# รายการอ้างอิง

## ภาษาไทย


คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.2551 *บทปฏิบัติการที่ 7 การนับจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ (MicrobialPopulation)* [online].แหล่งที่มา: http://science. kmutt.ac. th/class/mic291/mic291lab7.doc [2551, September 1]


## ภาษาอังกฤษ


Altaf, M., Naveena, B.J., Venkateshwar, M., Kumar, E.V. and Reddy G., Single step fermentation of starch to L-(+)-lactic acid by *Lactobacillus amylophilus* GV6 in SSF using inexpensive nitrogen sources to replace peptone and yeast extract – optimization by RSM. *Process Biochemistry* 41(2006):465-472.

Bai, D.-M., Jia, M.-Z., Zhao, X.-M., Ban, R., Shen, F., Li, X.-G. and Xu, S.-M. L(+)-lactic acid production by pellet-form *Rhizopus oryzae* R1021 in a stirred tank fermentor. *Chemical Engineering Science* 58(2003):785–791.

Bruno-Barcena, J. M., Ragout, A. L., Cordoba, P. R. and Sineriz, F., Continuous production of L(+)-lactic acid by *Lactobacillus casei* in two-stage systems. *Applied Microbiology and Biotechnology* 51(1999):316-324.

Budavari, S., O'Neil, M.J., Smith, A. and Heckelman, P.E.(eds.), *The merck index*.11th Ed., 5214. Merck, Rahway,NJ. (1989)

Bulut, S., Elibol, M. and Ozer, D., effect of different carbon sources on L(+)-lactic acid production by *Rhizopus oryzae. Biochemical Engineering Journal* 21(2004):33-37.

Cotton J.C., Pometto III, A.L. and Gvozdenovic-J.J., Continuous lactic acid fermentation using plastic composite support biofilm reactor. *Applied Microbiology and Biotechnology* 57(2001):626-630.

Cui, Y.Q., van der Lans, R.G.J.M. and Luyben, K.Ch.A.M., Effects of dissolved oxygen tension and mechanical forces on fungal morphology in submerged fermentation. *Biotechnology and Bioengineering* 57(1998):409-419.

Daraktchiev, R., Beschkov, V., Kolev, N. and Aleksandrova, T., Bioreactor with a semi-fixed packing: anaerobic lactose to lactic acid fermentation. *Bioprocess Engineering* 16(1997): 115-117.

Dominguez, J.M. and Vazquez, M., Effect of the operational conditions on the L-lactic acid production by *Rhizopus oryzae*. *Ciencia e Tecnologia de Alimentos* 2(1999):113-118.

Domsch, K.H., Games, W. and Anderson, T.H., *Compendium of soil fungi* 1(1980).

Dong, X.Y., Bai, S. and Sun, Y., Production of L(+)-lactic acid with *Rhizopus oryzae* immobilized in polyurethane foam cubes. *Biotechnology Letters* 18(1996):225-228.

Du, J., Cao, N., Gone, C.S. and Tsao G.T., Production of L-lactic acid by *Rhizopus oryzae* in a bubble column fermenter. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 70-72(1998):323-329.

Efremenko, E.N., Spiricheva, O.V., Veremeenko, D.V., Baibak, A.V. and Lozinsky, V.I., L(+)-lactic acid production using poly(vinyl alcohol)-cryogel-entrapped *Rhizopus oryzae* fungal cells. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 81(2006):519-522.

Ellis, D.H., Zygomycetes, *Microbiology and Microbial Infections* 9(1997):247-277.

Federici, F., Potential applications of viable immobilized fungal cell systems. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 9(1993):495-502.

Ganguly, R., Dwivedi, P. and Singh, R.P., Production of lactic acid with loofa sponge immobilized *Rhizopus oryzae* RBU2-10. *Bioresource Technology* 98(2007):1246-1251.

Hamamci, H. and Ryu, D.D.Y., Production of L(+)-lactic acid using immobilized *Rhizopus oryzae*: reactor performance based on kinetic model and simulation. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 44(1994):125-133.

Hang, Y.D., Direct fermentation of corn to L(+)-lactic acid by *Rhizopus oryzae*. *Biotechnology Letters* 11(1989):299-300.

Hang, Y.D., Hamamci, H. and Woodams, E.E., Production of L(+)-lactic acid by *Rhizopus oryzae* immobilized in calcium alginate gels. *Biotechnology Letters* 11(1989):119-120.

Hofvendahl, K. and Hahn-Hagerdal, B., Factor affecting the fermentative lactic acid production from renewable resources. *Enzyme and Microbial Technology* 26(2000):87-107.

Holten, C.H., Muller, A. and Rehbinder, D., *Lactic acid-Properties and chemistry of lactic acid and derivatives*. VCH, Weinheim, Germany.(1971)

Huang, L.P., Jin, B., Lant, P. and Zhou, J., Biotechnological production of lactic acid integrated with potato wastewater treatment by *Rhizopus arrhizus*. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 78(2003):899-906.

Huang, L.P., Jin, B. and Lant, P., Direct fermentation of potato starch wastewater to lactic acid by *Rhizopus oryzae* and *Rhizopus arrhizus*. *Bioprocess Biosynthesis Engineering* 27(2005a): 229-238.

Huang, L.P., Jin, B., Lant, P. and Zhou J., Simultaneuos saccharification and fermentation of potato starch wastewater to lactic acid by *Rhizopus oryzae* and *Rhizopus arrhizus*. *Biochemical Engineering Journal* 23(2005b):265-276.

Hujanen, M., Linko, S., Linko, Y.Y. and Leisola, M., Optimisation of media and cultivation conditions for L(+)-lactic acid production by *Lactobacillus casei* NRRL B-441. *Applied Microbiology and Biotechnology* 56(2001):126-130.

Iyer, P.V. and Lee, Y.Y., Simultaneous saccharification and extractive fermentation of lignocellulosic materials into lactic acid in a two-zone fermentor-extractor system. *Applied of Biochemical and Biotechnology* 78(1999):409-419.

Jeantet, R., Maubois, J.L. and Boyaval, P., Semicontinuous production of lactic acid in a bioreactor coupled with nano-filtration membrane. *Enzyme Microbiology and Biotechnology* 19(1996):614-619.

Jin, B., Huang, L.P. and Lant, P. *Rhizopus arrhizus*–a producer for simultaneuos saccharification and Fermentation of starch waste materials to L(+)-lactic acid. *Biotechnology Letters* 25(2003):1983-1987.

Jin, B., Yin, P., Ma, Y. And Zhao, L., Production of lactic acid and fungal biomass by *Rhizopus* fungi from food processing waste stream. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 32(2005):678-686.

Kadam, S. R., Patil, S. S. and Bastawde, K. B., Strain improvement of *Lactobacillus delbrueckii* NCIM 2365 for lactic acid production. *Process Biochemistry* 41(2005):120–126.

Kosakai, Y., Park, Y.S. and Okabe, M., Enhancement of L(+)-lactic acid production using mycelial flocs of *Rhizopus oryzae*. *Biotechnology and Bioengineering* 55(1997):461-470.

Kwon, S., Too, I.K., Lee, W.G., Chang, H.N. and Chang Y.K., High-rate continuous production of lactic acid by *Lactobacillus rhamnosus* in a two-stage membrane cell-recycle bioreactor. *Biotechnology and Bioengineering* 73(2001):25-34.

Liden, G., Understanding the bioreactor. *Bioprocess and Biosystems Engineering* 24(2002):273-279.

Lin, J.P., Ruan, S.D. and Cen P.L., Mathematical model of L-lactic acid fermentation in an RDC coupled with product separation by ion exchange. *Chemical Engineering Communications* 168(1998):59-79.

Lin, J., Zhou, M., Zhao, X., Luo, S. and Lu, Y., Extractive fermentation of L-lactic acid with immobilized *Rhizopus oryzae* in a three-phase fluidized bed. *Chemical Engineering and Processing* 46(2007):369–374.

Litchfield, J.H., Microbiological production of lactic acid. *Advances in Applied Microbiology* 42(1996):45-88

Liu, Y., Wen, Z., Liao, W., Liu, C. and Chen S., Optimization of the process for production of L(+)-lactic acid from cull potato by *Rhizopus oryzae*. *Engineering and Life science* 5(2005):343-349.

Liu, Y., Liao, W., Liu, C., and Chen, S, Optimization of L-(+)-Lactic Acid Production Using Pelletized Filamentous *Rhizopus oryzae* NRRL 395. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 129–132(2006):844–853.

Lockwook, L.B., Lactic acid. *Annals of the New York Academy of Science* 119(1965):354-867.

Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J., Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry* 193(1951):267-275.

Martak, J., Scholosser, S., Sabolova, E., Kristofikova, L. and Rosenberg, M., Fermentation of lactic acid with *Rhizopus arrhizus* in a stirred tank reactor with a periodical bleed and feed operation. *Process Biochemistry* 38(2003):1573-1583.

Michelson, T., Kask, K., Jogi, E., Talpsep, E., Suitso, I. and Nurk, A., L(+)-Lactic acid producer *Bacillus coagulans* SIM-7 DSM 14043 and its comparison with *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Lactis* DSM 20073. *Enzyme and Microbial Technology* 39(2006):861-867.

Mirdamadi, S., Sadeghi, H., Sharafi, N., Fallahhpour, M., Mohseni F.A. and Bakhtiari, M.R., Comparision of lactic acid isomers produced by fungal and bacterial strains. *Iranian Biomedical Journal* 2(2002):69-75.

Miura, S., Arimura, T., Hoshino, M., Kojima, M., Dwiarti, L. and Okabe, M., Optimization and Scale-Up of L-lactic acid fermentation by mutant strain *Rhizopus* sp. MK-96-1196 in airlift bioreactors. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 96(2003):65–69.

Narayanan, N., Roychoudhury, P. K. and Srivastava, A., L(+) lactic acid fermentation and its product polymerization. *Electronic Journal of Biotechnology* 7(2004):167-197.

Oh, H., Wee, Y.-J. and Yun, J.-S., Lactic acid production from agricultural resources as cheap raw materials. *Bioresource Technology* 96(2005):1492 – 1498.

Papagianni, M., Mattey, M., and Kristiansen, B., Design of a tubular loop bioreactor for scale-up and scale-down of fermentation processes. *Biotechnology Progress* 19(2003):1498-1504.

Park, E.Y., Kosakai, Y. and Okabe, M., Efficient production of L-(+)-lactic acid using mycelial cotton-like flocs of *Rhizopus oryzae* in an air-lift bioreactor. *Biotechnology Progress* 14(1998):699-704.

Park, E.Y., Anh, P.N. and Okuda N., Bioconversion of waste office paper to L(+)-lactic acid by the filamentous fungus *Rhizopus oryzae*. *Bioresource Technology* 93(2004):77-83.

Pritchard, G.G., Factors affecting the activity and synthesis of NAD-dependent lactate dehydrogenase in *Rhizopus oryzae*. *Journal of General Microbiology* 78(1973):125- 137.

Rangaswamy, V. and Ramakrishna, S.V., Lactic acid production by *Lactobacillus delbrueckii* in a dual reactor system using packed bed biofilm reactor. *Letters in Applied Microbiology* 46(2008):661–666.

Rosenberg, M. and Kristofikova, L., Physiological restriction of the L-lactic acid production by *Rhizopus arrhizus*. *Acta Biotechnology* 15(1995):367-374.

Roukas, T. and Kotzekidou, P., Lactic acid production from deproteinized whey by mixed cultures of free and coimmobilized *Lactobacillus casei* and *Lactococcus lactis* cells using fedbatch culture. *Enzyme Microbiology and Technology* 22(1998):199-204.

Ruengruglikit, C. and Hang, Y.D., L(+)-lactic acid production from corncobs by *Rhizopus oryzae* NRRL-395. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie* 36(2003):573-575.

Sankpal, N.V., Joshi, A.P., Sainkar, S.R. and Kulkarni, B.D., Production of dextran by *Rhizopus sp.* immobilized on porous cellulose support. *Process Biochemistry* 37(2001):395-403.

Sirisansaneeyakul, S., Luangpipat,T., Vanichsriratana, W., Srinophakun, T., Chen, H. H.-H. and Chisti Y., Optimization of lactic acid production by immobilized *Lactococcus lactis* IO-1. *Journal of Industrial of Microbiology and Biotechnology* 34(2007):381–391.

Skory, C. D., Freer, S. N. and Bothast, R. J., Production of L-lactic acid by *Rhizopus oryzae* under oxygen limiting conditions. *Biotechnology Letters* 20(1998):191–194.

Soccol, C.R., Stonoga, V.I. and Raimbault, M., Production of L(+)-lactic acid by *Rhizopus* species. *World Journal of Biotechnology and Microbiology* 10(1994):433-435.

Sun, Y., Li, Y.-L., Bai, S., Yang, H. and Hu, Z.-D., Stability of immobilized *R. oryzae* in repetitive batch productions of L(+)-lactic acid: effect of inorganic salts. *Bioprocess Engineering* 19(1998):155-157.

Sun, Y., Li, Y.-L. and Bai, S., Modeling of continuous L(+)-lactic acid production with immobilized *R. oryzae* in an airlift bioreactor. *Biochemical Engineering Journal* 3(1999):87-90.

Suwannakham S. *Metabolic engineering for enhanced propionic acid fermentation by Propionicbacterium acidpropionici*. PhD thesis. Program in Chemical engineering. The Ohio State University. Columbus, Ohio (2005).

Tango, M.S.A. and Ghaly, A.E., A continuous lactic acid production system using an immobilized packed bed of *Lactobaccillus Helveticus*. *Applied Microbiology and Biotechnology* 58(2002):712-720.

Tamada, M., Begum, A.A. and Sadi, S., Production of L(+)-lactic acid by immobilized cells of *Rhizopus oryzae* with polymer supports prepared by gamma-ray-induced polymerization. *Journal of Fermentation Bioengineering* 74(1992):379-383.

Tay, A. and Yang, S.-T., Production of L(+)-lactic acid from glucose and starch by immobilized cells of *Rhizopus oryzae* in a rotating fibrous-bed bioreactor. *Biotechnology and Bioengineering* 80(2002):1–12.

Thomas, T.D., Ellwood, D.C. and Longyear, M.C., Change from homo-and heterolactic fermentation by *Streptococcus lactis* resulting from glucose limitation in anaerobic chemostat cultures. *Journal Bacteriology* 138(1979):109-117.

Thongchul N., *Lactic acid production by immobilized Rhizopus oryzae in a rotating fibrous bed bioreactor*. PhD thesis. Program in Chemical engineering. The Ohio State University. Columbus, Ohio (2005).

Vaidya, A. N., Pandey, R. A., Mudliar, S., Kumar, M. S., Chakrabarti, T. and Devotta, S., Production and recovery of lactic acid for polylactide-an overview. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 35(2005):429-467.

Varadarajan, S. and Miller, D.J., Catalytic upgrading of fermentation-derived organic acids. *Biotechnology Progress* 15(1999):845-854.

Vassilev, N. and Vassilieva, M., Production of organic acid by immobilized filamentous fungi. *Mycology and research* 96(1992):563-570.

Wang, X., Sun, L., Wei, D. and Wang R. Reducing by-product formation in L-lactic acid fermentation by *Rhizopus oryzae*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 32(2005):38-40.

Wee, Y.-J., Kim, J.-N. and Ryu, H.-W. Biotechnology production of lactic acid and its resent applications. *Biotechnological Production of Lactic Acid* 44(2006):163-172.

Wright, B.E., Longacre, A. and Reimers, J., Models of metabolism in *Rhizopus oryzae*. *Journal of Theoretical Biology* 182(1996):453-457.

Woiciechowski, A.L., Soccol, C.R., Ramos, L.P. and Pandey, A., Experimental design to enhance the production of L-(+)-lactic acid from steam-exploded wood hydrolysate using *Rhizopus oryzae* in a mixed-acid fermentation. *Process Biochemistry* 34(1999):949-955.

Xuemei, L., Jianping, L., Mo'e, L. and Peilin, C., L-lactic acid production using immobilized *Rhizopus oryzae* in a three-phase fludize-bed with simulataneous product separation by electrodialyses. *Bioprocess Engineer*ing 20(1999):231-237.

Yang, C.W., Lu, Z. and Tsao, G.T., Lactic acid production by pellet-form *Rhizopus oryzae* in a submerged system. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 51-52(1995):57-71.

Yin, P., Nishina, N., Kosakai,Y., Yahiro, K., Park, Y. and Okabe, M. Enhanced Production of L(+)-Lactic acid from corn starch in a culture of *Rhizopus oryzae* using an air-lift bioreactor. *Journal of Fermentation and Bioengineering* 84(1997):249–253.

Yin, P., Yahiro, K., Ishigaki, T., Park, Y. and Okabe, M., L(+)-lactic acid production by repeated batch culture of *Rhizopus oryzae* in air-lift bioreactor. *Journal of Fermentation and Bioengineering* 85(1998):96-100.

Yu, M.C., Wang, R.C., Wang, C.Y., Duan, K.J. and Sheu, D.C., Enhanced production of L(+)-lactic acid by floc-form culture of *Rhizopus oryzae*. *Journal of the Chinese Institute of Chemical Engineers* 38(2007):223-228.

Yu, R.-C and Hang, Y.D., Kinetics of direct fermentation of agricultural commodities to L(+) lactic acid by *Rhizopus oryzae*. *Biotechnology Letters* 11(1989):597-600.

Zhang, Z. Y., Jin, B. and Kelly, J. M., Production of lactic acid from renewable materials by *Rhizopus* fungi. *Biochemical Engineering Journal* 35(2007):251-263.

Zhang, Z. Y., Jin, B. and Kelly, J. M., Production of L(+)-lactic acid using acid-adapted precultures of *Rhizopus arrhizus* in a strried tank. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 149(2008):265-276.

Zhou, Y., Dominguez, J.M., Cao, N., Du, J. and Tsao, G.T., Optimization of L-lactic acid production from glucose by *Rhizopus oryzae* ATCC52311. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 77-79(1999):401-407.

Zhou, Y., Du, J. and Tsao, G.T., Mycelial pellet formation by *Rhizopus oryzae* ATCC52311. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 84-86(2000):779-789.

Znidarsic, P. and Pavko, A., The morphology of filamentous fungi in submerged cultivations as a bioprocess parameter. *Food Technology and Biotechnology* 3(2001):237-252.

# ภาคผนวก

# ภาคผนวก ก

## 1. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธี Lowry

**สารเคมี** A : 2% $Na_2CO_3$ ใน 0.1 M NaOH

B : 1% KNa Tartrate ในน้ำ

C : 0.5% $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ ในน้ำ

D : นำสาร A ปริมาตร 98 มิลลิลิตร + สาร B ปริมาตร 1 มิลลิลิตร + สาร C ปริมาตร 1 มิลลิลิตร

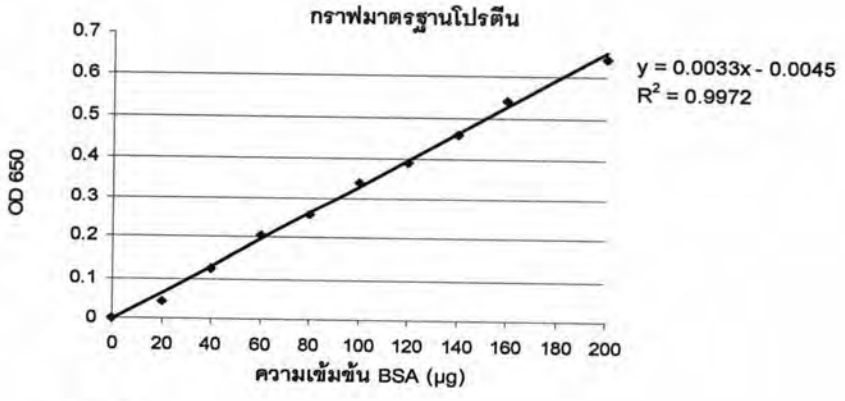
F : Folin-Phenol reagent : น้ำกลั่น ; 3:1

**ขั้นตอนการวิเคราะห์**

1. ตัวอย่างปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร
2. เติมสารละลาย D ปริมาตร 3 มิลลิลิตร
3. บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที
4. เติมสารละลาย F 0.3 มิลลิลิตร
5. บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที
6. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 650 นาโนเมตร

**การสร้างกราฟมาตรฐานของโปรตีน**

เตรียมสารละลายมาตรฐานโดยใช้ Bovine serum albumin (BSA) ความเข้มข้นระหว่าง 0 - 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกับค่าการดูดกลืนแสง




รูปที่ ก.1 กราฟมาตรฐานโปรตีน

**2. การตรวจวัดหาแอคติวิตีของแลกเตทดีไฮโดรจีเนส (Lactate dehydrogenase)**

**หลักการ**

NAD-dependent Lactate dehydrogenase

Pyruvic acid + NADH ⟷ Lactic acid + $NAD^+$

NAD-independent Lactate dehydrogenase

**วิธีการตรวจวัดหาค่ากิจกรรมของแลกเตทดีไฮโดรจีเนส**

1. เติม reaction mixture ซึ่งประกอบด้วย

1.1 0.1 M Phosphate buffer (pH6.5) ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร

1.2 0.1 M Sodium pyruvate ปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร

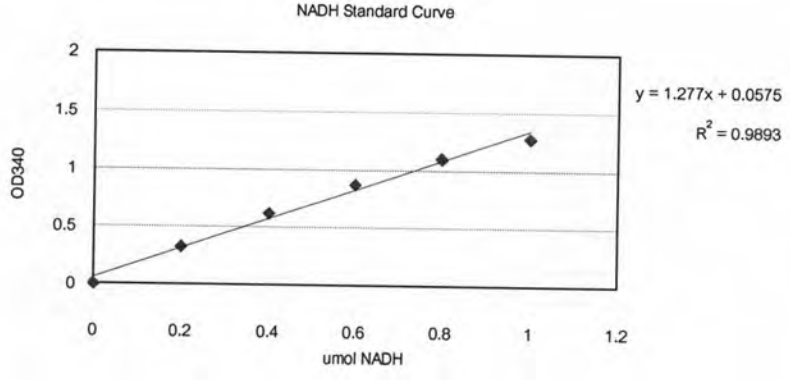
1.3 0.01 M NADH ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร

1.4 Mycelia ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร

1.5 น้ำกลั่น ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร

2. นำ reaction ในข้อ 1 มาผสมใน Cuvett เขย่าให้เข้ากันอย่างรวดเร็ว

3 .หลังจากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 340 นาโนเมตร เป็นเวลา 1 นาที โดยมี blank เป็นสารละลายผสมเช่นเดียวกับข้อ1 แต่ไม่ใส่ NADH




รูปที่ ก.2 กราฟมาตรฐานของ NADH

ค่าแอกติวิตีจำเพาะของเอนไซม์ 1 หน่วยของเอนไซม์ หมายถึงปริมาณเอนไซม์ทั้งหมดที่สามารถทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของ NADH 1 ไมโครโมลภายในเวลา 1 นาที รายงานเป็นปริมาณเอนไซม์ต่อปริมาณโปรตีน

# ภาคผนวก ข

## การคำนวณ

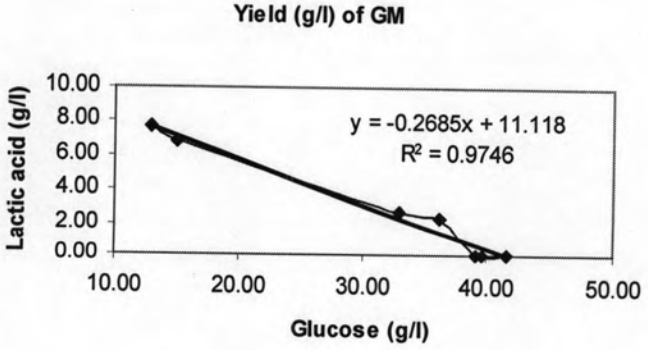
### 1. การหาค่า Yield ($Y_{P/S}$)

**ตัวอย่าง** การหมักแบบเซลล์ตรึงในถังหมักแบบเบดสถิต ที่อัตราการกวน 500 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 1.00 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที

ตารางที่ ข.1 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดแลกติกกับกลูโคสในอาหารเพื่อการเจริญ

| กลูโคส (กรัมต่อลิตร) | กรดแลกติก (กรัมต่อลิตร) |
|---|---|
| 39.66 | 0.00 |
| 41.53 | 0.00 |
| 39.09 | 0.00 |
| 36.22 | 2.26 |
| 33.07 | 2.64 |
| 14.99 | 6.80 |
| 12.94 | 7.72 |

รูปที่ ข.1 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดแลกติกกับกลูโคสในอาหารเพื่อการเจริญ

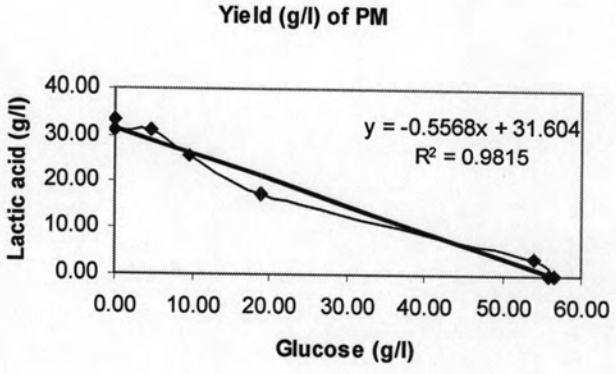



ค่า $Y_{P/S}$ ของกรดแลกติกในอาหารเพื่อการเจริญ เท่ากับ 0.2685

ตารางที่ ข.2 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดแลกติกกับกลูโคสในอาหารเพื่อการสร้างผลิตภัณฑ์

| กลูโคส (กรัมต่อลิตร) | กรดแลกติก (กรัมต่อลิตร) |
|---|---|
| 55.89 | 0.00 |
| 56.55 | 0.00 |
| 54.08 | 3.48 |
| 18.90 | 17.14 |
| 9.67 | 25.29 |
| 4.66 | 31.05 |
| 0.00 | 31.35 |
| 0.00 | 33.29 |

รูปที่ ข.2 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดแลกติกกับกลูโคสในอาหารเพื่อการสร้างผลิตภัณฑ์

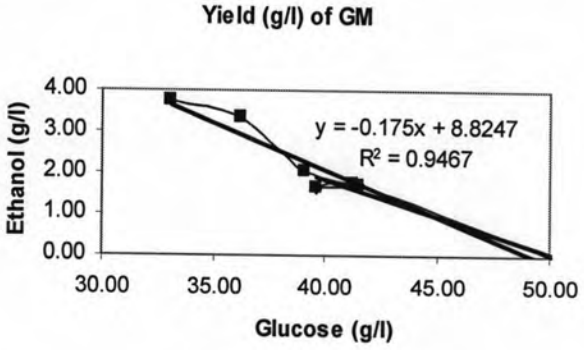



ค่า $Y_{P/S}$ ของกรดแลกติกในอาหารเพื่อการสร้างผลิตภัณฑ์ เท่ากับ 0.5568

ตารางที่ ข.3 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเอทานอลกับกลูโคสในอาหารเพื่อการเจริญ

| กลูโคส (กรัมต่อลิตร) | เอทานอล (กรัมต่อลิตร) |
|---|---|
| 50.13 | 0.00 |
| 41.27 | 1.77 |
| 39.66 | 1.63 |
| 41.53 | 1.70 |
| 39.09 | 2.04 |
| 36.22 | 3.37 |
| 33.07 | 3.77 |

รูปที่ ข.3 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเอทานอลกับกลูโคสในอาหารเพื่อการเจริญ

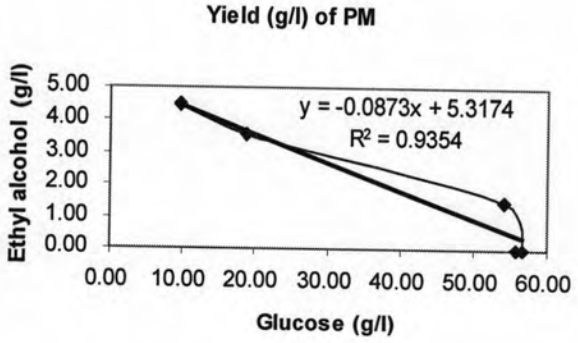



ค่า $Y_{P/S}$ ของเอทานอลในอาหารเพื่อการเจริญ เท่ากับ 0.175

ตารางที่ ข.4 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเอทานอลกับกลูโคสในอาหารเพื่อการสร้างผลิตภัณฑ์

| กลูโคส (กรัมต่อลิตร) | เอทานอล (กรัมต่อลิตร) |
|---|---|
| 55.89 | 0.00 |
| 56.55 | 0.00 |
| 54.08 | 1.46 |
| 18.90 | 3.58 |
| 9.67 | 4.50 |

รูปที่ ข.4 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเอทานอลกับกลูโคสในอาหารเพื่อการสร้างผลิตภัณฑ์



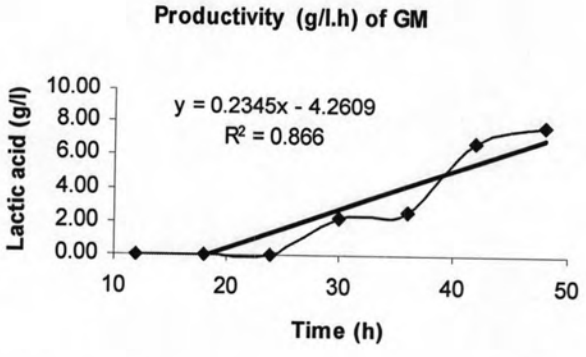

ค่า $Y_{P/S}$ ของเอทานอลในอาหารเพื่อการสร้างผลิตภัณฑ์ เท่ากับ 0.0873

**2. การหาค่า Productivity (g/L·h)**

ตารางที่ ข.5 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดแลกติกกับเวลาในอาหารเพื่อการเจริญ

| เวลา (ชั่วโมง) | กรดแลกติก (กรัมต่อลิตร) |
|---|---|
| 12 | 0.00 |
| 18 | 0.00 |
| 24 | 0.00 |
| 30 | 2.26 |
| 36 | 2.64 |
| 42 | 6.80 |
| 48 | 7.72 |

รูปที่ ข.5 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดแลกติกกับเวลาในอาหารเพื่อการเจริญ

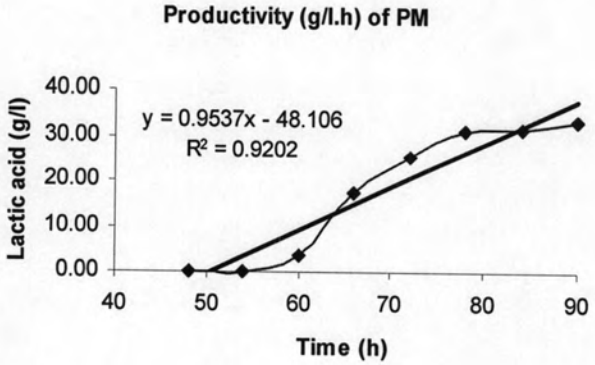



อัตราการผลิตกรดแลกติกในอาหารเพื่อการเจริญ เท่ากับ 0.2345 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

ตารางที่ ข.6 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดแลกติกกับเวลาในอาหารเพื่อการสร้างผลิตภัณฑ์

| เวลา (ชั่วโมง) | กรดแลกติก (กรัมต่อลิตร) |
|---|---|
| 48 | 0.00 |
| 54 | 0.00 |
| 60 | 3.48 |
| 66 | 17.14 |
| 72 | 25.29 |
| 78 | 31.05 |
| 84 | 31.35 |
| 90 | 33.29 |

รูปที่ ข.6 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดแลกติกกับเวลาในอาหารเพื่อการสร้างผลิตภัณฑ์

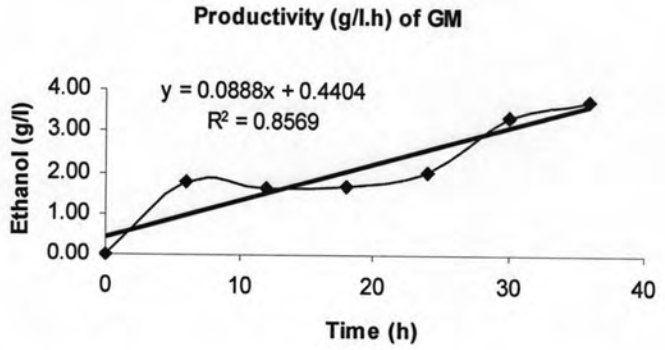



อัตราการผลิตกรดแลกติกในอาหารเพื่อการสร้างผลิตภัณฑ์ เท่ากับ 0.9537 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

ตารางที่ ข.7 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเอทานอลกับเวลาในอาหารเพื่อการเจริญ

| เวลา (ชั่วโมง) | เอทานอล (กรัมต่อลิตร) |
|---|---|
| 0 | 0.00 |
| 6 | 1.77 |
| 12 | 1.63 |
| 18 | 1.70 |
| 24 | 2.04 |
| 30 | 3.37 |
| 36 | 3.77 |

รูปที่ ข.7 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเอทานอลกับเวลาในอาหารเพื่อการเจริญ

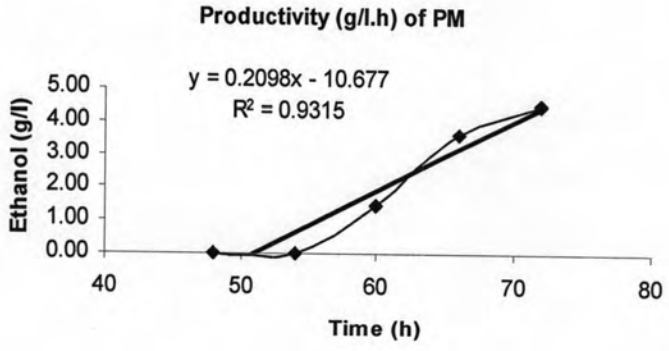



อัตราการผลิตเอทานอลในอาหารเพื่อการเจริญ เท่ากับ 0.0888 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

ตารางที่ ข.8 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเอทานอลกับเวลาในอาหารเพื่อการสร้างผลิตภัณฑ์

| เวลา (ชั่วโมง) | เอทานอล (กรัมต่อลิตร) |
|---|---|
| 48 | 0.00 |
| 54 | 0.00 |
| 60 | 1.46 |
| 66 | 3.58 |
| 72 | 4.50 |

รูปที่ ข.8 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเอทานอลกับเวลาในอาหารเพื่อการสร้างผลิตภัณฑ์




อัตราการผลิตเอทานอลในอาหารเพื่อการสร้างผลิตภัณฑ์ เท่ากับ 0.2098 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

**3. การหาค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทออกซิเจน ($K_La$) ในถังหมัก**

**ตัวอย่าง** การหมักแบบเซลล์ตรึงในถังหมักแบบเบดสถิต ที่อัตราการกวน 500 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 0.50 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที

เริ่มต้นจากการปรับค่าการละลายของออกซิเจน (DO) ให้เป็นมาตรฐาน (Calibrate) โดยปรับปริมาณของออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักของระบบให้เป็นสภาวะที่ไม่มีอากาศ โดยโดยการไล่อากาศภายในถังหมักด้วยกาซไนโตรเจน จนค่าการละลายของออกซิเจนลดลงจนค่าคงที่ จึงตั้งค่าเท่ากับ 0 เปอร์เซ็นต์ (Az) จากนั้นจึงเติมอากาศเข้าสู่ระบบ จนค่าการละลายของออกซิเจนเพิ่มขึ้นจนค่าคงที่ จึงตั้งค่า เท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ (As) ซึ่งพบว่า ค่าการละลายของออกซิเจนที่แสดง ณ จุดที่ไล่อากาศ มีค่าเท่ากับ 2 เปอร์เซ็นต์ (Pz) และจุดที่เติมอากาศเข้าสู่ระบบเท่ากับ 64 เปอร์เซ็นต์ (Ps)

สูตรที่ใช้ในการคำนวณ $(P-Pz)/(Ps-Pz) = (A-Az)/(As-Az)$

หมายเหตุ

P = ค่าการละลายของออกซิเจนที่แสดง
A = ค่าการละลายของออกซิเจนที่แท้จริง
Z = ค่าการละลายของออกซิเจนลดลงจนค่าคงที่
S = ค่าการละลายของออกซิเจนเพิ่มขึ้นจนค่าคงที่

เช่น ถ้าค่าการละลายของออกซิเจนแสดง (Present DO) ที่ = 60 เปอร์เซ็นต์ 0 วินาที

แทนค่า $(60-2)/(64-2) = (A-0)/(100-0)$

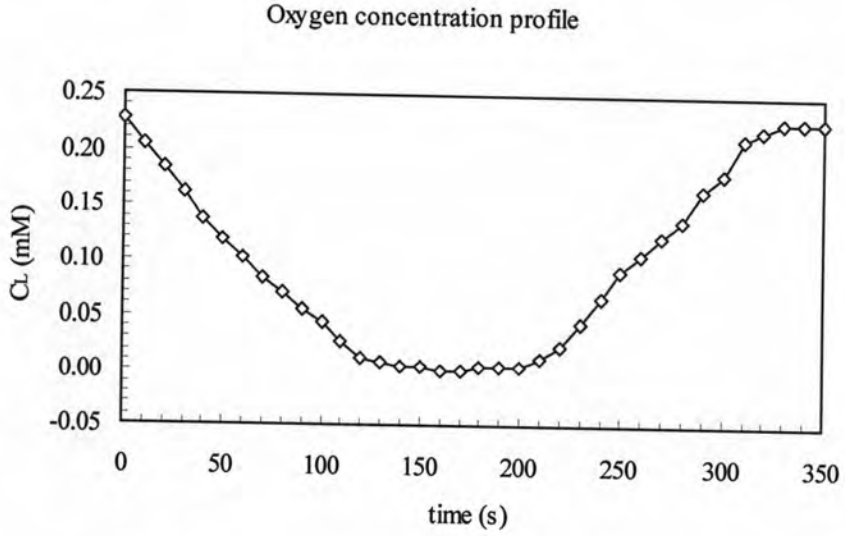
ดังนั้น $A = 93.55$ เปอร์เซ็นต์

ในระหว่างขั้นตอนการหมักนั้นจะใช้เทคนิค Gassing out ในการหาค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทออกซิเจน ($K_La$) ในถังหมัก

$$C_L \text{ (mM)} = 0.2346*A/100$$

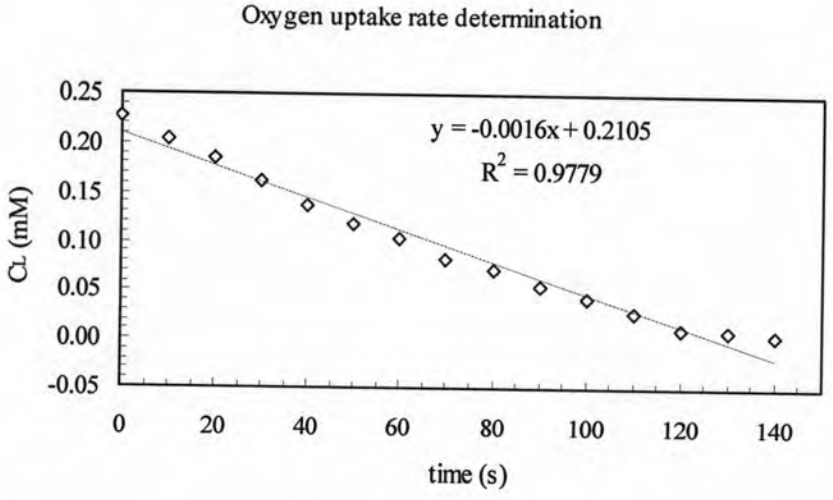
โดยการหยุดการให้อากาศทำให้ความเข้มข้นของออกซิเจนที่ละลายในอาหาร ($C_L$) ลดลงอย่างต่อเนื่องทำการวัดความเข้มข้นของออกซิเจนที่ละลายในอาหารทุกๆ 10 วินาทีจนกระทั่งค่าความเข้มข้นของออกซิเจนที่ละลายในอาหารวัดได้ค่าคงที่ หลังจากนั้นจึงให้อากาศตามเดิมจนกระทั่งค่า

ความเข้มข้นของออกซิเจนที่ละลายในอาหารมีค่าคงที่ แล้วนำค่าที่ได้ไปเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของออกซิเจนที่ละลายในอาหารกับเวลาเพื่อหาความชัน แสดงรูปที่ ข.9




รูปที่ ข.9 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของออกซิเจนที่ละลายในอาหาร ($C_L$) กับ เวลา (วินาที)

อัตราการใช้ออกซิเจนของเซลล์ (*OUR*) หาได้จากความชันของความสัมพันธ์ระหว่างของความเข้มข้นของออกซิเจนที่ละลายในอาหาร ($C_L$) กับ เวลา (วินาที) ในช่วงการจำกัดอากาศ แสดงในรูปที่ ข.10




รูปที่ ข.10 กราฟความสัมพันธ์ระหว่าง $C_L$ กับ เวลา (วินาที)

จากกราฟ อัตราการใช้ออกซิเจนของเซลล์ (*OUR*) เท่ากับ ความชัน มีค่าเท่ากับ 0.0016

จากนั้นจึงหาค่า $dC_L/dt$ (mM/s)

จากสูตร $dC_L/dt$ (mM/s) = $(C_{L2}-C_{L1})/(d_{t2}-d_{t1})$

เช่น ถ้าค่าการละลายของออกซิเจนแสดง (Present DO) ที่ = 54 เปอร์เซ็นต์ 10 วินาที

แทนค่า $dC_{L1}/dt_1 = (0.20431-0.22788)/(10-0)$

ดังนั้น $dC_{L1}/dt_1 = 0.00236$ mM/s

นำค่าที่ได้มาคำนวณจากสูตร

$$dC_L/dt = OTR - OUR$$

ดังนั้น อัตราการถ่ายเทออกซิเจน ($OTR$) นั้นสามารถหาได้จาก

$$OTR = dC_L/dt + OUR$$

เช่น ถ้าค่าการละลายของออกซิเจนแสดง (Present DO) ที่ = 60 เปอร์เซ็นต์ 330 วินาที

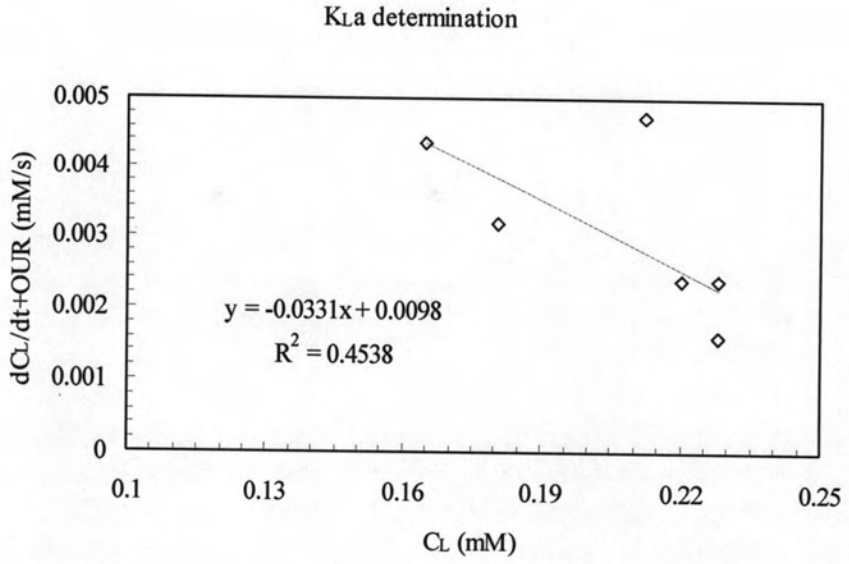
แทนค่า $OTR = (0.00079)+0.0016$

ดังนั้น $OTR = 0.00239$ mM/s

ซึ่งค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทออกซิเจน ($K_La$) สามารถหาได้จาก

สูตร $OTR = K_La\cdot(C^* - C_L)$ หรือ

ความชันของความสัมพันธ์ระหว่างค่า $dC_L/dt+OUR$ กับ $C_L$ แสดงในรูปที่ ข.11




รูปที่ ข.11 กราฟความสัมพันธ์ระหว่าง $dC_L/dt+OUR$ กับ $C_L$

จากกราฟ ค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายเทออกซิเจน ($K_La$) เท่ากับ ความชัน มีค่าเท่ากับ 0.00331 ต่อวินาที

ตารางผนวกที่ ข.9 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าเวลากับ DO และค่า $C_L$ ในการหมักแบบเซลล์ตรึงในถังหมักแบบเบดสถิต ที่อัตราการกวน 500 รอบต่อนาที อัตราการให้อากาศ 0.50 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที

| time (s) | present DO (%), (P) | actual DO (%), (A) | $C_L$ (mM) | $dC_L/dt$ (mM/s) | $dC_L/dt+OUR$ (mM/s) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 60 | 93.55 | 0.22788 | - | - |
| 10 | 54 | 83.87 | 0.20431 | 0.00236 | - |
| 20 | 49 | 75.81 | 0.18466 | 0.00196 | - |
| 30 | 43 | 66.13 | 0.16109 | 0.00236 | - |
| 40 | 37 | 56.45 | 0.13752 | 0.00236 | - |
| 50 | 32 | 48.39 | 0.11787 | 0.00196 | - |
| 60 | 28 | 41.94 | 0.10215 | 0.00157 | - |
| 70 | 23 | 33.87 | 0.08251 | 0.00196 | - |
| 80 | 20 | 29.03 | 0.07072 | 0.00118 | - |
| 90 | 16 | 22.58 | 0.05501 | 0.00157 | - |
| 100 | 13 | 17.74 | 0.04322 | 0.00118 | - |
| 110 | 9 | 11.29 | 0.02750 | 0.00157 | - |
| 120 | 5 | 4.84 | 0.01179 | 0.00157 | - |
| 130 | 4 | 3.23 | 0.00786 | 0.00039 | - |
| 140 | 3 | 1.61 | 0.00393 | 0.00039 | - |
| 150 | 3 | 1.61 | 0.00393 | 0.00000 | - |
| 160 | 2 | 0.00 | 0.00000 | 0.00039 | - |
| 170 | 2 | 0.00 | 0.00000 | 0.00000 | - |
| 180 | 3 | 1.61 | 0.00393 | 0.00039 | 0.00199 |
| 190 | 3 | 1.61 | 0.00393 | 0.00000 | 0.00160 |
| 200 | 3 | 1.61 | 0.00393 | 0.00000 | 0.00160 |
| 210 | 5 | 4.84 | 0.01179 | 0.00079 | 0.00239 |
| 220 | 8 | 9.68 | 0.02357 | 0.00118 | 0.00278 |
| 230 | 13 | 17.74 | 0.04322 | 0.00196 | 0.00356 |
| 240 | 19 | 27.42 | 0.06679 | 0.00236 | 0.00396 |
| 250 | 25 | 37.10 | 0.09037 | 0.00236 | 0.00396 |

ตารางผนวกที่ ข.9 (ต่อ)

| time (s) | present DO (%), (P) | actual DO (%), (A) | $C_L$ (mM) | $dC_L/dt$ (mM/s) | $dC_L/dt+OUR$ (mM/s) |
|---|---|---|---|---|---|
| 260 | 29 | 43.55 | 0.10608 | 0.00157 | 0.00317 |
| 270 | 33 | 50.00 | 0.12180 | 0.00157 | 0.00317 |
| 280 | 37 | 56.45 | 0.13752 | 0.00157 | 0.00317 |
| 290 | 44 | 67.74 | 0.16502 | 0.00275 | 0.00435 |
| 300 | 48 | 74.19 | 0.18074 | 0.00157 | 0.00317 |
| 310 | 56 | 87.10 | 0.21217 | 0.00314 | 0.00474 |
| 320 | 58 | 90.32 | 0.22003 | 0.00079 | 0.00239 |
| 330 | 60 | 93.55 | 0.22788 | 0.00079 | 0.00239 |
| 340 | 60 | 93.55 | 0.22788 | 0.00000 | 0.00160 |
| 350 | 60 | 93.55 | 0.22788 | 0.00000 | 0.00160 |

# ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นายนวกร โชติศุภอนันต์ เกิดวันที่ 19 เมษายน พ.ศ. 2525 ที่จังหวัดนครราชสีมา สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม เมื่อปีการศึกษา 2547 ต่อมาได้เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2548

## การเสนอผลงานวิจัย

Chotisubha-anandha, N., Tolieng, V. and Thongchul, N., Lactic Acid Production in a Stactic Bed Bioreactor. Poster presentation and proceedings. The 20$^{th}$ Annual Meeting and International Conference of the Thai Society for Biotechnology "TSB 2008: Biotechnology for Global Care". 14-17 October 2008, Taksila Hotel, Maha Sarakham, Thailand.