ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
247490

การผลิตกรดแลคติก(+)จากกากมันสำปะหลังโดยเชื้อรา *Rhizopus oryzae*

นางสาวปริศนา พฤกษชวัน

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2553
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

b00252739

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
247490

การผลิตกรดแอล(+)แลกติกจากกากมันสำปะหลังโดยเชื้อรา *Rhizopus oryzae*

นางสาวปริฉัตร พฤกษะวัน

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2553

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

5072348723

L(+)-LACTIC ACID PRODUCTION FROM CASSAVA PULP BY *Rhizopus oryzae*

Miss Parichat Phrueksawan

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science Program in Biotechnology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2010

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การผลิตกรดแอล(+)แลกติกจากกากมันสำปะหลังโดยเชื้อรา *Rhizopus oryzae*
โดย	นางสาวปริฉัตร พฤกษะวัน
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	อาจารย์ ดร. ณัฏฐา ทองจุล
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	อาจารย์ ดร. ศรินทิพ สุกใส

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

(ศาสตราจารย์ ดร. สุพจน์ หารหนองบัว)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. อมร เพชรสม)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(อาจารย์ ดร. ณัฏฐา ทองจุล)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(อาจารย์ ดร. ศรินทิพ สุกใส)

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.นาตยา งามโรจนวณิชย์)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(อาจารย์ ดร. สุวัฒนา พฤกษะศรี)

ปริฉัตร พฤกษะวัน : การผลิตกรดแอล(+)แลกติกจากกากมันสำปะหลังโดยเชื้อรา *Rhizopus oryzae*. (L(+)-LACTIC ACID PRODUCTION FROM CASSAVA PULP BY *Rhizopus oryzae*) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : อาจารย์ ดร.ณัฏฐา ทองจุล, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม : อาจารย์ ดร. ศรินทิพ สุกใส, 131 หน้า.

247490

ในงานวิจัยศึกษาการผลิตกรดแอลแลกติกจากกากมันสำปะหลังโดยรา *R. oryzae* NRRL 395 โดยการหมักแบบอาหารแข็งระดับขวดเขย่า โดยศึกษาผลของค่าความเป็นกรด-ด่าง (มีและไม่มีการควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง 6.0) ความเร็วรอบการเหวี่ยง (0 80 และ 150 รอบต่อนาที) และเปอร์เซ็นต์ปริมาณน้ำที่เติมเสริม (40 60 และ 80 เปอร์เซ็นต์) ใส่ลงไปในกากมันสำปะหลังที่ใช้สำหรับการหมัก พบว่า ภาวะที่มีปริมาณน้ำที่เติมเสริม 80 เปอร์เซ็นต์ รอบการเหวี่ยง 80 รอบต่อนาที ควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง 6.0 ให้ผลผลิตกรดแลกติกสูงที่สุด (206.20 มิลลิกรัมต่อกรัมกากมันแห้งเริ่มต้น) การเพิ่มเปอร์เซ็นต์ปริมาณน้ำที่เติมเสริมส่งผลให้มีการผลิตกรดแลกติกเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับภาวะที่มีการควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง และการเพิ่มรอบการเหวี่ยง นอกจากนี้พบว่า การควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง 6.0 ช่วยส่งเสริมการทำงานของอะไมเลสที่ราสร้างขึ้นเพื่อใช้ในการย่อยแป้งในกากมันสำปะหลัง ทำให้ปริมาณแป้งที่เหลืออยู่ในกากมันสำปะหลังที่ชั่วโมงการหมักสิ้นสุดน้อยกว่าในภาวะที่ไม่มีการควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง 6.0 การเติมยูเรียที่ความเข้มข้นสูงๆ (0.3 และ0.5 กรัมต่อลิตร) ส่งผลต่อการเจริญเติบโตและการทำงานของกลูโคอะไมเลสเพิ่มขึ้น ในส่วนการทดลองการเติมเอนไซม์ ได้แก่ กลูโคอะไมเลส (3.85 และ 7.70 ยูนิตต่อกรัมแห้งกากกมันเริ่มต้น) และเซลลูเลส (45 92.50 และ 182.50 ยูนิตต่อกรัมแห้งกากมันเริ่มต้น) ลงไปเพื่อช่วยให้มีการผลิตกรดแลกติกสูงขึ้น พบว่า การเติมกลูโคอะไมเลส 3.85 ยูนิตร่วมกับเซลลูเลส 45 ยูนิต(ต่อกรัมแห้งกากมันเริ่มต้น)เพิ่มลงไป ช่วยเพิ่มปริมาณผลผลิตกรดแลกติกสูงสุด คือ 463.18 มิลลิกรัมต่อกรัมกากมันแห้งเริ่มต้น เมื่อเทียบกับการหมักภาวะอื่นๆ จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าปริมาณเอนไซม์ที่ใช้เพียงพอต่อการย่อยแป้งและเซลลูโลสในกากมันสำปะหลังที่ใช้สำหรับการหมักผลิตกรดแลกติก ซึ่งบ่งชี้ให้เห็นว่าในการหมักแบบอาหารแข็งเมื่อมีการเสริมกลูโคอะไมเลสและเซลลูเลสลงไป ขั้นตอนในการเปลี่ยนกลูโคสเป็นกรดแลกติกเป็นขั้นตอนที่ควบคุมอัตราการผลิตกรดแลกติกโดยรา *R. oryzae*

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ ลายมือชื่อนิสิต ปริฉัตร พฤกษะวัน

ปีการศึกษา 2553 ลายมือชื่ออ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ณัฏฐา ทองจุล

ลายมือชื่ออ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ศรินทิพ สุกใส

507 23487 23 : MAJOR BIOTECHNOLOGY

KEY WORDS: LACTIC ACID/*Rhizopus oryzae*/SOLID STATE FERMENTATION

PARICHAT PHRUEKSAWAN : L(+)-LACTIC ACID PRODUCTION FROM CASSAVA PULP BY *Rhizopus oryzae*. THESIS ADVISOR : NUTTHA THONGCHUL,Ph.D., THESIS CO-ADVOSOR : SARINTIP SOOKSAI,Ph.D., 131 pp.

247190

L-lactic acid production from cassava pulp by solid culture of *Rhizopus oryzae* NRRL 395 was studied in a shaken flask. The effects of pH (controlled at 6.0 and without pH control), shaking speed (without shaking, 80 rpm, and 150 rpm), and additional free water (40%, 60%, and 80% of initial total weight) added into the solid substrate on lactic acid production were investigated. The highest lactic acid production (206.20 mg per initial dry weight of cassava pulp) was obtained when the solid cassava pulp was humidified by free water (80% of initial dry weight of pulp). The culture was shaken at 80 rpm, and the pH was controlled at 6.0. Increasing the amount of free water content and the shaking speed as well as controlling the culture pH at 6.0 led to an increase in lactic acid production. Additionally, pH control at 6.0 promoted amylases that were secreted by *R. oryzae* to hydrolyze starch in cassava pulp which eventually led to the less amount of starch remained in the pulp at the end of the cultivation when compared with the culture without pH control. More cell biomass was found while less lactic acid was produced when urea (0.3 and 0.5 g/L) was added into the cassava pulp substrate. In addition, more glucoamylase was secreted and higher starch hydrolysis rate was observed when more nitrogen was present. The extra commercial enzymes including cellulase (45, 92.50, and 182.50 U/g initial dry pulp) and glucoamylase (3.85 and 7.70 U/g initial dry pulp) added into the solid state culture helped enhance lactic acid production. The maximum lactic acid production of 463.18 mg/g initial dry pulp was obtained when 45 U of cellulase and 3.85 U of glucoamylase (per g initial dry pulp) were added into the solid pulp substrate. This result evidently indicated that such the amount of enzymes were sufficient for starch and cellulose hydrolysis for use in lactic acid production. This implied that lactic acid production by *R. oryzae* was the rate controlling step in the solid state culture when extra enzymes were present.

Field of Study : Biotechnology Student's Signature : ปริฉัตร พฤกษะวัน

Academic Year : 2010 Advisor's Signature : Nuttha Thongchul

Co-advisor's Signature : สรินทิพย์ สุขสาย

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยความช่วยเหลืออย่างดียิ่งจากอาจารย์ ดร. ณัฏฐา ทองจุล ที่รับเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาและ อาจารย์ ดร. ศรินทิพ สุกใส อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ซึ่งได้ให้แนวความคิด คำแนะนำ และข้อคิดเห็นต่างๆ ตลอดระยะเวลาในการทำวิจัยรวมทั้งตรวจสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ ผู้วิจัยขอขอบ พระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.อมร เพชรสม ที่กรุณาเป็นประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร. นาตยา งามโรจนวณิชย์ และอาจารย์ ดร. สุวัฒนา พฤกษะศรี ที่กรุณาเข้าร่วมเป็นกรรมการการสอบวิทยานิพนธ์และช่วยตรวจสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณคณะผู้บริหารและบุคคลากรทุกท่านในสถาบันเทคโนโลยีชีวภาพและวิศกรรมพันธุศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือและความสะดวกในด้านอุปกรณ์ สถานที่และสารเคมีในการดำเนินงานวิจัย

ขอขอบคุณ พี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ ที่สถาบันเทคโนโลยีชีวภาพและวิศวกรรมพันธุศาสตร์ที่ให้ความช่วยเหลือทั้งด้านวิชาการและการปฏิบัติการในห้องปฏิบัติการตลอดการทำวิจัย

ขอขอบคุณทุนอุดหนุนวิทยานิพนธ์และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ที่สนับสนุนค่าใช้จ่ายด้านสารเคมีที่ใช้ปฏิบัติการในงานวิจัยนี้

สุดท้ายนี้ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณคุณพ่อเป็นอย่างสูง ที่สนับสนุนด้านการเงินในการศึกษาทุกๆด้าน ขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ ที่ให้กำลังใจ คำปลอบใจ และการเข้าใจเรื่องต่างๆ ตลอดในช่วงเวลาการศึกษา

สารบัญ

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... จ

กิตติกรรมประกาศ..... ฉ

สารบัญ..... ช

สารบัญตาราง..... ญ

สารบัญภาพ..... ฎ

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ..... ณ

บทที่

1 บทนำ..... 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา..... 1

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย..... 5

1.3 ขอบเขตงานวิจัย..... 5

1.4 วิธีดำเนินการวิจัย..... 6

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... 6

2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 7

2.1 กรดแลกติก..... 7

2.2 ประโยชน์ของกรดแลกติก..... 9

2.3 การผลิตกรดแลกติก..... 10

2.3.1 กระบวนการสังเคราะห์ทางเคมี..... 10

2.3.2 การผลิตกรดแลกติกด้วยกระบวนการหมักโดยแบคทีเรีย..... 12

2.3.3 การผลิตกรดแลกติกด้วยกระบวนการหมักโดยรา..... 13

2.4 ลักษณะและวิถีเมแทบอลิซึมของ *Rhizopus oryzae*..... 16

2.5 การหมักแบบอาหารแข็ง..... 19

2.5.1 จุดเด่นของการหมักแบบอาหารแข็ง..... 26

2.5.2 การหาปริมาณเซลล์ทางอ้อม..... 31

2.5.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการผลิตผลิตภัณฑ์ของจุลินทรีย์ในการหมักแบบอาหารแข็ง..... 33

2.6 กากมันสำปะหลัง..... 37

บทที่		หน้า
	2.6.1 โครงสร้างของแป้ง	38
	2.6.2 เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยโมเลกุลของแป้ง	39
	2.6.3 ส่วนประกอบอื่นๆของไฟเบอร์ ในกากมันสำปะหลัง	40
	2.7 ถังหมักสำหรับการหมักแบบอาหารแข็ง	42
3	อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย	50
	3.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี	50
	3.1.1 วัสดุอุปกรณ์	50
	3.1.2 สารเคมี	51
	3.2 จุลินทรีย์และการเตรียมกล้าเชื้อ	52
	3.2.1 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการวิจัย	52
	3.2.2 วิธีการเก็บรักษาจุลินทรีย์	52
	3.2.3 การเตรียมกล้าเชื้อในระยะ Conidia	52
	3.3 สูตรอาหารที่ใช้ในการหมัก	54
	3.3.1 อาหารสำหรับการงอกของสปอร์	54
	3.3.2 อาหารสำหรับกระบวนการหมักแบบอาหารแข็ง	54
	3.4 วิธีดำเนินการวิจัย	54
	3.4.1 ผลของปริมาณน้ำที่เติมเสริมลงในอาหารแข็ง ค่าความเป็นกรด-ด่าง และรอบการเหวี่ยง	55
	3.4.2 การศึกษาอิทธิพลของแหล่งไนโตรเจน	55
	3.4.3 ศึกษาผลเชิงบวกของการเสริมเซลลูเลสและกลูโคอะไมเลสในการหมักกรดแลกติกบนกากมันสำปะหลังต่อจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมัก	56
	3.5 วิธีการวิเคราะห์	57
	3.5.1 การวิเคราะห์ปริมาณกรดแลกติก กรดฟูมาริก เอทานอล ปริมาณน้ำตาลกลูโคสด้วยเครื่องเครื่องไฮเพอร์ฟอร์มานซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี (HPLC)	57
	3.5.2 การวิเคราะห์ปริมาณแอลฟา – อะไมเลส	57
	3.5.3 การวิเคราะห์ปริมาณกลูโคอะไมเลส	58
	3.5.4 การวิเคราะห์ปริมาณแป้งที่เหลืออยู่ในกากมันสำปะหลัง	58
	3.5.5 การวิเคราะห์ปริมาณเซลล์ทางอ้อม	58

บทที่		หน้า
4	ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง	60
	4.1 เปรียบเทียบปริมาณน้ำที่เติมเสริมในอาหารแข็ง ค่าความเป็นกรด-ด่าง และรอบการเหวี่ยง	60
	4.2 การหมักโดยเติมแหล่งไนโตรเจน	77
	4.3 ศึกษาอิทธิพลของกลูโคอะไมเลสและเซลลูเลส	87
5	สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ	97
รายการอ้างอิง		99
ภาคผนวก		119
ภาคผนวก ก		120
ภาคผนวก ข		124
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์		131

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	คุณสมบัติของกรดแลกติก	8
2.2	ผลิตภัณฑ์สารอินทรีย์ สารชีวภาพ และอื่นๆ ที่ได้จากการหมักแบบบนอาหารแข็ง	24
2.3	เอนไซม์ที่ผลิตได้จากกระบวนการหมักแบบอาหารแข็ง	25
2.4	แสดงข้อดีและข้อเสียของกระบวนการหมักแบบอาหารแข็ง	29
2.5	5 เปรียบเทียบผลผลิตไซลาเนสจากกระบวนการหมักแบบอาหารแข็งกับอาหารเหลวของรา 34 สายพันธุ์	30
2.6	การประยุกต์ใช้การหมักแบบอาหารแข็งในทางชีวภาพ	36
2.7	ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักแบบอาหารแข็งโดยใช้ถังหมักชนิดต่างๆ	47
3.1	แสดงปัจจัยกายภาพและทางเคมีที่ศึกษาต่อต่อจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักกรดแอล(+)แลกติกจากกากมันสำปะหลัง	54
3.2	แสดงภาวะในการหมักที่มีการเสริมกลูโคอะไมเลส (glucoamylase) และเซลลูเลส (cellulase) ต่อจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักกรดแอล(+)แลกติกจากกากมันสำปะหลัง	55
ข.1	ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดแลกติกและเอทานอลกับกลูโคส และปริมาณน้ำหมักที่เก็บได้หลังจากการนำไปปั่นเหวี่ยงแยกส่วนของเหลวออกจากของแข็ง	125
ข.2	ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณน้ำตาลกับน้ำหนักแห้งของกากมันหลังการหมัก	126
ข.3	ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณแอลฟา-อะไมเลสและปริมาณน้ำหมักที่เก็บได้หลังจากการนำไปปั่นเหวี่ยงแยกส่วนของเหลวออกจากของแข็งกับน้ำหนักแห้งของกากมันหลังการหมัก	127
ข.4	ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณกลูโคอะไมเลสและปริมาณน้ำหมักที่เก็บได้หลังจากการนำไปปั่นเหวี่ยงแยกส่วนของเหลวออกจากของแข็งกับน้ำหนักแห้งของกากมันหลังการหมัก	128
ข.5	ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณชีวมวลที่ได้หลังการหมัก	129

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	โครงสร้างของกรดดี (-)-และแอล (-)-แลกติก	7
2.2	เปรียบเทียบการผิตกรดแลกติกจากกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมีและกระบวนการหมัก	12
2.3	เมแทบอลิซึมการผลิตกรดแลกติกแบบโฮโมเฟอร์เมนเททีฟด้วยวิถี glycolysis, Embden-Meyerhof-Parnas	15
2.4	ลักษณะของรา *Rhizopus oryzae* ที่เจริญอยู่บนอาหารสังเคราะห์	16
2.5	ลักษณะอับสปอร์และสปอร์ของรา *R. oryzae*	16
2.6	ลักษณะทางสัณฐานของรา	17
2.7	กระบวนการเมแทบอลิซึมของกลูโคสในรา *R. oryzae*	19
2.8	โครงสร้างของอะไมโลส (amylose)	38
2.9	โครงสร้างของอะไมโลเพติน (amylopectin)	39
2.10	ถังหมักแบบคอลัมน์ (column reactor)	43
2.11	ถังหมักแบบ Koji-type reactor	44
2.12	ถังหมักแบบ packed-bed	45
2.13	ถังหมักแบบ Fluidised bed	46
2.14	ถังหมักแบบ rotating drum	47
3.1	ลักษณะของ Haemacytometer	53
4.1	ลักษณะการเจริญของ *R. oryzae* บนกากมันสำปะหลัง ที่ชั่วโมงที่ 0 12 และ 24 ในภาวะที่มีปริมาณน้ำที่เติมเสริม 40 เปอร์เซ็นต์ (แถวบน) 60 เปอร์เซ็นต์ (แถวกลาง) และ 80 เปอร์เซ็นต์ (แถวล่าง)	61
4.2	ลักษณะการเจริญของ *R. oryzae* ที่ปกคลุมทั่วกากมัน ในภาวะการเลี้ยงแบบไม่มีการเขย่า	61
4.3	ลักษณะการเจริญของ *R. oryzae* บนกากมันสำปะหลัง ที่ชั่วโมงที่ 168 ในภาวะที่ไม่มีการเขย่า (แถวบน) กับในภาวะที่ 150 รอบต่อนาที (แถวล่าง)	61
4.4	แสดงปริมาณชีวมวล ณ เวลาใดๆ ของ *R. oryzae* ในภาวะการเลี้ยงต่างๆ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส	62
4.5	จลนพลศาสตร์การผลิตกรดแลกติกของ *R. oryzae* ในการหมักแบบอาหารแข็งด้วยกากมันสำปะหลังโดยแปรเปอร์เซ็นต์ปริมารน้ำที่เติมเสริมและความเร็ว	

รอบการเหวี่ยง มีการควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6.0 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส..... 64

4.6 จลนพลศาสตร์การผลิตกลูโคส กรดแลกติกและเอทานอลของ *R. oryzae* ในการหมักแบบอาหารแข็งด้วยกากมันสำปะหลัง ที่ความเร็วรอบการเหวี่ยง 0 รอบต่อนาที ควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6.0 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส A คือ ปริมาณน้ำที่เติมเสริม 40 เปอร์เซ็นต์ B คือ ปริมาณน้ำที่เติมเสริม 60 เปอร์เซ็นต์ C คือ ปริมาณน้ำที่เติมเสริม 80 เปอร์เซ็นต์..... 65

4.7 จลนพลศาสตร์การผลิตกลูโคส กรดแลกติกและเอทานอลของ *R. oryzae* ในการหมักแบบอาหารแข็งด้วยกากมันสำปะหลัง ที่ความเร็วรอบการเหวี่ยง 150 รอบต่อนาที ควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6.0 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส A คือ ปริมาณน้ำที่เติมเสริม 40 เปอร์เซ็นต์ B คือ ปริมาณน้ำที่เติมเสริม 60 เปอร์เซ็นต์ C คือ ปริมาณน้ำที่เติมเสริม 80 เปอร์เซ็นต์..... 66

4.8 จลนพลศาสตร์การผลิตกลูโคส กรดแลกติกและเอทานอลของ *R. oryzae* ในการหมักแบบอาหารแข็งด้วยกากมันสำปะหลัง ที่มีปริมาณน้ำที่เติมเสริม 80 เปอร์เซ็นต์ ความเร็วรอบการเหวี่ยง 80 รอบต่อนาที ควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6.0 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส..... 67

4.9 จลนพลศาสตร์การผลิตกลูโคส กรดแลกติกและเอทานอลของ *R. oryzae* ในการหมักแบบอาหารแข็งด้วยกากมันสำปะหลัง ที่ความเร็วรอบการเหวี่ยง 0 รอบต่อนาที ไม่มีการควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส A คือ ปริมาณน้ำที่เติมเสริม 40 เปอร์เซ็นต์ B คือ ปริมาณน้ำที่เติมเสริม 60 เปอร์เซ็นต์ C คือ ปริมาณน้ำที่เติมเสริม 80 เปอร์เซ็นต์..... 69

4.10 จลนพลศาสตร์การผลิตกลูโคส กรดแลกติกและเอทานอลของ *R. oryzae* ในการหมักแบบอาหารแข็งด้วยกากมันสำปะหลัง ที่ความเร็วรอบการเหวี่ยง 150 รอบต่อนาที ไม่มีการควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส A คือ ปริมาณน้ำที่เติมเสริม 40 เปอร์เซ็นต์ B คือ ปริมาณน้ำที่เติมเสริม 60 เปอร์เซ็นต์ C คือ ปริมาณน้ำที่เติมเสริม 80 เปอร์เซ็นต์..... 70

4.11 จลนพลศาสตร์การผลิตกรดแลกติกของ *R. oryzae* ในการหมักแบบอาหารแข็งด้วยกากมันสำปะหลังโดยแปรเปอร์เซ็นต์ปริมารน้ำที่เติมเสริมและความเร็วรอบการเหวี่ยง มีและไม่มีการควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6.0 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส..... 71

4.12 แอคติวิตีของอะไมเลสและกลูโคอะไมเลสที่ *R. oryzae* ผลิตขึ้นในการหมักแบบอาหารแข็งด้วยกากมันสำปะหลังในภาวะที่มีปริมาณน้ำที่เติมเสริม 40 60 และ 80 เปอร์เซ็นต์ ความเร็วรอบการเหวี่ยง 0 รอบต่อนาที ควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6.0 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส..... 73

4.13 แอคติวิตีของอะไมเลสและกลูโคอะไมเลสที่ *R. oryzae* ผลิตขึ้นในการหมักแบบอาหารแข็งด้วยกากมันสำปะหลังในภาวะที่มีปริมาณน้ำที่เติมเสริม 40 60 และ 80 เปอร์เซ็นต์ ความเร็วรอบการเหวี่ยง 150 รอบต่อนาที ควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6.0 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส..... 74

4.14 แอคติวิตีของอะไมเลสและกลูโคอะไมเลสที่ *R. oryzae* ผลิตขึ้นในการหมักแบบอาหารแข็งด้วยกากมันสำปะหลังในภาวะที่มีปริมาณน้ำที่เติมเสริม 40 60 และ 80 เปอร์เซ็นต์ ความเร็วรอบการเหวี่ยง 0 รอบต่อนาที ไม่มีการควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6.0 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส..... 75

4.15 แอคติวิตีของอะไมเลสและกลูโคอะไมเลสที่ *R. oryzae* ผลิตขึ้นในการหมักแบบอาหารแข็งด้วยกากมันสำปะหลังในภาวะที่มีปริมาณน้ำที่เติมเสริม 40 60 และ 80 เปอร์เซ็นต์ ความเร็วรอบการเหวี่ยง 150 รอบต่อนาที ไม่มีการควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6.0 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส..... 76

4.16 จลนพลศาสตร์การผลิตกลูโคส กรดแลกติกและเอทธานอลของ *R. oryzae* ในการหมักแบบอาหารแข็งด้วยกากมันสำปะหลังในภาวะที่มีปริมาณน้ำที่เติมเสริม 80 เปอร์เซ็นต์ ความเร็วรอบการเหวี่ยง 80 รอบต่านาทีควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6.0 เติมยูเรียเข้าไป A คือ 0.1 กรัมต่อลิตร B คือ 0.3 กรัมต่อลิตร C คือ 0.5 กรัมต่อลิตร..... 78

4.17 จลนพลศาสตร์การผลิตกลูโคส กรดแลกติก และเอทธานอลของ *R. oryzae* ในการหมักแบบอาหารแข็งด้วยกากมันสำปะหลังในภาวะที่มีปริมาณน้ำที่เติมเสริม 80 เปอร์เซ็นต์ ความเร็วรอบการเหวี่ยง 80 รอบต่อนาที ควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6.0 สารสกัดยีสต์เข้าไป A คือ 0.1 กรัมต่อลิตร B คือ 0.3 กรัมต่อลิตร C คือ 0.5 กรัมต่อลิตร..... 79

4.18 ปริมาณชีวมวลของ *R. oryzae* ในภาวะการเลี้ยงที่ไม่มีและมีแหล่งไนโตรเจนได้แก่ยูเรีย และสารสกัดยีสต์ที่ความเข้มข้นต่างๆ..... 80

4.19 แสดงค่าความเป็นกรด-ด่างที่เปลี่ยนแปลง ในระหว่างการหมักที่มียูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจน..... 82

4.20 แสดงค่าความเป็นกรด-ด่างที่เปลี่ยนแปลง ในระหว่างการหมักที่มีสารสกัดยีสต์เป็นแหล่งไนโตรเจน..... 83
4.21 แสดงจลนพลศาสตร์การผลิตกรดแลกติกในภาวะที่ไม่มีและมีแหล่งไนโตรเจน.. 84
4.22 แสดงการผลิตกลูโคอะไมเลสและอะไมเลสของ *R. oryzae* ในภาวะที่มียูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจน..... 85
4.23 แสดงการผลิตกลูโคอะไมเลสและอะไมเลสของ *R. oryzae* ในภาวะที่มีสารสกัดยีสต์เป็นแหล่งไนโตรเจน..... 86
4.24 จลนพลศาสตร์การผลิตกลูโคส กรดแลกติกและเอทานอลของ *R. oryzae* ในการหมักแบบอาหารแข็งด้วยกากมันสำปะหลังในภาวะที่มีปริมาณน้ำที่เติมเสริม 80 เปอร์เซ็นต์ ความเร็วรอบการเหวี่ยง 80 รอบต่อนาที ควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6.0 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่เติมกลูโคอะไมเลสในอาหารแข็ง A คือ 3.85 ยูนิตต่อกรัมกากมันแห้งเริ่มต้น B คือ 7.70 ยูนิตต่อกรัมกากมันแห้งเริ่มต้น..... 88
4.25 จลนพลศาสตร์การผลิตกลูโคส กรดแลกติกและเอทานอลของ *R. oryzae* ในการหมักแบบอาหารแข็งด้วยกากมันสำปะหลังในภาวะที่มีปริมาณน้ำที่เติมเสริม 80 เปอร์เซ็นต์ ความเร็วรอบการเหวี่ยง 80 รอบต่อนาที ควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6.0 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่เติมเซลลูเลสในอาหารแข็ง A คือ 45 ยูนิตต่อกรัมกากมันแห้งเริ่มต้น B คือ 92.5 ยูนิตต่อกรัมกากมันแห้งเริ่มต้น C คือ 182.5 ยูนิตต่อกรัมกากมันแห้งเริ่มต้น..... 89
4.26 จลนพลศาสตร์การผลิตกลูโคส กรดแลกติกและเอทานอลของ *R. oryzae* ในการหมักแบบอาหารแข็งด้วยกากมันสำปะหลังในภาวะที่มีปริมาณน้ำที่เติมเสริม 80 เปอร์เซ็นต์ ความเร็วรอบการเหวี่ยง 80 รอบต่อนาที ควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6.0 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่เติมกลูโคอะไมเลส 3.85 ยูนิตต่อกรัมกากมันแห้งเริ่มต้นร่วมกับเซลลูเลส 45 ยูนิตต่อกรัมกากมันแห้งเริ่มต้น..... 90
4.27 จลนพลศาสตร์การผลิตกรดแลกติกของ *R. oryzae* ในการหมักแบบอาหารแข็งด้วยกากมันสำปะหลังในภาวะที่มีปริมาณน้ำที่เติมเสริม 80 เปอร์เซ็นต์ ความเร็วรอบการเหวี่ยง 80 รอบต่อนาที ควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6.0 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสโดยมีการเสริมกลูโคอะไมเลสและเซลลูเลสเข้าไป..... 91

4.28 แอคติวิตีของอะไมเลสและกลูโคอะไมเลสที่ *R. oryzae* ผลิตขึ้นในการหมักแบบอาหารแข็งด้วยกากมันสำปะหลังในภาวะที่มีปริมาณน้ำที่เติมเสริม 80 เปอร์เซ็นต์ ความเร็วรอบการเหวี่ยง 80 รอบต่อนาที ควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6.0 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสโดยมีการเสริมกลูโคอะไมเลส 3.85และ 7.70 ยูนิตต่อกรัมกากมันแห้งเริ่มต้นเข้าไป..... 92

4.29 แอคติวิตีของอะไมเลสและกลูโคอะไมเลสที่ *R. oryzae* ผลิตขึ้นในการหมักแบบอาหารแข็งด้วยกากมันสำปะหลังในภาวะที่มีปริมาณน้ำที่เติมเสริม 80 เปอร์เซ็นต์ ความเร็วรอบการเหวี่ยง 80 รอบต่อนาที ควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6.0 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสโดยมีการเสริมเซลลูเลส 45 92.5 และ 182.5 ยูนิตต่อกรัมกากมันแห้งเริ่มต้นเข้าไป..... 93

4.30 แอคติวิตีของอะไมเลสและกลูโคอะไมเลสที่ *R. oryzae* ผลิตขึ้นในการหมักแบบอาหารแข็งด้วยกากมันสำปะหลังในภาวะที่มีปริมาณน้ำที่เติมเสริม 80 เปอร์เซ็นต์ ความเร็วรอบการเหวี่ยง 80 รอบต่อนาที ควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6.0 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสโดยมีการเสริมกลูโคอะไมเลส 3.85 และ เซลลูเลส 45 ยูนิตต่อกรัมกากมันแห้งเริ่มต้นเข้าไป..... 94

4.31 แสดงปริมาณชีวมวลของ *R. oryzae* ในการหมักแบบอาหารแข็งด้วยกากมันสำปะหลังในภาวะที่มีปริมาณน้ำที่เติมเสริม 80 เปอร์เซ็นต์ ความเร็วรอบการเหวี่ยง 80 รอบต่อนาที ควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6.0 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสโดยมีการเสริมกลูโคอะไมเลสและเซลลูเลสเข้าไป..... 95

4.32 ลักษณะการเจริญเติบโตของรา *R. oryzae* ในภาวะที่มีการเติมอะไมเลสในอาหารแข็ง (แถวบน) เปรียบเทียบกับภาวะที่ไม่มีการเติมอะไมเลส (แถวล่าง)... 96

ก.1 กราฟมาตรฐานกลูโคส..... 120

ก.2 กราฟมาตรฐานกลูโคอะไมเลส..... 121

ก.3 กราฟมาตรฐานกลูโคซามีน..... 123

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

%	เปอร์เซ็นต์
ml	มิลลิลิตร
L	ลิตร
mg	มิลลิกรัม
g	กรัม
g/L	กรัมต่อลิตร
w/v	น้ำหนักต่อปริมาตร
h	ชั่วโมง
M	โมลาร์
U	หน่วยของเอนไซม์
g/g	กรัมผลิตภัณฑ์ต่อกรัมซับสเตรท
rpm	รอบต่อนาที