เอกสารอ้างอิง

1. Swartz , R.W. , " Penicillins " , Comprehensive Biotechnology (Moo-Young , ed.) Vol. 3 , pp. 7-34 , Pergamon Press , New York , 1985.

2. Hersbach , J.M. , P. Van Der Beck , and W.M. vandijek , " The Penicillins:Properties , Biosynthesis and Fermentation " Biotechnology of Industrial Antibiotics (Vandamme, J., ed.) , Vol 22 , pp. 46-103 , Marcel Dekker , USA. , 1984.

3. Clutterbuck , P.W. , R. Lovell , and H. Raistrick , " The Formation from Glucose by Member of the Penicillium chyrsogenum Series of a Pigment , an Alkali - soluble Protien and Penicillin - The Antibactreial Substance of Fleming " , Biochem.J. , 26 , 1907-1918 , 1932.

4. Chain , E. , Florey , H.W. , Gardner , A.D. , Heatlry , N.G. , Jennings , M.A. , Ewing , J.O.M. , and Sanders , A.G. " Penicillin as a Chemotherapeutic Agent " , Lancet , 2 , 226-228 , 1940.

5. Collee , J.G. , " Applied Medical Microbiology " , Basic Microbiology (Wilkinson , J.F. , ed.) , Vol. 3 , pp. 107-125 , John Wiley & Sons , New York , 1981.

6. Queener , S. and R. Swartz , " Penicillins : Biosynthetic and Semisynthetic " , Economic Microbiology (Rose , A.H. ed.) , Vol. 3 , pp. 35-74 , Academic Press , London , 1979.

7. Wulf Crueger and A. Crueger , " Antibiotics " , Biotechnology (Brock , D. , ed.) , pp. 201-206 , Science Tech , Inc. USA. , 1984.

8. Souder , M. G.J. Pierotti and C.L. Dunn , " The Recovery of Penicillin by Extraction with a pH Gradient " , in The History of Penicillin Production ,Chemical Engineering Progress Symposium 100 , (Elder , A.L. , ed,) Vol. 66, pp. 37-42 , American Institute of Chemical Engineering New York , 1970.

9. Sylvester , J. C. , and R. D. Coghill , " The Penicillin Fermentation " , Industriel Fermentation ,(Underkofler and R. J. Hickey , eds.) , Vol. 2 , pp. 219-263 , Chemical Publishing , New York , 1954.

10. Whitmore , F.C. , et al. , " Processing Penicillin " , in Industrial and Engineering Chemistry , Vol. 38 , pp. 942-948 , 1946.

11. Florey , H. W. , et al. , " Extraction and Purification of Penicillin " , Antibiotics , Vol. 2 , pp. 271-748 , 1949.

12. Loven , Komeske and Fabrek , Danish Pat. 294 ; in Queener , S.W. and R. W. Swartz , " Penicillins : Biosynthetic and Semisynthetic " , in Economic Microbiology , (Rose, A. H. ed) , Vol. 3 , pp. 35-123 Academic , New York , 1979.

13. Podbielniak , W. J. , H. R. Kaiser , and G. J. Ziegnhorn , " Centrifugal Solvent Extraction " , in The History of Penicillin Production , Chemical Engineering Progress Symposium 100 (Elder , A.L. ed.) , Vol. 66 , pp. 45-50 American Institute of Chemical Engineering , New York, 1970.

14. Todd , D.B. and G.R. Davies , " Centrifugal Pharmaceutical Extraction " , Filtration and Separation , pp. 663-666 1973.

15. Ridgwey , K. and E. Thorpe , " Use of Solvent Extraction in Pharmaceytical Manufacturing Process " , Handbook of Solvent Extraction , pp. 583-591 , Lo, Baird & Hanson , London , 1983.

16. Mukherjee B.B. and B.K. Lee , " Penicillins and Related Antibiotics " , Antibiotics : Isolation , Purification and Seperation , pp. 387-396 , Marcel Dekker , USA. , 1965.

17. Blaha J.M. , A.M. Knevel and S.L. Hem , " High Pressure Liquid Chromatograph Analysis of Penicillin G Potassium and Its Degradation Productions " , J.Pharm. Sci. , 64, pp. 1384-1389 , 1975.

18. Natchmann F. and K. Gstrein , " Comparison of Hplc and Some Official Test Methods for Different Penicillins " , Int. J. Pharm. , 7 , pp. 55-62 , 1980.

19. Merrison , R.t. and R.N. Boyd , " Carboxylic acids " , Organic Chemistry , Vol. 3 , pp. 579-583 , Hall of India Private Limited , New Delhi , 1977.

20. Mantell , " Decolorizing Carbons , Water-treatment Carbon " , Adsorption Chemical Engineering Series 2nd Edition , pp. 109-139 , 1985.

21. Florey , H.W. ,et al., " Physical Properties of the Penicillins " Antibiotics , Vol. 2 , Chap. 21 , pp. 785-819 , 1949.

22. สุรพล อุปติสสกุล , " สถิติ การวางแผนการทดลองเบื้องต้น " มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ , 2533.

ภาคผนวก

1. สูตรอาหารที่ใช้ในการวิจัย

1.1 สูตรอาหารที่ใช้สำหรับเก็บรักษาเชื้อ และเพิ่มปริมาณสปอร์ โพเตโตเด็กซ์โตรสอาการ์ (potato dextrose agar , PDA) ในอาหาร 1 ลิตร ประกอบด้วย

มันฝรั่ง (ต้มในน้ำเดือดแล้วกรองเฉพาะน้ำใส)	300	กรัม
เดกซ์โตรส	20	กรัม
วุ้นผง	20	กรัม

อบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 ° ซ.ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

1.2 สูตรอาหารสำหรับเตรียมหัวเชื้อ ในอาหาร 1 ลิตร ประกอบด้วย

สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของกากถั่วเหลืองที่สกัดไขมันแล้ว	374	มล.
กลูโคส	18	กรัม
แอมโมเนียมซัลเฟต	5	กรัม
แคลเซียมคาร์บอเนต	3.5	กรัม
น้ำมันถั่วเหลือง	4	มล.

ปรับพีเอชเป็น 6.1 ก่อนอบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 ° ซ. ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

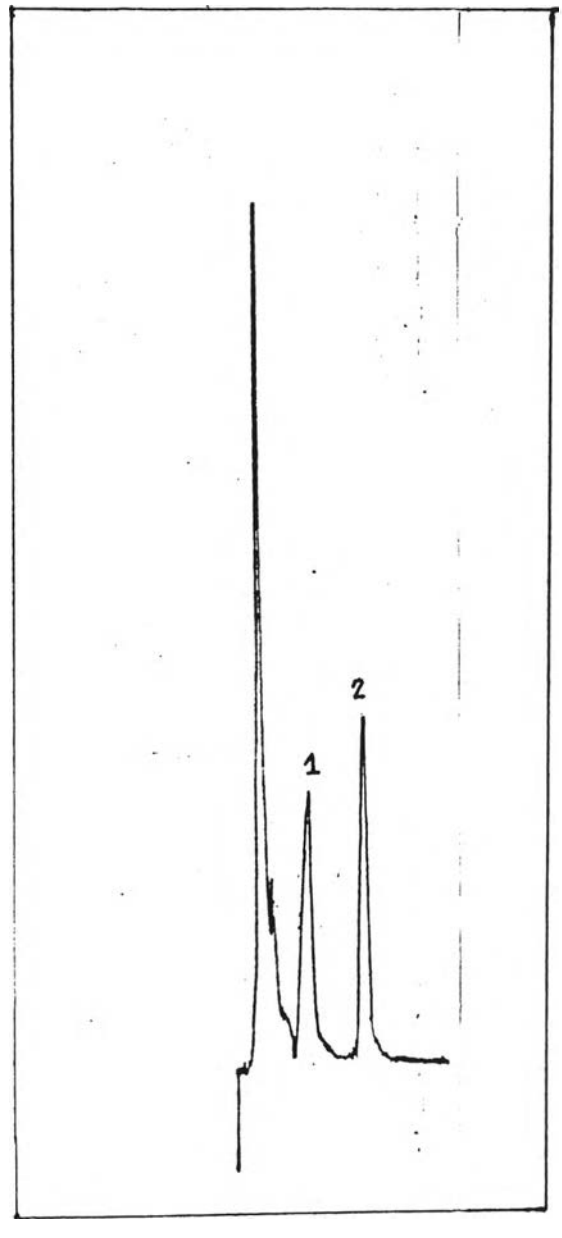
1.3 สูตรอาหารเหลวที่ใช้ในการผลิตเพนิซิลลิน จิ ในถังหมัก 5 ลิตร อาหาร 1 ลิตร ประกอบด้วย

กลูโคส	10	กรัม
สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของกากถั่วเหลืองที่สกัดไขมันแล้ว	347	มล.
แอมโมเนียมซัลเฟต	5	กรัม

โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต	0.6	กรัม
โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต	0.6	กรัม
แคลเซียมไอดรอกไซด์	0.5	กรัม
แคลเซียมคาร์บอเนต	3.5	กรัม
น้ำมันถั่วเหลือง	4	มล.

ปรับพีเอชเป็น 6.1 ก่อนอบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 ° ซ. ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 30 นาที สารละลายกลูโคสเข้มข้น 15% (น้ำหนักต่อปริมาตร) อัตราการเติม 5 มล.ต่อชม. ในชั่วโมงที่ 12 และ ชั่วโมงที่ 48 เติมกรดฟีนิลอะซิติกเข้มข้น 0.45% (น้ำหนักต่อปริมาตร) ด้วยอัตราการเติม 20 มล.ต่อ 6 ชม.

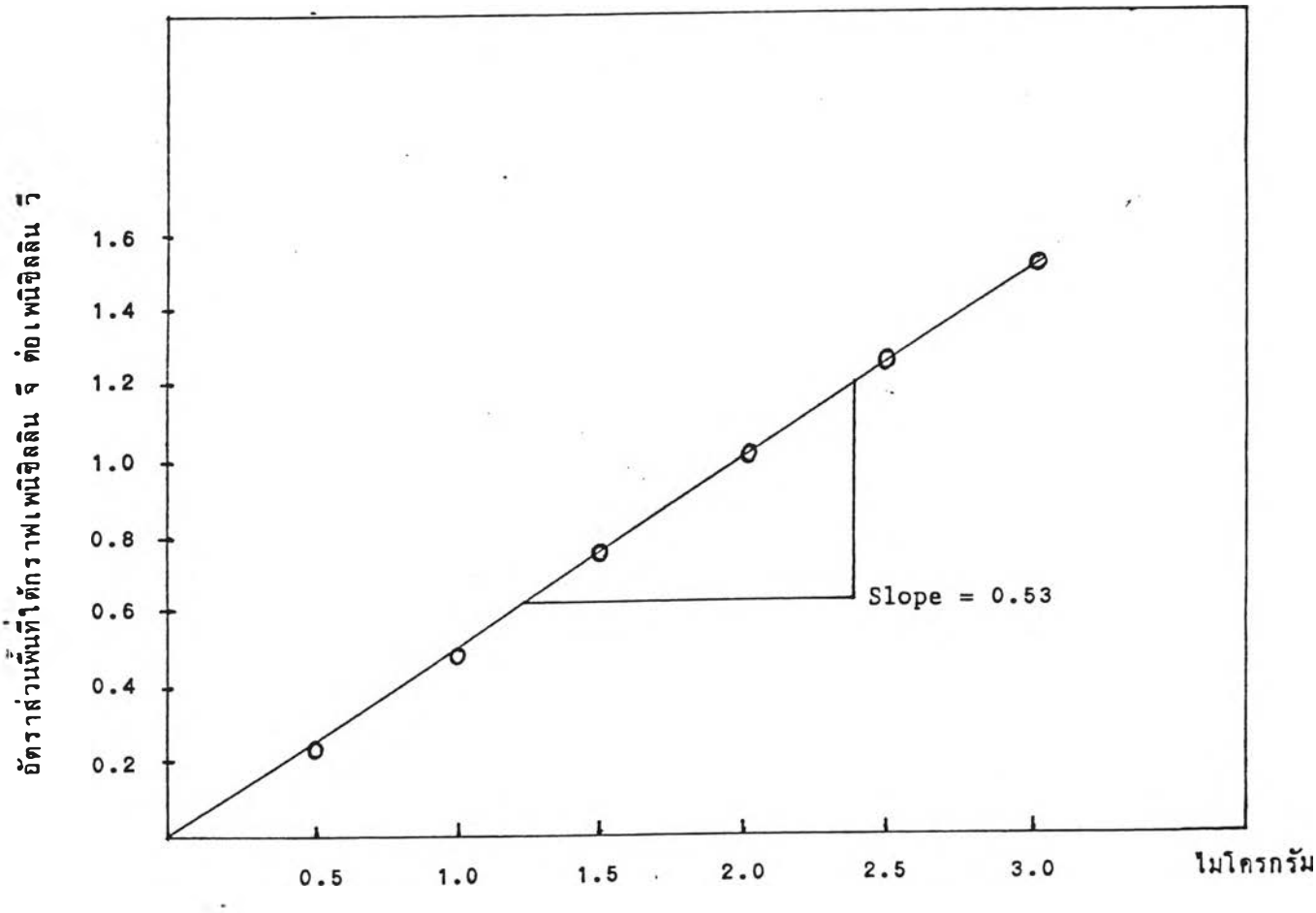
2. ลักษณะโครมาโตแกรมของเพนิซิลลิน จี ที่ได้จากการสังเคราะห์ของ Penicillium chrysogenum A 88 เมื่อใช้เพนิซิลลิน วี เป็นสารมาตรฐาน วิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC



peak ที่ 1 ได้แก่ เพนิซิลลิน จี นาทีที่ 4.01

peak ที่ 2 ได้แก่ เพนิซิลลิน วี นาทีที่ 6.80

3. กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณเพนิซิลลิน จี วิเคราะห์โดยวิธี HPLC



4. <u>การวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์</u>

(Completely Randomized Design : CRD) (22)

ผลการวิเคราะห์ความแปรผันของปริมาณเพนิซิลลิน จี ถูกดูดซับด้วยผงถ่าน ที่อุณหภูมิ 20-35 ° ซ. และปริมาณผงถ่านที่ใช้ 0.1-0.5 กรัมต่อ 100 มล.

แหล่งความแปรผัน (source of variation)	ระดับของความอิสระ (degree of freedom)	ผลรวมกำลังสองของค่าเบี่ยงเบนไปจากค่าเฉลี่ย (SS)	ผลเฉลี่ยของผลรวม (MS)
ความแปรผัน (variation)	19	508.01	26.7 **
ความคลาดเคลื่อน	20	223	11.15
ผลรวม	39	731.01	

Critical value = 4.97 % $LSD_{0.005}$ = 2.2 %

** แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

5. <u>การวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตัวอย่าง</u>

(Completely Randomized Design : CRD) (22)

ผลการวิเคราะห์ความแปรผันของปริมาณเพนิซิลลิน จี ถูกดูดซับด้วยผงถ่าน ที่อุณหภูมิ 30 ° ซ. เวลา 30 นาที และปริมาณผงถ่านที่ใช้ 0.2-0.5 กรัมต่อ 100 มล.

แหล่งความแปรผัน (source of variation)	ระดับของความอิสระ (degree of freedom)	ผลรวมกำลังสองของค่าเบี่ยงเบนไปจากค่าเฉลี่ย (SS)	ผลเฉลี่ยของผลรวม (MS)
ความแปรผัน (variation)	3	42.9	14.3**
ความคลาดเคลื่อน	4	3.6	0.9
ผลรวม	12	46.5	

Critical value = 2.4 % $LSD_{0.005}$ = 1.86 %

** แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

6. การวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตัวอย่างสมบูรณ์
(Completely Randomized Design : CRD)

ผลการวิเคราะห์ความแปรผันของปริมาณเพนิซิลลิน จี จากการตกผลึกด้วยสารละลายโซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนต ที่ความเข้มข้น 0.5 , 1.0 และ 1.2 โมลาร์

แหล่งความแปรผัน (source of variation)	ระดับของความอิสระ (degree of freedom)	ผลรวมกำลังสองของค่าเบี่ยงเบนไปจากค่าเฉลี่ย (SS)	ผลเฉลี่ยของผลรวมกำลังสองของค่าความเบี่ยงเบนจากค่าเฉลี่ย (MS)
ความแปรผัน (variation)	2	0.1892	0.0946^{NS}
ความคลาดเคลื่อน	3	0.0932	0.0310
ผลรวม	5	0.2824	

Critical value = 0.4 %

NS = ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ

สรุปและข้อเสนอแนะ

1 การสกัดเพนิซิลลิน จี ออกจากน้ำหมักที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อ Penicillium chrysogenum A 88 ทำได้โดยปรับค่าความเป็นกรดด่างของน้ำหมักให้มีค่าเป็น 3 แล้วเติมซิติลไตรเมคทิลแอมโมเนียมโบรไมด์ 0.1% (น้ำหนักต่อปริมาตร) ลงในน้ำหมักก่อนการสกัด ต่อจากนั้นสกัดด้วยเอมิลอะซิเตดโดยใช้อัตราส่วนระหว่างเอมิลอะซิเตดและน้ำหมักเป็น 1:1 สกัดที่อุณหภูมิ 4° ซ. 3 ครั้ง ครั้งละ 30 นาที จะได้เพนิซิลลิน จี ในเอมิลอะซิเตด 75.3%

2 สิ่งปนเปื้อนในเพนิซิลลิน จี ที่สกัดได้จะถูกขจัดออกโดยการดูดซับด้วยผงถ่าน ผงถ่าน 0.5% (กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร) เป็นปริมาณที่เหมาะสม การดูดซับทำที่อุณหภูมิ 30° ซ. เป็นเวลา 30 นาที

3 ตกผลึกเพนิซิลลิน จี โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนตที่เข้มข้น 1.2 โมลาร์ เติมจนกระทั่งค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 7.0 ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 4° ซ. จะได้ผลึกเกลือโซเดียมของเพนิซิลลิน จี ประมาณ 52% ซึ่งมีความบริสุทธิ์ ประมาณ 96%

4 จากการศึกษาการสกัดและการทำให้เพนิซิลลิน จี บริสุทธิ์ ในงานวิจัยนี้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในระดับห้องปฏิบัติการเท่านั้น จะเห็นได้ว่า ปริมาณเพนิซิลลิน จี ที่ได้ค่อนข้างต่ำประมาณ 52% เมื่อเทียบกับปริมาณเพนิซิลลิน จี ที่ได้ในระดับอุตสาหกรรมสูงถึง 78% (1) เนื่องจาก ในขั้นตอนของการสกัดซึ่งจำเป็นต้องปรับค่าความเป็นกรดด่างที่ต่ำซึ่งเพนิซิลลิน จี จะถูกทำลายได้ง่าย ถึงแม้ว่า ในการสกัดจะใช้อุณหภูมิต่ำที่ 4° ซ. เพื่อลดการสูญเสีย แต่อย่างไรก็ตาม ยังมีการสูญเสียในช่วงการสกัดค่อนข้างสูง ดังนั้น ในงานวิจัยที่จะต้องดำเนินงานต่อไป จึงควรจะมีการพัฒนาวิธีการสกัดให้มีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น คือ สามารถสกัดได้ในระยะเวลาสั้น เพื่อลดการสูญเสียในขั้นตอนนี้น้อยที่สุด

ประวัติ

นางสาว เบ็ญจรัก วายุภาพ เกิดวันที่ 27 ธันวาคม พ.ศ. 2505 ในจังหวัดพระนครศรีอยุธยา ได้รับปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเคมี จาก คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ในปีการศึกษา 2527