แบบจำลองจลนพลศาสตร์ของการผลิตเอนไซม์ไซโคลเดกซ์ทรินไกลโคซิลทรานสเฟอเรสจากแป้งมันสำปะหลัง โดย *Bacillus circulans* ATCC 9995

นางสาวพิชญา ภู่พนิตพันธ์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิศวกรรมเคมี ภาควิชาวิศวกรรมเคมี
คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2544

ISBN 974-03-0417-6

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

KINETIC MODEL OF THE CYCLODEXTRIN GLYCOSYLTRANSFERASE PRODUCTION FROM TAPIOCA STARCH BY *Bacillus circulans* ATCC 9995

Miss Pichaya poopanitpan

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of The Requirements
for the Degree of Master of Engineering in Chemical Engineering
Department of Chemical Engineering
Faculty of Engineering
Chulalongkron University
Academic year 2001

ISBN 974-03-0417-6

หัวข้อวิทยานิพนธ์	แบบจำลองจลนพลศาสตร์ของการผลิตเอนไซม์ไซโคลเดกซ์ทรินไกลโคซิลทรานสเฟอเรสจากแป้งมันสำปะหลัง โดย *Bacillus circulans* ATCC 9995
โดย	นางสาวพิชญา ภู่พนิตพันธ์
สาขาวิชา	วิศวกรรมเคมี
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สีรุ้ง ปรีชานนท์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รองศาสตราจารย์ ดร.เปี่ยมสุข พงษ์สวัสดิ์

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีคณะวิศวกรรมศาสตร์
(ศาสตราจารย์ ดร.สมศักดิ์ ปัญญาแก้ว)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(ศาสตราจารย์ ดร.วิวัฒน์ ตัณฑะพานิชกุล)

.....อาจารย์ที่ปรึกษา
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สีรุ้ง ปรีชานนท์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(รองศาสตราจารย์ ดร.เปี่ยมสุข พงษ์สวัสดิ์)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.สาโรจน์ ศิริศันสนียกุล)

.....กรรมการ
(อาจารย์ ดร.เหมือนเดือน พิศาลพงศ์)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พิชญา ภู่พนิตพันธ์ : แบบจำลองจลนพลศาสตร์ของการผลิตเอนไซม์ไซโคลเดกซ์ทรินไกลโคซิลทรานสเฟอเรสจากแป้งมันสำปะหลัง โดย *Bacillus circulans* ATCC 9995 (KINETIC MODEL OF THE CYCLODEXTRIN GLYCOSYLTRANSFERASE PRODUCTION FROM TAPIOCA STARCH BY *Bacillus circulans* ATCC 9995) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผศ.ดร.สีรุ้ง ปรีชานนท์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม : รศ.ดร.เปี่ยมสุข พงษ์สวัสดิ์, 134 หน้า. ISBN 974-03-0417-6

วิทยานิพนธ์นี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์เพื่อใช้ในการอธิบายจลนพลศาสตร์ของการผลิตเอนไซม์ไซโคลเดกซ์ทรินไกลโคซิลทรานสเฟอเรสจากแป้งมันสำปะหลังโดยเชื้อ *Bacillus circulans* ATCC 9995 ในถังหมักแบบไม่ต่อเนื่อง โดยงานวิจัยแบ่งออกเป็น 3 ส่วนคือ ส่วนแรก ศึกษาภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิต CGTase โดยพบว่าเชื้อมีการเจริญเติบโตและผลิตเอนไซม์ได้ดีเมื่อทำการเพาะเลี้ยงแบบไม่ควบคุมพีเอช (พีเอชเริ่มต้น 8) และที่ความเข้มข้นของแคลเซียมคาร์บอเนต 0.5 %น้ำหนักโดยปริมาตร ความเร็วรอบในการกวน 400 รอบต่อนาที เป็นภาวะที่เหมาะสมให้ค่าอัตราการสร้างผลิตภัณฑ์สูงสุด ส่วนที่สอง เป็นการทดสอบแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่เหมาะสมเพื่อใช้อธิบายจลนพลศาตร์ของการผลิต CGTase โดยทำการเลี้ยงเชื้อในถังปฏิกรณ์แบบไม่ต่อเนื่องที่ความเข้มข้นของแป้งเริ่มต้นต่างกันตั้งแต่ 1.46 ถึง 8.2 กรัมต่อลิตร จากการทดสอบพบว่าแบบจำลองของ Moser $\mu = \frac{\mu_m S^n}{K_h^n + S^n}$ ให้ความสอดคล้องในการอธิบายจลนพลศาสตร์การเจริญเติบโตเซลล์ดีที่สุด โดยมีค่าพารามิเตอร์ของแบบจำลอง ได้แก่ μ_{max} =0.32 ต่อชม., K_h=1.98 กรัมต่อลิตร และ n =2 ส่วนค่าผลได้ของเซลล์จากสารอาหารเพื่อการเจริญเติบโตเฉลี่ย ($Y_{X/S,G,avg}$) ค่าผลได้ของผลิตภัณฑ์จากเซลล์เฉลี่ย ($Y_{P/X,avg}$) ค่าอัตราการใช้สารอาหารเพื่อการดำรงชีวิตเฉลี่ย ($m_{S,avg}$) และ ค่าคงที่ของการสร้างผลิตภัณฑ์ในกรณีที่ไม่สัมพันธ์กับการเจริญเติบโตเฉลี่ย (b_{avg}) มีค่าเท่ากับ 0.67 กรัมเซลล์ต่อกรัมแป้ง, 555.97 ยูนิตต่อกรัมเซลล์, 0.005 กรัมแป้งต่อกรัมเซลล์·ชม. และ 3.66 ยูนิตต่อกรัมเซลล์·ชม. ตามลำดับ

ส่วนสุดท้าย เป็นการนำแบบจำลองของ Moser ไปทำนายการเปลี่ยนแปลงปริมาณเซลล์ ปริมาณแป้ง และ กิจกรรมของ CGTase ตามเวลา เปรียบเทียบกับผลการทดลอง พบว่าแบบจำลองใช้ทำนายได้ดีที่ความเข้มข้นของแป้งเริ่มต้น 6.57 ถึง 11.33 กรัมต่อลิตร และแบบจำลองจะใช้ทำนายได้ดีขึ้นเมื่อใช้ผลได้ของแต่ละการทดลองมาใช้ร่วมกับแบบจำลอง และจากการนำแบบจำลองของ Moser ไปใช้ในการจำลองการผลิต CGTase ในถังปฏิกรณ์แบบต่อเนื่อง โดย *B. circulans* ATCC 9995 จากแป้งมันสำปะหลัง พบว่า ที่อัตราการเจือจาง 0.24 ต่อชม. ความเข้มข้นของแป้งในกระแสป้อน 8.2 กรัมต่อลิตร จะให้อัตราการผลิตชีวมวล และ CGTase สูงสุด เท่ากับ 0.71 กรัมต่อลิตร·ชม. และ 327.17 ยูนิตต่อลิตร·ชม. ตามลำดับ ซึ่งมีค่ามากกว่าอัตราการผลิตแบบไม่ต่อเนื่องถึง 3 เท่า

ภาควิชา.....วิศวกรรมเคมี..... ลายมือชื่อนิสิต.....พิชญา ภู่พนิตพันธ์.....

สาขาวิชา.....วิศวกรรมเคมี..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ปีการศึกษา.....2544..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

4270456321 : MAJOR CHEMICAL ENGINEERING DEPARTMENT

KEY WORD: Cyclodextrin glycosyltransferase / Kinetic model / *Bacillus circulans*/ tapioca starch

PICHAYA POOPANITPAN: KINETIC MODEL OF THE CYCLODEXTRIN GLYCOSYLTRANSFERASE PRODUCTION FROM TAPIOCA STARCH BY *Bacillus circulans* ATCC 9995. THESIS ADVISOR: ASSIST. PROF. SEEROONG PRICHANONT, Ph.D. THESIS COADVISOR: ASSOC. PROF. PIAMSOOK PONGSAWASDI, Ph.D, 134 pp., ISBN 974-03-0417-6

The overall aim of this research project was to study kinetic model of cyclodextrin glycosyltransferase (CGTase) production from tapioca starch by *Bacillus circulans* ATCC 9995. The study consists of three main parts. The first part was to investigate suitable cultivating conditions for the production of CGTase. High cell growth and CGTase production were observed under uncontrolled pH conditions (initial pH of 8), 0.5%w/v $CaCO_3$, and agitation speed of 400 rpm. The second part was to determine mathematical model that is most suitable in explaining kinetics of CGTase production based on batch cultivation data from experiments with varied initial starch concentrations from 1.46 to 8.2 g/l. Moser's model $\mu = \frac{\mu_m S^n}{K_h^n + S^n}$ was found to give the best goodness of fit with parameters μ_{max}, K_h, and n of 0.32 hr^{-1}, 1.98 g/l, and 2, respectively. Average kinetic parameters, $Y_{X/S,G,avg}$, $Y_{P/X,avg}$, $m_{S,avg}$ (maintenance energy requirement) and b_{avg} (nongrowth-associated product constant), were also experimentally determined at 0.67 g-cell/g-starch, 555.97 unit/g-cell, 0.005 g-starch/g-cell·hr, and 3.66 unit/g-cell·hr respectively. The final part of the project dealt with comparison of simulation results from Moser's model and data obtained from batch experiments. It was found that Moser's model calculated using average kinetic parameter gave good prediction with initial starch concentrations from 6.57 to 11.33 g/l. However, better prediction could be obtained using kinetic parameter obtained directly from each batch data.

Simulation of Moser's model in continuous operation for CGTase production by *B. circulans* ATCC 9995 from tapioca starch at dilution rate of 0.24 hr^{-1} and feed starch concentration of 8.2 g/l showed the maximum cell and CGTase productivity of 0.71 g/l·hr and 327.17 unit/l·hr, respectively. It was, moreover, found that continuous operation gave threefold higher productivity that batch operation.

Department.....Chemical engineering.... Student's signature.....

Field of study...Chemical engineering... Advisor's signature.....

Academic year.....2001..... Co-advisor's signature.....

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความช่วยเหลือจากหลายๆท่าน ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สีรุ้ง ปรีชานนท์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และ รองศาสตราจารย์ ดร. เปี่ยมสุข พงษ์สวัสดิ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม เป็นอย่างสูงสำหรับการให้คำปรึกษาที่มีคุณค่าต่อการพัฒนางานวิจัย การตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ดร.วิวัฒน์ ตัณฑะพานิชกุล ประธานกรรมการ รองศาสตราจารย์ ดร.สาโรจน์ ศิริศันสนียกุล และ ดร.เหมือนเดือน พิศาลพงศ์ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ซึ่งได้เสนอข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์และแก้ไขเพิ่มเติมส่วนที่บกพร่องของงานวิจัยนี้

เนื่องจากทุนวิจัยครั้งนี้บางส่วนได้รับจากทุนสนับสนุนจากโครงการบัณฑิตศึกษาภายในประเทศ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (ส.ว.ท.ช.) และภาควิชาวิศวกรรมเคมี จึงขอขอบคุณมา ณ ที่นี้ด้วย

ขอบคุณ พี่ณรงค์ สำหรับการสอนเทคนิคการเลี้ยงเชื้อและคำแนะนำต่างๆ และ พี่ณัฐยา ที่มาช่วยทำการทดลอง ขอขอบคุณ นิภาวดี รัตน์ฉัตร และ ณัฐดา สำหรับความช่วยเหลือในงานเอกสาร รวมถึง พี่ๆ เพื่อนๆ น้องๆ ห้องวิจัยวิศวกรรมชีวเคมี ที่ให้ความช่วยเหลือและคำแนะนำที่เป็นประโยชน์แก่งานวิจัย

งานวิจัยชิ้นนี้คงไม่สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้เลยถ้าปราศจากความสนับสนุน ช่วยเหลือและเป็นกำลังใจ จากคุณแม่นาตยา พี่ธเนศร ตลอดจนญาติพี่น้องทุกคนในครอบครัว จนทำให้ผู้วิจัยทำงานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... จ

กิตติกรรมประกาศ..... ฉ

สารบัญ..... ช

สารบัญตาราง..... ฌ

สารบัญรูป..... ฎ

สัญลักษณ์..... ฑ

บทที่

1. บทนำ..... 1

1.1 ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย..... 1

1.2 วัตถุประสงค์..... 2

1.3 ขอบเขตงานวิจัย..... 2

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... 2

2. ทฤษฎี..... 3

2.1 คุณสมบัติของแป้งมันสำปะหลัง..... 3

2.2 ลักษณะของเอนไซม์ไซโคลเดกซ์ทรินไกลโคซิลทรานสเฟอเรส..... 9

2.3 จลนพลศาสตร์การเลี้ยงเชื้อแบบไม่ต่อเนื่อง..... 13

2.4 สมการสมดุลมวลและการคำนวณอัตราจำเพาะ (Specific rate)..... 21

2.5 แบบจำลองคณิตศาสตร์ของการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (Growth model)..... 23

3. ตรวจเอกสาร 33

3.1 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตเอนไซม์ CGTase..... 33

3.2 ปัจจัยที่มีผลต่อกระบวนการผลิตเอนไซม์ CGTase..... 33

3.3 ลักษณะการเจริญเติบโตและการผลิตเอนไซม์..... 48

3.4 ค่าพารามิเตอร์และแบบจำลองคณิตศาสตร์ทางจลนศาสตร์..... 50

บทที่	หน้า
4. อุปกรณ์ เคมีภัณฑ์ และวิธีดำเนินการทดลอง	54
4.1 อุปกรณ์และเคมีภัณฑ์	54
4.2 เชื้อจุลินทรีย์	55
4.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ	55
4.4 วิธีเก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์	56
4.5 ขั้นตอนการทดลอง	57
4.6 การวัดการเจริญของเชื้อ	59
4.7 การหาปริมาณแป้งมันสำปะหลัง	59
4.8 การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์	60
5. ผลการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลอง	61
5.1 การเลี้ยงเชื้อ *B.circulans* ATCC 9995 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบ	61
5.2 ภาวะที่เหมาะสมในการผลิต CGTase	66
5.3 อิทธิพลของความเข้มข้นเริ่มต้นของสารตั้งต้นต่ออัตราจำเพาะต่างๆ (μ, q_s, q_p)	74
5.4 แบบจำลองคณิตศาสตร์ที่ใช้อธิบายจลนพลศาสตร์การเจริญเติบโต	80
5.5 การทดสอบแบบจำลองคณิตศาสตร์ทางจลนพลศาสตร์	86
5.6 การนำแบบจำลองของ Moser ไปใช้ในกระบวนการผลิต CGTase	95
6. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	104
6.1 สรุปผลการทดลอง	104
6.2 ข้อเสนอแนะ	105
รายการอ้างอิง	106
ภาคผนวก	111
ภาคผนวก ก	112
ภาคผนวก ข	116
ภาคผนวก ค	124
ภาคผนวก ง	130
ประวัติผู้แต่ง	134

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	สมบัติที่สำคัญของอะมิโลสและอะมิโลเพกทิน	4
2.2	สรุปค่าผลได้สำหรับการเจริญแบบใช้อากาศของจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ในแหล่งคาร์บอนต่างชนิดกัน.....	18
2.3	ค่าความต้องการใช้สารอาหารเพื่อการดำรงชีวิตของจุลินทรีย์บางชนิด.....	18
2.4	แสดงความแตกต่างระหว่างแบบจำลองทางจลนพลศาสตร์ของเซลล์.....	24
2.5	แบบจำลองจลนพลศาสตร์ที่มีการยับยั้งการเจริญเติบโตแบบต่าง ๆ	29
3.1	สายพันธุ์แบคทีเรียที่มีรายงานการผลิตไซโคลเดกซ์ทริน (CDs) ชนิดต่างๆ.....	34
3.2	สายพันธุ์แบคทีเรียกับแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมในการผลิตไซโคลเดกซ์ทริน CGTase.....	36
3.3	สายพันธุ์แบคทีเรียกับแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมในการผลิตไซโคลเดกซ์ทริน CGTase.....	38
3.4	แสดงอิทธิพลของโซเดียมคาร์บอเนตในก่ารเลี้ยงเชื้อ *Alklophilic Bacillus sp.* ATCC 21783.....	39
3.5	สายพันธุ์แบคทีเรียกับอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์ CGTase.....	40
3.6	ค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อและอุณหภูมิที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์ CGTase.....	41
3.7	สายพันธุ์แบคทีเรียและสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์ CGTase ในขวดเขย่า.....	43
3.8	แสดงผลการทดลองการเลี้ยงเชื้อ *Alkalophillic Bacillus sp.* NP 523 แบบควบคุมพีเอชและไม่ควบคุมพีเอช.....	45
3.9	สายพันธุ์แบคทีเรียและสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์ CGTase ในถังปฏิกรณ์.....	47
3.10	อิทธิพลของสภาวะการเลี้ยงเชื้อต่อพารามิเตอร์ทางจลนศาสตร์ในการเลี้ยงเชื้อ *B. cerus* ในถังปฏิกรณ์แบบไม่ต่อเนื่อง.....	51
3.11	ค่าพารามิเตอร์ทางจลนพลศาสตร์ของ *B. circular var. alkolophilus* TISTR 907 ในขวดเขย่า.....	51
3.12	ค่าพารามิเตอร์สำหรับแบบจำลองคณิตศาสตร์ของการผลิต α-amylase.....	53

ตารางที่ หน้า

5.1 อัตราจำเพาะ (μ, q_s, q_p) และอัตราการสร้างผลิตภัณฑ์สูงสุดที่คำนวณได้จากการเลี้ยงเชื้อแบบควบคุมพีเอชและไม่ควบคุมพีเอช..... 68

5.2 อัตราจำเพาะและค่าอัตราการสร้างผลิตภัณฑ์สูงสุดของ B. circulans ATCC 9995 ในขวดเขย่า ที่ความเข้มข้นของแคลเซียมคาร์บอเนตต่างกัน..... 70

5.3 การเปรียบเทียบค่าความแตกต่างของอัตราจำเพาะที่มีความแตกต่างกันมากที่สุด ที่ความเข้มข้นของแคลเซียมคาร์บอเนตต่างกัน กับค่าความคลาดเคลื่อนจากการทดลอง..... 70

5.4 แสดงค่าอัตราจำเพาะและอัตราการสร้างผลิตภัณฑ์สูงสุดเมื่อเลี้ยงเชื้อในถังปฏิกรณ์ที่มีความเร็วรอบต่างกัน..... 73

5.5 ค่าอัตราจำเพาะ (μ, q_s, q_p) ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของแป้งมันสำปะหลังต่างกัน 75

5.6 ค่าพารามิเตอร์ของแบบจำลอง ค่าผลรวมความคลาดเคลื่อนยกกำลังสอง และค่าทางสถิติอื่นๆ..... 81

5.7 เปรียบเทียบค่าคงที่ทางจลนพลศาสตร์ที่ได้จากงานวิจัยนี้กับค่าจากงานวิจัยอื่นๆ ที่ศึกษาการผลิต CGTase..... 85

5.8 ค่าพารามิเตอร์ทางจลนพลศาสตร์ของการทดลองที่ความเข้มข้นของแป้งเริ่มต้นต่างกัน..... 90

5.9 เปรียบเทียบอัตราการผลิตแบบต่อเนื่องกับแบบไม่ต่อเนื่อง..... 102

ข 1 ผลการทดลองเลี้ยงเชื้อ *B. circulans* ATCC 9995 ในถังปฏิกรณ์ pH เริ่มต้น 8 ความเร็วรอบ 280 รอบต่อนาที เมื่อเลี้ยงหัวเชื้อตั้งต้นในอาหารนิวเทรียนบรอท..... 117

ข 2 ผลการทดลองเลี้ยงเชื้อ *B. circulans* ATCC 9995 ในถังปฏิกรณ์ pH เริ่มต้น 8 ความเร็วรอบ 280 รอบต่อนาที..... 118

ข 3 ผลการทดลองเลี้ยงเชื้อ *B. circulans* ATCC 9995 ในถังปฏิกรณ์ pH เริ่มต้น 8 ไม่ควบคุมพีเอช..... 119

ข 4 ผลการทดลองเลี้ยงเชื้อ *B. circulans* ATCC 9995 ในขวดเขย่า pH เริ่มต้น 8 ความเข้มข้นของแคลเซียมคาร์บอเนตต่างกัน..... 120

ข 5 ผลการทดลองเลี้ยงเชื้อ *B. circulans* ATCC 9995 ในถังปฏิกรณ์แบบไม่ต่อเนื่อง pH เริ่มต้น 8 ความเข้มข้นของแป้งเริ่มต้นต่างกัน..... 121

ค 1 ผลการทดลองการเพาะเลี้ยง *B. circulans* ATCC 9995 ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบไม่ต่อเนื่อง..... 126

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
2.1	ขนาดและรูปร่างของเม็ดแป้งมันสำปะหลัง.....	4
2.2	ลักษณะการเกิด birefringernce ของเม็ดแป้งมันสำปะหลัง.....	5
2.3	การเปลี่ยนแปลงของเม็ดแป้งในระหว่างการหุงต้ม.....	5
2.4	การเปลี่ยนแปลงความหนืดของแป้งชนิดต่างๆ	8
2.5	การจัดเรียงโครงสร้าง domain ของเอนไซม์ CGTase จากเชื้อ *B. circulans* กับ moltoriose ใน active site.....	10
2.6	การแสดงแบบแผนของการเร่งปฏิกิริยาโดย CGTase	12
2.7	ลักษณะการเจริญของเซลล์ในการเพาะเลี้ยงเชื้อแบบไม่ต่อเนื่อง.....	15
2.8	อิทธิพลของความเข้มข้นของ Mg^{2+} ต่อระยะปรับตัวของการเลี้ยงเชื้อ *E. aerogenes*.....	15
2.9	ลักษณะการเจริญเติบโตและการสร้างผลิตภัณฑ์ในการเลี้ยงเชื้อแบบไม่ต่อเนื่อง	19
2.10	แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง μ-s ของสมการ Monod.....	25
2.11	ลักษณะกราฟ μ-s ของแบบจำลองต่างๆ.....	28
2.12	แสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นตามเวลาของแบบจำลอง logistic.....	31
2.13	ความไวของการเปลี่ยนแปลงค่า μ_m ต่อ ลักษณะกราฟการเพาะเลี้ยงเชื้อ แบบนไม่ต่อเนื่อง.....	32
2.14	ความไวของการเปลี่ยนแปลงค่า m_s ต่อ ลักษณะกราฟการเพาะเลี้ยงเชื้อ แบบไม่ต่อเนื่อง.....	32
2.15	ความไวของการเปลี่ยนแปลงค่า $Y_{x/s}$ ต่อ ลักษณะกราฟการเพาะเลี้ยงเชื้อ แบบไม่ต่อเนื่อง.....	32
3.1	การเปรียบเทียบกิจกรรมของเอนไซม์ในระบบการหมักต่างชนิดกัน.....	42
3.2	รูปแบบการเจริญและการผลิตเอนไซม์ CGTase ของเชื้อ *Bacillus circulans var. alkalophilus* ATCC 21783	49
4.1	ถังหมักแบบไม่ต่อเนื่องปริมาตรการทำงาน 3 ลิตร.....	58
5.1	แสดงลักษณะการเจริญเติบโต การผลิต CGTase และ การใช้สารอาหารของ *Bacillus circulans* ATCC 9995 ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ	63

รูปที่ หน้า

5.2 แสดงลักษณะการเจริญเติบโต การผลิต CGTase และ การใช้สารอาหารของ *Bacillus circulans* ATCC 9995 ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ เมื่อเลี้ยงหัวเชื้อในอาหารนิเทรียนบรอท..... 64

5.3 แสดงปริมาณเซลล์ตามเวลาเปรียบเทียบระหว่างการเลี้ยงเชื้อแบบควบคุมและไม่ควบคุมพีเอช..... 67

5.4 แสดงปริมาณเซลล์ กิจกรรมของเอนไซม์ ความเข้มข้นของแป้งตามเวลาเปรียบเทียบระหว่างการเลี้ยงเชื้อแบบควบคุมและไม่ควบคุมพีเอช..... 67

5.5 ปริมาณเซลล์ ตามเวลาของการเลี้ยงเชื้อในถังปฏิกรณ์ที่ความเร็วรอบต่างกัน.... 72

5.6 กิจกรรมของเอนไซม์ และ ปริมาณแป้ง ตามเวลาของการเลี้ยงเชื้อในถังปฏิกรณ์ที่ความเร็วรอบต่างกัน..... 72

5.7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของแป้งเริ่มต้นกับอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ..... 76

5.8 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของแป้งเริ่มต้นกับอัตราการใช้สารอาหารจำเพาะ และ อัตราการสร้างผลิตภัณฑ์จำเพาะ..... 78

5.9 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของแบบจำลองต่างๆ ที่ความเข้มข้นของแป้งต่างกัน..... 82

5.10 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเซลล์ แป้ง และ เอนไซม์ตามเวลาที่ความเข้มข้นของแป้ง 1.46 กรัมต่อลิตร (Yเฉลี่ย)..... 87

5.11 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเซลล์ แป้ง และ เอนไซม์ตามเวลาที่ความเข้มข้นของแป้ง 3.01 กรัมต่อลิตร (Yเฉลี่ย)..... 87

5.12 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเซลล์ แป้ง และ เอนไซม์ตามเวลาที่ความเข้มข้นของแป้ง 4.20 กรัมต่อลิตร (Yเฉลี่ย)..... 88

5.13 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเซลล์ แป้ง และ เอนไซม์ตามเวลาที่ความเข้มข้นของแป้ง 6.57 กรัมต่อลิตร (Yเฉลี่ย)..... 88

5.14 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเซลล์ แป้ง และ เอนไซม์ตามเวลาที่ความเข้มข้นของแป้ง 8.20 กรัมต่อลิตร (Yเฉลี่ย)..... 89

5.15 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเซลล์ แป้ง และ เอนไซม์ตามเวลาที่ความเข้มข้นของแป้ง 11.33 กรัมต่อลิตร (Yเฉลี่ย)..... 89

5.16 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเซลล์ แป้ง และ เอนไซม์ตามเวลาที่ความเข้มข้นของแป้ง 1.46 กรัมต่อลิตร (Yจากการทดลอง)..... 92

รูปที่		หน้า
5.17	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเซลล์ แป้ง และ เอนไซม์ตามเวลาที่ความเข้มข้นของแป้ง 3.01 กรัมต่อลิตร (Yจากการทดลอง).....	92
5.18	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเซลล์ แป้ง และ เอนไซม์ตามเวลาที่ความเข้มข้นของแป้ง 4.20 กรัมต่อลิตร (Yจากการทดลอง).....	93
5.19	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเซลล์ แป้ง และ เอนไซม์ตามเวลาที่ความเข้มข้นของแป้ง 6.57 กรัมต่อลิตร (Yจากการทดลอง).....	93
5.20	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเซลล์ แป้ง และ เอนไซม์ตามเวลาที่ความเข้มข้นของแป้ง 8.2 กรัมต่อลิตร (Yจากการทดลอง).....	94
5.21	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของเซลล์ แป้ง และ เอนไซม์ตามเวลาที่ความเข้มข้นของแป้ง 11.3 กรัมต่อลิตร (Yจากการทดลอง).....	94
5.22	แสดงลักษณะการเจริญเติบโตของเซลล์,การใช้ แป้ง และ การผลิต CGTase ตามเวลา ที่ความเข้มข้นของแป้งเริ่มต้น 10 กรัมต่อลิตร.....	98
5.23	การจำลอง (simulation) การดำเนินงานแบบต่อเนื่องที่อัตราการเจือจางต่างกันของกระบวนการผลิต CGTase.....	103
ก 1	กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง.....	113
ก 2	กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณแป้งมันสำปะหลัง.....	114
ก 3	กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณ β-CD.....	115
ค 1	การหาอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ.....	127
ค 2	การหาอัตราการใช้สารอาหารจำเพาะ.....	127
ค 3	การหาอัตราการสร้างผลิตภัณฑ์.....	127

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สัญลักษณ์

X	ความเข้มข้นของเซลล์ (กรัมต่อลิตร)
S	ความเข้มข้นของสารอาหาร (กรัมต่อลิตร)
P	ความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ (กรัมต่อลิตร)
X_0	ความเข้มข้นของเซลล์เริ่มต้น (กรัมต่อลิตร)
S_0	ความเข้มข้นของสารอาหารเริ่มต้น (กรัมต่อลิตร)
P_0	ความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์เริ่มต้น (กรัมต่อลิตร)
V	ปริมาตรของถังปฏิกรณ์ (ลิตร)
T	เวลา (ชม.)
μ	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (ต่อชม.)
q_S	อัตราการใช้สารอาหารจำเพาะ (กรัมสารอาหารต่อกรัมเซลล์·ชม.)
q_P	อัตราการสร้างผลิตภัณฑ์จำเพาะ (กรัมผลิตภัณฑ์ต่อกรัมเซลล์·ชม.)
r_X	อัตราการเจริญเติบโต (กรัมเซลล์ต่อลิตร·ชม.)
r_S	อัตราการใช้สารอาหาร (กรัมสารอาหารต่อลิตร·ชม.)
r_P	อัตราการสร้างผลิตภัณฑ์ (กรัมผลิตภัณฑ์ต่อลิตร·ชม.)
m_S	อัตราการใช้สารอาหารเพื่อการดำรงชีวิต (กรัมสารอาหารต่อกรัมเซลล์·ชม.)
b	ค่าคงที่ของการสร้างผลิตภัณฑ์ในกรณีที่ไม่สัมพันธ์กับการเจริญเติบโต (ยูนิตต่อกรัมเซลล์·ชม.)
$Y_{X/S}$	ผลได้ของเซลล์ต่อสารอาหาร (กรัมเซลล์ต่อกรัมสารอาหาร)
$Y_{X/S,obs}$	ผลได้ของเซลล์ต่อสารอาหารที่วัดได้จากการทดลอง (กรัมเซลล์ต่อกรัมสารอาหาร)
$Y_{X/S,G}$	ผลได้ของเซลล์ต่อสารอาหารที่ใช้ในการเจริญเติบโตจริง (กรัมเซลล์ต่อกรัมสารอาหาร)
$Y_{P/X}$	ผลได้ของผลิตภัณฑ์ต่อเซลล์ (กรัมผลิตภัณฑ์ต่อกรัมเซลล์)
$Y_{P/S}$	ผลได้ของผลิตภัณฑ์ต่อสารอาหาร (กรัมผลิตภัณฑ์ต่อกรัมสารอาหาร)
μ_m	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด (ต่อชม.)
K_S	ค่าคงที่อิ่มตัว (กรัมต่อลิตร)
K_I	ค่าคงที่ของการยับยั้ง (กรัมต่อลิตร)
K_h	ค่าพารามิเตอร์ของ Moser (กรัมต่อลิตร)^2

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

$P_{X.max}$	อัตราการผลิตเซลล์สูงสุด (กรัมเซลล์ต่อลิตร·ชม.)
$P_{E.max}$	อัตราการผลิตเอนไซม์สูงสุด (ยูนิตต่อลิตร·ชม.)
F	อัตราการป้อนสารอาหาร (ลิตรต่อชม.)
D	อัตราการเจือจาง (ต่อชม.)
X_{in} และ X_{out}	ความเข้มข้นของเซลล์ในกระแสป้อน และ กระแสออก (กรัมต่อลิตร)
S_{in} และ S_{out}	ความเข้มข้นของสารอาหารในกระแสป้อน และ กระแสออก (กรัมต่อลิตร)
P_{in} และ P_{out}	ความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ในกระแสป้อน และ กระแสออก (กรัมต่อลิตร)
P และ n	ค่าคงที่

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย