

ผลของพีเอชตั้งต้นต่อการแบ่งตัวของเซลล์ BHK-21 C₁₃ ในงานเพาะเลี้ยงเซลล์เพื่อผลิตวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย

อารีย์ เกตุสุวรรณวงศ์¹ ภูทอง เนาวรัตน์พนมมาศ¹

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์ผลของ pH เริ่มต้นที่มีต่อการแบ่งตัวของเซลล์ BHK-21 C₁₃ ในถังเพาะเลี้ยงขนาด 50 และ 100 ลิตร ด้วย มีเดีย GM5 5% bovine calf serum ที่มีค่า pH ต่างกันจำนวน 54 ครั้ง และ 32 ครั้ง ตามลำดับ ในงานเพาะเลี้ยงเซลล์เพื่อ การผลิตวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย ระหว่างปีงบประมาณ 2565-2567

พบว่าในถังเพาะเลี้ยงขนาด 50 ลิตร เซลล์ที่เพาะเลี้ยง ด้วยมีเดียที่มีค่า pH เริ่มต้นอยู่ระหว่าง 6.80-7.00 และ 7.01-7.20 มีค่า Multiplication rate เฉลี่ย (Mean±SD) เท่ากับ 4.24 ± 3.06 และ 2.99 ± 2.27 สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างค่า pH ที่สูงขึ้นในช่วง 6.80-7.20 กับค่า Multiplication rate ของเซลล์ถึงเพาะเลี้ยงขนาด 50 ลิตร เท่ากับ -0.14

ในถังเพาะเลี้ยงขนาด 100 ลิตร เซลล์ที่เพาะเลี้ยงในมีเดียที่มีค่า pH เริ่มต้นอยู่ระหว่าง 6.80-7.00 และ 7.01-7.20 มีค่า Multiplication rate เฉลี่ย (Mean±SD) เท่ากับ 4.54 ± 2.02 , 3.43 ± 1.87 ตามลำดับ และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างค่า pH ที่สูงขึ้นในช่วง 6.80-7.20 กับค่า Multiplication rate ของเซลล์ถึงเพาะเลี้ยงขนาด 100 ลิตร เท่ากับ -0.23

จากผลการศึกษานี้ สรุปได้ว่าเซลล์ BHK-21 C₁₃ ที่ใช้ในงานผลิต ของฝ่ายผลิตวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยที่เพาะเลี้ยง ในมีเดียที่มีค่า pH เริ่มต้น อยู่ในช่วง 6.80-7.00 มีการแบ่งตัวได้ดี ทั้งในถังขนาด 50 และ 100 ลิตรและเมื่อค่า pH สูงขึ้นเซลล์จะแบ่งตัวได้น้อยลง

คำสำคัญ เซลล์ BHK-21 C₁₃ การแบ่งตัวของเซลล์ pH

¹สำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา 30130

Effects of Initial pH on BHK-21 C₁₃ Cell Multiplication rate in FMD vaccine Production

Aree katsuwonawong ¹ Phutong nowarutpranommat ¹

Abstract

This study aimed to analyze the effect of initial pH on the proliferation of BHK-21 C₁₃ suspension cells cultured in 50-liter and 100-liter bioreactors using GMS medium supplemented with 5% bovine calf serum. A total of 54 and 32 culture runs were conducted in the 50-liter and 100-liter bioreactors, respectively, during foot-and-mouth disease (FMD) vaccine production between fiscal years 2022 and 2024.

In the 50 liter bioreactor, cells cultured in medium with an initial pH of 6.80–7.00 and 7.01–7.20 showed mean ($\pm$ SD) multiplication rates of 4.24 ± 3.06 and 2.99 ± 2.27 , respectively. The correlation coefficient between higher initial pH values (6.80–7.20) and the multiplication rate in the 50 liter bioreactor was - 0.14.

In the 100-liter bioreactor, cells cultured in medium with an initial pH of 6.80–7.00 and 7.01–7.20 showed mean ($\pm$ SD) multiplication rates of 4.54 ± 2.02 and 3.43 ± 1.87 , respectively. The correlation coefficient between higher initial pH values (6.80–7.20) and the multiplication rate in the 100-liter bioreactor was - 0.23.

These findings indicate that BHK-21 C₁₃ cells used in FMD vaccine production proliferate more effectively in medium with an initial pH range of 6.80–7.00 in both 50 liter and 100 liter bioreactors, whereas higher initial pH levels are associated with reduced cell proliferation.

Key words : BHK-21 C₁₃ suspension cell , cell multiplication rate, pH

¹ Bureau of Veterinary Biologics, Pakchong, Nakonratchasima 30130

บทนำ

การผลิตวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยของสำนักเทคโนโลยีชีวภัณฑ์สัตว์ (สทช.) เริ่มจากการเพาะเลี้ยงเซลล์แบบ suspension cell culture ในถังเพาะเซลล์ (Rhone Merieux, 1986b) ด้วย Medium with serum (Rhone Merieux, 1986a) และเพิ่มปริมาณไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อยในเซลล์ (Rhone Merieux, 1986c) ทำการตกตะกอนและทำการขจัดกากเซลล์ออกโดยเครื่อง continuous centrifuge นำน้ำไวรัสเข้าสู่กระบวนการทำเข้มข้น ทำบริสุทธิ์ด้วยสารเคมี (Rhone Merieux, 1986d) หลังจากนั้นทำให้เชื้อไวรัสหมดความรุนแรงโดยใช้สารเคมี ไบนารีเอทิลีน เอมีน(BEI) (พยนต์, 2547 ; Bahnemann,1990) ไวรัสที่ทำให้หมดฤทธิ์แล้วไปคำนวณหาปริมาณอนุภาค 146 S ไวรัส (Rhone Merieux, 1986f) นำแอนติเจนไวรัสที่ผ่านการคำนวณหาปริมาณอนุภาค 146 S ไวรัสแล้วไป ผสมกับสารแอดจูแวนท์ และอิมัลซิไฟเออร์เป็นวัคซีนสำเร็จรูป (Rhone Merieux, 1986e) เพื่อใช้ในการควบคุมโรคในประเทศต่อไป

ตามขั้นตอนการผลิตวัคซีนดังกล่าว ในส่วนของการเพาะเซลล์ ของฝ่ายผลิตวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย จะเริ่มเพาะขยายเซลล์จาก liquid nitrogen ไปยังขวด 500 มล. ถังเพาะเซลล์ขนาด 50 ลิตร ถังเพาะเซลล์ขนาด 100 ลิตร ถังเพาะเซลล์ขนาด 300 ลิตร ถังเพาะเซลล์ขนาด 2,000 ลิตร และถังเพาะเซลล์ขนาด 5,000ลิตร ตามลำดับ เพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์ให้มีปริมาณมากพอที่จะนำไปเพาะเลี้ยงไวรัสโรคปากและเท้าเปื่อย ผลิตแอนติเจนไวรัสและผสมเป็นวัคซีนตามแผนการผลิตของ สทช. ที่ได้จัดทำไว้ต่อไป

การเพาะเซลล์ในถังเพาะเซลล์ขนาด 50 และ การขยายเซลล์ไปยังขนาด 100 ลิตรจากบันทึกผลการเพาะเซลล์พบว่า เซลล์ BHK-21 C₁₃ มีค่าการแบ่งตัวของเซลล์ (Multiplication rate) ในการเพาะเลี้ยงแต่ละครั้งไม่เท่ากัน ซึ่งจากการตั้งข้อสังเกตพบว่ามีเดียมีที่ใช้เพาะเลี้ยงเซลล์แต่ละชุดนั้นจะมี ค่า pH เริ่มต้นในการเพาะเลี้ยงไม่เท่ากัน มีค่าอยู่ระหว่าง 6.80-7.20 เนื่องจากหลังการเตรียมมีเดียมีและปรับค่า pH แล้ว ขั้นตอนการกรองปลอดเชื้อต้องใช้แรงดันอากาศดันมีเดียมีผ่านตัวกรองปลอดเชื้อ ซึ่งในอากาศแห่งนี้ส่วนใหญ่ จะประกอบด้วยแก๊สไนโตรเจนประมาณ ร้อยละ 78 แก๊สออกซิเจน ประมาณร้อยละ 21 และแก๊สอื่นๆ อีกประมาณ ร้อยละ 1 ได้แก่ แก๊สอาร์กอนประมาณ ร้อยละ 0.93 แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ประมาณ ร้อยละ 0.03 นอกจากนั้น อีกประมาณร้อยละ 0.04 เป็นแก๊สนีออน ฮีเลียม คริปทอน ซีนอน ไฮโดรเจน มีเทน ไนตรัสออกไซด์ และเรดอน (สำนักงานกองทุนสนับสนุนการสร้างเสริมสุขภาพ,2553) องค์ประกอบหลักของมีเดียมีในการเพาะเซลล์ มีน้ำองค์ประกอบหลักเมื่อมีแรงดันอากาศในการกรองปลอดเชื้อผ่านตัวกรอง ประมาณ 3 บาร์ จึงมีผลให้แก๊สออกซิเจน ละลายน้ำเกิดปฏิกิริยารีดักชัน ซึ่งจะทำให้มีเดียมีมีค่า pH สูงขึ้นหลังผ่านการกรองปลอดเชื้อแล้ว และส่งผลให้ค่า pH เริ่มต้นในการเพาะเลี้ยงเซลล์ของถัง 50 และ ถัง 100 ลิตร แต่ละครั้งไม่เท่ากัน ทั้งนี้เมื่อได้เติมมีเดียมีเข้าสู่ถังเพาะเซลล์ขนาด 50 และ 100 ลิตรแล้วไม่สามารถจะปรับค่า pH ด้วยสารเคมีได้อีก จะปรับอุณหภูมิได้ 3 ระดับ 5, 25 และ 37 องศาเซลเซียส รอบการปั่นของใบพัด 80 รอบต่อนาที และตั้งระบบให้อากาศ 10 ลิตรต่อชั่วโมง และให้ O₂ ด้วยระบบอัตโนมัติเมื่อระดับออกซิเจนที่ละลาย (DO) ต่ำกว่าร้อยละ 21 ทั้งนี้ตามข้อกำหนดของงานผลิต กำหนดค่า pH ของมีเดียมีก่อนกรองไว้ 6.80 ± 0.05 (Rhone Merieux, 1986a)

ปัจจัยที่มีผลต่อการเพาะเลี้ยงเซลล์ได้แก่ อุณหภูมิ, pH, Osmolality อากาศ และสารอาหาร (พยนต์, 2543) เซลล์แต่ละชนิดมีการเจริญเติบโตได้ดีในช่วงค่า pH ที่ไม่เท่ากัน Kaysinger and Ramp, (1998) ได้ทำการศึกษาผลของ pH ในการเลี้ยงเซลล์ human osteoblast โดยทำการเพาะเลี้ยงในมีเดียช่วง pH เริ่มต้น 7.0-7.8 ด้วย Hepes-buffered medium แล้ววัดผลการเจริญเติบโตของเซลล์โดย วัดค่า ปริมาณ lactate, alkaline phosphatase, proline hydroxylation, DNA content, และ thymidine หลังทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 48 ชั่วโมงและได้สรุปว่า pH 7.2 ให้ผลดีที่สุดสำหรับการเพาะเลี้ยงเซลล์ human osteoblast

จากผลการศึกษา Carswell and Papoutsakis, (2000) ได้ทำการศึกษาผลของ pH ต่อการเจริญเติบโตในการเพาะเลี้ยง human T cells โดยทำการเพาะเลี้ยงในช่วง pH ที่ต่างกันคือ 7.0, 7.2, 7.4 พบว่าการเพาะเลี้ยงในค่า 7.0 และ 7.2 เซลล์จะโตดีกว่าถึง 3 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับ การเพาะเลี้ยงในค่า 7.4 ซึ่งการทดลองนี้เป็นส่วนหนึ่งที่แสดงให้เห็นถึงผลของ pH ต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ สุรพลและวรพงษ์ (2542) ทำการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเซลล์ BHK-21 C₁₃ ในมีเดียชนิดผงสำเร็จรูปและมีเดียที่เตรียมเองโดยใช้ 5% bovine calf serum pH 6.80 พบว่าเซลล์เจริญเติบโตได้ดี Ghafoora et al., (2025) ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ BHK-21 C₁₃ โดยใช้ 10% bovine calf serum pH 7.20 เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 72 ชั่วโมงพบว่าเซลล์เจริญเติบโตได้ดีเช่นกัน

วัตถุประสงค์ของการศึกษาในครั้งนี้เพื่อวิเคราะห์ผลของ pH เริ่มต้นที่มีต่อการแบ่งตัวของเซลล์ BHK-21 C₁₃ ในถังเพาะเลี้ยงขนาด 50 และ 100 ลิตรด้วย มีเดีย GMS 5% bovine calf serum ที่มีค่า pH ต่างกัน จำนวน 54 ครั้ง และ 32 ครั้ง ตามลำดับ ในงานเพาะเลี้ยงเซลล์เพื่อ การผลิตวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย ระหว่างปีงบประมาณ 2565-2567 โดยแบ่งการเพาะเลี้ยงออกเป็น 2 กลุ่มคือช่วง pH 6.80 - 7.00 และ 7.01-7.20 วิเคราะห์ข้อมูลและเปรียบเทียบข้อมูลทั้ง 2 กลุ่ม ด้วย T-test และหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient) ระหว่างค่า pH กับ ค่า Multiplication rate เพื่อนำผลที่ได้ไปปรับปรุงและพัฒนาการผลิตเซลล์ของฝ่ายผลิตวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยให้มีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น

อุปกรณ์และวิธีการ

1. รวบรวมข้อมูล การเพาะเซลล์ในช่วงปีงบประมาณ 2565-2567 ของถังเพาะเซลล์ ขนาด 50 ลิตร จำนวน 54 ชุดและถังขนาด 100 ลิตร จำนวน 32 ชุด
2. เรียบเรียงข้อมูลของแต่ละถัง แยกกลุ่มตาม ช่วงค่า pH เริ่มต้นในการเพาะเลี้ยงโดยแยกเป็น 2 ช่วงคือ 6.80-7.00 และ 7.01-7.20 บันทึก จำนวนเซลล์เมื่อเริ่มการเพาะเลี้ยง จำนวนเซลล์ที่ 24 และ 48 ชั่วโมงหลังการเพาะเลี้ยงของถังเพาะเซลล์ ขนาด 50 ลิตร และขนาด 100 ลิตร เป็น จำนวนเซลล์/มล. หาค่าเฉลี่ย (Mean) และ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation) คำนวณค่า Multiplication rate โดยคำนวณจาก จำนวนเซลล์ที่เพาะเลี้ยงได้ลบด้วยจำนวนเซลล์เริ่มต้น นำผลที่ได้หารด้วยจำนวนเซลล์เริ่มต้น (อารีย์และวรัญญู, 2546)
3. วิเคราะห์ข้อมูลและเปรียบเทียบ Multiplication rate ของทั้ง 2 ช่วง pH เริ่มต้น ด้วย T-test
4. หาความสัมพันธ์ระหว่าง pH กับค่า Multiplication rate โดยหาค่า Correlation coefficient ทิศทางของความสัมพันธ์ ตามวิธี Pearson's correlation coefficient

Correlation coefficient หาค่าได้จากสูตรการคำนวณ

$$r = \frac{n \sum xy - (\sum x)(\sum y)}{\sqrt{[n \sum x^2 - (\sum x)^2][n \sum y^2 - (\sum y)^2]}}$$

r คือค่า Correlation coefficient ซึ่งมีค่าระหว่าง -1 ถึง +1.

N คือ จำนวนข้อมูลคู่ (x, y) ที่ใช้ในการคำนวณ

Σ (Sigma) หมายถึงผลรวมของค่าทั้งหมด

Correlation coefficient มีค่าได้ตั้งแต่ -1 ถึง 1 ($-1 \leq r \leq 1$) ถ้า Correlation coefficient มีค่าเป็นบวกแสดงว่าเมื่อตัวแปรตัวใดตัวหนึ่งมีค่าเพิ่มขึ้น ตัวแปรอีกตัวหนึ่งจะมีค่าเพิ่มขึ้นด้วย แต่ถ้า Correlation coefficient มีค่าเป็นลบแสดงว่าเมื่อตัวแปรตัวใดตัวหนึ่งมีค่าเพิ่มขึ้น ตัวแปรอีกตัวหนึ่งจะมีค่าลดลง คือเป็นไปในทิศทางตรงกันข้าม ขนาดหรือระดับของความสัมพันธ์พิจารณาจากค่าของ Correlation coefficient ถ้าค่า Correlation coefficient มีค่าเข้าใกล้ +1 หรือ -1 แสดงว่าตัวแปรทั้งสองมีความสัมพันธ์กันมาก แต่ถ้าค่า Correlation coefficient มีค่าเข้าใกล้ 0 แสดงว่าตัวแปรทั้งสองมีความสัมพันธ์กันระดับต่ำหรือไม่มีความสัมพันธ์กันเลย (กรมวิชาการเกษตร, 2563) เครื่องหมาย + หรือ - หน้าตัวเลขแสดงถึงทิศทางของความสัมพันธ์ หาก r มีเครื่องหมาย + หมายถึง มีความสัมพันธ์ไปในทิศทางเดียวกัน และหาก r มีเครื่องหมาย - หมายถึงมีความสัมพันธ์ไปในทิศทางตรงกันข้าม (Moore *et al.*, 2009)

ผล

จากการรวบรวมข้อมูลการเพาะเซลล์ BHK-21 C₁₃ ในถังเพาะเลี้ยงขนาด 50 และ 100 ลิตร ในปีงบประมาณ 2565-2567 จำนวน 54 และ 32 ชุดตามลำดับพบว่าในถังเพาะเลี้ยงขนาด 50 ลิตร ช่วง pH 6.80-7.00 จำนวน 27 ตัวอย่างมีค่าเซลล์เริ่มต้นในการเพาะเลี้ยง เท่ากับ 4.95 ± 2.45 จำนวนเซลล์ที่ 24 ชั่วโมงเท่ากับ 9.02 ± 3.75 จำนวนเซลล์ที่ 48 ชั่วโมงเท่ากับ 20.95 ± 8.51 (รูปที่ 1) และค่า multiplication rate ที่ 24 และ 48 ชั่วโมง เท่ากับ 1.13 ± 0.96 และ 4.24 ± 3.06 (ตารางที่ 1) ช่วง pH 7.01-7.20 จำนวน 27 ตัวอย่างมีค่าเซลล์เริ่มต้นในการเพาะเลี้ยง (Mean $\pm$ SD) เท่ากับ 5.50 ± 2.45 จำนวนเซลล์ที่ 24 ชั่วโมงเท่ากับ 8.91 ± 3.81 จำนวนเซลล์ที่ 48 ชั่วโมงเท่ากับ 19.38 ± 7.62 (รูปที่ 1) และค่า multiplication rate ที่ 24 และ 48 ชั่วโมง เท่ากับ 0.70 ± 0.53 และ 2.99 ± 2.27 (ตารางที่ 1) ค่า multiplication rate ของเซลล์ ทั้ง 2 ช่วง pH เริ่มต้นไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ($P < 0.05$) และจากการหาค่า Correlation coefficient ระหว่าง pH ที่สูงขึ้นกับ multiplication rate ของเซลล์ BHK-21 C₁₃ ในการเพาะเลี้ยงจำนวน 54 ครั้ง เท่ากับ -0.14 (ตารางที่ 3)

ในถังเพาะเลี้ยงขนาด 100 ลิตร ช่วง pH 6.80-7.00 จำนวน 16 ตัวอย่างมีค่าเซลล์เริ่มต้นในการเพาะเลี้ยงเท่ากับ 4.14 ± 1.88 จำนวนเซลล์ที่ 24 ชั่วโมงเท่ากับ 9.34 ± 4.23 จำนวนเซลล์ที่ 48 ชั่วโมงเท่ากับ 21.10 ± 8.79 (รูปที่ 2) และค่า multiplication rate ที่ 24 และ 48 ชั่วโมง เท่ากับ 1.45 ± 1.12 และ 4.54 ± 2.02 (ตารางที่ 2) ช่วง pH 7.01-7.20 จำนวน 16 ตัวอย่างมีค่าเซลล์เริ่มต้นในการเพาะเลี้ยง เท่ากับ 3.89 ± 1.98 จำนวนเซลล์ที่ 24 ชั่วโมงเท่ากับ 8.12 ± 4.91 จำนวนเซลล์ที่ 48 ชั่วโมงเท่ากับ 14.63 ± 4.01 (รูปที่ 2) และค่าการแบ่งตัวที่ 24 และ 48 ชั่วโมงเท่ากับ 1.15 ± 0.57 และ 3.43 ± 1.87 (ตารางที่ 2) ค่า multiplication rate ของเซลล์

ทั้ง 2 ช่วง pH เริ่มต้นไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ($P < 0.05$) และจากการหา Correlation coefficient ระหว่าง pH ที่สูงขึ้นกับ multiplication rate ของเซลล์ BHK-21 C₁₃ ในการเพาะเลี้ยงจำนวน 32 ชุดมีค่าเท่ากับ -0.23 (ตารางที่ 3)

วิจารณ์

จากผลการศึกษาการเพาะเลี้ยงเซลล์ในถังเพาะเลี้ยงขนาด 50 และ 100 ลิตร ในปีงบประมาณ 2565-2567 ในช่วง pH 6.80-7.20 จำนวน 54 ชุดและ 32 ชุดตามลำดับ โดยเก็บตัวอย่างที่ 24 และ 48 ชั่วโมงหลังการเพาะเลี้ยงมีค่า multiplication rate ไปในทางเดียวกันทั้ง 2 ถังโดยในช่วง pH 6.80-7.00 จะมีค่า multiplication rate ที่สูงกว่า ในช่วง pH 7.01-7.20 แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ($P < 0.05$) ในการหาค่า Correlation coefficient ระหว่าง pH ที่สูงขึ้นกับ multiplication rate ของเซลล์ถังเพาะเลี้ยงขนาด 50 ลิตรจำนวน 54 ครั้งมีค่าเท่ากับ -0.14 ถังเพาะเลี้ยงขนาด 100 ลิตรจำนวน 32 ครั้งมีค่าเท่ากับ -0.23 Correlation coefficient มีค่าเป็นลบแสดงว่าเป็นไปในทิศทางตรงกันข้าม ระดับของความสัมพันธ์พิจารณาจากค่าของ Correlation coefficient แสดงถึงเมื่อค่า pH สูงขึ้น multiplication rate ของเซลล์มีแนวโน้มที่จะลดลงแต่ไม่มีผลมากนักเมื่อพิจารณาจากค่าของ Correlation coefficient ที่อยู่ในระดับต่ำ ทั้งนี้ช่วง pH ระหว่าง 7.01-7.20 เป็นช่วงที่เซลล์ยังสามารถปรับตัวในการเจริญเติบโตได้จึงยังไม่มี ความแตกต่างทางสถิติ ($P < > 0.05$) แต่ก็มีอัตราการแบ่งตัวที่เริ่มลดลง

ผลการศึกษาในครั้งนี้ สอดคล้องกับ สันสมุทและสายพิน (2542) ซึ่งได้ศึกษาผลของ pH ต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ IFFA₃ ชนิดแขวนลอยในการผลิตระดับอุตสาหกรรมในช่วง pH 6.80-7.29 โดยแบ่งช่วง pH ออกเป็น 4 ช่วง พบว่าเซลล์ IFFA₃ สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในช่วง 6.80-6.99 ถ้าสูงกว่านั้นเซลล์จะแบ่งตัวได้น้อยลง และเริ่มมีอัตราการแบ่งตัวน้อยลงจนมีความแตกต่างทางสถิติกับกลุ่มอื่น เมื่อ pH มากกว่า 7.20

สรุป

จากการศึกษาในครั้งนี้สรุปได้ว่า ค่า pH เริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการเพาะเซลล์ BHK-21 C₁₃ แบบแขวนลอยในถังเพาะเลี้ยงขนาด 50 และ 100 ลิตร อยู่ในช่วง 6.80-7.00 เมื่อค่า pH เริ่มต้นสูงขึ้นเซลล์จะทำให้ค่า multiplication rate ลดลง

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณะกรรมการพัฒนาวิชาการ น.สพ. ฤทธิ์ถือชัย ปุสูงเนิน ผู้เชี่ยวชาญด้านพัฒนาไวรัสวัคซีน (ที่ปรึกษา) เจ้าหน้าที่หน่วยเตรียมน้ำยาเคมีและซีรัมโครงการ 1 เจ้าหน้าที่หน่วยเซลล์โครงการ 1 ฝ่ายผลิตวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย เจ้าหน้าที่กลุ่มบริการวิชาการและการตลาด เจ้าหน้าที่งานสารสนเทศ ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ในหลายๆด้านสำหรับการจัดทำผลงานในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- พยนต์ สินสุวงศ์วัฒน์ 2547 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับการผลิตวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อย วารสารชีวผลิตภัณฑ์ 14(1) : 1-64
- สินสมุทร นิลฉวีและสายพิน ชุมทรัพย์ 2542 ผลของ pH ต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ IFFA₃ ชนิดแขวนลอย ในการผลิตระดับอุตสาหกรรม วารสารชีวผลิตภัณฑ์ 9 (1-2) : 45-52
- สุรพล ชุมทรัพย์และวรพงษ์ ศรีวิไลฤทธิ์ 2543 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเซลล์ BHK₂₁ C₁₃ ชนิดแขวนลอยใน มีเดียชนิดผงสำเร็จรูปและมีเดียที่เตรียมขึ้นเอง วารสารชีวผลิตภัณฑ์ 10 (1-2) : 9-17
- สำนักงานกองทุนสนับสนุนการสร้างเสริมสุขภาพ, 2553 ส่วนประกอบของอากาศ แหล่งที่มา <https://www.thaihealth.or.th/?p=232999> 9 มีนาคม 2568
- อารีย์ เกตุสุวรรณวงศ์และวรัญญู ชมเฟื่องแก้ว ผลของสารต้านจุลชีพ Marbofloxacin ต่อการเพิ่มจำนวนของ เซลล์ IFFA-3 วารสารชีวผลิตภัณฑ์ 13 (1) : 29-36
- Bahnemann, H. G. 1990. Inactivation of viral antigen for vaccine production with particular reference to the application for binary ethyleneimine. Vaccine : 8 299-303
- Carswell, K. S. and Papoutsakis, E. T. (2000). Extracellular pH affects the proliferation of cultured human T cells and their expression of the interleukin-2 receptor. *Journal of immunotherapy (Hagerstown, Md. : 1997)*, 23(6), 669–674. Available from <https://doi.org/10.1097/00002371-200011000-00008> [Accessed 10 March 2025]
- Ghafoor, A., Altaf, I., Anjum, A.A., Awan, A.R., Optimization of suspension culture of adapted baby hamster kidney cells in a bioreactor for maximum cell density. Science Asia 51(1): 2025 Available from https://www.scienceasia.org/2025.51.n1/scias51_2025013.pdf [Accessed 18 July 2025]
- Kaysinger, K.K., Ramp W.K. 1998, .Extracellular pH modulates the activity of cultured human Osteoblasts Journal of cellular biochemistry volume 68, page 83-89 Available from [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4644\(19980101\)68:1<83::AID-JCB8>3.0.CO;2-S](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4644(19980101)68:1<83::AID-JCB8>3.0.CO;2-S) Citations: 88 [Accessed 12 March 2025]
- Ghafoor, A., Altaf, I., Anjum, A.A., Awan, A.R., Optimization of suspension culture of adapted baby hamster kidney cells in a bioreactor for maximum cell density. Science Asia 51(1): 2025 Available from https://www.scienceasia.org/2025.51.n1/scias51_2025013.pdf [Accessed 18 July 2025]
- Moore, D.S., McCabe, G.P., and Craig, B.A. 2009. Introduction to the practice of statistics. 6th ed. W.H. Freeman and company. New York. USA p.103

- Rhone Merieux ,1986a section 1 : culture media *-in-*FMD VACCINE PRODUCTION CENTER contract n.27/1986 Department of livestock development Ministry of agriculture and cooperatives KINGDOM OF THAILAND 1-178
- Rhone Merieux ,1986b section 2 : cell production unit *-in-* FMD VACCINE PRODUCTION CENTER contract n.27/1986 Department of livestock development Ministry of agriculture and cooperatives KINGDOM OF THAILAND 1-70
- Rhone Merieux,1986c section 3 : Initial virus strain, seed batch, industrial cultures *-in-* FMD VACCINE PRODUCTION CENTER contract n.27/1986 Department of livestock development Ministry of agriculture and cooperatives KINGDOM OF THAILAND. 1-44
- Rhone Merieux,1986d section 4 : virus treatment *-in-* FMD VACCINE PRODUCTION CENTER contract n.27/1986 Department of livestock development Ministry of agriculture and cooperatives KINGDOM OF THAILAND. 1-51
- Rhone Merieux,1986e section 5 : Vaccine preparation *-in-* FMD VACCINE PRODUCTION CENTER contract n.27/1986 Department of livestock development Ministry of agriculture and cooperatives KINGDOM OF THAILAND. 1-69
- Rhone Merieux,1986f section 6 : Laboratory tests *-in-* FMD VACCINE PRODUCTION CENTER contract n.27/1986 Department of livestock development Ministry of agriculture and cooperatives KINGDOM OF THAILAND. 1-114

ตารางที่ 1 แสดงค่า Multiplication rate ของเซลล์ BHK-21 C₁₃ ถึงเพาะเลี้ยงเซลล์ขนาด 50 ลิตร

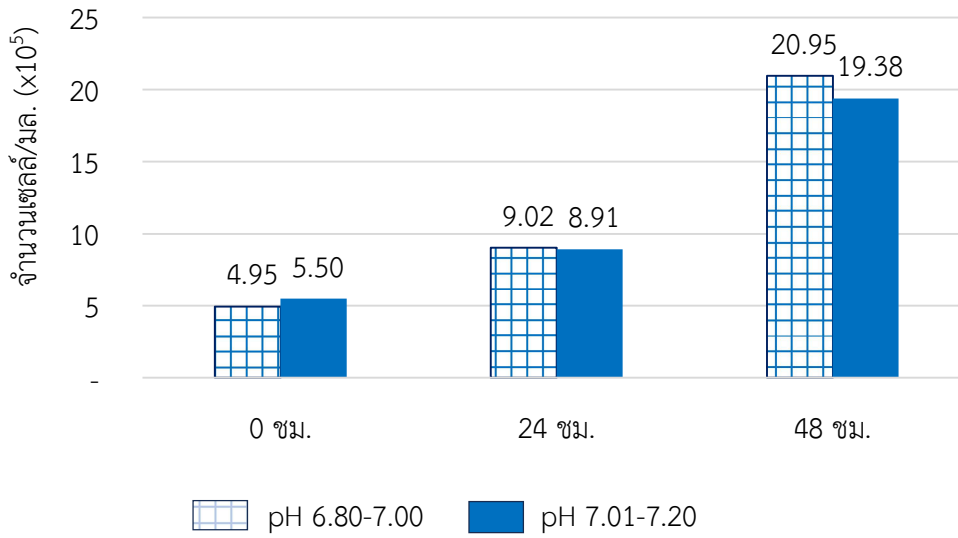
pH เริ่มต้น	Multiplication rate (Mean±SD)		จำนวนครั้งในการ เพาะเลี้ยงเซลล์ (n)
	24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง	
6.80-7.00	1.13±0.96	4.24±3.06	27
7.01-7.20	0.70±0.53	2.99±2.27	27
p-value	0.06	0.08	

ตารางที่ 2 แสดงค่า Multiplication rate ของเซลล์ BHK-21 C₁₃ จากถึงเพาะเลี้ยงเซลล์ขนาด 100 ลิตร

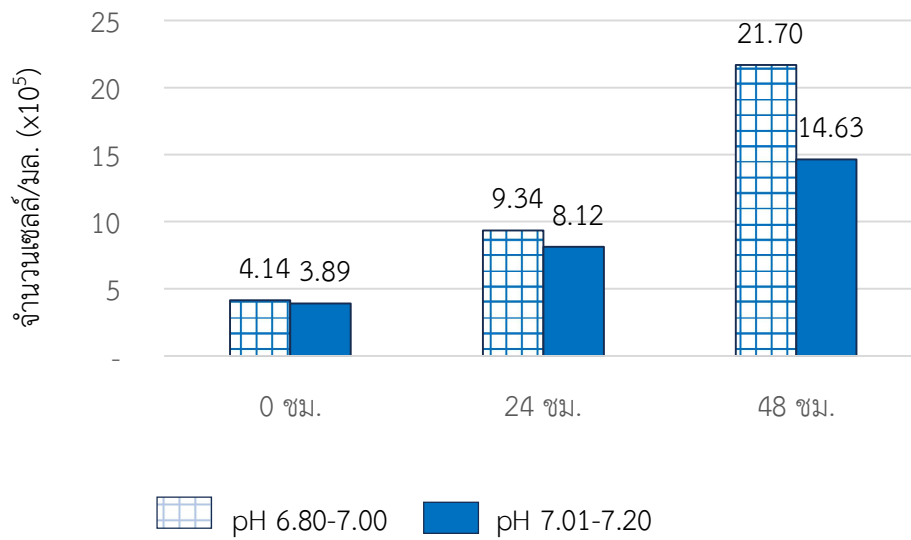
pH เริ่มต้น	Multiplication rate (Mean±SD)		จำนวนครั้งในการ เพาะเลี้ยงเซลล์ (n)
	24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง	
6.80-7.00	1.45±1.12	4.54±2.02	16
7.01-7.20	1.15±0.57	3.43±1.87	16
p-value	0.35	0.11	

ตารางที่ 3 แสดงค่า Correlation coefficient ระหว่าง pH ที่สูงขึ้นในช่วง 6.80-7.20 กับค่า
Multiplication rate ของเซลล์ BHK-21 C₁₃

ค่า	ถึงเพาะเลี้ยงเซลล์ ขนาด 50 ลิตร	ถึงเพาะเลี้ยงเซลล์ ขนาด 100 ลิตร
Correlation Coefficient (r)	-0.14	-0.23
จำนวนครั้งในการเพาะเซลล์ (n)	54	32



รูปที่ 1 แสดงจำนวนเซลล์ BHK-21 C₁₃ เมื่อเริ่มการเพาะเลี้ยง 24 และ 48 ชั่วโมง ในถังเพาะเลี้ยงขนาด 50 ลิตร



รูปที่ 2 แสดงจำนวนเซลล์ BHK-21 C₁₃ เมื่อเริ่มการเพาะเลี้ยง 24 และ 48 ชั่วโมง ในถังเพาะเลี้ยงขนาด 100 ลิตร

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 แสดงข้อมูล การเพาะเลี้ยงเซลล์ของถั่วงอกเพาะเลี้ยงเซลล์ขนาด 50 ลิตรช่วงค่า pH 6.80-7.00

ชุดที่	pH เริ่มต้น 0 ชม.	pH เพาะ 24 ชม.	pH เพาะ 48 ชม.	เซลล์เริ่มต้น 0 ชม. (X 10 ⁵ เซลล์/มล.)	เซลล์เพาะ 24 ชม. (X 10 ⁵ เซลล์/มล.)	เซลล์เพาะ 48 ชม. (X 10 ⁵ เซลล์/มล.)	Multiplication rate 24 ชม.	Multiplication rate 48 ชม.
1	6.82*	6.76	6.82	3.30	4.13	13.0	0.25	2.9
2	6.97*	6.65	6.63	2.87	6.63	18.20	1.31	5.3
3	6.93*	6.49	6.53	7.92	10.80	21.60	0.36	1.7
4	6.96*	7.04	6.94	3.31	3.05	4.87	0.00	0.4
5	6.96*	6.94	6.48	6.74	19.20	40.30	1.85	4.9
6	6.95*	6.91	6.50	5.34	11.20	39.50	1.09	6.3
7	7.00*	6.67	6.61	5.45	8.86	20.30	0.62	2.5
8	6.97*	6.56	6.68	9.74	10.40	13.70	0.07	0.4
9	6.97*	6.54	6.52	9.33	11.00	14.80	0.18	0.5
10	6.94*	7.18	6.64	1.20	3.52	10.70	1.92	7.9
11	6.98*	6.90	6.56	5.00	6.74	21.60	0.35	3.3
12	6.91*	6.97	5.14	7.45	9.33	14.70	0.25	0.9
13	6.85*	6.46	6.57	6.86	8.86	19.40	0.29	1.8
14	6.91*	6.47	6.70	9.74	7.51	19.90	0.00	1.0
15	6.95*	6.83	6.55	3.34	12.00	39.10	2.59	10.0
16	6.92*	6.80	6.55	4.16	5.68	27.60	0.36	5.6
17	6.81*	6.44	6.65	7.74	13.00	29.80	0.68	2.8
18	6.87*	6.68	6.60	2.53	9.56	18.68	2.78	6.3
19	7.00*	6.81	6.78	1.58	5.51	18.81	2.48	10.0
20	6.86*	6.54	6.65	3.87	11.90	22.00	2.07	4.6
21	6.89*	6.84	6.62	3.99	3.28	11.93	0	1.9
22	6.94*	6.63	6.66	5.04	11.70	24.90	1.32	3.9

ชุดที่	pH เริ่มต้น 0 ชม.	pH เพาะ 24 ชม.	pH เพาะ 48 ชม.	เซลล์เริ่มต้น 0 ชม. ($\times 10^5$ เซลล์/มล.)	เซลล์เพาะ 24 ชม. ($\times 10^5$ เซลล์/มล.)	เซลล์เพาะ 48 ชม. ($\times 10^5$ เซลล์/มล.)	Multiplication rate 24ชม.	Multiplication rate 48ชม.
23	6.96*	6.62	6.56	4.69	9.65	19.73	1.06	3.20*
24	6.87*	6.99	6.62	2.99	7.21	19.50	1.41	5.52*
25	6.80*	6.96	6.76	4.11	14.10	21.28	2.43	4.18*
26	6.86*	6.96	6.73	3.46	12.50	16.00	2.61	3.62*
27	6.91*	7.04	6.61	2.05	6.33	23.80	2.08	10.60*

*ข้อมูลที่ใช้คำนวณสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของเพียร์สัน

ตารางที่ 2 แสดงข้อมูล การเพาะเลี้ยงเซลล์ของถังเพาะเลี้ยงเซลล์ขนาด 50 ลิตรช่วงค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.01-7.20

ชุดที่	pH เริ่มต้น 0 ชม.	pH เพาะ 24 ชม.	pH เพาะ 48 ชม.	เซลล์เริ่มต้น 0 ชม. ($\times 10^5$ เซลล์/มล.)	เซลล์เพาะ 24 ชม. ($\times 10^5$ เซลล์/มล.)	เซลล์เพาะ 48 ชม. ($\times 10^5$ เซลล์/มล.)	Multiplication rate 24ชม.	Multiplication rate 48ชม.
1	7.03*	6.57	6.74	4.55	6.65	11.08	0.46	1.43*
2	7.05*	6.71	6.70	4.13	5.63	16.40	0.36	2.97*
3	7.02*	6.61	6.61	3.30	5.70	24.30	0.72	6.36*
4	7.14*	6.60	6.57	7.18	8.45	15.85	0.17	1.20*
5	7.11*	6.50	6.54	11.30	16.80	18.20	0.40	0.61*
6	7.10*	7.10	7.10	4.28	4.46	6.04	0.00	0.41*
7	7.17*	7.04	6.69	3.30	3.20	13.481	0.00	3.08*
8	7.07*	6.96	6.65	2.70	4.34	5.01	0.60	0.85*
9	7.09*	6.62	6.64	5.63	9.62	15.10	0.65	1.68*
10	7.05*	6.93	6.79	3.17	1.52	6.16	0.00	0.94*
11	7.07*	6.57	6.67	5.63	9.56	22.00	0.70	2.91*
12	7.08*	6.79	6.59	4.63	12.30	35.70	1.65	6.71*
13	7.19*	6.76	6.76	6.10	14.30	26.10	1.34	3.27*

ชุดที่	pH เริ่มต้น 0 ชม.	pH เพาะ 24 ชม.	pH เพาะ 48 ชม.	เซลล์เริ่มต้น 0 ชม. ($\times 10^5$ เซลล์/มล.)	เซลล์เพาะ 24 ชม. ($\times 10^5$ เซลล์/มล.)	เซลล์เพาะ 48 ชม. ($\times 10^5$ เซลล์/มล.)	Multiplication rate 24ชม.	Multiplication rate 48 ชม.
14	7.14*	6.80	6.70	5.75	12.40	30.00	1.15	4.21*
15	7.17*	6.86	6.60	3.52	10.10	33.30	1.87	8.46*
16	7.19*	6.91	6.97	4.22	9.33	14.60	1.21	2.46*
17	7.15*	7.05	7.05	2.05	5.40	20.20	1.63	8.85*
18	7.20*	6.94	6.87	6.33	8.33	16.70	0.31	1.64*
19	7.08*	6.83	6.61	4.87	7.80	26.70	0.60	4.48*
20	7.13*	6.52	6.53	13.20	14.50	24.20	0.10	0.83*
21	7.06*	6.58	6.57	7.25	12.60	16.18	0.73	1.23*
22	7.10*	6.72	6.68	5.69	9.94	19.80	0.76	2.48*
23	7.03*	6.68	6.69	7.98	7.16	23.50	0	1.94*
24	7.05*	6.73	6.60	5.28	7.68	23.80	0.45	3.50*
25	7.15*	6.67	6.67	7.16	15.40	20.90	1.15	1.92*
26	7.02*	6.64	6.67	4.28	8.91	18.95	1.08	3.42*
27	7.03*	6.48	6.58	4.93	8.45	19.10	0.71	3.05*

* ข้อมูลที่ใช้คำนวณสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของเพียร์สัน

ตารางที่ 3 แสดงข้อมูล การเพาะเลี้ยงเซลล์ของถังเพาะเลี้ยงเซลล์ขนาด 100 ลิตรช่วงค่า pH 6.80-7.00

ชุดที่	pH เริ่มต้น 0 ชม.	pH เพาะ 24 ชม.	pH เพาะ 48 ชม.	เซลล์เริ่มต้น 0 ชม. ($\times 10^5$ เซลล์/มล.)	เซลล์เพาะ 24 ชม. ($\times 10^5$ เซลล์/มล.)	เซลล์เพาะ 48 ชม. ($\times 10^5$ เซลล์/มล.)	อัตราการ แบ่งตัว 24 ชม.	อัตราการ แบ่งตัว 48 ชม.
1	6.99*	6.76	6.81	2.52	8.74	11.80	2.46	3.68*
2	6.99*	6.64	6.39	2.17	6.74	11.40	2.10	4.25*
3	6.93*	6.75	6.70	8.97	12.30	14.50	0.37	0.61*
4	6.94*	6.88	6.52	3.93	5.69	11.50	0.44	1.92*
5	6.85*	6.80	6.60	2.82	4.99	11.70	0.77	3.08*
6	6.92*	6.66	6.65	3.64	7.33	22.60	1.01	5.21*
7	6.90*	6.83	6.95	2.11	10.20	16.80	3.83	6.96*
8	6.97*	6.97	6.84	2.58	5.04	22.50	0.95	7.72*
9	6.97*	6.64	6.64	3.28	5.34	23.20	0.63	6.07*
10	6.91*	6.86	6.70	6.04	11.50	22.90	0.90	2.79*
11	6.97*	7.12	6.78	2.52	6.57	15.30	1.60	5.07*
12	6.93*	6.71	6.77	5.75	13.70	27.70	1.38	3.82*
13	6.80*	6.91	6.72	5.22	13.40	37.20	1.56	6.12*
14	6.80*	6.81	6.66	5.98	14.10	36.80	1.35	5.15*
15	6.91*	7.10	6.75	3.93	18.90	32.80	3.81	7.34*
16	6.98*	6.84	6.77	4.87	4.93	18.90	0.01	2.88*

*ข้อมูลที่ใช้คำนวณสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของเพียร์สัน

ตารางที่ 4 แสดงข้อมูล การเพาะเลี้ยงเซลล์ของถังเพาะเลี้ยงเซลล์ขนาด 100 ลิตรช่วงค่า pH 7.01-7.20

ชุดที่	pH เริ่มต้น 0 ชม.	pH เพาะ 24 ชม.	pH เพาะ 48 ชม.	เซลล์เริ่มต้น 0 ชม. ($\times 10^5$ เซลล์/มล.)	เซลล์เพาะ 24 ชม. ($\times 10^5$ เซลล์/มล.)	เซลล์เพาะ 48 ชม. ($\times 10^5$ เซลล์/มล.)	อัตราการ แบ่งตัว 24 ชม.	อัตราการแบ่งตัว 48 ชม.
1	7.12*	6.79	6.73	3.03	5.88	19.65	0.94	5.48*
2	7.13*	6.79	6.81	2.88	5.08	13.35	0.76	3.63*
3	7.10*	6.78	6.74	2.40	5.48	13.63	1.28	4.68*
4	7.02*	6.59	6.88	6.13	8.95	10.13	0.46	0.65*
5	7.06*	6.88	6.72	2.82	7.80	18.10	1.76	5.42*
6	7.13*	6.83	6.83	2.23	6.74	14.40	2.02	5.46*
7	7.14*	7.27	6.64	2.99	6.80	11.40	1.27	2.81*
8	7.13*	6.85	6.77	2.58	7.62	14.30	1.95	4.54*
9	7.10*	7.08	6.70	2.46	4.67	8.15	0.90	2.31*
10	7.05*	6.67	6.60	5.98	9.27	20.60	0.55	2.44*
11	7.17*	6.53	6.68	8.33	24.50	19.60	1.94	1.35*
12	7.01*	6.61	6.63	6.33	12.40	17.20	0.96	1.72*
13	7.14*	6.82	6.82	3.87	9.44	18.90	1.44	3.88*
14	7.05*	6.91	6.85	1.76	4.05	14.10	1.30	7.01*
15	7.15*	6.85	7.25	2.40	3.98	8.56	0.65	2.56*
16	7.02*	6.68	6.97	6.04	7.21	12.10	0.19	0.98*

*ข้อมูลที่ใช้คำนวณสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของเพียร์สัน