บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

ในการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงรา *Mortierella* sp.BCC2863 เพื่อผลิต ARA โดยเป็นการศึกษาปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อการผลิตกรดอะราคิโดนิค ศึกษาวิธีการเตรียมหัวเชื้อ ความเป็นกรดด่างและอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต ศึกษาองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมทั้งแหล่งอาหารคาร์บอนและแหล่งอาหารไนโตรเจน โดยเฉพาะอย่างยิ่งอิทธิพลของปริมาณน้ำตาลกลูโคสต่อการเจริญเติบโตและการผลิต ARA

การศึกษาวิธีการเตรียมหัวเชื้อนั้น วิธีที่เหมาะสมคือ การตัดชิ้นวุ้นจาก plate ที่มีเชื้อเริ่มต้นขนาด 1X1 เซนติเมตร เลี้ยงในอาหารสูตรอ้างอิงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน จากนั้นปั่นละเอียดโดยใช้เครื่องปั่นนาน 2 นาที นำหัวเชื้อที่ได้ปริมาณ 5% v/v ใช้เป็นเทคนิคมาตรฐานในการเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้น (inoculum) ของการทดลองอื่นๆต่อไป

การศึกษาอิทธิพลของความเป็นกรดด่าง (pH) ของอาหารเลี้ยงเชื้อเริ่มต้น พบว่า ค่า pH มีผลต่อความสามารถในการเจริญเติบโตของเชื้อรา โดยช่วงที่เหมาะสมคือ pH 6-8 แต่ในส่วนของการผลิตกรดไขมันทั้งหมด (Total fatty acid) และ ARA เมื่อคิดเทียบต่อน้ำหนักเซลล์แห้งให้ผลที่ไม่แตกต่างกัน

การศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการผลิต ARA พบว่า อุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการสร้าง ARA โดยให้ค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง 14.85 กรัมต่อลิตร และให้ปริมาณ ARA 1.38 กรัมต่อลิตร

การศึกษาหาแหล่งคาร์บอนชนิดต่างๆ ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเซลล์และการสร้าง ARA พบว่า น้ำมันปาล์ม เหมาะสมสำหรับการนำมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนทดแทนการใช้กลูโคส ซึ่งองค์ประกอบของน้ำมันจะมีกรดไขมันตัวอื่นๆในการเป็นสารตั้งในการผลิต ARA โดยจะได้น้ำหนักเซลล์แห้ง 12.13 กรัมต่อลิตร และได้ปริมาณ ARA 0.81 กรัมต่อลิตร และการศึกษาแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการผลิต ARA พบว่า yeast extract เป็นแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมที่สุดโดยให้ค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง 15.63 กรัมต่อลิตร และให้ปริมาณ ARA 0.691 กรัมต่อลิตร

การศึกษาอิทธิพลของกลูโคสที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่า เมื่อทำการทดลองในระดับขวดเขย่า ความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคส 60 กรัมต่อลิตรจะมีการเจริญเติบโตสูงที่สุด โดยจะได้

น้ำหนักเซลล์แห้ง 23.71 กรัมต่อลิตร และ ให้ปริมาณ ARA 3.59 กรัมต่อลิตร และเมื่อพัฒนากระบวนการเพาะเลี้ยงเข้าสู่ระบบถังหมักขนาด 5 ลิตรจะช่วยเพิ่มการผลิตเชื้อราให้ได้ปริมาณเซลล์ที่สูงขึ้น อีกทั้งยังช่วยลดระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงให้สั้นลงโดยการเลี้ยงในถังหมักจะใช้ระยะเวลา 96 ชั่วโมง ในการเพาะเลี้ยงโดยจะได้น้ำหนักเซลล์แห้ง 19.58 กรัมต่อลิตร และให้ปริมาณ ARA 2.77 กรัมต่อลิตร กรณีนี้ได้ปริมาณเซลล์ที่ลดลงเนื่องจากเชื้อเกิด wall growth เป็นจำนวนมาก

การคำนวณสมดุลไนโตรเจนเพื่อยืนยันการหมดของอาหารไนโตรเจน ก่อนที่จะมีการสะสมของกรดไขมันภายในเซลล์พบว่า สภาวะการเลี้ยงราในขวดเขย่าที่ความเข้มข้นกลูโคสเริ่มต้น 40 และ 60 กรัม/ลิตร และในถังหมักที่ความเข้มข้นของกลูโคสเริ่มต้น 60 กรัม/ลิตร มีความเข้มข้นของไนโตรเจน (ขาเข้า) ใกล้เคียงกันคือ 78.02, 76.00 และ 78.73 mM ตามลำดับ และเมื่อสิ้นสุดการทดลองความเข้มข้นของไนโตรเจน (ขาออก) มีความใกล้เคียงกันคือ 91.29, 92.81, และ 96.35 mM ตามลำดับ ซึ่งความแตกต่างระหว่างขาเข้าและขาออกน่าจะมาจากปริมาณของอาหารไนโตรเจนที่อยู่ในส่วนของอาหารเลี้ยงหัวเชื้อ ที่มิได้นำมาคำนวณเป็นไนโตรเจนขาเข้า

ข้อเสนอแนะในงานวิจัย

จากการศึกษาพบว่า การผลิตกรดไขมันของรา จะเกิดขึ้นในสภาวะที่จำกัดไนโตรเจน (nitrogen limit) ดังนั้นจึงต้องมีการวิเคราะห์หาค่าโปรตีนของเซลล์ราระหว่างการเจริญเติบโต เพื่อติดตามการใช้แหล่งไนโตรเจน แต่ในการจำกัดแหล่งไนโตรเจนอย่างเดียวส่งผลให้ราหยุดการเจริญเติบโตจึงต้องมีการเพิ่มแหล่งคาร์บอนในสัดส่วนที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดไขมัน ดังนั้นการออกแบบการทดลองต่อไป ควรศึกษาหา C/N ratio เพื่อเป็นแนวทางในการเพิ่มความเข้มข้นเซลล์และความเข้มข้นกรดไขมันของรา