

บทที่ 3

ผลการทดลอง

3.1 รูปแบบการเจริญของ *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรอุดม

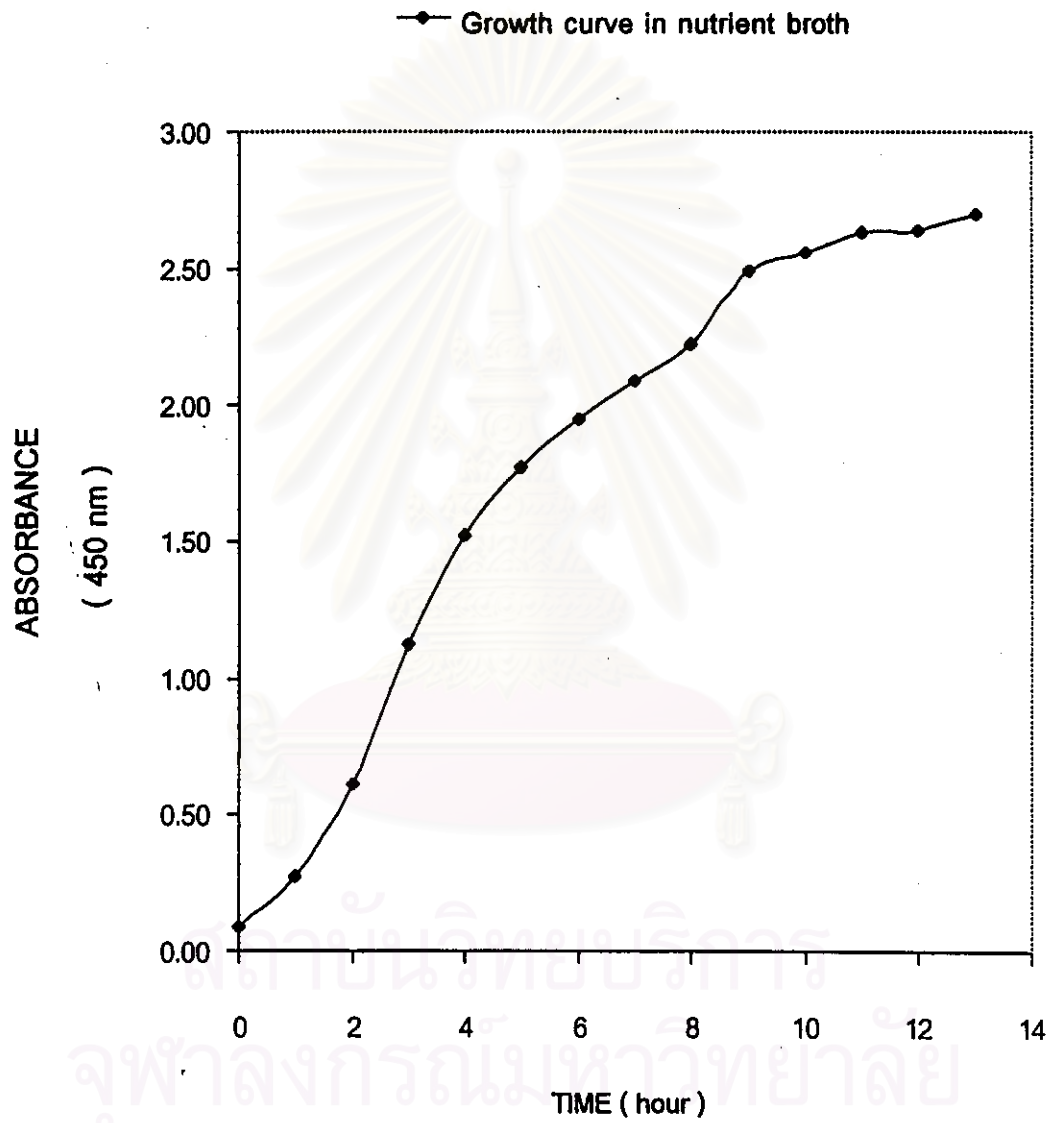
เพาะเลี้ยงเซลล์ *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรอุดม nutrient broth ของ BBL (ข้อ 2.3.1) ในอาหารเหลวปริมาณ 50 มิลลิลิตร ที่บรรจุในขวดแก้วทรงกรวยขนาด 125 มิลลิลิตร เขย่าด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง แล้วถ่ายเชื้อสู่อาหารสูตรเดิม ที่มีอาหารเหลวปริมาณ 200 มิลลิลิตร (วิธีข้อ 2.6.2) เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อตั้งต้น โดยใช้สภาวะการเพาะเลี้ยงเช่นเดิม ติดตามการเจริญโดยวัดความขุ่นที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร

ผลการทดลอง (รูปที่ 3-1) แสดงให้เห็น การเจริญของ *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 เมื่อเข้าสู่ระยะการเจริญสูงสุดมีค่าการเจริญคงที่ ที่เวลา 10 ชั่วโมง ($A_{450} = 2.5-3.0$) มีระยะกึ่งกลางการเจริญแบบทวีคูณที่เวลา 4 ชั่วโมง ($A_{450} = 1.0-1.5$)

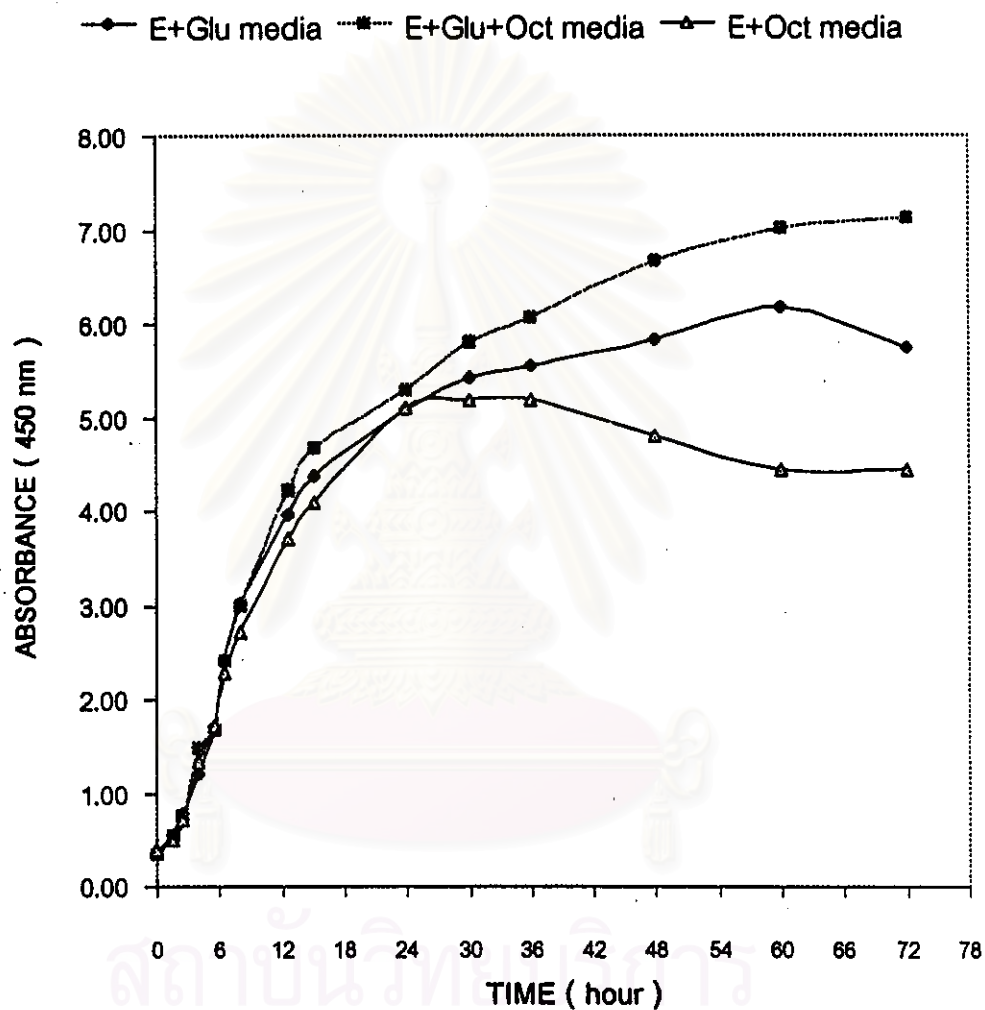
3.2 การศึกษาแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการเจริญ

ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรอุดม nutrient broth ของ BBL (ข้อ 3.1) เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อตั้งต้น เก็บที่เวลา 4 ชั่วโมง (ระยะกึ่งกลางการเจริญแบบทวีคูณเท่ากับเวลา 4 ชั่วโมง) (วิธีข้อ 2.6.3) ถ่ายสู่อาหารสูตรเกลือแร่ E (ข้อ 2.3.2) ที่มีแหล่งไนโตรเจนต่ำ (มีไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟตเพียง 1.1 กรัม) แต่มีแหล่งคาร์บอนมากเกินไป โดยแหล่งคาร์บอนที่ใช้ คือ กลูโคส 10 กรัม/ลิตร อย่างเดียว โซเดียมออกตาโนเอต 10 มิลลิโมลาร์ อย่างเดียว และกลูโคส 10 กรัม/ลิตร ร่วมกับโซเดียมออกตาโนเอต 10 มิลลิโมลาร์ ในสภาวะเดียวกันกับที่ใช้ในข้อ 3.1 เป็นเวลา 4 ชั่วโมง แล้วถ่ายเชื้อสู่อาหารสูตรเดิมที่มีอาหารเหลวปริมาณ 200 มิลลิลิตร โดยใช้สภาวะการเพาะเลี้ยงเช่นเดิม

รูปที่ 3-1 การเจริญของ *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรอุดม nutrient broth



รูปที่ 3-2 การเจริญของ *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรเกลือแร่ E ที่มีแหล่งคาร์บอนทั้ง 3 ชนิด



สถาบันวิจัยจุฬาภรณ์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

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

เพาะเลี้ยงเซลล์ *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรเกลือแร่ที่ประกอบด้วยแหล่งคาร์บอน 3 แบบ (ตามข้อ 3.2)

ผลการทดลองแสดงในรูปที่ 3-2 พบว่าเมื่อเลี้ยง *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารที่มีทั้งกลูโคส และโซเดียมออกตาโนเอตอยู่ร่วมกัน เซลล์จะเจริญได้ดีที่สุด มีค่าการเจริญคงที่ ที่เวลา 42 ชั่วโมง ($A_{450} = 6.6-6.8$) รูปแบบการการเจริญสังเกตจากความขุ่นตลอดช่วงการเจริญ

เมื่อเลี้ยง *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารที่มีกลูโคสเพียงอย่างเดียว เซลล์จะเจริญได้ดีรองลงมา มีค่าการเจริญคงที่ ที่เวลา 30 ชั่วโมง ($A_{450} = 5.6-5.8$)

เมื่อเลี้ยง *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารที่มีโซเดียมออกตาโนเอต ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ เป็นแหล่งคาร์บอนเพียงอย่างเดียว เซลล์จะมีการเจริญต่ำที่สุดในกลุ่ม มีค่าการเจริญคงที่ ที่เวลา 24 ชั่วโมง ($A_{450} = 4.8-5.2$)

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

เพาะเลี้ยงเซลล์ *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรเกลือแร่ที่ประกอบด้วยกลูโคสเพียงอย่างเดียว ในสภาวะการเพาะเลี้ยง เช่นเดียวกับที่ใช้ในข้อ 3.1 ผลการทดลองแสดงในรูปที่ 3-3 พบว่าเซลล์มีการเจริญดี มีระยะพักสั้น เซลล์เจริญแบบทวีคูณแล้วเข้าสู่ระยะการเจริญสูงสุดมีค่าการเจริญคงที่ ที่เวลา 30 ชั่วโมง ($A_{450} = 5.6-5.8$)

อาหารเลี้ยงเชื้อมีลักษณะเป็นเมือก คล้ายวุ้นเมื่อเก็บเซลล์มาย้อมแกรม จะเห็นลักษณะเป็นรูปแท่งยาว ติดสีแดงเข้ม gram negative bacilli ภายในเซลล์ติดสีเรียบสม่ำเสมอทั้งรูปที่ 3-6 เมื่อเก็บเซลล์มาย้อม PHA stain ด้วยสียาบบลู เอ ตามวิธีข้อ 2.7.2 สังเกตพบปริมาณ PHA บ้างเล็กน้อย

เมื่อเก็บเซลล์มาสกัดแยก PHA ตามวิธีข้อ 2.7 พบว่า การสังเคราะห์ PHA จะเกิดขึ้นในระยะที่เซลล์มีการเจริญแบบทวีคูณได้ปริมาณ PHA สูงสุดที่ 24 ชั่วโมง คิดเป็นปริมาณ 13.8 กรัมเปอร์เซนต์ต่อน้ำหนักแห้ง หลังจากนั้นความสามารถของการสังเคราะห์ PHA จะค่อยๆ ลดลงใน

ระยะที่เซลล์เข้าสู่การเจริญคงที่ และPHAจะลดลงอย่างมาก ในระยะเซลล์ตายที่หลังจากชั่วโมงที่ 60 เป็นต้นไป

3.5 รูปแบบการเจริญและการผลิต PHA ของ *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรเกลือแร่ E เมื่อใช้กลูโคสร่วมกับไซเตียมออกตาโนเอต เป็นแหล่งคาร์บอน

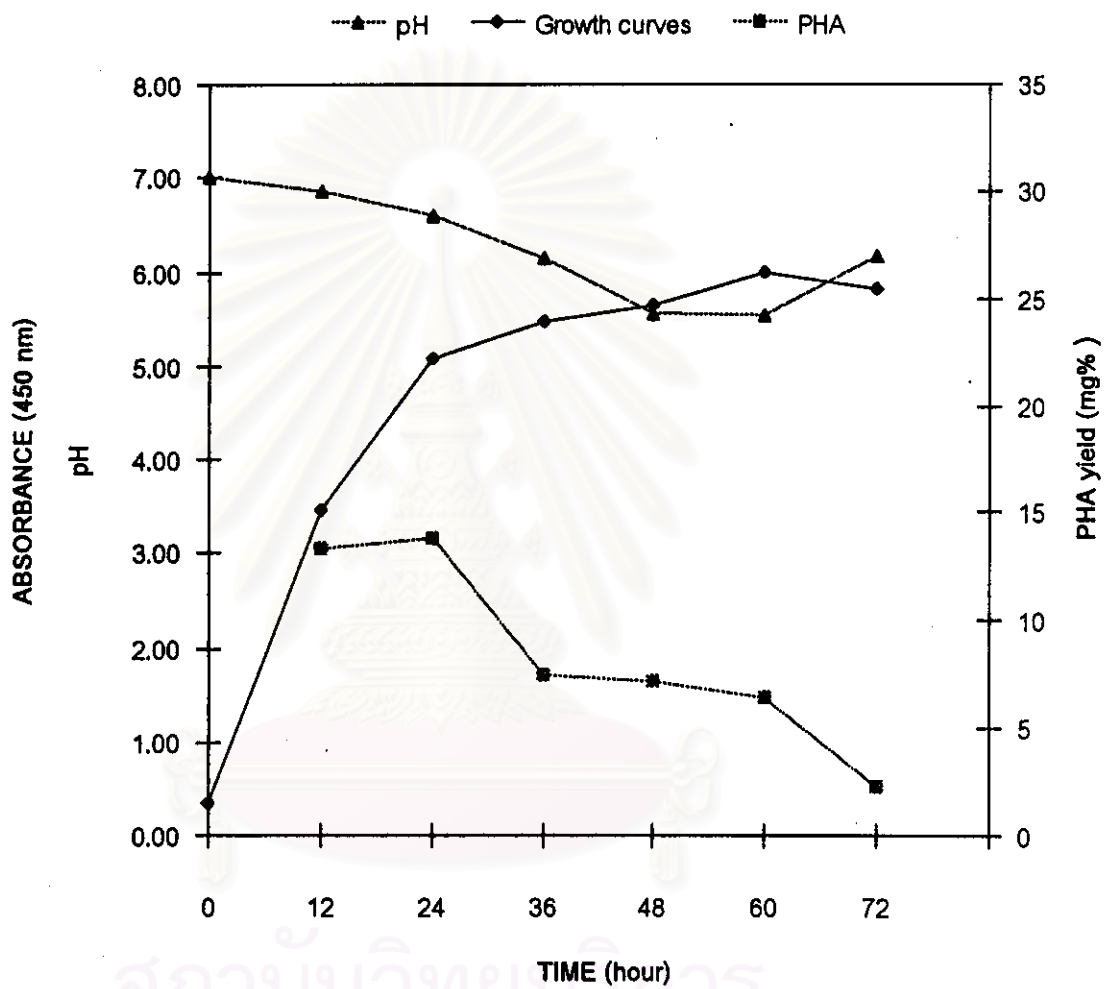
เพาะเลี้ยงเซลล์ *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรเกลือแร่ที่ประกอบด้วยกลูโคสและไซเตียมออกตาโนเอต ในสภาวะการเพาะเลี้ยงเช่นเดียวกับที่ใช้ในข้อ 3.1

ผลการทดลองแสดงในรูปที่ 3-5 พบว่าเซลล์มีการเจริญดี มีระยะพักสั้น เซลล์เจริญแบบทวีคูณ แล้วเข้าสู่ระยะการเจริญสูงสุดมีค่าการเจริญคงที่ ที่เวลา 42 ชั่วโมง ($A_{450}=6.6-6.8$) อาหารเลี้ยงเชื้อมีลักษณะเป็นเมือกคล้ายวุ้นเช่นเดียวกับเมื่อเลี้ยงเซลล์ในอาหารที่มีกลูโคสอย่างเดียว สีของอาหารเริ่มมีสีเขียวมากขึ้นเรื่อยๆ เก็บเซลล์มาย้อมแกรม จะเห็นลักษณะเป็นรูปแท่งอ้วนสั้น ติดสีแดงเข้ม gram negative coccobacilli ภายในเซลล์ติดสีไม่สม่ำเสมอ มักพบเม็ดกรามูลของ PHA ซึ่งติดสีแดงปนน้ำเงินที่หัวท้ายของเซลล์ ดังรูปที่ 3-7 เมื่อเก็บเซลล์มาย้อม PHA stain ด้วยสีนายบรู เอ ตามวิธีข้อ 2.7.2 สังเกตพบปริมาณ PHA มาก

เมื่อเก็บเซลล์มาสกัดแยก PHA ตามวิธีข้อ 2.7 พบว่าการสังเคราะห์ PHA จะเกิดขึ้นในระยะที่เซลล์มีการเจริญแบบทวีคูณ ได้ปริมาณ PHA สูงสุดที่ 24 ชั่วโมง คิดเป็นปริมาณ 26.9 กรัมเปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักแห้ง หลังจากนั้นความสามารถของการสังเคราะห์ PHA จะลดต่ำลง และ PHA จะคงที่ในระยะที่เซลล์เข้าสู่การเจริญคงที่ หลังจากชั่วโมงที่ 36 เป็นต้นไป

สถาบันวิจัยชีววิทยา
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 3-3 การเจริญและการผลิต PHA ของ *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรเกลือแร่ E เมื่อใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

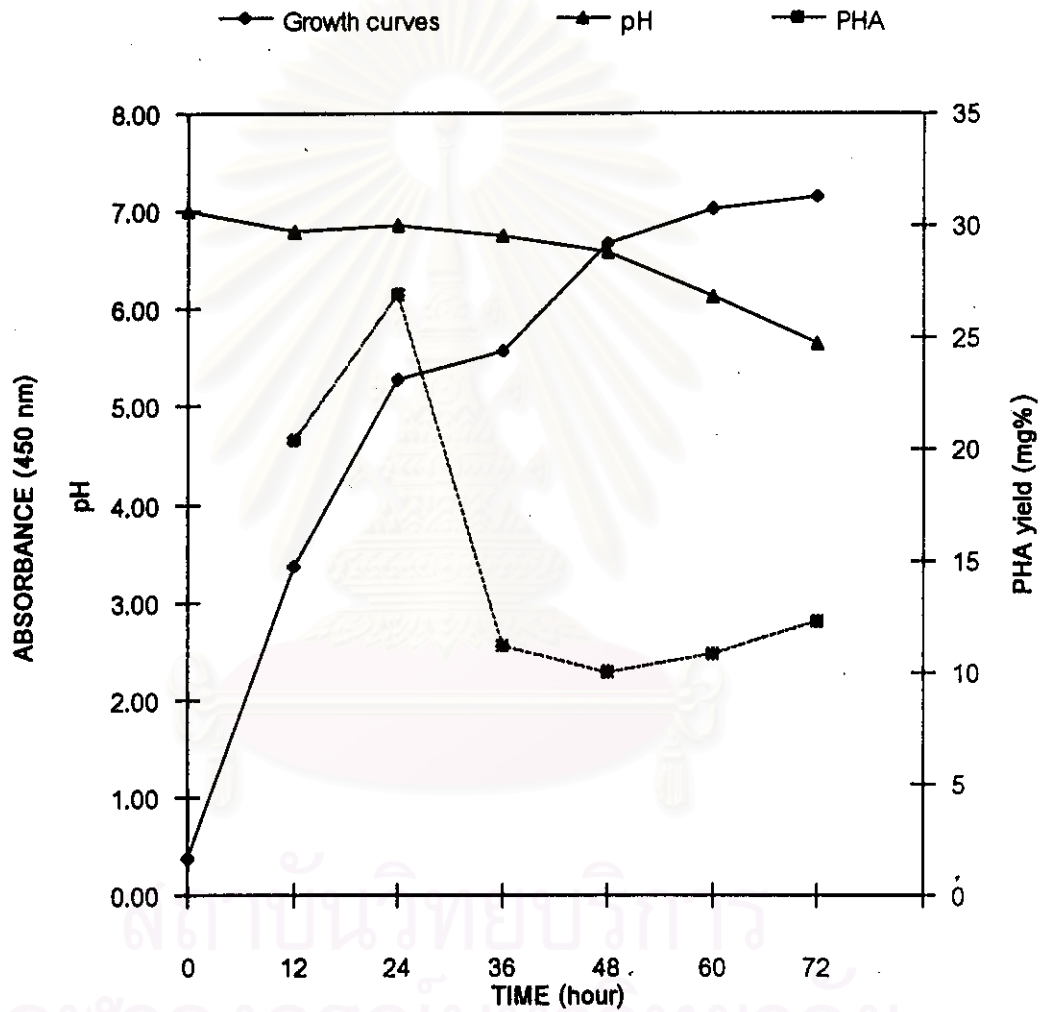
3.6 รูปแบบการเจริญและการผลิต PHA ของ *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรเกลือแร่ E เมื่อใช้โซเดียมออกตาโนเอตเป็นแหล่งคาร์บอน

เพาะเลี้ยงเซลล์ *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรเกลือแร่ที่ประกอบด้วยโซเดียมออกตาโนเอต ในสภาวะการเพาะเลี้ยงเช่นเดียวกับที่ใช้ในข้อ 3.1

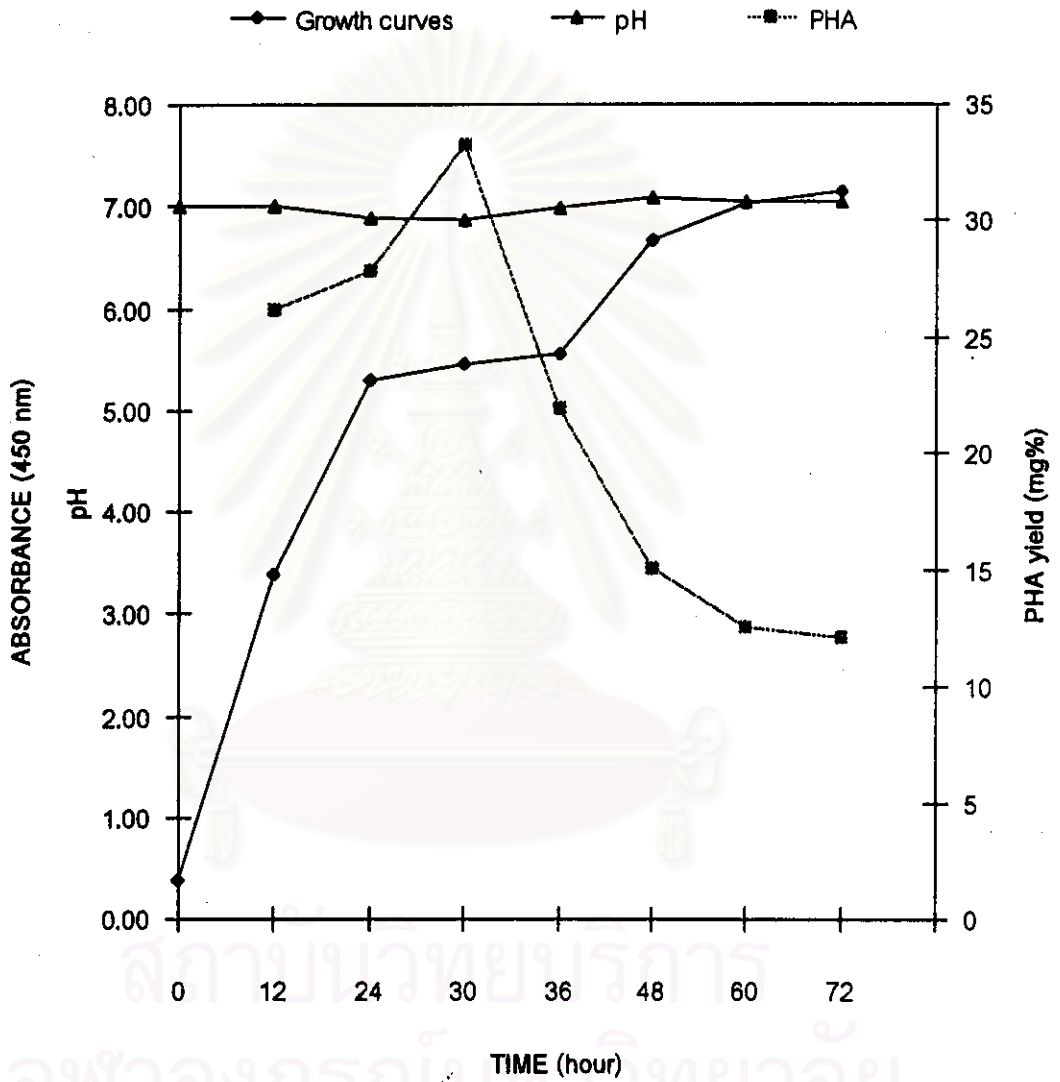
ผลการทดลองแสดงในรูปที่ 3-5 พบว่าเซลล์มีการเจริญดี มีระยะพักสั้น เซลล์เจริญแบบทวีคูณ แล้วเข้าสู่ระยะการเจริญสูงสุดมีค่าการเจริญคงที่ ที่เวลาเพียง 24 ชั่วโมง ($A_{450}=4.8-5.2$) สีของอาหารเริ่มมีสีเขียวมากขึ้นเรื่อยๆ เมื่อเก็บเซลล์มาย้อมแกรมจะเห็นลักษณะเป็นรูปแท่งอ้วนสั้น ติดสีแดงเข้ม gram negative coccobacilli ภายในเซลล์ติดสีไม่สม่ำเสมอ มักพบเม็ดกรานูลของ PHA ซึ่งติดสีแดงปนน้ำเงินที่หัวท้ายของเซลล์ดังรูปที่ 3-8 เมื่อเก็บเซลล์มาย้อม PHA stain ด้วยสียาวยลู เอ ตามวิธีข้อ 2.7.2 สังเกตพบปริมาณ PHA มากที่สุดในกลุ่ม

เมื่อเก็บเซลล์มาสกัดแยก PHA ตามวิธีข้อ 2.7 พบว่าการสังเคราะห์ PHA จะเกิดขึ้นในระยะที่เซลล์มีการเจริญแบบทวีคูณได้ปริมาณ PHA สูงสุดที่ 30 ชั่วโมง คิดเป็นปริมาณ 33.3 กรัมเปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักแห้ง หลังจากนั้นความสามารถของการสังเคราะห์ PHA จะค่อยๆ ลดต่ำลง และ PHA จะคงที่ในระยะที่เซลล์เข้าสู่การเจริญคงที่ หลังจากชั่วโมงที่ 60 เป็นต้นไป

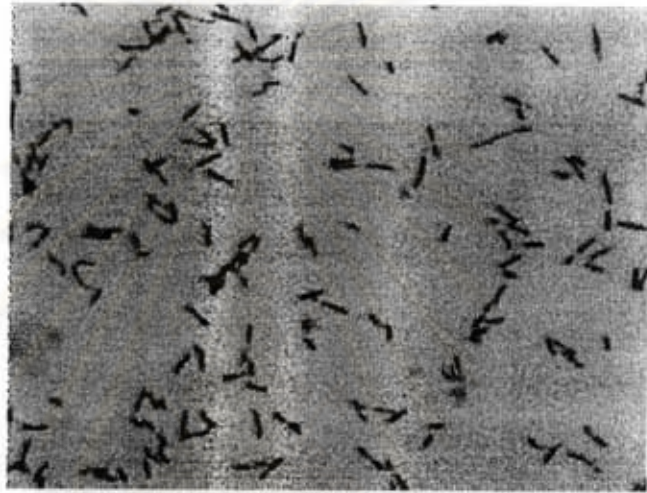
รูปที่ 3-4 การเจริญและการผลิต PHA ของ *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรเกลือแร่ E เมื่อใช้กลูโคสร่วมกับไซเตียมออกตาโนเอตเป็นแหล่งคาร์บอน



รูปที่ 3-5 การเจริญและการผลิต PHA ของ *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรเกลือแร่ E เมื่อใช้โซเดียมออกตาโนเอตเป็นแหล่งคาร์บอน

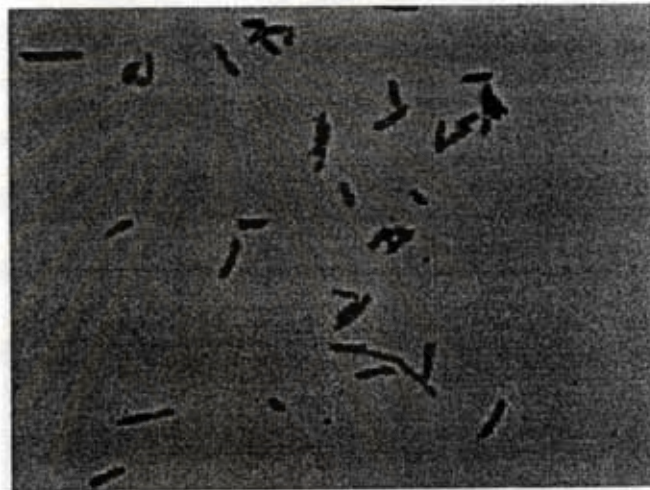


รูปที่ 3-6 ภาพย้อมแกรม เมื่อเก็บเซลล์ *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรเกล็ดแร่ E เมื่อใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน จะเห็นลักษณะเป็นรูปแท่งยาว ติดสีแดงเข้ม gram negative bacilli ภายในเซลล์ติดสีเรียบสม่ำเสมอ



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 3-7 ภาพย้อมแกรม เมื่อเก็บเซลล์ *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรเกลือบแร่ E เมื่อใช้กลูโคสร่วมกับไซเตียมออกตาโนเอตเป็นแหล่งคาร์บอน จะเห็นลักษณะเป็นรูปแท่งอ้วนสั้น ติดสีแดงเข้ม gram negative coccobacilli ภายในเซลล์ติดสีไม่สม่ำเสมอ มักพบเม็ดกรานูลของ PHA ซึ่งติดสีแดงปนน้ำเงินที่หัวท้ายของเซลล์



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 3-8 ภาพย้อมแกรม เมื่อเก็บเซลล์ *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรเกลือบแร่ E เมื่อใช้โซเดียมออกตาโนเอตเป็นแหล่งคาร์บอน จะเห็นลักษณะเป็นรูปแท่งอ้วนสั้น ติดสีแดงเข้ม gram negative coccobacilli ภายในเซลล์ติดสีไม่สม่ำเสมอ มักพบเม็ดกรามูลของ PHA ซึ่งติดสีแดงปนน้ำเงินที่หัวท้ายของเซลล์



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.7 รูปแบบการผลิต EPS ของ *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรเกลือบแร่ E เมื่อใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน

เมื่อนำน้ำไลต์ที่ได้จากการปั่นแยกเซลล์ออก (ตามวิธีข้อ 2.7) มาศึกษาการผลิต EPS (ตามวิธีข้อ 2.8) พบว่าเซลล์สามารถผลิต EPS ได้สูงสุดที่ชั่วโมงที่ 24 ของการหมัก จากนั้นการผลิต EPS ค่อยๆ ลดลงเรื่อยๆ ดังรูปที่ 3-9 จะเห็นว่าเมื่อเลี้ยง *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรเกลือบแร่ E ที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน เซลล์สามารถผลิต EPS ได้สูงสุด 8 กรัม/ลิตร

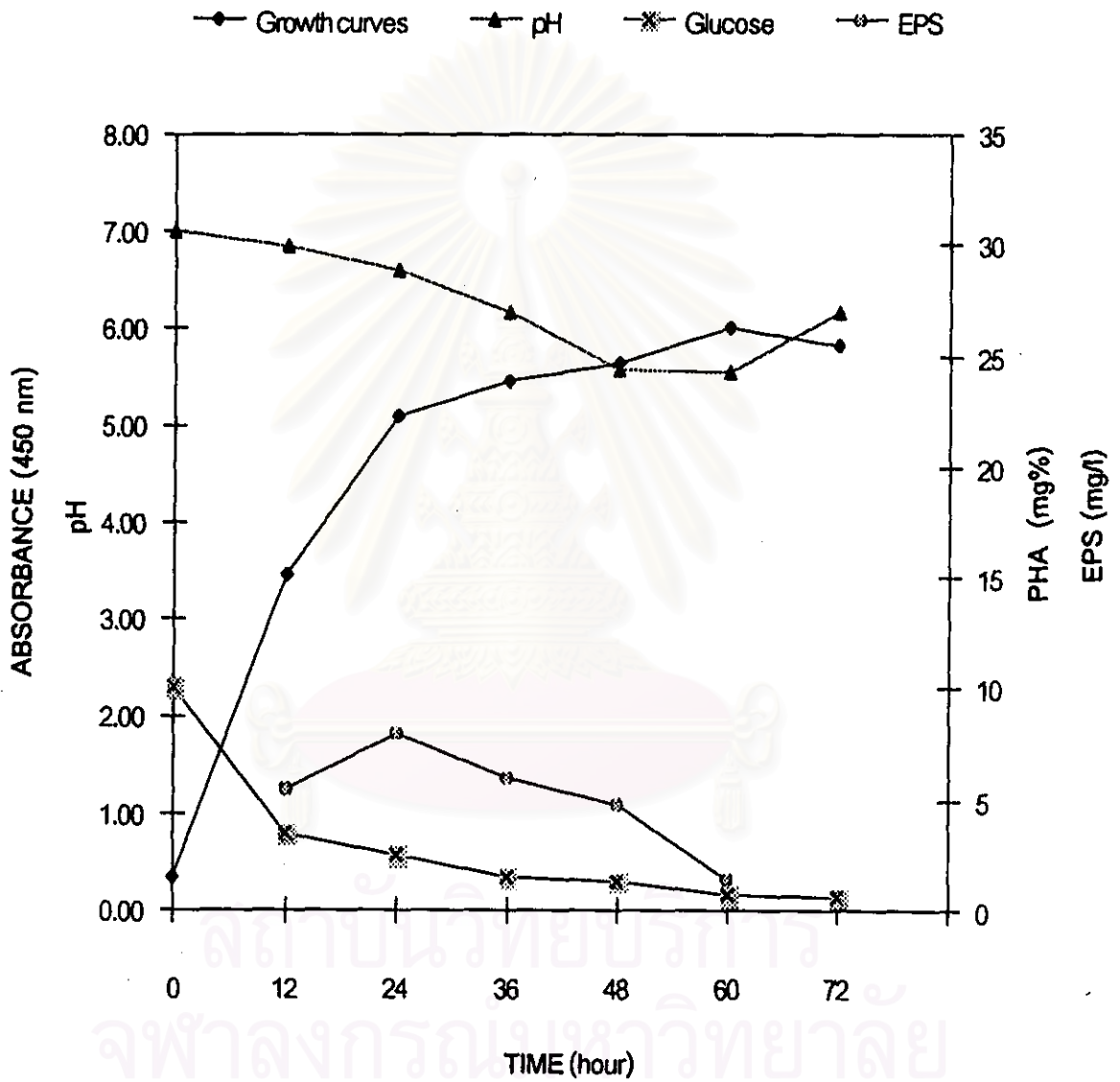
3.8 รูปแบบการผลิต EPS ของ *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรเกลือบแร่ E เมื่อใช้กลูโคสร่วมกับไซเตียมออกตาโนเอตเป็นแหล่งคาร์บอน

เมื่อนำน้ำไลต์ที่ได้จากการปั่นแยกเซลล์ออก (ตามวิธีข้อ 2.7) มาศึกษาการผลิต EPS (ตามวิธีข้อ 2.8) พบว่าเซลล์สามารถผลิต EPS ได้สูงสุดที่ชั่วโมงที่ 24 ของการหมัก จากนั้นการผลิต EPS ค่อยๆ ลดลงเรื่อยๆ เช่นเดียวกับเมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีกลูโคสอย่างเดียว ดังรูปที่ 3-10 จะเห็นว่าเมื่อเลี้ยง *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรเกลือบแร่ E ที่มีกลูโคสและไซเตียมออกตาโนเอตเป็นแหล่งคาร์บอน เซลล์สามารถผลิต EPS ได้สูงสุด 12 กรัม/ลิตร

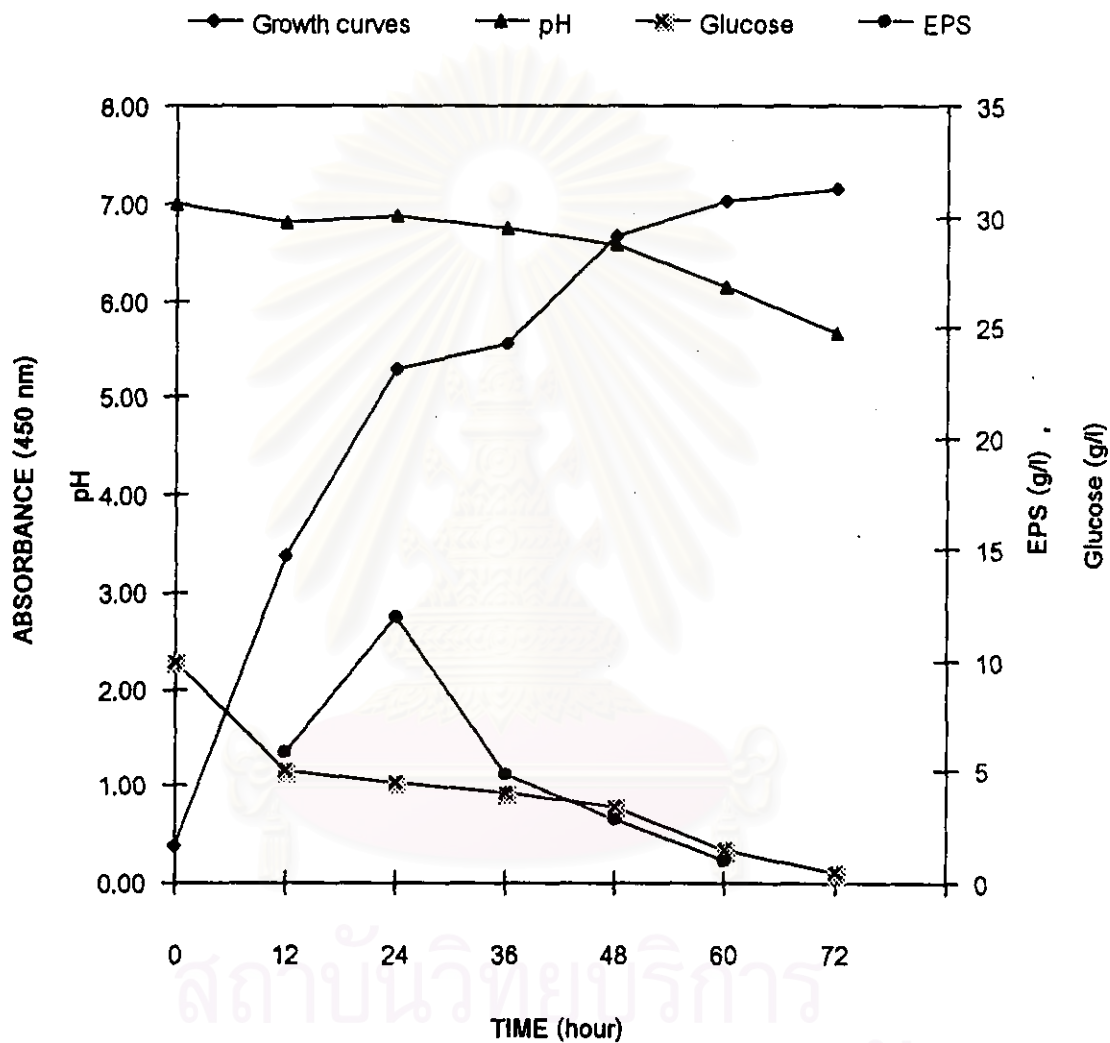
3.9 เปรียบเทียบรูปแบบการผลิต PHA ของ *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรเกลือบแร่ E ในแหล่งคาร์บอนทั้ง 3 ชนิด

ผลการเปรียบเทียบแสดงในรูปที่ 3-11 และตารางที่ 3-1 พบว่าเมื่อเลี้ยง *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารที่มีไซเตียมออกตาโนเอตเพียงอย่างเดียว เซลล์จะสามารถผลิต PHA ได้ดีที่สุด ในขณะที่เมื่อเลี้ยง *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารที่มีกลูโคสเพียงอย่างเดียว เซลล์จะสามารถผลิต PHA ได้ต่ำที่สุดในกลุ่ม

รูปที่ 3-9 การผลิต EPS ของ *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรเกลื่อนแร่ E เมื่อใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน

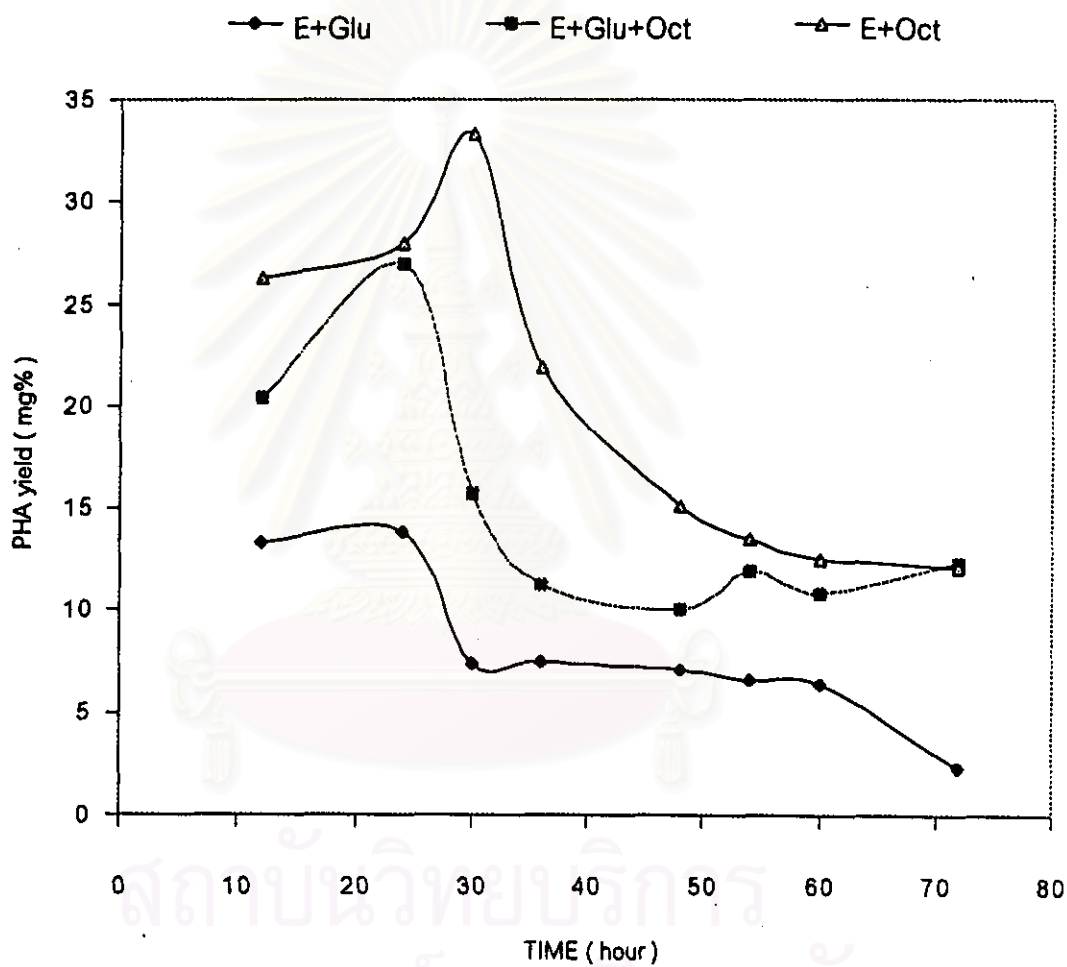


รูปที่ 3-10 การผลิต EPS ของ *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรเกลือน้ำ E เมื่อใช้กลูโคสร่วมกับโซเดียมออกตาโนเอตเป็นแหล่งคาร์บอน



สถาบันวิจัยบริการ
จุพาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

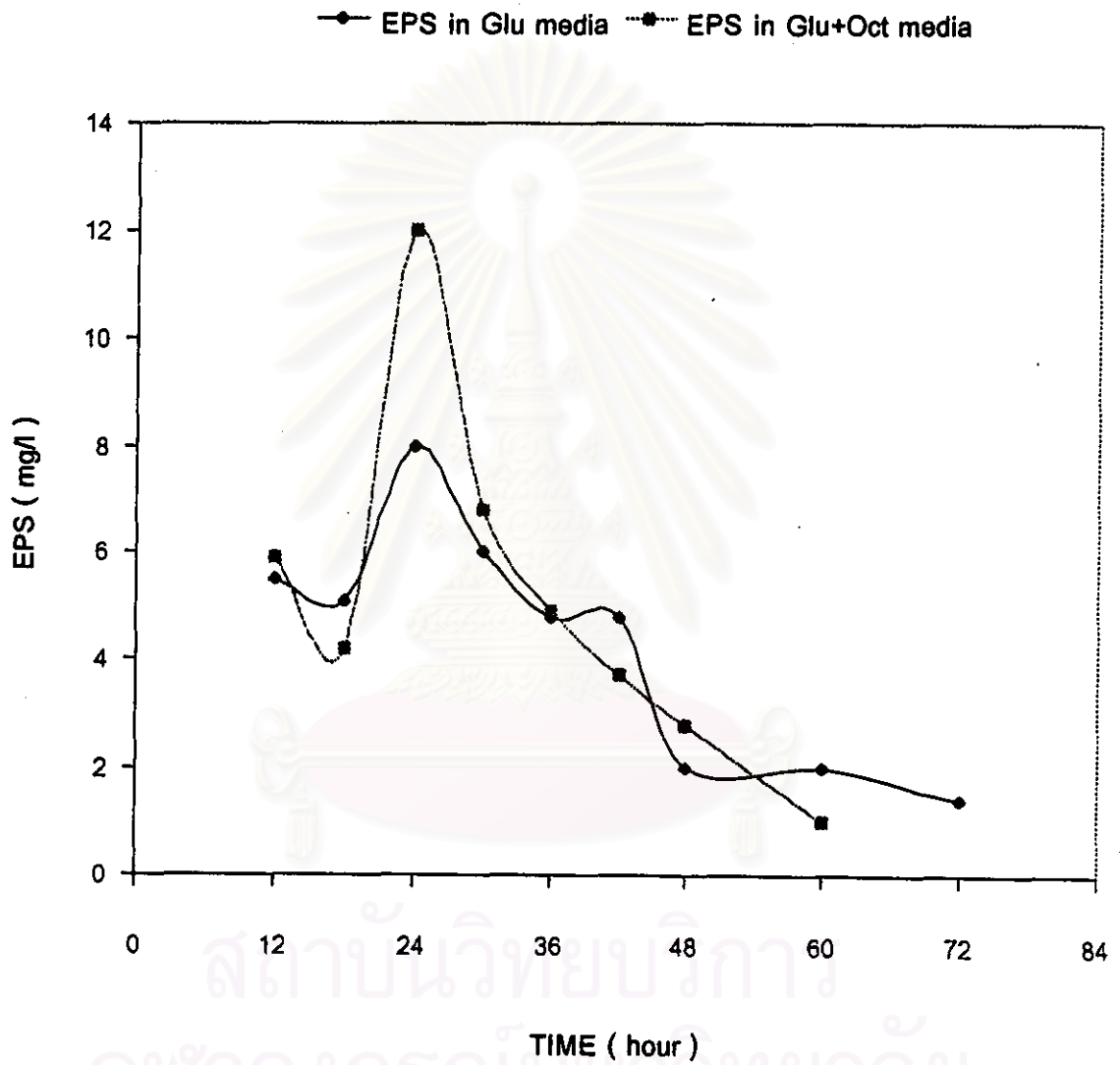
รูปที่ 3-11 เปรียบเทียบรูปแบบการผลิต PHA ของ *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรเกลือแร่ E ในแหล่งคาร์บอนทั้ง 3 ชนิด



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

อาหารเลี้ยงเชื้อ	กลูโคส	กลูโคสและไซเตียม ออกตาโนเอต	ไซเตียม ออกตาโนเอต
ปริมาณ PHA สูงสุด (กรัม%ต่อน้ำหนักแห้ง)	13.8	26.9	33.3
ชั่วโมงที่สร้าง PHA สูงสุด	24	24	30
ลักษณะรูปร่างเซลล์	รูปร่างยาว ติดสีสม่ำเสมอ พบกรานูล PHA อยู่ ภายในเซลล์เล็กน้อย	รูปร่างอ้วนสั้น ติดสีไม่สม่ำเสมอ มีกรานูล PHA อยู่ภายใน เซลล์มาก	รูปร่างอ้วนสั้น ติดสีไม่สม่ำเสมอ มีกรานูล PHA อยู่ภายใน เซลล์มาก

รูปที่ 3-12 เปรียบเทียบรูปแบบการผลิต EPS ของ *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรเกลือแร่ E ในแหล่งคาร์บอนต่างๆ



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

อาหารเลี้ยงเชื้อ	กลูโคส	กลูโคสและ ไซเตียม ออกตาโนเอต	ไซเตียม ออกตาโนเอต
ปริมาณ EPS สูงสุด (กรัม/ลิตร)	8	12	-
ชั่วโมงที่สร้าง EPS สูงสุด	24	24	-
ลักษณะของ อาหารเลี้ยงเชื้อ	สีเขียวย่อน ขุ่น	สีเขียวย่อน ขุ่น	สีเขียวย่อน ขุ่น

3.10 เปรียบเทียบรูปแบบการผลิต EPS ของ *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรเกลือแร่ E ในแหล่งคาร์บอนทั้ง 3 ชนิด

ผลการเปรียบเทียบแสดงในรูปที่ 3-12 และตารางที่ 3-2 พบว่าเมื่อเลี้ยง *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารที่มีกลูโคสและโซเดียมออกตาโนเอตอยู่ร่วมกัน เซลล์จะสามารถผลิต EPS ได้ดีที่สุด ในขณะที่เมื่อเลี้ยง *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารที่มีโซเดียมออกตาโนเอตเพียงอย่างเดียว เซลล์ไม่สามารถผลิต EPS ได้

3.11 ผลการวิเคราะห์สัดส่วนพอลิเมอร์ของ PHA ที่สกัดได้

เมื่อนำเซลล์แห้งจากข้อ 2.8.3 มาสกัด PHA แล้ววิเคราะห์สัดส่วนพอลิเมอร์ของ PHA ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ ตามวิธีข้อ 2.10 ได้ผลดังตารางที่ 3-3

ตารางที่ 3-3 ผลการวิเคราะห์สัดส่วนพอลิเมอร์ของ PHA ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ

แหล่งคาร์บอน	สัดส่วนพอลิเมอร์ (mol%)					
	3HB	3HV	3HHx	3HO	3HD	3HDD
กลูโคส	0	0	0	3	6	91
โซเดียมออกตาโนเอต	0	5	9	84	2	0
กลูโคสร่วมกับโซเดียมออกตาโนเอต	0	4	10	79	2	5

3HB, 3-hydroxybutyrate; 3HV, 3-hydroxyvalerate; 3HHx, 3-hydroxyhexanoate;

3HO, 3-hydroxyoctanoate; 3HD, 3-hydroxydecanoate; 3HDD, 3-hydroxydodecanoate.

3.12 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบใน EPS จาก *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347

ทำโดยนำน้ำหมักจากข้อ 2.8.1 มา 2 มิลลิลิตร มากรองด้วยกระดาษกรอง pore size 0.45 ไมโครเมตร ทำการตกตะกอน EPS แล้วนำไปวิเคราะห์น้ำตาลที่เป็นส่วนประกอบโดยเครื่อง HPLC ตามวิธีข้อ 2.12 ได้ผลดังนี้

ตารางที่ 3-4 ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบใน EPS จาก *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347

อาหารเลี้ยงเชื้อ	น้ำตาลที่เป็นส่วนประกอบ
อาหารสูตรเกลือแร่ E ที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน	มอลโตส
อาหารสูตรเกลือแร่ E ที่มีกลูโคสและไซเตียมออกตาโนเอตเป็นแหล่งคาร์บอน	มอลโตส

3.13 การวิเคราะห์สารชีวภาพประเภทกรดอินทรีย์จากน้ำหมัก

เมื่อนำน้ำหมักจากข้อ 2.8.1 มาประมาณ 2 มิลลิลิตร ถ่ายใส่หลอดฝาเกลียวขนาด 16x125 เซนติเมตร มากรองด้วยกระดาษกรอง pore size 0.45 ไมโครเมตร ในช่วงที่เซลล์มีการสร้าง PHA สูงที่สุดนำไปวิเคราะห์สารชีวภาพประเภทกรดอินทรีย์จากน้ำหมัก โดยเครื่อง HPLC โดยใช้สภาวะตามข้อ 2.14 ผลการวิเคราะห์เป็นดังนี้

ตารางที่ 3-5 กรดอินทรีย์ที่พบในน้ำหมักในอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 3 สูตร

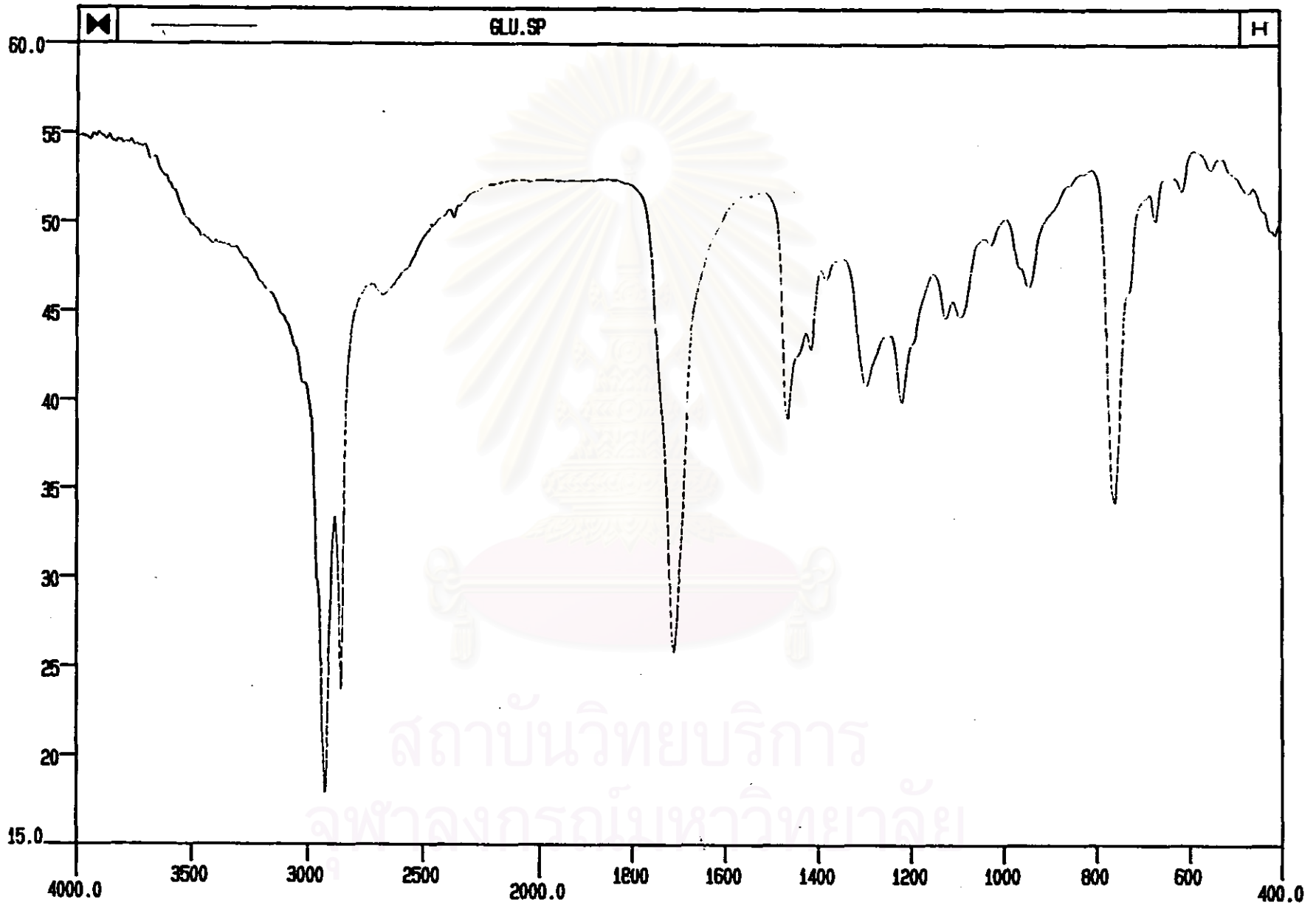
กรดอินทรีย์ที่พบในน้ำหมัก	ความเข้มข้นของกรดอินทรีย์(มิลลิโมลาร์) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ		
	กลูโคส	กลูโคสร่วมกับ ไซเตียมออกตาโนเอต	ไซเตียม ออกตาโนเอต
กรดออกซาลิก	0.16	0.25	0.25
กรดซิตริก	0.14	1.09	0.36
กรดมาลิก	0.24	0.19	<0.10
กรดซัคซินิก	2.67	0.76	0.46
กรดอะซิติก	2.27	7.82	0.38

3.14 การวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของสารชีวภาพที่สกัดได้

นำ PHA ที่สกัดได้จากข้อ 2.9 และ EPS slime จากข้อ 2.12.4 มาประมาณ 0.5 กรัม มาวิเคราะห์พิสูจน์คุณสมบัติทางเคมีด้วยเครื่องฟอร์เรียร์ทรานฟอร์ม อินฟราเรดสเปกโตรมิเตอร์ (FT-IR) ในช่วงความถี่ 400 – 4000 เซนติเมตร⁻¹ ได้อินฟราเรดสเปกตรัมดังนี้

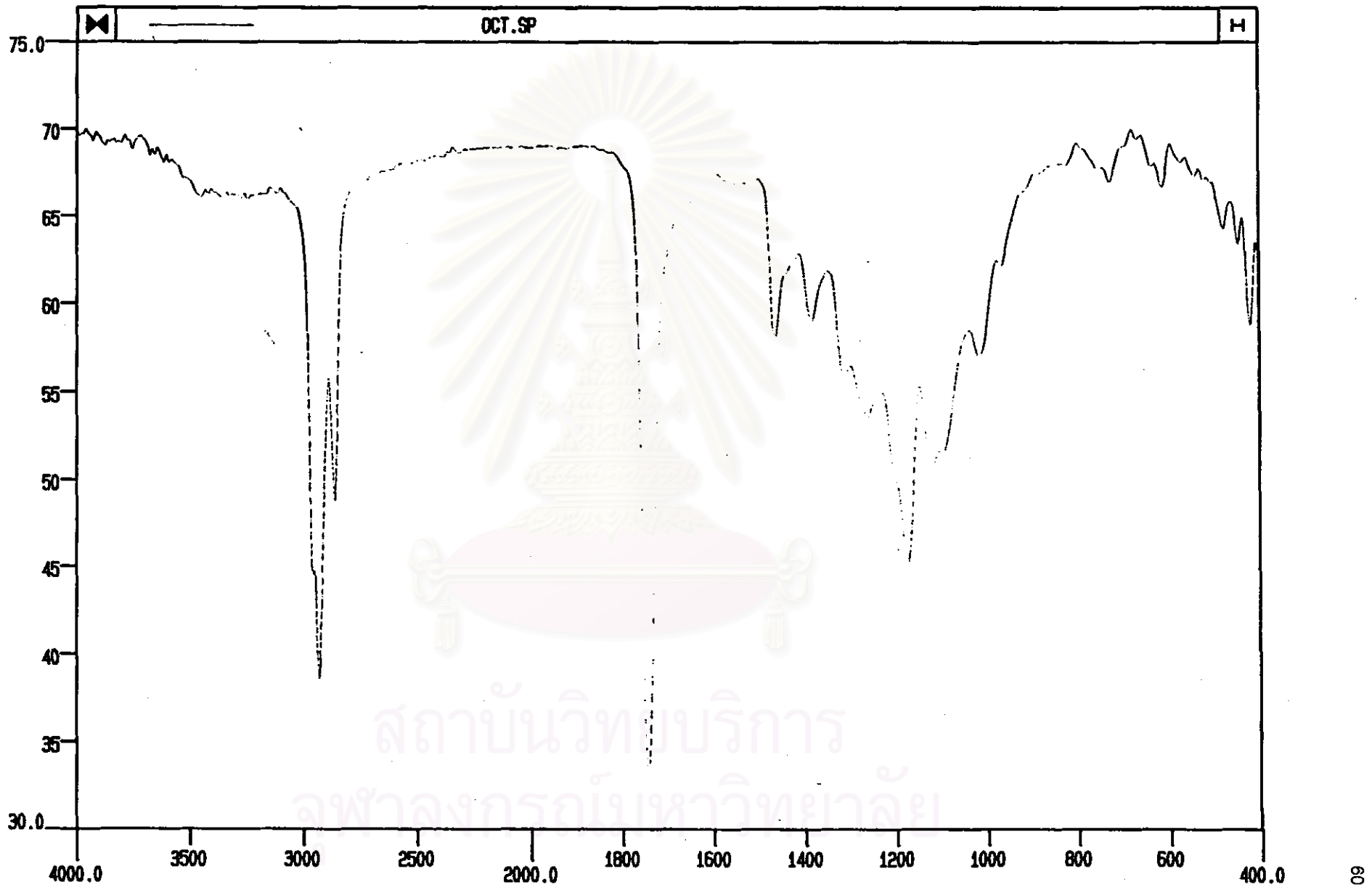
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

RT

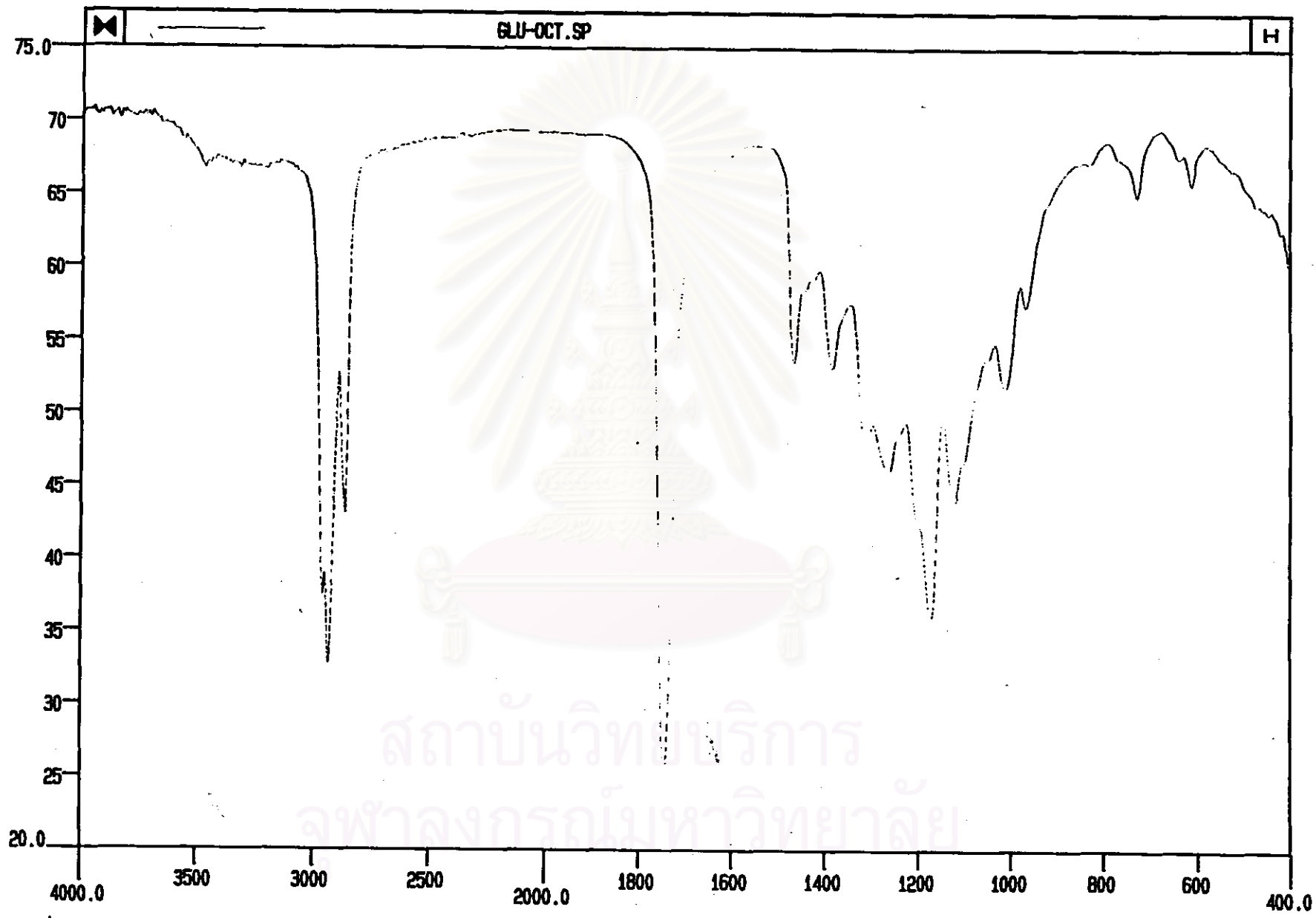


รูปที่ 3-13 อินฟราเรดสเปกตรัมจากPHAที่ได้จากการเลี้ยง *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรเกลือน้ำ E ที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน

XT

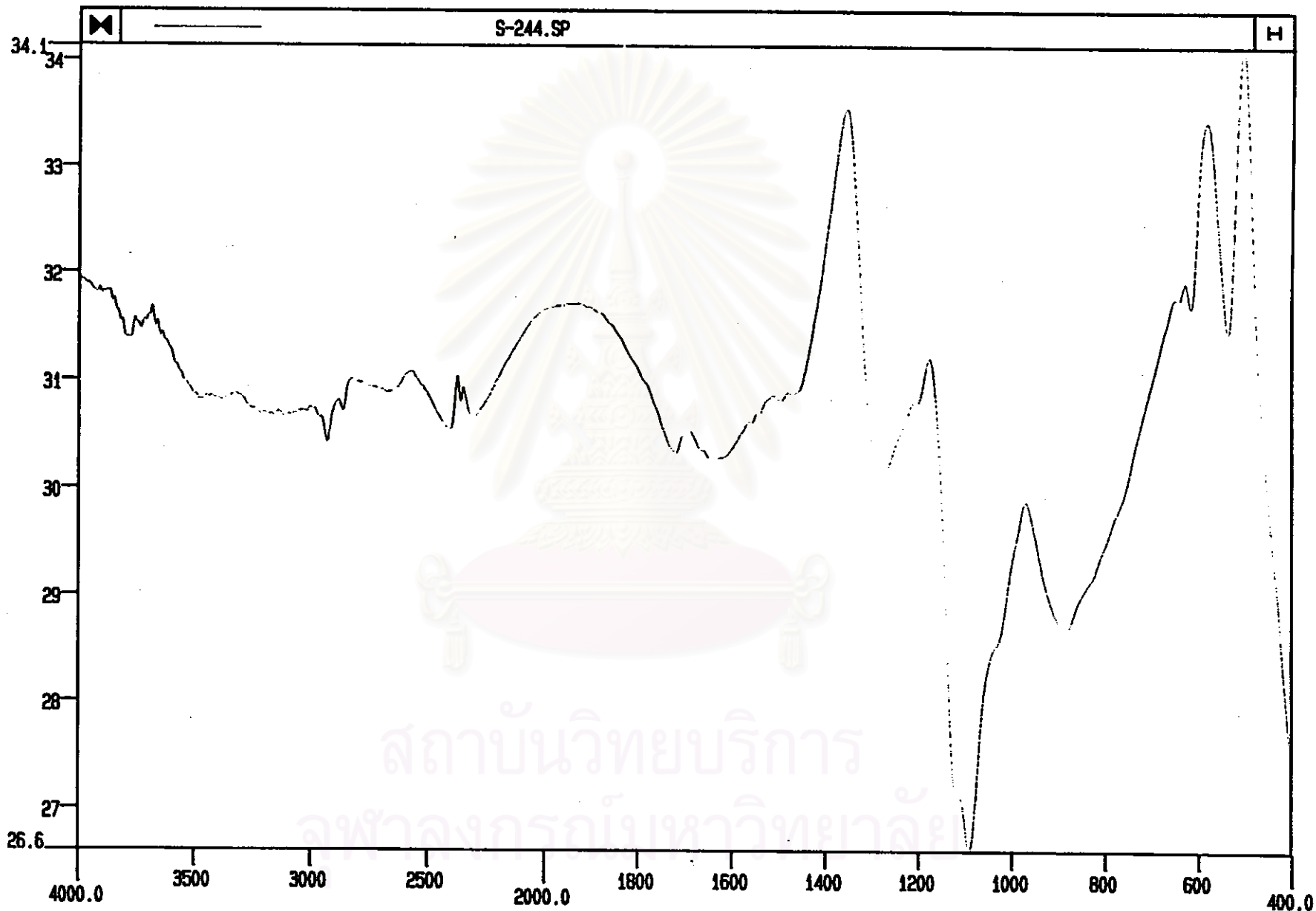


รูปที่ 3-14 อินฟราเรดสเปกตรัมจากPHAที่ได้จากการเลี้ยง *Pseudomonas oleovorans* ATCC29347 ในอาหารสูตรเกล็ดแร่E ที่มีโซเดียมออกตาโนเอตเป็นแหล่งคาร์บอน



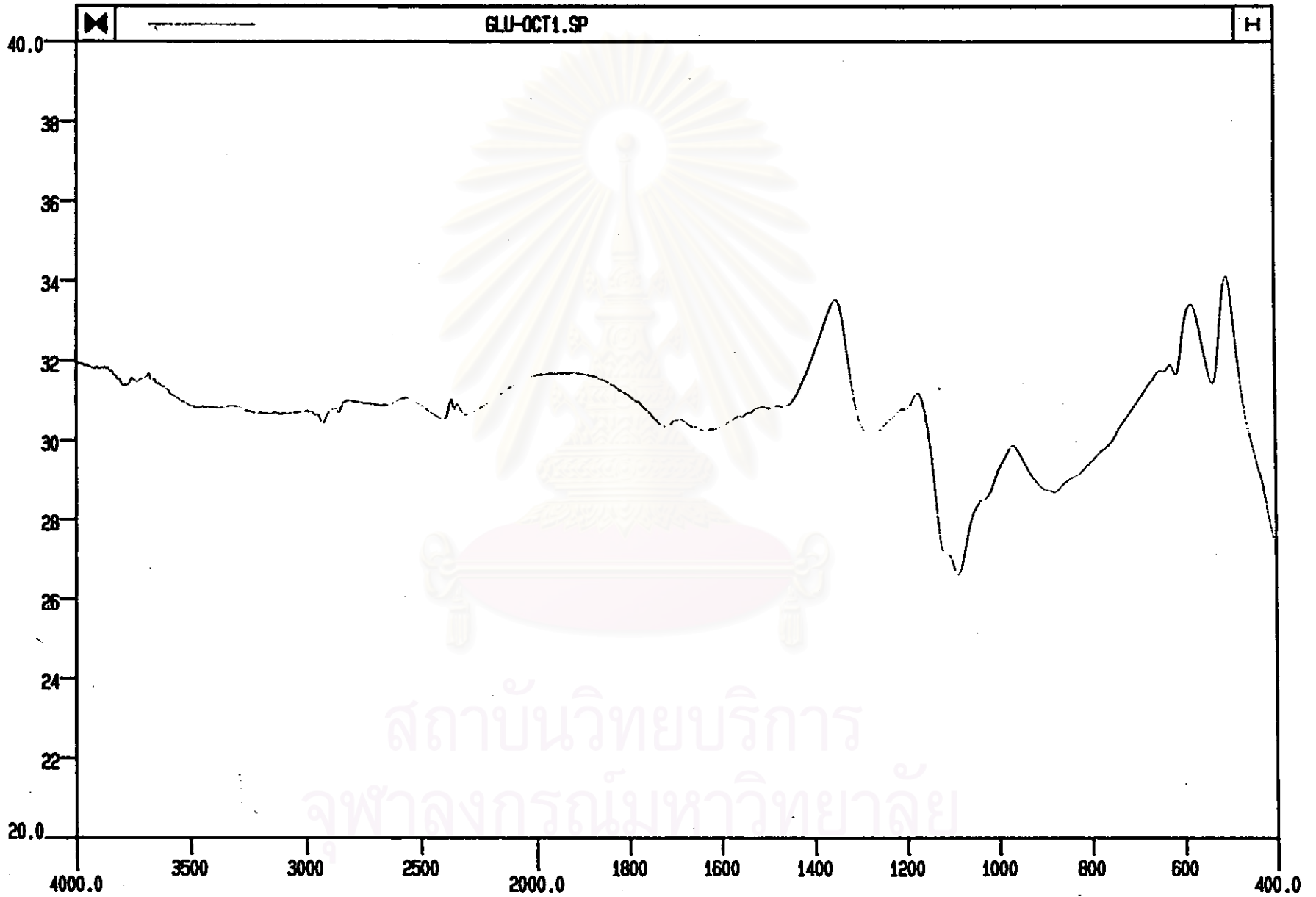
รูปที่ 3-15 อินฟราเรดสเปกตรัมจาก PHA ที่ได้จากการเลี้ยง *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรเกลือแร่ E ที่มีกลูโคสและ
ไฮเดียมออกตาโนเอตเป็นแหล่งคาร์บอน

XT



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

XT



รูปที่ 3-17 อินฟราเรดสเปกตรัมจาก EPS ที่ได้จากการเลี้ยง *Pseudomonas oleovorans* ATCC 29347 ในอาหารสูตรเกลือแร่ E ที่มีกลูโคสและ

ไซโตเดียมออกตาโมลด์ เป็นแหล่งคาร์บอน