

บทที่ 1

บทนำ

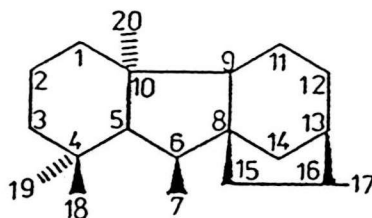
จิบเบอเรลลิน (gibberellin) เป็นฮอร์โมนพืชชนิดหนึ่ง พบครั้งแรกที่ประเทศญี่ปุ่น โดยเป็นสารที่ทำให้เกิดโรคแก่ต้นข้าว ซึ่งทำให้ต้นข้าวมีลักษณะลำต้นยืดยาวผิดปกติและมีสีเหลืองซีด เกษตรกรชาวญี่ปุ่นเรียกโรคนี้ว่า บากานี (baganae) พบว่าอาการของโรคนี้เกิดจากสารที่ผลิตจากเชื้อรา *Gibberella fujikuroi* (Hori, 1898 cited by Bruckner and Blechschmidt, 1991a) จิบเบอเรลลินเป็นสารส่งเสริมการเจริญ และ เพิ่มการแบ่งเซลล์ของพืช เป็นผลให้เกิดการเร่งการเจริญของเมล็ด เร่งการออกดอก (ดวงพร คันธโชติ, 2530) จึงเป็นสารที่มีประโยชน์มากทางการเกษตรที่นำมาใช้ในการส่งเสริมการเพาะปลูก และ เพิ่มผลการผลิต (พีรเดช ทองอำไพ, 2529)

### 1.1 ชนิดและโครงสร้างของจิบเบอเรลลิน

จิบเบอเรลลินเป็นสารในกลุ่ม ไดเทอร์พีนอยด์ (diterpenoids) ที่ประกอบด้วยวงแหวนเตตระไซคลิก (tetracyclic ring) โครงสร้างนี้เรียกว่า ent-gibberellane ซึ่งเป็นโครงสร้างหลักของจิบเบอเรลลิน (Rowe, 1968 cited by Takahashi, et al., 1986) ดังแสดงในรูปที่ 1- 1

จิบเบอเรลลินสามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม

1. กลุ่มที่มีคาร์บอน 20 อะตอม ( $C_{20}$ -gibberellin) เป็นกลุ่มที่มีโครงสร้างไดเทอร์พีนที่สมบูรณ์ คือ มีคาร์บอน 20 อะตอม
2. กลุ่มที่มีคาร์บอน 19 อะตอม ( $C_{19}$ -gibberellin) เป็นกลุ่มที่ขาดคาร์บอนอะตอมที่ 20 คือมี 19 อะตอม เป็นกลุ่มที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ จิบเบอเรลลินที่อยู่ในกลุ่มนี้ได้แก่  $GA_3$   $GA_4$   $GA_7$  (Bruckner, et al., 1989)



รูปที่ 1-1 โครงสร้างของ ent-gibberellane

(Bruckner and Blechschmidt, 1991a)

จิบเบอเรลลินมีอยู่หลายชนิดขึ้นอยู่กับโครงสร้างที่มีการเปลี่ยนไป เนื่องจากจากปฏิกิริยาหลายอย่าง เช่น ไฮดรอกซิเลชัน ออกซิเดชัน และการลดขนาดของโครงสร้างวงแหวน (ring shortening) รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงของหมู่ฟังก์ชันชนิดต่างๆ ซึ่งปัจจุบันพบจิบเบอเรลลินประมาณ 79 ชนิดทั้งจากพืชและเชื้อรา จิบเบอเรลลินที่นิยมใช้กันมากในการเกษตรคือ  $GA_3$ ,  $GA_4$  และ  $GA_7$  (Bruckner, et al., 1989)

## 1.2 แหล่งที่มาของจิบเบอเรลลิน

สำหรับแหล่งที่มาของจิบเบอเรลลินได้มีการศึกษาแนวทางและการผลิต ซึ่งอาจแบ่งออกเป็น 3 วิธี

1.2.1 การสกัดจากพืช ค้นพบครั้งแรกในพืชชั้นสูง (West and Phinney, 1956 cited by Bruckner and Blechschmidt, 1991a) ต่อมาสามารถสกัดได้จากเมล็ดพืชหลายชนิด เช่น พืชตระกูลแตง (cucurbit), เมล็ดอ่อนของถั่วฝักยาว(runner bean)(Hemphill, et al., 1972; Albone, et al., 1984)ซึ่งพบว่าในพืชนั้นจะมีจิบเบอเรลลินในปริมาณที่น้อย

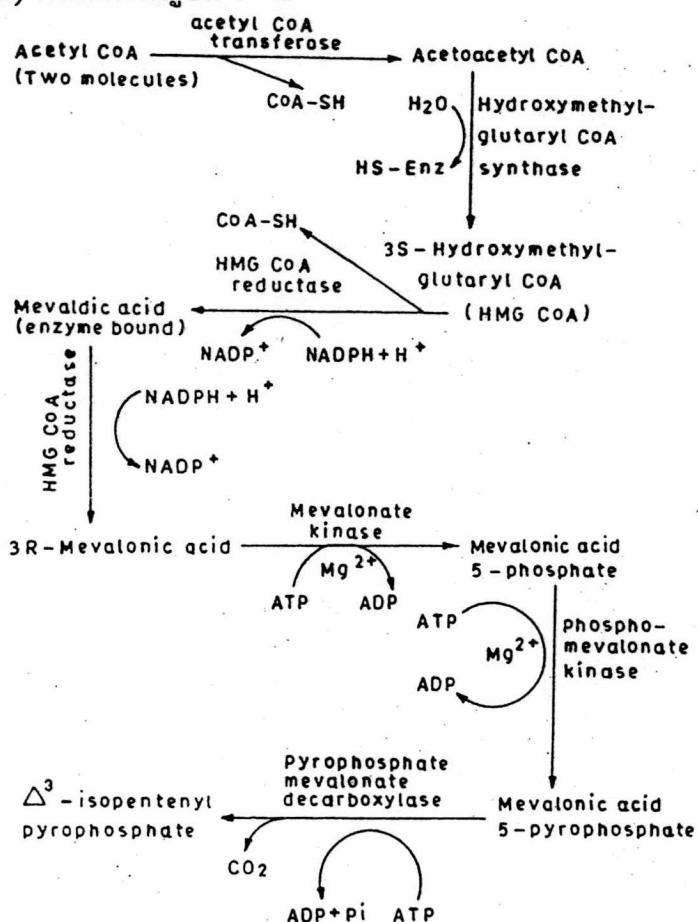
1.2.2 การสังเคราะห์ทางเคมี โดยมีการใช้ 2-อัลลีสออกซิอโนโซล (2-allyoxyanisole) และ 4-เบนซิลออกซีไซโคลเฮกซาโนน (4-benzoyloxycyclohexanone) เป็นสารตั้งต้นสำหรับการผลิตจิบเบอเรลลินแต่จิบเบอเรลลินที่ได้มีปริมาณไม่คงที่ และ สารตั้งต้นมีราคาแพง จึงไม่เหมาะสมที่จะผลิตเป็นการค้า (Corey, et al., 1978)

1.2.3 การหมักด้วยจุลินทรีย์ ซึ่งปัจจุบันนิยมใช้สำหรับการผลิตจิบเบอเรลลิน โดยการเลี้ยงเชื้อรา *Gibberella fujikuroi* ในอาหารเหลวโดยอาศัยถึงหมักระบบต่างๆซึ่งให้ผลผลิตเป็นที่น่าพอใจและนิยมผลิตในระดับอุตสาหกรรม(Cross,et al., 1963, 1964)

### 1.3 การสังเคราะห์จิบเบอเรลลิน (Biosynthesis Pathway)

#### 1.3.1 การสังเคราะห์ไอโซเพนทีนัล ไพโรฟอสเฟต (Isopentenyl pyrophosphate)

การสังเคราะห์จิบเบอเรลลิน จะผ่านกระบวนการสังเคราะห์สารไอโซพรีนอยด์ (isoprenoid biosynthesis pathway) โดยเริ่มจาก กรดเมวาโลนิค (mevalonic acid) ที่เกิดการรวมตัวกันของ อะเซทิลโค เอ (acetyl Co A) 3 โมเลกุล รวมกันโดยเอนไซม์ อะเซทิลโค เอ ทรานเฟอเรส (acetyl Co A transferase) ให้ได้ สารประกอบอะซีโต-อะเซทิลโค เอ (acetoacetyl Co A) (Birch, et al., 1959) ซึ่งจะถูกเปลี่ยนต่อไปเป็น 3-ไฮดรอกซีเมทิล กลูตาริลโค เอ (3-hydroxymethyl-glutaryl Co A ,HMG Co A) การเปลี่ยนแปลงขั้นตอนนี้จะสิ้นสุดที่ สารไอโซเพนทีนัล ไพโรฟอสเฟต (isopentenyl pyrophosphate, IPP) โดยมีสารตัวกลางที่สำคัญคือ กรดเมวาโลนิค (mevalonic acid) (Kumar and Lonsane, 1989) ดังแสดงในรูปที่ 1- 2

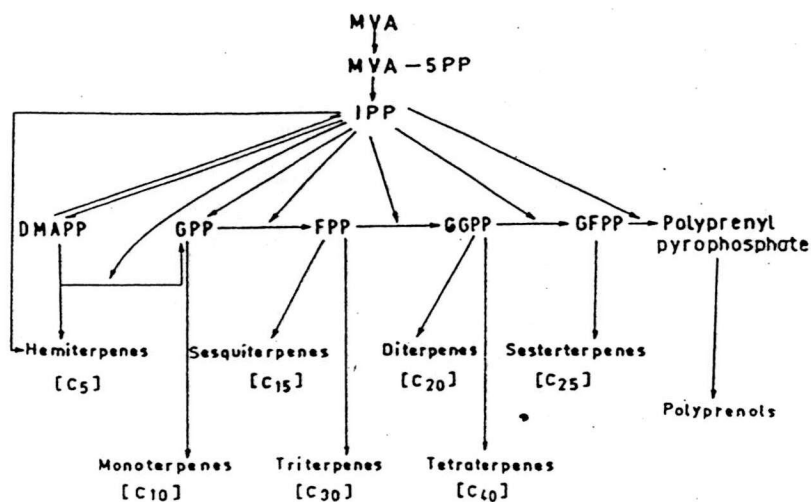


รูปที่ 1- 2 ขั้นตอนการสังเคราะห์ ไอโซเพนทีนัลไพโรฟอสเฟต  
(Kumar and Lonsane, 1989)

### 1.3.2 การสังเคราะห์เทอร์พีน และ เทอร์พีนอยด์

(Terpene and terpenoid biosynthesis)

IPP เป็นสารตั้งต้นที่สามารถเปลี่ยนเป็น เทอร์พีน และ เทอร์พีนอยด์ ชนิดต่างๆ ได้ โดย IPP จะถูกเปลี่ยนเป็น ไดเมทิลอัลลิลไพโรฟอสเฟต (dimethyl-allylpyrophosphate, DMAPP) จากนั้น DMAPP จะรวมกับ IPP ได้เจอร์รานิลไพโรฟอสเฟต (geranyl pyrophosphate, GPP) และ GPP จะรวมกับ IPP เกิดเป็น ฟาร์เนซิล ไพโรฟอสเฟต (farnesyl pyrophosphate, FPP) จากนั้นจะเปลี่ยนต่อไปเป็น เจอร์รานิล เจอร์รานิล ไพโรฟอสเฟต (geranyl geranyl pyrophosphate, GGPP) (Kumar and Lonsane, 1989) ดังแสดงในรูปที่ 1- 3



รูปที่ 1- 3 ขั้นตอนการสังเคราะห์ เทอร์พีน และ เทอร์พีนอยด์

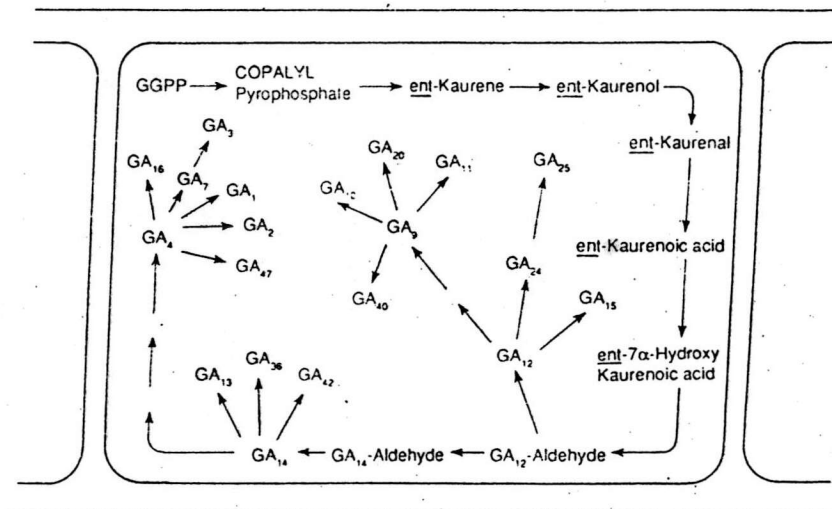
(Kumar and Lonsane, 1989)

### 1.3.3 การสังเคราะห์ เอนท์-คอริน

(Ent-kaurene biosynthesis)

วงแหวน เอนท์-คอริน เริ่มจาก GGPP ถูกเปลี่ยนเป็น โคพาลิลไพโรฟอสเฟต (copalyl pyrophosphate) โดยการเกิดอิเล็กโตรฟิลิก (electrophilic) พร้อมกับการแยกไพโรฟอสเฟต อีออน (pyrophosphate ion) ออกไปโดยอาศัย เอนไซม์เอนท์คอรินซินเทส

(ent-kaurene synthase) ทำให้ได้วงแหวน เอนท์-คอรีนอล (ent-kaurenol) เอนท์-คอรีนาล (ent-kaurenal) และ เอนท์-คอรีโนอิก เอซิด (ent-kaurenoic acid) ตามลำดับ (Shechter and West, 1969) หลังจากนั้นจะเกิดปฏิกิริยาไฮดรอกซิเลชันที่คาร์บอนอะตอมที่ 7 ได้สารประกอบที่เรียกว่า เอนท์-7-เบต้าไฮดรอกซิคอรีโนอิก เอซิด (ent-7- $\beta$ -hydroxykaurenoic acid) (West, 1973; Bearder, et al., 1975) ดังแสดงในรูปที่ 1-4



รูปที่ 1-4 ขั้นตอนการสังเคราะห์เอนท์-คอรีน  
(Kumar and Lonsane, 1989)

#### 1.3.4 การสังเคราะห์ $GA_{12}$ อัลดีไฮด์

( $GA_{12}$  - aldehyde biosynthesis)

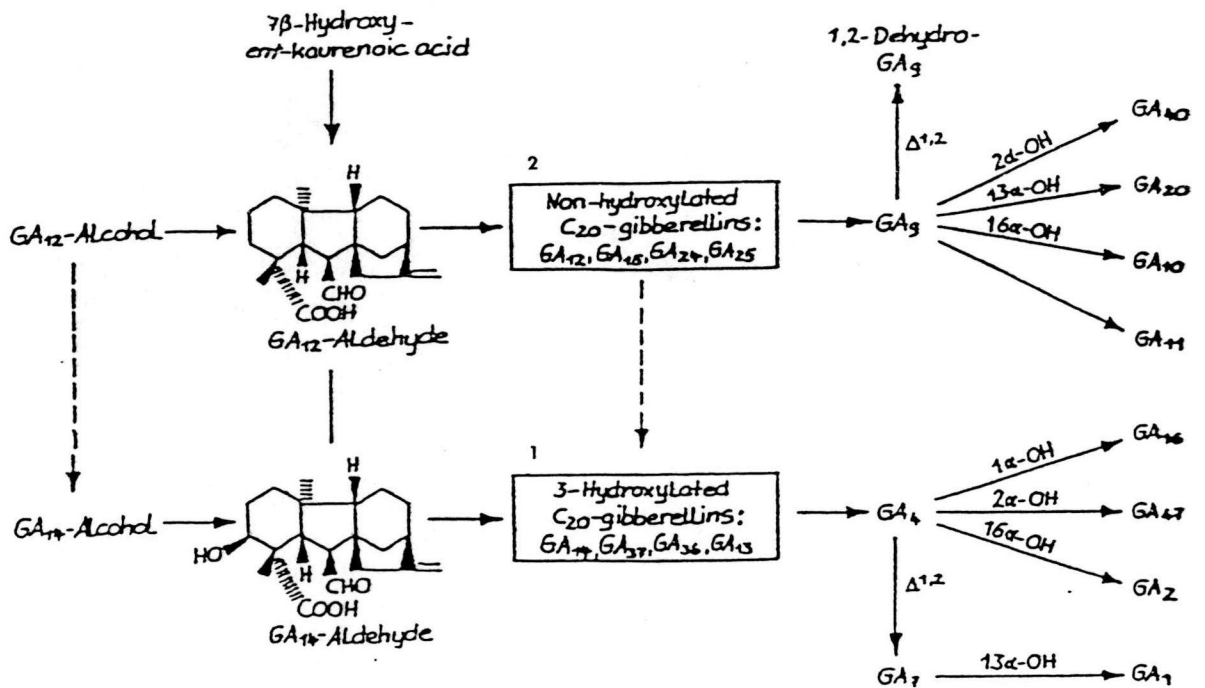
เอนท์-7-เบต้า-ไฮดรอกซิคอรีโนอิก เอซิด ที่มีโครงสร้างเป็นวงแหวน 3 วงเรียงกัน จะเกิดการเปลี่ยนแปลงที่ วงแหวน บี (ring B) ให้เป็น จิบเบอเรลลิน-12-อัลดีไฮด์ ( $GA_{12}$ -aldehyde) ซึ่งเป็นวงแหวน เพอโมริส โดยที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 7 จะเปลี่ยนเป็นหมู่ อัลดีไฮด์ และ สร้างพันธะขึ้นใหม่ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 6 และ 8 (Birch, et al., 1959)  $GA_{12}$ - อัลดีไฮด์ เป็นสารตัวแรกที่มีโครงสร้างเป็น เอนท์-จิบเบอเรลแลน (ent-

gibberellane) ซึ่งสามารถเปลี่ยนแปลงเป็นจิบเบอเรลลินชนิดต่างๆได้ โดยแยกเป็น 2  
 วิธีทางในการเปลี่ยนเป็นจิบเบอเรลลินตัวอื่น ๆ

โดยวิธีแรกจะได้  $GA_1$ - $GA_4$   $GA_7$   $GA_{13}$ - $GA_{14}$  เป็นต้น

และวิธีที่ 2 จะได้  $GA_9$ - $GA_{12}$   $GA_{15}$  เป็นต้น

ดังแสดงในรูปที่ 1- 5 (Bruckner and Blechschmidt, 1991a; Kumar and Lonsane, 1989)



รูปที่ 1- 5 ขั้นตอนการสังเคราะห์  $GA_{12}$  อัลดีไฮด์

(Bruckner and Blechschmidt, 1991a)

## 1.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตจิบเบอเรลลิน

### 1.4.1 หัวเชื้อสำหรับการผลิตจิบเบอเรลลิน

การเตรียมหัวเชื้อมีความสำคัญมากอย่างหนึ่งในการทำให้กระบวนการผลิตดำเนินไปได้อย่างมีประสิทธิภาพ ทั้งในระดับห้องปฏิบัติการ และ ในการผลิตระดับอุตสาหกรรม การผลิตจิบเบอเรลลินนั้น ปริมาณและอายุของหัวเชื้อมีผลต่อการผลิต จากรายงานของ Gancheva and Dimova (1984) ได้กล่าวถึงอายุและปริมาณหัวเชื้อของ *G. fujikuroi* โดยหัวเชื้อที่มีอายุ 48 ชั่วโมง จะให้ผลผลิตสูงกว่า ในช่วงที่หัวเชื้อมีอายุสูง

การผลิตจิบเบอเรลลินนั้น ปริมาณหัวเชื้อที่ใช้แตกต่างกันเมื่อทำการขยายส่วนขึ้นแต่โดยมากจะใช้ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ 10 (ปริมาตรหัวเชื้อต่อปริมาตรอาหาร) เป็นส่วนใหญ่ เช่น Darken และคณะ (1959), Borrow, Jeffery and Nixon (1959a), Gohlwar และคณะ (1984), Sastry และคณะ(1988), Bruckner และ Blechschmid (1991b) นอกจากนี้ยังมีการใช้ปริมาณหัวเชื้อร้อยละต่างๆ เช่น Borrow, Jeffery and Nixon (1959b) ใช้ร้อยละ 6.65 Holme และ Zacharias (1965) ใช้ร้อยละ 2 ในปริมาตร 3 ลิตร และ 20 ลิตร ขณะที่อายุของหัวเชื้อที่ใช้มีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสายพันธุ์แต่ละชนิด จากรายงานของ วันฤดี นิ่มเจริญวงศ์ (2532) พบว่าอายุของหัวเชื้อของ *G. fujikuroi* C ที่มีอายุ 72 ชั่วโมง เหมาะสมสำหรับการผลิต GA<sub>3</sub> รายงานของอัศววิทย์ กาญจนโอภาส (2536) พบว่าอายุหัวเชื้อของ *G. fujikuroi* F4W-6(9) ที่มีอายุ 60 ชั่วโมง เหมาะสมในการผลิต และ รายงานของ ศุภชัย สมบัติโต (2537) อายุหัวเชื้อของ *G. fujikuroi* N9-34 ที่มีอายุ 48 ชั่วโมง เหมาะสมในการผลิต GA<sub>3</sub> ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ซึ่งเป็นเวลาถึงกลางของ log phase

### 1.4.2 ปัจจัยของสารอาหาร

องค์ประกอบ และปริมาณของสารอาหารเป็นปัจจัยที่มีผลต่อการผลิต องค์ประกอบของอาหารประกอบด้วย แหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน และแร่ธาตุอาหารที่จำเป็น

#### 1.4.2.1 แหล่งคาร์บอน

แหล่งคาร์บอนที่นิยมใช้ในการผลิตจิบเบอเรลลินคือ กลูโคส และซูโครส ซึ่งการใช้กลูโคสจากรายงานของ Borrow และคณะ (1964a) พบว่าปริมาณกลูโคสเริ่มต้นที่มีความเข้มข้นสูงกว่าร้อยละ 20 ขององค์ประกอบในอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำให้ผลการผลิตลดลง แต่สามารถทำการผลิตโดยการเติมน้ำตาลลงไปเป็นช่วงๆในปริมาณที่เหมาะสม ซึ่งช่วงนี้จะควบคุมความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสให้ต่ำกว่าร้อยละ 4 (Borrow, 1959; Borrow, 1959b)

นอกจากนี้ยังมีการใช้แหล่งคาร์บอนที่เป็นสารพอลิแซคคาไรด์ (polysaccharide) ได้แก่ แป้งและกากเมล็ดพืช (Fuska และคณะ 1961 ) Kumar and Lonsane (1989) ยังได้รวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับการใช้แหล่งคาร์บอนต่างๆ ที่มีผู้รายงาน ได้ดังแสดงในตารางที่ 1-1

ตารางที่ 1- 1 แหล่งคาร์บอน ที่ใช้ในการผลิตจิบเบอเรลลิน  
(Kumar and Lonsane, 1989)

Substrate/combination	Concentration (g/litre)
Corn steep liquor + sucrose	25 : 10-40
Corn steep liquor + glucose	25 : 20-40
Glucose + methanol	30 : 30
Glucose + ethanol	30 : 35
Glucose + malt extract	30 : 10
Glucose or sucrose	25
Glycerol esters or glycerol	20-100
Glucose or lactose	160
Sugar cane molasses	40
Whey permeate	40
Molasses residue, whey, sulfite waste liquor, or skimmed milk	-
Sunflower oil	-
Linseed oil, olive oil, cotton seed oil, ethyl palmitate, or stearic acid	40
Hydrocarbons or diesel oil	-
Plant meals, e.g., soya flour, soya meal, or cotton seed meal	-
Olive oil, olive pulp, or by-products of olive oil extraction	200
Glucose	12.5-30
Dextrin + sucrose	50 : 80
Glycerol + starch	20 : 30
Glycerol + glucose	20 : 50
Glycerol + glucose + lactose	20 : 10 : 20



Substrate/ combination	Concentration(g/litre)
Glycerol + lactose	20 : 50
Corn steep liquor + sucrose	15 : 30
Glucose + corn steep solids	200 : 1
Sucrose + corn steep solids + soybean meal	120 : 1 : 10

#### 1.4.2.2 แหล่งไนโตรเจน

ปริมาณของสารแหล่งไนโตรเจนมีความสำคัญต่อการผลิตกรดจิบเบอเรลลินมาก เพราะการสังเคราะห์จิบเบอเรลลิน จะเกิดขึ้นเมื่อแหล่งไนโตรเจนหมด (Borrow, et al., 1964a) แหล่งไนโตรเจนที่ใช้อาจอยู่ในรูปของอินทรีย์สารหรืออนินทรีย์สาร ได้แก่ แอมโมเนียมซัลเฟต แอมโมเนียมคลอไรด์ กากเมล็ดพืช เป็นต้น (Jefferys, 1970) นอกจากนี้ รายงานของ วันฤดี นิ่มเจริญวงศ์(2532) อัครวิทย์ กาญจนโอภาส(2536) และ ศุภชัย สมบัติโต(2537) ได้ใช้กากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันออกแล้วร่วมกับแอมโมเนียมซัลเฟต เป็นแหล่งไนโตรเจน ซึ่งเหมาะสำหรับการผลิต  $GA_3$

ดังนั้นการเลือกใช้ปริมาณและชนิดของแหล่งคาร์บอน และ แหล่งไนโตรเจนจึง เป็นจุดสำคัญในการผลิต เนื่องจากหากเลือกใช้แหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนที่มีผลทำให้เกิดความหนืดสูง จะเป็นผลให้ลดค่าสัมประสิทธิ์ของการถ่ายเทออกซิเจน (oxygen transfer efficiency) ของระบบการกวน (Jefferys, 1970)และการเลือกแหล่งคาร์บอน และแหล่งไนโตรเจนยังต้องพิจารณาถึงการที่เซลล์สามารถนำไปใช้สร้าง  $GA_3$  ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

### 1.4.3 ปัจจัยทางกายภาพ

#### 1.4.3.1 อุณหภูมิ

อุณหภูมิมีความสำคัญต่อการผลิตจิบเบอเรลลิน โดยที่อุณหภูมิขึ้นกับ ชนิด และ สายพันธุ์ของจุลินทรีย์ สำหรับอุณหภูมิที่เหมาะสมที่มีการผลิตจิบเบอเรลลินโดยใช้เชื้อ *Gibberella fujikuroi* และ *Fusarium moniliforme* มีรายงานใช้ดังนี้ คือ 25 °C (Stodola, et al, 1955), 27 °C (Kumar and Lonsane, 1989), 28 °C (Darken, et al., 1959) 28.5-29.5 °C (Borrow, et al., 1964a ; 1964b) , 29 °C (Jefferys, 1970 ; Holme and Zacharias, 1965) , 30 °C (Sanchez-Marroquin, 1963 ; Maddox and Richert, 1977) , 34 °C (Kumar and Lonsane, 1989) สำหรับรายงานของ อรไท สุขเจริญ (2533) และ ศุภชัย สมป์ปิโต (2536) ที่ใช้เชื้อ *G. fujikuroi* C และ *G. fujikuroi* N9-34 ใช้อุณหภูมิ 25 °C ส่วนในรายงานของ อัครวิทย์ กาญจนโอภาส (2536) ที่ใช้เชื้อ *G. fujikuroi* F4W-6(9) ใช้อุณหภูมิ 28 °C นอกจากนี้ยังมีรายงานถึงการควบคุมอุณหภูมิเป็น 2 ช่วง คือ ช่วงการเจริญของเชื้อที่ อุณหภูมิ 31-32 °C และในช่วงการผลิตที่อุณหภูมิที่ 29 °C (Jefferys , 1970) โดยที่การผลิต GA<sub>3</sub> ส่วนมากจะทำการควบคุมอุณหภูมิ ในระดับห้องปฏิบัติการเท่ากับการผลิตในระดับที่ใหญ่ขึ้น

#### 1.4.3.2 ความเป็นกรด-ด่าง

ความเป็นกรด-ด่างเป็นปัจจัยที่มีผลต่อการผลิต GA<sub>3</sub> มีรายงานการใช้ความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นในการผลิตประมาณ 5.5 (Stodola, et al., 1955 ; Borrow, et al., 1964a) โดยใช้เชื้อ *F. moniliforme* NRRL 2284 จากรายงานของ วันฤดี นิ่มเจริญวงศ์ (2532), อรไท สุขเจริญ (2533) , อัครวิทย์ กาญจนโอภาส (2536) และ ศุภชัย สมป์ปิโต(2537) ใช้สายพันธุ์ *G. fujikuroi* C, *G. fujikuroi* C, *G. fujikuroi* F4W-6 (9), และ *G. fujikuroi* N9-34 ตามลำดับ พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นของอาหารมีค่าเป็น 7 เหมาะสำหรับการผลิต GA<sub>3</sub> และจากรายงานการผลิตไม่ต้องควบคุม ความเป็นกรด-ด่าง ในระหว่างการหมัก

#### 1.4.3.3 อัตราการกวนและอัตราการให้อากาศ

การสังเคราะห์จิบเบอเรลลินจะเกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งอัตราการกวนและอัตราการให้อากาศ เป็นส่วนสำคัญในการผลิต GA<sub>3</sub> เนื่องจากเป็นการผลิตที่ต้องการอากาศอย่างต่อเนื่อง (Jefferys, 1970) ดังนั้นประสิทธิภาพของการถ่ายเทออกซิเจนในกระบวนการจึงเป็นสิ่งสำคัญ ถ้าปริมาณออกซิเจนต่ำหรือเกิดสภาพขาดแคลนออกซิเจนจะมีผลให้ผลผลิตจิบเบอเรลลินลดลง (Geissman, et al., 1966) อัตราการให้อากาศและอัตราการกวนในถังหมักจะแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับชนิดและขนาดของถังหมักรวมทั้งลักษณะ

ของไบพัต (Holme and Zacharias, 1965) เช่น รายงานของ Stodola(1955) ใช้อัตราการให้อากาศ 0.25 w/m. อัตราการกวน 100 rpm. ในถังหมัก 300 แกลลอน โดยเลี้ยงเชื้อ *F. moniliforme* NRRL 2284. Sanchez-Marroquin(1963) ใช้อัตราการให้อากาศ 0.5 w/m. อัตราการกวน 230 rpm. ในถังหมัก 60 ลิตร โดยเลี้ยงเชื้อ *F. moniliforme* IOC-3326. Borrow และคณะ (1964a) ใช้อัตราการให้อากาศ 0.5 และ 0.8 w/m. อัตราการกวน 570-830 rpm. ในถังหมัก 30 ลิตร ขณะที่รายงานของ อรไท สุขเจริญ (2533) ใช้อัตราการให้อากาศ 1 w/m. อัตราการกวน 500 rpm. เหมาะสมในการผลิตในถังหมัก 5 ลิตร ที่ใช้เชื้อ *G. fujikuroi* C ซึ่งสอดคล้องกับ อัศววิทย์ กาญจนโอภาส (2536) ที่ใช้เชื้อ *G. fujikuroi* F4W-6(9) ในถังหมักขนาด 5 ลิตร แต่แตกต่างจากรายงานของ ศุภชัย สมบัติโต (2537) ที่ใช้อัตราการกวน 600 rpm. อัตราการให้อากาศ 1 w/m. โดยเชื้อ *G. fujikuroi* N9-34 และมีรายงานที่ไม่ระบุอัตราการให้อากาศ และอัตราการกวน (Darken, et al., 1959) ซึ่งค่าเหล่านี้อาจขึ้นอยู่กับการใช้ใบกวนที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางที่ต่างกัน (Holme and Zacharias, 1965)

ถึงแม้ว่า อัตราการให้อากาศและอัตราการกวน เป็นจุดสำคัญแต่ไม่มีการศึกษาทางจลนพลศาสตร์ และมีรายงานจำนวนน้อยที่กล่าวถึงความสัมพันธ์ของอัตราการให้อากาศและอัตราการกวน ต่อการผลิต  $GA_3$  ซึ่งการผลิตในระดับที่ใหญ่ขึ้น การให้อากาศและการกวนจะแตกต่างจากห้องปฏิบัติการเป็นอย่างมาก เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงลักษณะของรูปร่างและรูปแบบของการทำงาน ที่มีขนาดใหญ่ซึ่งการเปลี่ยนแปลงนี้มีผลต่อการผลิต

### 1.5 การขยายส่วนการผลิต ( Scale - up )

เนื่องจากปัจจุบัน ความต้องการสารทางชีวภาพมีมากขึ้น ทำให้ต้องมีการเพิ่มผลผลิตซึ่งทำได้โดย การขยายส่วนกำลังการผลิตที่ได้จากกระบวนการหมัก ในการขยายส่วนกำลังการผลิตต้องอาศัยความรู้ เทคนิคและข้อมูลจากการทำงานในระดับห้องปฏิบัติการที่ได้ผลผลิตในระดับที่น่าพอใจ ซึ่งการขยายส่วนจากระดับห้องปฏิบัติการจนมีขนาดใหญ่ขึ้นนั้นพบว่าเกิดปัญหาหลายอย่าง แต่ปัญหาหนึ่งที่สำคัญคือ ผลผลิตที่ได้ในระดับที่มีการขยายส่วนมักไม่ดีเท่ากับในระดับห้องปฏิบัติการ (Crueger, 1984) โดยเฉพาะในระดับอุตสาหกรรมจะพบปัญหานี้มาก ซึ่งสาเหตุเกิดจากความแตกต่างในด้านต่างๆ ได้แก่ เทคนิคการให้อากาศและการกวน การทำให้อาหารปลอดเชื้อ การเตรียมหัวเชื้อ การกำจัดฟอง ชนิดของวัสดุ และวัตถุดิบที่ใช้ (Elander, 1989)

## 1.5.1 ปัจจัยที่มีผลต่อการขยายส่วน

## 1.5.1.1 ปัจจัยทางฟิสิกส์

## 1.5.1.2 ปัจจัยทางเคมี

## 1.5.1.3 ปัจจัยทางชีวภาพ

โดยที่ปัจจัยที่มีผลต่อการขยายส่วนแสดงในตารางที่ 1- 2

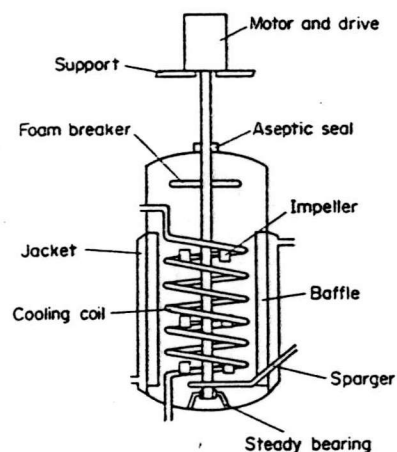
ตารางที่ 1- 2 ปัจจัยที่มีผลต่อการขยายส่วน (Dewitt, et al.,1989)

Parameter	Mechanical control mechanism	Biological control mechanism
Physical		
Temperature	Cooling or heating system	Heat of metabolism
Shear	Tank, impeller design	Rheology
Interphase mass transfer	rpm, agitation	Rheology
Chemical		
pH	Acid or base addition	Uptake rates
Dissolved gasses	Head pressure, trans- fer rates via rpm	Uptake rates
Other nutrients	Initial medium Feed systems Volume control Sterilization methods	Uptake rates
Product concen- trations	Harvest methods	Productivity rates
Biological		
Cell mass	Environmental control via the above	Growth rates
Strain stability	Inoculum methods	Reversion, selection

จากตารางที่ 1- 2 ปัจจัยที่มีผลต่อการขยายส่วนนั้น มี 3 ปัจจัย แต่สามารถควบคุมปัจจัยต่างๆได้ 2 กลไก คือ

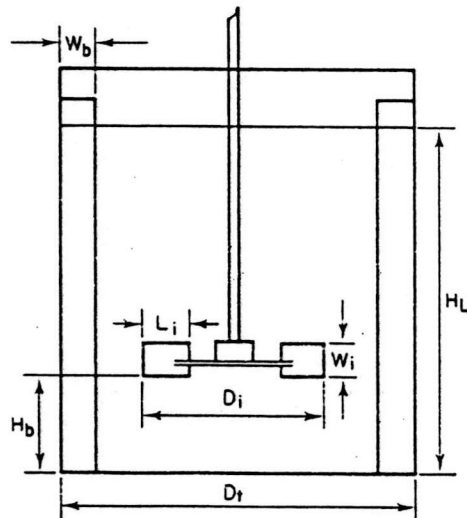
- ก. การควบคุมโดยกลไกทางกลศาสตร์ (Mechanical control mechanism)
- ข. การควบคุมโดยกลไกทางชีวภาพ (Biological control mechanism)

ส่วนการขยายส่วนนั้นก็มีหลักเกณฑ์ที่ใช้พิจารณาในการขยายส่วน ซึ่งมีความจำเป็นที่ต้องเลือกหลักเกณฑ์ที่ใช้ให้เหมาะสมกับชนิดของเครื่องหมัก สำหรับการหมักที่ใช้ถังหมักที่มีรูปร่างทางเรขาคณิตเหมือนกัน แต่มีขนาดต่างกัน การที่จะทำให้ค่าตัวแปรต่างๆที่มีผลต่อการผลิตให้คงที่ทั้งหมดเป็นไปได้ยาก (Wang, et al., 1979) แต่การขยายส่วนอาจไม่จำเป็นต้องคำนึงถึงรูปร่างทางเรขาคณิตที่เหมือนกัน ซึ่งจะทำให้ผู้ออกแบบสามารถออกแบบได้อย่างยืดหยุ่น (Charles, 1985) ซึ่งการพิจารณารูปร่างทางเรขาคณิตนั้นได้แก่ การขยายส่วนของเครื่องหมักแบบถังกวน ที่มีรูปร่างดังแสดงในรูปที่ 1- 6



รูปที่ 1- 6 ส่วนต่างๆ ของเครื่องหมักแบบถังกวน (Pace, 1985)

สัดส่วนทางเรขาคณิตของถังหมักมาตรฐาน  
(Kristiansen and Chamberlain, 1983)



Geometric ratio for standard fermenter

$\frac{D_i}{D_T}$	$\frac{H_L}{D_T}$	$\frac{L_i}{D_i}$	$\frac{W_i}{D_i}$	$\frac{H_b}{D_i}$	Baffles $N_b$	$\frac{W_b}{D_T}$
0.33	1.0	0.25	0.2	1.0	4	0.1

รูปที่ 1- 7 สัดส่วนทางเรขาคณิตของถังหมักมาตรฐาน

1.5.2 เกณฑ์ทางกายภาพที่นิยมใช้กำหนดการขยายส่วนของเครื่องหมักแบบถัง กวน ได้แก่ (Wang, et al. ,1979)

- อัตราส่วนระหว่างกำลังของมอเตอร์ต่อปริมาตรน้ำหมัก  
( $P_g/V$ )
- สัมประสิทธิ์ของการถ่ายเทออกซิเจน ( $K_L a$ )
- ความเร็วรอบของปลายใบพัด ( $\pi n D_i$ )
- ค่าเรโนลด์นัมเบอร์ (Reynolds number ;  $N_{Re}$ )
- เวลาที่ใช้ในการกวน

1.5.2.1 อัตราส่วนระหว่างกำลังของมอเตอร์ต่อปริมาตรน้ำหมัก ( $P_g/V$ ) power number ( $N_p$ ) เป็นค่าที่ถูกกำหนดขึ้นจากตัวแปรของการเปลี่ยนแปลงขนาดที่มีความสัมพันธ์ กับกำลังของมอเตอร์ที่ต้องการใช้ในถังหมักแบบถังกวนซึ่งสามารถคำนวณได้จาก (Aiba, et al., 1973 )

$$\begin{aligned} \text{power number} &= N_p = \text{Imposed force/Inertial force} \\ &= \frac{Pg_c/nD_i \cdot 1/D_i^3}{\rho n^2 D_i} \\ &= Pg_c/n^3 D_i^5 \rho \quad \text{----- 1} \end{aligned}$$

เมื่อ  $P$  = กำลังของมอเตอร์ (kg m/sec)  
 $g_c$  = conversion factor (kg.m/kg.sec<sup>2</sup>)  
 $n$  = ความเร็วรอบของการกวน (sec<sup>-1</sup>)  
 $D_i$  = เส้นผ่านศูนย์กลางของใบพัด (cm)  
 $\rho$  = ความหนาแน่นของน้ำหมัก (g/cm<sup>3</sup>)

การคำนวณกำลังที่ต้องการใช้ในการขับเคลื่อนใบพัด ต้องพิจารณาถึงชนิดของถังกวนว่าเป็นแบบที่มีครีหรือไม่มีครี ซึ่งต้องรู้จักตัวแปรที่ไรหน่วยที่สำคัญในการคำนวณดังนี้

1.5.2.1.1 ค่า Reynolds number เป็นค่าที่แสดงถึงความรุนแรงในการกวน สามารถคำนวณได้จากสมการ

$$\begin{aligned} \text{Reynolds number ; } N_{Re} &= \text{Inertial force/Viscous force} \\ &= \rho n D_i^2 / \mu \quad \text{----- 2} \end{aligned}$$

เมื่อ  $D_i$  = เส้นผ่านศูนย์กลางของใบพัด (cm)  
 $n$  = ความเร็วรอบของการกวน (sec<sup>-1</sup>)  
 $\rho$  = ความหนาแน่นของน้ำหมัก (g/cm<sup>3</sup>)  
 $\mu$  = ความหนืดของน้ำหมัก (g/cm.sec)

1.5.2.1.2 ค่า Froude number เป็นค่าที่แสดงผลของการเกิด vortex ใช้เฉพาะถังที่ไม่มีครี สามารถคำนวณได้จากสมการ

$$\text{Froude number ; } F_r = n^2 D_i / g_c \quad \text{----- 3}$$

เมื่อ  $D_i$  = เส้นผ่านศูนย์กลางของใบพัด (cm)  
 $n$  = ความเร็วรอบของการกวน (sec<sup>-1</sup>)  
 $g_c$  = conversion factor (kg.m/kg.sec<sup>2</sup>)

1.5.2.1.3 ค่า Flow number เป็นค่าที่แสดงจำนวนการไหลเวียน สามารถคำนวณได้จากสมการ

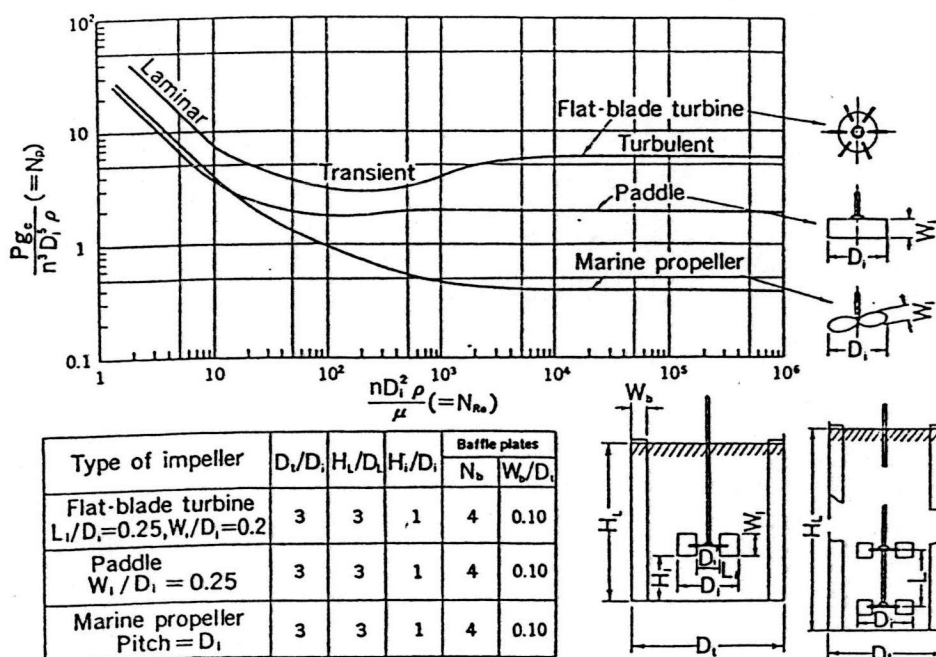
Flow number ;  $N_Q = Q/nD_i^3$  ----- 4

เมื่อ  $D_i$  = เส้นผ่านศูนย์กลางของใบพัด (cm)

$n$  = ความเร็วรอบของการกวน ( $\text{sec}^{-1}$ )

$Q$  = อัตราการไหล ( $\text{m}^3/\text{h}$ )

ค่า power number มีความสัมพันธ์กับค่า Reynolds number ที่เกิดจากการใช้ใบพัด ชนิดต่างๆ แสดงดังรูปที่ 1- 8



รูปที่ 1- 8 ความสัมพันธ์ของ  $N_p$  และ  $N_{Re}$  (Aiba, 1973)

จากสภาพการไหลลักษณะต่างๆจะได้ความสัมพันธ์ของ  $N_p$  และ  $N_{Re}$  ดังนี้คือ (Miura, 1976)

1. เมื่อการไหลมีลักษณะแบบราบเรียบ (laminar flow) คือ ค่า  $N_{Re}$  มีค่า < 10 มีความชันเท่ากับ -1 ได้ความสัมพันธ์ ตามสมการ

$N_p = K_1 \cdot (N_{Re})^{-1}$  ----- 5



เมื่อ  $K_1$  เป็นค่าเฉพาะ ขึ้นอยู่กับชนิดของใบพัดและถังกวน

ซึ่งทำให้  $P = n^2 D_i^3 \mu$  ----- 6

2. เมื่อการไหลมีลักษณะแบบปั่นป่วน ( turbulent flow ) คือ ค่า  $N_{Re}$  มีค่า  $> 10^4$  มีความชันเท่ากับ 0 โดยค่า  $N_p$  จะไม่ขึ้นกับ ค่า  $N_{Re}$  ได้ความสัมพันธ์ ตามสมการ

$N_p = K_2$  ----- 7

เมื่อ  $K_2$  เป็นค่าเฉพาะขึ้นอยู่กับชนิดของใบพัดและถังกวน

ซึ่งทำให้  $P = n^3 D_i^5 \rho$  ----- 8

สำหรับระบบที่มีการให้อากาศ จะต้องการกำลังของมอเตอร์น้อยกว่า ระบบที่ไม่มีการให้อากาศ โดยที่ระบบที่มีการให้อากาศจะมีการใช้มากในระดับอุตสาหกรรม ซึ่ง Oyama และคณะ (1955) ได้แสดงความสัมพันธ์ของ กำลังของมอเตอร์ที่ใช้ในการกวน ของระบบที่มีการให้อากาศ กับ ระบบที่ไม่มีการให้อากาศ ซึ่งแสดงได้ดังสมการ

$P_g/P = f(N_a)$  ----- 9

เมื่อ  $N_a$  คือ ค่า aeration number เป็นค่าที่แสดงได้โดยสมการ

$N_a = \text{superficial gas velocity} / \text{Impeller tip velocity}$

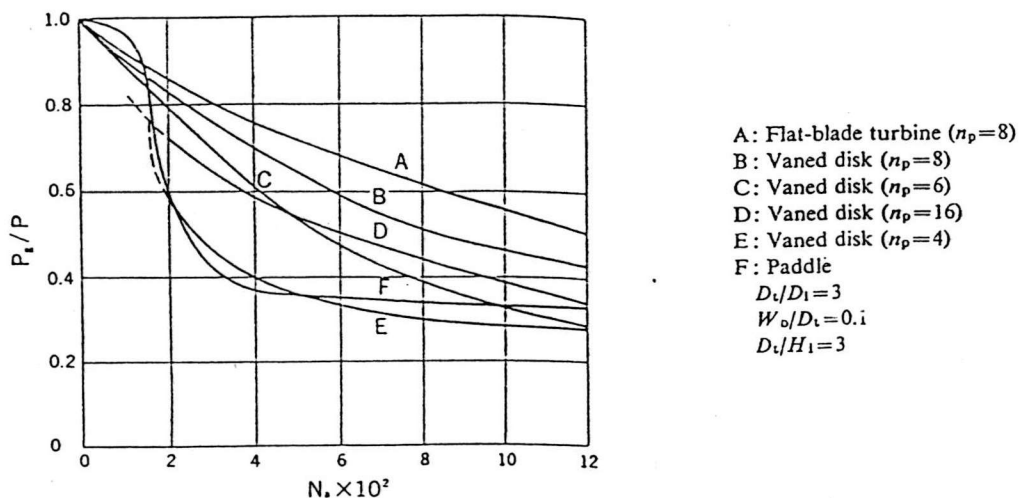
$N_a = F/nD_i^3$  -----10

เมื่อ  $F =$  อัตราการไหลของอากาศ ( $\text{cm}^3/\text{sec}$ )

$n =$  ความเร็วรอบของการกวน ( $\text{sec}^{-1}$ )

$D_i =$  เส้นผ่านศูนย์กลางของใบพัด (cm)

ดังนั้นสามารถหาลำดับที่ใช้ในการกวน ของระบบที่มีการให้อากาศ ได้จากกราฟ แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง  $P_g/P$  กับ ค่า  $N_a$  ดังรูปที่ 1- 9



รูปที่ 1- 9 แสดงความสัมพันธ์ของค่า  $P_g/P$  กับค่า  $N_a$  (Aiba, et al., 1973)

สำหรับการขยายส่วนที่มีลักษณะทางเรขาคณิตเหมือนกัน โดยการกำหนดให้อัตราส่วนระหว่างกำลังของมอเตอร์ต่อปริมาตรน้ำหมักคงที่ โดยที่ถังหมักมาตรฐานซึ่งได้ออกแบบให้มีการไหลเป็นแบบปั่นป่วน (turbulent flow) ดังนั้นสามารถแสดงได้ดังสมการ

$$\text{คือ } P_g = K_1 n^3 D_i^5 \quad \text{----- 11}$$

โดยที่ปริมาตรของถังหมักมาตรฐาน สามารถหาได้ดังสมการ

$$V \propto D^3 \quad \text{----- 12}$$

ทำให้

$$P_g/V = K_1 n^3 D_i^2 \quad \text{----- 13}$$

ดังนั้นความสัมพันธ์ที่เกิดขึ้นเมื่อภาวะการหมักเหมือนกัน ในการผลิตที่มีขนาดแตกต่างกันจะได้

$$n_2^3 D_2^2 = n_1^3 D_1^2 \quad \text{----- 14}$$

$$n_2 = n_1 (D_1/D_2)^{2/3} \quad \text{----- 15}$$

#### 1.5.2.2 สัมประสิทธิ์ของการถ่ายเทออกซิเจน ( $K_La$ )

สำหรับการหมักโดยจุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศ ปัญหาที่สำคัญ คือ การละลายของออกซิเจนลงในอาหารเลี้ยงซึ่งเป็นปัจจัยที่ต้องควบคุม เนื่องจากเชื้อมีความต้องการอากาศเพื่อใช้ในกระบวนการเมตาบอลิซึม ซึ่งความต้องการอากาศหรือออกซิเจน ในอาหารเลี้ยงนั้นแสดง ได้โดยอาศัยความสัมพันธ์ของ อัตราการถ่ายเทออกซิเจน (oxygen transfer rate : OTR) ดังสมการ

$$\text{OTR} = K_La(C^* - C) \quad \text{----- 16}$$

เมื่อ

OTR = อัตราการถ่ายเทออกซิเจน

$K_La$  = สัมประสิทธิ์ของการถ่ายเทออกซิเจน ( $\text{hr}^{-1}$ )

$C^*$  = ความเข้มข้นออกซิเจนที่ละลายที่สมดุลย์ (mmoles/l)

$C$  = ความเข้มข้นออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมัก (mmoles/l)

เนื่องจากรูปแบบและขนาดของถังหมักมี ความสัมพันธ์กับการกำหนดค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทออกซิเจน ซึ่งความสัมพันธ์นี้แสดงได้ดังสมการ

$$K_La = f([P_g/D_0^3]^a [V_s]^b [B/6]^{0.8} [J/D_i]^{0.3}) \quad \text{--- 17}$$

เมื่อ

$P_g$  = กำลังที่ใช้ในการกวน (hp)

$V_s$  = ความเร็วของอากาศ (cm/sec)

$D_i$  = เส้นผ่านศูนย์กลางของใบพัด (cm)

$B$  = จำนวนใบพัด

$J$  = ความกว้างของครีป(baffle) (cm)

$D_0^3$  = ปริมาตรในถังหมัก (cm)

สำหรับการขยายส่วน การกำหนดให้ลักษณะทางเรขาคณิตของถังหมักมีลักษณะเหมือนกันจะได้ความสัมพันธ์ใหม่เป็น

$$K_L a = f\left(\left[\frac{P_g}{D_0^3}\right]^a \left[V_s\right]^b\right) \quad \text{-----18}$$

จากสมการนี้ค่า  $a$  และ  $b$  นั้นจะเปลี่ยนแปลงตามขนาดของถังหมัก และ ลักษณะทางเรขาคณิตซึ่ง Bartholomew (1960) แสดงให้เห็นค่าของ  $a$  และ  $b$  เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงขนาดของถังหมัก

Vessel size	a	b
5 l	0.95	0.667
500 l	0.6-0.7	0.667
50,000 l	0.4-0.5	0.50

นอกจากสมการที่ 18 ยังมีการใช้สมการที่เกิดจาก ความสัมพันธ์ของอัตราส่วนระหว่างกำลังของมอเตอร์ต่อปริมาตรน้ำหมัก ที่มีผลเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลง ขนาดและความเร็วของใบพัด ซึ่งจะได้สมการเป็น (Pace, 1986)

$$K_L a = K \left( \left[ \frac{P_g}{V} \right]^\alpha \left[ V_s \right]^\beta \left[ n \right]^\gamma \right) \quad \text{----- 19}$$

โดยที่

$K$  = (ค่าคงที่)

$V \propto D_i^3$

$\alpha$  =  $a$  (ค่าคงที่)

$\beta$  =  $b$  (ค่าคงที่)

แทนในสมการที่ 18 โดย  $\alpha$  และ  $\beta$  เปลี่ยนแปลงตามขนาดของถังหมัก

นอกจากนี้การกำหนดค่าสัมประสิทธิ์ของการถ่ายเทออกซิเจน เมื่อมีการออกแบบระบบที่มีการกวนโดยอาศัยการให้อากาศแทนการใช้ใบพัด ค่าสัมประสิทธิ์ของการถ่ายเทออกซิเจนของถังหมักนั้นขึ้นอยู่กับลักษณะภายในถังหมักเองสามารถแสดงได้ตามสมการ

$$K_L a \propto [V_s]^\beta \quad \text{----- 20}$$

จากสมการที่ 18 ในกรณีที่ไม่สามารถวัดค่าอัตราส่วนระหว่างกำลังของมอเตอร์ต่อปริมาตรน้ำหมักได้โดยตรงจะใช้ค่าความเร็วรอบของการกวนแทน เนื่องจากค่าอัตราส่วนระหว่างกำลังของมอเตอร์ต่อปริมาตรน้ำหมักเปลี่ยนแปลงตามความเร็วรอบของการกวน ดังนั้นจะได้สมการใหม่เป็น

$$K_L a = K [n]^\alpha [V_s]^\beta \quad \text{----- 21}$$

เมื่อ

$$n = \text{ความเร็วรอบของการกวน (sec}^{-1}\text{)}$$

### 1.5.2.3 ความเร็วรอบของปลายใบพัด ( $\pi n D_i$ )

เครื่องหมักแบบถังกวนที่มีการกวนผสมดีจะเกิดแรงเฉือนขึ้นภายใน ซึ่งแรงเฉือนนี้มีผลต่อการละลายออกซิเจน การกระจายของสารอาหารและเซลล์ โดยเฉพาะจะมีผลกระทบต่อเซลล์เป็นอย่างมาก เนื่องจากแรงเฉือนอาจทำอันตรายต่อเซลล์ได้โดยเฉพาะเซลล์สัตว์และเซลล์ของจุลินทรีย์ที่มีสายใย ซึ่งอันตรายที่เกิดจากแรงเฉือนนั้น จะเกิดที่บริเวณปลายใบพัด ซึ่งความเร็วที่เกิดขึ้นที่ปลายใบพัดแสดงดังสมการ (Pace, 1986)

$$\text{Tip speed} \propto n D_i \quad \text{----- 22}$$

เมื่อ

$$n = \text{ความเร็วรอบของการกวน (sec}^{-1}\text{)}$$

$$D_i = \text{เส้นผ่านศูนย์กลางของใบพัด (cm)}$$

ซึ่งสมการนี้เกิดขึ้นในกรณีที่ถังหมักมีขนาดเล็ก โดยมีค่า  $Re$  อยู่ในช่วง  $10^4 - 10^5$  ส่วนในถังหมักที่มีขนาดใหญ่ที่มีค่า  $N_{Re}$  สูงกว่า  $10^5$  คือ มีลักษณะการกวนเป็นแบบปั่นป่วน (turbulent) จะได้ความสัมพันธ์

$$\text{Turbulent head} = (n D_i)^2 \quad \text{----- 23}$$

ซึ่งการขยายส่วนการผลิต ที่กำหนดให้ความเร็วรอบของปลายใบพัดมีค่าคงที่ เนื่องจากพิจารณาถึงอันตรายที่จะเกิดขึ้นกับเซลล์ โดยเฉพาะเชื่อว่าที่มีความไวต่อแรงเฉือนมาก

#### 1.5.2.4 ค่าเรโนลด์เบอร์ (Reynold number)

ค่า Reynold number เป็นค่าที่แสดงความรุนแรงในการกวน โดยที่ค่า Reynold number แสดงในสมการที่ 2 สำหรับการขยายส่วนโดยกำหนดให้ค่า Reynold number คงที่ในการผลิตที่มีขนาดแตกต่างกัน จะแสดงได้ดังสมการ

$$\text{Reynold number} \propto nD_i^2$$

$$n_1 D_{i1}^2 = n_2 D_{i2}^2 \text{ ----- 24}$$

#### 1.5.2.5 เวลาที่ใช้ในการกวนผสม

จากการผลิตเมื่อเพิ่มขนาดหรือขยายส่วนการผลิต พบว่าเกิดปัญหา คือ ในถังหมักที่มีขนาดใหญ่ (> 5,000 l) พบว่าการกวนผสมไม่ดีเท่ากับถังหมักที่มีขนาดเล็ก (< 500 l) ทำให้ในถังหมักขนาดใหญ่มีลักษณะของเนื้อผสมที่ไม่เป็นเนื้อเดียวกัน Wang และคณะ (1979) ได้ใช้ dimensional analysis techniques พิจารณาค่าเวลาที่ใช้ในการกวนผสมสำหรับถังหมักที่มีลักษณะทางเรขาคณิตเหมือนกัน โดยกำหนดให้อัตราส่วนระหว่างกำลังของมอเตอร์ต่อปริมาตรน้ำหมักมีค่าคงที่ ซึ่งได้ความสัมพันธ์ดังนี้

$$t_{m1} / t_{m2} = (D_{i1} / D_{i2})^{11/18} \text{ ----- 25}$$

เมื่อ

$t_m$  = เวลาที่ใช้ในการกวนผสม(hr)

$D_i$  = เส้นผ่านศูนย์กลางของใบพัด (cm)

สำหรับเวลาที่ใช้ในการกวนผสมหาโดยดูเวลาที่ทำให้องค์ประกอบต่างๆมีการผสมกันจนเป็นเนื้อเดียวกัน ซึ่งสามารถวัดโดยติดตามเวลาที่เกิดการกระจายของตัว Tracer ซึ่งตัว Tracer ได้แก่ สารละลายที่เป็นกรด หรือ เบส จากสมการเมื่อขนาดของถังหมักเพิ่มขึ้นเวลาที่ใช้ในการกวนจะเพิ่มขึ้น

การขยายส่วนถ้ากำหนดให้สัดส่วนทางเรขาคณิตของเครื่องหมักเหมือนกัน ตัวแปรที่เกิดขึ้นจากการขยายส่วนจะไม่สามารถกำหนดให้คงที่ได้ทุกค่าในเวลาเดียวกัน ดังแสดงในตารางที่ 1- 3

ตารางที่ 1-3 ความสัมพันธ์ระหว่างคุณสมบัติที่ใช้ในการขยายส่วน (Aiba, et al., 1973)

Scale up criterion	Designation	Small fermenter 80 l	Production fermenter 10,000 l			
Energy input	$P_0$	1.0	125	3125	25	0.2
Energy input/volume	$P_0/V$	1.0	1.0	25	0.2	0.0016
Impeller rotation number	$n$	1.0	0.34	1.0	0.2	0.04
Impeller diameter	$D_i$	1.0	5.0	5.0	5.0	5.0
Pump rate of impeller	$F$	1.0	42.5	125	25	5.0
Pump rate of impeller/volume	$F/V$	1.0	0.34	1.0	0.2	0.04
Maximum impeller speed (max. shearing rate)	$n/D_i$	1.0	1.7	5.0	1.0	0.2
Reynolds number	$nD_i^2\rho/\mu$	1.0	8.5	25.0	5.0	1.0

จากตารางที่ 1-3 ซึ่งเป็นการขยายส่วนของเครื่องหมักแบบดังกล่าวจาก 80 ลิตร เป็น 10,000 ลิตร โดยมีอัตราส่วนของเส้นผ่านศูนย์กลางเป็น 5 เท่า และปริมาตรเพิ่มขึ้น 125 เท่า ถ้ากำหนดให้สัดส่วนทางเรขาคณิตของเครื่องหมักเหมือนกัน และทำการเปรียบเทียบผลที่เกิดขึ้นเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงเทอมทางกายภาพ โดยอาศัยภาวะที่เหมาะสมที่ทำให้ได้ผลผลิตสูง ในถังหมักที่มีขนาดเล็ก เมื่อนำภาวะนี้มาใช้ในการขยายส่วนจะพบว่า เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงเทอมทางกายภาพ เป็นผลให้ค่าบางค่าเปลี่ยนไปด้วย เช่น สมมติให้ภาวะที่ทำให้ผลผลิตสูง ใช้อัตราการกวน 500 รอบต่อนาที และ การให้อากาศ 1 vvm เมื่อทำการกำหนดค่าเทอมทางกายภาพต่างๆให้คงที่ ผลที่ได้แสดงดังตาราง ที่ 1-4

ตารางที่ 1-4 แสดงผลของอัตราการกวนที่เปลี่ยนไปเมื่อกำหนดค่าทางกายภาพต่างๆคงที่ (Wang, et al., 1979)

Method	n for 10,000-liter vessel(rpm)
Constant power/unit volume, $P/D_0^3$	
Nongassed power	107
Gassed power	85
Constant volumetric $O_2$ transfer rate, $k_L a$	
a = 0.5	79
Constant shear, $Nd_i$	50
Constant mixing time, $t_m$	1260
Constant Momentum factor, $M_i$	5

จากการที่กำหนด สัดส่วนทางเรขาคณิตของเครื่องหมักให้เหมือนกัน ทำให้ตัวแปรต่างๆไม่สามารถกำหนดให้คงที่ได้ในเวลาเดียวกัน และจากการที่ไม่คำนึงถึงสัดส่วนทางเรขาคณิตของเครื่องหมักทำให้การออกแบบทำได้ยืดหยุ่นกว่า ดังนั้นตัวอย่างในการเปรียบเทียบผลของการขยายส่วนโดยกำหนดให้สัดส่วนทางเรขาคณิตของเครื่องหมักเหมือนกัน และการไม่กำหนดสัดส่วนทางเรขาคณิตให้เหมือนกัน จะทำการขยายส่วนเครื่องหมักแบบถึงกวจาก 1 ลูกบาศก์เมตร เป็น 100 ลูกบาศก์เมตร ผลของการขยายส่วนเมื่อกำหนดสัดส่วนทางเรขาคณิตเหมือนกันแสดงดังตารางที่ 1- 5 จากตารางพบว่า ถึงที่มีขนาด 100 ลูกบาศก์เมตรมีค่าสัมประสิทธิ์ของการถ่ายเทออกซิเจน อัตราส่วนระหว่างกำลังของมอเตอร์ต่อปริมาตรน้ำหมัก และ การได้รับออกซิเจนลดลง

ตารางที่ 1- 5 ผลของการขยายส่วนเมื่อกำหนดให้ความเร็วรอบของปลายใบพัดมีค่าเท่ากันเมื่อมีสัดส่วนทางเรขาคณิตเหมือนกัน (Pace, 1986)

PARAMETER	SCALE 1	SCALE 2	CHANGE	ENVIRONMENTAL EFFECT
Volume (m <sup>3</sup> )	1	100	+	
Height (m)	1.72	7.99	+	Higher [O <sub>2</sub> ] ; [CO <sub>2</sub> ] (pH)
Impeller Tip Speed	1	1	None	
Power/Unit Volume	1	0.22	-	
K <sub>L</sub> a	1	0.47	-	
Oxygen Availability	1	0.69	-	Lower oxygen supply
Impeller Liquid Flow/Unit Volume also t <sub>c</sub> & t <sub>max</sub>	1	0.21	-	More heterogeneity

หมายเหตุ ; + หมายถึง ค่าตัวแปรมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อทำการขยายส่วน

- หมายถึง ค่าตัวแปรมีค่าลดลงเมื่อทำการขยายส่วน

None หมายถึง ค่าตัวแปรไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อทำการขยายส่วน

ส่วนการขยายส่วนโดยไม่กำหนดสัดส่วนทางเรขาคณิตให้เหมือนกัน ผลการขยายส่วนแสดงดังตารางที่ 1- 6

ตารางที่ 1- 6 ผลของการขยายส่วน เมื่อกำหนดให้ความเร็วรอบของปลายใบพัดมีค่าเท่ากัน เมื่อไม่กำหนดสัดส่วนทางเรขาคณิตให้เหมือนกัน(Pace, 1986)

PARAMETER	SCALE 1	SCALE 2	CHANGE	ENVIRONMENTAL EFFECT
Volume (m <sup>3</sup> )	1	100	+	
Height (m)	1.72	7.99	+	Higher [O <sub>2</sub> ] ; [CO <sub>2</sub> ] (pH)
Tank Diameter (m)	0.86	3.99	+	
Impeller Diameter (m)	0.29	2.9	+	
Impeller Tip Speed	1	1	None	
Impeller Liquid Flow/Unit Volume also t <sub>c</sub> & t <sub>mx</sub>	1	1	None	
Power/Unit Volume	1	1	None	
K <sub>L</sub> a	1	1	None	
Oxygen Availability	1	1.5	+	Increased oxygen supply

หมายเหตุ ; + หมายถึง ค่าตัวแปรที่มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อทำการขยายส่วน

None หมายถึง ค่าตัวแปรไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อทำการขยายส่วน

พบว่าค่าสัมประสิทธิ์ของการถ่ายเทออกซิเจน อัตราส่วนระหว่างกำลังของมอเตอร์ต่อปริมาตรน้ำหมัก และ เวลาที่ใช้ในการผสมจะสามารถกำหนดให้คงที่ได้ ในกรณีนี้จะรักษาให้อัตราส่วนของความสูง และ เส้นผ่านศูนย์กลางของเครื่องหมักคงที่ แต่เพื่อให้ได้ผลของการขยายส่วนตามที่ต้องการจำเป็นต้องเพิ่มขนาดของใบพัดให้ใหญ่ขึ้นในถังหมักที่มีขนาด 100 ลูกบาศก์เมตร จากการเปรียบเทียบในการกำหนดสัดส่วนทางเรขาคณิต



เหมือนกันจะทำให้ผลของการได้รับออกซิเจนน้อยกว่าในกรณีของการไม่กำหนดสัดส่วนทางเรขาคณิต ซึ่งทำให้ประสิทธิภาพของการหมักไม่ดีเท่าที่ควร

สำหรับการขยายส่วนการผลิตกรดจิบเบอเรลลิน ยังไม่มีรายงานถึงการกำหนดเกณฑ์ที่ใช้ในการขยายส่วน

## 1.6 เหตุจูงใจในการวิจัย

จิบเบอเรลลินเป็นฮอร์โมนพืช ที่สำคัญชนิดหนึ่งซึ่งช่วยเร่งการเจริญเติบโตและช่วยเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร ทำให้มีความต้องการจิบเบอเรลลินในด้านการเกษตรมากขึ้น แต่เนื่องจาก จิบเบอเรลลินเป็นสารที่มีราคาแพง โดยที่ประเทศไทยไม่สามารถผลิตขึ้นมาใช้เองได้ ต้องมีการนำเข้ามาจากต่างประเทศ จึงน่าจะมีการศึกษาแนวทางการผลิตจิบเบอเรลลินขึ้นเพื่อนำมาใช้ภายในประเทศ ดังนั้นสถาบันเทคโนโลยีชีวภาพและวิศวกรรมพันธุศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ได้เห็นถึงความสำคัญในส่วนนี้ จึงได้ดำเนินการวิจัยเกี่ยวกับการผลิตจิบเบอเรลลินอย่างต่อเนื่อง อันได้แก่ การคัดเลือกสายพันธุ์และการปรับปรุงสายพันธุ์เพื่อเพิ่มผลการผลิต การศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมในการผลิตในระดับขวดเขย่าและถังหมักขนาด 5 ลิตร

ดังนั้นในงานวิจัยนี้ ทำการศึกษาเกณฑ์และตัวแปรที่มีผลต่อการขยายส่วน รวมถึงเก็บข้อมูลพื้นฐานทางจลนพลศาสตร์ ในระดับถังหมักขนาด 30 และ 300 ลิตร เพื่อใช้เป็นแนวทางการผลิตในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

## 1.7 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

- 1.7.1 ศึกษาเกณฑ์การขยายส่วนของเครื่องหมักแบบถังกวน
- 1.7.2 ศึกษาพารามิเตอร์ที่มีผลต่อการผลิตจิบเบอเรลลินในระดับขยายส่วน
- 1.7.3 ให้ได้ข้อมูลพื้นฐานในการขยายส่วนของการผลิตจิบเบอเรลลินในเชิงจลนพลศาสตร์ของกระบวนการในถังหมัก

## 1.8 ขั้นตอนการวิจัย

1. ค้นคว้าและรวบรวมข้อมูลจากรายงาน เอกสาร และสิทธิบัตร
2. วิเคราะห์พารามิเตอร์ที่เป็นปัจจัยสำคัญ สำหรับการขยายส่วนในการผลิตจิบเบอเรลลินจากรายงานเอกสาร และสิทธิบัตร
3. กำหนดเกณฑ์ในการขยายส่วนสำหรับการผลิตจิบเบอเรลลิน
4. ศึกษาค่าทางจลนพลศาสตร์ของการผลิตจิบเบอเรลลินในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร และ ระดับขยายส่วนขนาด 30 และ 300 ลิตร
5. ศึกษาหาผลของพารามิเตอร์ต่างๆ ที่มีความสัมพันธ์กับ ค่าทางจลนพลศาสตร์ของการผลิตจิบเบอเรลลินในระดับขยายส่วนขนาด 30 และ 300 ลิตร