# บทที่ 4

# ผลการทดลอง

## 4.1 การคัดเลือกวัตถุดิบเพื่อนำมาใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

วัตถุดิบที่สามารถนำมาใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวมีหลายชนิดด้วยกัน ซึ่งอาจแบ่งออกเป็นประเภทได้ดังนี้

1. สารประกอบจำพวกแป้ง ส่วนใหญ่จะเป็นผลผลิตทางการเกษตร เช่น แป้งมันสำปะหลัง แป้งมันฝรั่ง หัวมันสำปะหลัง มันเส้น กากมัน เป็นต้น
2. วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร วัสดุเหล่านี้จะประกอบด้วยเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน เป็นส่วนใหญ่ เช่น ฟางข้าว ผักตบชวา ชานอ้อย ซังข้าวโพด เป็นต้น
3. ผลพลอยได้จากโรงงานอุตสาหกรรม เช่น กากน้ำตาล หางนม รวมถึงน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมด้วย เช่น น้ำทิ้งจากโรงงานกระดาษ น้ำทิ้งจากโรงงานสับปะรดกระป๋อง เป็นต้น
4. สารประกอบไฮโดรคาร์บอน ส่วนใหญ่จะเป็นผลพลอยได้จากการกลั่นน้ำมันดิบ เช่น สารประกอบอัลเคน อัลคีน พาราฟิน เป็นต้น

อย่างไรก็ตามจากการตรวจเอกสาร (หัวข้อ 2.3.3) พบว่าในการนำวัตถุดิบเหล่านี้มาใช้เพื่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวมีข้อจำกัด เช่น การใช้วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร ก็ต้องมีการปรับสภาพ (pretreatment) ก่อน อาจทำโดยใช้สารเคมี เช่น กรด หรือด่าง หรือการใช้เอนไซม์เข้าไปย่อยสลายโครงสร้างในโมเลกุลขององค์ประกอบในวัตถุดิบเหล่านี้ ให้กลายเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดียวก่อน ก่อนที่จะให้จุลินทรีย์นำไปใช้เพื่อการเจริญและผลิตโปรตีน ซึ่งทำให้ต้องเสียเวลาและมีต้นทุนในการผลิตเพิ่มขึ้น ส่วนผลพลอยได้จากโรงงานอุตสาหกรรม เช่น หางนม น้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมกระดาษ น้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมสับปะรดกระป๋อง รวมถึงวัตถุดิบประเภทสารประกอบไฮโดรคาร์บอนนั้น พบว่าในภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีโรงงานดังกล่าวค่อนข้างน้อย หรือเป็นเพียงโรงงานขนาดย่อม จึงทำให้วัตถุดิบเหล่านี้มีปริมาณไม่เพียงพอหรือไม่คงที่ นอกจากนี้ในวัตถุดิบบางประเภท เช่น น้ำทิ้งจากโรงงานกระดาษ อาจจะต้องนำมาผ่านกระบวนการปรับสภาพก่อนหรือในกระบวนการหลังการเลี้ยงจุลินทรีย์ คือ การเก็บเกี่ยวเซลล์ก็ต้องกำจัดสารพวก Lignosulfonic acid ออกเสียก่อน จึงทำให้มีขั้นตอนหรือกระบวนการที่ยุ่งยาก ทำให้เสียเวลาและค่าใช้จ่ายเพิ่มขึ้น ส่วนในกรณีของกากน้ำตาลนั้นพบว่าไม่ค่อยนิยมนำมาใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว ทั้งนี้เพราะมัก

ประสบปัญหาเกี่ยวกับการเก็บเกี่ยวผลผลิต จะต้องทำการล้างกากน้ำตาลที่ติดกับเซลล์ออกให้หมด เพื่อไม่ให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีสี และกลิ่น ของกากน้ำตาล จากสาเหตุที่ได้กล่าวมาจึงทำให้วัตถุดิบดังกล่าวไม่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว ดังนั้นวัตถุดิบที่น่าสนใจที่จะนำมาใช้ในการศึกษาคือ สารประกอบจำพวกแป้ง ซึ่งส่วนใหญ่ได้มาจากผลผลิตทางการเกษตร ผลผลิตทางการเกษตรหลายชนิด อาทิเช่น มันสำปะหลัง ถั่วเหลือง ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ถั่วลิสง เป็นต้น มีการเพาะปลูกกันมากในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พื้นที่เพาะปลูกและปริมาณผลผลิตแสดงตามตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 พื้นที่เพาะปลูกและปริมาณผลผลิตทางการเกษตรที่นิยมนำมาใช้เป็นวัตถุดิบเพื่อผลิตอาหารสัตว์ (ข้อมูลประจำปี 2536)

| พืช | พื้นที่เพาะปลูก (ไร่) | ผลผลิตรวม (ตัน) | ผลผลิตเฉลี่ย (กก./ไร่) |
|---|---|---|---|
| มันสำปะหลัง | 292,092 | 587,506 | 2,023 |
| ถั่วเหลือง | 89,765 | 18,447 | 195 |
| ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ | 16,379 | 8,845 | 540 |
| ถั่วลิสง | 6,097 | 1,090 | 179 |

* ที่มา : สำนักงานเกษตรจังหวัดขอนแก่น

จากข้อมูลจะเห็นว่า มันสำปะหลังเป็นพืชที่มีการปลูกกันมากและมีปริมาณผลผลิตมากที่สุด การนำไปใช้ประโยชน์นอกจากการส่งเข้าโรงงานผลิตอาหารสัตว์แล้วยังมีการส่งเข้าโรงงานเพื่อการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ เช่น แป้งมัน มันอัดเม็ด หรือมันเส้น เพื่อการส่งออกเป็นต้น แต่เนื่องจากปริมาณโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบอยู่ในมันสำปะหลังมีอยู่ในระดับต่ำ ดังนั้นการนำไปใช้เป็นวัตถุดิบเพื่อผลิตเป็นอาหารสัตว์ จะทำให้สัตว์ที่ได้รับอาหารดังกล่าวขาดความสมบูรณ์ หรือมีการเจริญเติบโตช้า จึงต้องมีการเสริมโปรตีนจากแหล่งอื่น เป็นผลทำให้ต้นทุนการผลิตอาหารสัตว์สูงขึ้น นอกจากนี้ในการจำหน่ายมันสำปะหลังให้กับโรงงานผลิตอาหารสัตว์ เกษตรกรผู้ปลูกจะจำหน่ายมันสำปะหลังได้ในราคาต่ำมาก และจากรายงานเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีในมันสำปะหลัง ทำให้ทราบว่าในมันสำปะหลังมีแป้งเป็นองค์ประกอบอยู่ในระดับสูง (ตารางที่ 4.2) ซึ่งเพียงพอสำหรับให้จุลินทรีย์นำไปใช้เป็นแหล่งพลังงานและแหล่งคาร์บอนเพื่อการเจริญและผลิตโปรตีน จากเหตุผลที่ได้กล่าวมาข้างต้น งานวิจัยนี้จึงเลือกใช้แป้งมันสำปะหลังเป็นแหล่งวัตถุดิบเพื่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

<u>ตารางที่ 4.2</u> องค์ประกอบทางเคมีของมันสำปะหลังและผลิตภัณฑ์จากมันสำปะหลัง (เปอร์เซ็นต์)

| ชนิดของมันสำปะหลัง | ความชื้น | โปรตีน | แป้ง | ไขมัน | เยื่อใย | เถ้า |
|---|---|---|---|---|---|---|
| หัวมันสำปะหลังสด | 63.80 | 0.96 | 27.65 | 0.26 | 0.85 | 1.44 |
| หัวมันสำปะหลังแห้ง | 12.60 | 2.00 | 75.70 | 0.69 | 4.00 | 5.00 |
| มันเส้น | 11.00 | 2.30 | 81.2 | 1.20 | 2.70 | 1.60 |
| มันอัดเม็ด | 13.45 | 2.25 | 74.81 | 0.45 | 3.94 | 5.09 |
| มันป่น | 11.20 | 2.60 | 73.90 | 0.55 | 5.60 | 6.10 |
| กากมัน (สด) | 80.00 | 0.40 | 17.60 | 0.10 | 1.60 | 0.30 |
| กากมัน (แห้ง) | 10.00 | 1.80 | 64.60 | 0.20 | 5.00 | 18.40 |

## 4.2 การคัดเลือกจุลินทรีย์เพื่อนำมาใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

จุลินทรีย์ที่สามารถนำมาใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวมีหลายชนิดด้วยกัน ดังตรวจเอกสาร (หัวข้อ 2.2) แต่จุลินทรีย์ที่ได้รับการยอมรับและนิยมนำมาใช้ในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวในระดับอุตสาหกรรมคือ ยีสต์ เช่น *Candida utilis*, *C. tropicalis* , *Rhodotorula* sp., *Saccharomyces* sp. และ *Schwanniomyces* sp. เป็นต้น ซึ่งความสามารถในการใช้แหล่งคาร์บอนโดยยีสต์เหล่านี้จะแตกต่างกันออกไปดังตารางที่ 4.3

**ตารางที่ 4.3** การใช้แหล่งคาร์บอนโดยยีสต์สายพันธุ์ต่างๆ (Boze, Moulin และ Galzy ; 1992)

| สายพันธุ์ของยีสต์ | ชนิดของแหล่งคาร์บอน |
|---|---|
| *Candida intermedia* | Lactose whey |
| *Candida tropicalis* | n - Alkane |
| *Candida lipolytica* | n - Alkane |
| *Candida utilis* | molasses |
| *Saccharomyces* sp. | molasses |
| *Schwanniomyces* sp. | starch |

จากข้อมูลในตารางที่ 4.3 และชนิดของวัตถุดิบที่คัดเลือกได้จากข้อ 4.1 คือ แป้งมันสำปะหลัง ดังนั้นจึงเลือกใช้ยีสต์ *Schwanniomyces* sp. ในการทดลองนี้ แต่จากหนังสือรวบรวมสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ ซึ่งจัดทำโดยสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (Potacharoen และคณะ 1995) พบว่ายีสต์ *Schwanniomyces* sp. มีอยู่ 2 สายพันธุ์ คือ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5346 และ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 จึงได้เลือกยีสต์ทั้งสองสายพันธุ์มาทำการทดสอบความสามารถในการใช้แป้งมันสำปะหลังเป็นแหล่งคาร์บอน

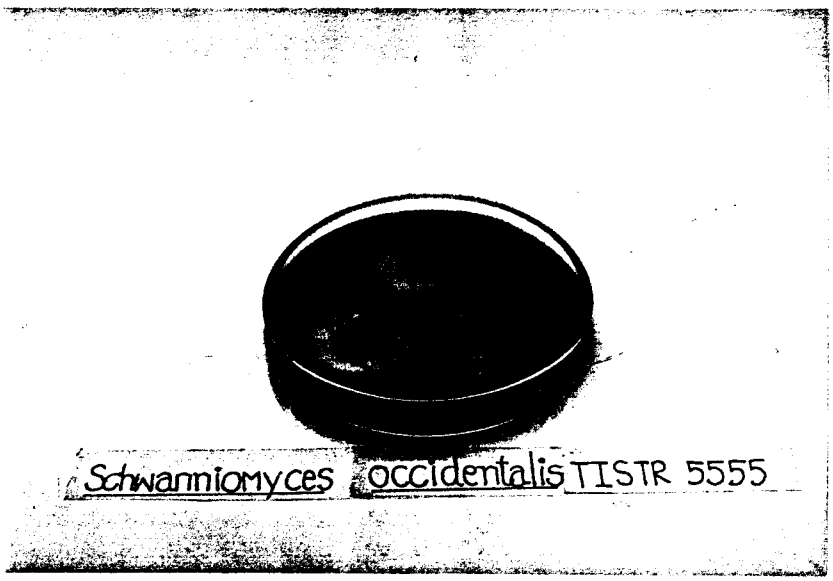
การทดสอบความสามารถในการใช้แป้งมันสำปะหลังเป็นแหล่งคาร์บอนโดยยีสต์ทั้งสองสายพันธุ์ ทำโดยนำยีสต์ทั้งสองสายพันธุ์มาเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร starch agar โดยวิธีการเพาะเลี้ยงแบบจุด (point inoculum) หลังจากนั้นนำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างที่เวลา 6, 12, 21, 30, 48, 72, 96, 120 และ 144 ชั่วโมง นำไปทดสอบความสามารถในการย่อยแป้งโดยวิธีการหยดสารละลายไอโอดีนลงไปให้ท่วมผิวหน้าของอาหาร ตั้งทิ้งไว้ 2 นาที เพื่อให้สารละลายไอโอดีนทำปฏิกิริยากับแป้ง แล้วเทสารละลายไอโอดีนส่วนที่เหลือทิ้งไป ทำการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณวงใส (clear zone) และเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีที่เกิดขึ้น คำนวณหาอัตราส่วนและเปรียบเทียบอัตราส่วนระหว่างเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณวงใส และเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีในยีสต์ทั้งสองสายพันธุ์ จากผลการทดสอบพบว่ายีสต์ทั้งสองสายพันธุ์มีความสามารถในการย่อยแป้งได้แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 4.4 และรูปที่ 4.1 และ 4.2 โดยที่ยีสต์สายพันธุ์ *S. occidentalis* TISTR 5555 ให้อัตราส่วนระหว่างเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณวงใสต่อเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีสูงกว่ายีสต์สายพันธุ์ *S. occidentalis* TISTR 5346

นั่นก็แสดงว่ายีสต์สายพันธุ์ *S. occidentalis* TISTR 5555 มีความสามารถในการย่อยแป้งได้ดีกว่ายีสต์สายพันธุ์ *S. occidentalis* TISTR 5346 ดังนั้นจึงเลือกยีสต์สายพันธุ์ *S. occidentalis* TISTR 5555 เพื่อใช้สำหรับการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

**ตารางที่ 4.4** อัตราส่วนระหว่างเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณวงใสต่อเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีของยีสต์ทั้งสองสายพันธุ์ ที่เวลาต่าง ๆ กัน

| เวลา (ชั่วโมง) | สายพันธุ์จุลินทรีย์ | |
|---|---|---|
| | *S. occidentalis* TISTR 5346 | *S. occidentalis* TISTR 5555 |
| 0 | 0 | 0 |
| 6 | 1.00 | 1.50 |
| 12 | 1.00 | 1.58 |
| 21 | 1.50 | 1.60 |
| 30 | 2.43 | 2.72 |
| 48 | 2.45 | 2.82 |
| 72 | 2.83 | 3.06 |
| 96 | 2.92 | 3.20 |
| 120 | 2.97 | 3.25 |
| 144 | 3.00 | 4.03 |

**รูปที่** 4.1 บริเวณวงใสรอบโคโลนีของยีสต์ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5346 ที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร starch agar เพื่อทดสอบความสามารถในการย่อยแป้ง




**รูปที่** 4.2 บริเวณวงใสรอบโคโลนีของยีสต์ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ที่ เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร starch agar เพื่อทดสอบความสามารถในการย่อยแป้ง

## 4.3 ผลของ pH ต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

จากการเลี้ยงยีสต์ *S. occidentalis* TISTR 5555 ในอาหารเหลวสูตร YM โดยใช้แป้งมันสำปะหลังที่ความเข้มข้น 4 % w/v เป็นแหล่งคาร์บอนแทนกลูโคส ปรับ pH ของสูตรอาหารให้แตกต่างกัน 3 ระดับคือ 4.5, 5.0, 5.5 แล้วบ่มเชื้อในตู้เขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์หาจำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาล ปริมาณแป้ง และการเปลี่ยนแปลงของ pH ที่เวลาต่าง ๆ กัน ได้ผลดังตารางที่ 4.5 และ รูปที่ 4.3 ตามลำดับ

จากการนับจำนวนเซลล์ที่เวลาต่าง ๆ กัน พบว่าเซลล์มีการเจริญอย่างรวดเร็วในช่วงเวลา 16 ชั่วโมงแรกของการเลี้ยง โดยที่ pH 4.5, 5.0, 5.5 มีการเจริญในช่วงนี้ใกล้เคียงกัน แต่หลังจากที่เวลา 16 ชั่วโมงไปแล้ว การเจริญของยีสต์ที่ pH ทั้ง 3 ค่า จะเริ่มแตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด คือที่ pH 5.5 มีจำนวนเซลล์สูงสุดคือ 111 x $10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร และที่ pH 5.0, 4.5 มีจำนวนเซลล์ลดลงมา ตามลำดับคือ 107 x $10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร และ 97 x $10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ที่เวลา 72 ชั่วโมง

จากการวิเคราะห์หาปริมาณแป้งที่เหลืออยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อพบว่า ยีสต์สามารถย่อยแป้งได้รวดเร็วมากในช่วงเวลา 12 ชั่วโมงแรกของการเลี้ยง ซึ่งที่ pH 5.5 ปริมาณแป้งจะลดลงเร็วที่สุด รองลงมาคือที่ pH 5.0 และ 4.5 ตามลำดับ และที่ระยะสิ้นสุดของการทดลอง พบว่าจะมีแป้งเหลืออยู่ประมาณ 2, 2.18 และ 2.18 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

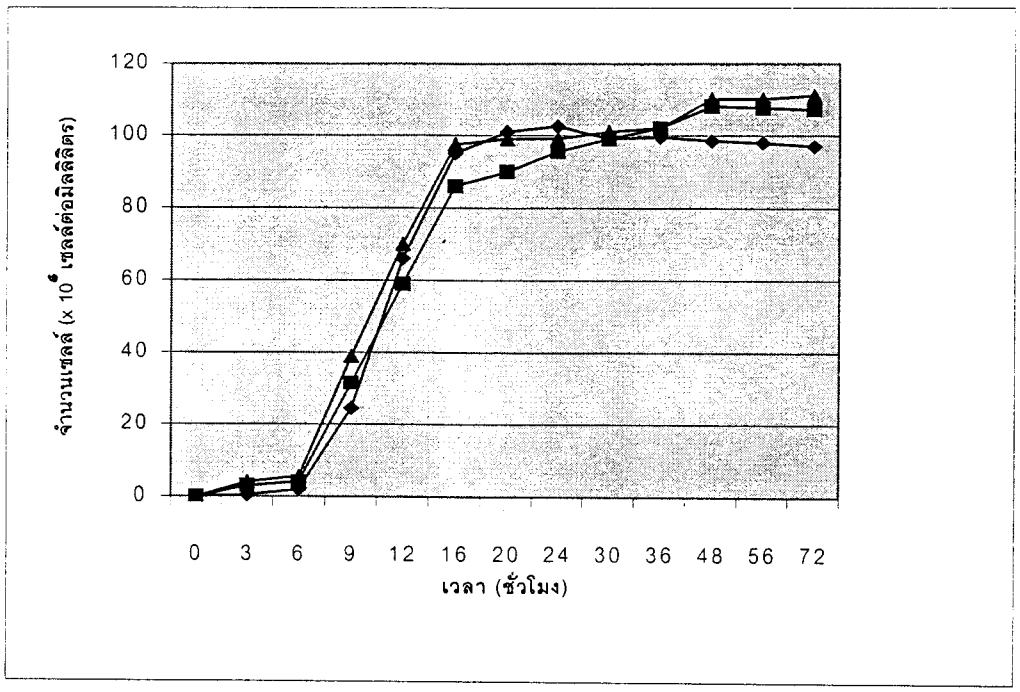
จากการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลที่เหลืออยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่ายีสต์มีการย่อยแป้งไปเป็นน้ำตาล และทำให้มีน้ำตาลเหลืออยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูงสุดที่ระยะเวลา 12 ชั่วโมงแรกของการเลี้ยง หลังจากนั้นปริมาณน้ำตาลจะค่อย ๆ ลดลง จนกระทั่งไม่มีน้ำตาลเหลืออยู่ในอาหารที่ระยะสิ้นสุดของการทดลอง ทั้งนี้เพราะยีสต์นำไปใช้เพื่อการเจริญและผลิตโปรตีน

จากการวัด pH ที่เปลี่ยนแปลงไปที่เวลาต่าง ๆ กัน พบว่าที่ pH 4.5, 5.0, 5.5 ในช่วงเวลา 36 ชั่วโมงแรกของการเพาะเลี้ยง pH จะลดลงเรื่อย ๆ และ pH จะต่ำสุดที่เวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้น pH จะเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ซึ่งแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลง pH ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี pH เริ่มต้นต่างกันทั้ง 3 ค่านี้ มีลักษณะของการเปลี่ยนแปลงของ pH ในลักษณะเดียวกัน

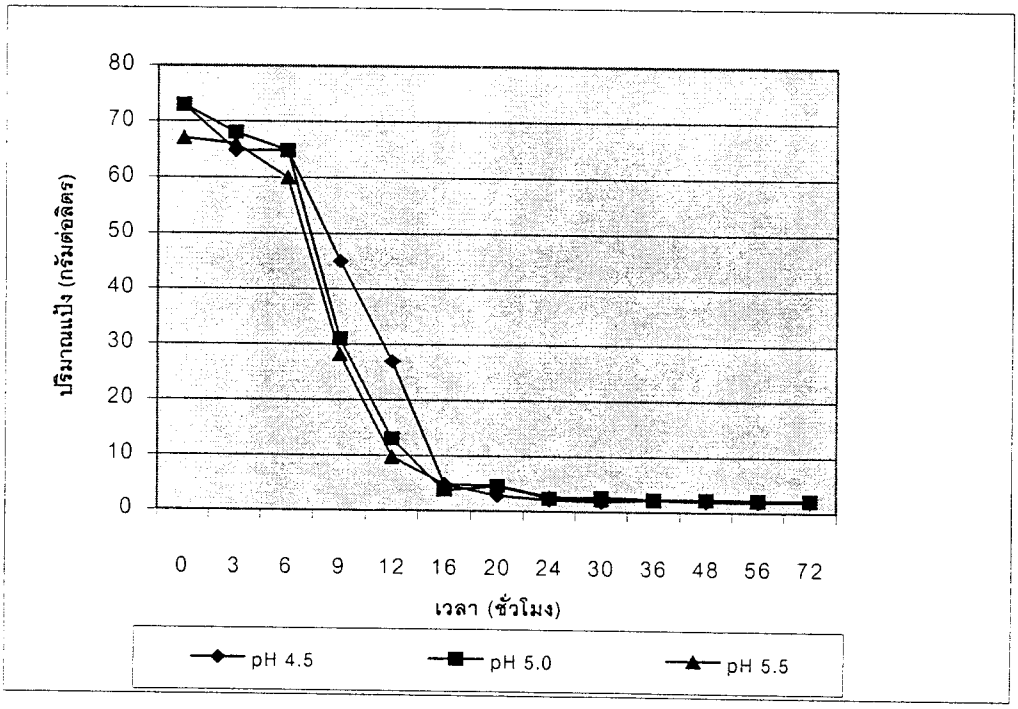
จากผลการทดลองที่กล่าวมาข้างต้นจะเห็นว่ายีสต์มีการเจริญดีที่สุดที่ pH 5.5 ดังนั้นจึงเลือก pH นี้สำหรับใช้ในการเลี้ยงยีสต์เพื่อศึกษาถึงปริมาณโปรตีนที่ผลิตได้

**ตารางที่ 4.5** จำนวนเซลล์ ปริมาณแป้ง ปริมาณน้ำตาล และการเปลี่ยนแปลงของ pH ที่เวลาต่าง ๆ กัน ในการเลี้ยงยีสต์ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ในสูตรอาหารที่มี pH เริ่มต้นเป็น 4.5, 5.0 และ 5.5

| เวลา ชั่วโมง | จำนวนเซลล์ x$10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร | | | ปริมาณแป้ง (กรัมต่อลิตร) | | | ปริมาณน้ำตาล (กรัมต่อลิตร) | | | pH ที่เปลี่ยนแปลง | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | pH4.5 | pH 5.0 | pH5.5 | pH4.5 | pH5.0 | pH5.5 | pH4.5 | pH5.0 | pH5.5 | pH4.5 | pH5.0 | pH5.5 |
| 0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 73.00 | 73.00 | 67.00 | 0.17 | 0.13 | 0.15 | 4.56 | 5.02 | 5.86 |
| 3 | 0.50 | 3.00 | 4.00 | 64.80 | 68.00 | 66.00 | 0.81 | 0.55 | 0.84 | 4.50 | 5.01 | 5.80 |
| 6 | 2.00 | 4.00 | 5.50 | 64.80 | 64.80 | 60.00 | 0.86 | 0.86 | 0.89 | 4.50 | 5.01 | 5.51 |
| 9 | 24.50 | 31.50 | 39.00 | 45.00 | 31.00 | 28.20 | 0.85 | 0.87 | 0.93 | 4.42 | 4.36 | 4.50 |
| 12 | 66.00 | 59.00 | 70.00 | 27.00 | 13.00 | 9.80 | 0.87 | 0.96 | 1.34 | 4.08 | 4.28 | 4.55 |
| 16 | 95.00 | 86.00 | 97.50 | 5.00 | 3.80 | 5.00 | 0.67 | 0.67 | 0.84 | 3.73 | 3.89 | 4.25 |
| 20 | 101.00 | 90.00 | 99.00 | 2.80 | 4.60 | 4.70 | 0.52 | 0.62 | 0.57 | 3.47 | 3.59 | 4.01 |
| 24 | 102.50 | 95.50 | 99.00 | 2.10 | 2.38 | 2.60 | 0.38 | 0.47 | 0.43 | 3.49 | 3.56 | 3.68 |
| 30 | 99.00 | 99.00 | 101.00 | 1.78 | 2.60 | 2.25 | 0.37 | 0.39 | 0.57 | 3.53 | 3.64 | 3.70 |
| 36 | 99.50 | 102.00 | 102.00 | 2.18 | 2.25 | 2.18 | 0.22 | 0.26 | 0.37 | 3.71 | 3.78 | 3.82 |
| 48 | 98.50 | 108.00 | 110.00 | 1.90 | 2.25 | 2.36 | 0.10 | 0.13 | 0.23 | 3.78 | 3.90 | 4.03 |
| 56 | 98.00 | 107.50 | 110.00 | 1.90 | 2.18 | 2.18 | 0.10 | 0.12 | 0.12 | 3.81 | 4.03 | 4.23 |
| 72 | 97.00 | 107.00 | 111.00 | 2.00 | 2.18 | 2.18 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 4.14 | 4.23 | 4.79 |




ก

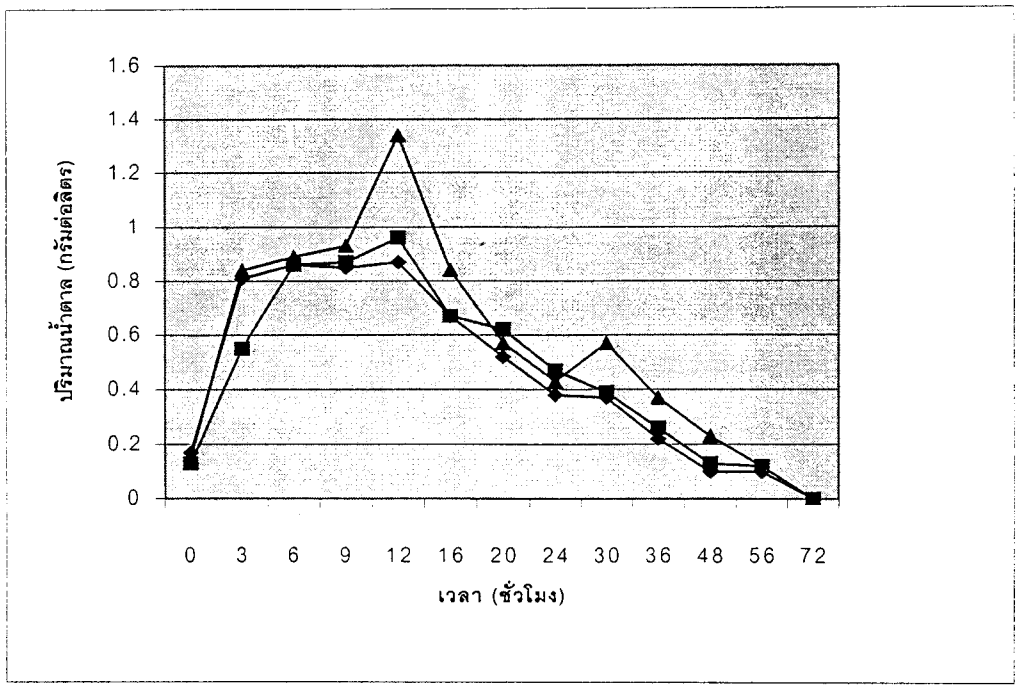



ข

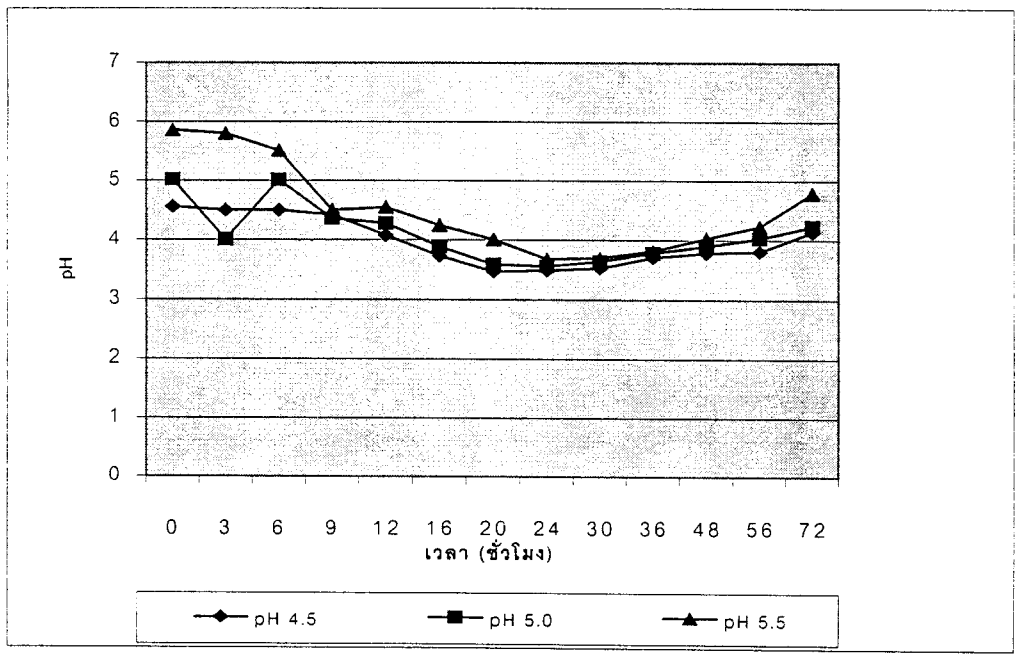
**<u>รูปที่</u> 4.3** ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์ ปริมาณแป้ง ปริมาณน้ำตาล และการเปลี่ยนแปลงของ pH กับเวลา ในการเลี้ยงยีสต์ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ในสูตรอาหารที่มี pH เริ่มต้นเป็น 4.5, 5.0 และ 5.5

ก. จำนวนเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) ข. ปริมาณแป้ง (กรัมต่อลิตร)

ค. ปริมาณน้ำตาล (กรัมต่อลิตร) ง. pH




ค




ง

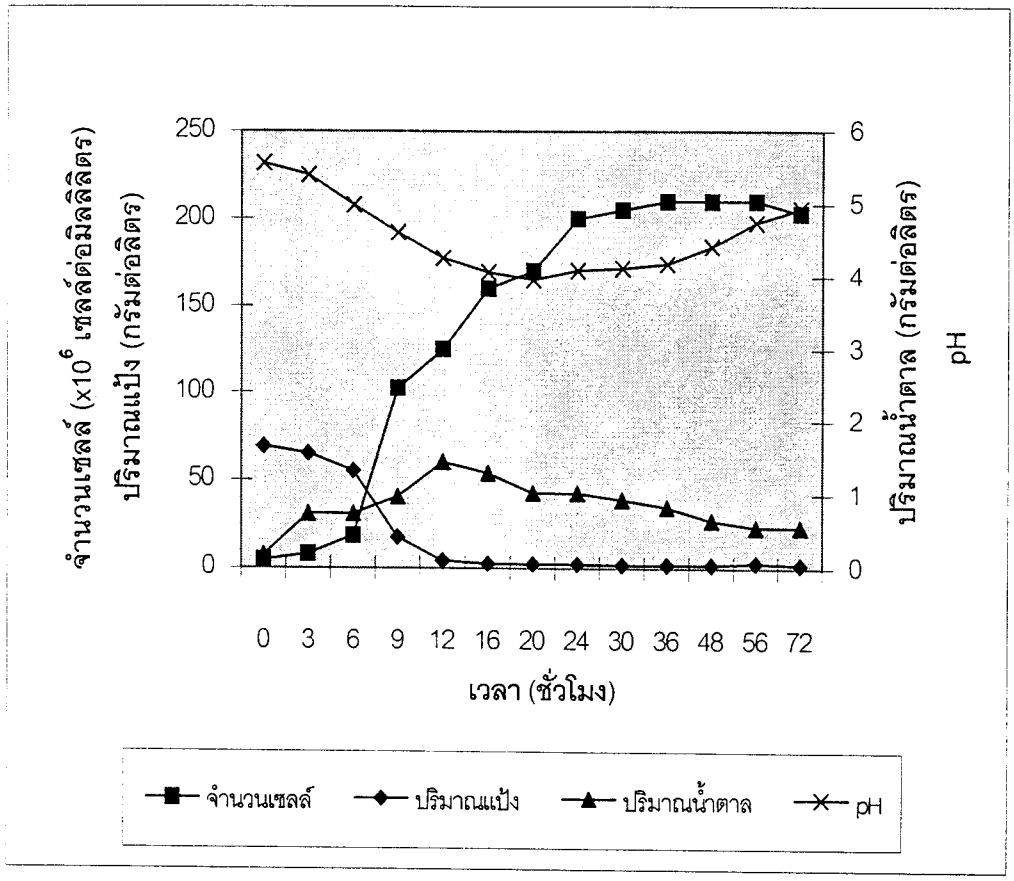
<u>รูปที่ 4.3</u> (ต่อ)

จากการเลี้ยงยีสต์ *S.occidentalis* TISTR 5555 ในอาหารเหลวสูตร YM ที่มีแป้งมันสำปะหลังความเข้มข้น 4 % w/v เป็นแหล่งคาร์บอนแทนกลูโคส ปรับ pH เริ่มต้นของอาหารเป็น 5.5 และทำการเลี้ยงในตู้เขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ทำการเก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์หาจำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาล ปริมาณแป้ง ปริมาณโปรตีน และการเปลี่ยนแปลงของ pH ที่เวลาต่าง ๆ กัน จากการนับจำนวนเซลล์พบว่าเซลล์มีการเจริญอย่างรวดเร็วในช่วงเวลา 20 ชั่วโมงแรกของการเลี้ยง หลังจากนั้นการเจริญจะคงที่โดยมีจำนวนเซลล์สูงสุดคือ $210 \times 10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ที่เวลา 72 ชั่วโมงของการเลี้ยง และจากการวิเคราะห์หาปริมาณแป้งที่เหลืออยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อพบว่าปริมาณแป้งจะลดลงอย่างรวดเร็วในช่วงเวลา 12 ชั่วโมงแรกของการเลี้ยงและจะลดลงเรื่อย ๆ จนมีปริมาณต่ำสุดคือ 1.90 กรัมต่อลิตร ที่เวลา 72 ชั่วโมงของการเลี้ยง ในขณะเดียวกันจากการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลที่มีอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อพบว่ายีสต์มีการย่อยแป้งไปเป็นน้ำตาล จนทำให้มีน้ำตาลเหลืออยู่ในอาหารเพิ่มขึ้นและสูงสุดที่เวลา 12 ชั่วโมงของการเลี้ยงคือ 1.43 กรัมต่อลิตร และเมื่อสิ้นสุดการหมักจะมีน้ำตาลเหลืออยู่ 0.56 กรัมต่อลิตร และจากการวัด pH ที่เปลี่ยนแปลงไปที่เวลาต่าง ๆ กันพบว่า pH จะลดลงมาและต่ำสุดคือ 3.96 ที่เวลา 20 ชั่วโมงของการเลี้ยง หลังจากนั้น pH จะค่อย ๆ เพิ่มขึ้น ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.6 และรูปที่ 4.4

สำหรับผลการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน (โดยวิธี Kjeldahl method) ซึ่งทำการวิเคราะห์ที่เวลา 72 ชั่วโมงของการเลี้ยงพบว่าปริมาณโปรตีนที่ได้จากการเลี้ยงยีสต์มีค่าเท่ากับ 26.87 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเซลล์แห้ง

**ตารางที่ 4.6** จำนวนเซลล์ ปริมาณแป้ง ปริมาณน้ำตาลและการเปลี่ยนแปลงของ pH ที่เวลาต่างๆ กัน ในการเลี้ยงยีสต์ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ในสูตรอาหารที่มี pH เริ่มต้น 5.5

| เวลา (ชั่วโมง) | จำนวนเซลล์ ($x10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) | ปริมาณแป้ง (กรัมต่อลิตร) | ปริมาณน้ำตาล (กรัมต่อลิตร) | pH |
|---|---|---|---|---|
| 0 | 4.50 | 69.00 | 0.18 | 5.56 |
| 3 | 8.00 | 65.00 | 0.74 | 5.40 |
| 6 | 18.50 | 55.00 | 0.74 | 4.99 |
| 9 | 102.50 | 17.50 | 0.97 | 4.61 |
| 12 | 125.00 | 4.20 | 1.44 | 4.26 |
| 16 | 160.00 | 2.50 | 1.29 | 4.06 |
| 20 | 170.00 | 2.40 | 1.02 | 3.96 |
| 24 | 200.00 | 2.30 | 1.02 | 4.09 |
| 30 | 205.00 | 2.00 | 0.93 | 4.12 |
| 36 | 210.00 | 2.00 | 0.83 | 4.18 |
| 48 | 210.00 | 1.90 | 0.65 | 4.42 |
| 56 | 210.00 | 2.90 | 0.56 | 4.75 |
| 72 | 203.00 | 1.90 | 0.56 | 4.94 |




**รูปที่ 4.4** ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์ ปริมาณแป้ง ปริมาณน้ำตาล และการเปลี่ยนแปลงของ pH กับเวลาในการเลี้ยงยีสต์ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ในสูตรอาหารที่มี pH เริ่มต้น 5.5

## 4.4 ผลของความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

จากการเลี้ยงยีสต์ *S. Occidentalis* TISTR 5555 ในอาหารเหลวสูตร YM ที่มีแป้งมันสำปะหลังเป็นแหล่งคาร์บอนที่ความเข้มข้นต่าง ๆ คือ 1 %, 2%, 3% หรือ 4% w/v แล้วบ่มเชื้อในตู้เขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และเก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณแป้ง ปริมาณน้ำตาล และปริมาณโปรตีนได้ผลตามตารางที่ 4.7 และรูปที่ 4.5

จากการหาน้ำหนักแห้งของเซลล์ที่เวลาต่างๆ กัน พบว่ายีสต์มีการเจริญอย่างรวดเร็วในช่วงเวลา 24 ชั่วโมงแรกของการเลี้ยง หลังจากนั้นการเจริญจะเริ่มคงที่ โดยสูตรอาหารที่มีแป้งความเข้มข้น 4 % จะให้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดคือ 6.36 กรัมต่อลิตร และสูตรอาหารที่มีแป้งความเข้มข้น 1 %, 2% และ 3 % จะให้น้ำหนักเซลล์แห้งลดลงมาตามลำดับคือ 4.40 ,4.96 และ 6.24 กรัมต่อลิตร

จากการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลในสูตรอาหารเลี้ยงยีสต์ พบว่ายีสต์มีการย่อยแป้งไปเป็นน้ำตาลได้อย่างรวดเร็วในช่วงเวลา 12 ชั่วโมงแรกของการเลี้ยง ทำให้ปริมาณน้ำตาลในอาหารเพิ่มมากขึ้น โดยในอาหารที่มีแป้งความเข้มข้น 4 % มีปริมาณน้ำตาลในอาหารสูงที่สุดคือ 20.49 กรัมต่อลิตร ส่วนอาหารที่มีแป้งความเข้มข้น 3%, 2% และ 1% มีปริมาณน้ำตาลในอาหารรองลงมา คือ 14.77 , 10.06 , 5.26 กรัมต่อลิตรตามลำดับ หลังจากนั้นปริมาณน้ำตาลจะค่อย ๆ ลดลง และเหลืออยู่น้อยมากเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ทั้งนี้เพราะยีสต์นำน้ำตาลที่เกิดขึ้นไปใช้เพื่อการเจริญ และผลิตโปรตีน

จากการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน (โดยวิธี lowry method) ที่เวลาต่าง ๆ กัน พบว่าปริมาณโปรตีนจะเพิ่มขึ้นและมีปริมาณสูงสุดที่ระยะเวลา 36 ชั่วโมงของการเลี้ยง อาหารที่มีแป้งความเข้มข้น 4 % จะให้ปริมาณโปรตีนสูงที่สุดคือ 2.5 กรัมต่อลิตร และอาหารที่มีแป้งความเข้มข้น 3 %, 2 % และ 1 % จะให้ปริมาณโปรตีนรองลงมา คือ 2.3, 1.98 และ 1.71 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

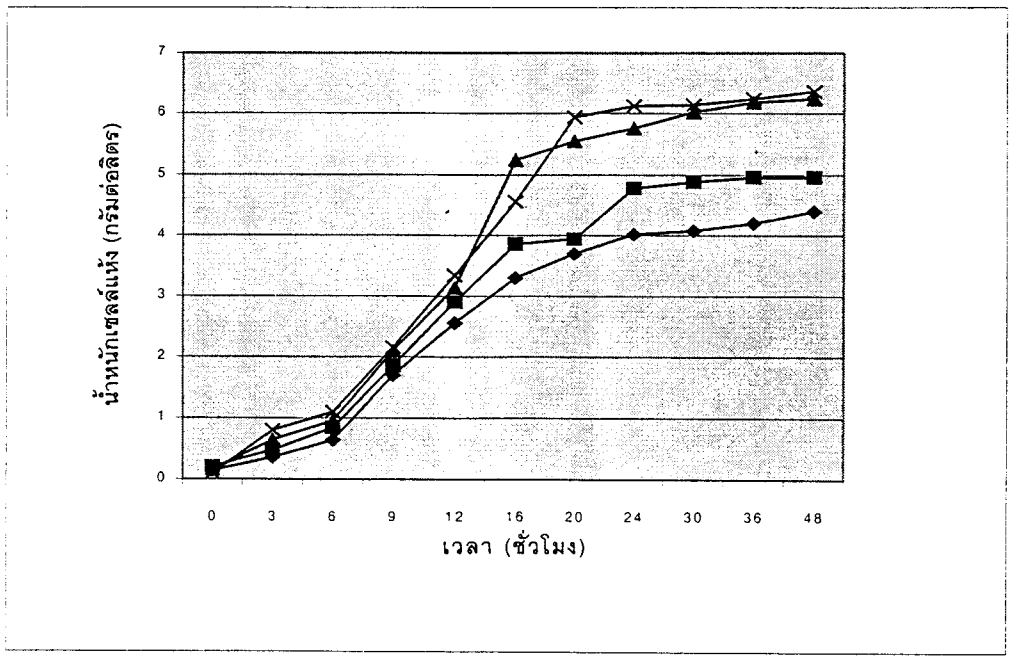
จากผลการทดลองข้างต้นจะเห็นว่าการเลี้ยงยีสต์ในสูตรอาหารที่มีแป้งความเข้มข้น 4 % w/v เป็นแหล่งคาร์บอน ยีสต์มีการเจริญและผลิตโปรตีนได้สูงสุด ดังนั้นจึงเลือกใช้สูตรอาหารที่มีแป้งมันสำปะหลังความเข้มข้น 4 % เป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับการศึกษาถึงชนิด และความเข้มข้นที่เหมาะสมของแหล่งไนโตรเจนต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

**ตารางที่ 4.7** น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณแป้ง ปริมาณน้ำตาล และปริมาณโปรตีนในการเลี้ยงยีสต์ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ในสูตรอาหารที่มีแป้งความเข้มข้นต่าง ๆ กัน

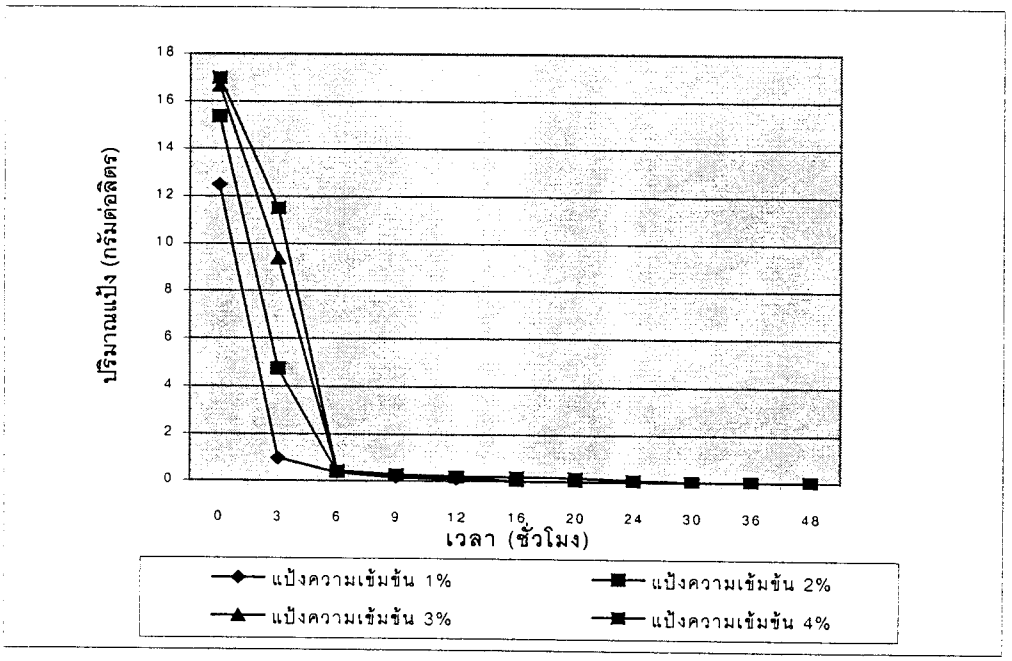
| เวลา (ชั่วโมง) | ปริมาณแป้ง (กรัมต่อลิตร) | ปริมาณน้ำตาล (กรัมต่อลิตร) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร) | ปริมาณโปรตีน (กรัมต่อลิตร) |
|---|---|---|---|---|
| แป้ง 1 % | | | | |
| 0 | 12.50 | 2.45 | 0.14 | 0.01 |
| 3 | 0.98 | 4.43 | 0.36 | 0.08 |
| 6 | 0.38 | 5.08 | 0.64 | 0.22 |
| 9 | 0.15 | 5.11 | 1.70 | 0.80 |
| 12 | 0.09 | 5.26 | 2.56 | 0.85 |
| 16 | 0.00 | 3.54 | 3.30 | 1.04 |
| 20 | 0.00 | 2.30 | 3.70 | 1.03 |
| 24 | 0.00 | 2.09 | 4.02 | 1.02 |
| 30 | 0.00 | 1.67 | 4.08 | 1.05 |
| 36 | 0.00 | 1.46 | 4.20 | 1.65 |
| 48 | 0.00 | 0.33 | 4.40 | 1..71 |
| แป้ง 2 % | | | | |
| 0 | 15.38 | 2.50 | 0.20 | 0.40 |
| 3 | 4.75 | 3.12 | 0.48 | 0.07 |
| 6 | 0.40 | 3.24 | 0.84 | 0.25 |
| 9 | 0.25 | 5.44 | 1.86 | 0.80 |
| 12 | 0.18 | 10.06 | 2.90 | 1.09 |
| 16 | 0.00 | 8.89 | 3.86 | 1.15 |
| 20 | 0.00 | 7.48 | 3.94 | 1.25 |
| 24 | 0.00 | 5.22 | 4.78 | 1.25 |
| 30 | 0.00 | 2.69 | 4.88 | 1.30 |
| 36 | 0.00 | 0.77 | 4.96 | 1.93 |
| 48 | 0.00 | 0.40 | 4.96 | 1.98 |

ตารางที่ 4.7 (ต่อ)

| เวลา (ชั่วโมง) | ปริมาณแป้ง (กรัมต่อลิตร) | ปริมาณน้ำตาล (กรัมต่อลิตร) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร) | ปริมาณโปรตีน (กรัมต่อลิตร) |
|---|---|---|---|---|
| แป้ง 3 % | | | | |
| 0 | 16.68 | 2.60 | 0.16 | 0.03 |
| 3 | 9.39 | 5.77 | 0.64 | 0.08 |
| 6 | 0.42 | 6.45 | 0.96 | 0.25 |
| 9 | 0.27 | 9.34 | 2.10 | 0.80 |
| 12 | 0.20 | 14.77 | 3.14 | 1.27 |
| 16 | 0.00 | 13.13 | 5.24 | 1.40 |
| 20 | 0.00 | 7.56 | 5.55 | 1.62 |
| 24 | 0.00 | 5.44 | 5.76 | 1.65 |
| 30 | 0.00 | 2.82 | 6.02 | 1.75 |
| 36 | 0.00 | 0.75 | 6.18 | 2.3 |
| 48 | 0.00 | 0.42 | 6.24 | 2.3 |
| แป้ง 4 % | | | | |
| 0 | 17.00 | 2.81 | 0.10 | 0.03 |
| 3 | 11.50 | 6.11 | 0.80 | 0.08 |
| 6 | 0.45 | 9.87 | 1.10 | 0.27 |
| 9 | 0.30 | 13.25 | 2.16 | 0.70 |
| 12 | 0.22 | 20.49 | 3.34 | 1.07 |
| 16 | 0.20 | 18.26 | 4.56 | 1.56 |
| 20 | 0.17 | 9.00 | 5.94 | 1.71 |
| 24 | 0.08 | 5.59 | 6.12 | 1.65 |
| 30 | 0.00 | 2.84 | 6.14 | 1.65 |
| 36 | 0.00 | 0.75 | 6.24 | 2.50 |
| 48 | 0.00 | 0.35 | 6.36 | 2.50 |



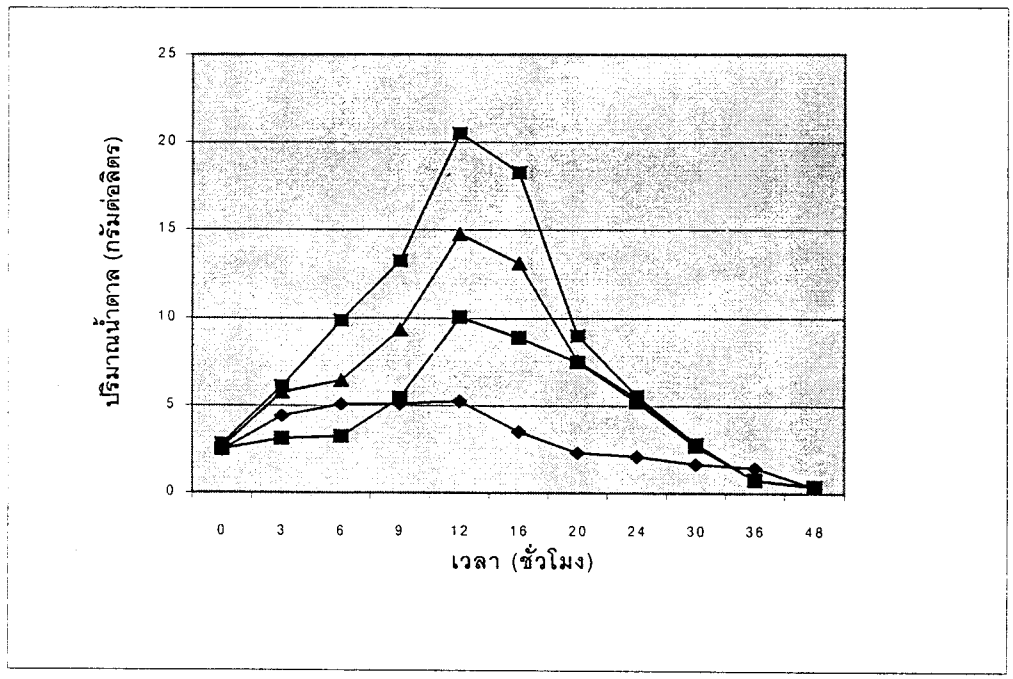

ก



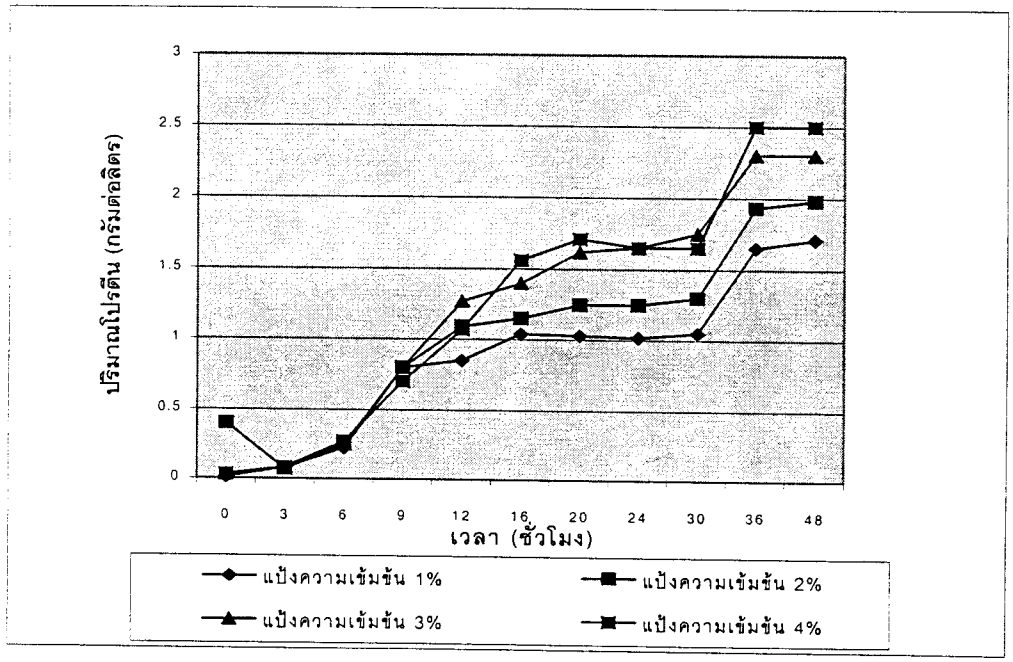

ข

**<u>รูปที่</u> 4.5** ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณแป้ง ปริมาณน้ำตาล และปริมาณโปรตีน กับเวลาในการเลี้ยงยีสต์ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ในสูตรอาหารที่มีแป้งความเข้มข้นต่าง ๆ กัน

ก. น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)
ข. ปริมาณแป้ง (กรัมต่อลิตร)
ค. ปริมาณน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)
ง. ปริมาณโปรตีน (กรัมต่อลิตร)


ปริมาณน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)
25
20
15
10
5
0
0 3 6 9 12 16 20 24 30 36 48
เวลา (ชั่วโมง)

ค


ปริมาณโปรตีน (กรัมต่อลิตร)
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
0 3 6 9 12 16 20 24 30 36 48
เวลา (ชั่วโมง)
แป้งความเข้มข้น 1%
แป้งความเข้มข้น 2%
แป้งความเข้มข้น 3%
แป้งความเข้มข้น 4%

ง

**รูปที่ 4.5 (ต่อ)**

## 4.5 ผลของชนิดและความเข้มข้นที่เหมาะสมของแหล่งไนโตรเจนต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

จากการเลี้ยงยีสต์ *S. Occidentalis* TISTR 5555 ในอาหารเหลวสูตร YM โดยมีการแปรผันแหล่งไนโตรเจน 4 แหล่ง คือ $(NH_4)_2SO_4$, NH4NO3 , Urea และ peptone ในความเข้มข้นแตกต่างกันอยู่ในช่วง 0 ถึง 1 % w/v นำไปบ่มในตู้เขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 60 ชั่วโมง และเก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์จำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาล ปริมาณโปรตีน และ pH ที่เปลี่ยนแปลงไป ได้ผลตามตารางที่ 4.8 ถึง 4.11 และรูปที่ 4.6 ถึง 4.9

ตารางที่ 4.8 และรูปที่ 4.6 แสดงผลของความเข้มข้นของ $(NH_4)_2SO_4$ ต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว จากผลการนับจำนวนเซลล์พบว่ายีสต์มีการเจริญอย่างรวดเร็วในช่วงเวลา 24 ชั่วโมงแรกของการเลี้ยง และมีจำนวนเซลล์สูงสุดที่เวลา 36 - 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นการเจริญจะเริ่มคงที่และลดลงในช่วงสุดท้ายของการทดลอง สูตรอาหารที่มี $(NH_4)_2SO_4$ ความเข้มข้น 0.75 % ให้จำนวนเซลล์สูงสุดคือ 214 x $10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ส่วนอาหารที่มี $(NH_4)_2SO_4$ ความเข้มข้น 0, 0.25, 0.5 และ 1.0 % ให้จำนวนเซลล์สูงสุดดังนี้คือ 170 x$10^8$, 190 x $10^8$, 200 x $10^8$ และ 200 x $10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

จากการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลที่มีอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่ายีสต์มีการย่อยแป้งไปเป็นน้ำตาลได้อย่างรวดเร็วภายใน 9 ชั่วโมงแรกของการเลี้ยง ทำให้ปริมาณน้ำตาลในอาหารเพิ่มมากขึ้นและมีปริมาณสูงสุดที่เวลา 12 - 16 ชั่วโมง โดยในอาหารที่มี $(NH_4)_2SO_4$ ความเข้มข้น 0.25 % มีปริมาณน้ำตาลในอาหารสูงที่สุดคือ 9.60 กรัมต่อลิตร ส่วนอาหารที่มี $(NH_4)_2SO_4$ ความเข้มข้น 0, 0.50, 0.75 และ 1.0 % มีปริมาณน้ำตาลในอาหารสูงสุดดังนี้คือ 8.78, 8.26, 7.80 และ 7.26 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ หลังจากนั้นปริมาณน้ำตาลจะค่อย ๆ ลดลง และเหลืออยู่น้อยมากเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ทั้งนี้เพราะยีสต์นำน้ำตาลที่เกิดขึ้นไปใช้เพื่อการเจริญและผลิตโปรตีน

จากการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน พบว่าปริมาณโปรตีนจะเริ่มเพิ่มขึ้นและมีปริมาณสูงสุดที่เวลา 36 - 48 ชั่วโมงของการเลี้ยง หลังจากนั้นปริมาณโปรตีนจะคงที่และเริ่มลดลง อาหารที่มี $(NH_4)_2SO_4$ ความเข้มข้น 0.75 % จะให้ปริมาณโปรตีนสูงสุดคือ 4.18 กรัมต่อลิตร ส่วนอาหารที่มี

$(NH_4)_2SO_4$ ความเข้มข้น 0, 0.25, 0.50 และ 1.0 % จะให้ปริมาณโปรตีนสูงสุดเท่ากับ 3.81, 3.91, 4.09 และ 4.00 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

สำหรับการวัด pH ที่เปลี่ยนแปลงไปที่เวลาต่าง ๆ กัน พบว่าการเปลี่ยนแปลงของ pH ในอาหารที่มี $(NH_4)_2SO_4$ ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน มีแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงในลักษณะเดียวกัน คือ pH จะลดลงในช่วงแรกของการเพาะเลี้ยงและต่ำสุดที่เวลา 48 ชั่วโมง หลังจากนั้น pH ค่อนข้างคงที่หรือเพิ่มขึ้นเล็กน้อย

**ตารางที่ 4.8** จำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาล ปริมาณโปรตีน และการเปลี่ยนแปลงของ pH ที่เวลาต่าง ๆ กัน ในการเลี้ยงยีสต์ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ในสูตรอาหารที่มี $(NH_4)_2SO_4$ เป็นแหล่งไนโตรเจนที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน

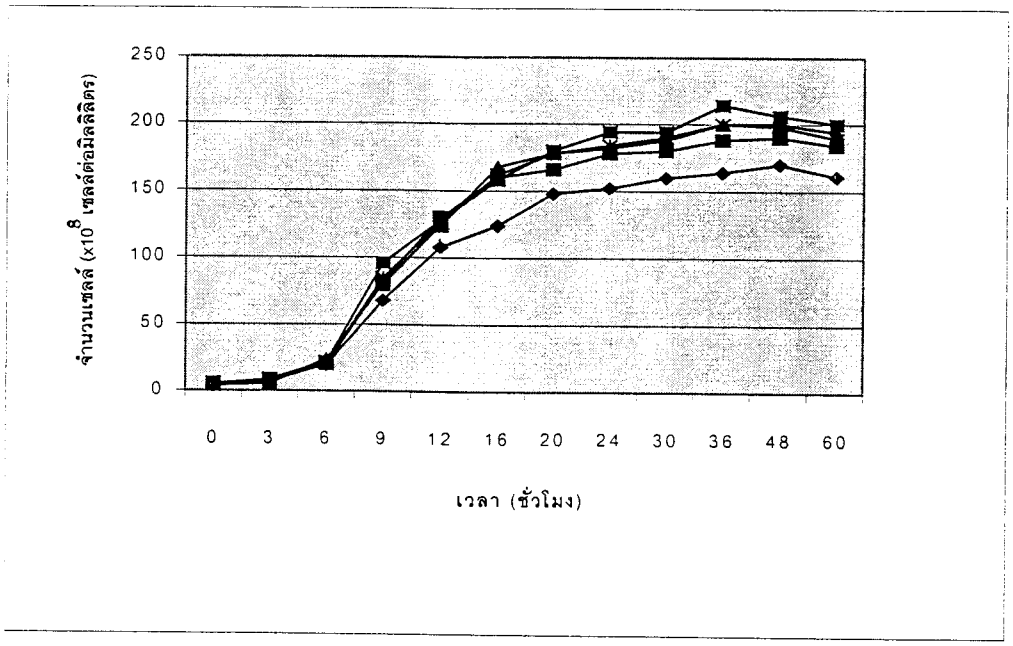
| เวลา (ชั่วโมง | จำนวนเซลล์ (x $10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) | ปริมาณน้ำตาล (กรัมต่อลิตร) | ปริมาณโปรตีน (กรัมต่อลิตร) | pH ที่เปลี่ยนแปลง |
|---|---|---|---|---|
| 0 % | | | | |
| 0 | 3.40 | 3.77 | 0.013 | 5.53 |
| 3 | 7.60 | 2.52 | 0.36 | 5.24 |
| 6 | 19.6 | 2.98 | 1.58 | 4.83 |
| 9 | 68 | 3.83 | 1.93 | 4.621 |
| 12 | 108 | 7.30 | 2.90 | 4.19 |
| 16 | 124 | 8.78 | 3.39 | 3.71 |
| 20 | 148 | 6.68 | 3.39 | 3.56 |
| 24 | 152 | 3.42 | 3.66 | 3.66 |
| 30 | 160 | 1.80 | 3.68 | 3.94 |
| 36 | 164 | 1.63 | 3.72 | 3.93 |
| 48 | 170 | 1.49 | 3.81 | 3.99 |
| 60 | 161 | 1.08 | 3.69 | 3.92 |

ตารางที่ 4.8 (ต่อ)

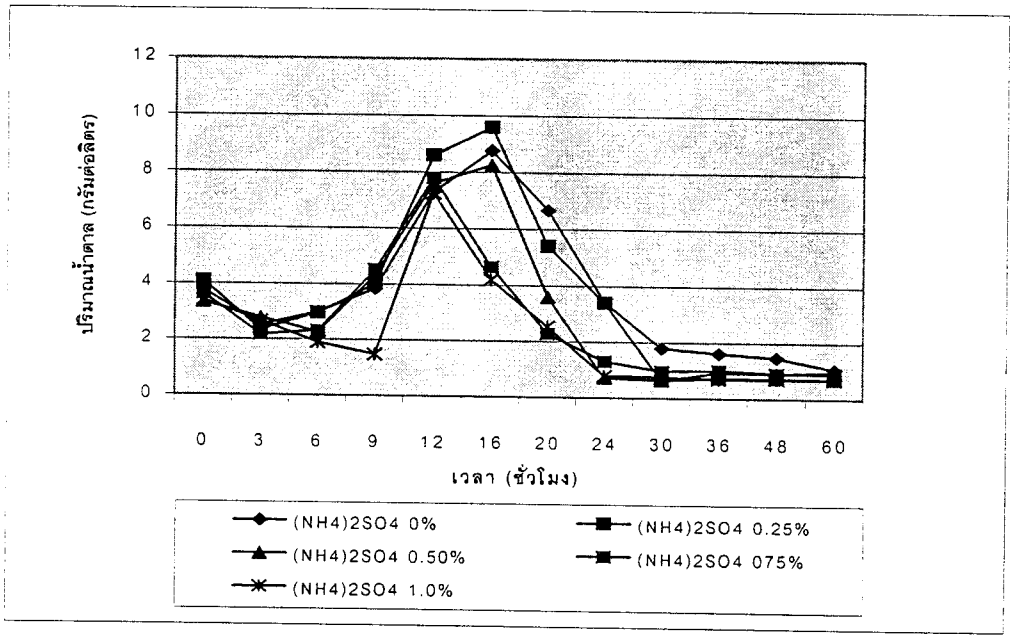
| เวลา (ชั่วโมง | จำนวนเซลล์ (x $10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) | ปริมาณน้ำตาล (กรัมต่อลิตร) | ปริมาณโปรตีน (กรัมต่อลิตร) | pH ที่เปลี่ยนแปลง |
|---|---|---|---|---|
| 0.25 % | | | | |
| 0 | 5.4 | 4.08 | 0.014 | 5.53 |
| 3 | 8.6 | 2.35 | 0.37 | 5.04 |
| 6 | 20 | 2.96 | 1.59 | 4.61 |
| 9 | 82 | 4.01 | 2.24 | 4.04 |
| 12 | 130 | 8.60 | 3.31 | 3.49 |
| 16 | 160 | 9.60 | 3.44 | 3.31 |
| 20 | 166 | 5.40 | 3.54 | 3.33 |
| 24 | 178 | 3.40 | 3.78 | 3.48 |
| 30 | 180 | 0.64 | 3.88 | 3.34 |
| 36 | 188 | 0.74 | 3.91 | 3.34 |
| 48 | 190 | 0.74 | 3.90 | 3.06 |
| 60 | 184 | 0.71 | 3.85 | 3.15 |
| 0.50 % | | | | |
| 0 | 4.20 | 3.34 | 0.011 | 5.55 |
| 3 | 5.60 | 2.78 | 0.37 | 4.99 |
| 6 | 24 | 2.28 | 1.53 | 4.62 |
| 9 | 80 | 4.31 | 2.31 | 4.13 |
| 12 | 124 | 7.60 | 3.48 | 3.55 |
| 16 | 168 | 8.26 | 3.73 | 3.33 |
| 20 | 178 | 3.58 | 3.86 | 3.23 |
| 24 | 182 | 0.73 | 3.92 | 3.31 |
| 30 | 188 | 0.64 | 3.99 | 3.16 |
| 36 | 200 | 0.94 | 4.09 | 3.17 |
| 48 | 200 | 0.91 | 4.08 | 2.95 |
| 60 | 194 | 0.97 | 3.95 | 3.08 |

ตารางที่ 4.8 (ต่อ)

| เวลา (ชั่วโมง | จำนวนเซลล์ (x $10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) | ปริมาณน้ำตาล (กรัมต่อลิตร) | ปริมาณโปรตีน (กรัมต่อลิตร) | pH ที่เปลี่ยนแปลง |
|---|---|---|---|---|
| 0.75 % | | | | |
| 0 | 40 | 3.62 | 0.011 | 5.52 |
| 3 | 8.8 | 2.18 | 0.37 | 4.95 |
| 6 | 22 | 2.32 | 1.64 | 4.55 |
| 9 | 96 | 4.52 | 2.23 | 4.14 |
| 12 | 128 | 7.80 | 3.54 | 3.64 |
| 16 | 158 | 4.65 | 3.78 | 3.35 |
| 20 | 180 | 2.29 | 3.88 | 3.26 |
| 24 | 194 | 1.31 | 3.91 | 3.31 |
| 30 | 194 | 0.99 | 4.04 | 3.24 |
| 36 | 214 | 1.02 | 4.14 | 3.25 |
| 48 | 206 | 0.93 | 4.18 | 3.05 |
| 60 | 200 | 0.92 | 4.00 | 3.22 |
| 1.0 % | | | | |
| 0 | 4.4 | 3.40 | 0.018 | 5.54 |
| 3 | 8.0 | 2.66 | 0.38 | 4.93 |
| 6 | 21 | 1.90 | 1.51 | 4.54 |
| 9 | 85 | 1.49 | 2.03 | 4.22 |
| 12 | 126 | 7.26 | 3.47 | 3.83 |
| 16 | 162 | 4.18 | 3.76 | 3.37 |
| 20 | 178 | 2.53 | 3.82 | 3.29 |
| 24 | 184 | 0.80 | 3.90 | 3.28 |
| 30 | 190 | 0.76 | 3.97 | 3.23 |
| 36 | 200 | 0.70 | 4.00 | 3.23 |
| 48 | 198 | 0.71 | 4.00 | 3.05 |
| 60 | 189 | 0.70 | 3.91 | 3.23 |




ก

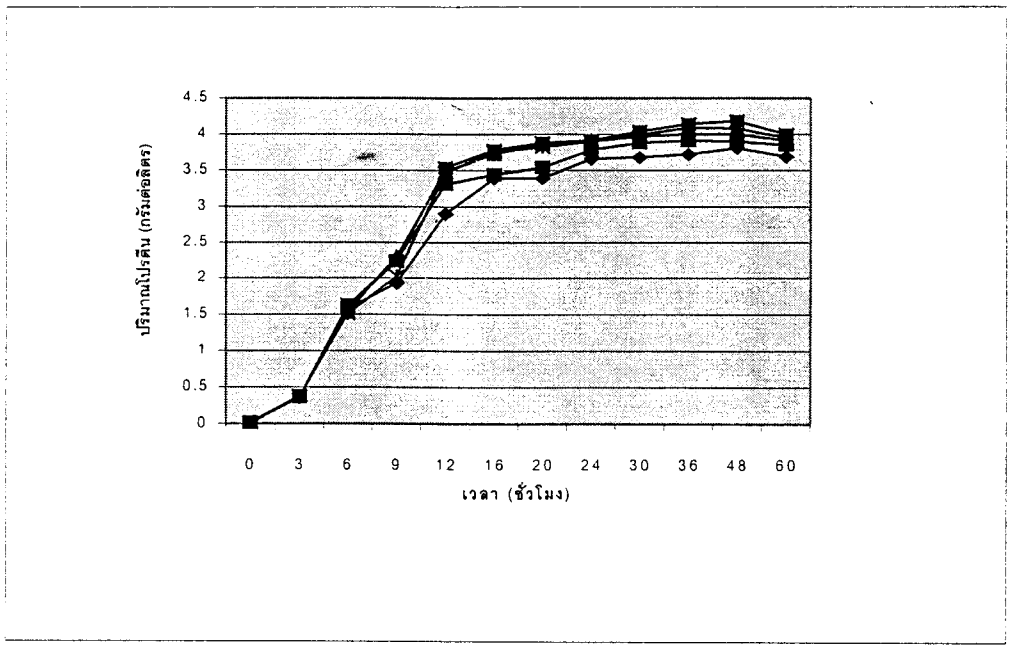



ข

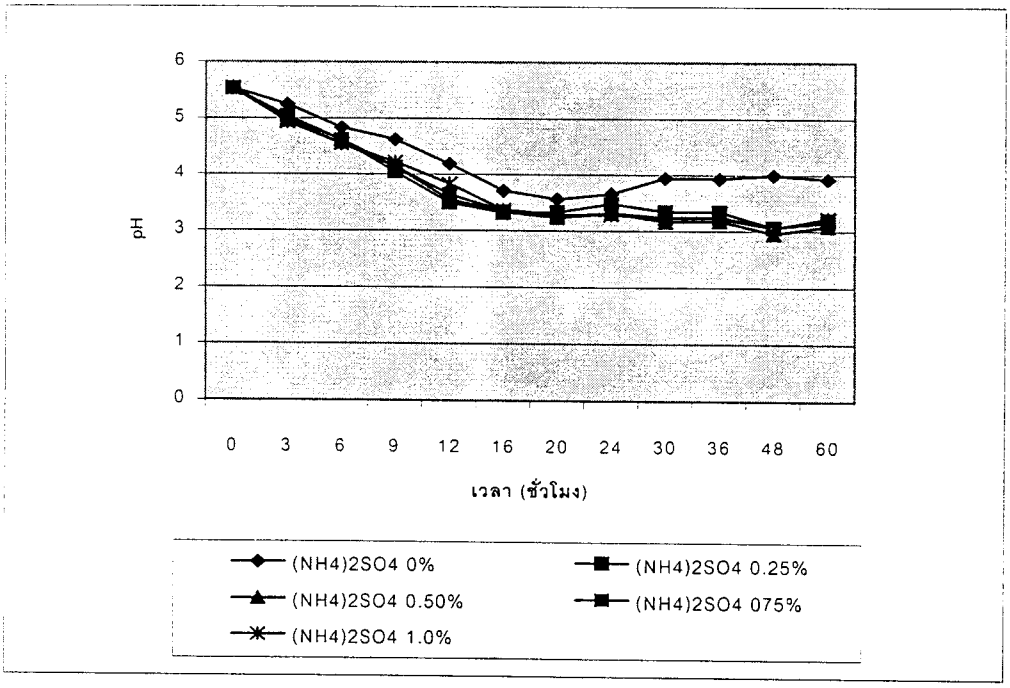
**รูปที่** 4.6 ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาล ปริมาณโปรตีน และการเปลี่ยนแปลงของ pH กับเวลา ในการเลี้ยงยีสต์ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ในสูตรอาหารที่มี $(NH_4)_2SO_4$ เป็นแหล่งไนโตรเจนที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน

ก. จำนวนเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) ข. ปริมาณน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)

ค. ปริมาณโปรตีน (กรัมต่อลิตร) ง. pH


ปริมาณโปรตีน (กรัมต่อลิตร)
4.5
4
3.5
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
0 3 6 9 12 16 20 24 30 36 48 60
เวลา (ชั่วโมง)

ค


pH
6
5
4
3
2
1
0
0 3 6 9 12 16 20 24 30 36 48 60
เวลา (ชั่วโมง)
(NH4)2SO4 0%
(NH4)2SO4 0.25%
(NH4)2SO4 0.50%
(NH4)2SO4 075%
(NH4)2SO4 1.0%

ง

**รูปที่** 4.6 (ต่อ)

ตารางที่ 4.9 และรูปที่ 4.7 แสดงผลของความเข้มข้นของ $NH_4NO_3$ ต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว จากผลการนับจำนวนเซลล์พบว่าเซลล์มีการเจริญอย่างรวดเร็วในช่วงเวลา 24 ชั่วโมงแรกของการเลี้ยงและมีจำนวนเซลล์สูงสุดที่เวลา 36 - 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นการเจริญจะเริ่มคงที่และลดลงในช่วงสุดท้ายของการทดลอง สูตรอาหารที่มี $NH_4NO_3$ ความเข้มข้น 0.50 % ให้จำนวนเซลล์สูงสุดคือ $252 \times 10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ส่วนอาหารที่มี $NH_4NO_3$ ความเข้มข้น 0, 0.25, 0.75 และ 1.0 % ให้จำนวนเซลล์สูงสุดดังนี้คือ $170 \times 10^8$, $210 \times 10^8$, $240 \times 10^8$ และ $208 \times 10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

จากการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลที่มีอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่ายีสต์มีการย่อยแป้งไปเป็นน้ำตาลได้อย่างรวดเร็วภายในระยะเวลา 9 ชั่วโมงแรกของการเลี้ยง ทำให้ปริมาณน้ำตาลในอาหารเพิ่มมากขึ้น และมีปริมาณสูงสุดที่เวลา 16 ชั่วโมง โดยในอาหารที่มี $NH_4NO_3$ ความเข้มข้น 0.25 % มีปริมาณน้ำตาลในอาหารสูงที่สุดคือ 12.56 กรัมต่อลิตร ส่วนอาหารที่มี $NH_4NO_3$ ความเข้มข้น 0, 0.50, 0.75 และ 1.0 % มีปริมาณน้ำตาลในอาหารสูงสุดดังนี้คือ 10.71, 11.50, 11.79 และ 10.67 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ หลังจากนั้นปริมาณน้ำตาลจะค่อย ๆ ลดลง และเหลืออยู่น้อยมากเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ทั้งนี้เพราะยีสต์นำน้ำตาลที่เกิดขึ้นไปใช้เพื่อการเจริญและผลิตโปรตีน

จากการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน พบว่าปริมาณโปรตีนจะเริ่มเพิ่มขึ้นและจะมีปริมาณสูงที่สุดที่เวลา 36 - 48 ชั่วโมงของการเลี้ยง หลังจากนั้นปริมาณโปรตีนจะคงที่และเริ่มลดลง อาหารที่มี $NH_4NO_3$ ความเข้มข้น 0.50 % จะให้ปริมาณโปรตีนสูงสุดคือ 4.73 กรัมต่อลิตร ส่วนอาหารที่มี $NH_4NO_3$ ความเข้มข้น 0, 0.25, 0.75 และ 1.0 % จะให้ปริมาณโปรตีนสูงสุดเท่ากับ 3.78, 4.64, 4.60 และ 4.52 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

สำหรับการวัด pH ที่เปลี่ยนแปลงไปที่เวลาต่าง ๆ กัน พบว่าการเปลี่ยนแปลงของ pH ในอาหารที่มี $NH_4NO_3$ ความเข้มข้นต่าง ๆ กันมีแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงในลักษณะเดียวกันคือ pH จะลดลงในช่วงแรกของการเพาะเลี้ยง และต่ำสุดที่เวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้น pH ค่อนข้างคงที่หรือเพิ่มขึ้นเล็กน้อย

**ตารางที่ 4.9** จำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาล ปริมาณโปรตีน และการเปลี่ยนแปลงของ pH ที่เวลาต่าง ๆ กัน ในการเลี้ยงยีสต์ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ในสูตรอาหารที่มี $NH_4NO_3$ เป็นแหล่งไนโตรเจนที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน

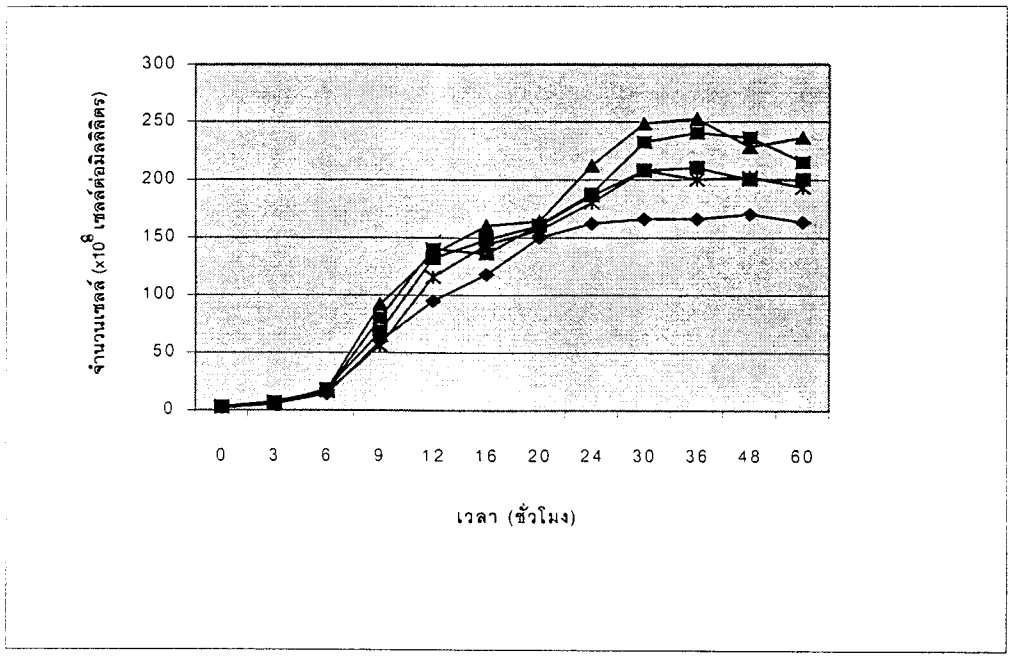
| เวลา (ชั่วโมง | จำนวนเซลล์ (x $10^9$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) | ปริมาณน้ำตาล (กรัมต่อลิตร) | ปริมาณโปรตีน (กรัมต่อลิตร) | pH ที่เปลี่ยนแปลง |
|---|---|---|---|---|
| 0 % | | | | |
| 0 | 1.9 | 2.48 | 0.006 | 5.52 |
| 3 | 5.60 | 2.82 | 0.016 | 5.41 |
| 6 | 14.20 | 1.29 | 1.040 | 5.26 |
| 9 | 60 | 3.65 | 2.130 | 4.85 |
| 12 | 95 | 7.17 | 2.97 | 4.57 |
| 16 | 118 | 10.52 | 3.345 | 4.30 |
| 20 | 150 | 10.71 | 3.39 | 3.55 |
| 24 | 162 | 2.69 | 3.59 | 3.52 |
| 30 | 166 | 0.76 | 3.74 | 3.89 |
| 36 | 166 | 0.79 | 3.70 | 4.58 |
| 48 | 170 | 0.83 | 3.78 | 4.52 |
| 60 | 163 | 0.83 | 3.69 | 4.13 |
| 0.25 % | | | | |
| 0 | 2.9 | 3.18 | 0.008 | 5.56 |
| 3 | 5.92 | 2.81 | 0.012 | 5.27 |
| 6 | 18 | 1.68 | 0.98 | 5.16 |
| 9 | 68 | 5.10 | 1.80 | 4.77 |
| 12 | 132 | 8.79 | 3.38 | 4.51 |
| 16 | 148 | 12.56 | 3.63 | 4.26 |
| 20 | 160 | 8.60 | 3.85 | 3.29 |
| 24 | 186 | 1.29 | 4.09 | 3.16 |
| 30 | 208 | 0.90 | 4.40 | 3.40 |
| 36 | 210 | 1.02 | 4.64 | 3.47 |
| 48 | 200 | 1.04 | 4.57 | 3.48 |
| 60 | 200 | 0.92 | 4.53 | 3.30 |

ตารางที่ 4.9 (ต่อ)

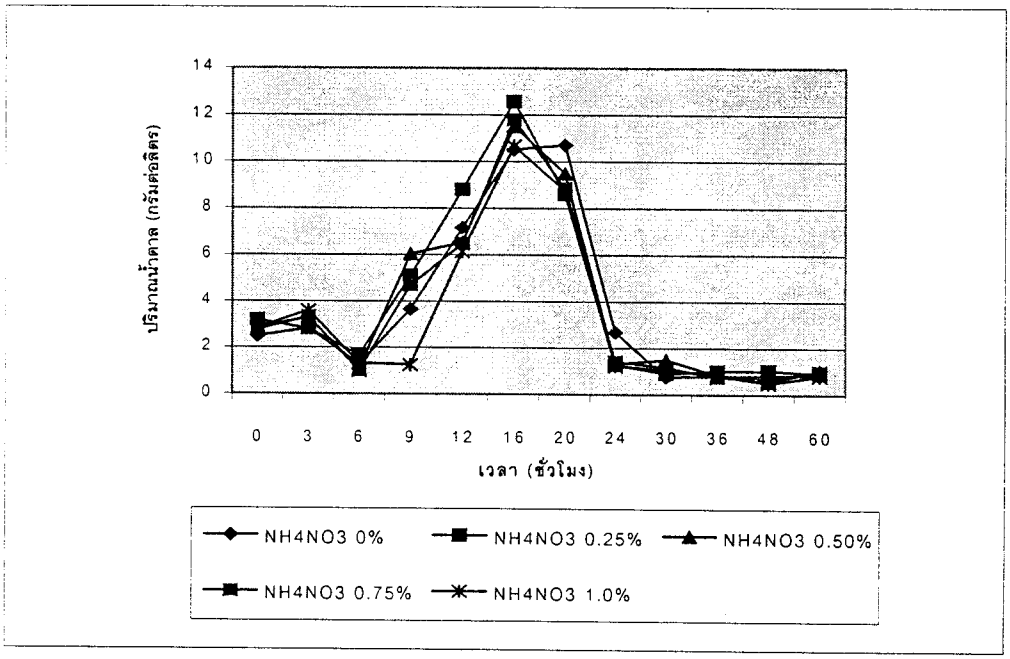
| เวลา (ชั่วโมง | จำนวนเซลล์ (x $10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) | ปริมาณน้ำตาล (กรัมต่อลิตร) | ปริมาณโปรตีน (กรัมต่อลิตร) | pH ที่เปลี่ยนแปลง |
|---|---|---|---|---|
| 0.50 % | | | | |
| 0 | 2.7 | 2.85 | 0.004 | 5.58 |
| 3 | 4.88 | 3.29 | 0.009 | 5.19 |
| 6 | 18 | 1.07 | 1.02 | 5.08 |
| 9 | 92 | 6.04 | 2.04 | 4.71 |
| 12 | 136 | 6.52 | 3.61 | 4.46 |
| 16 | 160 | 11.50 | 3.79 | 4.23 |
| 20 | 164 | 9.50 | 4.05 | 3.35 |
| 24 | 212 | 1.33 | 4.14 | 3.18 |
| 30 | 248 | 1.50 | 4.48 | 3.47 |
| 36 | 252 | 0.85 | 4.73 | 3.49 |
| 48 | 228 | 0.58 | 4.68 | 3.49 |
| 60 | 236 | 1.06 | 4.54 | 3.36 |
| 0.75 % | | | | |
| 0 | 3.1 | 2.77 | 0.005 | 5.55 |
| 3 | 7.20 | 3.33 | 0.017 | 5.17 |
| 6 | 17 | 1.00 | 1.00 | 5.06 |
| 9 | 80 | 4.69 | 1.87 | 4.67 |
| 12 | 140 | 6.48 | 3.23 | 4.46 |
| 16 | 136 | 11.79 | 3.51 | 4.32 |
| 20 | 161 | 8.88 | 3.94 | 3.46 |
| 24 | 188 | 1.42 | 4.09 | 3.23 |
| 30 | 232 | 1.19 | 4.31 | 3.55 |
| 36 | 240 | 0.75 | 4.57 | 3.53 |
| 48 | 236 | 0.67 | 4.60 | 3.49 |
| 60 | 215 | 1.02 | 4.52 | 3.41 |

ตารางที่ 4.9 (ต่อ)

| เวลา (ชั่วโมง | จำนวนเซลล์ (x $10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) | ปริมาณน้ำตาล (กรัมต่อลิตร) | ปริมาณโปรตีน (กรัมต่อลิตร) | pH ที่เปลี่ยนแปลง |
|---|---|---|---|---|
| 0.10 % | | | | |
| 0 | 2.2 | 2.85 | 0.006 | 5.50 |
| 3 | 5.68 | 3.59 | 0.024 | 5.15 |
| 6 | 16 | 1.32 | 1.02 | 5.03 |
| 9 | 56 | 1.25 | 1.94 | 4.66 |
| 12 | 116 | 6.13 | 3.25 | 4.45 |
| 16 | 144 | 10.67 | 3.40 | 4.34 |
| 20 | 156 | 8.75 | 3.77 | 3.50 |
| 24 | 180 | 1.23 | 3.91 | 3.32 |
| 30 | 208 | 1.06 | 4.18 | 3.70 |
| 36 | 200 | 0.83 | 4.52 | 3.69 |
| 48 | 202 | 0.48 | 4.16 | 3.42 |
| 60 | 193 | 0.81 | 4.10 | 3.40 |




ก

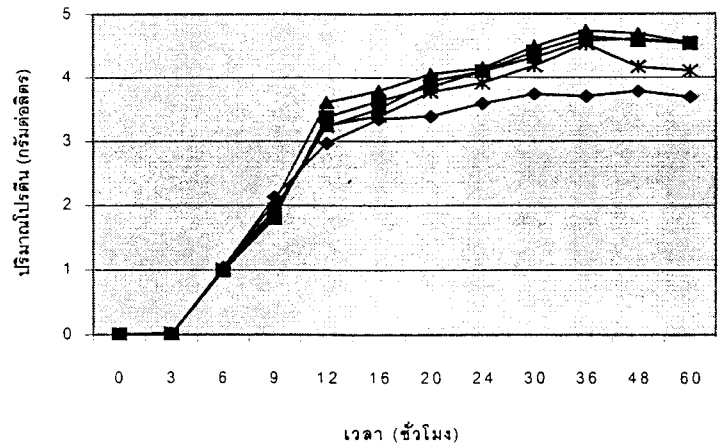



ข

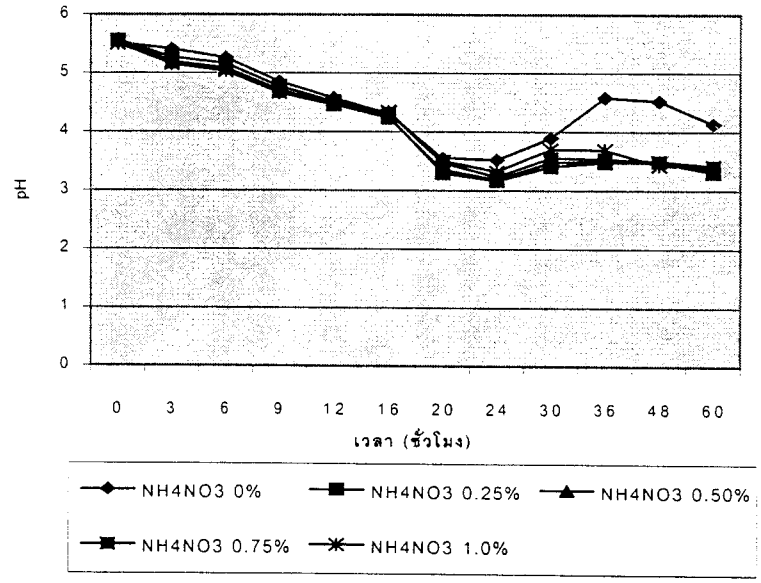
**<u>รูปที่</u>** 4.7 ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาล ปริมาณโปรตีน และการเปลี่ยนแปลงของ pH กับเวลา ในการเลี้ยงยีสต์ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ในสูตรอาหารที่มี $NH_4NO_3$ เป็นแหล่งไนโตรเจนที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน

ก. จำนวนเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) ข. ปริมาณน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)

ค. ปริมาณโปรตีน (กรัมต่อลิตร) ง. pH




ค




ง

<u>รูปที่ 4.7</u> (ต่อ)

ตารางที่ 4.10 และรูปที่ 4.8 แสดงผลของความเข้มข้นของ urea ต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว จากผลการนับจำนวนเซลล์พบว่ายีสต์มีการเจริญอย่างรวดเร็วในช่วงเวลา 20 ชั่วโมงแรกของการเลี้ยง และมีจำนวนเซลล์สูงสุดที่เวลาดังกล่าวนี้ หลังจากนั้นการเจริญจะเริ่มคงที่และลดลงในช่วงสุดท้ายของการทดลอง สูตรอาหารที่มี urea ความเข้มข้น 0.25 % ให้จำนวนเซลล์สูงสุดคือ 196 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ส่วนอาหารที่มี urea ความเข้มข้น 0, 0.50, 0.75 และ 1.0 % ให้จำนวนเซลล์สูงสุดดังนี้คือ $152 \times 10^8$, $168 \times 10^8$, $168 \times 10^8$ และ $146 \times 10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

จากการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลที่มีอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อพบว่ายีสต์มีการย่อยแป้งไปเป็นน้ำตาลได้อย่างรวดเร็วภายใน 9 ชั่วโมงแรกของการเลี้ยง ทำให้ปริมาณน้ำตาลในอาหารเพิ่มมากขึ้นและมีปริมาณสูงสุดที่เวลา 12 ชั่วโมง โดยในอาหารที่มี urea ความเข้มข้น 0.25 % มีปริมาณน้ำตาลในอาหารสูงที่สุดคือ 8.90 กรัมต่อลิตร ส่วนอาหารที่มี urea ความเข้มข้น 0, 0.50, 0.75 และ 1.0 % มีปริมาณน้ำตาลในอาหารสูงสุดดังนี้คือ 8.49, 8.73, 8.25 และ 8.81 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ หลังจากนั้นปริมาณน้ำตาลจะค่อย ๆ ลดลง และเหลืออยู่น้อยมากเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ทั้งนี้เพราะยีสต์นำไปใช้เพื่อการเจริญและผลิตโปรตีน

จากการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน พบว่าปริมาณโปรตีนจะเริ่มเพิ่มขึ้นและมีปริมาณสูงสุดที่เวลา 24 - 30 ชั่วโมงของการเลี้ยง หลังจากนั้นปริมาณโปรตีนจะคงที่และเริ่มลดลง อาหารที่มี urea ความเข้มข้น 0.25 % จะให้ปริมาณโปรตีนสูงสุดคือ 4.00 กรัมต่อลิตร ส่วนอาหารที่มี urea ความเข้มข้น 0, 0.50, 0.75 และ 1.0 % จะให้ปริมาณโปรตีนสูงสุด เท่ากับ 3.69, 3.78, 3.69 และ 3.68 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

สำหรับการวัด pH ที่เปลี่ยนแปลงไปที่เวลาต่าง ๆ กันพบว่าการเปลี่ยนแปลงของ pH ในอาหารที่มี urea ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน มีแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงในลักษณะเดียวกันคือ pH จะลดลงในช่วงแรกของการเลี้ยง หลังจากนั้น pH ค่อนข้างคงที่และมีค่าเพิ่มขึ้นอีกครั้งในช่วงท้ายของการเพาะเลี้ยง

**ตารางที่ 4.10** จำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาล ปริมาณโปรตีน และการเปลี่ยนแปลงของ pH ที่เวลาต่าง ๆ กัน ในการเลี้ยงยีสต์ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ในสูตรอาหารที่มี urea เป็นแหล่งไนโตรเจนที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน

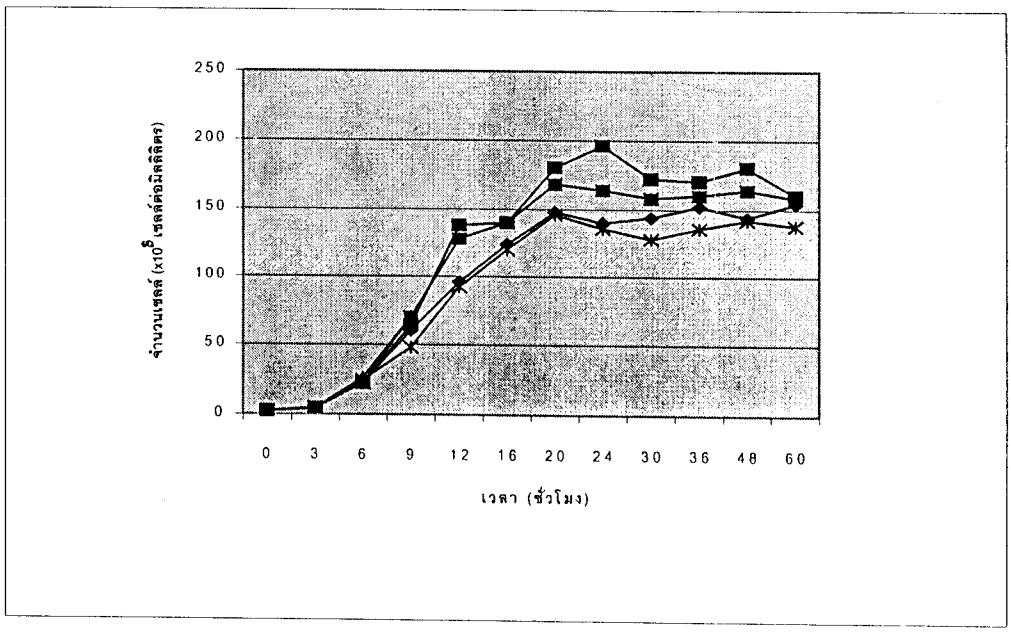
| เวลา (ชั่วโมง | จำนวนเซลล์ (x $10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) | ปริมาณน้ำตาล (กรัมต่อลิตร) | ปริมาณโปรตีน (กรัมต่อลิตร) | pH ที่เปลี่ยนแปลง |
|---|---|---|---|---|
| 0 % | | | | |
| 0 | 2.6 | 3.82 | 0.08 | 5.58 |
| 3 | 4.40 | 2.36 | 0.38 | 5.38 |
| 6 | 22 | 1.60 | 1.80 | 4.79 |
| 9 | 60 | 6.95 | 2.18 | 4.60 |
| 12 | 96 | 8.49 | 2.88 | 4.22 |
| 16 | 124 | 6.28 | 3.20 | 3.95 |
| 20 | 148 | 2.47 | 3.36 | 3.89 |
| 24 | 140 | 1.32 | 3.55 | 3.50 |
| 30 | 144 | 1.12 | 3.64 | 3.56 |
| 36 | 152 | 1.44 | 3.69 | 4.47 |
| 48 | 144 | 1.28 | 3.52 | 4.68 |
| 60 | 154 | 1.11 | 3.47 | 4.45 |
| 0.25 % | | | | |
| 0 | 2.4 | 4.26 | 0.07 | 5.55 |
| 3 | 4.4 | 1.84 | 0.37 | 5.42 |
| 6 | 22 | 1.57 | 1.94 | 4.84 |
| 9 | 64 | 8.54 | 2.50 | 4.48 |
| 12 | 138 | 8.90 | 3.42 | 4.58 |
| 16 | 140 | 5.92 | 3.94 | 4.75 |
| 20 | 180 | 2.81 | 3.94 | 4.90 |
| 24 | 196 | 0.39 | 4.00 | 4.55 |
| 30 | 172 | 0.38 | 3.95 | 5.11 |
| 36 | 170 | 0.47 | 3.86 | 6.76 |
| 48 | 180 | 0.61 | 3.63 | 6.76 |
| 60 | 160 | 0.66 | 3.60 | 6.66 |

ตารางที่ 4.10 (ต่อ)

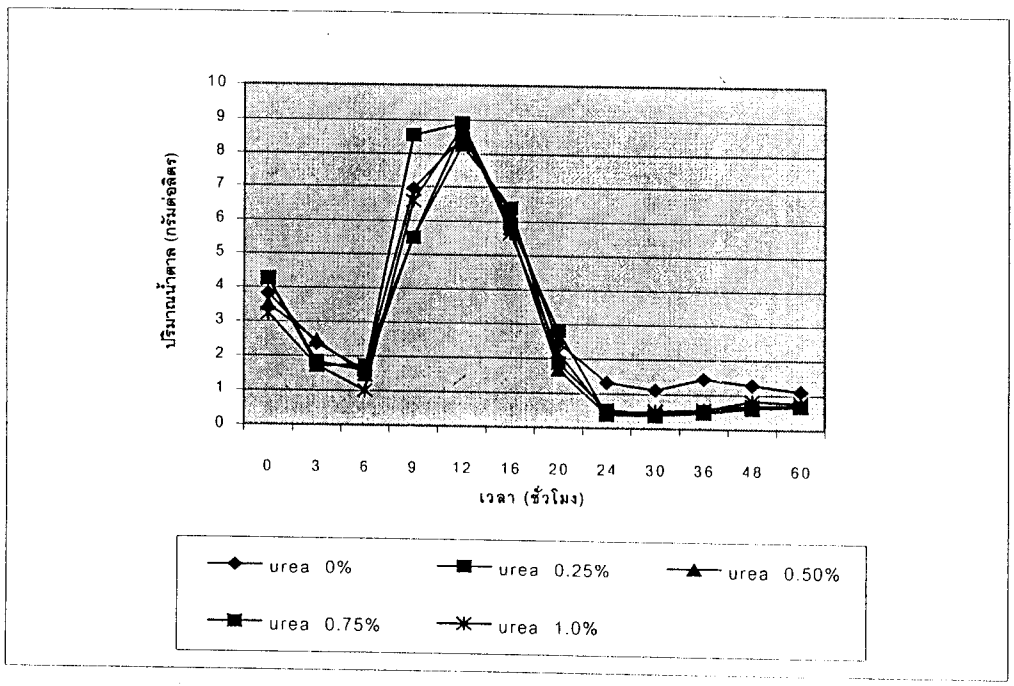
| เวลา (ชั่วโมง | จำนวนเซลล์ (x $10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) | ปริมาณน้ำตาล (กรัมต่อลิตร) | ปริมาณโปรตีน (กรัมต่อลิตร) | pH ที่เปลี่ยนแปลง |
|---|---|---|---|---|
| 0.50 % | | | | |
| 0 | 2.3 | 3.50 | 0.08 | 5.59 |
| 3 | 4.64 | 2.45 | 0.38 | 5.43 |
| 6 | 26 | 1.47 | 1.81 | 4.89 |
| 9 | 70 | 5.51 | 2.13 | 4.57 |
| 12 | 128 | 8.73 | 3.24 | 4.65 |
| 16 | 140 | 5.79 | 3.56 | 4.80 |
| 20 | 168 | 1.68 | 3.56 | 4.85 |
| 24 | 164 | 0.40 | 3.74 | 4.52 |
| 30 | 158 | 0.43 | 3.78 | 5.24 |
| 36 | 160 | 0.49 | 3.77 | 6.80 |
| 48 | 164 | 0.61 | 3.68 | 6.83 |
| 60 | 158 | 0.71 | 3.73 | 6.63 |
| 0.75 % | | | | |
| 0 | 2.3 | 4.23 | 0.07 | 5.55 |
| 3 | 4.80 | 1.70 | 0.37 | 5.49 |
| 6 | 22 | 1.75 | 1.72 | 4.94 |
| 9 | 70 | 5.50 | 2.05 | 4.64 |
| 12 | 128 | 8.25 | 3.24 | 4.73 |
| 16 | 140 | 6.40 | 3.32 | 4.91 |
| 20 | 168 | 1.87 | 3.48 | 5.02 |
| 24 | 164 | 0.54 | 3.69 | 4.70 |
| 30 | 158 | 0.41 | 3.67 | 5.68 |
| 36 | 160 | 0.55 | 3.66 | 6.93 |
| 48 | 164 | 0.69 | 3.54 | 6.91 |
| 60 | 158 | 0.68 | 3.36 | 6.66 |

ตารางที่ 4.10 (ต่อ)

| เวลา (ชั่วโมง | จำนวนเซลล์ (x $10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) | ปริมาณน้ำตาล (กรัมต่อลิตร) | ปริมาณโปรตีน (กรัมต่อลิตร) | pH ที่เปลี่ยนแปลง |
|---|---|---|---|---|
| 1.0 % | | | | |
| 0 | 2.2 | 3.23 | 0.07 | 5.55 |
| 3 | 4.0 | 1.72 | 0.37 | 5.49 |
| 6 | 24 | 1.01 | 1.61 | 5.00 |
| 9 | 48 | 6.57 | 2.30 | 4.68 |
| 12 | 92 | 8.81 | 3.24 | 4.79 |
| 16 | 120 | 5.65 | 3.49 | 4.98 |
| 20 | 146 | 2.17 | 3.42 | 5.36 |
| 24 | 136 | 0.43 | 3.62 | 5.15 |
| 30 | 128 | 0.51 | 3.68 | 6.27 |
| 36 | 136 | 0.56 | 3.59 | 6.93 |
| 48 | 142 | 0.82 | 3.48 | 6.95 |
| 60 | 138 | 0.77 | 3.37 | 6.65 |



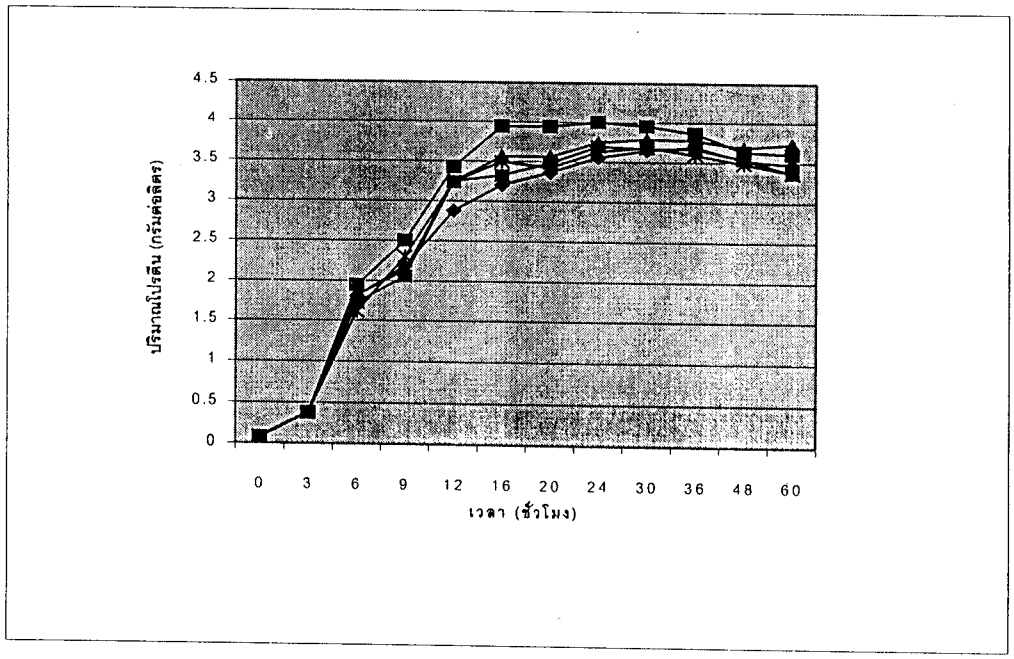

ก



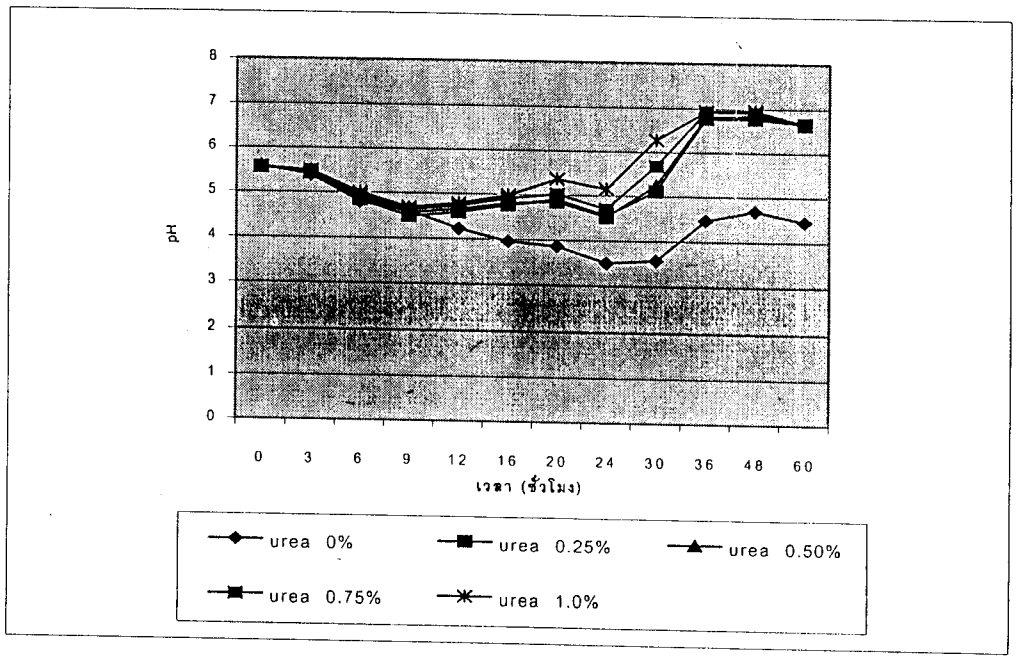

ข

**ตารางที่ 4.8** ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาล ปริมาณโปรตีน และการเปลี่ยนแปลงของ pH ที่เวลาต่าง ๆ กัน ในการเลี้ยงยีสต์ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ในสูตรอาหารที่มี urea เป็นแหล่งไนโตรเจนที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน

ก. จำนวนเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)
ข. ปริมาณน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)
ค. ปริมาณโปรตีน (กรัมต่อลิตร)
ง. pH




ค




ง

<u>รูปที่ 4.8</u> (ต่อ)

ตารางที่ 4.11 และรูปที่ 4.9 แสดงผลของความเข้มข้นของ peptone ต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว จากผลการนับจำนวนเซลล์พบว่ายีสต์มีการเจริญอย่างรวดเร็วในช่วงเวลา 24 ชั่วโมงแรกของการเลี้ยง และมีจำนวนเซลล์สูงสุดที่เวลา 30 - 36 ชั่วโมง หลังจากนั้นการเจริญจะเริ่มคงที่และลดลงในช่วงสุดท้ายของการเลี้ยง สูตรอาหารที่มี peptone ความเข้มข้น 1.0 % ให้จำนวนเซลล์สูงสุดคือ 188 x $10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ส่วนอาหารที่มี peptone ความเข้มข้น 0, 0.25, 0.50 และ 0.75 % ให้จำนวนเซลล์สูงสุดดังนี้คือ 168 x $10^8$, 176 x $10^8$, 184 x $10^8$ และ 186 x $10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

จากการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลที่มีอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อพบว่ายีสต์มีการย่อยแป้งไปเป็นน้ำตาลได้อย่างรวดเร็วภายใน 9 ชั่วโมงแรกของการเลี้ยง ทำให้ปริมาณน้ำตาลในอาหารเพิ่มมากขึ้นและมีปริมาณสูงสุดที่เวลา 20 ชั่วโมง โดยในอาหารที่มี peptone ความเข้มข้น 0.75 % มีปริมาณน้ำตาลในอาหารสูงที่สุดคือ 10.13 กรัมต่อลิตร ส่วนอาหารที่มี peptone ความเข้มข้น 0, 0.25, 0.50 และ 1.0 % มีปริมาณน้ำตาลในอาหารสูงสุดดังนี้คือ 7.36, 9.14, 9.96 และ 9.79 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ หลังจากนั้นปริมาณน้ำตาลจะค่อย ๆ ลดลง และเหลืออยู่น้อยมากเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ทั้งนี้เพราะยีสต์นำไปใช้เพื่อการเจริญและผลิตโปรตีน

จากการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน พบว่าปริมาณโปรตีนจะเริ่มเพิ่มขึ้นและมีปริมาณสูงสุดที่เวลา 30 - 48 ชั่วโมงของการเลี้ยง หลังจากนั้นปริมาณโปรตีนจะคงที่และเริ่มลดลง อาหารที่มี peptone ความเข้มข้น 0.75 % จะให้ปริมาณโปรตีนสูงสุดคือ 3.99 กรัมต่อลิตร ส่วนอาหารที่มี peptone ความเข้มข้น 0, 0.25, 0.50 และ 1.0 % จะให้ปริมาณโปรตีนสูงสุด เท่ากับ 3.80, 3.89, 3. 95 และ 3.97 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

สำหรับการวัด pH ที่เปลี่ยนแปลงไปที่เวลาต่าง ๆ กันพบว่าการเปลี่ยนแปลงของ pH ในอาหารที่มี peptone ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน มีแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงในลักษณะเดียวกันคือ pH จะลดลงในช่วงแรกของการเพาะเลี้ยง และต่ำสุดที่เวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้น pH ค่อนข้างคงที่และเพิ่มขึ้นในช่วงท้ายของการเลี้ยง

<u>ตารางที่ 4.11</u> จำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาล ปริมาณโปรตีน และการเปลี่ยนแปลงของ pH ที่เวลาต่าง ๆ กัน ในการเลี้ยงยีสต์ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ในสูตรอาหารที่มี peptone เป็นแหล่งไนโตรเจนที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน

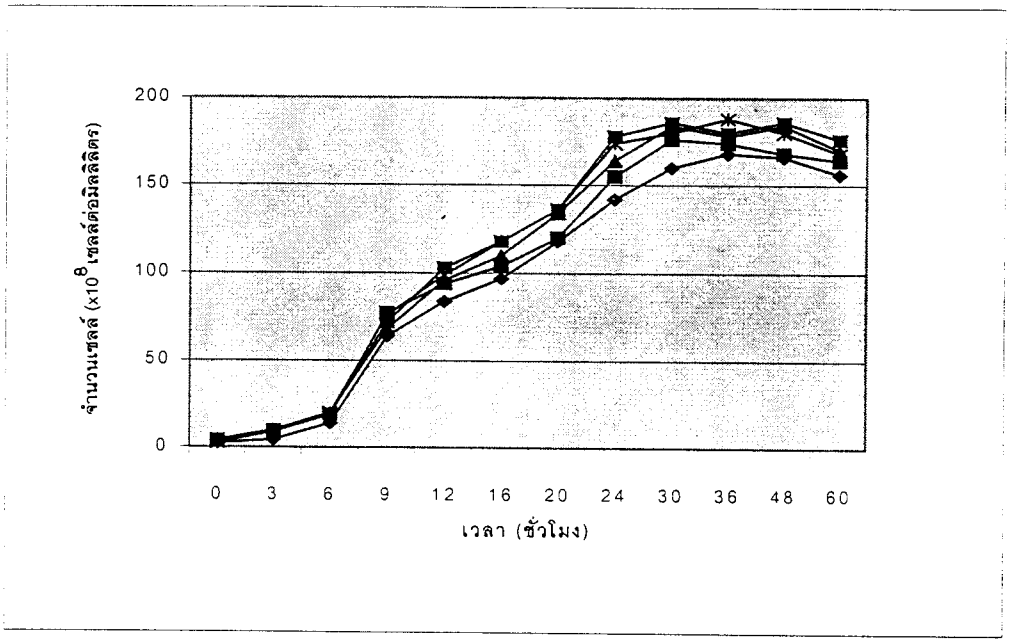
| เวลา (ชั่วโมง | จำนวนเซลล์ (x $10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) | ปริมาณน้ำตาล (กรัมต่อลิตร) | ปริมาณโปรตีน (กรัมต่อลิตร) | pH ที่เปลี่ยนแปลง |
|---|---|---|---|---|
| <u>0</u> % | | | | |
| 0 | 2.28 | 2.47 | 0.04 | 5.75 |
| 3 | 4.40 | 2.27 | 0.14 | 5.52 |
| 6 | 14.00 | 3.22 | 1.08 | 4.90 |
| 9 | 64.00 | 4.25 | 1.69 | 4.40 |
| 12 | 84.00 | 7.36 | 1.94 | 4.13 |
| 16 | 97.00 | 7.17 | 2.64 | 3.71 |
| 20 | 118.00 | 6.25 | 3.07 | 3.37 |
| 24 | 142.00 | 2.19 | 3.67 | 3.41 |
| 30 | 160.00 | 1.81 | 3.68 | 4.17 |
| 36 | 168.00 | 1.34 | 3.80 | 4.17 |
| 48 | 166.00 | 1.07 | 3.78 | 4.23 |
| 60 | 156.00 | 0.41 | 3.59 | 4.11 |
| <u>0.25</u> % | | | | |
| 0 | 3.80 | 3.06 | 0.05 | 5.65 |
| 3 | 9.60 | 2.57 | 0.19 | 5.54 |
| 6 | 19.00 | 2.48 | 1.37 | 5.12 |
| 9 | 77.00 | 4.40 | 1.82 | 4.63 |
| 12 | 94.00 | 8.68 | 2.16 | 4.48 |
| 16 | 104.00 | 9.03 | 2.99 | 4.15 |
| 20 | 120.00 | 9.14 | 3.41 | 3.66 |
| 24 | 155.00 | 2.81 | 3.86 | 3.53 |
| 30 | 176.00 | 0.54 | 3.89 | 3.76 |
| 36 | 174.00 | 0.59 | 3.86 | 4.31 |
| 48 | 168.00 | 0.67 | 3.83 | 4.30 |
| 60 | 164.00 | 0.57 | 3.86 | 4.15 |

ตารางที่ 4.11 (ต่อ)

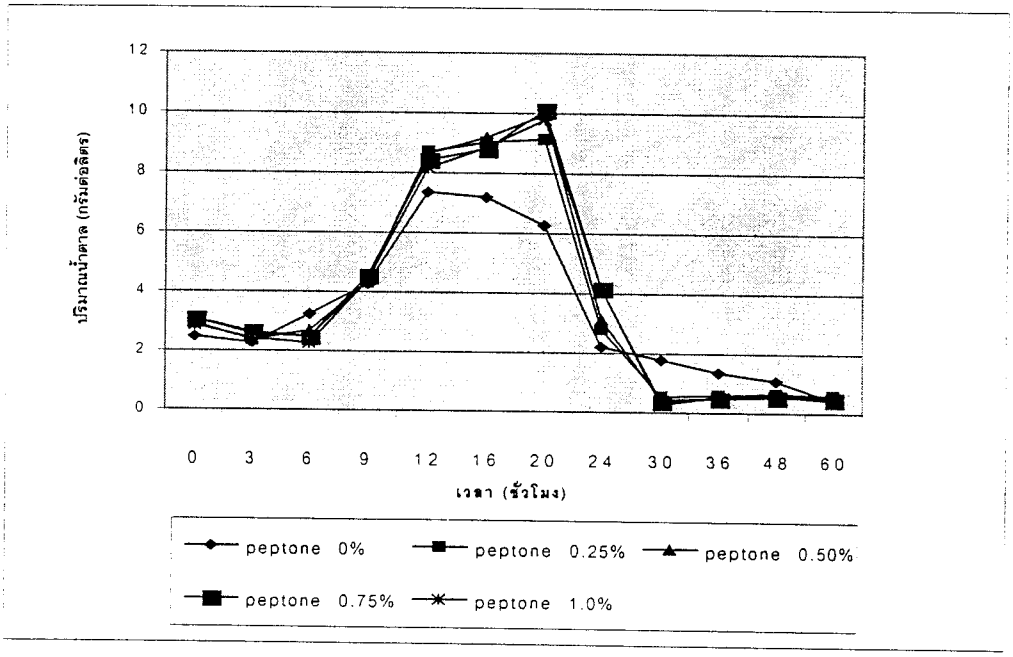
| เวลา (ชั่วโมง | จำนวนเซลล์ (x $10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) | ปริมาณน้ำตาล (กรัมต่อลิตร) | ปริมาณโปรตีน (กรัมต่อลิตร) | pH ที่เปลี่ยนแปลง |
|---|---|---|---|---|
| 0.50 % | | | | |
| 0 | 4.20 | 2.92 | 0.06 | 5.69 |
| 3 | 10.00 | 2.40 | 0.22 | 5.59 |
| 6 | 20.00 | 2.69 | 1.33 | 5.25 |
| 9 | 68.00 | 4.32 | 1.81 | 4.78 |
| 12 | 96.00 | 8.63 | 2.23 | 4.61 |
| 16 | 110.00 | 9.19 | 3.02 | 4.36 |
| 20 | 134.00 | 9.96 | 3.61 | 3.93 |
| 24 | 164.00 | 3.16 | 3.90 | 3.77 |
| 30 | 184.00 | 0.44 | 3.94 | 3.95 |
| 36 | 178.00 | 0.50 | 3.93 | 4.53 |
| 48 | 184.00 | 0.52 | 3.93 | 4.61 |
| 60 | 170.00 | 0.57 | 3.95 | 4.38 |
| 0.75 % | | | | |
| 0 | 4.40 | 3.06 | 0.07 | 5.67 |
| 3 | 9.00 | 2.64 | 0.22 | 5.56 |
| 6 | 19.00 | 2.46 | 1.26 | 5.29 |
| 9 | 72.00 | 4.55 | 1.80 | 4.89 |
| 12 | 103.00 | 8.42 | 2.36 | 4.68 |
| 16 | 118.00 | 8.80 | 3.30 | 4.48 |
| 20 | 136.00 | 10.13 | 3.68 | 4.09 |
| 24 | 178.00 | 4.15 | 3.95 | 3.90 |
| 30 | 186.00 | 0.38 | 3.96 | 4.06 |
| 36 | 180.00 | 0.49 | 3.94 | 4.57 |
| 48 | 186.00 | 0.55 | 3.99 | 4.75 |
| 60 | 176.00 | 0.47 | 3.93 | 4.49 |

ตารางที่ 4.11 (ต่อ)

| เวลา (ชั่วโมง | จำนวนเซลล์ (x $10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) | ปริมาณน้ำตาล (กรัมต่อลิตร) | ปริมาณโปรตีน (กรัมต่อลิตร) | pH ที่เปลี่ยนแปลง |
|---|---|---|---|---|
| 1.0 % | | | | |
| 0 | 2.60 | 2.88 | 0.05 | 5.73 |
| 3 | 9.00 | 2.41 | 0.14 | 5.64 |
| 6 | 20.00 | 2.27 | 1.34 | 5.39 |
| 9 | 76.00 | 4.37 | 1.94 | 5.02 |
| 12 | 99.00 | 8.16 | 2.37 | 4.80 |
| 16 | 118.00 | 8.85 | 3.47 | 4.56 |
| 20 | 136.00 | 9.79 | 3.66 | 4.24 |
| 24 | 174.00 | 4.14 | 3.90 | 4.08 |
| 30 | 180.00 | 0.29 | 3.93 | 4.22 |
| 36 | 188.00 | 0.55 | 3.97 | 4.82 |
| 48 | 180.00 | 0.58 | 3.93 | 5.19 |
| 60 | 168.00 | 0.44 | 3.84 | 4.92 |




ก

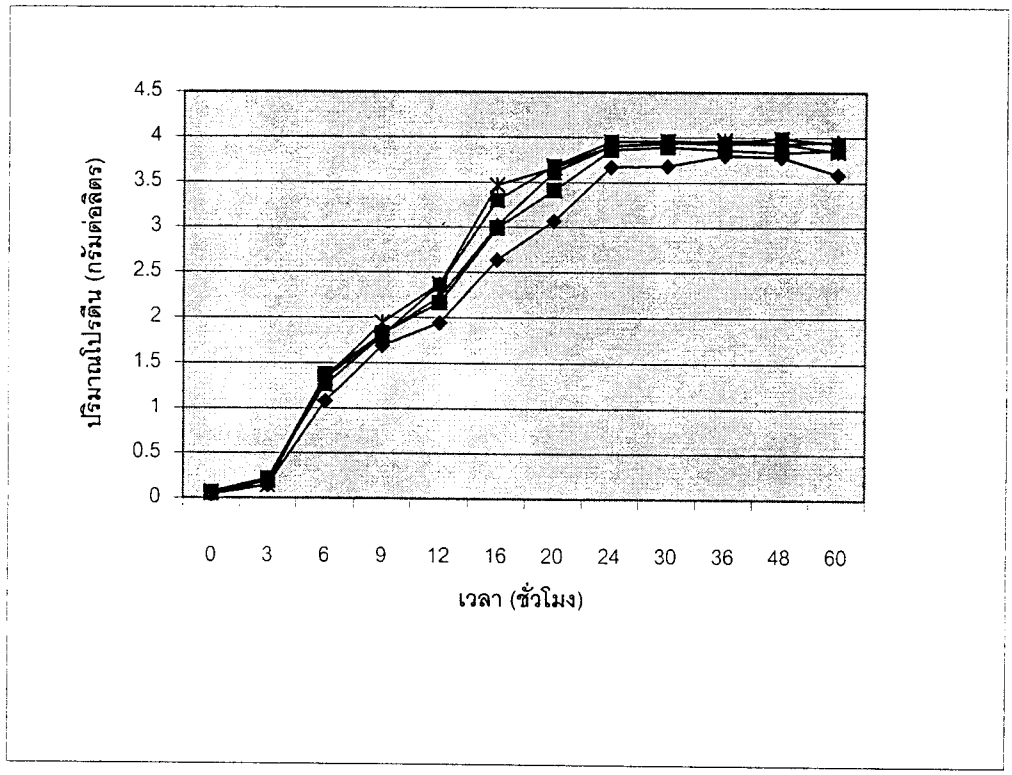



ข

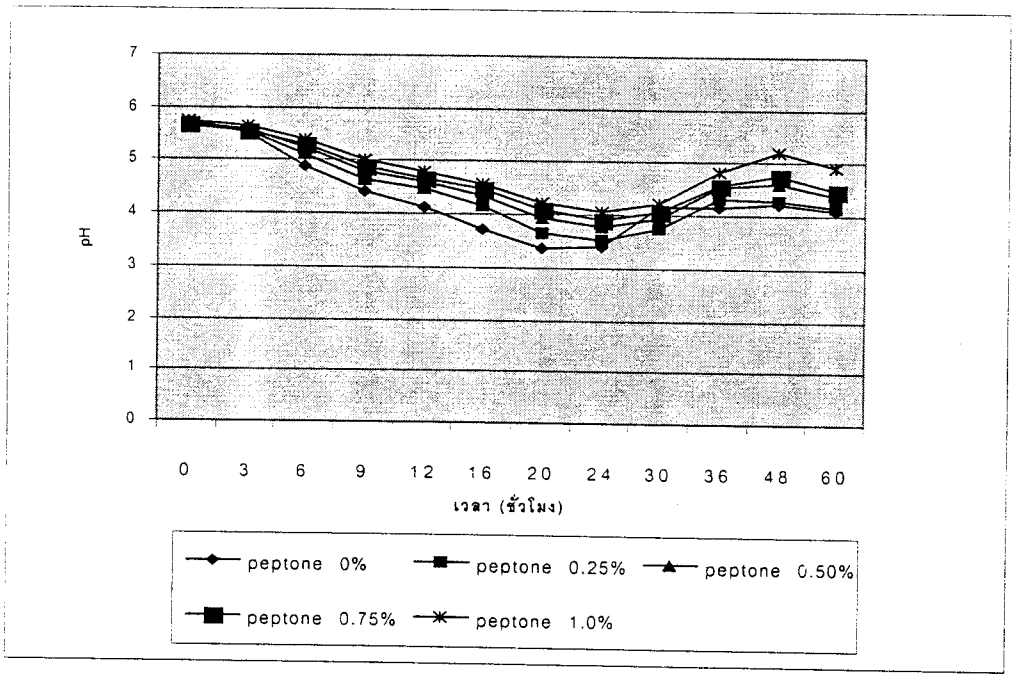
**<u>รูปที่</u> 4.9** ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาล ปริมาณโปรตีน และการเปลี่ยนแปลงของ pH ที่เวลาต่างๆกัน ในการเลี้ยงยีสต์ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ในสูตรอาหารที่มี peptone เป็นแหล่งไนโตรเจนที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน

ก. จำนวนเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)　　ข. ปริมาณน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)

ค. ปริมาณโปรตีน (กรัมต่อลิตร)　　ง. pH


ปริมาณโปรตีน (กรัมต่อลิตร)
4.5
4
3.5
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
0 3 6 9 12 16 20 24 30 36 48 60
เวลา (ชั่วโมง)

ค


pH
7
6
5
4
3
2
1
0
0 3 6 9 12 16 20 24 30 36 48 60
เวลา (ชั่วโมง)
peptone 0%
peptone 0.25%
peptone 0.50%
peptone 0.75%
peptone 1.0%

ง

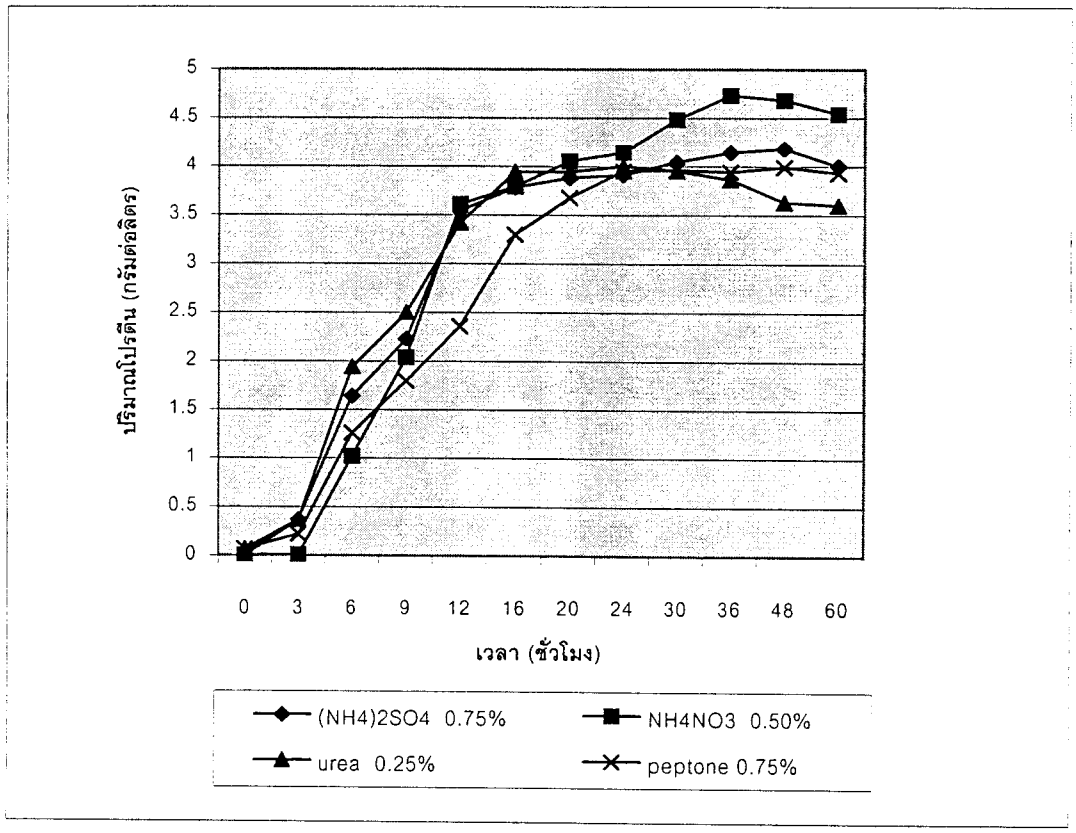
**รูปที่ 4.9 (ต่อ)**

เมื่อทำการเปรียบเทียบถึงปริมาณโปรตีนสูงสุดที่ผลิตได้จากการเลี้ยงยีสต์ในสูตรอาหารที่แปรผันชนิดและความเข้มข้นที่เหมาะสมของแหล่งไนโตรเจนแล้ว พบว่าการเลี้ยงยีสต์ในสูตรอาหารที่มี $NH_4NO_3$ ความเข้มข้น 0.50 % w/v จะให้ปริมาณโปรตีนสูงสุดคือ 4.73 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง 36 ชั่วโมง รองลงมาคือการเลี้ยงยีสต์ในสูตรอาหารที่มี $(NH_4)_2SO_4$ ความเข้มข้น 0.75 % w/v, urea ความเข้มข้น 0.25 % w/v และ peptone ความเข้มข้น 0.75 % w/v โดยให้ปริมาณโปรตีนสูงสุดคือ 4.18, 4.00 และ 3.99 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.12 และรูปที่ 4.10

จากข้อมูลจะเห็นว่าการเลี้ยงยีสต์ในสูตรอาหารที่มี $NH_4NO_3$ ความเข้มข้น 0.50 % w/v ให้ปริมาณโปรตีนสูงสุด ดังนั้นจึงเลือกใช้ $NH_4NO_3$ ความเข้มข้น 0.50 % w/v เป็นแหล่งไนโตรเจนสำหรับการศึกษาถึงความเข้มข้นที่เหมาะสมของโปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

**ตารางที่ 4.12** เปรียบเทียบปริมาณโปรตีนสูงสุดที่ผลิตได้จากการเลี้ยง *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ในสูตรอาหารที่แปรผันชนิดและความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสม

| เวลา (ชั่วโมง) | ปริมาณโปรตีน (กรัมต่อลิตร) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | $(NH_4)_2SO_4$ 0.75 % w/v | $NH_4NO_3$ 0.50 % w/v | urea 0.25 % w/v | peptone 0.75 % w/v |
| 0 | 0.011 | 0.004 | 0.07 | 0.07 |
| 3 | 0.37 | 0.009 | 0.37 | 0.22 |
| 6 | 1.64 | 1.02 | 1.94 | 1.26 |
| 9 | 2.23 | 2.04 | 2.50 | 1.80 |
| 12 | 3.54 | 3.61 | 3.42 | 2.36 |
| 16 | 3.78 | 3.79 | 3.94 | 3.30 |
| 20 | 3.88 | 4.05 | 3.94 | 3.68 |
| 24 | 3.91 | 4.14 | 4.00 | 3.95 |
| 30 | 4.04 | 4.48 | 3.95 | 3.96 |
| 36 | 4.14 | 4.73 | 3.86 | 3.94 |
| 48 | 4.18 | 4.68 | 3.63 | 3.99 |
| 60 | 4.00 | 4.54 | 3.60 | 3.93 |




**รูปที่ 4.10** ปริมาณโปรตีนสูงสุดที่ผลิตได้จากการเลี้ยง *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ในสูตรอาหารที่แปรผันชนิดและความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสม

## 4.6 ผลของความเข้มข้นที่เหมาะสมของโปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

จากการเลี้ยงยีสต์ *S. Occidentalis* TISTR 5555 ในอาหารเหลวสูตร YM โดยมีการเติมโปตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันอยู่ในช่วง 0 - 1.0 % w/v แล้วนำไปบ่มในตู้เขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 60 ชั่วโมง ทำการเก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์จำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาล ปริมาณโปรตีน และ pH ที่เปลี่ยนแปลงไปได้ผลตามตารางที่ 4.13 และรูปที่ 4.11

จากการนับจำนวนเซลล์พบว่ายีสต์มีการเจริญอย่างรวดเร็วใน 24 ชั่วโมงแรกของการเลี้ยง และมีจำนวนเซลล์สูงสุดที่เวลา 30 - 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นการเจริญจะเริ่มคงที่ และลดลงในช่วงสุดท้ายของการทดลอง สูตรอาหารที่มี $KH_2PO_4$ ความเข้มข้น 0.50 % ให้จำนวนเซลล์สูงสุดคือ $200 \times 10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ส่วนอาหารที่มี $KH_2PO_4$ ความเข้มข้น 0, 0.25, 0.75 และ 1.0 % ให้จำนวนเซลล์สูงสุดดังนี้คือ $173 \times 10^8$, $196 \times 10^8$, $192 \times 10^8$ และ $178 \times 10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

จากการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลที่มีอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อพบว่า ยีสต์มีการย่อยแป้งไปเป็นน้ำตาลได้อย่างรวดเร็วภายใน 6 ชั่วโมงแรกของการเลี้ยง ทำให้ปริมาณน้ำตาลในอาหารเพิ่มมากขึ้นและมีปริมาณสูงสุดที่เวลา 16 ชั่วโมง ในอาหารที่ไม่มีการเติม $KH_2PO_4$ มีปริมาณน้ำตาลในอาหารสูงที่สุดคือ 8.63 กรัมต่อลิตร ส่วนอาหารที่มีการเติม $KH_2PO_4$ ในความเข้มข้น 0.25, 0.50, 0.75 และ 1.0 % มีปริมาณน้ำตาลในอาหารสูงที่สุดดังนี้คือ 8.44, 8.42, 8.38 และ 8.42 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ หลังจากนั้นปริมาณน้ำตาลจะลดลงและเหลืออยู่น้อยมากเมื่อสิ้นสุดของการทดลอง ทั้งนี้เพราะยีสต์นำน้ำตาลที่เกิดขึ้นไปใช้เพื่อการเจริญและผลิตโปรตีน

จากการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน พบว่าปริมาณโปรตีนจะเริ่มเพิ่มขึ้นและมีปริมาณสูงสุดที่เวลา 30 - 60 ชั่วโมงของการเลี้ยง ทั้งนี้จะแตกต่างกันออกไปตามความเข้มข้นของ $KH_2PO_4$ หลังจากนั้นปริมาณโปรตีนจะคงที่และลดลงเล็กน้อย อาหารที่มี $KH_2PO_4$ ความเข้มข้น 0.50 % ให้ปริมาณโปรตีนสูงสุดคือ 3.92 กรัมต่อลิตร ส่วนอาหารที่มี $KH_2PO_4$ ความเข้มข้น 0, 0.25, 0.75 และ 1.0 % ให้ปริมาณโปรตีนสูงสุดดังนี้คือ 3.61, 3.74, 3.82 และ 3.68 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

สำหรับการวัด pH ที่เปลี่ยนแปลงไปที่เวลาต่าง ๆ กันพบว่าการเปลี่ยนแปลงของ pH ในอาหารที่มี $KH_2PO_4$ ความเข้มข้นต่าง ๆ กันมีแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงในลักษณะเดียวกันคือ pH จะลดลงในช่วงแรกของการเลี้ยงและต่ำสุดในช่วงสุดท้ายของการทดลอง โดยพบว่าการไม่เติม $KH_2PO_4$ ลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อ pH มีการเปลี่ยนแปลงมากกว่าสูตรอาหารที่มีการเติม $KH_2PO_4$ นั่นแสดงให้เห็นว่า $KH_2PO_4$ สามารถทำหน้าที่ในการเป็น buffer ช่วยควบคุมการเปลี่ยนแปลงของ pH ให้เกิดขึ้นอย่างช้า ๆ นอกเหนือจากหน้าที่ของการเป็นแหล่งฟอสฟอรัส

จากผลการทดลองข้างต้นจะเห็นว่า การเลี้ยงยีสต์ในสูตรอาหารที่เติม $KH_2PO_4$ ความเข้มข้นแตกต่างกัน การเจริญของยีสต์และปริมาณโปรตีนที่ผลิตได้ไม่ค่อยแตกต่างกันมากนัก ดังนั้นในการศึกษาถึงผลของความเข้มข้นที่เหมาะสมของ yeast extract จึงไม่มีการเติม $KH_2PO_4$ ลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อ ทั้งนี้เพื่อเป็นการลดต้นทุนในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากยีสต์สายพันธุ์นี้

**ตารางที่** 4.13 จำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาล ปริมาณโปรตีน และการเปลี่ยนแปลงของ pH ที่เวลาต่าง ๆ กัน ในการเลี้ยงยีสต์ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ในสูตรอาหารที่เติม $KH_2PO_4$ ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน

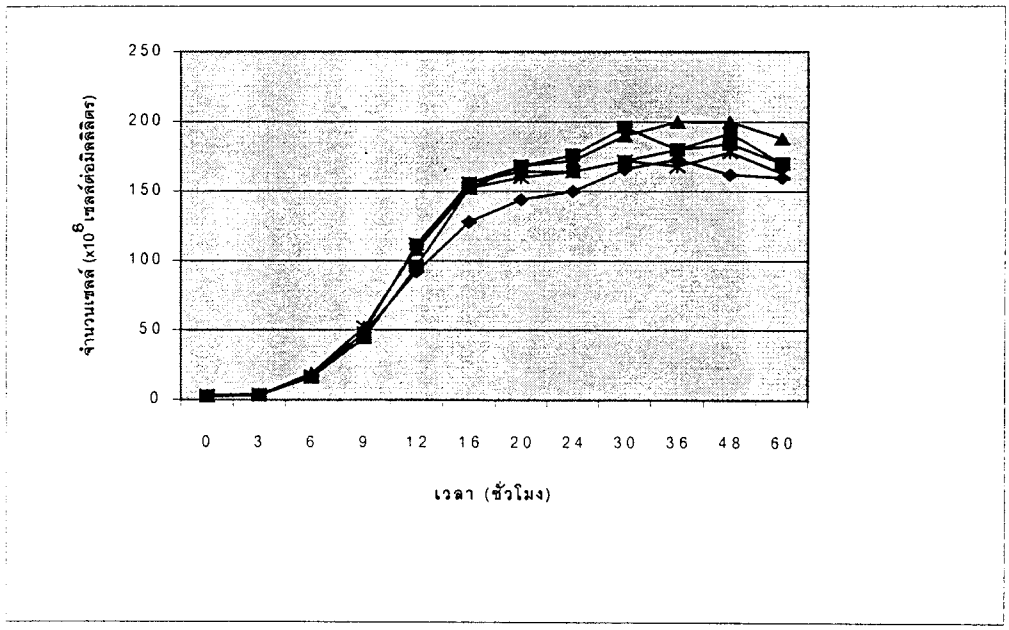
| เวลา (ชั่วโมง) | จำนวนเซลล์ (x $10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) | ปริมาณน้ำตาล (กรัมต่อลิตร) | ปริมาณโปรตีน (กรัมต่อลิตร) | pH ที่เปลี่ยนแปลง |
|---|---|---|---|---|
| 0 % | | | | |
| 0 | 2.6 | 2.63 | 0.01 | 5.58 |
| 3 | 3.8 | 1.94 | 0.04 | 5.17 |
| 6 | 17 | 2.60 | 0.64 | 5.12 |
| 9 | 48 | 3.65 | 1.35 | 4.80 |
| 12 | 92 | 4.33 | 2.06 | 4.57 |
| 16 | 128 | 8.63 | 2.49 | 4.01 |
| 20 | 144 | 6.15 | 2.60 | 3.43 |
| 24 | 150 | 4.17 | 3.08 | 3.07 |
| 30 | 166 | 2.56 | 3.38 | 2.95 |
| 36 | 173 | 0.69 | 3.61 | 2.96 |
| 48 | 162 | 0.10 | 3.56 | 2.89 |
| 60 | 160 | 0.13 | 3.50 | 2.96 |
| 0.25 % | | | | |
| 0 | 2.3 | 2.00 | 0.01 | 5.57 |
| 3 | 3.3 | 2.29 | 0.04 | 5.43 |
| 6 | 16 | 2.67 | 0.60 | 5.38 |
| 9 | 44 | 3.46 | 1.26 | 5.19 |
| 12 | 96 | 4.88 | 1.91 | 5.12 |
| 16 | 152 | 8.44 | 2.44 | 4.78 |
| 20 | 168 | 6.04 | 2.64 | 4.68 |
| 24 | 176 | 5.02 | 3.23 | 4.24 |
| 30 | 196 | 2.02 | 3.74 | 3.38 |
| 36 | 180 | 1.31 | 3.66 | 3.11 |
| 48 | 184 | 0.92 | 3.73 | 2.91 |
| 60 | 170 | 0.13 | 3.72 | 2.90 |

ตารางที่ 4.13 (ต่อ)

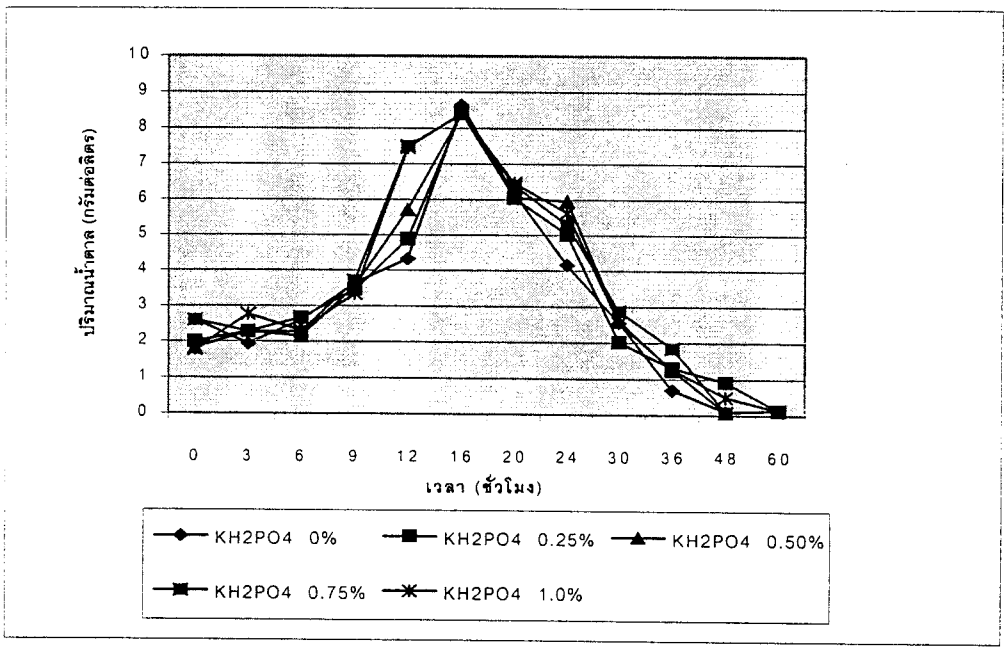
| เวลา (ชั่วโมง) | จำนวนเซลล์ (x $10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) | ปริมาณน้ำตาล (กรัมต่อลิตร) | ปริมาณโปรตีน (กรัมต่อลิตร) | pH ที่เปลี่ยนแปลง |
|---|---|---|---|---|
| 0.50 % | | | | |
| 0 | 2.6 | 1.83 | 0.01 | 5.52 |
| 3 | 3.3 | 2.29 | 0.04 | 5.49 |
| 6 | 19 | 2.15 | 0.71 | 5.46 |
| 9 | 52 | 3.56 | 1.35 | 5.34 |
| 12 | 108 | 5.71 | 2.12 | 5.29 |
| 16 | 156 | 8.42 | 2.45 | 4.86 |
| 20 | 168 | 6.04 | 2.80 | 4.55 |
| 24 | 172 | 5.96 | 3.18 | 4.34 |
| 30 | 190 | 2.60 | 3.81 | 3.60 |
| 36 | 200 | 1.25 | 3.86 | 3.30 |
| 48 | 200 | 0.08 | 3.91 | 3.06 |
| 60 | 188 | 0.13 | 3.92 | 3.12 |
| 0.75 % | | | | |
| 0 | 3.2 | 2.60 | 0.01 | 5.52 |
| 3 | 3.9 | 2.29 | 0.03 | 5.49 |
| 6 | 16 | 2.27 | 0.64 | 5.47 |
| 9 | 48 | 3.71 | 1.25 | 5.38 |
| 12 | 112 | 7.50 | 2.14 | 5.36 |
| 16 | 156 | 8.38 | 2.71 | 5.08 |
| 20 | 164 | 6.40 | 2.92 | 4.88 |
| 24 | 164 | 5.29 | 3.23 | 4.72 |
| 30 | 172 | 2.88 | 3.79 | 4.11 |
| 36 | 180 | 1.85 | 3.69 | 3.64 |
| 48 | 192 | 0.08 | 3.71 | 3.21 |
| 60 | 170 | 0.13 | 3.82 | 3.30 |

ตารางที่ 4.13 (ต่อ)

| เวลา (ชั่วโมง) | จำนวนเซลล์ (x $10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) | ปริมาณน้ำตาล (กรัมต่อลิตร) | ปริมาณโปรตีน (กรัมต่อลิตร) | pH ที่เปลี่ยนแปลง |
|---|---|---|---|---|
| 1.0 % | | | | |
| 0 | 2.6 | 1.79 | 0.01 | 5.52 |
| 3 | 3.2 | 2.77 | 0.02 | 5.49 |
| 6 | 17 | 2.31 | 0.64 | 5.47 |
| 9 | 52 | 3.35 | 1.35 | 5.41 |
| 12 | 108 | 7.46 | 2.14 | 5.39 |
| 16 | 152 | 8.42 | 2.65 | 5.16 |
| 20 | 160 | 6.46 | 2.67 | 5.00 |
| 24 | 164 | 5.63 | 3.17 | 4.85 |
| 30 | 172 | 2.56 | 3.66 | 4.35 |
| 36 | 168 | 1.27 | 3.68 | 3.91 |
| 48 | 178 | 0.50 | 3.63 | 3.46 |
| 60 | 163 | 0.13 | 3.50 | 3.55 |



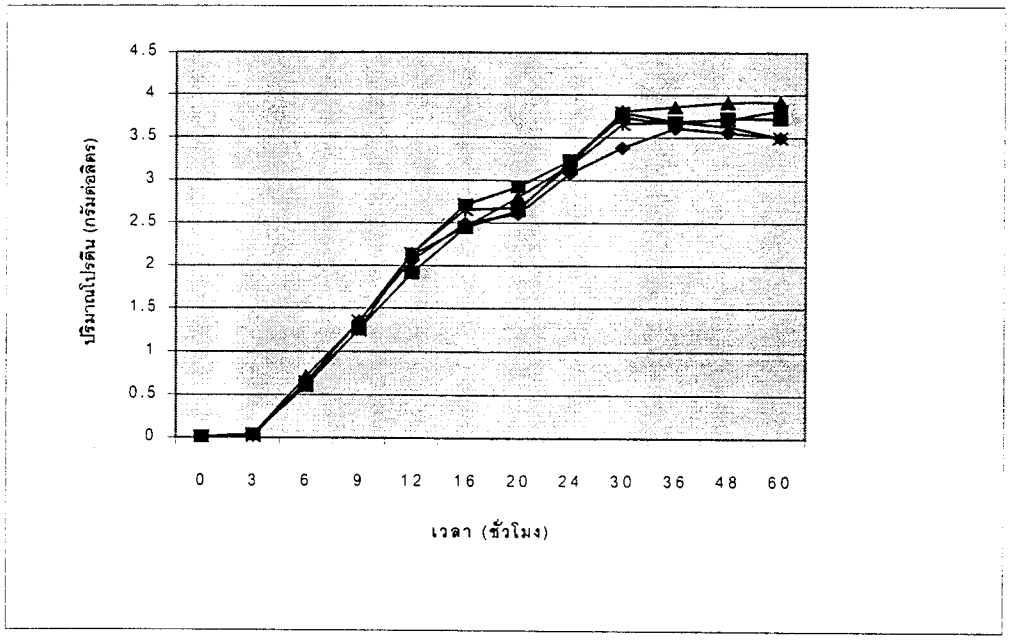

ก



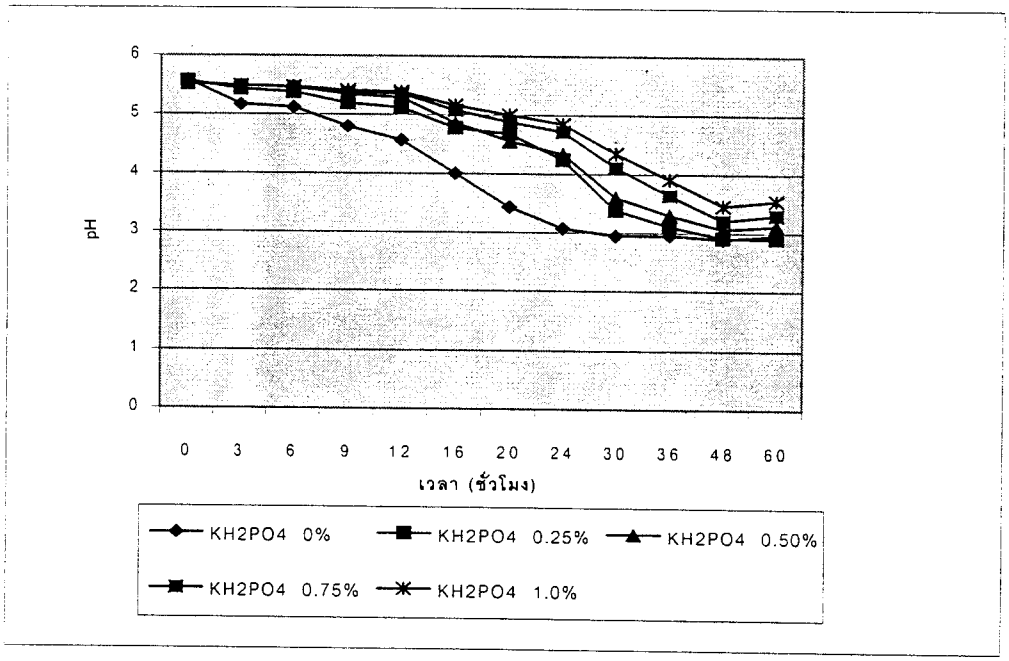

ข

**<u>รูปที่</u> 4.11** ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาล ปริมาณโปรตีน และการเปลี่ยนแปลงของ pH ที่เวลาต่างๆกันในการเลี้ยงยีสต์ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ในสูตรอาหารที่เติม $KH_2PO_4$ ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน

ก. จำนวนเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)
ข. ปริมาณน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)
ค. ปริมาณโปรตีน (กรัมต่อลิตร)
ง. pH


ปริมาณโปรตีน (กรัมต่อลิตร)
4.5
4
3.5
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
0 3 6 9 12 16 20 24 30 36 48 60
เวลา (ชั่วโมง)

ค


pH
6
5
4
3
2
1
0
0 3 6 9 12 16 20 24 30 36 48 60
เวลา (ชั่วโมง)
KH2PO4 0%
KH2PO4 0.25%
KH2PO4 0.50%
KH2PO4 0.75%
KH2PO4 1.0%

ง

**รูปที่ 4.11** (ต่อ)

## 4.7 ผลของความเข้มข้นของ yeast extract ต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

จากการเลี้ยงยีสต์ *S. occidentalis* TISTR 5555 ในสูตรอาหาร YM ที่มีการเติม yeast extract ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันอยู่ในช่วง 0-1 % w/v แล้วนำไปบ่มในตู้เขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 60 ชั่วโมง ทำการเก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์จำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาล ปริมาณโปรตีน และ pH ที่เปลี่ยนแปลงไปได้ผลตามตารางที่ 4.14 และรูปที่ 4.12

จากการนับจำนวนเซลล์พบว่ายีสต์มีการเจริญอย่างรวดเร็วในเวลา 24 ชั่วโมงแรกของการเลี้ยง และมีจำนวนเซลล์สูงสุดที่เวลา 36 ชั่วโมง หลังจากนั้นการเจริญจะเริ่มคงที่และลดลงในช่วงสุดท้ายของการทดลอง สูตรอาหารที่มี yeast extract ความเข้มข้น 0.50 % w/v ให้จำนวนเซลล์สูงสุดคือ 21 x $10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ส่วนอาหารที่มี yeast extract ความเข้มข้น 0, 0.25, 0.75 และ 10 % w/v ให้จำนวนเซลล์สูงสุดดังนี้ คือ 15 x $10^8$ , 10 x $10^8$ , 17 x $10^8$ และ 15 x $10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

จากการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลที่มีอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อพบว่า ยีสต์มีย่อยแป้งไปเป็นน้ำตาลได้อย่างรวดเร็วภายในเวลา 6 ชั่วโมงแรกของการเลี้ยง ทำให้ปริมาณน้ำตาลในอาหารเพิ่มมากขึ้นและมีปริมาณสูงสุดที่เวลา 12 ชั่วโมง ในอาหารที่มีการเติม yeast extract ความเข้มข้น 0.75 % w/v มีปริมาณน้ำตาลในอาหารสูงที่สุดคือ 16.714 กรัมต่อลิตร ส่วนอาหารที่มี yeast extract ความเข้มข้น 0, 0.25, 0.50 และ 1.0 % w/v มีปริมาณน้ำตาลในอาหารสูงที่สุดดังนี้คือ 2.598, 3.643, 12.429 และ 14.750 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ หลังจากนั้นปริมาณน้ำตาลจะลดลงและเหลืออยู่น้อยมากเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ทั้งนี้เพราะยีสต์นำน้ำตาลที่เกิดขึ้นไปเพื่อการเจริญและผลิตโปรตีน

จากการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน พบว่าปริมาณโปรตีนจะเริ่มเพิ่มขึ้นและมีประมาณสูงสุดที่เวลา 60 ชั่วโมงของการเลี้ยง ยกเว้นสูตรอาหารที่ไม่มีการเติม yeast extract และเติม 0.75 % w/v จะมีปริมาณโปรตีนสูงสุดที่เวลา 48 ชั่วโมงของการเลี้ยง อาหารที่มี yeast extract ความเข้มข้น 0.50 % w/v ให้ปริมาณโปรตีนสูงสุดคือ 2.805 กรัมต่อลิตร ส่วนอาหารที่มี yeast extract ความเข้มข้น 0, 0.25, 0.75 และ 1.0 % w/v ให้ปริมาณโปรตีนสูงสุดดังนี้ คือ 0.718, 2.282, 2.672 และ 2.804 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

สำหรับการวัด pH ที่เปลี่ยนแปลงไปที่เวลาต่าง ๆ กัน พบว่าการเปลี่ยนแปลงของ pH ในอาหารที่มี yeast extract ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน มีแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงในลักษณะเดียวกันคือ pH จะลดลงในช่วงแรกของการเลี้ยง และค่อนข้างคงที่ในช่วงสุดท้ายของการทดลอง

จากผลการทดลองข้างต้นจะเห็นว่าการเลี้ยงยีสต์ในอาหารที่มี yeast extract ความเข้มข้น 0.50 % w/v ยีสต์มีการเจริญและให้ปริมาณโปรตีนสูงสุด ดังนั้นจึงเลือกใช้สูตรอาหารนี้ สำหรับการศึกษาถึงผลของ malt extract ต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวต่อไป

**ตารางที่ 4.14** จำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาล ปริมาณโปรตีน และการเปลี่ยนแปลงของ pH ที่เวลาต่าง ๆ กัน ในการเลี้ยงยีสต์ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ในสูตรอาหารที่มี yeast extract ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน

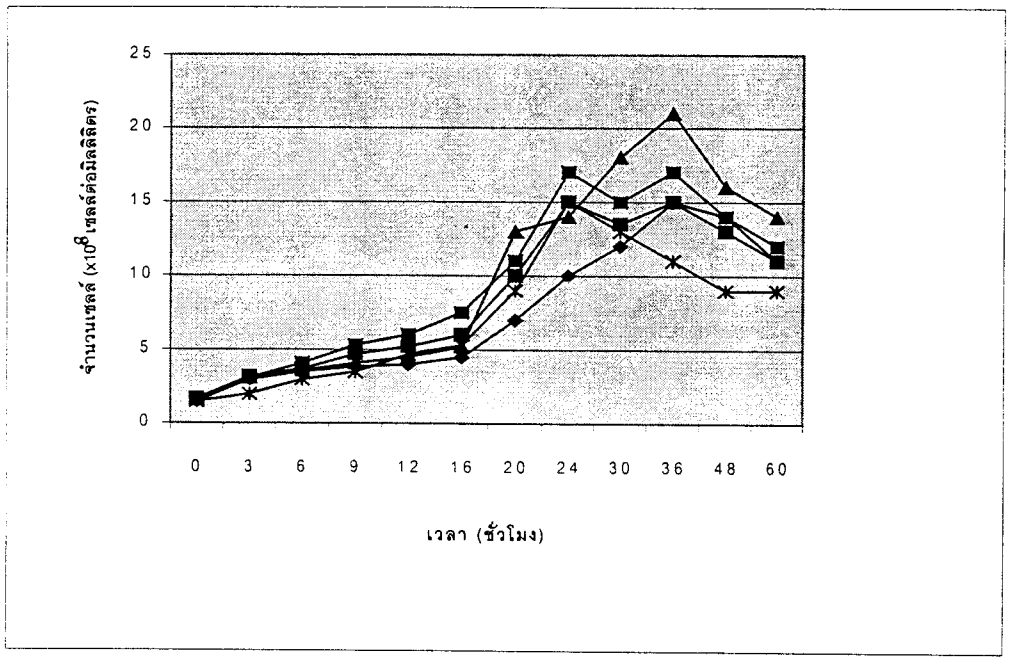
| เวลา (ชั่วโมง) | จำนวนเซลล์ (x $10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) | ปริมาณน้ำตาล (กรัมต่อลิตร) | ปริมาณโปรตีน (กรัมต่อลิตร) | pH ที่เปลี่ยนแปลง |
|---|---|---|---|---|
| 0 % | | | | |
| 0 | 1.5 | 1.179 | 0.012 | 5.00 |
| 3 | 3.0 | 0.650 | 0.025 | 4.07 |
| 6 | 3.5 | 0.964 | 0.033 | 3.96 |
| 9 | 3.85 | 1.071 | 0.064 | 3.77 |
| 12 | 4.0 | 2.598 | 0.087 | 3.68 |
| 16 | 4.5 | 1.714 | 0.137 | 3.32 |
| 20 | 7.0 | 1.085 | 0.220 | 3.32 |
| 24 | 10.0 | 1.341 | 0.361 | 2.84 |
| 30 | 12.0 | 1.089 | 0.432 | 2.97 |
| 36 | 15.0 | 0.902 | 0.523 | 3.01 |
| 48 | 14.0 | 0.625 | 0.718 | 3.15 |
| 60 | 11.0 | 0.411 | 0.701 | 3.12 |

ตารางที่ 4.14 (ต่อ)

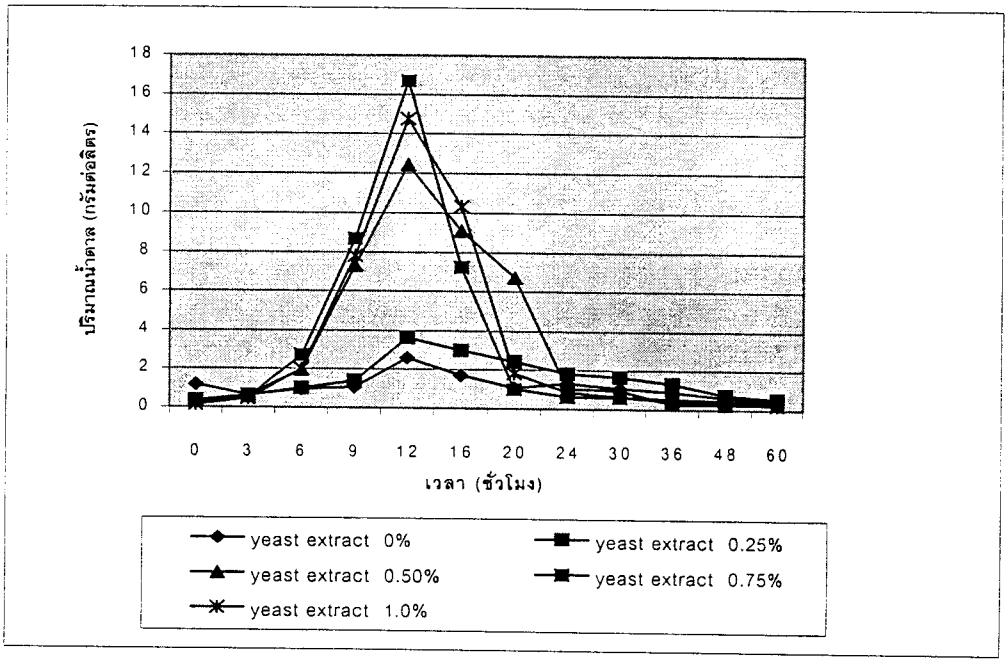
| เวลา (ชั่วโมง) | จำนวนเซลล์ (x $10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) | ปริมาณน้ำตาล (กรัมต่อลิตร) | ปริมาณโปรตีน (กรัมต่อลิตร) | pH ที่เปลี่ยนแปลง |
|---|---|---|---|---|
| 0.25 % | | | | |
| 0 | 1.7 | 0.357 | 0.027 | 5.42 |
| 3 | 3.2 | 0.630 | 0.038 | 5.04 |
| 6 | 3.7 | 1.000 | 0.087 | 4.65 |
| 9 | 4.7 | 1.411 | 0.097 | 5.13 |
| 12 | 5.2 | 3.643 | 0.246 | 4.83 |
| 16 | 6.0 | 3.000 | 0.513 | 3.39 |
| 20 | 10.0 | 2.438 | 1.176 | 3.78 |
| 24 | 15.0 | 1.821 | 1.261 | 2.65 |
| 30 | 13.5 | 1.661 | 1.561 | 3.03 |
| 36 | 15.0 | 1.339 | 2.199 | 3.21 |
| 48 | 13.0 | 0.768 | 2.174 | 2.82 |
| 60 | 11.0 | 0.566 | 2.282 | 2.73 |
| 0.50 % | | | | |
| 0 | 1.7 | 0.357 | 0.049 | 5.47 |
| 3 | 3.1 | 0.627 | 0.065 | 5.18 |
| 6 | 3.6 | 1.960 | 0.108 | 4.98 |
| 9 | 4.1 | 7.321 | 0.134 | 5.65 |
| 12 | 4.5 | 12.429 | 0.237 | 5.49 |
| 16 | 5.2 | 9.100 | 0.610 | 4.58 |
| 20 | 13.0 | 6.732 | 1.548 | 4.39 |
| 24 | 14.0 | 1.054 | 1.602 | 3.41 |
| 30 | 18.0 | 0.984 | 1.954 | 4.05 |
| 36 | 21.0 | 0.286 | 2.693 | 4.35 |
| 48 | 16.0 | 0.268 | 2.730 | 3.84 |
| 60 | 14.0 | 0.285 | 2.805 | 4.27 |

ตารางที่ 4.14 (ต่อ)

| เวลา (ชั่วโมง) | จำนวนเซลล์ (x $10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) | ปริมาณน้ำตาล (กรัมต่อลิตร) | ปริมาณโปรตีน (กรัมต่อลิตร) | pH ที่เปลี่ยนแปลง |
|---|---|---|---|---|
| 0.75 % | | | | |
| 0 | 1.6 | 0.321 | 0.014 | 5.48 |
| 3 | 3.1 | 0.548 | 0.068 | 5.33 |
| 6 | 4.1 | 2.714 | 0.128 | 5.15 |
| 9 | 5.3 | 8.700 | 0.157 | 6.00 |
| 12 | 6.0 | 16.714 | 0.217 | 5.72 |
| 16 | 7.5 | 7.250 | 0.554 | 4.88 |
| 20 | 11.0 | 1.018 | 1.705 | 4.84 |
| 24 | 17.0 | 0.643 | 1.739 | 3.94 |
| 30 | 15.0 | 0.632 | 2.095 | 5.37 |
| 36 | 17.0 | 0.549 | 2.523 | 5.64 |
| 48 | 14.0 | 0.482 | 2.672 | 5.12 |
| 60 | 12.0 | 0.250 | 2.573 | 5.24 |
| 1.0 % | | | | |
| 0 | 1.5 | 0.161 | 0.017 | 5.46 |
| 3 | 2.0 | 0.480 | 0.073 | 5.32 |
| 6 | 3.0 | 2.00 | 0.161 | 5.20 |
| 9 | 3.5 | 7.821 | 0.193 | 5.79 |
| 12 | 4.7 | 14.750 | 0.204 | 5.22 |
| 16 | 5.3 | 10.321 | 0.557 | 5.22 |
| 20 | 9.0 | 1.821 | 1.718 | 5.07 |
| 24 | 15.0 | 0.880 | 1.855 | 4.29 |
| 30 | 13.0 | 0.643 | 1.946 | 5.05 |
| 36 | 11.0 | 0.446 | 2.327 | 5.92 |
| 48 | 9.0 | 0.321 | 2.602 | 5.79 |
| 60 | 9.0 | 0.232 | 2.804 | 5.65 |



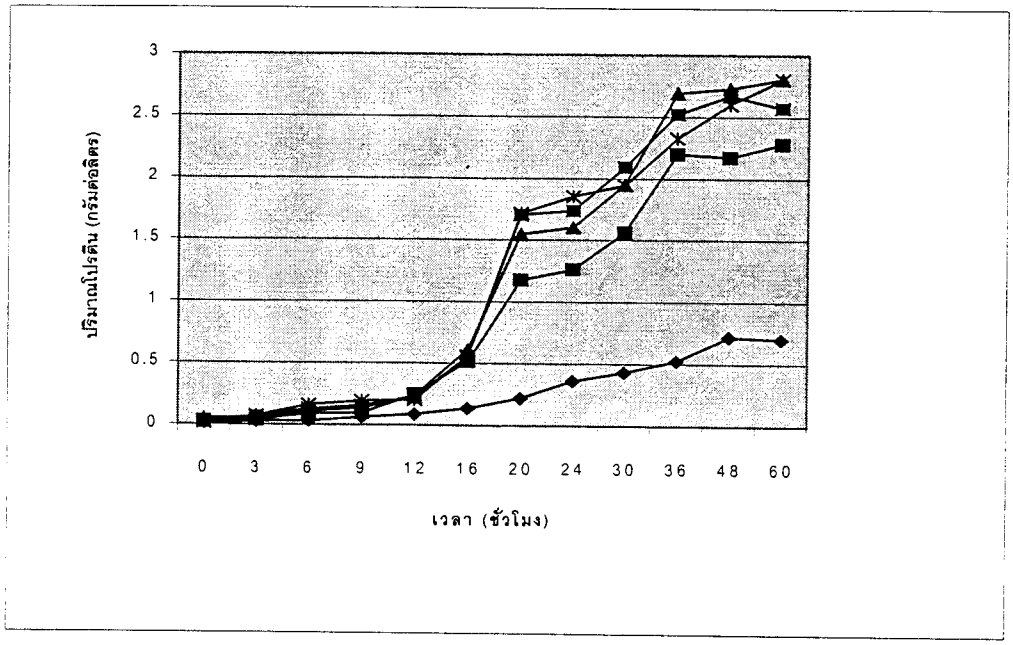

ก



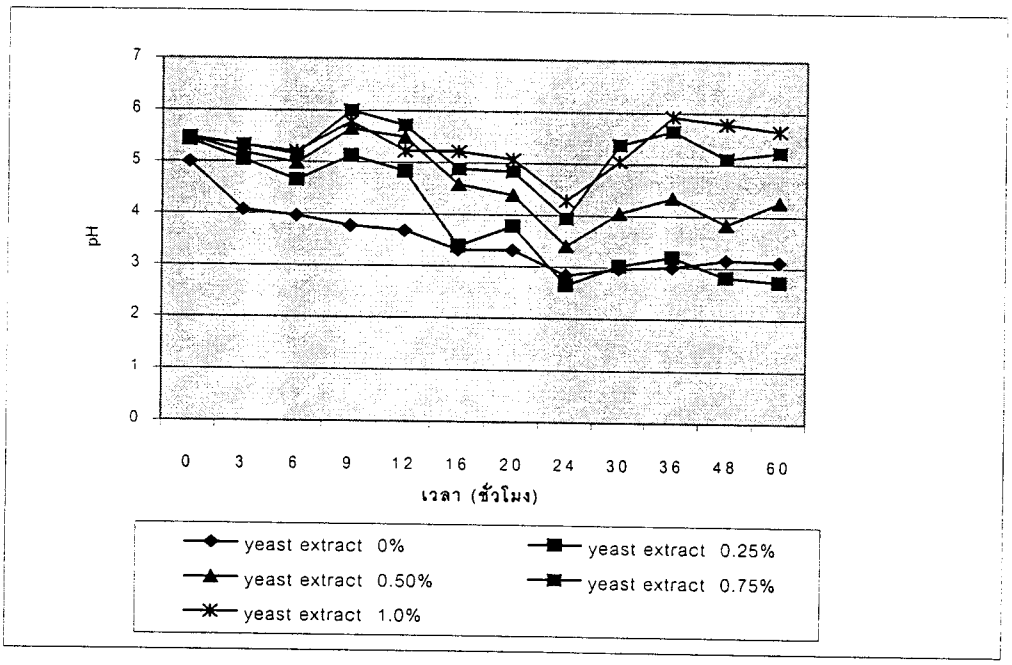

ข

**รูปที่ 4.12** ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาล ปริมาณโปรตีน และการเปลี่ยนแปลงของ pH กับเวลา ในการเลี้ยงยีสต์ *Schwanniomyces occidentalis* TISSTR 5555 ในสูตรอาหารที่มี yeast extract ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน

ก. จำนวนเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)
ข. ปริมาณน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)
ค. ปริมาณโปรตีน (กรัมต่อลิตร)
ง. pH




ค




ง

<u>รูปที่ 4.12</u> (ต่อ)

## 4.8 ผลของความเข้มข้นของ malt extract ต่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

จากการเลี้ยงยีสต์ *S. occidentalis* TISTR 5555 ในอาหารเหลวสูตร YM ที่มีการเติม malt extract ความเข้มข้นแตกต่างกันอยู่ในช่วง 0 - 1 % w/v แล้วนำไปบ่มในตู้เขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 60 ชั่วโมง ทำการเก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์จำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาล ปริมาณโปรตีน และ pH ที่เปลี่ยนแปลงไปได้ผลตามตารางที่ 4.15 และรูปที่ 4.13

จากการนับจำนวนเซลล์พบว่าเซลล์มีการเจริญอย่างรวดเร็วในช่วงเวลา 20 ชั่วโมงแรกของการเลี้ยง และมีจำนวนเซลล์สูงสุดที่เวลา 20 - 30 ชั่วโมงของการเลี้ยง ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของ malt extract หลังจากนั้นจำนวนเซลล์จะเริ่มคงที่และลดลงในช่วงสุดท้ายของการทดลอง สูตรอาหารที่ไม่มีการเติม malt extract และเติมในความเข้มข้น 0.25 และ 0.75 % w/v ให้จำนวนเซลล์สูงสุด คือ $14 \times 10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ส่วนอาหารที่มี malt extract ความเข้มข้น 0.50 และ 1.0 % w/v ให้จำนวนเซลล์สูงสุดดังนี้คือ $9 \times 10^8$ และ $10 \times 10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

จากการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลที่มีอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่ายีสต์มีย่อยแป้งไปเป็นน้ำตาลได้อย่างรวดเร็วภายในช่วงเวลา 6 ชั่วโมงของการเลี้ยง ทำให้ปริมาณน้ำตาลในอาหารเพิ่มมากขึ้น และมีปริมาณสูงสุดที่เวลา 16 – 20 ชั่วโมง ในสูตรอาหารที่มีการเติม malt extract ความเข้มข้น 1.0 % w/v มีปริมาณน้ำตาลในอาหารสูงที่สุดคือ 9.143 กรัมต่อลิตร ส่วนอาหารที่ไม่มีการเติม malt extract และเติมในความเข้มข้น 0.25, 0.50 และ 0.75 % w/v มีปริมาณน้ำตาลในอาหารสูงสุดดังนี้คือ 1.682, 2.517, 3.694 และ 4.464 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ หลังจากนั้นปริมาณน้ำตาลจะลดลง และเหลืออยู่น้อยมากเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ทั้งนี้เพราะยีสต์นำน้ำตาลที่เกิดขึ้นไปใช้เพื่อการเจริญและผลิตโปรตีน

จากการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน พบว่าปริมาณโปรตีนค่อย ๆ เพิ่มขึ้นในช่วงแรก ๆ ของการเลี้ยงและมีปริมาณโปรตีนสูงสุดที่เวลา 30 – 48 ชั่วโมงของการเลี้ยง หลังจากนั้นปริมาณโปรตีนจะเริ่มคงที่ และลดลงในช่วงสุดท้ายของการเลี้ยง อาหารที่มี malt extract ความเข้มข้น 1.0 % w/v ให้ปริมาณโปรตีนสูงสุดคือ 0.398 กรัมต่อลิตร ส่วนอาหารที่ไม่มี การเติม malt extract และเติมในความเข้มข้น 0.25, 0.50 และ 0.75 % w/v ให้ปริมาณโปรตีนสูงสุดดังนี้คือ 0.383, 0.387, 0.383 และ 0.381 กรัมต่อลิตรตามลำดับ

สำหรับการวัด pH ที่เปลี่ยนแปลงไปที่เวลาต่าง ๆ กัน พบว่าการเปลี่ยนแปลงของ pH ในอาหารที่มี malt extract ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน มีแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงในลักษณะเดียวกัน คือ pH จะลดลงในช่วงแรกของการเพาะเลี้ยง และค่อนข้างคงที่ในช่วงสุดท้ายของการทดลอง

จากผลการทดลองข้างต้นจะเห็นว่าการเลี้ยงยีสต์ในอาหารที่มีการเติม malt extract ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน การเจริญและปริมาณของโปรตีนที่ผลิตได้จากยีสต์ให้ผลไม่แตกต่างกันมากนัก ดังนั้นในการเลี้ยงยีสต์เพื่อผลิตโปรตีนเซลล์เดียวในถังหมักขนาด 5 และ 10 ลิตร จึงไม่จำเป็นต้องเติม malt extract ทั้งนี้เพื่อเป็นการลดต้นทุนในการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากยีสต์สายพันธุ์นี้

**ตารางที่ 4.15** จำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาล ปริมาณโปรตีน และการเปลี่ยนแปลงของ pH ที่เวลาต่าง ๆ กัน ในการเลี้ยงยีสต์ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ในสูตรอาหารที่มี malt extract ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน

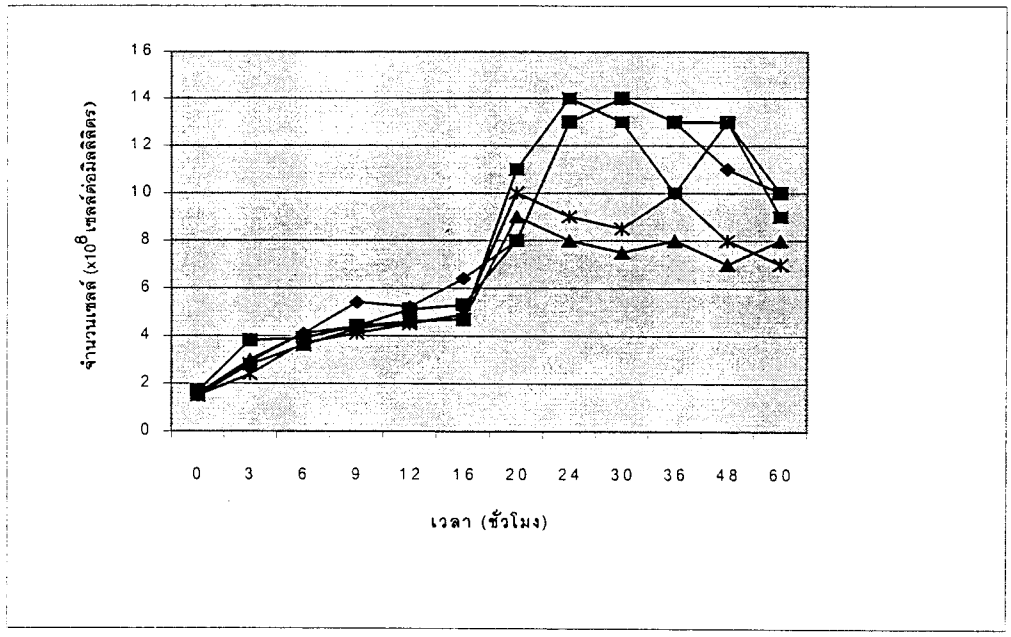
| เวลา (ชั่วโมง) | จำนวนเซลล์ (x $10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) | ปริมาณน้ำตาล (กรัมต่อลิตร) | ปริมาณโปรตีน (กรัมต่อลิตร) | pH ที่เปลี่ยนแปลง |
|---|---|---|---|---|
| 0 % | | | | |
| 0 | 1.5 | 0.179 | 0.011 | 5.01 |
| 3 | 2.9 | 0.461 | 0.017 | 4.16 |
| 6 | 4.1 | 0.536 | 0.029 | 4.04 |
| 9 | 5.4 | 0.600 | 0.044 | 4.01 |
| 12 | 5.2 | 0.821 | 0.050 | 3.93 |
| 16 | 6.4 | 1.391 | 0.107 | 3.65 |
| 20 | 8.0 | 1.682 | 0.228 | 3.59 |
| 24 | 13.0 | 1.429 | 0.324 | 3.11 |
| 30 | 14.0 | 1.082 | 0.361 | 3.25 |
| 36 | 13.0 | 0.732 | 0.383 | 3.22 |
| 48 | 11.0 | 0.554 | 0.328 | 3.32 |
| 60 | 10.0 | 0.439 | 0.324 | 3.30 |

ตารางที่ 4.15 (ต่อ)

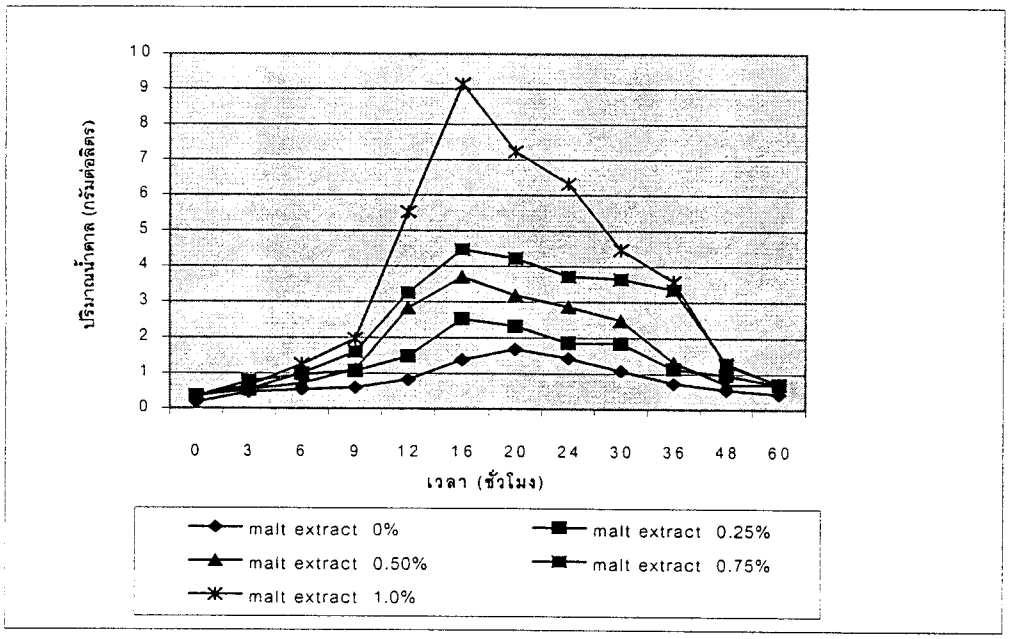
| เวลา (ชั่วโมง) | จำนวนเซลล์ (x $10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) | ปริมาณน้ำตาล (กรัมต่อลิตร) | ปริมาณโปรตีน (กรัมต่อลิตร) | pH ที่เปลี่ยนแปลง |
|---|---|---|---|---|
| 0.25 % | | | | |
| 0 | 1.7 | 0.357 | 0.015 | 4.90 |
| 3 | 3.8 | 0.768 | 0.019 | 3.87 |
| 6 | 3.9 | 0.964 | 0.025 | 3.56 |
| 9 | 4.4 | 1.071 | 0.044 | 3.38 |
| 12 | 5.1 | 1.482 | 0.064 | 3.25 |
| 16 | 5.3 | 2.517 | 0.116 | 3.10 |
| 20 | 8.0 | 2.318 | 0.287 | 3.20 |
| 24 | 13.0 | 1.857 | 0.344 | 2.92 |
| 30 | 14.0 | 1.844 | 0.369 | 3.12 |
| 36 | 13.0 | 1.125 | 0.387 | 3.14 |
| 48 | 13.0 | 0.964 | 0.344 | 3.20 |
| 60 | 10.0 | 0.700 | 0.369 | 3.46 |
| 0.50 % | | | | |
| 0 | 1.6 | 0.348 | 0.022 | 4.98 |
| 3 | 3.0 | 0.536 | 0.024 | 3.82 |
| 6 | 4.1 | 0.714 | 0.044 | 3.45 |
| 9 | 4.4 | 1.112 | 0.047 | 3.31 |
| 12 | 4.6 | 2.821 | 0.107 | 3.26 |
| 16 | 4.7 | 3.694 | 0.136 | 3.10 |
| 20 | 9.0 | 3.178 | 0.299 | 3.21 |
| 24 | 8.0 | 2.857 | 0.349 | 2.94 |
| 30 | 7.5 | 2.482 | 0.383 | 3.14 |
| 36 | 8.0 | 1.321 | 0.357 | 3.13 |
| 48 | 7.0 | 0.714 | 0.349 | 3.16 |
| 60 | 8.0 | 0.695 | 0.357 | 3.19 |

ตารางที่ 4.15 (ต่อ)

| เวลา (ชั่วโมง) | จำนวนเซลล์ (x $10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) | ปริมาณน้ำตาล (กรัมต่อลิตร) | ปริมาณโปรตีน (กรัมต่อลิตร) | pH ที่เปลี่ยนแปลง |
|---|---|---|---|---|
| 0.75 % | | | | |
| 0 | 1.5 | 0.357 | 0.027 | 4.85 |
| 3 | 2.8 | 0.536 | 0.039 | 3.72 |
| 6 | 3.6 | 1.000 | 0.045 | 3.30 |
| 9 | 4.3 | 1.607 | 0.053 | 3.19 |
| 12 | 4.6 | 3.250 | 0.090 | 3.16 |
| 16 | 4.7 | 4.464 | 0.120 | 3.00 |
| 20 | 11.0 | 4.207 | 0.228 | 3.12 |
| 24 | 14.0 | 3.714 | 0.367 | 2.84 |
| 30 | 13.0 | 3.642 | 0.381 | 3.02 |
| 36 | 10.0 | 3.339 | 0.328 | 3.03 |
| 48 | 13.0 | 1.300 | 0.353 | 3.08 |
| 60 | 9.0 | 0.700 | 0.307 | 3.06 |
| 1.0 % | | | | |
| 0 | 1.5 | 0.340 | 0.025 | 4.89 |
| 3 | 2.4 | 0.642 | 0.036 | 3.73 |
| 6 | 3.7 | 1.250 | 0.038 | 3.27 |
| 9 | 4.1 | 1.964 | 0.055 | 3.16 |
| 12 | 4.5 | 5.517 | 0.066 | 3.15 |
| 16 | 4.9 | 9.143 | 0.124 | 3.01 |
| 20 | 10.0 | 7.232 | 0.299 | 3.17 |
| 24 | 9.0 | 6.321 | 0.344 | 2.89 |
| 30 | 8.5 | 4.464 | 0.355 | 3.10 |
| 36 | 10.0 | 3.571 | 0.385 | 3.10 |
| 48 | 8.0 | 1.250 | 0.398 | 3.11 |
| 60 | 7.0 | 0.720 | 0.344 | 3.13 |



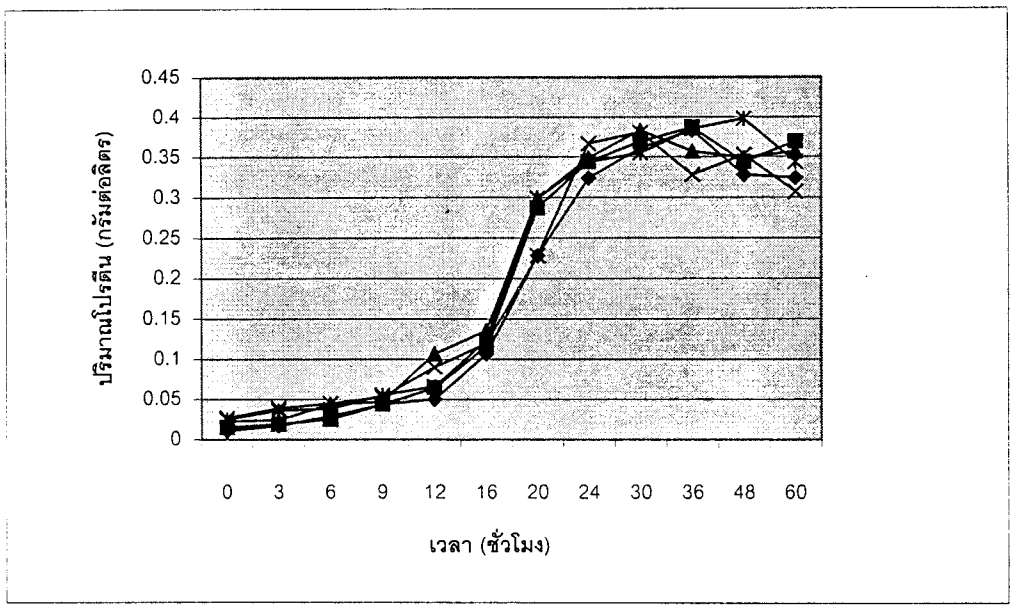

ก



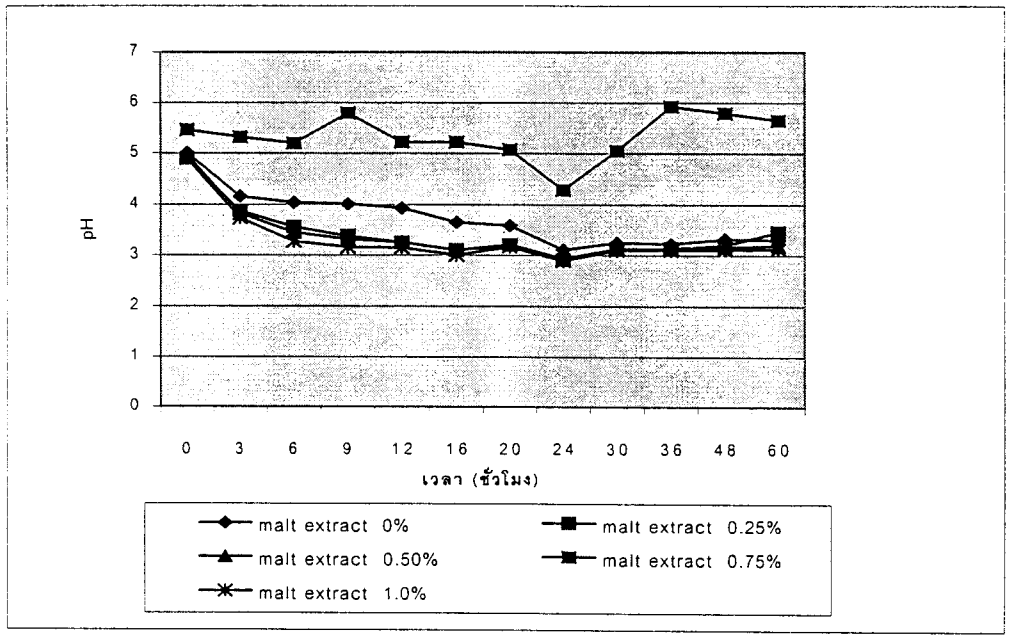

ข

**<u>รูปที่</u> 4.13** ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาล ปริมาณโปรตีน และการเปลี่ยนแปลงของ pH กับเวลา ในการเลี้ยงยีสต์ *Schwanniomyces occidentalis* TISSTR 5555 ในสูตรอาหารที่มี malt extract ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน

ก. จำนวนเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)
ข. ปริมาณน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)
ค. ปริมาณโปรตีน (กรัมต่อลิตร)
ง. pH




ค




ง

<u>รูปที่ 4.13</u> (ต่อ)

## 4.9 ผลของการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวในถังหมักขนาด 5 ลิตร และ 10 ลิตร

จากผลการศึกษาที่กล่าวมาข้างต้น ทำให้ทราบถึงองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงยีสต์ *S. occidentalis* TISTR 5555 คือ แป้งมันสำปะหลัง 4 % w/v, $NH_4NO_3$ 0.5 % w/v และ Yeast extract 0.5 % w/v โดยมีสภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อ คือ ปรับ pH เริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเป็น 5.5 อุณหภูมิในการเลี้ยงเชื้อ 30 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 200 รอบต่อนาที จากองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อและสภาวะที่เหมาะสมดังกล่าว จึงนำมาใช้สำหรับการเลี้ยงยีสต์เพื่อผลิตโปรตีนเซลล์เดียวในถังหมักขนาด 5 ลิตร และ 10 ลิตร

จากการเลี้ยงยีสต์ *S. occidentalis* TISTR 5555 ในสูตรอาหารและสภาวะที่เหมาะสมดังกล่าวข้างต้นในถังหมัก 5 ลิตร และ 10 ลิตร โดยเติมอาหารเลี้ยงเชื้อลงไปในถังหมักให้มีปริมาตรทำงาน (working volume) 3 ลิตร และ 6 ลิตร ตามลำดับ ทำการหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการกวน 200 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 1 vvm เก็บตัวอย่างที่เวลา 0, 3, 6, 9, 12, 16, 20, 24, 30, 36, 48, 60 และ 72 ชั่วโมง นำมาวิเคราะห์จำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาล ปริมาณโปรตีน และ pH ที่เปลี่ยนแปลงไป ได้ผลตามตารางที่ 4.16 และ 4.17 และรูปที่ 4.14 และ 4.15

ตารางที่ 4.16 และรูปที่ 4.14 แสดงผลการเลี้ยงยีสต์ *S. occidentalis* TISTR 5555 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร จากผลการนับจำนวนเซลล์พบว่ายีสต์มีการเจริญอย่างรวดเร็วในช่วงเวลา 9 ชั่วโมงแรกของการเลี้ยง และมีจำนวนเซลล์สูงสุดคือ $86 \times 10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ที่เวลา 36 ชั่วโมงของการเลี้ยง หลังจากนั้นจำนวนเซลล์เริ่มลดลง

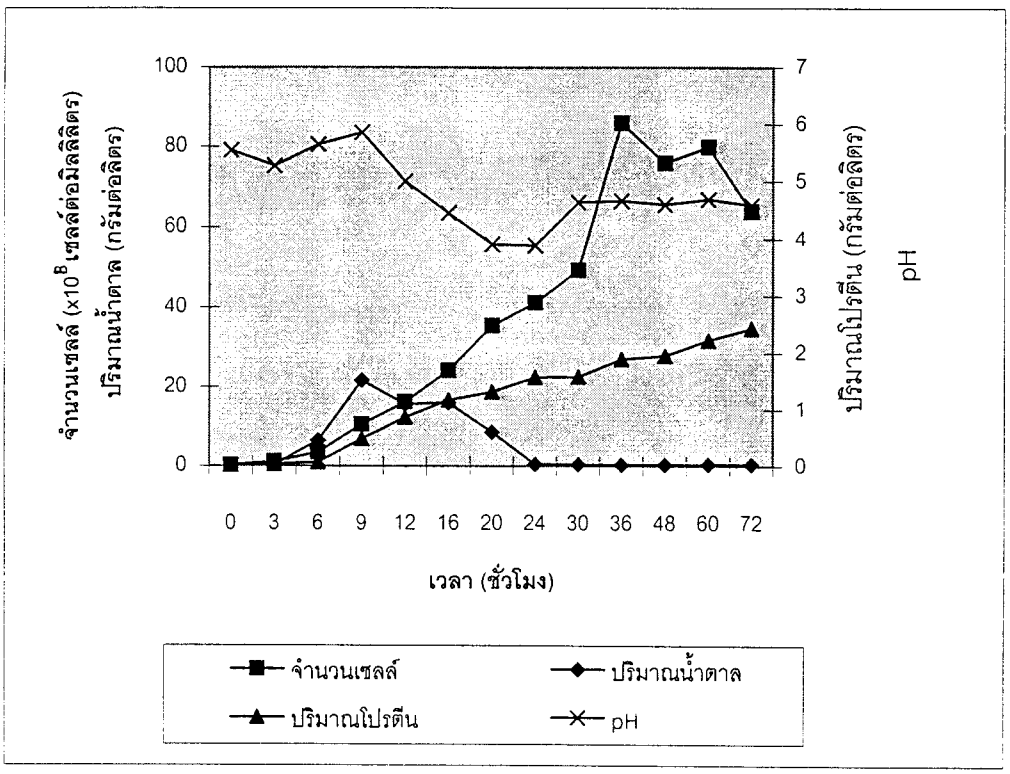
จากการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลที่มีอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่า ยีสต์มีการย่อยแป้งไปเป็นน้ำตาลได้อย่างรวดเร็วภายในช่วงเวลา 6 ชั่วโมงแรกของการเลี้ยง ทำให้ปริมาณน้ำตาลในอาหารเพิ่มมากขึ้น และมีปริมาณสูงสุดคือ 21.696 กรัมต่อลิตร ที่เวลา 9 ชั่วโมงของการเลี้ยง หลังจากนั้นปริมาณน้ำตาลจะลดลง และเหลืออยู่น้อยมากเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ทั้งนี้เพราะยีสต์นำน้ำตาลที่เกิดขึ้นไปใช้เพื่อการเจริญและผลิตโปรตีน

จากการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน พบว่าปริมาณโปรตีนจะเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ในช่วงแรกของการเลี้ยงและมีปริมาณโปรตีนสูงสุดคือ 2.432 กรัมต่อลิตร ที่เวลา 72 ชั่วโมงของการเลี้ยง หลังจากนั้นปริมาณโปรตีนเริ่มลดลงตามจำนวนเซลล์ที่ลดลง

สำหรับการวัด pH ที่เปลี่ยนแปลงไปที่เวลาต่าง ๆ กันพบว่า pH จะเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วงแรกของการเลี้ยง และลดลงจนกระทั่งมีค่าต่ำสุดคือ 3.89 ที่เวลา 24 ชั่วโมงของการเลี้ยง หลังจากนั้น pH จะเพิ่มขึ้นและค่อนข้างคงที่ในช่วงสุดท้ายของการทดลอง

**ตารางที่ 4.16** จำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาล ปริมาณโปรตีน และการเปลี่ยนแปลงของ pH ที่เวลาต่าง ๆ กัน ในการเลี้ยงยีสต์ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร

| เวลา (ชั่วโมง) | จำนวนเซลล์ (x $10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) | ปริมาณน้ำตาล (กรัมต่อลิตร) | ปริมาณโปรตีน (กรัมต่อลิตร) | pH ที่เปลี่ยนแปลง |
|---|---|---|---|---|
| 0 | 0.26 | 0.338 | 0.014 | 5.54 |
| 3 | 1.10 | 0.416 | 0.033 | 5.27 |
| 6 | 3.48 | 6.446 | 0.067 | 5.64 |
| 9 | 10.60 | 21.696 | 0.481 | 5.85 |
| 12 | 16.20 | 15.661 | 0.867 | 5.00 |
| 16 | 24.20 | 16.089 | 1.170 | 4.45 |
| 20 | 35.40 | 8.589 | 1.315 | 3.91 |
| 24 | 41.20 | 0.498 | 1.573 | 3.89 |
| 30 | 49.40 | 0.461 | 1.585 | 4.64 |
| 36 | 86.00 | 0.405 | 1.896 | 4.66 |
| 48 | 76.00 | 0.418 | 1.954 | 4.60 |
| 60 | 80.00 | 0.498 | 2.224 | 4.69 |
| 72 | 64.00 | 0.461 | 2.432 | 4.59 |




**รูปที่ 4.14** ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาล ปริมาณโปรตีน และการเปลี่ยนแปลงของ pH กับเวลา ในการเลี้ยงยีสต์ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร

ตารางที่ 4.17 และรูปที่ 4.15 แสดงผลการเลี้ยงยีสต์ *S. occidentalis* TISTR 5555 ในถังหมักขนาด 10 ลิตร จากผลของการนับจำนวนเซลล์พบว่ายีสต์มีการเจริญอย่างรวดเร็วในช่วงเวลา 9 ชั่วโมงแรกของการเลี้ยง และมีจำนวนเซลล์สูงสุดคือ $89 \times 10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ที่เวลา 36 ชั่วโมงของการเลี้ยง หลังจากนั้นจำนวนเซลล์ค่อนข้างคงที่

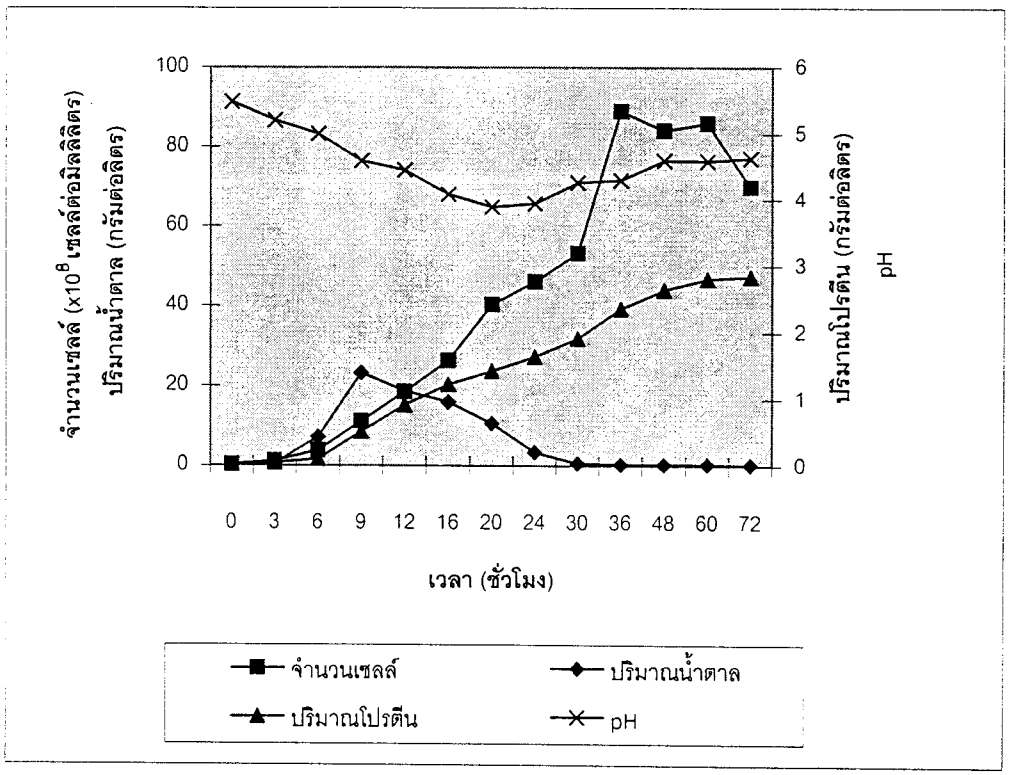
จากการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลที่มีอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่า ยีสต์มีการย่อยแป้งไปเป็นน้ำตาลได้อย่างรวดเร็วในช่วงเวลา 6 ชั่วโมงแรกของการเลี้ยง ทำให้ปริมาณน้ำตาลในอาหารเพิ่มมากขึ้นและมีปริมาณสูงสุดคือ 23.240 กรัมต่อลิตร ที่เวลา 9 ชั่วโมงของการเลี้ยง หลังจากนั้นปริมาณน้ำตาลจะลดลง และเหลืออยู่น้อยมากเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ทั้งนี้เพราะยีสต์นำน้ำตาลที่เกิดขึ้นไปใช้เพื่อการเจริญและผลิตโปรตีน

จากการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน พบว่าปริมาณโปรตีนจะเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ในช่วงแรกของการเลี้ยงและมีปริมาณโปรตีนสูงสุดคือ 2.840 กรัมต่อลิตร ที่เวลา 72 ชั่วโมงของการเลี้ยง หลังจากนั้นปริมาณโปรตีนจะลดลงตามจำนวนเซลล์ที่ลดลง

สำหรับการวัด pH ที่เปลี่ยนแปลงไปที่เวลาต่าง ๆ กันพบว่า pH จะลดลงในช่วงแรกของการเลี้ยง และมีค่าต่ำสุดคือ 3.89 ที่เวลา 20 ชั่วโมงของการเลี้ยง หลังจากนั้น pH จะเพิ่มขึ้นและมีค่าค่อนข้างคงที่ในช่วงสุดท้ายของการเลี้ยง

**ตารางที่** 4.17 จำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาล ปริมาณโปรตีน และการเปลี่ยนแปลงของ pH ที่เวลาต่าง ๆ กัน ในการเลี้ยงยีสต์ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ในถังหมักขนาด 10 ลิตร

| เวลา (ชั่วโมง) | จำนวนเซลล์ (x $10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) | ปริมาณน้ำตาล (กรัมต่อลิตร) | ปริมาณโปรตีน (กรัมต่อลิตร) | pH ที่เปลี่ยนแปลง |
|---|---|---|---|---|
| 0 | 0.32 | 0.420 | 0.020 | 5.48 |
| 3 | 1.20 | 0.614 | 0.042 | 5.20 |
| 6 | 3.84 | 7.142 | 0.101 | 5.00 |
| 9 | 11.20 | 23.240 | 0.513 | 4.59 |
| 12 | 18.46 | 18.700 | 0.910 | 4.45 |
| 16 | 26.38 | 16.000 | 1.220 | 4.08 |
| 20 | 40.35 | 10.619 | 1.420 | 3.89 |
| 24 | 46.00 | 3.420 | 1.638 | 3.94 |
| 30 | 53.20 | 0.612 | 1.915 | 4.26 |
| 36 | 89.00 | 0.402 | 2.359 | 4.30 |
| 48 | 84.20 | 0.412 | 2.639 | 4.60 |
| 60 | 86.00 | 0.368 | 2.805 | 4.59 |
| 72 | 70.00 | 0.328 | 2.840 | 4.63 |




**รูปที่** 4.15 ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาล ปริมาณโปรตีน และการเปลี่ยนแปลงของ pH กับเวลา ในการเลี้ยงยีสต์ *Schwanniomyces occidentalis* TISTR 5555 ในถังหมักขนาด 10 ลิตร

## 4.10 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนเซลล์เดียว

จากการวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญของโปรตีนเซลล์เดียวที่ผลิตได้ ซึ่งประกอบด้วยการวิเคราะห์หาความชื้น ปริมาณเถ้า ปริมาณโปรตีนรวม ปริมาณกรดอะมิโนบางชนิด ปริมาณไขมันรวม ปริมาณกรดไขมันบางชนิด ปริมาณแร่ธาตุบางชนิด เช่น calcium และ phosphorus ได้ผลดังตารางที่ 4.18, 4.19 และ 4.20

ตารางที่ 4.18 แสดงถึงองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญของโปรตีนเซลล์เดียวที่ผลิตได้ ซึ่งพบว่าปริมาณโปรตีนรวมมีค่าเท่ากับ 43.87% ปริมาณไขมันรวมมีค่าเท่ากับ 0.17% ปริมาณเยื่อใย มีค่าเท่ากับ 0.67 % ปริมาณ calcium มีค่าเท่ากับ 0.18% ปริมาณ phosphorus มีค่าเท่ากับ 0.77% ปริมาณเถ้ามีค่าเท่ากับ 4.31% และมีความชื้นเท่ากับ 9.32%

ตารางที่ 4.19 แสดงชนิดและปริมาณของกรดอะมิโนที่วิเคราะห์ได้จากโปรตีนเซลล์เดียว พบว่ากรดอะมิโนที่มีปริมาณมากที่สุดคือ glutamic acid (1599 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง) รองลงมาคือ aspartic acid และ lysine (1253.34 และ 1023.69 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง)

ตารางที่ 4.20 แสดงถึงกรดไขมันบางชนิดที่วิเคราะห์ได้จากโปรตีนเซลล์เดียว ซึ่งกรดไขมันที่มีปริมาณมากที่สุดคือ oleic acid (1.44 กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง) รองลงมาคือ stearic acid linoleic acid, palmitic acid, arachidic acid และ palmitoleic acid (0.45, 0.40, 0.34, 0.24 และ 0.11 กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง)

ตารางที่ 4.18 องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนเซลล์เดียวที่ผลิตได้

| องค์ประกอบทางเคมี | เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง |
|---|---|
| Crude Protein | 43.87 |
| Crude fat | 0.17 |
| Crude fiber | 0.67 |
| Mineral : Calcium | 0.18 |
| : Phosphorus | 0.77 |
| Ash | 4.31 |
| Moisture | 9.32 |

ตารางที่ 4.19 ชนิดและปริมาณของกรดอะมิโนที่วิเคราะห์ได้จากโปรตีนเซลล์เดียว

| ชนิดของกรดอะมิโน | มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง |
|---|---|
| Aspartic acid | 1253.34 |
| *Threonine | 591.95 |
| Serine | 608.81 |
| Glutamic acid | 1599.65 |
| Proline | 468.94 |
| Glycine | 587.39 |
| Alanine | 965.95 |
| Cystine | 5.89 |
| *Valine | 633.01 |
| *Methionine | 91.55 |
| *Isoleucine | 522.60 |
| *Leucine | 910.34 |
| Tyrosine | 361.12 |
| *Phenylalanine | 661.27 |
| *Histidine | 296.63 |

ตารางที่ 4.19 (ต่อ)

| ชนิดของกรดอะมิโน | มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง |
|---|---|
| *Lysine | 1023.69 |
| Arginine | 445.24 |
| *Tryptophan | 121.90 |

* กรดอะมิโนที่จำเป็น

ตารางที่ 4.20 กรดไขมันบางชนิดที่วิเคราะห์ได้จากโปรตีนเซลล์เดียว

| ชนิดของกรดไขมัน | กรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง |
|---|---|
| Palmitic acid (16:0) | 0.34 |
| Palmitoleic acid (16:1) | 0.11 |
| Stearic acid (18:0) | 0.45 |
| Oleic acid (18:1) | 1.44 |
| Linoleic acid (18:2) | 0.40 |
| Arachidic acid (20:0) | 0.24 |

จากข้อมูลที่ได้จะเห็นว่าปริมาณโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบอยู่ในโปรตีนเซลล์เดียวที่ผลิตได้มีปริมาณสูงถึง 43.87 % ของน้ำหนักแห้ง ซึ่งถ้าเปรียบเทียบกับปริมาณโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบในกากถั่วเหลืองจะพบว่ามีปริมาณโปรตีนที่ใกล้เคียงกัน (กากถั่วเหลืองมีโปรตีนประมาณ 35-40% ของน้ำหนักแห้ง) นอกจากนี้โปรตีนเซลล์เดียวที่ผลิตได้ยังมีองค์ประกอบอื่นๆ เช่น กรดอะมิโนที่จำเป็น หรือกรดไขมันบางชนิดในระดับค่อนข้างสูง จากข้อมูลที่กล่าวมาข้างต้นน่าจะทำให้โอกาสในการนำโปรตีนเซลล์เดียวที่ผลิตได้ไปใช้ผลิตเป็นอาหารสัตว์มีความเป็นไปได้สูง โดยเฉพาะการนำไปใช้ทดแทนกากถั่วเหลืองในสูตรอาหารสัตว์ และเพื่อให้บรรลุวัตถุประสงค์ของโครงการวิจัยนี้จึงได้ทำการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวในถังหมักขนาด 5 และ 10 ลิตร แล้วทำการเก็บรวบรวมโปรตีนที่ผลิตได้เพื่อนำไปใช้ผลิตเป็นอาหารสัตว์ต่อไป

## 4.11 ผลการนำโปรตีนเซลล์เดียวไปใช้เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนกากถั่วเหลืองในสูตรอาหารสำหรับเลี้ยงนกกระทาไข่

จากการนำโปรตีนที่ผลิตได้ไปใช้ทดแทนกากถั่วเหลืองในสูตรอาหารสำหรับเลี้ยงนกกระทาไข่ โดยใช้โปรตีนที่ผลิตได้ทดแทนกากถั่วเหลืองในปริมาณ 0%, 4%, 8% และ 12% ซึ่งจัดเป็นสูตรอาหารที่ 1, 2, 3 และ 4 ตามลำดับ แล้วติดตามผลของการเลี้ยงนกกระทาไข่เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.21 ถึง 4.27

ตารางที่ 4.21 แสดงปริมาณอาหารที่นกกระทากินต่อตัวต่อวัน จากข้อมูลพบว่าในสัปดาห์ที่ 1 นกกระทากินอาหารสูตรที่ 2 มากที่สุดคือ 20.52 กรัมต่อตัวต่อวัน รองลงมาคือสูตรที่ 1, 4 และ 3 ซึ่งมีปริมาณอาหารที่กินเป็น 20.29, 19.90 และ 18.33 กรัมต่อตัวต่อวัน ตามลำดับ ในสัปดาห์ที่ 2 นกกระทามีการกินอาหารสูตรที่ 2 มากที่สุดคือ 24.07 กรัมต่อตัวต่อวัน รองลงมาคือสูตรที่ 3, 4 และ 1 ซึ่งมีปริมาณการกินอาหารเป็น 21.75, 21.11 และ 17.06 กรัมต่อตัวต่อวัน ในสัปดาห์ที่ 3 นกกระทามีการกินอาหารสูตรที่ 2 มากที่สุดคือ 25.15 กรัมต่อตัวต่อวัน รองลงมาคือสูตรที่ 3, 4 และ 1 ซึ่งมีปริมาณการกินอาหารเป็น 25.06, 24.73 และ 21.55 กรัมต่อตัวต่อวัน ตามลำดับ และในสัปดาห์ที่ 4 นกกระทามีการกินอาหารสูตรที่ 1 มากที่สุดคือ 21.71 กรัมต่อตัวต่อวัน รองลงมาคือคือสูตรที่ 4, 2 และ 3 ซึ่งมีปริมาณการกินอาหารเป็น 17.25, 16.33 และ 14.81 กรัมต่อตัวต่อวัน ตามลำดับ

ตารางที่ 4.22 แสดงปริมาณอาหารที่นกกระทาใช้ต่อการผลิตไข่ 1 ฟอง จากข้อมูลพบว่าในสัปดาห์ที่ 1 นกกระทาใช้สูตรอาหารที่ 1 เพื่อการผลิตไข่ 1 ฟองสูงที่สุดคือ 77.45 กรัม รองลงมาคือสูตรที่ 3, 4 และ 2 ซึ่งมีปริมาณอาหารที่ใช้เป็น 64.17, 55.73 และ 47.89 กรัม ตามลำดับ ในสัปดาห์ที่ 2 นกกระทามีการใช้สูตรอาหารที่ 3 เพื่อการผลิตไข่ 1 ฟองสูงที่สุดคือ 48.07 กรัม รองลงมาคือสูตรที่ 4, 1 และ 2 ซึ่งมีปริมาณอาหารที่ใช้เป็น 31.67, 29.86 และ 29.73 กรัม ตามลำดับ ในสัปดาห์ที่ 3 นกกระทามีการใช้สูตรอาหารที่ 4 เพื่อการผลิตไข่ 1 ฟองสูงที่สุดคือ 39.95 กรัม รองลงมาคือสูตรที่ 3, 1 และ 2 ซึ่งมีปริมาณการใช้เป็น 38.99, 36.21 และ 27.09 กรัม ตามลำดับ ในสัปดาห์ที่ 4 นกกระทามีการใช้สูตรอาหารที่ 1 เพื่อการผลิตไข่1 ฟองสูงที่สุดคือ 28.94 กรัม รองลงมาคือสูตรที่ 4, 2 และ 3 ซึ่งมีปริมาณการใช้เป็น 19.17, 17.82 และ 17.20 กรัม ตามลำดับ

ตารางที่ 4.23 แสดงเปอร์เซ็นต์การไข่ของนกกระทา จากข้อมูลพบว่า ในสัปดาห์ที่ 1 สูตรอาหารที่ 2 ทำให้นกกระทามีเปอร์เซ็นต์การไข่สูงสุดคือ 42.86 % รองลงมาคือสูตรที่ 4, 3 และ 1

ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การไข่เป็น 35.71, 28.57 และ 26.19 % ตามลำดับ ในสัปดาห์ที่ 2 สูตรอาหารที่ 2 ทำให้นกกระทามีเปอร์เซ็นต์การไข่สูงที่สุดคือ 80.95 % รองลงมาคือสูตรที่ 4, 1 และ 3 ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การไข่เป็น 66.67, 57.14 และ 45.24 % ตามลำดับ ในสัปดาห์ที่ 3 สูตรอาหารที่ 2 ทำให้นกกระทามีเปอร์เซ็นต์การไข่สูงที่สุดคือ 92.86 % รองลงมาคือสูตรที่ 4, 3 และ 1 ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การไข่เป็น 66.67, 64.29 และ 59.52 % ตามลำดับ และในสัปดาห์ที่ 4 สูตรอาหารที่ 2 ทำให้นกกระทามีเปอร์เซ็นต์การไข่สูงที่สุดคือ 93.67% รองลงมาคือ สูตรที่ 4, 3 และ 1 ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การไข่เป็น 90, 86.11 และ 75% ตามลำดับ

ตารางที่ 4.24 แสดงน้ำหนักของไข่นกกระทา จากข้อมูลพบว่าในสัปดาห์ที่ 1 สูตรอาหารที่ 4 ทำให้น้ำหนักของไข่นกกระทาสูงที่สุดคือ 10.70 กรัม รองลงมาคือสูตรที่ 3, 1 และ 2 ซึ่งไข่นกกระทามีน้ำหนักเป็น 10.39, 10.30 และ 9.71 กรัม ตามลำดับ ในสัปดาห์ที่ 2 สูตรอาหารที่ 4 ทำให้น้ำหนักของไข่นกกระทาสูงที่สุดคือ 10.37 กรัม รองลงมาคือสูตรที่ 2, 1 และ 3 ซึ่งไข่นกกระทามีน้ำหนักเป็น 10.13, 9.76 และ 9.71 กรัม ตามลำดับ ในสัปดาห์ที่ 3 สูตรอาหารที่ 4 ทำให้น้ำหนักของไข่นกกระทาสูงที่สุดคือ 10.27 กรัม รองลงมาคือสูตรที่ 3, 2 และ 1 ซึ่งไข่นกกระทามีน้ำหนักเป็น 9.78, 9.57 และ 9.52 กรัม ตามลำดับ และในสัปดาห์ที่ 4 สูตรอาหารที่ 4 ทำให้น้ำหนักของไข่นกกระทาสูงที่สุดคือ 10.43 กรัม รองลงมาคือสูตรที่ 1, 3 และ 2 ซึ่งไข่นกกระทามีน้ำหนักเป็น 9.83, 9.66 และ 9.43 กรัม ตามลำดับ

ตารางที่ 4.25 แสดงสีของไข่แดงของไข่นกกระทา จากข้อมูลพบว่าสูตรอาหารแต่ละสูตรไม่มีผลต่อสีของไข่แดงของไข่นกกระทา โดยสีของไข่แดงของไข่นกกระทามีค่าเท่ากันคือ 2.57/(8.14) ส่วนตารางที่ 4.26 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของไข่นกกระทา จากข้อมูลพบว่าเปอร์เซ็นต์ความชื้นของไข่นกกระทามีค่าไม่แตกต่างกันมากนัก โดยสูตรอาหารที่ 4 ไข่นกกระทามีเปอร์เซ็นต์ความชื้นสูงที่สุดคือ 75.51% รองลงมาคือสูตรที่ 2, 1 และ 3 ซึ่งไข่นกกระทามีเปอร์เซ็นต์ความชื้นเป็น 74.44, 74.23 และ 73.65% ตามลำดับ สำหรับปริมาณโปรตีนที่พบในไข่นกกระทาพบว่า สูตรอาหารที่ 2 ไข่นกกระทามีปริมาณโปรตีนสูงที่สุดคือ 49.02% รองลงมาคือ สูตรที่ 4, 1 และ 3 ซึ่งมีปริมาณโปรตีนเป็น 48.31, 47.76 และ 46.64% ตามลำดับ ส่วนปริมาณไขมันซึ่งทำการวิเคราะห์โดยวิธีการสกัดด้วยอีเทอร์ พบว่าสูตรอาหารที่ 3 ไข่นกกระทามีปริมาณไขมันสูงที่สุดคือ 30.60% รองลงมาคือสูตรที่ 1, 2 และ 4 ซึ่งมีปริมาณไขมันเป็น 29.64, 27.85 และ 26.85% ตามลำดับ และตารางที่ 4.27 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของเปลือกไข่นกกระทา จากข้อมูลพบว่าปริมาณเถ้าที่พบในเปลือกไข่นกกระทามีค่าไม่แตกต่างกันมากนัก โดยสูตรอาหารที่ 4 เปลือกไข่นกกระทามีปริมาณเถ้าสูงที่สุดเป็น 86.23% รองลงมาคือสูตรที่ 3, 1 และ 2 ซึ่งมีปริมาณเถ้าเป็น 86.18,

85.64 และ 85.12% ตามลำดับ สำหรับปริมาณ calcium ที่พบในเปลือกไข่นกกระทาพบว่าคือสูตรอาหารที่ 4 เปลือกไข่นกกระทามีปริมาณ calcium สูงที่สุดคือ 33.41% รองลงมาคือสูตรที่ 3, 1 และ ซึ่งมีปริมาณ calcium เป็น 33.33, 33.30 และ 33.24% ตามลำดับ ส่วนปริมาณ phosphorus ที่พบในเปลือกไข่นกกระทาพบว่าสูตรอาหารที่ 1 เปลือกไข่นกกระทามีปริมาณ phosphorus สูงที่สุดคือ 0.43% รองลงมาคือสูตรที่ 2, 3 และ 4 ซึ่งมีปริมาณ phosphorus เป็น 0.37, 0.34 และ 0.30 % ตามลำดับ

**ตารางที่ 4.21** ปริมาณอาหารที่นกกระทากินต่อตัวต่อวัน (กรัม)

| สัปดาห์ที่ | กลุ่มทดลองที่ | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 1 | 20.29 | 20.52 | 18.33 | 19.90 |
| 2 | 17.06 | 24.07 | 21.75 | 21.11 |
| 3 | 21.55 | 25.15 | 25.06 | 24.73 |
| 4 | 21.71 | 16.33 | 14.81 | 17.25 |

**ตารางที่ 4.22** ปริมาณอาหารที่นกกระทาใช้ต่อการผลิตไข่ 1 ฟอง (กรัม)

| สัปดาห์ที่ | กลุ่มทดลองที่ | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 1 | 77.45 | 47.89 | 64.17 | 55.73 |
| 2 | 29.86 | 29.73 | 48.07 | 31.67 |
| 3 | 36.21 | 27.09 | 38.99 | 39.95 |
| 4 | 28.94 | 17.82 | 17.20 | 19.17 |

**ตารางที่ 4.23** เปอร์เซ็นต์การไข่ของนกกระทา

| สัปดาห์ที่ | กลุ่มทดลองที่ | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 1 | 26.19 | 42.86 | 28.57 | 35.71 |
| 2 | 57.14 | 80.95 | 45.24 | 66.67 |
| 3 | 59.52 | 92.86 | 64.29 | 66.67 |
| 4 | 75.00 | 93.67 | 86.11 | 90.00 |

หมายเหตุ %การไข่ = $\frac{\text{จำนวนไข่}}{\text{จำนวนนก x จำนวนวัน}} \times 100\%$

**ตารางที่ 4.24** น้ำหนักไข่นกกระทา

| สัปดาห์ที่ | กลุ่มทดลองที่ | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 1 | 10.30 | 9.71 | 10.39 | 10.70 |
| 2 | 9.76 | 10.13 | 9.71 | 10.37 |
| 3 | 9.52 | 9.57 | 9.78 | 10.27 |
| 4 | 9.83 | 9.43 | 9.66 | 10.43 |

**ตารางที่ 4.25** สีของไข่แดงของไข่นกกระทา

| กลุ่มทดลอง | สี (Munsell system) | |
|---|---|---|
| 1 | 2.57 | 8/14 |
| 2 | 2.57 | 8/14 |
| 3 | 2.57 | 8/14 |
| 4 | 2.57 | 8/14 |

**ตารางที่ 4.26** องค์ประกอบทางเคมีของไข่นกกระทา

| กลุ่มทดลอง | องค์ประกอบ (%) | | |
|---|---|---|---|
| | ความชื้น | โปรตีน | ไขมัน |
| 1 | 74.23 | 47.76 | 29.64 |
| 2 | 74.44 | 49.02 | 27.85 |
| 3 | 73.65 | 46.64 | 30.60 |
| 4 | 75.51 | 48.31 | 26.85 |

**ตารางที่ 4.27** องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกไข่นกกระทา

| กลุ่มทดลอง | องค์ประกอบ (%) | | |
|---|---|---|---|
| | เถ้า | calcium | phosphorus |
| 1 | 85.64 | 33.30 | 0.43 |
| 2 | 85.21 | 33.24 | 0.37 |
| 3 | 86.18 | 33.33 | 0.34 |
| 4 | 86.23 | 33.41 | 0.30 |