

บทที่ 2

ทฤษฎี

2.1 สมบัติของแป้งมันสำปะหลัง

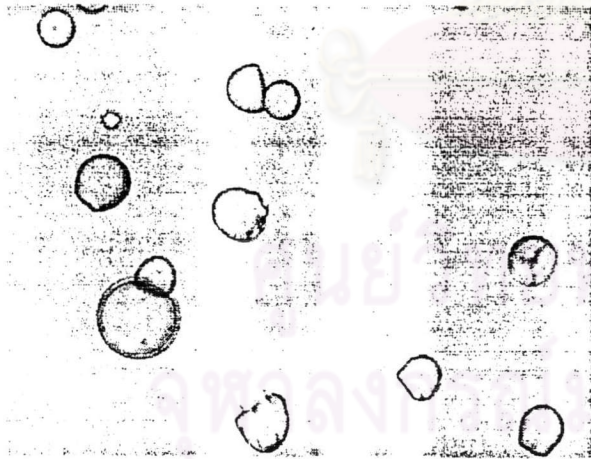
แป้งเป็นคาร์โบไฮเดรตที่ประกอบด้วยคาร์บอน ไฮโดรเจน และ ออกซิเจน ในอัตราส่วน 6 : 10 : 5 มีสูตรเคมีโดยทั่วไป คือ $(C_6 H_{10} O_5)_n$ แป้งเป็นพอลิเมอร์ของกลูโคสซึ่งประกอบด้วย anhydroglucose unit เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ glucosidic linkage ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 1 ทางด้านตอนปลายของสายพอลิเมอร์มีหน่วยกลูโคสที่มีหมู่แอลดีไฮด์ (aldehyde group) เรียกว่า reducing end group แป้งประกอบด้วยพอลิเมอร์ของกลูโคส 2 ชนิด คือ พอลิเมอร์เชิงเส้น (อะมิโลส) และพอลิเมอร์เชิงกิ่ง (อะมิโลเพกทิน) วางตัวในแนวระนาบ แป้งจากแหล่งที่ต่างกันจะมีอัตราส่วนของอะมิโลสและอะมิโลเพกทินแตกต่างกันดังตารางที่ 2.1 ทำให้คุณสมบัติของแป้งแต่ละชนิดแตกต่างกัน อะมิโลเพกทินถือว่ามีความสำคัญมากกว่าอะมิโลส ทั้งด้านโครงสร้าง หน้าที่ และการนำไปใช้ เมื่อมีอะมิโลเพกทินเพียงอย่างเดียวสามารถรวมตัวเพื่อสร้างเม็ดแป้งได้ ปริมาณของอะมิโลสและอะมิโลเพกทินที่แตกต่างกันทำให้สมบัติของแป้งแตกต่างกัน สำหรับแป้งมันสำปะหลังจะมีปริมาณอะมิโลส 21% และ อะมิโลเพกทิน 79% น้ำหนักแห้ง [Swinkels, 1985 อ้างถึงใน กล้าณรงค์ ศรีรอด และ เกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ, 2543] ส่วนประกอบอื่นๆภายในแป้งมันสำปะหลัง ได้แก่ ความชื้น 13% (65% RH, 20°C) ไขมัน 0.1% โปรตีน 0.1% เถ้า 0.2% และ ฟอสฟอรัส 0.01% [Swinkels, 1985 อ้างถึงใน กล้าณรงค์ ศรีรอด และ เกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ, 2543]

2.1.1 โครงสร้างและการรวมตัวเป็นเม็ดแป้ง

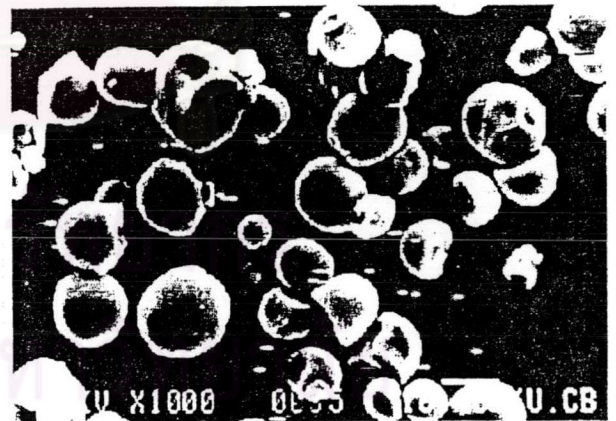
แป้งที่พบในธรรมชาติจะพบอยู่ในรูปเม็ดแป้ง (granule) ขนาดเล็ก เม็ดแป้งมีโครงสร้างเป็นแบบกึ่งผลึก (semi-crystalline) โดยโมเลกุลของอะมิโลสและอะมิโลเพกทินจะจัดเรียงตัวในเม็ดแป้งเป็นโครงสร้างทั้งส่วนที่เป็นผลึก (crystalline) และส่วนอสัณฐาน (amorphous) หรือ gel phase สำหรับลักษณะของเม็ดแป้งมันสำปะหลังเมื่อตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา และกล้อง Scanning Electron Microscope แสดงดัง รูปที่ 2.1 เม็ดแป้งมันสำปะหลังมีขนาดปานกลาง (5-35 μm) รูปร่างกลม คล้ายไข่ที่มีรอยตัด เส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยโดยน้ำหนักเท่ากับ 25 ไมครอน เม็ดแป้งจะมีคุณสมบัติทำให้เกิดการบิดระนาบโพลาไรซ์ หรือเรียกอีกอย่างหนึ่งว่ามีโครงสร้างแบบ birefringence ดังรูปที่ 2.2

ตารางที่ 2.1 สมบัติที่สำคัญของอะมิโลสและอะมิโลเพกทิน [Beynum และ Roles, 1985
อ้างถึงใน กล้าณรงค์ ศรีรอด และ เกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ, 2543]

คุณสมบัติ	อะมิโลส	อะมิโลเพกทิน
ลักษณะโครงสร้าง	สารประกอบของน้ำตาลกลูโคส เกาะกันเป็นเส้นตรง	สารประกอบของน้ำตาลกลูโคส เกาะกันเป็นกิ่งก้าน
พันธะที่จับ	α -1,4	α -1,4 และ α -1,6
ขนาด	200 – 2,000 หน่วยกลูโคส	มากกว่า 10,000 หน่วยกลูโคส
การละลาย	ละลายน้ำได้น้อยกว่า	ละลายน้ำได้ดีกว่า
การทำปฏิกิริยากับไอโอดีน	สีน้ำเงิน	สีแดงม่วง
การจับตัว	เมื่อให้ความร้อนแล้วทิ้งไว้จะจับ ตัวเป็นก้อนและแผ่นแข็ง	ไม่จับตัวเป็นแผ่นแข็ง

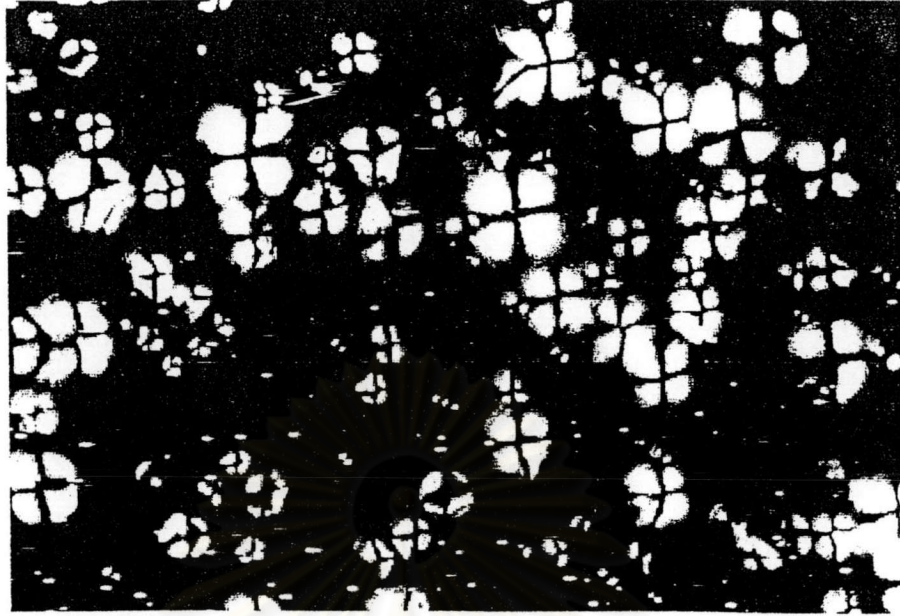


(ก)

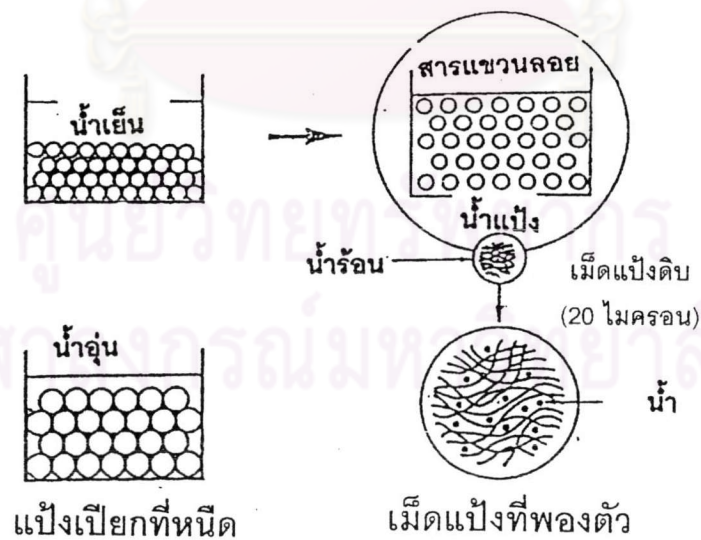


(ข)

รูปที่ 2.1 ขนาดและรูปร่างของเม็ดแป้งมันสำปะหลัง (ก) เมื่อส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ (กำลังขยาย 40 เท่า) (ข) เมื่อส่องด้วย Scanning Electron Microscope (กำลังขยาย 1,000 เท่า) [กล้าณรงค์ ศรีรอด และ เกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ, 2543]



รูปที่ 2.2 ลักษณะการเกิด birefringence ของเม็ดแป้งมันสำปะหลัง



รูปที่ 2.3 การเปลี่ยนแปลงของเม็ดแป้งในระหว่างการหุงต้ม [Sanders, 1996 อ้างถึงใน กล้าณรงค์ ศรีรอด และ เกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ, 2543]

2.1.2 สมบัติของแป้ง

1) การดูดซับ การพองตัว และการละลาย

แป้งดิบจะไม่ละลายในน้ำที่มีอุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิเจลาติไนซ์เนื่องจากมีพันธะไฮโดรเจนซึ่งเกิดจากหมู่ไฮดรอกซิลของโมเลกุลแป้งที่อยู่ใกล้ ๆ กัน หรือ water bridges แต่เมื่ออุณหภูมิของสารผสมน้ำแป้งเพิ่มสูงกว่าช่วงอุณหภูมิในการเกิดเจลาติไนซ์ พันธะไฮโดรเจนจะถูกทำลาย โมเลกุลของน้ำจะเข้ามาจับกับหมู่ไฮดรอกซิลที่เป็นอิสระ เม็ดแป้งเกิดการพองตัว ทำให้การละลาย ความหนืดและความใสเพิ่มขึ้น สมบัติของการเกิด birefringence จะหมดไป ปัจจัยที่มีผลต่อการพองตัวและความสามารถในการละลายคือ ชนิดของแป้ง ความแข็งแรงและลักษณะของร่างแหภายในเม็ดแป้ง สิ่งเจือปนภายในเม็ดแป้งที่ไม่ใช่คาร์โบไฮเดรต ปริมาณน้ำในสารละลายแป้ง และการตัดแปรงแป้งทางเคมี รูปแบบในการพองตัวและการละลายของเม็ดแป้งแต่ละชนิดจะมีรูปแบบที่แตกต่างกันไป

เมื่อให้ความร้อนแก่สารละลายน้ำแป้ง เม็ดแป้งจะเกิดการพองตัวและบางส่วนของแป้งจะละลายออกมา กำลังการพองตัวของแป้งจะแสดงเป็นปริมาตรหรือน้ำหนักของเม็ดแป้งที่เพิ่มขึ้นมากที่สุดเมื่อแป้งพองตัวได้อย่างอิสระในน้ำ สำหรับความสามารถในการละลายจะแสดงเป็นน้ำหนักของแข็งทั้งหมดในสารละลายที่สามารถละลายได้ ซึ่งคุณสมบัติทั้งสองนี้มีความสัมพันธ์กัน โดยแป้งจากส่วนรากหรือ pith เช่นแป้งมันสำปะหลัง มีการพองตัวเพียงชั้นเดียว กำลังการพองตัวและการละลายมีค่าสูงกว่าแป้งจากธัญพืช เนื่องจากมีจำนวนพันธะน้อยกว่า โดยสมบัติการพองตัวและความสามารถในการละลายของแป้งมันสำปะหลังที่ 95 °C เท่ากับ 71% และ 48% [Leach และ คณะ, 1959] นอกจากนี้สมบัติการพองตัวและการละลายของแป้งจะเปลี่ยนไปเมื่อมีการตัดแปรงทางเคมี หรือ การตัดแปรงด้วยกรด หรือ แรงทางกล ทำให้เกิดการแตกออกของพันธะภายในร่างแหส่งผลให้เม็ดแป้งแตกออกเป็นชิ้นเล็กๆ การละลายและการพองตัวสูงขึ้น ปริมาณน้ำที่มีอยู่ในสภาวะที่เกิดการพองตัวมีผลต่อการพองตัวและการละลายของแป้งเช่นกัน โดยสารละลายที่มีปริมาณแป้งต่ำกว่า 20% ค่าการละลายจะสูงกว่าเมื่อมีแป้งสูงกว่า 20% การพองตัวอย่างอิสระและการละลายที่สูงขึ้นจะถูกยับยั้งในสภาพที่สารละลายมีปริมาณน้ำน้อย

2) ความหนืด และการเกิดเจลาติไนเซชัน (gelatinization)

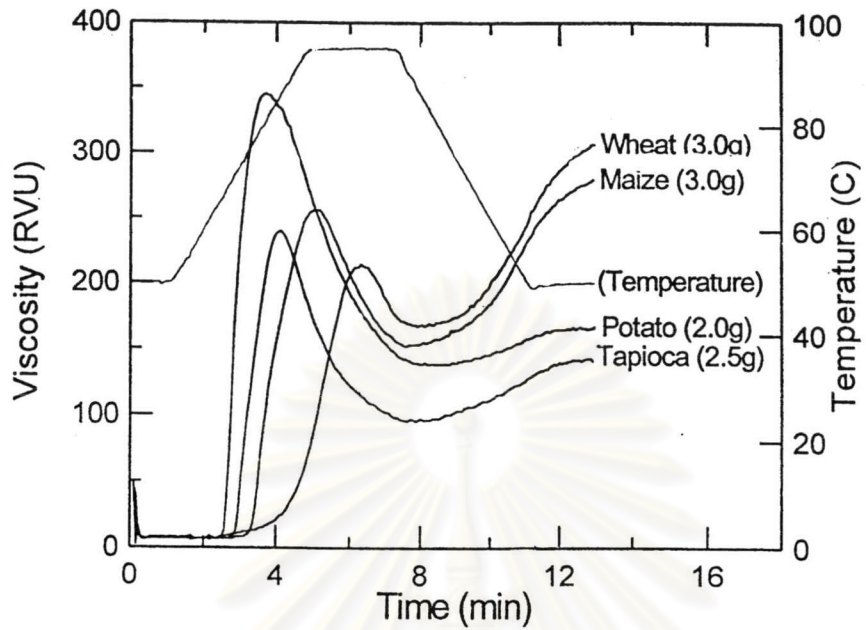
ความหนืดเป็นสมบัติสำคัญเฉพาะตัวที่สำคัญของแป้ง เกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อความหนืดของแป้ง ได้แก่ ชนิดของแป้งและการตัดแปรงแป้งด้วยวิธีต่างๆ

โมเลกุลของแป้งประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxy group) จำนวนมาก ยึดเกาะกันด้วยพันธะไฮโดรเจน มีสมบัติชอบน้ำ (hydrophilic) แต่เนื่องจากเม็ดแป้งอยู่ในรูปของร่างแห micelles ดังนั้นการจัดเรียงตัวลักษณะนี้จะทำให้เม็ดแป้งละลายในน้ำเย็นได้ยาก แต่เมื่อ

ให้ความร้อนกับสารละลายแป้งพันธะไฮโดรเจนจะคลายตัวลงเม็ดแป้งจะดูดน้ำแล้วพองตัว ดังแสดงในรูปที่ 2.3 ส่วนผสมของแป้งจะมีความหนืดมากขึ้นและใสขึ้น เนื่องจากโมเลกุลของน้ำอิสระที่เหลืออยู่รอบๆ เม็ดแป้งเหลือน้อยลง เม็ดแป้งเคลื่อนไหวได้ยากขึ้นทำให้เกิดความหนืดปรากฏการณ์นี้เรียกว่า เจลาติไนเซชัน (gelatinization) อุณหภูมิที่สารละลายเริ่มเกิดความหนืดเรียกว่า อุณหภูมิเริ่มเจลาติไนซ์ เมื่อตรวจวัดโดยเครื่องมือวัดความหนืด มักจะเรียกจุดนี้ว่า อุณหภูมิที่เริ่มเปลี่ยนแปลงความหนืด (pasting temperature) หรือเวลาที่เริ่มเปลี่ยนแปลงความหนืด (pasting time) การเกิดเจลาติไนซ์ไม่ได้เกิดเฉพาะอุณหภูมิใดอุณหภูมิหนึ่ง แต่เกิดเป็นช่วงอุณหภูมิประมาณ 8 – 12°C [Schoch Maynard , 1968 อ้างถึงใน กล้าณรงค์ ศรีรอด และ เกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ, 2543]

แป้งแต่ละชนิดจะมีสมบัติความหนืดและช่วงอุณหภูมิที่เกิดเจลาติไนซ์แตกต่างกันออกไป ขนาดของเม็ดแป้ง ปริมาณอะมิโลส ก็มีผลสำคัญต่อความหนืด กล่าวคือเม็ดแป้งขนาดใหญ่ ย่อมมีกำลังการพองตัวสูงและให้ความหนืดของ peak viscosity สูง และอะมิโลสมีผลต่อการเกิดรีโทรเกรดชัน (retrogradation) ซึ่งเป็นปรากฏการณ์ที่เกิดเมื่อแป้งได้รับความร้อนจนถึงอุณหภูมิเจลาติไนซ์แล้วให้ความร้อนต่อไป จะทำให้เม็ดแป้งพองตัวเพิ่มขึ้นและแตกออก โมเลกุลของอะมิโลสขนาดเล็กจะกระจัดกระจายออกมาทำให้ความหนืดลดลง เมื่อปล่อยให้เย็นตัวโมเลกุลอะมิโลสที่อยู่ใกล้กันจะเกิดการจับเรียงตัวใหม่ด้วยพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุล เกิดเป็นร่างแหสามมิติโครงสร้างใหม่ที่สามารรถุ้มน้ำและไม่มีการดูดน้ำเข้ามาอีก มีความหนืดคงตัวมากขึ้น เกิดลักษณะเจลเหนียว คล้ายฟิล์มหรือผลึก แป้งที่มีอะมิโลสสูงจะเกิดการคืนตัวได้มาก และเร็วกว่าแป้งที่มีปริมาณอะมิโลเพกทินสูง ดังนั้นแป้งที่มีอะมิโลสสูงย่อมแสดงค่าความหนืดสุดท้าย (final viscosity) สูงด้วยเช่นกัน สำหรับปัจจัยภายนอกคือ ถ้ามีการให้ความร้อนสูงหรือมีการให้แรงกลมากจะทำให้เม็ดแป้งแตกและความหนืด (peak viscosity) ลดลง แป้งจากพืชหัว เช่น แป้งมันสำปะหลัง แป้งมันฝรั่งจะมีอุณหภูมิเจลาติไนซ์ต่ำกว่าและมีความหนืดสูงกว่าแป้งจากธัญพืช โดยการเปลี่ยนแปลงความหนืดของแป้งชนิดต่างแสดงดังรูปที่ 2.4

แป้งมันสำปะหลังมีความหนืดสูงรองลงมาจากแป้งมันฝรั่ง โดยมี brabender peak viscosity เท่ากับ 1200 BU (ที่ความเข้มข้นของแป้ง 8%) ซึ่งเป็นวิธีวัดความหนืดของแป้ง โดยใช้เครื่อง Brabender amylograph ได้หน่วยความหนืดเป็น Brabender Unit (BU) สามารถเปลี่ยนเป็น centipoise ได้โดยเทียบความหนืดของสารละลายแป้งสุก 5% ความหนืด 500 BU เท่ากับ 2,700 centipoise และอุณหภูมิที่เกิดการเจลาติไนซ์คือ 60-72°C



รูปที่ 2.4 การเปลี่ยนแปลงความหนืดของแป้งชนิดต่างๆ [Newport Scientific, Ltd., 1996 อ้างถึงใน กล้าณรงค์ ศรีรอด และ เกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ, 2543]

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

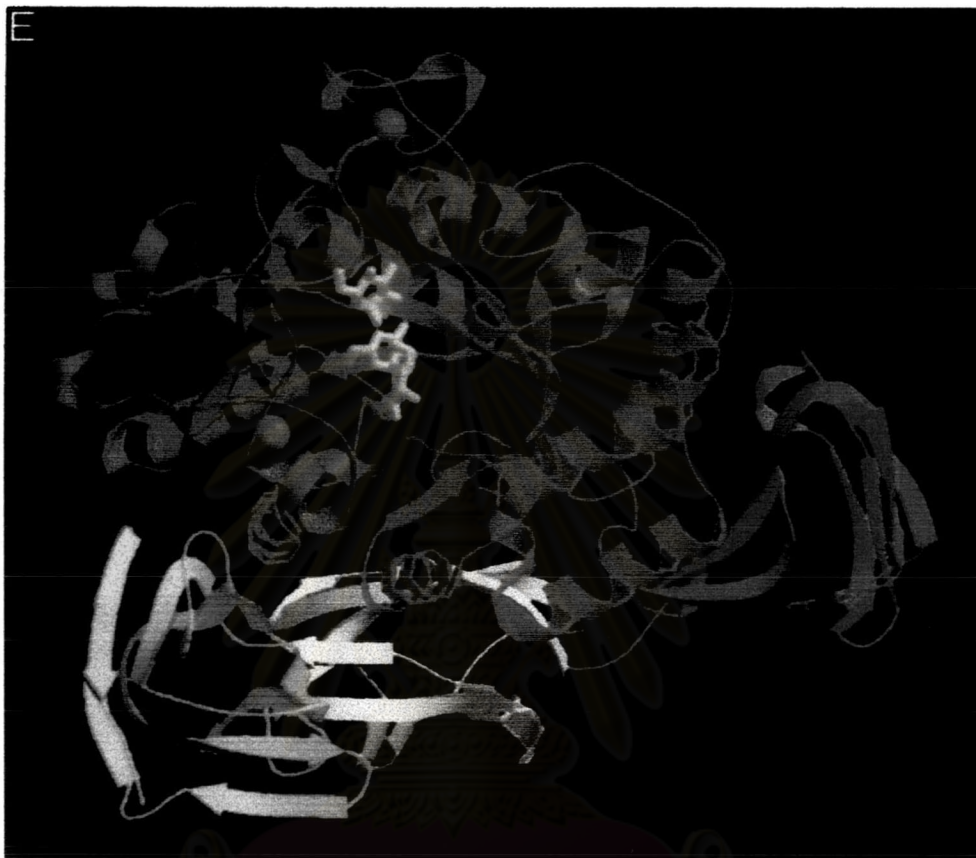
2.2 ลักษณะของเอนไซม์ไซโคลเดกซ์ทรินไกลโคซิลทรานสเฟอเรส

เอนไซม์ไซโคลเดกซ์ทรินไกลโคซิลทรานสเฟอเรส (cyclodextrin glycosyltransferase, CGTase, E.C.2.4.1.19) เป็นเอนไซม์ในตระกูล α -amylase ซึ่งอยู่ในกลุ่ม glycosyl hydrolases และเป็นเอนไซม์ที่ย่อยแป้ง (starch degrading enzyme) กลุ่มสำคัญ ลักษณะที่โดดเด่นของ CGTase คือจะเร่งปฏิกิริยา transglycosylation เป็นหลัก และย่อยแป้งเป็นกิจกรรมรองลงมา [van der Veen และ คณะ, 2000] จากลักษณะเด่นนี้ทำให้ CGTase เป็นเอนไซม์เพียงชนิดเดียวที่มีความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาเปลี่ยนแป้งเป็นไซโคลเดกซ์ทริน (CDs)

2.2.1 โครงสร้างของ CGTase

จากการศึกษา x ray crystallographic structures ของโปรตีน CGTase เมื่อนำมาสร้าง Ribbon model ได้ดังแสดงในรูปที่ 2.5 โดย domain A, B และ C เป็นส่วนประกอบของเอนไซม์พวก α -amylase ทุกชนิด ในขณะที่ domain D และ E จะพบเฉพาะในเอนไซม์ เช่น CGTase โดย domain A (TIM-barrel) เป็นแกน (core) ของโมเลกุลประกอบด้วยสาม active site residues Asp 231, Glu 261 และ Asp 328 domain B และ C ตั้งอยู่ส่วนตรงข้ามกับ domain A โดย domain B มีโครงสร้าง β -rich ที่ค่อนข้างไม่เรียบและมีความแตกต่างในขนาดและโครงสร้างอย่างมากระหว่าง α -amylases domain B จะสร้างส่วนของบริเวณที่จับสารตั้งต้น (substrate binding cleft) ขนาดใหญ่ ในขณะที่ domain C ประกอบด้วย C-terminal และเป็น β -sandwich domain ซึ่งประกอบด้วย Greek key motif ส่วน domain D และ E เป็น β -sheet domain ต่อจาก domain C เชื่อว่าเป็นส่วนสำคัญสำหรับจับเม็ดแป้ง (granular starch) และ domain สุดท้าย (E) อาจประกอบด้วย amino acid residue ซึ่งเป็นส่วนสำคัญสำหรับนำสารตั้งต้นขนาดใหญ่ไปสู่ active site

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

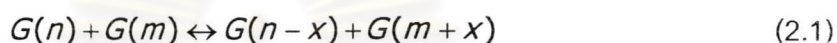


รูปที่ 2.5 การจัดเรียงโครงสร้าง domain ของเอนไซม์ CGTase จากเชื้อ *B. circulans* ขณะจับกับ maltotriose ใน active site; domain A แสดงด้วยสีเขียว, domain B แสดงด้วยสีแดงอมชมพู, domain C แสดงด้วยสีฟ้า, domain D แสดงด้วยสีแดง และ domain E แสดงด้วยสีเขียว ไอออนแคลเซียมแสดงด้วยทรงกลมสีแดง และ maltotriose แสดงด้วยสีเขียว [Nielson และ Borchert, 2000]

2.2.2 การเร่งปฏิกิริยาโดย CGTase

ดังที่กล่าวมาแล้วว่า CGTase จะทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยา transglycosylation เป็นหลักโดยกลไกของปฏิกิริยา transglycosylation อธิบายแยกย่อยได้เป็น

Disproportionation (รูปที่ 2.6 B) เป็นการโยกย้ายหมู่ glycosyls ระหว่างโอลิโกหรือพอลิแซคคาไรด์ จะเกิดเมื่อสับสเตรทเป็นแป้งที่มีสายยาวโดยจะไม่มีผลกระทบต่อการศึกษาเกิดไซโคลเดกซ์ทริน ปฏิกิริยานี้สามารถถูกเร่งโดยเอนไซม์ชนิดอื่นหลายชนิดที่เป็นพวกตระกูล α -amylase (เช่น 4- α -glucanotransferase, EC 2.4.1.25 (amylomaltase, disproportionating enzyme) โดยปฏิกิริยา disproportion สามารถแสดงได้ดังนี้

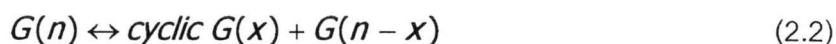


เมื่อ G_n และ G_m คือ 1,4- α -D-glucopyranosyl chains
 n และ m คือ D-glucopyranosyl residues
 x คือ ส่วนของ 1,4- α -D-glucopyranosyl chains

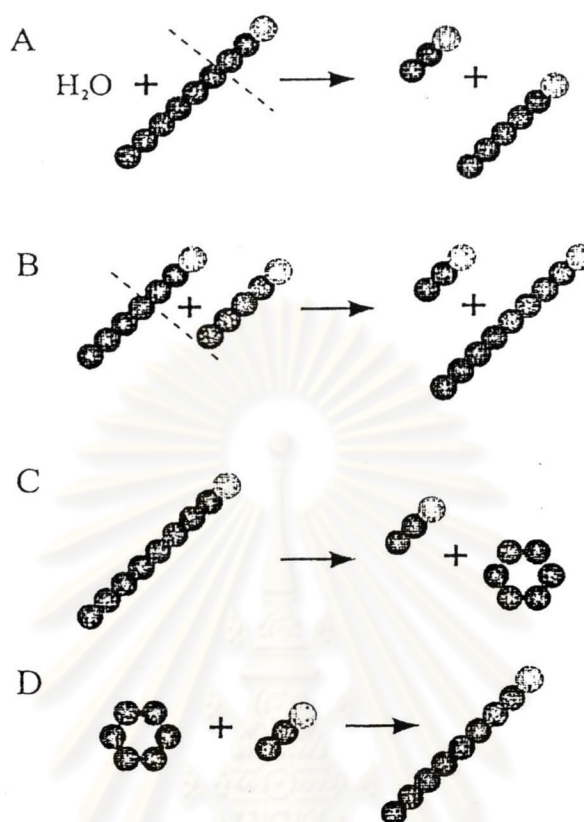
cyclization (รูปที่ 2.6 C) เป็นการสังเคราะห์วงแหวนปิดของไซโคลเดกซ์ทริน จากโอลิโกหรือพอลิแซคคาไรด์ที่มีปลายเปิด โดยเอนไซม์จะย้ายส่วนของสาย D-glucopyranosyl ที่มีปลายของ non-reducing ไปรับเอาส่วนของสายที่ถูกไฮโดรไลซ์ออกมาจากสาย D-glucopyranosyl สายเดียวกันนี้ เป็นผลให้เกิด CD ปฏิกิริยานี้เกิดได้ดีเมื่อสับสเตรทเป็นโอลิโกหรือพอลิแซคคาไรด์ที่มีสายยาว โดยมีโมเลกุลลูกโซ่ของกลูโคส 16-80 หน่วย และมีค่า dextrose equivalent ต่ำ

coupling reaction (รูปที่ 2.6 D) เป็นการสลายไซโคลเดกซ์ทริน เมื่อมีโอลิโกหรือพอลิแซคคาไรด์ตัวอื่นมารับไซโคลเดกซ์ทรินที่ถูกสลายนั้นและเกิดเป็นโอลิโกหรือพอลิแซคคาไรด์ที่มีปลายเปิด เป็นปฏิกิริยาย้อนกลับของ cyclization โดยปฏิกิริยา coupling จะเกิดมากขึ้นเมื่อมีโอลิโกหรือพอลิแซคคาไรด์สายสั้นหรือน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว เช่น กลูโคส, มอลโตส, α -methyl glucoside, ซูโครส, cellobiose และ maltobionic acid อยู่ในระบบมากเป็นต้น

ปฏิกิริยา cyclization และ coupling สามารถแสดงได้ดังสมการที่ 2.2



โดย cyclic $G(x)$ คือ ไซโคลเดกซ์ทริน (CDs)



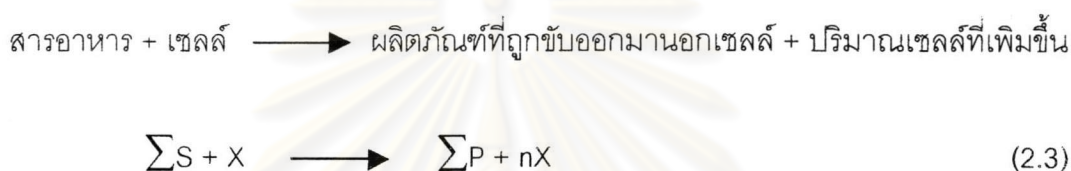
รูปที่ 2.6 การแสดงแบบแผนของการเร่งปฏิกิริยาโดย CGTase; ทรงกลมแสดงถึงตำแหน่งกลูโคส โดยทรงกลมโปร่ง บวกถึงปลายที่เป็นน้ำตาลรีดิวซ์ (reducing end sugar) (A) hydrolysis; (B) disproportionation; (C) cyclization; (D) coupling [van der Veen และ คณะ, 2000]

นอกจากการผลิตไซโคลเดกซ์ทรินจากปฏิกิริยา cyclization แล้วยังมีการประยุกต์นำเอนไซม์ CGTase ไปใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา coupling และ disproportionation เพื่อแยกองค์ประกอบที่มีความขมจากใบไม้ของพืช เช่น *Stevia rebaudiana* และเพิ่มความสามารถในการละลาย และยังนำไปใช้ในกระบวนการเคลือบผิวกระดาษเพื่อเพิ่มคุณภาพในการเขียนของกระดาษและทำให้กระดาษมันและพื้นผิวที่ใช้พิมพ์ดีขึ้น [van der Veen และ คณะ, 2000]

2.3 จลนพลศาสตร์การเลี้ยงเชื้อแบบไม่ต่อเนื่อง

2.3.1 จลนพลศาสตร์การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์

การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ เช่น เชื้อรา ยีสต์ และแบคทีเรีย ต้องอาศัยสภาวะแวดล้อมทางฟิสิกส์ เคมี และ สารอาหารที่เหมาะสม ตัวอย่างเช่น มีสารอาหารบริบูรณ์คือมีทั้ง แหล่งคาร์บอน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และ สารเร่งการเจริญเติบโต (growth factor) ชนิดต่างๆ ตลอดจนการควบคุมอุณหภูมิและพีเอช ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมจุลินทรีย์จะใช้สารอาหารจากอาหารเลี้ยงเชื้อบางส่วนเป็นแหล่งพลังงานและบางส่วนถูกใช้ไปเพื่อการเจริญเติบโตและสร้างผลิตภัณฑ์จากการใช้สารอาหารนี้ทำให้มวลของจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นตามเวลาซึ่งสามารถอธิบายได้โดยง่าย ดังสมการที่ 2.3



การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นดังกล่าวสามารถอธิบายได้จากจลนพลศาสตร์การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (Microbial growth kinetic)

การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ตามเวลาในถังปฏิกรณ์แบบไม่ต่อเนื่อง แบ่งออกได้เป็น 5 ระยะ ดังรูปที่ 2.7

1) ระยะปรับตัว (Lag phase) หลังจากการถ่ายเชื้อ (Inoculation) ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อใหม่ จุลินทรีย์ยังคงไม่มีการเจริญเติบโต แต่จะมีการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมใหม่ ระยะที่ใช้ในการปรับตัวนี้จะมากหรือน้อยมีผลจากหลายปัจจัย เช่น อายุ ความเข้มข้น ปริมาณหัวเชื้อ ตลอดจนสารช่วยการเจริญเติบโต (growth factors) เนื่องจากเมื่อเซลล์อยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อใหม่ ความเข้มข้นของวิตามิน, กรดอะมิโน และ ไอออนต่างๆ (เช่น Mg^{2+} , Ca^{2+} และอื่นๆ) อาจจะถูกถ่ายเทผ่านผนังเซลล์เป็นผลให้ความเข้มข้นต่ำลงอย่างมาก ซึ่งสารเหล่านี้อาจเป็นสิ่งจำเป็นต่อกิจกรรมของเอนไซม์ในวิถีเมแทบอลิซึม และการเจือจางอาจไปลดอัตราการทำงานบางส่วนใน pathway ตัวอย่างเช่นในการเพาะเลี้ยง *E. aerogenes* การเพิ่มความเข้มข้นของแมกนีเซียมในอาหารเลี้ยงเชื้อมีผลต่อการลดระยะเวลาในการปรับตัว ดังรูปที่ 2.8 [Shuler และ Kargi, 1992] เนื่องจากแมกนีเซียมเป็นสารกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ฟอสฟาเทส (phosphatase) ของแบคทีเรียดังกล่าวและยังมีผลต่อการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก ในทำนองเดียวกันถ้าหัวเชื้ออยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อใหม่ซึ่งประกอบด้วยแหล่งคาร์บอนที่ต่างจากเดิมจะเกิดระยะปรับตัวขึ้นเนื่องจากความต้องการเอนไซม์ชนิดใหม่เพื่อเหนี่ยวนำเข้าสู่กระบวนการสลายสารอาหารคาร์บอน นอกจาก

นี้หัวเชื้อที่ให้ระยะเวลาปรับตัวสั้นเซลล์ในหัวเชื้อควรมีอายุน้อยอยู่ในระยะการเจริญเติบโตทวีคูณ และต้องเติมในปริมาณมากเพียงพอ (ประมาณ 5%-10% โดยปริมาตร) สำหรับในกระบวนการหมักแบบไม่ต่อเนื่องในระดับอุตสาหกรรมจะต้องกำหนดให้ระยะปรับตัวของจุลินทรีย์มีช่วงเวลาด้านที่สั้นที่สุด

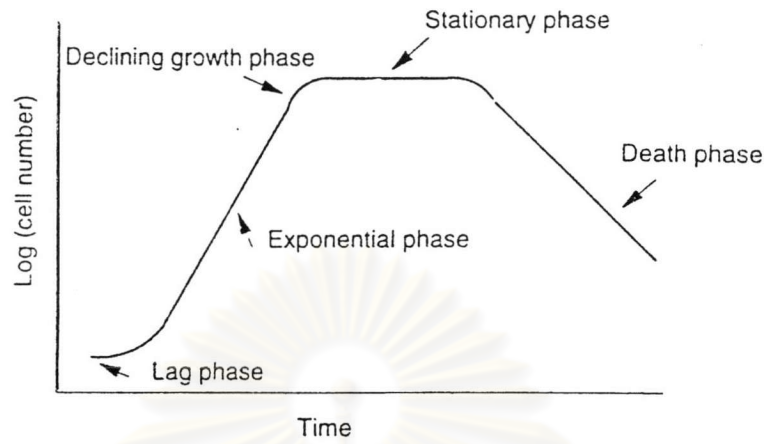
2) ระยะการเจริญเติบโตแบบทวีคูณ (Log หรือ Exponential phase) ในช่วงนี้เซลล์มีการปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมใหม่แล้ว เซลล์จะมีการเพิ่มจำนวนและมวลขึ้นอย่างรวดเร็วเป็นทวีคูณ (exponential) กับเวลาอย่างต่อเนื่อง และเป็นช่วงเวลาของ balanced growth ซึ่งทุกองค์ประกอบของเซลล์เจริญเติบโตด้วยอัตราเดียวกัน นั่นคือองค์ประกอบเฉลี่ยของเซลล์ได้คงที่ประมาณได้คงที่ในช่วงการเจริญเติบโตนี้ และในช่วง balanced growth อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะที่คำนวณจากทั้งจำนวนเซลล์และมวลของเซลล์จะได้ค่าเท่ากัน สำหรับในระยะนี้อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate, μ) มีค่าเท่ากับ

$$\mu = \frac{1}{X} \frac{dX}{dt} \quad (2.4)$$

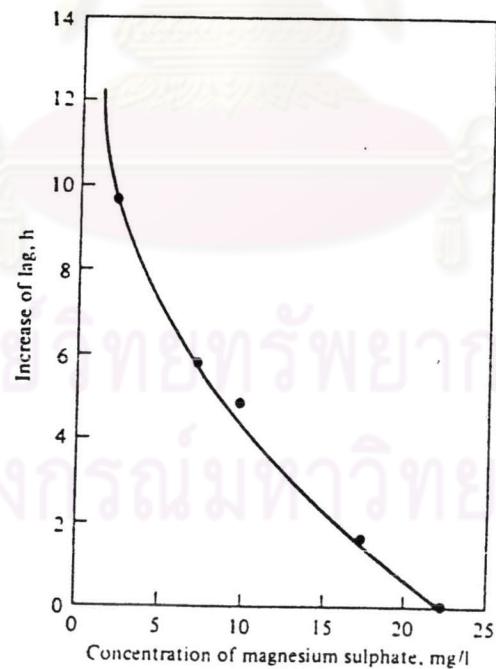
3) ระยะการเจริญเติบโตแบบถดถอย (Declining growth phase) เป็นช่วงที่อัตราการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ลดลงเนื่องจากสภาพที่ไม่เหมาะสมหลายประการ

- สารอาหารไม่เพียงพอเนื่องจากถูกใช้หมดไปทำให้จุลินทรีย์ชะงักการเจริญเติบโต
- ปริมาณออกซิเจนไม่เพียงพอเนื่องจากมีปริมาณเซลล์เพิ่มมากขึ้น ทำให้สภาพความหนืดเพิ่มขึ้น อัตราการส่งผ่านของออกซิเจนต่ำลง
- การสะสมเพิ่มขึ้นของผลิตภัณฑ์บางชนิดที่เป็นพิษยับยั้งการเจริญเติบโต เช่น เอทานอล และผลิตภัณฑ์บางชนิดทำให้พีเอชเปลี่ยนไป เช่น กรดซิตริก เป็นต้น
- สารช่วยการเจริญเติบโตถูกใช้หมดไป ได้แก่ วิตามิน และ โลหะไอออนต่างๆ
- สภาพแวดล้อมของจุลินทรีย์เนื่องจากการเพิ่มจำนวนมากขึ้นทำให้พื้นที่ต่อหน่วยเซลล์ลดลง

การเปลี่ยนแปลงสิ่งแวดล้อมอย่างรวดเร็วดังที่กล่าวมาส่งผลให้หลังจากช่วงนี้ไปจะเป็น unbalanced growth สำหรับการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียโดยทั่วไปการเปลี่ยนแปลงในช่วงนี้เกิดขึ้นในช่วงเวลาสั้นมาก



รูปที่ 2.7 ลักษณะการเจริญของเซลล์ในการเพาะเลี้ยงเชื้อแบบไม่ต่อเนื่อง
[Blanch และ Douglas, 1997]



รูปที่ 2.8 อิทธิพลของความเข้มข้นของ Mg^{2+} ต่อระยะปรับตัวของการเลี้ยงเชื้อ
E. aerogenes [Shuler และ Kargi, 1992]

4) ระยะเวลาคงที่ (Stationary phase) เป็นช่วงที่อัตราการเจริญเติบโตสุทธิเป็นศูนย์ ซึ่งในความเป็นจริงแล้วจุลินทรีย์มีอัตราการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นแต่มีค่าเท่ากับอัตราการตาย (Death rate) ดังนั้นปริมาณเซลล์จะมีค่าคงที่เป็นระยะเวลาหนึ่งเนื่องจากเซลล์ย่อยสลายกันเองเพราะขาดแคลนอาหาร (endogenous metabolism) และเกิดการออกซิเดชันสารพอลิเมอร์ โปรตีน และสารอื่นๆที่สะสมอยู่ในเซลล์ ถึงแม้ว่าในช่วงนี้อัตราการเจริญเติบโตสุทธิจะเป็นศูนย์แต่เซลล์บางชนิดยังมีการผลิตเมแทบอไลต์ทุติยภูมิ (secondary metabolites) ซึ่งอาจเป็นผลิตภัณฑ์ที่ต้องการในกระบวนการหมัก เช่นการผลิต antibiotic

5) ระยะเวลาตาย (Death และ Declining phase) เมื่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมยังคงเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องทำให้จุลินทรีย์สลายตัวเอง อัตราการตายมีค่ามากกว่าอัตราการเจริญเติบโต ปริมาณเซลล์จึงลดลงเรื่อย ๆ

2.3.2 การคำนวณค่าสัมประสิทธิ์ผลได้ (yield coefficient)

เพื่ออธิบายจลนพลศาสตร์ของจุลินทรีย์ในการเจริญเติบโตเชื่อมโยงกับการใช้สารอาหาร และการสร้างผลิตภัณฑ์ที่ดีขึ้น จึงมีการนิยามพารามิเตอร์ที่เชื่อมโยงสัมประสิทธิ์ของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น (Stoichiometry) และแสดงถึงประสิทธิภาพของการเปลี่ยนสารตั้งต้นไปเป็นเซลล์และผลิตภัณฑ์ ซึ่งก็คือสัมประสิทธิ์ผลได้ (yield coefficient) โดยนิยามเป็นอัตราส่วนโดยมวลของผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ในการหมักที่ได้มาจากการใช้สารอาหาร เช่น

$$\text{ผลได้ของเซลล์จากสารอาหาร} = \frac{\text{การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของชีวมวล}}{\text{การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารอาหาร}}$$

$$Y_{X/S} = \frac{\Delta X}{-\Delta S} \quad (2.5)$$

$$\text{ผลได้ของผลิตภัณฑ์จากสารอาหาร} = \frac{\text{การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์}}{\text{การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารอาหาร}}$$

$$Y_{P/S} = \frac{\Delta P}{-\Delta S} \quad (2.6)$$

ในบางกรณีสัมประสิทธิ์ผลได้ของชีวมวลที่วัดได้จากการทดลอง (observed growth yield, $Y_{X/S \text{ obs}}$) อาจจะไม่ใช่ค่าการใช้สารอาหารเพื่อการเจริญเติบโตอย่างแท้จริงเนื่องจากมีสารอาหาร

บางส่วนถูกใช้ไปเนื่องจากความต้องการพลังงานในการดำรงชีวิตของจุลินทรีย์ (Maintenance energy requirement) ซึ่งเป็นค่าอิสระกับอัตราการเจริญเติบโต และยังมีสารอาหารบางส่วนถูกใช้ไปเพื่อการสร้างผลิตภัณฑ์ ด้วยเหตุนี้การใช้สารอาหารรวม ($-\Delta S$) จึงถูกแบ่งออกเป็นสองส่วน ได้แก่ ΔS_G เป็นการใช้สารอาหารในการสร้างเซลล์ และส่วนที่เหลืออยู่เป็นการใช้สารอาหารเพื่อการดำรงชีวิตและการสร้างผลิตภัณฑ์ ดังนั้นค่าผลได้ของเซลล์ที่แท้จริง ($Y_{X/S,G}$) แสดงได้ดังสมการ

$$Y_{X/S,G} = \frac{\Delta X}{-\Delta S_G} \quad (2.7)$$

ค่าผลได้ของเซลล์จากแหล่งคาร์บอนและพลังงานส่วนใหญ่มีค่าประมาณ 1.0 ± 0.4 กรัมชีวมวลต่อกรัมของแหล่งคาร์บอนที่ใช้ [Shuler และ Karge, 1992] โดยตารางที่ 2.2 แสดงตัวอย่างของค่า $Y_{X/S}$ สำหรับสารอาหารและจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ในบางการทดลองอาจจะพบว่าค่าสัมประสิทธิ์ผลได้ไม่ใช่ค่าคงที่แต่อาจจะแปรผันกับเวลา หรือ สิ่งแวดล้อมทางกายภาพและเคมี เป็นผลจากการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของเซลล์จุลินทรีย์ซึ่งในความเป็นจริงเซลล์จะมีการจัดระบบของตัวเองในลักษณะที่ต่างกันเมื่อสภาวะแวดล้อมเปลี่ยนไป

2.3.3 อัตราการใช้สารอาหารจำเพาะ (Specific nutrient uptake rates)

จากสมการที่ 2.3 เห็นได้ว่าสารอาหารถูกใช้ไปเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และการสร้างผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้สารอาหารบางส่วนยังถูกใช้ไปเพื่อการดำรงชีวิตของเซลล์ (Maintenance requirement) จากสมมูลมวลสารของการใช้สารอาหารสามารถเขียนให้อยู่ในรูปอัตราจำเพาะ (specific) คือ อัตราการใช้สารอาหาร (substrate uptake rate, r_{Si}) หารด้วยความเข้มข้นของเซลล์ได้ดังสมการที่ 2.8

อัตราการใช้ สารตั้งต้น จำเพาะทั้งหมด	=	อัตราการใช้ สารตั้งต้นจำเพาะ เพื่อการเติบโต	+	อัตราการใช้ สารตั้งต้นจำเพาะ เพื่อการดำรงชีวิต	+	อัตราการใช้ สารตั้งต้นจำเพาะ เพื่อสร้างผลิตภัณฑ์
--	---	---	---	--	---	--

$$q_{Si} = \frac{r_{Si}}{X} = \frac{\mu}{Y_{X/S,G}} + m_{Si} + \sum_j \frac{r_{P_j}}{XY_{P_j/S_i}} \quad (2.8)$$

ตารางที่ 2.2 สรุปค่าผลได้สำหรับการเจริญแบบใช้อากาศของจุลินทรีย์ชนิดต่างๆในแหล่งคาร์บอนต่างชนิดกัน [Shuler และ Karge, 1992]

Organism	Substrate	Y_{xs}		
		g/g	g/mol	g/g-C
<i>Enterobacter aerogenes</i>	Maltose	0.46	149.2	1.03
	Mannitol	0.52	95.2	1.32
	Fructose	0.42	76.1	1.05
	Glucose	0.40	72.7	1.01
<i>Candida utilis</i>	Glucose	0.51	91.8	1.28
<i>Penicillium chrysogenum</i>	Glucose	0.43	77.4	1.08
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Glucose	0.38	68.4	0.95
<i>Rhodopseudomonas spheroides</i>	Glucose	0.45	81.0	1.12
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Glucose	0.50	90.0	1.25
<i>Enterobacter aerogenes</i>	Ribose	0.35	53.2	0.88
	Succinate	0.25	29.7	0.62
	Glycerol	0.45	41.8	1.16
	Lactate	0.18	16.6	0.46
	Pyruvate	0.20	17.9	0.49
	Acetate	0.18	10.5	0.43
	<i>Candida utilis</i>	Acetate	0.36	21.0
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Acetate	0.28	16.8	0.70
<i>Candida utilis</i>	Ethanol	0.68	31.2	1.30
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Ethanol	0.49	22.5	0.93
<i>Klebsiella</i> sp.	Methanol	0.38	12.2	1.01
<i>Methylomonas</i> sp.	Methanol	0.48	15.4	1.28
<i>Pseudomonas</i> sp.	Methanol	0.41	13.1	1.09
<i>Methylococcus</i> sp.	Methane	1.01	16.2	1.34
<i>Pseudomonas</i> sp.	Methane	0.80	12.8	1.06
<i>Pseudomonas</i> sp.	Methane	0.60	9.6	0.80
<i>Pseudomonas methanica</i>	Methane	0.56	9.0	0.75

ตารางที่ 2.3 ค่าความต้องการใช้สารอาหารเพื่อการดำรงชีวิตของจุลินทรีย์บางชนิด [Scragg, 1988]

Organism	m (g substrate consumed · g cells ⁻¹ · h ⁻¹)
<i>Penicillium chrysogenum</i>	0.022
<i>Aspergillus nidulans</i>	0.029
<i>Aerobacter aerogenes</i> (aerobic)	0.094
<i>A. aerogenes</i> (anaerobic)	0.473

ถ้าการใช้สารอาหารเพื่อสร้างผลิตภัณฑ์มีค่าน้อยมากเมื่อเทียบกับการใช้สารเพื่อการเจริญเติบโต สมการที่ 2.8 จะลดรูปได้เป็น

$$q_{Si} = \frac{\mu}{Y_{X/S_i,G}} + m_{Si} \quad (2.9)$$

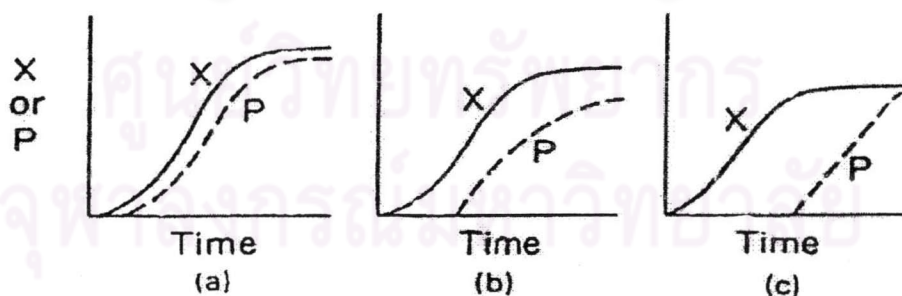
เนื่องจากอัตราการใช้สารอาหารจำเพาะ, $q_{Si} = \mu/Y_{X/S,obs}$ เมื่อแทนลงในสมการที่ 2.9 จะได้ดังสมการที่ 2.10

$$\frac{1}{Y_{X/S,obs}} = \frac{1}{Y_{X/S,G}} + \frac{m_S}{\mu} \quad (2.10)$$

การใช้สารอาหารเพื่อการดำรงชีวิต (Maintenance energy) เป็นค่าคงที่ของอัตราจำเพาะ (specific rate) โดยปกติจะมีค่าน้อย ดังแสดงในตารางที่ 2.3

2.3.4 ลักษณะการเกิดผลิตภัณฑ์ (Product formation)

ผลิตภัณฑ์หลากหลายชนิดถูกสร้างขึ้นโดยจุลินทรีย์จากหลายขบวนการที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ในการเพาะเลี้ยงเชื้อ และที่ผ่านมามีหลายรูปแบบที่ถูกเสนอขึ้นเพื่อแบ่งแยกผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น โดยแบบจำลองทางจลนพลศาสตร์ของการสร้างผลิตภัณฑ์หนึ่งซึ่งง่ายและใช้กันอย่างกว้างขวางคือแบบจำลองที่อธิบายการสร้างผลิตภัณฑ์ซึ่งสัมพันธ์กับการเจริญเติบโต โดยแบ่งผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากจุลินทรีย์ออกได้เป็น 3 ชนิด ดังแสดงในรูปที่ 2.9



รูปที่ 2.9 ลักษณะการเจริญเติบโตและการสร้างผลิตภัณฑ์ในการเลี้ยงเชื้อแบบไม่ต่อเนื่อง (a) การสร้างผลิตภัณฑ์แบบ growth-associated (b) การสร้างผลิตภัณฑ์แบบ mixed-growth-associated และ (c) การสร้างผลิตภัณฑ์แบบ nongrowth-associated [Shuler and Kargi, 1992]

a) การสร้างผลิตภัณฑ์สัมพันธ์กับการเจริญเติบโต (growth-associated products) ในกรณีนี้การสร้างผลิตภัณฑ์เกิดขึ้นพร้อมกับการเจริญเติบโตของเซลล์ ดังนั้นอัตราการสร้างผลิตภัณฑ์จำเพาะ (specific production rate, q_p) เป็นสัดส่วนกับอัตราการเจริญเติบโต

$$q_p = \mu Y_{p/x} \quad (2.11)$$

หรือมักเรียกว่า เมแทบอลิต์ปฐมภูมิ (primary metabolites) ยกตัวอย่างเช่นกระบวนการผลิตเอทานอลจากการหมักกลูโคสแบบไร้ออกซิเจนโดยใช้ยีสต์ และการผลิตกรดกลูโคนิกจากกลูโคสโดยใช้ *Gluconobacter*

b) การสร้างผลิตภัณฑ์ไม่สัมพันธ์กับการเจริญเติบโต (Nongrowth-associated products) การสร้างผลิตภัณฑ์เกิดขึ้นในช่วง stationary phase และมีค่าเท่ากับศูนย์ในช่วงที่เซลล์เจริญเติบโต หรือเรียกว่าเมแทบอลิต์ทุติยภูมิ (secondary metabolite) เช่นกระบวนการผลิต antibiotic และวิตามิน ดังนั้นอัตราการสร้างผลิตภัณฑ์จำเพาะจะเป็นค่าคงที่

$$q_p = b \quad (2.12)$$

c) การสร้างผลิตภัณฑ์ผสมกันระหว่างแบบสัมพันธ์และไม่สัมพันธ์กับการเจริญเติบโต (Mixed growth-associated) การสร้างผลิตภัณฑ์มีลักษณะรวมกันระหว่าง growth-associated กับ nongrowth-associated ยกตัวอย่างเช่นกระบวนการผลิตกรดอะมิโน, กรดแลกติก และพอลิแซคคาไรด์ที่ขับออกมานอกเซลล์ (xanthan และ pullan) ดังนั้นค่าอัตราการสร้างผลิตภัณฑ์จำเพาะเป็นดังสมการต่อไปนี้

$$q_p = a\mu + b \quad (2.13)$$

สมการข้างต้นคือสมการของ Luedeking และ Piret, 1959 ถ้า $a = 0$ การสร้างผลิตภัณฑ์จะเป็นแบบไม่สัมพันธ์กับอัตราการเจริญเติบโต แต่ถ้า $b = 0$ การสร้างผลิตภัณฑ์จะเป็นแบบสัมพันธ์กับอัตราการเจริญเติบโตและ a คือ $Y_{p/x}$

2.4 สมการสมดุลมวลและการคำนวณอัตราจำเพาะ (Specific rate)

สำหรับการเลี้ยงเชื้อแบบไม่ต่อเนื่องในถังปฏิกรณ์ชีวภาพจะเป็นระบบปิดไม่มีการเติมสารอาหารเข้าและดึงผลิตภัณฑ์ออกจากถังปฏิกรณ์ ดังนั้นความเข้มข้นของสารอาหาร, เซลล์ และผลิตภัณฑ์จึงเปลี่ยนแปลงตามเวลา โดยมีสมมติฐานคือ ของเหลวทั้งหมดมีการผสมกันอย่างสมบูรณ์, การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ขึ้นกับปริมาณสารอาหารที่กำหนดอัตราการเกิดปฏิกิริยา (rate-limiting nutrient) เพียงหนึ่งชนิด ในขณะที่สารอาหารชนิดอื่นๆมีในปริมาณที่เกินพอ และเป็นการทำสมดุลมวลสารในช่วง balanced growth (เซลล์อยู่ในระยะการเจริญเติบโตแบบทวีคูณ) ดังนั้นสมการสมดุลมวลสารขององค์ประกอบ i ภายในถังปฏิกรณ์แสดงได้ดังนี้

$$\frac{d}{dt} \left(\begin{array}{l} \text{ปริมาตรของ} \\ \text{อาหารเลี้ยงเชื้อ} \end{array} \right) \left(\begin{array}{l} \text{ความเข้มข้นของ} \\ \text{องค์ประกอบ } i \end{array} \right) = \left(\begin{array}{l} \text{ปริมาตรของ} \\ \text{อาหารเลี้ยงเชื้อ} \end{array} \right) \cdot \left(\begin{array}{l} \text{มวลของ } i \text{ ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยา} \\ \text{หนึ่งหน่วยปริมาตร} \cdot \text{หนึ่งหน่วยเวลา} \end{array} \right)$$

$$\frac{d}{dt} (V_R \cdot C_i) = V_R \cdot r_i \quad (2.14)$$

ปริมาตรของน้ำหมักคงที่

$$\frac{dC_i}{dt} = r_i \quad (2.15)$$

2.4.1 สมการสมดุลมวลสารของเซลล์และการคำนวณอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate, μ)

สำหรับดำเนินการแบบไม่ต่อเนื่องความเข้มข้นของเซลล์เปลี่ยนแปลงไปตามเวลา ดังนั้นจากสมการที่ 2.15 สมดุลมวลสารของเซลล์จึงเขียนได้เป็น

$$\frac{dX(t)}{dt} = \mu X(t) \quad (2.16)$$

และสามารถคำนวณหาอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของเซลล์, μ , ได้จากวิธีอินทิกรัล โดยจัดรูปสมการเป็น

$$\int_{t_0}^{t_i} \mu dt = \int_{x(t_0)}^{x(t_i)} \frac{1}{X(t)} dX(t)$$

$$\mu[t_i - t_0] = \ln X(t_i) - \ln X(t_0)$$

$$\ln X(t_i) = \mu[t_i - t_0] + \ln X(t_0) \quad (2.17)$$

จากสมการที่ (2.17) จะเห็นได้ว่าเมื่อสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln X(t_i)$ กับ $[t_i - t_0]$ จะได้สมการเส้นตรงที่ความชันของกราฟมีค่าเท่ากับ อัตราการเจริญจำเพาะของเซลล์, μ (ต่อชม.)

2.4.2 สมการสมดุลมวลของสารอาหารและการคำนวณอัตราการใช้สารอาหารจำเพาะ (Specific consumption rate, q_s)

สำหรับการดำเนินการแบบไม่ต่อเนื่องความเข้มข้นของเซลล์และสารอาหารเปลี่ยนแปลงไปตามเวลาดังนั้นจากสมการที่ 2.14 สมดุลมวลสารของสารตั้งต้นจึงเขียนได้เป็น

$$\frac{dS(t)}{dt} = -q_s X(t) \quad (2.18)$$

ดังนั้นสามารถคำนวณหาอัตราการใช้สารอาหารจำเพาะ, q_s , ได้จากวิธีอินทิกรัลโดยจัดรูปสมการเป็น

$$\int_{S(t_0)}^{S(t_i)} dS(t) = \int_{t_0}^{t_i} -q_s X(t) dt$$

$$S(t_i) - S(t_0) = -q_s \int_{t_0}^{t_i} X(t) dt$$

$$S(t_i) = -q_s \int_{t_0}^{t_i} X(t) dt + S(t_0) \quad (2.19)$$

จากสมการที่ (2.19) จะเห็นได้ว่าเมื่อสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง $S(t_i)$ กับ $\int_{t_0}^{t_i} X(t) dt$ จะได้สมการเส้นตรงที่ความชันของกราฟมีค่าเท่ากับ อัตราการใช้สารอาหารจำเพาะ, q_s (กรัมสารอาหารต่อกรัมเซลล์·ชม.)

2.4.3 สมการสมดุลมวลของผลิตภัณฑ์และการคำนวณอัตราการผลิตผลิตภัณฑ์จำเพาะ (Specific production rate, q_p)

สำหรับการดำเนินการแบบไม่ต่อเนื่องความเข้มข้นของเซลล์และผลิตภัณฑ์เปลี่ยนแปลงไปตามเวลา ดังนั้นจากสมการที่ 2.14 สมดุลมวลสารของผลิตภัณฑ์จึงเขียนได้เป็น

$$\frac{dP(t)}{dt} = q_p X(t) \quad (2.20)$$

ดังนั้นสามารถคำนวณหาอัตราการสร้างผลิตภัณฑ์จำเพาะ, q_p , ได้จากวิธีอินทิกรัลโดยจัดรูปสมการเป็น

$$\int_{P(t_0)}^{P(t_i)} dP(t) = \int_{t_0}^{t_i} q_p X(t) dt$$

$$P(t_i) - P(t_0) = q_p \int_{t_0}^{t_i} X(t) dt$$

$$P(t_i) = q_p \int_{t_0}^{t_i} X(t) dt + P(t_0) \quad (2.21)$$

จากสมการที่ (2.21) จะเห็นได้ว่าเมื่อสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง $P(t)$ กับ $\int_{t_0}^{t_i} X(t) dt$ จะได้สมการเส้นตรงที่ความชันของกราฟมีค่าเท่ากับ อัตราการสร้างผลิตภัณฑ์จำเพาะ, q_p (กรัมผลิตภัณฑ์ต่อกรัมเซลล์·ชม.)

2.5 แบบจำลองคณิตศาสตร์ของการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (Growth model)

แบบจำลองคณิตศาสตร์ทางจลนพลศาสตร์ของการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์เป็นสิ่งสำคัญในการออกแบบและการดำเนินงานของระบบการหมัก สมการที่ใช้อธิบายจลนพลศาสตร์ของเซลล์สามารถพิจารณาได้หลายแง่มุมและหลายระดับความซับซ้อนเนื่องจากจลนพลศาสตร์ของเซลล์ประกอบด้วยปฏิกิริยาเคมีและชีวเคมี รวมทั้งปรากฏการณ์การถ่ายเทมวลสารและพลังงานเกิดขึ้นภายในเซลล์ (Transport phenomena) ที่มากมายและซับซ้อน นอกจากนี้ยังเกี่ยวข้องกับหลายวัฏภาค (phase) และหลายองค์ประกอบ ดังนั้นการเลือกใช้แบบจำลองคณิตศาสตร์ในการอธิบายจลนพลศาสตร์ของเซลล์ขึ้นอยู่กับว่าพิจารณาถึงความแตกต่างระหว่างเซลล์แต่ละเซลล์ในระบบซึ่งจะมีการเปลี่ยนแปลงเซลล์อย่างต่อเนื่องในสิ่งแวดล้อมที่ทำการเพาะเลี้ยงนั้นและปฏิกิริยาเมแทบอลิก (Metabolic reaction) ที่เกิดขึ้นภายในเซลล์แยกแต่ละปฏิกิริยาหรือไม่ แบบจำลองที่ใกล้เคียงความจริงมากที่สุดจะต้องพิจารณาถึงความเปลี่ยนแปลงและปฏิกิริยาทุกชนิดที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ซึ่งจะเป็นแบบจำลองที่ให้ความแม่นยำในการทำนายการเกิดปฏิกิริยาสูง แต่การสร้างแบบจำลองจะทำได้ยากมาก นอกจากนี้แบบจำลองประเภทนี้จะสามารถใช้ประโยชน์

ได้น้อยเนื่องจากมีพารามิเตอร์มากมายซึ่งเป็นไปได้ยากที่จะหาค่าเหล่านี้ และเป็นข้อจำกัดในการใช้แบบจำลองได้เฉพาะบางสภาวะ ดังนั้นในการสร้างแบบจำลองจึงต้องมีสมมติฐานเพื่อให้เป็นแบบจำลองที่ง่ายขึ้นและสามารถใช้งานได้จริง โดยทั่วไปอาจแบ่งแบบจำลองของการเจริญเติบโตได้ออกเป็น 2 ประเภทใหญ่ๆคือ แบบจำลองแบบ unstructured และ structured กับ แบบจำลองแบบ segregated และ unsegregated โดยความแตกต่างระหว่างแบบจำลองแต่ละประเภทแสดงในตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 แสดงความแตกต่างระหว่างแบบจำลองทางจลนพลศาสตร์ของเซลล์ [Lee, 1992]

	Unstructured	Structured
Unsegregated	สามารถแทนเซลล์ทุกเซลล์ด้วยองค์ประกอบเดียว, ไม่คำนึงถึงความแตกต่างของแต่ละเซลล์ว่ามีอายุต่างกันหรือมีขนาดไม่เท่ากัน	แบ่งเซลล์ออกเป็นหลายองค์ประกอบซึ่งทำหน้าที่แตกต่างกัน, ไม่คำนึงถึงความแตกต่างของแต่ละเซลล์ว่ามีอายุต่างกันหรือมีขนาดไม่เท่ากัน
Segregated	สามารถแทนเซลล์ทุกเซลล์ด้วยองค์ประกอบเดียว, แต่พิจารณาถึงความแตกต่างของแต่ละเซลล์ในระบบ	แบ่งเซลล์ออกเป็นหลายองค์ประกอบซึ่งทำหน้าที่แตกต่างกัน, และพิจารณาถึงความแตกต่างของแต่ละเซลล์ในระบบ

แบบจำลองทั้ง structured และ segregated จะใกล้เคียงกับความจริงที่สุดแต่จะมีความซับซ้อนในการคำนวณมาก ในการเลือกระดับความซับซ้อนและใกล้ความจริงมากที่สุดของแบบจำลองที่จะใช้ขึ้นอยู่กับว่าจะนำแบบจำลองไปใช้อธิบายอะไร โดยปกติผู้สร้างแบบจำลองจะเลือกแบบจำลองที่ง่ายที่สุดที่สามารถอธิบายระบบที่ต้องการได้ สำหรับแบบจำลองแบบ unstructured ตั้งอยู่บนสมมติฐานคือ ทุกเซลล์แทนด้วยองค์ประกอบเดียว (ยกตัวอย่างเช่นแทนด้วย จำนวนเซลล์, น้ำหนักเซลล์, หรือความเข้มข้นของโปรตีน, DNA หรือ RNA) ซึ่งสมมติฐานนี้จะเป็นจริงสำหรับกรณี balanced growth เช่น ในการเลี้ยงเชื้อแบบต่อเนื่องในสภาวะ steady-state และ การเจริญเติบโตในระยะทวีคูณในการเลี้ยงเชื้อแบบไม่ต่อเนื่อง นอกจากนี้ถ้าการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เร็วกว่าเมื่อเทียบกับการเปลี่ยนแปลงสภาวะภายนอก หรือช้ามากเมื่อเทียบกับระยะเวลาในการดำเนินการของถึงปฏิกิริยา และการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นไม่มากเกินไป (มีการเปลี่ยนแปลงไปประมาณ 10-20% จากสภาวะเดิม) กรณีนี้จะสามารถใช้แบบจำลองแบบ unstructured ได้เนื่องจากเบี่ยงเบนไปจาก balanced growth เพียงเล็กน้อย ต่อไปจะขอกล่าวถึงแต่แบบจำลองแบบ unstructured และ unsegregated ซึ่งเป็นแบบจำลองที่ง่ายไม่ซับซ้อน, สามารถทำการเปลี่ยนแปลงได้ง่าย และนิยมใช้กันอย่างกว้างขวาง ในการอธิบายภาพรวมของจลนพลศาสตร์ของการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์

แบบจำลองแบบ unstructured ที่ใช้ในการอธิบายจลนพลศาสตร์ของเซลล์แบ่งออกได้เป็น

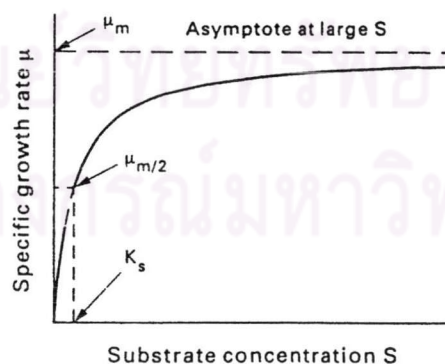
2.5.1 แบบจำลองที่สารอาหารจำกัดการเจริญเติบโต (Substrate-limited growth)

แบบจำลองของ Monod

เป็นหนึ่งในแบบจำลองที่ง่ายที่สุดในการใช้อธิบายอิทธิพลของสารอาหาร (S) ต่ออัตราการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (μ) โดยมีสมมติฐานคือมีสารอาหารเพียงหนึ่งชนิดที่เป็นตัวกำหนดอัตราการเจริญเติบโต โดยความสัมพันธ์ระหว่าง μ -S แสดงดังรูปที่ 2.10 ซึ่งจะเห็นว่าเมื่อความเข้มข้นของสารอาหารเพิ่มมากขึ้นอัตราการเจริญเติบโตจะเพิ่มขึ้นด้วยจนถึงที่ค่าความเข้มข้นสูงค่าหนึ่งอัตราการเจริญเติบโตจะคงที่ไม่ขึ้นกับความเข้มข้นของสารอาหารอีกต่อไป รูปแบบสมการของ Monod คล้ายคลึงกับจลนพลศาสตร์ของ Michaelis-Menten ซึ่งใช้อธิบายปฏิกิริยาที่ใช้เอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

$$\mu = \frac{\mu_m S}{K_s + S} \quad (2.22)$$

โดย μ_m คือ ค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด (maximum specific growth rate) และ K_s คือค่าคงที่อิ่มตัว (saturation constant) หรือ half-velocity constant ซึ่งมีค่าเท่ากับความเข้มข้นของสารตั้งต้นที่จำกัดอัตราการเจริญเติบโต ณ จุดที่อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเป็นครึ่งหนึ่งของค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด นั่นคือ $K_s = S$ เมื่อ $\mu = \mu_m/2$ และสมการนี้มีการจำกัดได้ 2 รูปแบบคือ $\mu = \mu_m$ เมื่อ $S \gg K_s$ และ $\mu = \frac{\mu_m}{K_s} \cdot S$ เมื่อ $S \ll K_s$



รูปที่ 2.10 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง μ -S ของสมการ Monod

[Richardson และ Peacock, 1994]

การที่สามารถนำสมการของ Michaelis-Menten ซึ่งใช้กับการอธิบายจลนพลศาสตร์ของ เอนไซม์ มาใช้ในการอธิบายการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้อย่างดีนั้นเหตุผลที่น่าจะเป็นไปได้ เนื่องจากปฏิกิริยาเคมีที่เกิดภายในเซลล์โดยส่วนใหญ่มีเอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ดังนั้น จลนพลศาสตร์ของการเจริญของจุลินทรีย์จึงอาจจะได้จากจลนพลศาสตร์ของเอนไซม์

แบบจำลองของการเจริญเติบโตอื่นๆ

นอกจากสมการของ Monod แล้วยังมีแบบจำลองอื่นๆอีกมากมายที่กล่าวถึงความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญเติบโตของเซลล์และความเข้มข้นของสารตั้งต้น ซึ่งบางแบบจำลอง อาจได้มาจากการปรับปรุงแบบจำลองของ Monod เพื่อใช้อธิบายปรากฏการณ์ต่างๆที่เกิดขึ้นให้ สอดคล้องกับผลจากการทดลอง

กรณีที่มีความเข้มข้นของสารอาหารสูง อัตราการเจริญเติบโตจะลดลงเนื่องจาก จุลินทรีย์จะมีการใช้สารอาหารซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานอย่างรวดเร็วทำให้เกิดการผลิต ของเสียซึ่งเป็นพิษมากตามไปด้วย ดังนั้นจึงมีเทอม $K_{S_0} S_0$ เพิ่มขึ้นมาเพื่อลดอัตราการเจริญเติบโต

$$\mu = \frac{\mu_m S}{K_S + K_{S_0} S_0 + S} \quad (2.23)$$

โดยที่ S_0 คือ ค่าความเข้มข้นเริ่มต้นของสารอาหาร และ K_{S_0} เป็นเทอมไร้หน่วย

แบบจำลองของ Konak, 1974 เป็นสมการที่ได้จากการทดลอง (empirical) ไม่ได้มีอยู่บนรากฐานของกลไกทางชีววิทยา แต่เป็นสมการแสดงความสัมพันธ์ของ $\mu(S)$ ซึ่งสามารถ ใช้อธิบายกราฟการเจริญเติบโตได้หลากหลาย

$$\frac{d\mu}{dS} = k(\mu_m - \mu)^p \quad (2.24)$$

ทั้ง k และ p คือ พารามิเตอร์ที่ปรับค่าได้ (adjustable parameter)

เมื่อ $p = 1$ สมการที่ 2.24 จะได้เป็นสมการของ Tiessier, 1942

$$\mu = \mu_m(1 - e^{-kS}) \quad (2.25)$$

เมื่อ p เป็นค่าอื่นๆ สมการ 2.24 จะได้เป็น

$$\mu_m^{1-p} - (\mu_m - \mu)^{1-p} = (1 - p) \quad (2.26)$$

และเมื่อ $p = 2$ สมการจะลดรูปเป็นสมการ Monod

$$\mu = \frac{\mu_m S}{1/K\mu_m + S} \quad (2.27)$$

สมการอื่นๆที่คล้ายคลึงกับสมการของ Monod เว้นแต่ปฏิภิกิริยาของสารอาหารไม่ใช่อันดับหนึ่งได้แก่

แบบจำลองของ Moser, 1958
$$\mu = \frac{\mu_m S^n}{K_h^n + S^n} = \mu_m (1 + K_h^n S^{-n})^{-1} \quad (2.28)$$

แบบจำลองของ Vavilin, 1982
$$\mu = \frac{\mu_m S^n}{K_m^{n-p} \cdot S_0^p + S^n} \quad (2.29)$$

ในสมการของ Vavilin มีการประยุกต์ใช้ในกระบวนการที่สารอาหารมีส่วนในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์

ส่วนแบบจำลองของ Contois, 1959 จะพิจารณาถึงผลกระทบของความเข้มข้นเซลล์ต่อการเจริญเติบโตเนื่องจากการยับยั้งจากตัวเซลล์เองหรือจากการจำกัดการแพร่ของสารอาหารโดยค่าคงที่การจำกัด (limitation constant) ซึ่งเป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นของเซลล์

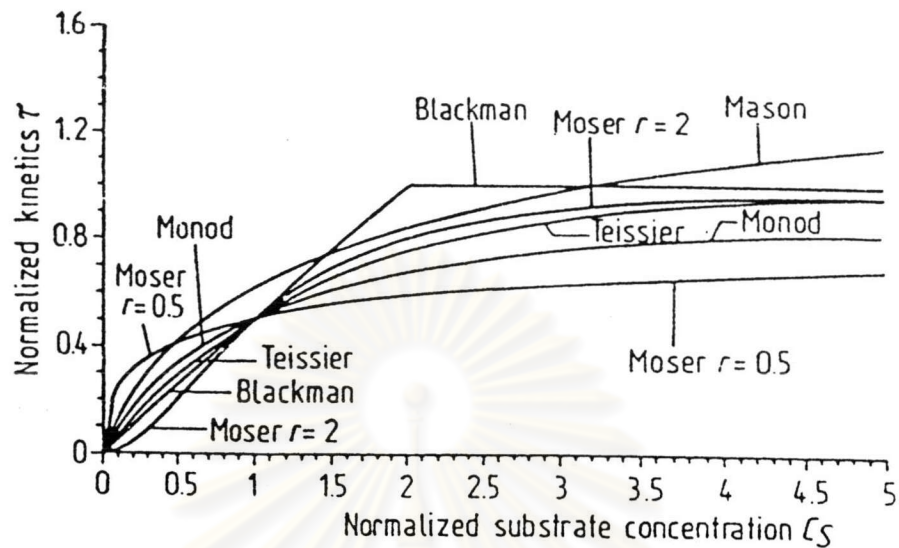
$$\mu = \frac{\mu_m S}{K_S X + S} \quad (2.30)$$

นอกจากนี้ยังมีสมการที่เพิ่มเทอมฟลักซ์ของแรงขับเคลื่อนการแพร่ของสารอาหารเข้าสู่เซลล์ได้แก่

แบบจำลองของ Powell, 1967
$$\mu = \frac{S - K_I \cdot \tau(S)}{K_S + S - K_I \cdot \tau(S)} \quad (2.31)$$

แบบจำลองของ Mason และ Milles, 1976
$$\mu = \frac{S}{K_S + S} + K_D \cdot S \quad (2.32)$$

ลักษณะกราฟความสัมพันธ์ของอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะที่ขึ้นอยู่กับสารตั้งต้น ($\mu - S$) สำหรับแบบจำลองแบบต่างๆ แสดงในรูปที่ 2.11



รูปที่ 2.11 ลักษณะกราฟ $\mu - S$ ของแบบจำลองต่างๆ [Bellgarde, 1991]

2.5.2 แบบจำลองที่มีการยับยั้งการเจริญเติบโต (Model with growth inhibitors)

ที่ความเข้มข้นของสารตั้งต้นและผลิตภัณฑ์สูงๆ ในสารอาหารจะปรากฏสารบางชนิดซึ่งเป็นตัวยับยั้งการเจริญเติบโตและอัตราการเจริญเติบโตจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารยับยั้งนั้นด้วย โดยส่วนใหญ่แล้วรูปแบบการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์มักเปลี่ยนแปลงมาจากการยับยั้งในปฏิกิริยาของเอนไซม์ ถ้าขั้นตอนที่มีการเร่งปฏิกิริยาโดยเอนไซม์ซึ่งมีสารตั้งต้นเพียงตัวเดียวเป็นขั้นตอนที่กำหนดอัตราในการเจริญเติบโตแล้วค่าคงที่ทางจลนพลศาสตร์ในปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจะมีความหมายทางชีววิทยา แต่ภายใต้กลไกที่มีความซับซ้อน บ่อยครั้งที่ค่าคงที่ทางจลนพลศาสตร์เป็นค่าที่ไม่มีความหมายทางชีววิทยาและค่าคงที่เหล่านี้ได้มาจากการสร้างกราฟให้มีความสัมพันธ์สอดคล้องกับข้อมูลจากการทดลอง แบบจำลองทางจลนพลศาสตร์ที่มีการยับยั้งการเจริญเติบโตแบบต่างๆแสดงไว้ในตารางที่ 2.5 โดยที่ C_i คือความเข้มข้นของสารที่เป็นตัวยับยั้งการเจริญเติบโต อาจจะเป็น C_p , C_s หรือ C_x แล้วแต่ชนิดของการยับยั้งว่าเป็นแบบผลิตภัณฑ์, สารอาหาร หรือ เซลล์ เป็นตัวยับยั้งการเจริญเติบโต

ตารางที่ 2.5 แบบจำลองจลนพลศาสตร์ที่มีการยับยั้งการเจริญเติบโตแบบต่างๆ

[Bellgarde, 1991]

Name	Year	Normalized Kinetics τ_t
HALDANE (competitive type)	1965 ^a (1930)	$\frac{C_s}{K_M + C_s + \frac{C_s^2}{K_I}}$
WEBB (competitive type)	1963 ^a	$\frac{C_s \cdot \left(1 + \frac{C_s}{K_{II}}\right)}{K_M + C_s + \frac{C_s^2}{K_I}}$
IERUSALIMSKY (non-competitive type)	1965 ^a	$\frac{C_s}{K_M + C_s} \cdot \frac{1}{1 + \frac{C_I}{K_I}}$
YANO et al. (competitive type)	1969 ^a	$\frac{C_s}{K_M + C_s \cdot \left(1 + \sum_N \left[\frac{C_s}{K_I}\right]^N\right)}$
EDWARDS	1970	$\frac{C_s}{K_M + C_s} \cdot e^{-C_I \cdot K_I^{-1}}$
YANO and KOYA (generally non-competitive type)	1973	$\frac{C_s}{K_M + C_s} \cdot \frac{1}{1 + \left[\frac{C_I}{K_I}\right]^N}$
WAYMAN and TSENG Teissier type	1976 ^a	$\frac{C_s}{K_M + C_s} + K_I \cdot \min(C_{SI} - C_{S0})$ $e^{-C_I \cdot K_I^{-1}} - e^{-K_I \cdot C_S}$
GHOSE and TYAGI DAGLEY and HINSHELWOOD	1952 ^a	$\left[1 - \frac{C_I}{K_I}\right] \cdot \frac{C_s}{K_M + C_s}$
CHEN et al.	1976	$\left[1 - \frac{C_s}{K_I}\right] \cdot \frac{C_s}{K_M + C_s - C_2 \cdot C_s^2}$
BAZUA and WILKE	1977 ^a	$\left[1 - \frac{C_I}{K_I}\right]^{1/2} \cdot \frac{C_s}{K_M + C_s}$
LEVENSPIEL	1980 ^a	$\left[1 - \frac{C_I}{K_I}\right]^N \cdot \frac{C_s}{K_M + C_s}$
HAN and LEVENSPIEL	1987	$\left[1 - \frac{C_I}{K_I}\right]^M \cdot \frac{C_s}{K_M \left[1 - \frac{C_I}{K_I}\right]^M + C_s}$

^a cited in HAN and LEVENSPIEL (1987)

2.5.3 แบบจำลองที่การเจริญเติบโตเป็นอิสระกับความเข้มข้นของสารอาหาร (Substrate-Independent growth kinetics)

เป็นแบบจำลองแรกที่พัฒนาสำหรับการเติบโตของเซลล์โดยไม่คำนึงว่าอัตราการเติบโตที่เป็นแบบทวีคูณขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารอาหาร เป็นแบบจำลองที่นำมาประยุกต์ใช้เมื่อแบบจำลองแบบสารอาหารจำกัดการเจริญไม่สามารถอธิบายการเติบโตของจุลินทรีย์ได้ เช่น แบบจำลองของ Malthus, เป็นแบบจำลองที่มีการเจริญเติบโตไม่จำกัด

$$r_x = \mu X \quad (2.33)$$

สำหรับแบบจำลองที่มีการจำกัดการเจริญเติบโต เช่น แบบจำลองของ Peal และ Reed, 1920 ได้เสนอการเพิ่มเทอมการยับยั้งซึ่งขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของเซลล์

$$r_x = kX(1 - \beta X) \quad (2.34)$$

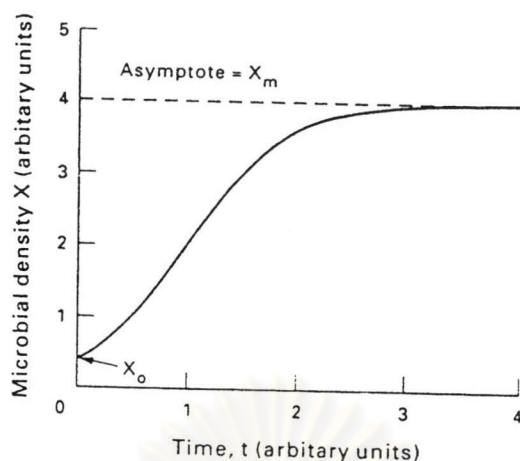
นอกจากนี้แบบจำลองที่ใช้อธิบายการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ไม่ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารอาหารแบบหนึ่งที่ยอมรับกันอย่างกว้างขวางได้แก่ logistic law ดังสมการที่ 2.35

$$r_x = kX \left\{ 1 - \frac{X}{X_m} \right\} \quad (2.35)$$

สำหรับการเลี้ยงเชื้อแบบไม่ต่อเนื่อง $dx/dt = r_x$ ดังนั้นอินทิเกรตสมการที่ 2.35 ได้เป็น

$$X = \frac{X_0 e^{kt}}{1 - \frac{X_0}{X_{\max}} (1 - e^{kt})} \quad \text{เมื่อ } X = X_0 \text{ ที่ } t = t_0 \quad (2.36)$$

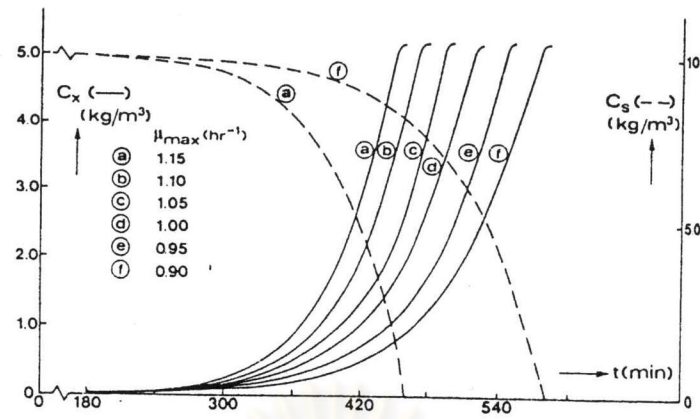
สมการที่ 2.36 สามารถแสดงเป็นกราฟการเจริญเติบโตได้ดังรูปที่ 2.12 จากกราฟจะพบว่าอัตราการเจริญเติบโตช่วงเริ่มต้นจะเป็นทวีคูณ และเมื่อเวลามากขึ้นความเข้มข้นของเซลล์จะเข้าสู่ค่าความเข้มข้นของเซลล์สูงสุด, X_{\max}



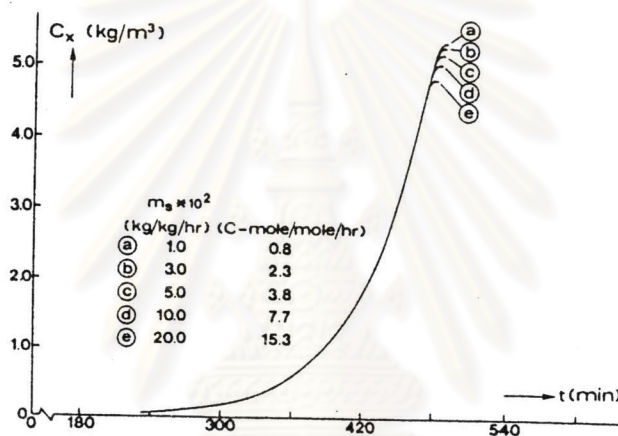
รูปที่ 2.12 แสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นตามเวลาของแบบจำลอง logistic
[Richardson และ Peacock, 1994]

2.5.4 การวิเคราะห์ความไว (Sensitivity) ของค่าพารามิเตอร์ทางจุลณพลศาสตร์ ต่อลักษณะกราฟการเพาะเลี้ยงเชื้อแบบไม่ต่อเนื่อง

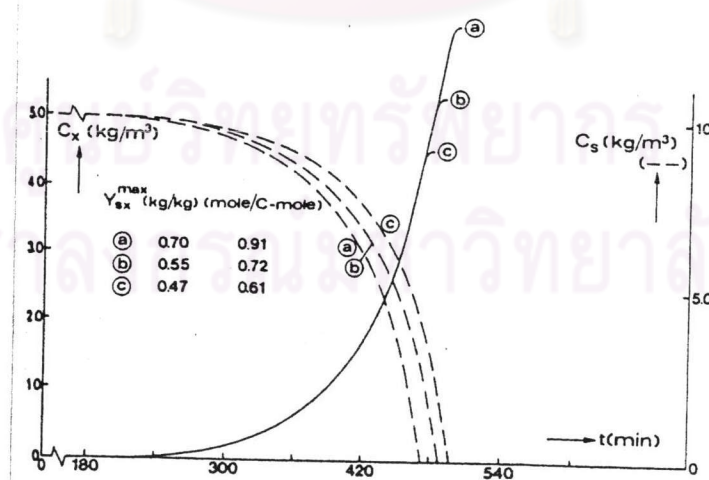
จากค่าพารามิเตอร์ของแบบจำลองของ Monod (K_s , μ_m) ค่าสัมประสิทธิ์ผล
ได้ของเซลล์จากสารอาหาร ($Y_{x/s}$) และ ค่าอัตราการใช้สารอาหารเพื่อการดำรงชีวิต (m_s) เมื่อนำมา
วิเคราะห์ถึงความไวต่อลักษณะกราฟการเจริญเติบโต และการใช้สารอาหาร โดยการเปลี่ยนแปลง
ค่าพารามิเตอร์ต่างๆ แล้วสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเซลล์และสารอาหาร
ตามเวลา ดังแสดงในรูปที่ 2.13-2.15 จากกราฟทั้งสามสามารถสรุปได้ว่าการอธิบาย
จุลณพลศาสตร์ของการเจริญเติบโตแบบไม่ต่อเนื่อง ในรูปของลักษณะความสัมพันธ์ของความเข้ม
ขึ้นของเซลล์กับเวลา จะไม่ได้รับอิทธิพลจากการเปลี่ยนแปลงค่าอัตราการใช้สารอาหารเพื่อการ
ดำรงชีวิต (m_s) และค่าผลได้ของเซลล์จากสารอาหาร ($Y_{x/s}$) แต่อย่างไรก็ตามค่าอัตราการเจริญ
เติบโตจำเพาะสูงสุด (μ_m) จะเป็นพารามิเตอร์ทางจุลณพลศาสตร์ที่สำคัญซึ่งส่งผลต่อลักษณะการ
เจริญเติบโตของเซลล์ตามเวลา ข้อสรุปอีกอย่างหนึ่งที่สามารถบอกได้จากรูปที่ 2.14 คือ ค่าผลได้
ของเซลล์จากสารอาหาร ($Y_{x/s}$) ที่ประมาณได้จากข้อมูลแบบไม่ต่อเนื่อง จะทำให้ลักษณะกราฟ
ความเข้มข้นของสารอาหารที่เหลือกับเวลา มีความแม่นยำมากขึ้น และ ค่าผลได้ของเซลล์จากสาร
อาหารยังส่งผลต่อค่าปริมาณเซลล์สูงสุดที่ได้อีกด้วย



รูปที่ 2.13 ความไวของการเปลี่ยนแปลงค่า μ_m ต่อดัชนีกราฟการเพาะเลี้ยงเชื้อแบบไม่ต่อเนื่อง [Esener และ Roels, 1983]



รูปที่ 2.14 ความไวของการเปลี่ยนแปลงค่า m_s ต่อดัชนีกราฟการเพาะเลี้ยงเชื้อแบบไม่ต่อเนื่อง [Esener และ Roels, 1983]



รูปที่ 2.15 ความไวของการเปลี่ยนแปลงค่า $Y_{x/s}$ ต่อดัชนีกราฟการเพาะเลี้ยงเชื้อแบบไม่ต่อเนื่อง [Esener และ Roels, 1983]