บทที่ 4
จลนพลศาสตร์การเพาะเลี้ยงแบบเบชท์

ลักษณะการเจริญของจุลินทรีย์แบบเบชท์

จากลักษณะการเจริญของจุลินทรีย์นั้น เมื่อพิจารณาอัตราการเจริญของจุลินทรีย์ (dx/dt) ในช่วงเวลา (dt) จะพบว่าขึ้นกับปริมาณจุลินทรีย์ (X) ปริมาณสารอาหารที่จำเป็นต่อการสร้างเซลล์ (S) สารยับยั้ง (I) ตลอดจนสภาพแวดล้อมทางเคมีและสภาพแวดล้อมทางกายภาพ ดังนี้

$$rx = \frac{dX}{dt} = f(X, S, I, ..)$$

โดยลักษณะการเจริญของจุลินทรีย์ในถังหมักแบบเบชท์ สามารถแบ่งได้เป็น

1. <u>ระยะเตรียมตัว (lag phase)</u> เป็นช่วงเวลาที่เซลล์ใช้ในการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมและสารอาหารใหม่ ระยะเวลาของการเตรียมตัวนี้จะใช้เวลามากน้อยขึ้นกับอายุของจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ ความเหมาะสมของสภาพแวดล้อมและการเพาะเลี้ยงเชื้อ เป็นต้น
2. <u>ระยะเพิ่มจำนวน (log phase หรือ exponential phase)</u> เมื่อเซลล์เจริญอยู่ในระยะเพิ่มจำนวน จะพบว่าในช่วงระยะเวลาสั้นๆ การเพิ่มปริมาณเซลล์จะเป็นสัดส่วนกับปริมาณเซลล์ที่มีอยู่กับช่วงระยะเวลานั้น ดังแสดงในสมการที่ 28

$$dX = \mu X \, dt \qquad \text{สมการที่ 28}$$

หรือ

$$\frac{dX}{dt} = \mu X$$

และ

$$\mu = \frac{1}{X} \frac{dX}{dt}$$

เมื่อ X เป็นปริมาณจุลินทรีย์

t เป็นเวลา

μ เป็นอัตราการเจริญจำเพาะ (specific growth rate)

เมื่ออินทิเกรต สมการที่ 28 จะได้

$$\int_{X_{lag}}^{X_t} \frac{dX}{X} = \int_{t_{lag}}^{t} \mu \, dt \qquad \text{สมการที่ 29}$$

เมื่อ μ เป็นค่าคงที่ ในช่วงที่เซลล์เจริญในระยะเพิ่มจำนวน หรือเมื่อ $t > t_{lag}$ จะได้

$$\ln X_t = \ln X_{lag} + \mu (t - t_{lag}) \qquad \text{สมการที่ 30}$$

เมื่อ X_{lag} เป็นปริมาณเซลล์ที่เวลา t_{lag}

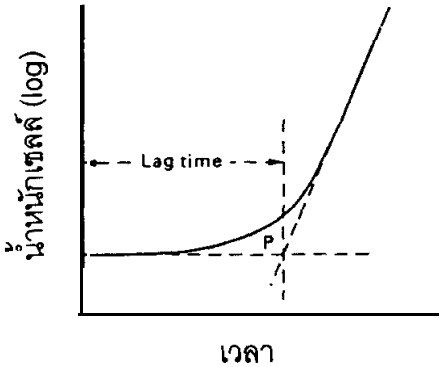
t เป็นเวลาใดๆในระยะเพิ่มจำนวน

t_{lag} เป็นเวลาที่เซลล์เริ่มเข้าสู่ระยะเพิ่มจำนวน

X_t เป็นปริมาณเซลล์ที่เวลา t

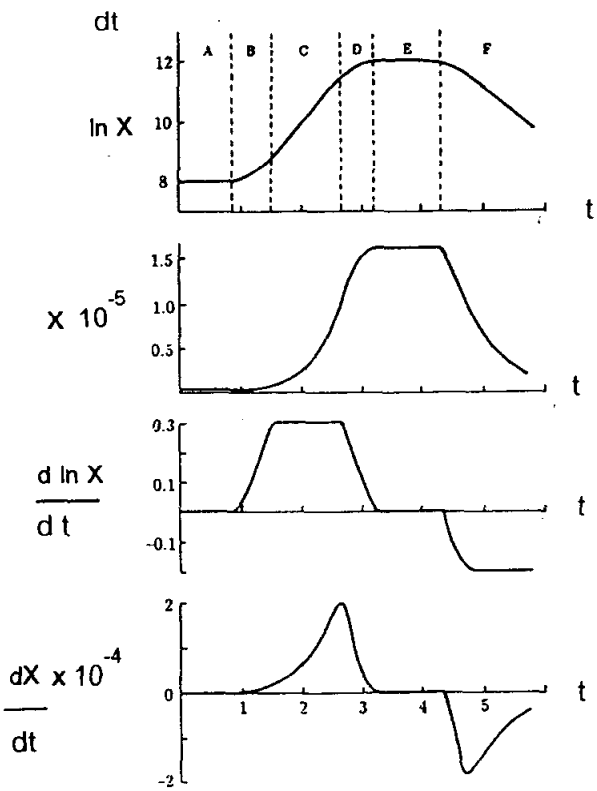
$$X_t = X_{lag} \exp \mu (t - t_{lag}) \qquad \text{สมการที่ 31}$$

เมื่อสร้างกราฟระหว่าง ln X กับเวลา ความชันของเส้นตรงที่ได้ จะมีค่าเท่ากับ μ ดังแสดงในรูปที่ 1



รูปที่ 1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง ln X กับเวลา

นอกจากนี้ยังสามารถแสดงลักษณะการเจริญของจุลินทรีย์ในความสัมพันธ์ระหว่าง ln X X $\frac{d \ln X}{dt}$ หรือ $\frac{dX}{dt}$ กับเวลาได้ดังแสดงในรูปที่ 2



รูปที่ 2 แสดงลักษณะการเจริญของจุลินทรีย์ในความสัมพันธ์ระหว่าง ln X X $\frac{d \ln X}{dt}$ หรือ $\frac{dX}{dt}$ กับเวลา

จากความสัมพันธ์ที่ได้ในสมการที่ 31 สามารถนำมาคำนวณหาเวลาที่จุลินทรีย์มีปริมาณเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า หรือที่เรียกว่า doubling time หรือ generation time (t_d) ได้

โดยที่

$$t_d = \frac{\ln 2}{\mu}$$

$$= \frac{0.693}{\mu} \qquad \text{สมการที่ } 32$$

ค่า t_d ของจุลินทรีย์แต่ละชนิดจะแตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาวะที่เหมาะสมด้วย

ตารางที่ 13 แสดงค่า μ_m และ t_d ของเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ

ชนิดของจุลินทรีย์	μ_m (h^{-1})	t_d (h)
Escherichia coli	2.1	0.33
Saccharomyces cerevisiae	0.45	1.5
Candida utilis	0.40	1.7
Schizosaccharomyces pombe	0.17	4.0
Penicillium chrysogenum	0.20	2.5
Geotrichum lactis	0.35	2.0
Fusarium graminearum	0.28	2.5
Chlorella pyrenoidosa	0.08	8.5

จาก $X_t = (e^{\ln 2})^n$

X_{lag}

$= 2^n$

ดังนั้น $n = 3.32 \log \frac{X_t}{X_{lag}}$

เมื่อ n เป็นจำนวนครั้งของการแบ่งเซลล์

ถ้าพบว่าปริมาณเซลล์สุดท้ายที่ได้ มีปริมาณเป็น 10 เท่าของปริมาณเซลล์ตั้งต้น แสดงว่าเซลล์เริ่มต้นมีการแบ่งตัวประมาณ 3.32 ครั้ง หรือประมาณ 3 ชั่วรุ่น

ตัวอย่างที่ 26 ข้อมูลที่ได้จากการเจริญของจุลินทรีย์ ดังแสดงในตารางที่ 14 จงคำนวณเวลาที่ทำให้จุลินทรีย์มีการเพิ่มจำนวนขึ้นเป็น 2 เท่า

ตารางที่ 14 แสดงเวลาที่ใช้ในการเจริญของจุลินทรีย์

เวลาที่ใช้ (นาที)	จำนวนจุลินทรีย์
0	980
10	1700
30	4000
40	6200

เมื่อกำหนดให้สมการที่แสดงการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ คือ

$$N = N_o (2)^{t/td}$$

โดย N เป็นจำนวนจุลินทรีย์ที่เวลา t

N_o เป็นจำนวนจุลินทรีย์ที่เวลาเริ่มต้น

t เป็นเวลา

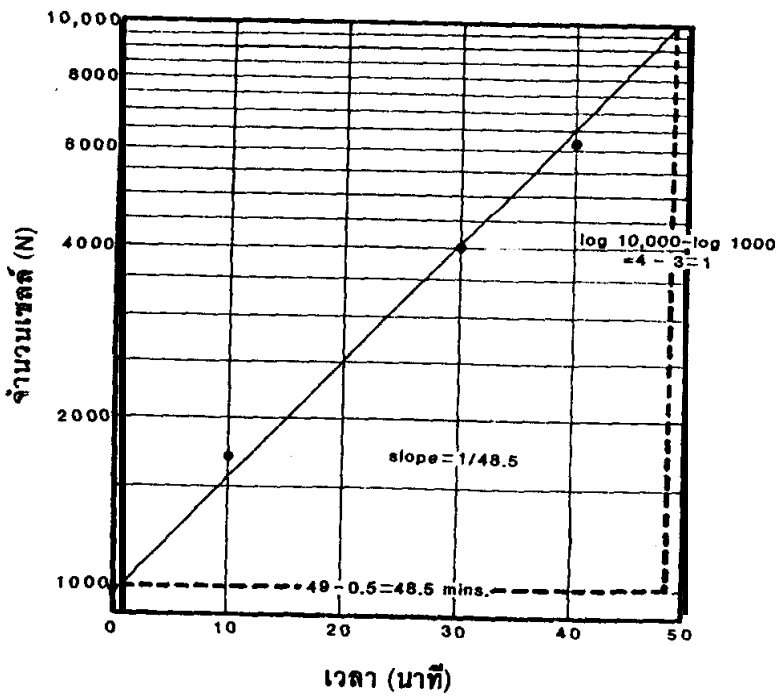
t_d เป็นเวลาที่ใช้เพื่อการเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์จาก 1 เป็น 2

<u>วิธีทำ</u> จากสมการ $N = N_o (2)^{t/td}$

เมื่อแทนค่า ด้วย log ทั้งสองข้าง จะได้

$$\log N = \log N_o + (t/t_d) \log 2$$

เมื่อนำข้อมูลที่ได้จากตารางที่ 15 มาสร้างกราฟในสเกลเซมิลอการิทึมแล้ว โดยการสร้างกราฟระหว่าง log N กับ t จะได้ความชันของกราฟเป็น $(\log 2)/t_d$ ดังแสดงในรูปที่ 3



รูปที่ 3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง log N กับ t

ค่าความชันที่ได้ เป็น $\frac{1}{48.5} = 0.0206$ (นาที)$^{-1}$

ดังนั้น $\frac{1092}{t_d} = 0.0206$

$$t_d = \frac{\log 2}{0.0206}$$

$$= 14.6 \text{ นาที}$$

3. <u>ระยะคงที่ (stationary phase)</u> เป็นช่วงที่เซลล์มีปริมาณค่อนข้างคงที่ที่จุดสูงสุด นั่นคือ อัตราการเจริญเท่ากับอัตราการตายรวมกับการสลายของเซลล์

การที่เซลล์ไม่สามารถเพิ่มปริมาณได้อีกนั้น อาจเนื่องจาก

1. สารอาหารหมด
2. การสะสมของสารพิษ

ในกรณีที่สารอาหารหมด และอัตราการใช้สารอาหารของเซลล์จุลินทรีย์เป็นไปตามปฏิกิริยาลำดับที่หนึ่ง (first order reaction) ดังนั้น

$$\frac{da}{dt} = -k_o X$$

เมื่อ a เป็นปริมาณสารอาหารที่จำกัด

k_o เป็นค่าคงที่ของอัตราการใช้สารอาหาร

จาก $X_t = X_o \exp(\mu t)$

ดังนั้น $da = -k_o X_o \exp(\mu t)\, d\, t$

เมื่อ a_o เป็นปริมาณของสารอาหารที่จำเป็นเริ่มต้น

t_s เป็นเวลาที่เซลล์เริ่มเข้าสู่ระยะคงที่

X_s เป็นปริมาณเซลล์เมื่อเริ่มเข้าสู่ระยะคงที่

X_o เป็นปริมาณเซลล์เมื่อเริ่มเข้าสู่ระยะเพิ่มจำนวน

$$a_o = \frac{k_o (X_o \exp(\mu t_s) - X_o)}{\mu}$$

$$a_o = \frac{k_o (X_s - X_o)}{\mu}$$

และ

$$X_s = X_o + \frac{a_o \mu}{k_o}$$

หรือ

$$X_s = X_o \exp(\mu t_s) \qquad \text{สมการที่ 33}$$

สมการที่ 33 เป็นสมการที่ใช้คำนวณปริมาณเซลล์สูงสุด ในกรณีที่เซลล์ไม่เพิ่มปริมาณอีก เนื่องจากปริมาณสารอาหารที่ใช้หมด

กรณีที่เซลล์ไม่สามารถเพิ่มปริมาณอีกเนื่องจากการสะสมของสารพิษนั้น หรือการมีปัจจัยอื่นๆที่เป็นพิษหรือที่เป็นอันตรายต่อเชื้อจุลินทรีย์ และมีผลทำให้เชื้อจุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญต่อไปได้อีก สามารถแสดงผลดังกล่าวได้โดยที่

$$\frac{dX}{dt} = \mu x \quad (1 - f\ (\text{ปริมาณสารพิษ}))$$

เมื่อกำหนดให้ f (ปริมาณสารพิษ) = bC_T

$$\frac{dX}{dt} = \mu X (1 - bC_T)$$

เมื่อ b เป็นค่าคงที่

C_T เป็นปริมาณสารพิษที่มีผลต่อเชื้อ

เซลล์จุลินทรีย์จะเข้าสู่ระยะคงที่ เมื่อปริมาณสารพิษที่สะสมมีปริมาณเท่ากับ 1/b นั่นคือ $dX/dt = 0$ เมื่อ $C_T = 1/b$

เมื่อกำหนดให้ปริมาณสารพิษที่เชื้อจุลินทรีย์ผลิตขึ้น แปรตามปริมาณเซลล์จุลินทรีย์ นั่นคือ

$$f(\text{ปริมาณสารพิษ}) = \beta X$$

เมื่อ β เป็นค่าคงที่

$$\frac{dX}{dt} = \mu X (1 - \beta X)$$

$$X_s = \frac{X_o \exp(\mu t)}{1 - \beta X_o (1 - \exp(\mu t))} \qquad \text{สมการที่ 34}$$

เซลล์จุลินทรีย์จะเข้าสู่ระยะคงที่ เมื่อเซลล์จุลินทรีย์มีปริมาณเท่ากับ $1/\beta$ นั่นคือ $dX/dt = 0$ เมื่อ $X_s = 1/\beta$

4. <u>ระยะการตาย (death phase)</u> เป็นระยะที่ปริมาณเซลล์ลดลงอย่างรวดเร็ว เนื่องจากอัตราการเพิ่มจำนวนมีน้อยกว่าอัตราการตาย โดยอัตราการตายของเซลล์จุลินทรีย์ คือ

$$-\frac{dX}{dt} = \mu_d X$$

$$\frac{1}{X} dX = \mu_d dt$$

$$\ln \frac{X}{X_s} = \mu_d t_{death}$$

เมื่อ $t_{death} = t - t_s$

$$X/X_s = \exp(-\mu_d t_{death})$$

ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารอาหารกับอัตราการเจริญจำเพาะ

Monod ได้เสนอโมเดลที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารอาหารกับอัตราการเจริญจำเพาะในการเพาะเลี้ยงแบบเบชท์ ที่เรียกว่าสมการ Monod ดังนี้

$$\mu = \frac{1}{X}\frac{dX}{dt}$$

$$= \frac{\mu_m S}{K_s + S} \qquad \text{สมการที่ 35}$$

หรือ

$$r_X = \frac{dX}{dt}$$

$$= \frac{\mu_m S X}{K_S + S}$$

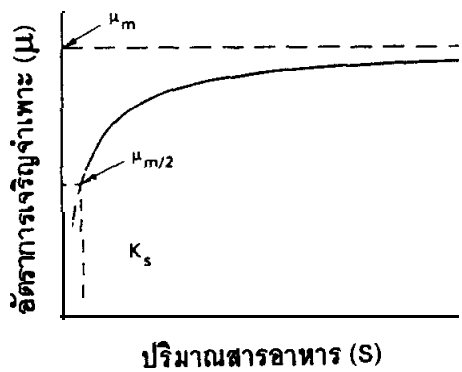
เมื่อ μ เป็นอัตราการเจริญจำเพาะ

μ_m เป็นอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด

K_S เป็นความเข้มข้นของสารอาหารที่ทำให้อัตราการเจริญจำเพาะของเชื้อ มีค่าเป็นครึ่งหนึ่งของอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุดของเชื้อนั้น

S เป็นความเข้มข้นของสารอาหาร

r_X เป็นอัตราการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

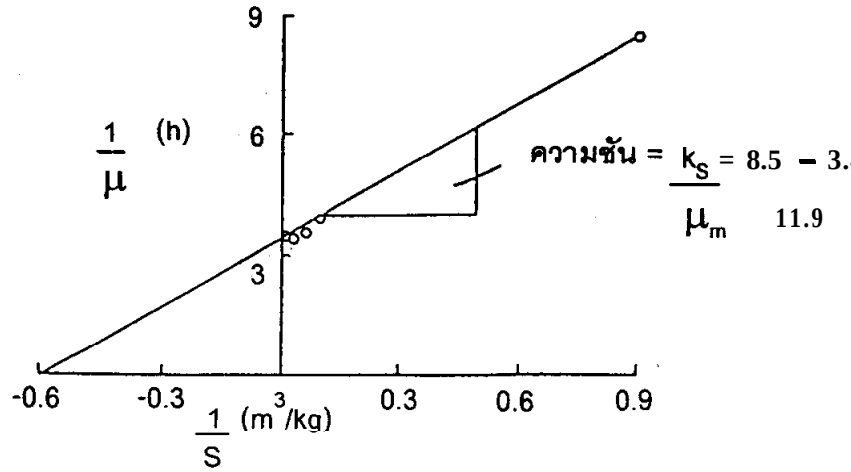


รูปที่ 4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเจริญจำเพาะกับปริมาณสารอาหาร

จากสมการที่ 35 อาจเขียนสมการใหม่ให้คล้ายกับสมการ Lineweaver-Birk ในปฏิกิริยาของเอนไซม์ได้เป็นสมการที่ 36

$$\frac{1}{\mu} = \frac{K_s}{\mu_m}\frac{1}{S} + \frac{1}{\mu_m} \qquad \text{สมการที่ 36}$$

เมื่อสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง $1/\mu$ กับ 1/S จะได้ความชันเท่ากับ K_s/μ_m และค่าที่ตัดแกน Y เท่ากับ $1/\mu_m$ ส่วนค่าที่ตัดแกน X จะมีค่าเป็น $-1/K_s$ ดังแสดงในรูปที่ 5



รูปที่ 5 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง 1/μ กับ 1/S

นอกจากสมการความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของสารอาหารกับอัตราการเจริญจำเพาะตามสมการ Monod ยังมีสมการอื่นๆที่ได้นำมาใช้เพื่อให้เหมาะสมในแต่ละกระบวนการหมัก เช่น

Teisser Equation : $\mu = \mu_m (1 - e^{-KS})$

Mose Equation : $\mu = \dfrac{\mu_m S^n}{K_s + S^n}$

$= \mu_m (1 + K_s S^{-n})^{-1}$

Centois Equation : $\mu = \dfrac{\mu_m S}{K_s X + S}$

ตารางที่ 15 แสดงค่า K_s ของจุลินทรีย์ในอาหารแต่ละชนิด

ชนิดของจุลินทรีย์	สับสเตรต	K_s (mg/l:t)
E.coli	glucose	6.8×10^{-2}
	mannitol	2.0
	lactose	20.0
E.coli (auxotroph)	trytophan	1.1×10^{-3}
Aspergillus niger	glucose	5.0
A. *niger* (auxotroph)	arginine	0.5
Candida utilis	glycerol	4.5
C. utilis	O_2	0.45
Saccharomyces cerevisiae		
	glucose	25.0
Pseudomonas sp.	methanol	0.7
Pseudomonas sp.	methane	0.4
Klebsiella aerogenes	CO,	0.4
K. aerogenes	Mg^{2+}	0.56
K. aerogenes	K^{+}	0.39
K. aerogenes	SO_4^{-2}	2.7

ตัวอย่างที่ 27 จากการทดลองเลี้ยงเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* เพื่อการผลิตโปรตีนเซลล์เดียว พบว่าความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเซลล์ ปริมาณกลูโคสที่เหลือ ที่เวลาต่างๆ แสดงได้ดังตารางที่ 16 จงคำนวณค่า μ_m และ K_s

ตารางที่ 16 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเซลล์ ปริมาณกลูโคส ที่เหลือที่เวลาต่างๆ

เวลา	ปริมาณเซลล์	ปริมาณกลูโคสที่เหลือ
0	0.100	40.00
1	0.134	39.93
2	0.180	39.83
3	0.241	39.70
4	0.323	39.50
5	0.433	39.30
6	0.581	38.97
7	0.778	38.50
8	1.040	38.00
9	1.400	37.20
10	1.870	36.20
11	2.500	34.80
12	3.350	32.90
13	4.490	30.50
14	6.000	27.20
15	8.000	22.80
16	10.70	17.10
17	14.10	9.60
18	17.90	1.11

<u>วิธีทำ</u> จากตารางที่ 16 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง 1/S กับ 1/μ

t	X	r_X	μ	1/μ	S	1/S
0	0.100	-	-	-	40.00	0.250
1	0.134	0.040	0.298	3.356	39.93	0.025
2	0.180	0.054	0.300	3.333	39.83	0.0251
3	0.241	0.072	0.299	3.345	39.70	0.252
4	0.323	0.096	0.297	3.367	39.50	0.0253
5	0.433	0.129	0.298	3.356	39.30	0.0254
6	0.581	0.172	0.296	3.378	38.97	0.0257
7	0.778	0.230	0.296	3.378	38.50	0.026
8	1.040	0.311	0.299	3.344	38.00	0.0263
9	1.400	0.415	0.296	3.378	37.20	0.0269
10	1.870	0.550	0.294	3.401	36.20	0.0276
11	2.500	0.740	0.296	3.378	34.80	0.0287
12	3.350	0.995	0.297	3.367	32.90	0.0304
13	4.490	1.325	0.295	3.390	30.50	0.0328
14	6.000	1.755	0.293	3.413	27.20	0.0368
15	8.000	2.350	0.294	3.401	22.80	0.0438
16	10.70	3.050	0.285	3.509	17.10	0.0585
17	14.10	3.600	0.255	3.922	9.60	0.104
18	17.90	2.100	0.117	8.547	1.11	0.901

เมื่อนำความสัมพันธ์ระหว่าง 1/S กับ 1/μ ไปสร้างกราฟ จะได้กราฟดังแสดงในรูปที่ 5 ซึ่งมีค่า μ_m = 0.294 ต่อชั่วโมง และค่า K_s = 1.67 กรัมของกลูโคสต่อลูกบาศก์เมตร

ตัวอย่างที่ 28 ลักษณะการเจริญของเชื้อราในอาหารที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน แสดงได้ดังนี้

เวลา (h)	ปริมาณเซลล์ (g/l)	ปริมาณกลูโคส (g/l)
0	1.25	100
9	2.45	97
16	5.1	90.4
23	10.5	76.9
30	22	48.1
34	33	20.6
36	37.5	9.38
40	41	0.63

จงคำนวณอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด ผลได้ของเซลล์จากสับสเตรต และปริมาณเซลล์สูงสุดที่ได้ เมื่อให้ปริมาณกลูโคสเริ่มต้นเป็น 150 กรัมต่อลิตร

<u>วิธีทำ</u>

1. $$\mu = \frac{\ln X_2 - \ln X_1}{t_2 - t_1}$$

$$= \frac{\ln(37.5) - \ln(5.1)}{36-16}$$

$$\sim 0.1\ h^{-1}$$

2. $$Y_{X/S} = \frac{-AX}{As}$$

$$= \frac{-(41-1.25)}{(0.625-100)}$$

$$\sim 0.4\ g/g$$

3. $X_{max} = X_o + Y_{X/S} S_o$

$= 1.25 + 0.4(150)$

$= 60.25$ g/l

ปัจจัยที่มีผลต่ออัตราการเจริญจำเพาะของจุลินทรีย์

ผลของอุณหภูมิที่มีต่ออัตราการเจริญจำเพาะของจุลินทรีย์ มีลักษณะที่คล้ายกับผลที่เกิดในปฏิกิริยาทางเคมี โดยอัตราเร็วของการเกิดปฏิกิริยาทางเคมีจะเพิ่มขึ้น เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น สำหรับการเจริญของจุลินทรีย์จะพบว่าเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น อัตราการเจริญจำเพาะของจุลินทรีย์จะเพิ่มขึ้นจนถึงอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด อุณหภูมิที่จุดนี้จะเรียกว่าอุณหภูมิที่เหมาะสม (T_{opt}) ถ้ามีการเลี้ยงจุลินทรีย์ในสภาวะที่มีอุณหภูมิที่สูงกว่านี้แล้ว จะมีผลทำให้อัตราการเจริญจำเพาะของจุลินทรีย์ลดลง หรืออาจมีผลทำให้จุลินทรีย์ตายได้ ในกรณีที่พิจารณาในสภาวะที่อุณหภูมิไม่สูงกว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมแล้ว สามารถใช้สมการอาร์เรเนียส แสดงความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิกับอัตราการเจริญจำเพาะได้ โดย

$$\mu = Ae^{-E/RT} \qquad \text{สมการที่ } 37$$

เมื่อ A เป็นแฟกเตอร์ของการชนที่เกิดขึ้นในระยะการเจริญ

E เป็นพลังงานกระตุ้น ซึ่งโดยทั่วไปจะมีค่าประมาณ 15-20 กิโลคาลอรีต่อโมล

R เป็นค่าคงที่ของกาซ

T เป็นอุณหภูมิสมบูรณ์

ตารางที่ 17 แสดงค่าพลังงานกระตุ้นของเชื้อจุลินทรีย์

เชื้อจุลินทรีย์	ช่วงอุณหภูมิ (°C)	พลังงานกระตุ้น (kcal /mole)
Aspergillus nidulans	20 - 37	14.0
E. coli	23 - 37	13.1
K. aerogenes	20 - 40	14.0
Psychrophilic pseudomonad	2 - 12	23.8

จากสมการที่ 37 สามารถพิจารณาในรูปของ ln ได้โดย

$$\ln \mu = \ln A \frac{-E}{RT}$$

เมื่อเปรียบเทียบอัตราการเจริญจำเพาะของจุลินทรีย์ที่เกิดขึ้นระหว่างอุณหภูมิ T, กับอุณหภูมิ T_2 จะได้

$$\mu_1 = A \quad e^{-E/RT1} \qquad \text{สมการที่ 38}$$

$$\mu_2 = A \quad e^{-E/RT2} \qquad \text{สมการที่ 39}$$

$$\frac{\mu_2}{\mu_1} = \frac{A \quad e^{-E/RT2}}{A \quad e^{-E/RT1}}$$

$$= e^{\left(\frac{-E}{RT_2} + \frac{E}{RT_1}\right)}$$

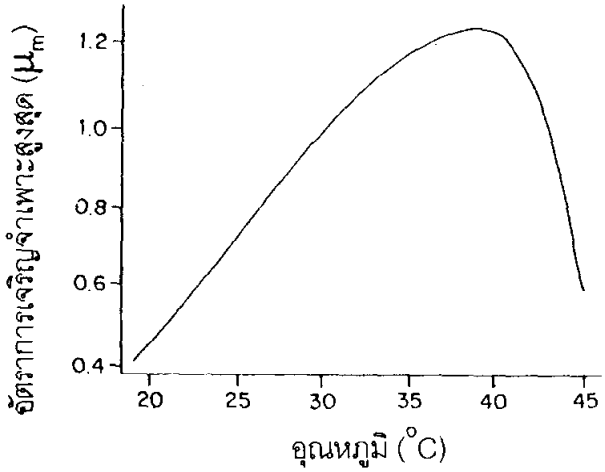
$$= e^{\frac{-E}{R}\left(\frac{1}{T_2} - \frac{1}{T_1}\right)}$$

$$\ln \frac{\mu_2}{\mu_1} = \frac{-E}{R}\left(\frac{1}{T_2} - \frac{1}{T_1}\right)$$

จากลักษณะของอัตราการเจริญจำเพาะที่แตกต่างกันในจุลินทรีย์แต่ละชนิด ทำให้แบ่งประเภทของจุลินทรีย์ได้ตามอุณหภูมิที่เหมาะสมของการเจริญดังตารางที่ 18

ตารางที่ 18 แสดงประเภทของจุลินทรีย์ตามอุณหภูมิที่เหมาะสมของการเจริญ

	อุณหภูมิของการเจริญ		
	อุณหภูมิต่ำ	อุณหภูมิที่เหมาะสม	อุณหภูมิสูง
Psychrophiles	-5 - 5	15-18	19-22
Mesophiles	IO-15	30-45	35 - 45
Thermophiles	25	45-75	60 - 80
Extreme thermophiles	30	60 - 75	75 - 95



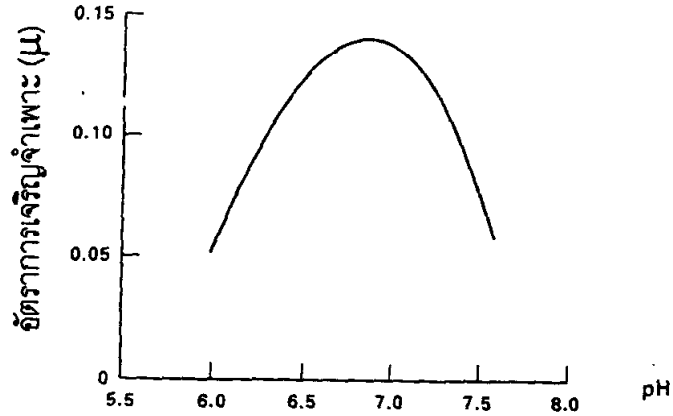
รูปที่ 6 แสดงผลของอุณหภูมิที่มีต่ออัตราการเจริญจำเพาะสูงสุดของจุลินทรีย์

ผลของพีเอชที่มีต่ออัตราการเจริญจำเพาะของจุลินทรีย์ โดยทั่วไปเชื้อจุลินทรีย์ประเภทแบคทีเรีย จะมีช่วงพีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญในช่วง 4-8 ถ้าเป็นยีสต์จะมีพีเอชอยู่ในช่วง 3-6 และถ้าเป็นเชื้อราจะมีพีเอชอยู่ในช่วง 3-7 โดยพีเอชที่แตกต่างกันนี้จะมีผลต่ออัตราการเจริญจำเพาะของจุลินทรีย์ โดยที่

$$\mu = \frac{\mu_m}{1 + (k_1/[H^+]) + k_2[H^+]}$$

เมื่อ k_1 และ k_2 เป็นค่าคงที่

$[H^+]$ เป็นความเข้มข้นของไฮโดรเจนอิออน



รูปที่ 7 แสดงผลของพีเอชต่ออัตราการเจริญจำเพาะของจุลินทรีย์

จากความสามารถในการเจริญของจุลินทรีย์ที่แตกต่างกันนี้ จะเป็นประโยชน์ในกระบวนการหมักเพื่อควบคุมการปนเปื้อนของจุลินทรีย์อื่นที่ไม่ต้องการ เช่น ในกระบวนการหมักเอทานอลโดยเชื้อยีสต์ ซึ่งกระบวนการหมักดังกล่าวมักเป็นกระบวนการที่มีพีเอชที่ต่ำ จึงทำให้ลดการปนเปื้อนของแบคทีเรียได้ และเนื่องจากผลผลิตที่เป็นเอทานอลจึงสามารถกำจัดเชื้ออื่นที่มาปนเปื้อนได้ด้วย ดังนั้นในกระบวนการหมักเอทานอลในระดับอุตสาหกรรมนั้น สามารถลดค่าใช้จ่ายในการทำลายเชื้อที่มีในอาหารเลี้ยงเชื้อได้

ผลของสับสเตรตที่มีต่อการยับยั้งอัตราการเจริญจำเพาะของจุลินทรีย์ จากรูปที่ 8 จะพบว่าอัตราการเจริญจำเพาะจะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสับสเตรตเพิ่มขึ้นถึงระดับหนึ่ง ซึ่งถ้ามีการเพิ่มความเข้มข้นของสับสเตรตอีก จะพบว่าปริมาณสับสเตรตที่เพิ่มขึ้นนี้จะมีผลต่อการยับยั้งอัตราการเจริญจำเพาะของจุลินทรีย์ ดังแสดงในสมการที่ 40 41 และ 42 ตามลำดับ ซึ่งดัดแปลงมาจากสมการของ Monod ได้โดย

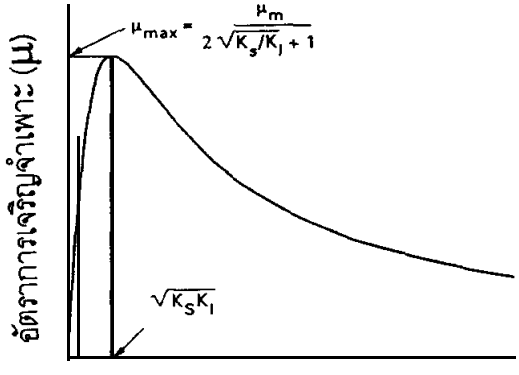
การยับยั้งของสับสเตรตเป็นแบบไม่แข่งขัน (noncompetitive inhibition)

$$\mu = \frac{\mu_m}{\left(1 + \frac{K_s}{S}\right)\left(1 + \frac{S}{K_i}\right)}$$ สมการที่ 40

เมื่อ $K_i >> K_S$ จะได้ $$\mu = \frac{\mu_m}{K_S + S + S^2/K_i}$$ สมการที่ 41

การยับยั้งของสับสเตรตเป็นแบบแข่งขัน (competitive inhibition) $$\mu = \frac{\mu_m S}{K_S(1 + SJK_i) + S}$$ สมการที่ 42

เมื่อ K_i เป็นค่าคงที่ของการยับยั้งเนื่องจากสับสเตรต



รูปที่ 8 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสับสเตรตกับอัตราการเจริญจำเพาะของจุลินทรีย์

จากรูปที่ 8 สามารถแบ่งลักษณะของกราฟได้เป็น 3 ช่วงกว้างๆ เมื่อพิจารณาตามสมการที่ 41 จะพบว่า

เมื่อ $S = K_s$ จะได้ $$\mu = \frac{\mu_m}{2 + K_s/K_i}$$

เมื่อ $S = K_i$ จะได้ $\mu = \dfrac{\mu_m}{2 + K_s/K_i}$

เมื่อ $S = (K_sK_i)^{0.5}$ จะได้อัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด โดยที่

$$\mu = \frac{\mu_m}{2 + (K_sK_i)^{0.5} + 1}$$

ผลของผลิตภัณฑ์ที่สร้างขึ้นต่ออัตราการเจริญจำเพาะ ในบางครั้งจะพบว่าผลิตภัณฑ์ที่จุลินทรีย์ผลิตขึ้นมานั้น ถ้ามีปริมาณที่มากเกินไปอาจมีผลต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ โดยลักษณะของการยับยั้งนี้ แสดงได้ดังสมการที่ 43 และสมการที่ 44

การยับยั้งของผลิตภัณฑ์เป็นแบบไม่แข่งขัน

$$\mu = \frac{\mu_m S}{K_S (1 + P/K_P) + S} \qquad \text{สมการที่ 43}$$

การยับยั้งของผลิตภัณฑ์เป็นแบบแข่งขัน

$$\mu = \frac{\mu_m}{(1 + K_S/S)(1 + P/K_i)} \qquad \text{สมการที่ 44}$$

เมื่อ K_P เป็นค่าคงที่ของการยับยั้งเนื่องจากผลิตภัณฑ์

P เป็นปริมาณผลิตภัณฑ์

ในกรณีของการผลิตเอทานอล เมื่อปริมาณเอทานอลที่มากกว่า 5% จะทำให้เกิดการยับยั้งแบบไม่แข่งขัน

โดยที่ $$\mu = \frac{\mu_m (1 - P/P_m)^n}{(1 + K_S/S)}$$

เมื่อ P_m เป็นปริมาณเอทานอลที่ทำให้เชื้อหยุดการเจริญ

หรือ $$\mu = \frac{\mu_m \; e^{-P/KP}}{(1 + K_S/S)}$$

ผลของสารพิษที่เชื้อจุลินทรีย์สร้างขึ้นต่ออัตราการเจริญจำเพาะของจุลินทรีย์แสดงได้ดังนี้

การยับยั้งเป็นแบบแข่งขัน

$$\mu = \frac{\mu_m \; S}{K_s\,(1 + I/K_i) + S}$$

การยับยั้งเป็นแบบไม่แข่งขัน

$$\mu = \frac{\mu_m}{(1 + K_s/S)\,(1 + I/K_i)}$$

เมื่อ I เป็นความเข้มข้นของสารยับยั้ง

ซิมมูเลชันของการเพาะเลี้ยงแบบเบชท์

การพิจารณาจลนพลศาสตร์การเจริญแบบเบชท์ ส่วนใหญ่เป็นการพิจารณาเมื่อเชื้อเจริญอยู่ในระยะเพิ่มจำนวน

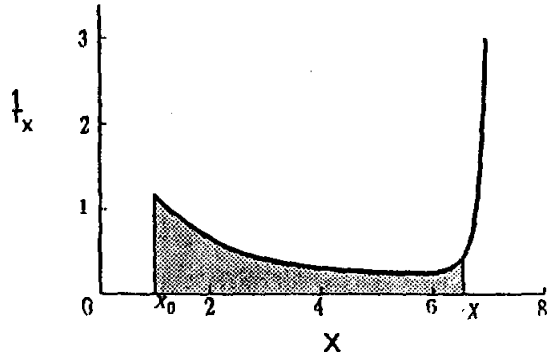
จากสมการที่ 26 $$\frac{dX}{dt} = r_X = \mu X$$

$$\int_{X_o}^{X} \frac{dX}{r_X} = \int_{X_o}^{X} \frac{dX}{\mu X}$$

$$= \int_{t_o}^{t} dt \qquad \text{สมการที่ 45}$$

$$= t - t_o \qquad \text{สมการที่ 46}$$

ในระยะเพิ่มจำนวนของการเจริญแบบเบซท์ จะพบว่าเวลาดังกล่าว $(t - t_o)$ มีค่าเท่ากับพื้นที่ใต้กราฟระหว่าง $1/r_X$ กับ X เมื่อ X มีค่าอยู่ในช่วง X_o ถึง X ดังแสดงในรูปที่ 9 แม้ว่าการคำนวณพื้นที่ดังกล่าวจะยุ่งยาก แต่อย่างไรก็ตามการแสดงด้วยกราฟนี้ จะเป็นประโยชน์เมื่อใช้เปรียบเทียบการหมักในกระบวนการอื่น



รูปที่ 9 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $1/r_X$ กับ X

จากสมการที่ 45 เมื่อแทนค่า $\mu = \dfrac{\mu_m S}{K_S + S}$

จะได้

$$\int_{X_o}^{X} \frac{(K_S + S)}{\mu_m S X} dX = \int_{t_o}^{t} dt \qquad \text{สมการที่ 47}$$

จากความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารอาหารที่ถูกใช้กับปริมาณเซลล์ที่เพิ่มขึ้น ซึ่งแสดงอยู่ในเทอมผลได้ของการเจริญ ($Y_{X/S}$)

โดยที่ $$Y_{X/S} = \frac{X - X_o}{-(S - S_o)}$$ สมการที่ 48

เมื่อแทนสมการที่ 48 ในสมการที่ 47 แล้วอินทิเกรต จะได้

$$(t - t_o)\,\mu_m = \left(\frac{K_S\ Y_{X/S}}{X_o + S_o\,Y_{X/S}} + 1\right) \ln\frac{X}{X_o} + \left(\frac{K_S\ Y_{X/S}}{X_o + S_o\,Y_{X/S}}\right) \ln\frac{S_o}{S}$$ สมการที่ 49

ตัวอย่างที่ 29 จลนพลศาสตร์การเจริญของ *E.coli* เมื่อเริ่มเข้าสู่ระยะเพิ่มจำนวน แสดงด้วยพารามิเตอร์ μ_m เป็น 0.935 ต่อชั่วโมง K_S เป็น 0.71 กรัมต่อลิตร ถ้ากำหนดให้ผลได้การเจริญของ *E.coli* หรือ $Y_{X/S}$ เป็น 0.6 กรัมต่อกรัม เมื่อปริมาณเซลล์เริ่มต้นและปริมาณกลูโคสเริ่มต้นเป็น 1 กรัมต่อลิตร และ 10 กรัมต่อลิตรตามลำดับ จงแสดงกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง ln X , X , S $\frac{d \ln X}{dt}$ และ $\frac{dX}{dt}$ ที่เวลาต่างๆ

<u>วิธีทำ</u> จาก $$Y_{X/S} = \frac{x - x_o}{-(S - S_o)}$$

จะได้ $$X = \frac{Y_{X/S}}{X_o}(S - S_o)$$ สมการที่ 50

$$X = 0.6\,(S - IO)$$ สมการที่ 51

จากสมการที่ 49

$$(t - t_o)\,\mu_m = \left(\frac{K_S\ Y_{X/S}}{X_o + S_o\,Y_{X/S}} + 1\right) \ln\frac{X}{X_o} + \left(\frac{K_S\ Y_{X/S}}{X_o + S_o\,Y_{X/S}}\right) \ln\frac{S_o}{S} \qquad \text{สมการที่ 49}$$

จะได้

$$t = \left(\frac{(0.71)(0.6)}{1 + (10)\ (0.6)} + 1\right) \ln X\ ) + \left(\frac{(0.71)\ (0.6)}{1 + (10)\ (0.6)}\right) \ln (10 / S) \qquad \text{สมการที่ 52}$$

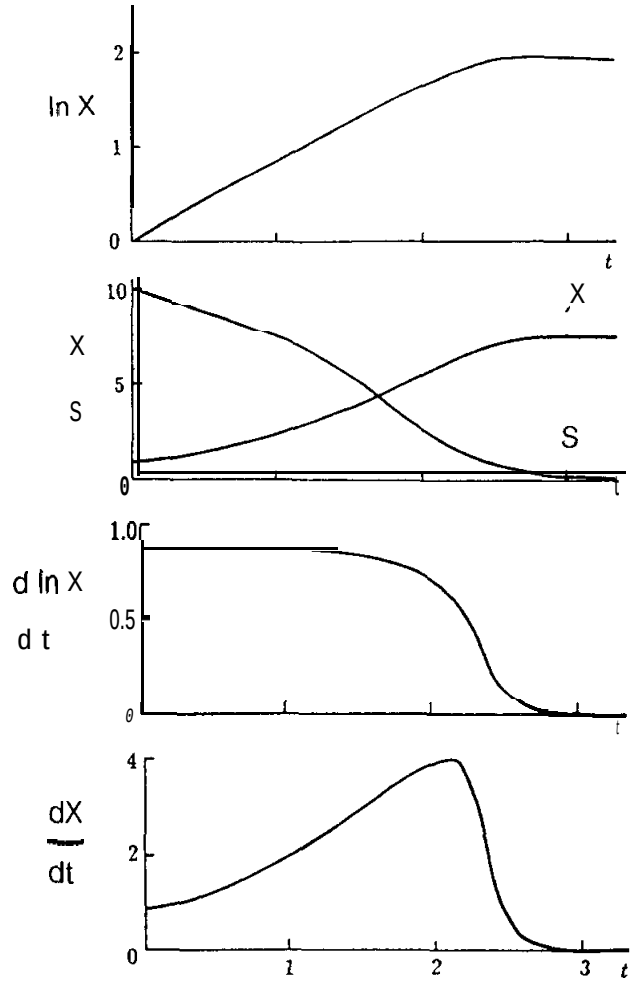
จากสมการที่ 51 และ 52 สามารถแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง S กับ X ที่เปลี่ยนแปลงที่เวลาต่างๆ ได้ดังตารางที่ 19

ตารางที่ 19 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง S กับ X ที่เวลาต่างๆ

S (g/l)	X (g/l)	t (hr)
10	1	0
8	2.2	0.85
6	3.4	1.33
4	4.6	1.67
2	5.6	2.16

เมื่อนำค่า S X และ t มาสร้างความสัมพันธ์ระหว่าง ln X, X , S $\frac{d \ln X}{dt}$ และ dX ที่เวลาต่างๆ จะได้ดังรูปที่ 10

dt



รูปที่ 10 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง ln X, X , S $\frac{d \ln X}{dt}$ และ $\frac{dX}{dt}$ ที่เวลาต่างๆ