สภาวะที่เหมาะสมของกระบวนการแยกแอล-ไลซีนโดยใช้เรซินแลกเปลี่ยนแคตไอออน

นาย ภูวะนัย จริยวรานุกูล

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
หลักสูตรเทคโนโลยีทางชีวภาพ
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
พ.ศ. 2537

ISBN 974-584-680-5

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I 18282441

OPTIMIZATION OF L-LYSINE SEPARATION PROCESS USING CATION EXCHANGE RESIN

Mr. Poowanai Jariyawaranoogoon

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science
Programme of Biotechnology
Graduate School
Chulalongkorn University
1994

ISBN 974-584-680-5

หัวข้อวิทยานิพนธ์	สภาวะที่เหมาะสมของกระบวนการแยกแอล-ไลซีน โดยใช้เรซินแลกเปลี่ยนแคตไอออน
โดย	นาย ภูวะนัย จริยวรานุกูล
ภาควิชา	หลักสูตรเทคโนโลยีทางชีวภาพ
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุรพงศ์ นวังคสัตถุศาสน์
	รองศาสตราจารย์ ดร.ไพเราะ ปิ่นพานิชการ

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(ศาสตราจารย์ ดร.ถาวร วัชราภัย)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุรพงศ์ นวังคสัตถุศาสน์)

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.ไพเราะ ปิ่นพานิชการ)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อมร เพชรสม)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

ภูวะนัย จริยวรานุกูล : สภาวะที่เหมาะสมของกระบวนการแยกแอล-ไลซีน โดยใช้เรซินแลกเปลี่ยนแคตไอออน (OPTIMIZATION OF L-LYSINE SEPARATION PROCESS USING CATION EXCHANGE RESIN) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผศ.ดร.สุรพงศ์ นวังคสัตถุศาสน์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม : รศ.ดร.ไพเราะ ปิ่นพานิชการ, 135 หน้า. ISBN 974-584-680-5

งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์ที่จะหาสภาวะที่เหมาะสมในการแยกแอล-ไลซีนจากน้ำหมักและทำให้บริสุทธิ์ พบว่ากระบวนการที่มีประสิทธิภาพคือ การใช้แคตไอออนเรซินชนิด Strong:NH_4^+-type โดยเมื่อใช้แอล-ไลซีนเริ่มต้นเข้มข้น 0.3 โมลาร์ 45 มล. และเรซิน 10 กรัม จะให้ความจุในการดูดซับของเรซินและผลิตผลกลับคืนสูงสุดในหนึ่งคอลัมน์ สำหรับสารละลายแอล-ไลซีนโมโนไฮโดรคลอไรด์ เท่ากับ 75 และ 90 เปอร์เซนต์ตามลำดับ ขณะที่ถ้าใช้น้ำหมักแอล-ไลซีนจะมีค่าเท่ากับ 63 และ 72 เปอร์เซนต์ตามลำดับ ค่า pH เริ่มต้นของน้ำหมักที่เหมาะสมในขั้นตอนการดูดซับคือ 2.0 ระบบนี้ใช้ตัวชะที่ประกอบด้วย 2 โมลาร์แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์และ 2 โมลาร์กรดไฮโดรคลอริก 20 และ 22 มล. ตามลำดับต่อเรซิน 10 กรัม แล้วชะล้างเรซินในขั้นตอนสุดท้ายด้วยน้ำกลั่นจนมีสภาพเป็นกลาง ในระหว่างการชะแช่เรซินในตัวชะด่าง 30 นาที เพื่อให้ถึงจุดอิ่มตัวของการชะ ซึ่งมีผลให้สารละลายแอล-ไลซีนที่ชะออกมาเข้มข้นขึ้นประมาณ 20 เปอร์เซนต์ และค่าผลิตผลกลับคืนเพิ่มขึ้น 7 เปอร์เซนต์ นอกจากนี้ระบบนี้ยังสามารถใช้งานได้ที่อุณหภูมิเฉลี่ยของประเทศไทยคือ 31 ^{o}ซ สารละลายแอล-ไลซีนที่ผ่านขั้นตอนการแยกแอล-ไลซีนออกจากคอลัมน์แล้ว นำสารละลายส่วนนี้มาปรับ pH ที่ 5.5-6.0 จากนั้นนำไประเหยให้เข้มข้นจนถึงจุดอิ่มตัวของการละลายประมาณ 460 กรัมต่อลิตรเพื่อตกผลึก นำผลึกที่ได้นำไปอบที่อุณหภูมิ 115 ^{o}ซ หรือมากกว่าจนผลึกแห้งสนิท ผลการวิเคราะห์ความบริสุทธิ์ของผลึกโดยวิธีแมสสเปกโทรมิเตอร์โดยใส่ตัวอย่างผ่านเครื่องลิควิดโครมาโตกราฟใช้เทคนิคแอดโมสเฟอริก เพรสเชอร์ เคมิคัล ไอออไนเซชัน แสดงให้เห็นว่าการปรับสารละลายที่ pH 5.5-6.0 ให้ผลึกที่มีความบริสุทธิ์สูงที่สุด

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา เทคโนโลยีทางชีวภาพ ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา เทคโนโลยีทางชีวภาพ ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....

ปีการศึกษา 2536 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

C426425 : MAJOR BIOTECHNOLOGY
KEY WORD: L-LYSINE/CATION EXCHANGE RESIN/SELECTIVITY COEFFICIENT
OPTIMAZATION OF L-LYSINE SEPARATION PROCESS USING CATION EXCHANGE RESIN. THESIS ADVISOR : ASSIS. PROF. SURAPONG NAVANKASATTUSAS, Ph.D., THESIS CO-ADVISOR : ASSO. PROF. PAIROH PINPHANICHAKARN, Ph.D. 135 pp.
ISBN 974-584-680-5

The objective of this study is to find the optimum condition for the separation and purification of L-lysine from fermentation broth. Highest adsorption and recovery were observed when 45 ml of a 0.3 molar starting solution was loaded onto a NH_4^+-type strong cation exchange column using 10 g of resin. For L-lysine monohydrochloride, percentage of adsorption and recovery were 75 and 90 percent respectively while those of L-lysine broth were 63 and 72 percent, respectively. The optimal initial pH of the broth for adsorption was 2.0. The suitable elution steps were first with 20 ml of 2M ammonium hydroxide and then with 22 ml of 2M hydrochoric acid. Following elution, the resin was washed with distilled water until the pH returned to neutral. During the elution step, the resin was soaked in the alkali solution for 30 minutes to allow equilibration. The equilibration step increased the eluate L-lysine concentration by approximately 20 percent and the recovery by 7 percent. In addition, this system could be carried out at 31 ^{o}C, the average temperature of Thailand. The pH of the L-lysine eluate was adjusted to 5.5-6.0 and then evaporated until reaching the saturation concentration of 460 grams per liter, for crystallization. The crystals obtained were subsequently dried at 115 ^{o}C or higher until crystals were completely dried. Purity analysis of the crystal by mass spectrometer connecting with liquid chromatography, using the atmoshperic pressure chemical ionization technique showed that the crystal obtained from the solution with pH adjusted to 5.5-6.0 had higher purity.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา เทคโนโลยีทางชีวภาพ ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา เทคโนโลยีทางชีวภาพ ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....

ปีการศึกษา 2536 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยเรื่อง "สภาวะที่เหมาะสมของกระบวนการแยกแอล-ไลซีนโดยใช้เรซินแลกเปลี่ยนแคตไอออน" สำเร็จลุล่วงด้วยดีจนสมบูรณ์เป็นรายงานการวิจัยฉบับนี้ ก็ด้วยความอนุเคราะห์จากผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุรพงศ์ นวังคสัตถุศาสน์ และรองศาสตราจารย์ ดร.ไพเราะ ปิ่นพานิช การที่ได้กรุณารับเป็นอาจารย์ที่ปรึกษา ให้คำแนะนำและแนวความคิด อันมีค่ายิ่งตลอดระยะเวลาการดำเนินการวิจัย

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.นลิน นิลอุบล ผู้อำนวยการสถาบันเทคโนโลยีชีวภาพและวิศวกรรมพันธุศาสตร์ ที่ให้การสนับสนุนและอนุญาตให้ใช้สถานที่ ตลอดจนอุปกรณ์และสารเคมีสำหรับทำงานวิจัย และได้รับการสนับสนุนเงินทุนอุดหนุนการวิจัยของบัณฑิตวิทยาลัย ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้การวิจัยสามารถดำเนินการและบรรลุความสำเร็จได้

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อมร เพชรสมที่ให้การสนับสนุนและช่วยเหลือในด้านงานวิเคราะห์ตัวอย่างในการดำเนินการวิจัย

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์ และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อมร เพชรสม ที่กรุณารับเป็นกรรมการสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ คณาจารย์หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ขอขอบคุณ คุณขจีนาฏ โพธิเวชกุล คุณณรงค์ หอมจันทร์ เจ้าหน้าที่ฝ่ายช่างเทคนิค พี่นักวิจัย พี่ เพื่อนและน้องเทคโนโลยีชีวภาพ เจ้าหน้าที่สถาบันเทคโนโลยีชีวภาพและวิศวกรรมพันธุศาสตร์ทุกท่าน ที่ได้มีส่วนช่วยในด้านสถานที่ เครื่องมือ อุปกรณ์ สารเคมี คำแนะนำและกำลังใจอันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการดำเนินการวิจัย

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญ ..... ช

สารบัญตาราง ..... ญ

สารบัญภาพ ..... ฑ

คำอธิบายสัญญลักษณ์และคำย่อ ..... ฒ

บทที่

1 บทนำ

1.1. ความสำคัญและแนวโน้มปริมาณการใช้แอล-ไลซีน 1

1.2. มาตรฐานผลิตภัณฑ์ 6

1.3. การผลิตแอล-ไลซีน 7

1.4. หลักการแยกและทำให้บริสุทธิ์ 12

1.5. การพัฒนากระบวนการแยกและทำให้บริสุทธิ์ 16

1.6. การพัฒนารูปแบบผลิตภัณฑ์และบรรจุภัณฑ์ 21

1.7. สมบัติทางฟิสิกส์-เคมี 24

1.8. การวิเคราะห์ปริมาณแอล-ไลซีน 28

1.9. กระบวนการบำบัดน้ำเสียและผลพลอยได้จากกระบวนการ 31

1.10. ขอบเขตของงานวิจัย 35

2 อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

2.1. อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง 36

2.2. การทดลองในระบบแบทช์ 38

2.3. การทดลองในระบบคอลัมน์ 40

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ (ต่อ)

2.4. การทดลองการตกผลึก 43

2.5. วิธีการวิเคราะห์ 43

3 ผลการทดลอง

3.1. การศึกษาสภาวะในระบบแบทช์

3.1.1.การหาเวลาที่ถึงจุดอิ่มตัวของเรซินในการดูดซับและการชะแอล-ไลซีน โมโนไฮโดรคลอไรด์ 46

3.1.2.การศึกษาปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อขั้นตอนการดูดซับและการชะ 52

3.1.2.1 ความจุของเรซินที่เปลี่ยนไปเมื่อใช้งานหลายรอบ 52

3.1.2.2 ปัจจัยของน้ำกลั่นล้างเรซินหลังขั้นตอนการชะ 54

3.1.2.3 ปัจจัยของปริมาณตัวชะต่อปริมาณการดูดซับและการชะในรอบต่อไป 58

3.1.2.4 ค่า selectivity coefficient ของแอล-ไลซีน โมโนไฮโดรคลอไรด์ 62

3.1.2.5 pH เริ่มต้นในขั้นตอนการดูดซับ 63

3.2.การศึกษาสภาวะในระบบคอลัมน์

3.2.1.การวัด breakthrough curve 65

3.2.2.การศึกษาปัจจัยของตัวชะ 68

3.2.2.1 สัดส่วนที่เหมาะสมของตัวชะด่างและกรด 68

3.2.2.2 สัดส่วนที่เหมาะสมของตัวชะด่าง กรด และน้ำกลั่น 70

3.2.3.การศึกษาจุดอิ่มตัวของเรซินในขั้นตอนการดูดซับและการชะ 72

3.2.3.1 ขั้นตอนการดูดซับ 72

3.2.3.2 ขั้นตอนการชะ 74

3.2.3.3 ประสิทธิภาพของเรซินที่ผ่านการใช้งานหลายรอบ 76

3.2.4.ปัจจัยของอุณหภูมิในขั้นตอนการดูดซับและการชะ 78

3.2.4.1 การแปรอุณหภูมิในขั้นตอนการดูดซับและการชะ 78

3.2.4.2 การหาเวลาที่ถึงจุดอิ่มตัวในขั้นตอนการดูดซับและการชะที่ อุณหภูมิต่างๆ 81

สารบัญ (ต่อ)

3.2.5 ปัจจัยของอัตราการไหล 83
3.2.6 ปัจจัยของสิ่งปนเปื้อน 85
3.3 สภาวะของการตกผลึก 91
3.4 การวิเคราะห์ปริมาณแอล-ไลซีนไมโนไฮโดรคลอไรด์
3.4.1 การวิเคราะห์โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสง 94
3.4.2 การวิเคราะห์ด้วยวิธีไอออนโครมาโตกราฟฟี 98
3.5 การวิเคราะห์ความบริสุทธิ์ของผลึกแอล-ไลซีนไมโนไฮโดรคลอไรด์ด้วยวิธีแมสสเปกโทรมิเตอร์ โดยใส่ตัวอย่างผ่านเครื่องลิควิดโครมาโตกราฟโดยเทคนิคแอดโมสเฟอริก เพรสเชอร์ เคมิคัล ไอออไนเซชัน (LC/MS: Atmospheric Pressure Chemical Ionization Technique) . 102
4. วิจารณ์ผลการทดลองและสรุป 108
เอกสารอ้างอิง 115
ภาคผนวกที่
1.แคตไอออนเรซินที่ใช้ในการทดลอง 132
2.สูตรอาหารที่ใช้ในการวิจัย 133
3.การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการวิจัย 134
ประวัติผู้เขียน 135

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	สมดุลย์ของกรดอะมิโนในอาหารสุกร	2
2	แนวโน้มของจำนวนปศุสัตว์และความต้องการแอล-ไลซีนในประเทศออสเตรเลีย(1989-89)	3
3	ปริมาณการผลิตและการใช้แอล-ไลซีนในประเทศไทย	4
4	ปริมาณการนำเข้าแอล-ไลซีนจากต่างประเทศ	4
5	กำลังการผลิตของแอล-ไลซีนในประเทศที่ไม่ใช่คอมมูนิสต์	6
6	ลักษณะทางเคมีและฟิสิกส์ของแอล-ไลซีนโมโนไฮโดรคลอไรด์	7
7	การพัฒนาสายพันธุ์ *B.lactofermentum* ของบริษัท อายิโนะโมะโต๊ะ จำกัด	11
8	ชนิดของเรซินที่ใช้ในกระบวนการแยกทางอุตสาหกรรม	12
9	ปัจจัยต่างๆ ในกระบวนการแยกแอล-ไลซีนและทำให้บริสุทธิ์ด้วยแคตไอออนเรซินชนิด strong ที่ระบุในสิทธิบัตรประเทศต่างๆ ช่วงปี 1980-91:ประเภทคอลัมน์เดียว(Single stage column system)	19
10	ปัจจัยต่างๆ ในกระบวนการแยกแอล-ไลซีนและทำให้บริสุทธิ์ด้วยแคตไอออนเรซินชนิด strong ที่ระบุในสิทธิบัตรประเทศต่างๆ ช่วงปี 1980-91:ประเภทหลายคอลัมน์(Multistage column system)	20
11	รูปแบบและวิธีการต่างๆ ในอุตสาหกรรมการผลิตแอล-ไลซีน	22
12	ค่า Ionization constants และค่า pH ที่ Isoelectric points ของแอล-ไลซีนที่อุณหภูมิ 25 ^{o}ซ	24
13	ค่า Ionization constants ของแอล-ไลซีนในเอธานอล	25
14	สมบัติทางฟิสิกส์-เคมีอื่นๆ	25
15	ค่าสเปซิฟิกออพทิคัลโรเทชั่นของแอล-ไลซีนโมโนไฮโดรคลอไรด์	26
16	ค่าสเปซิฟิกออพทิคัลโรเทชั่นของแอล-ไลซีนในฟอร์ม D- และ L-	26
17	ค่า Osmotic และ Activity coefficient ที่อุณหภูมิ 298.15 K	27

สารบัญตาราง (ต่อ)

18 ชนิดและปริมาณกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบของกากไลซีน 33

19 ชื่อเครื่องมือ รุ่นและบริษัทผู้ผลิตที่ใช้ในการทดลอง 36

20 รายชื่อสารเคมีและบริษัทผู้ผลิต 38

21 สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณแอล-ไลซีนโมโนไฮโดรคลอไรด์
ด้วยวิธีไอออนโครมาโตกราฟี 44

22 ความเข้มข้นแอล-ไลซีนโมโนไฮโดรคลอไรด์ที่ไม่ถูกดูดซับที่เรซินในขั้นตอน
การดูดซับที่เวลาทุก 1 ชม. 46

23 ความเข้มข้นแอล-ไลซีนโมโนไฮโดรคลอไรด์ที่ถูกดูดซับที่เรซินในขั้นตอน
การดูดซับที่เวลาทุก 1 ชม. 30 นาทีและ 5 นาที 48

24 ความเข้มข้นแอล-ไลซีนโมโนไฮโดรคลอไรด์ที่ถูกชะออกจากเรซินใน
ขั้นตอนการชะที่เวลาทุก 0.5 ชม..... 50

25 ความเข้มข้นแอล-ไลซีนโมโนไฮโดรคลอไรด์ที่ถูกชะออกจากเรซินใน
ขั้นตอนการชะที่เวลาทุก 5 นาที 50

26 ความเข้มข้นแอล-ไลซีนโมโนไฮโดรคลอไรด์ที่ถูกดูดซับและชะออกจาก
เรซินจำนวน 12 รอบ 53

27 ความเข้มข้นแอล-ไลซีนโมโนไฮโดรคลอไรด์ที่ถูกดูดซับและชะออกจาก
เรซินโดยเพิ่มขั้นตอนการล้างเรซินด้วยน้ำกลั่น 50 มล.ต่อรอบทดลอง 5 รอบ .. 54

28 ความเข้มข้นแอล-ไลซีนโมโนไฮโดรคลอไรด์ที่ถูกดูดซับและคิดเป็น
เปอร์เซนต์ในแต่ละรอบของการทดลอง 55

29 pH ของสารละลายในขั้นตอนการดูดซับและการชะ 55

30 ความเข้มข้นแอล-ไลซีนโมโนไฮโดรคลอไรด์ที่ถูกดูดซับและชะออกจาก
เรซินจากการแปรปริมาณตัวชะ 25 50 และ 75 มล.จำนวน 5 รอบ 58

31 ความเข้มข้นแอล-ไลซีนโมโนไฮโดรคลอไรด์ที่ถูกดูดซับและคิดเป็น
เปอร์เซนต์ของแต่ละรอบการทดลอง 59

32 pH ของสารละลายในขั้นตอนการดูดซับ การชะและน้ำกลั่นหลังจาก
ล้างเรซินในขั้นตอนการชะ 59

สารบัญตาราง (ต่อ)

33 ค่า selectivity coefficient ของแต่ละรอบการทดลอง 62

34 ความเข้มข้นแอล-ไลซีนรีมรีนไฮโดรคลอไรด์ที่ถูกดูดซับ และปริมาณที่ถูกดูดซับต่อกรัมเรซินเปรียบเทียบกับน้ำหมักแอล-ไลซีนที่ค่า pH เริ่มต้น 0.5-10 .. 63

35 ความเข้มข้นแอล-ไลซีนรีมรีนไฮโดรคลอไรด์และ pH ในแต่ละลำดับส่วนของขั้นตอนการดูดซับและการชะจาก breakthrough curve 65

36 เปอร์เซนต์ผลิตผลกลับคืนจากการใช้ตัวชะที่แปรปริมาตรด่างเริ่มต้นเปรียบเทียบกับการชะโดยใช้ด่างล้วน 68

37 เปอร์เซนต์ผลิตผลกลับคืนจากตัวชะที่เป็นด่างและกรดที่สัดส่วนต่างๆ 70

38 เปอร์เซนต์การดูดซับจากการแช่เรซินในสารละลายแอล-ไลซีนรีมรีนไฮโดรคลอไรด์ในขั้นตอนการดูดซับที่เวลาต่างๆเปรียบเทียบกับการไม่แช่ 72

39 เปอร์เซนต์ผลิตผลกลับคืนจากการทดลองแช่เรซินจากขั้นตอนการดูดซับในตัวชะด่าง 2 รีมลาร์แอมรีมเนียมไฮดรอกไซด์ที่เวลาต่างๆ เปรียบเทียบกับการไม่แช่ 74

40 ประสิทธิภาพของเรซินเดิมโดยพิจารณาเปอร์เซนต์การดูดซับและผลิตผลกลับคืนในขั้นตอนการดูดซับและการชะเมื่อใช้งาน 5 รอบ 76

41 เปอร์เซนต์การดูดซับและผลิตผลกลับคืนของแอล-ไลซีนรีมรีนไฮโดรคลอไรด์ที่อุณหภูมิ 25-60 ^{o}ซ..... 78

42 เปอร์เซนต์การดูดซับแอล-ไลซีนรีมรีนไฮโดรคลอไรด์และเปอร์เซนต์ผลิตผลกลับคืนจากการแปรอุณหภูมิ 25-50^{o}ซ และเวลาการแช่เรซินในขั้นตอนการชะ 0 15 30 45 และ 60 นาที 81

43 เปอร์เซนต์การดูดซับและผลิตผลกลับคืนจากการแปรอัตราการไหล 83

44 ผลการเพาะเลี้ยง *B. lactofermentum* ATCC 21798 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร 86

45 เปอร์เซนต์การดูดซับและผลิตผลกลับคืนของน้ำหมักจากการใช้งานเรซินเดิม 5 รอบ 89

สารบัญตาราง (ต่อ)

46 ความเข้มข้นที่จุดอิ่มตัวของการละลายของแอล-ไลซีนโมโนไฮโดร
คลอไรด์ที่ pH ต่างๆ อุณหภูมิ 31 °ซ 91
47 ค่าสเปซิฟิกออพทิคัลโรเทชัน $[\alpha]_D^{25}$ ของผลึกแอล-ไลซีนโมโนไฮโดร
คลอไรด์ที่ pH ต่างๆ เปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานอุตสาหกรรม 93
48 พีคของการสแกนตัวอย่างที่ทำปฏิกิริยากับนินไฮดรินรีเอเจนต์ที่ pH ต่างๆ 94

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	สถิติจำนวนปศุสัตว์ของไทย	5
2	แผนภาพการผลิตแอล-ไลซีน	8
3	กระบวนการทางเอนไซม์เพื่อผลิตแอล-ไลซีนจาก DL-aminolactam	8
4	การสังเคราะห์แอล-ไลซีนโดย *Corynebacterium glutamicum*	9
5	แผนภาพแสดงเซกเมนต์โมเดล	13
6	แผนภาพไดอะแกรมของไอออนในกระบวนการดูดซับของระบบหลายคอลัมน์	15
7	ขั้นตอนหลักในกระบวนการแยกและทำให้บริสุทธิ์ที่มีการพัฒนาและจดเป็นสิทธิบัตรช่วงปี 1980-1990	17
8	รูปแบบและวิธีการต่างๆ ในอุตสาหกรรมการผลิตแอล-ไลซีน	23
9	ปฏิกิริยาทางเอนไซม์ระหว่างแอล-ไลซีนกับเอนไซม์แอล-ไลซีนดีคาร์บอกซิเลส	29
10	ปฏิกิริยาทางเอนไซม์ระหว่างแอล-ไลซีนกับเอนไซม์ไลซีน-แอลฟาออกซิเดส	30
11	ขั้นตอนการผลิตแอล-ไลซีน	34
12	ความเข้มข้นแอล-ไลซีนโมโนไฮโดรคลอไรด์ที่ไม่ถูกดูดซับที่เรซินในขั้นตอนการดูดซับที่เวลาทุก 1 ชม.	47
13	ปริมาณการดูดซับแอล-ไลซีนโมโนไฮโดรคลอไรด์ของเรซินทุก 1.0 ชม.	49
14	ปริมาณการดูดซับแอล-ไลซีนโมโนไฮโดรคลอไรด์ของเรซินทุก 0.5 ชม.	49
15	ปริมาณการดูดซับแอล-ไลซีนโมโนไฮโดรคลอไรด์ของเรซินทุก 5 นาที	49
16	ความเข้มข้นแอล-ไลซีนโมโนไฮโดรคลอไรด์ที่ถูกชะออกจากเรซินในขั้นตอนการชะทุก 0.5 ชม.	51
17	ความเข้มข้นแอล-ไลซีนโมโนไฮโดรคลอไรด์ที่ถูกชะออกจากเรซินในขั้นตอนการชะทุก 5 นาที	52
18	ความเข้มข้นแอล-ไลซีนโมโนไฮโดรคลอไรด์ที่ถูกดูดซับและชะออกจากเรซินจำนวน 12 รอบ	53

สารบัญภาพ (ต่อ)

19 ความเข้มข้นแอล-ไลซีนโมโนไฮโดรคลอไรด์ที่ถูกดูดซับและชะออกจากเรซิน จำนวน 5 รอบจากการเพิ่มขั้นตอนล้างเรซินด้วยน้ำกลั่น 50 มล.ต่อรอบ 55

20 ความเข้มข้นแอล-ไลซีนโมโนไฮโดรคลอไรด์ที่ถูกดูดซับและชะออกจากเรซินจำนวน 5 รอบจากการแปรปริมาตรน้ำกลั่นที่ใช้ล้างเรซิน 50 100 150 200 มล.ต่อรอบ 57

21 ความเข้มข้นแอล-ไลซีนโมโนไฮโดรคลอไรด์ที่ถูกดูดซับและชะออกจากเรซิน จากการแปรปริมาตรของตัวชะ 25 50 และ 75 มล. จำนวน 5 รอบ 61

22 pH ของสารละลายในขั้นตอนการดูดซับ การชะและน้ำกลั่นหลังจากล้างเรซินในขั้นตอนการชะจากการแปรปริมาณตัวชะ 25 50 และ 75 มล. 61

23 ความเข้มข้นแอล-ไลซีนโมโนไฮโดรคลอไรด์ที่ถูกดูดซับที่เรซินเปรียบเทียบกับน้ำหมักแอล-ไลซีนที่ pH เริ่มต้น 0.5-10.0 64

24 pH ของสารละลายที่จุดอิ่มตัวในขั้นตอนการดูดซับจาก pH เริ่มต้น 0.5-10.0 64

25 Breakthrough curve ของแอล-ไลซีนโมโนไฮโดรคลอไรด์จากแต่ละลำดับส่วนของขั้นตอนการดูดซับและการชะ 67

26 pH profile ของ breakthrough curve แอล-ไลซีนโมโนไฮโดรคลอไรด์ในขั้นตอนการดูดซับและการชะ 67

27 เปอร์เซนต์ผลิตผลกลับคืนจากการใช้ตัวชะที่แปรปริมาตรต่างเริ่มต้น 30 20 และ 10 มล.ตามลำดับเปรียบเทียบกับการใช้ต่างล้วน 69

28 การเปรียบเทียบ pH profile ในขั้นตอนการดูดซับและการชะที่แปรปริมาตรต่างเริ่มต้น 30 20 และ 10 มล.ตามลำดับ 69

29 เปอร์เซนต์ผลิตผลกลับคืนจากการใช้ตัวชะที่แปรปริมาตรต่างและกรดเริ่มต้น 30 ต่อ 12 20 ต่อ 22 และ 10 ต่อ 32 มล.ตามลำดับ 71

30 การเปรียบเทียบ pH profile ในขั้นตอนการดูดซับและการชะที่แปรปริมาตรต่างและกรดเริ่มต้น 30 ต่อ 12 20 ต่อ 22 และ 10 ต่อ 32 มล.ตามลำดับ 71

31 เปอร์เซนต์การดูดซับจากการแช่เรซินในขั้นตอนการดูดซับ 15 30

สารบัญภาพ (ต่อ)

45 และ 60 นาทีเปรียบเทียบกับการไม่แช่ 73

32 pH profile ในขั้นตอนการดูดซับจากการแปรเวลาการแช่เรซินในขั้นตอนการดูดซับ 15 30 45 และ 60 นาที 73

33 เปอร์เซนต์ผลิตผลกลับคืนจากการทดลองแช่เรซินจากขั้นตอนการชะ 15 30 45 และ 60 นาทีเปรียบเทียบกับการไม่แช่ 75

34 pH profile ในขั้นตอนการดูดซับและการชะจากการแปรเวลาการแช่เรซินในขั้นตอนการชะ 15 30 45 และ 60 นาที 75

35 เปอร์เซนต์การดูดซับและผลิตผลกลับคืนของการใช้งานเรซิน 5 รอบ โดยใช้ตัวชะด่างและกรด 20 และ 22 มล. แช่เรซินในตัวชะด่าง 30 นาที 77

36 pH profile ในขั้นตอนการดูดซับและการชะของการใช้งานเรซิน 5 รอบ 77

37 เปอร์เซนต์การดูดซับ ผลิตผลกลับคืน และปริมาณที่ชะออกเปรียบเทียบกับปริมาณเริ่มต้นของแอล-ไลซีนโมโนไฮโดรคลอไรด์ที่อุณหภูมิ 25-60 ^{o}ซ 79

38 pH profile ในขั้นตอนการดูดซับและการชะจากการแปรอุณหภูมิ 25-60 ^{o}ซ 80

39 เปอร์เซนต์การดูดซับแอล-ไลซีนโมโนไฮโดรคลอไรด์จากการแปรอุณหภูมิ 25-50 ^{o}ซ และเวลาการแช่เรซินในขั้นตอนการชะ 0 15 30 45 และ 60 นาที 82

40 เปอร์เซนต์ผลิตผลกลับคืนของแอล-ไลซีนโมโนไฮโดรคลอไรด์จากการแปรอุณหภูมิ 25-50 ^{o}ซ และเวลาการแช่เรซินในขั้นตอนการชะ 0 15 30 45 และ 60 นาที 82

41 เปอร์เซนต์การดูดซับจากการแปรอัตราการไหลในขั้นตอนการดูดซับ 2-7 ซม.$^{-1}$ 84

42 เปอร์เซนต์ผลิตผลกลับคืนจากการแปรอัตราการไหลในขั้นตอนการชะ 5.22-10 ซม.$^{-1}$ 84

สารบัญภาพ (ต่อ)

43 ผลการเพาะเลี้ยง *B. lactofermentum* ATCC 21798 ในถังหมัก ขนาด 5 ลิตร 87

44 profile ในขั้นตอนการดูดซับและการชะของน้ำหมักแอล-ไลซีน จำนวน 5 รอบ 89

45 pH profile ในขั้นตอนการดูดซับและการชะของน้ำหมักแอล-ไลซีน จำนวน 5 รอบ 90

46 เปอร์เซนต์การดูดซับ ผลิตผลกลับคืน และปริมาณที่ชะออกเปรียบเทียบกับปริมาณเริ่มต้นของน้ำหมักแอล-ไลซีน 90

47 ความเข้มข้นที่จุดอิ่มตัวของการละลายแอล-ไลซีนโมโนไฮโดรคลอไรด์ที่ pH ต่างๆ อุณหภูมิ 31 °ซ 92

48 ภาพพีคของการสแกนตัวอย่างที่ทำปฏิกิริยากับนินไฮดรินรีเอเจนต์ที่ pH 2 และ 10 96

49 กราฟมาตรฐานที่ความยาวคลื่น 440 นาโนเมตรในขั้นตอนการดูดซับและการชะเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานเดิม 97

50 กราฟผลการวิเคราะห์แอล-ไลซีนโมโนไฮโดรคลอไรด์เกรดผสมอาหารสัตว์ด้วยวิธีไอออนโครมาโตกราฟี 99

51 กราฟผลการวิเคราะห์ตัวอย่างแอล-ไลซีนโมโนไฮโดรคลอไรด์จากการผ่านคอลัมน์แคตไอออนเรซินด้วยวิธีไอออนโครมาโตกราฟี 99

52 กราฟผลการวิเคราะห์ตัวอย่างแอล-ไลซีนมาตรฐานด้วยวิธี LC/MS โดยเทคนิค APCI(-)..... 100

53 กราฟผลการวิเคราะห์ตัวอย่างแอล-ไลซีนเกรดผสมอาหารสัตว์ด้วยวิธี LC/MS โดยเทคนิค APCI(-) 100

54 กราฟผลการวิเคราะห์ตัวอย่างพีคแอล-ไลซีนด้วยวิธี LC/MS โดยเทคนิค APCI(-) 101

55 กราฟผลการวิเคราะห์ตัวอย่างพีค unknown I ด้วยวิธี LC/MS โดยเทคนิค APCI(-) 101

สารบัญภาพ (ต่อ)

56 กราฟผลการวิเคราะห์ตัวอย่างพืด unknown II
ด้วยวิธี LC/MS โดยเทคนิค APCI(-) 102
57 กราฟผลการวิเคราะห์ตัวอย่างผลึกแอล-ไลซีนโมโนไฮโดรคลอไรด์
จากการเตรียมที่ pH 1.0 ด้วยวิธี LC/MS โดยเทคนิค APCI(+) 103
58 กราฟผลการวิเคราะห์ตัวอย่างผลึกแอล-ไลซีนโมโนไฮโดรคลอไรด์
จากการเตรียมที่ pH 2.0 ด้วยวิธี LC/MS โดยเทคนิค APCI(+) 103
59 กราฟผลการวิเคราะห์ตัวอย่างผลึกแอล-ไลซีนโมโนไฮโดรคลอไรด์
จากการเตรียมที่ pH 3.0 ด้วยวิธี LC/MS โดยเทคนิค APCI(+) 104
60 กราฟผลการวิเคราะห์ตัวอย่างผลึกแอล-ไลซีนโมโนไฮโดรคลอไรด์
จากการเตรียมที่ pH 4.0 ด้วยวิธี LC/MS โดยเทคนิค APCI(+) 104
61 กราฟผลการวิเคราะห์ตัวอย่างผลึกแอล-ไลซีนโมโนไฮโดรคลอไรด์
จากการเตรียมที่ pH 5.0 ด้วยวิธี LC/MS โดยเทคนิค APCI(+) 105
62 กราฟผลการวิเคราะห์ตัวอย่างผลึกแอล-ไลซีนโมโนไฮโดรคลอไรด์
จากการเตรียมที่ pH 6.0 ด้วยวิธี LC/MS โดยเทคนิค APCI(+) 105
63 กราฟผลการวิเคราะห์ตัวอย่างผลึกแอล-ไลซีนโมโนไฮโดรคลอไรด์
จากการเตรียมที่ pH 7.0 ด้วยวิธี LC/MS โดยเทคนิค APCI(+) 106
64 กราฟผลการวิเคราะห์ตัวอย่างผลึกแอล-ไลซีนโมโนไฮโดรคลอไรด์
จากการเตรียมที่ pH 8.0 ด้วยวิธี LC/MS โดยเทคนิค APCI(+) 106
65 กราฟผลการวิเคราะห์ตัวอย่างผลึกแอล-ไลซีนโมโนไฮโดรคลอไรด์
จากการเตรียมที่ pH 9.0 ด้วยวิธี LC/MS โดยเทคนิค APCI(+) 107
66 กราฟผลการวิเคราะห์ตัวอย่างผลึกแอล-ไลซีนโมโนไฮโดรคลอไรด์
จากการเตรียมที่ pH 9.55 ด้วยวิธี LC/MS โดยเทคนิค APCI(+) 107

คำอธิบายสัญญลักษณ์และคำย่อ

ชม.	=	ชั่วโมง
^{o}ช	=	องศาเซลเซียส
มล.	=	มิลลิลิตร
มม.	=	มิลลิเมตร
$	=	เหรียญสหรัฐ
pH	=	ค่าความเป็นกรดด่าง
M	=	โมลาร์
K	=	องศาเคลวิน
%	=	เปอร์เซนต์
LC/MS	=	วิธีแมสสเปกโทรมิเตอร์โดยใส่ตัวอย่างผ่านเครื่องลิควิดโครมาโตกราฟ
APCI	=	แอตโมสเฟอริก เพรสเชอร์ เคมิคัล ไอออไนเซชัน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย