

การใช้วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรสำหรับผลิตไบโอเซอแฟกแตนท์จาก *Bacillus licheniformis* F2.2



นางสาว บงกช สุทธิวานิชกุล

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม

ภาควิชาจุลชีววิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2540

ISBN 974-637-425-7

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

UTILIZATION OF AGRICULTURAL WASTES FOR BIOSURFACTANT PRODUCTION
FROM *Bacillus licheniformis* F2.2

Miss Bongkoh Sutthivanitchakul

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 974-637-425-7


หัวข้อวิทยานิพนธ์ การใช้วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรสำหรับผลิตไบโอเซอแฟกแคนท์
จาก *Bacillus licheniformis* F2.2
โดย นางสาวบงกช สุทธิวานิชกุล
ภาควิชา จุลชีววิทยา
อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุเทพ ธานีวัน
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผู้ช่วยศาสตราจารย์ จิราภรณ์ ธานีวัน


บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยรับนี้เป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาค้นคว้าตามหลักสูตรปริญญา เมหาบัณฑิต

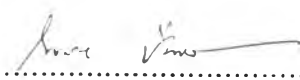

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ศุภวัฒน์ ชุตินวงศ์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์


..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. นลินี นิลอุบล)


..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุเทพ ธานีวัน)


..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ จิราภรณ์ ธานีวัน)


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


..... กรรมการ
(ดร. สุจิตา รักษาศิลป์)

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสี่เหลี่ยมที่พิมพ์แนบด้วย

บงกช สุทธิวาณิชกุล : การใช้วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรสำหรับผลิตไบโอเซอร์แฟกแทนท์จาก

Bacillus licheniformis F2.2 (UTILIZATION OF AGRICULTURAL WASTES FOR

BIOSURFACTANT PRODUCTION FROM *Bacillus licheniformis* F2.2)

อ. ที่ปรึกษา : ผศ.ดร. สุเทพ ธานีวัน และ ผศ. จิราภรณ์ ธานีวัน , 137 หน้า.

ISBN 974-637-425-7

จากการทดลองผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจาก *Bacillus licheniformis* F2.2 ในอาหารกำหนดสูตร พบว่า จุลินทรีย์นี้สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ได้ในปริมาณสูงในอาหารกำหนดสูตรที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน จุลินทรีย์ดังกล่าวสามารถใช้ไฮโดรไลสของฟางข้าว ที่ความเข้มข้น 2 % (น้ำหนักต่อปริมาตร คิดเป็นปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์) เป็นแหล่งคาร์บอนทดแทนการใช้กลูโคส มี 0.2 % (น้ำหนักต่อปริมาตร) แอมโมเนียมไนเตรท เป็นแหล่งไนโตรเจน และแมงกานีสซัลเฟต 1.71 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นแหล่งเกลือแร่ เมื่อเลี้ยง *Bacillus licheniformis* F2.2 โดยมีแหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน และแหล่งเกลือแร่ที่เหมาะสมดังกล่าวในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี 75 มิลลิโมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้น 8.0 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 250 รอบ/นาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จะลดแรงตึงผิวของน้ำเลี้ยงเชื้อจาก 66 มิลลินิวตันต่อเมตร ลงเหลือ 28.3 มิลลินิวตันต่อเมตร และ 39.3 มิลลินิวตันต่อเมตร เมื่อทำการเจือจาง 100 เท่า และให้ค่าการกระจายน้ำมัน (oil displacement) เท่ากับ 33.7 หน่วย

จากการศึกษาสมบัติเบื้องต้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ พบว่า สารลดแรงตึงผิวนี้มีความเสถียรต่อความเป็นกรด่างในช่วงกว้าง คือ 6-12 และมีความเสถียรต่ออุณหภูมิ 50 และ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง ความสามารถในการลดแรงตึงผิวของน้ำเลี้ยงเชื้อจะลดลง เมื่อความเข้มข้นของ NaCl สูงกว่า 10 % นอกจากนี้เมื่อตรวจสอบชนิดของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ ด้วย HPLC พบว่า สารที่ผลิตได้ มีรูปแบบโครมาโตแกรมที่แตกต่างจากสารละลายเซอร์แฟกตินมาตรฐาน

ภาควิชา.....จุลชีววิทยา.....

สาขาวิชา.....จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม.....

ปีการศึกษา.....2540.....

ลายมือชื่อนิติ.....บงกช สุทธิวาณิชกุล.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา..........

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม..........

C726504 : MAJOR INDUSTRIAL MICROBIOLOGY

KEY WORD:

Biosurfactant / *Bacillus sp.* / Surface tension

BONGKOH SUTTHIVANITCHAKUL : UTILIZATION OF AGRICULTURAL WASTES FOR BIOSURFACTANT PRODUCTION FROM *Bacillus licheniformis* F2.2

THESIS ADVISOR : ASSIST. PROF. SUTHEP THANİYAVARN, Ph.D.

AND ASSIST. PROF. JIRAPORN THANİYAVARN 137 pp. ISBN 974-637-425-7

Attempt has been made to produce biosurfactant by cultivating *Bacillus licheniformis* F2.2 in chemical defined medium by which the organisms could produced biosurfactant in high amount in the present of glucose as carbon source. Such organism could employed 2% (w/v; reducing sugar) rice straw hydrolysate in place of glucose and ammonium nitrate at 0.2% (w/v) as nitrogen source, manganese sulfate at 1.71 mg. per liter as trace mineral. Cultivation of the organism in medium containing suitable carbon, nitrogen and trace element above along with 75 mM phosphate buffer with initial pH 8.0, at 30°C, for 24 hrs. and agitation rate of 250 rpm could reduce surface tension of the corresponding supernatant from 66 mN/m down to 28.3 mN/m and 39.3 mN/m when diluted by 100 folds and oil displacement value of 33.7 units.

Preliminary characterization of the biosurfactant produced revealed its pH stability over a broad range of 6-12 as well as stable at temperature 55 and 80°C upto 5 hours. The surface tension reduction ability will drop when NaCl concentration exceed 10%. Furthermore HPLC profile of the biosurfactant produced revealed a distinct chromatogram differ from that of standard surfactin.

ภาควิชา.....จุลชีววิทยา

สาขาวิชา.....จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม

ปีการศึกษา.....2540

ลายมือชื่อนิสิต.....บงกช สุทธิวานิชชกุล

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....จิราพรณ์ ธีรัตน์

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยความช่วยเหลือจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุเทพ ธานีวัน และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ จิราภรณ์ ธานีวัน โดยได้กรุณาให้คำแนะนำ ปรึกษา รวมทั้งแนวคิดต่าง ๆ ในการทำวิทยานิพนธ์ ฉบับนี้เป็นอย่างยิ่ง ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ เป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. นลินี นิลอุบล รองศาสตราจารย์ ดร. ไพเราะ ปิ่นพานิชการ และ ดร. สุจิตา รักษาศิลป์ ที่ได้กรุณาเป็นประธานกรรมการ และ กรรมการสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่าน ในภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย รวมทั้ง พี่ ๆ เพื่อน ๆ และ น้อง ๆ ที่ได้กรุณาให้กำลังใจในการทำวิจัยนี้ เป็นอย่างดี ตลอดจนเจ้าหน้าที่ทุกท่านในภาควิชาจุลชีววิทยา ที่ได้ให้ความช่วยเหลือด้วยดีตลอดมา

ขอขอบพระคุณ ดร. สมเกียรติ ปิยะธีรศิริวรกุล แห่งภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ ที่มีส่วนช่วยเหลือให้คำแนะนำ ในการใช้เครื่องมือ และ อุปกรณ์ในการทำ วิทยานิพนธ์ครั้งนี้ และ บริษัท อีสต์เอเชียติก (ประเทศไทย) จำกัด ที่กรุณาเอื้อเฟื้อเอ็นไอเอ็มที่ใช้ ในการทำวิทยานิพนธ์นี้โดยตลอด

ขอขอบคุณ คุณสุนันท์ รังษีกาญจน์ส่อง ที่ได้ให้คำแนะนำ และช่วยเหลือในด้านการ วิเคราะห์การใช้เครื่อง HPLC

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ทุนสำหรับการทำวิจัย ตลอดจน เจ้าหน้าที่ของบัณฑิตวิทยาลัย ที่ได้ช่วยอำนวยความสะดวกต่าง ๆ

ขอขอบคุณ คุณพงษ์สยาม ศิริพงษ์ ที่กรุณาช่วยเหลือในการบันทึกภาพ และความช่วยเหลือต่าง ๆ อย่างดียิ่ง

ท้ายสุดนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และขอขอบคุณ พี่ชาย น้องชาย ที่ได้ให้การสนับสนุน เป็นกำลังใจ แก่ผู้วิจัยในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ตั้งแต่เริ่มค้นจนสมบูรณ์

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ	ฉ
สารบัญ	ช
สารบัญตาราง	ซ
สารบัญรูป	ฅ
คำย่อ	ณ
บทที่	
1. บทนำ	1
2. อุปกรณ์และวิธีดำเนินการทดลอง	45
3. ผลการทดลอง	60
4. การอภิปรายและสรุปผลการทดลอง	105
รายการอ้างอิง	115
ภาคผนวก	129
ประวัติผู้เขียน	137

สารบัญญัตราง

ตารางที่	หน้า
1	แสดงค่าแรงดึงผิว และค่า CMC ของสารลดแรงดึงผิวชีวภาพกับสารลดแรงดึงผิวที่ได้จากการสังเคราะห์ทางเคมี8
2	ชนิดต่าง ๆ ของสารลดแรงดึงผิวที่ผลิตโดยจุลินทรีย์24
3	ตัวอย่างของสารลดแรงดึงผิวชีวภาพที่ได้รับการจดสิทธิบัตรแล้ว26
4	แสดงปริมาณของเซลลูโลส, เฮมิเซลลูโลส, และลิกนิน ในวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร39
5	แสดงความสามารถในการฆ่าเชื้อทดสอบกลุ่มต่าง ๆ ของ <i>Bacillus licheniformis</i> F2.262
6	ผลของค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อเริ่มต้นต่อค่าแรงดึงผิวของส่วนใสที่ได้จากน้ำเลี้ยงเชื้อ เมื่อทำการเจือจาง 100 เท่า 72
7	ผลของแหล่งคาร์บอนจากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรชนิดต่าง ๆ ที่ใช้ทดแทนกลูโคสต่อการลดลงของค่าแรงดึงผิวของส่วนใสที่ได้จากน้ำเลี้ยงเชื้อ โดย <i>Bacillus licheniformis</i> F2.284
8	ผลของแหล่งไนโตรเจนชนิดต่าง ๆ ต่อการลดลงของค่าแรงดึงผิวของส่วนใสที่ได้จากน้ำเลี้ยงเชื้อ และค่าการกระจายน้ำมัน โดย <i>B. licheniformis</i> F2.290
9	แสดงลำดับส่วน (peak) ที่ให้ผลการทดสอบค่าการกระจายน้ำมันของเซอแฟกดินมาตรฐาน เมื่อวิเคราะห์โดยวิธี HPLC103
10	แสดงลำดับส่วน (peak) ที่ให้ผลการทดสอบค่าการกระจายน้ำมันของสารลดแรงดึงผิวที่ผลิตโดย <i>Bacillus licheniformis</i> F2.2 เมื่อวิเคราะห์โดยวิธี HPLC...103

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
1	โครงสร้างโดยทั่วไปของสารลดแรงตึงผิว 1
2	การเกิดไมเซลล์ของโมเลกุลสารลดแรงตึงผิว 2
3	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวในสารละลายกับ ค่าแรงตึงผิว ค่าความขุ่น ค่าการละลาย และค่าการเหนียวนำไฟฟ้าของสารละลาย .. 3
4	Critical Micelle Concentration ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 7
5	โครงสร้าง mycolic acids 9
6	โครงสร้าง Trehalose-6,6'-dicorynomycolate จาก <i>Rhodococcus erythropolis</i> ... 10
7	แสดงโครงสร้างที่แตกต่างกัน 4 แบบ ของ rhamnolipid ซึ่งสังเคราะห์โดย <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 12
8	โครงสร้าง lactone ของ sophorose lipid จาก <i>Torulopsis</i> sp. 13
9	โครงสร้างโดยทั่วไปของฟอสโฟลิปิดที่แยกได้จากจุลินทรีย์ 15
10	โครงสร้างของเซอร์แฟกติน ซึ่งเป็นไลโปเปปไทด์ที่แยกได้จาก <i>Bacillus subtilis</i> 16
11	โครงสร้างของ arthrofactin ซึ่งสังเคราะห์โดย <i>Arthrobacter</i> sp. สายพันธุ์ MIS 38 และ โครงสร้างของ serrawettin W2 ซึ่งสังเคราะห์โดย <i>Serratia marcescens</i> 17
12	โครงสร้างของ orithine ประกอบด้วยไขมันที่แยกได้จาก <i>Pseudomonas rubescens</i> 18
13	โครงสร้างของ cerilipin แยกจาก <i>Gluconobacter cerinus</i> 18
14	โครงสร้างโดยทั่วไปของ emulsan biopolymer ซึ่งสังเคราะห์โดย <i>A. calcoaceticus</i> 19
15	แสดงโครงสร้างของ lichenysin A ที่ผลิตโดย <i>Bacillus licheniformis</i> BAS 50 ... 21
16	โครงสร้างของ lipopeptide ชนิดต่างๆ ที่ผลิตโดย <i>Bacillus licheniformis</i> 22
17	แสดงการแยกองค์ประกอบในเซลล์พืช 36
18	แสดงลักษณะการจัดเรียงตัวของหน่วยกลูโคสในเซลลูโลส 37
19	แสดงส่วนของเซลลูโลสที่เป็นผลึกและเซลลูโลสอสัณฐาน 37

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
20	การย่อยสลายและการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ 43
21	แสดงลักษณะการกระจายน้ำมันของส่วนใสที่ได้จากน้ำเลี้ยงเชื้อ 52
22	แสดงการกระจายน้ำมันดิบของ <i>Bacillus licheniformis</i> F2.2 โดยวิธีซีเคเชื้อ ลงบนอาหารแข็งที่มีน้ำมันดิบปกคลุมอยู่ และบ่มเชื้อเป็นเวลา 48 ชั่วโมง 60
23	แสดงการยับยั้งของ <i>Bacillus licheniformis</i> F2.2 ต่อ <i>Torulopsis glabrata</i> ATCC 15126 ซึ่งเป็นเชื้อทดสอบ โดยวิธี agar diffusion เมื่อบ่มเชื้อเป็นเวลา 48 ชั่วโมง 61
24	แสดงรูปแบบการเจริญ, การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง, ค่าแรงดึงผิวของส่วนใสที่ได้จากน้ำเลี้ยงเชื้อ และค่าแรงดึงผิว ของส่วนใสที่ได้จากน้ำเลี้ยงเชื้อ เมื่อทำการเจือจาง 100 เท่า โดย <i>B. licheniformis</i> F2.2 เลี้ยงจุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ เหลวที่กำหนดสูตร ตามภาคผนวก ก หมายเลข 9 ปรับระดับ ความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อเริ่มต้นที่ 7.0 ในขวดแก้ว ทรงกรวย ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง อัตราการเขย่า 200 รอบ/นาที 64
25	ค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อเริ่มต้นต่อการลดลงของ ค่าแรงดึงผิวของส่วนใสที่ได้จากน้ำเลี้ยงเชื้อ โดย <i>B. licheniformis</i> F2.2 66
26	แสดงรูปแบบการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง, การเจริญของเชื้อ, ค่าแรงดึงผิวของส่วนใสที่ได้จากน้ำเลี้ยงเชื้อ และค่าแรงดึงผิวของ ส่วนใสที่ได้จากน้ำเลี้ยงเชื้อ เมื่อทำการเจือจาง 100 เท่า โดย <i>B. licheniformis</i> F2.2 (ก) เมื่อทำการปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ของอาหารเลี้ยงเชื้อเริ่มต้น 7.0 ด้วยกรดหรือด่าง (ข) ควบคุมค่า ความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อเริ่มต้น 7.0 ด้วย 100 มิลลิโมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 67

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
27.1 แสดงรูปแบบการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง, การเจริญของเชื้อ, ค่าแรงดึงผิวของส่วนไตที่ได้จากน้ำเลี้ยงเชื้อ และค่าแรงดึงผิวของส่วนไตที่ได้จากน้ำเลี้ยงเชื้อ เมื่อทำการเจือจาง 100 เท่า โดย <i>B. licheniformis</i> F2.2 (ก) เมื่อควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อเริ่มต้น 6.5 ด้วย 100 มิลลิโมลาร์ ฟอสเฟตบัพเฟอร์ (ข) ควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อเริ่มต้น 7.0 ด้วย 100 มิลลิโมลาร์ ฟอสเฟตบัพเฟอร์	69
27.2 แสดงรูปแบบการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง, การเจริญของเชื้อ, ค่าแรงดึงผิวของส่วนไตที่ได้จากน้ำเลี้ยงเชื้อ และค่าแรงดึงผิวของส่วนไตที่ได้จากน้ำเลี้ยงเชื้อ เมื่อทำการเจือจาง 100 เท่า โดย <i>B. licheniformis</i> F2.2 (ค) เมื่อควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อเริ่มต้น 7.5 ด้วย 100 มิลลิโมลาร์ ฟอสเฟตบัพเฟอร์ (ง) ควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อเริ่มต้น 8.0 ด้วย 100 มิลลิโมลาร์ ฟอสเฟตบัพเฟอร์	70
27.3 แสดงรูปแบบการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง, การเจริญของเชื้อ, ค่าแรงดึงผิวของส่วนไตที่ได้จากน้ำเลี้ยงเชื้อ และค่าแรงดึงผิวของส่วนไตที่ได้จากน้ำเลี้ยงเชื้อ เมื่อทำการเจือจาง 100 เท่า โดย <i>B. licheniformis</i> F2.2 (จ) เมื่อควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อเริ่มต้น 8.5 ด้วย 100 มิลลิโมลาร์ ทริส-ไฮโดรคลอไรด์ (ฉ) ควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อเริ่มต้น 9.0 ด้วย 100 มิลลิโมลาร์ ทริส-ไฮโดรคลอไรด์	71
28 ผลของความเข้มข้นของฟอสเฟตบัพเฟอร์ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง 8.0 ต่อการลดลงของค่าแรงดึงผิวของส่วนไตที่ได้จากน้ำเลี้ยงเชื้อ เมื่อทำการเจือจาง 100 เท่า โดย <i>B. licheniformis</i> F2.2	73

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
29	ผลของอุณหภูมิต่อการลดลงของค่าแรงดึงผิวของส่วนไสที่ได้จากน้ำเลี้ยงเชื้อ เมื่อทำการเจือจาง 100 เท่า และค่าการกระเจายน้ำมัน (oil displacement) โดย <i>B. licheniformis</i> F2.2 75
30	ผลของความเร็วยวรอบในการเขย่าอุณหภูมิต่อการลดลงของค่าแรงดึงผิวของ ส่วนไสที่ได้จากน้ำเลี้ยงเชื้อ เมื่อทำการเจือจาง 100 เท่า และค่า การกระเจายน้ำมัน (oil displacement) โดย <i>B. licheniformis</i> F2.2 76
31.1	แสดงรูปแบบการเจริญ, การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง, ค่าแรงดึงผิวของส่วนไสที่ได้จากน้ำเลี้ยงเชื้อ และค่าแรงดึงผิว ของส่วนไสที่ได้จากน้ำเลี้ยงเชื้อ เมื่อทำการเจือจาง 100 เท่า โดย <i>B. licheniformis</i> F2.2 (ก) เมื่อใช้กลูโคส 2% เป็น แหล่งคาร์บอน (ข) เมื่อใช้ซูโครส 2% เป็นแหล่งคาร์บอน77
31.2	แสดงรูปแบบการเจริญ, การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง, ค่าแรงดึงผิวของส่วนไสที่ได้จากน้ำเลี้ยงเชื้อ และค่าแรงดึงผิว ของส่วนไสที่ได้จากน้ำเลี้ยงเชื้อ เมื่อทำการเจือจาง 100 เท่า โดย <i>B. licheniformis</i> F2.2 (ค) เมื่อใช้กลีเซอรอล 2% เป็นแหล่งคาร์บอน (ง) เมื่อใช้แป้ง 2% เป็นแหล่งคาร์บอน78
32	ผลของแหล่งคาร์บอนชนิดต่าง ๆ ต่อการลดลงของค่าแรงดึงผิว ของส่วนไสที่ได้จากน้ำเลี้ยงเชื้อ โดย <i>B. licheniformis</i> F2.279
33	ผลของปริมาณกลูโคส ต่อการลดลงของค่าแรงดึงผิว ของส่วนไส ที่ได้จากน้ำเลี้ยงเชื้อ เมื่อเลี้ยง <i>B. licheniformis</i> F2.2 ใน อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว ที่มีภาวะในการเลี้ยงดังกล่าวภายใต้รูปที่ 20 ปรับภาวะค่าความเป็นกรด-ด่าง ของอาหารเลี้ยงเชื้อเริ่มต้น 8.0 ด้วย 75 มิลลิโมลาร์ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 80

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
34.1 แสดงรูปแบบการเจริญ, การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง, ค่าแรงดึงผิวของส่วนไตที่ได้จากน้ำเลี้ยงเชื้อ และค่าแรงดึงผิวของส่วนไตที่ได้จากน้ำเลี้ยงเชื้อ เมื่อทำการเจือจาง 100 เท่า โดย <i>B. licheniformis</i> F2.2 (ก) เมื่อใช้กลูโคส 2% เป็นแหล่งคาร์บอน (ข) เมื่อใช้ไฮโดรไลสทร้าข้าว 2% (น้ำตาลรีคิวซ์) เป็นแหล่งคาร์บอน.....	82
34.2 แสดงรูปแบบการเจริญ, การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง, ค่าแรงดึงผิวของส่วนไตที่ได้จากน้ำเลี้ยงเชื้อ และค่าแรงดึงผิวของส่วนไตที่ได้จากน้ำเลี้ยงเชื้อ เมื่อทำการเจือจาง 100 เท่า โดย <i>B. licheniformis</i> F2.2 (ค) เมื่อใช้ไฮโดรไลสทร้าข้าว 2% (น้ำตาลรีคิวซ์) เป็นแหล่งคาร์บอน (ง) เมื่อใช้ไฮโดรไลสทร้าข้าว 2% (น้ำตาลรีคิวซ์) เป็นแหล่งคาร์บอน.....	83
35 ผลของปริมาณของไฮโดรไลสทร้าข้าวต่อการลดลงของค่าแรงดึงผิวของส่วนไตที่ได้จากน้ำเลี้ยงเชื้อ โดย <i>B. licheniformis</i> F2.2	85
36.1 แสดงรูปแบบการเจริญ, การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง, ค่าแรงดึงผิวของส่วนไตที่ได้จากน้ำเลี้ยงเชื้อ และค่าแรงดึงผิวของส่วนไตที่ได้จากน้ำเลี้ยงเชื้อ เมื่อทำการเจือจาง 100 เท่า โดย <i>B. licheniformis</i> F2.2 เลี้ยงจุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว ที่มี 2% ไฮโดรไลสทร้าข้าว (น้ำตาลรีคิวซ์) เป็นแหล่งคาร์บอน มีไนโตรเจน 0.85 กรัมต่อลิตร (ก) เมื่อใช้แอมโมเนียมไนเตรท (ข) เมื่อใช้แอมโมเนียมซัลเฟต.....	87

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
36.2	แสดงรูปแบบการเจริญ, การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง, ค่าแรงดึงผิวของส่วนใสที่ได้จากน้ำเลี้ยงเชื้อ และค่าแรงดึงผิวของส่วนใสที่ได้จากน้ำเลี้ยงเชื้อ เมื่อทำการเจือจาง 100 เท่า โดย <i>B. licheniformis</i> F2.2 เลี้ยงจุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว ที่มี 2% ไฮโดรไลเซตฟางข้าว (น้ำตาลรีดิวซ์) เป็นแหล่งคาร์บอน มีไนโตรเจน 0.85 กรัมต่อลิตร (ค) เมื่อใช้แอมโมเนียมคลอไรด์ (ง) เมื่อใช้โซเดียมไนเตรท 88
36.3	แสดงรูปแบบการเจริญ, การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง, ค่าแรงดึงผิวของส่วนใสที่ได้จากน้ำเลี้ยงเชื้อ และค่าแรงดึงผิวของส่วนใสที่ได้จากน้ำเลี้ยงเชื้อ เมื่อทำการเจือจาง 100 เท่า โดย <i>B. licheniformis</i> F2.2 เลี้ยงจุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว ที่มี 2% ไฮโดรไลเซตฟางข้าว (น้ำตาลรีดิวซ์) เป็นแหล่งคาร์บอน มีไนโตรเจน 0.85 กรัมต่อลิตร (จ) เมื่อใช้กากถั่วเหลือง (ฉ) เมื่อใช้กากเมล็ดฝ้าย 89
37	ผลของปริมาณแอมโมเนียมไนเตรทต่อการลดลงของค่าแรงดึงผิวของส่วนใสที่ได้จากน้ำเลี้ยงเชื้อ และค่าการกระจายน้ำมัน (oil displacement) โดย <i>B. licheniformis</i> F2.2 91
38	ผลของแหล่งแร่ชนิดต่าง ๆ ต่อการลดลงของค่าแรงดึงผิวของส่วนใสที่ได้จากน้ำเลี้ยงเชื้อ และค่าการกระจายน้ำมัน (oil displacement) โดย <i>B. licheniformis</i> F2.2 92
39	ผลของปริมาณแมงกานีสซัลเฟตต่อการลดลงของค่าแรงดึงผิวของส่วนใสที่ได้จากน้ำเลี้ยงเชื้อ และค่าการกระจายน้ำมัน (oil displacement) โดย <i>B. licheniformis</i> F2.2 93

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
40	แสดงรูปแบบการเจริญ, การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง, ค่าแรงดึงผิวของส่วนไอที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อ ค่าแรงดึงผิวของส่วนไอที่ได้จากน้ำเลี้ยงเชื้อ เมื่อทำการเจือจาง 100 เท่า และค่าการกระจายน้ำมัน โดย <i>B. licheniformis</i> F2.2 ในภาวะที่เหมาะสม 94
41	แสดงลักษณะอีมีลชัน ที่เกิดจากการผสมของน้ำเลี้ยงเชื้อ กับน้ำมันก๊าด 95
42	ผลของค่าความเป็นกรด-ด่างต่อความเสถียรของ ค่าแรงดึงผิวของส่วนไอที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อ โดย <i>B. licheniformis</i> F2.2 97
43	ผลของอุณหภูมิต่อความเสถียรของ ค่าแรงดึงผิวของส่วนไอที่ได้จากน้ำเลี้ยงเชื้อ โดย <i>B. licheniformis</i> F2.2 เมื่อนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 0 ^o ซ, 4 ^o ซ และอุณหภูมิห้อง (30+2 ^o)ซ 98
44	ผลของอุณหภูมิต่อความเสถียรของ ค่าแรงดึงผิวของส่วนไอที่ได้จากน้ำเลี้ยงเชื้อ โดย <i>B. licheniformis</i> F2.2 เมื่อนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 55 ^o ซ, 80 ^o ซ และอุณหภูมิ 100 ^o ซ 99
45	ผลของความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ต่อความเสถียรของค่าแรงดึงผิวของส่วนไอที่ได้จากน้ำเลี้ยงเชื้อ โดย <i>B. licheniformis</i> F2.2 100
46	ผลของการหาจุดวิกฤตของความเจือจาง (critical micelle dilution , CMD) ของค่าแรงดึงผิวของส่วนไอที่ได้จากน้ำเลี้ยงเชื้อ โดย <i>B. licheniformis</i> F2.2 102
47	โครมาโตแกรมจากการวิเคราะห์โดยวิธี HPLC ของสารมาตรฐาน เซอแฟกติน (A) และโครมาโตแกรมของสารลดแรงดึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดย <i>B. licheniformis</i> F2.2 (B) 104

คำย่อ

$^{\circ}\text{ซ}$	=	องศาเซลเซียส
ชม.	=	ชั่วโมง
ชม.	=	เซนติเมตร
มม.	=	มิลลิเมตร
มล.	=	มิลลิลิตร
$^{\circ}\text{C}$	=	องศาเซลเซียส
wk	=	สัปดาห์
%	=	เปอร์เซ็นต์
(w/v)	=	น้ำหนัก/ปริมาตร
ID	=	Inner diameter
RT	=	อุณหภูมิห้อง