

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

- กล้าณรงค์ ศรีรอด และ เกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ. 2543. เทคโนโลยีของแป้ง. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- จรัญ จันทลักษณ์. 2527. สถิติวิเคราะห์และวางแผนงานวิจัย. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ ไทยวัฒนาพานิชย์ จำกัด. หน้า 109-110.
- โชติรส พัทยาภรณ์ และ มาลี เจริญวิทย์วรกุล. 2531. การเปลี่ยนแป้งให้เป็นไซโคลเดกซ์ทริน. โครงการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ ภาววิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- นารณารีย์ รัฐปต์ย์. 2539. ผลของคาร์โบไฮเดรตบางชนิดต่อการเหนี่ยวนำเอนไซม์ไซโคลเดกซ์ทรินไกลโคซิลทรานสเฟอเรส โดย Bacillus sp. A11. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาชีวเคมี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- เปี่ยมสุข พงษ์สวัสดิ์. ไซโคลเดกซ์ทริน:ผลิตภัณฑ์แห่งทศวรรษ 1990. เอกสารประกอบการประชุมเชิงปฏิบัติการ เรื่อง คาร์โบไฮเดรต:ปัจจุบันและอนาคต ณ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร วันที่ 8-10 พฤษภาคม 2539, หน้า 81-91.
- วรางคณา สงวนพงษ์. 2540. การผลิตและการตรึงเอนไซม์ไซโคลเดกซ์ทรินไกลโคซิลทรานสเฟอเรส. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยมหิดล, หน้า 48-80
- วัลยา เดชชัยกุล. 2533. การผลิตและการศึกษาสมบัติของเอนไซม์ไซโคลเดกซ์ทรินไกลูคาโนทรานสเฟอเรสจาก Bacillus sp. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาชีวเคมี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- สุรศักดิ์ ละลอกน้ำ. 2540. การตรวจหาเอ็นของไซโคลเดกซ์ทรินไกลูคาโนทรานสเฟอเรส โดยตัวติดตาม ชนิดโอลิโกนิวคลีโอไทด์สังเคราะห์. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขา ชีวเคมี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- อรุณี ตริศิริโรจน์. 2537. การผลิตเอนไซม์ Cyclodextrin Glycosyltransferase โดยเชื้อ Bacillus sp. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.
- อุไรวรรณ รัชธร. 2535. การผลิตเอนไซม์ไซโคลเดกซ์ทรินไกลโคซิลทรานสเฟอเรสในถังหมักและการตรึงเอนไซม์บน DEAE เซลลูโลส. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ภาษาอังกฤษ

- Abelian, V. A., Yamamoto, T., and Afrikan, E. G. 1994. Isolation and characterization of cyclomalto-dextrin glucoamylase by cyclodextrin polymers and their derivatives. Biokhimiya. 59: 778-787. (in Russian)
- Abelian, V. A., Adamian, M. O., Abelian L. A., Balayan, A. M., and Afrikan, E. K. 1995. A new cyclomalto-dextrin glucoamylase from halophilic *Bacillus*. Biokhimiya. 60: 891-897. (in Russian)
- Bailey, E. J., and Ollis, F. D. 1986. Biochemical Engineering Fundamentals. Singapore: McGraw-Hill Book Co.
- Bander, H. 1986. Advances in Biotechnological Processes. New York: Academic Press: 31-71.
- Bellgardt, K.H. 1991. Biotechnology Volume 4 Measuring, Modelling, and control (Edited by Rehm, H.-J., and Reed, G.). 2nd ed. Germany: VCH Verlagsgesellschaft mbH.
- Contois, D. E. 1959. Kinetics of bacterial growth: Relationship between population density and specific growth rate of continuous culture. J. Gen Microbiol. 21: 40.
- DePinto, J. A., and Campbell, L. L. 1968. Purification and properties of the amylase of *Bacillus macerans*. Biochemistry. 7: 114-120.
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., and Smith, F. 1956. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. Analytical Chemistry. 28: 350-356.
- Edwards, V. H. 1970. The Influence of High Substrate Concentrations on Microbial Kinetics. Biotechnol. Bioeng. 12: 679-712.
- Englbrecht, A., Harrer, G., Lebert, M., and Schmid, G. 1990. In Minutes Fifth Int. symp. Cyclodextrins, (Duchene. K., ed.) Editions de Sante, Paris.
- Englezos, P., and Kalogerakis, N. Applied Parameter Estimation for Chemical Engineering. New York: Marcel Dekker Inc.
- Esener, A. A., Roels, J. A., and Kossen, N. W. F. 1983. Theory and Application of Unstructured Growth Models: Kinetic and Energetic Aspects. Biotechnol. Bioeng. 25: 2803-2841.

- Fujita, Y., Tsubouchi, H., Inagi, Y., Tomita, K., Ozaki, A., and Nakanishi, K. 1990. Purification and Properties of cyclodextrin glycosyltransferase from *Bacillus sp.* AL-6. J. Ferment. Bioeng. 70: 150-154.
- Gawande, N. B., Singh, K. R., Chauhan, K. A., Goel, A., and Patkar, Y. A. 1998. Optimization of cyclomaltodextrin glucanotransferase production from *B. firmus*. Enzyme Microb. Technol. 22: 288-291.
- Gawandee, B. N., and Patkar, A. Y. 1999. Application of Factorial Designs for Optimization of Cyclodextrin Glycosyltransferase Production from *Klebsiella pneumoniae pneumoniae* AS-22. Biotechnol. Bioeng. 64: 168-173.
- Goel, A., and Nene, S. 1995a. A Novel Cyclomaltodextrin Glucanotransferase form *Bacillus firmus* that Degrades Raw Starch. Biotechnol Lett. 17: 411-416.
- Goel, A., and Nene, S. 1995b. Modifications in the Phenolphthalein Method for Spectrophotometric Estimation of Beta Cyclodextrin. Starch/Starke. 47: 399-400.
- Imanaka, T., and Aiba, S. 1977. A Kinetic Model of Catabolite Repression in the Dual control Mechanism in Microorganisms. Biotechnol. Bioeng. 14: 757-763.
- Jamuna, R., Saswathi, N., Sheela, R., and Ramakrishna, S. V. 1993. Synthesis of Cyclodextrin Glycosyltransferase by *Bacillus cereus* for the Production of Cyclodextrins. Appl. Biochem. Biotech. 43: 163-176.
- Kabaivanova, L., Dobрева, E., and Miteva, V. 1999. Production of α -cyclodextrin glucosyltransferase by *Bacillus stearotherophilus* R2 strain isolated form a Bulgarian hot spring. J. Appl. Microbiol. no. 86: 1017-1023.
- Kitahata, S., and Okada S. 1974. Action of cyclodextrin glycosyltransferase from *Bacillus megaterium* strain No. 5 on starch. Agric. Bio. Chem. 38: 2413-2417.
- Kitahata, S., Tsuyama, N., and Okada, S. 1974. Purification and some properties of cyclodextrin glycosyltransferase form a strain of *Bacillus species*. Agric. Biol. Chem. 38: 387-393.
- Lee, J., Choi, K., Choi, J., Lee Y., Kwon, I., and Yu, J. 1992. Enzymatic production of α -cyclodextrin with the cyclomaltodextrin glucanotransferase of *Klebsiella oxytoca* 19-1. Enzyme Microb. Technol. 14: 1017-1020.
- Ledeking, R., and Piret, I. L. 1959. A kinetic study of the lactic acid fermentation. Batch process at controlled pH. J. Biochem. Microbial. Technol. and Eng. 1: 393.

- Makela, J. M., Paavilainen, K. S., and Korpela, K. T. 1990. Growth dynamics of Cyclomaltodextrin glucanotransferase producing *Bacillus circulans* var. alkalophilus. Can. J. Microbiol. 36: 176-182.
- Mason, T. J., and Milles, N. F. 1976. Growth kinetics of yeast grown on glucose of hexadecan. Biotechnol. Bioeng. 18: 1337.
- Moser, A. 1958. The dynamics of bacterial populations maintained in the chemostat. Carnegie Institution Publication. No. 614. Washington, DC.
- Mori, S., Mase, T., and Ohya, T. 1994. Novel cyclodextrin glucanotransferase, process for producing the same and process for producing cyclodextrin using the same. European Patent 0 614 971.
- Nakamura, N., and Horikoshi, K. 1976. Characterization and Some Cultural Conditions of a Cyclodextrin Glycosyltransferase-producing Alkalophilic *Bacillus* sp. Agr. Biol. Chem. 40: 753-757.
- Nielsen, J. E., and Borchert, T. V. 2000. Protein engineering of bacterial α -amylases. Biochimica et Biophysica Acta. 1543: 253-274.
- Pazlarova, J., Baig, M. A., and Votruba, J. 1984. Kinetics of α -amylase production in a batch and fed-batch culture of *Bacillus subtilis* with Caseinate as nitrogen source and starch as carbon source. Appl. Microbiol. Biotechnol. 20: 331-334
- Pearl, R. and Reed, L. J. 1920. Growth equation with inhibition factor leading to logistic equation. Proc. Natl. Acad. Sci. 6: 275.
- Pongsawasdi, P, and Yagissawa, M. 1987. Screening and Identification of a Cyclomaltodextrin Glucanotransferase Producing Bacteria. J. Ferment. Technol. 65: 463-467.
- Powel, E. O. 1967. Proc. Microbial Physiology and Continuous Culture, Third Int. Symposium (Powel, E. O., Ed.), London: H. M. S. O. : 34.
- Ramakrishna, V. S., Saswathi, N., Sheela, R., and Jamuna, R. 1994. Evaluation of solid, slurry, and submerged fermentations for the production of cyclodextrin glycosyltransferase by *Bacillus cereus*. Enzyme Microb. Technol. 16: 441-444.
- Richardson, J. F., and Peacock, D. G. 1994. Chemical Engineering Volume 3 (Chemical & Biochemical Reactors & Process Control). 3rd ed. U. K.: Pergamon.

- Roychoudhury, S., Parulekar, S. J., and Weigand, W. A. 1989. Cell Growth and α -Amylase Production Characteristics of *Bacillus amyloliquefaciens*. Biotechnol. Bioeng. 33: 197-206.
- Sabioni, G. J., and Park, K. Y. 1992. Production and Characterization of Cyclodextrin Glycosyltransferase from *Bacillus lentus*. starch/starke. No. 44: 255-229.
- Scragg., A. 1988. Biotechnology for Engineers. England: Ellis Horwook Limited.
- Shuler, M. L., and Kargi F. 1992. Bioprocess Engineering. New Jersey: Printice-Hall, Inc.
- Sin, K. A., Nakamura, A., Kobayashi, K., Masaki, H., and Uozumi, T. 1991. Cloning and sequencing of a cyclodextrin glucosyltransferase gene form *Bacillus ohbensis* and its expression in *Escherichia coli*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 35: 600-605.
- Singleton, P. and Sainsbury, D. 1978. Dictionary of Microbiology and Molecular Biology. 2^{ed} ed. A Wiley-Interscience Publication.: 231-233.
- Sirisansaneeyakul, S., Pornpakdeetewakul, P., and Varavinit, S. 1996. Production of Cyclodextrin Glycosyltransferase from *Bacillus sp.* Annual Reports of IC Biotech. 19: 337-616.
- Tan, Y., Wang, Z., Schneider, R. P., and Marshall, K. C. 1994. Modeling microbial growth: A statistical thermodynamic approach. J. Biotechnol. 32: 97-106.
- Tonkava, A. 1998. Bacterial cyclodextrin gluconotransferase. Enzyme Microb. Technol. No. 22: 678-686.
- van der Veen, B. A., Uitdehaag, J. C.M., Dijkstra, B. W., and Dijkhuizen, L. 2000. Engineering of cyclodextrin glycosyltransferase reaction and product specificity. Biochimica et Biophysica Acta.1543: 336-360.
- Vavilin, V. A. 1982. The theory and design of aerobic biological treatment. Biotechnol. Bioeng. 24:1721.
- Wind, R. D., Liebl, W., Buitelaar, R. M., Penninga, D., Spreinat, A., Kijkhuizen, L, and Bahl, H. 1995. Cyclodextrin formation by the thermostable α -Amylase of *Thermoanaerobacterium thermosulfurigenes* EM1 and reclassification of the enzyme as a cyclodextrin glycosyltransferase. Appl. Environ. Microbiol. 61: 1257-1265.
- Yoo, Y. J., Cadman, T. W., Hong, J., and Hatch, R. T. 1988. Fed-Batch Fermentation for the Production of α -Amylase by *Bacillus Amyloliquefaciens*. Biotechnol. and Bioeng. 31: 426-432.

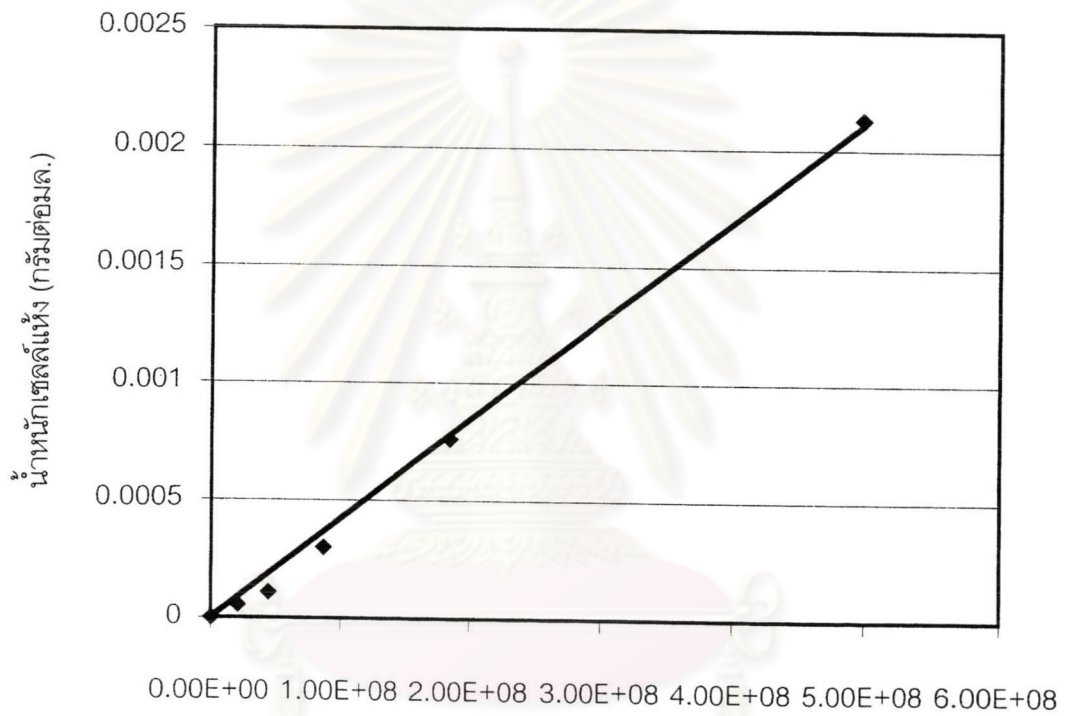


ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



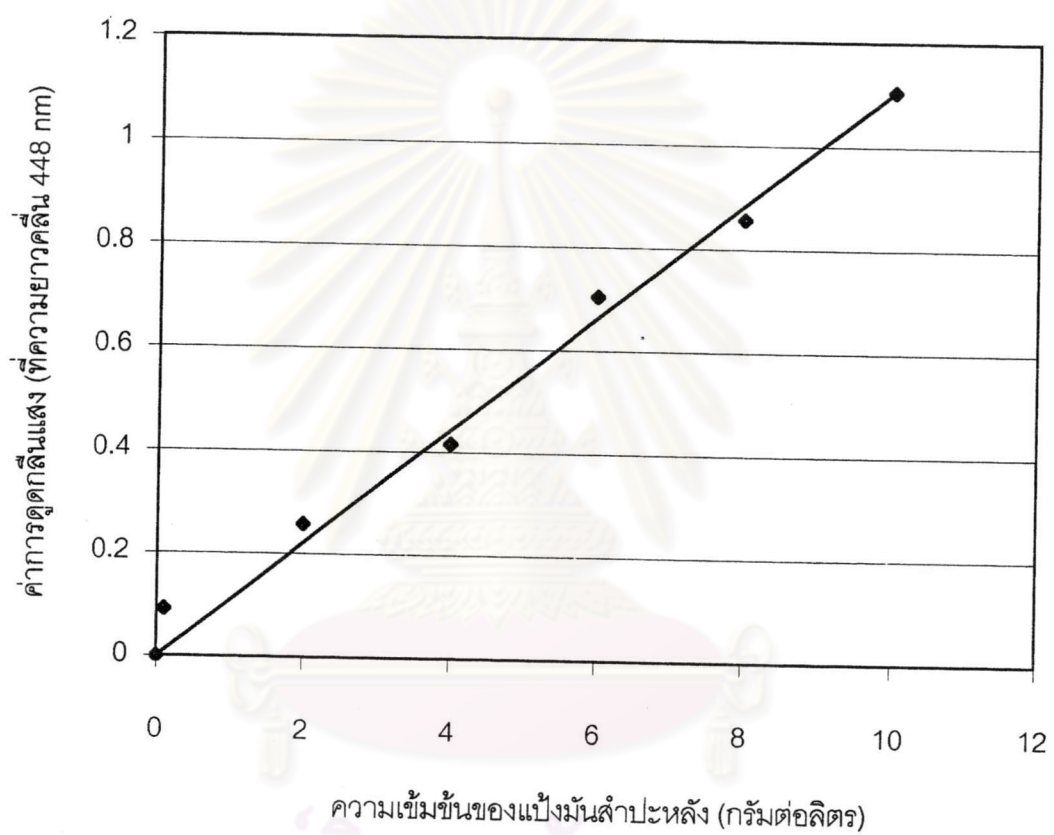
ภาคผนวก ก
กราฟมาตรฐาน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

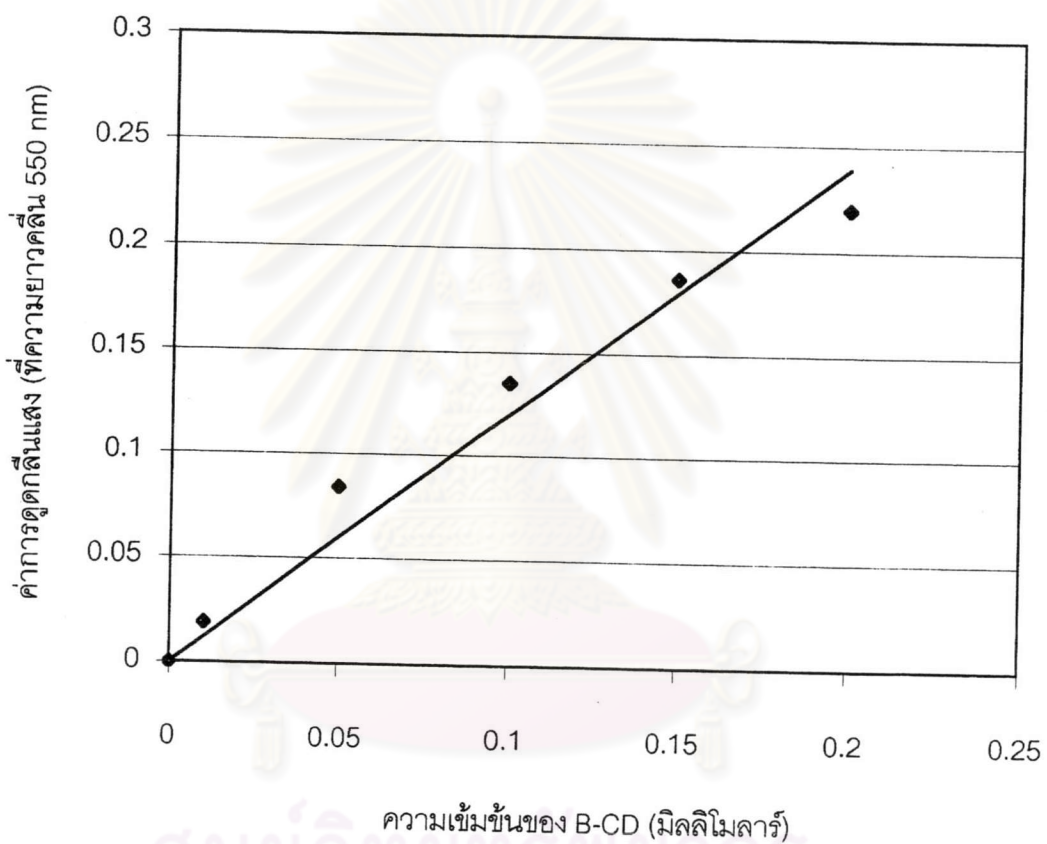


รูป ก1 กราฟมาตรฐานสำหรับหาน้ำหนักเชลล์แห้ง $y = 4E-12x$

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ ก2 กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณน้ำมันสำหรับหาล้าง $y = 0.1106x$



รูป ก3 กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณ B-CD $y = 1.1956x$

ศูนย์วิทยุโทรพยาธิกร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ศูนย์วิจัยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตาราง ข.1 ผลการทดลองเพาะเลี้ยงเชื้อ *Bacillus circulans* ATCC 9995 ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ
pH เริ่มต้น 8 ความเร็วรอบในการกวน 280 รอบต่อนาที เมื่อเลี้ยงหัวเชื้อตั้งต้นในอาหารนิวเทรียนบรอก

เวลา (ชม.)	pH	ไม่ควบคุมพีเอช		
		ปริมาณเซลล์ (เซลล์ต่อมล.)	ปริมาณแป้ง (กรัมต่อลิตร)	กิจกรรมของเอนไซม์ (ยูนิตต่อมล.)
0	8	2.80E+07	8.42	0.00
3	8	2.64E+07	9.88	0.00
6	7.95	4.84E+07	9.05	0.00
9	7.89	4.60E+07	9.79	0.00
12	7.77	4.60E+07	9.53	0.00
15	7.29	8.70E+07	9.14	0.00
18	7.23	1.31E+08	8.42	0.30
21	7.45	6.48E+08	8.15	0.51
24	7.08	9.72E+08	6.39	0.61
27	6.53	6.84E+08	4.74	0.60
30	6.74	7.04E+08	2.62	0.50
33	7.76	6.76E+08	1.91	0.58
36	8.08	7.12E+08	1.91	0.57
39	8.31	6.80E+08	1.74	0.57
42	8.43	5.32E+08	1.78	0.71
45	8.55	7.52E+08	1.90	0.68
48	8.57	7.76E+08	1.98	0.63

หมายเหตุ: ค่าความเข้มข้นของแป้งที่รายงานในภาคผนวกทั้งหมดเป็นค่าที่ยังไม่ได้หักลบปริมาณน้ำตาลจาก
corn steep liquor (CSL)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตาราง ข.2 ผลการทดลองเพาะเลี้ยงเชื้อ *Bacillus circulans* ATCC 9995 ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ
pH เริ่มต้น 8 ความเร็วรอบในการกวน 280 รอบต่อนาที

เวลา (ชม.)	ควบคุมพีเอช			เวลา (ชม.)	ไม่ควบคุมพีเอช			
	ปริมาณเซลล์ (เซลล์ต่อมล.)	ปริมาณแป้ง (กรัมต่อลิตร)	กิจกรรมของเอนไซม์ (ยูนิตต่อมล.)		pH	ปริมาณเซลล์ (เซลล์ต่อมล.)	ปริมาณแป้ง (กรัมต่อลิตร)	กิจกรรมของเอนไซม์ (ยูนิตต่อมล.)
0	6.84E+07	7.90	0.29	0	7.85	6.72E+07	9.315	0.38
3	8.52E+07	8.15	0.30	2	7.63	7.48E+07	9.18	0.43
6	1.00E+08	9.08	0.42	4	7.18	1.33E+08	8.9145	0.65
9	1.46E+08	8.69	0.52	6	6.77	2.62E+08	8.4825	1.00
12	1.82E+08	7.88	0.59	8	6.04	6.52E+08	6.9435	1.48
15	1.82E+08	7.82	0.56	10	5.85	5.72E+08	6.4215	1.57
18	2.26E+08	7.65	0.62	12	5.78	5.12E+08	6.2235	1.70
21	2.60E+08	6.28	0.63	14	5.76	6.12E+08	5.8185	1.37
24	2.92E+08	6.55	0.68	16	5.76	6.32E+08	5.445	1.44
27	3.96E+08	6.32	0.73	18	5.77	5.72E+08	5.3865	1.36
30	3.60E+08	6.34	0.78	20	5.77	6.28E+08	5.1255	1.32
33	4.00E+08	6.45	0.76	22	5.77	6.16E+08	4.7925	1.34
36	2.52E+08	5.81	0.71	24	5.8	6.72E+08	4.7655	1.31
39	2.52E+08	5.86	0.77	26	5.86	7.20E+08	4.5585	1.40
42	1.64E+08	5.48	0.67	28	6.05	6.04E+08	4.104	1.47
45	2.72E+08	5.36	0.69	30	6.23	5.88E+08	3.3345	1.20
48	2.48E+08	4.84	0.61	32	6.17	6.16E+08	3.0015	1.23
51	3.00E+08	3.62	0.61	34	6.11	6.64E+08	2.664	1.48
54	2.72E+08	3.35	0.66					

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตาราง ข.3 ผลการทดลองเพาะเลี้ยงเชื้อ *Bacillus circulans* ATCC 9995 ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ

pH เริ่มต้น 8 ไม่ควบคุมพีเอช ที่ความเร็วยกต่างกันได้

เวลา (ชม.)	ความเร็วยกในภากรวน 400 รอบต่อนาที				ความเร็วยกในภากรวน 560 รอบต่อนาที			
	pH	ปริมาณเซลล์ (เซลล์ต่อมล.)	ปริมาณแป้ง (กรัมต่อลิตร)	กิจกรรมของเอนไซม์ (ยูนิตต่อมล.)	pH	ปริมาณเซลล์ (เซลล์ต่อมล.)	ปริมาณแป้ง (กรัมต่อลิตร)	กิจกรรมของเอนไซม์ (ยูนิตต่อมล.)
0	7.99	7.16E+07	9.67	0.35	7.84	6.96E+07	10.34	0.42
2	7.68	1.01E+08	9.48	0.40	7.36	1.35E+08	10.01	0.56
4	7.41	1.41E+08	8.99	0.56	7.29	1.62E+08	9.74	0.85
6	7.16	2.96E+08	8.79	1.16	7.09	3.76E+08	8.65	1.21
8	6.73	7.36E+08	7.08	1.78	7.03	5.80E+08	7.72	1.61
10	5.76	1.46E+09	4.05	2.44	6.8	1.44E+09	4.81	2.12
12	5.74	1.22E+09	2.34	2.43	6.35	1.47E+09	3.06	2.45
14	5.78	1.21E+09	1.52	2.22	6.64	1.13E+09	1.65	2.13
16	6.66	1.20E+09	1.12	2.60	6.87	1.26E+09	1.23	2.29
18	6.85	1.46E+09	0.94	2.68	7.35	1.61E+09	1.23	2.44
20	6.94	1.31E+09	0.95	2.78	7.93	1.68E+09	1.11	2.50
22	7.04	1.22E+09	0.82	2.67	8.28	1.40E+09	1.04	2.55
24	7.3	1.02E+09	0.81	2.87	8.63	1.38E+09	1.10	2.67
26	7.63	1.24E+09	0.87	2.77	-	1.11E+09	1.04	2.82
28	8.03	1.20E+09	0.77	2.73	-	9.68E+08	1.06	2.79
30	8.14	1.08E+09	0.85	2.74				

ตาราง ข.4 ผลการทดลองเพาะเลี้ยงเชื้อ *Bacillus circulans* ATCC 9995 ในขวดเยาะ

pH เริ่มต้น 8 ความเข้มข้นของแคลเซียมคาร์บอเนต ต่างกัน

เวลา (ชม.)	0.25%				0.50%				0.75%			
	pH	ปริมาณเซลล์ (เซลล์ต่อมล.)	ปริมาณแบ่ง (กรัมต่อลิตร)	กิจกรรมของเอนไซม์ (ยูนิต์ต่อมล.)	pH	ปริมาณเซลล์ (เซลล์ต่อมล.)	ปริมาณแบ่ง (กรัมต่อลิตร)	กิจกรรมของเอนไซม์ (ยูนิต์ต่อมล.)	pH	ปริมาณเซลล์ (เซลล์ต่อมล.)	ปริมาณแบ่ง (กรัมต่อลิตร)	กิจกรรมของเอนไซม์ (ยูนิต์ต่อมล.)
0	7.89	3.12E+07	7.75	0.00	7.6	3.00E+07	8.28	0.00	7.84	2.60E+07	7.77	0.00
3	7.29	5.56E+07	7.99	0.00	7.6	3.60E+07	8.34	0.00	7.74	5.44E+07	8.08	0.00
6	6.81	1.22E+08	9.04	0.00	7.18	8.72E+07	8.08	0.00	7.14	9.70E+07	8.31	0.00
9	6.87	2.54E+08	7.82	0.68	7	1.60E+08	8.61	0.49	6.84	2.64E+08	8.29	0.84
12	6.2	5.36E+08	6.78	1.14	6.83	2.82E+08	7.44	0.87	6.33	4.64E+08	7.33	1.19
15	6.04	4.96E+08	5.66	1.27	6.26	4.40E+08	6.37	1.18	6.11	5.16E+08	5.92	1.23
18	5.95	5.72E+08	3.99	1.35	5.98	5.36E+08	4.90	1.66	5.99	4.64E+08	4.52	1.34
21	6.04	6.72E+08	3.50	1.38	5.95	5.44E+08	4.27	1.27	6.11	7.92E+08	2.92	1.27
24	6.17	6.80E+08	2.59	1.25	6	5.32E+08	3.48	1.41	6.21	5.00E+08	2.38	1.42
27	6.55	6.32E+08	1.39	1.35	6.16	5.12E+08	2.02	1.51	6.43	5.48E+08	1.50	1.11
30	6.64	5.72E+08	1.17	1.24	6.34	5.76E+08	1.86	1.57	7.17	5.64E+08	1.06	1.57
33	6.78	5.66E+08	1.05	1.09	6.72	5.40E+08	1.26	1.48	7.35	5.72E+08	0.97	1.42
36	7.29	5.76E+08	0.84	1.27					7.49	6.00E+08	0.83	1.12

ตาราง ข.5 ผลการทดลองเพาะเลี้ยงเชื้อ *Bacillus circulans* ATCC 9995 ในถังปฏิกรณ์แบบไม่ต่อเนื่อง

pH เริ่มต้น 8 ความเข้มข้นของแป้งเริ่มต้นต่างกัน

เวลา (ชม.)	2.86 กรัมต่อลิตร ^a				4.41 กรัมต่อลิตร ^a				5.6 กรัมต่อลิตร ^a			
	pH	ปริมาณเซลล์ (เซลล์ต่อมล.)	ปริมาณแป้ง (กรัมต่อลิตร)	กิจกรรมของเอนไซม์ (ยูนิต์ต่อมล.)	pH	ปริมาณเซลล์ (เซลล์ต่อมล.)	ปริมาณแป้ง (กรัมต่อลิตร)	กิจกรรมของเอนไซม์ (ยูนิต์ต่อมล.)	pH	ปริมาณเซลล์ (เซลล์ต่อมล.)	ปริมาณแป้ง (กรัมต่อลิตร)	กิจกรรมของเอนไซม์ (ยูนิต์ต่อมล.)
0	8.13	5.28E+07	2.86	0.13	7.96	7.28E+07	4.41	0.30	8.05	7.12E+07	5.60	0.37
2	8.04	5.60E+07	2.74	0.15	7.65	1.02E+08	4.22	0.44	7.82	1.03E+08	5.47	0.50
4	7.88	1.15E+08	2.62	0.18	7.45	1.48E+08	3.80	0.63	7.67	1.35E+08	5.11	0.54
6	7.62	8.04E+07	2.61	0.17	7.18	3.26E+08	3.06	1.23	7.49	2.08E+08	4.53	0.99
8	7.55	8.40E+07	2.78	0.19	6.97	7.08E+08	2.32	1.92	7.32	5.76E+08	3.46	1.57
10	7.52	9.88E+07	2.62	0.15	7.51	6.88E+08	0.90	2.37	7.23	1.05E+09	1.29	2.10
12	7.47	1.30E+08	2.40	0.24	7.74	7.28E+08	0.99	2.40	7.83	1.08E+09	1.00	2.65
14	7.42	1.83E+08	2.39	0.22	7.77	7.12E+08	1.21	2.53	7.97	1.03E+09	0.93	2.79
16	7.42	2.60E+08	2.12	0.40	7.76	7.50E+08	0.70	2.37	7.98	1.12E+09	0.87	2.61
18	7.71	4.90E+08	1.85	0.50	7.74	7.35E+08	0.78	2.38	7.98	1.15E+09	0.91	2.55
20	8.13	6.44E+08	1.76	0.66	7.73	5.75E+08	0.76	2.41	8.12	8.00E+08	0.84	2.57
22	8.23	5.70E+08	2.08	0.56	7.73	7.00E+08	0.76	2.41	8.4	5.84E+08	1.04	2.70
24	8.5	6.65E+08	1.74	0.58	7.9	4.15E+08	0.80	2.28	8.64	4.64E+08	1.22	2.73
26	8.63	7.45E+08	1.92	0.50	8.14	3.15E+08	0.8145	2.10	8.79	4.32E+08	1.3005	2.80
28	8.69	7.05E+08	1.82	0.58								
30	8.72	6.70E+08	1.93	0.61								

หมายเหตุ

^a ความเร็วรอบใบการกวน 400 รอบต่อนาที

^b ความเร็วรอบใบการกวน 560 รอบต่อนาที

ตาราง ข.5 (ต่อ) ผลการทดลองเพาะเลี้ยงเชื้อ *Bacillus circulans* ATCC 9995 ในถังปฏิกรณ์แบบไม่ต่อเนื่อง

pH เริ่มต้น 8 ความเข้มข้นของแป้งเริ่มต้นต่างกัน

เวลา (ชม.)	7.97 กรัมต่อลิตร ^a				12.83 กรัมต่อลิตร ^a				12.6 กรัมต่อลิตร ^b			
	pH	ปริมาณเซลล์ (เซลล์ต่อมล.)	ปริมาณแป้ง (กรัมต่อลิตร)	กิจกรรมของเอนไซม์ (ยูนิต์ต่อมล.)	pH	ปริมาณเซลล์ (เซลล์ต่อมล.)	ปริมาณแป้ง (กรัมต่อลิตร)	กิจกรรมของเอนไซม์ (ยูนิต์ต่อมล.)	pH	ปริมาณเซลล์ (เซลล์ต่อมล.)	ปริมาณแป้ง (กรัมต่อลิตร)	กิจกรรมของเอนไซม์ (ยูนิต์ต่อมล.)
0	8	9.04E+07	7.97	0.31	7.93	8.90E+07	12.83	0.41	8.01	5.96E+07	12.62	0.62
2	7.6	1.20E+08	7.49	0.65	7.72	1.08E+08	12.79	0.73	7.62	1.30E+08	12.05	0.86
4	7.44	1.76E+08	7.45	0.83	7.58	1.43E+08	11.91	0.90	7.47	2.17E+08	11.93	1.05
6	7.16	4.32E+08	6.32	1.45	7.48	2.68E+08	11.66	1.24	7.23	4.14E+08	11.67	1.86
8	6.72	1.23E+09	3.90	2.10	7.29	3.68E+08	11.19	1.59	7.06	7.56E+08	9.56	2.24
10	6.13	1.28E+09	1.94	2.25	7.16	9.52E+08	9.95	2.23	6.25	1.80E+09	5.12	2.87
12	7.14	1.34E+09	1.02	2.47	6.48	1.10E+09	6.17	2.47	6.47	2.01E+09	1.54	2.96
14	7.58	1.17E+09	0.88	2.30	6.03	1.42E+09	4.05	2.59	7.27	1.81E+09	1.14	2.96
16	7.79	1.14E+09	0.84	2.35	6.02	1.70E+09	2.30	2.45	7.92	1.98E+09	1.09	3.22
18	8.06	1.26E+09	0.83	2.89	6.9	1.28E+09	1.20	2.65				
20	8.32	1.16E+09	0.81	2.97	7.59	1.22E+09	1.21	2.50				
22	8.5	9.76E+08	0.86	2.93	7.47	1.09E+09	1.36	2.73				
24	8.56	9.84E+08	0.81	2.22	7.5	1.19E+09	0.96	2.87				
26	8.62	9.92E+08	0.774	2.46	7.52	1.24E+09	1.0035	2.95				
28	8.7	8.16E+08	0.801	2.40	7.55	1.28E+09	0.801	2.82				
30					7.63	8.72E+08	0.792	2.92				

^a ความเร็วรอบใบการกวน 400 รอบต่อนาที

^b ความเร็วรอบใบการกวน 560 รอบต่อนาที

หมายเหตุ



ภาคผนวก ค
วิธีการคำนวณ

ศูนย์วิจัยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ค ตัวอย่างการคำนวณผลการทดลอง

ค.1 การคำนวณอัตราจำเพาะต่างๆ (μ , q_s , q_p และ P_{max})

การคำนวณอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (μ) อัตราการใช้สารอาหารจำเพาะ (q_s) อัตราการสร้างผลิตภัณฑ์จำเพาะ (q_p) และ อัตราการสร้างผลิตภัณฑ์สูงสุด P_{max} จากทฤษฎีในหัวข้อที่ 2.4 สามารถคำนวณได้จากสมการที่ 2.17, 2.19 และ 2.21

$$\ln x(t_i) = \mu[t_i - t_0] + \ln x(t_0) \quad (2.17)$$

$$S(t_i) = -q_s \int_{t_0}^{t_i} x(t) dt + S(t_0) \quad (2.19)$$

$$P(t_i) = q_p \int_{t_0}^{t_i} x(t) dt + P(t_0) \quad (2.21)$$

โดยเทอมอินทิเกรต (integrate X) คำนวณจากระเบียบวิธีเชิงตัวเลข (numerical method) โดยใช้วิธี trapezoidal rule ในการประมาณค่า

$$\int_{t_0}^{t_i} X(t) dt = h \left[\left(\frac{X_{t_0} + X_{t_i}}{2} \right) + \sum_{n=1}^{n=t_i-1} X_n \right]$$

X_n = ความเข้มข้นของเซลล์ที่เวลา t_n ถึง t_{n+1}

X_{t_0} = ความเข้มข้นของเซลล์ที่เวลาเริ่มต้น (กรัมต่อลิตร)

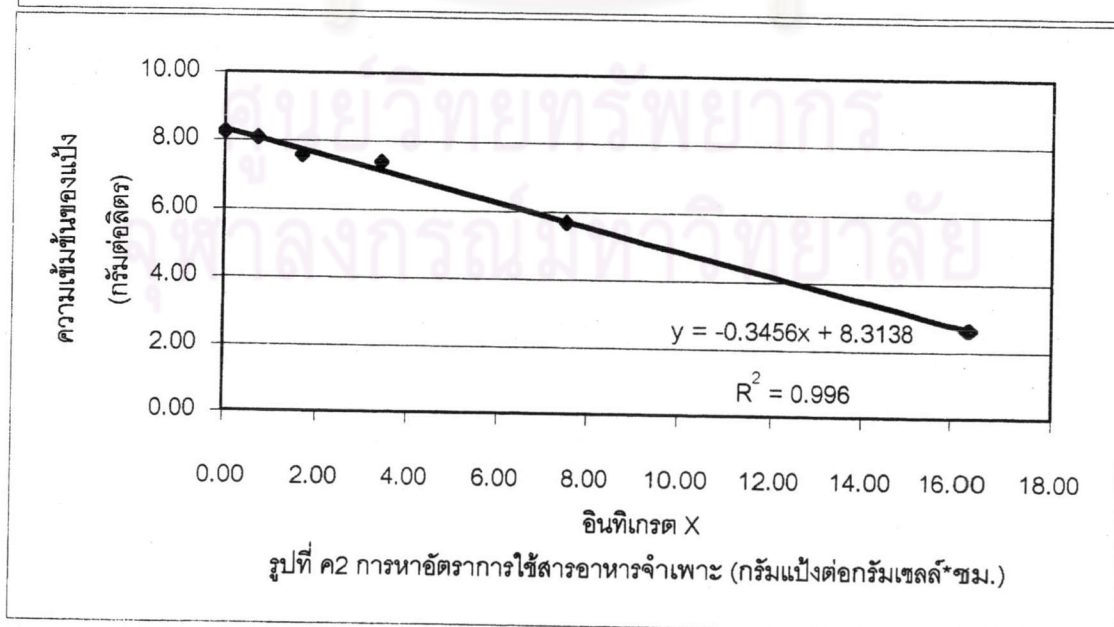
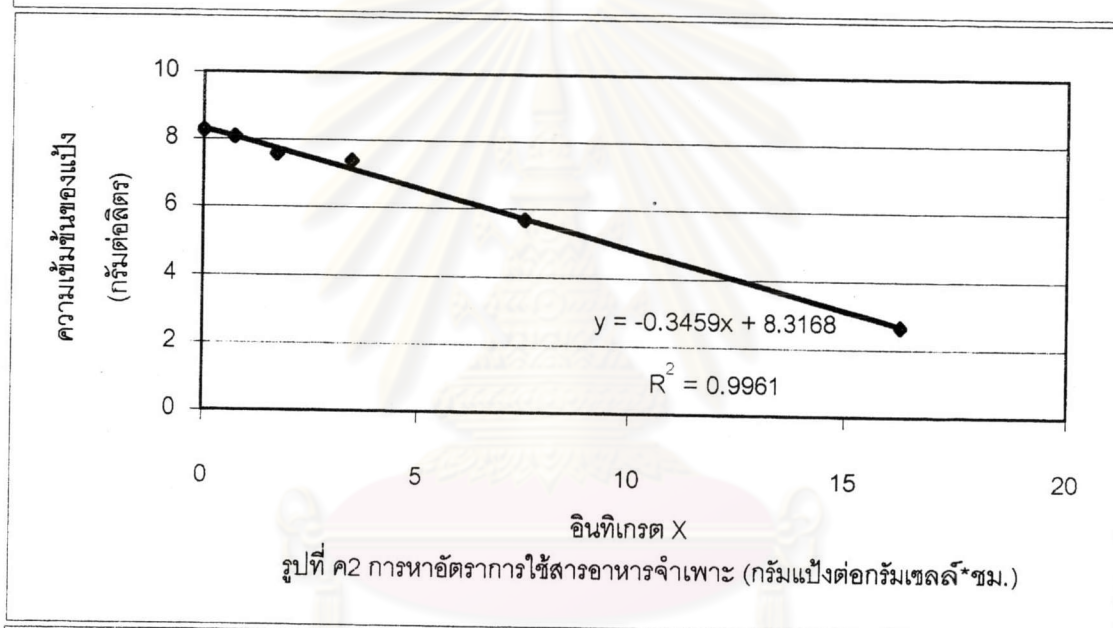
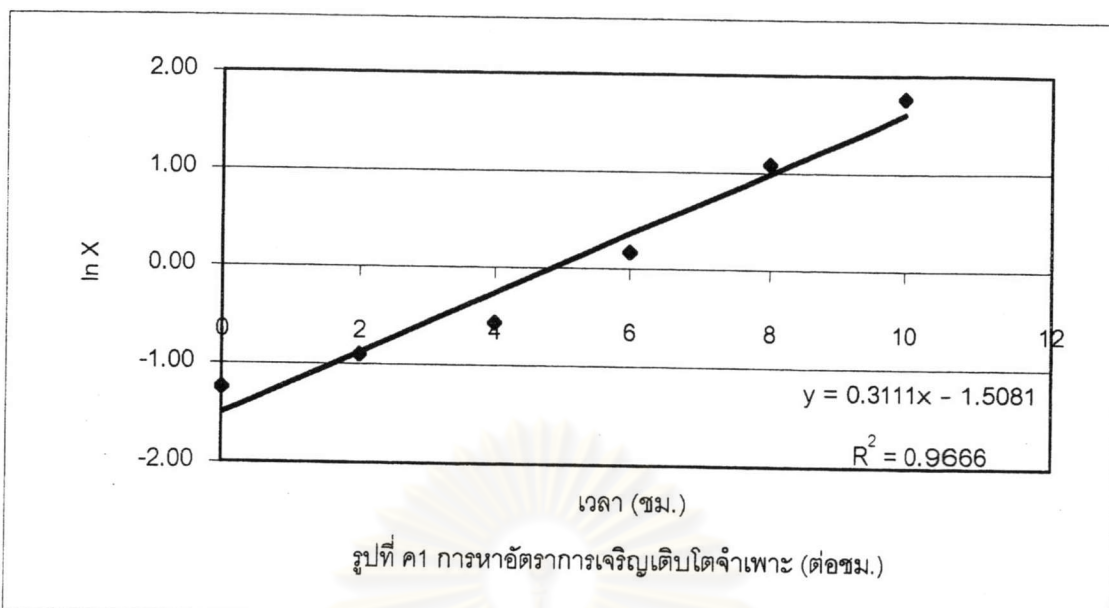
X_{t_i} = ความเข้มข้นของเซลล์ที่เวลาใดๆ (กรัมต่อลิตร)

h = step size ซึ่งคือระยะเวลาในการเก็บตัวอย่างแต่ละครั้ง (ชม.)

โดยแสดงตัวอย่างการคำนวณจากการเพาะเลี้ยง *B. circulans* ATCC 9995 ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบไม่ต่อเนื่อง ภาวะในการเลี้ยงเชื้อที่ pH เริ่มต้น 8 (แบบไม่ควบคุมพีเอช) ที่ความเร็วรอบ 400 rpm และ ความเข้มข้นของแป้ง 9.67 กรัมต่อลิตร ดังตารางที่ ค1 และค่า μ , q_s และ q_p ได้จากค่าความชันของกราฟ ค1, ค2 และ ค3 ตามลำดับ โดยระยะเวลาที่นำมาคำนวณเป็นช่วงที่อยู่ในระยะการเจริญเติบโตทวีคูณ ในข้อมูลชุดนี้คือที่เวลาดังแต่ 0-10 ชม. ส่วน P_{max} คำนวณจากกิจกรรมของเอนไซม์ CGTase ในการทดลองที่มีค่าสูงสุด หารด้วยระยะเวลาที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง

ตาราง ค1 ผลการทดลองการเพาะเลี้ยง *B. circulans* ATCC 9995 ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบไม่
ต่อเนื่อง: ภาวะในการเลี้ยงเชื้อที่ pH เริ่มต้น 8 (แบบไม่ควบคุมพีเอช) ที่ความเร็วรอบ
400 rpm และ ความเข้มข้นของแป้ง 9.67 กรัมต่อลิตร

t (ชม.)	X (กรัมต่อลิตร)	Ln X	อินทิเกรต X	S (กรัมต่อลิตร)	P (กรัมต่อลิตร.)
0	0.29	-1.25	0.00	8.27	350.60
2	0.40	-0.91	0.69	8.08	400.69
4	0.56	-0.57	1.66	7.59	555.12
6	1.18	0.17	3.41	7.39	1164.50
8	2.94	1.08	7.53	5.68	1778.05
10	5.84	1.76	16.32	2.65	2441.69
12	4.90	1.59	27.05	0.94	2433.34
14	4.83	1.58	36.78	0.12	2220.47
16	4.80	1.57	46.41	0.00	2604.47
18	5.82	1.76	57.04	0.00	2679.60
20	5.25	1.66	68.11	0.00	2779.77
22	4.86	1.58	78.22	0.00	2671.25
24	4.10	1.41	87.18	0.00	2871.59
26	4.96	1.60	96.24	0.00	2771.42
28	4.80	1.57	106.00	0.00	2725.51
30	4.32	1.46	114.43	0.00	2738.03



ค 2 การคำนวณค่าความคลาดเคลื่อนของอัตราจำเพาะต่างๆ (μ , q_s , q_p และ P_{\max})

จากหัวข้อที่ 5.2 ผลของความเข้มข้นของแคลเซียมคาร์บอเนตในอาหารเลี้ยงเชื้อ ได้รายงานค่าความคลาดเคลื่อน (e) ของอัตราจำเพาะต่างๆ (μ) ดังแสดงในตารางที่ 5.3 ซึ่งคำนวณมาจากวิธีทางสถิติการประมาณค่าแบบช่วง (Interval estimation) สำหรับขนาดกลุ่มตัวอย่างขนาดเล็ก ($n < 100$)

$$\text{ที่ } (1-\alpha) \% \text{ ของความเชื่อมั่นของ } \mu = \bar{X} \pm t_{n-1,(\alpha/2)} \frac{SD}{\sqrt{n}} \quad (\text{ค 1})$$

โดย μ = ค่าเฉลี่ยของกลุ่มประชากร

\bar{X} = ค่าเฉลี่ยของกลุ่มตัวอย่าง

α = ระดับความมีนัยสำคัญ

t = ค่าที่ได้จากตารางการแจกแจงแบบ t ที่ degree of freedom = n-1

SD = ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของกลุ่มตัวอย่าง

n = ขนาดของกลุ่มตัวอย่าง

ที่ระดับความเชื่อมั่น 90% $\alpha = 0.1$, $n = 3$ และ $t_{2,(\alpha/2)}$ จากตารางการแจกแจงแบบ t ค่าเท่ากับ 2.92 ดังนั้นจากค่าเฉลี่ย และ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากตารางที่ 5.3 สามารถคำนวณค่าความคลาดเคลื่อนของอัตราจำเพาะต่างๆ ที่ระดับความเชื่อมั่น 90 % ได้ดังนี้

$$\begin{aligned} \text{อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ, } \mu &= 0.21 \pm 2.92 \left(\frac{0.02}{\sqrt{3}} \right) \\ &= 0.21 \pm 0.03 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{อัตราการใช้สารอาหารจำเพาะ, } q_s &= 0.27 \pm 2.92 \left(\frac{0.03}{\sqrt{3}} \right) \\ &= 0.27 \pm 0.05 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{อัตราการสร้างผลิตภัณฑ์จำเพาะ, } q_p &= 93.75 \pm 2.92 \left(\frac{15.04}{\sqrt{3}} \right) \\ &= 93.75 \pm 25.36 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{อัตราการสร้างผลิตภัณฑ์สูงสุด, } P_{\max} &= 0.077 \pm 2.92 \left(\frac{0.002}{\sqrt{3}} \right) \\ &= 0.77 \pm 0.0034 \end{aligned}$$

ซึ่งค่าความคลาดเคลื่อน (e) ก็คือ เทอม $t_{n-1,(\alpha/2)} \frac{SD}{\sqrt{n}}$ เมื่อคำนวณอัตราส่วนของค่าความแตกต่างของค่าอัตราจำเพาะที่มากที่สุด ที่ความเข้มข้นของแคลเซียมคาร์บอเนตต่างกัน (Δ_{max}) กับค่าความคลาดเคลื่อน (e) ถ้าค่า Δ_{max} / e ที่ได้มีค่ามากกว่า 1 แสดงว่าค่าอัตราจำเพาะที่ความเข้มข้นของแคลเซียมคาร์บอเนตต่างกันนั้น มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 90 % (จรัญ จันทลักษณ์, 2527)



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาคผนวก
การประมาณค่าเฉลี่ยของ

$$Y_{X/S,G, avg} , Y_{P/X, avg} , m_{S, avg} \text{ และ } b_{avg}$$

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

จากสมการสมดุลมวลสารภายในถังปฏิกรณ์ตามทฤษฎีหัวข้อ 2.4

$$\text{สมดุลมวลของเซลล์} \quad \frac{dX}{dt} = \mu X \quad (2.14)$$

โดยจากผลการทดลองลงในหัวข้อที่ 5.4 μ จะแทนด้วยแบบจำลองของ Moser

$$\frac{dX}{dt} = \frac{\mu_m S^n X}{K_h^n + S^n} \quad (ง.1)$$

จากสมการที่ 5.3 จะเห็นได้ว่าเป็น Ordinary Differential Equation (ODE) ดังนั้นเทอมอนุพันธ์ของ X เทียบกับ t (dX/dt) ใช้ระเบียบวิธีเชิงตัวเลข (numerical method) ตามวิธีของ Euler (ได้ทดลองใช้ Runge Kutta orde 4 แทนใน ODE แล้วได้ผลไม่ต่างจาก Euler's method ดังนั้นจึงเลือกใช้ Euler's method)

$$\text{Euler's method} \quad \frac{dx}{dt} = \frac{x_{i+1} - x_i}{\Delta t} \quad (ง.2)$$

โดย Δt คือ step size และ i คือ การคำนวณ ณ เวลาต่างๆ ($i = 1, 2, \dots, n$) จากสมการที่ 5.3 และ 5.4 จะได้ค่าความเข้มข้นของเซลล์, X ณ เวลาใดๆ เท่ากับ

$$x_{i+1} = x_i + \left[\Delta t \cdot x_i \cdot \left(\frac{\mu_m S_i^n}{K_h^n + S_i^n} \right) \right] \quad (ง.3)$$

$$\text{สมดุลมวลของสารอาหาร} \quad \frac{dS}{dt} = -q_s x \quad (2.16)$$

อัตราการใช้สารอาหาร (q_s) ประกอบด้วย อัตราการใช้สารอาหารเพื่อการเจริญเติบโต และ อัตราการใช้สารอาหารเพื่อการดำรงชีวิต โดยละเลยเทอมของการใช้สารอาหารเพื่อสร้างผลิตภัณฑ์เนื่องจากมีค่าน้อยมากเมื่อเทียบกับการเจริญเติบโต

$$\frac{dS}{dt} = - \left(\frac{\mu}{Y_{X/S,G}} + m_s \right) x \quad (ง.4)$$

เช่นเดียวกับสมการสมดุลมวลของเซลล์แทนเทอมอนุพันธ์ของ S เทียบกับ t (dS/dt) ตามวิธีของ Euler ดังนั้นจากสมการที่ 5.4 ได้เป็น

$$S_{i+1} = S_i - \left[\Delta t \cdot x_i \cdot \left(\frac{\mu_m S_i^n}{K_h^n + S_i^n} \cdot \frac{1}{Y_{X/S,G}} + m_s \right) \right] \quad (ง.5)$$

สมการสมดุลมวลของผลิตภัณฑ์ $\frac{dP(t)}{dt} = q_p x(t)$ (2.18)

เนื่องจากการอัตราการสร้างผลิตภัณฑ์ $q_p = Y_{P/X} \mu + b$

$$\frac{dP}{dt} = (Y_{P/X} \mu + b)x \quad (ง.6)$$

และเช่นเดียวกับสมการสมดุลมวลของเซลล์แทนเทอมอนุพันธ์ของ P เทียบกับ t (dP/dt) ตามวิธีของ Euler ดังนั้นจากสมการที่ 5.8 ได้เป็น

$$P_{i+1} = P_i + \left[\Delta t \cdot x_i \cdot \left(\frac{Y_{P/X} \mu_m S_i^n}{K_h^n + S_i^n} + b \right) \right] \quad (ง.7)$$

จากการแก้สมการทั้งสามคือ ง.3, ง.5 และ ง.7 พร้อมกันที่เวลาต่างๆ และทำการประมาณค่าพารามิเตอร์ทางจลนพลศาสตร์ $Y_{X/S,G, avg}$, $Y_{P/X, avg}$, $m_{s, avg}$ และ b_{avg} ไปพร้อมกันด้วย โดยจะประมาณค่าเฉลี่ยของพารามิเตอร์เหล่านี้เมื่อใช้คำนวณร่วมกับแบบจำลองของ Moser แล้วให้ผลที่ได้จากการคำนวณความเข้มข้นของเซลล์ สารอาหาร และกิจกรรมของเอนไซม์ ตามเวลา ได้สอดคล้องกับผลการทดลองในทุกชุดข้อมูลที่มีความเข้มข้นของของแข็งเริ่มต้นต่างกัน โดยใช้ระเบียบวิธีถดถอยแบบไม่เป็นเชิงเส้น (non-linear regression) Newton's method จากโปรแกรม solver ใน Microsoft Excell มีฟังก์ชันวัตถุประสงค์ (objective function) คือ การหาค่าผลรวมของค่าความผิดพลาดยกกำลังสองทั้งหมดที่น้อยที่สุด (minimize sum square error, $\sum e_{total}^2$) โดยที่ค่าความผิดพลาด (e) ในที่นี้จะประกอบ 3 ค่าด้วยกัน คือ

- ค่าความผิดพลาดของเซลล์ (e_x) คือ ความแตกต่างระหว่างความเข้มข้นของเซลล์จากการทดลอง กับความเข้มข้นของเซลล์ที่คำนวณจากสมการ ง.3 ($X_{data} - X_{model}$)

- ค่าความผิดพลาดของแป้ง (e_s) คือ ความแตกต่างระหว่างความเข้มข้นของแป้งจากการทดลอง กับความเข้มข้นของแป้งที่คำนวณจากสมการ ง.5 ($S_{data} - S_{model}$)
- ค่าความผิดพลาดของ CGTase (e_p) คือ ความแตกต่างระหว่างกิจกรรมของ CGTase จากการทดลอง กับกิจกรรมของ CGTase ที่คำนวณจากสมการ ง.7 ($P_{data} - P_{model}$)

โดยค่าความผิดพลาดยกกำลังสองในแต่ละชุดข้อมูลที่ความเข้มข้นของของแป้งเริ่มต้นต่างกัน ($\sum e_i^2$) จะมีค่าเท่ากับ $\sum e_x^2 + \sum e_s^2 + \sum e_p^2$ และนำค่าความผิดพลาดยกกำลังสองในทุกชุดข้อมูลที่ความเข้มข้นของของแป้งเริ่มต้นต่างกันมารวมกันเป็น $\sum e_{total}^2$ มีค่าเท่ากับ $\sum_{i=1}^n \sum e_i^2$ โดย n คือจำนวนชุดข้อมูล จากนั้นจะทำการประมาณค่า $Y_{X,S,G, avg}$, $Y_{P,X, avg}$, $m_{S, avg}$ และ b_{avg} ที่ให้ค่า $\sum e_{total}^2$ น้อยที่สุด

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้แต่ง

นางสาวพิชญา ภูพนิตพันธ์ เกิดวันที่ 28 เมษายน พ.ศ. 2521 ที่เขตพระโขนง กรุงเทพมหานคร สำเร็จปริญญาตรีวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ในปีการศึกษา 2541 หลังจากนั้นได้เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2542



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย