ผลของกรดพิมีลิคต่อการสังเคราะห์ไบโอตินโดยยีสต์ในขวดเขย่าและในถังหมักขนาด 10 ลิตร

นายปริญญา สุทธิ์จิตต์จูล

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

ภาควิชาจุลชีววิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2539

ISBN 974-634-570-2

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

i17341942

Effects of Pimelic Acid on the Synthesis of Biotin by Yeasts in Shake Flasks and in a 10 Litre Fermentor

Mr. Parinya Sutchitchul

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science
Department of Microbiology
Chulalongkorn University
1996

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของกรดพิมีลิคต่อการสังเคราะห์ไบโอตินโดยยีสต์ในขวดเขย่าและในถังหมักขนาด 10 ลิตร
โดย	นายปริญญา สุทธิ์จิตต์จูล
ภาควิชา	จุลชีววิทยา
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร. กาญจนา ชาญสง่าเวช

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(รองศาสตราจารย์ ดร. สันติ ถุงสุวรรณ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. สุมาลี พิชญางกูร)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา

(รองศาสตราจารย์ ดร. กาญจนา ชาญสง่าเวช)

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. บุษบา ยงสมิทธิ์)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิเชียร กิจปรีชาวนิช)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

C426054 : MAJOR INDUSTRIAL MICROBIOLOGY
KEY WORD: BIOTIN / PIMELIC ACID

PARINYA SUTCHITCHUL : EFFECTS OF PIMELIC ACID ON THE SYNTHESIS OF BIOTIN BY YEASTS IN SHAKE FLASKS AND IN A 10 LITRE FERMENTOR . THESIS ADVISOR : ASSO. PROF. KANJANA CHANSA-NGAVEJ , PH.D. 132 pp. **ISBN 974-634-570-2**

Biotin or Vitamin H has been used both as the vitamin component in microbial nutrients and as a component of biotinylated probes employed in genetic engineering research. Pimelic acid is one precursor in the biotin biosynthetic pathway. The aim of this thesis is to find out the effects of pimelic acid on biotin synthesis by yeasts in both the shake flask and 10 liter fermentor levels. Vitamin-free medium was used in the isolation of 8 yeast isolates from pineapples, oranges, rambutans, bananas and guavas. Examination of cell size and morphology , type of mycelial production , spore production , sugar and nitrate utilization verified that the isolated yeasts were distinct strains of which Y1 was tentatively identified as belonging to *Torulopsis* sp. and the rest of the isolated yeasts as *Candida* spp. (7 strains). Results on the utilization of either mid log phase cells or stationary phase cells as an inoculum had no effects on the specific growth rate μ and the $Y_{X/S}$, $Y_{P/S}$ coefficients for all isolated strains except strains Y1 and Y9 in which the uses of mid log phase cells were found to increase the values of μ in Y1 and Y9 by 30 % and 45 % respectively , and the maximum and minimum values of $Y_{P/S}$ were 1.58×10^{-6} and 0.32×10^{-6} respectively. Hence , these two strains were employed in the shake flask and 10 liter fermentor to find out the effects of 0.05 % , 0.10 % , 0.20 % , 0.30 % and 0.40 % pimelic acid on biotin synthesis. Both experimental scales yielded the following similar results : 0.05 % pimelic acid was found to increase μ of strain Y1 by 10 % to the maximum value of 0.12 $hour^{-1}$, Yx/s by 25 % to the maximum value of 0.28 , $Y_{P/S}$ by 25 % to the maximum value of 1.84×10^{-6} while all the concentrations of pimelic acid employed had no effects on μ , $Y_{X/S}$ and $Y_{P/S}$ for biotin synthesis by strain Y9. The maximum biotin yields by Y1 in media with and without 0.05 % pimelic acid were found to be 7.32 $ng.ml^{-1}$ and 6.60 $ng.ml^{-1}$ respectively.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา ภาควิชาจุลชีววิทยา ลายมือชื่อนิสิต ปาริญญา สุทธิจิตต์จุล

สาขาวิชา จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา กาญจนา ชานสงวงศ์

ปีการศึกษา 2539 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม —

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

ปริญญา สุทธิ์จิตต์จูล : ผลของกรดพิมีลิคต่อการสังเคราะห์ไบโอตินโดยยีสต์ในขวดเขย่าและในถังหมักขนาด 10 ลิตร (EFFECTS OF PIMELIC ACID ON THE SYNTHESIS OF BIOTIN BY YEASTS IN SHAKE FLASKS AND IN A 10 LITRE FERMENTOR) อ.ที่ปรึกษา : รศ.ดร. กาญจนา ชาญสง่าเวช, 132 หน้า
ISBN 974-634-570-2

ไบโอติน หรือไวตามินเอชมีประโยชน์ในด้านการเป็นไวตามินในอาหารเลี้ยงจุลินทรีย์ และในด้านการใช้เป็นสารติดฉลากในการทดลองทางพันธุวิศวกรรมศาสตร์ กรดพิมีลิคเป็นสารตั้งต้นชนิดหนึ่งในกระบวนการสังเคราะห์ไบโอติน วัตถุประสงค์ของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ เพื่อหาผลของกรดพิมีลิคต่อการสังเคราะห์ไบโอตินโดยยีสต์ในระดับขวดเขย่าและในถังหมักขนาด 10 ลิตร โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่เติมไวตามิน แยกยีสต์จากสับปะรด ส้ม กล้วย เงาะ และฝรั่ง ผลการตรวจขนาด และรูปร่างของเซล ลักษณะการสร้างเส้นใยและการสร้างสปอร์ การใช้น้ำตาลและการใช้ไนเตรต พบว่ายีสต์ทั้ง 8 สายพันธุ์ที่แยกได้เป็นคนละสายพันธุ์ โดยได้วินิจฉัยเบื้องต้นว่าสายพันธุ์ Y1 เป็น *Torulopsis* sp. และสายพันธุ์อื่น ๆ อีก 7 สายพันธุ์เป็น *Candida* spp. ผลการใช้เซลในระยะ mid log phase และ stationary phase เป็นกล้าเชื้อในการสังเคราะห์ไบโอติน พบว่าระยะการเจริญของกล้าเชื้อไม่มีผลต่ออัตราการเจริญจำเพาะ (μ) ค่าสัมประสิทธิ์การผลิตเซลต่อหนึ่งหน่วยซับสเตรต ($Y_{X/S}$) และค่าสัมประสิทธิ์การผลิตไบโอตินต่อหนึ่งหน่วยซับสเตรต ($Y_{P/S}$) ของยีสต์ทุกสายพันธุ์ ยกเว้นสายพันธุ์ Y1 และ Y9 ซึ่งผลการทดลองพบว่าเมื่อใช้เซลตั้งต้นในระยะ mid log phase ของ Y1 และ Y9 ค่า μ สูงขึ้น 30 % และ 45 % ตามลำดับ และค่า $Y_{P/S}$ สูงสุดและต่ำสุดเท่ากับ 1.58×10^{6} และ 0.32×10^{6} ตามลำดับ จึงได้ใช้ยีสต์ทั้งสองสายพันธุ์นี้ในการทดลองระดับขวดเขย่าและระดับถังหมัก 10 ลิตร เพื่อหาผลของกรดพิมีลิค 0.05 % , 0.10 % , 0.20 % , 0.30 % และ 0.40 % ต่อการสังเคราะห์ไบโอติน ผลการทดลองทั้งในระดับขวดเขย่าและในระดับถังหมักคล้ายกัน กล่าวคือกรดพิมีลิคที่ความเข้มข้น 0.05 % มีผลเพิ่มค่า μ ของสายพันธุ์ Y1 10 % โดยมีค่า μ สูงสุดคือ 0.12 ชั่วโมง$^{-1}$ เพิ่มค่า $Y_{X/S}$ ของสายพันธุ์ Y1 25 % โดยมีค่า $Y_{X/S}$ สูงสุดคือ 0.28 เพิ่มค่า $Y_{P/S}$ ของสายพันธุ์ Y1 25 % โดยมีค่า $Y_{P/S}$ สูงสุดคือ 1.84×10^{6} ในขณะที่กรดพิมีลิคทุกความเข้มข้นที่ใช้ไม่มีผลต่อค่า μ, $Y_{X/S}$ และ $Y_{P/S}$ ของการสังเคราะห์ไบโอตินโดย Y9 ปริมาณไบโอตินสูงสุดที่สร้างโดยสายพันธุ์ Y1 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมและไม่เติมกรดพิมิลิค 0.05 % เท่ากับ 7.32 นก.มล.$^{-1}$ และ 6.60 นก.มล.$^{-1}$ ตามลำดับ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา จุลชีววิทยา ลายมือชื่อนิสิต ปริญญา สุทธิ์จิตต์จูล

สาขาวิชา จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา กาญจนา ชาญสง่าเวช

ปีการศึกษา 2539 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. กาญจนา ชาญสง่าเวช ที่ได้ให้ความกรุณาเป็นที่ปรึกษา ตลอดจนให้ความช่วยเหลือคำแนะนำในการวิจัย ตลอดจนตรวจแก้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์

กราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.สุมาลี พิชญางกูร ที่ได้ให้ความกรุณาเป็นประธานคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ กราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิเชียร กิจปรีชาวนิช และรองศาสตราจารย์ ดร.บุษบา ยงสมิทธ์ ที่ได้กรุณารับเป็นกรรมการสอบและช่วยแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณภาควิชาจุลชีววิทยาที่ให้ความสนับสนุนทางด้านอุปกรณ์สารเคมี ตลอดจนสถานที่ทำการวิจัยและบัณฑิตวิทยาลัยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัยในการทำวิทยานิพนธ์

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณบิดามารดาของข้าพเจ้าที่ได้ให้ความช่วยเหลือ ความเข้าใจและกำลังใจอันมีค่ายิ่งต่อข้าพเจ้าตลอดระยะเวลาในการศึกษา และขอขอบคุณ พี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆในภาควิชาที่คอยช่วยเหลือและให้กำลังใจที่ดีมาโดยตลอด

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ค

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... ง

กิตติกรรมประกาศ..... จ

สารบัญตาราง..... ฉ

สารบัญรูป..... ช

สัญลักษณ์และคำย่อ..... ฌ

บทที่

1. บทนำ..... 1

2. ตรวจเอกสาร..... 8

3. วิธีดำเนินการวิจัย..... 30

4. ผลการทดลอง..... 41

5. การอภิปรายผลการทดลอง..... 62

6. บทสรุป..... 66

รายการอ้างอิง..... 67

ภาคผนวก..... 73

ภาคผนวก ก อาหารเลี้ยงเชื้อ..... 74

ภาคผนวก ข สารเคมี..... 81

ภาคผนวก ค กราฟมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ผลการทดลอง..... 87

ภาคผนวก ง กราฟผลการทดลอง..... 70

ภาคผนวก จ key ที่ใช้ในการจำแนกชนิดยีสต์.....125

ประวัติผู้เขียน.....132

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1 การวิจัยใช้ยีสต์ผลิตผลิตภัณฑ์ในระดับห้องปฏิบัติการที่มีการเติมไบโอติน ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ..... 6

2 การสังเคราะห์ดีไทโอไบโอติน และไบโอติน จากกรดพิมีลิค และการสังเคราะห์ไบโอตินจากดีไทโอไบโอตินในแบคทีเรีย รา และยีสต์..... 12

3 ลักษณะโคโลนีของยีสต์ 8 สายพันธุ์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ morphology agar..... 48

4 ขนาด รูปร่าง ลักษณะการแตกหน่อการสร้างเส้นใยและการสร้างสปอร์ของยีสต์ 8 สายพันธุ์..... 49

5 การใช้แหล่งคาร์บอนชนิดต่างๆโดยยีสต์ 8 สายพันธุ์..... 50

6 ผลของกรดพิมีลิคต่อการสังเคราะห์ไบโอตินโดยยีสต์..... 63

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

1 การเร่งปฏิกิริยาโดยอะซิทิลโคเอคาร์บอกซิเลสใน *E. coli*..... 2

2 การสังเคราะห์กรดไขมันสายยาว มีเอ็นไซม์อะซิทิลโคเอคาร์บอกซิเลสเร่งปฏิกิริยาที่หนึ่งในกระบวนการสังเคราะห์กรดไขมันสายยาว..... 3

3 ขั้นตอนการสังเคราะห์ไบโอตินในจุลินทรีย์..... 8

4 วิถีการเปลี่ยนแปลงกรดพีลาร์โกนิคในวิถีการสังเคราะห์ไบโอตินโดย *Pseudomonas sp.* 393..... 15

5 วิถีการสังเคราะห์ไบโอตินจากกรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาวโดยแบคทีเรีย..... 16

6 ลักษณะการแตกหน่อชนิดต่างๆของยีสต์..... 21

7 ลักษณะเส้นในแท้ใน *Filobasidiell* sp..... 22

8 ลักษณะของอาร์โทรสปอร์ใน *Trichosporon* sp..... 23

9 ลักษณะของเส้นใยเทียมทั้ง 5 แบบ..... 23

10 (ก) รูปร่างเซลยีสต์สายพันธุ์ Y1 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ morphology agar อายุ 48 ชั่วโมง..... 42

(ข) ลักษณะการไม่สร้างเส้นใยบนอาหารเลี้ยงเชื้อ corn meal agar..... 42

11 (ก) รูปร่างเซลยีสต์สายพันธุ์ Y2 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ morphology agar อายุ 48 ชั่วโมง..... 42

(ข) ลักษณะการสร้างเส้นใยบนอาหารเลี้ยงเชื้อ corn meal agar..... 42

12 (ก) รูปร่างเซลยีสต์สายพันธุ์ Y3 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ morphology agar อายุ 48 ชั่วโมง..... 43

12 (ข) ลักษณะการสร้างเส้นใยบนอาหารเลี้ยงเชื้อ corn meal agar..... 43

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่ หน้า

13 (ก) รูปร่างเซลยีสต์สายพันธุ์ Y4 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ morphology agar อายุ 48 ชั่วโมง..... 43
(ข) ลักษณะการสร้างเส้นใยบนอาหารเลี้ยงเชื้อ corn meal agar..... 43
14 (ก) รูปร่างเซลยีสต์สายพันธุ์ Y5 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ morphology agar อายุ 48 ชั่วโมง..... 44
(ข) ลักษณะการสร้างเส้นใยบนอาหารเลี้ยงเชื้อ corn meal agar..... 44
15 (ก) รูปร่างเซลยีสต์สายพันธุ์ Y6 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ morphology agar อายุ 48 ชั่วโมง..... 44
(ข) ลักษณะการสร้างเส้นใยบนอาหารเลี้ยงเชื้อ corn meal agar..... 44
16 (ก) รูปร่างเซลยีสต์สายพันธุ์ Y9 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ morphology agar อายุ 48 ชั่วโมง..... 45
(ข) ลักษณะการสร้างเส้นใยบนอาหารเลี้ยงเชื้อ corn meal agar..... 45
17 (ก) รูปร่างเซลยีสต์สายพันธุ์ Y10 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ morphology agar อายุ 48 ชั่วโมง..... 45
(ข) ลักษณะการสร้างเส้นใยบนอาหารเลี้ยงเชื้อ corn meal agar..... 45
18 ลักษณะของแอสโคสปอร์(ascospores)ของยีสต์ *Hansenula polymorpha* TISTR 5140 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ acetate agar อายุ 14 วัน..... 46
19 ลักษณะของอาร์โทรสปอร์(arthrospores)ของยีสต์ *Tricosporon cutaneum* TISTR 5133 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ corn meal agar อายุ 4 วัน..... 46

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่ หน้า

20 ลักษณะของบอลลิสโตสปอร์(ballistospores)ของยีสต์ *Sporobolomyces pararoceus* TISTR 5213 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ malt extract agar อายุ 15 วัน..... 47

21 การเพิ่มจำนวนของยีสต์ 8 สายพันธุ์ ในอาหารเลี้ยงเชื้อ YM บนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาทีที่ 28°ซ ผลการทดลองแต่ละจุดเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 2 ครั้ง.... 52

22 ยีสโตแกรมเปรียบเทียบค่าอัตราการเจริญจำเพาะ(μ)ในยีสต์ทั้ง 8 สายพันธุ์ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่เติมไบโอติน ในระดับขวดเขย่า..... 54

23 ยีสโตแกรมเปรียบเทียบค่าสัมประสิทธิ์เซลต่อหนึ่งหน่วยซับสเตรตในระดับขวดเขย่า.. 54

24 ยีสโตแกรมเปรียบเทียบค่าสัมประสิทธิ์การผลิตไบโอตินต่อหนึ่งหน่วยซับสเตรตในระดับขวดเขย่า..... 54

25 กราฟเปรียบเทียบผลการเติมกรดนิมีลิคต่ออัตราการเจริญจำเพาะของยีสต์ 8 สายพันธุ์ ในระดับขวดเขย่า เลี้ยงยีสต์ในอาหารเหลว YM จนถึง mid log phase เก็บเซลและล้างด้วย 0.85% โซเดียมคลอไรด์ เติมเซลลงใน biotin-free medium ให้ได้ความขุ่นตั้งต้นเท่ากับ 0.1 ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร เขย่าที่อุณหภูมิ 28-30 °ซ ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 50 ชั่วโมง..... 56

26 กราฟเปรียบเทียบค่าสัมประสิทธิ์การผลิตเซลต่อหนึ่งหน่วยซับสเตรต ในยีสต์ 8 สายพันธุ์ ในระดับขวดเขย่า..... 58

27 กราฟค่าสัมประสิทธิ์การผลิตไบโอตินต่อหนึ่งหน่วยซับสเตรต ในยีสต์ 8 สายพันธุ์ ในระดับขวดเขย่า..... 58

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่ หน้า

28 ฮีสโตแกรมเปรียบเทียบค่าอัตราการเจริญจำเพาะ(μ)ในยีสต์ Y1 และ Y9 กับปริมาณความเข้มข้นของกรดพิมีลิคในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่เติมไบโอติน 0.0-0.40% ในระดับถังหมักขนาด 10 ลิตร..... 60

29 ฮีสโตแกรมค่าสัมประสิทธิ์การผลิตเซลต่อหนึ่งหน่วยซับสเตรต ในยีสต์ Y1 และ Y9 ในระดับถังหมักขนาด 10 ลิตร..... 60

30 ฮีสโตแกรมค่าสัมประสิทธิ์การผลิตไบโอตินต่อหนึ่งหน่วยซับสเตรต ในยีสต์ Y1 และ Y9 ในระดับถังหมักขนาด 10 ลิตร..... 60

1ค กราฟมาตรฐานของน้ำตาลรีดิวซิ่งโดยวิธี Nelson และ Somogyi ระหว่างความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร กับปริมาณน้ำตาลรีดิวซิ่งความเข้มข้น 0 - 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร..... 83

2ค กราฟมาตรฐานของไบโอตินโดยวิธีวัดเปรียบเทียบการเจริญของ *Lactobacillus plantarum* TISTR 50 ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร กับปริมาณไบโอตินความเข้มข้น 0 - 0.5 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร..... 84

3ค กราฟแสดงอัตราการส่งผ่านโดยปริมาตรของออกซิเจนในระดับขวดเขย่า..... 85

4ค กราฟแสดงอัตราการส่งผ่านโดยปริมาตรของออกซิเจนในระดับถังหมักขนาด 10 ลิตร 86

1ง กราฟเปรียบเทียบการใช้ยีสต์อายุตั้งต้นที่เจริญในระยะ mid log phase (1) และยีสต์อายุตั้งต้นในระยะ late log phase(2) ต่อน้ำหนักแห้ง ปริมาณการผลิตไบโอติน และปริมาณการใช้กลูโคส ของยีสต์ Y1 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่เติมไบโอตินในระดับขวดเขย่า..... 88

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่ หน้า

2ง กราฟเปรียบเทียบการใช้ยีสต์อายุตั้งต้นที่เจริญในระยะ mid log phase (1) และยีสต์อายุตั้งต้นในระยะ late log phase(2) ต่อน้ำหนักแห้ง ปริมาณการผลิตไบโอติน และปริมาณการใช้กลูโคส ของยีสต์ Y2 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่เติมไบโอตินในระดับขวดเขย่า..... 89

3ง กราฟเปรียบเทียบการใช้ยีสต์อายุตั้งต้นที่เจริญในระยะ mid log phase (1) และยีสต์อายุตั้งต้นในระยะ late log phase(2) ต่อน้ำหนักแห้ง ปริมาณการผลิตไบโอติน และปริมาณการใช้กลูโคส ของยีสต์ Y3 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่เติมไบโอตินในระดับขวดเขย่า..... 90

4ง กราฟเปรียบเทียบการใช้ยีสต์อายุตั้งต้นที่เจริญในระยะ mid log phase (1) และยีสต์อายุตั้งต้นในระยะ late log phase(2) ต่อน้ำหนักแห้ง ปริมาณการผลิตไบโอติน และปริมาณการใช้กลูโคส ของยีสต์ Y4 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่เติมไบโอตินในระดับขวดเขย่า..... 91

5ง กราฟเปรียบเทียบการใช้ยีสต์อายุตั้งต้นที่เจริญในระยะ mid log phase (1) และยีสต์อายุตั้งต้นในระยะ late log phase(2) ต่อน้ำหนักแห้ง ปริมาณการผลิตไบโอติน และปริมาณการใช้กลูโคส ของยีสต์ Y5 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่เติมไบโอตินในระดับขวดเขย่า..... 92

6ง กราฟเปรียบเทียบการใช้ยีสต์อายุตั้งต้นที่เจริญในระยะ mid log phase (1) และยีสต์อายุตั้งต้นในระยะ late log phase(2) ต่อน้ำหนักแห้ง ปริมาณการผลิตไบโอติน และปริมาณการใช้กลูโคส ของยีสต์ Y6 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่เติมไบโอตินในระดับขวดเขย่า..... 93

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่ หน้า

7ง กราฟเปรียบเทียบการใช้ยีสต์อายุตั้งต้นที่เจริญในระยะ mid log phase (1) และยีสต์อายุตั้งต้นในระยะ late log phase(2) ต่อน้ำหนักแห้ง ปริมาณการผลิตไบโอติน และปริมาณการใช้กลูโคส ของยีสต์ Y9 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่เติมไบโอตินในระดับขวดเขย่า..... 94

8ง กราฟเปรียบเทียบการใช้ยีสต์อายุตั้งต้นที่เจริญในระยะ mid log phase (1) และยีสต์อายุตั้งต้นในระยะ late log phase(2) ต่อน้ำหนักแห้ง ปริมาณการผลิตไบโอติน และปริมาณการใช้กลูโคส ของยีสต์ Y10 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่เติมไบโอตินในระดับขวดเขย่า..... 95

9ง กราฟแสดงผลของกรดพิมีลิคต่อน้ำหนักแห้ง ปริมาณการผลิตไบโอติน และปริมาณการใช้กลูโคสของ Y1 โดยใช้ยีสต์ที่เจริญในระยะ mid log phase ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีไบโอติน ในระดับขวดเขย่า

(1)เติมกรดพิมีลิค 0.05% (2)เติมกรดพิมีลิค 0.10%..... 96

(3)เติมกรดพิมีลิค 0.20% (4)เติมกรดพิมีลิค 0.30%..... 97

(5)เติมกรดพิมีลิค 0.40%..... 98

10ง กราฟแสดงผลของกรดพิมีลิคต่อน้ำหนักแห้ง ปริมาณการผลิตไบโอติน และปริมาณการใช้กลูโคสของ Y2 โดยใช้ยีสต์ที่เจริญในระยะ mid log phase ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีไบโอติน ในระดับขวดเขย่า

(1)เติมกรดพิมีลิค 0.05% (2)เติมกรดพิมีลิค 0.10%..... 99

(3)เติมกรดพิมีลิค 0.20% (4)เติมกรดพิมีลิค 0.30%.....100

(5)เติมกรดพิมีลิค 0.40%.....101

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่ หน้า

11ง กราฟแสดงผลของกรดพิมีลิคต่อน้ำหนักแห้ง ปริมาณการผลิตไบโอติน และปริมาณการใช้กลูโคสของ Y3 โดยใช้ยีสต์ที่เจริญในระยะ mid log phase ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีไบโอติน ในระดับขวดเขย่า

(1)เติมกรดพิมีลิค 0.05% (2)เติมกรดพิมีลิค 0.10%.....102

(3)เติมกรดพิมีลิค 0.20% (4)เติมกรดพิมีลิค 0.30%.....103

(5)เติมกรดพิมีลิค 0.40%.....104

12ง กราฟแสดงผลของกรดพิมีลิคต่อน้ำหนักแห้ง ปริมาณการผลิตไบโอติน และปริมาณการใช้กลูโคสของ Y4 โดยใช้ยีสต์ที่เจริญในระยะ mid log phase ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีไบโอติน ในระดับขวดเขย่า

(1)เติมกรดพิมีลิค 0.05% (2)เติมกรดพิมีลิค 0.10%.....105

(3)เติมกรดพิมีลิค 0.20% (4)เติมกรดพิมีลิค 0.30%.....106

(5)เติมกรดพิมีลิค 0.40%.....107

13ง กราฟแสดงผลของกรดพิมีลิคต่อน้ำหนักแห้ง ปริมาณการผลิตไบโอติน และปริมาณการใช้กลูโคสของ Y5 โดยใช้ยีสต์ที่เจริญในระยะ mid log phase ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีไบโอติน ในระดับขวดเขย่า

(1)เติมกรดพิมีลิค 0.05% (2)เติมกรดพิมีลิค 0.10%.....108

(3)เติมกรดพิมีลิค 0.20% (4)เติมกรดพิมีลิค 0.30%.....109

(5)เติมกรดพิมีลิค 0.40%.....110

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่ หน้า

14ง กราฟแสดงผลของกรดพิมีลิคต่อน้ำหนักแห้ง ปริมาณการผลิตไบโอติน และปริมาณการใช้กลูโคสของ Y6 โดยใช้ยีสต์ที่เจริญในระยะ mid log phase ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีไบโอติน ในระดับขวดเขย่า

(1)เติมกรดพิมีลิค 0.05% (2)เติมกรดพิมีลิค 0.10%.....111

(3)เติมกรดพิมีลิค 0.20% (4)เติมกรดพิมีลิค 0.30%.....112

(5)เติมกรดพิมีลิค 0.40%.....113

15ง กราฟแสดงผลของกรดพิมีลิคต่อน้ำหนักแห้ง ปริมาณการผลิตไบโอติน และปริมาณการใช้กลูโคสของ Y9 โดยใช้ยีสต์ที่เจริญในระยะ mid log phase ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีไบโอติน ในระดับขวดเขย่า

(1)เติมกรดพิมีลิค 0.05% (2)เติมกรดพิมีลิค 0.10%.....114

(3)เติมกรดพิมีลิค 0.20% (4)เติมกรดพิมีลิค 0.30%.....115

(5)เติมกรดพิมีลิค 0.40%.....116

16ง กราฟแสดงผลของกรดพิมีลิคต่อน้ำหนักแห้ง ปริมาณการผลิตไบโอติน และปริมาณการใช้กลูโคสของ Y10 โดยใช้ยีสต์ที่เจริญในระยะ mid log phase ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีไบโอติน ในระดับขวดเขย่า

(1)เติมกรดพิมีลิค 0.05% (2)เติมกรดพิมีลิค 0.10%.....117

(3)เติมกรดพิมีลิค 0.20% (4)เติมกรดพิมีลิค 0.30%.....118

(5)เติมกรดพิมีลิค 0.40%.....119

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่ หน้า

17ง กราฟแสดงผลของกรดพิมีลิคต่อน้ำหนักแห้ง ปริมาณการผลิตไบโอติน และปริมาณการใช้กลูโคส ของ Y1 โดยใช้ยีสต์ที่เจริญในระยะ mid log phase ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีไบโอติน ในระดับถังหมักขนาด 10 ลิตร
(1)ไม่เติมกรดพิมีลิค (2)เติมกรดพิมีลิค 0.05%.....120
(3)เติมกรดพิมีลิค 0.10% (4)เติมกรดพิมีลิค 0.20%.....121
(5)เติมกรดพิมีลิค 0.30% (5)เติมกรดพิมีลิค 0.40% 122
18ง กราฟแสดงผลของกรดพิมีลิคต่อน้ำหนักแห้ง ปริมาณการผลิตไบโอติน และปริมาณการใช้กลูโคส ของ Y9 โดยใช้ยีสต์ที่เจริญในระยะ mid log phase ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีไบโอติน ในระดับถังหมักขนาด 10 ลิตร
(1)ไม่เติมกรดพิมีลิค (2)เติมกรดพิมีลิค 0.05%.....123
(3)เติมกรดพิมีลิค 0.10% (4)เติมกรดพิมีลิค 0.20%.....124
(5)เติมกรดพิมีลิค 0.30% (5)เติมกรดพิมีลิค 0.40% 125

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สัญลักษณ์และคำย่อ

°ซ	=	องศาเซลเซียส
ชม.	=	ชั่วโมง
นก.	=	นาโนกรัม
มก.	=	มิลลิกรัม
มล.	=	มิลลิลิตร
%	=	เปอร์เซนต์
/	=	ต่อ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย