติมน้ำตาลกลูโคสทางการค้า 6% และน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลัง 6% 12% และ 18%



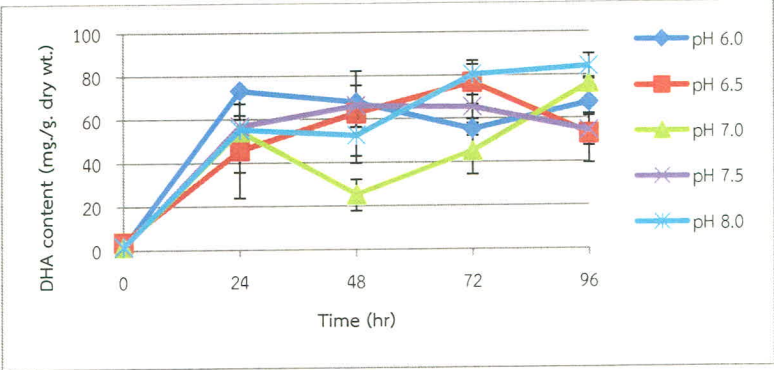
ภาพที่ 4.6 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสของการทดลองการเจริญของ *Aurantiochytrium mangrovei* S4TP 072 ที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารที่เติมน้ำตาลกลูโคสทางการค้า 6% และน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลัง 6%, 12% และ 18%

จากการศึกษาพบว่าน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลังความเข้มข้น 12% มีผลทำให้ *A. mangroveii* S4TP 072 มีการเจริญและผลิตกรดไขมันดีเอชเอในปริมาณสูง จึงเลือกความเข้มข้นดังกล่าวในการศึกษาขั้นต่อไปคือ ศึกษาความเป็นกรด-เบส (pH) ที่เหมาะสมต่อการเจริญและผลิตกรดไขมันชนิดดีเอชเอ

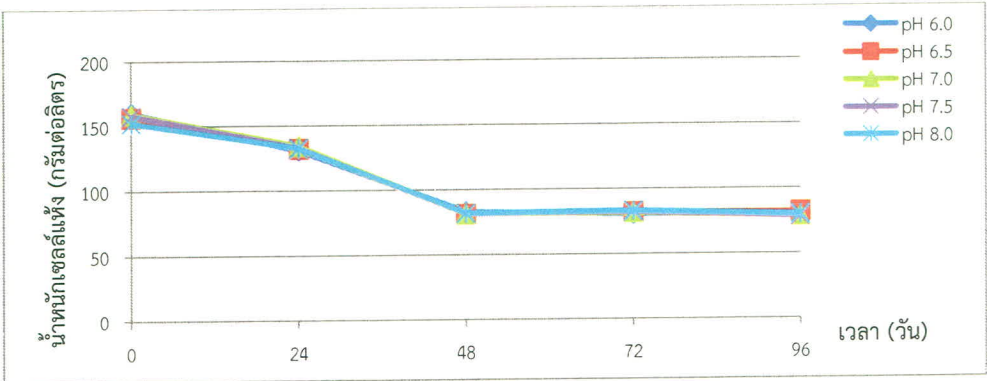
3. การเจริญของ *Aurantiochytrium mangrovei* S4TP 072 ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ใช้น้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลังความเข้มข้น 12% ที่ pH ต่าง ๆ ด้วยการเลี้ยงแบบเขย่าในขวดรูปชมพู่

การเจริญของ *A. mangroveii* S4TP 072 ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ใช้น้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลังความเข้มข้น 12% ที่ pH ต่าง ๆ พบว่า *A. mangroveii* เจริญได้ดีใกล้เคียงกันในทุกระดับ pH (ตารางที่ 4.3 และภาพที่ 4.8-4.10)

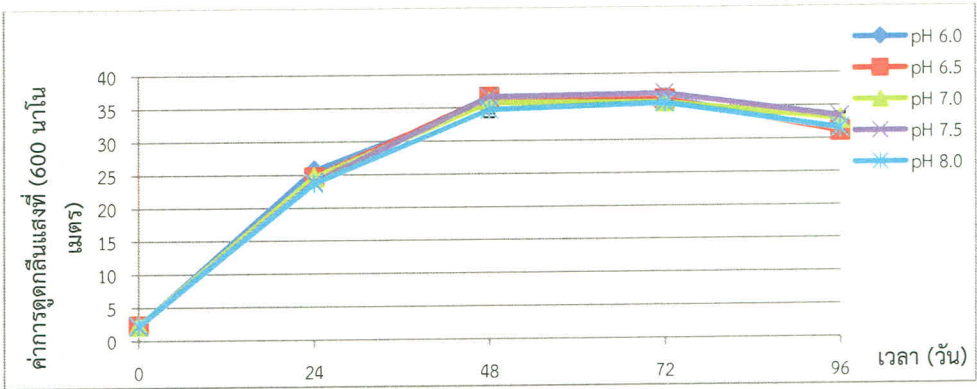
เมื่อพิจารณาปริมาณกรดไขมันที่เวลา 2 วัน พบว่า ปริมาณดีเอชเอมีค่าสูงสุดเมื่อเลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อที่ pH 8 (83.84 ± 5.84 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) รองลงมาคืออาหารเลี้ยงเชื้อที่มี pH 7 และ 6 เท่ากับ 76.02 ± 2.83 และ 67.13 ± 51.08 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนัก ตามลำดับ (ตารางภาคผนวกที่ 2 และภาพที่ 4.11) ส่วนปริมาณอีพีเอมีมากที่สุดที่อาหารเลี้ยงเชื้อที่ pH 7 (1.39 ± 0.13 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนัก) รองลงมาคือ อาหารเลี้ยงเชื้อที่มี pH 8 และ 6 ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกัน เท่ากับ 1.29 ± 0.02 และ 1.22 ± 0.91 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนัก ตามลำดับ สอดคล้องกับ Kumon *et al.* (2002); Perveen *et al.* (2006); Raghukumar (2008) และ Singh & Ward (1997) ที่รายงานว่า ทรอสโทโคริดส์สามารถเจริญและผลิตกรดไขมันได้ในพีเอชตั้งแต่ 5-8 โดยมีเอ็นเฉพาะที่สามารถควบคุมให้มันทนอยู่ได้ทั้งสภาวะที่เป็นกรดและเบส Prabu, Raksha and Karuppuachamy (2012) รายงานการเลี้ยง *Thraustochytrium aureum* ที่พีเอช 7 ด้วยอาหารที่มี glucose 15 gm/L, yeast extract 15 gm/L, NaCl 10 gm/L และ KH_2PO_4 1.0 gm/L พบว่าเชื้อเจริญและผลิตดีเอชเอในปริมาณที่มากกว่าอาหารที่มีความเป็นกรดและเบส



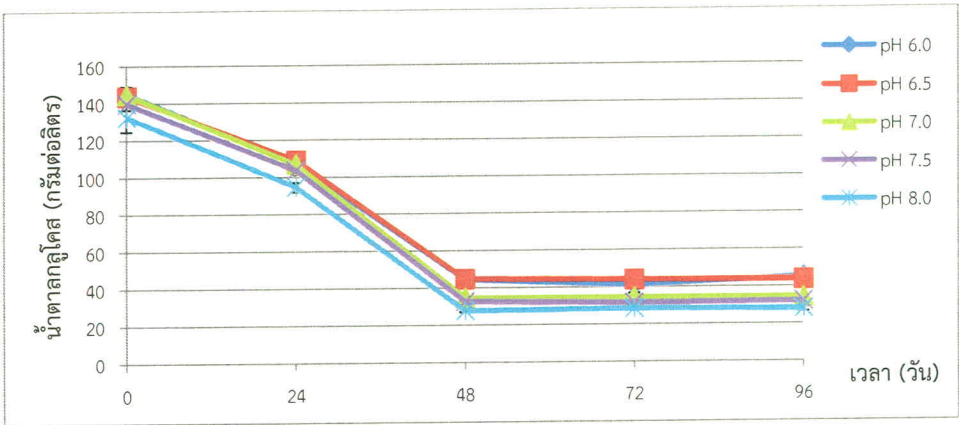
ภาพที่ 4.11 ปริมาณกรดไขมันชนิดดีเอชเอที่ได้จากการเลี้ยง *Aurantiochytrium mangrovei* S4TP 072 ด้วยอาหารที่ใช้น้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลังความเข้มข้น 12% ที่ pH ต่าง ๆ ด้วยการเลี้ยงแบบเขย่าในขวดรูปชมพู่



ภาพที่ 4.8 การเจริญของ *Aurantiochytrium mangrovei* S4TP 072 (น้ำหนักเซลล์แห้ง) ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เติมน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลัง 12% ที่ pH ต่าง ๆ



ภาพที่ 4.9 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร ของการทดลองการเจริญของ *Aurantiochytrium mangroveii* S4TP 072 ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เติมน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลัง 12% ที่ pH ต่าง ๆ

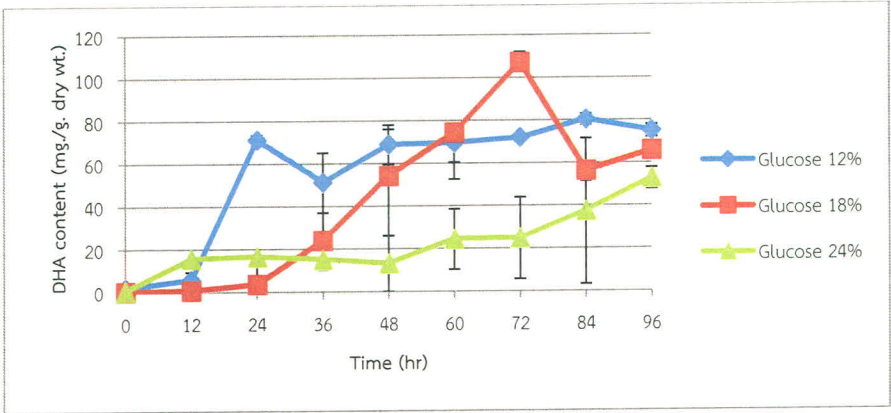


ภาพที่ 4.10 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสของการทดลองการเจริญของ *Aurantiochytrium mangroveii* S4TP 072 ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่เติมน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลัง ความเข้มข้น 12% ที่ pH ต่าง ๆ

4. การเจริญของ *Aurantiochytrium mangrovei* S4TP 072 ด้วยอาหารที่ใช้น้ำตาลกลูโคส ที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลังความเข้มข้น 12%, 18% และ 24% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมในถังหมัก

การทดลองการเจริญของ *A. mangrovei* S4TP 072 ในถังหมักด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ น้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลังความเข้มข้น 12 %, 18% และ 24% เป็น ระยะเวลา 4 วัน พบว่า น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าการดูดกลืนแสง ที่ 660 นาโนเมตร และปริมาณน้ำตาล กลูโคส ได้ผลดังตารางที่ 4.4 และภาพที่ 4.12 - 4.14 จะเห็นว่า *A. mangrovei* S4TP 072 เจริญ ได้ดีเมื่อเลี้ยงด้วยน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลังความเข้มข้น 12% ในขณะที่ความ เข้มข้น 18% และ 24 % มีการเจริญที่ใกล้เคียงกันภายใน 4 วัน

เมื่อพิจารณาปริมาณกรดไขมันที่เวลา 4 วัน พบว่า ปริมาณดีเอชเอและอีพีเอมีค่าสูงสุดเมื่อ เลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำตาล 12 % (74.97 ± 2.96 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และ 1.03 ± 0.06 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) รองลงมาคืออาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำตาล 18 % และ 24% (65.85 ± 1.84 และ 0.71 ± 0.03 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง กับ 52.59 ± 5.00 มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้ง และ 0.31 ± 0.23 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ (ภาพที่ 4.15)

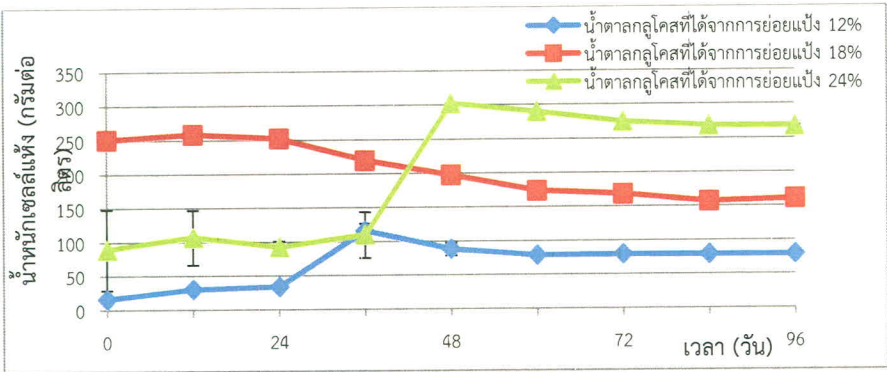


ภาพที่ 4.15 ปริมาณกรดไขมันชนิดดีเอชเอที่ได้จากการเลี้ยง *Aurantiochytrium mangrovei* S4TP 072 ด้วยอาหารที่ใช้น้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลังความ เข้มข้น 12%, 18% และ 24% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมใน ถังหมัก

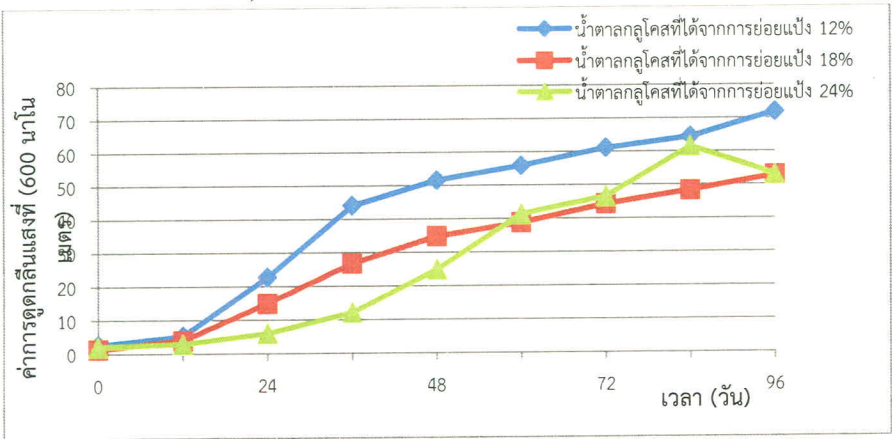
จากการศึกษาพบว่าอาหารที่ใช้น้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลังความ เข้มข้น 12% เหมาะสมต่อการการเจริญและผลิตกรดไขมันดีเอชเอของ *A. mangroveii* S4TP 072 จึงทำการศึกษาลงต่อไปว่า $MgCl_2$ มีผลต่อการเจริญหรือไม่ จึงเลือกความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสที่ ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลังความเข้มข้น 12% มาศึกษาผลของการเติม $MgCl_2$ ต่อการเจริญ และผลิตกรดไขมันชนิดดีเอชเอในถังหมัก

ตารางที่ 4.4 น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร และปริมาณน้ำตาลกลูโคสของ *Aurantiochytrium mangrovei* S4TP 072 ที่เลี้ยงด้วย
 สูตรอาหารที่เติมน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลัง 12%, 18% และ 24% ที่ pH 6.5 ในถังหมัก

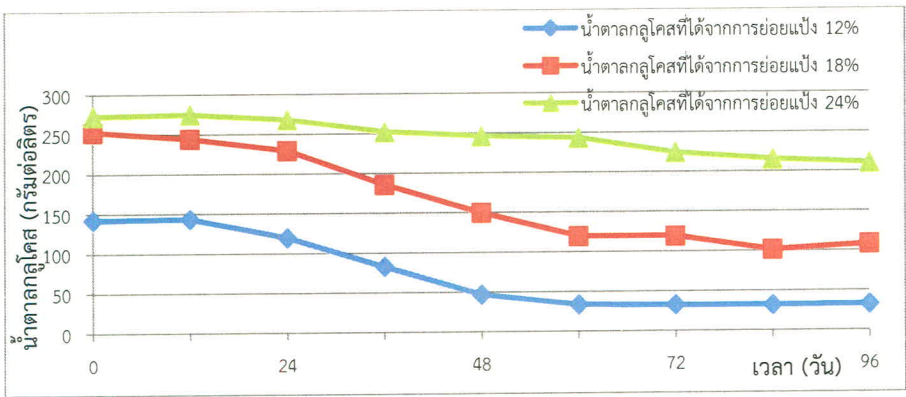
	Glucose 12 %			Glucose 18 %			Glucose 24 %		
Time (hr)	Cell (g/L)	OD ₆₆₀	Glucose (g/L)	Cell (g/L)	OD ₆₆₀	Glucose (g/L)	Cell (g/L)	OD ₆₆₀	Glucose (g/L)
0	15.13±0.93	2.40±0.09	141.41±3.32	250.28±6.58	1.13±0.21	252.24±10.64	88.53±59.88	1.87±0.28	272.49±3.69
12	29.45±2.50	5.07±0.41	142.79±3.60	258.00±4.25	3.75±0.15	243.81±13.92	106.43±40.23	2.69±0.14	274.61±7.65
24	33.13±2.08	22.55±5.20	118.92±9.40	251.88±4.38	14.78±1.18	228.85±15.15	91.80±9.10	5.78±0.88	267.88±8.85
36	115.30±11.15	43.88±0.23	82.04±18.25	219.20±0.90	26.70±2.40	185.39±4.09	109.63±33.93	11.98±3.47	251.94±1.75
48	88.03±9.63	51.48±2.68	46.18±12.82	197.30±4.55	34.68±5.33	149.52±8.42	301.65±0.50	24.68±3.78	245.76±4.61
60	78.35±0.50	55.75±5.60	33.09±0.65	173.80±2.15	38.73±5.43	119.46±10.37	289.08±0.13	41.20±5.50	242.81±1.48
72	79.28±1.13	61.03±1.78	32.17±0.28	168.33±1.83	44.20±6.55	118.91±9.42	274.15±0.20	46.40±4.75	223.82±9.77
84	78.75±1.05	64.33±1.38	31.43±0.28	157.05±1.00	48.25±9.15	101.18±2.04	267.70±2.45	61.38±2.78	215.06±4.89
96	78.73±0.23	71.70±7.60	32.36±0.28	160.92±1.07	52.78±11.03	108.12±11.13	266.98±1.18	52.95±5.55	210.18±5.16



ภาพที่ 4.12 การเจริญของ *Aurantiochytrium mangrovei* S4TP 072 (น้ำหนักเซลล์แห้ง) ที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารที่เติมน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยแบ่งมันสำปะหลัง ความเข้มข้น 12%, 18% และ 24%



ภาพที่ 4.13 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร ของการทดลองการเจริญของ *Aurantiochytrium mangroveii* S4TP 072 ที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารที่เติมน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยแบ่งมันสำปะหลัง ความเข้มข้น 12%, 18% และ 24%



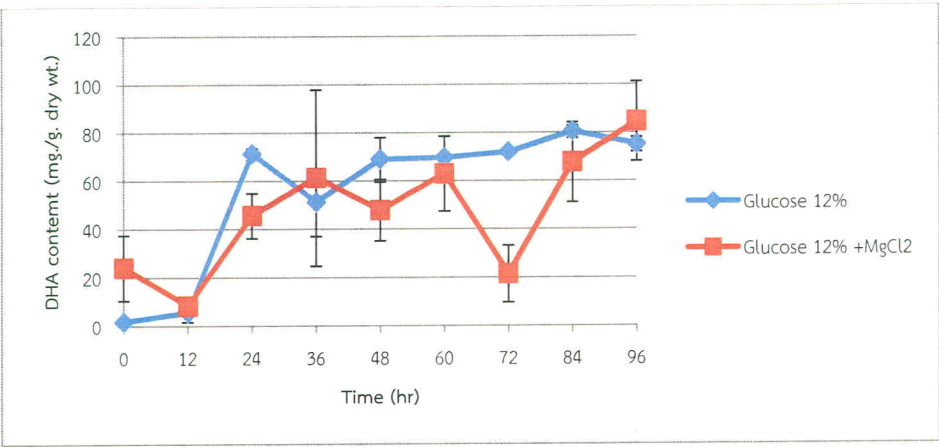
ภาพ 4.14 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสของการทดลองการเจริญของ *Aurantiochytrium mangroveii* S4TP 072 ที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารเติมน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยแบ่งมันสำปะหลัง ความเข้มข้น 12%, 18% และ 24%

5. การเจริญของ *Aurantiochytrium mangrovei* S4TP 072 ด้วยอาหารที่ใช้น้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลังความเข้มข้น 12 % (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม โดยเปรียบเทียบสูตรอาหารที่เติม และไม่เติม $MgCl_2$ 0.1 % (w/v) ในถังหมัก

จากการศึกษาการเจริญของ *A. mangroveii* S4TP 072 ในถังหมักด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำตาลที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลังความเข้มข้น 12 % จะเห็นว่า *A. mangroveii* S4TP 072 ที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารที่ไม่เติม $MgCl_2$ 0.1 % (w/v) มีการเจริญดีกว่าสูตรอาหารที่เติม $MgCl_2$ 0.1 % (w/v) ภายใน 4 วัน (ตารางที่ 4.5 และภาพที่ 4-16 ถึง 4-18)

เมื่อพิจารณาปริมาณกรดไขมันที่เวลา 4 วัน พบว่า ปริมาณดีเอชเอและอีพีเอมีค่าสูงสุดเมื่อเลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติม 0.1% $MgCl_2$ (84.55 ± 16.46 มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้ง และ 1.38 ± 0.32 มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้ง) ส่วนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่เติม 0.1% $MgCl_2$ มีปริมาณดีเอชเอและอีพีเอ เท่ากับ 74.97 ± 2.96 มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้ง และ 1.03 ± 0.06 มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ (ตารางภาคผนวกที่ 4 และภาพที่ 4-19)

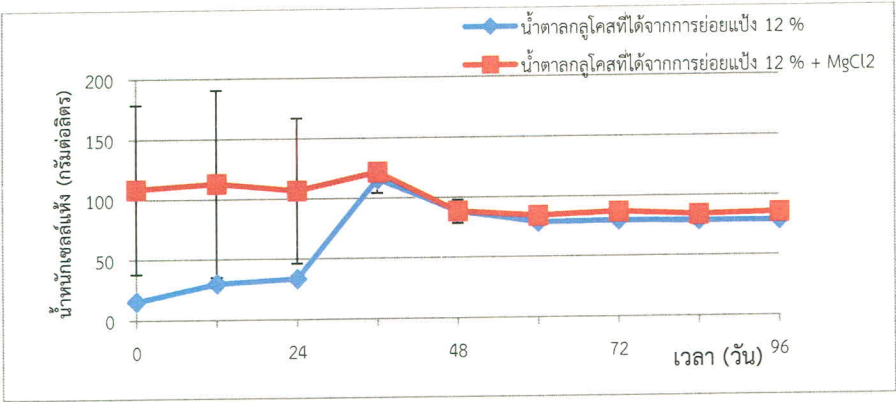
อย่างไรก็ตาม การเติมหรือไม่เติม 0.1% $MgCl_2$ ในการเลี้ยง *A. mangroveii* S4TP 072 ให้ผลต่อการเจริญและผลิตกรดไขมันชนิดดีเอชเอที่ไม่แตกต่างกันมากนัก ซึ่งยังไม่พบรายงานวิจัยการเติม 0.1% $MgCl_2$ ดังกล่าว



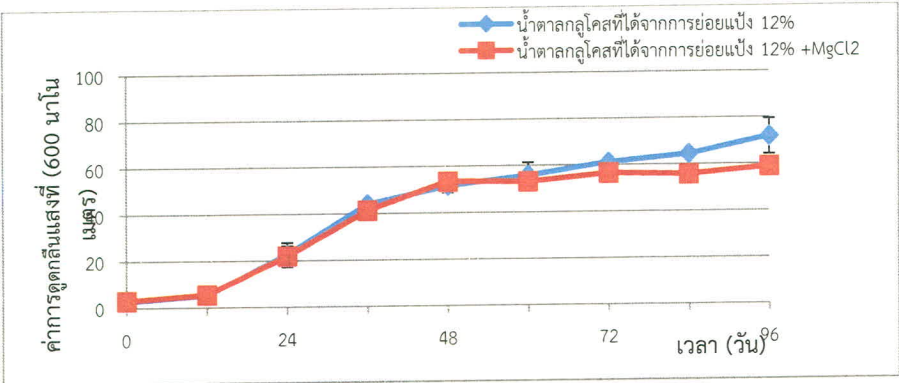
ภาพที่ 4.19 ปริมาณกรดไขมันชนิดดีเอชเอที่ได้จากการเลี้ยง *Aurantiochytrium mangrovei* S4TP 072 ด้วยอาหารที่ใช้น้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลังความเข้มข้น 12 % (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม กับอาหารที่เติม $MgCl_2$ 0.1 % (w/v) และไม่เติม $MgCl_2$ 0.1 % (w/v) ในถังหมัก

ตารางที่ 4.5 น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร และปริมาณน้ำตาลกลูโคสของ *Aurantiochytrium mangrovei* S4TP 072 ที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารที่เติมน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลัง 12% ที่ pH 6.5 ทั้งที่เติมและไม่เติม $MgCl_2$ ในถังหมัก

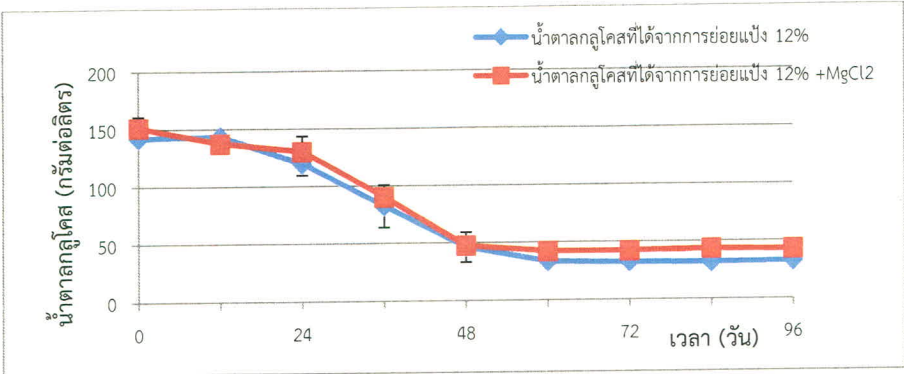
	Glucose 12 % without $MgCl_2$			Glucose 12 % with $MgCl_2$		
Time (hr)	Dry biomass (g/L)	OD ₆₆₀	Glucose (g/L)	Dry biomass (g/L)	OD ₆₆₀	Glucose (g/L)
0	15.13±0.93	2.40±0.09	141.41±3.32	108.33±70.19	2.84±0.81	150.79±10.00
12	29.45±2.50	5.07±0.41	142.79±3.60	112.75±77.61	5.37±1.10	136.95±0.09
24	33.13±2.08	22.55±5.20	118.92±9.40	106.53±60.23	21.90±4.50	129.83±13.52
36	115.30±11.15	43.88±0.23	82.04±18.25	121.50±2.70	41.23±3.08	89.97±2.69
48	88.03±9.63	51.48±2.68	46.18±12.82	88.23±0.53	53.38±2.18	47.35±2.13
60	78.35±0.50	55.75±5.60	33.09±0.65	84.05±5.40	53.03±2.68	42.11±0.54
72	79.28±1.13	61.03±1.78	32.17±0.28	86.73±2.68	56.40±0.30	42.22±0.36
84	78.75±1.05	64.33±1.38	31.43±0.28	84.08±4.58	55.70±0.60	43.42±0.17
96	78.73±0.23	71.70±7.60	32.36±0.28	85.70±3.80	58.85±0.30	42.82±0.57



ภาพที่ 4.16 การเจริญของ *Aurantiochytrium mangrovei* S4TP 072 (น้ำหนักเซลล์แห้ง) ที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารเติมน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลัง ความเข้มข้น 12% ที่เติมและไม่เติมแมกนีเซียมคลอไรด์ 0.1 %



ภาพที่ 4.17 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตรของการทดลองการเจริญของ *Aurantiochytrium mangroveii* S4TP 072 ที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารเติมน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลัง ความเข้มข้น 12% ที่เติมและไม่เติมแมกนีเซียมคลอไรด์ 0.1 %



ภาพที่ 4.18 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสของการทดลองการเจริญของ *Aurantiochytrium mangroveii* S4TP 072 ที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารเติมน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลัง ความเข้มข้น 12% ที่เติมและไม่เติมแมกนีเซียมคลอไรด์ 0.1 %

จากการศึกษาครั้งนี้ แสดงให้เห็นว่าน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลังสามารถนำมาทดแทนเป็นแหล่งคาร์บอนในการเลี้ยง *A. mangroveii* S4TP 072 ได้ ซึ่งยังไม่พบรายงานวิจัยเกี่ยวกับวัตถุดิบนี้ โดยเลี้ยงที่ความเข้มข้น 12% เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ได้ปริมาณดีเอชเอและอีพีเอเท่ากับ 18.41 และ 0.14 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด แต่เมื่อเทียบปริมาณกรดไขมันกับรายงานการใช้วัตถุดิบอื่นๆ มาใช้เพื่อลดต้นทุนการผลิต พบว่าได้ปริมาณที่น้อยกว่า ดังการศึกษาของ Quilodran et al. (2009) ที่ใช้ของเหลือจากโรงงานเปียร์เลี้ยง *Thraustochytriidae* sp., M12-X1 ได้มวลชีวภาพ เท่ากับ 2.3 กรัม/ลิตร และปริมาณดีเอชเอและอีพีเอเท่ากับ 39.5–61.7 และ 7.4–11.3 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด โดยเลี้ยงในถังหมักขนาด 100 มล. Liang et al. (2010) เลี้ยง *S. limacinum* SR21 ด้วย Sweet sorghum juice ได้มวลชีวภาพ เท่ากับ 9.4 กรัม/ลิตร และปริมาณดีเอชเอและอีพีเอเท่ากับ 34.28 และ 0.61 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด โดยเลี้ยงในถังหมักขนาด 100 มล. ในขณะที่ Ethier et al. (2011) เลี้ยง *S. limacinum* SR21 ด้วย Crude glycerol ได้มวลชีวภาพ เท่ากับ 4-15 กรัม/ลิตร และปริมาณดีเอชเอเท่ากับ 24.86 และ 0.61 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด โดยเลี้ยงในถังหมักขนาด 4500 มล. เป็นต้น

สรุปผลการศึกษา

น้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลังสามารถนำมาเป็นวัตถุดิบทดแทนกลูโคสทางการค้า ซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนในการเลี้ยง *A. mangroveii* S4TP 072 ได้ โดยเลี้ยงที่ความเข้มข้น 12% pH 6.5 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ได้ปริมาณดีเอชเอและอีพีเอเท่ากับ 18.41 และ 0.14 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด

ข้อเสนอแนะ

ควรหาแหล่งอาหารอื่นๆ ที่เป็นแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่มีราคาถูกในการเลี้ยงทรอสโทโคตริดส์ เพื่อลดต้นทุนการผลิตในเชิงพาณิชย์ต่อไป