

ไคเนติกส์(จลนพลศาสตร์)ของการหมัก

■ เทคโนโลยีการหมัก

อาจารย์ ดร. หัสลินดา บินมะแอ

คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร
มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา



ไคเนติกส์(จลนพลศาสตร์)ของการหมัก

การศึกษาไคเนติกส์ของการหมัก (Fermentation kinetics) เป็นสิ่งจำเป็นที่จะทำให้เราทราบธรรมชาติของการเปลี่ยนแปลงต่างๆที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการหมัก เช่น การเจริญของจุลินทรีย์ การเปลี่ยนแปลงของสับสเตรท การเกิดผลผลิต การเปลี่ยนแปลงของ pH และอุณหภูมิ รวมทั้งปริมาณออกซิเจนที่ถูกดูดซึมไปใช้ โดยบ่งบอกปริมาณการเปลี่ยนแปลงเป็นตัวเลขอย่างแน่ชัด ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาไคเนติกส์ของการหมักนี้ จะเป็นประโยชน์อย่างมากในการควบคุมปัจจัยต่างๆที่เกี่ยวข้องกับการหมัก รวมทั้งการจัดการระบบการหมักให้เป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ

ไคเนติกส์(จลนพลศาสตร์)ของการหมัก

- ในกระบวนการชีวภาพ สิ่งที่สำคัญที่สุด คือผลกำไรจากการผลิต
- ดังนั้นนักเทคโนโลยีชีวภาพจึงต้องหาวิธีที่จะทำให้ระบบชีวภาพสามารถสร้างผลกำไรมากที่สุด หรือทำให้ใช้ทรัพยากรอย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด
- การผลิตสารชีวภาพในเชิงพาณิชย์ที่สำคัญหลายชนิดต้องอาศัยการผลิตมวลเซลล์จำนวนมาก
- การสร้างผลกำไรสูงสุด จึงมักจะขึ้นกับการหาสภาวะที่เหมาะสมในการสร้างผลิตภัณฑ์โดยเซลล์
- นั่นคือการทำให้ได้ผลิตภัณฑ์มากที่สุดในระยะเวลาที่สั้นที่สุดและค่าใช้จ่ายต่ำสุด

ไคเนติกส์(จลนพลศาสตร์)ของการหมัก

- ❑ เพื่อให้บรรลุวัตถุประสงค์นี้เราจึงต้องสามารถอธิบายระบบการเลี้ยงเซลล์ได้ในเชิงปริมาณ (**quantitative**) นั่นคือ จลศาสตร์ของระบบ ซึ่งทำให้เราสามารถคาดหมายผลผลิต (**yield**) และระยะเวลา และทำให้สามารถกำหนดขนาดของถังปฏิกรณ์ชีวภาพได้
- ❑ เราจะต้องทราบข้อมูลจลศาสตร์ของปฏิกริยานี้ก่อนที่จะสร้างระบบการผลิตขนาดใหญ่ ในทางปฏิบัติข้อมูลเหล่านี้จะได้จากการทดลองในถังหมักขนาดเล็ก และจึงนำมาขยายขนาดผลิตอีกครั้ง

ไคเนติกส์(จลนพลศาสตร์)ของการหมัก

แบบจำลองทางคณิตศาสตร์

- การเพาะเลี้ยงเซลล์เป็นระบบที่ค่อนข้างซับซ้อน
- เป็นระบบที่มีสิ่งที่เข้า (**input**) และออก (**output**) มากมาย
- และแตกต่างจากระบบปฏิกิริยาเคมี เพราะตัวเร่งปฏิกิริยา (**catalyst**)

นั้นสามารถเพิ่มจำนวนได้ด้วย นักเทคโนโลยีชีวภาพมักใช้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ (**mathematical model**) มาช่วยในการคำนวณต่างๆ

ตัวอย่างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่รู้จักกันดีเช่น ทฤษฎีสัมพันธภาพของไอน์สไตน์

$$E = mc^2$$

รูปแบบของการหมัก

คำว่า “การหมัก” (**fermentation**) ในที่นี้ใช้แทน กระบวนการที่ใช้เซลล์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ (**bioreactor**) หรือถังหมัก (**fermenter**) รูปแบบการหมักมีหลักๆ อยู่ 3 แบบ คือ

- การหมักแบบครั้ง (**Batch operation**)
- การหมักแบบต่อเนื่อง (**Continuous operation**)
- การหมักแบบเติม (**Fed-batch operation**)

Type of Fermentation

(แบ่งตามลักษณะของกระบวนการหมัก)

Depend on process

1. Batch fermentation (การหมักแบบไม่ต่อเนื่อง, ระบบปิด, อาหารเริ่มต้นจำกัด และไม่มีเพิ่มเติมสารอาหารใดๆลงไป)

- close condition

- limited substrate

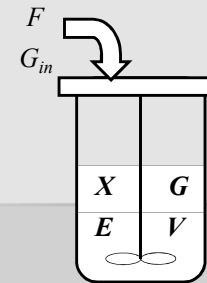
2. Continuous fermentation (การหมักแบบต่อเนื่อง)

- feed fresh substrate in and old substrate out

3. Fed- batch fermentation (การหมักแบบที่มีการเติมสารอาหารบางอย่างเพิ่มลงไปเป็นระยะๆ เพื่อจุลินทรีย์เจริญและใช้สารอาหารอย่างเต็มที่ โดยไม่มีการถ่ายอาหารเก่าออก)

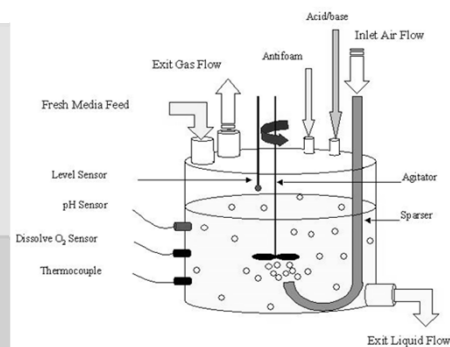
- feed fresh substrate in but not feed old substrate out

Fed-batch fermentation

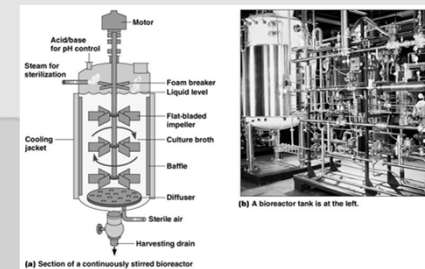


X : biomass
 G : glucose
 E : ethanol
 V : volume
 F : Glucose feed rate
 G_{in} : Inlet substrate concentration

Continuous fermentation



ดังที่ศึกษาก่อนแล้วว่าการหมักสามารถแบ่งตามลักษณะของกระบวนการที่ใช้ได้เป็น 3 ชนิดคือ Batch, continuous และ fed batch fermentation และไคเนติกส์ของกระบวนการหมัก แต่ละชนิดนี้ก็จะแตกต่างกันไป

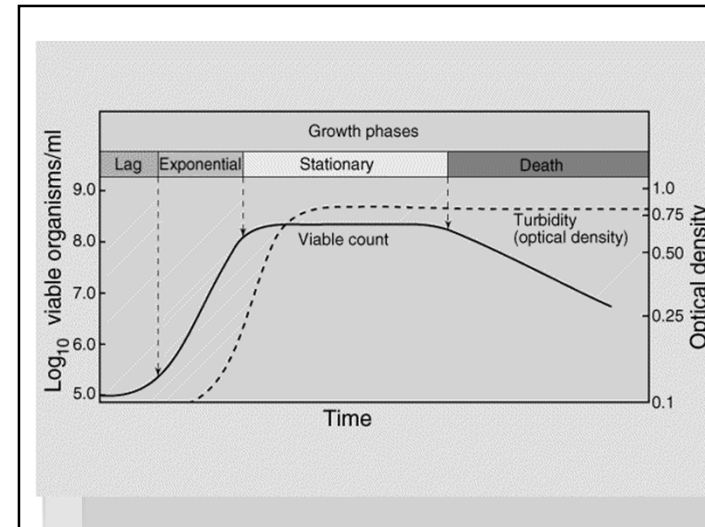


ตัวอย่าง

มีเชื้อ 2 เชื้อ คือ a และ b ต้องการเซลล์ให้มากที่สุด และต้องเลือกระหว่าง a และ b คุณจะให้เกณฑ์อะไรเลือก

เกณฑ์ที่ช่วยได้ ดังนี้

เชื้อ a		เชื้อ b	
เวลา	จำนวนจุลินทรีย์	เวลา	จำนวนจุลินทรีย์
0	0	0	0
2	3	2	5
4	5	4	11
12	7	12	16



การเจริญเติบโตของแบคทีเรียแบ่งเป็น 4 ระยะ คือ

- 1. Lag Phase : adapt to nutrients
- 2. Log Phase : active growth
- 3. Stationary Phase : death = growth rate
- 4. Death Phase : nutrients consumed, pH to low

1. Lag Phase

- ระยะที่ใส่แบคทีเรียลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ
- แบคทีเรียปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมใหม่
- เซลล์มีอัตราเมแทบอลิซึมสูง
- ขนาดของเซลล์เพิ่มขึ้น บางส่วนเริ่มมีการแบ่งตัวเป็น
- ใช้เวลาตั้งแต่ 1 ชม. ถึงหลายวัน

2. Log Phase/Exponential phase

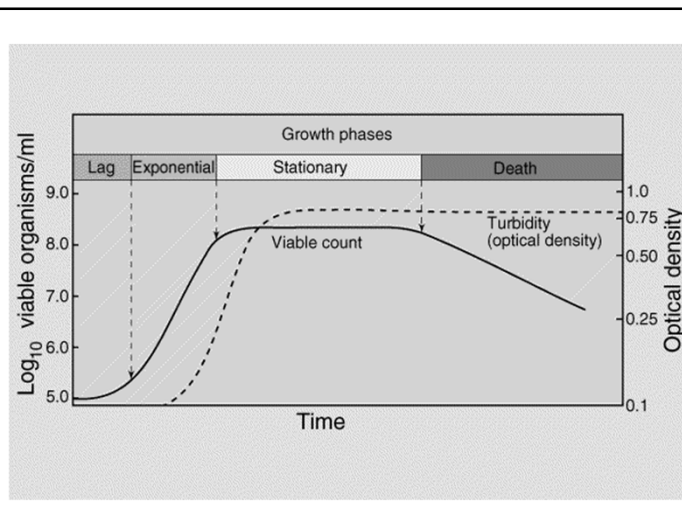
- แบคทีเรียมีการเจริญอย่างรวดเร็ว (exponential growth)
- อัตราการเจริญมากที่สุด เซลล์ว่องไวที่สุด
- จำนวนแบคทีเรียเพิ่มขึ้นเป็นสองเท่า

3. Stationary Phase

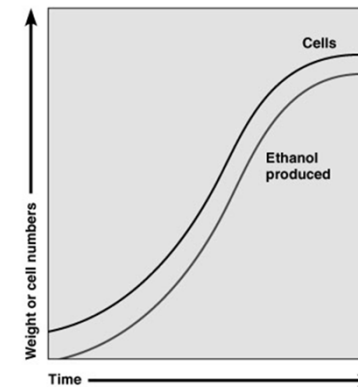
- ระยะที่อัตราการตาย เท่ากับอัตราการแบ่งตัว
- สารอาหารถูกใช้ไปเกือบหมด และมีการขับของเสียที่เป็นพิษออกมาจากกระบวนการเมแทบอลิซึม
 - lack of nutrients
 - lack of water
 - not enough space
 - metabolic wastes
 - oxygen
 - pH

4 Death Phase/Dedine Phase

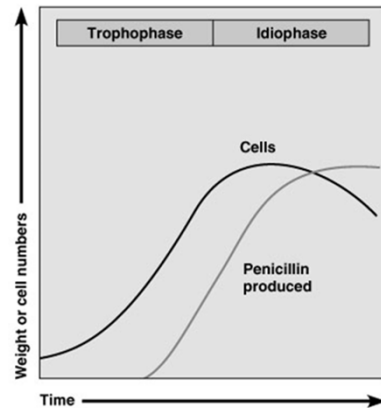
- อัตราการตาย > อัตราการแบ่งตัว
- เกิดจากสารอาหารที่ใช้เลี้ยงหมด และเกิดการสะสมของเสีย



Primary Fermentation



Secondary Fermentation

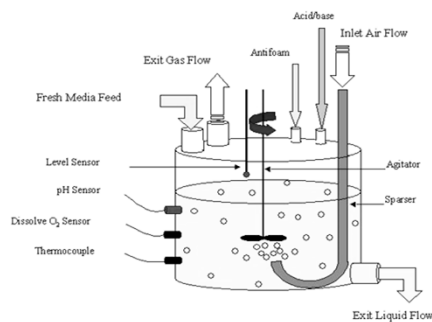


Batch fermentation

Batch culture เป็นการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในระบบปิด ที่มีปริมาณสารอาหารเริ่มต้นจำกัดทำให้จุลินทรีย์มีรูปแบบ

เมื่อใส่จุลินทรีย์ลงในอาหาร ระยะแรกเป็นระยะที่จุลินทรีย์กำลังปรับตัว เซลล์จะยังไม่มีการเพิ่มจำนวน เรียกระยะนี้ว่า Lag phase ระยะเวลาในช่วง lag phase นี้ ในกระบวนการหมักในระดับอุตสาหกรรมจะต้องทำให้สั้นที่สุดเพื่อลดต้นทุนการผลิต โดยใช้เชื้อเริ่มต้น (starter หรือ inoculum) ที่เหมาะสม หลังจากนั้นจุลินทรีย์จะมีอัตราการเจริญเพิ่มขึ้นตามลำดับจนกระทั่งเข้าสู่ exponential หรือ log phase ซึ่งเป็นระยะที่จุลินทรีย์มีอัตราการเจริญสูงสุดและคงที่ การเจริญของจุลินทรีย์ในระยะ log phase

Continuous fermentation



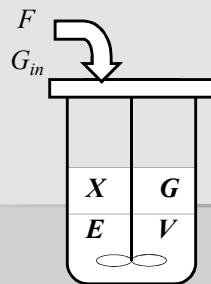
Continuous fermentation

การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์แบบ Batch ถ้าใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีส่วนประกอบบางอย่างที่จำกัดการเจริญของจุลินทรีย์แต่การเจริญไม่จำกัดด้วยสารพิษแล้ว จะสามารถยืดระยะเวลาการเจริญในระยะ log phase ให้นานขึ้นได้โดยการเติมอาหารใหม่ลงไปจนกว่าจะเต็มภาชนะ แต่ถ้ามีการถ่ายอาหารเก่าออกจากภาชนะจำนวนหนึ่งแล้วเติมอาหารใหม่เข้าไปแทนที่ในปริมาณเท่าเดิม จะทำให้จุลินทรีย์เจริญเพิ่มจำนวนได้อย่างต่อเนื่อง และถ้ามีการถ่ายอาหารเก่าและเติมอาหารใหม่เข้าสู่ภาชนะอย่างต่อเนื่องด้วยอัตราที่เหมาะสม จะทำให้เกิดสภาวะคงที่ (steady state) กล่าวคือปริมาณเซลล์ที่เกิดขึ้นใหม่จะเท่ากับปริมาณเซลล์ในอาหารเก่าที่ปล่อยออกจากภาชนะ ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการไหลของอาหารเข้าสู่ภาชนะกับปริมาณของภาชนะเรียกว่า อัตราการเจือจาง (dilution rate, D)

ระบบการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์แบบต่อเนื่องซึ่งได้อธิบายมาแล้วนี้เป็นแบบ Chemo stat เนื่องจากอัตราการเจริญของจุลินทรีย์ถูกควบคุมโดยสภาพแวดล้อมทางเคมี ซึ่งในที่นี้ได้แก่ ความเข้มข้นของสับสเตรทในอาหารเลี้ยงเชื้อ นอกจากนี้ยังมีระบบควบคุมการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์แบบต่อเนื่องอีกแบบคือ turbidostat ซึ่งใช้วิธีควบคุมอัตราการไหลของอาหารเลี้ยงเชื้อให้เหมาะสมเพื่อให้เซลล์ที่เพาะเลี้ยงมีความเข้มข้นคงที่สำหรับวิธีการควบคุมความเข้มข้นของเซลล์ที่เพาะเลี้ยงให้คงที่นั้น อาจทำได้โดยการวัดขุ่นของเซลล์โดยใช้ photoelectric cell ต่อเข้ากับเครื่องส่งสัญญาณไปยังเครื่องสูบน้ำอาหารเลี้ยงเชื้อที่จะส่งเข้าสู่ระบบ หรืออาจใช้วิธีการวัดความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์แทนก็ได้ ซึ่งในกรณีหลังนี้ การเรียกชื่อระบบควรใช้คำว่า bios tat จะถูกต้องกว่า

โดยทั่วไปการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์แบบต่อเนื่องนิยมใช้ระบบ Chemo stat มากกว่าระบบ turbidostat เนื่องจากไม่จำเป็นต้องใช้ระบบควบคุมที่ซับซ้อนในการรักษาสภาวะคงที่ อย่างไรก็ตามระบบ turbidostat ก็มีข้อดีคือ ไม่มีปัญหาการชำระล้างเซลล์ออกจากระบบหมดในระยะแรกของการเลี้ยงเชื้อ

Fed-batch fermentation



X : biomass
 G : glucose
 E : ethanol
 V : volume
 F : Glucose feed rate
 G_{in} : Inlet substrate concentration

Fed- batch fermentation

ในปี ค.ศ. 1973 Yoshida และคณะได้นำคำว่า fed-batch culture มาใช้อธิบายการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์แบบ batch ซึ่งมีการเติมอาหารเข้าไปด้วยต่อเนื่อง หรือเติมเป็นระยะๆ โดยไม่มีการถ่ายอาหารที่เพาะเลี้ยงเชื้อแล้วออกเลย เพราะฉะนั้นปริมาณของอาหารจะเพิ่มขึ้นตามระยะที่เพิ่มขึ้น

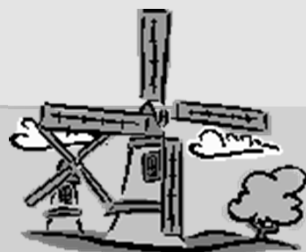
การใช้ระบบ Fed- batch ในอุตสาหกรรม

ระบบ Fed- batch ได้ถูกนำไปใช้ในอุตสาหกรรมการหมักหลายชนิด เช่น การผลิตเซลล์ยีสต์เพนนิซิลิน และเอนไซม์ เป็นต้น ระบบนี้มีข้อดีคือ สามารถควบคุมปริมาณสับสเตรทที่เหลือให้มีความเข้มข้นต่ำมากได้ ทำให้อุณหภูมิมีการเจริญและใช้ออกซิเจนปริมาณไม่มากเกินไปความสามารถในการให้อากาศของถังหมัก ช่วยลด repressive effect ของแหล่งคาร์บอนที่จุลินทรีย์ใช้ได้อย่างรวดเร็วและลดความเป็นพิษของส่วนประกอบอย่างในอาหารเลี้ยงเชื้อ

การผลิตเซลล์ยีสต์

เป็นที่ทราบกันตั้งแต่ปีค.ศ 1915 แล้วว่าการใส่โมลต์ปริมาณมากเกินไปลงในอาหารเลี้ยงยีสต์ จะทำให้ยีสต์มีการเจริญมากจนกระทั่งเครื่องมือที่ใช้สามารถให้ออกซิเจนได้เพียงพอ ทำให้เกิดสภาวะขาดแคลนอากาศ และมีการผลิตเอทานอลขึ้นแทนการสร้างมวลเซลล์การแก้ปัญหาสามารถทำได้โดยใช้ระบบ fed-batch ซึ่งใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสับสเตรทเริ่มต้นน้อย แล้วจึงเพิ่มเข้าไปในภายหลังด้วยอัตราต่ำกว่าที่จุลินทรีย์สามารถใช้ได้ ($D < \mu_{max}$) ก็จะทำให้สับสเตรทเป็นตัวควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์ นอกจากนี้ในปัจจุบันยังพบว่ายีสต์ชนิดนี้มีความไวต่อกลูโคสอิสระมาก ความเข้มข้นของกลูโคสประมาณ 5 ไมโครกรัมต่อลิตร จะสามารถยับยั้งกระบวนการหายใจในของยีสต์โดยใช้ระบบ fed-batch ในปัจจุบันจึงมีการควบคุมอัตราการเติมกากน้ำตาลอย่างเข้มงวด ในการตรวจสอบและควบคุมปริมาณเอทานอลในแก๊สที่ออกจากถังหมัก การใช้ระบบ fed-batch นี้แม้ว่าจุลินทรีย์มีอัตราการเจริญต่ำ แต่จะให้ผลผลิตเซลล์สูง

การคำนวณ



Batch fermentation

Batch culture เป็นการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในระบบปิด ที่มีปริมาณสารอาหารเริ่มต้นจำกัดทำให้จุลินทรีย์มีรูปแบบ

เมื่อใส่จุลินทรีย์ลงในอาหาร ระยะแรกเป็นระยะที่จุลินทรีย์กำลังปรับตัวเซลล์ยังไม่มีเพิ่มจำนวน เรียกระยะนี้ว่า Lag phase ระยะเวลาในช่วง lag phase นี้ ในกระบวนการหมักในระดับอุตสาหกรรมจะต้องทำให้สั้นที่สุดเพื่อลดต้นทุนการผลิต โดยใช้เชื้อเริ่มต้น (starter หรือ inoculum) ที่เหมาะสม หลังจากนั้นจุลินทรีย์จะมีอัตราการเจริญเพิ่มขึ้นตามลำดับจนกระทั่งเข้าสู่ exponential หรือ log phase ซึ่งเป็นระยะที่จุลินทรีย์มีอัตราการเจริญสูงสุดและคงที่ การเจริญของจุลินทรีย์ในระยะ log phase

โมเดลทางคณิตศาสตร์และการพัฒนากระบวนการผลิตทางชีวภาพ

- นักวิจัยนิยมใช้โมเดลทางคณิตศาสตร์เพื่ออธิบายระบบทางกายภาพ โมเดลทางคณิตศาสตร์ที่ดีจะมุ่งเน้นแง่มุมที่สำคัญของกระบวนการ เพื่อให้ได้ผลลัพธ์ที่เป็นประโยชน์

- โดยจลนศาสตร์ของปฏิกิริยา หมายถึง อัตราการเกิดของปฏิกิริยาที่ดำเนินไป และจะเกี่ยวข้องกับอัตราการเกิดปฏิกิริยาที่พึ่งพาต่อความเข้มข้นของตัวทำปฏิกิริยา

- กระบวนการที่เกี่ยวข้องกับการเจริญของเซลล์มี 2 กระบวนการ คือ

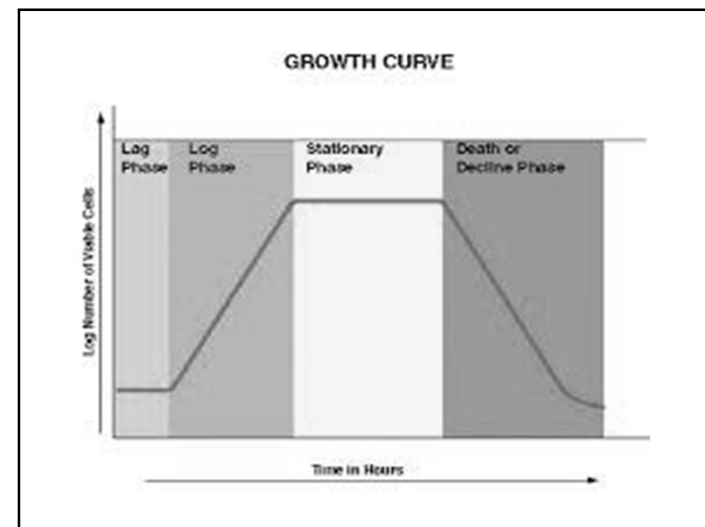
 1. การนำเข้าสู่สารอาหารจากสิ่งแวดล้อมภายนอกเซลล์ หรือ เรียกว่า **Catabolism**
 2. การเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นผลิตภัณฑ์ หรือเรียกว่า **Anabolism**

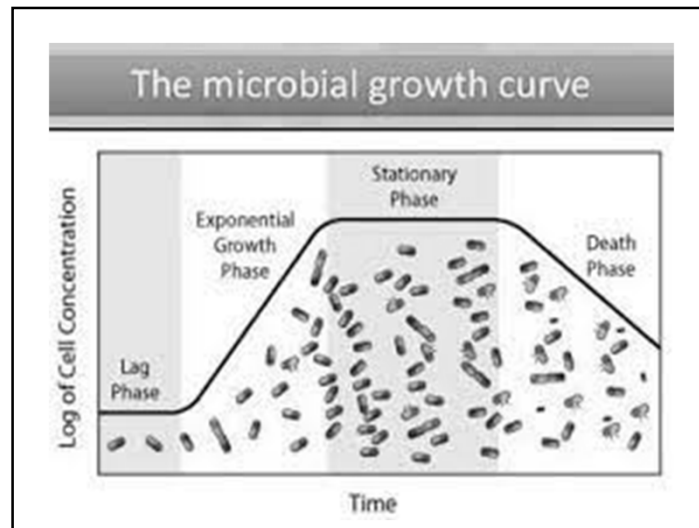
ความซับซ้อนในการศึกษาจลนศาสตร์ของกระบวนการ/ปฏิกิริยาทางเคมี สามารถสรุปได้ดังนี้

1. รูปแบบของเซลล์ เช่น เซลล์เดี่ยวหรือรา ที่มีผลต่อการเจริญของเซลล์และลักษณะสมบัติทางเคมีกายภาพของอาหารเหลว
2. สารอาหารถูกนำไปใช้ โดยพร้อมกันและเป็นแบบแข่งขันสำหรับการเพิ่มชีวมวลและการแปรสภาพทางชีวภาพของผลิตภัณฑ์
3. ภาวะวิวิธพันธุ์ (heterogeneity) ของประชากรเซลล์เป็นปัญหาโดยทั่วไปในประชากรเซลล์ที่มีการเจริญเติบโต
4. เซลล์ที่มีอายุแตกต่างกันบ่อยครั้ง ทำให้เห็นการทำงานทางเมแทบอลิกและแอกติวิตีที่เด่นชัด
5. ลักษณะสมบัติของวิธีชีวเคมีที่ถูกแสดงออก ตามกราฟแสดงการเจริญของจุลินทรีย์ จึงเป็นไปได้ยาก

การเจริญเติบโตของแบคทีเรียแบ่งเป็น 4 ระยะ คือ

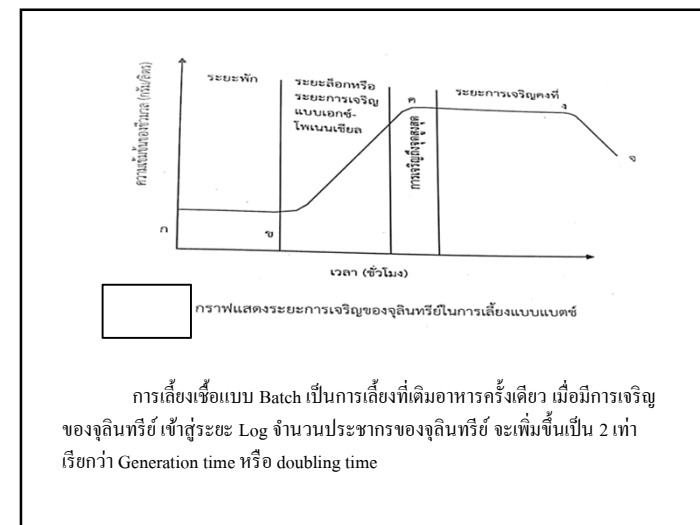
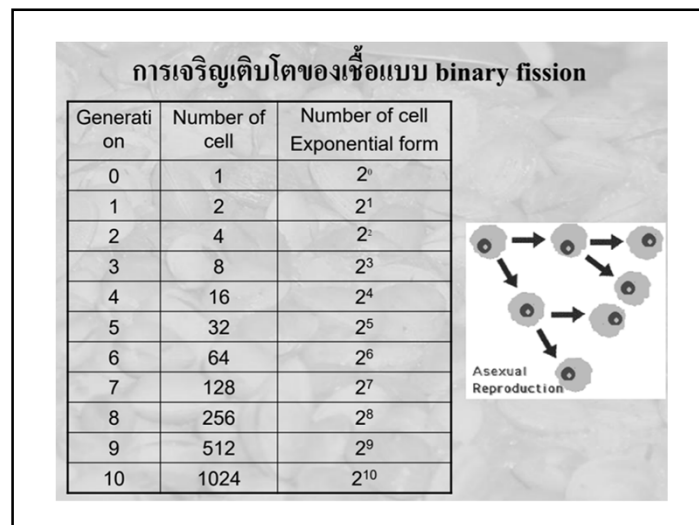
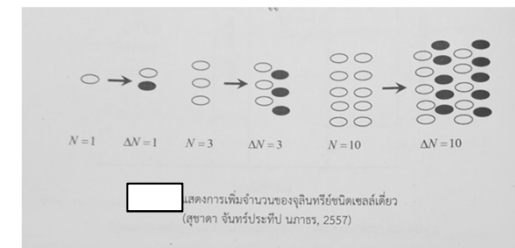
- 1. Lag Phase : adapt to nutrients
- 2. Log Phase : active growth
- 3. Stationary Phase : death = growth rate
- 4. Death Phase : nutrients consumed, pH to low





โมเดลคณิตศาสตร์สำหรับการเจริญของจุลินทรีย์

การเจริญของเซลล์ในช่วงระยะ **log** จะอยู่ในรูปแบบเอกซ์โพเนนเชียล ด้วยรูปแบบของสมการคณิตศาสตร์ ดังนี้



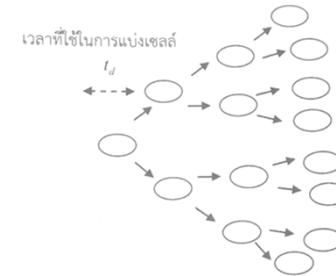
Generation time หรือ doubling time

$$g = \frac{t}{n} = t_d$$

g = Generation time

T = เวลา

n = จำนวนครั้งของการแบ่งเซลล์



โมเดลทางคณิตศาสตร์ของรูปแบบการเจริญของจุลินทรีย์แบบเซลล์เดี่ยว
(สุชาติา จันทระประทีป ภาธร, 2557)

และนอกจากนี้ ชีวมวล (biomass) คำนวณได้จาก

$$X = X_o 2^n$$

X = ชีวมวล สุดท้าย (g/l)

X_o = ชีวมวล เริ่มต้น (g/l)

$$n = 3.32 (\log X - \log X_o)$$

หรือ

$$n = \frac{\ln \left[\frac{X}{X_o} \right]}{0.693}$$

ซึ่งระยะ log เป็นระยะที่จุลินทรีย์มีอัตราการเจริญสูงสุดและคงที่

อัตราการเจริญสูงสุด (μ) คำนวณได้จาก

1. แบบสับสเตรดหนึ่งตัว

$$\mu = \left[\frac{1}{X} \right] \left[\frac{dx}{dt} \right] \quad \text{หรือ} \quad \mu = \frac{\ln X - \ln X_o}{t_1 - t_2}$$

2. แบบสับสเตรดหลายตัว

$$\mu = \frac{\mu_m S}{K_s + S} \Rightarrow \text{โมเดลของโมนอด (Monod's model)}$$

โมเดลของโมนอด (Monod's model)

$$\mu = \frac{\mu_m S}{K_s + S}$$

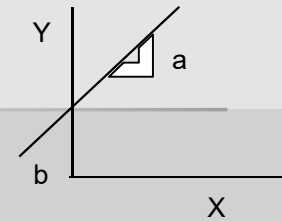
μ_m = อัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (ชั่วโมง)

S = ความเข้มข้นของสับสเตรด (mg/l)

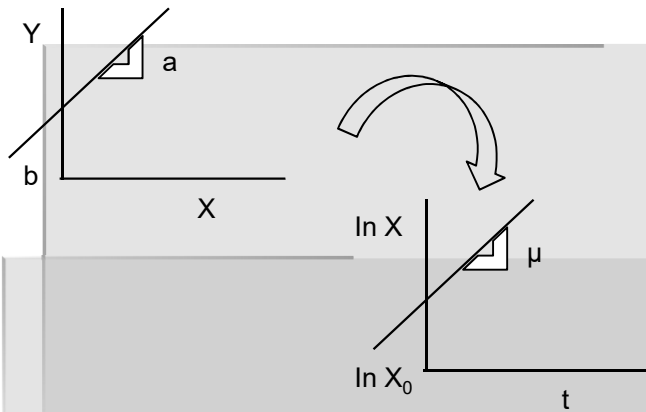
K_s = ค่าคงที่ ที่ทำให้อัตราการเจริญจำเพาะ มีค่าเท่ากับค่าหนึ่ง μ_m

ถ้า อัตราการเจริญสูงสุด (μ) ที่ได้จากการทดลองแบบสับสเตรดหนึ่งตัว ที่
เทียบระหว่างจำนวนเซลล์กับเวลา สามารถแสดงในสมการเส้นตรง

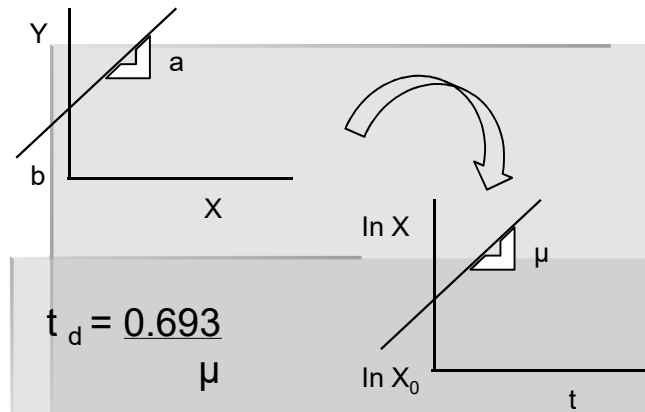
$$Y = ax + b$$

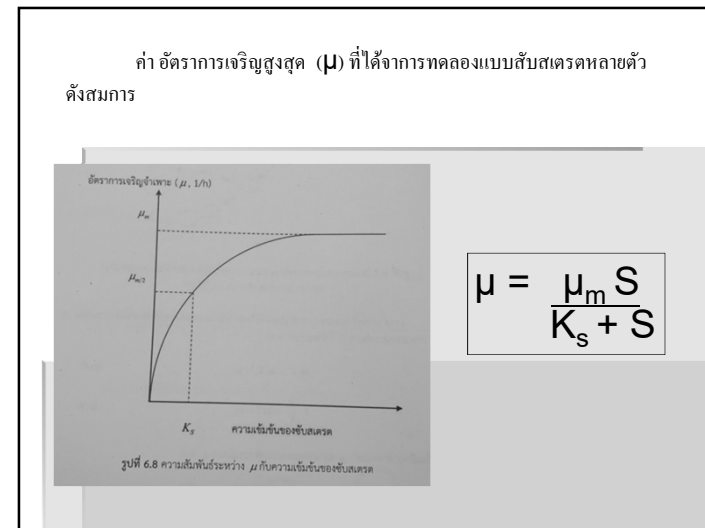
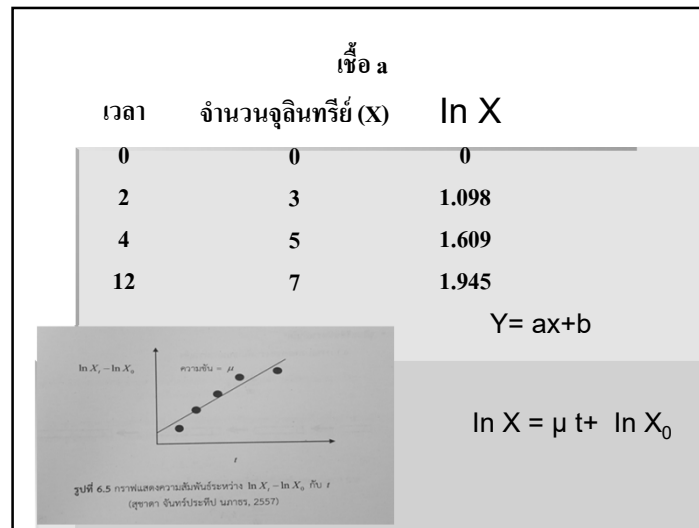


เมื่อนำผลการทดลองมาสร้างกราฟ พบว่า



เมื่อนำผลการทดลองมาสร้างกราฟ พบว่า





โมเดลของโมนอด (Monod's model)

$$\mu = \frac{\mu_m S}{K_s + S}$$

$S \gg K_s$ มากๆ จะได้ $\mu = \frac{\mu_m S}{S}$, $\mu = \mu_m$

$S = K_s$ จะได้ $\mu = \frac{\mu_m S}{2S}$, $\mu = \frac{\mu_m}{2}$

$S \ll K_s$ จะได้ $\mu = \frac{\mu_m S}{K_s}$

กรณีอื่นๆ $\Rightarrow \mu = \frac{\mu_m S}{K_s + S}$

โมเดลจลนศาสตร์สำหรับการใช้สับเตรตของจุลินทรีย์

การเปลี่ยนสารอาหารเป็นการเจริญเติบโตและเกิด **product** ของเซลล์
สามารถแสดงได้ดังนี้

- สัมประสิทธิ์ผลผลิต (Yield coefficient) ของเซลล์: $Y_{x/s}$
- สัมประสิทธิ์ผลผลิตของ product ที่ไม่ใช่เซลล์: $Y_{p/s}$

จะได้:

$$Y_{x/s} = \frac{X - X_0}{S_0 - S}$$

X = เซลล์
 S = สับเตรต
 X = เซลล์สุดท้าย
 X_0 = เซลล์เริ่มต้น

Product ที่ได้อัตราสูงสุดที่หายไป

$$Y_{p/s} = \frac{P - P_o}{S_o - S} \Rightarrow Y_{p/s} = \frac{P}{S_o - S}$$

Product บางชนิดอยู่ในเซลล์ เช่น polymer

$$Y_{p/x} = \frac{P}{X - X_o} \Rightarrow Y_{p/x} = \frac{Y_{p/s}}{Y_{x/s}}$$

หากต้องการเซลล์มากๆ (X_{max}) จึงทำให้จุลินทรีย์กินอาหารได้มาก จะมีค่า $s=0$

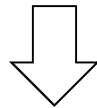
ดังนั้น

$$\frac{X_m - X_o}{S_o} = Y_{x/s}$$

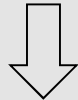
จาก

$$Y_{x/s} = \frac{X_m - X_o}{S_o - S} \Rightarrow Y_{x/s} = \frac{X_m - X_o}{S_o - S}$$

$$Y_{x/s} = \frac{X_m - X_o}{S_o}$$



$$Y_{x/s} = \frac{X_m - X_o}{S_o}$$



$$X_m = Y_{x/s} S_o + X_o$$

หากต้องการ product มากๆ (P_{max})

ดังนั้นจาก

$$Y_{p/s} = \frac{P}{S_o - S}$$

$$\frac{P_m}{S_o - S} = Y_{p/s}$$

$$P_m = Y_{p/s} S_o$$

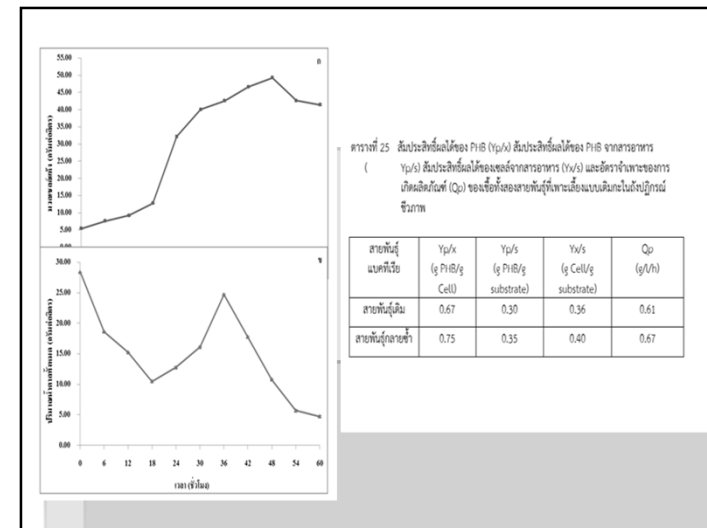
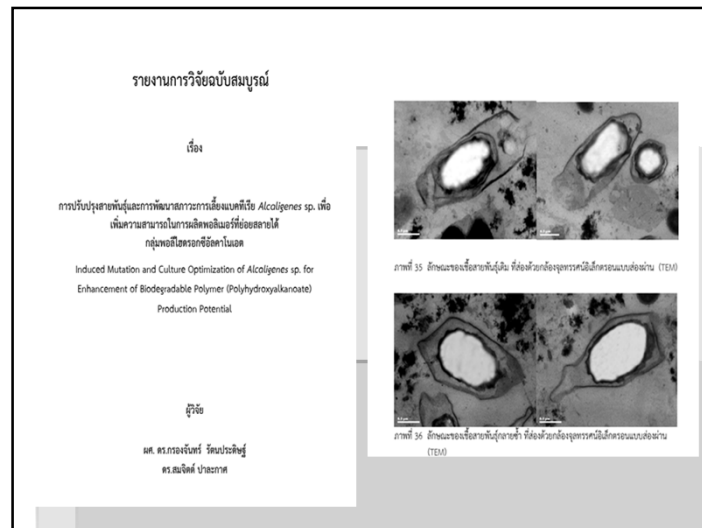


Table 1. Composition of the media used for *B. animalis* subsp. *lactis* Bb 12 culture.

Media	Whey rehydrated percentage (v/v)	Skim milk rehydrated percentage (v/v)	Yeast extract (g L ⁻¹)
LCWP	10	80	10
MCWP	30	60	10
HCWP	50	40	10

Bifidobacterium animalis subsp. *lactis* Bb 12 was obtained from Christian Hansen (Hørsholm, Denmark).

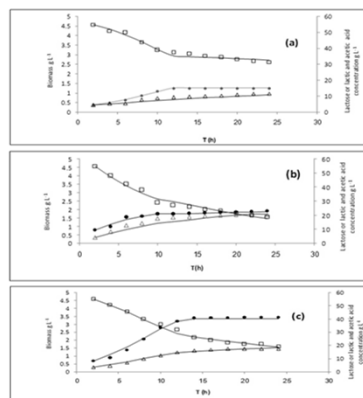


Figure 12. Mathematical simulation of three uncontrolled batch fermentation of free cell *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb 12 in various media according to Table 1. Calculated data (continuous lines), experimental data: biomass concentration (●), lactic and acetic acid concentration (Δ), lactose concentration (□). (a) LCWP, (b) MCWP and (c) HCWP.

The relation between specific growth rate (μ) and essential substrate concentration was given by the Monod equation:

$$\mu = \mu_m [s / (K_s + s)]$$

[Equation 1]

Or:

$$dx/dt = \mu_m [s/(K_s + s)] x$$

[Equation 2]

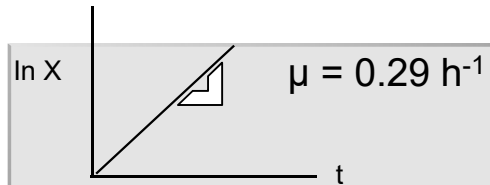
4

Table 2. Culture parameters for free and immobilized *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb 12 cells growing without pH control. Lowercase letters indicate differences between free cell media LCWP, MCWP and HCWP, while left uppercase letters indicate differences between HCWP free cell culture and immobilized cell cultures with significance level $P < 0.05$.

	h	f	A	B	$Y_{X/S}$	$Y_{P/S}$	m	K_S	μ_0	$\rho_{S_0} \text{ g L}^{-1}$	$\rho'_{S_0} \text{ g L}^{-1}$	$X_0 \text{ g L}^{-1}$	Total sum square			
Media														Toxic power		
														With		Without
														Biomass	Acids production	Acids production
							Free cell									
LCWP	0.3 ^a	0 ^a	1 ^a	0.2 ^a	0.05 ^a	0.5 ^a	0.02 ^a	0.8 ^a	0.2	9.35	11.7 ^a	1.25 ^a	3.8 x 10 ⁻⁴	1.04	2 x 10 ⁻²	1.9
MCWP	1.1 ^a	0.2 ^a	4 ^a	0.5 ^a	0.06 ^a	0.57 ^a	0.24 ^a	1 ^a	0.28	17.7	20.5 ^a	1.92 ^a	3.7 x 10 ⁻³	1.8	1.4 x 10 ⁻¹	3.7
HCWP	0.95 ^a	0.1 ^a	3 ^a	0.12 ^a	0.1 ^a	0.49 ^a	0.15 ^a	1.1 ^a	0.36	16.2	17.6 ^a	3.45 ^a	8.3 x 10 ⁻³	0.3	2 x 10 ⁻²	4.2
							Immobilized cell									
Gellan Xanthan	0.55	0.3	3	0.1	0.11	0.49	0.04	1.1	0.3	16.9	19	4.1	1.7 x 10 ⁻²	4 x 10 ⁻²	6.4 x 10 ⁻¹	1.7
Alginate chitosan	0.6	0.3	3	0.1	0.12	0.5	0.06	1.2	0.28	17	19.2	4.6	4.9 x 10 ⁻³	3.6 x 10 ⁻¹	7.5 x 10 ⁻¹	1.8
carageenan-tiocarb	0.75	0.5	4	0.1	0.13	0.47	0.08	1.5	0.34	17	19.8	4.8	6.7 x 10 ⁻³	8.3 x 10 ⁻¹	5.7 x 10 ⁻¹	2.6

A model was developed and validated for free and immobilized cells growth, total acid production and substrate utilization. The biomass and production model was considered advantageous since the inhibitory effect could be adjusted by modifying the toxic powers which are affected by environmental conditions, and hence the model appeared applicable for a wide range of culture conditions. Kinetic analysis showed differences in behavior between free and immobilized cells. Indeed, medium composition and the type of coating material affected significantly kinetic data, and hence the appeared helpful for primary estimation of nutrition limitations or the suitability of coating materials against deleterious factors. However, further studies are needed dealing with physical properties of biopolymers as coating materials and the modifications of their properties during fermentation in complex media with or without pH control. The above results showed that for increasing protect effect of coating materials against environmental deleterious factors, transport limitation occurred, which is disadvantageous for cell formation. New methods to produce applicable coating materials appear therefore as an important task.

แบบฝึกหัดข้อที่ 1

จงหา t_d , P_m

ให้ $-Y_{p/s} = 0.45$ กรัมของ product
กรัมของ substrate
- $S_o = 9.23 \text{ g/l}$

แบบฝึกหัดข้อที่ 2

เชื้อ A เลี้ยงแบบ batch จะได้

Time (h ⁻¹)	Cell concentration (g/l)	Glucose concentration (g/l)
0	1.25	100
6	2.45	97
12	3.1	90.4
18	5.5	76.9
24	22	48.1
30	33	20.6
36	37.5	9.38
42	41	0.63

จงหา 1. μ

2. substrate yield

3. X_m เมื่อใส่กลูโคส 150 g/l

ไคเนติกส์(จลนพลศาสตร์)ของการหมัก

■ เทคโนโลยีการหมัก

อาจารย์ ดร. หัสลินดา บินมะแอ

คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร
มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา