รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

ชนัญ ผลประไพ. 2537. สภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิตพอลิ บีต้าไฮดรอกซีบิวทีเรต จาก *Alcaligenes* sp. สายพันธุ์ A-04 ในระดับถังหมัก. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

อัญชนา ศุรติขจร. 2537. การสร้างพอลิ(3-ไฮดรอกซีบิวทีเรต-โค-3-ไฮดรอกซีวาเลอเรต) โดย *Alcaligenes* sp. สายพันธุ์ A-04. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

อรุณ ชาญชัยเชาวน์วิวัฒน์ .2536. ลักษณะและการสร้างพอลิ-บีต้า-ไฮดรอกซีบิวทีเรต โดย *Alcaligenes* sp. สายพันธุ์ A-04. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ภาษาอังกฤษ

Aiba , S., Humhry , A.E.H., and Millis , N.F. 1973 . Biochemical engineering. 2nd ed. London, New York : Academic Press.

Anderson , A.J., and Dawes , E.A. 1990 . Occurrence , metabolism , metabolic role , and industrial uses of bacterial polyhydroxyalkanoates. Microbiological Reviews. 54(4) : 450 - 470.

Asenjo , J.A., and Suk , J.A. 1986. Microbial conversion of methane into poly-β-hydroxybutyrate (PHB) : growth and intracellular product accumulation in a type II methanoph. J.Fermet.Technol. 64 : 271 - 278.

Bernfeld , F.; Colowich, P.S., and Kaplan, O.N.,(eds.). 1955. Method in Enzymology : Amylase α and β . Academic Press Inc.

Bloembergen , S., Holden , D.A., Hamer ,G.K., Bluhm , T.L., and Marchessault , R.H. 1986. Studies of composition and crystallinity of bacterial poly(β-hydroxybutyrate-co-β-hydroxyvalerate). Macromolecules. 19 : 2865 - 2871.

Brandl , H., Knee Jr., E.J., Fuller , R.C., Gross , R.A., and Lez , R.W. 1989. Ability of the phototrophic bacterium *Rhodospirillum rubrum* to produce various poly(β-hydroxyalkanoates) potential sources for biodegradable polyesters. Int. J. Biol. Macromol. 11: 49 - 55.

Brandl , H., Gross , R.A., Lenz , R.W., and Fuller , R.C. 1990. Plastic from bacteria and for bacteria : Poly(β-hydroxyalkanoates) as natural , biocompatible , and biodegradable polyesters. Adv. Biochem. Eng. Biotechnol. 41 : 77 - 93.

Brivonese , C.A., and Sutterland , I.W. 1989. Polymer production by mucoid strain of *Azotobacter vinelandii* in batch culture. Appl. Microbiol. Biotechnol. 30 : 97 - 102.

Brown , A.; B and Harvey , L.M.(ed.).1990. Fermentation a practical approach : Fed – batch and continuous culture . McNeil : Oxford University Press.

Byrom , D. 1987. Polymer synthesis by microorganisms : technology and economics. Tibtech. 5 : 246 – 250.

Byrom , D.; Mobley , D.P.(ed.) 1994. Polyhydroxyalkanoate : , plastics from microbe : microbial of polymers and polymers precursors. Hanser Munich.

Carter , S.I., and Dawes, A.E.1979. Effect of oxygen concentration and growth rate on glucose metabolism, poly-β-hydroxybutyrate biosynthesis and respiration of *Azotobacter beijerinckii*. J. Gen. Microbiol. 110 : 393 – 400.

Cho, K.S., Ryu, H.W., Park, C.H., and Goodrich, P.R. 1997. Poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) from swine waste liquor by *Azotobacter vinelandii* UWD. Biotech. Lett. 19(1) : 7-10.

Chung, Y.J., Cha, H.J., Yeo, J.S., and Yoo, Y.J. 1997. Production of poly(3-hydroxybutyric-co-3-hydroxyvaleric) acid using propionic acid by pH regulation. J. Ferment. Bioeng. 85(5) : 492-495.

Comeau , Y., Hall , K.J., and Oldham , W.K. 1988. Determination of poly-β-hydroxybutyrate and poly-β-hydroxyvalerate in activated sludge by gas-liquid chromatography. Appl. Env. Microbiol. 54 (9) : 2325 – 2327.

Dawes , E.A., and Senior , P.J. 1973. The role and regulation of energy reserve polymers in microorganisms. Adv. Microbiol. Physiol. 10 : 135 – 266.

De Smet , M.J., Eggink , G., Witholt , B., Kingma , J., and Wynberg , H. 1983. Characterization of intracellular inclusions formed by *Pseudomonas oleovorans* during growth on octane. J. Bacteriol. 154 : 870 – 878.

Doi , Y.(ed). 1990. Microbial Polyesters. VCH. New York.

Doi , Y., Kunioka , M., Nakamura , Y., and Soga , K. 1986. Nuclear magnetic resonance studies on poly(β-hydroxybutyrate) and a copolyester of β-hydroxybutyrate and β-hydroxyvalerate isolated from *Alcaligenes eutrophus* H16. Macromolecules. 19 : 2860 – 2864.

Doi , Y., Kunioka , M., Nakamura , Y., and Soga , K. 1987. Biosynthesis of copolyester in *Alcaligenes eutrophus* H-16 from ^{13}C-labelled acetate and propionate. Macromolecules. 20 : 2988 – 2991.

Doi , Y., Tamaki , A., Kunioka , M., and Soga , K. 1987. Biosynthesis of terpolymers of 3-hydroxybutyrate , 3-hydroxyvalerate , and 5-hydroxyvalerate in *Alcaligenes eutrophus* from 5-chloropentanoic and pentanoic acids. Makromol. Chem. Rapid. Commun. 8 : 631 – 635.

Doi , Y., Tamaki , A., Kunioka , M., and Soga , K. 1988. Production of copolyesters of 3-hydroxybutyrate and 3-hydroxyvalerate by *Alcaligenes eutrophus* from butyric acid and pentanoic acid. Appl. Microbiol. Biotechnol. 28 : 330 – 334.

Eggink , G., Smegen , J., Ongen-baysal , G., and Huijberts , G.N.M.;Mathouth, M.(ed.). 1992. Bacterial poly(hydroxyalkanoates) : Food packaging and preservation. Academic Press Inc.

Evan , D.J., and Sikdar , K.S. 1990. Biodegradable plastic. Chemtech. 5 : 38 – 42.

Fernandez-Castillo, R.., Rodriguez-Valera, F., Gonzalez-Ramos, J., and Ruiz-Berraquero, F. 1986. Accumulation of poly(β-hydroxybutyrate) by halobacteria. Appl. Environ. Microbiol. 51:214-216.

Findlay, R.H., and White, D.C. 1983. Polymetric beta-hydroxyalkanoates from environmental samples and *Bacillus megaterium*. Appl. Environ. Microbiol. 45:71-78.

Hassan , M.A., Shiral , Y., Kusubayashi , N., Karim , M.I.A., Nakanishi , K., and Hashimoto , K. 1997. The production of polyhydroxyalkanoate from anaerobically treated palm oil mill effluent by *Rhodobacter sphacroides*. J. Ferment. Bioeng. 83(5) : 485-488.

Haywood , G.W., Anderson , A.J., and Dawes , E.A. 1989. A survey of the accumulation of novel polyhydroxyalkanoates by bacteria. Biotechnol. Lett. 11 : 471 – 476.

Holmes , P.A., Wright , L.F., and Collins , S.H. 1983. Eur. Pat. Appl. 0069497.

Holmes , P.A. 1985. Applications of PHB-a microbially produced biodegradable thermoplastic. Phys. Technol. 16 : 32 – 36.

Holmes , P.A.;Bassitt , D.C.(ed.). 1988. Biologically produced (R)-3-hydroxyalkanoate polymers and copolymers : Developments in crystalline polymer-2. London : Elsvier Applied Science Publishers.

Huffman , G.L., and Keller , D.J.; Guillet , J.(ed.). 1973. The plastic issue :Polymers and ecological problems. Plenum. New York, London.

Ishihara , Y., Shimizu , H., and Shioya , S. 1996. Mole fraction control of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) in fed-batch culture of *Alcaligenes eutrophus*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 81 : 422 – 428.

Johnson, K.E., Pometto III, A.L., and Nikolou, Z.L. 1993. Degradation of degradable starch-polyethylene plastics in a compost environment. Appl. Environ. Microbiol. 59 : 1155-1161

Kemper , A.J. 1974. Determination of sub-microquantities of ammonium and nitrate in soils with phenol, sodium nitropusside and hypochlorite. Geoderma. 12 : 201 – 206.

Kim , B.S., and Chang , H.N. 1998. Production of poly(3-hydroxybutyrate) from starch by *Azotobacter chroococcum*. Biotech. Lett. 20(2) : 109 – 112.

Kim, G.J., Yun, K.Y., Bae, K.S., and Rhee, Y.H. 1992. Accumulation of copolyesters consissting of 3-hydroxybutyrate and 3-hydroxyvalerate by *Alcaligenes* sp. SH-69 in batch culture. Biotech. Lett. 14(1) : 27-32.

Kole, M.M., Gerson, D.F. 1988. Ammonium concentration control in fed-batch fermentations for the prodcution of biomass and enzymes. Biotechnol. Res. Appl. 94-103.

Lee , B., Pometto III , A.L., Fratzke , A., Bailey , T.B. 1991. Biodegradation of degradable plastic polyethylene by phanerochaete and *Streptomyces* species. Appl. Environ. Microbiol. 57 : 678 – 685.

Lee, J.H., Hong, J., and Lim, H.C.1997. Experimental optimization of fed batch culture for poly-β-hydroxybutyric acid production. Biotech. Bioeng. 56(1) : 697-705.

Lee , S.Y. 1996. Review bacterial polyhydroxyalkanoates. Biotechnol. Bioeng. 49 : 1- 14.

Lee , S.Y., and Chang , H.N. 1993. High cell density cultivation of *Escherichia coli* W using sucrose as a carbon source. Biotechnol. Lett. 15(19) : 971 – 974.

Lefebvre , G., Rocher , M., and Braunegg , G. 1997. Effects of low dissolved-oxygen concentrations on poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) production by *Alcaligenes eutrophus*. Appl. Environ. Microbiol. 63(3) : 827 – 833.

Lemoigne , M. 1926. Production of dehydration and polymerization of β-hydroxybutyric acid. Bull. Soc. Chem. Biol. 8 : 770 – 782.

Nicholson, J. The chemistry of polymers.(1994). The Royal Society of Chemistry. UK.

Page , W.J., Bhanthumnavin , N., Manchak , J., Ruman , M., 1997. Production of poly(β-hydroxybutyrate-β-hydroxyvalerate) copolymer from sugars by *Azotobacter salinestris*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 48 : 88 – 93.

Peoples , O.P., Sinskey, A.J. 1989. Poly-β-hydroxybutyrate biosynthesis in *Alcaligenes eutrophus* H16 identification and characterization of the PHB polymerase gene (*phb*C). J. Biol. Chem. 264 : 15298 – 15303.

Pirt , S.J. 1975. Principles of microbe and cell cultivation. Oxford. UK : Blackwell Scientific Publications.

Raghavan, D. 1995. Characterization of biodegradable plastic. Polm.-plast. Technol. Eng. 34:41-63.

Ramsay, B.A., Langlade, V., Carrean, P.J., and Ramsay, J.A. 1993. Biodegradability and mechanical properties of poly(β-hydroxybutyrate-co-β-hydroxyvalerate)-starch blends. Appl. Environ. Microbiol. 59:1242-1246.

Ramsay , B.A., Lomaliza , K., Chavarie , C., Dube , B., Bataille , P., and Ramsay , J.A. 1990. Production of poly(-β-hydroxybutyric-co-β-hydroxyvaleric) acids. Appl. Environ. Microbiol. 56 : 2093 – 2098.

Respaske , R., and Mayer , R. 1976. Dense autotrophic cultures of *Alcaligenes eutrophus*. Appl. Environ. Microbiol. 32 : 592 – 597.

Respaske , R., and Respaske , A.C. 1976. Quantitative requirements for exponential growth of *Alcaligenes eutrophus*. Appl. Environ. Microbiol. 32 : 585 – 591.

Rhee , Y.H., Jang , J.H., and Rogers, P.L. 1993. Production of copolymer consisting of 3-hydroxybutyrate and 3-hydroxyvalerate by fed-batch culture of *Alcaligenes* sp. SH-69. Biotech. Lett. 15(4) : 377 – 382.

Ryu , H.W., Hahn , S.K., Chang , Y.K., and Chang , H.N. 1996. Production of poly(3-hydroxybutyrate) by high cell density fed-batch culture of *Alcaligenes eutrophus* with phosphate limitation. Biotechnol. Bioeng. 55(1) : 28 – 32.

Scragg , A.H.(ed.) 1991. Bioreactors in biotech ıology a practical approach. England : Ellis Horwood Limited .

Steinbuchel , A., Hustede , E., Liebergesell , M., Pieper , U., Timm , A., Valentin , H. 1992. Molecular basis for biosynthesis and accumulation of polyhydroxyalkanoic acids in bacteria. FEMS Microbiol. Rev. 103 : 217 – 230.

Son , H., and Lee , S. 1996. Biosynthesis of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) from structurally unrelated single carbon sources by newly isolated *Pseudomonas* sp. EL-2. Biotechnol. Lett. 10 : 1217 – 1222.

Sun, W., Teng, K., and Meighen, E. 1995. Detection of poly(3-hydroxybutyrate) granules by electron microscopy of *Vibrio harveyi* stained with malachite green. Can. J. Microbiol. 41(Suppl.1):131-137.

Suzuki , T., Yamane , T., and Shimizu , S. 1986. Mass production of poly-β-hydroxybutyric acid by fully automatic fed-batch culture of methylotroph. Appl. Microbiol. Biotechnol. 23 : 322 –329.

Takada , M., Matsuoka , H., Hamana , H., and Hikuma , M. 1995. Biosynthesis of poly-3-hydroxybutyrate by *Sphaerotilus natans*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 43:31-34.

Tombolini , R. and Nuti , M.P. 1989. Poly(β-hydroxyalkanoate) biosynthesis and accumulation by different Rhizobium species. FEMS Microbiol. Lett. 60:299 -304.

Verstraete, W., and Top, E. 1992. Holistic environmental biotechnology : Microbial control of pollution. Cambridge University Press.

Wallen , L.L, and Rohedder , W.K. 1974. Poly-β-hydroxyalkanoate from activated sludge. Environ. Sci. Technol. 8 : 576 – 579.

Williumson , D.H., and Wilkinson , J.F. 1958. The isolation and estimation of the poly-β-hydroxybutyrate inclusions of *Bacillus* sp. J. Gen. Microbiol. 19: 198 – 209.

Yamane , T., Fukunaga , M., and Lee, Y.M. 1996. Increased PHB productivity by high-cell-density fed-batch culture of *Alcaligenes latus*, a growth-associated PHB producer. Biotechnol. Bioeng. 50 : 197 – 202.

Yamane , T., Shimizu , S., 1984. Fed-batch techniques in microbial processes. Adv. Biochem. Eng. Biotechnol. 23 : 322 – 329.

Yellore , V., and Desai , A. 1998. Productiion of poly-3-hydroxybutyrate from lactose and whey by *Methylobacterium* sp. ZP24. Lett. Appl. Microbiol. 26 : 391 – 394.

Yoshida, F., Yamane, T., and Nakamoto, K.; Stanbury, P.F., and Whitaker(eds.). 1984. Fed-batch hydrocarbon fermentations with colloidal emulsion feed : A. Principles of fermentation technology. Oxford. Pergamon press.

ภาคผนวก ก

การเตรียมการฟมาตรฐาน สูตรอาหาร และสารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย

1. การเตรียมกราฟมาตรฐานระหว่าง OD600 กับน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร) ของ *Alcaligenes* sp. A-04 เมื่อเลี้ยงในอาหารสำหรับเลี้ยงกล้าเชื้อ

เตรียมกล้าเชื้อของ *Alcaligenes* sp. A-04 ให้มีความเข้มข้นเริ่มต้น โดยวัดค่า OD_{600} = 0.35-0.40 นาโนเมตร ถ่ายเชื้อ 1 มิลลิลิตร (2% ต่อปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อ) ลงในอาหารสำหรับเลี้ยงกล้าเชื้อปริมาตร 50 มิลลิลิตร ซึ่งบรรจุอยู่ในขวดทดลองปริมาตร 250 มิลลิลิตร เลี้ยงเชื้อจนได้อายุเชื้อที่ต้องการ ตวงน้ำหมักปริมาตร 10 20 40 60 และ 80 มิลลิลิตร ปั่นแยกเซลล์ออกจากน้ำหมักที่ 5,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที นำเซลล์มาละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 40 มิลลิลิตร ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน นำแต่ละตัวอย่างมาเจือจางให้ได้ค่า OD_{600} ในช่วง 0.1-0.6 บันทึกผลการทดลอง ปิเปตตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร กรองผ่านเมมเบรน 0.45 ไมครอนที่ทราบน้ำหนักแห้งแล้ว นำไปอบแห้งจนน้ำหนักคงที่ เพื่อหาน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร) นำค่าที่ได้สร้างกราฟมาตรฐานระหว่าง OD_{600} กับน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)

2. การเตรียมกราฟมาตรฐานระหว่าง OD600 กับน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร) ของ *Alcaligenes* sp. A-04 เมื่อเลี้ยงในอาหารเพื่อการผลิต MSM

ถ่ายเชื้อ *Alcaligenes* sp. A-04 จากอาหารสำหรับเตรียมกล้าเชื้อ 1 มิลลิลิตร (2% ต่อปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อ) ลงในอาหาร MSM ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ซึ่งบรรจุอยู่ในขวดทดลองปริมาตร 250 มิลลิลิตร เลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 60 ชั่วโมงตวงน้ำหนักปริมาตร 10 20 40 60 และ 80 มิลลิลิตร ปั่นแยกเซลล์ออกจากน้ำหมักที่ 5,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที นำเซลล์มาละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 40 มิลลิลิตร ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน นำแต่ละตัวอย่างมาเจือจางให้ได้ค่า OD_{600} ในช่วง 0.1-0.6 บันทึกผลการทดลอง ปิเปตตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร กรองผ่านเมมเบรน 0.45 ไมครอนที่ทราบน้ำหนักแห้งแล้ว นำไปอบแห้งจนน้ำ

หนักคงที่ เพื่อหาน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร) นำค่าที่ได้สร้างกราฟมาตรฐานระหว่าง OD_{600} กับน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)

3. วิธีเตรียมสารละลายกรดไดไนโตรซาลิไซลิก (DNSA regentent)

โดยละลาย 1.0 กรัมของกรดไดไนโตรซาลิไซลิก ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 2.0 โมลาร์ ปริมาตร 20.0 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วเติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร เติมโปแตสเซียมโซเดียมตาร์เตรท 30.0 กรัม ปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นเก็บในขวดสีชา

4. การเตรียมสารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณแอมโมเนียม

สารละลายโปแตสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 2 โมลาร์ เตรียมโดยละลายโปแตสเซียมคลอไรด์ 150 กรัมในน้ำกลั่นปลอดประจุปริมาตร 800 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 1,000 มิลลิลิตร

สารละลายไนโตรพัสซายด์ เตรียมโดยละลายฟีนอล 7 กรัม และไนโตรพัสซายด์ 34 มิลลิกรัมในน้ำกลั่นปลอดประจุปริมาตร 80 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 100 มิลลิลิตร เก็บในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 °ซ

สารละลายบัฟเฟอร์ไฮโปคลอไรท์ เตรียมโดยละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1.480 กรัมในน้ำกลั่นปลอดประจุปริมาตร 70 มิลลิลิตร เติมไดโซเดียมโมโนไฮโดรเจนฟอสเฟต 4.98 กรัม และเติมสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรด์ (5-5.25 %) ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ปรับค่า pH ให้อยู่ในช่วง 11.4-12.2 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ ปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 100 มิลลิลิตร

สารละลาย EDTA เตรียมโดยละลายเกลือของ EDTA ไดโซเดียม (EDTA disodium salt) 6 กรัม ในน้ำกลั่นปลอดประจุปริมาตร 80 มิลลิลิตร ปรับ pH เป็น 7.0 ปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 100 มิลลิลิตร

5. การเตรียมอาหารสำหรับเติมในการเลี้ยงแบบเฟดแบช

เตรียมสารอาหารเพื่อเติมระหว่างการเลี้ยงเชื้อแบบเฟดแบช โดยชั่งสารดังตาราง โดยแต่ละการทดลองมีอัตราส่วนของแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนแตกต่างกัน แยกน้ำตาลฟรักโตสโดยนึ่งฆ่าเชื้อ ที่ 110 องศาเซลเซียส 15 นาที ส่วนกรดวาเลอริก และ แอมโมเนียมซัลเฟตนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส 20 นาที เมื่อทั้งสองส่วนเย็นนำมาผสมกันในขวดทดลองขนาด 1 ลิตร เพื่อใช้เติมเป็นสารอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อ

อัตราส่วน C/N	ฟรักโตส + วาเลอริก อัตราส่วน (18:2) (g/l)	แอมโมเนียมซัลเฟต (g/l)
300	300	2.463
200	300	3.694
100	300	7.389
50	300	14.777
5	300	147.77

ภาคผนวก ข

สูตรคำนวณ

1. การคำนวณน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)

สูตร น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร) =ความชัน x OD_{600}x ค่าการเจือจาง

2. การคำนวณปริมาณฟรักโทสในอาหาร (กรัมต่อลิตร)

สูตร ปริมาณฟรักโทส (กรัมต่อลิตร) =ความชัน x OD_{540}x ค่าการเจือจาง

3. การคำนวณปริมาณแอมโมเนียมในอาหาร (กรัมต่อลิตร)

สูตร ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต (กรัมต่อลิตร) = OD_{630}ความชัน x (1/1000)
x (ค่าการเจือจาง/5) x(132/28)

หมายเหตุ

28 คือ น้ำหนักโมเลกุลของธาตุไนโตรเจนในแอมโมเนียมซัลเฟต

132 คือ น้ำหนักโมเลกุลของธาตุแอมโมเนียมซัลเฟต

4. การคำนวณปริมาณโมโนเมอร์ (กรัมต่อลิตร) จากการวิเคราะห์ด้วยวิธีก๊าซโครมาโตกราฟฟี

การคำนวณปริมาณโมโนเมอร์ของ 3HB และ 3HV (กรัมต่อลิตรต่อ lyophilized cell 0.02 กรัม) ทำการประมวลผลโดยใช้โปรกรมสำเร็จรูป Star chromatogram : Version 4.02 ซึ่งจะทำการคำนวณปริมาณโมโนเมอร์ (กรัมต่อลิตร) เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานที่ทำการวิเคราะห์ในสภาวะเดียวกัน

การคำนวณปริมาณโมโนเมอร์แต่ละชนิด (กรัมต่อลิตร)

ปริมาณโมโนเมอร์ (กรัมต่อลิตร)

$$= \frac{\text{ค่าจากการวิเคราะห์ (g/l) x น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l)}}{20 \times 1.10}$$

หมายเหตุ ค่าคงที่ 1.10 คือค่า correlation factor ระหว่างน้ำหนักเซลล์แห้งโดยการอบต่อน้ำหนักเซลล์แห้งโดยการระเหิดแห้งภายใต้สภาวะสูญญากาศ

(cell dry weight = lyophilized weight x 1.10)

5. การคำนวณสัดส่วน (โมลเปอร์เซ็นต์) ของแต่ละโมโนเมอร์ จากการวิเคราะห์ด้วยวิธีก๊าซโครมาโตกราฟฟี

สูตร การคำนวณสัดส่วนองค์ประกอบของโมโนเมอร์ในเทอร์พอลิเมอร์ (mole fraction)

1. คำนวณหาปริมาณของแต่ละโมโนเมอร์ (กรัมต่อลิตร)
2. คำนวณหาจำนวนโมลของแต่ละโมโนเมอร์ โดยการหารด้วยน้ำหนักโมเลกุลของแต่ละโมโนเมอร์ (น้ำหนักโมเลกุลของ 3HB , 3HV และ 4HB = 86 , 100 และ 86 ตามลำดับ)
3. คำนวณหาสัดส่วนของแต่ละโมโนเมอร์ (โมลเปอร์เซ็นต์) ดังนี้

$$\text{โมลเปอร์เซ็นต์ของแต่ละโมโนเมอร์} = \frac{\text{จำนวนโมลของโมโนเมอร์ x 100}}{\text{ผลรวมของจำนวนโมลของโมโนเมอร์ทั้งหมด}}$$

6. วิธีคำนวณค่ามวลชีวภาพที่ไม่รวมพอลิเมอร์ (residual cell mass)

$$Xr = \text{น้ำหนักเซลล์แห้ง - ปริมาณโคพอลิเมอร์}$$

7. วิธีการคำนวณอัตราการเจริญจำเพาะ

$$\mu = (\ln X_t - \ln X_0)/t$$

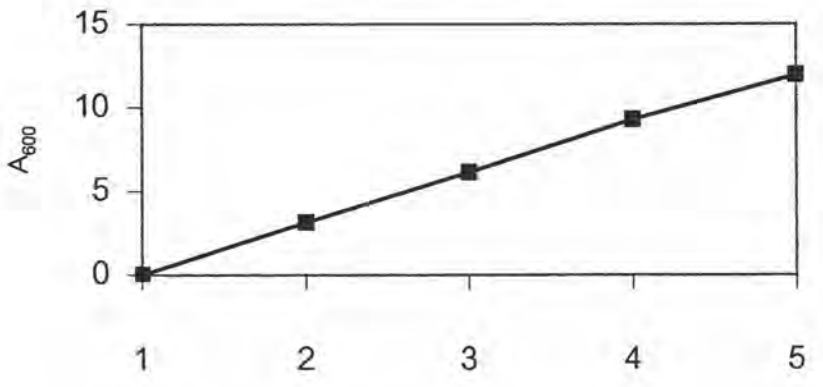
8. วิธีการคำนวณผลผลิต (Yield)

$$Yx/s = (X_t - X_0)/(S_t - S_0)$$

ภาคผนวก ค

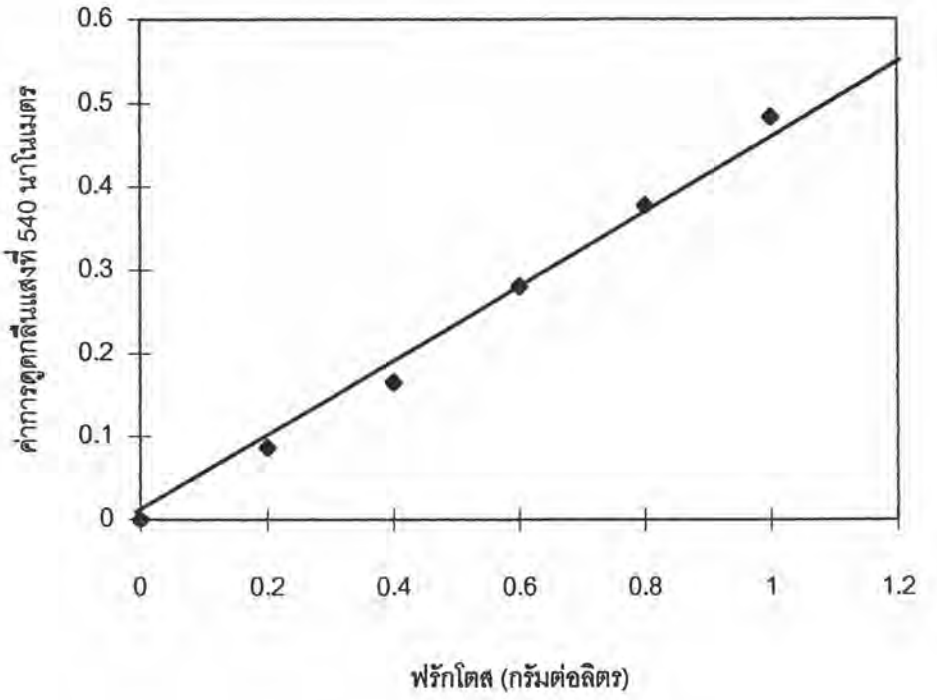
กราฟมาตรฐาน

1. กราฟมาตรฐานระหว่าง OD 600 กับน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)



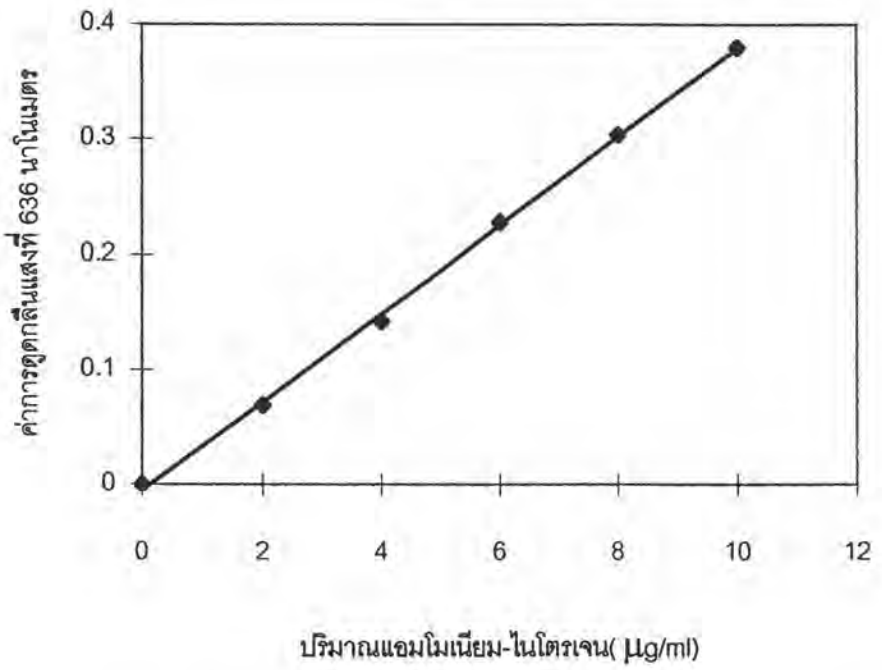
รูปที่ 30 กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)
ค่าความชัน เท่ากับ 2.50

2. กราฟมาตรฐานของฟรักโตส ด้วยวิธี DNSA



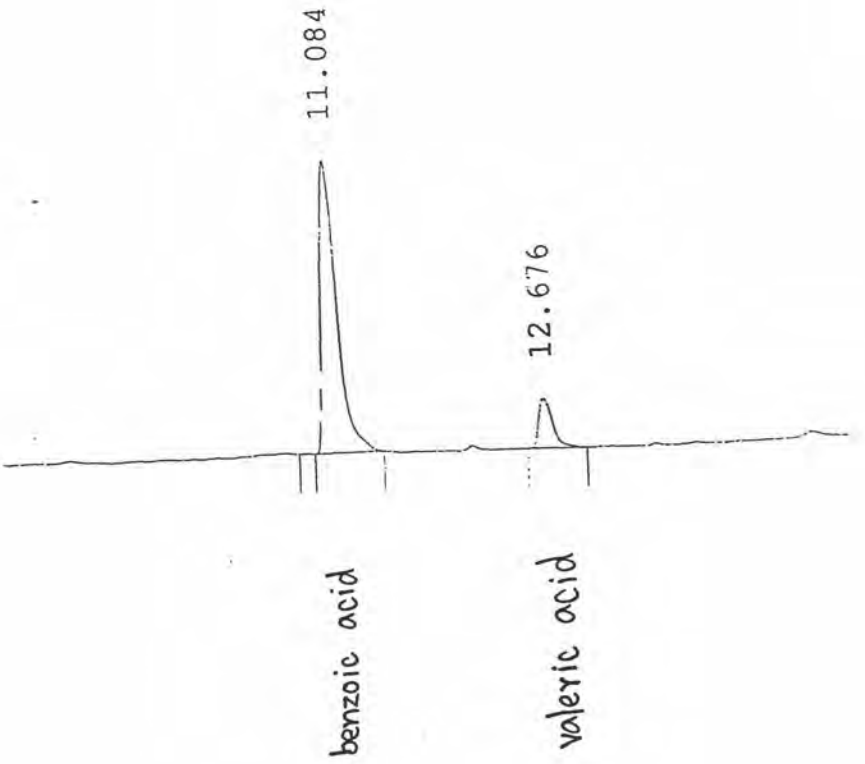
รูปที่ 31 กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณฟรักโตสในช่วงความเข้มข้น 0-1 กรัมต่อลิตร ค่าความชัน เท่ากับ 0.526

3. กราฟมาตรฐานของแอมโมเนียม- ไนโตรเจน

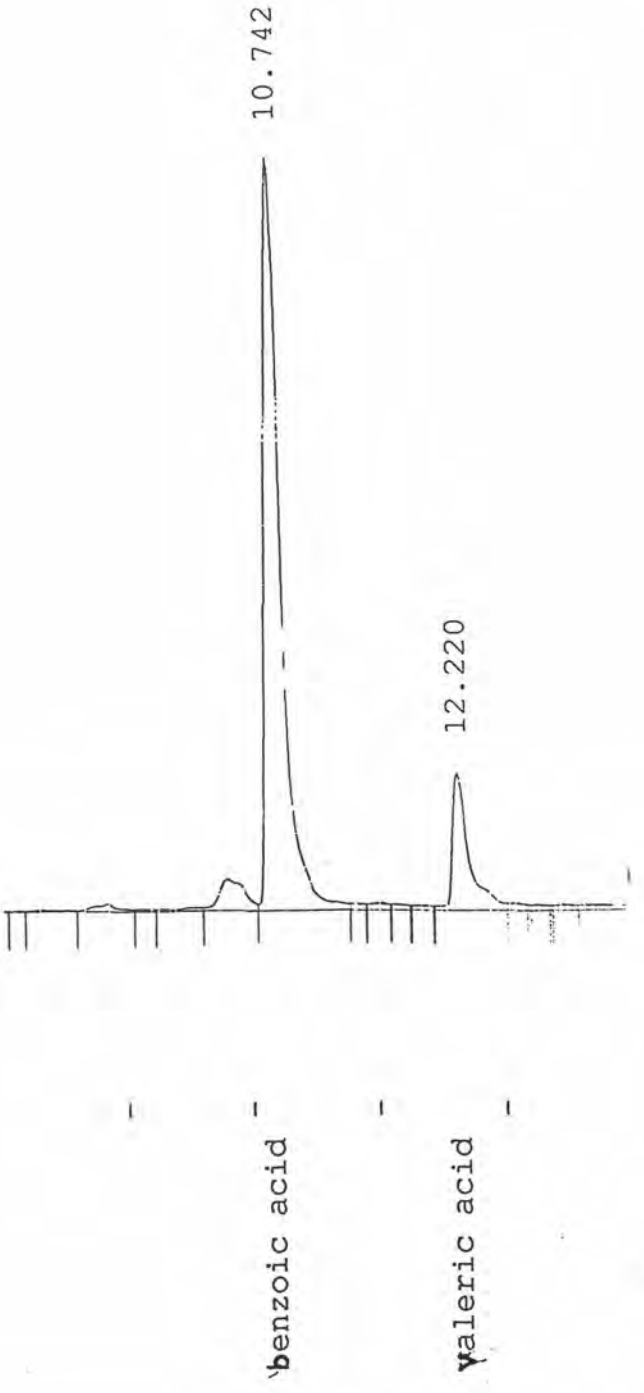


รูปที่ 32 กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต ในช่วงความเข้มข้น0-50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

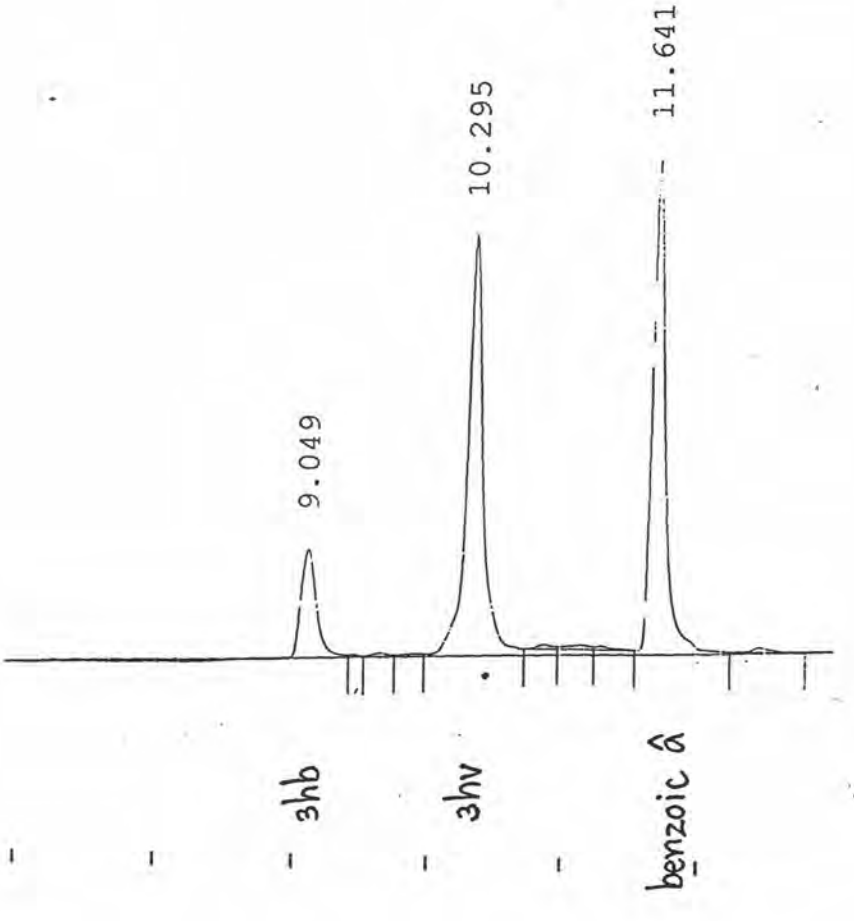
ค่าความชัน เท่ากับ 0.037



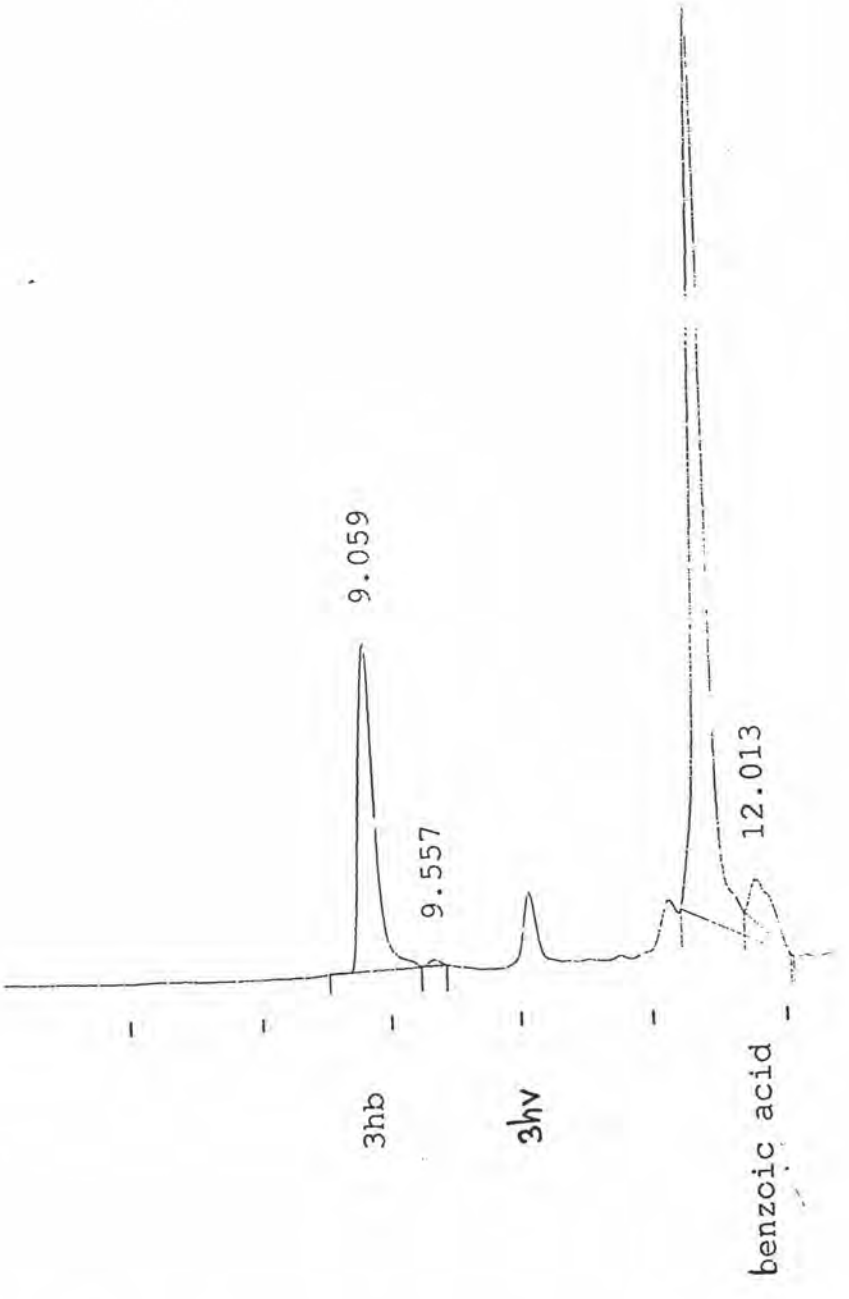
รูปที่ 33 โครมาโตแกรมสารมาตรฐานของกรดวาเลอริก ซึ่งวิเคราะห์ด้วยวิธี GC



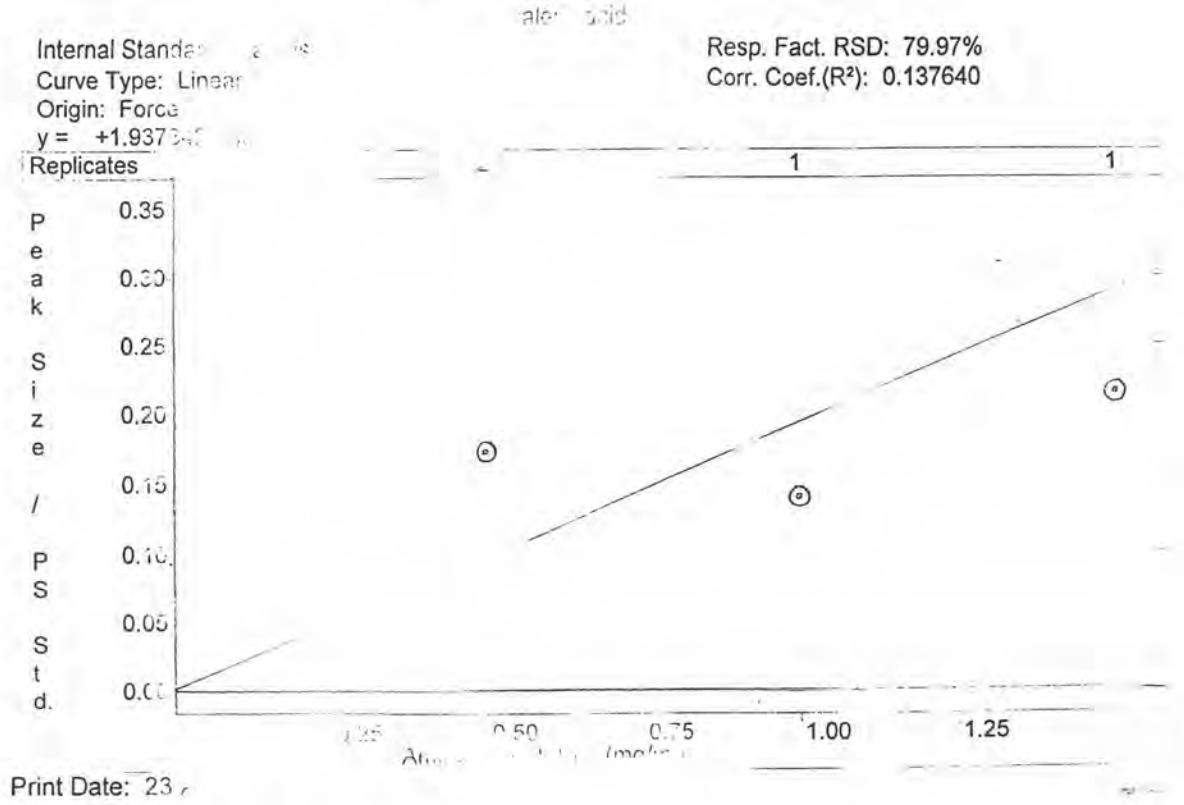
รูปที่ 34 โครมาโตแกรมของกรดวาเลอริกที่เหลืออยู่ในน้ำหมักที่ใช้เลี้ยง *Alcaligenes* sp. A-04 เพื่อผลิต โคพอลิเมอร์ P(3HB-co-3HV)



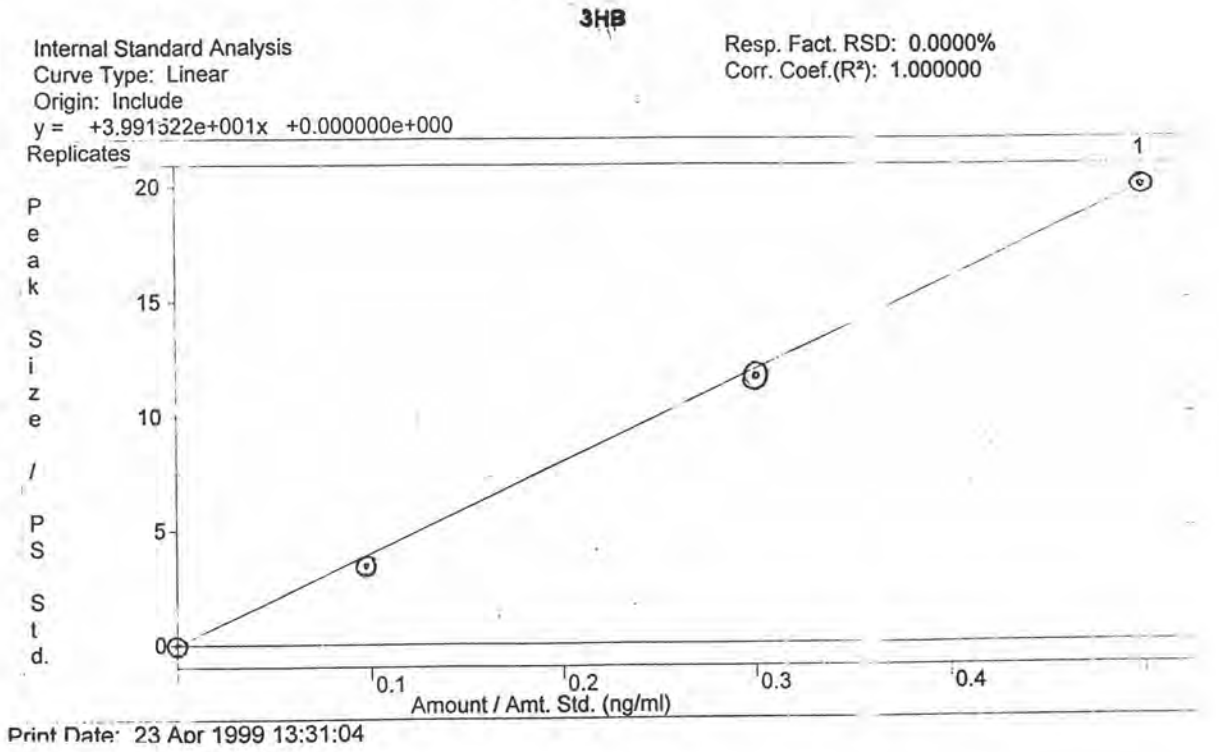
รูปที่ 35 โครมาโตแกรมสารมาตรฐาน (ก) 3HB (ข) 3HV ซึ่งทำการวิเคราะห์ด้วยวิธี GC



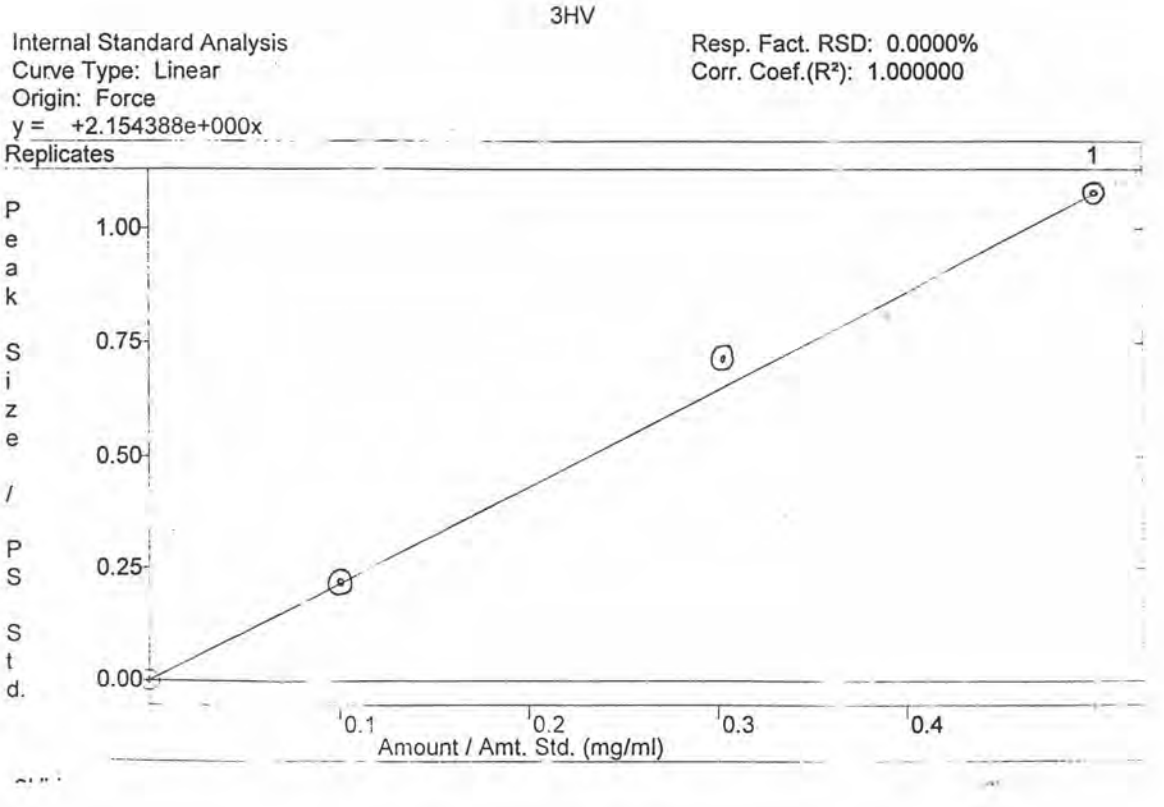
รูปที่ 36 ตัวอย่างโครมาโตแกรมของโคพอลิเมอร์ P(3HB-co-3HV) จาก Alcaligenes sp. A-04 ซึ่งวิเคราะห์ด้วยวิธี GC



รูปที่ 37 ตัวอย่างกราฟมาตรฐานของกรดวาเลอริก ซึ่งวิเคราะห์ด้วยวิธี GC



รูปที่ 38 ตัวอย่างกราฟมาตรฐานโมโนเมอร์ ของ 3HB ซึ่งวิเคราะห์ด้วยวิธี GC



รูปที่ 39 ตัวอย่างกราฟมาตรฐานโมโนเมอร์ของ 3HV ซึ่งวิเคราะห์ด้วยวิธี GC

ประวัติผู้เขียน

นายอดิศักดิ์ หิรัญรัตนากร เกิดวันที่ 20 พฤศจิกายน พ.ศ. 2515 ที่จังหวัดกรุงเทพฯ สำเร็จการศึกษา ปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ปีการศึกษา 2537 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต ที่จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อ พ.ศ. 2538 ที่อยู่ปัจจุบัน 671/3 ซอยสุขุมวิท 101/1 ถนนสุขุมวิท แขวงบางจาก เขตพระโขนง กรุงเทพฯ