การสังเคราะห์พอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอต จากอาหารที่มีกลูโคสและออกตาโนเอต โดย *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347

นาย อรรถกร ปาละสุวรรณ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีทางชีวภาพ
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2541

ISBN 974-639-688-9

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I19328813

PRODUCTION OF POLYHYDROXYALKANOATES FROM CULTURE MEDIUM WITH GLUCOSE AND OCTANOATE BY *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347

Mr. Attakorn Palasuwan

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Biotechnology
Program of Biotechnology
Graduate School
Chulalongkorn University
Academic Year 1998

ISBN 974-639-688-9

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การสังเคราะห์พอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอต จากอาหารที่มีกลูโคสและออกตาโนเอต โดย *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347
โดย	นายอรรถกร ปาละสุวรรณ
สาขาวิชา	เทคโนโลยีทางชีวภาพ
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร. โสภณ เรืองสำราญ
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปิยพร ณ นคร

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ ศุภวัฒน์ ชุติวงศ์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา

(รองศาสตราจารย์ ดร. โสภณ เรืองสำราญ)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปิยพร ณ นคร)

..... กรรมการ

(อาจารย์ ดร.นาตยา งามโรจนวณิชย์)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

อรรถกร ปาละสุวรรณ : การสังเคราะห์พอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอตจากอาหารที่มีกลูโคสและออกตาโนเอตโดย *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 (PRODUCTION OF POLYHYDROXYALKANOATES FROM CULTURE MEDIUM WITH GLUCOSE AND OCTANOATE BY *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347) อ.ที่ปรึกษา: รศ. ดร. โสภณ เธียรสำราญ, อ. ที่ปรึกษาร่วม: ผศ. ดร. ปิยพร ณ นคร, 106 หน้า. ISBN 974-639-688-9

ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรเกลือแร่ E ที่มีแหล่งคาร์บอน 3 รูปแบบ คือ กลูโคส (10 กรัม/ลิตร), โซเดียมออกตาโนเอต (10 มิลลิโมลาร์ หรือ 1.66 กรัม/ลิตร) และกลูโคส (10 กรัม/ลิตร) ร่วมกับโซเดียมออกตาโนเอต (10 มิลลิโมลาร์) แล้วติดตามการเจริญควบคู่กับการสังเคราะห์สารชีวภาพทั้ง 3 ประเภท พบว่าในอาหารที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนอย่างเดียว เซลล์จะสังเคราะห์สารชีวภาพดังนี้ คือ PHA ได้ปริมาณสูงสุดประมาณ 13.8 กรัมเปอร์เซนต์ต่อน้ำหนักแห้ง(%w/w) ซึ่งต่ำที่สุดในกลุ่ม, EPS ได้ปริมาณสูงสุดประมาณ 8 กรัม/ลิตร หรือ 0.8 %w/v, กรดซัคซินิค 2.67 มิลลิโมลาร์ และกรดอะซิติก 2.27 มิลลิโมลาร์ ในชั่วโมงที่ 24 ของการหมัก ในอาหารที่มีโซเดียมออกตาโนเอตเป็นแหล่งคาร์บอน เซลล์จะสังเคราะห์สารชีวภาพได้เพียงชนิดเดียว คือ PHA ได้ปริมาณสูงสุดประมาณ 33.3 กรัมเปอร์เซนต์ต่อน้ำหนักแห้ง(%w/w) ซึ่งสูงที่สุดในกลุ่มในชั่วโมงที่ 30 ของการหมัก ไม่พบการสร้าง EPS และพบกรดอินทรีย์ในอัตราที่ต่ำมาก ส่วนในอาหารที่มีกลูโคสร่วมกับโซเดียมออกตาโนเอตเป็นแหล่งคาร์บอน เซลล์จะสังเคราะห์สารชีวภาพดังนี้ คือ PHA ได้ปริมาณสูงสุดประมาณ 26.9 กรัมเปอร์เซนต์ต่อน้ำหนักแห้ง(%w/w), EPS ได้ปริมาณสูงสุดประมาณ 12 กรัมต่อลิตรหรือ 1.2 %w/v ซึ่งสูงที่สุดในกลุ่ม, กรดซิตริก 1.09 มิลลิโมลาร์ และกรดอะซิติก 7.82 มิลลิโมลาร์ ในชั่วโมงที่ 24 ของการหมัก พบว่ารูปแบบการสังเคราะห์ PHA และ EPS ในอาหารทั้ง 3 สูตรมีลักษณะคล้ายกันคือ เซลล์สามารถสร้าง PHA และ EPS ได้ในช่วงการเจริญแบบทวีคูณได้ปริมาณสูงสุดเมื่อเซลล์เริ่มเข้าสู่ระยะการเจริญคงที่ หลังจากนั้นความสามารถของการสังเคราะห์จะลดลงเมื่อเซลล์เข้าสู่ระยะการเจริญคงที่

ภาควิชา – ลายมือชื่อนิสิต อรรถกร ปาละสุวรรณ

สาขาวิชา เทคโนโลยีทางชีวภาพ ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

ปีการศึกษา 2541 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

3972408023: MAJOR BIOTECHNOLOGY
KEY WORD: POLYHYDROXYALKANOATES/ GLUCOSE/ OCTANOATE/ *Pseudomonas oleovorans*

ATTAKORN PALASUWAN : PRODUCTION OF POLYHYDROXYALKANOATES FROM CULTURE MEDIUM WITH GLUCOSE AND OCTANOATE BY *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347. THESIS ADVISOR: ASSO. PROF. SOPHON ROENGSUMRAN, Ph.D. , THESIS CO-ADVISOR : ASSIST. PROF. BYAPORN NA NAGARA, Ph.D. , 106 pp. ISBN 974-639-688-9

Pseudomonas oleovorans ATCC 29347 was cultured in mineral salts medium (modified E medium) containing three carbon sources, glucose (10 g/l), sodium octanoate (10 mM or 1.66 g/l) and glucose (10 g/l) plus sodium octanoate (10 mM). The growth and biological substance synthetic pattern was compared to the cultivation in various carbon sources. In mineral salts medium containing with glucose, *P. oleovorans* produced 13.8 g% per lyophilized cells (%w/w) polyhydroxyalkanoates (PHA) (the lowest in this group), exopolysaccharides (EPS) 8 g/l or 0.8 %w/v, succinic acid 2.67 mM and acetic acid 2.27 mM at 24th hours of fermentation. In mineral salts medium containing with sodium octanoate, *P. oleovorans* was produced 33.3 g% per lyophilized cells (%w/w) PHA (the highest in this group) only, in 30th hours of fermentation, no EPS was found at this time, and organic acid is very low. In mineral salts medium containing glucose plus sodium octanoate, *P. oleovorans* was produced 26.9 g% per lyophilized cells (%w/w) PHA, EPS 12 g/l or 1.2%w/v (the highest in this group), citric acid 1.09 mM and acetic acid 7.82 mM in 24th hours of fermentation. The biosynthesis period of PHA and EPS for the three formula are similar. PHA and EPS are highest at the end of the log phase and diminish when the cell enter stationary phase.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา - ลายมือชื่อนิสิต

สาขาวิชา เทคโนโลยีทางชีวภาพ ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

ปีการศึกษา 2541 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. โสภณ เรืองสำราญ อาจารย์ที่ปรึกษา และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปิยพร ณ นคร อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่ได้ให้ความรู้ คำแนะนำ ข้อคิดเห็นต่างๆในการวิจัย และตรวจวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสำเร็จลุล่วงด้วยดี กราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ อาจารย์ ดร. นาตยา งามโรจนวณิชย์ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อมร เพชรสม รองศาสตราจารย์ ดร.วินัย ดะห์ลัน และคณาจารย์ในหลักสูตรเทคโนโลยีทางชีวภาพ ที่ได้ให้ความรู้ คำแนะนำ ข้อคิดเห็นต่างๆในการวิจัยจนสำเร็จลุล่วงด้วยดี กราบขอบพระคุณคณาจารย์และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ในคณะสหเวชศาสตร์ ที่ได้ให้ความสะดวกและความช่วยเหลือทางด้านสารเคมี เครื่องมือ อุปกรณ์การทดลอง ตลอดจนสถานที่ทำงานวิจัย ขอขอบคุณสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ(สวทช.) สำหรับความอนุเคราะห์ด้านทุนการศึกษาและทุนวิจัย ขอขอบคุณเพื่อน พี่ และน้องในหลักสูตรเทคโนโลยีทางชีวภาพ ในภาควิชาจุลชีววิทยา และในคณะสหเวชศาสตร์ สำหรับกำลังใจความช่วยเหลือและคำแนะนำต่างๆในการวิจัย

ท้ายที่สุดขอกราบขอบพระคุณบุพการีที่ได้ให้การสนับสนุนทางการศึกษา กำลังใจ ความรัก และความช่วยเหลือมาโดยตลอดระยะเวลาการศึกษา

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... จ
กิตติกรรมประกาศ..... ฉ
สารบัญตาราง..... ญ
สารบัญรูป..... ฏ
คำย่อ.....ฑ
บทที่
1 บทนำ..... 1
2 วิธีการทดลอง..... 23
2.1 ครุภัณฑ์..... 23
2.2 วัสดุและเคมีภัณฑ์..... 24
2.2.1 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง..... 24
2.2.2 เคมีภัณฑ์.....25
2.3 อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์.....26
2.4 การเตรียมสารละลาย.....27
2.5 วิธีการเก็บรักษาจุลินทรีย์.....27
2.6 วิธีการเลี้ยงและวัดการเจริญของจุลินทรีย์..... . 28
2.7 การย้อมดูลักษณะรูปร่างเซลล์..... 29
2.8 วิธีการเก็บตัวอย่างเพื่อนำไปวิเคราะห์ PHA และ EPS..... 30
2.9 วิธีการสกัดแยกPHAจาก*Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 และการทำให้บริสุทธิ์..... 30
2.10 วิธีการวิเคราะห์สัดส่วนพอลิเมอร์ (polymer content)ของ PHA.....31
2.11 วิธีการวิเคราะห์ EPS จากน้ำหมัก..... 32
2.12 วิธีการสกัดแยก EPS จาก*Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 และการทำให้บริสุทธิ์..... 33
2.13 การวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสในน้ำหมัก..... 34
2.14 วิธีการวิเคราะห์สารชีวภาพประเภทกรดอินทรีย์จากน้ำหมัก..... 34

สารบัญ(ต่อ)

บทที่ หน้า

3 ผลการทดลอง..... 37

3.1 รูปแบบการเจริญของ *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรอุดม..... 38

3.2 การศึกษาแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการเจริญ..... 38

3.3 รูปแบบการเจริญของ *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรเกลือแร่ E ในแหล่งคาร์บอนทั้ง 3 ชนิด..... 40

3.4 รูปแบบการเจริญและการผลิต PHA ของ *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรเกลือแร่ E เมื่อใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน 40

3.5 รูปแบบการเจริญและการผลิต PHA ของ *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรเกลือแร่ E เมื่อใช้กลูโคสร่วมกับโซเดียมออกตาโนเอตเป็นแหล่งคาร์บอน 41

3.6 รูปแบบการเจริญและการผลิต PHA ของ *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรเกลือแร่ E เมื่อใช้ โซเดียมออกตาโนเอตเป็นแหล่งคาร์บอน 43

3.7 รูปแบบการผลิต EPS ของ *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรเกลือแร่ E เมื่อใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน..... 49

3.8 รูปแบบการผลิต EPS ของ *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรเกลือแร่ E เมื่อใช้ กลูโคสร่วมกับโซเดียมออกตาโนเอตเป็นแหล่งคาร์บอน..... 49

3.9 เปรียบเทียบรูปแบบการผลิต PHA ของ *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรเกลือแร่ Eในแหล่งคาร์บอนทั้ง 3 ชนิด..... 49

3.10 เปรียบเทียบรูปแบบการผลิต EPSของ *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรเกลือแร่ E ในแหล่งต้นตอคาร์บอนทั้ง 3 ชนิด.....56

3.11 ผลการวิเคราะห์สัดส่วนพอลิเมอร์ที่สกัดได้.....56

สารบัญ (ต่อ)

บทที่ หน้า

3.12 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบใน EPS จาก *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 57

3.13 การวิเคราะห์สารชีวภาพประเภทกรดอินทรีย์จากน้ำหมัก.....57

3.14 การวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของสารชีวภาพที่สกัดได้..... 58

4 วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง..... 64

รายการอ้างอิง..... 82

ภาคผนวก 88

ประวัติผู้เขียน.....106

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1-1 จุลินทรีย์ที่สามารถสังเคราะห์ PHB ในธรรมชาติได้.....7

1-2 คุณสมบัติทางกายภาพของ PHA และ PHB 8

1-3 เปรียบเทียบคุณสมบัติของพอลิเมอร์ชนิดต่างๆ 9

1-4 องค์ประกอบของ PHA ที่ผลิตโดย *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 เมื่อเจริญใน อัลเคน กรดอัลคาโนอิค และแอลกอฮอล์ 15

1-5 exopolysaccharides ที่สร้างจาก mushroom production-associated fluorescent pseudomonads 20

2-1 ครุภัณฑ์ที่ใช้ในการทดลอง 23

2-2 เคมีภัณฑ์ที่ใช้ในการทดลอง 25

2-3 สภาวะที่ใช้สำหรับวิเคราะห์สัดส่วนพอลิเมอร์ของ PHA ด้วยGC.....31

2-4 Retention time ของกรดอัลคาโนอิคเมทธิลเอสเทอร์แต่ละชนิด 32

2-5 สภาวะที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลที่เป็นส่วนประกอบโดยเครื่อง HPLC 33

2-6 Retention time ของน้ำตาลแต่ละชนิด 34

2-7 สภาวะที่ใช้วิเคราะห์สารชีวภาพประเภทกรดอินทรีย์จากน้ำหมัก โดยเครื่อง HPLC 35

2-8 Retention time ของกรดอินทรีย์แต่ละชนิด 35

3-1 เปรียบเทียบรูปแบบการผลิต PHA ของ *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรเกลือแร่ E ในแหล่งคาร์บอนทั้ง 3 ชนิด 53

3-2 เปรียบเทียบรูปแบบการผลิต EPS ของ *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรเกลือแร่ E ในแหล่งคาร์บอนทั้ง 3 ชนิด..... 55

3-3 ผลการวิเคราะห์สัดส่วนพอลิเมอร์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ..... 56

3-4 ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบใน EPS จาก *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347.....57

3-5 กรดอินทรีย์ที่พบในน้ำหมักในอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 3 สูตร.....56

4-1 การสร้าง PHA จากแหล่งคาร์บอนแต่ละชนิด ใน *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347..... 68

4-2 การสร้าง PHA และ EPS ใน *Pseudomonas* spp. 74

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1-1	สูตรโครงสร้างทั่วไปของพอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอต	4
1-2	วัฏจักรของการใช้พลาสติกที่ย่อยสลายในธรรมชาติ	5
1-3	วัฏจักรการสังเคราะห์และการสลาย PHB	6
1-4	ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน แสดงกรานูลของ PHB ใน *Alcaligenes eutrophus*	10
1-5	ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน (freeze-fracture electron microscopy) แสดงกรานูลของ PHA ใน *Pseudomonas oleovorans* เมื่อเลี้ยงใน นอร์มอลออกเทน 50% (v/v)	13
1-6	ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน แสดงกรานูลของ PHA ใน *Pseudomonas oleovorans* เมื่อเลี้ยงใน นอร์มอลออกเทน50% (v/v)	14
1-7	กลไกการสังเคราะห์ PHA ใน *Pseudomonas putida* KT2442 เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี 1-^{13}C ออกตาโนอิค	16
1-8	กลไกการสังเคราะห์ PHA ใน *Pseudomonas putida* KT2442 เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี 1-^{13}C เฮกซาโนอิค	17
1-9	ภาพจากกล้องจุลทรรศน์แสดงลักษณะจุลินทรีย์ *Pseudomonas* spp.	18
1-10	โครงสร้างของ EPS แต่ละชนิดที่สร้างโดย fluorescent pseudomonas	21
3-1	การเจริญของ *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรอุดม nutrient broth	38
3-2	การเจริญของ *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรเกลือแร่ E ที่มีแหล่งคาร์บอนทั้ง 3 ชนิด	39
3-3	การเจริญและการผลิต PHA ของ *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรเกลือแร่ E เมื่อใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน	42
3-4	การเจริญและการผลิต PHA ของ *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรเกลือแร่ E เมื่อใช้กลูโคสร่วมกับโซเดียมออกตาโนเอต เป็นแหล่งคาร์บอน	44

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ หน้า

3-5 การเจริญและการผลิต PHA ของ *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรเกลือแร่ E เมื่อใช้ โซเดียมออกตาโนเอตเป็นแหล่งคาร์บอน 45

3-6 ภาพย้อมแกรม เมื่อเก็บเซลล์ *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรเกลือแร่ E เมื่อใช้ กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน 46

3-7 ภาพย้อมแกรม เมื่อเก็บเซลล์ *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรเกลือแร่ E เมื่อใช้กลูโคสร่วมกับโซเดียมออกตาโนเอตเป็น แหล่งคาร์บอน 47

3-8 ภาพย้อมแกรม เมื่อเก็บเซลล์ *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรเกลือแร่ E เมื่อใช้โซเดียมออกตาโนเอต เป็นแหล่งคาร์บอน 48

3-9 การผลิต EPS ของ *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหาร สูตรเกลือแร่ E เมื่อใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน 50

3-10 การผลิต EPS ของ *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหาร สูตรเกลือแร่ E เมื่อใช้กลูโคสร่วมกับโซเดียมออกตาโนเอตเป็นแหล่งคาร์บอน 51

3-11 เปรียบเทียบรูปแบบการผลิต PHA ของ *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ใน อาหารสูตรเกลือแร่ E ในแหล่งคาร์บอนทั้ง 3 ชนิด..... ..52

3-12 เปรียบเทียบรูปแบบการผลิต EPSของ *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรเกลือแร่ E ในแหล่งคาร์บอน 2 ชนิด..... 54

3-13 อินฟราเรดสเปกตรัมจาก PHA ที่ได้จากการเลี้ยง *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรเกลือแร่ E ที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน 59

3-14 อินฟราเรดสเปกตรัมจาก PHA ที่ได้จากการเลี้ยง *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรเกลือแร่ E ที่มีโซเดียมออกตาโนเอตเป็นแหล่ง คาร์บอน..... 60

3-15 อินฟราเรดสเปกตรัมจาก PHA ที่ได้จากการเลี้ยง *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรเกลือแร่ E ที่มีกลูโคสและโซเดียมออกตาโนเอต ร่วมกันเป็นแหล่งคาร์บอน 61

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ หน้า

3-16 อินฟราเรดสเปกตรัมจาก EPS ที่ได้จากการเลี้ยง *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรเกลือแร่ E ที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน 62

3-17 อินฟราเรดสเปกตรัมจาก EPS ที่ได้จากการเลี้ยง *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรเกลือแร่ E ที่มีกลูโคสและโซเดียมออกตาโนเอต เป็นแหล่งคาร์บอน 63

4-1 วัฏจักรการย่อยสลายแหล่งคาร์บอนกลูโคสและออกตาโนเอตใน *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 67

4-2 การสร้าง PHA ใน *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 จากอาหารสูตรเกลือแร่ E ที่มีแหล่งคาร์บอนคือ นอร์มอลออกเทน 20%v/v ใน 2 รูปแบบ คือ โดยการจำกัดแหล่งไนโตรเจน และการให้แหล่งไนโตรเจนที่เพียงพอ 70

4-3 วัฏจักรการสร้าง PHA ใน *Pseudomonas putida* KT2442 จากอาหารสูตรเกลือแร่ E ที่มีแหล่งคาร์บอนคือ กรดไขมันสายยาว ติดตามการเกิดปฏิกิริยาโดยใช้ ^{13}C NMR.....71

4-4 สรุปผลการสร้างสารชีวภาพใน *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347.....79

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คำย่อ

PHA	=	Polyhydroxyalkanoate
PHB	=	Polyhydroxybutyrate
3HB	=	3-hydroxybutyrate
3HV	=	3-hydroxyvalerate
3HHx	=	3-hydroxyhexanoate
3HO	=	3-hydroxyoctanoate
3HD	=	3-hydroxydecanoate
3HDD	=	3-hydroxydodecanoate
EPS	=	Exopolysaccharides
ml	=	milliter
mM	=	millimolar

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย