การสลายไดเบนโซไธโอฟีนโดย *Bacillus* K10

นางสาวพรพิมล เปรมชัยพร

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
ภาควิชาจุลชีววิทยา
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
พ.ศ. 2539

ISBN 974-636-111-2

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I 17280692

DEGRADATION OF DIBENZOTHIOPHENE BY *Bacillus* K10

Miss Pornpimol Premchaiporn

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partail Fulfillment of the Requirements

for the degree of Master of Science

Department of Microbiology

Graduate School

Chulalongkorn University

1996

ISBN 974-636-111-2

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การสลายไดเบนโซไธโอฟีนโดย *Bacillus* K10

โดย นางสาวพรพิมล เปรมชัยพร

ภาควิชา จุลชีววิทยา

อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อัญชริดา อัครจรัลญา

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วราภรณ์ ลีพิพัฒน์ไพบูลย์

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ ศุภวัฒน์ ชุติวงศ์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุเทพ ธนียวัน)

.....อาจารย์ที่ปรึกษา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อัญชริดา อัครจรัลญา)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วราภรณ์ ลีพิพัฒน์ไพบูลย์)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

พรพิมล เปรมชัยพร : การสลายไดเบนโซไธโอฟีนโดย *Bacillus* K10 (DEGRADATION OF DIBENZOTHIOPHENE BY *Bacillus* K10) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผศ.ดร. อัญชริดา อัครจรัลญา, อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม : ผศ.ดร. วราภรณ์ ลีพิพัฒน์ไพบูลย์ ; 94 หน้า. ISBN 974-636-111-2.

เมื่อใช้ไดเบนโซไธโอฟีนเป็นตัวแทนของกำมะถันอินทรีย์ในถ่านหินลิกไนต์ สามารถแยกแบคทีเรียที่ย่อยสลายไดเบนโซไธโอฟีนได้ 342 สายพันธุ์ เป็นแบคทีเรียที่ย่อยสลายไดเบนโซไธโอฟีนด้วยวิถี 4S หรือวิถีที่ย่อยสลายเอาเฉพาะโมเลกุลกำมะถันออกมาจากโมเลกุลของไดเบนโซไธโอฟีนเพียง 1 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์ K10 เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหาร NBYE แต่เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่ปราศจากสารกำมะถัน อุณหภูมิสูงสุดที่สามารถเจริญได้คือ 25-30 องศาเซลเซียส จากองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากกำมะถัน การเพิ่มปริมาณสารสกัดจากยีสต์มีผลทำให้การเจริญของเชื้อเพิ่มมากขึ้น ซึ่งการเพิ่มปริมาณการเจริญของเชื้อนี้อาจใช้วิตามินไบโอติน ไซยาโนโคบาลามิน วิตามินรวม กรดอะมิโนอะลานีน ทริปโตเฟน กรดอะมิโนรวม แหล่งไนโตรเจนอินทรีย์ เช่น เคซีน สารสกัดจากเนื้อ เปปโตน และทริปโตน แทนสารสกัดจากยีสต์ ผลการวิเคราะห์น้ำเลี้ยงเชื้อ พบ 2-ไฮดรอกซีไบฟีนิล ซึ่งเป็นสารตัวกลางที่บ่งชี้ว่าแบคทีเรียย่อยสลายไดเบนโซไธโอฟีนโดยวิถี 4S เฉพาะในน้ำเลี้ยงเชื้อปราศจากกำมะถันที่เติมสารสกัดจากยีสต์ เคซีน และสารสกัดจากเนื้อ ภาวะที่แบคทีเรีย K10 สามารถย่อยสลายไดเบนโซไธโอฟีนให้ได้เป็น 2-ไฮดรอกซีไบฟีนิลสูงสุดคือเมื่อเพาะเลี้ยงไว้ในอาหารที่ปราศจากสารกำมะถันที่เติมไดเบนโซไธโอฟีน และเติมเคซีนความเข้มข้น 0.20 เปอร์เซ็นต์ แทนสารสกัดจากยีสต์ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบ/นาที เป็นเวลา 3 วัน ปริมาณ 2-ไฮดรอกซีไบฟีนิลที่ได้คือ 18.0 ไมโครกรัม/100 มล. NADH มีผลทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ย่อยสลายไดเบนโซไธโอฟีนของแบคทีเรียสายพันธุ์ K10 สูงขึ้น พบความสัมพันธ์ระหว่างการลดลงของไดเบนโซไธโอฟีนและการเพิ่มขึ้นของ 2-ไฮดรอกซีไบฟีนิลไม่พบพลาสมิดใด ๆ ในเซลล์ของแบคทีเรียสายพันธุ์ K10 แสดงว่ายีนที่เป็นรหัสของเอนไซม์ย่อยสลายไดเบนโซไธโอฟีนอยู่บนโครโมโซม

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา จุลชีววิทยา ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....

ปีการศึกษา 2539 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

C626282 : MAJOR MICROBIOLOGY
KEY WORD: DIBENZOTHIOPHENE / MICROBIAL DESULFURIZATION

PORNPIMOL PREMCHAIPORN : DEGRADATION OF DIBENZOTHIOPHENE BY *Bacillus* K10. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. ANCHARIDA AKARACHARANYA, Ph.D. THESIS CO-ADVISOR : ASST. PROF. VARAPORN LEEPIPATPIBOON, Dr. rer. nat.
94 pp. ISBN 974-636-111-2.

By using dibenzothiophene as the representative of organic sulfur in lignite ,342 bacterial strains capable of degrading dibenzothiophene were isolated. Only one strain isolated, K10, degraded dibenzothiophene by 4S pathway which removed only sulfur molecule from the molecule of dibenzothiophene. Bacterial strain K10 had an optimal growth temperature at 45° C, when grown in nutrient broth-yeast extract medium, but showed maximum growth at 25-30° C in sulfur free mineral medium. Among the ingredient of sulfur free mineral medium, when more higher yeast extract was added the higher growth was obtained. Similar results can also be obtained by the addition of biotin, cyanocobalamin, vitamin mixture, alanine, tryptophan, casein, beef extract, peptone and tryptone in place of yeast extract. Analysis of the culture filtrate revealed the present of 2-hydroxybiphenyl, an intermediate indicating that dibenzothiophene was degrading via 4S pathway, only in sulfur free mineral medium that further supplemented with yeast extract, casein and beef extract. Optimal condition for the degradation of dibenzothiophenene to 2-hydroxybiphenyl by strain K10 in sulfur free mineral medium containing dibenzothiophene was 0.20% (w/v) casein in place of yeast extract, 200 rpm shaking at 30° C for 3 days, with 2-hydroxybiphenyl obtained was 18.0 ug/100ml. The activity of dibenzothiophene degrading enzyme was found activated by NADH. A reverse relationship between dibenzothiophene and 2-hydroxybiphenyl was observed. There was no any plasmid found in strain K10 cell, therefore, the gene encoded dibenzothiophene degrading enzyme must be located in the chromosome.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา จุลชีววิทยา ลายมือชื่อนิสิต .....
สาขาวิชา จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....
ปีการศึกษา 2539 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีโดยได้รับความกรุณาจากอาจารย์ที่ปรึกษาผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อัญชริดา อัครจรัสญา ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำแนวทางในการทำงานวิจัย ข้อคิดเห็นตลอดจนแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วราภรณ์ ลีพิพัฒน์ไพบูลย์ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำ และความเอื้อเฟื้อในการใช้เครื่องแก๊ส โครมาโตกราฟฟี

ขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุเทพ ธนียวัน และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์ ที่ได้กรุณาเป็นคณะกรรมการในการสอบและให้คำแนะนำต่าง ๆ รวมทั้งแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณการไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทยที่ให้ทุนวิจัยสนับสนุนงานวิจัยนี้

ขอขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านที่ได้ให้กำลังใจ คำแนะนำ และข้อคิดเห็นต่าง ๆ ในงานวิจัยนี้ ตลอดจนเจ้าหน้าที่ในภาควิชาจุลชีววิทยาทุกท่าน ที่ให้ความสะดวกในด้านต่าง ๆ และมีส่วนช่วยเหลือในงานวิจัย

ขอขอบพระคุณเพื่อน ๆ พี่ ๆ น้อง ๆ ที่ให้กำลังใจ และมีส่วนช่วยเหลืองานวิจัยนี้

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ พี่น้องรวมทั้งญาติทุกท่านที่ได้ให้กำลังใจ ช่วยเหลือและสนับสนุนในด้านต่าง ๆ จนงานวิจัยในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดีและสำเร็จการศึกษา

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

เรื่อง **หน้า**

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ
กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ
สารบัญ ..... ช
สารบัญตาราง ..... ซ
สารบัญรูป ..... ฌ
สัญลักษณ์และคำย่อ ..... ฑ
บทที่
1. บทนำ 1
2. อุปกรณ์และวิธีดำเนินการทดลอง 23
3. ผลการทดลอง 38
4. สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย 73
รายการอ้างอิง 78
ภาคผนวก ก 82
ภาคผนวก ข 84
ภาคผนวก ค 89
ประวัติผู้เขียน 94

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

1. แบคทีเรียชนิดต่าง ๆ และประสิทธิภาพของแบคทีเรียแต่ละชนิดในการกำจัดกำมะถันออกจากถ่านหิน..... 10
2. แบคทีเรียสายพันธุ์ต่าง ๆ ที่สามารถย่อยสลายไดเบนโซไธโอฟีน..... 14
3. ปริมาณของ 2-ไฮดรอกซีไบฟีนิลที่ตรวจพบในน้ำเลี้ยงเชื้อของแบคทีเรียสายพันธุ์ K10 เมื่อแปรผันชนิดของไนโตรเจนอินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ SFMM..... 64
4. ผลของ NADH ต่อกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยสลายไดเบนโซไธโอฟีนในสารสกัดจากเซลล์ของแบคทีเรียสายพันธุ์ K10..... 70
5. ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morphological Characteristic) ของแบคทีเรียสายพันธุ์ K10.. 71
6. ผลการทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมี (Biochemical Characteristic)..... 71

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูป

รูปที่ **หน้า**

1. สารประกอบกำมะถันอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ที่พบในถ่านหินลิกไนต์..... 3
2. วิถีการย่อยสลายไดเบนโซไธโอฟีน (ไดเบนโซไธโอฟีน) โดยแบคทีเรีย
(a) Sulfoxide-sulfone-sulfonate-sulfate (4S) pathway
(b) Carbon-destructive metabolic pathway..... 13
3. ผลการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายไดเบนโซไธโอฟีนโดยวิธีทิน เลเยอร์ โครมาโตกราฟฟี..... 39
4. โครมาโตแกรมแสดงผลการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยสลายไดเบนโซไธโอฟีนโดย แบคทีเรียสายพันธุ์ K10 ด้วยแก๊ส โครมาโตกราฟฟี..... 40
5. การเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ K10 เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว NBYE โดยแปรผัน อุณหภูมิที่ใช้เลี้ยงเป็นอุณหภูมิ 25-30, 40, 45 และ 50 องศาเซลเซียส บ่มเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 36 ชั่วโมง..... 42
6. การเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ K10 เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว SFMM ที่เติมไดเบน-โซไธโอฟีน ความเข้มข้นสุดท้าย 0.05 เปอร์เซนต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) ค่าความเป็นกรดด่าง เริ่มต้นเท่ากับ 7.2 โดยแปรผันอุณหภูมิที่ใช้เลี้ยงเป็นอุณหภูมิ 25-30, 40 และ 45 องศา เซียลเซียส บ่มเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 4 วัน..... 43
7. ผลของความเข้มข้นของไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต และโปแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ต่อการเจริญ และการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรดด่าง เมื่อเลี้ยงแบคทีเรียสายพันธุ์ K10 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว SFMM ที่เติมไดเบนโซไธโอฟีน ความเข้มข้นสุดท้าย 0.05 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นเท่ากับ 7.2 บ่มเขย่าบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน ชุดควบคุมคือความเข้มข้น ของแอมโมเนียมไนเตรทในสูตรอาหาร SFMM 0.22/0.08 เปอร์เซนต์ โดยใช้ความเข้มข้น ของไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต / โปแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ดังนี้ 0.22/0.08, 0.44/0.16 และ 0.66/0.24 เปอร์เซ็นต์..... 45
8. ผลของความเข้มข้นของแอมโมเนียมไนเตรทต่อการเจริญ และการเปลี่ยนแปลงของค่าความ เป็นกรดด่าง เมื่อเลี้ยงแบคทีเรียสายพันธุ์ K10 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว SFMM ที่เติม ไดเบน-โซไธโอฟีน ความเข้มข้นสุดท้าย 0.05 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) ค่าความเป็นกรดด่าง

สารบัญรูป (ต่อ)

เริ่มต้นเท่ากับ 7.2 บ่มเขย่าบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน ชุดควบคุมคือความเข้มข้นของแอมโมเนียมไนเตรทในสูตรอาหาร SFMM 0.3 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ความเข้มข้นของแอมโมเนียมไนเตรทดังนี้ 0, 0.3, 0.6 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์..... 46

9. ผลของความเข้มข้นของเฟอริกคลอไรด์ต่อการเจริญ และการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรดด่าง เมื่อเลี้ยงแบคทีเรียสายพันธุ์ K10 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว SFMM ที่เติม ไดเบน-โซไธโอฟีน ความเข้มข้นสุดท้าย 0.05 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นเท่ากับ 7.2 บ่มเขย่าบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน ชุดควบคุมคือความเข้มข้นของเฟอริกคลอไรด์ในสูตรอาหาร SFMM 0.001 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ความเข้มข้นของเฟอริกคลอไรด์ดังนี้ 0, 0.001, 0.002, 0.005 และ 0.01 เปอร์เซ็นต์..... 47

10. ผลของความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์ต่อการเจริญ และการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรดด่าง เมื่อเลี้ยงแบคทีเรียสายพันธุ์ K10 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว SFMM ที่เติมไดเบน-โซไธโอฟีน ความเข้มข้นสุดท้าย 0.05 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นเท่ากับ 7.2 บ่มเขย่าบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน ชุดควบคุมคือความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์ในสูตรอาหาร SFMM 0.001 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์ดังนี้ 0, 0.001, 0.002, 0.005 และ 0.01 เปอร์เซ็นต์..... 48

11. ผลของความเข้มข้นของแมกนีเซียมคลอไรด์ต่อการเจริญ และการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรดด่าง เมื่อเลี้ยงแบคทีเรียสายพันธุ์ K10 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว SFMM ที่เติมไดเบน-โซไธโอฟีน ความเข้มข้นสุดท้าย 0.05 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นเท่ากับ 7.2 บ่มเขย่าบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน ชุดควบคุมคือความเข้มข้นของแมกนีเซียมคลอไรด์ในสูตรอาหาร SFMM 0.001 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ความเข้มข้นของแมกนีเซียมคลอไรด์ดังนี้ 0, 0.001, 0.002, 0.005 และ 0.01 เปอร์เซ็นต์..... 49

12. ผลของความเข้มข้นของสารสกัดจากยีสต์ต่อการเจริญ และการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรดด่าง เมื่อเลี้ยงแบคทีเรียสายพันธุ์ K10 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว SFMM ที่เติม ไดเบน-โซไธโอฟีน ความเข้มข้นสุดท้าย 0.05 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) ค่าความเป็นกรดด่าง

สารบัญรูป (ต่อ)

เริ่มต้นเท่ากับ 7.2 บ่มเขย่าบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน ชุดควบคุมคือความเข้มข้นของสารสกัดจากยีสต์ในสูตรอาหาร SFMM 0.005 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัดจากยีสต์ดังนี้ 0, 0.005, 0.01, 0.025 และ 0.05 เปอร์เซ็นต์..... 50

13. ผลของความเข้มข้นของกลูโคสต่อการเจริญ และการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรดด่าง เมื่อเลี้ยงแบคทีเรียสายพันธุ์ K10 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว SFMM ที่เติมไดเบนโซไธโอฟีน ความเข้มข้นสุดท้าย 0.05 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นเท่ากับ 7.2 บ่มเขย่าบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน ชุดควบคุมคือความเข้มข้นของกลูโคสในสูตรอาหาร SFMM 1.0 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ความเข้มข้นของกลูโคสดังนี้ 0, 1.0, 2.0, 5.0 และ 0.10 เปอร์เซ็นต์..... 51
14. ผลของความเข้มข้นของวิตามิน ไบโอติน ไซยาโนโคบาลามิน วิตามินรวม ต่อการเจริญและการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรดด่าง เมื่อเลี้ยงแบคทีเรียสายพันธุ์ K10 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว SFMM ที่เติมไดเบนโซไธโอฟีน ความเข้มข้นสุดท้าย 0.05 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นเท่ากับ 7.2 บ่มเขย่าบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน ชุดควบคุมคืออาหารเลี้ยงเชื้อเหลว SFMM ที่เติมสารสกัดจากยีสต์ ความเข้มข้นสุดท้าย 0.005 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร)... 53
15. ผลของความเข้มข้นของกรดอะมิโน อะลานีน ทริปโตเฟน กรดอะมิโนรวมต่อการเจริญและการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรดด่าง เมื่อเลี้ยงแบคทีเรียสายพันธุ์ K10 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว SFMM ที่เติมไดเบนโซไธโอฟีน ความเข้มข้นสุดท้าย 0.05 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นเท่ากับ 7.2 บ่มเขย่าบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน ชุดควบคุมคืออาหารเลี้ยงเชื้อเหลว SFMM ที่เติมสารสกัดจากยีสต์ ความเข้มข้นสุดท้าย 0.005 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร)... 55
16. ผลของความเข้มข้นของเคซีนต่อการเจริญ และการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรดด่าง เมื่อเลี้ยงแบคทีเรียสายพันธุ์ K10 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว SFMM ที่เติมไดเบนโซไธโอฟีน ความเข้มข้นสุดท้าย 0.05 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) แต่ไม่เติมสารสกัดจากยีสต์ ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นเท่ากับ 7.2 บ่มเขย่าบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน ชุดควบคุมคืออาหารเลี้ยงเชื้อเหลว SFMM ที่เติมสารสกัดจากยีสต์ ความเข้มข้นสุดท้าย 0.005 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ความเข้มข้นของเคซีนดังนี้

สารบัญรูป (ต่อ)

0.01, 0.10, 0.20, 0.50, 1.0, 2.0, 3.0 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์..... 57

17. ผลความเข้มข้นที่เหมาะสมของเคซีนต่อการเจริญ เมื่อเลี้ยงแบคทีเรียสายพันธุ์ K10 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่เติมไดเบนโซไธโอฟีน ความเข้มข้นสุดท้าย 0.05 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) แต่ไม่เติมสารสกัดจากยีสต์ ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นเท่ากับ 7.2 บ่มเขย่าบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน..... 58

18. ผลของความเข้มข้นของสารสกัดจากเนื้อต่อการเจริญ และการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรดด่าง เมื่อเลี้ยงแบคทีเรียสายพันธุ์ K10 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว SFMM ที่เติมไดเบนโซไธโอฟีน ความเข้มข้นสุดท้าย 0.05 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นเท่ากับ 7.2 บ่มเขย่าบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน ชุดควบคุมคืออาหารเลี้ยงเชื้อเหลว SFMM ที่เติมสารสกัดจากยีสต์ ความเข้มข้นสุดท้าย 0.005 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) โดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัดจากเนื้อดังนี้ 0.05, 0.10, 0.50, 1.0, 1.5 และ 2.0 เปอร์เซ็นต์..... 59

19. ผลของความเข้มข้นของเปปโตนต่อการเจริญ และการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรดด่าง เมื่อเลี้ยงแบคทีเรียสายพันธุ์ K10 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว SFMM ที่เติมไดเบนโซไธโอฟีน ความเข้มข้นสุดท้าย 0.05 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) แต่ไม่เติมสารสกัดจากยีสต์ ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นเท่ากับ 7.2 บ่มเขย่าบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน ชุดควบคุมคืออาหารเลี้ยงเชื้อเหลว SFMM ที่เติมสารสกัดจากยีสต์ ความเข้มข้นสุดท้าย 0.005 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) โดยใช้ความเข้มข้นของเปปโตนดังนี้ 0.05 และ 0.10 เปอร์เซ็นต์..... 60

20. ผลของความเข้มข้นของทริปโตนต่อการเจริญ และการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรดด่าง เมื่อเลี้ยงแบคทีเรียสายพันธุ์ K10 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว SFMM ที่เติมไดเบนโซไธโอฟีน ความเข้มข้นสุดท้าย 0.05 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) แต่ไม่เติมสารสกัดจากยีสต์ ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นเท่ากับ 7.2 บ่มเขย่าบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 วัน ชุดควบคุมคืออาหารเลี้ยงเชื้อเหลว SFMM ที่เติมสารสกัดจากยีสต์ ความเข้มข้นสุดท้าย 0.005 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) โดยใช้ความเข้มข้นของทริปโตนดังนี้ 0.05 และ 0.10 เปอร์เซ็นต์..... 61

21. ผลการเจริญ ปริมาณ 2-ไฮดรอกซีไบฟีนิล และค่าความเป็นกรดด่าง เมื่อเลี้ยงแบคทีเรียสายพันธุ์ K10 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว SFMM ที่เติมไดเบนโซไธโอฟีน ความเข้มข้นสุด

สารบัญรูป (ต่อ)

ท้าย 0.05 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) และเติมเคซีนความเข้มข้นสุดท้าย 0.20 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) แทนสารสกัดจากยีสต์ ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นเท่ากับ 7.2 บ่มเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน..... 66

22. ความสัมพันธ์ระหว่างการย่อยสลายไดเบนโซไธโอฟีน และการสร้าง 2-ไฮดรอกซีไบฟีนิลของแบคทีเรียสายพันธุ์ K10 เมื่อเลี้ยงไว้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ SFMM ที่เติมเคซีนความเข้มข้นสุดท้าย 0.20 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) และเติมไดเบนโซไธโอฟีน ความเข้มข้นสุดท้าย 0.125 มิลลิโมลาร์..... 68
23. อะกาโรส เจล อิเลคโตรโฟรีซิสของดีเอ็นเอชนิด covalently-closed circular..... 72
24. กราฟมาตรฐานของโปรตีนบีเอสเอเพื่อใช้หาความเข้มข้นของโปรตีนทดสอบ..... 90
25. โครมาโตแกรมแสดงผลการวิเคราะห์สารมาตรฐานของไดเบนโซไธโอฟีนโดยวิธีแก๊ส โครมาโตกราฟฟี..... 91
26. กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้พีคกับปริมาณไดเบนโซไธโอฟีน โดยวิธีแก๊ส โครมาโตกราฟฟี..... 92
27. กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้พีคกับปริมาณ 2-ไฮดรอกซีไบฟีนิล โดยวิธีแก๊ส โครมาโตกราฟฟี..... 93

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สัญญลักษณ์และคำย่อ

ชม. = ชั่วโมง

มก. = มิลลิกรัม

มม. = มิลลิเมตร

มล. = มิลลิลิตร

M = โมลาร์

mM = มิลลิโมลาร์

rpm = รอบต่อนาที

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย