

## บทที่ 4

### วิจารณ์ผลการทดลองและสรุป

#### 4. วิจารณ์ผลการทดลองและสรุป

งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมของการแยกแอล-ไลซีนจากน้ำหมักและทำให้เข้มข้นโดยเรซินแลกเปลี่ยนประจุภาค ทาการศึกษาทั้งในระบบแบบทซ์และระบบคอลัมน์ เพื่อหาที่มีข้อมูลเบื้องต้นเพียงพอในการนำไปใช้ในทางปฏิบัติจริง

##### 4.1 ขั้นตอนการแยกแอล-ไลซีนด้วยแคตไอออนเรซิน

##### 4.1.1 ระบบแบบทซ์

ระบบแบบทซ์ เป็นระบบที่ใช้ศึกษาในขั้นเบื้องต้นของปรากฏการณ์การดูดซับและการชะล้างที่ส่งผลกระทบต่อขั้นตอนทั้งสอง และการหาค่าคงที่ selectivity coefficient เป็นค่าที่แสดงถึงประสิทธิภาพการเกาะของแอล-ไลซีนที่เรซิน ซึ่งพอร์มที่เหมาะสมคือ divalent แคตไอออน ต้องปรับค่า pH ให้อยู่ในช่วง 1-2.5 จะให้ค่าสูงคือ 5.87(46) ผลการทดลองได้ค่าใกล้เคียงคือ 5.78 และถ้าสิ่งปนเปื้อนในน้ำหมักมีค่า selectivity coefficient ใกล้เคียงจะทำให้ประสิทธิภาพการแยกต่ำลง สำหรับการศึกษาค่า pH เริ่มต้นที่เหมาะสมของน้ำหมักในขั้นตอนการดูดซับ มีปริมาณการดูดซับเพิ่มขึ้นจากค่า pH 0.5 และมีค่าสูงสุดที่ pH 2.0 ค่า pH สูงขึ้นจากนั้นปริมาณการดูดซับลดลงโดยตลอด เนื่องจาก pH ของสารละลายที่จุดอิ่มตัวของ pH ที่สูงกว่า 2.0 มีค่า 2.5-7.8 ทำให้แอล-ไลซีนอยู่ในพอร์ม monovalent แคตไอออน ซึ่งมีค่า selectivity coefficient ที่ต่ำมากคือ 0.4(46) เป็นสาเหตุให้มีปริมาณการดูดซับลดลง

##### 4.1.2 ระบบคอลัมน์

ระบบคอลัมน์เดี่ยวเป็นระบบที่มีปริมาณเรซินอยู่จำกัด แอล-ไลซีนจะถูกดูดซับที่เรซินภายใต้สภาวะที่กำหนด ในขณะที่เดียวกันสิ่งปนเปื้อนก็ถูกขจัดออก และสารละลายแอล-ไลซีนโรมันไฮดรอลอยไรต์ที่เข้มข้นมากเกินไปจะเพิ่มปริมาณการดูดซับที่เรซินได้มากที่สุด ก่อนที่จะรั่วออกจากคอลัมน์ ตรงจุดนี้เรียก breakthrough curve เป็นการวัดปริมาณความจุสูงสุดของคอลัมน์ ซึ่งจากงานวิจัยนี้ได้ค่า 75 เปอร์เซ็นต์และค่าผลิตผลกลับคืน 95 เปอร์เซ็นต์ เป็นค่าสูงสุดภายใต้สภาวะที่กำหนดคือ ปริมาณเรซิน 10 กรัมและปริมาณแอล-ไลซีนโรมันไฮดรอลอยไรต์

2465.8 มก. สำหรับสภาวะที่เหมาะสมของกระบวนการจะทำการพิจารณาปัจจัยที่มีอิทธิพลได้แก่ pH อุณหภูมิ ชนิดของตัวชะ เป็นต้น เพื่อช่วยปรับปรุงประสิทธิภาพของกระบวนการให้ดียิ่งขึ้น

#### 4.1.2.1 ปัจจัยของตัวชะ

จากการศึกษาการใช้ตัวชะชนิดที่เป็นต่างคือ 2 โรมลาร์แอมโรมเนียมไฮดรอกไซด์ในการแยกแอล-ไลซีนจากน้ำหมักด้วยระบบคอลัมน์เดี่ยว พบว่าสารละลายแอล-ไลซีนที่ชะออกมาจะมีสภาพเป็นด่างมากคือมีค่า pH 10-11 นอกจากนั้นเรซินที่ผ่านการใช้งานแต่ละรอบต้องผ่านขั้นตอนการคืนสภาพโดยการล้างด้วยน้ำกลั่น เพื่อชะเอาแอมโรมเนียมไอออนออกก่อนนำไปใช้งานในรอบต่อไป และฟีด(feed)ที่ได้จากขั้นตอนการชะไม่ได้พิจารณาถึงจุดที่คั่งและไม่คั่งค่าต่อการชะด้วยต่าง ซึ่งส่วนท้ายของการชะมีปริมาณแอล-ไลซีนค่อนข้างเจือจาง ซึ่งเมื่อพิจารณาแล้วจะเห็นว่าไม่คั่งกับปริมาณต่างที่ใช้ในการชะ งานวิจัยนี้ได้ศึกษาปริมาณที่เหมาะสมของการใช้ต่างรวมทั้งกรด 2 โรมลาร์ไฮโดรคลอริก เพื่อตั้งค่า pH ของสารละลายส่วนที่ชะให้ต่ำลงและการใช้น้ำกลั่นแทนที่ในขั้นตอนท้ายสุด เพื่อการปรับสภาพเรซินให้เหมาะสมกับการนำไปใช้งานในรอบต่อไป เป็นการคืนสภาพของเรซินไปในตัวในระหว่างขั้นตอนการชะ จากการทดลองได้ปริมาณต่างและกรดที่เหมาะสมคือ 20 และ 22 มล.ตามลำดับ สามารถลดปริมาณต่างลงได้ 65 เปอร์เซ็นต์ ได้ค่าเปอร์เซ็นต์ผลผลิตผลกลับคืนสูงสุด 83 เปอร์เซ็นต์ ตัวชะนี้ทำให้เรซินได้รับการคืนสภาพจากการล้างด้วยน้ำกลั่นจนมีสภาพเป็นกลาง เมื่อสิ้นสุดขั้นตอนการชะ สามารถใช้งานเรซินในรอบถัดไปได้อย่างต่อเนื่องโดยไม่ต้องมีขั้นตอนการคืนสภาพเรซิน ซึ่งเป็นการลดปริมาณการใช้น้ำในขั้นตอนดังกล่าวด้วย

#### 4.1.2.2 ปัจจัยของการแช่เรซินเพื่อให้ถึงจุดอิ่มตัว

มีรายงานการเพิ่มประสิทธิภาพในขั้นตอนการชะ โดยการแช่เรซินจากขั้นตอนการดูดซับในสารละลายตัวชะอย่างน้อย 30 นาที เพื่อให้ถึงจุดอิ่มตัวในการชะ ทำให้แอล-ไลซีนส่วนที่ชะออกมามีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น ช่วยลดพลังงานในการทำให้เข้มข้น และผลิตภัณฑ์แอล-ไลซีนที่ได้มีเปอร์เซ็นต์ความบริสุทธิ์สูงขึ้น(65) จึงทำการแปรเวลาการแช่เรซินในทั้ง 2 ขั้นตอนเพื่อหาเวลาที่จะถึงจุดอิ่มตัว ผลการทดลองในขั้นตอนการดูดซับเปอร์เซ็นต์การดูดซับจากการแปรเวลาการแช่เรซินในสารละลายแอล-ไลซีน ให้ค่าเท่ากับกรณีที่ไม่มีการแช่ แสดงว่าอัตราการไหลที่ใช้เพียงพอทำให้เรซินถึงจุดอิ่มตัวในการดูดซับ สำหรับในขั้นตอนการชะต้องแช่เรซินในตัวชะต่าง 2 โรมลาร์แอมโรมเนียมไฮดรอกไซด์อย่างน้อย 30 นาที เพื่อให้ถึงจุดอิ่มตัวในการชะ

แสดงว่าปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยนไอออนในขั้นตอนการดูดซับเกิดขึ้นในเวลาสั้น สาเหตุอาจเนื่องมาจากแอล-ไลซีนในขั้นตอนนี้มีสภาพ divalent แคตไอออน มีความสามารถในการแลกเปลี่ยนไอออนกับเรซินได้ดีกว่าแอมรโมเนียมไอออนในขั้นตอนการชะ เนื่องจากมีสภาพ monovalent แคตไอออน ซึ่งต้องการเวลามากกว่าในการเข้าสู่สภาวะอิ่มตัว จากผลการทดลองทำให้สารละลายในส่วนฟีดเข้มข้นขึ้นประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ และค่าเปอร์เซ็นต์ผลผลิตกลับคืนเพิ่มสูงขึ้นเป็น 90 เปอร์เซ็นต์

#### 4.1.2.3 ปัจจัยของอุณหภูมิ

สำหรับปัจจัยของอุณหภูมิ เนื่องจากประเทศของผู้ประกอบการในอุตสาหกรรมนี้ ส่วนใหญ่ตั้งอยู่ในเขตหนาว อุณหภูมิของระบบในกระบวนการแยกจึงอยู่ในช่วง 20-25 °C ในการทดลองจำเป็นต้องเพิ่มระบบทำความเย็นช่วยควบคุมอุณหภูมิ ในการทดลองนี้จึงทำการศึกษาที่สภาวะอุณหภูมิโดยเฉลี่ยของประเทศไทยคือ 31 °C ซึ่งผลที่ได้พบว่าปริมาณการดูดซับและการชะไม่มีความแตกต่างจากการใช้ที่อุณหภูมิ 25 °C สามารถใช้แทนเป็นอุณหภูมิของระบบได้โดยไม่ต้องใช้ระบบควบคุมอุณหภูมิ เมื่อทำการแปรอุณหภูมิในขั้นตอนการดูดซับและการชะ พบว่าอุณหภูมิที่สูงขึ้นไม่มีผลต่อปริมาณการดูดซับของแอล-ไลซีนที่เรซิน สำหรับในขั้นตอนการชะพบว่าอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นมีผลทำให้เปอร์เซ็นต์ผลผลิตกลับคืนเพิ่มขึ้นสูงสุดที่ 40 °C แต่ที่สภาวะนี้ต้องมีระบบทำความร้อนช่วยควบคุมอุณหภูมิ ซึ่งในจุดนี้ต้องพิจารณาถึงความคุ้มค่าของการเพิ่มต้นทุนกระบวนการต่อหน่วยการเพิ่มของเปอร์เซ็นต์ผลผลิตกลับคืน งานวิจัยนี้เน้นประสิทธิภาพของกระบวนการแยกที่ต้องใช้พลังงานน้อยที่สุด เพื่อให้ต้นทุนของกระบวนการต่ำสุด สำหรับที่อุณหภูมิ 50 และ 60 °C มีผลให้เกิดฟองก๊าซในระหว่างการชะด้วย 2 รมลาร์แอมรโมเนียมไฮดรอกไซด์ ซึ่งอาจเป็นฟองก๊าซของแอมรโมเนียเนื่องจากตัวชะมีแอมรโมเนียอยู่ 3.4 เปอร์เซ็นต์ และแอมรโมเนียเองมีจุดเดือดต่ำคือ -33.35 °C(147) ที่อุณหภูมิสูงกว่า 40 °C อาจทำให้เกิดฟองก๊าซแอมรโมเนียขึ้นจำนวนมากรวมทั้งเป็นการทำงานในระบบปิด จึงเกิดการรวมตัวเป็นฟองก๊าซขนาดใหญ่ ทำให้ระบบในขั้นตอนการชะขาดความต่อเนื่องและเปอร์เซ็นต์ผลผลิตกลับคืนลดลง ฉะนั้นที่อุณหภูมิสูงกว่า 40 °C ไม่เหมาะสมกับระบบการแยก และจากการศึกษาจุดอิ่มตัวในขั้นตอนการดูดซับและการชะที่อุณหภูมิต่างๆ พบว่าใช้เวลาเท่ากันกับการศึกษาที่อุณหภูมิ 25 °C

#### 4.1.2.4 ปัจจัยของอัตราการไหล

อัตราการไหลของระบบทดลองแปรโดยใช้ค่า space velocity (SV) หน่วย  $\text{ชม}^{-1}$  ตามสูตรการคำนวณตามวิธีการทดลองข้อที่ 2.3.5 เพื่อให้หน่วยอัตราการไหลสัมพันธ์เทียบกับหน่วยปริมาตรคอลัมน์ ผลการแปรอัตราการไหลทั้ง 2 ขั้นตอน อัตราการไหลในขั้นตอนการดูดซับและการชะที่ต่ำลงมีผลทำให้เปอร์เซ็นต์การดูดซับและเปอร์เซ็นต์ผลิตผลกลับคืนสูงขึ้น อัตราการไหลที่ต่ำลงคือ การเพิ่มเวลาให้กับแอล-ไลซีนในการเข้าเกาะเรซินได้มากขึ้นในขั้นตอนการดูดซับ และทำให้เวลากับตัวชะในการชะเอาแอล-ไลซีนที่เกาะที่เรซินได้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น ผลของปัจจัยนี้ควรพิจารณาประกอบกับจำนวนคอลัมน์เรซินในระบบ อัตราการไหลที่ทำให้เปอร์เซ็นต์การดูดซับและเปอร์เซ็นต์ผลิตผลกลับคืนสูงสุดเหมาะสมกับระบบคอลัมน์เดี่ยว แต่ถ้าเป็นระบบหลายคอลัมน์ควรพิจารณาอัตราการไหลที่สูงขึ้น เนื่องจากในระบบยังมีคอลัมน์ถัดไปมารองรับการร่วออกจากคอลัมน์แรก สิ่งที่สำคัญคือ การหาอัตราการไหลที่เหมาะสมกับจำนวนคอลัมน์ในระบบ เพื่อแยกแอล-ไลซีนจากน้ำหมักได้สมบูรณ์และสิ้นเปลืองเวลาของกระบวนการน้อยที่สุด

#### 4.1.2.5 ปัจจัยของสิ่งปนเปื้อนจากน้ำหมัก

การศึกษาที่ผ่านมา เป็นการศึกษาสภาวะต่างๆ ที่เหมาะสมในกระบวนการแยกเฉพาะตัวแอล-ไลซีน น้ำสภาวะที่ได้มาศึกษาอิทธิพลของสิ่งปนเปื้อนจากวัตถุดิบในการหมัก โดยพิจารณาประสิทธิภาพของระบบที่เปลี่ยนไป จากค่าเปอร์เซ็นต์การดูดซับและเปอร์เซ็นต์ผลิตผลกลับคืน งานวิจัยนี้ใช้เชื้อ *B. lactofermentum* ATCC 21798 เลี้ยงในถังหมักขนาด 5 ลิตร สภาวะของการหมักตามวิธีการทดลองข้อ 2.3.6.4(ข.) ได้ผลผลิตสูงสุด 8.622 กรัมต่อลิตรในชม.ที่ 76 และหยุดการหมักเมื่อผลผลิตแอล-ไลซีนเริ่มลดลง จากนั้นนำน้ำหมักที่ได้ไปปั่นแยกเซลล์ แล้วแยกเอาเฉพาะส่วนน้ำใสไปใช้ในขั้นตอนการแยกแอล-ไลซีน ด้วยคอลัมน์แคตไอออนเรซินจากสภาวะเหมาะสมที่ได้ทำการศึกษาไว้ แต่เนื่องจากน้ำหมักที่ได้จากการทดลองมีความเข้มข้นของแอล-ไลซีนต่ำ จึงเติมผลึกแอล-ไลซีนโรมันไฮดรอลอยด์ลงไป เพื่อให้ น้ำหมักมีความเข้มข้นใกล้เคียงกับสภาพจริงในทางอุตสาหกรรม ผลการทดลองได้เปอร์เซ็นต์การดูดซับและเปอร์เซ็นต์ผลิตผลกลับคืน 63 และ 72 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ มีค่าลดลง 12 และ 18 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ การนำผลการทดลองไปใช้ในทางปฏิบัติต้องคำนวณปริมาณแอล-ไลซีนที่ผลิตได้ให้สัมพันธ์กับปริมาณเรซินที่ดูดซับแอล-ไลซีนได้สมบูรณ์

#### 4.2 ขั้นตอนการปรับสภาพ pH และระเหยให้เข้มข้นถึงจุดอิ่มตัวของการละลายเพื่อตกผลึก

เมื่อชะแอล-ไลซีนที่แยกจากน้ำหมักออกมาแล้วขั้นตอนต่อไปในกระบวนการคือ การปรับสภาพ pH ของสารละลายจากนั้นนำไประเหยให้มีความเข้มข้นจนถึงจุดอิ่มตัวของการละลายเพื่อตกผลึก ผลึกที่ได้มีความชื้นค่อนข้างสูงทุก pH ยกเว้น pH 6.0 การวิเคราะห์ผลึกแอล-ไลซีนที่ได้จากการเตรียมที่ pH ต่างๆ ด้วยวิธีแมสสเปกโตรมิเตอร์ ไรดยาสตัวอย่างผ่านเครื่องลิควิดโครมาโตกราฟี พบว่า pH มีผลต่อผลึกแอล-ไลซีนอย่างมาก กราฟที่ได้มีพีคของสารที่มีมวลโมเลกุล 129 และ 190 บนอยู่ในปริมาณสูงมาก ซึ่งพีคแรกอาจเป็นแอล-ไลซีนที่สูญเสียหมู่อะมิโนไป 1 หมู่ จากการแตกตัวเมื่อวิเคราะห์ด้วยแมสสเปกโตรมิเตอร์ หรือปรับสภาพ pH ด้วยสารละลายแอมโมเนีย 35 เปอร์เซ็นต์และกรดไฮโดรคลอริก 37 เปอร์เซ็นต์ และพีคที่มีมวลโมเลกุล 190 คาดว่าอาจเป็นคาร์บอนไดออกไซด์รวมกับแอล-ไลซีนที่สูญเสียหมู่อะมิโนไป 1 หมู่ ซึ่งพีคนี้เกิดขึ้นที่ pH ต่างๆ ยกเว้น pH 6.0 มีรายงานค่า pH ของสารละลายในการตกผลึกที่ 5.5(148) สำหรับค่า isoelectric point ของแอล-ไลซีนคือ 9.47 โมเลกุลมีความเป็นกลางทางประจุ แต่การตกผลึกที่สภาวะต่างนี้จะได้ผลึกในฟอร์มเบตา ซึ่งดูความชื้นได้ดีกว่าฟอร์มแอลฟาที่ได้จากการตกผลึกที่สภาวะกรด(75) และมีรายงานว่าที่ความชื้นสูง ผลึกแอล-ไลซีนมีความสามารถดูดซับคาร์บอนไดออกไซด์ได้(116) ซึ่งคาร์บอนไดออกไซด์ได้จากปฏิกิริยาของกาซคาร์บอนไดออกไซด์กับน้ำ แล้วเข้าร่วมตัวกับแอล-ไลซีนที่สูญเสียหมู่อะมิโนไป 1 หมู่ เป็นเหตุให้มีปริมาณแอล-ไลซีนลดลง ดังนั้นค่า pH ของสารละลายก่อนการตกผลึกที่เหมาะสมคือ 5.5-6.0 จะให้ผลึกที่มีความบริสุทธิ์สูงที่สุด

#### 4.3. ขั้นตอนการอบผลึกให้แห้ง

ผลึกที่ได้นำไปอบให้แห้งในอุณหภูมิที่เหมาะสม เนื่องจากผลึกอาจถูกทำลายหรือเกิดการออกซิเดชันจากความร้อนของการอบ(149) ผลการทดลองข้อ 3.3 ค่าสเปซิฟิกออกพิกัลไรเทนชันของผลึกจากการเตรียมมีค่าต่ำกว่ามาตรฐานในช่วง +2 - +3 จากการทดลองอบผลึกที่อุณหภูมิ 40 °ซ ซึ่งตรงกับการรายงานการอบผลึกที่อุณหภูมิ 40 °ซ จะทำให้ผลึกที่ได้อยู่ในฟอร์มไคโรเดรท(150) นอกจากนี้ยังมีรายงานการทำผลึกแห้งอย่างช้าๆ ที่อุณหภูมิห้องก็ทำให้ผลึกอยู่ในฟอร์มไคโรเดรทเช่นกัน(151-153) รวมทั้งในการอบที่อุณหภูมิต่ำเกินไปอาจทำให้ความชื้นสัมพัทธ์ในตู้อบสูง มีการรายงานว่าผลึกแอล-ไลซีนโมโนไฮโดรคลอไรด์ไม่ดูความชื้นที่ความ

ขึ้นสัมพัทธ์ 51 เปอร์เซ็นต์ แต่ที่ความขึ้นสัมพัทธ์ 75 เปอร์เซ็นต์ผลึกจะดูหนาไว้ 2 รมลาร์ (154) และที่ความขึ้นสัมพัทธ์ 76 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 40 °ซ ผลึกจะพอร์มตัวในรูปเบตา ซึ่งเป็นพอร์มที่ดูความขึ้นได้ดีกว่ารูปแอลฟา และจะรวมตัวจับกันเป็นก้อนแข็งเมื่อเก็บในถุง สำหรับกระบวนการผลิตแอล-ไลซีนในโรงไฮดรอลอยไรต์ให้อยู่ในรูปแอลฟา แอนไฮดริสพอร์ม ต้องอบผลึกที่อุณหภูมิ 115 °ซ หรือสูงกว่า อัตราการเพิ่มอุณหภูมิอย่างน้อย 1 °ซ ต่อนาที ผลึกที่ได้จะมีขนาดน้อยกว่า 4 ไมโครเมตร และผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความเสถียรในบรรจุภัณฑ์ (75) ผลิตภัณฑ์นี้ใช้สำหรับเสริมในอาหารสัตว์ มีปริมาณของแอล-ไลซีนในโรงไฮดรอลอยไรต์และแอล-ไลซีนไม่น้อยกว่า 98 และ 78.4 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ(12)

#### 4.4. การวิเคราะห์ปริมาณแอล-ไลซีนด้วยวิธีไอออนโครมาโทกราฟี

ได้ทดลองวัดปริมาณแอล-ไลซีนโดยวิธีไอออนโครมาโทกราฟีเพื่อให้ได้ค่าแม่นยำ พบว่าวิธีการวิเคราะห์ปริมาณแอล-ไลซีนด้วยวิธีไอออนโครมาโทกราฟียังไม่มีความเหมาะสม ไอออนโครมาโทกราฟีเป็นวิธีการตรวจวิเคราะห์หาสารอินทรีย์และสารอินทรีย์ที่มีประจุ โดยใช้คอลัมน์ที่มีความจุต่ำกว่าดีเทคเตอร์ชนิดวัดค่าการนำไฟฟ้า (155) สภาพของระบบในวิธีการทดลองข้อที่ 5.2 กราฟมาตรฐานของแอล-ไลซีนมีเวลาที่เหมาะสมของสารที่อยู่ในคอลัมน์ 4.7 นาที ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างพบว่ามีแอล-ไลซีนปริมาณต่ำลงมาก เมื่อเทียบกับผลการวิเคราะห์ด้วยไนไฮดรินรีเอเจนต์ และทุกตัวอย่างที่ทำการวิเคราะห์มีพีค unknown แสดงที่เวลาต่างๆ ด้วยได้แก่ นาทีที่ 2-3 และ 6 นาที เมื่อนำตัวอย่าง unknown มาวิเคราะห์ด้วยวิธีแมสสเปกโตรมิเตอร์โดยใส่ตัวอย่างผ่านเครื่องลิควิดโครมาโทกราฟี เปรียบเทียบกับพีคของแอล-ไลซีนพบว่ามีแอล-ไลซีนในปริมาณต่ำร่วมกับสิ่งปนเปื้อนมวลโมเลกุลต่างๆ และ unknown แต่ละตัวมีมวลโมเลกุลของสิ่งปนเปื้อนต่างกัน ผลการวิเคราะห์นี้สันนิษฐานว่าเกิดจากการเตรียมตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์ต้องทำให้ตัวอย่างมีประจุ โดยการเจือจางตัวอย่างในสารละลายกรดไนตริก 5 มิลลิโมลลาร์ เป็นผลให้ตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์รวมทั้งสิ่งปนเปื้อนในตัวอย่างมีประจุ สิ่งปนเปื้อนที่มีประจุเหล่านี้ อาจเกิดการรวมตัวกับโมเลกุลของแอล-ไลซีนบางส่วน ทำให้แอล-ไลซีนบางส่วนมีค่าการนำไฟฟ้าเปลี่ยนไป รวมทั้งเวลาที่เหมาะสมของสารที่อยู่ในคอลัมน์ด้วย จึงปรากฏเป็นพีคของสารประกอบเหล่านี้ที่เวลาต่างๆ เพิ่มขึ้น เป็นสาเหตุให้แอล-ไลซีนที่วิเคราะห์ได้มีค่าลดลง

การวิเคราะห์ปริมาณแอล-ไลซีนโรมันไฮโดรคลอไรด์สำหรับงานวิจัยนี้ ใช้วิธีวัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ทำปฏิกิริยากับนินไฮดรินรีเอเจนต์ตามวิธีของ Pomthong (1989) (104) ยกเว้นค่าความยาวคลื่นที่ 440 นาโนเมตร เนื่องจากการทดลองพิจารณาภาวะต่างๆ ศึกษาโดยใช้สารละลายแอล-ไลซีนโรมันไฮโดรคลอไรด์เกรดผสมอาหารสัตว์ ซึ่งมีความบริสุทธิ์ 98.5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งถือว่ามีความบริสุทธิ์สูง ทำให้แน่ใจว่าไม่ได้รับผลกระทบจากสิ่งปนเปื้อนในการวิเคราะห์ และเนื่องจากวิธีการนี้ Pomthong (1989) ใช้วิเคราะห์ปริมาณแอล-ไลซีนโรมันไฮโดรคลอไรด์ในน้ำหมักสำหรับงานวิจัย ฉะนั้นหัวข้อ 3.2.6 ศึกษาปัจจัยของสิ่งปนเปื้อนจากน้ำหมักแอล-ไลซีนจึงใช้วิธีการเดียวกันนี้ในการวิเคราะห์

งานวิจัยนี้มุ่งพัฒนาสถานะที่เหมาะสมในการแยกแอล-ไลซีนจากน้ำหมัก เพื่อให้มีความจุแอล-ไลซีนในขั้นตอนการดูดซับ และปริมาณผลิตผลกลับคืนในขั้นตอนการชะสูงที่สุดในหนึ่งคอลัมน์ โดยเป็นการแยกที่มีประสิทธิภาพ ในกระบวนการที่พยายามใช้สารเคมีประกอบการน้อยที่สุดเท่าที่ทำได้ ระบบนี้ใช้ปริมาณ 2 โวลต์แอมโวลเนียมไฮดรอกไซด์และ 2 โวลต์กรดไฮโดรคลอริกเป็นตัวชะ 20 และ 22 มล. ตามลำดับต่อเรซิน 10 กรัม ปริมาณแอล-ไลซีนเริ่มต้น 2465.8 มก. และตัวชะนี้ทำให้เรซินคืนสภาพไปในตัวเมื่อสิ้นสุดขั้นตอนการชะ ช่วยลดขั้นตอนการคืนสภาพเรซิน และลดปริมาณการใช้น้ำในส่วนนี้ ในขั้นตอนการชะเพิ่มขั้นตอนการแช่เรซินใน 2 โวลต์แอมโวลเนียมไฮดรอกไซด์ ทำให้สารละลายส่วนที่ชะออกมีเปอร์เซ็นต์ผลิตผลกลับคืนและความเข้มข้นสูงขึ้น นอกจากนี้ยังเป็นระบบการทำงานที่อุณหภูมิสภาพแวดล้อมของประเทศไทยคือประมาณ 31 °C สำหรับการนำผลการทดลองไปใช้ในทางปฏิบัติ ต้องคำนวณปริมาณแอล-ไลซีนที่ผลิตได้ให้สัมพันธ์กับปริมาณเรซินที่จะดูดซับแอล-ไลซีนได้สมบูรณ์ สำหรับน้ำหมักที่ผ่านขั้นตอนการแยกแอล-ไลซีนออกจากคอลัมน์แล้ว นำสารละลายส่วนนี้มาปรับ pH ที่ 5.5-6.0 แล้วนำไประเหยให้เข้มข้นจนถึงจุดอิ่มตัวของการละลายเพื่อตกผลึก ผลึกที่ได้นำไปอบที่อุณหภูมิ 115 °C หรือมากกว่า อัตราการเพิ่มอุณหภูมิอย่างน้อย 1 °C ต่อนาทีจนแห้งสนิท จะได้ผลึกที่มีลักษณะเป็นเม็ดเล็ก ๆ มีสีขาวครีม และไม่จับตัวกัน เป็นก้อนมีลักษณะทางเคมีและฟิสิกส์ตรงตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม