

ผลของการเสริมน้ำตาลต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ
โดย *Pichia anomala* PY1 และลักษณะของสารที่ได้

นางสาวผกามาศ ราชมন্ত্রী

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ภาควิชาจุลชีววิทยา
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2551
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



4 8 7 2 3 7 4 4 2 3

EFFECT OF SUGAR SUPPLEMENTATION ON THE PRODUCTION OF BIOSURFACTANT BY
Pichia anomala PY1 AND CHARACTERIZATION THEREOF

Miss Phakamas Rachamontree

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 2008

Copyright of Chulalongkorn University

512079

หัวข้อวิทยานิพนธ์

ผลของการเสริมน้ำตาลต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดย *Pichia anomala* PY1 และลักษณะของสารที่ได้

โดย

นางสาวผกามาศ ราชมนตรี

สาขาวิชา

จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม

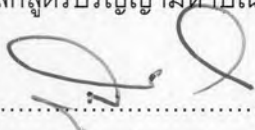
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

รองศาสตราจารย์ จิราภรณ์ ธานีวัน

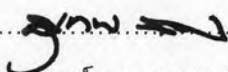
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

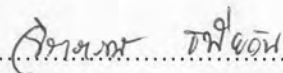
รองศาสตราจารย์ ดร. ไพเราะ ปิ่นพานิชการ

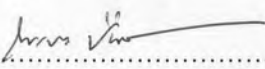
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็น
ส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต



..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ศาสตราจารย์ ดร. สุพจน์ หารหนองบัว)

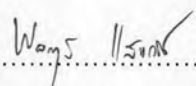
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์


..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. สุเทพ ธานีวัน)


..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(รองศาสตราจารย์ จิราภรณ์ ธานีวัน)


..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(รองศาสตราจารย์ ดร. ไพเราะ ปิ่นพานิชการ)


..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. กาญจนา จันทร์ทองจิ้น)


..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. พลกฤษณ์ แสงวนิช)

ผกามาศ ราชมนตรี : ผลของการเสริมน้ำตาลต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดย *Pichia anomala* PY1 และลักษณะของสารที่ได้ (EFFECT OF SUGAR SUPPLEMENTATION ON THE PRODUCTION OF BIOSURFACTANT BY *Pichia anomala* PY1 AND CHARACTERIZATION THERE OF) อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : รศ. จิราภรณ์ ธีรยวัน, อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม, รศ. ดร. ไพเราะ ปิ่นพานิชการ, 116 หน้า.

การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยยีสต์ *Pichia anomala* สายพันธุ์ PY1 สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในอาหารเหลวปรับปรุงสูตรที่ประกอบด้วย KH_2PO_4 0.02 % $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.02 % สารสกัดยีสต์ 0.3 % NaNO_3 0.4 % น้ำมันถั่วเหลือง 10.67 % และกลูโคส 5.33 % (อัตราส่วน 2:1) ควบคุมค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้นเท่ากับ 5.0 โดยมีภาวะการเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 30 °C ในระดับขวดเขย่าอัตราเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 วัน สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้มีค่าแรงตึงผิวต่ำสุด 33 mN/m ค่าจุดวิกฤตของการเกิดไมเซลล์ (CMC) เท่ากับ 132 mg/l ค่าการกระจายน้ำมันเท่ากับ 75.39 cm^2 และให้ผลผลิตเท่ากับ 0.95 g/l และเมื่อศึกษาลักษณะสมบัติทางชีวเคมีพบว่าสามารถทำงานได้ดีและมีความเสถียรที่ความเป็นกรดต่างเท่ากับ 8 มีความเสถียรต่ออุณหภูมิต่างๆ ได้จนถึงอุณหภูมิ 121 °C และยังคงความเสถียรได้ดีในภาวะที่มีโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 0.5-5.0 % นอกจากนี้ยังสามารถก่อกอิมัลชันต่อน้ำมันและสารประกอบไฮโดรคาร์บอนต่างๆ เช่น น้ำมันคาโนลา น้ำมันงา น้ำมันสลัด น้ำมันรำข้าว น้ำมันดอกคำฝอย น้ำมันถั่วเหลือง ไอโซโพรพิล ไมริสเตท เฮกซาเดคเคนและเอทิล ไอลเอท เป็นต้น จากนั้นวิเคราะห์สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้โดยใช้ analytical TLC พบว่ามีส่วนประกอบ 3 ส่วนที่มีค่า R_f เท่ากับ 0.88, 0.72 และ 0.62 (F1-F3) ตามลำดับ ซึ่ง F2 ให้ค่าการกระจายน้ำมันสูงสุด และถูกนำไปทำให้บริสุทธิ์อีกครั้งด้วย preparative TLC และ HPLC และตรวจผลแต่ละลำดับส่วนของตัวอย่างสารตำแหน่ง F2 จาก HPLC ที่มีค่ากระจายน้ำมันมากจะถูกวิเคราะห์ต่อไปด้วย LC-MS แสดงค่ามวลโมเลกุลของสารส่วนใหญ่มีค่าเท่ากับ 662 702 และ 762 ซึ่งเทียบเคียงได้กับสารไซโฟโรลิพิดที่มีโครงสร้างที่มีกรดไขมันเป็นองค์ประกอบของ $[\text{C}22]_{\text{Lactone}}$ และ $[\text{C}22:1]_{\text{Lactone}}$

ภาควิชา:.....จุลชีววิทยา.....ลายมือชื่อนิสิต:.....ผกามาศ ราชมนตรี.....
 สาขาวิชา:.....จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม.....ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก:.....ไพเราะ ปิ่นพานิชการ.....
 ปีการศึกษา:.....2551.....ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม:.....จิราภรณ์ ธีรยวัน.....

4872374423 : MAJOR INDUSTRIAL MICROBIOLOGY

KEY WORD: BIOSURFACTANT/ *Pichia anomala* / CMC

PHAKAMAS RACHAMONTREE: EFFECT OF SUGAR SUPPLEMENTATION ON THE PRODUCTION OF BIOSURFACTANT BY *Pichia anomala* PY1 AND HARACTERIZATION THERE OF. THESIS ADVISOR: ASSOC. PROF. JIRAPORN THANIVAVARN, THESIS COADVISOR: ASSOC. PROF. PIROH PINPHANICHAKARN, Ph. D., 116 pp.

The highest efficiency for biosurfactant production by *Pichia anomala* strain PY1 was found in modified medium consist KH_2PO_4 0.02%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.02%, NaNO_3 0.4%, yeast extract 0.3%, soybean oil 10.67% and glucose 5.33% with initial pH of 5.0. The cultivation was performed at 30°C in shake flask at 200 rpm. After 7 days of cultivation the biosurfactant produced possessed minimum surface tension of 33 mN/m, the critical micelle concentration (CMC) of 132 mg/l, oil displacement activity of 75.39 cm^2 and yield of 0.95 g/l. The biochemical studies of the product obtained revealed that this biosurfactant has optimum pH and pH stability at pH 8.0. The same product was stabilized to temperature up to 121°C and could tolerated NaCl at 0.5-5.0%. In addition to could formed emulsion with oil and various hydrocarbon including canola oil, sesame oil, salad oil, rice bran oil, safflower oil, soybean oil, isopropyl myristate, n-hexadecane, and ethyl oleate etc. Analysis via analytical TLC showed 3 major peaks with Rf of 0.88, 0.72 and 0.62 (F1-F3) respectively. Among this F2 gave highest oil displacement activity and upon further purification by preparative TLC and high performance liquid chromatography a sery of peaks belong to F2 were isolated with molecular mass of 662 702 and 762 as indicated by their LC-MS spectrum correspond to sophorolipid compound containing fatty acid of $[\text{C}22]_{\text{Lactone}}$ and $[\text{C}22:1]_{\text{Lactone}}$

Department: Microbiology Student's Signature: Phakamas Rachamontree
 Field of Study: Industrial Microbiology Thesis Principal Advisor's Signature: Jiraporn Thanivarn
 Academic Year: 2008 Thesis Co-advisor's Signature: Piroh Pinphanichakarn

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จไปได้ด้วยดีด้วยความช่วยเหลืออย่างยิ่งของ รองศาสตราจารย์ จิราภรณ์ ธานีวัน อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และรองศาสตราจารย์ ดร. ไพเราะ ปิ่นพานิชกร อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมวิทยานิพนธ์ ซึ่งได้ให้ความรู้ คำแนะนำและข้อคิดเห็นต่างๆ ในการทำวิจัย ตลอดจนตรวจแก้ไขต้นฉบับวิทยานิพนธ์ ซึ่งผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. สุเทพ ธานีวัน ที่กรุณารับเป็นประธาน กรรมการในการสอบ ตลอดจนให้คำแนะนำต่างๆ

กราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. กาญจนา จันทองจีน และรองศาสตราจารย์ ดร. พลกฤษณ์ แสงวณิช ที่กรุณารับเป็นกรรมการในการสอบ ตลอดจนให้คำแนะนำต่างๆ และช่วยตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

กราบขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านในภาควิชาจุลชีววิทยาที่กรุณาให้ความรู้ ข้อคิดเห็น และคำแนะนำต่างๆ แก่ผู้วิจัย

ขอขอบคุณงบประมาณแผ่นดิน ปี 2549 ที่สนับสนุนเงินทุนเพื่อการวิจัยนี้

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ศูนย์เครื่องมือจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่อำนวยความสะดวกและคอยให้คำแนะนำต่างๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อการวิเคราะห์สาร

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ทุกท่านในภาควิชาจุลชีววิทยา ตลอดจนพี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ ที่มีส่วนในการช่วยเหลือและกำลังใจด้วยดีตลอดมา

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ทุกท่านของบัณฑิตวิทยาลัย และเจ้าหน้าที่ในภาควิชาเคมี ที่ได้ช่วยอำนวยความสะดวกต่างๆ

ท้ายที่สุดขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา และญาติพี่น้องที่ให้การสนับสนุนและความช่วยเหลือ ตลอดจนให้กำลังใจแก่ผู้วิจัยเสมอมาจนสำเร็จการศึกษา

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ	ฉ
สารบัญ	ช
สารบัญตาราง	ฅ
สารบัญรูป	ฎ
บทที่	
1. บทนำ	1
2. ปรีทรรศน์วรรณกรรม.....	4
2.1 ความหมายและความสำคัญของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ.....	5
2.2 ชนิดของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ.....	8
2.3 จลศาสตร์การหมักสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ.....	21
2.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ.....	24
2.5 กระบวนการผลิตไซโฟโรลิพิด.....	27
2.6 การประยุกต์ใช้ไซโฟโรลิพิด.....	31
3. อุปกรณ์และวิธีดำเนินการทดลอง	39
4. ผลการทดลอง	55
4.1 การหาองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อและภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิต สารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดย <i>Pichia anomala</i> สายพันธุ์ PY1.....	55
4.2 การผลิตและสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ.....	65
4.3 ลักษณะสมบัติทางชีวเคมีของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้.....	66
4.4 การทำบริสุทธิ์สารลดแรงตึงผิวชีวภาพด้วยวิธีโครมาโตกราฟี.....	76
4.5 วิเคราะห์โครงสร้างของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้.....	79
5. สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	86

	หน้า
รายการอ้างอิง	90
ภาคผนวก	103
ภาคผนวก ก	104
ภาคผนวก ข	106
ภาคผนวก ค	107
ภาคผนวก ง	110
ภาคผนวก จ	112
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์	116

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1	19
2.2	23
2.3	31
2.4	34
2.5	36
4.1	56
4.2	56
4.3	57
4.4	59
4.5	60
4.6	61
4.7	66
4.8	67
4.9	68

ตารางที่	หน้า
4.10 ผลของค่าความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ต่อค่าแรงตึงผิวและความเสถียรของ ค่าแรงตึงผิวของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกึ่งบริสุทธิ์ที่ผลิตได้จาก <i>Pichia anomala</i> สายพันธุ์ PY 1.....	70
4.11 ผลของค่าความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ต่อค่าการกระจายน้ำมันและความเสถียร ของค่าการกระจายน้ำมันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกึ่งบริสุทธิ์ที่ผลิตได้จาก <i>Pichia</i> <i>anomala</i> สายพันธุ์ PY 1.....	71
4.12 แสดงค่ากิจกรรมการก่ออิมัลชัน (Emulsification activity) และความเสถียรของการ ก่ออิมัลชัน (Emulsification stability) ที่เวลาต่างๆ ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ ผลิตได้ต่อน้ำมันและสารประกอบไฮโดรคาร์บอนชนิดต่างๆ.....	72
4.13 แสดงค่าจุดวิกฤติของความเข้มข้นของการเกิดไมเซลล์ (Critical micelle concentration ; CMC) ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดต่างๆ.....	75
4.14 อัตราการเคลื่อนที่ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้จากการเลี้ยงเชื้อโดยมีน้ำมัน ถั่วเหลืองและน้ำตาลกลูโคส อัตราส่วน 2:1 เป็นแหล่งคาร์บอนบนแผ่น TLC และค่า การกระจายน้ำมันแต่ละลำดับส่วน.....	77
4.15 สรุปค่าการกระจายน้ำมันของตัวอย่างตำแหน่ง F2 เมื่อผ่านการวิเคราะห์และทำให้ บริสุทธิ์ด้วย HPLC.....	77
4.16 แสดงผลการวิเคราะห์สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ด้วย LC- MS.....	83

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 ลักษณะโครงสร้างทั่วไปของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ.....	5
2.2 การเกิดโครงสร้างไมเซลล์ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในน้ำเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจนถึงจุด Critical Micelle Concentration (CMC).....	6
2.3 โครงสร้างและการจัดเรียงตัวของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ.....	7
2.4 โครงสร้างของแรมโนลิพิด ชนิด R1, R2, R3, และ R4 ที่ผลิตโดย <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9
2.5 โครงสร้างของแรมโนลิพิด ชนิด A และ B ที่ผลิตโดย <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9
2.6 โครงสร้างของ Trehalose dimycolate จาก <i>Rhodococcus erythropolis</i>	10
2.7 โครงสร้างของ Trehalose lipid จาก <i>Arthrobacter</i> sp.....	10
2.8 โครงสร้าง lactonic และ acidic form ของไซโฟโรลิพิดจาก <i>Candida bombicola</i>	11
2.9 โครงสร้างของไซโฟโรลิพิดจาก <i>Torulopsis bombicola</i> แสดงไดเมอริกไซโฟโรสที่เชื่อมต่อกับสายยาวของ hydroxyl fatty acid (C18).....	11
2.10 โครงสร้างของไซโฟโรลิพิดจาก <i>Torulopsis bombicola</i>	12
2.11 โครงสร้างของ α -diglucosyldiglyceride , R = หมู่อัลคิล.....	12
2.12 โครงสร้างของ Ustilagic acid หรือ Cellobiose lipid จาก <i>Ustilago maydis</i> MB215	13
2.13 โครงสร้างของ Ustilipid หรือ Mannosylerythritol lipid จาก <i>Ustilago maydis</i> MB215.....	13
2.14 โครงสร้างของเซอร์แฟกติน.....	14
2.15 โครงสร้างของ lichenysin A	14
2.16 โครงสร้างอาร์โทรแฟกติน จาก <i>Arthrobacter</i> sp. MIS38.....	15
2.17 โครงสร้างของ Iturin A.....	15
2.18 โครงสร้างของ serrawettin W2.....	16
2.19 โครงสร้างของพอลิมิกซิน บี (polymyxin B) จาก <i>Bacillus polymyxa</i> ; DAB, 2,4-diaminobutyricacid.....	16
2.20 โครงสร้างของ ฟอสฟาทีดิลเอทานอลามีน (phosphatidylethanolamine) จาก <i>Acinebator</i> sp. (R1 และ R2 คือ สายไฮโดรคาร์บอนของกรดไขมัน).....	17

รูปที่	หน้า
2.21 โครงสร้างของอิมัลชัน (emulsan) จาก <i>Acinebactor calcoaceticus</i>	19
2.22 แสดงรูปแบบการเจริญและการผลิตสารของเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ.....	22
2.23 แสดงโครงสร้างไฮโฟโรลิติด (C22 hydroxy fatty acid) ที่ผลิตจาก <i>Candida bogoriensis</i>	28
2.24 แสดงกระบวนการผลิตไฮโฟโรลิติดจาก <i>Candida bombicola</i> ATCC 22214.....	30
3.1 แสดงลักษณะการกระจายตัวของน้ำมัน.....	45
3.2 วิธีการหาค่าความเข้มข้นของการเกิดไมเซลล์ โดยการวัดค่าแรงตึงผิวของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ และทำให้บริสุทธิ์บางส่วน.....	51
4.1 แสดงค่าแรงตึงผิวของน้ำเลี้ยงเชื้อจาก <i>Pichia anomala</i> PY1 ที่ใช้น้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำตาลกลูโคสในอัตราส่วนต่างๆ กันเป็นแหล่งคาร์บอนที่ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 7 วัน.....	57
4.2 แสดงการกระจายน้ำมันของน้ำเลี้ยงเชื้อจาก <i>Pichia anomala</i> PY1 ที่ใช้น้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำตาลกลูโคสในอัตราส่วนต่างๆ กันเป็นแหล่งคาร์บอนที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน.....	58
4.3 แสดงค่าแรงตึงผิวของน้ำเลี้ยงเชื้อจาก <i>Pichia anomala</i> PY1 ที่แปรผันความเข้มข้นของสารสกัดยีสต์ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้น้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำตาลกลูโคสในอัตราส่วน 2:1 เป็นแหล่งคาร์บอนที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน.....	59
4.4 แสดงค่าการกระจายน้ำมันของน้ำเลี้ยงเชื้อจาก <i>Pichia anomala</i> PY1 ที่แปรผันความเข้มข้นของสารสกัดยีสต์ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้น้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำตาลกลูโคสในอัตราส่วน 2:1 เป็นแหล่งคาร์บอนที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน.....	60
4.5 แสดงค่าแรงตึงผิวของน้ำเลี้ยงเชื้อจาก <i>Pichia anomala</i> สายพันธุ์ PY1 ทำการแปรผันค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้น้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำตาลกลูโคสในอัตราส่วน 2:1 เป็นแหล่งคาร์บอน เท่ากับ 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0 และ 6.5.....	62
4.6 แสดงค่าการกระจายน้ำมันของน้ำเลี้ยงเชื้อจาก <i>Pichia anomala</i> สายพันธุ์ PY1 ทำการแปรผันค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้น้ำมันถั่วเหลืองร่วมกับน้ำตาลกลูโคสในอัตราส่วน 2:1 เป็นแหล่งคาร์บอน เท่ากับ 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0 และ 6.5.....	62

รูปที่	หน้า
4.7	63
กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญของเชื้อยีสต์ <i>Pichia anomala</i> สายพันธุ์ PY1 และการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วยน้ำมันถั่วเหลืองและน้ำตาลกลูโคสในอัตราส่วน 2:1 เป็นแหล่งคาร์บอน.....	
4.8	64
กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญของเชื้อยีสต์ <i>Pichia anomala</i> สายพันธุ์ PY1 และการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ไขมันถั่วเหลืองเป็นแหล่งคาร์บอนเพียงชนิดเดียว.....	
4.9	65
กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญของเชื้อยีสต์ <i>Pichia anomala</i> สายพันธุ์ PY1 และการเปลี่ยนแปลงปริมาณไขมันถั่วเหลืองและน้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้ไปในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วยไขมันถั่วเหลืองและน้ำตาลกลูโคสในอัตราส่วน 2:1 เป็นแหล่งคาร์บอน.....	
4.10	68
กราฟแสดงค่าแรงตึงผิวของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกึ่งบริสุทธิ์ที่ผลิตได้จาก <i>Pichia anomala</i> สายพันธุ์ PY 1 ที่อุณหภูมิ 60 และ 100 องศาเซลเซียส.....	
4.11	69
กราฟแสดงค่าการกระจายน้ำมันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกึ่งบริสุทธิ์ที่ผลิตได้จาก <i>Pichia anomala</i> สายพันธุ์ PY 1 ที่อุณหภูมิ 60 และ 100 องศาเซลเซียส.....	
4.12	69
กราฟแสดงจำนวนรอบทดสอบค่าการกระจายน้ำมันและค่าแรงตึงผิวของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้จาก <i>Pichia anomala</i> สายพันธุ์ PY 1 และผ่านการบ่มที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที.....	
4.13	73
แสดงการหาค่า CMC ซึ่งเขียนกราฟระหว่างค่าแรงตึงผิวและ log ของความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกึ่งบริสุทธิ์ที่ผลิตได้จาก <i>Pichia anomala</i> สายพันธุ์ PY1	
4.14	74
แสดงการหาค่า CMC ซึ่งเขียนกราฟระหว่างค่าแรงตึงผิวและ log ของความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ เคมเทค 307.....	
4.15	74
แสดงการหาค่า CMC ซึ่งเขียนกราฟระหว่างค่าแรงตึงผิวและ log ของความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ ไทรทอน เอกซ์ 100.....	
4.16	75
แสดงการหาค่า CMC ซึ่งเขียนกราฟระหว่างค่าแรงตึงผิวและ log ของความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ไฮเดียมโดเดซิลซัลเฟต.....	
4.17	76
ผลการวิเคราะห์สารลดแรงตึงผิวชีวภาพกึ่งบริสุทธิ์ด้วยวิธี analytical TLC แล้วทำการตรวจสอบผลด้วย (ก) ไอโอดีน และ (ข) มอริส รีเอเจนต์.....	

รูปที่	หน้า
4.18 โคโรมาโตแกรมของ HPLC จากตัวอย่างตำแหน่ง F2 ค่า RT ของพีคที่มีค่าการกระจายตัวของน้ำมันมาก ได้แก่ 7.5, 8.9, 15.3, 19.2, 21.9, 26.2 และ 31.4 นาที ซึ่งมีค่าการกระจายตัวของน้ำมันเท่ากับ 3.80, 9.07, 63.59, 103.82, 94.99, 102.02 และ 81.67 ตารางเซนติเมตร ตามลำดับ.....	78
4.19 โคโรมาโตแกรมของ LC-MS ของตัวอย่างสาร A.....	79
4.20 โคโรมาโตแกรมของ LC-MS ของตัวอย่างสาร B.....	80
4.21 โคโรมาโตแกรมของ LC-MS ของตัวอย่างสาร C.....	80
4.22 โคโรมาโตแกรมของ LC-MS ของตัวอย่างสาร D.....	81
4.23 โคโรมาโตแกรมของ LC-MS ของตัวอย่างสาร E.....	81
4.24 โคโรมาโตแกรมของ LC-MS ของตัวอย่างสาร F.....	82
4.25 โคโรมาโตแกรมของ LC-MS ของตัวอย่างสาร G.....	82
4.26 ¹ H-NMR spectrum resonance ของตัวอย่าง G.....	85