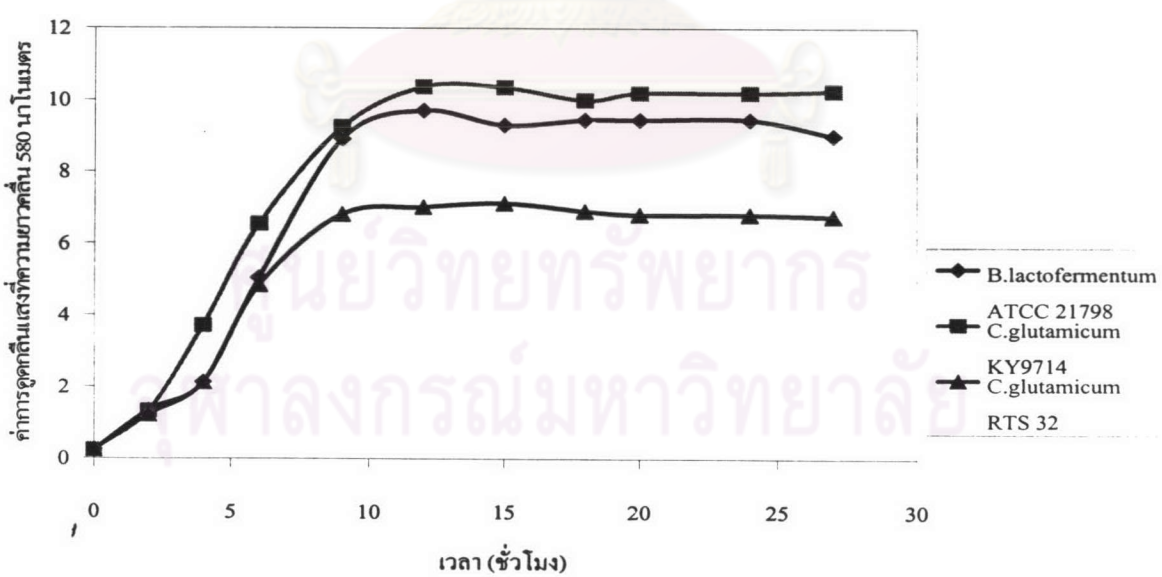
บทที่ 3

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

3.1 การคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตแอล-ไลซีนได้ในปริมาณสูง และสูตรอาหารที่เหมาะสม ในระดับขวดเขย่า

3.1.1 การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารเตรียมกล้าเชื้อ

นำเชื้อจุลินทรีย์ *Brevibacterium lactofermentun* ATCC21798 , *Corynebacterium lactofermentum* KY9714 และ *Corynebacterium lactofermentum* RTS32 มาเลี้ยงในอาหารเตรียมกล้าเชื้อตามวิธีการทดลองในข้อ 2.5 และติดตามการเจริญเติบโต โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 580 นาโนเมตร ที่ระยะเวลาต่างๆ ได้ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 3.1 และตารางที่ 3.1 พบว่าการเจริญของ *Brevibacterium lactofermentun* ATCC21798 , *Corynebacterium glutamicum* KY9714 และ *Corynebacterium glutamicum* RTS32 มีระยะกึ่งกลางประชากร (mid population) อยู่ที่ชั่วโมงที่ 6 ดังนั้นจึงเลือกใช้อายุของหัวเชื้อตั้งต้น 6 ชั่วโมง สำหรับใช้ในการหมักเพื่อผลิตแอล-ไลซีนในระดับขวดเขย่าและในถังหมักขนาด 5 ลิตรต่อไป



รูปที่ 3.1 แสดงลักษณะการเจริญของ *Brevibacterium lactofermentum* ATCC 21798 , *Corynebacterium glutamicum* KY9714 และ *Corynebacterium glutamicum* RTS32 ในอาหารเตรียมกล้าเชื้อ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 7.0 เขย่าด้วยความเร็ว 250 รอบต่อนาที

ตารางที่ 3.1 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 580 นาโนเมตรที่ระยะเวลาต่างๆของ *Brevibacterium lactofermentun* ATCC21798 , *Corynebacterium glutamicum* KY9714 และ *Corynebacterium glutamicum* RTS32 ในอาหารเตรียมกล้าเชื้อ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 7.0 เขย่าด้วยความเร็ว 250 รอบต่อนาที

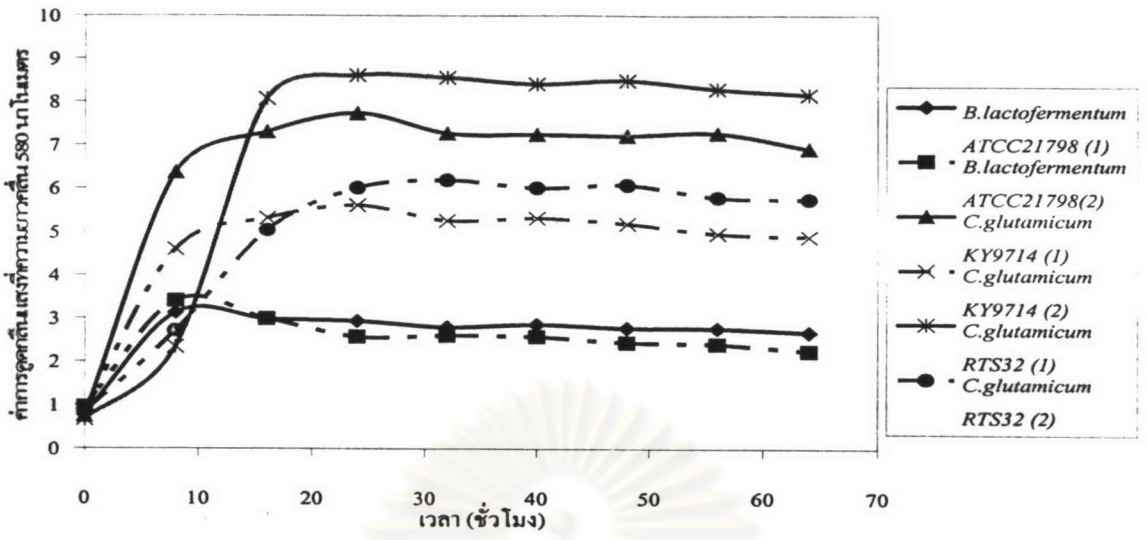
เวลา (ชั่วโมง)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 580 นาโนเมตร		
	Brevibacterium lactofermentum ATCC21798	*Corynebacterium glutamicum* KY9714	*Corynebacterium glutamicum* RTS32
0	0.235	0.242	0.24
2	1.35	1.33	1.22
4	2.13	3.72	2.12
6	5.03	6.54	4.83
8	8.91	9.24	6.80
12	9.17	10.37	7.01
15	9.30	10.35	7.12
18	9.45	10.00	6.90
20	9.45	10.20	6.80
24	9.45	10.20	6.80
27	9.00	10.25	6.75

3.1.2 เปรียบเทียบการเจริญและการผลิตแอล-ไลซีนของ *Brevibacterium lactofermentum* ATCC 21798 *Corynebacterium glutamicum* KY9714 และ *Corynebacterium glutamicum* RTS32 ในอาหารเหลวสำหรับผลิตแอล-ไลซีน สูตรที่ 1 และสูตรที่ 2

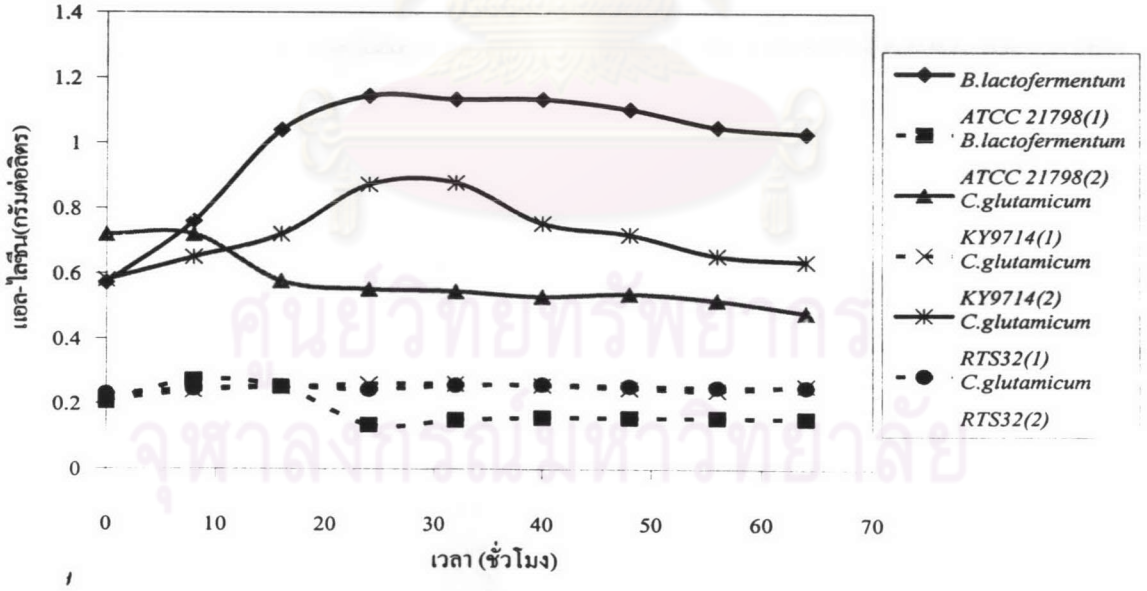
จากข้อมูลข้อ 3.1.1 ทำการศึกษาต่อโดยเปรียบเทียบรูปแบบการเจริญของ *Brevibacterium lactofermentum* ATCC 21798 , *Corynebacterium glutamicum* KY9714 และ *Corynebacterium glutamicum* RTS32 โดยใช้อาหารเหลวสำหรับผลิตแอล-ไลซีนสูตรที่ 1 และสูตรที่ 2 ในระดับขวดเขย่าที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที และค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นที่ 7.0 เก็บตัวอย่างทุก 8 ชั่วโมง นำตัวอย่างมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 580 นาโนเมตร เพื่อดูการเจริญของเซลล์ และวัดปริมาณแอล-ไลซีนที่เชื้อทั้ง 3 ชนิดผลิตขึ้นมา ดังแสดงในรูปที่ 3.2- 3.3 และตารางที่ 3.2-3.3 พบว่าการ

เลี้ยงเชื้อทั้ง 3 ชนิดในอาหารเหลวสำหรับผลิตแอล-ไลซีนสูตรที่ 1 และอาหารเหลวสำหรับผลิตแอล-ไลซีนสูตรที่ 2 มีรูปแบบการเจริญที่คล้ายคลึงกัน ในอาหารเหลวสำหรับผลิตแอล-ไลซีนสูตรที่ 1 *Brevibacterium lactofermentum* ATCC21798 มีการเจริญสูงสุดในชั่วโมงที่8 *Corynebacterium glutamicum* KY9714 มีการเจริญสูงสุดในชั่วโมงที่ 24 และ *Corynebacterium glutamicum* RTS32 มีการเจริญสูงสุดในชั่วโมงที่ 24 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 580 นาโนเมตรได้ 3.12 , 7.72 และ 8.60 ตามลำดับ โดย *Corynebacterium glutamicum* RTS32 มีค่าการเจริญสูงสุด ส่วนในอาหารเหลวสำหรับผลิตแอล-ไลซีนสูตรที่ 2 *Brevibacterium lactofermentum* ATCC 21798 มีการเจริญสูงสุดในชั่วโมงที่ 8 *Corynebacterium glutamicum* KY9714 มีการเจริญสูงสุดในชั่วโมงที่24 และ *Corynebacterium glutamicum* RTS32 มีการเจริญสูงสุดในชั่วโมงที่ 32 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 580 นาโนเมตรได้ 3.40 , 5.60 และ 6.18 ตามลำดับโดย *Corynebacterium glutamicum* RTS32 เจริญสูงสุด แต่ในอาหารเหลวสำหรับผลิตแอล-ไลซีนสูตรที่1 เชื้อทั้ง 3 ชนิดเจริญดีกว่าอาหารเหลวสำหรับผลิตแอล-ไลซีนสูตรที่ 2 ประมาณ 20 , 40 และ 40 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบปริมาณแอล-ไลซีนที่เชื้อทั้ง 3 ชนิดผลิตได้ในอาหารเหลวสำหรับผลิตแอล-ไลซีนสูตรที่ 1 และสูตรที่ 2 ดังแสดงในรูปที่ 3.3 และตารางที่ 3.3 พบว่าในอาหารเหลวสำหรับผลิตแอล-ไลซีนสูตรที่ 1 *Brevibacterium lactofermentum* ATCC21798 สามารถผลิตแอล-ไลซีน สูงที่สุดในชั่วโมงที่ 24 ได้ 1.145 กรัมต่อลิตร *Corynebacterium glutamicum* KY9714 ไม่สามารถผลิตแอล-ไลซีนเพิ่มขึ้นได้ *Corynebacterium glutamicum* RTS32 ผลิตแอล-ไลซีนได้สูงสุดชั่วโมงที่ 32 ได้ 0.880 กรัมต่อลิตร ส่วนในอาหารเหลวสำหรับผลิตแอล-ไลซีนสูตรที่ 2 *Brevibacterium lactofermentum* ATCC21798 ผลิตแอล-ไลซีนสูงที่สุดในชั่วโมงที่ 8 ได้ 0.272 *Corynebacterium glutamicum* KY9714 ผลิตแอล-ไลซีนสูงสุดในชั่วโมงที่ 24 ได้ 0.261 กรัมต่อลิตร *Corynebacterium glutamicum* RTS32 ผลิตแอล-ไลซีนได้สูงสุดชั่วโมงที่ 32 ได้ 0.259 กรัมต่อลิตร เชื้อทั้ง 2 ชนิด คือ *Brevibacterium lactofermentum* ATCC21798 และ *Corynebacterium glutamicum* RTS32 สามารถผลิตแอล-ไลซีนในอาหารเหลวสำหรับผลิตแอล-ไลซีนสูตรที่ 1 ได้ดีกว่าอาหารสูตรที่ 2 เนื่องจากเชื้อทั้ง 2 ชนิดสามารถผลิตแอล-ไลซีนได้เพิ่มขึ้นจากเริ่มต้น แต่ในอาหารสูตรที่ 2 เชื้อทั้ง 2 ชนิด ผลิตแอล-ไลซีนเพิ่มขึ้นจากเริ่มต้นน้อยมาก และ *Corynebacterium glutamicum* KY9714 ในอาหารสูตรที่ 1 ไม่สามารถผลิตแอล-ไลซีนได้เพิ่มขึ้นจากเริ่มต้น และในอาหารสูตรที่ 2 ผลิตแอล-ไลซีนเพิ่มขึ้นจากเริ่มต้นน้อยมาก ดังนั้นจึงเลือกใช้อาหารเหลวสำหรับผลิตแอล-ไลซีนคืออาหารสูตรที่ 1 และเชื้อที่เหมาะสำหรับผลิตแอล-ไลซีน คือ *Brevibacterium lactofermentum* ATCC21798 สำหรับการผลิตแอล-ไลซีนในระดับถังหมัก 5 ลิตรต่อไป



รูปที่ 3.2 เปรียบเทียบการเจริญของ *Brevibacterium lactofermentum* ATCC 21798 , *Corynebacterium glutamicum* KY9714 และ *Corynebacterium glutamicum* RTS32 ในอาหารเหลวสำหรับผลิตแอล-ไลซีน สูตรที่ 1 และสูตรที่ 2 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดค่างเริ่มต้น 7.0 เขย่าด้วยความเร็ว 250 รอบต่อนาที : (1) = อาหารเหลวสำหรับผลิตแอล-ไลซีนสูตรที่ 1 , (2) = อาหารเหลวสำหรับผลิตแอล-ไลซีนสูตรที่ 2



รูปที่ 3.3 เปรียบเทียบการผลิตแอล-ไลซีนของ *Brevibacterium lactofermentum* ATCC 21798 , *Corynebacterium glutamicum* KY9714 และ *Corynebacterium glutamicum* RTS32 ในอาหารสำหรับผลิตแอล-ไลซีน สูตรที่ 1 และสูตรที่ 2 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดค่างเริ่มต้น 7.0 เขย่าด้วยความเร็ว 250 รอบต่อนาที : (1) = อาหารเหลวสำหรับผลิตแอล-ไลซีนสูตรที่ 1 , (2) = อาหารเหลวสำหรับผลิตแอล-ไลซีน สูตรที่ 2

ตารางที่ 3.3 เปรียบเทียบการการผลิตแอล-ไลซีนของ *Brevibacterium lactofermentum* ATCC 21798 *Corynebacterium glutamicum* KY9714 และ *Corynebacterium glutamicum* RTS32 ในอาหารสำหรับผลิตแอล-ไลซีน สูตรที่1 และสูตรที่ 2

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณแอล-ไลซีน (กรัมต่อลิตร)					
	อาหารเหลวสำหรับผลิตแอล-ไลซีน สูตรที่ 1			อาหารเหลวสำหรับผลิตแอล-ไลซีน สูตรที่ 2		
	Brevibacterium lactofermentum ATCC 21798	*Corynebacterium glutamicum* KY9714	*Corynebacterium glutamicum* RTS32	*Brevibacterium lactofermentum* ATCC 21798	*Corynebacterium glutamicum* KY9714	*Corynebacterium glutamicum* RTS32
0	0.572	0.720	0.580	0.206	0.210	0.231
8	0.760	0.720	0.650	0.272	0.239	0.245
16	1.04	0.576	0.720	0.252	0.251	0.253
24	1.145	0.552	0.873	0.135	0.261	0.244
32	1.136	0.546	0.880	0.150	0.261	0.259
40	1.136	0.530	0.755	0.158	0.257	0.257
48	1.105	0.538	0.720	0.157	0.247	0.254
56	1.05	0.518	0.655	0.157	0.241	0.250
64	1.03	0.480	0.637	0.154	0.255	0.250

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.2 เปรียบเทียบการเจริญของ *Brevibacterium lactofermentum* ATCC 21798, *Corynebacterium glutamicum* KY9714 และ *Corynebacterium glutamicum* RTS32 ในอาหารสำหรับผลิตแอล-ไลซีน สูตรที่ 1 และสูตรที่2

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 580 นาโนเมตร					
	อาหารเหลวสำหรับผลิตแอล-ไลซีน สูตรที่ 1			อาหารเหลวสำหรับผลิตแอล-ไลซีน สูตรที่ 2		
	Brevibacterium lactofermentum ATCC 21798	*Corynebacterium glutamicum* KY9714	*Corynebacterium glutamicum* RTS32	*Brevibacterium lactofermentum* ATCC 21798	*Corynebacterium glutamicum* KY9714	*Corynebacterium glutamicum* RTS32
0	0.785	0.748	0.660	0.954	0.869	0.830
8	3.12	6.37	2.34	3.4	4.60	2.71
16	2.98	7.29	8.06	2.98	5.31	5.03
24	2.93	7.72	8.60	2.57	5.60	6.00
32	2.79	7.26	8.55	2.6	5.25	6.18
40	2.85	7.23	8.40	2.57	5.31	6.00
48	2.77	7.20	8.48	2.44	5.18	6.07
56	2.76	7.26	8.28	2.40	4.95	5.78
64	2.67	6.90	8.15	2.24	4.88	5.74

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.2 การเจริญและการผลิตแอล-ไลซีนของ*Brevibacterium lactofermentum* ATCC 21798 ในถังหมัก ขนาด 5 ลิตร

3.2.1 เปรียบเทียบการเจริญและการผลิตแอล-ไลซีนของ *Brevibacterium lactofermentum* ATCC 21798 ในอาหารเหลวสำหรับผลิตแอล-ไลซีน สูตรที่ 1 โดยแปรผันแหล่งไนโตรเจน

จากรายงานของภูวะนัย จริยวรานุกูล (55) ได้ใช้ *Brevibacterium lactofermentum* ATCC 21798 ผลิตแอล-ไลซีนในถังหมักขนาด 5 ลิตร ควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 1 ลิตรต่อลิตรของอาหารต่อนาที และค่าความเป็นกรดด่างที่ 7.0 ด้วย โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 10 โมลาร์ โดยใช้ กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน และเปปโตนเป็นแหล่งไนโตรเจน พบว่าเชื้อสามารถผลิตแอล-ไลซีนได้ 8.622 กรัมต่อลิตร ซึ่งการทดลองนี้จะศึกษาการผลิตแอล-ไลซีน ที่ภาวะเดียวกับ ภูวะนัย จริยวรานุกูล เพื่อใช้ในงานวิจัยต่อไป

เมื่อได้ข้อมูลจากข้อ 3.1.2 แล้ว จึงศึกษาต่อโดยเปรียบเทียบรูปแบบการเจริญและการผลิตแอล-ไลซีนของ *Brevibacterium lactofermentum* ATCC 21798 โดยใช้แหล่งของไนโตรเจนที่แตกต่างกันได้แก่ bacto peptone , marine peptone และสารสกัดจากยีสต์ ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 1 ลิตรต่อลิตรของอาหารต่อนาที และค่าความเป็นกรดด่างที่ 7.0 โดยโพแทสเซียมไฮดรอก ไซด์เข้มข้น 10 โมลาร์ ได้ผลดังรูปที่ 3.4 , 3.5 , และ 3.6 ตามลำดับ และตารางที่ 3.4 , 3.5 และ 3.6 ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบปริมาณแอล-ไลซีนที่ *Brevibacterium lactofermentum* ATCC 21798 ผลิตได้จากสูตรอาหารที่มีแหล่งไนโตรเจนแตกต่างกันคือ bacto peptone , marine peptone และสารสกัดจากยีสต์ จากผลการทดลองพบว่าสูตรอาหารที่ใช้ bacto peptone เป็นแหล่งไนโตรเจน เชื้อผลิตแอล-ไลซีนได้สูงสุดที่ 12.07 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 88 และหยุดการหมักเมื่อผลผลิตแอล-ไลซีนเริ่มลดลง ซึ่งเชื้อผลิตเซลล์ได้สูงสุดที่ 6.45 กรัมต่อลิตร ผลผลิตเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้ (Yx/s) มีค่าสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 12 ของการหมักได้เท่ากับ 0.238 ผลผลิตแอล-ไลซีนต่อน้ำตาลที่ใช้ (Yp/s) มีค่าสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 44 ของการหมักได้เท่ากับ 0.230 ผลผลิตแอล-ไลซีนต่อเซลล์ (Yp/x) มีค่าสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 88 ของการหมักได้เท่ากับ 1.897 อัตราการผลิตแอล-ไลซีนมีค่าสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 24 ได้ 0.20 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ,และอัตราการผลิตเซลล์มีค่าสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 12 ได้ 0.249 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง (ตารางที่ 3.4)

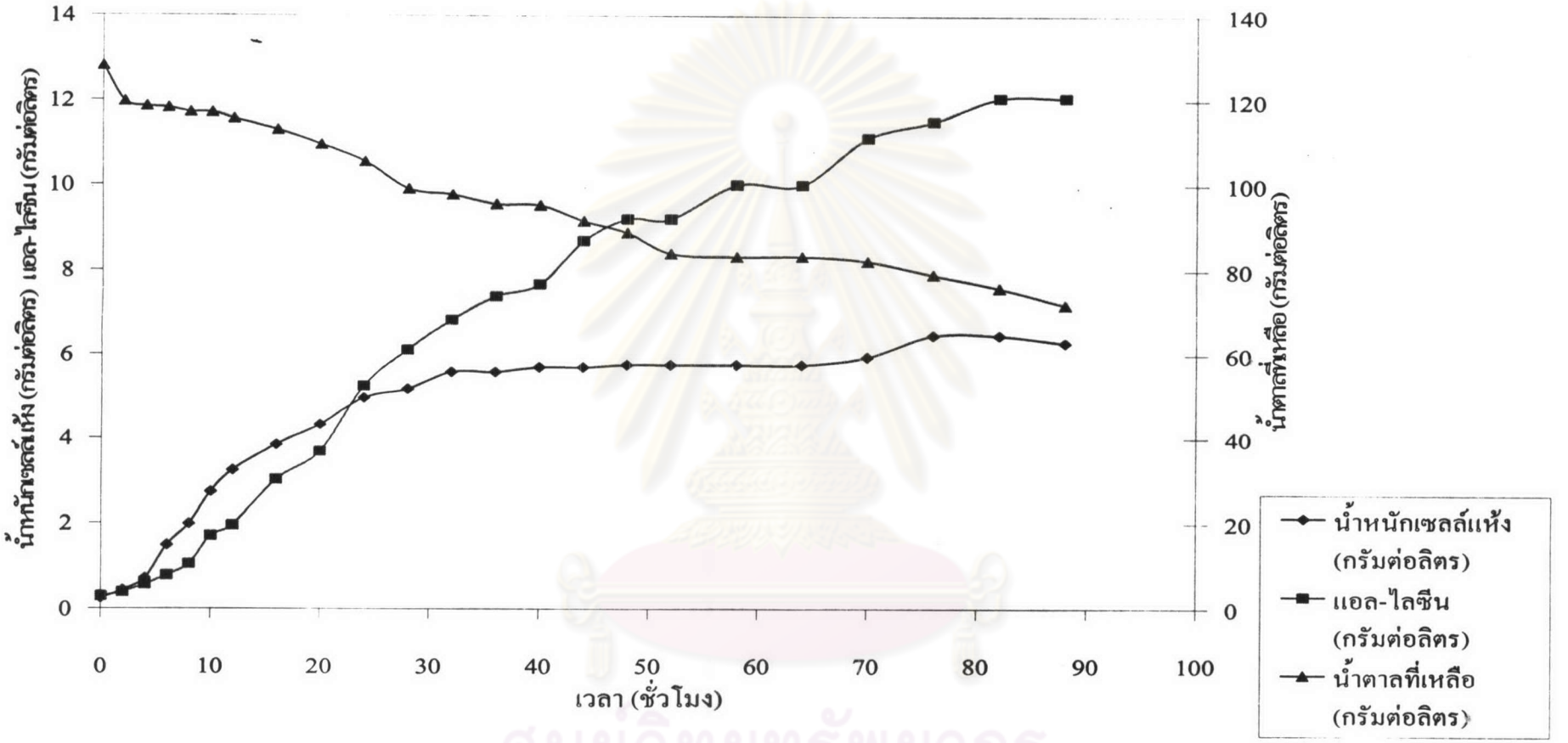
สูตรอาหารที่ใช้ marine peptone เป็นแหล่งไนโตรเจน เชื้อผลิตแอล-ไลซีนได้สูงสุดที่ 17.52 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 66 และหยุดการหมักเมื่อผลผลิตแอล-ไลซีนเริ่มลดลง เชื้อผลิตเซลล์ได้ 5.73 กรัมต่อลิตร ผลผลิตเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้ (Yx/s) มีค่าสูงสุดที่ชั่วโมงที่18 ของการหมักได้เท่ากับ 0.157 ผลผลิตแอล-ไลซีนต่อน้ำตาลที่ใช้ (Yp/s) มีค่าสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 66 ของการหมักได้เท่ากับ 0.201 ผลผลิตแอล-ไลซีนต่อเซลล์ (Yp/x) มีค่าสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 66 ของการหมักได้เท่ากับ 3.065 และอัตรา

การผลิตแอล-ไลซีนมีค่าสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 24 ได้ 0.415 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และอัตราการผลิตเซลล์สูงสุดที่ชั่วโมงที่ 9 ได้ 0.336 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง (ตารางที่ 3.5)

สูตรอาหารที่ใช้สารสกัดจากยีสต์เป็นแหล่งไนโตรเจน เชื้อผลิตแอล-ไลซีนได้สูงสุดที่ 18.56 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 84 และหยุดการหมักเมื่อผลผลิตแอล-ไลซีนเริ่มลดลง ซึ่งเชื้อผลิตเซลล์ได้ 9.35 กรัมต่อลิตร ผลผลิตเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้ (Yx/s) มีค่าสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 9 ของการหมักได้เท่ากับ 0.173 ผลผลิตแอล-ไลซีนต่อน้ำตาลที่ใช้ (Yp/s) มีค่าสูงสุดที่ชั่วโมงที่12 ของการหมักได้เท่ากับ 0.240 ผลผลิตแอล-ไลซีนต่อเซลล์ (Yp/x) มีค่าสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 84 ของการหมักได้เท่ากับ 1.990 อัตราการผลิตแอล-ไลซีนมีค่าสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 12 ได้ 0.555 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง อัตราการผลิตเซลล์มีค่าสูงสุดได้ 0.423 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง (ตารางที่ 3.6)

จากการทดลองพบว่าสูตรอาหารที่ใช้ bacto peptone , marine peptone และสารสกัดจากยีสต์เป็นแหล่งไนโตรเจน เมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองของ ภูวะนัย จริยวรานุกูล ที่ภาวะการทดลองเดียวกันสามารถผลิตแอล-ไลซีนได้สูงกว่า และเชื้อสามารถผลิตแอล-ไลซีนได้สูงสุด และผลิตเซลล์สูงสุดในอาหารสูตรที่ใช้สารสกัดจากยีสต์เป็นแหล่งไนโตรเจน และยังให้ค่าผลผลิตแอล-ไลซีนต่อน้ำตาลที่ใช้ (Yp/s) และค่าอัตราการผลิตแอล-ไลซีนสูงสุดอีกด้วย สำหรับ bacto peptone ไม่เหมาะที่จะนำมาเป็นแหล่งไนโตรเจนเนื่องจากมีปริมาณไนโตรเจนต่ำกว่า marine peptone และสารสกัดจากยีสต์ และมีราคาที่สูงกว่าอีก 2 ชนิด สำหรับสารสกัดจากยีสต์จะมีปริมาณไนโตรเจนที่สูงกว่า marine peptone และมีราคาที่ถูกกว่า ซึ่งเหมาะที่จะนำมาใช้มากที่สุด ดังนั้นจึงเลือกใช้สารสกัดจากยีสต์เป็นแหล่งไนโตรเจนสำหรับการทดลองต่อไป

ถึงแม้สารสกัดจากยีสต์มีราคาที่ถูกที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับ bacto peptone และ marine peptone แต่เมื่อเทียบกับราคาขายของแอล-ไลซีนแล้วพบว่ายังมีราคาแพง ซึ่งมีการทดลองที่หาแหล่งไนโตรเจนอื่นๆที่มีราคาถูกกว่า เช่น Coello และคณะ (58) ใช้ส่วนที่เหลือทิ้งจากปลาเป็นแหล่งไนโตรเจนเพื่อผลิตแอล-ไลซีน เปรียบเทียบกับการใช้สารสกัดจากยีสต์เป็นแหล่งไนโตรเจน พบว่าผลิตเซลล์และแอล-ไลซีนได้ไม่แตกต่างกัน หรืออาจใช้กากถั่วที่ย่อยแล้วเป็นแหล่งไนโตรเจนก็ได้ แต่จะมีปริมาณไนโตรเจนค่อนข้างต่ำจึงต้องใช้ในปริมาณมาก แต่ในสารสกัดจากยีสต์นอกจากจะเป็นแหล่งไนโตรเจนแล้ว ยังมีวิตามินและแร่ธาตุที่จำเป็นสำหรับการเจริญของเชื้อด้วย ดังนั้นจึงยังเป็นที่นิยมใช้ในการทดลองศึกษาทั่วๆไป



รูปที่ 3.4 น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณแอล-ไลซีน และน้ำตาลที่เหลืออยู่ภายหลังการหมัก เมื่อใช้ bacto peptone เป็นแหล่งไนโตรเจน ในถังหมักขนาด 5 ลิตรควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 1 ลิตรต่อลิตรของอาหารต่อนาที และ ค่าความเป็นกรดด่างที่ 7.0 โดยโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 10 โมลาร์

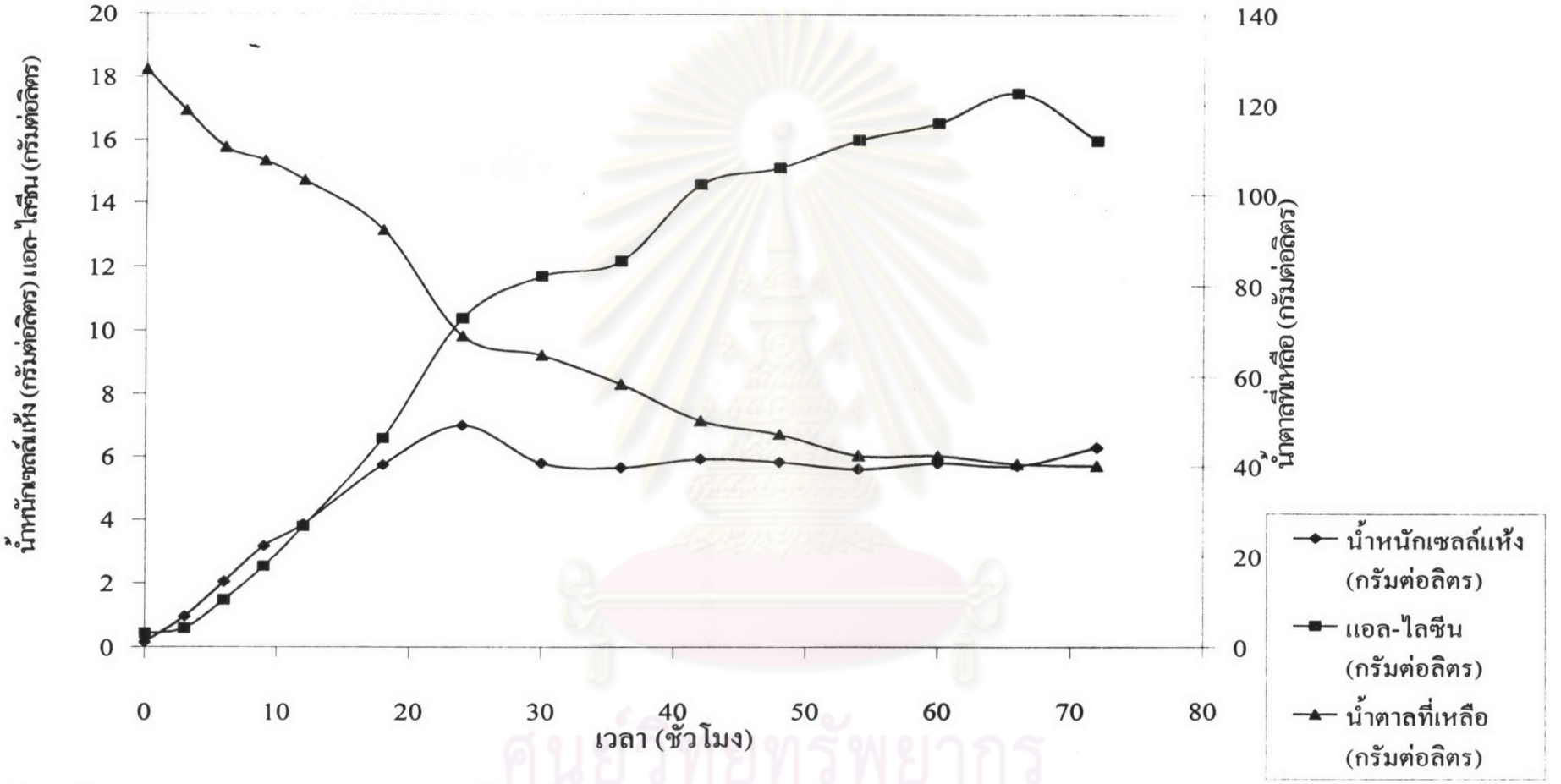
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.4 ค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณแอล-ไลซีน และน้ำตาลที่เหลืออยู่ภายหลังการหมัก เมื่อใช้ bacto peptone เป็นแหล่งไนโตรเจน ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 1 ลิตรต่อลิตรของอาหารต่อนาที และ ค่าความเป็นกรดด่างที่ 7.0 โดยโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 10 โมลาร์

เวลา (ชั่วโมง)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	แอล-ไลซีน (กรัม/ลิตร)	น้ำตาลที่เหลือ (กรัม/ลิตร)	ผลผลิตเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้ Yx/s	ผลผลิตแอล-ไลซีนต่อน้ำตาลที่ใช้ Yp/s	ผลผลิตแอล-ไลซีน ต่อเซลล์ Yp/x	อัตราการผลิตเซลล์ (กรัม/ลิตร/ชั่วโมง)	อัตราการผลิตแอล-ไลซีน (กรัม/ลิตร/ชั่วโมง)	อัตราการใช้น้ำตาล (กรัม/ลิตร/ชั่วโมง)
0	0.25	0.30	128.07	-	-	-	-	-	-
2	0.43	0.39	119.71	0.022	0.011	0.500	0.092	0.046	4.183
4	0.72	0.57	118.59	0.050	0.029	0.577	0.118	0.068	2.372
6	1.49	0.79	118.18	0.125	0.049	0.395	0.206	0.082	1.650
8	1.98	1.05	117.16	0.159	0.069	0.433	0.217	0.094	1.364
10	2.72	1.70	117.05	0.225	0.128	0.568	0.248	0.141	1.102
12	3.23	1.95	115.55	0.238	0.132	0.555	0.249	0.138	1.044
16	3.84	3.02	112.82	0.235	0.178	0.757	0.224	0.170	0.954
20	4.32	3.68	109.45	0.219	0.182	0.831	0.204	0.169	0.931
24	4.97	5.25	105.44	0.208	0.219	1.050	0.197	0.207	0.943
28	5.18	6.10	99.10	0.170	0.200	1.178	0.176	0.207	1.035

ตารางที่ 3.4 (ต่อ)

เวลา (ชั่วโมง)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	แอล-ไลซีน (กรัม/ลิตร)	น้ำตาลที่เหลือ (กรัม/ลิตร)	ผลผลิตเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้, Yx/s	ผลผลิตแอล-ไลซีนต่อน้ำตาลที่ใช้ Yp/s	ผลผลิตแอล-ไลซีนต่อเซลล์ Yp/x	อัตราการผลิตเซลล์ (กรัม/ลิตร/ชั่วโมง)	อัตราการผลิตแอล-ไลซีน (กรัม/ลิตร/ชั่วโมง)	อัตราการใช้น้ำตาล (กรัม/ลิตร/ชั่วโมง)
32	5.59	6.81	97.76	0.176	0.215	1.221	0.167	0.204	0.947
36	5.59	7.38	95.54	0.164	0.218	1.327	0.148	0.197	0.904
40	5.70	7.67	95.25	0.166	0.224	1.352	0.136	0.184	0.821
44	5.70	8.70	91.63	0.150	0.230	1.541	0.124	0.191	0.828
48	5.76	9.21	88.91	0.141	0.228	1.617	0.115	0.186	0.816
52	5.76	9.21	84.04	0.125	0.202	1.617	0.106	0.171	0.847
58	5.76	10.01	83.27	0.123	0.217	1.762	0.095	0.167	0.773
64	5.76	10.01	83.39	0.123	0.217	1.762	0.086	0.152	0.698
70	5.94	11.11	82.23	0.124	0.236	1.898	0.081	0.154	0.655
76	6.45	11.50	79.03	0.127	0.228	1.805	0.082	0.147	0.645
82	6.45	12.07	75.88	0.119	0.226	1.897	0.076	0.144	0.636
88	6.28	12.07	71.80	0.107	0.209	1.951	0.069	0.134	0.639
94	6.28	11.59	69.91	0.104	0.194	1.872	0.064	0.120	0.619

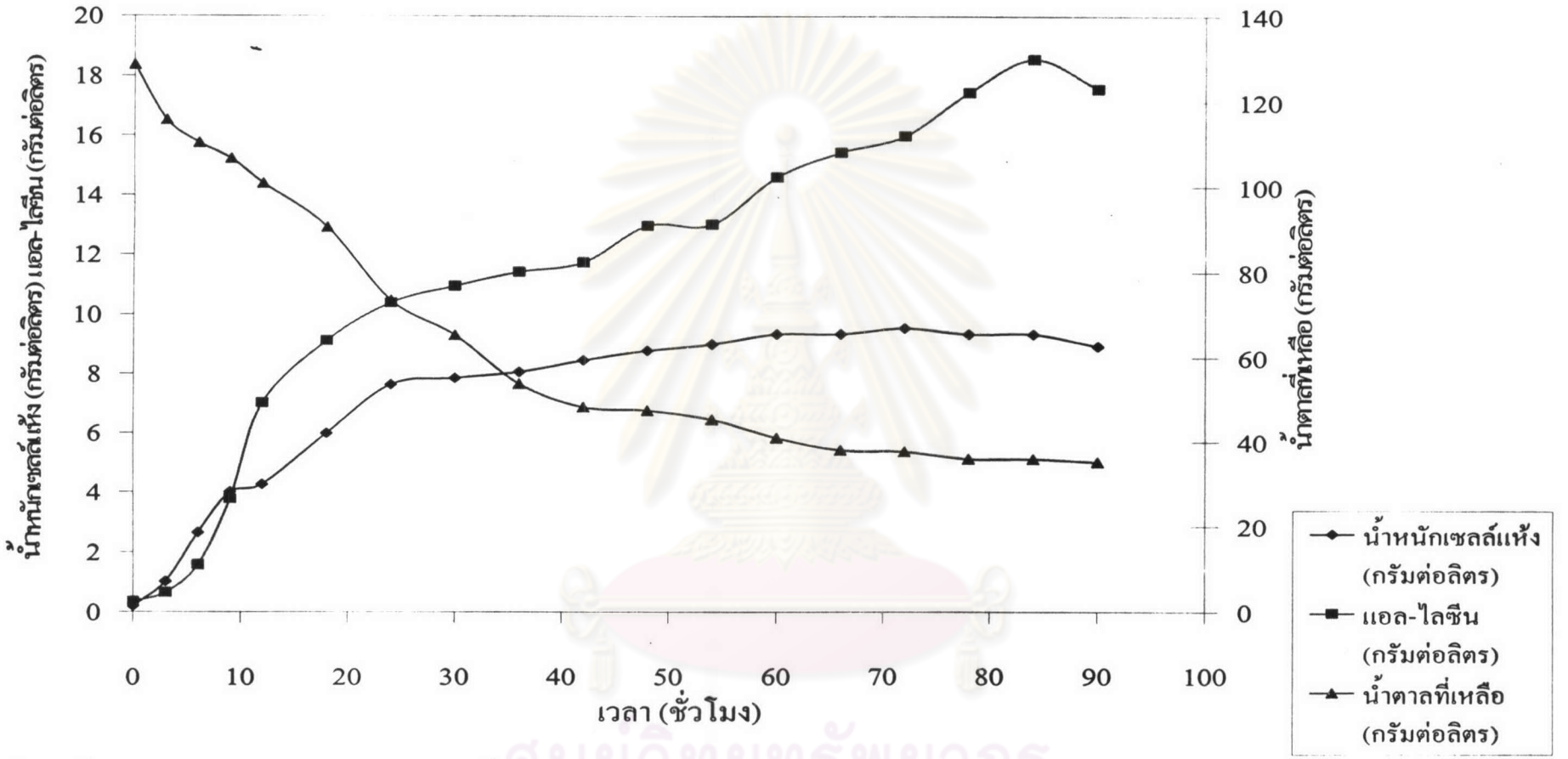


รูปที่ 3.5 น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณแอล-ไลซีน และน้ำตาลที่เหลืออยู่ภายหลังการหมัก เมื่อใช้ marine peptone เป็นแหล่งไนโตรเจน ในถังหมักขนาด 5 ลิตรควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 1 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที และค่าความเป็นกรดด่างที่ 7.0 โดยโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 10 โมลาร์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.5 ค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณแอล-ไลซีน และน้ำตาลที่เหลืออยู่ภายหลังการหมัก เมื่อใช้ marine peptone เป็นแหล่งไนโตรเจน ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 1 ลิตรต่อลิตรของอาหารต่อนาที และ ค่าความเป็นกรดด่างที่ 7.0 โดยโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 10 โมลาร์

เวลา (ชั่วโมง)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	แอล-ไลซีน (กรัม/ลิตร)	น้ำตาลที่เหลือ (กรัม/ลิตร)	ผลผลิตเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้ Yx/s	ผลผลิตแอล-ไลซีนต่อน้ำตาลที่ใช้ Yp/s	ผลผลิตแอล-ไลซีนต่อเซลล์ Yp/x	อัตราการผลิตเซลล์ (กรัม/ลิตร/ชั่วโมง)	อัตราการผลิตแอล-ไลซีน (กรัม/ลิตร/ชั่วโมง)	อัตราการใช้น้ำตาล (กรัม/ลิตร/ชั่วโมง)
0	0.15	0.42	127.58	-	-	-	-	-	-
3	0.95	0.59	118.53	0.088	0.019	0.213	0.267	0.057	3.017
6	2.04	1.47	110.32	0.110	0.061	0.556	0.315	0.175	2.877
9	3.17	2.53	107.46	0.150	0.105	0.699	0.336	0.234	2.236
12	3.86	3.79	103.07	0.151	0.137	0.908	0.309	0.281	2.043
18	5.74	6.59	92.08	0.157	0.174	1.104	0.311	0.343	1.972
24	7.00	10.39	68.84	0.117	0.170	1.455	0.285	0.415	2.448
30	5.80	11.71	64.59	0.090	0.179	1.998	0.188	0.376	2.100
36	5.66	12.19	58.19	0.079	0.170	2.136	0.153	0.327	1.928
42	5.93	14.60	50.08	0.075	0.183	2.453	0.138	0.338	1.845
48	5.84	15.14	47.04	0.071	0.183	2.587	0.119	0.307	1.678
54	5.62	16.02	42.34	0.064	0.183	2.852	0.101	0.289	1.579
60	5.81	16.56	42.34	0.066	0.189	2.852	0.094	0.269	1.421
66	5.73	17.52	40.47	0.064	0.196	3.065	0.085	0.259	1.320
72	6.31	16.00	40.11	0.070	0.178	2.529	0.086	0.216	1.215



รูปที่ 3.6 น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณแอล-ไลซีน และน้ำตาลที่เหลืออยู่ภายหลังการหมัก เมื่อใช้สารสกัดจากยีสต์ เป็นแหล่งไนโตรเจน ในถังหมักขนาด 5 ลิตรควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 1 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที และค่าความเป็นกรดด่างที่ 7.0 โดยโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 10 โมลาร์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.6 ค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณแอล-ไลซีน และน้ำตาลที่เหลืออยู่ภายหลังการหมัก เมื่อใช้สารสกัดจากยีสต์ เป็นแหล่งไนโตรเจน ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 1 ลิตรต่อลิตรของอาหารต่อนาที และ ค่าความเป็นกรดด่างที่ 7.0 โดยโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 10 โมลาร์

เวลา (ชั่วโมง)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	แอล-ไลซีน (กรัม/ลิตร)	น้ำตาลที่เหลือ (กรัม/ลิตร)	ผลผลิตเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้ Yx/s	ผลผลิตแอล-ไลซีน ต่อน้ำตาลที่ใช้ Yp/s	ผลผลิตแอล-ไลซีนต่อเซลล์ Yp/x	อัตราการผลิตเซลล์ (กรัม/ลิตร/ชั่วโมง)	อัตราการผลิตแอล-ไลซีน (กรัม/ลิตร/ชั่วโมง)	อัตราการใช้น้ำตาล (กรัม/ลิตร/ชั่วโมง)
0	0.20	0.35	128.50	-	-	-	-	-	-
3	1.02	0.65	115.68	0.064	0.023	0.366	0.273	0.100	4.273
6	2.65	1.58	110.32	0.135	0.068	0.502	0.408	0.205	3.030
9	4.01	3.79	106.53	0.173	0.157	0.903	0.423	0.382	2.441
12	4.26	7.01	100.74	0.146	0.240	1.640	0.338	0.555	2.313
18	5.98	9.12	90.41	0.152	0.230	1.517	0.321	0.487	2.116
24	7.63	10.39	73.32	0.135	0.182	1.351	0.310	0.418	2.299
30	7.85	10.95	65.19	0.121	0.167	1.386	0.255	0.353	2.110
36	8.06	11.43	53.58	0.105	0.148	1.410	0.218	0.308	2.081
42	8.47	11.75	48.12	0.103	0.142	1.378	0.197	0.271	1.914
48	8.79	12.98	39.87	0.097	0.143	1.470	0.179	0.263	1.846
54	9.01	13.02	45.22	0.106	0.152	1.438	0.163	0.235	1.542
60	9.35	14.62	40.87	0.104	0.163	1.560	0.153	0.238	1.461
66	9.35	15.45	38.02	0.101	0.167	1.650	0.139	0.229	1.371
72	9.56	16.00	37.64	0.103	0.172	1.672	0.130	0.217	1.262
78	9.35	17.46	35.92	0.099	0.185	1.870	0.117	0.219	1.187
84	9.35	18.56	35.92	0.099	0.197	1.990	0.109	0.217	1.102
90	8.95	17.57	35.20	0.094	0.185	1.968	0.097	0.191	1.037

ตารางที่ 3.7 ค่าทางจลนพลศาสตร์จากการหมัก *Brevibacterium lactofermentum* ATCC21798 เพื่อผลิตแอล-ไลซีนในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแหล่งไนโตรเจนแตกต่างกัน

ค่าจากการทดลอง	แหล่งไนโตรเจนในอาหารสำหรับผลิตแอล-ไลซีน		
	bacto peptone	marine peptone	สารสกัดจากยีสต์
น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	6.45	7.00	9.56
แอล-ไลซีน (กรัมต่อลิตร)	12.07	17.52	18.56
ระยะเวลาที่ใช้ในการหมักทั้งหมด (ชั่วโมง)	88	66	84
ผลผลิตเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้สูงสุด (Yx/s)	0.238	0.157	0.173
ผลผลิตแอล-ไลซีนต่อน้ำตาลที่ใช้สูงสุด (Yp/s)	0.230	0.201	0.240
ผลผลิตแอล-ไลซีนต่อน้ำตาลเซลล์สูงสุด (Yp/x)	1.897	3.065	1.990
อัตราการผลิตแอล-ไลซีนสูงสุด (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)	0.204	0.415	0.555
อัตราการผลิตเซลล์สูงสุด (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)	0.249	0.336	0.423
อัตราการใช้น้ำตาลสูงสุด (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)	4.183	3.017	4.273

3.2.2 เปรียบเทียบการเจริญและการผลิตแอล-ไลซีนของ *Brevibacterium lactofermentum* ATCC 21798 ในอาหารเหลวสำหรับผลิตแอล-ไลซีน สูตรที่ 1 โดยแปรผันปริมาณน้ำตาลเริ่มต้น

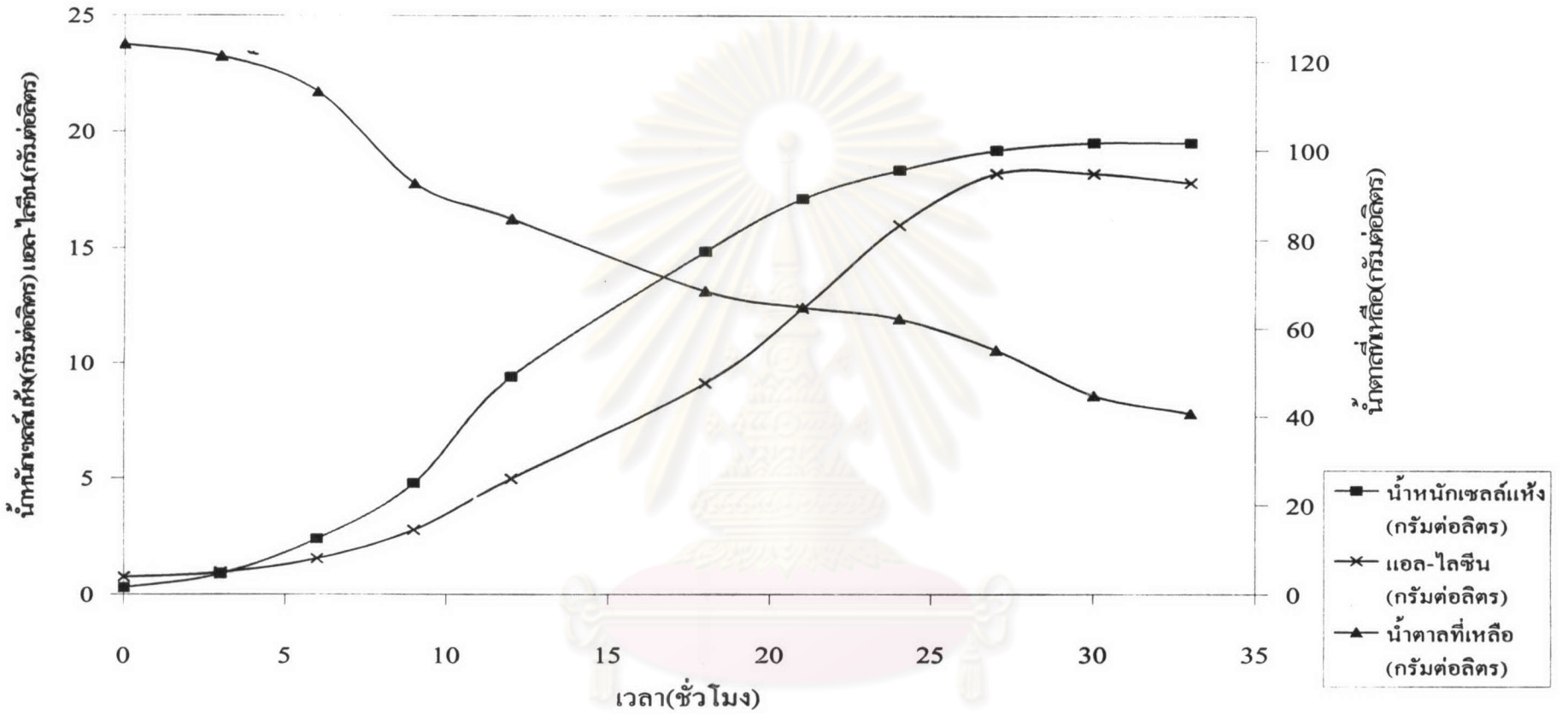
P. Kiefer E. Heinzle และ C. Wittmann (59) ศึกษาผลของแหล่งอาหารคาร์บอนต่างๆกันระหว่างกลูโคส ฟรุกโตส และ ซูโครสที่มีผลต่อการผลิตแอล-ไลซีนของ *Corynebacterium glutamicum* พบว่า กลูโคสเป็นแหล่งอาหารคาร์บอนที่ให้ผลผลิตแอล-ไลซีนสูงและความเข้มข้นเซลล์สูงที่สุด ดังนั้นในการทดลองนี้ยังคงใช้กลูโคสเป็นแหล่งอาหารคาร์บอนสำหรับการผลิตแอล-ไลซีนต่อไป

จากผลการทดลอง 3.2.1 *Brevibacterium lactofermentum* ATCC 21798 ที่ใช้ศึกษาเพื่อผลิตแอล-ไลซีน เมื่อสิ้นสุดการหมักแล้วพบว่ายังมีน้ำตาลเหลืออยู่ในถังหมักทั้ง 3 การทดลองที่มีbacto peptone , marine peptone และ สารสกัดจากยีสต์เป็นแหล่งไนโตรเจน เท่ากับ 75.88 กรัมต่อลิตร 42.34 กรัมต่อลิตร และ 35.92 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ แสดงว่าระดับน้ำตาลเริ่มต้นที่ใช้ยังสูงเกินไป และเป็นการสิ้นเปลืองวัตถุดิบ ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ต้นทุนการผลิตสูง ดังนั้นจึงทดลองลดระดับน้ำตาลเริ่มต้นที่แตกต่างกันคือ 130 ,110 และ 90 กรัมต่อลิตร และทดลองใช้แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 27 เปอร์เซ็นต์ เป็นตัวควบคุมค่าความเป็นกรดด่างในระหว่างการหมักแทนโพแทสเซียมไฮ ดรอกไซด์ความเข้มข้น 10 โมลาร์ ได้ผลการทดลองดังรูปที่ 3.6 ,3.7 และ3.8 ตามลำดับ และตารางที่ 3.8 - 3.10 ตามลำดับ

เมื่อเลี้ยง *Brevibacterium lactofermentum* ATCC21798 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีระดับน้ำตาลเริ่มต้นที่แตกต่างกัน พบว่า ที่ระดับน้ำตาลเริ่มต้น 130 กรัมต่อลิตร เมื่อสิ้นสุดการหมักที่ชั่วโมงที่ 30 เชื้อผลิตเซลล์ได้ 19.54 กรัมต่อลิตร ผลิตแอล-ไลซีนได้ 18.21 กรัมต่อลิตร ผลผลิตเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้ (Yx/s) มีค่าสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 24 ของการหมักซึ่งได้เท่ากับ 0.307 ผลผลิตแอล-ไลซีนต่อน้ำตาลที่ใช้ (Yp/s) มีค่าสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 24 ของการหมักซึ่งได้เท่ากับ 0.259 ผลผลิตแอล-ไลซีนต่อเซลล์ (Yp/x) มีค่าสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 27 ของการหมักซึ่งได้เท่ากับ 0.923 อัตราการผลิตแอล-ไลซีนมีค่าสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 27 ได้ 0.647 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง อัตราการผลิตเซลล์มีค่าสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 18 ได้ 0.810 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง มีน้ำตาลเหลืออยู่ในถังหมัก 44.67 กรัมต่อลิตร (รูปที่ 3.7 และตารางที่ 3.8)

ที่ระดับน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้น 110 กรัมต่อลิตร เมื่อสิ้นสุดการหมักที่ชั่วโมงที่ 42 เชื้อผลิตเซลล์ได้ 24.65 กรัมต่อลิตร ผลิตแอล-ไลซีนได้ 20.88 กรัมต่อลิตร ผลผลิตเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้ (Yx/s) มีค่าสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 12 ของการหมักซึ่งได้เท่ากับ 0.264 ผลผลิตแอล-ไลซีนต่อน้ำตาลที่ใช้(Yp/s) มีค่าสูงสุดที่ชั่วโมงที่27 ของการหมักซึ่งได้เท่ากับ 0.183 ผลผลิตแอล-ไลซีนต่อเซลล์ (Yp/x) มีค่าสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 48 ของการหมักซึ่งได้เท่ากับ 0.871 อัตราการผลิตแอล-ไลซีนมีค่าสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 24 ได้ 0.768 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และอัตราการผลิตเซลล์สูงสุดมีค่าสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 24 ได้ 0.934 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง มีน้ำตาลเหลืออยู่ในถังหมัก 1.31 กรัมต่อลิตร (รูปที่ 3.8 และตารางที่ 3.9)

ที่ระดับน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้น 90 กรัมต่อลิตร เมื่อสิ้นสุดการหมักที่ชั่วโมงที่ 42 เชื้อผลิตเซลล์ได้ 17.12 กรัมต่อลิตร ผลิตแอล-ไลซีนได้ 20.66 กรัมต่อลิตร ผลผลิตเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้ (Yx/s) มีค่าสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 15 ของการหมักซึ่งได้เท่ากับ 0.377 ผลผลิตแอล-ไลซีนต่อน้ำตาลที่ใช้ (Yp/s) มีค่าสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 18 ของการหมักซึ่งได้เท่ากับ 0.225 ผลผลิตแอล-ไลซีนต่อเซลล์ (Yp/x) มีค่าสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 42 ของการหมักซึ่งได้เท่ากับ 1.178 อัตราการผลิตแอล-ไลซีนมีค่าสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 21 ได้ 0.595 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง อัตราการผลิตเซลล์มีค่าสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 15 ได้ 0.969 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง มีน้ำตาลเหลืออยู่ในถังหมัก 3.87 กรัมต่อลิตร (รูปที่ 3.9 และตารางที่ 3.10)

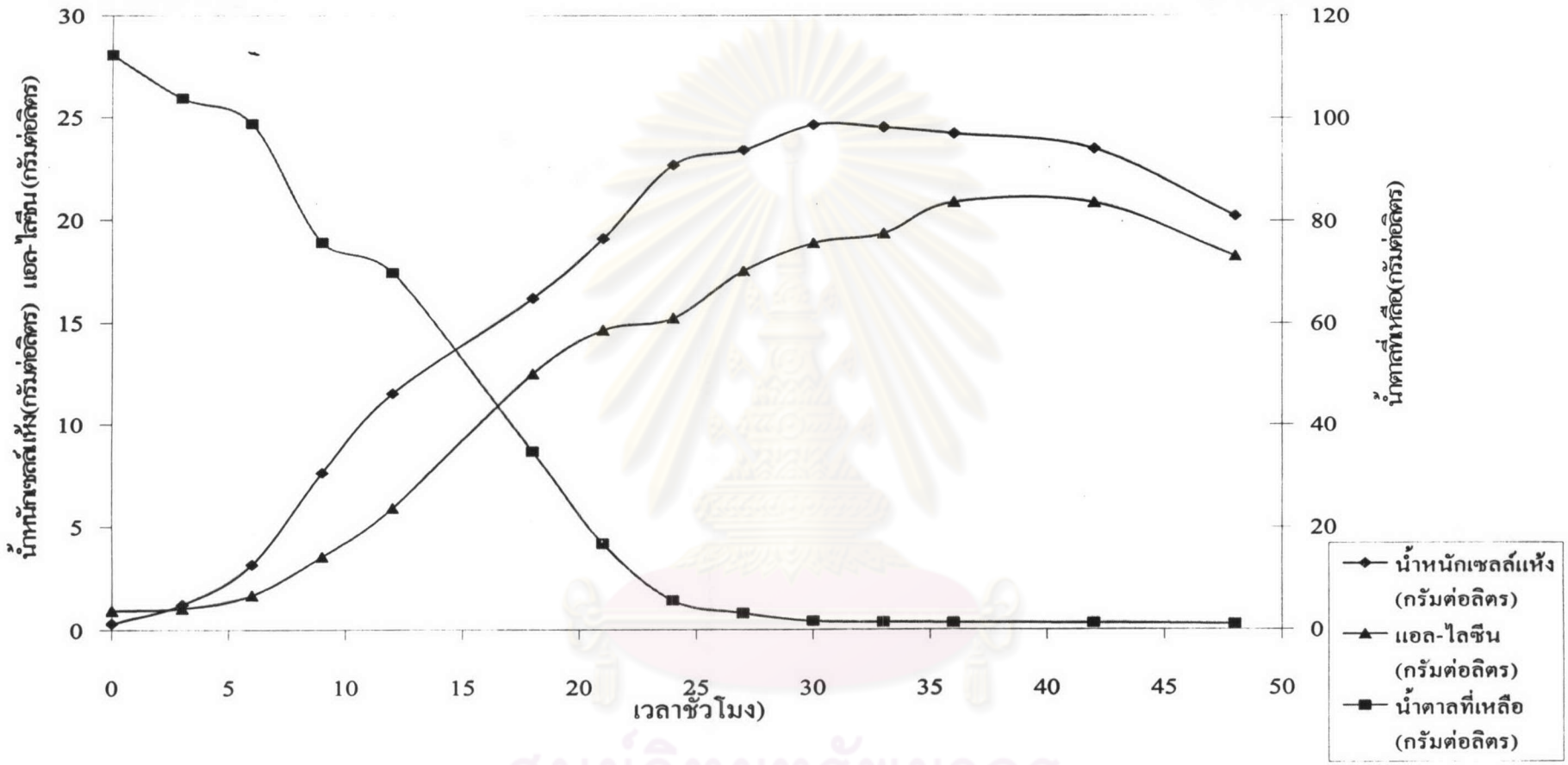


รูปที่ 3.7 น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณแอล-ไลซีน และน้ำตาลที่เหลืออยู่ภายหลังการหมัก เมื่อใช้ระดับน้ำตาลเริ่มต้น 130 กรัมต่อลิตร ในถังหมักขนาด 5 ลิตรควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 1 ลิตรต่อลิตรของอาหารต่อนาที และ ค่าความเป็นกรดด่างที่ 7.0 โดยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 27 เปอร์เซ็นต์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.8 ค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณแอล-ไลซีน และน้ำตาลที่เหลืออยู่ภายหลังการหมัก เมื่อใช้ระดับน้ำตาลเริ่มต้น 130 กรัมต่อลิตร ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 1 ลิตรต่อลิตรของอาหารต่อนาที และ ค่าความเป็นกรดด่างที่ 7.0 โดยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 27 เปอร์เซ็นต์

เวลา (ชั่วโมง)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	แอล-ไลซีน (กรัม/ลิตร)	น้ำตาลที่เหลือ (กรัม/ลิตร)	ผลผลิตเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้ Yx/s	ผลผลิตแอล-ไลซีนต่อน้ำตาลที่ใช้ Yp/s	ผลผลิตแอล-ไลซีนต่อเซลล์ Yp/x	อัตราการผลิตเซลล์ (กรัม/ลิตร/ชั่วโมง)	อัตราการผลิตแอล-ไลซีน (กรัม/ลิตร/ชั่วโมง)	อัตราการใช้น้ำตาล (กรัม/ลิตร/ชั่วโมง)
0	0.28	0.74	123.53	-	-	-	-	-	-
3	0.88	0.94	120.96	0.233	0.077	0.328	0.200	0.066	0.858
6	2.37	1.52	113.00	0.199	0.074	0.374	0.348	0.130	1.755
9	4.78	2.77	92.46	0.145	0.065	0.450	0.500	0.225	3.452
12	9.40	4.97	84.50	0.234	0.108	0.464	0.760	0.352	3.252
18	14.86	9.12	68.38	0.237	0.136	0.575	0.810	0.465	3.413
21	17.12	12.38	64.71	0.305	0.211	0.691	0.802	0.554	2.626
24	18.35	16.00	62.10	0.307	0.259	0.845	0.753	0.636	2.451
27	19.21	18.21	55.00	0.276	0.255	0.923	0.701	0.647	2.538
30	19.54	18.21	44.67	0.232	0.211	0.907	0.642	0.582	2.763
33	19.54	17.82	40.63	0.244	0.217	0.887	0.584	0.518	2.390

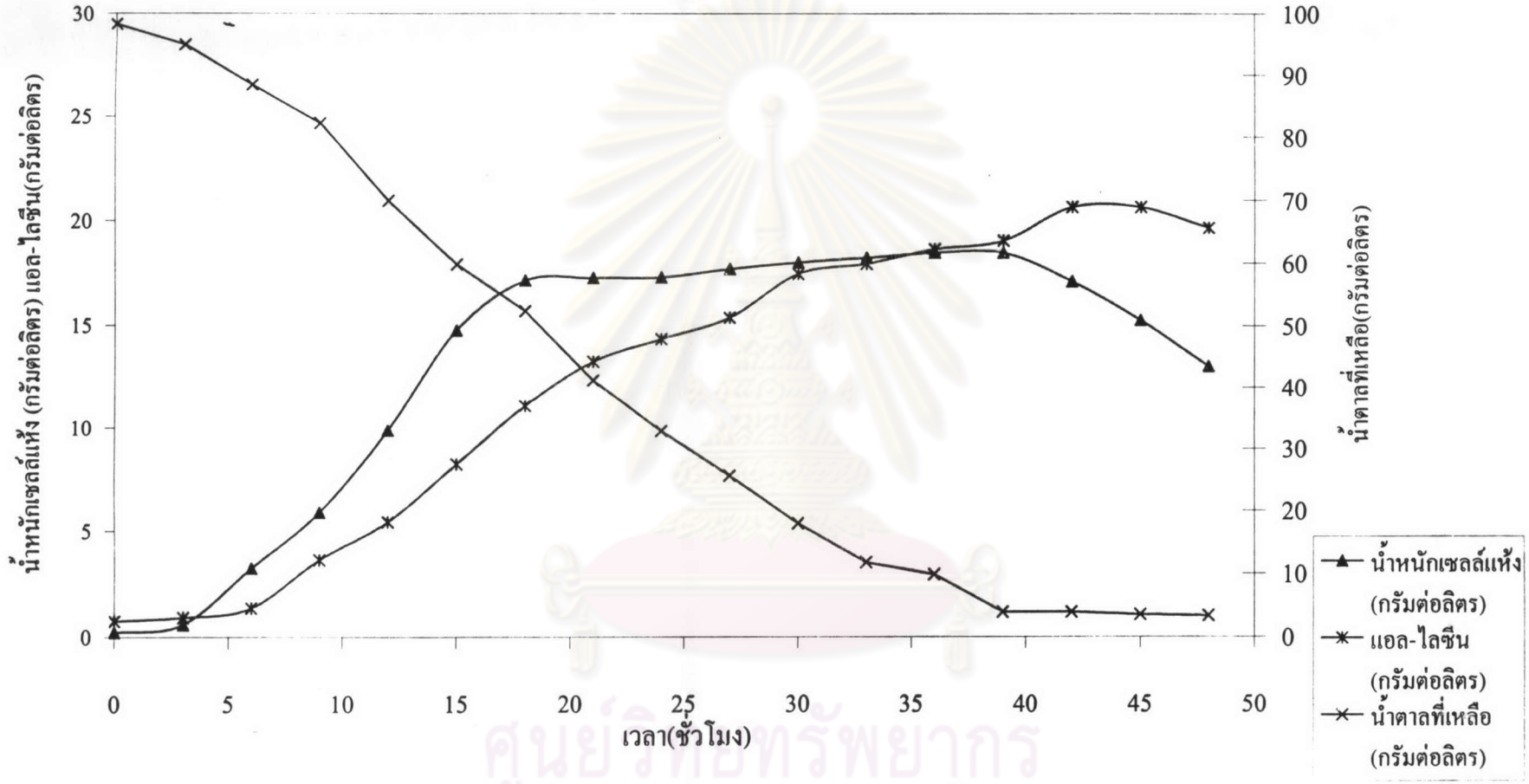


รูปที่ 3.8 น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณแอล-ไลซีน และน้ำตาลที่เหลืออยู่ภายหลังการหมัก เมื่อใช้ระดับน้ำตาลเริ่มต้น 110 กรัมต่อลิตร ในถังหมักขนาด 5 ลิตรควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 1 ลิตรต่อลิตรของอาหารต่อนาที และ ค่าความเป็นกรดด่างที่ 7.0 โดยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 27 เปอร์เซ็นต์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.9 ค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณแอล-ไลซีน และน้ำตาลที่เหลืออยู่ภายหลังการหมัก เมื่อใช้ระดับน้ำตาลเริ่มต้น 110 กรัมต่อลิตร ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 1 ลิตรต่อลิตรของอาหารต่อนาที และ ค่าความเป็นกรดด่างที่ 7.0 โดยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 27 เปอร์เซ็นต์

เวลา (ชั่วโมง)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	แอล-ไลซีน (กรัม/ลิตร)	น้ำตาลที่เหลือ (กรัม/ลิตร)	ผลผลิตเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้ Yx/s	ผลผลิตแอล-ไลซีนต่อน้ำตาลที่ใช้ Yp/s	ผลผลิตแอล-ไลซีนต่อเซลล์ Yp/x	อัตราการผลิตเซลล์ (กรัม/ลิตร/ชั่วโมง)	อัตราการผลิตแอล-ไลซีน (กรัม/ลิตร/ชั่วโมง)	อัตราการใช้น้ำตาล (กรัม/ลิตร/ชั่วโมง)
0	0.30	0.92	112.13	-	-	-	-	-	-
3	1.21	1.03	103.68	0.107	0.013	0.120	0.302	0.036	2.819
6	3.15	1.67	98.71	0.212	0.056	0.264	0.475	0.126	2.237
9	7.59	3.53	75.55	0.199	0.071	0.358	0.810	0.290	4.065
12	11.53	5.88	69.67	0.264	0.117	0.442	0.936	0.414	3.539
18	16.18	12.50	34.56	0.205	0.149	0.729	0.882	0.644	4.310
21	19.10	14.65	16.73	0.197	0.144	0.730	0.895	0.654	4.543
24	22.71	15.23	5.68	0.210	0.173	0.639	0.934	0.768	4.436
27	23.44	17.52	3.18	0.212	0.183	0.718	0.857	0.740	4.035
30	24.65	18.88	1.67	0.220	0.163	0.738	0.812	0.599	3.682
33	24.53	19.36	1.43	0.219	0.167	0.761	0.734	0.559	3.355
36	24.23	20.65	1.32	0.216	0.180	0.834	0.665	0.555	3.078
42	23.51	20.88	1.31	0.209	0.180	0.860	0.553	0.475	2.639
48	20.23	18.27	1.08	0.179	0.156	0.871	0.415	0.362	2.313



รูปที่ 3.9 น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณแอล-ไลซีน และน้ำตาลที่เหลืออยู่ภายหลังการหมัก เมื่อใช้ระดับน้ำตาลเริ่มต้น 90 กรัมต่อลิตร ในถังหมักขนาด 5 ลิตรควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 1 ลิตรต่อลิตรของอาหารต่อนาที และ ค่าความเป็นกรดด่างที่ 7.0 โดยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 27 เปอร์เซ็นต์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.10 ค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณแอล-ไลซีน และน้ำตาลที่เหลืออยู่ภายหลังการหมัก เมื่อใช้ระดับน้ำตาลเริ่มต้น 90 กรัมต่อลิตร ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 1 ลิตรต่อลิตรของอาหารต่อนาที และ ค่าความเป็นกรดด่างที่ 7.0 โดยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 27 เปอร์เซ็นต์

เวลา (ชั่วโมง)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	แอล-ไลซีน (กรัม/ลิตร)	น้ำตาลที่เหลือ (กรัม/ลิตร)	ผลผลิตเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้ ,Yx/s	ผลผลิตแอล-ไลซีนต่อน้ำตาลที่ใช้, Yp/s	ผลผลิตแอล-ไลซีนต่อเซลล์, Yp/x	อัตราการผลิตเซลล์ (กรัม/ลิตร/ชั่วโมง)	อัตราการผลิตแอล-ไลซีน(กรัม/ลิตร/ชั่วโมง)	อัตราการใช้น้ำตาล (กรัม/ลิตร/ชั่วโมง)
0	0.21	0.73	98.27	-	-	-	-	-	-
3	0.58	0.90	94.94	0.112	0.050	0.441	0.125	0.055	1.110
6	3.23	1.34	88.45	0.307	0.062	0.201	0.503	0.101	1.638
9	5.89	3.62	82.26	0.355	0.180	0.509	0.631	0.321	1.779
12	9.87	5.44	69.90	0.340	0.166	0.487	0.805	0.392	2.364
15	14.74	8.20	59.76	0.377	0.194	0.514	0.969	0.498	2.568
18	17.16	11.06	52.31	0.369	0.225	0.609	0.942	0.574	2.554
21	17.28	13.22	41.05	0.298	0.218	0.732	0.813	0.595	2.725
24	17.32	14.33	32.81	0.261	0.208	0.795	0.713	0.567	2.728
27	17.71	15.38	25.52	0.240	0.201	0.837	0.648	0.543	2.695
30	18.02	17.48	17.91	0.222	0.208	0.940	0.594	0.558	2.679
33	18.25	17.96	11.73	0.208	0.199	0.955	0.547	0.522	2.623
36	18.49	18.66	9.81	0.207	0.203	0.981	0.508	0.498	2.457
39	18.49	19.07	3.87	0.194	0.194	1.003	0.469	0.470	2.421
42	17.12	20.66	3.87	0.179	0.211	1.178	0.403	0.474	2.248
45	15.25	20.66	3.49	0.159	0.210	1.325	0.334	0.443	2.106
48	13.03	19.67	3.31	0.135	0.199	1.478	0.267	0.395	1.978

จากการทดลองพบว่าถังหมักที่มีระดับน้ำตาลเริ่มต้น 130 กรัมต่อลิตรและใช้แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เป็นตัวควบคุมค่าความเป็นกรดด่าง สามารถผลิตแอล-ไลซีนได้ใกล้เคียงกับถังหมักที่มีระดับน้ำตาลเริ่มต้น 130 กรัมต่อลิตร แต่ใช้โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 10 โมลาร์เป็นตัวควบคุมค่าความเป็นกรดด่าง คือ 18.21 กรัมต่อลิตร และ 18.56 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ แต่ระยะเวลาที่ใช้ในการหมักสั้นกว่าคือ 30 ชั่วโมง และ 84 ชั่วโมง เนื่องจากเชื้อสามารถใช้แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เป็นแหล่งไนโตรเจนในระหว่างการเจริญ ทำให้เชื้อเจริญได้ดีและเร็ว จึงสร้างแอล-ไลซีนได้เร็ว ซึ่งทำให้ระยะเวลาในการหมักสั้นลง

เมื่อเปรียบเทียบระดับน้ำตาลเริ่มต้นทั้ง 3 ถัง พบว่าถังหมักที่มีระดับน้ำตาลเริ่มต้น 130 กรัมต่อลิตรจะมีน้ำตาลเหลือมากที่สุด และผลิตแอล-ไลซีนได้น้อยสุด ดังนั้นที่ระดับน้ำตาลเริ่มต้น 130 กรัมต่อลิตร จึงไม่เหมาะสำหรับการผลิตแอล-ไลซีน เพราะอาจเกิดการยับยั้งเนื่องจากซับสเทรตได้ ทำให้เชื้อเจริญได้ไม่ดีเท่าที่ควร หรืออาจเกิด overflow metabolism คือเกิดสารที่ไม่ต้องการขึ้นมาเช่นแลกเทตหรืออะซิเทต(47) เช่นเดียวกับการทดลองของ Sassi และคณะ (60) ทดลองเลี้ยง *Corynebacterium glutamicum* ATCC 21513 เพื่อผลิตแอล-ไลซีนในกระบวนการหมักแบบแบตช์ที่ระดับน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นต่างกันพบว่าที่ระดับน้ำตาลเริ่มต้นสูงเกินไปเชื้อจะผลิตกรดแลกติกและกรดอะซิติกเพิ่มมากจึงทำให้ผลผลิตแอล-ไลซีนต่ำ สำหรับถังหมักที่มีระดับน้ำตาลเริ่มต้น 110 กรัมต่อลิตรจะให้อัตราการผลิตแอล-ไลซีนสูงสุด และอัตราการผลิตเซลล์สูง แต่ปริมาณแอล-ไลซีนที่ผลิตได้ใกล้เคียงกับถังหมักที่มีระดับน้ำตาลเริ่มต้นที่ 90 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 3.11) แสดงว่าที่ระดับน้ำตาลเริ่มต้น 110 กรัมต่อลิตรเชื้อจะใช้น้ำตาลส่วนใหญ่ในการเจริญมากกว่าที่จะใช้ในการผลิตแอล-ไลซีน พิจารณาได้จากค่าน้ำหนักเซลล์แห้งที่สูงกว่าที่ระดับน้ำตาลเริ่มต้น 90 กรัมต่อลิตร ซึ่งเมื่อผลิตเซลล์ได้มากกว่าก็น่าจะผลิตแอล-ไลซีนได้มากกว่า แต่กลับผลิตแอล-ไลซีนได้ใกล้เคียงกัน และเมื่อพิจารณาค่าอัตราการผลิตแอล-ไลซีนต่อชั่วโมงที่ใช้ในการหมักทั้งหมด($\Delta P/\Delta t$) ของเชื้อที่มีระดับน้ำตาลเริ่มต้น 110 กรัมต่อลิตร พบว่าให้ค่าที่ใกล้เคียงกับระดับน้ำตาลเริ่มต้น 90 กรัมต่อลิตร คือ 0.497 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และ 0.492 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ดังนั้นจึงเลือกระดับน้ำตาลเริ่มต้น 90 กรัมต่อลิตรสำหรับการทดลองต่อไป

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.11 ค่าทางจลนพลศาสตร์จากการหมัก *Brevibacterium lactofermentum* ATCC21798 เพื่อผลิตแอล-ไลซีนในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีระดับน้ำตาลเริ่มต้นแตกต่างกัน

ค่าจากการทดลอง	ระดับน้ำตาลเริ่มต้น		
	130 กรัมต่อลิตร	110 กรัมต่อลิตร	90 กรัมต่อลิตร
น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	19.54	23.20	17.12
แอล-ไลซีน (กรัมต่อลิตร)	18.21	20.88	20.66
ระยะเวลาที่ใช้ในการหมัก (ชั่วโมง)	30	42	42
ผลผลิตเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้สูงสุด (Yx/s)	0.307	0.183	0.377
ผลผลิตแอล-ไลซีนต่อน้ำตาลที่ใช้สูงสุด(Yp/s)	0.259	0.356	0.225
ผลผลิตแอล-ไลซีนต่อเซลล์สูงสุด (Yp/x)	0.923	0.872	1.178
อัตราการผลิตแอล-ไลซีนสูงสุด (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)	0.647	0.768	0.595
อัตราการผลิตเซลล์สูงสุด (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)	0.810	1.285	0.969
อัตราการใช้น้ำตาลสูงสุด (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)	3.413	4.543	2.728

3.3 การเจริญและการผลิตแอล-ไลซีนของ *Brevibacterium lactofermentum* ATCC 21798 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร แบบเฟดแบตช์

จากผลการทดลอง 3.2.2 *Brevibacterium lactofermentum* ATCC 21798 ที่ใช้ศึกษาเพื่อผลิตแอล-ไลซีนแบบแบตช์ โดยมีระดับน้ำตาลเริ่มต้นที่ 90 กรัมต่อลิตร พบว่าช่วงที่ระดับน้ำตาลเหลืออยู่ประมาณ 30-50 กรัมต่อลิตร เป็นช่วงที่เชื้อมีผลผลิตแอล-ไลซีนต่อน้ำตาลที่ใช้ อัตราการผลิตแอล-ไลซีนและอัตราการใช้น้ำตาลสูงสุด ดังนั้นในการศึกษากระบวนการหมักแบบเฟดแบตช์จึงเลือกคุมระดับน้ำตาลไว้ที่ช่วงนี้ ผลการทดลองดังรูปที่ 3.10 ตารางที่ 3.12 และรูปที่ 3.11 ตารางที่3.13

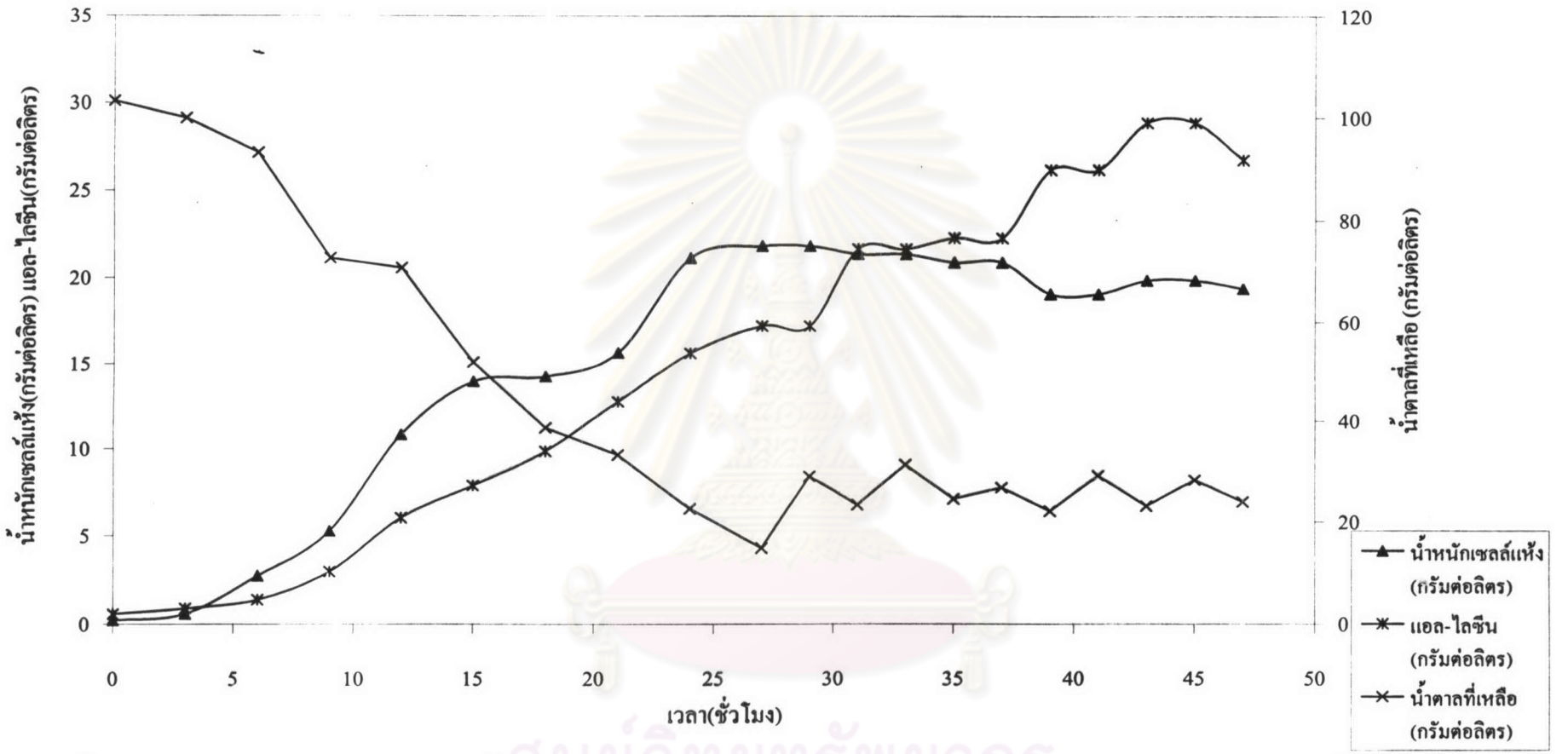
จากการทดลองพบว่า *Brevibacterium lactofermentum* ATCC 21798ในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยควบคุมระดับน้ำตาลไว้ที่ 30 กรัมต่อลิตร และ 50 กรัมต่อลิตร และควบคุมปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักไว้ที่ 60 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเลี้ยงเชื้อถึงชั่วโมงที่ระดับน้ำตาลในถังหมักเหลืออยู่ต่ำกว่าระดับที่ควบคุมไว้ จึงเริ่มเติมน้ำตาลที่เตรียมไว้ความเข้มข้น 600 กรัมต่อลิตร โดยคุมระดับน้ำตาลไว้ที่ 30 กรัมต่อลิตรและ 50 กรัมต่อลิตร ที่ระดับน้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร เมื่อเลี้ยงเชื้อถึงชั่วโมงที่ 25 เชื้อใช้น้ำตาลในถังหมักเหลือน้อยกว่า 30 กรัมต่อลิตร จึงเริ่มเติมน้ำตาล เมื่อสิ้นสุดการหมัก เชื้อผลิตเซลล์ได้ 19.89 กรัมต่อลิตร ผลิตแอล-ไลซีนได้ 28.88 กรัมต่อลิตร ผลผลิตเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้สูงสุด(Yx/s) อยู่ที่ชั่วโมงที่ 12 ของการหมัก ได้ 0.325 ผลผลิตแอล-ไลซีนต่อน้ำตาลที่ใช้ (Yp/s)สูงสุดอยู่ที่ชั่วโมงที่ 43

ของการหมัก ได้ 0.290 อัตราการผลิตเซลล์มีค่าสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 15 ได้ 0.915 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง อัตราการผลิตแอล-ไลซีนมีค่าสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 31 ได้ 0.681 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง อัตราการใช้น้ำตาลสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 18 ได้ 3.593 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง (ตารางที่ 3.12)

เมื่อคุมระดับน้ำตาลในถังหมักที่ 50 กรัมต่อลิตร เมื่อเลี้ยงเชื้อถึงชั่วโมงที่ 25 เชื้อใช้น้ำตาลในถังหมักเหลือน้อยกว่า 50 กรัมต่อลิตร จึงเริ่มเติมน้ำตาล เมื่อสิ้นสุดการหมัก เชื้อผลิตเซลล์ได้ 25.54 กรัมต่อลิตร ผลิตแอล-ไลซีนได้ 28.39 กรัมต่อลิตร ผลผลิตเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้สูงสุด(Yx/s) อยู่ที่ชั่วโมงที่ 12 ของการหมัก ได้ 0.687 ผลผลิตแอล-ไลซีนต่อน้ำตาลที่ใช้ (Yp/s) สูงสุดอยู่ที่ชัวโมงที่ 12 ของการหมัก ได้ 0.229 อัตราการผลิตเซลล์มีค่าสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 18 ได้ 1.169 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง อัตราการผลิตแอล-ไลซีนมีค่าสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 25 ได้ 0.672 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง อัตราการใช้น้ำตาลสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 54 ได้ 3.757 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง (ตารางที่ 3.13)

เมื่อเปรียบเทียบเซลล์ที่เชื้อผลิตได้ระหว่าง 2 ถังหมักพบว่า ถังหมักที่ควบคุมระดับน้ำตาลไว้ที่ 50 กรัมต่อลิตร เชื้อจะผลิตเซลล์ได้สูงกว่า แต่ผลิตแอล-ไลซีนได้ค่าที่ใกล้เคียงกัน เมื่อพิจารณาค่าผลผลิตแอล-ไลซีนต่อน้ำตาลที่ใช้พบว่าในถังหมักที่ควบคุมระดับน้ำตาลไว้ที่ 30 กรัมต่อลิตร เชื้อสามารถใช้น้ำตาลเปลี่ยนเป็นแอล-ไลซีนได้ดีกว่าถังหมักที่ควบคุมระดับน้ำตาลไว้ที่ 50 กรัมต่อลิตร แสดงว่าที่ควบคุมระดับน้ำตาลในถังหมักไว้ที่ 50 กรัมต่อลิตร เชื้อได้รับน้ำตาลมากเกินไป เชื้อจึงใช้น้ำตาลเพื่อการเจริญมากกว่าที่จะใช้น้ำตาลเพื่อการผลิตแอล-ไลซีน (49) ดังนั้นจึงเลือกควบคุมระดับน้ำตาลที่ 30 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 3.14)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

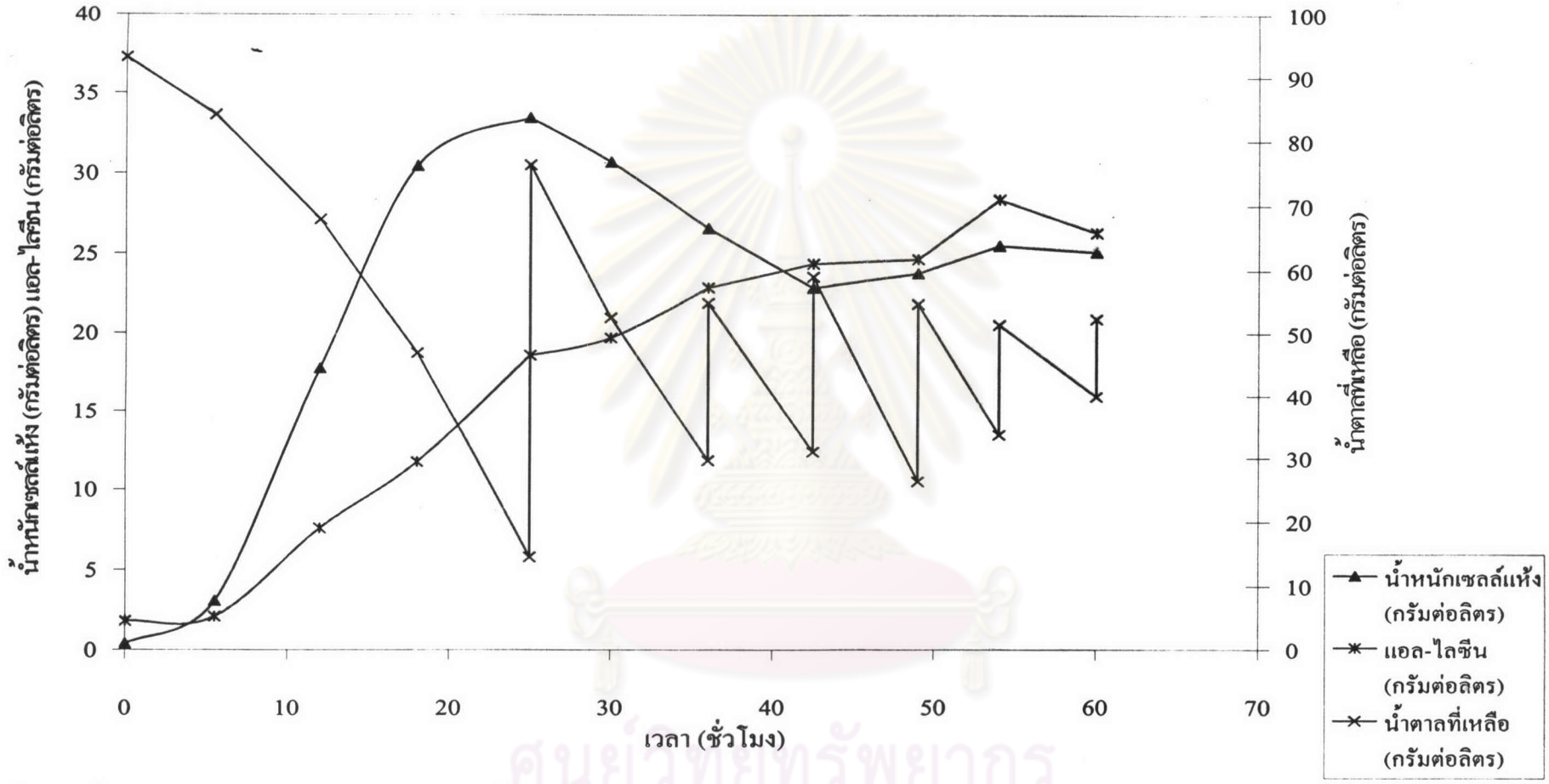


รูปที่ 3.10น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณแอล-ไลซีน และน้ำตาลที่เหลืออยู่ภายหลังการหมัก ในถังหมักขนาด 5 ลิตร แบบเฟดแบตช์ ควบคุมระดับน้ำตาลไว้ที่ 30 กรัมต่อลิตร อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 1 ลิตรต่อลิตรของอาหารต่อนาที และ ค่าความเป็นกรดด่างที่ 7.0 โดยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 27 เปอร์เซ็นต์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.12 ค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณแอล-ไลซีน และน้ำตาลที่เหลืออยู่ภายหลังการหมัก ในถังหมักขนาด 5 ลิตร แบบเฟดแบตช์โดยควบคุมระดับน้ำตาลไว้ที่ 30 กรัมต่อลิตร อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 1 ลิตรต่อลิตรของอาหารต่อนาที และ ค่าความเป็นกรดด่างที่ 7.0 โดย แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 27 เปอร์เซ็นต์

เวลา (ชั่วโมง)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	แอล-ไลซีน (กรัม/ลิตร)	น้ำตาลที่เหลือ (กรัม/ลิตร)	ผลผลิตเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้ ,Yx/s	ผลผลิตแอล-ไลซีนต่อน้ำตาลที่ใช้, Yp/s	ผลผลิตแอล-ไลซีนต่อเซลล์, Yp/x	อัตราการผลิตเซลล์ (กรัม/ลิตร/ชั่วโมง)	อัตราการผลิตแอล-ไลซีน(กรัม/ลิตร/ชั่วโมง)	อัตราการใช้น้ำตาล (กรัม/ลิตร/ชั่วโมง)
0	0.23	0.57	103.23	-	-	-	-	-	-
3	0.59	0.90	99.81	0.103	0.096	0.935	0.117	0.110	1.140
6	2.74	1.39	93.10	0.247	0.081	0.327	0.417	0.136	1.688
9	5.28	2.97	72.45	0.164	0.078	0.476	0.561	0.267	3.420
12	10.84	6.04	70.56	0.325	0.167	0.515	0.884	0.456	2.723
15	13.96	7.89	51.80	0.267	0.142	0.533	0.915	0.488	3.429
18	14.27	9.90	38.55	0.217	0.144	0.665	0.780	0.519	3.593
21	15.68	12.78	33.21	0.221	0.174	0.790	0.735	0.581	3.334
24	21.14	15.65	22.54	0.259	0.187	0.722	0.871	0.628	3.362
27	21.84	17.25	14.83	0.244	0.189	0.772	0.800	0.618	3.274
31	21.37	21.66	23.26	0.225	0.224	0.998	0.682	0.680	3.037
35	20.90	22.30	24.44	0.205	0.215	1.051	0.591	0.621	2.887
39	19.11	26.19	22.08	0.206	0.280	1.358	0.484	0.657	2.344
43	19.89	28.88	23.10	0.202	0.290	1.440	0.457	0.658	2.267
47	19.42	26.77	23.94	0.188	0.257	1.365	0.408	0.557	2.167



รูปที่ 3.11 น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณแอล-ไลซีน และน้ำตาลที่เหลืออยู่ภายหลังการหมัก ในถังหมักขนาด 5 ลิตร แบบเฟดแบตช์ ควบคุมระดับน้ำตาลไว้ที่ 50 กรัมต่อลิตร อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 1 ลิตรต่อลิตรของอาหารต่อนาที และ ค่าความเป็นกรดด่างที่ 7.0 โดยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 27 เปอร์เซ็นต์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.13 ค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณแอล-ไลซีน และน้ำตาลที่เหลืออยู่ภายหลังการหมัก ในถังหมักขนาด 5 ลิตร แบบเฟดแบตช์โดยควบคุมระดับน้ำตาลไว้ที่ 50 กรัมต่อลิตร อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 1 ลิตรต่อลิตรของอาหารต่อนาที และ ค่าความเป็นกรดด่างที่ 7.0 โดยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 27 เปอร์เซ็นต์

เวลา (ชั่วโมง)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม/ลิตร)	แอล-ไลซีน (กรัม/ลิตร)	น้ำตาลที่เหลือ (กรัม/ลิตร)	ผลผลิตเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้ ,Yx/s	ผลผลิตแอล-ไลซีนต่อน้ำตาลที่ใช้, Yp/s	ผลผลิตแอล-ไลซีนต่อเซลล์, Yp/x	อัตราการผลิตเซลล์ (กรัม/ลิตร/ชั่วโมง)	อัตราการผลิตแอล-ไลซีน(กรัม/ลิตร/ชั่วโมง)	อัตราการใช้น้ำตาล (กรัม/ลิตร/ชั่วโมง)
0	0.378	1.79	93.101	-	-	-	-	-	-
5.5	3.06	2.08	84.08	0.297	0.031	0.106	0.488	0.052	1.639
12	17.75	7.58	67.82	0.687	0.229	0.333	1.448	0.482	2.107
18	30.42	11.73	46.84	0.650	0.215	0.331	1.669	0.552	2.570
25	33.46	18.58	14.50	0.421	0.214	0.508	1.323	0.672	3.144
30	30.69	19.72	52.53	0.296	0.175	0.591	1.010	0.598	3.410
36	26.60	22.91	29.60	0.209	0.169	0.806	0.728	0.587	3.479
42.5	22.90	24.41	30.97	0.151	0.152	1.004	0.530	0.532	3.510
49	23.82	24.69	26.26	0.129	0.126	0.977	0.478	0.467	3.712
54	25.54	28.39	33.71	0.124	0.131	1.057	0.466	0.492	3.757
60	25.14	26.32	39.90	0.116	0.114	0.990	0.413	0.409	3.572

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.14 ค่าทางจลนพลศาสตร์จากการหมัก *Brevibacterium lactofermentum* ATCC21798 เพื่อผลิตแอล-ไลซีนแบบเฟดแบตช์ โดยแปรผันการควบคุมระดับน้ำตาล

ค่าจากการทดลอง	ระดับน้ำตาลที่ควบคุม	
	30 กรัมต่อลิตร	50 กรัมต่อลิตร
น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	19.89	25.54
แอล-ไลซีน (กรัมต่อลิตร)	28.88	28.39
ระยะเวลาที่ใช้ในการหมัก	43	54
ผลผลิตเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้สูงสุด (Yx/s)	0.325	0.687
ผลผลิตแอล-ไลซีนต่อน้ำตาลที่ใช้สูงสุด(Yp/s)	0.290	0.229
ผลผลิตแอล-ไลซีนต่อเซลล์สูงสุด (Yp/x)	1.655	1.057
อัตราการผลิตแอล-ไลซีนสูงสุด (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)	0.680	0.672
อัตราการผลิตเซลล์สูงสุด (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)	0.915	0.905
อัตราการใช้น้ำตาลสูงสุด (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)	3.593	3.757

3.4 การเจริญและการผลิตแอล-ไลซีนของ *Brevibacterium lactofermentum* ATCC 21798 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร แบบเฟดแบตช์ที่มีระบบเวียนเซลล์และน้ำหมักที่ผ่านคอลัมน์เรซินแลกเปลี่ยนไอออนกลับมาใช้ใหม่

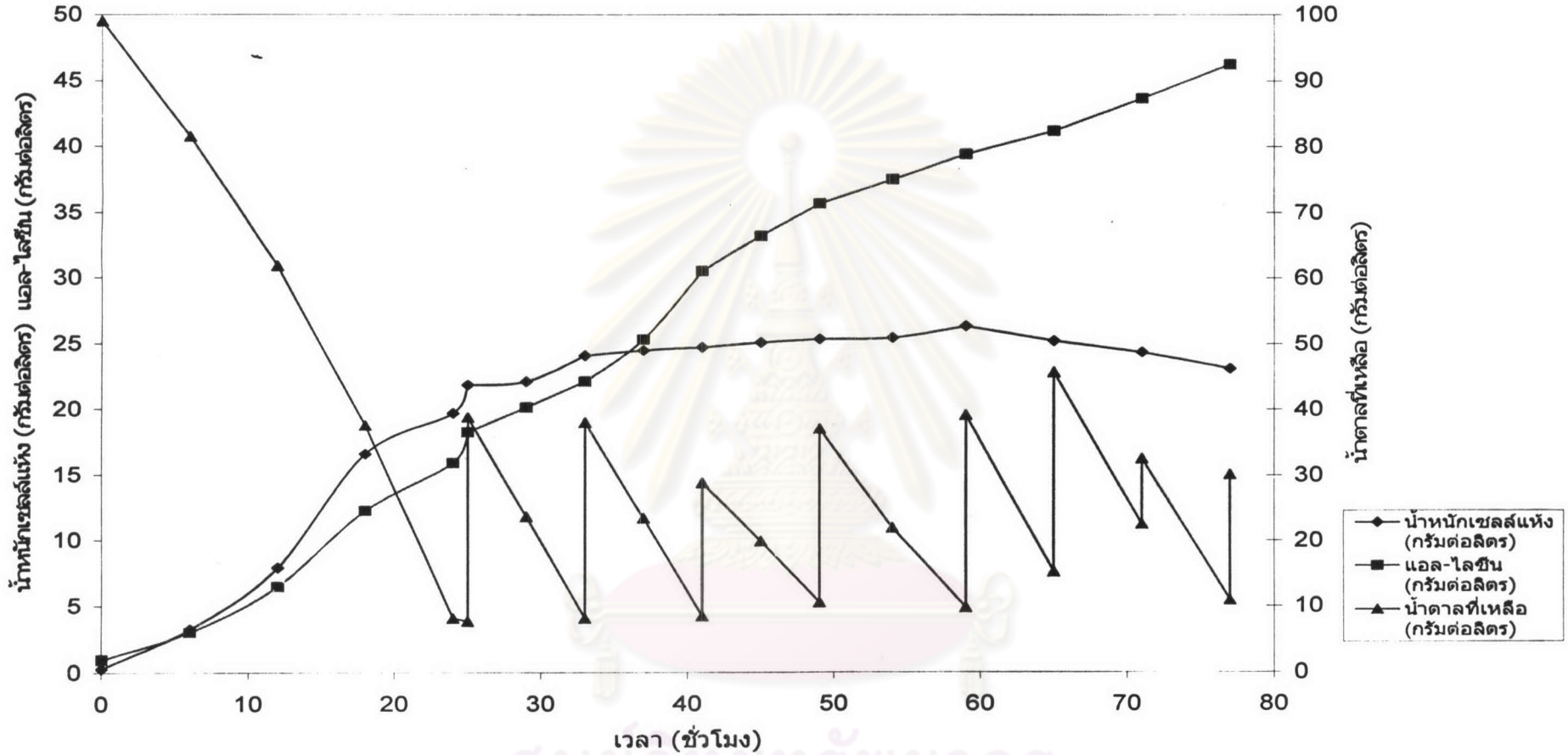
มีรายงานการผลิตกรดแลกติกโดยใช้วิธีการหมักแบบเวียนเซลล์และน้ำหมักด้วยการกรองแบบไหลขวาง (cross flow) และดูดซับกรดแลกติกที่คอลัมน์แลกเปลี่ยนไอออน พบว่าสามารถเพิ่มอัตราการผลิตกรดแลกติกและอัตราการผลิตเซลล์สูงขึ้น ในระหว่างกระบวนการหมักเชื้อจะผลิตเซลล์เพิ่มมากขึ้นและเมื่อมีเซลล์มาก กรดแลกติกจะเพิ่มมากขึ้นจนกระทั่งความเข้มข้นของกรดแลกติกมากเกินไปและมีผลทำให้ไปยับยั้งการเจริญของเซลล์ จะทำให้อัตราการผลิตกรดแลกติกลดลง ซึ่งวิธีนี้จะช่วยลดผลกระทบจากกรดแลกติกที่ผลิตได้ที่มีต่อการผลิตกรดแลกติก (ผลจากการยับยั้งเนื่องจากผลิตภัณฑ์ที่มีต่อการผลิต)ได้ ทำให้ประสิทธิภาพการผลิตเพิ่มขึ้น ดังนั้นจึงสนใจที่จะนำวิธีนี้มาใช้กับกระบวนการผลิตแอล-ไลซีน โดยนำหน่วยกรองเซลล์มาต่อกับถังหมัก ในระหว่างการหมักจะมีการดึงน้ำหมักจากถังหมักผ่านหน่วยกรองเซลล์ เพื่อกรองแยกเซลล์ออกจากน้ำหมัก ส่วนที่กรองได้ (permeate) คือน้ำหมักที่ไม่มีเซลล์จะนำมาผ่านคอลัมน์เรซิน ที่ศึกษาภาวะที่เหมาะสมโดยภูวะนัย จริยวรานุกูล (55)

เพื่อดูดซับแอล-ไลซีนไว้ แล้วเวียนน้ำหมักนั้นกลับเข้าถังหมัก ส่วนที่กรองไม่ได้ (retentate) คือน้ำหมักที่มีเซลล์อยู่จะเวียนกลับเข้าถังหมักเช่นเดียวกัน ผลการทดลองดังรูปที่ 3.12 และตารางที่ 3.15

จากการทดลองพบว่า *Brevibacterium lactofermentum* ATCC 21798 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร หมักแบบเฟดแบตช์โดยเวียนเซลล์และน้ำหมัก และควบคุมระดับน้ำตาลที่ 30 กรัมต่อลิตร ควบคุมออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักไว้ที่ 60 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเลี้ยงเชื้อถึงชั่วโมงที่ 25 จึงเติมน้ำตาลที่เตรียมไว้ความเข้มข้น 600 กรัมต่อลิตร และเมื่อเลี้ยงถึงชั่วโมงที่ 41 เชื้อมีอัตราการผลิตแอล-ไลซีนสูงสุด จึงเริ่มดึงน้ำหมักผ่านหน่วยกรองเซลล์ เพื่อกรองแยกเซลล์ออกจากน้ำหมักบางส่วน แล้วเวียนน้ำหมักส่วนที่มีเซลล์กลับเข้าถังหมัก ส่วนน้ำหมักที่ไม่มีเซลล์นำมาผ่านคอลัมน์แลกเปลี่ยนไอออนเพื่อดึงเอาแอล-ไลซีน บางส่วนออกจากน้ำหมัก แล้วเวียนน้ำหมักส่วนนี้กลับเข้าถังหมักพร้อมกับน้ำตาลที่เติม เมื่อสิ้นสุดการหมักที่ชั่วโมงที่ 77 เชื้อผลิตเซลล์ได้ 23.12 กรัมต่อลิตร ผลิตแอล-ไลซีนได้ 46.15 กรัมต่อลิตร อัตราการผลิตแอล-ไลซีนสูงสุดได้ 0.720 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ผลผลิตแอล-ไลซีนต่อน้ำตาลที่ใช้สูงสุดที่ชั่วโมงที่ 49 ได้ 0.205

เมื่อเปรียบเทียบแอล-ไลซีนที่ได้จากการหมักแบบเฟดแบตช์และแบบเฟดแบตช์โดยเวียนเซลล์และน้ำหมัก พบว่าเชื้อผลิตแอล-ไลซีนจากการหมักแบบเฟดแบตช์โดยเวียนเซลล์และน้ำหมักได้สูงกว่าจากการหมักแบบเฟดแบตช์ที่ไม่มีการเวียนเซลล์และน้ำหมัก คิดเป็นเปอร์เซ็นต์เพิ่มขึ้น 60 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3.16) เมื่อเวียนน้ำหมักส่วนที่กรองเซลล์ออกแล้วนำไปผ่านคอลัมน์แลกเปลี่ยนไอออนกลับเข้าถังหมัก พบว่าเชื้อสามารถผลิตแอล-ไลซีนเพิ่มขึ้นได้ อาจเป็นเพราะทำให้ความเข้มข้นของแอล-ไลซีนในถังหมักลดลง เนื่องจากถูกดึงออกไปบางส่วน เชื้อจึงสามารถใช้น้ำตาลเพื่อผลิตแอล-ไลซีนได้ต่อไป แสดงว่าการเวียนน้ำหมักกลับมาใช้ใหม่เพื่อผลิตแอล-ไลซีนเป็นวิธีที่น่าจะศึกษาต่อไป เนื่องจากในน้ำหมักที่ผ่านคอลัมน์แลกเปลี่ยนไอออนนั้นยังมีสารอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อเชื้อที่เชื้อสามารถใช้ได้ต่อไป

ระยะเวลาที่ใช้ในการหมักแบบเฟดแบตช์โดยเวียนเซลล์และน้ำหมักนานกว่าแบบเฟดแบตช์ คือ 77 และ 43 ชั่วโมงตามลำดับ ดังนั้นถ้าหากสามารถที่จะทำให้เชื้อผลิตเซลล์เป็นระยะเวลานานปริมาณแอล-ไลซีนก็น่าจะผลิตได้สูงขึ้น แต่เนื่องจาก *Brevibacterium lactofermentum* ATCC 21798 เป็นสายพันธุ์ที่ต้องการออกซิเจนสูงในระหว่างการหมักเพื่อผลิตแอล-ไลซีน ซึ่งในระหว่างการกรองและเวียนเซลล์ต้องพยายามให้เชื้อใช้เวลาที่น้อยที่สุดเพื่อที่เชื้อจะได้ไม่ขาดออกซิเจน เพื่อไม่ทำให้ทำให้เชื้อตายไปในระหว่างการหมัก หรืออาจจะเลี้ยงเซลล์แยกไว้ให้ได้ปริมาณที่มากและอยู่ในช่วงที่เชื้อมีความสามารถในการผลิตแอล-ไลซีนได้สูง แล้วนำมาเติมในถังหมักระหว่างการหมักเพื่อทดแทนเซลล์บางส่วนที่อาจตายไป วิธีนี้น่าจะทำให้สามารถผลิตแอล-ไลซีนได้ปริมาณที่มากขึ้น และยังช่วยลดระยะเวลาช่วง lag phase ซึ่งจะช่วยลดต้นทุนในการผลิตแอล-ไลซีนในระดับอุตสาหกรรมได้ แต่ว่ายังต้องศึกษาหาภาวะต่างๆที่เหมาะสมสำหรับเทคนิคการหมักแบบนี้ต่อไป



รูปที่ 3.12 น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณแอล-ไลซีน และน้ำตาลที่เหลืออยู่ภายหลังการหมัก ในถังหมักขนาด 5 ลิตร แบบเฟดแบตช์โดยเวียนเซลล์และน้ำหมัก ควบคุมระดับน้ำตาลไว้ที่ 30 กรัมต่อลิตร อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 1 ลิตรต่อลิตรของอาหารต่อนาที และค่าความเป็นกรดด่างที่ 7.0 โดยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 27 เปอร์เซ็นต์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.15 ค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณแอล-ไลซีน และน้ำตาลที่เหลืออยู่ภายหลังการหมัก ในถังหมักขนาด 5 ลิตร แบบเฟดแบตช์โดยเวียนเซลล์และน้ำหมัก ควบคุมระดับน้ำตาลไว้ที่ 30 กรัมต่อลิตร อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการกวน 600 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 1 ลิตรต่อลิตรของอาหารต่อนาที และ ค่าความเป็นกรดด่างที่ 7.0 โดยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 27 เปอร์เซ็นต์

เวลา	น้ำหนักเซลล์แห้ง(กรัม/ลิตร)	แอล-ไลซีน (กรัม/ลิตร)	น้ำตาลที่เหลือ(กรัม/ลิตร)	ผลผลิตเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้,Yx/s	ผลผลิตแอล-ไลซีนต่อน้ำตาลที่ใช้,Yp/s	ผลผลิตแอล-ไลซีนต่อเซลล์,Yp/x	อัตราการผลิตเซลล์(กรัม/ลิตร/ชั่วโมง)	อัตราการผลิตแอล-ไลซีน(กรัม/ลิตร/ชั่วโมง)	อัตราการใช้น้ำตาล(กรัม/ลิตร/ชั่วโมง)
0	0.29	0.95	98.96	-	-	-	-	-	-
6	3.25	3.01	81.50	0.169	0.118	0.695	0.493	0.343	2.911
12	7.89	6.45	61.75	0.204	0.148	0.724	0.633	0.458	3.101
18	16.58	12.23	37.52	0.265	0.184	0.692	0.905	0.626	3.414
24	19.67	15.91	8.13	0.237	0.165	0.694	0.898	0.623	3.785
25	21.84	18.24	7.69	0.236	0.189	0.802	0.862	0.691	3.651
29	22.10	20.13	23.57	0.205	0.180	0.879	0.752	0.661	4.258
33	24.10	22.12	8.15	0.195	0.174	0.889	0.721	0.641	3.693
37	24.49	25.32	23.36	0.177	0.179	1.007	0.654	0.659	4.136
41	24.73	30.49	8.46	0.161	0.195	1.209	0.596	0.720	3.692
45	25.10	33.21	19.82	0.155	0.201	1.300	0.551	0.717	3.910
49	25.36	35.66	10.55	0.148	0.205	1.384	0.512	0.708	3.461
54	25.45	37.51	21.83	0.136	0.198	1.453	0.466	0.677	3.771
59	26.35	39.44	9.78	0.132	0.196	1.477	0.442	0.652	3.336
65	25.22	41.21	15.15	0.113	0.182	1.615	0.384	0.619	3.743
71	24.36	43.69	22.45	0.099	0.175	1.776	0.339	0.602	3.754
77	23.12	46.25	10.89	0.086	0.170	1.984	0.296	0.588	3.742

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.16 ค่าทางจลนพลศาสตร์จากการหมัก *Brevibacterium lactofermentum* ATCC21798 เพื่อผลิตแอล-ไลซีนแบบเฟดแบตช์ และแบบเฟดแบตช์ที่มีระบบเวียนเซลล์และน้ำหมักที่ผ่านคอลัมน์แลกเปลี่ยนไอออน

ค่าจากการทดลอง	กระบวนการหมักแบบ	
	เฟดแบตช์	เฟดแบตช์ที่มีระบบเวียนเซลล์และน้ำหมักที่ผ่านคอลัมน์แลกเปลี่ยนไอออน
น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	19.89	23.12
แอล-ไลซีน (กรัมต่อลิตร)	28.88	46.25
ระยะเวลาที่ใช้ในการหมัก	43	77
ผลผลิตเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้สูงสุด (Yx/s)	0.325	0.265
ผลผลิตแอล-ไลซีนต่อน้ำตาลที่ใช้สูงสุด(Yp/s)	0.290	0.205
ผลผลิตแอล-ไลซีนต่อเซลล์สูงสุด (Yp/x)	1.655	1.984
อัตราการผลิตแอล-ไลซีนสูงสุด (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)	0.680	0.720
อัตราการผลิตเซลล์สูงสุด (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)	0.915	0.905
อัตราการใช้น้ำตาลสูงสุด (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)	3.593	4.258

3.5 การเปรียบเทียบการเจริญและการผลิตแอล-ไลซีนของ *Brevibacterium lactofermentum* ATCC 21798 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร แบบแบตช์ แบบเฟดแบตช์ และแบบเฟดแบตช์ที่มีระบบเวียนเซลล์และน้ำหมักที่ผ่านคอลัมน์เรซินแลกเปลี่ยนไอออนกลับมาใช้ใหม่

เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบการผลิตแอล-ไลซีนด้วยกระบวนการหมักแบบแบตช์ แบบเฟดแบตช์ และแบบเฟดแบตช์ที่มีระบบเวียนเซลล์และน้ำหมักกลับมาใช้ใหม่ ในกรณีที่มีความเข้มข้นกลูโคสเริ่มต้นเท่ากันคือ 90 กรัมต่อลิตร ใช้สารสกัดจากยีสต์เป็นแหล่งไนโตรเจนและใช้แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 27 เปอร์เซ็นต์เป็นตัวควบคุมค่าความเป็นกรดด่าง ค่าจลนพลศาสตร์จากการหมักดังตารางที่ 3.17 พบว่า กระบวนการหมักแบบเฟดแบตช์ที่มีระบบหมุนเวียนเซลล์และน้ำหมักกลับมาใช้ใหม่สามารถผลิตแอล-ไลซีนได้ 46.25 กรัมต่อลิตร ซึ่งสูงกว่าการหมักแบบแบตช์และแบบเฟดแบตช์ 120 และ 60 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

ตารางที่ 3.17 ค่าทางจลนพลศาสตร์จากการหมัก *Brevibacterium lactofermentum* ATCC21798 เพื่อผลิตแอล-ไลซีนแบบแบตช์ เฟดแบตช์ และแบบเฟดแบตช์ที่มีระบบเวียนเซลล์และน้ำหมักที่ผ่านคอลัมน์แลกเปลี่ยนไอออน

ค่าจากการทดลอง	กระบวนการหมักแบบ		
	แบตช์	เฟดแบตช์	เฟดแบตช์ที่มีระบบเวียนเซลล์และน้ำหมักที่ผ่านคอลัมน์แลกเปลี่ยนไอออน
น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	17.12	19.89	23.12
แอล-ไลซีน (กรัมต่อลิตร)	20.66	28.88	46.25
ระยะเวลาที่ใช้ในการหมัก (ชั่วโมง)	45	43	77
ผลผลิตเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้สูงสุด (Yx/s)	0.377	0.325	0.265
ผลผลิตแอล-ไลซีนต่อน้ำตาลที่ใช้สูงสุด (Yp/s)	0.255	0.290	0.205
ผลผลิตแอล-ไลซีนต่อเซลล์สูงสุด (Yp/x)	1.178	1.655	1.984
อัตราการผลิตแอล-ไลซีนสูงสุด (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)	0.595	0.680	0.720
อัตราการผลิตเซลล์สูงสุด (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)	0.969	0.915	0.905
อัตราการใช้น้ำตาลสูงสุด (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)	2.728	3.593	4.258

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย