

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
กิตติกรรมประกาศ	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	VII
สารบัญภาพ	VIII
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	2
1.4 วิธีดำเนินการวิจัย	2
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 คุณสมบัติและความสำคัญของ 3-hydroxypropionic acid	4
2.1.1 คุณสมบัติของ 3-hydroxypropionic acid	4
2.1.2 ความสำคัญของ 3-hydroxypropionic acid	5
2.2 กระบวนการผลิต 3-hydroxypropionic acid โดยวิธีทางเคมี	7
2.2.1 กระบวนการออกซิเดชัน 1,3-propanediol ผ่านตัวเร่งปฏิกิริยาแพลเลเดียม	7
2.2.2 กระบวนการออกซิเดชัน 3-hydroxypropionaldehyde ผ่านตัวเร่งปฏิกิริยาแพลเลเดียม	8
2.2.3 กระบวนการไฮเดรชัน acrylic acid โดยใช้กรดเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา	8
2.3 การผลิต 3-hydroxypropionic acid โดยวิธีทางชีวภาพ	9
2.3.1 การผลิต 3-hydroxypropionic acid จากกลูโคส	10
2.3.2 การผลิต 3-hydroxypropionic acid จากกลีเซอรอล	14
2.3.2.1 การผลิต 3-hydroxypropionic acid จากกลีเซอรอลโดยวิถี CoA-dependent pathway	17
2.3.2.2 การผลิต 3-hydroxypropionic acid จากกลีเซอรอลโดยวิถี CoA-independent pathway	19

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.3.3 การผลิต 3-hydroxypropionic acid โดยการย่อยสลาย acrylic acid และ uracil	20
2.3.4 การผลิต 3-hydroxypropionic acid โดยวัฏจักร 3-hydroxypropionate และ 3-hydroxypropionate/4-hydroxybutyrate	21
2.4 ความเป็นพิษของ 3-hydroxypropionic acid	22
2.5 การนำ 3-hydroxypropionic acid ไปประยุกต์ใช้งาน	24
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	26
3.1 สารเคมีที่จำเป็นในการทดลอง	26
3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง	27
3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ	29
3.3.1 อาหารสำหรับคัดแยกจุลินทรีย์ที่เจริญในสภาวะที่มีอากาศ	29
3.3.1.1 อาหารเหลวสำหรับคัดแยกจุลินทรีย์ (M9 broth)	29
3.3.1.2 อาหารแข็งสำหรับคัดแยกจุลินทรีย์ (M9 agar)	29
3.3.2 อาหารสำหรับคัดแยกจุลินทรีย์ที่เจริญในสภาวะที่ไม่มีอากาศ	29
3.3.2.1 MRS broth	29
3.3.2.2 MRS agar	30
3.4 แหล่งเก็บตัวอย่าง	30
3.5 การคัดแยกจุลินทรีย์ที่สามารถใช้กลีเซอรอลและผลิตกรดได้	30
3.6 การตรวจสอบการผลิต 3-hydroxypropionic acid จากจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้	31
3.7 การวิเคราะห์ปริมาณ 3-hydroxypropionic acid ด้วยเครื่อง HPLC	31
3.8 การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและจำแนกสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้	31
3.9 การศึกษาการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้	32
3.10 การศึกษาผลของความเข้มข้นของกลีเซอรอลต่อการผลิต 3-hydroxypropionic acid	32
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล	33
4.1 แหล่งตัวอย่างที่นำมาคัดแยกจุลินทรีย์	33
4.2 การคัดแยกจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการผลิตกรด	34
4.3 การตรวจสอบการผลิต 3-hydroxypropionic acid โดยจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้	38
4.4 การศึกษาลักษณะสัณฐานทั่วไปของไอโซเลท Y26	42

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.5 การพิสูจน์เอกลักษณ์ของไอโซเลท Y26	43
4.6 การศึกษาการเจริญเติบโตและการผลิต 3-hydroxypropionic acid ของ <i>Klebsiella pneumonia</i> Y26	45
4.7 การศึกษาผลของความเข้มข้นของกลีเซอรอลต่อการผลิต 3-hydroxypropionic acid	46
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	49
5.1 สรุปผลการวิจัย	49
5.2 ข้อเสนอแนะ	50
บทที่ 6 สรุปผลผลิตงานวิจัย	51
6.1 สรุปรายชื่อและรายละเอียดผลผลิตงานวิจัยที่ผลิตได้ทั้งหมด	51
เอกสารอ้างอิง	52
ภาคผนวก	58
ภาคผนวก ก หลักฐานเอกสารอ้างอิงสำหรับรายละเอียดผลผลิตงานวิจัยที่ผลิตได้ทั้งหมด	59
ภาคผนวก ข สรุปค่าใช้จ่ายการดำเนินงานโครงการวิจัย	62
ประวัตินักวิจัย	63

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 สารอนุพันธ์ของ 3-hydroxypropionic acid	6
2.2 แสดงผลผลิต ATP และความเป็นไปได้ของการเกิดการเปลี่ยนแปลงพลังงานเทอร์โมไดนามิกของการใช้กลูโคสในการสร้าง 3-hydroxypropionic acid	10
2.3 แสดงคุณสมบัติของกลีเซอรอล	16
4.1 แสดงแหล่งเก็บตัวอย่าง รหัสเชื้อ และลักษณะโคโลนีของจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ เมื่อเพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีอากาศ	35
4.2 แสดงแหล่งเก็บตัวอย่าง รหัสเชื้อ และลักษณะโคโลนีของจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ เมื่อเพาะเลี้ยงในสภาวะที่ไม่มีอากาศ	36
4.3 แสดงปริมาณ 3-hydroxypropionic acid ที่ผลิตได้จากจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ เมื่อเพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีอากาศ	39
4.4 แสดงปริมาณ 3-hydroxypropionic acid ที่ผลิตได้จากจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ เมื่อเพาะเลี้ยงในสภาวะที่ไม่มีอากาศ	40
4.5 แสดงปริมาณการผลิต 3-hydroxypropionic acid โดยจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ	42
4.6 แสดงปริมาณการผลิต 3-hydroxypropionic acid (กรัมต่อลิตร) โดย <i>Klebsiella pneumonia</i> Y26 ที่สภาวะการเพาะเลี้ยงและความเข้มข้นของกลีเซอรอลแตกต่างกัน	47

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 โครงสร้างทางเคมีของ 3-hydroxypropionic acid	5
2.2 สารอนุพันธ์ที่ผลิตโดยใช้ 3-hydroxypropionic acid เป็นสารตั้งต้น	6
2.3 โครงสร้างทางเคมีของ 3-hydroxypropionic acid และสารตั้งต้นที่ใช้ในการผลิต 3-hydroxypropionic acid ทั้งทางเคมีและทางชีวภาพ	7
2.4 กระบวนการออกซิเดชัน 1, 3-propanediol ที่มีแพลเลเดียมเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในการผลิต 3-hydroxypropionic acid	8
2.5 กระบวนการออกซิเดชันของ 3-hydroxypropionaldehyde ที่มีแพลเลเดียม หรือแพลทตินัมเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในการผลิต 3-hydroxypropionic acid	8
2.6 กระบวนการไฮเดรชัน acrylic acid โดยใช้กรดเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา	9
2.7 วิธีเมตาบอลิซึมในการผลิต 3-hydroxypropionic acid จากกลูโคส	11
2.8 แสดง Metabolic pathways ในกระบวนการเมตาบอลิซึมกลีเซอรอล ผ่าน 2 pathway ได้แก่ CoA-dependent pathway และ CoA-independent pathway	17
2.9 แสดงการผลิต 3-hydroxypropionic acid โดยวิธี CoA-independent pathway	20
2.10 การผลิต 3-hydroxypropionic acid โดยอาศัยกระบวนการย่อยสลาย uracil	20
2.11 การผลิต 3-hydroxypropionic acid โดยวิธี autotrophic ผ่านวัฏจักร 3-hydroxypropionate และ 3-hydroxypropionate/4-hydroxybutyrate	22
2.12 สารตั้งต้นทางเคมีและทางชีวภาพที่สามารถใช้ในการสังเคราะห์ 3-hydroxypropionic acid และผลิตภัณฑ์ที่ได้จาก 3-hydroxypropionic acid	25
4.1 ตัวอย่างแหล่งดินและน้ำเสียที่นำมาคัดแยกจุลินทรีย์	33
4.2 ตัวอย่างลักษณะโคโลนีและการเกิดโซนใสของจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้จากแหล่งต่างๆ	34
4.3 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาทั่วไปของไอโซเลท Y26 ตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า	43
4.4 แสดงลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 16S ribosomal RNA gene ของไอโซเลท Y26	44
4.5 ลักษณะการเจริญเติบโตและปริมาณ 3-hydroxypropionic acid (กรด 3-HP) ของ <i>Klebsiella pneumonia</i> Y26 ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร M9 broth ที่เติมกลีเซอรอล 20 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 72 ชั่วโมง	45
4.6 เมตาบอลิซึมของกลีเซอรอลเพื่อเปลี่ยนไปเป็น 3-hydroxypropionic acid	48

