สารสีแดงผลิตโดย *ZYMOMONAS MOBILIS* CM 141

นางพิสมัย ทิพย์ธนทรัพย์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต

สาขาวิชาเภสัชเคมีและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2539

ISBN 974-634-017-4

RED PIGMENTS PRODUCED BY *ZYMOMONAS MOBILIS* CM 141

Mrs. Pisamai Tiptanasup

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Doctor of Philosophy
Pharmaceutical Chemistry and Natural Products
Graduate School
Chulalongkorn University
1996

ISBN 974-634-017-4

Thesis Title	Red Pigments Produced by *Zymomonas mobilis* CM 141
By	Mrs. Pisamai Tiptanasup
Department	Pharmaceutical Chemistry and Natural Products
Thesis Advisor	Associate Professor Sunibhond Pummangura, Ph.D.
Thesis Co-advisor	Associate Professor Kamnird Supanwong, M.Sc.
	Assistant Professor Chamnan Patarapanich, Ph.D.

Accepted by the Graduate School, Chulalongkorn University in Partial Fulfillment of the Doctor's Degree.

Santi Thoongsuwan

.....Dean of Graduate School

(Associate Professor Santi Thoongsuwan, Ph.D.)

Thesis Committee

Rapepol Bavovada

.....Chairman

(Associate Professor Rapepol Bavovada, Ph.D.)

Sunibhond Pummangura

.....Thesis Advisor

(Associate Professor Sunibhond Pummangura, Ph.D.)

Kamnird Supanwong

.....Thesis Co-Advisor

(Associate Professor Kamnird Supanwong, M.Sc.)

Chamnan Patarapanich

.....Thesis Co-Advisor

(Assistant Professor Chamnan Patarapanich, Ph.D.)

Weena Jiratchariyakul

.....Member

(Associate Professor Weena Jiratchariyakul, Ph.D.)

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

พิสมัย ทิพย์ธนทรัพย์ : สารสีแดงผลิตโดย *Zymomonas mobilis* CM 141
(RED PIGMENTS PRODUCED BY *ZYMOMONAS MOBILIS* CM 141)
อ.ที่ปรึกษา : รศ. ดร. สุนิพนธ์ ภุมมางกูร, อ.ที่ปรึกษาร่วม : รศ. ทำเนิด สุภัณวงษ์,
ผศ. ดร. ชำนาญ ภัตรพานิช, 245 หน้า. ISBN 974-634-017-4

Zymomonas mobilis เป็นจุลชีพที่ใช้แทนยีสต์ในอุตสาหกรรมการผลิตเอธานอล มีการทดลองกลายพันธุ์เพื่อให้ได้พันธุ์ที่มีประสิทธิภาพดี *Zymomonas mobilis* CM 141 ที่ถูกชักนำให้เป็นพันธุ์กลายโดย สารเคมี ไฮดรอกซีลามีน มีการผลิตสารสีแดงด้วย

เมื่อทำการแยกสารสีแดง ทำให้บริสุทธิ์โดยกระบวนการโครมาโทกราฟี และตรวจสอบคุณสมบัติโดยวิธีการสเปกโทรสโกปี พบว่าสารสีแดงนี้ คือ prodigiosin ซึ่งพบทั้งรูปอิสระและรูปมีอนุภาคบวก รูปอิสระจะอยู่ในสารละลายเป็น 3 รูป (tautomers) และไม่คงตัว จะเปลี่ยนแปลงเป็นรูปมีอนุภาคบวกได้ง่าย เมื่อมีน้ำเพียงเล็กน้อย ดังนั้นน้ำในตัวทำละลาย หรือสารดูดซับ หรือความชื้นในอากาศ จะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงเป็นรูปมีอนุภาคบวก การทดลองนี้ได้แสดงการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนี้โดย โปรตอนนิวเคลียร์แมกเน ติกเรโซแนนซ์สเปกทรัม และพบว่าอนุภาคบวกจากน้ำจะเข้าที่ตำแหน่ง -1 ในโมเลกุล

การทดลองกลายพันธุ์ *Zymomonas mobilis* CM 141 โดยใช้แสงอุลตราไวโอเรท และสารเคมี (ไฮดรอกซีลามีน และเอ็น-เมธิล-เอ็น-ไนโตร-เอ็นไนโตรโซกัวนิดีน)จาก 200สายพันธุ์ พบว่าสายพันธุ์ A_{113} ซึ่งกลายพันธุ์โดยไฮดรอกซีลามีน จะให้สารสีแดงมากกว่าสายพันธุ์พ่อแม่เกือบสองเท่า

การทดลองนี้ทำให้ได้ทราบข้ออมูลของสารสีแดงที่ผลิตโดย *Zymomonas mobilis* ซึ่งไม่เคยมีรายงานการพบมาก่อน และการพัฒนาการกลายพันธุ์ให้มีการผลิตสารสีแดงสูงขึ้น จะได้แหล่งในการผลิต prodigiosin เพิ่มขึ้น

ภาควิชา จุลชีววิทยาทางสิ่งแวดล้อมและวิศวกรรมเคมี ลายมือชื่อนิสิต .....
สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพและจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....
ปีการศึกษา 2538 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

C375404 : MAJOR PHARMACEUTICAL CHEMISTRY AND NATURAL PRODUCTS
KEY WORD : *ZYMOMONAS MOBILIS*/ RED PIGMENTS/ PRODIGIOSIN
PISAMAI TIPTANASUP : RED PIGMENTS PRODUCED BY *ZYMOMONAS MOBILIS* CM 141. THESIS ADVISOR: ASSOC. PROF. SUNIBHOND PUMMANGURA, Ph.D. THESIS CO-ADVISOR: ASSOC. PROF. KAMNIRD SUPANWONG, M. Sc., ASSIS. PROF. CHAMNAN PATARAPANICH, Ph.D. 245 pp. ISBN 974-634-017-4

Zymomonas mobilis was an anaerobic Gram-negative and fermentative bacteria used for replacing yeast in the industrial ethanol industry. *Zymomonas mobilis* CM 141 was induced by hydroxylamine to produce no levan and found to produce red pigments under aerobic conditions. The information of the red pigments produced from *Zymomonas mobilis* was not reported before. This experiment was performed.

The red pigments were separated, purified and identified as prodigiosin by spectroscopic methods. The free form showed the mixture of three tautomers. It was spontaneously transformed to hydrated form by the interaction with water in the solvent or adsorbent or moisture in the air.

The two forms of prodigiosin in solution were reported before which refered to the interaction of the base form with some acid in the solvent or adsorbent or moisture and carbon dioxide by spectrophotometric datas. This investigation was presented the spontaneously transformation of free form to protonated form by the proton nuclear magnetic resonance spectrometry and showed that the protonation was occured by hydration at 1- position.

The mutation experiment was performed to increase the pigments production. The parent strains were treated with ultraviolet light and chemicals (hydroxylamine and N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine) at various times. By positive selection from 200 isolates, strain A_{113} which treated by hydroxylamine for 20 minutes produced the red pigments about two times more than the *Zymomonas mobilis* CM 141.

This work was reported **the informations of red pigments produced by *Zymomonas mobilis* CM 141** that never been found before. Mutation and selection experiments were used to development of better red pigments producing strains which expected to be the **source of prodigiosin production.**

ภาควิชา เภสัชเคมีและเภสัชเวช ลายมือชื่อนิสิต

สาขาวิชา เภสัชเคมีและเภสัชเวช ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

ปีการศึกษา 2538 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

ACKNOWLEDGEMENTS

I am sincerely indebted to my thesis advisor, Associate Professor Sunibhond Pummangura, for his inestimable advice, guidance, concern, understanding, kindness, and encouragement throughout the period of my graduate study.

I am deeply beholden to my thesis co-advisor, Associate Professor Kamnird Supanwong and Assistant Professor Chamnan Patarapanich, for their helpful support, guidance, and invaluable advice.

I am obligated to the members of thesis committee for their valuable scrutinizing and discussion.

I would like to express my thankfulness to all staffs of the Department of Pharmaceutical Chemistry for their cooperation and to the scientists of the Scientific and Technological Research Equipment Center, Chulalongkorn University for their assistances in the NMR, IR, and MS experiments.

I wish to express my gratitude to the Graduate School of Chulalongkorn University for granting partial financial support.

Finally, I would like to express my indefinite gratitude to my husband and daughters for their endless love, care, and encouragement throughout to my study.

CONTENTS

LIST OF TABLES

Table Page

Table Page

LIST OF SCHEMES

Scheme Page

LIST OF FIGURES

Figure Page

Figure Page

Figure Page

Figure Page

Figure Page

Figure Page

Figure Page

Figure Page