

การผลิตและลักษณะสมบัติของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากยีสต์ที่คัดเลือกได้

นางสาวธันัสถา เชียงอุทัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ภาควิชาจุลชีววิทยา

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2549

ISBN 974-14-2533-3

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF BIOSURFACTANT FROM
THE SELECTED YEAST

Miss Tanasta Chianguthai

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Industrial Microbiology

Department of Microbiology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2006

ISBN 974-14-2533-3

Copyright of Chulalongkorn University

492125

หัวข้อวิทยานิพนธ์

การผลิตและลักษณะสมบัติของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากยีสต์ที่
คัดเลือกได้

โดย

นางสาวธันสถา เชียงอุทัย

สาขาวิชา

จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม

อาจารย์ที่ปรึกษา

รองศาสตราจารย์ จิราภรณ์ ธีรียวัน

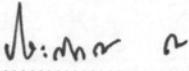
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

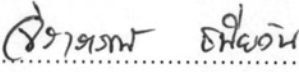
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุเทพ ธีรียวัน

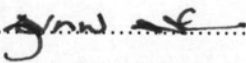
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัย
เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

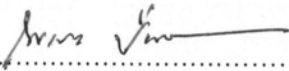

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ศาสตราจารย์ ดร. เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต)


คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์


..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. ประกิตดีสิน สิ้นนรินทร์)


..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ จิราภรณ์ ธีรียวัน)


..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุเทพ ธีรียวัน)


..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. ไพเราะ ปิ่นพานิชการ)


..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. กาญจนา จันทองจิ้น)

ธนัสถา เชียงอุทัย : การผลิตและลักษณะสมบัติของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากยีสต์ที่คัดเลือกได้ (PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF BIOSURFACTANT FROM THE SELECTED YEAST) อ. ที่ปรึกษา : รศ. จิราภรณ์ ธนีนัยวัน, อ. ที่ปรึกษาร่วม, ผศ. ดร. สุเทพ ธนีนัยวัน 111 หน้า. ISBN 974-14-2533-3.

การคัดเลือกยีสต์ที่ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากแหล่งต่างๆ สามารถแยกยีสต์สายพันธุ์ PY1 จากอาหารหมักดองพื้นบ้านของประเทศไทย จากอำเภอพนัสนิคม จังหวัดชลบุรี มีสามารถสูงที่สุดในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ เมื่อจำแนกสายพันธุ์พบว่าเป็น *Pichia anomala* ยีสต์ *Pichia anomala* สายพันธุ์ PY1 สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุดเมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวปรับปรุงสูตรที่ประกอบด้วย 0.02% KH_2PO_4 , 0.02% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.1% สารสกัดยีสต์ 0.4% $NaNO_3$ และ 4% น้ำมันถั่วเหลือง ควบคุมค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 5.5 ภาวะการเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 30 ° C ในระดับขวด เขย่าอัตราเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 วัน สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้มีค่าแรงตึงผิวต่ำสุด 28 mN/m ค่าจุดวิกฤตของการเกิดไมเซลล์ (CMC) เท่ากับ 180 mg/l และค่าการกระจายน้ำมันเท่ากับ 95.07 cm^2 เมื่อวิเคราะห์สารที่ทำบริสุทธิ์บางส่วนที่ได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อโดยใช้ TLC พบว่ามีส่วนประกอบ 6 ส่วน ที่มีค่า R_f เท่ากับ 0.94 0.86 0.8 0.73 0.62 และ 0.52 (F1-F6) ตามลำดับ ซึ่ง F2 ให้ค่าการกระจายน้ำมันสูงสุดและถูกนำไปทำให้บริสุทธิ์อีกครั้งด้วย preparative TLC และ HPLC การทำให้บริสุทธิ์ด้วย HPLC ใช้คอลัมน์ Cosmosil 5C18- AR ซะด้วยลิเนียร์เกรเดียนท์ (10-100% อะซิโตรไนไตรท์) ตรวจผลด้วย UV detector ลำดับส่วนของตัวอย่างสารตำแหน่ง F2 จาก HPLC ที่มีค่ากระจายน้ำมันมากจะถูกวิเคราะห์ต่อไปด้วย LC- MS แสดงค่ามวลโมเลกุลของสาร ส่วนใหญ่มีค่าเท่ากับ 658, 674 และ 691 ซึ่งเทียบเคียงได้กับมวลของโซไฟโรลิพิดที่มีกรดไขมันเป็นองค์ประกอบของ $[C_{20}]_{Lactone} + Na$ $C_{20} + Na$ และ $C_{20} + Na$ (oxidized form) ตามลำดับ

ภาควิชา.....จุลชีววิทยา.....ลายมือชื่อนิสิต.....ธนัสถา เชียงอุทัย
สาขาวิชา.....จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม.....ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....จิราภรณ์ ธนีนัยวัน
ปีการศึกษา.....2549.....ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

4672274123 : MAJOR INDUSTRIAL MICROBIOLOGY

KEY WORD: BIOSURFACTANT/ *Pichia anomala* / CMC

TANASTA CHIANGUTHAI: PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF BIOSURFACTANT FROM THE SELECTED YEAST. THESIS ADVISOR: ASSOC. PROF. JIRAPORN THANİYAVARN, THESIS COADVISOR: ASST. PROF. SUTEP THANİYAVARN, Ph. D. 111 p. ISBN 974-14-2533-3.

Biosurfactant producing yeasts were isolated from various sources. Among these, a strain designated PY1, isolated from Thai fermented food at Panatnikhom, Chonburi province, which was later identified as *Pichia anomala* gave the best biosurfactant activity. The strain gave high biosurfactant activity when cultivated in production medium containing 0.02% KH_2PO_4 , 0.02% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.1% Yeast extract, 0.4% NaNO_3 and 4% Soybean oil at pH 5.5, 30 °C with 200 rpm- shaking for 7 days. The biosurfactant yielded could lower surface tension down to 28 mN/m with CMC value of 180 mg/l and 95.07 cm^2 in term of oil displacement. TLC analysis of partially purified products revealed 6 components at R_f value of 0.94, 0.86, 0.8, 0.73, 0.62 and 0.52 (F1- F6), respectively. F2 fraction which showed highest activity for oil displacement was further purified by preparative TLC and HPLC. Purification by HPLC was carried out via gradient system (10- 100% acetonitrile) on Cosmosil 5C18- AR column and monitored by UV detector. The active peak eluted with oil displacement activities were submitted to LC- MS analysis. The mostly of molecular weights are 658, 674 and 691 revealed nearly of sophorolipid compound containing fatty acid of $[\text{C20}]_{\text{Lactone}} + \text{Na}$, $\text{C20} + \text{Na}$ and $\text{C20} + \text{Na}$ (oxidized form) respectively.

Department..... Microbiology..... Student's Signature..... *Tanasta Chianguthai*
 Field of Study..... Industrial Microbiology..... Advisor's Signature..... *Jiraporn Thaniyavarn*
 Academic Year..... 2006..... Co-advisor's Signature..... *Sutep Thaniyavarn*

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จไปได้ด้วยดีด้วยความช่วยเหลืออย่างยิ่ง ของรองศาสตราจารย์ จิราภรณ์ ธนียวัน อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุเทพ ธนียวัน อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมวิทยานิพนธ์ ซึ่งได้ให้ความรู้ คำแนะนำและข้อคิดเห็นต่างๆ ในการทำวิจัย ตลอดจนตรวจแก้ไขต้นฉบับวิทยานิพนธ์ ซึ่งผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. ประกิตดีสิน สีहनนท์ ที่กรุณาได้รับเป็น ประธานกรรมการในการสอบ ตลอดจนให้คำแนะนำต่างๆ

กราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. ไพเราะ ปิ่นพานิชการ และรองศาสตราจารย์ ดร. กาญจนา จันทองจีน ที่กรุณาได้รับเป็นกรรมการในการสอบ ตลอดจนให้คำแนะนำต่างๆ และช่วยตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

กราบขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านในภาควิชาจุลชีววิทยาที่กรุณาให้ความรู้ ข้อคิดเห็น และคำแนะนำต่างๆ แก่ผู้วิจัย

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ศูนย์เครื่องมือจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยและผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พลกฤษณ์ แสงวณิช จากภาควิชาเคมี ที่ช่วยให้คำแนะนำต่างๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อการวิเคราะห์สาร

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ทุกท่านในภาควิชาจุลชีววิทยา ตลอดจนพี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ ที่มีส่วนในการช่วยเหลือและกำลังใจด้วยดีตลอดมา

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ทุกท่านของบัณฑิตวิทยาลัย และเจ้าหน้าที่ในภาควิชาเคมี ที่ได้ช่วยอำนวยความสะดวกต่างๆ

ท้ายที่สุดขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา และญาติพี่น้องที่ให้การสนับสนุนและความช่วยเหลือ ตลอดจนให้กำลังใจแก่ผู้วิจัยเสมอมาจนสำเร็จการศึกษา

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ	ฉ
สารบัญ	ช
สารบัญตาราง	ซ
สารบัญรูป	ฅ
บทที่	
1. บทนำ	1
2. ปรัชญาของวรรณกรรม	4
3. อุปกรณ์และวิธีดำเนินการทดลอง	40
4. ผลการทดลอง	57
5. สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	87
รายการอ้างอิง	91
ภาคผนวก	100
ภาคผนวก ก	101
ภาคผนวก ข	104
ภาคผนวก ค	107
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์	111

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ส่วนประกอบของโครงสร้างและน้ำหนักโมเลกุลของสารแรมโนลิพิดแต่ละชนิด.....	10
2.2 สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้จากจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ	24
2.3 หน้าที่ต่างๆ ของสารลดแรงตึงผิวที่ใช้เป็นอิมัลซิไฟเออร์ในอาหารชนิดต่างๆ.....	34
2.4 ตัวอย่างสิทธิบัตรของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตด้วยจุลินทรีย์.....	35
2.5 สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้จากยีสต์ในแหล่งคาร์บอนต่างชนิดกัน.....	37
2.6 สารลดแรงตึงผิวชีวภาพประเภทไกลโคลิพิดจากจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ	38
4.1 ผลสรุปการคัดเลือกเชื้อยีสต์ที่มีความสามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้.....	58
4.2 ค่าแรงตึงผิว และค่าการกระจายตัวของน้ำมันของส่วนน้ำใสที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อ ทั้ง 3 สายพันธุ์ ที่คัดเลือกได้.....	59
4.3 ผลการศึกษาเพื่อจำแนกเชื้อยีสต์สายพันธุ์ PY1 ทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยา.....	61
4.4 ผลการทดสอบทางด้านชีวเคมีเพื่อการจำแนกเชื้อยีสต์สายพันธุ์ PY1.....	62
4.5 ค่าของน้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าการกระจายน้ำมัน ค่าแรงตึงผิว ของ <i>Pichia anomala</i> สาย พันธุ์ PY1.....	66
4.6 ผลการแปรผันแหล่งคาร์บอนที่ใช้ในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ.....	68
4.7 ผลการแปรผันความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนที่ใช้ในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ.....	68
4.8 ผลการแปรผันแหล่งไนโตรเจนที่ใช้ในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ.....	71
4.9 ผลการแปรผันความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนที่ใช้ในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ.....	71
4.10 ผลการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ.....	74
4.11 ผลการศึกษาค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตสาร ลดแรงตึงผิวชีวภาพ.....	74
4.12 เปรียบเทียบลักษณะสมบัติของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้กับสารลดแรงตึงผิว สังเคราะห์ที่มีความเข้มข้น 1,000 มก.ต่อลิตร.....	79
4.13 อัตราการเคลื่อนที่ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้จากการเลี้ยงเชื้อโดยมีน้ำมันถั่วเหลือง เป็นแหล่งคาร์บอนบนแผ่น TLC และค่าการกระจายน้ำมัน	80
4.14 สรุปค่าการกระจายน้ำมันของตัวอย่างตำแหน่งที่ F2 เมื่อผ่านการวิเคราะห์และทำให้ บริสุทธิ์ด้วย HPLC.....	83
4.15 แสดงผลการวิเคราะห์สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ด้วย LC- MS.....	86

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1	ลักษณะโครงสร้างทั่วไปของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ..... 5
2.2	การเกิดโครงสร้างไมเซลล์ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในน้ำเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจนถึงจุด Critical Micelle Concentration (CMC) ก) เป็นภาวะที่ไม่มีสารลดแรงตึงผิว ข) สารลดแรงตึงผิวละลายอยู่ในน้ำโดยหันส่วนที่ไม่ชอบน้ำออกสู่ผิวน้ำ ค) Critical Micelle Concentration (CMC) เป็นจุดที่ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเพิ่มขึ้นจนถึงระดับที่ก่อให้เกิดโครงสร้างไมเซลล์ และ ง) เมื่อเกิดเป็นโครงสร้างไมเซลล์แล้วค่าแรงตึงผิวมีค่าคงที่ไม่ลดลงอีกแม้ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจะเพิ่มขึ้นก็ตาม..... 6
2.3	โครงสร้างและการจัดเรียงตัวของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 7
2.4	โครงสร้างของแรมโนลิพิด ชนิด R1, R2, R3, R4, A และ B ที่ผลิตโดย <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 9
2.5	โครงสร้างของ Trehalose dimycolate จาก <i>Rhodococcus erythropolis</i> 11
2.6	โครงสร้างของไซโฟโรลิพิดจาก <i>Torulopsis bombicola</i> แสดงไดเมอริกไซโฟโรสที่เชื่อมต่อกับสายยาวของ hydroxyl fatty acid (C18)..... 12
2.7	โครงสร้างของไซโฟโรลิพิดจาก <i>Torulopsis bombicola</i> 12
2.8	โครงสร้างของไซโฟโรลิพิดจาก <i>Candida bombicola</i> ซึ่งแสดงโครงสร้างของ Lactonic form และ Acid form..... 13
2.9	โครงสร้างของ α -diglucoxydiglyceride , R = หมู่อัลคิล..... 13
2.10	โครงสร้างของ Mannosylerythritol lipid (MEL) จาก <i>Pseudozyma (Candida) antarctica</i> T- 34 14
2.11	โครงสร้างของ cellobiose lipid จาก <i>Ustilago maydis</i> ATCC 14826 14
2.12	โครงสร้างของเซอร์แฟกตินจาก <i>Bacillus subtilis</i> 15
2.13	โครงสร้างของไลโปเพปไทด์ชนิดต่างๆ 16
2.14	โครงสร้างของ lichenysin A 17
2.15	โครงสร้างของ ornithine containing lipid จาก <i>Pseudomonas rubescens</i> 17
2.16	โครงสร้างของ viscosin จาก <i>Pseudomonas fluorescens</i> 18

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
2.17 โครงสร้างของ cerilipin จาก <i>Gluconobacter cerinus</i>	18
2.18 โครงสร้างของ surface-active lipopeptide ที่ผลิตโดย <i>B. licheniformis</i>	19
2.19 โครงสร้างของฟอสโฟลิพิด.....	20
2.20 โครงสร้างของฟอสฟาติดีลเอทานอลามีน (phosphatidylethanolamine) จาก <i>Acinetobacter</i> sp.....	20
2.21 โครงสร้างของอิมัลชัน จาก <i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	21
2.22 รูปแบบการเจริญของเชื้อแบบต่าง ๆ.....	26
2.23 กระบวนการผลิตสาร MEL จาก <i>Candida antarctica</i> T-34.....	27
3.1 แสดงลักษณะการกระจายตัวของน้ำมัน.....	46
3.2 บริเวณ internal transcribed spacer (ITS) และตำแหน่งจับของโพลิโนคลีโอไทด์ ไพรเมอร์ ITS1 (forward primer) และ ITS4 (reverse primer).....	49
3.3 วิธีการหาค่าความเข้มข้นของการเกิดไมเซลล์ โดยการวัดค่าแรงตึงผิวของสารลดแรงตึงผิว ชีวภาพที่ผลิตได้ และทำให้บริสุทธิ์บางส่วน.....	54
4.1 ลักษณะการกระจายตัวของน้ำมันดิบของเชื้อยีสต์ที่ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ โดยวิธี เขี่ยเชื้อบริสุทธิ์บนอาหารแข็ง YM ที่มีน้ำมันดิบปกคลุมอยู่ และป่มเชื้อเป็นเวลา 48 ชั่วโมง	57
4.2 เปรียบเทียบลักษณะอาหารเลี้ยงเชื้อก่อนและหลังการเลี้ยงเชื้อ.....	59
4.3 ลักษณะโคโลนีของยีสต์สายพันธุ์ PY1	60
4.4 รูปร่างเซลล์ของยีสต์สายพันธุ์ PY1 ซึ่งแสดง ascospore อยู่ภายในที่มีรูปร่างคล้ายหมวก (hat-shape) ขนาดขยาย 1,000 เท่า.....	60
4.5 การทดสอบการสร้างเอนไซม์ไลเปสของยีสต์ที่คัดเลือกได้บนอาหารแข็งไตรบูไทริน บริเวณส่วนใต้อบโคโลนีแสดงถึงความสามารถในการสร้างเอนไซม์ไลเปส.....	61
4.6 ภาพอะกาโรสเจลอเล็กโทรโฟรีซิสของชิ้นส่วนโครมาโซมของยีสต์สายพันธุ์ PY1.....	64
4.7 ภาพอะกาโรสเจลอเล็กโทรโฟรีซิสของผลิตภัณฑ์ปฏิกิริยาถูกใช้พอลิเมอเรสจากบริเวณ ITS1 ถึง ITS4 ของ rDNA.....	64
4.8 แสดงลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อยีสต์สายพันธุ์ PY1 เปรียบเทียบกับข้อมูลและเปอร์เซ็นต์ ความคล้ายคลึงของลำดับนิวคลีโอไทด์ของ <i>Pichia anomala</i> MTCC 462 ที่มีอยู่ใน Gen Bank ด้วยโปรแกรม Blast N.....	65

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.9	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญของเชื้อยีสต์ <i>Pichia anomala</i> สายพันธุ์ PY1 และการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 67
4.10	แสดงค่าแรงตึงผิวของน้ำเลี้ยงเชื้อจาก <i>Pichia anomala</i> สายพันธุ์ PY1 ที่ใช้แหล่งคาร์บอนชนิดต่างๆ 69
4.11	แสดงค่าการกระจายน้ำมันของน้ำเลี้ยงเชื้อจาก <i>Pichia anomala</i> สายพันธุ์ PY1 เมื่อใช้แหล่งคาร์บอนชนิดต่างๆ 69
4.12	แสดงค่าแรงตึงผิวของน้ำเลี้ยงเชื้อจาก <i>Pichia anomala</i> สายพันธุ์ PY1 เมื่อใช้น้ำมันถั่วเหลืองเป็นแหล่งคาร์บอน ที่แปรผันความเข้มข้นต่างๆ 70
4.13	แสดงค่าการกระจายน้ำมันของน้ำเลี้ยงเชื้อจาก <i>Pichia anomala</i> สายพันธุ์ PY1 เมื่อใช้น้ำมันถั่วเหลืองเป็นแหล่งคาร์บอน ที่แปรผันความเข้มข้นต่างๆ 70
4.14	แสดงค่าแรงตึงผิวของน้ำเลี้ยงเชื้อจาก <i>Pichia anomala</i> สายพันธุ์ PY1 ที่ใช้แหล่งไนโตรเจนชนิดต่างๆ 72
4.15	แสดงค่าการกระจายน้ำมันของน้ำเลี้ยงเชื้อจาก <i>Pichia anomala</i> สายพันธุ์ PY1 ที่ใช้แหล่งไนโตรเจนชนิดต่างๆ 72
4.16	แสดงค่าแรงตึงผิวของน้ำเลี้ยงเชื้อจาก <i>Pichia anomala</i> สายพันธุ์ PY1 ที่ใช้ NaNO_3 เป็นแหล่งไนโตรเจน โดยทำการแปรผันความเข้มข้นต่างๆ 73
4.17	แสดงค่าการกระจายน้ำมันของน้ำเลี้ยงเชื้อจาก <i>Pichia anomala</i> สายพันธุ์ PY1 ที่ใช้ NaNO_3 เป็นแหล่งไนโตรเจน โดยทำการแปรผันความเข้มข้นต่างๆ 73
4.18	แสดงค่าแรงตึงผิวของน้ำเลี้ยงเชื้อจาก <i>Pichia anomala</i> สายพันธุ์ PY1 ทำการแปรผันอุณหภูมิการเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 20 25 30 และ 40 องศาเซลเซียส 75
4.19	แสดงค่าการกระจายน้ำมันของน้ำเลี้ยงเชื้อจาก <i>Pichia anomala</i> สายพันธุ์ PY1 ทำการแปรผันอุณหภูมิการเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 20 25 30 และ 40 องศาเซลเซียส 75
4.20	แสดงค่าแรงตึงผิวของน้ำเลี้ยงเชื้อจาก <i>Pichia anomala</i> สายพันธุ์ PY1 ทำการแปรผันค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ เท่ากับ 3.5 4.5 5.0 5.5 และ 6.5 76
4.21	แสดงค่าการกระจายน้ำมันของน้ำเลี้ยงเชื้อจาก <i>Pichia anomala</i> สายพันธุ์ PY1 ทำการแปรผันค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ เท่ากับ 3.5 4.5 5.0 5.5 และ 6.5 76
4.22	แสดงการหาค่า CMC ซึ่งเขียนกราฟระหว่างค่าแรงตึงผิวและ log ของความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่บริสุทธิ์บางส่วนจาก <i>Pichia anomala</i> สายพันธุ์ PY1..... 77

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.23 แสดงค่า CMC ของสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์.....	78
4.24 ผลการวิเคราะห์เมื่อนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้มาวิเคราะห์และแยกให้บริสุทธิ์โดยวิธี analytical TLC ตรวจสอบผลด้วยไอโอดีน และมอริสรีเอเจนต์.....	80
4.25 โครมาโตแกรมของ HPLC จากสารโซไฟโวลิติดที่ใช้เป็นสารเปรียบเทียบ	81
4.26 โครมาโตแกรมของ HPLC จากตัวอย่างตำแหน่งที่ F2 ค่า RT ของพีกที่มีค่าการกระจายตัวของน้ำมันมาก ได้แก่ 9.777 17.773 และ 25.768 นาที มีค่าการกระจายตัวของน้ำมันเท่ากับ 2.270 2.011 และ 11.346 cm ²	82
4.27 โครมาโตแกรมของ LC-MS ของสารโซไฟโวลิติดที่ใช้เป็นสารเปรียบเทียบ.....	84
4.28 โครมาโตแกรมของ LC-MS ของตัวอย่างสาร A	84
4.29 โครมาโตแกรมของ LC-MS ของตัวอย่างสาร B	85
4.30 โครมาโตแกรมของ LC-MS ของตัวอย่างสาร C	85