ภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตคานามัยซินโดยสายพันธุ์กลายของ *Streptomyces kanamyceticus*

นางสาวอรอนงค์ พริ้งศุลกะ

วิทยานิพนธ์นี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ภาควิชาจุลชีววิทยา
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2540

ISBN 974-638-805-3

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

OPTIMAL CONDITION FOR THE PRODUCTION OF KANAMYCIN BY *Streptomyces kanamyceticus* MUTANTS

Miss Onanong Pringsulaka

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

ISBN 974-638-805-3

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตคานามัยซินโดยสายพันธุ์กลายของ *Streptomyces kanamyceticus*
โดย	นางสาว อรอนงค์ พริ้งศุลกะ
ภาควิชา	จุลชีววิทยา
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร. สุรีนา ชวนิชย์

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ ศุภวัฒน์ ชุติวงศ์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. ไพเราะ ปิ่นพานิชการ

.....อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ ดร. สุรีนา ชวนิชย์)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุเทพ ธนียวัน)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. หรรษา ปุณณะพยัคฆ์)

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

อรอนงค์ พริ้งศุลกะ : ภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตคานามัยซินโดยสายพันธุ์กลายของ Streptomyces kanamyceticus (OPTIMAL CONDITION FOR THE PRODUCTION OF KANAMYCIN BY Streptomyces kanamyceticus MUTANTS) อ.ที่ปรึกษา : รศ.ดร.สุรีนา ชวนิชย์, 133 หน้า. ISBN 974-638-805-3

จากการผลิตคานามัยซินโดยสายพันธุ์กลายของ Streptomyces kanamyceticus K1 จำนวน 3 สายพันธุ์คือ UUNK15, UUNNK1 และ UUNNK25 พบว่าสายพันธุ์กลาย UUNNK1 สามารถผลิตคานามัยซินได้สูงสุด เป็น 70 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนั้นจึงนำสายพันธุ์ดังกล่าวมาเลี้ยงในอาหารเหลวเคพีเอ็มบี พบว่าภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตคานามัยซินของสายพันธุ์ UUNNK1 ในระดับขวดเขย่า คืออาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วย แป้ง 15 กรัม ซอยโทน 8 กรัม แบคโต-เปปโทน 1 กรัม $MgSO_4.7H_2O$ 0.5 กรัม K_2HPO_4 1 กรัม $CaCO_3$ 5 กรัม NaCl 3 กรัม และ KCl 0.5 กรัม ในอาหาร 1 ลิตร โดยปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง เริ่มต้นที่ 8.0-8.6 ณ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส บนเครื่องเขย่าชนิดโรตารี ด้วยภาวะการเพาะเลี้ยงดังกล่าว สายพันธุ์ UUNNK1 สามารถผลิตคานามัยซินได้ 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในเวลา 3 วัน เมื่อเปรียบเทียบการเลี้ยงสายพันธุ์ UUNNK1 ในสูตรอาหารเดิมที่ใช้กับสายพันธุ์ตั้งต้น K1 แล้ว สายพันธุ์ UUNNK1 สามารถผลิตคานามัยซินได้มากกว่าสายพันธุ์ตั้งต้นถึง 14 เท่า

จากการทดลองการผลิตคานามัยซินโดยสายพันธุ์กลาย UUNNK1 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ใช้ภาวะเดียวกับระดับขวดเขย่า โดยให้อัตราการกวนเป็น 200 รอบต่อนาที พบว่าสายพันธุ์ UUNNK1 สามารถผลิตคานามัยซินได้เพียง 70 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในเวลา 4 วัน แต่เมื่อใช้อัตราการกวนเป็น 300 รอบต่อนาที จะให้ปริมาณคานามัยซินสูงถึง 350 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ครั้นเมื่อเปลี่ยนแหล่งไนโตรเจนหลักจากซอยโทนเป็นกากถั่วเหลืองย่อยด้วยกรด สายพันธุ์ UUNNK1 จะผลิตคานามัยซินได้ 64 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในภาวะที่ควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง และเป็น 16 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในภาวะที่ไม่ควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง

ภาควิชา จุลชีววิทยา ลายมือชื่อนิสิต อรอนงค์ พริ้งศุลกะ

สาขาวิชา จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

ปีการศึกษา 2540 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

##C826539 : MAJOR INDUSTRIAL MICROBIOLOGY
KEY WORD: Streptomyces kanamyceticus / OPTIMAL CONDITION / PRODUCTION/ KANAMYCIN / MUTANTS

ONANONG PRINGSULAKA : OPTIMAL CONDITION FOR THE PRODUCTION OF KANAMYCIN BY Streptomyces kanamyceticus MUTANTS. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. SURINA CHAVANICH, Ph.D. 133 pp. ISBN 974-638-805-3

The productions of kanamycin by Streptomyces kanamyceticus K1 mutants, UUNK15, UUNNK1 and UUNNK25 were investigated. The mutant UUNNK1, which capable to produce highest amounts of 70 ug/ml of kanamycin, was selected. The optimal conditions for the production of kanamycin by this mutant in shaking cultures were studied. It was found that the KPMB medium, which providing the highest amount of kanamycin, was composed of : 15 g starch, 8 g soytone, 1 g bacto-peptone, 0.5 g $MgSO_4 . 7H_2O$, 1 g K_2HPO_4, 5 g $CaCO_3$, 3 g NaCl and 0.5 g KCl in a litre of medium. Optimal cultivation conditions were at pH ranging from 8.0 to 8.6, temperature at $30^{O}C$ and on a rotary shaker. Under conditions, UUNNK1 could produce 200 ug/ml of kanamycin within 3 days of cultivation. In comparison to the original strain K1, the UUNNK1 produced higher amounts of kanamycin for 14 folds.

The production of kanamycin in a 5 litre fermentor was also investigated. Using the same conditions as in shaking flask culture, with an agitation speed of 200 rpm, the UUNNK1 gave 70 ug/ml yields of kanamycin in 4 days of cultivation. However, with an agitation speed of 300 rpm, it yielded highest amounts of 350 ug/ml of kanamycin. When the nitrogen source in KPMB medium was changed from soytone to soybean hydrolysate, the productions of kanamycin were 64 ug/ml and 16 ug/ml under controlled pH and uncontrolled pH conditions, respectively.

ภาควิชา จุลชีววิทยา ลายมือชื่อนิสิต อนงค์ พริ้งสลา

สาขาวิชา จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

ปีการศึกษา 2540 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยความช่วยเหลือและความกรุณาอย่างดียิ่งของรองศาสตราจารย์ ดร. สุรีนา ชวนิชย์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ซึ่งท่านได้กรุณาให้คำแนะนำ เสมือนเป็นแม่คนที่สองของข้าพเจ้า ตลอดจนเป็นที่ปรึกษาในทุกเรื่องด้วยดีมาตลอด รวมถึงความรัก ความช่วยเหลือ กำลังใจ ในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ และยังได้ช่วยแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น ข้าพเจ้าจึงขอขอบคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. ไพเราะ ปิ่นพานิชการ ที่กรุณารับเป็นประธานกรรมการสอบ และให้คำปรึกษาในทุกเรื่อง ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุเทพ ธนียวัน ที่กรุณารับเป็นกรรมการสอบป้องกันวิทยานิพนธ์ และเป็นอาจารย์ที่ให้ความปรารถนาดีต่อข้าพเจ้าเสมอมา ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. หรรษา ปุณณะพยัคฆ์ ที่กรุณารับเป็นกรรมการสอบป้องกันวิทยานิพนธ์ และช่วยแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณอาจารย์ภาควิชาจุลชีววิทยาทุกท่านที่ได้ให้ความรู้ในการศึกษาระดับบัณฑิตศึกษานี้

ขอขอบคุณ คุณสุนันท์ รังสีกาญจน์ส่อง ในการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างด้วยเครื่อง HPLC ขอขอบคุณ คุณศรสดมภ์ ขัตติยวรา ที่เป็นที่ปรึกษาและช่วยให้กำลังใจในการทำวิทยานิพนธ์นี้

ขอขอบคุณคุณทัศนีย์ กฤษน้อย ที่ช่วยเหลือในด้านการพิมพ์และการแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้ลุล่วงด้วยดี คุณอดิศักดิ์ หิรัญรัตนากร ที่ให้คำแนะนำเกี่ยวกับถังหมัก คุณสุวัฒน์ แสงเกิดทรัพย์ ที่ช่วยถ่ายภาพเชื้อ คุณสุภาวดี จันทร์จุงจิตต์ ที่ช่วยถ่ายภาพสไลด์ คุณฉัตรฤดี สุวรรณชาติ คุณสุกัลยา ทาโบราณ และคุณอรอุมา แก้วกล้า เพื่อนๆ พี่ๆ และน้องๆทุกคนในภาควิชาจุลชีววิทยา ที่ให้ความช่วยเหลือแก่ข้าพเจ้าด้วยดีตลอดมา

ขอขอบคุณ คุณธนิต สิงหบุญพงศ์ คุณกนกวรรณ ศรีนิธี คุณสุทธิรักษ์ นิยมฤทธิ์ คุณทองรวย สุผารี และเจ้าหน้าที่ของภาควิชาจุลชีววิทยาทุกท่าน ที่ได้ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในการทำวิทยานิพนธ์ด้วยดีตลอดหลักสูตรการศึกษานี้

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ทุนอุดหนุนงานวิจัย

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณ พ่อและพี่ชายของข้าพเจ้าซึ่งเป็นกำลังสำคัญที่สุด ที่ช่วยเหลือและให้กำลังใจตลอดการทำวิทยานิพนธ์และคุณความดีของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ขอมอบให้แม่ที่รักยิ่งของข้าพเจ้า

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญตาราง ..... ซ

สารบัญรูป ..... ญ

บทที่

1. บทนำ 1

2. อุปกรณ์ และวิธีดำเนินการวิจัย 32

3. ผลการวิจัย 45

4. สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย 93

รายการอ้างอิง 111

ภาคผนวก 122

ประวัติผู้เขียน 133

สารบัญตาราง

ตารางที่! หน้า

1. สารปฏิชีวนะสำคัญที่ค้นพบในปีต่าง ๆ..... 2
2. สารปฏิชีวนะในกลุ่มอะมิโนไกลโคไซด์..... 9
3. การควบคุมการสร้างสารปฏิชีวนะโดยแหล่งคาร์บอน..... 20
4. แสดงน้ำหนักเส้นใยแห้ง ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณโปรตีนและปริมาณคานามัยซินของสายพันธุ์ UUNK15 ที่เลี้ยงในอาหารเหลวเคพีเอ็มบี (KPMB) เป็นเวลา 7 วัน..... 45
5. แสดงน้ำหนักเส้นใยแห้ง ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณโปรตีนและปริมาณคานามัยซินของสายพันธุ์ UUNNK1 ที่เลี้ยงในอาหารเหลวเคพีเอ็มบี เป็นเวลา 7 วัน..... 47
6. แสดงน้ำหนักเส้นใยแห้ง ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณโปรตีนและปริมาณคานามัยซินของสายพันธุ์ UUNNK25 ที่เลี้ยงในอาหารเหลวเคพีเอ็มบี เป็นเวลา 7 วัน..... 48
7. แสดงน้ำหนักเส้นใยแห้ง ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณโปรตีนและปริมาณคานามัยซินของสายพันธุ์ K1 ที่เลี้ยงในอาหารเหลวเคพีเอ็มบี เป็นเวลา 7 วัน..... 50
8. แสดงผลของระยะเวลา น้ำหนักเส้นใยแห้ง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณโปรตีนของสายพันธุ์ UUNNK1 ที่เลี้ยงในอาหารเหลวจีพีวาย ที่ชั่วโมงต่าง ๆ..... 52
9. แสดงปริมาณคานามัยซินของสายพันธุ์ UUNNK1 ที่มีชนิดของแหล่งคาร์บอนหลักแตกต่างกัน..... 55
10. แสดงปริมาณคานามัยซินของสายพันธุ์ UUNNK1 ที่มีปริมาณแป้งแตกต่างกัน..... 58
11. แสดงปริมาณคานามัยซินของสายพันธุ์ UUNNK1 ที่มีแหล่งไนโตรเจนรองแตกต่างกัน..... 61
12. แสดงปริมาณคานามัยซินของสายพันธุ์ UUNNK1 ที่มีปริมาณแบคโต-เปปโทนต่างกัน..... 64

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

13. แสดงปริมาณคานามัยซินของสายพันธุ์ UUNNK1 ที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นในอาหารเหลวเคพีเอ็มบีต่างกัน..... 67

14. แสดงปริมาณคานามัยซินของสายพันธุ์ UUNNK1 เมื่อทำการเลี้ยงที่อุณหภูมิต่าง ๆ..... 70

15. แสดงปริมาณคานามัยซินของสายพันธุ์ UUNNK1 เมื่อทำการแปรผันชนิดแหล่งไนโตรเจน..... 73

16. แสดงปริมาณคานามัยซินของสายพันธุ์ UUNNK1 เมื่อทำการแปรผันปริมาณซอยโทน..... 76

17. แสดงปริมาณคานามัยซินของสายพันธุ์ UUNNK1 เมื่อใช้เครื่องเขย่า 2 ชนิด..... 79

18. แสดงน้ำหนักเส้นใยแห้ง ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ค่าความเป็นกรด-ด่างปริมาณโปรตีนและปริมาณคานามัยซินของสายพัน UUNNK1ที่เลี้ยงในอาหารเหลวเคพีเอ็มบี โดยใช้อัตราการกวน 200 รอบต่อนาที ในถังหมักขนาด 5 ลิตร..... 81

19. แสดงน้ำหนักเส้นใยแห้ง ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณโปรตีน และปริมาณคานามัยซินของสายพันธุ์ UUNNK1 ที่เลี้ยงในอาหารเหลวเคพีเอ็มบี โดยใช้อัตราการกวน 300 รอบต่อนาที ในถังหมักขนาด 5 ลิตร..... 83

20. แสดงน้ำหนักเส้นใยแห้ง ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณโปรตีน และปริมาณคานามัยซินของสายพันธุ์ UUNNK1 ที่เลี้ยงในอาหารเหลวเคพีเอ็มบี โดยใช้อัตราการกวน 400 รอบต่อนาที ในถังหมักขนาด 5 ลิตร..... 85

21. แสดงน้ำหนักเส้นใยแห้ง และปริมาณคานามัยซินของสายพันธุ์ UUNNK1 ที่เลี้ยงในอาหารเหลวเคพีเอ็มบี มีแหล่งไนโตรเจนเป็นกากถั่วเหลืองที่ย่อยด้วยกรด อัตราการกวน 300 รอบต่อนาที ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ที่ควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง..... 86

22.แสดงน้ำหนักเส้นใยแห้ง ค่าความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณคานามัยซินของสายพันธุ์ UUNNK1 ที่เลี้ยงในอาหารเหลวเคพีเอ็มบี โดยมีแหล่งไนโตรเจนเป็นกากถั่วเหลืองที่ย่อยด้วยกรด อัตราการกวน 300 รอบต่อนาที ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ที่ไม่ควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง.. 88

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

1. แผนภูมิแสดงสารปฏิชีวนะทั้งหมดที่ผลิตโดยจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ..... 3
2. แสดงกลไกการออกฤทธิ์ของสารปฏิชีวนะในเซลล์จุลินทรีย์..... 6
3. กราฟมาตรฐานการวิเคราะห์โดยการแพร่ในวุ้น..... 7
4. โครงสร้างหลักของคานามัยซิน..... 13
5. การวัดปริมาณคานามัยซินด้วยวิธีทางจุลชีววิทยาของ *S. kanamyceticus* เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวเคพีเอ็มบี..... 37
6. การเพาะเลี้ยง *S. kanamyceticus* ในอาหารเหลวเคพีเอ็มบีระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร เพื่อผลิตคานามัยซิน..... 43
7. กราฟแสดงน้ำหนักเส้นใยแห้ง ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณโปรตีน ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และปริมาณคานามัยซินของสายพันธุ์กลาย UUNK15..... 46
8. กราฟแสดงน้ำหนักเส้นใยแห้ง ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณโปรตีน ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และปริมาณคานามัยซินของสายพันธุ์กลาย UUNNK1..... 47
9. กราฟแสดงน้ำหนักเส้นใยแห้ง ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณโปรตีน ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และปริมาณคานามัยซินของสายพันธุ์กลาย UUNNK25..... 48
10. กราฟแสดงน้ำหนักเส้นใยแห้ง ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณโปรตีน ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และปริมาณคานามัยซินของสายพันธุ์ ตั้งต้น K1 50
11. กราฟแสดงผลของระยะเวลา น้ำหนักเส้นใยแห้ง ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณโปรตีนของสายพันธุ์ UUNNK1 เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวจีพีวาย..... 52
12. กราฟแสดงน้ำหนักเส้นใยแห้ง (ก) ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (ข) ปริมาณโปรตีน (ค) ปริมาณคานามัยซิน (ง) ค่าความเป็นกรด-ด่าง (จ) เมื่อมีแหล่งคาร์บอนชนิดต่าง ๆ..... 54

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ หน้า

13. กราฟแสดงน้ำหนักเส้นใยแห้ง (ก) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (ข) ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (ค) ปริมาณโปรตีน (ง) ปริมาณคานามัยซิน (จ) และค่าความเป็นกรด-ด่าง (ฉ) เมื่อทำการแปรผันปริมาณแป้ง..... 57

14. กราฟแสดงน้ำหนักเส้นใยแห้ง (ก) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (ข) ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (ค) ปริมาณโปรตีน (ง) ปริมาณคานามัยซิน (จ) และค่าความเป็นกรด-ด่าง (ฉ) เมื่อมีแหล่งไนโตรเจนรองในอาหารแตกต่างกัน..... 60

15. กราฟแสดงน้ำหนักเส้นใยแห้ง (ก) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (ข) ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (ค) ปริมาณโปรตีน (ง) ปริมาณคานามัยซิน (จ) และค่าความเป็นกรด-ด่าง (ฉ) เมื่อทำการแปรผันปริมาณแบคโต-เปปโทน..... 63

16. กราฟแสดงน้ำหนักเส้นใยแห้ง (ก) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (ข) ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (ค) ปริมาณโปรตีน (ง) ปริมาณคานามัยซิน (จ) และค่าความเป็นกรด-ด่าง (ฉ) เมื่อทำการแปรผันค่าความเป็นกรด-ด่าง..... 66

17. กราฟแสดงน้ำหนักเส้นใยแห้ง (ก) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (ข) ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (ค) ปริมาณโปรตีน (ง) ปริมาณคานามัยซิน (จ) และค่าความเป็นกรด-ด่าง (ฉ) เมื่อทำการเลี้ยงที่อุณหภูมิต่างๆ..... 69

18. กราฟแสดงน้ำหนักเส้นใยแห้ง (ก) ค่าความเป็นกรด-ด่าง (ข) และปริมาณคานามัยซิน (ค) เมื่อมีแหล่งไนโตรเจนหลักชนิดต่างๆ..... 72

19. กราฟแสดงน้ำหนักเส้นใยแห้ง (ก) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (ข) ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (ค) ปริมาณโปรตีน (ง) ปริมาณคานามัยซิน (จ) และค่าความเป็นกรด-ด่าง (ฉ) เมื่อแปรผันปริมาณของซอยโทน..... 75

20. กราฟแสดงน้ำหนักเส้นใยแห้ง (ก) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (ข) ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (ค) ปริมาณโปรตีน (ง) ปริมาณคานามัยซิน (จ) และค่าความเป็นกรด-ด่าง (ฉ)เมื่อใช้รูปแบบของเครื่องเขย่า 2 ชนิด..... 78

21. กราฟแสดงน้ำหนักเส้นใยแห้ง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ปริมาณโปรตีน ปริมาณคานามัยซิน และค่าความเป็นกรด-ด่าง เมื่อเพาะเลี้ยงในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยมีอัตราการกวน 200 รอบต่อนาที..... 81

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ หน้า

22. กราฟแสดงน้ำหนักเส้นใยแห้ง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ปริมาณโปรตีน ปริมาณคานามัยซิน และค่าความเป็นกรด-ด่าง เมื่อเพาะเลี้ยงในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยมีอัตราการกวน 300 รอบต่อนาที..... 83

23. กราฟแสดงน้ำหนักเส้นใยแห้ง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ปริมาณโปรตีน ปริมาณคานามัยซิน และค่าความเป็นกรด-ด่าง เมื่อเพาะเลี้ยงในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยมีอัตราการกวน 400 รอบต่อนาที..... 85

24. กราฟแสดงน้ำหนักเส้นใยแห้ง และปริมาณคานามัยซิน เมื่อเพาะเลี้ยง UUNNK1 ในอาหารเหลวที่มีกากถั่วเหลืองย่อยด้วยกรดเป็นแหล่งไนโตรเจน โดยมีอัตราการกวน 300 รอบต่อนาที ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ที่ควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง..... 87

25. กราฟแสดงน้ำหนักเส้นใยแห้ง และปริมาณคานามัยซิน เมื่อเพาะเลี้ยง UUNNK1 ในอาหารเหลวที่มีกากถั่วเหลืองย่อยด้วยกรดเป็นแหล่งไนโตรเจน โดยมีอัตราการกวน 300 รอบต่อนาที ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ทีไม่ควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่าง..... 88

26. ลักษณะโครมาโตแกรมของคานามัยซินซัลเฟต ก ปริมาณ 2000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ข ปริมาณ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ค ปริมาณ 0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร..... 90

27. ลักษณะโครมาโตแกรมของปริมาณคานามัยซินของอาหารเหลวที่ได้จากการหมักโดยสายพันธุ์กลาย UUNNK1..... 91

28. ลักษณะโครมาโตแกรมของตัวอย่างผสมระหว่างคานามัยซินเอซัลเฟตเข้มข้น 2000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร กับอาหารเหลวที่ได้จากการหมัก UUNNK1..... 91

29. กราฟแสดงน้ำหนักเส้นใยแห้งและปริมาณคานามัยซินของสายพันธุ์ K1 UUNK15 UUNNK1 และ UUNNK25..... 94

30. กราฟแสดงน้ำหนักเส้นใยแห้ง และปริมาณคานามัยซินของสายพันธุ์ UUNNK 1 เมื่อมีแหล่งคาร์บอนแตกต่างกัน..... 96

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ หน้า

31. กราฟแสดงน้ำหนักเส้นใยแห้ง และปริมาณคานามัยซินของสายพันธุ์ UUNNK1 เมื่อมีปริมาณแป้งต่างกัน..... 97

32. กราฟแสดงน้ำหนักเส้นใยแห้ง และปริมาณคานามัยซินของสายพันธุ์ UUNNK1 เมื่อมีแหล่งไนโตรเจนรองแตกต่างกัน..... 98

33. กราฟแสดงน้ำหนักเส้นใยแห้ง และปริมาณคานามัยซินของสายพันธุ์ UUNNK1 เมื่อมีปริมาณแบคโต-เปปโทนแตกต่างกัน..... 100

34. กราฟแสดงน้ำหนักเส้นใยแห้ง และปริมาณคานามัยซินของสายพันธุ์ UUNNK1 เมื่อแปรผันค่าความเป็นกรด-ด่าง..... 101

35. กราฟแสดงน้ำหนักเส้นใยแห้ง และปริมาณคานามัยซินของสายพันธุ์ UUNNK1 เมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิต่าง ๆ..... 102

36. กราฟแสดงน้ำหนักเส้นใยแห้ง และปริมาณคานามัยซินของสายพันธุ์ UUNNK1 เมื่อใช้แหล่งไนโตรเจนหลักชนิดต่าง ๆ..... 104

37. กราฟแสดงน้ำหนักเส้นใยแห้ง และปริมาณคานามัยซินของสายพันธุ์ UUNNK1 เมื่อแปรผันปริมาณของซอยโทน..... 105

38. กราฟแสดงน้ำหนักเส้นใยแห้ง และปริมาณคานามัยซินของสายพันธุ์ UUNNK1 เมื่อใช้เครื่องเขย่า 2 ชนิด..... 106

39. กราฟแสดงน้ำหนักเส้นใยแห้ง และปริมาณคานามัยซินของสายพันธุ์ UUNNK1 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยแปรผันอัตราการกวน..... 108

40. กราฟแสดงน้ำหนักเส้นใยแห้ง และปริมาณคานามัยซินของสายพันธุ์ UUNNK 1 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร เมื่อใช้กากถั่วเหลืองย่อยด้วยกรดแทนซอยโทน และมีอัตราการกวนเป็น 300 รอบต่อนาที..... 109

41. กราฟมาตรฐานน้ำตาลทั้งหมด เมื่อวัดปริมาณด้วยวิธีฟีนอล-ซัลฟูริก..... 128

42. กราฟมาตรฐานคานามัยซินเอ ซัลเฟต โดยวิธีวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา..... 129

43. กราฟมาตรฐานการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน โดยวิธีของ Lowry และคณะ 130

44. กราฟมาตรฐานการวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยวิธีดีเอ็นเอสเอ..... 132