หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3

ผลการวิจัย

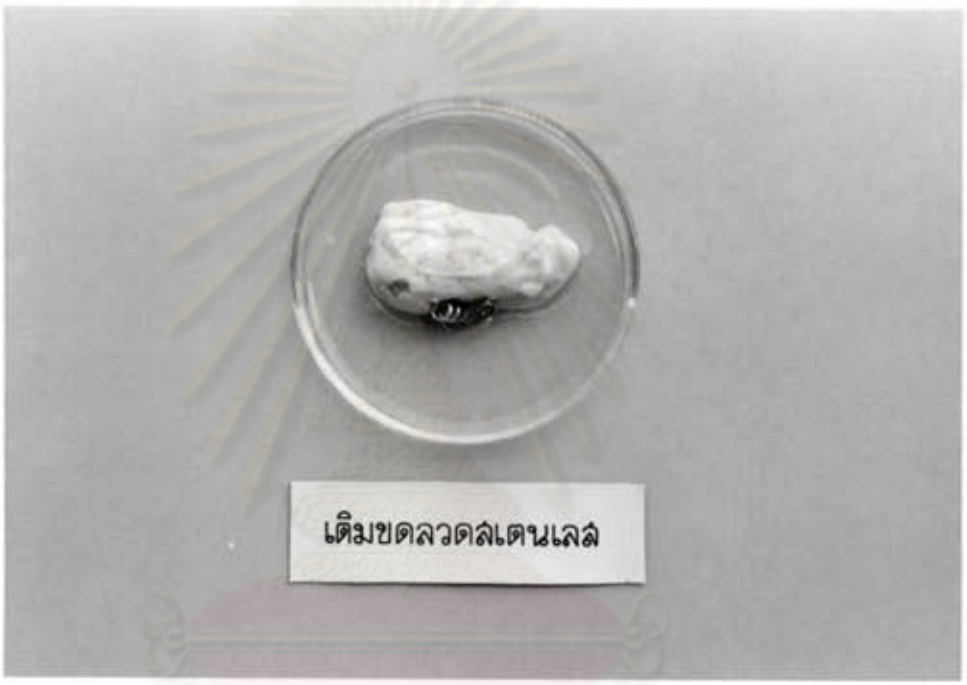
1. การหาสภาพทางกายภาพที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยง *Rhizopus* sp. ในอาหารเหลว ให้ได้การเจริญของเชื้อราอยู่ในรูปเม็ด (pellet)

ทำการเปรียบเทียบผลของวัตถุที่ช่วยในการเขย่าสปอร์ในอาหารเหลว เพื่อให้ได้เส้นใยของ *Rhizopus* sp. กระจายในอาหารเหลว โดยดูลักษณะภายนอกการเจริญของเส้นใยที่งอกออกจากสปอร์

1.1 ผลการใช้ลูกแก้ว (glass bead) ช่วยในการเขย่าในขวดแก้วทรงกรวย (erlenmeyer flask) ปรากฏว่าลูกแก้วไม่ได้ช่วยป้องกันการเกาะพันกันของเส้นใยที่งอกออกจากแต่ละสปอร์ โดยเส้นใยที่เกิดขึ้นพันกันเป็นก้อนเหมือนกับการเพาะสปอร์โดยไม่ใช้ลูกแก้วช่วย ดังแสดงในรูปที่ 5

รูปที่ 5 เส้นใยที่งอกจากสปอร์ในขวดแก้วทรงกรวย เมื่อใช้ลูกแก้วช่วยเขย่า

1.2 ผลการใช้ขดลวดสเตนเลสช่วยในการเขย่าในขวดแก้วทรงกรวย เชื้อราที่งอกออกมาก็จะพันกันเป็นก้อน เช่นเดียวกับการใช้ลูกแก้ว (glass beed) ดังแสดงในรูปที่ 6



รูปที่ 6 การงอกของเส้นใยจากสปอร์ในขวดแก้วทรงกรวย เมื่อใช้ขดลวดสเตนเลสช่วยเขย่า

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1.3 ผลการใช้ขวดกันบุบ (baffled flask) เพาะเลี้ยงสปอร์ของรา พบว่าเชื้อราที่งอกออกมาจะกระจายตัวในอาหารเหลวเป็นเม็ด (pellet) ดังแสดงในรูปที่ 7

รูปที่ 7 การงอกของเส้นใยจากสปอร์ในขวดก้นบุบ

2. การเปรียบเทียบความสามารถในการผลิตกลูโคอะไมเลสระหว่าง *Rhizopus* sp. 2 สายพันธุ์

จากการทดลอง ดังที่กล่าวไว้ในบทที่ 2 ข้อ 5 ทำการเปรียบเทียบเชื้อรา *Rhizopus* sp. 2 สายพันธุ์ คือ *Rhizopus* sp. สายพันธุ์ I จากโรงงานสุรา และ *Rhizopus* sp. สายพันธุ์ II จากโรงงานสุรา โดยวิเคราะห์การทำงานของกลูโคอะไมเลส (ภาคผนวก ง.) พบว่า *Rhizopus* sp. สายพันธุ์ I ให้กลูโคอะไมเลสปริมาณสูงกว่า *Rhizopus* sp. สายพันธุ์ II เพียงเล็กน้อย แต่เวลาในการให้กลูโคอะไมเลสสูงสุดช้ากว่ามาก ดังแสดงในรูปที่ 8 *Rhizopus* sp. สายพันธุ์ II จากกรุงเทพฯ จะให้กลูโคอะไมเลสสูงสุด คือ 0.6

หน่วย/มล. ที่เวลาประมาณชั่วโมงที่ 8 ในขณะที่ *Rhizopus* sp. สายพันธุ์ I จะผลิตกลูโคอะไมเลสสูงสุดที่เวลาประมาณชั่วโมงที่ 24 เป็นจำนวน 0.76 หน่วย/มล. เชื้อ *Rhizopus* sp. สายพันธุ์ II จึงเป็นเชื้อที่มีแนวโน้มจะใช้ในการผลิตกลูโคอะไมเลสดีกว่าสายพันธุ์ I เพราะให้ผลผลิตกลูโคอะไมเลสในเวลาสั้น ไม่ต้องสิ้นเปลืองพลังงานในการหมักเป็นเวลา การทดลองต่อไปยังคงทดสอบการผลิตกลูโคอะไมเลสจากเชื้อราทั้ง 2 สายพันธุ์ เพื่อพิจารณาเลือกเชื้อใดเชื้อหนึ่งอีกครั้งหนึ่ง

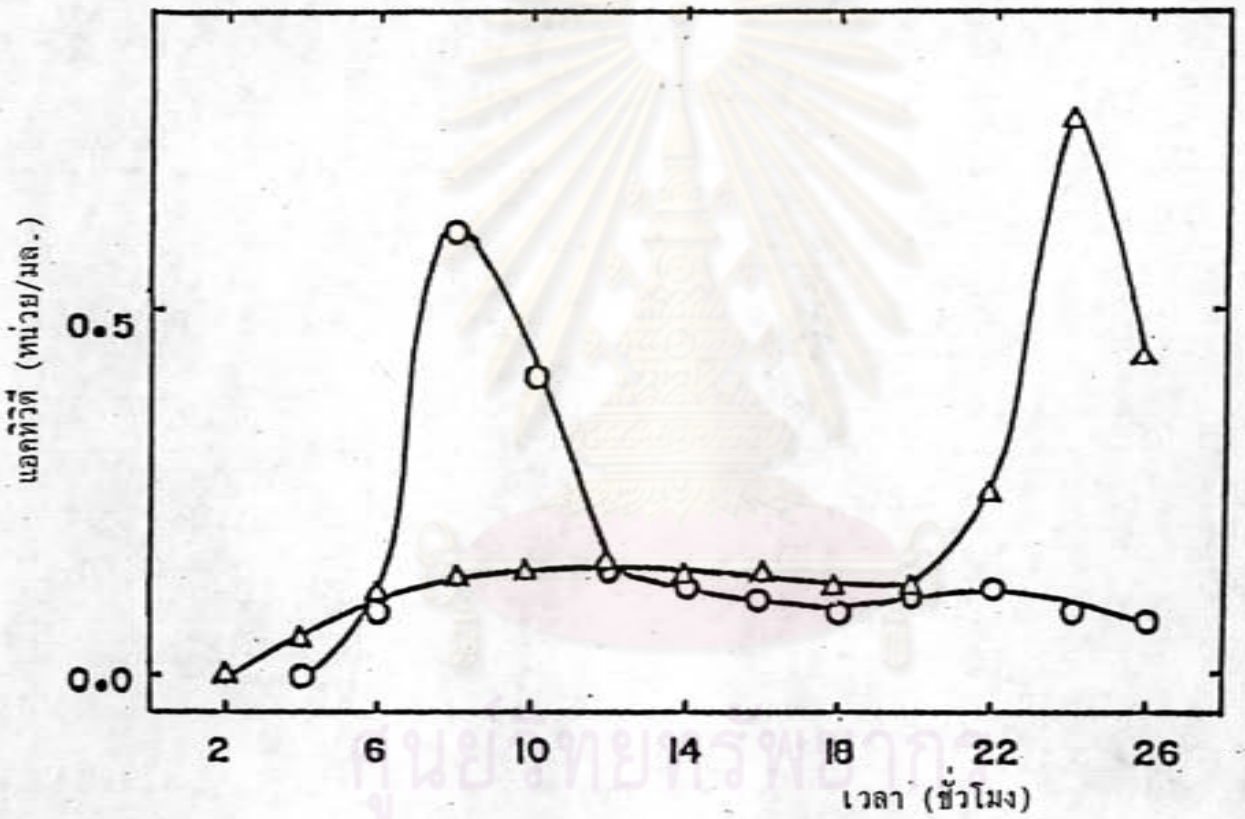
3. <u>การเปรียบเทียบการใช้กากถั่วเหลืองที่ย่อยด้วยอัลคาเลสกับการใช้กากถั่วเหลืองที่ไม่ได้ย่อยเป็นอาหารผลิตกลูโคอะไมเลสของ *Rhizopus* sp. 2 สายพันธุ์</u>

เนื่องจากได้มีรายงานไว้ว่า กลูโคอะไมเลสมักจะถูกย่อยโดยโปรติเอส ซึ่งเชื้อราสร้างขึ้นในเวลาเดียวกัน และสามารถควบคุมไม่ให้เชื้อผลิตโปรติเอสได้ โดยการดัดแปลงส่วนประกอบในอาหารเลี้ยงเชื้อ (Hayashida 1976, 1978) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้ทดสอบว่าโปรตีนในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีโมเลกุลเล็กลง จากการย่อยด้วยเอนไซม์นั้น จะช่วยเพิ่มการผลิตกลูโคอะไมเลสได้ เพราะเชื้อไม่มีความจำเป็นต้องผลิตโปรติเอสเพื่อย่อยโปรตีนซึ่งจะทำลายกลูโคอะไมเลสด้วย

โปรตีนที่ใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ ย่อยด้วยอัลคาเลส (NOVO) ซึ่งต้องหาอัตราส่วนเอนไซม์/โปรตีนถั่วเหลือง ที่เหมาะสม เพื่อให้ได้ % การย่อยสูงสุด ผลการทดลอง กากถั่วเหลืองที่ย่อยด้วยอัลคาเลสใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อนั้นได้ % การย่อย 14.2 % (รายละเอียดแสดงไว้ในภาคผนวก ช)

ผลการทดลองใช้กากถั่วเหลืองที่ย่อยด้วยอัลคาเลสในอาหารเลี้ยงเชื้อเปรียบเทียบกับการใช้กากถั่วเหลืองที่ไม่ได้ย่อย ดังกล่าวในบทที่ 2 ข้อ 6 พบว่า การย่อยโปรตีนถั่วเหลืองมีอิทธิพลต่อการผลิตอลูโคอะไมเลสของ *Rhizopus* sp. ทั้ง 2 สายพันธุ์เหมือนกันคือ เพิ่มการผลิตกลูโคอะไมเลส สำหรับ *Rhizopus* sp. สายพันธุ์ II จะผลิตกลูโคอะไมเลสเพิ่มขึ้นมากกว่าของ *Rhizopus* sp. สายพันธุ์ I เมื่อใช้โปรตีนกากถั่วเหลืองที่ย่อยแล้ว แม้ว่าการทดสอบไม่พบโปรติเอสจาก *Rhizopus* sp. ทั้ง 2 สายพันธุ์

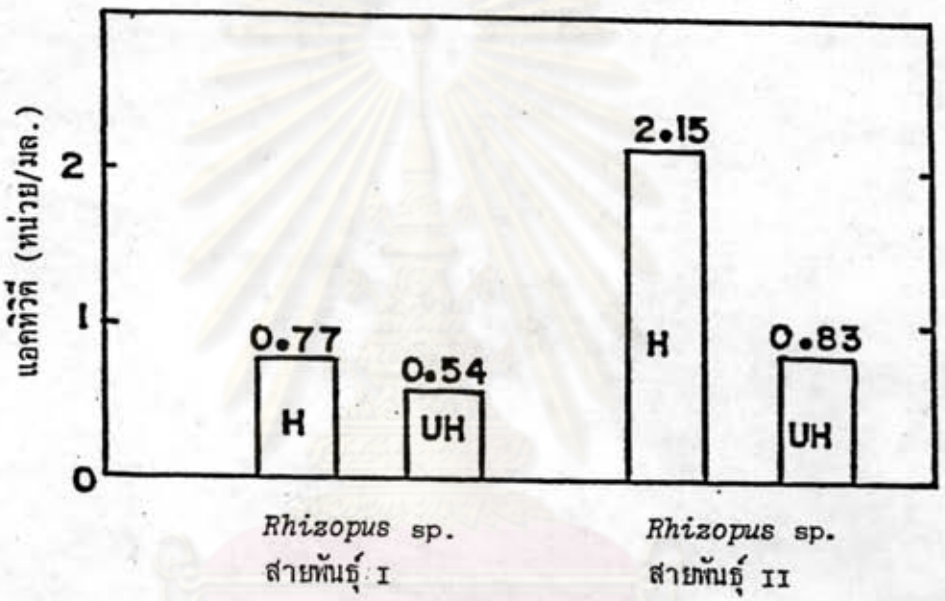
จากกราฟรูปที่ 9 แสดงการทำงานของกลูโคอะไมเลสสูงสุดของ *Rhizopus* sp. ทั้ง 2 สายพันธุ์ เมื่อใช้กากถั่วเหลือง และกากถั่วเหลืองที่ย่อยแล้วในอาหารเปรียบเทียบกัน จะ



รูปที่ 8 ความสามารถในการผลิตกลูโคอะไมเลสของ *Rhizopus* sp. 2 สายพันธุ์ ที่พีเอชอาหารเลี้ยงเชื้อ 4.5 อุณหภูมิ 35 °ซ

△ *Rhizopus* sp. สายพันธุ์ I

○ *Rhizopus* sp. สายพันธุ์ II



รูปที่ 9 แอคทิวิตี ของกลูโคอะไมเลสสูงสุดของ *Rhizopus* sp. 2 สายพันธุ์

H = เมื่อใช้กากถั่วเหลืองย่อยด้วยอัลคาเลส

UH = เมื่อใช้กากถั่วเหลืองที่ไม่ได้ย่อย

หมายเหตุ

แอคทิวิตีจาก *Rhizopus* sp. สายพันธุ์ I H 0.70, 0.84 หน่วย/มล.

UH 0.43, 0.65 หน่วย/มล.

แอคทิวิตีจาก *Rhizopus* sp. สายพันธุ์ II H 1.80, 2.5 หน่วย/มล.

UH 0.66, 1.00 หน่วย/มล.

เห็นได้ว่ากลูโคอะไมเลสของ *Rhizopus* sp. สายพันธุ์ I ที่สูงสุดจะได้ 0.77 หน่วย/มล. เมื่อใช้กากถั่วเหลืองที่ย่อยแล้วในอาหาร ในขณะที่เมื่อใช้กากถั่วเหลืองที่ไม่ได้ย่อยในอาหารจะให้กลูโคอะไมเลสเพียง 0.54 หน่วย/มล.

สำหรับ *Rhizopus* sp. สายพันธุ์ II จะให้กลูโคอะไมเลสถึง 2.15 หน่วย/มล. เมื่อใช้กากถั่วเหลืองที่ย่อยแล้วในอาหาร ในขณะที่เมื่อใช้กากถั่วเหลืองในอาหาร จะให้กลูโคอะไมเลสเพียง 0.83 หน่วย/มล. ในการวิจัยครั้งต่อไปจึงเลือกใช้ *Rhizopus* sp.สายพันธุ์ II ในการผลิตกลูโคอะไมเลส

4. ผลการทดสอบแบบแฟคตอเรียล ทดสอบปัจจัยแหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน และสภาพของโปรตีนในแหล่งไนโตรเจน

ทำการเพาะเลี้ยง *Rhizopus* sp. สายพันธุ์ II ตามวิธีการทดลองบทที่ 2 ข้อ 7 โดยใช้ปาเปนย่อยแหล่งไนโตรเจนให้โมเลกุลของโปรตีนมีขนาดเล็กลง เทียบกับเมื่อไม่ได้ย่อย โดยทดสอบปัจจัย 3 ปัจจัย แต่ละปัจจัยมี 2 ระดับ ด้วยวิธีแฟคตอเรียล 2^3 กำหนดสัญญลักษณ์ดังนี้

ปัจจัยสภาพโปรตีน (A)	ปัจจัยแหล่งคาร์บอน (B)	ปัจจัยแหล่งไนโตรเจน (C)
ไม่ย่อย	แป้งข้าวเหนียว	กากถั่ว
ย่อย	แป้งข้าวเจ้า	กากรำ

การทดลองนี้สามารถทดสอบได้ว่าปัจจัยแหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน และสภาพโปรตีน มีอิทธิพลต่อการผลิตกลูโคอะไมเลสหรือไม่ และแต่ละปัจจัยมีอิทธิพลร่วมกันอย่างไร นอกจากนี้ยังสามารถบอกได้ว่าแหล่งคาร์บอน และแหล่งไนโตรเจน และสภาพโปรตีน อย่างไรที่เหมาะสม

ผลการทดลองเพาะเลี้ยง *Rhizopus* sp. สายพันธุ์ II ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีการย่อยโปรตีนมีแนวโน้มว่าเม็ดราจะรวมตัวเกาะกันเป็นก้อน ดังรูปที่ 5 ในขณะที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่ได้ย่อยโปรตีนนั้น เม็ดราจะมีลักษณะเป็นเม็ด

ผลของการเลี้ยง *Rhizopus* sp. สายพันธุ์ II ในอาหารสูตรต่าง ๆ ที่ออกแบบการทดลองแบบแฟคตอเรียล แอคทิวิตีของกลูโคอะไมเลสที่ผลิตได้สูงสุด แสดงไว้ในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 การผลิตกลูโคอะไมเลสเมื่อทดสอบปัจจัยแบบแฟคตอเรียล

สภาพการทดลอง					
ปัจจัย แหล่งคาร์บอน	ปัจจัย แหล่งไนโตรเจน	ปัจจัย สภาพของโปรตีน (การย่อยโปรตีน)	อิทธิพลของปัจจัยหลัก และปัจจัยร่วม	การทำงานของ กลูโคอะไมเลส สูงสุด(หน่วย/มล)	mean contrast
ข้าวเจ้า	กากรำ	ย่อย	(1)	5.33	5.76
ข้าวเจ้า	กากรำ	ไม่ย่อย	a	2.22	-0.34
ข้าวเหนียว	กากรำ	ย่อย	b	2.54	-0.06
ข้าวเหนียว	กากรำ	ไม่ย่อย	ab	4.33	1.17
ข้าวเจ้า	กากถั่ว	ย่อย	c	1.22	1.05
ข้าวเจ้า	กากถั่ว	ไม่ย่อย	ac	2.67	-0.62
ข้าวเหนียว	กากถั่ว	ย่อย	bc	2.54	-0.79
ข้าวเหนียว	กากถั่ว	ไม่ย่อย	abc	2.99	1.66*

Critical value 95% = 1.24

อิทธิพลของ a = สภาพโปรตีน

b = แหล่งคาร์บอน

c = แหล่งไนโตรเจน

(1) = ดังแสดงในภาคผนวก ฉ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

จะเห็นได้ว่าสูตรที่ให้การผลิตกลูโคอะไมเลสสูงคือ แป้งข้าวเจ้ากากรำที่ย่อย หรือข้าวเหนียวกากรำที่ไม่ย่อย ซึ่งจากการทดสอบทางสถิติแล้วไม่มีความแตกต่างต่างอย่างมีนัยสำคัญ (ภาคผนวก ฉ) ในการทดลองครั้งต่อไปจึงเลือกใช้ข้าวเหนียวกากรำที่ไม่ย่อยเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ

5. อุณหภูมิ และพีเอช ที่เหมาะสมต่อการผลิตกลูโคอะไมเลสของ *Rhizopus* sp. สายพันธุ์ II

5.1 การทดลองหาพีเอชที่เหมาะสมต่อการผลิตกลูโคอะไมเลส โดยเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิคงที่ 35 °ซ ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการผลิตกลูโคอะไมเลส *Rhizopus* sp. สายพันธุ์ II ในอาหารแข็ง และเปลี่ยนสีพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อต่าง ๆ ผลการทดลองปรากฏว่าพีเอช 5.5 ให้กลูโคอะไมเลสสูงสุดคือ 6.48 หน่วย/มล. ดังแสดงไว้ในรูปที่ 10

5.2 การทดลองเปลี่ยนอุณหภูมิต่าง ๆ ที่พีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อคงที่ คือ 5.5 พบว่า อุณหภูมิ 50 °ซ ไม่มีการเจริญของเชื้อรา และมีแอคติวิตีของกลูโคอะไมเลสต่ำมาก ในขณะที่อุณหภูมิ 40 °ซ ยังสามารถผลิตกลูโคอะไมเลสได้แอคติวิตีสูงสุด 5.6 หน่วย/มล. ดังแสดงไว้ในตารางที่ 6

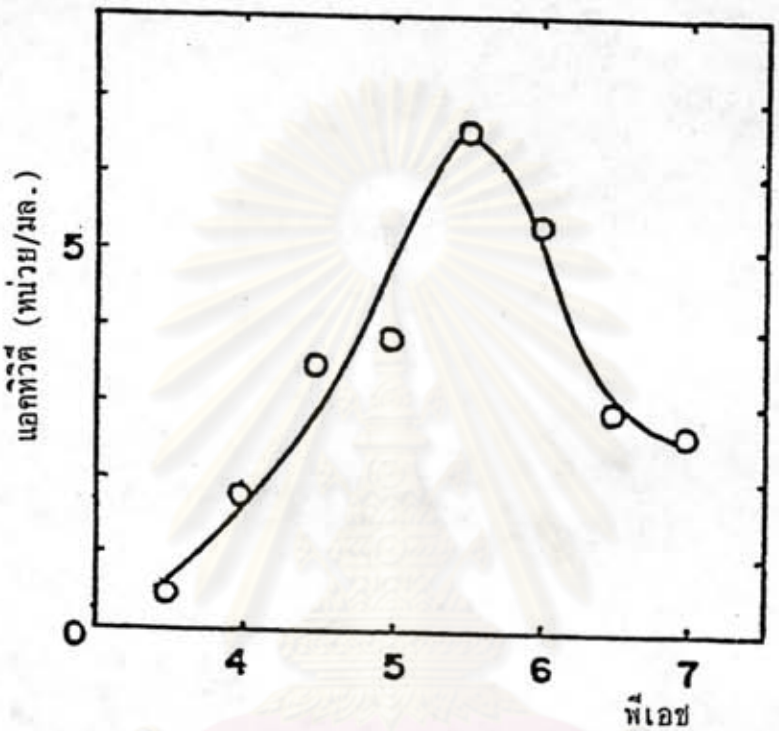
ตารางที่ 6 ผลการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิเลี้ยงเชื้อที่พีเอช 5.5 คงที่

อุณหภูมิ (°ซ)	การทำงานของกลูโคอะไมเลส (หน่วย/มล.)
30	3.33
40	5.60
50	0.88

5.3 ผลการทดสอบปัจจัยแบบแฟคทอเรียล 2^2 คืออุณหภูมิและพีเอช ตามวิธีการที่กล่าวไว้ในบทที่ 2 ข้อ 8 ทำการทดสอบการผลิตกลูโคอะไมเลส ปรากฏว่าปริมาณกลูโคอะไมเลสเพิ่มขึ้น เมื่อพีเอชและอุณหภูมิเพิ่มขึ้น จากพีเอช 3.5 ถึง 5.5 และจากอุณหภูมิ 30 ถึง 40 °ซ ดังแสดงไว้ในรูปที่ 11 ผลการทดสอบทางสถิติ ปรากฏว่า ทั้งอุณหภูมิและพีเอชมีอิทธิพลต่อการผลิตกลูโคอะไมเลส (ภาคผนวก ฉ) ในการทดลองต่อไปจึงเลือกใช้อุณหภูมิ 40 °ซ และพีเอช 5.5 เป็นสภาพแวดล้อมในการผลิตกลูโคอะไมเลส

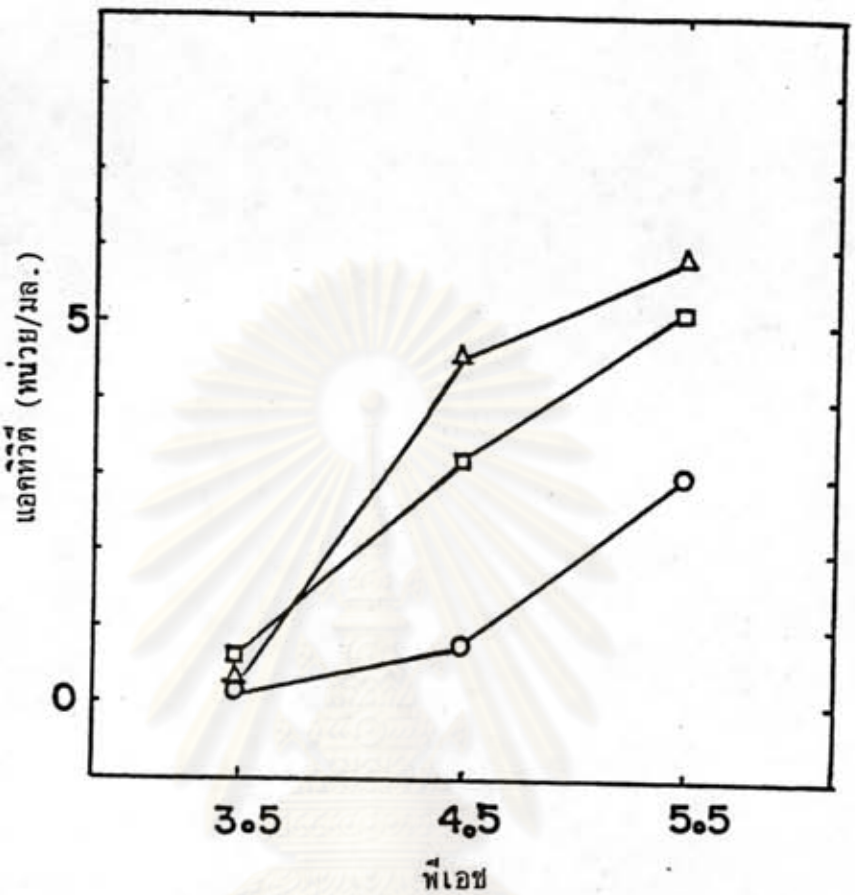
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I10297170



รูปที่ 10 การผลิตกลูโคอะไมเลสของ *Rhizopus* sp. สายพันธุ์ II ที่พีเอชต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ 35 °ซ ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ประกอบด้วย แป้งข้าวเหนียว 4% กากรำ 1% แอมโมเนียมซิเตรต 0.3% KH_2PO_4 0.18% Na_2HPO_4 0.02% $MgSO_4$ 0.1% $FeSO_4$ 0.005% พีเอช 4.5

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 11 อุณหภูมิและพีเอชที่มีผลต่อการผลิตกลูโคอะไมเลส ของ *Rhizopus* sp. สายพันธุ์ II ในอาหารเลี้ยงเชื้อประกอบด้วย แป้งข้าวเหนียว 4% กากรำ 1% แอมโมเนียมซิเตรต 0.3% KH_2PO_4 0.18% Na_2HPO_4 0.02% $MgSO_4$ 0.1% $FeSO_4$ 0.05% พีเอช 4.5

△ = 40 °ซ

□ = 35 °ซ

○ = 30 °ซ

6. ผลการหาอัตราส่วนคาร์บอน/ไนโตรเจนที่เหมาะสม

ผลการย่อยแป้งข้าวเหนียวด้วยอัลฟาอะไมเลสตามวิธีการในบทที่ 2 ข้อ 9.2 ปรากฏว่า ย่อยแป้งได้สมมูลเดกซ์โตรส (DE) 24.70% แป้งที่ย่อยได้นี้ใช้บรับ C/N ในอาหารเลี้ยงเชื้อแทนการใช้แป้ง เนื่องด้วยเมื่อ C/N สูงนั้น แป้งจะมีความหนืดมาก การใช้อัลฟาอะไมเลสมีวัตถุประสงค์จะลดความหนืดของแป้งในอาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อช่วยเพิ่มการถ่ายเทออกซิเจนและลดพลังงานที่ใช้ในการกวน นอกจากนี้การเพิ่มปลายรีดิวซ์ของโมเลกุลแป้งยังอาจเหนี่ยวนำให้ผลิตกลูโคอะไมเลสเพิ่มขึ้น

ผลการทดสอบอัตราส่วนคาร์บอน/ไนโตรเจน ปรากฏว่า การผลิตกลูโคอะไมเลสเพิ่มขึ้น เมื่ออัตราส่วน C/N เพิ่มขึ้นถึง 25 (แป้ง 9%) โดยให้การทำงานของกลูโคอะไมเลสสูงสุด 7.1 หน่วย/มล. เมื่อเพิ่ม C/N มากกว่าเพียงเล็กน้อย การทำงานของกลูโคอะไมเลสลดลงอย่างรวดเร็ว ดังแสดงในรูปที่ 12 ในการวิจัยต่อไปจึงใช้อัตราส่วน C/N 25 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ

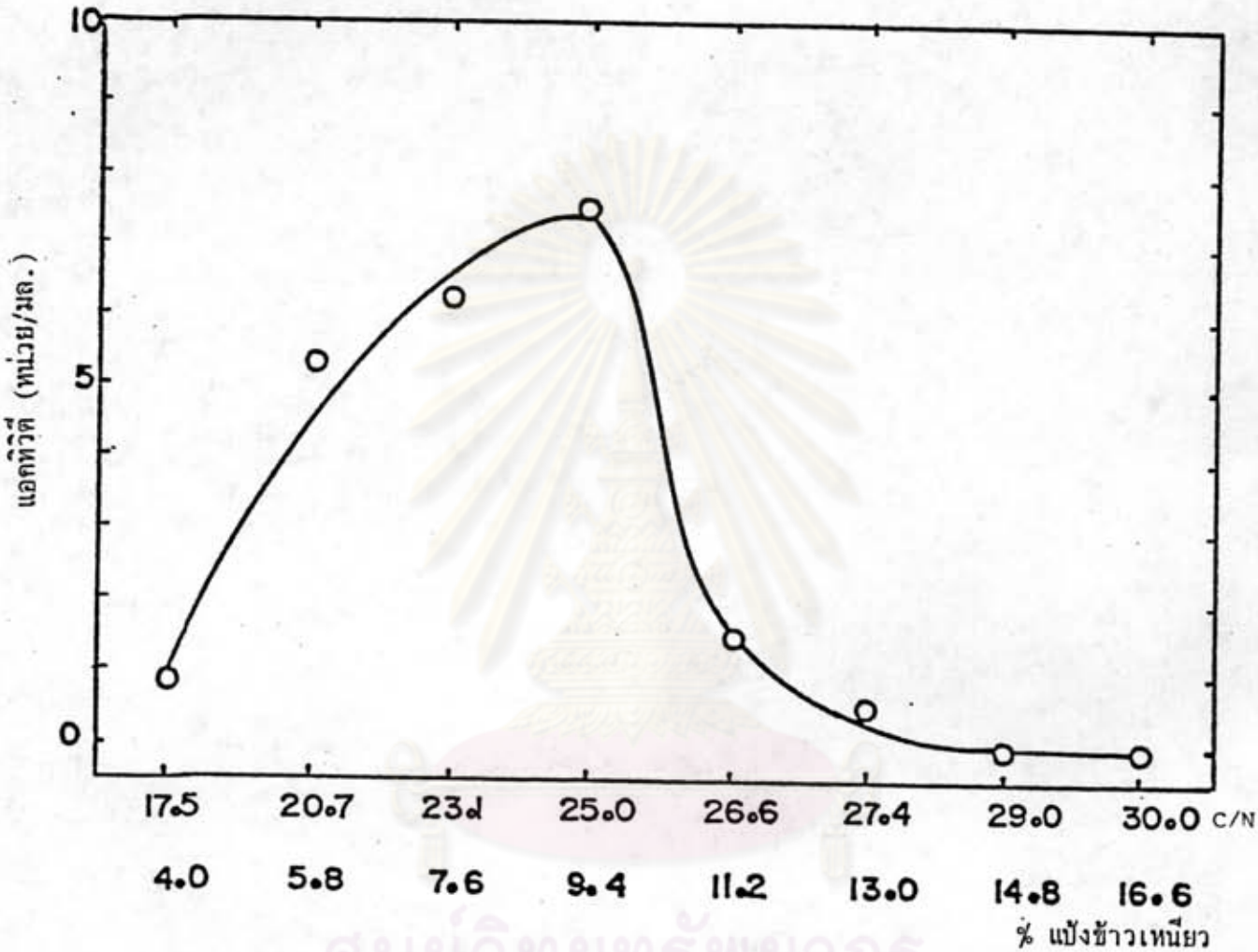
7. การศึกษาการเพาะเลี้ยง *Rhizopus* sp. สายพันธุ์ II ในถังหมักขนาด 5 ลิตร

7.1 ผลการทดสอบการกวนและการให้อากาศด้วยวิธีแฟคตอเรียล

ผลการทดลองแบบแฟคตอเรียล 2^2 โดยทำซ้ำที่จุดกลางของ 2 ปัจจัย ปรากฏว่าปริมาณเอนไซม์เพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มอัตราการกวนจาก 50 รอบ/นาที ถึง /50 รอบ/นาที และเมื่อเพิ่มการให้อากาศจาก 1 vvm เป็น 2 vvm ดังแสดงไว้ในตารางที่ 7 จากการทดลองนี้แสดงว่าการกวนและการให้อากาศมีอิทธิพลร่วมกันต่อการผลิตกลูโคอะไมเลส (ภาคผนวก ฉ) แต่ยังไม่สามารถบอกได้ว่า การกวนใดเหมาะสม เนื่องจากยังมีแนวโน้มแอคทิวิตียังเพิ่มขึ้นอีก

ตารางที่ 7 แอคทิวิตีของกลูโคอะไมเลส (หน่วย/มล.) เมื่อทดสอบการให้อากาศและการกวนแบบแฟคตอเรียล 2^2

การให้อากาศ (vvm)	การกวน		
	50 (รอบ/นาที)	100 (รอบ/นาที)	150 (รอบ/นาที)
1	5.53		7.14
1.5		6.49, 6.33	
2	8.8		9.70



รูปที่ 12 การเปรียบเทียบอัตราส่วน C/N เมื่อกากรำ 1% และแอมโมเนียมซิเตต 0.3%

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

7.1.2 ผลของการให้อากาศต่อปริมาณกลูโคอะไมเลส และการเจริญ และออกซิเจนที่ละลาย

จากการทดสอบการให้อากาศและการกวนแบบแฟคทอเรียล พบว่า เมื่อเพิ่มการให้อากาศจาก 1 vvm เป็น 2 vvm จะทำให้แอคทิวิตีของกลูโคอะไมเลสสูงขึ้น ทั้งเมื่อใช้อัตราการกวน 50 รอบ/นาที ดังแสดงไว้ในรูปที่ 13 และเมื่อใช้อัตราการกวน 150 รอบ/นาที ดังแสดงไว้ในรูปที่ 14

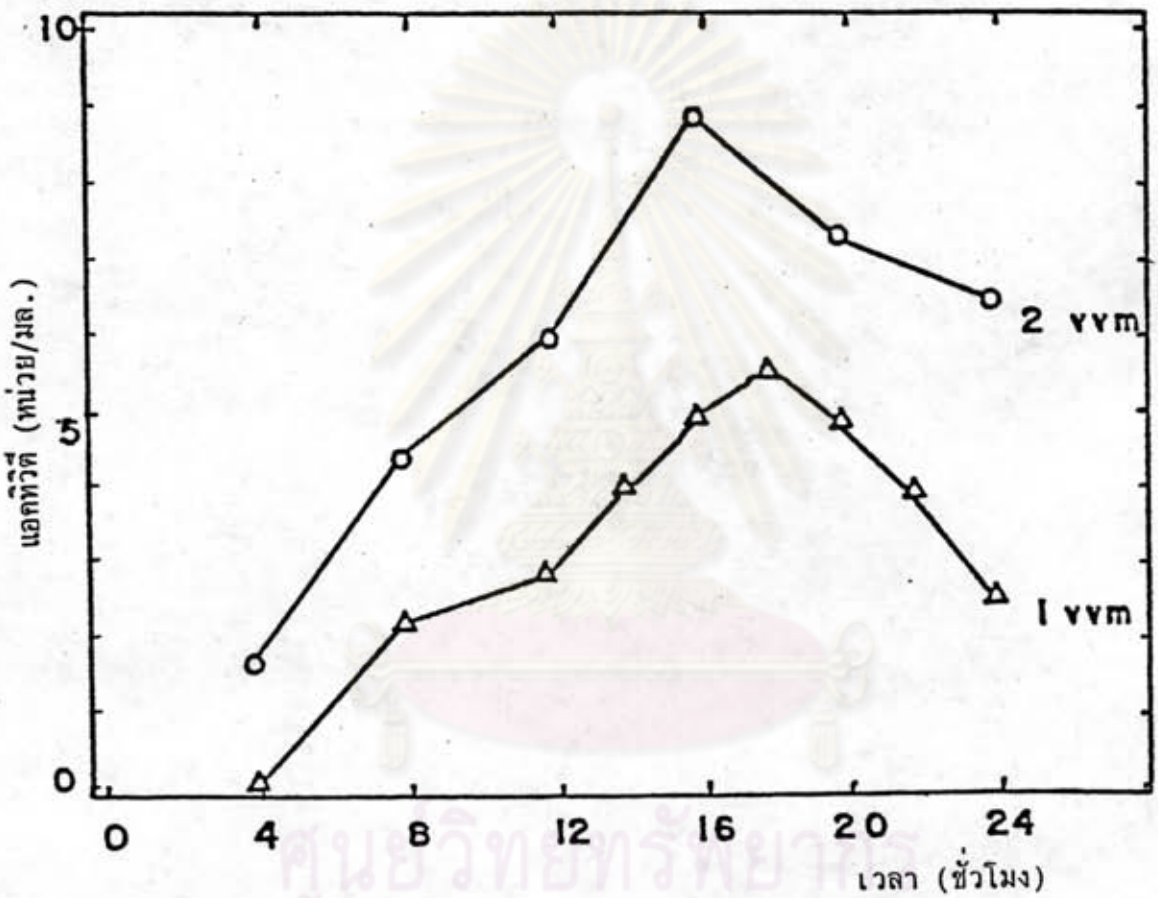
การเพิ่มการให้อากาศก็ช่วยเพิ่มอัตราการเจริญในทำนองเดียวกับแอคทิวิตีของกลูโคอะไมเลส เมื่อใช้อัตราการกวน 50 รอบ/นาที การเพิ่มการให้อากาศจาก 1 เป็น 2 vvm จะเพิ่มการเจริญจาก 8.91 เป็น 25.17 มก.กลูโคซามีน/กรัมน้ำหนักแห้ง ซึ่งแสดงไว้ในรูปที่ 15

ผลของการให้อากาศต่อออกซิเจนที่ละลายโดยการเพิ่มการให้อากาศจะช่วยยืดเวลาที่ออกซิเจนจะหมดออกไป เมื่อเพิ่มการให้อากาศจาก 1 เป็น 2 vvm สำหรับอัตราการกวน 50 รอบ/นาที เวลาที่ออกซิเจนหมดจะเลื่อนจากชั่วโมงที่ 6 เป็นชั่วโมงที่ 15 ดังแสดงในรูปที่ 16 และเมื่อใช้อัตราการกวน 150 รอบ/นาที เวลาที่ออกซิเจนหมดจะเลื่อนจากชั่วโมงที่ 8 เป็นชั่วโมงที่ 19 ดังแสดงไว้ในรูปที่ 17 เนื่องจากออกซิเจนในอาหารเหลวเป็นปัจจัยที่สำคัญสำหรับการหมักเชื้อราในอาหารเหลว ความรู้เกี่ยวกับการให้อากาศและการกวนที่มีผลต่อออกซิเจนในอาหารเหลวนั้นจึงเป็นประโยชน์สำหรับการหมักเชื้อราในอาหารเหลวอย่างยิ่ง

7.1.3 ความสัมพันธ์ระหว่างออกซิเจนที่ละลาย, การเจริญ และปริมาณกลูโคอะไมเลส

จากการทดลองเพาะเลี้ยง *Rhizopus* sp. สายพันธุ์ II ตามวิธีที่กล่าวไว้ในบทที่ 2 ข้อ 10 จากรูปที่ 18 เป็นตัวอย่างของการเปลี่ยนแปลงของออกซิเจนที่ละลายการเจริญและปริมาณกลูโคอะไมเลส เมื่อเวลาผ่านไป

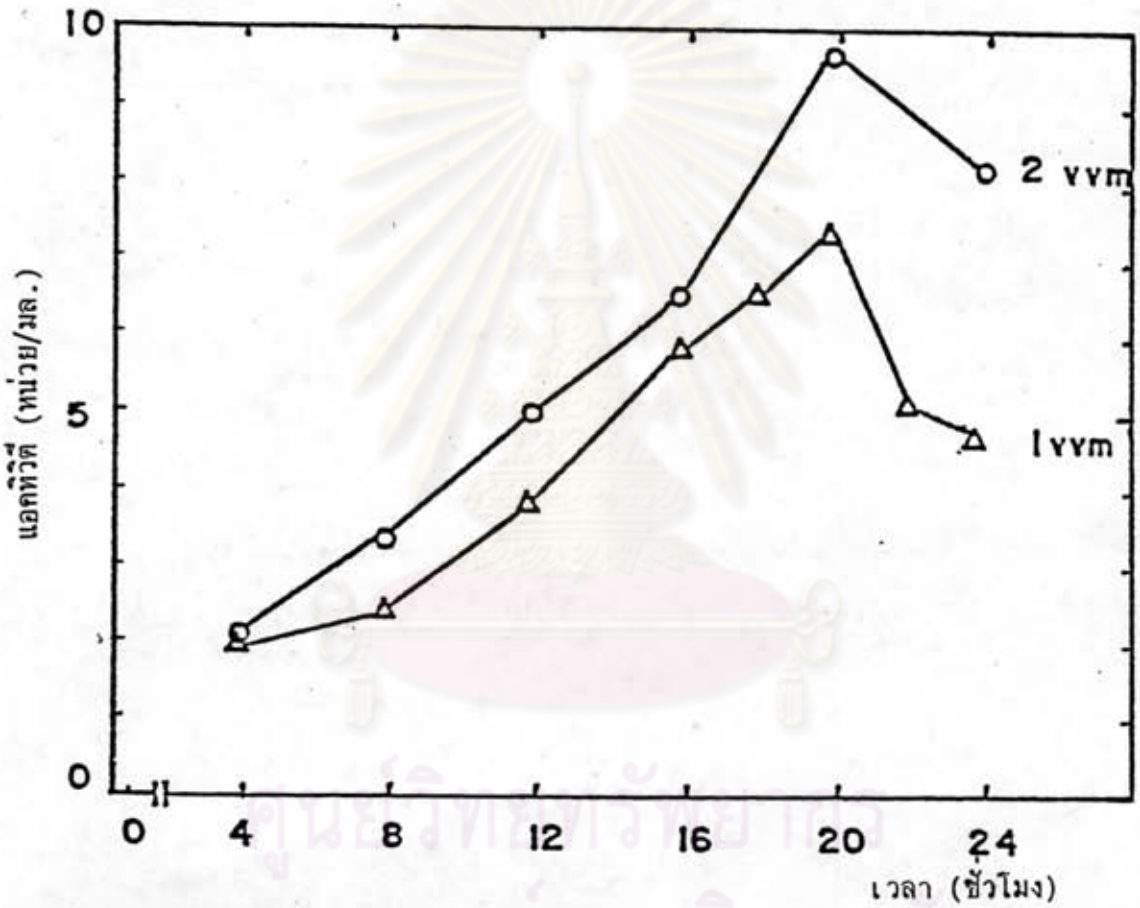
การทำงานของกลูโคอะไมเลสจะเข้าสู่ระยะทวีคูณในระยะที่การเจริญเป็นระยะทวีคูณเช่นเดียวกัน สำหรับปัจจัยพีเอชนั้น เนื่องจากในการทดลองระดับขวดแก้วพบว่าขวดที่มีแอคทิวิตีต่ำนั้นจะมีพีเอชต่ำกว่า 5 ด้วย ในการหมักในถังหมักจึงควบคุมพีเอช 5.0 โดยการเติม 10% NaOH ด้วยเครื่องควบคุมพีเอช ตลอดการทดลอง



รูปที่ 13 การเปรียบเทียบ แอคทิวิตี ของกลูโคอะไมเลสสูงสุดที่การให้อากาศต่างกัน และอัตราการกวนคงที่ 50 รอบ/นาที ในถังหมักขนาด 5 ลิตร

△ 1 vvm

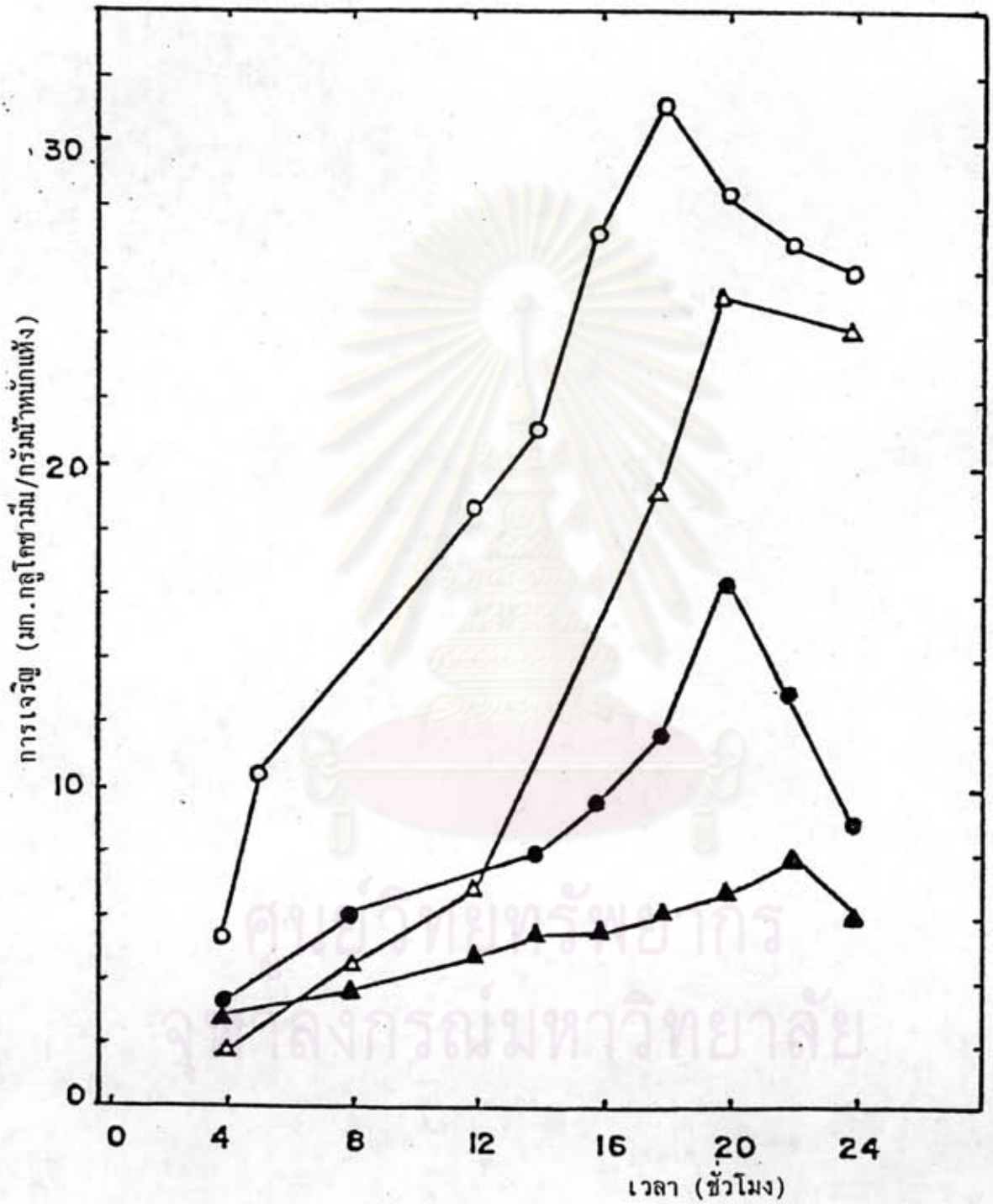
○ 2 vvm



รูปที่ 14 เปรียบเทียบแอคทิวิตีของกลูโคอะไมเลส ที่การให้อากาศต่างกัน และมีอัตราการกวน 150 รอบ/นาที คงที่ ในถังหมักขนาด 5 ลิตร

△ = 1 vvm

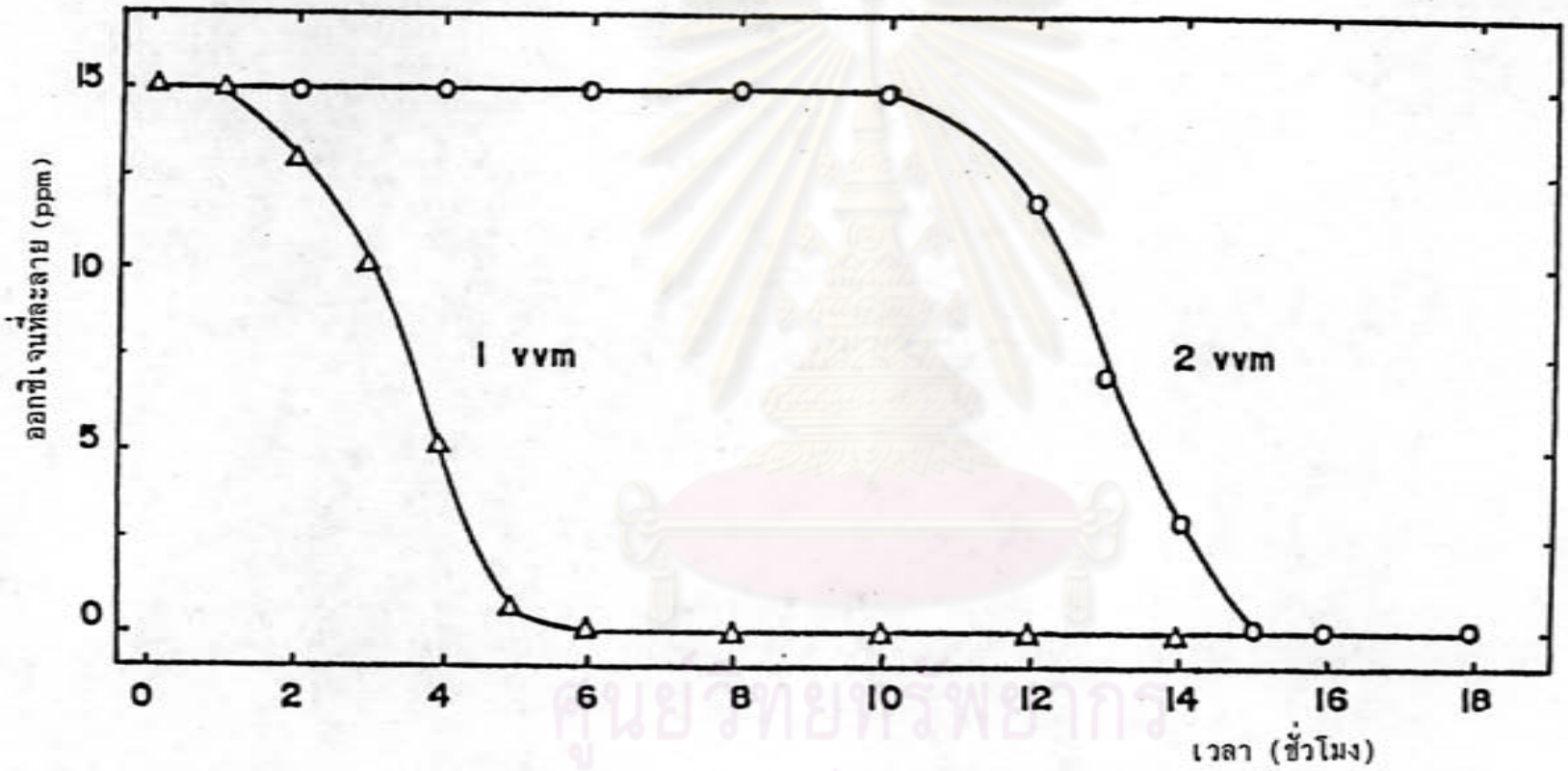
○ = 2 vvm



รูปที่ 15 การเปรียบเทียบการเจริญของ *Rhizopus* sp. สายพันธุ์ II เมื่อใช้อัตราการกวน 50 และ 150 รอบ/นาที และอัตราการให้อากาศ 1 และ 2 vvm ในถังหมักขนาด 5 ลิตร

○ 150 รอบ/นาที 2 vvm ● 150 รอบ/นาที 1 vvm

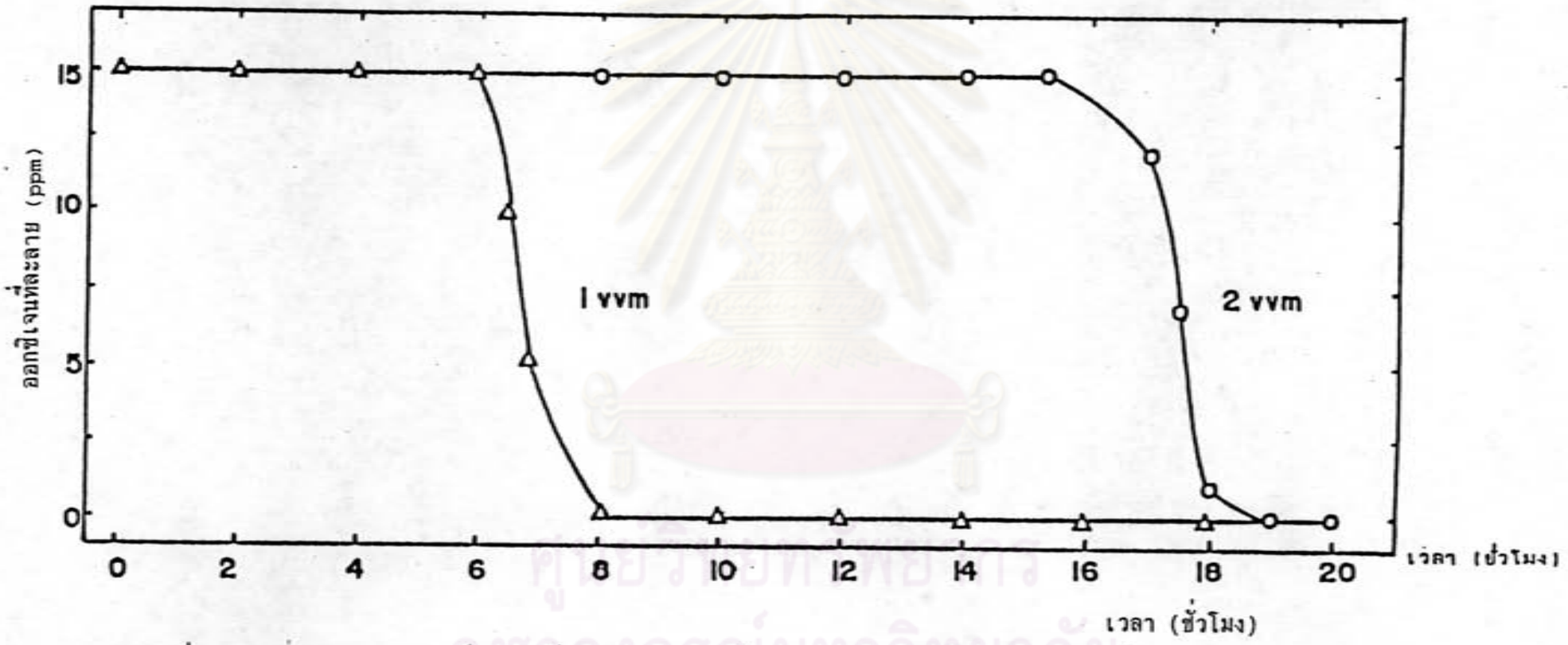
△ 50 รอบ/นาที 2 vvm ▲ 50 รอบ/นาที 1 vvm



รูปที่ 16 เปรียบเทียบออกซิเจนที่ละลายระหว่างการหมัก เมื่ออัตราการกวน 50 รอบ/นาที คงที่ อัตราการให้อากาศเปลี่ยนแปลง ในถังหมักขนาด 5 ลิตร

△ 1 vvm

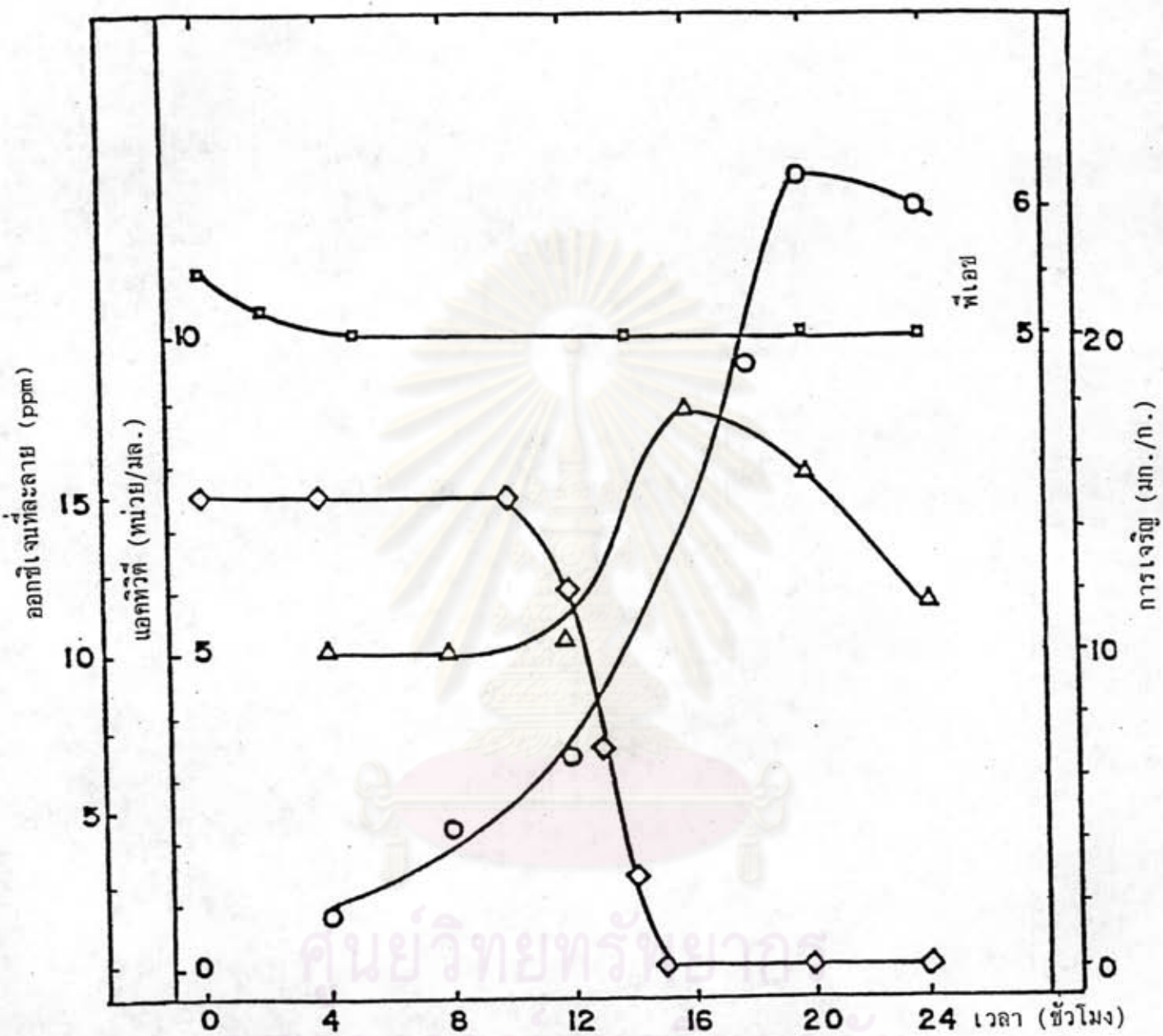
○ 2 vvm



รูปที่ 17 เปรียบเทียบออกซิเจนที่ละลายเมื่ออัตราการกวนคงที่ 150 รอบ/นาที อัตราการให้อากาศเปลี่ยนแปลง ในถังหมักขนาด 5 ลิตร

△ 1 vvm

○ 2 vvm



รูปที่ 18 การเปรียบเทียบปัจจัยที่เกิดขึ้น ระหว่างการหมักในถังหมัก อัตราการกวน 50 รอบ/นาที การให้อากาศ 2 vvm ในถังหมักขนาด 5 ลิตร

◇ ออกซิเจนที่ละลาย
○ การเจริญ
□ พีเอช
△ กลูโคอะไมเลส

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณออกซิเจนที่ละลายในอาหาร ซึ่งปรับให้มีค่าออกซิเจนอิ่มตัวในตอนเริ่มต้นเป็น 15 ส่วนในล้านส่วน กับการเจริญ และการสร้างเอนไซม์ พบว่าในขณะที่เซลล์มีการเจริญ และการสร้างกลูโคอะไมเลส ออกซิเจนที่ละลายในอาหารลดลงจนเป็นศูนย์ (ยกเว้นอัตราการกวน 400 รอบ/นาที ออกซิเจนจะลดลงคงที่ที่ 5 ส่วนในล้านส่วน แสดงไว้ในรูปที่ 22) แสดงว่าเซลล์ต้องการใช้ออกซิเจนอย่างมาก เพื่อใช้ในการเจริญและการผลิตเอนไซม์ หรือการที่ออกซิเจนในของเหลวอ่านค่าได้ศูนย์ เนื่องจากความเข้มข้นของเซลล์มีมากจนเชื้อราเจริญเกาะที่ปลายเครื่องวัดออกซิเจน (ปลาย probe) ทำให้ค่าออกซิเจนที่อ่านได้ไม่ใช่ค่าออกซิเจนที่ละลายในอาหารจริง

7.2 การเปลี่ยนแปลงอัตราการกวน

7.2.1 ผลของอัตราการกวนต่อปริมาณกลูโคอะไมเลส

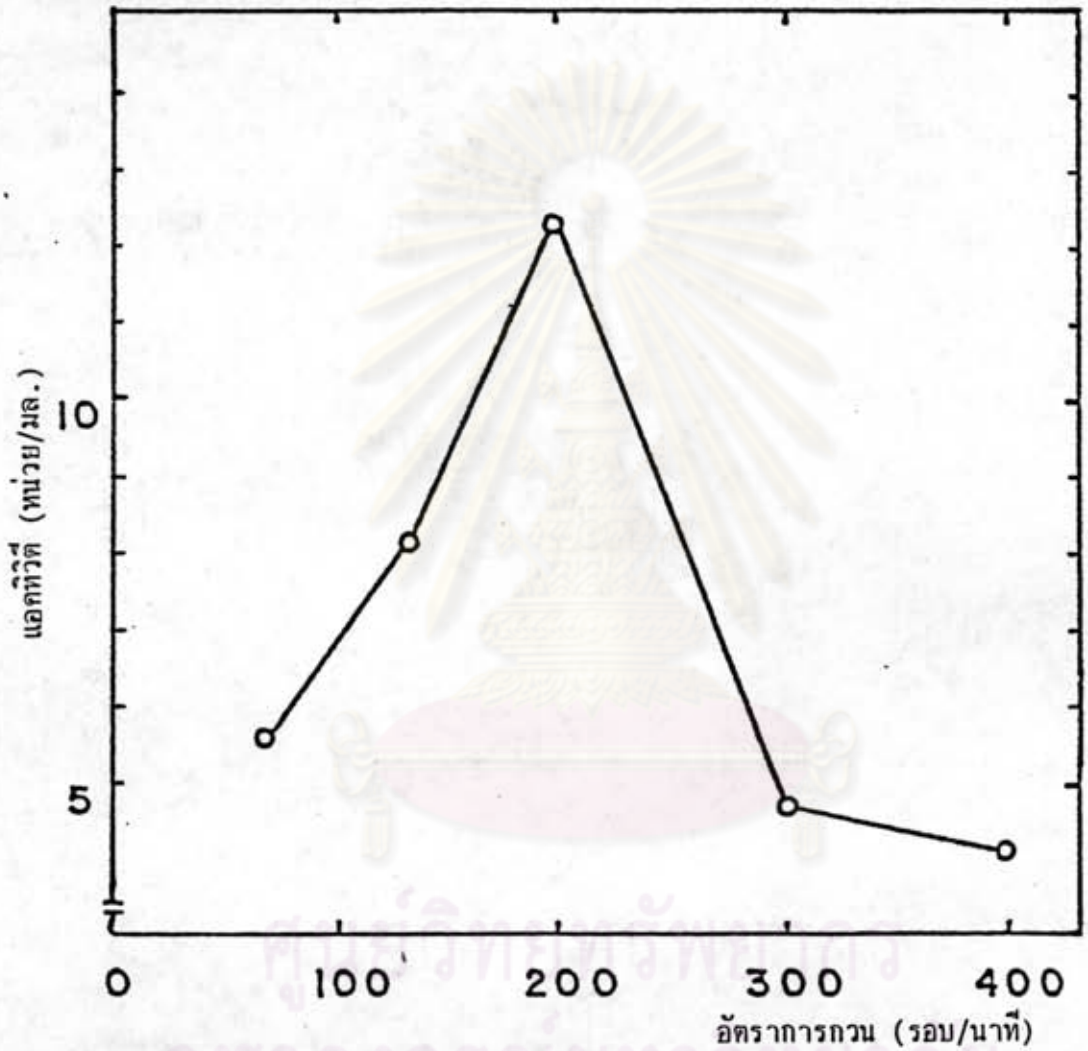
จากการทดลองตามวิธีที่กล่าวไว้ในบทที่ 2 ข้อ 10.2 เมื่อแปรอัตราการกวน 50, 150, 200, 300 และ 400 รอบ/นาที พบว่าแอคทิวิตีของกลูโคอะไมเลสเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มอัตราการกวน และจะมีแอคทิวิตีสูงสุดที่อัตราการกวน 200 รอบ/นาที เมื่อเพิ่มอัตราการกวนมากกว่านี้ แอคทิวิตีจะลดลง ดังแสดงในรูปที่ 19 โดยที่อัตราการกวน 200 รอบ/นาที จะให้แอคทิวิตี 12.27 หน่วย/ มล. การเปลี่ยนแปลงแอคทิวิตีต่อเวลา แสดงในรูปที่ 20

7.2.2 ผลต่อการเจริญ

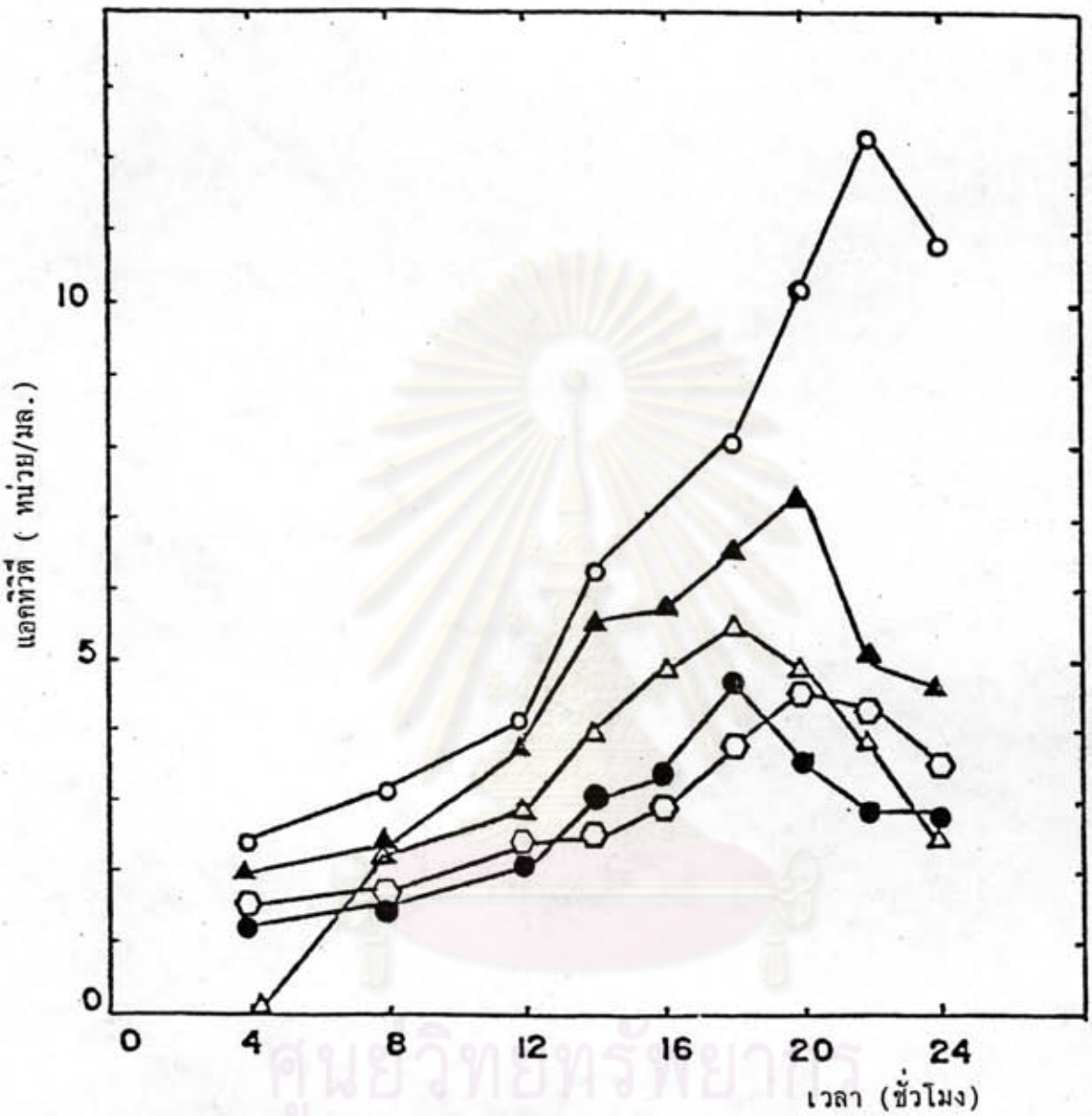
การเปลี่ยนอัตราการกวนนั้นมีผลต่อการเจริญของ *Rhizopus* sp. สายพันธุ์ II โดยการเจริญเพิ่มขึ้นเมื่ออัตราการกวนเพิ่มขึ้น เชื้อรามีการเจริญสูงสุดที่อัตราการกวน 400 รอบ/นาที ได้ 24.17 มก. กลูโคซามีน/กรัมน้ำหนักแห้ง ดังแสดงในรูปที่ 21

7.2.3 ผลต่อออกซิเจนที่ละลาย

ผลของอัตราการกวนต่อออกซิเจนที่ละลายนั้น อัตราการกวนเพิ่มขึ้นก็จะยืดเวลาที่ออกซิเจนจะหมดออกไปตามลำดับ สำหรับที่อัตราการกวน 400 รอบ/นาที ออกซิเจนจะลดลงและคงที่ ที่ 5 ส่วนในล้านส่วนตลอด ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 16 แสดงว่าที่อัตราการกวน 400 รอบ/นาที จะให้ออกซิเจนมากเกินพอ ทั้งหมดนี้แสดงไว้ในรูปที่ 22



รูปที่ 19 การเปรียบเทียบแอคทิวิตีของกลูโคอะไมเลสสูงสุด ในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อมีอัตราการกวนต่างกัน และอัตราการให้อากาศคงที่ 1 vvm



รูปที่ 20 การเปรียบเทียบแอคทิวิตีของกลูโคอะไมเลสที่เวลาต่าง ๆ เมื่ออัตราการให้อากาศคงที่ 1 vvm อัตราการกวนต่าง ๆ กัน ในถังหมักขนาด 5 ลิตร

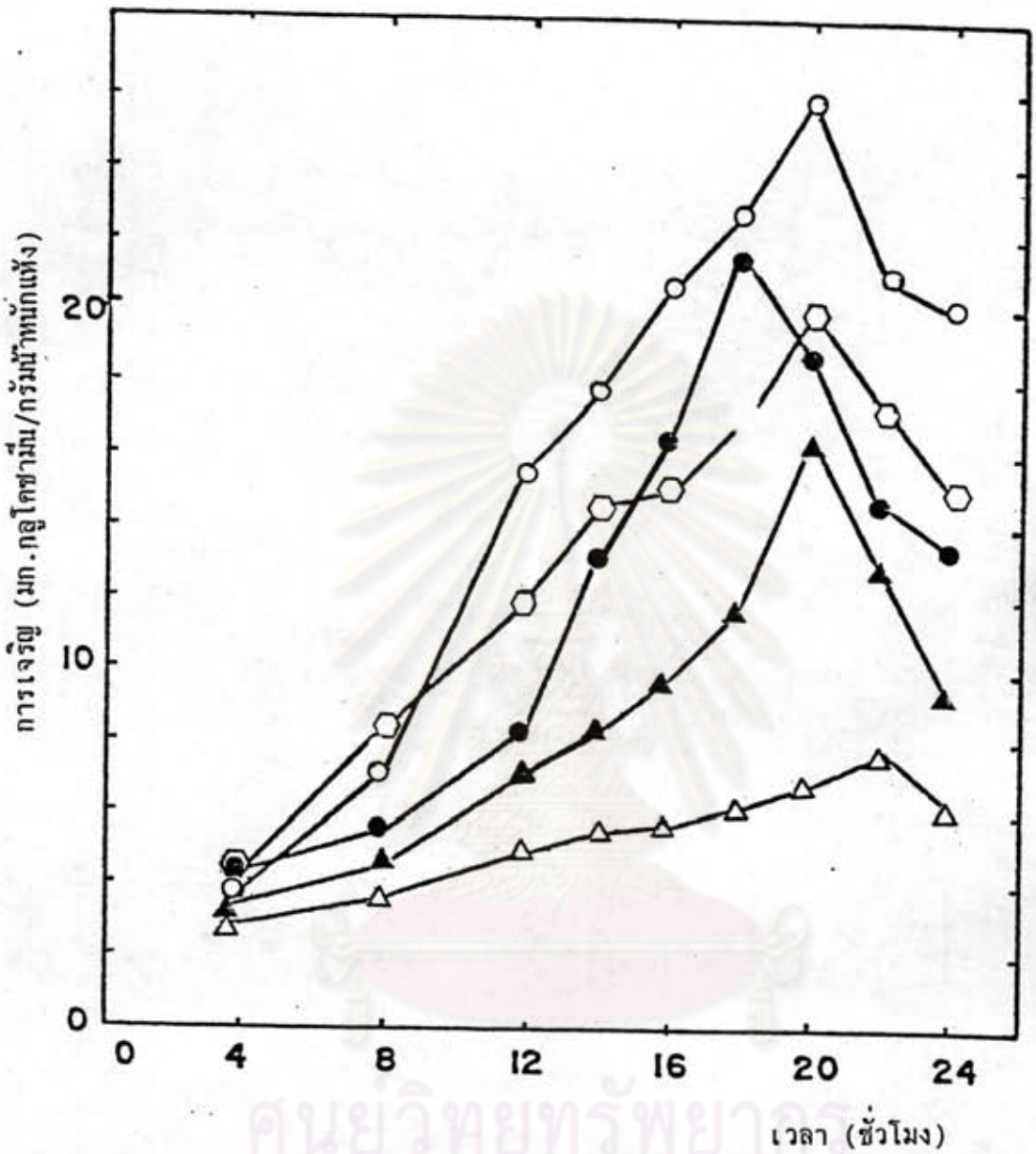
△ 50 รอบ/นาที

▲ 150 รอบ/นาที

○ 200 รอบ/นาที

⬡ 300 รอบ/นาที

● 400 รอบ/นาที



รูปที่ 21 การเจริญของ *Rhizopus* sp. ที่เวลาต่าง ๆ เมื่ออัตราการให้อากาศที่ 1 vvm อัตราการกวนเปลี่ยนแปลง ในถังหมักขนาด 5 ลิตร

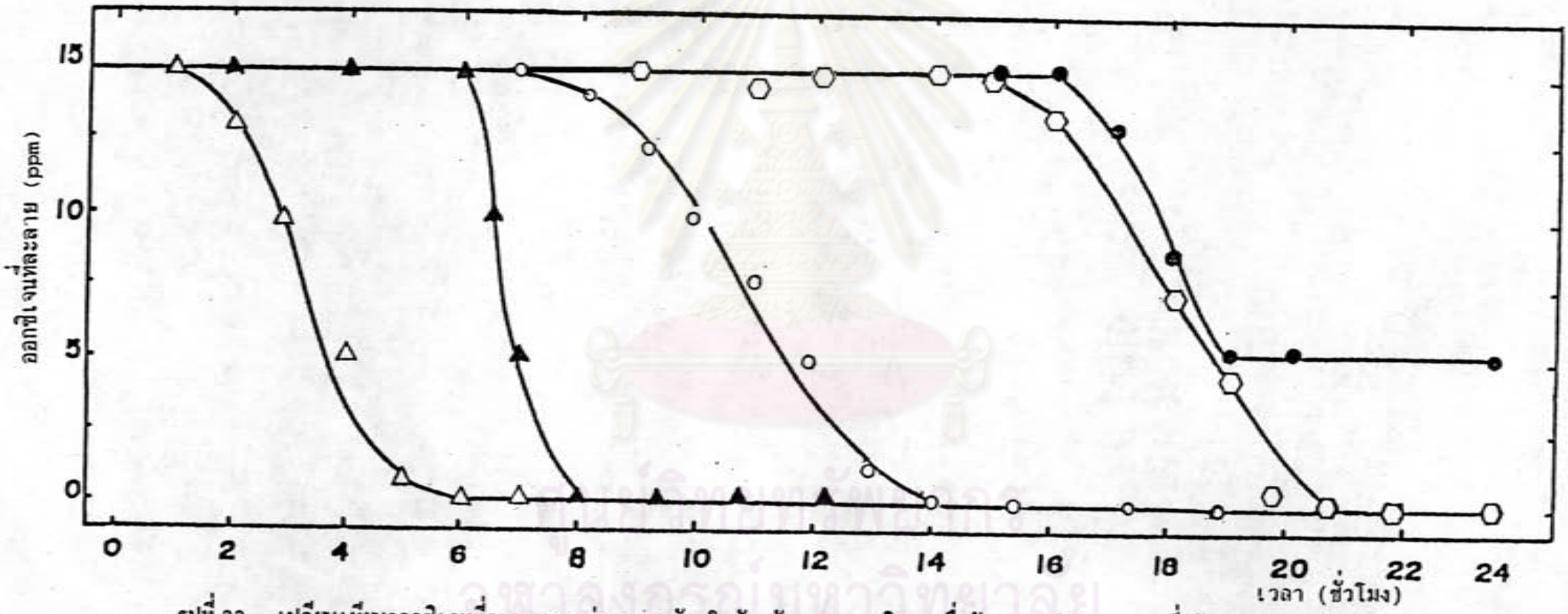
△ = 50 รอบ/นาที

▲ = 150 รอบ/นาที

○ = 200 รอบ/นาที

⬡ = 300 รอบ/นาที

● = 400 รอบ/นาที



รูปที่ 22 เปรียบเทียบออกซิเจนที่ละลายระหว่างการหมัก ในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่ออัตราการให้อากาศคงที่ อัตราการกวนต่าง ๆ

△ 50 รอบ/นาที
▲ 150 รอบ/นาที
○ 200 รอบ/นาที
⬡ 300 รอบ/นาที
● 400 รอบ/นาที

8. ผลการทดลอง dynamic measurement

การหมักเชื้อราในอาหารเหลวนั้น ออกซิเจนที่ละลายในอาหารเหลวเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการเจริญและการผลิตสารต่าง ๆ (metabolite) เนื่องจากเชื้อราเป็นจุลินทรีย์ที่ต้องการออกซิเจนอย่างยิ่งยวด (strictly aerobic microbes) ดังนั้นประสิทธิภาพของการถ่ายเทออกซิเจนจากฟองอากาศสู่อาหารเหลวนั้นจึงเป็นปัจจัยจำเป็นต้องศึกษาสำหรับการหมักเชื้อราในอาหารเหลว ประสิทธิภาพการถ่ายเทออกซิเจนนั้นจะเป็นตัวกลาง (direct means) ในการประมาณการเปลี่ยนขนาด (scale) ของถังหมัก โดยให้เชื้อราได้รับออกซิเจนมากพอที่จะให้เอนไซม์มาก โดยไม่ต้องใช้พลังงานในการกวน และให้อากาศมากจนเกินจำเป็น

8.1 ในการทดลองนี้ทำการหมัก *Rhizopus* sp. สายพันธุ์ II ตามวิธีการทดลองข้อ 11 ในบทที่ 2 ที่อัตราการกวน 200 รอบ/นาที และการให้อากาศ 1 vvm โดยตั้งค่าออกซิเจนที่ละลายเริ่มต้น = 15 ppm (ซึ่งมากกว่าความเป็นจริง เพื่อป้องกันเครื่องไม่ให้อ่านค่าออกซิเจนที่ละลายเป็นค่าลบในตอนท้ายการหมัก) ได้ปริมาณการเจริญของเซลล์ในน้ำหมัก 8.5 มก. กลูโคซามีน/กรัมน้ำหนักแห้ง บันทึกค่าออกซิเจนที่ละลายหลังการปิดการพ่นอากาศและการกวน และเมื่อเริ่มพ่นอากาศและการกวนอีกครั้งหนึ่งได้กราฟดังแสดงในรูปที่ 23 จากรูปหาความชัน (slope) ของออกซิเจนที่ละลายที่ลดลงช่วงปิดการพ่นอากาศและการกวน จากการคำนวณสมดุลย์ของออกซิเจนที่ละลายดังแสดงไว้ในภาคผนวก ฌ จะได้

$$\text{slope} = rX$$

$$= \frac{5.4}{2.0}$$

$$= 2.7 \text{ ppm (นาที)}^{-1}$$

ดังนั้นจะได้ค่าอัตราการใช้ออกซิเจนของเซลล์ rX (volumetric oxygen demand rate) เท่ากับ 2.7 ppm ต่อนาที

8.2 เมื่อพ่นอากาศใหม่อีกครั้งหนึ่ง บันทึกค่าออกซิเจนที่เพิ่มขึ้น จากรูปที่ 23 คำนวณค่า $(C_{L_o} - C_{L_o})t_f$ และพื้นที่ $/t_f$ (พื้นที่ใต้กราฟหลังจากเริ่มพ่นอากาศและการกวนต่อเวลา) ดังแสดงวิธีการคำนวณไว้ในภาคผนวก ฌ ได้ตารางที่ 8

ตารางที่ 8 ผลการทดลอง dynamic measurement

C_{L_t} (ppm)	t (นาที)	$C_{L_t} - C_{L_o}$ (ppm)	$(C_{L_t} - C_{L_o})/t_f$ (ppm/นาที)	พื้นที่ (ppm×นาที)	พื้นที่/t_f (ppm)
10.2	0	0	0	0	0
13.4	2	3.2	1.6	23.8	17.90
15.0	10	4.8	0.48	137.4	13.74
15.2	20	5.0	0.25	152.0	14.47

8.3 นำค่า $(C_{L_t} - C_{L_o})/t_f$ และพื้นที่/t_f มาเขียนกราฟ ดังแสดงในรูปที่ 24 จากรูปกราฟตัดแกน Y ที่ 7.5

$$(k_L a\, C^* - rX) = 7.5 \qquad (1)$$

จากข้อ 11.1; $rX = 0.27$

$= 7.23$ ppm/นาที

จากรูปที่ 23; ความชัน $= -k_L a$

$k_L a = 0.7$ (นาที)$^{-1}$

$= 42$ (ชั่วโมง)$^{-1}$

แทนค่า $k_L a$, rX ใน (1); $0.7\, C^* - 0.27 = 7.5$

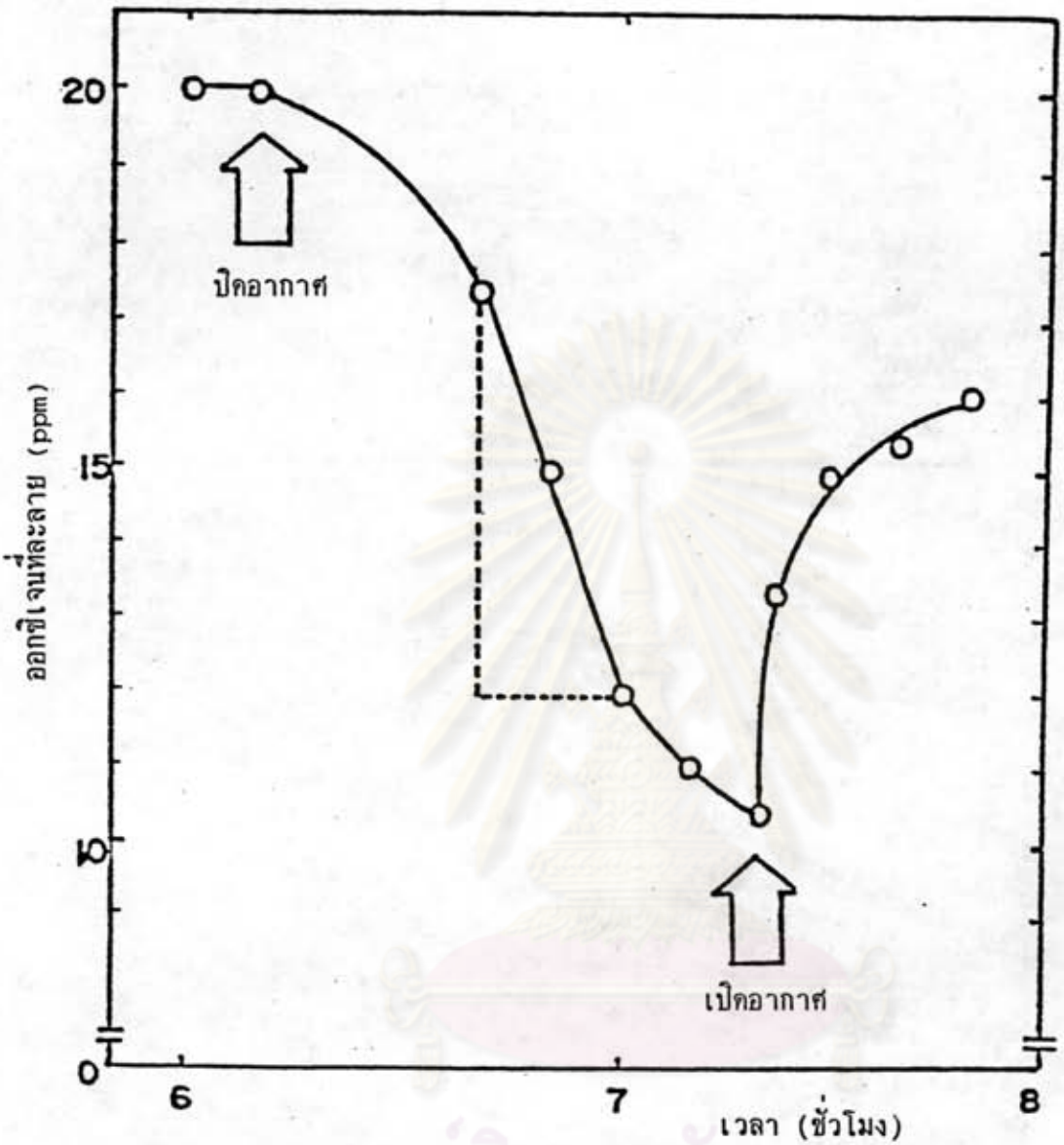
$C^* = 10.3$ ppm.

จากผลการทดลอง dynamic measurement จะได้

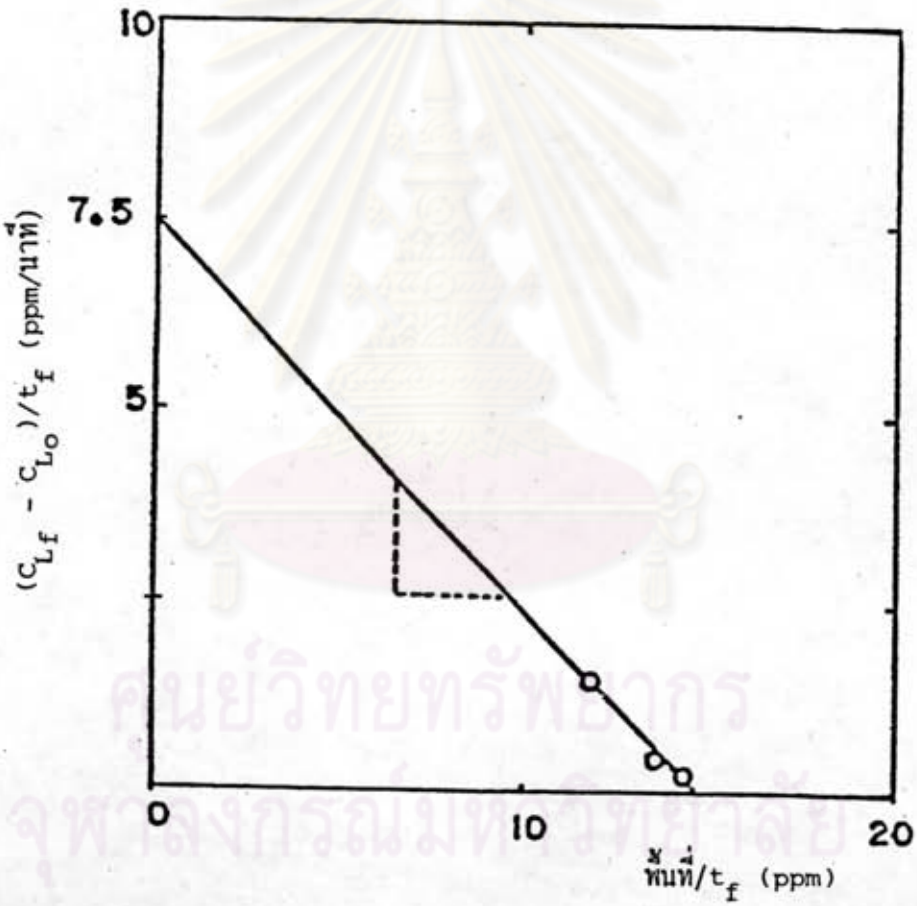
1. อัตราการใช้ออกซิเจนของเซลล์ (Volumetric oxygen demand rate) $rX = 2.7$ ppm/นาที

2. สัมประสิทธิ์การถ่ายเทออกซิเจน (Volumetric oxygen transfer Coefficient) $k_L a = 42$ (ชั่วโมง)$^{-1}$

3. ความเข้มข้นออกซิเจนที่ละลายที่สมดุลย์ (equilibrium dissolved oxygen concentration) $C^* = 10.3$ ppm (ซึ่งมากกว่าความเป็นจริง เนื่องจากตั้งค่าออกซิเจนที่ละลายเริ่มต้น = 15 ppm ดังกล่าว)



รูปที่ 23 dynamic measurement บันทึกออกซิเจนที่ละลายเมื่อปิดการให้อากาศและเปิดใหม่อีกครั้ง เมื่อทำการหมักในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยใช้อัตราการกวน 200 รอบ/นาที อัตราการให้อากาศ 1 vvm



รูปที่ 24 ความสัมพันธ์ระหว่าง พันที่/t_f และ $(C_{L_f} - C_{L_o})/t_f$

9. การใช้อุลตราฟิลเตรชันทำเอนไซม์ให้เข้มข้น

9.1 การใช้เยื่อสังเคราะห์ขนาดกักโมเลกุล 100,000

การทดลองใช้เยื่อสังเคราะห์ขนาดกักโมเลกุล 100,000 นั้น ใช้อัตราการไหลกลับ 0.6 มล./นาที/ตร.ซม. ปรากฏว่ามีเจลโพลาไรเซชันเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว จะเห็นได้ว่าอัตราการไหลลดลงอย่างรวดเร็วเมื่อ v_f/v_r เพิ่มขึ้น ดังแสดงไว้ในรูปที่ 25 อาจเกิดจากอัตราการไหลกลับต่ำเกินไป หรือการทำการทดลองที่อุณหภูมิ 4 °ซ นั้นทำให้สารละลายมีความหนืดเพิ่มขึ้น หรือการทดลองที่อุณหภูมิต่ำนั้น จะทำให้รูพรุนของเยื่อสังเคราะห์หดตัวได้ (Chen and Zall, 1985) ทำให้เกิดโพลาไรเซชัน

ผลการวิเคราะห์ของแข็งทั้งหมด (total solid) โปรตีนและการทำงานของเอนไซม์ ดังแสดงในตารางที่ 9 พบว่าเอนไซม์ทั้งหมดสามารถผ่านเยื่อสังเคราะห์ออกมาอยู่ในสารละลายที่ผ่านเยื่อ (permeate) ถึงแม้จะมีการทำ diafiltration โดยการเติมบัฟเฟอร์เพื่อล้างเอนไซม์ในเยื่อให้ออกทั้งหมด ก็ยังพบว่าแอคทิวิตีของเอนไซม์ในสารละลายผ่านเยื่อ (820.4 หน่วย) น้อยกว่าสารละลายเริ่มต้น (843.2 หน่วย) ทั้งนี้อาจเนื่องจากเสียเอนไซม์ไปบางส่วนเป็นเจลโพลาไรเซชันที่เยื่อสังเคราะห์ แม้ว่าจะล้างด้วยบัฟเฟอร์แล้วก็ยังไม่สามารถล้างออกมาได้หมด หรืออาจเกิดจากเจลโพลาไรเซชันทำให้อัตราการไหลต่ำต้องใช้เวลาในการผ่านเยื่อสังเคราะห์นานขึ้น ทำให้เอนไซม์เสียสภาพไป

ค่า % rejection ของการผ่านให้เอนไซม์ผ่านเยื่อสังเคราะห์ขนาดกักโมเลกุล 100,000 นั้นคิดไม่ได้ เนื่องจากทำการทดลองเป็น 2 ขั้นตอนคือ การผ่านเอนไซม์และการล้างเยื่อสังเคราะห์ด้วยบัฟเฟอร์

ผลการให้เอนไซม์ผ่านเยื่อสังเคราะห์ขนาด 100,000 ปรากฏว่าเอนไซม์มีแอคทิวิตีลดลง 0.73 เท่า แต่มีความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น 1.31 เท่า ดังแสดงในตารางที่ 9

9.2 การใช้เยื่อสังเคราะห์ขนาดกักโมเลกุล 30,000

ผลการทดลองใช้เยื่อสังเคราะห์ขนาดกักโมเลกุล 30,000 นั้น ปรากฏว่าอัตราการไหลไม่ลดลง แม้อัตราส่วน v_f/v_r จะเพิ่มขึ้น แต่เมื่อ v_f/v_r เข้าใกล้ 10 อัตราการไหลจึงจะเริ่มลดลงเล็กน้อย ดังแสดงในรูปที่ 26 อาจเกิดจากอัตราการไหลกลับที่ใช้คือ 1 มล./นาที/ตร.ซม. นั้นมากพอที่จะไม่ทำให้โปรตีนอุดตันที่เยื่อทำให้เกิดเป็นเจล การที่อัตรา

การไหลเริ่มลดลงในตอนสุดท้ายการทดลองอาจเนื่องจากเอนไซม์เข้มข้นขึ้น ทำให้ความหนืดเพิ่มขึ้น จึงมีการสะสมของโปรตีนที่เยื่อ

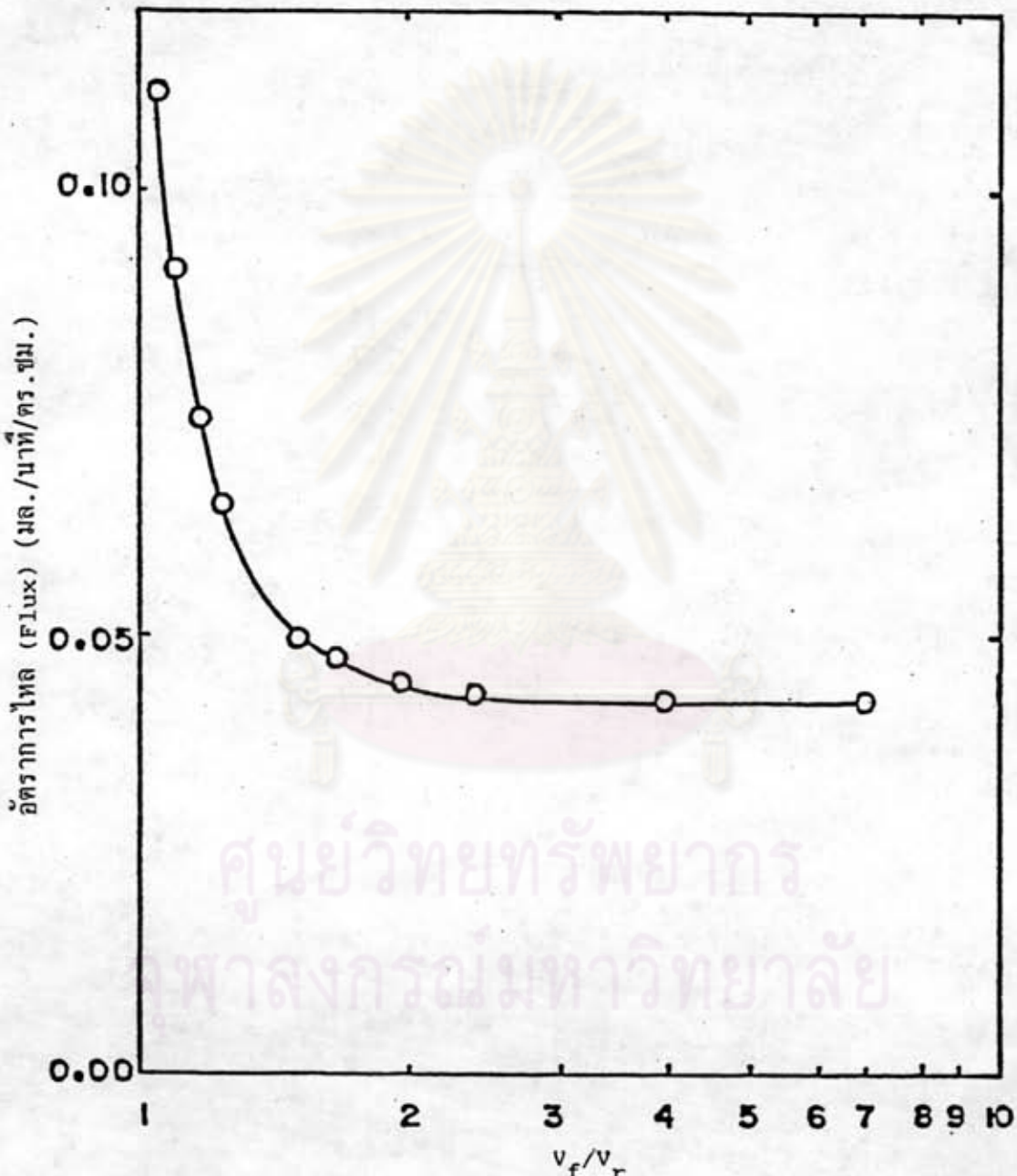
ผลการวิเคราะห์ของแข็งทั้งหมด (total solid) โปรตีน และแอคทิวิตีของเอนไซม์ พบว่าเอนไซม์ไม่สามารถผ่านเยื่อสังเคราะห์ออกมาได้ ดังแสดงในตารางที่ 8 โดยเอนไซม์อยู่ในสารละลายที่ไม่ผ่านเยื่อทั้งหมด (retentate) จากผลการทดลองนี้สามารถจะประมาณขนาดโมเลกุลของกลูโคอะไมเลสได้ว่ามีขนาดใหญ่กว่า 30,000 แต่เล็กกว่า 100,000 ดาลตัน

การพิจารณา % rejection ปรากฏว่าเยื่อสังเคราะห์ขนาดกักโมเลกุล 30,000 จะไม่ยอมให้โปรตีนผ่านเยื่อออกไป 46.5% ในขณะที่ไม่ให้ของแข็งผ่านออกไป 4.0% เท่านั้น สำหรับเอนไซม์นั้นผ่านเยื่อไม่ได้ 100% ดังแสดงในตารางที่ 10

ผลการให้เอนไซม์ผ่านเยื่อสังเคราะห์ขนาด 30,000 ปรากฏว่าเอนไซม์มีแอคทิวิตีเพิ่มขึ้น 9.6 เท่า เมื่อปริมาตรลดลง 10 เท่า ในขณะที่ความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น 7.42 เท่า

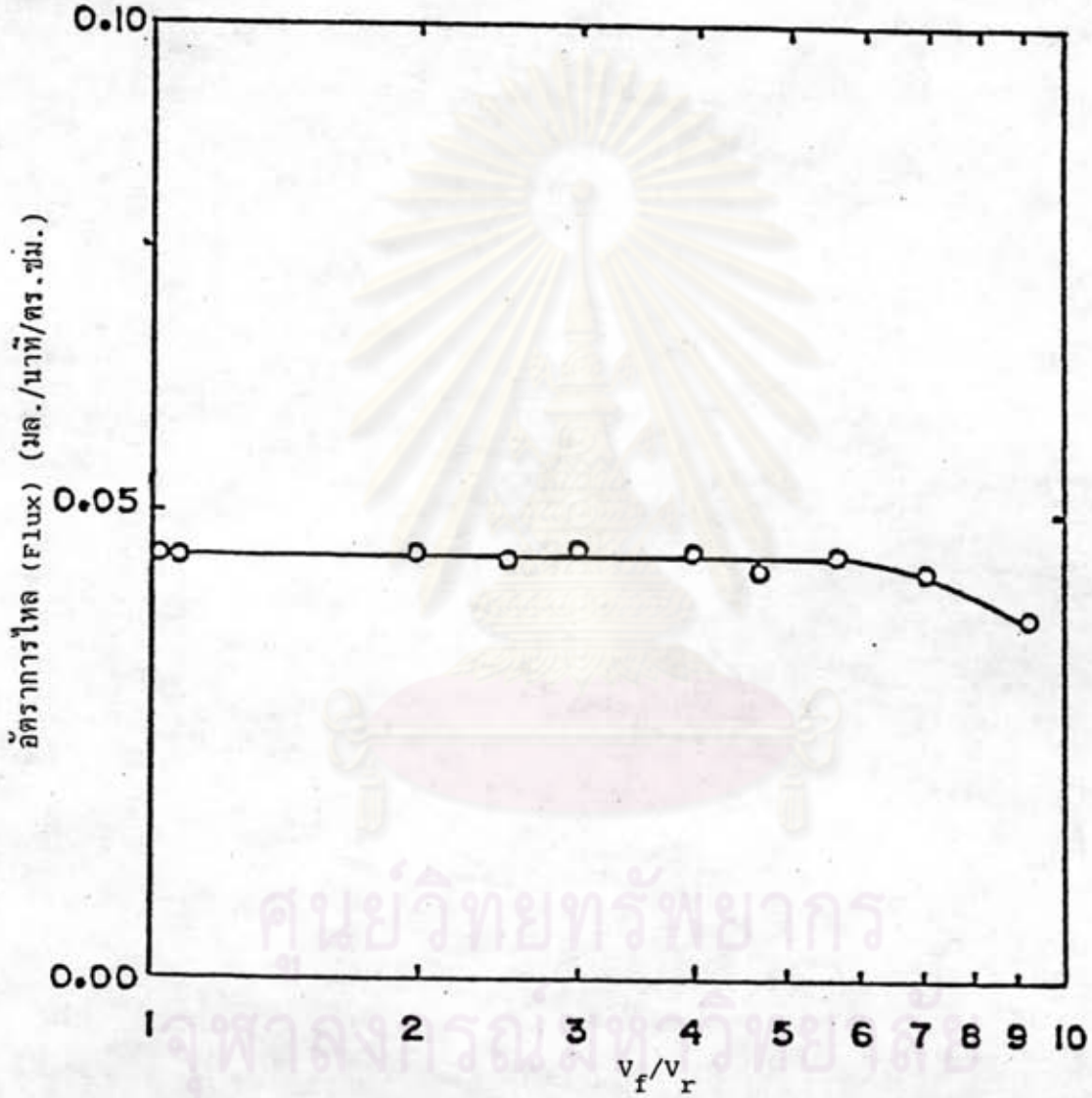
ผลการทำเอนไซม์เข้มข้นโดยให้เอนไซม์เริ่มต้น (crude enzyme) ผ่านเยื่อสังเคราะห์ขนาด 100,000 และ 30,000 นั้น ปรากฏว่าเอนไซม์มีแอคทิวิตีเพิ่มขึ้น 6.95 เท่า และมีความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น 9.70 เท่า จากเอนไซม์เริ่มต้น (crude enzyme)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 25 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการไหล และ v_f/v_r เมื่อใช้เยื่อแผ่นสังเคราะห์ขนาดกักโมเลกุล 100,000

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 26 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการไหล และ v_f/v_r เมื่อใช้เยื่อสังเคราะห์ขนาดกักโมเลกุล 30,000

ตารางที่ 9 การทำเอนไซม์เข้มข้นด้วยอุลตราฟิลเตรชัน

ขนาดของเยื่อสังเคราะห์ที่กำหนดตามน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนที่ถูกกัก (ดาลตัน)	ส่วนของสารละลาย	ปริมาตร (มล.)	เอนไซม์ (หน่วย/มล.)	เอนไซม์ทั้งหมด (หน่วย)	โปรตีน (มก./มล.)	โปรตีนทั้งหมด (มก.)	การทำงานจำเพาะของเอนไซม์ (หน่วย/มก.โปรตีน)	ของแข็ง (มก./มล.)	ของแข็งทั้งหมด (มก.)	เอนไซม์เข้มข้นขึ้น (เท่า)	ความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น (เท่า)	เอนไซม์เข้มข้นขึ้นจากเริ่มต้น (เท่า)	ความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้นจากเริ่มต้น (เท่า)
100,000	F	400	2.11	843.2	1.55	620.0	1.36	45.6	18240.0				
	R	260[n]	0	0	0.53	136.8	0	19.2	4992.0	0.73	1.31		
	P	535[n]	1.53	820.4	0.86	459.6	1.78	24.8	13268.0				
30,000	F	535	1.53	820.4	0.86	459.6	1.78	24.8	13268.0				
	R	54	14.68	792.7	1.11	60.1	13.20	28.8	1555.2	9.59	7.42	6.95	9.70
	P	482	0	0	0.46	221.7	0	23.8	11471.6				

n. ปริมาตรของ R และ P รวมกันมากกว่า F เนื่องจากรวมอะซิเตตบัฟเฟอร์ ปริมาตร 400 มล. ที่ใช้ล้างเยื่อภายหลังการผ่านเอนไซม์

F = สารละลายเริ่มต้น (feed)
R = สารละลายที่ไม่ผ่านเยื่อ (retentate)
P = สารละลายที่ผ่านเยื่อ (permeate)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่10 % rejection จากการทำเอนไซม์เข้มข้นด้วยอุลตราฟิลเตรชัน

ขนาดของเยื่อสังเคราะห์ที่กำหนดตามน้ำหนักโมเลกุลโปรตีนที่ถูกกัก (ดาลตัน)	ส่วนของสารละลาย	ปริมาตร (มล.)	แอคทิวิตี (หน่วย/มล.)	โปรตีน (มก./มล.)	ของแข็ง (มก./มล.)	rejection		
						โปรตีน	ของแข็ง	แอคทิวิตี
100,000	F	400	2.11	1.55	45.6	ข	ข	ข
	R	260[ก]	0	0.53	19.2			
	P	535[ก]	1.53	0.86	24.8			
30,000	F	535	1.53	0.86	24.8	46.51	4.03	100
	R	54	14.68	1.11	28.8			
	P	482	0	0.46	23.8			

ก. ปริมาตรของ R และ P รวมกันมากกว่า F เนื่องจากรวมอะซิเตตบัฟเฟอร์ ปริมาตร 400 มล. ที่ใช้ล้างเยื่อภายหลังการผ่านเอนไซม์

ข. % rejection ของการผ่านเยื่อขนาดกักโมเลกุล 100,000 นั้น คำนวณไม่ได้ เนื่องจากการล้างเยื่อด้วยอะซิเตตบัฟเฟอร์

F = สารละลายเริ่มต้น (feed)

R = สารละลายที่ไม่ผ่านเยื่อ (retentate)

P = สารละลายที่ผ่านเยื่อ (permeate)

10. ผลการตรวจสอบประเภทของเอนไซม์โดยโครมาโตกราฟฟีกระดาษ

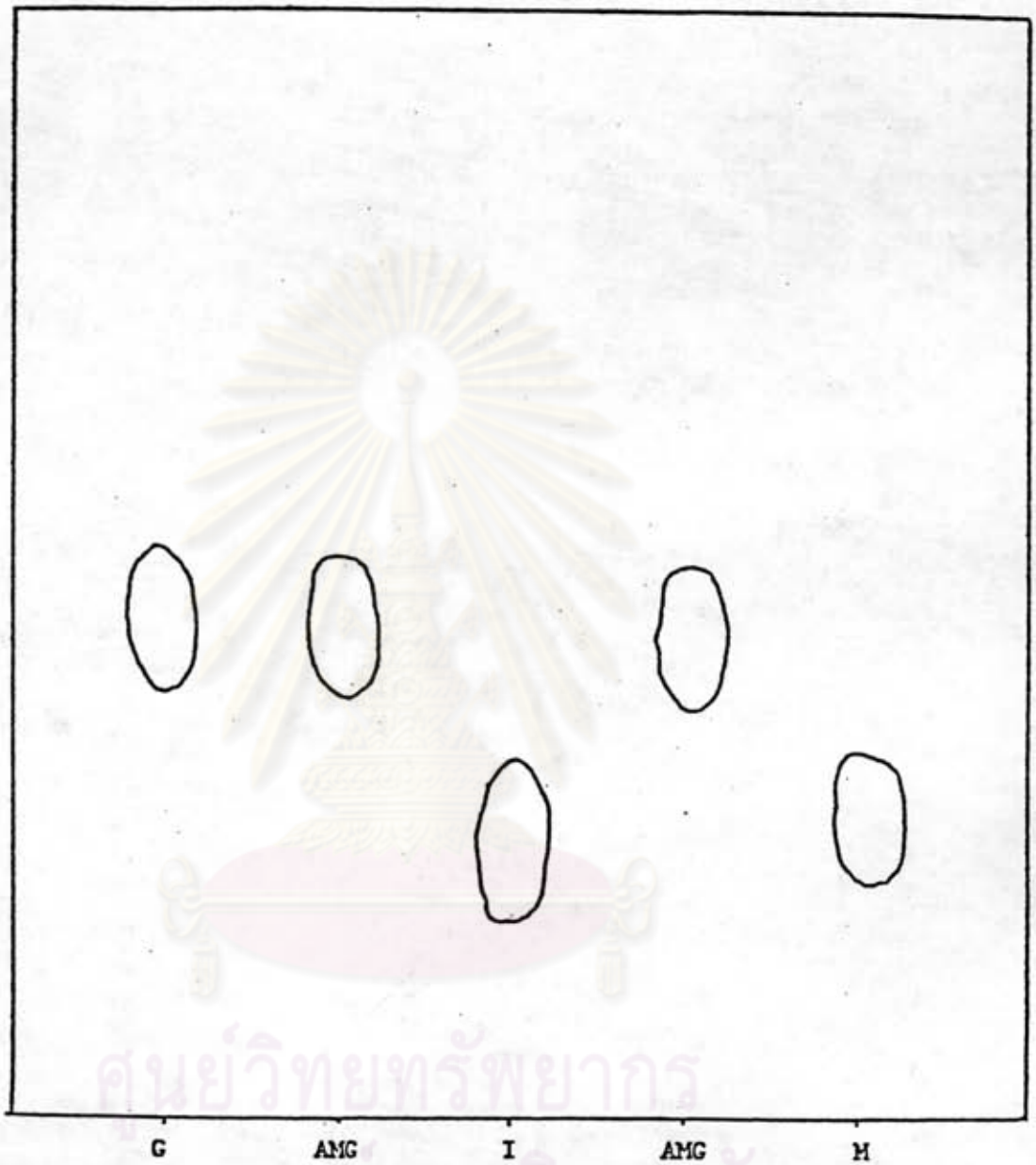
ผลการทำโครมาโตกราฟฟีกระดาษของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยแป้งของเอนไซม์ พบว่าเอนไซม์จาก *Rhizopus* sp. สายพันธุ์ II ให้ผลิตภัณฑ์เพียง 1 จุดบนกระดาษ ดังแสดงไว้ในรูปที่ 27

สารละลายตัวอย่าง	R_f = 0.490
สารละลายมาตรฐานกลูโคส	R_f = 0.490
สารละลายมาตรฐานมอลโตส	R_f = 0.276
สารละลายมาตรฐานไอโซมอลโตส	R_f = 0.245

ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าเอนไซม์จาก *Rhizopus* sp. สายพันธุ์ II จะย่อยแป้งให้ผลิตภัณฑ์เพียงชนิดเดียวคือ กลูโคส เอนไซม์ที่ได้จึงเป็นกลูโคอะไมเลส ไม่ใช่อัลฟาอะไมเลส หรือเบต้าอะไมเลส

หมายเหตุ พื้นกระดาษเป็นสีเหลือง จุดเป็นสีน้ำตาล

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 27 ผลการทำโครมาโตกราฟฟีกระดาษ

G = กลูโคสมาตรฐาน

AMG = ผลิตภัณฑ์จากการย่อยแป้งด้วยเอนไซม์ของ *Rhizopus* sp. สายพันธุ์ II

M = มอลโตสมาตรฐาน

I = ไอโซมอลโตสมาตรฐาน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย