บทที่ 6
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

6.1 สรุปผลการทดลอง

1. ภาวะที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยง *Bacillus circulans* ATCC 9995 เพื่อผลิตเอนไซม์ CGTase สามารถสรุปได้ดังนี้

1.1 เชื้อ *Bacillus circulans* ATCC 9995 มีการเจริญเติบโตและผลิตเอนไซม์ได้ดีเมื่อทำการเพาะเลี้ยงแบบไม่ควบคุมพีเอช

1.2 ความเข้มข้นของแคลเซียมคาร์บอเนตในอาหารเลี้ยงเชื้อ และ ความเร็วรอบในการกวนภายในถังปฏิกรณ์ที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์ CGTase คือ 0.5 % น้ำหนักโดยปริมาตร และ 400 rpm ตามลำดับ

2. การผลิต CGTase ในถังปฏิกรณ์ควรใช้ความเข้มข้นของแป้งเริ่มต้น และ ความเร็วรอบไม่เกิน 8.2 กรัมต่อลิตร และ 400 rpm ตามลำดับ เพื่อไม่ให้เกิดปัญหาในแง่ของการถ่ายเทมวลสารในถังปฏิกรณ์ และการเสื่อมสภาพของ CGTase อันเนื่องมาจากแรงเฉือนจากใบพัดกวน

3. แบบจำลองคณิตศาสตร์ของ Moser เป็นแบบจำลองที่มีความสอดคล้องในการอธิบายจลนพลศาสตร์การเจริญเติบโตของ *B. circulans* ATCC 9995 ในช่วงความเข้มข้นของแป้งเริ่มต้นเท่ากับ 1.46 ถึง 8.2 กรัมต่อลิตร โดยค่าพารามิเตอร์ของแบบจำลอง ได้แก่ อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) เท่ากับ 0.32 ต่อชม. ค่าคงที่ของ Moser (K_h) เท่ากับ 1.98 กรัมต่อลิตร และ ค่าคงที่ n เท่ากับ 2 ส่วนค่าผลได้ของเซลล์จากสารอาหารเพื่อการเจริญเติบโตเฉลี่ย ($Y_{X/S,G,avg}$) ค่าผลได้ของผลิตภัณฑ์จากเซลล์เฉลี่ย ($Y_{P/X,avg}$) ค่าอัตราการใช้สารอาหารเพื่อการดำรงชีวิตเฉลี่ย ($m_{S,avg}$) และ ค่าคงที่ของการสร้างผลิตภัณฑ์ในกรณีที่ไม่สัมพันธ์กับการเจริญเติบโตเฉลี่ย (b_{avg}) มีค่าเท่ากับ 0.67 กรัมเซลล์ต่อกรัมแป้ง, 555.97 ยูนิตต่อกรัมเซลล์, 0.005 กรัมแป้งต่อกรัมเซลล์·ชม. และ 3.66 ยูนิตต่อกรัมเซลล์·ชม. ตามลำดับ

4. จากการนำแบบจำลองของ Moser มาทดสอบการทำนายการเปลี่ยนแปลงปริมาณเซลล์ ปริมาณแป้งที่เหลือ และ กิจกรรมของ CGTase ตามเวลา พบว่าแบบจำลองใช้ทำนายได้ดีในช่วงความเข้มข้นของแป้ง 6.57 ถึง 11.33 กรัมต่อลิตร และแบบจำลองจะใช้ทำนายได้ดีขึ้นเมื่อใช้ค่าพารามิเตอร์ทางจลนพลศาสตร์ของแต่ละการทดลองมาใช้ในอธิบายการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นต่างๆ ร่วมกับแบบจำลอง

5. เมื่อนำแบบจำลอง Moser มาใช้กับการออกแบบการผลิต CGTase แบบต่อเนื่อง พบว่าอัตราการเจือจาง 0.24 ต่อชม. ที่ความเข้มข้นของแป้งในกระแสป้อน 8.2 กรัมต่อลิตร เป็นค่าที่

ให้อัตราการผลิตเซลล์ และ ผลิตภัณฑ์ สูงสุด มีค่าเท่ากับ 0.71 กรัมต่อลิตร·ชม. และ 327.17 ยูนิตต่อลิตร·ชม. ซึ่งมีค่ามากกว่าอัตราการผลิตแบบไม่ต่อเนื่องถึง 3 เท่า

6.2 ข้อเสนอแนะ

1. อาหารเลี้ยงเชื้อในงานวิจัยนี้ใช้แหล่งไนโตรเจน คือ corn steep liquor (CSL) จากบริษัท SIGMA CHEMICAL ซึ่งมีราคาแพงมาก ควรหาแหล่งไนโตรเจนและเกลือแร่อื่นซึ่งมีราคาถูกมาทดแทน หรือใช้ CSL ซึ่งได้จากโรงงานผลิตแป้งข้าวโพดในประเทศไทยเนื่องจาก CSL เป็นผลิตผลพลอยได้จากกระบวนการผลิตแป้งข้าวโพด ซึ่งได้จากขั้นตอนการนำข้าวโพดมาแช่น้ำ (steeping) เพื่อสกัดโปรตีนออกจากเมล็ดข้าวโพด ดังนั้นน้ำแช่ข้าวโพด (corn steep liquor) จึงมีโปรตีนและเกลือแร่สูง เมื่อนำไปต้มระเหยน้ำออกก็จะสามารถใช้เป็นแหล่งอาหารได้ [กล้าณรงค์ ศรีรอต และ เกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ, 2543] เพื่อเป็นการลดต้นทุนในการผลิตและเป็นการใช้วัตถุดิบที่เหลือใช้ให้เป็นประโยชน์

2. จากการทดลองพบว่าเกิดฟองมากในขณะเพาะเลี้ยงซึ่งอาจเกิดจาก CSL เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีรายงานว่าทำให้เกิดฟองมาก จากงานวิจัยของ อรุณี ตรีศิริโรจน์,2537 พบว่าการใช้ CSL 5%(w/v) ในการเพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์แบบไม่ต่อเนื่องจะทำให้มีฟองมาก แต่ถ้าลดปริมาณลงเหลือ 3% จะมีผลต่อการผลิตเอนไซม์ของเชื้อ *Bacillus circulans* ATCC 9995 ทำให้ได้กิจกรรมของเอนไซม์ลดลง ดังนั้นจึงควรเลือกใช้ CSL ในปริมาณที่เหมาะสมหรือใช้แหล่งไนโตรเจนอื่นๆ ที่ไม่ทำให้เกิดฟองขณะเพาะเลี้ยงมากและให้กิจกรรมของ CGTase สูง

3. ควรทำการศึกษาเพิ่มเติมเรื่องปริมาณออกซิเจนละลาย (DO.) ภายในถังปฏิกรณ์เนื่องจากออกซิเจนเป็นปัจจัยที่สำคัญในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และการถ่ายเทมวลของออกซิเจนในถังปฏิกรณ์เป็นพารามิเตอร์สำคัญใช้ในการออกแบบขยายขนาดถังปฏิกรณ์ (scale up) เมื่อต้องการขยายขนาดการผลิตผลิตภัณฑ์

4. ควรทำการทดลองผลิต CGTase แบบต่อเนื่อง ที่อัตราการเจือจาง เท่ากับ 0.24 ต่อ ชม. เนื่องจากการวิเคราะห์ผลการทดลองในหัวข้อ 5.6 พบว่าจะให้อัตราการผลิตสูงกว่าแบบไม่ต่อเนื่องถึง 3 เท่า