15964

การศึกษาผลของอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนของอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการเพิ่มปริมาณไขมันภายในเซลล์โดย *Lipomyces* sp. 606

(A study on effect of C:N ratio of medium composition and cultivation temperature on oil production in *Lipomyces* sp. 606)

T096592

นางสาวพิมพมาส ปัณยาชีวะ
นางสาวพิมพ์ตา เขียวสวาด

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต
ภาควิชา อุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ 2541

ปพ.
พ718ก
2541

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....
วัน.เดือน.ปี.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พิมพมาส ปัณยาชีวะ และพิมพ์ตา เขียวสวาด. : การศึกษาผลของอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนของอาหารเลี้ยงเชื้อ และอุณหภูมิในการเลี้ยงเชื้อต่อการเพิ่มปริมาณไขมันภายในเซลล์โดย *Lipomyces* sp. 606 (A study on effect of C:N ratio of medium composition and cultivation temperature on oil production in *Lipomyces* sp. 606). ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อาจารย์ที่ปรึกษา : ดร.บุญเทียม พันธุ์, 64หน้า

เชื้อ *Lipomyces sp.* 606 สามารถเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแป้งและกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน และมีแอมโมเนียมซัลเฟตเป็นแหล่งของไนโตรเจนได้ดีกว่า *Saccharomyces cerevisiae* 281 เมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเป็น 6:1 30:1 และ 60:1 พบว่าปริมาณไขมันภายในเซลล์ยีสต์ การเจริญ และผลผลิตไขมันจะแปรผันตามอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเลี้ยงเชื้อยีสต์ในอาหารที่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเป็น 60:1 อุณหภูมิ 15 °ซ 25 °ซ และอุณหภูมิห้องในสภาพนิ่ง พบว่าปริมาณไขมันภายในเซลล์ยีสต์จะแปรผกผันกับอุณหภูมิ ส่วนการเจริญจะแปรผันตามอุณหภูมิแต่อุณหภูมิไม่มีผลต่อผลผลิตไขมัน เชื้อ *Lipomyces sp.* 606 สามารถเจริญและผลิตไขมันภายในเซลล์ในสภาพเขย่าและในสภาพนิ่งได้ใกล้เคียงกัน เมื่อนำไปเลี้ยงในอาหารที่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่ 60:1 อุณหภูมิ 15 °ซ ในสภาพนิ่งนาน 192 ชั่วโมง สามารถผลิตไขมันภายในเซลล์ได้ร้อยละ 61.8 เจริญได้น้ำหนักแห้ง 9.37 กรัมต่อลิตรและมีผลผลิตไขมัน 0.1133

พิมพมาส ปัณยาชีวะ
.....
พิมพ์ตา เขียวสวาด
ลายมือชื่อนักศึกษา

บุญเทียม พันธุ์
.....
ลายมืออาจารย์ที่ปรึกษา

22 ก.ค. 42
...../...../.....
วัน /เดือน/ ปี

1576.1
- 4 มิ.ย. 2542
ฝพ.
พ718ก
2542

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

การทำปัญหาพิเศษในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงลงได้ ขอกราบขอบพระคุณ ดร.บุญเทียม พันธุ์เพ็ง อาจารย์ที่ปรึกษาที่อบรมสั่งสอน ให้คำแนะนำและคำปรึกษาเพิ่มเติมในรายละเอียดต่างๆตลอดจนช่วยแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้นระหว่างการทำปัญหาพิเศษ

ขอขอบคุณบิดา มารดา คุณศศิกานต์ ปัณยาชีวะ และคุณพิชัย ศักดิ์สมานพันธ์ ที่ได้ให้การสนับสนุน และกำลังใจมาโดยตลอด เพื่อนการหมัก เพื่อนภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร สำหรับ 4 ปีที่ผ่านมา และเพื่อนๆหอพักสวัสดิสุขที่ช่วยเหลือเป็นอย่างดี

พิมพมาส ปัณยาชีวะ
พิมพ์ตา เขียวสวาด
มีนาคม 2542

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ก
กิตติกรรมประกาศ	ข
สารบัญตาราง	ง
สารบัญตารางภาคผนวก	จ
สารบัญภาพ	ฉ
สารบัญภาพภาคผนวก	ญ
บทที่	
1. บทนำ	1
2. วารสารปริทัศน์	2
3. อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	11
4. ผลการทดลอง	16
5. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	25
เอกสารอ้างอิง	27
ภาคผนวก	28
ภาคผนวก ก	29
ภาคผนวก ข	34
ภาคผนวก ค	37
ภาคผนวก ง	54
ประวัติผู้เขียน	64

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1. ยีสต์ที่มีไขมันสูง	3
2. องค์ประกอบของไขมันจากยีสต์ผลิตไขมันสูง	4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตารางภาคผนวก

ตารางภาคผนวก ข ที่ หน้า

1. ตารางแสดงผลของปริมาณไขมันภายในเซลล์ (กรัมต่อร้อยกรัมน้ำหนักแห้ง) น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร) และผลผลิตไขมัน โดยเชื้อ *Lipomyces* sp. 606 และ *Saccharomyces cerevisiae* 281 เมื่อทำการเลี้ยงเชื้อในสภาวะใช้เครื่องเขย่าความเร็ว 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง และอาหารเลี้ยงเชื้ออัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 6:1 34
2. ตารางแสดงผลของปริมาณไขมันภายในเซลล์ (กรัมต่อร้อยกรัมน้ำหนักแห้) น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร) และผลผลิตไขมัน ของอาหารเลี้ยงเชื้ออัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 6:1 30:1 และ60:1 โดยเชื้อ *Lipomyces* sp. 606 เมื่อเลี้ยงเชื้อในสภาวะใช้เครื่องเขย่าความเร็ว 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง 34
3. ตารางแสดงผลของปริมาณไขมันภายในเซลล์ (กรัมต่อร้อยกรัมน้ำหนักแห้ง) น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร) และผลผลิตไขมัน ที่อุณหภูมิ 15°ซ 25°ซ และอุณหภูมิห้อง โดยเชื้อ *Lipomyces* sp. 606 เมื่อเลี้ยงเชื้อในสภาวะใช้เครื่องเขย่าความเร็ว 150 รอบต่อนาที อาหารเลี้ยงเชื้ออัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 60:1 35
4. ตารางแสดงผลของปริมาณไขมันภายในเซลล์ (กรัมต่อร้อยกรัมน้ำหนักแห้ง) น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร) และผลผลิตไขมันที่สภาพการเลี้ยงเชื้อโดยใช้เครื่องเขย่าและสภาพนิ่งโดยเชื้อ *Lipomyces* sp. 606 อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง อาหารเลี้ยงเชื้ออัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 60:1 35
5. ตารางเสดงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักแห้ง(กรัมต่อลิตร) ปริมารคาร์โบไฮเดรต (กรัมต่อลิตร) และพีเอช ระเวลาเลี้ยงเชื้อ 192 ชั่วโมง โดยเชื้อ *Lipomyces* sp. 606 ในสภาพนิ่ง อุณหภูมิ 15°ซ อาหารเลี้ยงเชื้ออัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 60:1 36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ค ที่ หน้า

1. การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณไขมันภายในเซลล์ระหว่างระหว่าง *Lipomyces* sp.606 และ *Saccharomyces cerevisiae* 281 เมื่อเลี้ยงเชื้อในสภาวะใช้เครื่องเขย่า ความเร็ว 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง อาหารเลี้ยงเชื้ออัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 6:1 37
2. การวิเคราะห์ทางสถิติของผลผลิตไขมันระหว่างระหว่าง *Lipomyces* sp.606 และ *Saccharomyces cerevisiae* 281 เมื่อเลี้ยงเชื้อในสภาวะใช้เครื่องเขย่า ความเร็ว 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง อาหารเลี้ยงเชื้ออัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 6:1 38
3. การวิเคราะห์ทางสถิติของน้ำหนักแห้งระหว่างระหว่าง *Lipomyces* sp.606 และ *Saccharomyces cerevisiae* 281 เมื่อเลี้ยงเชื้อในสภาวะใช้เครื่องเขย่า ความเร็ว 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง อาหารเลี้ยงเชื้ออัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 6:1 39
4. การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณไขมันภายในเซลล์โดยใช้อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 6:1 30:1 และ 60:1 โดยเชื้อ *Lipomyces* sp.606 เมื่อเลี้ยงเชื้อในสภาวะใช้เครื่องเขย่า ความเร็ว 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง 40
5. การวิเคราะห์ทางสถิติของผลผลิตไขมันโดยใช้อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 6:1 30:1 และ 60:1 โดยเชื้อ *Lipomyces* sp.606 เมื่อเลี้ยงเชื้อในสภาวะใช้เครื่องเขย่า ความเร็ว 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง 41
6. การวิเคราะห์ทางสถิติของน้ำหนักแห้งโดยใช้อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 6:1 30:1 และ 60:1 โดยเชื้อ *Lipomyces* sp.606 เมื่อเลี้ยงเชื้อในสภาวะใช้เครื่องเขย่า ความเร็ว 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง 42
7. การวิเคราะห์ทางสถิติของน้ำหนักแห้งโดยใช้อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 6:1 30:1 โดยเชื้อ *Lipomyces* sp.606 เมื่อเลี้ยงเชื้อในสภาวะใช้เครื่องเขย่า ความเร็ว 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง 43
8. การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณไขมันภายในเซลล์ที่อุณหภูมิ 15°ซ 25°ซ และ อุณหภูมิห้อง โดยเชื้อ *Lipomyces* sp.606 ในสภาพนิ่ง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง อาหารเลี้ยงเชื้อมีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 60:1 44
9. การวิเคราะห์ทางสถิติของผลผลิตไขมันที่อุณหภูมิ 15°ซ 25°ซ และ อุณหภูมิห้อง โดยเชื้อ *Lipomyces* sp.606 ในสภาพนิ่ง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง อาหารเลี้ยงเชื้อมีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 60:1 45

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ค ที่ หน้า

10. การวิเคราะห์ทางสถิติของน้ำหนักแห้งที่อุณหภูมิ 15°ซ 25°ซ และ อุณหภูมิห้อง โดยเชื้อ *Lipomyces* sp.606 ในสภาพนิ่ง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง อาหารเลี้ยงเชื้อมีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 60:1 46

11. การวิเคราะห์ทางสถิติของน้ำหนักแห้งที่อุณหภูมิ 15°ซ 25°ซ โดยเชื้อ *Lipomyces* sp.606 ในสภาพนิ่ง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง อาหารเลี้ยงเชื้อมีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 60:1 47

12. การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณไขมันภายในเซลล์ โดยใช้เครื่องเขย่า และสภาพนิ่งโดยเชื้อ *Lipomyces* sp.606 อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 120 ชั่วโมงอาหารเลี้ยงเชื้อมีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 60:1 48

13. การวิเคราะห์ทางสถิติของผลผลิตไขมันโดยใช้เครื่องเขย่า และสภาพนิ่งโดยเชื้อ *Lipomyces* sp.606 อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 120 ชั่วโมงอาหารเลี้ยงเชื้อมีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 60:1 49

14. การวิเคราะห์ทางสถิติของน้ำหนักแห้งโดยใช้เครื่องเขย่า และสภาพนิ่งโดยเชื้อ *Lipomyces* sp.606 อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 120 ชั่วโมงอาหารเลี้ยงเชื้อมีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 60:1 50

15. การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณไขมันภายในเซลล์ ที่ 144 และ 192 ชั่วโมงโดยเชื้อ *Lipomyces* sp.606 ในสภาพนิ่งอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 120 ชั่วโมงอาหารเลี้ยงเชื้อมีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 60:1 51

16. การวิเคราะห์ทางสถิติของผลผลิตไขมันที่ 144 และ 192 ชั่วโมงโดยเชื้อ *Lipomyces* sp.606 ในสภาพนิ่งอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 120 ชั่วโมงอาหารเลี้ยงเชื้อมีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 60:1 52

17. การวิเคราะห์ทางสถิติของน้ำหนักแห้ง ที่ 144 และ 192 ชั่วโมงโดยเชื้อ *Lipomyces* sp.606 ในสภาพนิ่งอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 120 ชั่วโมงอาหารเลี้ยงเชื้อมีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 60:1 53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1.	แสดงตัวอย่างกรดไขมันเชิงเดี่ยว	5
2.	แสดงการนำ acetyl CoA ออกจากไมโตคอนเดรียมายังไซโตปลาสซึม ปฏิกิริยาที่ 1 เร่งโดย citrate synthase และปฏิกิริยาที่ 2 เร่งโดย citrate lyase	7
3.	แสดงวิถีการสังเคราะห์กรดไขมันจาก acytyl CoA (ACP-SH คือ acyl carrier protein)	8
4.	แสดง Fatty acid synthetase complex ของยีสต์ ซึ่งประกอบด้วย acyl carrier protein (วงกลมกลาง) ล้อมรอบด้วยเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยา...	9
5.	แสดงผลของน้ำหนักแห้ง(กรัมต่อลิตร)และปริมาณไขมันภายในเซลล์(กรัมต่อ100กรัมน้ำหนักแห้ง) โดยเชื้อ *Lipomyces* sp.606 และ *Saccharomyces cervisiae* 281เมื่อทำการเลี้ยงเชื้อในสภาวะใช้เครื่องเขย่า ความเร็ว 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง อาหารเลี้ยงเชื้ออัตราส่วน 6:1	16
6.	แสดงผลผลิตไขมัน(yield, $Y_{P/S}$) ที่ผลิตโดยเชื้อ *Lipomyces* sp.606 และ *Saccharomyces cervisiae* 281 เมื่อทำการเลี้ยงเชื้อในสภาวะใช้เครื่องเขย่า ความเร็ว 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง อาหารเลี้ยงเชื้ออัตราส่วน 6:1	17
7.	แสดงผลของน้ำหนักแห้ง(กรัมต่อลิตร) และปริมาณไขมันภายในเซลล์(กรัมต่อ100กรัมน้ำหนักแห้ง) ต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน6:1 30:1 และ 60:1 โดยเชื้อ *Lipomyces* sp.606เมื่อทำการเลี้ยงเชื้อในสภาวะใช้เครื่องเขย่า ความเร็ว 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง	18
8.	แสดงผลผลิตไขมัน (yield, $Y_{P/S}$) ต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 6:1 30:1 และ 60:1โดยเชื้อ *Lipomyces* sp.606 เมื่อทำการเลี้ยงเชื้อในสภาวะใช้เครื่องเขย่า ความเร็ว 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง	18

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ หน้า

9. แสดงผลของน้ำหนักแห้ง(กรัมต่อลิตร) และปริมาณไขมันภายในเซลล์(กรัมต่อ100กรัมน้ำหนักแห้ง) ที่อุณหภูมิ 15°ซ 25°ซ และอุณหภูมิห้องโดยเชื้อ *Lipomyces* sp.606 ทำการเลี้ยงเชื้อในสภาวะใช้เครื่องเขย่า ความเร็ว 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 60:1 19

10 .แสดงผลผลิตไขมัน (yield ,$Y_{P/S}$) ที่อุณหภูมิ 15°ซ 25°ซ และอุณหภูมิห้องโดยเชื้อ *Lipomyces* sp.606 ทำการเลี้ยงเชื้อในสภาวะใช้เครื่องเขย่า ความเร็ว 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 120 ชั่วโมงอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 60:1... 20

11. แสดงผลของน้ำหนักแห้ง(กรัมต่อลิตร) และปริมาณไขมันภายในเซลล์(กรัมต่อ100กรัมน้ำหนักแห้ง) กับที่สภาพการเลี้ยงเชื้อโดยใช้เครื่องเขย่า และสภาพนิ่ง โดยเชื้อ *Lipomyces* sp.606 อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 120 ชั่วโมงอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 60:1 21

12. แสดงผลผลิตไขมัน (yield ,$Y_{P/S}$) กับที่สภาพการเลี้ยงเชื้อโดยใช้เครื่องเขย่า และสภาพนิ่ง โดยเชื้อ *Lipomyces* sp.606 อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 120 ชั่วโมงอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 60:1 21

13. แสดงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักแห้ง(กรัมต่อลิตร) พีเอช และปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่เหลือ(กรัมต่อลิตร) ในระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อ 192 ชั่วโมงโดยเชื้อ *Lipomyces* sp.606 ในสภาพนิ่ง ที่ 15 °ซ และอาหารเลี้ยงเชื้ออัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 60:1 23

14. แสดงผลของปริมาณไขมันภายในเซลล์(กรัมต่อ100กรัมน้ำหนักแห้ง)กับน้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)ที่เวลา 144 และ 192 ชั่วโมงโดยเชื้อ *Lipomyces* sp.606 ในสภาพนิ่ง ที่ 15 °ซ และอาหารเลี้ยงเชื้ออัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 60:1... 23

15. แสดงผลผลิตไขมัน (yield $Y_{P/S}$) ที่เวลา 144 และ 192 ชั่วโมงโดยเชื้อ *Lipomyces* sp.606 ในสภาพนิ่ง ที่ 15 °ซ และอาหารเลี้ยงเชื้ออัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 60:1 24

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพภาคผนวก

ภาพภาคผนวก ง ที่	หน้า
1. อาหารเลี้ยงเชื้อ YM agar	54
2. เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* 281 และ *Lipomyces* sp.606 ที่เจริญบน YM agar	54
3. จากซ้ายไปขวา เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* 281 และ *Lipomyces* sp.606 ที่เจริญบน YM agar	55
4. เซลล์ที่เก็บเกี่ยวได้ของเชื้อ *Lipomyces* sp.606 และ *Saccharomyces cerevisiae* 281	55
5. จากซ้ายไปขวา หัวเชื้อเริ่มต้นของเชื้อ *Lipomyces* sp.606 อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 6:1 30:1 และ 60:1	56
6. อาหารเหลวเลี้ยงเชื้อยีสต์ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 6:1 และเชื้อ *Lipomyces* sp.606 ที่เลี้ยงในอาหารนี้	56
7. อาหารเหลวเลี้ยงเชื้อยีสต์ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 30:1 และเชื้อ *Lipomyces* sp.606 ที่เลี้ยงในอาหารนี้	57
8. อาหารเหลวเลี้ยงเชื้อยีสต์ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 60:1 และเชื้อ *Lipomyces* sp.606 ที่เลี้ยงในอาหารนี้	57
9. เซลล์ของเชื้อ *Lipomyces* sp.606 ที่เก็บเกี่ยวได้ จากการเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 6:1 30:1 และ 60:1	58
10. เซลล์ของเชื้อ *Lipomyces* sp.606 ที่เก็บเกี่ยวได้ จากการเลี้ยงที่สภาวะอุณหภูมิ ห้อง 15 °ซ และ 25 °ซ	58
11. เชื้อ *Lipomyces* sp.606 เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 60:1 อุณหภูมิ 15 °ซ จากซ้ายไปขวา ที่ระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อ 0 ชม. 48 ชม. 96 ชม. 144 ชม. และ 192 ชม.	59
12. การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด โดยวิธี Phenol – Sulfuric	59
13. เครื่องหมุนเหวี่ยง	60
14. เครื่องวัดพีเอช	60
15. ตู้บ่มเพาะเชื้ออุณหภูมิต่ำ	61

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพภาคผนวก ง ที่	หน้า
16. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง	62
17 . เครื่องสกัดไขมัน soxtherm	62
18 . เครื่องเขย่า	63

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

อุตสาหกรรมไขมันและน้ำมันได้กลายเป็นอุตสาหกรรมขนาดใหญ่และเกิดความเปลี่ยนแปลงในทางการค้ามากมาย เนื่องจากเป็นอุตสาหกรรมที่ครอบคลุมการใช้น้ำมันและไขมันในอาหาร วัตถุดิบที่มีความเกี่ยวข้องกับอาหาร เช่น น้ำมันประกอบอาหาร เนย มาการีน ไอศกรีม และน้ำมันที่ใช้ในทางเคมี เช่น สบู่ พลาสติก สี และหมึก เป็นต้น การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีชีวภาพใน อุตสาหกรรมน้ำมัน และไขมันในขณะนี้ได้มีการเริ่มต้นขึ้นบ้างแล้ว สิ่งสำคัญที่ควรพิจารณาได้แก่ ชนิดของจุลินทรีย์ ขอบเขตของความเป็นไปได้ของการผลิตน้ำมันที่ได้จากจุลินทรีย์ (Single Cell Oil, SCO) แทนที่น้ำมันจากพืชที่มีราคาแพงกว่า การใช้เอนไซม์ lipase ปรับปรุงปฏิกิริยา hydrolysis ของไขมัน การใช้เอนไซม์ lipase เปลี่ยนรูปแบบของไขมันที่มีราคาถูกไปเป็นไขมันที่มีราคาแพงขึ้น ยีสต์คือจุลินทรีย์ที่คาดว่าสามารถนำไปใช้เพื่อการผลิตไขมันได้ เพื่อนำไปสู่ศักยภาพทางการค้าในอนาคต

น้ำมันที่ได้จากจุลินทรีย์ (Single Cell Oil, SCO) เป็นไขมันที่บริโภคได้ซึ่งสกัดได้จากเซลล์ของจุลินทรีย์ทั้งจากเซลล์ของแบคทีเรีย ยีสต์ รา และสาหร่าย การศึกษาการผลิตไขมันจากจุลินทรีย์เริ่มมีการศึกษากันมาตั้งแต่ปี ค.ศ. 1875 แต่ยังไม่ได้มีการศึกษากันอย่างจริงจังนักจนมาถึงช่วงสงครามโลกครั้งที่ 2 ประเทศเยอรมันจึงได้มีความพยายามอย่างมากในการที่จะพัฒนาการผลิตน้ำมันจากจุลินทรีย์เพื่อใช้ในระหว่างสงคราม จุดมุ่งหมายของการผลิต SCO ที่สำคัญคือ

1. เพื่อใช้เป็นไขมันแทนที่โกโก้บัตเตอร์ เช่น*Candida curvata* (ปัจจุบันเรียก *Apiotrichum cervartum*) จะให้องค์ประกอบของไตรกลีเซอไรด์ที่สามารถทดแทนการใช้ cocoa butter oil ได้ การนำน้ำมันจากจุลินทรีย์มาใช้จะช่วยลดต้นทุนที่ต้องจ่ายเป็นค่า cocoa butter ซึ่งมีราคาสูงซึ่งจำเป็นต้องใช้ในอุตสาหกรรมอาหารหลายประเภทเช่น อุตสาหกรรมขนมหวาน ขนมอบต่างๆ

2. ใช้เป็นแหล่งของกรดไขมันจำเป็นแกมมาลิโนเลนิด [all cis- 18:3 (6 9 12) ; GLA] เนื่องจากการศึกษาทางการแพทย์ พบว่า กรดไขมันแกมมาลิโนเลนิดจะมีความจำเป็นในการใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิต prostanglandins leucotrienes และ thromboxanes

3. ใช้เป็นแหล่งของกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่จำเป็นต่อร่างกายอื่นๆ เช่น arachidonic acid ($C_{20:4}$) occosapentaenonic acid ($C_{20::5}$) และ decosahexanenbic acid ($C_{20::6}$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

2.1 ยีสต์ผลิตไขมันสูง

มียีสต์อยู่เพียงไม่กี่ชนิด (อาจน้อยกว่า 20 ชนิด ที่มีความสามารถในการเพิ่มปริมาณไขมันภายในเซลล์ (intracellular lipid) เรียกว่า ยีสต์ผลิตไขมันสูง (oleaginous yeast) ยีสต์ชนิดนี้จะเติบโตในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนสูง (มักจะเป็น 30:1) ดังนั้นไม่ว่าจะเป็นจุลินทรีย์สำหรับการผลิตแบบกะหรือต่อเนื่อง จะต้องมีคาร์บอนในปริมาณมากสำหรับการใช้กับไนโตรเจน ยีสต์เกิดการขาดโปรตีนและกรดนิวคลีอิกในการสังเคราะห์ไนโตรเจนมีปริมาณไม่เพียงพอทำให้คาร์บอนเปลี่ยนแนวทางการสังเคราะห์ไปยังส่วนของการสังเคราะห์ไขมันแทนถ้าเป็น nonoleaginous yeast เมื่อเลี้ยงในสภาวะเดียวกันจะเกิดการสังเคราะห์ไขมันประมาณ 15% - 20% ในบางกรณีคาร์บอนที่มีมากเกินพอจะถูกเปลี่ยนไปเป็นวัตถุดิบประเภท polysaccharide มากกว่า

ยีสต์ผลิตไขมันสูงอาจผลิตไขมันได้ถึง 70% ของมวลชีวภาพ ดังตารางที่ 1 แสดงชนิดของยีสต์ที่เป็น "ยีสต์ผลิตไขมัน" ปริมาณไขมันที่สะสมอยู่ในยีสต์ไขมันสูงต้องมีไม่น้อยกว่า 20% ดังนั้นจึงไม่นับยีสต์พวก nonoleaginous หลายชนิดที่มีไขมันต่ำกว่านี้ หลักฐานสำหรับตัดสินว่าเป็นยีสต์ที่สามารถให้ไขมันได้จริงหรือไม่กำลังอยู่ในขั้นตอนการพัฒนา มีความเป็นไปได้ว่าการมีคุณสมบัติเป็นตัวให้ไขมันสามารถจัดจำแนกได้โดยทางชีวเคมีจากการตรวจสอบยีสต์ที่แสดงปฏิกิริยาของเอนไซม์ ATP:citrate lyase เอนไซม์นี้จะไม่มีในยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* และ *Candida utilis* จึงสามารถอธิบายได้ว่าเหตุใดยีสต์ทั้ง 2 ชนิดจึงไม่สามารถสะสมไขมันภายใต้สภาวะการเลี้ยงแบบเดียวกันได้ อย่างไรก็ตามการสะสมไขมันในเซลล์ยีสต์นั้นมีระบบชีวเคมีที่ซับซ้อนซึ่งไม่สามารถกำหนดตายตัวได้ว่าต้องพบเอนไซม์ ATP:citrate lyase เท่านั้น

ยีสต์ผลิตไขมันสูงจะสะสมไขมันใน รูปของหยดไขมันเล็ก ๆ ภายในเซลล์ซึ่งมี องค์ประกอบส่วนใหญ่เป็น triacylglycerol เมื่อผ่านการสกัดไขมันแล้วไขมันที่ได้จะเป็นกรดไขมันอิสระและไขมันชนิดอื่นออกมา (phospholipid, sterol, ester ของ sterol และอื่นๆ) ซึ่งอยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์ รายงานหลายฉบับมักแสดงการเกิดกรดไขมันอิสระหลายชนิดในไขมันที่ผ่านการสกัดแล้ว รายละเอียดของอัตรา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจน อุณหภูมิ และ ระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อ ตัวอย่างการวิเคราะห์ไขมันที่เกิดของ oleaginous yeast แสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 1 ชนิดของยีสต์ผลิตไขมันสูง

สายพันธุ์	ปริมาณไขมันสูงสุด (%)
Candida sp. 107	49
Candida curvata D	58
Candida curvata R	51
Candida diddensiae	37
Cryptococcus (terricolus) albidus var. *albidus*	65
Cryptococcus albidus var. *aerius*	63
Cryptococcus laurentii	32
Endomycopsis vernalis[a]	65
Hansenula ciferri[b]	22
Hansenula saturnus	28
Lipomyces lipofer	64
Lipomyces starkeyi	63
Lipomyces tetrasporus	67
Rhodosporidium toruloides	51
Rhodotorula glutinis (fresenius)	72
Rhodotorula graminis	41
Rhodotorula mucilaginosa[b]	28
Trichosporon cuatneum	45
Trichosporon pullulans[a]	33
Trigonpsis variablis	40
Yarrow (Candida, Saccharomycopsis)	36

[a] อาจเป็นสายพันธุ์ที่คล้ายกัน

[b] ไม่แน่ว่าเป็นยีสต์ผลิตไขมันสูงหรือไม่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 องค์ประกอบของไขมันจากยีสต์ผลิตไขมันสูง

ยีสต์	องค์ประกอบ[a]							
	TAG	DAG	MAG	FFA	S	SE	PL	GL
Cryptococcus (terricolus) abidus var. *albidus*	92	2.5	1	3	1	1	2	
Lipomyces starkeyi	95	1		<1	1		3	
Rhodotorula glutinis	67		4	2	7		11	6
Trichosporon pullulans (=Endomycopsis vernalis)	82	1		10	1		4	

[a]TAG = triacylglycerol ; DAG = diacylglycerol ; MAG = monoacylglycerol ; FFA = free fatty acid ; S = sterol ; SE = sterol ester ; PL = phospholipid ; GL = glycolipid

ที่มา : Ratledge.1986.

2.2 ไขมัน (สกล.2516.)

ไขมัน หรือ ลิปิด (lipid) เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่ได้จากสิ่งมีชีวิต มีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำ แต่ละลายได้ดีในตัวทำละลายสารอินทรีย์ (Organic solvent) เช่น คลอโรฟอร์ม เบนซีน อีเธอร์ ฯลฯ แต่ไขมันหลายชนิดที่มีขั้วสามารถละลายในตัวทำละลายที่มีขั้ว เช่น เมทานอล เอทานอล ฯลฯ ไขมันเป็นองค์ประกอบของเซลล์ และเนื้อเยื่อทุกชนิด แต่พบมากในเนื้อเยื่อ ไขมันซึ่งเป็นแหล่งสะสมพลังงานได้ไม่จำกัด และเป็นโครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์ทุกชนิด

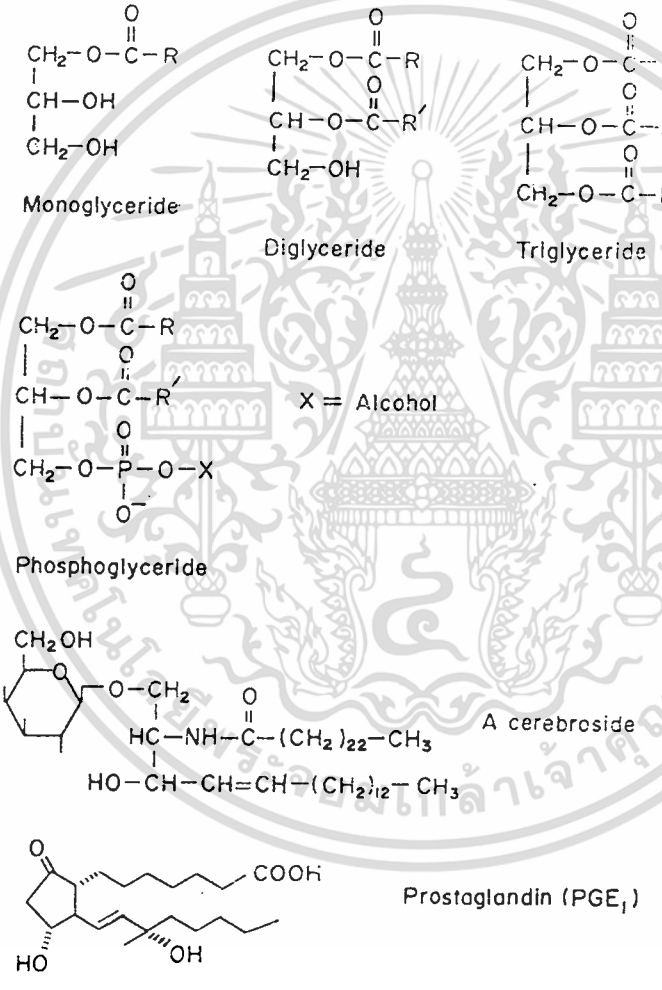
ลิปิดแบ่งออกเป็น 4 ประเภทใหญ่ๆดังนี้

1. ลิปิดเชิงเดี่ยว (simple lipid) เป็นเอสเทอร์ของกรดไขมันกับกลีเซอรอล จึงเรียกสารประกอบพวกนี้ว่า กลีเซอไรด์ (glyceride) ซึ่งส่วนใหญ่พบในรูปของไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) สำหรับโมโนกลีเซอไรด์ และไดกลีเซอไรด์สามารถพบในธรรมชาติบ้างเล็กน้อย

กรดไขมันเป็น monocarboxylic acid ซึ่งมีหมู่ไฮโดรคาร์บอนเป็นโซ่ยาว ไม่แตกสาขา ถ้ามีพันธะเดี่ยวจะเรียกว่า กรดไขมันอิ่มตัว แต่ถ้ามีพันธะคู่หรือ/ และพันธะสามอยู่ด้วยจะ เรียกว่า กรดไขมันไม่อิ่มตัว กรดไขมันที่พบในธรรมชาติมักมีจำนวนคาร์บอนเป็นคู่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลิปิดที่ประกอบด้วยกรดไขมันสายยาวจะอยู่ในสภาวะของแข็งเรียกว่า ไขมัน (fat) เช่น ไขวัว ส่วนที่ประกอบด้วยกรดไขมันสายสั้นมักจะเป็นของเหลวเรียกว่า น้ำมัน (oil) เช่น น้ำมันมะกอก ถ้าลิปิดประกอบด้วยกรดไขมันที่อิ่มตัวกว่าก็จะอยู่ในสภาวะของแข็งมากกว่าชนิดที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัว ลิปิดเชิงเดี่ยวอีกพวก คือ ไข (wax) เช่น ขี้ผึ้ง ลาโนลิน เป็นต้น เป็นเอสเทอร์ของกรดไขมันกับแอลกอฮอล์สายยาว



ภาพที่ 1 แสดงตัวอย่างกรดไขมันเชิงเดี่ยว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ลิปิดเชิงประกอบ (compound lipid) คล้ายลิปิดเชิงเดี่ยวแต่มีสารอื่นรวมอยู่ด้วย ได้แก่ ลิปิดที่รวมตัวกับสาร hydrophilic เช่น หมู่ฟอสเฟต คาร์โบไฮเดรต และโปรตีน แล้วทำให้มีสมบัติเปลี่ยนไป กล่าวคือ มีความเป็นขั้วเพิ่มขึ้น จึงละลายน้ำได้บ้างต่างจากลิปิด ทั่วไปซึ่งไม่ละลายน้ำ

แบ่งลิปิดกลุ่มนี้ได้เป็น 3 ชนิด

ก. ฟอสโฟกลีเซอไรด์ หรือฟอสโฟลิปิด (phosphoglyceride or phospholipid) มีส่วนเพิ่มขึ้นมา คือ หมู่ฟอสเฟต ตัวอย่างเช่น เลซิทิน ลิปิดพวกนี้เป็นส่วนประกอบที่สำคัญของเยื่อเซลล์

ข. ไกลโคลิปิด (glycolipid) มีส่วนที่เพิ่มขึ้นมา คือ คาร์โบไฮเดรต เช่น ซีรีโบรไซด์ (cerebroside) ซึ่งพบมากในเนื้อเยื่อสมองและประสาท

ค. ไลโปโปรตีน (lipoprotein) เป็นลิปิดที่มีโปรตีนรวมอยู่ด้วย ได้แก่ลิปิดที่ทำหน้าที่ขนส่งไขมันในเลือด

3. ลิปิดอนุพันธุ์ (derived lipid) ได้แก่ อนุพันธุ์ที่ได้จากการสลายด้วยน้ำของสองพวกแรก ตัวอย่าง เช่น ได- และโมโนกลีเซอไรด์ กรดไขมัน และแอลกอฮอล์สายโซ่ยาว

4. ลิปิดเบ็ดเตล็ด (miscelleneous lipid) ได้แก่ พวกสเตอรอยด์ เทอร์บีน วิตามิน ที่ละลายในไขมัน และพรอสตาแกลนดิน เป็นต้น

2.3 ไขมันที่พบในจุลินทรีย์

ไขมันที่พบในเยื่อหุ้มเซลล์ ส่วนใหญ่ประกอบด้วย กรดไขมัน (fatty acid) และ อนุพันธุ์เป็น monocarboxylic acid โดยทั่วไปประกอบด้วยคาร์บอนสายยาว (alkyl chain) 16-18 อะตอม โครงสร้างของไขมันโดยทั่วไปเป็น triacylglyceral และ phospholipid ต่างๆ

2.4 การสังเคราะห์กรดไขมัน (Fatty acid synthesis)

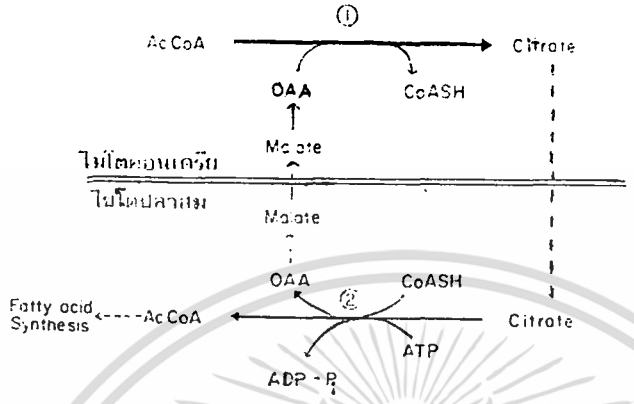
เมื่อเซลล์มีพลังงานเพียงพอและมี acetyl CoA เหลือใช้ จะมีการสังเคราะห์กรดไขมันจาก acetyl CoA แต่เอนไซม์ที่ใช้ในการสังเคราะห์กรดไขมันนี้ปรากฏอยู่ในไซโตปลาสซึมเพื่อสร้างกรดไขมัน

acetyl CoA ไม่สามารถซึมผ่านเยื่อของไมโตคอนเดรียได้เร็วเพียงพอ ฉะนั้นจึงต้องรวมตัวกับ oxaloacetate ให้ได้ซิเตรท (citrate) ตามปฏิกิริยาของเอนไซม์ citrate synthase ซึ่งเป็นปฏิกิริยาแรกในวัฏจักรเครปส์ ซิเตรทสามารถซึมผ่านเยื่อของไมโตคอนเดรียได้ดี

ภายในไซโตปลาสซึม ซิเตรทจะทำปฏิกิริยากับ โคเอนไซม์ เอ ได้ oxaloacetate และ acetyl CoA โดยใช้ ATP เป็นแหล่งของพลังงาน ปฏิกิริยานี้มีเอนไซม์ citrate lyase เป็นตัวเร่ง acetyl CoA ที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้จะถูกนำไปใช้ในการสังเคราะห์กรดไขมันต่อไป ส่วน oxaloacetate ก็จะเปลี่ยนเป็นมาเลท (malate) ซึ่งจะซึมผ่านเข้าไปในไมโตคอนเดรีย



ภาพที่ 2 แสดงการนำ acetyl CoA ออกจากไมโตคอนเดรียมายังไซโตปลาสซึม ปฏิกิริยาที่ 1 เร่งโดย citrate synthase และปฏิกิริยาที่ 2 เร่งโดย citrate lyase

การสังเคราะห์กรดไขมันจาก acetyl CoA ภายในไซโตปลาสซึมประกอบด้วยห้าปฏิกิริยา

ปฏิกิริยาที่ 1 acetyl CoA จะรวมตัวกับคาร์บอนไดออกไซด์ได้ malonyl CoA โดยใช้พลังงาน ATP ปฏิกิริยานี้มีเอนไซม์ acetyl CoAcarboxylase เป็นตัวเร่ง ต่อจากนั้น acetyl CoA และ malonyl CoA จะรวมตัวกับ acyl carier protein หรือ ACP กลายเป็น acetyl-ACP และmalonyl-ACP ตามลำดับโมเลกุลที่เชื่อมระหว่าง ACP กับ acyl group คือ 4-phosphopantetheine ACP นั้นเป็นส่วนหนึ่งของเอนไซม์ fatty acid synthase complex ซึ่งประกอบด้วยเอนไซม์ต่างๆที่ใช้เร่งปฏิกิริยาการสังเคราะห์ไขมัน

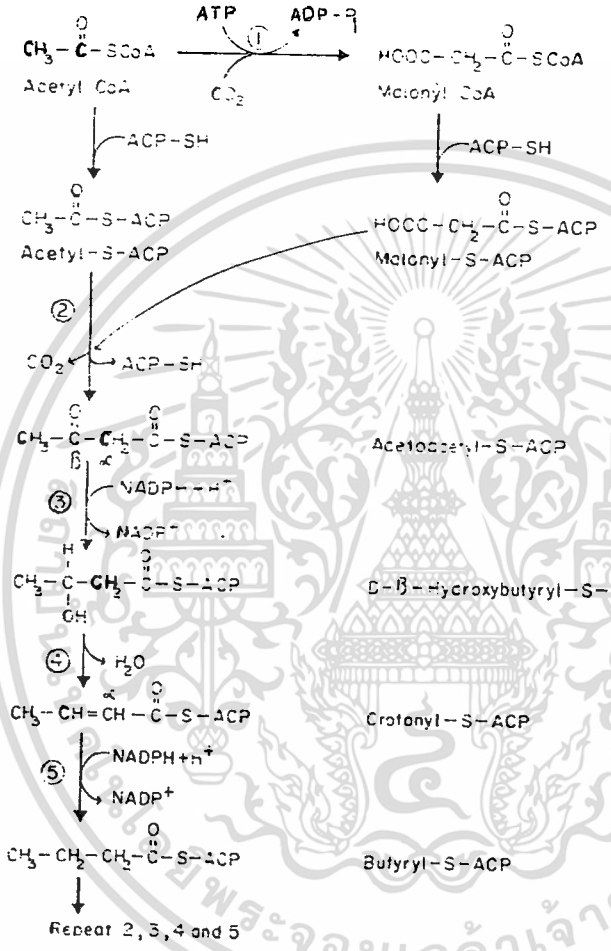
ปฏิกิริยาที่ 2 acetyl-ACP และ malonyl-ACP จะรวมตัวกันให้กลายเป็น acetoacetyl-ACP

ปฏิกิริยาที่ 3 หมู่ >C=O ของสารนี้จะถูกรีดิวซ์ด้วย NADPH ให้กลายเป็นหมู่ >CH-OH

ปฏิกิริยาที่ 4 เกิดเป็นบอนด์คู่ที่เกิดขึ้นระหว่าง C_{α}และC_{β}

ปฏิกิริยาที่ 5 บอนด์คู่ที่เกิดขึ้นระหว่าง C_{α} และC_{β} จะถูกรีดิวซ์ด้วย NADPH

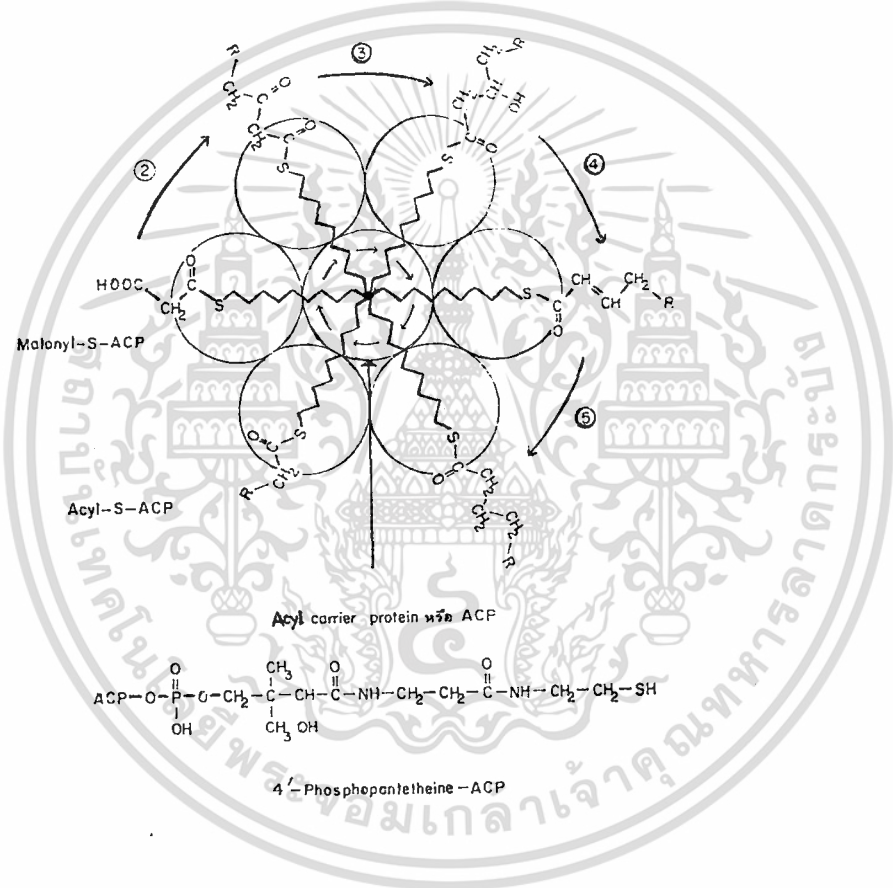
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



<u>ภาพที่ 3</u> แสดงวิถีการสังเคราะห์กรดไขมันจาก acytyl CoA (ACP-SH คือ acyl carrier protein)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลที่ได้คือ bytyryl-ACP ซึ่งจะแทนที่ acetyl-ACPในปฏิกิริยาที่ 2 และรวมตัวกับ malonyl-ACP อีกโมเลกุลหนึ่งแล้ววติดตามด้วยปฏิกิริยาที่ 3 4 และ5อีก ดังนั้นจะเห็นได้ว่าการซ้ำปฏิกิริยาที่ 2 3 4 และ5 แต่ละครั้งจะทำให้ acetyl-ACP ที่เกิดขึ้นมีคาร์บอนอะตอมเพิ่มขึ้นอีกสองอะตอม ลำดับของปฏิกิริยาดังกล่าวจะถูกใช้ซ้ำอยู่เรื่อยๆจนกว่าจะได้ acetyl-ACP ที่มีจำนวนคาร์บอนอะตอมเท่ากับจำนวนคาร์บอนอะตอมในกรดไขมันที่ต้องการจะสังเคราะห์ แล้ว acetyl-ACP นั้นก็จะสลายตัวให้กรดไขมันอิสระหลุดออกจากส่วน ACP ของ fatty acid synthetase complex



<u>ภาพที่ 4</u> แสดง Fatty acid synthetase complex ของยีสต์ ซึ่งประกอบด้วย acyl carrier protein (วงกลมกลาง) ล้อมรอบด้วยเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยา 2 3 4 และ5 (วงกลมนอก) ของวิถีการสังเคราะห์กรดไขมัน ส่วนที่เชื่อมระหว่าง ACP กับ acyl group คือ 4-phosphopantetheine ซึ่งทำหน้าที่เสมือนแขนหมุนไปรอบๆเพื่อนำ acyl group ไปยังเอนไซม์ต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การสังเคราะห์ไตรกลีเซอไรด์ และฟอสโฟกลีเซอไรด์

(Biosynthesis of Triglyceride and phosphoglyceride)

การสังเคราะห์ไตรกลีเซอไรด์ และฟอสโฟกลีเซอไรด์จาก fatty acyl CoA และ กลีเซอรอลฟอสเฟส (glycerol phosphate) สิ่งที่ควรสังเกตคือ CDP-diacylglyceride เป็นสารเริ่มต้นที่จะใช้สังเคราะห์ฟอสโฟกลีเซอไรด์ต่างๆที่เป็นไขมันประกอบ(compound lipid)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ

Agar

Malt extract

Yeast extract

Peptone

Dextrose

น้ำกลั่น

Glucose

3.2 สารเคมี

Soluble starch

KH_2PO_4

$CaCl_2$

NH_4Cl

$FeCl_3$

$CuSO_4.5H_2O$

$ZnSO_4.7H_2O$

Alcohol 95%

HCl

Petroleum ether

H_2SO_4

Phenol

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 วัสดุอุปกรณ์

เครื่องแก้ววิทยาศาสตร์ Pyrex

เครื่องเขย่า (Rotary shaker) Gerhardt model RD5

ตู้อบ WTB binder model E53

เครื่องชั่ง METTLER TOLED model AB204

กล้องจุลทรรศน์ OLYMPUS model CH30RF200

เครื่องหมุนเหวี่ยง CENTRIKON model T – 42K

ชุดสกัดไขมัน Soxtherm Gerhardt SOXTHERM automatic

ตู้เพาะเชื้ออุณหภูมิต่ำ SANYO INCUBATOR model MIR – 553

โถดูดความชื้น GLASWERK WERTHEIM

Aluminium can

3.4 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง

3.4.1 ศึกษาเปรียบเทียบการผลิตไขมันโดยเชื้อ *Lipomyces* sp. 606 และ *Saccharomyces cerevisiae* 281

วางแผนการทดลองแบบสุ่มภายในบล็อค (Ramdomized Complete Block Design = RCB)

กำหนดให้ treatment ที่ 1 คือ *Lipomyces* sp. 606

treatment ที่ 2 คือ *Saccharomyces cerevisiae* 281

block ที่ 1 คือ การทดลองครั้งที่ 1

block ที่ 2 คือ การทดลองครั้งที่ 2

โดยตั้งสมมุติฐานว่า

มีอย่างน้อย 1 treatment ที่แตกต่างจาก treatment อื่น

มีอย่างน้อย 1 block ที่แตกต่างจาก block อื่น

วิเคราะห์ความแตกต่างของผลการทดลองแบบ Duncan's New Multiple Range Test = DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.1.1 เตรียมกล้าเชื้อของยีสต์ทั้ง 2 ชนิด โดยถ่ายเชื้อ *Lipomyces* sp.606 และ *Saccharomyces cerevisiae* 281 ที่เจริญบนวุ้นเอียง YM agar(ภาคผนวก ก) 1 ลูป ลงในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิตไขมัน (ภาคผนวก ก) ปริมาณ 200 มล. บรรจุอยู่ในฟลาสก์ 1,000 มล. 6 ฟลาสก์

3.4.1.2นำเข้าเครื่องเขย่าความเร็ว 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง

3.4.1.3 เมื่อครบระยะเวลาการเลี้ยง 120 ชั่วโมง เก็บเกี่ยวโดยการหมุนเหวี่ยงที่ 8,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 °ซ เป็นเวลา 30 นาที ล้างเซลล์ด้วยน้ำกลั่น และหมุนเหวี่ยงอีก 2 ครั้ง

3.4.1.4 นำเซลล์ที่ได้มาบดให้ละเอียด หาปริมาณไขมันภายในเซลล์ น้ำหนักแห้ง และผลผลิตไขมัน (ภาคผนวก ก)

3.4.1.5 ทำการทดลองข้อ 1 – ข้อ 4 ซ้ำอีกครั้ง

3.4.2 การศึกษาผลของอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการผลิตไขมันของ *Lipomyces* sp. 606

วางแผนการทดลองแบบสุ่มภายในบล็อค (Ramdomized Complete Block Design = RCB)

กำหนดให้ treatment ที่ 1 คือ อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเป็น 6:1

treatment ที่ 2 คือ อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเป็น 30:1

treatment ที่ 3 คือ อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเป็น 60:1

block ที่ 1 คือ การทดลองครั้งที่ 1

block ที่ 2 คือ การทดลองครั้งที่ 2

block ที่ 3 คือ การทดลองครั้งที่ 3

โดยตั้งสมมุติฐานว่า

มีอย่างน้อย 1 treatment ที่แตกต่างจาก treatment อื่น

มีอย่างน้อย 1 block ที่แตกต่างจาก block อื่น

วิเคราะห์ความแตกต่างของผลการทดลองแบบ Duncan's New Multiple Range Test = DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3.4.2.1เตรียมหัวเชื้อเริ่มต้น โดยถ่ายเชื้อ *Lipomyces* sp. 606 ที่เจริญบนวุ้นเอียง YM agar (ภาคผนวก ก) 1 ลูป ลงในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อยีสต์เพื่อผลิตไขมัน(ภาคผนวก ก) ปริมาณ 200 มล. บรรจุอยู่ในฟลาสก์ 1,000 มล. 1 ฟลาสก์ นำเข้าเครื่องเขย่าความเร็ว 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.2.2 ถ่ายหัวเชื้อเริ่มต้น 5% ลงในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อยีสต์เพื่อผลิตไขมัน(ภาคผนวก ก) ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 6:1 30:1 และ 60:1 ปริมาณ 200 มล. อัตราส่วนละ 2 ฟลาสก์

3.4.2.3 นำเข้าเครื่องเขย่าความเร็ว 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง

3.4.2.4 เมื่อครบระยะเวลาการเลี้ยง 120 ชั่วโมง เก็บเกี่ยวโดยการหมุนเหวี่ยงที่ 8,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 ° ซ เป็นเวลา 30 นาที ล้างเซลล์ด้วยน้ำกลั่น และหมุนเหวี่ยงอีก 2 ครั้ง

3.4.2.5 นำเซลล์ที่ได้มาบดให้ละเอียด หาปริมาณไขมันภายในเซลล์ น้ำหนักแห้ง และผลผลิตไขมัน (ภาคผนวก ก)

3.4.2.6 ทำการทดลองข้อ 1 – ข้อ 5 ซ้ำอีก 2 ครั้ง

3.4.2.7 เปรียบเทียบอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการเจริญมากที่สุด เพื่อใช้ในการทดลองช่วงต่อไป

3.4.3 ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเจริญของเชื้อยีสต์ *Lipomyces* sp. 606

วางแผนการทดลองแบบสุ่มภายในบล็อค (Ramdomized Complete Block Design = RCB)

กำหนดให้ treatment ที่ 1 คือ อุณหภูมิ 15 ° ซ

treatment ที่ 2 คือ อุณหภูมิ 25 ° ซ

treatment ที่ 3 คือ อุณหภูมิห้อง

block ที่ 1 คือ การทดลองครั้งที่ 1

block ที่ 2 คือ การทดลองครั้งที่ 2

โดยตั้งสมมุติฐานว่า

มีอย่างน้อย 1 treatment ที่แตกต่างจาก treatment อื่น

มีอย่างน้อย 1 block ที่แตกต่างจาก block อื่น

วิเคราะห์ความแตกต่างของผลการทดลองแบบ Duncan's New Multiple Range Test = DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3.4.3.1 เตรียมหัวเชื้อเริ่มต้น *Lipomyces* sp. 606 เช่นเดียวกับข้อ3.4.2.1 ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อยีสต์เพื่อผลิตไขมัน(ภาคผนวก ก) ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่เหมาะสม โดยเลือกจากการทดลองที่ 3.4.2 ถ่ายหัวเชื้อเริ่มต้น 5% ลงในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อยีสต์เพื่อผลิตไขมัน ปริมาณ 200 มล. บรรจุอยู่ใน ฟลาสก์ 1,000 มล. 6 ฟลาสก์

3.4.3.2 หมักในสภาพนิ่งที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.3.3 เมื่อครบระยะเวลาการเลี้ยง 120 ชั่วโมง เก็บเกี่ยวโดยการหมุนเหวี่ยงที่ 8,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 °ซ เป็นเวลา 30 นาที ล้างเซลล์ด้วยน้ำกลั่น และหมุนเหวี่ยงอีก 2 ครั้ง

3.4.3.4 นำเซลล์ที่ได้มาบดให้ละเอียด หาปริมาณไขมันภายในเซลล์ น้ำหนักแห้ง และผลผลิตไขมัน (ภาคผนวก ก)

3.4.3.5 ทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 1 – ข้อ 4 โดยใช้อุณหภูมิที่ 15 °ซ และ 25 °ซ ในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิต่ำ

3.4.3.6 ทำการทดลองข้อ 1 – ข้อ 5 ซ้ำอีกครั้ง

3.4.3.7 เปรียบเทียบอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญมากที่สุดเพื่อใช้ในการทดลองขั้น ต่อไป

3.4.4 ศึกษาผลการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักแห้ง ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด(ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ใช้ไป) พีเอช ปริมาณไขมันภายในเซลล์ และผลผลิตไขมันระหว่างการเจริญของเชื้อยีสต์ *Lipomyces* sp. 606

3.4.4.1 เตรียมหัวเชื้อเริ่มต้น *Lipomyces* sp. 606 เช่นเดียวกับข้อ3.4.2.1 ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการเจริญมากที่สุดจากการทดลองที่ 3.4.2 อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญมากที่สุดจากการทดลองที่ 3.4.3 ถ่ายหัวเชื้อเริ่มต้น 5 % ลงในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อยีสต์เพื่อผลิตไขมัน (ภาคผนวก ก) ปริมาณ 200 มล. บรรจุอยู่ในฟลาสก์ 1,000 มล. 6 ฟลาสก์

3.4.4.2 เลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญมากที่สุดจากการทดลองที่ 3.3.3 หมักในสภาพนิ่ง

3.4.4.3 เก็บเกี่ยวที่ระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อ 0 48 96 144 และ 192 ชั่วโมง นำน้ำหมัก 5 มล. ไปหาน้ำหนักแห้ง (ภาคผนวก ก)

3.4.4.4 ทำการทดลองข้อ 1 – ข้อ 4 ซ้ำอีกครั้ง

3.4.4.5 น้ำใสที่ได้นำไปวัดพีเอช วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดโดยวิธี Phenol-Sulfuric acid (ภาคผนวก ก) ส่วนที่เป็นตะกอนนำไปหาปริมาณไขมันภายในเซลล์ และผลผลิตไขมัน

3.4.4.6 เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อกับน้ำหนักแห้ง พีเอช ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ปริมาณไขมันภายในเซลล์ และผลผลิตไขมัน(ภาคผนวก ก)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

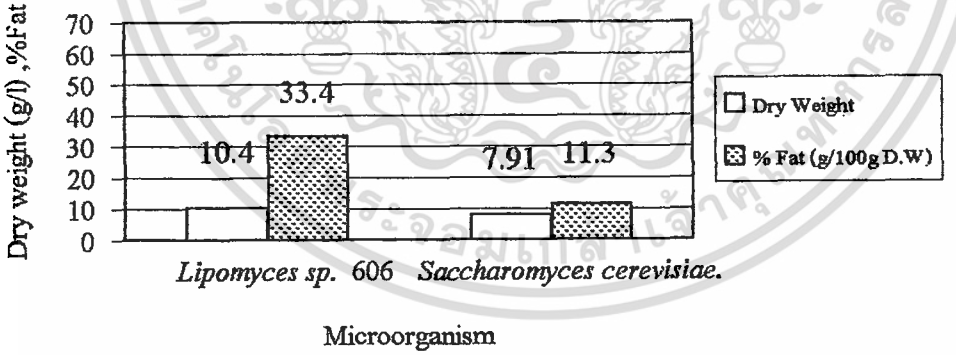
บทที่ 4

ผลและวิจารณ์การทดลอง

4.1 ศึกษาเปรียบเทียบการผลิตไขมันโดยเชื้อ *Lipomyces* sp. 606 และ *Saccharomyces cerevisiae* 281

เมื่อทำการเลี้ยงเชื้อในสภาวะใช้เครื่องเขย่าความเร็ว 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง และอาหารเลี้ยงเชื้ออัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 6:1

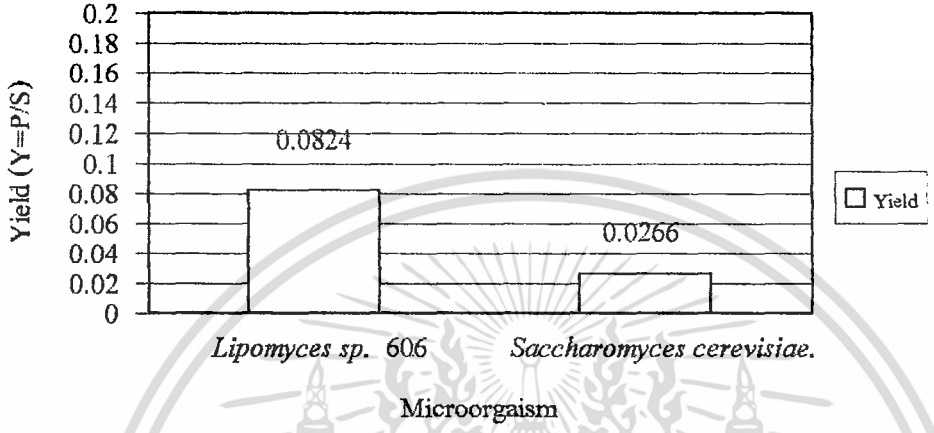
จากภาพที่ 5 *Lipomyces* sp. 606 สามารถผลิตไขมันภายในเซลล์ น้ำหนักแห้งและผลผลิตไขมันได้มากกว่า *Saccharomyces cerevisiae* 281 และมีผลผลิตไขมัน ($Y_{P/S}$ คืออัตราส่วนของไขมันที่ยีสต์สามารถสร้างได้ต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรตไปเป็นจำนวนหนึ่งหรือเป็นปริมาณไขมันที่ยีสต์สร้างได้ต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ยีสต์ใช้ไป) ในภาพที่6มากกว่า แสดงว่า *Lipomyces* sp. 606 เป็นยีสต์ที่มีคุณสมบัติผลิตไขมันสูง ดังนั้นจึงเลือก *Lipomyces* sp. 606 เป็นยีสต์ผลิตไขมันสูงในการทดลองต่อไป



ภาพที่ 5 ผลของน้ำหนักแห้ง(กรัมต่อลิตร)และปริมาณไขมันภายในเซลล์(กรัมต่อร้อยกรัมน้ำหนักแห้ง) โดยเชื้อ *Lipomyces* sp. 606 และ *Saccharomyces cervisiae* 281 เมื่อทำการเลี้ยงเชื้อในสภาวะใช้เครื่อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เขย่าความเร็ว 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา120 ชั่วโมง และอาหารเลี้ยงเชื้ออัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 6:1



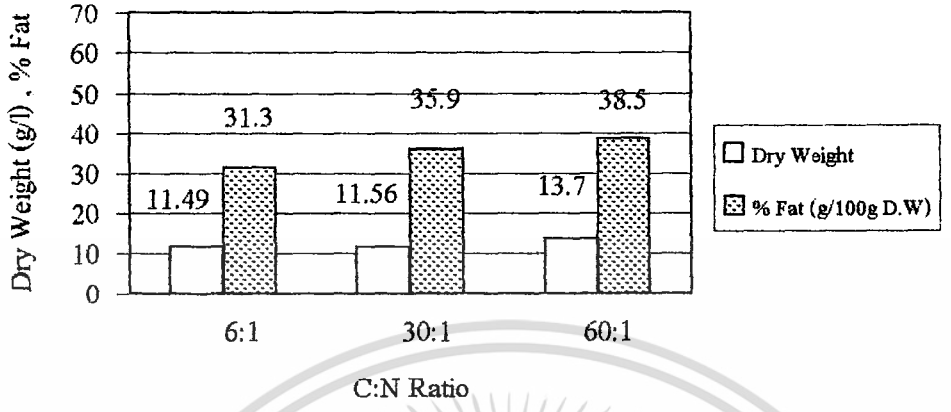
ภาพที่ 6 แสดงผลผลิตไขมัน (yield, $Y_{P/S}$) ที่ผลิตโดยเชื้อ *Lipomyces* sp. 606 และ *Saccharomyces cervisiae* 281 เมื่อทำการเลี้ยงเชื้อในสภาวะใช้เครื่องเขย่าความเร็ว 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา120 ชั่วโมง และอาหารเลี้ยงเชื้ออัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 6:1

4.2 ศึกษาผลของอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน(C:N ratio)ในอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการผลิตไขมันของ *Lipomyces* sp. 606

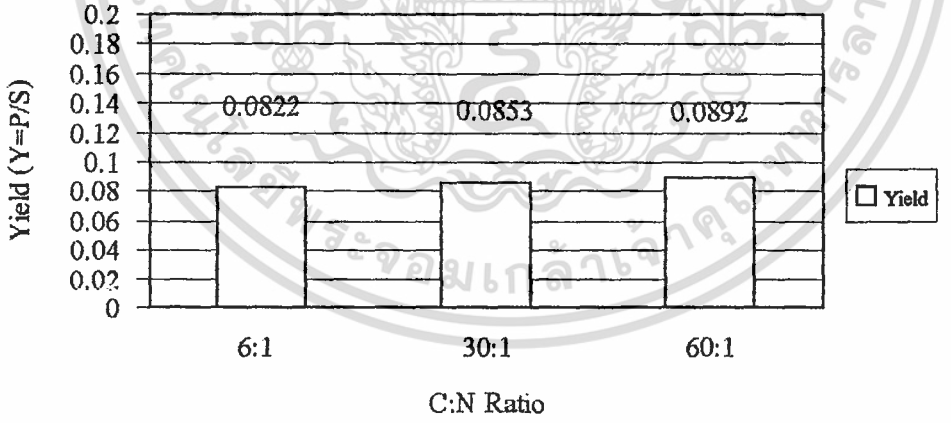
เมื่อทำการเลี้ยงเชื้อในสภาวะเดียวกับ ข้อ 4.1 แต่ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 6:1 30:1 และ 60:1 พบว่าได้ผลดังภาพที่ 7 ปริมาณไขมันภายในเซลล์จะเพิ่มขึ้นตามอัตราส่วนอาหารที่เพิ่มขึ้น อัตราส่วนของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผลิตไขมันได้สูงที่สุด คือ อัตราส่วน 60:1 ในส่วนของน้ำหนักแห้ง ที่อัตราส่วนของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 6:1และ 30:1 น้ำหนักแห้งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นทางสถิติ (ภาคผนวก ค) ผลผลิตไขมันมีค่าสูงขึ้นตามอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่เพิ่มขึ้น อัตราส่วนของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ให้ผลผลิตไขมันสูงสุดคือ 60:1 ตามภาพที่ 8 ดังนั้นจึงใช้อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 60:1 ในการทดลองต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

93592



ภาพที่ 7 ผลของน้ำหนักแห้ง(กรัมต่อลิตร) และปริมาณไขมันภายในเซลล์(กรัมต่อร้อยกรัมน้ำหนักแห้ง)ต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 6:1 30:1 และ 60:1 โดยเชื้อ *Lipomyces* sp. 606 เมื่อเลี้ยงในสภาวะเดียวกับข้อ 4.1



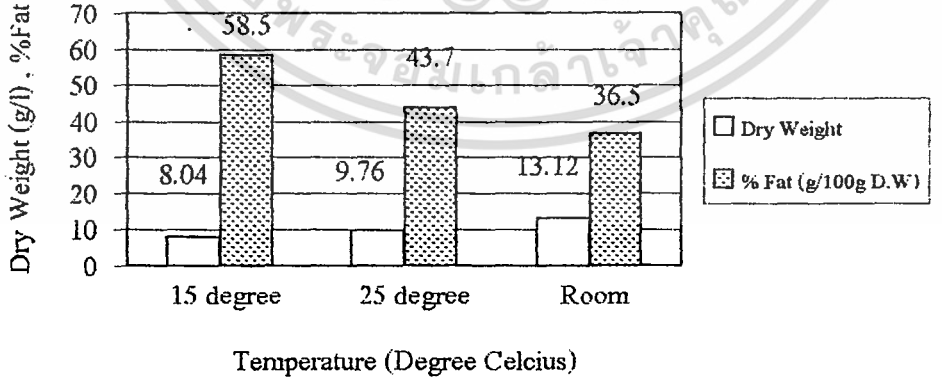
ภาพที่ 8 กราฟแสดงผลผลิต (yield, $Y_{P/S}$)ที่ผลิตโดยเชื้อ *Lipomyces* sp. 606 ต่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 6:1 30:1 และ 60:1 เมื่อทำการเลี้ยงเชื้อในสภาวะเดียวกับข้อ 4.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 การศึกษาผลของอุณหภูมิที่มีผลต่อการเจริญของ *Lipomyces* sp.606

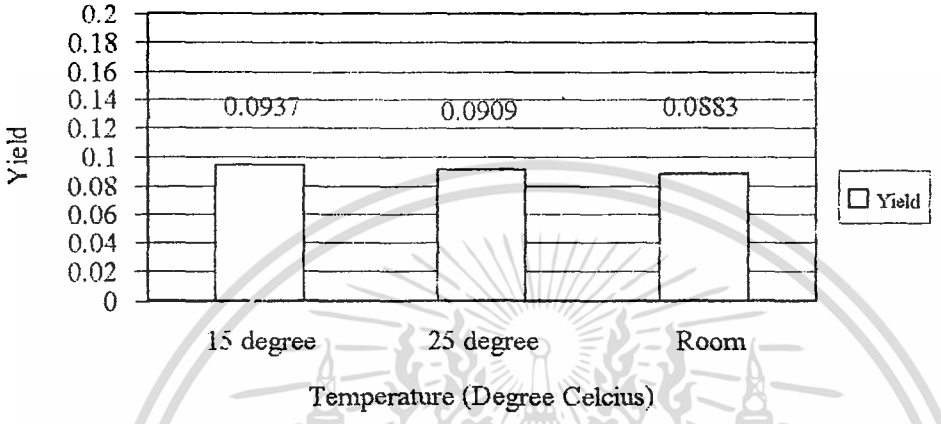
เนื่องจากห้องปฏิบัติการไม่มีเครื่องเขย่าที่สามารถ ควบคุมอุณหภูมิได้ จึงต้องทำการเลี้ยง *Lipomyces* sp.606 ที่สภาพนิ่งในตู้บ่มควบคุมอุณหภูมิ เป็นเวลา120 ชั่วโมง และอาหารเลี้ยงเชื้ออัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 60:1

ภาพที่ 9 เมื่ออุณหภูมิในการเลี้ยง *Lipomyces* sp.606 สูงขึ้นการผลิตไขมันจะลดต่ำลง จะเห็นได้ว่าที่อุณหภูมิ 15°ซ สามารถผลิตไขมันภายในเซลล์ได้มากที่สุด แต่ในกรณีของน้ำหนักแห้ง เมื่ออุณหภูมิในการเลี้ยงเชื้อสูงขึ้น น้ำหนักแห้งจะเพิ่มสูงขึ้นตามไปด้วย คือ การผลิตไขมันภายในเซลล์และน้ำหนักแห้งจะให้ผลเป็นไปในทิศทางที่ตรงข้ามกัน ที่อุณหภูมิต่ำเชื้อจะใช้อาหารไปในการผลิตไขมันสูง แต่มีส่วนนำไปใช้สำหรับการเจริญเติบโตต่ำ ที่อุณหภูมิสูงเชื้อจะใช้อาหารสำหรับการเจริญเติบโตสูง แต่มีส่วนที่นำไปผลิตไขมันต่ำในทิศทางตรงกันข้าม แต่เมื่อนำปริมาณไขมันภายในเซลล์ไปคิดเป็นผลผลิตไขมันดังภาพที่ 10 ปรากฏว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ(ภาคผนวก ค) แสดงว่าอัตราส่วนของการผลิตไขมันต่อคาร์โบไฮเดรตที่ถูกใช้ไปอยู่ในระดับเดียวกันที่ทุกอุณหภูมิ ดังนั้นไม่ว่าจะเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 15°ซ 25°ซหรือ อุณหภูมิห้อง เมื่อเก็บเกี่ยวและสกัดไขมันออกมาจะอยู่ในรูปปริมาณไขมันภายในเซลล์ต่อปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อเปรียบเทียบปริมาณไขมันภายในเซลล์ภายในเซลล์จะเห็นได้ว่า ที่อุณหภูมิห้องมีปริมาณไขมันภายในเซลล์น้อยกว่าที่15°ซ และ 25°ซ แสดงว่าที่อุณหภูมิต่ำยีสต์จะสะสมไขมันภายในเซลล์ได้มากกว่าที่อุณหภูมิสูง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 9 แสดงผลของน้ำหนักแห้ง(กรัมต่อลิตร) และปริมาณไขมันภายในเซลล์(กรัมต่อร้อยกรัมน้ำหนักแห้ง) ที่อุณหภูมิ 15 ° ซ 25 ° ซ และอุณหภูมิห้องโดยเชื้อ *Lipomyces* sp.606 ในสภาพนิ่ง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง อาหารเลี้ยงเชื้ออัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 60:1

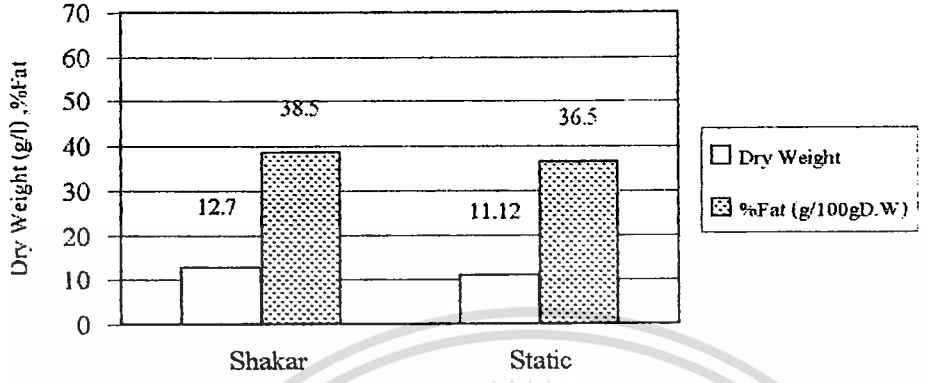


ภาพที่ 10 แสดงผลผลิตไขมัน (yield , $Y_{P/S}$) ที่ผลิตโดยเชื้อ *Lipomyces* sp.606 ที่อุณหภูมิ 15 ° ซ 25 ° ซ และอุณหภูมิห้องโดยเชื้อ *Lipomyces* sp.606 ในสภาพนิ่ง เป็นเวลา120 ชั่วโมง อาหารเลี้ยงเชื้ออัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 60:1

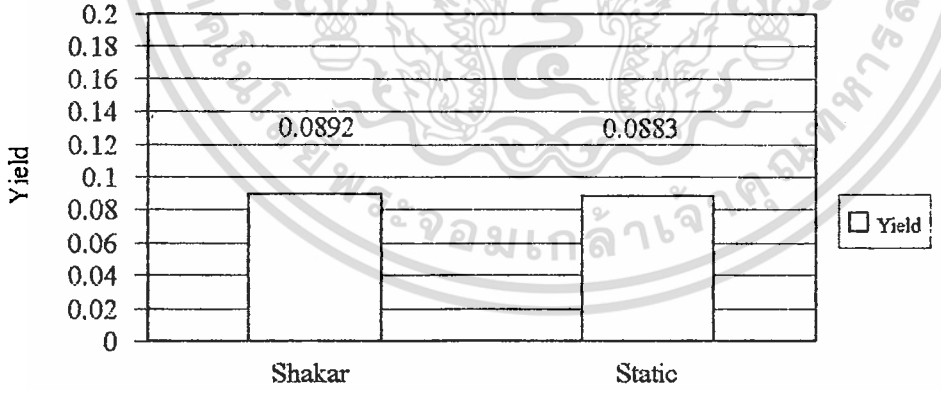
เมื่อเปรียบเทียบกันระหว่างการเลี้ยงเชื้อโดยใช้เครื่องเขย่า ความเร็ว 150 รอบต่อนาที และการเลี้ยงเชื้อในสภาพนิ่งที่อุณหภูมิห้อง จากภาพที่ 11 อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อ 60:1 ปรากฏว่าการเลี้ยงเชื้อโดยใช้เครื่องเขย่ามีปริมาณไขมันภายในเซลล์และน้ำหนักแห้งใกล้เคียงการเลี้ยงในสภาพนิ่ง และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ(ภาคผนวก ค) แต่ผลผลิตไขมันจากภาพที่ 12 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ(ภาคผนวก ค)เนื่องจาก *Lipomyces* sp.606 เป็น จุลินทรีย์ประเภท facultative anaerobe ซึ่งสามารถเจริญได้ดีในการเลี้ยงเชื้อในสภาพนิ่งซึ่งเป็นสภาพที่มีอากาศหรือมีอากาศเล็กน้อยได้ นอกจากนี้ความลึกของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในสภาพนิ่งมีความลึกเพียง 1.5 เซ็นติเมตร ทำให้อากาศสามารถซึมผ่านลงไปถึงก้นฟลาสก์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1576-1



<u>ภาพที่ 11</u> แสดงผลของน้ำหนักแห้ง(กรัมต่อลิตร) และปริมาณไขมันภายในเซลล์(กรัมต่อร้อยกรัมน้ำหนักแห้ง) ที่สภาพการเลี้ยงเชื้อโดยใช้เครื่องเขย่าและสภาพนิ่งของโดยเชื้อ *Lipomyces* sp.606 อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง อาหารเลี้ยงเชื้ออัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 60:1



<u>ภาพที่ 12</u> แสดงผลผลิตไขมัน(yield ,$Y_{P/S}$) ที่สภาพการเลี้ยงเชื้อโดยใช้เครื่องเขย่าและสภาพนิ่งของโดยเชื้อ *Lipomyces* sp.606 อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง อาหารเลี้ยงเชื้ออัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 60:1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ

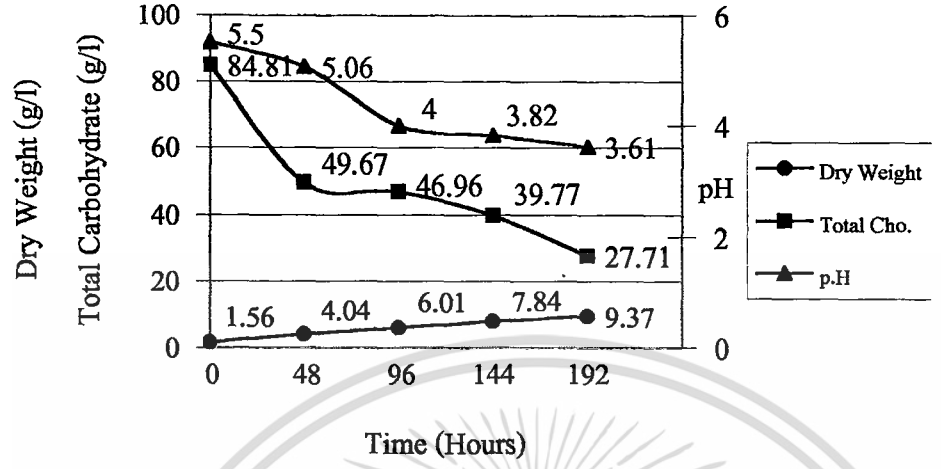
4.4 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักแห้ง ไขมัน พีเอช และปริมาณคาร์โบไฮเดรตในระยะเวลาต่างๆ ระหว่างการเลี้ยง *Lipomyces* sp. 606

เมื่อได้อัตราส่วนของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 60:1 อุณหภูมิในการเลี้ยงเชื้อ 15 °ซ ในสภาพนิ่งและพีเอช 5.5

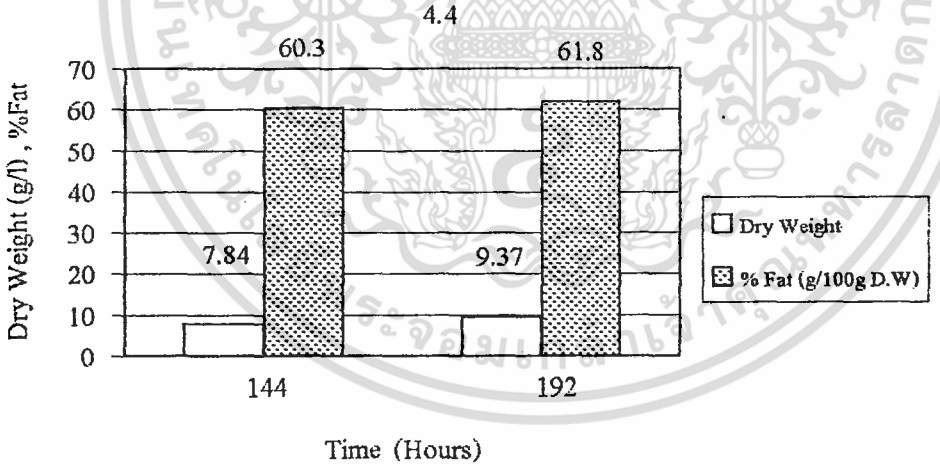
จากภาพที่13 เมื่อครบ 48 ชั่วโมงจะเห็นว่า ปริมาณคาร์โบไฮเดรต จะลดลงอย่างรวดเร็ว ประมาณ 35 กรัมต่อลิตร ในขณะเดียวกัน *Lipomyces* sp.606 จะมีการเจริญเนื่องจากปริมาณน้ำหนักแห้งเพิ่มขึ้นจาก 1.56 กรัมต่อลิตร ไปเป็น 4.04 กรัมต่อลิตร ส่วน พีเอช จะลดลงเพียงเล็กน้อยเมื่อครบ 96 ชั่วโมง พีเอช จะลดลงอย่างรวดเร็ว แต่ ปริมาณคาร์โบไฮเดรตลดลงไม่มากนัก และเมื่อครบระยะเวลาการเลี้ยง 192 ชั่วโมง ปริมาณคาร์โบไฮเดรตจะลดลงมาเหลือ 27.71 กรัมต่อลิตร มีแนวโน้มที่จะลดลงไปได้อีก น้ำหนักแห้งมีค่า 9.37 กรัมต่อลิตร มีแนวโน้มว่าจะเพิ่มขึ้นได้ และค่าพีเอช มีค่า 3.61 มีแนวโน้มที่จะลดลงมาได้อีก

จากภาพที่ 14 การผลิตไขมันภายในเซลล์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ(ภาคผนวก ค) แสดงว่าปริมาณไขมันภายในเซลล์ยีสต์ที่ 144 และ 192 ชั่วโมงมีปริมาณเท่ากัน แต่น้ำหนักแห้งและผลผลิตไขมันจากภาพที่ 15 ที่เวลา 192 ชั่วโมง สูงกว่าที่เวลา 144 ชั่วโมง แสดงว่ายีสต์ยังคงมีการเจริญ การเจริญยังไม่ถึงระยะคงที่(stationary phase) เนื่องจากที่อุณหภูมิต่ำเชื้อเจริญได้ช้า ที่เวลา 192 ชั่วโมง ได้ปริมาณไขมันภายในเซลล์ 61.8 กรัมต่อร้อยกรัมน้ำหนักแห้ง ปริมาณเซลล์ 9.37 กรัมต่อลิตรและมีผลผลิตไขมัน 0.1133

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

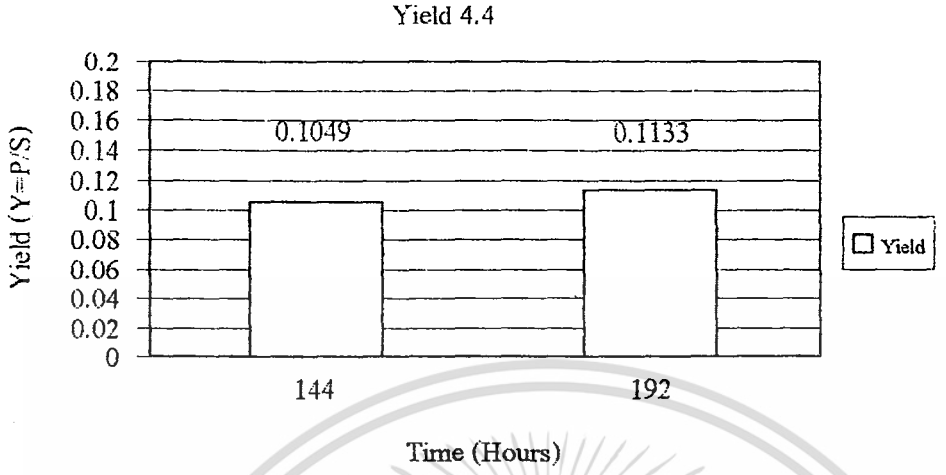


ภาพที่ 13 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักแห้ง(กรัมต่อลิตร) พีเอช และปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่เหลือ(กรัมต่อลิตร)ในระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อ 192 ชั่วโมงโดยเชื้อ *Lipomyces* sp.606 ในสภาพนิ่ง ที่อุณหภูมิ 15°ซ และอาหารเลี้ยงเชื้ออัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 60:1



ภาพที่ 14 แสดงผลของปริมาณไขมันภายในเซลล์(กรัมต่อร้อยกรัมน้ำหนักแห้ง)กับน้ำหนักแห้ง(กรัมต่อลิตร)ที่เวลา 144 และ 192 ชั่วโมงโดย โดยเชื้อ *Lipomyces* sp.606 ในสภาพนิ่ง ที่อุณหภูมิ 15°ซ และอาหารเลี้ยงเชื้ออัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 60:1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



<u>ภาพที่ 15</u> แสดงผลผลิตไขมัน (yield ,$Y_{P/S}$) ที่เวลา 144 และ 192 ชั่วโมงโดย โดยเชื้อ *Lipomyces* sp.606 ในสภาพนิ่ง ที่อุณหภูมิ 15 ° ซ และอาหารเลี้ยงเชื้ออัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 60:1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

1. เชื้อ *Lipomyces* sp.606 สามารถเจริญและผลิตไขมันได้มากกว่า *Saccharomyces cerevisiae* 281 แสดงว่า *Lipomyces* sp.606 เป็นยีสต์ผลิตไขมันสูง
2. ปริมาณไขมันภายในเซลล์ การเจริญ และผลผลิตไขมันจะแปรตามอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อ
3. ปริมาณไขมันภายในเซลล์แปรผันกลับกับอุณหภูมิ ส่วนการเจริญจะแปรผันตามอุณหภูมิ แต่อุณหภูมิจะไม่มีผล
4. เชื้อ *Lipomyces* sp.606 สามารถผลิตไขมันภายในเซลล์และเจริญในสภาพนิ่งได้ใกล้เคียงกับการเลี้ยงเชื้อในสภาพเขย่า
5. เชื้อ *Lipomyces* sp.606 สามารถผลิตไขมันภายในเซลล์ได้ร้อยละ 61.8 เจริญ 9.37 กรัมต่อลิตร และมีผลผลิตไขมัน 0.1133 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 60:1 ที่อุณหภูมิ 15°ซ ในสภาพนิ่ง

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการทดลองทำการหมักในสภาพนิ่งเพียงอย่างเดียว
2. ควรมีการทดลองทำการเลี้ยงเชื้อในสภาพนิ่งเปรียบเทียบกับการเลี้ยงเชื้อโดยใช้เครื่องเขย่ากำหนดให้มีปริมาตรอาหารที่เท่ากัน
3. ควรเพิ่มความถี่ในการเก็บเกี่ยวและกำหนดระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อให้นานกว่าเดิมในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงระหว่างการเจริญของเชื้อ *Lipomyces* sp.606
4. ในการเลี้ยงเชื้อในอาหารที่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 6:1 30:1 และ 60:1 พบว่าการผลิตไขมันจะเพิ่มตามอัตราส่วนที่เพิ่มขึ้น แต่ยังไม่มีการทดลองยืนยันว่าถ้าเลี้ยงในอาหารที่มีอัตราส่วนสูงกว่านี้ การผลิตไขมันจะเพิ่มขึ้นได้มากเท่าใด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. เมื่อเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 15°ซ 25°ซ และที่อุณหภูมิห้อง พบว่าการผลิตไขมันจะเพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิที่ลดลง แต่ยังไม่มีการทดลองยืนยันว่าถ้าเลี้ยงในอุณหภูมิต่ำกว่า 15°ซ การผลิตไขมันจะเพิ่มขึ้นได้มากเท่าใด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

บุญเทียม พันธุ์เพ็ง. 2541. บทปฏิบัติการเคมีวิเคราะห์การหมัก. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

สกล พันธุ์ยิ้ม และ คณะ. 2516. ชีวเคมี. ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

สิริภัค สระตันติ์.2434. ปฏิบัติการชีวเคมีเบื้องต้น. ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

อพัชชา วงศ์เจริญสถิตย์. 2541. คู่มือปฏิบัติการวิชาระบบชีวกายภาพ และการเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

Dostalek,M. 1986. Production of lipid from starch by nitrogen-controlled mixed culture of *Sacchsromycopsis fibuliger* and *Rhodosporidium toruloides*. **Applied Microbiology and biotechnology**.24:19-23

Klye,D.J.and Ratledge,C. 1992. Introduction. Industrial **Application of Single Cell Oils**.pp.1-2.

Ratledge,C. and Evan,C.T. 1989.2nd ed. Lipid and their metabolism. **The Yeasts**.3:367-455.

Ratledge,C. Lipids. In **Biotechnology, Vol. 4**, H. J. Rehm และ G. Reed (Eds.). VCH, Weinheim, 1986, pp. 185 – 213.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

อาหารเลี้ยงเชื้อ

สูตรอาหาร YM agar (สำหรับทำกล้าเลี้ยงเชื้อ)

agar	15.0	กรัม
malt extract	3.0	กรัม
yeast extract	3.0	กรัม
dextrose	1.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มล.

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อยีสต์เพื่อผลิตไขมัน (พีเอช 5.5)

yeast extract	2.0	กรัม
glucose	20.0	กรัม
soluble starch	30.0	กรัม
KH_2PO_4	7.0	กรัม
$CaCl_2$	0.2	กรัม
NH_4Cl	2.5	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	กรัม
แร่ธาตุ		
$FeCl_3$	0.5	มล./ลิตร
$CuSo_4.5H_2O$	0.5	มล./ลิตร
$ZnSo_4.7H_2O$	0.7	มล./ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีวิเคราะห์

การสกัดไขมัน (วิธี AOAC) (สิริภัค.2534)

วิธี Acid hydrolysis

1. ตัวอย่าง 5 กรัม (ชั่งละเอียด) ในบีกเกอร์ 50 มล. เติมอัลกอฮอล์ 90% ลงไป 5 มล. คนให้ส่วนผสมทั้งหมดเปียกชื้นเพื่อป้องกันการกระเด็นตอนเติมกรด

2. เติมสารละลาย HCl (HCl 25มล. ในน้ำ 11 มล.) 25 มล. ผสมให้ทั่ว นำไปวางใน water bath ที่อุณหภูมิ 70 – 80°ซ คนให้เข้ากัน 30 – 40 นาที ติมอัลกอฮอล์ 90% ลงไป 25 มล. นำไปทำให้เย็น

3. นำส่วนผสมทั้งหมดใส่ลงในกรวยสกัด เติม ether ลงไป 50 มล. (รินส์ให้สารที่สกัดไม่ติดตามข้างกรวย) เขย่าแรงๆ 1 นาที

4. วางทิ้งไว้จนกระทั่งของเหลวเกิดส่วนใสด้านบน หรือหมุนเหวี่ยง 20 นาที ที่ 600รอบต่อนาที

5. ไขก๊อกให้ส่วน ether – fat solution ออกไปให้ได้มากที่สุด ผ่านแผ่นสำลีช้าๆ ลงในบีกเกอร์ไขมัน (บีกเกอร์นำไปอบ 100°ซ จนกว่าน้ำหนักคงที่ โดยใส่ boiling chip ลงไปด้วย)

6. ทำการสกัดอีก 2 ครั้ง แต่ละครั้งเติม ether ลงไป 50 มล. เขย่าแรงๆ ไขลงในบีกเกอร์ไขมันใบเดิม

7. นำบีกเกอร์ไขมันไปทำการสกัดไขมันที่เครื่อง soxtherm ต่อไป

เมื่อสกัดแล้ว นำบีกเกอร์ไขมันไปอบ 30 นาที 80 °ซ เพื่อไล่ ether ออกให้หมด ปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วคำนวณหาน้ำหนักของ Crude fat

การคำนวณ

ปริมาณไขมันภายในเซลล์ในเชื้อยีสต์สามารถคำนวณได้ 2 วิธีคือ

1. น้ำหนักไขมัน = น้ำหนักบีกเกอร์ที่มีไขมันที่สกัดได้ – น้ำหนักบีกเกอร์เปล่า
2. น้ำหนักไขมัน = น้ำหนักเชื้อยีสต์ก่อนสกัด – น้ำหนักเชื้อยีสต์หลังสกัด

น้ำหนักไขมันที่คำนวณได้จากวิธีที่ 1 และวิธีที่ 2 ควรเท่ากันหรือใกล้เคียงกัน

$$\text{ร้อยละไขมันในยีสต์} = \frac{\text{น้ำหนักไขมัน (กรัม) X 100}}{\text{น้ำหนักของแห้งเชื้อยีสต์ก่อนการสกัด}}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การหาน้ำหนักแห้ง (Dry weigth) ของยีสต์ (อ. อพัชชา.2541)

1. เตรียมจานอลูมิเนียมที่ทำจาก Aluminium foil อบแห้งที่อุณหภูมิ 105 °ซ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และทราบน้ำหนักที่แน่นอนจำนวน 2 จาน

2. ดูดน้ำหมัก 5 มล. นำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ริน ส่วนใส (Supernatant) ส่วนบนทิ้ง

3. เติมน้ำกลั่น 5 มล. แล้วหมุนเหวี่ยงอีก 2 ครั้ง

4. นำเชื้อยีสต์ที่ได้ใส่ในจานอลูมิเนียม อบที่อุณหภูมิ 105 °ซ เป็นเวลา 20 - 24 ชั่วโมง

5. ปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น

6. คำนวณหาน้ำหนักแห้ง

$$\text{น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)} = \frac{\text{น้ำหนักจานอลูมิเนียมและเซลล์แห้ง} - \text{น้ำหนักจานอลูมิเนียม (กรัม)}}{\text{ปริมาตรน้ำหนัก (มล.)}} \times 100$$

การวิเคราะห์ความชื้น (Moisture) (บุญเทียม.2541)

วิธีวิเคราะห์เชื้อยีสต์

1. บดเชื้อยีสต์ให้เป็นผงก่อนการวิเคราะห์

2. ใส่เชื้อยีสต์ 2 – 3 กรัม ที่ชั่งน้ำหนักแน่นอนทศนิยม 4 ตำแหน่ง (W_1) ไว้แล้ว

3. เกลี่ยเชื้อยีสต์ให้กระจายออกจากกัน ชั่งน้ำหนักแน่นอนทศนิยม 4 ตำแหน่ง (W_2)

4. นำไปอบที่ตู้อบ (oven) โดยใช้อุณหภูมิ 70* ซ เป็นเวลา 5 ชั่วโมง

5. ปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น 2 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนทศนิยม 4 ตำแหน่ง (W_3)

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณความชื้น (\% Moisture)} = \frac{W2 - W3}{W2 - W1} \times 100$$

ต้องอบจนได้น้ำหนักคงที่

หลังจากอบเชื้อยีสต์แล้ว ต้องเก็บไว้ในโถดูดความชื้นจนกว่าจะทำการชั่ง เพื่อไม่ให้เชื้อยีสต์ดูดความชื้นกลับคืนอีก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวิเคราะห์น้ำตาลทั้งหมดโดยวิธี Phenol – Sulfuric acid (บุญเทียม.2541)

การวิเคราะห์น้ำตาลทั้งหมด(Total Sugar) คือการวิเคราะห์น้ำตาลทุกชนิดที่มีอยู่ในตัวอย่าง โดย monosaccharide oligosaccharide polysaccharide และอนุพันธ์ของน้ำตาลเหล่านี้ รวมถึง methyl ester ซึ่งมีหมู่รีดิวส์อิสระ หรือได้หมู่รีดิวส์อิสระภายหลังที่ถูกไฮโดรไลซ์เป็น monosaccharide โดยกรดซัลฟูริกเข้มข้นจะไฮโดรไลซ์ glycosidic linkage แล้วเกิดปฏิกิริยา dehydration ของ monosaccharide ทำให้เกิดอนุพันธ์ของ furfural เมื่อทำปฏิกิริยากับ phenol จะให้สารที่มีสีเหลืองส้ม ซึ่งสามารถวัดปริมาณได้โดยใช้เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์

ในการวิเคราะห์ด้วยวิธีนี้ น้ำตาลต่างชนิดกัน คือ aldose ketose และ alduric acid จะให้สีมีความเข้มแตกต่างกัน สารอื่นๆ เช่น โปรตีน cysteine สารรีดิวส์อื่นที่ไม่ใช่คาร์โบไฮเดรต โลหะหนัก และ azide ที่มีอยู่ในตัวอย่างจะสอดแทรก (interfere) ปฏิกิริยาในการวิเคราะห์ด้วยวิธีนี้ อย่างไรก็ตาม วิธีนี้ยังคงมีประโยชน์ เนื่องจากรวดเร็วและไม่จำเพาะเจาะจงกับชนิดของคาร์โบไฮเดรต

วิธีนี้ใช้วัดปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในรูปของกลูโคสอยู่ในช่วง 1 – 60 ไมโครกรัม ในสารละลายตัวอย่าง 200 ไมโครลิตร

สารเคมี

1. กรดซัลฟูริกเข้มข้น 95.5% ความถ่วงจำเพาะ 1.84
2. ฟีนอลชนิด redistilled reagent grade

การเตรียมน้ำยา

สารละลายฟีนอล 5 กรัม ในบีกเกอร์ เติมน้ำกลั่น 95 กรัม ใช้แท่งแก้วคนให้ละลาย

วิธีวิเคราะห์

1. เตรียมน้ำใสที่ได้จากการหมุนเหวี่ยงให้มีปริมาณน้ำตาลประมาณ 10 – 70 ไมโครกรัมต่อ มล.
2. ปิเปตน้ำใสที่ได้จากการหมุนเหวี่ยง 1 มล. ใส่ในหลอดทดสอบแล้วเติมสารละลายฟีนอล 5% 1 มล. เขย่าให้เข้ากัน
3. เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 5 มล. โดยปล่อยให้กรดซัลฟูริกไหลลงบนผิวของสารละลายในหลอดทดสอบโดยตรง เพื่อให้มีการผสมที่ดีและรวดเร็ว อย่าปล่อยให้กรดซัลฟูริกไหลลงตามข้างหลอด ระวังสารละลายในหลอดร้อน ห้ามเขย่าหลอด
4. ตั้งหลอดทิ้งไว้ 10 นาที แล้วเขย่าให้เข้ากัน
5. นำหลอดวัดการดูดกลืนแสง ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร สำหรับการวิเคราะห์น้ำตาล Hexose และ 480 นาโนเมตร สำหรับการวิเคราะห์น้ำตาล Pentose และกรด Uronic
6. สำหรับ blank ให้เตรียมโดยใช้น้ำกลั่นแทนน้ำใสที่ได้จากการหมุนเหวี่ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. น้ำใสที่ได้จากการหมุนเหวี่ยง เมื่อวัดค่าดูดกลืนแสงแล้ว ให้นำมาเทียบกับกราฟมาตรฐานตามชนิดของน้ำตาลที่ต้องการวิเคราะห์ในน้ำใสที่ได้จากการหมุนเหวี่ยง

การหาสมการของกราฟมาตรฐาน

1. เตรียมสารละลายมาตรฐาน stock solution ของน้ำตาลกลูโคส โดยละลายน้ำตาลกลูโคส 0.04 กรัม ผ่านขวดตวงปริมาตรขนาด 100 มล. เติมน้ำกลั่นจนถึงปริมาตร สารละลายน้ำตาลกลูโคสที่ได้นี้จะมีความเข้มข้น 400 ไมโครกรัมต่อมล.

2. เจือจาง stock solution ของสารละลายน้ำตาลกลูโคสด้วยน้ำกลั่น ให้ได้ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส 0 16 32 48 64 และ 80 ไมโครกรัมต่อมล.

3. ทำต่อไปเช่นเดียวกับการวิเคราะห์น้ำใสที่ได้จากการหมุนเหวี่ยง

4. นำค่าดูดกลืนแสงที่วัดได้กับค่าความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสมาคำนวณหาสมการของกราฟมาตรฐานโดยวิธี Linear regression

5. แทนค่าดูดกลืนแสงของเชื้อยีสต์ในสมการของกราฟมาตรฐาน จะได้ความเข้มข้นของน้ำตาล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

ตารางที่ 1 ตารางแสดงผลของปริมาณไขมันภายในเซลล์(กรัมต่อร้อยกรัมน้ำหนักแห้ง) น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร) และผลผลิตไขมัน โดยเชื้อ *Lipomyces* sp. 606 และ*Saccharomyces cerevisiae* 281เมื่อทำการเลี้ยงเชื้อในสภาวะใช้เครื่องเขย่าความเร็ว 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง และอาหารเลี้ยงเชื้ออัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 6:1

จุลินทรีย์	ปริมาณไขมันภายในเซลล์ (กรัมต่อร้อยกรัมน้ำหนักแห้ง)	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)	ผลผลิตไขมัน
Lipomyces sp.606	33.4	10.40	0.0824
Saccharomyces cerevisiae 281	11.3	7.91	0.0266

ตารางที่ 2 ตารางแสดงผลของปริมาณไขมันภายในเซลล์ (กรัมต่อร้อยกรัมน้ำหนักแห้ง) น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร) และผลผลิตไขมัน ของอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 6:1 30:1 และ 60:1โดยเชื้อ *Lipomyces* sp.606 เมื่อเลี้ยงในสภาวะใช้เครื่องเขย่าความเร็ว 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง

อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน	ปริมาณไขมันภายในเซลล์ (กรัมต่อร้อยกรัมน้ำหนักแห้ง)	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)	ผลผลิตไขมัน
6:1	31.3	11.49	0.0822
30:1	35.9	11.56	0.0853
60:1	38.5	13.7	0.0892

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 ตารางแสดงผลของปริมาณไขมันภายในเซลล์(กรัมต่อร้อยกรัมน้ำหนักแห้ง) น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)และผลผลิตไขมันที่อุณหภูมิ15°ซ 25°ซ และอุณหภูมิห้องโดยเชื้อ *Lipomyces* sp.606 ในสภาพนิ่ง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง อาหารเลี้ยงเชื้อมีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 60:1

อุณหภูมิ (°ซ)	ปริมาณไขมันภายในเซลล์ (กรัมต่อร้อยกรัมน้ำหนักแห้ง)	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)	ผลผลิตไขมัน
15	58.5	8.04	0.0937
25	43.7	9.76	0.0909
ห้อง	36.5	13.12	0.0883

ตารางที่4 ตารางแสดงผลของปริมาณไขมันภายในเซลล์(กรัมต่อร้อยกรัมน้ำหนักแห้ง) น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร) และผลผลิตไขมันที่สภาพการเลี้ยงเชื้อ โดยใช้เครื่องเขย่าและสภาพนิ่งโดยเชื้อ *Lipomyces* sp.606 อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง อาหารเลี้ยงเชื้ออัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 60:1

สภาวะ	ปริมาณไขมันภายในเซลล์ (กรัมต่อร้อยกรัมน้ำหนักแห้ง)	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)	ผลผลิตไขมัน
เครื่องเขย่า	38.5	12.7	0.0892
สภาพนิ่ง	36.5	11.2	0.0883

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 ตารางแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร) ปริมาณคาร์โบไฮเดรต(กรัมต่อลิตร) และพีเอช ระยะเวลาเลี้ยงเชื้อ 192 ชั่วโมงโดยเชื้อ *Lipomyces* sp.606 ในสภาพนิ่ง อุณหภูมิ 15° ซ อาหารเลี้ยงเชื้ออัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 60:1

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)	พีเอช
0	84.81	1.56	5.50
48	49.67	4.04	5.06
96	46.96	6.01	4.00
144	39.77	7.87	3.82
192	27.71	9.37	3.61

ตารางที่ 6 ตารางแสดงผลของปริมาณไขมันภายในเซลล์(กรัมต่อร้อยกรัมน้ำหนักแห้ง) น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร) และผลผลิตไขมันที่ระยะเวลาเลี้ยงเชื้อ 144 และ 192 ชั่วโมงโดยเชื้อ *Lipomyces* sp.606 ในสภาพนิ่ง อุณหภูมิ 15° ซ อาหารเลี้ยงเชื้ออัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 60:1

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณไขมันภายในเซลล์ (กรัมต่อร้อยกรัมน้ำหนักแห้ง)	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)	ผลผลิตไขมัน
0	-	1.56	-
48	-	4.04	-
96	-	6.01	-
144	60.3	7.84	0.1049
192	61.8	9.37	0.1133

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

การทดสอบความแตกต่างทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่1 การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณไขมันภายในเซลล์ ระหว่าง *Lipomyces* sp.606 และ *Saccharomyces cerevisiae* 281 เมื่อทำการเลี้ยงเชื้อในสภาวะใช้เครื่องเขย่าความเร็ว 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง อาหารเลี้ยงเชื้ออัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 6:1

ANOVA[a]

			Experimental Method				
			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
% Fat	Main Effects	(Combined)	983.655	4	245.914	302.705	.000
		Microorganism	982.472	1	982.472	1209.366	.000
		Time	1.182	3	.394	.485	.716
	Model		983.655	4	245.914	302.705	.000
	Residual		2.437	3	.812		
	Total		986.092	7	140.870		

a. % Fat by Microorganism, Time

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณไขมันภายในเซลล์โดยการวิเคราะห์ข้อมูลด้วย spss

Prob (Sig.) > 0.05

ชนิดของจุลินทรีย์ไม่ทำให้เกิดความแตกต่างของค่าเฉลี่ยปริมาณไขมันภายในเซลล์

Prob (Sig.) < 0.05

ชนิดของจุลินทรีย์ทำให้เกิดความแตกต่างของค่าเฉลี่ยปริมาณไขมันภายในเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 2 การวิเคราะห์ทางสถิติของผลผลิตไขมันระหว่าง *Lipomyces* sp.606 และ *Saccharomyces cerevisiae* 281 เมื่อทำการเลี้ยงเชื้อในสภาวะใช้เครื่องเขย่าความเร็ว 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง อาหารเลี้ยงเชื้ออัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 6:1

ANOVA[a]

			Experimental Method				
			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Yield	Main Effects	(Combined)	6.295E-03	4	1.574E-03	338.118	.000
		Microorganism	6.289E-03	1	6.289E-03	1351.101	.000
		Time	6.374E-06	3	2.125E-06	.456	.732
	Model		6.295E-03	4	1.574E-03	338.118	.000
	Residual		1.396E-05	3	4.655E-06		
	Total		6.309E-03	7	9.013E-04		

a. Yield by Microorganism, Time

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยผลผลิตไขมันโดยการวิเคราะห์ข้อมูลด้วย spss

Prob (Sig.) > 0.05

ชนิดของจุลินทรีย์ไม่ทำให้เกิดความแตกต่างของค่าเฉลี่ยผลผลิตไขมัน

Prob (Sig.) < 0.05

ชนิดของจุลินทรีย์ทำให้เกิดความแตกต่างของค่าเฉลี่ยผลผลิตไขมัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>ตารางภาคผนวกที่3</u> การวิเคราะห์ทางสถิติของน้ำหนักแห้งระหว่าง *Lipomyces* sp.606 และ *Saccharomyces cerevisiae* 281 เมื่อทำการเลี้ยงเชื้อในสภาวะใช้เครื่องเขย่าความเร็ว 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง อาหารเลี้ยงเชื้ออัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 6:1

ANOVA[a]

			Experimental Method				
			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Dry Weight	Main Effects	(Combined)	7.467	4	1.867	6.036	.086
		Microorganism	5.780	1	5.780	18.691	.023
		Time	1.687	3	.562	1.818	.318
	Model		7.467	4	1.867	6.036	.086
	Residual		.928	3	.309		
	Total		8.394	7	1.199		

a. Dry Weight by Microorganism, Time

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งโดยการวิเคราะห์ข้อมูลด้วย spss

Prob (Sig.) > 0.05

ชนิดของจุลินทรีย์ไม่ทำให้เกิดความแตกต่างของน้ำหนักแห้ง

Prob (Sig.) < 0.05

ชนิดของจุลินทรีย์ทำให้เกิดความแตกต่างของน้ำหนักแห้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>ตารางภาคผนวกที่ 4</u> การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณไขมันภายในเซลล์ภายในเซลล์ โดยใช้อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 6:1 30:1 และ60:1 โดยเชื้อ *Lipomyces* sp.606 เมื่อเลี้ยงในสภาวะใช้เครื่องเขย่าความเร็ว 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง

ANOVA[a]

			Experimental Method				
			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
%Fat	Main Effects	(Combined)	109.563	5	21.913	21.988	.001
		C:N Ratio	106.577	2	53.289	53.473	.000
		Time	2.985	3	.995	.999	.455
	Model		109.563	5	21.913	21.988	.001
	Residual		5.979	6	.997		
	Total		115.542	11	10.504		

a. %Fat by C:N Ratio, Time

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณไขมันภายในเซลล์โดยการวิเคราะห์ข้อมูลด้วย spss

Prob (Sig.) > 0.05

อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อไม่ทำให้เกิดความแตกต่างของค่าเฉลี่ยปริมาณไขมันภายในเซลล์

Prob (Sig.) < 0.05

อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อทำให้เกิดความแตกต่างของค่าเฉลี่ยปริมาณไขมันภายในเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>ตารางภาคผนวกที่ 5</u> การวิเคราะห์ทางสถิติของผลผลิตไขมัน โดยใช้อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 6:1 30:1 และ60:1 ต่อการผลิตไขมันของ *Lipomyces* sp.606 เมื่อเลี้ยงในสภาวะใช้เครื่องเขย่าความเร็ว 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง ระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อ 120 ชั่วโมง

ANOVA[a]

			Experimental Method				
			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Yield	Main Effects	(Combined)	1.161E-04	5	2.322E-05	3.523	.079
		C:N Ratio	9.662E-05	2	4.831E-05	7.329	.025
		Time	1.949E-05	3	6.498E-06	.986	.460
	Model		1.161E-04	5	2.322E-05	3.523	.079
	Residual		3.955E-05	6	6.592E-06		
	Total		1.557E-04	11	1.415E-05		

a. Yield by C:N Ratio, Time

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยผลผลิตไขมันโดยการวิเคราะห์ข้อมูลด้วย spss

Prob (Sig.) > 0.05

อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อ ไม่ทำให้เกิดความแตกต่างของผลผลิตไขมัน

Prob (Sig.) < 0.05

อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อทำให้เกิดความแตกต่างของผลผลิตไขมัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>ตารางภาคผนวกที่ 6</u> การวิเคราะห์ทางสถิติของน้ำหนักแห้ง โดยใช้อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 6:1 30:1 และ60:1 ต่อการผลิตไขมันของ *Lipomyces* sp.606 เมื่อเลี้ยงในสภาวะใช้เครื่องเขย่าความเร็ว 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง

ANOVA[a]

			Experimental Method				
			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Dry Weight	Main Effects	(Combined)	4.162	5	.832	4.061	.059
		C:N Ratio	3.691	2	1.846	9.005	.016
		Time	.470	3	.157	.765	.554
	Model		4.162	5	.832	4.061	.059
	Residual		1.230	6	.205		
	Total		5.391	11	.490		

a. Dry Weight by C:N Ratio, Time

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้ง โดยการวิเคราะห์ข้อมูลด้วย spss

Prob (Sig.) > 0.05

อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อไม่ทำให้เกิดความแตกต่างของน้ำหนักแห้ง

Prob (Sig.) < 0.05

อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อทำให้เกิดความแตกต่างของน้ำหนักแห้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 7 การวิเคราะห์ทางสถิติของน้ำหนักแห้งโดยใช้อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 6:1 และ 30:1 ต่อการผลิตไขมันของ *Lipomyces* sp.606 เมื่อเลี้ยงในสภาวะใช้เครื่องเขย่าความเร็ว 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง

ANOVA[a]

			Experimental Method				
			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Dry Weight	Main Effects	(Combined)	.308	4	7.693E-02	.887	.562
		C:N Ratio	9.800E-03	1	9.800E-03	.113	.759
		Time	.298	3	9.930E-02	1.144	.457
	Model		.308	4	7.693E-02	.887	.562
	Residual		.260	3	8.677E-02		
	Total		.568	7	8.114E-02		

a. Dry Weight by C:N Ratio, Time

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้ง โดยการวิเคราะห์ข้อมูลด้วย spss

Prob (Sig.) > 0.05

อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อไม่ทำให้เกิดความแตกต่างของน้ำหนักแห้ง

Prob (Sig.) < 0.05

อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อทำให้เกิดความแตกต่างของน้ำหนักแห้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 8 การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณไขมันภายในเซลล์ภายในเซลล์ที่อุณหภูมิ 15°ซ 25°ซ และอุณหภูมิห้อง โดยเชื้อ *Lipomyces* sp.606 ในสภาพนิ่ง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง อาหารเลี้ยงเชื้อมีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 60:1

ANOVA[a]

			Experimental Method				
			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
%Fat	Main Effects	(Combined)	1056.354	5	211.271	91.731	.000
		Temperature	1055.855	2	527.928	229.220	.000
		Time	.499	3	.166	.072	.973
	Model		1056.354	5	211.271	91.731	.000
	Residual		13.819	6	2.303		
	Total		1070.173	11	97.288		

a. %Fat by Temperature, Time

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณไขมันภายในเซลล์โดยการวิเคราะห์ข้อมูลด้วย spss

Prob (Sig.) > 0.05

อุณหภูมิไม่ทำให้เกิดความแตกต่างของค่าเฉลี่ยปริมาณไขมันภายในเซลล์

Prob (Sig.) < 0.05

อุณหภูมิทำให้เกิดความแตกต่างของค่าเฉลี่ยปริมาณไขมันภายในเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>ตารางภาคผนวกที่ 9</u> การวิเคราะห์ทางสถิติของผลผลิตไขมันที่อุณหภูมิ 15°ซ 25°ซ และอุณหภูมิห้อง โดยเชื้อ *Lipomyces* sp.606 ในสภาพนิ่ง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง อาหารเลี้ยงเชื้อมีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 60:1

ANOVA[a]

			Experimental Method				
			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Yield	Main Effects	(Combined)	7.778E-05	5	1.556E-05	1.664	.275
		Temperature	7.709E-05	2	3.854E-05	4.124	.075
		Time	6.892E-07	3	2.297E-07	.025	.994
	Model		7.778E-05	5	1.556E-05	1.664	.275
	Residual		5.607E-05	6	9.346E-06		
	Total		1.338E-04	11	1.217E-05		

a. Yield by Temperature, Time

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยผลผลิตไขมันโดยการวิเคราะห์ข้อมูลด้วย spss

Prob (Sig.) > 0.05

อุณหภูมิไม่ทำให้เกิดความแตกต่างของผลผลิตไขมัน

Prob (Sig.) < 0.05

อุณหภูมิทำให้เกิดความแตกต่างของผลผลิตไขมัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 10 การวิเคราะห์ทางสถิติของน้ำหนักแห้งที่อุณหภูมิ 15°ซ 25°ซ และอุณหภูมิห้อง โดยเชื้อ *Lipomyces* sp.606 ในสภาพนิ่ง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง อาหารเลี้ยงเชื้อมีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 60:1

ANOVA[a]

			Experimental Method				
			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Dry Weight	Main Effects	(Combined)	13.676	4	3.419	133.579	.000
		Temperature	13.632	2	6.816	266.308	.000
		Time	4.349E-02	2	2.174E-02	.850	.493
	Model		13.676	4	3.419	133.579	.000
	Residual		.102	4	2.559E-02		
	Total		13.778	8	1.722		

a. Dry Weight by Temperature, Time

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้ง โดยการวิเคราะห์ข้อมูลด้วย spss

Prob (Sig.) > 0.05

อุณหภูมิไม่ทำให้เกิดความแตกต่างของน้ำหนักแห้ง

Prob (Sig.) < 0.05

อุณหภูมิทำให้เกิดความแตกต่างของน้ำหนักแห้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 11 การวิเคราะห์ทางสถิติของน้ำหนักแห้งที่อุณหภูมิ 15°ซ 25°ซ โดยเชื้อ *Lipomyces* sp.606 ในสภาพนิ่ง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง อาหารเลี้ยงเชื้อมีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 60:1

ANOVA[a]

			Experimental Method				
			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Dry Weight	Main Effects	(Combined)	3.810	3	1.270	27.964	.035
		Temperature	3.760	1	3.760	82.798	.012
		Time	4.963E-02	2	2.482E-02	.546	.647
	Model		3.810	3	1.270	27.964	.035
	Residual		9.083E-02	2	4.542E-02		
	Total		3.901	5	.780		

a. Dry Weight by Temperature, Time

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้ง โดยการวิเคราะห์ข้อมูลด้วย spss

Prob (Sig.) > 0.05

อุณหภูมิไม่ทำให้เกิดความแตกต่างของน้ำหนักแห้ง

Prob (Sig.) < 0.05

อุณหภูมิทำให้เกิดความแตกต่างของน้ำหนักแห้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>ตารางภาคผนวกที่12</u> การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณไขมันภายในเซลล์ โดยใช้เครื่องเขย่า และสภาพนิ่ง โดยเชื้อ *Lipomyces* sp.606 อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 120ชั่วโมง อาหารเลี้ยงเชื้ออัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 60:1

ANOVA[a]

			Experimental Method				
			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
%Fat	Main Effects	(Combined)	10.072	4	2.518	15.238	.025
		Condition	8.076	1	8.076	48.874	.006
		Time	1.996	3	.665	4.026	.141
	Model		10.072	4	2.518	15.238	.025
	Residual		.496	3	.165		
	Total		10.567	7	1.510		

a. %Fat by Condition, Time

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณไขมันภายในเซลล์โดยการวิเคราะห์ข้อมูลด้วย spss

Prob (Sig.) > 0.05

สภาวะการเลี้ยงไม่ทำให้เกิดความแตกต่างของค่าเฉลี่ยปริมาณไขมันภายในเซลล์

Prob (Sig.) < 0.05

สภาวะการเลี้ยงทำให้เกิดความแตกต่างของค่าเฉลี่ยปริมาณไขมันภายในเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 13 การวิเคราะห์ทางสถิติของผลผลิตไขมันโดยใช้เครื่องเขย่า และสภาพนิ่ง โดยเชื้อ *Lipomyces* sp.606 อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 120ชั่วโมง อาหารเลี้ยงเชื้ออัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 60:1

ANOVA[a]

			Experimental Method				
			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Yield	Main Effects	(Combined)	.316	4	7.904E-02	1.000	.521
		Condition	7.984E-02	1	7.984E-02	1.010	.389
		Time	.236	3	7.877E-02	.997	.501
	Model		.316	4	7.904E-02	1.000	.521
	Residual		.237	3	7.902E-02		
	Total		.553	7	7.903E-02		

a. Yield by Condition, Time

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยผลผลิตไขมันโดยการวิเคราะห์ข้อมูลด้วย spss

Prob (Sig.) > 0.05

สภาวะการเลี้ยงไม่ทำให้เกิดความแตกต่างของค่าเฉลี่ยผลผลิตไขมัน

Prob (Sig.) < 0.05

สภาวะการเลี้ยงทำให้เกิดความแตกต่างของค่าเฉลี่ยผลผลิตไขมัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>ตารางภาคผนวกที่ 14</u> การวิเคราะห์ทางสถิติของน้ำหนักแห้ง โดยใช้เครื่องเขย่า และสภาพนิ่ง โดยเชื้อ *Lipomyces* sp.606 อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 120ชั่วโมง อาหารเลี้ยงเชื้ออัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 60:1

ANOVA[a]

			Experimental Method				
			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Dry Weight	Main Effects	(Combined)	5.733	4	1.433	9.286	.049
		Condition	5.024	1	5.024	32.552	.011
		Time	.708	3	.236	1.530	.368
	Model		5.733	4	1.433	9.286	.049
	Residual		.463	3	.154		
	Total		6.196	7	.885		

a. Dry Weight by Condition, Time

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งโดยการวิเคราะห์ข้อมูลด้วย spss

Prob (Sig.) > 0.05

สภาวะการเลี้ยงไม่ทำให้เกิดความแตกต่างของค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้ง

Prob (Sig.) < 0.05

สภาวะการเลี้ยงทำให้เกิดความแตกต่างของค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>ตารางภาคผนวกที่ 15</u> การวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณไขมันภายในเซลล์ ที่144 ชั่วโมง และ 192 ชั่วโมง โดยเชื้อ *Lipomyces* sp. 606 ในสภาพนิ่ง อุณหภูมิ 15° ซ อาหารเลี้ยงเชื้ออัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 60:1

ANOVA[a]

			Experimental Method				
			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
%Fat	Main Effects	(Combined)	4.482	4	1.121	1.529	.379
		Hour	3.810	1	3.810	5.200	.107
		Time	.672	3	.224	.306	.822
	Model		4.482	4	1.121	1.529	.379
	Residual		2.198	3	.733		
	Total		6.681	7	.954		

a. %Fat by Hour, Time

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณไขมันภายในเซลล์โดยการวิเคราะห์ข้อมูลด้วย spss

Prob (Sig.) > 0.05

ที่144 ชั่วโมง และ 192 ชั่วโมงไม่ทำให้เกิดความแตกต่างของค่าเฉลี่ยปริมาณไขมันภายในเซลล์

Prob (Sig.) < 0.05

ที่144 ชั่วโมง และ 192 ชั่วโมงทำให้เกิดความแตกต่างของค่าเฉลี่ยปริมาณไขมันภายในเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>ตารางภาคผนวกที่ 16</u> การวิเคราะห์ทางสถิติของผลผลิตไขมัน โดยเชื้อ *Lipomyces* sp. 606 ในสภาพนิ่ง อุณหภูมิ 15°ซ อาหารเลี้ยงเชื้ออัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 60:1

ANOVA[a]

			Experimental Method				
			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Yield	Main Effects	(Combined)	1.360E-04	4	3.399E-05	15.188	.025
		Hour	1.337E-04	1	1.337E-04	59.726	.005
		Time	2.294E-06	3	7.646E-07	.342	.799
	Model		1.360E-04	4	3.399E-05	15.188	.025
	Residual		6.714E-06	3	2.238E-06		
	Total		1.427E-04	7	2.038E-05		

a. Yield by Hour, Time

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยผลผลิตไขมันโดยการวิเคราะห์ข้อมูลด้วย spss

Prob (Sig.) > 0.05

ที่144 ชั่วโมง และ 192 ชั่วโมงไม่ทำให้เกิดความแตกต่างของค่าเฉลี่ยผลผลิตไขมันไขมัน

Prob (Sig.) < 0.05

ที่144 ชั่วโมง และ 192 ชั่วโมงทำให้เกิดความแตกต่างของค่าเฉลี่ยผลผลิตไขมัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 17 การวิเคราะห์ทางสถิติของน้ำหนักแห้ง โดยเชื้อ *Lipomyces* sp. 606 ในสภาพนิ่ง อุณหภูมิ 15°ซ อาหารเลี้ยงเชื้ออัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 60:1

ANOVA[a]

			Experimental Method				
			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
weight	Main Effects	(Combined)	4.791	4	1.198	81.292	.002
		Hour	4.682	1	4.682	317.769	.000
		Time	.109	3	3.633E-02	2.466	.239
	Model		4.791	4	1.198	81.292	.002
	Residual		4.420E-02	3	1.473E-02		
	Total		4.835	7	.691		

a. weight by Hour, Time

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้ง โดยการวิเคราะห์ข้อมูลด้วย spss

Prob (Sig.) > 0.05

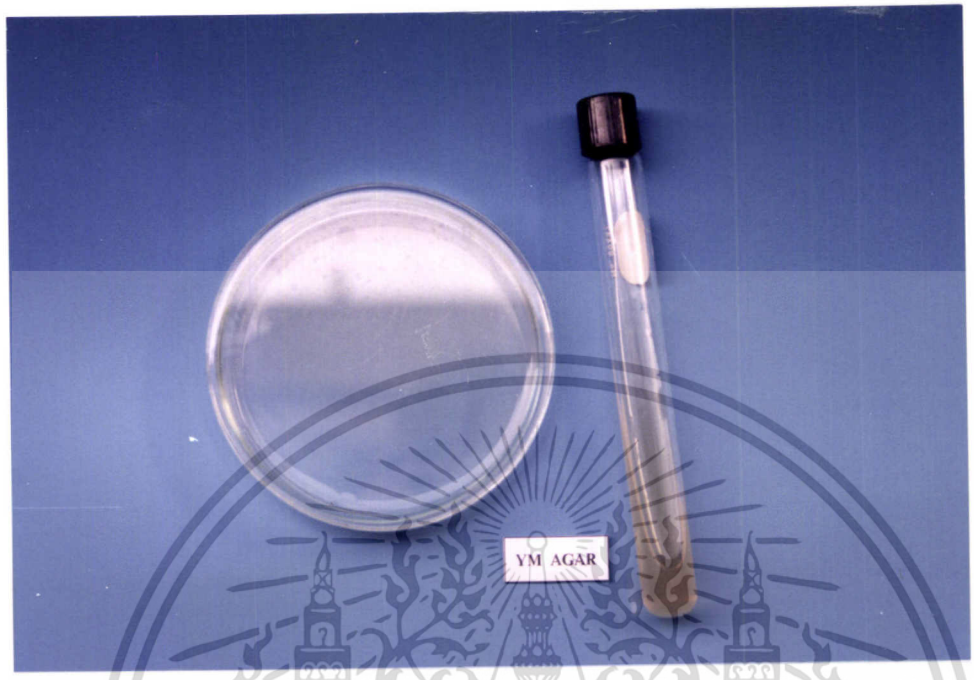
ที่144 ชั่วโมง และ 192 ชั่วโมงไม่ทำให้เกิดความแตกต่างของค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้ง

Prob (Sig.) < 0.05

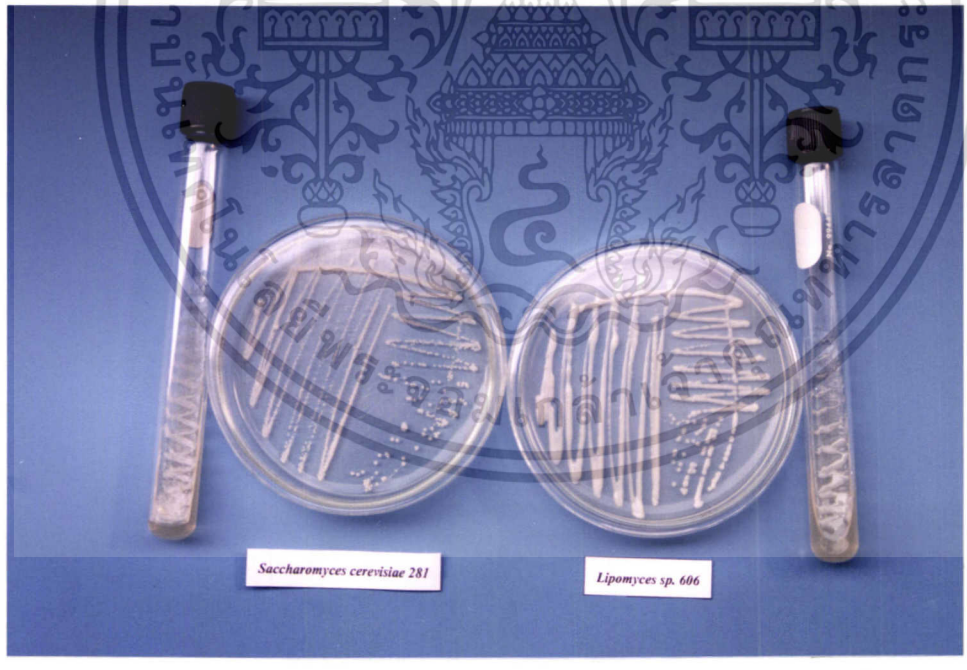
ที่144 ชั่วโมง และ 192 ชั่วโมงทำให้เกิดความแตกต่างของค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

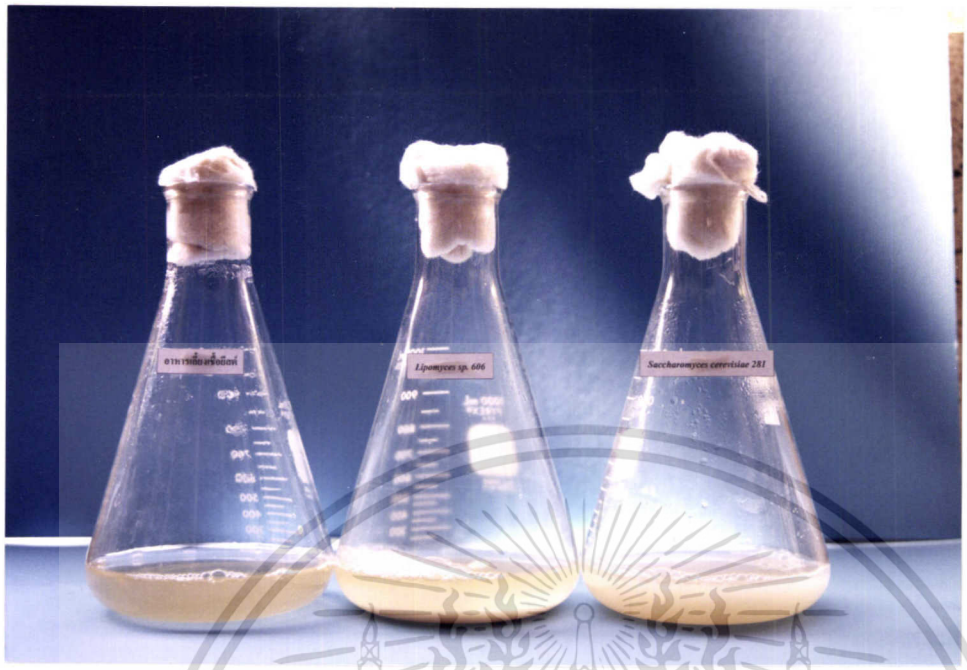


ภาพภาคผนวกที่ 1 อาหารเลี้ยงเชื้อ YM agar



ภาพภาคผนวกที่ 2 เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* 281 และ *Lipomyces* sp.606 ที่เจริญบน YM agar

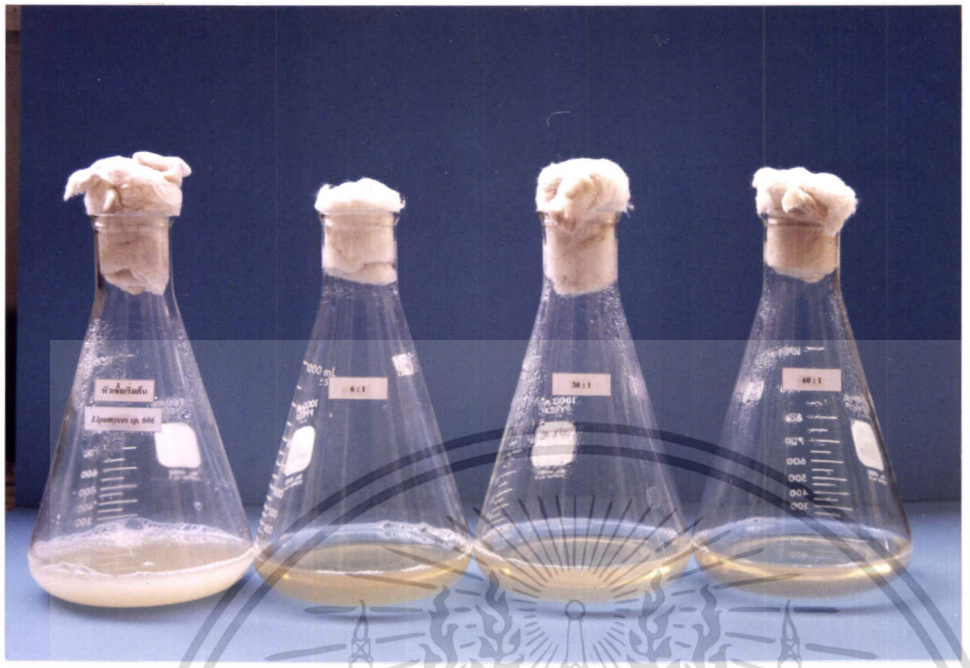
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



<u>ภาพภาคผนวกที่ 3</u> จากซ้ายไปขวา เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* 281 และ *Lipomyces* sp.606 ที่เลี้ยงในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อยีสต์

<u>ภาพภาคผนวกที่ 4</u> เซลล์ที่เก็บเกี่ยวได้ของเชื้อ *Lipomyces* sp.606 และ *Saccharomyces cerevisiae* 281

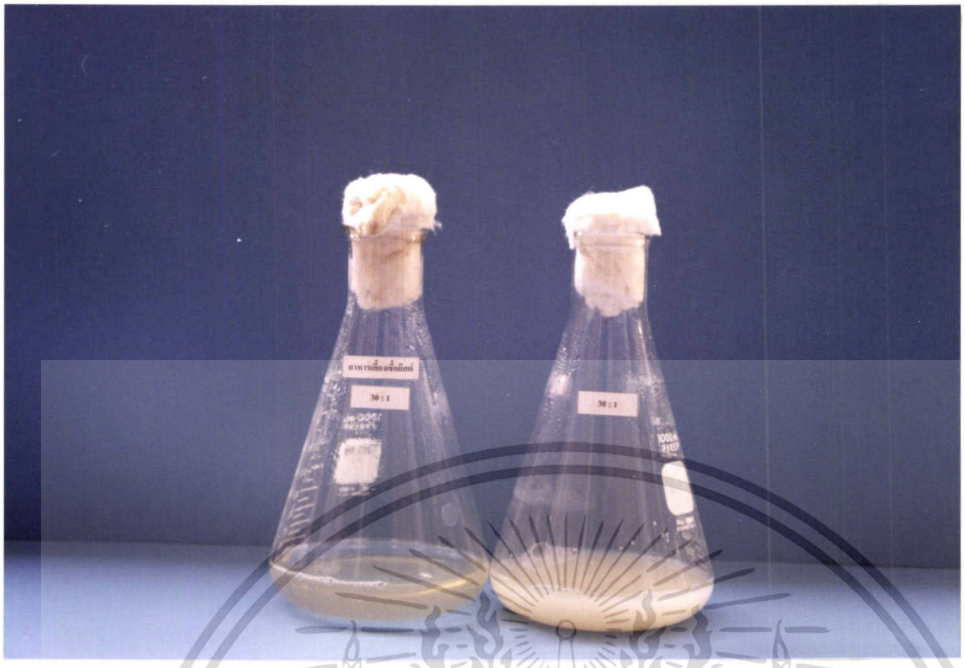
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



<u>ภาพภาคผนวกที่ 5</u> จากซ้ายไปขวา หัวเชื้อเริ่มต้นของเชื้อ *Lipomyces* sp.606 อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 6:1 30:1 และ 60:1

<u>ภาพภาคผนวกที่ 6</u> อาหารเหลวเลี้ยงเชื้อยีสต์ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 6:1 และเชื้อ *Lipomyces* sp.606 ที่เลี้ยงในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อยีสต์

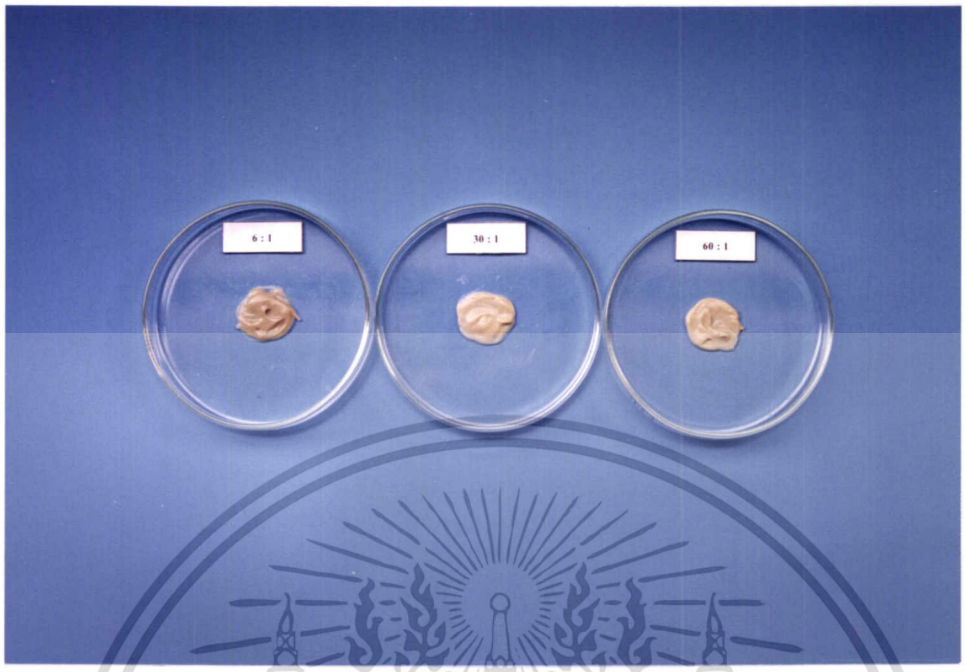
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



<u>ภาพภาคผนวกที่ 7</u> อาหารเหลวเลี้ยงเชื้อยีสต์ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 30:1 และเชื้อ *Lipomyces* sp.606 ที่เลี้ยงในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อยีสต์

<u>ภาพภาคผนวกที่ 8</u> อาหารเหลวเลี้ยงเชื้อยีสต์ที่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 60:1 และเชื้อ *Lipomyces* sp.606 ที่เลี้ยงในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อยีสต์

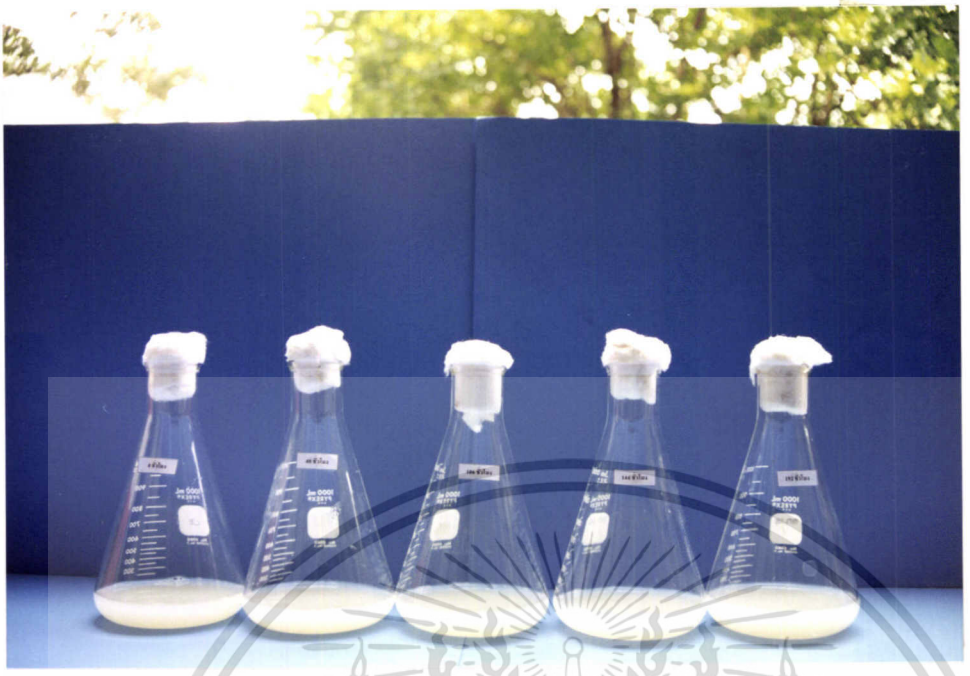
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



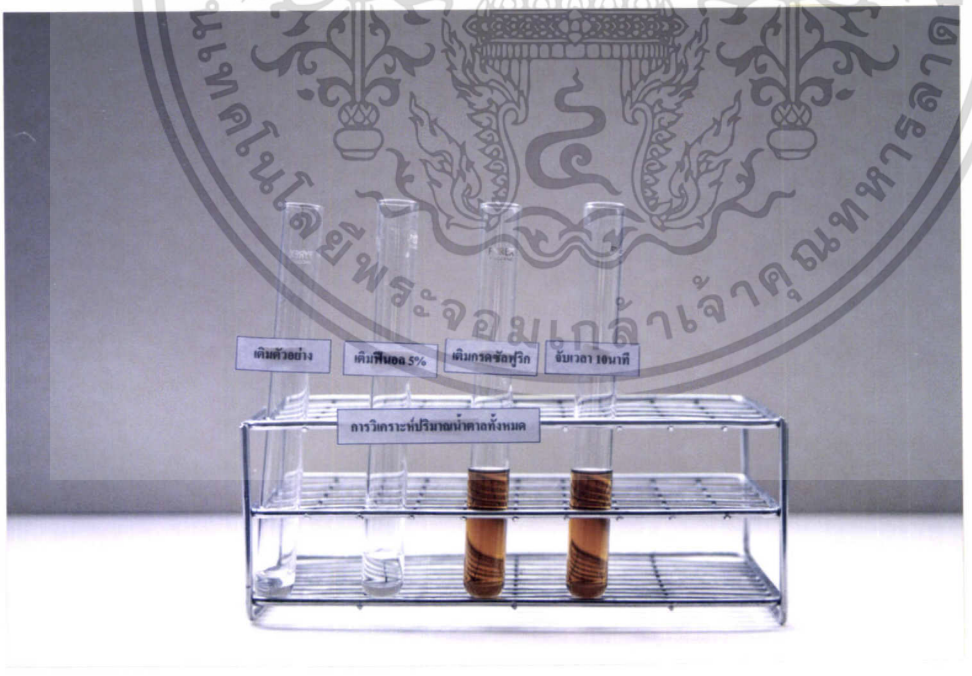
ภาพภาคผนวกที่ 9 เซลล์ของเชื้อ *Lipomyces* sp.606 ที่เก็บเกี่ยวได้ จากการเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 6:1 30:1 และ 60:1

ภาพภาคผนวกที่ 10 เซลล์ของเชื้อ *Lipomyces* sp.606 ที่เก็บเกี่ยวได้ จากการเลี้ยงที่สภาวะอุณหภูมิ ห้อง 15°ซ และ 25°ซ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

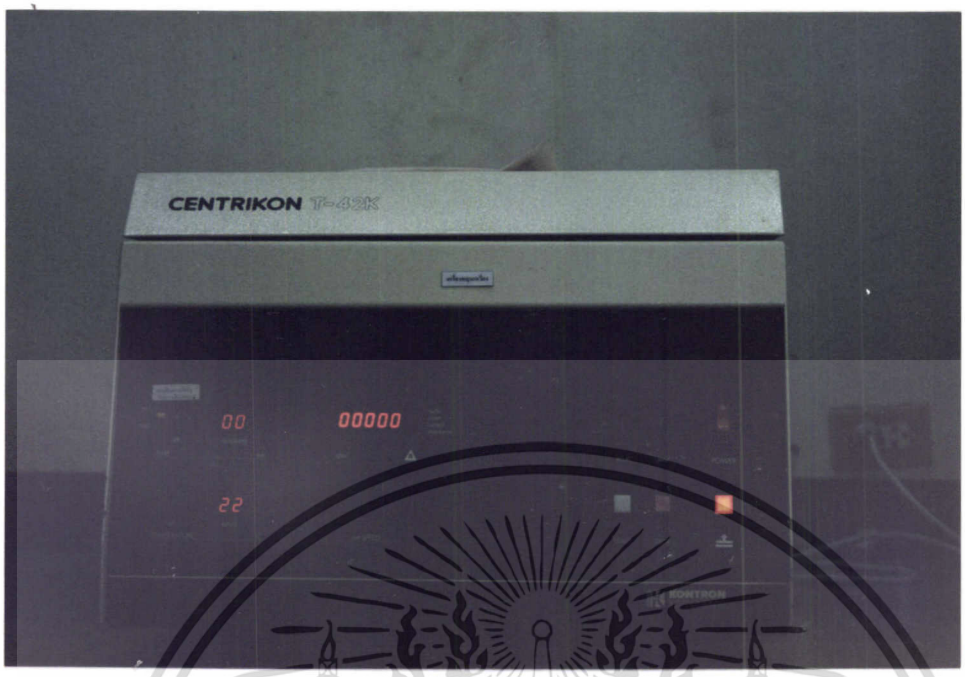


ภาพภาคผนวกที่ 11 เชื้อ *Lipomyces* sp.606 เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 60:1 อุณหภูมิ 15°ซ จากซ้ายไปขวา ที่ระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อ 0 ชม. 48 ชม. 96 ชม. 144 ชม. และ 192 ชม.



ภาพภาคผนวกที่ 12 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด โดยวิธี Phenol – Sulfuric

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



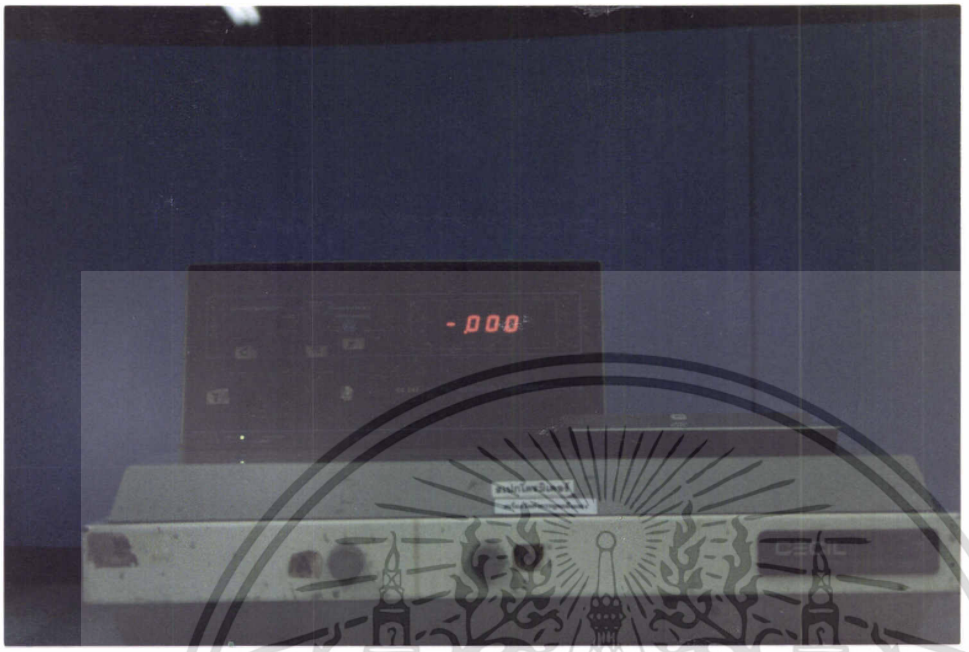
ภาพภาคผนวกที่ 13 เครื่องหมุนเหวี่ยง

ภาพภาคผนวกที่ 14 เครื่องวัดพีเอช

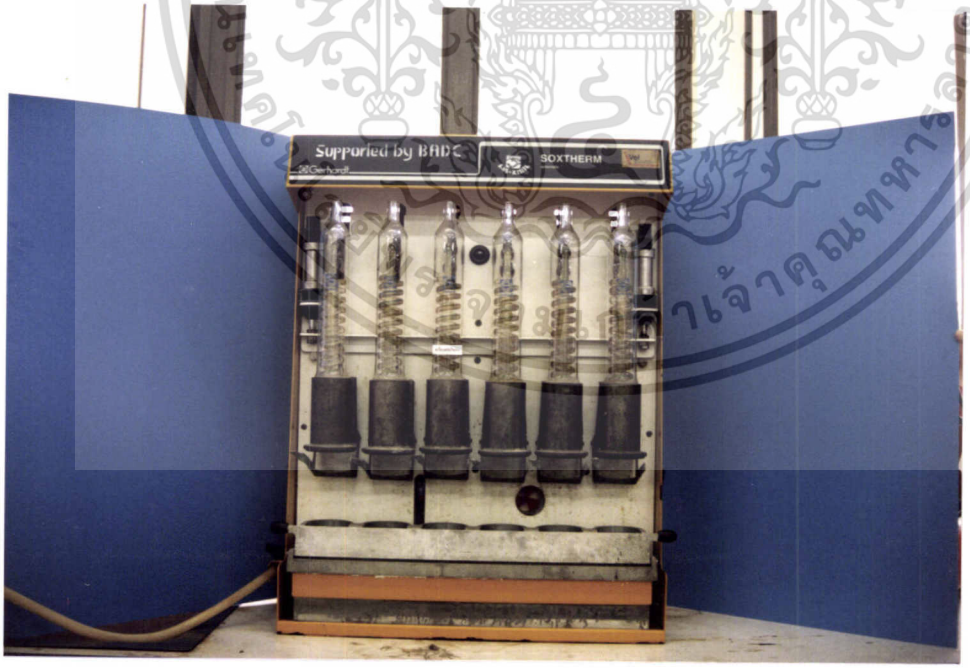
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>ภาพภาคผนวกที่15</u> ตู้บ่มเพาะเชื้ออุณหภูมิต่ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

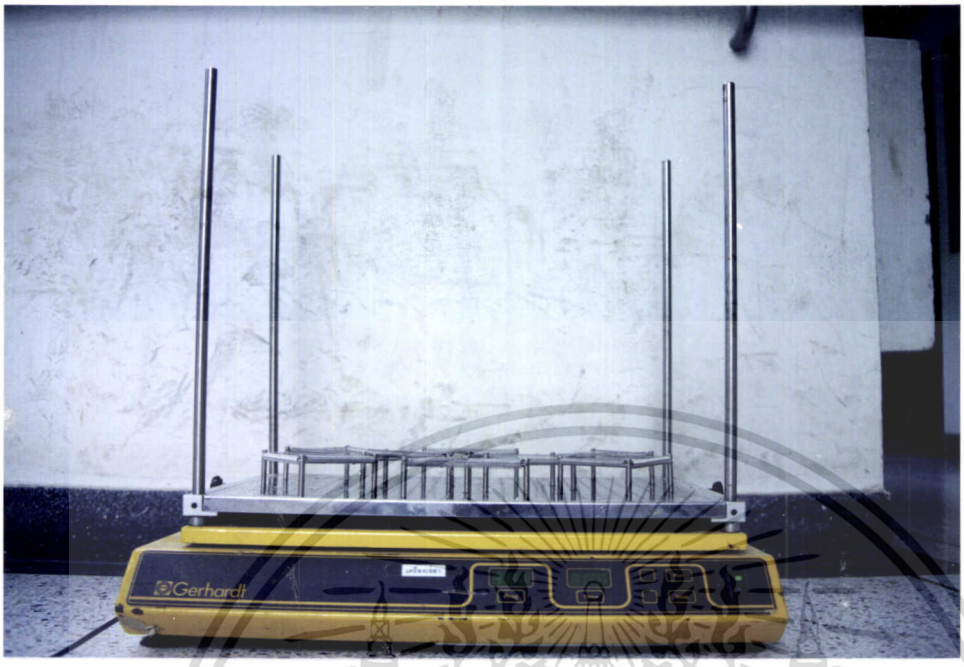


ภาพภาคผนวกที่ 16 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง



ภาพภาคผนวกที่ 17 เครื่องสกัดไขมัน soxtherm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพภาคผนวกที่ 18 เครื่องเขย่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

นางสาวพิมพมาส ปัณยาชีวะ (พิม ปลา)

- เกิดวันที่ 12 ตุลาคม 2519
- สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียน สายน้ำผึ้ง ปี พ.ศ. 2538
- สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต (เทคโนโลยีการหมัก) ปี พ. ศ. 2542 จาก ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

นางสาวพิมพ์ตา เขียวสวาด (ปอ)

- เกิดวันที่ 31 มีนาคม 2521
- สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียน วัฒโนทัยพายัพ ปี พ.ศ. 2538
- สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต (เทคโนโลยีการหมัก) ปี พ. ศ. 2542 จาก ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้