

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

- กิตติพงษ์ ปวรางกูร. 2545. การผลิตพอลิ(3-ไฮดรอกซีบิวทิเรต-โค-3-ไฮดรอกซีวาเลอเรต) ที่มีสัดส่วนโดยโมลของ 3-ไฮดรอกซีวาเลอเรต โดยแบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus* sp.BA-019 ในถังหมัก วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- รัตนศิริ มุขิตากุล. 2538. การผลิตพอลิปีต้าไฮดรอกซีบิวทิเรต โดยแบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus* sp.BA-019 ที่แยกได้ วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- วนิดา วัฒนการุณ. 2536. การควบคุมกระบวนการสังเคราะห์พอลิ-เมต้า-ไฮดรอกซีอัลคาโนเอทใน *Alcaligenes eutrophus* ATCC 17697 วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- สุดา สุภาววินสวัสดิ์. 2542. ผลของขั้วเสถียรต่อสัดส่วนของ 3-ไฮดรอกซีวาเลอเรต ในพอลิ(3-ไฮดรอกซีบิวทิเรต-โค-3-ไฮดรอกซีวาเลอเรต) ซึ่งผลิตจาก *Bacillus* sp.BA-019 วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- อดิพล บุญเรืองถาวร. 2543. การผลิตพอลิ(3-ไฮดรอกซีบิวทิเรต) โดยการเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* sp.BA-019 แบบป้อน เป็นงวด 2 ขั้นตอน ภายใต้การจำกัดปริมาณไนโตรเจน วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาษาอังกฤษ

- Abe, H. and Doi, Y. 1999. structure effects on enzymatic degradabilities for poly[(R)-3-hydroxybutyric acid] and its copolymers. *J. Biol. Macromol.* 25:185-192.
- Amov, SR., Rayment, T., and Sanders, JKM. 1991. Poly(3-hydroxybutyrate) in vivo: NMR and X-ray characterization of the elastomeric state. *Macromolecules.* 24:4583-8.
- Anderson, A.J., and Dawes, E.A. 1990. Occurrence, metabolism, metabolic role, and industrial uses of bacterial polyhydroxyalkanoates. *Microbiol.Rev.* 54:450-472.

- Ausubel, F.A., Brent, R., Kingston, R.E., More, D.D., Seidman, J.G., Smith, J.A., and Struhl, K. 1999. Current Protocols in Molecular Biology. 4th ed. New York: John Wiley & Sons.
- Brandl, H., Gross, R.A., Lenz, R.W., and Fuller, R.C. 1990. Plastic from Bacteria and for bacteria : Poly(- β -hydroxyalkanoates) as natural, Biocompatible, and Biodegradable Polyesters. Adv. Biochem. Eng. Biotechnol. 41:77-93.
- Braunegg, G., Lefebvre, G., and Genser, K.F. 1998. Polyhydroxyalkanoates, biopolyesters from renewable resources: physiology and engineering aspects. J.Biotechnol. 65 :127-161.
- Burke, T., Chandrasekhar, B., and Knight, M. 1999. Analogs of viscosin and uses thereof. In: Official Gazette of the United States Patent and Trademark Office Patents. Washington D.C. U.S: Peptide Technologies Cooperation.
- Byrom, D. 1987. Polymer synthesis by microorganisms: technology and economics. Tibtech. 5:246-250.
- Chowdhury, AA. 1963. poly- β -hydroxybuttersaure abbauende Bakterien and Exoenzym. 47:167-200.
- Cox, M.K. 1994. Properties and applications of polyhydroxyalkanoates. Doi, Y. and Fukuda, K. (eds.), Biodegradable Plastics and Polymers. pp. 120-135. Elsevier Science B.V.
- Dawes, E.A., Senior, P.J. 1973. The role and regulation energy reserve polymers in microorganisms. Adv. Microbiol. Physiol. 10:135-266.
- Delafield, FP., Doudoroff, M., Palleroni, NJ., Lusty, CJ., and Contopoulos, R. 1965. Decomposition of poly- β -hydroxybutyrate by pseudomonads. 90:1455-66.
- Doi, Y.(ed.). 1990. Microbial polyesters. New York:VCH.
- Doi, Y., Segawa, A., Nakamura, S., Kunioka, M. 1992. IN:Dawes E.A. (ed.) Novel biodegradable microbial polymers, 2nd ed. Kluwer Academic Publishers, Dordercht, pp. 37-48.
- Doi, Y., Kitamanea, S. and Kideki, A. 1995. Microbial synthesis and characterization of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) Macromolecules. 28:4822-4828.

- Fishman, A., Eroshov, M., Dee-Noor, S.S., Mail, J.V., Cogan, U., and Effenberger, R. 2001. A two-step enzymatic resolution process for large-scale production of (s)- and (R)-ethyl-3-hydroxybutyrate. Biotechnol. And Bioeng. 74(3):256-263.
- Gao, H.J., Wu, Q. and Chen, G.Q. 2002. Enhanced production of D-(-)-3-hydroxybutyric acid by recombinant *Escherichia coli*. FEMS Microbiol. Lett. 213:59-65.
- Griebel, R., Smith, Z., and Merrick, JM. 1968. Metabolism of poly- β -hydroxybutyrate I. Purification, composition, and properties of native poly- β -hydroxybutyrate granules from *Bacillus megaterium*. Biochemistry. 7:3676-81.
- Hassan, M.A., Shiral, Y., Kusubayashi, N., and Hashimoto, K. 1996. Effect of organic acid profile during aerobic treatment of palm oil mill effluent on to production of polyhydroxyalkanoates by *Rhodobacter sphaeroides*. J. Ferment. Bioeng. 82:151-156.
- Haywood, G.W., Anderson, A.J., Chu, L., and Dawes, E.A. 1988. FEMS Microbiol. Lett. 52:259.
- Heinzle, E. and Lafferty, R.M. 1980. A kinetic model for growth and synthesis of poly(β -hydroxybutyric acid) (PHB) from *Alcaligenes eutrophus*. Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. 11:8-16.
- Jendrossek, D., Knoke, I., Jabibian, RB., Streinbuchel, A., and Schlegel, HG. 1996. Degradation of poly(3-hydroxybutyrate), PHB, by bacteria and purification of a novel PHB depolymerase from *Comamonas* sp. J. Environ Polym Degrad. 1:53-63.
- Kita, K., Ishimaru, K., Teraoka, M., Yanase, H. and Kato, N. 1995. Properties of poly(3-hydroxybutyrate) depolymerase from a marine bacterium, *Alcaligenes faecalis* AE122. Appl. Env. Micro. 61:1727-1730.
- Kasuya, K., Inoue, Y., Yamada, K. and Doi, Y. 1995. Kinetics of surface hydrolysis of poly[(R)-3-hydroxybutyrate] film by PHB depolymerase from *Alcaligenes faecalis* T1. Polymer Degradation and stability. 48:167-174.
- Kobayashi, T., Shiraki, M., Abe, T., Sugiyama, A. and Saito, T. 2003. Purification and properties of an intracellular 3-hydroxybutyrate-oligomer hydrolase (PhaZ2) in *Ralstonia eutropha* H16 and its identification as a novel intracellular poly(3-hydroxybutyrate) depolymerase. J. of Bact. 12:3485-3490.

- Kumar, A., Gross, R.A. and Jendrossek, D. 2000. Poly(3-hydroxybutyrate) depolymerase from *Pseudomonas lemoignei*: Catalysis of esterifications in organic media. J. org. Chem. 65:7800-7806.
- Lee, S.Y. 1996(a). Bacterial polyhydroxyalkanoates. Biotechnol. And Bioeng. 49:1-14.
- Lee, S.Y. 1996(b). Plastic bacteria? Progress and prospects for polyhydroxyalkanoate production in bacteria. Tibtech. 16:419-426.
- Lee, S.Y., Lee, Y., and Wang, F. 1999. Chiral compounds from bacterial polyesters: Sugars to plastics to fine chemicals. Biotechnol. And Bioeng. 65(3):363-368.
- Lee, S.Y. and Lee, Y. 2003. Metabolic engineering of *Escherichia coli* for production of enantiomerically pure (R)-(-)-hydroxycarboxylic acids. Appl. Env. Micro. 69:3421-3426.
- Lusty, C.J., and Doudoroff, M. 1963. Proc. Natl. Acad. Sci. 56:960.
- Lusty, C.J., and Doudoroff, M. 1966. Proc. Natl. Acad. Sci. 56:960.
- Madison, L.L., and Huisman, G.W. 1999. Metabolic engineering of poly(3-hydroxyalkanoates) from DNA to plastic. Microbiol.Mole.Biol.Rev. 63:21-53.
- Merrick, J.M., Doudoroff, M. 1964. Depolymerization of poly- β -hydroxybutyrate by an intracellular enzyme system. J. Bacteriol. 88:60-71.
- Merrick, J.M., Steger, R. and Dombroski, D. 1999. Hydrolysis of native poly(hydroxybutyrate) granules (PHB), crystalline PHB, and artificial amorphous PHB granules by intracellular and extracellular depolymerases. Int. J. Biol. Macromol. 25:129-134.
- Mukai, K., Yamada, K., and Doi, Y. 1993. J. Biol. Macromol. 14:235.
- Muller, B., and Jendrossek, D. 1993. Appl. Microbiol. Biotechnol. 38:487.
- Nakayama, K., Saito, T., Fukui, T., Shirakura, Y. and Tomita, K. 1985. Biochim. Biophys. Acta. 827:63.
- Oeding, V. and Schlegel, H.G. 1973. β -ketothiolase from H16 and its significance in the regulation of poly- β -hydroxybutyrate metabolism. Biochem. J. 134:239-248.
- Ohashi, T., Hasegawa, J. 1992. New preparative methods for optically active beta-hydroxycarboxylic acids. In: Sheldrake GN, Collins AN, Crosby J, editors. Chirality in industry. New York: John Wiley & Sons, p 249-268.
- Peypoux, F., Bonmatin, J.M., and Wallach, J. 1999. Recent trends in the biochemistry of surfactin. Appl Microbiol Biotechnol. 51:553-563.

- Quinteros, R., Goodwin, S., Lenz, R.W. and Park, W.H. 1999. Extracellular degradation of medium chain length poly(β -hydroxyalkanoates) by *Comamonas* sp. Bio. Macromol. 25:135-143.
- Roo, G., Michele, B., Kellerhals, Ren, Q., Witholt, B. and Kessler, B. 2002. Production of chiral R-3-hydroxyalkanoic acids and R-3-hydroxyalkanoic acid methylesters via hydrolytic degradation of polyhydroxyalkanoate synthesized by Pseudomonads. Biotechnol Bioeng. 77:717-722.
- Schirmer, A., Jendrossek, D., and Schlegel, HG. 1993. Degradation of poly (3-hydroxyoctanoic acid) [P(3HO)] by bacteria. Purification and properties of a P(3HO) depolymerase of *Pseudomonas fluorescens* GK13 biovar V. Appl. Environ Microbiol. 59:1220-7.
- Seebach, D., Bech, AK., Breitschuh, R., and Job, K. 1992. Direct degradation of the biopolymer poly[(R)-3-hydroxybutyric acid] to (R)-3-hydroxybutanoic acid and its methyl ester. Org Synth 71:39-47.
- Son, H., Park, G., and Lee, S. 1996. Growth-associated production of poly- β -hydroxybutyrate from glucose or alcoholic distillery wastewater by *Actinobacillus* sp. EL-9. Biotechnol. Lett. 18:1229-1234.
- Shirakura, Y., Fukui, T., Tanio, T., Nakayama, K., Matsuno, R., and Tomita, K. 1983. An extracellular D-(-)-3-hydroxybutyrate oligomer hydrolase from *Alcaligenes faecalis*. Biochim Biophys Acta. 748:331-9.
- Stephen, C. 2000. Pharmaceutical fine chemicals. Special report. 78 (28):63-80.
- Steinbuchel, A., and Valentin, H.E. 1995. Diversity of bacterial polyhydroxyalkanoic acid. FEMS Microbiol.Lett. 128:219-228.
- Suzuki, T., Deduchi H Yamane T., Shizu, S., and Gekko, K., Control molecular weight of poly-3-hydroxybutyric acid produced in fed-batch culture of *Protomonas extorquens*. Biotechnol. Lett. 18:1047-1050.
- Tanio, T., Fukui, T., Shirakura, Y., Saito, T., Tomita, K., Kaiho, T., Masamune S. 1982. Eur. J. Biochem. 124:71.
- Tomita, K., Saito, T., Fukui, T. 1983. Biochemistry of metabolic processes. New York: Elsevier. 353.

- Uefuji, M., Kasuya, K. and Doi, Y. 1997. Enzymatic degradation of poly[(R)-3-hydroxybutyrate] : secretion and properties of PHB depolymerase from *Pseudomonas stutzeri*. Polym. Degrad. Stab. 58:275-281.
- Valentin, H.E., Lee E.Y. and Stienbbuche, A. 1994. Identification of 4-hydroxyhexanoic acids as new constituent of biosynthesis polyhydroxyalkanoic acids from bacteria. Appl. Microbiol. Biotechnol. 36:710-716.
- Valentin, H.E., Zwingmann, G., Schonebaum, A., and Steinbuchel, A. 1995. Metabolic pathway for biosynthesis of Poly(3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate) from 4-hydroxybutyrate by *Alcaligenes eutrophus*. Eur. J. Biochem. 227:43-60.
- Yamada, K., Mukai, K., Doi, Y. 1993. Enzymatic degradation of poly(hydroxyalkanoates) by *Pseudomonas pickettii*. Int. J. Biol. Macromol. 15:215-220.



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาคผนวก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

การเตรียมกราฟมาตรฐาน และสารที่ใช้ในงานวิจัย

1. การเตรียมสารละลายอินเวอร์เทส (invertase)

1.1 สารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์

เตรียมจากการละลายโซเดียมอะซิเตต 9.1 กรัม ในน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร เติมกรดอะซิติก 1.9 มิลลิลิตร ปรับ pH เป็น 4.5 แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น

1.2 สารละลายอินเวอร์เทส

เตรียมจากการละลายเอนไซม์อินเวอร์เทส 0.15 กรัม ในสารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์ 100 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1

2. การเตรียมสารละลายเอนไซม์ยูรีเอส (urease)

2.1 สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์

เตรียมจากการละลายโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตไดไฮเดรต 3.28 กรัม กับโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.57 กรัม ในน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร ปรับ pH เป็น 6.1 แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 250 มิลลิลิตร

2.2 สารละลายเอนไซม์ยูรีเอส

เตรียมจากการละลายเอนไซม์ยูเรียเอส 1.75 กรัม ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 250 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1

3. การเตรียมสารละลายกรดไดไนโตรซาลิไซลิก (DNSA reagent)

สารละลายกรดไดไนโตรซาลิไซลิก เตรียมจากการละลายกรดไดไนโตรซาลิไซลิก 1.0 กรัม ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 โมลาร์ ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วเติมน้ำกลั่น ปริมาตร 50 มิลลิลิตร เติมนโปแตสเซียมโซเดียมคาร์เตรต 30 กรัม ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร เก็บในขวดสีชา

4. การเตรียมสารละลายวิเคราะห์โปรตีนด้วยวิธีของ Lowry

4.1 สารละลาย Lowry A

เตรียมจากการละลายโซเดียมคาร์บอเนต 20 กรัม, โซเดียมไฮดรอกไซด์ 4 กรัม และโซเดียมโปแตสเซียมทาร์เทต 0.2 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร

4.2 สารละลาย Lowry B

เตรียมจากการละลายคอร์ปเปอร์ซัลเฟตที่มีน้ำ 5 โมเลกุล 5 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร

4.3 สารละลาย Lowry C

เตรียมโดยการผสม Lowry A กับ Lowry B ในอัตราส่วน 50:1

4.4 สารละลาย Lowry D

เตรียมจากการผสมสารละลายฟอสฟอรัสกับน้ำกลั่น ในอัตราส่วน 1:1

5. สารละลายที่ใช้ในการสกัดเอ็นเอ

5.1 lysis buffer I

น้ำตาลซูโคส	25	เปอร์เซ็นต์
ไลโซไซม์ (lysozyme) เข้มข้น	10	มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

TES บัฟเฟอร์ pH 8.0 ประกอบด้วย

- Trisma base	50	มิลลิโมลาร์
- EDTA	5.0	มิลลิโมลาร์
- NaCl	50	มิลลิโมลาร์

ผสมให้เข้ากัน นำไปทำให้ปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

5.2 lysis buffer II

SDS	0.8	เปอร์เซ็นต์
โปรตีนเอส เค (Proteinase K) เข้มข้น	5.0	มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

TEN บัฟเฟอร์ pH 7.5 ประกอบด้วย

- Trisma base	10	มิลลิโมลาร์
- EDTA	1.0	มิลลิโมลาร์
- NaCl	10	มิลลิโมลาร์

ผสมให้เข้ากัน นำไปทำให้ปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ข

สูตรคำนวณ

1. การคำนวณน้ำหนักเซลล์แห้ง

$$\text{น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)} = \frac{\text{น้ำหนักถ้วยที่มีเซลล์} - \text{น้ำหนักถ้วยเปล่า}}{10} \times 100$$

2. การคำนวณปริมาณ PHB จากการวิเคราะห์ด้วยวิธีก๊าซโครมาโตกราฟี

$$\begin{aligned} \text{ปริมาณ PHB (กรัมต่อลิตร)} \\ = \frac{\text{ค่าจากการวิเคราะห์ (กรัมต่อลิตร)} \times \text{น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)}}{20} \end{aligned}$$

3. การคำนวณปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

$$\text{ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)} = \text{OD540} \times \text{ความชัน} \times \text{ค่าการเจือจาง}$$

4. การหาปริมาณยูเรียในน้ำหมัก

$$\text{ปริมาณยูเรีย (กรัมต่อลิตร)} = \text{OD636} \times \text{ความชัน} \times \text{ค่าการเจือจาง} \times \frac{60}{28} \times 10^{-3}$$

หมายเหตุ 60 คือ น้ำหนักโมเลกุลของยูเรีย

28 คือ น้ำหนักโมเลกุลของธาตุไนโตรเจนในยูเรีย

5. การคำนวณปริมาณโปรตีน

$$\text{ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)} = \frac{\text{OD660} \times \text{ความชัน} \times \text{ค่าการเจือจาง}}{1000}$$

1000

6. การคำนวณน้ำหนักเซลล์แห้งเพื่อใช้วิเคราะห์หาปริมาณโมโนเมอร์

น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร) = OD600 × ความชัน × ค่าการเจือจาง

7. การคำนวณความเข้มข้นกรดอาร์(-)-3-ไฮดรอกซีบิวไทริก

ความเข้มข้นกรดอาร์(-)-3-ไฮดรอกซีบิวไทริก (กรัมต่อลิตร)

$$= \frac{\text{พื้นที่ใต้กราฟกรดอาร์(-)-3-ไฮดรอกซีบิวไทริก}}{\text{พื้นที่ใต้กราฟกรดมาเลอิก}} \times \frac{1}{\text{ความชัน}} \times 1 \times 1$$

หมายเหตุ 5 คือ ปริมาตรของตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

8. การคำนวณ activity ของ NADH

$$\text{activity ของ NADH (ไมโครโมล/นาที)} = \frac{\Delta \text{OD}_{340}}{\Delta t} \times 60 \times \frac{1}{\text{slope}} \times \frac{0.2}{0.03}$$

หมายเหตุ 60 คือ เปลี่ยนหน่วยวินาทีเป็นนาที

0.2 คือ ปริมาตรรวมทั้งหมดในปฏิกิริยา (มิลลิลิตร)

0.03 คือ ปริมาตรของเอนไซม์ในปฏิกิริยา (มิลลิลิตร)

9. การคำนวณ total activity ของ NADH

Total activity (ไมโครโมล/นาที/มิลลิลิตร) = (activity ของ NADH)(ปริมาตรของเอนไซม์)

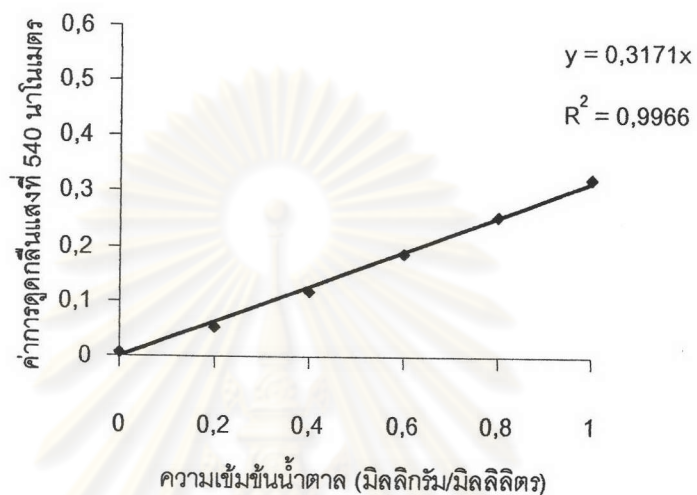
10. การคำนวณ specific activity ของ NADH

specific activity (U/มิลลิกรัมโปรตีน) = $\frac{\text{activity ของ NADH}}{\text{มิลลิกรัมโปรตีน}}$

ภาคผนวก ค

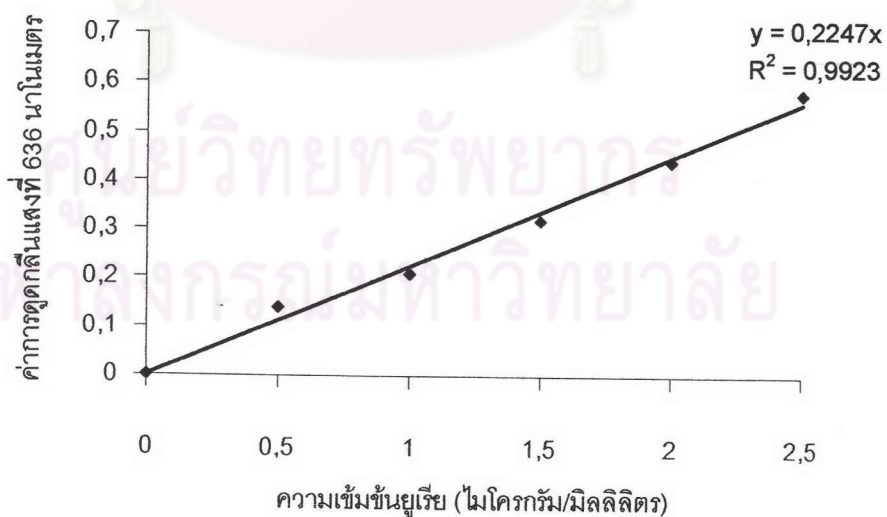
กราฟมาตรฐาน

1. กราฟมาตรฐานของน้ำตาลรีดิวซิ่ง



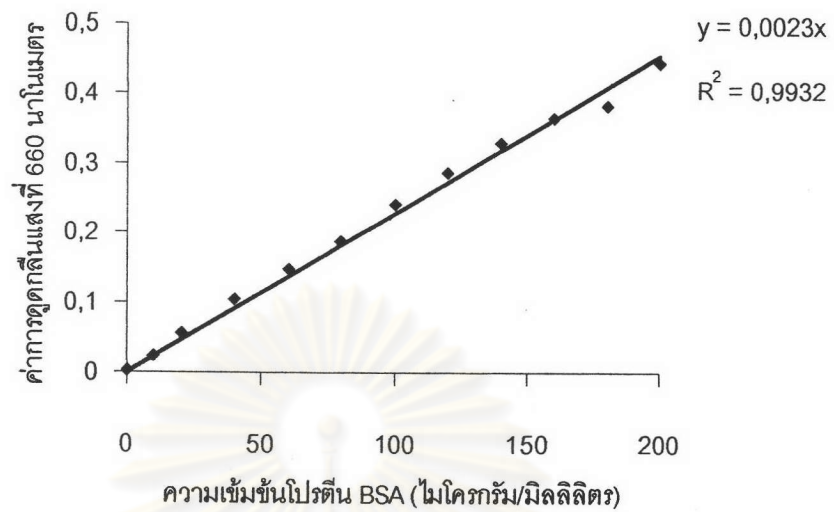
กราฟมาตรฐานของน้ำตาลรีดิวซิ่งในช่วง 0-1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าความชันเท่ากับ 0.3171

2. กราฟมาตรฐานของยูเรีย



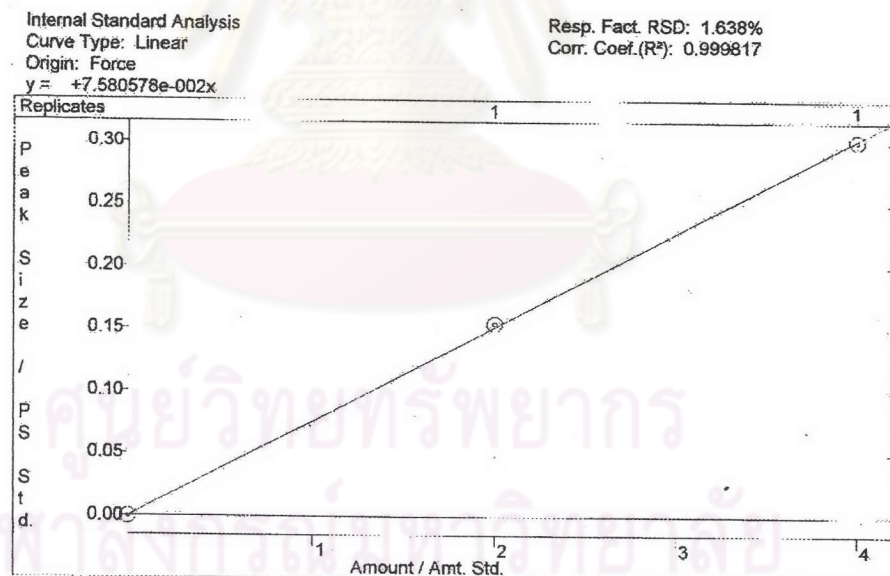
กราฟมาตรฐานของยูเรียในช่วง 0-2.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าความชันเท่ากับ 0.2247

3.กราฟมาตรฐานโปรตีนวิเคราะห์ด้วยวิธีของ Lowry



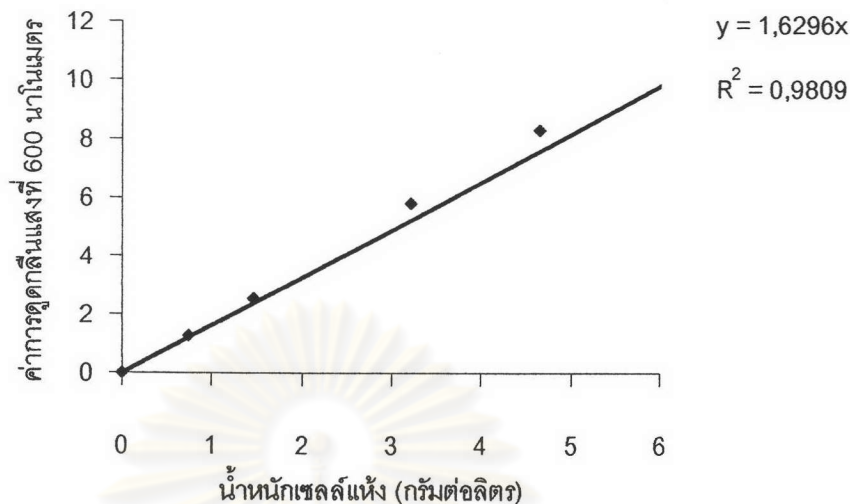
กราฟมาตรฐานของโปรตีนในช่วง 0-200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีความชันเท่ากับ 0.0023

4.กราฟมาตรฐานโมโนเมอร์ 3-ไฮดรอกซีบิวทิเรตวิเคราะห์ด้วยวิธี GC



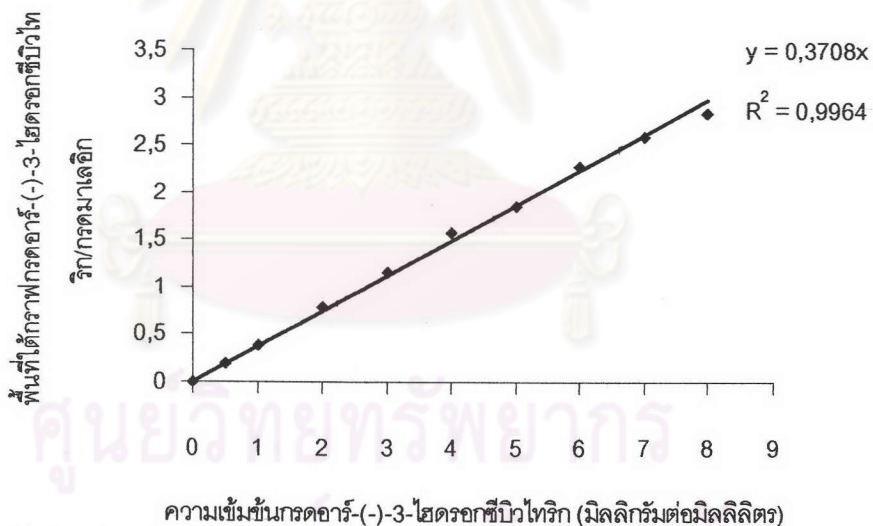
กราฟมาตรฐานโมโนเมอร์ 3-ไฮดรอกซีบิวทิเรต ความเข้มข้น 0-4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

5. กราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร กับน้ำหนักเซลล์แห้ง



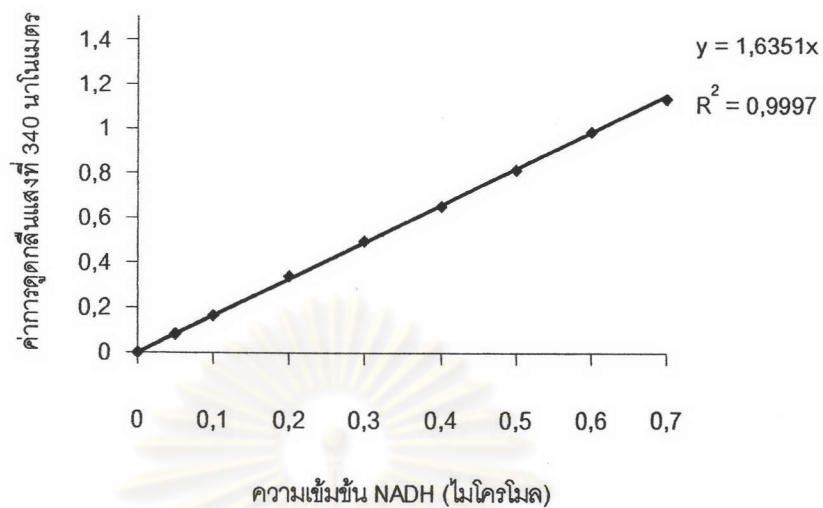
กราฟมาตรฐานน้ำหนักเซลล์แห้งในช่วง 1-6 กรัมต่อลิตร มีความชันเท่ากับ 1.6296

6. กราฟมาตรฐานกรดอาร์(-)-3-ไฮดรอกซีบิวไทริกวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC



กราฟมาตรฐานกรดอาร์(-)-3-ไฮดรอกซีบิวไทริก ความเข้มข้น 0-8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีความชันเท่ากับ 0.3708

7.กราฟมาตรฐาน NADH

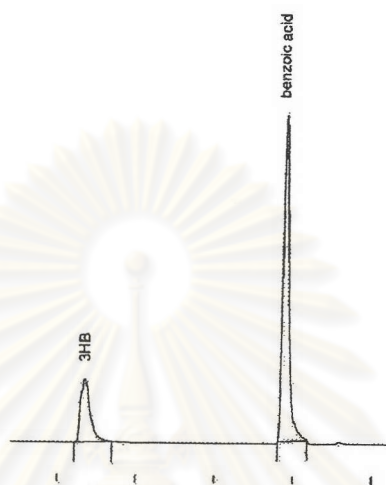


กราฟมาตรฐาน NADH ความเข้มข้น 0-0.7 ไมโครโมล มีความชันเท่ากับ 1.6351

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ง

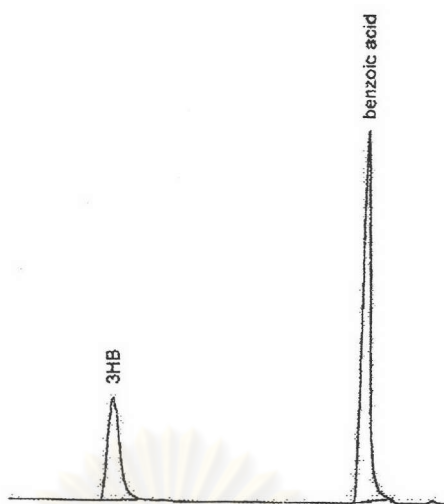
ตัวอย่างโครมาโตแกรม



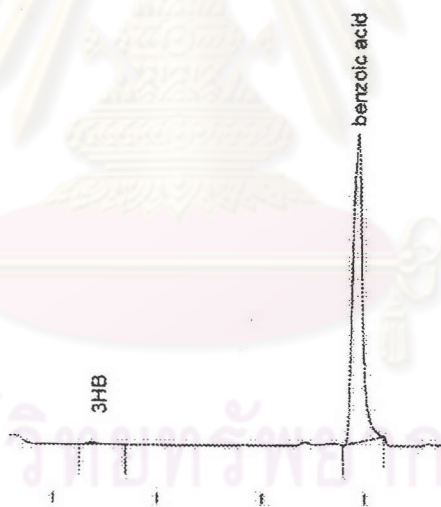
โครมาโตแกรมสารมาตรฐาน 3-ไฮดรอกซีบีวไทเรต (3HB) วิเคราะห์ด้วยวิธี GC



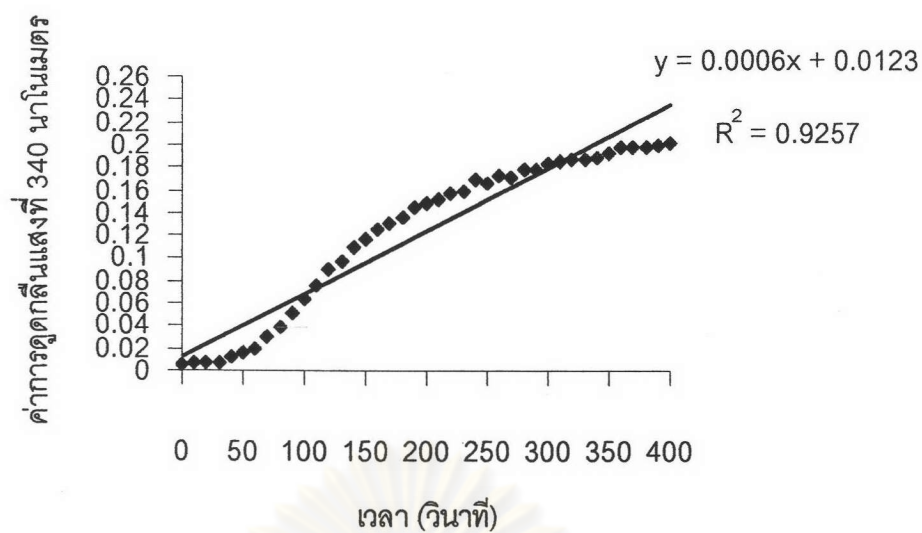
ตัวอย่างโครมาโตแกรมของ PHB จาก *Bacillus* sp. BA-019 วิเคราะห์ด้วยวิธี GC



ตัวอย่างโครมาโตแกรมของ PHB จาก *Bacillus* sp. BA-019 หลังจากการดีพอลิเมอไรเซชันที่ 37 องศาเซลเซียส, pH 4.0 เป็นเวลา 72 ชั่วโมง วิเคราะห์ด้วยวิธี GC



ตัวอย่างโครมาโตแกรมของ PHB จาก *Bacillus* sp. BA-019 หลังจากการดีพอลิเมอไรเซชันที่ 37 องศาเซลเซียส, pH 5.5 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง วิเคราะห์ด้วยวิธี GC



ตัวอย่างผลของการวัดค่า OD340 เพื่อศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ R3HB dehydrogenase ในเซลล์ของ *Bacillus* sp. BA-019 ด้วยวิธี spectrometry

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ 16S rDNA ของ *Bacillus* sp. BA-019 กับ Gene Bank

>gi|45934528|gb|AY505511.1| *Bacillus megaterium* strain GSP55 16S ribosomal RNA gene, partial sequence
Length = 1507

Score = 2825 bits (1425), Expect = 0.0
Identities = 1469/1476 (99%), Gaps = 6/1476 (0%)
Strand = Plus / Plus

Query: 2 ggcgtgcctaatacatgcaacgtcgagcgaactgattagaagcttgcttctatgacgtta 61
 |||||
Sbjct: 15 ggcgtgcctaatacatgcaa-gtcgagcgaactgattagaagcttgcttctatgacgtta 73

Query: 62 gcggcggacgggtgagtaaacgctgggcaacctgcctgntaagactgggataacttcggg 121
 |||||
Sbjct: 74 gcggcggacgggtgagtaaacgctgggcaacctgcctg-taagactgggataacttcggg 132

Query: 122 aaaccgaagctaataaccggataggatcttctccttcatgggagatgattgaaagatggtt 181
 |||||
Sbjct: 133 aaaccgaagctaataaccggataggatcttctccttcatgggagatgattgaaagatggtt 192

Query: 182 tcggctatcacttacagatgggcccggtgcattagctagttaggtgaggtaacggctca 241
 |||||
Sbjct: 193 tcggctatcacttacagatgggcccggtgcattagctagttaggtgaggtaacggctca 252

Query: 242 ccaaggcaacgatgcatagccgacctgagagggatcggccacactgggactgagacac 301
 |||||
Sbjct: 253 ccaaggcaacgatgcatagccgacctgagagggatcggccacactgggactgagacac 312

Query: 302 ggcccagactcctacgggaggcagcagtagggaatcttccgcaatggacgaaagtctgac 361
 |||||
Sbjct: 313 ggcccagactcctacgggaggcagcagtagggaatcttccgcaatggacgaaagtctgac 372

Query: 362 ggagcaacgcccgtgagtgatgaaggctttcgggtcgtaaaactctgttgtagggaag 421
 |||||
Sbjct: 373 ggagcaacgcccgtgagtgatgaaggctttcgggtcgtaaaactctgttgtagggaag 432

Query: 422 aacaagtacgagagtaactgctcgtaccttgtagcgtacctaaccagaaagccacggcta 481
 |||||
Sbjct: 433 aacaagtangagagtaactgctcgtaccttg-acggtacctaaccagaaagccacggcta 491

Query: 482 actacgtgccagcagccgcgntaatacgtaggtggcaagcgttatccggaattattggg 541
 |||||
Sbjct: 492 actacgtgccagcagccgcg-taatacgtaggtggcaagcgttatccggaattattggg 550

Query: 542 cgtaaagcgcgcgaggcggtttcttaagtctgatgtgaaagccacggctcaaccgtgg 601
 |||||
Sbjct: 551 cgtaaagcgcgcgaggcggtttcttaagtctgatgtgaaagccacggctcaaccgtgg 610

Query: 602 agggtcattggaactggggaacttgagtgacagaagagaaaagcggaattccacgtgtag 661
|||||
Sbjct: 611 agggtcattggaactggggaacttgagtgacagaagagaaaagcggaattccacgtgtag 670

Query: 662 cggtgaaatgcgtagagatgtggaggaacaccagtgccgaagggccttttggctgta 721
|||||
Sbjct: 671 cggtgaaatgcgtagagatgtggaggaacaccagtgccgaagggccttttggctgta 730

Query: 722 actgacgctgaggcgcgaaagcgtggggagcaaacaggattagataccctggtagtccac 781
|||||
Sbjct: 731 actgacgctgaggcgcgaaagcgtggggagcaaacaggattagataccctggtagtccac 790

Query: 782 gccgtaaacgatgagtgctaagtgttagaggggttccgccctttagtgctgcagctaacg 841
|||||
Sbjct: 791 gccgtaaacgatgagtgctaagtgttagaggggttccgccctttagtgctgcagctaacg 850

Query: 842 cattaagcactccgctggggagtagcgtgcgaagactgaaactcaaaggaattgacggg 901
|||||
Sbjct: 851 cattaagcactccgctggggagtagcgtgcgaagactgaaactcaaaggaattgacggg 910

Query: 902 ggcccgcaaacggtggagcatgtggttaattcgaagcaacgcaagaaccttaccag 961
|||||
Sbjct: 911 ggcccgcaaacggtggagcatgtggttaattcgaagcaacgcaagaaccttaccag 970

Query: 962 gtcttgacatcctctgacaactctagagatagagcgttccccttcgggggacagagtgc1021
|||||
Sbjct: 971 gtcttgacatcctctgacaactctagagatagagcgttccccttcgggggacagagtgc1030

Query: 1022 aggtggtgcatggttgcgtcagctcgtgctgagatggtgggtaagtcccgcaacga1081
|||||
Sbjct: 1031 aggtggtgcatggttgcgtcagctcgtgctgagatggtgggtaagtcccgcaacga1090

Query: 1082 gcgcaacccttgatcttagttgccagcatttagttgggcaactctaaggtgactgccggtg1141
|||||
Sbjct: 1091 gcgcaacccttgatcttagttgccagcatttagttgggcaactctaaggtgactgccggtg1150

Query: 1142 acaaaccggaggaaggtggggatgacgtcaaatcatcatgcccttatgacctgggctac1201
|||||
Sbjct: 1151 acaaaccggaggaaggtggggatgacgtcaaatcatcatgcccttatgacctgggctac1210

Query: 1202 acacgtgctacaatggatggtataaaagggctgcaagaccgaggtcaagccaatcccat1261
|||||
Sbjct: 1211 acacgtgctacaatggatggtataaaagggctgcaagaccgaggtcaagccaatcccat1270

Query: 1262 aaaaccattctcagttcggattgtaggctgcaactcgctacatgaagctggaatcgcta1321
|||||
Sbjct: 1271 aaaaccattctcagttcggattgtaggctgcaactcgctacatgaagctggaatcgcta1330

Query: 1322 gtaatcgcgatcagcatgccggtgaaatcggtcccggccttgacacaccgcccg1381
|||||
Sbjct: 1331 gtaatcgcgatcagcatgccggtgaaatcggtcccggccttgacacaccgcccg1390

Query: 1382 cacaccancgagagtttgtaacacccgaagtcggtggagtaaccgtaaggagctagccgc1441
||||||| |||||||
Sbjct: 1391 cacacca-cgagagtttgtaacacccgaagtcggtggagtaaccgtaaggagctagccgc1449

Query: 1442 ctaaggtgggacagatgaattggggtgaagtcgtaa 1477
||||||| |||||||
Sbjct: 1450 ctaaggtgggacagatg-attggggtgaagtcgtaa 1484



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก จ

ผลทางสถิติ

ตารางที่ 17 ค่าทางสถิติของปริมาณไนโตรเจนในน้ำ R3HB เมื่อบ่มสารผสมปฏิกิริยาในน้ำที่แปรค่าอุณหภูมิ, ค่า pH เริ่มต้นเท่ากับ 7.0 เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

Means

Case Processing Summary

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
R3HB * TEMP	54	100.0%	0	.0%	54	100.0%

Report

R3HB

TEMP	Mean	N	Std. Deviation
30.00	.2829	18	9.289E-02
37.00	.3548	18	9.470E-02
45.00	.3676	18	9.942E-02
Total	.3351	54	.1011

Oneway

ANOVA

R3HB

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7.496E-02	2	3.748E-02	4.091	.022
Within Groups	.467	51	9.160E-03		
Total	.542	53			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

R3HBDuncan^a

TEMP	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
30.00	18	.2829	
37.00	18		.3548
45.00	18		.3676
Sig.		1.000	.689

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 18.000.



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 18 ค่าทางสถิติของปริมาณโมโนเมอร์ R3HB เมื่อบ่มสารผสมปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส แปรผันค่า pH ในช่วงเท่ากับ 4.0-9.0 เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

Means

Case Processing Summary

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
R3HB * PH	162	100.0%	0	.0%	162	100.0%

Report

R3HB

PH	Mean	N	Std. Deviation
4.00	1.556E-03	18	5.873E-03
4.50	6.494E-02	18	6.121E-03
5.00	.3291	18	7.193E-02
5.50	1.6236	18	5.106E-02
6.00	1.3544	18	.4938
6.50	.4069	18	.2432
7.00	.2928	18	7.598E-02
8.00	.2656	18	.1000
9.00	.2398	18	.1122
Total	.5087	162	.5746

Oneway

ANOVA

R3HB

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	47.392	8	5.924	157.189	.000
Within Groups	5.766	153	3.769E-02		
Total	53.158	161			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

R3HBDuncan^a

PH	N	Subset for alpha = .05				
		1	2	3	4	5
4.00	18	1.556E-03				
4.50	18	6.494E-02				
9.00	18		.2398			
8.00	18		.2656			
7.00	18		.2928	.2928		
5.00	18		.3291	.3291		
6.50	18			.4069		
6.00	18				1.3544	
5.50	18					1.6236
Sig.		.327	.212	.095	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 18.000.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวกุสุมา กมลจรัสโสภา เกิดวันที่ 20 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2522 จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต เกียรตินิยมอันดับหนึ่ง ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทั่วไป คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เมื่อปีการศึกษา 2543 และเข้าศึกษาต่อในระดับบัณฑิตศึกษา สาขาจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2544 ระหว่างการศึกษาได้ร่วมเสนอผลงานในงานจุฬาวิชาการครั้งที่ 9 ผลการทดลองส่วนหนึ่งได้เผยแพร่ในงาน BIOTECH 2004 ณ จังหวัดเชียงใหม่ และงานประชุมวิชาการครั้งที่ 12 ณ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย