

บทที่ 4

สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก โดยเชื้อ *G. fujikuroi* N9-34 ในระดับขยายส่วน คือในถังหมักขนาด 30 และ 300 ลิตร โดยใช้ข้อมูลที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อในถังหมักขนาด 5 ลิตรเป็นข้อมูลพื้นฐาน เพื่อใช้เป็นแนวทางการผลิตในระดับขยายส่วน ซึ่งการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกทำโดยเลี้ยงเชื้อ *G. fujikuroi* N9-34 โดยใช้สูตรอาหารและภาวะการผลิตของ ศุภชัย สมบัติ (2537) เมื่อทำการเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน สามารถผลิตกรดจิบเบอเรลลิกได้ประมาณ 933.20 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่าทางจลนพลศาสตร์ต่างๆ ได้แก่ ค่าอัตราการเจริญจำเพาะเท่ากับ $0.016 \text{ ชั่วโมง}^{-1}$ อัตราการใช้น้ำตาลเท่ากับ 0.65 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง อัตราการใช้น้ำตาลจำเพาะเท่ากับ $0.022 \text{ ชั่วโมง}^{-1}$ อัตราการเกิดเซลล์ ($Y_{x/s}$) เท่ากับ 0.31 กรัมเซลล์ต่อกรัมน้ำตาล อัตราการเกิดผลผลิต ($Y_{p/s}$) เท่ากับ 11.25 มิลลิกรัม GA_3 ต่อกรัมน้ำตาล อัตราการเกิดผลผลิตจำเพาะเท่ากับ $0.00025 \text{ ชั่วโมง}^{-1}$ อัตราการผลิตเท่ากับ 5.55 มิลลิกรัม GA_3 ต่อลิตรต่อชั่วโมง ซึ่งจะใช้เป็นตัวเปรียบเทียบกับการผลิตในระดับขยายส่วน โดยค่าทางจลนพลศาสตร์เหล่านี้จะไม่เปลี่ยนแปลงไปมากจากการผลิตในถังหมักขนาด 5 ลิตร

สำหรับงานวิจัยนี้ในส่วนแรกได้ทำการศึกษาการผลิตในถังหมักขนาด 5 ลิตร เพื่อใช้เป็นแนวทางในการขยายส่วน โดยทำการศึกษาค้นคว้าเพิ่มเติมเกี่ยวกับคาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้น 5 % ปริมาตรต่อปริมาตรในชั่วโมงที่ 72 ของการผลิต และศึกษาการเพิ่มและลดปริมาณเซลล์ในช่วงต้นของการผลิต ในถังหมักขนาด 5 ลิตร พบว่าไม่สามารถทำให้การผลิตกรดจิบเบอเรลลิกสูงขึ้นทั้ง 2 การทดลอง ซึ่งการทดลองการผลิตในถังหมักขนาด 5 ลิตรนั้น ให้ผลที่ไม่สามารถนำไปใช้ในการผลิตในระดับขยายส่วนได้ และเนื่องจากการผลิตในระดับขยายส่วน มีความจำเป็นต้องมีการเตรียมหัวเชื้อหลายขั้นตอน และมีการเพิ่มขนาดของขวดเพาะเลี้ยงสำหรับการเตรียมหัวเชื้อ เพื่อต้องการเพิ่มปริมาณเชื้อให้มากขึ้นก่อนนำไปใช้ในการผลิต ดังนั้นจึงทำการทดลองศึกษาการเตรียมหัวเชื้อ 2 ขั้นตอนพร้อมกับการเพิ่มขนาดของขวดเพาะเลี้ยงสำหรับการเตรียมหัวเชื้อ พบว่าสามารถให้การผลิตกรดจิบเบอเรลลิกได้เท่ากับการผลิตที่มีการเตรียมหัวเชื้อ 2 ขั้นตอนที่ไม่มีการเพิ่มขนาดของการเตรียมหัวเชื้อ ซึ่งจะได้ใช้การเตรียมหัวเชื้อ 2 ขั้นตอนในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกในถังหมักขนาด 30 ลิตร ต่อไป

ส่วนที่สองทำการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกในถังหมักขนาด 30 ลิตร ซึ่งจากการศึกษาในถังหมักขนาด 5 ลิตร พบว่าไม่สามารถหาตัวแปรหรือเกณฑ์จากสิ่งพิมพ์ในระบบสารสนเทศที่ใช้สำหรับการขยายส่วนได้ ดังนั้นจะทำการทดสอบการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกในถังหมักขนาด 30 ลิตร โดยใช้สูตรอาหาร และ ภาวะการผลิตที่เหมาะสมที่สุดในถังหมักขนาด 5 ลิตร ตามรายงานของ ศุภชัย สมบัติปีโต ปี 2527 เพื่อศึกษาผลการผลิตเทียบกับการผลิตในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อใช้สูตรอาหารและภาวะการผลิตเหมือนกัน การผลิตในถังหมักขนาด 5 ลิตร จะทำการเตรียมหัวเชื้อเพียงขั้นตอนเดียว คือ เตรียมในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร และใช้อายุหัวเชื้อ 48 ชั่วโมง ที่ได้จากรายงานของ ศุภชัย สัมบัติปีโต แต่สำหรับการผลิตในถังหมักขนาด 30 ลิตร จะทำการเตรียมหัวเชื้อ 2 ขั้นตอน คือ ขั้นตอนที่ 1 ทำการเตรียมหัวเชื้อตามรายงานของ ศุภชัย สมบัติปีโต และ ขั้นตอนที่ 2 ทำในถังหมักขนาด 5 ลิตร ซึ่งได้ทำการทดลองหาอายุของหัวเชื้อในขั้นตอนนี้ พบว่าอายุหัวเชื้อที่เหมาะสมควรมีอายุประมาณ 24 ชั่วโมง ที่จะนำไปใช้ในการผลิตในถังหมักขนาด 30 ลิตร และจากการผลิตเมื่อใช้ภาวะตามการผลิตในถังหมักขนาด 5 ลิตร พบว่าให้การผลิตกรดจิบเบอเรลลิกที่ต่ำกว่า คือประมาณ 810.57 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ 156 ชั่วโมง ขณะที่ถังหมักขนาด 5 ลิตร ผลิตได้ 933.20 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ 168 ชั่วโมง ซึ่งเมื่อมีการขยายส่วนการผลิตคือทำการผลิตในถังหมักขนาด 30 ลิตร เมื่อใช้ภาวะที่เหมาะสมที่สุดตามการผลิตในถังหมักขนาด 5 ลิตร ไม่สามารถทำให้มีการผลิตเท่ากับการผลิตในถังหมักขนาด 5 ลิตรได้ จึงต้องมีการพิจารณาถึงปัจจัยหรือเกณฑ์ต่างๆที่ใช้ร่วมกับภาวะการผลิตที่ได้จากการผลิตในถังหมักขนาด 5 ลิตร

เนื่องจากการขยายส่วนนั้นมีเกณฑ์ที่นิยมกำหนดให้คงที่ในการขยายส่วนของเครื่องหมักแบบถังกวน ได้แก่ ค่าเรโนลันัมเบอร์ ค่าความเร็วรอบของปลายใบพัด ค่าอัตราส่วนระหว่างกำลังของมอเตอร์ต่อปริมาตรน้ำหมัก ค่าสัมประสิทธิ์ของการถ่ายเทออกซิเจน และ ค่าเวลาที่ใช้ในการกวนผสม แต่สำหรับการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกไม่มีรายงานที่ใช้กำหนดเป็นเกณฑ์ในการขยายส่วน ดังนั้นในงานวิจัยนี้จะทำการผลิตโดยกำหนดเกณฑ์ต่อไปนี้ให้มีค่าคงที่ในถังหมักขนาด 5 และ 30 ลิตรคือ ค่าเรโนลันัมเบอร์ ค่าความเร็วรอบของปลายใบพัด ค่าอัตราส่วนระหว่างกำลังของมอเตอร์ต่อปริมาตรน้ำหมัก และค่าสัมประสิทธิ์ของการถ่ายเทออกซิเจน เมื่อทำการผลิตเมื่อกำหนดให้ค่าเรโนลันัมเบอร์มีค่าเท่ากับถังหมักขนาด 5 ลิตร ไม่สามารถผลิตกรดจิบเบอเรลลิกได้ แต่เมื่อกำหนดให้ค่าความเร็วรอบของปลายใบพัด และค่าอัตราส่วนระหว่างกำลังของมอเตอร์ต่อปริมาตรน้ำหมักของถังหมักขนาด 30 และ 5 ลิตร มีค่าเท่ากัน พบว่าสามารถผลิตกรดจิบเบอเรลลิกได้ประมาณ 407.19 และ 664.32 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ 156 ชั่วโมง ซึ่งน้อยกว่าถังหมักขนาด 5 ลิตร ส่วนการกำหนดให้ค่าสัมประสิทธิ์ของการถ่ายเทออกซิเจนคงที่จะใช้ภาวะการผลิตเหมือนการกำหนดให้ค่าอัตราส่วนระหว่างกำลังของมอเตอร์ต่อปริมาตรน้ำหมักขนาด 30 และ 5 ลิตร มีค่าเท่ากัน ซึ่งจากการกำหนดให้เกณฑ์การขยายส่วนต่างๆคงที่ไม่สามารถกำหนดเป็นเกณฑ์ที่ใช้ในการขยายส่วนการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกได้

เมื่อพิจารณาการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกในถังหมัก 30 ลิตร ที่กำหนดให้ค่าเรโนลันัมเบอร์มีค่าเท่ากับถังหมักขนาด 5 ลิตร ไม่สามารถผลิตกรดจิบเบอเรลลิกได้ ซึ่งในภาวะนี้ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักลดลงจนเป็น 0 % เป็นช่วงเวลานาน คือตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12-60 ส่วนภาวะอื่นๆ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักต่ำสุดมีค่าสูงกว่า 0 % และสูงกว่าในถังหมักขนาด 5 ลิตร สามารถผลิตกรดจิบเบอเรลลิกได้ แต่ยังคงน้อยกว่าการผลิตในถังหมักขนาด 5 ลิตร ซึ่งถังหมักขนาด 5 ลิตร มีปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักต่ำสุดประมาณ 8 % ในชั่วโมงที่ 24 แสดงว่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักมีผลต่อการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก เนื่องจากปริมาณน้ำตาล โดยเฉพาะน้ำตาลกลูโคสสามารถถูกเปลี่ยนเป็น ไพรูเวท ในวิถีไกลคอลลีซิส และ ไพรูเวท จะถูกเปลี่ยนเป็น อะเซทิลโค เอ เมื่ออยู่ในภาวะที่มีออกซิเจน และจะถูกเปลี่ยนเป็นสารอื่น ได้แก่ แลคเตท(มนตรี จุฬาวัดนทล และคณะ 2530)เมื่อขาดออกซิเจน และจากการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกพบว่า อะเซทิลโค เอ เป็นสารตั้งต้นที่สำคัญสำหรับการผลิต ดังนั้นเมื่ออยู่ในภาวะที่ขาดอากาศอาจทำให้มีการสร้าง อะเซทิลโค เอ ได้น้อยไม่เพียงพอสำหรับการผลิตกรดจิบเบอเรลลิก แต่เมื่ออยู่ในภาวะที่มีออกซิเจนความต้องการออกซิเจนจะอยู่ในระดับหนึ่ง ซึ่งจากการผลิตในถังหมักขนาด 5 ลิตร ระดับปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักที่เหมาะสมต่อการผลิตอาจต้องรักษาไว้ที่ระดับ 8 % ของปริมาณออกซิเจนที่ละลายได้อิ่มตัว เนื่องจากเมื่อทำการหมักต่อหลังจากปริมาณออกซิเจนได้ลดลง พบว่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักจะสูงขึ้นจนสิ้นสุดการหมัก ดังนั้นจะทำการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกในถังหมักขนาด 30 ลิตร โดยจะควบคุมปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักให้มีค่าสูงกว่า 8 % เล็กน้อย คือประมาณ 10 % ตลอดการหมัก หลังจากทำการเลี้ยงเป็นเวลา 24 ชั่วโมงเพื่อให้เหมือนกับการหมักในถังหมักขนาด 5 ลิตร

การผลิตกรดจิบเบอเรลลิกในถังหมักขนาด 30 ลิตร ที่มีการควบคุมปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักเป็น 10 % จะใช้ภาวะการหมักเช่นเดียวกับการหมักในถังหมักขนาด 5 ลิตร คือ ทำการเลี้ยงที่ 25 องศาเซลเซียส กำหนดให้อัตราการกวนเริ่มต้นเท่ากับ 600 รอบต่อนาที และ อัตราการให้อากาศเริ่มต้นเท่ากับ 1 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อนาที เมื่อทำการเลี้ยงครบ 24 ชั่วโมง ทำการควบคุมปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักเป็น 10 % ตลอดการทดลอง โดยควบคุมอัตราการกวน และอัตราการให้อากาศเป็นแบบอัตโนมัติตามระบบการควบคุมของตัวควบคุมที่ใช้ในถังหมักขนาด 30 ลิตร สามารถผลิตกรดจิบเบอเรลลิกได้สูงกว่าในถังหมักขนาด 5 ลิตร คือประมาณ 1162.37 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ 156 ชั่วโมง แต่การผลิตในชั่วโมงที่ 144 ของการหมัก ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักลดลงเป็น 0 % ทำให้ระบบการควบคุมพยายามรักษาระดับของออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมัก เป็นผลให้อัตราการกวน และอัตราการให้อากาศเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งภาวะนี้อยู่ในสภาพที่รุนแรงและอาจเป็นอันตรายต่อเครื่องหมักได้ จึงทำการปรับภาวะการหมักโดยลดอัตราการกวนเริ่มต้นลงจาก 600 รอบต่อนาที เป็น 400 รอบต่อนาที เนื่องจากที่อัตราการกวนระดับนี้ได้จากการกำหนดให้ค่าความเร็วรอบของปลายใบพัด ของถังหมักขนาด 30 และ 5 ลิตร มีค่าเท่ากัน และเป็นภาวะที่มี

การผลิตกรดจิบเบอเรลลินได้ และกำหนดให้มีอัตราการให้อากาศเป็น 1 และ 1.5 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อหน้าที่ ทำการเลี้ยงที่ 25 องศาเซลเซียส เมื่อทำการเลี้ยงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จึงทำควบคุมปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักเป็น 10 % ตลอดการหมัก พบว่าสามารถผลิตกรดจิบเบอเรลลินได้ทั้ง 2 ภาวะ คือ 981.20 และ 1118.80 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ 156 ชั่วโมง ในการหมักที่กำหนดอัตราการให้อากาศ 1 และ 1.5 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อหน้าที่ ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าการหมักในถังหมักขนาด 5 ลิตร จากภาวะการควบคุมอัตราการให้อากาศ 1.5 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อหน้าที่ สามารถผลิตกรดจิบเบอเรลลินได้ สูงกว่า จึงจะใช้ภาวะนี้ในการผลิตเมื่อมีการขยายส่วนขึ้นเป็น 300 ลิตร

ส่วนที่สามารถผลิตกรดจิบเบอเรลลินในถังหมักขนาด 300 ลิตร จะทำการเตรียมหัวเชื้อเพิ่มขึ้นอีกขั้นตอนหนึ่ง คือเตรียมในถังหมักขนาด 30 ลิตร จึงทำการหาอายุหัวเชื้อในถังหมักขนาด 30 ลิตร พบว่าอายุที่เหมาะสมคือ 12 ชั่วโมง ที่ใช้สำหรับการผลิตกรดจิบเบอเรลลินในถังหมักขนาด 300 ลิตร และเมื่อทำการผลิตกรดจิบเบอเรลลินในถังหมักขนาด 300 ลิตร โดยเลี้ยงเชื้อที่ 25 องศาเซลเซียส อัตราการให้อากาศ 1.5 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อหน้าที่ อัตราการกวนเริ่มต้น 250 รอบต่อนาที จากการกำหนดให้ค่าความเร็วรอบของปลายใบพัด ของถังหมักขนาด 300 และ 5 ลิตร มีค่าเท่ากัน เมื่อทำการเลี้ยงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการควบคุมปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักเป็น 10 % ตลอดการทดลอง พบว่าเมื่อทำการเลี้ยงเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักลดลงเป็น 2 % จึงทำการควบคุมปริมาณออกซิเจนก่อนถึงเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งการควบคุมในช่วงนี้ไม่สามารถควบคุมได้ ซึ่งค่าความผิดพลาดที่เกิดขึ้นประมาณ 0-20 % ซึ่งการผลิตกรดจิบเบอเรลลินในภาวะนี้ผลิตได้น้อยกว่าในถังหมักขนาด 5 และ 30 ลิตร คือประมาณ 587.31 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ 168 ชั่วโมง

เมื่อทำการปรับปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักเป็น 20 % โดยใช้ภาวะการหมักเดิมสามารถผลิตกรดจิบเบอเรลลินได้ประมาณ 1299.19 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ 168 ชั่วโมง ซึ่งอยู่ในระดับที่ใกล้เคียงกับการหมักในถังหมักขนาด 5 และ 30 ลิตร และมีค่าทางจลนพลศาสตร์ต่างๆ ได้แก่ ค่าอัตราการเจริญจำเพาะเท่ากับ $0.016 \text{ ชั่วโมง}^{-1}$ อัตราการใช้น้ำตาลเท่ากับ $0.61 \text{ กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง}$ อัตราการใช้น้ำตาลจำเพาะเท่ากับ $0.018 \text{ ชั่วโมง}^{-1}$ อัตราการเกิดเซลล์($Y_{x/s}$)เท่ากับ $0.41 \text{ กรัมเซลล์ต่อกรัมน้ำตาล}$ อัตราการเกิดผลผลิต($Y_{p/s}$)เท่ากับ $15.96 \text{ มิลลิกรัมGA}_3 \text{ ต่อกรัมน้ำตาล}$ อัตราการเกิดผลผลิตจำเพาะเท่ากับ $0.00029 \text{ ชั่วโมง}^{-1}$ อัตราการผลิตเท่ากับ $7.73 \text{ มิลลิกรัมGA}_3 \text{ ต่อลิตรต่อชั่วโมง}$

ดังนั้นการขยายส่วนการผลิตกรดจิบเบอเรลลิน โดยเชื้อ *G. fujikuroi* N9-34 ที่ 25 องศาเซลเซียส จะทำการกำหนดให้ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักเป็นเกณฑ์ที่สำคัญสำหรับการขยายส่วน และทำการผลิตร่วมกับการกำหนดให้ค่าความเร็วรอบของปลายใบพัดมีค่าเท่ากับถังหมักขนาด 5 ลิตร มีอัตราการให้อากาศเป็น 1.5 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรน้ำหมักต่อหน้าที่ โดยปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักเมื่อทำการขยายส่วนขึ้นเป็น 30 และ

300 ลิตร มีค่าประมาณ 10 และ 20 % ของปริมาณออกซิเจนที่ละลายได้อิมตัว ตามลำดับ และ อัตราการกวนเริ่มต้นที่ได้จากการกำหนดให้ค่าความเร็วรอบของปลายใบพัดมีค่าเท่ากับการหมักในถังหมักขนาด 5 ลิตร ในถังหมักขนาด 30 และ 300 ลิตร เท่ากับ 400 และ 250 รอบต่อนาที ตามลำดับ สำหรับการผลิตในระดับที่ใหญ่ขึ้น ยังต้องมีการศึกษาถึงปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักที่เหมาะสมในแต่ละขนาดของถังหมัก และต้องควรระวังปัญหาที่เกิดขึ้นกับค่าของตัววัดปริมาณออกซิเจนที่อ่านได้เนื่องจากการกระจายของอากาศและน้ำหมักไม่สมบูรณ์ในช่วงที่เชื่อมีการเจริญสูงและทำให้เกิดความหนืดได้มาก ซึ่งจากการวิจัยนี้ทำให้ได้เกณฑ์และตัวแปรที่สำคัญที่จะใช้เป็นแนวทางในการพิจารณาในการผลิตกรดจิบเบอเรลลิกในระดับอุตสาหกรรมที่ใช้การหมักแบบถังกวนต่อไป