

4. ผลของ skimmed milk ต่อการเจริญและการผลิตเอนไซม์

จากการศึกษาปริมาณกลูโคสที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตเอนไซม์ โดยการเพาะเลี้ยงแบบ batch culture ควบคุมพีเอชที่ 9.5 DO 80 เปอร์เซ็นต์ของอากาศอิมตัว อัตราการให้อากาศที่ 1 VVM อัตราการกวนที่ 300 ถึง 550 rpm และอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เหมือนกันทุกการทดลอง ผลการทดลองพบว่าที่ปริมาณกลูโคสต่ำจะให้ผลที่ดีกว่า ปริมาณที่เหมาะสมอยู่ที่ 2 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจะให้ค่า μ สูง และ q_p สูงสุด ในขณะที่ความเข้มข้นสารอาหารอื่นๆยังมีปริมาณเท่าเดิม จึงเลือกใช้ความเข้มข้นกลูโคส 2 เปอร์เซ็นต์ ในการทดลองศึกษาผลของปริมาณ skimmed milk ต่อการเจริญและการผลิตเอนไซม์ต่อไป โดยจะแปรค่าความเข้มข้นจากเดิม 0.25 เป็น 0.50 เปอร์เซ็นต์ สำหรับ skimmed milk เป็นหางนมที่ประกอบด้วยโปรตีนจากนมหลายชนิด ที่สำคัญและคาดว่าจะเป็ยสารเหนียวนำการสร้างอัลคาไลน์โปรตีนคือ casein โปรตีนชนิดนี้ (casein) จัดเป็น phosphoprotein มีความสำคัญเนื่องจากประกอบไปด้วยกรดอะมิโนทั่วไปรวมถึงชนิดจำเป็น (essential amino acid) สร้างจากสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Budaveri, 1996)

ในการทดลองนี้ใช้อาหารเหลว BMSM medium ปริมาตร 3 L ในถังหมักและเพาะเลี้ยงโดยวิธี batch culture เดิมกล้าเชื้อ 2 เปอร์เซ็นต์ ควบคุมพีเอชที่ 9.5 ค่า DO 80 เปอร์เซ็นต์ของอากาศอิมตัว การให้อากาศ 1 VVM อัตราการกวน 300 ถึง 550 rpm และอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยการทดลองจะเพิ่ม skimmed milk จากเดิมที่ใช้ 0.25 เป็น 0.50 เปอร์เซ็นต์ ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 11 ภาพที่ 26 และ 27

ผลการทดลองดังตารางที่ 11 พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้น skimmed milk จาก 0.25 เป็น 0.50 เปอร์เซ็นต์ ค่า μ จะลดลงจาก 0.511 เป็น 0.448 h^{-1} และค่า q_p ลดลงจาก 23,556 เป็น 14,643 units/g cell.h เมื่อพิจารณาผลสูงสุด จะเห็นว่าการเพิ่มปริมาณ skimmed milk จะเพิ่มมวลเซลล์สูงขึ้น แต่ไม่มากนัก อธิบายได้ว่า skimmed milk ที่เพิ่มขึ้นจะเป็นแหล่งไนโตรเจนของเซลล์มากขึ้น นอกเหนือจากการเป็นสารเหนียวนำการสร้างเอนไซม์ ส่งผลให้กิจกรรมเอนไซม์สูงสุดเพิ่มขึ้นด้วย จาก 397 เป็น 524 units/ml ซึ่งก็ทำให้ผลได้ของเอนไซม์เพิ่มขึ้นจาก 25,694 เป็น 30,579 units/g glucose แต่การเพิ่มขึ้นของ skimmed milk นี้กลับยับยั้งอัตราการเจริญและการผลิตเอนไซม์ให้ต่ำลง ซึ่งนับว่าเป็นผลเสียเมื่อพิจารณาในด้านการผลิต เมื่อพิจารณารูปแบบการเจริญและการผลิตเอนไซม์ที่สภาวะ skimmed milk 0.50 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 27) เริ่มจากเชื้อ *Bacillus* sp. A39 จะเข้าสู่ระยะ exponential phase ชั่วโมงที่ 8 ความเข้มข้นเซลล์เพิ่มขึ้นเรื่อยมาจนถึงชั่วโมงที่ 10 ซึ่งเป็นกลางระยะ exponential phase ณ จุดนี้เริ่มมีการสร้างเอนไซม์ และเมื่อเซลล์เข้าสู่ชั่วโมงที่ 12 ซึ่งเป็น

ปลายระยะ exponential phase จะสร้างเอนไซม์ในอัตราสูงสุด 14,643 units/g cell.h จนถึงชั่วโมงที่ 22 จากนั้นอัตราการสร้างจะเริ่มลดลงอย่างมาก ณ เวลานี้ปริมาณกลูโคสจะเหลือไม่ถึง 0.2 เปอร์เซ็นต์ ทำให้มีผลต่อการสร้างเอนไซม์ต่ำลง ระยะเวลาที่มีอัตราการสร้างเอนไซม์สูงสุด คือ ชั่วโมงที่ 14 ถึง 22 เป็นระยะที่คาบเกี่ยว 2 ระยะการเจริญ คือ ชั่วโมงที่ 14 ถึง 18 เป็นระยะ deceleration phase และชั่วโมงที่ 18 ถึง 22 เป็นระยะ stationary phase ซึ่งทุกระยะเริ่มมีค่า μ ลดลงเป็นลำดับ

เมื่อพิจารณาโดยรวมแล้วปริมาณ skimmed milk ที่เพิ่มขึ้น 2 เท่า เป็น 0.50 เปอร์เซ็นต์ ไม่เหมาะสมที่จะใช้เป็นการทดลองในขั้นต่อไป เนื่องจากค่า μ และ q_p ลดลง จากผลการทดลองทั้งหมดที่กล่าวมาพอสรุปได้ว่าสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตเอนไซม์ คือ ความเข้มข้นกลูโคส 2 เปอร์เซ็นต์ skimmed milk 0.25 เปอร์เซ็นต์ พีเอช 9.5 การละลายออกซิเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อหรือ DO 80 เปอร์เซ็นต์ของอากาศอิ่มตัว อัตราการให้อากาศ 1 VVM และยังพบว่าปริมาณกลูโคสและ skimmed milk ที่มากเกินไปจะยับยั้ง (inhibit) การเจริญและยับยั้ง (repress) การผลิตเอนไซม์ด้วย จึงใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงแบบเดิมอาหารเพื่อหลีกเลี่ยงปัญหาดังกล่าว ซึ่งน่าจะทำให้เซลล์มีการเจริญและการผลิตเอนไซม์ที่ดีขึ้นต่อไป