

การหาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดไฮยาโลโรนิกโดย
Streptococcus zooepidemicus ATCC 35246

นางสาว จุรรักษ์ ศรีวงษ์



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ภาควิชาจุลชีววิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย จฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2540

ISBN 974-638-889-4

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**OPTIMIZATION FOR THE PRODUCTION OF HYALURONIC ACID BY
Streptococcus zooepidemicus ATCC 35246**



Miss Jurarak Sriwang

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

Department of Microbiology

Graduate School

Chulalongkorn University

Academic Year 1997

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสี่เหลี่ยมนี้เพียงแผ่นเดียว

จรรยาภัก ศรีวงษ์ : การหาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดไฮยาลูโรนิกโดย *Streptococcus zooepidemicus* ATCC 35246 (OPTIMIZATION FOR THE PRODUCTION OF HYALURONIC ACID BY *Streptococcus zooepidemicus* ATCC 35246) อ. ที่ปรึกษา : ผศ. ดร. สุเทพ ธนียวัน ; 134 หน้า. ISBN 974-638-889-4.

การวิจัยนี้ได้คัดเลือกและหาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดไฮยาลูโรนิก เพื่อใช้เป็นสูตรอาหารตั้งต้นในการหาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดไฮยาลูโรนิกโดย *Streptococcus zooepidemicus* ATCC 35246 จากสูตรอาหารต่างๆที่คัดเลือกพบว่า สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดที่ 2 ของ Nimrod ให้การผลิตกรดดังกล่าวสูงสุดคือ 252 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรที่ชั่วโมงที่ 24 ของการเลี้ยงเชื้อ ส่วนภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดไฮยาลูโรนิกได้แก่ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้น 6.8 ให้อากาศโดยการเขย่าที่ 250 รอบต่อนาทีแล้วลดเป็น 200 รอบต่อนาทีที่ชั่วโมงที่ 12 ของการเลี้ยงเชื้อ อายุของหัวเชื้อที่ใช้จะอยู่ในระยะกึ่งกลางการเจริญในช่วงลอกกาลิทิมิกที่ 25 เปอร์เซ็นต์(ปริมาตรต่อปริมาตร) สูตรอาหารที่ปรับปรุงมาจากสูตรของ Nimrod จะประกอบด้วยซูโครสเกรดอาหาร 5 กรัมต่อลิตร แอมโมเนียมซัลเฟต 0.65 กรัมต่อลิตร เมื่อทำการผลิตกรดโดยใช้ภาวะที่กล่าวมาข้างต้นสามารถให้กรดไฮยาลูโรนิก 543 $\mu\text{g/ml}$. ซึ่งมากกว่าก่อนการปรับภาวะประมาณ 2 เท่า นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อนี้มีการสร้างเอนไซม์ไฮยาลูโรนเดสได้ ดังนั้นในการเก็บรักษากรดไฮยาลูโรนิกควรนำกรดดังกล่าวมาต้มทำลายเอนไซม์ไฮยาลูโรนเดสที่ 100 องศาเซลเซียส 20 นาที แล้วเก็บที่ 4 องศาเซลเซียส การเก็บเกี่ยวกรดไฮยาลูโรนิกสามารถทำได้โดยการตกตะกอนด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ต่างๆ ทั้งนี้วิธีแต่ละวิธีให้ผลผลิตและความบริสุทธิ์ที่แตกต่างกัน การใช้งานจึงควรเลือกใช้วิธีที่ให้ความบริสุทธิ์และหรือผลผลิตตามวัตถุประสงค์ที่จะนำไปประยุกต์ใช้

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา.....จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.....
สาขาวิชา.....จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.....
ปีการศึกษา.....2540.....
ลายมือชื่อนิสิต.....จรรยาภัก.....ศรีวงษ์.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

C826505 : MAJOR INDUSTRIAL MICROBIOLOGY

KEY WORD: *Streptococcus zooepidemicus* / OPTIMIZATION / PRODUCTION /
HYALURONIC ACID

JURARAK SRIWANG : OPTIMIZATION FOR THE PRODUCTION OF HYALURONIC
ACID BY *Streptococcus zooepidemicus* ATCC 35246. THESIS ADVISOR : ASSIT.
PROF. SUTHEP THANIVAVARN, Ph.D. 134 pp. ISBN 974-638-889-4

The present study is engaged in the selection and optimization of culture medium for the production of hyaluronic acid by *Streptococcus zooepidemicus* ATCC 35246. Among the cultivating media selected, the one by Nimrod gave highest yield of 252 $\mu\text{g/ml}$ at 30°C, when cultivated at initial pH of 6.8, agitation rate of 250 rpm then reduced to 200 rpm at 12 hour of cultivation. Inoculum size at the age of mid-log phase was 25%(v/v). The modified Nimrod medium consisted of 5 g/l sucrose(food grade), 0.65 g/l ammonium sulfate. When such cultivation was carried out the hyaluronic acid yield was found to be 543 $\mu\text{g/ml}$ which was almost twice of the original one. It was also observed that *S. zooepidemicus* ATCC 35246 could also produced hyaluronidase into cultivation medium, therefore, heat inactivated at 100°C, 20 minutes should be performed prior to the storage of such acid at 4°C. Product recovery could be done via organic solvent precipitation with various degree of purity as well as yield obtained depending on method employed. Thus, the method of choice would depend upon the application planed.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา จุลชีววิทยา.....

สาขาวิชา จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม.....

ปีการศึกษา 2540.....

ลายมือชื่อนิสิต จุฑาทัก ศรัองษ์.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....



กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จไปได้ด้วยดีด้วยความช่วยเหลืออย่างยิ่งของ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุเทพ ธนียวัน อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่ได้กรุณาให้ความรู้ คำแนะนำ และข้อคิดเห็น ต่างๆ ตลอดจนได้กรุณาปรับปรุงวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์มากขึ้น ซึ่งผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. นลิน นิลอุบล รองศาสตราจารย์ ดร. ไพเราะ ปิ่นพานิชกร และรองศาสตราจารย์ ดร. กาญจนา จันทองจิน ที่กรุณาเป็นคณะกรรมการในการ สอบ และให้คำแนะนำต่างๆ รวมทั้งแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อมร เพชรสม ที่ช่วยกรุณาทดสอบโครง สร้างของกรดไฮยาลูโรนิกที่ผลิตได้

ขอขอบคุณ อาจารย์ เชิดชาย ละอองทิพรส ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องวัดความหนืด

ขอขอบคุณ อาจารย์ ดร. ศิริวดี สุขชี คุณ นิตพงษ์ จิระวรานันท์ ที่ให้คำแนะนำ คำปรึกษา ในการทำวิจัยตลอดจนคำแนะนำเกี่ยวกับการเขียนวิทยานิพนธ์นี้

กราบขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านในภาควิชาจุลชีววิทยา และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ใน ภาควิชาจุลชีววิทยาทุกๆท่าน ตลอดจนเพื่อนๆ พี่ๆ และน้องๆ ทุกคนที่มีส่วนในการช่วยเหลือ และ ให้กำลังใจด้วยดีตลอดมา

ขอขอบคุณสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติที่ให้การสนับสนุนทุน สำหรับงานวิจัยนี้

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา และญาติพี่น้องทุกคน ที่ได้ให้ความช่วยเหลือ สนับสนุน และให้กำลังใจแก่ผู้วิจัยในการทำวิทยานิพนธ์มาโดยตลอดจนเสร็จสมบูรณ์

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง	ซ
สารบัญรูป	ญ
สัญลักษณ์และคำย่อ.....	ท
บทที่	
1. บทนำ.....	1
2. อุปกรณ์ เคมีภัณฑ์ ขั้นตอนและวิธีดำเนินงานวิจัย.....	23
3. ผลการทดลอง.....	44
4. สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง.....	104
รายการอ้างอิง.....	115
ภาคผนวก.....	123
ประวัติผู้เขียน.....	134

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1	2
2	16
3	17
4	19
5	65
6	75
7	79
8	85
9	101

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
10. ผลของอุณหภูมิและระยะเวลาในการให้ความร้อน ที่มีผลต่อน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยของกรดไฮยาลูโรนิก.....	101
11. ภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อ <i>S. zooepidemicus</i> ATCC 35246 เพื่อการผลิตกรดไฮยาลูโรนิก.....	112



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
1 โครงสร้างของกรดไฮยาลูโรนิก.....	2
2 กลไกการสร้างกรดไฮยาลูโรนิก.....	9
3 การสร้างยูริดีนนิวคลีโอไทด์ดีฟอสเฟตด้วยวิธีทางเอนไซม์.....	10
4 โครงสร้างของโปรตีนไฮไกลแคนชนิดต่างๆ.....	18
5 เครื่องมือวัดความหนืดแบบออปติคัล.....	30
6ก. รูปแบบการเจริญของเชื้อ <i>S. zooepidemicus</i> ATCC 35246 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว สำหรับการเตรียมหัวเชื้อ (BHI) ในภาวะที่มีการเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที และไม่มีการเขย่า ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส.....	45
6ข. การเจริญและการสร้างกรดไฮยาลูโรนิกของ <i>S. zooepidemicus</i> ATCC 35246 เมื่อเลี้ยงในอาหารสำหรับการผลิตสูตรที่ 2 ที่มีค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้นเป็น 7.0 ที่ อุณหภูมิห้อง (28-32°C) ความเร็วรอบของการเขย่า 200 รอบต่อนาที โดยใช้หัวเชื้อที่ได้จากรูป 6ก อายุหัวเชื้อ 9 ชั่วโมง ในปริมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร)....	46
7ก. รูปแบบการเจริญของเชื้อ <i>S. zooepidemicus</i> ATCC 35246 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวสำหรับการเตรียมหัวเชื้อ (BHI) ในภาวะที่ไม่มีการเขย่า ทั้งแบบที่มีอากาศ และที่ไม่มีอากาศ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส.....	48
7ข. การเจริญและการสร้างกรดไฮยาลูโรนิกของ <i>S. zooepidemicus</i> ATCC 35246 เมื่อเลี้ยงในอาหารสำหรับการผลิตสูตรที่ 2 ที่มีค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้นเป็น 7.0 ที่ อุณหภูมิห้อง (28-32°C) ความเร็วรอบของการเขย่า 200 รอบต่อนาที โดยใช้หัวเชื้อที่ได้จากรูป 7ก อายุหัวเชื้อ 9 ชั่วโมง ในปริมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร)....	49

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
8. ช่วงการเจริญของหัวเชื้อในระยะต่างๆที่มีผลต่อการผลิตกรดไฮยาลูโรนิก โดยทดลองเลี้ยงเชื้อ <i>S. zooepidemicus</i> ATCC 35246 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม ที่มีค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้นเป็น 7.0 ปริมาณกลูโคส 10 กรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิห้อง(28-32 ^o ซ) ความเร็วรอบของการเขย่า 200 รอบต่อนาที ปริมาณหัวเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร).....	51
9ก. การเจริญและการใช้น้ำตาลของ <i>S. zooepidemicus</i> ATCC 35246 ในอาหารสูตรที่ 1, 2, 3 และ 4 ที่มีค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้นที่ 7.0 ที่อุณหภูมิห้อง(28-32 ^o ซ) ความเร็วรอบของการเขย่า 200 รอบต่อนาที โดยใช้หัวเชื้ออายุ 9 ชั่วโมง ในปริมาณ 10 เปอร์เซ็นต์(ปริมาตรต่อปริมาตร).....	53
9ข. การสร้างกรดไฮยาลูโรนิก และความเป็นกรดต่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อเลี้ยง <i>S. zooepidemicus</i> ATCC 35246 ในอาหารสูตร 1, 2, 3 และ 4 ที่มีค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้นเป็น 7.0 ภายใต้ภาวะการเลี้ยงเชื้อเช่นเดียวกับในรูปที่ 9ก.....	54
10. รูปแบบการเจริญ ค่าความเป็นกรดต่าง ปริมาณน้ำตาลที่เหลือในอาหารเลี้ยงเชื้อ และปริมาณกรดไฮยาลูโรนิกที่สร้างโดย <i>S. zooepidemicus</i> ATCC 35246 เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรที่ 2 ที่มีค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้นเป็น 7.0 ที่อุณหภูมิห้อง (28-32 ^o ซ) ความเร็วรอบของการเขย่า 200 รอบต่อนาที โดยใช้ปริมาณหัวเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร) อายุหัวเชื้อ 9 ชั่วโมง.....	56
11ก. ศึกษาเปรียบเทียบความเข้มข้นของกลูโคสเริ่มต้นในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีผลต่อการเจริญ และปริมาณน้ำตาลที่เหลืออยู่ โดยเลี้ยง <i>S. zooepidemicus</i> ATCC 35246 ในอาหารสูตรที่ 2 ที่มีค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้นเป็น 7.0 ที่อุณหภูมิห้อง (28-32 ^o ซ) ความเร็วรอบของการเขย่า 200 รอบต่อนาที โดยใช้หัวเชื้อที่เลี้ยงในภาวะที่มีอากาศที่ได้จากรูป 7ก ที่มีอายุ 9 ชั่วโมง ปริมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร).....	58

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
11ข. ศึกษาเปรียบเทียบความเข้มข้นของกลูโคสเริ่มต้นในอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มีผลต่อการผลิตกรดไฮยาลูโรนิก และค่าความเป็นกรดต่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยเลี้ยง <i>S. zooepidemicus</i> ATCC 35246 ในอาหารสูตรที่ 2 ที่มีค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้นเป็น 7.0 โดยใช้ภาวะการเลี้ยงเชื้อเช่นเดียวกับรูปที่ 11ก.....	59
12. ค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการเจริญ และการผลิตกรดไฮยาลูโรนิกของ <i>S. zooepidemicus</i> ในอาหารสูตรที่ 2 ที่อุณหภูมิห้อง (28-32°C) ความเร็วรอบของการเขย่า 200 รอบต่อนาที ปริมาณกลูโคส 5 กรัมต่อลิตร โดยใช้หัวเชื้อในภาวะที่มีอากาศที่ได้จากรูป 7ก อายุหัวเชื้อ 9 ชั่วโมง เป็นเวลา 50 ชั่วโมง แล้วติดตามการเจริญและวิเคราะห์ปริมาณกรดไฮยาลูโรนิกที่สร้างในช่วงเวลาต่างๆ.....	61
13. เปรียบเทียบผลของปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้น ต่อการผลิตกรดไฮยาลูโรนิกของ <i>S. zooepidemicus</i> ATCC 35246 ในอาหารสูตรที่ 2 ที่มีค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้นเป็น 6.8 และปริมาณกลูโคส 5 กรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิห้อง (28-32°C) ความเร็วรอบของการเขย่า 200 รอบต่อนาที อายุหัวเชื้อ 9 ชั่วโมง.....	63
14. การเจริญ ค่าความเป็นกรดต่าง ปริมาณน้ำตาล และปริมาณกรดไฮยาลูโรนิกที่ผลิตของเชื้อ <i>S. zooepidemicus</i> ATCC 35246 ในอาหารสูตรที่ 2 ที่มีค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้นเป็น 6.8 ปริมาณซูโครส 5 กรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิห้อง (28-32°C) ความเร็วรอบของการเขย่า 200 รอบต่อนาที ปริมาณหัวเชื้อ 20% (ปริมาตรต่อปริมาตร) อายุหัวเชื้อ 9 ชั่วโมง.....	67
15. ผลของแหล่งซูโครสที่มีผลต่อการเจริญและการผลิตกรดไฮยาลูโรนิก โดยทดลองเลี้ยง <i>S. zooepidemicus</i> ATCC 35246 ในอาหารสูตรที่ 2 ที่มีปริมาณซูโครส 5 กรัมต่อลิตร ค่าความเป็นกรดต่าง 6.8 ที่อุณหภูมิห้อง(28-32°C) ความเร็วรอบของการเขย่าเป็น 200 รอบต่อนาที ปริมาณหัวเชื้อ 20 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร) อายุหัวเชื้อ 9 ชั่วโมง.....	69

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
16. ปริมาณน้ำตาลซูโครสที่มีผลต่อการผลิตกรดไฮยาลูโรนิกโดยเลี้ยง <i>S. zooepidemicus</i> ATCC 35246 ในอาหารสูตรที่ 2 ค่าความเป็นกรดต่าง 6.8 ที่อุณหภูมิห้อง (28-32°C) ความเร็วรอบของการเขย่าเป็น 200 รอบต่อนาที ปริมาณหัวเชื้อ 20 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร) อายุหัวเชื้อ 9 ชั่วโมง.....	70
17. ผลการแบ่งเดิมน้ำตาลที่มีต่อการเจริญ และการผลิตกรดไฮยาลูโรนิกของเชื้อ <i>S. zooepidemicus</i> ATCC 35246 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่ 2 ค่าความเป็นกรดต่าง 6.8 ที่อุณหภูมิห้อง (28-32°C) ความเร็วรอบของการเขย่าเป็น 200 รอบต่อนาที ปริมาณหัวเชื้อ 20 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร) อายุหัวเชื้อ 9 ชั่วโมง.....	72
18. ผลของแร่ธาตุในอาหารเลี้ยงเชื้อที่จำเป็นสำหรับการเจริญและการผลิตกรดไฮยาลูโรนิกของ <i>S. zooepidemicus</i> ATCC 35246 เมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอน ปริมาณ 5 กรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิห้อง(28-30°C) ความเร็วรอบของการเขย่าเป็น 200 รอบต่อนาที ปริมาณหัวเชื้อ 20 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร) อายุหัวเชื้อ 9 ชั่วโมง.....	74
19. เปรียบเทียบการเจริญและการผลิตกรดไฮยาลูโรนิกของ <i>S. zooepidemicus</i> ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่ 2 ที่มีปริมาณซูโครส 5 กรัมต่อลิตร ที่เติมหรือขาด K_2HPO_4 หรือเติมแทนด้วย KNO_3 หรือ KH_2PO_4 โดยเลี้ยง <i>S. zooepidemicus</i> ATCC 35246 ที่อุณหภูมิห้อง (28-30°C) ความเร็วรอบของการเขย่าเป็น 200 รอบต่อนาที ปริมาณหัวเชื้อ 20 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร) อายุหัวเชื้อ 9 ชั่วโมง.....	76
20. เปรียบเทียบชนิดของบัฟเฟอร์ที่เหมาะสม (มีปริมาณไอออนของฟอสเฟตที่เท่ากันคือ 1.363 กรัมต่อลิตร) สำหรับการผลิตกรดไฮยาลูโรนิก โดยเลี้ยง <i>S. zooepidemicus</i> ATCC 35246 ในอาหารสูตรที่ 2 ที่มีปริมาณซูโครส 5 กรัมต่อลิตร ค่าความเป็นกรดต่าง 6.8 ภายใต้ภาวะการเลี้ยงเชื้อเช่นเดียวกับรูปที่ 19.....	78

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
21. ผลของปริมาณโซเดียมคลอไรด์ที่มีผลต่อการผลิตกรดไฮยาลูโรนิก เมื่อเลี้ยง <i>S. zooepidemicus</i> ATCC 35246 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่ 2 ที่มีปริมาณซูโครส 5 กรัมต่อลิตร ค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้นเป็น 6.8 ที่อุณหภูมิห้อง (28-32°C) ความเร็วรอบของการเขย่า 200 รอบต่อนาที ปริมาณหัวเชื้อ 20% (ปริมาตรต่อปริมาตร) อายุหัวเชื้อ 9 ชั่วโมง โดยแปรผันปริมาณโซเดียมคลอไรด์ 0-5 กรัมต่อลิตร.....	80
22. ปริมาณแมกนีเซียมซัลเฟตที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดไฮยาลูโรนิก เมื่อเลี้ยงเชื้อ <i>S. zooepidemicus</i> ATCC 35246 ในอาหารสูตรที่ 2 ภายใต้ภาวะการเลี้ยงเชื้อเช่นเดียวกับในรูปที่ 21 โดยแปรผันปริมาณแมกนีเซียมซัลเฟต 0-3 กรัมต่อลิตร	81
23. เปรียบเทียบการผลิตกรดไฮยาลูโรนิกของ <i>S. zooepidemicus</i> ATCC 35246 เมื่อทำการแปรผันแหล่งไนโตรเจนชนิดต่างๆ ที่มีเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนทั้งหมดที่เท่ากันคือ 0.138 โดยมีค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้นเป็น 6.8 ที่อุณหภูมิห้อง(28-32°C) ความเร็วรอบของการเขย่า 200 รอบต่อนาที ปริมาณหัวเชื้อ 20% (ปริมาตรต่อปริมาตร) อายุหัวเชื้อ 9 ชั่วโมง.....	83
24. รูปแบบการผลิตกรดไฮยาลูโรนิกของ <i>S. zooepidemicus</i> ATCC 35246 เมื่อแปรผันปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่ 2 ที่มีค่าความเป็นกรดต่าง 6.8 ภายใต้ภาวะการเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมเช่นเดียวกับรูปที่ 21 และใช้หัวเชื้ออายุ 9 ชั่วโมง ในปริมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร).....	84
25ก. การเจริญและปริมาณน้ำตาลที่เหลืออยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่ 2 ที่มีปริมาณซูโครส 5 กรัมต่อลิตร ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต 0.65 กรัมต่อลิตร ที่ใช้เลี้ยง <i>S. zooepidemicus</i> ที่อุณหภูมิห้อง (28-32°C) ความเร็วรอบของการเขย่าเป็น 200 รอบต่อนาที ปริมาณหัวเชื้อ 20 เปอร์เซ็นต์(ปริมาตรต่อปริมาตร) อายุหัวเชื้อ 9 ชั่วโมง เมื่อแปรผันค่าความเป็นกรดต่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ.....	87

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
25ข. การผลิตกรดไฮยาลูโรนิก และค่าความเป็นกรดต่างของอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่ 2 ที่มีปริมาณซูโครส 5 กรัมต่อลิตร ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต 0.65 กรัมต่อลิตร ที่ใช้เลี้ยง <i>S. zooepidemicus</i> ATCC 35246 เมื่อแปรผันค่าความเป็นกรดต่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยใช้ภาวะการเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมเช่นเดียวกับในรูปที่ 25ก.....	88
26. ผลของอุณหภูมิในการเลี้ยงเชื้อต่อการเจริญ และปริมาณกรดไฮยาลูโรนิกของอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยเลี้ยง <i>S. zooepidemicus</i> ATCC 35246 ในอาหารสูตรที่ 2 ที่มีซูโครส 5 กรัมต่อลิตร แอมโมเนียมซัลเฟต 0.65 กรัมต่อลิตร ค่าความเป็นกรดต่าง 6.8 ความเร็วรอบของการเขย่า 200 รอบต่อนาที และใช้ปริมาณหัวเชื้อ 20 เปอร์เซ็นต์(ปริมาตรต่อปริมาตร) อายุหัวเชื้อ 9 ชั่วโมง.....	90
27. การเจริญและการผลิตกรดไฮยาลูโรนิกของ <i>S. zooepidemicus</i> ATCC 35246 เมื่อเลี้ยงภายใต้ภาวะดังเช่นในรูปที่ 26 ที่มีการแปรผันความเร็วรอบของการเขย่า เก็บตัวอย่างที่เวลาต่างๆเป็นเวลา 48 ชั่วโมง.....	91
28. ผลของการลดความเร็วรอบต่อปริมาณกรดไฮยาลูโรนิกในอาหารเลี้ยง เชื้อของ <i>S. zooepidemicus</i> ATCC 35246 ที่เวลาต่างๆ ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวสูตรที่ 2 ที่มีปริมาณน้ำตาล 5 กรัมต่อลิตร แอมโมเนียมซัลเฟต 0.65 กรัมต่อลิตร ค่าความเป็นกรดต่าง 6.8 ที่อุณหภูมิห้อง (28-32°ซ) เมื่อใช้ปริมาณหัวเชื้อ 20 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร) ที่มีอายุหัวเชื้อ 9 ชั่วโมง.....	93
29. ผลการเจริญ ค่าความเป็นกรดต่าง ปริมาณน้ำตาล และปริมาณกรดไฮยาลูโรนิก เมื่อเลี้ยง <i>S. zooepidemicus</i> ATCC 35246 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวสูตรที่ 2 ที่มีปริมาณน้ำตาล 5 กรัมต่อลิตร แอมโมเนียมซัลเฟต 0.65 กรัมต่อลิตร ค่าความเป็นกรดต่าง 6.8 ที่อุณหภูมิ 30°ซ และเลี้ยงโดยการลดความเร็วรอบ เมื่อใช้ปริมาณหัวเชื้อ 25 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร) ที่มีอายุหัวเชื้อ 9 ชั่วโมง.....	94

สัญลักษณ์และคำย่อ

มก. = มิลลิกรัม

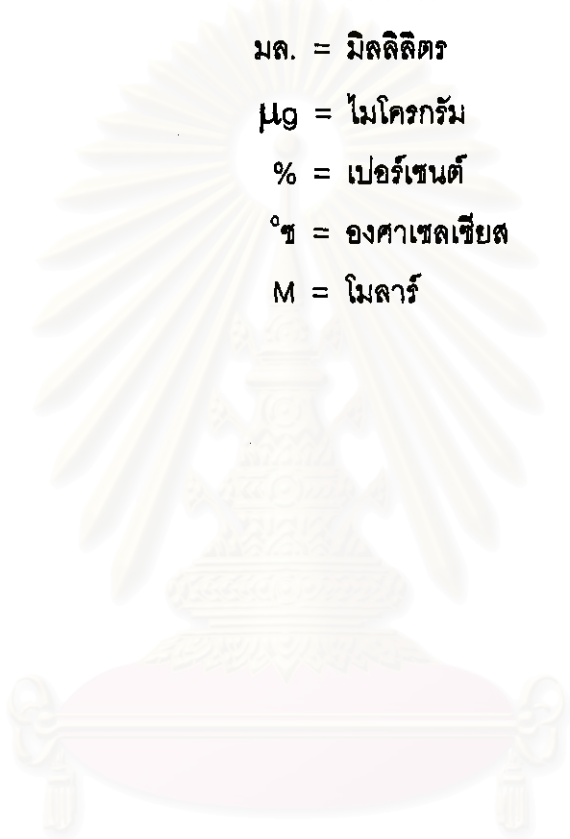
มล. = มิลลิลิตร

μg = ไมโครกรัม

% = เปอร์เซ็นต์

°ซ = องศาเซลเซียส

M = โมลาร์



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย