เอกสารอ้างอิง

1. Bucke, C. Industrial Glucose Isomerase in Enzyme and Fermentation Biotechnology, (Wiseman, A. ed) pp. 147-171, John Wiley & Sons Inc., New York, 1977.
2. Hoppe, K., "The Sweetness Intensity of Fructose", Lebensm-Ind., 33, 267-269, 1986.
3. Robinson, J.W. and Food Technical Survice Staff., "Will High Fructose Corn Syrup Sweeten Your Future?", Food Eng. 47 (5),57-61,1975
4. Speck, J.C., Jr. "The Lobry De Bruyn-Alberda Van Ekenstein Transformation", Adv. Carbohyd. Chem. 13, 63-103, 1958.
5. Marshall, R.O. and Kooi, E.R. "Enzymatic Conversion of D-Glucose to D-Fructose", Science 125, 648-649, 1957.
6. Tsumura, N. and Sato, T. Enzymic Conversion of D-glucose to D-fructose V. Partication and properties of the enzyme from Aerobacter Agri.Biol.Chem.29,1123-1128, 1965.
7. Takasaki, Y, "Studies on sugar-isomerizing enzyme:Production and Utilization of Glucose Isomerase form Streptomyces sp." Agric. Biol. Chem.,1247-1253,1966.
8. Chen, W., "Glucose Isomerase (a review)" Process Biochemistry, 15 June-July pp. 30-35, Aug.-Sept. pp. 36-41, 1980.
9. Weber, P. "Glucose Isomerase from Streptomyces glaucescens" Ger. Pat. 2,408,708, Sept. 5, 1974.
10. Chen, W.P., Anderson, A.W. and Han, Y.W. Production of glucose Isomerase by Streptomyces flavogriseus Appl. Environ-Microbiol. 37, 324-331, 1979.
11. Takasaki, Y. and Tanabe, O. "Enzye Method for Converting Glucose in Glucose Syrups to Fructose, U.S. Pat. 3,616,221, Oct. 26, 1971.

12. Popov, M.; Dzhedzheva, G.; Todorov, I.; Stoeva, N. (Institute of Microbiology, Sofia) "Glucose Isomerase from a Streptomyces Strain", Fr. Demande 2,473,550 (cl. C 2 N9/92) 17 Jul 1981 Brit Appl 79/45,721, 29 Nov. 1979.

13. Weber, P., "Process for Preparing Glucose Isomerase Using Streptomyces glaucescens Mutants" U.S. Pat. 4,137,126 Jan. 30, 1979.

14. Zienty, M.F. "Enyme Stabilization", U.S. Pat 3,779,869, Dec. 18, 1973.

15. Popov, M.; Dzhedzheva, G.; Taodorov, I.; stoeva, N. (Institute of Microbiology, Sofia) "Glucose isomerase", Ger offen 3,044,357, (cl. C12N9/92) 02 Jul. 1981, Begaria Appl. 45,720,29 Nov. 1979; 15 pp.

16. Long, M.E., "Process of Preparing Glucose Isomerase", U.S. Pat. Reissue 29,691 July 4, 1975.

17. Outtrup, H. "Production of Glucose Isomerase by Bacillus coagulans", U.S. Pat. 3,979,261, Sept. 7, 1976.

18. Suekane, M., Kanno, M. and Hasegawa, S. "Thermophilic Glucose Isomerase Enzyme Preparation", U.S. Pat. 3,826, 714 Oct. 26, 1974.

19. Kojima, I., Sato, H. and Fujiwara, Y. "Process for Producing Glucose Isomerase", U.S. Pat 4,086,138, April 25, 1978.

20. Vaheri, M. and Kauppinen, V. Improved Microbial Glucose Isomerase production, Process Biochem 27, (6), 5-8, 1977.

21. Takasaki, Y., Fermentation of Glucose Isomerase by Streptomyces sp. Agric. Biol. Chem. 38,667-668, 1974.

22. Takasaki, Y., Kosugi, Y. and Kanbayashi, A. "Studies on Sugar Isomerizing Enzyme Purification, Crystallization and Some Properties of Glucose Isomerase from Streptomyces sp.", Agri. Biol. Chem. 33, 1527-1534, 1969.

23. Tsumura, N. and Sato., T. Enzymatic Conversion of D-Glucose to D-Fructose I. Identification of Active Bacterial Strain and Confirmation of D-Fructose Formation Agric. Biol. Chem. 25, 616-619, 1961.

24. Natake, M. and Yoshimura, S. Studies on Glucose Isomerase of Bacteria I. Formation of Glucose Isomerase by Aerobacter aerogenes, strain Hn-56, and its Relation Ship to Xylose isomerase, Agric. Biol. Chem. 27, 342-348, 1963.

25. Natake M. and Yoshimura, S. Studies on Glucose Isomerase of Bacteria II. The Glucose Isomerizing Activity of Escherichia intermedia strain HN-500 Agric. Biol. Chem. 28, 505-509, 1964.

26. Yoshimura, S., Danno, G. and Natake, M. Studies on D-Glucose Isomeriaing Activity of D-Xylose Grown Cell from Bacillus coagulans, strain HN-68 I. Description of the Strain and Conditions for Formation of the Activity, Agric. Biol. Chem. 10, 1015-1023, 1966.

27. Chou, C.C.; Ladisch, M.R. and Isao, G.T. Studies on Glucose Isomerase from Streptomyces sp. Appl. Environ Micro. Biol. 32, 489-493. 1976.

28. Sweigart, R.D. Industrial Applications of Immobilized Enzyme : a Commercial Overview, In Applied Biochemistry and Bioengineering, ed L.B. Wingard, Jr. Vol. 2, PP. 209-218, Academic, New York.

29. Demnerova, K., S. Pospiel, O. Valentova and J. Kas "Production of Glucose Isomerase by Different Strain of Streptomyces," Biotechnol Lett., 4, 293-298, 1979.

30. Bengston, B.L. and Lamm, W.R. "Process for Isomerizing Glucose to Fructose" U.S. Pat. 1, 368,511 Nov. 9, 1974.

31. Lai, Ching-Liang, "Studies on glucose isomerase, II Nitrogen source in the Medium for Large Scale Production", Tai-wan Tang Yeh Yen Chiu So Yen chin Hui Pao, 91, 67-73, 1981.

32. Bok, S.H., Seidman M., Wopat P.W., "Selective Isolation of Acidophilic Streptomyces strains for Glucose Isomerase Production", Appl. environ. Microbiol. 476,1213-15, 1984.

33. Han, Y.W., "Utilization of Plant Hemicellulose for Production of Xylanase and Glucose Isomerase", Dev. Ind.Mierabiol. 24, 337-345, 1983.

34. Chen, W.P., "Utilization of Agricultural Cellulosic Waste for the Fermentative Production of Glucose Isomerase", FFTC Booh Ser., 28, 206-18, 1985.

35. Stoichew, M., Dzhezheva, G., Draganova, R., Ognyanov, I., Ratchev, R., Stoeva, N., "Biosynthesis of the Enzyme Glucose Isomerase Using Xylose and Xylan-containing Sources", The Conf. Chem. Biotechnol. Biol. Act. Nat. Prod., 1st, 3(2), 434-68, 1981.

36. Younas, O., Chughtai, MID., Oadeer, M.A., "Biosynthesis of Glucose Isomerase by Locally Isolated Streptomyces albus in Shake Flasks", Pak. Sci. Ind. Res., 25(4), 126-33, 1982.

37. Dworschack, R.G., Chen,W.P., James, C.and Lamm W.R., "Microbiologically Products Glucose Isomerase", Brit. Pat., 1,284,218, Aug. 2, 1970.

38. Takasaki, Y, "Glucose Isomerase Production", Jap. Pat. 74,94,888, Sep. 6, 1974.

39. ฝ่ายวิจัยและวางแผน "อุตสาหกรรมอาหาร (แป้ง)" รายงานผลการวิจัยบรรษัทเงินทุนอุตสาหกรรมแห่งประเทศไทยม 2527.

40. นฤมล ศุภจรรยา "การศึกษากลูโคสไอโซเมอเรสที่ผลิตโดย Streptomyces sp. 190-1 วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์หาวิทยาลัย, 2526.

41. ชนีนาฏ จรรยาอุดม "การทำให้บริสุทธิ์บางส่วนและการศึกษาคุณสมบัติของกลูโคสไอโซเมอเรส จาก Streptomyces sp. 190-1," วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2528.

42. ศิริลักษณ์ ธีระดากร "การผลิตกลูโคสไอโซเมอเรสจาก Streptomyces sp. 190-1 ในถังหมัก" วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิตเทคโนโลยีชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2529.

43. Shieh, K.K. and Donnelly, B.J. "Method of Making Glucose Isomerase and Converting Glucose to Fructose" U.S. Pat. 3, 813,320 May 23, 1974.

44. Gill, J.L., "SSt 423 and ANS 854 Course Notes Michigan State University Publication East Lansing, Michigan, 1977.

45. Takasaki, Y., Kosugi, Y. and Kanbayashi, A. Streptomyces Glucose Isomerase in Fermenatation Advances (Perlman, D. ed.) pp. 561-570, Acadamic Press Inc., New York, 1969.

46. Bernfeld, P. Amylase and in Method in Enzymology, (Colowick, P.S. and Kaplan, O.N. eds.) Vol. I. pp. 149, Academic Press Inc., New York, 1955.

47. Goodwin, J.F. "Micromethod for Measurement Pentose by Use of an Aniline Reagent", Clin. Chem. 17 No. 5, 397-399, 1971.

48. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. "Protien Mesurement with Folin Phenol Reagent", J. Biol. Chem. 193, 265-275, 1951

49. สุรพล อุปดิสสกุล, "สถิติการวางแผนการทดลองเบื้องต้น" มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2523.

50. Nand, K., Srikanta, S., Joseph, R., Shanthamma, M.S. and Murthy, V.S. "Production of Glucose Isomerase by Streptomyces Fradiae." Indian. J.Exp. Biol. 15,668-669, 1977.

51. Gutcho, S.J. (ed) Microbial Enzyme Production. in Chemical Technology Review. No 28 pp. 28-35, Noyes Data Corporation, New Jersey, U.S.A., 1974.

52. Aiba, S., Humphrey, A.E., Millis, N.F. (eds.) The Characteristics of Biological Material in Biochemical Engineering 2nd pp.18-54, Academic Press Inc., New York, 1973.

53. The Agency of Industrial Science and Technology. "Glucose Isomerizing Enzyme" Brit.Pat. 1,361,846 May.5,1974.

54. Lamm,W.R. and Dworschak, R.G. (Standard Brands Inc.) "Glucose Isomerase." Ger.offen.2,209.041(cl.c12d),30 Aug 1973.

ภาคผนวก

1. สูตรอาหารที่ใช้ในการวิจัย

1.1 สูตรอาหารสำหรับเก็บรักษาเชื้อ (stock culture medium) ใน 100 มล.

ประกอบด้วย

แมนนิทอล (manitol)	2.0	กรัม
แป้งถั่วเขียว (mung bean flour)	2.0	กรัม
วุ้นผง	1.60	กรัม

อบฆ่าเชื้อที่สภาวะมาตรฐาน (ความดัน 15 ปอนด์/ตร.นิ้ว 121 ซี 15 นาที)

1.2 สูตรอาหารสำหรับเตรียมหัวเชื้อ (starter or inoculum medium) ใน 100 มล.

ประกอบด้วย

สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้าย (H_2SO_4 hydrolysate of cotton seed hulls)	0.60%	ไฮโดรส
เปปโตน	1.0	กรัม
ยีสต์เอกซแทรก	0.50	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต	0.10	กรัม

พีเอช 7.0

อบฆ่าเชื้อที่สภาวะมาตรฐาน

1.3 สูตรอาหารสำหรับผลิตกลูโคสไอโซเมอเรส ในขวดแก้วทรงกรวยใน 100 มล.

ประกอบด้วย

สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของรำข้าวที่สกัดไขมัน (H_2SO_4 hydrolysate of defatted rice bran)	2.0%	(น้ำหนัก/ปริมาตร)
สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของกากถั่วเหลือง (H_2SO_4 hydrolysate of soy bean meal)	0.50%	(น้ำหนัก/ปริมาตร)
ยีสต์เอกซแทรก	0.30	กรัม
โคบอลท์คลอไรด์	0.01	กรัม
ไดโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต	0.47	กรัม

โปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.03 กรัม
พีเอช 8.0
สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้าย 0.50% (น้ำตาลไซโลส)
(H_2SO_4 hydrolysate of cottonseed hulls)
อบฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์/ตร.นิ้ว 121 องศาเซลเซียส 30 นาที

1.4 สูตรอาหารสำหรับผลิตกลูโคสไอโซเมอเรส ปรับปรุงใหม่จากการศึกษาการผลิตในถังหมักขนาด 5 ลิตร ใน 100 มล. ประกอบด้วย

สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของกากถั่วเหลือง 0.44% (โปรตีน)
(H_2SO_4 hydrolysate of soy bean meal)
สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้าย 1.00% (น้ำตาลรีดิวส์)
ยีสต์แอกซแทรก 0.30 กรัม
โคบอลท์คลอไรด์ 0.01 กรัม
ไดโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.47 กรัม
โปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.03 กรัม
พี เอช 8.0
สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้ายในปริมาณที่ให้ 0.50% ไซโลส
(H_2SO_4 hydrolysate of cottonseed hulls)

2. การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

2.1 การเตรียมกราฟมาตรฐาน (standard curue) ของน้ำตาลฟรักโทส

ขั้นตอนดำเนินการมีดังนี้ เตรียมสารละลายของน้ำตาลฟรักโทสที่มีความเข้มข้น 2, 10, 20, 40, 60, 80 และ 100 ไมโครกรัมต่อมล. บรรจุในหลอดทดสอบหลอดละ 1.0 มล. โดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวเทียบ (blank) เติม 0.20 มล. ของ 1.5 เปอร์เซนต์ ซีสเตอีนไฮโดรคลอไรด์ (Cysteine-HCl) และ 6.0 มล. ของ 70 เปอร์เซนต์สารละลายกรดซัลฟูริกเกรดวิเคราะห์ (Analytical grade) เขย่าให้เข้ากันแล้วเติม 0.20 มล. ของ 0.12 เปอร์เซนต์อัลกอฮอลลิกคาร์บาโซล (alcoholic carbazole) ลงไปทันที เขย่าและนำไปแช่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่

60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไปแช่ในอ่างน้ำแข็ง (ice bath) ทันที ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องสักครู่ก่อนนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสดงด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์

เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟรักโทสและค่าการดูดกลืนแสง

2.2 การเตรียมสารละลายกรดไดไนโตรซาลิไซลิก (dinitrosalicylic acid; DNSA reagent)

ละลายกรดไดไนโตรซาลิไซลิก 1 กรัมในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 2 โมลาร์ 20 มล. เติมโซเดียมโปแตสเซียมตาเตรท 30 กรัม เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรทั้งหมดเท่ากับ 100 มล. เก็บสารละลายในขวดสีน้ำตาล

2.3 การเตรียมสารละลายที่ใช้ในการหาปริมาณไซโลส

2.3.1 การเตรียมสารละลายแอนนิลีน (aniline reagent)

ไทโอยูเรีย (thiourea)	1.50 กรัม
กรดอะซิติก (glacial acetic acid)	750 กรัม
กรดบอร์ริค(boric acid)	6 กรัม
แอนนิลีน (aniline)	100 มล.

เขย่าให้เข้ากัน และเติมกรดอะซิติคจนมีปริมาตรเป็น 1 ลิตร ใส่ขวดสีน้ำตาล เก็บที่อุณหภูมิห้องได้นาน 6 สัปดาห์

2.4 การเตรียมสารละลายที่ใช้ใน Lowry's Method

2.4.1 สารละลายลอร์รี เอ (Lowry A) ประกอบด้วย

โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3)	60 กรัม
โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)	12 กรัม
โซเดียมโปแตสเซียมตาเตรท ($C_4H_4K\ NaO_6 . 4H_2O$)	0.60 กรัม
ละลายในน้ำกลั่น	3,000 กรัม

2.4.2 สารละลายลอร์รี บี (Lowry B) ประกอบด้วย

คอปเปอร์ซัลเฟต $CuSO_4.5H_2O$)	5.0	กรัม
ละลายในน้ำกลั่น	1,000	กรัม

2.4.3 สารละลายลอร์รี ซี (Lowry C) ประกอบด้วย

สารละลายลอร์รี เอ	50	ส่วน
สารละลายลอร์รี บี	1	ส่วน

2.4.4 สารละลายฟีนอลรีเอเจนต์ (Folin ciocalteau's phenol reagent)

สารละลายโฟลีนฟีนอลรีเอเจนต์	1	ส่วน
น้ำกลั่น	1	ส่วน

2.5 การเตรียมสารละลายที่ใช้ใน Kjeldahl Mothod

2.5.1 ของผสมของเกลือ (salt mixturre) : ประกอบด้วย โปแตสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4) 95 กรัม และคอปเปอร์เซัลเฟต ($CuSo_4.5H_2O$) 5 กรัม

2.5.2 อินดิเคเตอร์ผสม (mixed indicator) : ละลายเมธิลเรด (methyl red) และเมทธิลลีนบลู (methylene blue) 0.1 กรัมในเอทธานอล (ethanol) เข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาตร 150 มล.

2.5.3 สารละลายมาตรฐานกรดกำมะถัน (H_2SO_4) เข้มข้น 0.1 นอร์มอล หาความเข้มข้นแน่นอนโดยการติเตรทกับสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์

3. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

3.1 การคำนวณเพื่อวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของแผนงานทดลองแบบสุ่มตลอด (CRD) ของเอนไซม์แอคติวิตีของแต่ละแผนการทดลอง

นำแอคติวิตีต่อปริมาตรอาหาร ค่าที่สูงที่สุดของแต่ละแผนการทดลองมาจัดตาราง ดังตารางที่ 3.1.1

ตารางที่ 3.1.1 เปรียบเทียบค่าแอคติวิตีต่อปริมาตรอาหาร (หน่วย/ลิตร) ของแต่ละแผนการทดลอง

แผนการทดลองที่	แอคติวิตีต่อปริมาตรอาหาร (หน่วย/อาหารเลี้ยงเชื้อ)		ค่าเฉลี่ย
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	
1.1	3097	3240	3170.70
1.2	4590	4690	4640.25
1.3	3520	3895.5	3705.10
1.4	2644	2738.3	2693.25
1.5	2697.8	2640	2668.95

Correction term (C.T.) $= Y^{2}../tr$

$$= \frac{(3097 + 3240 + \ldots + 2697.8 + 2640)^{2}}{(5)\ (2)}$$

$= 113,923,800.7$

Sum of Square total (SS_Y) $= \sum_{i=1}^{5} \sum_{j=1}^{2} Y^{2}\ ij - C.T.$

$= (3097)^{2} + (3240)^{2} + \ldots + (2640)^{2} - C.T.$

$= 119,455,277 - 113,923,800.7$

$= 5,531,476.28$

Sum of Square treatment (SS_T) = $\sum_{i=1}^{5} (Y_i^2 / r_i) - C.T.$

$$= \frac{(6339)^2 + (9280)^2 + \ldots + (533.78)^2}{2} - C.T.$$

$$= \frac{238,726871.4}{2} - 113,923,800.7$$

$$= 119,363,435.7 - 113,923,800.7$$

$$= 5,439,634.99$$

Sum of Square error (SS_E) = $SS_Y - SS_T$

$$= 5531476.28 - 5439634.99$$

$$= 91841.29$$

Treatment Mean Square (MS_T) = $\frac{SS_T}{(t - 1)}$

$$= \frac{5439634.99}{(5 - 1)}$$

$$= 1359908.748$$

Error Mean Square (MS_E) = $\frac{SS_E}{t(r-1)}$

$$= \frac{91841.29}{5(2-1)}$$

$$= 18368.26$$

F-valve = $\frac{MS_T}{MS_E}$

$$= \frac{1359908.75}{18368.26} \qquad \text{d.f 4 และ 5}$$

$$= 74.035$$

$F_{4,5}$ = 74.04

ANOV ของการผลิตกลูโคสไอโซเมอเรส

Source of variation	d.f	SS	MS	F 4, 5	
				Calculated	Table
Experiment	4	5439634.99	1359908.75	74.035**	6.25
Error	5	91841.29	18368.26		
Total	9	5531476.28	1378277.01		

** F calculated = 74.035 > F table 6.25

ค่าแอคติวิตีต่อปริมาตรอาหารของแต่ละแผนการทดลองแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 99

3.2 การเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของ treatment โดยวิธี Duncan's Multiple Rang Test

ตัวอย่างเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของเอนไซม์แอคติวิตีของแผนการทดลองข้อ 1.1 ถึง 1.5 โดยทำดังนี้

3.2.1 จากตารางที่ 24 หาค่า standard error ($S\bar{X}$) ของ group mean โดยที่

$$S\bar{X} = \sqrt{MS_E/r_1}$$

$$= \sqrt{\frac{18368.26}{2}}$$

$$= 95.83$$

3.2.2 เปิดค่า Significant Studentized Range (SSR) ที่ 5 ที่ p = 2-5 คูณกับ $S\bar{x}$ เพื่อให้ได้ค่า Least Significant Range (LSR) ดังตาราง

p	2	3	4	5
SSR ที่ 0.05	3.64	3.74	3.79	3.83
LSR ที่ 0.05	348.82	358.40	363.20	367.03

3.2.3 จากตารางที่ 23 เรียงลำดับค่าเฉลี่ยจากมากไปหาน้อย ดังนี้

อันดับที่	1	2	3	4	5
แผนการทดลอง	1.2	1.3	1.1	1.4	1.5
	a	b	c	c	c
ค่าเฉลี่ย	4640.25	3705.10	3170.70	2693.25	2668.95

3.2.4 เปรียบเทียบความแตกต่างทีละคู่ไปจนครบ ถ้าผลต่างมากกว่าค่า LSR แสดงว่าค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ถ้าผลต่างน้อยกว่าค่า LSR ค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เช่น ลำดับที่ 1 กับลำดับที่ 5 ความแตกต่าง = 4640.25 - 2668.95 = 1971.3 มากกว่า LSR 0.05 = 367.03 แสดงว่าแผนการทดลองที่ 1.2 และ 1.5 ค่าเฉลี่ยเอนไซม์แอคติวิตีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

3.3 การคำนวณเพื่อวิเคราะห์ค่า factorial effect ของแผนงานทดลองแบบ factorial 2^3 โดย Yate's Method

ตัวอย่างการคำนวณดังตารางที่ 3.3.1

ตารางที่ 3.3.1 วิธีวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อหาค่า factorial effect สำหรับ 8 Factorial effect โดย Yate's method

Treatment conbination	ค่าสังเกต (Total)	จำนวน Factor			
		1	2	3 = q_k	$\Delta = q_R/r2^{n-1}$
(1)	A	$X_1 = B+A$	$Y_1 = X_2+X_1$	$Z_1 = Y_2+Y_1$	$\bar{Y}...$
a	B	$X_2 = D+C$	$Y_2 = X_4+X_3$	$Z_2 = Y_4+Y_3$	Δ A
b	C	$X_3 = F+E$	$Y_3 = X_6+X_5$	$Z_3 = Y_6+Y_5$	Δ B
ab	D	$X_4 = H+G$	$Y_4 = X_8+X_7$	$Z_4 = Y_8+Y_7$	Δ AB
c	E	$X_5 = B-A$	$Y_5 = X_2-X_1$	$Z_5 = Y_2-Y_1$	Δ C
ac	F	$X_6 = D-C$	$Y_6 = X_4-X_3$	$Z_6 = Y_4-Y_3$	Δ BC
bc	G	$X_7 = F-E$	$Y_7 = X_6-X_5$	$Z_7 = Y_6-Y_5$	Δ BC
abc	H	$X_8 = H-G$	$Y_8 = X_8-X_7$	$Z_8 = Y_8-Y_7$	Δ ABC

จากตารางที่ 13 นำมาสร้างใหม่ โดยรวมค่าเอนไซม์แอคติวิตี 2 ซ้ำ เข้าด้วยกัน ดังแสดงในตารางที่ 3.3.2

ตารางที่ 3.3.2 แอคติวิตีต่อปริมาตรอาหาร รวม 2 ซ้ำ ของ treatment combination ต่าง ๆ

สภาพการทดลอง			แอคติวิตีต่อปริมาตรอาหาร (หน่วย/ลิตร)
ปัจจัย A สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของกากถั่วเหลือง (% โปรตีน)	ปัจจัย B สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้าย (% น้ำตาลรีดิวส์)	ปัจจัย C ยีสต์เอกซแทรก (%)	
0.036	0.095	0.03	2499.50
0.036	0.095	0.30	3487.90
0.036	0.955	0.03	3358.10
0.036	0.955	0.30	3197.10
0.196	0.095	0.03	3965.10
0.196	0.095	0.30	5809.00
0.196	0.955	0.03	4939.90
0.196	0.955	0.30	9348.00

นำผลรวมจาก effect ต่าง ๆ จากตารางที่ 3.3.2 มาคำนวณหาค่า Factorial effect ตาม Yate's Method ดังตารางที่ 3.3.1 จะได้ดังนี้

ตารางที่ 3.3.3 แสดงค่า Factorial effect ของแอคติวิตีต่อปริมาตรอาหาร

Treatment conbination	ค่าสังเกต (Total)	จำนวน Factor			
		1	2	3 = q_k	$\Delta = q_K/r2^{n-1}$
(1)	2449.5	6464.6	14762.6	36604.5	Δ Y..= $qK/2r^n$ =2287.7812
a	3965.1	8298.0	21841.9	11519.5	Δ A = 1439.9375*
b	3358.1	9296.9	3047.4	5081.5	Δ B = 635.1875*
ab	4939.9	12545	8472.1	3646.1	Δ AB = 455.7625*
c	3487.9	1465.6	1833.4	7079.3	Δ C = 884.9125*
ac	5809.0	1581.8	3248.1	5424.7	Δ AC = 678.0875*
bc	3197.0	2321.1	116.2	1414.7	Δ BC = 176.8375*
abc	9348.0	6151.0	3829.9	3713.7	Δ ABC = 464.2125*

critical Value 171.57

* มีผลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

การคำนวณหาค่า Critical Value

$$SS_Y = \sum_{r=1}^{2}\sum_{t-1}^{8} Y_{rt} - Y^2.../rt$$

$$= (1280^2 + 1219.5^2 +...+ 4623^2) - (36604.5)^2/2 \text{ X } 8$$

$$= 100,617,173 - 83,743,088.75$$

$$= 16,874,084.25$$

$$SS_{qk} = \sum_{k=1}^{7} q_k /r2^n$$

$$= (11519.5^2 + 5081.5^2 +...3713.9^2)/2 \text{ X } 2^3$$

$$= 267,151,370.1/16$$

$$= 16,696,960.63$$

$SS_E = SS_Y - SS_{qk}$

$= 16,874,084.25 - 16,696,960.63$

$= 177,123.62$

$Ms_E = SS_E / \nu_E$

ν_E = ν total - ν main effect - ν two factor interaction - ν three factor interaction

$= (r2^n - 1) - 3 - 3 - 1$

$= (16 - 1) - 7$

$= 15 - 7$

$= 8$

$MS_E = 177,123.63/8$

$= 22140.4525$

standard error of mean effect $= \sqrt{MS_E / r2^{n-2}}$

$(S \Delta_{qk}) = \sqrt{22,140.4525/4}$

$= \sqrt{5535.13125}$

$= 74.40$

critical value $= (t\alpha/2, \nu_E)(S\Delta_{qk})$

$= (t_{0.025,8})(S \Delta_{qk})$

$= (2.306)(74.40)$

$= 171.5664$

$= 171.57$

นำค่า critical value ไปเทียบกับค่า mean effect (Δ) (ไม่คำนึงถึงเครื่องหมายของปัจจัยต่าง ๆ ถ้าค่า critical value มากกว่าหรือน้อยกว่าค่า mean effect แสดงว่าปัจจัยนั้นไม่มีผลอย่างมีนัยสำคัญหรือมีผลอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ตามลำดับ ในการทดลองนี้ปัจจัยทั้ง 3 และอิทธิพลร่วมของทั้ง 3 ปัจจัยมีผลต่อการผลิตเอนไซม์-กลูโคสไอโซเมอเรสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

3.4 การคำนวณเพื่อวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของแผนงานทดลองแบบ factorial 3^3

จากตารางที่ 29 นำมาสร้างเป็นตารางใหม่ โดยนำค่าเอนไซม์แอคติวิตีทุกค่ามาหักออกด้วยค่าคงที่ 3000 ดังแสดงในตารางที่ 3.4.1

ตารางที่ 3.4.1 แอคติวิตีต่อปริมาตรอาหาร (หน่วย/ลิตร)

ปัจจัย A สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของกากถั่วเหลือง (% โปรตีน)	ปัจจัย C ยีสต์เอกซแทรก (%)								
	0.3 (C_1)			0.5 (C_2)			0.7 (C_3)		
	ปัจจัย B สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้าย (% น้ำตาลรีดิวส์)								
	1(b_1)	2(b_2)	3(b_3)	1(b_1)	2(b_2)	3(b_3)	1(b_1)	2(b_2)	3(b_3)
0.2 (a_1)	1641	1026	180	1880	1477	35	2250	1340	88
	1477	1200	245	2200	1307	-35	2270	1428	308
0.32 (a_2)	1977	1313	-72	2064	1477	-35	819	219	-403
	2022	1367	25	2020	1305	60	770	379	-462
0.44 (a_3)	2478	1845	264	53	116	-750	-360	838	-1215
	2525	1698	339	65	71	-828	-321	768	-1185

จากตารางที่ 3.4.1 นำมาสร้างเป็นตารางใหม่ โดยรวมค่าเอนไซม์แอคติวิตี 2 ซ้ำเข้าด้วย ดังแสดงในตารางที่ 3.4.2

ตารางที่ 3.4.2 แสดงผลรวมของเอนไซม์แอคติวิตี 2 ซ้ำ ของ treatment combination ต่าง ๆ

ปัจจัย A สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของกากถั่วเหลือง (% โปรตีน)	ปัจจัย C ยีสต์เอกซ์แทรก (%)								
	0.30(C_1)			0.50(C_2)			0.70(C_3)		
	ปัจจัย B สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้าย (% น้ำตาลรีดิวส์)								
	1(b_1)	2(b_2)	3(b_3)	1(b_1)	2(b_2)	3(b_3)	1(b_1)	2(b_2)	3(b_3)
0.20(a_1)	3118	2226	425	4088	2782	0	4520	2760	396
0.32 (a_2)	3999	2680	-47	4084	2782	25	1589	598	-865
0.44 (a_3)	5003	3543	603	118	187	-1578	-681	1606	-2400

Correction term (C.T.) $= Y^2.../abcr$

$= (1641 + 1477 + ... + \quad + (-1185)^2/3X3X3X2$

$= 31,999,662.25$

Sum of Square total (SS_Y) $= \sum_{i=1}^{3} \sum_{j=1}^{3} \sum_{k=1}^{3} \sum_{l=1}^{3} Y^2_{ijkl} - C.T$

$= (1641)^2 + (1477)^2 + ... + ... + (-1185)^2 - 31,999,662.25$

$= 84,232,171 - 31,999,662.25$

$= 52,232,509$

Sum of Square C(SS_C) $= \sum_{k=1}^{3} Y^2..k./abr - C.T.$

$= (3118+2226+425+...+...603)^2+(4088+2782+$

$0+...+...+(-15781)^2+(4520+2768+396+...$

$+...+(-2400)^2/3X3X2-31,999,662.25$

$= 5,615,260$

Sum of Square AC(SS_{AC}) $= \sum_{i=1}^{3}\sum_{k=1}^{3} Y^2 i.k./br-SS_A-SS_C-C.T.$

$= (3118+2226+425)^2+(4088+2782+0)^2+$

$(4520+2768+396)^2+...+...+(-681+1606-2400)^2/$

$3X2-5,465,402-5,615,260-31,999,662.25$

$= 10,292,918$

Sum of Square AB(SS_{AB}) $= \sum_{i=1}^{3}\sum_{j=1}^{3} Y^2 i.j./Cr-SS_A-SS_B-C.T.$

$= (3118+4088+4520)^2+(2226+2782+2768)^2+$

$(425+0+396)^2+...+...+(603+(-1578)+(2400))/$

$3X2-5,465,402-26,167,466-31,999,662.25$

$= 1,246,531$

Sum of Square BC(SS_{BC}) $= \sum_{i=1}^{3}\sum_{k=1}^{3} Y^2 j.k./ar-SS_B-SS_C-C.T$

$= (3118+3999+5003)^2+(2226+2680+3543)^2+...$

$+...+(396+(-865)+(-2400))^2/3X2-26,167,466-$

$5,615,260-31,999,622.25$

$= 528,845$

Sum of Square ABC(SS_{ABC}) $= \sum_{i=1}^{3}\sum_{j=1}^{3}\sum_{k=1}^{3} Y^2 ijk/r-SS_A SS_B-SS_C-C.T$

$= (3118)^2+(5003)^2+...+...(-2400)^2/2-$

$5,465,402-26,167,466-5,615,260-31,999,662.25$

$= 2,720,385$

Sum of Square Error (SS_E) $= SS_Y-SS_A-SS_B-SS_C-SS_{AB}-SS_{AC}-SS_{BC}-SS_{ABC}$

$= 52,232,509-5,465,402-26,167,466-5,615,260-$

$1,246,531-10,292,918-528,845-2,720,385$

$= 195,702$

ANOV ของการผลิตกลูโคสไอโซเมอเรส

SOV	df	SS	MS	F	F ตาราง
A = สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของกากถั่วเหลือง	2	5,465,402	2,732,701	377.03*	
B = สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้าย	2	26,167,466	13,083,733	1,805.15*	F0.01,2,27 = 5.49
C = ยีสต์เอกซแทรก	2	5,615,260	2,807,630	387.37*	
AB	4	1,246,531	311,632.75	43.00*	F0.01,4,27 = 4.10
AC	4	10,292,918	2573,229.5	355.03*	
BC	4	528,845	132,211.25	18.24*	F0.01,8,27 = 3.26
ABC	8	2,720,385	340,048.12	46.92*	
Error	27	195,702	7,248.2		
Totals	53	52,232,509			

* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ประวัติผู้เขียน

นายเกดิษฐ์ ตั้งประจักษ์ เกิดวันที่ 10 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2505 ในจังหวัดนครราชสีมา จบการศึกษาระดับประโยควิชาชีพชั้นสูง สาขาช่างกลเกษตร จากวิทยาลัยเทคโนโลยีและอาชีวะศึกษาวิทยาเขตเทคนิคภาคตะวันออกเฉียงเหนือนครราชสีมา ในปีการศึกษา 2525 และการศึกษาระดับปริญญาตรี สาขาอุตสาหกรรมเกษตร จากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าวิทยาเขตเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ในปีการศึกษา 2527