สภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิต โพลีเบต้าไฮดรอกซีบิวทีเรท จาก *Alcaligenes* sp. สายพันธุ์ A-04 ในระดับถังหมัก

นาย ชนัญ ผลประไพ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

ภาควิชาจุลชีววิทยา

พ.ศ. 2537

ISBN 974-584-693-7

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I22359989

OPTIMAL CULTIVATION CONDITIONS FOR POLY-β-HYDROXYBUTYRATE PRODUCTION FROM *Alcaligenes* sp. STRAIN A-04 IN A JAR FERMENTOR

Mr. Chanan Phonprapai

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science

Department of Microbiology

Graduate School

Chulalongkorn University

1994

ISBN 974-584-693-7

หัวข้อวิทยานิพนธ์	สภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิต โพลีเบต้าไฮดรอกซีบิวทีเรท จาก *Alcaligenes* sp. สายพันธุ์ A-04 ในระดับถังหมัก
โดย	นาย ชนัญ ผลประไพ
ภาควิชา	จุลชีววิทยา
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร.ส่งศรี กุลปรีชา

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(ศาสตราจารย์ ดร.ถาวร วัชราภัย)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.ไพเราะ ปิ่นพานิชการ)

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.ส่งศรี กุลปรีชา)

.....กรรมการ

(อาจารย์ ดร.เพียรพรรค ทัศคร)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อมร เพชรสม)

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

ชนัญ ผลประไพ : สภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิต โพลีเบต้าไฮดรอกซีบิวทีเรท จาก Alcaligenes sp. สายพันธุ์ A-04 ในระดับถังหมัก (OPTIMAL CULTIVATION CONDITIONS FOR POLY-β-HYDROXYBUTYRATE PRODUCTION FROM Alcaligenes sp. STRAIN A-04 IN A JAR FERMENTOR) อ.ที่ปรึกษา : รศ.ดร.สิงห์ร์ กุลปรีชา, 146 หน้า. ISBN 974-584-693-7

ปัจจัยที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงเชื้อ Alcaligenes sp. สายพันธุ์ A-04 เพื่อผลิต PHB ได้แก่ การควบคุมสภาวะความเป็นกรดด่างของน้ำหมัก เท่ากับ 7.0 ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักเท่ากับ 100% ที่อุณหภูมิ 30ซ โดยปรับอัตราการกวนเท่ากับ 600 รอบต่อนาที และอัตราการให้อากาศเท่ากับ 1.8 vvm เริ่มต้นเมื่อเลี้ยงในขวดเขย่า ภายใต้สภาวะที่จำกัดปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต เท่ากับ 0.1 กรัมต่อลิตร และมีปริมาณฟรุคโตส เท่ากับ 10.0 กรัมต่อลิตร พบว่าที่เวลา 48 ชั่วโมง เชื้อสามารถผลิต PHB ได้เท่ากับ 2 กรัมต่อลิตร คิดเป็นปริมาณ 47% ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ในการเลี้ยงแบบ Batch ในถังหมักขนาด 5 ลิตร พบว่าสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิต PHB ซึ่งเป็นสภาวะที่เชื้อสามารถผลิต PHB ได้ปริมาณสูงสุดในงานวิจัยนี้ ได้แก่ ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตเท่ากับ 1.5 กรัมต่อลิตร และปริมาณฟรุคโตสเท่ากับ 30.0 กรัมต่อลิตร Alcaligenes sp. สายพันธุ์ A-04 สามารถผลิต PHB ได้เท่ากับ 7.21 กรัมต่อลิตร คิดเป็น 82.12% ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ที่เวลา 72 ชั่วโมงของการเลี้ยงเชื้อ เชื้อสามารถใช้กากน้ำตาลในการผลิต PHB ได้ แต่ไม่ดีเท่ากับการใช้ฟรุคโตส โดยพบว่า เมื่อใช้กากน้ำตาล 20% (น้ำหนักต่อปริมาตร) โดยมีแอมโมเนียมซัลเฟตเท่ากับ 0.1 กรัมต่อลิตร ปริมาณ PHB ที่ผลิตได้ เท่ากับ 2.27 กรัมต่อลิตร คิดเป็น 53.86% ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ที่เวลา 72 ชั่วโมงของการเลี้ยงเชื้อ การเลี้ยงเชื้อแบบ fed-batch สภาวะที่ Alcaligenes sp. สายพันธุ์ A-04 ผลิต PHB ได้ปริมาณสูงสุดคือ ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตเริ่มต้น เท่ากับ 1.0 กรัมต่อลิตร ปริมาณฟรุคโตสเริ่มต้น เท่ากับ 10.0 กรัมต่อลิตร ที่เวลา 18 ชั่วโมงของการเลี้ยงเชื้อ เติมแอมโมเนียมซัลเฟต และ ฟรุคโตส ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย เท่ากับ 1.0 และ 20.0 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ปริมาณ PHB ที่ผลิตได้ที่เวลา 48 ชั่วโมง เท่ากับ 6.56 กรัมต่อลิตร คิดเป็น 79.23% ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง

ภาควิชา จุลชีววิทยา ลายมือชื่อนิสิต ชนัญ ผลประไพ

สาขาวิชา จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา สิงห์ร์ กุลปรีชา

ปีการศึกษา 2536 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม -

C425984 : MAJOR INDUSTRIAL MICROBIOLOGY
KEY WORD: ALCALIGENES SP. / POLY-β-HYDROXYBUTYRATE / PHB / CULTIVATION
CHANAN PHONPRAPAI : OPTIMAL CULTIVATION CONDITIONS FOR POLY-β-HYDROXY BUTYRATE PRODUCTION FROM Alcaligenes sp. STRAIN A-04 IN A JAR FERMENTOR. THESIS ADVISOR : ASSO.PROF. SONGSRI KULPREECHA,Ph.D. 146pp.
ISBN 974-584-693-7

The optimal cultivation conditions for poly-β-hydroxybutyrate production from Alcaligenes sp. A-04 are followings: pH controlled at 7.0, amount of dissolved oxygen adjusted to 100 % saturation at 30°C with agitation speed at 600 rpm ; aeration rate at 1.8 vvm. At the beginning, in shake flask cultivation with the amount of ammonium sulfate limited at 0.1 g/L and 10.0 g/L of fructose, at 48 hours of cultivation, 47 %/dry cell weight of PHB is obtained. In batch cultivation in 5 L. fermentor, it was found that the maximum amount of PHB produced is 7.21 g/L or 82.12 %/dry cell weight at 72 hours of cultivation when the amount of ammonium sulfate and fructose equal to 1.5 g/L and 30.0 g/L respectively. Cane molasses was utilized by Alcaligenes sp. A-04 for PHB production although the amount of PHB produced was less than using fructose as a carbon source. About 2.3 g/L or 53.86 %/dry cell weight of PHB was formed at 72 hours of cultivation when 20 % (weight/volumn) of molasses was used as a carbon source.and 0.1 g/L of ammonium sulfate as a nitrogen source. In fed-batch culture, the maximum amount of PHB produced from Alcaligenes sp. A-04 at 48 hours of cultivation was 6.56 g/L or 79.23 %/dry cell weight when the initial amount of ammonium sulfate and fructose equal to 1.0 g/L and 10.0 g/L respectively, at 48 hours of cultivation,ammonium sulfate and fructose were added to make up the final concentrations to 1.0 g/L and 20.0 g/L respectively.

ภาควิชา จุลชีววิทยา ลายมือชื่อนิสิต .....
สาขาวิชา จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....
ปีการศึกษา 2536 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม -

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ ด้วยความช่วยเหลืออย่างดียิ่งของรองศาสตราจารย์ ดร.ส่งศรี กุลปรีชา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ซึ่งท่านได้กรุณาให้คำแนะนำ และข้อคิดเห็นต่างๆ ของงานวิจัยด้วยดีตลอดมา รวมทั้งได้ช่วยแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น ข้าพเจ้าจึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ไพเราะ ปิ่นพานิชการ ที่ได้กรุณารับเป็นประธานกรรมการสอบ และ อาจารย์ ดร.เพียรพรรค ทัศคร ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อมร เพชรสม ที่กรุณารับเป็นกรรมการสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

งานวิจัยนี้ส่วนหนึ่งได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยของบัณฑิตวิทยาลัย ดังนั้นจึงขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย และเจ้าหน้าที่ที่ได้ช่วยอำนวยความสะดวกต่าง ๆ

ขอขอบคุณ พี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ ในภาควิชาจุลชีววิทยา ที่ได้ให้กำลังใจ และความช่วยเหลือด้วยดีตลอดมา

ขอขอบคุณ พี่ๆ เจ้าหน้าที่ทุกท่าน ของภาควิชาจุลชีววิทยา ที่ได้ช่วยเหลืออำนวยความสะดวกในเรื่องต่าง ๆ เป็นอย่างดี

ท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ คุณอา และขอขอบคุณสมาชิกในครอบครัวของข้าพเจ้า รวมทั้ง คุณ วราภรณ์ ภัทรายุตวรรตน์ ที่ได้ให้ ความรัก ความห่วงใย กำลังใจ และคำแนะนำที่ดีตลอดมา

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... จ

กิตติกรรมประกาศ..... ฉ

สารบัญรูป..... ช

สารบัญตาราง..... ฐ

คำย่อ..... ต

บทที่

1. บทนำ..... 1

2. อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย..... 18

3. ผลการวิจัย..... 36

4. สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง..... 114

รายการอ้างอิง..... 125

ภาคผนวก..... 133

ประวัติผู้เขียน..... 146

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1	สูตรโครงสร้าง PHA	2
2	ภาพตัดของเซลล์ *Alcaligenes eutrophus* จากกล้องจุลทรรศน์อิเลกตรอน แสดง PHB แกรนูลภายในเซลล์.....	4
3	สูตรโครงสร้างของ PHB	5
4	วิถีการเปลี่ยน Acetyl CoA ไปเป็นสารต่าง ๆ เมื่อเซลล์เติบโตภายใต้สภาวะที่มีอาหารสมดุลย์ (balance growth) และสภาวะที่สารบางอย่างถูกจำกัด แต่มีปริมาณคาร์บอนมากเกินพอ (carbon excess)	10
5	วิถีการสังเคราะห์ และย่อยสลาย PHB	12
6	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร และน้ำหนักเซลล์แห้งของ *Alcaligenes* sp. A-04 เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงกล้าเชื้อต่างชนิดกัน.....	37
7	การเติบโตของ *Alcaligenes* sp. A-04 ในอาหารเลี้ยงกล้าเชื้อสูตรที่ 2 .	40
8	เปรียบเทียบน้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณ PHB ที่ผลิตโดย *Alcaligenes* sp. A-04 เมื่อใช้อาหาร MSM และอาหารสูตรที่ 2 เป็นอาหารเลี้ยงกล้าเชื้อ แล้วใช้ MSM เป็นอาหารสำหรับการผลิต PHB ในขวดเขย่า.....	43
9	เปรียบเทียบน้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณ PHB ที่ผลิตโดย *Alcaligenes* sp. A-04 เมื่อใช้อาหาร MSM และอาหารสูตรที่ 2 เป็นอาหารเลี้ยงกล้าเชื้อ แล้วใช้ MSM เป็นอาหารสำหรับการผลิต PHB ในถังหมัก.....	46
10	เปรียบเทียบน้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณ PHB ที่ผลิตโดย *Alcaligenes* sp. A-04 โดยใช้อาหารสูตรที่ 2 เป็นอาหารเลี้ยงกล้าเชื้อ และใช้อาหาร MSM เป็นอาหารสำหรับการผลิต PHB ในขวดเขย่าและในถังหมัก.....	48

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่		หน้า
11	ค่า pH ของน้ำหมักที่เวลาต่าง ๆ กัน เมื่อปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตเริ่มต้น ในอาหารเลี้ยงเชื้อ *Alcaligenes* sp. A-04 ต่างกัน.....	50
12	การเติบโต การผลิต PHB และการใช้อาหารของ *Alcaligenes* sp. A-04 เมื่อให้ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักเท่ากับ 100% 80% 70% และ 50% (ที่ 0-12 และ 12-60 ชั่วโมง) และที่ 50%	58
13	ปริมาณ PHB ที่ผลิตโดย *Alcaligenes* sp. A-04 ในถังหมัก เมื่อแปรผันปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมัก.....	60
14	การเติบโต การผลิต PHB และการใช้อาหารของ *Alcaligenes* sp. A-04 เมื่อความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตเริ่มต้นเท่ากับ 0.1 กรัม/ลิตร โดยแปรผันความเข้มข้นเริ่มต้นของฟรุคโตสเท่ากับ 5.0 1.0 และ 20.0 กรัม/ลิตร	64
15	ปริมาณ PHB ที่ผลิตโดย *Alcaligenes* sp. A-04 ในถังหมักเมื่อมีปริมาณของแอมโมเนียมซัลเฟตเริ่มต้นเท่ากับ 0.1 กรัม/ลิตร แปรผันความเข้มข้นเริ่มต้นของฟรุคโตสเท่ากับ 5.0 10.0 และ 20.0 กรัม/ลิตร.....	66
16	การเติบโต การผลิต PHB และการใช้อาหารของ *Alcaligenes* sp. A-04 เมื่อปริมาณฟรุคโตสเริ่มต้นเท่ากับ 10.0 กรัม/ลิตร แปรผันปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตเริ่มต้นเท่ากับ 0.1 0.3 0.5 และ 1.0 กรัม/ลิตร.....	70
17	การเติบโต การผลิต PHB และการใช้อาหารของ *Alcaligenes* sp. A-04 เมื่อให้ปริมาณฟรุคโตสเริ่มต้น 20.0 กรัม/ลิตร แปรผันความเข้มข้นเริ่มต้นของแอมโมเนียมซัลเฟต 0.5 1.0 และ 1.5 กรัม/ลิตร.....	74

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่		หน้า
18	การเติบโต การผลิต PHB และการใช้อาหารของ *Alcaligenes* sp. A-04 เมื่อให้ปริมาณฟรุคโตสเริ่มต้น 30.0 กรัม/ลิตร เมื่อแปรผันความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต 1.5 และ 2.0 กรัม/ลิตร.....	78
19	เปรียบเทียบปริมาณ PHB ที่ *Alcaligenes* sp. A-04 ผลิตขึ้น โดยแปรผันความเข้มข้นเริ่มต้นของแอมโมเนียมซัลเฟต และเพิ่มความเข้มข้นของฟรุคโตสให้เพียงพอสำหรับการเติบโต และการผลิต PHB ดังนี้ แอมโมเนียมซัลเฟต 0.1 และ 0.3 กรัม/ลิตร ฟรุคโตส 10.0 กรัม/ลิตร แอมโมเนียมซัลเฟต 0.5 และ 1.0 กรัม/ลิตร ฟรุคโตส 20.0 กรัม/ลิตร แอมโมเนียมซัลเฟต 1.5 และ 2.0 กรัม/ลิตร ฟรุคโตส 30.0 กรัม/ลิตร....	80
20	น้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณ PHB ของ *Alcaligenes* sp. A-04 เมื่อเลี้ยงในขวดเขย่า โดยแปรผันปริมาณกากน้ำตาล.....	85
21	การเติบโต การผลิต PHB และการใช้อาหารของ *Alcaligenes* sp. A-04 โดยใช้กากน้ำตาล 20% เป็นแหล่งอาหารคาร์บอน เมื่อปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตเริ่มต้นเท่ากับ 0.1 0.5 และ 1.0 กรัม/ลิตร.....	89
22	เปรียบเทียบปริมาณ PHB ที่เวลาต่าง ๆ โดยใช้กากน้ำตาล 20% เป็นแหล่งอาหารคาร์บอน เมื่อให้ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตเริ่มต้นเท่ากับ 0.1 0.5 และ 1.0 กรัม/ลิตร.....	90
23	การเติบโต การผลิต PHB และการใช้อาหารของ *Alcaligenes* sp. A-04 โดยใช้ฟรุคโตส กลูโคส และซูโครส บริสุทธิ์ เป็นอาหารคาร์บอน เมื่อปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตเริ่มต้นเท่ากับ 0.1 และ 0.5 กรัม/ลิตร.....	93

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่		หน้า
24	เปรียบเทียบปริมาณ PHB เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes* sp. A-04 โดยใช้กากน้ำตาล 20% และฟรุคโตส กลูโคส และซูโครส บริสุทธิ์ เป็นอาหารแหล่งคาร์บอนเมื่อปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตเริ่มต้นเท่ากับ 0.1 และ 0.5 กรัม/ลิตร	95
25	การเติบโต การผลิต PHB และการใช้อาหารของ *Alcaligenes* sp. A-04 เมื่อใช้แอมโมเนียมซัลเฟต 1.5 กรัม/ลิตร และกากน้ำตาล 30% เป็นอาหาร..	97
26	ปริมาณ PHB ที่เซลล์สร้างขึ้นที่เวลาต่าง ๆ เมื่อแปรผันความเข้มข้นเริ่มต้นของแอมโมเนียมซัลเฟตเท่ากับ 0.1 0.5 และ 1.0 กรัม/ลิตร (เมื่อใช้กากน้ำตาล 20% เป็นอาหารคาร์บอน) และเท่ากับ 1.5 กรัม/ลิตร (เมื่อใช้กากน้ำตาล 30% เป็นอาหารคาร์บอน).....	99
27	การเติบโต การผลิต PHB และการใช้อาหารของ *Alcaligenes* sp. A-04 ให้ความเข้มข้นของฟรุคโตสเริ่มต้นเท่ากับ 10.0 กรัม/ลิตร เมื่อ แอมโมเนียมซัลเฟตเริ่มต้น 0.5 กรัม/ลิตร และเติมฟรุคโตสให้ได้ความเข้มข้นเท่ากับ 10.0 กรัม/ลิตร ที่ชั่วโมงที่ 42 แอมโมเนียมซัลเฟตเริ่มต้น 1.0 กรัม/ลิตร และเติมฟรุคโตสให้ได้ความเข้มข้นเท่ากับ 10.0 กรัม/ลิตร ที่ชั่วโมงที่ 18.....	103
28	การเติบโต การผลิต PHB และการใช้อาหารของ *Alcaligenes* sp. A-04 ให้ความเข้มข้นเริ่มต้นของแอมโมเนียมซัลเฟต และฟรุคโตสเท่ากับ 1.0 และ 10.0 กรัม/ลิตร ที่ 18 ชั่วโมง เมื่อเติมแอมโมเนียมซัลเฟต และฟรุคโตสให้ได้ 1.0 และ 20.0 กรัม/ลิตร และ เมื่อเติมแอมโมเนียมซัลเฟต และฟรุคโตสให้ได้ 1.5 และ 20.0 กรัม/ลิตร ตามลำดับ.....	106

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่ หน้า

29 การเติบโต การผลิต PHB และการใช้อาหารของ *Alcaligenes* sp. A-04 ให้ความเข้มข้นเริ่มต้นของแอมโมเนียมซัลเฟต และฟรุคโตสเท่ากับ 1.5 และ 30.0 กรัม/ลิตร โดยเติมแอมโมเนียมซัลเฟตให้ได้ความเข้มข้นเท่ากับ 1.0 กรัม/ลิตร ที่เวลา 24 ชั่วโมง..... 108

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ตัวอย่างจีนัสของจุลินทรีย์ ที่สร้างและสะสม PHB.....	4
2	สมบัติทางกายภาพและเคมีของ PHA และ PHB.....	7
3	สมบัติทางเคมีและกายภาพของ PP และ PHB.....	9
4	น้ำหนักเซลล์แห้งและค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ของ *Alcaligenes* sp. A-04 ใสอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่ 2.....	39
5	น้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณ PHB ที่ผลิตโดย *Alcaligenes* sp. A-04 เมื่อใช้อาหาร MSM และอาหารสูตรที่ 2 เป็นอาหารเลี้ยงกล้าเชื้อ แล้วใช้ MSM เป็นอาหารสำหรับผลิต PHB ในขวดเขย่า.....	42
6	น้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณ PHB ที่ผลิตโดย *Alcaligenes* sp. A-04 เมื่อใช้อาหาร MSM และอาหารสูตรที่ 2 เป็นอาหารเลี้ยงกล้าเชื้อ แล้วใช้ MSM เป็นอาหารสำหรับผลิต PHB ในถังหมัก.....	45
7	ค่า pH ของน้ำหมักที่เวลา 12 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes* sp. A-04 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นเริ่มต้นของ แอมโมเนียมซัลเฟต ต่างกัน.....	51
8	เปรียบเทียบปริมาณ PHB และปริมาณ PHB/โปรตีน ที่ผลิตโดย *Alcaligenes* sp. A-04 เมื่อควบคุมและไม่ควบคุม pH ตลอดระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อที่เวลาซึ่งได้ปริมาณ PHB สูงสุดคือ 48 36 และ 18 ชั่วโมง เมื่อปริมาณของแอมโมเนียมซัลเฟตเท่ากับ 0.1 0.5 และ 1.0 กรัม/ลิตร ตามลำดับ โดยมีฟรุคโตสปริมาณเริ่มต้นเท่ากับ 10.0 กรัม/ลิตร ทุกการทดลอง.....	53
9	ปริมาณออกซิเจนในน้ำหมัก เมื่อแปรผันอัตราการกวนและอัตราการให้อากาศ เมื่อควบคุมอุณหภูมิเท่ากับ 30°ซ.....	54

สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่		หน้า
10	เปรียบเทียบน้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณ PHB และปริมาณฟรุคโตส เมื่อแปรผันปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักเท่ากับ 100% 80% 70% (ที่เวลาเริ่มต้นและปรับเป็น 50% ที่ชั่วโมงที่ 12) และ 50% ของค่าการละลายอิ่มตัว....	59
11	เปรียบเทียบปริมาณ PHB %PHB/น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณ PHB/โปรตีน และอัตราการเจริญจำเพาะ เมื่อแปรผันปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมัก.	61
12	เปรียบเทียบน้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณ PHB และปริมาณฟรุคโตส เมื่อแปรผันปริมาณฟรุคโตส 5.0 10.0 และ 20.0 กรัม/ลิตร โดยใช้แอมโมเนียมซัลเฟตความเข้มข้นเริ่มต้นเท่ากับ 0.1 กรัม/ลิตร.....	65
13	เปรียบเทียบปริมาณ PHB %PHB/น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณ PHB/โปรตีน และอัตราการเจริญจำเพาะของ *Alcaligenes* sp. A-04 ในถังหมักเมื่อมีแอมโมเนียมซัลเฟตเริ่มต้นเท่ากับ 1.0 กรัม/ลิตร แปรผันความเข้มข้นเริ่มต้นของฟรุคโตสเท่ากับ 5.0 10.0 และ 20.0 กรัม/ลิตร.....	67
14	เปรียบเทียบน้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณ PHB และปริมาณฟรุคโตส เมื่อแปรผันปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตเริ่มต้น 0.1 0.3 0.5 และ 1.0 กรัม/ลิตร โดยให้ปริมาณฟรุคโตสเริ่มต้นเท่ากับ 10.0 กรัม/ลิตร.....	71
15	เปรียบเทียบน้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณ PHB และปริมาณฟรุคโตส เมื่อแปรผันปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตเริ่มต้น 0.5 1.0 และ 1.5 กรัม/ลิตร โดยให้ปริมาณฟรุคโตสเริ่มต้นเท่ากับ 20.0 กรัม/ลิตร.....	75
16	เปรียบเทียบน้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณ PHB และปริมาณฟรุคโตส เมื่อแปรผันปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตเริ่มต้น 1.5 และ 2.0 กรัม/ลิตร โดยให้ปริมาณฟรุคโตสเริ่มต้นเท่ากับ 30.0 กรัม/ลิตร.....	79

สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่ หน้า

17 เปรียบเทียบปริมาณ PHB %PHB/น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณ PHB/โปรตีน และอัตราการเจริญจำเพาะ เมื่อแปรผันความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต เริ่มต้นเท่ากับ 0.1-2.0 กรัม/ลิตร และเพิ่มความเข้มข้นของฟรุคโตสเป็น 10.0-30.0 กรัม/ลิตร เพื่อให้เพียงพอสำหรับการเติบโต และการผลิต PHB 81

18 แสดงค่า C/N ratio ที่มีผลต่ออัตราการเจริญจำเพาะ และปริมาณ PHB เมื่อแปรผันความเข้มข้นเริ่มต้นของฟรุคโตส และแอมโมเนียมซัลเฟต ตามปริมาณจริงที่ใช้ในการทดลอง..... 83

19 เปรียบเทียบปริมาณ PHB %PHB/น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณ PHB/โปรตีน และอัตราการเจริญจำเพาะ เมื่อใช้กากน้ำตาล 20% เป็นอาหารคาร์บอน โดยแปรผันปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตเริ่มต้น..... 91

20 เปรียบเทียบปริมาณ PHB %PHB/น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณ PHB/โปรตีน และอัตราการเจริญจำเพาะ เมื่อแปรผันความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต 0.1 0.5 1.0 และ 1.5 กรัม/ลิตร โดยใช้กากน้ำตาลเป็นอาหารคาร์บอน 100

21 เปรียบเทียบปริมาณ PHB %PHB/น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณ PHB/โปรตีน และอัตราการเจริญจำเพาะ เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes* sp. A-04 แบบ fed-batch ใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของแอมโมเนียมซัลเฟต และฟรุคโตส เท่ากับ 1.0 และ 10.0 กรัม/ลิตร ในสภาวะที่
เติมแอมโมเนียมซัลเฟต และฟรุคโตส 1.0 และ 20.0 กรัม/ลิตร
เติมแอมโมเนียมซัลเฟต และฟรุคโตส 1.5 และ 20.0 กรัม/ลิตร
และเมื่อใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของแอมโมเนียมซัลเฟต และฟรุคโตสเท่ากับ 1.5 และ 30.0 กรัม/ลิตร แล้วเติมแอมโมเนียมซัลเฟต 1.0 กรัม/ลิตร.. 110

สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่ หน้า

22 เปรียบเทียบปริมาณ PHB %PHB/น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณ PHB/โปรตีน และอัตราการเจริญจำเพาะ ในสภาวะต่าง ๆ ดังนี้
การเลี้ยงแบบ batch cultivation
เมื่อให้ความเข้มข้นเริ่มต้นของแอมโมเนียมซัลเฟต และฟรุคโตสเท่ากับ 1.0 และ 20.0 กรัม/ลิตร ตามลำดับ
การเลี้ยงแบบ fed-batch cultivation
โดยให้ความเข้มข้นเริ่มต้นของแอมโมเนียมซัลเฟตและฟรุคโตส เท่ากับ 1.0 และ 10.0 กรัม/ลิตร ตามลำดับ แล้วเติมเฉพาะฟรุคโตสให้ได้ความเข้มข้น 10.0 กรัม/ลิตร ที่เวลา 18 ชั่วโมง เติมทั้งแอมโมเนียมซัลเฟตและฟรุคโตส ให้ได้ความเข้มข้นเท่ากับ 1.0 และ 20.0 กรัม/ลิตร ตามลำดับ ที่เวลา 18 ชั่วโมง และเติมทั้งแอมโมเนียมซัลเฟตและฟรุคโตส ให้ได้ความเข้มข้นเท่ากับ 1.5 และ 20.0 กรัม/ลิตร ตามลำดับ ที่เวลา 18 ชั่วโมง.. 112

23 เปรียบเทียบปริมาณ PHB %PHB/น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณ PHB/โปรตีน และ อัตราการเจริญจำเพาะ โดยให้ความเข้มข้นเริ่มต้นของแอมโมเนียมซัลเฟต และฟรุคโตส เท่ากับ 1.5 และ 30.0 กรัม/ลิตร เมื่อ
เลี้ยงแบบ batch cultivation ตามผลการวิจัยข้อ 3.3.4
เลี้ยงแบบ fed-batch cultivation โดยเติมแอมโมเนียมซัลเฟตที่เวลา 24 ชั่วโมง ตามผลการวิจัยข้อ 3.5.3..... 113

คำย่อ

ชม	=	ชั่วโมง
°ซ	=	องศาเซลเซียส
มก.	=	มิลลิกรัม
มล.	=	มิลลิลิตร
%	=	ร้อยละ
M	=	โมลาร์
mM	=	มิลลิโมลาร์
pH	=	ค่าความเป็นกรดด่าง
PHB	=	โพลีเบต้าไฮดรอกซีบิวทีเรท (poly-β-hydroxybutyrate)
ppm	=	part per million
vvm	=	ปริมาตรอากาศ ต่อ ปริมาตรน้ำหมัก ต่อ นาที
v/v	=	หน่วยปริมาตร ต่อ หน่วยปริมาตร
w/v	=	หน่วยน้ำหนัก ต่อ หน่วยปริมาตร
μ	=	อัตราการเจริญจำเพาะ