



เอกสารอ้างอิง

ภาษาไทย

- จรัญ จันทลักขณา, สถิติวิธีวิเคราะห์และวางแผนงานวิจัย, หน้า 144-148, ไทยวัฒนาพานิช, กรุงเทพมหานคร, พิมพ์ครั้งที่ 5, 2527
- วิเชียร ลีลาวัชรมาศ, การผลิตและการใช้ Immobilized enzymes, หน้า 1-21, ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, พิมพ์ครั้งที่ 2, 2521
- สมบูรณ์ สุขพงศ์ และเปรมใจ ตรีสรานวัฒนา, หลักสถิติ 2 วิธีวิเคราะห์และการวางแผนการทดลองเบื้องต้น, หน้า 141-185, ฟิสิกส์เซ็นเตอร์การพิมพ์, กรุงเทพมหานคร, 2527
- สิวลี บุญกัลยา " การตรึงรูบีสต์ทำเปียร์ที่มีอินเวอร์เทสเพื่อผลิตน้ำตาลอินเวอร์ทจากซูโครสแบบต่อเนื่อง" วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 1987
- สุรียัน ไทยถาวร " การสกัดอินเวอร์เทสจากยีสต์ทำเปียร์" วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 1987

ภาษาต่างประเทศ

- Ahn, B.Y., and S.M. Byun, "Studies on Whole Cell Immobilized Glucose Isomerase II. Operational Studies on the Batchwise and Continuous," Korean J. Food Sci. Technol., 11(4), pp. 249-256, 1979
- Anderson, B., N. Thiesen, and P.E. Broe, "The Transferring Activity of fructofuranosidase from yeast : A Quantitative Description," Acta. Chem.Scand., 23(7), pp. 2367-2374, 1969
- Arnold, W.N., "Heat Inactivation Kinetics of Yeast β - fructofuranosidase & polydisperse System," Biochim. Biophys. Acta., 178, pp.347-353, 1969
- Bernfeld, P., "Amylase, α and β ," Methods in Enzymology (colowick P.S. and O.N. Kaplan, eds.), vol 1, pp. 149, Academic Press Inc., Publishers, New York, 1955
- Boudrant, J., and C. Cheftel, "Continuous Hydrolysis of Sucrose by Invertase Adsorbed in a Tubular Reactor," Biotechnol. Bioeng., 17(6), pp. 827-844, 1975
- Bowski, L., R. Saini, D.Y. Ryu, and W.R. Vieth, "Kinetic Modeling of the Hydrolysis of Sucrose by Invertase," Biotechnol. Bioeng., 13, pp. 641-656, 1971
- Chibata, I., "Principles of Immobilized Enzymes and Microbial Cells", Immobilized Microbial Enzymes and Cells, (Flegel, T.W., M. Vithaya, B. Amret and M. Pornchai, eds.) pp.3-7, Mahidol University, Bangkok, Thailand, 1982.
- Chibata, I., Immobilized Enzymes, Research and Development, pp. 1-147, Halsted Press, New York, 1978.

- Combes, D., and P. Monsan, "Sucrose Hydrolysis by Invertase. Characterization of Products and Substrate Inhibition," Carbohydrate Research, 117, 215-228, 1983.
- Dickensheets, P.A., L.F. Chen, and G.T. Tsao, "Characteristics of Yeast Invertase Immobilized on Porous Cellulose Beads," Biotechnol. Bioeng., 19, pp.365-375, 1977
- Drioli, E., G. Iorio, and R. Molinari, "High-Temperature Membrane Entrapped Cells" Biotechnol. Bioeng., 23 pp.221-223, 1981
- D'Souza, S.F., J.S. Melo, A. Deshpande and G.B. Nadkarni, "Immobilization of Yeast Cells by Adhesion to Glass Surface Using Polyethylenimine" Biotechnology Letts, 8, 19, pp. 643-648, 1986
- Durand, G., and J.M. Navarro, "Immobilized Microbial Cells," Process Biochem., 9, pp. 14-23, 1978
- Gianfreda, L., P. Parascandola and Scardi, "A New Method of Whole Microbial Cell Immobilization," European J. Appl. Microbiol. Biotechnol., 11, pp. 6-7, 1980
- Jenkins, G.H., Introduction to Cane Sugar Technology, pp. 6-399, Elsevier Publishing Company, Amsterdam-London, New York, 1966
- Kawashima, K. and K. Umaeda, "Immobilization of Enzymes by Radiopolymerization of Acrylamide", Biotechnol. Bioeng., 16(5), pp.609-621, 1974
- Kennedy, J.F., and J.M.S. Cabral, "Immobilized Living Cells and Their Applications", Applied Biochemistry and Bioengineering Vol 4" (Chibata, I., and L.B. Wingard, eds.) pp.190-280, Academic Press, Inc., London, 1983.

- Kobayashi, T., and M. Moo-Young, " The Kinetic and Mass Transfer Behavior of Immobilized Invertase on Ion-Exchange Resin Beads, " Biotechnol. Bioeng., 15(1), pp. 47-67, 1973
- Lardy, H.A., and T.F. Anderson, " The Effect of Colored Ion on the Photo-inactivation of Invertase, " Science, 96, pp. 330-331, 1942
- Leemputten, E.V., and M. Horisberger, " Immobilization of Enzymes on Magnetic Particles, " Biotechnol. Bioeng., 16(3), pp. 385-396, 1974
- Linko, Y.Y., L. Weckstorm, and P. Linko, " Alginate Bed Entrapped Yeast Cells for Continuous Inversion of Sucrose and Molasses, " Enzyme Engineering, 5, pp. 355-358, 1980
- Lowry, O.H., N.J. Rosenbragh, A.I. Farr, and R.J. Randall, " Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent. " J. Biol. Chem., 193, pp. 276-304, 1951
- Maeda, H., and H. Suzuki, " Preparation of Immobilized Invertase, " Biotechnol. Bioeng., 15(2), pp. 403-412, 1973
- Maeda, H., A. Yamauchi, and A. Sakimae, " Preparation of Immobilized Enzyme by N-vinylpyrrolidinone and General Properties of the Glucoamylase gel, " Biotechnol. Bioeng., 16(11), pp. 1517-1528, 1974
- Maeda, H., A. Yamauchi, and A. Sakimae, "Preparation of Immobilized Enzyme from Acrylic Monomers under γ -ray Irradiation, " Biotechnol. Bioeng., 17(1), pp. 119-128, 1975
- Mansfeld, J., and A. Schellenberger, "Invertase Immobilized on Macroporous Polystyrene: Properties and Kinetic Characterization, " Biotechnol. Bioeng., 29, pp. 72-78, 1987

- Marck, M., O. Valentova, and J. Kas, "Invertase Immobilization via its Carbohydrate Moiety," Biotechnol. Bioeng., 26, pp. 1223-1226, 1984
- Marconi, W., S. Gulinelli, and F. Morisi, "Properties and Use of Invertase Entrapped in Fibers," Biotechnol. Bioeng., 16(4) pp. 501-511, 1974
- Mason, R.D. and H.H. Weetall, "Invertase Covalently Coupled to Porous Glass: Preparation and Characterization," Biotechnol. Bioeng., 14(4), pp. 637-645, 1972
- Mansan, P., and G. Durand, "Preparation on Bentonite," FEBS, 16(1), pp. 39-42, 1971
- Mansan, P., D. Combes, and I. Alemzadah, "Invertase Covalent Grafting onto Corn Stover," Biotechnol. Bioeng., 26, pp. 658-664, 1984
- Moroz, R.D., J.P. Sullivan, J.P. Troy, and C.B. Broeg, "Levulose and Invert Sugar," Sugar Y Azucar, 68(8), pp. 46-52, 1973
- Myrback, K., "Invertase" The Enzymes (Boyer, P.D., H. Lardy, and K. Myrback eds.), vol 4, pp. 389-390, Academic Press, New York, 1966
- Nelson, J.M. and E.G. Griffin, "Adsorption of Invertase," J. Am. Chem. Soc., 38, pp. 1109-1115, 1916
- Neuberg, C., and I.S. Roberts, Invertase Monograph, pp. 1-48, Sugar Research Foundation Inc., New York, 1946
- Norman, N.P., Food Science, pp. 526-527, The Avi Publishing Company Inc., Westport, Connecticut, 1968
- Onyezili, F.N. and A.C. Onitiri., "Immobilization of Invertase on Modified Nylon Tubes," Anal. Biochem., 113, pp. 203-206, 1981

- Ooshima, H., M. Sakimoto, and Y. Harano, "Characteristics of Immobilized Invertase," Biotechnol. Bioeng., 22, pp. 2155-2167, 1980a
- Ooshima, H., M. Sakimoto, and Y. Harano, "Kinetic Study on Stability of Immobilized Invertase," Biotechnol. Bioeng., 22, pp. 2169-2178, 1980b
- Paracandola, P., and V. Scardi, "Sucrose Inversion by Gelatin-entrapped Cell of Yeast (Saccharomyces cerevisiae)," Biotechnol. Lrsts, 4(11), pp. 753-758, 1982
- Puvanakrishnan, R. and S. M. Bose, "Studies on the Immobilization of Trypsin on Sand," Biotechnol. Bioeng., 22, pp. 919-928, 1980
- Simionescu, C. I., S. Dumitriu, M. Popa, M. Dumitriu, and F. Moblovan, "Immobilization of Invertase on Carboxymethyl Cellulose Acid Chloride," Polymer Bulletin, 12, pp. 369-374, 1984
- Simionescu, C. I., M. Popa, and S. Dumitriu, "Bioactive Polymers XXX. Immobilization of Invertase on the Diazonium Salt of 4-Aminobenzoylcellulose" Biotechnol. Bioeng., 29, pp. 361-365, 1987
- Suzuki, H., Y. Ozawa, and H. Maeda, "Studies on Water-Insoluble Enzyme Hydrolysis of Sucrose by Insoluble Yeast Invertase," Agric. Biol. Chem., 30, pp. 807-812, 1966
- Thomplinson, D. K., I. A. Angrlo, and M. P. Mathur, "Immobilization of Rennet on Sand", The Indian J. of Dry Sci., 36(3), pp. 328-329, 1983
- Thornton, D., A. Flynn, and D. B. Johnson, "The Preparation and Properties of Hornblende as a Support for Immobilized Invertase," Biotechnol. Bioeng., 17, pp. 1679-1693, 1975

- Toda, K., and M. Shoda, " Sucrose Inversion by Immobilized Yeast Cells in a Complete Mixing Reator," Biotechnol. Bioeng., 17(4), pp. 481-497, 1975
- Trevan, M.D., Immobilized Enzymes An Introduction and Applications in Biotechnology, pp. 11-15, John Wiley & Sons, 1980
- Usami, S., J. Noda, and K. Goto, " Preparation and Properties of Water -Insoluble Saccharase," J. Ferment. Technol., 49(7), pp. 598-603, 1971
- Wiseman, A., Topic in Enzyme and Fermentation Biotechnology., vol 3 pp. 267-288, Ellis Horwood Limited, Chichester, 1979
- Woodward, J., and A. Wiseman, " Invertase," Developments in Food Carbohydrate 3 Disaccharidase, (Lee, C.K., and M.G. Lindley, eds.) , vol 3, pp. 1-21, Applied Science Publishers, London and New Jersey, 1982
- Yamazaki, H. Richard K.H. Cheok, and Ann D.E. Fraser, " Immobilization of Invertase on Polyethylenimine-coated Cotton Cloth," Biotechnol. Bioeng., 6(3), pp. 165-170, 1984

ภาคผนวก ก

การเตรียมสารเคมี วิธีวิเคราะห์ และการคำนวณพารามิเตอร์ต่างๆ

ก-1 การหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยวิธี DNSA ดัดแปลงจาก Bernfeld (Bernfeld, 1955)

การเตรียมสารละลายกรดไดไนโตรซาลิไซลิก (dinitrosalicylic acid:DNSA reagent)

ละลาย 1 กรัมของกรดไดไนโตรซาลิไซลิกในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 2 โมลาร์ จำนวน 20 มล. เติมน้ำปราศจากประจุภาค 50 มล. เติมนิเตรตโซเดียมโซเดียมตาเตรท ($C_4H_4KNaO_6 \cdot 4H_2O$) 30 กรัม เติมน้ำปราศจากประจุภาคให้ปริมาตรสุดท้ายเป็น 100 มล.

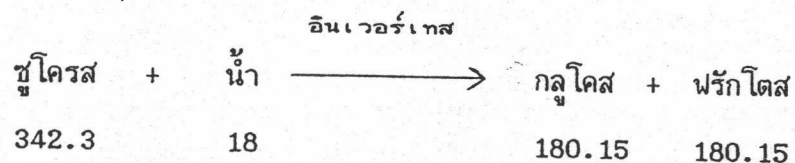
การวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

เติมสารละลาย DNSA จำนวน 1 มล. ลงในตัวอย่างจำนวน 1 มล. ต้มในอ่างน้ำเดือดนาน 5 นาที ทำให้เย็น เติมน้ำปราศจากประจุภาค 10 มล. เขย่าให้เข้ากัน วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร นำค่าดูดกลืนแสงที่ได้เทียบกับกราฟมาตรฐาน

สร้างกราฟมาตรฐานโดยใช้สารละลายกลูโคสมาตรฐาน เข้มข้น 0.1-2.0 มก./มล. และใช้น้ำปราศจากประจุภาคเป็นตัวเปรียบเทียบ (blank) ดำเนินการเช่นเดียวกับที่กล่าวข้างต้น (ใช้สารละลายกลูโคสแทนสารละลายตัวอย่าง) สร้างกราฟระหว่างค่าดูดกลืนแสงกับปริมาณน้ำตาลกลูโคสสร้างสมการทำนายได้ดังนี้ $y = 2.13X + 0.04$ เมื่อ y คือปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (มก./มล.) และ X คือค่าดูดกลืนแสง

ก-2 การคำนวณปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่สามารถเกิดขึ้นทั้งหมด/มล.

การอินเวอร์ชันเกิดดังสมการ



สารละลายน้ำตาลทราย 10 % (นน./นน.) ที่ละลายในอะซิเตทบัฟเฟอร์ 0.1 โมลาร์ pH 5.0 มีความถ่วงจำเพาะ 1.0468

สารละลายน้ำตาลทราย 10 % มีความเข้มข้น 104.68 กรัม/ลิตร
= 0.10468 กรัม/มล.

น้ำตาลทราย 342.3 กรัม จะได้น้ำตาลรีดิวัลส์ 360.3 กรัม
" 0.10468 " " $\frac{360.3 \times 0.10468}{342.3} = 0.1101846$ กรัม

ดังนั้นสารละลายน้ำตาลทราย 10% (นน./นน.) ดังกล่าวเมื่อเกิด conversion 100% จะได้น้ำตาลอินเวอร์ท 110.1846 มก./มล.

$$\% \text{ conversion} = \frac{\text{มก. น้ำตาลรีดิวัลส์ที่เกิดขึ้น/มล.} \times 100}{110.1846}$$

ในการทำงานเดียวกัน สารละลายน้ำตาลทรายที่ความเข้มข้นต่างๆ สามารถคำนวณค่าได้เช่นกันดังตารางที่ ก-1

ตารางที่ ก-1 แสดงค่าความถ่วงจำเพาะและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่สามารถเกิดขึ้นเมื่อ
เกิด conversion 100 %

สารละลายน้ำตาลทราย % นน./นน.	ความถ่วงจำเพาะ	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เมื่อ conversion 100%(มก./มล.)
3	1.0100	31.8933
5	1.0179	53.5766
7	1.0260	75.5967
10	1.0468	110.1846
15	1.0702	168.9400
20	1.0936	230.2004
25	1.1201	294.7239
30	1.1403	360.0790
50	1.2402	652.6977

ก-3 การคำนวณค่าครึ่งชีวิต ที่อุณหภูมิ, pH และความดันคงที่

อัตราเร็วของการเกิดปฏิกิริยา (v) \propto แอคติวิตี (a)

$$\frac{-da}{dt} = ka$$

$$-\int_{a_0}^{a_f} \frac{da}{a} = \int_0^t k dt$$

$$-\ln \frac{a_f}{a_0} = kt_f$$

สร้างกราฟระหว่าง $-\ln a_f/a_0$ กับเวลา จะได้ค่า k(slope)

$$\text{ค่า half life} = a_f/a_o = 0.5$$

$$\ln a_f/a_o = -0.6931$$

แทนค่าในสมการ (1)

$$0.6931 = kt^{1/2}$$

$$t^{1/2} = 0.6931/k$$

กำหนดให้ k = ค่าคงที่จำเพาะของการเสียแอกติวิตีของอินเวอร์เทสตรังรูป

ก-4 การหาปริมาณโปรตีนด้วย Lowry method (Lowry et al, 1951)

การเตรียมสารละลาย

สารละลาย Lowry A ประกอบด้วย

โซเดียมคาร์บอเนต (NaP_2CO_3) 20 กรัม ละลายในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 0.1 นอร์มอล 1 ลิตร

สารละลาย Lowry B ประกอบด้วย

คอปเปอร์ซัลเฟต ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 0.5 กรัม ละลายในสารละลายโซเดียมตาเตรท ($\text{C}_4\text{H}_4\text{KNaO}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) 1% (นน./มล.)

สารละลาย Lowry C ประกอบด้วย (ควรเตรียมใหม่ก่อนใช้)

สารละลาย Lowry A 50 ส่วน

สารละลาย Lowry B 1 ส่วน

การหาโปรตีนโดยวิธีของ Lowry

ใช้สารตัวอย่างที่มีปริมาณโปรตีนอยู่ในช่วง 10-200 ไมโครกรัม ใส่สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1.0 นอร์มอล 0.5 มิลลิลิตร เพื่อละลายโปรตีนในเซลล์ และบ่มที่ 90 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที เติมสารละลาย Lowry C ลงไป 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ที่ 30 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที เติมสารละลายฟีนอลรีเอเจนต์ (Folin ciocalteu's phenol reagent) ซึ่งเจือจาง 1:1 ในน้ำ 0.5 มิลลิลิตร

ผสมให้เข้ากันทั้งไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที มาวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 750 นาโนเมตร นำค่าที่ได้เปรียบเทียบกับค่าดูดกลืนแสงของสารละลายโบรินเซรัมอัลบูมิน (Bovine Serum Albumin, BSA) สร้างสมการทำนายได้ ดังนี้

$$y = 4.38 \times 10^2 \cdot X - 0.68$$

เมื่อ y คือปริมาณโปรตีน และ X คือค่าดูดกลืนแสงที่ 750 นาโนเมตร

ก-5 การเตรียมสารละลายซีเตรทฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Mcilvaine Standard Buffer)

$$pK_a = 2.1, 3.1, 4.7, 6.4, 6.7$$

เตรียมสารละลายไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Na_2HPO_4) เข้มข้น 0.2 โมลาร์ ผสมกับ กรดซิตริก เข้มข้น 0.1 โมลาร์ ตามอัตราส่วนในตาราง

pH	Na_2HPO_4 (มล.)	citric acid (มล.)	pH	Na_2HPO_4 (มล.)	citric acid (มล.)
2.2	0.40	19.60	5.2	10.72	9.28
2.4	1.24	18.76	5.4	11.75	8.85
2.6	2.18	17.82	5.6	11.6	8.40
2.8	3.17	16.83	5.8	12.09	7.91
3.0	4.11	15.89	6.0	12.63	7.37
3.2	4.94	15.06	6.2	13.22	6.78
3.4	5.70	14.30	6.4	13.85	6.15
3.6	6.44	13.56	6.6	14.55	5.45
3.8	7.10	12.90	6.8	15.45	4.55
4.0	7.71	12.29	7.0	16.47	5.53

pH	Na ₂ HPO ₄ (มล.)	citric acid (มล.)	pH	Na ₂ HPO ₄ (มล.)	citric acid (มล.)
4.2	8.28	11.72	7.2	17.39	2.61
4.4	8.82	11.18	7.4	18.17	1.83
4.6	9.35	10.65	7.6	18.73	1.27
4.8	9.86	10.14	7.8	19.15	0.85
5.0	10.30	9.70	8.0	19.45	0.55

ก-6 การคำนวณค่าสเปซไทม์ (space time) ในปฏิกรณ์แบบ packed-bed

$$q = V / \tau$$

ปฏิกรณ์แบบ packed-bed เส้นผ่านศูนย์กลาง 1.0 ซม. ยาว 35.0 ซม. เมื่อบรรจุเซลล์ยีสต์รูป 30 กรัม นน.แห้ง จะมีความสูงของเม็ดเซลล์รูป 32.0 ซม.

$$\tau = 3.14 \times (0.5)^2 \times 32.0 / q$$

ก-7 ค่าทางจลนศาสตร์แบบไม่ต่อเนื่อง

ค่าคงที่ของ Michaelis-Menten และค่าอัตราเร็วสูงสุดในการเกิดปฏิกิริยา อัตราเร็วของการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ตั้งสมการ

$$V = V_{\max}(\text{app}) S_0 / K_m(\text{app}) + S_0$$

$$1/V = K_m(\text{app}) / V_{\max}(\text{app}) S_0 + 1/V_{\max}(\text{app})$$

สร้างกราฟ Lineweaver-Burk ระหว่างส่วนกลับของอัตราเร็วในการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์กับส่วนกลับของความเข้มข้นของซับสเตรตจะได้

$$\text{จุดตัดแกน } y = 1/V_{\max}(\text{app})$$

$$\text{จุดตัดแกน } x = 1/K_m(\text{app})$$

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ผลทางสถิติและการคำนวณค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ

ข-1 ขนาดของเม็ดทรายที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการตรึงเซลล์ยีสต์

ตารางที่ ข-1 ค่า % conversion/นาที่.กรัม ของอินเวอร์เทสตรึงรูปบนทรายขนาดต่าง ๆ

ขนาดของเม็ดทราย(mesh)	ซ้ำที่	% conversion/นาที่.กรัม
16-20	1	0.04
	2	0.05
20-50	1	0.01
	2	0.01
50-80	1	0.02
	2	0.01
80-100	1	0.02
	2	0.02

$$\text{correction term (C.T.)} = Y \dots^2 / n$$

$$= (0.04+0.05+\dots+0.02+0.02)^2 / 8$$

$$= 4.05 \times 10^{-3}$$

$$\text{total sum of square (SS}_v) = \sum_{i=1}^2 \sum_{j=1}^2 Y_{ij}^2 - \text{C.T.}$$

$$= (0.04^2 + 0.05^2 + \dots + 0.02^2 + 0.02^2) - 4.05 \times 10^{-3}$$

$$= 1.55 \times 10^{-3}$$

$$\text{sum of square of treatment} = \sum_{j=1}^2 Y_j^2 / r - \text{C.T.}$$

$$= 1.45 \times 10^{-3}$$

AOV table

SOV	df	SS	MS	F _{คำนวณ}	F _{ตาราง}
treatment	3	1.45×10^{-3}	4.83×10^{-4}	19.32**	$F_{0.05, 3, 4} = 6.59$
error	4	1.0×10^{-4}	2.5×10^{-5}		$F_{0.01, 3, 4} = 16.69$
total	7	1.55×10^{-3}			

** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

เปรียบเทียบ % conversion/นาทีกกรัม ของอินเวอร์เทสตรังรูปโดย
Duncan's New Multiple Range Test โดยเรียงลำดับค่าเฉลี่ยของ
% conversion/นาทีกกรัม จากค่าต่ำสุดไปยังค่าสูงสุด ดังนี้

ขนาดเม็ดยา (mesh)	20-50	50-80	80-100	16-20
ค่าเฉลี่ย % conversion/นาทีกกรัม	0.01	0.015	0.02	0.045
		a		b

$$\begin{aligned} \text{การคำนวณ จาก LSR} = \text{SSR} &= \sqrt{\frac{\text{MS}_E}{\text{จำนวนซ้ำ}}} = \text{SSR} \sqrt{\frac{2.5 \times 10^{-5}}{2}} \\ &= 3.54 \times 10^{-3} \text{ SSR} \end{aligned}$$

df ของ error = 4 ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จะได้

P	2	3	4
SSR	6.51	6.8	6.9
LSR	0.02	0.02	0.02

ข-2 ผลการวิเคราะห์การตรึงเซลล์โดยใช้อัลบูมินและกลูตาไรต์ไฮด์

ตารางที่ ข-2 แสดงค่า % conversion/นาที่.กรัม ของอินเวอร์เทสตรึงรูปที่มี
ปริมาณเซลล์ยีสต์และอัลบูมินระดับต่าง ๆ

ปริมาณอัลบูมิน (กรัมหน.แห้ง/ปริมาตร)	ซ้ำที่	ปริมาณเซลล์ยีสต์ (กรัมหน.แห้ง/ปริมาตร)			
		5	10	15	20
2	1	0.030	0.033	0.051	0.059
	2	0.029	0.033	0.039	0.039
3	1	0.027	0.042	0.054	0.050
	2	0.029	0.039	0.039	0.037
4	1	0.045	0.051	0.034	0.025
	2	0.039	0.040	0.021	0.027
5	1	0.044	0.038	0.030	0.023
	2	0.038	0.038	0.028	0.022

กำหนดให้ ปริมาณเซลล์ยีสต์คือ A

ปริมาณอัลบูมิน คือ B

$$\text{Model } Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + E_{(ijk)}$$

$$\begin{aligned} \text{correction term (C.T.)} &= Y \dots^2 / n \\ &= (0.03 + 0.029 + \dots + 0.023 + 0.022)^2 / 32 \\ &= 0.043 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{total sum of square (SS}_Y) &= \sum_{i=1}^6 \sum_{j=1}^5 \sum_{k=1}^2 Y_{ijk} - C.T. \\
 &= (0.03^2 + 0.029^2 + \dots + 0.023^2 + 0.022^2) - 0.043 \\
 &= 2.87 \times 10^{-3}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Sum of square of A (SS}_A) &= \sum_{i=1}^a Y_i^2 \dots / bc - C.T. \\
 &= [(0.03 + 0.029 + \dots + 0.044 + 0.038)^2 + \dots + \\
 &\quad (0.059 + 0.039 + \dots + 0.023 + 0.022)^2] / (4 \times 2) - 0.043 \\
 &= 1.91 \times 10^{-4}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Sum of square of B (SS}_B) &= \sum_{j=1}^b Y_j^2 \dots / ac - C.T. \\
 &= [(0.03 + 0.029 + \dots + 0.059 - 0.039)^2 + \dots + \\
 &\quad (0.044 + 0.038 + \dots + 0.023 + 0.022)^2] / (4 \times 2) - 0.043 \\
 &= 1.51 \times 10^{-5}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Sum of square of AB (SS}_{AB}) &= \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b Y_{ij}^2 \dots / c - SS_A - SS_B - C.T. \\
 &= [(0.059)^2 + (0.056)^2 + \dots + (0.052)^2 + \\
 &\quad (0.045)^2] / 2 - 1.91 \times 10^{-4} - 1.51 \times 10^{-5} - 0.043 \\
 &= 2.15 \times 10^{-3}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Sum of square of error (SS}_B) &= SS_Y - SS_A - SS_B - SS_{AB} \\
 &= 2.87 \times 10^{-3} - 1.91 \times 10^{-4} - 1.51 \times 10^{-5} - 2.15 \times 10^{-3} \\
 &= 5.14 \times 10^{-4}
 \end{aligned}$$

AOV Table

AOV	df	SS	MS	Fค่านวม	Fตาราง
A=ปริมาณเซลล์ยีสต์	3	1.91×10^{-4}	6.37×10^{-5}	1.98	$F_{0.05, 3, 16} = 3.24$
B=ปริมาณอัลบูมิน	3	1.51×10^{-5}	5.03×10^{-5}	0.16	$F_{0.01, 3, 16} = 5.29$
AB	9	2.51×10^{-3}	2.39×10^{-4}	7.45**	$F_{0.05, 9, 16} = 2.54$
Error	16	5.14×10^{-4}	3.21×10^{-5}		$F_{0.01, 9, 16} = 3.78$
Total	31	2.87×10^{-3}			

** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

เปรียบเทียบ % conversion/นาที่.กรัม ของอินเวอร์เทสตรังรูปโดย
 Duncan'S New Multiple Range Test ดังภาคผนวก ข-1

เซลล์ยีสต์:อัลบูมิน	20:5	20:4	5:3	15:4	15:5	5:2	10:2	10:5	5:5	10:3	5:4	20:3	15:2	10:4	15:3	20:2
%conversion/นาที่.กรัม	0.023	0.026	0.028	0.028	0.029	0.030	0.033	0.038	0.041	0.041	0.042	0.044	0.045	0.046	0.047	0.049
	a						b									

ตารางที่ ข-3.1 แสดง %conversion/นาทีกกรัม ของอินเวอร์เทสตรึง
รูปที่มีเซลลูลีซัด กลูตาไรลดีไฮด์ และเวลาในการแช่กลูตาไรลดีไฮด์ที่ระดับต่างๆ

สภาวะ	A	B	C	%conversion/นาทีกกรัม	
	ปริมาณเซลลูลีซัด (กรัม น.แห้ง/ปริมาตร)	ปริมาณกลูตาไรลดีไฮด์ (ปริมาตร/ปริมาตร)	เวลาในการแช่ กลูตาไรลดีไฮด์ (ชม.)		
1	5%	0.1%	1	0.50	0.66
2	10%	0.1%	1	0.32	0.36
3	5%	1.0%	1	0.21	0.37
4	10%	1.0%	1	0.30	0.33
5	5%	0.1%	2	0.64	0.51
6	10%	0.1%	2	0.26	0.23
7	5%	1.0%	2	0.23	0.41
8	10%	1.0%	2	0.26	0.36

ตารางที่ ข-3.2 ผลจากการวิเคราะห์ผลจากตารางที่ ข-3.1 แบบ Yates' Analysis
(สมบูรณ์ สุขพงษ์ และเปรมใจ ตริสรานวัฒนา , 1984)

ปัจจัยหลักและ อิทธิพลร่วม ต่างๆ	ผลรวม	1	2	3=q _k	$\Delta K=q_k/2^{n-1}r$
1	1.16	1.84	3.05	5.98	
A	0.68	1.21	2.93	-1.14	-1.14*
B	0.58	1.67	-0.43	-1.04	-0.13*
AB	0.63	1.26	-0.71	1.20	0.15*
C	1.15	-0.48	-0.63	-0.12	-0.02
AC	0.49	0.05	-0.41	-0.328	-0.04
BC	0.64	-0.69	0.53	0.22	0.03
ABC	0.62	-0.02	0.67	0.14	0.02

critical value ที่ 95% = 0.12

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

$$\begin{aligned}
 SS_Y &= \sum Y_{ijk}^2 - Y_{...}^2/n \\
 &= (0.50^2 + 0.66^2 + \dots + 0.26^2 + 0.36^2) - (0.50 + 0.66 + \dots \\
 &\quad + 0.26 + 0.36)^2/16 \\
 &= 2.54 - (5.98)^2/16 \\
 &= 0.31
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 SS_{a_k} &= \sum a_k^2 / n \\
 &= [1.14^2 + \dots + 0.14^2] / 16 \\
 &= 0.25
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 SS_E &= SS_Y - SS_{a_k} = 0.31 - 0.25 \\
 &= 0.06
 \end{aligned}$$

$$df \text{ ของ error} = 2^n(r-1) = 8$$

$$\begin{aligned}
 MS_E &= SS_E/df \\
 &= 0.06/8 = 0.01
 \end{aligned}$$

$$S_{\Delta k} = MS_E / 2^{n-2} r = \sqrt{0.01/4} = 0.05$$

$$t_{0.025, 8} = 2.306 \quad \text{critical value ที่ 95 \%} = 0.12$$

$$t_{0.005, 8} = 3.355 \quad \text{" ที่ 99 \%} = 0.17$$

เปรียบเทียบ % conversion/นาทีกกรัม ของอินเวอร์เทสตรังรูปที่มีเซลล์ยีสต์, กลูตารัลดีไฮด์ และ เวลาในการแช่กลูตารัลดีไฮด์ที่ระดับต่างๆ โดย Duncan's New Multiple Range Test โดยเรียงค่าเฉลี่ย % conversion/นาทีกกรัม จากต่ำสุดไปสูงสุด ดังนี้

ปริมาณยีสต์:กลูตารัลดีไฮด์:เวลา	10:0.1:2	5:1:1	10:1:2	10:1:1	5:1:2	5:0.1:1	5:0.1:1	5:0.1:2
% conversion/นาที่.กรัม	0.25	0.29	0.31	0.32	0.32	0.34	0.58	0.59
		a		b				

๗-4 การศึกษาคุณสมบัติที่เหมาะสมสำหรับการทำงานของอินเวอร์เทสตรังรูป

๗-4.1 pH ที่เหมาะสมกับการทำงานของอินเวอร์เทสตรังรูป

AOV Table

SOV	df	SS	MS	F _{คำนวณ}	F _{ตาราง}
treatment	4	0.61	0.15	75**	$F_{0.05, 4, 5} = 5.19$
error	5	0.01	0.002		$F_{0.01, 4, 5} = 11.39$
total	9	0.62			

** แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

เปรียบเทียบ % conversion/นาที่.กรัม ในแต่ละ pH โดย Duncan's New Multiple Range Test โดยเรียงลำดับค่าเฉลี่ย % conversion/นาที่.กรัม จากค่าต่ำสุด ไปยังค่าสูงสุด ได้ดังนี้

pH	5	4	2	3	2.5
%conversion/นาที่.กรัม	<u>0.09</u>	<u>0.15</u>	0.45	<u>0.66</u>	<u>0.67</u>
	a		b		c

ข-4.2 อุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานของอินเวอร์เตอร์ทดสอบรูป

AOV Table

SOV	df	SS	MS	F _{คำนวณ}	F _{ตาราง}
treatment	4	0.32	0.08	40 ^{**}	$F_{0.05, 4, 5} = 5.19$
error	5	0.01	0.002		$F_{0.01, 4, 5} = 11.39$
total	9	0.33			

** แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

เปรียบเทียบ %conversion/นาที่.กรัม ในแต่ละอุณหภูมิ โดย Duncan's New Multiple Range Test โดยเรียงลำดับค่าเฉลี่ย %conversion/นาที่.กรัม จากค่าต่ำสุดไปยังค่าสูงสุดได้ดังนี้

อุณหภูมิ(องศาเซลเซียส)	70	60	30	50	40
% conversion/นาที่.กรัม	0.12	0.42	0.48	0.49	0.67
	a	b		c	

๗-4.3 การวิเคราะห์ค่าครึ่งชีวิตของแอกติวิตีของอินเวอร์เทสตรังรูปขณะเก็บที่ 4
องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้อง

การวิเคราะห์ผลแบบสุ่มตลอด

AOV Table

SOV	df	SS	MS	F _{คำนวณ}	F _{ตาราง}
treatment	1	34233.53	34233.53	46.04*	$F_{0.05, 1, 2} = 18.51$
error	2	1487.18	743.59		
total	3	35720.71			

*แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เปรียบเทียบค่าครึ่งชีวิตของแอกติวิตีของอินเวอร์เทสตรังรูปขณะเก็บโดย
Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ในทำนองเดียวกันกับภาคผนวก ๗-1 ได้ผลดังนี้

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	25-28	4
ครึ่งชีวิตในขณะเก็บ (วัน)	$\frac{85.06}{a}$	$\frac{270.83}{b}$

ข-5 การวิเคราะห์เสถียรภาพของอินเวอร์เทสตรึงรูปต่อ pH

การวิเคราะห์ผลแบบสุ่มตลอด

AOV Table

SOV	df	SS	MS	F _{คำนวณ}	F _{ตาราง}
treatment	4	68865.45	17216.36	11632.68**	$F_{0.05,4,5}=5.19$
error	5	7.41	1.48		$F_{0.01,4,5}=11.39$
total	9	68872.86			

** แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

เปรียบเทียบค่า % แอคติวิตีสัมพันธ์ที่ pH 2.5-8 โดย Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ในทำนองเดียวกับภาคผนวก ข-1 ได้ดังนี้

pH	8	2.5	7	5	4
% แอคติวิตีสัมพันธ์	72.31	<u>83.12</u>	<u>83.36</u>	<u>88.15</u>	<u>89.0</u>
	a	b		c	

ข-6 การศึกษาค่าจลนศาสตร์ที่ปรากฏของอินเวอร์เทสตรังรูปในเครื่องปฏิกรณ์แบบ

Packed-bed

การวิเคราะห์ค่าคงที่ของ Michaelis-Menten ที่ปรากฏและอัตราเร็วของการเกิดปฏิกิริยาสูงสุด จากสมการ 4

$$SoX - Km(app) \ln(1-X) = KE/q$$

$$SoX = Km(app) \ln(1-X) + KE/q$$

กราฟความสัมพันธ์ระหว่าง SoX กับ $\ln(1-X)$ พบว่า

$$\text{ความชันของกราฟ} = Km(app)$$

$$\text{ค่าตัดแกน Sox} = KE/q$$

จากรูปความสัมพันธ์ระหว่าง SoX กับ $\ln(1-X)$ ของอินเวอร์เทสตรังรูป

$$\text{ความชันของกราฟ} = Km(app) = 0.1549 \text{ โมลาร์}$$

$$\text{ค่าตัดแกน} = KE/q = 0.2969 \text{ โมลาร์}$$

$$KE = 0.2969 \times 0.001 = 2.9690 \times 10^{-4} \text{ โมลาร์.ลิตร/นาที}$$

$$V_{max}(app) = KE/\text{ปริมาตรบรรจุ} = 2.9690 \times 10^{-4} / 25 \times 10^{-3}$$

$$= 0.0119 \text{ โมลาร์/นาที}$$

กำหนดให้ 1 หน่วยเอนไซม์ คือ ปริมาณเอนไซม์ที่สามารถสลายน้ำตาลทราย 1 ไมโครโมล/นาที ในสภาพการทดลอง

แต่ค่า $V_{max}(app)$ ที่ได้เป็นค่าโมลาร์ของซูโครส/นาที ดังนั้น 0.0119 โมลาร์ของซูโครส = 0.0119×10^6 ไมโครโมล



ประวัติผู้เขียน

นางสาวภาณุณา บุญโฆษะ เกิดเมื่อวันที่ 9 ธันวาคม พ.ศ. 2506 ณ กรุงเทพมหานคร ได้รับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาชีวเคมี จากจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อ พ.ศ. 2528

✓