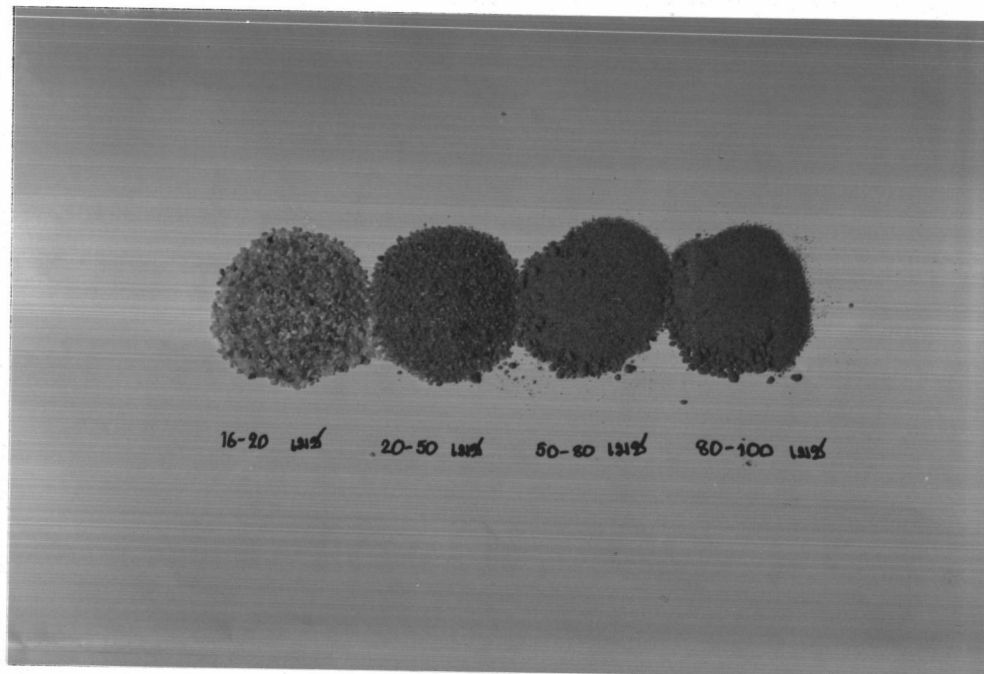




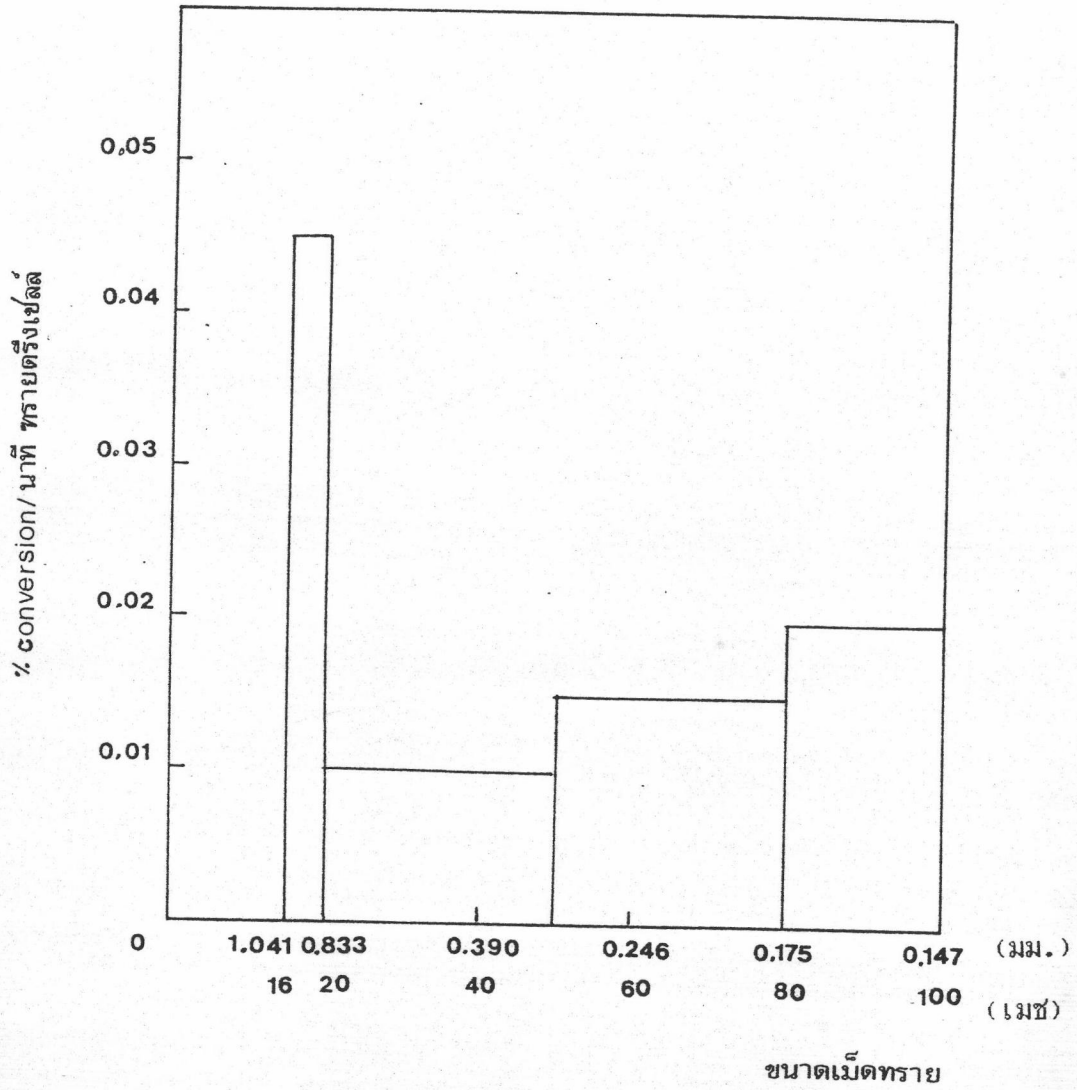
ผลการวิจัย

1. ขนาดของเม็ดทรายที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการตรึงเซลล์ยีสต์

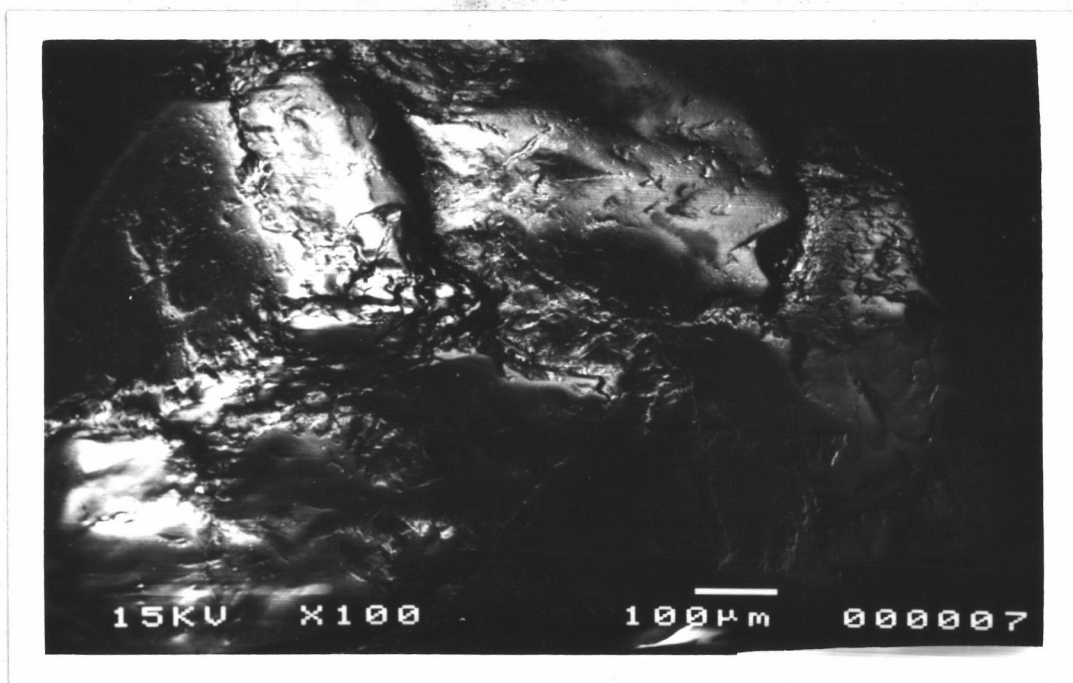
เม็ดทรายที่นำมาคัดขนาดแล้วมีขนาดและลักษณะต่างๆ ดังแสดงในรูปที่ 6 และขนาดของเม็ดทรายที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการตรึงเซลล์ยีสต์แสดงดังรูปที่ 7 และจากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ % conversion/นาที่.กรัมทรายตรึงเซลล์ กับขนาดของเม็ดทรายที่นำมาใช้พบว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 % (ภาคผนวก ข-1) เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของ % conversion/นาที่.กรัมทรายตรึงเซลล์และขนาดของเม็ดทรายโดย Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 % พบว่าแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มที่มีแอกติวิตีสูงคือ ใช้เม็ดทรายขนาด 16-20 เมช และกลุ่มที่มีแอกติวิตีต่ำคือ ใช้เม็ดทรายขนาดอื่นๆ ลักษณะพื้นผิวทางกายภาพของทรายที่มีขนาดต่างๆ โดยการทำให้ Scanning Electron Microscope ได้แสดงในภาพที่ 8-15



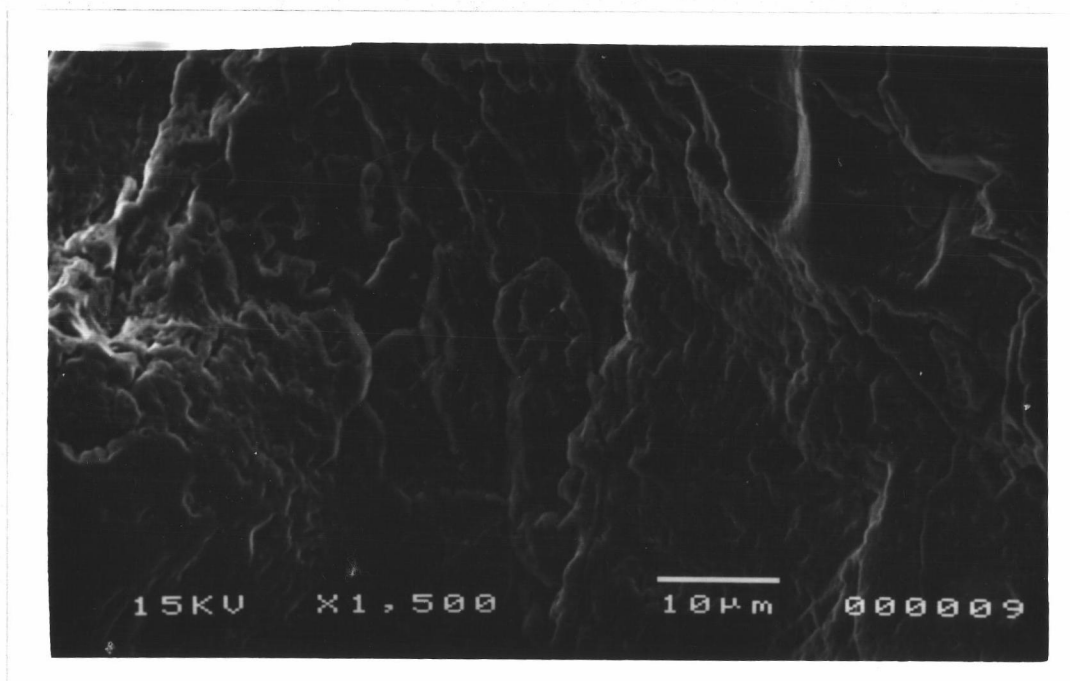
รูปที่ 6 เม็ดทรายขนาดต่าง ๆ ซึ่งนำมาใช้ในการตรึงเซลล์ยีสต์



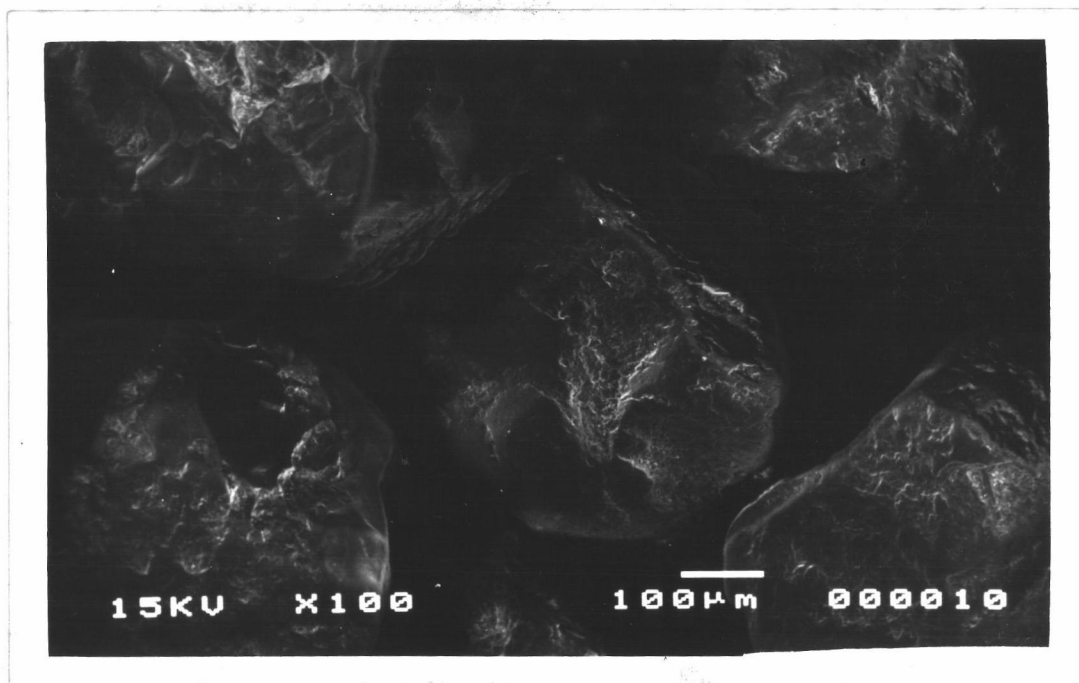
รูปที่ 7 ค่า % conversion/นาที่. กรั้มทรายตรงเซลล์ที่ใช้เม็ดทรายขนาดต่างๆ



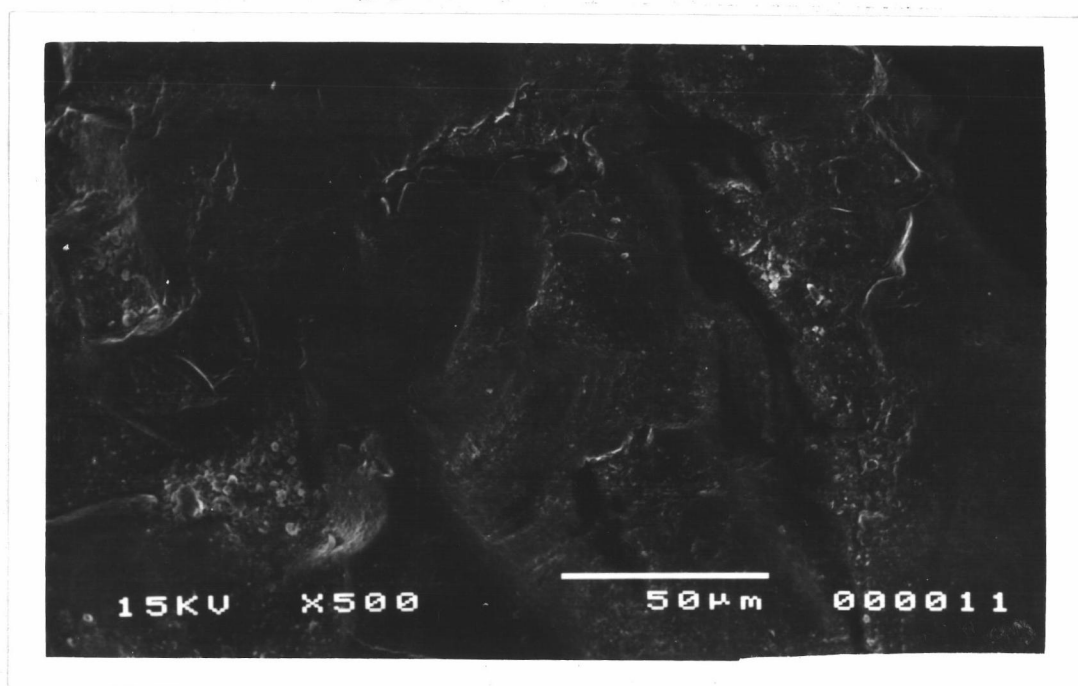
รูปที่ 8 เม็ดทรายขนาด 16-20 เมช โดยการถ่ายภาพ Scanning Electron
Microscope กำลังขยาย 100 เท่า



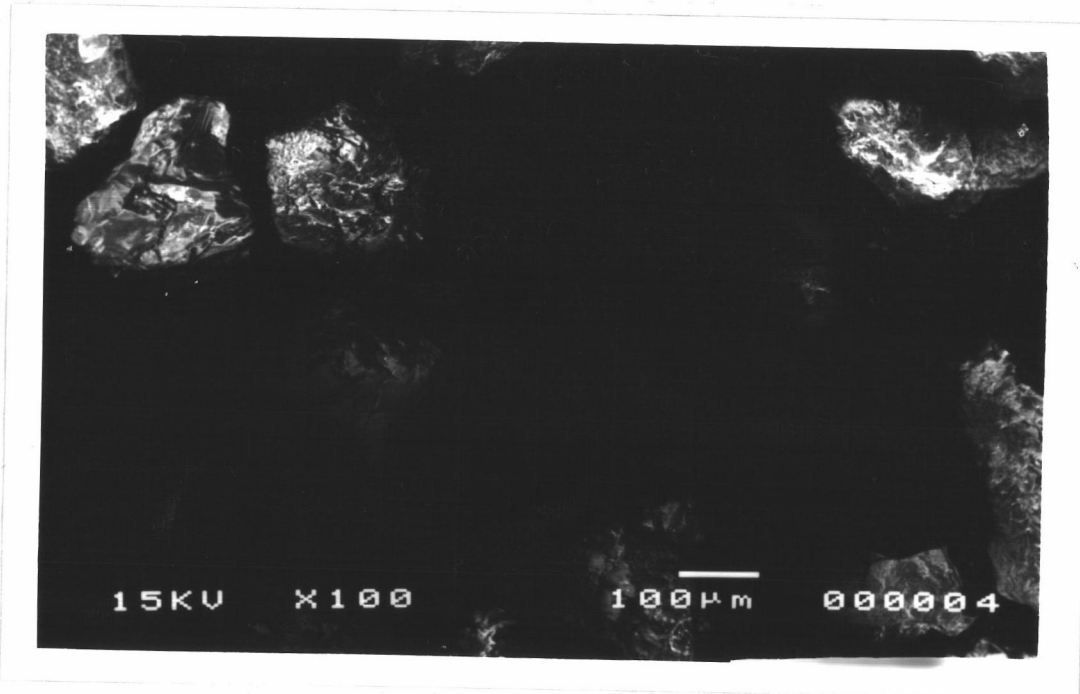
รูปที่ 9 พื้นผิวของเม็ดทรายขนาด 16-20 เมช โดยการถ่ายภาพ Scanning Electron
Microscope กำลังขยาย 1,500 เท่า



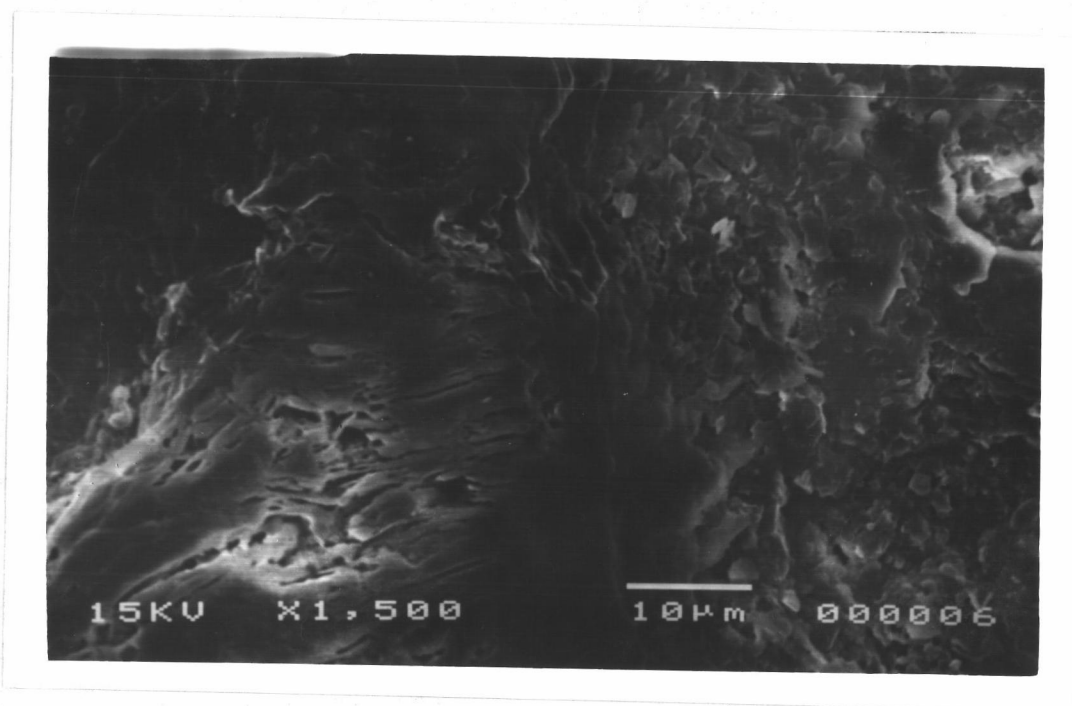
รูปที่ 10 เม็ดทรายขนาด 20-50 เมช โดยการทำให้ Scanning Electron
Microscope กำลังขยาย 100 เท่า



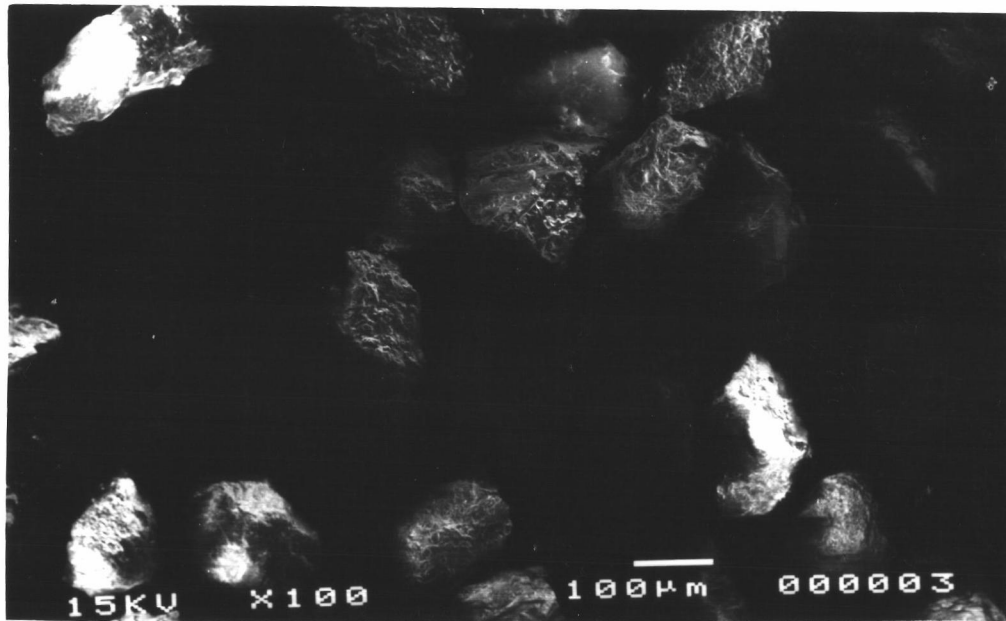
รูปที่ 11 พื้นผิวของเม็ดทรายขนาด 20-50 เมช โดยการทำให้ Scanning
Electron Microscope กำลังขยาย 500 เท่า



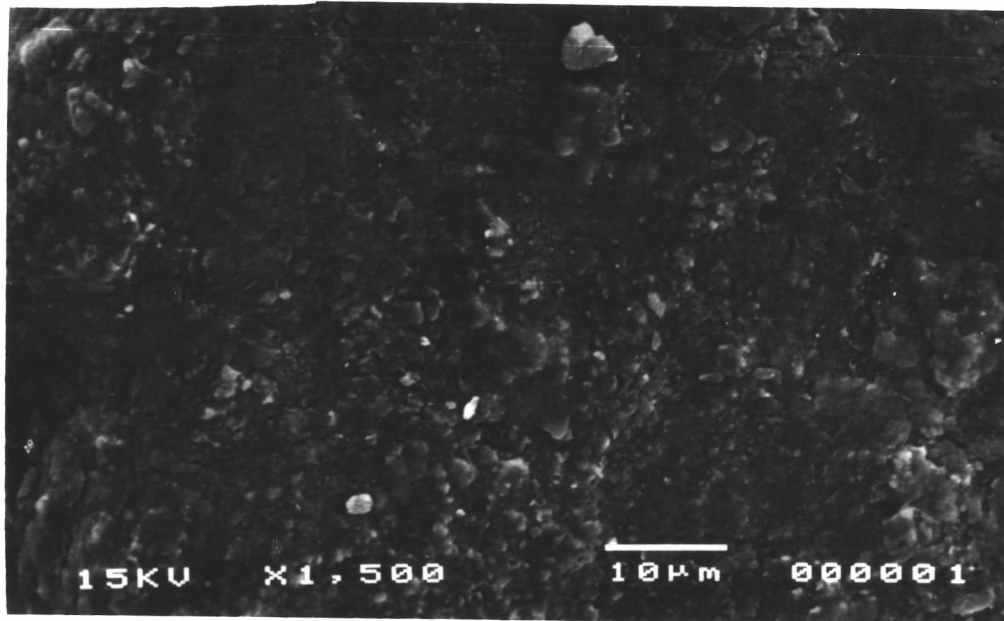
รูปที่ 12 เม็ดทรายขนาด 50-80 เมช โดยการทำให้ Scanning Electron
Microscope กำลังขยาย 100 เท่า



รูปที่ 13 พื้นผิวของเม็ดทรายขนาด 50-80 เมช โดยการทำให้ Scanning
Electron Microscope กำลังขยาย 1,500 เท่า



รูปที่ 14 เม็ดทรายขนาด 80-100 เมช โดยการทำให้ Scanning Electron
Microscope กำลังขยาย 100 เท่า



รูปที่ 15 พื้นผิวของเม็ดทรายขนาด 80-100 เมช โดยการทำให้ Scanning
Electron Microscope กำลังขยาย 1,500 เท่า

2. การตรึงเซลล์ยีสต์บนทราย

2.1 การตรึงเซลล์ยีสต์โดยใช้อัลบูมินและกลูตารัลดีไฮด์

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณของเซลล์ยีสต์ (A) และอัลบูมิน (B) ต่อแอกติวิตีของอินเวอร์เทสในตารางที่ 7 พบว่าอิทธิพลร่วมของปัจจัยทั้งสอง (AB) มีผลต่อแอกติวิตีของอินเวอร์เทสตรงรูปแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 % (ภาคผนวก ข-2) เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของแอกติวิตีของอินเวอร์เทสตรงรูปแต่ละระดับปริมาณเซลล์ยีสต์และอัลบูมิน โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % พบว่า ปริมาณเซลล์ยีสต์ 10% และ 15% กรัมหน.แห้ง/มล. ทำให้แอกติวิตีของอินเวอร์เทสสูงและปริมาณอัลบูมิน 3% และ 4% กรัมหน.แห้ง/มล. ก็จะทำให้แอกติวิตีของอินเวอร์เทสสูง ดังนั้นในการทดลองต่อไปให้นำอินเวอร์เทสตรงรูปที่มีปริมาณเซลล์ยีสต์:อัลบูมิน 15:3 และ 10:4 ไปหาปริมาณโปรตีนโดยวิธีของ Lowry (ภาคผนวก ก-4) ภายหลังจากละลายโปรตีนก่อนด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ และนำไปหาค่าครึ่งชีวิตต่อไป

ตารางที่ 7 ค่า % conversion/นาทีก.กรัมทรายตรึงเซลล์ ที่มีระดับเซลล์ยีสต์และอัลบูมินต่างๆ

| ปริมาณอัลบูมิน(%) (กรัมหน.แห้ง/มล.) | ปริมาณเซลล์ยีสต์ (กรัมหน.แห้ง/มล.) | | | |
|--|------------------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|
| | 5% | 10% | 15% | 20% |
| 2 | 0.03±0.001 ^a | 0.003±0 ^a | 0.045±0.008 ^b | 0.049±0.014 ^b |
| 3 | 0.028±0.001 ^a | 0.041±0.002 ^{ab} | 0.047±0.011 ^b | 0.044±0.009 ^{ab} |
| 4 | 0.042±0.004 ^{ab} | 0.046±0.008 ^b | 0.028±0.009 ^a | 0.026±0.001 ^a |
| 5 | 0.041±0.004 ^{ab} | 0.038±0 ^{ab} | 0.029±0.001 ^a | 0.023±0.001 ^a |

ตัวเลขที่มีอักษรตัวเดียวกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

2.2 การตรึงเซลล์ยีสต์โดยใช้อะมิโนโพรพิล ไทรเอททอกซีไซเลน

จากผลการตรึงเซลล์ยีสต์โดยวิธีในการทดลองบทที่ 2 ข้อ 9.2 จาก การทดลอง 2 ขี้ พบว่าได้ % conversion/นาทีกัมมทรายตรึงเซลล์ เป็น 0.04 ± 0.01 ต่อจากนั้นนำไปศึกษาปริมาณโปรตีน และค่าครึ่งชีวิตต่อไป

2.3 การตรึงเซลล์ยีสต์โดยใช้โพลีเอทิลีนไอมินร่วมกับกลูตารัลดีไฮด์

ผลของปริมาณเซลล์ยีสต์ กลูตารัลดีไฮด์ และเวลาในการแช่กลูตารัลดีไฮด์ ต่อแอกติวิตีของอินเวอร์เทสตรึงรูปดังตารางที่ 8 พบว่าปริมาณของเซลล์ยีสต์ (A) ปริมาณ กลูตารัลดีไฮด์ (B) และอิทธิพลร่วมของปัจจัยทั้งสอง (AB) มีผลต่อแอกติวิตีของอินเวอร์เทส ตรึงรูปแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % (ภาคผนวก ข-3) และผลจากการวิเคราะห์แบบ Yates' Analysis ดังแสดงในตารางที่ 9 พบว่า ปริมาณ เซลล์ยีสต์ (A) และปริมาณกลูตารัลดีไฮด์ (B) มีผลต่อแอกติวิตีของอินเวอร์เทสตรึงรูปใน ทางลบคือ ถ้าใช้ปริมาณเซลล์ยีสต์สูงจะทำให้แอกติวิตีของอินเวอร์เทสลดลง และถ้าใช้ ปริมาณของกลูตารัลดีไฮด์สูง ก็จะทำให้แอกติวิตีของอินเวอร์เทสลดลงเช่นกัน อิทธิพลร่วม ของปริมาณเซลล์ยีสต์ และปริมาณกลูตารัลดีไฮด์ (AB) มีผลต่อแอกติวิตีของอินเวอร์เทสตรึง รูปในทางเสริมกัน และจากการเปรียบเทียบโดย Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % พบว่าสามารถจัดกลุ่มของระดับแอกติวิตีได้ 2 กลุ่มคือ กลุ่มที่มีแอกติวิตีสูง ได้แก่อินเวอร์เทสตรึงรูปที่มีปริมาณเซลล์ยีสต์ 5 % (กรัมนน.แห้ง /มล.) และใช้ปริมาณกลูตารัลดีไฮด์ 0.1 % (มล./มล.) ส่วนกลุ่มที่มีแอกติวิตีต่ำคือ อิน เวอร์เทสตรึงรูปที่มีปริมาณเซลล์ยีสต์ 10 % (กรัม นน.แห้ง/มล.) และ, หรือมีปริมาณกลู ตารัลดีไฮด์ 1 % (มล./มล.)

ตารางที่ 8 ค่า % conversion/นาที. กรัสมทรายตริงเซลล์ที่มีเซลล์ยีสต์, กลูตาวัลดีไฮด์ และเวลาในการแช่กลูตาวัลดีไฮด์ในระดับต่างๆ โดยใช้ PEI

| A=ปริมาณเซลล์ยีสต์ (กรัมหน.แห้ง/มล.) | | B= ปริมาณกลูตาวัลดีไฮด์ (มล./มล.) | | | |
|---|-------------------------|-----------------------------------|-------------------------|-------------------------|---|
| | | 0.1% | | 1.0% | |
| C=เวลาในการแช่กลูตาวัลดีไฮด์ (ชั่วโมง) | | | | | |
| | | 1 | | 2 | |
| | | 1 | 2 | 1 | 2 |
| 5% | 0.58+0.11 ^b | 0.59+0.07 ^b | 0.29+0.11 ^a | 0.32+0.13 ^{ab} | |
| 10% | 0.34+0.03 ^{ab} | 0.25+0.02 ^a | 0.32+0.02 ^{ab} | 0.31+0.07 ^a | |

ตัวเลขที่มีอักษรตัวเดียวกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ตารางที่ 9 ผลของปริมาณเซลล์ยีสต์, กลูตาไรลดีไฮด์ และเวลาในการแช่กลูตาไรลดีไฮด์ ต่อ
แอกติวิตีของอินเวอร์เทสตรงรูป

| ปัจจัยหลักของอิทธิพลร่วมต่างๆ | %conversion ต่อ นาที่. กรัมทรายตรงเซลล์ | Mean Contrast |
|-------------------------------|--|---------------|
| A | 0.68 | -0.14* |
| B | 0.58 | -0.13* |
| AB | 0.63 | 0.15* |
| C | 1.15 | -0.02 |
| AC | 0.49 | -0.04 |
| BC | 0.64 | 0.03 |
| ABC | 0.62 | 0.02 |

Critical value ที่ 95 % = 0.12 * แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่
ระดับความเชื่อมั่น 95 %

2.4 การเปรียบเทียบการตรึงเซลล์ยีสต์ด้วยวิธีต่างๆ

จากการวิเคราะห์แอกติวิตีของอินเวอร์เทส ปริมาณโปรตีน แอกติวิตีเฉพาะ และค่าครึ่งชีวิตของเซลล์ตรึงรูป ซึ่งทำการตรึงเซลล์ด้วยวิธีต่างๆ ได้แสดงผลในตารางที่ 10 ซึ่งในการทดลองขั้นต่อไปจะได้นำเซลล์ตรึงรูปที่ได้จากการตรึงโดยใช้โพลีเอทิลีนไอมิน ร่วมกับกลูตารัลดีไฮด์ไปศึกษาต่อไป

ตารางที่ 10 ผลในการเปรียบเทียบการตรึงเซลล์ยีสต์ที่มีอินเวอร์เทสด้วยวิธีต่างๆ

| วิธีการ | % conversion ต่อ นาที่.กรัม ทรายตรึงเซลล์ | ปริมาณโปรตีน (มก/กรัมทราย ตรึงเซลล์) | แอกติวิตีเฉพาะ (หน่วยเอนไซม์/ มก. โปรตีน) | ค่าครึ่งชีวิต ^a (วัน) |
|-------------------------------------|---|--|---|-------------------------------------|
| 1. อัลบูมินและกลูตารัลดีไฮด์ | | | | |
| 1.1 15 กรัมยีสต์ + 2 กรัมอัลบูมิน | 0.045 0.008 | 23.64 2.15 | 0.01 | 1.56 0.1 |
| 1.2 15 กรัมยีสต์ + 3 กรัมอัลบูมิน | 0.047 0.011 | 24.06 6.7 | 0.01 | 1.34 0.2 |
| 1.3 10 กรัมยีสต์ + 4 กรัมอัลบูมิน | 0.046 0.008 | 19.0 0.49 | 0.01 | 3.55 0.5 |
| 2. APTS และ กลูตารัลดีไฮด์ | | | | |
| | 0.04 0.01 | 24.98 2.96 | 0.01 | 1.95 0.21 |
| 3. PEI และ กลูตารัลดีไฮด์ | | | | |
| | 0.58 0.11 | 15.6 1.21 | 1.85 | 1.66 0.02 |
| 4. เซลล์ยีสต์ | - | - | 3.26 | - |

a= ค่าครึ่งชีวิตที่ pH 5, อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

3. การศึกษาคุณสมบัติของอินเวอร์เทสตรังรูป

3.1 pH ที่เหมาะสมในการใช้งานของอินเวอร์เทสตรังรูป

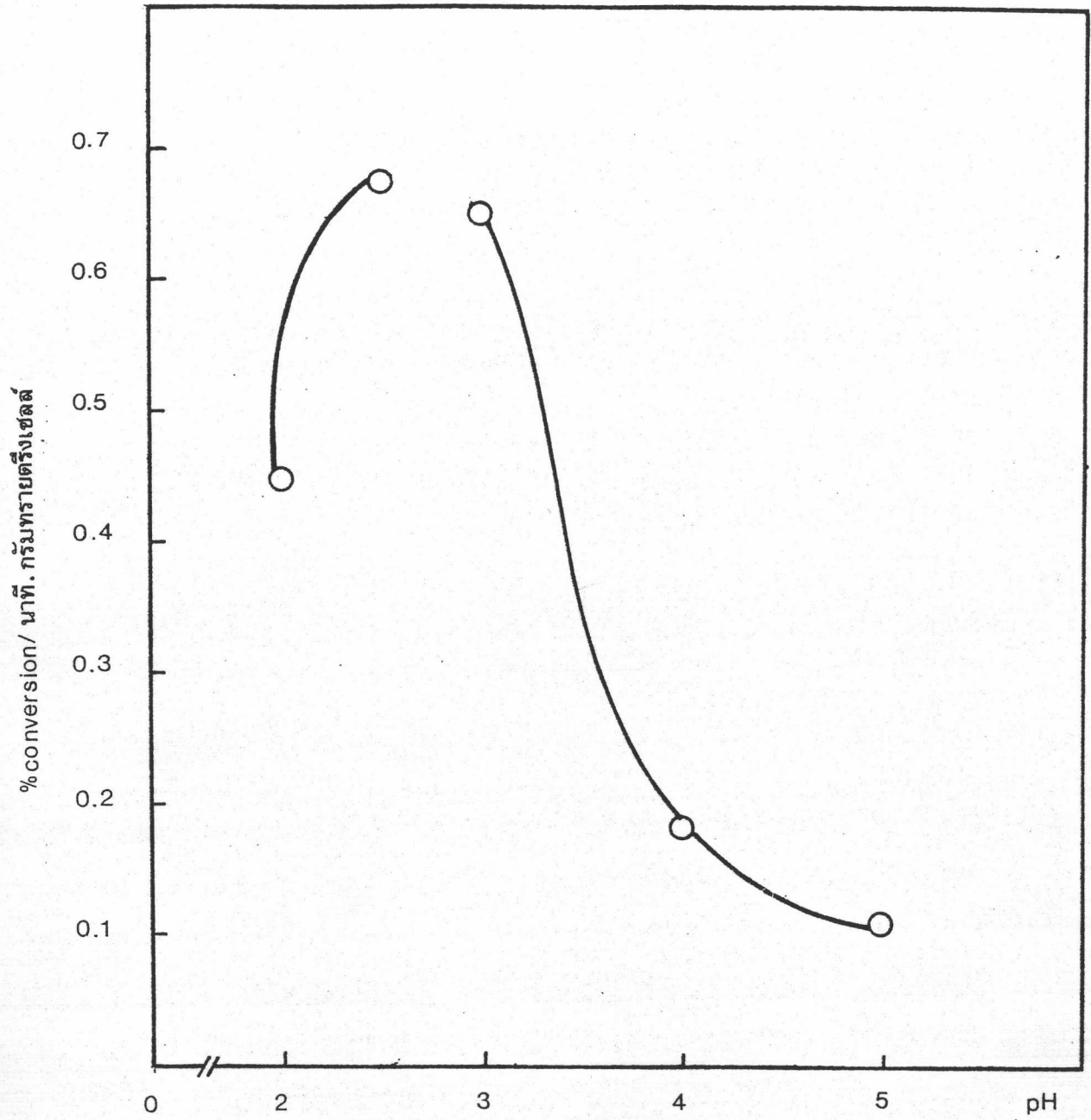
pH ที่เหมาะสมในการใช้งานของอินเวอร์เทสตรังรูป แสดงในรูปที่ 16 จากการวิเคราะห์ค่า % conversion/น้ำหนักกรัมทรายตรงเซลล์ต่อ pH พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 % (ภาคผนวก ก-4.1) และเมื่อได้เปรียบเทียบกับความแตกต่างของแอกติวิตีที่ pH ต่าง ๆ โดย Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % สามารถแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่มีแอกติวิตีสูง ได้แก่ แอกติวิตีของอินเวอร์เทสตรังรูปที่ pH 2.5 และ 3 กลุ่มที่มีแอกติวิตีปานกลาง ได้แก่ แอกติวิตีของอินเวอร์เทสตรังรูป ที่ pH 2 และกลุ่มที่มีแอกติวิตีต่ำ ได้แก่ แอกติวิตีของอินเวอร์เทสตรังรูปที่ pH 4 และ 5 ดังนั้นในการทดลองต่อไปจึงเลือกใช้สารละลายน้ำตาลทราย ที่ pH 3 สำหรับวัดแอกติวิตีของอินเวอร์เทสตรังรูป

3.2 อุณหภูมิที่เหมาะสมในการใช้งานของอินเวอร์เทสตรังรูป

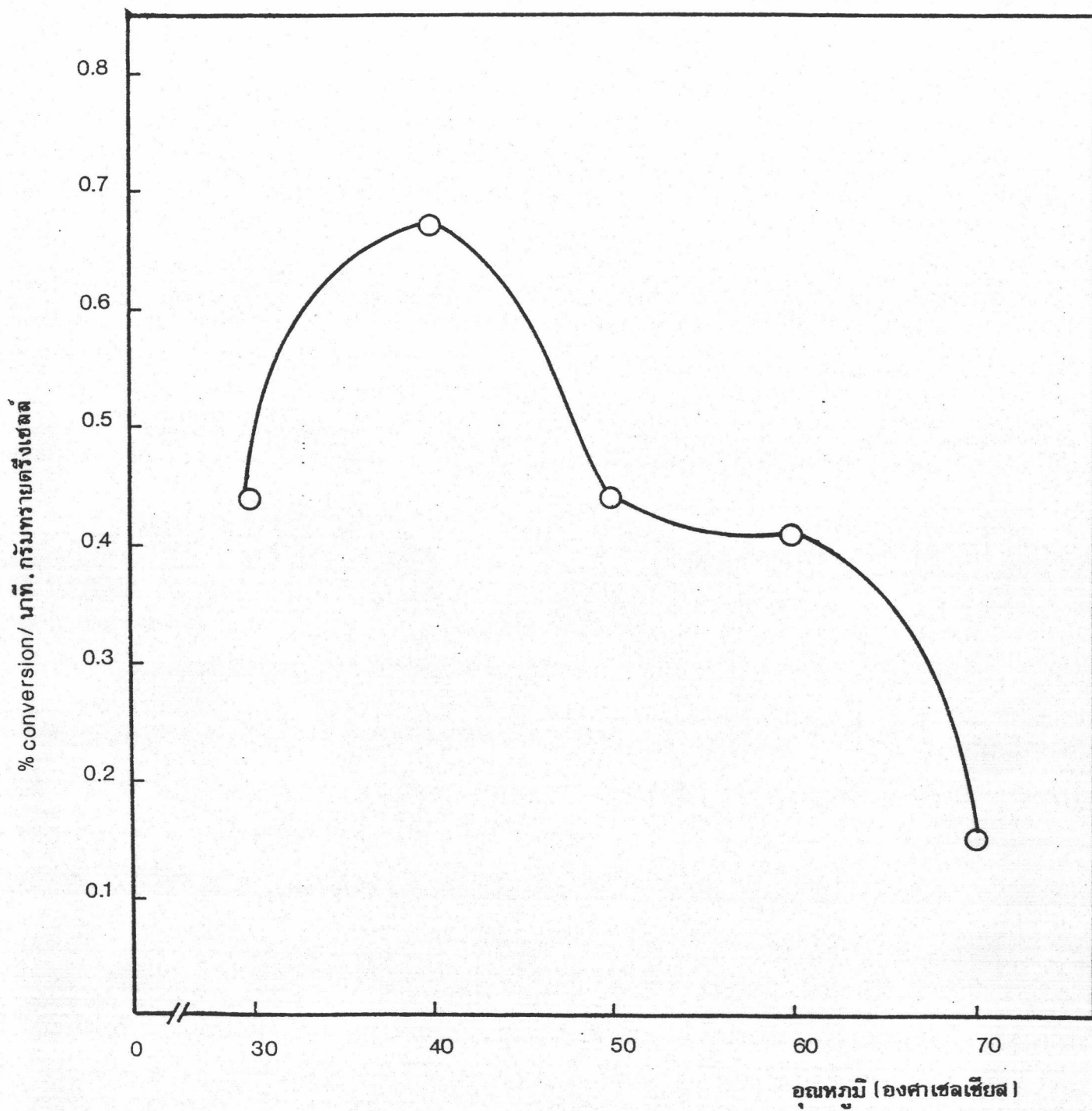
อุณหภูมิที่เหมาะสมในการใช้งานของอินเวอร์เทสตรังรูป แสดงในรูปที่ 17 จากการวิเคราะห์ค่า % conversion/น้ำหนักกรัมทรายตรงเซลล์ ต่ออุณหภูมิพบว่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 % (ภาคผนวก ข-4.2) และเมื่อเปรียบเทียบกับความแตกต่างของแอกติวิตีที่อุณหภูมิต่างๆ โดย Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % สามารถแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่มีแอกติวิตีสูงสุดที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส กลุ่มที่มีแอกติวิตีปานกลางคือ ที่อุณหภูมิ 30, 50 และ 60 องศาเซลเซียส และกลุ่มที่มีแอกติวิตีต่ำที่สุดที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ดังนั้นในการทดลองต่อไปจึงบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส สำหรับใช้ในงานของอินเวอร์เทสตรังรูป

3.3 ลักษณะพื้นผิวของเซลล์ตรังรูป

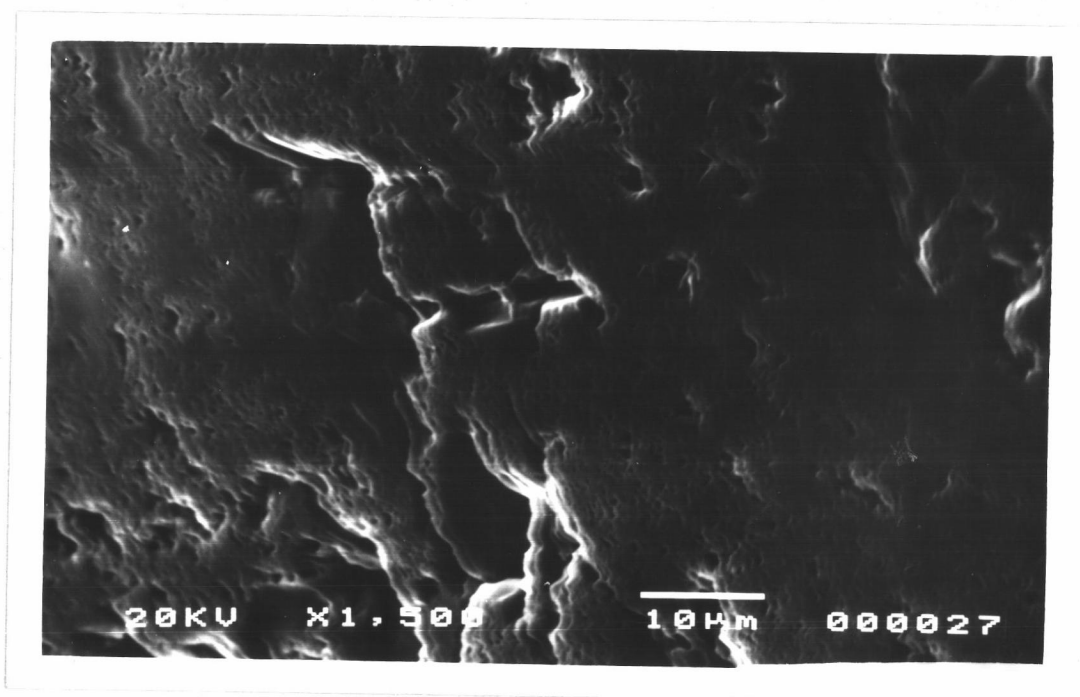
ลักษณะทางกายภาพซึ่งตรวจสอบโดยทำ Scanning Electron Microscope ในรูปที่ 18 แสดงลักษณะพื้นผิวเม็ดทรายและ ในรูปที่ 19-21 แสดงลักษณะพื้นผิวของทรายที่นำไปตรึงเซลล์แล้ว ที่กำลังขยายต่างๆ ตั้งแต่ 500-5,000 เท่า ซึ่งจะพบว่าพื้นผิวของเซลล์ตรังรูปจะเห็น เซลล์ยีสต์เกาะอยู่กระจัดกระจายทั่วไป ซึ่งมีความแตกต่างจากเม็ดทรายที่ไม่ได้ผ่านการตรึงเซลล์



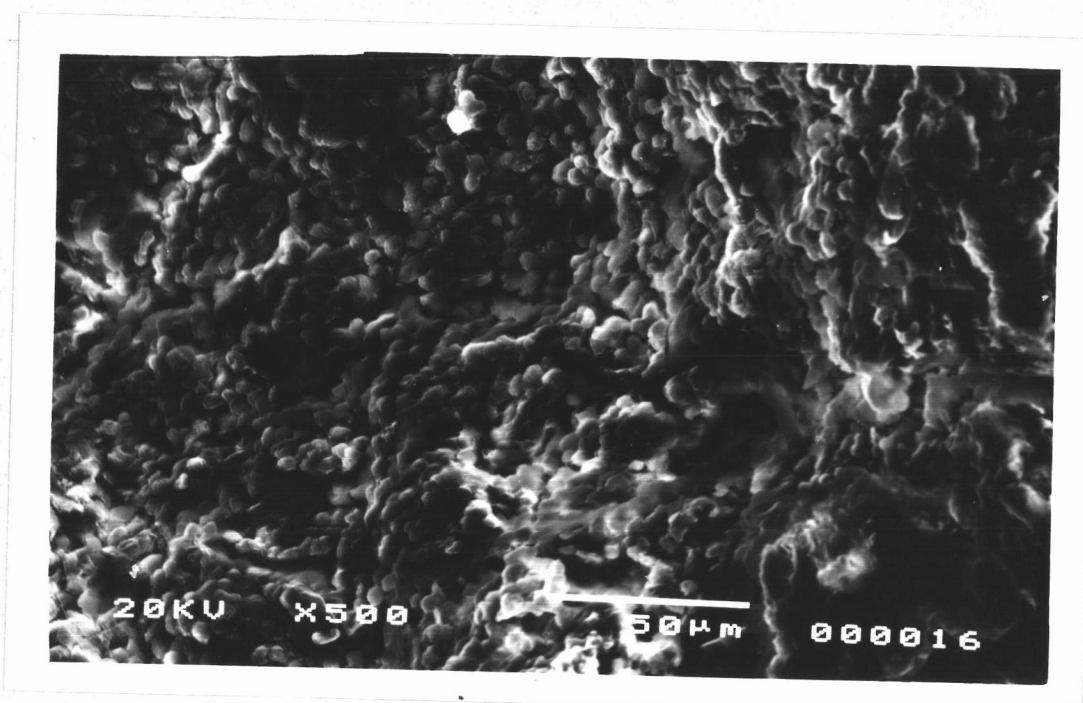
รูปที่ 16 ค่า % conversion/นาทีกกรัมทรายตรงเซลล์ที่ pH ต่างๆ
อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส



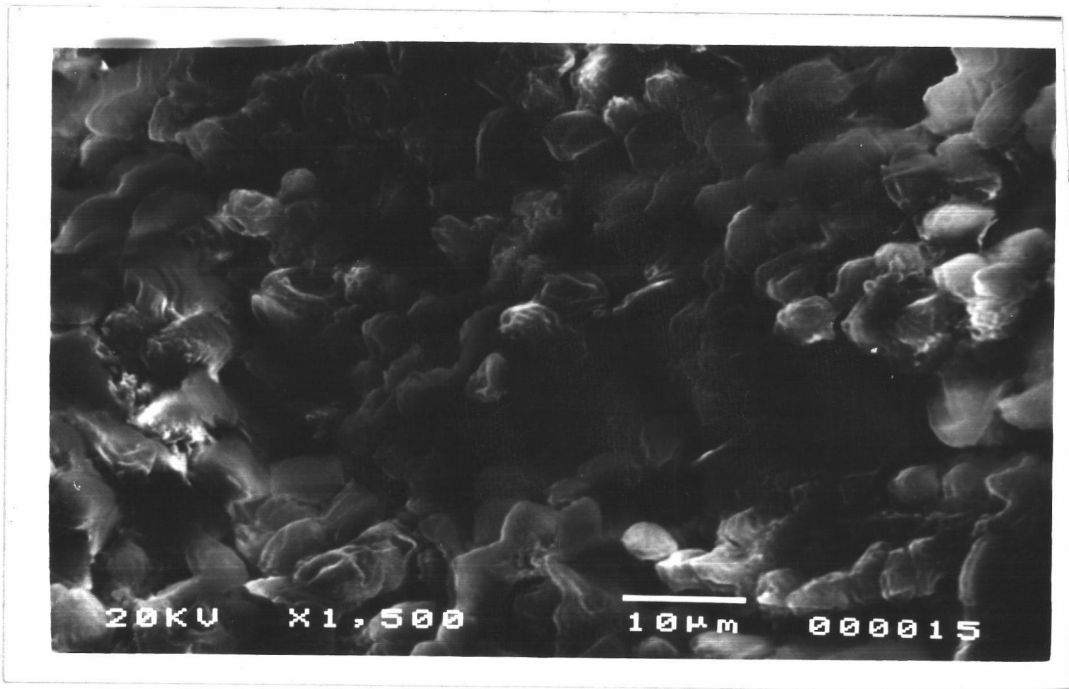
รูปที่ 17 ค่า % conversion/นาทีก.กรัมทรายตรงเซลล์ที่อุณหภูมิต่างๆ pH 3.0



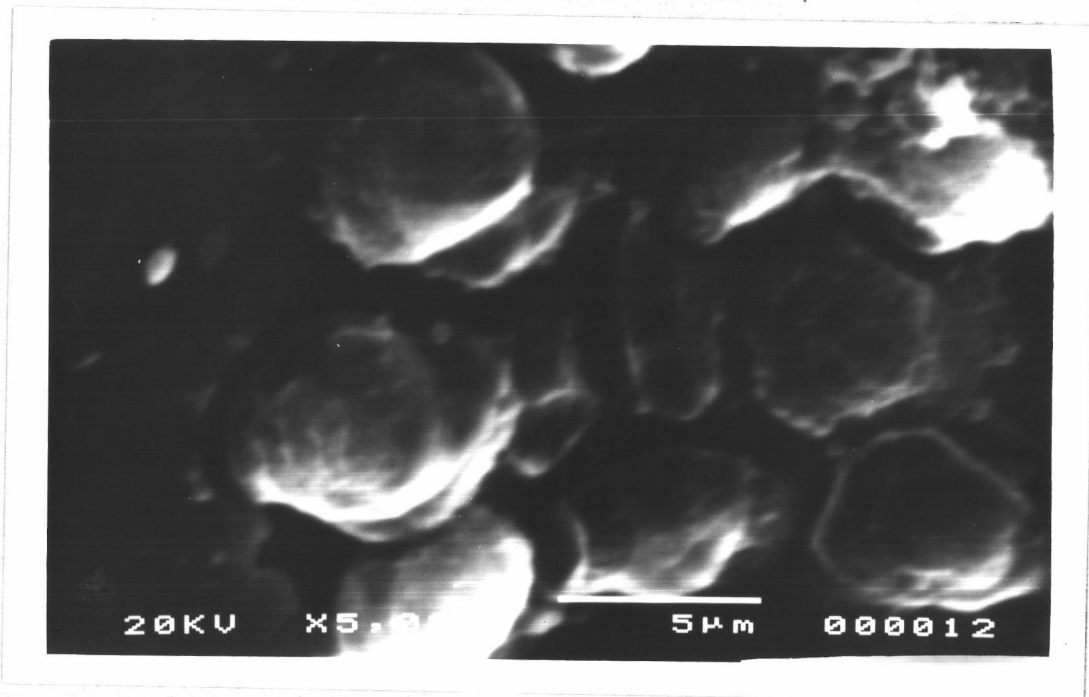
รูปที่ 18 พื้นผิวของเมื่อดทราย โดยการทำให้ Scanning Electron Microscope
กำลังขยาย 1,500 เท่า



รูปที่ 19 พื้นผิวของเมื่อดทรายตรงเซลล์ โดยการทำให้ Scanning Electron
Microscope กำลังขยาย 500 เท่า



รูปที่ 20 พื้นผิวของเม็ดยานตรงเซลล์ โดยการทำให้ Scanning Electron
Microscope กำลังขยาย 1,500 เท่า



รูปที่ 21 เซลล์ยี่สิบที่ถูกตัดตรงบนเม็ดยานตรง โดยการทำให้ Scanning Electron
Microscope กำลังขยาย 5,000 เท่า

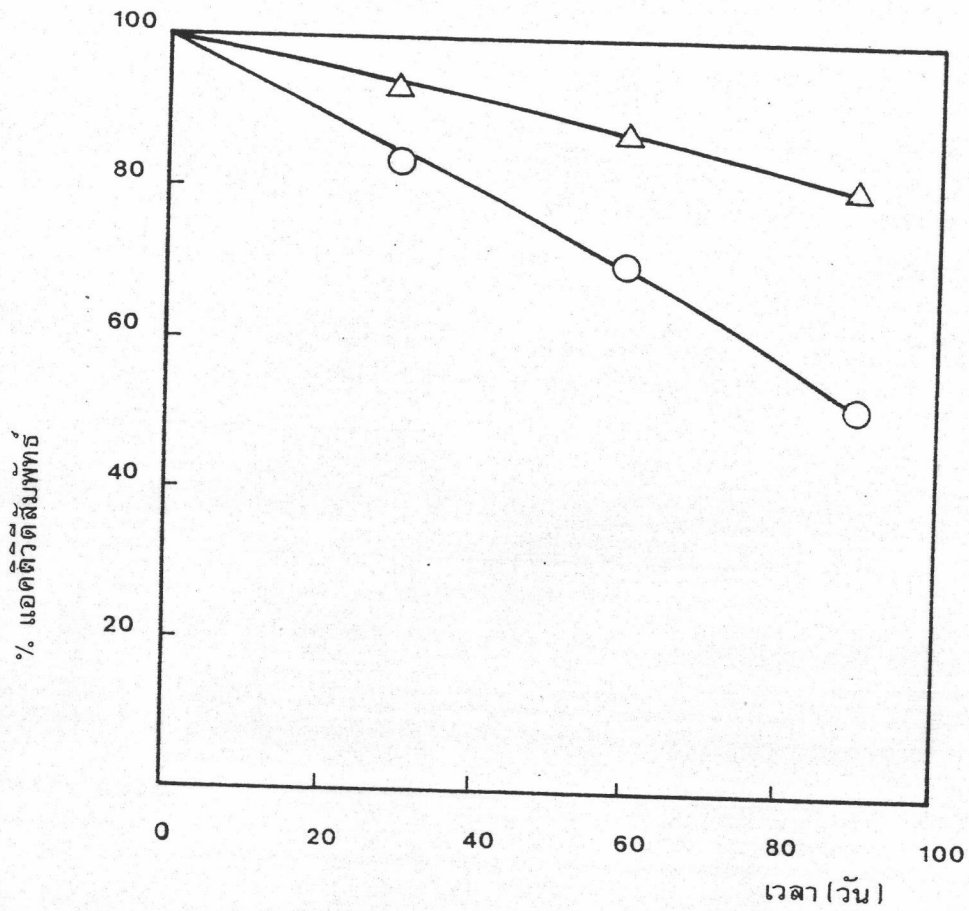
3.4 ความเสถียรของอินเวอร์เทสตรึงรูปเมื่อเก็บไว้ในลักษณะแห้งที่อุณหภูมิห้อง และที่ 4 องศาเซลเซียส

อินเวอร์เทสตรึงรูปมีความเสถียรของแอกติวิตีเมื่อเก็บที่ 4 องศาเซลเซียสดีกว่าที่อุณหภูมิห้อง (25-28 องศาเซลเซียส) ดังรูป 22 จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าค่าครึ่งชีวิตของอินเวอร์เทสตรึงรูปในขณะเก็บซึ่งแสดงในตารางที่ 11 พบว่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 11 ค่าครึ่งชีวิตของอินเวอร์เทสตรึงรูปในขณะเก็บที่ 4 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้อง (25-28 องศาเซลเซียส)

| อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) | ค่าครึ่งชีวิต (วัน) |
|-------------------------|---------------------------|
| 4 | 270.83+37.07 ^b |
| 25-28 | 85.06+13.36 ^a |

ตัวเลขที่มีอักษรตัวเดียวกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %



รูปที่ 22 ความสัมพันธ์ของความเสถียรของแอกติวิตีของอินเวอร์เทสตรังรูป

ในขณะเก็บที่อุณหภูมิห้อง และที่ 4 องศาเซลเซียส

▲ อินเวอร์เทสตรังรูปในขณะเก็บที่ 4 องศาเซลเซียส

○ อินเวอร์เทสตรังรูปในขณะเก็บที่อุณหภูมิห้อง (25-28 องศาเซลเซียส)

4. การผลิตน้ำตาลอินเวอร์ทแบบต่อเนื่องในปฏิกรณ์แบบ packed-bed

4.1 อัตราการป้อนสารละลายซูโครส และความเข้มข้นของสารละลาย

ซูโครสในการผลิตน้ำตาลอินเวอร์ทแบบต่อเนื่อง

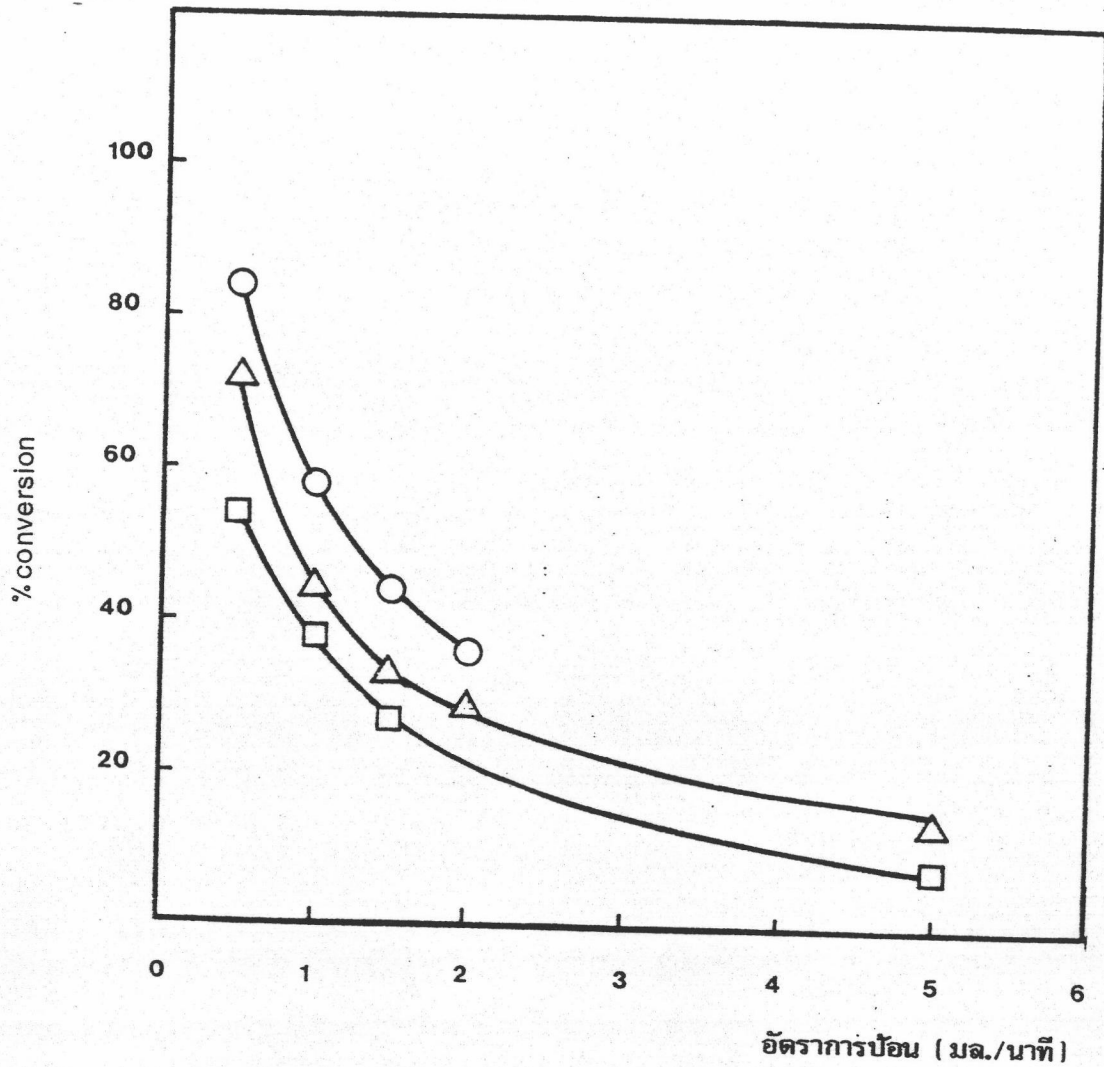
อัตราการป้อนสารละลายซูโครส และความเข้มข้นของสารละลายซูโครส ในการผลิตน้ำตาลอินเวอร์ทแบบต่อเนื่องของอินเวอร์ทเอสตรงรูป แสดงในรูปที่ 23 และรูปที่ 24 พบว่าเมื่อความเข้มข้นของสารละลายซูโครสสูงขึ้น และเมื่ออัตราการป้อนสูงขึ้น ทำให้ % conversion ลดลง และที่ความเข้มข้นของสารละลายซูโครส 10% (นน./นน.) อัตราการป้อน 5 มล./นาที จะมี % conversion เท่ากับ 85 และมีสเปซไทม์ เท่ากับ 50 นาที

4.2 อัตราการป้อนสารละลายน้ำตาลทรายในการผลิตน้ำตาลอินเวอร์ทแบบต่อเนื่อง ในระบบไหลย้อนกลับ (recycle)

อัตราการป้อนสารละลายซูโครส 15% (นน./นน.) และอัตราการไหลออกของผลิตภัณฑ์ในการผลิตน้ำตาลอินเวอร์ทแบบต่อเนื่องในระบบไหลย้อนกลับของอินเวอร์ทเอสตรงรูปแสดงในรูปที่ 25 และ 26 พบว่าเมื่ออัตราป้อนสารละลายซูโครสสูงขึ้น ในขณะที่อัตราการไหลออกลดลงจะทำให้ % conversion สูงขึ้น และที่อัตราป้อนสารละลายซูโครสที่ 12 มล./นาที และอัตราการไหลออกที่ 0.6 มล./นาที ซึ่งให้อัตราส่วนการไหลย้อนกลับเท่ากับ 0.95 จะให้ % conversion สูงสุดเท่ากับ 87 และมีสเปซไทม์ 41 นาที

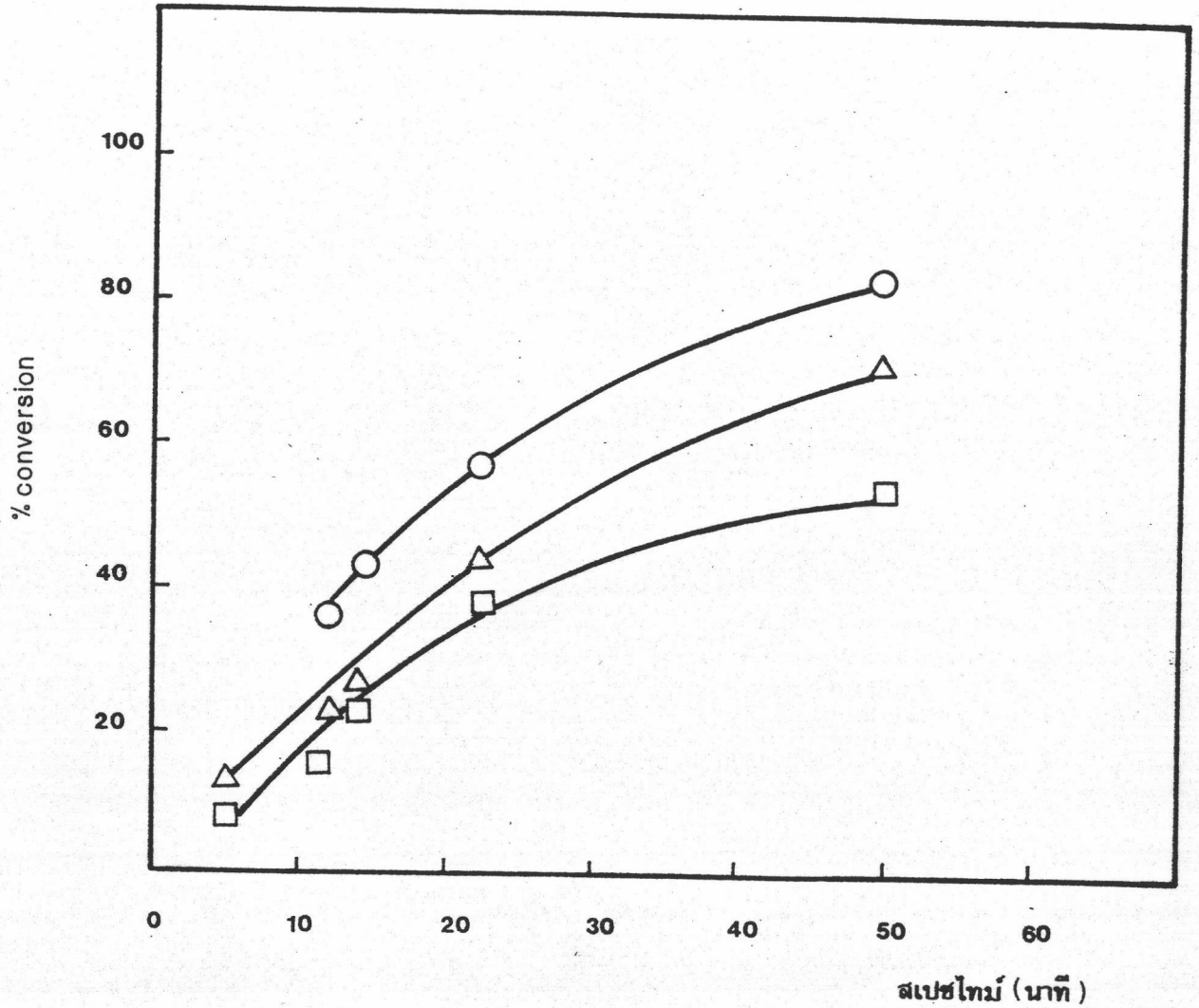
4.3 ความเสถียรของแอกติวิตีของอินเวอร์ทเอสตรงรูปต่อ pH

ความเสถียรของอินเวอร์ทเอสตรงรูปต่อ pH ของเซลล์ตรงรูป ดังรูปที่ 27 จากการวิเคราะห์ % แอกติวิตีสัมพันธ์ของอินเวอร์ทเอสตรงรูป ที่ pH ต่างๆ พบว่า เซลล์ยีสต์ตรงรูปมีเสถียรภาพของอินเวอร์ทเอสตรงรูปแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 % (ภาคผนวก ข-5) เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของเสถียรภาพของอินเวอร์ทเอสตรงรูปต่อ pH โดย Duncan 's New Multiple Range Test พบว่าเสถียรภาพของอินเวอร์ทเอสตรงรูปต่อ pH ที่ต่ำที่สุด คือ pH 4 และ 5 ส่วนที่ pH 8 อินเวอร์ท



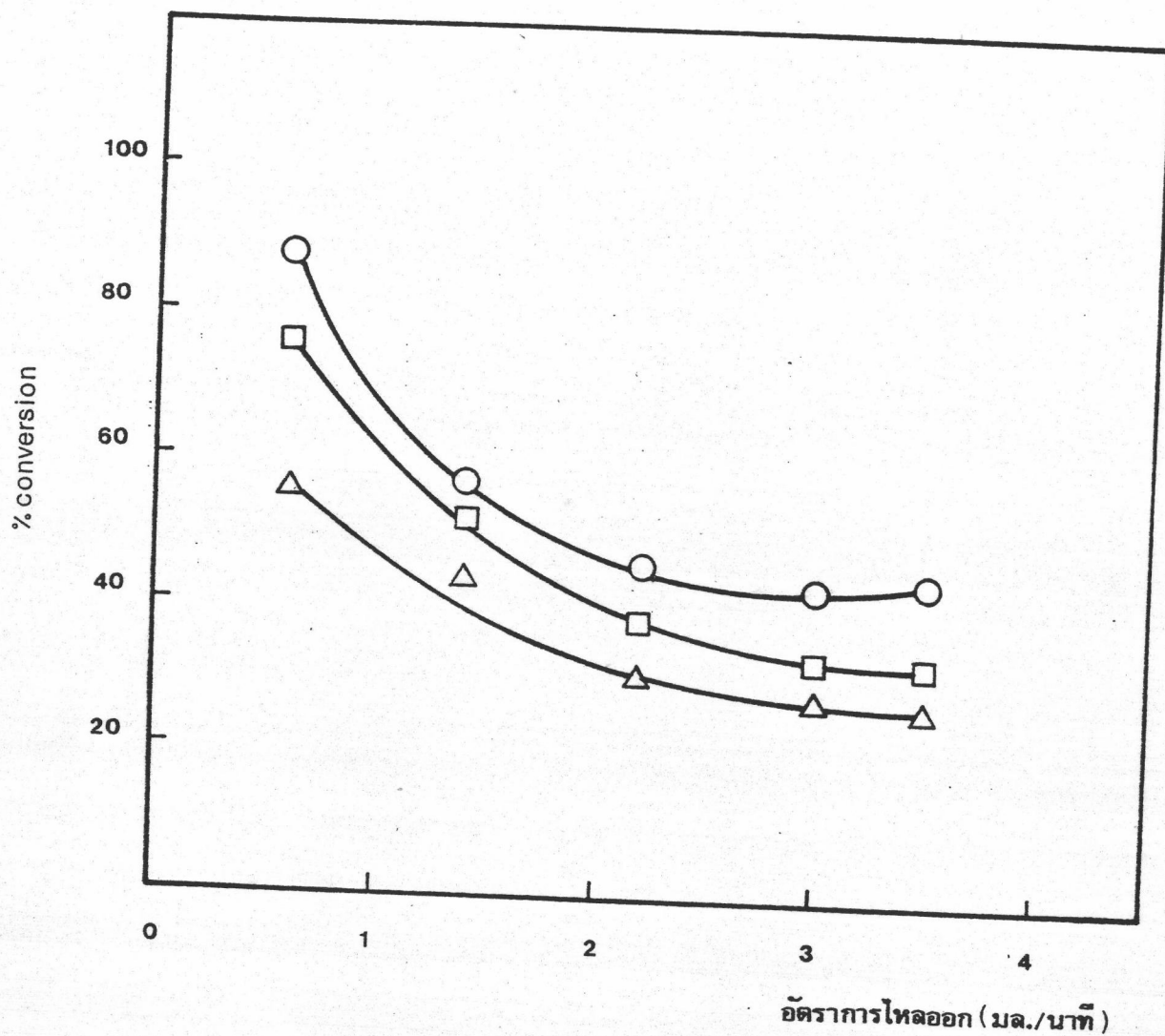
รูปที่ 23 ความสัมพันธ์ของ % conversion กับอัตราการป้อนสารละลายชูโครสในปฏิกรณ์แบบ packed-bed ปริมาตรบรรจุ 25 มล. ที่สารละลายชูโครสความเข้มข้นต่าง ๆ อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส pH 3.0

- สารละลายชูโครสความเข้มข้น 10%
- △ สารละลายชูโครสความเข้มข้น 15%
- สารละลายชูโครสความเข้มข้น 20%



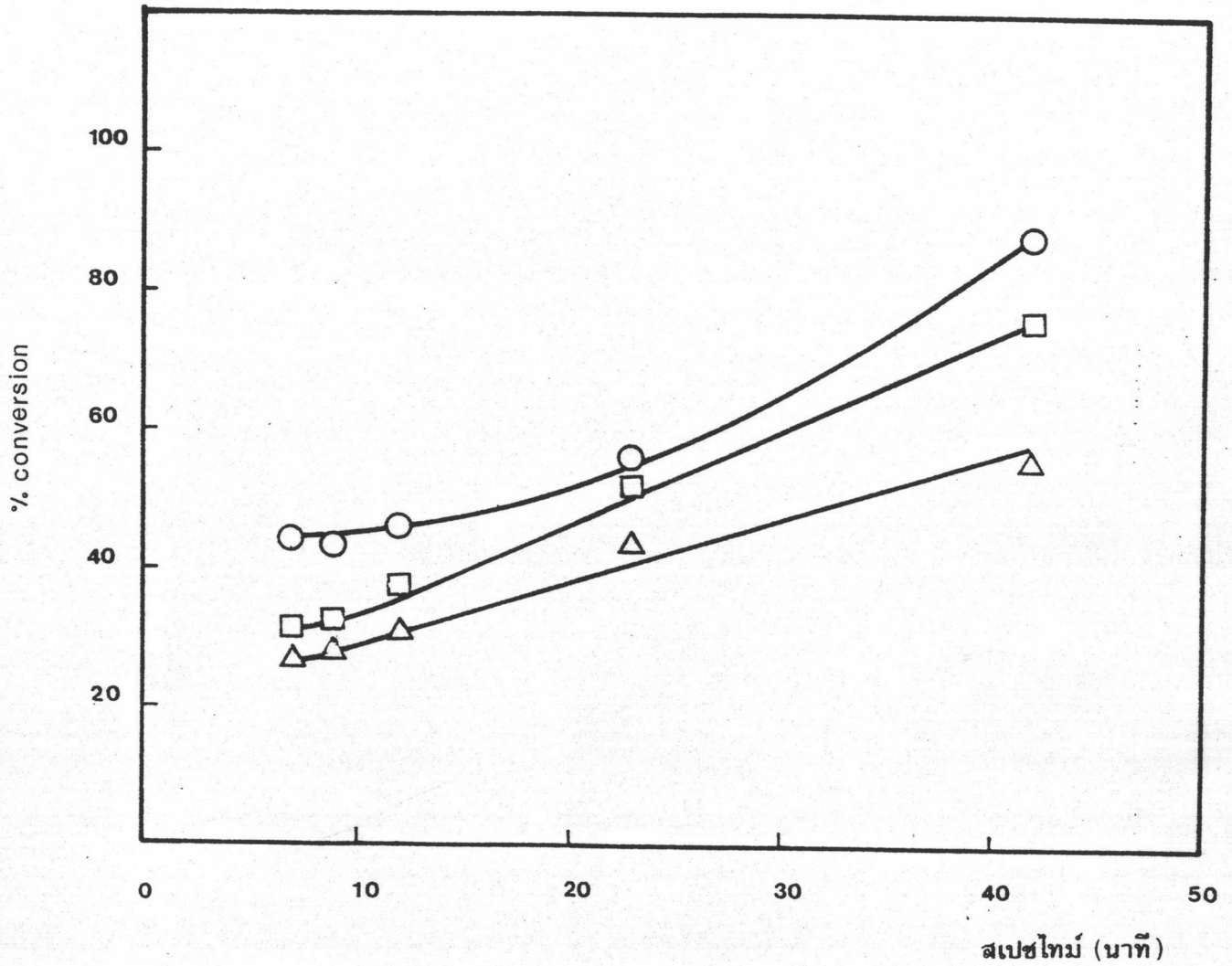
รูปที่ 24 ความสัมพันธ์ของ % conversion กับสเปซไทม์ในปฏิกรณ์แบบ packed-bed ปริมาตรบรรจุ 25 มล. ที่สารละลายซูโครสความเข้มข้นต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส pH 3.0

- สารละลายซูโครสความเข้มข้น 10%
- △ สารละลายซูโครสความเข้มข้น 15%
- สารละลายซูโครสความเข้มข้น 20%



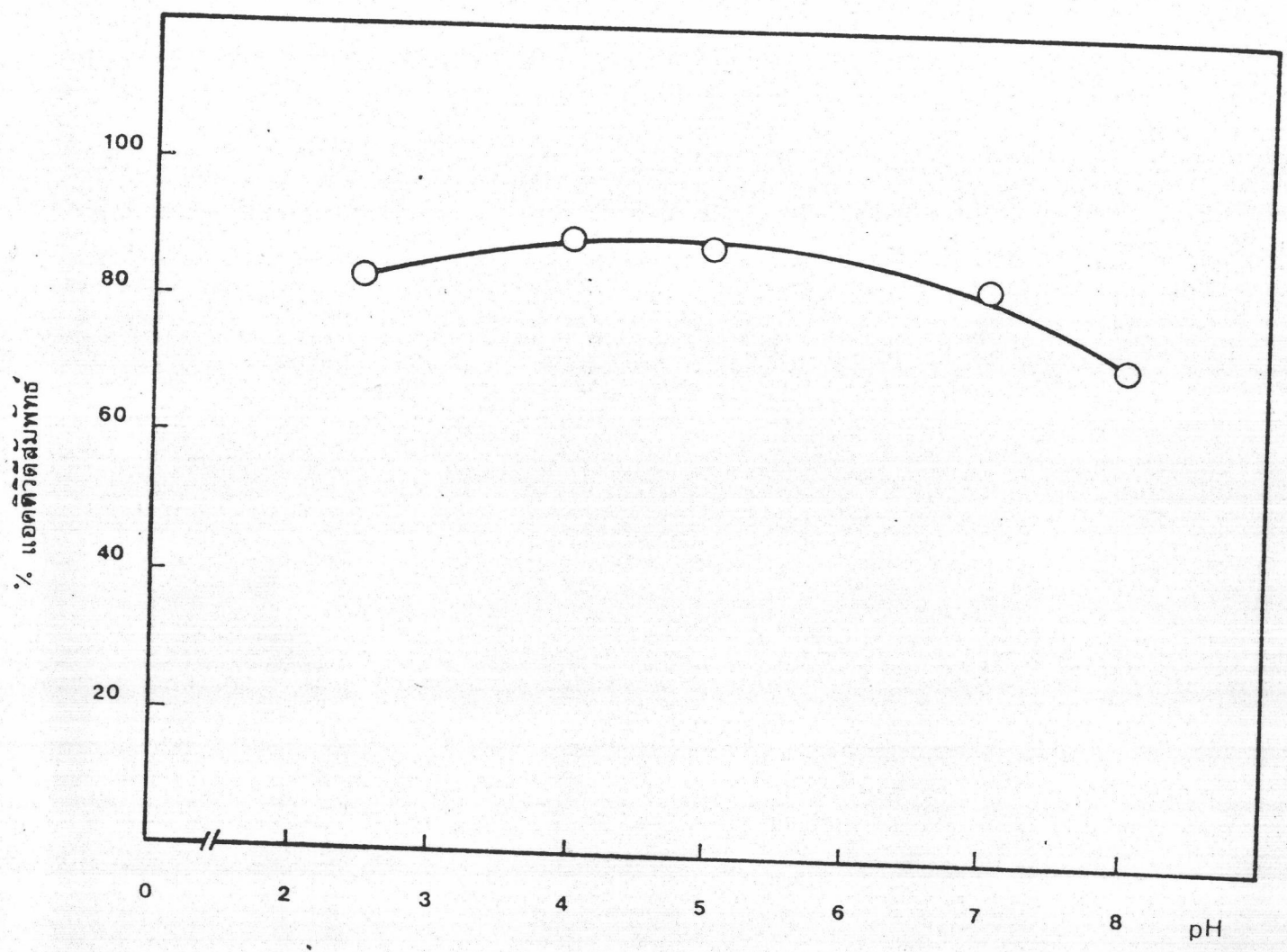
รูปที่ 25 ความสัมพันธ์ของ % conversion กับอัตราการไหลออกของผลิตภัณฑ์ที่อัตราการป้อนสารละลายต่าง ๆ กัน ในปฏิกรณ์แบบ packed-bed ในระบบไหลย้อนกลับ ปริมาตรบรรจุ 25 มล. ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส pH 3.0

- อัตราการป้อนสารละลายซูโครสที่ 12 มล./นาที
- อัตราการป้อนสารละลายซูโครสที่ 9 มล./นาที
- △ อัตราการป้อนสารละลายซูโครสที่ 6 มล./นาที



รูปที่ 26 ความสัมพันธ์ของ % conversion กับสเปซไทม์ที่อัตราการป้อนสารละลาย
 ชูโครสต่าง ๆ กัน ในปฏิกรณ์แบบ packed-bed ในระบบไหลย้อนกลับ ซึ่ง
 มีปริมาตรบรรจุ 25 มล. ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส pH 3.0

- อัตราการป้อนสารละลายชูโครสที่ 12 มล./นาที่
- อัตราการป้อนสารละลายชูโครสที่ 9 มล./นาที่
- △ อัตราการป้อนสารละลายชูโครสที่ 6 มล./นาที่



รูปที่ 27 ความสัมพันธ์ระหว่าง % แอซิติกแอซิดที่ pH 2.5-8 ของอินเวอร์เทสตรังรูป
ที่บ่มในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

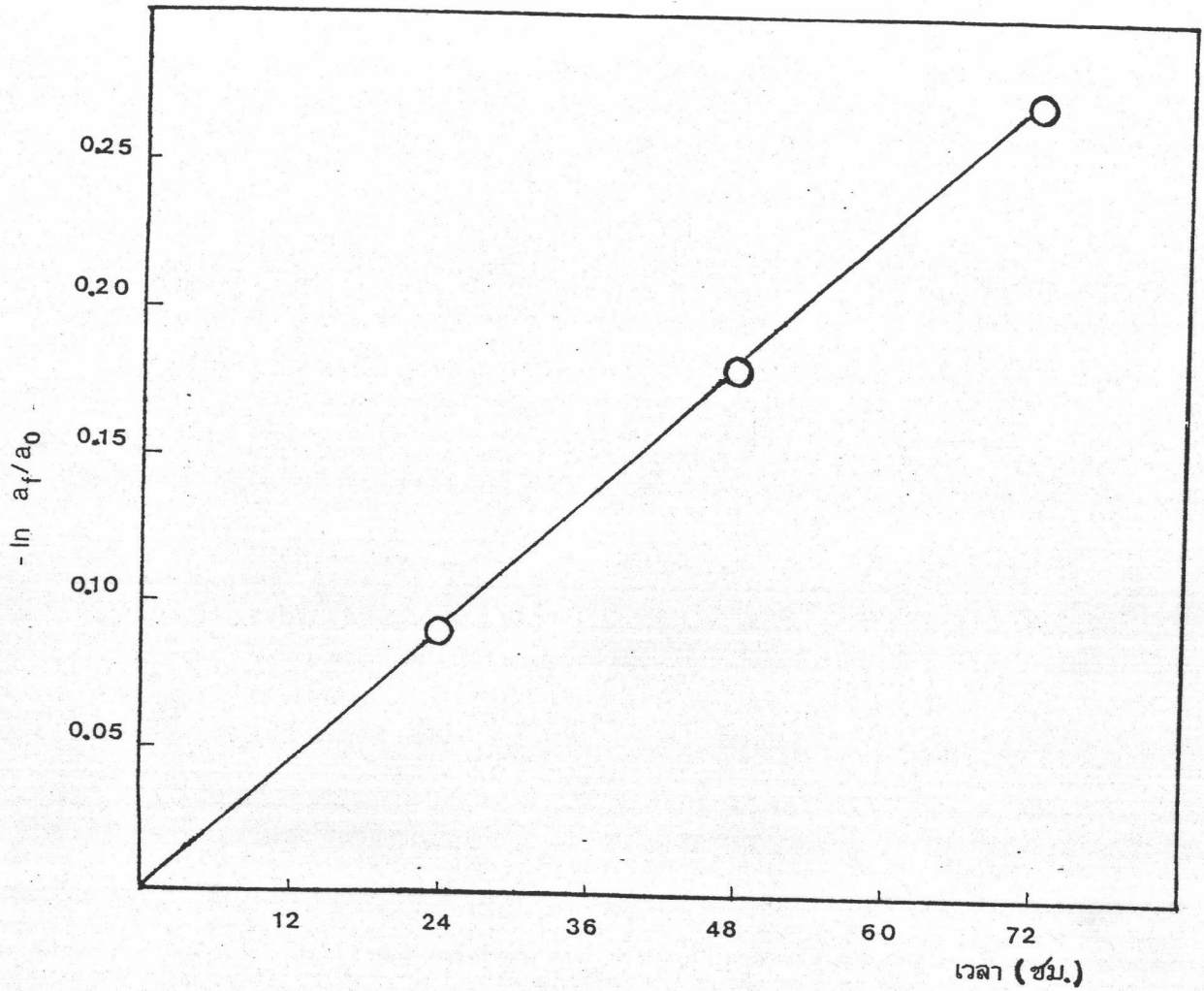
ทดสอบรูปมีเสถียรภาพที่ต่ำที่สุด

4.4 ค่าครึ่งชีวิตของอินเวอร์เทสตรังรูปในปฏิกรณ์แบบ packed-bed

ค่าครึ่งชีวิตของอินเวอร์เทสตรังรูปในปฏิกรณ์แบบ packed-bed ที่ 40 องศาเซลเซียส ในสารละลายน้ำตาลทราย 15 % ในซีเตรทฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 3.0 คือ 7.35 วัน ดังแสดงในรูปที่ 28

4.5 ปริมาณโปรตีนในเซลล์ตรังรูปก่อนและหลังการใช้งานในปฏิกรณ์แบบ packed-bed

จากการทดลอง ซึ่งได้ป้อนสารละลายซูโครส 15% (นน./นน.) pH 3.0 อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส อัตราไหล 1 มล./นาที เป็นเวลา 2 ชม. ปริมาณโปรตีนสัมพัทธ์ก่อนและหลังการป้อนสารละลายซูโครสมีค่าเท่ากับ 86.37% ซึ่งแสดงว่าภายหลังการป้อนสารละลายซูโครสเข้าไปในปฏิกรณ์ จะมีเซลล์ยีสต์ที่ถูกตรึงไว้บนทรายหลุดออกมาในปริมาณเล็กน้อย



รูปที่ 28 การประมาณค่าครึ่งชีวิตของเซลล์ตรงรูปในการใช้งานที่ pH 3.0
อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

5. ค่า Chemical Kinetics ของอินเวอร์เทสตรังรูป

5.1 ค่า Chemical Kinetics ของอินเวอร์เทสตรังรูปแบบไม่ต่อเนื่อง

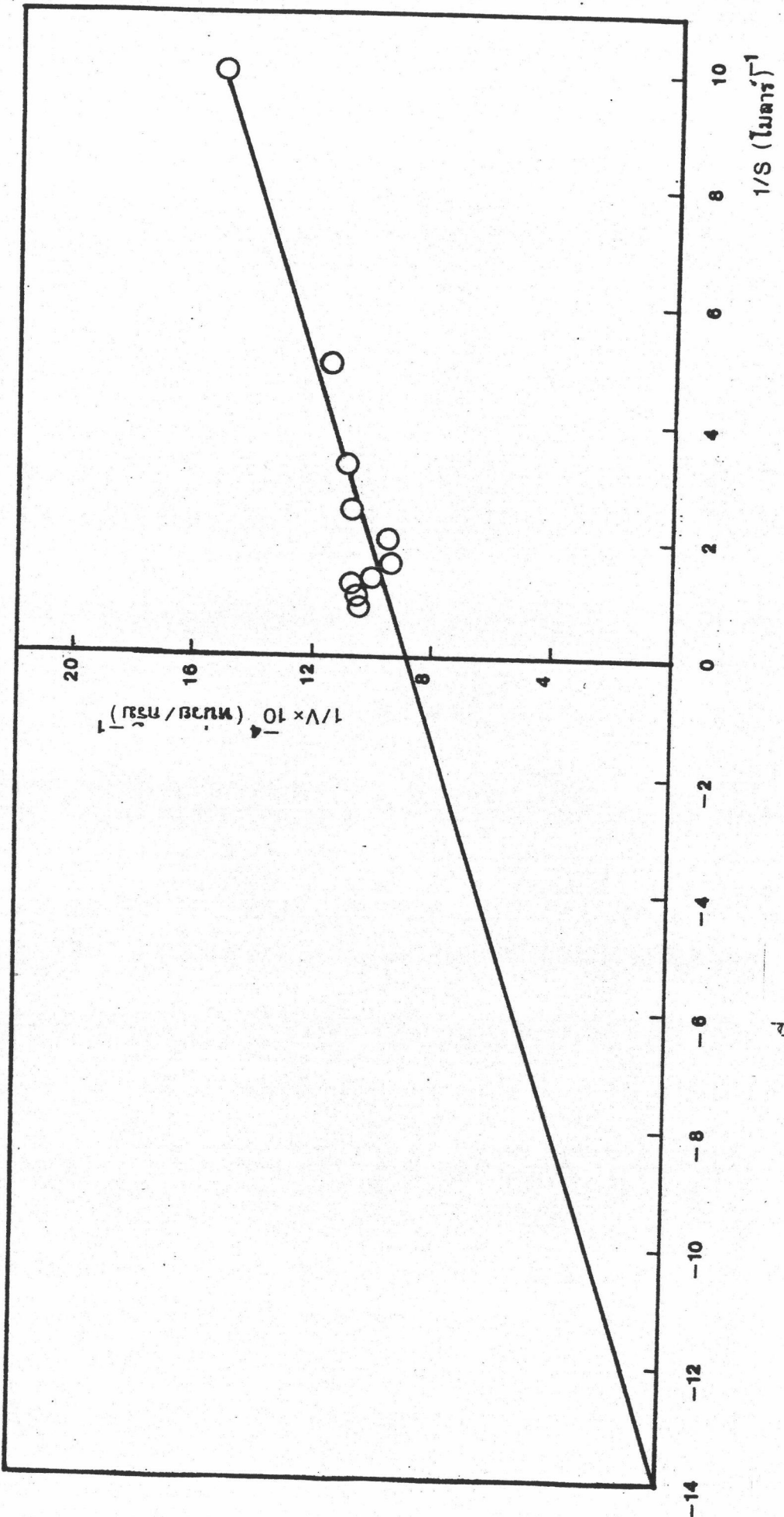
ค่าคงที่ของ Michaelis-Menten ที่ปรากฏ $[K_m(\text{app})]$ และค่าอัตราเร็วสูงสุด ในการเกิดปฏิกิริยาที่ปรากฏ $[V_{\text{max}}(\text{app})]$ ของอินเวอร์เทสตรังรูปแบบไม่ต่อเนื่อง จากกราฟ Lineweaver Burk Plot ในรูปที่ 29 ระหว่างส่วนกลับของอัตราเร็วของการเกิดปฏิกิริยากับส่วนกลับของความเข้มข้นของสารละลายซูโครสของอินเวอร์เทสตรังรูป พบว่าอินเวอร์เทสตรังรูปมีค่า $K_m(\text{app})$ และ $V_{\text{max}}(\text{app})$ ดังตารางที่ 12

5.2 ค่า Chemical Kinetics ที่ปรากฏของอินเวอร์เทสตรังรูปในปฏิกรณ์แบบ packed-bed

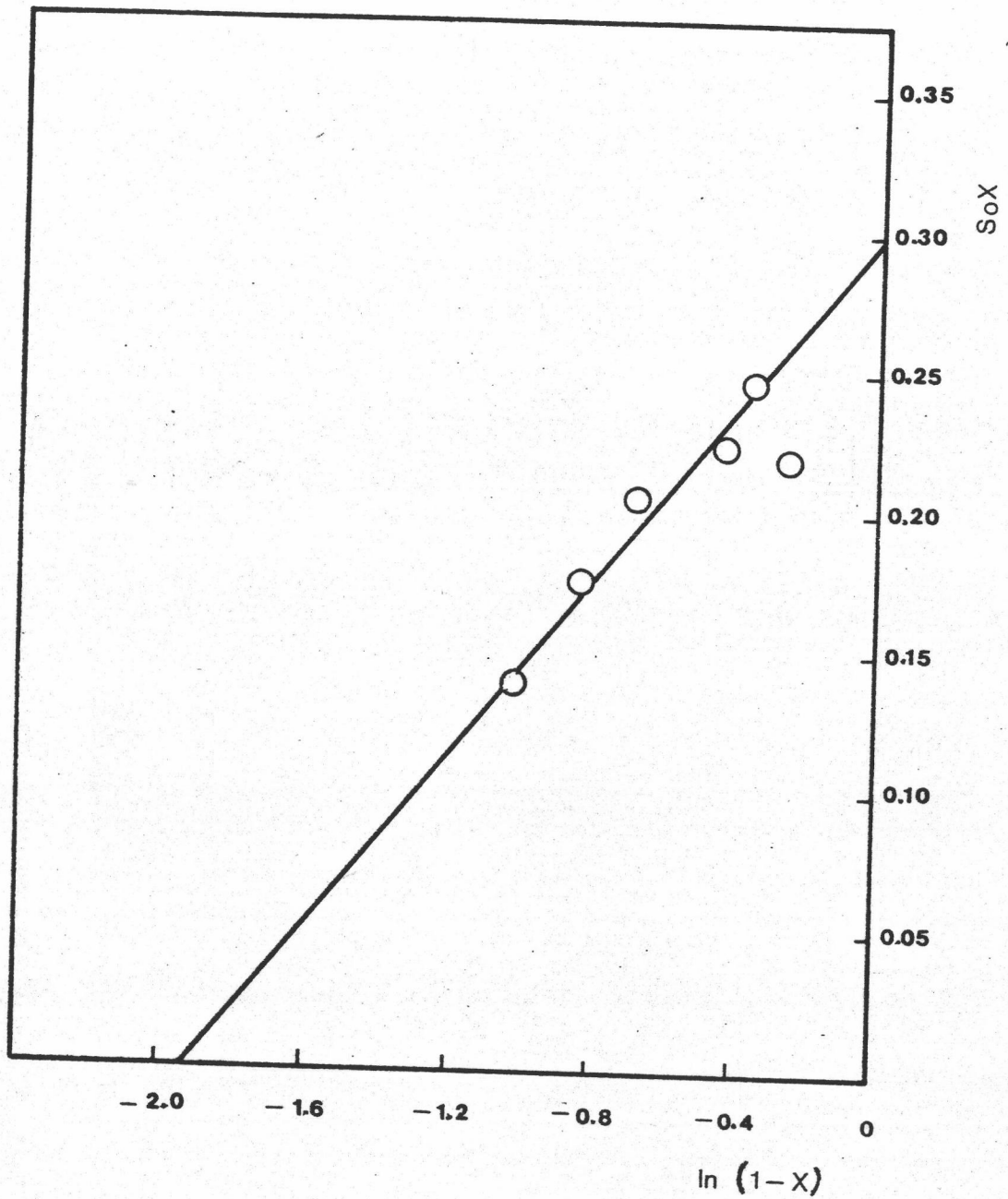
ค่าคงที่ของ Michaelis-Menten ที่ปรากฏและค่าอัตราเร็วของการเกิดปฏิกิริยาสูงสุดที่ปรากฏในปฏิกรณ์แบบ packed-bed จากกราฟรูปที่ 30 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง SoX กับ $\ln(1-x)$ พบว่าค่าคงที่ของ Michaelis-Menten ที่ปรากฏคือความชันของกราฟ ค่าอัตราเร็วของการเกิดปฏิกิริยาสูงสุดที่ปรากฏคำนวณได้จากค่าตัดแกน SoX (ภาคผนวก 6) และค่า Chemical Kinetics ของอินเวอร์เทสตรังรูปดังกล่าวในปฏิกรณ์แบบ packed-bed ดังตารางที่ 12

ตารางที่ 12 ค่า Chemical Kinetics ของอินเวอร์เทสตรังรูป ที่ 40 องศาเซลเซียส

| รูปแบบการแปรรูป | $K_m(\text{app})$ (มิลลิโมลาร์) | $V_{\text{max}}(\text{app})$ (หน่วย) |
|-----------------|---------------------------------|--------------------------------------|
| แบบไม่ต่อเนื่อง | 72.46 | 1148.87 |
| แบบต่อเนื่อง | 154.90 | 11,900.10 |



รูปที่ 29 Lineweaver Burk Plot ของอีแวนอร์เทสตรึงรูปที่ออกฤทธิ์
40 องศาเซลเซียส pH3.0



รูปที่ 30 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า S_oX กับ $\ln(1-X)$ ของอินเวอร์เทสตรังรูป ในปฏิกรณ์แบบ packed-bed ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส pH 3.0 อัตราการป้อนสารละลายน้ำตาลทราย 1 มล./นาที