

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	๖
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	๗
กิตติกรรมประกาศ	๗
สารบัญ	๗
รายการตาราง	๘
รายการรูปประกอบ	๙
ประมวลศัพท์และคำย่อ	๑๐
บทที่	
1. บทนำ	1
1.1 ปัญหาและที่มาของงานวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตในการดำเนินงานวิจัย	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
2. ทฤษฎี	4
2.1 กรดมาติก	4
2.1.1 ประโยชน์ของกรดมาติก	5
2.1.2 มูลค่ากรดมาติก	6
2.2 การผลิตกรดมาติก	7
2.2.1 กระบวนการทางเคมี	7
2.2.2 กระบวนการทางชีวภาพ	7
2.2.2.1 วัสดุลิกโนเซลลูโลส	10
2.2.2.2 ขั้นตอนการผลิตกรดมาติกจากวัสดุลิกโนเซลลูโลส	11

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.3 การผลิตกรดมาลิกจากจุลินทรีย์	16
2.3.1 วิธีเพนโตสฟอสเฟต (Pentose phosphate pathway : PPP)	16
2.3.2 วิธีไกลโคไลซิส (Glycolysis)	18
2.3.3 วัฏจักรเครบส์ (Krebs cycle or Tricarboxylic cycle)	21
2.3.3.1 การผลิตกรดมาลิกจากวัฏจักรเครบส์	22
2.4 จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตกรดมาลิก	26
2.4.1 จุลินทรีย์สายพันธุ์ต่างๆที่สามารถผลิตโพลีมาลิกและกรดมาลิก ในกระบวนการหมัก	28
2.4.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องสำหรับการผลิตกรดมาลิกจากทางชีวภาพ	29
2.5 ข้อดีและข้อเสียการผลิตกรดมาลิกด้วยวิธีทางเคมีและทางชีวภาพ	31
2.6 กระบวนการแยกกรดมาลิกและการทำให้บริสุทธิ์และการทำให้บริสุทธิ์	32
2.6.1 กระบวนการแยกกรดมาลิก	32
2.6.2 กระบวนการทำให้กรดมาลิกบริสุทธิ์	33
2.6.2.1 กระบวนการทำให้กรดมาลิกบริสุทธิ์ด้วยเครื่อง โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง	33
2.6.2.2 การทำงานร่วมกันของการแยกสลายด้วยไฟฟ้า และเมมเบรนแลกเปลี่ยนประจุบวก	34
3. ระเบียบวิธี	36
3.1 อุปกรณ์ เครื่องมือ และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง	36
3.1.1 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้	36
3.1.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง	37
3.2 ระเบียบวิธี	38
3.2.1 การเก็บตัวอย่างเพื่อคัดแยกแบคทีเรีย	38
3.2.2 การคัดแยกแบคทีเรียที่มีความสามารถใช้น้ำตาลไซโลสเป็นแหล่งคาร์บอน	38

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.2.2.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงแบคทีเรีย	38
3.2.2.2 การคัดแยกและคัดเลือกแบคทีเรียที่มีความสามารถใช้น้ำตาลไซโลสเป็นแหล่งคาร์บอน	38
3.2.3 การคัดแยกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตกรดอินทรีย์จากน้ำตาลไซโลสในอาหารที่มีไนโตรเจนจำกัด	39
3.2.4 การคัดเลือกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตกรดมาลิกและตรวจสอบด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC)	39
3.2.5 การตรวจสอบลักษณะพื้นฐานวิทยาและพิสูจน์เอกลักษณ์ของจุลินทรีย์	40
3.2.5.1 การตรวจสอบลักษณะพื้นฐานวิทยา	40
3.2.5.2 การพิสูจน์เอกลักษณ์ของแบคทีเรีย	40
3.2.6 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกรดมาลิก	40
3.2.6.1 การศึกษาผลของแคลเซียมคาร์บอเนต	40
3.2.6.2 การศึกษาผลของน้ำตาลไซโลส	41
3.2.6.3 การศึกษาผลของแหล่งคาร์บอน	41
3.2.6.3.1 ศึกษาผลของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอน	41
3.2.6.3.2 ศึกษาผลของพอลิเมอร์ที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอน	42
3.2.7 การเก็บเซลล์เพื่อตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์ฟิวมาเลสในส่วนของตะกอนเซลล์และ culture supernatant	42
3.2.7.1 การตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์ฟิวมาเลสในส่วนของตะกอนเซลล์และ culture supernatant	43
3.2.8 การศึกษาการเพิ่มปริมาณกรดมาลิกด้วยตัวเหนี่ยวนำ	43
3.2.9 การศึกษาวิธีทำให้กรดอินทรีย์บริสุทธิ์และวิเคราะห์ชนิดของกรดอินทรีย์โดยเทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC)	43
3.2.9.1 การศึกษาวิธีทำให้กรดอินทรีย์บริสุทธิ์	43

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.2.9.2 วิเคราะห์ชนิดของสาร โดยเทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC)	44
3.2.10 การวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์อื่นๆ โดยเทคนิค Gas Chromatography (GC)	44
4. ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	45
4.1 การแยกและคัดเลือกแบคทีเรีย	45
4.1.1 การคัดแยกแบคทีเรียที่มีความสามารถใช้น้ำตาลไซโลสเป็นแหล่งคาร์บอน	45
4.1.2 การคัดแยกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตกรดอินทรีย์จากน้ำตาลไซโลสในอาหารที่มีไนโตรเจนจำกัด	46
4.1.3 การคัดเลือกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตกรดมาลิก	48
4.2 การผลิตกรดอินทรีย์	50
4.2.1 ศึกษาความเจริญและคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการผลิตกรดอินทรีย์	50
4.3 การตรวจสอบลักษณะพื้นฐานวิทยาและพิสูจน์เอกลักษณ์ของจุลินทรีย์	56
4.3.1 การตรวจสอบลักษณะพื้นฐานวิทยาของจุลินทรีย์ไอโซเลท LK 39	56
4.3.2 การพิสูจน์เอกลักษณ์ของแบคทีเรียไอโซเลท LK 39	57
4.4 การศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกรดมาลิกจากน้ำตาลไซโลส	58
4.4.1 ผลของแคลเซียมคาร์บอเนตต่อการผลิตกรดมาลิกโดยเชื้อ <i>Klebsiella pneumonia</i> LK 39	58
4.4.2 ผลของน้ำตาลไซโลสต่อการผลิตกรดมาลิกโดยเชื้อ <i>Klebsiella pneumonia</i> LK 39	64
4.4.3 ผลของชนิดของแหล่งคาร์บอนต่อการผลิตกรดมาลิกโดยเชื้อ <i>Klebsiella pneumonia</i> LK 39	68
4.4.3.1 ผลของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอน	68
4.4.3.2 ผลของพอลิเมอร์ที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอน	72

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.5 การทดสอบกิจกรรมเอนไซม์ฟูลาเลสจากเชื้อ <i>Klebsiella pneumonia</i> LK 39	77
4.6 การศึกษาการเพิ่มปริมาณกรดมาลิกด้วยกรดอินทรีย์	76
4.7 การทำให้กรดอินทรีย์บริสุทธิ์และวิเคราะห์ชนิดของสารตัวอย่างโดยเทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC)	80
4.8 การวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์อื่นๆ โดยเทคนิค Gas Chromatography (GC)	83
5. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	85
5.1 สรุปผลการทดลอง	85
5.2 ข้อเสนอแนะ	88
เอกสารอ้างอิง	90
ภาคผนวก	100
ก อาหารเลี้ยงเชื้อในการทดลอง	100
ข การเตรียมสารเคมีและวิธีวิเคราะห์	101
ค ข้อมูลดิบ	108
ประวัติผู้วิจัย	109

รายการตาราง

ตารางที่	หน้า	
1.1	ระยะเวลาการศึกษาวิจัย	3
2.1	คุณสมบัติทางกายภาพของกรดมาลิก	5
2.2	มูลค่าของกรดมาลิก	7
2.3	ปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินในพืชต่างๆ	11
2.4	องค์ประกอบน้ำตาลของวัสดุลิกโนเซลลูโลสหลังจากการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์	15
2.5	การผลิตกรดมาลิกจากเชื้อราโดยกระบวนการหมัก	26
2.6	กิจกรรมของเอนไซม์ fumarase ของเซลล์จุลินทรีย์ที่ถูกตรึงในพอลิอะคริลาไมด์เจล	27
2.7	จุลินทรีย์สายพันธุ์ต่างๆที่สามารถผลิตโพลิมาลิกและกรดมาลิกในกระบวนการหมัก	28
2.8	ข้อดีและข้อเสียสำหรับการผลิตกรดมาลิกด้วยวิธีทางเคมีและทางชีวภาพ	31
4.1	สถานที่เก็บตัวอย่าง ชนิดตัวอย่าง จำนวนตัวอย่าง และแบคทีเรียที่เจริญในอาหาร yeast extract peptone ที่มีไซโลสเข้มข้นร้อยละ 10 บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส	46
4.2	ตัวอย่างไอโซเลทที่เจริญได้ในอาหารเหลว yeast extract peptone xylose (YPX) อาหารเหลว basal และ ไอโซเลทที่มีค่าพีเอชต่ำกว่า 5.0	47
4.3	ลักษณะปรากฏและความสามารถในการผลิตกรดของจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้บนอาหารแข็ง Basal	48
4.4	ปริมาณกรดมาลิก กรดซักซินิกและกรดฟูมาลิกที่แบคทีเรียไอโซเลทต่างๆ ผลิตขึ้น	50
4.5	การพิสูจน์เอกลักษณ์ของแบคทีเรียที่คัดแยกได้โดยการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 16S rRNA โดยใช้ฐานข้อมูลโปรแกรม BLAST ของ NCBI Databases	57
4.6	ชนิดและความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ในน้ำหมักของ K. pneumoniae LK 39 จากการตรวจวัดด้วยเครื่อง Gas Chromatography (GC) เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็ว 250 รอบ/นาที เป็นเวลา 72 ชั่วโมง	84

รายการรูปประกอบ

รูปที่		หน้า
2.1	สูตรโครงสร้างของกรดมาลิก (L-malic acid)	4
2.2	สูตรโครงสร้างของกรดมาลิก (D-malic acid)	4
2.3	สารเคมีต่างๆ และผลิตภัณฑ์ที่สังเคราะห์ได้จากกรดมาลิก	6
2.4	สารเคมีวัตถุดิบที่สำคัญซึ่งผลิตจากทรัพยากรทดแทน (วัตถุดิบโนเชลลูโลส)โดยกระบวนการทางชีวภาพ	9
2.5	โครงสร้างลิกโนเซลลูโลสซึ่งเป็นส่วนประกอบในผนังเซลล์พืช	10
2.6	การปรับสภาพโครงสร้างของลิกโนเซลลูโลส	12
2.7	การทำงานร่วมกันของเอนไซม์ในกลุ่มเซลลูเลส	13
2.8	การทำงานร่วมกันของเอนไซม์ในกลุ่มไซลานเนส	14
2.9	กระบวนการเปลี่ยนน้ำตาลไซโลสเป็นไซลูโลสของเชื้อจุลินทรีย์	17
2.10	การหมักน้ำตาลไซโลสด้วยวิธีเพนโดสฟอสเฟตและเข้าสู่วิถีไกลโคไลซิส	18
2.11	กระบวนการไกลโคไลซิส ซึ่งประกอบด้วยปฏิกิริยาย่อย 10 ขั้นตอน แต่ละขั้นตอน ถูกเร่งด้วยปฏิกิริยาไกลโคไลติกเอนไซม์ (glycolytic enzyme) 10 ชนิด	20
2.12	วัฏจักรเครบส์ (Krebs cycle or Tricarboxylic acid cycle)	22
2.13	การผลิตกรดมาลิกตามวัฏจักรเครบส์	23
2.14	การรวมตัวของแอซีทิล-โคเอ 2 โมเลกุลโดยผ่าน glyoxylase cycle เพื่อผลิตมาเลต	23
2.15	ออกซาโลแอซีเทตจะถูกสร้างจากปฏิกิริยาไพรูเวตคาร์บอกซิเลชัน (pyruvate decarboxylation)	24
2.16	การสร้างมาเลตเกิดจากกระบวนการ glyoxylate cycle แต่เป็นแบบไม่เต็มวง (non cyclic pathway)	24
2.17	เกิดปฏิกิริยารีดักชันของออกซาโลแอซีเทตได้เป็นมาเลต	25
2.18	กราฟมาตรฐานของสารละลายแคลเซียมมาเลตที่ถูกละลายด้วยเครื่อง HPLC	34
2.19	สารละลายแคลเซียมมาเลตในน้ำหมักที่ถูกละลายด้วยเครื่อง HPLC	34
2.20	การแพร่ในสนามไฟฟ้าของโพแทสเซียมมาเลตในอิเล็กโทรด 2 ขั้ว C: Cation exchange membrane, A: Anion exchange, MK: potassium malate, MA: Malic acid, BP: bipolar	35

รายการรูปประกอบ (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4.1	ลักษณะการเกิดบริเวณใส (clear zone) บนอาหารแข็ง Basal ที่เติมแคลเซียมแคลบอเนตร้อยละ 1 น้ำหนัก/ปริมาตร ของจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ที่มีน้ำตาลไซโลสเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร/ปริมาตร เป็นแหล่งคาร์บอน	49
4.2	ลักษณะการเจริญของแบคทีเรีย ปริมาณน้ำตาลไซโลส พีเอช และปริมาณกรดมาลิกของแบคทีเรียไอโซเลท LK 33 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว Basal ที่เติมแคลเซียมคาร์บอเนตร้อยละ 1 น้ำหนัก/ปริมาตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็ว 250 รอบ/นาที	51
4.3	โครมาโตแกรมจากเครื่อง HPLC ของจุลินทรีย์ไอโซเลท LK 33 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว Basal ความเข้มข้นน้ำตาลไซโลสร้อยละ 10 ปริมาตร/ปริมาตร แคลเซียมคาร์บอเนตร้อยละ 1 น้ำหนัก/ปริมาตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็ว 250 รอบ/นาที ที่เวลา 96 ชั่วโมง โดยพีคที่ 1. คือ กรดมาลิก 2. คือกรดซัลซินิก 3. คือกรดฟูมาลิก	52
4.4	รูปแบบการเจริญการเจริญของแบคทีเรีย ปริมาณน้ำตาลไซโลส พีเอช และปริมาณกรดมาลิกของแบคทีเรียไอโซเลท LK 34 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว Basal ที่เติมแคลเซียมคาร์บอเนตร้อยละ 1 น้ำหนัก/ปริมาตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็ว 250 รอบ/นาที	53
4.5	โครมาโตแกรมจากเครื่อง HPLC ของจุลินทรีย์ไอโซเลท LK 34 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว Basal ความเข้มข้นน้ำตาลไซโลสร้อยละ 10 ปริมาตร/ปริมาตร เติมแคลเซียมคาร์บอเนตร้อยละ 1 น้ำหนัก/ปริมาตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็ว 250 รอบ/นาที ที่เวลา 96 ชั่วโมง โดยพีคที่ 1. คือกรดมาลิก 2. คือกรดซัลซินิก 3. คือกรดฟูมาลิก	53
4.6	รูปแบบการเจริญการเจริญของแบคทีเรีย ปริมาณน้ำตาลไซโลส พีเอช และปริมาณกรดมาลิกของแบคทีเรียไอโซเลท LK 39 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว Basal เติมแคลเซียมคาร์บอเนตร้อยละ 1 น้ำหนัก/ปริมาตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็ว 250 รอบ/นาที	54

รายการรูปประกอบ (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4.7	โครมาโตแกรมจากเครื่อง HPLC ของจุลินทรีย์ไอโซเลท LK 39 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว Basal ความเข้มข้นน้ำตาลไซโลสร้อยละ 10 ปริมาตร/ปริมาตร เติมแคลเซียมคาร์บอเนตร้อยละ 1 น้ำหนัก/ปริมาตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็ว 250 รอบ/นาที โดยฟิคที่ 1. คือกรดมาลิก 2. คือกรดซักซินิก 3. กรดฟูมาลิก	55
4.8	ลักษณะสัณฐานวิทยาของแบคทีเรียไอโซเลท LK 39 บนอาหารแข็ง (a) และภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 X (b)	56
4.9	ปริมาณน้ำตาลไซโลสที่เปลี่ยนแปลงในอาหารเหลว Basal ของ <i>K. pneumoniae</i> LK 39 ที่น้ำตาลไซโลสเริ่มต้นร้อยละ 10 ปริมาตร/ปริมาตร เติมแคลเซียมคาร์บอเนต ความเข้มข้นต่างๆ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 250 รอบ/นาที	59
4.10	การเจริญของ <i>K. pneumoniae</i> K 39 ในอาหารเหลว Basal ที่มีน้ำตาลไซโลสเริ่มต้นร้อยละ 10 ปริมาตร/ปริมาตร และเติมแคลเซียมคาร์บอเนตที่ความเข้มข้นต่างๆ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 250 รอบ/นาที	60
4.11	ค่าพีเอชในอาหารเหลว Basal ที่มีน้ำตาลไซโลสเริ่มต้นร้อยละ 10 ปริมาตร/ปริมาตร ของ <i>K. pneumoniae</i> LK 39 และเติมแคลเซียมคาร์บอเนตที่ความเข้มข้นต่างๆ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 250 รอบ/นาที	62
4.12	การเปลี่ยนแปลงกรดมาลิกในอาหารเหลว Basal ของ <i>K. pneumoniae</i> LK 39 ที่มีน้ำตาลไซโลสเริ่มต้นร้อยละ 10 ปริมาตร/ปริมาตร และเติมแคลเซียมคาร์บอเนตที่ความเข้มข้นต่างๆ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 250 รอบ/นาที	63
4.13	โครมาโตแกรมจากเครื่อง HPLC ของ <i>K. pneumoniae</i> LK 39 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเหลว Basal ที่มีน้ำตาลไซโลสเริ่มต้นร้อยละ 10 ปริมาตร/ปริมาตร เติมแคลเซียมคาร์บอเนตร้อยละ 5 น้ำหนัก/ปริมาตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็ว 250 รอบ/นาที ที่เวลา 72 ชั่วโมง โดยฟิค 1. คือกรดมาลิก 2. คือกรดซักซินิก	63
4.14	การเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลไซโลสที่ความเข้มข้นต่างๆ ในอาหารเหลว Basal ของ <i>K. pneumoniae</i> K 39 ที่มีแคลเซียมคาร์บอเนตร้อยละ 5 น้ำหนัก/ปริมาตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 250 รอบ/นาที	65

รายการรูปประกอบ (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4.15	การเจริญของ <i>K. pneumoniae</i> LK 39 ในอาหารเหลว Basal เมื่อใช้น้ำตาลไซโลส ที่ความเข้มข้นต่างๆ เติมแคลเซียมคาร์บอเนตร้อยละ 5 น้ำหนัก/ปริมาตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 250 รอบ/นาที	65
4.16	ค่าพีเอชในอาหารเหลว Basal ของ <i>K. pneumoniae</i> K 39 เมื่อใช้น้ำตาลไซโลส ที่ความเข้มข้นต่างๆ เติมแคลเซียมคาร์บอเนตร้อยละ 5 น้ำหนัก/ปริมาตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 250 รอบ/นาที	66
4.17	การเปลี่ยนแปลงกรดมาลิกในอาหารเหลว Basal ของ <i>K. pneumoniae</i> LK 39 เมื่อใช้น้ำตาลไซโลสที่ความเข้มข้นต่างๆ เติมแคลเซียมคาร์บอเนตร้อยละ 5 น้ำหนัก/ปริมาตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 250 รอบ/นาที	67
4.18	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในอาหารเหลว Basal ของ <i>K. pneumoniae</i> K 39 ที่เติมน้ำตาล ชนิดต่างๆ เข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร/ปริมาตร เติมแคลเซียมคาร์บอเนตร้อยละ 5 น้ำหนัก/ปริมาตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 250 รอบ/นาที	69
4.19	การเจริญของ <i>K. pneumoniae</i> K 39 ในอาหารเหลว Basal ที่เติมน้ำตาลชนิดต่างๆ เข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร/ปริมาตร เติมแคลเซียมคาร์บอเนตร้อยละ 5 น้ำหนัก/ปริมาตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 250 รอบ/นาที	69
4.20	ค่าพีเอชที่เปลี่ยนแปลงในอาหารเหลว Basal ของ <i>K. pneumoniae</i> LK 39 ที่เติมน้ำตาล ชนิดต่างๆ เข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร/ปริมาตร เติมแคลเซียมคาร์บอเนตร้อยละ 5 น้ำหนัก/ปริมาตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 250 รอบ/นาที	71
4.21	การเปลี่ยนแปลงกรดมาลิกในอาหารเหลว Basal ของ <i>K. pneumoniae</i> LK 39 ที่เติมน้ำตาลชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร/ปริมาตร เติมแคลเซียมคาร์บอเนตร้อยละ 5 น้ำหนัก/ ปริมาตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็ว รอบ 250 รอบ/นาที	71
4.22	โครมาโตแกรมจากเครื่อง HPLC ของ <i>K. pneumoniae</i> LK 39 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว Basal ที่มีน้ำตาลไซโลสเริ่มต้นร้อยละ 10 ปริมาตร/ปริมาตร เติมแคลเซียมคาร์บอเนตร้อยละ 5 น้ำหนัก/ปริมาตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่เวลา 72 ชั่วโมง ความเร็ว 250 รอบ/นาที โดยพีคที่ 1. คือกรดมาลิก 2. คือกรดซักซินิก	72

รายการรูปประกอบ (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4.23	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ในอาหารเหลว Basal ของ <i>K. pneumoniae</i> K 39 ที่มีเปลือกข้าวโพดและไซเลนเข้มข้นร้อยละ 1 น้ำหนัก/ปริมาตร เป็นแหล่งคาร์บอน และเติมแคลเซียมคาร์บอเนตร้อยละ 5 น้ำหนัก/ปริมาตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็ว 250 รอบ/นาที	73
4.24	การเจริญของของ <i>K. pneumoniae</i> K 39 ในอาหารเหลว Basal ที่มีเปลือกข้าวโพดและไซเลนเข้มข้นร้อยละ 1 น้ำหนัก/ปริมาตร เป็นแหล่งคาร์บอน เติมแคลเซียมคาร์บอเนตร้อยละ 5 น้ำหนัก/ปริมาตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็ว 250 รอบ/นาที	74
4.25	ค่าพีเอชในอาหารเหลว Basal ของ <i>K. pneumoniae</i> K 39 ที่มีเปลือกข้าวโพด และไซเลนเข้มข้นร้อยละ 1 น้ำหนัก/ปริมาตร เป็นแหล่งคาร์บอน เติมแคลเซียมคาร์บอเนตร้อยละ 5 น้ำหนัก/ปริมาตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็ว 250 นาที่	74
4.26	การเปลี่ยนแปลงกรดมาลิกในอาหารเหลว Basal ของ <i>K. pneumoniae</i> LK 39 ที่มีเปลือกข้าวโพดและไซเลนเข้มข้นร้อยละ 1 น้ำหนัก/ปริมาตร เติมแคลเซียมคาร์บอเนตร้อยละ 5 น้ำหนัก/ปริมาตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 250 รอบ/นาที	75
4.27	โครมาโตแกรมจากเครื่อง HPLC ของ <i>K. pneumoniae</i> LK 39 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว Basal ที่มีไซเลร้อยละ 1 น้ำหนัก/ปริมาตร แคลเซียมคาร์บอเนตร้อยละ 5 น้ำหนัก/ปริมาตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็ว 250 รอบ/นาที ที่เวลา 72 ชั่วโมงโดยฟิคที่ 1. กรดมาลิก	76
4.28	โครมาโตแกรมจากเครื่อง HPLC ของ <i>K. pneumoniae</i> LK 39 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว Basal ที่มีเปลือกข้าวโพดร้อยละ 1 น้ำหนัก/ปริมาตร แคลเซียมคาร์บอเนตร้อยละ 5 น้ำหนัก/ปริมาตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็ว 250 รอบ/นาที ที่เวลา 72 ชั่วโมงโดยฟิคที่ 1 คือกรดมาลิก	76
4.29	ค่า specific activity ของเอนไซม์ fumarase และปริมาณกรดมาลิกจากเชื้อ <i>K. pneumoniae</i> LK 39 โดยเลี้ยงในอาหารเหลว Basal ที่มีน้ำตาลไซโลสและกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน	78
4.30	ผลของกรดอินทรีย์ที่เติมลงในอาหารเหลว Basal ที่มีน้ำตาลไซโซลเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร/ปริมาตร เป็นแหล่งคาร์บอนของเชื้อ <i>K. pneumoniae</i> LK 39 บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ความเร็ว 250 รอบ/นาที	79

รายการรูปประกอบ (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.31	โครมาโตแกรมจากเครื่อง HPLC ของ <i>K. pneumoniae</i> LK 39 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว Basal ที่มีน้ำตาลไซโลสเริ่มต้นร้อยละ 10 ปริมาตร/ปริมาตร เติมแคลเซียมคาร์บอเนต ร้อยละ 5 น้ำหนัก/ปริมาตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่เวลา 72 ชั่วโมง ความเร็ว 250 รอบ/นาที โดยพีคที่ 1. คือกรดมาลิก 2. คือกรดซักซินิก 81
4.32	กราฟค่าการดูดกลืนแสงของกรดอินทรีย์ที่ผลิตจาก <i>K. pneumoniae</i> LK 39 ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Basal ที่มีน้ำตาลไซโลสเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร/ปริมาตร แคลเซียมคาร์บอเนตร้อยละ 5 น้ำหนัก/ปริมาตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 250 รอบ/นาที 81
4.33	โครมาโตแกรมจากเครื่อง HPLC ของ fraction ที่ 15 มีความบริสุทธิ์ร้อยละ 99 ที่ผลิตจาก <i>K. pneumoniae</i> LK 39 82
4.34	โครมาโตแกรมโดยที่พีคที่ 1.คือกรดมาลิกของ <i>K. pneumoniae</i> K 39 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว Basal ที่มีน้ำตาลไซโลสเริ่มต้นร้อยละ 10 ปริมาตร/ปริมาตร แคลเซียมคาร์บอเนต ร้อยละ 5 น้ำหนัก/ปริมาตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็ว 250 รอบ/นาที พีคที่ 2. คือสารละลายมาตรฐานกรดมาลิก 3. คือผสมกรดมาลิกของ <i>K. pneumoniae</i> LK 39 และสารละลายมาตรฐานกรดมาลิก (internal standard) 83

ประมวลศัพท์และคำย่อ

CFU	=	Colony forming unit
GC	=	Gas Chromatography (GC)
g/L	=	gram per liter
g/L/hr	=	gram per liter per hour
HPLC	=	High Performance Liquid Chromatography (HPLC)
hr	=	hour
rRNA	=	Ribosomal RNA