บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและแนวโน้มปริมาณการใช้แอล-ไลซีน

กรดอะมิโนคือ หน่วยย่อยที่สุดของโปรตีนหรือกรดอะมิโนหลายๆ ตัวมาประกอบกันขึ้นเป็นโปรตีน กรดอะมิโนในธรรมชาติที่ร่างกายต้องการเพื่อประกอบขึ้นเป็นโปรตีนตามที่ต้องการมีทั้งหมด 22 ชนิดในจำนวนนี้มี 12 ชนิดที่ร่างกายสามารถสังเคราะห์ขึ้นใช้ได้เองในร่างกายเรียกว่าเป็นชนิดไม่จำเป็นต้องมีในอาหาร แต่อีก 10 ชนิดที่เหลือร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์ขึ้นได้เองหรือสังเคราะห์ได้แต่ไม่พอกับปริมาณที่ต้องการ ร่างกายจึงต้องได้รับกรดอะมิโนชนิดนี้จากอาหาร ทั้งนี้เพื่อช่วยให้ร่างกายสามารถสังเคราะห์โปรตีนใช้ในการดำรงชีวิต รวมทั้งเพื่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อและอวัยวะต่างๆ

แอล-ไลซีนเป็นกรดอะมิโนชนิดจำเป็นต้องมีในอาหารตัวหนึ่ง ซึ่งสัตว์ต้องการในปริมาณมาก ทั้งนี้ เพราะในส่วนของเนื้อแดง(lean)มีกรดอะมิโนแอล-ไลซีนเป็นส่วนประกอบอยู่ในปริมาณมาก แต่ในเมล็ดธัญพืชรวมทั้งผลิตผลพลอยได้จากข้าวที่ใช้เลี้ยงสัตว์มักจะมีแอล-ไลซีนค่อนข้างต่ำ และไม่พอกับความต้องการของสัตว์(1) ดังนั้นการเสริมกรดอะมิโนจำเป็นในอาหาร จึงเป็นกระบวนการเพิ่มคุณค่าอาหารที่มีกรดอะมิโนจำเป็นไม่เพียงพอ เพื่อปรับปรุงส่วนประกอบของโปรตีนในอาหารให้มีคุณภาพดีขึ้น(2,3)

การกำหนดค่าความต้องการของกรดอะมิโนในอาหารสุกรแต่เดิม มักจะระบุเป็นความเข้มข้นระดับเท่าใด โดยคิดเป็นเปอร์เซนต์ของกรดอะมิโนนั้นในสูตรอาหาร แต่การระบุความต้องการแบบใหม่จะยึดความต้องการกรดอะมิโนแอล-ไลซีนเป็นหลัก ความต้องการกรดอะมิโนตัวอื่นๆ คิดเทียบเป็นสัดส่วนเปอร์เซนต์ของแอล-ไลซีน ซึ่งเท่ากับ 100 ยึดถือหลักการของโปรตีนสมบูรณ์ (Ideal protein) คิดค้นและพัฒนาโดยสภาวิจัยการเกษตรแห่งประเทศอังกฤษ (ARC,1981)(4) ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1: สมดุลย์ของกรดอะมิโนในอาหารสุกร

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 Institite

ที่มา: บริษัทอายิโนะโมะโต๊ะเซลล์ (ประเทศไทย) จำกัด

อุตสาหกรรมการผลิตแอล-ไลซีนในประเทศไทยเริ่มเมื่อปี พ.ศ.2529 โดยบริษัทอายิโนะโมะโต๊ะ(ประเทศไทย) จำกัด(5) โรงงานมีกำลังการผลิตประมาณ 3,000 ตันต่อปี ซึ่งประมาณหนึ่งในสามส่วนส่งออกไปยังต่างประเทศ เช่น มาเลเซีย ฟิลิปปินส์ อินโดนีเซียและสิงคโปร์ส่วนที่เหลือจำหน่ายภายในประเทศนับว่าสามารถทดแทนการนำเข้าได้ทั้งหมด(6) และขยายกำลังการผลิตอีกร้อยละ 50 ในต้นปี พ.ศ.2532(7)

แนวโน้มการใช้แอล-ไลซีนของโลกเพิ่มขึ้น ในช่วงปี 1975-80 การผลิตแอล-ไลซีนของโลกเพิ่ม 3 เท่า และช่วง 1980-85 เพิ่มอีก 2 เท่า(8) ช่วงปี 1975-85 ออสเตรเลียนำเข้าแอล-ไลซีนเพิ่ม 10 เท่า ในปี 1985 และ 1987 นำเข้า 4,400 และ 5,000 ตันตามลำดับ อัตราการใช้ที่เพิ่มขึ้นแปรผันตามปริมาณปศุสัตว์ที่เพิ่มขึ้น(9) ดังข้อมูลแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2: แนวโน้มของจำนวนปศุสัตว์และความต้องการแอล-ไลซีนในประเทศออสเตรเลีย (1983-89)

		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	1,345	1,390	1,435	1,515	1,578	1,649	1,731
	-อื่นๆs	142	143	144	146	147	149	150
สุกร	-แม่พันธุ์	170	165	170	180	185	185	185
	-อื่นๆ	1,898	2,046	2,079	2,228	2,327	2,310	2,294
	ทั้งหมด	4,172	4,306	4,388	4,629	4,796	4,853	4,920

ที่มา : Development from Bareau of Agricultural Economics projections, Australian Bureau of Statistics and industry approximations

อุตสาหกรรมการผลิตแอล-ไลซีนในประเทศไทย มีอัตราการผลิตรวมทั้งการใช้ภายในประเทศเพิ่มขึ้นอย่างมากในช่วงเวลา 5 ปีที่ผ่านมาและแปรผันตามปริมาณปศุสัตว์ที่เพิ่มขึ้นเช่นกัน

ดังข้อมูลในตารางที่ 3 4 และภาพที่ 1

ตารางที่ 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 นำส่งออกต่างประเทศ

ที่มา : บริษัท อายิโนะโมะโตะ(ประเทศไทย) จำกัด

ตารางที่ 4: ปริมาณการนำเข้าแอล-ไลซีนจากต่างประเทศ

ปี	ปริมาณการนำเข้า(กิโลกรัม)	มูลค่า (บาท)
1988	53,778	5,225,002
1989	19,584	2,885,572
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

หมายเหตุ : * = เดือนมกราคม - สิงหาคม ที่มา : กรมศุลกากร

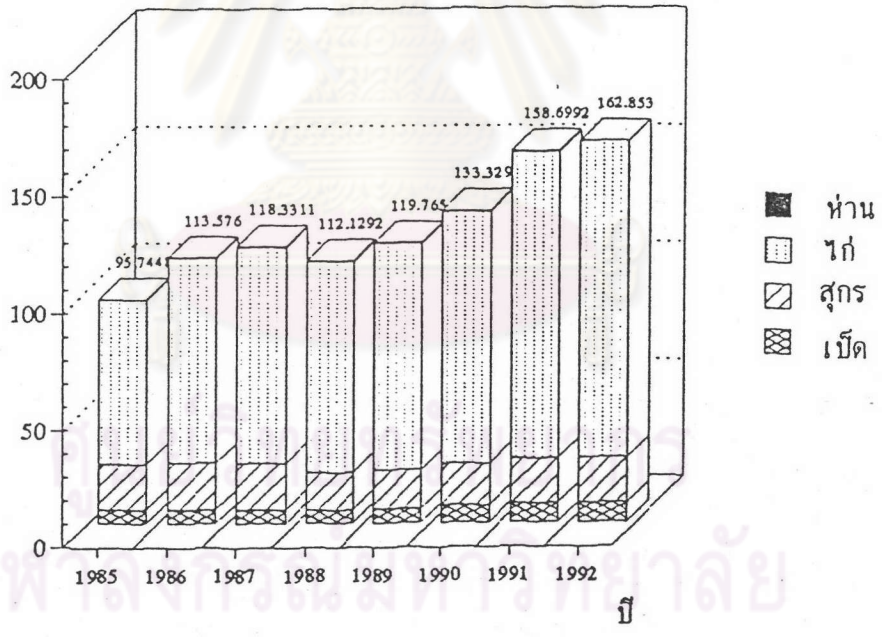
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

จากข้อมูลตารางที่ 3 และ 4 จะเห็นว่าแม้กำลังการผลิตแอล-ไลซีนภายในประเทศโดยบริษัท อายิโนะโมะโต๊ะ(ประเทศไทย) จำกัด จะมากเกินพอ และยังมีการนำส่งออกต่างประเทศด้วย แต่ในระยะหลังนี้มีการนำเข้าแอล-ไลซีนจากต่างประเทศอีกและมีปริมาณเพิ่มมากขึ้นทุกปี แสดงว่าบริษัทอื่นๆ ในต่างประเทศได้มีการพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตแอล-ไลซีนที่ทำให้ต้นทุนต่ำลง มีคุณภาพทัดเทียม และราคาต่ำพอที่จะมีการนำเข้ามาใช้ หรืออาจมีบางส่วนที่นำเข้ามาเป็นแอล-ไลซีนที่อยู่ในฟอร์มอื่น เช่น ของเหลว ที่มีบางบริษัทในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์เห็นความเป็นไปได้ที่จะนำมาทดลองใช้แทนรูปผลึก ซึ่งในรายงานปริมาณการนำเข้าแอล-ไลซีนของกรมศุลกากรไม่ได้ระบุแยกประเภทของแอล-ไลซีน

ภาพที่ 1: สถิติจำนวนปศุสัตว์ของไทย

หน่วย : ล้าน



ที่มา : สำนักงานปศุสัตว์จังหวัด(ตามรายงาน กปศ.27)

รวบรวมโดย : ฝ่ายประมวลผลและสถิติ กองแผนงาน กรมปศุสัตว์(10)

แอล-ไลซีนในตลาดโลกเป็นของบริษัทอายิโนะโมะโต๊ะ และเคียววะ จากประเทศญี่ปุ่นมากกว่า 80 เปอร์เซนต์ของการผลิตแอล-ไลซีนทั้งหมด และปัจจุบัน 2 บริษัทนี้ได้ขยายเครือข่ายในต่างประเทศอีก เช่น สหรัฐอเมริกา ยุโรป เอเชียตะวันตกเฉียงใต้ ดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5: กำลังการผลิตของแอล-ไลซีนในประเทศที่ไม่ใช่คอมมูนิสต์

บริษัท	ประเทศ	กำลังการผลิต (ตันต่อปี)
อายิโนะโมะโต๊ะ	ญี่ปุ่น	16,000
เคียววะ	ญี่ปุ่น	10,000
มิวอน	เกาหลี	7,500
โทเร อินดัสทรี	ญี่ปุ่น	6,500
ยูโรไลซีน (อายิโนะโมะโต๊ะ)	ยุโรป	40,000
อายิโนะโมะโต๊ะ	ไทย	2,000
ไบโอ-เคียววะ	มิสซูรี,สหรัฐ	7,500
ฮาร์ดแลนด์ (อายิโนะโมะโต๊ะ)	อิลินอยน์,สหรัฐ	6,000
เฟอร์เมกซ์ (ร่วมกันระหว่างบริษัท เคียววะกับรัฐบาลประเทศเม็กซิกัน)	เม็กซิกัน	3,000
รวม		98,500

ที่มา : Creswell (1985)

แอล-ไลซีนที่ใช้ปัจจุบันในประเทศไม่ใช่คอมมิวนิสต์ประมาณ 60,000 ตัน/ปี และกำลังการผลิตในปัจจุบันประมาณ 98,500 ตัน/ปี ความต้องการเพิ่มขึ้นในแต่ละปีประมาณ 10 เปอร์เซนต์ และคาดว่าอีก 5 ปีปริมาณความต้องการจะเท่ากับกำลังการผลิตในปัจจุบัน(11)

1.2 มาตรฐานผลิตภัณฑ์

แอล-ไลซีน(L-lysine.HCl) ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม หมายถึง กรดอะมิโนจำเป็นมีชื่อทางเคมีว่า แอล-2,6-ไดอะมิโนเฮกซะโนอิกแอซิด (L-2,6-diamino hexanoic acid) และมีสูตรโครงสร้าง $NH_2(CH_2)_4CH(NH_2)COOH.HCl$ มีลักษณะทั่วไปคือ เป็นผงหรือเกล็ดหรือเม็ดเล็กๆ มีสีขาวหรือสีครีม ไม่จับตัวกันเป็นก้อน มีกลิ่นตามธรรมชาติของผลิตภัณฑ์

ละลายน้ำได้ดี แต่ละลายในแอลกอฮอล์และอีเทอร์ได้เล็กน้อยที่อุณหภูมิห้อง การทดสอบให้ทำโดยการตรวจพินิจ สำหรับสมบัติทางฟิสิกส์และเคมีเป็นไปตามตารางที่ 6 (12)

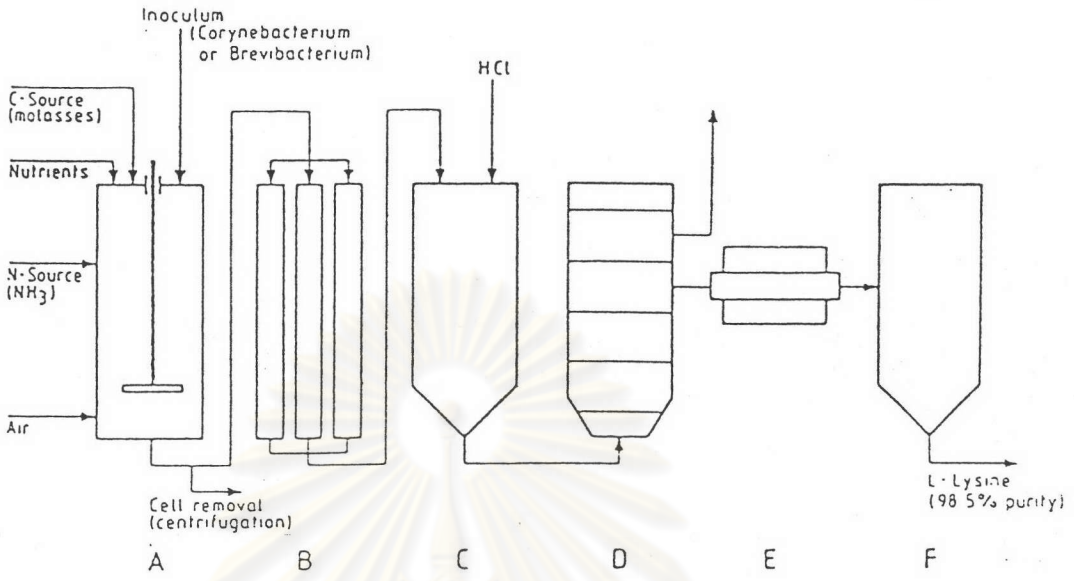
ตารางที่ 6: ลักษณะทางเคมีและทางฟิสิกส์ของแอล-ไลซีนรมรนไฮโรดรคลอไรด์

รายการที่	ลักษณะ	เกณฑ์ที่กำหนด
1	ค่าสเปซิฟิกออพทิคัลโรเทชัน $[\alpha]^{25}$ องศา	+19.0 ถึง +21.5
2	น้ำหนักที่หายไปเมื่อทำให้แห้ง ร้อยละ ไม่เกิน	1.0
3	ส่วนที่เหลือจากการเผา ร้อยละ ไม่เกิน	0.3
4	ความเป็นกรด-ด่าง เมื่อทำเป็นสารละลาย 0.01 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร	5.0 ถึง 6.0
5	ปริมาณแอล-ไลซีนรมรนไฮโรดรคลอไรด์ ร้อยละของน้ำหนักอบแห้ง	ต้องไม่น้อยกว่าที่ระบุไว้ที่ฉลากและไม่น้อยกว่า 98.0
6	ปริมาณไลซีน ร้อยละของน้ำหนักอบแห้ง ไม่น้อยกว่า	ต้องไม่น้อยกว่าที่ระบุไว้ที่ฉลากและไม่น้อยกว่า 78.4
7	ปริมาณคลอไรด์ ร้อยละ ไม่เกิน	19.8
8	จุดหลอมเหลวพร้อมกับสลายตัว ที่อุณหภูมิองศาเซลเซียส	ประมาณ 260

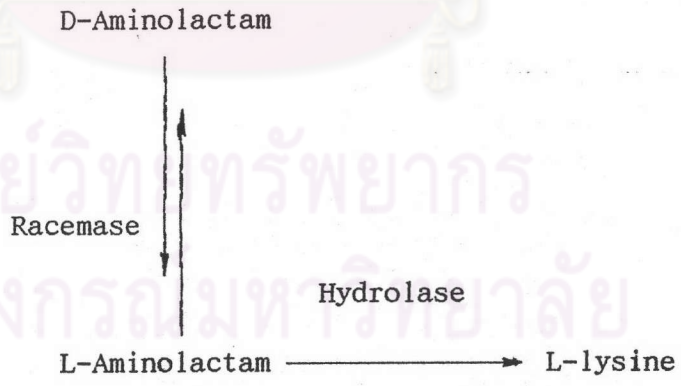
ที่มา : สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม

1.3 การผลิตแอล-ไลซีน

กระบวนการผลิตแอล-ไลซีนทางเทคนิคยีชีวภาพเพื่อการค้าในปัจจุบันมี 2 กระบวนการ คือ การหมักโดยใช้แบคทีเรีย และการเปลี่ยนแปลงทางเอนไซม์ของ DL- -amino- -capro-lactam ให้ได้แอล-ไลซีน ดังแสดงในภาพที่ 2 และ 3 ตามลำดับ(8)



<u>ภาพที่</u> 2: แผนภาพการผลิตแอล-ไลซีน A :กระบวนการหมัก B :คอลัมน์แคตไอออนเรซิน C :การปรับสภาพให้เป็นกลาง D :การตกผลึกแอล-ไลซีน E :การขจัดน้ำออกจากผลึก F :การอบผลึกให้แห้ง

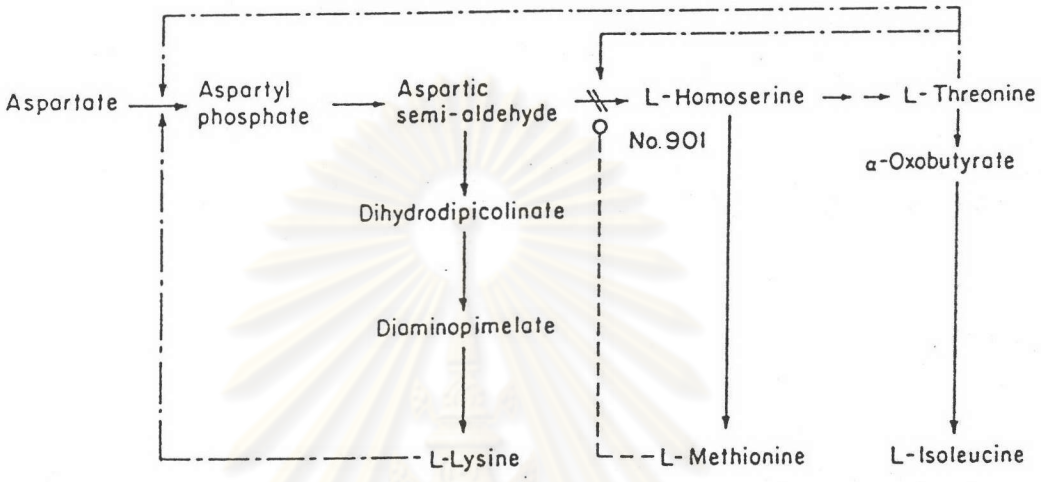


<u>ภาพที่</u> 3: กระบวนการทางเอนไซม์เพื่อผลิตแอล-ไลซีนจาก DL-aminolactam

1.3.1 <u>กระบวนการหมักแอล-ไลซีน</u>

แอล-ไลซีนเป็นกรดอะมิโนชนิดแรกที่มีการผลิตในระดับอุตสาหกรรม โดยจุลินทรีย์ชนิด Auxotrophs คือ homoserine auxotrophic ของ *Corynebacterium glutamicum*(13,14)

ซึ่งพบว่าในจีนัส *Corynebacterium* และ *Brevibacterium* สังเคราะห์แอล-ไลซีนและแอล-ทรีโอนีน จาก aspartate โดยมี aspartokinase เป็นตัวคะตะไลซ์ ปฏิกิริยานี้เป็นการยับยั้งแบบย้อนกลับร่วมกันของแอล-ไลซีนและทรีโอนีน ดังแสดงในภาพที่ 4



ภาพที่ 4: การสังเคราะห์แอล-ไลซีนโดย *Corynebacterium glutamicum*

---- แสดงการยับยั้งแบบย้อนกลับ —·—·แสดงการยับยั้งการสร้างเอนไซม์

ดังนั้น homoserine auxotroph และ threonine-methionine double auxotroph ถูกแยกจากจุลินทรีย์สายพันธุ์ที่ผลิตกรดกลูตามิกคือ *C.glutamicum* *B.flavum*(15) และ *B.lactofermentum*(16)

การเพิ่มผลผลิตแอล-ไลซีนอีกวิธีคือ regulatory mutants โดยใช้กลไกของการไม่มีผลยับยั้งย้อนกลับ เช่นจุลินทรีย์ที่ถูกคัดเป็นสายพันธุ์กลายพันธุ์มีความต้านทานต่อ amino acid analoques มีการรายงานตัวอย่างของจุลินทรีย์ที่กลายพันธุ์โดยวิธีนี้คัดเลือกจาก *B. flavum*(17)

Tosaka et.al.(18) รายงานไว้ว่าแม้การกลายพันธุ์จะช่วยเพิ่มผลผลิตของแอล-ไลซีน แต่สายพันธุ์กลายพันธุ์ที่ได้จะมีอัตราการใช้น้ำตาลและการเจริญเติบโตที่ต่ำกว่าสายพันธุ์เดิม และนำเทคนิคการหลอมโปรโตรพลาสต์มาใช้ในจุลินทรีย์ *B.lactofermentum* เพื่อมาปรับปรุงอัตราการใช้น้ำตาลของเชื้อ โดยใช้จุลินทรีย์ 2 สายพันธุ์ จุลินทรีย์สายพันธุ์หนึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ผลิตกรดกลูตามิก มีความสามารถใช้น้ำตาลได้เร็ว และอีกสายพันธุ์เป็นสายพันธุ์ผลิตแอล-ไลซีนมีอัตราการใช้น้ำตาลที่ต่ำกว่า สายพันธุ์ที่คัดเลือกได้จาก fusants สามารถใช้น้ำตาลได้ 130 กรัมต่อลิตร ภายในเวลา 30 ชม.จากเดิมใช้หมดในเวลา 100 ชม.และมีผลผลิตแอล-ไลซีนเท่าเดิม

นอกจากนี้ยังมีการใช้หลักการของ gene amplification มาใช้ในการพัฒนาสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมักแอล-ไลซีน พัฒนาโดย Sano(19)และ Miwa(20)

การหมักแอล-ไลซีนในปัจจุบันใช้กากน้ำตาลหรือ สารละลายการย่อยแป้งเป็นแหล่งคาร์บอน อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 32 °ซ ค่า pH ที่เหมาะสมอยู่ในช่วงเป็นกลางโดยใช้แอมโมเนียเป็นตัวควบคุมและปัจจัยที่สำคัญมากอีกอย่างคือ แก๊สออกซิเจน(21) ซึ่งมีรายงานกระบวนการสังเคราะห์แอล-ไลซีนว่าเป็นกระบวนการที่ต้องการออกซิเจน ผลผลิตแอล-ไลซีนจะสูงสุดเมื่อเซลล์ได้รับแก๊สออกซิเจนที่เพียงพอสำหรับการหายใจ ซึ่งถ้าได้รับแก๊สออกซิเจนในปริมาณที่จำกัดจะมีผลให้มีการสะสมกรดแลกติก(22)

1.3.2 <u>กระบวนการสังเคราะห์แอล-ไลซีนโดยเอนไซม์</u>

Fukumula(23) เริ่มใช้กระบวนการทางเอนไซม์สำหรับการผลิตแอล-ไลซีน โดยใช้ DL-α-amino-ε-caprolactam(AAC) เป็นสารตั้งต้น กระบวนการนี้ประกอบด้วยปฏิกิริยาของเอนไซม์ 2 ปฏิกิริยาคือ การไฮโดรไลซ์ L-AAC ให้ได้แอล-ไลซีน และการ racemase ของ AAC

ปฏิกิริยาทางเอนไซม์ทั้ง 2 มีการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการใช้เซลยีสต์และแบคทีเรีย *Cryptococcus laurentii* และ *Achromobacter obae* มาเปลี่ยน D- และ DL-amino-lactam ให้ได้แอล-ไลซีน สามารถเปลี่ยน DL-aminolactam 10 เปอร์เซนต์เป็นแอล-ไลซีนได้ภายใน 24 ชม.อัตราการเปลี่ยน(conversion rate) 99.8 เปอร์เซนต์ ที่สภาวะอุณหภูมิ 40 °ซ(24)

กระบวนการหลักสำหรับการผลิตแอล-ไลซีนเพื่อการค้าคือการหมัก การพัฒนาประสิทธิภาพกระบวนการสำหรับ mass production ของแอล-ไลซีนให้ได้ $3.00 ต่อกิโลกรัม ต้องใช้ความรู้ pathway ของจุลินทรีย์ที่ผลิตแอล-ไลซีนและตัวที่ควบคุม pathway มาพัฒนาสายพันธุ์และสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตทรีโอนีน ปัจจุบันประสิทธิภาพที่สูงขึ้นเนื่องจากความก้าวหน้าของกระบวนการหมักของ 2 บริษัทคือ อายิโนะโมะโต๊ะ กับเคียววะ บริษัท อายิโนะโมะโต๊ะใช้ reguratory mutant ของ *B. lactofermentum* ดังแสดงในตารางที่ 7 บริษัทเคียววะใช้ *C. glutamicum* ไปออกซิไดซ์การหมักกลูโคสให้ได้แอล-ไลซีน(25)

ตารางที่ 7: การพัฒนาสายพันธุ์ *B. lactofermentum* ของบริษัท อายิโนะโมะโต๊ะ จำกัด

ชนิดของจุลินทรีย์	อุณหภูมิ (°ซ)	เวลาในการเพาะเลี้ยง(ชั่วโมง)	pH อาหาร	แอล-ไลซีน (กรัมต่อลิตร) สายพันธุ์ตั้งต้น	แอล-ไลซีน (กรัมต่อลิตร) สายพันธุ์กลายพันธุ์	Ref.
B. lactofermentum AJ 11324 (Parent stain AJ 3990)	31	55	7.2	29	32	(26)
B. lactofermentum AJ 11282(FERM-P 4556)	31	72	7.0	38	46	(27)
B. lactofermentum AJ 11256 (Parent stain AJ 3990)	31	48	7.2-8.2	66	78	(28)
B. lactofermentum AJ 11273 (Parent stain AJ 11082)	31	55	7.5	72	84	(29)
B. lactofermentum AJ 11082 a11282 (Parent strain AJ 11082)	31	55	7.2	72	85	(30)
B. lactofermentum FERM-P 5838	31	55	7.5	-	85	(31)
B. lactofermentum AJ 11651 (FERM-P 5832)	31	55	7.2	-	91	(32)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1.4 หลักการแยกและทำให้บริสุทธิ์

การผลิตกรดอะมิโนแอล-ไลซีนจากกระบวนการหมักในปัจจุบัน แยกและทำให้บริสุทธิ์ด้วยเรซิน อาศัยคุณสมบัติ amphoteric ของกรดอะมิโน เมื่อน้ำหมักผ่านลงคอลัมน์แคตไอออนเรซินชนิด strong: NH_4^+-type กรดอะมิโนแอล-ไลซีนจะถูกดูดซับในสภาพแคตไอออน เมื่อผ่านสารละลายแอมโมเนียลงคอลัมน์ที่เรซินส่วนใหญ่อิ่มตัวด้วยแอล-ไลซีน แอล-ไลซีนจะเปลี่ยนสภาพจากแคตไอออนเป็นแอนไอออน และถูกชะออกมาในสภาพสารละลายเข้มข้น(33) โดยใช้หลักการของความแตกต่างทางฟิสิกส์-เคมีระหว่างกรดอะมิโนในน้ำหมักกับสิ่งปนเปื้อน เป็นปฏิกิริยาระหว่างประจุภาคของกรดอะมิโนกับเรซิน อาศัยปัจจัยจากสภาพแวดล้อม เช่น pH ค่า ionic dissociation ของกรดอะมิโน ไอออนของสิ่งปนเปื้อน เป็นต้น(34) โดยเฉพาะอย่างยิ่งการแยกกรดอะมิโนที่เราต้องการจากกรดอะมิโนชนิดอื่น ต้องมีการควบคุมค่า pH ที่ดีในขั้นตอนการดูดซับและองค์ประกอบของตัวชะที่ใช้(35) เนื่องจากกรดอะมิโนทั้ง 3 ชนิดได้แก่ neutral acid และ basic จะถูกดูดซับโดยเรซินได้มากที่สุดที่ pH ใกล้ค่า isoelectric point ใน monovalent ฟอร์ม ค่า pH ที่อยู่นอกช่วงนี้ปริมาณการดูดซับจะลดลงมาก จากการแทนที่ของไฮโดรเจนและไฮดรอกซิลไอออน(36) ซึ่งสภาวะในการแยกกรดอะมิโนมีความจำเพาะในแต่ละชนิดรวมทั้งชนิดของเรซิน เรซินที่ใช้ในกระบวนการแยกทางอุตสาหกรรมมีการจัดประเภทไว้เช่นแสดงในตารางที่ 8

ตารางที่ 8: ชนิดของเรซินที่ใช้ในกระบวนการแยกทางอุตสาหกรรม(34)

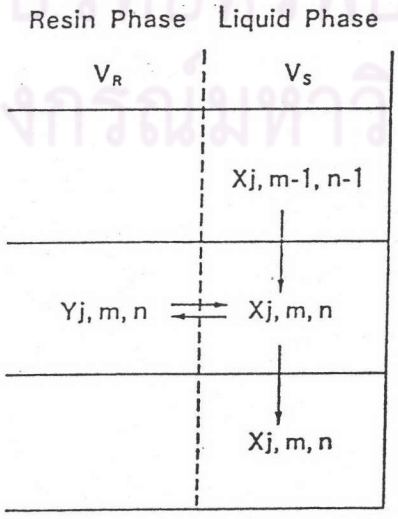
เรซิน	ความเป็นกรด/ด่าง	โครงสร้างของเรซิน	กลุ่มฟังก์ชัน
แคตไอออน	strong acidic	โพลีสไทรีน-ไดไวนีลเบนซีน โคโพลีเมอร์	กรดซัลโฟนิก
	moderately acidic	โพลีสไทรีน-ไดไวนีลเบนซีน โคโพลีเมอร์	กรดฟอสฟอริก กรดฟอสฟินิก
	weakly acidic	เมทธาไครเลท-ไดไวนีลเบนซีน โคโพลีเมอร์	กรดคาร์บอกซิลิก

ตารางที่ 8 (ต่อ)

เรซิน	ความเป็นกรด/ด่าง	โครงสร้างของเรซิน	กลุ่มฟังก์ชัน
แอนไอออน	strong basic	โพลีสไทรีน-ไดไวนีลเบนซีน โครพลีเมอร์	กลุ่มแอมโมเนียม 4 กลุ่ม
	weakly basic	โพลีสไทรีน-ไดไวนีลเบนซีน โครพลีเมอร์	กลุ่มกรดอะมิโน 1,2 และ 3 กลุ่ม

กระบวนหลักของการแยกแอล-ไลซีนและทำให้บริสุทธิ์ โดยใช้แคตไอออนเรซินประกอบด้วยขั้นตอนการดูดซับ การชะ และการคืนสภาพเรซิน การพัฒนากระบวนการส่วนใหญ่อยู่ที่ขั้นตอนหลักนี้ โดยศึกษาและทำความเข้าใจปัจจัยที่มีอิทธิพลของแต่ละขั้นตอน หรือสามารถใช้ทฤษฎีมาอธิบายถึงปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นได้

การศึกษากระบวนการดูดซับของแคตไอออนเรซินของ ternary component system ได้แก่ กรดอะมิโนแอล-ไลซีน แอมโมเนียมไอออน ไฮโดรเจนไอออน ใช้ "finite-segment" model(37) อธิบายดังแสดงในภาพที่ 5 จาก model นี้นำมาใช้วิเคราะห์ breakthrough curve ผลกระทบของแคตไอออนอื่นในน้ำหนัก และ function ของปัจจัยที่เป็นข้อจำกัด เช่น ค่า selectivity coefficient ค่า dissociation constant ของกรดอะมิโน(38)



ภาพที่ 5: แผนภาพแสดงเซกเมนต์โมเดล

V_R = ปริมาณของเรซินในยูนิตเซกเมนต์(unit segment) (ลิตร)

V_S = ปริมาณของวัฏภาคของเหลวในยูนิตเซกเมนต์(unit segment) (ลิตร)

m = ปริมาณสารละลายที่ส่งผ่านเรซิน

n = จำนวนสเตจ(stage) (เซกเมนต์)

X_j = ความเข้มข้นของแคตไอออน j ในวัฏภาคของเหลว(liquid phase) (โมลาร์)

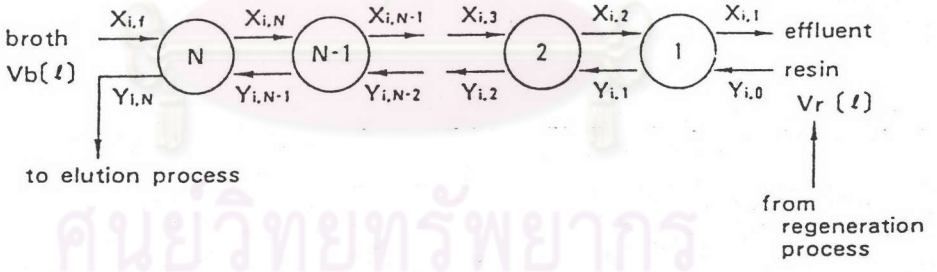
Y_j = ความเข้มข้นของแคตไอออน j ในวัฏภาคเรซิน(resin phase) (โมลาร์)

มีการรายงานค่า selectivity coefficient ของสารอนินทรีย์บางชนิด(39-41) และของกรดอะมิโนชนิดต่างๆ สำหรับแคตไอออนเรซินชนิด strong: H-type โดยยึดหลัก mass action law(36,42) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง steric properties ของกรดอะมิโนกับโครงสร้างของเรซิน และใช้ค่า selectivity coefficient มาอธิบาย(43,44) การรายงานความสัมพันธ์ระหว่างคุณสมบัติทางกายภาพของกรดอะมิโน 16 ชนิดกับค่า selectivity coefficientใช้แคตไอออนเรซินชนิด strong:NH^+_4-type(8 เปอร์เซนต์ ไดไวนีลเบนซีน) ยึดหลัก mass action law ค่าความสัมพันธ์ที่มีค่า regression coefficient สูงได้แก่ ค่า partition coefficient ระหว่างออกทานอลกับน้ำค่า hydrophobicity scale และค่าการละลายน้ำมีค่า 0.85 0.67 และ 0.63 ตามลำดับและถ้าแยกกรดอะมิโนเป็นกลุ่มๆ ได้แก่ แบบไม่ชอบน้ำ แบบชอบน้ำ และแบบเบส จะมีความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงระหว่างค่า selectivity coefficient กับค่ามวลโมเลกุลมีค่า regression coefficient 0.93 0.94 และ 0.95 ตามลำดับ(45)

สำหรับการศึกษาค่า selectivity coefficient ของmono และ divalent forms ของแอล-ไลซีน ใช้แคตไอออนเรซินชนิด strong:NH^+_4-type ยึดหลัก mass action law มีค่า 0.40 และ 5.87 ตามลำดับ พบว่ามีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเปอร์เซนต์ไดไวนีลเบนซีนลดลง อุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้น มีค่าคงที่และสมดุลย์ในช่วงความเข้มข้น 0.05-0.6 โมลต่อลิตร ค่า swelling pressure ของเรซินเพิ่มขึ้นตามเปอร์เซนต์ของไดไวนีลเบนซีน แต่ไม่เป็นไปตามลำดับของ ionic form ที่เปลี่ยนของเรซิน การเปลี่ยนค่า swelling pressure ด้วยเปอร์เซนต์ไดไวนีลเบนซีนไม่แปรผันตาม ionic form ของแคตไอออนเรซินชนิดสไทรีน และเนื้อที่เรซินในการแลกเปลี่ยนไอออนของแอล-ไลซีนชนิด divalent แคตไอออนมากกว่า mono-valent แคตไอออน จากข้อมูลค่า isotherm ของเรซินเปอร์เซนต์ไดไวนีลเบนซีน 4 และ 8

เปอร์เซนต์ตามลำดับ(46) ค่า selectivity coefficient ที่สูงขึ้นจะทำให้มีประสิทธิภาพการเกาะของแอล-ไลซีนที่เรซินดีขึ้น และถ้าสิ่งปนเปื้อนในน้ำหมักมีค่า selectivity coefficient ที่ใกล้เคียงกับค่าของแอล-ไลซีนจะทำให้ประสิทธิภาพการแยกต่ำลง สำหรับสารประกอบที่มีสี(colored substance)ในน้ำหมัก พบว่ามีคุณสมบัติของแคตไอออน monovalent ในช่วง pH เป็นกรด และค่า affinity สูงกว่าแอล-ไลซีนไอออน monovalent ในแคตไอออนเรซินชนิด strong:NH^{+}_{4}-type ค่า selectivity coefficient และค่า dissociation constant(pK1) จากการทดลองมีค่า 1.72 และ 3.29 ตามลำดับ(47)

Breakthrough curves ที่ P^{H} ต่างๆ ของน้ำหมัก จะได้รูปแบบ adsorption isotherm ของแอล-ไลซีน สำหรับแคตไอออนเรซินชนิด strong:NH_4^{+}-type สภาวะเหมาะสมที่ได้ นำมาคำนวนปริมาณแอล-ไลซีนที่ถูกดูดซับได้มากที่สุดในคอลัมน์แรกของระบบการดูดซับหลายคอลัมน์ (multicolumn adsorption process) โดยใช้สมการ recurrence ได้จาก mathematical model(48) ดังแสดงในภาพที่ 6 สามารถทราบจำนวนที่แน่นอนของคอลัมน์ที่ใช้ในขั้นตอนการดูดซับและ P^{H} ที่เหมาะสมของน้ำหมักแอล-ไลซีน เพื่อหาต้นทุนการผลิตที่ต่ำที่สุดของการแยก(49)



ภาพที่ 6: แผนภาพไดอะแกรมของไอออนในกระบวนการดูดซับของระบบหลายคอลัมน์

i = ชนิดของแคตไอออนในน้ำหมัก ; แอล-ไลซีน

X_{ij} = ความเข้มข้นของแคตไอออน i ใน effluent จากสเตจที่ j (โมลาร์)

Y_{ij} = ปริมาณของแคตไอออน i ที่ถูกดูดซับที่เรซินของสเตจที่ j (โมลาร์)

N = จำนวนคอลัมน์เรซินทั้งหมด V_r = ปริมาณเรซิน

V_b = ปริมาณน้ำหมักที่ผ่านลงคอลัมน์เรซิน

Material balance : $V_b(X_{i,j} - X_{i,j+1}) = V_r(Y_{i,j-1} - Y_{i,j})$

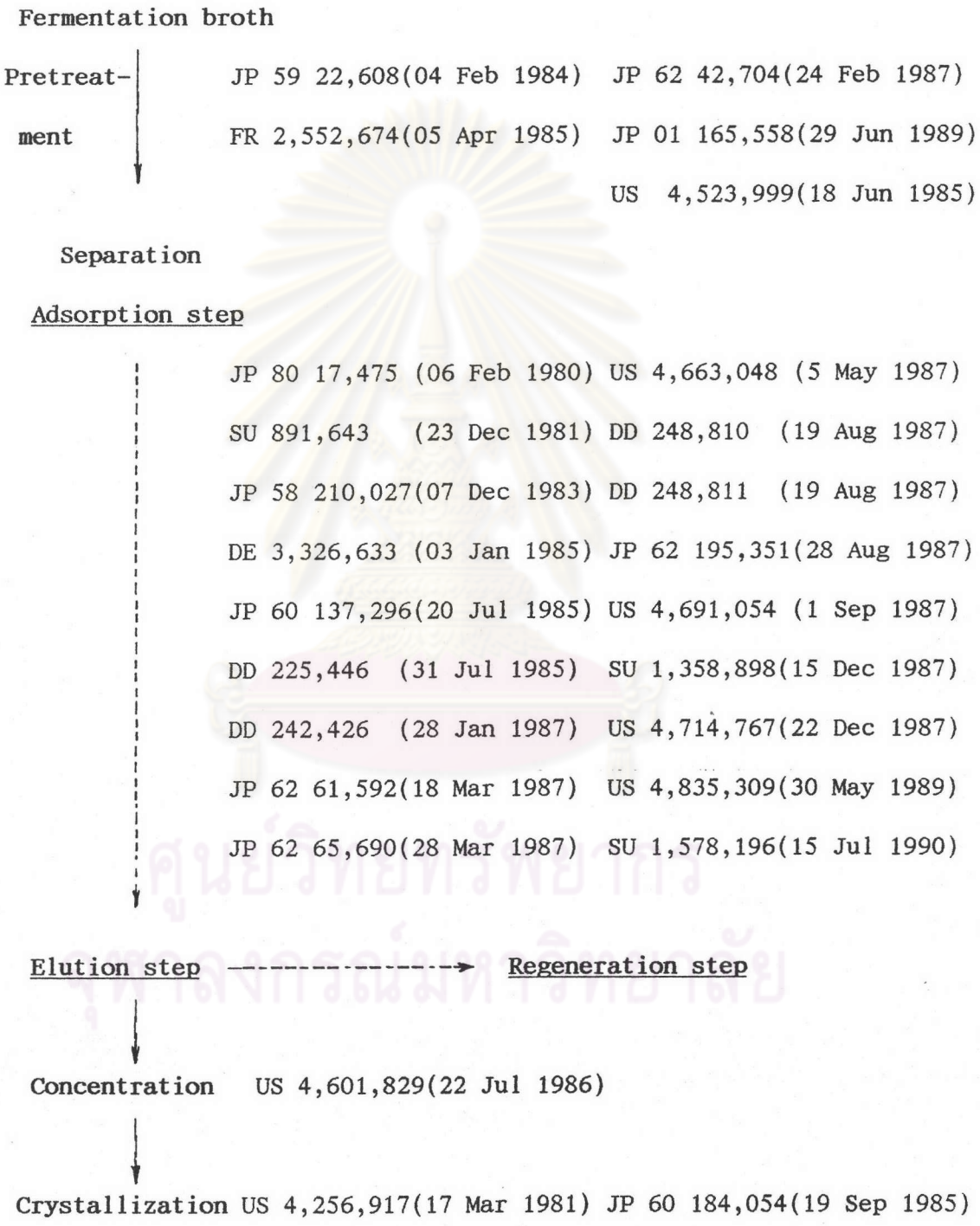
การศึกษากระบวนการชะของแอล-ไลซีนบนเรซินด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ โดยยึด ion exchange equilibrium และ Donnan membrane equilibrium เนื่องจากกรดอะมิโนมีคุณสมบัติเป็น amphoteric สัดส่วนของแคตไอออนจะเปลี่ยนเมื่อ p^H สารละลายเปลี่ยน p^Hของน้ำหมักที่เหมาะสมสำหรับการดูดซับของแอล-ไลซีนบนเรซินแปรผันตามองค์ประกอบของแคตไอออนในน้ำหมัก เช่น เมื่อใช้กากน้ำตาลเป็นวัตถุดิบ ช่วง p^H กรด แอล-ไลซีนอยู่ในฟอร์ม divalent เป็นฟอร์มที่ถูกดูดซับบนเรซินได้มากที่สุด เพราะมีค่า selectivity coefficient มากกว่าแคตไอออนตัวอื่น ขณะเดียวกันแคตไอออนอื่นที่เป็น monovalent จะถูกกันในการดูดซับ การหากลไกการชะของแอล-ไลซีนที่ถูกดูดซับบนเรซินด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ จำเป็นต้องหาสภาวะที่เหมาะสมในการชะ(50)

เรซินที่ใช้งานติดต่อกันเป็นเวลานานๆ จะมีประสิทธิภาพลดลงเรื่อยๆ เนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชั่นโดยไอออนของสารอนินทรีย์ทำให้โครงสร้างภายในของเรซินเกิดการกระเทาะ การสูญเสียหมู่ฟังก์ชันของเรซินคือหมู่ซัลโฟนิคและการเกาะติดของสารสีจากน้ำหมัก ซึ่งอายุการใช้งานของเรซินขึ้นกับชนิดและความเข้มข้นของตัวออกซิแดนท์(oxidants) และปริมาณ organic fouling ในสารละลาย(51) organic fouling ในน้ำหมักเกิดจากการย่อยสลายของสารอาหาร อนุมูลของสารจะไปก่อตัวที่ weak link ของเรซินและทำให้ไฮโดรเจนอะตอมหลุดออกจากโครงสร้าง(52) โซเดียมคลอไรด์ 5 เปอร์เซนต์ที่อุ่นจะชะ organic fouling ออกได้บางส่วน(53) สำหรับสารประกอบที่มีสีในน้ำหมักโดยหลักแล้วมาจากวัตถุดิบและสารอาหารที่ใช้หมัก การสเตอริไลซ์สารอาหารจะเกิดปฏิกิริยาระหว่างกรดอะมิโนกับน้ำตาลในอาหาร สารประกอบที่มีสีบางส่วนจะถูกดูดซับที่เรซินและชะออกได้ยากด้วยตัวชะโดยทั่วไป(47) ซึ่งการคืนสภาพของเรซินโดยใช้ โซเดียมซัลไฟต์ โซเดียมไนไตรท์ และโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่อุณหภูมิ 60 ^{o}ซ ไม่สามารถคืนสภาพของความจุเรซินได้สมบูรณ์ดังเดิม เพราะฉะนั้นต้องมีการวิเคราะห์จำนวนรอบของการใช้เรซิน เพื่อที่จะทราบอายุการใช้งาน(51)

1.5 <u>การพัฒนากระบวนการแยกและทำให้บริสุทธิ์</u>

การแยกแอล-ไลซีนและทำให้บริสุทธิ์ ได้มีการพัฒนาและเพิ่มประสิทธิภาพในขั้นตอนต่างๆ ของกระบวนการมาตลอด เพื่อลดต้นทุน เวลาในกระบวนการ พลังงาน หรือสามารถนำส่วน

ต่างๆ ในกระบวนการที่ใช้แล้วกลับมาใช้ใหม่ได้อีก แต่โดยส่วนใหญ่การพัฒนาจะอยู่ในขั้นตอนของการแยก ดังแสดงในภาพที่ 7



ภาพที่ 7: ขั้นตอนหลักในกระบวนการแยกและทำให้บริสุทธิ์ที่มีการพัฒนาและจดเป็นสิทธิบัตร ช่วงปี 1980-1990

1.5.1 Pretreatment

เป็นขั้นตอนการขจัดสิ่งปนเปื้อนในน้ำหมักก่อนการผ่านคอลัมน์เรซิน โดยใช้เทคนิค ultrafiltration ทำการตกตะกอนพวกโพลีเมอร์ด้วยการปรับ pH น้ำหมักให้อยู่ในช่วงเป็นกรดที่จำเพาะ(specific acidic region) ค่า pH ที่เหมาะสมคือ 2-5 เพราะเป็น iso-electric points ของพวกโพลีเมอร์ต่างๆได้แก่ เม็ดสี โปรตีน กัม ฮิวมิก เป็นต้น จากนั้นนำไปผ่านเมมเบรนชนิด semipermeable จากการทดลองใช้เมมเบรนชนิด polyacryloni-trile hollow fiber shape molecular fraction 6000 อุณหภูมิ 50 ^{o}ซ พบว่าอัตราการขจัดสิ่งปนเปื้อนพวกมวลโมเลกุลสูงและเม็ดสี(pigment)ดีขึ้น 67 และ 70 เปอร์เซนต์ตามลำดับ(54) จากนั้นได้มีการปรับปรุงเพิ่มอัตราเร็วในการกรอง โดยการให้ความร้อนกับน้ำหมัก 90-100 ^{o}ซ นาน 5 นาที เพื่อทำให้โปรตีนเสียสภาพ ป้องกันการอุดตันของโปรตีนในระหว่างการกรองทำให้การกรองน้ำหมักดีขึ้น ใช้เวลาสั้นลง อัตราเร็วในการกรองสูงขึ้นประมาณ 83 เปอร์เซนต์(55) นอกจากนี้ยังได้มีการพัฒนาในส่วนของ membrane ให้มีประจุช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการกรอง(56)

1.5.2 Separation

กระบวนการแยกแอล-ไลซีนจากน้ำหมักในระดับอุตสาหกรรมใช้แคตไอออนเรซิน โพลีสไทรีนชนิด strong มีกลุ่มฟังก์ชันคือกรดซัลโฟนิก(57-59) ค่า pH ของน้ำหมักเริ่มต้น 2.0 จากการหาค่า pH เริ่มต้นที่เหมาะสมของน้ำหมักสำหรับขั้นตอนการดูดซับ พบว่าความจุของแอล-ไลซีนสูงช่วง pH 1-2 และลดลงอย่างมากเมื่อ pH มากกว่า 3 ขึ้นไป โดยมีไอออนของแอมโมเนียม โพแทสเซียม แคลเซียมเข้าแทนที่แอล-ไลซีนเมื่อ pH สูงขึ้น เมื่อผ่านน้ำหมักลงคอลัมน์หลายรอบแอล-ไลซีนถูกดูดซับได้ดีและมีปริมาณคงที่ มีไอออนของกรดอนินทรีย์ถูกดูดซับในปริมาณที่ต่ำและคงที่ ซึ่งต่างกับผลการทดลองเมื่อใช้ pH เริ่มต้น 6.0 ไอออนของกรดอนินทรีย์จะเข้าแทนที่แอล-ไลซีนอย่างรวดเร็วและในปริมาณสูงตั้งแต่ผ่านคอลัมน์ในรอบแรก นอกจากนี้ยังมีการทดลองกับกรดอะมิโนตัวอื่นมีค่า pH เริ่มต้น 0.5-3.0 ความเข้มข้นของกรดอะมิโนตัวอื่นในน้ำหมักที่เพิ่มขึ้นจะไม่มีผลต่อปริมาณการดูดซับแอล-ไลซีน(55) นอกจากนี้ยังมีปัจจัยในขั้นตอนต่างๆ อีกที่ต้องปรับให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสมสำหรับกระบวนการ ดังมีรายงานไว้ในเอกสารสิทธิบัตรตารางที่ 9 และ 10 ตามลำดับ

ตารางที่ 9: ปัจจัยต่างๆ ในกระบวนการแยกแอล-ไลซีนและทำให้บริสุทธิ์ด้วยแคตไอออนเรซินชนิด strong ที่ระบุในสิทธิบัตรประเทศต่างๆ ช่วงปี 1980-91:ประเภทคอลัมน์เดียว(Single stage column system)

ประเทศ/ หมายเลขสิทธิบัตร	อุณหภูมิ (°ซ)	pH	ชนิดของเรซิน:type	ตัวชะ	อัตราการไหล
JP 62 61,592(60)	-	2.0	Diaion SK-1B:NH_4^+	2M NH_4OH	-
US 4,691,054(61)	-	2.0	Diaion SK-1B:NH_4^+	2M NH_4OH	20,40 มล. ต่อนาที
SU 891,643(62)	-	-	KU 2X8:H^+	-	-
DD 248,811(63)	-	2.5	Strong cation exchange resin:H^+	NH_3	-
DD 242,426(64)	-	2.5	Strong cation exchange resin:H^+	4M HCl	-
US 4,835,309(65)	20	2.0	Dowex 5W-X8:NH_4^+ Amberlite IR-120 :NH_4^+	2M NH_4OH	(ขั้นตอนการดูดซับ, การชะ:4,15 มล.ต่อนาที)
JP 58 210,027(66)	25	-	Diaion SK-1B:NH_4^+	8นน.% NH_4OH	-
DE 3,326,633(67)	-	-	Amberlite IR-120 :NH_4^+ หรือ H^+	4M NH_3 หรือ HCl	-
JP 60 137,296(68)	50	-	Diaion SK-1B:NH_4^+	-	-
DD 225,446(69)	-	-	-	HCl	-
JP 62 65,690(70)	-	-	Duolite C-20:NH_4^+	-	-

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 10: ปัจจัยต่างๆ ในกระบวนการแยกแอล-ไลซีนและทำให้บริสุทธิ์ด้วยแคตไอออนเรซินชนิด strong ที่ระบุในสิทธิบัตรประเทศต่างๆ ช่วงปี 1980-91: ประเภทหลายคอลัมน์(Multistage column system)

ประเทศ/หมายเลขสิทธิบัตร	ปัจจัย				
	pH	ชนิดของเรซิน :type	ตัวชะ	อัตราการไหล *(Ad/Eu step)	จำนวนคอลัมน์ *(Ad/Eu step)
US 4,663,048(71)	3.0	Duolite C-20:NH_4^+	4.0M NH_4OH	3,1.5 ลิตรต่อชม.	4 / 3
US 4,714,767(72)	4.0	Diaion SK-1B:NH_4^+	3.5M NH_4OH	30,16 มล.ต่อนาที	3 / 3

*Ad/Eu step = ขั้นตอนการดูดซับและการชะ

การศึกษาต่อมาพบว่าช่วงค่า pH 1-2.5 แอล-ไลซีนอยู่ในฟอร์ม divalent ซึ่งเป็นฟอร์มที่เหมาะสมสำหรับขั้นตอนการดูดซับของแอล-ไลซีน(60) สำหรับส่วนชะออกที่มีความเข้มข้นแอล-ไลซีนต่ำและมีพวก neutral acidic amino acid ปน จะนำไประเหยให้เข้มข้น ปรับค่า pH ให้แอล-ไลซีนอยู่ในฟอร์ม monovalent คือช่วง 4-10 แล้วนำไปแยกโดยการผ่านคอลัมน์เรซินอีกครั้ง เพื่อแยกเอาแอล-ไลซีนส่วนที่เหลือ ค่า pH ช่วงนี้ neutral และ acidic amino acid จะอยู่ในฟอร์มที่เป็นกลางหรือประจุลบไม่สามารถถูกดูดซับได้โดยเรซิน(61) นอกจากนี้ยังมีการนำเอาเบซิกไอออนเรซินชนิด weak basic มาช่วยขจัดคลอไรด์ในของเหลวส่วนที่ชะออกและฟอกสีของแอล-ไลซีน โดยใช้เป็นคอลัมน์ถัดจากคอลัมน์แคตไอออนเรซินชนิด strong: NH^+_4-type พบว่าสามารถขจัดสารประกอบที่มีสีออกได้ 65 เปอร์เซนต์(62-64,73) สำหรับในขั้นตอนการชะได้มีการปรับปรุง โดยการเพิ่มขั้นตอนการแช่เรซินในสารละลายตัวชะอย่างน้อย 30 นาที เพื่อให้เรซินถึงจุดอิ่มตัวจะทำให้ส่วนที่ชะออกมามีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น เป็นการช่วยลดพลังงานในขั้นตอนการทำให้เข้มข้นและเปอร์เซนต์ความบริสุทธิ์ของแอล-ไลซีนสูงขึ้น(65)

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สำหรับการพัฒนาในกระบวนการแยกแอล-ไลซีนในระบบหลายคอลัมน์(multiple stage system) ได้แยกสารละลายจากขั้นตอนการชะออกเป็น 3 ส่วนได้แก่ ส่วนที่ไม่มีแอล-ไลซีน (waste-drain) ส่วนที่มีความเข้มข้นแอล-ไลซีนต่ำ(pre-eluate) และส่วนที่มีความเข้มข้นแอล-ไลซีนสูง(high-concentrate eluate) และนำเอาส่วนที่มีความเข้มข้นแอล-ไลซีนต่ำกลับมาใช้อีกเป็นน้ำล้างในขั้นตอนการดูดซับ เป็นการเพิ่มความเข้มข้นของแอล-ไลซีนในส่วนที่ชะออก และลดปริมาณการใช้น้ำในขั้นตอนการดูดซับ(71) นอกจากนี้ยังมีการลดปริมาณการใช้น้ำล้างในขั้นตอนการชะ โดยใช้น้ำล้างจากคอลัมน์แรกของการดูดซับและการชะนำไปใช้อีกในรอบต่อไป ซึ่งเป็นการช่วยลดปริมาณการใช้น้ำอีกวิธีและลดพลังงานในการทำให้ส่วนที่ชะเข้มข้น(72)

1.5.3 Concentration

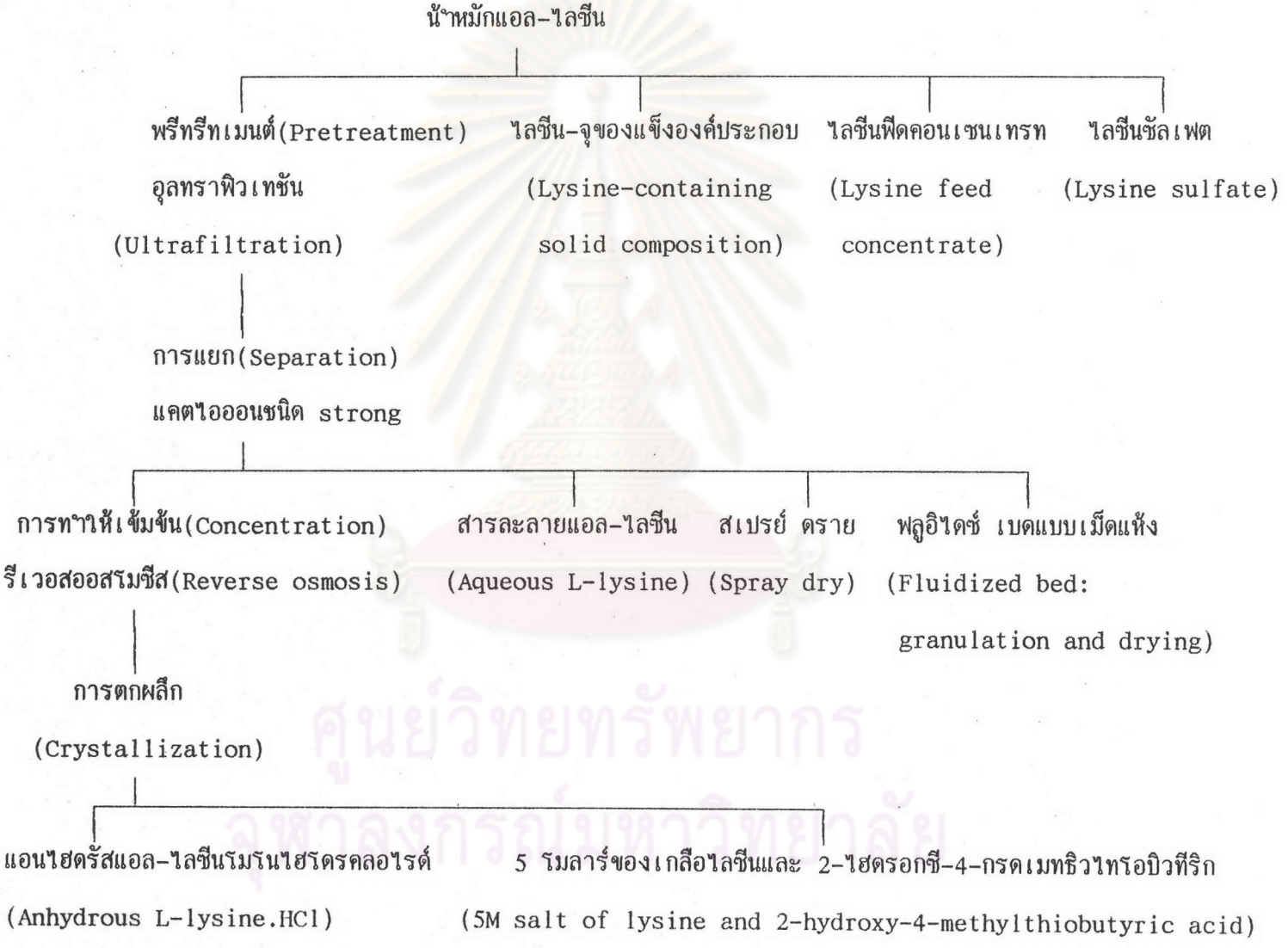
วิธีการที่ใช้กันโดยทั่วไปสำหรับการทำให้ส่วนของของเหลวที่ชะออกเข้มข้นเพิ่มขึ้น คือ การระเหย วิธีนี้มีข้อเสียคือ ต้องใช้พลังงานความร้อนจำนวนมากเพื่อให้เปลี่ยนเป็นไอและความร้อนที่เกิดขึ้นยังทำให้แอล-ไลซีนทำปฏิกิริยากับสิ่งปนเปื้อน ทำให้ผลผลิตที่ได้มีคุณภาพและปริมาณผลผลิตต่ำ สภาพแวดล้อมเสีย ได้มีการปรับปรุงโดยการใช้ reverse osmosis วิธีนี้ใช้พลังงานต่ำ ให้ผลผลิตสูงกว่าและไม่ทำลายสภาพแวดล้อม รวมทั้งสามารถนำน้ำส่วนที่ใช้ล้างเพื่อคืนสภาพเรซิน ตัวชะ และแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์กลับคืนมาใช้ได้อีกด้วย จากการทดลองใช้ reverse osmosis: polybenzimidazolone flat type 0.0025 เมตร^2 ความดัน 40 กิโลกรัมต่อซม.^{2} อุณหภูมิ 40 ^{o}ซ ใช้เวลา 25 ชม. ความเข้มข้นของของเหลวแอล-ไลซีนจากส่วนที่ชะออกเพิ่มขึ้น 3-3.5 เท่า(74)

1.6 การพัฒนารูปแบบผลิตภัณฑ์และบรรจุภัณฑ์

ปัจจุบันอุตสาหกรรมการผลิตแอลไลซีน มีความก้าวหน้าและพัฒนาไปมาก มีการผลิตออกมาในรูปแบบและวิธีการต่างๆ เพิ่มขึ้น เพื่อวัตถุประสงค์ที่แตกต่างกันออกไป ได้แก่ เพื่อให้ผลิตภัณฑ์มีความเสถียรมากขึ้น ลดขั้นตอนการผลิตให้สั้นลง ลดต้นทุนในขั้นตอนการแยกและทำให้บริสุทธิ์ เปลี่ยนรูปของผลิตภัณฑ์ที่ได้ เป็นต้น ดังแสดงในตารางที่ 11 และแผนภาพที่ 8

ตารางที่ 11 : รูปแบบและวิธีการต่างๆ ในอุตสาหกรรมการผลิตแอล-ไลซีน

ชื่อเรื่อง	ผู้คิดค้น	หมายเลขสิทธิบัตร
1.Anhydrous L-lysine.HCl in α-crystalline form and preparation thereof	Ajinomoto Co.,Inc.	US 4,256,917(75) (Mar.17,1981)
2.Novel lysine salt crystals and process for production thereof	Ajinomoto Co.,Inc.	US 4,617,155(76) (Oct.14,1986)
3.Use of aqueous L-lysine solution for supplementing feeds and industrially mixed feeds with L-lysine	Deguessa Aktienge-sellschaft	US 4,919,945(77) (Apr.24,1990)
4.Process for spray drying amino acid composition	W.R.Grace & Co.	US 4,734,401(78) (Mar.29,1988)
5.Method of making granulated L-lysine	Archer Daniels Midland Company	EP 0491,638(79)
6.Process for the preparation of new lysine-containing solid composition for addition to animal feed	Rhone Poulene Industries	US 4,327,118(80) (Apr.27,1982)
7.Lysine feed concentrate (LFC)	P.L.Roger et.al. Dept.Biotech. New South Wales Un.	Aust.J.Biot.(9) vol.3 no.2 (1989)
8.Fermentation process for producing lysine sulphate for animal nutrition Industries	Rhone Poulene	US 5,133,976(81)



ภาพที่ 8: รูปแบบและวิธีการต่างๆ ในอุตสาหกรรมการผลิตแอล-ไลซีน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

มีรายงานการทำให้ผลึกแอล-ไลซีนอยู่ในรูปแอลฟาจะไม่ทำให้ผลึกจับตัวกันเป็นก้อนเมื่อเก็บไว้นานๆจากการทดลองใช้ผลึกในรูปแอลฟา 2400 กิโลกรัม ทำให้แห้งด้วยอากาศร้อน 120 °ซ นาน 2 ชั่วโมงแล้วบดเป็นเม็ดขนาด 250 เม็ช บรรจุในถุงที่ทำด้วยโพลีเอทธิลีนนาน 6 เดือน พบว่าไม่มีการจับตัวกันเป็นก้อนของผลึก ขณะเดียวกันถ้าให้ผลึกมีทั้งรูปแอลฟาและเบตาแล้วทำให้แห้งที่อุณหภูมิที่ใช้กันโดยทั่วไปคือ 100 °ซ ผลึกจะจับตัวกันเป็นก้อน(82) จากการศึกษาต่อมาพบว่าการบรรจุผลึกแอล-ไลซีนในถุงที่ทำด้วยโพลีเอทธิลีนเป็นเวลานาน จะทำให้ปริมาณของแอล-ไลซีนลดลง ทำการเก็บผลิตภัณฑ์นาน 6 เดือนที่สภาวะอุณหภูมิ 30 °ซ ความชื้นสัมพัทธ์ 75 เปอร์เซนต์ ปริมาณแอล-ไลซีนลดลงจาก 96.94 เหลือ 93.43 เปอร์เซนต์ และพบว่าการใช้ถุงกระดาษจะทำให้ผลิตภัณฑ์มีความเสถียรมากกว่าที่อุณหภูมิปกติ(ambient temperature)(83)

1.7 <u>สมบัติทางฟิสิกส์-เคมี</u>

สมบัติทางฟิสิกส์-เคมีของแอล-ไลซีน เป็นปัจจัยที่สำคัญอีกปัจจัยหนึ่งที่ต้องพิจารณา เพื่อใช้แยกชนิดของผลึกแอล-ไลซีน ใช้เป็นตัวกำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์ เช่น ค่าสเปซิฟิกออพทิคัลโรเทชัน จุดหลอมเหลว เป็นต้น หรือเป็นปัจจัยที่ต้องพิจารณาในการแยกแอลไลซีนจากน้ำหมักโดยใช้แคตไอออนเรซิน คือ ค่า selectivity coefficient สมบัติทางฟิสิกส์-เคมีของแอล-ไลซีนต่างๆ ที่สำคัญที่ต้องคำนึงถึงแสดงในตารางที่ 12-17

<u>ตารางที่</u> 12: ค่า Ionization constants และค่า pH ที่ isoelectric points ของแอล-ไลซีนที่อุณหภูมิ 25 °ซ

แอล-ไลซีน												
Classical				Zwitterionic				Acidic			pI	Ref
pK_{a1}	pK_{a2}	pK_{b1}	pK_{b2}	pK_{A1}	pK_{A2}	pK_{B1}	pK_{B2}	pK_1	pK_2	pK_3	pK_4	
10.53	-	5.05	11.82	2.18	-	3.47	5.05	2.18	8.95	10.53	-	9.47	84

ตารางที่ 13 : ค่า Ionization constants ของแอล-ไลซีนในเอทธานอล

แอล-ไลซีน					
pK_1	pK_2	pK_3	ปริมาณเอทธานอล(เปอร์เซนต์)	อุณหภูมิ($^oซ$)	Ref.
2.75	8.95	10.23	48	25	85
3.56	8.95	10.49	84	25	85

ตารางที่ 14 : สมบัติทางฟิสิกส์-เคมีอื่นๆ

สมบัติทางฟิสิกส์-เคมี		Ref
(1) ค่าความหนาแน่นของแอล-ไลซีน	1.237 กรัมต่อลูกบาศก์ซม.	86
(2) ค่าความสามารถในการละลายน้ำ(S)	หน่วย: กรัมต่อน้ำ 100 กรัม	
- L-lysine.HCl.$2H_2O$	$\log S = 1.6990 + 0.01294t$ (t= 0-55^o)	
- L-lysine.HCl.H_2O	$\log S = 1.7404 + 0.01256t$ (t= 55-70^o)	
- L-lysine.2HCl	$\log S = 2.2138 + 0.00409t$ (t= 0-70^o)	87
(3) จุดหลอมเหลว		
: - L-lysine.HCl :	ประมาณ 260 $^oซ$	12
	263-264 $^oซ$	88
- L-Lysine.2HCl :	193 $^oซ$	88

ตารางที่ 15 : ค่าสเปซิฟิออพทิคัลรีเทชั่นของแอล-ไลซีนรีมีนไฮโดรคลอไรด์

ความเข้มข้น(c)	ตัวทำละลาย	กรดหรือเบสต่อกรดอะมิโน (โมลาร์)	ความยาวเซล(l)	อุณหภูมิ (°ซ)	[α]	Ref
2.5	6.0 M HCl	-	-	25	+19.0-21.5	12
2.5	"	-	-	25	+19.6-21.6	89
2.0	"	-	-	23	25.9	91
2.0	0.6 M HCl	-	-	25	14.6	91
8	6.0 M HCl	-	-	20	21.2	90

- = ไม่ได้ระบุใน Ref c = กรัมของตัวถูกละลายต่อตัวทำละลาย 100 มิลลิลิตร

l = ความยาวของเซลวัดหน่วยเดซิเมตร [α] = ค่าสเปซิฟิออพทิคัลรีเทชัน

ตารางที่ 16 : ค่าสเปซิฟิออพทิคัลรีเทชั่นของแอล-ไลซีนในฟอร์ม D- และ L-

ฟอร์ม	ความเข้มข้น (c)	ตัวทำละลาย	กรดหรือเบสต่อกรดอะมิโน (โมลาร์)	ความยาวเซล (l)	อุณหภูมิ (°ซ)	[α]	Ref.
L-lysine	2.00	6.0 M HCl	43	4	22.9	+25.9	91
	6.496	H_2O	0	2	20	+14.6	92
D-lysine	2.00	0.27 M HCl	2	2	20	-23.48	93

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 17: ค่า Osmotic และ Activity coefficient ที่อุณหภูมิ 298.15 K(94)

Molarity	Osmotic coefficient		Activity coefficient	
(m)	Lysine	Lysine.HCl	Lysine	Lysine.HCl
0.1	0.940	0.901	0.891	0.728
0.2	0.926	0.885	0.837	0.657
0.3	0.918	0.860	0.804	0.613
0.4	0.913	0.850	0.781	0.582
0.5	0.914	0.844	0.766	0.559
0.6	0.920	0.841	0.759	0.542
0.7	0.936	0.841	0.763	0.529
0.8	0.952	0.841	0.769	0.518
0.9	0.969	0.843	0.779	0.509
1.0	0.983	0.844	0.788	0.502
1.2	1.011	0.852	0.809	0.491
1.4	1.040	0.860	0.836	0.484
1.6	1.071	0.870	0.869	0.480
1.8	1.102	0.883	0.904	0.480
2.0	1.132	0.896	0.945	0.481
2.5	1.211	0.930	1.061	0.488
3.0	1.290	0.963	1.202	0.499
3.5	1.368	0.995	1.367	0.514
4.0	1.442		1.553	
4.5	1.513		1.754	
5.0	1.589		2.017	
5.5	1.661		2.300	

1.8 การวิเคราะห์ปริมาณแอล-ไลซีน

1.8.1 เปเปอร์โครมาโทกราฟี (Paper Chromatography)

วิธีการนี้มีผู้นิยมใช้กันน้อย เป็นการแยกเชิงปริมาณซึ่งมีรายงานการแยกประเภทของกรดอะมิโนด้วยเรซินแลกเปลี่ยนประจุภาค ก่อนนำไปแยกด้วยเปเปอร์โครมาโทกราฟีจะทำให้ผลการแยกดีขึ้น จากนั้นสเปรย์ด้วยนินไฮดรินหรือรีเอเจนต์อื่นที่เหมาะสมให้เกิดสี(95) สำหรับรีเอเจนต์อื่นที่มีการพัฒนามาใช้ได้แก่ Dragendorff รีเอเจนต์(96)

1.8.2 วิธีทางชีววิทยา (Microbiological Assay)

วิธีการนี้สิ้นเปลืองเวลาในการวิเคราะห์มาก ใช้เวลาเฉพาะในขั้นตอนการวิเคราะห์ 18 ชม. มีการปรับปรุงวิธีการนี้สำหรับวัดปริมาณกรดอะมิโนให้เร็วขึ้น โดยการเพิ่มขั้นตอน intermediate culture ในช่วงระหว่างขั้นตอน inoculum และ assay culture เทคนิคนี้ช่วยลดเวลาในการวิเคราะห์เหลือ 2.5-3.5 ชม.(97) จากนั้นมีการดัดแปลงวิธีการดังกล่าวมาใช้วิเคราะห์แอล-ไลซีน โดยใช้เชื้อ *Pediococcus cerevisiae* ATCC 8042 ได้กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรงช่วงความเข้มข้นแอล-ไลซีน 30-240 ไมโครกรัม วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร(98) นอกจากนี้ยังได้มีการศึกษาปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อการเจริญของเชื้อสำหรับการวิเคราะห์ทางชีววิทยาของแอล-ไลซีนได้แก่ เกลือโซเดียมคลอไรด์ โซเดียมไนเตรท และโปแทสเซียมคลอไรด์(99)

1.8.3 วิธีสเปกโตรฟอโทเมทตริก (Spectrophotometric Method)

วิธีนี้เดิมเป็นการวิเคราะห์ปริมาณแอล-ไลซีนโดยการวัดปริมาณแก๊สจากปฏิกิริยา พบว่ากรดอะมิโนอิสระได้แก่ โปรลีน ไลซีนและออนิทริน จะทำปฏิกิริยากับนินไฮดรินรีเอเจนต์ที่ pH ประมาณ 1.0 ได้ผลิตภัณฑ์สีแดงที่ไม่ละลายน้ำ ผลิตภัณฑ์สีดำและผลิตภัณฑ์สีแดงตามลำดับ(100) ปริมาณของสีผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาสามารถวัดค่าการดูดกลืนแสง และคำนวณปริมาณกรดอะมิโนชนิดนั้นๆได้ วิธีนี้ใช้ได้กับ โปรลีน ออนิทริน ไลซีน และไฮดรอกซีไลซีน(101) มีรายงานการปรับปรุงกระบวนการให้เกิดแบบ stoichiometric reaction นำตัวอย่างกรดออะมิโน 0.01 มล. มีฟีนอล-ไพรีดีน(phenol-pyridine)เป็นตัวทำละลาย ให้ความร้อนที่ 100 ^{o}ซ

เป็นเวลา 3-5 นาที โดยระบบมีน้ำ 20 เปอร์เซนต์ ได้ dioxohydrindylidine dioxohydrindamine(DYDA) ที่อาจเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายของปฏิกิริยา วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร วิธีนี้ใช้ได้กับกรดอะมิโนทุกตัวยกเว้น ไลซีนและทริปโทเฟน(102) วิธีที่ใช้ได้กับกรดอะมิโนแอล-ไลซีนรวมทั้ง ทริปโทเฟน ซีสทีน ออนิทรินและโปรลีน เป็นวิธีที่ใช้ในการวัดปริมาณกรดไดอะมิโนไพเมริก(diaminopimeric acid) จากการทำปฏิกิริยากับนินไฮดรินรีเอเจนต์ให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ช่วงคลื่น 345 และ 440 นาโนเมตร(103) วิธีการของ Work(1957) ได้ถูกดัดแปลงมาใช้วัดปริมาณแอล-ไลซีนโมโนไฮโดรคลอไรด์ โดยใช้ตัวอย่างในช่วงความเข้มข้น 0.25-0.30 กรัมต่อลิตร ทำปฏิกิริยากับนินไฮดรินรีเอเจนต์ แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 400 นาโนเมตร(104)

1.8.4 <u>วิธีการทางเอนไซม์ (Enzyme Assay)</u>

เป็นการวิเคราะห์ที่มีความจำเพาะสูงอีกวิธีการหนึ่ง จากการศึกษาพบว่าเอนไซม์ที่มีความจำเพาะสูงสำหรับแอล-ไลซีนได้แก่ ไลซีนดีคาร์บอกซีเลส(E.C.4.1.18)(105-106)ไลซีนดีไฮโดรจีเนส(E.C.1.4.1.15)(107) แซกคาโรไพร์ ดีไฮโดรจีเนส(E.C.1.5.1.7)(108) แอล-ไลซีน: แอลฟา-ดีโนกลูทาเรท ε-อะมิโนทรานสเฟอเรส(E.C.2.6.1.36)(109) และไลซีน-แอลฟา-ออกซิเดส(LysOD) (E.C.1.4.3.14)(110) เอนไซม์เหล่านี้ชนิดที่มีความจำเพาะสูงสุดคือ ไลซีน ดีคาร์บอกซีเลส การทำปฏิกิริยากับแอล-ไลซีน แสดงในภาพที่ 9

$$\text{L-lysine} \xrightarrow{\text{L-lysine decarboxylase}} \text{cadaverine} + CO_2$$

<u>ภาพที่</u> 9: ปฏิกิริยาทางเอนไซม์ระหว่างแอล-ไลซีนกับเอนไซม์แอล-ไลซีนดีคาร์บอกซีเลส

การวัดปริมาณกาซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดจากปฏิกิริยาทำได้หลายวิธี แต่ที่สำคัญคือเราไม่ทราบปริมาณกาซคาร์บอนไดออกไซด์ที่แท้จริงในตัวอย่างน้ำหมัก ทำให้เกิดความไม่แน่ใจในระดับกาซที่ได้จากการวิเคราะห์(111) หลังจากนั้นมีรายงานการเปลี่ยนมาใช้เอนไซม์ ไลซีน-แอลฟา-ออกซิเดส(LysOD)(E.C.1.4.3.14) การทำปฏิกิริยากับแอล-ไลซีนแสดงในภาพที่ 10 โดยนำมาใช้งานร่วมกับเทคนิคโฟร์ลอินเจ็กชันแล้วใช้สเปกโทรฟอโตเมทรีเป็นเครื่องวัด(112)

LysOD

$$\text{L-lysine} + O_2 + H_2O \longrightarrow \alpha\text{-keto-}\varepsilon\text{-aminocaproate} + NH_3 + H_2O_2$$

$$2H_2O_2 + \text{phenol} + \text{4-aminoantipyrine} \longrightarrow \text{quinoneimine} + 4H_2O$$

ภาพที่ 10: ปฏิกิริยาทางเอนไซม์ระหว่างแอล-ไลซีนกับเอนไซม์ไลซีน-แอลฟา-ออกซิเดส

1.8.5 วิธีไอโซทาโคฟอรีซีส (Isotachophoresis)

เครื่องมือสำหรับการวิเคราะห์โดยวิธีนี้พัฒนาโดย Everaert(1973)(113) ประกอบด้วยหลอดแคปิลารี่มีเส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 0.3 มม. ทำด้วยฟลูออริเนทเอทธิลีนโพลพีลีนโคโพลีเมอร์ ใช้หลักการวัดค่าการนำไฟฟ้า บันทึกด้วยเครื่องไอโซทาโคฟีโรแกรม(114) ใช้คอลัมน์พ่วง 2 คอลัมน์ในส่วนของการแยก เพื่อเพิ่มความจุของคอลัมน์และสามารถวิเคราะห์สารที่มีปริมาณต่ำๆ ได้(115) วิธีนี้ให้ค่าความถูกต้องสูง การเตรียมตัวอย่างทำได้ง่ายด้วยการกรองและใช้เวลาในการวิเคราะห์ต่อตัวอย่างประมาณ 4 นาที(116)

1.8.6 แกสลิควิดโครมาโทกราฟี (Gas Liquid Chromatography)

วิธีการนี้มีความไวสูง ต้องเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ให้อยู่ในรูปอนุพันธ์ของสารระเหย ปฏิกิริยาของการเกิดอนุพันธ์ต้องมีความเหมาะสม คือ ใช้รีเอเจนต์ชนิดเดียวสำหรับการเกิดปฏิกิริยาเพียงขั้นตอนเดียว อนุพันธ์ที่เกิดต้องมีความเสถียรไม่ถูกทำลายในคอลัมน์และการแยกของอนุพันธ์เสร็จสมบูรณ์ในหนึ่งคอลัมน์(117) รูปอนุพันธ์สำหรับการวิเคราะห์ต้องมีความเหมาะสม ซึ่งมีการศึกษาไว้หลายชนิดได้แก่ N-TFA n-butyl ester(118) N-HFB iso-butyl ester(119) และ N(O,S)-isobutyloxycarbonyl(isoBOC)methyl ester(120)

1.8.7 ไฮเพอร์ฟอร์มานซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี (HPLC)

เป็นวิธีวิเคราะห์ที่ให้ค่าความแม่นยำสูง โดยการเปลี่ยนกรดอะมิโนให้อยู่ในรูปอนุพันธ์ที่เหมาะสม ซึ่งสามารถแยกในคอลัมน์รีเวอรส์เฟส ไฮ เพอร์ฟอร์มานซ์ ลิควิด โครมาโทกราฟี (RP-HPLC) สำหรับชนิดของรีเอเจนต์ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา เพื่อเปลี่ยนให้อยู่ในรูปอนุพันธ์ได้

มีการศึกษาไว้หลายชนิดได้แก่ O-phthalaldehyde(OPA)(121-124) dansylchloride(125) dabsyl chloride(126) phenylisothiocyanate(PITC)(127) และ 9-fluorenyl-methylchloroformate(FMOC)(128) นอกจากนี้มีรายงานการเพิ่มคอลัมน์แคตไอออนเรซินขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4 มม. ยาว 250 มม. ในขั้นตอนก่อนเข้าคอลัมน์สำหรับการวิเคราะห์เพื่อขจัดสิ่งปนเปื้อนที่มารบกวนการแยกแอล-ไลซีน ทริปโทเฟน แอมโมเนียและอาจีนีน ช่วยให้การวิเคราะห์มีความแม่นยำมากขึ้น(129)

1.9 <u>กระบวนการบำบัดน้ำเสียและผลพลอยได้จากกระบวนการ</u>

น้ำเสียเกิดขึ้นจากกระบวนการหลัก 2 กระบวนการคือ กระบวนการหมักและกระบวนการแยกและทำให้บริสุทธิ์ ซึ่งจำเป็นต้องผ่านระบบการบำบัดที่เหมาะสมก่อนระบายลงสู่แหล่งน้ำ ขณะเดียวกันก็แยกส่วนที่สามารถนำกลับมาใช้ประโยชน์ได้อีกไปใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ ระบบการบำบัดน้ำเสียเป็นอีกระบบหนึ่งที่จำเป็นต้องมีในโรงงานสำหรับอุตสาหกรรมการผลิตแอล-ไลซีน ได้มีการพัฒนาในส่วนนี้ และพยายามใช้ส่วนที่สามารถแยกกลับมาได้ให้เกิดประโยชน์มากที่สุดมีรายงานการบำบัดน้ำเสียจากกระบวนการหมักและกระบวนการทางเคมี โดยการรวม sludge ส่วนเกินจากแท้งค์ตกตะกอน ซึ่งมีประมาณ 80 เปอร์เซนต์ไปยังแท้งค์ที่ให้อากาศ ภายในแท้งค์ที่ให้อากาศมีอัตราการเปลี่ยนอุณหภูมิสูงขึ้นและต่ำลงอย่างรวดเร็วประมาณ 30 ^{o}ซ ภายใน 30 นาทีจากนั้นค่อยผ่านลงแท้งค์ตกตะกอน จะช่วยให้ประสิทธิภาพของ activated sludge slurry ตกตะกอนดีขึ้น(130) การปรับค่า pH น้ำเสียในช่วง 2-6 โดยเติมสารประกอบโลหะที่มีคุณสมบัติเป็นด่าง เพื่อขจัด xylensulfonic acid และsulfuric acid โดยการตกตะกอนแล้วแยก alkali amino acid โดยการผ่านคอลัมน์เรซินและแยก neutral amino acid โดยเลือกตกตะกอน(131) นอกจากนี้ยังมีความพยายามที่จะลดปริมาณของน้ำที่ใช้ล้างเรซินในขั้นตอนการแยกแอล-ไลซีน(132)

มีรายงานการใช้สารละลายส่วนที่เหลือหลังจากการตกผลึกแอล-ไลซีนแล้ว เป็นวัตถุดิบในการผลิตกาซมีเทน ซึ่งประกอบด้วยโปรตีน อินทรีย์สาร กรดอะมิโน สารรีดิวซ์(reducing substances อนินทรีย์สารไนโตรเจนและฟอสฟอรัสปริมาณ 2.5 0.45 0.295 0.80 0.63 และ 0.12 เปอร์เซนต์ตามลำดับ ผลผลิตสุดท้ายจะได้กาซชีวภาพ 114 ลูกบาศก์เมตร

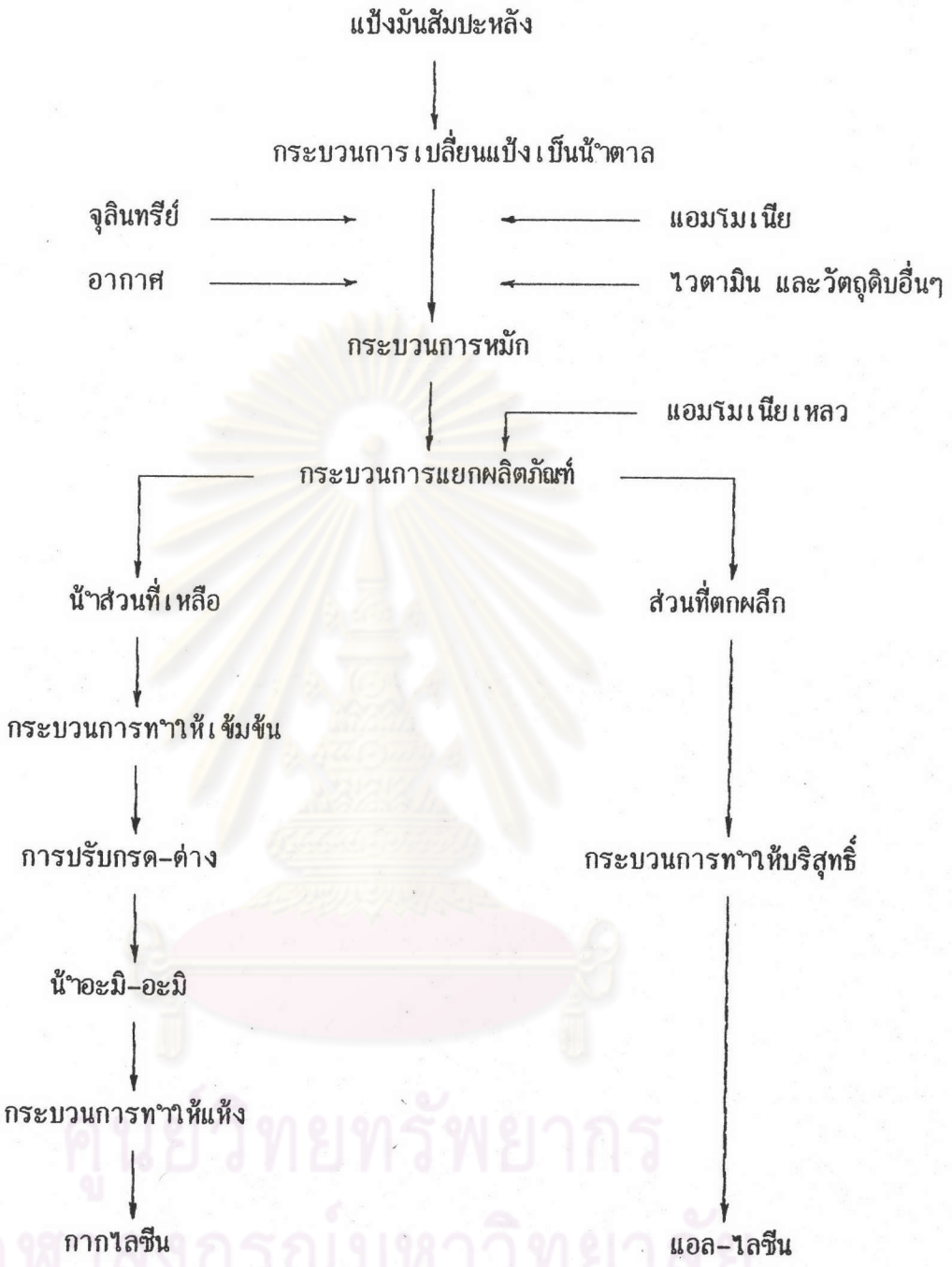
(กาซมีเทน 68.4 ลูกบาศก์เมตร) จาก effluent 3.8 ลูกบาศก์เมตร จากน้ำหมักแอล-ไลซีนที่ใช้กากน้ำตาลเป็นวัตถุดิบ 1 ตัน(133) การผลิตปุ๋ยและสารปรับปรุงโครงสร้างดินจากสารละลายกากน้ำตาลในส่วนที่เป็นของเสียจากการหมักแอล-ไลซีน นำมาทำให้เข้มข้นแล้วผสมกับ expanded perlite carrier(134) การใช้ประโยชน์จากสารละลายส่วนที่เหลือหลังจากแยกแอล-ไลซีนออกแล้วนำไประเหยภายใต้ความดันต่ำ ตกผลึกแอล-ไลซีนที่ยังเหลือเมื่อแยกส่วนที่เป็นปุ๋ยออกโดยการปั่นด้วยความเร็วสูง สารละลายที่เหลือใช้เป็นอาหารเสริมที่ให้ธาตุไนโตรเจนกับจุลินทรีย์ในกระเพาะสัตว์เคี้ยวเอื้อง(135) นอกจากนี้ยังมีการใช้ประโยชน์จากส่วนที่เหลือนี้ โดยการเติมกรดประมาณ 0.7 โมลาร์ และด่างประมาณ 0.5 โมลาร์ จากนั้นทำให้เข้มข้นหรือทำให้แห้งสามารถใช้เป็นอาหารสัตว์ได้(136)

ในกระบวนการผลิตแอล-ไลซีนยังมีกากไลซีน(effluent dry powder) เป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรม มีลักษณะเป็นผงสีน้ำตาล มีกลิ่นหอมคล้ายกลิ่นกาแฟ รสชาติเค็มเล็กน้อยประกอบด้วยส่วนที่เหลือจากการหมักโดยจุลินทรีย์ เซลล์ของจุลินทรีย์ และสารประกอบบางชนิดที่ใช้ในกระบวนการผลิตดังแสดงในภาพที่ 11 กากไลซีนที่ได้จากการผลิตแอล-ไลซีนประกอบด้วยส่วนประกอบทางเคมี เมื่อคิดเป็นเปอร์เซนต์ของมวลแห้งได้แก่ โปรตีน ไขมัน เยื่อใย และเถ้า มีค่าเท่ากับ 96.47 0.98 0.04 และ 8.85 เปอร์เซนต์ตามลำดับ(137) ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดคิดเป็นเปอร์เซนต์ของวัตถุแห้งมีค่าเท่ากับ 15.58 เปอร์เซนต์ โดยที่ไนโตรเจนส่วนใหญ่อยู่ในรูปของแอมโมเนียไนโตรเจน (NH_3-N) คิดเป็น 77.5 เปอร์เซนต์ของไนโตรเจนทั้งหมด(138) ซึ่งปริมาณไนโตรเจนดังกล่าวมีความผันแปรอยู่บ้างเล็กน้อยเช่นเดียวกับปริมาณของ NH_3-N ซึ่งก็มีความผันแปรอยู่บ้างเช่นกัน คือปริมาณไนโตรเจนจากบางรายงานอาจจะลดลงเหลือเพียง 14.62 เปอร์เซนต์ ซึ่งในจำนวนนี้คิดเป็น NH_3-N อยู่ถึง 79.25 เปอร์เซนต์(139) ชนิดและปริมาณของกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบในกากไลซีน เมื่อคิดเป็นเปอร์เซนต์ของมวลแห้งปรากฏตามตารางที่ 18 มีรายงานการใช้กากไลซีนร่วมกับมันสัมปะหลังเพื่อเพิ่มโปรตีนในอาหารโคเนื้อ สามารถทดแทนการใช้วัตถุดิบข้าวโพดได้ที่ระดับ 50 เปอร์เซนต์(140) และการใช้กากไลซีนเป็นอาหารโคนม(141) เป็นการใช้สิ่งที่เป็นผลพลอยได้จากการผลิตแอล-ไลซีนให้เกิดประโยชน์

ตารางที่ 18 : ชนิดและปริมาณกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบของกากไลซีน(139)

ชนิดของกรดอะมิโน	ปริมาณ (เปอร์เซนต์ของมวลแห้ง)
แอสปาติก แอซิด	1.64
ทรีโอนีน	0.74
เซอรีน	0.54
กลูตามิก แอซิด	2.27
โปรลีน	0.50
ไกลซีน	1.08
อลานีน	3.64
ซีสตีน	0.27
วาลีน	1.28
เมทไธโอนีน	0.20
ไอโซลูซีน	0.66
ลูซีน	1.17
ฟีนีนอลานีน	0.41
ไลซีน	0.90
อาร์จีนีน	0.77
ฮิสติดีน	0.06

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 11: ขั้นตอนการผลิตแอล-ไลซีน(139)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1.10 ขอบเขตของงานวิจัย

งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์ที่จะหาสภาวะเหมาะสมของการแยกแอล-ไลซีนจากน้ำหมัก และทำให้เข้มข้นโดยใช้เรซินแลกเปลี่ยนประจุภาค ในเบื้องต้นศึกษาคุณสมบัติของแอล-ไลซีนในปรากฏการณ์การดูดซับและการชะจากแคตไอออนเรซินชนิด Strong:NH_4^+-type โดยใช้สารละลายแอล-ไลซีนโมโนไฮโดรคลอไรด์ทำการหาสภาวะที่เหมาะสมในขั้นตอนต่างๆ โดยพิจารณาปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการแยกได้แก่ pH อุณหภูมิ อัตราการไหล ชนิดของตัวชะและสิ่งปนเปื้อนจากการหมักที่ส่งผลกระทบต่อการแยกแอล-ไลซีนและทำให้บริสุทธิ์ รวบรวมและดำเนินการทดลองสร้างข้อมูลแต่ละขั้นตอนให้เพียงพอ สำหรับเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการนำไปใช้ในทางปฏิบัติจริงในระดับขยายส่วน ปรับปรุงขั้นตอนการดูดซับและการชะแอล-ไลซีนออกจากคอลัมน์อย่างมีประสิทธิภาพ เพื่อให้สารละลายส่วนที่ชะออกมามีเปอร์เซนต์ผลิตผลกลับคืนเพิ่มขึ้น การเพิ่มความเข้มข้นในสารละลายส่วนที่ชะออก เพื่อลดพลังงานในการทำให้เข้มข้น พยายามลดปริมาณการใช้น้ำในกระบวนการและใช้สารเคมีประกอบการให้น้อยที่สุดเท่าที่ทำได้ เพื่อให้เกิดมลภาวะความเป็นกรดด่างต่อสภาพแวดล้อมน้อยที่สุด พิจารณาความเป็นไปได้ในการทำงานของกระบวนการที่อุณหภูมิปกติของประเทศไทย รวมทั้งศึกษาการปรับสภาพที่เหมาะสมของสารละลายในขั้นตอนการระเหยให้เข้มข้นสำหรับการตกผลึก เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะทางฟิสิกส์และเคมีตรงตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I18282441