การผลิตกลูโคอะไมเลส โดย *Rhizopus* sp. สายพันธุ์ II ในอาหารเหลว

นางสาว ดวงกมล วิลาวรรณ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2530

ISBN 974-568-051-6

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

012883

I 10297130

PRODUCTION OF GLUCOAMYLASE BY SUBMERGED FERMENTATION OF *RHIZOPUS* SP. STRAIN II

Miss Duangkamol Wilawan

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfilment of the Requirements

for the Degree of Master of Science

Biotechnology

Graduate School

Chulalongkorn University

1987

ISBN 974-568-051-6

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การผลิตกลูโคอะไมเลส โดย *Rhizopus* sp. สายพันธุ์ II ใน อาหารเหลว

โดย นางสาว ควงกมล วิลาวรรณ

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ

อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุรพงศ์ นวังคสัตถุศาสน์

รองศาสตราจารย์ ดร.นลิน นิลอุบล

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(ศาสตราจารย์ ดร.ถาวร วัชราภัย)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(อาจารย์ วินิจ ชำวิวรรธน์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุรพงศ์ นวังคสัตถุศาสน์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา

(รองศาสตราจารย์ ดร.นลิน นิลอุบล)

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.ไพเราะ ปิ่นพานิชการ)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การผลิตกลูโคอะไมเลส โดย *Rhizopus* sp. สายพันธุ์ II ในอาหารเหลว

ชื่อนิสิต นางสาว ดวงกมล วิลาวรรณ

อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุรพงศ์ นวังคสัตถุศาสน์
รองศาสตราจารย์ ดร.นลิน นิลอุบล

ภาควิชา เทคโนโลยีชีวภาพ

ปีการศึกษา 2529

บทคัดย่อ

กลูโคอะไมเลสเป็นเอนไซม์ที่มีความต้องการเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ แต่ยังไม่มีการผลิตเชิงอุตสาหกรรมในประเทศไทย งานวิจัยเกี่ยวกับการผลิตกลูโคอะไมเลสในประเทศไทยส่วนใหญ่จะทำในอาหารแข็ง ซึ่งไม่เหมาะกับการผลิตขั้นอุตสาหกรรม เพราะสิ้นเปลืองค่าใช้จ่าย และแรงงาน ดังจะเห็นได้ว่าผู้ผลิตรายใหญ่ เช่น NOVO จะผลิตกลูโคอะไมเลสในอาหารเหลวเท่านั้น งานวิจัยนี้มุ่งศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกลูโคอะไมเลสในอาหารเหลวโดยใช้วัตถุดิบที่มีในประเทศ โดยศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในระดับขวดแก้วทรงกรวย และถังหมักขนาด 5 ลิตร รวมทั้งศึกษาการเตรียมกลูโคอะไมเลสเข้มข้นด้วยอุลตราฟิลเตรชัน ผลการศึกษาการผลิตกลูโคอะไมเลสโดยใช้เชื้อรา *Rhizopus* sp. จากโรงงานสุรา 2 ชนิด ซึ่งให้ชื่อว่า *Rhizopus* sp. I และ II นั้นพบว่า *Rhizopus* sp. II สามารถผลิตกลูโคอะไมเลสได้ในปริมาณใกล้เคียงกับ *Rhizopus* sp. สายพันธุ์ I แต่ใช้ระยะเวลาการเพาะเลี้ยงสั้นกว่า เอนไซม์นี้ทดสอบแล้วปรากฏว่าเป็นกลูโคอะไมเลสที่มีแอคติวิตีในอะซิเตตบัฟเฟอร์ 0.2 โมลาร์ พีเอช 5.0 อุณหภูมิ 40 °ซ เมื่อศึกษาการเตรียมเชื้อเริ่มต้นในอาหารเหลว จำเป็นต้องเพาะสปอร์ให้งอกในขวดก้นบุบ (baffled flask) แล้วจึงจะนำเชื้อรามาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว พบว่ากากถั่วเหลืองที่ย่อยแล้วจะให้แอคติวิตีของกลูโคอะไมเลสสูงกว่า ผลการทดลองแบบแฟคตอเรียลปรากฏว่า แหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน และการย่อยโปรตีนมีผลร่วมกันในการเพิ่มการผลิตกลูโคอะไมเลส แหล่งที่เหมาะสมคือ แป้งข้าวเหนียว และกากรำ

ที่ไม่ได้ย่อย หรือแป้งข้าวเจ้าและกากรำที่ย่อยแล้ว อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่เหมาะสม คือ 25 ประกอบด้วยแป้งข้าวเหนียวย่อยด้วยอัลฟาอะไมเลส 9% กากรำ 1% แอมโมเนียม-ซิเตรต $[(NH_4)_2C_6O_6H_7]$ พีเอชเริ่มต้น 5.5 บ่มที่อุณหภูมิ 40 °ซ ใช้เชื้อเริ่มต้น 10% ซึ่งให้กลูโคอะไมเลส 7.1 หน่วย/มล. สูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกลูโคอะไมเลสในถังหมักขนาด 5 ลิตร ประกอบด้วยแป้งข้าวเหนียวย่อยด้วยอัลฟาอะไมเลส 9% กากรำ 1% $(NH_4)_2C_6O_6H_7$ 0.3% KH_2PO_4 0.2% $MgSO_4$ 0.1% $FeSO_4$ 0.005% พีเอชควบคุมระหว่าง 5.0-5.5 โดยการเติมสารละลาย NaOH 10% ระหว่างการหมัก ใช้น้ำมันรำข้าวเป็นสารกำจัดฟอง อุณหภูมิอัตราการกวนและอัตราการให้อากาศที่เหมาะสมคือ 40 °ซ, 200 รอบ/นาที และ 2 ปริมาตร/ปริมาตรอาหาร/นาที ตามลำดับ การผลิตในถังหมักจะให้กลูโคอะไมเลส 12.3 หน่วย/มล. โดยเพิ่มกลูโคอะไมเลส 20.5 เท่าของการผลิตที่ยังมิได้ปรับปรุงสภาวะการเลี้ยงเชื้อ (0.6 หน่วย/มล.)

การทำ dynamic measurement สำหรับการหมักในถังหมัก 5 ลิตร ในชั่วโมงที่ความเข้มข้นเซลล์ 8.5 มิลลิกรัม กลูโคซามีน/กรัมน้ำหนักแห้ง ที่ใช้อัตราการกวน 200 รอบ/นาที อัตราการให้อากาศ 1 ปริมาตร/ปริมาตรอาหาร/นาที ปรากฏว่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทออกซิเจน (volumetric transfer coefficient) $k_La = 42$ (ชั่วโมง)$^{-1}$ ความเข้มข้นออกซิเจนที่ละลายที่สมดุลย์ (equilibrium dissolved oxygen concentration) $C^* = 10.3$ ppm โดยตั้งค่า dissolved oxygen อิ่มตัวในอาหารเหลวเมื่อเริ่มต้นการหมักที่ 15.0 ppm และอัตราการใช้ออกซิเจนของเซลล์ (volumetric oxygen demand rate) $rX = 2.7$ ppm/นาที

การทำเอนไซม์ให้บริสุทธิ์และเข้มข้นด้วยอุลตราฟิลเตรชันโดยใช้เยื่อสังเคราะห์ขนาดกักโมเลกุล 100,000 และ 30,000 พบว่ากลูโคอะไมเลสมีขนาดโมเลกุลเล็กกว่า 100,000 และใหญ่กว่า 30,000 ดาลตัน สามารถทำเอนไซม์ให้มีความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น 9.7 เท่า และมีความเข้มข้นขึ้น 6.9 เท่า

Thesis Title	Production of Glucoamylase by Submerged Fermentation of *Rhizopus* sp. Strain II
Name	Miss Duangkamol Wilawan
Thesis Advisors	Assistant Professor Surapong Navankasattusas, Ph.D. Associated Professor Naline Nilubol, Ph.D.
Department	Biotechnology
Academic Year	1986

ABSTRACTS

There is no industrial production of glucoamylase in Thailand although its demand is increasing each year. Most Thai researches on glucoamylase production were solid culture with high cost and labour intensive. The big producer of glucoamylase such as NOVO employs only submerged culture. This research was directed to study glucoamylase production in submerged fermentation using local raw materials, to optimise conditions for production in shaking flasks and in a 5-litre fermenter and finally to concentrate the enzyme by ultrafiltration. Between two strains for production of industrial alcohol, namely *Rhizopus* sp. I and II, *Rhizopus* sp. II produced glucoamylase faster than the other strain but both strains produced nearly equal amount of the enzyme. This enzyme was determined to be glucoamylase with optimal activity in 0.2 M acetate buffer at pH 5.0 and 40^{o}C. Baffled flasks were necessary for preparation of an inoculum by germinating spores in submerged medium. Hydrolysed soybean meal was used in the medium for comparison with the unhydrolysed one. The cultivation in the medium

containing hydrolysed soybean meal resulted in the increase of glucoamylase production. A factorial experiment showed that carbon source, nitrogen source and protein hydrolysis had synergistic effect on glucoamylase production. The suitable medium were glutineous-rice flour with defatted rice bran or rice flour with hydrolysed defatted rice bran. The best carbon to nitrogen ratio was 25 which gave the highest glucoamylase activity of 7.1 unit/ml. The medium consisted of α amylase-thinned glutineous-rice flour 9% defatted rice bran 1% ammonium citrate [$(NH_4)_2C_6O_6H_7$] 0.3% KH_2PO_4 0.02% $MgSO_4$ 0.1% $FeSO_4$ 0.005%. The optimal incubation temperature was 40°C. The initial pH of the medium was 5.5 with 10% inoculum. For the enzyme production in 5-litre fermenter, the suitable medium composition consisted of α amylase thinned glutineous-rice flour 9% defatted rice bran 1% ammonium citrate 0.3% KH_2PO_4 0.2% $MgSO_4$ 0.1% $FeSO_4$ 0.005%. During the cultivation, the pH medium was controlled between 5.0-5.5 by a pH controller with addition of 10% NaOH solution while rice bran oil was added to the medium as an antifoam. The optimal temperature, agitation and aeration were 40°C, 200 rpm and 2 vvm, respectively. Optimisation could increase activity 20.5 folds which gave an activity of 12.3 units/ml relative to the unoptimised one (0.6 unit/ml). A dynamic measurement was carried out with 6 hours culture at cell concentration of 8.5 mg. glucosamine/g. dry weight in a 5-litre fermenter with agitation and aeration of 200 rpm and 1 vvm, respectively. The volumetric, of oxygen transfer coefficient (k_La) was 42 $(hour)^{-1}$ whereas the equilibrium dissolved oxygen concentration (C^*) was 10.3 ppm (The initial saturated isssolved oxygen in the fermenting medium was set at 15.0 ppm on the meter) and the volumetric oxygen demand rate (rX) was 2.7 ppm/minute.

Purification and concentration of the enzyme by ultrafiltration with membranes having the molecular cut sizes of 100,000 and 30,000 indicated the molecular size of glucoamylase was smaller than 100,000 and bigger than 30,000 Dalton. The enzyme could be purified 9.7 folds and concentrated 6.9 folds relative to the broth obtained.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุรพงศ์ นวังคสัตถุศาสน์ และรองศาสตราจารย์ ดร.นลิน นิลอุบล ที่ได้กรุณาเป็นที่ปรึกษาให้คำแนะนำ ตลอดจนช่วยให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสิ้นลงได้ ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ในคณะกรรมการบริหารหลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพทุกท่าน ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำและแนวความคิดตลอดมา

ขอขอบพระคุณคณะกรรมการปฏิบัติภารกิจการวิจัย เพื่อการส่งเสริมอุตสาหกรรมและเทคโนโลยีเพื่อการพัฒนา จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และบัณฑิตวิทยาลัยที่ได้กรุณาให้ทุนอุดหนุนการวิจัยนี้

ขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ชัยยุทธ ธัญพิทยากุล ระหว่างดำรงตำแหน่งหัวหน้าภาควิชาเคมีเทคนิค และขอขอบคุณ ผู้อำนวยการสถาบันเทคโนโลยีชีวภาพและวิศวกรรมพันธุศาสตร์ ที่ได้เอื้อเฟื้อสถานที่และเครื่องมือในการทำวิจัยนี้

ขอขอบคุณ บริษัทอีสเอเชียติก จำกัด ที่ได้เอื้อเฟื้อเอนไซม์ย่อยโปรตีน และแนะนำเอกสารที่เกี่ยวข้อง ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ช่อมสร้างเครื่องแก้ว คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดลที่ได้ดัดแปลงขวดกันบูบให้ใช้ในวิทยานิพนธ์นี้

ขอขอบคุณ คุณสิวลี บุญกัลยา และคุณสุริยัน ไทยถาวร พี่ เพื่อน และน้องนิสิตภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารและเคมีเทคนิค ที่ได้มีส่วนช่วยเหลือให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้

อนนุตคุณสมฺปนฺนา ชเนฺติชนกาอุโภ
มยฺหํ มาตาปิตุนฺว ปาเท วนฺทามิสาทรํ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญตาราง ..... ช

สารบัญรูป ..... ฌ

คำย่อและสัญญลักษณ์ ..... ญ

บทที่

1. บทนำ 1

1. นิยามและการแบ่งชนิดของกลูโคอะไมเลส 1

2. แหล่งที่สามารถผลิตกลูโคอะไมเลส 2

3. การเก็บรักษาเชื้อ 2

4. วิธีการวิเคราะห์แอคทิวิตีของกลูโคอะไมเลส 3

5. หน่วยของแอคทิวิตีของกลูโคอะไมเลส 4

6. กลูโคอะไมเลสต่างรูปแบบ 4

7. อุณหภูมิ พีเอช และเกลือที่มีผลต่อแอคทิวิตีของกลูโคอะไมเลส ... 6

8. ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการผลิตกลูโคอะไมเลส 6

9. ปัจจัยที่สำคัญในการควบคุมการผลิตกลูโคอะไมเลสบนอาหารแข็ง . 9

10. ปัจจัยที่สำคัญในการควบคุมการผลิตกลูโคอะไมเลสบนอาหารเหลว 10

11. รูปแบบการเตียมกลูโคอะไมเลสในทางการค้า 12

12. การเพิ่มความเข้มข้นเอนไซม์ด้วยอุลตราฟิลเตรชัน 12

13. การใช้ประโยชน์ของกลูโคอะไมเลส 14

14. ตลาดและความต้องการกลูโคอะไมเลส 15

15. เหตุจูงใจในการทำวิจัย 15

บทที่ หน้า

16. วัตถุประสงค์ของการวิจัย 17

2. อุปกรณ์และวิธีการดำเนินการทดลอง 18

1. เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย 18

2. การเก็บรักษาเชื้อราที่ใช้ในการวิจัย 20

3. การเตรียมสปอร์ของ *Rhizopus* sp. เพื่อใช้เป็นเชื้อเริ่มต้น .. 20

4. การหาสภาพทางกายภาพที่เหมาะสมต่อการเลี้ยง *Rhizopus* sp. เพื่อใช้เป็นเชื้อเริ่มต้น 20

5. การเปรียบเทียบความสามารถในการผลิตกลูโคอะไมเลสระหว่าง *Rhizopus* sp. 2 สายพันธุ์ 21

6. การเปรียบเทียบผลของการย่อยโปรตีนในกากถั่วเหลืองกับการผลิตกลูโคอะไมเลสของ *Rhizopus* sp. 2 สายพันธุ์ 21

7. การทดลองแบบแฟคตอเรียล 21

8. การหาอุณหภูมิและพีเอชที่เหมาะสมต่อการผลิตกลูโคอะไมเลส ... 22

9. การหาอัตราส่วน C/N ที่เหมาะสมต่อการผลิตกลูโคอะไมเลส ... 23

10. การเลี้ยง *Rhizopus* sp. สายพันธุ์ II เพื่อผลิตกลูโคอะไมเลสในถังหมักขนาด 5 ลิตร 24

11. dynamic measurement 25

12. การเตรียมเอนไซม์เหลวเข้มข้นด้วยอุลตราฟิลเตรชัน (ultrafiltration) 25

13. การตรวจสอบประเภทของเอนไซม์โดยโครมาโตกราฟฟีกระดาษ . 26

3. ผลการวิจัย 27

1. การหาสภาพทางกายภาพที่เหมาะสมต่อการเลี้ยง *Rhizopus* sp. ในอาหารเหลวให้ได้การเจริญในรูปเม็ด (pellet) 27

2. การเปรียบเทียบความสามารถในการผลิตกลูโคอะไมเลส ระหว่าง *Rhizopus* sp. 2 สายพันธุ์ 29

บทที่ หน้า

3. การเปรียบเทียบการใช้กากถั่วเหลืองที่ย่อยอัลคาเลสกับการใช้กากถั่วเหลืองที่ไม่ได้ย่อยเป็นอาหารผลิตกลูโคอะไมเลสของ *Rhizopus* sp. 2 สายพันธุ์ 30
4. ผลการทดสอบแบบแฟคทอเรียล ทดสอบปัจจัยแหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน และสภาพของโปรตีน ในแหล่งไนโตรเจน 33
5. อุณหภูมิและพีเอชที่เหมาะสมต่อการผลิตกลูโคอะไมเลสของ *Rhizopus* sp. สายพันธุ์ II 35
6. ผลการหาอัตราส่วนคาร์บอน/ไนโตรเจนที่เหมาะสม 38
7. การศึกษาการเพาะเลี้ยง *Rhizopus* sp. สายพันธุ์ II ในถังหมักขนาด 5 ลิตร 38
7.1 ผลการทดสอบการกวนและการให้อากาศด้วยวิธีแฟคทอเรียล 38
7.2 การเปลี่ยนแปลงอัตราการกวน 47
8. ผลการทดลอง dynamic measurement 52
9. การใช้อุลตราฟิลเตรชันทำเอนไซม์เข้มข้น 56
9.1 การใช้เยื่อสังเคราะห์ขนาดกักโมเลกุล 100,000 56
9.2 การใช้เยื่อสังเคราะห์ขนาดกักโมเลกุล 30,000 56
10. ผลการตรวจสอบประเภทของเอนไซม์โดยโครมาโตกราฟฟีกระดาษ 62
4. การอภิปรายผลการทดลอง 64
5. สรุปผลการทดลอง 73
บรรณานุกรม 76
ภาคผนวก 82
ประวัติผู้เขียน 109

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	อุณหภูมิและพีเอชที่เหมาะสมของกลูโคอะไมเลส	7
2	ปัจจัยที่สำคัญสำหรับการผลิตกลูโคอะไมเลสด้วยการเลี้ยงบนอาหารแข็งและอาหารเหลว	11
3	ปริมาณการผลิตเอนไซม์และยอดขายเปรียบเทียบของโลก	16
4	ปริมาณและมูลค่ากลูโคอะไมเลสที่นำเข้าในประเทศไทย	16
5	การผลิตกลูโคอะไมเลสเมื่อทดสอบปัจจัยแบบแฟคทอเรียล	34
6	ผลการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิเลี้ยงเชื้อที่พีเอช 5.5 คงที่	35
7	แอคทิวิตีของกลูโคอะไมเลส (หน่วย/มล.) เมื่อทดสอบการให้อากาศและการกวนแบบแฟคตอเรียล 2^2	38
8	ผลการทดลอง dynamic measurement	53
9	การทำเอนไซม์เข้มข้นด้วยอุลตราฟิลเตรชัน	60
10	% rejection จากการทำเอนไซม์เข้มข้นด้วยอุลตราฟิลเตรชัน	61
11	แอคทิวิตีของกลูโคอะไมเลสในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เพิ่มขั้นตามขั้นตอนการปรับปรุงสภาพแวดล้อมอาหาร	75
ฉ.1	การคำนวณค่าผลบวกกำลังสองด้วยวิธีของ Yates 2^3 แฟคตอเรียล ..	96

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1	การเกิดกลูโคอะไมเลสต่างรูป	5
2	อิทธิพลของแป้งข้าวโพดต่อการผลิตกลูโคอะไมเลส โดย *A. awamori* NRRL 3112	8
3	การเกิดโพลาไรเซชัน	12
4	ขวดก้นบุบ (baffled flask)	19
5	เส้นใยที่งอกจากสปอร์ในขวดแก้วทรงกรวยเมื่อใช้ลูกแก้วช่วยเขย่า	27
6	การงอกของเส้นใยจากสปอร์ในขวดแก้วทรงกรวยเมื่อใช้ขดลวดสเตนเลสช่วยเขย่า	28
7	การงอกของเส้นใยจากสปอร์ในขวดก้นบุบ	29
8	ความสามารถในการผลิตกลูโคอะไมเลสของ *Rhizopus* sp. 2 สายพันธุ์ที่พีเอชอาหารเลี้ยงเชื้อ 4.5 อุณหภูมิ 35 °ซ	31
9	แอคทิวิตีของกลูโคอะไมเลสสูงสุดของ *Rhizopus* sp. 2 สายพันธุ์ ...	32
10	การผลิตกลูโคอะไมเลสของ *Rhizopus* sp. สายพันธุ์ II ที่พีเอชต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ 35 °ซ	36
11	อุณหภูมิและพีเอชที่มีผลต่อการผลิตกลูโคอะไมเลสของ *Rhizopus* sp. สายพันธุ์ II	37
12	การเปรียบเทียบอัตราส่วน C/N เมื่อกากรำ 1% แอมโมเนียมซิเตรต 0.3%	39
13	การเปรียบเทียบแอคทิวิตีของกลูโคอะไมเลสสูงสุดที่การให้อากาศต่างกันและอัตราการกวนคงที่ 50 รอบ/นาที ในถังหมักขนาด 5 ลิตร	41
14	เปรียบเทียบแอคทิวิตีของกลูโคอะไมเลส ที่การให้อากาศต่างกัน และมีอัตราการกวน 150 รอบ/นาที คงที่ ในถังหมักขนาด 5 ลิตร	42
15	การเปรียบเทียบการเจริญของ *Rhizopus* sp. สายพันธุ์ II เมื่อใช้อัตราการกวน 50 และ 150 รอบ/นาที และอัตราการให้อากาศ 1 และ 2 vvm ในถังหมักขนาด 5 ลิตร	43

รูปที่ หน้า

16 เปรียบเทียบออกซิเจนที่ละลายระหว่างการหมักเมื่ออัตราการกวน 50 รอบ/นาที คงที่ อัตราการให้อากาศเปลี่ยนแปลง ในถังหมักขนาด 5 ลิตร 44

17 เปรียบเทียบออกซิเจนที่ละลายเมื่ออัตราการกวนคงที่ 150 รอบ/นาที อัตราการให้อากาศเปลี่ยนแปลง ในถังหมักขนาด 5 ลิตร 45

18 การเปรียบเทียบปัจจัยที่เกิดขึ้น ระหว่างการหมักในถังหมัก อัตราการกวน 50 รอบ/นาที การให้อากาศ 2 vvm ในถังหมักขนาด 5 ลิตร 46

19 การเปรียบเทียบแอคทิวิตีของกลูโคอะไมเลสสูงสุด ในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อมีอัตราการกวนต่างกัน และอัตราการให้อากาศคงที่ 1 vvm 48

20 การเปรียบเทียบแอคทิวิตีของกลูโคอะไมเลสที่เวลาต่าง ๆ เมื่ออัตราการให้อากาศคงที่ 1 vvm อัตราการกวนต่าง ๆ ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ... 49

21 การเจริญของ *Rhizopus* sp. ที่เวลาต่าง ๆ เมื่ออัตราการให้อากาศที่ 1 vvm อัตราการกวนเปลี่ยนแปลงในถังหมักขนาด 5 ลิตร 50

22 เปรียบเทียบออกซิเจนที่ละลายระหว่างการหมัก ในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่ออัตราการให้อากาศคงที่ อัตราการกวนต่าง ๆ 51

23 dynamic measurement บันทึกออกซิเจนที่ละลายเมื่อปิดการให้อากาศ และเปิดใหม่อีกครั้ง เมื่อทำการหมักในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยใช้อัตราการกวน 200 รอบ/นาที อัตราการให้อากาศ 1 vvm 54

24 ความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่/t_f และ $(C_{L_f} - C_{L_o})/t_f$ 55

25 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการไหลและ v_f/v_r เมื่อใช้เยื่อแผ่นสังเคราะห์ขนาดกักโมเลกุล 100,000 58

26 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการไหล และ v_f/v_r เมื่อใช้เยื่อแผ่น-สังเคราะห์ขนาดกักโมเลกุล 30,000 59

27 ผลการทำโครมาโตกราฟฟีกระดาษ 63

28 การเลือก $k_L a$ สำหรับการขยายขนาด 69

คำย่อและสัญญลักษณ์

ก.	=	กรัม
°ซ	=	องศาเซลเซียส
ตร.ซม.	=	ตารางเซนติเมตร
มก.	=	มิลลิกรัม
มล.	=	มิลลิลิตร
C	=	ความเข้มข้นของตัวถูกละลายที่จุดใด ๆ (กรัมต่อมิลลิลิตร)
C^*	=	ความเข้มข้นออกซิเจนที่ละลายที่สมดุลย์ (ppm)
C_g	=	ความเข้มข้นของเจลที่ปรากฏ (กรัมต่อมิลลิลิตร)
C_{L_o}	=	ความเข้มข้นออกซิเจนที่เวลาเริ่มปิดอากาศและการกวน (ppm)
C_{L_f}	=	ความเข้มข้นออกซิเจนที่เวลา t_f (ppm)
C/N	=	อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน
C_p	=	ความเข้มข้นของสารละลายที่ผ่านเยื่อ (กรัมต่อมิลลิลิตร)
C_r	=	ความเข้มข้นของสารละลายที่ไม่ผ่านเยื่อ (กรัมต่อมิลลิลิตร)
DH	=	การย่อย (degree of hydrolysis)
GA I,II	=	กลูโคอะไมเลส I, II
K	=	อัตราการไหลต่อพื้นที่
$k_L a$	=	สัมประสิทธิ์การถ่ายเทออกซิเจน (volumetric oxygen transfer coefficient) $(นาที)^{-1}$
K_s	=	สัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวล (มิลลิลิตรต่อนาทีต่อตร.ซม.)
ppm	=	ส่วนในล้านส่วน
R	=	rejection coefficient
r	=	อัตราการใช้ออกซิเจนต่อน้ำหนักเซลล์ (specific oxygen uptake rate per unit weight of cell) (มิลลิโมลออกซิเจน/กรัม-ชั่วโมง)
rX	=	อัตราความต้องการออกซิเจนของเซลล์ (volumetric oxygen demand rate) (มิลลิโมลออกซิเจนต่อชั่วโมง/ลิตร)

t_f = เวลาหลังการเปิดอากาศ และการกวนอีกครั้ง (นาที)

t_o = เวลาที่เริ่มการปิดอากาศและการกวน (นาที)

V_f = ปริมาตรของสารละลายเริ่มต้น (feed) (มิลลิลิตร)

V_r = ปริมาตรของสารละลายที่ไม่ผ่านเยื่อ (มิลลิลิตร)

vvm = ปริมาตรต่อปริมาตรอาหารต่อนาที

x = น้ำหนักแห้งของเซลล์ต่อปริมาตร (กรัมต่อลิตร)

% = ร้อยละ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย