

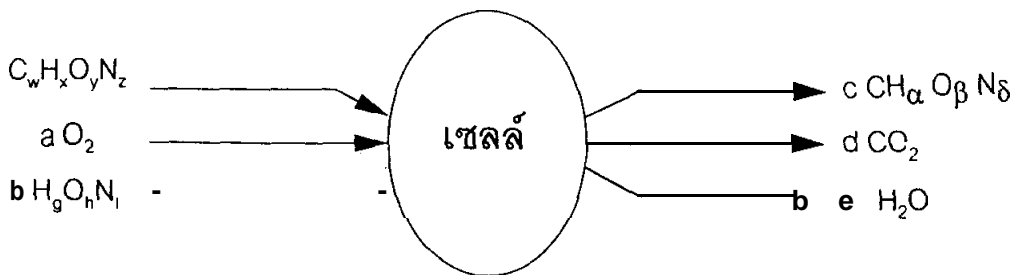
บทที่ 2

มวลสารสัมพันธ์ในกระบวนการทางชีวภาพ

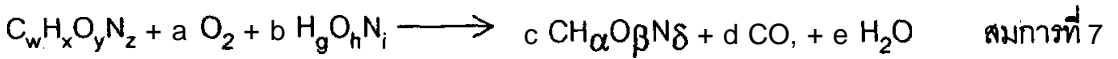
มวลสารสัมพันธ์ในกระบวนการทางชีวภาพเป็นการเปลี่ยนแปลงของสารที่ทำให้ปฏิกิริยากันในสัดส่วนและสภาวะที่เหมาะสมแล้วได้ผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ โดยความสัมพันธ์ที่เกิดอาจอยู่ในรูปของโมลหรืออะตอม การพิจารณากฎการอนุรักษ์มวลสารดังกล่าวนี้ได้นำมาใช้อย่างมากในกระบวนการทางชีวภาพ เช่น การกำหนดองค์ประกอบของเซลล์ การคำนวณสูตรอาหารที่เหมาะสม การพิจารณาสมดุลของเซลล์ในกระบวนการ การพิจารณาปริมาณผลิตภัณฑ์ที่ได้ เป็นต้น

กฎการอนุรักษ์อะตอมของธาตุ

การอนุรักษ์อะตอมของธาตุต่างๆของสารที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยาทางชีวภาพนั้นสามารถพิจารณาได้จากองค์ประกอบของสับสเตรต ผลิตภัณฑ์ และองค์ประกอบของเซลล์ โดยการกำหนดองค์ประกอบของเซลล์เป็นปัจจัยหนึ่งที่สำคัญ ซึ่งจุลินทรีย์แต่ละชนิดต่างก็มีองค์ประกอบของคาร์บอน ไฮโดรเจน ออกซิเจน และไนโตรเจน ที่เป็นองค์ประกอบหลักที่แตกต่างกัน ดังนั้นการกำหนดองค์ประกอบของเซลล์โดยทั่วไป จึงแสดงด้วย $CH_\alpha O_\beta N_\delta$



การสร้างสมการที่เกิดขึ้นเพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปฏิกิริยานั้น ถ้ากำหนดให้การเปลี่ยนแปลงทางชีวภาพดังกล่าว ไม่มีการสร้างผลิตภัณฑ์ นอกจากน้ำ และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์แล้ว สมการของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น สามารถแสดงได้ดังนี้



เมื่อ $C_w H_x O_y N_z$ เป็นสูตรเคมีไพริคัลของคาร์โบไฮเดรต เช่น ถ้าเป็นกลูโคส $w = 6$ $x = 12$
 $y = 6$ และ $z = 0$

$H_g O_h N_i$ เป็นสูตรเคมีไพริคัลของแหล่งไนโตรเจน

$CH_\alpha O_\beta N_\delta$ เป็นสูตรเคมีไพริคัลของเซลล์

และ a b c d และ e เป็นสัมประสิทธิ์ของการอนุรักษ์อะตอมของธาตุในปฏิกิริยา และแสดงปริมาณเป็นโมลของสารแต่ละชนิดด้วย

จากสมการที่ 7 เมื่อพิจารณาสมดุลของคาร์บอนอะตอม จะได้

$$w = c + d$$

สมดุลของไฮโดรเจนอะตอม จะได้

$$x + bg = c\alpha + 2e$$

สมดุลของออกซิเจนอะตอม จะได้

$$y + 2a + bh = c\beta + 2d + e$$

สมดุลของไนโตรเจนอะตอม จะได้

$$z + bi = c\delta$$

และ อัตราการหายใจ (respiratory quotient, RQ) เป็นจำนวนโมลของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นต่อจำนวนโมลของก๊าซออกซิเจนที่ถูกใช้ไป

โดยที่

$$RQ = \frac{d}{a}$$

ตารางที่ 4 แสดงสูตรของเซลล์แต่ละชนิด

จุลินทรีย์	สับสเตรตที่จำกัด	μ (h ⁻¹)	องค์ประกอบ (% โดยน้ำหนัก)							สูตรเอมไพริกัล	น้ำหนักโมเลกุล	
			C	H	N	O	P	S	Ash			
Bacteria			53.0	7.3	12.0	19.0				8	CH _{1.666} N _{0.20} O _{0.27}	20.7
Bacteria			47.1	7.8	13.7	31.3					CH ₂ N _{0.25} O _{0.5}	25.5
<i>Acrobacrcr aerogenes</i>			48.7	7.3	13.9	21.1				a. 9	CH _{1.78} N _{0.24} O _{0.33}	22.5
<i>Klebsiella aerogenes</i>	Glycerol	0.1	50.6	7.3	13.0	29.0					CH _{1.74} N _{0.22} O _{0.43}	23.7
<i>K aerogenes</i>	Glycerol	0.85	50.1	7.3	14.0	28.7					CH _{1.73} N _{0.24} O _{0.43}	24.0
Yeast			47.0	6.5	7.5	31.0				a	CH _{1.66} N _{0.13} O _{0.40}	23.5
Yeast			50.3	7.4	a. 8	33.5					CH _{1.75} N _{0.15} O _{0.5}	23.9
Yeast			44.7	6.2	8.5	31.2	1.08	0.6			CH _{1.64} N _{0.16} O _{0.52} P _{0.01} S _{0.005}	26.9
<i>Candida utilis</i>	Glucose	0.0s	50.0	7.6	11.1	31.3					CH _{1.82} N _{0.19} O _{0.47}	24.0
<i>C. utilis</i>	Glucose	0.45	46.9	7.2	10.9	35.0					CH _{1.84} N _{0.2} O _{0.56}	25.6
<i>C. utilis</i>	Ethanol	0.06	so. 3	7.7	11.0	30.8					CH _{1.82} N _{0.19} O _{0.46}	23.9
<i>C. utilis</i>	Ethanol	0.43	47.2	7.3	11.0	34.6					CH _{1.84} N _{0.2} O _{0.55}	25.5

ในกรณีที่การเปลี่ยนแปลงของปฏิกิริยามีการสร้างผลิตภัณฑ์อื่นด้วย สมการของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นสามารถแสดงได้ดังนี้



เมื่อ a b c d e f และ g เป็นสัมประสิทธิ์ของการอนุรักษ์อะตอมของธาตุในปฏิกิริยา

โดยที่ $Y_{X/S} = \frac{d(12\alpha + \beta + 16\gamma + 14\epsilon)}{a(12X + Y + 16Z)}$

$$Y_{P/S} = \frac{e(12\alpha + \beta + 16\gamma + 14\epsilon)}{a(12X + Y + 16Z)}$$

เมื่อ r เป็นสัดส่วนระหว่างเซลล์ต่อปริมาณชีวมวล ซึ่งมีค่าอยู่ระหว่าง 0.07-0.10

$Y_{X/S}$ เป็นผลได้ของการเจริญจากสับสเตรต

$Y_{P/S}$ เป็นผลได้ของผลิตภัณฑ์จากสับสเตรต

เมื่อพิจารณาเฉพาะสมดุลของคาร์บอน

$$\alpha_1 Q_s = \alpha_2 \mu + \alpha_3 Q_p + \alpha_4 Q_{CO_2}$$

เมื่อ α_1 เป็นปริมาณคาร์บอนที่มีในสับสเตรต

α_2 เป็นปริมาณคาร์บอนที่มีในเซลล์

α_3 เป็นปริมาณคาร์บอนที่มีในผลิตภัณฑ์

α_4 เป็นปริมาณคาร์บอนที่มีในก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

μ เป็นอัตราการเจริญจำเพาะ

- Q_s เป็นอัตราจำเพาะของการใช้สับสเตรต
- Q_{O_2} เป็นอัตราจำเพาะของการใช้ออกซิเจน
- Q_{CO_2} เป็นอัตราจำเพาะของการเกิดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์
- Q_p เป็นอัตราจำเพาะของการเกิดผลิตภัณฑ์

$$\begin{aligned} \text{ดังนั้น อัตราส่วนของการใช้คาร์บอน} &= \frac{\alpha_2 \mu + \alpha_3 Q_p + \alpha_4 Q_{CO_2}}{\alpha_1 Q_s} \\ &= 1 \end{aligned}$$

เมื่อพิจารณาเฉพาะสมดุลของออกซิเจน

$$\text{จะได้} \quad A Q_s = B \mu + Q_{O_2} + C Q_p$$

เมื่อ A เป็นจำนวนออกซิเจนที่ใช้เพื่อการเผาผลาญสับสเตรต

B เป็นจำนวนออกซิเจนที่ใช้เพื่อการเผาผลาญเซลล์

C เป็นจำนวนออกซิเจนที่ใช้เพื่อการเผาผลาญผลิตภัณฑ์

ดังนั้น อัตราส่วนของออกซิเจนในระหว่างการเจริญ

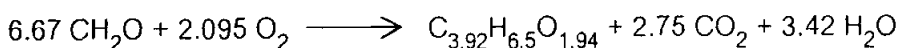
$$\begin{aligned} &= \frac{B \mu + Q_{O_2} + C Q_p}{A Q_s} \\ &= 1 \end{aligned}$$

ตัวอย่างที่ 10 การเพาะเลี้ยงเชื้อในสภาพที่มีออกซิเจน โดยมีคาร์โบไฮเดรตเป็นแหล่งคาร์บอน

ทำให้ได้เซลล์ที่มีองค์ประกอบเป็น $C_{3.92}H_{6.5}O_{1.94}$ จึงแสดงมวลสารสัมพันธ์ที่เกิดขึ้น เมื่อกำหนด

ให้แหล่งไนโตรเจนมีผลน้อยมาก

วิธีทำ



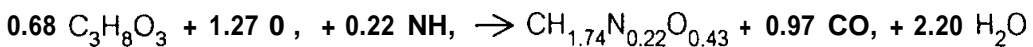
ตัวอย่างที่ 11 จากการเพาะเลี้ยง *Klebsiella aerogenes* ในกระบวนการหมักแบบต่อเนื่องที่มีออกซิเจน เมื่อวิเคราะห์ปริมาณคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจนแล้ว ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 แสดงปริมาณคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน ที่มีในสารตั้งต้นและผลิตภัณฑ์

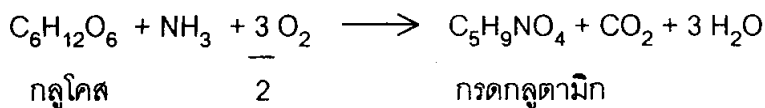
องค์ประกอบ	สารเริ่มต้น (กรัมอะตอม)	ผลิตภัณฑ์ (กรัมอะตอม)
คาร์บอน	2.04	1.98
ไฮโดรเจน	6.10	6.14
ออกซิเจน	4.58	4.57

จงแสดงมวลสารสัมพันธ์ที่เกิดขึ้น

วิธีทำ



ตัวอย่างที่ 12 ปฏิกริยาการเปลี่ยนกลูโคสเป็นกรดกลูตามิกของจุลินทรีย์ แสดงได้โดย



จงคำนวณปริมาณออกซิเจนที่ต้องใช้ เพื่อให้ได้กรดกลูตามิก 15 กรัม

วิธีทำ น้ำหนักโมเลกุลของกาซออกซิเจน = 32

น้ำหนักโมเลกุลของกรดกลูตามิก = 147

$$\begin{array}{l} \text{ปริมาณกาซออกซิเจนที่ต้องใช้} = 15 \text{ g glut} \quad \begin{array}{|c|c|c|} \hline 1 \text{ gmol glut} & 3/2 \text{ gmol O}_2 & 32 \text{ g O}_2 \\ \hline 147 \text{ g glut} & 1 \text{ gmol glut} & 1 \text{ gmol O}_2 \\ \hline \end{array} \end{array}$$

$$= 4.9 \text{ กรัม}$$

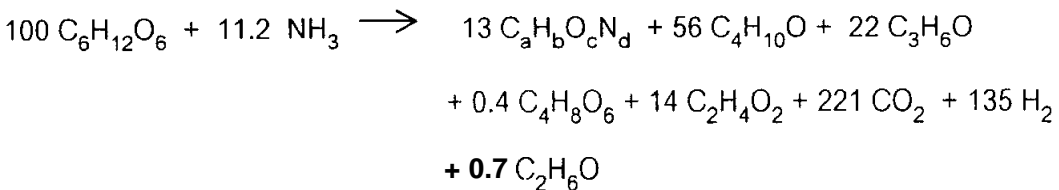
ตัวอย่างที่ 13 การใช้ *Clostridium acetobutylicum* ในระบบการหมักที่ไม่ใช้ออกซิเจน เพื่อการเปลี่ยนกลูโคสเป็นอะซิโตน บิวทานอล กรดบิวทิริก กรดอะซิติก โดยผลิตภัณฑ์ต่างๆที่ได้จากการใช้กลูโคส 100 โมล และแอมโมเนีย 11.2 โมล เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจน ตามลำดับ มีดังนี้

ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น	จำนวนโมล
เซลล์	13
บิวทานอล	56
อะซิโตน	22
กรดบิวทิริก	0.4
กรดอะซิติก	14
ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์	221
ก๊าซไฮโดรเจน	135
และเอทานอล	0.7

จงหาองค์ประกอบของเซลล์ โดยพิจารณาสมดุลของคาร์บอน ไนโตรเจน

ไฮโดรเจน และออกซิเจน

วิธีทำ



สมดุลของคาร์บอน

$$100 \times 6 = 13a + (56 \times 4) + (22 \times 3) + (0.4 \times 4) + (14 \times 2) + 221 + (107 \times 2) \\ 600 = 13a + 542 \\ a = 4.46$$

สมดุลของไฮโดรเจน

$$(11.2 \times 3) + (100 \times 12) = 13b + 560 + 132 + 3.2 + 56 + 270 + 4.2$$

$$b = 16.01$$

สมดุลของออกซิเจน

$$600 = 13c + 56 + 22 + 0.8 + 28 + 442 + 0.7$$

$$c = 3.88$$

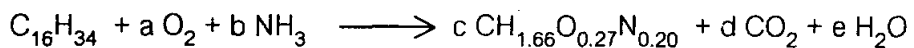
สมดุลของไนโตรเจน

$$11.2 = 13d$$

$$d = 0.86$$

ดังนั้น องค์ประกอบของเซลล์ คือ $C_{4.46}H_{16.01}O_{3.88}N_{0.86}$

ตัวอย่างที่ 14 การผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากเฮกซะเดคเคน แสดงได้โดย



เมื่อกำหนดให้สูตรเอมไพริคัลของเซลล์เป็น $CH_{1.66}O_{0.27}N_{0.20}$ เมื่อ $RQ = 0.43$

จงคำนวณสัมประสิทธิ์ของ a b c d และ e

วิธีทำ

สมดุลของคาร์บอน

$$16 = c + d$$

สมการที่ 8

สมดุลของไฮโดรเจน

$$34 + 3b = 1.66c + 2e$$

สมการที่ 9

สมดุลของออกซิเจน

$$2a = 0.27c + 2d + e$$

สมการที่ 10

สมดุลของไนโตรเจน

$$b = 0.20c$$

สมการที่ 11

$$RQ = 0.43 = \frac{d}{a}$$

สมการที่ 12

จากสมการที่ 8 $d = 16 - c$ สมการที่ 13

จากสมการที่ 12

$a = d = 2.326 d$ สมการที่ 14

0.43

เมื่อรวมสมการที่ 13 กับสมการที่ 14 แล้วเขียนค่าของ a ในเทอมของ c

จะได้

$a = 2.326(16 - c)$

$= 37.22 - 2.326 c$

สมการที่ 15

เมื่อแทนสมการที่ 11 ในสมการที่ 9

จะได้ $34 + 3(0.20 c) = 1.66 c + 2 e$

$34 = 1.06 c + 2 e$

$e = 17 - 0.53 c$

สมการที่ 16

เมื่อแทนสมการที่ 13 สมการที่ 15 และสมการที่ 16 ในสมการที่ 10 จะได้

$2 (37.22 - 2.326 c) = 0.27 c + 2 (16 - c) + (17 - 0.53 c)$

$25.44 = 2.39 c$

$c = 10.64$

เมื่อแทนค่า c ในสมการที่ 15 11 13 และสมการที่ 16 ตามลำดับ จะได้

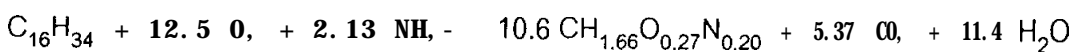
$a = 12.48$

$b = 2.13$

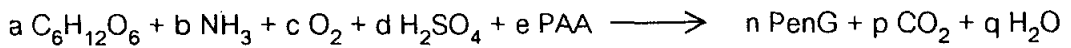
$d = 5.37$

$e = 11.36$

ดังนั้นสมการปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น คือ



ตัวอย่างที่ 15 เมื่อพิจารณาเมแทบอลิซึมของการสังเคราะห์เพนนิซิลิน พบว่าประกอบด้วยองค์ประกอบของสารต่างๆดังนี้

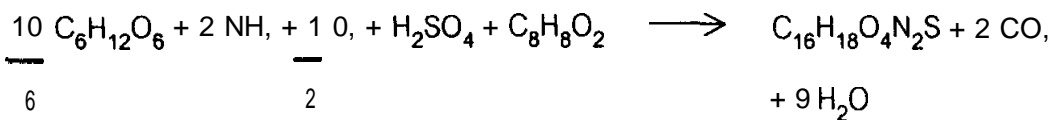


เมื่อ a b c d e n p และ q เป็นค่าคงที่

PAA เป็นกรดพีนิลอะซิติก

จงคำนวณปริมาณเพนนิซิลินที่ได้ เมื่อใช้ปริมาณกลูโคส 1 กรัม

วิธีทำ



จากสมการดังกล่าวจะพบว่าปริมาณเพนนิซิลิน จี ที่ ผลิตได้ 1 โมลต่อปริมาณกลูโคส 10/6 โมล หรือปริมาณเพนนิซิลิน จี ที่ได้ 1.1 กรัมต่อปริมาณกลูโคส 1 กรัม ในทางปฏิบัติปริมาณกลูโคสจะถูกนำไปใช้ในการสร้างเซลล์ การดำรงชีพด้วย จึงทำให้ปริมาณเพนนิซิลินที่ผลิตได้อยู่ในช่วง 15-30% ของค่าที่คำนวณได้ทางทฤษฎี

กฎการอนุรักษ์อิเล็กตรอน

ในปฏิกิริยาที่มีความสลับซับซ้อน บางครั้งจำเป็นต้องมีข้อมูลเพิ่มเติมประกอบ เช่น การพิจารณาการถ่ายเทอิเล็กตรอนของสารแต่ละชนิด โดยธาตุแต่ละธาตุจะมีดีกรีของรีดักชัน (reductance degree, γ) ที่แตกต่างกัน เช่น C = 4 H = 1 O = -2 N = -3 P = 5 และ S = 6 จากค่าดีกรีรีดักชันของแต่ละธาตุนี้ สามารถนำมาคำนวณค่าดีกรีรีดักชันของสาร ซึ่งอาจแสดงในรูปของดีกรีรีดักชันต่อหนึ่งอะตอมของคาร์บอน หรือดีกรีของรีดักชันต่อหนึ่งโมลของสารที่พิจารณา เช่น $CH_aN_bO_cP_dS_e$ มีดีกรีรีดักชัน เท่ากับ $4 + a - 3d - 2c + 5d + 6e$ หรือเมื่อพิจารณาดีกรีรีดักชันของสับสเตรตที่เป็นสารอินทรีย์ จะพบว่า

มีเทน (CH_4) มีดีกรีรีดักชัน เท่ากับ
$$\frac{1(4) + 4(1)}{1} = 8$$

กลูโคส (C₆H₁₂O₆) มีดีกรีรีดักชันเท่ากับ $\frac{6(4) + 12(1) + 6(-2)}{6} = 4$

เอทานอล (C₂H₅OH) มีดีกรีรีดักชันเท่ากับ $\frac{2(4) + 6(1) + 1(-2)}{2} = 6$

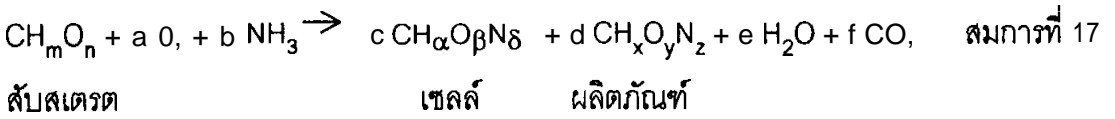
เมื่อพิจารณาองค์ประกอบของเซลล์ สับสเตรต และผลิตภัณฑ์ที่ได้ ในลักษณะของดีกรีของการรีดักชัน แสดงได้ดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 แสดงดีกรีรีดักชันของสารต่างๆ

สาร	สูตรโมเลกุล	ดีกรีรีดักชัน	น้ำหนักโมเลกุล
Biomass	CH _{1.64} N _{0.16} O _{0.52} P _{0.0054} S _{0.003} ^a	4.17 (NH ₃) 4.65 (N ₂) 5.45 (HNO ₃)	24.5
Methane	CH ₄	a	16.0
n-Alkane	C ₁₅ H ₃₂	6.13	14.1
Methanol	CH ₄ O	6.0	32.0
Ethanol	C ₂ H ₆ O	6.0	23.0
Glycerol	C ₃ H ₈ O ₃	4.67	30.7
Mannitol	C ₆ H ₁₄ O ₆	4.33	30.3
Acetic acid	C ₂ H ₄ O ₂	4.0	30.0
Lactic acid	C ₃ H ₆ O ₃	4.0	30.0
Glucose	C ₆ H ₁₂ O ₆	4.0	30.0
Formaldehyde	CH ₂ O	4.0	30.0
Gluconic acid	C ₆ H ₁₂ O ₇	3.67	32.7
Succinic acid	C ₄ H ₆ O ₄	3.50	29.5
Citric acid	C ₆ H ₈ O ₇	3.0	32.0
Malic acid	C ₄ H ₆ O ₅	3.0	33.5
Formic acid	CH ₂ O ₂	2.0	46.0
Oxalic acid	C ₂ H ₂ O ₄	1.0	45.0

With permission. from B. Atkinson and F. Mavituna. *Biochemical Engineering and Biotechnology Handbook*. Macmillan, Inc.. New York, 1983.

ตัวอย่างที่ 16 ในการเพาะเลี้ยงเชื้อในสภาวะที่มีการให้อากาศ แสดงได้ดังนี้



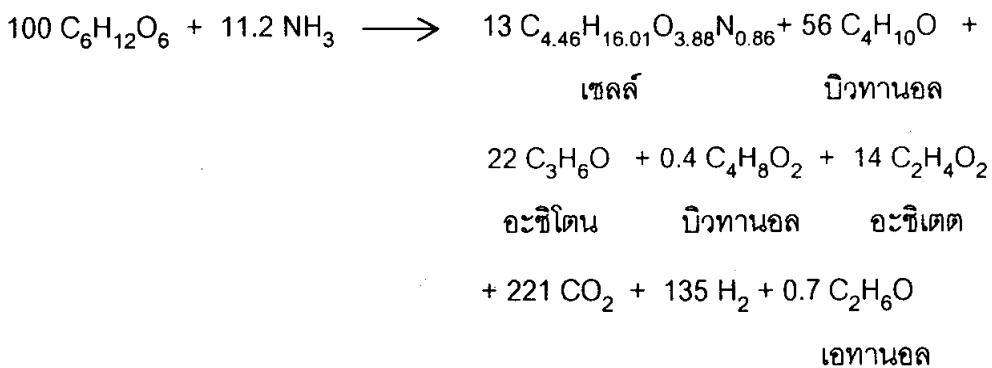
จงแสดงค่าดีกรีรีดักชันของสับสเตรต (γ_s) ดีกรีรีดักชันของเซลล์ (γ_b) และดีกรีรีดักชันของผลิตภัณฑ์ (γ_p)

วิธีทำ

$$\begin{aligned} \gamma_s &= 4 + m - 2n \\ \gamma_b &= 4 + \alpha - 2\beta - 3\delta \\ \gamma_p &= 4 + x - 2y - 3z \end{aligned}$$

โดยที่ CO_2 , H_2O และ NH_3 มีดีกรีของรีดักชันเท่ากับ 0

ตัวอย่างที่ 17 จากตัวอย่างที่ 13 จงคำนวณดีกรีรีดักชันของสารและเซลล์ที่เกิดขึ้น



วิธีทำ การคำนวณดีกรีรีดักชันของ $\text{C}_a\text{H}_b\text{O}_c\text{N}_d$

โดยที่ $\gamma = 4a + b - 2c - 3d$

สาร	γ /mol	γ /1 00 mol glu
$C_6H_{12}O_6$	24	2, 400
NH_3	0	0
$C_4H_{10}O$	24	1, 344
C_3H_6O	16	352
$C_4H_8O_2$	20	8
$C_2H_4O_2$	8	112
CO_2	0	0
H_2	2	270
C_2H_6O	12	8. 4
$C_{4.46}H_{16.01}O_{3.88}N_{0.86}$	23. 51	305. 63