รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

ดวงพร คันธโชติ. 2530. ผลิตภัณฑ์จากจุลินทรีย์. ใน จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม, หน้า 1-30. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์ โอ. เอส. พริ้นติ้งเฮาส์.

ภัทรา มณีธวัช. 2520. กากน้ำตาล. วารสารน้ำตาล 13: 1-8.

ภาษาอังกฤษ

Aiba, S., Humphrey, A.E., and Millis, N.F. 1973. Continuous Culture. In Biochemical Engineering, 2 nd edition. pp.128-162. New York: Academic Press.

Albers, E., Larsson, C., Liden, G., Niklasson, C., and Gustafsson, L. 1996. Influence of the Nitrogen Source on *Saccharomyces cerevisiae* Anarobic Growth and Product Formation. Appl. Env. Microbiol. 62(9):3187-3195.

Alexopoulos, C.J.1962. Higher Fungi. In Introductory Mycology, 2nd edition. pp.217-492. New York: Wiley.

Bernfeld, P.1955. Amylase, α and β. In Colowick, S.P., and Kaplan, O.N. (eds.), Method in Emzymology, vol.3 pp. 149-150. New York: Academic Press.

Brauer, H. 1985. Stirred Vessel Reactor. In Biotechnology, vol. 2. pp. 249-250. West Germany: VCH Publishing.

Brock, T.D., and Madigan, M.T. 1991. Microbial Biotechnology. In Biology of Microorganism, 6th edtion. pp. 348-386. New Jersey: Prentice Hall.

Burrows, S. 1970. Baker's Yeast. In Rose, A.H., and Harrision, J.S. (eds.) The Yeasts, vol.3. pp. 349-420. London: Academic Press.

Chen, S.L., and Chiger, M. 1985. Production of Baker's Yeast. In Moo-Young, M. (ed.), Comprehensive Biotechnology, vol.3. pp.429-461. Oxford: Pergamon Press.

Dellweg, H., Bronn, W.K., and Hartmeier, W. 1977. Respiration Rate of Growing and Fermenting Yeast. Kem. Kemi. 4(12): 611-615.

Eero, R., and Merrja, P. 1983. Determination of Sugar (and bataine) in Molasses by High Performance Liquid Chromatography Comparison of the Results with those Obtained by the Classical Lane-Eynon Method. J. Chromato. 282: 595-602.

Finn, R.K. 1967. Agitation and Aeration. Biochem. Biol. Eng. Sci. 1:69-99.

Harrison, J.S. 1967. Aspects of Commercial Yeast Production. Proc. Biotech. 2(3):41-45.

Jonstone, J.H., and Barford, J.P. 1991. Continuous Growth of *Saccharomyces cerevisiae* on a Mixture of Glucose and Fructose. J. Gen. Appl. Microbiol. 37: 133-140.

Jones, R.P., Pamment, N., and Greenfield P.F. 1981. Alcohol Fermantation by Yeast- the Effect of Environmental and Other Variables. Proc. Biochem. 16: 42-49.

Meyenburg, H.K. von. 1969. Energetics of the Budding Cell of *Saccharomyces cerevisiae* during Glucose Limited Aerobic Growth. Arch. Microbiol. 66: 289-303.

Miller, M.W. 1982. Yeast. In Reed, G. (ed.), Industrial Microbiology, 4th edition. pp.15. Westport, Conn.: AVI Publishing Co. Inc.

Moat, A.G., and Foster, J.W. 1988. Microbial Physiology, 2nd edition. New York: John Wiley and Sons.

Nagodawithana, T.W. 1991. Baker's Yeast Production. In Yeast Technology, 2nd edition. pp 261-314. New York: AVI Publishing Co. Inc.

Olson, A.J.C. 1961. Manufacture of Baker's Yeast by Continuous Fermentation. I. Plant and Process. Soc. Chem. Ind. (London) Monograph. 12:18-93.

Oura, E. 1974. Effect of Aeration Intensity on the Biochemical Composition of Baker's Yeast. I. Factors Affecting the Type of Methabolism . Biotechnol. Bioeng. 16:1197-1212.

Paturau, J.M. 1989. Sugar Series. In Byproduct of the Cane Sugar: Introduction to Their Industrial Utilization, 3rd edtion. Amsterdam: Elsevier.

Prescott, S.C., and Dunn, C.G. 1959. Industrial Microbiology. New York: McGraw-Hill, Inc.

Reed, G., and Nagodawithana, T.W. 1991. Yeast Technology. 2nd edition. New York : AVI Publishing Co. Inc.

Reed, G., and Peppler, H.J. 1973. Yeast Technology. 1st edition. Westport, Conn.: AVI Publishing Co. Inc.

Rose, A.H., and Harrison, J.S. 1970. The Yeasts. vol.2. London: Academic.

Rose, A.H., and Harrison, J.S. 1971. The Yeasts. vol.3. London: Academic.

Rosen, K. 1977. Production of Baker's Yeast. Proc. Biochem. 12(3): 10-12.

Sher, H.N. 1961. Manufacture of Baker's Yeast by Continuous Fermentation. II. Instrumentation. Soc. Chem. Ind. (London) Monograph. 12:94-115.

Singleton, P., and Sainbury. D. 1988. Dictionary of Microbiology and Molecular Biology. 2nd edition. Singapore: John Wiley & Sons.

Thatipamala, R., Rohani, S., and Hill, G.A. 1992. Effect of High Product and Substrate Inhibitions on Kinetics and Biomass and Product Yields during Ethanal Batch Fermentation. Biotechnol. Bioeng. 40: 289-297.

Trivedi, N.B., and Jacobson, G. 1986. Recent Advances in Baker's Yeast. Prog. Indust. Microbiol. 23: 45-71.

Underkofler, L.A., and Hickley, R.J. 1954. Alcoholic Fermentation of Molasses: Industrial Fermentation. New York: Academic Press.

Urbina, E.C., Ordaz, N.R., and Mayer, J.G. 1997. Differences in the Growth Kinetic Behaviour of *Torulopsis cremoris* in Batch and Continuous Cultures. Biotechnol. Appl. Biochem. 26:189-194.

White, J. 1954. Yeast Technology. London: Chapman & Hall.

Woehrer, W., and Roehr, M. 1981. Regulatory Aspects of Baker's Yeast in Aerobic Fed-Batch Cultures. Biotechnol. Bioeng. 23:567-581.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก.

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในงานวิจัย

1สูตรอาหารสำหรับเตรียมหัวเชื้อ (Yeast - Malt Extract Medium :YM)

1.1 อาหารเหลว

ในอาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ลิตร ประกอบด้วย

สารสกัดจากยีสต์ (yeast extract)	3.0	กรัม
สารสกัดจากมอลต์ (malt extract)	3.5	กรัม
เปปโตน	5.0	กรัม
กลูโคส	10.0	กรัม

ใส่อาหารในขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาตร 50.0 มิลลิลิตรต่อขวด นึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

1.2 อาหารแข็ง

อาหารแข็งลาดเอียง (YM slant) เตรียมได้โดยเติมวุ้นผง 20.0 กรัม ลงในสูตรอาหารเหลวในข้อ 1.1 จากนั้นนำไปต้มจนผงวุ้นละลาย ปิเปตอาหารเลี้ยงเชื้อขณะร้อนใส่ในหลอดทดลองขนาด 16 X 150 มิลลิเมตร หลอดละ 6.0 มิลลิลิตร ปิดด้วยจุกสำลี นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำหลอดมาวางเอียงให้ผิวหน้าของอาหารมีความยาวประมาณ 12 เซนติเมตร จนอาหารแข็งตัว

2. สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับผลิตเซลล์ยีสต์ (production medium)

2.1 อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับผลิตเซลล์ มีสูตรดังนี้

กากน้ำตาลเจือจางด้วยน้ำที่ปราศจากไอออนให้มีความเข้มข้น 1:1 (น้ำหนัก:ปริมาตร) ปั่นแยกตะกอนด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3000 รอบต่อนาที นาน10 นาที วิเคราะห์ความเข้มข้นของน้ำตาลในกากน้ำตาล ปรับความเข้มข้นของกากน้ำตาลด้วยน้ำที่ปราศจากไอออนให้มีความเข้มข้นของน้ำตาล 50 กรัมต่อลิตร

แอมโมเนียมซัลเฟต	5.4	กรัมต่อลิตร
แอมโมเนียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต	1.5	กรัมต่อลิตร

แยกฆ่าเชื้อโดยฆ่าเชื้อกากน้ำตาลโดยการนึ่งด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

ฆ่าเชื้อสารอื่นโดยการนึ่งด้วยไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2.2 อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับผลิตเซลล์ที่มีการเติมเฟอริคคลอไรด์ คอปเปอร์ซัลเฟต และซิงค์ซัลเฟต มีสูตรดังนี้

สูตรอาหารเช่นเดียวกับข้อ 2.1 และเพิ่ม

เฟอริคคลอไรด์	0.974	มิลลิกรัมต่อลิตร
คอปเปอร์ซัลเฟต	0.595	มิลลิกรัมต่อลิตร
ซิงค์คลอไรด์	10.432	มิลลิกรัมต่อลิตร

2.3 อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับผลิตเซลล์ที่ปรับปรุงแล้วที่ใช้เติมเข้าสู่ระบบการหมักแบบต่อเนื่อง

กากน้ำตาลที่เตรียมเช่นเดียวกับข้อ 2.1 แต่ปรับความเข้มข้นของกากน้ำตาลให้มีความเข้มข้นของน้ำตาล

	40	กรัมต่อลิตร
แอมโมเนียมซัลเฟต	8.5	กรัมต่อลิตร
แอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต	2.4	กรัมต่อลิตร

2.4 อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับผลิตเซลล์ที่ปรับปรุงแล้วที่ใช้เลี้ยงเชื้อเริ่มต้นในการหมักแบบต่อเนื่อง

สูตรอาหารเช่นเดียวกับข้อ 2.3 แต่ปรับความเข้มข้นของกากน้ำตาลให้มีความเข้มข้นของน้ำตาล 50 กรัมต่อลิตร

ภาคผนวก ข.

การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย

1.การเตรียมสารละลายกรด 3,5-ไดไนโตรซาลิกไซลิก (3,5-dinitrosalisylic acid)

ละลายกรด 3,5-ไดไนโตรซาลิไซลิก 1.0 กรัม ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 2 นอร์มอล ปริมาตร 20.0 มิลลิลิตร เติมน้ำขจัดไอออน 50.0 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วเติมโพแทสเซียมโซเดียมตาร์เตรต (potassium sodiumtartate; $C_4H_4KNaO_6 4H_2o$) 30.0 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำขจัดไอออนในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร เก็บในขวดสีชา

2. การเตรียมสารละลายเอนไซม์อินเวอร์เทส

ปิเปตสารละลายเอนไซม์อินเวอร์เทส ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ลงในสารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.1 โมลาร์ ค่าความเป็นกรดด่าง 4.0 ปริมาตร 20 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน เก็บในขวดสีชาและไว้ในตู้เย็น

3. การเตรียมสารละลาย ที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน

3.1 ของผสมของเกลือ (salt mixture) ประกอบด้วยโพแทสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4) 95 กรัม และคอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4.5H_2O$) 5 กรัม

3.2 อินดิเคเตอร์ผสม (mixed indicator) ละลายเมทธิลเรด (methyl red) และเมทธิลีนบลู (methylene blue) อย่างละ 0.1 กรัมในเอธานอลเข้มข้น ร้อยละ 95 ปริมาตร 150 มิลลิลิตร

ภาคผนวก ค.

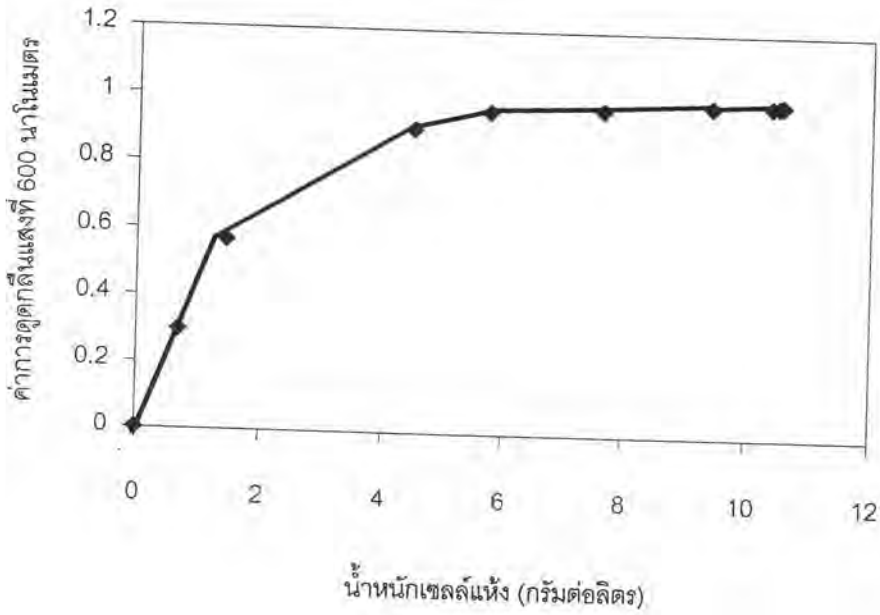
กราฟมาตรฐาน

1.กราฟมาตรฐานสำหรับหาน้ำหนักเซลล์แห้งของยีสต์

การสร้างกราฟมาตรฐานสำหรับหาน้ำหนักเซลล์แห้งของยีสต์ ทำได้โดยเลี้ยงเชื้อแบบแบช (ข้อ 2.4.3, บทที่ 2) และเก็บตัวอย่างทุก ๆ 3 ชั่วโมง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แบ่งตัวอย่างเป็น 2 ชุด ชุดละ 5 มิลลิลิตร นำตัวอย่างทั้ง 2 ชุด มาปั่นแยกส่วนน้ำทิ้ง นำส่วนกากมาปั่นล้างตะกอนเช่นเดียวกับข้อ 2.5.1 ในบทที่ 2 จากนั้นนำตัวอย่างทั้ง 2 ชุด มาแขวนลอยในน้ำ ปราศจากไอออนปริมาตร 20 มิลลิลิตร นำตัวอย่างชุดที่ 1 ไปกรองผ่านกระดาษกรอง GF/C ที่ผ่านการอบแห้งและชั่งน้ำหนักแล้ว จากนั้นนำกระดาษกรองที่มีเซลล์ยีสต์อยู่ด้านบนไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน นำตัวอย่างที่ได้มาชั่งหาน้ำหนักแห้งของกระดาษกรองรวมกับน้ำหนักแห้งของเซลล์ยีสต์ นำค่าที่ได้มาหักลบกับน้ำหนักของกระดาษกรองที่หาไว้ก่อนหน้านี้แล้ว จะได้น้ำหนักเซลล์แห้งของยีสต์ สำหรับตัวอย่างชุดที่ 2 นำมาวัดหาค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ผลที่ได้แสดงในตารางที่ ค.1 ซึ่งเมื่อสร้างกราฟเพื่อแสดงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักเซลล์แห้งกับค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร จะได้ดังรูปที่ ค.1

ตารางที่ ค.1 การเจริญของยีสต์ SG1 เมื่อวัดโดยการหาน้ำหนักเซลล์แห้งและวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร

อายุเชื้อ(ชั่วโมง)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร
	0.00	0.000
0	0.68	0.296
8	1.44	0.566
6	4.48	0.904
9	5.74	0.959
12	7.62	0.970
15	9.42	0.984
18	10.56	0.993
21	10.50	0.991
24	10.38	0.988



รูป ค.1 กราฟมาตรฐานสำหรับหาน้ำหนักเซลล์แห้งของยีสต์

จากกราฟที่ได้จะเห็นได้ว่าส่วนที่เป็นเส้นตรงที่สามารถอ้างอิงได้อยู่ในช่วงค่าการดูดกลืนแสง 0.000 ถึง 0.566 และค่าความชันของกราฟในช่วงนี้เท่ากับ 0.4066 ดังนั้นในการหาน้ำหนักเซลล์แห้งโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตรนั้นจะต้องเจือจางตัวอย่างให้มีค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตรไม่เกิน 0.566 และสามารถคำนวณหาน้ำหนักเซลล์แห้งจากสมการ

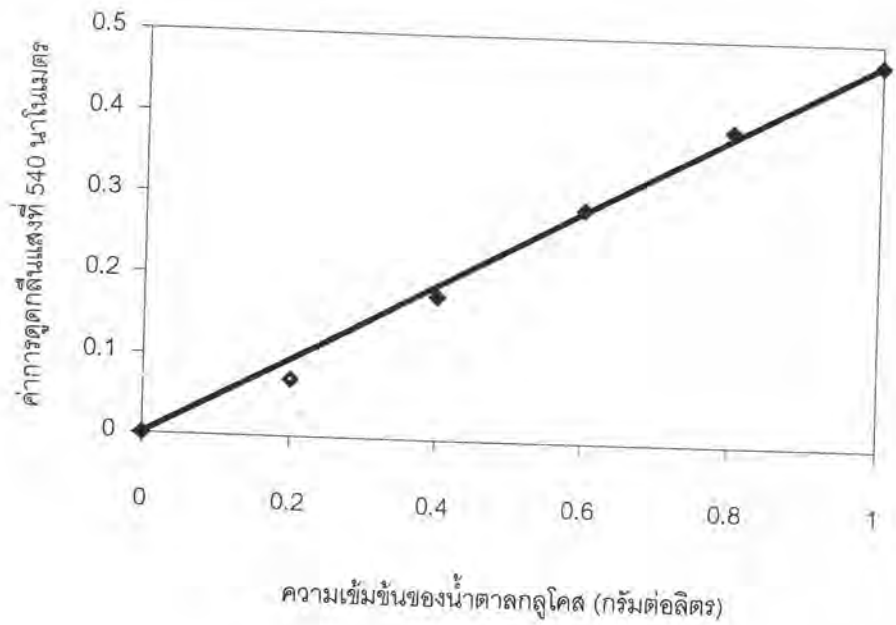
น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร) = ค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร * จำนวนเท่าของการเจือจาง/0.4066

2. กราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส

เตรียมสารละลายน้ำตาลกลูโคสในน้ำปราศจากไอออนที่ความเข้มข้น 0.00 - 1.00 กรัมต่อลิตร นำสารที่ได้มาปฏิบัติเช่นเดียวกับวิธีวิเคราะห์หาปริมาตรน้ำตาลรีดิวส์ (ข้อ 2.5.2.1 บทที่ 2) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสกับค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร แสดงในตารางที่ ค.2 และรูปที่ ค.2

ตารางที่ ค.2 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสกับค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร

ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร
0.00	0.000
0.20	0.070
0.40	0.177
0.60	0.288
0.80	0.389
1.00	0.474



รูป ค.2 กราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส

จากกราฟที่ได้จะเห็นได้ว่าส่วนที่สามารถอ้างอิงได้อยู่ในช่วงค่าดูดกลืนแสง 0.000 ถึง 0.474 และสามารถคำนวณความชันของกราฟได้เท่ากับ 0.4660 ดังนั้นในการหาปริมาณน้ำตาลรีดิวส์โดยวิธีในข้อ 2.5.2.1, บทที่ 2 นั้นจะต้องเจือจางตัวอย่างจนกระทั่งสามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร ไม่เกิน 0.474 และสามารถคำนวณปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ได้จากสมการ

ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ (กรัมต่อลิตร) = ค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร

* จำนวนเท่าของการเจือจาง/0.466

ภาคผนวก ง.

การคำนวณที่ใช้ในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

1. วิธีคำนวณหาอัตราการเจริญจำเพาะในการหมักแบบแบช

จากสมการที่ว่า $dx/dt = \mu x$

โดย

dx/dt = อัตราการเปลี่ยนแปลงของความเข้มข้นของเซลล์ในช่วงเวลาหนึ่ง (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)

x = ความเข้มข้นของเซลล์ในถังหมัก (กรัมต่อลิตร)

μ = อัตราการเจริญจำเพาะ (ต่อชั่วโมง)

$$1/dx = \mu\, dt$$

$$\int 1/dx = \int \mu\, dt$$

$$\ln(x_n) - \ln(x_{n-1}) = \mu\,(t_n - t_{n-1})$$

ดังนั้นจะได้ว่า

$$\mu = \ln(x_n/x_{n-1})\,(t_n - t_{n-1})$$

โดย

X_n = ความเข้มข้นของเซลล์ในถังหมักขณะทำการวิเคราะห์ (กรัมต่อลิตร)

X_{n-1} = ความเข้มข้นของเซลล์ในถังหมักที่วิเคราะห์ในครั้งก่อน (กรัมต่อลิตร)

t_n = ระยะเวลาที่เลี้ยงเชื้อจนกระทั่งทำการวิเคราะห์ x_n (ชั่วโมง)

t_{n-1} = ระยะเวลาที่เลี้ยงเชื้อจนกระทั่งทำการวิเคราะห์ x_{n-1} (ชั่วโมง)

2. วิธีคำนวณหาน้ำหนักเซลล์แห้งต่อชั่วโมง

น้ำหนักเซลล์แห้งต่อชั่วโมงเป็นค่าที่บอกว่า ระบบสามารถผลิตเซลล์ยีสต์ได้ปริมาณมากน้อยเพียงไรใน 1 ชั่วโมง ซึ่งน่าจะคำนวณได้จากผลคูณของความเข้มข้นของน้ำหนักเซลล์แห้งในน้ำหมักที่ออกจากระบบกับปริมาตรของน้ำหมักที่ออกจากระบบใน 1 ชั่วโมง ซึ่งนั่นก็คือ อัตราการไหลของน้ำหมัก โดยจากทฤษฎีของการหมักแบบต่อเนื่องกำหนดไว้ว่า อัตราการเจือจางคือผลหารของอัตราการไหลของน้ำหมักกับปริมาตรของน้ำหมักที่ถูกควบคุมภายในถังหมักนั่นก็คือ อัตราการไหลเท่ากับผลคูณของอัตราการเจือจางกับปริมาตรของน้ำหมักภายในถังหมัก ดังนั้นจึงสามารถหาน้ำหนักเซลล์แห้งต่อชั่วโมงได้จากสมการ

น้ำหนักเซลล์แห้งต่อชั่วโมง (กรัมต่อชั่วโมง) = น้ำหนักเซลล์แห้ง(กรัมต่อลิตร)
* ปริมาตรน้ำหมักภายในถังหมัก (ลิตร)
* อัตราการเจือจาง (ต่อชั่วโมง)

3. วิธีคำนวณผลผลิตเซลล์ที่ได้ต่อน้ำตาลที่ใช้ไป

ผลผลิตเซลล์ที่ได้ต่อน้ำตาลที่ใช้ไป ก็คือ อัตราส่วนระหว่างเซลล์ยีสต์ที่ระบบผลิตได้กับปริมาณน้ำตาลที่ใช้ไป ถ้าคำนวณใน 1 ชั่วโมง จะได้ว่า

ผลผลิตเซลล์ที่ได้ต่อน้ำตาลที่ใช้ไป = เซลล์ยีสต์ที่ผลิตได้ใน 1 ชั่วโมง/ปริมาณน้ำตาลที่ใช้ไปใน 1 ชั่วโมง

เซลล์ยีสต์ที่ผลิตได้ใน 1 ชั่วโมง = น้ำหนักเซลล์แห้ง(กรัมต่อลิตร) * ปริมาตรน้ำหมักภายในถังหมัก (V)* อัตราการเจือจาง (D)

และ

ปริมาณน้ำตาลที่ใช้ไปใน 1 ชั่วโมง = (ความเข้มข้นของน้ำตาลในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เติมเข้าสู่ระบบ(กรัมต่อลิตร)*V*D) - (ความเข้มข้นของน้ำตาลในน้ำหมักที่ออกจากระบบ(กรัมต่อลิตร)*V*D)

= [ความเข้มข้นของน้ำตาลในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เติมเข้าสู่ระบบ(กรัมต่อลิตร) - ความเข้มข้นของน้ำตาลในน้ำหมักที่ออกจากระบบ(กรัมต่อลิตร)]*V*D

ฉะนั้น

ผลผลิตเซลล์ยีสต์ที่ได้ต่อน้ำตาลที่ใช้ไป = (น้ำหนักเซลล์แห้ง(กรัมต่อลิตร)*V*D)/ {[ความเข้มข้นของน้ำตาลในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เติมเข้าสู่ระบบ(กรัมต่อลิตร) -ความเข้มข้นของน้ำตาลในน้ำหมักที่ออกจากระบบ (กรัมต่อลิตร)] *V*D}

ดังนั้นสามารถคำนวณผลผลิตเซลล์ยีสต์ที่ได้ต่อน้ำตาลที่ใช้ไปจากสมการ

ผลผลิตเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้ไป = น้ำหนักเซลล์แห้ง(กรัมต่อลิตร)/[ความเข้มข้นของน้ำตาลทั้งหมดในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เติมเข้าสู่ระบบ(กรัมต่อลิตร) - ความเข้มข้นของน้ำตาลทั้งหมดในน้ำหมักที่ออกจากระบบ(กรัมต่อลิตร)]

4. วิธีคำนวณผลผลิตเซลล์ที่ได้ต่อโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ไป

เช่นเดียวกับในข้อ 2 ผลผลิตเซลล์ที่ได้ต่อโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ไป ก็คืออัตราส่วนระหว่างเซลล์ยีสต์ที่ระบบผลิตได้ต่อปริมาณโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ไป จากการทดลองข้อ 3.10 บทที่ 3 จะเห็นได้ว่า เราทราบปริมาณโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ใน 3 ชั่วโมง ดังนั้นถ้าคำนวณใน 3 ชั่วโมง จะได้ว่า

ผลผลิตเซลล์ที่ได้ต่อโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ไป = เซลล์ยีสต์ที่ผลิตได้ใน 3 ชั่วโมง/ปริมาณโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ใน 3 ชั่วโมง(มิลลิลิตร)

เซลล์ยีสต์ที่ผลิตได้ใน 3 ชั่วโมง = น้ำหนักเซลล์แห้งต่อชั่วโมง (กรัมต่อชั่วโมง) * 3

ดังนั้นสามารถคำนวณผลผลิตเซลล์ที่ได้ต่อโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ไปจากสมการ

ผลผลิตเซลล์ที่ได้ต่อโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ไป = น้ำหนักเซลล์แห้งต่อชั่วโมง (กรัมต่อชั่วโมง) * 3 /ปริมาณโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ใน 3 ชั่วโมง (มิลลิลิตร)

5. วิธีคำนวณปริมาณไนโตรเจนที่มีอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับผลิตเซลล์ที่ใช้เติมเข้าสู่ระบบการหมักแบบต่อเนื่อง

ในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับผลิตเซลล์ (production medium) ที่ใช้เติมเขาสู่ถังหมักจะสังเกตได้ว่าแหล่งไนโตรเจนได้มาจากสารแอมโมเนียมซัลเฟต และแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต นอกจากนี้ในกากน้ำตาลก็ยังมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบอยู่ด้วย ซึ่งเมื่อวิเคราะห์ไนโตรเจนเทียบกับปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในกากน้ำตาลที่ใช้เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อพบว่า ในกากน้ำตาลที่มีน้ำตาลทั้งหมด 363.63 กรัม จะมีไนโตรเจน

3.5480 กรัม ดังนั้นจึงสามารถคำนวณปริมาณไนโตรเจนที่มีอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับผลิตเซลล์ (production medium) ที่ใช้เติมเข้าถังหมักได้ดังนี้

จากสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับผลิตเซลล์ที่ใช้เติมเข้าสู่ถังหมัก ในอาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ลิตร ประกอบด้วย

กากน้ำตาลที่มีน้ำตาลทั้งหมด	40	กรัม
ในกากน้ำตาลที่มีน้ำตาลทั้งหมด 363.63 กรัมมีไนโตรเจน	3.5480	กรัม
ดังนั้นในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับผลิตเซลล์มีไนโตรเจน		
จากกากน้ำตาล	3.5480*40/363.63 =0.39	กรัม

นอกจากนี้ในอาหารเลี้ยงเชื้อยังประกอบด้วย

แอมโมเนียมซัลเฟต	5.4	กรัม
แอมโมเนียมซัลเฟตมีน้ำหนักโมเลกุล	132.14	
ดังนั้นในอาหารเลี้ยงเชื้อ1ลิตรมี		
แอมโมเนียมซัลเฟต	5.4/132.14	โมล
ไนโตรเจนมีน้ำหนักอะตอม	14	
และในสูตรเคมีของแอมโมเนียมซัลเฟตมีไนโตรเจน	2	อะตอม
ดังนั้นในอาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ลิตร มีไนโตรเจนจาก		
แอมโมเนียมซัลเฟตคิดเป็น	2*14*5.4/132.14 =1.14	กรัม

ในทำนองเดียวกันในอาหารเลี้ยงเชื้อยังประกอบด้วย

แอมโมเนียมไฮโดรฟอสเฟต	1.5	กรัม
แอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟตมีน้ำหนักโมเลกุล	115.03	
และในสูตรเคมีของแอมโมเนียมฟอสเฟตมีไนโตรเจน	1	อะตอม
ดังนั้นในอาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ลิตรมีไนโตรเจนจาก		
แอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต คิดเป็น	14*1.5/115.03 = 0.18	กรัม
เพราะฉะนั้นในอาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ลิตร มีไนโตรเจนทั้งหมด		
	0.39+1.14+0.18 = 1.71	กรัมต่อลิตร

6. วิธีคำนวณปริมาณไนโตรเจนที่เหมาะสำหรับใช้ผลิตเซลล์

จากองค์ประกอบธาตุของเซลล์ยีสต์เป็น $C_5H_9O_3N$ จะได้

สมการเคมีในการผลิตเซลล์ยีสต์ ดังนี้

$$C_{12}H_{22}O_{11} + 2NH^+_4 + O_2 \longrightarrow 2C_5H_9O_3N + 5H_2O + 2CO_2 + 2H^+$$

จะเห็นได้ว่าเมื่อใช้ไนโตรเจน (2)(14) กรัม จะได้เซลล์ยีสต์

(2)(5)(12)+(2)(9)(1)+(2)(3)(16)+ (2)(14) กรัม

นั่นคือ เมื่อใช้ไนโตรเจน 28 กรัม จะได้เซลล์ยีสต์ 262 กรัม

จากการทดลองที่ยังไม่มีการแปรปริมาณไนโตรเจน (ข้อ 3.4 ถึง 3.11;บทที่ 3) พบว่าน้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้สูงสุดคือ 8.65 กรัมต่อชั่วโมง ดังนั้นสามารถคำนวณปริมาณไนโตรเจนที่ควรใช้ได้ดังนี้

จากเมื่อต้องการเซลล์ยีสต์ 262 กรัม จะต้องใช้ไนโตรเจน 28 กรัม

ดังนั้น เมื่อต้องการเซลล์ยีสต์ 8.65 กรัม จะต้องใช้ไนโตรเจน 28x8.65/262 = 0.93 กรัม

จากสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับผลิตเซลล์มีการใช้แหล่งไนโตรเจน 2 แหล่งคือ แอมโมเนียมซัลเฟต 5.4 กรัมต่อลิตร และแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 1.5 กรัมต่อลิตร

ดังนั้น อัตราส่วนระหว่างแอมโมเนียมซัลเฟตกับแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต คือ 5.4/1.5

เมื่อต้องการใช้แอมโมเนียมซัลเฟต x กรัม คิดเป็น x/132.15 โมล ซึ่งมีไนโตรเจน

(2)(14)x/132.14 = 28x/132.14 กรัม

จะต้องใช้แอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 1.5x/5.4 กรัม คิดเป็น 1.5x/[(5.4)(115.03)] โมล

ซึ่งมีไนโตรเจน (14)(1.5)x/[(5.4)(115.03)] = 21x/621.162 กรัม

ในการเจริญของยีสต์ในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ นอกจากยีสต์จะได้ไนโตรเจนจากแอมโมเนียมซัลเฟตและแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟตแล้ว ยังได้ไนโตรเจนจากกาก

น้ำตาลด้วยโดยใน 1 ชั่วโมง จะใช้กากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลทั้งหมด 40 กรัมต่อลิตร ปริมาตร

(1.5)(0.25) = 0.375 ลิตร คิดเป็นน้ำตาลทั้งหมด (40)(0.375) = 15 กรัม

ซึ่งในกากน้ำตาลที่มีน้ำตาลทั้งหมด 363.63 กรัม มีไนโตรเจน 3.5480 กรัม

ดังนั้นในกากน้ำตาลที่มีน้ำตาลทั้งหมด 15 กรัม

มีไนโตรเจน (3.5480)(15)/363.63 = 0.15 กรัม

จากข้อมูลทั้งหมดนี้ สามารถคำนวณปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตและแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ที่ต้องการได้ดังนี้

28x/132.14 + 21x/621.162 + 0.15	=	0.93
28x/132.14 + 21x/621.162	=	0.93 - 0.15
17392.54 x + 2774.94x	=	(0.78)(132.14)(621.162)
20167.48x	=	64022.67
x	=	3.17 กรัม

นั่นแสดงว่าจะต้องใช้แอมโมเนียมซัลเฟต 3.17 กรัมต่อชั่วโมง หรือประมาณ 8.5 กรัมต่อลิตร และจะต้องใช้แอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (8.5)(1.5)/5.4 = 2.4 กรัมต่อลิตร

7. วิธีคำนวณหาปริมาณไนโตรเจนที่ต้องใช้เมื่อให้ความเข้มข้นของน้ำตาลทั้งหมดในกากน้ำตาลเป็น 10 กรัมต่อลิตร โดยรักษาสัดส่วนระหว่างแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสม

จากการทดลองที่ 3.12 พบว่าสัดส่วนระหว่างแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมคือ เมื่อใช้กากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลทั้งหมด 40 กรัมต่อลิตร จะต้องใช้แอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 8.5 กรัมต่อลิตร และแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 2.4 กรัมต่อลิตร (หรือคิดเป็นไนโตรเจนทั้งหมด 2.2725 กรัมต่อลิตร) ดังนั้นจึงสามารถคำนวณหาปริมาณไนโตรเจนที่เหมาะสมกับการใช้กากน้ำตาล ที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลทั้งหมด 60 กรัมต่อลิตร ดังนี้ : ในอาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ลิตร

เมื่อใช้น้ำตาลทั้งหมดในกากน้ำตาล 40 กรัม จะต้องใช้ไนโตรเจน	2.27	กรัม
เมื่อใช้น้ำตาลทั้งหมดในกากน้ำตาล 60 กรัม จะต้องใช้ไนโตรเจน	60*2.27/40=3.41	กรัม

จากสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับผลิตเซลล์มีการเติมแหล่งไนโตรเจน 2 แหล่งคือ แอมโมเนียมซัลเฟต และแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต โดยอัตราส่วนระหว่างแอมโมเนียมซัลเฟต กับแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต คือ 5.4/1.5

เมื่อต้องการใช้แอมโมเนียมซัลเฟต x กรัม คิดเป็นมีไนโตรเจน	28x/132.14	กรัม
จะต้องใช้แอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 1.5x/5.4 กรัม คิดเป็นมีไนโตรเจน	21x/621.162	กรัม

ในการเจริญของยีสต์ในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ นอกจากยีสต์จะได้ไนโตรเจนจากแอมโมเนียมซัลเฟตและแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟตแล้ว ยังได้ไนโตรเจนจากกากน้ำตาลด้วย โดยจากภาคผนวก ง. 5 ทำให้ทราบว่า

ในกากน้ำตาลที่มีน้ำตาลทั้งหมด	40 กรัม จะมีไนโตรเจน	0.39	กรัม

ดังนั้นเมื่อใช้กากน้ำตาลที่มีน้ำตาลทั้งหมด 60 กรัม จะมีไนโตรเจน

60*0.39/40 = 0.58 กรัม

จากข้อมูลทั้งหมดนี้ สามารถคำนวณปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตและแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟตที่ต้องการได้ดังนี้

$28x/132.14 + 21x/621.162 + 0.59 = 3.41$

$28x/132.14 + 21x/621.162 = 3.41 - 0.59$

$17392.536x + 2774.94x = (2.82)(132.14)(621.162)$

$20167.476x = 231466.57$

$x = 11.5$ กรัม

นั่นแสดงว่าจะต้องใช้แอมโมเนียมซัลเฟต ประมาณ 11.5 กรัมต่อลิตร

และจะต้องใช้แอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (11.5)(1.5)/5.4 = 3.2 กรัมต่อลิตร

ประวัติผู้เขียน

นางสาวอังสุมาริน อุนบูรณะวรรณ เกิดวันอังคารที่ 20 พฤศจิกายน พ.ศ. 2516 ที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ กรุงเทพมหานคร จบการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยา จากภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2537 และได้เข้าศึกษาต่อในระดับบัณฑิตศึกษา หลักสูตรเทคโนโลยีทางชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2538