180623

อังสุมาริน อุนบูรณะวรรณ : การหมักแบบต่อเนื่องเพื่อพัฒนาอัตราการเจริญจำเพาะในการเลี้ยงเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* (CONTINUOUS FERMENTATION TO IMPROVE SPECIFIC GROWTH RATE OF *Saccharomyces cerevisiae* CULTIVATION) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผศ.ดร. สุรพงศ์ นวังคสัตถุศาสน์, อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม : รศ.ดร. นลิน นิลอุบล และรศ.ดร. ไพเราะ ปิ่นพานิชการ, 118 หน้า. ISBN. 974-331-990-5

งานวิจัยนี้ได้ทำการหาสูตรอาหารและภาวะในการเลี้ยงเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ SG1 ด้วยระบบต่อเนื่อง เพื่อให้ได้อัตราการเจริญจำเพาะสูงโดยที่มีผลผลิตเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้ไปสูง และสามารถรักษาอัตราการเจริญจำเพาะนั้นไว้ได้นาน ๆ โดยหัวเชื้อที่เหมาะสำหรับใช้ในการหมักมีอายุ 8 ชั่วโมง เนื่องจากที่เวลานี้หัวเชื้อมีอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด ในการทดลองหาความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์ด้วยการหมักแบบขวดเขย่า พบว่าความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นที่ให้อัตราการเจริญจำเพาะของยีสต์สูงที่สุดคือ 20 กรัมต่อลิตร และเมื่อเปรียบเทียบอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุดที่ได้จากการหมักแบบขวดเขย่า การหมักแบบแบช และการหมักแบบต่อเนื่องในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้น 20 กรัมต่อลิตรเช่นเดียวกัน ผลปรากฏว่าการหมักแบบต่อเนื่อง ให้อัตราการเจริญจำเพาะสูงที่สุดคือ 0.250 ต่อชั่วโมง ในขณะที่การหมักแบบขวดเขย่า และการหมักแบบแบชในถังหมักขนาด 5 ลิตร ให้อัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด 0.160 ต่อชั่วโมง และ 0.210 ต่อชั่วโมง ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตามการเพาะเลี้ยงเซลล์ยีสต์ด้วยระบบต่อเนื่องที่อัตราการเจือจาง 0.250 ต่อชั่วโมงโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้น 20 กรัมต่อลิตร ส่งผลให้ได้ความเข้มข้นของเซลล์เพียง 5.32 กรัม (น้ำหนักเซลล์แห้ง) ต่อลิตรหรือคิดเป็น 2.00 กรัม (น้ำหนักเซลล์แห้ง) ต่อชั่วโมง นอกจากนี้ผลผลิตเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้ยังมีค่าเพียง 0.66 เท่านั้น ดังนั้นจึงได้ทำการพัฒนาสูตรอาหารและภาวะของการเลี้ยงเซลล์ยีสต์ในการหมักแบบต่อเนื่อง สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อตั้งต้นที่เหมาะสมประกอบด้วยกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลทั้งหมด 50 กรัมต่อลิตร แอมโมเนียมซัลเฟต 8.5 กรัมต่อลิตร และแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 2.4 กรัมต่อลิตร ในขณะที่สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเติมเข้าสู่ระบบมีองค์ประกอบเช่นเดียวกับอาหารเลี้ยงเชื้อตั้งต้น แต่ลดความเข้มข้นของน้ำตาลทั้งหมดเป็น 40 กรัมต่อลิตร ซึ่งเริ่มเติมที่ชั่วโมงที่ 3 ของการหมัก โดยไม่มีการเติมเฟอริคคลอไรด์ คอปเปอร์ซัลเฟต และซิงค์คลอไรด์ลงในสูตรอาหารทั้งสอง สำหรับภาวะของการเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม คือ อัตราการกวน 700 รอบต่อนาที, อัตราการให้อากาศ 3 vvm, ค่าความเป็นกรดด่างที่ 4.5 และควบคุมอุณหภูมิที่ 33 องศาเซลเซียส ในการเพาะเลี้ยงเซลล์ด้วยสูตรอาหารและภาวะที่ปรับปรุงแล้วนี้ในการหมักแบบต่อเนื่อง ถึงแม้จะไม่สามารถเพิ่มอัตราการเจริญจำเพาะของเชื้อให้สูงกว่า 0.250 ต่อชั่วโมง แต่สามารถเพิ่มความเข้มข้นเซลล์ไปได้เป็นประมาณ 24.06 กรัมต่อลิตร คิดเป็น 9.00 กรัมต่อชั่วโมง และผลผลิตเซลล์ต่อน้ำตาลที่ใช้ไปยังสูงถึง 0.72 ซึ่งสามารถรักษาภาวะที่ได้ถึง 117 ชั่วโมง ส่วนการศึกษาการนำน้ำหมักที่ผ่านการแยกเซลล์ออกแล้วกลับมาเตรียมเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อแล้วเติมกลับเข้าสู่ระบบพบว่า สามารถนำน้ำหมักกลับมาใช้ได้อีกเพียง 1 รอบเท่านั้น

180623

C827011 : MAJOR BIOTECHNOLOGY
KEY WORD: CONTINUOUS FERMENTATION/SPECIFIC GROWTH RATE/ *Saccharomyces cerevisiae*

AUNGSUMARIN AUNBORANAWON : CONTINUOUS FERMENTATION TO IMPROVE SPECIFIC GROWTH RATE OF *Saccharomyces cerevisiae* CULTIVATION. THESIS ADVISOR : ASSIST. PROF. SURAPONG NAVANKASATTUSAS, Ph.D. THESIS CO. ADVISOR ; ASSO. PROF. NALINE NILUBOL. Ph.D. AND ASSO. PROF. PAIROH PINPHANICHAKARN, Ph.D. 118 pp. ISBN. 974-331-990-5

This research is to establish composition of production medium and growth condition in continuous fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* strain SG1 for yeast cell cultivation, to attain high and stable specific growth rate and high cell mass yield. The suitable age of innoculum, which had maximum specific growth rate, was 8 hours. In shaked flask cultivation, concentration of initial total sugar in molasses that obtained maximum specific growth rate was 20 g/l. The comparison between shaked flask fermentation, batch fermentation and continuous fermentation in 5 liters with 20 g/l of initial total sugar in medium showed that the maximum specific growth rate from continuous fermentation was the highest (0.250 h^{-1}), while those from shaked flask fermentation and batch fermentation were 0.160, and 0.210 h^{-1} respectively. However, cell concentration of continuous fermentation in this condition (20 g/l of initial total sugar, 0.250 h^{-1} of dilution rate) was only 5.32 g. of dry weight/l or 2.00 g. of dry weight/hr with only 0.66 of cell mass yield. Composition of production medium and condition of cultivation for continuous fermentation had been further developed. The suitable initial production medium was composed of molasses with 50 g/l of total sugar, 8.5 g/l of ammonium sulfate and 2.4 g/l of ammonium hydrogen phosphate. While the composition of the suitable production medium for continuous addition was similar to that of the initial production medium, but solution of molasses with total sugar of 40 g/l should be added to the system at the third hour of the initial fermentation. The suitable production media did not require additional ferric chloride, copper sulfate and zinc chloride. The suitable condition of cultivation for continuous fermentation consisted of 700 rpm of stirring rate, 3 vvm of air flow, at pH 4.5 and 33 °c. Although the developed production medium and condition could not obtain higher specific growth rate, but it obtain 24.00 g. of dry weight/l or 9.00 g of dry weight/hr of cell productivity and 0.72 of cell mass yield with respect to fermentable sugar consumed. This condition could be maintained for 117 hours. The spent medium of the cell culture was able to recycle only 1 cycle.