

การเพิ่มอัตราผลิต P(3HB-co-3HV) โดยวิธีการเลี้ยง *Alcaligenes* sp. A-04
แบบกึ่งต่อเนื่องเพื่อให้ความหนาแน่นเซลล์สูง

นายอศิศักดิ์ หิรัญรัตนกร

วิทยานิพนธ์นี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ภาควิชาจุลชีววิทยา
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2541
ISBN 974-332-209-4
ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

INCREASE PRODUCTIVITY OF P(3HB-co-3HV) BY FED-BATCH CULTIVATION
FOR HIGH CELL DENSITY OF *Alcaligenes* sp. A-04

Mr. Adisak Hirunruttanakorn

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Industrial Microbiology

Department of Microbiology

Graduate School

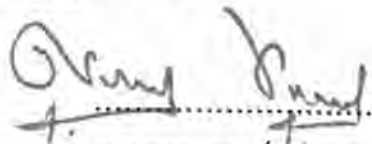
Chulalongkorn University

Academic Year 1998

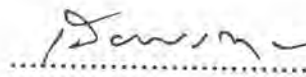
ISBN 974-332-209-4

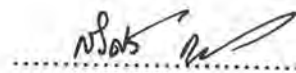
หัวข้อวิทยานิพนธ์ การเพิ่มอัตราผลผลิต P(3HB-co-3HV) โดยวิธีการเลี้ยง *Alcaligenes*
sp. A-04 แบบกึ่งต่อเนื่องเพื่อให้มีความหนาแน่นเซลล์สูง
โดย นายอดิศักดิ์ หิรัญรัตนากร
ภาควิชา จุลชีววิทยา
อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร. ส่งศรี กุลปรีชา


บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้แนบวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วน
หนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

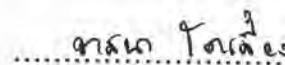

.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ ศุภวัฒน์ ชุตินวงศ์)

คณะกรรมการการสอบวิทยานิพนธ์


.....ประธานกรรมการ
(อาจารย์ ดร. เพ็ชรพรต ทัสคร)


.....อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ ดร. ส่งศรี กุลปรีชา)


.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชาญวิทย์ โฉมิตานนท์)


.....กรรมการ
(อาจารย์วาสนา โตเลี้ยง)

อดิศักดิ์ หิรัญรัตนกร : การเพิ่มอัตราผลิต P(3HB-co-3HV) โดยวิธีการเลี้ยง *Alcaligenes* sp. A-04 แบบกึ่งต่อเนื่อง เพื่อเพิ่มความหนาแน่นเซลล์สูง (INCREASE PRODUCTIVITY OF P(3HB-CO-3HV) BY FED-BATCH CULTIVATION FOR HIGH CELL DENSITY OF *Alcaligenes* sp. A-04) อ.ที่ปรึกษา : รศ.ดร. ส่งศรี กุลปรีชา, 157 หน้า, ISBN 974-332-209-4.

การผลิตโคพอลิเมอร์ P(3HB-co-3HV) โดย *Alcaligenes* sp. สายพันธุ์ A-04 ในระดับขวดเขย่า และในถังหมักขนาด 5 ลิตรแบบแบช พบว่าเมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารสำหรับเตรียมกล้าเชื้อ มีการเจริญในช่วงการเจริญแบบทวีคูณอยู่ระหว่างชั่วโมงที่ 18-30 น้ำหนักเซลล์สูงสุดในชั่วโมงที่ 36 เมื่อนำกล้าเชื้ออายุ 18 24 30 และ 36 ชั่วโมง มาเลี้ยงในอาหารเพื่อการผลิตโคพอลิเมอร์ ได้ผลว่ากล้าเชื้อที่เหมาะสมคือกล้าเชื้ออายุ 24 ชั่วโมง ภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงเชื้อในถังหมักแบบแบช ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ได้แก่ปริมาณกล้าเชื้อ เท่ากับ 1.7 กรัมต่อลิตร ได้พบว่าการผลิต P(3HB-co-3HV) โดยมีการควบคุมค่าความเป็นกรดค่า ได้อัตราผลิตสูงกว่าเมื่อไม่ควบคุมค่าความเป็นกรดค่า โดยค่าความเป็นกรดค่าที่เหมาะสม เท่ากับ 7.0 องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ และภาวะการเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม มีดังนี้ อัตราส่วนของแหล่งคาร์บอนผสม ซึ่งได้แก่ ฟรักโตสและกรควาเลอริก เท่ากับ 18:2 กรัมต่อลิตร ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตเท่ากับ 1.0 กรัมต่อลิตร อัตราส่วนของ KH_2PO_4 : Na_2HPO_4 เท่ากับ 1.0:0.3 กรัมต่อลิตร ปริมาณแมกนีเซียมซัลเฟต เท่ากับ 0.1 กรัมต่อลิตร อัตราการให้อากาศเท่ากับ 1.8 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที อัตราการกวน เท่ากับ 600 รอบต่อนาที ได้ค่าความหนาแน่นเซลล์สูงสุดเท่ากับ 10.91 กรัมต่อลิตร ปริมาณโคพอลิเมอร์สูงสุดเท่ากับ 5.94 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 36 ได้อัตราผลิตเท่ากับ 0.16 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง เมื่อนำค่าพารามิเตอร์ต่างๆที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อในถังหมักแบบแบช ได้แก่ อัตราการเจริญจำเพาะ เท่ากับ 0.1 ต่อชั่วโมง มวลเซลล์ที่ไม่รวมพอลิเมอร์ เท่ากับ 4.09 กรัมต่อลิตร ผลผลิตมวลเซลล์ต่อสารอาหารที่ใช้เท่ากับ 0.54 กรัมต่อกรัม มาคำนวณเพื่อหาอัตราการเดิมสารอาหารได้ค่าอัตราการเดิมสารอาหารเท่ากับ 4.52 มิลลิกรัมต่อชั่วโมง ในการเลี้ยงเชื้อ *Alcaligenes* sp. A-04 แบบเฟดแบชในถังหมักขนาด 5 ลิตร ซึ่งบรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 2.0 ลิตร เมื่อเดิมสารอาหารเฉพาะแหล่งคาร์บอน พบว่าความหนาแน่นเซลล์ ปริมาณโคพอลิเมอร์ และอัตราผลิตเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย เมื่อเดิมสารอาหารที่มีทั้งแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนโดยมี อัตราส่วน C/N ตั้งแต่ 5-300 โมลต่อโมล พบว่าอัตราส่วนของ C/N ที่เหมาะสม เท่ากับ 100 โมลต่อโมล พบว่าความหนาแน่นของเซลล์ และการผลิตโคพอลิเมอร์เพิ่มขึ้นได้แก่ ความหนาแน่นของเซลล์เท่ากับ 12.66 กรัมต่อลิตร ปริมาณ P(3HB-co-3HV) เท่ากับ 7.89 กรัมต่อลิตร และอัตราผลิตเท่ากับ 0.22 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง พบว่าอัตราส่วนของ C/N มีผลต่อองค์ประกอบของโคพอลิเมอร์ โดยอัตราส่วนของ C/N ที่มีค่าสูงทำให้สัดส่วนของโมโนเมอร์ 3HV สูงขึ้น เมื่อเดิมสารอาหารที่ประกอบด้วยแหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน และแร่ธาตุที่จำเป็น โดยเดิมแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนทุก 6 ชั่วโมง ตั้งแต่ ชั่วโมงที่ 12-42 เดิมแร่ธาตุที่จำเป็น ที่ชั่วโมงที่ 12 และ 30 มีผลทำให้ความหนาแน่นของเซลล์ และการผลิตโคพอลิเมอร์ P(3HB-co-3HV) โดย *Alcaligenes* sp. A-04 เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน คือ ความหนาแน่นของเซลล์เพิ่มขึ้นเป็น 24.38 กรัมต่อลิตร ได้ปริมาณโคพอลิเมอร์เพิ่มขึ้นเป็น 15.28 กรัมต่อลิตร คิดเป็น 62 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง และได้อัตราผลิตเพิ่มขึ้นเป็น 0.42 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง

ภาควิชา.....จุลชีววิทยา.....
สาขาวิชา.....จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม.....
ปีการศึกษา.....2541.....

ลายมือชื่อนิสิต.....อดิศักดิ์ หิรัญรัตนกร.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

C826445 : MAJOR INDUSTRIAL MICROBIOLOGY

KEY WORD: P(3HB-co-3HV) / *Alcaligenes* sp. A-04 / PRODUCTIVITY / HIGH CELL DENSITY / FED-BATCH

ADISAK HIRUNRUTTANAKORN : INCREASE PRODUCTIVITY OF P(3HB-CO-3HV) BY FED-BATCH CULTIVATION FOR HIGH CELL DENSITY OF *Alcaligenes* sp. A-04. THESIS ADVISOR : ASSO.PROF. SONGSRI KULPREECHA, Ph.D. 157 pp. ISBN 974-332-209-4.

The production of copolymer of P(3HB-co-3HV) in shake flask and batch culture in a 5 L. jar fermenter by *Alcaligenes* sp. A-04 was investigated. The exponential growth phase of *Alcaligenes* sp. A-04 grown in seed culture medium was at 18-30 h. of cultivation period, the maximum cell mass was shown at 36 h. Seed culture of 24 h. was suitable for copolymer production, compared to that of 18, 24, 30, and 36 h. seed culture. The optimal cultivation condition of *Alcaligenes* sp. A-04 for P(3HB-co-3HV) production in a fermenter was studied. The suitable inoculum size was 1.7 g/l of 24 h. seed culture. At 30 °C, higher productivity of P(3HB-co-3HV) was obtained with pH controlled at 7.0 compared with that of uncontrolled pH cultivation. The optimal medium composition and culture condition were as followed: fructose and valeric acid was 18 : 2 g/l, 1.0 g/l of ammonium sulfate, 1.0 : 0.3 g/l of KH_2PO_4 : Na_2HPO_4 , 0.1 g/l of $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, aeration rate at 1.8 vvm. and agitation speed at 600 rpm. Under this cultivation condition, the maximum cell density was 10.91 g/l and copolymer content was 5.94 g/l at 36 h of cultivation with productivity of 0.16 g/l/h. Feed rate of fresh medium was 4.52 ml/h calculated based on the parameters obtained from batch cultivation i.e. specific growth rate (μ); 0.1 h^{-1} , residual cell mass (X_r); 0.4 g/l and biomass yield ($Y_{x/s}$); 0.54 g/g. When applied the suitable cultivation condition to fed batch cultivation of *Alcaligenes* sp. A-04 in a 5 L. fermenter, with feeding of carbon source only; cell density, copolymer content and productivity was slightly increased. With carbon and nitrogen source feeding at C/N ratio of 5-300 mole/mole, higher cell density (12.66 g/l), P(3HB-co-3HV) content (7.89 g/l) and higher productivity (0.22 h^{-1}) were achieved with C/N ratio of 100 mole/mole. It was also found that the composition of copolymer was affected by C/N ratio of culture medium; higher C/N ratio resulted in higher 3HV monomer. In the experiment of feeding carbon and nitrogen source every 6 h. from 12-24 h. and feeding essential elements at 12 and 30 h, the cell density and copolymer of P(3HB-co-3HV) production by *Alcaligenes* sp. A-04 was remarkably increased i.e. the cell density was increased to 24.38 g/l, P(3HB-co-3HV) content was increased to 15.28 g/l or 62 % by cell dry weight and the productivity was increased to 0.42 g/l/h.

ภาควิชา.....จุลชีววิทยา.....

สาขาวิชา.....จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม.....

ปีการศึกษา.....2541.....

ลายมือชื่อนิสิต.....อดิศักดิ์ นัฐรัตนากอร์.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา..........

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยความช่วยเหลือและความกรุณาอย่างดียิ่งของ รองศาสตราจารย์ ดร. ส่งศรี กุลปรีชา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ซึ่งท่านได้ให้คำแนะนำ และข้อคิดเป็นต่างๆ ในการวิจัยมาด้วยดีตลอดมา รวมทั้งได้ช่วยแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้ สมบูรณ์ยิ่งขึ้น ศิษย์จึงขอกราบขอบพระคุณอย่างสูงสุด ไว้ ณ. ที่นี้

ขอขอบพระคุณ อาจารย์ ดร. เพียรพรรค ทศกร ที่ได้กรุณารับเป็นประธานกรรมการ สอบ และแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชาญวิทย์ โฉมิตานนท์ ที่ได้กรุณารับเป็น กรรมการสอบ และแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ อาจารย์ วาสนา โตเลี้ยง ที่ได้กรุณารับเป็นกรรมการสอบ และแก้ไข วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ท้ายนี้ ผู้วิจัยใคร่ขอกราบขอบพระคุณ บิคา-มารดา ที่คอยเป็นกำลังใจ ให้ความช่วยเหลือ และสนับสนุนในด้านการเงินแก่ผู้วิจัยตลอดเวลาจนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ซ
สารบัญรูป.....	ฅ
คำย่อ.....	ฒ
บทที่	
1. บทนำ.....	1
2. อุปกรณ์ และวิธีดำเนินการวิจัย.....	27
3. ผลการวิจัย.....	41
4. สรุปผลและวิจารณ์ผลการวิจัย.....	127
รายการอ้างอิง.....	136
ภาคผนวก.....	143
ประวัติผู้เขียน.....	157

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	เปรียบเทียบสมบัติ ของพอลิเมอร์ชนิดต่างๆ.....	4
2	แบคทีเรียชนิดต่างๆ ที่สามารถสร้างและสะสมพอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอต	7
3	องค์ประกอบของพอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอตที่ผลิตจาก <i>A. eutrophus</i> ATCC 17699 จากแหล่งคาร์บอนต่างๆกัน.....	15
4	น้ำหนักเซลล์แห้ง และฟรัก โดสที่เหลือในน้ำหมักเมื่อเลี้ยงเชื้อ <i>Alcaligenes</i> <i>sp. A-04</i> ในอาหารเลี้ยงกล้าเชื้อเป็นเวลา 60 ชั่วโมง.....	42
5	น้ำหนักเซลล์แห้ง และ PHA เมื่อแปรผันอายุกล้าเชื้อ.....	45
6	เปรียบเทียบการสร้าง PHA เมื่อเลี้ยง <i>Alcaligenes sp. A-04</i> ในขวดเขย่าที่มี อาหารเพื่อการผลิต โดยแปรผันอายุกล้าเชื้อเป็น 18 24 30 และ 36 ชั่วโมง.....	49
7	น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณฟรัก โดส กรดวาเลอริก แอมโมเนียมซัลเฟตที่เหลือ ในน้ำหมัก และปริมาณ PHA เมื่อเลี้ยง <i>Alcaligenes sp. A-04</i> ในถังหมัก เมื่อ แปรผันปริมาณกล้าเชื้อเริ่มต้น.....	51
8	เปรียบเทียบการสร้าง PHA เมื่อเลี้ยง <i>Alcaligenes sp. A-04</i> ในถังหมัก โดย แปรผันปริมาณกล้าเชื้อเริ่มต้นเป็น 1.5 1.7 1.8 และ 1.9 กรัมต่อลิตร.....	55
9	น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลฟรัก โดส กรดวาเลอริก และแอมโมเนียมซัล เฟต ในน้ำหมัก และปริมาณ PHA เมื่อเลี้ยงเชื้อ <i>Alcaligenes sp. A-04</i> ใน ถังหมักโดยควบคุม และไม่ควบคุม pH	57
10	เปรียบเทียบการผลิต PHA เมื่อเลี้ยง <i>Alcaligenes sp. A-04</i> ในถังหมัก โดย ไม่ควบคุมค่าความเป็นกรดค่า และควบคุมความเป็นกรดค่าของอาหาร เลี้ยงเชื้อ ที่ 6.0 7.0 และ 8.0.....	61
11	น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณฟรัก โดส กรดวาเลอริก แอมโมเนียมซัลเฟตใน น้ำหมัก และ P(3HB-co-3HV) เมื่อเลี้ยง <i>Alcaligenes sp. A-04</i> ในถังหมัก โดยแปรผันอัตราส่วน ฟรัก โดส : กรดวาเลอริก	63

สารบัญญัตินี้(ต่อ)

ตารางที่		หน้า
12	เปรียบเทียบการผลิต PHA เมื่อเลี้ยง <i>Alcaligenes</i> sp. A-04 ในถังหมัก โดยแปรผันอัตราส่วนแหล่งคาร์บอน(ฟรักโตส : กรดวาลेरริก) เริ่มต้นของการเลี้ยง ตั้งแต่ 15 : 5 - 19 : 1 กรัมต่อลิตร.....	69
13	น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณฟรักโตส ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตในน้ำหมัก และ ปริมาณ P(3HB-co-3HV) ที่ผลิตโดย <i>Alcaligenes</i> sp. A-04 ในถังหมัก เมื่อแปรผันปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต.....	71
14	เปรียบเทียบการผลิต PHA เมื่อเลี้ยง <i>Alcaligenes</i> sp. A-04 ในถังหมัก โดยแปรผันปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตเริ่มต้นเท่ากับ 0.1 - 2.0 กรัมต่อลิตร.....	77
15	น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลฟรักโตส กรดวาลेरริก และแอมโมเนียมซัลเฟตในน้ำหมัก และการผลิต P(3HB-co-3HV) เมื่อเลี้ยง <i>Alcaligenes</i> sp. A-04 ในถังหมัก โดยใช้สัดส่วนฟอสเฟต (KH_2PO_4 : Na_2HPO_4) เท่ากับ 0.5 : 0.15 กรัมต่อลิตร....	79
16	เปรียบเทียบการผลิต P(3HB-co-3HV) เมื่อเลี้ยง <i>Alcaligenes</i> sp. A-04 ในถังหมัก โดยแปรผันสัดส่วนของฟอสเฟต (KH_2PO_4 : Na_2HPO_4) เท่ากับ 0.5 : 0.15 1.0 : 0.3 2.0 : 0.6 4.0 : 1.2 กรัมต่อลิตร.....	83
17	น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลฟรักโตส กรดวาลेरริก และแอมโมเนียมซัลเฟต และการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย <i>Alcaligenes</i> sp. A-04 ในถังหมักเมื่อแปรผันปริมาณแมกนีเซียมซัลเฟตเท่ากับ 0.05-0.2 กรัมต่อลิตร.....	85
18	เปรียบเทียบการผลิต P(3HB-co-3HV) เมื่อเลี้ยง <i>Alcaligenes</i> sp. A-04 ในถังหมัก โดยแปรผันปริมาณแมกนีเซียมซัลเฟตเท่ากับ 0.05-0.2 กรัมต่อลิตร.....	89
19	น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลฟรักโตส กรดวาลेरริก แอมโมเนียมซัลเฟตในน้ำหมัก และ P(3HB-co-3HV) ของเชื้อ <i>Alcaligenes</i> sp. A-04 เมื่อเลี้ยงเชื้อในถังหมัก โดยมีการแปรผันการให้อากาศ.....	91
20	เปรียบเทียบการผลิต P(3HB-co-3HV) เมื่อเลี้ยง <i>Alcaligenes</i> sp. A-04 ในถังหมัก โดยแปรผันปริมาณอากาศ.....	96

สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่		หน้า
21	แสดงองค์ประกอบหลักของสารอาหารเริ่มต้นในการเลี้ยงเชื้อ ภาวะที่เหมาะสม และพารามิเตอร์ที่ได้จากการเลี้ยง <i>Alcaligenes</i> sp. A-04 เพื่อผลิต P(3HB-co-3HV) แบบแบช.....	98
22	น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณฟรักโทส กรดวาลेरริก แอมโมเนียมซัลเฟตที่เหลือในน้ำหมัก และปริมาณP(3HB-co-3HV) เมื่อเลี้ยง <i>Alcaligenes</i> sp. A-04 แบบเฟดแบช และเติมสารอาหารเฉพาะแหล่งคาร์บอน.....	100
23	เปรียบเทียบการสร้าง P(3HB-co-3HV) เมื่อเลี้ยงเชื้อ <i>Alcaligenes</i> sp. A-04 ในถังหมักขนาด 5 ลิตรเป็นการเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่อง โดยแปรผันการเติมอาหารที่มีอัตราส่วน C/N ต่างกัน คือ 5 50 100 200 300 และเติมเฉพาะแหล่งคาร์บอน.....	113
24	น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณฟรักโทส กรดวาลेरริก แอมโมเนียมซัลเฟตที่เหลือในน้ำหมัก และปริมาณ P(3HB-co-3HV) เมื่อเลี้ยง <i>Alcaligenes</i> sp. A-04 แบบเฟดแบช และเติมสารอาหารส่วนที่ 1 ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 ทุกๆ 6 ชั่วโมง จนถึง ชั่วโมงที่ 42 และส่วนที่ 2 เติมที่ชั่วโมงที่ 12.....	116
25	เปรียบเทียบการสร้าง P(3HB-co-3HV) เมื่อทำการเลี้ยงเชื้อ <i>Alcaligenes</i> sp. A-04 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ด้วยวิธีการเลี้ยงแบบเฟดแบช โดยทำการเติมอาหารที่ประกอบด้วยน้ำตาลฟรักโทส กรดวาลेरริก แอมโมเนียมซัลเฟต เกลือแร่.....	126
26	เปรียบเทียบน้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณโคพอลิเมอร์ อัตราการเจริญจำเพาะ และ อัตราการผลิต ในการเลี้ยงเชื้อ <i>Alcaligenes</i> sp. A-04 เพื่อผลิต P(3HB-co-3HV).....	135

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
1 โครงสร้างของพอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอต.....	5
2 วิธีการสังเคราะห์ และการสลาย PHB ภายใต้ภาวะคาร์บอน(แหล่งพลังงาน) ที่มากเกินไป.....	9
3 โครงสร้างของ polyhydroxyalkanoate biosynthesis operon ของเชื้อ <i>Alcaligenes eutrophus</i>	9
4 วิธีการสังเคราะห์ PHB โดยเชื้อ <i>A. eutrophus</i> เมื่อใช้แหล่งคาร์บอนชนิดต่างๆ.....	10
5 วิธีการสร้าง P(3HB-co-40%3HV) โดยเชื้อ <i>Alcaligenes eutrophus</i> เมื่อใช้กรดโพรพิโอนิกที่ทำการติดฉลากด้วย ¹³ C-labeled carbonyl.....	11
6 วิธีการสังเคราะห์ P(3HB-co-3HV) โดย <i>Alcaligenes eutrophus</i> เมื่อใช้กรดบิวทริก และกรดวาเลอริกเป็นแหล่งคาร์บอน.....	12
7 กราฟแสดงการหาอัตราการเจริญจำเพาะ (μ).....	18
8 แผนภาพการเลี้ยงเชื้อแบบเฟดแบช.....	20
9 รูปแบบการเจริญของเชื้อ <i>Alcaligenes</i> sp. A-04 ในอาหารเลี้ยงกล้าเชื้อเมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 60 ชั่วโมง.....	43
10 การเจริญ และการผลิตโคพอลิเมอร์เมื่อเลี้ยง <i>Alcaligenes</i> sp. A-04 ในขวดเขย่าโดยใช้กล้าเชื้อเริ่มต้นอายุ 24 18 30 36 ชั่วโมง.....	47
11 เปรียบเทียบน้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณโคพอลิเมอร์ เมื่อเลี้ยง <i>Alcaligenes</i> sp. A-04 ในขวดเขย่า โดยใช้กล้าเชื้ออายุ 18 24 30 และ36 ชั่วโมง.....	49
12 การเจริญ และการผลิต P(3HB-co-3HV) เมื่อเลี้ยงเชื้อ <i>Alcaligenes</i> sp. A-04 ในถังหมัก โดยแปรผันกล้าเชื้อเริ่มต้น.....	53
13 เปรียบเทียบน้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณโคพอลิเมอร์ เมื่อเลี้ยงเชื้อ <i>Alcaligenes</i> sp. A-04 เป็นเวลานาน 60 ชั่วโมงโดยเลี้ยงในถังหมัก.....	55
14 การเจริญ และการผลิต PHA เมื่อเลี้ยง <i>Alcaligenes</i> sp. A-04 ในถังหมัก โดยควบคุม และไม่มีการควบคุมความเป็นกรดค่า.....	59

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่	หน้า	
15	เปรียบเทียบการเจริญ และปริมาณ โคพอลิเมอร์ เมื่อเลี้ยง <i>Alcaligenes</i> sp. A-04 เป็นเวลา 60 ชั่วโมง ในถังหมักโดยมีค่าความเป็นกรดค้างของอาหารเลี้ยงเชื้อต่างกัน.....	61
16	การเจริญ และการผลิต PHA เมื่อเลี้ยงเชื้อ <i>Alcaligenes</i> sp. A-04 ในถังหมัก โดยแปรผันแหล่งคาร์บอนผสมเป็นฟรักโตสต่อวาเลอริก.....	66
17	เปรียบเทียบน้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณ โคพอลิเมอร์ ที่ผลิตโดย <i>Alcaligenes</i> sp. A-04 เมื่อเลี้ยงในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยแปรผันปริมาณแหล่งคาร์บอนผสม (ฟรักโตส : กรดวาเลอริก) เท่ากับ 15 :5 16:4 17:3 18:2 19:1.....	69
18	การเจริญ และการผลิต PHA เมื่อเลี้ยงเชื้อ <i>Alcaligenes</i> sp. A-04 ในถังหมัก โดยแปรผันปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตเริ่มต้น	74
19	เปรียบเทียบน้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณ โคพอลิเมอร์ เมื่อเลี้ยง <i>Alcaligenes</i> sp. A-04 ในถังหมัก โดยแปรผันปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตเริ่มต้นเท่ากับ 0.1 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 กรัมต่อลิตร.....	77
20	การเจริญ และการผลิต P(3HB-co-3HV) เมื่อเลี้ยง <i>Alcaligenes</i> sp. A-04 ในถังหมักโดยมีสัดส่วนฟอสเฟต (KH_2HPO_4 : Na_2HPO_4)	81
21	เปรียบเทียบน้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณ โคพอลิเมอร์ เมื่อเลี้ยง <i>Alcaligenes</i> sp. A-04 ในถังหมักโดยแปรผันปริมาณอัตราส่วนฟอสเฟต (KH_2PO_4 : Na_2HPO_4) เท่ากับ 0.5:0.15 1.0:0.3 2.0:0.6 4.0:0.15 กรัมต่อลิตร.....	83
22	การเจริญ และการผลิต PHA เมื่อเลี้ยงเชื้อ <i>Alcaligenes</i> sp. A-04 ในถังหมัก มีแมกนีเซียมซัลเฟตเริ่มต้นเท่ากับ (ก) 0.05 กรัมต่อลิตร (ข) 0.1 กรัมต่อลิตร	87

สารบัญรูป(ต่อ)

23	เปรียบเทียบน้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณโคพอลิเมอร์ เมื่อเลี้ยง <i>Alcaligenes</i> sp. A-04 ในถังหมัก โดยแปรผันปริมาณแมกนีเซียมเริ่มต้น เท่ากับ 0.05 0.1 และ 0.2 กรัมต่อลิตร.....	89
24	การเจริญและการสะสม PHA เมื่อเลี้ยงเชื้อ <i>Alcaligenes</i> sp. A-04 ในถังหมัก โดยแปรผันอัตราการให้อากาศ.....	94
25	เปรียบเทียบน้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณโคพอลิเมอร์ เมื่อเลี้ยงเชื้อ <i>Alcaligenes</i> sp. A-04 ในถังหมัก โดยแปรผันการให้อากาศ.....	96
26	การเจริญ และการผลิต P(3HB-co-3HV) เมื่อเลี้ยงเชื้อ <i>Alcaligenes</i> sp. A-04 แบบเฟดแบช โดยเติมสารอาหารเฉพาะแหล่งคาร์บอน.....	106
27	เปรียบเทียบน้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณ P(3HB-co-3HV) เมื่อเลี้ยง <i>Alcaligenes</i> sp. A-04 ในถังหมัก โดยเลี้ยงเชื้อแบบเฟดแบช และแปรผันการเติมอาหารที่มีอัตราส่วนโมล C/N เท่ากับ 5 50 100 200 300 โมลต่อโมล และอาหารที่มีเพียงแหล่งคาร์บอน(C).....	112
28	การเจริญ และการผลิตโคพอลิเมอร์ P(3HB-co-3HV) ของเชื้อ <i>Alcaligenes</i> sp. A-04 โดยการเลี้ยงแบบเฟดแบช เมื่อเติมอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน (อัตราส่วนโมล C/N 100) และแหล่งเกลือแร่ชั่วโมงที่ 12.....	121
29	เปรียบเทียบน้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณโคพอลิเมอร์เมื่อเลี้ยง <i>Alcaligenes</i> sp. A-04 ในถังหมักแบบเฟดแบช.....	126
30	กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง.....	148
31	กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณฟรักโทสในช่วงความเข้มข้น 0-1 กรัมต่อลิตร.....	149
32	กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณแอมโมเนียมไนโตรเจน ในช่วงความเข้มข้น 0-50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร.....	150
33	โครมาโตแกรมสารมาตรฐานของกรควาเลอริก ซึ่งวิเคราะห์ด้วยวิธี GC.....	151

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่		หน้า
34	โครมาโตแกรมของกรดวาเลอริกที่เหลื่ออยู่ในน้ำหมักที่ใช้เลี้ยง <i>Alcaligenes</i> sp. A-04 เพื่อผลิต โคพอลิเมอร์ P(3HB-co-3HV).....	152
35	โครมาโตแกรมสารมาตรฐาน (ก) 3HB (ข) 3HV ซึ่งทำการวิเคราะห์ด้วยวิธี GC.....	153
36	ตัวอย่างโครมาโตแกรมของโคพอลิเมอร์ P(3HB-co-3HV) จาก <i>Alcaligenes</i> sp. A-04 ซึ่งวิเคราะห์ด้วยวิธี GC.....	154
37	ตัวอย่างกราฟมาตรฐานของกรดวาเลอริก ซึ่งวิเคราะห์ด้วยวิธี GC.....	155
38	ตัวอย่างกราฟมาตรฐาน โมโนเมอร์ของ 3HB ซึ่งวิเคราะห์ด้วยวิธี GC.....	155
39	ตัวอย่างกราฟมาตรฐาน โมโนเมอร์ของ 3HV ซึ่งวิเคราะห์ด้วยวิธี GC.....	156

คำย่อ

%	=	ร้อยละ
pH	=	ความเป็นกรดค่า
PHB	=	พอลิบีตาไฮดรอกซีบิวทีเรต (poly- β -hydroxybutyrate)
P(3HB-co-3HV)	=	poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)
vvm	=	ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อนาที
rpm	=	รอบต่อนาที
μ	=	อัตราการเจริญจำเพาะ
X	=	น้ำหนักเซลล์แห้ง
$Y_{x/s}$	=	ผลผลิตเซลล์ต่อหน่วยอาหารที่ถูกใช้ไป (yield)