# เอกสารอ้างอิง


ภาษาไทย

เรวดี เลิศไตรรักษ์. 2535. กรดมะนาวจากนอร์มัล พาราฟฟินส์โดยวิธีการหมักในอาหารเหลวด้วยยีสต์. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ภาษาอังกฤษ

Abou-Zeid, A.A. and Ashy, M.A. 1984. Production of citric acid :a review. Agric. Wastes 9: 51-76.

Aiba, S. and Matsuoka, M. 1979. Identification of metabolic model: citrate production from glucose by *Candida lipolytica*. Biotechnol. Bioeng. 21:1373-1386.

Bernfeld, P. 1957. Amylases, $\alpha$ and $\beta$ In Colowick,S.P. and Kaplan, N.O. (eds.), Method in Enzymology , vol 3, pp.149-150. New York: Acadamic Press.

Bouchard, E.F. and Merritt, E.G. 1979. Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology ,vol 6, pp.150-179. New york: John Wiley & Sons.

Briffaud, J. and Engasser, J.-M. 1979. Citric acid production from glucose. I. Growth and excretion kinetics in a stirred fermentor. Biotechnol. Bioeng. 21: 2083-2092.

Cartledge, T.G. 1987. Substrate utilization, non-carbohydrate substrate. In Berry,D.R., Russell,I. and Stewart,G.G.(eds.), Yeast Biotechnology, pp.331-342. London: Allen and Unwin.

Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. and Smith, F. 1956. Coloritric method for determination of sugars and related substances. Anal. Chem. 28(3): 350-356.

Fired, J.H. 1972. Method of producing citric acid by fermentation US Patent 3,632,476.

Furukawa, T., Matsuyoshi, T., Minoda, Y. and Yamada, K. 1977. Fermentative production of citric acid from n-paraffins by yeast. J. Ferment. Technol. 55(4): 356-363.

Huggett, A.G. and Nixon, D.A. 1957. Enzymatic determination of blood glucose. Biochem. J. 66(1):12.

Iizuka,H., Shimizu,J., Ishii,K. and Nakajima,Y. 1971. Process for the production of citric acid by fermentation. US Patent 3,622,455.

Kautola, H., Rymowicz, W., Linko, Y. and Linko, P. 1991. Production of citric acid with immobilized *Yarrowia lipolytica*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 35:447-449.

Klasson, T.K., Clausen, E.C. and Gaddy, J.L. 1989. Continuous fermentation for the production of citric acid from glucose. Appl. Biochem. Biotech. 20/21: 491-509.

Kubicek, C.P. and Rohr, M. 1986. Citric acid fermentation. CRC Crit. Rev. Biotechnol. 3: 331-373.

Maddox, I.S. and Kingston, P.J. 1983. Use of immobilised cells of the yeast, *Saccharomycopsis lipolytica*,for the production of citric acid. Biotecnol. Lett. 50(12): 795-798.

Maiorella, B.L., Blanch,H.W. and Wilke, C.R. 1984. Feed component inhibition in ethanolic fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*. Biotechnol. Bioeng. 26: 1155-1166.

Marison, W. 1988. Citric acid production. In Scragg, A.H. (ed.), Biotechnology for Engineers : Biological Systems in Technological Process, pp.322-336. New York:John Wiley&Sons.

Mattey, M. 1992. The production of organic acids. Crit. Rev. Biotechnol. 12(1/2): 87-132.

Miall, L.M. 1978. Organic acids. In Rose, A.H.(ed.), Economic Microbiology, vol. 2, pp. 47-76. London: Acadamic Press.

Milsom, P.E. and Meers,J.R. 1985. Citric acid. In Moo-Young,M.(ed.), Comprehensive Biotechnology , vol 3, pp. 665-681. London: Pergamon Press.

Moresi, M., Cimarelli, D., Gasparrini,G., Liuzzo,G. and Marinelli,R. 1980. Kinetics of citric acid fermentation from n-paraffins by yeasts. J. Chem. Tech. Biotechnol. 30: 266-277.

Nakanishi,T., Yamamoto,M.,Kimura,K. and Tanaka,K. 1972. Fermentative production of citric acid from n-paraffin by yeasts. J. Ferment. Technol. 50(12): 855-867.

Okoshi, H., Sato, S., Mukataka, S. and Takahashi, J. 1987. Citric acid production by *Candida tropicalis* under high dissolved oxygen concentrations. Agric. Biol. Chem. 51(1): 257-258.

Potvin, J., Desrochers,M. and Arcand,Y. 1988. Fermentation of kraft black liquor for the production of citric acid by *Candida tropicalis*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 28: 350-355.

Rane, K.D. and Sims, K.A. 1994. Oxygen uptake and citric acid production by *Candida lipolytica* Y 1095. Biotechnol. Bioeng. 43: 131-137.

Rottigni, C. and Cardini, G. 1981. Process for preparing citric acid by fermentation of carbohydrates. US Patent 4,278,764.

Shah, D.N., Chattoo, B.B., Kothari, R.M. and Hegde, M.V. 1993. Starch hydrolysate, an optimal and economical source of carbon for the secretion of citric acid by *Yarrowia lipolytica*(DS-1). Starch/Starke 45:104-109.

Stern,J.R. 1957. Assay of tricarboxylic acids. In Colowick,S.P. and Kaplan,N.O.(eds.), Method in Enzymology ,vol.3, pp. 425-428. New York: Acadamic Press.

Wejtatowicz, M., Rymowicz, W. and Kautola, H. 1991. Comparison of different strains of the yeast *Yarrowia lipolytica* for citric acid production from glucose hydrol. Appl. Biochem. Biotechnol. 31: 165-174.

ภาคผนวก ก

# อาหารที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อ

## 1. อาหารสำหรับเตรียมหัวเชื้อ (Yeast Malt Extract Medium)

### 1.1 อาหารเหลว

ในอาหาร 1 ลิตร ประกอบด้วย

| | | |
|---|---|---|
| กลูโคส | 10.0 | กรัม |
| สารสกัดจากยีสต์ (Yeast extract) | 3.0 | กรัม |
| สารสกัดจากมอลต์ (Malt extract) | 3.0 | กรัม |
| เปปโตน | 5.0 | กรัม |

ใส่อาหารในขวดทดลองขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาตร 50.0 มิลลิลิตรต่อขวด นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

### 1.2 อาหารแข็ง

อาหารแข็งลาดเอียง(YM-slant)เตรียมได้โดยเติมวุ้นผง 20.0 กรัม ลงในสูตรอาหารเหลวในข้อ 1.1 ปิเปตใส่ในหลอดทดลองหลอดละ 6.0 มิลลิลิตร ปิดด้วยจุกสำลี นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

## 2. อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตกรดมะนาว

อาหารสำหรับการเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิตกรดมะนาวที่กล่าวไว้ข้างล่างนี้ จะเปลี่ยนแปลงตามปัจจัยที่ต้องการศึกษา โดยเลี้ยงเชื้อในขวดทดลองขนาด 250 มิลลิลิตร ใส่อาหารปริมาตร 50.0 มิลลิลิตรต่อขวด นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส ความดัน 7.2 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 30 นาที

2.1 <u>อาหารเลี้ยงเชื้อพื้นฐานสำหรับการผลิตกรดมะนาว</u>

อาหารเลี้ยงเชื้อพื้นฐานสำหรับการผลิตกรดมะนาว ในอาหาร 1 ลิตร ประกอบด้วย

| | | |
|---|---|---|
| แป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อย ด้วยเอนไซม์แล้ว มีน้ำตาลกลูโคส | 200.0 | กรัม |
| แอมโมเนียมไนเตรต | 2.0 | กรัม |
| โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต | 0.1 | กรัม |
| แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตาไฮเดรต | 0.5 | กรัม |
| แมงกานีสซัลเฟตโมโนไฮเดรต | 0.2 | กรัม |
| สารสกัดจากยีสต์ | 1.0 | กรัม |
| แคลเซียมคาร์บอเนต | 100.0 | กรัม |

2.2 <u>อาหารเลี้ยงเชื้อ สำหรับศึกษาปริมาณเริ่มต้นของน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แล้ว</u>

ในอาหาร 1 ลิตร มีส่วนประกอบเช่นเดียวกับในข้อ 2.1 ยกเว้นปริมาณเริ่มต้นของน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แล้ว มีการแปรผันตามการทดลอง

2.3 <u>อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับศึกษาชนิดและปริมาณของแหล่งอนินทรีย์ไนโตรเจน ที่เหมาะสม</u>

ในอาหาร 1 ลิตร มีส่วนประกอบเช่นเดียวกับในข้อ 2.1 ยกเว้นแหล่งของอนินทรีย์ไนโตรเจนมีการแปรผันทั้งชนิดและปริมาณตามการทดลอง

2.4 <u>อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับศึกษา ปริมาณโปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตที่เหมาะสม</u>

ในอาหาร 1 ลิตร มีส่วนประกอบเช่นเดียวกับในข้อ 2.1 ยกเว้นสารต่างๆ ดังต่อไปนี้

แป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อย

ด้วยเอนไซม์แล้ว มีน้ำตาลกลูโคส 200.0 กรัม

แอมโมเนียมคลอไรด์ 2.0 กรัม

โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.0-1.0 กรัม

2.5 <u>อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับศึกษา ปริมาณแมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตาไฮเดรต ที่เหมาะสม</u>

ในอาหาร 1 ลิตร มีส่วนประกอบเช่นเดียวกับในข้อ 2.1 ยกเว้นสารต่างๆ ดังต่อไปนี้

แป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อย

ด้วยเอนไซม์แล้ว มีน้ำตาลกลูโคส 200.0 กรัม

แอมโมเนียมคลอไรด์ 2.0 กรัม

โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.2 กรัม

แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตาไฮเดรต 0.0-1.0 กรัม

2.6 <u>อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับศึกษา ปริมาณแมงกานีสซัลเฟตโมโนไฮเดรต ที่เหมาะสม</u>

ในอาหาร 1 ลิตร มีส่วนประกอบเช่นเดียวกับในข้อ 2.1 ยกเว้นสารต่างๆ ดังต่อไปนี้

แป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อย

ด้วยเอนไซม์แล้ว มีน้ำตาลกลูโคส 200.0 กรัม

แอมโมเนียมคลอไรด์ 2.0 กรัม

โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.2 กรัม

แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตาไฮเดรต 0.5 กรัม

แมงกานีสซัลเฟตโมโนไฮเดรต 0.0-1.0 กรัม

2.7 <u>อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับศึกษาปริมาณสารสกัดจากยีสต์ที่เหมาะสม</u>

ในอาหาร 1 ลิตร มีส่วนประกอบดังต่อไปนี้

| | | |
|---|---|---|
| แป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แล้ว มีน้ำตาลกลูโคส | 200.0 | กรัม |
| แอมโมเนียมคลอไรด์ | 2.0 | กรัม |
| โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต | 0.2 | กรัม |
| แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตาไฮเดรต | 0.5 | กรัม |
| แมงกานีสซัลเฟตโมโนไฮเดรต | 0.2 | กรัม |
| สารสกัดจากยีสต์ | 0.0-2.0 | กรัม |
| แคลเซียมคาร์บอเนต | 100.0 | กรัม |

2.8 <u>อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับศึกษาผลของปริมาณเหล็กซัลเฟต</u>

ในอาหาร 1 ลิตร มีส่วนประกอบดังต่อไปนี้

| | | |
|---|---|---|
| แป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แล้ว มีน้ำตาลกลูโคส | 200.0 | กรัม |
| แอมโมเนียมคลอไรด์ | 2.0 | กรัม |
| โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต | 0.2 | กรัม |
| แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตาไฮเดรต | 0.5 | กรัม |
| แมงกานีสซัลเฟตโมโนไฮเดรต | 0.2 | กรัม |
| สารสกัดจากยีสต์ | 1.0 | กรัม |
| แคลเซียมคาร์บอเนต | 100.0 | กรัม |
| เหล็กซัลเฟต | 0.0-0.1 | กรัม |

2.9 <u>อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับศึกษาปริมาณไธอะมีนไฮโดรคลอไรด์ที่เหมาะสม</u>

ในอาหาร 1 ลิตร มีส่วนประกอบดังต่อไปนี้

แป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อย

ด้วยเอนไซม์แล้ว มีน้ำตาลกลูโคส 200.0 กรัม

แอมโมเนียมคลอไรด์ 2.0 กรัม

โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.2 กรัม

แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตาไฮเดรต 0.5 กรัม

แมงกานีสซัลเฟตโมโนไฮเดรต 0.2 กรัม

แคลเซียมคาร์บอเนต 100.0 กรัม

ไธอะมีนไฮโดรคลอไรด์ 0.0-0.1 กรัม

2.10 <u>อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับศึกษาปริมาณแคลเซียมคาร์บอเนตที่เหมาะสม</u>

ในอาหาร 1 ลิตร มีส่วนประกอบดังต่อไปนี้

แป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อย

ด้วยเอนไซม์แล้ว มีน้ำตาลกลูโคส 200.0 กรัม

แอมโมเนียมคลอไรด์ 2.0 กรัม

โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.2 กรัม

แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตาไฮเดรต 0.5 กรัม

แมงกานีสซัลเฟตโมโนไฮเดรต 0.2 กรัม

สารสกัดจากยีสต์ 1.0 กรัม

แคลเซียมคาร์บอเนต 80.0-120.0 กรัม

2.11 <u>อาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดมะนาวในระดับขวดเขย่า</u>

ในอาหาร 1 ลิตร มีส่วนประกอบดังต่อไปนี้

แป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อย

ด้วยเอนไซม์แล้ว มีน้ำตาลกลูโคส 200.0 กรัม

แอมโมเนียมคลอไรด์ 2.0 กรัม

| | | |
|---|---|---|
| โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต | 0.2 | กรัม |
| แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตาไฮเดรต | 0.5 | กรัม |
| แมงกานีสซัลเฟตโมโนไฮเดรต | 0.2 | กรัม |
| สารสกัดจากยีสต์ | 1.0 | กรัม |
| แคลเซียมคาร์บอเนต | 100.0 | กรัม |

2.12 <u>อาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิตกรดมะนาวในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร</u>

ในอาหาร 1 ลิตร มีส่วนประกอบเช่นเดียวกับในข้อ 2.11 แยกสารอาหารแต่ละชนิด นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส ความดัน 7.2 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 30 นาที ส่วนถังหมักนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 30 นาที

2.13 <u>อาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อศึกษาผลการเพิ่มปริมาณแคลเซียมคาร์บอเนต ในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร</u>

ในอาหาร 1 ลิตร มีส่วนประกอบดังต่อไปนี้

| | | |
|---|---|---|
| แป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อย ด้วยเอนไซม์แล้ว มีน้ำตาลกลูโคส | 200.0 | กรัม |
| แอมโมเนียมคลอไรด์ | 2.0 | กรัม |
| โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต | 0.2 | กรัม |
| แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตาไฮเดรต | 0.5 | กรัม |
| แมงกานีสซัลเฟตโมโนไฮเดรต | 0.2 | กรัม |
| สารสกัดจากยีสต์ | 1.0 | กรัม |
| แคลเซียมคาร์บอเนต | 120.0 | กรัม |

2.14 <u>อาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิตกรดมะนาวในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร ควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์</u>

ในอาหาร 1 ลิตร มีส่วนประกอบดังต่อไปนี้

| | | |
|---|---|---|
| แป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แล้ว มีน้ำตาลกลูโคส | 200.0 | กรัม |
| แอมโมเนียมคลอไรด์ | 2.0 | กรัม |
| โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต | 0.2 | กรัม |
| แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตาไฮเดรต | 0.5 | กรัม |
| แมงกานีสซัลเฟตโมโนไฮเดรต | 0.2 | กรัม |
| สารสกัดจากยีสต์ | 1.0 | กรัม |

ส่วนสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เตรียมความเข้มข้น 10 นอร์มอล นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

2.15 <u>อาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิตกรดมะนาวในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร ควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์</u>

ในอาหาร 1 ลิตร มีส่วนประกอบดังต่อไปนี้

| | | |
|---|---|---|
| แป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แล้ว มีน้ำตาลกลูโคส | 200.0 | กรัม |
| แอมโมเนียมคลอไรด์ | 2.0 | กรัม |
| โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต | 0.2 | กรัม |
| แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตาไฮเดรต | 0.5 | กรัม |
| แมงกานีสซัลเฟตโมโนไฮเดรต | 0.2 | กรัม |
| สารสกัดจากยีสต์ | 1.0 | กรัม |

ส่วนแคลเซียมไฮดรอกไซด์เตรียมในรูปสารแขวนลอยในน้ำปริมาณ ร้อยละ 50 น้ำหนักต่อปริมาตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

ภาคผนวก ข

## การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

1. <u>สารเคมีสำหรับวิเคราะห์กรดมะนาว</u>

สารละลายมาตรฐานกรดมะนาว

ละลายกรดมะนาวโมโนไฮเดรต 54.68 มิลลิกรัม ในกรดซัลฟุริกความเข้มข้น 1 นอร์มอล ปรับปริมาตรเป็น 50.0 มิลลิลิตร เก็บสารละลายที่ได้ในตู้เย็น การเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดมะนาวทำได้โดย ปิเปตสารละลายที่เก็บไว้ปริมาตร 4.0 มิลลิลิตร เติมกรดซัลฟุริกความเข้มข้น 1 นอร์มอล ปรับปริมาตรเป็น 100.0 มิลลิลิตร ได้สารละลายมาตรฐานกรดมะนาวที่มีความเข้มข้น 40 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

สารละลายไทโอยูเรีย

ละลายโซเดียมเตตราบอเรต 2.0 กรัม ในสารละลายไทโอยูเรียความเข้มข้นร้อยละ 4(น้ำหนักต่อปริมาตร) ปริมาตร 100.0 มิลลิลิตร กรองสารละลายที่ได้ ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 9.2 เก็บไว้ในขวดสีชา

2. <u>สารเคมีสำหรับวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวส์</u>

สารละลายกรดไดไนโตรซาลิไซลิก(3,5-dinitrosalisylic acid)

ละลายกรดไดไนโตรซาลิไซลิก 1.0 กรัม ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 2 นอร์มอล ปริมาตร 20.0 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 50.0 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เติมโปแตสเซียมโซเดียมตาร์เตรต 30.0 กรัม เติมน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร เก็บในขวดสีชา

3. <u>สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลกลูโคส</u>

สารละลายโอ-ไนอะนิซิดีน(o-dianisidine) ความเข้มข้นร้อยละ 1 (น้ำหนักต่อปริมาตร)

ละลายโอ-ไนอะนิซิดีน 1.0 กรัม ในเอทธานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาตร 100.0 มิลลิลิตร

สารละลายพีจีโอ

ละลายพีจีโอ เอนไซม์ 1 แคปซูล ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.0 ปริมาตร 60.0 มิลลิลิตร เติมสารละลายโอ-ไนอะนิซิดีนปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 100.0 มิลลิลิตรด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ เก็บสารละลายในขวดสีชา ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ภาคผนวก ค

การย่อยแป้งมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์

1. <u>ขั้นตอนการย่อยแป้งมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์</u>

1. ใส่แป้งมันสำปะหลัง 14 กิโลกรัม และน้ำที่กำจัดอิออนแล้ว 30 ลิตร ในถังปฏิกรณ์ กวนให้เข้ากัน

2. ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 6.5 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 นอร์มอล

3. เติมเอนไซม์ BAN 240L ปริมาตร 5.25 มิลลิลิตร

4. เพิ่มอุณหภูมิเป็น 90 องศาเซลเซียส แล้วลดอุณหภูมิลงทันทีและควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 60 องศาเซลเซียส

5. ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 4.3 ด้วยกรดซัลฟุริกความเข้มข้นร้อยละ 10

6. เติมเอนไซม์ Dextrozyme 225/75L ปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร

7. ควบคุมอุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส อัตราการกวน 250 รอบต่อนาที นาน 30 ชั่วโมง

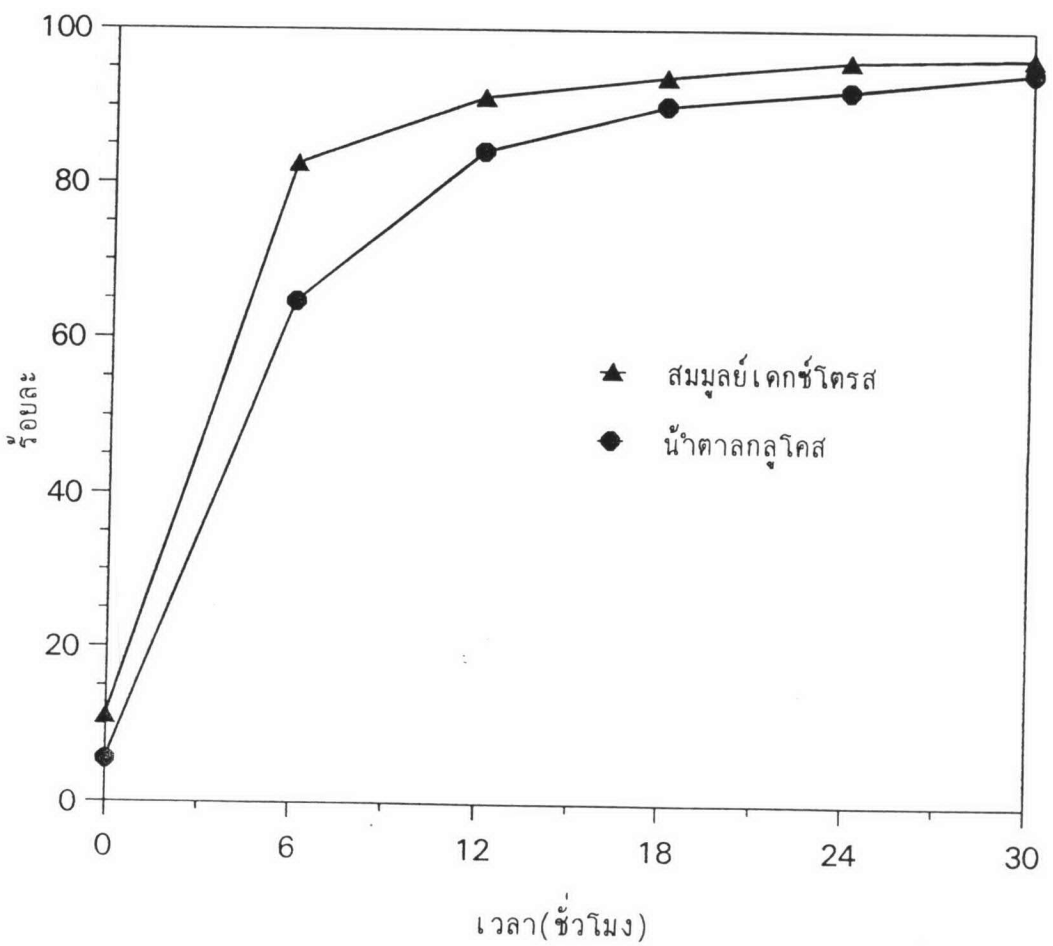
8. เพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้นเป็น 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

9. นำไปแยกตะกอนออกด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง

10. เก็บในตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

2. สมบัติของแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แล้ว

| | |
|---|---|
| ปริมาณของแข็งทั้งหมด | 339.40 กรัมต่อลิตร |
| ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด | 336.51 กรัมต่อลิตร |
| ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ | 326.91 กรัมต่อลิตร |
| ปริมาณน้ำตาลกลูโคส | 320.37 กรัมต่อลิตร |
| สมมูลเดกซ์โตรส | 96.42 |
| น้ำตาลกลูโคส ร้อยละ | 94.49 |

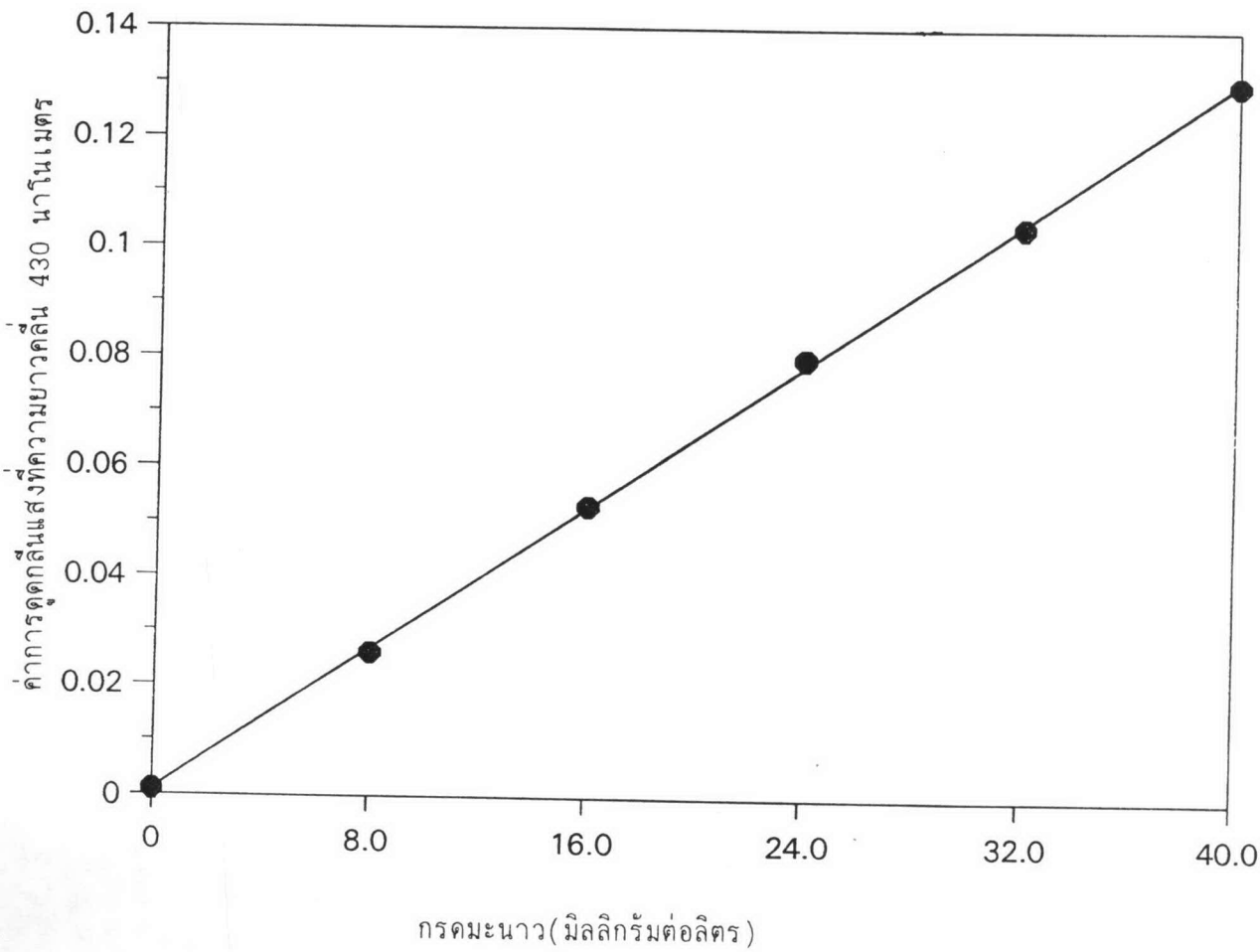



รูปที่ 27 แสดงสมบัติต่างๆ ของแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์

ภาคผนวก ง

กราฟมาตรฐาน

1. <u>กราฟมาตรฐานของกรดมะนาวโดยวิธีเพนตาโบรโมอะซิโตน</u>

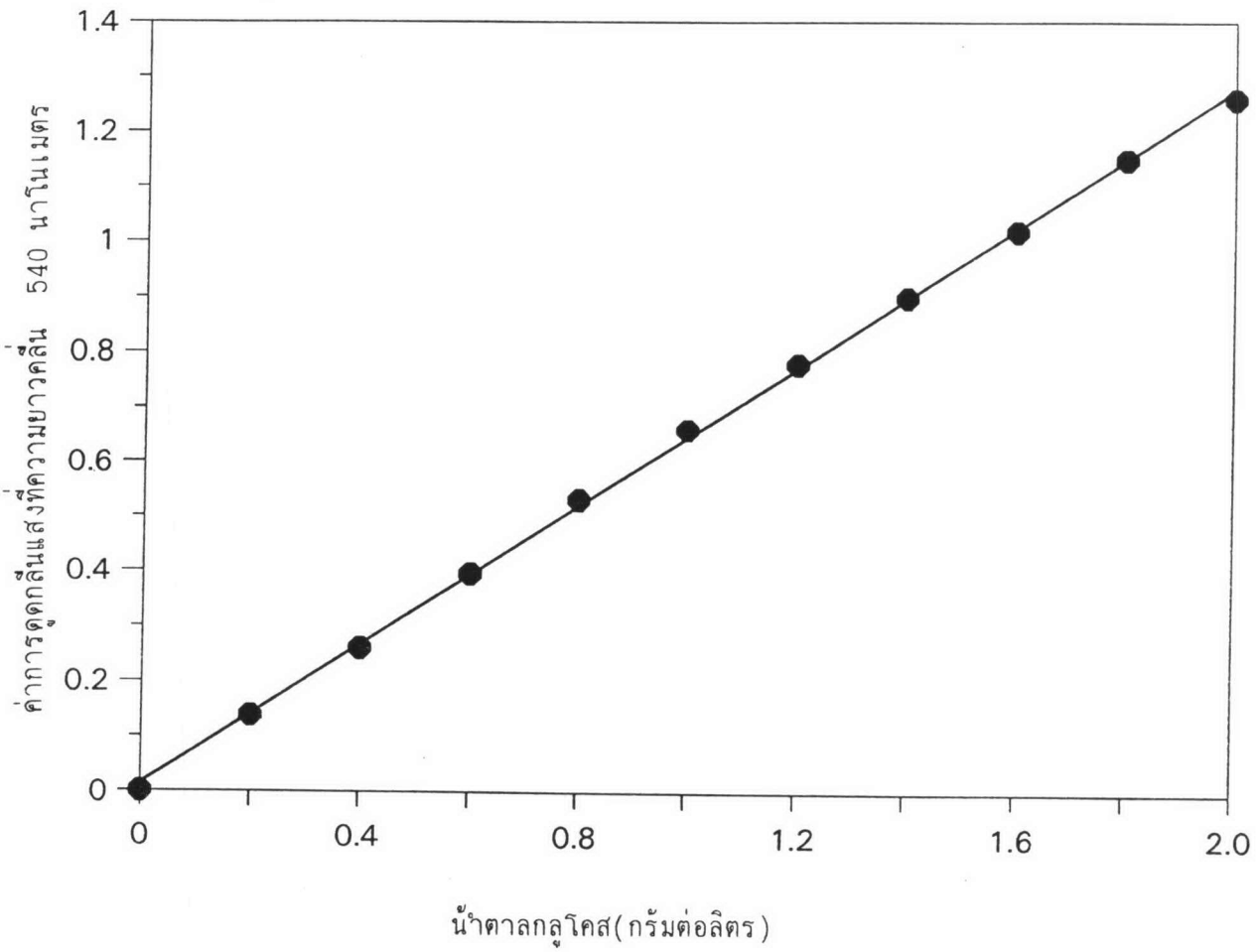



<u>รูปที่ 28</u> กราฟมาตรฐานของกรดมะนาว

<u>การคำนวณ</u>

กรดมะนาว (กรัมต่อลิตร) = ค่าการดูดกลืนแสงที่ 430 นาโนเมตร x $\frac{1}{\text{ความชัน}}$ x ความเจือจาง

2. กราฟมาตรฐานของน้ำตาลรีดิวซ์

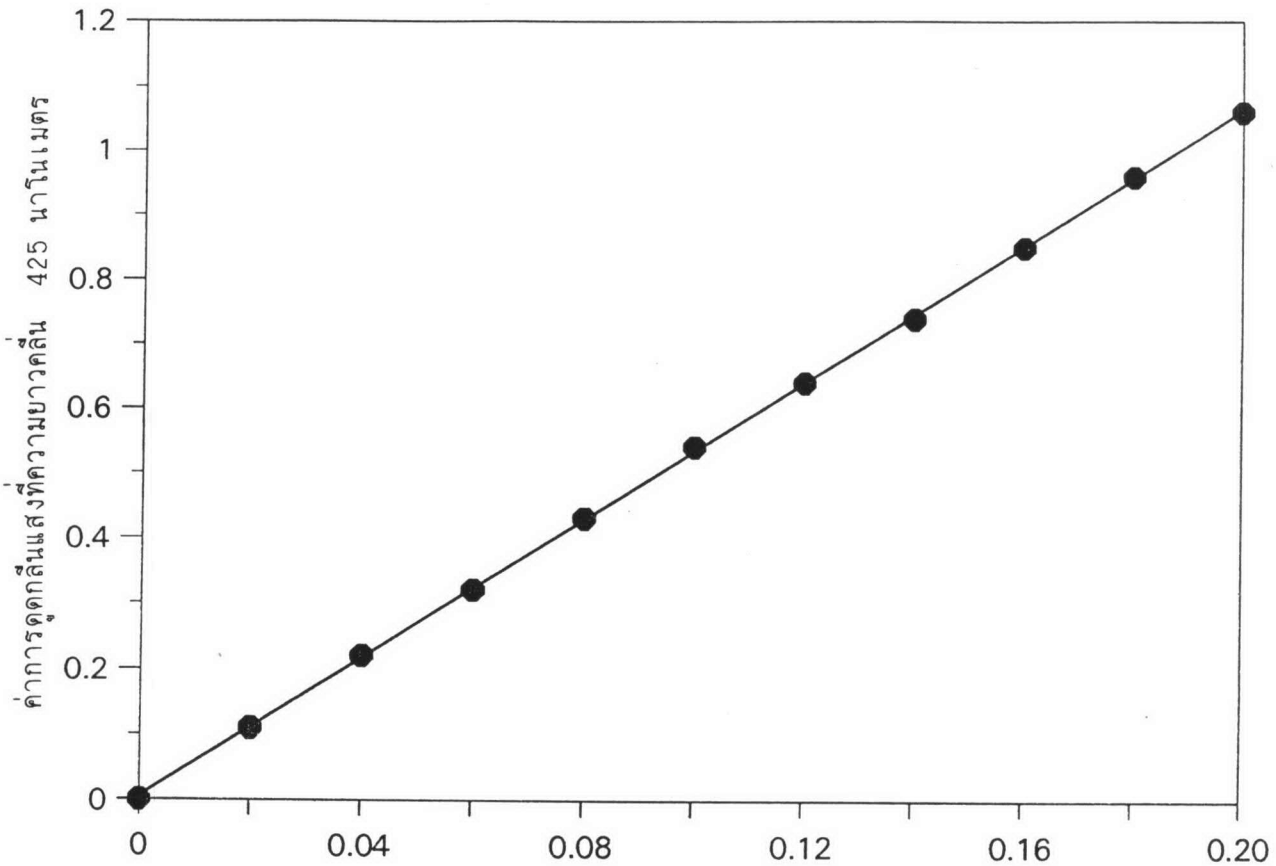



รูปที่ 29 กราฟมาตรฐานของน้ำตาลรีดิวซ์

การคำนวณ

น้ำตาลรีดิวส์ (กรัมต่อลิตร) = ค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร x $\frac{1}{\text{ความชัน}}$ x ความเจือจาง

3. กราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสโดยวิธี พีจีโอ เอนไซม์




รูปที่ 30 กราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส

การคำนวณ

น้ำตาลกลูโคส= ค่าการดูดกลืนแสงที่ 425 นาโนเมตร x $\frac{1}{\text{ความชัน}}$ x ความเจือจาง (กรัมต่อลิตร)

ภาคผนวก จ

สูตรการคำนวณ

1. <u>สมมูลเดกซ์โตรส</u> (dextrose equivalent;DE)

$$\text{สมมูลเดกซ์โตรส} = \frac{\text{น้ำตาลรีดิวส์ (กรัมต่อลิตร)}}{\text{ปริมาณของแข็งทั้งหมด (กรัมต่อลิตร)}} \times 100$$

2. <u>ผลผลิต</u>(yield)

$$\text{ผลผลิต(ร้อยละ)} = \frac{\text{กรดมะนาวที่ได้(กรัมต่อลิตร)}}{\text{น้ำตาลกลูโคสที่ใช้ไป(กรัมต่อลิตร)}} \times 100$$

# ประวัติผู้เขียน

นายประเสริฐ หาญเมืองใจ เกิดวันที่ 26 ตุลาคม พ.ศ. 2511 ที่จังหวัดลำพูน สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาชีวเคมีและชีวเคมีเทคโนโลยี ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เมื่อปีการศึกษา 2533 และได้เข้าศึกษาต่อในระดับบัณฑิตศึกษา หลักสูตรเทคโนโลยีทางชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการ 2534