การผลิตและลักษณะสมบัติของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตจาก *Pseudomonas* sp. สายพันธุ์ A41 โดยใช้น้ำมันปาล์มเป็นแหล่งคาร์บอน

นางสาว นพรัตน์ วานิชสุขสมบัติ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ภาควิชาจุลชีววิทยา
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2545

ISBN 974-17-1076-3

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF BIOSURFACTANT PRODUCED BY *Pseudomonas* sp. STRAIN A41 USING PALM OIL AS A CARBON SOURCE

Miss Nopparat Wanitsuksombut

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science in Industrial Microbiology

Department of Microbiology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2002

ISBN 974-17-1076-3

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การผลิตและลักษณะสมบัติของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตจาก *Pseudomonas* sp. สายพันธุ์ A41 โดยใช้น้ำมันปาล์มเป็นแหล่งคาร์บอน
โดย	นางสาว นพรัตน์ วานิชสุขสมบัติ
สาขาวิชา	จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุเทพ ธนียวัน
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ จิราภรณ์ ธนียวัน

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

(รองศาสตราจารย์ ดร.วันชัย โพธิ์พิจิตร)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.ไพเราะ ปิ่นพานิชการ)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุเทพ ธนียวัน)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ จิราภรณ์ ธนียวัน)

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.อมร เพชรสม)

นางสาว นพรัตน์ วานิชสุขสมบัติ : การผลิตและลักษณะสมบัติของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตจาก *Pseudomonas* sp. สายพันธุ์ A41 โดยใช้น้ำมันปาล์มเป็นแหล่งคาร์บอน (PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF BIOSURFACTANT PRODUCED BY *Pseudomonas* sp. STRAIN A41 USING PALM OIL AS A CARBON SOURCE)
อาจารย์ที่ปรึกษา : ผศ. ดร. สุเทพ ธนียวัน อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม : ผศ. จิราภรณ์ ธนียวัน
135 หน้า ISBN 974-17-1076-3

Pseudomonas sp. สายพันธุ์ A41 คัดแยกได้จากน้ำทะเลในอ่าวไทย มีความสามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพสูงสุดในภาวะที่ใช้น้ำมันปาล์มเป็นแหล่งคาร์บอน และใช้ NH_4NO_3 เป็นแหล่งไนโตรเจน ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวกำหนดสูตรโดยมีอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 10.29 ค่าความเป็นกรดเป็นด่างเท่ากับ 7.0 บ่มที่อุณหภูมิห้อง ($30\pm^{\circ}C$), เขย่าที่ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 72 ชั่วโมง มีค่า production yield ($Y_{P/S}$) 0.125 กรัมต่อกรัม ซึ่งมีค่ามากกว่าผลิตโดยใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนซึ่งมีค่า production yield ($Y_{P/S}$) 0.113 กรัมต่อกรัม เมื่อนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ทำให้บริสุทธิ์ด้วยการสกัดโดยตัวทำละลายอินทรีย์พบว่ามีค่า critical micelle concentration (CMC) เท่ากับ 50 มก.ต่อ ลิตร สามารถลดแรงตึงผิวที่ค่าความเป็นกรดเป็นด่างระหว่าง 2–12 เสถียรที่ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง 2-12 เสถียรต่อความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์มากกว่า 5.0% ที่อุณหภูมิ 100 $^{\circ}C$ นาน 15 ชั่วโมง และ 121 $^{\circ}C$ นาน 240 นาที สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่บริสุทธิ์บางส่วนสามารถเกิดอิมัลชั่นกับสารไฮโดรคาร์บอนได้หลากหลายเมื่อวัดค่าอิมัลชั่น อินเด็กซ์ และอิมัลชั่นจะเสถียรตลอด 30 วันกับ ไดคลอโรมีเทน เฮกเซน โทลูนอีน ไซลีน คลอโรฟอร์ม และน้ำมันพาราฟิน และมีความสามารถในการละลายได้กับตัวทำละลายอินทรีย์หลายชนิดหากละลายได้ดีที่สุดกับคลอโรฟอร์มและเมทานอล และไม่ละลายในเฮกเซน ยิ่งไปกว่านั้นสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่บริสุทธิ์บางส่วนมีความสามารถในการกระจายน้ำมันไม่ด้อยไปกว่าสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ เมื่อทำให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีโครมาโตกราฟีและ ทำเคมีวิเคราะห์ด้วย LC-MS และ IR spectrum สามารถกล่าวได้ว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้เป็นแรมโนลิปิด

ภาควิชาจุลชีววิทยา	ลายมือชื่อนิสิต.....
สาขาวิชา จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....
ปีการศึกษา 2545	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

4272309123 :MAJOR INDUSTRIAL MICROBIOLOGY

KEY WORD: BIOSURFACTANT / RHAMNOLIPIDS / SURFACE ACTIVE AGENT

NOPPARAT WANITSUKSOMBUT : THESIS TITLE. (PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF BIOSURFACTANT PRODUCE BY *Pseudomonas* sp. STRAIN A41 USING PALM OIL AS A CARBON SOURCE) THESIS ADVISOR : ASSIST. PROF. SUTHEP THANIYAVARN, Ph.D., THESIS COADVISOR : ASSIST. PROF. JIRAPORN THANIYAVARN, 135 pp. ISBN 974-17-1076-3

Pseudomonas sp. strain A41, an organism isolated from Gulf of Thailand has been shown capable of producing biosurfactant. When cultivated in chemical defined medium using palm oil as a carbon source, NH_4NO_3 as a nitrogen source while adjusted C/N ratio to 10.29, pH to 7.0 and incubated at room temperature (30 ± 2 ^{O}C) with 200 rpm of agitation for 72 hours. The organism gave production yield ($Y_{P/S}$) 0.125 g/g which is higher than 0.113 g/g that of when glucose was employed as a carbon source. The partially purified biosurfactant demonstrated CMC value of 50 mg/l and showed its surface active activity in broad pH rang (2-12). In additional, the biosurfactant thereof was found stable to pH 2-12, NaCl up to 5%, 100 ^{O}C 15 hours and 240 minutes at 121 ^{O}C. High emulsion index emulsion could be formed with various organic solvents and oil while emulsion formed were stable even after 30 days in dichloromethane, hexane, toluene, xylene, chloroform and paraffin oil. This biosurfactant showed good solubility in numbers of organic solvent in which chloroform and methanol were the better one but insoluble in hexane. Its respective oil displacement activity was as good as if not better than various know chemical surfactants and finally its LC-MS pattern and IR spectrum indicated a rhamnolipid in nature.

Department Microbiology — Student's signature Nopparat Wanitsuksombut

Field of study Industrial Microbiology — Advisor's signature

Academic year 2002 — Co- advisor's signature Jiraporn Thaniyavarn

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดีจากความช่วยเหลือเป็นอย่างยิ่งของผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุเทพ ธนียวัน อาจารย์ที่ปรึกษา และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ จิราภรณ์ ธนียวัน อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม วิทยานิพนธ์ที่ให้ความกรุณาให้ความรู้คำแนะนำและข้อคิดเห็นต่างๆ ตลอดจนได้กรุณาปรับปรุงวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้นซึ่งผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ. ที่นี้

ขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. ไพเราะ ปิ่นพานิชการ ที่กรุณารับเป็นประธานกรรมการในการสอบ ตลอดจนให้ความรู้และคำแนะนำต่างๆแก่ผู้วิจัยเสมอมา

ขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. อมร เพชรสม ที่กรุณารับเป็นกรรมการในการสอบและให้ความรู้ ข้อแนะนำตลอดจนช่วยแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

กราบขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านในภาควิชาจุลชีววิทยาที่กรุณาให้ความรู้คำแนะนำและคำสั่งสอนต่างๆ แก่ผู้วิจัยเสมอมา

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ในภาควิชาจุลชีววิทยา และเจ้าหน้าที่ศูนย์เครื่องมือจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่ช่วยอำนวยความสะดวกและช่วยเหลือเป็นอย่างดีเสมอมา

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยและกรมวิทยาศาสตร์ทหารเรือสำหรับเงินทุนอุดหนุนในการทำงานวิจัยบางส่วน

ขอขอบคุณนางสาวอารีย์ กังฉิน นายนิรันดร์ รุ่งสว่าง นางสาวอุรัจฉวี อุณหเลขกะ นางสาวอรอนงค์ พริ้งศุลกะ นายวีระวัฒน์ ปิยะเกรียงไกร นายธีรพัฒน์ เวชชประสิทธิ์ ที่มีส่วนสนับสนุน ช่วยเหลือและให้กำลังใจด้วยดีเสมอมา

ขอขอบคุณพี่ๆ เพื่อนๆ น้องๆ ในภาคจุลชีววิทยาทุกคนที่มีส่วนช่วยเหลือและให้กำลังใจด้วยดีเสมอมา

สุดท้ายนี้ขอกราบพระคุณบิดามารดา พี่น้องที่สนับสนุน ช่วยเหลือ ให้กำลังใจ และมอบแต่สิ่งที่ดีมาโดยตลอด

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญ ..... ช

สารบัญตาราง ..... ซ

สารบัญรูป ..... ญ

คำย่อ ..... ฐ

บทที่

1. บทนำ 1
2. ปริทรรศน์วรรณกรรม 4
3. อุปกรณ์และวิธีดำเนินการทดลอง 39
4. ผลการทดลอง 54
5. สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง 100

รายการอ้างอิง 106

ภาคผนวก 119

ภาคผนวก ก 120

ภาคผนวก ข 122

ภาคผนวก ค 123

ภาคผนวก ง 126

ภาคผนวก จ 127

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ 135

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้จากจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ 13

2.2 แสดงชนิดและ[M-H]⁻แรมโนลิปิดที่ผลิตโดย *Pseudomonas aeruginosa* 57RP ที่เลี้ยงบนแมนิทอล หรือแนฟทาลีน 2% 15

2.3 สรุปรายงานการผลิตแรมโนลิปิดจาก *Pseudomonas* sp.ในขวดเขย่าและ bioreactor โดยเลี้ยงในอาหาร mineral salt หรือ complex mediaที่อุณหภูมิ 28 – 37 °C ที่ค่าความเป็นกรดเป็นด่างระหว่าง 6 – 7.5 24

2.4 สรุปการผลิตแรมโนลิปิดจาก *Pseudodmonas* sp. DSM 2874 เมื่อใช้วิธี immobilization เปรียบเทียบกับวิธีใช้วิธีใช้เซลล์อิสระ 27

2.5 สรุปการเลี้ยง *Pseudomonas aeruginosa* DSM 2659 ด้วยวิธีการเลี้ยงแบบต่อเนื่อง ณ สภาวะต่างๆ 28

2.6 เปรียบเทียบแรมโนลิปิดที่ผลิตได้ใน *Pseudomonas* sp. สายพันธุ์ต่างๆ เมื่อเลี้ยงในอุณหภูมิระหว่าง 25 – 40 °C และคุณสมบัติของสารลดแรงตึงผิว 30

2.7 หน้าที่ต่างๆ ของสารลดแรงตึงผิวที่ใช้เป็นอิมัลซิฟายเออร์ในอาหารชนิดต่างๆ 32

2.8 ตัวอย่างสิทธิบัตรของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตด้วยจุลินทรีย์ 33

2.9 สรุปการกำจัดสารอินทรีย์โดยใช้จุลินทรีย์ร่วมกับแรมโนลิปิด 36

4.1 แสดงความเสถียรของค่าแรงตึงผิวที่มีต่อค่าความเป็นกรดเป็นด่าง 60

4.2 แสดงความเสถียรของการกระจายน้ำมันที่มีต่อค่าความเป็นกรดเป็นด่าง 61

4.3 แสดงความเสถียรของค่าแรงตึงผิวต่อความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ที่เปอร์เซนต์ต่างๆ 69

4.4 แสดงความเสถียรของการกระจายน้ำมันต่อความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ที่เปอร์เซนต์ต่างๆ 70

4.5 แสดงค่าอิมัลชั่น อินเด็กซ์ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่บริสุทธิ์บางส่วนต่อตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ 71

4.6 แสดงค่าอิมัลชั่น อินเด็กซ์ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่บริสุทธิ์บางส่วนต่อน้ำมันชนิดต่างๆ 72

4.7 เปรียบเทียบการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเมื่อใช้น้ำมันปาล์มและกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน 76

สารบัญตารางต่อ

ตารางที่ หน้า

4.8 แสดงอัตราการเคลื่อนที่ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่บริสุทธิ์บางส่วนและผลการกระจายน้ำมัน 77

4.9 แสดงหมู่ฟังก์ชั่น ที่ได้จาก IR spectrum ของตัวอย่าง A 94

4.10 แสดงหมู่ฟังก์ชั่น ที่ได้จาก IR spectrum ของตัวอย่าง B 96

4.11 แสดงหมู่ฟังก์ชั่น ที่ได้จาก IR spectrum ของตัวอย่าง C 98

4.12 แสดงโครงสร้างของตัวอย่าง A, B และ C 99

5.1 แสดงค่า CMC ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเปรียบเทียบกับสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ 104

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
2.1	แสดงลักษณะโครงสร้างโดยทั่วไปของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ	4
2.2	แสดงโครงสร้างและการจัดเรียงตัวของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ	5
2.3	แสดงการรวมตัวของโครงสร้างเมื่อสารลดแรงตึงผิวโมโนเมอร์มีโครงสร้างต่างๆ....	6
2.4	โครงสร้างของไกลโคลิปิดที่พบได้ทั่วไป	8
2.5	โครงสร้างของเซอร์แฟกตินที่ผลิตจาก *Bacillus subtilis*	9
2.6	โครงสร้างของพอลิมิกซิน B ที่ผลิตจาก *Bacillus polymyxa*	9
2.7	โครงสร้างของออร์นิทีนลิปิดที่ผลิตจาก *Pseudomonas rubescens*	10
2.8	โครงสร้างของรูบิเวททิน อาร์1 ที่ผลิตจาก Serratia rubidaea ATCC 27593	10
2.9	โครงสร้างโดยทั่วไปของฟอสโฟลิปิดที่แยกได้จากจุลินทรีย์	11
2.10	โครงสร้างของฟอสฟาทิดิลเอทาโนลามีนที่ผลิตจาก *Acinetobacter* sp.	11
2.11	โครงสร้างของอิมัลแซนที่ผลิตจาก *Acinetobacter calcoaceticus*	12
2.12	แสดงโครงสร้างของแรมโนลิปิดชนิด R1, R2, R3, R4, A และ B จาก *Pseudomonas aeruginosa*	15
2.13	กระบวนการสังเคราะห์แรมโนลิปิดชนิด R1 และ R2 ซึ่งผลิตจาก *Pseudomonas aeruginosa*	17
2.14	แสดงการควบคุมการผลิตแรมโนลิปิดใน *Pseudomonas aeruginosa*	18
2.15	แสดงกระบวนการสังเคราะห์แรมโนลิปิดและยีนต่างๆ ที่ควบคุม	19
2.16	แสดงกระบวนการสังเคราะห์กรดไขมันแบบใหม่และเกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้างแรมโนลิปิด	20
2.17	แสดงการจัดเรียงตัวของแรมโนลิปิดชนิด A และ B ที่ค่าความเป็นกรดเป็นด่างต่างๆ	22
2.18	แสดงการจัดเรียงตัวของแรมโนลิปิดชนิด A และ B ที่อุณหภูมิต่างๆ	22
3.1	วิธีการหาค่าความเข้มข้นของการเกิดไมเซลล์	43
3.2	แสดงวิธีการหาการกระจายน้ำมัน	45
4.1	ผลการแปรปริมาณแหล่งไนโตรเจนของ *Pseudomonas* sp. สายพันธุ์ A41	54
4.2	ผลการแปรอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนและไนโตรเจนของ *Pseudomonas* sp. สายพันธุ์ A41	55
4.3	แสดงผลการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่เวลาต่างๆ	56

สารบัญรูปต่อ

รูปที่		หน้า
4.4	แสดงการหาค่า CMC	57
4.5	แสดงค่าการกระจายน้ำมันและค่าแรงตึงผิวเมื่อความเป็นกรดเป็นด่างตั้งแต่ 2-12	58
4.6	แสดงอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่บริสุทธิ์บางส่วนโดยวัดการทำงานจากค่ากระจายน้ำมัน	62
4.7	แสดงความเสถียรด้วยค่าแรงตึงผิวและการกระจายน้ำมันที่ 100 ^{o}C นาน 15 ชั่วโมง	63
4.8	ความเสถียรของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผ่านความร้อน121 ^{o}C เป็นเวลา 20, 30 และ 40 นาที 1-6 รอบ วิเคราะห์ค่าแรงตึงผิว	64
4.9	ความเสถียรของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผ่านความร้อน 121 ^{o}C เป็นเวลา 20, 30 และ 40 นาที 1-6 รอบ วิเคราะห์การกระจายน้ำมัน	65
4.10	แสดงเปอร์เซนต์การลดลงของพื้นที่การกระจายน้ำมันทั้ง 6 รอบใน 20, 30 และ40 นาที	66
4.11	แสดงเปอร์เซนต์ของโซเดียมคลอไรด์ที่เหมาะสมต่อการกระจายน้ำมันและค่าแรงตึงผิว	67
4.12	แสดงการละลายของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่บริสุทธิ์บางส่วนจาก *Pseudomonas* sp. สายพันธุ์ A41 ในตัวทำละลายชนิดต่างๆ	73
4.13	แสดงการเปรียบเทียบระหว่างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์	74
4.14	ตรวจสอบบน TLC เพื่อหาแรมโนลิปิดด้วยมอริส รีเอเจนต์ และ กรดอะมิโนด้วยนินไฮดริน	75
4.15	การกระจายน้ำมันของลำดับส่วนต่างๆ เมื่อผ่านคอลัมน์ silica gel 60	77
4.16	แสดงผลการทดสอบด้วย analytic TLC ตามข้อ 3.8.1 ซึ่งใช้ไอไอโอดีนตรวจสอบ	81
4.17	แสดงผลการทดสอบด้วย analytic TLC ตามข้อ 3.8.1 ซึ่งตรวจสอบผลด้วยมอลิส รีเอเจนต์	82
4.18	แสดงยูวี-วิสิเบิลสเปกตรัมของน้ำตาลบริสุทธิ์ชนิดต่างๆที่ผลิตได้ใน *Pseudomonas* sp	83

สารบัญรูปต่อ

รูปที่		หน้า
4.19	แสดงยูวี-วิสิเบิลสเปกตรัมของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่บริสุทธิ์บางส่วนจากข้อ 3.6.2	84
4.20	แสดงยูวี-วิสิเบิลสเปกตรัมของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่บริสุทธิ์ที่ผ่านการแยกด้วย silica gel column (F5) ตามข้อ 3.8.2	85
4.21	โครมาโตแกรม HPLC จากตัวอย่าง F1	86
4.22	โครมาโตแกรม HPLC จากตัวอย่าง F2	87
4.23	โครมาโตแกรม HPLC จากตัวอย่าง F3	88
4.24	โครมาโตแกรม HPLC จากตัวอย่าง F4	89
4.25	โครมาโตแกรม HPLC จากตัวอย่าง F5	90
4.26	โครมาโตแกรม HPLC จากตัวอย่าง F6	91
4.27	โครมาโตแกรม HPLC จากตัวอย่าง F5 และ F6ผสมกันโดยใช้สภาวะในการฉีดเดียวกับตัวอย่าง F5	92
4.28	แสดงผลโครมาโตรแกรมของ LC-MS และ Mass spectrum ของตัวอย่าง A	93
4.29	แสดงผล IR spectrum ของตัวอย่าง A	94
4.30	แสดงผลโครมาโตรแกรมของ LC-MS และ Mass spectrum ของตัวอย่าง B	95
4.31	แสดงผล IR spectrum ของตัวอย่าง B	96
4.32	แสดงผลโครมาโตรแกรมของ LC-MS และ Mass spectrum ของตัวอย่าง C	97
4.33	แสดงผล IR spectrum ของตัวอย่าง B	98

คำย่อ

^{O}C	=	องศาเซลเซียส
ชม.	=	ชั่วโมง
มม.	=	มิลลิเมตร
มล.	=	มิลลิลิตร
มก.	=	มิลลิกรัม
μm	=	ไมโครลิตร
μg	=	ไมโครกรัม
%	=	เปอร์เซ็นต์
w/v	=	น้ำหนักต่อปริมาตร
v/v	=	ปริมาตรต่อปริมาตร
cm^2	=	ตารางเซนติเมตร
ตร.ซม.	=	ตารางเซนติเมตร
mN/m	=	มิลลินิวตันต่อเมตร
mM	=	มิลลิโมลาร์
min	=	นาที
CMC	=	ค่าความเข้มข้นของการเกิดไมเซลล์
γCMC	=	ค่าแรงตึงผิว ณ จุดของการเกิดไมเซลล์
CMC^{1}	=	ค่าความเข้มข้นสัมพันธ์ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ
RT	=	Retention time
m/z	=	ค่ามวลต่อประจุ