การสกัดแอลคาไลน์โพรทีเอสจากน้ำหมักของ *Bacillus subtilis* TISTR 25 โดยใช้ระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคในหอสกัดโอลชูรัชตัน

นางสาวศันสนีย์ คูณกลาง

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี ภาควิชาวิศวกรรมเคมี
คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2548

ISBN 974-14-2176-1

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

- 6 พ.ค. 2553

EXTRACTION OF ALKALINE PROTEASE FROM FERMENTATION BROTH OF *Bacillus subtilis* TISTR 25 USING AQUEOUS TWO-PHASE SYSTEM IN OLDSHUE-RUSHTON COLUMN

Miss Sansance Koonklang

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Engineering Program in Chemical Engineering

Department of Chemical Engineering

Faculty of Engineering

Chulalongkorn University

Academic Year 2005

ISBN 974-14-2176-1

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การสกัดแอลคาไลน์โพรทีเอสจากน้ำหมักของ *Bacillus subtilis* TISTR 25 โดยใช้ระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคในหอสกัดโอลชูรัชตัน
โดย	นางสาว ศันสนีย์ คูณกลาง
สาขาวิชา	วิศวกรรมเคมี
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สีรุ้ง ปรีชานนท์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รองศาสตราจารย์ ดร.นภา ศิวรังสรรค์

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิศวกรรมศาสตร์
(ศาสตราจารย์ ดร.ดิเรก ลาวัณย์ศิริ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เหมือนเดือน พิศาลพงศ์)

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

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(รองศาสตราจารย์ ดร.นภา ศิวรังสรรค์)

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.สุทธิชัย อัสสะบำรุงรัตน์)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อาทิวรรณ โชติพฤกษ์)

ศันสนีย์ คูณกลาง : การสกัดแอลคาไลน์โพรทีเอสจากน้ำหมักของ *Bacillus subtilis* TISTR25 โดยใช้ระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคในหอสกัดโอลชูรัชตัน (EXTRACTION OF ALKALINE PROTEASE FROM FERMENTATION BROTH OF *Bacillus subtilis* TISTR 25 USING AQUEOUS TWO-PHASE SYSTEM IN OLDSHUE-RUSHTON COLUMN) อ.ที่ปรึกษา: ผศ. ดร.สีรุ้ง ปรีชานนท์, อ. ที่ปรึกษาร่วม: รศ.ดร. นภา ศิวรังสรรค์,122 หน้า ISBN 974-14-2176-1

วัตถุประสงค์หลักของงานวิจัยนี้เพื่อหาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดเอนไซม์แอลคาไลน์โพรทีเอสจากน้ำหมักของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* TISTR 25 โดยใช้ระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคในหอสกัดโอลชูรัชตันขนาด 5.7 ลิตร โดยวัฏภาคต่อเนื่องมีองค์ประกอบของ ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 19.65%(w/w) โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 8.35%(w/w) และ น้ำกรอง72 % (w/w) วัฏภาคกระจายตัวมีองค์ประกอบของ พอลีเอทิลีนไกลคอล 1000 42.5%(w/w) ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 1.75%(w/w) โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.75%(w/w) และน้ำกรอง 55%(w/w) ซึ่งการทดลองจะประกอบด้วยการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดเอนไซม์แอลคาไลน์โพรทีเอสจากแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* TISTR 25 โดยจะทำการหาอิทธิพลของความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่อง(20 40 และ 55 %)(w/w) อิทธิพลของอัตราการไหลเชิงปริมาตรของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว โดยกำหนดให้สัดส่วนเชิงปริมาตรของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัวคงที่ ที่ 3:1 (42/12, 69/28 และ 97/28 มิลลิลิตรต่อนาที) และอิทธิพลของการปั่นกวนของใบพัด(100 และ 140 รอบนาที) โดยพิจารณาจากประสิทธิภาพการสกัดได้แก่ จำนวนเท่าของความบริสุทธิ์ เปอร์เซ็นต์ผลได้ ค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลรวมของเอนไซม์แอลคาไลน์โพรทีเอสระหว่างวัฏภาค และโพรไฟล์ความเข้มข้นของเอนไซม์ในวัฏภาคต่อเนื่องตามความสูงของหอสกัด รวมถึงจะทำการทดสอบเสถียรภาพของเอนไซม์ที่สามารถสกัดได้ จากการวิจัยพบว่า ภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดเอนไซม์แอลคาไลน์โพรตีเอสจากน้ำหมักของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* TISTR 25 โดยใช้ระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาคในหอสกัดโอลชูรัชตันขนาด 5.7 ลิตร คือ ที่ค่าความเข้มข้นของน้ำหมักเริ่มต้นในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 55 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ที่อัตราการไหลเชิงปริมาตรของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระตัวที่ 97/28 มิลลิลิตรต่อนาที และที่การปั่นกวนของใบพัดที่อยู่ในช่วง 100-140 รอบต่อนาที โดยจะให้จำนวนเท่าของความบริสุทธิ์ เปอร์เซ็นต์ผลได้ และค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลรวมของเอนไซม์แอลคาไลน์โพรทีเอสระหว่างวัฏภาคเท่ากับ 1.39-1.43 เท่า 52.14 - 51.78 เปอร์เซ็นต์ และ 4.49-4.52 $\times 10^{-4}$ นาที$^{-1}$ ตามลำดับ ซึ่งที่อัตราการไหลเชิงปริมาตรนี้สามารถสกัดน้ำหมักได้ 76.82 ลิตรในระยะเวลาสกัด 1 วัน ส่วนการทดสอบเสถียรภาพของเอนไซม์แอลคาไลน์โพรทีเอสที่ผ่านการสกัดแล้วซึ่งกระจายตัวอยู่ในวัฏภาคกระจายตัวที่อุณหภูมิห้อง ระยะเวลาเก็บ 3 สัปดาห์ พบว่าเอนไซม์มีค่ากิจกรรมเอนไซม์ลดลงจากเริ่มต้นเป็น 14.3 เปอร์เซ็นต์

ภาควิชา.....วิศวกรรมเคมี.....ลายมือชื่อนิสิต.....ศันสนีย์ คูณกลาง.....

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

ปีการศึกษา.....2548.....ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

4770473421 : MAJOR CHEMICAL ENGINEERING DEPARTMENT
KEY WORD: AQUEOUS TWO-PHASE SYSTEM(ATPS)/ALKALINE PROTEASE / OLDSHUE RUSHTON
SANSANEE KOONKLANG: EXTRACTION OF ALKALINE PROTEASE FROM FERMENTATION BROTH OF *Bacillus subtilis* TISTR 25 USING AQUEOUS TWO-PHASE SYSTEM IN OLDSHUE-RUSHTON COLUMN. THESIS ADVISOR: ASST. PROF. SEEROONG PRICHANONT, Ph.D., THESIS CO-ADVISOR: ASSOC.PROF. NAPA SIWARUNGSON. Ph.D. 122 pp. ISBN 974-14-2176-1

The aim of this research was to determine optimal conditions for extraction of alkaline protease from *Bacillus subtilis* TISTR 25 fermentation broth using aqueous two-phase system in Oldshue-Rushton column 5.7 liter. Extraction was done in continuous mode with dispersed phase composed of (by weight) PEG 1000 42.5%, dipotassiumhydrogenphosphate 1.75%, potassiumdihydrogen phosphate 0.75%, water 55% flowing upwards and continuous phase of dipotassium hydrogenphosphate 19.65%, potassium dihydrogenphosphate 6.35%, water 55% flowing downwards. The research was to study effects of fermentation broth concentration(20,40 and 55% w/w), continuous/dispersed flow rates(42/12, 69/20 and 97/28 ml/min),and impeller revolution speed(100 and 140 rpm) on purification factor, yield percent, over all mass transfer coefficient, and enzyme activity in continuous phase profile in extraction column. The stability of the extracted alkaline protease in PEG rich-phase was also studied. It was found that the optimal conditions for alkaline protease extraction in Oldshue-Rushton column 5.7 liter were 55% w/w fermentation broth, continuous/dispersed phase flow rate of 97/28 ml/min, and impeller speed of 100-140 rpm. These conditions gave purification factor, yield percent, and overall mass transfer coefficient of 1.39-1.48, 52.14 - 51.78 % and 4.49-4.52 $\times$ 10^{-4} min^{-1}, respectively. with this volumetric flow rate, fermentation broth of 76.82 l could be extracted within one day of operation.. It was also found that the activity of the extracted alkaline protease dissolve in PEG 1000 rich phase system reduced its initial activity from 14.3 percent after keeping at 30$\pm$2 °C for 3 weeks.

Department.....Chemical Engineering.....Student's signature.....ศันสนีย์ คูณกลาง.....
Field of study...Chemical Engineering.....Advisor's signature.....
Academic year.....2005.....Co-advisor's signature...Napa Siwarungson

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยความช่วยเหลือจากหลายๆท่าน ผู้วิจัยขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สีรุ้ง ปรีชานนท์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ เป็นอย่างสูง สำหรับการให้คำปรึกษาที่มีคุณค่าต่อการพัฒนางานวิจัย การตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์ ตลอดจนการพัฒนาความคิดในการเป็นนักวิจัยที่ดี และรองศาสตรจารย์ ดร.นภา ศิวรังสรรค์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วมที่ให้ความอนุเคราะห์น้ำหมักของเชื้อ *Bacillus subtilis* TISTR 25

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตรจารย์ ดร.เหมือนเดือน พิศาลพงศ์ ประธานกรรมการ รองศาสตราจารย์ ดร.สุทธิชัย อัสสะบำรุงรัตน์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อาทิวรรณ โชติพฤกษ์ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ได้ให้ข้อเสนอแนะ ข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์และแก้ไขเพิ่มเติมในส่วนที่บกพร่องของงานวิจัยนี้

ขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัย และภาควิชาวิศวกรรมเคมี ที่ได้สนับสนุนให้ทุนอุดหนุนในการวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณพี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ ของห้องวิจัยชีวเคมีและห้องวิจัยข้างๆ ที่ให้คำแนะนำ ให้คำปรึกษาทั้งเรื่องงานและเรื่องส่วนตัวต่างๆ จนสามารถทำงานวิจัยนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณพี่ธเนศ จากภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ช่วยผลิตน้ำหมักของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* TISTR 25 และช่วยในการขนถ่ายน้ำหมัก ตลอดจนความรู้และคำแนะนำต่างๆที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ เพื่อใช้ในงานวิจัยนี้

ท้ายที่สุดนี้ขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และพี่สาวเป็นอย่างสูง ที่สนับสนุนทุนการศึกษา กำลังใจ และเป็นแรงผลักดันที่ดี จนผู้ทำวิจัยสามารถทำงานวิจัยนี้จนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สารบัญ

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... จ
กิตติกรรมประกาศ..... ฉ
สารบัญ..... ช
สารบัญตาราง..... ฎ
สารบัญรูป..... ถ

บทที่ หน้า

1. บทนำ..... 1
   1.1 วัตถุประสงค์..... 2
   1.2 ขอบเขตการศึกษา..... 2
   1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... 3
2. ทฤษฎี..... 4
   2.1 บทนำ..... 4
   2.2 แอลคาไลน์โพรทีเอส..... 4
   2.3 สมดุลระหว่างสองวัฏภาค..... 4
      2.3.1 เงื่อนไขของสมดุลวัฏภาค..... 4
      2.3.2 ค่าสัมประสิทธิ์การแยก (Partition coefficient, m)..... 5
   2.4 การสกัดของเหลวด้วยของเหลว..... 6
      2.4.1 ระบบสารละลายน้ำสองวัฏภาค (Aqueous two-phase Systems, ATPS)..... 6
      2.4.2 แผนภาพวัฏภาค (Phase diagram)..... 6
   2.5 โพรไฟล์ความเข้มข้นของเอนไซม์ในวัฏภาคต่อเนื่องตามความสูงของหอสกัด..... 8
   2.6 หอสกัดโอลชูรัชตัน..... 9
   2.7 ประสิทธิภาพของหอสกัดโอลชูรัสตัน..... 11
      2.7.1 จำนวนเท่าของความบริสุทธิ์ (Purification factor, PF)..... 11
      2.7.2 เปอร์เซ็นต์ผลได้ (% Yield)..... 12
      2.7.3 ค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลสารรวมของวัฏภาคกระจายตัว($K_{OD}a$)..... 12
3. ตรวจเอกสาร..... 13
   3.1 ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพของการสกัดในหอสกัด..... 13

บทที่ หน้า

3.1.1 อิทธิพลของ Superficial velocity ของวัฏภาคกระจายตัว(Superficial velocity of dispersed phase)..... 13
3.1.2 อิทธิพลของการปั่นกวนของใบพัด..... 13
3.1.3 อิทธิพลของ Sparger ในการสกัดของหอสกัดแบบ Spray (Spray column)..... 15
3.1.3.1 อิทธิพลของขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ Sparger..... 15
3.1.3.2 อิทธิพลของจำนวนรูของ sparger..... 15
3.2 การสกัดเอนไซม์แอลคาไลน์โพรทีเอสในหอสกัดต่างๆ..... 17
3.3 การทดสอบเสถียรภาพของเอนไซม์ที่สามารถสกัดได้..... 17
3.4 การพัฒนางานวิจัยการสกัดเอนไซม์แอลคาไลน์โพรทีเอสในหอสกัดโอลชูรัชตัน.. 17
4. อุปกรณ์ เคมีภัณฑ์และวิธีการดำเนินงานวิจัย..... 20
4.1 อุปกรณ์..... 20
4.2 เคมีภัณฑ์..... 20
4.3 วิธีการดำเนินงานวิจัย..... 21
4.3.1 การศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดเอมไซม์แอลคาไลน์โพรทีเอสในหอสกัดโอลชูรัชตันขนาด 5.7 ลิตร..... 21
4.3.1.1 การหาค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ที่ความเข้มข้นต่างๆของน้ำหมักในถังป้อนก่อนเข้าหอสกัด..... 21
4.3.1.2 การหาความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องที่เหมาะสม. 22
4.3.1.3 การหาอัตราการไหลเชิงปริมาตรของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัวที่เหมาะสมโดยกำหนดสัดส่วนทั้งสองวัฏภาคคงที่ที่ 3:1 23
4.3.1.4 การหาค่า hold up ของวัฏภาคกระจายตัว..... 23
4.3.1.5 การหาค่า characteristic velocity ($\overline{U_0}$) ที่ความเร็วรอบต่างๆในการปั่นกวน..... 24
4.3.1.6 การหาการปั่นกวนในหอสกัดที่เหมาะสม..... 24
4.3.2 การทดสอบเสถียรภาพของเอนไซม์ที่สามารถสกัดได้..... 24
4.4 วิธีการวิเคราะห์..... 24
4.4.1 การวิเคราะห์ค่ากิจกรรมของแอลคาไลน์โพรทีเอส..... 24
4.4.2 การเตรียมสารละลายเพื่อหาค่ากิจกรรมของแอลคาไลน์โพรทีเอส..... 25
4.4.3 การวิเคราะห์หาความเข้มข้นโปรตีน..... 26

บทที่ หน้า

4.4.4 การเตรียมสารละลายเพื่อหาความเข้มข้นโปรตีน..... 26
5. ผลการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลอง..... 27
5.1 บทนำ..... 27
5.2 อิทธิพลของความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่อง..... 31
5.2.1 อิทธิพลของความเข้มข้นของน้ำหมักต่อโพรไฟล์ความเข้มข้นของเอนไซม์ในวัฏภาคต่อเนื่องตามความสูงหอสกัด..... 33
5.2.2 อิทธิพลของความเข้มข้นของน้ำหมักที่มีต่อจำนวนเท่าความบริสุทธิ์ เปอร์เซ็นต์ผลได้ และค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลรวม..... 36
5.3 อิทธิพลของอัตราการไหลเชิงปริมาตรของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัวที่สัดส่วนของทั้งสองวัฏภาคคงที่ ที่ 3:1..... 38
5.3.1 อิทธิพลของอัตราการไหลเชิงปริมาตรต่อโพรไฟล์ความเข้มข้นของเอนไซม์ในวัฏภาคต่อเนื่องตามความสูงของหอสกัด..... 39
5.3.2 อิทธิพลของอัตราการไหลเชิงปริมาตรต่อจำนวนเท่าความบริสุทธิ์ เปอร์เซ็นต์ผลได้และค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลรวม..... 41
5.4 อิทธิพลของการปั่นกวนของใบพัด..... 43
5.4.1 อิทธิพลของการปั่นกวนของใบพัดที่มีผลต่อโพรไฟล์ความเข้มข้นของเอนไซม์ในวัฏภาคต่อเนื่องตามความสูงของหอสกัด..... 45
5.4.2 อิทธิพลของการปั่นกวนของใบพัดที่มีผลต่อจำนวนเท่าความบริสุทธิ์ เปอร์เซ็นต์ผลได้และค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลรวม..... 46
5.5 การเปรียบเทียบกับงานวิจัยที่ใกล้เคียงกัน..... 47
5.6 การหาสาเหตุของการสูญเสียค่ากิจกรรมเอนไซม์ในกระบวนการสกัด..... 49
5.6.1 อิทธิพลของสารเคมีที่ใช้เป็นองค์ประกอบของแต่ละวัฏภาค..... 49
5.6.2 ตรวจสอบการสะสมของเอนไซม์ในวัฏภาคที่สาม(ใต้ settling zone ของวัฏภาคกระจายตัว)..... 49
5.6.3 ตรวจสอบค่ากิจกรรมเอนไซม์ของวัฏภาคกระจายตัวที่ผสมมากับวัฏภาคต่อเนื่องขาออก..... 52
5.6.4 อิทธิพลของการปั่นกวนของใบพัดในหอสกัด..... 53
5.7 การทดสอบเสถียรภาพของเอนไซม์ที่สามารถสกัดได้..... 55
6. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ..... 56
6.1 สรุปผลการทดลอง..... 56
6.2 การทดสอบเสถียรภาพของเอนไซม์ที่สามรถสกัดได้..... 56

บทที่ หน้า

6.3 ข้อเสนอแนะ..... 56
รายการอ้างอิง..... 57
ภาคผนวก..... 59
ภาคผนวก ก..... 60
ภาคผนวก ข..... 62
ภาคผนวก ค..... 64
ภาคผนวก ง..... 78
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....122

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

5.1 แสดงปริมาณของเอนไซม์รวมขาเข้าและขาออกจากหอสกัดที่ความเข้มข้นของน้ำหมักเริ่มต้นต่างๆ 37

5.2 แสดงปริมาณของเอนไซม์รวมขาเข้าและขาออกจากหอสกัดที่อัตราการไหลเชิงปริมาตรของวัฏภาคกระจายตัวต่างๆ 42

5.3 แสดงค่า $\overline{U_0}$ และอัตราการไหลเชิงปริมาตรที่ Flooding point ที่ความเร็วรอบในการปั่นกวนของใบพัดต่างๆ 44

5.4 แสดงงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสกัดเอนไซม์และโปรตีนในหอสกัด 48

ค.1 กิจกรรมแอลคาไลน์โพรทีเอสในถังป้อน ที่ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องต่างๆตามเวลาอัตราการไหลเชิงปริมาตรของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว 42/12 มิลลิลิตรต่อนาที การปั่นกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที 65

ค.2 ค่ากิจกรรมแอลคาไลน์โพรทีเอสและโปรตีนที่ถูกสกัดในหอสกัดตามความสูงของหอสกัดที่ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องต่างๆ อัตราการไหลเชิงปริมาตรของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว 42/12 มิลลิลิตรต่อนาที การปั่นกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที 66

ค.3 ค่ากิจกรรมแอลคาไลน์โพรทีเอสเฉลี่ย ที่ถูกสกัดในหอสกัดตามเวลาที่ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องต่างๆ อัตราการไหลเชิงปริมาตรของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว 42/12 มิลลิลิตรต่อนาที การปั่นกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที 67

ค.4 ความเข้มข้นของโปรตีนที่ถูกสกัดในหอสกัดตามเวลาที่อัตราการไหลเชิงปริมาตรต่างๆ ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่อง 55 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก การปั่นกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที 68

ค.5 กิจกรรมแอลคาไลน์โพรทีเอสในถังป้อน ที่อัตราการไหลเชิงปริมาตรของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัวต่างๆตามเวลา ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 55 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก การปั่นกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที 69

ค.6 ค่ากิจกรรมแอลคาไลน์โพรทีเอสและโปรตีนที่ถูกสกัดในหอสกัดตามความสูงของหอสกัดที่อัตราการไหลเชิงปริมาตรต่างๆ ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 55 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก การปั่นกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที 70

ตารางที่ หน้า

ค.7 ค่ากิจกรรมแอลคาไลน์โพรทีเอสที่ถูกสกัดในหอสกัดตามเวลาที่อัตราการไหลเชิงปริมาตรต่างๆ ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่อง 55 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก การปั่นกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที..... 71

ค.8 ความเข้มข้นของโปรตีนที่ถูกสกัดในหอสกัดตามเวลาที่อัตราการไหลเชิงปริมาตรต่างๆ ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่อง 55 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก การปั่นกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที..... 72

ค.9 ค่ากิจกรรมแอลคาไลน์โพรทีเอสในถังป้อน ที่การปั่นกวนของใบพัดต่างๆตามเวลา ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 55 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการไหลเชิงปริมาตรของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว 97/28 มิลลิลิตรต่อนาที..... 73

ค.10 ค่ากิจกรรมแอลคาไลน์โพรทีเอสและโปรตีนที่ถูกสกัดในหอสกัดตามความสูงของหอสกัดที่การปั่นกวนใบพัดต่างๆ ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 55 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการไหลเชิงปริมาตรของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว 97/28 มิลลิลิตรต่อนาที..... 74

ค.11 ค่ากิจกรรมแอลคาไลน์โพรทีเอสที่ถูกสกัดในหอสกัดตามเวลา ที่การปั่นกวนของใบพัดต่างๆ ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่อง 55 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการไหลเชิงปริมาตรของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว 97/28 มิลลิลิตรต่อนาที..... 75

ค.12 ความเข้มข้นของโปรตีนที่ถูกสกัดในหอสกัดตามเวลาที่การปั่นกวนของใบพัดต่างๆ ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่อง 55 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการไหลเชิงปริมาตรของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว 97/28 มิลลิลิตรต่อนาที..... 76

ค.13 แสดงค่าสัมประสิทธิ์การแยกของเอนไซม์ที่ความเข้มข้นต่างๆของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเริ่มต้น..... 77

ง.1 ค่ากิจกรรมแอลคาไลน์โพรทีเอสจริงในถังป้อน ที่ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 20 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการไหลเชิงปริมาตร ของวัฏภาคต่อเนื่อง /วัฏภาคกระจายตัว 42/12 มิลลิลิตรต่อนาที การปั่นกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที..... 79

ง.2 ค่ากิจกรรมแอลคาไลน์โพรทีเอสจริงที่ถูกสกัดในวัฏภาคต่อเนื่อง ตามความสูงต่างๆของหอสกัด ที่ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 20 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการไหลเชิงปริมาตร ของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว 42/12 มิลลิลิตรต่อนาที การปั่นกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที..... 80

ตารางที่ หน้า

ง.3 ค่ากิจกรรมแอลคาไลน์โพรทีเอสจริงที่ถูกสกัดในวัฏภาคกระจายตัว ที่เวลาในการสกัดต่างๆ ที่ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 20 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการไหลเชิงปริมาตร ของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว 42/12 มิลลิลิตรต่อนาที การปั่นกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที..... 81

ง.4 ค่ากิจกรรมแอลคาไลน์โพรทีเอสจริงที่ถูกสกัดในวัฏภาคต่อเนื่อง ที่เวลาในการสกัดต่างๆ ที่ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 20 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการไหลเชิงปริมาตร ของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว 42/12 มิลลิลิตรต่อนาที การปั่นกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที..... 81

ง.5 ความเข้มข้นของโปรตีนจริงที่ถูกสกัดในวัฏภาคต่อเนื่อง ตามความสูงต่างๆของหอสกัด ที่ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 20 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการไหลเชิงปริมาตร ของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว 42/12 มิลลิลิตรต่อนาที การปั่นกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที..... 82

ง.6 ความเข้มข้นของโปรตีนจริงที่ถูกสกัดในวัฏภาคกระจายตัว ที่เวลาในการสกัดต่างๆ ที่ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 20 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการไหลเชิงปริมาตร ของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว 42/12 มิลลิลิตรต่อนาที การปั่นกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที..... 83

ง.7 ความเข้มข้นของโปรตีนจริงที่ถูกสกัดในวัฏภาคต่อเนื่อง ที่เวลาในการสกัดต่างๆ ที่ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 20 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการไหลเชิงปริมาตร ของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว 42/12 มิลลิลิตรต่อนาที การปั่นกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที..... 84

ง.8 ค่ากิจกรรมแอลคาไลน์โพรทีเอสจริงในถังป้อน ที่ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 40 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการไหลเชิงปริมาตร ของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว 42/12 มิลลิลิตรต่อนาที การปั่นกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที..... 85

ง.9 ค่ากิจกรรมแอลคาไลน์โพรทีเอสจริงที่ถูกสกัดในวัฏภาคต่อเนื่อง ตามความสูงต่างๆของหอสกัด ที่ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 40 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการไหลเชิงปริมาตร ของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว 42/12 มิลลิลิตรต่อนาที การปั่นกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที..... 86

ตารางที่ หน้า

ง.10 ค่ากิจกรรมแอลคาไลน์โพรทีเอสจริงที่ถูกสกัดในวัฏภาคกระจายตัว ที่เวลาในการสกัดต่างๆ ที่ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 40 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการไหลเชิงปริมาตร ของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว 42/12 มิลลิลิตรต่อนาที การปั่นกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที..... 87

ง.11 ค่ากิจกรรมแอลคาไลน์โพรทีเอสจริงที่ถูกสกัดในวัฏภาคต่อเนื่อง ที่เวลาในการสกัดต่างๆ ที่ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 40 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการไหลเชิงปริมาตร ของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว 42/12 มิลลิลิตรต่อนาที การปั่นกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที..... 88

ง.12 ความเข้มข้นของโปรตีนจริงที่ถูกสกัดในวัฏภาคต่อเนื่อง ตามความสูงต่างๆของหอสกัด ที่ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 40 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการไหลเชิงปริมาตร ของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว 42/12 มิลลิลิตรต่อนาที การปั่นกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที..... 89

ง.13 ความเข้มข้นของโปรตีนจริงที่ถูกสกัดในวัฏภาคกระจายตัว ที่เวลาในการสกัดต่างๆ ที่ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 40 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการไหลเชิงปริมาตร ของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว 42/12 มิลลิลิตรต่อนาที การปั่นกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที..... 90

ง.14 ความเข้มข้นของโปรตีนจริงที่ถูกสกัดในวัฏภาคต่อเนื่อง ที่เวลาในการสกัดต่างๆ ที่ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 40 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการไหลเชิงปริมาตร ของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว 42/12 มิลลิลิตรต่อนาที การปั่นกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที..... 91

ง.15 ค่ากิจกรรมแอลคาไลน์โพรทีเอสจริงในถังป้อน ที่ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 55 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการไหลเชิงปริมาตร ของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว 42/12 มิลลิลิตรต่อนาที การปั่นกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที..... 92

ง.16 ค่ากิจกรรมแอลคาไลน์โพรทีเอสจริงที่ถูกสกัดในวัฏภาคต่อเนื่อง ตามความสูงต่างๆของหอสกัด ที่ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 55 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการไหลเชิงปริมาตร ของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว 42/12 มิลลิลิตรต่อนาที การปั่นกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที..... 92

ตารางที่ หน้า

ง.17 ค่ากิจกรรมแอลคาไลน์โพรทีเอสจริงที่ถูกสกัดในวัฏภาคกระจายตัว ที่เวลาในการสกัดต่างๆ ที่ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 55เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการไหลเชิงปริมาตร ของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว 42/12 มิลลิลิตรต่อนาที การปั่นกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที..... 93

ง.18 ค่ากิจกรรมแอลคาไลน์โพรทีเอสจริงที่ถูกสกัดในวัฏภาคต่อเนื่อง ที่เวลาในการสกัดต่างๆ ที่ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 55เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการไหลเชิงปริมาตร ของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว 42/12 มิลลิลิตรต่อนาที การปั่นกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที..... 94

ง.19 ความเข้มข้นของโปรตีนจริงที่ถูกสกัดในวัฏภาคต่อเนื่อง ตามความสูงต่างๆของหอสกัด ที่ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 55 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการไหลเชิงปริมาตร ของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว 42/12 มิลลิลิตรต่อนาที การปั่นกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที..... 95

ง.20 ความเข้มข้นของโปรตีนจริงที่ถูกสกัดในวัฏภาคกระจายตัว ที่เวลาในการสกัดต่างๆ ที่ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 55 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการไหลเชิงปริมาตร ของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว 42/12 มิลลิลิตรต่อนาที การปั่นกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที..... 96

ง.21 ความเข้มข้นของโปรตีนจริงที่ถูกสกัดในวัฏภาคต่อเนื่อง ที่เวลาในการสกัดต่างๆ ที่ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 55 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการไหลเชิงปริมาตร ของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว 42/12 มิลลิลิตรต่อนาที การปั่นกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที..... 97

ง.22 ค่ากิจกรรมแอลคาไลน์โพรทีเอสจริงในถังป้อน ที่ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 55 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการไหลเชิงปริมาตร ของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว 69/20 มิลลิลิตรต่อนาที การปั่นกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที..... 98

ง.23 ค่ากิจกรรมแอลคาไลน์โพรทีเอสจริงที่ถูกสกัดในวัฏภาคต่อเนื่อง ตามความสูงต่างๆของหอสกัด ที่ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 55 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการไหลเชิงปริมาตร ของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว 69/20 มิลลิลิตรต่อนาที การปั่นกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที..... 99

ตารางที่ หน้า

ง.24 ค่ากิจกรรมแอลคาไลน์โพรทีเอสจริงที่ถูกสกัดในวัฏภาคกระจายตัว ที่เวลาในการสกัดต่างๆ ที่ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 55 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการไหลเชิงปริมาตร ของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว 69/20 มิลลิลิตรต่อนาที การปั่นกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที..... 100

ง.25 ค่ากิจกรรมแอลคาไลน์โพรทีเอสจริงที่ถูกสกัดในวัฏภาคต่อเนื่อง ที่เวลาในการสกัดต่างๆ ที่ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 55 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการไหลเชิงปริมาตร ของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว 69/20 มิลลิลิตรต่อนาที การปั่นกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที..... 101

ง.26 ความเข้มข้นของโปรตีนจริงที่ถูกสกัดในวัฏภาคต่อเนื่อง ตามความสูงต่างๆของหอสกัด ที่ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 40 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการไหลเชิงปริมาตร ของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว 42/12 มิลลิลิตรต่อนาที การปั่นกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที..... 102

ง.27 ความเข้มข้นของโปรตีนจริงที่ถูกสกัดในวัฏภาคกระจายตัว ที่เวลาในการสกัดต่างๆ ที่ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 40 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการไหลเชิงปริมาตร ของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว 42/12 มิลลิลิตรต่อนาที การปั่นกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที..... 103

ง.28 ความเข้มข้นของโปรตีนจริงที่ถูกสกัดในวัฏภาคต่อเนื่อง ที่เวลาในการสกัดต่างๆ ที่ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 55 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการไหลเชิงปริมาตร ของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว 69/20 มิลลิลิตรต่อนาที การปั่นกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที..... 104

ง.29 ค่ากิจกรรมแอลคาไลน์โพรทีเอสจริงในถังป้อน ที่ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 55 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการไหลเชิงปริมาตร ของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว 97/28 มิลลิลิตรต่อนาที การปั่นกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที..... 105

ง.30 ค่ากิจกรรมแอลคาไลน์โพรทีเอสจริงที่ถูกสกัดในวัฏภาคต่อเนื่อง ตามความสูงต่างๆของหอสกัด ที่ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 55 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการไหลเชิงปริมาตร ของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว 97/28 มิลลิลิตรต่อนาที การปั่นกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที..... 106

ตารางที่ หน้า

ง.31 ค่ากิจกรรมแอลคาไลน์โพรทีเอสจริงที่ถูกสกัดในวัฏภาคกระจายตัว ที่เวลาในการสกัดต่างๆ ที่ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 55 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการไหลเชิงปริมาตร ของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว 97/28 มิลลิลิตรต่อนาที การปั่นกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที..... 107

ง.32 ค่ากิจกรรมแอลคาไลน์โพรทีเอสจริงที่ถูกสกัดในวัฏภาคต่อเนื่อง ที่เวลาในการสกัดต่างๆ ที่ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 55 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการไหลเชิงปริมาตร ของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว 97/28 มิลลิลิตรต่อนาที การปั่นกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที..... 108

ง.33 ความเข้มข้นของโปรตีนจริงที่ถูกสกัดในวัฏภาคต่อเนื่อง ตามความสูงต่างๆของหอสกัด ที่ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 55 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการไหลเชิงปริมาตร ของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว 97/28 มิลลิลิตรต่อนาที การปั่นกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที..... 109

ง.34 ความเข้มข้นของโปรตีนจริงที่ถูกสกัดในวัฏภาคกระจายตัว ที่เวลาในการสกัดต่างๆ ที่ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 55 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการไหลเชิงปริมาตร ของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว 97/28 มิลลิลิตรต่อนาที การปั่นกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที..... 110

ง.35 ความเข้มข้นของโปรตีนจริงที่ถูกสกัดในวัฏภาคต่อเนื่อง ที่เวลาในการสกัดต่างๆ ที่ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 55 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการไหลเชิงปริมาตร ของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว 97/28 มิลลิลิตรต่อนาที การปั่นกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที..... 111

ง.36 ค่ากิจกรรมแอลคาไลน์โพรทีเอสจริงในถังป้อน ที่ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 55 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการไหลเชิงปริมาตร ของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว 97/28 มิลลิลิตรต่อนาที การปั่นกวนของใบพัด 140 รอบต่อนาที..... 112

ง.37 ค่ากิจกรรมแอลคาไลน์โพรทีเอสจริงที่ถูกสกัดในวัฏภาคต่อเนื่อง ตามความสูงต่างๆของหอสกัด ที่ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 55 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการไหลเชิงปริมาตร ของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว 97/28 มิลลิลิตรต่อนาที การปั่นกวนของใบพัด 140 รอบต่อนาที..... 113

ตารางที่ หน้า

ง.38 ค่ากิจกรรมแอลคาไลน์โพรทีเอสจริงที่ถูกสกัดในวัฏภาคกระจายตัว ที่เวลาในการสกัดต่างๆ ที่ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 55 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการไหลเชิงปริมาตร ของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว 97/28 มิลลิลิตรต่อนาที การปั่นกวนของใบพัด 140 รอบต่อนาที..... 114

ง.39 ค่ากิจกรรมแอลคาไลน์โพรทีเอสจริงที่ถูกสกัดในวัฏภาคต่อเนื่อง ที่เวลาในการสกัดต่างๆ ที่ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 55 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการไหลเชิงปริมาตร ของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว 97/28 มิลลิลิตรต่อนาที การปั่นกวนของใบพัด 140 รอบต่อนาที..... 115

ง.40 ความเข้มข้นของโปรตีนจริงที่ถูกสกัดในวัฏภาคต่อเนื่อง ตามความสูงต่างๆของหอสกัด ที่ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 55 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการไหลเชิงปริมาตร ของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว 97/28 มิลลิลิตรต่อนาที การปั่นกวนของใบพัด 140 รอบต่อนาที..... 116

ง.41 ความเข้มข้นของโปรตีนจริงที่ถูกสกัดในวัฏภาคกระจายตัว ที่เวลาในการสกัดต่างๆ ที่ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 55 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการไหลเชิงปริมาตร ของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว 97/28 มิลลิลิตรต่อนาที การปั่นกวนของใบพัด 140 รอบต่อนาที..... 117

ง.42 ความเข้มข้นของโปรตีนจริงที่ถูกสกัดในวัฏภาคต่อเนื่อง ที่เวลาในการสกัดต่างๆ ที่ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 55 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการไหลเชิงปริมาตร ของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว 97/28 มิลลิลิตรต่อนาที การปั่นกวนของใบพัด 140 รอบต่อนาที..... 118

ง. 43 ค่ากิจกรรมแอลคาไลน์โพรทีเอสจริงที่ถูกสกัดของวัฏภาคที่สาม(วัฏภาคกระจายตัว) ที่เวลาในการสกัดต่างๆ ที่ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 55 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการไหลเชิงปริมาตรของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว 97/28 มิลลิลิตรต่อนาที การปั่นกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที..... 119

ง.44 ค่ากิจกรรมแอลคาไลน์โพรทีเอสจริงที่ถูกสกัดของวัฏภาคที่สาม(วัฏภาคต่อเนื่อง) ที่เวลาในการสกัดต่างๆ ที่ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 55 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการไหลเชิงปริมาตรของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว 97/28 มิลลิลิตรต่อนาที การปั่นกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที..... 120

ง.45 ค่ากิจกรรมแอลคาไลน์โพรทีเอสจริงของวัฏภาคต่อเนื่องเริ่มต้น ที่เวลาในการทดลองต่างๆ ที่ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 55 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก การปั่นกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที..... 121

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

2.1 แสดงแผนภาควัฏภาคของระบบพอลิเอทิลีนไกลคอล 1000 (PEG 1000)/โพแทสเซียมฟอสเฟต/น้ำ ความเป็นกรด-ด่างที่ 7.5 อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส และที่ความดันบรรยากาศ 7

2.2 แสดงถึง Entrance effect ของหอสกัดชนิดสเปรย์ 9

2.3 แสดงลักษณะของหอสกัดชนิดโอลชูรัสตัน 10

2.4 แสดงการถ่ายเทมวลสารรวมที่เกิดขึ้นในหอสกัดชนิดโอลชูรัชตัน 11

3.1 แสดงอิทธิพลขององค์ประกอบที่มีผลต่อ dispersed phase hold up 14

3.2 แสดงอิทธิพลของ Superficial velocity ของวัฏภาคกระจายตัวต่อค่า dispersed phase hold up 15

3.3 แสดงอิทธพลของความเร็วในการปั่นกวนของใบพัดที่มีผลต่อ hold up 16

3.4 แสดงอิทธิพลของขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ sparger ที่มีผลต่อค่า dispersed phase hold upและค่าการถ่ายเทมวลสารของวัฏภาคกระจายตัว 17

3.5 แสดงอิทธิพลของขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ sparger ที่มีผลต่อ dispersed phase hold up และค่าการถ่ายเทมวลสารของวัฏภาคกระจายตัว 17

3.6 แสดงค่ากิจกรรมเอนไซม์ที่เวลาต่างๆที่ปนอยู่ในวัฏภาคกระจายตัวความเข้มข้นของน้ำหมักต่างๆ 19

5.1 แสดงเส้นแบ่งวัฏภาค (binodal curve) ที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7.5 และองค์ประกอบของระบบสารลายน้ำสองวัฏภาคที่ใช้ในงานวิจัยนี้ 29

5.2 แสดงความเข้มข้นของเอนไซม์ในวัฏภาคกระจายตัวขาออกที่เวลาในการสกัดต่างๆ
ภาวะที่ทำการทดลองคือ ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 40 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการไหลเชิงปริมาตรของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัวที่ 42/12 มิลลิลิตรต่อนาที การปั่นกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที 30

5.3 แสดงค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ที่ความเข้มข้นต่างๆของน้ำหมักในถังป้อนก่อนเข้าหอสกัด
ภาวะที่ทำการทดลองคือ ที่อุณหภูมิห้อง(30±2 องศาเซลเซียส) ไม่มีการปั่นกวนของใบพัด 29

รูปที่ หน้า

5.4 แสดงค่ากิจกรรมของเอนไซม์ในวัฏภาคต่อเนื่องเริ่มต้นตามระยะเวลที่ทำการทดลอง ภาวะที่ทำการทดลองคือ ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเท่ากับ 20 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ไม่มีการปั่นกวนของใบพัด อุณหภูมิห้อง(30±2 องศาเซลเซียส)..... 34

5.5 แสดงอิทธิพลของความเข้มข้นน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเริ่มต้นต่อโพรไฟล์ความเข้มข้นของเอนไซม์ในวัฏภาคต่อเนื่องตามความสูงของหอสกัด ภาวะที่ทำการทดลองคือ อัตราการไหลเชิงปริมาตรของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว ที่ 42 /12 มิลลิลิตรต่อนาที การปั่นกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง(30±2 องศาเซลเซียส)..... 35

5.6 แสดงอิทธิพลของความเข้มข้นน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเริ่มต้นที่มีผลต่อโพรไฟล์ความเข้มข้นของโปรตีนในวัฏภาคต่อเนื่องตามความสูงของหอสกัด ภาวะที่ทำการทดลองคือ อัตราการไหลเชิงปริมาตรของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว ที่42/12 มิลลิลิตรต่อนาที การปั่นกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง(30±2 องศาเซลเซียส)..... 36

5.7 แสดงอิทธิพลของความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเริ่มต้นที่มีต่อจำนวนเท่าของความบริสุทธิ์ (PF) เปอร์เซ็นต์ผลได้ (%Yield) และค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลรวม ($K_{OD}a$) ภาวะที่ทำการทดลองคือ อัตราการไหลเชิงปริมาตรของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว ที่42/12 มิลลิลิตรต่อนาที การปั่นกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง(30±2 องศาเซลเซียส)..... 37

5.8 แสดงอิทธิพลของอัตราการไหลเชิงปริมาตรต่อโพรไฟล์ความเข้มข้นของเอนไซม์ในวัฏภาคต่อเนื่องตามความสูงของหอสกัด ภาวะที่ทำการทดลองคือ ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 55 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก การปั่นกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที..... 39

5.9 แสดงอิทธิพลของอัตราการไหลเชิงปริมาตรต่อโพรไฟล์ความเข้มข้นของโปรตีนในวัฏภาคต่อเนื่องตามความสูงของหอสกัด ภาวะที่ทำการทดลองคือ ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 55 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก การปั่นกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที..... 40

รูปที่ หน้า

5.10 แสดงอิทธิพลของอัตราการไหลเชิงปริมาตรต่อจำนวนเท่าของความบริสุทธิ์ (PF) เปอร์เซ็นต์ผลได้ (%Yield) และค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลรวม ($K_{OD}a$)
ภาวะที่ทำการทดลองคือ ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 55 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก การปั่นกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง (30±2 องศาเซลเซียส)..... 41

5.11 แสดงค่า Dispersed phase hold up ที่อัตราการไหลของวัฏภาคกระจายตัวต่างๆ
ภาวะที่ทำการทดลองคือ ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก การปั่นกวนของใบพัด 100 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง (30±2 องศาเซลเซียส)..... 42

5.12 แสดงอิทธิพลของการปั่นกวนของใบพัดต่อโพรไฟล์ความเข้มข้นของเอนไซม์ในวัฏภาคต่อเนื่องตามความสูงของหอสกัด
ภาวะที่ทำการทดลองคือ ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 55 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการไหลของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว 97/28 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิห้อง(30±2 องศาเซลเซียส)..... 45

5.13 แสดงอิทธิพลของการปั่นกวนของใบพัดต่อโพรไฟล์ความเข้มข้นโปรตีนในวัฏภาคต่อเนื่องตามความสูงของหอสกัด
ภาวะที่ทำการทดลองคือ ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 55 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการไหลของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว 97/28 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิห้อง(30±2 องศาเซลเซียส)..... 46

5.14 แสดงอิทธิพลของการปั่นกวนของใบพัดต่อจำนวนเท่าของความบริสุทธิ์ (PF) เปอร์เซ็นต์ผลได้ (%Yield) และค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลรวม ($K_{OD}a$)
ภาวะที่ทำการคือ ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 55 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการไหลของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัว 97/28 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิห้อง(30±2 องศาเซลเซียส)..... 47

5.15 แสดงการสกัดเอนไซม์แอลคาไลน์โพรทีเอสในบีกเกอร์
ภาวะที่ทำการทดลองคือ ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 55 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อุณหภูมิห้อง(30±2 องศาเซลเซียส) 50

รูปที่ หน้า

5.16 แสดงการแยกชั้นออกเป็นวัฏภาคกระจายตัว(ด้านบน)และวัฏภาคต่อเนื่อง(ด้านล่าง)ของวัฏภาคที่สามใต้ settling zone ของวัฏภาคกระจายตัว..... 51

5.17 แสดงค่ากิจกรรมเอนไซม์ในวัฏภาคที่สาม
ภาวะที่ทำการทดลอง
ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 55 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการไหลเชิงปริมาตรของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัวที่ 97/28 มิลลิลิตรต่อนาที การปั่นกวนของใบพัดที่ 100 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง (30±2 องศาเซลเซียส)..... 51

5.18 แสดงโพรไฟล์ความเข้มข้นของเอนไซม์ในวัฏภาคต่อเนื่องของวัฏภาคที่สามตามความสูงของหอสกัด และ ▪ แทนค่ากิจกรรมเอนไซม์ของวัฏภาคต่อเนื่องที่ได้จากวัฏภาคที่สาม ภาวะที่ทำการทดลอง ความเข้มข้นของน้ำหมักในวัฏภาคต่อเนื่องเท่ากับ 55 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก อัตราการไหลเชิงปริมาตรของวัฏภาคต่อเนื่อง/วัฏภาคกระจายตัวที่ 97/28 มิลลิลิตรต่อนาที การปั่นกวนของใบพัดที่ 100 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง (30±2 องศาเซลเซียส)..... 52

5.19 แสดงค่ากิจกรรมเอนไซม์ที่วัดจากวัฏภาคกระจายตัวที่ผสมมากับวัฏภาคต่อเนื่องขาออก..... 53

5.20 แสดงอิทธิพลของการปั่นกวนของใบพัดที่มีผลต่อค่ากิจกรรมเอนไซม์ของวัฏภาคต่อเนื่องเริ่มต้น..... 54

5.21 แสดงอิทธิพลของเวลาที่ใช้ในการเก็บรักษาเอนไซม์ที่มีผลต่อค่ากิจกรรมเอนไซม์ ภาวะที่ทำการทดลองคือ อุณหภูมิห้อง(30±2 องศาเซลเซียส)..... 55