บทที่ 5
อภิปราย และสรุปผล

อภิปรายผล

ประสิทธิภาพของสูตรอาหาร BPM ต่อการเจริญของจุลินทรีย์ต้นแบบ

สูตรอาหารเป็นปัจจัยหลักสำหรับการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ให้มีการเจริญเติบโตรวมถึงการสร้างผลผลิตต่าง ๆ โดยทั่วไปสูตรอาหารแบ่งออกเป็น 3 ประเภท ได้แก่ Complex Medium, Define Medium และ Semi-Define Medium ซึ่งงานวิจัยจำนวนมาก เช่น Shojaosadati et al. (2008) ยอมรับว่าการใช้สูตรอาหารประเภท Define Medium นั้นเหมาะสมสำหรับการผลิตในระดับอุตสาหกรรมมากที่สุด เนื่องจากสามารถควบคุมคุณภาพของกระบวนการให้คงที่ และเป็นไปตามเป้าหมายได้ง่าย รวมถึงมีราคาถูกอีกด้วย

จากผลการทดลองข้างต้น พบว่า การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ต้นแบบทั้งสองชนิด (*E. coli* และ *S. cerevisiae*) โดยใช้สูตรอาหาร BPM มีประสิทธิภาพต่ำ คือมีปริมาณมวลเซลล์จากการเพาะเลี้ยงน้อยกว่าสูตรอาหารมาตรฐาน มีค่าอัตราการเจริญจำเพาะ (μ) เท่ากับ 0.26 และ 0.21 ต่อชั่วโมง ผลผลิตมวลเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้ไป ($Y_{x/s}$) เท่ากับ 0.08 และ 0.20 กรัมต่อกรัม ตามลำดับ ทั้งนี้เป็นผลมาจากสูตรอาหาร BPM ขาดแคลนแหล่งไนโตรเจน และแหล่งอาหารเสริมอื่น ๆ ที่จำเป็นสำหรับการสังเคราะห์มวลเซลล์ของจุลินทรีย์ เช่น วิตามิน เป็นต้น เนื่องจากเป็นสูตรอาหารชนิด Define Medium และเมื่อมีการเติมยีสต์สกัดที่ความเข้มข้น 0.6 เปอร์เซ็นต์ของปริมาตรทั้งหมด สามารถส่งเสริมการสร้างมวลเซลล์ให้กับจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดได้ โดยพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<.05$) จากสูตรอาหาร NB สำหรับการเพาะเลี้ยง *E. coli* ค่าการเจริญจำเพาะเพิ่มขึ้นเป็น 0.51 ต่อชั่วโมง ผลผลิตมวลเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้ไป เท่ากับ 0.10 กรัมต่อกรัม และไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<.05$) ในอาหาร YPD สำหรับการเพาะเลี้ยง *S. cerevisiae* อัตราการเจริญจำเพาะเท่ากับ 0.31 ต่อชั่วโมง ผลผลิตมวลเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้ไป เท่ากับ 0.32 กรัมต่อกรัม

ยีสต์สกัดเป็นแหล่งไนโตรเจนที่มีประสิทธิภาพดี และเป็นที่นิยมในการนำมาใช้งาน เนื่องจากมีปริมาณของโปรตีนประมาณ 92-98 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังพบว่ามีแหล่งอาหารเสริมอื่น ๆ ประกอบอีกมากมาย ได้แก่ วิตามิน และปัจจัยส่งเสริมการเจริญ (Stimulating Growth Factor) เป็นต้น สอดคล้อง Shojaosadati et al. (2008) ที่กล่าวว่าอาหารชนิด Define Medium เป็นสูตรอาหารที่สามารถควบคุมได้ง่ายในระหว่างการเพาะเลี้ยง เนื่องจากทราบองค์ประกอบของสูตรอาหารที่แน่นอน เป็นอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงเซลล์ความเข้มข้นสูง และหากมีการ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

เติมแหล่งกรดอะมิโนไม่ว่าจะเป็นชนิดเดียว หรือแบบผสม เช่น ทรีโอนีน ทริปโตเฟน หรือ ฮีสติดีน (Rozkov et al., 2001) จะเป็นการช่วยเพิ่มความสามารถในการสร้างเซลล์ความเข้มข้นสูงในการผลิตระดับอุตสาหกรรมได้ ดังนั้น สูตรอาหาร BPM จึงมีประสิทธิภาพที่ดีสำหรับการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ต้นแบบให้ได้เซลล์ความเข้มข้นสูง หากมีการเพิ่มยีสต์สกัด

ประสิทธิภาพเดกซ์ทรินต่อการเจริญของจุลินทรีย์ต้นแบบ

แหล่งคาร์บอน เป็นอีกปัจจัยที่มีความสำคัญต่อการเจริญและการสร้างผลผลิต ดังนั้นการเลือกใช้แหล่งคาร์บอนจึงมีความจำเป็น เดกซ์ทริน เป็นแหล่งคาร์บอนชนิดหนึ่ง เป็นโอลิโกเมอร์ประกอบด้วยโมเลกุลของกลูโคสที่เชื่อมต่อกันด้วยจำนวนที่ไม่แน่นอนในแต่ละสาย โดยสามารถย่อยสลายได้เป็นกลูโคสผ่านการใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลส ซึ่งจากการค้นหาข้อมูลงานวิจัยอย่างละเอียด ยังไม่พบงานวิจัยใดนำเดกซ์ทรินมาใช้ในการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์

จากผลการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเดกซ์ทรินกับกลูโคสในการเป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับผลิตเซลล์ความเข้มข้นสูงของจุลินทรีย์ต้นแบบทั้งสองชนิด พบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<.05$) สำหรับการเพาะเลี้ยง *E. coli* โดยมีประสิทธิภาพที่สูงกว่าการเพาะเลี้ยงด้วยกลูโคส ในขณะที่การเพาะเลี้ยง มีอัตราการเจริญจำเพาะ เท่ากับ 0.81 ต่อชั่วโมง ผลผลิตมวลเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้ไป เท่ากับ 0.29 กรัมต่อกรัม โดยเมื่อเพาะเลี้ยงโดยใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน มีอัตราการเจริญจำเพาะเพียง 0.52 ต่อชั่วโมง และผลผลิตมวลเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้ไป เท่ากับ 0.11 กรัมต่อกรัม ในขณะที่การใช้เดกซ์ทรินในการเพาะเลี้ยง *S. cerevisiae* มีประสิทธิภาพที่ต่ำกว่ากลูโคส มีอัตราการเจริญจำเพาะ เท่ากับ 0.12 ต่อชั่วโมง อัตราการเปลี่ยนสารตั้งต้นเป็นเซลล์เท่ากับ 0.3 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง โดยการใช้กลูโคส มีอัตราการเจริญจำเพาะเท่ากับ 0.31 ต่อชั่วโมง ผลผลิตมวลเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้ไป เท่ากับ 0.35 กรัมต่อกรัม

การที่จุลินทรีย์ 2 ชนิดมีความสามารถในการเจริญด้วยอาหารที่มีเดกซ์ทรินเป็นแหล่งคาร์บอนได้แตกต่างกันชัดเจน เป็นผลมาจากความสามารถในการสร้างเอนไซม์กลูโคอะไมเลสของจุลินทรีย์ 2 ชนิดนี้ แตกต่างกันกล่าวคือ *E. coli* สามารถเจริญในอาหารที่มีเดกซ์ทรินเป็นแหล่งคาร์บอนได้ดี เพราะมียีนที่สามารถสังเคราะห์เอนไซม์กลูโคอะไมเลสได้ในเซลล์ จึงสามารถย่อยสลายเดกซ์ทรินออกเป็นกลูโคสโมเลกุลเดี่ยว เพื่อลำเลียงเข้าสู่ภายในเซลล์และนำไปใช้ในกระบวนการเมตาบอลิซึม และการสร้างมวลเซลล์ได้ แต่ *S. cerevisiae* ไม่มียีนดังกล่าว ไม่สามารถสร้างเอนไซม์กลูโคอะไมเลส จึงไม่สามารถนำเดกซ์ทรินเข้าสู่เซลล์ได้ เนื่องจากเป็นสายโอลิโกเมอร์ที่มีขนาดใหญ่ ส่งผลให้ไม่สามารถนำเดกซ์ทรินไปใช้ในเจริญเติบโต รวมถึงการสร้างผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ได้ ดังนั้นเมื่อมีการเติมเอนไซม์กลูโคอะไมเลสลงในอาหาร เพื่อให้เกิดกระบวนการย่อยสลายของเดกซ์ทรินเป็นกลูโคส ไปพร้อม ๆ กับกระบวนการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

จึงทำให้เซลล์สามารถเจริญเติบโตได้ดีขึ้น อัตราการเจริญจำเพาะเพิ่มขึ้นเป็น 0.24 ต่อชั่วโมง อัตราการเปลี่ยนสารตั้งต้นเป็นเซลล์เท่ากับ 0.34 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง โดยพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<.05$) จากการเพาะเลี้ยงโดยไม่เติมเอนไซม์ และไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากการเพาะเลี้ยงโดยใช้กลูโคส

ความเข้มข้นของเดกซ์ทรินต่อการเจริญของจุลินทรีย์ต้นแบบ

จากการศึกษาขั้นต้นพบว่า ความเข้มข้นที่ระดับแตกต่างกันของเดกซ์ทรินมีผลต่อการเจริญของ *E. coli* ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<.05$) คือ เมื่อความเข้มข้นของเดกซ์ทรินที่เพิ่มขึ้น จาก 20 กรัมต่อลิตร เป็น 60 กรัมต่อลิตร และ 100 กรัมต่อลิตร มีผลทำให้ปริมาณมวลเซลล์เพิ่มขึ้นในทุกระดับความเข้มข้น คือมีค่าเท่ากับ 9.27 18.63 และ 34.67 กรัมต่อลิตร อัตราการเจริญจำเพาะ เท่ากับ 0.33 0.58 และ 0.47 ต่อชั่วโมง และ ผลผลิตมวลเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้ไป เท่ากับ 036 0.40 และ 0.45 กรัมต่อกรัม ตามลำดับ แต่ในกรณีของ *S. cerevisiae* เมื่อความเข้มข้นของเดกซ์ทรินเพิ่มขึ้นจาก 20 กรัมต่อลิตร เป็น 60 กรัมต่อลิตร ค่าน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<.05$) เพิ่มขึ้นจาก 8.07 กรัมต่อลิตร (อัตราการเจริญจำเพาะ เท่ากับ 0.12 ต่อชั่วโมง ผลผลิตมวลเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้ไป เท่ากับ 0.19 กรัมต่อกรัม) เป็น 34.13 กรัมต่อลิตร (อัตราการเจริญจำเพาะ เท่ากับ 0.30 ต่อชั่วโมง ผลผลิตมวลเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้ไป เท่ากับ 0.53 กรัมต่อกรัม) แต่เมื่อเพิ่มขึ้นเป็น 100 กรัมต่อลิตร พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<.05$) มีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 32.60 กรัมต่อลิตร (อัตราการเจริญจำเพาะ เท่ากับ 0.19 ต่อชั่วโมง ผลผลิตมวลเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้ไป เท่ากับ 0.41 กรัมต่อกรัม) ดังนั้นเห็นได้ว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมของเดกซ์ทรินในการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ต้นแบบทั้งสองชนิดมีความแตกต่างกัน

ระดับความเข้มข้นของเดกซ์ทรินที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ 2 ชนิด แตกต่างกัน เป็นผลมาจากความสามารถในการสร้างเอนไซม์กลูโคอะไมเลสของจุลินทรีย์ ดังที่กล่าวมาข้างต้น กล่าวคือ *E. coli* สามารถเจริญในอาหารที่มีเดกซ์ทรินเป็นแหล่งคาร์บอนได้ดีกว่า *S. cerevisiae* แม้จะอยู่ในสภาวะที่มีเดกซ์ทรินเข้มข้นมากถึง 100 กรัมต่อลิตร เนื่องจากมีความสามารถในการย่อยสลายเดกซ์ทรินได้ด้วยตัวเอง จะทำการปล่อยเอนไซม์มาย่อยสลายแบบค่อยเป็นค่อยไป ตามความต้องการใช้ที่สอดคล้องกับการเจริญเติบโตของเซลล์ที่เพิ่มมากขึ้น แต่ในการเพาะเลี้ยง *S. cerevisiae* ใช้การเติมเอนไซม์จากภายนอก ปริมาณการย่อยเดกซ์ทรินไปเป็นกลูโคส จึงเกิดขึ้นตามความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เติมลงไป ซึ่งอาจมากเกินความต้องการใช้ของจุลินทรีย์ ทำให้เกิดการสะสมจนมากเกินไป และกลายเป็นภาวะการจำกัดกลูโคส (Glucose Effect) ในที่สุด ซึ่งผลจากการทดลองดังกล่าวพบว่า การใช้เดกซ์ทรินเป็นแหล่งคาร์บอนนั้นสามารถใช้ได้ในความเข้มข้นที่มากกว่ากลูโคส ซึ่ง Riesenberg and Guthke (1991) และ Shiloach and Fass.

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

(2005) รายงานไว้ว่าการใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับการเพาะเลี้ยง *E. coli* สามารถใช้ได้เพียง 50 กรัมต่อลิตร และ *S. cerevisiae* นั้นสามารถใช้ได้เพียง 30 กรัมต่อลิตร เท่านั้น โดยถ้าความเข้มข้นมากกว่านี้จะก่อให้เกิดปัญหาการตั้งของคาร์บอน ส่งผลต่อการยับยั้งการเจริญของเซลล์

เทคนิคการเพาะเลี้ยงแบบกะ-ต่อเนื่อง ต่อการเจริญของจุลินทรีย์ต้นแบบ

เทคนิคการเพาะเลี้ยงเพื่อให้ได้เซลล์ความเข้มสูง ส่วนใหญ่นิยมใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงแบบ Fed-Batch ซึ่งเป็นการเติมสารอาหารทีละน้อยเป็นระยะเวลานาน เพื่อให้มีความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ในแต่ละช่วงเวลา แต่เนื่องจากมีกระบวนการที่ยุ่งยาก และการคำนวณอัตราการเจริญ ที่อาจไม่เหมาะสม ทำให้เกิดภาวะการขาดแคลนแหล่งอาหารหรือ การเจือจางที่มากเกินไป รวมไปถึงระยะเวลาที่นานในการเพาะเลี้ยง

จากการศึกษาเทคนิคการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ต้นแบบทั้งสองชนิดแบบกะ-ต่อเนื่อง ข้างต้น พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญของการเพาะเลี้ยงในแต่ละกะ คือเมื่อสิ้นสุดการเพาะเลี้ยง *E. coli* เป็นเวลาทั้งสิ้น 36 ชั่วโมง มีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งในแต่ละกะ เท่ากับ 37.30 32.20 และ 31.80 กรัมต่อลิตรคิดเป็นค่าความสามารถในการผลิต (Productivity) เท่ากับ 2.88 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ซึ่งผลการเพาะเลี้ยงดังกล่าวสามารถเทียบเคียงกับการเพาะเลี้ยงด้วยวิธีการแบบเติมกะของ Paalme et al. (1990) ทำการเพาะเลี้ยง *E. coli* ใช้เทคนิคการเติมสารอาหาร โดยการควบคุมอัตราการเจริญจำเพาะ (Specific Growth-Rate Control) ซึ่งพบว่าสามารถผลิตมวลเซลล์ได้ 53.00 กรัมต่อลิตร ในระยะเวลา 21 ชั่วโมง คิดเป็นอัตราการผลิตมวลเซลล์เท่ากับ 2.50 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และ Lee and Chang (1993) ทำการเพาะเลี้ยง *E. coli* ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงแบบเติมกะ ใช้เทคนิคการเติมสารอาหารแบบ pH-stat ซึ่งทำให้ได้เซลล์เท่ากับ 105.40 กรัมต่อลิตร ในระยะเวลา 36 ชั่วโมง คิดเป็นอัตราการผลิตมวลเซลล์เท่ากับ 2.92 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

และกรณีการเพาะเลี้ยง *S. cerevisiae* เป็นเวลาทั้งสิ้น 108 ชั่วโมง มีค่าหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 37.27, 38.23 และ 39.03 กรัมต่อลิตร ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<.05$) ในการเพาะเลี้ยงแต่ละกะ คิดเป็นค่าความสามารถในการผลิตเซลล์ เท่ากับ 1.06 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง พบว่าสามารถผลิตเซลล์ได้ใกล้เคียงกับการเพาะเลี้ยงแบบเติมกะ เช่น Kim et al. (2007) ที่ทำการเพาะเลี้ยงโดยควบคุมอัตราการเติมสารอาหารเท่ากับ 10 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง สามารถผลิตมวลเซลล์ 95.70 กรัมต่อลิตร ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 80 ชั่วโมงคิดเป็นความสามารถในการผลิตเซลล์เท่ากับ 1.20 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

จากภาพกราฟที่แสดงผลของปริมาณน้ำตาลคงเหลือกับปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในระหว่างการเพาะเลี้ยง เช่น ภาพที่ 4-24 และ 4-25 จะแสดงให้เห็นถึงช่องว่างที่เกิดขึ้นระหว่างเส้นกราฟ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สองเส้น ที่มีลักษณะของช่องว่างที่ค่อย ๆ ลดลง (แคบลง) ตามระยะเวลาการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ ทั้งนี้เป็นผลจากความยาวของสายโอลิเมอร์ ที่ค่อย ๆ เล็กลงเมื่อถูกย่อยด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลส

นอกจากนี้พบว่าความยาวสายโอลิโกเมอร์ในระหว่างการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์สองชนิดมีความแตกต่างกัน คือ สายโอลิโกเมอร์ในการเพาะเลี้ยง *E. coli* จะเริ่มต้นด้วยสายที่มีความยาวมาก จากนั้นความยาวของสายเริ่มลดลง (ช่องว่างระหว่างเส้นกราฟในช่วงแรกมีมาก จากนั้นช่องว่างนั้นค่อย ๆ ลดลง) ตามระยะเวลาการเพาะเลี้ยง ซึ่งเป็นไปแบบค่อยเป็นค่อยไป ในขณะที่การเพาะเลี้ยง *S. cerevisiae* ซึ่งมีการเติมเอนไซม์กลูโคอะไมเลสจะเห็นการย่อยสลายสลายสายโอลิโกเมอร์อย่างรวดเร็วในช่วงแรกของการเพาะเลี้ยง (ช่วงห่างของเส้นกราฟมีมากในช่วงต้นเท่านั้น จากนั้นเริ่มแคบลงอย่างรวดเร็ว) ทำให้เกิดเป็นปริมาณกลูโคสที่มากเกินความต้องการใช้ของเซลล์

ประสิทธิภาพของวิธีการทดลองต่อจุลินทรีย์ต้นแบบ

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการเพาะเลี้ยงด้วยวิธีดังกล่าว คือ การเพาะเลี้ยงด้วยเทคนิคแบบกะต่อเนื่อง ติดต่อกัน 3 กะ โดยใช้เดกซ์ทรินเป็นแหล่งคาร์บอน ในถังหมักขนาด 5 ลิตร พบว่าให้ผลที่ดีสำหรับการเพาะเลี้ยง *E. coli* มากกว่าการเพาะเลี้ยง *S. cerevisiae* เนื่องจากให้ปริมาณมวลเซลล์ที่สูงกว่า นอกจากนี้ยังเห็นได้จากอัตราการเจริญจำเพาะ *E. coli* มีค่า เท่ากับ 0.47 ต่อชั่วโมง ในขณะที่ *S. cerevisiae* มีค่าเท่ากับ 0.26 ต่อชั่วโมง

ทั้งนี้เป็นผลมาจาก ปัจจัยหลักได้แก่ความสามารถในการย่อยสลายเดกซ์ทริน เพื่อนำไปใช้ในการสร้างเซลล์ ซึ่ง *E. coli* สามารถสร้างเอนไซม์กลูโคอะไมเลสได้ด้วยตนเอง จึงเกิดการย่อยสลายเดกซ์ทรินอย่างช้า ๆ เพื่อให้เพียงพอต่อความต้องการใช้ของเซลล์ แต่ *S. cerevisiae* ต้องอาศัยเอนไซม์จากภายนอก ซึ่งการทำงานไม่ได้สัมพันธ์กับความต้องการใช้ของเซลล์ แต่เป็นความสัมพันธ์กับปริมาณและประสิทธิภาพของเอนไซม์เอง รวมถึงปริมาณเอนไซม์ที่ใส่ลงไปยังไม่มีการหาค่าที่เหมาะสม ที่สามารถทำงานได้อย่างพอดีกับความต้องการใช้ของเซลล์ ดังนั้นการย่อยสลายจึงเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงแรก เกินความต้องการใช้ของเซลล์ จึงเกิดปัญหาการคั่งของกลูโคสตามมา

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 5-1 เปรียบเทียบความสามารถในการผลิตเซลล์ความเข้มข้นสูง ของจุลินทรีย์ต้นแบบ 2 ชนิด

จุลินทรีย์	แหล่งคาร์บอน	น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l)	เวลา (h)	ความสามารถการผลิตเซลล์ (g/l/h)	อ้างอิง
E. coli	กลูโคส	53.00	21	2.50	Paalme et. al.,1990
E. coli	ซูโครส	105.40	36	2.92	Lee & Chang, 1993
E. coli	เดกซ์ทริน	107.77	36	2.88	Kwanruthai, 2003
S. cerevisiae	กากน้ำตาล	95.70	80	1.20	Kim et al., 2007
S. cerevisiae	เดกซ์ทริน	114.53	108	1.06	Kwanruthai, 2003

สรุปผล

1. สูตรอาหาร BPM มีความประสิทธิภาพที่ดีในการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ต้นแบบทั้งสองชนิด ได้ ต่อเมื่อมีการเติมยีสต์สกัดเพื่อเป็นแหล่งสารอาหารเสริม ซึ่งมีความเหมาะสมในการนำไปใช้งานได้ในการเพาะเลี้ยงระดับใหญ่ เนื่องจากเป็นสูตรอาหารชนิด Defind Medium มีราคาถูกและสามารถควบคุมคุณภาพในระหว่างการเพาะเลี้ยงได้

2. เดกซ์ทรินมีประสิทธิภาพที่ดี ความเหมาะสมในการนำมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับเพาะเลี้ยง *E. coli* แต่ในกรณีของ *S. cerevisiae* ต้องมีการเติมเอนไซม์กลูโคอะไมเลส ที่มีความสามารถในการทำงานที่อุณหภูมิประมาณ 30 องศาเซลเซียสได้ร่วมด้วย เนื่องจากไม่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ชนิดนี้ได้ด้วยตัวเอง แต่อย่างไรก็ตามการเติมเอนไซม์ ก็ยังก่อให้เกิดปัญหาการคั่งของกลูโคสในการเพาะเลี้ยง เนื่องจากการย่อยสลายของเอนไซม์เกิดขึ้นเร็วกว่าความต้องการใช้ของเซลล์

3. การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ต้นแบบในถังหมักขนาด 5 ลิตร ด้วยเทคนิคแบบกะ พบว่าสามารถใช้เดกซ์ทรินได้มากถึง 100 กรัมต่อลิตร สำหรับ *E. coli* และ 60 กรัมต่อลิตร สำหรับ *S. cerevisiae* ซึ่งพบว่าเป็นความเข้มข้นที่มากกว่าการเพาะเลี้ยงด้วยกลูโคสซึ่งสามารถใช้ได้ในปริมาณที่ต่ำกว่าประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ของการใช้เดกซ์ทรินที่ปรากฏในการวิจัยครั้งนี้

4. การเพาะเลี้ยง จุลินทรีย์ต้นแบบทั้งสองชนิด ด้วยเทคนิคแบบกะ-ต่อเนื่อง 3 กะ สามารถให้สร้างผลผลิตมวลเซลล์ความเข้มข้นสูงได้ เทียบเท่ากับการเพาะเลี้ยงแบบเติมกะ หรือ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

แบบต่อเนื่องจากงานวิจัยที่ผ่านมา ซึ่งกล่าวไว้ว่าการเพาะเลี้ยงแบบกะไม่สามารถเพาะเลี้ยงเซลล์ ซึ่งการเพาะเลี้ยงด้วยเทคนิคกะ-ต่อเนื่องนี้ สามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้กับอุตสาหกรรมต่าง ๆ ที่ใช้จุลินทรีย์ต้นแบบสองชนิดนี้เป็นผู้ผลิตผลิตภัณฑ์ และต้องการเซลล์ความเข้มข้นสูง

ข้อเสนอแนะ

1. การวิจัยในครั้งนี้จำกัดการความเข้มข้นของเดกซ์ทรินซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนเพียง 100 กรัมต่อลิตร เท่านั้น ควรมีการทดลองเพาะเลี้ยงด้วยเซลล์ความเข้มข้นสูงขึ้น สำหรับการเพาะเลี้ยง *E. coli* เพื่อพิสูจน์ความสามารถในการใช้เดกซ์ทรินความเข้มข้นสูงสุด เพื่อได้รับปริมาณมวลเซลล์ที่เพิ่มมากขึ้น

2. ควรศึกษาปริมาณที่เหมาะสมของการใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลสในการเพาะเลี้ยง *S. cerevisiae* เพื่อป้องกันการเกิดปัญหาการจำกัดกลูโคส

3. งานวิจัยครั้งนี้เลือกใช้ NaOH ในการควบคุมค่าพีเอช ซึ่งเซลล์ไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ใด ๆ ได้ ควรมีการทดลองใช้ NH_4Cl ในการควบคุมพีเอช เนื่องจากเซลล์จุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ในการเจริญเติบโตได้ จะเป็นการช่วยเพิ่มมวลเซลล์ของจุลินทรีย์ได้อีกทางหนึ่ง

4. กระบวนการเพาะเลี้ยงแบบกะ- ต่อเนื่องในครั้งนี้ มีการทดลองทำแค่เพียง 3 กะเท่านั้น ควรมีการเพาะเลี้ยงเพิ่มขึ้นไปถึง 7 หรือ 10 กะ เพื่อลดระยะเวลาการในดำเนินการ และเพื่อศึกษาถึงผลอื่น ๆ ที่อาจเกิดขึ้นได้

5. ควรมีการทดลองนำโมเดลการทดลองครั้งนี้ คือการเพาะเลี้ยงแบบกะ-ต่อเนื่อง โดยใช้เดกซ์ทรินเป็นแหล่งคาร์บอนมาทดลองใช้กับ *E. coli* และ *S. cerevisiea* สายพันธุ์ดัดแปลงพันธุกรรมอื่น ๆ ที่มีการใช้ในระดับอุตสาหกรรม เพื่อเป็นการยืนยันและศึกษาผลอื่น ๆ ที่อาจเกิดขึ้น

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University