บทที่ 4
ผลการวิจัย

1. ผลการศึกษาประสิทธิภาพสูตรอาหาร BPM ในการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ต้นแบบ

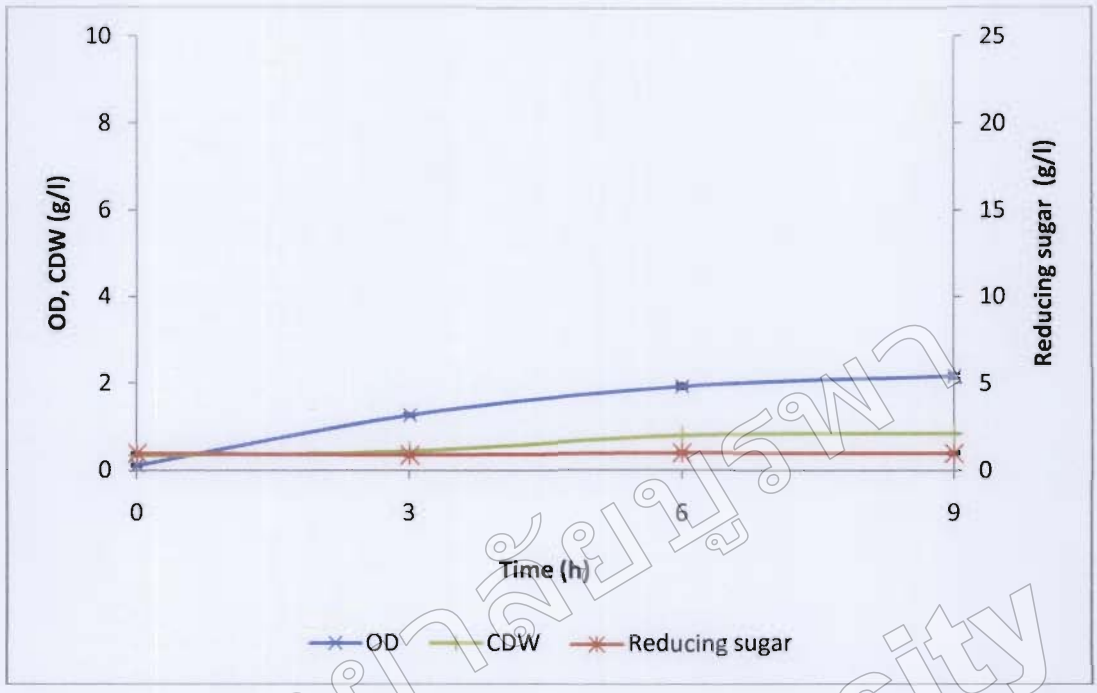
1.1 ผลของสูตรอาหาร BPM ต่อการเจริญของ *E. coli*

จากการศึกษาการผลิตเซลล์ความเข้มข้นสูงของ *E. coli* ในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร BPM เปรียบเทียบกับสูตรอาหาร NB ซึ่งเป็นสูตรมาตรฐานของจุลินทรีย์ชนิดนี้ ในบัฟเฟิลฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร ปริมาตรการเพาะเลี้ยงทั้งหมด (Working Volume) เท่ากับ 100 มิลลิลิตร ใช้หัวเชื้อ *E. coli* ปริมาตรคิดเป็น 5 เปอร์เซ็นต์ของปริมาตรในการผลิตทั้งหมด โดยปรับค่าพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 7 เขย่าที่ความเร็ว 180 รอบต่อนาที เป็นเวลานาน 9 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (Incubator Shaker) ติดตามการเปลี่ยนแปลงค่าความขุ่น น้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณน้ำตาลคงเหลือ ได้ผลการทดลองดังภาพ 4-1 - 4-2

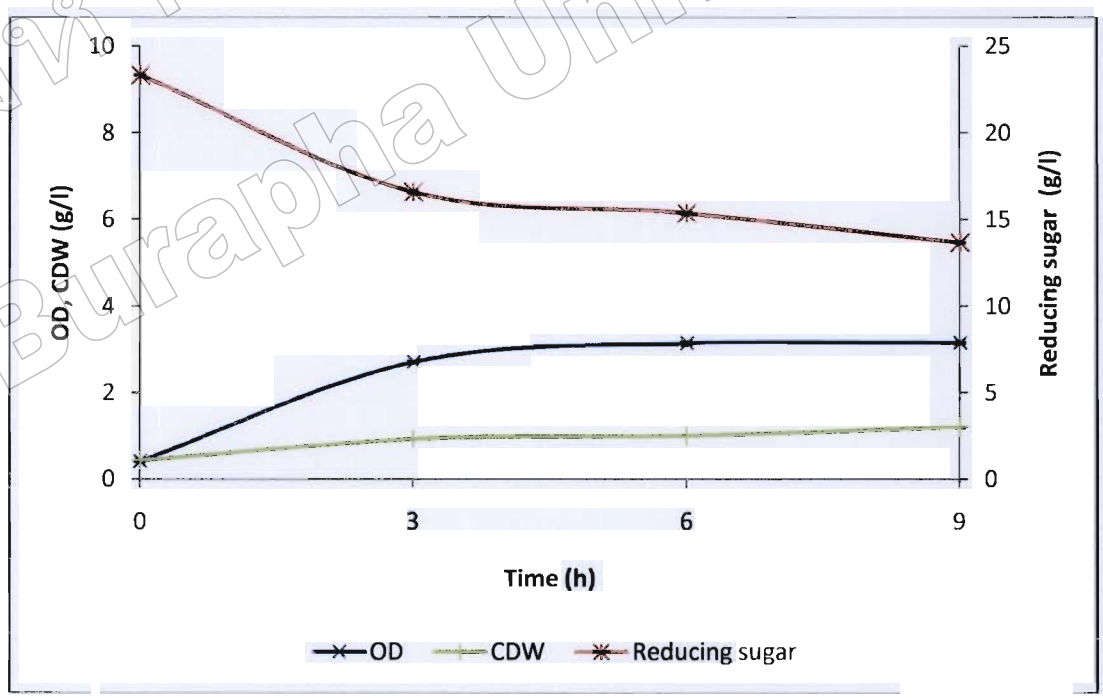
จากภาพที่ 4-1 เมื่อพิจารณากราฟการเจริญของ *E. coli* ในสูตรอาหาร NB พบว่า การเจริญเข้าสู่ระยะการเจริญแบบทวีคูณ (Log Phase) ภายในชั่วโมงที่ 3 จากนั้นอัตราการเจริญเติบโตเริ่มลดน้อยลง จนถึงคงที่ เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเพาะเลี้ยง ชั่วโมงที่ 9 ได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 0.85 กรัมต่อลิตร ค่าความขุ่นเท่ากับ 2.16 เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลคงเหลือ พบว่ามีปริมาณคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 จนถึงชั่วโมงที่ 9 มีค่าประมาณ 1 กรัมต่อลิตร

จากภาพที่ 4-2 เมื่อพิจารณากราฟการเจริญของ *E. coli* ในสูตรอาหาร BPM พบว่า มีการเจริญเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 0-3 ชั่วโมงแรกของการเพาะเลี้ยง จากนั้นแนวโน้มการเจริญเริ่มคงที่จนถึงชั่วโมงที่ 9 โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 1.20 กรัมต่อลิตร และค่าความขุ่นเท่ากับ 3.16 เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลคงเหลือ พบว่าจุลินทรีย์ไม่สามารถนำซับเสตรท (กลูโคส) ดังกล่าวไปใช้ในการเจริญเติบโตได้เต็มที่ โดยปริมาณน้ำตาลเริ่มต้นในชั่วโมงที่ 0 มีค่าเท่ากับ 23.34 กรัมต่อลิตร และปริมาณลดลงอย่างรวดเร็วในช่วงชั่วโมงที่ 0-3 และมีค่าคงที่จนถึงชั่วโมงที่ 9 คือมีปริมาณน้ำตาลคงเหลือเท่ากับ 13.67 กรัมต่อลิตร

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



ภาพที่ 4-1 การเพาะเลี้ยง *E. coli* ด้วยสูตรอาหาร NB (แสดงค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ)

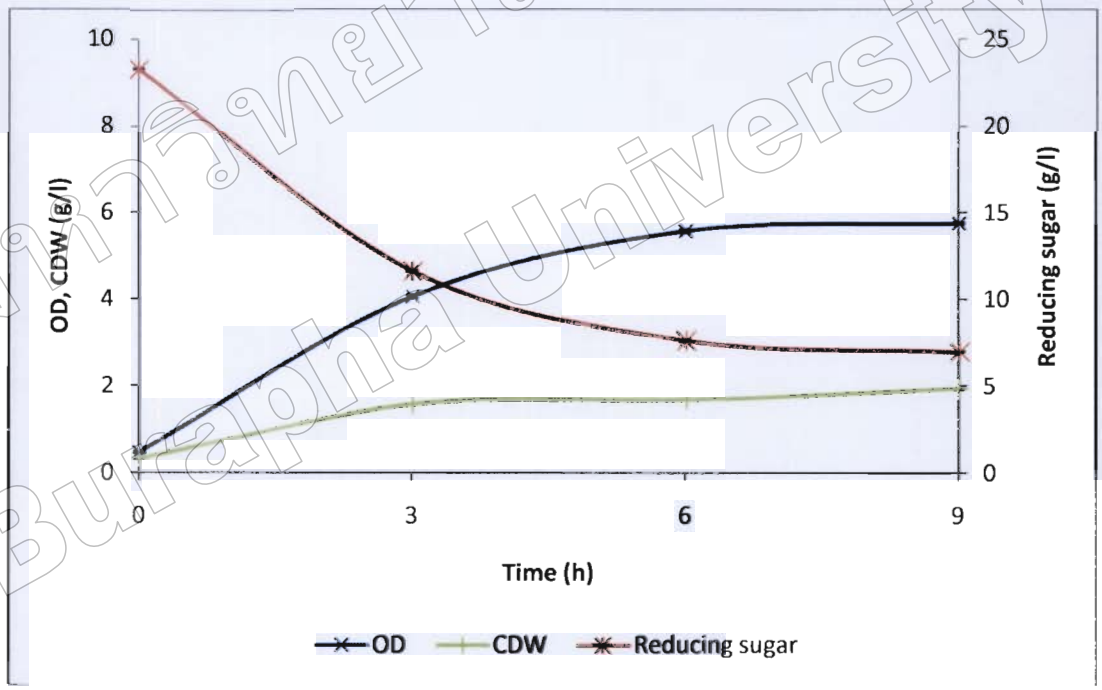


ภาพที่ 4-2 การเพาะเลี้ยง *E. coli* ด้วยสูตรอาหาร BPM (แสดงค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

จากผลการศึกษาดังกล่าว เห็นได้ว่า จุลินทรีย์ไม่สามารถนำกลูโคสในสูตรอาหาร BPM ไปใช้ได้ทั้งหมด ดังนั้นจึงการทดลองเติมแหล่งอาหารเสริมในสูตรอาหาร BPM เพิ่มเติม โดยเลือกใช้ยีสต์สกัด (Yeast Extract) ความเข้มข้น 0.6 เปอร์เซ็นต์ ควบคุมสภาวะต่าง ๆ เช่นเดียวกัน ได้ผลการทดลองดังภาพที่ 4-3

จากภาพที่ 4-3 แสดงกราฟการเจริญของ *E. coli* ในสูตรอาหาร BPM ที่มีการเติมยีสต์สกัด พบว่า *E. coli* มีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 0.6 ชั่วโมงแรกของการเพาะเลี้ยง หลังจากนั้นแนวโน้มการเจริญเริ่มเข้าสู่ระยะคงที่จนถึงชั่วโมงที่ 9 โดยมีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 1.93 กรัมต่อลิตร ค่าความขุ่นเท่ากับ 5.75 ในส่วนของปริมาณน้ำตาลเริ่มต้นมีค่ากับ 23.31 กรัมต่อลิตร ปริมาณลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 0-3 ชั่วโมงแรก จากนั้นค่อย ๆ ลดลงเล็กน้อย จนถึงชั่วโมงที่ 9 มีปริมาณน้ำตาลคงเหลือเท่ากับ 6.96 กรัมต่อลิตร



ภาพที่ 4-3 การเพาะเลี้ยง *E. coli* ด้วยสูตรอาหาร BPM เติมยีสต์สกัด (แสดงค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ)

เมื่อเปรียบเทียบผลของการผลิตเซลล์ความเข้มข้นสูงของ *E. coli* ด้วยสูตรอาหารที่แตกต่างกันดังที่กล่าวมาข้างต้น พบว่า อาหารทั้ง 3 สูตรทำให้จุลินทรีย์มีแนวโน้มการเจริญเติบโตในทิศทางเดียวกัน คือ เข้าสู่ระยะ Log Phase หลังจากชั่วโมงที่ 0 จนถึงชั่วโมงที่ 6 โดยไม่มีระยะ

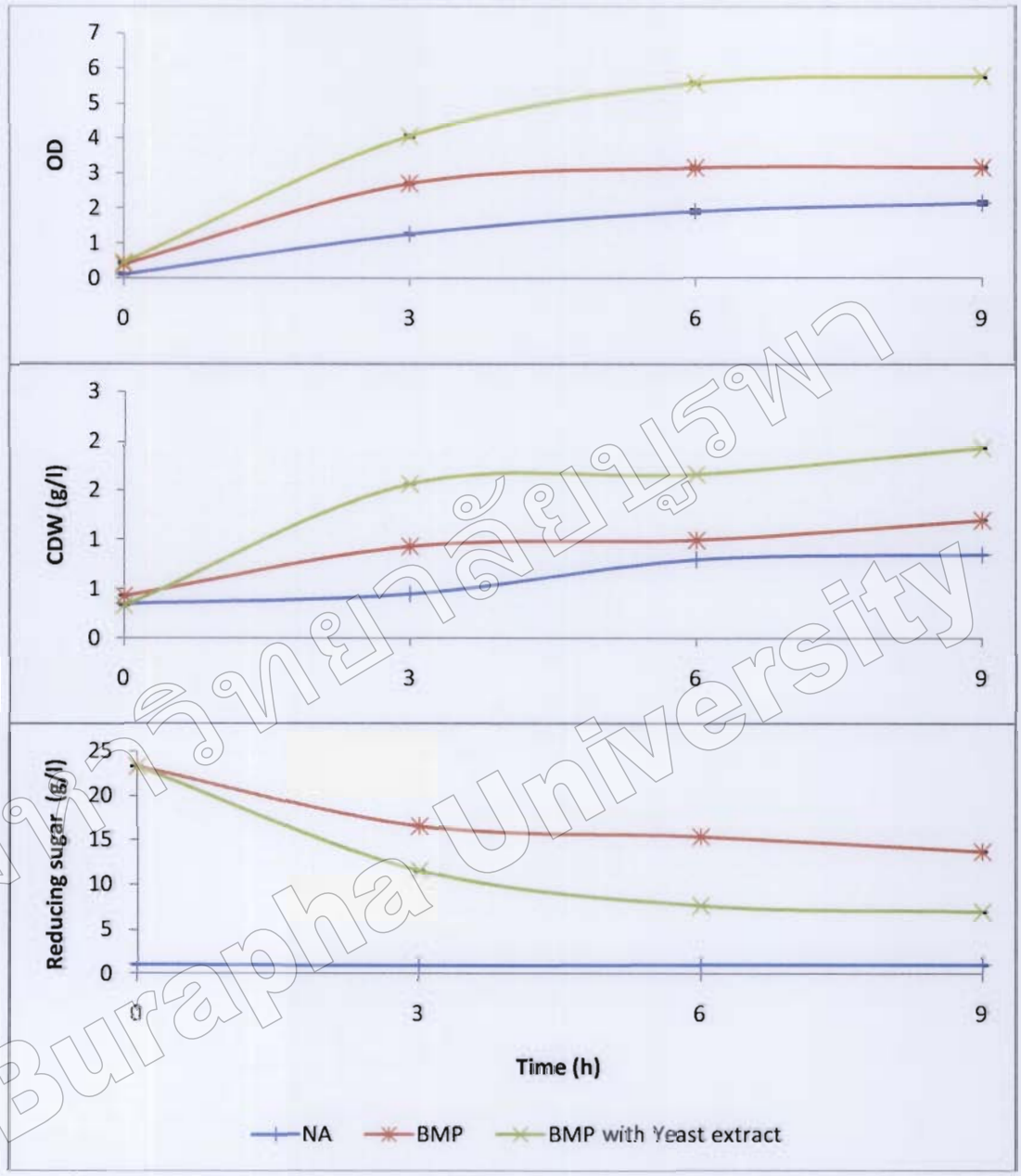
มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

Lag Phase หลังจากนั้นการเจริญเริ่มลดลง และคงที่จนถึงชั่วโมงที่ 9 แต่ทั้งนี้ปริมาณการเจริญเติบโตในสูตรอาหารแต่ละชนิดแตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด โดยสูตรอาหารที่ *E. coli* สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุด คือสูตรอาหาร BPM ที่มีการเติมยีสต์สกัด มีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 1.93 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือสูตรอาหาร BPM มีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 1.20 กรัมต่อลิตร และสูตรอาหารที่ให้ผลการเจริญของ *E. coli* ต่ำสุดคือสูตรอาหาร NB ซึ่งให้ค่าน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 0.86 กรัมต่อลิตร

ในส่วนของปริมาณน้ำตาลที่วัดได้ระหว่างการเพาะเลี้ยงเชื้อ *E. coli* ในอาหารทั้ง 3 สูตร พบว่า ปริมาณน้ำตาลเริ่มต้นของสูตรอาหาร NB มีค่าต่ำสุด ประมาณ 1 กรัมต่อลิตรเท่านั้น และมีค่าคงที่ตลอดการเพาะเลี้ยง ในขณะที่ อาหารสูตร BPM ทั้งสองนั้น มีแนวโน้มการลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 0-6 ชั่วโมงแรก แต่เมื่อสิ้นสุดการเพาะเลี้ยงในชั่วโมงที่ 9 การเพาะเลี้ยงด้วยสูตรอาหาร BPM ที่ไม่มีการเติมยีสต์สกัดนั้นยังคงมีปริมาณน้ำตาลคงเหลืออยู่ปริมาณมาก ประมาณ 10 กรัมต่อลิตร

จากผลการทดลองดังภาพที่ 4-1 – 4-4 เห็นได้อย่างชัดเจนว่า สูตรอาหาร BPM มีประสิทธิภาพที่ดีกว่าสูตรอาหาร NB สำหรับการเพาะเลี้ยง *E. coli* เพื่อผลิตเซลล์ความเข้มข้นสูง นอกจากนี้ ยีสต์สกัดยังมีผลช่วยส่งเสริมการเจริญของ *E. coli* ในสูตรอาหาร BPM โดยเห็นได้จากปริมาณเซลล์ที่เพิ่มขึ้นและปริมาณของกลูโคสที่เซลล์นำไปใช้ในการเจริญเติบโต ดังนั้นการทดลองต่อไปจากนี้ในการเพาะเลี้ยง *E. coli* จะใช้สูตรอาหาร BPM ที่มีการเติมยีสต์สกัด ความเข้มข้น 0.6 เปอร์เซ็นต์

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



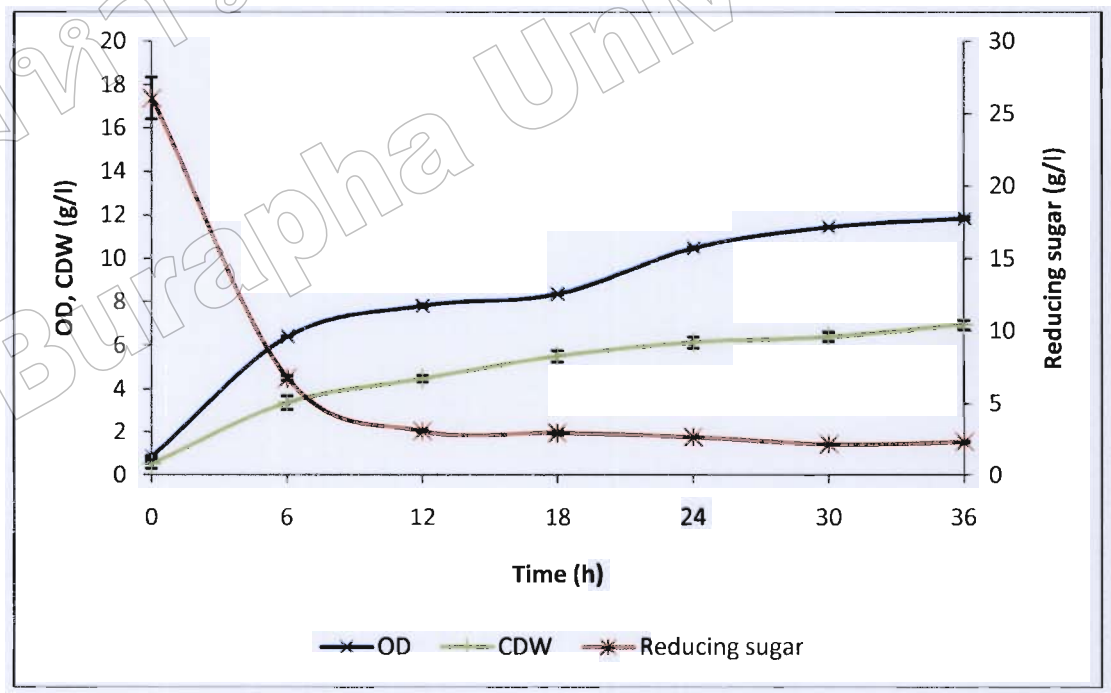
ภาพที่ 4-4 เปรียบเทียบผลการเพาะเลี้ยง *E. coli* ด้วยสูตรอาหารที่แตกต่างกัน ได้แก่สูตรอาหาร NB BPM และสูตรอาหาร BPM ที่เติมยีสต์สกัด

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

1.2 ผลของสูตรอาหาร BPM ต่อการเจริญของ *S. cerevisiae*

จากการศึกษาการผลิตเซลล์ความเข้มข้นสูงของ *S. cerevisiae* ในอาหารสูตร BPM เปรียบเทียบกับสูตรอาหารมาตรฐานของการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ชนิดนี้ ในบัฟเฟิลฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร ปริมาตรการเพาะเลี้ยงทั้งหมด 100 มิลลิลิตร และใช้หัวเชื้อความเข้มข้นคิดเป็น 5 เปอร์เซ็นต์ของปริมาตรการเพาะเลี้ยงทั้งหมด โดยปรับค่าพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 4.5 เขย่าที่ความเร็ว 180 รอบต่อนาที ในเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 36 ชั่วโมง ได้ผลการทดลองดังภาพที่ 4-5 – 4-6

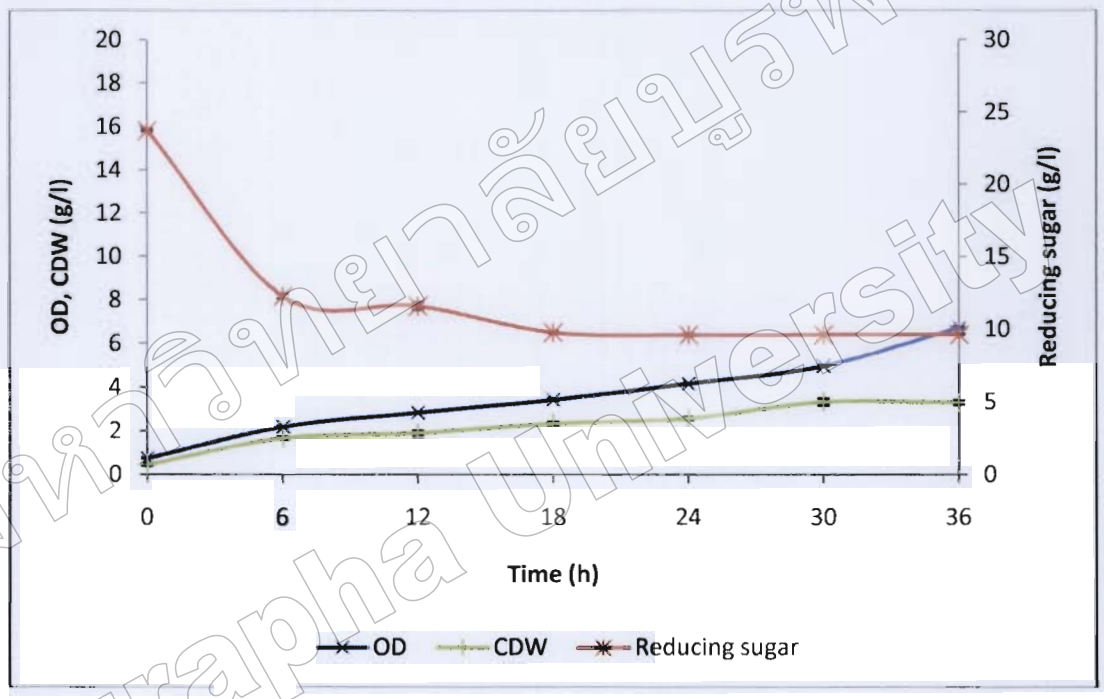
จากภาพที่ 4-5 เมื่อพิจารณากราฟการเจริญของ *S. cerevisiae* ในอาหารสูตร YPD พบว่ามีการเจริญเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 0-6 ชั่วโมงแรกของการเพาะเลี้ยง จากนั้นการเจริญมีแนวโน้มคงที่จนถึงชั่วโมงที่ 36 โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 6.93 กรัมต่อลิตร ค่าความขุ่นเท่ากับ 11.85 และเมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาล พบว่าเริ่มต้นมีปริมาณเท่ากับ 26.08 กรัมต่อลิตร และลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 0-12 ชั่วโมงแรก จากนั้นอัตราการลดลงจึงมีแนวโน้มคงที่จนถึงชั่วโมงที่ 36 ปริมาณน้ำตาลคงเหลือเท่ากับ 2.32 กรัมต่อลิตร



ภาพที่ 4-5 การเพาะเลี้ยง *S. cerevisiae* ด้วยสูตรอาหาร YPD (แสดงค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

จากภาพที่ 4-6 เมื่อพิจารณากราฟการเจริญของ *S. cerevisiae* ในอาหารสูตร BPM พบว่าการเจริญเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการเพาะเลี้ยง จนถึงชั่วโมงที่ 36 มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 3.30 กรัมต่อลิตร ค่าความขุ่นเท่ากับ 6.74 เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาล พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงในทิศทางตรงกันข้ามกับการเจริญเติบโตของเซลล์ คือชั่วโมงที่ 0 มีปริมาณเท่ากับ 23.74 กรัมต่อลิตร และลดลงอย่างรวดเร็วในชั่วโมงที่ 0-6 จากนั้นเริ่มลดลงแบบคงที่ เมื่อสิ้นสุดการเพาะเลี้ยงในชั่วโมงที่ 36 มีปริมาณน้ำตาลคงเหลือเท่ากับ 9.63 กรัมต่อลิตร



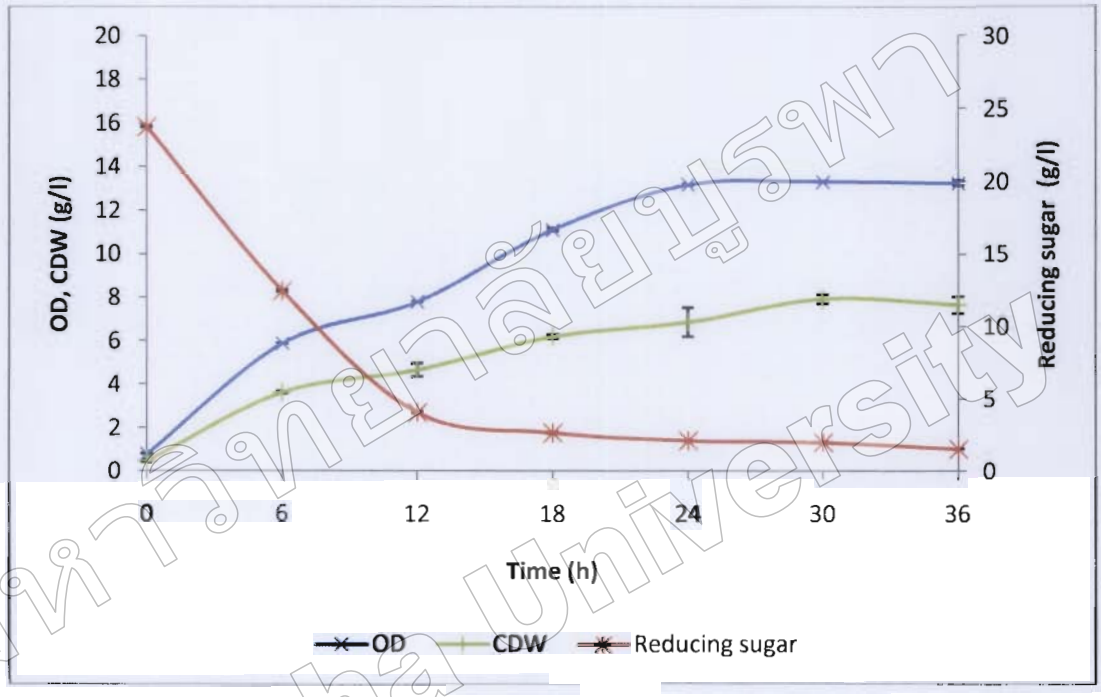
ภาพที่ 4-6 การเพาะเลี้ยง *S. cerevisiae* ด้วยสูตรอาหาร BPM (แสดงค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ)

จากผลการศึกษาดังกล่าว พบว่า *S. cerevisiae* ไม่สามารถนำกลูโคสที่มีอยู่ในอาหาร BPM ไปใช้ในการเจริญได้หมด ทำให้ประสิทธิภาพของอาหารไม่ดีมากพอสำหรับมาใช้ในการเพาะเลี้ยง จึงได้มีการทดลองเติมยีสต์สกัด ความเข้มข้น 0.6 เปอร์เซ็นต์ ลงในอาหาร BPM เพื่อเป็นการเพิ่มแหล่งอาหารเสริม ได้ผลการทดลองดังภาพที่ 4-7

จากภาพที่ 4-7 แสดงกราฟการเจริญของ *S. cerevisiae* ในสูตรอาหาร BPM ที่มีการเติมยีสต์สกัด พบว่า *S. cerevisiae* มีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 0-24 ชั่วโมงแรกของการเพาะเลี้ยง หลังจากนั้นเริ่มมีการเจริญแบบคงที่ จนถึงชั่วโมงที่ 36 มีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

เท่ากับ 7.67 กรัมต่อลิตร ค่าความขุ่นเท่ากับ 13.28 และเมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลระหว่างการเพาะเลี้ยง พบว่า ในชั่วโมงที่ 0 วัดปริมาณน้ำตาลได้เท่ากับ 23.76 กรัมต่อลิตร มีการนำไปใช้อย่างรวดเร็วในชั่วโมงที่ 0-12 จากนั้นมีแนวโน้มคงที่จนถึงชั่วโมงที่ 36 มีปริมาณน้ำตาลเหลืออยู่เพียง 1.53 กรัมต่อลิตรเท่านั้น

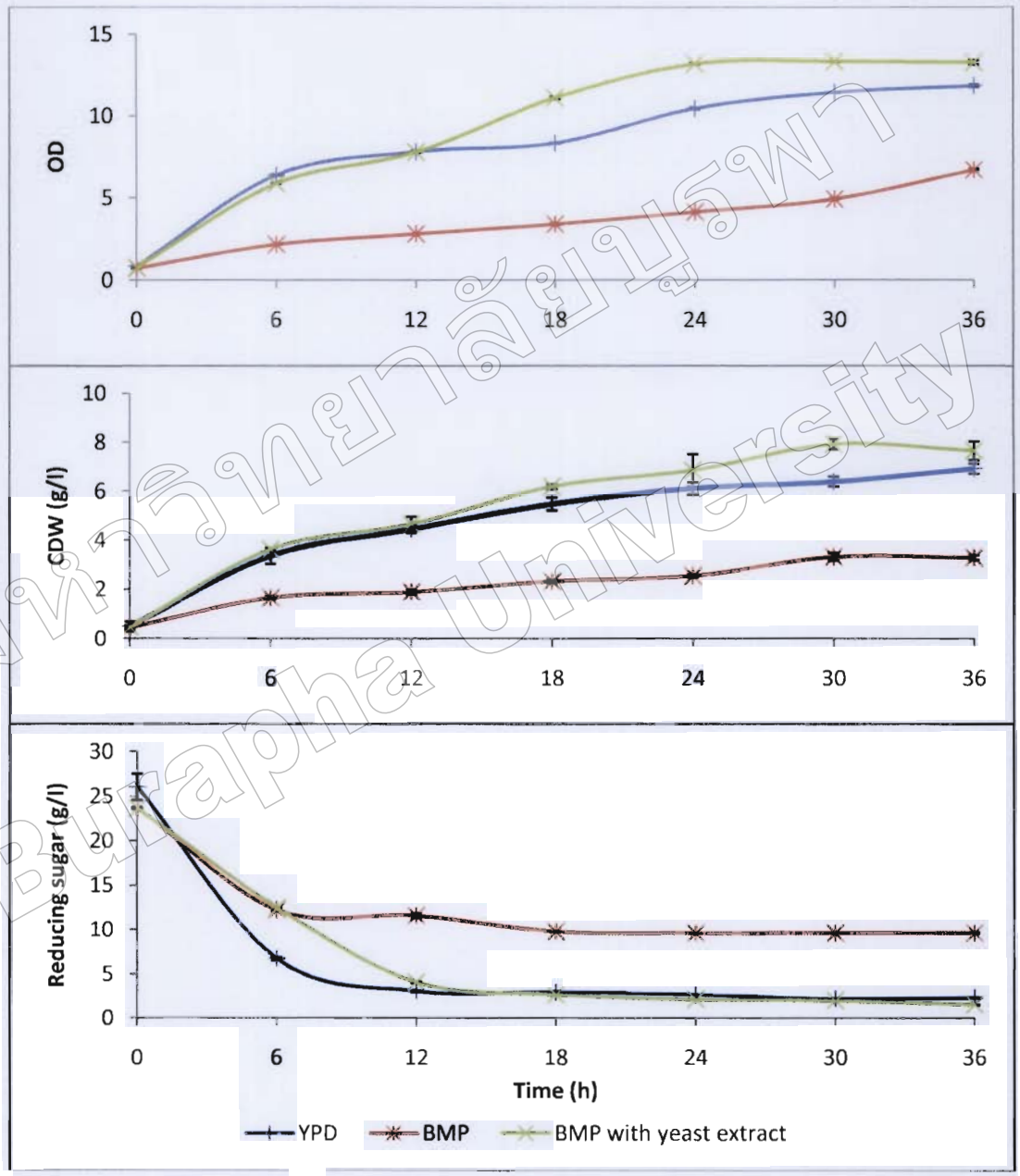


ภาพที่ 4-7 การเพาะเลี้ยง *S. cerevisiae* ด้วยอาหารสูตร BPM เติมยีสต์สกัด (แสดงค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ)

เมื่อเปรียบเทียบผลการผลิตเซลล์ความเข้มข้นสูงของ *S. cerevisiae* ในสูตรอาหารชนิดต่าง ๆ ที่แตกต่างกัน ได้แก่ สูตรอาหาร YPD ซึ่งเป็นอาหารสูตรมาตรฐาน สูตร BPM และสูตร BPM ที่มีการเติมยีสต์สกัด พบว่าอาหารทั้ง 3 สูตร ให้ผลการเจริญที่เพิ่มขึ้นตลอดช่วงเวลา 36 ชั่วโมง โดย *S. cerevisiae* สามารถเจริญเติบโตในอาหารสูตร YPD ได้ดีกว่าในอาหารสูตร BPM โดยเห็นจากน้ำหนักเซลล์แห้งที่มีค่าเท่ากับ 7.67 และ 3.30 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ แต่เมื่อมีการเติมยีสต์สกัดลงในสูตรอาหาร BPM พบว่า *S. cerevisiae* สามารถเจริญเติบโตได้ใกล้เคียงกับสูตรอาหาร YPD ที่เป็นสูตรอาหารมาตรฐาน ในส่วนของการปริมาณน้ำตาลคงเหลือที่เปลี่ยนแปลงไปตามระยะเวลาการเพาะเลี้ยง ก็เป็นไปอย่างสอดคล้องกับการเจริญเติบโตของเซลล์คือ สูตรอาหาร BPM ที่มีการเจริญเติบโตต่ำสุด มีการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลน้อยมาก เมื่อสิ้นสุดการเพาะเลี้ยง

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ยังพบปริมาณน้ำตาลคงเหลือมากถึง 9.63 กรัมต่อลิตร ในขณะที่ สูตรอาหาร BPM ที่มีการเติมยีสต์สกัด และสูตรอาหาร YPD มีปริมาณน้ำตาลคงเหลือน้อยมาก เท่ากับ 1.53 และ 2.32 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ



ภาพที่ 4-8 เปรียบเทียบผลการเพาะเลี้ยง *S. cerevisiae* ด้วยสูตรอาหารที่แตกต่างกัน ได้แก่ สูตรอาหาร YPD BPM และสูตรอาหาร BPM เติมยีสต์สกัด (แสดงค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ)

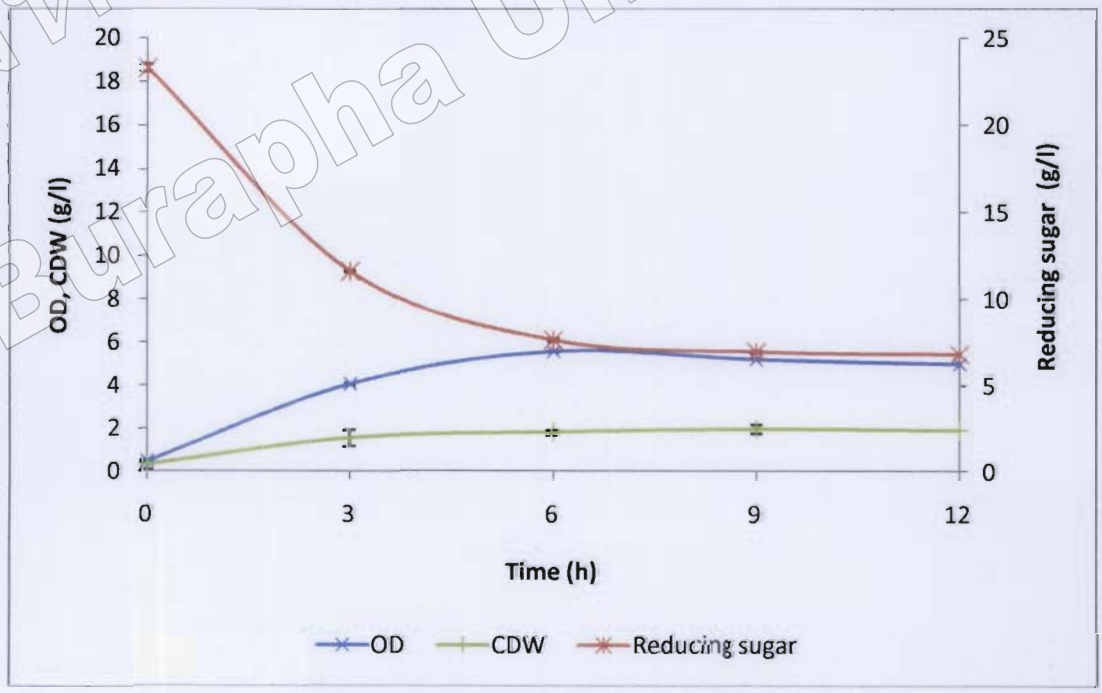
มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

2. ผลการศึกษาประสิทธิภาพของเดกซ์ทรินในการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ต้นแบบ

2.1 ผลของเดกซ์ทรินต่อการเจริญของ *E. coli*

จากการศึกษาข้างต้นที่พบว่าสูตรอาหาร BPM ที่มีการเติมยีสต์สกัดให้ผลดีสำหรับการเพาะเลี้ยง *E. coli* จึงมีการศึกษาแหล่งคาร์บอนชนิดอื่น โดยเลือกใช้เดกซ์ทริน ซึ่งทำการศึกษา โดยเปรียบเทียบการเพาะเลี้ยง *E. coli* ในอาหารสูตร BPM ที่ใช้กลูโคส และเดกซ์ทรินเป็นแหล่งคาร์บอน ความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร ในบัฟเฟิลฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร ปริมาตรการเพาะเลี้ยงทั้งหมด 100 มิลลิลิตร ใช้หัวเชื้อความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ พีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 7.0 เขย่าที่ความเร็ว 180 รอบต่อนาที ในเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 12 ชั่วโมง พบว่า

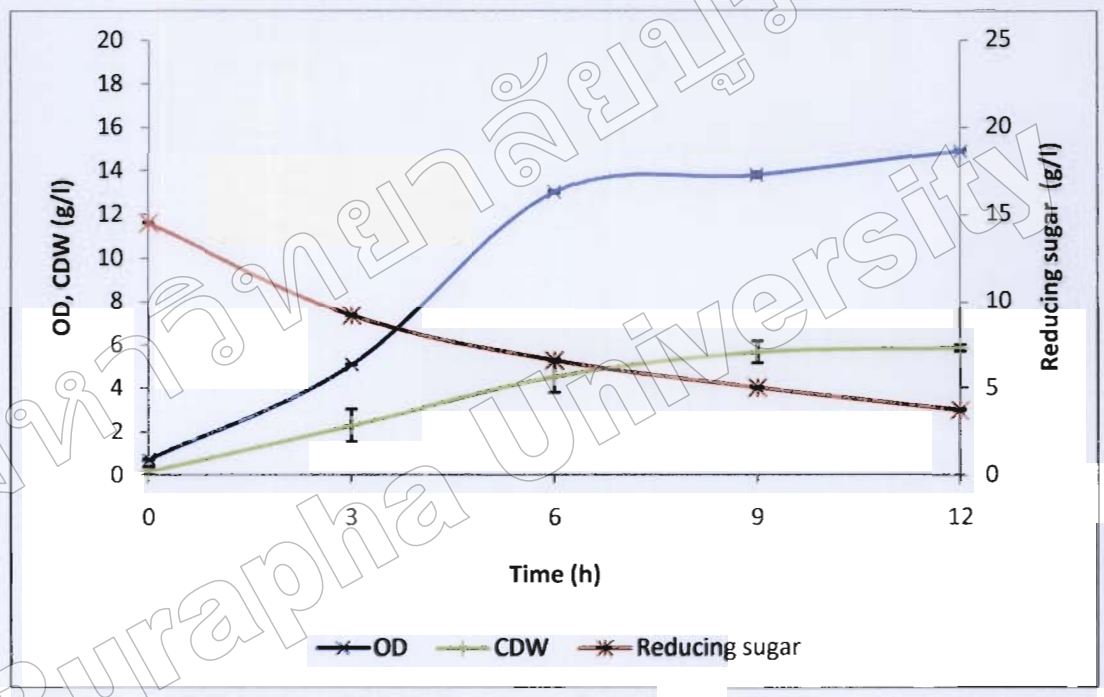
จากภาพที่ 4-9 เมื่อพิจารณาการเจริญเติบโตของ *E. coli* ในสูตรอาหาร BPM ที่ใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่า *E. coli* มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วในช่วง 0-6 ชั่วโมงแรกของการเพาะเลี้ยง จากนั้นมีแนวโน้มคงที่ จนถึงชั่วโมงสุดท้ายของการเพาะเลี้ยง โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด เท่ากับ 2.08 กรัมต่อลิตร ค่าความขุ่น เท่ากับ 5.83 เมื่อพิจารณาปริมาณน้ำตาลที่เปลี่ยนแปลงไป พบว่า ช่วง 0-6 ชั่วโมงแรก ปริมาณน้ำตาลลดลงอย่างรวดเร็ว จากนั้นจึงมีแนวโน้มคงที่ถึงถึงชั่วโมงสุดท้าย มีปริมาณน้ำตาลคงเหลือเท่ากับ 5.14 กรัมต่อลิตร



ภาพที่ 4-9 การเพาะเลี้ยง *E. coli* โดยใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน (แสดงค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

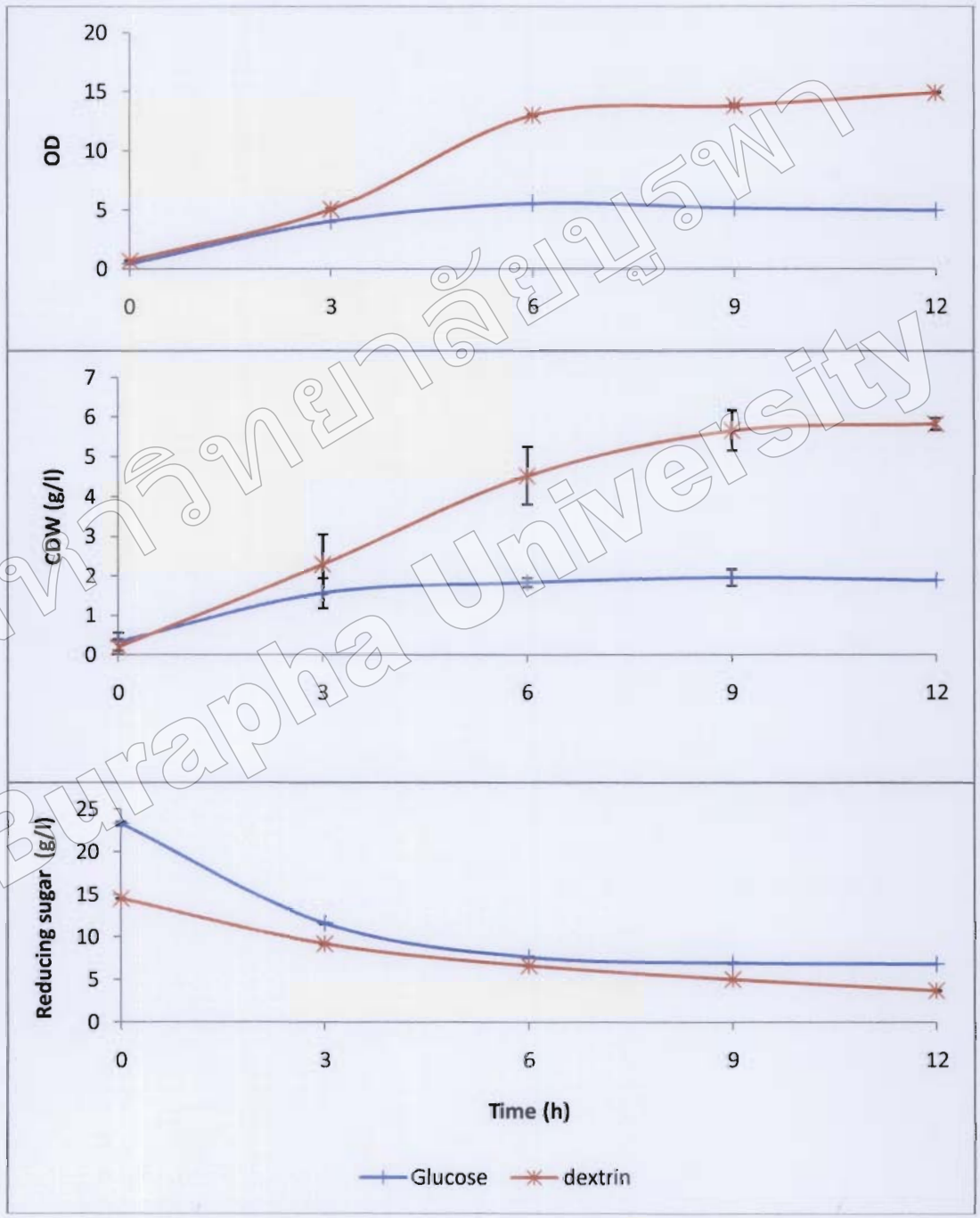
จากภาพที่ 4-10 เมื่อพิจารณาการเจริญเติบโตของ *E. coli* ในอาหารสูตร BPM ที่ใช้เดกซ์ทรินเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่า *E. coli* มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วในช่วง 0-6 ชั่วโมงแรกของการเพาะเลี้ยง จากแนวโน้มการเจริญคงที่จนถึงชั่วโมงที่ 12 มีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 5.83 กรัมต่อลิตร ค่าความขุ่นเท่ากับ 14.93 เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงกลูโคส พบว่า ช่วงเริ่มต้นของการเพาะเลี้ยง ที่มีการเติมเดกซ์ทรินที่ความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตรลงในอาหารเพาะเลี้ยง แต่สามารถวัดปริมาณกลูโคสได้เพียง 10.76 กรัมต่อลิตรเท่านั้น และมีปริมาณที่ลดน้อยลงตลอดระยะเวลาการเพาะเลี้ยง ในชั่วโมงสุดท้ายมีปริมาณกลูโคสคงเหลือที่วัดได้เท่ากับ 3.74 กรัมต่อลิตร



ภาพที่ 4-10 การเพาะเลี้ยง *E. coli* โดยใช้เดกซ์ทรินเป็นแหล่งคาร์บอน (แสดงค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ)

จากการศึกษาการเจริญของ *E. coli* ในสูตรอาหาร BPM ที่ใช้แหล่งคาร์บอนแตกต่างกันในการเพาะเลี้ยง ได้แก่ เดกซ์ทริน และกลูโคส พบว่า แนวโน้มการเจริญของ *E. coli* จากการใช้แหล่งคาร์บอนทั้งสองชนิด มีแนวโน้มในทิศทางเดียวกัน คือ การเจริญเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 0-6 ชั่วโมงแรกหลังจากนั้นจึงมีแนวโน้มคงที่ในชั่วโมงที่ 12 แต่ถึงแม้ว่าจะมีทิศทางเดียวกัน แต่ปริมาณเซลล์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงแตกต่างกันอย่างชัดเจน คือการใช้เดกซ์ทรินเป็นแหล่งคาร์บอนให้ปริมาณเซลล์ *E. coli* สูงกว่า โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 5.83 กรัมต่อลิตร มีการใช้

แหล่งคาร์บอนชนิดนี้เป็นไปอย่างช้า ๆ ในระหว่างเพาะเลี้ยง ขณะที่การเพาะเลี้ยงโดยใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน มีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 2.08 กรัมต่อลิตร โดยมีการใช้กลูโคสอย่างรวดเร็วในช่วง 0-3 ชั่วโมงแรกของการเพาะเลี้ยง



ภาพที่ 4-11 เปรียบเทียบผลการเพาะเลี้ยง *E. coli* โดยใช้แหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกัน คือ กลูโคส และเดกซ์ทริน (แสดงค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

จากผลการทดลองดังกล่าวข้างต้น แสดงให้เห็นว่า การใช้เดกซ์ทรินเป็นแหล่งคาร์บอนมีประสิทธิภาพที่ดีกว่า การใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนในการเพาะเลี้ยง *E. coli* ทั้งนี้เนื่องจาก เดกซ์ทริน เป็นเป็นพอลิเมอร์ของกลูโคส ดังนั้นจึงมีต้นทุนและขั้นตอนการผลิตที่น้อยกว่า ดังนั้นเหมาะสมจะนำมาใช้ในการเพาะลี้ยง *E. coli* การทดลองต่าง ๆ ต่อจากนี้จะเลือกใช้สูตรอาหาร BPM ที่มีเดกซ์ทรินเป็นแหล่งคาร์บอนในการเพาะเลี้ยง

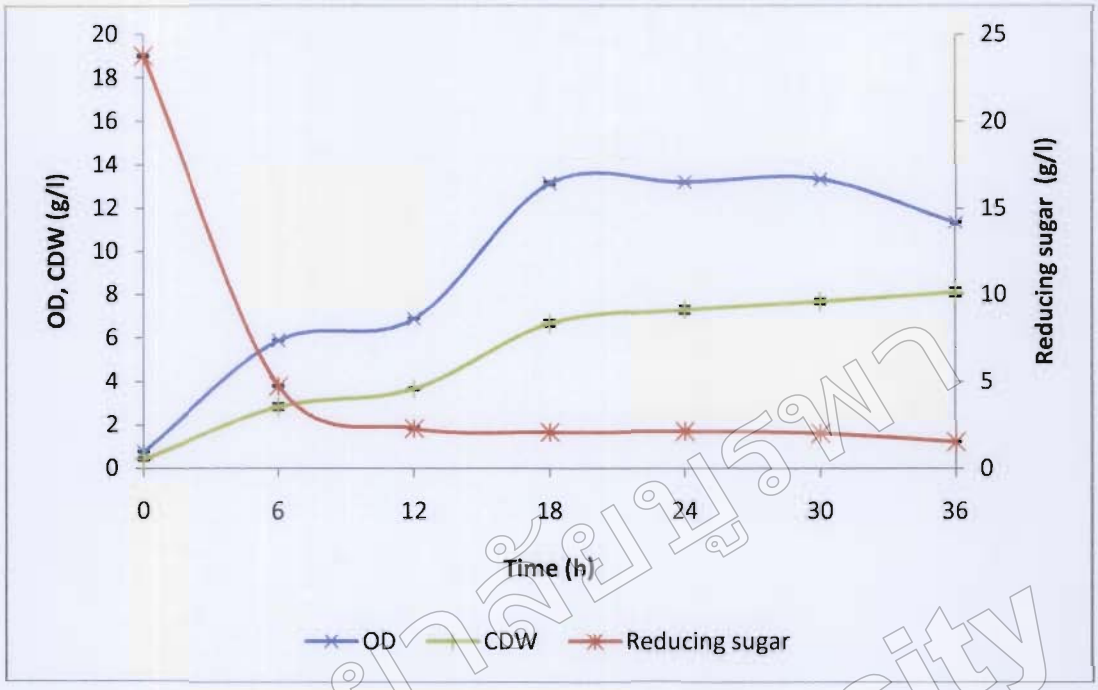
2.2 ผลของเดกซ์ทรินต่อการเจริญของ *S. cerevisiae*

จากการศึกษาการผลิตเซลล์ความเข้มข้นสูงของ *S. cerevisiae* โดยเปรียบเทียบประสิทธิภาพการใช้เดกซ์ทรินเป็นแหล่งคาร์บอนกับการใช้กลูโคส ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ของปริมาตรทั้งหมด ในอาหารสูตร BPM ปริมาตรการเพาะเลี้ยงทั้งหมด 100 มิลลิลิตร ในบัฟเฟิลฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร ใช้หัวเชื้อ *S. cerevisiae* คิดเป็น 5 เปอร์เซ็นของปริมาตรการเพาะเลี้ยงทั้งหมด โดยปรับค่าพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 4.5 เขย่าที่ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ด้วยเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ เป็นระยะเวลานาน 36 ชั่วโมง ได้ผลการทดลองดังภาพที่ 4-12 - 4-14

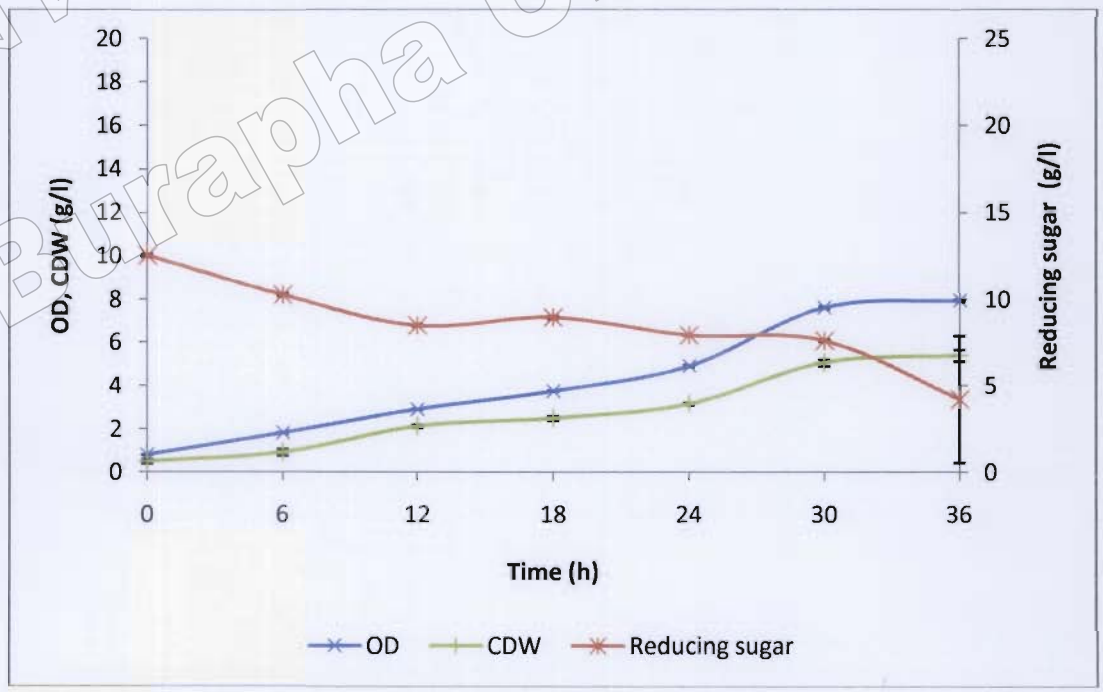
จากภาพที่ 4-12 แสดงผลการเพาะเลี้ยง *S. cerevisiae* โดยใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน เมื่อพิจารณากราฟการเจริญพบว่า มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วในช่วง 0-18 ชั่วโมงแรกของการเพาะเลี้ยง จากนั้นการเจริญเข้าสู่ระยะคงที่จนถึงชั่วโมงที่ 36 โดยมีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 9.20 กรัมต่อลิตร ความขุ่นเท่ากับ 12.60 เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงปริมาณกลูโคสพบว่า มีการลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 0-12 ชั่วโมงแรกของการเพาะเลี้ยง จากนั้นแนวโน้มการลดลงเข้าสู่ระยะคงที่ เมื่อสิ้นสุดการเพาะเลี้ยง ชั่วโมงที่ 36 มีปริมาณกลูโคสคงเหลือเท่ากับ 1.53 กรัมต่อลิตร

จากภาพที่ 4-13 เมื่อพิจารณากราฟการเจริญเติบโตของ *S. cerevisiae* เพาะเลี้ยงด้วยสูตรอาหาร BPM โดยใช้เดกซ์ทรินเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าการเจริญมีปริมาณเพิ่มขึ้นน้อยมากในแต่ละชั่วโมง เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเพาะเลี้ยง ในชั่วโมงที่ 36 มีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 5.42 กรัมต่อลิตร ค่าความขุ่นเท่ากับ 7.95 กรัมต่อลิตร เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงปริมาณกลูโคสพบว่าปริมาณกลูโคสเริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 12.53 กรัมต่อลิตร เมื่อสิ้นสุดการเพาะเลี้ยงมีปริมาณคงเหลือเท่ากับ 4.23 กรัมต่อลิตร

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



ภาพที่ 4-12 การเพาะเลี้ยง *S. cerevisiae* โดยใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน (แสดงค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ)

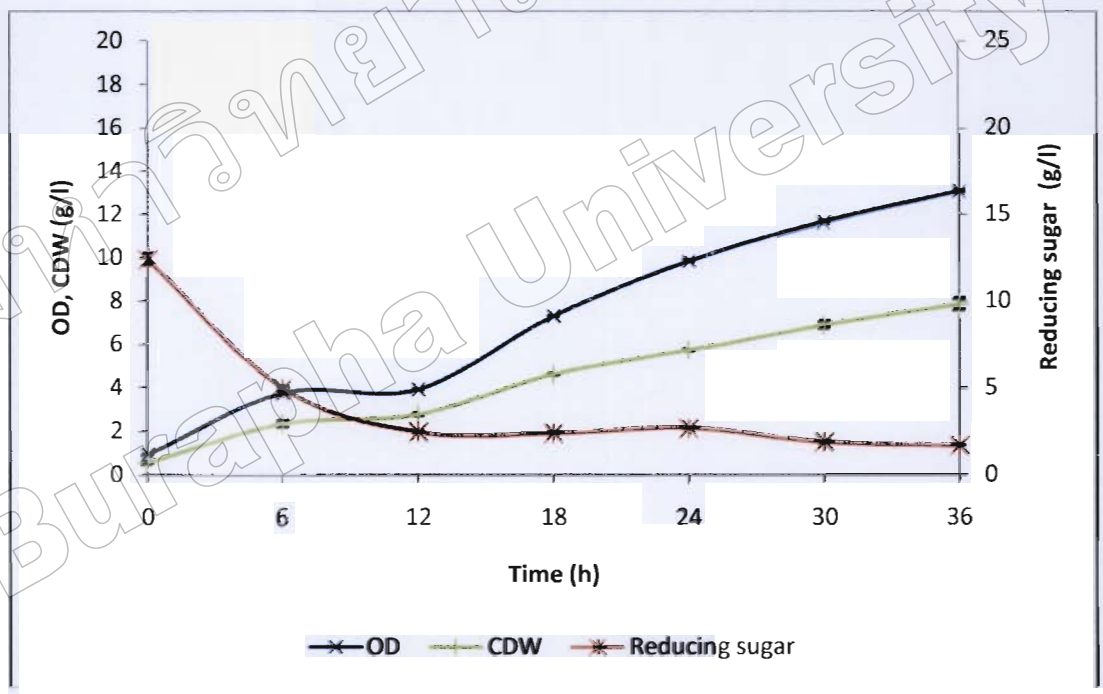


ภาพที่ 4-13 การเพาะเลี้ยง *S. cerevisiae* โดยใช้เดกซ์ทรินเป็นแหล่งคาร์บอน (แสดงค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

เนื่องจากการเพาะเลี้ยงโดยใช้เดกซ์ทรินเป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับ *S. cerevisiae* ไม่ทำให้ผลเจริญที่ดี ทั้งนี้เนื่องจาก *S. cerevisiae* ไม่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์กลูโคอะไมเลสเองได้ ดังนั้นจึงทดลองเติมเอนไซม์กลูโคอะไมเลสร่วมกับเดกซ์รินในการเพาะเลี้ยง ซึ่งได้ผลการทดลองดังต่อไปนี้

จากภาพที่ 4-14 เมื่อพิจาณากราฟการเจริญของ *S. cerevisiae* เพาะเลี้ยงด้วยสูตรอาหาร BPM โดยใช้เดกซ์ทรินร่วมกับเอนไซม์กลูโคอะไมเลส เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่า ปริมาณเซลล์ของ *S. cerevisiae* เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 0-18 ชั่วโมงแรกของการเพาะเลี้ยง และยังคงมีการเจริญอย่างต่อเนื่องจนถึงชั่วโมงที่ 36 โดยมีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 9.65 กรมต่อลิตร ความขุ่นเท่ากับ 13.07 ในส่วนของปริมาณกลูโคสพบว่าลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 0-12 ชั่วโมงแรก และเมื่อสิ้นสุดการเพาะเลี้ยงมีปริมาณกลูโคสคงเหลือเท่ากับ 1.70 กรัมต่อลิตร



ภาพที่ 4-14 การเพาะเลี้ยง *S. cerevisiae* โดยใช้เดกซ์ทรินร่วมกับเอนไซม์กลูโคอะไมเลส เป็นแหล่งคาร์บอน (แสดงค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ)

จากผลการศึกษาที่ได้กล่าวมาข้างต้น (ภาพที่ 4-12 - 4-14) เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการเพาะเลี้ยง *S. cerevisiae* โดยใช้เดกซ์ทรินเป็นแหล่งคาร์บอนกับการใช้กลูโคส พบว่า *S. cerevisiae* ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ในการเพาะเลี้ยงด้วยเดกซ์ทริน หรือกล่าวได้ว่า เดกซ์ทรินมี

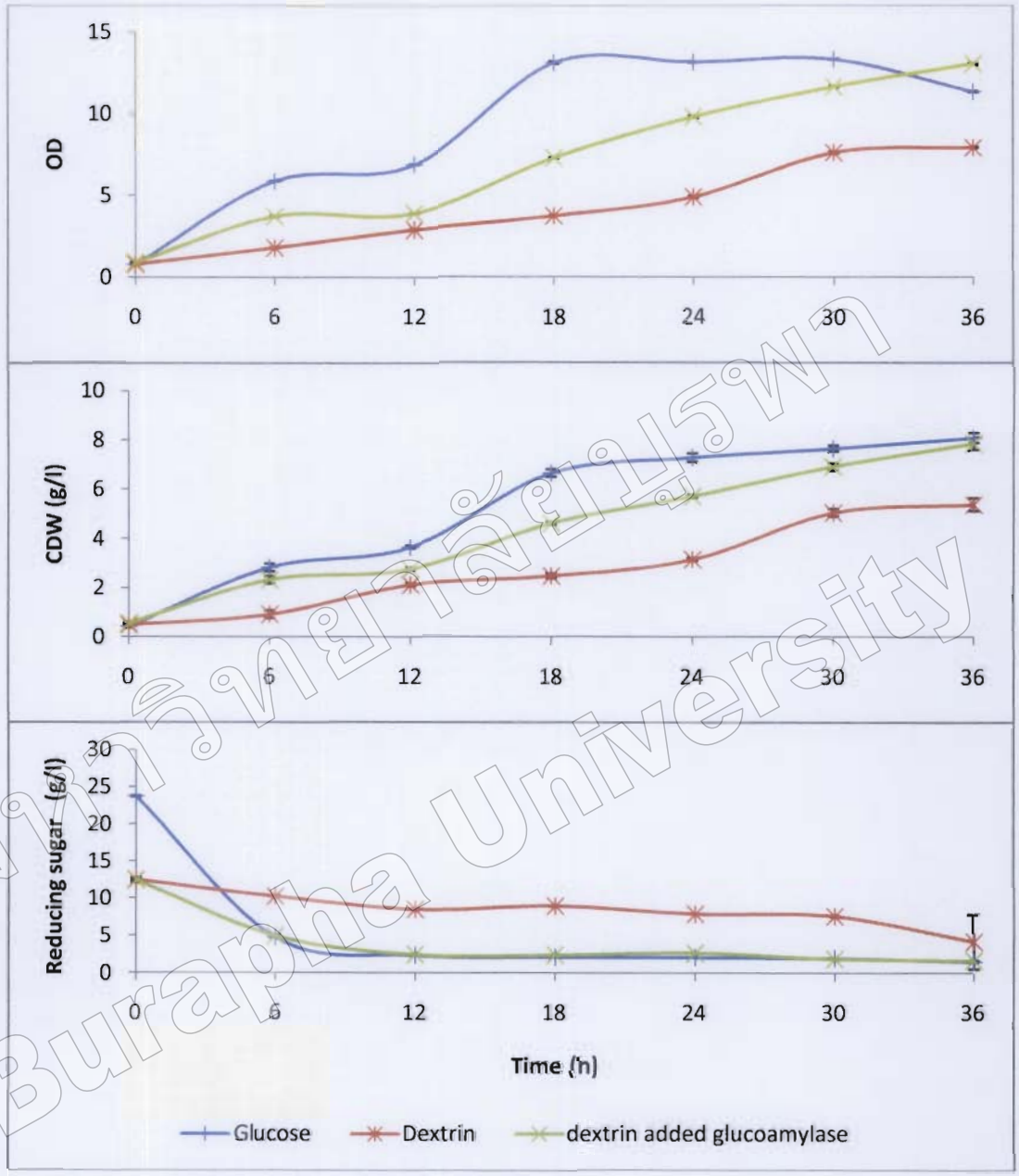
มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ประสิทธิภาพที่ไม่ดีสำหรับการเพาะเลี้ยง *S. cerevisiae* เห็นได้จากปริมาณเซลล์จากการเพาะเลี้ยงโดยมีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด เท่ากับ 5.42 กรัมต่อลิตร ซึ่งต่ำกว่าปริมาณเซลล์จากการเพาะเลี้ยงโดยใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน มีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 9.20 กรัมต่อลิตร แต่เมื่อมีการเติมเอนไซม์ กลูโคอะไมเลส (GC 358, สยามวิคตอรี่, ประเทศไทย) ที่มีความสามารถทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ของเดกซ์ทริน ลงในสูตรอาหาร BPM ที่ใช้เดกซ์ทรินเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่า ช่วยทำให้ *S. cerevisiae* มีการเจริญสูงขึ้น ใกล้เคียงกับการเพาะเลี้ยงด้วยกลูโคส โดยมีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 9.65 กรัมต่อลิตร

เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงกลูโคสในการเพาะเลี้ยง พบว่า การเพาะเลี้ยงโดยใช้เดกซ์ทรินเป็นแหล่งคาร์บอน ทั้งที่มีการเติมและไม่เติมเอนไซม์กลูโคอะไมเลส มีค่าปริมาณน้ำตาลที่วัดได้จากวิธี DNS ต่ำกว่าการใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ ถึงแม้ใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นเท่ากันก็ตาม ทั้งนี้พบว่าการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลในการเพาะเลี้ยงโดยใช้เดกซ์ทรินเป็นแหล่งคาร์บอน ด้วยวิธี DNS ไม่สามารถวัดปริมาณน้ำตาลที่แท้จริงได้ และในระหว่างการเพาะเลี้ยงยังพบว่า การใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนจะมีปริมาณกลูโคสลดลงอย่างรวดเร็ว การใช้เดกซ์ทรินจะมีปริมาณที่ลดลงอย่างรวดเร็วแค่เพียงในช่วงแรกเท่านั้น จากนั้นหากไม่มีการเติมเอนไซม์กลูโคอะไมเลสร่วมด้วยในการเพาะเลี้ยง ปริมาณน้ำตาลจะคงที่จนถึงสิ้นสุดการเพาะเลี้ยง แต่หากมีการเติม ปริมาณน้ำตาลจะมีปริมาณลดลงในปริมาณที่เล็กน้อยเท่านั้น

จะเห็นได้ว่าเดกซ์ทรินถึงแม้จะมีประสิทธิภาพต่ำกว่ากลูโคสสำหรับการเพาะเลี้ยง *S. cerevisiae* ให้มีการผลิตเซลล์ แต่หากมีการเติมเอนไซม์กลูโคอะไมเลส ให้เกิดปฏิกิริยาการย่อยสลายเดกซ์ทรินไปพร้อม ๆ กับการเพาะเลี้ยง *S. cerevisiae* จะช่วยทำให้ประสิทธิภาพการเพาะเลี้ยงใกล้เคียงกับการใช้กลูโคส ดังนั้นจึงเลือกใช้การเพาะเลี้ยงด้วยเดกซ์ทรินที่มีการเติมเอนไซม์กลูโคอะไมเลส เป็นแหล่งคาร์บอนในการทดลองต่อไป

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



ภาพที่ 4-15 เปรียบเทียบการเพาะเลี้ยง *S. cerevisiae* โดยใช้แหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกัน ได้แก่ กลูโคส เดกซ์ทริน และเดกซ์ทรินร่วมกับเอนไซม์กลูโคอะไมเลส (แสดงค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

3. ผลการศึกษาการใช้เดกซ์ทรินความเข้มข้นสูง ที่ระดับต่าง ๆ ในการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ต้นแบบ

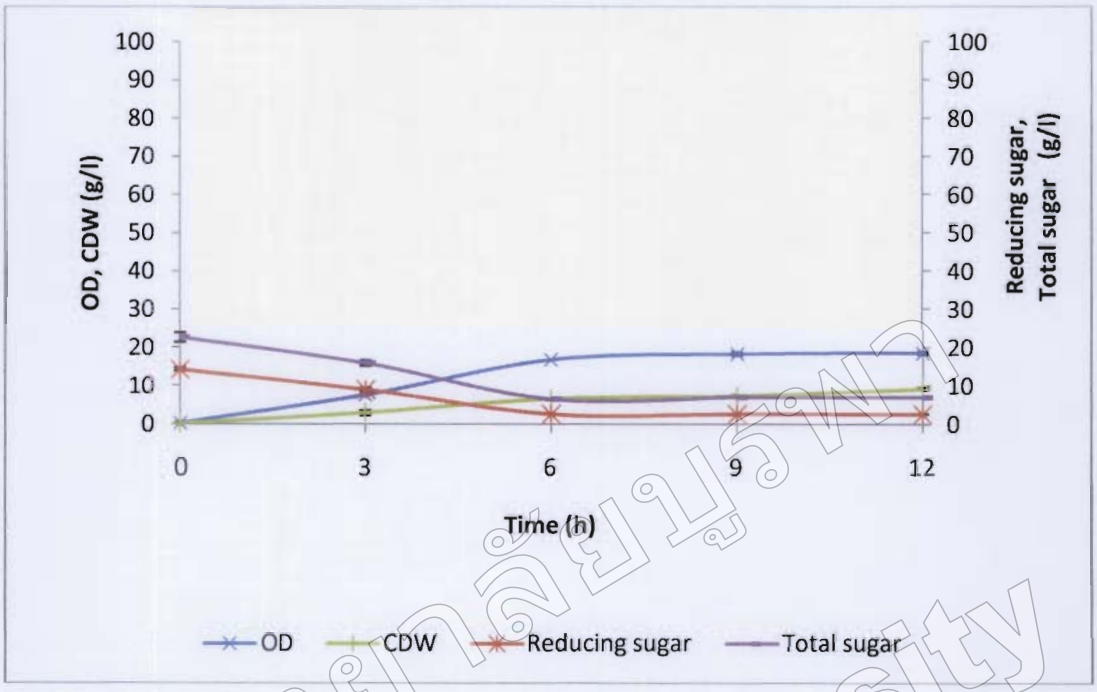
3.1 ผลของเดกซ์ทรินความเข้มข้นสูงต่อการเจริญของ *E. coli*

จากการศึกษาผลการผลิตเซลล์ความเข้มข้นสูง ของ *E. coli* ในอาหารสูตร BPM เปรียบเทียบการใช้เดกซ์ทรินความเข้มข้นต่าง ๆ ได้แก่ 20, 60 และ 100 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอน โดยทำการเพาะเลี้ยงในถังหมัก (Fermenter) ขนาดบรรจุ 5 ลิตร ปริมาตรการทำงานทั้งหมดเท่ากับ 3000 มิลลิลิตร ใช้หัวเชื้อความเข้มข้นคิดเป็น 5 เปอร์เซ็นต์ของปริมาตรการเพาะเลี้ยงทั้งหมด ควบคุมค่าพีเอชเท่ากับ 7.0 อัตราการเติมอากาศแปรผันตามความเข้มข้นของเดกซ์ทริน เท่ากับ 1, 2 และ 3 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรของอาหารต่อนาที ตามลำดับ อัตราการกวนผสมเท่ากับ 500-700 รอบต่อนาที ซึ่งได้ผลการทดลองดังต่อไปนี้

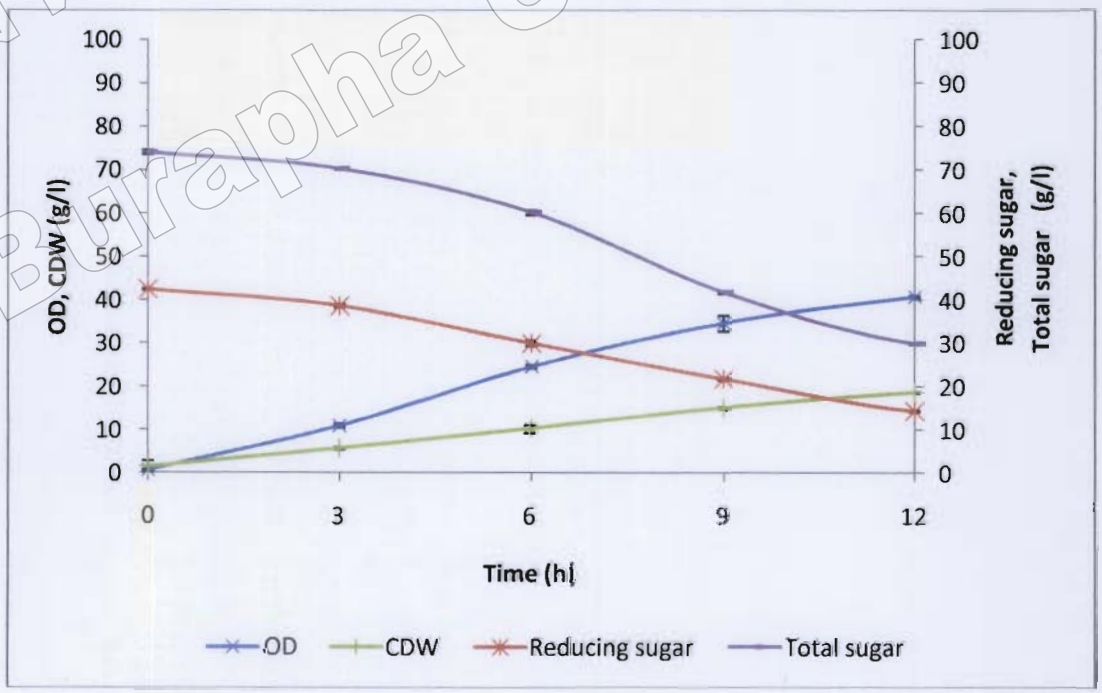
จากภาพที่ 4-16 เมื่อพิจารณากราฟการเจริญของ *E. coli* เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร BPM โดยใช้เดกซ์ทรินความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร อัตราการเติมอากาศ 1 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที อัตราการกวนผสมเท่ากับ 500 รอบต่อนาที พบว่า มีการเจริญอย่างรวดเร็วในช่วง 0-6 ชั่วโมงแรก จากนั้นจึงเข้าสู่ระยะคงที่จนสิ้นสุดการเพาะเลี้ยง มีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 9.27 กรัมต่อลิตร ความขุ่นเท่ากับ 18.71 เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงปริมาณกลูโคส และปริมาณน้ำตาลทั้งหมด พบว่า ลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 0-6 ชั่วโมงแรก สอดคล้องกับการเจริญเติบโต และเมื่อสิ้นสุดการเพาะเลี้ยงในชั่วโมงที่ 12 มีปริมาณน้ำตาลคงเหลือเท่ากับ 2.68 กรัมต่อลิตร และปริมาณน้ำตาลคงเหลือทั้งหมด เท่ากับ 7.02 กรัมต่อลิตร

จากภาพที่ 4-17 เมื่อพิจารณากราฟการเจริญของ *E. coli* เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร BPM โดยใช้เดกซ์ทรินความเข้มข้น 60 กรัมต่อลิตร อัตราการเติมอากาศ 2 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที อัตราการกวนผสมเท่ากับ 600 รอบต่อนาที พบว่า มีการเจริญอย่างรวดเร็วในช่วง 0-12 ชั่วโมงแรก จากนั้นอัตราการเจริญจึงเริ่มน้อยลง จนสิ้นสุดการเพาะเลี้ยงในชั่วโมงที่ 12 มีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 18.63 กรัมต่อลิตร ความขุ่นเท่ากับ 40.73 เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาล และปริมาณน้ำตาลทั้งหมด พบว่า ลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 0-12 ชั่วโมงแรก สอดคล้องกับการเจริญเติบโต และเมื่อสิ้นสุดการเพาะเลี้ยงในชั่วโมงที่ 12 มีปริมาณน้ำตาลคงเหลือเท่ากับ 14.38 กรัมต่อลิตร และปริมาณน้ำตาลคงเหลือทั้งหมด เท่ากับ 29.91 กรัมต่อลิตร

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



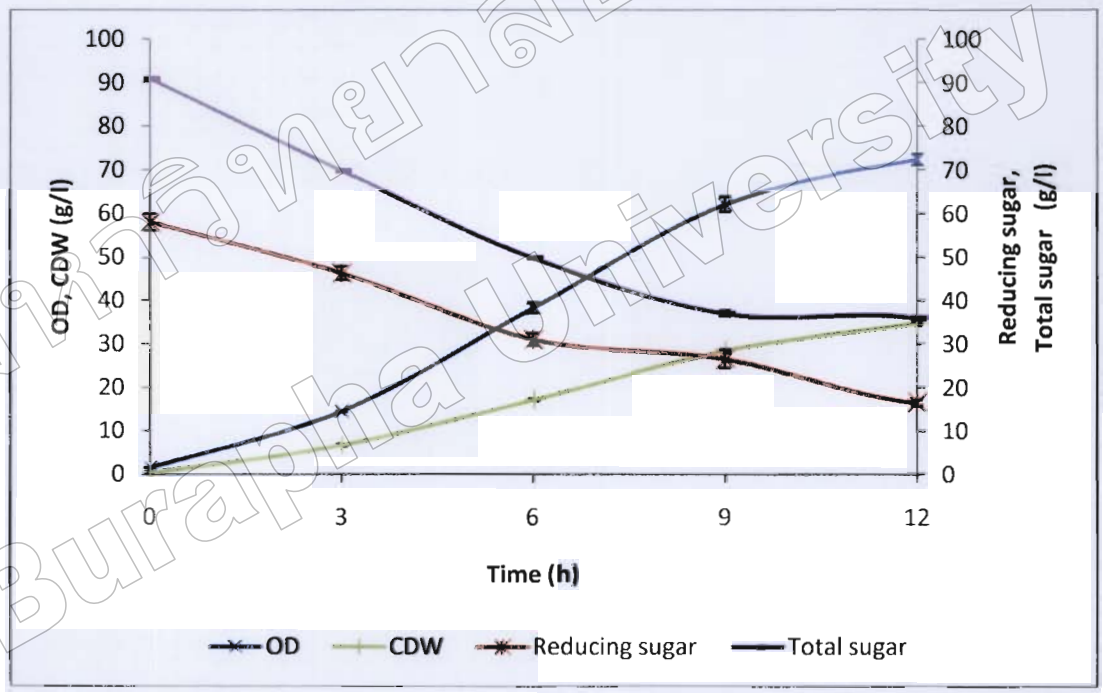
ภาพที่ 4-16 การเพาะเลี้ยง *E. coli* ด้วยเดกซ์ทรินความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร (แสดงค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ)



ภาพที่ 4-17 การเพาะเลี้ยง *E. coli* ด้วยเดกซ์ทรินความเข้มข้น 60 กรัมต่อลิตร (แสดงค่าเฉลี่ยจากการเก็บตัวอย่าง 3 ซ้ำ)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

จากภาพที่ 4-18 เมื่อพิจารณากราฟการเจริญของ *E. coli* เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร BPM โดยใช้เดกซ์ทรินความเข้มข้น 100 กรัมต่อลิตร อัตราการเติมอากาศ 3 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที อัตราการกวนผสมเท่ากับ 700 รอบต่อนาที พบว่า มีการเจริญอย่างรวดเร็วในช่วง 0-12 ชั่วโมงแรก จากนั้นอัตราการเจริญเริ่มน้อยลง จนสิ้นสุดการเพาะเลี้ยงในชั่วโมงที่ 18 มีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 34.67 กรัมต่อลิตร ความขุ่นเท่ากับ 72.32 เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงปริมาณกลูโคส และปริมาณน้ำตาลทั้งหมด พบว่าลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 0-12 ชั่วโมงแรก เช่นเดียวกับการเจริญเติบโต และเมื่อสิ้นสุดการเพาะเลี้ยงในชั่วโมงที่ 12 มีปริมาณกลูโคสคงเหลือเท่ากับ 16.59 กรัมต่อลิตร และปริมาณน้ำตาลคงเหลือทั้งหมด เท่ากับ 35.99 กรัมต่อลิตร



ภาพที่ 4-18 **การเพาะเลี้ยง** *E. coli* ด้วยเดกซ์ทรินความเข้มข้น 100 กรัมต่อลิตร (แสดงค่าเฉลี่ยจาก**การเก็บตัวอย่าง** 3 ซ้ำ)

จาก**การศึกษาการ**เพาะเลี้ยงที่ผ่านมาซึ่งพบว่า เดกซ์ทรินมีประสิทธิภาพที่ดีสำหรับเพาะเลี้ยง *E. coli* **จึงมีการศึ**กษาความเข้มข้นของเดกซ์ทรินที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของ *E. coli* พบว่า**การเจริญแปร**ผันตามความเข้มข้นของเดกซ์ทรินที่**เพิ่ม**สูงขึ้น คือเมื่อเวลาผ่านไปจนครบ 12 ชั่ว**โมง การเพาะเลี้**ยงด้วยเดกซ์ทรินความเข้มข้น 100 กรัมต่อลิตร ทำให้ *E. coli* มีการสร้าง

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

เซลล์ในปริมาณสูงสุด มีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 34.67 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือ การเพาะเลี้ยงด้วยเดกซ์ทรินความเข้มข้น 60 กรัมต่อลิตร น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดท่ากับ 18.63 กรัมต่อลิตร และการเพาะเลี้ยงโดยใช้เดกซ์ทรินความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร ให้ผลผลิตเซลล์ต่ำสุด มีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 9.27 กรัมต่อลิตร นอกจากนี้ยังพบว่าความเข้มข้นของเดกซ์ทรินที่แตกต่างกันในการเพาะเลี้ยง ส่งผลต่อระยะเวลาของช่วง Log Phase คือ การใช้เดกซ์ทรินที่ความเข้มข้นสูงมีระยะเลาของช่วง Log Phaseที่ยาวนานกว่า ความเข้มข้น 100 กรัมต่อลิตร อยู่ในช่วงชั่วโมงที่ 0-9 ความเข้มข้น 60 กรัมต่อลิตร Log Phase อยู่ในช่วงชั่วโมงที่ 0-6 และความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร Log Phaseอยู่ในช่วงชั่วโมงที่ 0-3

เมื่อพิจารณาปริมาณน้ำตาลที่เปลี่ยนแปลงไป โดยพิจารณาจากค่าปริมาณน้ำตาลทั้งหมด พบว่า เมื่อสิ้นสุดการเพาะเลี้ยงในชั่วโมงที่ 12 การเพาะเลี้ยงที่ความเข้มข้น 20, 60 และ 100 กรัมต่อลิตร มีปริมาณที่แตกต่างกัน คือ 7.02, 29.91 และ 35.99 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

ตารางที่ 4-1 พารามิเตอร์การเจริญของ *E. coli* จากการหมักแบบกะ โดยใช้เดกซ์ทรินที่ระดับความแตกต่างกัน

ความเข้มข้นเดกซ์ทริน (g/l)	x (g/l)	μ (h^{-1})	Yx/s (g/g)	rx (g/l/h)	rs (g/l/h)
20	9.27±0.23^{a}	0.33±0.01^{a}	0.36±0.03^{a}	0.97±0.02^{a}	2.69±0.23
60	18.63±0.12^{b}	0.58±0.01^{b}	0.40±0.01^{ab}	1.47±0.01^{b}	3.69±0.03
100	34.67±0.25^{c}	0.47±0.00^{c}	0.45±0.04^{b}	2.81±0.03^{c}	6.23±0.49

x คือ ปริมาณมวลเซลล์ คิดจากค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)
μ คือ อัตราการเจริญจำเพาะ (ต่อชั่วโมง)
Yx/s คือ ผลผลิตมวลเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้ไป (กรัมต่อกรัม)
rx คือ อัตราการสร้างมวลเซลล์ (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)
rs คือ อัตราการใช้น้ำตาล (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)

เมื่อคำนวณค่าพารามิเตอร์การเจริญของ *E. coli* ที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร BPM ที่ระดับความเข้มข้นเดกซ์ทรินแตกต่างกัน (ตารางที่ 4-1) พบว่า การเพาะเลี้ยงด้วยเดกซ์ทรินความเข้มข้น 100 กรัมต่อลิตร ซึ่งให้ผลการเจริญดีที่สุด มีค่ามวลเซลล์ (x) เท่ากับ 34.67 กรัมต่อลิตร อัตราการ

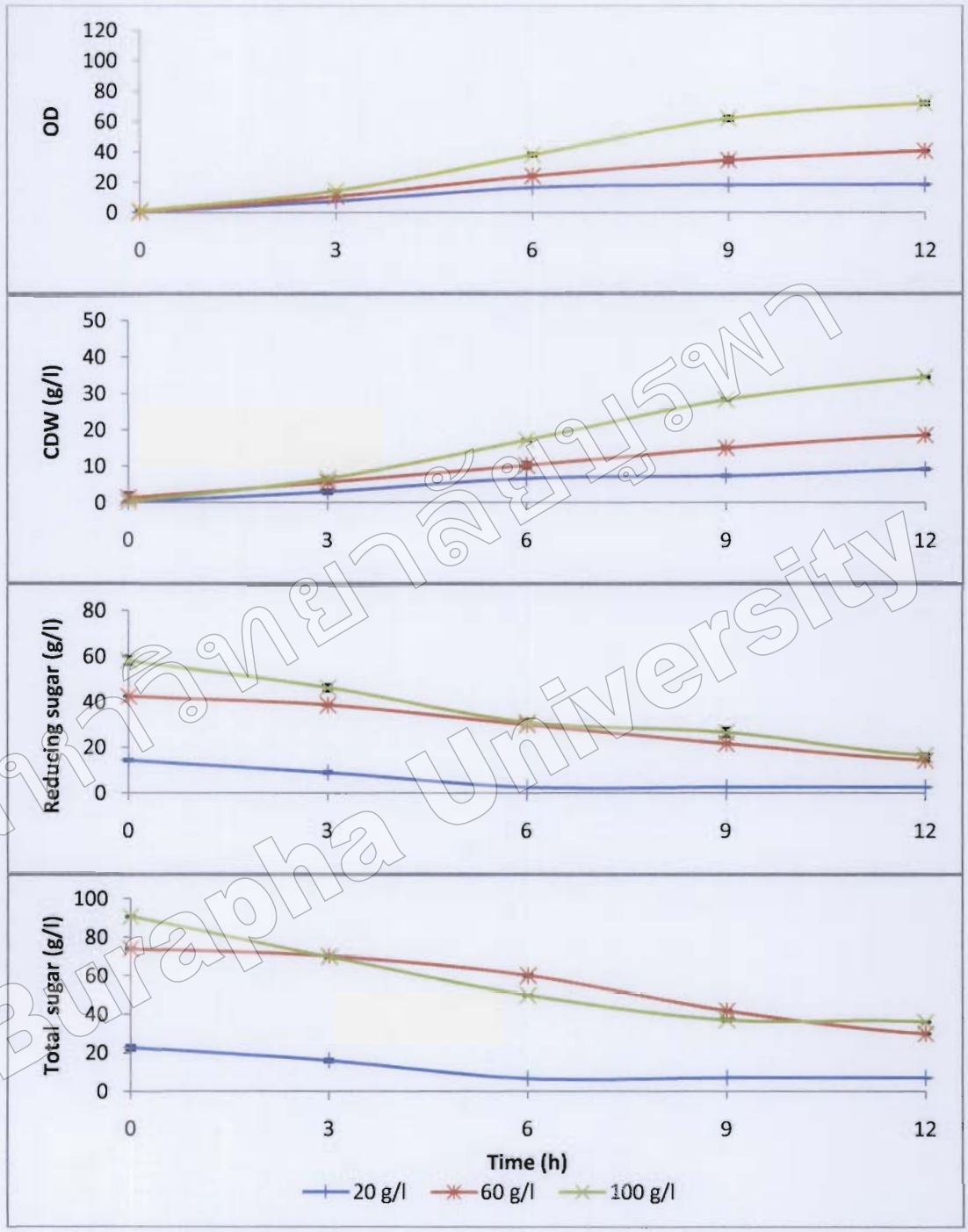
มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

เจริญจำเพาะ (μ) เท่ากับ 0.47 ต่อชั่วโมง ผลผลิตมวลเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้ไป (Yx/s) เท่ากับ 0.44 กรัมต่อกรัม อัตราการสร้างมวลเซลล์ (rx) เท่ากับ 2.80 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และอัตราการใช้น้ำตาล (rs) เท่ากับ 6.40 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

การเพาะเลี้ยงด้วยเดกซ์ทรินที่ระดับความเข้มข้น 60 กรัมต่อลิตร ซึ่งให้ผลการเจริญรองลงมา มีค่ามวลเซลล์ เท่ากับ 18.63 กรัมต่อลิตร อัตราการเจริญจำเพาะ เท่ากับ 0.58 ต่อชั่วโมง ผลผลิตมวลเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้ไป เท่ากับ 0.39 กรัมต่อกรัม อัตราการสร้างมวลเซลล์ เท่ากับ 1.47 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และอัตราการใช้น้ำตาล เท่ากับ 3.69 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

ส่วนการเพาะเลี้ยงด้วยเดกซ์ทรินความที่ระดับความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร ให้ผลการเจริญต่ำสุด มีค่ามวลเซลล์ เท่ากับ 9.27 กรัมต่อลิตร อัตราการเจริญจำเพาะ เท่ากับ 0.32 ต่อชั่วโมง ผลผลิตมวลเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้ไป เท่ากับ 0.35 กรัมต่อกรัม อัตราการสร้างมวลเซลล์ เท่ากับ 0.97 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และอัตราการใช้น้ำตาล เท่ากับ 0.69 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



ภาพที่ 4-19 เปรียบเทียบการเพาะเลี้ยง *E. coli* ด้วยเดกซ์ทรินที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน ได้แก่ 20, 60 และ 100 กรัมต่อลิตร (แสดงค่าเฉลี่ยจากการเก็บตัวอย่าง 3 ซ้ำ)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

3.2 ผลของเดกซ์ทรินความเข้มข้นสูงต่อการเจริญของ *S. cerevisiae*

จากการศึกษาผลการผลิตเซลล์ความเข้มข้นสูง ของ *S. cerevisiae* ในอาหารสูตร BPM เปรียบเทียบการใช้เดกซ์ทรินความเข้มข้นต่าง ๆ ได้แก่ 20, 60 และ 100 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอน โดยทำการเพาะเลี้ยงในถังหมัก ขนาดบรรจุ 5 ลิตร ปริมาตรการทำงานทั้งหมดเท่ากับ 3000 มิลลิลิตร ใช้หัวเชื้อความเข้มข้นคิดเป็น 5 เปอร์เซ็นต์ของปริมาตรการเพาะเลี้ยงทั้งหมด ควบคุมค่าพีเอชเท่ากับ 7.0 อัตราการเติมอากาศแปรผันตามความเข้มข้นของเดกซ์ทริน เท่ากับ 1- 3 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที ตามลำดับ อัตราการกวนผสมเท่ากับ 500-700 รอบต่อนาที ซึ่งได้ผลการทดลองดังต่อไปนี้

จากภาพที่ 4-20 เมื่อพิจารณากราฟการเจริญของ *S. cerevisiae* เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร BPM โดยใช้เดกซ์ทรินความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร อัตราการเติมอากาศ 1 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที อัตราการกวนผสม 500 รอบต่อนาที พบว่า มีการเจริญอย่างรวดเร็วในช่วง 0-24 ชั่วโมงแรก จากนั้นการจึงเข้าสู่ระยะคงที่จนสิ้นสุดการเพาะเลี้ยง มีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 8.07 กรัมต่อลิตร ความขุ่นเท่ากับ 21.33 เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาล และปริมาณน้ำตาลทั้งหมด พบว่า ลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 0-12 ชั่วโมงแรก และเมื่อสิ้นสุดการเพาะเลี้ยงในชั่วโมงที่ 36 มีปริมาณน้ำตาลคงเหลือเท่ากับ 1.61กรัมต่อลิตร และปริมาณน้ำตาลคงเหลือทั้งหมด เท่ากับ 3.58 กรัมต่อลิตร

จากภาพที่ 4-21 เมื่อพิจารณากราฟการเจริญของ *S. cerevisiae* เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร BPM โดยใช้เดกซ์ทรินความเข้มข้น 60 กรัมต่อลิตร อัตราการเติมอากาศ 2 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที อัตราการกวนผสม 600 รอบต่อนาที พบว่า มีการเจริญอย่างรวดเร็วในช่วง 0-30 ชั่วโมงแรก จากนั้นการจึงเข้าสู่ระยะคงที่จนสิ้นสุดการเพาะเลี้ยง มีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 34.13 กรัมต่อลิตร ความขุ่นเท่ากับ 58.52 เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลและปริมาณน้ำตาลทั้งหมด พบว่า ลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 0-18 ชั่วโมงแรก และเมื่อสิ้นสุดการเพาะเลี้ยงในชั่วโมงที่ 36 มีปริมาณน้ำตาลคงเหลือเท่ากับ 6.152 กรัมต่อลิตร และปริมาณน้ำตาลคงเหลือทั้งหมด เท่ากับ 5.12 กรัมต่อลิตร

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University