

ผลการทดลอง

1. การศึกษาแหล่งสารอาหาร และปริมาณที่เหมาะสมในระดับขวดเช่า

จากผลการทดลองของศิริลักษณ์ ชีระดากร (42) ศึกษาการผลิตกลูโคสไอโซเมอเรส โดย *Streptomyces* sp. 190-1 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม ประกอบด้วยสารแหล่งคาร์บอนคือ 2.0% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ของสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของรำข้าวสาคัดไขมันแล้ว สารแหล่งไนโตรเจนคือ 0.50% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ของสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของกากถั่วเหลือง และ 0.30% ยีสต์เอ๊กซแทรก สารแหล่งเกลือแร่คือ 0.01% โคบอลต์คลอไรด์ 0.47% ไดโบแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.03% โบแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต พีเอช 8.0 และใช้สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้ายในปริมาณที่ให้ไซโดส 1% (น้ำหนัก/ปริมาตร) เป็นตัวชักนำการสร้างเอนไซม์ โดยแบ่งเติมในระยะเริ่มต้นของการเลี้ยงเชื้อ 0.50% แล้วเติมอีก 0.50% ภายหลังจากการเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 12 ชั่วโมง สามารถชักนำให้ *Streptomyces* sp. 190-1 ผลิตกลูโคสไอโซเมอเรสได้ประมาณ 1,100 หน่วย/กรัม เหน. เซลล์แห้ง ที่ชั่วโมงที่ 24 โดยมีปริมาณเซลล์สูงสุดประมาณ 4 กรัม เหน. เซลล์แห้ง/ลิตร ในชั่วโมงที่ 18

แม้ว่าจากผลการทดลองที่ได้ เอนไซม์แอกติวิตีค่อนข้างสูงเป็นที่น่าพอใจ แต่ปริมาณเซลล์ก็ยังไม่สูงเท่าที่ควร ตลอดจนสารอาหารเหลือทิ้งหลังการเลี้ยงเชื้อยังสูงอยู่ โดยเฉพาะโปรตีนมีปริมาณลดลงประมาณครึ่งหนึ่งของความเข้มข้นเริ่มต้น ดังนั้นจึงได้นำผลจากการทดลองนี้มาใช้เป็นแนวทางในการศึกษาเพื่อเพิ่มปริมาณเซลล์ให้สูงขึ้นและพยายามลดปริมาณสารอาหารเหลือทิ้ง ซึ่งสารแหล่งคาร์บอนที่ใช้ได้แก่ สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของรำข้าวสาคัดไขมันแล้ว สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้าย และสารแหล่งไนโตรเจนได้แก่ สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของกากถั่วเหลือง (ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบดังแสดงในตารางที่ 8) ยีสต์เอ๊กซแทรก แอมโมเนียไฮโดรเจนฟอสเฟต

ตารางที่ 8 ผลการวิเคราะห์ส่วนประกอบต่าง ๆ ของสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถัน
ของรำข้าวสาคัดไซมันแล้ว กากถั่วเหลืองและเปลือกเมล็ดฝ้าย

| สารละลายย่อยด้วย กรดกำมะถันของ | น้ำตาลรีดิวัลส์ (กรัม/ลิตร) | กลูโคส (กรัม/ลิตร) | ไซโลส (กรัม/ลิตร) | โปรตีน (กรัม/ลิตร) | ไนโตรเจน (กรัม/ลิตร) | ปริมาณของแข็งทั้งหมด (กรัม/ลิตร) |
|-----------------------------------|--------------------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|-------------------------|-------------------------------------|
| รำข้าวสาคัดไซมันแล้ว | 45 | 16 | 10 | 15 | 2.30 | 66 |
| กากถั่วเหลือง | 20 | 5 | 11 | 23 | 3.60 | 78 |
| เปลือกเมล็ดฝ้าย | 370 | 11 | 300 | 19 | 2.80 | 400 |

1.1 ผลการทดสอบสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของรำข้าวสาคัดไขมัน กากถั่วเหลือง และซีสต์เอกซแทรก เมื่อทดสอบปัจจัยแบบแฟคตอเรียล 2³

โดยทำการทดลองตามวิธีที่กล่าวไว้ในบทที่ 2 ข้อ 1.3 สารแห้งไนโตรเจนคือ สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของกากถั่วเหลืองมี 2 ระดับคือ 0.036% และ 0.196% (โปรตีน) ซีสต์เอกซแทรก 2 ระดับคือ 0.03% และ 0.30% สารแห้งคาร์บอนคือ สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของรำข้าวสาคัดไขมันแล้วมี 2 ระดับคือ 0.095% และ 0.955% (น้ำตาลรีดิวซ์) โคบอลต์คลอไรด์ 0.01% ไดโบแตสซีมไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.47% โบแตสซีมไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.03% พีเอช 8.0 สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้ายในปริมาณที่ให้โซโดส 0.50% เป็นตัวชักนำการสร้างเอนไซม์ ผลการทดลองแบบแฟคตอเรียล 2³ ดังแสดงในตารางที่ 9, 10, 11 ปรากฏว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วยสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของกากถั่วเหลือง 0.196% สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของรำข้าวสาคัดไขมัน 0.955% และซีสต์เอกซแทรก 0.30% เชื้อจุลินทรีย์สามารถผลิตกลูโคสไฮโซเมอเรสได้สูงสุด ดังแสดงในตารางที่ 11 ดังนั้นจึงเลือกผลการทดลองที่จุดนี้เพื่อใช้เปรียบเทียบแผนการทดลองอื่น

ตารางที่ 9 การเจริญของ Streptomyces sp. 190-1 ในขวดแก้วทรงกรวย
เมื่อทดสอบปัจจัยแบบแฟคตอเรียล 2³ โดยมีสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของกากถั่ว
เหลือง และรำข้าวสาคัดไขมันเป็นแหล่งไนโตรเจนและคาร์บอนตามลำดับ

| สภาพการทดลอง | | | การเจริญของเซลล์ (กรัม/หน. เซลล์แห้ง/ลิตร) | | |
|--|--|-----------------------------------|---|----------|--------|
| ปัจจัย A สารละลายย่อยด้วยกรด กำมะถันของกากถั่วเหลือง (% โปรตีน) | ปัจจัย B สารละลายย่อยด้วยกรด กำมะถันของรำข้าวสาคัด ไขมันแล้ว(% น้ำตาลวีติวส์) | ปัจจัย C ยีสต์เอ๊กซแทรก (%) | ซ้ำที่ 1 | ซ้ำที่ 2 | เฉลี่ย |
| 0.036 | 0.095 | 0.03 | 1.00 | 1.10 | 1.05 |
| 0.036 | 0.095 | 0.30 | 1.45 | 1.15 | 1.45 |
| 0.036 | 0.955 | 0.03 | 1.90 | 2.00 | 1.45 |
| 0.036 | 0.955 | 0.30 | 3.40 | 3.20 | 3.30 |
| 0.196 | 0.095 | 0.03 | 2.70 | 2.40 | 2.80 |
| 0.196 | 0.095 | 0.30 | 1.60 | 1.70 | 1.65 |
| 0.196 | 0.955 | 0.03 | 2.70 | 2.60 | 2.65 |
| 0.196 | 0.955 | 0.30 | 3.80 | 4.00 | 3.90 |

ตารางที่ 10 แอคติวิตีของกลูโคสไอโซเมอเรสที่ผลิตโดย Streptomyces sp. 190-1 ในขวดแก้ว
ทรงกรวย เมื่อทดสอบปัจจัยแบบแฟคตอเรียล 2³ โดยมีองค์ประกอบอาหารเหมือนตารางที่ 9

| สภาพการทดลอง | | | แอคติวิตีของกลูโคสไอโซเมอเรส (หน่วย / กรัม นน. เซลแห้ง) | | |
|--|--|------------------------------------|--|----------|--------|
| ปัจจัย A สารละลายย่อยด้วยกรด กำมะถันของกากถั่วเหลือง (% โปรตีน) | ปัจจัย B สารละลายย่อยด้วยกรด กำมะถันของรำข้าวสาคัด ไหม้แล้ว (% น้ำตาลรีดิวัลส์) | ปัจจัย C ยีสต์เอ็กซ์แทรก (%) | ซ้ำที่ 1 | ซ้ำที่ 2 | เฉลี่ย |
| 0.036 | 0.095 | 0.03 | 660 | 670 | 665 |
| 0.036 | 0.095 | 0.30 | 1192 | 1168 | 1180 |
| 0.036 | 0.955 | 0.03 | 965 | 990 | 978 |
| 0.036 | 0.955 | 0.30 | 878 | 885 | 882 |
| 0.196 | 0.095 | 0.03 | 904 | 929 | 917 |
| 0.196 | 0.095 | 0.30 | 1068 | 1060 | 1064 |
| 0.196 | 0.955 | 0.03 | 856 | 880 | 868 |
| 0.196 | 0.955 | 0.30 | 815 | 810 | 813 |

ตารางที่ 11 แอคติวิตีต่อปริมาณอาหารของกลูโคสไอโซเมอเรสที่ผลิตโดย Streptomyces sp.
190-1 ในขวดแก้วทรงกรวย เมื่อทดสอบปัจจัยแบบแฟคเตเรียล 2³ โดยมีองค์ประกอบอาหาร
เหมือนตารางที่ 9

| ปัจจัย A สารละลายย่อยด้วยกรด กำมะถันของกากถั่วเหลือง (% โปรตีน) | ปัจจัย B สารละลายย่อยด้วยกรด กำมะถันของรำข้าวสาคัด ไขมันแล้ว(% น้ำตาลรีดิวัลส์) | ปัจจัย C ยีสต์เอ็กซ์แทรก (%) | กลูโคสไอโซเมอเรส (หน่วย / ลิตร) |
|--|--|------------------------------------|------------------------------------|
| 0.036 | 0.095 | 0.03 | 698.25 |
| 0.036 | 0.095 | 0.30 | 1711.00 |
| 0.036 | 0.955 | 0.03 | 1907.10 |
| 0.036 | 0.955 | 0.30 | 2910.60 |
| 0.196 | 0.095 | 0.03 | 2567.60 |
| 0.196 | 0.095 | 0.30 | 1755.60 |
| 0.196 | 0.955 | 0.03 | 2300.20 |
| 0.196 | 0.955 | 0.30 | 3170.70 |

1.2 ผลการทดสอบสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้าย การถั่วเหลือง และยีสต์
เอกซแทรก เมื่อทดสอบปัจจัยแบบแฟคตอเรียล 2³

โดยทำการทดลองตามวิธีที่กล่าวไว้ในบทที่ 2 ข้อ 2.3 สารแหล่งไนโตรเจนคือ สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของการถั่วเหลือง 2 ระดับคือ 0.036% และ 0.196% (โปรตีน) ยีสต์เอกซแทรก 2 ระดับคือ 0.03% และ 0.30% สารแหล่งคาร์บอนคือ สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้าย 2 ระดับคือ 0.095% และ 0.955% (น้ำตาลรีดิวส์) ผลการทดลองแบบแฟคตอเรียล 2³ ดังแสดงในตารางที่ 12, 13, 14 ปรากฏว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วยสารละลายย่อยด้วยกำมะถันของกากถั่วเหลือง 0.196% สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้าย 0.955% และยีสต์เอกซแทรก 0.30% เชื้อจุลินทรีย์สามารถผลิตกลูโคสไอโซเมอเรสได้สูงสุด ดังแสดงในตารางที่ 14 ดังนั้นจึงเลือกผลการทดลองที่จุดนี้เพื่อใช้เปรียบเทียบกับแผนการทดลองอื่น

ตารางที่ 12 การเจริญของ *Streptomyces* sp. 190-1 ในขวดแก้วทรงกรวย เมื่อทดสอบปัจจัยแบบ
 แพลตอเรียล 2³ โดยมีสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของกากถั่วเหลืองและเปลือกเมล็ด
 ฝ้าย เป็นแหล่งไนโตรเจนและคาร์บอนตามลำดับ

| สภาพการทดลอง | | | การเจริญของเซลล์ (กรัม นน. เซลล์แห้ง/ลิตร) | | |
|--|--|------------------------------------|---|----------|--------|
| ปัจจัย A สารละลายย่อยด้วยกรด กำมะถันของกากถั่วเหลือง (% โปรตีน) | ปัจจัย B สารละลายย่อยด้วยกรด กำมะถันของเปลือกเมล็ด ฝ้าย (% น้ำตาลรีดิวส์) | ปัจจัย C ยีสต์เอทริกแทรก (%) | ซ้ำที่ 1 | ซ้ำที่ 2 | เฉลี่ย |
| 0.036 | 0.095 | 0.03 | 1.60 | 1.50 | 1.55 |
| 0.036 | 0.095 | 0.30 | 1.90 | 1.86 | 1.88 |
| 0.036 | 0.955 | 0.03 | 2.10 | 2.20 | 2.20 |
| 0.036 | 0.955 | 0.30 | 2.25 | 2.20 | 2.05 |
| 0.196 | 0.095 | 0.03 | 2.35 | 2.30 | 2.28 |
| 0.196 | 0.095 | 0.30 | 2.30 | 2.45 | 2.40 |
| 0.196 | 0.955 | 0.03 | 3.40 | 2.40 | 2.35 |
| 0.196 | 0.955 | 0.30 | 3.80 | 3.50 | 3.45 |

ตารางที่ 13 แอคติวิตีของกลูโคสไอโซเมอเรสที่ผลิตโดย *Streptomyces* sp. 190-1
 ในขวดแก้วทรงกรวย เมื่อทดสอบปัจจัยแบบแฟคตอเรียล 2³
 โดยมีองค์ประกอบอาหารเหมือนตารางที่ 12.

| สภาพการทดลอง | | | แอคติวิตี (หน่วย/กรัม เหน. เซลแห้ง) | | |
|--|--|------------------------------------|--|----------|--------|
| ปัจจัย A สารละลายย่อยด้วยกรด กำมะถันของกากถั่วเหลือง (% โปรตีน) | ปัจจัย B สารละลายย่อยด้วยกรด กำมะถันของเปลือกเมล็ด ฝ้าย (% น้ำตาลรีดิวส์) | ปัจจัย C ยีสต์เอ๊กซ์แทรก (%) | ซ้ำที่ 1 | ซ้ำที่ 2 | เฉลี่ย |
| 0.036 | 0.095 | 0.03 | 800 | 813 | 807 |
| 0.036 | 0.095 | 0.30 | 940 | 915 | 928 |
| 0.036 | 0.955 | 0.03 | 783 | 779 | 781 |
| 0.036 | 0.955 | 0.30 | 770 | 790 | 780 |
| 0.196 | 0.095 | 0.03 | 876 | 867 | 872 |
| 0.196 | 0.095 | 0.30 | 1200 | 1220 | 1210 |
| 0.196 | 0.955 | 0.03 | 1049 | 1053 | 1051 |
| 0.196 | 0.955 | 0.30 | 1350 | 1340 | 1345 |

ตารางที่ 14 แอคติวิตีต่อปริมาณอาหารของกลุ่มโคสไฮโซเมอเรสที่ผลิตโดย *Streptomyces* sp.190-1
 ในขวดแก้วทรงกรวย เมื่อทดสอบปัจจัยแบบแฟคตอเรียล 2³ โดยมีองค์ประกอบอาหาร
 เหมือนตารางที่ 12

| สภาพการทดลอง | | | แอคติวิตีต่อปริมาณ อาหาร (หน่วย/ลิตร) |
|--|--|------------------------------------|---|
| ปัจจัย A สารละลายย่อยด้วยกรด กำมะถันของกากถั่วเหลือง (% โปรตีน) | ปัจจัย B สารละลายย่อยด้วยกรด กำมะถันของเปลือกเมล็ด ฝ้าย (% น้ำตาลรีดิวส์) | ปัจจัย C ยีสต์เอ็กซ์แทรก (%) | |
| 0.036 | 0.095 | 0.03 | 1250 |
| 0.036 | 0.095 | 0.30 | 1744 |
| 0.036 | 0.955 | 0.03 | 1718 |
| 0.036 | 0.955 | 0.30 | 1599 |
| 0.196 | 0.095 | 0.03 | 1988 |
| 0.196 | 0.095 | 0.30 | 2904 |
| 0.196 | 0.955 | 0.03 | 2469 |
| 0.196 | 0.955 | 0.30 | 4640 |

1.3 ผลการทดสอบแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของ
เปลือกเมล็ดฝ้าย และยีสต์เอกซแทรก เมื่อทดสอบปัจจัยแบบแฟคตอเรียล 2³

โดยทำการทดลองตามวิธีที่กล่าวไว้ในบทที่ 2 ข้อ 1.3 สารแหล่งไนโตรเจนคือ
แอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 2 ระดับคือ 0.0058% และ 0.031% (ไนโตรเจน) ยีสต์เอกซ-
แทรก 2 ระดับคือ 0.03% และ 0.30% สารแหล่งคาร์บอนคือ สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถัน
ของเปลือกเมล็ดฝ้าย 2 ระดับคือ 0.095% และ 0.955% (น้ำตาลรีดิวซ์) ผลการทดลองแบบ
แฟคตอเรียล 2³ ดังแสดงในตารางที่ 15, 16, 17 ปรากฏว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วย
แอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.0058% สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้าย
0.955% และยีสต์เอกซแทรก 0.30% จุลินทรีย์สามารถผลิตกลูโคสไฮโซเมอเรสได้สูงสุด ดังแสดง
ในตารางที่ 17 ดังนั้นจึงเลือกผลการทดลองที่จุดนี้เพื่อใช้เปรียบเทียบกับแผนการทดลองอื่น

ตารางที่ 15 การเจริญของ *Streptomyces* sp. 190-1 ในขวดแก้วทรงกรวยเมื่อทดสอบปัจจัยแบบ
 แพลตต่อวิธี 2³ โดยมีแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต เป็นแหล่งไนโตรเจน และ
 สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้ายเป็นแหล่งคาร์บอน

| สภาพการทดลอง | | | การเจริญของเซลล์ (กรัม หน. เซลล์แห้ง/ลิตร) | | |
|--|--|----------------------------------|---|----------|--------|
| ปัจจัย A แอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (% ไนโตรเจน) | ปัจจัย B สารละลายย่อยด้วยกรด กำมะถันของเปลือกเมล็ด ฝ้าย (% น้ำตาลรีดิวัลส์) | ปัจจัย C ยีสต์เอกซแทรก (%) | ซ้ำที่ 1 | ซ้ำที่ 2 | เฉลี่ย |
| 0.0058 | 0.095 | 0.03 | 1.70 | 1.90 | 1.85 |
| 0.0058 | 0.095 | 0.30 | 1.90 | 2.10 | 2.00 |
| 0.0058 | 0.955 | 0.03 | 2.80 | 3.10 | 2.95 |
| 0.0058 | 0.955 | 0.30 | 3.20 | 3.50 | 3.35 |
| 0.031 | 0.095 | 0.03 | 1.80 | 1.60 | 1.70 |
| 0.031 | 0.095 | 0.30 | 2.70 | 2.80 | 2.75 |
| 0.031 | 0.955 | 0.03 | 3.00 | 2.80 | 2.90 |
| 0.031 | 0.955 | 0.30 | 3.60 | 3.70 | 3.65 |

ตารางที่ 16 แอคติวิตีของกลูโคสไอโซเมอเรสที่ผลิตโดย Streptomyces sp. 190-1 ในขนาดแก้วทรงกรวย
เมื่อทดสอบปัจจัยแบบแฟคตอเรียล 2³ โดยมีองค์ประกอบเหมือนตารางที่ 15

| สภาพการทดลอง | | | แอคติวิตี (หน่วย / กรัม นน. เซลแห้ง) | | |
|--|--|------------------------------------|---|----------|--------|
| ปัจจัย A แอมโมเนียมไฮโดรเจนซัลเฟต (% ไนโตรเจน) | ปัจจัย B สารละลายย่อยด้วยกรด กำมะถันของเปลือกเมล็ด ฝ้าย (% น้ำตาลรีดิวส์) | ปัจจัย C ยีสต์เอ็กซ์แทรก (%) | ซ้ำที่ 1 | ซ้ำที่ 2 | เฉลี่ย |
| 0.0058 | 0.095 | 0.03 | 730 | 745 | 735 |
| 0.0058 | 0.095 | 0.30 | 620 | 654 | 637 |
| 0.0058 | 0.955 | 0.03 | 719 | 730 | 724 |
| 0.0058 | 0.955 | 0.30 | 1100 | 1113 | 1106 |
| 0.031 | 0.095 | 0.03 | 660 | 640 | 650 |
| 0.031 | 0.095 | 0.30 | 634 | 654 | 644 |
| 0.031 | 0.955 | 0.03 | 705 | 714 | 710 |
| 0.031 | 0.955 | 0.30 | 742 | 740 | 741 |

ตารางที่ 17 แอคติวิตีต่อปริมาณอาหารของกลูโคสไอโซเมอเรสที่ผลิตโดย Streptomyces sp. 190-1
 ในขวดแก้วทรงกรวย เมื่อทดสอบปัจจัยแบบแฟคตอเรียล 2³ โดยมีองค์ประกอบเหมือนตารางที่ 15

| สภาพการทดลอง | | | แอคติวิตีต่อปริมาณ อาหาร (หน่วย/ลิตร) |
|--|--|------------------------------------|---|
| ปัจจัย A แอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (% ไนโตรเจน) | ปัจจัย B สารละลายย่อยด้วยกรด กำมะถันของเปลือกเมล็ด ฝ้าย (% น้ำตาลรีติวส์) | ปัจจัย C ยีสต์เอ็กซ์แทรก (%) | |
| 0.0058 | 0.095 | 0.03 | 1328 |
| 0.0058 | 0.095 | 0.30 | 1274 |
| 0.0058 | 0.955 | 0.03 | 2135 |
| 0.0058 | 0.955 | 0.30 | 3705 |
| 0.031 | 0.095 | 0.03 | 1105 |
| 0.031 | 0.095 | 0.30 | 1771 |
| 0.031 | 0.955 | 0.03 | 2059 |
| 0.031 | 0.955 | 0.30 | 2704 |

1.4 ผลการทดสอบแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของรำข้าวสกัดไหม้แล้ว และยีสต์เอกซแทรก เมื่อทดสอบปัจจัยแบบแฟคตอเรียล 2³

โดยทำการทดลองตามวิธีที่กล่าวไว้ในบทที่ 2 ข้อ 1.3 สารแหล่งไนโตรเจนคือ แอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 2 ระดับคือ 0.0058% และ 0.031% (ไนโตรเจน) ยีสต์เอกซแทรก 2 ระดับคือ 0.03% และ 0.30% สารแหล่งคาร์บอนคือ สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของรำข้าวสกัดไหม้แล้ว 2 ระดับคือ 0.095% และ 0.955% (น้ำตาลรีดิวส์) ผลการทดลองแบบแฟคตอเรียล 2³ ดังแสดงในตารางที่ 18, 19, 20 ปรากฏว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วยแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.031% สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของรำข้าวสกัดไหม้แล้ว 0.955% และยีสต์เอกซแทรก 0.30% เชื้อจุลินทรีย์สามารถผลิตกลูโคสไฮโซเมอเรสได้สูงสุดดังแสดงในตารางที่ 19 ดังนั้นจึงเลือกผลการทดลองจุดนี้เพื่อใช้เปรียบเทียบกับแผนการทดลองอื่น

ตารางที่ 18 การเจริญของ *Streptomyces* sp. 190-1 ในขวดแก้วทรงกรวยเมื่อทดสอบปัจจัยแบบแฟคตอเรียล 2³ โดยมี แอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟตเป็นแหล่งไนโตรเจน และสารละลายย่อยด้วยการดักกำมะถันของรำข้าวสาคู ไชมันเป็นแหล่งคาร์บอน

| สภาพการทดลอง | | | การเจริญของเซลล์ (กรัม นน. เซลล์แห้ง/ลิตร) | | |
|--|---|------------------------------------|---|----------|--------|
| ปัจจัย A แอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (% ไนโตรเจน) | ปัจจัย B สารละลายย่อยด้วยการดัก กำมะถันของรำข้าวสาคู ไชมันแล้ว (% น้ำตาลรีดิวัลส์) | ปัจจัย C ยีสต์เอ็กซ์แทรก (%) | ซ้ำที่ 1 | ซ้ำที่ 2 | เฉลี่ย |
| 0.0058 | 0.095 | 0.03 | 1.50 | 1.30 | 1.40 |
| 0.0058 | 0.095 | 0.30 | 1.90 | 2.20 | 2.05 |
| 0.0058 | 0.955 | 0.03 | 3.10 | 3.40 | 3.25 |
| 0.0058 | 0.955 | 0.30 | 4.10 | 4.10 | 4.13 |
| 0.031 | 0.095 | 0.03 | 1.90 | 1.70 | 1.80 |
| 0.031 | 0.095 | 0.30 | 2.50 | 2.40 | 2.45 |
| 0.031 | 0.955 | 0.03 | 3.50 | 3.70 | 3.60 |
| 0.031 | 0.955 | 0.30 | 4.00 | 4.10 | 4.05 |

ตารางที่ 19 แอคติวิตีของกลูโคสไอโซเมอเรสผลิตโดย Streptomyces sp.190-1 ในขวดแก้วทรงกรวย
เมื่อกดสอบปัจจัยแบบแฟคตอเรียล 2³ โดยมีองค์ประกอบอาหารเหมือนตารางที่ 18

| สภาพการทดลอง | | | แอคติวิตี (หน่วย/กรัม นน. เซลแห้ง) | | |
|--|--|------------------------------------|---------------------------------------|----------|--------|
| ปัจจัย A แอมโมเนียมไฮโดรเจนซัลเฟต (% ไนโตรเจน) | ปัจจัย B สารละลายย่อยด้วยกรด กำมะถันของรำข้าวสาคู ไหม้แล้ว(% น้ำตาลรีตีวส์) | ปัจจัย C ยีสต์เอ็กซ์แทรก (%) | ซ้ำที่ 1 | ซ้ำที่ 2 | เฉลี่ย |
| 0.0058 | 0.095 | 0.03 | 876 | 840 | 858 |
| 0.0058 | 0.095 | 0.30 | 756 | 768 | 762 |
| 0.0058 | 0.955 | 0.03 | 720 | 750 | 735 |
| 0.0058 | 0.955 | 0.30 | 600 | 610 | 605 |
| 0.031 | 0.095 | 0.03 | 636 | 679 | 658 |
| 0.031 | 0.095 | 0.30 | 655 | 669 | 662 |
| 0.031 | 0.955 | 0.03 | 657 | 654 | 656 |
| 0.031 | 0.955 | 0.30 | 661 | 668 | 665 |

ตารางที่ 20 แอคติวิตีต่อปริมาณอาหารของกลูโคสไอโซเมอเรสที่ผลิตโดย *Streptomyces* sp. 190-1
 ในขวดแก้วทรงกรวย เมื่อทดสอบปัจจัยแบบแฟคตอเรียล 2³ โดยมีองค์ประกอบอาหารเหมือน ตารางที่ 18

| สภาพการทดลอง | | | แอคติวิตีต่อปริมาณ อาหาร (หน่วย/ลิตร) |
|--|---|-----------------------------------|---|
| ปัจจัย A แอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (% ไนโตรเจน) | ปัจจัย B สารละลายย่อยด้วยกรด กำมะถันของรำข้าวสาคัด ไซมันแล้ว(% น้ำตาลรีดิวิล์) | ปัจจัย C ยีสต์เอ็กซแทรก (%) | |
| 0.0058 | 0.095 | 0.03 | 1201 |
| 0.0058 | 0.095 | 0.30 | 1562 |
| 0.0058 | 0.955 | 0.03 | 2388 |
| 0.0058 | 0.955 | 0.30 | 2498 |
| 0.031 | 0.095 | 0.03 | 1184 |
| 0.031 | 0.095 | 0.30 | 1621 |
| 0.031 | 0.955 | 0.03 | 2361 |
| 0.031 | 0.955 | 0.30 | 2693 |

1.5 ผลการทดสอบสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของรำข้าวสาคัดไขมันแล้ว สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้าย และซีสต์เอกซแทรก เมื่อทดสอบปัจจัยแบบแฟคตอเรียล 2³ โดยทำการทดลองตามวิธีที่กล่าวไว้ในบทที่ 2 ข้อ 1.3 เลือกใช้สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของรำข้าวสาคัดไขมันเป็นสารแหล่งไนโตรเจน เนื่องจากผลการวิเคราะห์องค์ประกอบจากตารางที่ 8 สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของรำข้าวสาคัดไขมันแล้วมีปริมาณโปรตีนค่อนข้างสูง ทดลองใช้ 2 ระดับคือ 0.036% และ 0.196% (โปรตีน) ซีสต์เอกซแทรก 2 ระดับคือ 0.03% และ 0.30% สารแหล่งคาร์บอนคือ สารละลายย่อยด้วยกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้าย 2 ระดับคือ 0.095% และ 0.955% (น้ำตาลรีดิวส์) ผลการทดลองแบบแฟคตอเรียล 2³ ดังแสดงในตารางที่ 21, 22, 23 ปรากฏว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วย สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของรำข้าวสาคัดไขมันแล้ว 0.031% สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้าย 0.095% และซีสต์เอกซแทรก 0.30% เชื้อจุลินทรีย์สามารถผลิตกลูโคสไฮโซเมอเรสได้สูงสุด ดังนั้นจึงเลือกผลการทดลองที่จุดนี้เพื่อใช้เป็นตัวเปรียบเทียบกับแผนการทดลองอื่น

ตารางที่ 21 การเจริญของ Streptomyces 190-1 ในขวดแก้วทรงกรวย เมื่อทดสอบปัจจัยแบบแฟคตอเรียล 2³ โดยมีสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของรำข้าวสาคัดไขมัน และเปลือกเมล็ดฝ้าย เป็นแหล่งไนโตรเจนและคาร์บอนตามลำดับ

| สภาพการทดลอง | | | การเจริญของเซลล์ (กรัม เชน. เซลล์แห้ง/ลิตร) | | |
|--|--|-------------------------------------|--|----------|--------|
| ปัจจัย A สารละลายย่อยด้วยกรด กำมะถันของรำข้าวสาคัด ไขมันแล้ว (% โปรตีน) | ปัจจัย B สารละลายย่อยด้วยกรด กำมะถันของเปลือกเมล็ด ฝ้าย (% น้ำตาลรีดิวัลส์) | ปัจจัย C ยีสต์ เอคทเนแทรก (%) | ซ้ำที่ 1 | ซ้ำที่ 2 | เฉลี่ย |
| 0.036 | 0.095 | 0.03 | 1.30 | 1.40 | 1.35 |
| 0.036 | 0.095 | 0.30 | 1.80 | 1.70 | 1.75 |
| 0.036 | 0.955 | 0.03 | 1.40 | 1.40 | 1.40 |
| 0.036 | 0.955 | 0.30 | 2.10 | 2.20 | 2.15 |
| 0.196 | 0.095 | 0.03 | 2.80 | 2.70 | 2.75 |
| 0.196 | 0.095 | 0.30 | 4.10 | 4.00 | 4.05 |
| 0.196 | 0.955 | 0.03 | 4.00 | 4.10 | 4.05 |
| 0.196 | 0.955 | 0.30 | 4.40 | 4.50 | 4.45 |

ตารางที่ 22 แอคติวิตีของกลูโคสไอโซเมอเรสที่ผลิตโดย Streptomyces sp.190-1 ในขวดแก้วทรงกรวย เมื่อทดสอบ
ปัจจัยแบบแฟคตอเรียล 2³ โดยมีองค์ประกอบอาหารเหมือนตารางที่ 21

| สภาพการทดลอง | | | การทำงานของกลูโคสไอโซเมอเรส (หน่วยต่อกรัม นน. เซลแห้ง) | | |
|---|--|-----------------------------------|---|----------|--------|
| ปัจจัย A สารละลายย่อยด้วยกรด กำมะถันของรำข้าวสาคัด ไหม้แล้ว (% โปรตีน) | ปัจจัย B สารละลายย่อยด้วยกรด กำมะถันของเปลือกเมล็ด ฝ้าย (% น้ำตาลรีดิวัลส์) | ปัจจัย C ยีสต์เอ๊กซแทรก (%) | ซ้ำที่ 1 | ซ้ำที่ 2 | เฉลี่ย |
| 0.0058 | 0.095 | 0.03 | 520 | 518 | 519 |
| 0.0058 | 0.095 | 0.30 | 724 | 722 | 723 |
| 0.0058 | 0.955 | 0.03 | 438 | 440 | 439 |
| 0.0058 | 0.955 | 0.30 | 710 | 714 | 712 |
| 0.031 | 0.095 | 0.03 | 370 | 368 | 379 |
| 0.031 | 0.095 | 0.30 | 658 | 660 | 659 |
| 0.031 | 0.955 | 0.03 | 280 | 284 | 282 |
| 0.031 | 0.955 | 0.30 | 235 | 233 | 234.5 |

ตารางที่ 23 แอคติวิตีต่อปริมาณอาหารของกลูโคสไอโซเมอเรสที่ผลิตโดย Streptomyces sp. 190-1 ในขวดแก้วทรงกรวย เมื่อทดสอบปัจจัยแบบแฟคตอเรียล 2³ โดยมีองค์ประกอบอาหารเหมือน ตารางที่ 22

| สภาพการทดลอง | | | แอคติวิตีต่อปริมาณ อาหาร (หน่วย/ลิตร) |
|--|--|------------------------------------|---|
| ปัจจัย A สารละลายย่อยด้วยกรด กำมะถันของรำข้าวสาคัด ไขมันแล้ว (% โปรตีน) | ปัจจัย B สารละลายย่อยด้วยกรด กำมะถันของเปลือกเมล็ด ฝ้าย (% น้ำตาลรีดิวส์) | ปัจจัย C ยีสต์เอทริกเทรก (%) | |
| 0.0058 | 0.095 | 0.03 | 700.65 |
| 0.0058 | 0.095 | 0.30 | 1265.25 |
| 0.0058 | 0.955 | 0.03 | 614.60 |
| 0.0058 | 0.955 | 0.30 | 1530.80 |
| 0.031 | 0.095 | 0.03 | 1042.25 |
| 0.031 | 0.095 | 0.30 | 2668.95 |
| 0.031 | 0.955 | 0.03 | 1142.10 |
| 0.031 | 0.955 | 0.30 | 1043.50 |

2. ผลการเปรียบเทียบการเจริญของเซลล์และการทำงานกลูโคสไอโซเมอเรสที่ผลิตโดย

Streptomyces sp. 190-1 ในขวดแก้วทรงกรวยเมื่อทดสอบปัจจัยแบบแฟคตอเรียล 2³

จากผลการทดลองบทที่ 3 ข้อ 1.1 ถึง 1.5 นำผลการทดลองที่ได้มาจัดข้อมูลดังตารางที่ 24 เพื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) (49)

ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (analysis of variance) ของเอนไซม์-แอกติวิตี จากแผนการทดลองต่าง ๆ (ดูตัวอย่างการคำนวณภาคผนวกที่ 3.1) ดังแสดงในตารางที่ 25 พบว่า ค่าเอนไซม์แอกติวิตีของแต่ละแผนการทดลอง แบบแฟคตอเรียล 2³ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของเอนไซม์แอกติวิตีของแต่ละแผนการทดลอง โดยวิธี Duncan's Multiple Rang Test (49) (ดูตัวอย่างการคำนวณภาคผนวกที่ 3.2) ดังแสดงในตารางที่ 26 พบว่า ค่าเฉลี่ยเอนไซม์แอกติวิตีของการทดลองบทที่ 3 ข้อ 1.2 ให้เอนไซม์-แอกติวิตีสูงสุดและแตกต่างจากแผนการทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ส่วนกลุ่มค่าเฉลี่ยของเอนไซม์แอกติวิตีที่ไม่แตกต่างกันคือ ผลการทดลองบทที่ 3 ข้อ 1.1, 1.4 และ 1.5) ดังนั้นจึงเลือกผลการทดลองบทที่ 3 ข้อ 1.2 ซึ่งทดสอบสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของกากถั่วเหลือง สารละลายด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้าย และยีสต์เอ๊กซแทรก แบบแฟคตอเรียล 2³ และนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติซึ่งจะกล่าวต่อไปในตารางที่ 27 เพื่อเป็นแนวทางในการหาปริมาณที่เหมาะสมของสารแหล่งอาหารแต่ละชนิดในการเลี้ยง Streptomyces sp. 190-1 เพื่อผลิตกลูโคสไอโซเมอเรสให้ได้ปริมาณสูง

3. ผลการศึกษาปริมาณที่เหมาะสมของสารแหล่งคาร์บอน ไนโตรเจนและยีสต์เอ๊กซแทรก เพื่อเพิ่มการผลิตกลูโคสไอโซเมอเรสโดย Streptomyces sp. 190-1 เมื่อเลี้ยงในขวดแก้วทรงกรวย

จากผลการทดลองในบทที่ 3 ข้อ 1.2 นำผลที่ได้ในตารางที่ 14 มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ ผลการวิเคราะห์ค่า mean effect ของการทดลองแฟคตอเรียล 2³ โดย Yate's method (ดูตัวอย่างการคำนวณภาคผนวกที่ 3.3) เพื่อดู mean effect ของปัจจัย A คือ สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของกากถั่วเหลือง ปัจจัย B คือสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันเปลือกเมล็ดฝ้าย ปัจจัย C คือ ยีสต์เอ๊กซแทรกและอิทธิพลร่วมของทุกปัจจัยต่อการผลิตกลูโคสไอโซเมอเรสโดย Streptomyces sp. 190-1 แสดงในตารางที่ 27 พบว่าปัจจัย A, B, C และอิทธิพลร่วมของทุกปัจจัยมีผลต่อการผลิตกลูโคสไอโซเมอเรสของ Streptomyces sp. 190-1 อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 จากการพิจารณาค่า mean effect ของ

ตารางที่ 24 เปรียบเทียบเฮนไรม์แอกติวิตีที่สูงสุดของแต่ละแผนการทดลอง

| แผนการทดลองที่ | กลูโคสไอโซเมอเรสแอกติวิตี (หน่วย/ลิตร) | | |
|----------------|---|----------|-----------|
| | ซ้ำที่ 1 | ซ้ำที่ 2 | ค่าเฉลี่ย |
| 1.1 | 3097 | 3240 | 3170.70 |
| 1.2 | 4590 | 4690 | 4640.25 |
| 1.3 | 3520 | 3895.5 | 3705.10 |
| 1.4 | 2644 | 2738.3 | 2693.25 |
| 1.5 | 2697.8 | 2640 | 2668.95 |

ตารางที่ 25 ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของเฮนไรม์แอกติวิตีของแต่ละแผนการทดลอง

ANOVA ของการผลิตกลูโคสไอโซเมอเรส

| Source of variation | d.f | SS | MS | F 4, 5 | |
|---------------------|-----|------------|------------|------------|-------|
| | | | | Calculated | Table |
| Experiment | 4 | 5439634.99 | 1359908.75 | 74.035** | 6.25 |
| Error | 5 | 91841.29 | 18368.26 | | |
| Total | 9 | 5531476.28 | 1378277.01 | | |

** แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.01 (99%)

ตารางที่ 26 ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของเฮนไรม์แอกติวิตีของแต่ละแผนการทดลอง

| อันดับที่ | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|-------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| แผนการทดลอง | 1.2 | 1.3 | 1.1 | 1.4 | 1.5 |
| ค่าเฉลี่ย | 4640.25 a | 3705.10 b | 3170.70 c | 2693.25 c | 2668.95 c |

ตัวเลขที่มีอักษรตัวเดียวกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความ
เชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 27 ผลการวิเคราะห์ค่า mean effect ของการทดลองแฟคตอเรียล 2³ เพื่อดู mean effect ของปัจจัย A, B, C และอิทธิพลร่วมของทุกปัจจัย ต่อการผลิตกลูโคสไฮโซเมอเรสของ Streptomyces สายพันธุ์ 190-1 8 สภาการทดลอง

| สัญลักษณ์ของปัจจัยหลักและอิทธิพลร่วมต่าง ๆ | ค่า mean effect ของปัจจัยหลักและอิทธิพลร่วมต่าง ๆ ต่อการผลิตกลูโคสไฮโซเมอเรส |
|--|--|
| △ A | 1439.9375* |
| △ B | 635.1875* |
| △ AB | 455.7625* |
| △ C | 884.9125* |
| △ AC | 678.0875* |
| △ BC | 176.8375* |
| △ ABC | 464.2125* |
| Critical value | 171.57 |

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ปัจจัย A สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของกากถั่วเหลือง

ปัจจัย B สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้าย

ปัจจัย C ยีสต์เอทชแทรก

ปัจจัย A, B, C และอิทธิพลร่วมของทุกปัจจัย (ดูตารางที่ 27) พบว่ามีผลต่อการผลิตเอนไซม์ของเชื้อจุลินทรีย์อย่างมีนัยสำคัญ จะเห็นได้ว่าเครื่องหมาย mean effect ของปัจจัย A, B, C และอิทธิพลร่วมของทุกปัจจัยเป็นบวก (+) แสดงแนวโน้มให้เห็นว่าเมื่อเพิ่มปริมาณสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของกากถั่วเหลือง สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้าย ยีสต์-เอกซ์แทรกจะมีผลทำให้เอนไซม์แอกติวิตีสูงขึ้น ดังนั้นในการทดลองต่อไปจึงผันแปรปริมาณสารแหล่งอาหารต่าง ๆ คือ สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของกากถั่วเหลืองเริ่มจากความเข้มข้น 0.196% สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้ายเริ่มจากความเข้มข้น 0.955% และยีสต์-เอกซ์แทรกเริ่มจากความเข้มข้น 0.30% ซึ่งค่าเหล่านี้ได้มาจากผลการทดลอง บทที่ 3 ข้อ 1.2 โดยทำการทดลองตามวิธีที่กล่าวไว้ในบทที่ 2 ข้อ 1.3 และผันแปรปริมาณสารแหล่งอาหารดังนี้ ปัจจัย A สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของกากถั่วเหลือง 3 ระดับคือ 0.20%, 0.32%, และ 0.44% (โปรตีน) ปัจจัย B สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้าย 3 ระดับคือ 1%, 2%, 3% (น้ำตาลรีดิวซ์) ปัจจัย C (ยีสต์-เอกซ์แทรก) 3 ระดับคือ 0.30%, 0.50%, และ 0.70% วางแผนการทดลองแบบแฟคตอเรียล 3³ ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 28, 29, 30 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจะใช้ค่าแอกติวิตี ต่อปริมาณอาหาร

ผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของค่าเอนไซม์แอกติวิตีจากการเลี้ยง Streptomyces sp. 190-1 27 สภาพการทดลอง (ดูตัวอย่างการคำนวณภาคผนวกที่ 3.4) ดังแสดงในตารางที่ 33 พบว่าปัจจัย A, B, C และอิทธิพลร่วมของทุกปัจจัยมีผลทำให้ค่าเอนไซม์แอกติวิตีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากผลวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่า ปัจจัย B คือสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้ายมีผลต่อเอนไซม์แอกติวิตีมากที่สุด (ดูค่าจากตารางที่ 33) แต่ไม่ได้บอกทิศทางว่าเมื่อเพิ่มปริมาณสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้ายจะมีผลในทางบวก หรือลบต่อการผลิตเอนไซม์

จากการนำค่าเฉลี่ยของทุกความเข้มข้นของปัจจัย A คือสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของกากถั่วเหลืองมาสร้างกราฟดังแสดงในรูปที่ 2 เพื่อดูผลของปัจจัย B คือสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้าย และปัจจัย C คือยีสต์-เอกซ์แทรก ที่มีต่อเอนไซม์แอกติวิตี พบว่า ถ้าใช้สารละลายย่อยด้วย กรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้ายปริมาณที่สูงคือ 3% (น้ำตาลรีดิวซ์) มีผลทำให้เอนไซม์แอกติวิตีลดลงมาก และถ้าใช้ยีสต์-เอกซ์แทรกปริมาณต่ำจาก 0.70% ลงมาจะทำให้ค่าเอนไซม์แอกติวิตีสูงขึ้นและจากการนำค่าเฉลี่ยทุกค่าของทุกความเข้มข้นของสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้ายมาสร้างกราฟดังแสดงในรูปที่ 3 เพื่อดูผลของปัจจัย A คือสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถัน

ตารางที่ 28 การเจริญของ *Streptomyces* sp. 190-1 ในขวดแก้วทรงกรวย
เมื่อทดสอบปัจจัยแบบแฟคตอเรียล 3³

| ปัจจัย A สารละลายย่อยด้วย กรดกำมะถันของกาก ถั่วเหลือง (% โปรตีน) | มวลของเซลล์ (กรัม หน.แห้งต่อลิตร) | | | | | | | | |
|---|--|--------------------|--------------------|-----------------------|--------------------|--------------------|-----------------------|--------------------|--------------------|
| | ปัจจัย C ยีสต์เอทกนแทรก (%) | | | | | | | | |
| | 0.30(C ₁) | | | 0.50(C ₂) | | | 0.70(C ₃) | | |
| | ปัจจัย B สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้าย (% น้ำตาลรีดิวิล์) | | | | | | | | |
| | 1(b ₁) | 2(b ₂) | 3(b ₃) | 1(b ₁) | 2(b ₂) | 3(b ₃) | 1(b ₁) | 2(b ₂) | 3(b ₃) |
| 0.2 (a ₁) | 3.90 | 3.30 | 2.65 | 4.00 | 3.70 | 2.55 | 4.20 | 3.50 | 2.50 |
| | 3.70 | 3.50 | 2.75 | 4.20 | 3.50 | 2.45 | 4.10 | 3.60 | 2.70 |
| 0.32 (a ₂) | 3.95 | 3.45 | 2.40 | 4.10 | 3.70 | 2.45 | 3.35 | 2.90 | 2.45 |
| | 4.05 | 3.55 | 2.50 | 4.00 | 3.50 | 2.55 | 3.25 | 3.10 | 2.35 |
| 0.44 (a ₃) | 4.15 | 3.80 | 2.55 | 2.95 | 2.80 | 2.25 | 2.75 | 2.30 | 1.95 |
| | 4.25 | 3.60 | 2.65 | 3.05 | 2.90 | 2.15 | 2.85 | 2.40 | 2.05 |

a₁, a₂, a₃ คือ ความเข้มข้นของสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของกากถั่วเหลือง 0.2%, 0.32%, 0.44% (โปรตีน) ตามลำดับ

b₁, b₂, b₃ คือ ความเข้มข้นของสารละลายย่อยด้วยกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้าย 1%, 2%, 3% (น้ำตาลรีดิวิล์) ตามลำดับ

c₁, c₂, c₃ คือ ค่าความเข้มข้นของยีสต์เอทกนแทรก 0.3%, 0.5%, 0.7% ตามลำดับ

ตารางที่ 29 แอคติวิตีของกลูโคสไฮโดรเมอเรสที่ผลิตโดย Streptomyces sp. 190-1
 ในขวดแก้วทรงกรวย เมื่อทดสอบปัจจัยแบบแฟคตอเรียล 3³

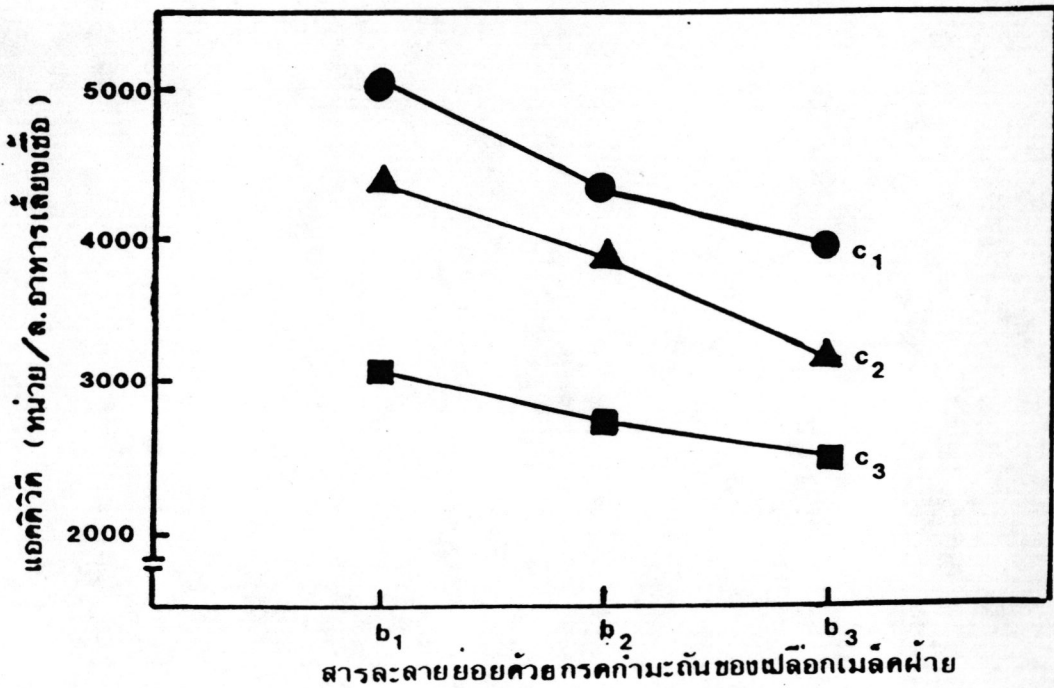
| ปัจจัย A สารละลายย่อยด้วย กรดกำมะถันของกาก ถั่วเหลือง (% โปรตีน) | แอคติวิตี (หน่วย/กรัม หน. เซลแห้ง) | | | | | | | | |
|---|---|--------------------|--------------------|-----------------------|--------------------|--------------------|-----------------------|--------------------|--------------------|
| | ปัจจัย C ยีสต์เอกซแทรก (%) | | | | | | | | |
| | 0.30(C ₁) | | | 0.50(C ₂) | | | 0.70(C ₃) | | |
| | ปัจจัย B สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้าย (% น้ำตาลวีติวส์) | | | | | | | | |
| | 1(b ₁) | 2(b ₂) | 3(b ₃) | 1(b ₁) | 2(b ₂) | 3(b ₃) | 1(b ₁) | 2(b ₂) | 3(b ₃) |
| 0.2 (a ₁) | 1190 | 1220 | 1200 | 1220 | 1210 | 1190 | 1250 | 1240 | 1235 |
| | 1210 | 1200 | 1180 | 1240 | 1230 | 1210 | 1270 | 1230 | 1225 |
| 0.32 (a ₂) | 1260 | 1250 | 1220 | 1235 | 1210 | 1210 | 1140 | 1110 | 1060 |
| | 1240 | 1230 | 1210 | 1255 | 1230 | 1200 | 1160 | 1090 | 1080 |
| 0.44 (a ₃) | 1320 | 1275 | 1280 | 1035 | 1030 | 1000 | 960 | 940 | 915 |
| | 1300 | 1305 | 1260 | 1005 | 1010 | 1010 | 940 | 930 | 885 |

ตารางที่ 30 แอคติวิตีต่อปริมาณอาหารของกลูโคสไฮโปเมอเรสที่ผลิตโดย Streptomyces sp.190-1
ในขวดแก้วทรงกรวย เมื่อทดสอบปัจจัยแบบแฟคตอเรียล 3³

| ปัจจัย A สารละลายย่อยด้วย กรดกำมะถันของกาก ถั่วเหลือง (% โปรตีน) | แอคติวิตีต่อปริมาณอาหาร (หน่วย/ลิตร) | | | | | | | | |
|---|---|--------------------|--------------------|-----------------------|--------------------|--------------------|-----------------------|--------------------|--------------------|
| | ปัจจัย C ยีสต์เอทริกแรก (%) | | | | | | | | |
| | 0.30(C ₁) | | | 0.50(C ₂) | | | 0.70(C ₃) | | |
| | ปัจจัย B สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้าย (% น้ำตาลรีดิวส์) | | | | | | | | |
| | 1(b ₁) | 2(b ₂) | 3(b ₃) | 1(b ₁) | 2(b ₂) | 3(b ₃) | 1(b ₁) | 2(b ₂) | 3(b ₃) |
| 0.20(a ₁) | 4641 | 4026 | 3180 | 4880 | 4477 | 3034 | 5250 | 4340 | 3087 |
| | 4477 | 4200 | 3245 | 5208 | 4305 | 2964 | 5270 | 4428 | 3307 |
| 0.32 (a ₂) | 4977 | 4312 | 2928 | 5063 | 4477 | 2964 | 3819 | 3219 | 2597 |
| | 5022 | 4366 | 3025 | 5020 | 4305 | 3060 | 3770 | 3379 | 2538 |
| 0.44 (a ₃) | 5478 | 4845 | 3264 | 3053 | 2884 | 2250 | 2640 | 2162 | 1784 |
| | 5525 | 4698 | 3339 | 3065 | 2929 | 2171 | 2679 | 2232 | 1814 |

ตารางที่ 31 ผลของสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้าย และซิสต์เอกซแทรก ต่อแอกติวิตีของเฮนไซม์

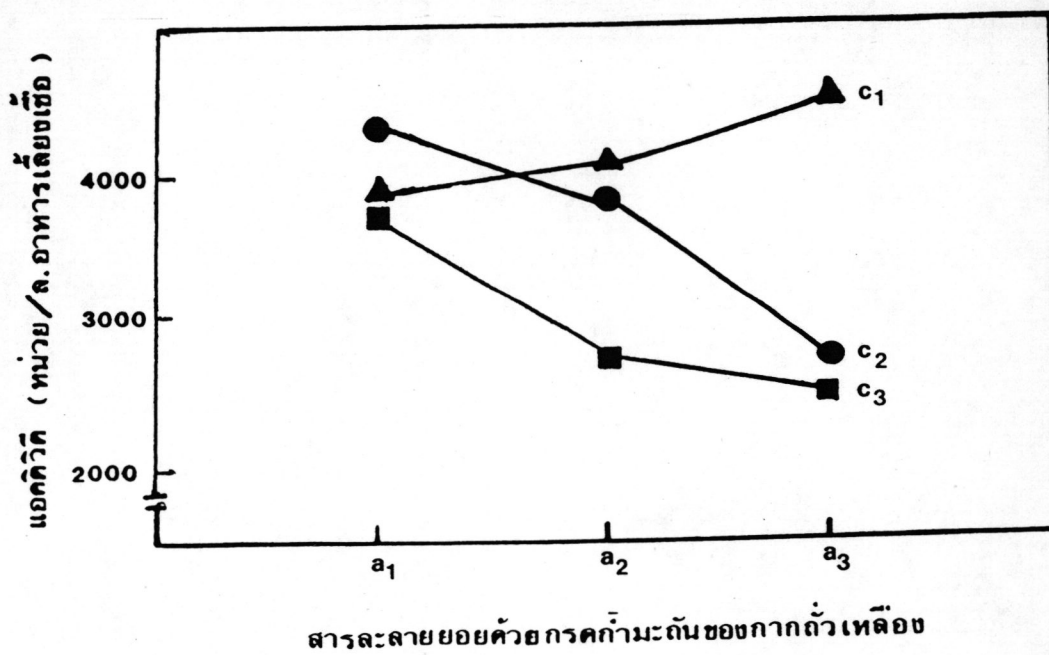
| ปัจจัย C ซิสต์เอกซแทรก | ปัจจัย B สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้าย | | | | | | | | |
|------------------------|---|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | b ₁ | | | b ₂ | | | b ₃ | | |
| | ปัจจัย A สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของกากถั่วเหลือง | | | | | | | | |
| | a ₁ | a ₂ | a ₃ | a ₁ | a ₂ | a ₃ | a ₁ | a ₂ | a ₃ |
| C ₁ | 5020 | | | 4408 | | | 3163 | | |
| C ₂ | 4382 | | | 3896 | | | 2740 | | |
| C ₃ | 3904 | | | 3293 | | | 2521 | | |



รูปที่ 2 ผลของสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้าย และซิสต์เอกซแทรกต่อแอกติวิตีของกลูโคสไอโซเมอเรส

ตารางที่ 32 ผลของสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของกากถั่วเหลือง และยีสต์เอทานทรก ต่อแอกติวิตีของเอนไซม์

| ปัจจัย A สารละลายย่อยด้วย กรดกำมะถันของกาก ถั่วเหลือง (% โปรตีน) | ปัจจัย C ยีสต์เอทานทรก (%) | | | | | | | | |
|---|---|----------------|----------------|-------------------|----------------|----------------|-------------------|----------------|----------------|
| | (C ₁) | | | (C ₂) | | | (C ₃) | | |
| | ปัจจัย B สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้าย (% น้ำตาลรีติวส์) | | | | | | | | |
| | b ₁ | b ₂ | b ₃ | b ₁ | b ₂ | b ₃ | b ₁ | b ₂ | b ₃ |
| a ₁ | 3961 | | | 4381 | | | 3905 | | |
| a ₂ | 4105 | | | 3896 | | | 3293 | | |
| a ₃ | 4524 | | | 2740 | | | 2521 | | |



รูปที่ 3 ผลของสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของกากถั่วเหลือง และยีสต์เอทานทรกต่อแอกติวิตีของกลูโคสไอโซเมอเรส

ตารางที่ 33 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของเอนไซม์แอสคาดีตี 27 สภาการทดลอง

ANOVA ของการผลิตกลูโคสไอโซเมอเรส

| SOV | df | SS | MS | F | F ตาราง |
|--|----|------------|------------|-----------|----------------------|
| A = สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของกากถั่วเหลือง | 2 | 5,465,402 | 2,732,701 | 377.03* | |
| B = สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้าย | 2 | 26,167,466 | 13,083,733 | 1,805.15* | F 0.01, 2, 27 = 5.49 |
| C = ยีสต์เอ็กซ์แทรก | 2 | 5,615,260 | 2,807,630 | 387.37* | |
| AB | 4 | 1,246,531 | 311,632.75 | 43.00* | F 0.01, 4, 27 = 4.10 |
| AC | 4 | 10,292,918 | 2573,229.5 | 355.03* | |
| BC | 4 | 528,845 | 132,211.25 | 18.24* | F 0.01, 8, 27 = 3.26 |
| ABC | 8 | 2,720,385 | 340,048.12 | 46.92* | |
| Error | 27 | 195,702 | 7,248.2 | | |
| Totals | 53 | 52,232,509 | | | |

ของกากถั่วเหลือง กับปัจจัย C คือยีสต์เอกซแทรกที่มีต่อเอนไซม์แอกติวิตี พบว่า ถ้าใช้ยีสต์เอกซ-
 แทรกปริมาณสูงคือ 0.70% โดยเฉพาะเมื่อมีปริมาณสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของกากถั่วเหลือง
 ปริมาณสูงด้วย คือ 0.44% (โปรตีน) เอนไซม์แอกติวิตีจะต่ำลง ในขณะที่ถ้าใช้ยีสต์เอกซแทรก
 ปริมาณต่ำคือ 0.30% และสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของกากถั่วเหลืองปริมาณสูงคือ 0.44%
 จะให้ค่าเอนไซม์แอกติวิตีที่สูง จากผลการวิเคราะห์ทางสถิติ (ดูค่าจากตารางที่ 33) พบว่าอิทธิพล
 ของปัจจัยร่วม AC มีค่าสูงในระดับเดียวกับอิทธิพลของปัจจัย A และปัจจัย C แสดงให้เห็นว่า
 อิทธิพลร่วมระหว่างยีสต์เอกซแทรกกับสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของกากถั่วเหลืองมีผลต่อ
 เอนไซม์แอกติวิตีมากเท่ากับอิทธิพลของปัจจัยหลัก คือ A, C รองจากปัจจัย B ซึ่งมีอิทธิพลมากที่สุด

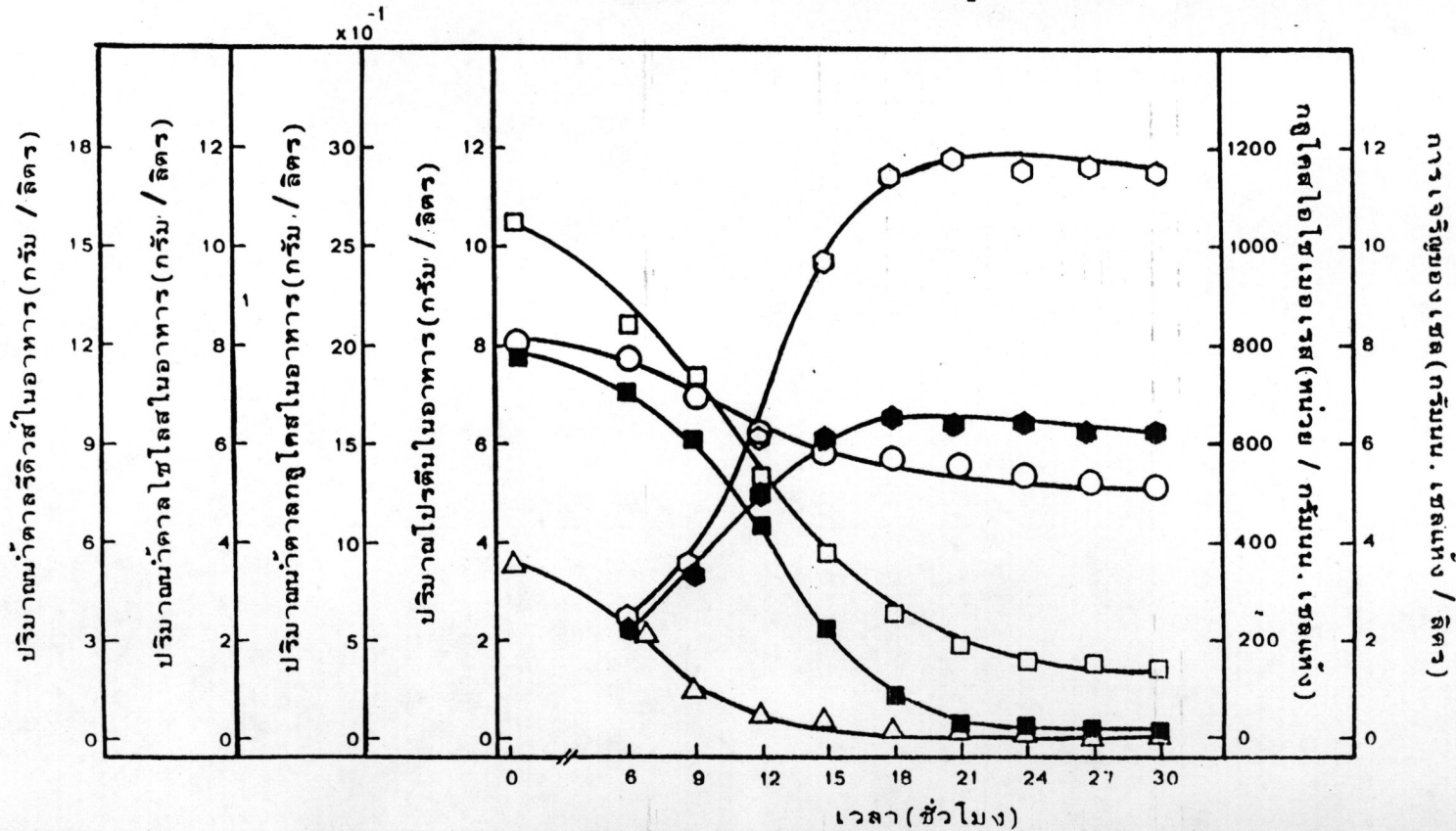
จากผลการทดลองรวมทั้งการวิเคราะห์ทางสถิติและกราฟทั้ง 2 รูป ดังกล่าวข้างต้น
 จึงเลือกใช้อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่มีปริมาณสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้าย
 ปริมาณต่ำคือ 1% (น้ำตาลรีดิวซ์) ยีสต์เอกซแทรกปริมาณต่ำ ๆ คือ 0.30% ขณะที่ใช้สารละลาย
 ย่อยด้วยกรดกำมะถันของกากถั่วเหลือง ปริมาณสูงคือ 0.44% (โปรตีน) สำหรับเป็นสูตรอาหาร
 เลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมในการทดลองต่อไป ซึ่งจากตารางที่ 30 พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นสาร
 ละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของกากถั่วเหลือง 0.44% สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือก
 เมล็ดฝ้าย 1% (น้ำตาลรีดิวซ์) ยีสต์เอกซแทรก 0.30% จะให้ค่าเอนไซม์แอกติวิตีสูงที่สุดคือ ปริมาณ
 5500 หน่วย/ลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

4. ผลการเลี้ยง Streptomyces sp.190-1 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร เพื่อผลิตกลูโคสไอโซเมอเรส

4.1 การหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการเติมสารชักนำการสร้างเอนไซม์

จากผลการทดลองบทที่ 3 ข้อ 3 พบว่าสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมเพื่อผลิตกลูโคสไอโซ-
 เมอเรสในระดับขวดเชย่า ประกอบด้วย สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของกากถั่วเหลือง 0.44%
 (โปรตีน) สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้าย 1% (น้ำตาลรีดิวซ์) ยีสต์เอกซแทรก
 0.30% โคบอลต์คลอไรด์ 0.01% ไดโบแตสซีมไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.47% โปแตสเซียมไฮโดรเจน-
 ฟอสเฟต 0.03% พี เอช 8.0 สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้ายในปริมาณที่ให้ไซ-
 โลส 0.50% ดังนั้นจึงนำค่าที่ได้มาทดลองเลี้ยงเชื้อในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยทำการทดลองตามวิธีที่
 กล่าวไว้ในบทที่ 2 ข้อ 1.4 ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 4 พบว่าจุลินทรีย์สามารถผลิตกลูโคสไอโซ-
 เมอเรสได้สูงสุดประมาณ 1180 หน่วย/กรัม หน. เซลล์แห้งที่ชั่วโมงที่ 18 ปริมาณเซลล์สูงสุดคือ 6.5 กรัม
 หน. เซลล์แห้ง/ลิตร แอกติวิตีต่อปริมาตรอาหาร 7670 หน่วย/ลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับค่าแอกติวิตีต่อ
 ปริมาตรอาหารกับผลการทดลองบทที่ 3 ข้อ 3 ซึ่งเลี้ยงเชื้อในขวดแก้วทรงกรวยพบว่าการผลิตกลูโคสไอ-
 โซเมอเรสสูงขึ้นประมาณ 1.6 เท่า จากกราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงของค่า (parameter) ต่าง ๆ ดัง-

รูปที่ 4 การเปลี่ยนแปลงของค่าต่าง ๆ ในการผลิตกลูโคสไอโซเมอเรสโดย *Streptomyces* sp. 190-1 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วย 0.44% (โปรตีน) สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของกากถั่วเหลือง 1% (น้ำตาลรีดิวซ์) สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้าย 0.3% ยีสต์เอ็กซ์แทรก 0.01% โคบอลต์คลอไรด์ 0.47% ไดโบแตสเชื่อมไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.03% โปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต พีเอช 8.0 และสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้ายในปริมาณที่ใช้ 0.5% ไฮไลส การเจริญของเซลล์ (●) การทำงานของกลูโคสไอโซเมอเรส (○) ปริมาณโปรตีนที่เหลือในน้ำหมัก (○) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือในน้ำหมัก (□) ปริมาณน้ำตาลไฮไลสที่เหลือในน้ำหมัก (■) ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เหลือในน้ำหมัก (△)



รูปที่ 4 พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวส์และน้ำตาลไซโลสลดลงอย่างรวดเร็วหลังจากเลี้ยงเชื้อไปแล้วเป็นเวลา 12-15 ชั่วโมง ดังนั้นจึงเลือกเวลาที่ชั่วโมงที่ 12 หลังจากการเลี้ยงเชื้อ เพื่อเติมสารชักนำการสร้างเอนไซม์

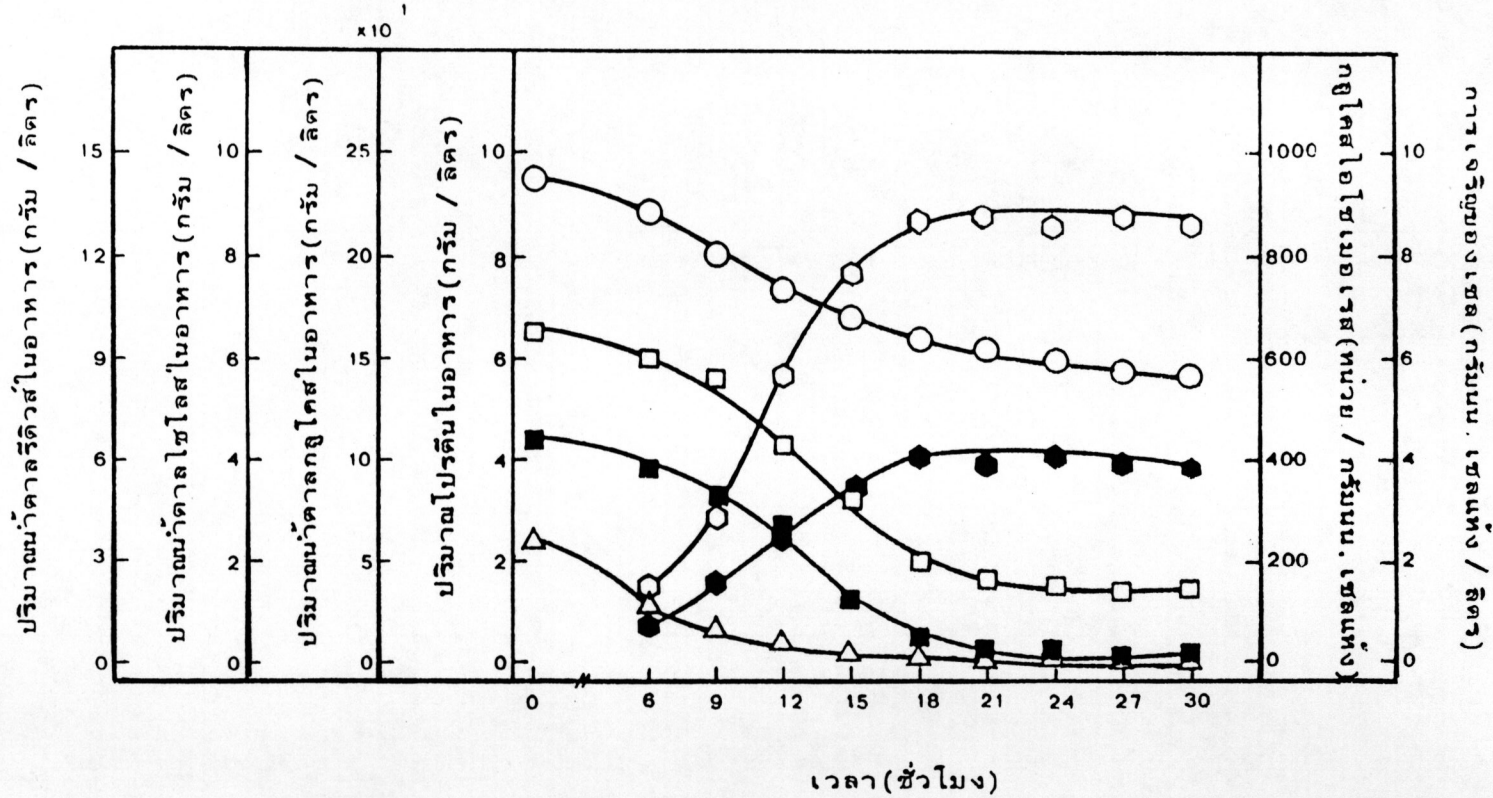
เนื่องจากผลการทดลองที่กล่าวมาข้างต้นนี้ ในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อจะมีสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้ายอยู่ 2 ส่วนในปริมาณที่ให้ 1% น้ำตาลรีดิวส์ และ 0.50% น้ำตาลไซโลส ดังนั้นจึงทดลองเลี้ยงเชื้อตามวิธีที่กล่าวข้างต้นและใช้สูตรอาหารเหมือนกันเพียงแต่ไม่เติมสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้ายในปริมาณที่ให้ไซโลส 0.50% ในระยะเริ่มต้นเลี้ยงเชื้อผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 5 พบว่าเอนไซม์แอกติวิตีและปริมาณเซลล์ต่ำกว่าการทดลองข้างต้น จุลินทรีย์สามารถผลิตเอนไซม์ได้สูงสุดประมาณ 3500 หน่วย/ลิตรอาหารเลี้ยงเชื้อ ปริมาณเซลล์สูงสุด 4 กรัม เหนะเซลล์แห้ง/ลิตร ที่ชั่วโมงที่ 15 ดังนั้นจึงเลือกใช้ผลการทดลองดังกล่าวมาข้างต้นสำหรับการทดลองขั้นต่อไป

4.2 การหาปริมาณที่เหมาะสมของสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้ายที่ใช้

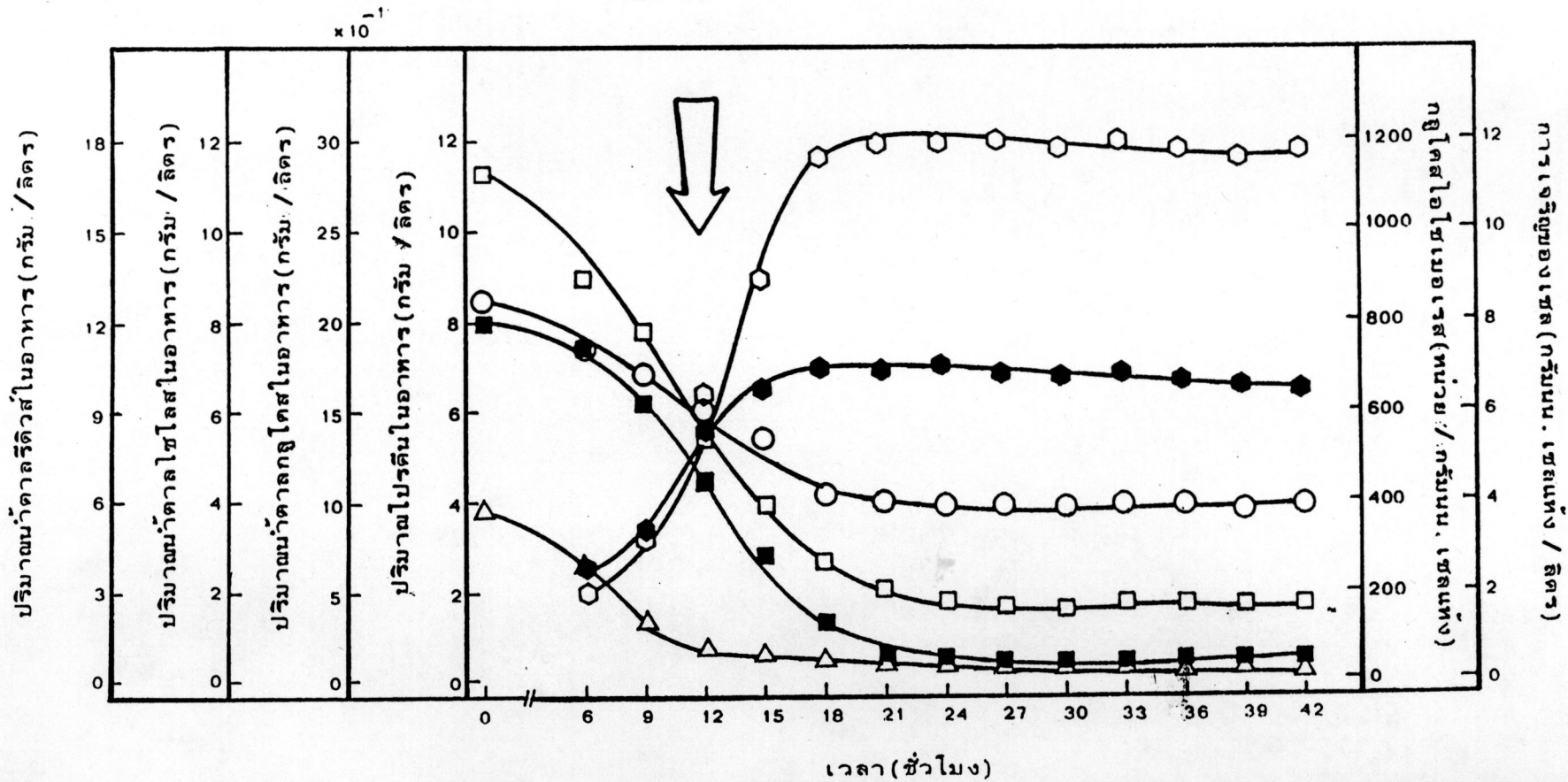
เดิมอย่างต่อเนื่อง

เลี้ยงเชื้อ *Streptomyces* sp. 190-1 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อตามภาคผนวกที่ 1.4 ตามวิธีที่กล่าวไว้ในบทที่ 2 ข้อ 1.4 จากรูปที่ 3 ได้แสดงการเปลี่ยนแปลงของค่า (parameter) ต่าง ๆ พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวส์และน้ำตาลไซโลสลดลงอย่างรวดเร็วหลังจากเลี้ยงเชื้อไปแล้วเป็นเวลา 12-15 ชั่วโมง ดังนั้น ในการทดลองนี้จึงเลือกชั่วโมงที่ 12 ของการหมักเป็นเวลาเริ่มเติมสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้ายอย่างต่อเนื่อง โดยค้นแปรความเข้มข้นของสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้ายที่เติมดังนี้ 3%, 5%, 7%, 9%, และ 13% (น้ำตาลไซโลส) ด้วยอัตราการเติม 0.27 มล./ตอนาที หรือ 16 มล./ชั่วโมง เพื่อรักษาปริมาณอาหารเลี้ยงเชื้อในถังหมัก เพราะมีการเก็บตัวอย่างครั้งละ 50 มล. ทุก 3 ชั่วโมง จากผลการทดลองได้แสดงการเปลี่ยนแปลงของค่า (parameter) ต่าง ๆ ในรูปที่ 6, 7, 8, 9, 10 พบว่าการเติมสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้ายอย่างต่อเนื่องที่ระดับความเข้มข้น 3% เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์สูงสุดประมาณ 1190 หน่วย/กรัม เหน. เซลล์แห้ง ที่ชั่วโมงที่ 18 และปริมาณเซลล์สูงสุดประมาณ 7 กรัม เหน. เซลล์แห้ง/ลิตร (ดูรูปที่ 6) แอกติวิตีต่อปริมาตรประมาณ 8.33 หน่วย/ มล. (ดูรูปที่ 13) การเติมสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้ายอย่างต่อเนื่องที่ระดับความเข้มข้น 5% เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์ได้สูงสุด 1250 หน่วย/กรัม เหน. เซลล์แห้ง ที่ชั่วโมงที่ 21 และปริมาณเซลล์สูงสุด 8.2 กรัม เหน. เซลล์แห้ง/ลิตร ที่ ชั่วโมงที่ 21 (ดูรูปที่ 7) แอกติวิตีต่อปริมาตรอาหาร 10.25 หน่วย/ มล. (ดูรูปที่ 13) การเติมสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้ายอย่างต่อเนื่องที่ระดับความเข้มข้น 7% เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์ได้สูงสุดประมาณ 1300 หน่วย/กรัม เหน. เซลล์แห้ง ที่ชั่วโมงที่ 21 ปริมาณเซลล์สูงสุด 12 กรัม เหน. เซลล์แห้ง/ลิตร ที่ชั่วโมงที่ 21 (ดูรูปที่ 8) แอกติวิตีต่อปริมาตรอาหาร 15.6 หน่วย/ มล. (ดูรูปที่ 13) การเติมสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้ายอย่างต่อเนื่องที่ระดับความเข้มข้น 9% เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์ได้สูงสุดประมาณ 1250 หน่วย/กรัม เหน. เซลล์แห้ง ที่ชั่วโมงที่ 21

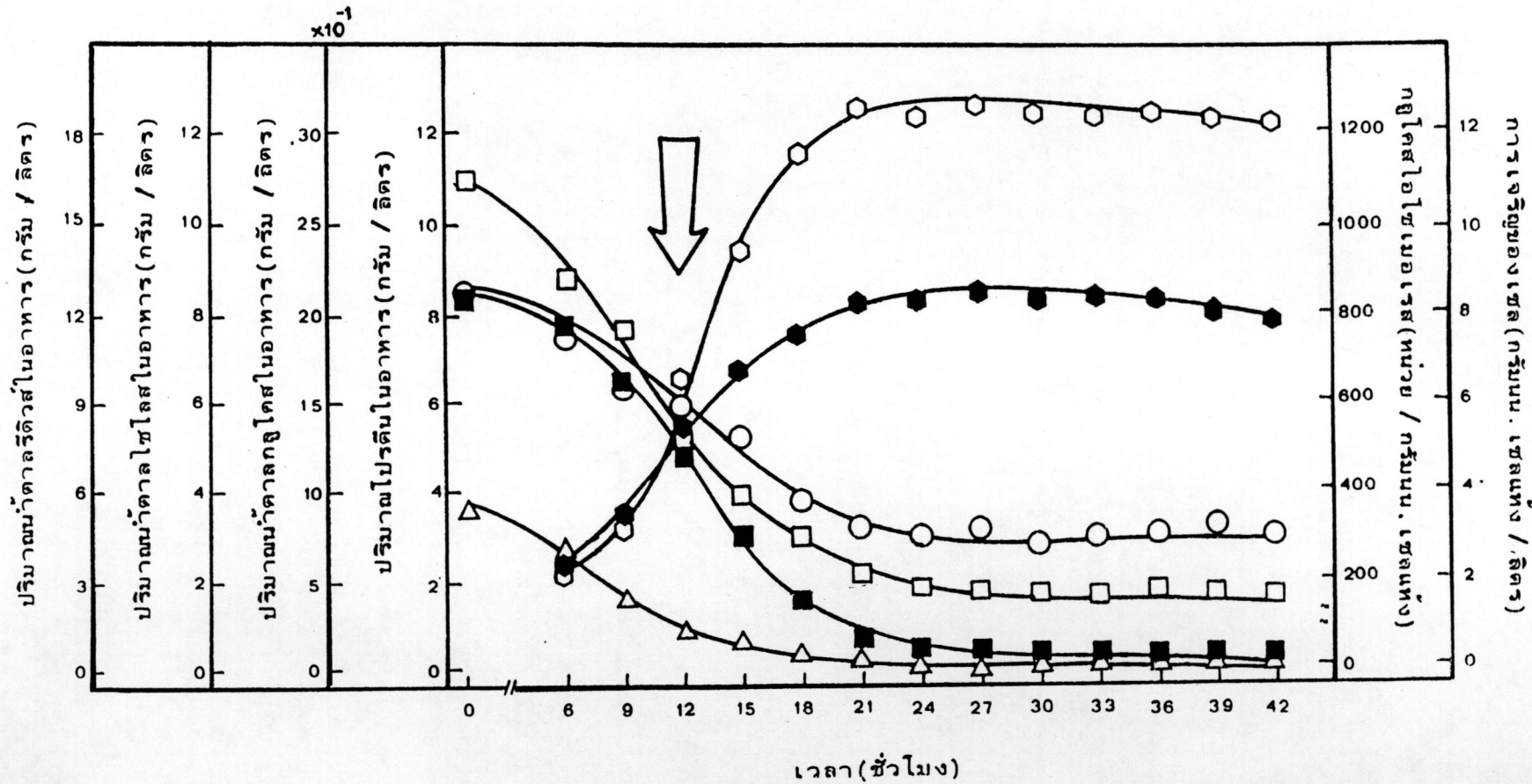
รูปที่ 5 การเปลี่ยนแปลงของค่าต่าง ๆ ในการผลิตกลูโคสไฮโซเมอร์สโดย *Streptomyces* sp. 190-1 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อเลี้ยงใน อาหารที่มีองค์ประกอบเหมือนรูปที่ 4 ยกเว้นไม่เติมสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้ายในปริมาณที่ใช้ 0.5% ไฮไลส การเจริญของเซลล์ (●) การทำงานของกลูโคสไฮโซเมอร์ส (○) ปริมาณโปรตีนที่เหลือในน้ำหมัก (○) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือในน้ำหมัก (□) ปริมาณน้ำตาลไฮไลสที่เหลือในน้ำหมัก (■) ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เหลือในน้ำหมัก (△)



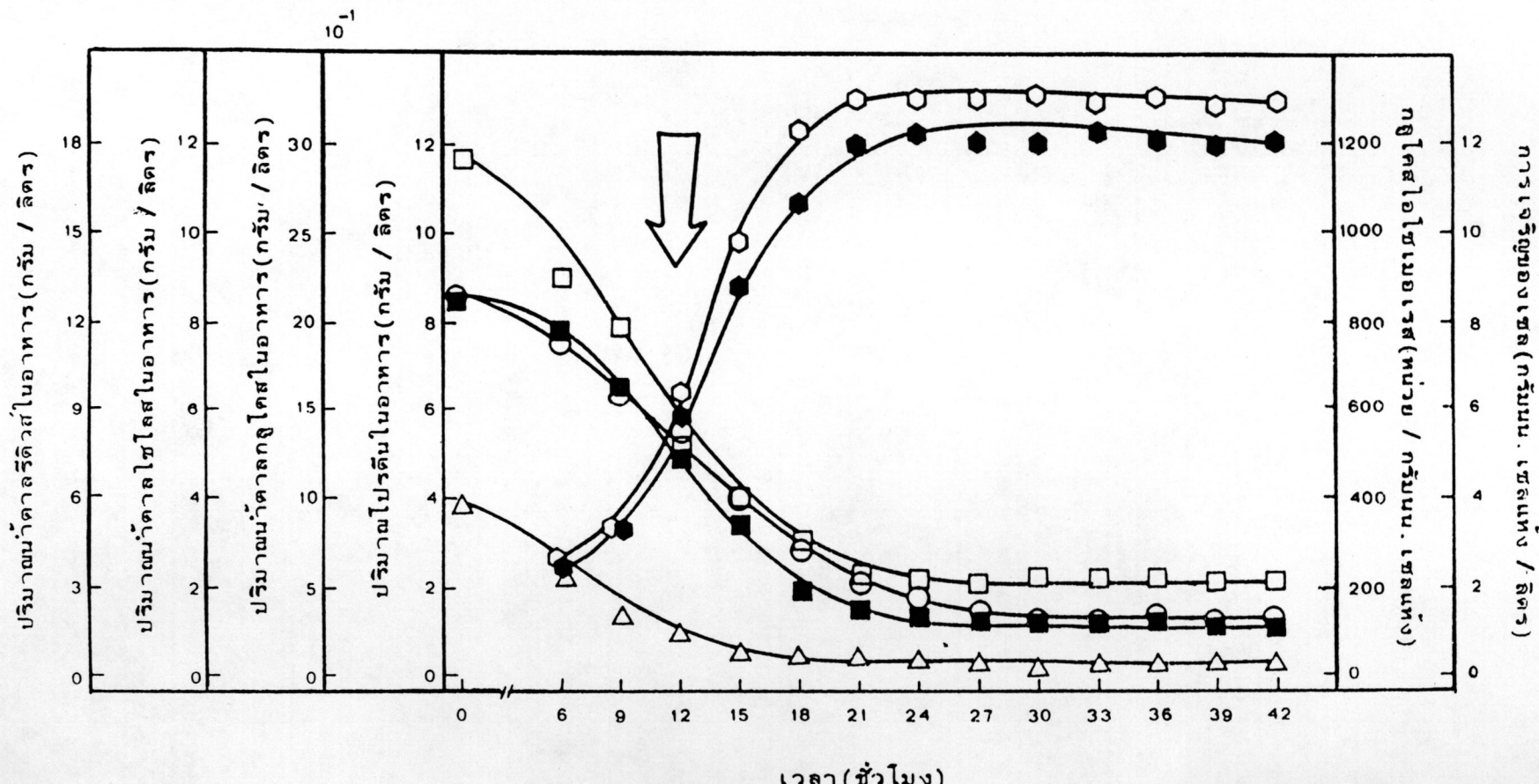
รูปที่ 6 การเปลี่ยนแปลงของค่าต่าง ๆ ในการผลิตกลูโคสไอโซเมอเรสโดย *Streptomyces* sp. 190-1 ในถังหมักขนาด 5 ลิตรเมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีองค์ประกอบดังกล่าวในรูปที่ 4 ยกเว้นเติมสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้ายในปริมาณที่ใช้ 3% โซไลส อย่างต่อเนื่องด้วยอัตรา 16 มล./ชั่วโมง ภายหลังจากการเลี้ยงเชื้อไปแล้วเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ดังแสดงโดยลูกศร : การเจริญของเซลล์ (●) การทำงานของกลูโคสไอโซเมอเรส (○) ปริมาณโปรตีนที่เหลือในน้ำหมัก (○) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือในน้ำหมัก (□) ปริมาณน้ำตาลโซไลสที่เหลือในน้ำหมัก (■) ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เหลือในน้ำหมัก (△)



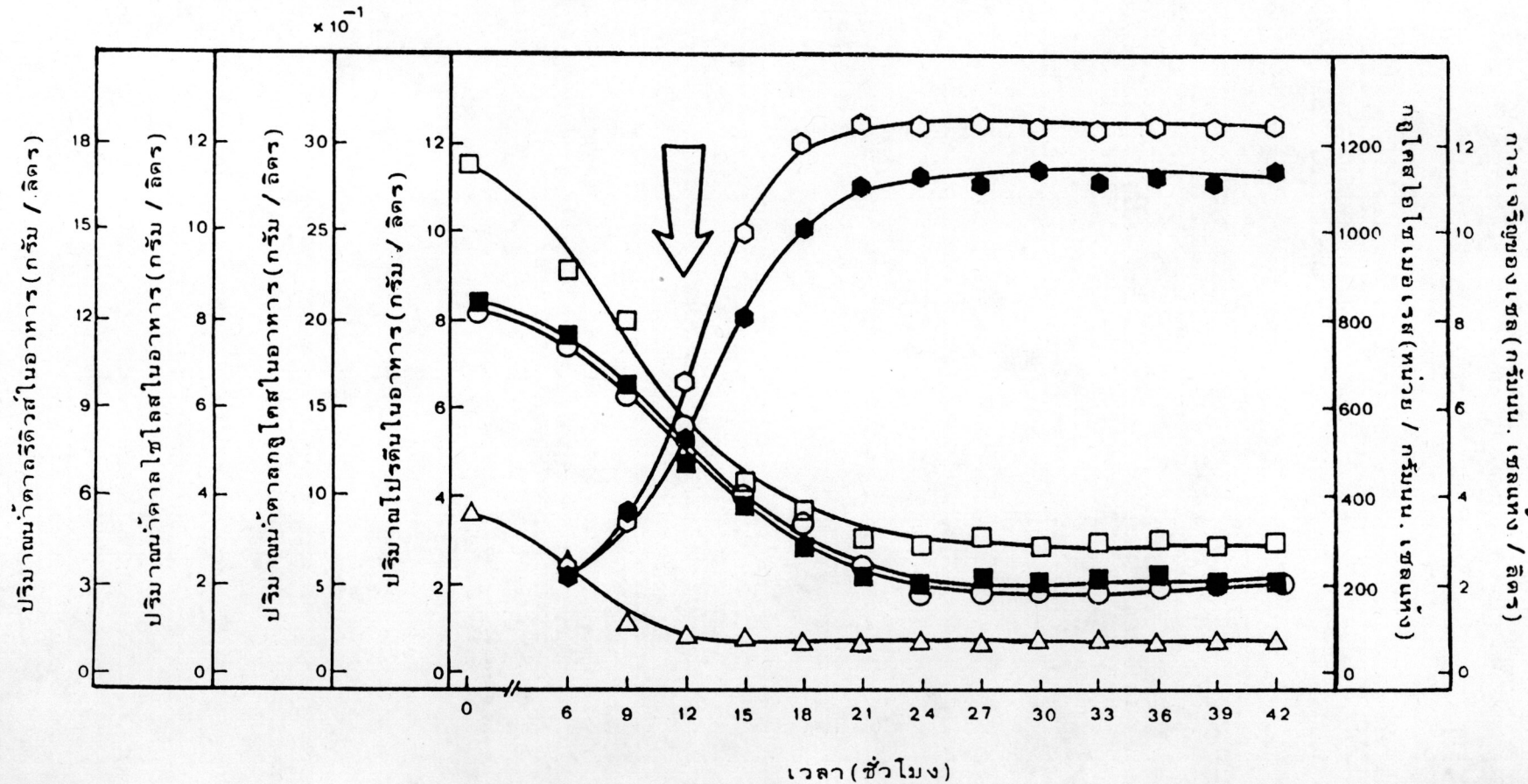
รูปที่ 7 การเปลี่ยนแปลงของค่าต่าง ๆ ในการผลิตกลูโคสไอโซเมอเรสโดย *Streptomyces* sp. 190-1 ในถังหมักขนาด 5 ลิตรเมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีองค์ประกอบดังกล่าวในรูปที่ 4 ยกเว้นเติมสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้ายในปริมาณที่ใช้ 5% โซลิส อย่างต่อเนื่องด้วยอัตรา 16 มล./ชั่วโมง ภายหลังจากการเลี้ยงเชื้อไปแล้วเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ดังแสดงโดยลูกศร : การเจริญของเซลล์ (●) การทำงานของกลูโคสไอโซเมอเรส (○) ปริมาณโปรตีนที่เหลือในน้ำหมัก (○) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือในน้ำหมัก (□) ปริมาณน้ำตาลโซลิสที่เหลือในน้ำหมัก (■) ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เหลือในน้ำหมัก (△)



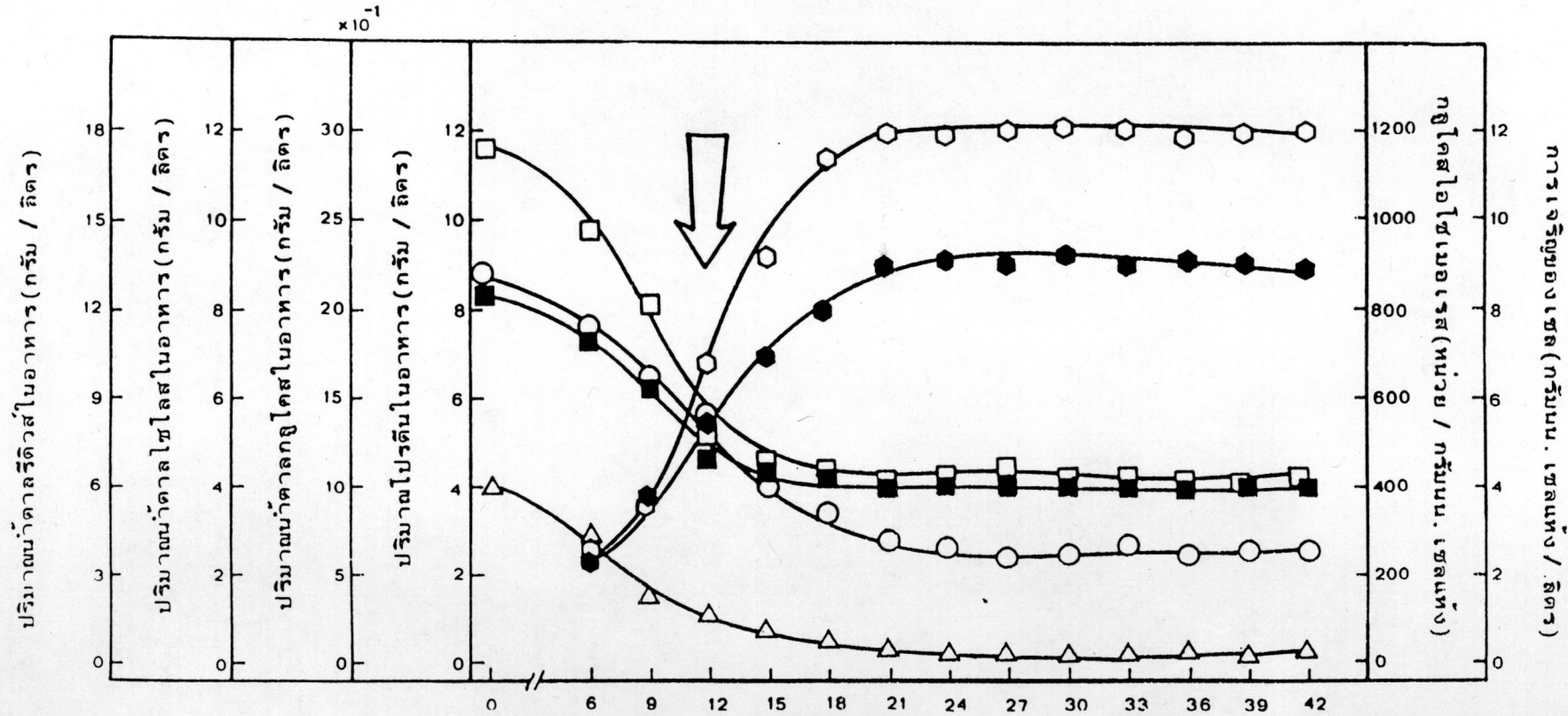
รูปที่ 8 การเปลี่ยนแปลงของค่าต่าง ๆ ในการผลิตกลูโคสไอโซเมอเรสโดย *Streptomyces* sp. 190-1 ในถังหมักขนาด 5 ลิตรเมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีองค์ประกอบดังกล่าวในรูปที่ 4 ยกเว้นเติมสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้ายในปริมาณที่ใช้ 7% โซลิส อย่างต่อเนื่องด้วยอัตรา 16 มล./ชั่วโมง ภายหลังจากการเลี้ยงเชื้อไปแล้วเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ดังแสดงโดยลูกศร : การเจริญของเซลล์ (●) การทำงานของกลูโคสไอโซเมอเรส (○) ปริมาณโปรตีนที่เหลือในน้ำหมัก (○) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือในน้ำหมัก (□) ปริมาณน้ำตาลโซลิสที่เหลือในน้ำหมัก (■) ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เหลือในน้ำหมัก (△)



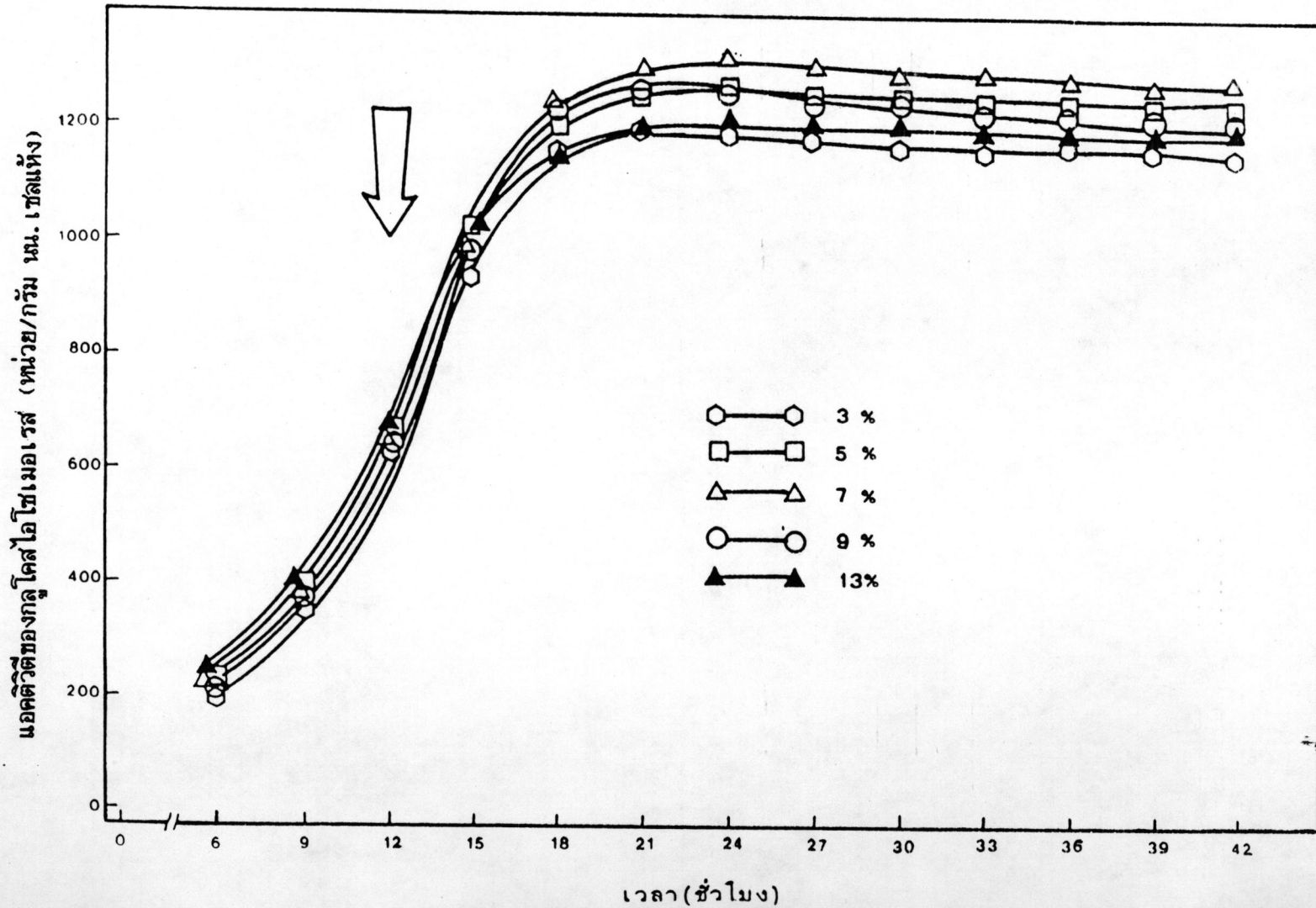
รูปที่ 9 การเปลี่ยนแปลงของค่าต่าง ๆ ในการผลิตกลูโคสไฮโซเมอเรสโดย *Streptomyces* sp. 190-1 ในถังหมักขนาด 5 ลิตรเมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีองค์ประกอบดังกล่าวในรูปที่ 4 ยกเว้นเติมสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้ายในปริมาณที่ใช้ 9% โซไลส อย่างต่อเนื่องด้วยอัตรา 16 มล./ชั่วโมง ภายหลังจากการเลี้ยงเชื้อไปแล้วเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ดังแสดงโดยลูกศร : การเจริญของเซลล์ (●) การทำงานของกลูโคสไฮโซเมอเรส (○) ปริมาณโปรตีนที่เหลือในน้ำหมัก (○) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือในน้ำหมัก (□) ปริมาณน้ำตาลโซไลสที่เหลือในน้ำหมัก (■) ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เหลือในน้ำหมัก (△)



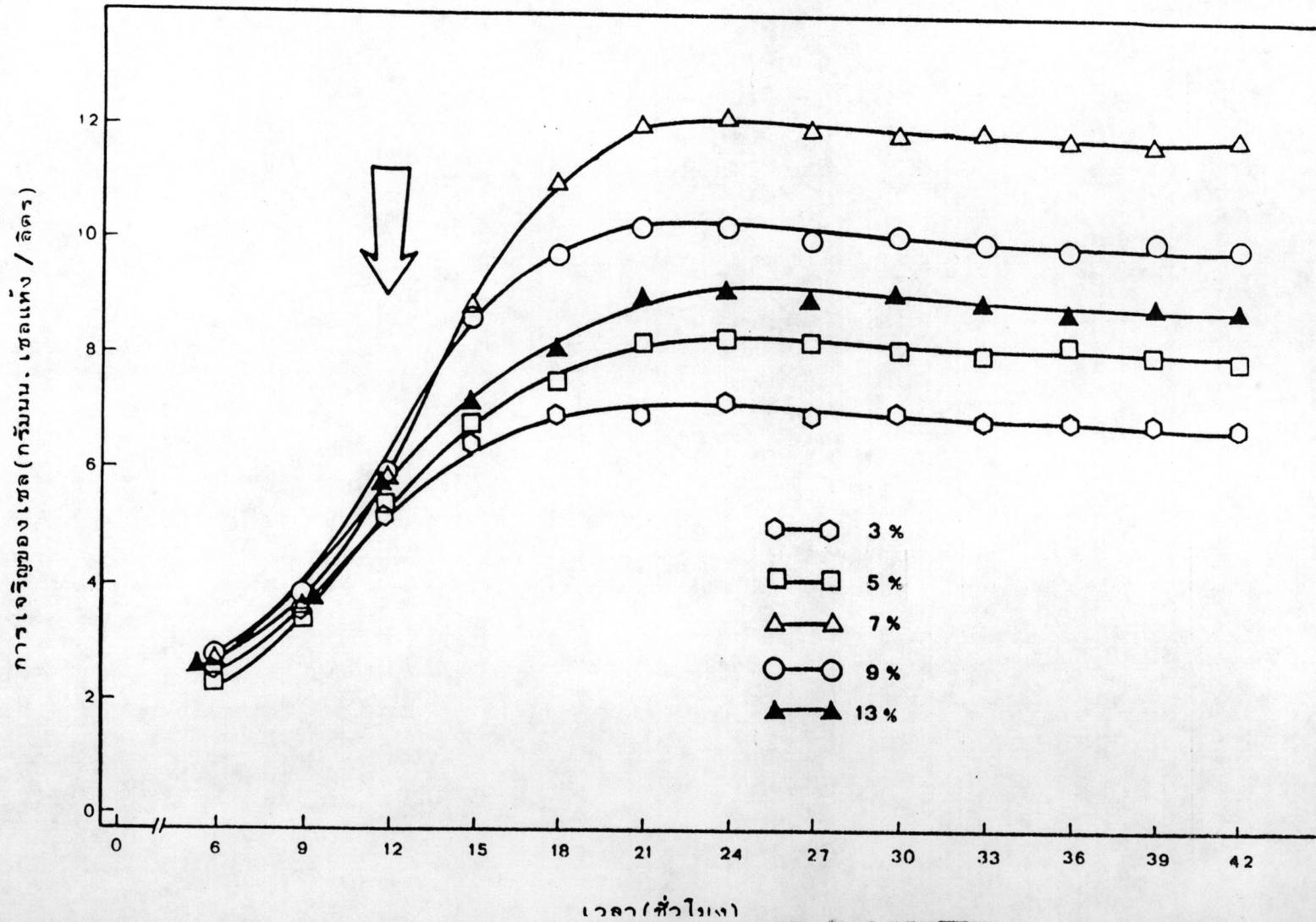
รูปที่ 10 การเปลี่ยนแปลงของค่าต่าง ๆ ในการผลิตกลูโคสไอโซเมอเรสโดย *Streptomyces* sp. 190-1 ในถังหมักขนาด 5 ลิตรเมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีองค์ประกอบดังกล่าวในรูปที่ 4 ยกเว้นเติมสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้ายในปริมาณที่ใช้ 13% โซไลส อย่างต่อเนื่องด้วยอัตรา 16 มล./ชั่วโมง ภายหลังจากการเลี้ยงเชื้อไปแล้วเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ดังแสดงโดยลูกศร : การเจริญของเซลล์ (●) การทำงานของกลูโคสไอโซเมอเรส (○) ปริมาณโปรตีนที่เหลือในน้ำหมัก (○) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือในน้ำหมัก (□) ปริมาณน้ำตาลโซไลสที่เหลือในน้ำหมัก (■) ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เหลือในน้ำหมัก (△)



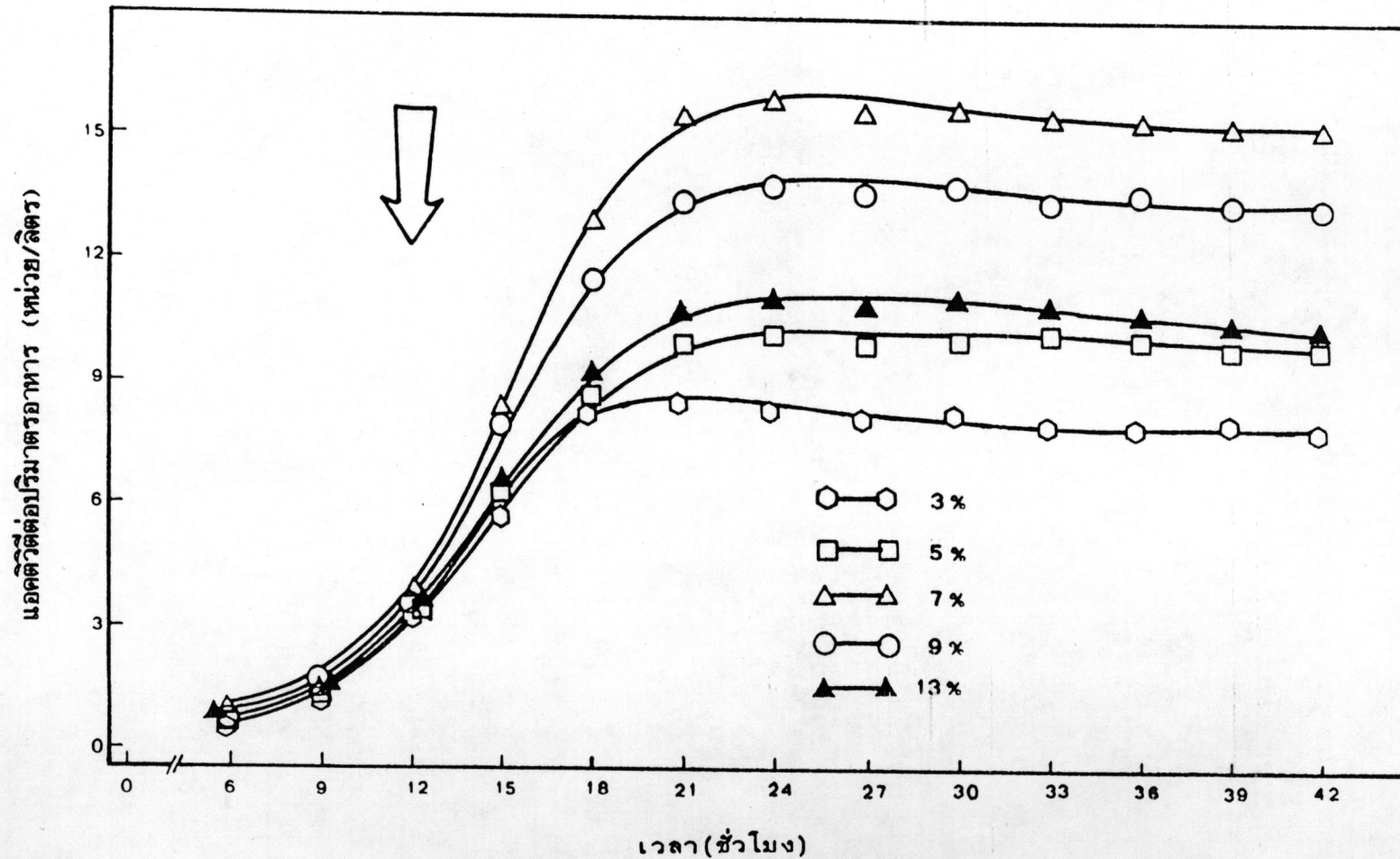
รูปที่ 11 ผลการค้นพบความเข้มข้นของสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้าย
 ที่ใช้เติมอย่างต่อเนื่องในถังหมักขนาด 5 ลิตร ภายหลังจากการเลี้ยงเชื้อไปแล้วเป็น
 เวลา 12 ชั่วโมง ด้วยอัตราการเติม 16 มล./ชั่วโมง ต่อการผลิตกลูโคสไอโซเมอ
 เรสโดย *Streptomyces* sp. 190-1



รูปที่ 12 ผลการค้นพบแปรความเข้มข้นของสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้าย
 ที่ใช้เติมอย่างต่อเนื่องในถังหมักขนาด 5 ลิตร ภายหลังจากการเลี้ยงเชื้อไปแล้วเป็น
 เวลา 12 ชั่วโมง ด้วยอัตราการเติม 16 มล./ชั่วโมง ต่อการเจริญของ
Streptomyces sp. 190-1



รูปที่ 13 ผลการผันแปรความเข้มข้นของสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้ายที่ใช้เติมอย่างต่อเนื่องในถังหมักขนาด 5 ลิตร ภายหลังจากการเลี้ยงเชื้อไปแล้วเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ด้วยอัตราการเติม 16 มล./ชั่วโมง ต่อแอกติวิตีต่อปริมาณอาหารของกลูโคสไอโซเมอเรส

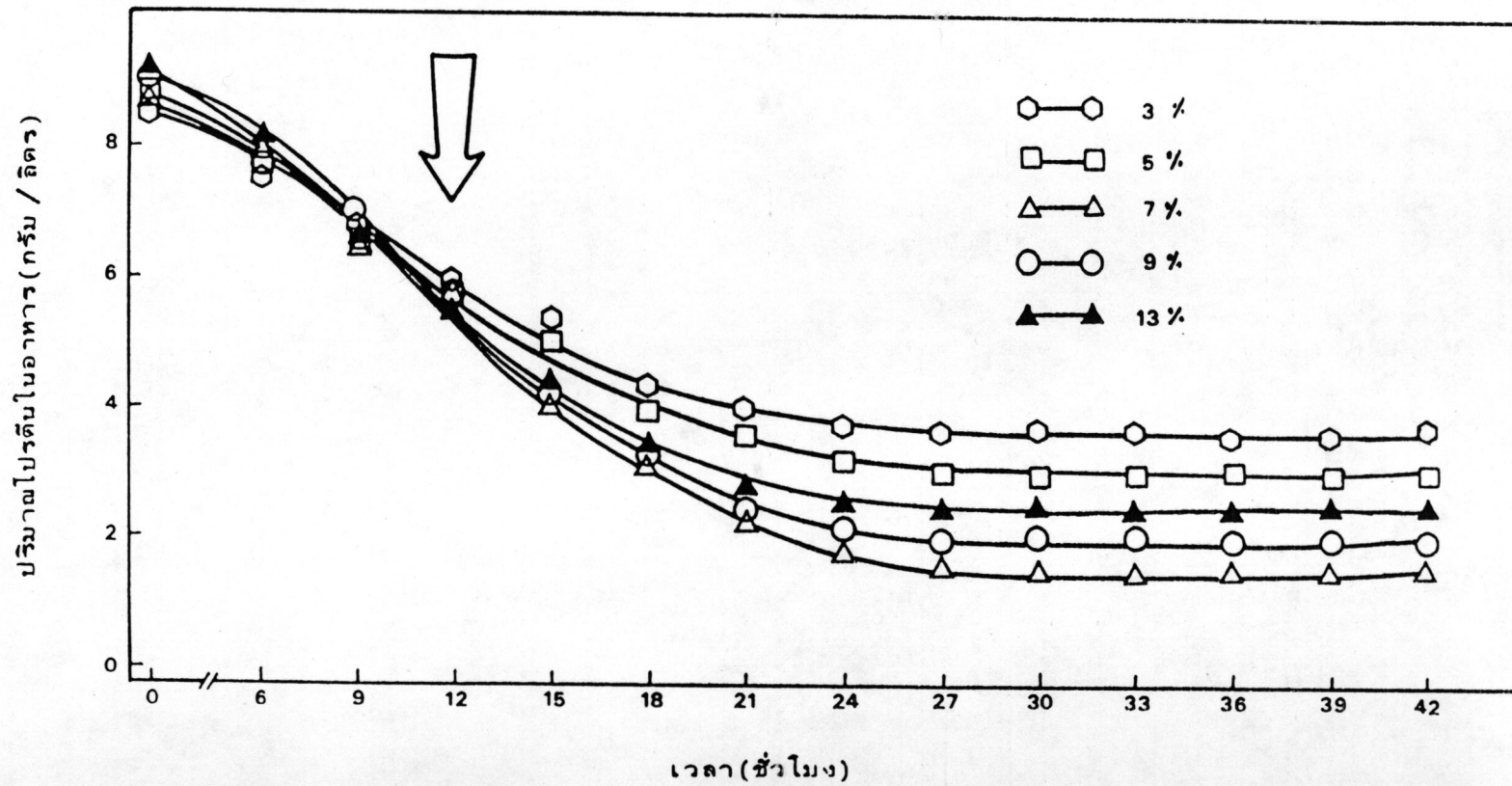


ปริมาณเซลล์สูงสุด 11 กรัม นน. เซลล์แห้ง/ลิตร ที่หัวโม่ที่ 21 (ดูรูปที่ 9) แอคติวิตีต่อปริมาตรอาหาร ประมาณ 13.75 หน่วย/ มล. (ดูรูปที่ 13) การเติมสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้ายอย่างต่อเนื่องที่ระดับความเข้มข้น 13% เชื่อสามารถผลิตเอนไซม์ได้สูงสุดประมาณ 1200 หน่วย/กรัม นน. เซลล์แห้ง ที่หัวโม่ที่ 21 ปริมาณเซลล์สูงสุด 9 กรัม นน. เซลล์แห้ง/ลิตร (ดูรูปที่ 10) แอคติวิตีต่อ ปริมาตรอาหารประมาณ 10.5 หน่วย/มล. (ดูรูปที่ 13)

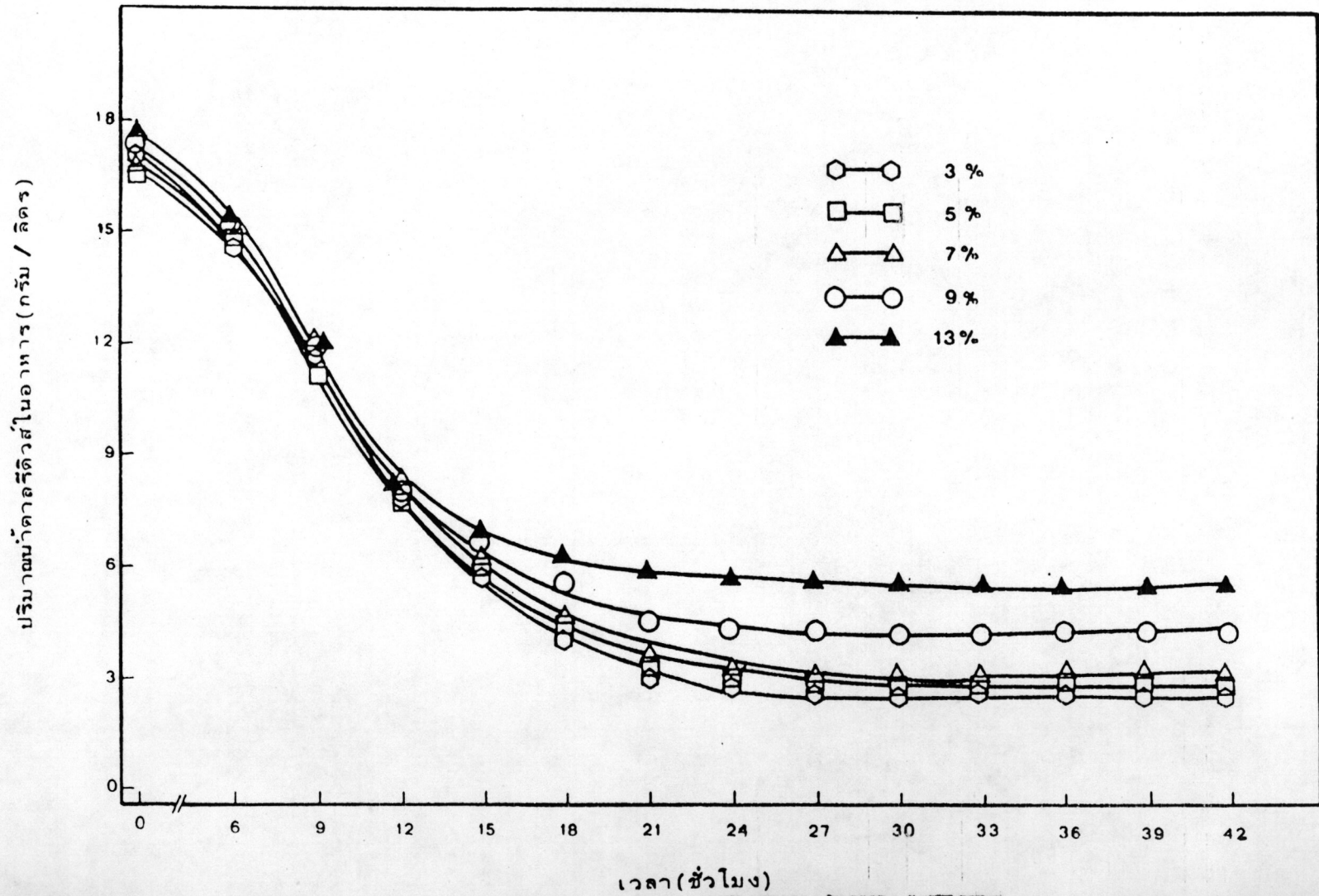
จากผลการทดลอง พบว่า การเติมสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้ายที่ ระดับความเข้มข้น 7% เชื่อสามารถผลิตเอนไซม์ได้สูงสุดคือ 1300 หน่วย/กรัม นน. เซลล์แห้ง ดังแสดงใน รูปที่ 10 ปริมาณเซลล์สูงสุด 12 กรัม นน. เซลล์แห้ง/ลิตร ดังแสดงในรูปที่ 12 และค่าแอคติวิตีต่อปริมาตร อาหาร 15600 หน่วย/ มล. ดังแสดงในรูปที่ 13 ส่วนปริมาณสารอาหารต่าง ๆ ได้แก่ โปรตีน น้ำตาลรีดิวัล และน้ำตาลไซโลส ที่ลดลงดังแสดงในรูปที่ 14, 15, 16 จากการพิจารณาปริมาณโปรตีนที่เหลือ ในอาหารเลี้ยงเชื้อพบว่า การเติมสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้ายอย่างต่อเนื่องที่ ระดับความเข้มข้น 3% และ 5% ปริมาณโปรตีนในน้ำหมักยังเหลืออยู่ค่อนข้างสูงคือปริมาณ 3-3.5 กรัม/ ลิตร ส่วนการเติมที่ระดับ 7%, 9%, และ 13% ปริมาณโปรตีนที่เหลือในน้ำหมักอยู่ในช่วง 1.5-2.5 กรัม /ลิตร (ดูจากรูปที่ 14) จากการพิจารณาปริมาณน้ำตาลรีดิวัลที่เหลือในน้ำหมัก พบว่าการเติมสารละลาย ย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้ายที่ระดับความเข้มข้น 3% และ 5% ปริมาณน้ำตาลรีดิวัลที่เหลือ ในน้ำหมักประมาณ 2.5 กรัม/ลิตร ส่วนการเติมที่ระดับ 7%, 9% และ 13% ปริมาณน้ำตาลรีดิวัลเหลือ อยู่ประมาณ 3-6 กรัม/ลิตร (ดูจากรูปที่ 15) จากการพิจารณาปริมาณน้ำตาลไซโลสที่เหลือในน้ำหมักพบ ว่าการเติมสารละลายด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้ายที่ระดับความเข้มข้น 3% และ 5% มีน้ำตาล ไซโลสเหลืออยู่ประมาณ 0.4 กรัม/ลิตร ส่วนการเติมที่ระดับความเข้มข้น 7%, 9% และ 13% น้ำตาลไซ โลสเหลืออยู่ในช่วงประมาณ 1-4 กรัม/ลิตร (ดูรูปที่ 16)

จากผลการทดลองที่กล่าวมาข้างต้นนี้ พอสรุปได้ว่า ความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดของสาร ละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้ายที่ใช้ในการเติมอย่างต่อเนื่องคือ สารละลายย่อยด้วย กรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้ายในปริมาณที่ให้น้ำตาลไซโลส 7% เพราะที่ระดับความเข้มข้นค่านี้ เชื่อ สามารถผลิตเอนไซม์ได้สูงสุดคือ 15600 หน่วย/ลิตร (ดูรูปที่ 13) และอาหารเลี้ยงเชื้อเหลือทั้งน้อยคือ โปรตีน 1.5 กรัม/ลิตร น้ำตาลรีดิวัล 3 กรัม/ลิตร น้ำตาลไซโลส 1 กรัม/ลิตร

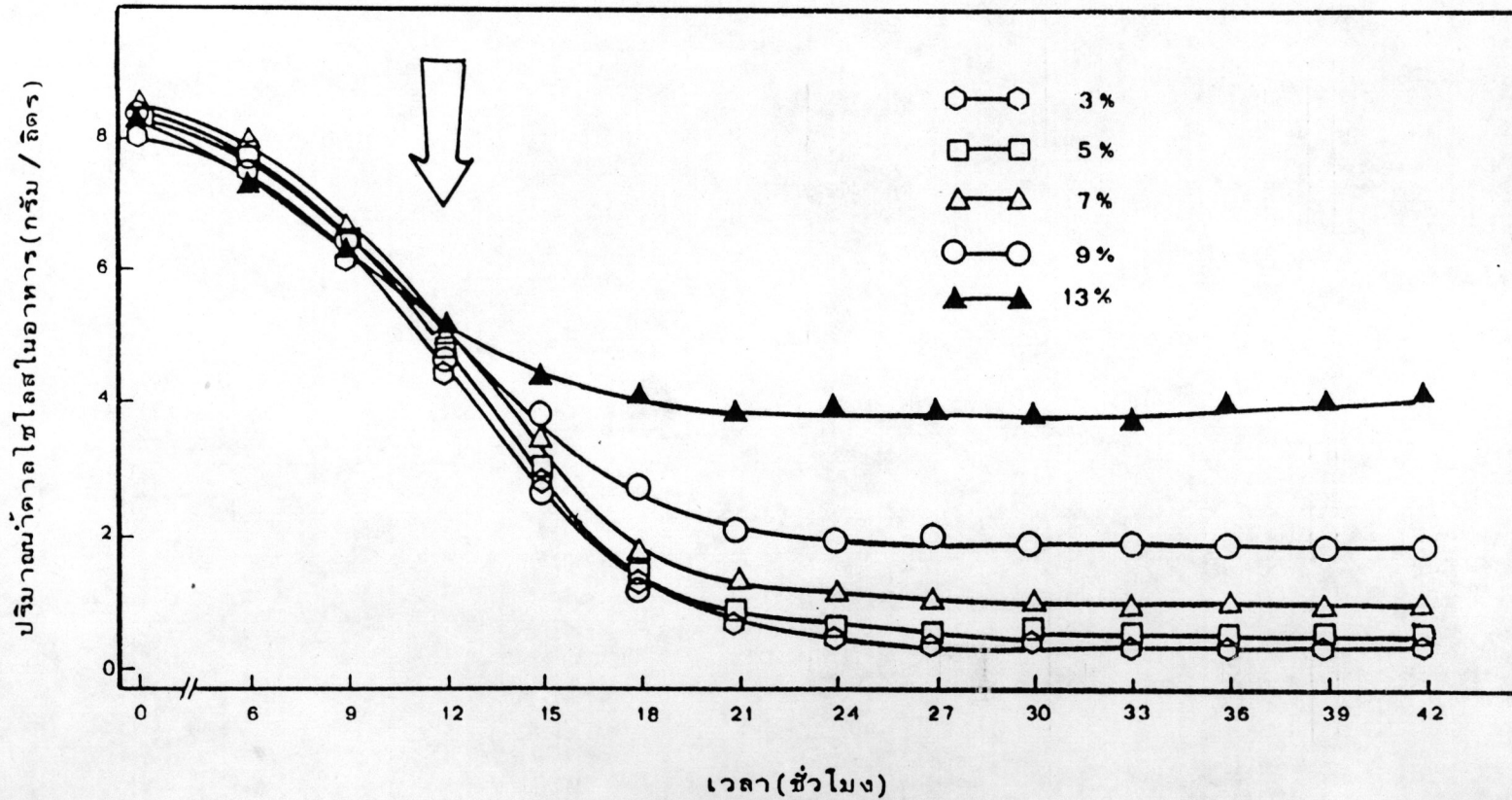
รูปที่ 14 ปริมาณโปรตีนที่เหลือในน้ำหมัก ในระยะเวลาต่าง ๆ เมื่อผ่านกระบวนการเข้มข้นของสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้ายที่ใช้เดิมอย่างต่อเนื่อง ภายหลังจากการเลี้ยงเชื้อไปแล้วเป็นเวลา 12 ชั่วโมงด้วยอัตราการเติม 16 มล./ชั่วโมง



รูปที่ 15 ปริมาณน้ำตาลวีตวลส์ที่เหลือในน้ำหมัก ในระยะเวลาต่าง ๆ เมื่อต้นแปรความเข้มข้นของสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้ายที่ใช้เติมอย่างต่อเนื่อง ภายหลังจากการเลี้ยงเชื้อไปแล้วเป็นเวลา 12 ชั่วโมงด้วยอัตราการเติม 16 มล./ชั่วโมง



รูปที่ 16 ปริมาณน้ำตาลไซโลสที่เหลือในน้ำหมัก ในระยะเวลาต่าง ๆ เมื่อเพิ่มเปอร์เซ็นต์เข้มข้นของสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้ายที่ใช้เติมอย่างต่อเนื่อง ภายหลังจากการเลี้ยงเชื้อไปแล้วเป็นเวลา 12 ชั่วโมงด้วยอัตราการเติม 16 มล./ชั่วโมง



4.3 สูตรสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อและระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายย่อยด้วยกรด
กำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้ายที่ใช้เติมอย่างต่อเนื่องในการเลี้ยง *Streptomyces* sp.
190-1 เพื่อผลิตกลูโคสไฮโดรเมอเรสในถังหมักขนาด 5 ลิตร

4.3.1 อาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมประกอบด้วย

| | | |
|--|-------|-----------------|
| สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของกากถั่วเหลือง | 0.44% | (โปรตีน) |
| สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้าย | 1% | (น้ำตาลรีดิวซ์) |
| ยีสต์เอ็กซ์แทรก | 0.3% | |
| โคบอลต์คลอไรด์ | 0.01% | |
| โคโปแตส เข็มไฮโดรเจนฟอสเฟต | 0.47% | |
| โปแตส เข็มไฮโดรเจนฟอสเฟต | 0.03% | |

พี เอช 8.0

สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้ายในปริมาณที่ให้

โซโลส 0.5% (เติมในระยะเริ่มต้นของการเลี้ยงเชื้อ)

4.3.2 สภาวะที่ใช้ศึกษาคือ

| | |
|------------------|-----------------------------------|
| อุณหภูมิ | 30 องศาเซลเซียส |
| อัตราการให้อากาศ | 7.0 ปริมาตรต่อปริมาตรอาหารต่อนาที |
| อัตราการกวน | 400 รอบต่อนาที |

4.3.3 ระยะเวลาที่เหมาะสมในการเติมสารชักนำการสร้างเอนไซม์อย่างต่อเนื่อง
คือ 12 ชั่วโมง หลังจากการเลี้ยงเชื้อ

4.3.4 ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือก
เมล็ดฝ้ายเพื่อใช้เติมอย่างต่อเนื่องคือ 7% (น้ำตาลโซโลส)