บทที่1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและแนวโน้มปริมาณการใช้แอล-ไลซีน

กรดอะมิโนคือ หน่วยย่อยที่สุดของโปรตีน กรดอะมิโนในธรรมชาติที่ร่างกายต้องการเพื่อประกอบขึ้นเป็นโปรตีนตามที่ร่างกายต้องการนั้นมีทั้งหมด 22 ชนิด ในจำนวนนี้มี 12 ชนิดที่ร่างกายสามารถสังเคราะห์ได้เองในร่างกาย เรียกว่า กรดอะมิโนชนิดที่ไม่จำเป็น แต่อีก 10ชนิดที่เหลือเรียกว่า กรดอะมิโนชนิดที่จำเป็น ซึ่งร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์ขึ้นได้เองหรือสังเคราะห์ได้แต่ไม่เพียงพอกับที่ร่างกายต้องการจึงต้องได้รับกรดอะมิโนชนิดนี้จากอาหาร ทั้งนี้เพื่อช่วยให้ร่างกายสามารถสังเคราะห์โปรตีนที่ใช้ในการดำรงชีวิต รวมทั้งเพื่อการเจริญของเนื้อเยื่อและอวัยวะต่างๆ

แอล-ไลซีนเป็นกรดอะมิโนชนิดจำเป็นต้องมีในอาหารชนิดหนึ่ง ซึ่งสัตว์ต้องการในปริมาณมาก ทั้งนี้เพราะ ในส่วนของเนื้อแดง (lean) มีกรดอะมิโนแอล-ไลซีนเป็นส่วนประกอบอยู่ในปริมาณมาก แต่ในเมล็ดธัญพืชรวมทั้งผลิตผลพลอยได้จากข้าวที่ใช้เลี้ยงสัตว์มักจะมีแอล-ไลซีนค่อนข้างต่ำ และไม่พอกับความต้องการของสัตว์ (1) ดังนั้นการเสริมกรดอะมิโนชนิดจำเป็นในอาหารจึงเป็นกระบวนการเพิ่มคุณค่าทางอาหารที่มีกรดอะมิโนชนิดนี้ที่ไม่เพียงพอเพื่อปรับปรุงส่วนประกอบของโปรตีนในอาหารให้มีคุณภาพดีขึ้น (2,3) เช่นการเติมแอล-ไลซีน 0.5 เปอร์เซ็นต์ จะเพิ่มคุณค่าอาหารเลี้ยงสัตว์ได้เท่ากับการเติมกากถั่วเหลืองประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากกรดอะมิโนส่วนใหญ่ในกากถั่วเหลือง สัตว์ไม่สามารถนำมาใช้ได้ (4)

การกำหนดค่าความต้องการของกรดอะมิโนในอาหารสุกร มักจะระบุเป็นความเข้มข้นระดับเท่าใด โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของกรดอะมิโนนั้นในสูตรอาหาร แต่การระบุความต้อง การแบบใหม่จะยึดความต้องการกรดอะมิโนแอล-ไลซีนเป็นหลัก ความต้องการกรดอะมิโนตัวอื่นคิดเทียบเป็นสัดส่วนเปอร์เซ็นต์ของแอล-ไลซีน ซึ่งเท่ากับ 100 ยึดถือหลักการของโปรตีนสมบูรณ์ (Ideal protein) คิดค้นและพัฒนาโดยสภาวิจัยการเกษตรแห่งประเทศอังกฤษ (ARC,1981) (5) ดังแสดงในตารางที่1.1

อุตสาหกรรมการผลิตแอล-ไลซีนในประเทศไทยเริ่มเมื่อปี พ.ศ. 2529 โดย บริษัทอายิโนะโมะโต๊ะ (ประเทศไทย) จำกัด (6) โรงงานมีกำลังการผลิตประมาณ 3,000 ตันต่อปี ซึ่งประมาณหนึ่งในสามส่งออกไปยังต่างประเทศ เช่น มาเลเซีย ฟิลิปปินส์ อินโดนีเซียและสิงคโปร์ ส่วนที่เหลือจำหน่ายภายในประเทศ ซึ่งนับว่าสามารถทดแทนการนำเข้าได้ทั้งหมด (7) และในปัจจุบันกำลังในการผลิตแอล-ไลซีนเพิ่มขึ้นเป็น 50,000 ตันต่อปี (8)

ตารางที่1.1 สมดุลของกรดอะมิโนในอาหารสุกร

กรดอะมิโน	NRC	ARC	AEC	DR.YEN	AJI(THAI)
ไลซีน	100	100	100	100	100
เมทไธโอนีน+ซีสทีน	59-66	50	60	50	55
ทรีโอนีน	59-65	60	55	57	60
ทริปโตเฟน	16-18	15	19	20	18

NRC = National Research Council (U.S.A.)

ARC = Agricultural Research Council (U.K.)

AEC = Alimentation Equilidree de' Commentary

DR.YEN= Taiwan Swine Research Institute

ที่มา : บริษัทอายิโนะโมะโต๊ะเซลล์ (ประเทศไทย) จำกัด

แนวโน้มการใช้แอล-ไลซีนของโลกเพิ่มขึ้นตั้งแต่ในช่วงปี 1975-1980 การผลิตแอล-ไลซีนของโลกเพิ่มขึ้น 3 เท่า และช่วงปี 1980-1985 เพิ่มขึ้นอีก 2 เท่า (9) ช่วงปี 1975-1985 ออสเตรเลียนำเข้าแอล-ไลซีนเพิ่มขึ้น 10 เท่า ในปี 1985 และ 1987 นำเข้า 4,400 และ 5,000 ตันตามลำดับ อัตราการใช้ที่เพิ่มขึ้นแปรผันตามปริมาณปศุสัตว์ที่เพิ่มขึ้น(10) ดังข้อมูลแสดงในตารางที่ 1.2

อุตสาหกรรมการผลิตแอล-ไลซีนในประเทศไทย มีอัตราการผลิตรวมทั้งอัตราการใช้ภายในประเทศเพิ่มขึ้นอย่างมากในช่วงปี 1986-1992 และแปรผันตามปริมาณการเลี้ยงปศุสัตว์ที่เพิ่มขึ้น ดังข้อมูลในตารางที่ 1.3 และ ตารางที่ 1.4

จากข้อมูลตารางที่1. 3 และ 1.4 จะเห็นว่าแม้กำลังการผลิตแอล-ไลซีนภายในประเทศของบริษัท อายิโนะโมะโต๊ะ (ประเทศไทย) จำกัด จะมากเกินพอ และยังมีการนำส่งออกต่าง ประเทศด้วย แต่ในระยะหลังนี้ยังมีการนำเข้าแอล-ไลซีนจากต่างประเทศและมีปริมาณเพิ่มมากขึ้นทุกปี แสดงว่าบริษัทอื่นๆในต่างประเทศได้มีการพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตแอล-ไลซีน ทำให้ต้นทุนการผลิตต่ำลง มีคุณภาพทัดเทียม และราคาต่ำพอที่จะมีการนำเข้ามาใช้ หรืออาจมีบางส่วนที่นำเข้ามาเป็นแอล-ไลซีนที่อยู่ในรูปอื่น เช่นของเหลว ที่มีความเป็นไปได้ที่จะนำมาทดลองใช้แทนรูปผลึกในอุตสาหกรรมอาหาร

ตารางที่ 1.2 แนวโน้มของจำนวนปศุสัตว์และความต้องการแอล-ไลซีนในประเทศออสเตรเลีย (1983-1989)

	จำนวนปศุสัตว์ในประเทศออสเตรเลีย (ล้าน)						
	1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989
สัตว์ปีก-ไก่ไข่	15.43	14.06	14.00	14.00	14.00	14.00	14.00
-ไก่กระทง	30.30	31.32	32.32	34.14	35.54	37.15	39.00
-อื่นๆ	3.56	3.57	3.60	3.64	3.67	3.72	3.75
สุกร -แม่พันธุ์	0.34	0.33	0.34	0.36	0.37	0.37	0.37
-อื่นๆ	2.30	2.48	2.52	2.70	2.82	2.80	2.78
	แนวโน้มปริมาณการใช้แอล-ไลซีนในประเทศออสเตรเลีย (ตัน)						
	1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989
สัตว์ปีก-ไก่ไข่	617	562	560	560	560	560	560
-ไก่กระทง	1345	1390	1435	1515	1578	1649	1731
-อื่นๆ	142	143	144	146	147	149	150
สุกร -แม่พันธุ์	170	165	170	180	185	185	185
-อื่นๆ	1898	2046	2079	2228	2327	2310	2294
ทั้งหมด	4172	4306	4388	4629	4796	4853	4920

ที่มา : Development from Bareu of Agricultural Economics Projections, Australian Bureau of Statistics and Industry Approximations

ตารางที่ 1.3 ปริมาณการผลิตและการใช้แอล-ไลซีนในประเทศไทย

ปี	กำลังการผลิตของโรงงาน(ตัน)	ปริมาณการใช้ภายในประเทศ(ตัน)
1986	3,000	1,500
1987	-	2,800
1988	-	3,700
1989	6,000	3,900
1990	-	4,900
1991	-	5,200
1992	10,000	-

หมายเหตุ : ปริมาณที่เหลือจากที่ใช้ภายในประเทศ จะนำส่งออกต่างประเทศ

ที่มา : บริษัท อายิโนะโมะโต๊ะ (ประเทศไทย) จำกัด

ตารางที่ 1.4 ปริมาณการนำเข้าแอล-ไลซีนจากต่างประเทศ

ปี	ปริมาณการนำเข้า(กิโลกรัม)	มูลค่า (บาท)
1988	53,778	5,225,002
1989	19,584	285,572
1990	530,154	30,440,691
1991	900,817	58,556,847
1992	2,307,645	121,693,900
1993	1,326,421	76,336,065

ปัจจุบันส่วนแบ่งในตลาดโลกของกรดอะมิโนประมาณ 2 ล้านตันต่อปี โดยส่วนใหญ่คือ โมโนโซเดียมกลูตาเมตซึ่งใช้เป็นสารประกอบเกี่ยวกับรสชาติ รองลงมาคือแอล-ไลซีน ดี,แอล-เมทไธโอนีน และแอล-ทรีโอนีน ซึ่งใช้เป็นสารเติมในอาหารเพื่อเพิ่มคุณค่า และมีบางส่วนที่ใช้สำหรับผลิตภัณฑ์เกี่ยวกับเวชภัณฑ์ ประมาณ 15,000 ตันต่อปี (11)

ในปี 2001 ส่วนแบ่งในตลาดโลกของแอล-ไลซีนประมาณ 550,000 ตันต่อปี ซึ่งมีอัตราการเติบโต 7 เปอร์เซ็นต์ต่อปี บริษัทที่ผลิตแอล-ไลซีนเป็นหลักได้แก่บริษัทอายิโนะโมะโต๊ะ เอดีเอ็ม เคียววะ ฮักโกะ เป็นต้น

1.2 มาตรฐานผลิตภัณฑ์

แอล-ไลซีน(L-lysine.HCl) ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม หมายถึง กรดอะมิโนจำเป็น มีชื่อทางเคมีว่า แอล-2,6-ไดอะมิโนเฮกซะโนอิกแอซิด (L-2,6-diamino hexanoic acid) มีสูตรโครงสร้าง $NH_2(CH_2)_4CH(NH_2)COOH.HCl$ และมีลักษณะทั่วไปคือ เป็นผงหรือเกล็ดหรือเม็ดเล็กๆมีสีขาวหรือสีครีม ไม่จับตัวเป็นก้อน มีกลิ่นตามธรรมชาติของผลิตภัณฑ์ ละลายน้ำได้ดี แต่ละลายในแอลกอฮอล์และอีเทอร์ได้เล็กน้อยที่อุณหภูมิห้อง การทดสอบทำได้โดยการตรวจพินิจ คุณสมบัติทางฟิสิกส์และเคมีตามตารางที่ 1.5 (12)

1.3 การผลิตแอล-ไลซีนในอุตสาหกรรม

ในอุตสาหกรรมมีการผลิตไลซีน และเมทไธโอนีนเป็นอาหารเสริมสำหรับมนุษย์ และสัตว์ แต่ส่วนใหญ่เมทไธโอนีนมักผลิตเพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์ เพราะทั้ง ดี-เมทไธโอนีน และแอล-เมทไธโอนีน สิ่งมีชีวิตสามารถนำไปใช้ได้ ในขณะที่สิ่งมีชีวิตใช้ได้เฉพาะแอล-ไลซีนเท่านั้น ในปัจจุบันนิยมผลิตเมทไธโอนีนโดยวิธีทางเคมี แต่นิยมผลิตไลซีนทางชีวภาพโดยการหมักจากเชื้อจุลินทรีย์ เพราะมี

ความเหมาะทางด้านเศรษฐศาสตร์มากกว่า และไลซีนที่ได้จากการหมักโดยจุลินทรีย์เป็นแอล-ไลซีน ซึ่งสิ่งมีชีวิตสามารถนำไปใช้ได้ทันที

ตารางที่ 1.5 ลักษณะทางฟิสิกส์และเคมีของแอล-ไลซีนโมโนไฮโดรคลอไรด์

รายการที่	ลักษณะ	เกณฑ์ที่กำหนด
1	ค่าสเปซิฟิกออพทิคัลโรเทชัน [α] 25 องศา	+19.0 ถึง +21.5
2	น้ำหนักที่หายไปเมื่อทำให้แห้ง ร้อยละ ไม่เกิน	1.0
3	ส่วนที่เหลือจากการเผา ร้อยละ ไม่เกิน	0.3
4	ความเป็นกรด-ด่าง เมื่อทำให้เป็นสารละลาย 0.01 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร	5.0-6.0
5	ปริมาณแอล-ไลซีนโมโนไฮโดรคลอไรด์ ร้อยละของน้ำหนักอบแห้ง	ต้องไม่น้อยกว่าที่ระบุไว้ในฉลากและไม่น้อยกว่า 98.0
6	ปริมาณไลซีน ร้อยละของน้ำหนักอบแห้ง	ต้องไม่น้อยกว่าที่ระบุไว้ในฉลากและไม่น้อยกว่า 78.4
7	ปริมาณคลอไรด์ ร้อยละ ไม่เกิน	19.8
8	จุดหลอมเหลวพร้อมกับสลายตัว ที่อุณหภูมิองศาเซลเซียส	ประมาณ 260

ที่มา : สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม

1.3.1 การผลิตไลซีนโดยจุลินทรีย์

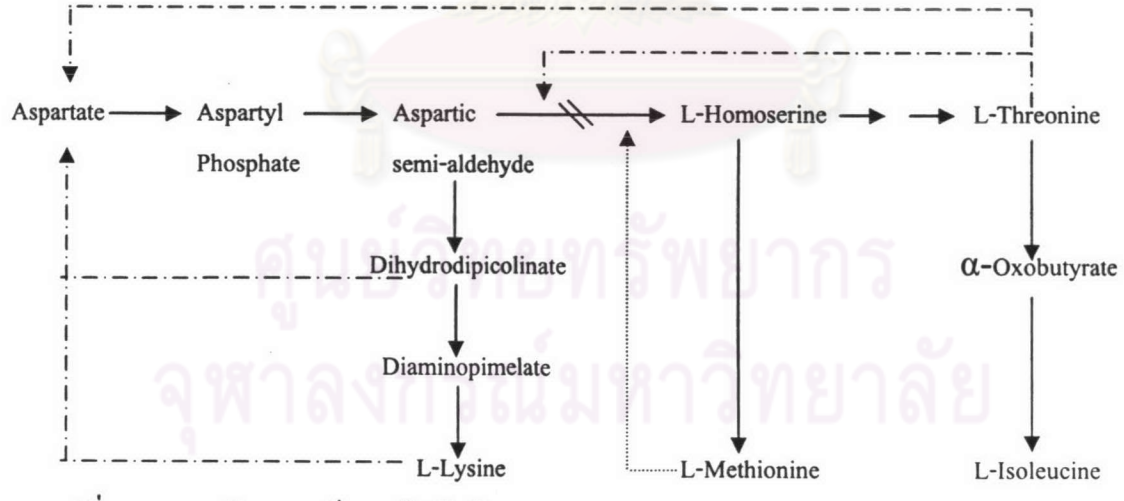
กระบวนการผลิตแอล-ไลซีนทางชีวภาพเพื่อการค้า ในปัจจุบันมี 2 กระบวนการคือ การหมักโดยใช้แบคทีเรีย และการเปลี่ยนแปลงทางเอนไซม์ของ DL-α-amino-ε-caprolactam ให้ได้แอล-ไลซีน

การสังเคราะห์แอล-ไลซีนในแบคทีเรียโดยทั่วไปมีวิถีการสังเคราะห์ผ่าน diaminopimelate pathway ซึ่งเป็น branched pathway ที่มีแอล-แอสพาเทต เป็นสารตั้งต้น (precursor) ทำให้ได้กรดอะมิโน 4 ชนิดคือ แอล-ไลซีน แอล-เมทไธโอนีน แอล-ทรีโอนีนและแอล-ไอโซลิวซิน (13,14,15)

การควบคุมการผลิตแอล-ไลซีนในวิถีนี้เป็นแบบการควบคุมแบบย้อนกลับโดยมี key enzymes ที่สำคัญ 2 ชนิด คือ แอสพาโทไคเนส (aspartokinase) โดยเร่งปฏิกิริยาแรกในวิถี และ ฮอมอเซรีนดีไฮโดรจีเนส (homoserine dehydrogenase) โดยเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยน แอสพาติกเซมิแอลดีไฮด์ (aspartic semi-aldehyde) ไปเป็น ฮอมอเซรีน ที่ branch point

ใน *Rhodopseudomonas capsulatus, Bacillus polymyxa, Brevibacterium flavum* และ *Corynebacterium glutamicum* มี แอสพาโทไคเนสเพียงชนิดเดียวและถูกควบคุมแบบการยับยั้งย้อนกลับร่วมกันของแอล-ไลซีนและแอล-ทรีโอนีน ในขณะที่แอสพาโทไคเนสใน *Brevibacterium lactofermentum, Bacillus breviss* และ *Pseudomonas putida* จะถูกยับยั้งการทำงานในภาวะที่มี แอล-ไลซีนหรือแอล-ทรีโอนีน เพียงชนิดใดชนิดหนึ่ง หรือในภาวะที่มีกรดอะมิโนทั้งสองชนิดอยู่ร่วนกันก็ได้

แม้การควบคุมกิจกรรมหรือการสังเคราะห์ของแอสพาโทไคเนส ในจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ อาจมีความแตกต่างกันบ้าง แต่การคัดเลือกสายพันธุ์กลายที่ให้ผลผลิตแอล-ไลซีนสูง โดยทั่วไปจะเลือกจากฮอมอเซรีนออกโซโทรป หรือ analogue resistance mutant (16) เนื่องจากพวกฮอมอเซรีนออกโซโทรปมีแนวโน้มจะให้ผลผลิตแอล-ไลซีนได้สูงกว่าโปรโตโทรป เพราะ แอสพาติกเซมิแอลดีไฮด์ไม่สามารถเปลี่ยนเป็นแอล-ฮอมอเซรีน ดังนั้นจึงเกิดปฏิกิริยาได้ทางเดียว คือเปลี่ยนไปเป็นแอล-ไลซีน นอกจากนี้ ยังทำให้ไม่สามารถสร้างแอล-เมทไธโอนีนและแอล- ทรีโอนีน ซึ่งอาจเป็นตัวร่วมทำให้เกิดการยับยั้งการทำงานหรือการสังเคราะห์แอสพาโทไคเนสอีกด้วย สำหรับ analogue resistance mutant นั้น สามารถสร้างแอล-ไลซีนได้สูงขึ้น ในกรณีที่ความเป็นพิษของแอนาลอกสามารถควบคุมแอสพาโทไคเนสได้เช่นเดียวกับผลผลิตขั้นสุดท้ายและตำแหน่งที่เกิดการเปลี่ยนแปลงในสายพันธุ์กลาย เป็นตำแหน่งที่ถูกควบคุมโดยผลผลิตขั้นสุดท้ายด้วยเช่นกัน (17) ดังแสดงในรูปที่ 1.1



รูปที่ 1.1 การสังเคราะห์แอล-ไลซีนโดย *Corynebacterium glutamicum*

..... แสดงการยับยั้งแบบย้อนกลับ —·— แสดงการยับยั้งการสร้างเอนไซม์

โดยทั่วไปฮอมอเซรีนออกโซโทรป และ ทรีโอนีน-เมทไธโอนีนดับเบิลออกโซโทรป (threonine-methionine double auxotroph) ถูกแยกจากจุลินทรีย์สายพันธุ์ที่ผลิตกรดกลูตามิก คือ *Corynebacterium glutamicum* , *Brevibacterium flavum* (18) และ *Brevibacterium lactofermentum* (19)

การเพิ่มผลผลิตแอล-ไลซีนอีกวิธีคือ regulatory mutants โดยกลไกของการไม่มีผลยับยั้งย้อนกลับ เช่นจุลินทรีย์ที่ถูกคัดเลือกเป็นสายพันธุ์กลายพันธุ์ที่มีความต้านทานต่ออะนาลอกของกรดอะมิโนมีการรายงานตัวอย่างของจุลินทรีย์ที่กลายพันธุ์โดยวิธีนี้คัดเลือกจาก *Brevibacterium flavum* (20)

Tosaka และคณะ (21) รายงานไว้ว่าแม้การกลายพันธุ์จะช่วยเพิ่มผลผลิตของแอล-ไลซีน แต่สายพันธุ์กลายพันธุ์ที่ได้จะมีอัตราการใช้น้ำตาลและการเจริญเติบโตที่ต่ำกว่าสายพันธุ์เดิม จึงนำเทคนิคการหลอมโปรโตพลาสก์มาใช้ในจุลินทรีย์ *Brevibacterium lactofermentum* เพื่อปรับปรุงอัตราการใช้น้ำตาลของเชื้อ โดยใช้จุลินทรีย์ 2 สายพันธุ์ โดยจุลินทรีย์สายพันธุ์หนึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ผลิตกรดกลูตามิก มีความสามารถใช้น้ำตาลได้เร็ว และอีกสายพันธุ์เป็นสายพันธุ์ผลิตแอล-ไลซีน มีอัตราการใช้น้ำตาลที่ต่ำกว่า สายพันธุ์ที่คัดเลือกได้จากฟิวแซนต์ สามารถใช้น้ำตาลได้ 130 กรัมต่อลิตร ภายในเวลา 30 ชั่วโมง จากเดิมใช้หมดในเวลา 100 ชั่วโมง และมีผลผลิตแอล-ไลซีนเท่าเดิม หรือคัดเลือกจุลินทรีย์สายพันธุ์หนึ่งที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิสูง และอีกสายพันธุ์หนึ่งสามารถสร้างแอล-ไลซีนได้สูง สายพันธุ์ที่คัดเลือกได้จากฟิวแซนต์นี้จะสามารถเจริญและผลิตแอล-ไลซีนได้ดีที่อุณหภูมิสูงซึ่งสามารถลดการเกิดการปนเปื้อนเนื่องจากจุลินทรีย์ชนิดอื่นได้ หรือการทำโคลนยีนที่ควบคุมทุกขั้นตอนที่สำคัญของวิถีการสร้างแอล-ไลซีนก็จะเป็นการเพิ่มผลผลิตได้ด้วย (22)

นอกจากนี้ยังมีรายงานการวิจัยของ Sano (23) และ Miwa (24) โดยใช้หลักการของ gene amplification มาใช้ในการพัฒนาสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมักแอล-ไลซีน

1.3.2 การผลิตไลซีนโดยเอนไซม์

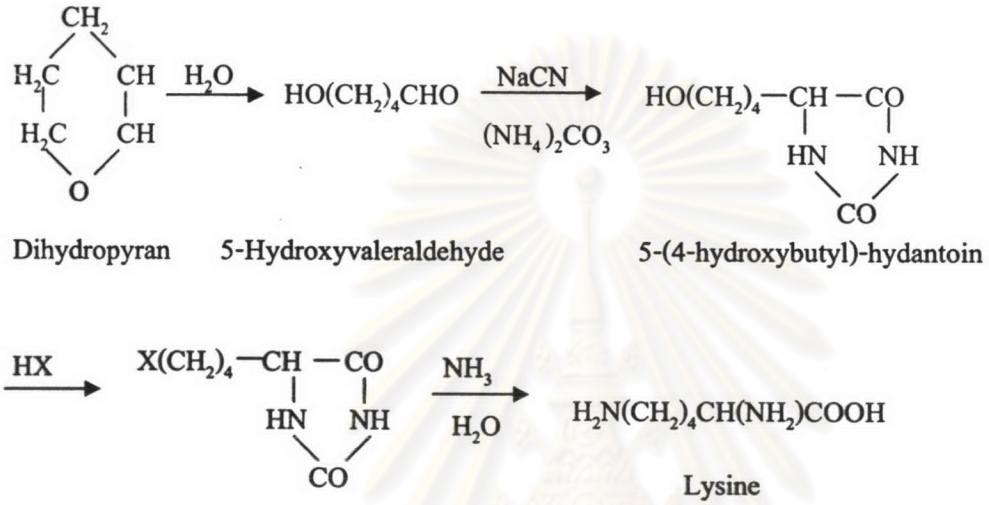
Fukumura (25) เริ่มใช้กระบวนการทางเอนไซม์สำหรับการผลิตแอล-ไลซีน โดยใช้ DL-α-amino-Ɛ-caprolactam(AAC) เป็นสารตั้งต้นในการผลิตซึ่งประกอบด้วยปฏิกิริยาของเอนไซม์ 2ปฏิกิริยา คือ การไฮโดรไลซ์ L-ACC ให้ได้แอล-ไลซีน และการ racemase ของ ACC

มีการศึกษาภาวะที่เหมาะสมของปฏิกิริยาทางเอนไซม์ทั้งสอง โดยใช้เซลล์ยีสต์ *Cryptococcus laurentii* และแบคทีเรีย *Achromobacter obae* มาเปลี่ยน ดีอะมิโนแลกแตม และ ดี, แอล-อะมิโนแลกแตม ให้ได้แอล-ไลซีน โดยจุลินทรีย์สามารถเปลี่ยน ดีแอล-อะมิโนแลกแตม 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นแอล-ไลซีนได้ภายใน 24 ชั่วโมง คิดเป็นอัตราการเปลี่ยน 99.8 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส (26)

1.3.3 การผลิตไลซีนโดยวิธีทางเคมี

การผลิตไลซีนโดยวิธีทางเคมีจะเริ่มจากสารตั้งต้นชนิดต่างๆ เช่น ไพเพอริดีน ไดไฮโดรไพแรน คาโพรแลกแตม และ ไซโคลเฮกโซน เป็นต้น ในกรณีที่ใช้ไดไฮโดรไพแรนเป็นสารตั้งต้นใน

การผลิต จะเริ่มปฏิกิริยาโดยการเปิดวงแหวนของไดไฮโดรไพแรนด้วยการดึงน้ำออก ได้5-ไฮ ดรอกซีวาเลอแอลดีไฮด์ ซึ่งจะนำสารนี้มาทำปฏิกิริยากับโซเดียมไซยาไนด์ หรือแอมโมเนียมคาร์บอเนต เกิดเป็น 5-(4-ไฮดรอกซีบิวทิล)ไฮโทอิน เมื่อทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนคลอไรด์ หรือไฮโดรเจนโบรไมด์ หมู่ไฮดรอกซิลของไฮแดนโทอิน จะถูกแทนที่ด้วยฮาโลเจน จากนั้นฮาโลเจนจะถูกแทนที่ด้วยหมู่อะมิโนในปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสในสภาพที่มีแอมโมเนียทำให้ได้ไลซีนเป็นผลิตผลสุดท้าย (รูปที่ 1.2) (27)



รูปที่ 1.2 แสดงการผลิตไลซีนโดยวิธีทางเคมี

ที่มา : Mcperson (27)

เนื่องจากการผลิตโดยวิธีทางเคมี ไลซีนที่ได้จะเป็นดีแอล-ไลซีน ซึ่งสามารถเปลี่ยนเป็นแอล-ไลซีน โดยนำดีแอล-ไลซีนมาทำปฏิกิริยากับ แอล-กลูตามิกดีแคมโฟริก หรือ ดี-โฮโมซิสเทนิก เกิดไดแอสเตอริโอไอโซเมอร์ 2 ชนิด ซึ่งมีคุณสมบัติการละลายที่แตกต่างกัน จึงแยกออกจากกันได้โดยวิธีการตกผลึกแบบลำดับส่วน (fraction crystallization) โดยสารชนิดแรกคือ แอล-ไลซีน แอล-กลูตาเมต ซึ่งสามารถสกัดออกมาได้โดยใช้สารละลายของน้ำกับแอลกอฮอล์ จากนั้นนำไปทำปฏิกิริยากับกรดไฮโดรคลอริกให้ได้เป็นแอล-ไลซีนโมโนไฮโดรคลอไรด์กับ กรดกลูตามิก ส่วนดี-ไลซีนที่ได้จะถูกนำไปทำปฏิกิริยากับด่างที่อุณหภูมิสูงได้แรซิเมตย้อนกลับไปใช้ในปฏิกิริยาเดิม

จุลินทรีย์ผลิตแอล-ไลซีนแล้วมักจะปล่อยออกมานอกเซลล์ และสะสมอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งสามารถแยกออกได้โดยนำอาหารนั้นผ่านคอลัมน์แลกเปลี่ยนไอออน แล้วชะแอล-ไลซีนออกจากเรซิน โดยใช้แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ หลังจากนั้นแอมโมเนียมที่ออกจากคอลัมน์จะถูกกำจัดออกในรูปของแอมโมเนียมในขณะทำแห้ง ทำให้ได้แอล-ไลซีนอยู่ในรูปโมโนไฮโดรคลอไรด์ จากนั้นนำมาทำให้บริสุทธิ์อีกครั้งด้วยวิธีตกผลึก (recrystallization) สำหรับประเทศที่มีการผลิตแอล-ไลซีนเป็นอุตสาหกรรม เช่น ญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกาและฝรั่งเศส ใช้ *Corynebacterium glutamicum* หรือ *Micrococcus glutamicus* เป็นจุลินทรีย์สำหรับการผลิต โดยมีกากน้ำตาลเป็นซับสเทรต และใช้

betain ซึ่งเป็นสาร osmoprotective compound เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาการใช้น้ำตาล เพื่อเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์อินเวอร์เทส และทำให้ผลิตแอล-ไลซีนที่อุณหภูมิสูงได้ (28)

1.4 การผลิตแอล-ไลซีนโดยวิธีการหมัก

กระบวนการหลักสำหรับการผลิตแอล-ไลซีนเพื่อการค้าคือการหมักจากจุลินทรีย์ ในปัจจุบันประมาณร้อยละ 80 ของไลซีนที่ผลิตจำหน่ายนั้น ผลิตโดยวิธีการหมัก มีเพียงร้อยละ 20 เท่านั้นที่ผลิตโดยวิธีการทางเคมี การใช้วิธีทางชีววิทยา โดยการหมักมีข้อดีกว่าการใช้วิธีทางเคมี คือ ผลผลิตไลซีนที่ได้จะอยู่ในรูปแอล-ไลซีน ซึ่งมนุษย์และสัตว์สามารถใช้ได้ทั้งหมด แต่การใช้วิธีทางเคมีจะทำให้ได้ ดี- และ แอล-ไลซีน ซึ่งดี-ไลซีนนั้นมนุษย์และสัตว์ไม่สามารถใช้ได้ (29,30)

การศึกษาเกี่ยวกับการผลิตกรดอะมิโนจากจุลินทรีย์ เริ่มมีมาตั้งแต่ปี ค.ศ. 1950 โดย Dagley และคณะ ได้รายงานไว้ว่า *Escherichia coli* สามารถผลิตและปลดปล่อยกรดอะมิโนอะลานีน กรดกลูตามิก กรดแอสพาร์ติก และฮิสติดีน ออกมาในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ปริมาณเล็กน้อย และถ้าเติมเกลือแอมโมเนียมปริมาณมากเกินพอลงในอาหาร จะทำให้เชื้อผลิตกรดอะมิโนปริมาณที่สูงขึ้น ต่อมา Kita ได้ทำการทดลองพบว่า *Cephalosporium* sp. สามารถผลิตกรดกลูตามิกได้เมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีกลูเตนจากข้าวสาลี ถั่วเหลืองผง น้ำแช่ข้าวโพด ของเหลือจากการกลั่นแอลกอฮอล์หรือยูเรียเป็นวัตถุดิบเริ่มต้นใน ปริมาณสูงถึง 3.5 กรัมต่อลิตร และได้จดลิขสิทธิ์วิธีการผลิตกรดกลูตามิกโดยใช้เชื้อ *Cephalosporium* sp. ไว้ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1957 ในช่วงเวลาเดียวกันนี้ Tada และ Nakayama ได้ค้นพบจุลินทรีย์ที่ผลิตแอลฟา-คีโตกลูตาเรตได้ปริมาณสูง ซึ่งสามารถผลิตกรดกลูตามิกได้ปริมาณสูงด้วยถึง 14.5 กรัมต่อลิตร อย่างไรก็ตามการค้นพบที่เป็นพื้นฐานที่ทำให้เกิดอุตสาหกรรมการผลิตกรดอะมิโนโดยใช้กระบวนการหมักเป็นครั้งแรกได้แก่ งานวิจัยของ Kinoshita ซึ่งพบว่า แบคทีเรีย *Micrococcus glutamicus (Corynebacterium glutamicum)* สามารถผลิตกรดกลูตามิกได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีคาร์โบไฮเดรตและเกลือแอมโมเนียมเป็นส่วนประกอบ โดยให้ผลผลิตสูงมากกว่า 30% ของกลูโคสที่เติมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ (26 ,31)

1.5 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตแอล-ไลซีน

การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์เพื่อผลิตแอล-ไลซีนนั้นมีผู้ศึกษาปัจจัยและภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตกรดอะมิโนของจุลินทรีย์ต่างๆกัน คือ

1.5.1 แหล่งคาร์บอน วัตถุดิบที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการผลิตแอล-ไลซีนมีหลายชนิด เช่นกลูโคส ฟรุกโตส และซูโครส (32,33) อย่างไรก็ตามในอุตสาหกรรมนิยมใช้ในแป้งที่ผ่านการย่อย

หรือ กากน้ำตาล (30) นอกจากนี้ยังมีรายงานการใช้กรดอะซิติก แอมโมเนียมอะซิเทต เมทานอลและเอทานอล เป็นแหล่งคาร์บอนในการผลิตแอล-ไลซีน (33,34,35)

1.5.2 แหล่งไนโตรเจน โดยทั่วไปนิยมใช้แก๊สแอมโมเนีย และเกลือแอมโมเนียหรือยูเรีย เป็นแหล่งไนโตรเจนในกรณีที่จุลินทรีย์สามารถเมแทบอไลซ์ยูเรียไปเป็นแอมโมเนียได้

เกลือแอมโมเนียมที่มีรายงานว่าใช้ได้ผลดีในการผลิตแอล-ไลซีน ได้แก่ แอมโมเนียมซัลเฟตและแอมโมเนียมคลอไรด์ (31 , 35-39) อย่างไรก็ตาม มีรายงานว่าการเติม แอมโมเนียมซัลเฟตความเข้มข้นสูงในอาหารเลี้ยงเชื้อ มีผลทำให้เชื้อผลิตออร์นิทีน แทนที่จะผลิตแอล-ไลซีน (40) นอกจากแหล่งไนโตรเจนที่กล่าวมาแล้ว ยังมีการใช้สารอื่นๆเป็นแหล่งไนโตรเจนอีก เช่น สารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจน ได้แก่ สารสกัดจากยีสต์ สารสกัดจากเนื้อ เปปโตน พอลิเปปโตน NZ-amine (casein hydrolysate) กากถั่วเหลืองที่ผ่านการย่อยแล้ว น้ำแช่ข้าวโพด และแอมโมเนียมอะซิเทต ซึ่งนอกจากใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนแล้วยังใช้เป็นแหล่งคาร์บอนได้อีกด้วย (31,33,35,39)

1.5.3 เกลือแร่ โดยทั่วไปมักจะเติมโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต แมกนีเซียมซัลเฟต เฟอร์รัสซัลเฟต แมงกานิสซัลเฟต ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ (9,30,40-43) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่ามีการใช้เกลือแร่ชนิดอื่นๆอีกด้วย เช่น โพแทสเซียมคลอไรด์ แมกนีเซียมคลอไรด์ แมงกานีสคลอไรด์ แคลเซียมคลอไรด์ คอปเปอร์ซัลเฟต กรดบอริก โซเดียมโมลิบเดต โคบอลท์ไนเทรต โซดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต โคบอลท์คลอไรด์ (36,37)

1.5.4 วิตามิน อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการผลิต แอล-ไลซีนโดยทั่วไปจะเติมไบโอตินลงไปด้วย ยกเว้นในกรณีที่ใช้กากน้ำตาลอ้อยไม่จำเป็นต้องเติมไบโอติน แต่ถ้าใช้กากน้ำตาลหัวบีท ต้องเติมไบโอตินอย่างน้อย 300 ไมโครกรัมต่อลิตร อย่างไรก็ตาม มีรายงานว่า ฮอมอเซรีนออกโซโทรปของ *Corynebacterium glutamicum* จะผลิตแลกเทตและซัคซิเนตแทนที่จะผลิตแอล-ไลซีน ในภาวะที่มี ไบโอตินความเข้มข้นสูงมากเกินไป และถ้าใช้ไบโอตินความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อลิตร ร่วมกับกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อการเจริญของออกโซโทรปความเข้มข้นสูงๆ เชื้อจะผลิตแลกเทตขึ้นแทนแอล-ไลซีน โดยทรีโอนีนและฮอมอเซรีนจะมีผลมากกว่าเมทไธโอนีนและไอโซลิวซีน (13,30) อย่างไรก็ตาม มีรายงานว่าการเติมไบโอตินปริมาณสูง (200-500 ไมโครลิตร) จะทำให้ *Brevibacterium lactofermentum* AJ3991 ผลิตแอล-ไลซีนได้สูงขึ้น (9) สำหรับวิตามินชนิดอื่นๆที่เติมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิตแอล-ไลซีน ได้แก่ ไทอะมีน นิโคตินาไมด์ แคลเซียมแพนโทธิเนต ไรโบฟลาวิน กรดโฟลิก และวิตามินบี (35-38)

1.5.5 กรดอะมิโน เนื่องจากจุลินทรีย์ที่แยกได้จากธรรมชาติส่วนใหญ่ จะสร้างแอล-ไลซีนได้ปริมาณค่อนข้างต่ำ แม้แต่จุลินทรีย์ที่คัดเลือกแล้วว่าสร้างแอล-ไลซีนได้สูง คือ *Ustilago maydis* ยังผลิตแอล-ไลซีน ได้น้อยกว่า 1 กรัมต่อลิตร ซึ่งน้อยเกินไปที่จะใช้ในการผลิตในระดับอุตสาหกรรมได้ จุลินทรีย์ที่มีรายงานว่าผลิตแอล-ไลซีนสูงในปัจจุบันได้มาจากการปรับปรุงสายพันธุ์ด้วยวิธีต่างๆ และคุณสมบัติที่สำคัญของจุลินทรีย์เหล่านี้คือ เป็นออกโซโทรปที่มีความต้องการกรดอะมิโนบางชนิดในการเจริญเติบโต ดังนั้น การที่จะเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์เหล่านี้ให้ผลิต แอล-ไลซีนได้สูง จึงต้องเติมกรดอะมิโนที่เชื้อต้องการลงไปด้วยในปริมาณที่เหมาะสม ซึ่งโดย ทั่วไปได้แก่ ฮอมอเซรีน หรือทรีโอนีนและเมทไธโอนีน และออกโซโทรปบางชนิดอาจมีความต้องการลิวซีน ไอโซลิวซีน อะลานีนหรือเฟนิลอะลานีน เพื่อการเจริญอีกด้วย(35,38,41)

ตามปกติแล้ว ฮอมอเซรีนออกโซโทรปจะผลิตแอล-ไลซีนได้ดีในอาหารที่มีทรีโอนีนหรือฮอมอเซรีนปริมาณจำกัดและมีไบโอตินในระดับปานกลาง แต่ในภาวะที่มีทั้งทรีโอนีนและฮอมอเซรีนและไบโอตินในปริมาณจำกัด จุลินทรีย์จะผลิตแอล-ไลซีนและกรดกลูตามิกควบคู่กันในปริมาณน้อยลง การเติมทรีโอนีนหรือฮอมอเซรีนความเข้มข้นสูงและไบโอตินปริมาณเล็กน้อย จะส่งเสริมการผลิตกรดกลูตามิก และโดยทั่วไปการเติมกลูตาเมตหรือกลูตามีนปริมาณเล็กน้อยลงในอาหารจะช่วยส่งเสริมการผลิตแอล-ไลซีน ซีสเทอีนจะยับยั้งการผลิตแอล-ไลซีนได้เล็กน้อย แต่ในอาหารที่มีทรีโอนีนและโฮโมซีรีนความเข้มข้น 10^{-3} โมลาร์ จะยับยั้งการสร้างแอล-ไลซีนได้ อย่างสมบูรณ์ (9,30)

1.5.6 สภาพความเป็นกรดด่าง ตามปกติแล้วจะใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น 7-7.5 และปรับค่าความเป็นกรดด่างในระหว่างการหมักให้อยู่ในช่วงที่เป็นกลาง โดยเติมสารละลายแอมโมเนียมหรือยูเรีย หรือใช้แคลเซียมคาร์บอเนต ร้อยละ 0.5-1.0 เติมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ (30)

1.5.7 อุณหภูมิ จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตแอล-ไลซีนส่วนใหญ่ สามารถเจริญและผลิตแอล-ไลซีนได้ดีในช่วงอุณหภูมิ 28-33 องศาเซลเซียส (9,30) แต่มีจุลินทรีย์บางชนิดที่สามารถผลิตแอล-ไลซีนได้ที่อุณหภูมิสูงๆ เช่น *Bacillus* sp. (Hom-, AEC^R) ผลิตแอล-ไลซีนได้ดีที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (37) และ *B. Stearothermophilus* (Hom-, AEC^R) ผลิตแอล-ไลซีนได้ที่อุณหภูมิสูง 60-65 องศาเซลเซียส เป็นต้น (36)

1.5.8 การให้อากาศ การสังเคราะห์แอล-ไลซีนเป็นกระบวนการที่ต้องการออกซิเจน ดังนั้นการให้อากาศจึงเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญมากในกระบวนการหมักแอล-ไลซีน ถ้าให้ออกซิเจนในปริมาณที่เพียงพอ จุลิมทรีย์จะผลิตแอล-ไลซีนได้ปริมาณสูงแต่ถ้าให้ออกซิเจนไม่เพียงพอ จุลินทรีย์จะเกิดการสะสมกรดแลกติกแทน (29,44-46)

1.6 กระบวนการหมักแอล-ไลซีนในอุตสาหกรรม

ในปัจจุบันการผลิตแอล-ไลซีนในอุตสาหกรรมใช้กระบวนการหมักแบบแบตช์ แบบเฟดแบตช์ และแบบต่อเนื่อง

1.6.1 กระบวนการหมักแบบแบตช์ จะเตรียมอาหารและสารอาหารที่จำเป็นสำหรับการเจริญและการผลิตแอล-ไลซีนของเชื้อลงในถังหมัก กระบวนการหมักเริ่มตั้งแต่การเติมหัวเชื้อลงในถังหมักและมีการเติมของเหลวหรือแก๊สสำหรับควบคุมค่าความเป็นกรดด่าง เช่น แอมโมเนีย หรืออากาศ กระบวนการหมักสิ้นสุดเมื่ออาหารหมดลง ถึงแม้ว่ากระบวนการหมักนี้จะเป็นเทคนิคเก่าแก่ แต่ยังมีโรงงานที่ใช้วิธีนี้อยู่ทั่วโลก เนื่องจากเป็นกระบวนการที่ควบคุมได้ง่าย ไม่จำเป็นต้องเติมอาหารระหว่างการหมัก ไม่จำเป็นต้องมีถังสำหรับสารป้อน และง่ายต่อการทำให้ปลอดเชื้อ ความเข้มข้นเริ่มต้นของแหล่งคาร์บอนมีผลต่อการเจริญและอัตราการผลิตของเชื้อ *Coryneform* sp. ข้อเสียสำหรับกระบวนการหมักแบบแบตช์คือ อัตราการผลิตต่ำเนื่องจากมีช่วง lag phase นาน

1.6.2 กระบวนการหมักแบบเฟดแบตช์ เป็นกระบวนการที่ใช้กันทั่วไป กระบวนการนี้ช่วงแรกเติมสารอาหารในถังหมักปริมาณหนึ่งก่อนเติมหัวเชื้อ เช่นเติมอาหาร 50 เปอร์เซ็นต์ของทั้งหมด หลังจากนั้นเมื่อเชื้อใช้แหล่งอาหารคาร์บอนเริ่มต้นลดลงมากระดับหนึ่ง จะเติมแหล่งอาหารคาร์บอนลงไปโดยผ่านสายเติมอาหารที่แยกออกมา จนกระทั่งถังหมักเต็ม ลักษณะทั่วไปของกระบวนการหมักแบบเฟดแบตช์คือ ควบคุมระดับความเข้มข้นของอาหารเพื่อให้ได้ผลผลิตหรืออัตราการผลิตที่สูงขึ้น ข้อดีของกระบวนการนี้คือ

1.6.2.1 การควบคุมความเข้มข้นของอาหารจะช่วยลดผลของอาหารที่มีต่ออัตราการผลิตหรือผลผลิตของกระบวนการ ในการผลิตกรดอะมิโน เซลล์จะใช้แหล่งอาหารคาร์บอนสูงเพื่อเปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ ถ้าความเข้มข้นของสารอาหารมากเกินกว่าที่เซลล์ต้องการจะเกิดการยับยั้งการผลิตเนื่องจากสารอาหารหรือเกิด overflow metabolism เช่นผลิตแลกเทตหรืออะซิเทต ขึ้นมาระหว่างกระบวนการหมักซึ่งเป็นสารที่ไม่ต้องการให้เกิด (47,48)

1.6.2.2 เนื่องจากการเติมอาหารลงในถังหมักจะช่วยลด osmolaric stress ของเซลล์ การลดความเข้มข้นของอาหารเริ่มต้นและควบคุมระดับความเข้มข้นของอาหารจะช่วยลดระยะ lag phase ของเชื้อแบคทีเรียได้ (49)

1.6.2.3 Ikeda และ Katsumata (50) อธิบายว่า กระบวนการผลิตแอล-ทริปโตเฟนด้วย *Corynebacterium glutamicum* สายพันธุ์ที่เป็นออกโซโทรปของ แอล-ฟีนิลอะลานินและ แอล-ไทโรซิน ถ้าให้อาหารมากเกินไปจะทำให้ผลผลิตลดลงเนื่องจากเซลล์เจริญมากเกินไป ในบางกรณี ถ้าควบคุมอัตราการเติมอาหารต่ำกว่าอัตราการใช้น้ำตาลสูงสุดของเซลล์จะช่วยลดผลกระทบนี้ได้ ซึ่งตรงกับการทดลองของ Pfefferle และคณะ (51) รายงานว่าในกระบวน การหมักในถังหมักขนาด 10 ลิตร ของ *Corynebacterium glutamicum* สายพันธุ์ L-leucine auxotrophic *S* –(2-aminoethyl)-cysteine resistant เพื่อผลิตแอล-ไลซีน 2 ถัง โดยถังแรกให้อัตราการเติมซูโครสสูงกว่าอัตราการใช้ซูโครสของเซลล์ ได้ผลผลิตสุดท้ายเท่ากับ 30.9 เปอร์เซ็นต์ ส่วนถังที่สอง ให้อัตราการเติมซูโครสต่ำกว่าอัตราการใช้ซูโครสของเซลล์ ได้ผลผลิตสุดท้ายเท่ากับ 32.3 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นถังหมักที่สองซึ่งมีอัตราการเติมซูโครสต่ำกว่าอัตราการใช้น้ำตาลจะให้ผลผลิตที่ดีกว่า ซึ่งในกระบวนการหมักแบบเฟดแบตช์จะยอมให้มีการเติมสารอาหารระหว่างการหมักเพื่อควบคุมระดับอาหารในถังหมักให้อยู่ในระดับที่เหมาะสมต่อการผลิตผลิตภัณฑ์ เพื่อให้ได้ผลผลิตที่ดี

1.6.2.4 ต้องควบคุมการให้อาหาร โดยให้ระบบอยู่ในภาวะที่มีการถ่ายเทออกซิเจนภายในถังหมักเหมาะสม โดยเฉพาะในช่วงที่เชื้อเจริญเติบโตนั้นต้องการออกซิเจนอย่างมาก ซึ่งอาจทำให้ออกซิเจนที่ในระบบไม่เพียงพอต่อความต้องการ และปริมาณออกซิเจนที่จำกัดอาจทำให้เชื้อผลิตสารพลอยได้ที่ไม่ต้องการขึ้นมาได้และผลิตผลิตภัณฑ์ต่ำ ดังนั้นในระหว่างกระบวนการหมักต้องคำนึงถึงอัตราส่วนระหว่างการใช้ออกซิเจนต่อการใช้น้ำตาลด้วย

1.6.3 กระบวนการหมักแบบต่อเนื่อง เป็นกระบวนการหมักที่มีมานาน กระบวนการหมักนี้จะเริ่มเลี้ยงเซลล์จนกระทั่งความหนาแน่นของมวล ความเข้มข้นหรือคุณภาพของเซลล์ได้ตามต้องการก่อนที่จะเปลี่ยนเป็นการหมักแบบต่อเนื่อง ซึ่งปริมาณอาหารที่เตรียมไว้เติมในระหว่างกระบวนการเท่ากับปริมาณอาหารที่ดึงออกจากถังในระหว่างการหมัก ซึ่งทำให้ปริมาตรในกระบวนการคงที่ ข้อดีของกระบวนการนี้คือ สามารถควบคุมและรักษาอัตราการเจริญของเชื้อให้คงที่ สามารถรักษาความเข้มข้นของเซลล์ให้คงที่ได้ กระบวนการหมักแบบนี้ให้ผลคุ้มค่าในเชิงเศรษฐศาสตร์ แต่มีข้อเสียคือ ถ้าการผลิตผลิตภัณฑ์ไม่สัมพันธ์กับการเจริญมักไม่ได้ผลดีเท่าที่ควร การเจริญต่อเนื่องเป็นระยะเวลานานทำให้สายพันธุ์ดั้งเดิมสูญไป เนื่องจากมีสายพันธุ์อื่นที่เจริญได้ดีกว่าเข้ามาแทนที่ และการเจริญเป็นระยะเวลานานๆทำให้เกิดการปนเปื้อนได้ (52)

ยังมีเทคนิคการหมักแบบหนึ่งที่น่าสนใจศึกษา คือ extractive fermentation หรือ adsorption fermentation เป็นกระบวนการที่นำขั้นตอนการดึงผลิตภัณฑ์ออกจากน้ำหมักโดยผ่านตัวดูดซับเช่นเรซินเพื่อดึงเอาผลิตภัณฑ์ออก แล้วเวียนน้ำหมักที่ผ่านตัวดูดซับกลับเข้าถังหมัก เนื่องจากในน้ำหมักนั้นยังมี

สารอาหารจำเป็นสำหรับเชื้ออยู่ ซึ่งลดผลกระทบการยับยั้งเนื่องจากผลิตภัณฑ์ ลดสารพิษที่เชื้อผลิตขึ้นมา และวิธีการนี้จะช่วยเพิ่มความหนาแน่นของเซลล์ และอัตราการผลิตอีกด้วย เทคนิคนี้มีรายงานว่าใช้ในกระบวนการหมักกรดแลกติก กรดโพรพิโอนิก และกรดอะซิติก (53,54)

1.7 มูลเหตุในการทำงานวิจัย

แอล-ไลซีนเป็นกรดอะมิโนที่จำเป็นสำหรับมนุษย์และสัตว์ นิยมเติมแอล-ไลซีนลงในอาหารสัตว์เนื่องจากเติมลงไปเล็กน้อยแต่สามารถเพิ่มคุณค่าอาหารของโปรตีนในอาหารสัตว์ได้สูงขึ้น ทำให้สัตว์ได้รับสารอาหารที่เพียงพอ เจริญเติบโตเร็ว และยังใช้เป็นอาหารเสริมสำหรับมนุษย์ สามารถทำรายได้ให้กับประเทศผู้ผลิตมูลค่าหลายล้านบาทต่อปี เนื่องจากกระบวนการหมักแบบแบตช์ (batch fermentation) ให้ผลผลิตต่ำ จึงสนใจกระบวนการหมักแบบเฟดแบตช์ ซึ่งให้ผลผลิตที่ดีกว่า และสนใจเทคนิคการเวียนเซลล์และน้ำหมักกลับมาใช้ในระหว่างการหมักซึ่งพบมากในกระบวนการหมักเพื่อผลิตกรดแลกติก กรดอะซิติก และ กรดโพรพิโอนิก เพื่อทดลองว่าสามารถเพิ่มผลผลิตระหว่างการหมักได้หรือไม่ และเพื่อเป็นแนวทางในการลดต้นทุนการผลิตอีกด้วย งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาภาวะที่เหมาะสมในกระบวนการหมักแบบเฟดแบตช์เพื่อใช้เป็นแนวทางในการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตแอล-ไลซีนต่อไป

1.8 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.8.1 สามารถนำข้อมูลที่ได้มาปรับปรุงกระบวนการหมักเพื่อเพิ่มผลผลิตแอล-ไลซีน

1.8.2 เป็นแนวทางในการนำเทคนิค extractive fermentation มาใช้ควบคู่กับกับกระบวนการหมักในถังหมักขนาด 5 ลิตร เพื่อเพิ่มผลผลิตแอล-ไลซีน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย