# บทที่ 3

# ผลการวิจัย

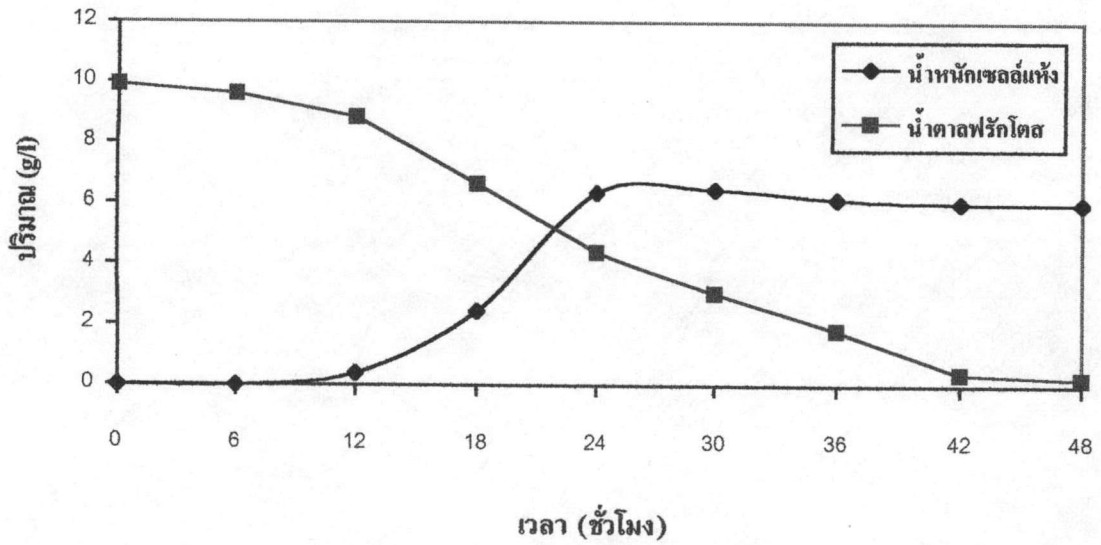
## 3.1 การหาระยะเวลาที่เหมาะสมสำหรับเลี้ยงเชื้อ

ปลูกเชื้อ *Alcaligenes sp.* A-04 ในอาหารเลี้ยงกล้าเชื้อสูตรที่ระบุไว้ในวิธีการทดลองข้อที่ 2.3.2 บ่มที่อุณหภูมิ 30°ซ เขย่าด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที เลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 48 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก 6 ชั่วโมง นำมาหาความเข้มข้นของเซลล์ โดยวิธีวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร และหาน้ำหนักเซลล์แห้ง วิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลฟรักโตสที่ถูกใช้ไป นำมาเขียนกราฟการเจริญเติบโต และปริมาณน้ำตาลฟรักโตสที่ถูกใช้ไปดังแสดงในตารางที่ 6

จากผลการวิจัยพบว่าเชื้อ *Alcaligenes sp.* A-04 มีการเจริญเติบโตแบบทวีคูณ (exponential growth) ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12-24 และน้ำตาลฟรักโตสถูกใช้จนเกือบหมดเมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ดังแสดงในรูปที่ 7 เนื่องจากเซลล์ที่เหมาะสมในการนำไปใช้เป็นกล้าเชื้อเพื่อการผลิต PHB นั้นควรเป็นเซลล์ที่กำลังมีการเจริญเติบโต และในการวิจัยนี้ต้องการใช้เซลล์ปริมาณมาก เพื่อใช้เป็นเซลล์เริ่มต้นในการผลิต PHB ดังนั้นจึงได้พิจารณาว่ากล้าเชื้อที่มีอายุ 24 ชั่วโมงเป็นกล้าเชื้อที่ยังอยู่ในระยะแบ่งตัว และให้น้ำหนักเซลล์แห้งที่สูง คือ 6.349 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 6) ถึงแม้ว่าจะไม่ใช่เวลาที่ให้น้ำหนักเซลล์แห้งที่สูง เพราะที่เวลา 30 ชั่วโมง เซลล์จะเข้าสู่ช่วงที่มีการเจริญเติบโตคงที่แล้ว ส่วนที่เวลา 18 ชั่วโมง แม้ว่าจะเป็นช่วงที่เซลล์กำลังมีการเจริญเติบโต แต่ก็ได้ปริมาณเซลล์น้อยกว่าที่เวลา 24 ชั่วโมงมากกว่า 2 เท่า ดังนั้นระยะเวลาที่เหมาะสมในการเลี้ยงกล้าเชื้อเพื่อผลิตPHB คือเวลา 24 ชั่วโมง

ตารางที่ 6 ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณน้ำตาลฟรักโตสเมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.*A-04 ในอาหารเลี้ยงกล้าเชื้อ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

| เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) | ปริมาณน้ำตาลฟรักโตส (g/l) |
|---|---|---|
| 0 | 0.002 | 9.91 |
| 6 | 0.007 | 9.62 |
| 12 | 0.394 | 8.85 |
| 18 | 2.427 | 6.64 |
| 24 | 6.349 | 4.37 |
| 30 | 6.452 | 3.03 |
| 36 | 6.137 | 1.82 |
| 42 | 6.019 | 0.38 |
| 48 | 6.000 | 0.23 |




รูปที่ 7 น้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณน้ำตาลฟรักโตส เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.*A-04 ในอาหารเลี้ยงกล้าเชื้อเป็นเวลา 48 ชั่วโมง

**3.2 การหาปริมาณน้ำตาลฟรักโตสและปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตที่เหมาะสมต่อการสังเคราะห์และสะสม PHB โดย *Alcaligenes sp.* A-04**

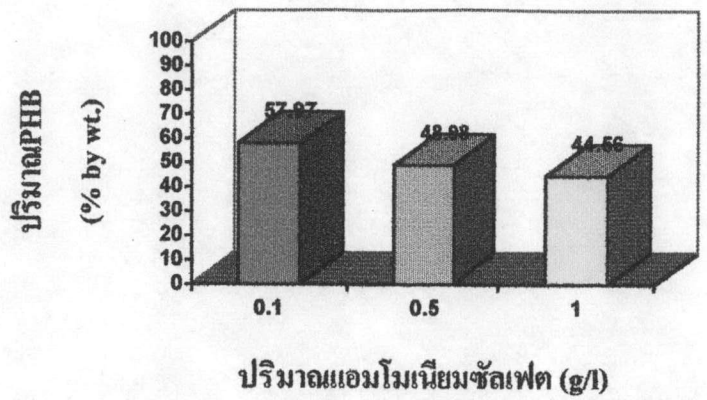
จากการทดลองโดยแปรผันความเข้มข้นของน้ำตาลฟรักโตสให้มีค่าเท่ากับ 10.0 15.0 และ 20.0 กรัมต่อลิตร โดยที่แต่ละระดับความเข้มข้นของน้ำตาลฟรักโตสได้แปรผันความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตให้มีค่าเท่ากับ 0.1 0.5 และ 10.0 กรัมต่อลิตรพบว่าเมื่อใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลฟรักโตสเท่ากับ 10.0 กรัมต่อลิตร และใช้แอมโมเนียมซัลเฟตความเข้มข้น 0.1 กรัมต่อลิตร ปริมาณ PHB สูงสุดที่ *Alcaligenes sp.* A-04 สังเคราะห์และสะสมได้มีค่าเท่ากับ 57.97 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ซึ่งสูงกว่าเมื่อใช้ความเข้มข้นของ แอมโมเนียมซัลเฟตเท่ากับ 0.5 และ 1.0 กรัมต่อลิตร ซึ่งเชื้อสังเคราะห์และสะสม PHB สูงสุดได้เท่ากับ 48.98 และ 44.56 เปอร์เซ็นต์ ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งตามลำดับ (รูปที่ 8 ก)

เมื่อใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลฟรักโตสเท่ากับ 15.0 กรัมต่อลิตร และใช้แอมโมเนียมซัลเฟตความเข้มข้น 0.1 กรัมต่อลิตร ปริมาณ PHB สูงสุดที่ *Alcaligenes sp.* A-04 สังเคราะห์และสะสมได้มีค่าเท่ากับ 62.85 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ซึ่งสูงกว่าเมื่อใช้ความเข้มข้นของ แอมโมเนียมซัลเฟตเท่ากับ 0.5 และ 1.0 กรัมต่อลิตร ซึ่งเชื้อสังเคราะห์และสะสม PHB สูงสุดได้เท่ากับ 55.91 และ 54.54 เปอร์เซ็นต์ ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งตาลำดับ (รูปที่ 8 ข)

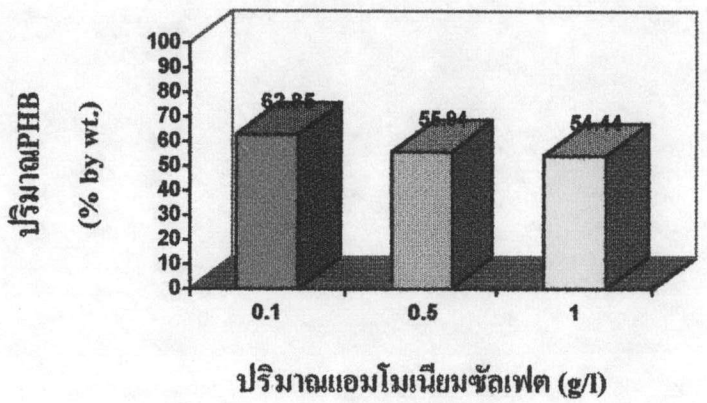
เมื่อใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลฟรักโตสเท่ากับ 20.0 กรัมต่อลิตร และใช้แอมโมเนียมซัลเฟตความเข้มข้น 0.1 กรัมต่อลิตร ปริมาณ PHB สูงสุดที่ *Alcaligenes sp.* A-04 สังเคราะห์และสะสมได้มีค่าเท่ากับ 70.70 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ซึ่งสูงกว่าเมื่อใช้ความเข้มข้นของ แอมโมเนียมซัลเฟตเท่ากับ 0.5 และ 1.0 กรัมต่อลิตร ซึ่งเชื้อสังเคราะห์และสะสม PHB สูงสุดได้เท่ากับ 60.00 และ 56.41 เปอร์เซ็นต์ ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งตามลำดับ (รูปที่ 8 ค)

จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า ที่ความเข้มข้นของน้ำตาลฟรักโตส 20.0 กรัมต่อลิตร และความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต 0.1 กรัมต่อลิตร ทำให้ *Alcaligenes sp.* A-04 สังเคราะห์และสะสม PHB ได้สูงกว่าที่ระดับความเข้มข้นอื่นๆ ดังนั้นในการทดลองขั้นต่อไปจึงเลือกใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลฟรักโตส 20.0 กรัมต่อลิตร และความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต 0.1 กรัมต่อลิตร เพื่อการผลิต PHB โดย *Alcaligenes sp.* A-04

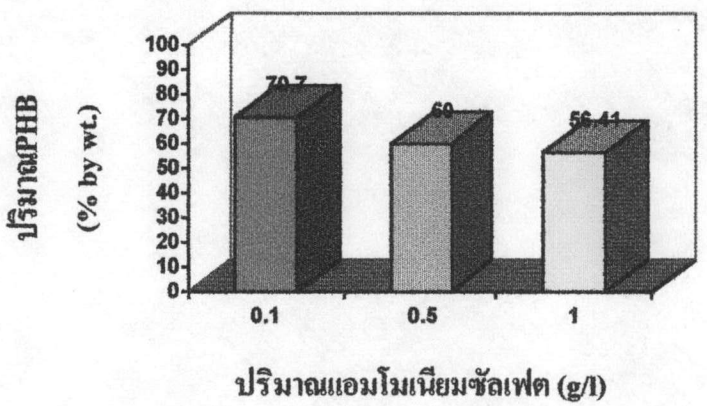
ก)




ข)




ค)




รูปที่ 8 ปริมาณ PHB สูงสุดที่สังเคราะห์และสะสมโดย *Alcaligenes sp.*A-04 เมื่อแปรผันปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต มีค่าเท่ากับ 0.1 0.5 และ 1.0 g/l ก) น้ำตาลฟรักโตส 10 g/l ข) น้ำตาลฟรักโตส 15 g/l ค) น้ำตาลฟรักโตส 20 g/l

### 3.3 การศึกษาผลกระตุ้นของกรดอะมิโนบางชนิดที่มีต่อการสังเคราะห์และสะสมPHB โดย *Alcaligenes sp.* A-04

จากการศึกษารายงานวิจัยที่ผ่านมาได้มีผู้วิจัยบางกลุ่มรายงานว่าการสังเคราะห์และสะสมPHBเพิ่มขึ้นในแบคทีเรียบางชนิด เมื่อมีการเติมกรดอะมิโนบางชนิดลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิต PHB (Mitzutani และคณะ, 1986; Ramirez และ Bentley, 1993 และ Lee และคณะ, 1995) งานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาผลของกรดอะมิโนบางชนิดที่อาจมีผลกระตุ้นการสังเคราะห์ และสะสม PHB ของ *Alcaligenes sp.*A-04โดยได้เลือกศึกษาเฉพาะกรดอะมิโนที่ในวิถีการสังเคราะห์กรดอะมิโนเหล่านั้นต้องอาศัยอะเซติลโคเอเป็นสารตั้งต้น และนำผลการทดลองที่ได้มาเปรียบเทียบกับผลการทดลองชุดควบคุม (ตารางที่ 7) ซึ่งเลี้ยง *Alcaligenes sp.*A-04 ในอาหาร MSM ที่ไม่ได้เติมกรดอะมิโนเหล่านั้นลงไป

ตารางที่ 7 ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต และปริมาณน้ำตาลฟรักโตส เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04ในอาหารMSM (การทดลองชุดควบคุม)

| เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) | มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB (g/l) | ปริมาณ PHB (% by wt.) | แอมโมเนียมซัลเฟต (g/l) | น้ำตาลฟรักโตส (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0.02 | 0.02 | 0.00 | 0.099 | 19.57 |
| 12 | 0.30 | 0.18 | 40.00 | 0.062 | 18.49 |
| 24 | 0.57 | 0.26 | 54.39 | 0.021 | 17.21 |
| 36 | 0.68 | 0.25 | 63.23 | 0.006 | 16.97 |
| 48 | 0.74 | 0.26 | 64.86 | 0.000 | 16.32 |
| 60 | 0.87 | 0.27 | 68.96 | 0.000 | 15.91 |
| 72 | 0.87 | 0.28 | 67.81 | 0.000 | 15.41 |
| 84 | 0.86 | 0.28 | 67.44 | 0.000 | 15.01 |
| 96 | 0.85 | 0.26 | 69.41 | 0.000 | 14.87 |

**3.3.1 ผลของกรดกลูตามิกต่อการสังเคราะห์ และสะสมPHB โดย *Alcaligenes sp.*A-04**

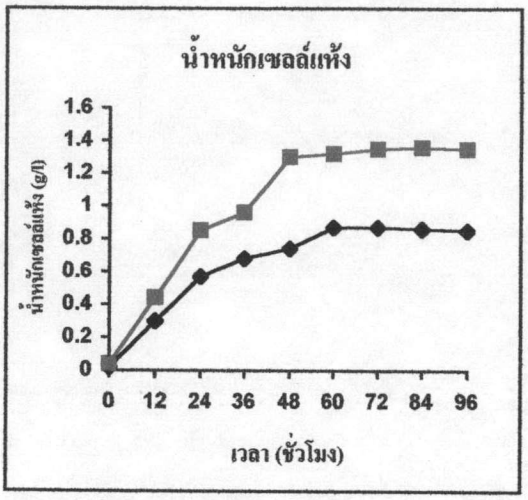
เลี้ยงเชื้อ *Alcaligenes sp.A-04* ตามวิธีการข้อ 2.6.1 โดยใช้กรดกลูตามิก ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นซับพลีเมนต์ *Alcaligenes sp.A-04* สังเคราะห์และสะสม PHB ได้สูงสุดมีค่าประมาณ 53 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ในชั่วโมงที่ 36 โดยปริมาณ PHB เริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 36 น้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงสุดประมาณ 1.3 กรัมต่อลิตร ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 และค่าน้ำหนักเซลล์แห้งนี้มีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB มีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 โดยมีค่าประมาณ 0.6 กรัมต่อลิตร พบว่าแอมโมเนียมซัลเฟต ถูกใช้หมดตั้งแต่ชั่วโมงที่ 36 ซึ่งในระยะเวลาที่ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตลดลงนี้ทำให้ *Alcaligenes sp.A-04* สามารถสะสม PHB ได้เพิ่มขึ้น เนื่องจากในภาวะที่มีปริมาณแหล่งคาร์บอนมากเกินพอ แต่ปริมาณแหล่งไนโตรเจนถูกจำกัด เป็นภาวะที่การเจริญไม่สมดุลทำให้มีการสังเคราะห์และสะสม PHB ได้มากขึ้น (Byrom, 1987) เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าน้ำตาลฟรักโตสถูกใช้ไป 7.55 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 8)

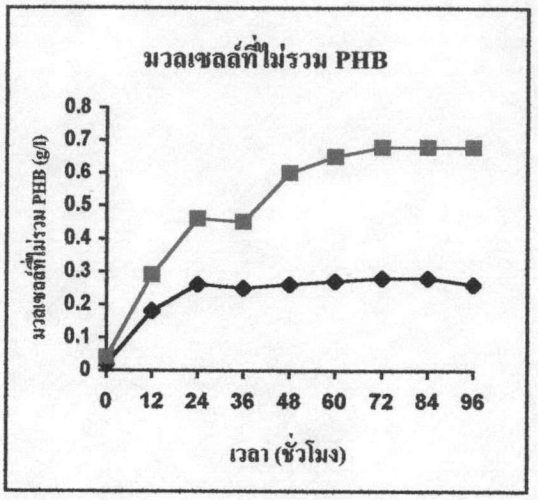
เมื่อเปรียบเทียบผลการทดลองในชุดที่เติมกรดกลูตามิก ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร กับผลการทดลองในชุดควบคุม พบว่าในชุดควบคุม *Alcaligenes sp.A-04* สามารถสังเคราะห์และสะสม PHB ได้สูงสุดในชั่วโมงที่ 60 โดยมีปริมาณ PHB เท่ากับ 68.96 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณ PHB เริ่มคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 60 เป็นต้นไป ส่วนน้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงสุดและเริ่มคงที่ในชั่วโมงที่ 60 โดยมีค่าเท่ากับ 0.8 กรัมต่อลิตร มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB มีค่าคงที่ประมาณ 0.3 กรัมต่อลิตร พบว่าแอมโมเนียมซัลเฟตถูกใช้หมดไปตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 ของการเลี้ยงเชื้อ เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าน้ำตาลฟรักโตสถูกใช้ไป 4.7 กรัมต่อลิตร

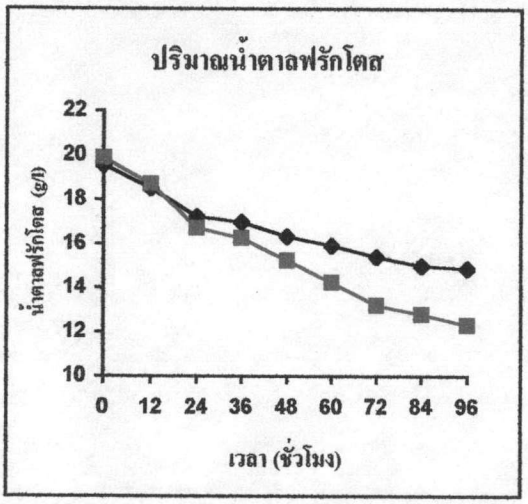
จากผลการทดลองดังกล่าวดังสรุปในรูปที่ 9 แสดงว่าเมื่อเติมกรดกลูตามิก ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงในอาหาร MSM จะกระตุ้นให้ *Alcaligenes sp.* A-04 มีการเจริญเพิ่มขึ้น แต่ความสามารถในการสังเคราะห์ และสะสม PHB ต่ำกว่าชุดควบคุมโดยเห็นได้จากน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดที่เพิ่มขึ้นจากชุดควบคุม 0.87 กรัมต่อลิตร เป็น 1.36 กรัมต่อลิตร ในชุดการทดลองที่เติมกรดกลูตามิก รวมทั้งน้ำตาลฟรักโตสก็ถูกใช้มากกว่าชุดควบคุม ขณะที่ปริมาณ PHB สูงสุดมีค่าลดลงจากชุดควบคุมที่มีค่าประมาณ 68 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง เป็นมีค่าประมาณ 50-53 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง

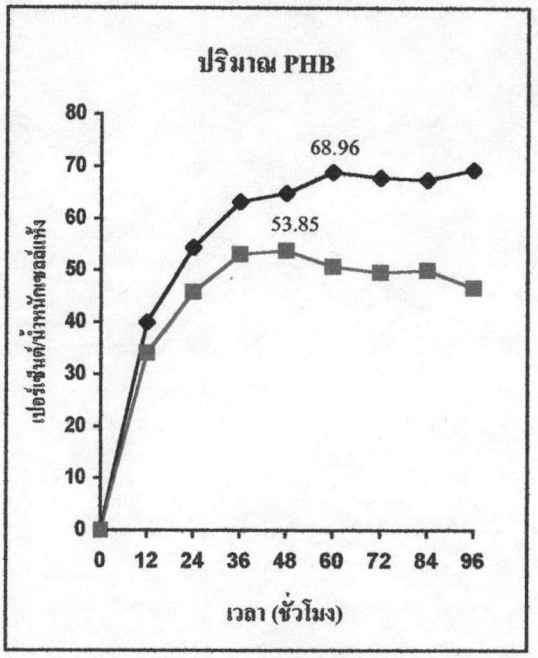
**ตารางที่ 8** ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต และปริมาณน้ำตาลฟรักโตส เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04 ในอาหาร MSM ที่เติมกรดกลูตามิก 50 mg/l

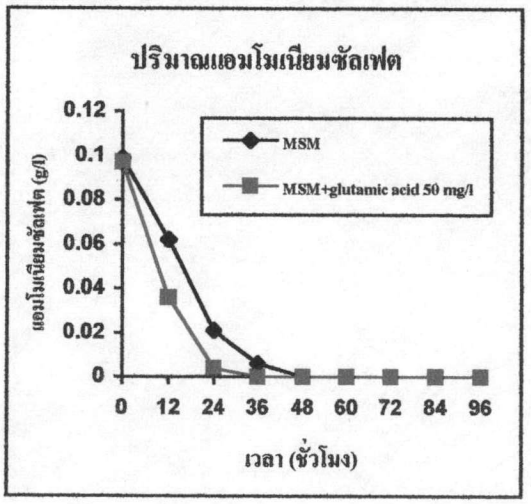
| เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) | มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB (g/l) | ปริมาณ PHB (% by wt.) | แอมโมเนียมซัลเฟต (g/l) | น้ำตาลฟรักโตส (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0.04 | 0.04 | 0.00 | 0.097 | 19.87 |
| 12 | 0.44 | 0.29 | 34.09 | 0.036 | 18.69 |
| 24 | 0.85 | 0.46 | 45.88 | 0.004 | 16.72 |
| 36 | 0.96 | 0.45 | 53.12 | 0.000 | 16.25 |
| 48 | 1.30 | 0.60 | 53.85 | 0.000 | 15.24 |
| 60 | 1.32 | 0.65 | 50.75 | 0.000 | 14.26 |
| 72 | 1.35 | 0.68 | 49.62 | 0.000 | 13.20 |
| 84 | 1.36 | 0.68 | 50.00 | 0.000 | 12.79 |
| 96 | 1.35 | 0.68 | 46.63 | 0.000 | 12.32 |




รูปที่ 9 เปรียบเทียบการเจริญของเซลล์ มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณน้ำตาลฟรักโตส และปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.*A-04 ในอาหาร MSM กับอาหาร MSM ที่เติมกรดกลูตามิก 50 mg/l

**3.3.2 ผลของกลูตามีนต่อการสังเคราะห์ และสะสม PHB โดย *Alcaligenes sp.* A-04**

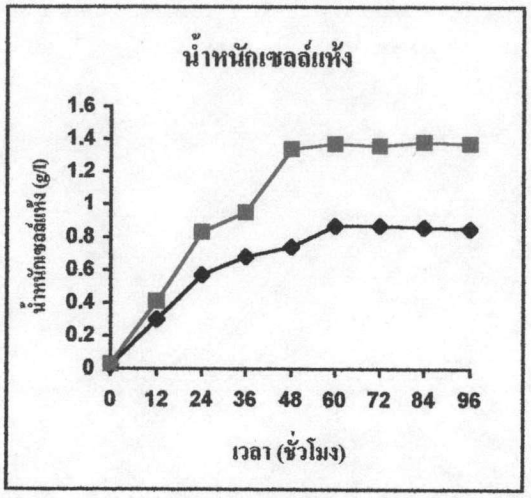
เลี้ยงเชื้อ *Alcaligenes sp.* A-04 ตามวิธีการทดลองข้อที่ 2.6.1 โดยใช้กลูตามีนความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นซับพลีเมนต์ พบว่าปริมาณ PHB ที่ *Alcaligenes sp.* A-04 สังเคราะห์ และสะสมได้มีค่าสูงสุดประมาณ 50-53 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งที่เวลา 36 ถึง 96 ชั่วโมง และ น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดมีค่าประมาณ 1.3 กรัมต่อลิตร โดยเริ่มคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่48 มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHBมีค่าคงที่ประมาณ 0.6 กรัมต่อลิตรตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 พบว่าแอมโมเนียมซัลเฟตถูกใช้หมดตั้งแต่ชั่วโมงที่ 36 ซึ่งเมื่อมีการลดลงของปริมาณไนโตรเจนในขณะที่ยังคงมีแหล่งคาร์บอนมากเกินพอ เป็นปัจจัยที่ทำให้แบคทีเรียสามารถสังเคราะห์ และสะสม PHB ได้สูงขึ้น (Byrom, 1987) เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าน้ำตาลฟรักโตสถูกใช้ไป 7.74 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 9)

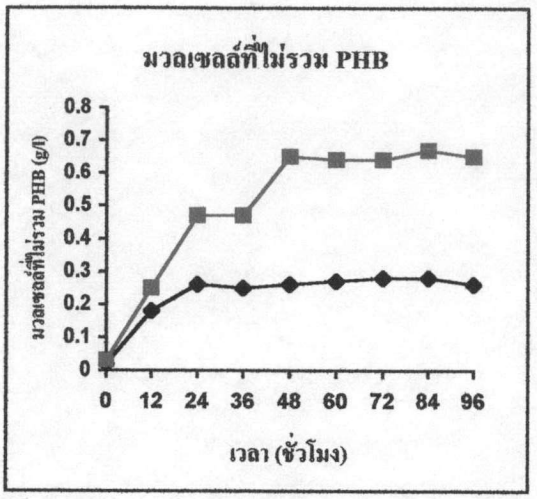
เมื่อเปรียบเทียบผลการทดลองที่เติมกลูตามีน ความเข้มข้น 50มิลลิกรัมต่อลิตร กับผลการทดลองชุดควบคุม พบว่าในชุดควบคุมชั่วโมงที่ 60 เชื้อมีการสังเคราะห์ และสะสม PHBได้สูงสุดโดยมีค่าประมาณ 68 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณ PHB เริ่มคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงนี้ ส่วนน้ำหนักเซลล์แห้งในชั่วโมงที่ 60 มีค่าสูงสุดประมาณ 0.8 กรัมต่อลิตร และค่าน้ำหนักเซลล์แห้งนี้เริ่มคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 60 เป็นต้นไป มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB มีค่าคงที่ประมาณ 0.2 กรัมต่อลิตรตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 พบว่าในชั่วโมงที่ 48 แอมโมเนียมซัลเฟตถูกใช้หมดไป

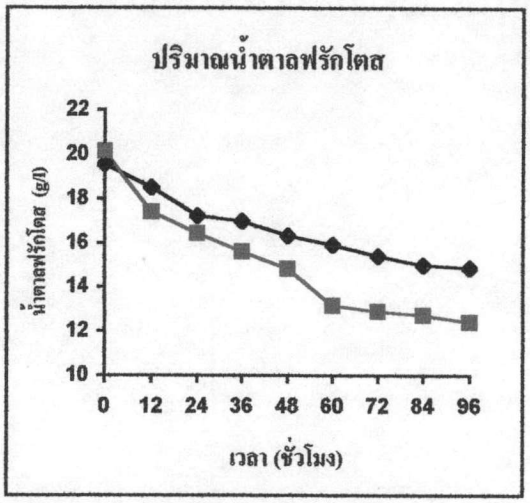
จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงว่าเมื่อเติมกลูตามีน ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงในอาหาร MSM กระตุ้นให้ *Alcaligenes sp.* A-04 มีการเจริญเพิ่มขึ้น แต่ความสามารถในการสังเคราะห์ และสะสม PHB ต่ำกว่าชุดควบคุม (รูปที่ 10) ดังจะเห็นได้จากน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดที่เพิ่มขึ้นจากชุดควบคุมที่มีค่าประมาณ 0.8 กรัมต่อลิตร เป็น 1.3 กรัมต่อลิตร ในชุดการทดลองที่เติมกลูตามีน และเนื่องจาก *Alcaligenes sp.A-04* มีการเจริญเพิ่มขึ้นนี้เป็นผลให้แอมโมเนียมซัลเฟตถูกใช้หมดไปในชั่วโมงที่ 36 ซึ่งเร็วกว่าชุดควบคุมที่แอมโมเนียมซัลเฟตถูกใช้หมดไปในชั่วโมงที่ 48 รวมทั้งน้ำตาลฟรักโตสก็ถูกใช้ไปมากกว่าชุดควบคุมด้วย ขณะที่ปริมาณPHBสูงสุดมีค่าลดลงจากชุดควบคุมที่มีค่าประมาณ 68 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งเป็นมีค่าประมาณ 50-53 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งในการทดลองที่เติมกลูตามีน

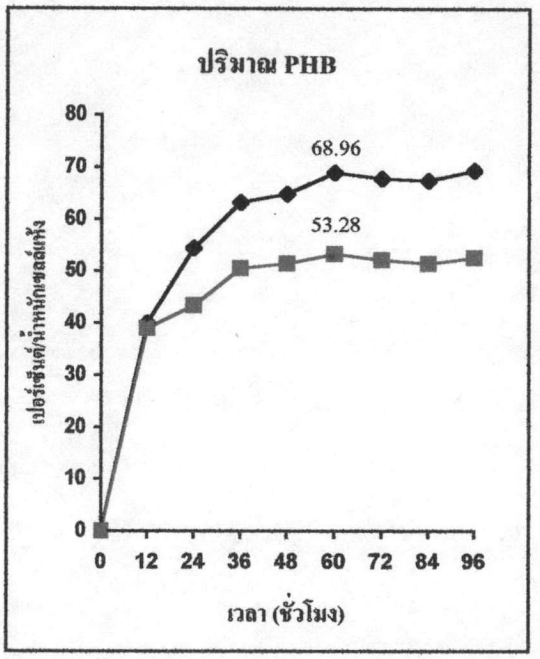
**ตารางที่ 9** ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต และปริมาณน้ำตาลฟรักโตส เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04 ในอาหาร MSM ที่เติมกลูตามีน 50 mg/l

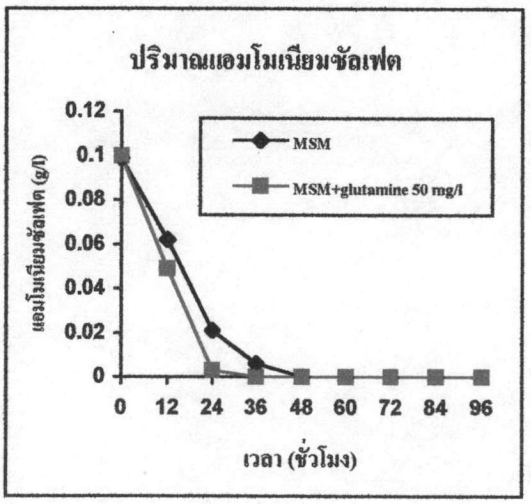
| เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) | มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB (g/l) | ปริมาณ PHB (%by wt.) | แอมโมเนียมซัลเฟต (g/l) | น้ำตาลฟรักโตส (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0.03 | 0.03 | 0.00 | 0.100 | 20.15 |
| 12 | 0.41 | 0.25 | 39.02 | 0.049 | 17.39 |
| 24 | 0.83 | 0.47 | 43.37 | 0.003 | 16.43 |
| 36 | 0.95 | 0.47 | 50.53 | 0.000 | 15.61 |
| 48 | 1.34 | 0.65 | 51.49 | 0.000 | 14.82 |
| 60 | 1.37 | 0.64 | 53.28 | 0.000 | 13.16 |
| 72 | 1.36 | 0.64 | 52.17 | 0.000 | 12.89 |
| 84 | 1.38 | 0.67 | 51.45 | 0.000 | 12.74 |
| 96 | 1.37 | 0.65 | 52.55 | 0.000 | 12.41 |




รูปที่ 10 เปรียบเทียบการเจริญของเซลล์ มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณน้ำตาลฟรักโตส และปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.*A-04 ในอาหาร MSM กับอาหาร MSM ที่เติมกลูตามีน 50 mg/l

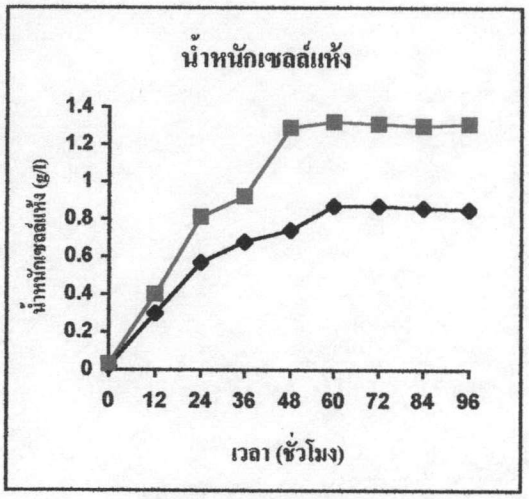
**3.3.3 ผลของกรดแอสปาติกต่อการสังเคราะห์ และสะสมPHB โดย*Alcaligenes sp.*A-04**

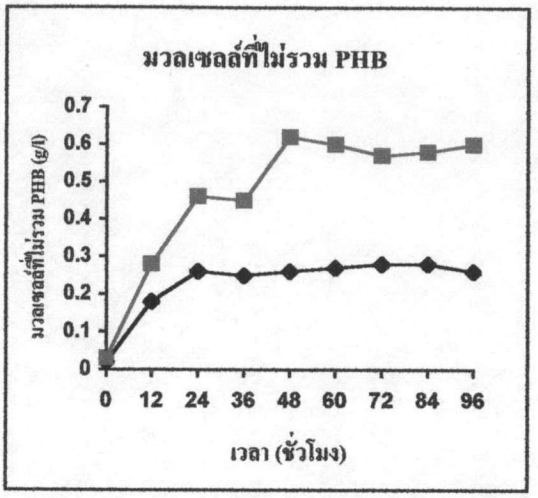
เลี้ยงเชื้อ*Alcaligenes sp.A-04*ตามวิธีการทดลองข้อที่ 2.6.1 โดยใช้กรดแอสปาติก ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 10 พบว่า *Alcaligenes sp.A-04* สังเคราะห์ และสะสม PHB ได้สูงสุดโดยมีค่าประมาณ 55-56 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งตั้งแต่ชั่วโมงที่ 60 และปริมาณ PHB นี้เริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 60 น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดมีค่าประมาณ 1.3 กรัมต่อลิตรและคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHBมีค่าคงที่ประมาณ 0.6 กรัมต่อลิตรที่ชั่วโมงที่ 48ตั้งแต่ชั่วโมง พบว่าแอมโมเนียมซัลเฟตถูกใช้หมดตั้งแต่ชั่วโมงที่ 36 ซึ่งภาวะที่ปริมาณไนโตรเจนลดลงในขณะที่มีแหล่งคาร์บอนมากเกินพอ เป็นปัจจัยที่ทำให้แบคทีเรียสังเคราะห์ และสะสม PHB เพิ่มขึ้น (Byrom, 1987) เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าน้ำตาลฟรักโตสถูกใช้ไป 7.30 กรัมต่อลิตร

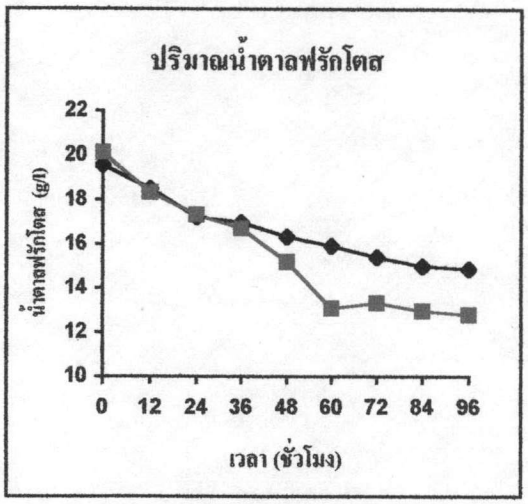
เมื่อเปรียบเทียบผลการทดลองกับชุดควบคุมได้พบว่าเมื่อเติมกรดแอสปาติก ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงในอาหาร MSM มีผลกระตุ้นให้ *Alcaligenes sp.* A-04 มีการเจริญเพิ่มขึ้น แต่ความสามารถในการสังเคราะห์ และสะสมPHB ต่ำกว่าชุดควบคุม (รูปที่ 11)ดังจะเห็นได้จากน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดที่เพิ่มขึ้นจากชุดควบคุมที่มีค่าประมาณ 0.8 กรัมต่อลิตร เป็นมีค่าประมาณ 1.3 กรัมต่อลิตร ในชุดการทดลองที่เติมกรดแอสปาติก รวมทั้งน้ำตาลฟรักโตสก็ถูกใช้ไปมากกว่าชุดควบคุมอีกด้วย ในขณะที่ปริมาณ PHB สูงสุดมีค่าต่ำกว่าชุดควบคุมที่มีค่าประมาณ 68 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง เป็นมีค่าประมาณ 55-56 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งในการทดลองที่เติมกรดแอสปาติก

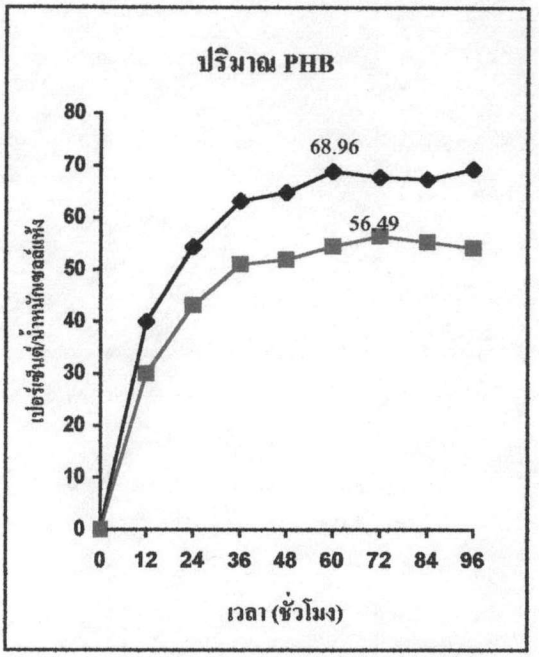
**ตารางที่ 10** ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต และปริมาณน้ำตาลฟรักโตส เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04 ในอาหาร MSM ที่เติมกรดแอสปาติก 50 mg/l

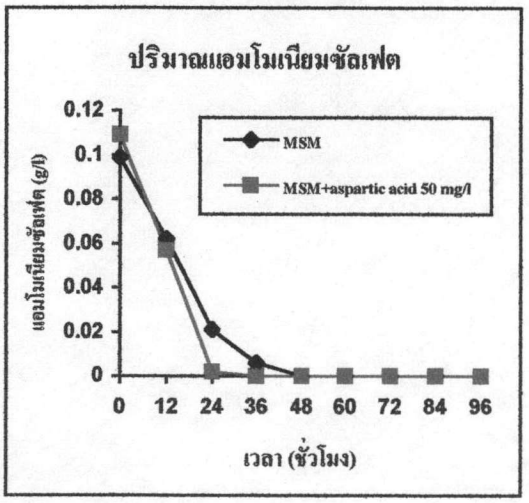
| เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) | มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB (g/l) | ปริมาณ PHB (%by wt.) | แอมโมเนียมซัลเฟต (g/l) | น้ำตาลฟรักโตส (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0.03 | 0.03 | 0.00 | 0.109 | 20.11 |
| 12 | 0.40 | 0.28 | 30.00 | 0.057 | 18.32 |
| 24 | 0.81 | 0.46 | 43.21 | 0.002 | 17.31 |
| 36 | 0.92 | 0.45 | 51.09 | 0.000 | 16.72 |
| 48 | 1.29 | 0.62 | 51.94 | 0.000 | 15.19 |
| 60 | 1.32 | 0.60 | 54.54 | 0.000 | 13.71 |
| 72 | 1.31 | 0.57 | **56.49** | 0.000 | 13.34 |
| 84 | 1.30 | 0.58 | 55.38 | 0.000 | 12.97 |
| 96 | 1.31 | 0.60 | 54.20 | 0.000 | 12.81 |



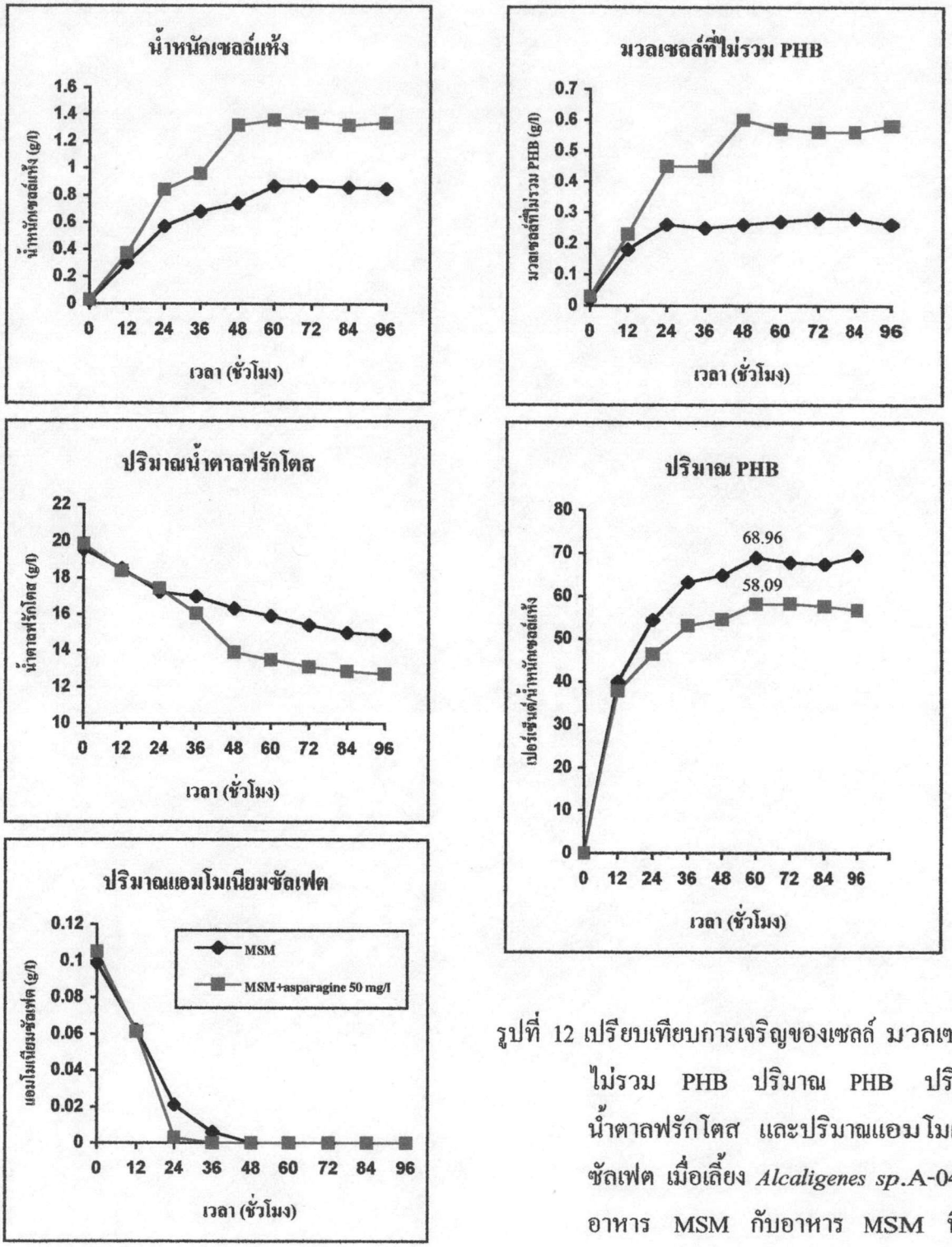




รูปที่ 11 เปรียบเทียบการเจริญของเซลล์ มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณน้ำตาลฟรักโตส และปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.*A-04 ในอาหาร MSM กับอาหาร MSM ที่เติมกรดแอสปาติก 50 mg/l

**3.3.4 ผลของแอสปาราจีนต่อการสังเคราะห์ และสะสม PHB โดย *Alcaligenes sp.* A-04**

เลี้ยงเชื้อ *Alcaligenes sp.* A-04 ตามวิธีการทดลองข้อที่ 2.6.1 โดยใช้แอสปาราจีนความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นซับพลีเมนต์ พบว่า *Alcaligenes sp.*A-04 สามารถสังเคราะห์ และสะสม PHB ได้สูงสุดในชั่วโมงที่ 60 โดยมีค่าประมาณ 58 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง โดยปริมาณ PHB นี้เริ่มคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 60 ส่วนน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดมีค่าประมาณ 1.3 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 48 มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB มีค่าคงที่ประมาณ 0.6 กรัมต่อลิตรตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 ส่วนแอมโมเนียมซัลเฟตพบว่าถูกใช้หมดไปตั้งแต่ชั่วโมงที่ 36 เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าน้ำตาลฟรักโตสถูกใช้ไป 7.12 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 11)

จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงว่าเมื่อเติมแอสปาราจีน ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงในอาหาร MSM มีผลกระตุ้นให้ *Alcaligenes sp.* A-04 มีการเจริญเพิ่มขึ้น แต่ความสามารถในการสังเคราะห์ และสะสม PHB ต่ำกว่าชุดควบคุม (รูปที่ 12)ดังจะเห็นได้จากน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดที่เพิ่มขึ้นจากชุดควบคุมที่มีค่าประมาณ 0.8 กรัมต่อลิตร เป็นมีค่าประมาณ 1.3 กรัมต่อลิตร ในชุดการทดลองที่เติมแอสปาราจีน และเนื่องจาก *Alcaligenes sp.A-04* มีการเจริญเพิ่มขึ้นนี้เป็นผลให้แอมโมเนียม ซัลเฟตถูกใช้หมดไปในชั่วโมงที่ 36 ซึ่งเร็วกว่าชุดควบคุมที่แอมโมเนียมซัลเฟตถูกใช้หมดไปในชั่วโมงที่ 48 รวมทั้งน้ำตาลฟรักโตสก็ถูกใช้ไปมากกว่าการทดลองชุดควบคุม ในขณะที่ปริมาณ PHB สูงสุดมีค่าต่ำกว่าชุดควบคุมที่มีค่าประมาณ 68 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งเป็นมีค่าประมาณ 58 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ในการทดลองที่เติมแอสปาราจีน




รูปที่ 12 เปรียบเทียบการเจริญของเซลล์ มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณน้ำตาลฟรักโตส และปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.*A-04 ในอาหาร MSM กับอาหาร MSM ที่เติมแอสปาราจีน 50mg/l

**ตารางที่ 11** ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต และปริมาณน้ำตาลฟรักโตส เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04 ในอาหาร MSM ที่เติมแอสปาราจีน 50 mg/l

| เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) | มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB (g/l) | ปริมาณ PHB (% by wt.) | แอมโมเนียมซัลเฟต (g/l) | น้ำตาลฟรักโตส (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0.03 | 0.03 | 0.00 | 0.105 | 19.86 |
| 12 | 0.37 | 0.23 | 37.84 | 0.061 | 18.37 |
| 24 | 0.84 | 0.45 | 46.43 | 0.003 | 17.42 |
| 36 | 0.96 | 0.45 | 53.12 | 0.000 | 16.04 |
| 48 | 1.32 | 0.60 | 54.54 | 0.000 | 13.91 |
| 60 | 1.36 | 0.57 | 58.09 | 0.000 | 13.51 |
| 72 | 1.34 | 0.56 | 58.21 | 0.000 | 13.12 |
| 84 | 1.32 | 0.56 | 57.57 | 0.000 | 12.87 |
| 96 | 1.34 | 0.58 | 56.72 | 0.000 | 12.74 |

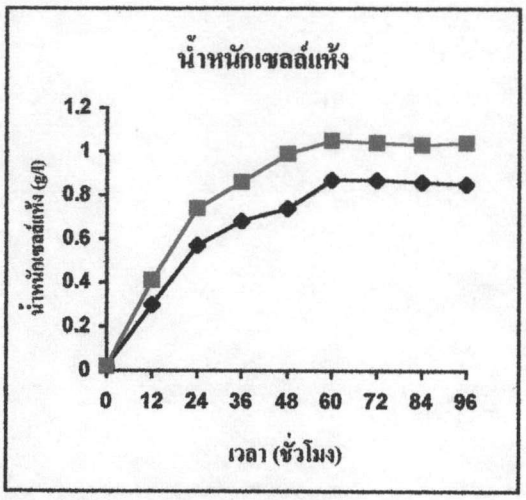
**3.3.5 ผลของโปรลีนต่อการสังเคราะห์ และสะสมPHB โดย*Alcaligenes sp.*A-04**

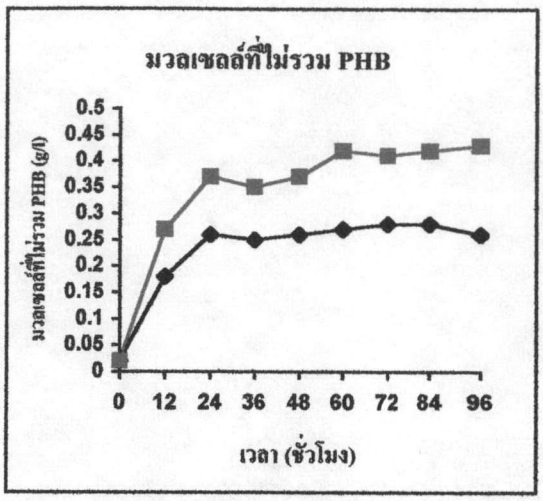
เลี้ยงเชื้อ*Alcaligenes sp.A-04* ตามวิธีการทดลองข้อที่ 2.6.1 โดยใช้โปรลีน ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นซับพลีเมนต์ ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 12 พบว่า *Alcaligenes sp.A-04* สังเคราะห์ และสะสม PHB ได้สูงสุดมีค่าประมาณ 62 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ในชั่วโมงที่ 48 โดยปริมาณ PHB นี้เริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 น้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงสุดและคงที่ประมาณ 1.0 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 48 มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHBมีค่าใกล้เคียงกันตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24ถึงชั่วโมงที่ 96 โดยมีค่าประมาณ 0.4 กรัมต่อลิตร พบว่าแอมโมเนียมซัลเฟตถูกใช้หมดในชั่วโมงที่ 48 เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าน้ำตาลฟรักโตสถูกใช้ไป 5.86 กรัมต่อลิตร

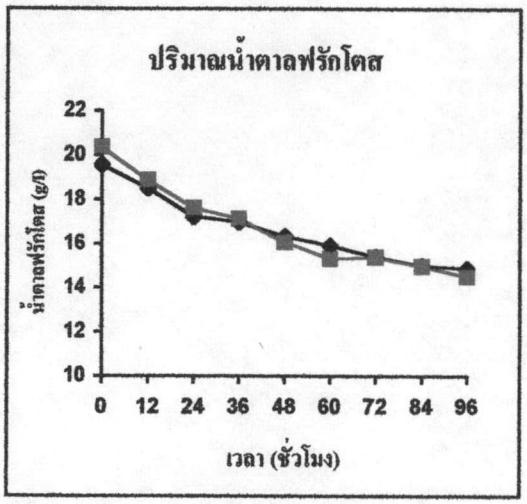
จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงว่าเมื่อเติมโปรลีน ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตรลงในอาหาร MSM มีผลกระตุ้นให้*Alcaligenes sp.* A-04 มีการเจริญเพิ่มขึ้นจากชุดควบคุมเล็กน้อย แต่ความสามารถในการสังเคราะห์ และสะสม PHB มีค่าต่ำกว่าชุดควบคุม(รูปที่ 13)ดังจะเห็นได้จากน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดที่เพิ่มขึ้นจากชุดควบคุมที่มีค่าประมาณ 0.8 กรัมต่อลิตร เป็นมีค่าประมาณ 1.0 กรัมต่อลิตรในชุดการทดลองที่เติมโปรลีน และเนื่องจาก *Alcaligenes sp.A-04* มีการเจริญเพิ่มขึ้นเล็กน้อยนี้เป็นผลให้แอมโมเนียมซัลเฟตถูกใช้หมดไปในชั่วโมงที่ 48 เช่นเดียวกันกับชุดควบคุม ในขณะที่ปริมาณPHBสูงสุดในชุดควบคุมมีค่าประมาณ 68 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งแต่ในการทดลองที่เติมโปรลีนมีค่าประมาณ 62 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง

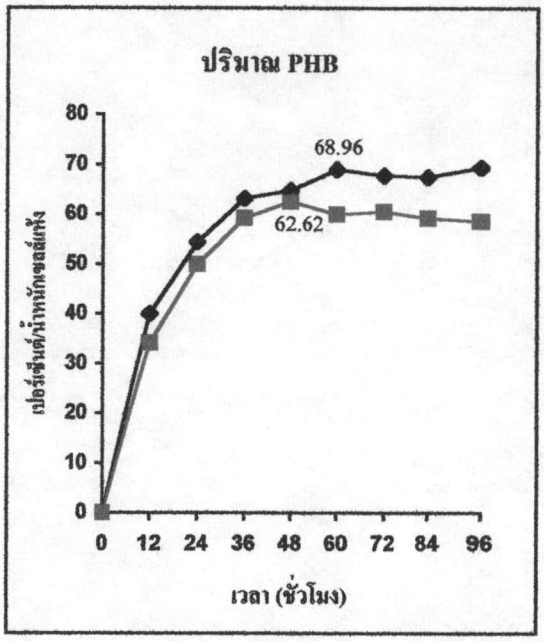
**ตารางที่ 12** ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต และปริมาณน้ำตาลฟรักโตส เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04 ในอาหาร MSM ที่เติมโปรลีน 50 mg/l

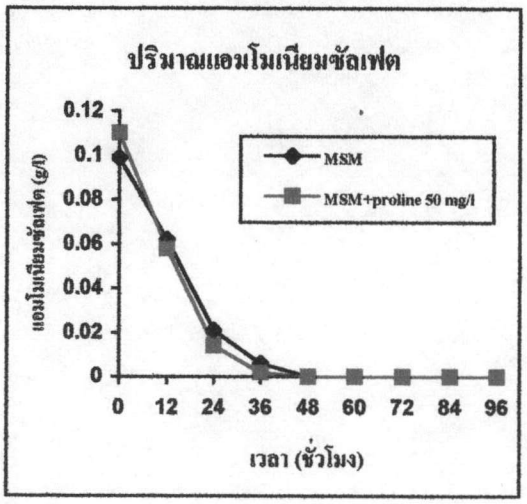
| เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) | มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB (g/l) | ปริมาณ PHB (% by wt.) | แอมโมเนียมซัลเฟต (g/l) | น้ำตาลฟรักโตส (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0.02 | 0.02 | 0.00 | 0.110 | 20.37 |
| 12 | 0.41 | 0.27 | 34.14 | 0.058 | 18.87 |
| 24 | 0.74 | 0.37 | 50.00 | 0.014 | 17.61 |
| 36 | 0.86 | 0.35 | 59.30 | 0.002 | 17.12 |
| 48 | 0.99 | 0.37 | **62.62** | 0.000 | 16.07 |
| 60 | 1.05 | 0.42 | 60.00 | 0.000 | 15.32 |
| 72 | 1.04 | 0.41 | 60.57 | 0.000 | 15.39 |
| 84 | 1.03 | 0.42 | 59.22 | 0.000 | 14.97 |
| 96 | 1.04 | 0.43 | 58.65 | 0.000 | 14.51 |




รูปที่ 13 เปรียบเทียบการเจริญของเซลล์ มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณน้ำตาลฟรักโตส และปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.*A-04 ในอาหาร MSM กับอาหาร MSM ที่เติมโปรลีน 50 mg/l

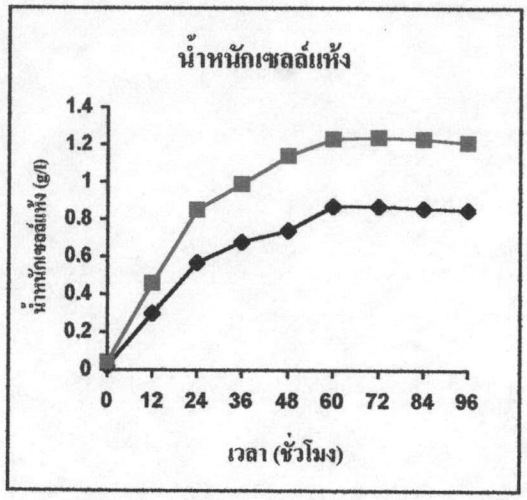
**3.3.6 ผลของไลซีนต่อการสังเคราะห์ และสะสมPHB โดย*Alcaligenes sp.* A-04**

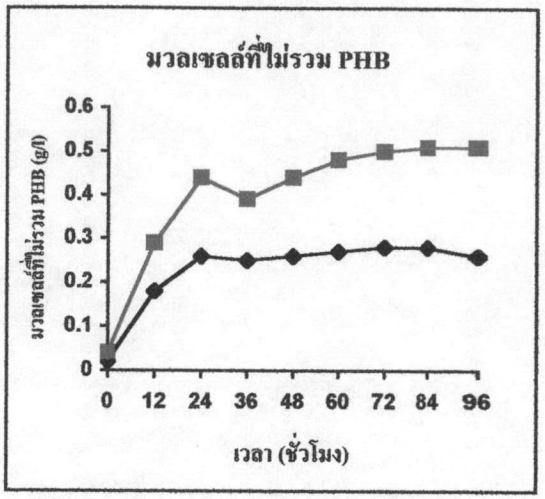
เลี้ยงเชื้อ*Alcaligenes sp.* A-04 ตามวิธีการทดลองข้อที่ 2.6.1 โดยใช้ไลซีน ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นซับพลีเมนต์ ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 13 พบว่า ปริมาณ PHB ที่*Alcaligenes sp.* A-04 สังเคราะห์ และสะสมได้มีค่าสูงสุดประมาณ 61 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง และน้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงสุดประมาณ 1.2 กรัมต่อลิตร โดยปริมาณ PHB และน้ำหนักเซลล์แห้งเริ่มคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 36 และ 60 ตามลำดับ มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHBมีค่าคงที่ประมาณ 0.5 กรัมต่อลิตรที่ชั่วโมงที่ 60 พบว่าแอมโมเนียมซัลเฟตถูกใช้หมดตั้งแต่ชั่วโมงที่ 36 เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าน้ำตาลฟรักโตสถูกใช้ไป 6.18 กรัมต่อลิตร

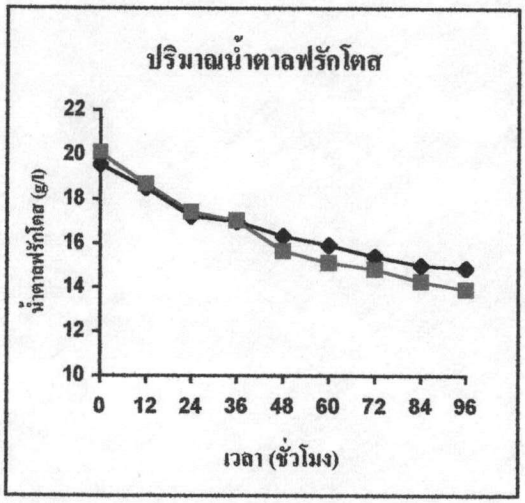
จากการทดลองดังกล่าวแสดงว่าเมื่อเติมไลซีน ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงในอาหาร MSM มีผลกระตุ้นให้*Alcaligenes sp.* A-04 มีการเจริญเพิ่มขึ้น แต่ความสามารถในการสังเคราะห์ และสะสม PHB ต่ำกว่าชุดควบคุม(รูปที่ 14 )ดังจะเห็นได้จากน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดที่เพิ่มขึ้นจากชุดควบคุมที่มีค่าประมาณ 0.8 กรัมต่อลิตร เป็นมีค่าประมาณ 1.2 กรัมต่อลิตร ในชุดการทดลองที่เติมไลซีน และเนื่องจาก*Alcaligenes sp.A-04* มีการเจริญเพิ่มขึ้นนี้เป็นผลให้แอมโมเนียมซัลเฟตถูกใช้หมดไปในชั่วโมงที่ 36 ซึ่งเร็วกว่าชุดควบคุมที่แอมโมเนียม ซัลเฟตถูกใช้หมดไปในชั่วโมงที่ 48 รวมทั้งน้ำตาลฟรักโตสก็ถูกใช้ไปมากกว่าชุดควบคุมด้วย ในขณะที่ปริมาณ PHB สูงสุดมีค่าต่ำกว่าชุดควบคุมที่มีค่าประมาณ 68 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งเป็นมีค่าประมาณ 61 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ในการทดลองที่เติมไลซีน

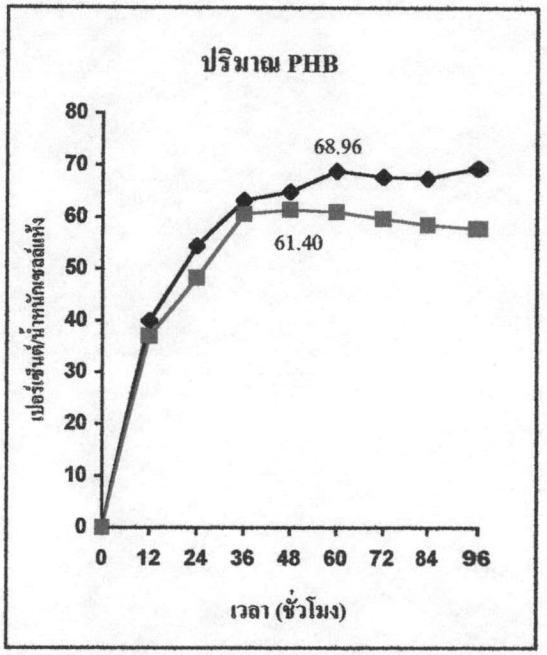
**ตารางที่ 13** ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต และปริมาณน้ำตาลฟรักโตส เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04 ในอาหาร MSM ที่เติมไลซีน 50 mg/l

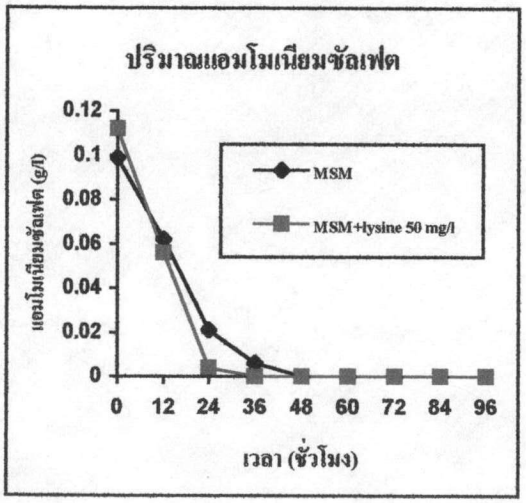
| เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) | มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB (g/l) | ปริมาณ PHB (% by wt.) | แอมโมเนียมซัลเฟต (g/l) | น้ำตาลฟรักโตส (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0.04 | 0.04 | 0.00 | 0.112 | 20.09 |
| 12 | 0.46 | 0.29 | 36.96 | 0.056 | 18.67 |
| 24 | 0.85 | 0.44 | 48.23 | 0.004 | 17.41 |
| 36 | 0.99 | 0.39 | 60.60 | 0.000 | 17.02 |
| 48 | 1.14 | 0.44 | **61.40** | 0.000 | 15.64 |
| 60 | 1.23 | 0.48 | 60.97 | 0.000 | 15.11 |
| 72 | 1.24 | 0.50 | 59.68 | 0.000 | 14.84 |
| 84 | 1.23 | 0.51 | 58.54 | 0.000 | 14.27 |
| 96 | 1.21 | 0.51 | 57.85 | 0.000 | 13.91 |




รูปที่ 14 เปรียบเทียบการเจริญของเซลล์ มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณน้ำตาลฟรักโตส และปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.*A-04 ในอาหาร MSM กับอาหาร MSM ที่เติมไลซีน 50 mg/l

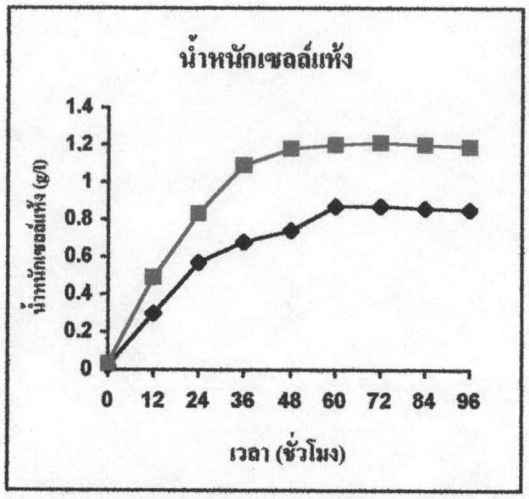
**3.3.7 ผลของทรีโอนีนต่อการสังเคราะห์ และสะสม PHB โดย *Alcaligenes sp.* A-04**

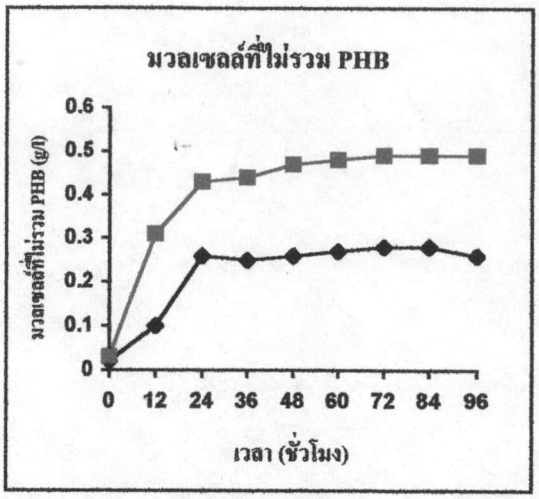
เลี้ยงเชื้อ *Alcaligenes sp.* A-04 ตามวิธีการทดลองข้อที่ 2.6.1 โดยใช้ทรีโอนีน ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นซับพลีเมนต์ พบว่าปริมาณ PHB ที่ *Alcaligenes sp.* A-04 สังเคราะห์ และสะสมได้มีค่าสูงสุดประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง และน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดมีค่าประมาณ 1.2 กรัมต่อลิตร โดยปริมาณ PHB และน้ำหนักเซลล์แห้งเริ่มคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 36 และ48 ตามลำดับ มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHBมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 พบว่าแอมโมเนียมซัลเฟตถูกใช้หมดตั้งแต่ชั่วโมงที่ 36 เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าน้ำตาลฟรักโตสถูกใช้ไป 6.08 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 14)

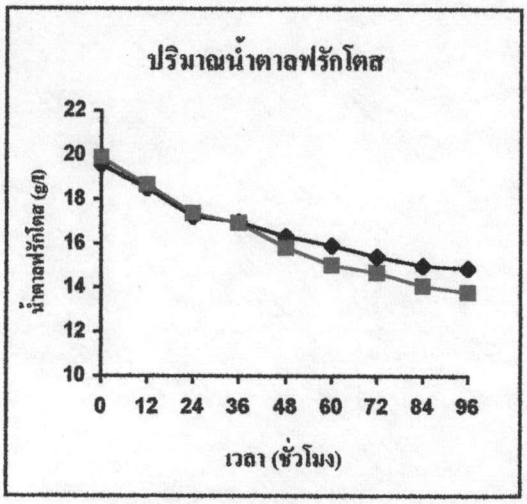
จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงว่าเมื่อเติมทรีโอนีน ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตรลงในอาหาร MSM มีผลกระตุ้นให้ *Alcaligenes sp.* A-04 มีการเจริญเพิ่มขึ้น แต่ความสามารถในการสังเคราะห์ และสะสม PHB ต่ำกว่าชุดควบคุม(รูปที่ 15)ดังจะเห็นได้จากน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดที่เพิ่มขึ้นจากชุดควบคุมที่มีค่าประมาณ 0.8 กรัมต่อลิตร เป็นมีค่าประมาณ 1.2 กรัมต่อลิตร ในชุดการทดลองที่เติมทรีโอนีน และเนื่องจาก *Alcaligenes sp.A-04* มีการเจริญเพิ่มขึ้นนี้เป็นผลให้แอมโมเนียมซัลเฟตถูกใช้หมดไปในชั่วโมงที่ 36 ซึ่งเร็วกว่าชุดควบคุมที่แอมโมเนียมซัลเฟตถูกใช้หมดไปในชั่วโมงที่ 48 รวมทั้งน้ำตาลฟรักโตสก็ถูกใช้ไปมากกว่าชุดควบคุม ในขณะที่ปริมาณ PHB สูงสุดมีค่าต่ำกว่าชุดควบคุมที่มีค่าประมาณ 68 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งเป็นมีค่าประมาณ 61 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ในการทดลองที่เติมทรีโอนีน

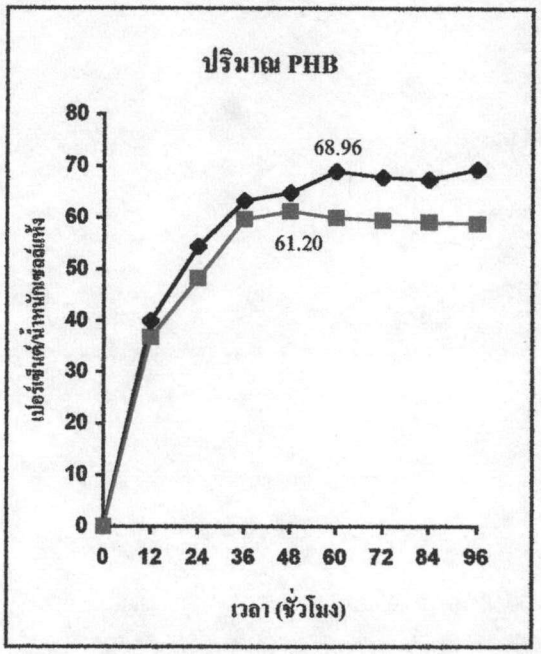
**ตารางที่ 14** ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต และปริมาณน้ำตาลฟรักโตส เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04 ในอาหาร MSM ที่เติมทรีโอนีน 50 mg/l

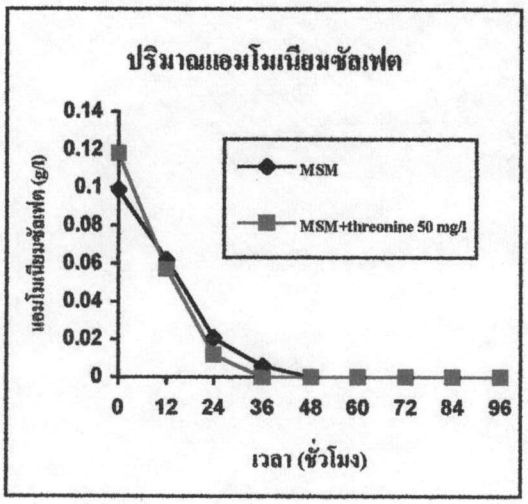
| เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) | มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB (g/l) | ปริมาณ PHB (% by wt.) | แอมโมเนียมซัลเฟต (g/l) | น้ำตาลฟรักโตส (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0.03 | 0.03 | 0.00 | 0.118 | 19.87 |
| 12 | 0.49 | 0.31 | 36.73 | 0.057 | 18.65 |
| 24 | 0.83 | 0.43 | 48.19 | 0.012 | 17.37 |
| 36 | 1.09 | 0.44 | 59.63 | 0.000 | 16.92 |
| 48 | 1.18 | 0.47 | **61.20** | 0.000 | 15.81 |
| 60 | 1.20 | 0.48 | 60.00 | 0.000 | 15.02 |
| 72 | 1.21 | 0.49 | 59.50 | 0.000 | 14.69 |
| 84 | 1.20 | 0.49 | 59.16 | 0.000 | 14.07 |
| 96 | 1.19 | 0.49 | 58.82 | 0.000 | 13.79 |




รูปที่ 15 เปรียบเทียบการเจริญของเซลล์ มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณน้ำตาลฟรักโตส และปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.*A-04 ในอาหาร MSM กับอาหาร MSM ที่เติมทรีโอนีน 50 mg/l

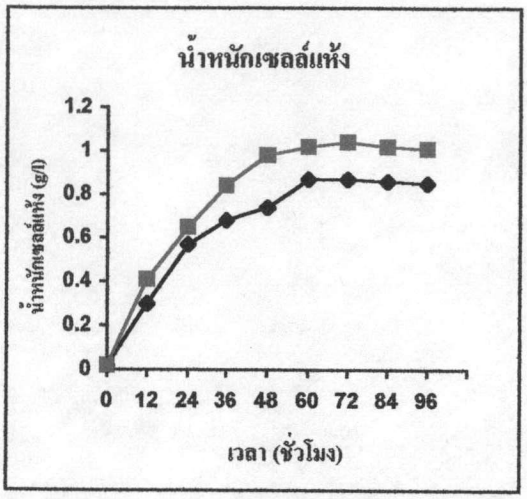
**3.3.8 ผลของซีสเตอีนต่อการสังเคราะห์ และสะสม PHB โดย *Alcaligenes sp.*A-04**

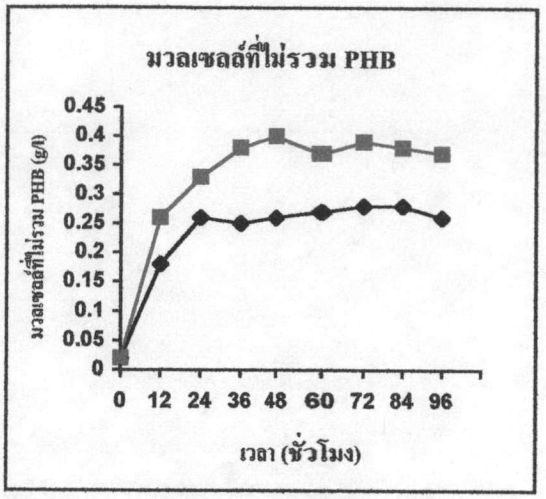
เลี้ยงเชื้อ *Alcaligenes sp.A-04* ตามวิธีการทดลองข้อที่ 2.6.1 โดยใช้ซีสเตอีนความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นซับพลีเมนต์ พบว่า *Alcaligenes sp.A-04* สังเคราะห์และสะสม PHB โดยมีค่าสูงสุดประมาณ 63 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ในชั่วโมงที่ 60 โดยปริมาณ PHB นี้เริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 60 น้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงสุดประมาณ 1.0 กรัมต่อลิตรและคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB มีค่าคงที่ประมาณ 0.4 กรัมต่อลิตรตั้งแต่ชั่วโมงที่ 36 พบว่าแอมโมเนียมซัลเฟตถูกใช้หมดตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 ซึ่งในระยะเวลาที่ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตลดลงนี้ *Alcaligenes sp.A-04* สามารถสังเคราะห์ และสะสม PHB ได้เพิ่มขึ้น เนื่องจากในภาวะที่มีปริมาณแหล่งคาร์บอนมากเกินพอ แต่ปริมาณแหล่งไนโตรเจนถูกจำกัดลงนี้ จะทำให้ *Alcaligenes sp.A-04* สามารถสังเคราะห์ และสะสม PHB ได้มากขึ้น (Byrom, 1987) เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าน้ำตาลฟรักโตสถูกใช้ไป 5.24 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 15)

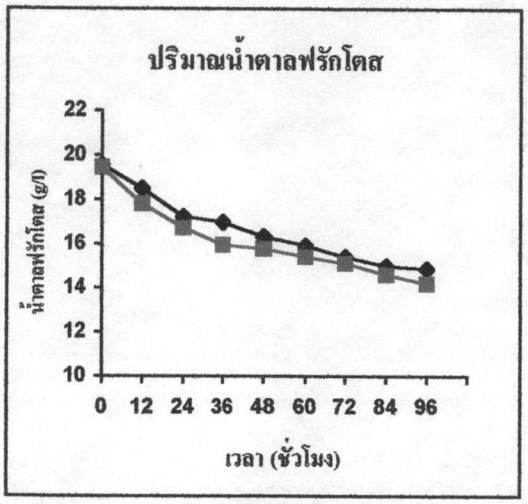
จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงว่าเมื่อเติมซีสเตอีน ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตรลงในอาหาร MSM มีผลกระตุ้นให้ *Alcaligenes sp.* A-04 มีการเจริญเพิ่มขึ้นเล็กน้อยจากชุดควบคุม แต่ความสามารถในการสังเคราะห์ และสะสม PHB มีค่าต่ำกว่าชุดควบคุม (รูปที่ 16) ดังจะเห็นได้จากน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดที่เพิ่มขึ้นเล็กน้อยจากชุดควบคุมที่มีค่าประมาณ 0.8 กรัมต่อลิตร เป็นมีค่าประมาณ 1.0 กรัมต่อลิตรในชุดการทดลองที่เติมซีสเตอีน ในขณะที่ปริมาณ PHB สูงสุดต่ำกว่าชุดควบคุมโดยในชุดควบคุมมีค่าเท่ากับ 68 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ส่วนในชุดที่เติมซีสเตอีนได้ปริมาณ PHB สูงสุดประมาณ 63 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง

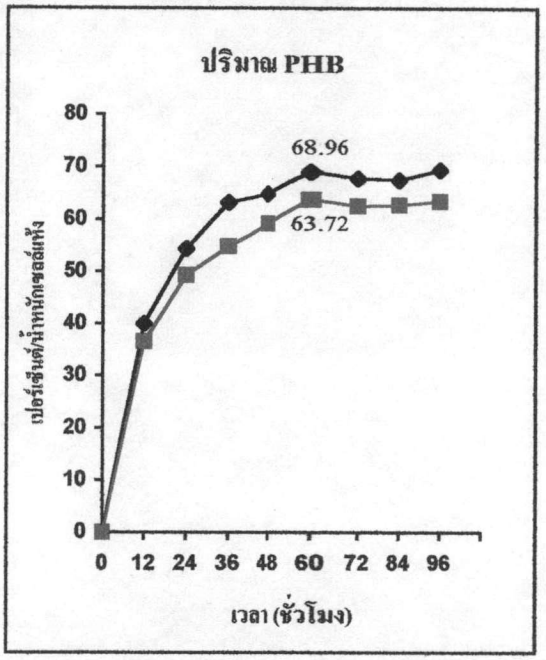
ตารางที่ 15 ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต และปริมาณน้ำตาลฟรักโตส เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04 ในอาหาร MSM ที่เติมซีสเตอีน 50 mg/l

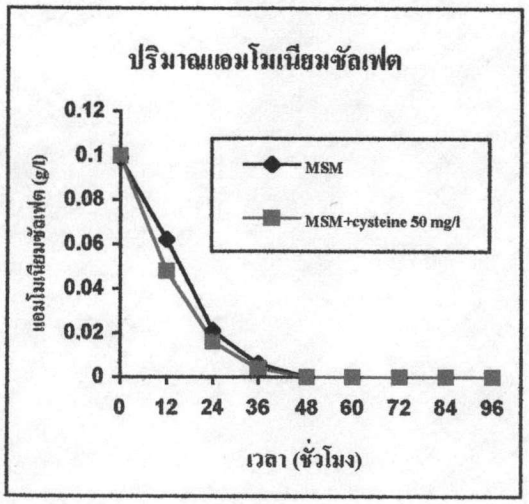
| เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) | มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB (g/l) | ปริมาณ PHB (% by wt.) | แอมโมเนียมซัลเฟต (g/l) | น้ำตาลฟรักโตส (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0.02 | 0.02 | 0.00 | 0.100 | 19.43 |
| 12 | 0.41 | 0.26 | 36.58 | 0.048 | 17.81 |
| 24 | 0.65 | 0.33 | 49.23 | 0.016 | 16.72 |
| 36 | 0.84 | 0.38 | 54.76 | 0.004 | 15.94 |
| 48 | 0.98 | 0.40 | 59.18 | 0.000 | 15.77 |
| 60 | 1.02 | 0.37 | 63.72 | 0.000 | 15.42 |
| 72 | 1.04 | 0.39 | 62.50 | 0.000 | 15.11 |
| 84 | 1.02 | 0.38 | 62.74 | 0.000 | 14.61 |
| 96 | 1.01 | 0.37 | 63.36 | 0.000 | 14.19 |




รูปที่ 16 เปรียบเทียบการเจริญของเซลล์ มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณน้ำตาลฟรักโตส และปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.*A-04 ในอาหาร MSM กับอาหาร MSM ที่เติมซีสเตอีน 50 mg/l

### 3.3.9 ผลของลิวซีนต่อการสังเคราะห์ และสะสม PHB โดย*Alcaligenes sp.*A-04

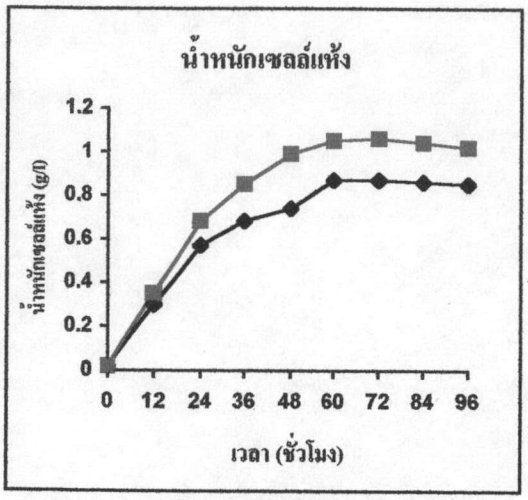
เลี้ยงเชื้อ *Alcaligenes sp.A-04* ตามวิธีการในข้อที่ 2.6.1 โดยใช้ลิวซีนความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นซับพลีเมนต์ ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 16 พบว่า *Alcaligenes sp.A-04* สังเคราะห์และสะสม PHB ได้สูงสุดเท่ากับ 77 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ในชั่วโมงที่ 60 น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดมีค่าประมาณ 1.0 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 48 มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB มีค่าสูงสุดและคงที่ประมาณ 0.3 กรัมต่อลิตรตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 พบว่าแอมโมเนียมซัลเฟตถูกใช้หมดตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 ซึ่งในระยะเวลาที่ปริมาณแอมโมเนียม ซัลเฟตลดลงนี้ *Alcaligenes sp.A-04* สามารถสังเคราะห์ และสะสม PHB ได้เพิ่มขึ้น เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าน้ำตาลฟรักโตสถูกใช้ไป 5.72 กรัมต่อลิตร

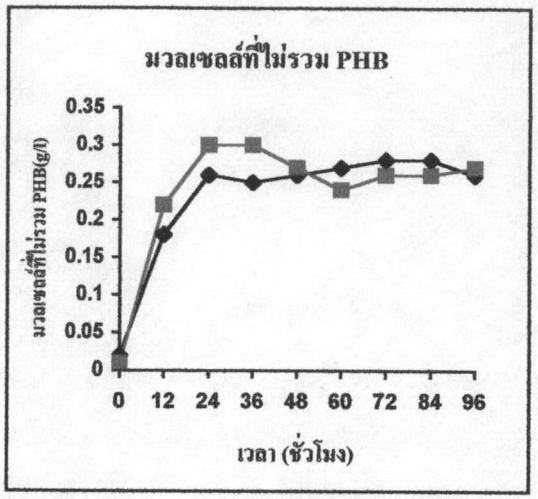
เมื่อเปรียบเทียบผลการทดลองในชุดที่เติมลิวซีน ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตรกับผลการทดลองในชุดควบคุม พบว่าในชุดควบคุม *Alcaligenes sp.A-04* สามารถสังเคราะห์และสะสม PHB ได้สูงสุดในชั่วโมงที่ 60 โดยมีปริมาณ PHB ประมาณ 68 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณPHBนี้เริ่มคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 60 เป็นต้นไป ส่วนน้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงสุดและเริ่มคงที่ในชั่วโมงที่ 60 โดยมีค่าประมาณ 0.8 กรัมต่อลิตร มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHBมีค่าคงที่ประมาณ 0.2 กรัมต่อลิตรตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 พบว่าแอมโมเนียมซัลเฟตถูกใช้หมดตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าน้ำตาลฟรักโตสถูกใช้ไป 4.7 กรัมต่อลิตร

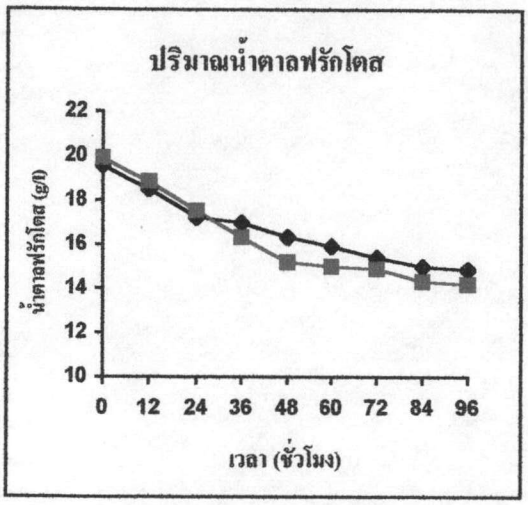
จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงว่าเมื่อเติมลิวซีน ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตรลงในอาหาร MSM มีผลกระตุ้นให้ *Alcaligenes sp.* A-04 มีการเจริญเพิ่มขึ้นจากชุดควบคุมเล็กน้อย แต่ความสามารถในการสังเคราะห์ และสะสม PHB มีค่าเพิ่มขึ้นจากชุดควบคุม (รูปที่ 17) โดยน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดที่เพิ่มขึ้นเล็กน้อยจากชุดควบคุมที่มีค่าประมาณ 0.8 กรัมต่อลิตร เป็นมีค่าประมาณ 1.0 กรัมต่อลิตรในชุดการทดลองที่เติมลิวซีน ในขณะที่ปริมาณPHBสูงสุดมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนจากชุดควบคุมที่มีค่าประมาณ 68 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งเป็นมีค่าประมาณ 77 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งในการทดลองที่เติมลิวซีน

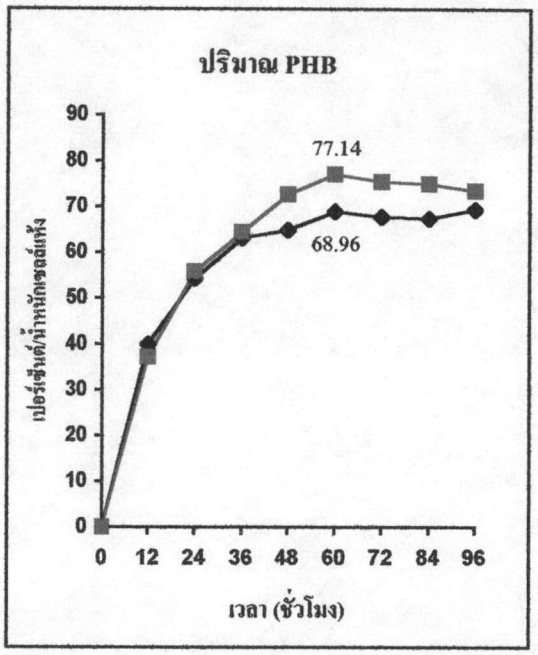
**ตารางที่ 16** ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต และปริมาณน้ำตาลฟรักโตส เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04 ในอาหาร MSM ที่เติมลิวซีน 50 mg/l

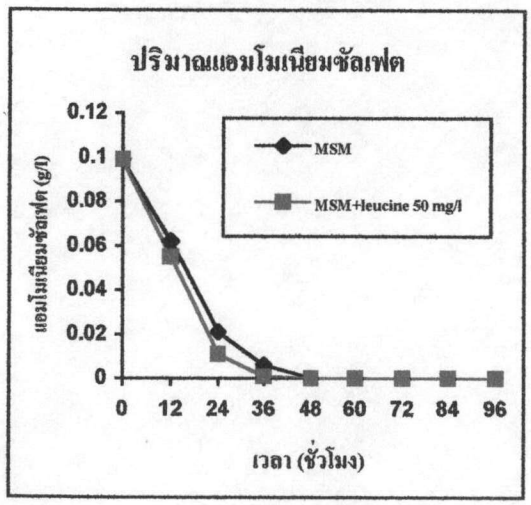
| เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) | มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB (g/l) | ปริมาณ PHB (% by wt.) | แอมโมเนียมซัลเฟต (g/l) | น้ำตาลฟรักโตส (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0.02 | 0.01 | 0.00 | 0.099 | 19.91 |
| 12 | 0.35 | 0.22 | 37.14 | 0.055 | 18.84 |
| 24 | 0.68 | 0.30 | 55.88 | 0.011 | 17.51 |
| 36 | 0.85 | 0.30 | 64.70 | 0.001 | 16.32 |
| 48 | 0.99 | 0.27 | 72.73 | 0.000 | 15.19 |
| 60 | 1.05 | 0.24 | 77.14 | 0.000 | 15.01 |
| 72 | 1.06 | 0.26 | 75.47 | 0.000 | 14.89 |
| 84 | 1.04 | 0.26 | 75.00 | 0.000 | 14.32 |
| 96 | 1.02 | 0.27 | 73.53 | 0.000 | 14.19 |




รูปที่ 17 เปรียบเทียบการเจริญของเซลล์ มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณน้ำตาลฟรักโตส และปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.*A-04 ในอาหาร MSM กับอาหาร MSM ที่เติมลิวซีน 50 mg/l

### 3.3.10 ผลของไอโซลิวซีนต่อการสังเคราะห์ และสะสมPHB โดย *Alcaligenes sp.*A-04

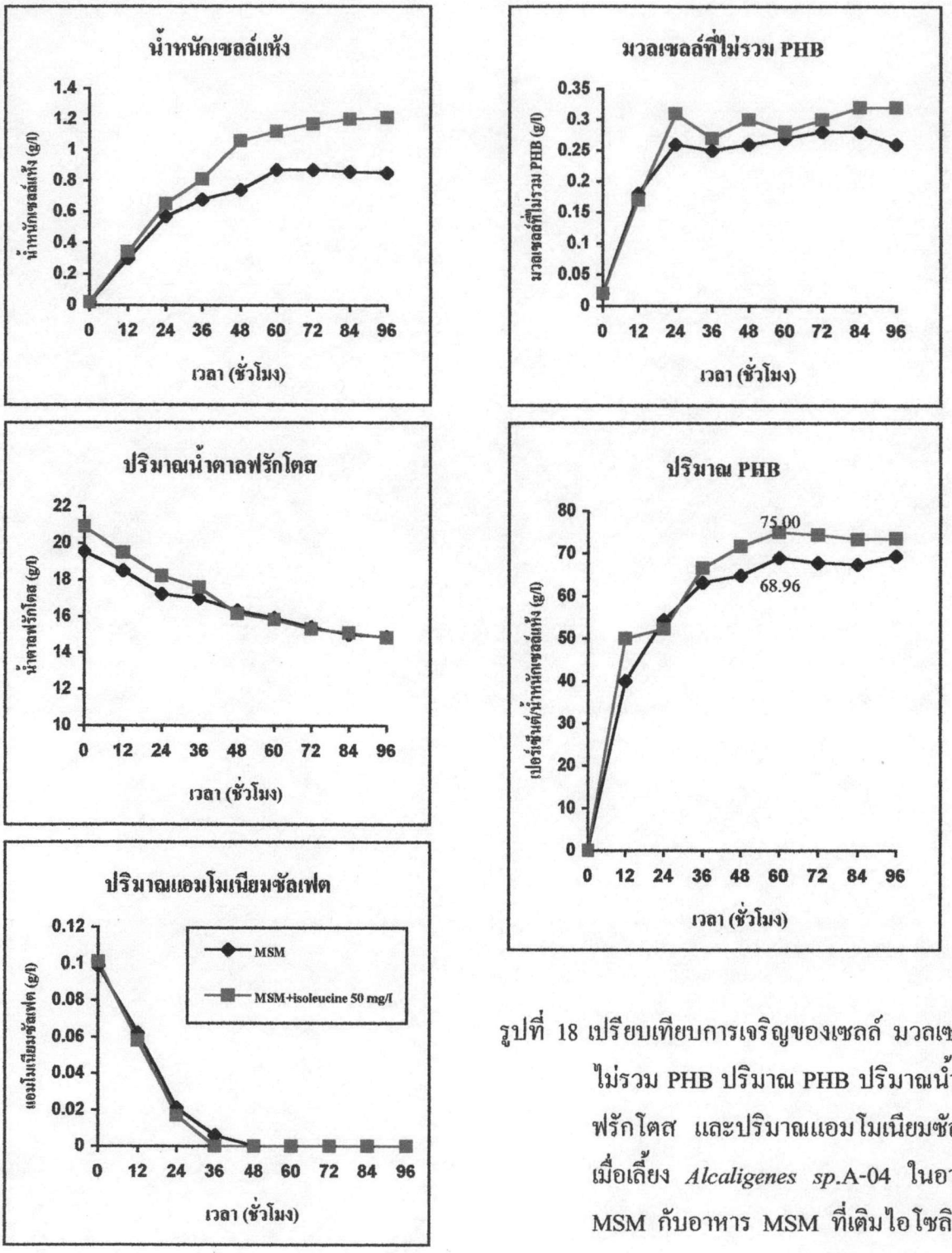
เลี้ยงเชื้อ *Alcaligenes sp.A-04* ตามวิธีการทดลองข้อที่ 2.6.1 โดยใช้ไอโซลิวซีน ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นซับพลีเมนต์ ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 17 พบว่า *Alcaligenes sp.A-04* สังเคราะห์และสะสม PHB ได้สูงสุดประมาณ 75 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ในชั่วโมงที่ 60 น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดมีค่าประมาณ 1.0-1.2 กรัมต่อลิตรตั้งแต่ชั่วโมงที่ 60 และลดลงเล็กน้อยหลังจากชั่วโมงที่ 60 จนถึงชั่วโมงที่ 96 มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB มีค่าประมาณ 0.3 กรัมต่อลิตรตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 พบว่าแอมโมเนียมซัลเฟตถูกใช้หมดตั้งแต่ชั่วโมงที่ 36 ซึ่งในระยะเวลาที่ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตลดลงนี้ *Alcaligenes sp.A-04* สามารถสังเคราะห์และสะสม PHB ได้เพิ่มขึ้น เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าน้ำตาลฟรักโตสถูกใช้ไป 6.09 กรัมต่อลิตร

เมื่อเปรียบเทียบผลการทดลองในชุดที่เติมไอโซลิวซีน ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร กับผลการทดลองในชุดควบคุม พบว่าในชุดควบคุม *Alcaligenes sp.A-04* สามารถสังเคราะห์และสะสมPHB ได้สูงสุดในชั่วโมงที่ 60 โดยมีค่าปริมาณ PHB ประมาณ 68 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณPHB นี้เริ่มคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 60 เป็นต้นไป ส่วนน้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงสุดและเริ่มคงที่ในชั่วโมงที่ 60 โดยมีค่าประมาณ 0.8 กรัมต่อลิตร มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB มีค่าคงที่ประมาณ 0.2 กรัมต่อลิตรตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 พบว่าแอมโมเนียมซัลเฟตจะถูกใช้หมดตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าน้ำตาลฟรักโตสถูกใช้ไป 4.70 กรัมต่อลิตร

จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงว่าเมื่อเติมไอโซลิวซีน ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงในอาหาร MSM มีผลกระตุ้นให้ *Alcaligenes sp.* A-04 มีการเจริญเพิ่มมากขึ้น และมีความสามารถในการสังเคราะห์และสะสม PHB เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (รูปที่ 18) ดังจะเห็นได้จากน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดที่เพิ่มขึ้นจากชุดควบคุม ที่มีค่าประมาณ 0.8 กรัมต่อลิตร เป็นมีค่าประมาณ 1.1 กรัมต่อลิตร ในชุดการทดลองที่เติมไอโซลิวซีน และน้ำตาลฟรักโตสก็ถูกใช้ไปมากกว่าชุดควบคุม โดยปริมาณ PHB สูงสุดมีค่าเพิ่มขึ้นจากชุดควบคุมที่มีค่าประมาณ 68 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งเป็น 75 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งในการทดลองที่เติมไอโซลิวซีน

**ตารางที่ 17** ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต และปริมาณน้ำตาลฟรักโตส เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04 ในอาหาร MSM ที่เติมไอโซลิวซีน 50 mg/l

| เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) | มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB (g/l) | ปริมาณ PHB (% by wt.) | แอมโมเนียมซัลเฟต (g/l) | น้ำตาลฟรักโตส (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0.02 | 0.02 | 0.00 | 0.101 | 20.91 |
| 12 | 0.34 | 0.17 | 50.00 | 0.058 | 19.49 |
| 24 | 0.65 | 0.31 | 52.31 | 0.017 | 18.20 |
| 36 | 0.81 | 0.27 | 66.66 | 0.000 | 17.57 |
| 48 | 1.06 | 0.30 | 71.70 | 0.000 | 16.16 |
| 60 | 1.12 | 0.28 | **75.00** | 0.000 | 15.82 |
| 72 | 1.17 | 0.30 | 74.35 | 0.000 | 15.32 |
| 84 | 1.20 | 0.32 | 73.33 | 0.000 | 15.09 |
| 96 | 1.21 | 0.32 | 73.55 | 0.000 | 14.82 |




รูปที่ 18 เปรียบเทียบการเจริญของเซลล์ มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณน้ำตาลฟรักโตส และปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.*A-04 ในอาหาร MSM กับอาหาร MSM ที่เติมไอโซลิวซีน 50 mg/l

**3.3.11 ผลของอาร์จินีนต่อการสังเคราะห์ และสะสม PHB โดย *Alcaligenes sp.* A-04**

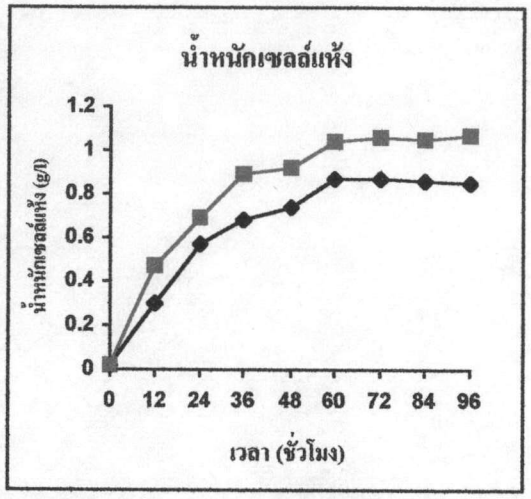
เลี้ยงเชื้อ*Alcaligenes sp.A-04* ตามวิธีการในข้อ 2.6.1 โดยใช้อาร์จินีนความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นซับพลีเมนต์ ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 18 พบว่า *Alcaligenes sp.A-04* สามารถสังเคราะห์และสะสม PHB ได้สูงสุดประมาณ 73 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งในชั่วโมงที่ 48-60 และลดลงเล็กน้อยหลังจากชั่วโมงที่ 60 โดยปริมาณ PHB เริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดมีค่าประมาณ 1.0 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 60 โดยน้ำหนักเซลล์แห้งเริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 60 เป็นต้นไป มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB มีค่าคงที่ประมาณ 0.3 กรัมต่อลิตรตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 พบว่าแอมโมเนียมซัลเฟตถูกใช้หมดตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 ซึ่งในระยะเวลาที่ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตลดลงนี้ *Alcaligenes sp.A-04* สามารถสังเคราะห์และสะสม PHB ได้เพิ่มขึ้น เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าน้ำตาลฟรักโตสถูกใช้ไป 5.65 กรัมต่อลิตร

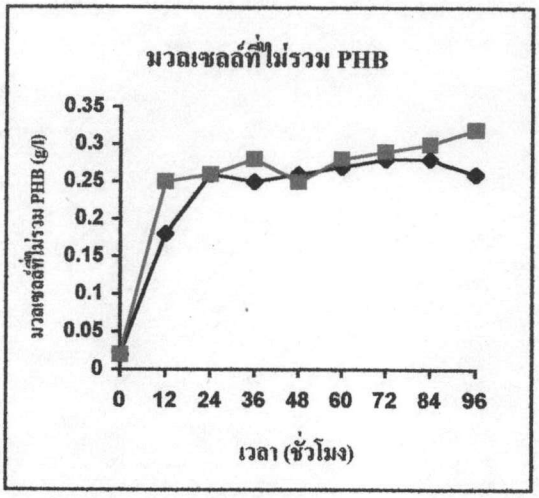
เมื่อเปรียบเทียบผลการทดลองในชุดที่เติมอาร์จินีน ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตรกับผลการทดลองในชุดควบคุม พบว่าในชุดควบคุม *Alcaligenes sp.A-04* สามารถสังเคราะห์และสะสม PHB ได้สูงสุดในชั่วโมงที่ 60 โดยมีปริมาณ PHB ประมาณ 68 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณ PHB นี้เริ่มคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 60 เป็นต้นไป ส่วนน้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงสุดและเริ่มคงที่ในชั่วโมงที่ 60 โดยมีค่า 0.8 กรัมต่อลิตร มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHBมีค่าคงที่ประมาณ 0.2 กรัมต่อลิตรตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 พบว่าแอมโมเนียมซัลเฟตถูกใช้หมดไปตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าน้ำตาลฟรักโตสถูกใช้ไป 4.7 กรัมต่อลิตร

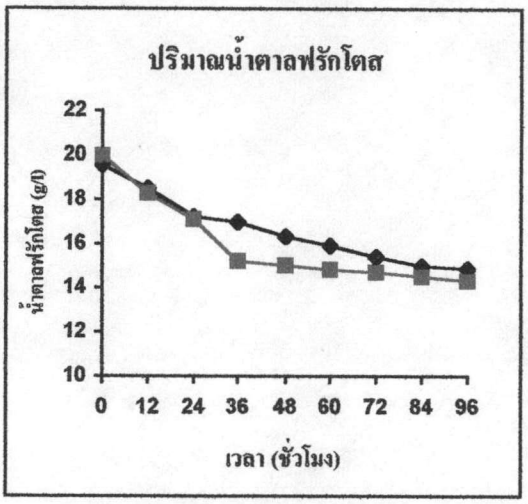
จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงว่าเมื่อเติมอาร์จินีน ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงในอาหาร MSM มีผลกระตุ้นให้ *Alcaligenes sp.* A-04 มีการเจริญเพิ่มขึ้นเล็กน้อยและความสามารถในการสังเคราะห์ และสะสม PHB ก็เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (รูปที่ 19) โดยน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเพิ่มขึ้นจากชุดควบคุมที่มีค่าประมาณ 0.8 กรัมต่อลิตร เป็นประมาณ 1.0 กรัมต่อลิตร ในชุดการทดลองที่เติมอาร์จินีน ในขณะที่ปริมาณ PHB สูงสุดมีค่าเพิ่มขึ้นจากชุดควบคุมที่มีค่าประมาณ 68 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งเป็นมีค่าประมาณ 73 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งในการทดลองที่เติมอาร์จินีน

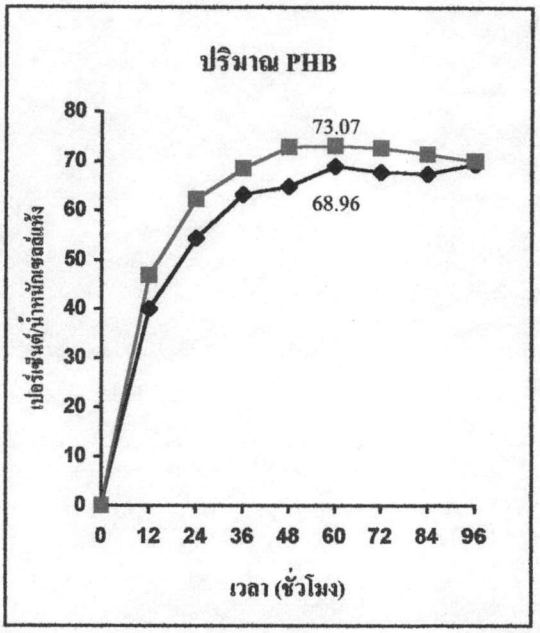
**ตารางที่ 18** ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต และปริมาณน้ำตาลฟรักโตส เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04ในอาหาร MSM ที่เติมอาร์จินีน 50 mg/l

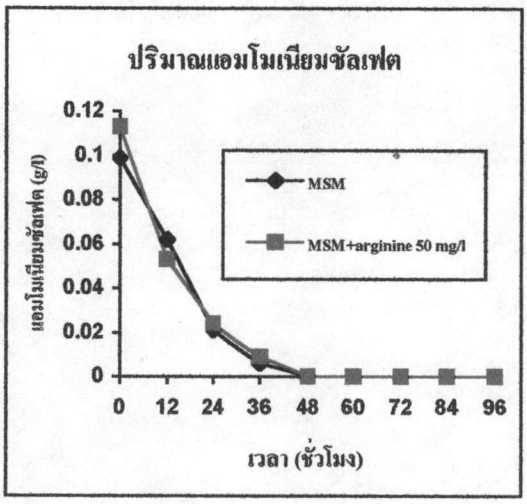
| เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) | มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB (g/l) | ปริมาณ PHB (% by wt.) | แอมโมเนียมซัลเฟต (g/l) | น้ำตาลฟรักโตส (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0.02 | 0.02 | 0.00 | 0.113 | 19.97 |
| 12 | 0.47 | 0.25 | 46.81 | 0.053 | 18.27 |
| 24 | 0.69 | 0.26 | 62.32 | 0.024 | 17.11 |
| 36 | 0.89 | 0.28 | 68.54 | 0.009 | 15.21 |
| 48 | 0.92 | 0.25 | 72.82 | 0.000 | 15.02 |
| 60 | 1.04 | 0.28 | **73.07** | 0.000 | 14.82 |
| 72 | 1.06 | 0.29 | 72.64 | 0.000 | 14.71 |
| 84 | 1.05 | 0.30 | 71.43 | 0.000 | 14.51 |
| 96 | 1.07 | 0.32 | 70.09 | 0.000 | 14.32 |




รูปที่ 19 เปรียบเทียบการเจริญของเซลล์ มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณน้ำตาลฟรักโตส และปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.*A-04 ในอาหาร MSM กับอาหาร MSM ที่เติมอาร์จินีน 50 mg/l

**3.3.12 ผลของเมทไธโอนีนต่อการสังเคราะห์ และสะสม PHB โดย *Alcaligenes sp.* A-04**

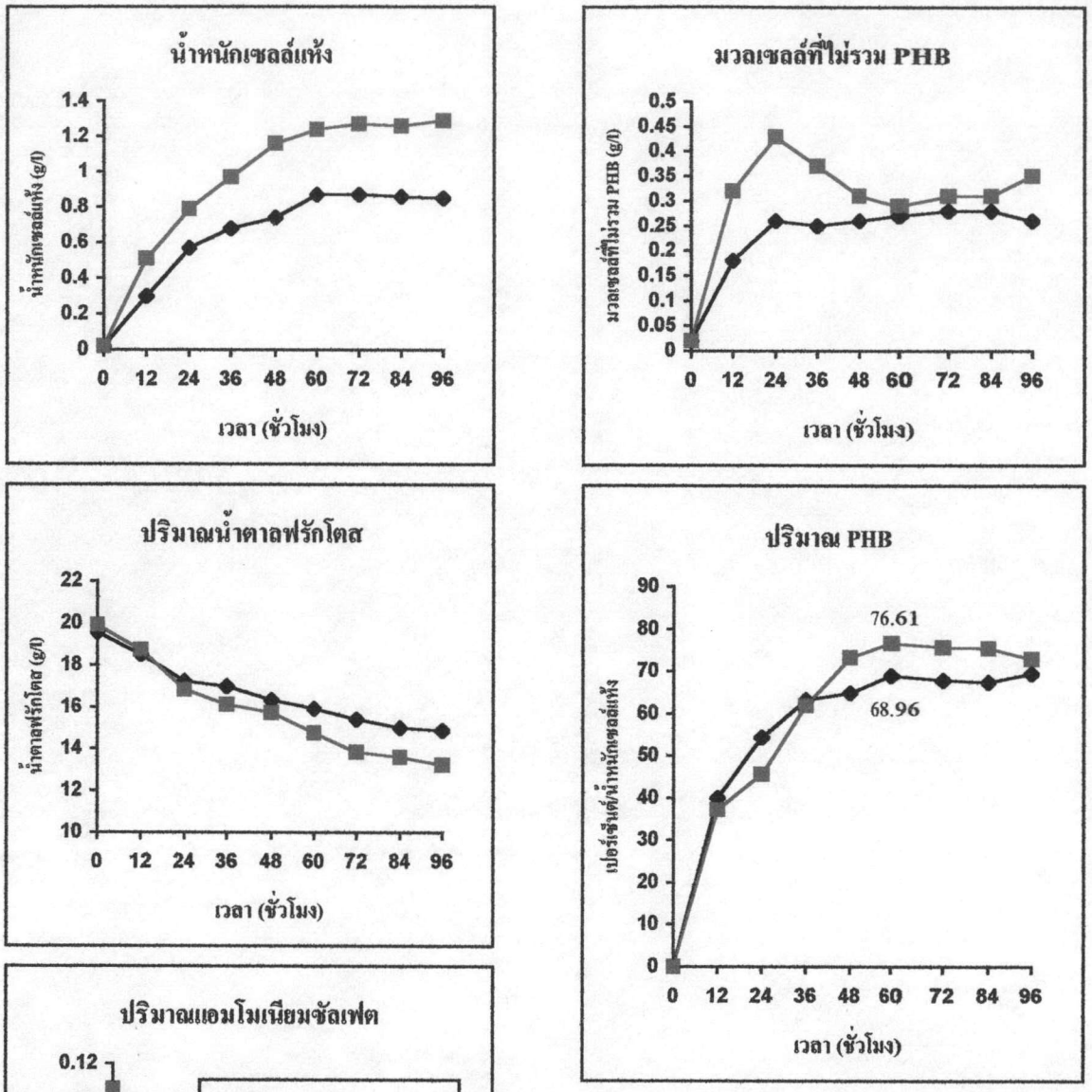
เลี้ยงเชื้อ *Alcaligenes sp.A-04* ตามวิธีการทดลองข้อ 2.6.1 โดยใช้เมทไธโอนีน ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นซับพลีเมนต์ ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 19 พบว่า *Alcaligenes sp. A-04* สามารถสังเคราะห์ และสะสม PHB ได้สูงสุดประมาณ 76 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งในชั่วโมงที่ 60 โดยปริมาณ PHB เริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 60 น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดมีค่าประมาณ 1.2 กรัมต่อลิตรตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB มีค่าประมาณ 0.3-.-0.4 กรัมต่อลิตรตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 พบว่าแอมโมเนียมซัลเฟตถูกใช้หมดตั้งแต่ชั่วโมงที่ 36 เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าน้ำตาลฟรักโตสถูกใช้ไป 6.65 กรัมต่อลิตร

เมื่อเปรียบเทียบผลการทดลองในชุดที่เติมเมทไธโอนีน ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร กับผลการทดลองในชุดควบคุม พบว่าในชุดควบคุม *Alcaligenes sp.A-04* สามารถสังเคราะห์และสะสม PHB ได้สูงสุดในชั่วโมงที่ 60 โดยมีปริมาณ PHB ประมาณ 68 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณ PHB นี้เริ่มคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 60 เป็นต้นไป ส่วนน้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงสุดและเริ่มคงที่ในชั่วโมงที่ 60 โดยมีค่าประมาณ 0.8 กรัมต่อลิตร มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB มีค่าคงที่ประมาณ 0.2 กรัมต่อลิตรตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 พบว่าแอมโมเนียมซัลเฟตจะถูกใช้หมดไปตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าน้ำตาลฟรักโตสถูกใช้ไป 4.7 กรัมต่อลิตร

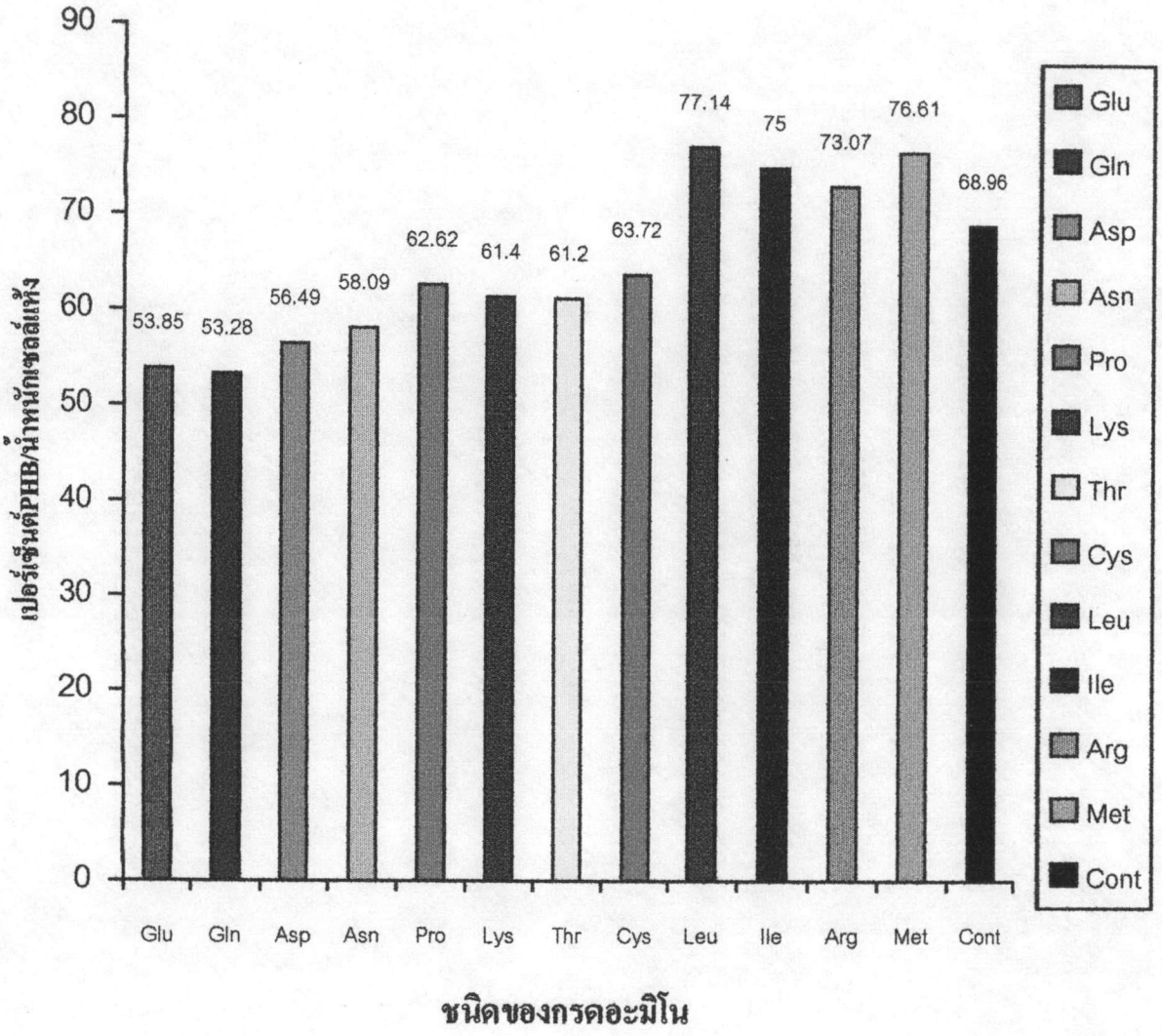
จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงว่าเมื่อเติมเมทไธโอนีนความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงในอาหาร MSM มีผลกระตุ้นให้ *Alcaligenes sp.* A-04 มีการเจริญเพิ่มขึ้น และความสามารถในการสังเคราะห์ และสะสม PHB ก็เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (รูปที่ 20) โดยน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดที่เพิ่มขึ้นจากชุดควบคุมที่มีค่าประมาณ 0.8 กรัมต่อลิตร เป็นมีค่าประมาณ 1.2 กรัมต่อลิตร ในชุดการทดลองที่เติมเมทไธโอนีน และน้ำตาลฟรักโตสก็ถูกใช้ไปมากกว่าชุดควบคุม และปริมาณ PHB สูงสุดมีค่าเพิ่มขึ้นจากชุดควบคุมที่มีค่าประมาณ 68 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งเป็นมีค่าประมาณ 76 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ในการทดลองที่เติมเมทไธโอนีน

ตารางที่ 19 ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต และปริมาณน้ำตาลฟรักโตส เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04 ในอาหาร MSM ที่เติมเมทไธโอนีน 50 mg/l

| เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) | มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB (g/l) | ปริมาณ PHB (% by wt.) | แอมโมเนียมซัลเฟต (g/l) | น้ำตาลฟรักโตส (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0.02 | 0.02 | 0.00 | 0.108 | 19.89 |
| 12 | 0.51 | 0.32 | 37.25 | 0.043 | 18.72 |
| 24 | 0.79 | 0.43 | 45.57 | 0.006 | 16.84 |
| 36 | 0.97 | 0.37 | 61.85 | 0.000 | 16.11 |
| 48 | 1.16 | 0.31 | 73.27 | 0.000 | 15.72 |
| 60 | 1.24 | 0.29 | **76.61** | 0.000 | 14.75 |
| 72 | 1.27 | 0.31 | 75.59 | 0.000 | 13.83 |
| 84 | 1.26 | 0.31 | 75.39 | 0.000 | 13.60 |
| 96 | 1.29 | 0.35 | 72.87 | 0.000 | 13.24 |




รูปที่ 20 เปรียบเทียบการเจริญของเซลล์ มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณน้ำตาลฟรักโตส และปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.*A-04 ในอาหาร MSM กับอาหาร MSM ที่เติมเมทไธโอนีน 50 mg/l




**รูปที่ 21 เปรียบเทียบปริมาณPHB (เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง) ในอาหาร MSM ที่เติมกรดอะมิโนต่างชนิดกัน ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร**

**3.4 การหาปริมาณกรดอะมิโนที่เหมาะสมสำหรับการสังเคราะห์ และสะสม PHB โดย *Alcaligenes sp. A-04***

**3.4.1 การหาปริมาณลิวซีนที่เหมาะสมสำหรับการสังเคราะห์และสะสม PHB โดย *Alcaligenes sp.*A-04**

เลี้ยงเชื้อ *Alcaligenes sp.* A-04 ตามวิธีการทดลองข้อ 2.6.2 โดยใช้ลิวซีน ความเข้มข้น 50-150 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นซับพลีเมนต์ พบว่า เมื่อใช้ลิวซีนที่ความเข้มข้นเริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า *Alcaligenes sp.A-04* สังเคราะห์และสะสม PHBได้สูงสุดมีค่าประมาณ 77 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ในชั่วโมงที่ 60 น้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงสุดประมาณ 1.0 กรัมต่อลิตร โดยปริมาณ PHB และน้ำหนักเซลล์แห้งนี้เริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 60 และ 48 ตามลำดับ มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB มีค่าคงที่ประมาณ 0.3 กรัมต่อลิตร ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 พบว่าแอมโมเนียมซัลเฟตถูกใช้หมดตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าน้ำตาลฟรักโตส ถูกใช้ไป 5.72 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 20ก และรูปที่ 22 )

เมื่อใช้ลิวซีนที่ความเข้มข้นเริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า *Alcaligenes sp.A-04* สังเคราะห์และสะสม PHB ได้สูงสุดมีค่าประมาณ 78 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งในชั่วโมงที่ 60 และน้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงสุดประมาณ 1.2 กรัมต่อลิตร โดยที่ปริมาณPHB และน้ำหนักเซลล์แห้งนี้เริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 60 มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB มีค่าคงที่ประมาณ 0.3 กรัมต่อลิตรตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 พบว่าแอมโมเนียมซัลเฟตถูกใช้หมดตั้งแต่ชั่วโมงที่ 36 และเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าน้ำตาลฟรักโตสถูกใช้ไป 6.63 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 20 ข และรูปที่ 22)

เมื่อใช้ลิวซีนที่ความเข้มข้นเริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 125 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า *Alcaligenes sp.A-04* สังเคราะห์และสะสม PHB ได้สูงสุดมีค่าประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ในชั่วโมงที่ 60 และน้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าประมาณ 1.2 กรัมต่อลิตร โดยปริมาณPHB และน้ำหนักเซลล์แห้งนี้เริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 60 เช่นเดียวกัน มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB มีค่าคงที่ประมาณ 0.3 กรัมต่อลิตรตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 พบว่าแอมโมเนียมซัลเฟตถูกใช้หมดตั้งแต่ชั่วโมงที่ 36 และเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าน้ำตาลฟรักโตสถูกใช้ไป 6.99 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 20 ค และรูปที่ 22)

เมื่อใช้ลิวซีนที่ความเข้มข้นเริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 150 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า *Alcaligenes sp.A-04* สังเคราะห์และสะสม PHB ได้สูงสุดมีค่าประมาณ 78 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งในชั่วโมงที่ 60 และน้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงสุดประมาณ 1.2 กรัมต่อลิตร โดยปริมาณ PHB และน้ำหนักเซลล์แห้งนี้เริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 60 เช่นเดียวกัน มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB มีค่าคงที่ประมาณ 0.3 กรัมต่อลิตรตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 พบว่าแอมโมเนียม

ซัลเฟตถูกใช้หมดตั้งแต่ชั่วโมงที่ 36 และเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าน้ำตาลฟรักโตสถูกใช้ไป 7.49 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 20ง และรูปที่ 22)

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณ PHB ของการทดลองที่ใช้ลิวซีนที่ได้ทำการแปรผันความเข้มข้นเริ่มต้นให้มีค่าเท่ากับ 50 100 125 และ150 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของลิวซีนเท่ากับ 125 มิลลิกรัมต่อลิตร *Alcaligenes sp.* A-04 สามารถสังเคราะห์และสะสม PHB ได้สูงสุดมีค่าประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ซึ่งมีค่าสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณของPHBสูงสุด ซึ่ง *Alcaligenes sp.*A-04 สามารถสังเคราะห์และสะสมได้เมื่อเลี้ยงเชื้อโดยใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของลิวซีนเท่ากับ 50 100 และ150 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งจะได้ปริมาณ PHB มีค่าประมาณ 77 78 และ78 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งตามลำดับ (รูปที่ 23) และเมื่อเปรียบเทียบการทดลองที่ใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของลิวซีนเป็น 125 มิลลิกรัมต่อลิตรกับการทดลองชุดควบคุม พบว่าในการทดลองที่ใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของลิวซีนปริมาณ 125 มิลลิกรัมต่อลิตรนั้นให้ปริมาณ PHB สูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่มีค่าประมาณ 68 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ดังนั้นความเข้มข้นของลิวซีนที่เหมาะสมในการกระตุ้นการ สังเคราะห์และสะสม PHB โดย *Alcaligenes sp.*A-04 คือที่ระดับความเข้มข้น 125 มิลลิกรัมต่อลิตร

ตารางที่ 20 ก. ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต และปริมาณน้ำตาลฟรักโตส เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04 ในอาหาร MSM ที่เติมลิวซีน 50 mg/l

| เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) | มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB (g/l) | ปริมาณ PHB (% by wt.) | แอมโมเนียมซัลเฟต (g/l) | น้ำตาล ฟรักโตส (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0.02 | 0.01 | 0.00 | 0.099 | 19.91 |
| 12 | 0.35 | 0.22 | 37.14 | 0.055 | 18.84 |
| 24 | 0.68 | 0.30 | 55.88 | 0.011 | 17.51 |
| 36 | 0.85 | 0.30 | 64.70 | 0.001 | 16.32 |
| 48 | 0.99 | 0.27 | 72.73 | 0.000 | 15.19 |
| 60 | 1.05 | 0.24 | 77.14 | 0.000 | 15.01 |
| 72 | 1.06 | 0.26 | 75.47 | 0.000 | 14.89 |
| 84 | 1.04 | 0.26 | 75.00 | 0.000 | 14.32 |
| 96 | 1.02 | 0.27 | 73.53 | 0.000 | 14.19 |

ข. ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต และปริมาณน้ำตาลฟรักโตส เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04 ในอาหาร MSM ที่เติมลิวซีน 100 mg/l

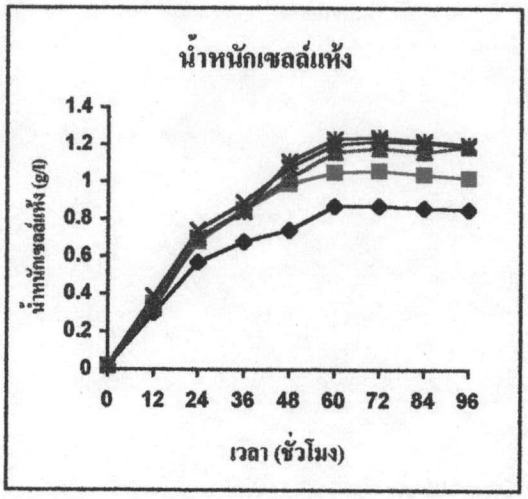
| เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) | มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB (g/l) | ปริมาณ PHB (% by wt.) | แอมโมเนียมซัลเฟต (g/l) | น้ำตาล ฟรักโตส (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0.02 | 0.02 | 0.00 | 0.108 | 19.94 |
| 12 | 0.36 | 0.24 | 33.33 | 0.063 | 18.69 |
| 24 | 0.70 | 0.31 | 55.71 | 0.018 | 17.45 |
| 36 | 0.85 | 0.26 | 69.41 | 0.000 | 16.23 |
| 48 | 1.02 | 0.27 | 73.53 | 0.000 | 15.87 |
| 60 | 1.16 | 0.25 | 78.45 | 0.000 | 14.85 |
| 72 | 1.18 | 0.29 | 75.42 | 0.000 | 13.76 |
| 84 | 1.16 | 0.27 | 76.72 | 0.000 | 13.48 |
| 96 | 1.19 | 0.29 | 75.63 | 0.000 | 13.31 |

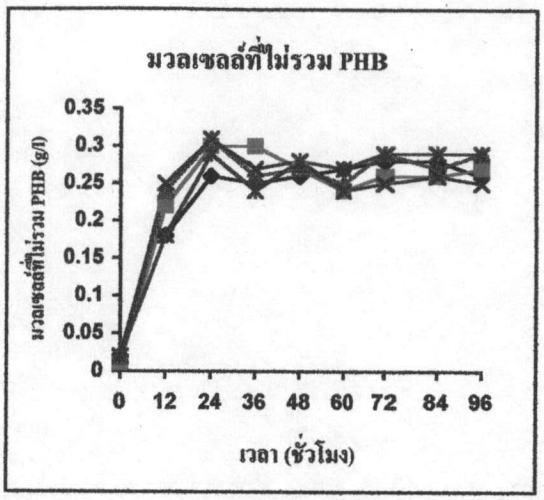
ค. ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต และปริมาณน้ำตาลฟรักโตส เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04 ในอาหาร MSM ที่เติมลิวซีน 125 mg/l

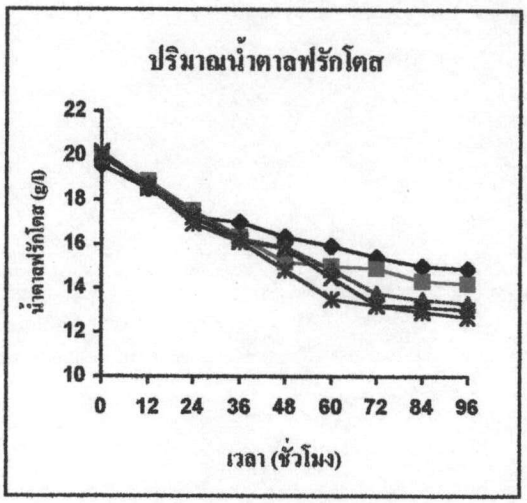
| เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) | มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB (g/l) | ปริมาณ PHB (% by wt.) | แอมโมเนียมซัลเฟต (g/l) | น้ำตาลฟรักโตส (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0.02 | 0.02 | 0.00 | 0.112 | 20.01 |
| 12 | 0.39 | 0.25 | 35.90 | 0.061 | 18.53 |
| 24 | 0.74 | 0.31 | 58.11 | 0.014 | 17.21 |
| 36 | 0.89 | 0.27 | 69.97 | 0.000 | 16.15 |
| 48 | 1.08 | 0.28 | 74.07 | 0.000 | 15.80 |
| 60 | 1.20 | 0.24 | **80.00** | 0.000 | 14.49 |
| 72 | 1.22 | 0.25 | 79.51 | 0.000 | 13.23 |
| 84 | 1.21 | 0.26 | 78.51 | 0.000 | 13.13 |
| 96 | 1.19 | 0.25 | 78.99 | 0.000 | 13.02 |

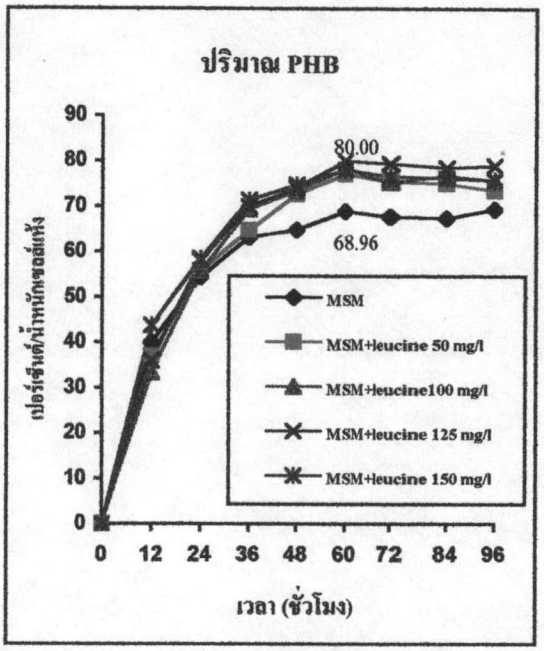
ง. ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต และปริมาณน้ำตาลฟรักโตส เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04 ในอาหาร MSM ที่เติมลิวซีน 150 mg/l

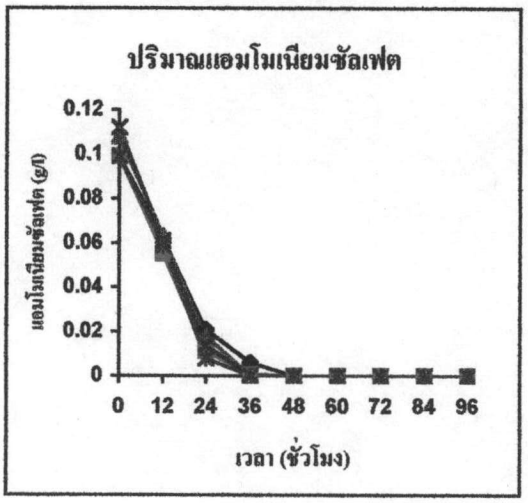
| เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) | มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB (g/l) | ปริมาณ PHB (% by wt.) | แอมโมเนียมซัลเฟต (g/l) | น้ำตาล ฟรักโตส (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0.02 | 0.02 | 0.00 | 0.099 | 20.17 |
| 12 | 0.32 | 0.18 | 43.75 | 0.059 | 18.64 |
| 24 | 0.70 | 0.29 | 58.57 | 0.008 | 16.92 |
| 36 | 0.84 | 0.24 | 71.43 | 0.000 | 16.11 |
| 48 | 1.11 | 0.28 | 74.77 | 0.000 | 14.84 |
| 60 | 1.23 | 0.27 | 78.05 | 0.000 | 13.49 |
| 72 | 1.24 | 0.29 | 76.61 | 0.000 | 13.20 |
| 84 | 1.22 | 0.29 | 76.23 | 0.000 | 12.92 |
| 96 | 1.20 | 0.29 | 75.83 | 0.000 | 12.68 |



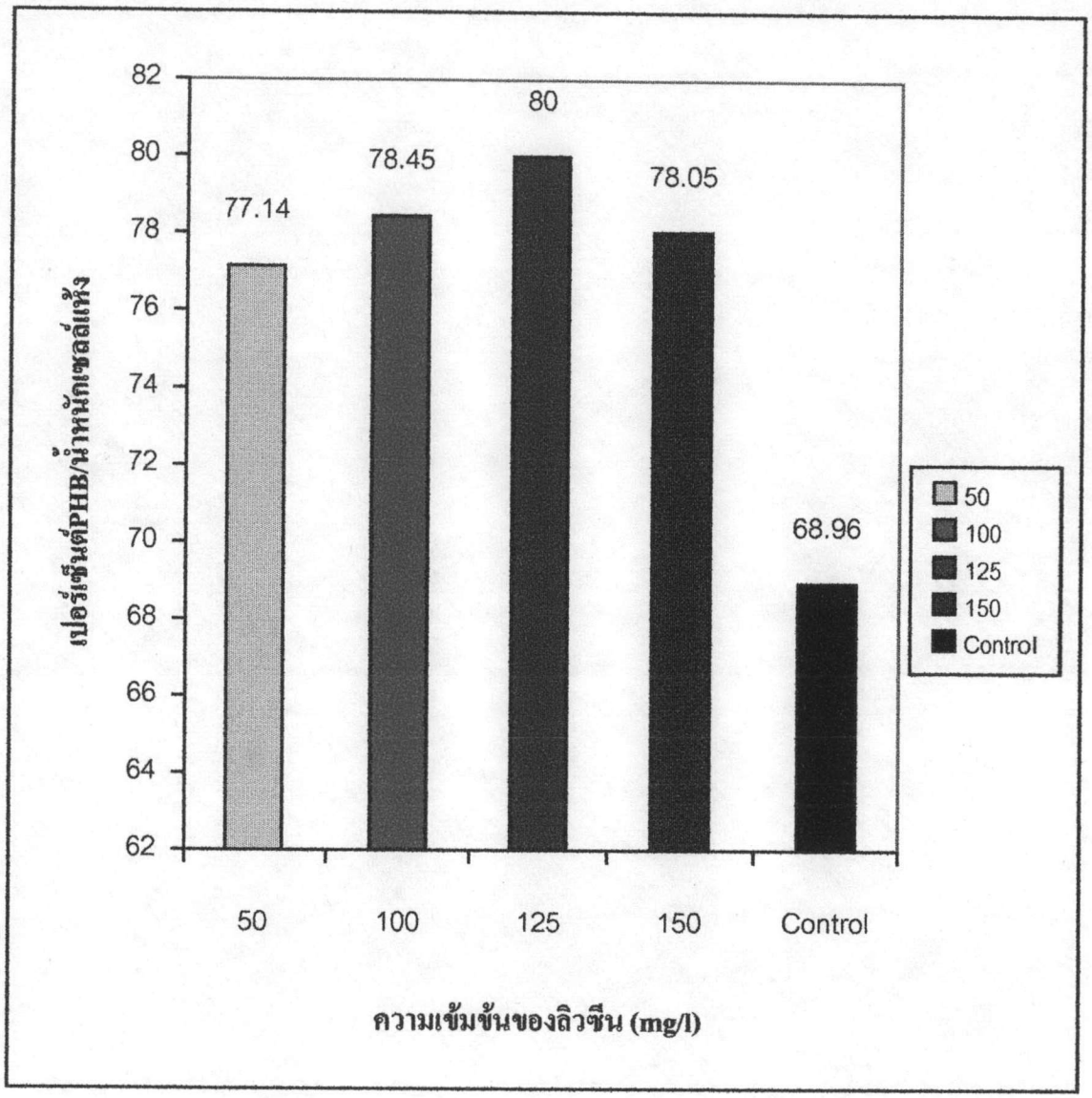




**รูปที่ 22 เปรียบเทียบการเจริญของเซลล์ มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณน้ำตาลฟรักโตส และปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.*A-04 ในอาหาร MSM กับอาหาร MSM ที่เติมลิวซีน 50 100 125 และ 150 mg/l**




**รูปที่ 23** เปรียบเทียบปริมาณPHB สูงสุด ในการเลี้ยง *Alcaligenes sp.A-04* โดยใช้ความเข้มข้นของลิวซีน 50 100 125 และ 150 มิลลิกรัมต่อลิตร กับการทดลองชุดควบคุม

**3.4.2 การหาปริมาณไอโซลิวซีนที่เหมาะสมสำหรับการสังเคราะห์และสะสม PHB โดย *Alcaligenes sp.*A-04**

เลี้ยงเชื้อ*Alcaligenes sp.* A-04 ตามวิธีการทดลองข้อ 2.6.2 โดยใช้ไอโซลิวซีนความเข้มข้น 25-100 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นซับพลีเมนต์ เมื่อใช้ไอโซลิวซีนที่ความเข้มข้นเริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 25 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า *Alcaligenes sp.A-04* สังเคราะห์และสะสม PHB ได้สูงสุดมีค่าประมาณ 71 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ในชั่วโมงที่ 60 และน้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าประมาณ 1.1 กรัมต่อลิตร โดยปริมาณ PHB และน้ำหนักเซลล์แห้งนี้เริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 และ 60 ตามลำดับ มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB มีค่าคงที่ประมาณ 0.3 กรัมต่อลิตรตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 พบว่าแอมโมเนียม ซัลเฟตถูกใช้หมดตั้งแต่ชั่วโมงที่ 36 เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าน้ำตาลฟรักโตส ถูกใช้ไป 5.77 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 21ก และรูปที่ 24)

เมื่อใช้ไอโซลิวซีนที่ความเข้มข้นเริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า *Alcaligenes sp.A-04* สังเคราะห์และสะสม PHB ได้สูงสุดประมาณ 75 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งในชั่วโมงที่ 60 และน้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าประมาณ 1.1 กรัมต่อลิตร โดยที่ปริมาณ PHB และน้ำหนักเซลล์แห้งนี้เริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 60 มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB มีค่าคงที่ประมาณ 0.3 กรัมต่อลิตรตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 พบว่าแอมโมเนียมซัลเฟตถูกใช้หมดตั้งแต่ชั่วโมงที่ 36 และเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าน้ำตาลฟรักโตสถูกใช้ไป 7.55 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 21 ข และรูปที่ 24 )

เมื่อใช้ไอโซลิวซีนที่ความเข้มข้นเริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 75 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า *Alcaligenes sp.A-04* สังเคราะห์และสะสม PHB ได้สูงสุดประมาณ 74 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ในชั่วโมงที่ 60 และน้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าประมาณ 1.2 กรัมต่อลิตร โดยปริมาณ PHB และน้ำหนักเซลล์แห้งนี้เริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 60 และ 72ตามลำดับ มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB มีค่าคงที่ประมาณ 0.3 กรัมต่อลิตรตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 พบว่าแอมโมเนียมซัลเฟตถูกใช้หมดตั้งแต่ชั่วโมงที่ 36 และเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าน้ำตาลฟรักโตสถูกใช้ไป 7.61 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 21ค และรูปที่ 24)

เมื่อใช้ไอโซลิวซีนที่ความเข้มข้นเริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า *Alcaligenes sp.A-04* สังเคราะห์และสะสม PHB ได้สูงสุดมีค่าประมาณ 73 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งในชั่วโมงที่ 60 และน้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าประมาณ 1.3 กรัมต่อลิตร โดยปริมาณ PHB และน้ำหนักเซลล์แห้งนี้เริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 60 มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB มีค่าคงที่ประมาณ 0.4 กรัมต่อลิตรตั้งแต่ชั่วโมงที่ 36 พบว่าแอมโมเนียมซัลเฟตถูกใช้หมดตั้งแต่ชั่วโมงที่ 36 และเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าน้ำตาลฟรักโตสถูกใช้ไป 7.77 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 21ง และรูปที่ 24)

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณ PHB ของการทดลองที่ใช้ไอโซลิวซีนที่ได้ทำการแปรผันความเข้มข้นเริ่มต้นให้มีค่าเท่ากับ 25 50 75 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าที่ความเข้มข้นเริ่มต้น

ของไอโซลิวซีนเท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร *Alcaligenes sp.* A-04 สามารถสังเคราะห์และสะสม PHB ได้สูงสุดมีค่าประมาณ 75 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ซึ่งมีค่าสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณของ PHB สูงสุด ซึ่ง *Alcaligenes sp.*A-04 สามารถสังเคราะห์และสะสมได้เมื่อเลี้ยงเชื้อโดยใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของไอโซลิวซีนเท่ากับ 25 75 และ100 มิลลิกรัมต่อลิตรซึ่งจะได้ปริมาณPHBมีค่าประมาณ 71 74 และ 73 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งตามลำดับ (รูปที่ 25) และเมื่อเปรียบเทียบการทดลองที่ใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของไอโซลิวซีนเป็น 50 มิลลิกรัมต่อลิตรกับการทดลองชุดควบคุม พบว่าในการทดลองที่ใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของไอโซลิวซีน ปริมาณ 50 มิลลิกรัมต่อลิตรที่ให้ปริมาณ PHB สูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่มีค่าประมาณ 68 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ดังนั้นความเข้มข้นของไอโซลิวซีนที่เหมาะสมในการกระตุ้นการสังเคราะห์และสะสม PHB โดย *Alcaligenes sp.*A-04 คือที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

ตารางที่ 21 ก. ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต และปริมาณน้ำตาลฟรักโตส เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04 ในอาหาร MSM ที่เติมไอโซลิวซีน 25 mg/l

| เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) | มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB (g/l) | ปริมาณ PHB (% by wt.) | แอมโมเนียมซัลเฟต (g/l) | น้ำตาล ฟรักโตส (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0.01 | 0.01 | 0.00 | 0.102 | 19.93 |
| 12 | 0.32 | 0.21 | 34.37 | 0.061 | 18.82 |
| 24 | 0.73 | 0.41 | 43.83 | 0.006 | 16.97 |
| 36 | 0.81 | 0.38 | 48.15 | 0.000 | 16.43 |
| 48 | 0.98 | 0.30 | 69.39 | 0.000 | 15.87 |
| 60 | 1.07 | 0.30 | 71.96 | 0.000 | 15.30 |
| 72 | 1.11 | 0.33 | 70.27 | 0.000 | 14.54 |
| 84 | 1.14 | 0.35 | 69.30 | 0.000 | 14.29 |
| 96 | 1.14 | 0.34 | 70.17 | 0.000 | 14.16 |

ข. ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต และปริมาณน้ำตาลฟรักโตส เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04 ในอาหาร MSM ที่เติมไอโซลิวซีน 50 mg/l

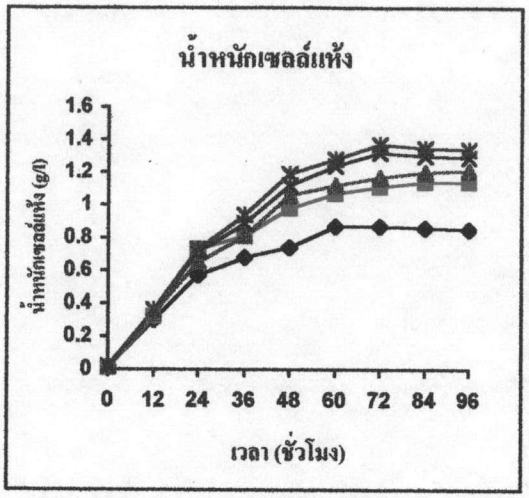
| เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) | มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB (g/l) | ปริมาณ PHB (% by wt.) | แอมโมเนียมซัลเฟต (g/l) | น้ำตาล ฟรักโตส (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0.02 | 0.02 | 0.00 | 0.101 | 20.91 |
| 12 | 0.34 | 0.17 | 50.00 | 0.058 | 19.49 |
| 24 | 0.65 | 0.31 | 52.31 | 0.017 | 18.20 |
| 36 | 0.81 | 0.27 | 66.66 | 0.000 | 17.57 |
| 48 | 1.06 | 0.30 | 71.70 | 0.000 | 16.16 |
| 60 | 1.12 | 0.28 | 75.00 | 0.000 | 15.82 |
| 72 | 1.17 | 0.30 | 74.35 | 0.000 | 15.32 |
| 84 | 1.20 | 0.32 | 73.33 | 0.000 | 15.09 |
| 96 | 1.21 | 0.32 | 73.55 | 0.000 | 14.82 |

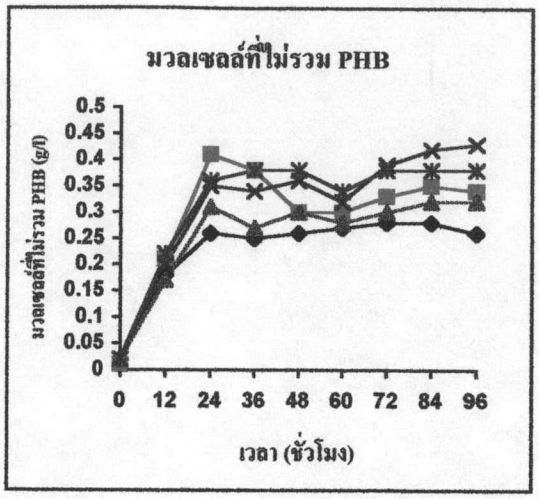
ค. ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB ปริมาณPHB ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต และปริมาณน้ำตาลฟรักโตส เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04 ในอาหาร MSM ที่เติมไอโซลิวซีน 75 mg/l

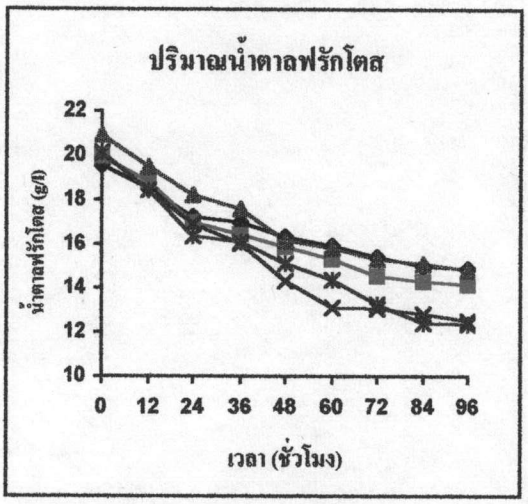
| เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) | มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB (g/l) | ปริมาณ PHB (% by wt.) | แอมโมเนียมซัลเฟต (g/l) | น้ำตาลฟรักโตส (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0.02 | 0.02 | 0.00 | 0.116 | 20.12 |
| 12 | 0.36 | 0.20 | 44.44 | 0.071 | 18.42 |
| 24 | 0.71 | 0.35 | 50.70 | 0.024 | 16.91 |
| 36 | 0.89 | 0.34 | 61.80 | 0.000 | 16.02 |
| 48 | 1.12 | 0.36 | 67.86 | 0.000 | 14.33 |
| 60 | 1.24 | 0.32 | 74.19 | 0.000 | 13.12 |
| 72 | 1.32 | 0.39 | 70.45 | 0.000 | 13.07 |
| 84 | 1.30 | 0.42 | 67.69 | 0.000 | 12.83 |
| 96 | 1.29 | 0.43 | 66.66 | 0.000 | 12.51 |

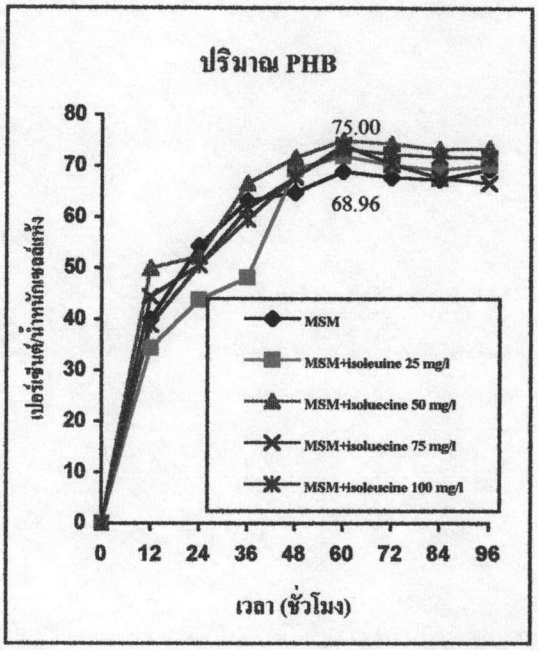
ง. ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต และปริมาณน้ำตาลฟรักโตส เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04ในอาหาร MSM ที่เติมไอโซลิวซีน 100 mg/l

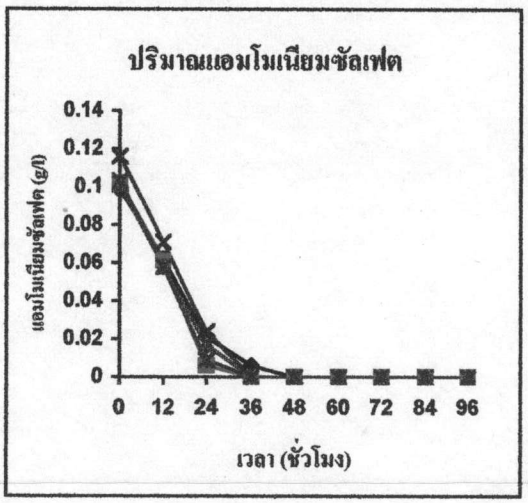
| เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) | มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB (g/l) | ปริมาณ PHB (% by wt.) | แอมโมเนียมซัลเฟต (g/l) | น้ำตาล ฟรักโตส (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0.02 | 0.02 | 0.00 | 0.103 | 20.13 |
| 12 | 0.36 | 0.22 | 38.89 | 0.058 | 18.42 |
| 24 | 0.73 | 0.36 | 50.68 | 0.009 | 16.34 |
| 36 | 0.94 | 0.38 | 59.57 | 0.000 | 16.09 |
| 48 | 1.19 | 0.38 | 68.07 | 0.000 | 15.11 |
| 60 | 1.28 | 0.34 | 73.44 | 0.000 | 14.37 |
| 72 | 1.37 | 0.38 | 72.26 | 0.000 | 13.25 |
| 84 | 1.35 | 0.38 | 71.85 | 0.000 | 12.41 |
| 96 | 1.34 | 0.38 | 71.64 | 0.000 | 12.36 |



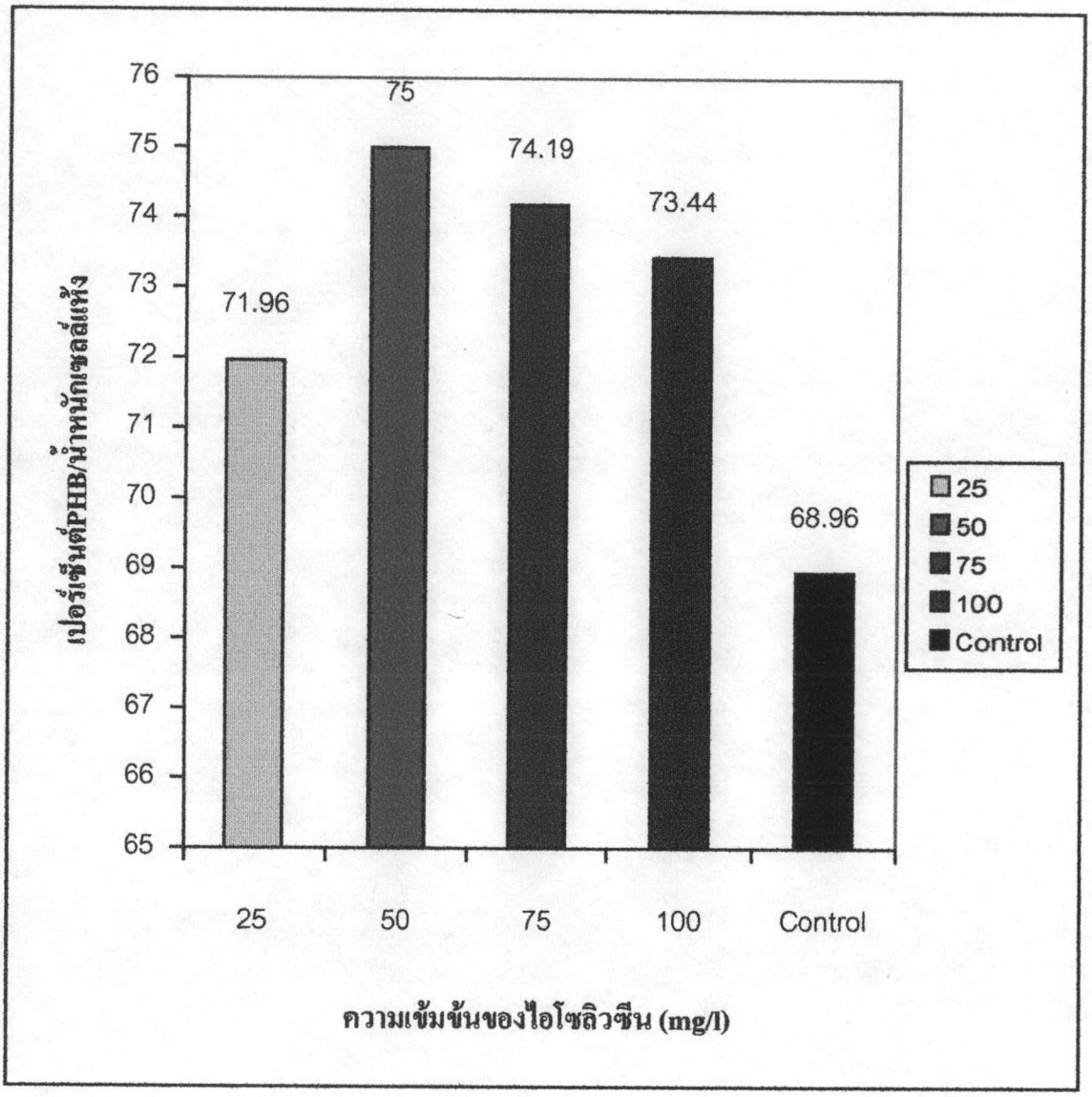




**รูปที่ 24 เปรียบเทียบการเจริญของเซลล์ มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณน้ำตาลฟรักโตส และปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.*A-04 ในอาหาร MSM กับอาหาร MSM ที่เติมไอโซลิวซีน 25 50 75 และ 100 mg/l**




**รูปที่ 25 เปรียบเทียบปริมาณPHB สูงสุด ในการเลี้ยง *Alcaligenes sp. A-04* โดยใช้ความเข้มข้นของไอโซลิวซีน 25 50 75 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร กับการทดลองชุดควบคุม**

**3.4.3 การหาปริมาณอาร์จินีนที่เหมาะสมสำหรับการสังเคราะห์และสะสม PHB โดย *Alcaligenes sp.*A-04**

เลี้ยงเชื้อ *Alcaligenes sp.* A-04 ตามวิธีการทดลองข้อ 2.6.2 โดยใช้อาร์จินีน ความเข้มข้น 25-125 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นซับพลีเมนต์ พบว่า เมื่อใช้อาร์จินีนที่ความเข้มข้นเริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 25 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า *Alcaligenes sp.A-04* สังเคราะห์และสะสม PHB ได้สูงสุดมีค่าประมาณ 72 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ในชั่วโมงที่ 60 และในชั่วโมงเดียวกันนี้น้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงสุดประมาณ 1.0 กรัมต่อลิตร โดยปริมาณ PHB และน้ำหนักเซลล์แห้งนี้เริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 60 เช่นเดียวกัน มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB มีค่าคงที่ประมาณ 0.3 กรัมต่อลิตรตั้งแต่ชั่วโมงที่ 36 พบว่าแอมโมเนียมซัลเฟตถูกใช้หมดตั้งแต่ชั่วโมงที่ 36 เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าน้ำตาลฟรักโตส ถูกใช้ไป 5.42 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 22ก และรูปที่ 26)

เมื่อใช้อาร์จินีนที่ความเข้มข้นเริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า *Alcaligenes sp.A-04* สังเคราะห์และสะสม PHB ได้สูงสุดคิดมีค่าประมาณ 73 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งในชั่วโมงที่ 60 และน้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงสุดประมาณ 1.0 กรัมต่อลิตร โดยที่ปริมาณ PHB และน้ำหนักเซลล์แห้งนี้เริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 และ60 ตามลำดับ มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB มีค่าคงที่ประมาณ 0.3 กรัมต่อลิตรตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 พบว่าแอมโมเนียมซัลเฟตถูกใช้หมดตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 และเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าน้ำตาลฟรักโตสถูกใช้ไป 5.65 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 22ข และรูปที่ 26)

เมื่อใช้อาร์จินีนที่ความเข้มข้นเริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 75 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า *Alcaligenes sp.A-04* สังเคราะห์และสะสม PHB ได้สูงสุดมีค่าประมาณ 76 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ในชั่วโมงที่ 60 และในชั่วโมงเดียวกันนี้น้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงสุดประมาณ 1.2 กรัมต่อลิตร โดยปริมาณ PHB และน้ำหนักเซลล์แห้งนี้เริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 60 เป็นต้นไป มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB มีค่าคงที่ประมาณ 0.3 กรัมต่อลิตรตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 พบว่าแอมโมเนียมซัลเฟตถูกใช้หมดตั้งแต่ชั่วโมงที่ 36 และเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าน้ำตาลฟรักโตสถูกใช้ไป 6.74 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 22ค และรูปที่ 26)

เมื่อใช้อาร์จินีนที่ความเข้มข้นเริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า *Alcaligenes sp.A-04* สังเคราะห์และสะสม PHB ได้สูงสุดมีค่าประมาณ 74 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งในชั่วโมงที่ 60 และในชั่วโมงเดียวกันนี้น้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงสุดประมาณ 1.3 กรัมต่อลิตร โดยปริมาณ PHB และน้ำหนักเซลล์แห้งนี้เริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 60 มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB มีค่าคงที่ประมาณ 0.4 กรัมต่อลิตรตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 พบว่าแอมโมเนียมซัลเฟตถูกใช้หมดตั้งแต่ชั่วโมงที่ 36 และเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าน้ำตาลฟรักโตสถูกใช้ไป 7.68 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 22ง และรูปที่ 26)

เมื่อใช้อาร์จินีนที่ความเข้มข้นเริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 125 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า *Alcaligenes sp.A-04* สังเคราะห์และสะสม PHB ได้สูงสุดมีค่าประมาณ 72 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งในชั่วโมงที่ 60 และในชั่วโมงเดียวกันนี้น้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงสุดประมาณ 1.3 กรัมต่อลิตร โดยปริมาณ PHB และน้ำหนักเซลล์แห้งนี้เริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 60 และ 48 ตามลำดับ มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB มีค่าคงที่ประมาณ 0.4 กรัมต่อลิตรตั้งแต่ชั่วโมงที่ 36 พบว่าแอมโมเนียมซัลเฟตถูกใช้หมดตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 และเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าน้ำตาลฟรักโตสถูกใช้ไป 7.73 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 22จ และรูปที่ 26)

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณPHBของการทดลองที่ใช้อาร์จินีนที่ได้ทำการแปรผันความเข้มข้นเริ่มต้นให้มีค่าเท่ากับ 25 50 75 100 และ 125 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของอาร์จินีนเท่ากับ 75 มิลลิกรัมต่อลิตร *Alcaligenes sp.*A-04 สามารถสังเคราะห์ และสะสม PHB ได้สูงสุดมีค่าประมาณ 76 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ซึ่งมีค่าสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณของ PHB สูงสุด ซึ่ง *Alcaligenes sp.*A-04 สามารถสังเคราะห์และสะสมได้เมื่อเลี้ยงเชื้อโดยใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของอาร์จินีนเท่ากับ 25 50 100 และ125 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งจะได้ปริมาณ PHB มีค่าประมาณเท่ากับ 72 73 74 และ72 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งตามลำดับ (รูปที่ 27) และเมื่อเปรียบเทียบการทดลองที่ใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของอาร์จินีนเป็น 75 มิลลิกรัมต่อลิตรกับการทดลองชุดควบคุม พบว่าในการทดลองที่ใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของอาร์จินีนปริมาณ 75 มิลลิกรัมต่อลิตรจะให้ปริมาณPHBสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่มีค่าประมาณ 68 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ดังนั้นความเข้มข้นของอาร์จินีนที่เหมาะสมในการกระตุ้น การสังเคราะห์และสะสม PHB โดย *Alcaligenes sp.*A-04 คือที่ระดับความเข้มข้น 75 มิลลิกรัมต่อลิตร

ตารางที่ 22 ก. ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต และปริมาณน้ำตาลฟรักโตส เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04 ในอาหาร MSM ที่เติมอาร์จินีน 25 mg/l

| เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) | มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB (g/l) | ปริมาณ PHB (% by wt.) | แอมโมเนียมซัลเฟต (g/l) | น้ำตาล ฟรักโตส (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0.02 | 0.02 | 0.00 | 0.099 | 20.01 |
| 12 | 0.41 | 0.23 | 43.90 | 0.050 | 18.45 |
| 24 | 0.63 | 0.25 | 60.32 | 0.021 | 17.23 |
| 36 | 0.80 | 0.29 | 63.75 | 0.000 | 15.91 |
| 48 | 0.89 | 0.32 | 64.04 | 0.000 | 15.48 |
| 60 | 0.96 | 0.26 | 72.92 | 0.000 | 15.09 |
| 72 | 0.99 | 0.27 | 72.72 | 0.000 | 14.87 |
| 84 | 0.98 | 0.28 | 71.43 | 0.000 | 14.71 |
| 96 | 0.97 | 0.31 | 68.04 | 0.000 | 14.59 |

ข. ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต และปริมาณน้ำตาลฟรักโตส เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04 ในอาหาร MSM ที่เติมอาร์จินีน 50 mg/l

| เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) | มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB (g/l) | ปริมาณ PHB (% by wt.) | แอมโมเนียมซัลเฟต (g/l) | น้ำตาลฟรักโตส (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0.02 | 0.02 | 0.00 | 0.113 | 19.97 |
| 12 | 0.47 | 0.25 | 46.81 | 0.053 | 18.27 |
| 24 | 0.69 | 0.26 | 62.32 | 0.024 | 17.11 |
| 36 | 0.89 | 0.28 | 68.54 | 0.009 | 15.21 |
| 48 | 0.92 | 0.25 | 72.82 | 0.000 | 15.02 |
| 60 | 1.04 | 0.28 | 73.07 | 0.000 | 14.82 |
| 72 | 1.06 | 0.29 | 72.64 | 0.000 | 14.71 |
| 84 | 1.05 | 0.30 | 71.43 | 0.000 | 14.51 |
| 96 | 1.07 | 0.32 | 70.09 | 0.000 | 14.32 |

ค. ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต และปริมาณน้ำตาลฟรักโตส เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-0 4ในอาหาร MSM ที่เติมอาร์จินีน 75 mg/l

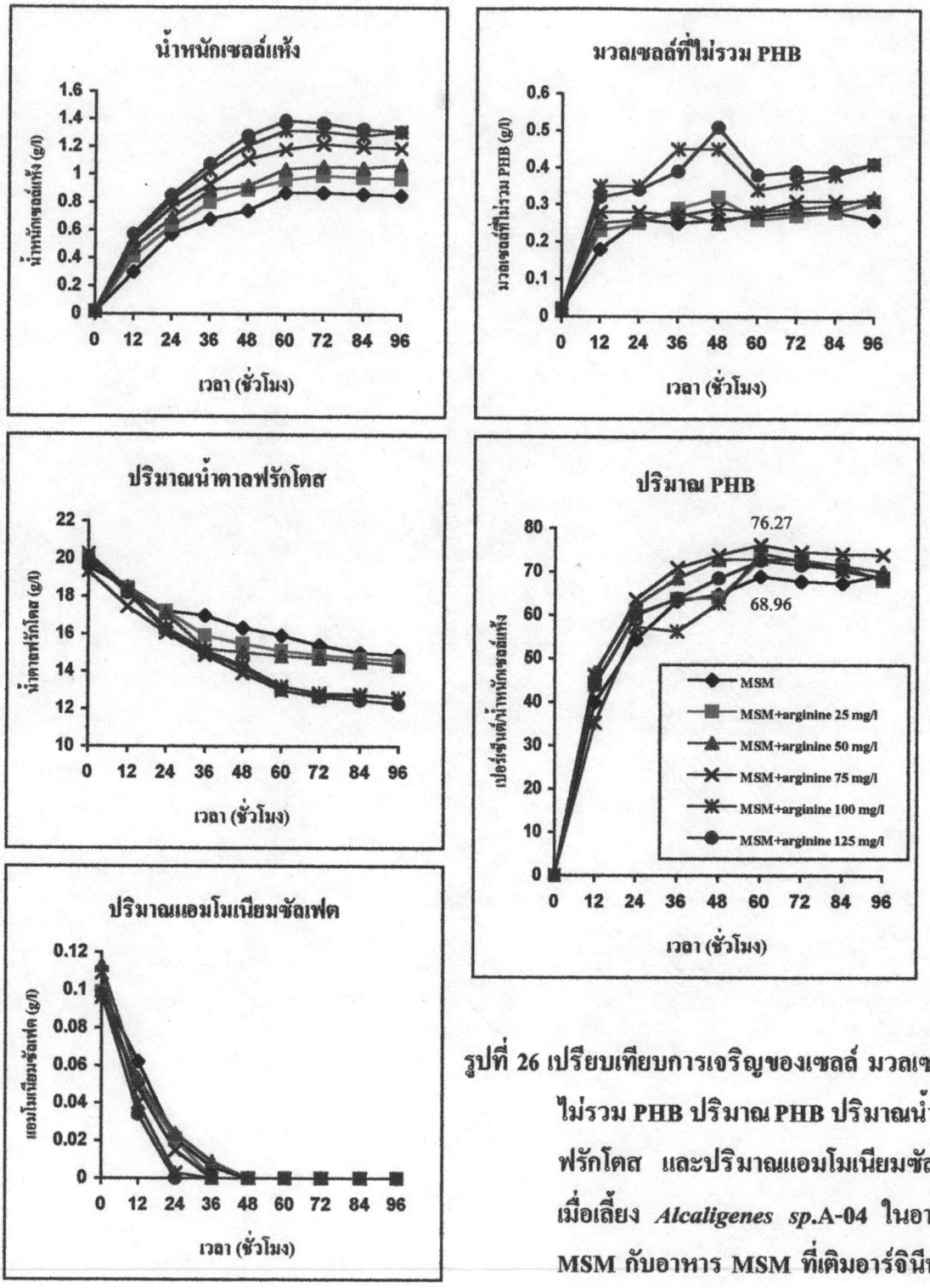
| เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) | มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB (g/l) | ปริมาณ PHB (% by wt.) | แอมโมเนียมซัลเฟต (g/l) | น้ำตาล ฟรักโตส (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0.02 | 0.02 | 0.00 | 0.096 | 19.34 |
| 12 | 0.52 | 0.28 | 46.15 | 0.048 | 17.47 |
| 24 | 0.77 | 0.28 | 63.64 | 0.015 | 16.07 |
| 36 | 0.93 | 0.27 | 70.96 | 0.000 | 14.87 |
| 48 | 1.11 | 0.29 | 73.87 | 0.000 | 13.91 |
| 60 | 1.18 | 0.28 | 76.27 | 0.000 | 12.99 |
| 72 | 1.22 | 0.31 | 74.59 | 0.000 | 12.71 |
| 84 | 1.20 | 0.31 | 74.17 | 0.000 | 12.73 |
| 96 | 1.19 | 0.31 | 73.95 | 0.000 | 12.60 |

ง. ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต และปริมาณน้ำตาลฟรักโตส เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04 ในอาหาร MSM ที่เติมอาร์จินีน 100 mg/l

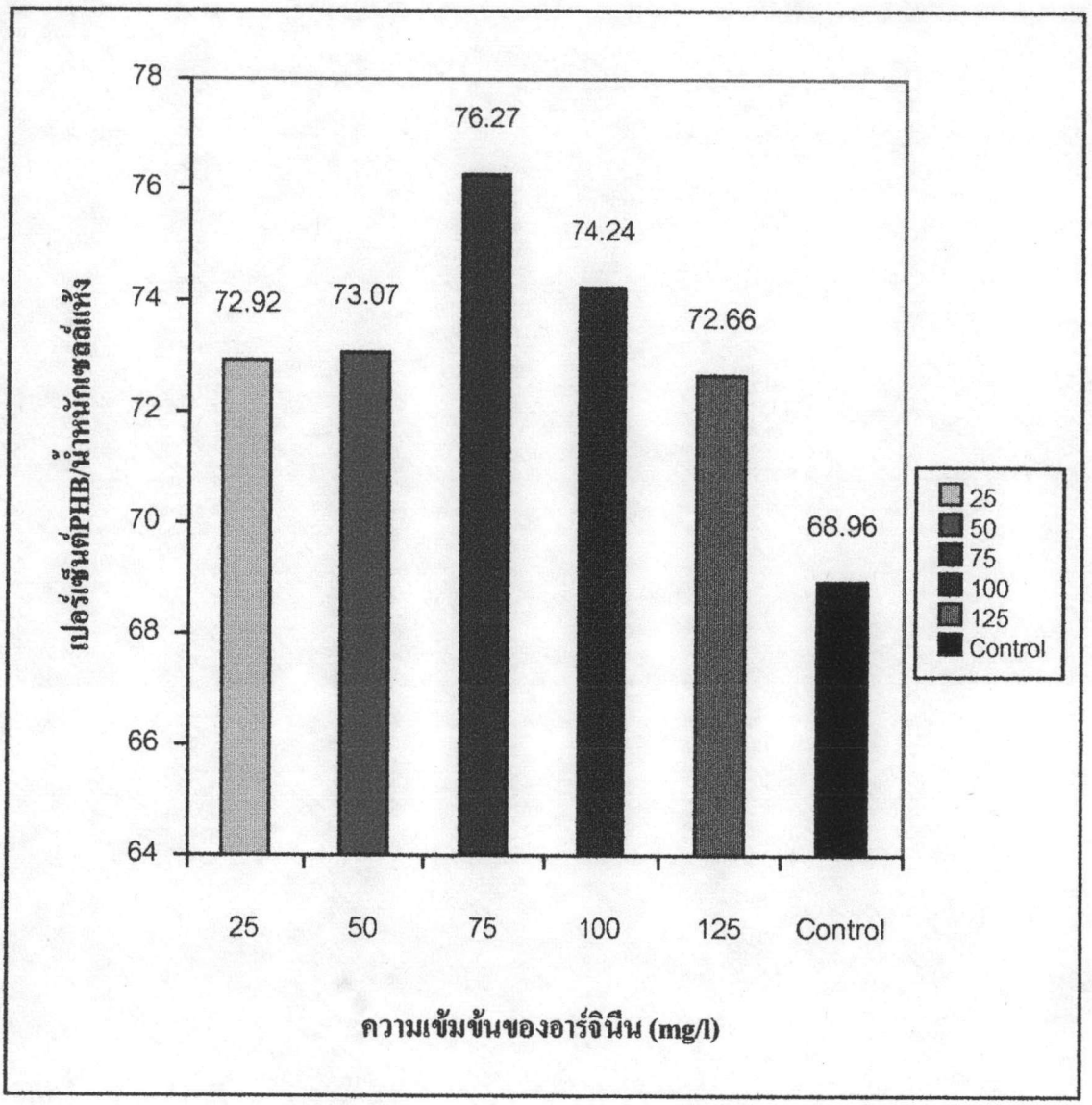
| เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) | มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB (g/l) | ปริมาณ PHB (% by wt.) | แอมโมเนียมซัลเฟต (g/l) | น้ำตาล ฟรักโตส (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0.02 | 0.02 | 0.00 | 0.109 | 20.27 |
| 12 | 0.54 | 0.35 | 35.18 | 0.040 | 18.37 |
| 24 | 0.82 | 0.35 | 57.32 | 0.003 | 16.32 |
| 36 | 1.03 | 0.45 | 56.31 | 0.000 | 15.11 |
| 48 | 1.21 | 0.45 | 62.81 | 0.000 | 14.31 |
| 60 | 1.32 | 0.34 | 74.24 | 0.000 | 13.21 |
| 72 | 1.31 | 0.36 | 72.52 | 0.000 | 12.84 |
| 84 | 1.28 | 0.38 | 70.31 | 0.000 | 12.77 |
| 96 | 1.31 | 0.41 | 68.70 | 0.000 | 12.59 |

จ. ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต และปริมาณน้ำตาลฟรักโตส เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04 ในอาหาร MSM ที่เติมอาร์จินีน 125 mg/l

| เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) | มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB (g/l) | ปริมาณ PHB (% by wt.) | แอมโมเนียมซัลเฟต (g/l) | น้ำตาลฟรักโตส (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0.02 | 0.02 | 0.00 | 0.098 | 20.01 |
| 12 | 0.57 | 0.32 | 43.86 | 0.034 | 18.18 |
| 24 | 0.85 | 0.34 | 60.00 | 0.000 | 16.24 |
| 36 | 1.08 | 0.39 | 63.89 | 0.000 | 15.02 |
| 48 | 1.28 | 0.51 | 68.52 | 0.000 | 14.20 |
| 60 | 1.39 | 0.38 | **72.66** | 0.000 | 13.01 |
| 72 | 1.37 | 0.39 | 71.53 | 0.000 | 12.63 |
| 84 | 1.33 | 0.39 | 70.68 | 0.000 | 12.47 |
| 96 | 1.31 | 0.41 | 68.70 | 0.000 | 12.28 |




**รูปที่ 26 เปรียบเทียบการเจริญของเซลล์ มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณน้ำตาลฟรักโตส และปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.*A-04 ในอาหาร MSM กับอาหาร MSM ที่เติมอาร์จินีน 25 50 75 100 และ 125 mg/l**




**รูปที่ 27 เปรียบเทียบปริมาณPHB สูงสุด ในการเลี้ยง *Alcaligenes sp. A-04* โดยใช้ความเข้มข้นของอาร์จินีน 25 50 75 100 และ 125 มิลลิกรัมต่อลิตร กับการทดลองชุดควบคุม**

**3.4.4 การหาปริมาณเมทไธโอนีนที่เหมาะสมสำหรับการสังเคราะห์และสะสม PHB โดย *Alcaligenes sp.*A-04**

เลี้ยงเชื้อ *Alcaligenes sp.* A-04 ตามวิธีการทดลองข้อ 2.6.2 โดยใช้เมทไธโอนีนความเข้มข้น 25-100 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อใช้เมทไธโอนีนที่ความเข้มข้นเริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 25 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า *Alcaligenes sp.A-04* สังเคราะห์และสะสม PHBได้สูงสุดมีค่าประมาณ 74 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ในชั่วโมงที่ 72 และน้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงสุดประมาณ 1.1 กรัมต่อลิตร โดยปริมาณ PHB และน้ำหนักเซลล์แห้งนี้เริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 60 และ 48 ตามลำดับมวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB มีค่าคงที่ประมาณ 0.3 กรัมต่อลิตรตั้งแต่ชั่วโมงที่ 36 พบว่าแอมโมเนียมซัลเฟตถูกใช้หมดตั้งแต่ชั่วโมงที่ 36 เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าน้ำตาลฟรักโตสถูกใช้ไป 6.29 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 23ก และรูปที่ 28)

เมื่อใช้เมทไธโอนีนที่ความเข้มข้นเริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า *Alcaligenes sp.A-04* สังเคราะห์และสะสม PHB ได้สูงสุดมีค่าประมาณ 76 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งในชั่วโมงที่ 60 และน้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าเป็น 1.2 กรัมต่อลิตร โดยที่ปริมาณ PHB และน้ำหนักเซลล์แห้งนี้เริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 60 และ 48 ตามลำดับ มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHBมีค่าคงที่ประมาณ 0.3 กรัมต่อลิตรตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 พบว่าแอมโมเนียม ซัลเฟตถูกใช้หมดตั้งแต่ชั่วโมงที่ 36 และเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าน้ำตาลฟรักโตสถูกใช้ไป 6.65 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 23ข และรูปที่ 28 )

เมื่อใช้เมทไธโอนีนที่ความเข้มข้นเริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 75 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า *Alcaligenes sp.A-04* สังเคราะห์และสะสม PHB ได้สูงสุดมีค่าประมาณ 75 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ในชั่วโมงที่ 60 และน้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงสุดประมาณ 1.3 กรัมต่อลิตร โดยปริมาณ PHB และน้ำหนักเซลล์แห้งนี้เริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 60 เช่นเดียวกัน มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB มีค่าคงที่ประมาณ 0.3 กรัมต่อลิตรตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 พบว่าแอมโมเนียมซัลเฟตถูกใช้หมดตั้งแต่ชั่วโมงที่ 36 และเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าน้ำตาลฟรักโตสถูกใช้ไป 6.74 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 23ค และรูปที่ 28)

เมื่อใช้เมทไธโอนีนที่ความเข้มข้นเริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า *Alcaligenes sp.A-04* สังเคราะห์และสะสม PHB ได้สูงสุดมีค่าประมาณ 72 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งในชั่วโมงที่ 60 และน้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงสุดประมาณ 1.3 กรัมต่อลิตร โดยปริมาณ PHB และน้ำหนักเซลล์แห้งนี้เริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 เช่นเดียวกัน มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB มีค่าคงที่ประมาณ 0.4 กรัมต่อลิตรตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 พบว่าแอมโมเนียมซัลเฟตถูกใช้หมดตั้งแต่ชั่วโมงที่ 36 และเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าน้ำตาลฟรักโตสถูกใช้ไป 6.84 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 23ง และรูปที่ 28)

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณ PHB ของการทดลองที่ใช้เมทไธโอนีนที่ได้ทำการแปรผันความเข้มข้นเริ่มต้นให้มีค่าเท่ากับ 25 50 75 และ100 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าที่ความเข้มข้นเริ่มต้น

ของเมทไธโอนีนเท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร *Alcaligenes sp.* A-04 สามารถสังเคราะห์และสะสม PHB ได้สูงสุดมีค่าประมาณ 76 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ซึ่งมีค่าสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณของ PHB สูงสุด ซึ่ง *Alcaligenes sp.*A-04 สามารถสังเคราะห์และสะสมได้เมื่อเลี้ยงเชื้อโดยใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของเมทไธโอนีนเท่ากับ 25 75 และ100 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งจะได้ปริมาณ PHB มีค่าประมาณ 74 75 และ72 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งตามลำดับ (รูปที่ 29) และเมื่อเปรียบเทียบการทดลองที่ใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของเมทไธโอนีนเป็น 50 มิลลิกรัมต่อลิตรกับการทดลองชุดควบคุม พบว่าในการทดลองที่ใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของเมทไธโอนีนปริมาณ 50 มิลลิกรัมต่อลิตรจะให้ปริมาณ PHB สูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่มีค่าประมาณ 68 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ดังนั้นความเข้มข้นของเมทไธโอนีนที่เหมาะสมในการกระตุ้นการสังเคราะห์และสะสม PHB โดย *Alcaligenes sp.*A-04 คือที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

ตารางที่ 23 ก. ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต และปริมาณน้ำตาลฟรักโตส เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04 ในอาหาร MSM ที่เติมเมทไธโอนีน 25 mg/l

| เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) | มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB (g/l) | ปริมาณ PHB (% by wt.) | แอมโมเนียมซัลเฟต (g/l) | น้ำตาล ฟรักโตส (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0.02 | 0.02 | 0.00 | 0.102 | 19.93 |
| 12 | 0.45 | 0.29 | 35.55 | 0.051 | 18.92 |
| 24 | 0.73 | 0.39 | 46.57 | 0.012 | 16.98 |
| 36 | 0.91 | 0.31 | 63.93 | 0.000 | 16.54 |
| 48 | 1.07 | 0.33 | 69.16 | 0.000 | 15.83 |
| 60 | 1.12 | 0.30 | 73.21 | 0.000 | 14.94 |
| 72 | 1.14 | 0.29 | 74.56 | 0.000 | 13.95 |
| 84 | 1.15 | 0.31 | 73.04 | 0.000 | 13.81 |
| 96 | 1.12 | 0.31 | 72.32 | 0.000 | 13.64 |

ข. ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต และปริมาณน้ำตาลฟรักโตส เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04 ในอาหาร MSM ที่เติมเมทไธโอนีน 50 mg/l

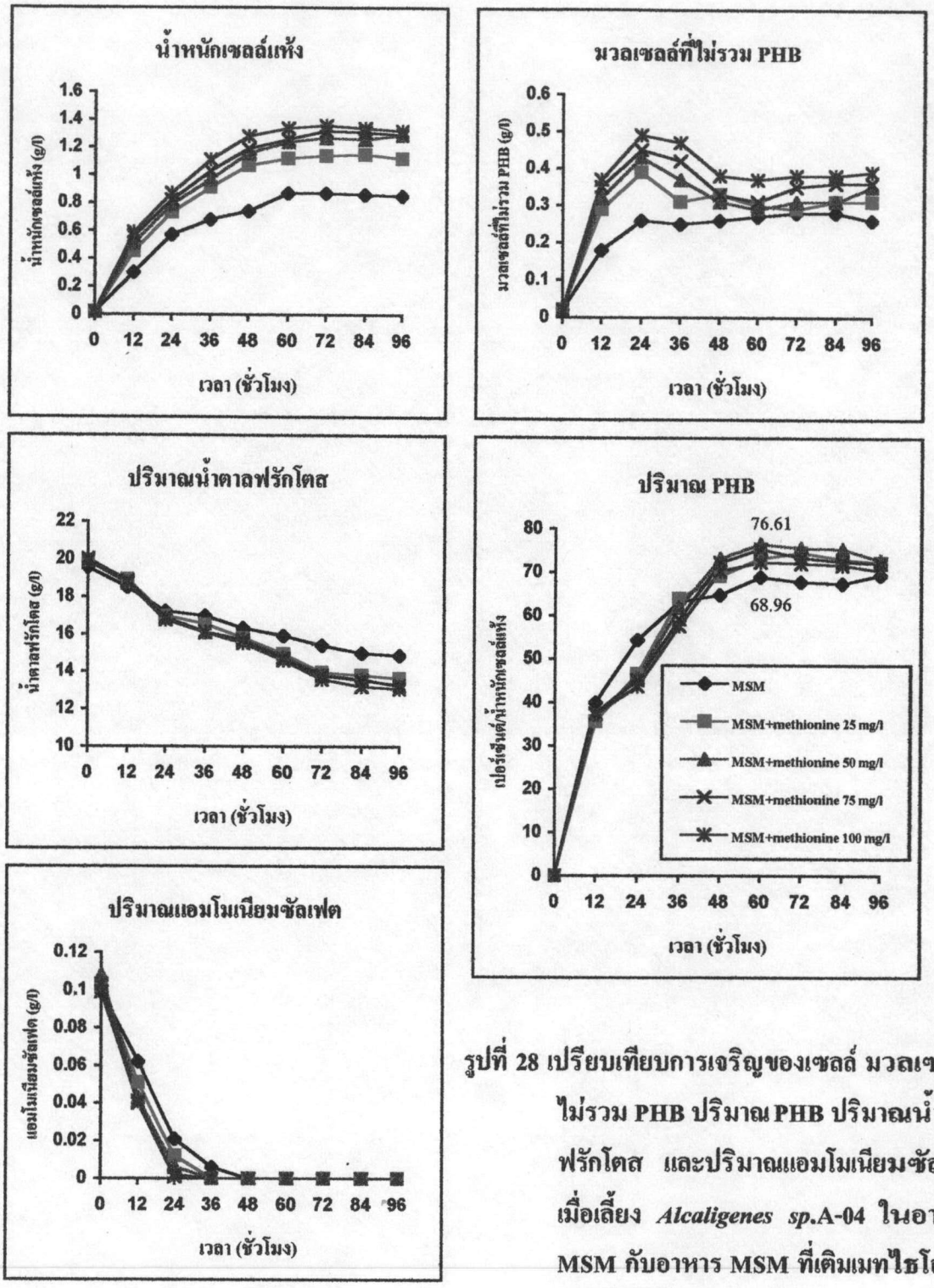
| เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) | มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB (g/l) | ปริมาณ PHB (% by wt.) | แอมโมเนียมซัลเฟต (g/l) | น้ำตาล ฟรักโตส (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0.02 | 0.02 | 0.00 | 0.108 | 19.89 |
| 12 | 0.51 | 0.32 | 37.25 | 0.043 | 18.72 |
| 24 | 0.79 | 0.43 | 45.57 | 0.006 | 16.84 |
| 36 | 0.97 | 0.37 | 61.85 | 0.000 | 16.11 |
| 48 | 1.16 | 0.31 | 73.27 | 0.000 | 15.72 |
| 60 | 1.24 | 0.29 | 76.61 | 0.000 | 14.75 |
| 72 | 1.27 | 0.31 | 75.59 | 0.000 | 13.83 |
| 84 | 1.26 | 0.31 | 75.39 | 0.000 | 13.60 |
| 96 | 1.29 | 0.35 | 72.87 | 0.000 | 13.24 |

ค. ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณแอมโมเนียม ซัลเฟต และปริมาณน้ำตาลฟรักโตส เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04 ในอาหาร MSM ที่เติมเมทไธโอนีน 75 mg/l

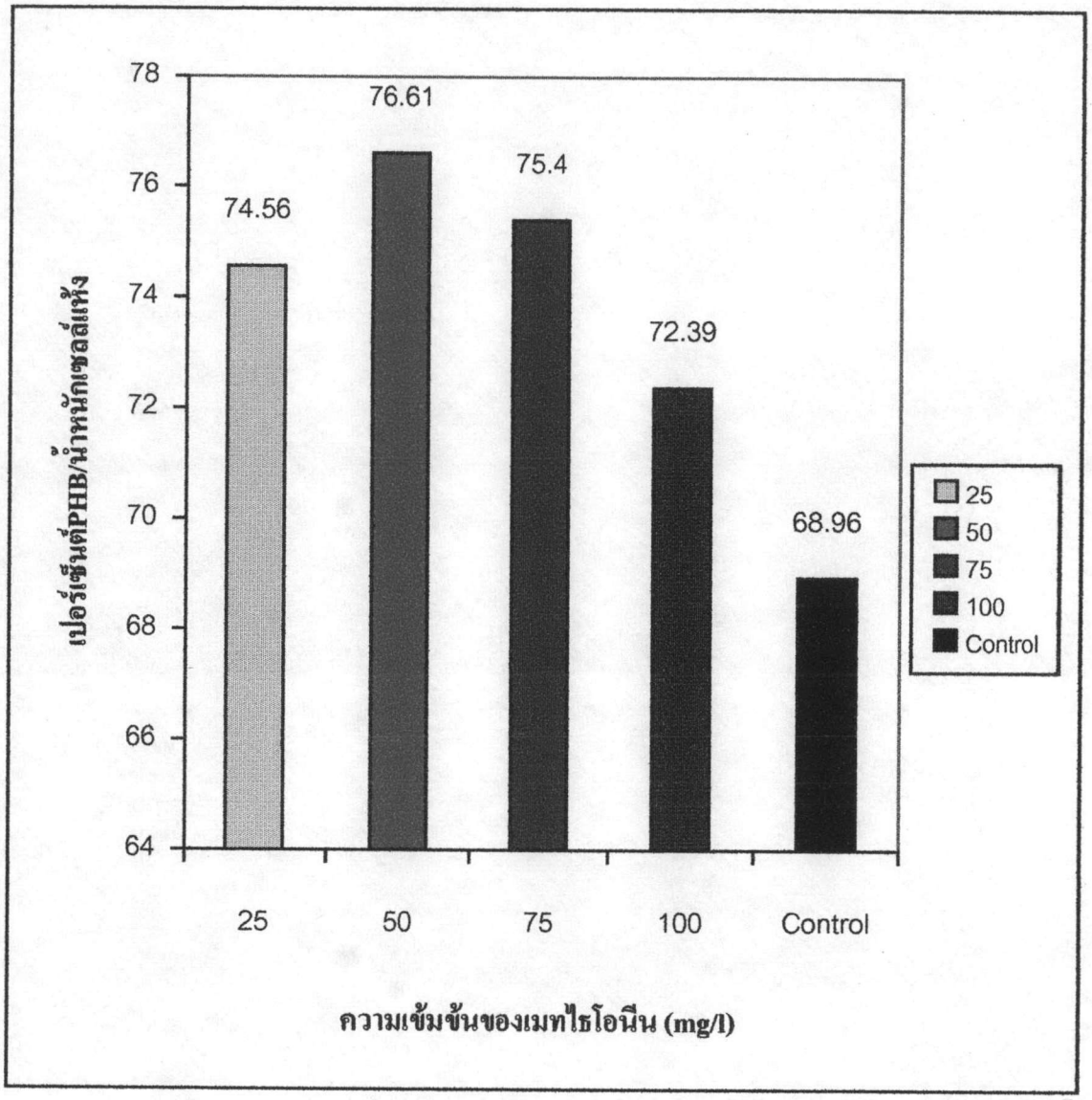
| เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) | มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB (g/l) | ปริมาณ PHB (% by wt.) | แอมโมเนียมซัลเฟต (g/l) | น้ำตาล ฟรักโตส (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0.02 | 0.02 | 0.00 | 0.099 | 20.03 |
| 12 | 0.56 | 0.35 | 37.50 | 0.040 | 18.84 |
| 24 | 0.82 | 0.45 | 45.12 | 0.002 | 16.87 |
| 36 | 1.03 | 0.42 | 59.22 | 0.000 | 16.12 |
| 48 | 1.19 | 0.33 | 72.27 | 0.000 | 15.68 |
| 60 | 1.26 | 0.31 | 75.40 | 0.000 | 14.70 |
| 72 | 1.32 | 0.35 | 73.48 | 0.000 | 13.78 |
| 84 | 1.31 | 0.36 | 72.52 | 0.000 | 13.54 |
| 96 | 1.29 | 0.36 | 72.09 | 0.000 | 13.29 |

ง. ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณแอมโมเนียม ซัลเฟต และปริมาณน้ำตาลฟรักโตส เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04 ในอาหาร MSM ที่เติมเมทไธโอนีน 100 mg/l

| เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) | มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB (g/l) | ปริมาณ PHB (% by wt.) | แอมโมเนียมซัลเฟต (g/l) | น้ำตาล ฟรักโตส (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0.02 | 0.02 | 0.00 | 0.103 | 19.93 |
| 12 | 0.59 | 0.37 | 37.29 | 0.041 | 18.72 |
| 24 | 0.87 | 0.49 | 43.68 | 0.001 | 16.76 |
| 36 | 1.11 | 0.47 | 57.66 | 0.000 | 16.08 |
| 48 | 1.28 | 0.38 | 70.31 | 0.000 | 15.53 |
| 60 | 1.34 | 0.37 | 72.39 | 0.000 | 14.62 |
| 72 | 1.36 | 0.38 | 72.06 | 0.000 | 13.60 |
| 84 | 1.34 | 0.38 | 71.64 | 0.000 | 13.21 |
| 96 | 1.32 | 0.39 | 70.45 | 0.000 | 13.09 |




**รูปที่ 28 เปรียบเทียบการเจริญของเซลล์ มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณน้ำตาลฟรักโตส และปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.*A-04 ในอาหาร MSM กับอาหาร MSM ที่เติมเมทไธโอนีน 25 50 75 และ 100 mg/l**




**รูปที่ 29 เปรียบเทียบปริมาณPHB สูงสุด ในการเลี้ยง *Alcaligenes sp. A-04* โดยใช้ความเข้มข้นของเมทไธโอนีน 25 50 75 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร กับการทดลองชุดควบคุม**

**3.5 การหาปริมาณกรดไขมันที่เหมาะสมสำหรับการสังเคราะห์และสะสม PHB โดย *Alcaligenes sp.*A-04**

**3.5.1 การหาปริมาณกรดโอเลอิกที่เหมาะสมสำหรับการสังเคราะห์และสะสม PHB โดย *Alcaligenes sp.*A-04**

เลี้ยงเชื้อ *Alcaligenes sp.* A-04 ตามวิธีการทดลองข้อ 2.7 โดยที่ใช้กรดโอเลอิกความเข้มข้น1.0-15.0 มิลลิโมลาร์ เมื่อใช้กรดโอเลอิกที่ความเข้มข้นเริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 1.0 มิลลิโมลาร์ พบว่า *Alcaligenes sp.A-04* สังเคราะห์และสะสม PHB ได้สูงสุดมีค่าประมาณ 69 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ในชั่วโมงที่ 60 โดยปริมาณ PHB เริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 60 น้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าคงที่ประมาณ 0.9 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 60 มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB มีค่าคงที่ประมาณ 0.3 กรัมต่อลิตรตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 พบว่าแอมโมเนียมซัลเฟตถูกใช้หมดตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าน้ำตาลฟรักโตสถูกใช้ไป 4.19 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 24ก และรูปที่ 30)

เมื่อใช้กรดโอเลอิกที่ความเข้มข้นเริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 2.5 มิลลิโมลาร์ พบว่า *Alcaligenes sp.A-04* สังเคราะห์และสะสม PHB ได้สูงสุดมีค่าประมาณ 71 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ในชั่วโมงที่ 60 โดยปริมาณ PHB เริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 น้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงประมาณ 0.9 กรัมต่อลิตร โดยเริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 60 มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHBมีค่าคงที่ประมาณ 0.2 กรัมต่อลิตรตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 พบว่าแอมโมเนียมซัลเฟตถูกใช้หมดตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าน้ำตาลฟรักโตสถูกใช้ไป 4.02 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 24ข และรูปที่ 30)

เมื่อใช้กรดโอเลอิกที่ความเข้มข้นเริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า *Alcaligenes sp.A-04* สังเคราะห์และสะสม PHB ได้สูงสุดมีค่าประมาณ 74 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ในชั่วโมงที่ 60 โดยปริมาณ PHB เริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 น้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงประมาณ 1.0 กรัมต่อลิตร โดยน้ำหนักเซลล์แห้งนี้เริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB มีค่าคงที่ประมาณ 0.3 กรัมต่อลิตรตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 พบว่าแอมโมเนียมซัลเฟตถูกใช้หมดตั้งแต่ชั่วโมงที่ 36 เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าน้ำตาลฟรักโตสถูกใช้ไป 5.18 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 24 ค และรูปที่ 30)

เมื่อใช้กรดโอเลอิกที่ความเข้มข้นเริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 10.0 มิลลิโมลาร์ พบว่า *Alcaligenes sp.A-04* สังเคราะห์และสะสม PHB ได้สูงสุดมีค่าประมาณ 78 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ในชั่วโมงที่ 60 โดยปริมาณ PHB เริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 น้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงประมาณ 1.0 กรัมต่อลิตร โดยเริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 60 มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB มีค่าคงที่ประมาณ 0.2 กรัมต่อลิตรตั้งแต่ชั่วโมงที่ 36 พบว่าแอมโมเนียมซัลเฟต

ถูกใช้หมดตั้งแต่ชั่วโมงที่ 36 และเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าน้ำตาลฟรักโตสถูกใช้ไป 5.6 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 24ง และรูปที่ 30)

เมื่อใช้กรดโอเลอิกที่ความเข้มข้นเริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 15.0 มิลลิโมลาร์ พบว่า *Alcaligenes sp.A-04* สังเคราะห์และสะสม PHB ได้สูงสุดมีค่าประมาณ 77 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ในชั่วโมงที่ 60 โดยปริมาณ PHB เริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 น้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าคงที่ประมาณ 1.1 กรัมต่อลิตรตั้งแต่ชั่วโมงที่ 60 มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB มีค่าคงที่ประมาณ 0.2 กรัมต่อลิตรตั้งแต่ชั่วโมงที่ 36 พบว่าแอมโมเนียมซัลเฟตถูกใช้หมดตั้งแต่ชั่วโมงที่ 36 และเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าน้ำตาลฟรักโตสถูกใช้ไป 5.02 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 24จ และรูปที่ 30)

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณ PHB ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งของการทดลองที่ใช้กรดโอเลอิกซึ่งแปรผันความเข้มข้นเริ่มต้นให้มีค่าเท่ากับ 1.0 2.5 5.0 10.0 และ15.0 มิลลิโมลาร์ พบว่าที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของกรดโอเลอิกเท่ากับ 10.0 มิลลิโมลาร์ *Alcaligenes sp.*A-04จะสามารถสังเคราะห์และสะสม PHB สูงสุดมีค่าประมาณ 78 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ซึ่งมีค่าสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณ PHB สูงสุด ซึ่ง*Alcaligenes sp.*A-04 สามารถสังเคราะห์และสะสมได้เมื่อเลี้ยงเชื้อโดยใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของกรดโอเลอิกเท่ากับ 1.0 2.5 5.0 และ 15.0 มิลลิโมลาร์ ซึ่งได้ปริมาณ PHB สูงสุดมีค่าประมาณ 69 71 74 และ 77 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบการทดลองที่ใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของกรดโอเลอิก เป็น 10.0 มิลลิโมลาร์กับชุดควบคุม พบว่าในการทดลองที่ใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของกรดโอเลอิก เท่ากับ 10.0 มิลลิโมลาร์ *Alcaligenes sp.*A-04 สามารถสังเคราะห์และสะสม PHB ได้สูงกว่าชุดควบคุมที่มีค่าประมาณ 68 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง (รูปที่ 31) ดังนั้นความเข้มข้นที่น้อยที่สุดของกรดโอเลอิกที่เหมาะสมในการกระตุ้นการ สังเคราะห์และสะสม PHB โดย *Alcaligenes sp.*A-04 คือที่ระดับความเข้มข้น 10.0 มิลลิโมลาร์

ตารางที่ 24 ก. ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณ แอมโมเนียมซัลเฟต และปริมาณน้ำตาลฟรักโตสเมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04 ในอาหาร MSM ที่เติมกรดโอเลอิก 1 mM

| เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) | มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB (g/l) | ปริมาณ PHB (% by wt.) | แอมโมเนียมซัลเฟต (g/l) | น้ำตาล ฟรักโตส (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0.03 | 0.03 | 0.00 | 0.102 | 19.62 |
| 12 | 0.35 | 0.18 | 48.57 | 0.060 | 18.57 |
| 24 | 0.64 | 0.31 | 51.56 | 0.041 | 17.56 |
| 36 | 0.72 | 0.29 | 59.72 | 0.010 | 17.11 |
| 48 | 0.78 | 0.29 | 62.82 | 0.000 | 16.87 |
| 60 | 0.95 | 0.29 | 69.47 | 0.000 | 16.26 |
| 72 | 0.99 | 0.31 | 68.69 | 0.000 | 15.99 |
| 84 | 0.94 | 0.31 | 67.02 | 0.000 | 15.71 |
| 96 | 0.95 | 0.32 | 66.32 | 0.000 | 15.43 |

ข. ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณ แอมโมเนียมซัลเฟต และปริมาณน้ำตาลฟรักโตสเมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04 ในอาหาร MSM ที่เติมกรดโอเลอิก 2.5 mM

| เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) | มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB (g/l) | ปริมาณ PHB (% by wt.) | แอมโมเนียมซัลเฟต (g/l) | น้ำตาลฟรักโตส (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0.03 | 0.03 | 0.00 | 0.098 | 19.23 |
| 12 | 0.40 | 0.19 | 52.50 | 0.055 | 18.07 |
| 24 | 0.70 | 0.28 | 60.00 | 0.038 | 17.01 |
| 36 | 0.77 | 0.26 | 60.23 | 0.002 | 16.74 |
| 48 | 0.81 | 0.24 | 70.37 | 0.000 | 16.51 |
| 60 | 0.94 | 0.27 | 71.27 | 0.000 | 15.89 |
| 72 | 0.94 | 0.28 | 70.21 | 0.000 | 15.42 |
| 84 | 0.94 | 0.29 | 69.51 | 0.000 | 15.17 |
| 96 | 0.93 | 0.27 | 70.97 | 0.000 | 15.21 |

ค. ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต และปริมาณน้ำตาลฟรักโตสเมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04 ในอาหาร MSM ที่เติมกรดโอเลอิก 5 mM

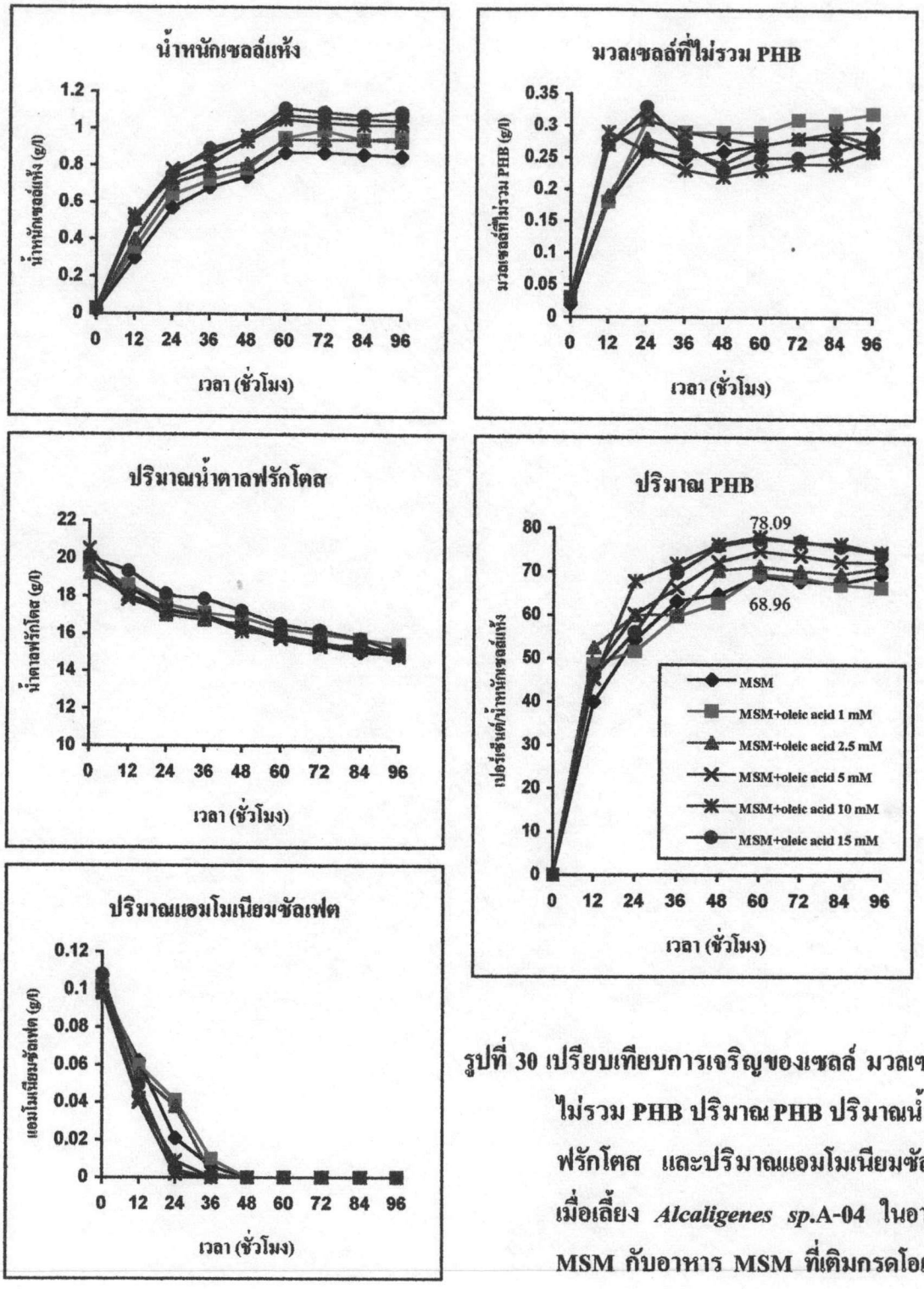
| เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) | มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB (g/l) | ปริมาณ PHB (% by wt.) | แอมโมเนียมซัลเฟต (g/l) | น้ำตาล ฟรักโตส (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0.03 | 0.03 | 0.00 | 0.099 | 19.97 |
| 12 | 0.51 | 0.27 | 47.06 | 0.040 | 17.83 |
| 24 | 0.78 | 0.31 | 60.26 | 0.002 | 17.19 |
| 36 | 0.86 | 0.29 | 66.28 | 0.000 | 16.91 |
| 48 | 0.96 | 0.28 | 72.34 | 0.000 | 16.32 |
| 60 | 1.07 | 0.27 | 74.77 | 0.000 | 15.72 |
| 72 | 1.06 | 0.28 | 73.58 | 0.000 | 15.31 |
| 84 | 1.05 | 0.29 | 72.38 | 0.000 | 15.41 |
| 96 | 1.04 | 0.29 | 72.11 | 0.000 | 14.79 |

ง. ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต และปริมาณน้ำตาลฟรักโตสเมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.*A-04ในอาหาร MSM ที่เติมกรดโอเลอิก 10 mM

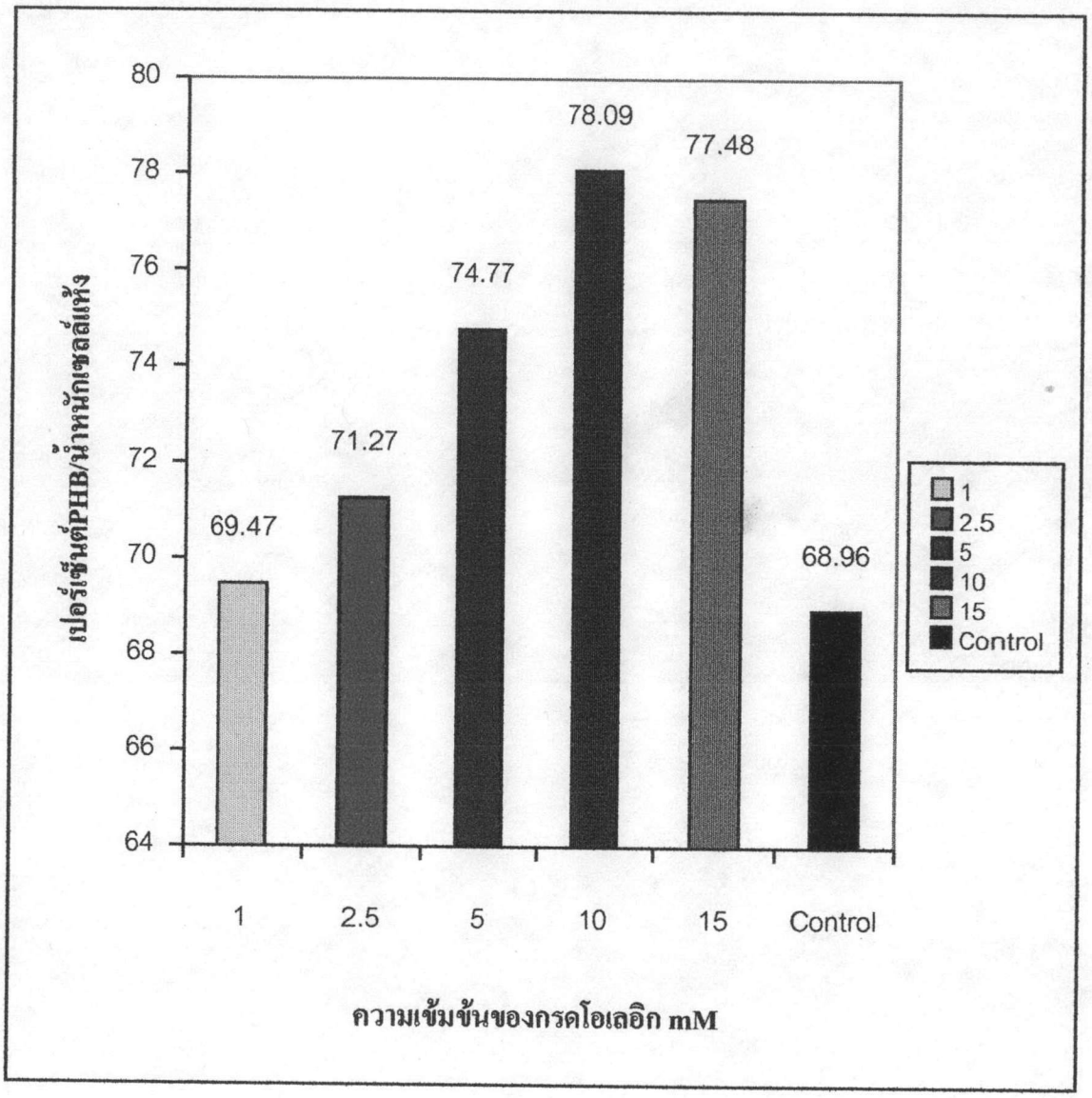
| เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) | มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB (g/l) | ปริมาณ PHB (% by wt.) | แอมโมเนียมซัลเฟต (g/l) | น้ำตาล ฟรักโตส (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0.03 | 0.03 | 0.00 | 0.104 | 20.52 |
| 12 | 0.53 | 0.29 | 45.28 | 0.042 | 18.01 |
| 24 | 0.73 | 0.26 | 64.78 | 0.009 | 17.32 |
| 36 | 0.81 | 0.23 | 71.92 | 0.000 | 16.89 |
| 48 | 0.93 | 0.22 | 76.34 | 0.000 | 16.14 |
| 60 | 1.05 | 0.23 | 78.09 | 0.000 | 15.91 |
| 72 | 1.03 | 0.24 | 76.69 | 0.000 | 15.52 |
| 84 | 1.02 | 0.24 | 76.47 | 0.000 | 15.16 |
| 96 | 1.02 | 0.26 | 74.51 | 0.000 | 14.92 |

จ. ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต และปริมาณน้ำตาลฟรักโตสเมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04 ในอาหาร MSM ที่เติมกรดโอเลอิก 15 mM

| เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) | มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB (g/l) | ปริมาณ PHB (% by wt.) | แอมโมเนียมซัลเฟต (g/l) | น้ำตาลฟรักโตส (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0.03 | 0.03 | 0.00 | 0.108 | 20.04 |
| 12 | 0.50 | 0.27 | 46.00 | 0.049 | 19.32 |
| 24 | 0.75 | 0.33 | 56.09 | 0.004 | 18.11 |
| 36 | 0.89 | 0.27 | 69.69 | 0.000 | 17.84 |
| 48 | 0.95 | 0.23 | 75.92 | 0.000 | 17.21 |
| 60 | 1.11 | 0.25 | 77.48 | 0.000 | 16.52 |
| 72 | 1.09 | 0.25 | 77.06 | 0.000 | 16.17 |
| 84 | 1.07 | 0.26 | 75.70 | 0.000 | 15.72 |
| 96 | 1.09 | 0.28 | 74.31 | 0.000 | 15.02 |




**รูปที่ 30 เปรียบเทียบการเจริญของเซลล์ มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณน้ำตาลฟรักโตส และปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.*A-04 ในอาหาร MSM กับอาหาร MSM ที่เติมกรดโอเลอิก 1 2.5 5 10 และ 15 mM**




**รูปที่ 31 เปรียบเทียบปริมาณPHB สูงสุด ในการเลี้ยง *Alcaligenes sp. A-04* โดยใช้ความเข้มข้นของกรดโอเลอิก 1 2.5 5 10 และ 15 มิลลิโมลาร์ กับการทดลองชุดควบคุม**

### 3.5.2 การศึกษาผลของกรดปาล์มิติกและกรดสเตียริกต่อการสังเคราะห์และสะสม PHB โดย *Alcaligenes sp.*A-04

จากผลการทดลองข้อ 3.5.1 แสดงให้เห็นว่าการเติมกรดโอเลอิกที่ความเข้มข้น 10.0 มิลลิโมลาร์ ทำให้ *Alcaligenes sp.*A-04 สังเคราะห์และสะสม PHB ได้เพิ่มขึ้น ผู้วิจัยจึงเกิดแนวความคิดที่จะศึกษาถึงผลของกรดปาล์มิกติกและกรดสเตียริก ซึ่งเป็นกรดไขมันสายยาว ต่อการสังเคราะห์และสะสม PHB โดยเชื้อนี้ แต่เนื่องจากกรดไขมันทั้ง 2 ชนิดนี้เป็นของแข็งที่ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น อีเทอร์ แอลกอฮอร์ เป็นต้น ดังนั้นผู้วิจัยจึงได้เลือกใช้ตัวทำละลายที่อาจเป็นพิษต่อเซลล์น้อยที่สุด โดยเลือกใช้เอทธานอล แต่พบว่าความเข้มข้นน้อยที่สุดของเอทธานอลที่สามารถละลาย กรดปาล์มิติก และกรดสเตียริกได้นั้น ส่งผลยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Alcaligenes sp.*A-04 ผู้วิจัยจึงเปลี่ยนแนวความคิดมาศึกษาผลของกรดไขมันสายสั้นต่อการสังเคราะห์และสะสม PHB โดย *Alcaligenes sp.*A-04 ต่อไป

### 3.6 การหาปริมาณกรดอินทรีย์ที่เหมาะสมสำหรับการสังเคราะห์และสะสมPHB โดย *Alcaligenes sp.*A-04

#### 3.6.1 การหาปริมาณกรดกลูโคนิกที่เหมาะสมสำหรับการสังเคราะห์และสะสม PHB โดย *Alcaligenes sp.*A-04

เลี้ยงเชื้อ *Alcaligenes sp.* A-04 ตามวิธีการทดลองข้อ 2.8 โดยใช้กรดกลูโคนิกที่ความเข้มข้นเริ่มต้นเท่ากับ 0.25-1.00 กรัมต่อลิตร พบว่าเมื่อใช้กรดกลูโคนิกที่ความเข้มข้นเริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 0.25 กรัมต่อลิตร พบว่า *Alcaligenes sp.A-04* สังเคราะห์และสะสม PHB ได้สูงสุดมีค่าประมาณ 75 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ในชั่วโมงที่ 60 โดยปริมาณ PHB เริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 60 น้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าคงที่ประมาณ 0.9 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 48 มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB มีค่าคงที่ประมาณ 0.2 กรัมต่อลิตรตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 พบว่าแอมโมเนียมซัลเฟตถูกใช้หมดตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าน้ำตาลฟรักโตสถูกใช้ไป 5.11 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 25ก และรูปที่ 32)

เมื่อใช้กรดกลูโคนิกที่ความเข้มข้นเริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 0.50 กรัมต่อลิตร พบว่า *Alcaligenes sp.A-04* สังเคราะห์และสะสม PHB ได้สูงสุดมีค่าประมาณ 79 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ในชั่วโมงที่ 60 โดยปริมาณ PHB เริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 60 น้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงประมาณ 0.9 กรัมต่อลิตร โดยเริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 60 มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB มีค่าคงที่ประมาณ 0.2 กรัมต่อลิตรตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 พบว่าแอมโมเนียมซัลเฟตถูกใช้หมดตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าน้ำตาลฟรักโตสถูกใช้ไป 5.14 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 25ข และรูปที่ 32)

เมื่อใช้กรดกลูโคนิกที่ความเข้มข้นเริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 0.75 กรัมต่อลิตร พบว่า *Alcaligenes sp.A-04* สังเคราะห์และสะสม PHB ได้สูงสุดมีค่าประมาณ 81 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ในชั่วโมงที่ 60 โดยปริมาณ PHB เริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 60 น้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าคงที่ประมาณ 0.9 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 60 มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB มีค่าคงที่ประมาณ 0.2 กรัมต่อลิตรตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 พบว่าแอมโมเนียมซัลเฟตถูกใช้หมดตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าน้ำตาลฟรักโตสถูกใช้ไป 5.06 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 25ค และรูปที่ 32)

เมื่อใช้กรดกลูโคนิกที่ความเข้มข้นเริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 1.00 กรัมต่อลิตร พบว่า *Alcaligenes sp.A-04* สังเคราะห์และสะสมPHBได้สูงสุดมีค่าประมาณ 79 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ในชั่วโมงที่ 60 โดยปริมาณPHBเริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 60 น้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงประมาณ 1.0 กรัมต่อลิตร โดยเริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 60 มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHBมีค่าคงที่ประมาณ 0.2 กรัมต่อลิตรตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 พบว่าแอมโมเนียมซัลเฟตถูกใช้

หมดตั้งแต่ชั่วโมงที่ 36 และเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าน้ำตาลฟรักโตสถูกใช้ไป 5.31 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 25ง และรูปที่ 32)

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณ PHB ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งของการทดลองที่ใช้กรดกลูโคนิกซึ่งแปรผันความเข้มข้นเริ่มต้นให้มีค่าเท่ากับ 0.25 0.50 0.75 และ 1.00 กรัมต่อลิตร พบว่าที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของกรดกลูโคนิกเท่ากับ 0.75 กรัมต่อลิตร *Alcaligenes sp.*A-04 จะสามารถสังเคราะห์และสะสม PHB สูงสุดมีค่าประมาณ 81 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ซึ่งมีค่าสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณ PHB สูงสุด ซึ่ง *Alcaligenes sp.*A-04 สามารถสังเคราะห์และสะสมได้เมื่อเลี้ยงเชื้อโดยใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของกรดกลูโคนิกเท่ากับ 0.25 0.50 และ1.00 กรัมต่อลิตรซึ่งจะได้ปริมาณ PHB สูงสุดมีค่าประมาณ 75 79 และ79 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ตามลำดับ (รูปที่ 33) และเมื่อเปรียบเทียบการทดลองที่ใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของกรดกลูโคนิกเป็น 0.75 กรัมต่อลิตรกับชุดควบคุม พบว่าในการทดลองที่ใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของกรดกลูโคนิกเท่ากับ 0.75 กรัมต่อลิตร Alcaligenes sp.A-04 สามารถสังเคราะห์และสะสม PHB ได้สูงกว่าชุดควบคุมที่มีค่าประมาณ 68 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งดังนั้นความเข้มข้นของกรดกลูโคนิกที่เหมาะสมในการกระตุ้นการสังเคราะห์และสะสม PHB โดย *Alcaligenes sp* .A-04 คือ ที่ระดับความเข้มข้น 0.75 มิกรัมต่อลิตร

ตารางที่ 25 ก. ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต และปริมาณน้ำตาลฟรักโตส เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04 ในอาหาร MSM ที่เติมกรดกลูโคนิก 0.25 g/l

| เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) | มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB (g/l) | ปริมาณPHB (% by wt.) | แอมโมเนียมซัลเฟต (g/l) | น้ำตาลฟรักโตส (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0.02 | 0.02 | 0.00 | 0.104 | 20.12 |
| 12 | 0.30 | 0.14 | 53.33 | 0.069 | 18.62 |
| 24 | 0.58 | 0.23 | 60.34 | 0.021 | 17.43 |
| 36 | 0.70 | 0.24 | 65.71 | 0.003 | 16.98 |
| 48 | 0.93 | 0.28 | 69.89 | 0.000 | 16.47 |
| 60 | 0.93 | 0.23 | 75.27 | 0.000 | 16.02 |
| 72 | 0.91 | 0.23 | 74.72 | 0.000 | 15.64 |
| 84 | 0.90 | 0.22 | 75.55 | 0.000 | 15.21 |
| 96 | 0.88 | 0.23 | 73.86 | 0.000 | 15.01 |

ข. ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต และปริมาณน้ำตาลฟรักโตส เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04 ในอาหาร MSM ที่เติมกรดกลูโคนิก 0.50 g/l

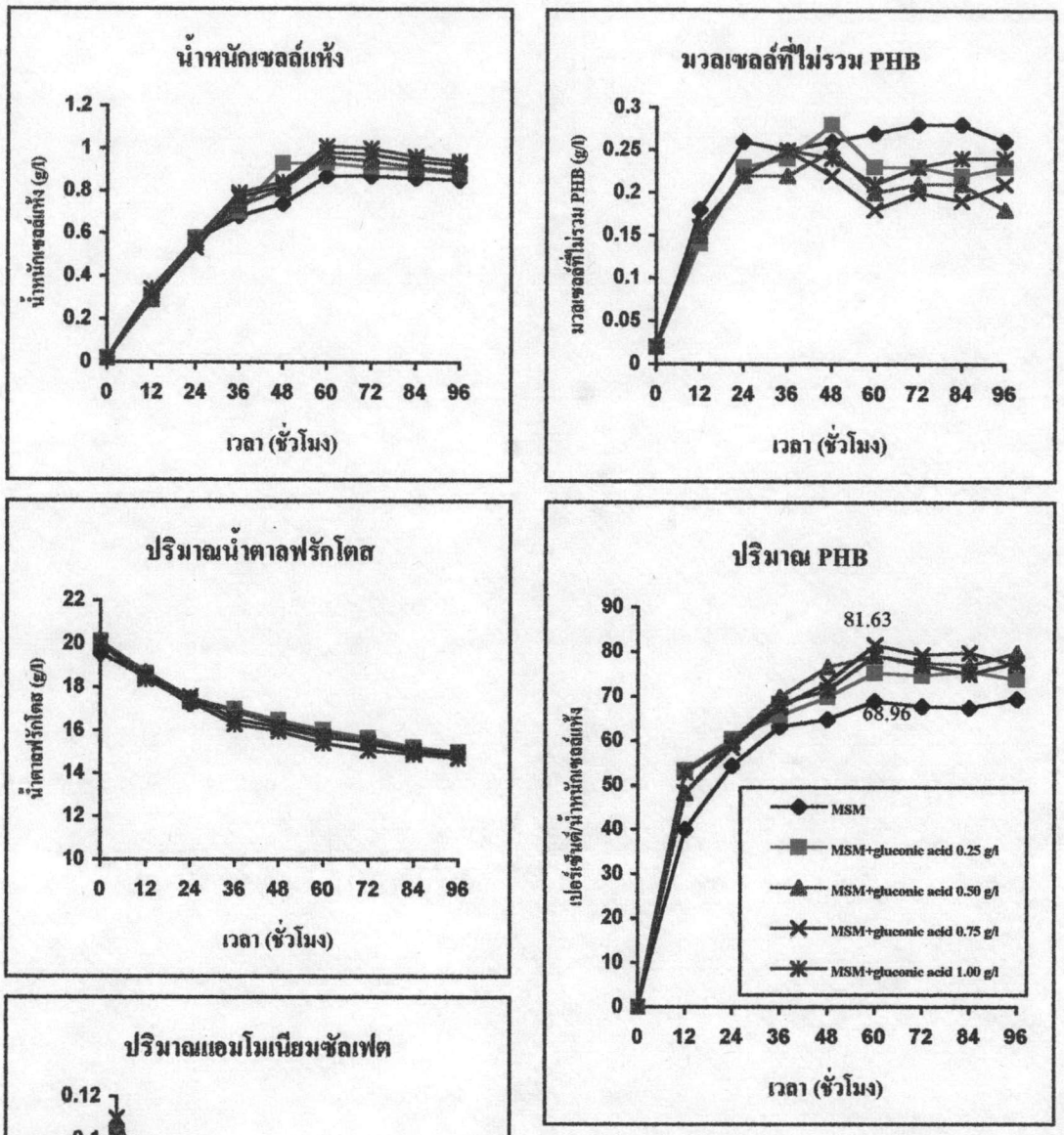
| เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) | มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB (g/l) | ปริมาณ PHB (% by wt.) | แอมโมเนียมซัลเฟต (g/l) | น้ำตาล ฟรักโตส (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0.02 | 0.02 | 0.00 | 0.109 | 20.11 |
| 12 | 0.29 | 0.15 | 48.27 | 0.071 | 18.69 |
| 24 | 0.55 | 0.22 | 60.00 | 0.029 | 17.51 |
| 36 | 0.73 | 0.22 | 69.86 | 0.006 | 16.87 |
| 48 | 0.81 | 0.25 | 76.71 | 0.000 | 16.25 |
| 60 | 0.96 | 0.20 | 79.17 | 0.000 | 15.84 |
| 72 | 0.94 | 0.21 | 77.65 | 0.000 | 15.51 |
| 84 | 0.91 | 0.21 | 76.92 | 0.000 | 15.14 |
| 96 | 0.89 | 0.18 | 79.78 | 0.000 | 14.97 |

ค. ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต และปริมาณน้ำตาลฟรักโตส เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04 ในอาหาร MSM ที่เติมกรดกลูโคนิก 0.75 g/l

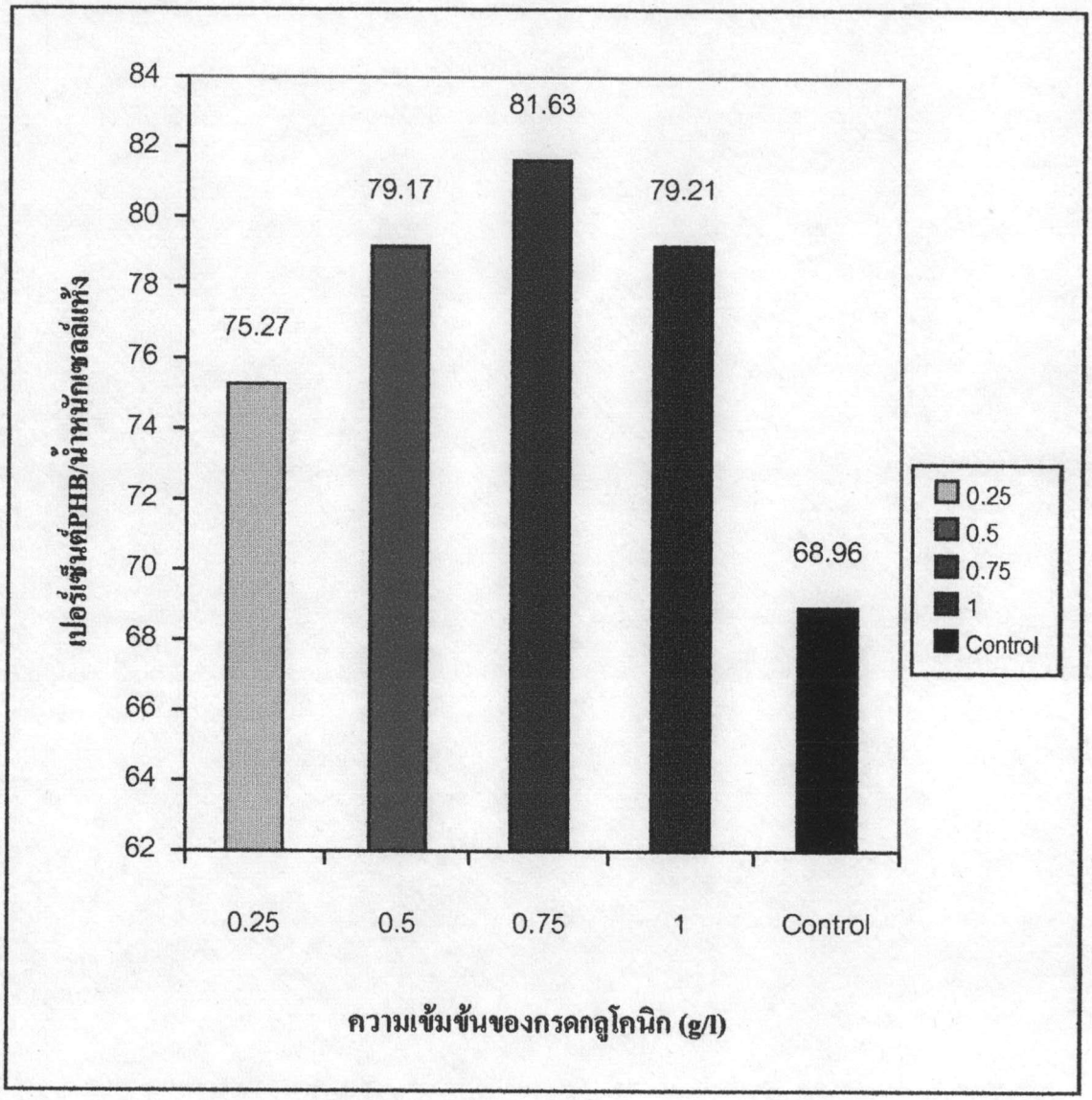
| เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) | มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB (g/l) | ปริมาณ PHB (% by wt.) | แอมโมเนียมซัลเฟต (g/l) | น้ำตาลฟรักโตส (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0.02 | 0.02 | 0.00 | 0.101 | 20.04 |
| 12 | 0.31 | 0.16 | 48.39 | 0.065 | 18.52 |
| 24 | 0.53 | 0.22 | 58.49 | 0.024 | 17.55 |
| 36 | 0.77 | 0.25 | 67.53 | 0.001 | 16.52 |
| 48 | 0.82 | 0.22 | 73.17 | 0.000 | 16.14 |
| 60 | 0.98 | 0.18 | 81.63 | 0.000 | 15.69 |
| 72 | 0.97 | 0.20 | 79.38 | 0.000 | 15.43 |
| 84 | 0.94 | 0.19 | 79.79 | 0.000 | 15.08 |
| 96 | 0.92 | 0.21 | 77.17 | 0.000 | 14.98 |

ง. ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต และปริมาณน้ำตาลฟรักโตส เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04 ในอาหาร MSM ที่เติมกรดกลูโคนิก 1.0 g/l

| เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) | มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB (g/l) | ปริมาณ PHB (% by wt.) | แอมโมเนียมซัลเฟต (g/l) | น้ำตาล ฟรักโตส (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0.02 | 0.02 | 0.00 | 0.110 | 20.02 |
| 12 | 0.34 | 0.16 | 52.94 | 0.067 | 18.35 |
| 24 | 0.57 | 0.22 | 59.65 | 0.022 | 17.34 |
| 36 | 0.79 | 0.25 | 68.35 | 0.000 | 16.28 |
| 48 | 0.84 | 0.24 | 71.43 | 0.000 | 15.96 |
| 60 | 1.01 | 0.21 | 79.21 | 0.000 | 15.40 |
| 72 | 1.00 | 0.23 | 77.00 | 0.000 | 15.08 |
| 84 | 0.96 | 0.24 | 75.00 | 0.000 | 14.89 |
| 96 | 0.94 | 0.24 | 77.65 | 0.000 | 14.71 |




**รูปที่ 32 เปรียบเทียบการเจริญของเซลล์ มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณน้ำตาลฟรักโตส และปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.*A-04 ในอาหาร MSM กับอาหาร MSM ที่เติมกรดกลูโคนิก 0.25 0.50 0.75 และ 1.00 g/l**




**รูปที่ 33 เปรียบเทียบปริมาณPHB สูงสุด ในการเลี้ยง *Alcaligenes sp. A-04* โดยใช้ความเข้มข้นของกรดกลูโคนิก 0.25 0.50 0.75 และ 1.00 กรัมต่อลิตร กับการทดลองชุดควบคุม**

### 3.6.2 การหาปริมาณกรดมาโลนิกที่เหมาะสมสำหรับการสังเคราะห์และสะสม PHB โดย *Alcaligenes sp.* A-04

เลี้ยงเชื้อ *Alcaligenes sp.* A-04 ตามวิธีการทดลองข้อ 2.8 โดยใช้กรดมาโลนิกที่ความเข้มข้น 0.25-1.00 กรัมต่อลิตร พบว่า เมื่อใช้กรดมาโลนิกที่ความเข้มข้นเริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 0.25 กรัมต่อลิตร พบว่า *Alcaligenes sp.* A-04 สังเคราะห์และสะสม PHB ได้สูงสุดมีค่าประมาณ 65 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งในชั่วโมงที่ 60 โดยปริมาณ PHB นี้มีค่าใกล้เคียงกันตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 น้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงสุดและคงที่ประมาณ 0.7 กรัมต่อลิตร ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB มีค่าคงที่ประมาณ 0.3 กรัมต่อลิตร ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 พบว่าแอมโมเนียมซัลเฟตถูกใช้หมดในชั่วโมงที่ 72 เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าน้ำตาลฟรักโตสถูกใช้ไป 4.08 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 26 ก รูปที่ 34)

เมื่อใช้กรดมาโลนิกที่ความเข้มข้นเริ่มต้นเท่ากับ 0.50 กรัมต่อลิตร พบว่า *Alcaligenes sp.* A-04 สังเคราะห์และสะสม PHB เริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 น้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงสุดประมาณ 0.7 กรัมต่อลิตรโดยเริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB มีค่าคงที่ประมาณ 0.3 กรัมต่อลิตร ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 พบว่า แอมโมเนียมซัลเฟตถูกใช้หมดชั่วโมงที่ 72 เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าน้ำตาลฟรักโตสถูกใช้ไป 3.73 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 26 ข รูปที่ 34)

เมื่อใช้กรดมาโลนิกที่ความเข้มข้นเริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 0.75 กรัมต่อลิตร พบว่า *Alcaligenes sp.* A-04 สังเคราะห์และสะสม PHBได้สูงสุดมีค่าประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ในชั่วโมงที่ 60 โดยปริมาณ PHB นี้เริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 น้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงสุดและคงที่ประมาณ 0.7 กรัมต่อลิตร ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB มีค่าคงที่ประมาณ 0.3 กรัมต่อลิตร ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 พบว่า แอมโมเนียม ซัลเฟตถูกใช้หมดในชั่วโมงที่ 72 เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าน้ำตาลฟรักโตสถูกใช้ไป 3.49 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 26 ค รูปที่ 34)

เมื่อใช้กรดมาโลนิกที่ความเข้มข้นเริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 1.0 กรัมต่อลิตร พบว่า *Alcaligenes sp.* A-04 สังเคราะห์และสะสม PHB ได้สูงสุดมีค่าประมาณ 57 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ในชั่วโมงที่ 48 โดยปริมาณ PHB เริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 น้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงสุดประมาณ 0.7 กรัมต่อลิตร โดยน้ำหนักเซลล์แห้งนี้เริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB มีค่าประมาณ 0.3 กรัมต่อลิตร ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 พบว่าแอมโมเนียมซัลเฟตถูกใช้หมดตั้งแต่ชั่วโมงที่ 72 และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่าน้ำตาลฟรักโตสถูกใช้ไป 3.31 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 26 ง รูปที่ 34)

จากผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 34 และรูปที่ 35 พบว่าเมื่อใช้กรดมาโลนิกซึ่งได้แปรผันความเข้มข้นเริ่มต้น มีค่าเท่ากับ 0.25 0.50 0.75 และ 1.00 กรัมต่อลิตร เติมลงไปในอาหาร MSM จะทำให้ *Alcaligenes sp.* A-04 สังเคราะห์และสะสม PHB ได้สูงสุดมีค่าประมาณ 65 63 60 และ 57 เปอร์เซนต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ตามลำดับ ซึ่งปริมาณ PHB ที่ได้นี้เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณ PHB สูงสุดของการทดลองชุดควบคุมที่มีค่าประมาณ 68 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งพบว่าที่ทุกความเข้มข้นของกรดมาโลนิกที่ใช้ในการทดลองนี้ไม่สามารถทำให้ *Alcaligenes sp.* A-04 สังเคราะห์และสะสม PHB ได้เพิ่มขึ้นจากการทดลองชุดควบคุม ดังนั้นกรดมาโลนิกจึงไม่เหมาะสมที่จะใช้เป็นซับพลีเมนต์เพื่อกระตุ้นการสังเคราะห์และสะสม PHB โดย *Alcaligenes sp.* A-04

ตารางที่ 26 ก. ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต และปริมาณน้ำตาลฟรักโตสเมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04 ในอาหาร MSM ที่เติมกรดมาโลนิก 0.25 g/l

| เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) | มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB (g/l) | ปริมาณ PHB (% by wt.) | แอมโมเนียมซัลเฟต (g/l) | น้ำตาลฟรักโตส (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0.02 | 0.02 | 0.00 | 0.096 | 19.99 |
| 12 | 0.25 | 0.13 | 48.00 | 0.072 | 18.84 |
| 24 | 0.43 | 0.19 | 55.81 | 0.046 | 18.11 |
| 36 | 0.58 | 0.23 | 60.34 | 0.028 | 17.50 |
| 48 | 0.69 | 0.26 | 62.39 | 0.011 | 16.61 |
| 60 | 0.75 | 0.26 | 65.33 | 0.002 | 16.23 |
| 72 | 0.76 | 0.28 | 63.61 | 0.000 | 16.12 |
| 84 | 0.74 | 0.26 | 64.86 | 0.000 | 16.03 |
| 96 | 0.74 | 0.27 | 63.51 | 0.000 | 15.91 |

ข. ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB ปริมาณPHB ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต และปริมาณน้ำตาลฟรักโตสเมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04 ในอาหาร MSM ที่เติมกรดมาโลนิก 0.50 g/l

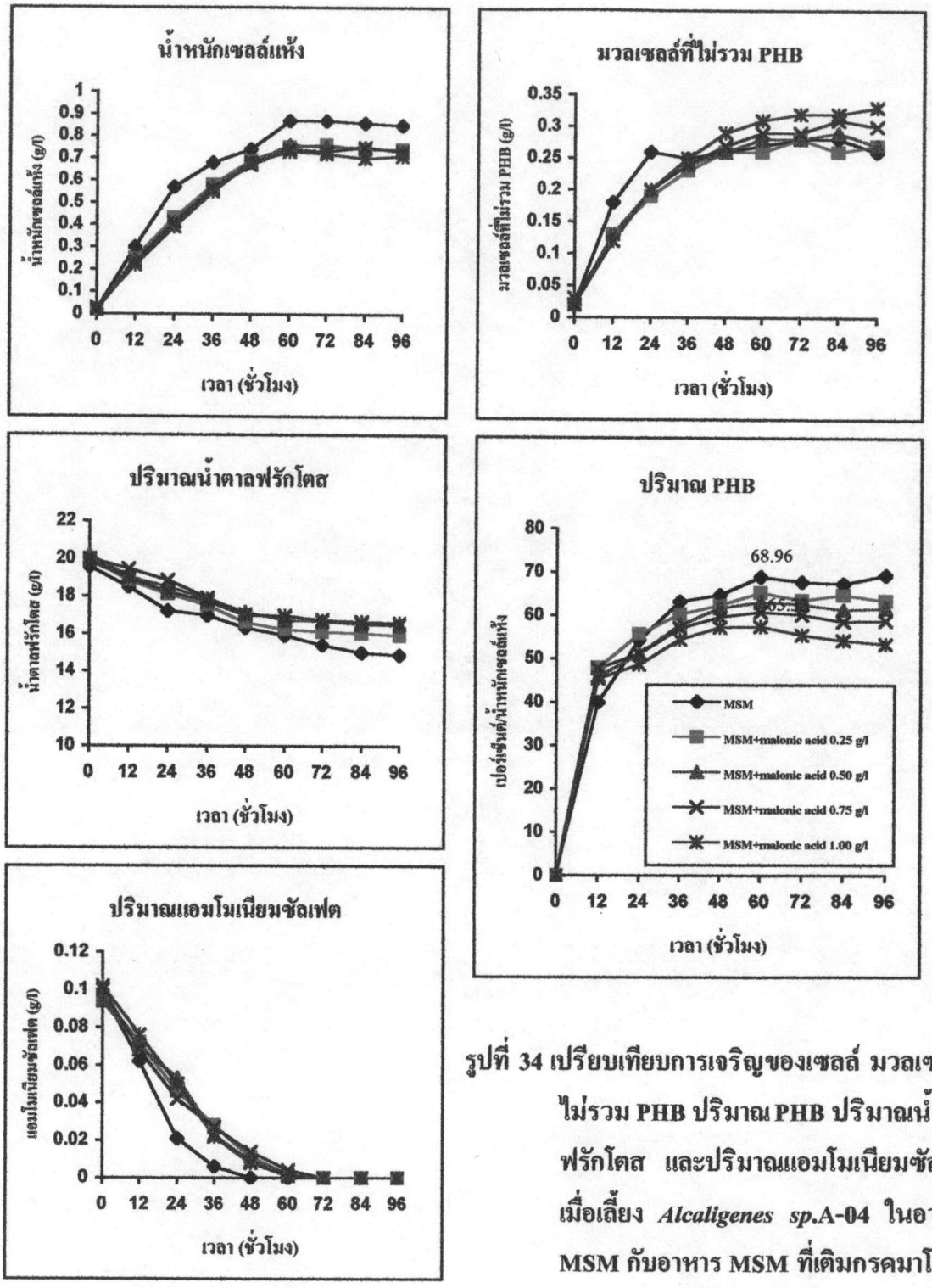
| เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) | มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB (g/l) | ปริมาณPHB (% by wt.) | แอมโมเนียมซัลเฟต (g/l) | น้ำตาลฟรักโตส (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0.02 | 0.02 | 0.00 | 0.094 | 20.20 |
| 12 | 0.24 | 0.13 | 45.83 | 0.070 | 19.02 |
| 24 | 0.41 | 0.20 | 51.22 | 0.053 | 18.51 |
| 36 | 0.57 | 0.24 | 57.89 | 0.023 | 17.85 |
| 48 | 0.68 | 0.26 | 61.76 | 0.009 | 17.18 |
| 60 | 0.76 | 0.28 | 63.16 | 0.002 | 16.74 |
| 72 | 0.75 | 0.28 | 62.67 | 0.000 | 16.69 |
| 84 | 0.75 | 0.29 | 61.33 | 0.000 | 16.52 |
| 96 | 0.73 | 0.27 | 61.64 | 0.000 | 16.47 |

ค. ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง มวลเซลลที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต และปริมาณน้ำตาลฟรักโตสเมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04ในอาหาร MSM ที่เติมกรดมาโลนิก 0.75 g/l

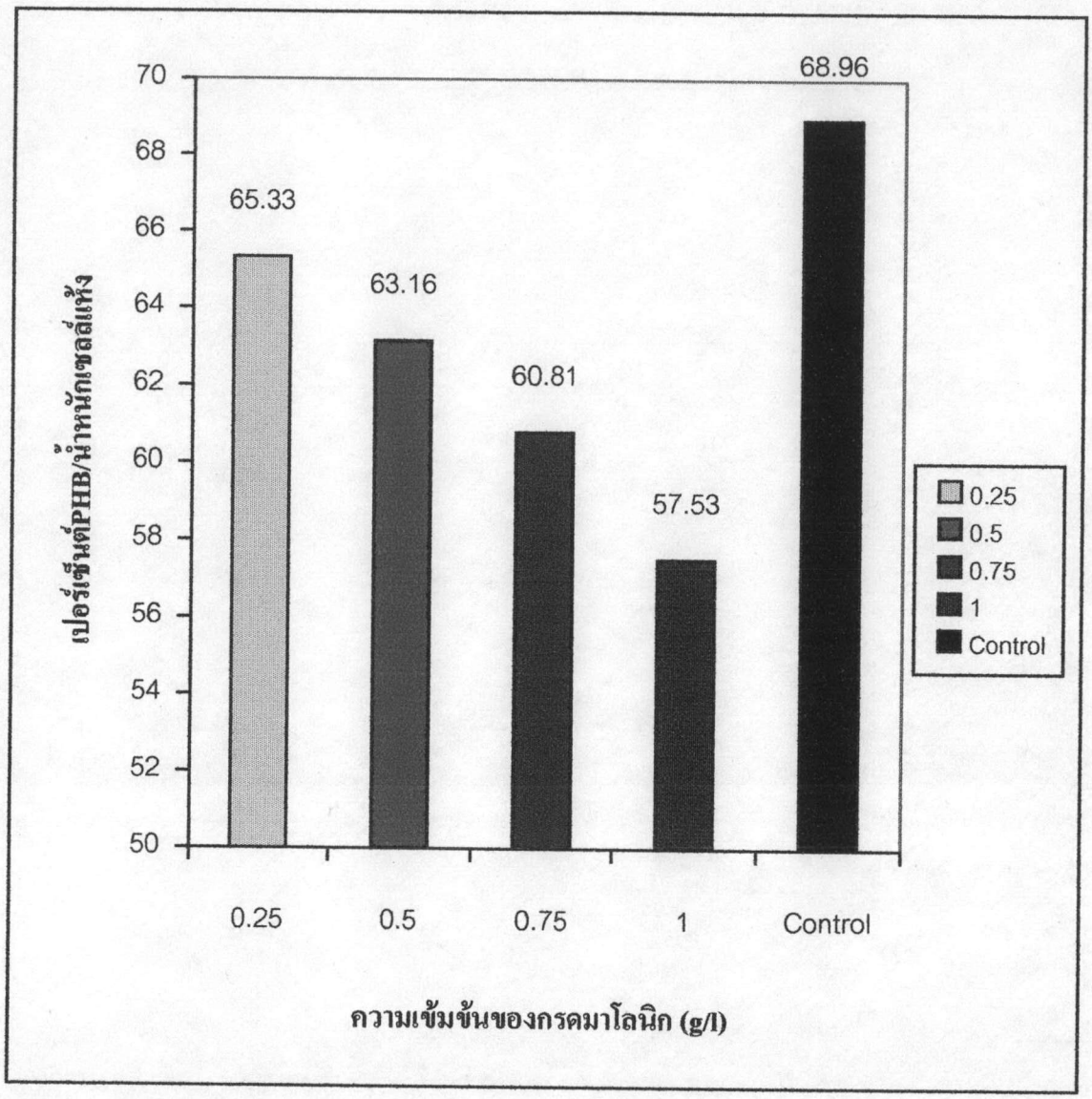
| เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) | มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB (g/l) | ปริมาณ PHB (% by wt.) | แอมโมเนียมซัลเฟต (g/l) | น้ำตาล ฟรักโตส (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0.02 | 0.02 | 0.00 | 0.100 | 20.00 |
| 12 | 0.23 | 0.12 | 47.83 | 0.068 | 19.47 |
| 24 | 0.41 | 0.20 | 51.22 | 0.042 | 18.85 |
| 36 | 0.56 | 0.24 | 57.14 | 0.027 | 17.91 |
| 48 | 0.67 | 0.27 | 59.70 | 0.014 | 17.04 |
| 60 | 0.74 | 0.29 | 60.81 | 0.004 | 16.92 |
| 72 | 0.73 | 0.29 | 60.27 | 0.000 | 16.76 |
| 84 | 0.75 | 0.31 | 58.67 | 0.000 | 16.58 |
| 96 | 0.73 | 0.30 | 58.90 | 0.000 | 16.51 |

ง. ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB ปริมาณPHB ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต และปริมาณน้ำตาลฟรักโตสเมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04 ในอาหาร MSM ที่เติมกรดมาโลนิก 1.0 g/l

| เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) | มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB (g/l) | ปริมาณ PHB (% by wt.) | แอมโมเนียมซัลเฟต (g/l) | น้ำตาลฟรักโตส (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0.03 | 0.03 | 0.00 | 0.102 | 19.86 |
| 12 | 0.22 | 0.12 | 45.45 | 0.076 | 18.98 |
| 24 | 0.39 | 0.20 | 48.72 | 0.050 | 18.24 |
| 36 | 0.55 | 0.25 | 54.55 | 0.022 | 17.72 |
| 48 | 0.68 | 0.29 | 57.35 | 0.008 | 17.01 |
| 60 | 0.73 | 0.31 | 57.53 | 0.001 | 16.97 |
| 72 | 0.72 | 0.32 | 55.56 | 0.000 | 16.72 |
| 84 | 0.70 | 0.32 | 54.29 | 0.000 | 16.67 |
| 96 | 0.71 | 0.33 | 53.52 | 0.000 | 16.58 |




**รูปที่ 34 เปรียบเทียบการเจริญของเซลล์ มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณน้ำตาลฟรักโตส และปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.*A-04 ในอาหาร MSM กับอาหาร MSM ที่เติมกรดมาโลนิก 0.25 0.50 0.75 และ 1.00 g/l**




**รูปที่ 35 เปรียบเทียบปริมาณPHB สูงสุด ในการเลี้ยง *Alcaligenes sp.A-04* โดยใช้ความเข้มข้นของกรดมาโลนิก 0.25 0.50 0.75 และ 1.00 กรัมต่อลิตร กับการทดลองชุดควบคุม**

### 3.6.3 การหาปริมาณกรดโพรพิโอนิกที่เหมาะสมสำหรับการสังเคราะห์และสะสม PHB โดย *Alcaligenes sp.*A-04

เลี้ยงเชื้อ *Alcaligenes sp.* A-04 ตามวิธีการทดลองข้อ 2.8 โดยใช้กรดโพรพิโอนิกความเข้มข้นเริ่มต้นเท่ากับ 0.25-1.00 กรัมต่อลิตร พบว่าเมื่อใช้กรดโพรพิโอนิกที่ความเข้มข้นเริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 0.25 กรัมต่อลิตร พบว่า *Alcaligenes sp.* A-04 สังเคราะห์และสะสม PHB ได้สูงสุดมีค่าประมาณ 64 เปอร์เซ็นต์ ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งในชั่วโมงที่ 60 โดยปริมาณ PHBเริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่48 น้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงสุดและคงที่ประมาณ 0.7 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่60 มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB มีค่าคงที่ประมาณ 0.3 กรัมต่อลิตร ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 พบว่าแอมโมเนียมซัลเฟตถูกใช้หมดในชั่วโมงที่ 96 เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าน้ำตาลฟรักโตสถูกใช้ไป 3.98 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 27 ก และรูปที่ 36)

เมื่อใช้กรดโพรพิโอนิกที่ความเข้มข้นเริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 0.50 กรัมต่อลิตร พบว่า *Alcaligenes sp.* A-04 สังเคราะห์และสะสม PHB ได้สูงสุดมีค่าประมาณ 63 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ในชั่วโมงที่ 60 โดยปริมาณ PHB นี้เริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 60 น้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงสุดประมาณ 0.5 กรัมต่อลิตร โดยค่าน้ำหนักเซลล์แห้งนี้เริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 มวลเซลล์ไม่รวม PHB มีค่าคงที่ประมาณ 0.2 กรัมต่อลิตร ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 พบว่าเชื้อสิ้นสุดการทดลองแอมโมเนียมซัลเฟตถูกใช้ไป 0.068 กรัมต่อลิตรและน้ำตาลฟรักโตสถูกใช้ไป 3.20 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 27 ข และรูปที่ 36)

เมื่อใช้กรดโพรพิโอนิกที่ความเข้มข้นเริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 0.75 กรัมต่อลิตร พบว่า *Alcaligenes sp.* A-04 สังเคราะห์และสะสม PHB ได้สูงสุดมีค่าประมาณ 61 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งในชั่วโมงที่ 60 โดยปริมาณ PHB นี้เริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 60 น้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงสุดและคงที่ประมาณ 0.4 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 48 มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB นี้เริ่มมีค่าคงที่ประมาณ 0.2 กรัมต่อลิตร ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 พบว่าเมื่อสิ้นสุดการทดลองแอมโมเนียมซัลเฟตถูกใช้ไป 0.051 กรัมต่อลิตร และน้ำตาลฟรักโตสถูกใช้ไป 2.84 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 27 ค และรูปที่ 36)

เมื่อใช้กรดโพรพิโอนิกที่ความเข้มข้นเริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 1.00 กรัมต่อลิตร พบว่า *Alcaligenes sp.* A-04 สังเคราะห์และสะสม PHB ได้สูงสุดมีค่าประมาณ 54 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งในชั่วโมงที่ 48 โดยปริมาณ PHB นี้เริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 น้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงสุดประมาณที่ประมาณ 0.3 กรัมต่อลิตร โดยค่าน้ำหนักเซลล์แห้งนี้

เริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 60 มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB มีค่าคงที่ประมาณ 0.1 กรัมต่อลิตร ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 และน้ำตาลฟรักโตสถูกใช้ไป 2.36 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 27 ง และรูปที่ 36)

ผลการทดลองดับแสดงในรูปที่ 36 และรูปที่ 37 เมื่อเปรียบเทียบปริมาณ PHB และน้ำหนักเซลล์แห้งของการทดลองที่ได้แปรผันความเข้มข้นของกรดโพรพิโอนิกกับการทดลองชุดควบคุม พบว่าเมื่อแปรผันความเข้มข้นเริ่มต้นของกรดโพรพิโอนิกให้มีค่าเท่ากับ 0.25 0.50 0.75 และ 1.00 กรัมต่อลิตร *Alcaligenes sp.* A-04 จะสังเคราะห์และสะสม PHB ได้สูงสุดมีค่าประมาณ 64 63 61 และ 54 เปอร์เซ็นต่อน้ำหนักเซลล์แห้งตามลำดับและค่าน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดจะลดลงตามความเข้มข้นของกรดโพรพิโอนิกที่เพิ่มขึ้น (รูปที่ 33) ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองชุดควบคุม *Alcaligenes sp.* A-04 สามารถสังเคราะห์และสะสม PHB ได้สูงสุดมีค่าประมาณ 68 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง และค่าน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดมีค่าประมาณ 0.8 กรัมต่อลิตร แสดงให้เห็นว่า เมื่อเติมกรดโพรพิโอนิกลงไปในอาหาร MSM ทำ ให้ *Alcaligenes sp.* A-04 มีการเจริญและความสามารถในการสังเคราะห์และสะสม PHB ลดลงตามความเข้มข้นของกรดโพรพิโอนิกที่เพิ่มขึ้น ดังนั้นกรดโพรพิโอนิกจึงไม่เหมาะสมที่จะใช้เป็นซับพลีเมนต์เพื่อกระตุ้นการสังเคราะห์และสะสม PHB โดย *Alcaligenes sp.* A-04

ตารางที่ 27 ก. ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต และปริมาณน้ำตาลฟรักโตส เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04 ในอาหาร MSM ที่เติมกรดโพรพิโอนิก 0.25 g/l

| เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) | มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB (g/l) | ปริมาณ PHB (% by wt.) | แอมโมเนียมซัลเฟต (g/l) | น้ำตาล ฟรักโตส (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0.02 | 0.02 | 0.00 | 0.109 | 20.00 |
| 12 | 0.26 | 0.15 | 42.31 | 0.084 | 19.41 |
| 24 | 0.42 | 0.21 | 50.00 | 0.055 | 18.71 |
| 36 | 0.55 | 0.23 | 58.18 | 0.042 | 18.04 |
| 48 | 0.64 | 0.25 | 60.94 | 0.030 | 17.62 |
| 60 | 0.72 | 0.26 | 63.89 | 0.018 | 16.98 |
| 72 | 0.72 | 0.28 | 61.11 | 0.014 | 16.54 |
| 84 | 0.71 | 0.26 | 63.34 | 0.012 | 16.42 |
| 96 | 0.69 | 0.27 | 60.86 | 0.009 | 16.11 |

ข. ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต และปริมาณน้ำตาลฟรักโตส เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04 ในอาหาร MSM ที่เติมกรดโพรพิโอนิก 0.50 g/l

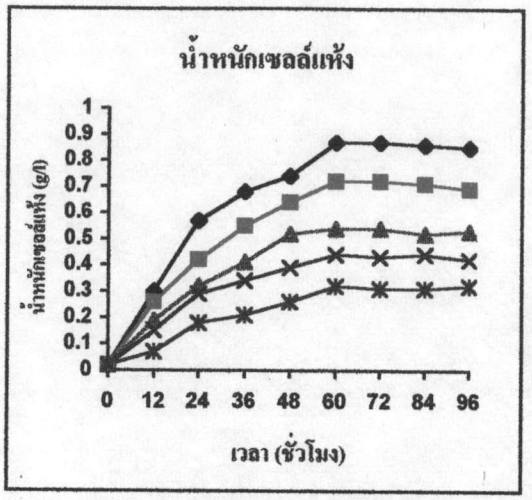
| เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) | มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB (g/l) | ปริมาณ PHB (% by wt.) | แอมโมเนียมซัลเฟต (g/l) | น้ำตาลฟรักโตส (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0.02 | 0.02 | 0.00 | 0.098 | 19.92 |
| 12 | 0.19 | 0.11 | 42.11 | 0.089 | 19.24 |
| 24 | 0.32 | 0.15 | 53.12 | 0.078 | 18.75 |
| 36 | 0.41 | 0.17 | 58.53 | 0.056 | 18.02 |
| 48 | 0.52 | 0.21 | 59.61 | 0.045 | 17.72 |
| 60 | 0.54 | 0.20 | 62.96 | 0.038 | 17.29 |
| 72 | 0.54 | 0.21 | 61.11 | 0.035 | 17.07 |
| 84 | 0.52 | 0.20 | 61.54 | 0.032 | 16.89 |
| 96 | 0.53 | 0.21 | 60.37 | 0.030 | 16.72 |

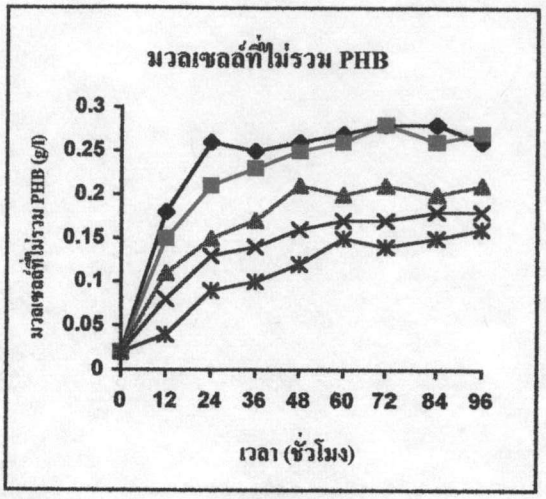
ค. ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต และปริมาณน้ำตาลฟรักโตส เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04 ในอาหาร MSM ที่เติมกรดโพรพิโอนิก 0.75 g/l

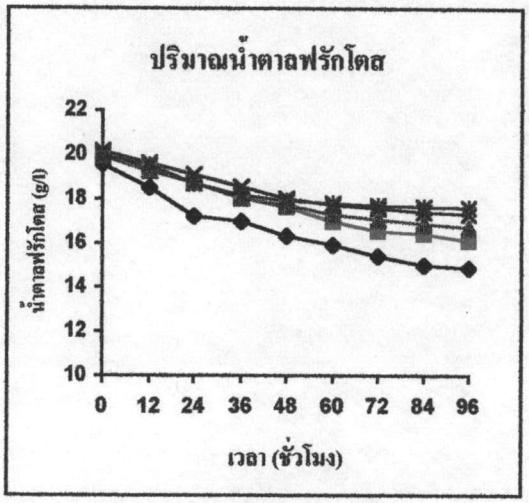
| เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) | มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB (g/l) | ปริมาณ PHB (% by wt.) | แอมโมเนียมซัลเฟต (g/l) | น้ำตาล ฟรักโตส (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0.02 | 0.02 | 0.00 | 0.102 | 20.16 |
| 12 | 0.15 | 0.08 | 46.66 | 0.092 | 19.60 |
| 24 | 0.29 | 0.13 | 55.17 | 0.084 | 19.11 |
| 36 | 0.34 | 0.14 | 58.82 | 0.079 | 18.55 |
| 48 | 0.39 | 0.16 | 58.97 | 0.071 | 18.02 |
| 60 | 0.44 | 0.17 | 61.36 | 0.060 | 17.72 |
| 72 | 0.43 | 0.17 | 60.46 | 0.054 | 17.58 |
| 84 | 0.44 | 0.18 | 59.09 | 0.052 | 17.41 |
| 96 | 0.42 | 0.18 | 57.14 | 0.049 | 17.32 |

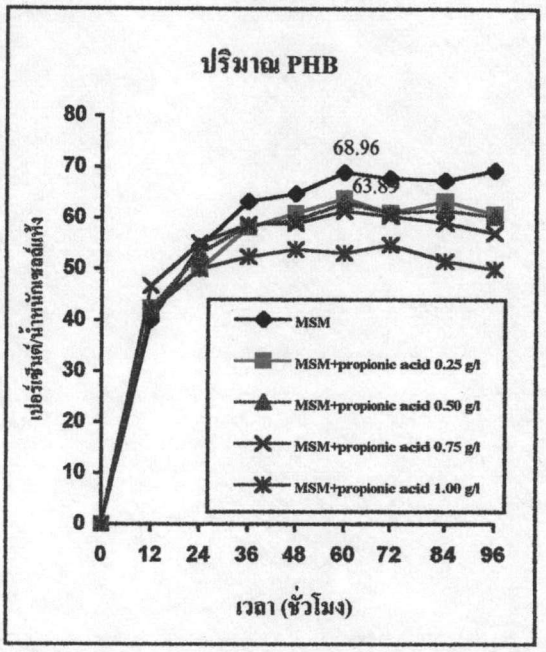
ง. ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต และปริมาณน้ำตาลฟรักโตส เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04 ในอาหาร MSM ที่เติมกรดโพรพิโอนิก 1.00 g/l

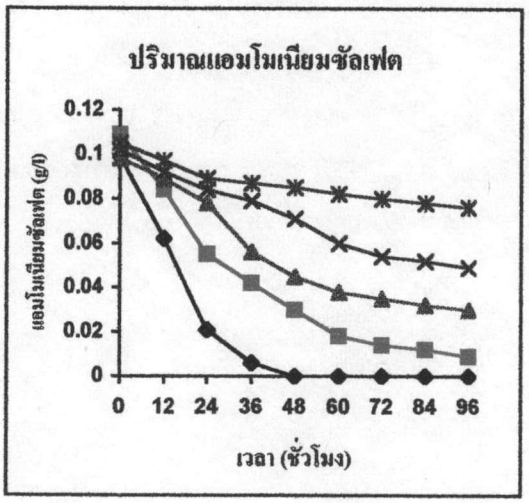
| เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) | มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB (g/l) | ปริมาณ PHB (% by wt.) | แอมโมเนียมซัลเฟต (g/l) | น้ำตาล ฟรักโตส (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0.02 | 0.02 | 0.00 | 0.105 | 19.97 |
| 12 | 0.07 | 0.04 | 41.86 | 0.097 | 19.51 |
| 24 | 0.18 | 0.09 | 50.00 | 0.089 | 18.70 |
| 36 | 0.21 | 0.10 | 52.38 | 0.087 | 18.15 |
| 48 | 0.26 | 0.12 | 53.84 | 0.085 | 17.92 |
| 60 | 0.32 | 0.15 | 53.12 | 0.082 | 17.81 |
| 72 | 0.31 | 0.14 | 54.84 | 0.080 | 17.70 |
| 84 | 0.31 | 0.15 | 51.61 | 0.078 | 17.65 |
| 96 | 0.32 | 0.16 | 50.00 | 0.076 | 17.61 |



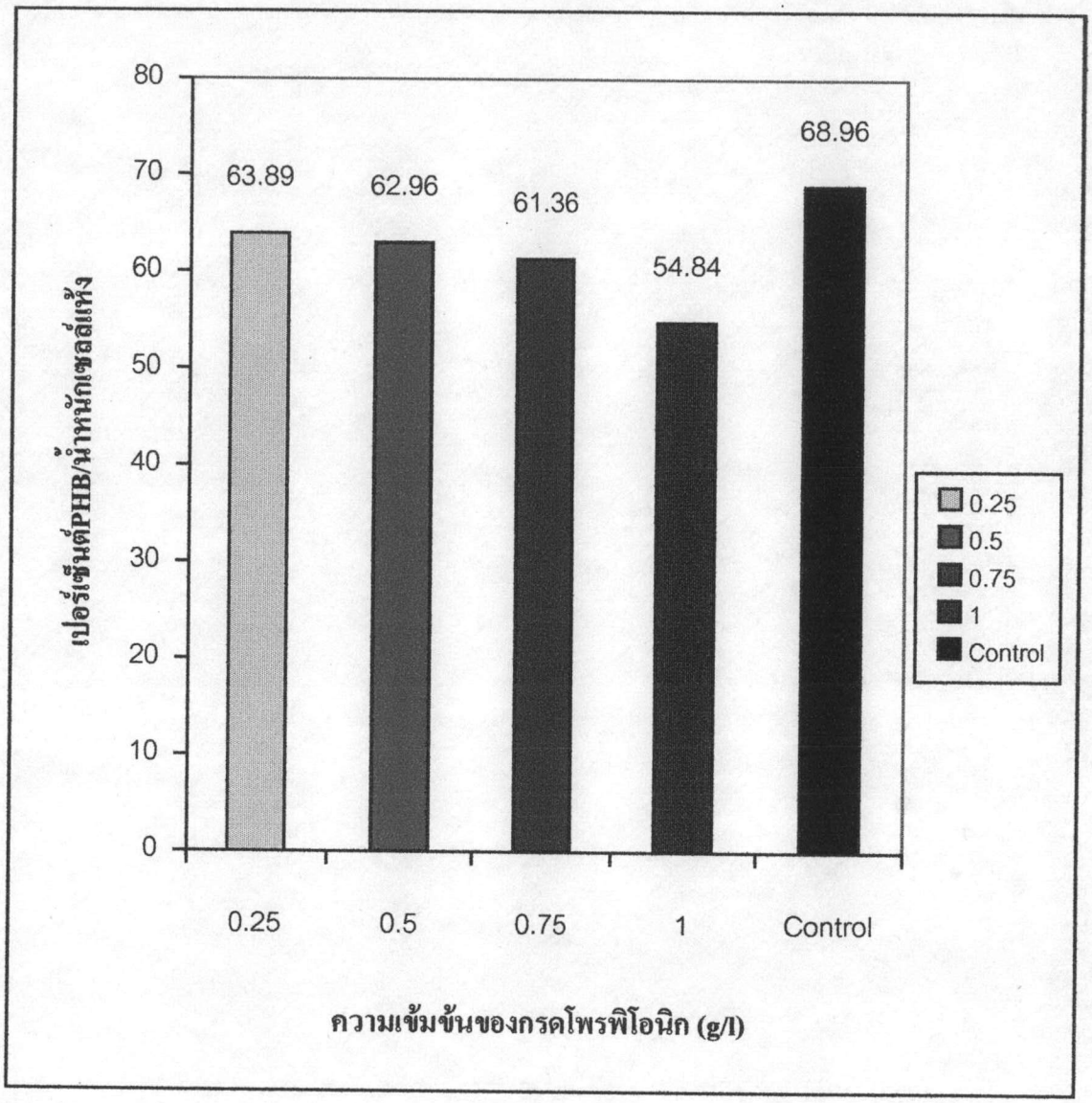




**รูปที่ 36 เปรียบเทียบการเจริญของเซลล์ มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณน้ำตาลฟรักโตส และปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.*A-04 ในอาหาร MSM กับอาหาร MSM ที่เติมกรดโพรพิโอนิก 0.25 0.50 0.75 และ 1.00 g/l**




**รูปที่ 37 เปรียบเทียบปริมาณPHB สูงสุด ในการเลี้ยง *Alcaligenes sp. A-04* โดยใช้ความเข้มข้นของกรดโพรพิโอนิก 0.25 0.50 0.75 และ 1.00 กรัมต่อลิตร กับการทดลองชุดควบคุม**

### 3.6.4 ปริมาณกรดบิวทีริกที่เหมาะสมสำหรับการสังเคราะห์และสะสม PHB โดย *Alcaligenes* sp. A-04

เลี้ยงเชื้อ *Alcaligenes* sp. A-04 ตามวิธีการทดลองในข้อ 2.8 โดยแปรผันความเข้มข้นเริ่มต้นกรดบิวทีริกเท่ากับ 0.25 0.50 0.75 และ 1.00 กรัมต่อลิตรพบว่า เมื่อใช้กรดบิวทีริกที่มีความเข้มข้นเริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 0.25 กรัมต่อลิตร พบว่า *Alcaligenes* sp. A-04 สังเคราะห์และสะสม PHB ได้สูงสุดมีค่าประมาณ 68 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ในชั่วโมงที่ 60 โดยปริมาณ PHB เริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 60 น้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงสุดและคงที่ประมาณ 0.7 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 48 มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB มีค่าคงที่ประมาณ 0.2 กรัมต่อลิตรตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 พบว่าแอมโมเนียมซัลเฟตถูกใช้หมดไปชั่วโมงที่ 96 เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าน้ำตาล ฟรักโตสถูกใช้ไป 3.92 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 28 ก รูปที่ 38)

เมื่อใช้กรดบิวทีริกที่ความเข้มข้นเริ่มต้นเท่ากับ 0.50 กรัมต่อลิตร พบว่า *Alcaligenes* sp. A-04 สังเคราะห์และสะสม PHB ได้สูงสุดมีค่าประมาณ 66 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ในชั่วโมงที่ 60 โดยปริมาณ PHB นี้เริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 60 น้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงสุดประมาณ 0.6 กรัมต่อลิตร โดยน้ำหนักเซลล์แห้งนี้เริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB มีค่าคงที่ประมาณ 0.2 กรัมต่อลิตรตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 พบว่าเมื่อสิ้นสุดการทดลองแอมโมเนียมซัลเฟตถูกใช้ไป 0.073 กรัมต่อลิตร และน้ำตาลฟรักโตสถูกใช้ไป 3.92 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 28 ข รูปที่ 38)

เมื่อใช้กรดบิวทีริกที่ความเข้มข้นเริ่มต้นเท่ากับ 0.75 กรัมต่อลิตร พบว่า *Alcaligenes* sp. A-04 สังเคราะห์และสะสม PHB ได้สูงสุดมีค่าประมาณ 66 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ในชั่วโมงที่ 60 โดยปริมาณ PHB นี้เริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 60 น้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงสุดประมาณ 0.4 กรัมต่อลิตร โดยน้ำหนักเซลล์แห้งนี้เริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 36 มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB มีค่าคงที่ประมาณ 0.2 กรัมต่อลิตรตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 พบว่าเมื่อสิ้นสุดการทดลองแอมโมเนียมซัลเฟตถูกใช้ไป 0.053 กรัมต่อลิตร และน้ำตาลฟรักโตสถูกใช้ไป 2.82 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 28 ค รูปที่ 38)

เมื่อใช้กรดบิวทีริกที่ความเข้มข้นเริ่มต้นเท่ากับ 1.00 กรัมต่อลิตร พบว่า *Alcaligenes* sp. A-04 สังเคราะห์และสะสม PHB ได้สูงสุดมีค่าประมาณ 65 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ในชั่วโมงที่ 48 โดยปริมาณ PHB นี้เริ่มมีค่าคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 48 น้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงสุดและคงที่ประมาณ 0.4 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 60 มวลเซลล์ที่ไม่

รวม PHB มีค่าคงที่ประมาณ 0.1 กรัมต่อลิตร ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 พบว่าเมื่อสิ้นสุดการทดลองแอมโมเนียมซัลเฟตถูกใช้ไป 0.043 กรัมต่อลิตร และน้ำตาลฟรักโตสถูกใช้ไป 2.22 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 28 ง. รูปที่ 38)

สรุปผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 38 และ รูปที่ 39 เมื่อเปรียบเทียบปริมาณ PHB และน้ำหนักเซลล์แห้งของการทดลองที่ได้แปรผันความเข้มข้นของกรดบิวทีริกกับการทอลองชุดควบคุม พบว่าเมื่อ แปรผันความเข้มข้นเริ่มต้นของกรดบิวทีริก ให้มีค่าเท่ากับ 0.25 0.50 0.75 และ 1.00 กรัมต่อลิตร *Alcaligenes* sp. A-04 สังเคราะห์และสะสม PHB ได้สูงสุดมีค่าประมาณ 68 66 66 และ 65 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ตามลำดับ และน้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าลดลงตามความเข้มข้นของกรดบิวทีริกที่เพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองชุดควบคุมที่ *Alcaligenes* sp. A-04 สามารถสังเคราะห์และสะสม PHB ได้สูงสุดมีค่าประมาณ 68 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง และค่าน้ำหนักแห้งสูงสุดมีค่าประมาณ 0.8 กรัมต่อลิตร แสดงให้เห็นว่าเมื่อเติมกรดบิวทีริกลงไปในอาหาร MSM ทำให้ *Alcaligenes* sp. A-04 สังเคราะห์และสะสม PHB ได้ใกล้เคียงกับการทดลองชุดควบคุม แต่เชื้อมีการเจริญเติบโตต่ำกว่าชุดควบคุมตามความเข้มข้นของกรดบิวทีริกที่เพิ่มขึ้น ดังนั้นกรดบิวทีริกจึงไม่เหมาะสมที่จะใช้เป็นซัพพลีเมนต์ เพื่อกระตุ้นการสังเคราะห์และสะสม PHB โดย *Alcaligenes* sp.A-04

**ตารางที่ 28 ก.** ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต และปริมาณน้ำตาลฟรักโตส เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04 ในอาหาร MSM ที่เติมกรดบิวทีริก 0.25 g/l

| เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) | มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB (g/l) | ปริมาณ PHB (% by wt.) | แอมโมเนียมซัลเฟต (g/l) | น้ำตาลฟรักโตส (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0.02 | 0.02 | 0.00 | 0.102 | 20.11 |
| 12 | 0.25 | 0.13 | 48.00 | 0.085 | 19.32 |
| 24 | 0.49 | 0.22 | 55.10 | 0.053 | 18.57 |
| 36 | 0.58 | 0.24 | 58.62 | 0.040 | 18.11 |
| 48 | 0.67 | 0.23 | 65.67 | 0.028 | 17.62 |
| 60 | 0.75 | 0.24 | **68.00** | 0.020 | 17.09 |
| 72 | 0.74 | 0.23 | 68.91 | 0.019 | 16.68 |
| 84 | 0.72 | 0.22 | 69.44 | 0.016 | 16.47 |
| 96 | 0.72 | 0.23 | 68.05 | 0.015 | 16.19 |

**ข.** ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต และปริมาณน้ำตาลฟรักโตส เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04 ในอาหาร MSM ที่เติมกรดบิวทีริก 0.50 g/l

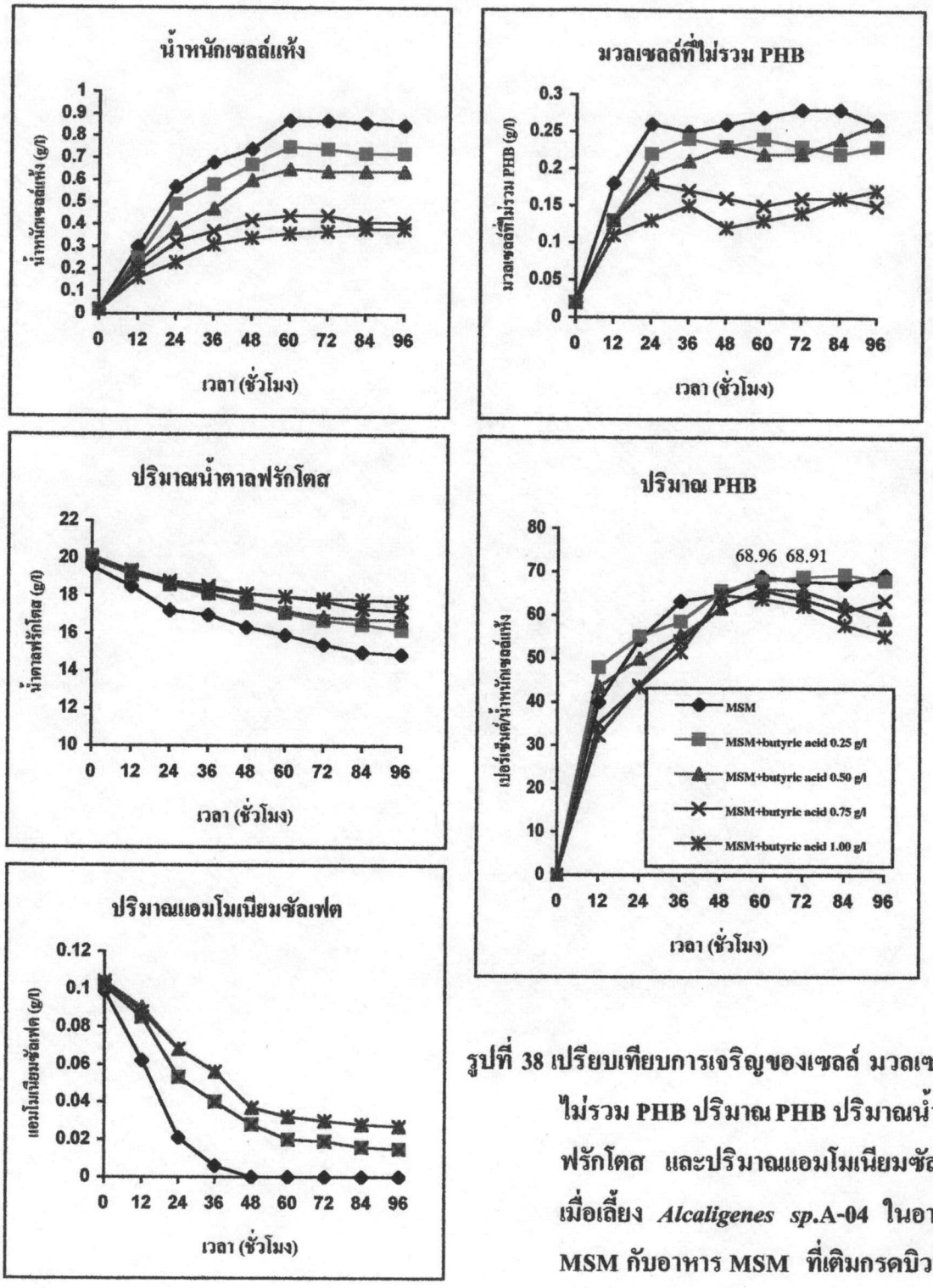
| เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) | มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB (g/l) | ปริมาณ PHB (% by wt.) | แอมโมเนียมซัลเฟต (g/l) | น้ำตาล ฟรักโตส (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0.02 | 0.02 | 0.00 | 0.104 | 19.97 |
| 12 | 0.23 | 0.13 | 43.47 | 0.090 | 19.12 |
| 24 | 0.38 | 0.19 | 50.00 | 0.068 | 18.72 |
| 36 | 0.47 | 0.21 | 55.32 | 0.056 | 18.14 |
| 48 | 0.60 | 0.23 | 61.67 | 0.037 | 17.65 |
| 60 | 0.65 | 0.22 | **66.15** | 0.032 | 17.20 |
| 72 | 0.64 | 0.22 | 65.62 | 0.030 | 16.87 |
| 84 | 0.64 | 0.24 | 62.50 | 0.028 | 16.76 |
| 96 | 0.64 | 0.26 | 59.37 | 0.027 | 16.71 |

ค. ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต และปริมาณน้ำตาลฟรักโตส เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04 ในอาหาร MSM ที่เติมกรดบิวทีริก 0.75 g/l

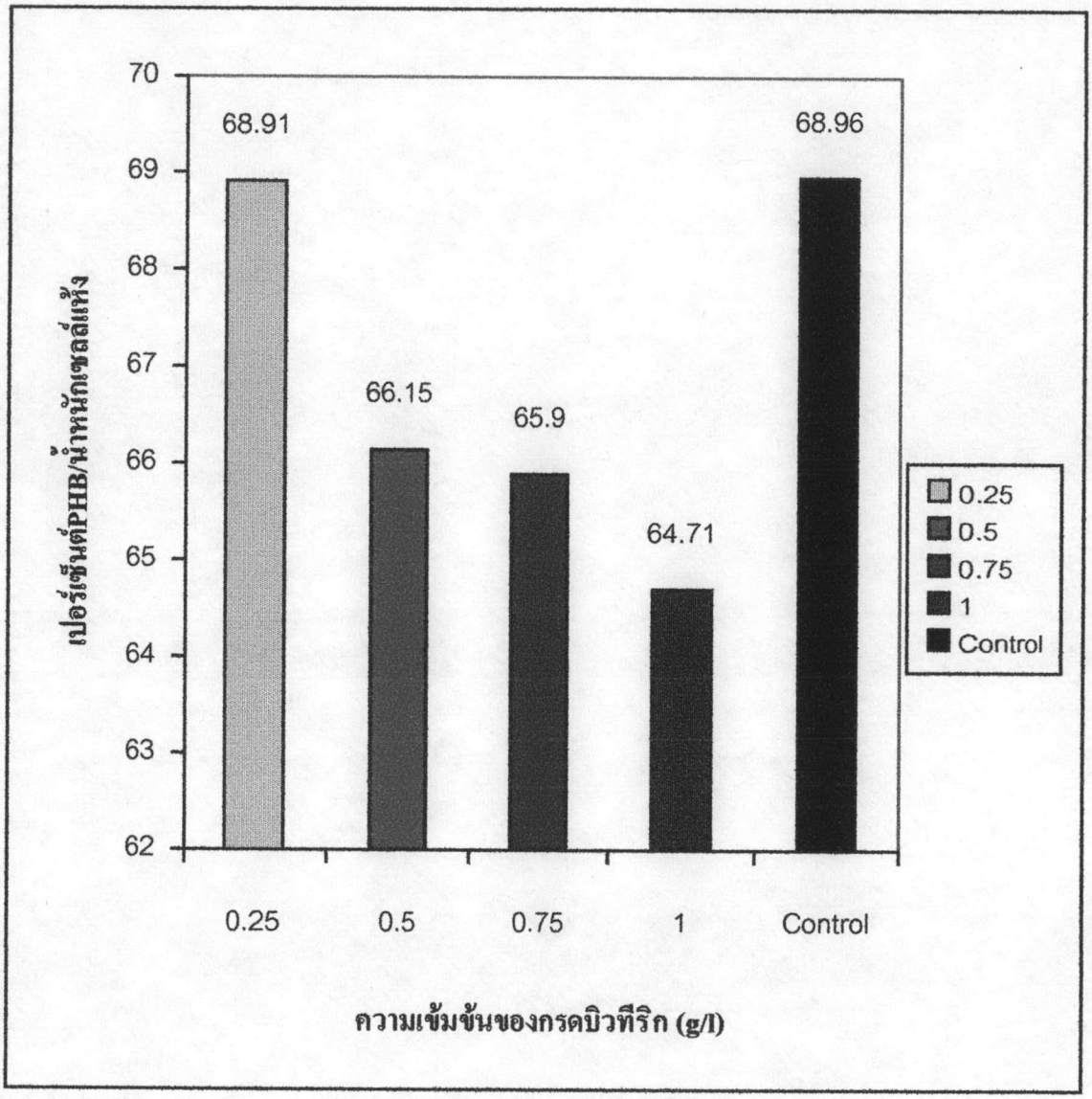
| เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) | มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB (g/l) | ปริมาณ PHB (% by wt.) | แอมโมเนียมซัลเฟต (g/l) | น้ำตาล ฟรักโตส (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0.02 | 0.02 | 0.00 | 0.102 | 20.01 |
| 12 | 0.20 | 0.13 | 35.00 | 0.085 | 19.34 |
| 24 | 0.32 | 0.18 | 43.75 | 0.053 | 18.79 |
| 36 | 0.37 | 0.17 | 54.05 | 0.040 | 18.52 |
| 48 | 0.42 | 0.16 | 61.90 | 0.028 | 18.14 |
| 60 | 0.44 | 0.15 | 65.90 | 0.020 | 17.96 |
| 72 | 0.44 | 0.16 | 63.64 | 0.019 | 17.72 |
| 84 | 0.41 | 0.16 | 60.98 | 0.016 | 17.32 |
| 96 | 0.41 | 0.15 | 63.41 | 0.015 | 17.19 |

ง. ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต และปริมาณน้ำตาลฟรักโตส เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04 ในอาหาร MSM ที่เติมกรดบิวทีริก 1.00 g/l

| เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l) | มวลเซลล์ที่ไม่รวมPHB (g/l) | ปริมาณ PHB (% by wt.) | แอมโมเนียมซัลเฟต (g/l) | น้ำตาล ฟรักโตส (g/l) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0.02 | 0.02 | 0.00 | 0.104 | 19.94 |
| 12 | 0.16 | 0.11 | 31.25 | 0.088 | 19.26 |
| 24 | 0.23 | 0.13 | 43.48 | 0.068 | 18.65 |
| 36 | 0.31 | 0.15 | 51.61 | 0.056 | 18.32 |
| 48 | 0.34 | 0.12 | 64.71 | 0.037 | 18.11 |
| 60 | 0.36 | 0.13 | 63.88 | 0.032 | 17.96 |
| 72 | 0.37 | 0.14 | 62.16 | 0.030 | 17.84 |
| 84 | 0.38 | 0.16 | 57.89 | 0.028 | 17.79 |
| 96 | 0.38 | 0.17 | 55.26 | 0.027 | 17.72 |




**รูปที่ 38 เปรียบเทียบการเจริญของเซลล์ มวลเซลล์ที่ไม่รวม PHB ปริมาณ PHB ปริมาณน้ำตาลฟรักโตส และปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes sp.*A-04 ในอาหาร MSM กับอาหาร MSM ที่เติมกรดบิวทีริก 0.25 0.50 0.75 และ 1.00 g/l**




**รูปที่ 39 เปรียบเทียบปริมาณPHB สูงสุด ในการเลี้ยง *Alcaligenes sp. A-04* โดยใช้ความเข้มข้นของกรดบิวทีริก 0.25 0.50 0.75 และ 1.00 กรัมต่อลิตร กับการทดลองชุดควบคุม**