บทที่ 1
บทนำ

ที่มาและความสำคัญ

การเพาะเลี้ยงเซลล์ความเข้มข้นสูง (High-Cell Density Cultivation) เป็นเทคนิคที่มีการพัฒนาขึ้นมาเพื่อให้เกิดการผลิตเซลล์ปริมาณสูง (Riesenberg & Guthke, 1999) เป็นเทคนิคที่มีความสำคัญในการผลิตรีคอมบิแนนซ์โปรตีน จากจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีอัตราการเจริญเติบโตในตลาดเพิ่มมากขึ้นทุก ๆ ปี ที่อัตราประมาณ 10-15 เปอร์เซ็นต์ต่อปี (Werner, 2004) และยังสามารถประยุกต์ใช้เพื่อเป็นผลิตภัณฑ์ทั้งด้านอุตสาหกรรมการเกษตร อาหาร การแพทย์ และอื่น ๆ มากมาย

การวิจัยครั้งนี้เพื่อศึกษาการผลิตเซลล์จุลินทรีย์ต้นแบบ 2 ชนิด คือ *Eschilichia coli* และ *Saccharomyces cerevisiae* ให้ได้ความเข้มข้นสูง ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญที่มีการนำมาใช้กันทั่วไปอย่างแพร่หลาย ทั้งในการผลิตผลิตภัณฑ์จากสายพันธุ์ดั้งเดิมเช่น เอทานอล และโปรตีนเซลล์เดียว (Single Cell Protein) จาก *S. cerevisiae* รวมไปถึงการผลิตผลิตภัณฑ์รีคอมบิแนนซ์ ที่ต้องผ่านกระบวนการทางพันธุวิศวกรรม การผลิตเซลล์ความเข้มข้นสูงสามารถช่วยเพิ่มผลผลิตผลิตภัณฑ์ได้มากขึ้น

ในการเลือกใช้จุลินทรีย์ต้นแบบ 2 สายพันธุ์ ดังกล่าว ในการทดลองครั้งนี้นั้น เพื่อใช้เป็นต้นแบบของจุลินทรีย์แต่ละชนิด คือ แบคทีเรีย และ ยีสต์ เนื่องจากล้วนแล้วแต่เป็นสายพันธุ์ที่มีการนำมาใช้กันอย่างแพร่หลาย เป็นที่รู้จัก และมีข้อมูลพื้นฐานที่ผ่านการศึกษาเป็นจำนวนมาก ทั้งทางด้านการวิจัยระดับปฏิบัติการ การแพทย์ อุตสาหกรรม และอื่น ๆ อีกมากมาย และผลการทดลองที่ได้จากการทดลองครั้งนี้สามารถที่จะนำไปประยุกต์ใช้ได้กับจุลินทรีย์อื่น ๆ ได้ อย่างครอบคลุม

การวิจัยครั้งนี้ศึกษาการผลิตเซลล์ความเข้มข้นสูงของจุลินทรีย์ต้นแบบ ด้วยการใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงแบบกะ ซึ่งเป็นเทคนิคที่ไม่ยุ่งยากซับซ้อน ร่วมกับสูตรอาหาร BPM (Batch Production Medium) ซึ่งเป็นสูตรอาหารประเภทที่ทราบองค์ประกอบแน่นอน (Define Medium) ไม่มีความยุ่งยากซับซ้อน ราคาไม่แพง รวมไปถึงเลือกใช้โอลิโกเมอร์ของน้ำตาล มาเป็นแหล่งคาร์บอนในการเพาะเลี้ยงเพื่อให้เกิดการผลิตเซลล์ความเข้มข้นสูงได้โดยไม่ก่อปัญหาการดั้งของแหล่งคาร์บอนในการเพาะเลี้ยง ซึ่งเป็นผลทำให้ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ นอกจากนี้ยังสามารถลดระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง โดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงแบบกะ-ต่อเนื่อง (Sequential Batch) โดยเริ่มต้นด้วยการเพาะเลี้ยงแบบกะครั้งแรก เมื่อครบระยะเวลาตามที่กำหนดจึงถ่ายนำหมัก

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ที่ได้ออก เพื่อเก็บเกี่ยวผลผลิต แล้วเหลือปริมาตรเพียงใช้เป็นหัวเชื้อเริ่มต้นสำหรับการเพาะเลี้ยงในรอบต่อไป แล้วจึงเติมอาหารใหม่ลงไปให้ได้ตามปริมาตรการทำงาน การเพาะเลี้ยงแบบนี้สามารถทำได้หลายครั้งติดต่อกันไปอย่างต่อเนื่อง

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อศึกษาถึงความเข้มข้นแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ต้นแบบทั้ง 2 ชนิดให้ได้เซลล์ความเข้มข้นสูง

2. เพื่อศึกษาเทคนิคการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ต้นแบบในถังหมักแบบกะ-ต่อเนื่อง เพื่อให้ได้เซลล์ที่ความเข้มข้นสูง

สมมติฐานการวิจัย

1. การใช้เดกซ์ทรินเป็นแหล่งคาร์บอนที่เข้มข้นมากขึ้นจะสามารถผลิตเซลล์ของจุลินทรีย์ต้นแบบได้เพิ่มมากขึ้น

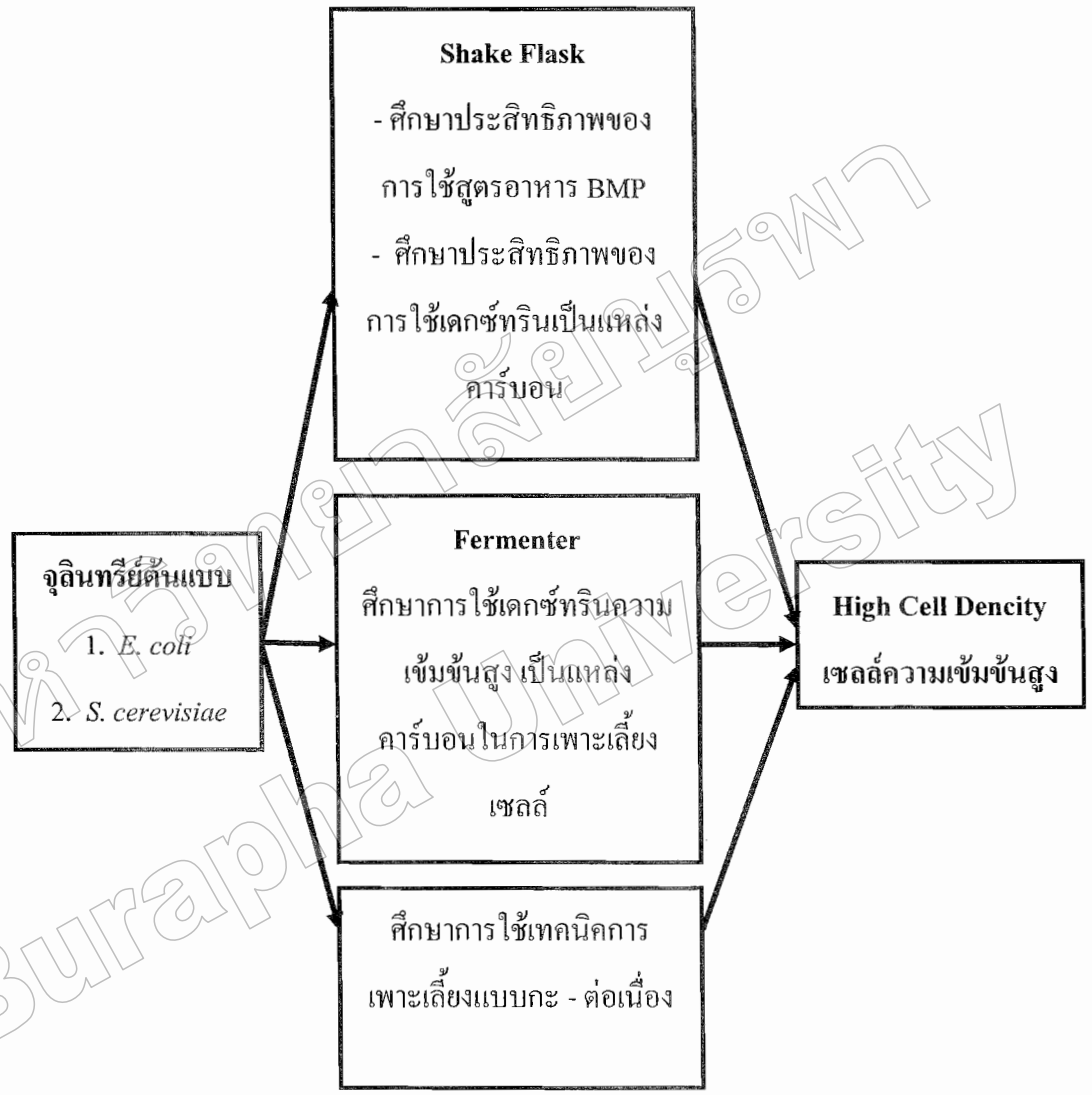
2. เทคนิคการเพาะเลี้ยงในถังหมัก แบบกะ-ต่อเนื่องสามารถที่จะช่วยเพิ่มปริมาณเซลล์ได้มากขึ้นและสามารถช่วยลดระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงได้มากขึ้นด้วย

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

สามารถใช้สูตรอาหาร BPM ที่มี เดกซ์ทรินเป็นแหล่งคาร์บอน ที่ความเข้มข้นสูง มาใช้ในการผลิตเซลล์จุลินทรีย์เพื่อให้มีความเข้มข้นสูงได้ รวมถึงสามารถใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงนี้กับระบบการหมักแบบกะ-ต่อเนื่องเข้าไปช่วยลดระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงของจุลินทรีย์ในการเพาะเลี้ยงทั้งระดับปฏิบัติการและระดับอุตสาหกรรม

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

กรอบแนวคิดการวิจัย



ภาพที่ 1-1 กรอบแนวคิดการวิจัย

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ขอบเขตการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้ทำการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของอาหารสูตร BPM โดยการใช้เดกซ์ทรินเป็นแหล่งคาร์บอน ด้วยการเพาะเลี้ยงแบบฟลาสก์เขย่า และศึกษาการใช้เดกซ์ทรินความเข้มข้นสูงเป็นแหล่งคาร์บอน รวมถึงศึกษาเทคนิคการเลี้ยงแบบกะ-ต่อเนื่อง สำหรับเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ต้นแบบ 2 ชนิด คือ *E. coli* และ *S. cerevisiae* ให้ได้เซลล์ความเข้มข้นสูง

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University