การผลิตเอนไซม์ไซโคลเดกซ์ทรินไกลโคซิลทรานสเฟอเรสในถังหมัก และการตรึงเอนไซม์บนDEAEเซลลูโลส

นางสาว อุไรวรรณ รัชธร

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
พ.ศ. 2536

ISBN 974-582-733-9

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

019659
1171500974

PRODUCTION OF CYCLODEXTRIN GLYCOSYLTRANSFERASE IN A FERMENTER AND ITS IMMOBILIZATION ON DEAE-CELLULOSE

Miss Uraiwan Rutchtorn

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science

Program Biotechnology

Graduate School

Chulalongkorn University

1993

ISBN 974-582-733-9

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การผลิตเอนไซม์ไซโคลเดกซ์ทรินไกลโคซิลทรานสเฟอเรส
ในถังหมักและการตรึงเอนไซม์บนDEAEเซลลูโลส

โดย นางสาว อุไรวรรณ รัชธร
ภาควิชา หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ
อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร. เปี่ยมสุข พงษ์สวัสดิ์
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พีรดา มงคลกุล

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

_____คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(ศาสตราจารย์ ดร.ถาวร วัชราภัย)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

_____ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์)

_____กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. เปี่ยมสุข พงษ์สวัสดิ์)

_____กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พีรดา มงคลกุล)

_____กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. ไพเราะ ปิ่นพานิชการ)

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

อุไรวรรณ รัชธร : การผลิตเอนไซม์ไซโคลเดกซ์ทรินไกลโคซิลทรานส์เฟอเรส์ในถังหมัก และการตรึงเอนไซม์บน DEAE เซลลูโลส์ (PRODUCTION OF CYCLODEXTRIN GLYCOSYLTRANSFERASE IN A FERMENTER AND ITS IMMOBILIZATION ON DEAE-CELLULOSE) อ.ที่ปรึกษา : รศ.ดร.เปี่ยมสุข พงษ์สวัสดิ์, อ.ที่ปรึกษาร่วม : ผศ.ดร.พีรดา มงคลกุล, 96 หน้า, ISBN 974-582-733-9

Bacillus All ผลิตเอนไซม์ไซโคลเดกซ์ทรินไกลโคซิลทรานส์เฟอเรส์ ในปริมาณสูงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Horikoshi ที่มีแป้งข้าวเจ้าเป็นแหล่งอาหารคาร์บอน สภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยง *Bacillus* All ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ที่ทำให้ผลิตเอนไซม์ได้ปริมาณสูงสุดคือ เลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 37 ^{o}ซ. อัตราการป้อนอากาศ 2 ลิตรต่อนาที และอัตราการกวน 300 รอบต่อนาที หลังจาก pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อลดลงประมาณ 1.5-1.6 หน่วยpH *Bacillus* All จะเริ่มมีการเจริญและผลิตเอนไซม์และมีแอคติวิตีสูงสุดเมื่อเซลล์เข้าสู่ช่วงการเจริญคงที่ หลังจาก pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อสูงขึ้นประมาณ 1.0 หน่วยpH รูปแบบการเจริญและการผลิตเอนไซม์นี้คล้ายคลึงกับ *Bacillus circulans* var. *alkalophilus* (ATCC 21783) ซึ่งเป็นสายพันธุ์มาตรฐาน

จากการทดลองพบว่า สามารถตรึงเอนไซม์ไซโคลเดกซ์ทรินไกลโคซิลทรานส์เฟอเรส์บน DEAEเซลลูโลส์ ได้ที่ pH 8.5 ในปริมาณ 500 หน่วยแอคติวิตี/กรัมเรซิน เอนไซม์ที่ถูกตรึงมีสมบัติคล้ายเอนไซม์อิสระคือ มี pH และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเร่งปฏิกิริยาอยู่ที่ pH 7.5 และ 60-70 ^{o}ซ. ตามลำดับ ความเสถียรต่อ pH อยู่ในช่วง 7.5-9.0 และอุณหภูมิถึง 55 ^{o}ซ. สำหรับที่ pH และอุณหภูมิสูงกว่านี้ เอนไซม์ที่ถูกตรึงจะมีความเสถียรมากกว่าเอนไซม์อิสระ การผลิตไซโคลเดกซ์ทรินในถังปฏิกิริยาแบบกวนพบว่า ควรใช้แป้งมีความเข้มข้น 2.5% ถ้าผลิตไซโคลเดกซ์ทรินแบบไม่ต่อเนื่องจะสามารถเปลี่ยนแป้งเป็นไซโคลเดกซ์ทรินได้ 76% ในช่วงเวลา 9 ชั่วโมง และสามารถใช้ซ้ำได้ถึง 6 ครั้งภายใต้สภาวะเดียวกัน ส่วนการผลิตไซโคลเดกซ์ทรินแบบต่อเนื่องโดยให้อัตราการป้อนสับสเตรท 3 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง จะสามารถผลิตไซโคลเดกซ์ทรินได้ 72% เป็นเวลา 3 วัน โดยไม่เสริมยาปฏิชีวนะ แต่จะสามารถผลิตได้นานขึ้นเป็นเวลา 10 วัน เมื่อเสริมด้วย streptomycin sulphate

หอสมุดกลาง จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา เทคโนโลยีชีวภาพ ลายมือชื่อนิสิต อุไรวรรณ รัชธร

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

ปีการศึกษา 2535 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

C326893 : MAJOR BIOTECHNOLOGY
KEY WORD: CYCLODEXTRIN GLYCOSYLTRANSFERASE / CYCLODEXTRIN
URAIWAN RUTCHTORN : PRODUCTION OF CYCLODEXTRIN GLYCOSYLTRANSFERASE IN A FERMENTER AND ITS IMMOBILIZATION ON DEAE-CELLULOSE : THESIS ADVISOR : ASSO. PROF. PIAMSOOK PONGSAWASDI, Ph.D., THESIS CO-ADVISOR: ASSIST. PROF. PEERADA MONGKOLKUL, Ph.D. 96 pp. ISBN 974-582-733-9

Bacillus All was able to produce high amount of cyclodextrin glycosyltransferase (CGTase) in the Horikoshi's medium in which rice flour was used as carbon source. Optimum conditions for culturing *Bacillus* All in a 5-L fermenter were found to be at 37 ^{o}C, agitation speed of 300 rpm and an aeration rate of 2 l/min. The growth dynamic of *Bacillus* All resembled that of *Bacillus circulans* var. *alkalophilus* (ATCC 21783) that during the initial phase the pH decreased sharply by 1.5-1.6 units followed by cell growth and CGTase production. During active cell growth, the pH was recovered by about 1.0 unit and the maximum CGTase activity was detected at stationary phase.

Cyclodextrin glycosyltransferase was immobilized on DEAE- cellulose at pH 8.5. Maximum enzyme bound was 500 units CGTase per g resin. The immobilized enzyme was similar to the free enzyme in terms of their pH and temperature characteristics. The optimum pH was 7.5 and optimum temperature was 60-70 ^{o}C. The pH and thermal stability were 7.5-9.0 and up to 55 ^{o}C, respectively. The appropriate concentration of starch to be fed to the reactor was found to be 2.5%. In batch operation, the immobilized CGTase converted soluble starch to cyclodextrins with a 76% conversion at 40 ^{o}C, pH 8.5 after 9 hr reaction. This enzyme could be repeatedly used for 6 times with the same amount of cyclodextrins produced. Under continuous operation, the immobilized CGTase converted 72% of soluble starch to cyclodextrins employing feed rate of 3 ml soluble starch per hour. The continuous system can be used for 3 days. By supplying streptomycin sulphate, the reactor can be prolonged to 10 days.

ภาควิชา เทคโนโลยีชีวภาพ ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....

ปีการศึกษา 2535 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความแนะนำอย่างดียิ่งจาก รองศาสตราจารย์ ดร. เปี่ยมสุข พงษ์สวัสดิ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พีรดา มงคลกุล ที่ให้คำปรึกษาและแนะแนวทางการวิจัยมาด้วยดีตลอด ตลอดจนช่วยแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น จึงขอกราบขอบพระคุณมา ณ ที่นี้

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์ ที่ได้กรุณาเป็นประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และ รองศาสตราจารย์ ดร. ไพเราะ ปิ่นพานิชการ ที่ได้กรุณารับเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ส่งศรี กุลปรีชา ภาควิชาจุลชีววิทยา ที่กรุณาให้คำแนะนำในการใช้อุปกรณ์ถังหมัก

ขอขอบพระคุณ อาจารย์ทุกท่านที่กรุณาให้คำแนะนำทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ บัณฑิตวิทยาลัย สำหรับความอนุเคราะห์ด้านทุนวิจัยและบริษัท ไทยวา จำกัด สำหรับการสนับสนุนทุนวิจัยบางส่วนผ่านฝ่ายวิจัยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ขอขอบพระคุณภาควิชาชีวเคมี สำหรับสถานที่ในการทำวิจัยนี้

ขอขอบคุณ คุณสราวุธ วัฒนาศิริตระกูล และนิสิตปริญญาโทเทคโนโลยีชีวภาพและชีวเคมีทุกท่าน สำหรับกำลังใจ และคำปรึกษาตลอดจนความช่วยเหลือเป็นอย่างดีตลอดการวิจัย

ท้ายนี้ ขอกราบขอบพระคุณ บิดา-มารดา และพี่ทุก ๆ คน ที่ให้การสนับสนุนในด้านการเงินและให้กำลังใจแก่ผู้วิจัยเสมอมาจนสำเร็จการศึกษา

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... จ

กิตติกรรมประกาศ..... ฉ

สารบัญตารางประกอบ..... ฎ

สารบัญรูปประกอบ..... ฎ

คำย่อ..... ฑ

บทที่

1. บทนำ..... 1

2. วิธีทดลอง..... 14

2.1 เครื่องมือ..... 14

2.2 เคมีภัณฑ์..... 15

2.3 แบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง..... 15

2.4 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย

2.4.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ Medium I..... 16

2.4.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ Medium II..... 16

2.4.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ Horikoshi..... 16

2.5 การเตรียมสารละลาย

2.5.1 สารละลายสำหรับหาแอคติวิตีของเอนไซม์ CGTase..... 16

2.5.2 สารละลายสำหรับหาโปรตีน..... 17

2.5.3 สารละลายสำหรับหา DNA..... 17

2.6 การเก็บรักษาจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง

2.6.1 การเก็บรักษาระยะสั้น..... 17

2.6.2 การเก็บรักษาระยะยาว..... 18

2.7 การเลี้ยงเชื้อและศึกษาการเจริญของจุลินทรีย์

2.7.1 การเตรียมเชื้อตั้งต้น..... 18

2.7.2 การเพาะและติดตามการเจริญของจุลินทรีย์ในขวดเขย่ารูปชมพู่.. 18
2.8 การปรับสูตรอาหารให้เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์ CGTase ในปริมาณสูง..... 18
2.9 การเพาะและติดตามการเจริญของจุลินทรีย์ในถังหมักขนาด 5 ลิตร..... 19
2.10 การวัดแอคติวิตีของเอนไซม์ CGTase
2.10.1 Dextrinizing activity (Iodine method)..... 19
2.10.2 Cyclodextrin-trichloroethylene assay..... 19
2.10.3 การวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ไซโคลเดกซ์ทรินโดยวิธี HPLC..... 21
2.11 การวัดปริมาณโปรตีนโดยวิธี Bradford..... 22
2.12 การวัดปริมาณ DNA..... 22
2.13 การทำเอนไซม์ CGTase บริสุทธิ์บางส่วน..... 22
2.14 การตกตะกอนเอนไซม์
2.14.1 การเตรียม DEAE-cellulose..... 23
2.14.3 การตกตะกอนเอนไซม์..... 23
2.15 การผลิตไซโคลเดกซ์ทรินในถังปฏิกิริยาแบบกวนแบบไม่ต่อเนื่อง..... 23
2.16 การผลิตไซโคลเดกซ์ทรินในถังปฏิกิริยาแบบกวนแบบต่อเนื่อง
2.16.1 การหาความเข้มข้นของสับสเตรทที่เหมาะสมต่อการผลิตไซโคลเดกซ์ทรินแบบต่อเนื่อง..... 26
2.16.2 การหาอัตราการป้อนสับสเตรทที่เหมาะสมต่อการผลิตไซโคลเดกซ์ทรินแบบต่อเนื่อง..... 26
3. ผลการทดลอง
3.1 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์ CGTase ของ *Bacillus* A11 ในขวดเขย่า
3.1.1 ผลการเปรียบเทียบชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ..... 28
3.1.2 ผลการเปรียบเทียบชนิดของแป้ง..... 28
3.1.3 ผลของความเข้มข้นของโซเดียมคาร์บอเนตที่เสริมในอาหารเลี้ยงเชื้อ..... 31

3.2 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญและการผลิตเอนไซม์ CGTase ของ *Bacillus* A11 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร

3.2.1 ผลของอัตราการป้อนอากาศ..... 31

3.2.2 ผลของอัตราเร็วในการกวน..... 35

3.2.3 รูปแบบการเปลี่ยน pH การเจริญและการผลิตเอนไซม์ CGTase..... 35

3.2.4 ผลการศึกษาและเปรียบเทียบการเจริญและการผลิตเอนไซม์ CGTase ของ *Bacillus* A11 และ *Bacillus circulans* var. *alkalophilus* ในถังหมักขนาด 5 ลิตร..... 35

3.3 การทำให้เอนไซม์ CGTase จาก *Bacillus* A11 บริสุทธิ์บางส่วน.... 38

3.4 การตรึงเอนไซม์ CGTase

3.4.1 ผลของแคลเซียมคลอไรด์ต่อการตรึงเอนไซม์..... 38

3.4.2 ผลของแคลเซียมคลอไรด์ต่อความเสถียรของเอนไซม์ CGTase.. 42

3.4.3 ผลการศึกษาปริมาณเอนไซม์ CGTase ที่เหมาะสมสำหรับการตรึงบน DEAE-cellulose..... 45

3.5 การศึกษาเปรียบเทียบสมบัติของเอนไซม์ CGTase อิสระและที่ถูกตรึง

3.5.1 ผลของ pH ต่อความเสถียรของเอนไซม์ CGTase อิสระและที่ถูกตรึง..... 45

3.5.2 ผลของ pH ต่อแอคติวิตีของเอนไซม์ CGTase อิสระและที่ถูกตรึง..... 45

3.5.3 ผลของอุณหภูมิต่อความเสถียรของเอนไซม์ CGTase อิสระและที่ถูกตรึง..... 48

3.5.4 ผลของอุณหภูมิต่อแอคติวิตีของเอนไซม์ CGTase อิสระและที่ถูกตรึง..... 48

3.6 ผลการศึกษาการผลิตไซโคลเดกซ์ทรินของเอนไซม์ CGTase ที่ถูกตรึงในถังปฏิกิริยาแบบไม่ต่อเนื่อง

3.6.1 ผลการศึกษาการผลิตไซโคลเดกซ์ทรินในถังปฏิกิริยาแบบ

ไม่ต่อเนื่อง..... 48

3.6.2 ผลการศึกษาความเสถียรของเอนไซม์ CGTase ที่ถูกตรึง เมื่อนำมาผลิตไซโคลเดกซ์ทรินซ้ำหลาย ๆ ครั้ง..... 52

3.7 ผลการศึกษาการผลิตไซโคลเดกซ์ทรินของเอนไซม์ CGTase ที่ถูกตรึงในถังปฏิกิริยาแบบต่อเนื่อง

3.7.1 ผลของความเข้มข้นของสับสเตรทต่อการผลิตไซโคลเดกซ์ทรินของเอนไซม์ CGTase ในถังปฏิกิริยาแบบต่อเนื่อง..... 52

3.7.2 ผลของอัตราเร็วในการป้อนสับสเตรทต่อการผลิตไซโคลเดกซ์ทรินของเอนไซม์ CGTase ที่ถูกตรึง..... 55

3.7.3 ผลการศึกษาประสิทธิภาพของเอนไซม์ CGTase ที่ถูกตรึงเมื่อผลิตไซโคลเดกซ์ทรินแบบต่อเนื่องติดต่อกันเป็นเวลานาน.... 55

4. สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง..... 61

เอกสารอ้างอิง..... 72

ภาคผนวก..... 78

ประวัติผู้เขียน..... 96

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1.1	สมบัติบางประการของไซโคลเดกซ์ทริน	3
1.2	ปริมาณการใช้ไซโคลเดกซ์ทรินในตลาดโลก	5
1.3	สมบัติบางประการของเอนไซม์ CGTase	7
1.4	เปรียบเทียบคุณสมบัติของวิธีตรึงเอนไซม์แต่ละวิธี	10
1.5	สมบัติของเอนไซม์ CGTase จาก *Bacillus* sp. No 38-2 เปรียบเทียบระหว่างเอนไซม์อิสระกับเอนไซม์ที่ถูกตรึง	13
3.1	สรุปผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์ CGTase ของ *Bacillus* A11	33
3.2	ผลของอัตราการป้อนอากาศต่อการเจริญและการผลิตเอนไซม์ CGTase ของ *Bacillus* A11 เมื่อเลี้ยงในถังหมักขนาด 5 ลิตร ใน Horikoshi's medium ที่อุณหภูมิ 37°ซ เป็นเวลา 3 วัน โดยให้อัตราเร็วในการกวนเป็น 400 รอบต่อนาที	34
3.3	ผลของอัตราเร็วในการกวนต่อการเจริญและการผลิตเอนไซม์ CGTase ของ *Bacillus* A11 เมื่อเจริญในสภาวะเดียวกับตารางที่ 3.2 โดยให้อัตราการป้อนอากาศเป็น 2 ลิตรต่อนาที	36
3.4	เปรียบเทียบการเจริญและการผลิตเอนไซม์ CGTase ของ *Bacillus* A11 และ B. circulans ATCC 21783 เมื่อเลี้ยงในถังหมักขนาด 5 ลิตร สภาวะเช่นเดียวกับรูป 3.4	39
3.5	สรุปผลการทำให้เอนไซม์ CGTase บริสุทธิ์บางส่วนตามขั้นตอนต่าง ๆ	41
3.6	ผลของความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์ต่อการตรึงเอนไซม์ CGTase บน DEAE-cellulose	43

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1.1	โครงสร้างของไซโคลเดกซ์ทรินและโพรงว่างภายในโมเลกุล.....	2
2.1	การผลิตเอนไซม์ CGTase ในถังหมักขนาด 5 ลิตร.....	20
2.2	แผนภาพขั้นตอนการทำเอนไซม์ให้บริสุทธิ์บางส่วน.....	24
2.3	แสดงถังปฏิกิริยาแบบกวนขนาด 80 มิลลิลิตร.....	25
2.4	การผลิตไซโคลเดกซ์ทรินในถังปฏิกิริยาแบบกวน.....	27
3.1	เปรียบเทียบ Dextrinizing และ CD-forming activity ของ *Bacillus* A11 เมื่อเลี้ยงใน Medium II และ Horikoshi's medium ที่อุณหภูมิ 37°ซ.....	29
3.2	เปรียบเทียบ Dextrinizing และ CD-forming activity ของ *Bacillus* A11 เมื่อเลี้ยงใน และ Horikoshi's medium ที่มี 1% แป้งข้าวเจ้าและ soluble starch เป็นส่วนประกอบ.....	30
3.3	เปรียบเทียบ Dextrinizing และ CD-forming activity ของ *Bacillus* A11 เมื่อเลี้ยงใน Horikoshi's medium ที่เสริมด้วย โซเดียมคาร์บอเนตเข้มข้นตั้งแต่ 0.5-1.0 %.....	32
3.4	รูปแบบการเจริญและการผลิตเอนไซม์ CGTase ของ *Bacillus* A11 เมื่อเจริญในถังหมักขนาด 5 ลิตร.....	37
3.5	รูปแบบการเจริญและการผลิตเอนไซม์ CGTase ของ *B.circulans* ATCC 21783 เมื่อเจริญในถังหมักขนาด 5 ลิตร.....	40
3.6	ผลของแคลเซียมคลอไรด์ต่อความเสถียรของเอนไซม์ CGTase.....	44
3.7	ความสามารถในการดึงเอนไซม์ CGTase ของ DEAE-cellulose...	46
3.8	ผลของ pH ต่อความเสถียรของเอนไซม์ CGTase อิสระและที่ถูกดึง...	47
3.9	ผลของ pH ต่อแอคติวิตีของเอนไซม์ CGTase อิสระและที่ถูกดึง.....	49
3.10	ผลของอุณหภูมิต่อความเสถียรของเอนไซม์ CGTase อิสระและที่ถูกดึง..	50
3.11	ผลของอุณหภูมิต่อแอคติวิตีของเอนไซม์ CGTase อิสระและที่ถูกดึง.....	51

3.12 ผลการผลิตไซโคลเดกซ์ทรินของเอนไซม์ CGTase ที่ถูกตรึง ในถัง
ปฏิกิริยาแบบไม่ต่อเนื่อง.....53
3.13 ผลการศึกษาความเสถียรของเอนไซม์ CGTase ที่ถูกตรึง เมื่อถูกใช้
ซ้ำหลายครั้งในถังปฏิกิริยาแบบไม่ต่อเนื่อง.....54
3.14 ผลการผลิตไซโคลเดกซ์ทรินของเอนไซม์ CGTase ที่ถูกตรึงในถัง
ปฏิกิริยาแบบต่อเนื่อง.....56
3.15 ผลของอัตราเร็วในการป้อนสับสเตรทต่อการผลิตไซโคลเดกซ์ทริน
ของเอนไซม์ CGTase ที่ถูกตรึง.....57
3.16 ผลการศึกษาความเสถียรของเอนไซม์ CGTase ที่ถูกตรึงต่อการผลิต
ไซโคลเดกซ์ทรินในถังปฏิกิริยาแบบต่อเนื่อง.....59
3.17 ผลการศึกษาความเสถียรของเอนไซม์ CGTase ที่ถูกตรึงต่อการผลิต
ไซโคลเดกซ์ทรินแบบต่อเนื่องเมื่อเติม streptomycin sulphate....60

คำย่อ

°ซ	=	องศาเซลเซียส
CD	=	Cyclodextrin
CGTase	=	Cyclodextrin Glycosyltransferase
HPLC	=	High Performance Liquid Chromatography
µl	=	Microlitre
ml	=	Millilitre
µg	=	Microgram
mg	=	Milligram
g	=	gram
mM	=	Millimolar
M	=	Molar
w/v	=	weight by volume
A	=	Absorbance
BSA	=	Bovine Serum Albumin
DNA	=	Deoxyribonucleic acid