บทที่ 3

ผลการทดลอง

3.1 การเก็บตัวอย่างน้ำทิ้ง การวิเคราะห์องค์ประกอบทางกายภาพและทางเคมีของน้ำทิ้ง

เก็บตัวอย่างน้ำทิ้ง (ตามวิธีทดลองในข้อ 2.2.1) โดยเก็บตัวอย่างน้ำทิ้งที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบจากบ่อดักไขมันก่อนการบำบัดแบบอ้วง เป็นบริเวณ 3 จุด น้ำทิ้งเหล่านี้เป็นน้ำทิ้งที่รวบรวมจากทุกขั้นตอนในกระบวนการผลิต ถูกนำมาแยกไขมันออกจากน้ำทิ้งในบ่อดักไขมันก่อนการบำบัดน้ำทิ้งในระบบ activated sludge การเก็บตัวอย่างน้ำทิ้งดำเนินการในช่วงมีนาคม 2539 ถึงกุมภาพันธ์ 2540 จำนวน 10 ครั้ง เป็นบริเวณเดียวกันทั้ง 3 จุด โดยได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท สหฟาร์ม จำกัด นำตัวอย่างน้ำทิ้งมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางกายภาพและทางเคมี ได้แก่ อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรดด่าง บีโอดี ซีโอดี ไขมัน โปรตีน และน้ำตาลทั้งหมด ได้ข้อมูลดังแสดงในตารางที่ 3.1 พบว่า อุณหภูมิของน้ำทิ้งอยู่ในช่วง 28-31 องศาเซลเซียส และมีค่าความเป็นกรดด่างค่อนข้างเป็นกรดเล็กน้อย โดยอยู่ในช่วง 5.5-6.7 ซึ่งระหว่างการเก็บตัวอย่างน้ำทิ้ง 10 ครั้ง อุณหภูมิและค่าความเป็นกรดด่างของน้ำทิ้งค่อนข้างคงที่ สำหรับการเก็บตัวอย่างน้ำทิ้งทั้ง 10 ครั้ง ค่าบีโอดีและค่าซีโอดีของน้ำทิ้งอยู่ในช่วง 463-645 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 823-1,108 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยมีค่าบีโอดีเฉลี่ยและค่าซีโอดีเฉลี่ยเท่ากับ 558 และ 941 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ สำหรับมาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้ง ตามประกาศกระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม ฉบับที่ 3 กำหนดให้มีค่าบีโอดีไม่เกิน 20-60 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่าซีโอดีไม่เกิน 120-400 มิลลิกรัมต่อลิตร (สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ, 2539) ค่าบีโอดีและค่าซีโอดีในตัวอย่างน้ำทิ้งขึ้นอยู่กับปริมาณสารอินทรีย์ในน้ำทิ้ง ถ้ามีสารอินทรีย์อยู่มาก ค่าบีโอดีและค่าซีโอดีจะมาก ถ้ามีสารอินทรีย์ปนอยู่น้อย ค่าบีโอดีและค่าซีโอดีจะน้อย (Chiang, 1986) เมื่อวิเคราะห์ปริมาณสารอินทรีย์ในน้ำทิ้ง ได้แก่ ปริมาณ

ไขมัน โปรตีน และน้ำตาลทั้งหมด ได้ปริมาณเฉลี่ยเท่ากับ 3.27, 1.44 และ 1.19 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ พบว่า น้ำทิ้งมีไขมันเป็นองค์ประกอบในปริมาณสูงสุดเมื่อเทียบกับปริมาณโปรตีน และน้ำตาลทั้งหมดในน้ำทิ้ง Davis และ Reilly (1980) รายงานว่าน้ำทิ้งจากโรงงานน้ำมันปาล์มมีค่าบีโอดีสูง เนื่องจากปริมาณไขมันในน้ำทิ้ง การย่อยสลายไขมันทำได้โดยการย่อยสลายด้วยจุลินทรีย์ Couillard และคณะ (1989) รายงานว่าจุลินทรีย์ที่ดำรงชีพแบบใช้ออกซิเจนสามารถย่อยสลายไขมันและลดค่าบีโอดีของน้ำทิ้งได้ 90 เปอร์เซนต์ ดังนั้นเพื่อเป็นการกำจัดไขมันและลดปัญหามลภาวะอันเกิดจากไขมันในน้ำทิ้ง จึงพิจารณานำไขมันในน้ำทิ้งมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการเติบโตของจุลินทรีย์ โดยนำไขมันในน้ำทิ้งจากการเก็บตัวอย่างน้ำทิ้งครั้งที่ 1, 5 และ 10 มาวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดไขมัน ด้วยเครื่องแคปพิลลารีก๊าซลิควิดโครมาโตกราฟี (ตามวิธีวิเคราะห์ข้อ 2.5.11) ได้ข้อมูลดังแสดงในตารางที่ 3.2 พบว่าปริมาณกรดไขมันในน้ำทิ้งจากการเก็บตัวอย่างน้ำทิ้งครั้งที่ 1, 5 และ 10 มีปริมาณกรดไขมันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ โดยไขมันในน้ำทิ้งมีกรดไขมันเป็นองค์ประกอบคือ กรดปาล์มิติก กรดโอเลอิก กรดสเตียริก กรดลิโนเลอิก กรดปาล์มิโตเลอิก กรดมายริสติก และกรดไลโนลินิอิก ในปริมาณเฉลี่ยเท่ากับ 46.16, 32.21, 12.35, 5.08, 2.12, 0.12 และ 0.08 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ โดยมีกรดปาล์มิติกเป็นองค์ประกอบสูงสุด การนำไขมันไปใช้เป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ เป็นการย่อยสลายกรดไขมันผ่านวิถีเบต้าออกซิเดชัน เช่น การย่อยสลายกรดปาล์มิติกทำให้ได้พลังงานสำหรับการเติบโตของยีสต์ในรูป ATP เท่ากับ 130 โมลต่อกรดปาล์มิติก 1 โมล (Ratledge และ Evans, 1989 ; Ratledge และ Tan, 1989 ; Reed และ Nagodawithana, 1995) Tan และ Gill (1985) รายงานว่าไขมันสัตว์มีกรดไขมันอิ่มตัวพวกกรดปาล์มิติกเป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ โดยมีปริมาณมากถึง 75 เปอร์เซนต์ของไขมันทั้งหมด และยีสต์สามารถเติบโตได้ในอาหารที่มีกรดปาล์มิติกหรือกรดโอลิอิกเพียงอย่างเดียว โดยไม่มีแหล่งคาร์บอนชนิดอื่น ขณะที่ไม่สามารถเติบโตในอาหารที่มีกรดสเตียริกเพียงอย่างเดียว โดยไม่มีแหล่งคาร์บอนชนิดอื่น

ตารางที่ 3.1 สมบัติทางเคมีและฟิสิกส์ของตัวอย่างน้ำทิ้ง จากบ่อดักไขมัน บริษัท สหฟาร์ม จำกัด ช่วงมีนาคม 2539 ถึง กุมภาพันธ์ 2540

ครั้งที่	อุณหภูมิเฉลี่ย (องศาเซลเซียส)	ค่าความเป็นกรดด่างเฉลี่ย	ไขมัน (กรัมต่อลิตร)	โปรตีน (กรัมต่อลิตร)	น้ำตาลทั้งหมด (กรัมต่อลิตร)	บีโอดี (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ซีโอดี (มิลลิกรัมต่อลิตร)
1	30	6.5	3.13	1.29	1.12	510	836
2	28	6.7	3.35	1.48	1.17	463	962
3	30	5.8	3.14	1.35	1.15	545	881
4	28	6.4	2.88	1.24	1.02	570	823
5	28	5.5	3.38	1.52	1.23	586	977
6	30	6.0	3.41	1.56	1.27	602	1,012
7	31	5.7	2.97	1.28	1.10	491	826
8	30	6.5	3.26	1.43	1.16	550	893
9	28	6.7	3.50	1.62	1.31	618	1,094
10	30	5.5	3.68	1.65	1.38	645	1,108
เฉลี่ย	**29**	**6.1**	**3.27**	**1.44**	**1.19**	**558**	**941**

หมายเหตุ สมบัติทางเคมีและฟิสิกส์ของตัวอย่างน้ำทิ้งที่แสดงในตาราง แต่ละค่าเป็นค่าเฉลี่ยจากตัวอย่างที่เก็บจาก 3 จุด เป็นบริเวณเดียวกันทั้ง 10 ครั้ง

ตารางที่ 3.2 ชนิดและปริมาณกรดไขมันในน้ำทิ้ง วิเคราะห์ด้วยเครื่องแกปพิลลารีก๊าซลิควิดโครมาโตกราฟี

ชนิดของกรดไขมัน	ปริมาณกรดไขมัน (กรัมต่อ 100 กรัมไขมัน)			ปริมาณเฉลี่ย (กรัมต่อ 100 กรัมไขมัน)
	การเก็บตัวอย่างน้ำทิ้ง			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 5	ครั้งที่ 10	
กรดปาล์มิติก	45.93	46.23	46.32	**46.16**
กรดโอเลอิก	32.28	32.19	32.16	32.21
กรดสเตียริก	12.38	12.25	12.42	12.35
กรดลิโนเลอิก	5.13	5.04	5.07	5.08
กรดปาล์มิโตเลอิก	2.12	2.08	2.16	2.12
กรดมายริสติก	0.12	0.13	0.11	0.12
กรดไลโนลินิอิก	0.07	0.07	0.10	0.08

3.2 การคัดแยกและการรวบรวมสายพันธุ์ยีสต์ที่เติบโตได้ในน้ำทิ้ง เปรียบเทียบสมบัติการเติบโตและองค์ประกอบภายในเซลล์ยีสต์ที่รวบรวมได้ เพื่อคัดเลือกยีสต์สายพันธุ์ที่มีสมบัติเหมาะสมในการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์จากน้ำทิ้ง

3.2.1 การคัดแยกและการรวบรวมสายพันธุ์ยีสต์ที่เติบโตได้ในน้ำทิ้ง ในอาหารแข็งจากน้ำทิ้งที่แปรผันชนิดของแหล่งคาร์บอน

คัดแยกยีสต์ที่เติบโตได้ในน้ำทิ้ง ในอาหารแข็งจากน้ำทิ้ง 3 สูตร คือสูตรอาหารที่ไม่เติมแหล่งคาร์บอน และสูตรอาหารที่เติมแหล่งคาร์บอนบางชนิด ได้แก่ กลีเซอรอลหรือกลูโคส อย่างละ 20 กรัมต่อลิตร (ภาคผนวก ก , ตามวิธีทดลองในข้อ 2.2.2) พบว่าสามารถคัดแยกยีสต์ที่เติบโตได้บนอาหารแข็งจากน้ำทิ้งทั้ง 3 สูตร รวบรวมสายพันธุ์ยีสต์ได้ทั้งหมด 7 สายพันธุ์ ดังนี้

1) ยีสต์สายพันธุ์ *C* 5045
2) ยีสต์สายพันธุ์ *C* 5046
3) ยีสต์สายพันธุ์ *S* 0001
4) ยีสต์สายพันธุ์ *T* 0001

5) ยีสต์สายพันธุ์ *Y* 8662

6) ยีสต์สายพันธุ์ *N* 0001

7) ยีสต์สายพันธุ์ *N* 0002

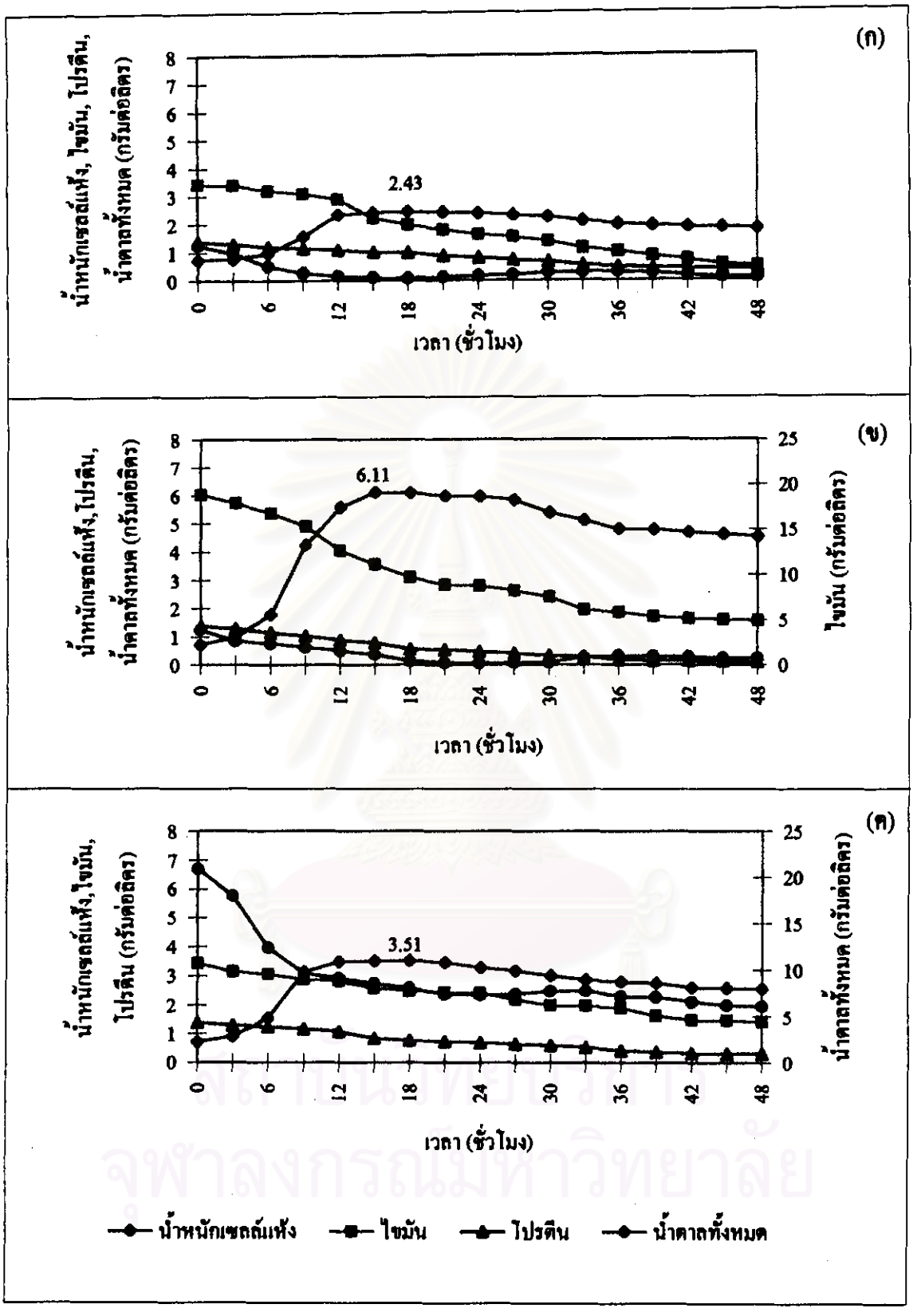
3.2.2 เปรียบเทียบการเติบโตในน้ำทิ้ง และองค์ประกอบภายในเซลล์ยีสต์ที่รวบรวมได้ เพื่อคัดเลือกยีสต์สายพันธุ์ที่มีสมบัติเหมาะสมในการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์จากน้ำทิ้ง

3.2.2.1 การเติบโตของยีสต์ ในอาหารเลี้ยงเชื้อจากน้ำทิ้งและอาหารเลี้ยงเชื้อจากน้ำทิ้งที่เติมแหล่งคาร์บอน ในขวดเขย่า

เลี้ยงเชื้อยีสต์ที่รวบรวมได้จากข้อ 3.2.1 ในอาหารเลี้ยงเชื้อจากน้ำทิ้งที่ไม่เติมแหล่งคาร์บอนเปรียบเทียบกับอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้น้ำทิ้งเติมแหล่งคาร์บอน ได้แก่ กลีเซอรอล หรือกลูโคส อย่างละ 20 กรัมต่อลิตร (ตามวิธีการทดลองในข้อ 2.3.2) ในขวดเขย่า ติดตามการเติบโตของยีสต์แต่ละสายพันธุ์ ทุกๆ 3 ชั่วโมง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เปรียบเทียบน้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณไขมัน โปรตีน และน้ำตาลทั้งหมด (กรัมต่อลิตร) ในน้ำทิ้งแต่ละช่วงเวลา ได้ข้อมูลดังแสดงในตารางที่ 3.3-3.9 และรูปที่ 3.1-3.7 ตามลำดับ โดยพบว่ายีสต์สายพันธุ์ *Y* 8662 , *C* 5045, *C* 5046 และ *N* 0001 สามารถเติบโตได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อจากน้ำทิ้งทั้ง 3 สูตร เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งพบว่ายีสต์สายพันธุ์ *Y* 8662 , *C* 5045 , *C* 5046 และ *N* 0001 มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 2.58, 2.43, 2.32 และ 2.08 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งเติมกลีเซอรอล มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 8.40, 6.08, 5.91 และ 4.05 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และเมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้งเติมกลูโคส มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 3.79, 3.51, 3.14 และ 2.75 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ขณะที่ยีสต์สายพันธุ์ *S* 0001 เติบโตได้ดีในน้ำทิ้งเติมกลูโคส โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 4.63 กรัมต่อลิตร ส่วนยีสต์สายพันธุ์ *T* 0001 และ *N* 0002 เติบโตในอาหารเลี้ยงเชื้อจากน้ำทิ้งทั้ง 3 สูตรได้ในปริมาณต่ำเมื่อเทียบกับยีสต์สายพันธุ์อื่นๆ ดังนั้นเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบความสามารถในการเติบโตของยีสต์ทั้ง 7 สายพันธุ์ ในอาหารเลี้ยงเชื้อจากน้ำทิ้งทั้ง 3 สูตร พบว่ายีสต์สายพันธุ์ *Y* 8662 , *C* 5045 , *C* 5046 และ *N* 0001 เติบโตได้ดีในน้ำทิ้งและน้ำทิ้งเติมกลีเซอรอล โดยยีสต์ *Y* 8662 มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ขณะที่ยีสต์ *S* 0001 เติบโตได้ดีในน้ำทิ้งเติมกลูโคส เปรียบเทียบน้ำหนักเซลล์แห้งในแต่ละช่วงเวลาที่เลี้ยงเชื้อยีสต์สายพันธุ์ต่างๆ (รูปที่ 3.8)

ตารางที่ 3.3 การเติบโตของยีสต์ *C* 5045 ในอาหารเลี้ยงเชื้อจากน้ำทิ้ง 3 สูตร คือ (ก) น้ำทิ้ง (ข) น้ำทิ้งเติมกลีเซอรอล และ (ค) น้ำทิ้งเติมกลูโคส ตามลำดับ เลี้ยงเชื้อในขวดเขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 4.5

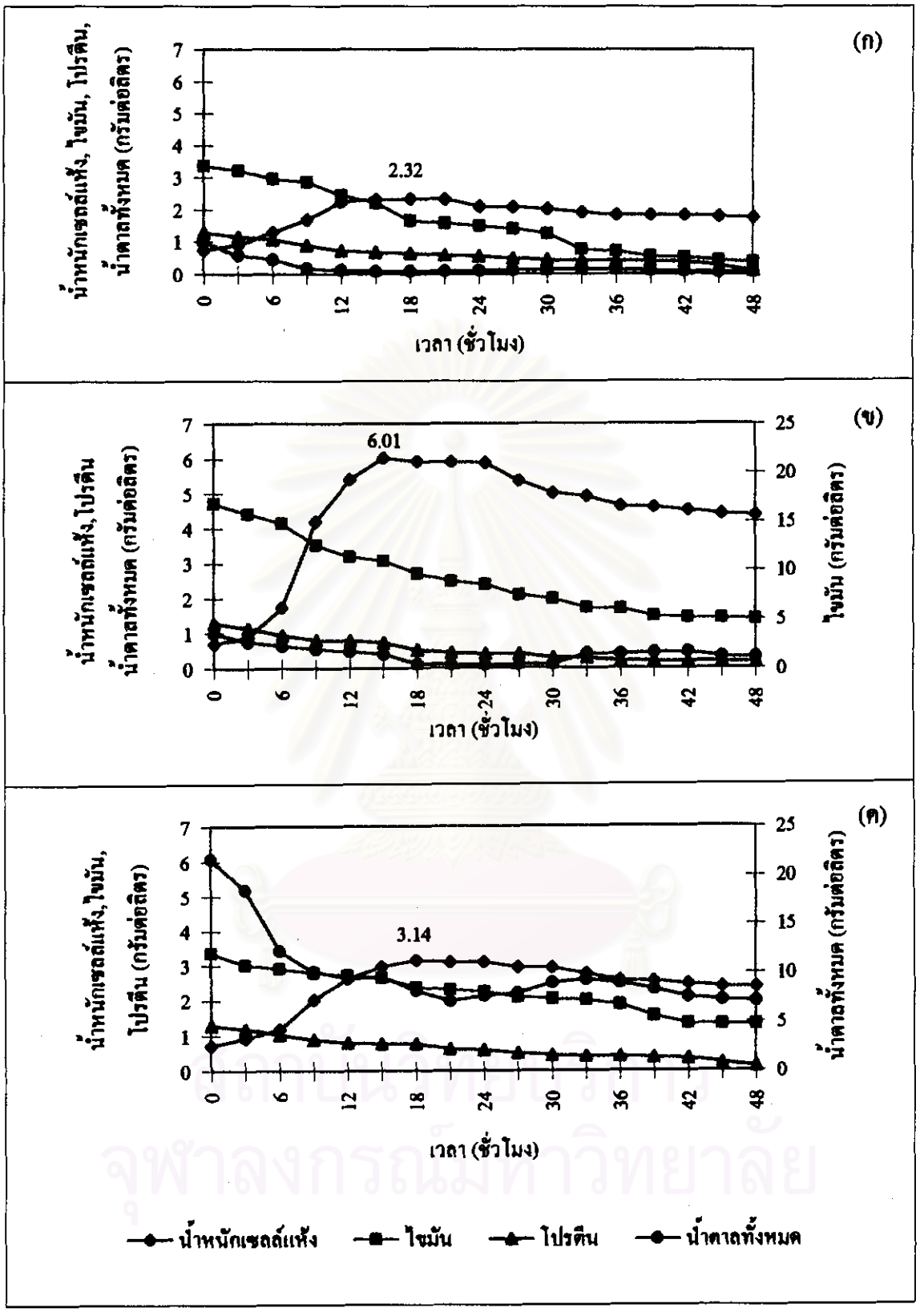
เวลา (ชั่วโมง)	ก. น้ำทิ้ง				ข. น้ำทิ้งเติมกลีเซอรอล				ค. น้ำทิ้งเติมกลูโคส			
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (ก./ล.)	ไขมัน (ก./ล.)	โปรตีน (ก./ล.)	น้ำตาลทั้งหมด (ก./ล.)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (ก./ล.)	ไขมัน (ก./ล.)	โปรตีน (ก./ล.)	น้ำตาลทั้งหมด (ก./ล.)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (ก./ล.)	ไขมัน (ก./ล.)	โปรตีน (ก./ล.)	น้ำตาลทั้งหมด (ก./ล.)
0	0.72	3.41	1.36	1.23	0.70	23.34	1.36	1.23	0.70	3.41	1.36	20.88
6	0.94	3.19	1.17	0.49	1.76	18.78	1.12	0.74	1.52	3.04	1.22	12.33
12	2.32	2.86	1.06	0.15	5.58	16.73	0.86	0.47	3.46	2.79	1.05	9.02
18	**2.43**	1.96	0.98	0.08	**6.08**	12.58	0.55	0.12	**3.51**	2.45	0.76	8.02
24	2.38	1.62	0.79	0.16	5.96	9.68	0.46	0.05	3.27	2.38	0.69	7.26
30	2.25	1.38	0.66	0.27	5.39	7.51	0.34	0.10	3.00	1.98	0.60	7.69
36	1.98	1.01	0.47	0.30	4.80	5.80	0.19	0.31	2.78	1.88	0.41	7.14
42	1.87	0.72	0.42	0.17	4.69	5.12	0.14	0.27	2.59	1.47	0.32	6.54
48	1.81	0.48	0.39	0.09	4.55	4.91	0.10	0.22	2.55	1.40	0.30	6.06



รูปที่ 3.1 การเติบโตของยีสต์ *C* 5045 โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อคือ (ก) น้ำทิ้ง (ข) น้ำทิ้งเติมกลีเซอรอล และ (ค) น้ำทิ้งเติมกลูโคส ตามลำดับ ในขวดเขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 4.5

ตารางที่ 3.4 การเติบโตของยีสต์ *C* 5046 ในอาหารเลี้ยงเชื้อจากน้ำทิ้ง 3 สูตร คือ (ก) น้ำทิ้ง (ข) น้ำทิ้งเติมกลีเซอรอล และ (ค) น้ำทิ้งเติมกลูโคส ตามลำดับ เลี้ยงเชื้อในขวดเขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 4.5

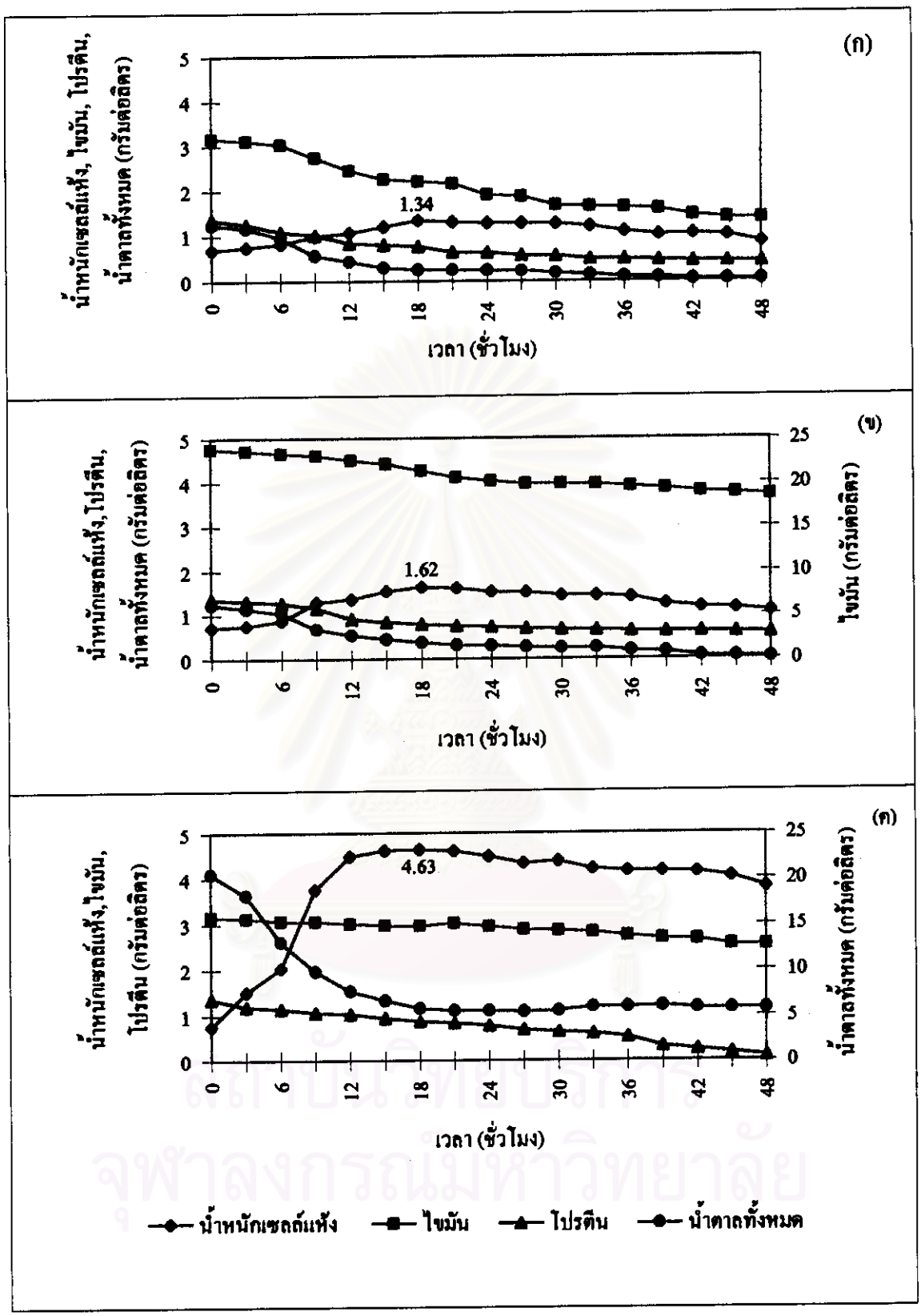
เวลา (ชั่วโมง)	ก. น้ำทิ้ง				ข. น้ำทิ้งเติมกลีเซอรอล				ค. น้ำทิ้งเติมกลูโคส			
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (ก./ล.)	ไขมัน (ก./ล.)	โปรตีน (ก./ล.)	น้ำตาลทั้งหมด (ก./ล.)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (ก./ล.)	ไขมัน (ก./ล.)	โปรตีน (ก./ล.)	น้ำตาลทั้งหมด (ก./ล.)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (ก./ล.)	ไขมัน (ก./ล.)	โปรตีน (ก./ล.)	น้ำตาลทั้งหมด (ก./ล.)
0	0.73	3.35	1.28	0.98	0.69	23.81	1.28	0.98	0.70	3.35	1.28	21.63
6	1.28	2.94	1.05	0.44	1.73	16.81	0.93	0.63	1.16	2.90	1.02	12.16
12	2.23	2.43	0.72	0.12	5.40	14.80	0.78	0.46	2.62	2.70	0.79	9.42
18	**2.32**	1.65	0.63	0.08	**5.91**	11.37	0.51	0.12	**3.14**	2.36	0.76	8.11
24	2.09	1.49	0.55	0.18	5.88	8.50	0.40	0.09	3.09	2.25	0.58	7.58
30	2.02	1.25	0.44	0.29	5.01	7.01	0.28	0.11	2.93	2.03	0.44	8.94
36	1.84	0.70	0.43	0.32	4.63	5.97	0.20	0.39	2.57	1.87	0.40	8.92
42	1.83	0.52	0.39	0.18	4.51	5.08	0.18	0.45	2.47	1.35	0.34	7.50
48	1.76	0.37	0.10	0.12	4.38	4.91	0.17	0.30	2.38	1.31	0.12	7.06



รูปที่ 3.2 การเติบโตของเชื้อ *C* 5046 โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อคือ (ก) น้ำทิ้ง (ข) น้ำทิ้งเติมกลีเซอรอล และ (ค) น้ำทิ้งเติมกลูโคส ตามลำดับ ในขวดเขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 4.5

ตารางที่ 3.5 การเติบโตของยีสต์ *S* 0001 ในอาหารเลี้ยงเชื้อจากน้ำทิ้ง 3 สูตร คือ (ก) น้ำทิ้ง (ข) น้ำทิ้งเติมกลีเซอรอล และ (ค) น้ำทิ้งเติมกลูโคส ตามลำดับ เลี้ยงเชื้อในขวดเขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 4.5

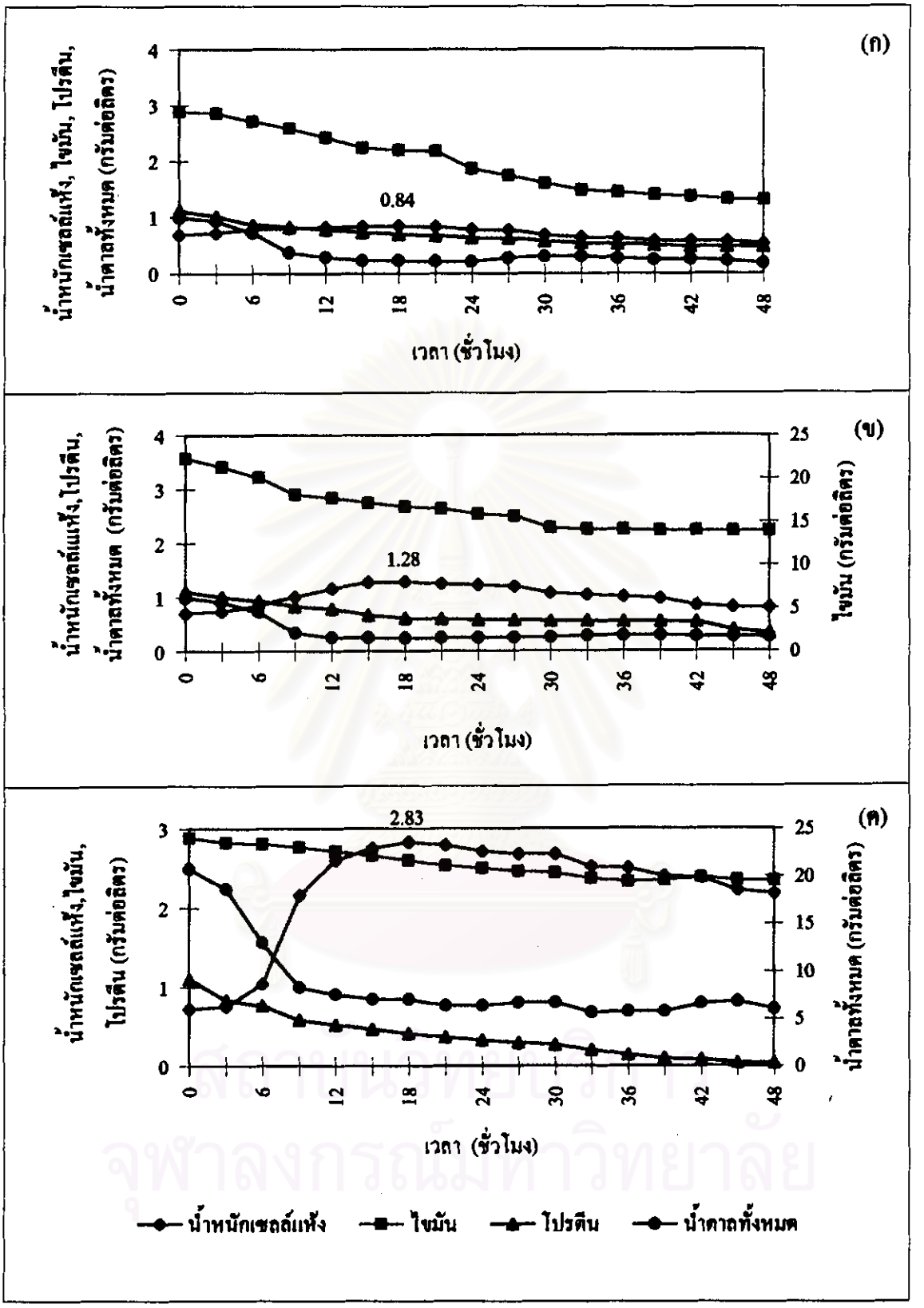
เวลา (ชั่วโมง)	ก. น้ำทิ้ง				ข. น้ำทิ้งเติมกลีเซอรอล				ค. น้ำทิ้งเติมกลูโคส			
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (ก./ล.)	ไขมัน (ก./ล.)	โปรตีน (ก./ล.)	น้ำตาลทั้งหมด (ก./ล.)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (ก./ล.)	ไขมัน (ก./ล.)	โปรตีน (ก./ล.)	น้ำตาลทั้งหมด (ก./ล.)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (ก./ล.)	ไขมัน (ก./ล.)	โปรตีน (ก./ล.)	น้ำตาลทั้งหมด (ก./ล.)
0	0.68	3.15	1.35	1.23	0.71	23.75	1.35	1.23	0.74	3.15	1.35	21.58
6	0.82	3.03	1.09	0.95	0.86	23.25	1.26	1.03	2.02	3.05	1.13	13.04
12	1.06	2.45	0.83	0.43	1.35	22.48	0.90	0.53	4.48	3.00	1.02	7.62
18	**1.84**	2.20	0.76	0.24	**1.62**	21.25	0.78	0.37	**4.63**	2.95	0.86	5.71
24	1.28	1.91	0.62	0.23	1.51	20.10	0.72	0.29	4.49	2.94	0.77	5.58
30	1.27	1.68	0.55	0.17	1.43	19.77	0.66	0.24	4.38	2.85	0.63	5.50
36	1.10	1.63	0.48	0.09	1.39	19.50	0.63	0.18	4.16	2.74	0.52	5.89
42	1.05	1.46	0.44	0.03	1.17	18.92	0.61	0.06	4.14	2.65	0.24	5.80
48	0.87	1.39	0.43	0.03	1.08	18.50	0.58	0.02	3.81	2.63	0.09	5.70



รูปที่ 3.3 การเติบโตของยีสต์ *S* 0001 โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อคือ (ก) น้ำทิ้ง (ข) น้ำทิ้งเติมกลีเซอรอล และ (ค) น้ำทิ้งเติมกลูโคส ตามลำดับ ในขวดเขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 4.5

ตารางที่ 3.6 การเติบโตของยีสต์ *T* 0001 ในอาหารเลี้ยงเชื้อจากน้ำทิ้ง 3 สูตร คือ (ก) น้ำทิ้ง (ข) น้ำทิ้งเติมกลีเซอรอล และ (ค) น้ำทิ้งเติมกลูโคส ตามลำดับ เลี้ยงเชื้อในขวดเขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 4.5

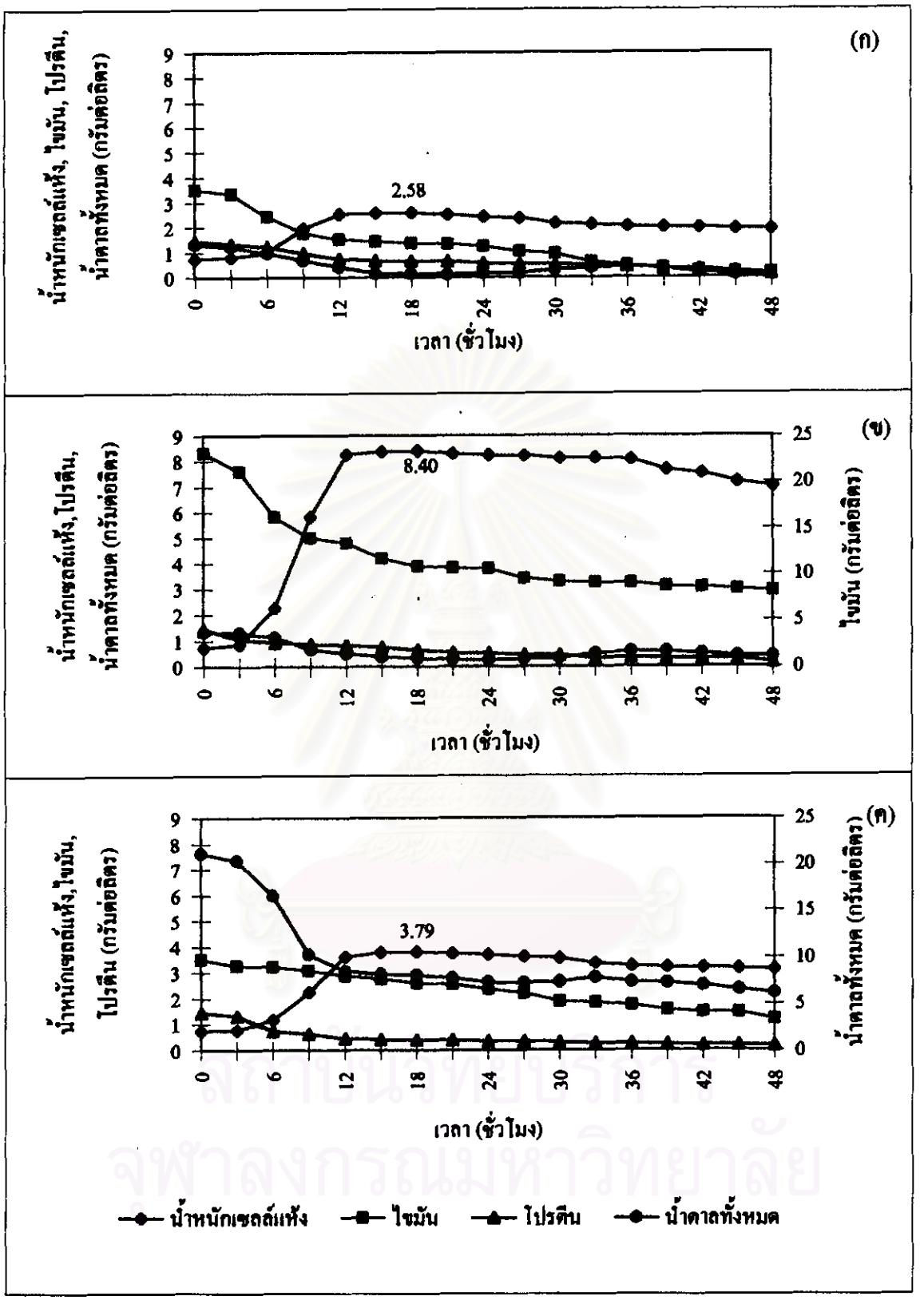
เวลา (ชั่วโมง)	ก. น้ำทิ้ง				ข. น้ำทิ้งเติมกลีเซอรอล				ค. น้ำทิ้งเติมกลูโคส			
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (ก./ล.)	ไขมัน (ก./ล.)	โปรตีน (ก./ล.)	น้ำตาลทั้งหมด (ก./ล.)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (ก./ล.)	ไขมัน (ก./ล.)	โปรตีน (ก./ล.)	น้ำตาลทั้งหมด (ก./ล.)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (ก./ล.)	ไขมัน (ก./ล.)	โปรตีน (ก./ล.)	น้ำตาลทั้งหมด (ก./ล.)
0	0.68	2.88	1.10	0.98	0.70	22.25	1.10	0.98	0.72	2.88	1.10	20.80
6	0.78	2.70	0.86	0.71	0.84	20.10	0.92	0.72	1.04	2.80	0.76	13.02
12	0.82	2.41	0.78	0.28	1.16	17.74	0.78	0.24	2.60	2.71	0.52	7.51
18	**0.84**	2.19	0.70	0.22	**1.28**	16.68	0.60	0.23	**2.83**	2.64	0.41	7.01
24	0.78	1.86	0.63	0.20	1.22	15.85	0.57	0.24	2.71	2.50	0.32	6.38
30	0.68	1.60	0.57	0.30	1.07	14.27	0.55	0.25	2.68	2.44	0.26	6.70
36	0.62	1.44	0.52	0.27	1.02	14.08	0.54	0.28	2.50	2.33	0.14	5.75
42	0.58	1.36	0.47	0.25	0.84	13.95	0.53	0.27	2.38	2.38	0.08	6.57
48	0.53	1.31	0.47	0.18	0.80	13.90	0.32	0.26	2.18	2.34	0.03	6.02



รูปที่ 3.4 การเติบโตของยีสต์ *T* 0001 โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อคือ (ก) น้ำทิ้ง (ข) น้ำทิ้งเติมกลีเซอรอล และ (ค) น้ำทิ้งเติมกลูโคส ตามลำดับ ในขวดเขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 4.5

ตารางที่ 3.7 การเติบโตของยีสต์ *Y* 8662 ในอาหารเลี้ยงเชื้อจากน้ำทิ้ง 3 สูตร คือ (ก) น้ำทิ้ง (ข) น้ำทิ้งเติมกลีเซอรอล และ (ค) น้ำทิ้งเติมกลูโคส ตามลำดับ เลี้ยงเชื้อในขวดเขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 4.5

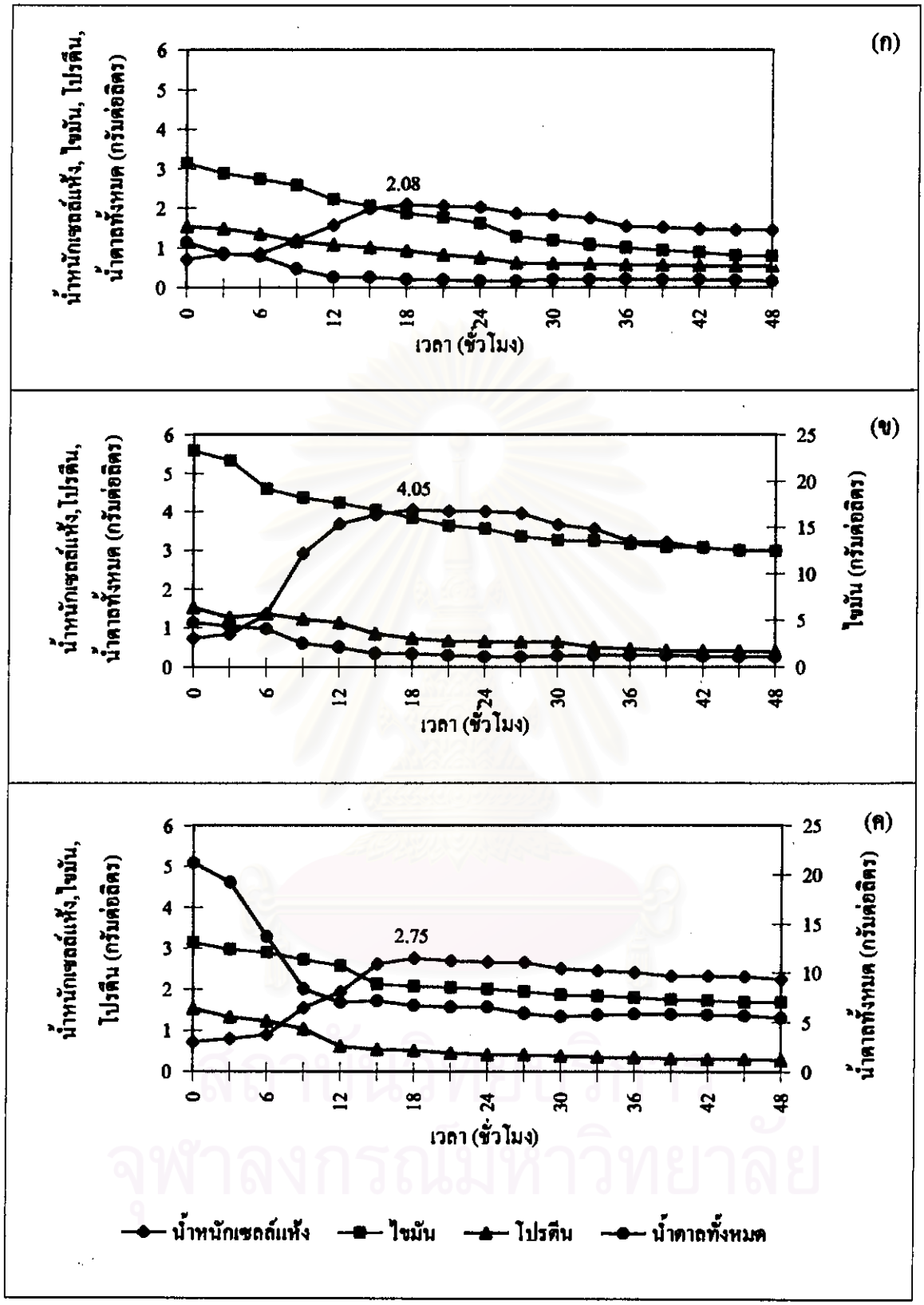
เวลา (ชั่วโมง)	ก. น้ำทิ้ง				ข. น้ำทิ้งเติมกลีเซอรอล				ค. น้ำทิ้งเติมกลูโคส			
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (ก./ล.)	ไขมัน (ก./ล.)	โปรตีน (ก./ล.)	น้ำตาลทั้งหมด (ก./ล.)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (ก./ล.)	ไขมัน (ก./ล.)	โปรตีน (ก./ล.)	น้ำตาลทั้งหมด (ก./ล.)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (ก./ล.)	ไขมัน (ก./ล.)	โปรตีน (ก./ล.)	น้ำตาลทั้งหมด (ก./ล.)
0	0.72	3.50	1.43	1.31	0.70	23.08	1.43	1.31	0.72	3.50	1.43	21.15
6	0.98	2.42	1.20	0.96	2.26	16.10	0.92	1.12	1.15	3.20	0.72	16.58
12	2.53	1.51	0.72	0.40	8.26	13.31	0.81	0.49	3.60	2.86	0.44	8.48
18	**2.58**	1.37	0.64	0.14	**8.40**	10.75	0.62	0.30	**3.79**	2.59	0.39	8.00
24	2.42	1.25	0.56	0.16	8.23	10.51	0.50	0.25	3.70	2.36	0.34	7.28
30	2.16	0.94	0.51	0.28	8.11	9.10	0.42	0.31	3.55	1.87	0.30	7.32
36	2.03	0.45	0.43	0.44	8.06	8.98	0.35	0.57	3.25	1.74	0.26	7.37
42	1.98	0.28	0.31	0.19	7.52	8.51	0.30	0.48	3.18	1.47	0.20	6.93
48	1.92	0.16	0.12	0.13	7.01	8.12	0.16	0.38	3.10	1.19	0.18	6.11



รูปที่ 3.5 การเติบโตของยีสต์ *Y* 8662 โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อคือ (ก) น้ำทิ้ง (ข) น้ำทิ้งเติมกลีเซอรอล และ (ค) น้ำทิ้งเติมกลูโคส ตามลำดับ ในขวดเขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 4.5

ตารางที่ 3.8 การเติบโตของยีสต์ *N* 0001 ในอาหารเลี้ยงเชื้อจากน้ำทิ้ง 3 สูตร คือ (ก) น้ำทิ้ง (ข) น้ำทิ้งเติมกลีเซอรอล และ (ค) น้ำทิ้งเติมกลูโคส ตามลำดับ เลี้ยงเชื้อในขวดเขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 4.5

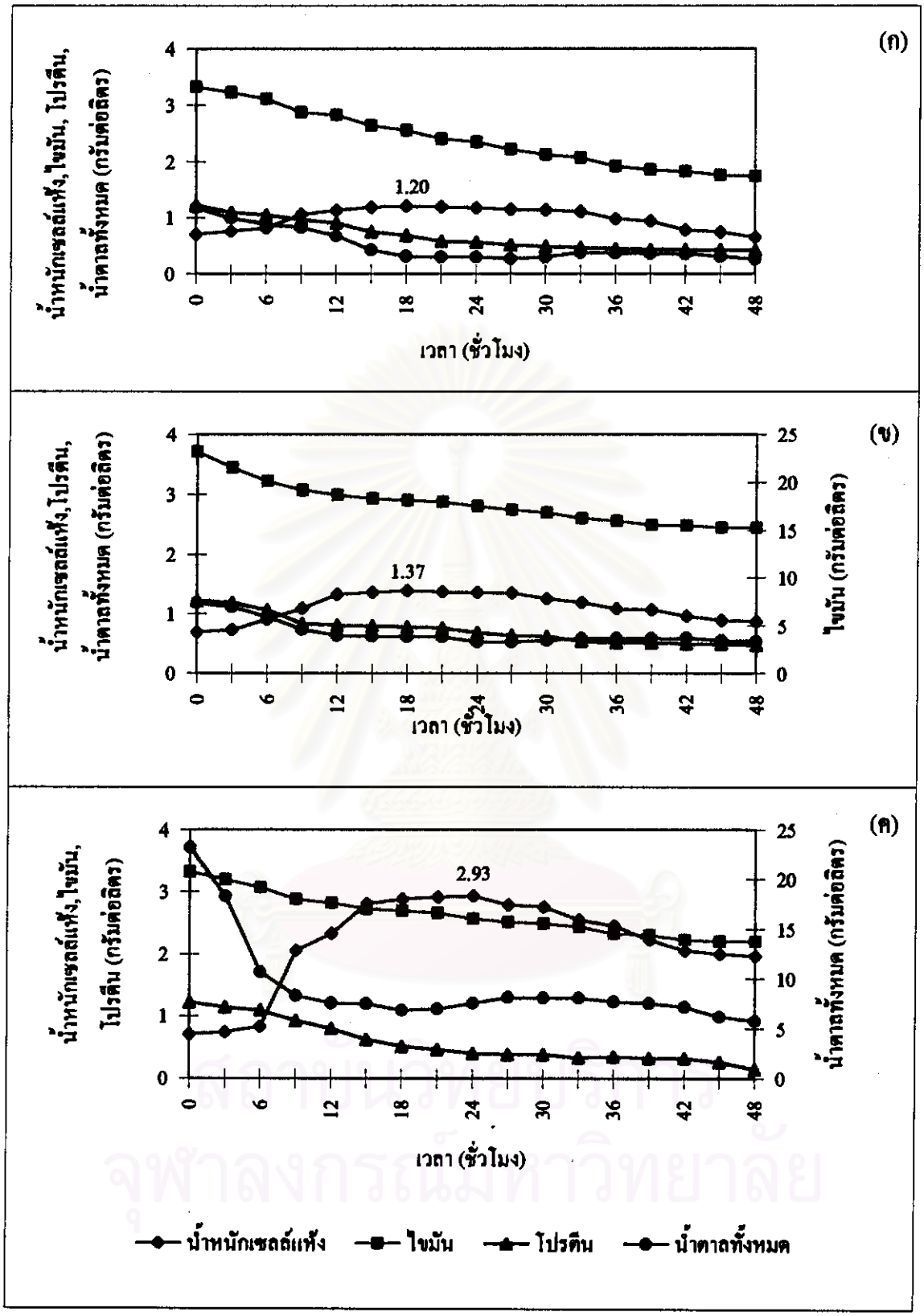
เวลา (ชั่วโมง)	ก. น้ำทิ้ง				ข. น้ำทิ้งเติมกลีเซอรอล				ค. น้ำทิ้งเติมกลูโคส			
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (ก./ล.)	ไขมัน (ก./ล.)	โปรตีน (ก./ล.)	น้ำตาลทั้งหมด (ก./ล.)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (ก./ล.)	ไขมัน (ก./ล.)	โปรตีน (ก./ล.)	น้ำตาลทั้งหมด (ก./ล.)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (ก./ล.)	ไขมัน (ก./ล.)	โปรตีน (ก./ล.)	น้ำตาลทั้งหมด (ก./ล.)
0	0.69	3.13	1.52	1.12	0.72	23.22	1.52	1.12	0.71	3.13	1.52	21.13
6	0.84	2.72	1.33	0.77	1.34	19.08	1.35	0.96	0.88	2.88	1.22	13.62
12	1.56	2.21	1.06	0.25	3.67	17.60	1.12	0.50	1.92	2.56	0.61	6.96
18	**2.08**	1.86	0.92	0.20	**4.05**	15.98	0.72	0.34	**2.75**	2.06	0.52	6.63
24	2.01	1.61	0.75	0.16	4.00	14.81	0.64	0.25	2.66	2.01	0.40	6.50
30	1.82	1.18	0.60	0.19	3.66	13.54	0.63	0.28	2.50	1.86	0.38	5.52
36	1.53	1.03	0.56	0.21	3.23	13.18	0.45	0.29	2.42	1.80	0.34	5.81
42	1.46	0.87	0.55	0.19	3.05	12.80	0.40	0.27	2.32	1.72	0.30	5.76
48	1.44	0.78	0.53	0.16	2.98	12.40	0.38	0.25	2.24	1.68	0.28	5.42



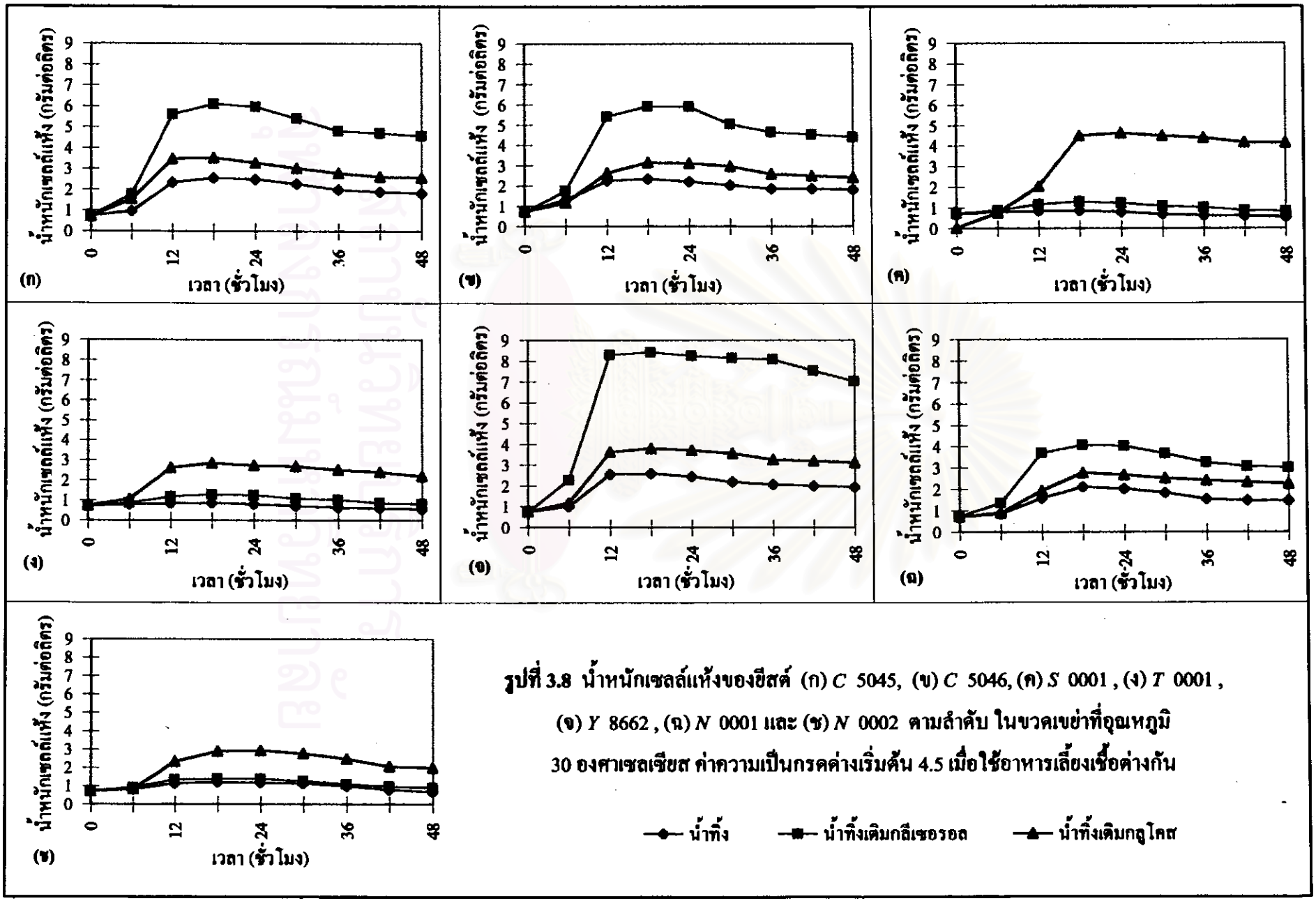
รูปที่ 3.6 การเติบโตของยีสต์ *N* 0001 โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อคือ (ก) น้ำทิ้ง (ข) น้ำทิ้งเติมกลีเซอรอล และ (ค) น้ำทิ้งเติมกลูโคส ตามลำดับ ในขวดเขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 4.5

ตารางที่ 3.9 การเติบโตของยีสต์ *N* 0002 ในอาหารเลี้ยงเชื้อจากน้ำทิ้ง 3 สูตร คือ (ก) น้ำทิ้ง (ข) น้ำทิ้งเติมกลีเซอรอล และ (ค) น้ำทิ้งเติมกลูโคส ตามลำดับ เลี้ยงเชื้อในขวดเขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 4.5

เวลา (ชั่วโมง)	ก. น้ำทิ้ง				ข. น้ำทิ้งเติมกลีเซอรอล				ค. น้ำทิ้งเติมกลูโคส			
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (ก./ล.)	ไขมัน (ก./ล.)	โปรตีน (ก./ล.)	น้ำตาลทั้งหมด (ก./ล.)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (ก./ล.)	ไขมัน (ก./ล.)	โปรตีน (ก./ล.)	น้ำตาลทั้งหมด (ก./ล.)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (ก./ล.)	ไขมัน (ก./ล.)	โปรตีน (ก./ล.)	น้ำตาลทั้งหมด (ก./ล.)
0	0.70	3.31	1.21	1.17	0.68	23.12	1.21	1.17	0.70	3.31	1.21	23.17
6	0.81	3.10	1.04	0.87	0.89	20.05	1.05	0.94	0.82	3.06	1.08	10.64
12	1.12	2.81	0.90	0.67	1.31	18.68	0.80	0.62	2.32	2.81	0.79	7.51
18	**1.20**	2.54	0.68	0.31	**1.37**	18.11	0.77	0.60	2.88	2.68	0.50	6.75
24	1.17	2.34	0.56	0.30	1.35	17.51	0.67	0.52	**2.93**	2.56	0.39	7.48
30	1.13	2.12	0.48	0.30	1.24	16.87	0.61	0.54	2.75	2.48	0.38	8.04
36	0.97	1.91	0.45	0.37	1.08	16.14	0.50	0.58	2.45	2.32	0.34	7.63
42	0.78	1.82	0.43	0.35	0.95	15.50	0.48	0.59	2.05	2.22	0.32	7.11
48	0.65	1.74	0.42	0.26	0.87	15.24	0.46	0.53	1.96	2.20	0.14	5.70



รูปที่ 3.7 การเติบโตของยีสต์ *N* 0002 โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อคือ (ก) น้ำทิ้ง (ข) น้ำทิ้งเติมกลีเซอรอล และ (ค) น้ำทิ้งเติมกลูโคส ตามลำดับ ในขวดเขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 4.5



รูปที่ 3.8 น้ำหนักเซลล์แห้งของยีสต์ (ก) *C* 5045, (ข) *C* 5046, (ค) *S* 0001, (ง) *T* 0001, (จ) *Y* 8662, (ฉ) *N* 0001 และ (ช) *N* 0002 ตามลำดับ ในขวดเขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 4.5 เมื่อใช้อาหารเลี้ยงเชื้อต่างกัน

3.2.2.2 เปรียบเทียบองค์ประกอบภายในเซลล์ยีสต์ที่รวบรวมได้ เพื่อคัดเลือกยีสต์สายพันธุ์ที่มีสมบัติเหมาะสมในการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์

เมื่อวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ได้แก่ ปริมาณโปรตีนรวม (crude protein) ด้วยวิธีไมโครเจลดาห์ล (Kjeldahl protein) และปริมาณโปรตีนจริง (true protein) ด้วยวิธีของลาวรี (Lowry protein) ตามวิธีวิเคราะห์ข้อ 2.5.9 เป็นองค์ประกอบภายในเซลล์ยีสต์ทั้ง 7 สายพันธุ์ ที่เติบโตในอาหารเลี้ยงเชื้อจากน้ำทิ้งทั้ง 3 สูตร ได้ข้อมูลดังแสดงในตารางที่ 3.10 และรูปที่ 3.9 โดยเมื่อเลี้ยงยีสต์ในน้ำทิ้งและน้ำทิ้งเติมกลีเซอรอล พบว่ายีสต์ *Y* 8662 มีปริมาณโปรตีนรวมและโปรตีนจริงเป็นองค์ประกอบภายในเซลล์ในปริมาณสูงสุดเมื่อเทียบกับยีสต์สายพันธุ์อื่น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ โดยเมื่อเลี้ยงยีสต์ *Y* 8662 ในน้ำทิ้ง มีปริมาณโปรตีนรวมและโปรตีนจริงเท่ากับ 1.60 และ 1.24 กรัมต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง หรือเท่ากับ 62.02 และ 48.06 เปอร์เซนต์ของน้ำหนักเซลล์แห้ง ตามลำดับ รองลงมาคือยีสต์ *C* 5045 มีปริมาณโปรตีนรวมและโปรตีนจริงเท่ากับ 1.43 และ 1.02 กรัมต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง หรือเท่ากับ 58.84 และ 41.97 เปอร์เซนต์ของน้ำหนักเซลล์แห้ง ตามลำดับ เมื่อเลี้ยงยีสต์ *Y* 8662 ในน้ำทิ้งเติมกลีเซอรอล มีปริมาณโปรตีนรวมและโปรตีนจริงเท่ากับ 5.20 และ 4.03 กรัมต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง หรือเท่ากับ 61.92 และ 47.98 เปอร์เซนต์ของน้ำหนักเซลล์แห้ง ตามลำดับ รองลงมาคือยีสต์ *C* 5046 มีปริมาณโปรตีนรวมและโปรตีนจริงเท่ากับ 3.55 และ 2.70 กรัมต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง หรือเท่ากับ 59.06 และ 44.92 เปอร์เซนต์ของน้ำหนักเซลล์แห้ง ตามลำดับ ขณะที่เมื่อเลี้ยงยีสต์ในน้ำทิ้งเติมกลูโคส พบว่ายีสต์ *S* 0001 มีปริมาณโปรตีนรวมและโปรตีนจริงเป็นองค์ประกอบภายในเซลล์สูงสุดเมื่อเทียบกับยีสต์สายพันธุ์อื่น โดยมีปริมาณโปรตีนรวมและโปรตีนจริง เท่ากับ 2.80 และ 2.24 กรัมต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง หรือเท่ากับ 60.48 และ 48.38 เปอร์เซนต์ของน้ำหนักเซลล์แห้ง ตามลำดับ รองลงมาคือยีสต์ *Y* 8662 มีปริมาณโปรตีนรวมและโปรตีนจริงเท่ากับ 2.25 และ 1.87 กรัมต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง หรือเท่ากับ 59.37 และ 49.34 เปอร์เซนต์ของน้ำหนักเซลล์แห้ง ตามลำดับ Peppler (1970) รายงานว่าการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ในเชิงพาณิชย์ควรมีปริมาณโปรตีนรวมและโปรตีนจริงเป็นองค์ประกอบภายในเซลล์ ไม่ต่ำกว่า 50 และ 40 เปอร์เซนต์ของน้ำหนักเซลล์แห้ง ตามลำดับ ขณะที่ International Union of Pure and Applied Chemistry กำหนดให้การผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ในเชิงพาณิชย์ควรมีปริมาณโปรตีนจริงเป็นองค์ประกอบภายในเซลล์ ไม่ต่ำกว่า 45 เปอร์เซนต์ของน้ำหนักเซลล์แห้ง (Peppler, 1970)

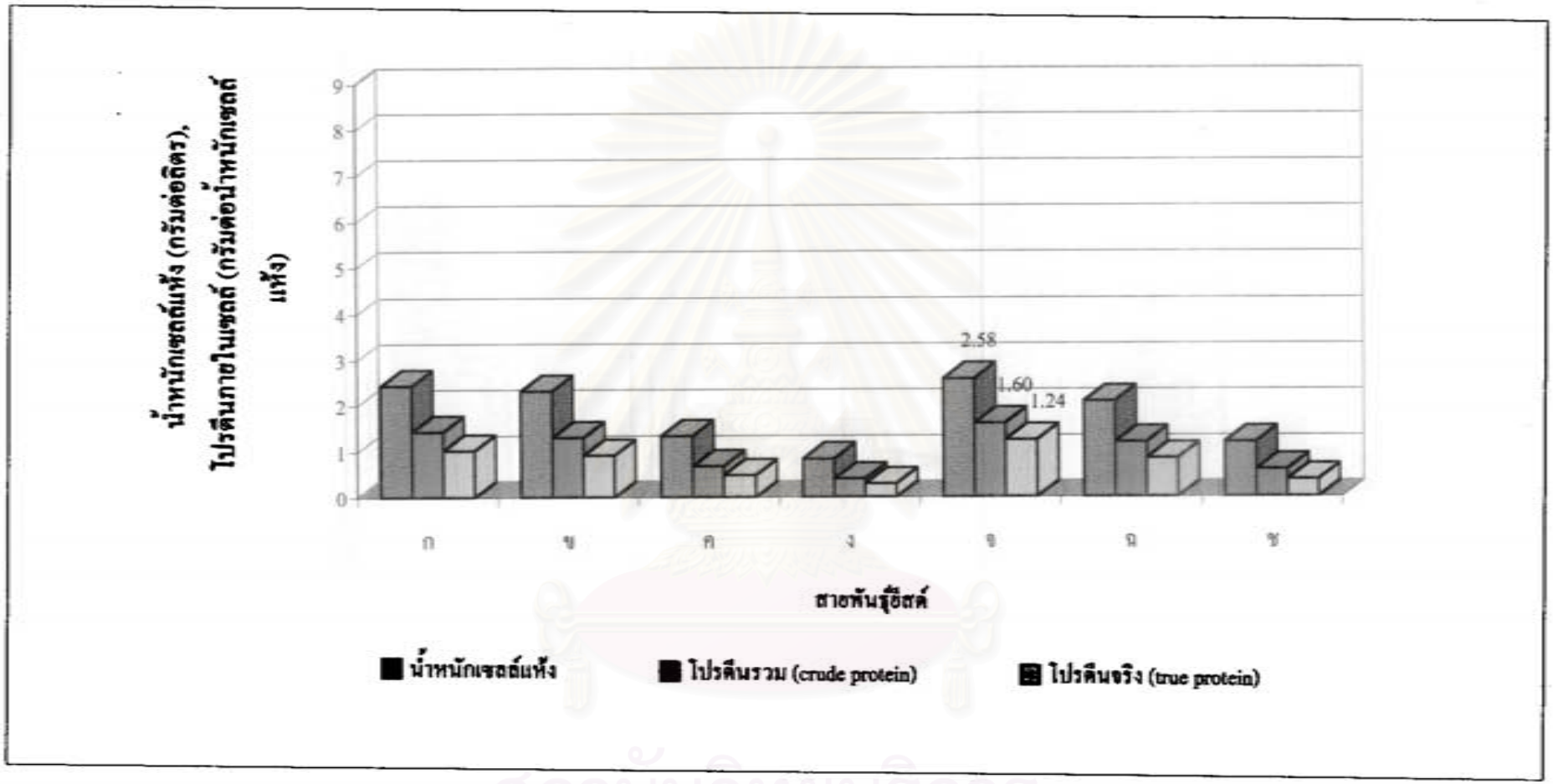
เมื่อคำนวณหาค่าอัตราการเติบโตจำเพาะ (μ) และค่าสัมประสิทธิ์ของผลผลิตมวลเซลล์เมื่อเทียบกับสับสเตรทที่ใช้ ($Y_{X/S}$) ของยีสต์ทั้ง 7 สายพันธุ์ที่เติบโตในอาหารเลี้ยงเชื้อจากน้ำทิ้งทั้ง 3 สูตร ได้ข้อมูลดังแสดงในตารางที่ 3.11 และรูปที่ 3.10 เมื่อ

เลี้ยงยีสต์ในน้ำทิ้งพบว่ายีสต์ *Y* 8662 มีค่าอัตราการเติบโตจำเพาะและค่าสัมประสิทธิ์ของผลผลิตมวลเซลล์เมื่อเทียบกับสับสเตรททั้งหมดในน้ำทิ้งที่ใช้สูงกว่ายีสต์สายพันธุ์อื่น โดยมีค่าเท่ากับ 0.105 ต่อชั่วโมง และ 0.554 กรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อกรัมสับสเตรททั้งหมด ตามลำดับ เมื่อเลี้ยงยีสต์ในน้ำทิ้งเติมกลีเซอรอล พบว่ายีสต์ *Y* 8662 มีค่าอัตราการเติบโตจำเพาะและค่าสัมประสิทธิ์ของผลผลิตมวลเซลล์เมื่อเทียบกับสับสเตรททั้งหมดที่ใช้สูงกว่ายีสต์สายพันธุ์อื่น โดยมีค่าเท่ากับ 0.138 ต่อชั่วโมง และ 0.544 กรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อกรัมสับสเตรททั้งหมด ตามลำดับ ขณะที่เมื่อเลี้ยงยีสต์ในน้ำทิ้งเติมกลูโคสพบว่ายีสต์ *S* 0001 มีค่าอัตราการเติบโตจำเพาะและค่าสัมประสิทธิ์ของผลผลิตมวลเซลล์เมื่อเทียบกับสับสเตรททั้งหมดที่ใช้สูงกว่ายีสต์สายพันธุ์อื่น โดยมีค่าเท่ากับ 0.150 ต่อชั่วโมง และ 0.235 กรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อกรัมสับสเตรททั้งหมด ตามลำดับ รองลงมาคือยีสต์ *Y* 8662 มีค่าอัตราการเติบโตจำเพาะและค่าสัมประสิทธิ์ของผลผลิตมวลเซลล์เมื่อเทียบกับสับสเตรททั้งหมดที่ใช้ เท่ากับ 0.099 ต่อชั่วโมง และ 0.203 กรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อกรัมสับสเตรททั้งหมด ตามลำดับ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

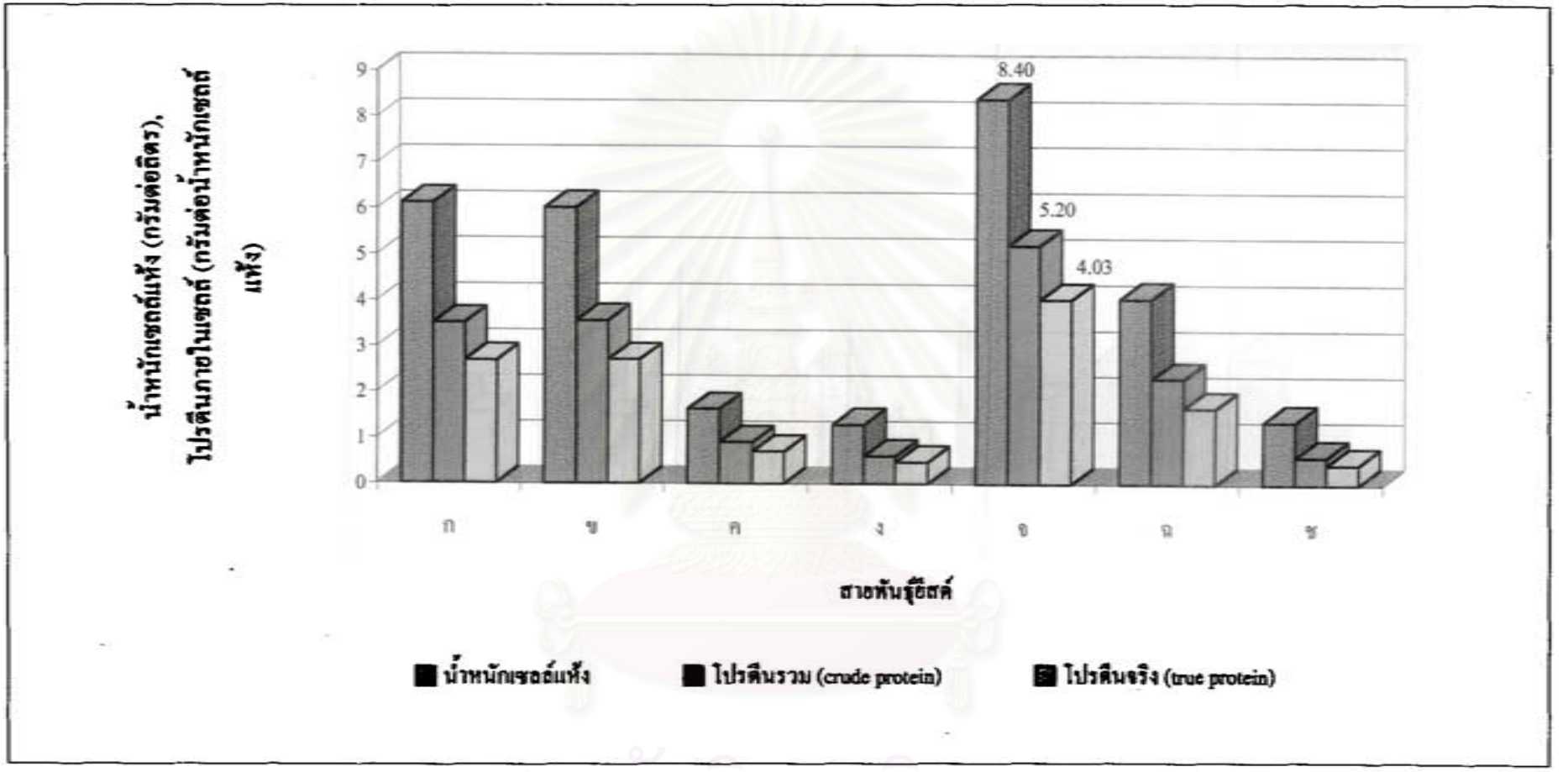
ตารางที่ 8.10 น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดและปริมาณโปรตีนภายในเซลล์ยีสต์ 7 สายพันธุ์ เมื่อนำมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อจากน้ำทิ้ง น้ำทิ้งเติมกลีเซอรอล และน้ำทิ้งเติมกลูโคส ตามลำดับ ในขวดเขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 4.5

สายพันธุ์ยีสต์	อาหารเลี้ยงเชื้อ	น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด (กรัมต่อลิตร)	โปรตีนภายในเซลล์ยีสต์ (กรัมต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง)	
			โปรตีนรวม	โปรตีนจริง
C 5045	น้ำทิ้ง	2.43	1.43	1.02
C 5046		2.32	1.30	0.92
S 0001		1.34	0.68	0.48
T 0001		0.84	0.40	0.30
Y 8662		**2.58**	**1.60**	**1.24**
N 0001		2.08	1.20	0.85
N 0002		1.20	0.60	0.38
C 5045	น้ำทิ้งเติม	6.11	3.50	2.68
C 5046	กลีเซอรอล	6.01	3.55	2.70
S 0001		1.62	0.90	0.70
T 0001		1.28	0.60	0.47
Y 8662		**8.40**	**5.20**	**4.03**
N 0001		4.05	2.30	1.66
N 0002		1.37	0.60	0.44
C 5045	น้ำทิ้งเติม	3.51	2.00	1.54
C 5046	กลูโคส	3.14	1.90	1.44
S 0001		**4.63**	**2.80**	**2.24**
T 0001		2.83	1.30	1.05
Y 8662		3.79	2.25	1.87
N 0001		2.75	1.50	1.13
N 0002		2.93	1.40	0.94



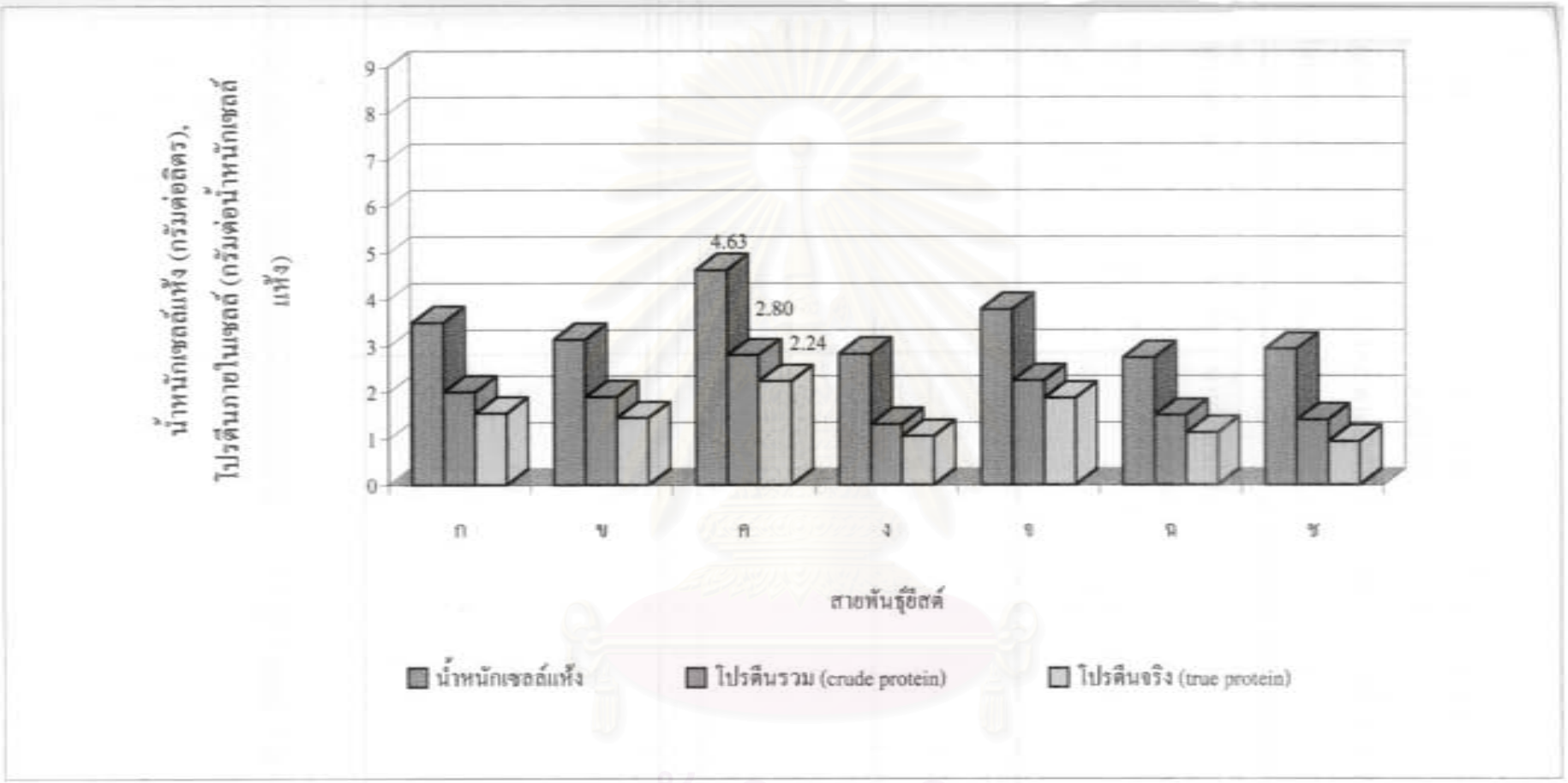
รูปที่ 3.9 ก. น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดและโปรตีนภายในเซลล์ของยีสต์สายพันธุ์ต่างๆ คือ (ก) *C* 5045 , (ข) *C* 5046, (ค) *S* 0001 , (ง) *T* 0001 , (จ) *Y* 8662 , (ฉ) *N* 0001 และ (ช) *N* 0002 ตามลำดับ โดยใช้น้ำทิ้งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 4.5

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.9 ข. น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดและโปรตีนภายในเซลล์ของยีสต์สายพันธุ์ต่างๆ คือ (ก) *C* 5045 , (ข) *C* 5046, (ค) *S* 0001 , (ง) *T* 0001 , (จ) *Y* 8662 , (ฉ) *N* 0001 และ (ช) *N* 0002 ตามลำดับ โดยใช้น้ำทิ้งเติมกลีเซอรอลเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 4.5

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

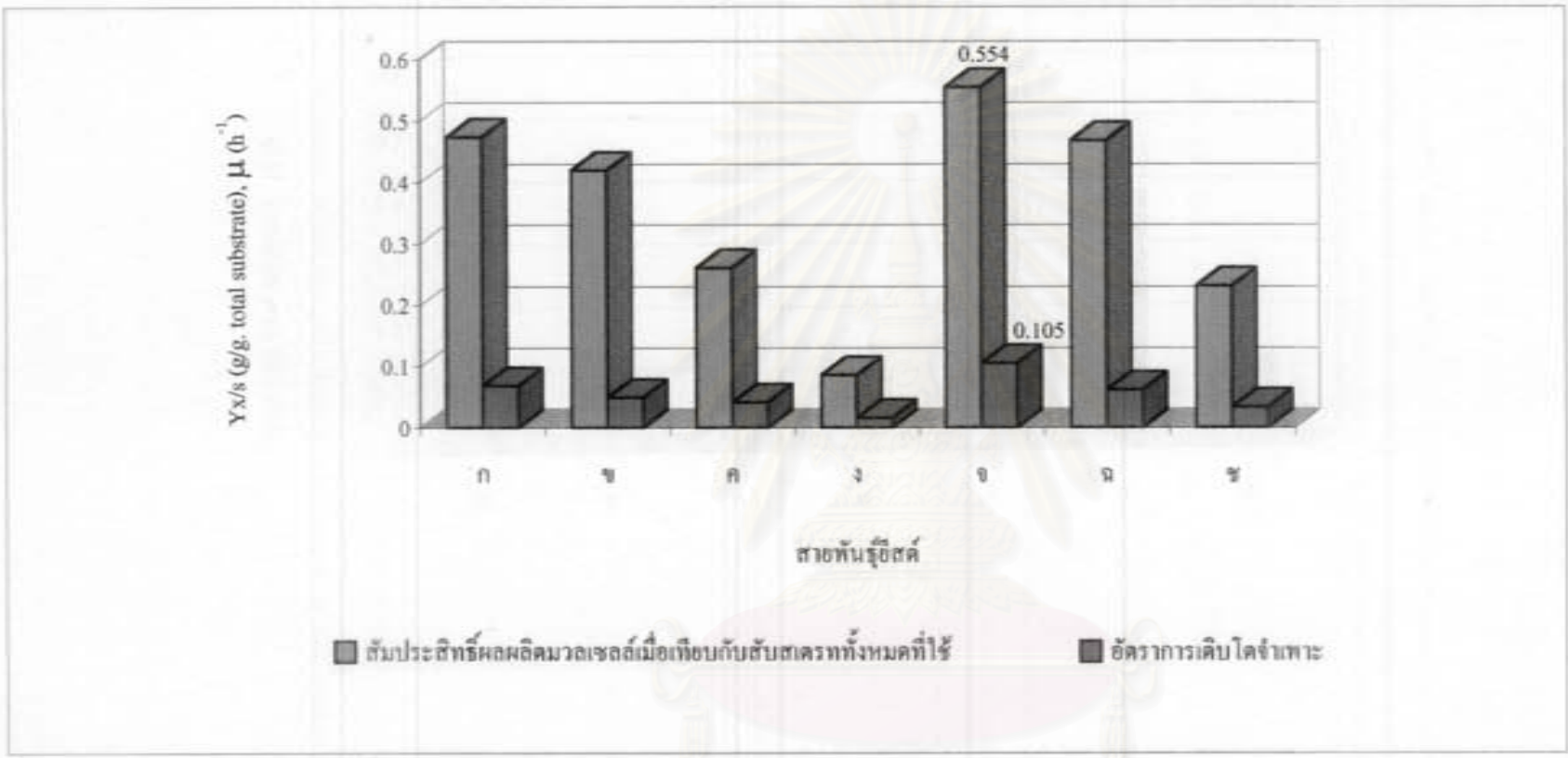


รูปที่ 3.9 ค. น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดและโปรตีนภายในเซลล์ของยีสต์สายพันธุ์ต่างๆ คือ (ก) *C* 5045 , (ข) *C* 5046, (ค) *S* 0001 , (ง) *T* 0001 , (จ) *Y* 8662 , (ฉ) *N* 0001 และ (ช) *N* 0002 ตามลำดับ โดยใช้น้ำทิ้งเติมกลูโคสเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 4.5

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

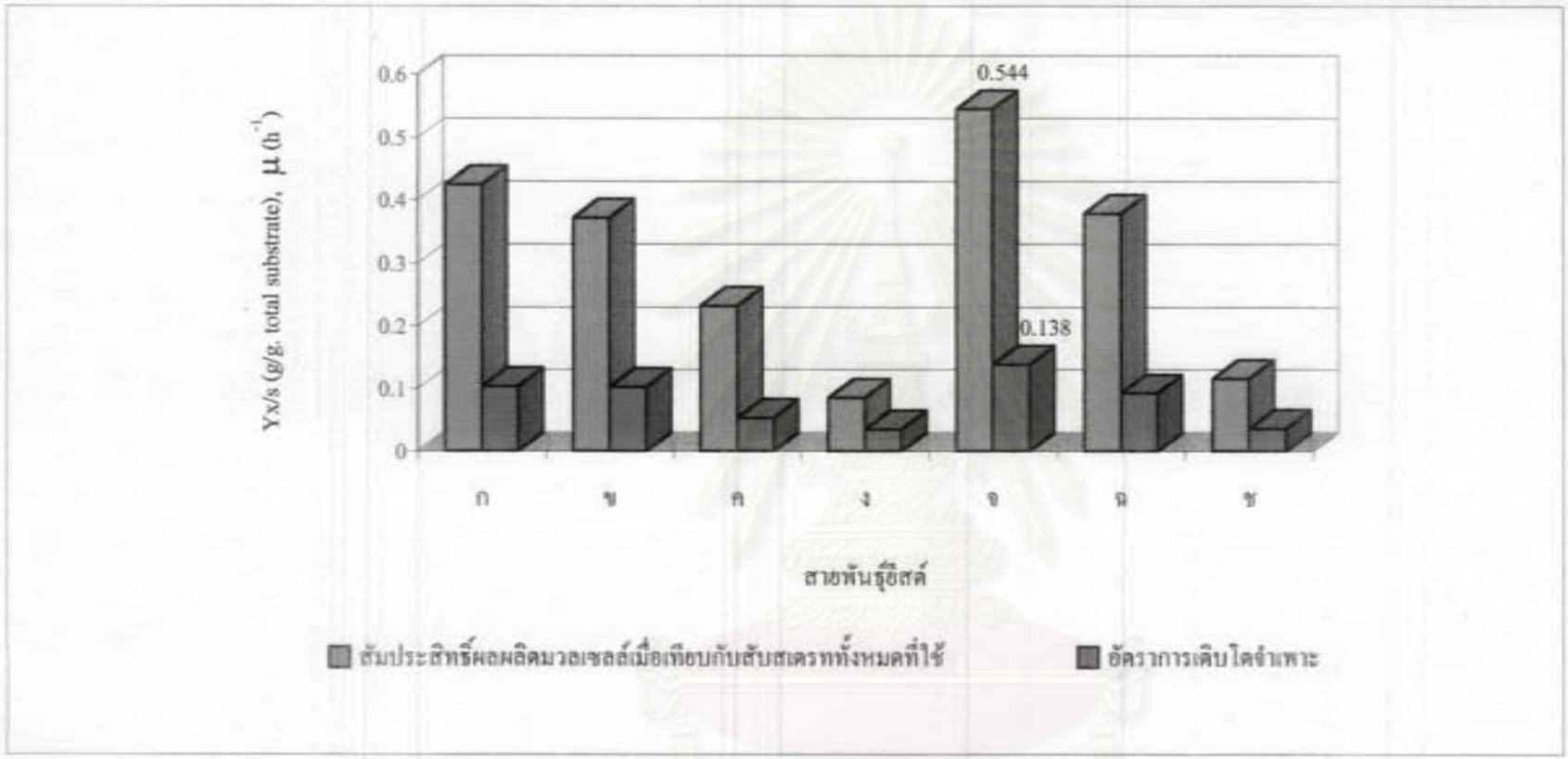
ตารางที่ 3.11 ค่าอัตราการเติบโตจำเพาะ (μ) และค่าสัมประสิทธิ์ของผลผลิตมวลเซลล์เมื่อเทียบกับสับสเตรททั้งหมดที่ใช้ของยีสต์ 7 สายพันธุ์ เมื่อนำมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อจากน้ำทิ้ง น้ำทิ้งเติมกลีเซอรอล และน้ำทิ้งเติมกลูโคส ตามลำดับ ในขวดเขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 4.5

สายพันธุ์ยีสต์	อาหารเลี้ยงเชื้อ	น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด (กรัมต่อลิตร)	μ (ต่อชั่วโมง)	$Y_{X/S}$ (กรัมต่อกรัมสับสเตรท)
C 5045	น้ำทิ้ง	2.43	0.068	0.474
C 5046		2.32	0.049	0.419
S 0001		1.34	0.041	0.261
T 0001		0.84	0.016	0.086
Y 8662		**2.58**	**0.105**	**0.554**
N 0001		2.08	0.061	0.468
N 0002		1.20	0.033	0.231
C 5045	น้ำทิ้งเติม	6.08	0.103	0.424
C 5046	กลีเซอรอล	5.91	0.102	0.371
S 0001		1.62	0.053	0.232
T 0001		1.28	0.035	0.085
Y 8662		**8.40**	**0.138**	**0.544**
N 0001		4.05	0.092	0.378
N 0002		1.37	0.036	0.155
C 5045	น้ำทิ้งเติม	3.51	0.069	0.195
C 5046	กลูโคส	3.14	0.083	0.162
S 0001		**4.63**	**0.150**	**0.235**
T 0001		2.83	0.083	0.143
Y 8662		3.79	0.099	0.203
N 0001		2.75	0.094	0.123
N 0002		2.93	0.071	0.129



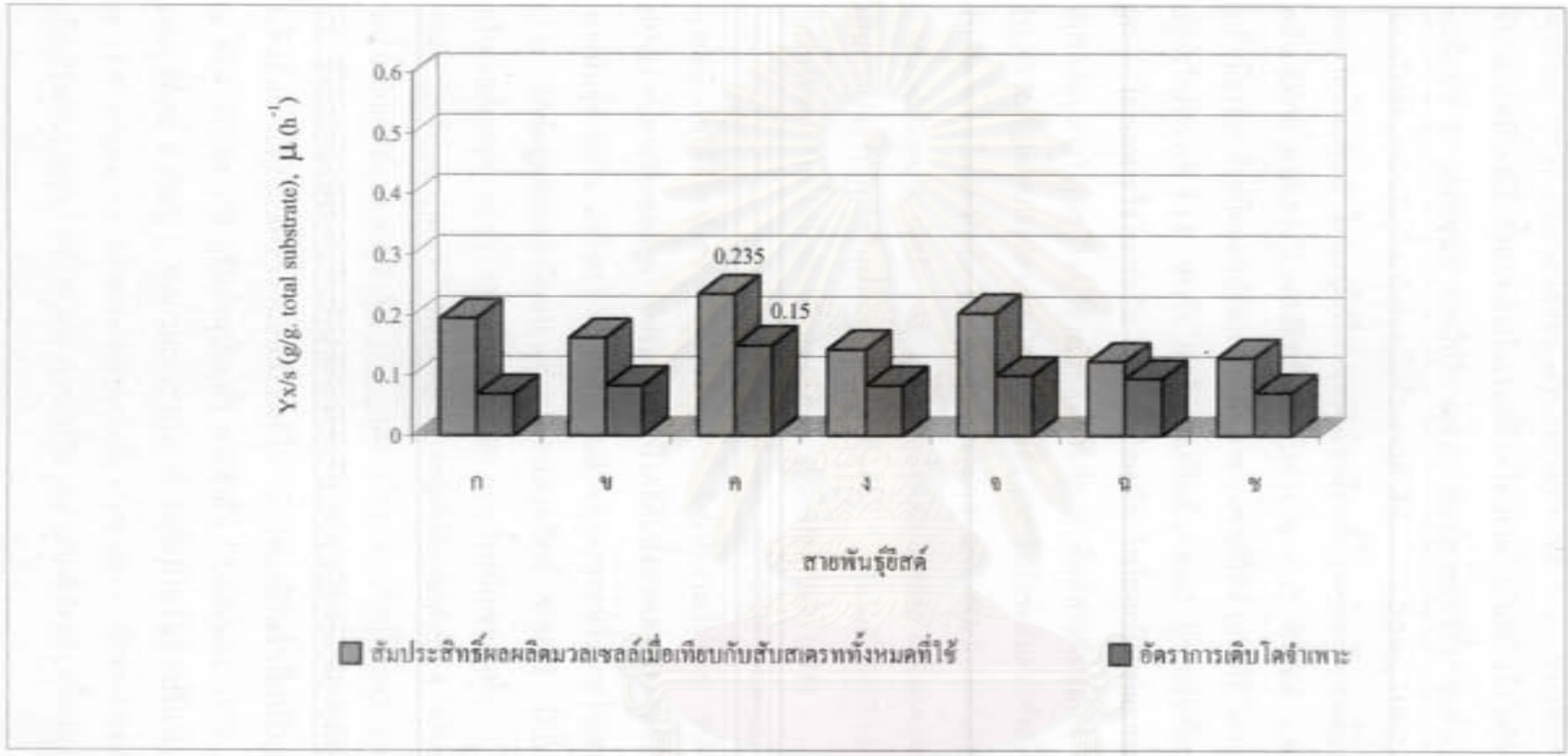
รูปที่ 3.10 ก. ค่าสัมประสิทธิ์ผลผลิตมวลเซลล์เมื่อเทียบกับสับสเตรททั้งหมดที่ใช้ (Yx/s) และอัตราการเติบโตจำเพาะ (μ) ของยีสต์สายพันธุ์ต่างๆ คือ (ก) *C* 5045, (ข) *C* 5046 , (ค) *S* 0001 , (ง) *T* 0001, (จ) *Y* 8662 , (ฉ) *N* 0001 และ (ช) *N* 0002 ตามลำดับ โดยใช้น้ำทิ้งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 4.5

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.10 ข. ค่าสัมประสิทธิ์ผลผลิตมวลเซลล์เมื่อเทียบกับสับสเตรททั้งหมดที่ใช้ (Yx/s) และอัตราการเติบโตจำเพาะ (μ) ของยีสต์สายพันธุ์ต่างๆ คือ (ก) *C* 5045, (ข) *C* 5046 , (ค) *S* 0001 , (ง) *T* 0001, (จ) *Y* 8662 , (ฉ) *N* 0001 และ (ช) *N* 0002 ตามลำดับ โดยใช้น้ำทิ้งเติมกลีเซอรอลเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 4.5

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.10 ค. ค่าสัมประสิทธิ์ผลผลิตมวลเซลล์เมื่อเทียบกับสับสเตรททั้งหมดที่ใช้ (Yx/s) และอัตราการเติบโตจำเพาะ (μ) ของยีสต์สายพันธุ์ต่างๆ คือ (ก) *C* 5045, (ข) *C* 5046 , (ค) *S* 0001 , (ง) *T* 0001, (จ) *Y* 8662 , (ฉ) *N* 0001 และ (ช) *N* 0002 ตามลำดับ โดยใช้น้ำทิ้งเติมกลูโคสเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 4.5

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เมื่อวิเคราะห์ปริมาณกรดนิวคลีอิกทั้งหมดภายในเซลล์ยีสต์ทั้ง 7 สายพันธุ์ (ตามวิธีวิเคราะห์ข้อ 2.5.10) ได้ข้อมูลดังแสดงในตารางที่ 3.12 พบว่ายีสต์ *C* 5046 และ *Y* 8662 มีปริมาณกรดนิวคลีอิกทั้งหมดภายในเซลล์ยีสต์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ โดยมีปริมาณต่ำกว่ายีสต์สายพันธุ์อื่น ซึ่งมีปริมาณเท่ากับ 10.43 และ 10.56 กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง ตามลำดับ Kihlberg (1972) รายงานว่ายีสต์ที่ใช้เป็นอาหารสำหรับมนุษย์ ไม่ควรมีปริมาณกรดนิวคลีอิกทั้งหมดภายในเซลล์สูง โดยทั่วไปปริมาณกรดนิวคลีอิกทั้งหมดภายในเซลล์ยีสต์จะอยู่ในช่วง 6 - 12 กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง และเมื่อพิจารณาถึงชนิดและปริมาณวิตามินภายในเซลล์ยีสต์ (ตามวิธีวิเคราะห์ข้อ 2.5.12) ได้ข้อมูลดังแสดงในตารางที่ 3.13 พบว่า ภายในเซลล์ยีสต์ *Y* 8662 ประกอบด้วยจำนวนชนิดวิตามินมากที่สุด โดยเฉพาะไรโบเฟลวิน กรดแพนโตเธนิก ไพริดอกซิน และกรดอะมิโนเบนโซอิก เป็นองค์ประกอบภายในเซลล์ในปริมาณสูงสุดเมื่อเทียบกับยีสต์สายพันธุ์อื่นๆ โดยเฉพาะมีไรโบเฟลวินเป็นองค์ประกอบภายในเซลล์สูงถึง 160 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง ซึ่งไรโบเฟลวิน หรือวิตามินบี2 เป็นวิตามินที่ใช้ในอุตสาหกรรมยาและอาหารสัตว์จำนวนมาก (Reed และ Nagodawithana, 1995) นอกจากนั้นยีสต์ *Y* 8662 ยังมีกรดแพนโตเธนิก ซึ่งนิยมนำมาใช้เป็นสารเร่งการเติบโตในอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ เป็นองค์ประกอบภายในเซลล์สูงถึง 117 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง (Suomalainen และคณะ, 1971)

จากผลการวิจัยที่กล่าวมา พบว่ายีสต์ *Y* 8662, *C* 5046 และ *C* 5045 สามารถเติบโตได้ดีในน้ำทิ้ง นอกจากนั้นยังมีปริมาณโปรตีน ชนิดและปริมาณวิตามินเป็นองค์ประกอบภายในเซลล์สูง มีปริมาณกรดนิวคลีอิกทั้งหมดภายในเซลล์ต่ำ ดังนั้นจึงเลือกยีสต์ 3 สายพันธุ์ดังกล่าว มาวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณกรดอะมิโนภายในเซลล์ (ตามวิธีวิเคราะห์ข้อ 2.5.13) ได้ข้อมูลดังแสดงในตารางที่ 3.14 พบว่า ยีสต์ *Y* 8662 มีปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมดภายในเซลล์สูงสุด เท่ากับ 45.65 กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง โดยยีสต์ *C* 5046 และ *C* 5045 มีปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมดภายในเซลล์ปริมาณเท่ากับ 41.83 และ 28.57 กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณกรดอะมิโนตามมาตรฐานของ FAO ซึ่งมีกรดอะมิโนจำเป็นปริมาณรวมเท่ากับ 28.6 กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง กับแหล่งโปรตีนอื่นๆ ได้แก่ ถั่วเหลือง เนื้อปลา และไข่ มีกรดอะมิโนจำเป็นปริมาณรวมเท่ากับ 16.8, 26.2 และ 49.4 กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ (Litchfield, 1979 ; Boze และคณะ, 1992) ในขณะที่ยีสต์ *Y* 8662, *C* 5046 และ *C* 5045 มีกรดอะมิโนจำเป็นปริมาณรวมเท่ากับ 22.05, 20.57 และ 11.99 กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง ตามลำดับ ซึ่งพบว่ายีสต์ *Y* 8662 มีกรดอะมิโนจำเป็นปริมาณรวมสูงกว่าถั่วเหลือง และมีปริมาณรวมใกล้เคียงกับเนื้อปลา Anna (1990)

รายงานว่า ในการผลิตอาหารสัตว์จำเป็นต้องเติมกรดอะมิโนบางชนิด เช่น ไลซีน เมไธโอนีน และทริปโตเฟน ลงไปเพื่อเป็นอาหารเสริมแทนโปรตีนจากพืช ความต้องการปริมาณกรดอะมิโนดังกล่าวจึงมีเพิ่มมากขึ้นตลอดเวลา เนื่องจากการขยายตัวของอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์ ดังนั้น จุลินทรีย์ที่มีสมบัติเหมาะสมในการนำไปใช้เป็นแหล่งอาหารสำหรับสัตว์ ควรมีชนิดและปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นภายในเซลล์ครบถ้วนและควรมีในปริมาณสูง โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ไลซีน เมไธโอนีน และทริปโตเฟน เพื่อทดแทนแหล่งโปรตีนจากพืช Scrimshaw และ Young (1979) รายงานว่าโปรตีนจากพืชมักขาดกรดอะมิโนดังกล่าว เมื่อวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนแต่ละชนิดที่เป็นองค์ประกอบภายในเซลล์ยีสต์ทั้ง 3 สายพันธุ์ พบว่ายีสต์ *Y* 8662 มีไลซีน เมไธโอนีน และทริปโตเฟน เป็นองค์ประกอบภายในเซลล์ปริมาณเท่ากับ 3.60, 0.46 และ 0.52 กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง ตามลำดับ ขณะที่ยีสต์ *C* 5046 มีไลซีน เมไธโอนีน และทริปโตเฟน เป็นองค์ประกอบภายในเซลล์ปริมาณเท่ากับ 3.65, 0.45 และ 0.45 กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง ตามลำดับ ส่วนยีสต์ *C* 5045 มีกรดอะมิโนดังกล่าวในปริมาณต่ำกว่าเมื่อเทียบกับยีสต์อีก 2 สายพันธุ์ ยีสต์ *Y* 8662 และ *C* 5046 มีกรดอะมิโนดังกล่าวในปริมาณใกล้เคียงกัน แต่เมื่อพิจารณาชนิดและปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นและกรดอะมิโนทั้งหมดภายในเซลล์ พบว่ายีสต์ *Y* 8662 มีปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นและกรดอะมิโนทั้งหมดภายในเซลล์สูงกว่ายีสต์ *C* 5046

เมื่อวิเคราะห์หาค่าบีโอดีและค่าซีโอดีของน้ำทิ้ง ก่อนและหลังนำมาใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อของยีสต์ทั้ง 7 สายพันธุ์ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยวิเคราะห์ตามวิธีของสมาคมวิศวกรสิ่งแวดล้อมแห่งประเทศไทย (ตามวิธีวิเคราะห์ข้อ 2.5.7 และ 2.5.8) ได้ข้อมูลดังแสดงในตารางที่ 3.15 และรูปที่ 3.11 พบว่า น้ำทิ้งมีค่าบีโอดีและค่าซีโอดี เท่ากับ 570 และ 823 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อนำน้ำทิ้งมาเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อยีสต์ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่า ค่าบีโอดีและค่าซีโอดีของน้ำทิ้งหลังการเลี้ยงเชื้อ *Y* 8662 มีค่าลดลงมากที่สุดเหลือ 53 และ 96 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ สามารถลดค่าบีโอดีและค่าซีโอดีของน้ำทิ้งได้คิดเป็น 90.7 เปอร์เซนต์ และ 88.3 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ซึ่งค่าบีโอดีและค่าซีโอดีของน้ำทิ้งหลังการเลี้ยงเชื้อ *Y* 8662 มีค่าอยู่ในช่วงมาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้ง ตามประกาศกระทรวงวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม ฉบับที่ 3 ที่กำหนดให้มีค่าบีโอดีไม่เกิน 20-60 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่าซีโอดีไม่เกิน 120-400 มิลลิกรัมต่อลิตร (สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ, 2539)

ดังนั้นจากผลการวิจัยที่ได้พบว่า ยีสต์ *Y* 8662 สามารถใช้ไขมันในน้ำทิ้งและเติบโตได้ดีที่สุด โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณโปรตีนภายในเซลล์ ปริมาณกรดนิวคลีอิกทั้งหมดภายในเซลล์ ชนิดและปริมาณวิตามินภายในเซลล์ รวมทั้งชนิดและปริมาณกรดอะมิโน

ทั้งหมดภายในเซลล์ที่เหมาะสมต่อการนำไปใช้เป็นแหล่งอาหารสำหรับสัตว์ นอกจากนั้นยังสามารถบำบัดน้ำทิ้ง โดยลดค่าบีโอดีและค่าซีโอดีในน้ำทิ้งภายหลังนำไปใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อได้ และมีค่าอยู่ในช่วงมาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้ง จากเหตุผลดังกล่าวยีสต์ *Y* 8662 จึงมีสมบัติเหมาะสมในการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ในงานวิจัยนี้ ดังนั้นจึงเลือกยีสต์สายพันธุ์ *Y* 8662 สำหรับการวิจัยขั้นต่อไป

ตารางที่ 3.12 ปริมาณกรดนิวคลีอิกทั้งหมดภายในเซลล์ยีสต์ทั้ง 7 สายพันธุ์ เมื่อนำมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อจากน้ำทิ้งที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 4.5

สายพันธุ์ยีสต์	น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด (กรัมต่อลิตร)	RNA (เปอร์เซนต์โดยน้ำหนัก)	DNA (เปอร์เซนต์โดยน้ำหนัก)	กรดนิวคลีอิกทั้งหมด (เปอร์เซนต์โดยน้ำหนัก)
C 5045	2.53	9.43	1.33	10.76
C 5046	2.32	9.25	1.18	10.43
S 0001	1.34	9.83	1.32	11.20
T 0001	0.84	10.34	1.56	11.90
Y 8662	**2.58**	9.31	1.25	10.56
N 0001	2.08	9.53	1.36	10.89
N 0002	1.20	11.23	1.82	13.05

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 8.18 ชนิดและปริมาณวิตามินภายในเซลล์ยีสต์ทั้ง 7 สายพันธุ์ เมื่อนำมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อจากน้ำทิ้ง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 4.5

สายพันธุ์ยีสต์	ชนิดและปริมาณวิตามินภายในเซลล์ (ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)							
	Thiamine	Riboflavin	Nicotinic acid	Pantothenic acid	Pyridoxin	Folic acid	Biotin	p-Aminobenzoic acid
C 5045	21	34	437	-	-	8	-	-
C 5046	28	42	480	22	-	18	-	-
S 0001	32	46	388	-	-	22	0.54	12
T 0001	5	22	357	-	-	5	-	-
Y 8662	11	160	402	117	18	3.8	-	23
N 0001	24	36	462	-	-	12	-	-
N 0002	4	19	341	-	-	6	-	-

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.14 ชนิดและปริมาณกรดอะมิโนภายในเซลล์ยีสต์ 3 สายพันธุ์ เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเตรียมจากน้ำทิ้งที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 4.5

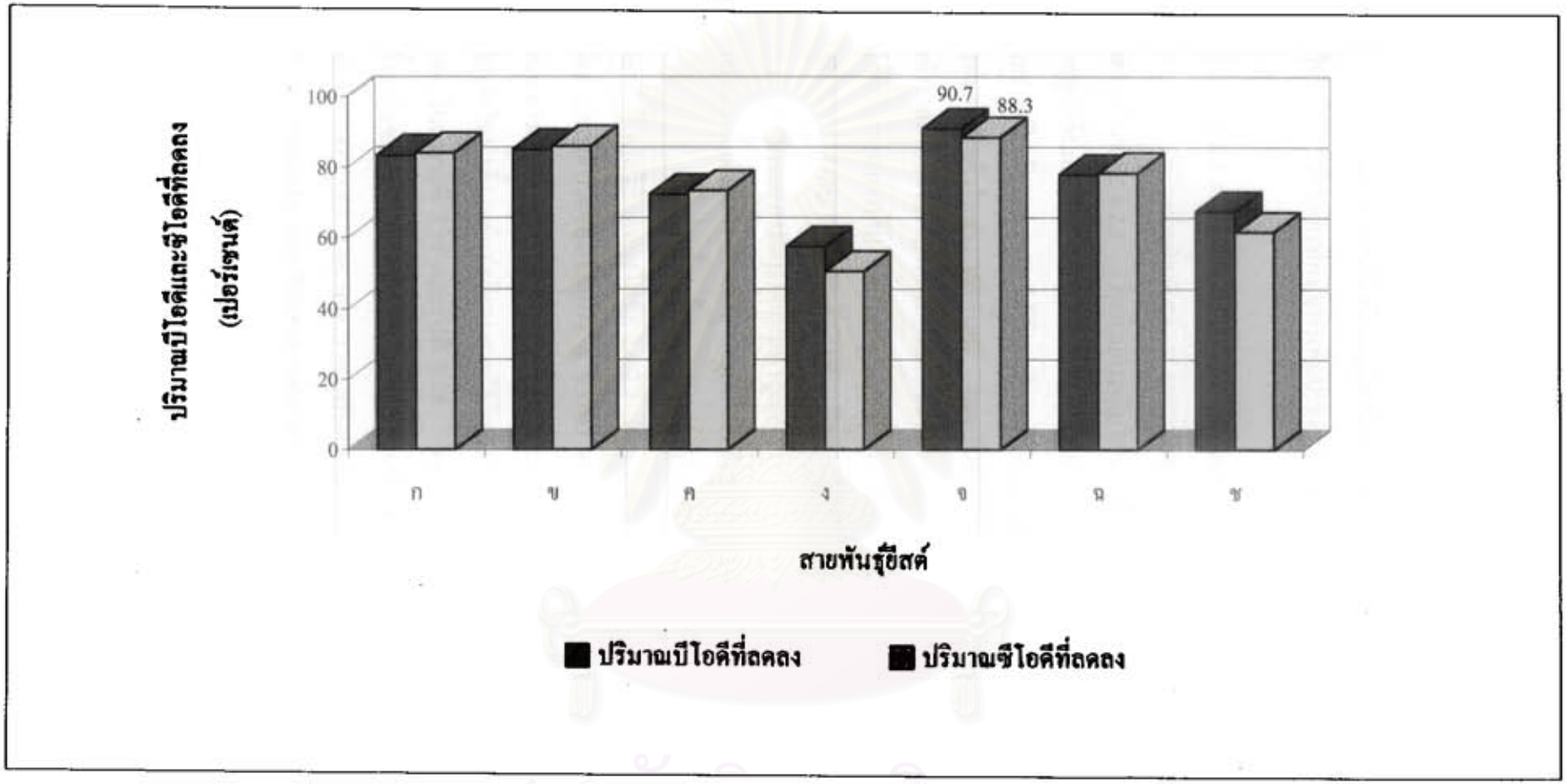
กรดอะมิโน	ปริมาณกรดอะมิโน (กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)		
	C 5045	*C* 5046	*Y* 8662
กรดอะมิโนจำเป็น			
arginine	1.22	**3.51**	3.35
cystine	0.11	**0.19**	0.13
histidine	0.95	**1.18**	1.08
isoleucine	0.92	1.87	**2.12**
leucine	1.48	2.83	**3.41**
lysine	1.88	**3.65**	3.60
methionine	0.18	0.45	**0.46**
phenylalanine	**2.12**	2.04	2.07
threonine	1.60	2.17	**2.53**
tryptophan	0.23	0.45	**0.52**
valine	1.30	2.28	**2.78**
ปริมาณรวม	11.99	20.57	**22.05**
กรดอะมิโนไม่จำเป็น			
alanine	2.56	**2.94**	**2.94**
aspartic acid	2.94	3.89	**4.49**
glutamic acid	3.73	6.51	**7.88**
glycine	2.22	**2.57**	2.39
proline	1.78	**1.86**	1.77
serine	1.65	2.07	**2.44**
tyrosine	1.70	1.42	**1.69**
ปริมาณรวม	16.58	21.26	**23.60**
ปริมาณทั้งหมด	28.57	41.83	**45.65**

ตารางที่ 3.15 เปรียบเทียบค่าบีโอดีและค่าซีโอดีของน้ำทิ้ง เมื่อนำมาใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อของยีสต์ทั้ง 7 สายพันธุ์ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 4.5

สายพันธุ์ยีสต์	ค่าบีโอดี (มิลลิกรัมต่อลิตร)			ค่าซีโอดี (มิลลิกรัมต่อลิตร)		
	ก่อนเลี้ยงเชื้อ	หลังเลี้ยงเชื้อ	% การลดลง	ก่อนเลี้ยงเชื้อ	หลังเลี้ยงเชื้อ	% การลดลง
C 5045	570	95	83.3	823	132	84.0
C 5046	570	86	84.9	823	116	85.9
S 0001	570	158	72.3	823	219	73.4
T 0001	570	242	57.5	823	407	50.5
Y 8662	570	53	**90.7**	823	96	**88.3**
N 0001	570	126	77.9	823	178	78.4
N 0002	570	186	67.4	823	316	61.6

หมายเหตุ : มาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้ง กำหนดให้มีค่าบีโอดีไม่เกิน 20-60 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่าซีโอดีไม่เกิน 120-400 มิลลิกรัมต่อลิตร ประกาศกระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม ฉบับที่ 3 (สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ, 2539)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.11 ปริมาณบีโอดีและปริมาณซีโอดีที่ลดลงของน้ำทิ้ง เมื่อนำมาใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อของยีสต์สายพันธุ์ต่างๆ คือ (ก) *C* 5045 , (ข) *C* 5046, (ค) *S* 0001 , (ง) *T* 0001 , (จ) *Y* 8662 , (ฉ) *N* 0001 และ (ช) *N* 0002 ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 4.5 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.3 การเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ในขวดเขย่า

จากผลการวิจัยที่ได้จึงคัดเลือกยีสต์ *Y* 8662 ในการผลิตมวลชีวภาพจากน้ำทิ้งที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบและศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์สายพันธุ์ดังกล่าว

3.3.1 การเตรียมกล้าเชื้อที่เหมาะสมสำหรับการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์

เมื่อเลี้ยงยีสต์ *Y* 8662 ในอาหารสำหรับเตรียมหัวเชื้อ (ภาคผนวก ก) ตามวิธีการทดลองในข้อ 2.4.2.1 ติดตามการเติบโตของเชื้อทุกๆ 3 ชั่วโมง จนครบ 36 ชั่วโมง นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร และหาปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง ตามวิธีวิเคราะห์ในข้อ 2.5.2 ได้ข้อมูลดังแสดงในตารางที่ 3.16 และรูปที่ 3.12 พบว่า เชื้ออยู่ในระยะการพักตัวในช่วงเวลาสั้นๆ และเริ่มเข้าสู่ระยะของการเติบโตแบบทวีคูณตั้งแต่ชั่วโมงที่ 6 หลังจากนั้นเชื้อจะเติบโตเพิ่มปริมาณขึ้นอย่างรวดเร็วจนเมื่อถึงชั่วโมงที่ 15 เชื้อก็เติบโตเข้าสู่ช่วงท้ายของระยะการเติบโตแบบทวีคูณ และเริ่มเข้าสู่ระยะของการเติบโตแบบคงที่ ได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 7.75 กรัมต่อลิตร ซึ่งรูปแบบการเติบโตในอาหารสำหรับเตรียมหัวเชื้อของยีสต์ *Y* 8662 มีระยะการเติบโตแบบทวีคูณอยู่ในช่วงชั่วโมงที่ 6 ถึง 15 ดังนั้นจึงเลือกช่วงเวลาการเลี้ยงเชื้อดังกล่าว เพื่อศึกษาอายุกล้าเชื้อที่เหมาะสมต่อไป

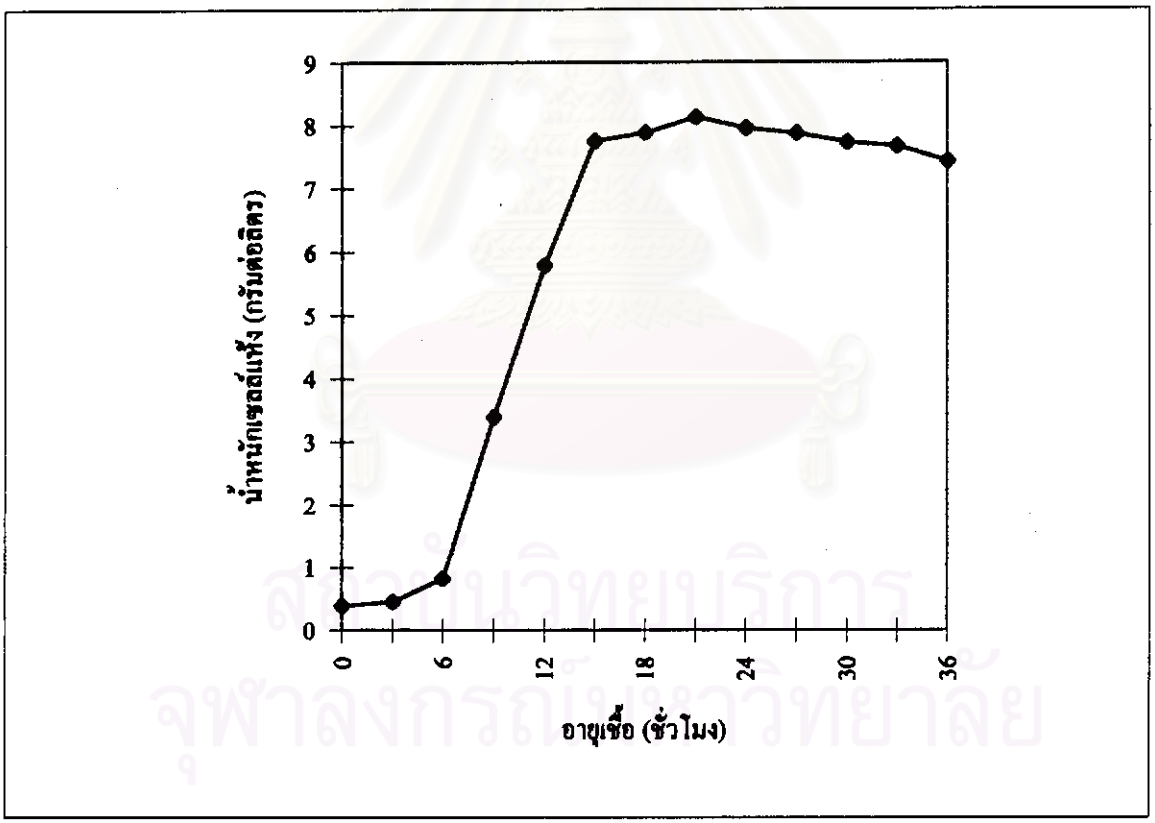
เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Y* 8662 ในน้ำทิ้ง ซึ่งใช้เป็นอาหารสำหรับการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ ตามวิธีทดลองในข้อ 2.4.2.2 โดยแปรผันอายุหัวเชื้อชั่วโมงที่ 6, 9, 12 และ 15 ตามลำดับ ติดตามการเติบโตของเชื้อทุกๆ 6 ชั่วโมง จนครบ 48 ชั่วโมง นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร หาปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร) และปริมาณไขมันที่เหลือในน้ำทิ้ง (กรัมต่อลิตร) ตามวิธีวิเคราะห์ในข้อ 2.5.2 และข้อ 2.5.3 ตามลำดับ ได้ข้อมูลดังแสดงในตารางที่ 3.17 และรูปที่ 3.13 พบว่า เมื่อใช้กล้าเชื้ออายุ 15, 12, 9 และ 6 ชั่วโมง ได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดที่ระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อแตกต่างกันไป โดยได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 2.81, 2.68, 2.66 และ 2.58 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อ 18, 24, 30 และ 36 ชั่วโมง ตามลำดับ และมีอัตราการเติบโตจำเพาะเท่ากับ 0.108, 0.095, 0.079 และ 0.061 ต่อชั่วโมง ตามลำดับ จากรูปแบบการเติบโตของกล้าเชื้อ พบว่ากล้าเชื้ออายุ 6 และ 9 ชั่วโมง อยู่ในระยะการพักตัวนาน และเข้าสู่ระยะของการเติบโตแบบทวีคูณช้ากว่ากล้าเชื้ออายุ 12 และ 15 ชั่วโมง โดยการเติบโตของกล้าเชื้ออายุ 15 ชั่วโมง อยู่ในระยะการพักตัวในช่วงเวลาสั้นๆ โดยเริ่มเข้าสู่ระยะของการเติบโตแบบทวีคูณตั้งแต่ชั่วโมงที่ 6 หลังจากนั้นเชื้อจะเติบโตเพิ่มปริมาณขึ้นอย่างรวดเร็ว จนถึงชั่วโมงที่ 12 เชื้ออยู่ในช่วงท้ายของระยะการเติบโตแบบทวีคูณ โดยได้น้ำหนักเซลล์แห้ง 2.62 กรัมต่อลิตร ขณะที่มีการใช้ไขมันในน้ำทิ้งเป็นสารอาหารอย่างรวดเร็ว และเมื่อ

ถึงชั่วโมงที่ 18 เชื้อจึงเริ่มเข้าสู่ระยะของการเติบโตแบบคงที่ ได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดชั่วโมงที่ 18 เท่ากับ 2.81 กรัมต่อลิตร ขณะที่กล้าเชื้ออายุ 12 ชั่วโมง มีการเติบโตเข้าสู่ในช่วงท้ายของระยะการเติบโตแบบทวีคูณในชั่วโมงที่ 18 ได้น้ำหนักเซลล์แห้ง 2.63 กรัมต่อลิตร และเข้าสู่ระยะของการเติบโตแบบคงที่ในชั่วโมงที่ 24 ได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด 2.78 กรัมต่อลิตร จึงเห็นได้ว่าการเติบโตของกล้าเชื้ออายุ 15 ชั่วโมง อยู่ในระยะการพักตัวสั้น และเข้าสู่ระยะของการเติบโตแบบทวีคูณเร็วกว่ากล้าเชื้ออายุอื่นๆ ดังนั้นจึงเลือกกล้าเชื้ออายุ 15 ชั่วโมง ในการเตรียมกล้าเชื้อเพื่อการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ ในการศึกษาขั้นต่อไป

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.16 น้ำหนักเซลล์แห้งของยีสต์ *Y* 8662 เมื่อเลี้ยงในอาหารสำหรับเตรียมหัวเชื้อ

อายุเชื้อ (ชั่วโมง)	0	3	6	9	12	15	24	30	36
น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	0.38	0.44	0.81	3.38	5.78	7.75	7.95	7.72	7.43

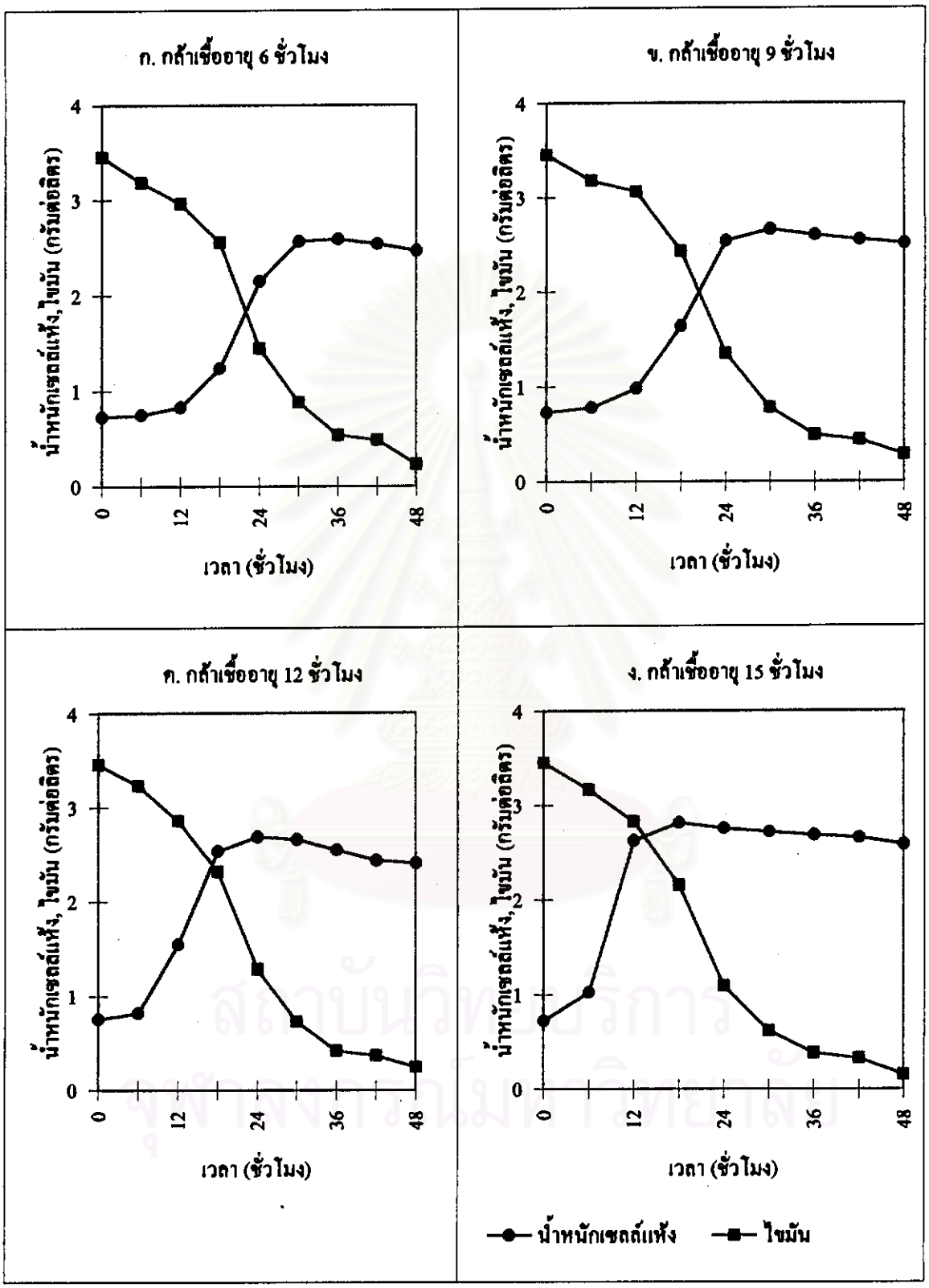


รูปที่ 3.12 รูปแบบการเติบโตของยีสต์ *Y* 8662 เมื่อเลี้ยงในอาหารสำหรับเตรียมหัวเชื้อ

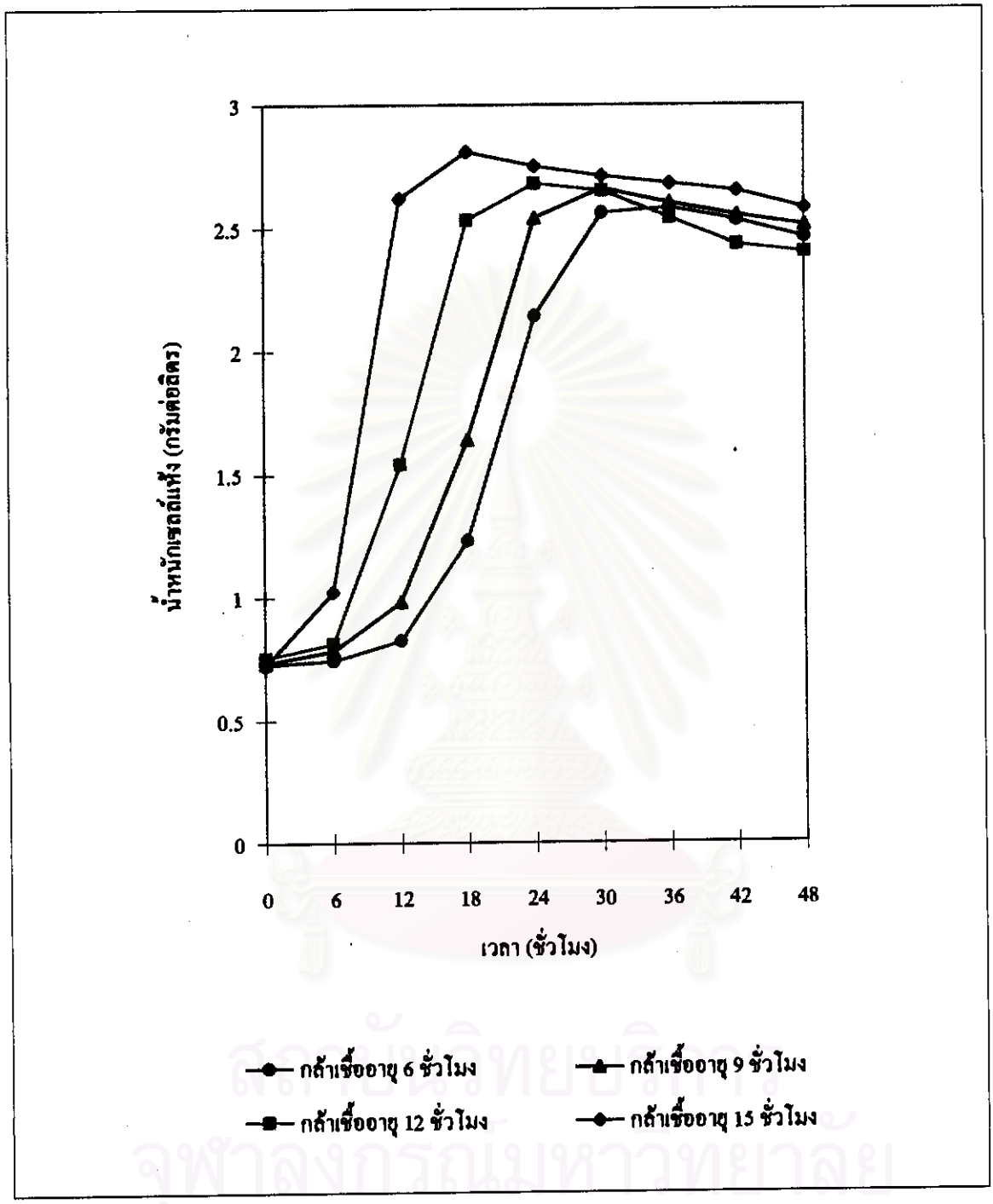
ตารางที่ 3.17 น้ำหนักเซลล์แห้งและไขมันที่เหลือในน้ำทิ้ง เมื่อเลี้ยงยีสต์ *Y* 8662 กล้าเชื้ออายุ 6, 9, 12 และ 15 ชั่วโมงตามลำดับ

เวลา (ชั่วโมง)	ก. กล้าเชื้ออายุ 6 ชั่วโมง		ข. กล้าเชื้ออายุ 9 ชั่วโมง		ค. กล้าเชื้ออายุ 12 ชั่วโมง		ง. กล้าเชื้ออายุ 15 ชั่วโมง	
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ไขมัน (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ไขมัน (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ไขมัน (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ไขมัน (กรัมต่อลิตร)
0	0.72	3.45	0.73	3.45	0.75	3.45	0.72	3.45
6	0.74	3.18	0.78	3.18	0.81	3.22	1.02	3.16
12	0.82	2.96	0.98	3.06	1.54	2.85	2.62	2.82
18	1.23	2.55	1.64	2.43	2.53	2.31	**2.81**	2.15
24	2.14	1.44	2.54	1.35	**2.68**	1.28	2.75	1.09
30	2.56	0.87	**2.66**	0.78	2.65	0.72	2.71	0.61
36	**2.58**	0.53	2.60	0.49	2.54	0.41	2.68	0.38
42	2.53	0.48	2.55	0.44	2.43	0.36	2.65	0.32
48	2.46	0.22	2.51	0.28	2.40	0.24	2.58	0.15

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.13 รูปแบบการเติบโตของยีสต์ *Y* 8662 เมื่อเลี้ยงในน้ำทิ้ง ใช้กล้าเชื้ออายุ 6, 9, 12 และ 15 ชั่วโมง ตามลำดับ



รูปที่ 3.14 เปรียบเทียบน้ำหนักเซลล์แห้งของยีสต์ *Y* 8662 เมื่อใช้กล้าเชื้ออายุ 6, 9,12 และ 15 ชั่วโมง

3.3.2 ศึกษาแหล่งไนโตรเจนเพื่อเติมในน้ำทิ้ง สำหรับเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์

เลี้ยงเชื้อ *Y* 8662 ในน้ำทิ้งที่มีการแปรผันปริมาณเริ่มต้นของอนินทรีย์ไนโตรเจนคือแอมโมเนียมซัลเฟต ปริมาณ 0-20 กรัมต่อลิตร และอินทรีย์ไนโตรเจนคือสารสกัดจากยีสต์ ปริมาณ 0-3 กรัมต่อลิตร ตามวิธีทดลองในข้อ 2.4.2.3 ติดตามการเติบโตของเชื้อทุกๆ 6 ชั่วโมง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร หาปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร) และปริมาณโปรตีนจริงภายในเซลล์ยีสต์ ตามวิธีวิเคราะห์ในข้อ 2.5.2 และข้อ 2.5.9 ตามลำดับ การเติมแหล่งไนโตรเจนลงในน้ำทิ้งแปรผันปริมาณเริ่มต้นของแอมโมเนียมซัลเฟตและสารสกัดจากยีสต์ โดยเปรียบเทียบการเติมแหล่งไนโตรเจนเพียงอย่างใดอย่างหนึ่งและการเติมแหล่งไนโตรเจนทั้งสองอย่างร่วมกัน นำข้อมูลที่ได้มาเปรียบเทียบกับชุดควบคุม คือน้ำทิ้งที่ไม่มีการเติมแหล่งไนโตรเจน

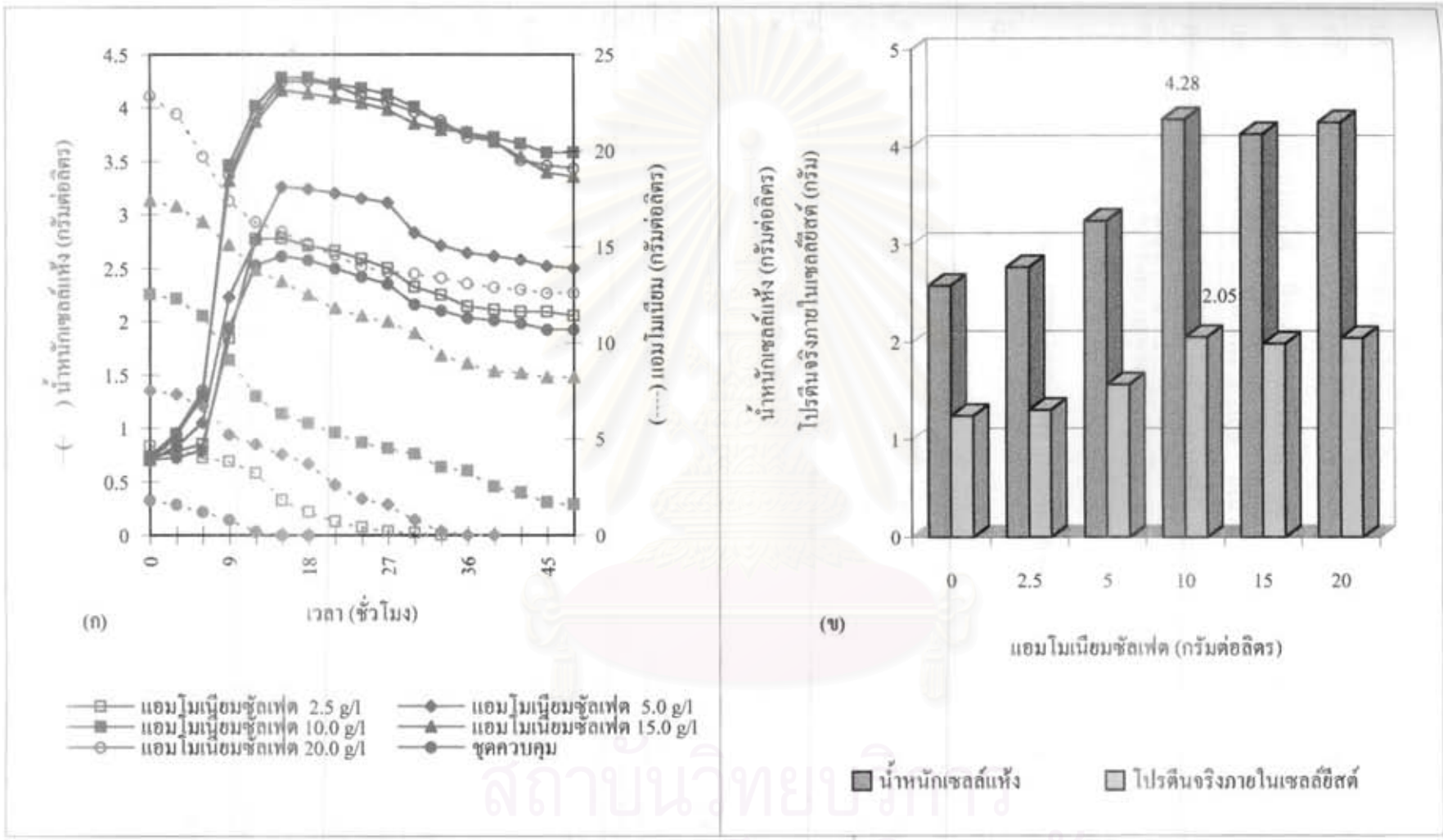
3.3.2.1 ผลของแอมโมเนียมซัลเฟตที่มีต่อการเติบโต และการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์

แอมโมเนียมซัลเฟต เป็นสารที่สามารถนำมาใช้เป็นแหล่งอนินทรีย์ไนโตรเจนที่หาง่ายและมีราคาถูก ยีสต์สามารถนำมาใช้เป็นสารอาหารได้ง่าย โดยมีผลต่อการเติบโตและการสังเคราะห์โปรตีนเป็นองค์ประกอบภายในเซลล์ (Boze และคณะ, 1992) ดังนั้นในการทดลองนี้จึงได้ศึกษาปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตที่เหมาะสมสำหรับการเติบโต และการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ โดยเลี้ยงเชื้อ *Y* 8662 ในน้ำทิ้งที่มีการแปรผันปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตเริ่มต้นที่ 2.5, 5.0, 10.0, 15.0 และ 20.0 กรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับการเติบโตในน้ำทิ้งที่ไม่มีการเติมแอมโมเนียมซัลเฟต (ชุดควบคุม) ได้ข้อมูลดังแสดงในตารางที่ 3.18 และรูปแบบการเติบโตดังรูปที่ 3.15 โดยพบว่า เมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อในน้ำทิ้งที่มีการแปรผันปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตเริ่มต้นที่ 0 (ชุดควบคุม), 2.5, 5.0, 10.0, 15.0 และ 20.0 กรัมต่อลิตร ได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 2.58, 2.77, 3.24, 4.28, 4.13 และ 4.25 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ขณะที่ได้ปริมาณโปรตีนจริงภายในเซลล์ยีสต์ เท่ากับ 1.24, 1.30, 1.56, 2.05, 1.98 และ 2.04 กรัมต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ตามลำดับ เมื่อนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ค่าทางสถิติ โดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่ม (CRD) (ภาคผนวก ง) พบว่าข้อมูลที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อในน้ำทิ้งเติมแอมโมเนียมซัลเฟตปริมาณเริ่มต้น 0, 2.5 และ 5.0 กรัมต่อลิตร ได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดและปริมาณโปรตีนจริงภายในเซลล์ยีสต์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น

ตารางที่ 3.18 ผลของการเติมแอมโมเนียมซัลเฟตในน้ำทิ้ง ที่มีต่อการเติบโตของยีสต์ *Y* 8662 เมื่อเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 4.5

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต (ก./ล.)											
	0 (ชุดควบคุม)		2.5		5.0		10.0		15.0		20.0	
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (ก./ล.)	แอมโมเนียม-ไนโตรเจน (ก./ล.)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (ก./ล.)	แอมโมเนียม-ไนโตรเจน (ก./ล.)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (ก./ล.)	แอมโมเนียม-ไนโตรเจน (ก./ล.)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (ก./ล.)	แอมโมเนียม-ไนโตรเจน (ก./ล.)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (ก./ล.)	แอมโมเนียม-ไนโตรเจน (ก./ล.)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (ก./ล.)	แอมโมเนียม-ไนโตรเจน (ก./ล.)
0	0.70	1.8	0.72	4.6	0.69	7.5	0.71	12.5	0.70	17.4	0.73	22.8
6	0.79	1.2	0.85	4.0	1.05	6.7	1.29	11.4	1.34	16.3	1.35	19.7
12	2.53	0.2	**2.77**	3.2	2.76	4.7	4.01	7.2	3.87	13.8	3.92	16.3
18	**2.58**	0.0	2.71	1.2	**3.24**	3.7	**4.28**	5.8	**4.13**	12.5	**4.25**	15.2
24	2.42	0.0	2.59	0.4	3.15	1.9	4.18	4.8	4.04	11.4	4.10	14.0
30	2.16	*	2.32	0.1	2.83	0.8	4.00	4.2	3.85	10.5	3.96	13.6
36	2.03	*	2.14	0.0	2.64	0.0	3.76	3.3	3.77	8.9	3.72	13.1
42	1.98	*	2.09	*	2.58	*	3.66	2.2	3.54	8.4	3.51	12.8
48	1.92	*	2.05	*	2.50	*	3.58	1.6	3.35	8.2	3.43	12.6

หมายเหตุ * หมายถึง ไม่ได้วิเคราะห์ เนื่องจากแอมโมเนียม-ไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อหมด



รูปที่ 3.15 ผลของการเติมแอมโมเนียมซัลเฟตในน้ำทิ้งที่มีต่อการเติบโตของยีสต์ *Y* 8662 (ก) น้ำหนักเซลล์แห้ง และ (ข) โปรตีนจริงภายในเซลล์ เมื่อเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 4.5

95 เปอร์เซนต์ และการเลี้ยงเชื้อในน้ำทิ้งเติมแอมโมเนียมซัลเฟตปริมาณเริ่มต้น 10, 15 และ 20 กรัมต่อลิตร ได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดและปริมาณโปรตีนจริงภายในเซลล์ยีสต์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ แต่การเลี้ยงเชื้อในน้ำทิ้งเติมแอมโมเนียมซัลเฟตปริมาณเริ่มต้นทั้ง 2 กลุ่ม ได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดและปริมาณโปรตีนจริงภายในเซลล์ยีสต์แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ดังนั้นจากผลการทดลองนี้ จึงใช้แอมโมเนียมซัลเฟตปริมาณ 10 กรัมต่อลิตร สำหรับการศึกษาต่อไป

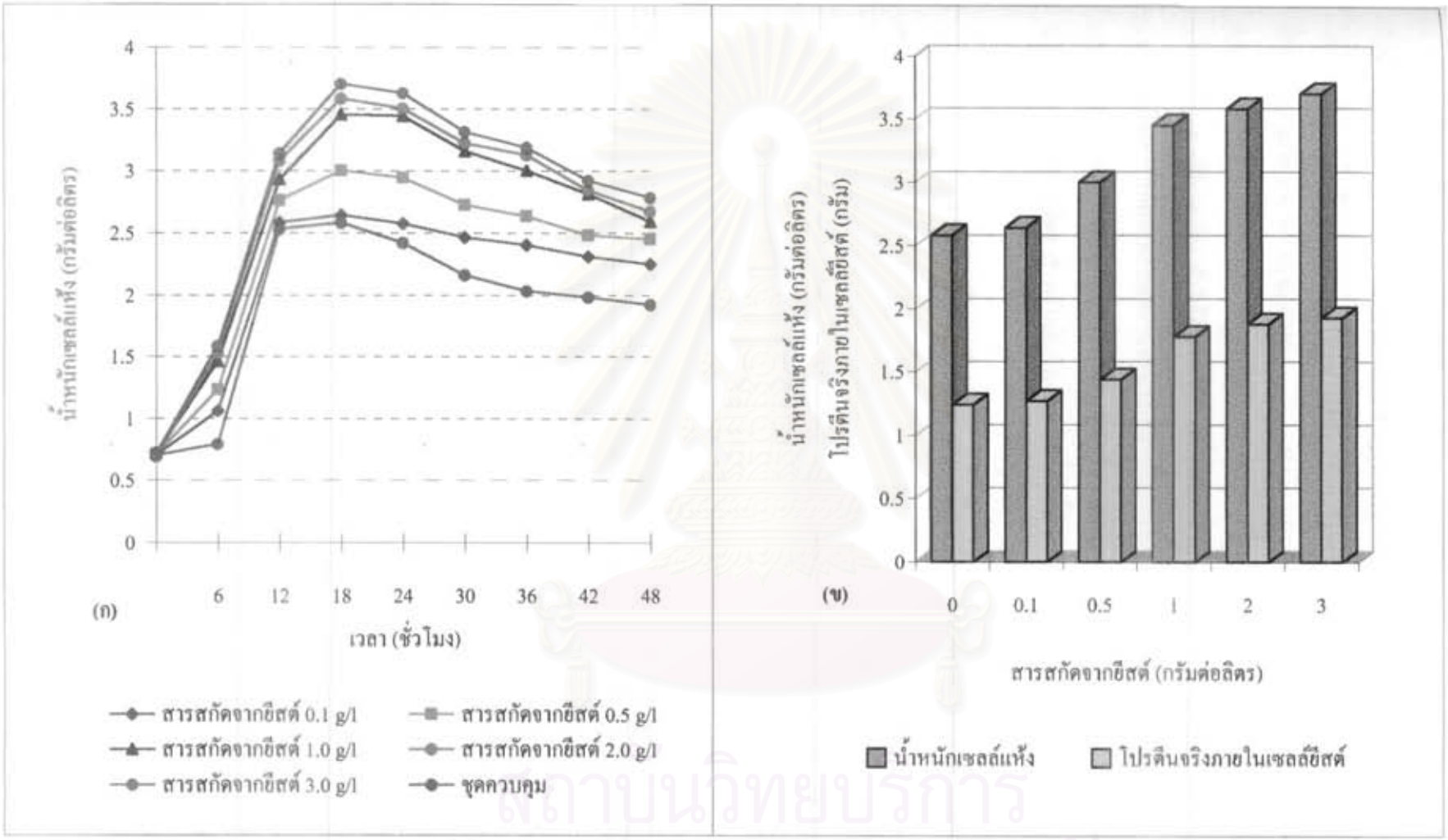
3.3.2.2 ผลของสารสกัดจากยีสต์ที่มีต่อการเติบโตและการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์

สารสกัดจากยีสต์ เป็นสารที่สามารถใช้เป็นแหล่งอินทรีย์ไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ดี เนื่องจากอุดมด้วยกรดอะมิโน วิตามิน และแร่ธาตุหลายชนิด Sikyta (1983) ได้รายงานการศึกษาเกี่ยวกับองค์ประกอบของสารสกัดจากยีสต์ พบว่าประกอบด้วยวิตามินชนิดต่างๆ ที่สำคัญ 8 ชนิด ได้แก่ ไธอะมีน ไรโบเฟลวิน กรดนิโคตินิก กรดแพนโตเธนิก ไพริดอกซิน ไบโอติน อินโนซิทอล และโคลีน ซึ่งส่งเสริมการเติบโตและการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ Abou-Zeid และคณะ (1983) รายงานว่าในสารสกัดจากยีสต์ *C. lipolytica* ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็น 7 ชนิด ได้แก่ วาลีน ลูซีน ธรีโอนีน เมไธโอนีน เฟนิลอะลานีน ไลซีน และอาร์จีนีน ดังนั้นในการทดลองนี้จึงได้ศึกษาปริมาณสารสกัดจากยีสต์ที่เหมาะสมสำหรับการเติบโตและการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ โดยเลี้ยงเชื้อ Y 8662 ในน้ำทิ้งที่มีการแปรผันปริมาณสารสกัดจากยีสต์เริ่มต้นที่ 0.1, 0.5 , 1.0, 2.0 และ 3.0 กรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับการเติบโตในน้ำทิ้งที่ไม่มีการเติมสารสกัดจากยีสต์ (ชุดควบคุม) ได้ข้อมูลดังแสดงในตารางที่ 3.19 และรูปแบบการเติบโตดังรูปที่ 3.16 เมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อในน้ำทิ้งที่มีการแปรผันปริมาณของสารสกัดจากยีสต์เริ่มต้นที่ 0 (ชุดควบคุม), 0.1, 0.5 , 1.0, 2.0 และ 3.0 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 2.58, 2.64, 3.00, 3.45, 3.58 และ 3.70 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ได้ปริมาณโปรตีนจริงภายในเซลล์เท่ากับ 1.24, 1.27, 1.44, 1.78, 1.81 และ 1.89 กรัมต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ตามลำดับ เมื่อนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ค่าทางสถิติโดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่ม (CRD) (ภาคผนวก ง) พบว่าข้อมูลที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อในน้ำทิ้งเติมสารสกัดจากยีสต์ปริมาณเริ่มต้น 1.0, 2.0 และ 3.0 กรัมต่อลิตร ได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดและปริมาณโปรตีนจริงภายในเซลล์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ แต่ข้อมูลที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อในน้ำทิ้งเติมสารสกัดจากยีสต์ปริมาณเริ่มต้นดังกล่าว

ตารางที่ 3.19 ผลของการเติมสารสกัดจากยีสต์ในน้ำทิ้ง ที่มีต่อการเติบโตของยีสต์ *Y* 8662 เมื่อเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 4.5

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณสารสกัดจากยีสต์ (กรัมต่อลิตร)					
	0 (ชุดควบคุม)	0.1	0.5	1.0	2.0	3.0
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)
0	0.70	0.70	0.71	0.72	0.69	0.71
6	0.79	1.06	1.23	1.46	1.52	1.58
12	2.53	2.58	2.76	2.93	3.08	3.14
18	**2.58**	**2.64**	**3.00**	**3.45**	**3.58**	**3.70**
24	2.42	2.57	2.94	3.44	3.50	3.62
30	2.16	2.46	2.72	3.16	3.22	3.31
36	2.03	2.40	2.63	3.00	3.13	3.19
42	1.98	2.31	2.48	2.81	2.84	2.92
48	1.92	2.25	2.45	2.59	2.67	2.78

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.16 ผลของการเติมสารสกัดจากยีสต์ในน้ำทิ้งที่มีต่อการเติบโตของยีสต์ *Y* 8662 (ก) น้ำหนักเซลล์แห้ง และ (ข) โปรตีนจริงภายในเซลล์ เมื่อเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 4.5

กับข้อมูลจากการเลี้ยงเชื้อในน้ำทิ้งเติมสารสกัดจากยีสต์ปริมาณเริ่มต้น 0, 0.1 และ 0.5 กรัมต่อลิตร ได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดและปริมาณโปรตีนจริงภายในเซลล์แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ Boze และคณะ (1992) รายงานว่าสารสกัดจากยีสต์เหมาะสมสำหรับใช้เติมเป็นอาหารเสริมในอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ แต่มักใช้ในปริมาณจำกัด สาเหตุเนื่องจากมีราคาสูง ทำให้ต้นทุนในการผลิตมีราคาสูงไปด้วย ขณะที่มีรายงานวิจัยจำนวนมากนิยมเติมสารสกัดจากยีสต์ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อไม่เกิน 1 กรัมต่อลิตร (Abou-Zeid และคณะ, 1983 ; Gharsallah, 1993 ; Sikuta, 1983) ดังนั้นจากผลการทดลองนี้ จึงเลือกใช้สารสกัดจากยีสต์ปริมาณ 1.0 กรัมต่อลิตร สำหรับเติมในอาหารเลี้ยงเชื้อ *Y* 8662 เพื่อการผลิตมวลชีวภาพ

3.3.2.3 ผลของการเติมแอมโมเนียมซัลเฟตร่วมกับสารสกัดจากยีสต์ที่มีต่อการเติบโตและการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์

แอมโมเนียมซัลเฟตและสารสกัดจากยีสต์ เป็นแหล่งอนินทรีย์ไนโตรเจนและแหล่งอินทรีย์ไนโตรเจนที่สำคัญ ตามลำดับ นิยมนำมาใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อ จากผลการทดลองที่ได้ศึกษา พบว่าปริมาณที่เหมาะสมในการเติมแอมโมเนียมซัลเฟตและสารสกัดจากยีสต์ในน้ำทิ้งที่มีต่อการเติบโตของยีสต์ *Y* 8662 คือ 10.0 และ 1.0 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ดังนั้นในการทดลองนี้จึงได้ศึกษาหาปริมาณที่เหมาะสมในการเติมแอมโมเนียมซัลเฟตร่วมกับสารสกัดจากยีสต์ในน้ำทิ้งที่มีต่อการเติบโต โดยเลี้ยงเชื้อ *Y* 8662 ในน้ำทิ้งที่แปรผันปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตเริ่มต้นเท่ากับ 2.5, 5.0, 10.0, 15.0 และ 20.0 กรัมต่อลิตร ร่วมกับปริมาณสารสกัดจากยีสต์เริ่มต้นเท่ากับ 0.1, 0.5 และ 1.0 กรัมต่อลิตร โดยใช้แผนการทดลองแบบแฟคตอเรียล (ภาคผนวก ง) เปรียบเทียบกับการเติมแหล่งไนโตรเจนเพียงอย่างใดอย่างหนึ่งและเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ได้ข้อมูลดังแสดงในตารางที่ 3.20 และรูปแบบการเติบโตดังรูปที่ 3.17 พบว่าแหล่งไนโตรเจนทั้งสองต่างมีอิทธิพลและมีอิทธิพลร่วมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้ โดยในชุดทดลองที่ไม่เติมแหล่งไนโตรเจน ได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดและโปรตีนจริงภายในเซลล์น้อยกว่าชุดทดลองอื่น ซึ่งในชุดทดลองที่มีการเติมแอมโมเนียมซัลเฟตร่วมกับสารสกัดจากยีสต์ ปริมาณเริ่มต้น 10.0 และ 1.0 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 6.48 กรัมต่อลิตร และโปรตีนจริงภายในเซลล์ยีสต์เท่ากับ 3.21 กรัมต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ซึ่งมากกว่าน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดและโปรตีนจริงภายในเซลล์ที่ได้จากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์ จากผลการทดลองข้อ 3.3.2.1 พบว่าชุดทดลองที่มีการเติมแอมโมเนียมซัลเฟตปริมาณเริ่มต้น 10.0 กรัมต่อลิตร ได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดและโปรตีนจริงภายในเซลล์สูงกว่า

ชุดทดลองที่มีการเติมแอมโมเนียมซัลเฟตปริมาณเริ่มต้น 2.5 และ 5.0 กรัมต่อลิตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ และจากผลการทดลองข้อ 3.3.2.2 พบว่าชุดทดลองที่มีการเติมสารสกัดจากยีสต์ปริมาณเริ่มต้น 1.0 กรัมต่อลิตร ได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดและโปรตีนจริงภายในเซลล์สูงกว่าชุดทดลองที่มีการเติมสารสกัดจากยีสต์ปริมาณเริ่มต้น 0.1 และ 0.5 กรัมต่อลิตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ดังนั้นจึงเลือกนำข้อมูลที่ได้จากชุดทดลองที่มีการเติมสารสกัดจากยีสต์ปริมาณเริ่มต้น 0.1, 0.5 และ 1.0 กรัมต่อลิตร ร่วมกับแอมโมเนียมซัลเฟตปริมาณเริ่มต้น 2.5, 5.0 และ 10.0 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ มาวิเคราะห์ค่าทางสถิติ โดยพบว่าชุดทดลองที่มีการเติมแอมโมเนียมซัลเฟตปริมาณเริ่มต้น 10.0 กรัมต่อลิตร และสารสกัดจากยีสต์ปริมาณเริ่มต้น 1.0 กรัมต่อลิตร ได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดและโปรตีนจริงภายในเซลล์สูงกว่าชุดทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ดังนั้นจึงเลือกใช้แอมโมเนียมซัลเฟตปริมาณเริ่มต้น 10.0 กรัมต่อลิตร และสารสกัดจากยีสต์ปริมาณเริ่มต้น 1.0 กรัมต่อลิตร เติมในน้ำทิ้ง เพื่อนำไปใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อศึกษาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ในถังหมักต่อไป

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.20 ก ผลของการเติมสารสกัดจากยีสต์ปริมาณเริ่มต้น 0.1 กรัมต่อลิตร ร่วมกับการเติมแอมโมเนียมซัลเฟตปริมาณเริ่มต้นที่ 0 (ชุดควบคุม), 2.5, 5.0, 10.0, 15.0 และ 20.0 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในน้ำทิ้งที่มีต่อการเติบโตของยีสต์ *Y* 8662 เมื่อเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 4.5

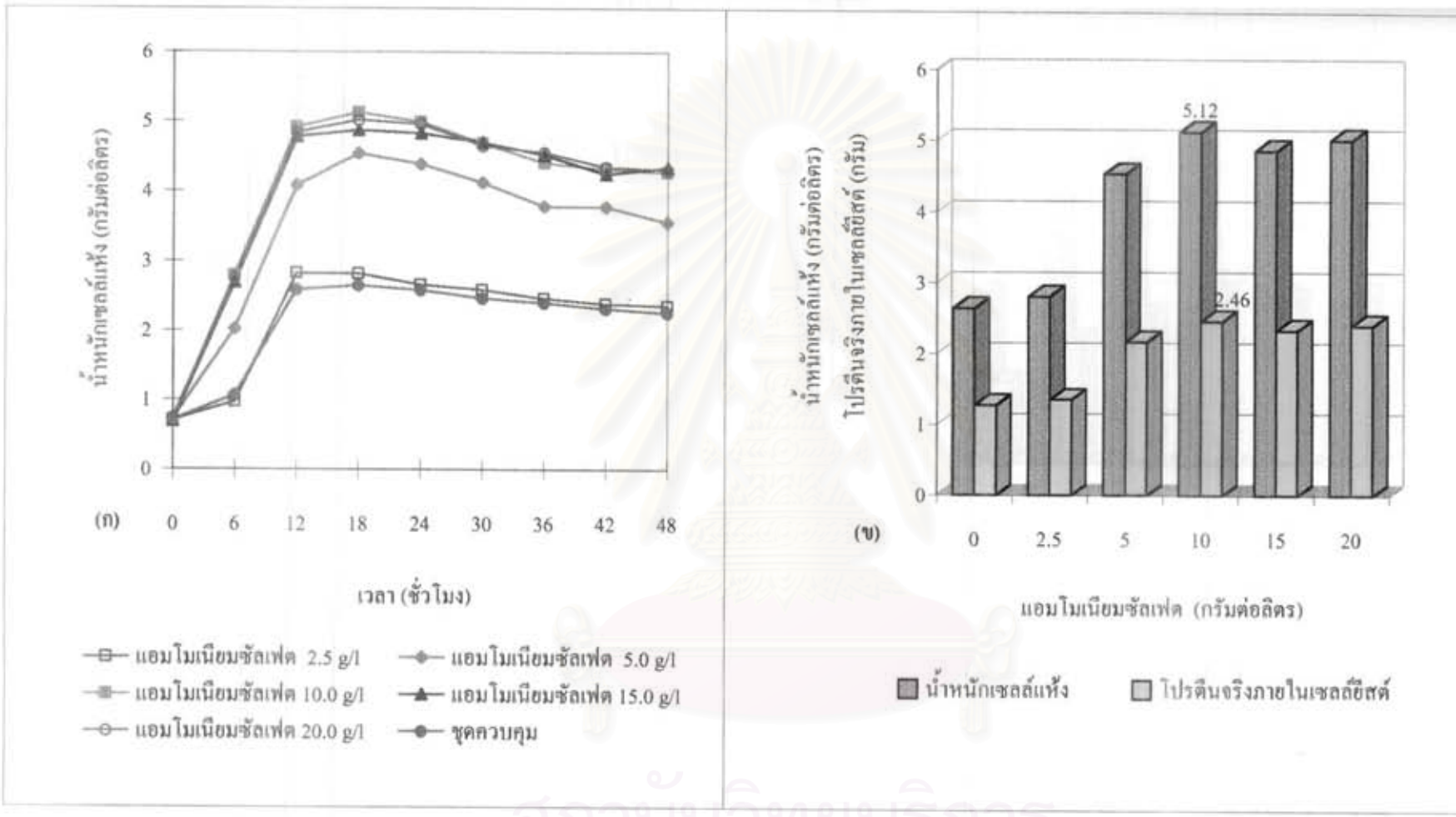
สารสกัดจากยีสต์ปริมาณ 0.1 กรัมต่อลิตร						
เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต (กรัมต่อลิตร)					
	0 (ชุดควบคุม)	2.5	5.0	10.0	15.0	20.0
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)
0	0.70	0.70	0.72	0.70	0..68	0.73
6	1.06	0.96	2.01	2.78	2.68	2.74
12	2.58	2.82	4.08	4.91	4.71	4.83
18	**2.64**	**2.81**	**4.53**	**5.12**	**4.86**	**5.01**
24	2.57	2.65	4.33	4.98	4.82	4.95
30	2.46	2.58	4.12	4.68	4.69	4.64
36	2.40	2.46	3.78	4.40	4.52	4.55
42	2.31	2.38	3.77	4.31	4.24	4.34
48	2.25	2.35	3.55	4.26	4.33	4.30

ตารางที่ 3.20 ข ผลของการเติมสารสกัดจากยีสต์ปริมาณเริ่มต้น 0.5 กรัมต่อลิตร ร่วมกับการเติมแอมโมเนียมซัลเฟตปริมาณเริ่มต้น ที่ 0 (ชุดควบคุม), 2.5, 5.0, 10.0, 15.0 และ 20.0 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในน้ำทิ้งที่มีต่อการเติบโตของยีสต์ *Y* 8662 เมื่อเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 4.5

สารสกัดจากยีสต์ปริมาณ 0.5 กรัมต่อลิตร						
เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต (กรัมต่อลิตร)					
	0 (ชุดควบคุม)	2.5	5.0	10.0	15.0	20.0
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)
0	0.71	0.74	0.69	0.70	0.71	0.68
6	1.23	1.97	3.15	3.47	3.32	3.41
12	2.76	4.33	5.27	**6.13**	**6.11**	5.89
18	**3.00**	**4.52**	**5.47**	6.08	6.02	**6.24**
24	2.94	4.37	5.32	6.05	5.88	6.00
30	2.72	4.18	4.71	5.93	5.74	5.87
36	2.63	3.77	4.31	5.86	5.48	5.52
42	2.48	3.42	4.13	5.38	5.21	5.22
48	2.45	3.33	4.01	5.24	5.14	5.20

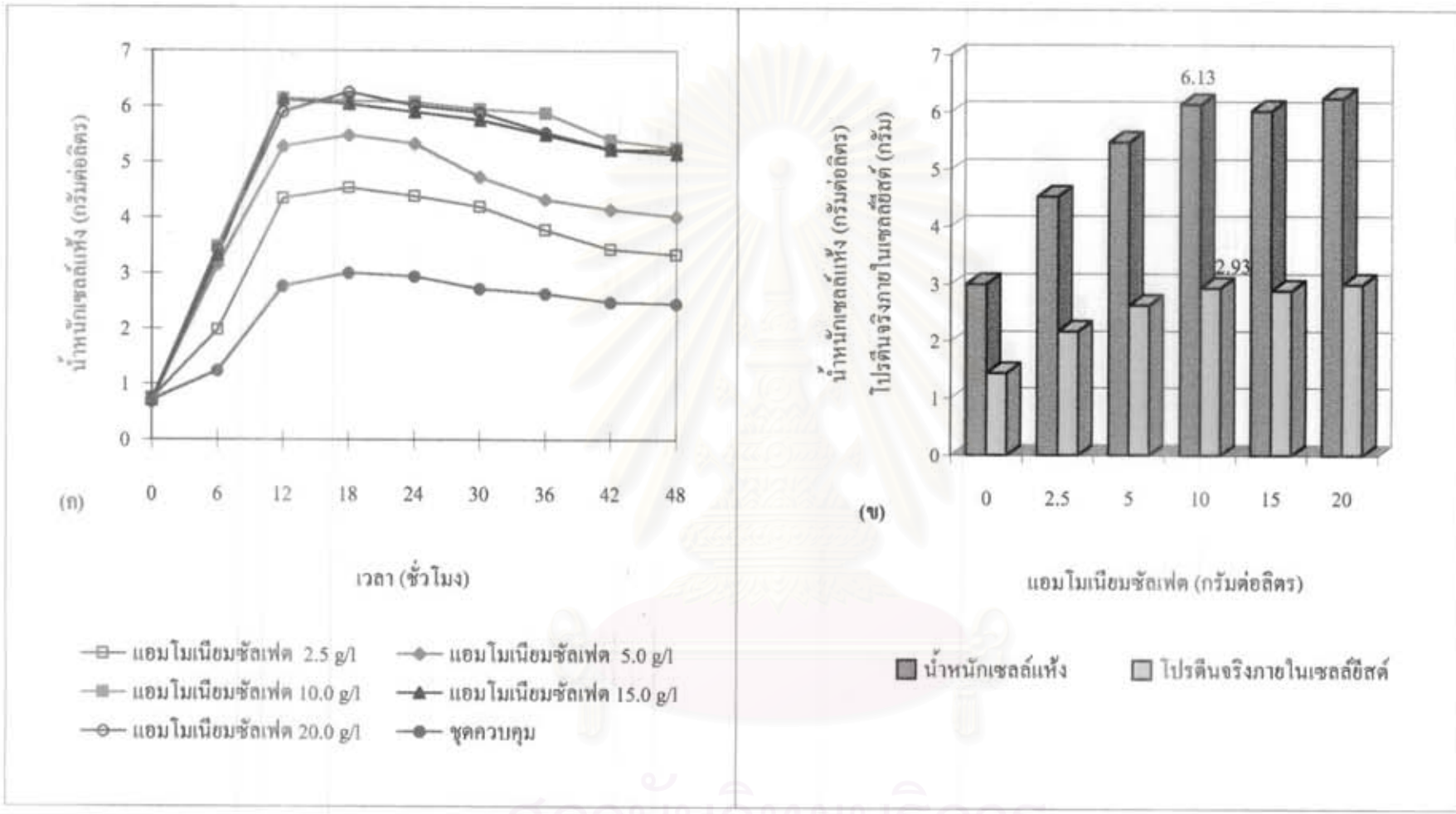
ตารางที่ 3.20 ค ผลของการเติมสารสกัดจากยีสต์ปริมาณเริ่มต้น 1.0 กรัมต่อลิตร ร่วมกับการเติมแอมโมเนียมซัลเฟตปริมาณเริ่มต้นที่ 0 (ชุดควบคุม), 2.5, 5.0, 10.0, 15.0 และ 20.0 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในน้ำทิ้งที่มีต่อการเติบโตของยีสต์ *Y* 8662 เมื่อเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 4.5

สารสกัดจากยีสต์ปริมาณ 1.0 กรัมต่อลิตร						
เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต (กรัมต่อลิตร)					
	0 (ชุดควบคุม)	2.5	5.0	10.0	15.0	20.0
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)
0	0.70	0.72	0.70	0.68	0.72	0.70
6	1.43	3.23	3.07	3.42	3.23	3.33
12	2.98	4.87	5.72	6.45	5.89	6.00
18	**3.24**	**5.27**	**5.83**	**6.48**	**6.12**	**6.38**
24	3.16	5.14	5.77	6.23	6.05	6.21
30	3.00	4.88	5.68	6.11	5.75	6.01
36	2.81	4.72	5.40	5.92	5.22	5.78
42	2.59	4.26	5.32	5.77	5.20	5.54
48	2.57	4.23	5.27	5.63	5.16	5.50



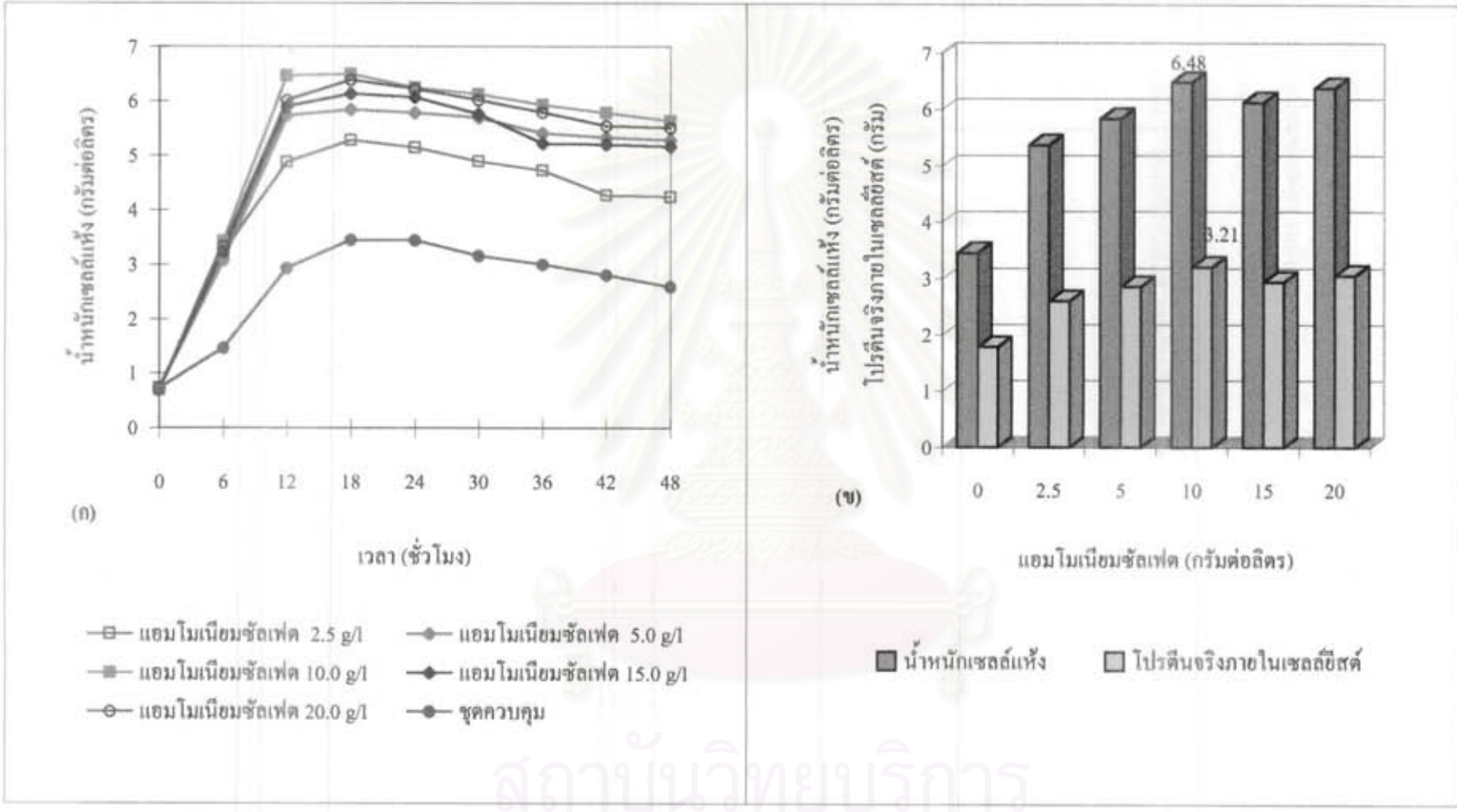
รูปที่ 3.17 ก. ผลของแหล่งไนโตรเจนต่อการเติบโตของยีสต์ *Y* 8662 (ก) น้ำหนักเซลล์แห้ง และ (ข) โปรตีนจริงภายในเซลล์ เมื่อใช้อาหารเลี้ยงเชื้อคือ น้ำทิ้งเติมสารสกัดจากยีสต์ 0.1 กรัมต่อลิตร ร่วมกับแอมโมเนียมซัลเฟต 0 (ชุดควบคุม), 2.5, 5, 10, 15 และ 20 กรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 4.5

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.17 ข. ผลของแหล่งไนโตรเจนต่อการเติบโตของยีสต์ *Y* 8662 (ก) น้ำหนักเซลล์แห้ง และ (ข) โปรตีนจริงภายในเซลล์ เมื่อใช้อาหารเลี้ยงเชื้อคือ น้ำทิ้งเติมสารสกัดจากยีสต์ 0.5 กรัมต่อลิตร ร่วมกับแอมโมเนียมซัลเฟต 0 (ชุดควบคุม), 2.5, 5, 10, 15 และ 20 กรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 4.5

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.17 ค. ผลของแหล่งไนโตรเจนต่อการเติบโตของยีสต์ *Y* 8662 (ก) น้ำหนักเซลล์แห้ง และ (ข) โปรตีนจริงภายในเซลล์ เมื่อใช้อาหารเลี้ยงเชื้อคือ น้ำทิ้งเติมสารสกัดจากยีสต์ 1.0 กรัมต่อลิตร ร่วมกับแอมโมเนียมซัลเฟต 0 (ชุดควบคุม), 2.5, 5, 10, 15 และ 20 กรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 4.5

ตารางที่ 3.21 ผลของแหล่งไนโตรเจนต่อการเติบโตของยีสต์ *Y* 8662 โดยแปรผันปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตร่วมกับสารสกัดจากยีสต์ที่เติมในน้ำทิ้ง เมื่อเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 4.5

การทดลอง	สารสกัดจากยีสต์, แอมโมเนียมซัลเฟต (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด (กรัมต่อลิตร)	โปรตีนจริงภายในเซลล์ (กรัมต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง)
1	0, 0.0	2.58	1.24
2	0, 2.5	2.77	1.30
3	0, 5.0	3.24	1.56
4	0, 10.0	4.28	2.05
5	0, 15.0	4.13	1.98
6	0, 20.0	4.25	2.04
7	0.1, 0.0	2.64	1.27
8	0.1, 2.5	2.81	1.35
9	0.1, 5.0	4.53	2.17
10	0.1, 10.0	5.12	2.46
11	0.1, 15.0	4.86	2.33
12	0.1, 20.0	5.01	2.40
13	0.5, 0.0	3.00	1.44
14	0.5, 2.5	4.52	2.17
15	0.5, 5.0	5.47	2.63
16	0.5, 10.0	6.13	2.93
17	0.5, 15.0	6.02	2.89
18	0.5, 20.0	6.24	3.00
19	1.0, 0.0	3.45	1.78
20	1.0, 2.5	5.37	2.60
21	1.0, 5.0	5.83	2.86
22	1.0, 10.0	**6.48**	**3.21**
23	1.0, 15.0	6.12	2.94
24	1.0, 20.0	6.38	3.06

3.4 การเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ในถังหมักขนาด 5 ลิตร

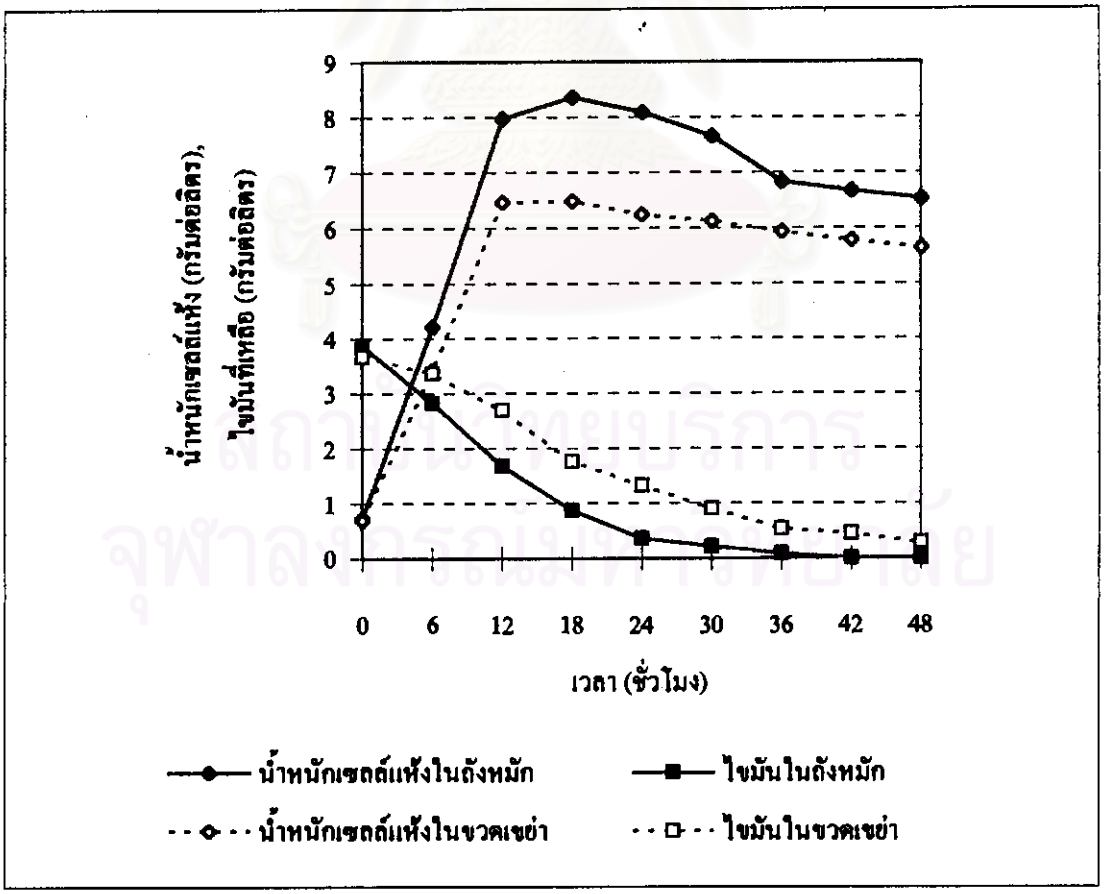
จากผลการทดลองที่ได้ศึกษา ได้ภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ โดยเชื้อ *Y* 8662 ในขวดเขย่าคือ กล้าเชื้อที่เตรียมได้และอายุที่เหมาะสมคือที่ 15 ชั่วโมง (จากข้อ 3.3.1) เลี้ยงกล้าเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อจากน้ำทิ้งที่มีการศึกษาปริมาณแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสม (จากข้อ 3.3.2) คือปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต 10 กรัมต่อลิตร ร่วมกับสารสกัดจากยีสต์ 1 กรัมต่อลิตร จึงได้นำภาวะที่เหมาะสมดังกล่าว มาใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับศึกษาการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ในถังหมัก โดยปัจจัยต่างๆ ที่ศึกษาได้แก่ การเติบโตและการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ในถังหมัก โดยแปรผันภาวะในการเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรดด่าง อัตราการกวนและอัตราการให้อากาศ วิเคราะห์ค่าบีโอดีและค่าซีโอดีในน้ำทิ้งภายหลังนำมาใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อยีสต์ รวมทั้งศึกษาการควบคุมเพื่อเพิ่มผลผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ในระบบการหมักแบบต่อเนื่อง เพื่อหาภาวะที่เหมาะสม

3.4.1 การเติบโตและการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ในถังหมัก

เลี้ยงเชื้อ *Y* 8662 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมจากน้ำทิ้ง (จากข้อ 3.3.2) ตามวิธีการทดลองข้อ 2.4.3.1 ของการเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ในถังหมัก ติดตามการเติบโตของเชื้อทุกๆ 6 ชั่วโมง จนครบ 48 ชั่วโมง โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร หาน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร) และไขมันที่เหลือในน้ำหมัก (กรัมต่อลิตร) ตามวิธีวิเคราะห์ข้อ 2.5.2 และข้อ 2.5.3 ตามลำดับ นำข้อมูลที่ได้มาเปรียบเทียบกับการเติบโตและการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ในขวดเขย่า ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 3.22 และรูปแบบการเติบโตในรูปที่ 3.18 พบว่าการเลี้ยงเชื้อในถังหมัก ได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 8.35 กรัมต่อลิตร อัตราการเติบโตจำเพาะเท่ากับ 0.136 ต่อชั่วโมง และกำลังการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์เท่ากับ 0.424 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ซึ่งสูงกว่าการเลี้ยงเชื้อในขวดเขย่าที่ใช้สูตรอาหารเดียวกัน โดยการเลี้ยงเชื้อในขวดเขย่า ได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 6.48 กรัมต่อลิตร อัตราการเติบโตจำเพาะเท่ากับ 0.125 ต่อชั่วโมง และกำลังการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์เท่ากับ 0.322 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และพบว่าไขมันในน้ำทิ้งจากการเลี้ยงเชื้อในถังหมักถูกใช้ได้เร็วกว่าในขวดเขย่า โดยไขมันในน้ำทิ้งถูกใช้หมดหลังจากเลี้ยงเชื้อในถังหมักเป็นเวลา 42 ชั่วโมง

ตารางที่ 3.22 การเติบโตของเชื้อ *Y* 8662 ในขวดเขย่าและในถังหมัก อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 1 vvm ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่าง 4.5

เวลา (ชั่วโมง)	ถังหมัก		ขวดเขย่า	
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ไขมัน (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ไขมัน (กรัมต่อลิตร)
0	0.72	3.66	0.68	3.66
6	4.21	2.81	3.42	3.36
12	7.96	1.67	6.45	2.68
18	8.35	0.86	6.48	1.76
24	8.08	0.35	6.23	1.32
30	7.65	0.21	6.11	0.87
36	6.82	0.08	5.92	0.53
42	6.66	0.00	5.77	0.45
48	6.52	0.00	5.63	0.28



รูปที่ 3.18 รูปแบบการเติบโตของเชื้อ *Y* 8662 ในขวดเขย่าและในถังหมัก

3.4.2 การศึกษาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ โดยเชื้อ *Y* 8662 ในถังหมัก

เลี้ยงเชื้อ *Y* 8662 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมจากน้ำทิ้งที่ได้จากข้อ 3.3.2 ตามวิธีการทดลองข้อ 2.4.3.2 เพื่อการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ในถังหมัก ภาวะในการหมักที่ศึกษาได้แก่ อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรดด่าง อัตราการกวนและอัตราการให้อากาศ ตามลำดับ

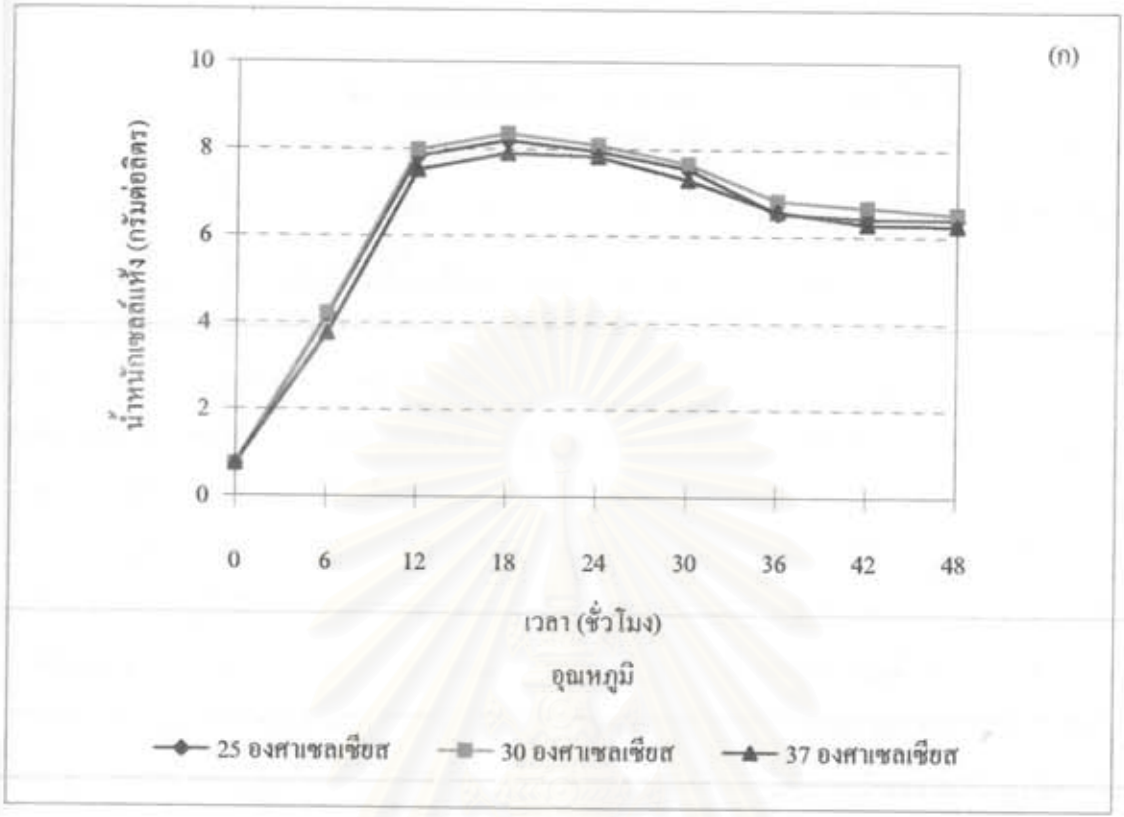
3.4.2.1 ผลของอุณหภูมิต่อการเติบโตของเชื้อ *Y* 8662

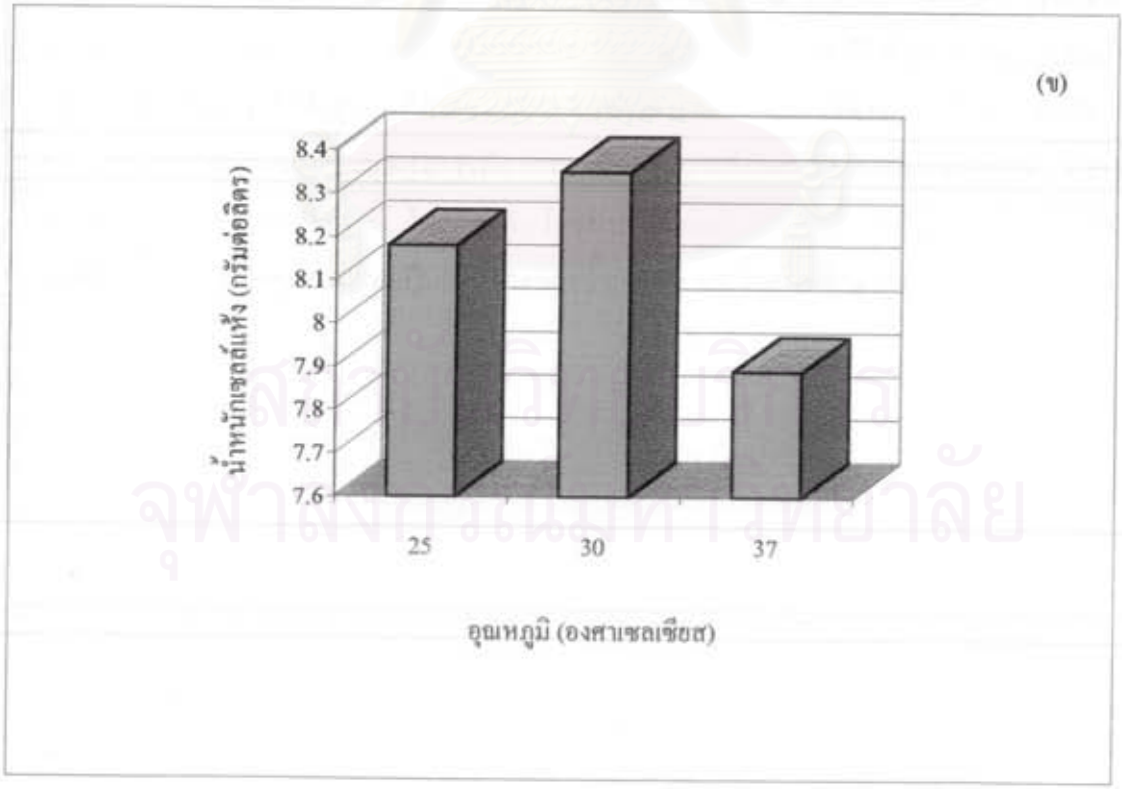
ในระหว่างกระบวนการหมัก อุณหภูมิมีบทบาทสำคัญต่อการเติบโตและการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ โดยมีผลต่ออัตราการเติบโต กระบวนการเมตาบอลิซึม และองค์ประกอบภายในเซลล์ โดยเฉพาะโปรตีนและไขมัน ยีสต์ส่วนใหญ่ไม่เติบโตที่อุณหภูมิสูงกว่า 40 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิที่นิยมใช้ในการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์อยู่ในช่วง 25 ถึง 38 องศาเซลเซียส ซึ่งขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ยีสต์ที่ใช้ (Boze และคณะ, 1987 อ้างถึงใน Boze และคณะ, 1992) การศึกษานี้แปรผันอุณหภูมิของการหมักที่ 25, 30 และ 37 องศาเซลเซียส ได้ข้อมูลดังแสดงในตารางที่ 3.23 และรูปแบบการเติบโตในรูปที่ 3.19 พบว่าอุณหภูมิของการหมักที่ 25, 30และ 37 องศาเซลเซียส ได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 8.18, 8.35 และ 7.89 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และมีอัตราการเติบโตจำเพาะเท่ากับ 0.134, 0.136 และ 0.131 ต่อชั่วโมง ตามลำดับ นำค่าที่ได้มาแสดงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดที่อุณหภูมิของการหมักที่ 25, 30 และ 37 องศาเซลเซียส พบว่าอุณหภูมิของการหมักที่ 30 องศาเซลเซียส ได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดสูงกว่าที่อุณหภูมิของการหมักอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ อุณหภูมิของการหมักที่ 30 องศาเซลเซียส จึงเหมาะสมสำหรับการเติบโตของยีสต์ *Y* 8662 มากกว่าที่อุณหภูมิอื่น ขณะเดียวกันการควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นภาวะที่สะดวกต่อการควบคุมในการหมัก ดังนั้นจึงเลือกอุณหภูมิของการหมักที่ 30 องศาเซลเซียส ในการศึกษาต่อไป

ตารางที่ 3.23 ผลของอุณหภูมิต่อการเติบโตของ *Y* 8662 โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมจากน้ำทิ้งในถังหมักที่อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 1.0 vvm ค่าความเป็นกรดด่าง 4.5

เวลา (ชั่วโมง)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร) ของยีสต์ *Y* 8662		
	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)		
	25	**30**	**37**
0	0.73	0.72	0.74
6	4.18	4.21	3.74
12	7.82	7.96	7.51
18	8.18	**8.35**	7.89
24	7.93	8.08	7.81
30	7.54	7.65	7.28
36	6.52	6.82	6.57
42	6.42	6.66	6.28
48	6.40	6.52	6.26

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย





รูปที่ 3.19 (ก) ผลของอุณหภูมิและ (ข) อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเติบโตของยีสต์ *Y* 8662 โดยใช้อาหารเตรียมจากน้ำทิ้งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อในถังหมัก อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 1.0 vvm ค่าความเป็นกรดด่าง 4.5

3.4.2.2 ผลของค่าความเป็นกรดด่างต่อการเติบโตของเชื้อ *Y* 8662

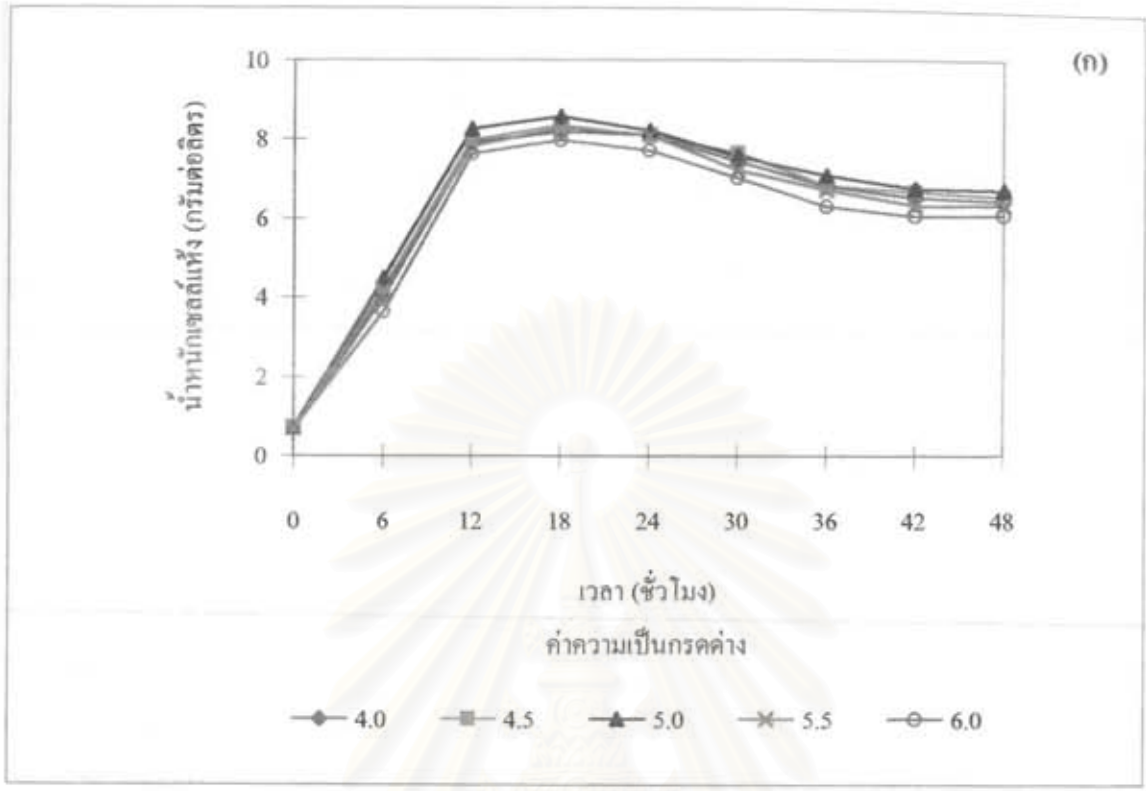
ค่าความเป็นกรดด่างขึ้นอยู่กับปริมาณไฮโดรเจนอิออนในอาหารเลี้ยงเชื้อ มีบทบาทสำคัญต่ออัตราการเติบโต กระบวนการเมตาบอลิซึม และองค์ประกอบภายในเซลล์ โดยทั่วไปยีสต์สามารถเติบโตได้ในช่วงค่าความเป็นกรดด่าง 2.7 ถึง 7.0 อย่างไรก็ดี การเลี้ยงเชื้อที่ค่าความเป็นกรดด่างต่ำกว่า 4.0 จะช่วยลดการปนเปื้อนจากแบคทีเรีย (Boze และคณะ, 1992) ค่าความเป็นกรดด่างถูกควบคุมโดยอัตราส่วนระหว่างปริมาณแอมโมเนียมต่อปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตในน้ำหมัก โดยพบว่า ที่ความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตสูงๆ จะทำให้ค่าความเป็นกรดด่างในน้ำหมักลดต่ำลง เนื่องจากแอมโมเนียมอิออนถูกนำไปใช้โดยยีสต์ (Reed และ Peppler, 1973 อ้างถึงใน Reed และ Nagodawithana, 1995) การเติมสารควบคุมค่าความเป็นกรดด่างในการทดลองนี้ใช้แคลเซียมคาร์บอเนต เข้มข้น 0.2 นอร์มัล ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริก เข้มข้น 1 นอร์มัล (Rydin และคณะ, 1990) และในการแปรผันค่าความเป็นกรดด่างที่ 4.0, 4.5, 5.0, 5.5 และ 6.0 ตามลำดับ ได้ข้อมูลดังแสดงในตารางที่ 3.24 และรูปแบบการเติบโตในรูปที่ 3.20 พบว่า ค่าความเป็นกรดด่างที่ 4.0, 4.5, 5.0, 5.5 และ 6.0 ได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 8.18, 8.35, 8.58, 8.28 และ 7.98 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และมีอัตราการเติบโตจำเพาะเท่ากับ 0.136, 0.136, 0.140, 0.138 และ 0.135 ต่อชั่วโมง ตามลำดับ นำค่าที่ได้มาแสดงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดที่ค่าความเป็นกรดด่างต่างๆ พบว่าที่ค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.0 ได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดสูงกว่าที่ค่าความเป็นกรดด่างอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ โดยการเติบโตของเชื้อจะลดลงเมื่อค่าความเป็นกรดด่างต่ำกว่าหรือสูงขึ้น ดังนั้นจึงควบคุมค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมักที่ 5.0 ในการศึกษาต่อไป

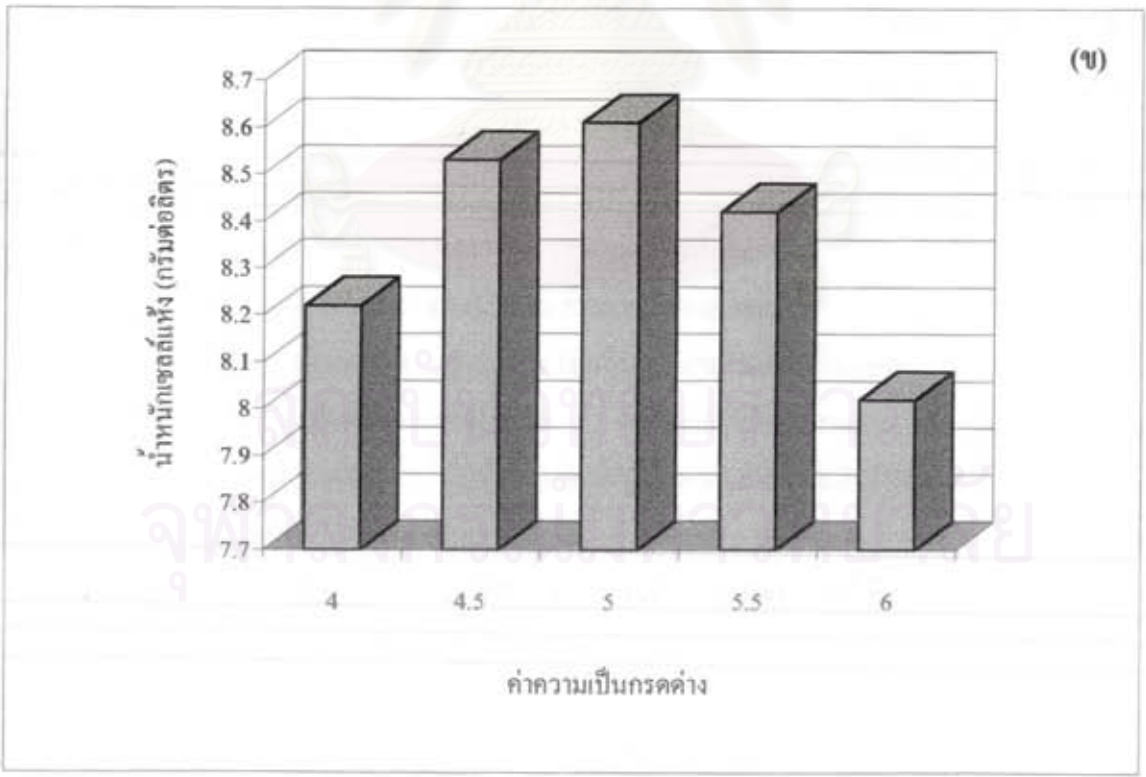
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.23 ผลของค่าความเป็นกรดด่างในน้ำหมักต่อการเติบโตของยีสต์ *Y* 8662 โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมจากน้ำทิ้ง ในถังหมักที่อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 1.0 vvm อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

เวลา (ชั่วโมง)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร) ของยีสต์ *Y* 8662				
	ค่าความเป็นกรดด่าง				
	4.0	4.5	5.0	5.5	6.0
0	0.70	0.72	0.69	0.68	0.70
6	4.01	4.21	4.48	4.19	3.63
12	7.89	7.96	8.25	7.82	7.61
18	8.18	8.35	8.58	8.28	7.98
24	8.10	8.08	8.22	8.11	7.72
30	7.44	7.65	7.56	7.21	7.02
36	6.80	6.82	7.08	6.72	6.31
42	6.52	6.66	6.72	6.32	6.04
48	6.41	6.52	6.68	6.30	6.04

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย





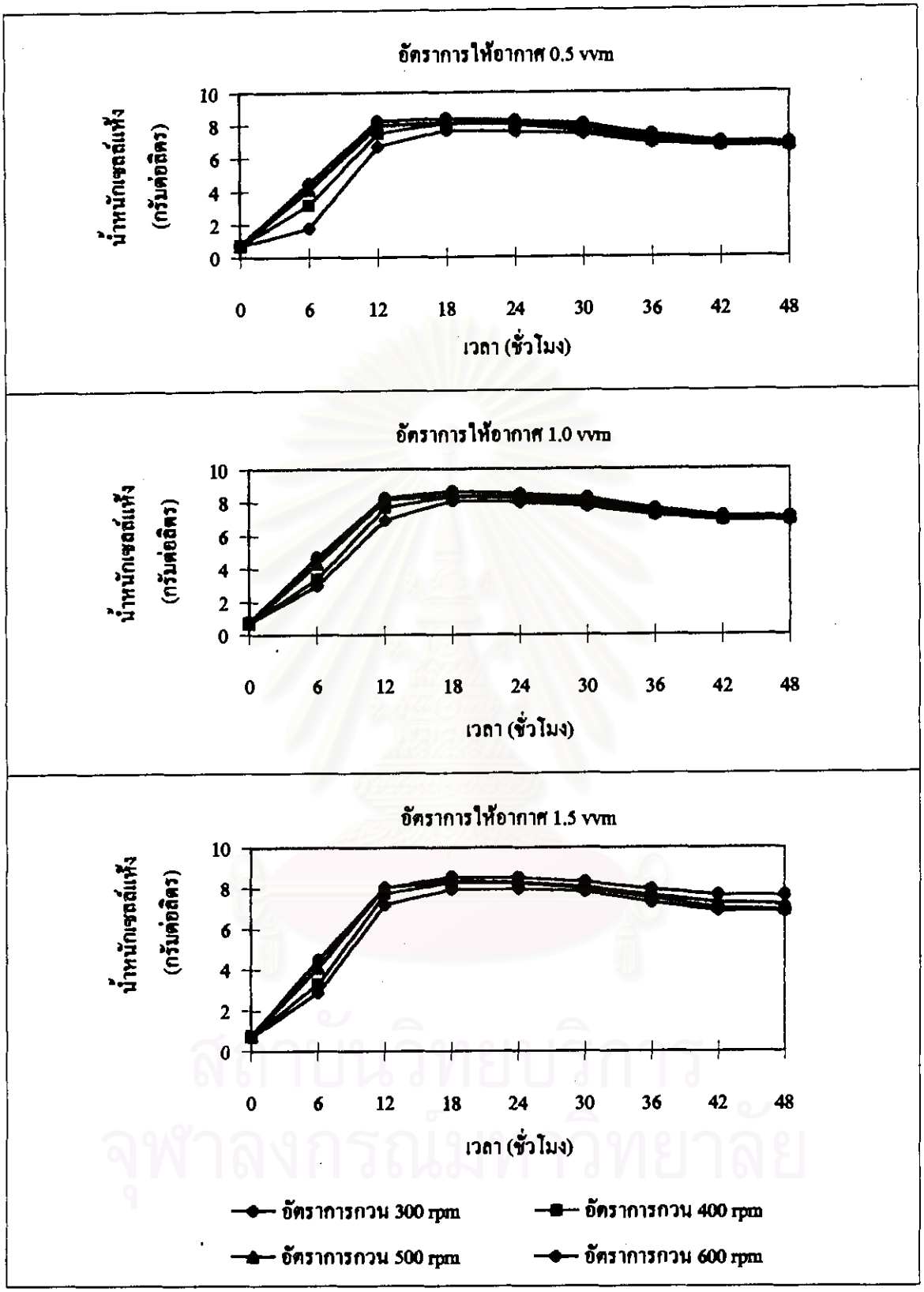
รูปที่ 3.20 (ก) ผลของค่าความเป็นกรดด่างและ (ข) ค่าความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมต่อการเติบโตของยีสต์ *Y* 8662 โดยใช้อาหารเตรียมจากน้ำทิ้งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อในถังหมัก อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 1.0 vvm อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

3.4.2.3 ผลของอัตราการกวนและอัตราการให้อากาศ ต่อการเติบโตของเชื้อ *Y* 8662

กระบวนการหมักเพื่อผลิตมวลชีวภาพของยีสต์เป็นการหมักแบบต้องการออกซิเจน ภายใต้ภาวะเช่นนี้ยีสต์สามารถออกซิไดส์แหล่งคาร์บอนได้คาร์บอนไดออกไซด์และน้ำอย่างสมบูรณ์ ทำให้ได้ผลผลิตมวลเซลล์ต่อปริมาณสับสเตรทที่ใช้สูง (Snyder, 1970) ดังนั้นจึงต้องให้ออกซิเจนมากพอในกระบวนการหมัก ปริมาณออกซิเจนที่เหมาะสมจะขึ้นกับสายพันธุ์ยีสต์ องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อและภาวะการเลี้ยงเชื้อ อุณหภูมิที่ใช้และขนาดของถังหมัก และเพื่อให้มีการกระจายของออกซิเจน จึงต้องมีการกวนพร้อมกับการให้อากาศ ดังนั้นการทดลองนี้จึงแปรผันอัตราการกวนที่ 300, 400, 500 และ 600 รอบต่อนาที และอัตราการให้อากาศที่ 0.5, 1.0 และ 1.5 vvm ติดตามการเติบโตของยีสต์ *Y* 8662 ทุกๆ 6 ชั่วโมง จนครบ 48 ชั่วโมง ได้ข้อมูลดังแสดงในตารางที่ 3.25 รูปแบบการเติบโตในรูปที่ 3.21 เปรียบเทียบน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดและปริมาณโปรตีนจริงภายในเซลล์ในแต่ละชุดการทดลอง ได้ข้อมูลดังแสดงในตารางที่ 3.26 และรูปแบบการเติบโตในรูปที่ 3.22 พบว่าการแปรผันอัตราการกวน 300, 400, 500 และ 600 รอบต่อนาที ที่อัตราการให้อากาศเดียวกัน ได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ส่วนการแปรผันอัตราการให้อากาศ 0.5, 1.0 และ 1.5 vvm ที่อัตราการกวนเดียวกัน พบว่าที่อัตราการให้อากาศ 1.0 และ 1.5 vvm มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดและปริมาณโปรตีนจริงภายในเซลล์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ Singh และคณะ (1948) (อ้างถึงใน Reed และ Nagodawithana, 1995) รายงานว่า การแปรผันอัตราการกวนและอัตราการให้อากาศมีอิทธิพลน้อยต่อปริมาณโปรตีนภายในเซลล์ยีสต์ ซึ่งทุกชุดการทดลองมีปริมาณโปรตีนจริงภายในเซลล์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ และพบว่าที่อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที และอัตราการให้อากาศ 1.0 vvm มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 8.64 กรัมต่อลิตร ดังนั้นในการทดลองต่อไปจึงใช้อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที และอัตราการให้อากาศ 1.0 vvm ในการการเลี้ยงเชื้อ *Y* 8662

ตารางที่ 3.25 ผลของอัตราการกวนและอัตราการให้อากาศต่อการเติบโตของยีสต์ *Y* 8662 โดยใช้อาหารที่เตรียมจากน้ำทิ้งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อในถังหมัก แปรผันอัตราการกวนที่ 300, 400, 500 และ 600 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศที่ 0.5, 1.0 และ 1.5 vvm อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่าง 5.0

เวลา (ชั่วโมง)	อัตราการให้อากาศ 0.5 vvm				อัตราการให้อากาศ 1.0 vvm				อัตราการให้อากาศ 1.5 vvm			
	อัตราการกวน (รอบต่อนาที)				อัตราการกวน (รอบต่อนาที)				อัตราการกวน (รอบต่อนาที)			
	300	400	500	600	300	400	500	600	300	400	500	600
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)				น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)				น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)			
0	0.70	0.72	0.68	0.73	0.72	0.70	0.68	0.75	0.68	0.72	0.70	0.71
6	1.75	3.16	4.08	4.45	2.95	3.36	4.28	4.65	2.84	3.27	4.08	4.47
12	6.71	7.48	7.95	8.22	6.91	7.68	8.15	8.22	7.17	7.72	8.04	8.00
18	7.86	8.11	8.17	**8.38**	8.16	8.41	8.47	**8.64**	7.93	8.28	8.33	**8.55**
24	7.78	8.01	8.09	8.27	7.98	8.21	8.29	8.47	7.97	8.24	8.25	8.52
30	7.43	7.61	7.82	8.04	7.73	7.83	8.02	8.24	7.84	8.02	8.07	8.31
36	6.87	6.99	7.18	7.38	7.19	7.26	7.43	7.59	7.29	7.48	7.62	7.93
42	6.69	6.72	6.87	6.95	6.89	6.92	7.07	7.15	6.88	7.02	7.28	7.65
48	6.65	6.70	6.85	6.89	6.85	6.91	7.05	7.09	6.85	6.91	7.19	7.64

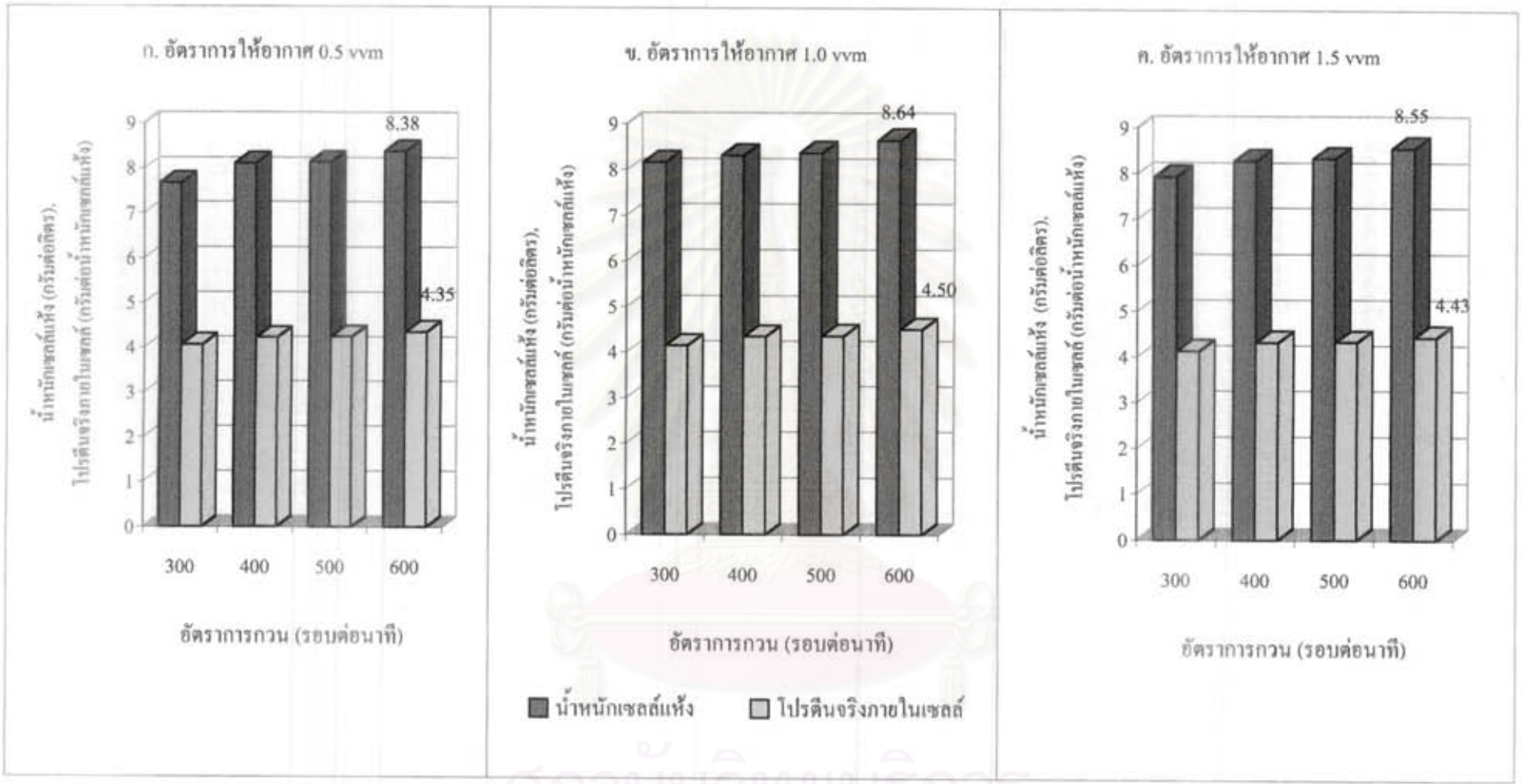


รูปที่ 3.21 ผลของอัตราการกวนและอัตราการให้อากาศต่อการเติบโตของเชื้อ *Y* 8662 โดยใช้น้ำทิ้งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อในถังหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่าง 5.0

ตารางที่ 3.26 ผลของอัตราการกวนและอัตราการให้อากาศต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง และโปรตีนจริงภายในเซลล์ของยีสต์ *Y* 8662 เมื่อเลี้ยงในถังหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่าง 5.0

การทดลอง	อัตราการกวน (รอบต่อนาที), อัตราการให้อากาศ (vvm)	น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด (กรัมต่อลิตร)	โปรตีนจริงภายในเซลล์ (กรัมต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง)
1	300, 0.5	7.86	4.09
2	300, 1.0	8.16	4.24
3	300, 1.5	7.93	4.12
4	400, 0.5	8.11	4.22
5	400, 1.0	8.41	4.37
6	400, 1.5	8.28	4.31
7	500, 0.5	8.17	4.25
8	500, 1.0	8.47	4.40
9	500, 1.5	8.33	4.32
10	600, 0.5	8.38	4.35
11	600, 1.0	**8.64**	**4.50**
12	600, 1.5	8.55	4.43

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.22 ผลของอัตราการกวนและอัตราการให้อากาศต่อน้ำหนักเซลล์แห้งและโปรตีนจริงภายในเซลล์ของยีสต์ *Y* 8662 ที่แปรผันอัตราการให้อากาศ (ก) 0.5, (ข) 1.0 และ (ค) 1.5 vvm ร่วมกับอัตราการกวน 300, 400, 500 และ 600 รอบต่อนาที ตามลำดับ ในถังหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่าง 5.0

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.4.3 การเติบโตและการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ในถังหมัก ด้วยกระบวนการหมักแบบ batch โดยใช้ภาวะในการหมักที่เหมาะสม

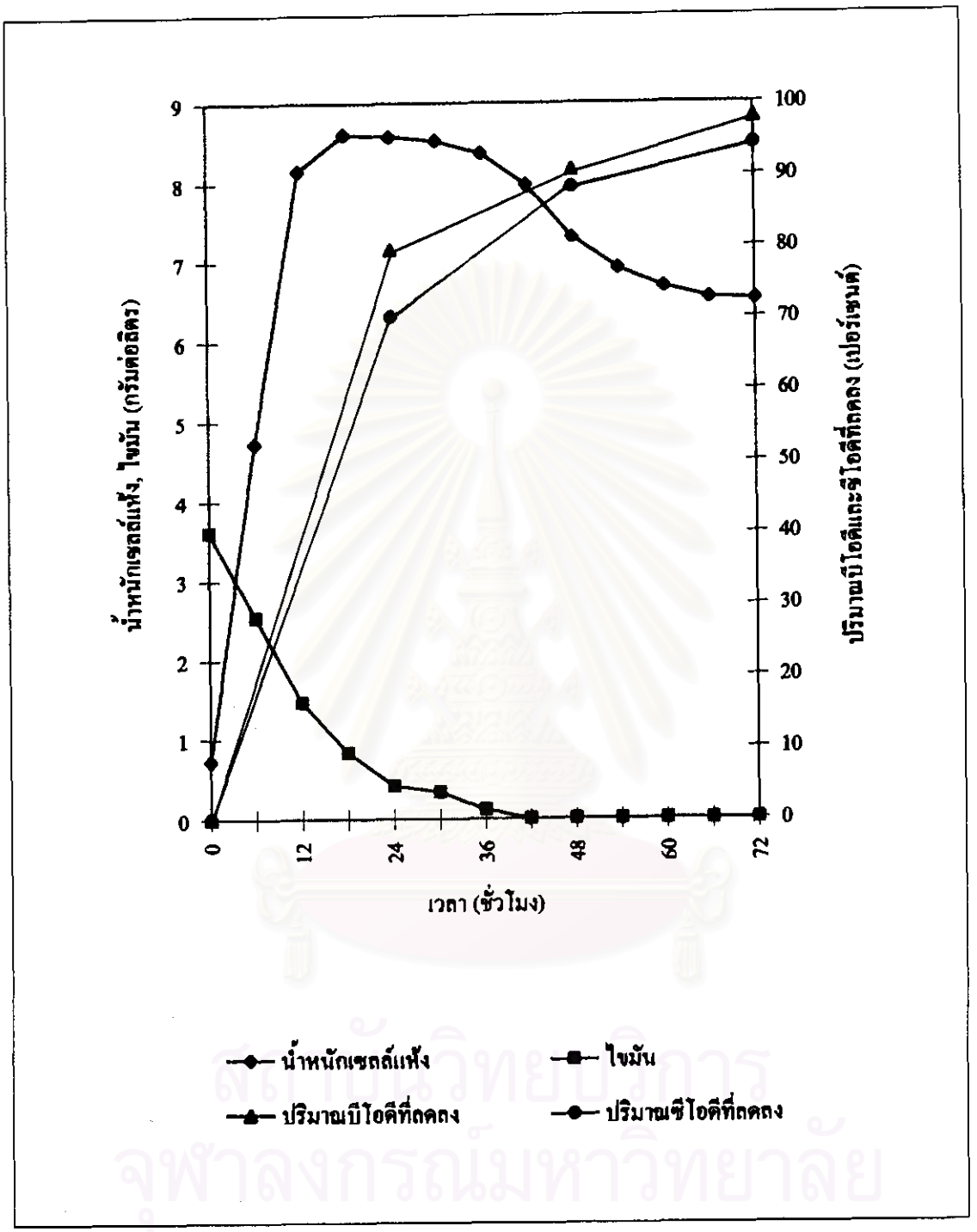
เลี้ยงเชื้อ *Y* 8662 ในถังหมัก ตามวิธีทดลองในข้อ 2.4.3.3 ควบคุมภาวะในการหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่าง 5.0 อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที และอัตราการให้อากาศ 1.0 vvm ตามผลการทดลองในข้อ 3.4.2 ตามลำดับ ติดตามการเติบโตทุกๆ 6 ชั่วโมง เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ได้ข้อมูลดังแสดงในตารางที่ 3.27 และรูปแบบการเติบโตในรูปที่ 3.23 พบว่าเชื้อมีการเติบโตอย่างรวดเร็ว และเข้าสู่ช่วงท้ายของระยะการเติบโตแบบทวีคูณในชั่วโมงที่ 12 มีน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 8.15 กรัมต่อลิตร จากนั้นเข้าสู่ระยะของการเติบโตแบบคงที่ในชั่วโมงที่ 18 ได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 8.61 กรัมต่อลิตร อัตราการเติบโตจำเพาะเท่ากับ 0.138 ต่อชั่วโมง และกำลังการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์เท่ากับ 0.438 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง โดยมีไขมันในน้ำหมัก 0.83 กรัมต่อลิตร ซึ่งไขมันในน้ำหมักลดลง 77 เปอร์เซนต์จากปริมาณเริ่มต้น (3.60 กรัมต่อลิตร) และถูกใช้จนหมดเมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 42 ชั่วโมง หลังจากนั้นเชื้อจะอยู่ในช่วงท้ายของระยะการเติบโตแบบคงที่ และเริ่มเข้าสู่ระยะการเติบโตแบบลดลงตามลำดับ จากการเลี้ยงเชื้อ *Y* 8662 โดยใช้น้ำทิ้งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อในกระบวนการหมักแบบ batch ค่าบีโอดีและค่าซีโอดีลดลงตามระยะเวลาในการหมักตามลำดับ โดยการวิเคราะห์ค่าบีโอดีและค่าซีโอดี ตามวิธีวิเคราะห์ข้อที่ 2.5.7 และข้อ 2.5.8 พบว่าหลังการหมักเป็นเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ค่าบีโอดีลดลง 79.5, 90.7 และ 97.9 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ค่าซีโอดีลดลง 70.2, 88.3 และ 94.2 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ หลังจากการหมักเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ค่าบีโอดีและค่าซีโอดีลดลงอย่างรวดเร็ว ตามการลดลงของไขมันในน้ำหมัก จากนั้นค่าบีโอดีและค่าซีโอดีจะลดลงช้าๆ หลังจากการหมักเป็นเวลา 48 ชั่วโมง และลดลงเกือบ 100 เปอร์เซนต์ หลังจากการหมักเป็นเวลา 72 ชั่วโมง ซึ่งมีค่าบีโอดีและค่าซีโอดีเท่ากับ 12 และ 48 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ จากค่าบีโอดีและค่าซีโอดีดังกล่าว พบว่าได้มาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้งที่กำหนดให้มีค่าบีโอดีไม่เกิน 20-60 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่าซีโอดีไม่เกิน 120-400 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามประกาศกระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม ฉบับที่ 3 (สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ, 2539) จะเห็นได้ว่าน้ำทิ้งที่เหลือจากการหมักมีค่าบีโอดีและค่าซีโอดีน้อยมาก ดังนั้นการนำน้ำทิ้งมาใช้ในการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์จึงเป็นการบำบัดน้ำทิ้ง และลดปัญหามลภาวะอันเกิดจากไขมันในน้ำทิ้งได้ตามวัตถุประสงค์ของงานวิจัย สำหรับในการศึกษาต่อไป เป็นการเพิ่มผลผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ด้วยกระบวนการหมักแบบต่อเนื่องในถังหมัก เพื่อหาอัตราการเจือจางที่เหมาะสม

ตารางที่ 3.27 การเติบโตของยีสต์ *Y* 8662 ในถังหมักด้วยกระบวนการหมักแบบ batch เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ที่อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 1.0 vvm อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่าง 5.0

เวลา (ชั่วโมง)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ไขมัน (กรัมต่อลิตร)	ค่าบีโอดี (มิลลิกรัมต่อลิตร)			ค่าซีโอดี (มิลลิกรัมต่อลิตร)		
			ก่อนเลี้ยงเชื้อ	หลังเลี้ยงเชื้อ	เปอร์เซนต์ลดลง	ก่อนเลี้ยงเชื้อ	หลังเลี้ยงเชื้อ	เปอร์เซนต์ลดลง
0	0.72	3.60	570	570	0.0	823	823	0
6	4.72	2.53	570	*	*	823	*	*
12	8.15	1.46	570	*	*	823	*	*
18	8.61	0.83	570	*	*	823	*	*
24	8.58	0.41	570	117	79.5	823	245	70.2
30	8.33	0.33	570	*	*	823	*	*
36	7.87	0.11	570	*	*	823	*	*
42	7.46	0.00	570	*	*	823	*	*
48	6.89	0.00	570	53	90.7	823	96	88.3
54	6.52	*	570	*	*	823	*	*
60	6.48	*	570	*	*	823	*	*
66	6.34	*	570	*	*	823	*	*
72	6.22	*	570	12	97.9	823	48	94.2

หมายเหตุ : * ไม่ได้วิเคราะห์

มาตรฐานควบคุมการระบายน้ำทิ้งกำหนดให้มีค่าบีโอดีไม่เกิน 20-60 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่าซีโอดีไม่เกิน 120-400 มิลลิกรัมต่อลิตร (ประกาศกระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม ฉบับที่ 3, 2539)



รูปที่ 3.23 การเติบโตของเชื้อ *Y* 8662 โดยใช้อาหารเตรียมจากน้ำทิ้งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อในถังหมัก ด้วยกระบวนการหมักแบบ batch ที่อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 1.0 vvm ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่าง 5.0

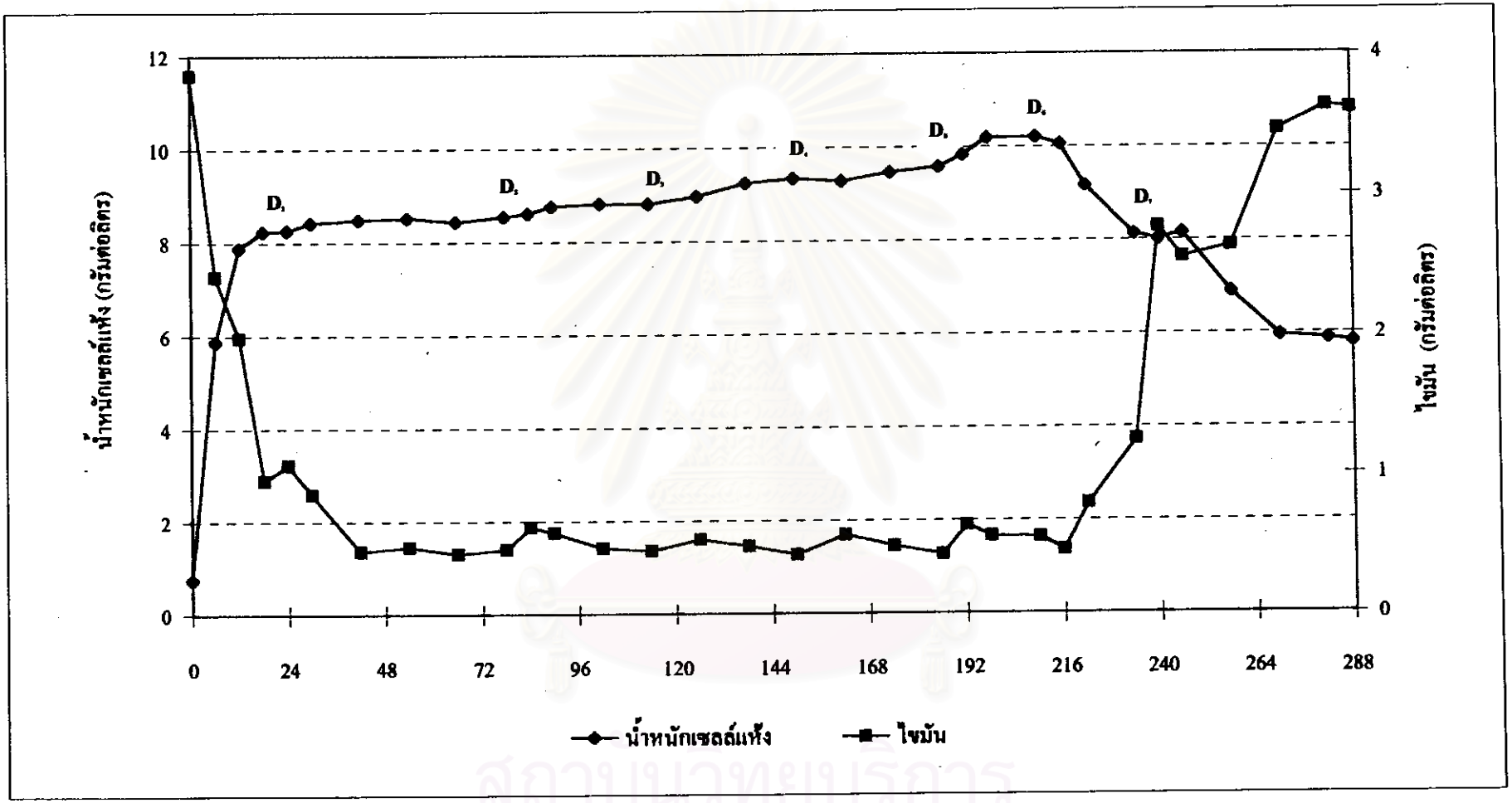
3.4.4 การเติบโตและการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ในถังหมัก ด้วยกระบวนการหมักแบบต่อเนื่อง

เลี้ยงเชื้อ Y 8662 ในถังหมัก ตามวิธีทดลองข้อ 2.4.3.4 ควบคุมภาวะในการหมักตามผลการทดลองข้อ 4.3.2 กระบวนการหมักแบบต่อเนื่องจำเป็นต้องควบคุมปริมาตรในถังหมัก ด้วยการตั้งระดับของท่อไหลออก และต่อเครื่องเพอริสตอลติกปั๊มเข้ากับท่อทางเข้าและออกจากถังหมัก การแปรผันอัตราการเจือจาง (D) เพื่อหาค่าที่เหมาะสมเพื่อการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ที่มีประสิทธิภาพ การควบคุมอัตราการเจือจางทำได้โดยควบคุมอัตราการไหลของอาหารใหม่เข้าสู่ถังหมักในอัตราเดียวกันกับการปล่อยน้ำหมักออกจากถังหมัก เมื่อเลี้ยงเชื้อจนก่อนจะเข้าสู่ระยะของการเติบโตแบบคงที่โดยจัดว่าเป็นช่วงปลายของระยะการเติบโตแบบทวีคูณ จึงเริ่มเปิดปั๊มควบคุมอัตราการไหลของสารอาหารใหม่เข้าสู่ถังหมัก ซึ่งมีความเข้มข้นของไขมันในถังเก็บน้ำหมัก (S_R) เท่ากับ 3.86 กรัมต่อลิตร เก็บตัวอย่างน้ำหมักปริมาตร 50 มิลลิลิตร จนกระทั่งการเติบโตของเชื้อเข้าสู่ระยะการเติบโตแบบคงที่ ซึ่งใช้เวลาประมาณ 3 ถึง 5 เท่าของระยะเวลาที่จุลินทรีย์อยู่ในถังหมัก หรือเทียบเท่ากับส่วนกลับอัตราการเจือจางที่ใช้ (1/D) (Scragg, 1991) การเปลี่ยนอัตราการเจือจางใหม่ทำได้โดยการเพิ่มอัตราการไหลของสารอาหารใหม่ที่เข้าสู่ถังหมัก เก็บตัวอย่างน้ำหมักและเพิ่มอัตราการเจือจางจนกระทั่งเริ่มเกิดการชะล้าง (wash out) ซึ่งเป็นภาวะที่อัตราการเจือจางมากกว่าอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด อัตราการเติบโตจึงมีค่าเป็นลบ ทำให้จำนวนเซลล์ของยีสต์ Y 8662 ลดลงอย่างรวดเร็ว นำน้ำหมักในแต่ละช่วงเวลาที่อัตราการเจือจางต่างๆ มาเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักเซลล์แห้งและไขมันที่เหลือในน้ำทิ้ง ได้กราฟแสดงความสัมพันธ์ดังรูปที่ 3.24 พบว่าน้ำหนักเซลล์แห้งเพิ่มขึ้นตามการแปรผันอัตราการเจือจางที่ 0.093, 0.124, 0.155, 0.186 และ 0.217 ต่อชั่วโมง ตามลำดับ โดยที่อัตราการเจือจางที่ 0.217 ต่อชั่วโมง มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 10.2 กรัมต่อลิตร ขณะที่อัตราการเจือจางที่ 0.248 และ 0.279 ต่อชั่วโมง จำนวนเซลล์ของยีสต์ Y 8662 ลดลงอย่างรวดเร็ว

ในแต่ละช่วงเวลาการเลี้ยงเชื้อโดยแปรผันอัตราการเจือจาง การเติบโตเพิ่มจำนวนของเชื้อจะต่อเนื่องกันจนกว่าอัตราการเติบโตถูกจำกัดโดยความเข้มข้นของสารอาหารที่เข้าไปในถังหมัก ณ จุดนี้ อัตราการเจือจางเท่ากับอัตราการเติบโต ปริมาณเชื้อในถังหมักจึงคงที่ ได้ข้อมูลความเข้มข้นมวลชีวภาพของยีสต์ และความเข้มข้นของไขมันที่เหลือในน้ำหมักที่ภาวะคงที่ในแต่ละอัตราการเจือจาง จากความสัมพันธ์ดังกล่าวนำมาคำนวณหาค่าพารามิเตอร์ที่สำคัญในกระบวนการหมักแบบต่อเนื่องคือ ค่าสัมประสิทธิ์มวลชีวภาพของยีสต์เมื่อเทียบกับไขมันที่ใช้ ($Y_{X/S}$) และกำลังการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ (P_X) (ตามวิธีการคำนวณในบทนำ) ได้ข้อมูลดังแสดงในตารางที่ 3.28 นำค่าที่ได้มาเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้น

มวลชีวภาพของยีสต์ที่ภาวะคงที่ ($\bar{X}$) ความเข้มข้นของไขมันที่เหลือในน้ำหมักที่ภาวะคงที่ ($\bar{S}$) และกำลังการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ ที่อัตราการเจือจางต่างๆ ได้กราฟแสดงความสัมพันธ์ดังรูปที่ 3.25 พบว่าที่อัตราการเจือจาง 0.217 ต่อชั่วโมง เป็นอัตราการเจือจางที่ทำให้ความเข้มข้นมวลชีวภาพของยีสต์ที่ภาวะคงที่ มีปริมาณสูงสุดคือ 10.07 กรัมต่อลิตร ขณะที่ความเข้มข้นของไขมันที่เหลือในน้ำหมักที่ภาวะคงที่ มีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยและมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น ส่วนกำลังการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ มีค่าเท่ากับ 2.19 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง เมื่ออัตราการเจือจางสูงขึ้น ความเข้มข้นมวลชีวภาพของยีสต์และกำลังการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์จะลดลงอย่างรวดเร็ว ขณะที่ความเข้มข้นของไขมันที่เหลือในน้ำหมักเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ณ จุดนี้ทำให้เกิดภาวะไม่คงที่ จึงเกิดการชะล้างเซลล์ออกจากระบบอย่างรวดเร็ว จากนั้นนำส่วนกลับของอัตราการเจือจาง (1/D) มาเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์เพื่อหาอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) กับส่วนกลับของปริมาณไขมันที่เหลือในน้ำหมัก (1/S) ได้กราฟแสดงความสัมพันธ์ดังรูปที่ 3.26 พบว่าได้สมการเส้นตรง มีความชันเท่ากับ 0.8631 และสมการเส้นตรงตัดแกน 1/D ที่ 3.2478 นำค่าที่ได้มาคำนวณหาอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด และค่าคงที่ (K_S) (ตามวิธีการคำนวณในบทนำ) มีค่าเท่ากับ 0.308 ต่อชั่วโมง และ 0.25 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ จากค่าอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดและค่าคงที่ (K_S) ดังกล่าว นำมาคำนวณตามทฤษฎีและสมการพื้นฐานสำหรับการหมักแบบต่อเนื่อง ดังได้แสดงไว้ในบทนำ เพื่อหาอัตราการเจือจางวิกฤต (D_C) อัตราการเจือจางที่ให้กำลังการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์สูงสุด (D_m) และกำลังการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์สูงสุดตามลำดับ ซึ่งจากการคำนวณพบว่าอัตราการเจือจางต่ำสุดที่ทำให้เกิดการชะล้างเซลล์ออกจากระบบ หรือที่เรียกว่า อัตราการเจือจางวิกฤต มีค่าเท่ากับ 0.289 ต่อชั่วโมง อัตราการเจือจางที่ให้กำลังการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์สูงสุด มีค่าเท่ากับ 0.218 ต่อชั่วโมง และกำลังการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์สูงสุด เท่ากับ 3.24 กำลังการผลิตต่อลิตรต่อชั่วโมง

เมื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นมวลชีวภาพของยีสต์ที่ภาวะไม่คงที่ ที่ทำให้เกิดระบบการชะล้างเซลล์ออกนอกระบบอย่างรวดเร็ว โดยใช้อัตราการเจือจางสูงๆ ($D >> \mu_{max}$) พบว่าเมื่อเลี้ยงเชื้อ *Y* 8662 ที่อัตราการเจือจาง 0.8 ต่อชั่วโมง ความเข้มข้นมวลชีวภาพของยีสต์ลดลงอย่างรวดเร็ว และไม่มีเซลล์เหลืออยู่ในระบบหมัก โดยใช้เวลาเพียง 4 ชั่วโมง นำค่า log น้ำหนักเซลล์แห้งแต่ละช่วงเวลาในการหมัก มาเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์กับระยะเวลาในการหมัก ได้กราฟแสดงความสัมพันธ์ดังรูปที่ 3.27 พบว่าได้สมการเส้นตรง มีความชันเท่ากับ -0.5176 คำนวณหาค่าอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.283 ต่อชั่วโมง ดังนั้นถ้าอัตราการเจือจางมากกว่าอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด อัตราการเติบโตจึงมีค่าเป็นลบ ในภาวะเช่นนี้จำนวนจุลินทรีย์ในภาชนะเลี้ยงจึงลดลง



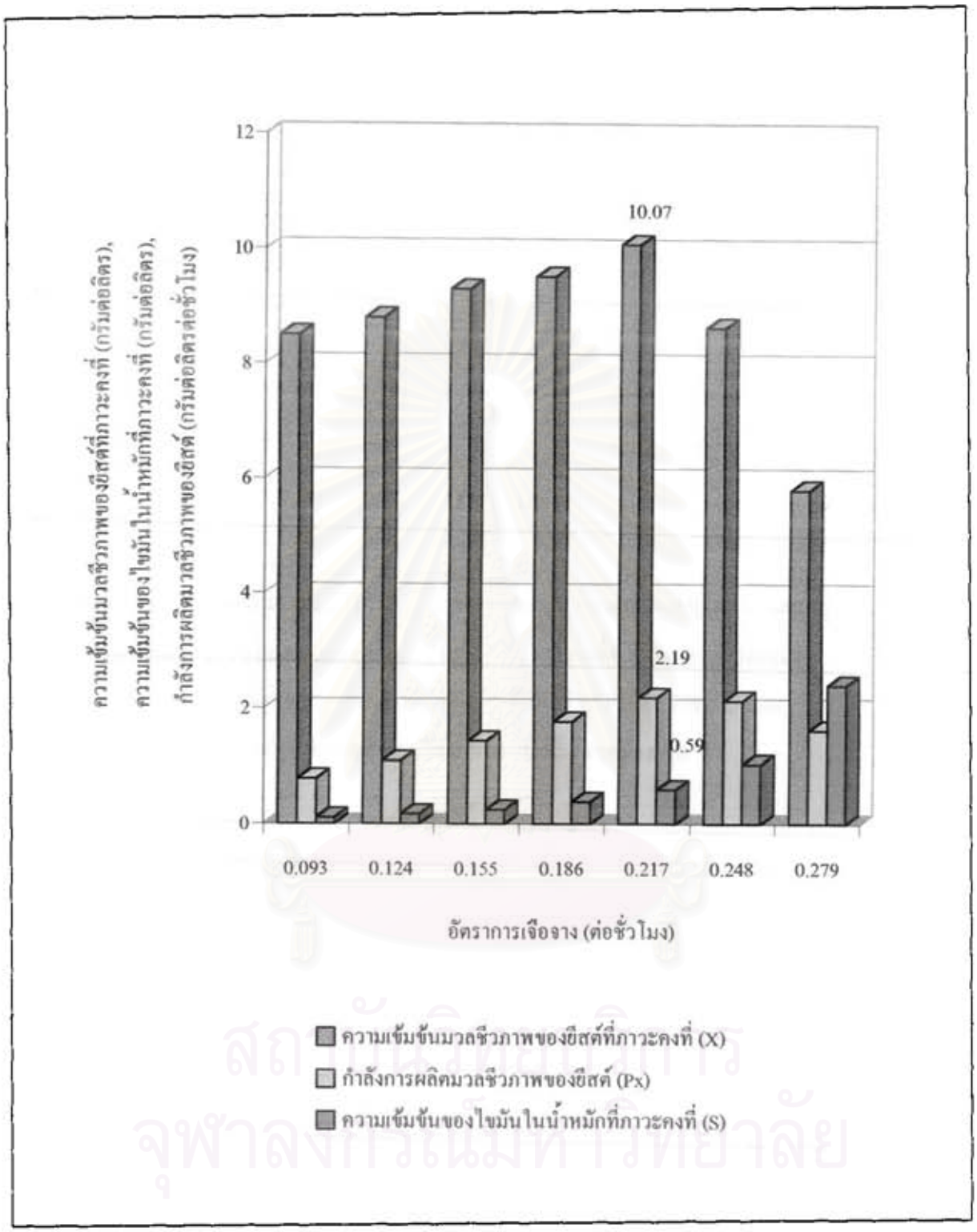
รูปที่ 3.24 การเลี้ยงเชื้อ *Y* 8662 ด้วยกระบวนการหมักแบบต่อเนื่องในถังหมัก โดยแปรผันอัตราการเจือจางที่ 0.093 (D_1ชั่วโมงที่ 18), 0.124 (D_2ชั่วโมงที่ 78), 0.155 (D_3ชั่วโมงที่ 114), 0.186 (D_4ชั่วโมงที่ 150), 0.217 (D_5ชั่วโมงที่ 186), 0.248 (D_6ชั่วโมงที่ 210) และ 0.279 (D_7ชั่วโมงที่ 234) ต่อชั่วโมง ตามลำดับ ที่อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 1.0 vvm อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่าง 5.0

ตารางที่ 3.28 การเลี้ยงเชื้อ *Y* 8662 ในถังหมัก ด้วยกระบวนการหมักแบบต่อเนื่อง แปรผันอัตราการเจือจางในการหมักที่อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 1.0 vvm อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่าง 5.0

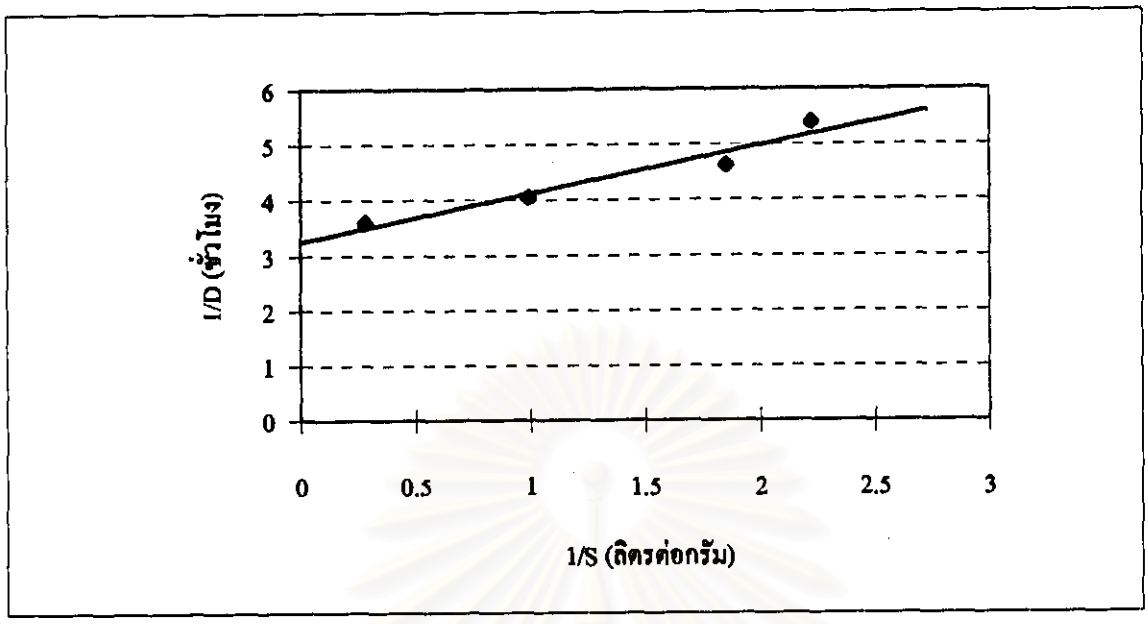
D (ต่อชั่วโมง)	1/D (ชั่วโมง)	$\bar{X}$ (กรัมต่อลิตร)	$\bar{S}$ (กรัมต่อลิตร)	$(S_R - \bar{S})$ (กรัมต่อลิตร)	$Y_{X/S}$ (กรัมน้ำหนักเซลล์ แห้งต่อกรัมไขมัน)	$1/Y_{X/S}$ (กรัมไขมันต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง)	P_X (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)
0.093	10.75	8.50	0.108	3.752	2.265	0.442	0.79
0.124	8.06	8.79	0.168	3.692	2.381	0.420	1.09
0.155	6.45	9.29	0.253	3.607	2.576	0.388	1.44
0.186	5.38	9.51	0.381	3.479	2.734	0.366	1.77
0.217	4.61	**10.07**	0.596	3.264	**3.085**	0.324	**2.19**
0.248	4.03	8.63	1.033	2.827	3.053	0.328	2.14
0.279	3.58	5.80	2.410	1.460	3.986	0.251	1.62

หมายเหตุ : ความเข้มข้นของไขมันในน้ำทิ้งที่ใช้ในถังเก็บน้ำหมักใหม่ (S_R) = 3.86 กรัมต่อลิตร

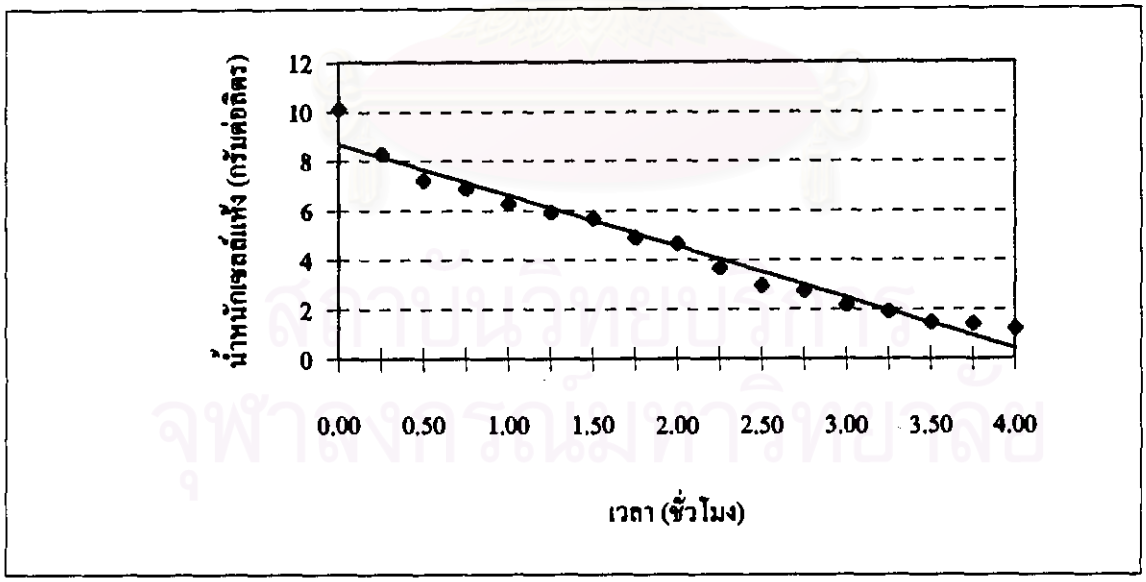
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.25 ผลของอัตราการเจือจางต่อความเข้มข้นของมวลชีวภาพของยีสต์ *Y* 8662 , ความเข้มข้นของไขมันในน้ำหมัก และกำลังการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์ที่ภาวะคงที่ ของการเลี้ยงเชื้อแบบต่อเนื่อง ในถังหมักที่อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 1.0 vvm อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่าง 5.0



รูปที่ 3.26 ความสัมพันธ์ระหว่าง 1/D และ 1/S สำหรับหาอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) และค่าคงที่ (saturated constant, K_s) จากการเลี้ยงเชื้อ *Y* 8662 แบบต่อเนื่องในถังหมักที่อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 1.0 vvm อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่าง 5.0

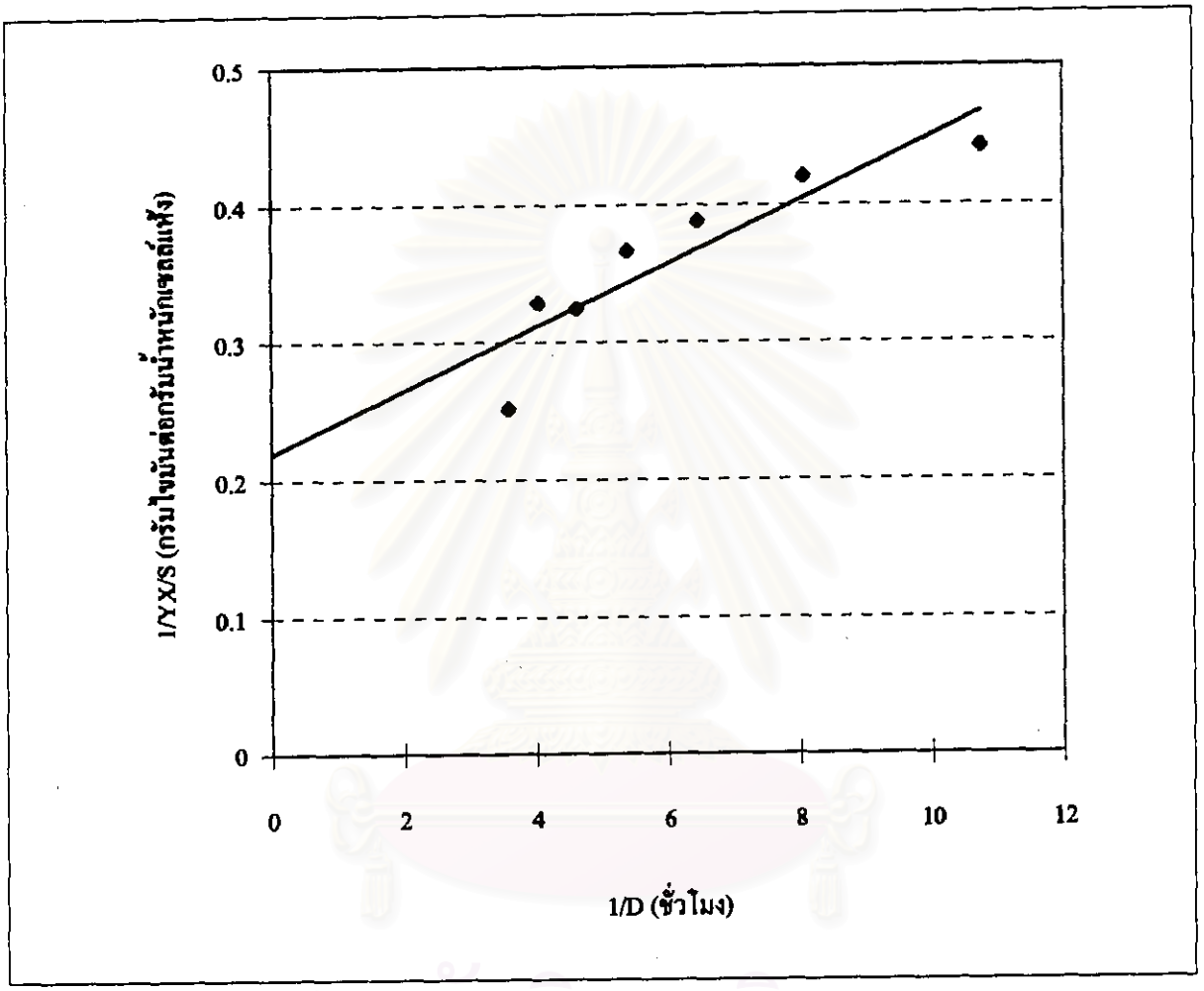


รูปที่ 3.27 การหาอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ที่อัตราการเจือจาง 0.800 ต่อชั่วโมง จากการเลี้ยงเชื้อ *Y* 8662 แบบต่อเนื่องในถังหมัก ที่อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 1.0 vvm อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่าง 5.0

สำหรับระบบการหมักแบบเคโมสแตท ภายใต้ภาวะที่คาร์บอนเป็นสารอาหารจำเป็นสำหรับการเติบโต เมื่อเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างส่วนกลับของค่าสัมประสิทธิ์มวลชีวภาพของยีสต์เมื่อเทียบกับสับสเตรทที่ใช้ ($1/Y_{X/S}$) กับส่วนกลับของอัตราการเจือจาง ($1/D$) ได้สมการเส้นตรง มีความชันเท่ากับพลังงานที่ใช้ในการเก็บรักษา (m) ความชันดังกล่าวไม่ได้ผ่านจุดกำเนิด เนื่องจากเซลล์ต้องใช้สารอาหารส่วนหนึ่งในการเก็บรักษาเซลล์ให้มีชีวิตอยู่รอดได้ ดังนั้นจุดตัดแกน $1/Y_{X/S}$ จึงมีค่าเท่ากับ $1/Yg$ ซึ่ง Yg คือผลผลิตมวลชีวภาพของการเติบโตจริง จากการนำส่วนกลับของค่าสัมประสิทธิ์มวลชีวภาพของยีสต์เมื่อเทียบกับไขมันที่ใช้ ($1/Y_{X/S}$) กับส่วนกลับของอัตราการเจือจาง ($1/D$) ที่ใช้ในการทดลองมาเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ ได้กราฟแสดงความสัมพันธ์ ดังรูปที่ 3.28 พบว่าได้สมการเส้นตรง โดยมีค่าพลังงานที่ใช้ในการเก็บรักษาเท่ากับ 0.023 กรัมไขมันต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อชั่วโมง และได้ค่าผลผลิตมวลชีวภาพของการเติบโตจริงเท่ากับ 4.57 กรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อกรัมไขมัน

ดังนั้นจึงพบว่ากระบวนการหมักแบบต่อเนื่องโดยยีสต์ Y 8662 โดยใช้ไขมันในน้ำทิ้งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ มีประสิทธิภาพในการผลิตมวลชีวภาพสูงสุดที่อัตราการเจือจางเท่ากับ 0.218 ต่อชั่วโมง โดยได้กำลังการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์สูงสุดเท่ากับ 3.24 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และได้อัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดเท่ากับ 0.283 ต่อชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบกับการเลี้ยงเชื้อ Y 8662 ด้วยกระบวนการหมักแบบ batch และการเลี้ยงเชื้อในขวดเขย่า พบว่าการเลี้ยงเชื้อ Y 8662 ด้วยกระบวนการหมักแบบต่อเนื่องมีประสิทธิภาพสูงกว่าการเลี้ยงเชื้อด้วยกระบวนการหมักแบบ batch ซึ่งได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 8.61 กรัมต่อลิตร อัตราการเติบโตจำเพาะเท่ากับ 0.138 ต่อชั่วโมง และกำลังการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์เท่ากับ 0.438 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ส่วนการเลี้ยงเชื้อ Y 8662 ในขวดเขย่ามีประสิทธิภาพต่ำสุด โดยได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 6.48 กรัมต่อลิตร อัตราการเติบโตจำเพาะเท่ากับ 0.125 ต่อชั่วโมง และกำลังการผลิตมวลชีวภาพของยีสต์เท่ากับ 0.322 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.28 ความสัมพันธ์ระหว่าง $1/Y_m$ และ 1/D สำหรับหาค่าผลผลิตมวลชีวภาพของการเติบโตจริง (Yg) และค่าพลังงานที่ใช้ในการเก็บรักษา จากการเลี้ยงเชื้อ *Y* 8662 แบบต่อเนื่อง ในถังหมักที่อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 1.0 vvm อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่าง 5.0