

การผลิตพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบีโวลิตจาก *Alcaligenes eutrophus* NCIMB 11599  
โดยการหมักแบบสองขั้นตอน



นางสาวพิมพ์ชนก นาคราช

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี ภาควิชาวิศวกรรมเคมี

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2542

ISBN 974-334-459-4

ลิขสิทธิ์ของ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

14 ส.ค. 2545

I 19252710

POLY- $\beta$ -HYDROXYBUTYRATE PRODUCTION FROM *Alcaligenes eutrophus* NCIMB 11599  
BY TWO STAGE FERMENTATION

Miss Phimchanok Nakkharat

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Engineering in Chemical Engineering

Department of Chemical Engineering

Faculty of Engineering

Chulalongkorn University


Academic Year 1999

ISBN 974-334-459-4


หัวข้อวิทยานิพนธ์      การผลิตพอลิ-ปีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตจาก *Alcaligenes eutrophus*  
NCIMB 11599 โดยการหมักแบบสองขั้นตอน  
โดย                              นางสาวพิมพ์ชนก นาคราช  
ภาควิชา                            วิศวกรรมเคมี  
อาจารย์ที่ปรึกษา              รองศาสตราจารย์ ดร.จिरกานต์ เมืองนาโพธิ์

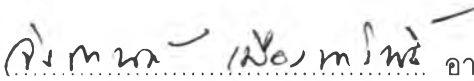
---

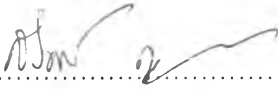
คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง  
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

  
..... คณบดีคณะวิศวกรรมศาสตร์  
( ศาสตราจารย์ ดร.สมศักดิ์ ปัญญาแก้ว )

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

  
..... ประธานกรรมการ  
( รองศาสตราจารย์ ดร.เกริกชัย สุกาญจน์จติ )

  
..... อาจารย์ที่ปรึกษา  
( รองศาสตราจารย์ ดร.จिरกานต์ เมืองนาโพธิ์ )

  
..... กรรมการ  
( รองศาสตราจารย์ ดร.สงศรี กุลปรีชา )

  
..... กรรมการ  
( ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พิทยา หลิวเสรี )

พิมพ์ชนก นาคราช : การผลิตพอลิ- บีตา- ไฮดรอกซีบิวทิเรต จาก *Alcaligenes eutrophus* NCIMB 11599 โดยการหมักแบบสองขั้นตอน (POLY- $\beta$ -HYDROXYBUTYRATE PRODUCTION FROM *Alcaligenes eutrophus* NCIMB 11599 BY TWO STAGE FERMENTATION) อ. ที่ปรึกษา : รศ. ดร.จिरกานต์ เมืองนาโพธิ์, 120 หน้า. ISBN 974-334-459-4.

วิทยานิพนธ์นี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการประยุกต์ใช้การหมักแบบสองขั้นตอน เพื่อเพิ่มอัตราการผลิต PHB จากกลูโคสโดยใช้จุลินทรีย์ *Alcaligenes eutrophus* NCIMB 11599 โดยแบ่งการศึกษาออกเป็น 3 ส่วน ดังนี้ ส่วนแรกศึกษาปริมาณสารอาหารในสายป้อนที่เหมาะสมโดยการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่อง พบว่า การมีปริมาณไนโตรเจนมากไม่ได้ช่วยให้เซลล์มีการเจริญเติบโตดี แต่กลับทำให้เซลล์ลดลงและเกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างเซลล์เป็นเส้นยาว (filament) และพบว่าอัตราส่วนโดยโมลของคาร์บอนต่อไนโตรเจนในสายป้อนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตคือ 33 ส่วนที่สองศึกษาการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่องสองขั้นตอนพบว่า ทันทีที่หยุดการป้อนน้ำหมักจากถังแรก การสะสม PHB จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจาก 26.79 เป็น 46.70 เปอร์เซ็นต์ PHB ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง และส่วนสุดท้ายเป็นการประยุกต์ใช้การหมักแบบสองขั้นตอนโดยถังหมักแรกเพาะเลี้ยงให้เชื้อเจริญเติบโตสูงสุดด้วยการหมักแบบต่อเนื่องในภาวะที่สารอาหารสมบูรณ์ จากนั้นกระตุ้นให้สังเคราะห์ PHB ในถังหมักที่สองด้วยการหมักแบบกึ่งต่อเนื่องในภาวะที่สารอาหารไม่สมดุล พบว่าที่อัตราการเจือจางจากถังหมักแรกเท่ากับ 0.10 ต่อชั่วโมง จะให้ปริมาณ PHB 14.526 กรัมต่อลิตร หรือ 33.25 เปอร์เซ็นต์ PHB ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ในถังหมักที่สอง

เมื่อเปรียบเทียบอัตราการผลิต PHB พบว่าการหมักแบบสองขั้นตอนจะให้อัตราการผลิตใกล้เคียงกับการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง 2 รอบ (100 ชั่วโมง) และให้อัตราการผลิตสูงกว่า เมื่อปฏิบัติการมากกว่า 100 ชั่วโมงขึ้นไป

ภาควิชา.....วิศวกรรมเคมี.....ลายมือชื่อนิสิต.....พิมพ์ชนก นาคราช.....  
สาขาวิชา.....วิศวกรรมเคมี.....ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....จ.กานต์ เมืองนาโพธิ์.....  
ปีการศึกษา.....2542.....ลายมือชื่อที่ปรึกษาร่วม.....

# # 3971220021 : MAJOR CHEMICAL ENGINEERING

KEY WORD : TWO STAGE FERMENTATION, PHB, *Alcaligenes eutrophus*

PHIMCHANOK NAKKHARAT : POLY- $\beta$ -HYDROXYBUTYRATE PRODUCTION FROM  
*Alcaligenes eutrophus* NCIMB 11599 BY TWO STAGE FERMENTATION. THESIS

ADVISOR: ASSOC. PROF. CHIRAKARN MUANGNAPOH, Dr. Ing. 120 pp.

ISBN 974-334-459-4.

The objective of this thesis is to study the application of two-stage fermentation for improving the PHB production rate by *Alcaligenes eutrophus* NCIMB 11599 using glucose as carbon source. The study was divided into three parts. The first was to study the optimum nutrient in feed by chemostat. It was found that being rich in nitrogen supply did not enhance the cell growth. Instead, morphology change (filament) occurred and was accompanied by diminishing of cell mass. It was also found that the ratio of mole of carbon to mole of nitrogen in feed that optimized the growth was 33. The second part was studied in two-stage chemostat. It was found that PHB accumulation rapidly increased from 26.79 to 46.7 % (PHB/ cell dry weight) as soon as the feed from the first fermentor was stopped. The final part was about the application of two-stage fermentation. In the first fermentor, the bacteria were grown to the maximum by chemostat in enriching medium. Then, it was stimulated to synthesize PHB in the second fermentor by fed-batch fermentation under unbalance medium condition. It was found that the dilution rate of the first stage at  $0.10 \text{ h}^{-1}$  could give 14.526 g/l of PHB or 33.25% (PHB/cell dry weight) in the second fermentor.

In comparison with fed-batch fermentation, the two-stage fermentation gave similar PHB production rate at 2-cycle of fed-batch operation (100 hours) and gave higher production rate when the operation was more than 100 hours.

ภาควิชา....CHEMICAL ENGINEERING.....ลายมือชื่อผู้ผลิต.....*P. Nakkharat*.....  
สาขาวิชา... CHEMICAL ENGINEERING .....ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....*C. Muangnapoh*.....  
ปีการศึกษา.....2542.....ลายมือชื่อที่ปรึกษาร่วม.....

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความช่วยเหลือจากหลายๆท่าน ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.จिरกานต์ เมืองนาโพธิ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้ให้คำปรึกษา และแนะนำในการพัฒนางานวิจัย ตลอดจนตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.เกริกชัย สุภาบุญจันท์ ประธานกรรมการ รองศาสตราจารย์ ดร.สงศรี กุลปรีชา และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พิทยา หลิวเสรี กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ซึ่งให้ความสนใจ และให้ข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่องานวิจัยนี้

ขอขอบพระคุณคุณธีระ ที่ช่วยแนะนำแก้ไขข้อบกพร่อง เกี่ยวกับเครื่องมือต่างๆ และพี่เสริมศิริ สถาบันวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ที่ช่วยเหลือด้านการจัดเก็บเชื้อจุลินทรีย์

เนื่องจากทุนที่ใช้ดำเนินงานวิจัยชิ้นนี้ บางส่วนได้รับมาจากทุนโครงการส่งเสริมผู้มีความสามารถพิเศษเป็นอาจารย์ในสถาบันอุดมศึกษาของรัฐ ทุนอุดหนุนงานวิจัยของบัณฑิตวิทยาลัย และภาควิชาวิศวกรรมเคมี จึงขอขอบคุณมา ณ ที่นี้ด้วย

ขอขอบคุณพี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ ห้องวิจัยวิศวกรรมชีวเคมี ที่ให้ความช่วยเหลือ กำลังใจ และคำปรึกษาที่เป็นประโยชน์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จะสำเร็จลุล่วงไปมิได้เลย หากไม่ได้รับความช่วยเหลืออย่างเต็มที่จาก คุณคมกฤช ดลอารมย์ และคุณณรงค์ ลักษณะภิรมย์

ท้ายนี้ผู้วิจัยใคร่ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา และบุคคลในครอบครัวของผู้วิจัย ซึ่งคอยให้กำลังใจ และสนับสนุนผู้วิจัยมาโดยตลอดจนสำเร็จการศึกษา

## สารบัญ

หน้า

|  |    |
|--|----|
| บทคัดย่อภาษาไทย.....                             | ง  |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....                          | จ  |
| กิตติกรรมประกาศ.....                             | ฉ  |
| สารบัญ.....                                      | ช  |
| สารบัญตาราง.....                                 | ฎ  |
| สารบัญรูป.....                                   | ฏ  |
| สัญลักษณ์.....                                   | ด  |
| บทที่  |    |
| 1. บทนำ.....                                     | 1  |
| 1.1 วัตถุประสงค์.....                            | 3  |
| 1.2 ขอบเขตการศึกษา.....                          | 3  |
| 2. ตรวจเอกสาร.....                               | 4  |
| 2.1 ความเป็นมาของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรต..... | 4  |
| 2.1.1 คุณลักษณะของ PHB.....                      | 4  |
| 2.1.2 กลไกการสังเคราะห์ PHB.....                 | 5  |
| 2.1.3 เชื้อจุลินทรีย์และสารอาหาร.....            | 7  |
| 2.2 การพัฒนากระบวนการหมัก.....                   | 11 |
| 2.2.1 การหมักแบบไม่ต่อเนื่อง.....                | 11 |

## สารบัญ (ต่อ)

|  | หน้า |
|--|------|
| 2.2.2 การหมักแบบไม่ต่อเนื่องสองขั้นตอน.....                    | 13   |
| 2.2.3 กระบวนการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง.....                       | 14   |
| 2.2.4 การหมักแบบต่อเนื่องขั้นตอนเดียว.....                     | 16   |
| 2.2.5 การประยุกต์ใช้เทคนิคไมโครฟิลเตรชัน.....                  | 17   |
| 2.2.6 การหมักแบบต่อเนื่องสองขั้นตอน.....                       | 17   |
| 2.3 การสกัดแยกพอลิ-ปีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตและทำให้บริสุทธิ์..... | 18   |
| 2.3.1 การสกัดด้วยตัวทำละลาย.....                               | 18   |
| 2.3.2 การย่อยด้วยไซเดียมไฮโปคลอไรท์.....                       | 19   |
| 2.3.3 การย่อยด้วยเอนไซม์.....                                  | 20   |
| 2.4 คุณสมบัติของPHB.....                                       | 20   |
| 2.5 การประยุกต์ใช้ PHB.....                                    | 21   |
| 3. ทฤษฎี.....  | 23   |
| 3.1 การเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่อง.....                             | 23   |
| 3.1.1 ลักษณะโดยทั่วไป.....                                     | 23   |
| 3.1.2 รูปแบบทางคณิตศาสตร์ของการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่อง.....     | 26   |
| 3.2 การเพาะเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่อง.....                         | 28   |
| 3.2.1 ลักษณะโดยทั่วไป.....                                     | 28   |
| 3.2.2 รูปแบบทางคณิตศาสตร์ของการเพาะเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่อง..... | 30   |



สารบัญ (ต่อ)

หน้า

|   |    |
|---|----|
| 4. อุปกรณ์และวิธีการดำเนินงานวิจัย.....                               | 34 |
| 4.1 อุปกรณ์.....  | 34 |
| 4.2 สารเคมี.....  | 35 |
| 4.3 เชื้อจุลินทรีย์.....  | 36 |
| 4.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ.....   | 36 |
| 4.5 วิธีการเก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์.....                              | 38 |
| 4.6 ขั้นตอนการทดลอง.....  | 38 |
| 4.7 การวัดการเจริญของเชื้อ.....                                       | 44 |
| 4.8 การหาปริมาณน้ำตาลกลูโคส.....                                      | 44 |
| 4.9 การหาปริมาณไนโตรเจน.....  | 45 |
| 4.10 วิธีหาปริมาณ PHB.....  | 46 |
| 5. ผลการทดลอง วิเคราะห์ และสรุปผลการทดลอง.....                        | 47 |
| 5.1 ผลการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>A. eutrophus</i> NCIMB 11599    |    |
| ในถังหมักแบบไม่ต่อเนื่อง.....   | 47 |
| 5.2 ผลของการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ <i>A. eutrophus</i> NCIMB 11599 |    |
| แบบต่อเนื่องในถังหมักแรก.....   | 49 |
| 5.3 การศึกษาหาขนาดของถังหมักที่สอง.....                               | 62 |
| 5.4 ผลการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่องสองขั้นตอน.....                        | 65 |

## สารบัญ (ต่อ)

|  | หน้า |
|--|------|
| 5.5 ผลการเพาะเลี้ยงเชื้อแบบสองขั้นตอน.....                     | 67   |
| 5.6 เปรียบเทียบผลการทดลองที่ได้กับการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง..... | 78   |
| 5.7 สรุปผลการทดลอง.....  | 84   |
| 5.8 ข้อเสนอแนะ.....  | 85   |
| รายการอ้างอิง.....   | 86   |
| ภาคผนวก.....   | 91   |
| ภาคผนวก ก. เส้นกราฟมาตรฐานต่างๆ.....                           | 92   |
| ภาคผนวก ข. ข้อมูลผลการทดลอง.....                               | 97   |
| ภาคผนวก ค. ตัวอย่างการคำนวณ.....                               | 112  |
| ประวัติผู้เขียน .....  | 120  |

## สารบัญตาราง

| ตารางที่ | หน้า   |
|----------|--|
| 2.1      | แสดงชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีการสังเคราะห์และสะสม PHB ไว้ในเซลล์ .....9  |
| 2.2      | สรุปการผลิต PHB จากเชื้อจุลินทรีย์และสารอาหารชนิดต่างๆ.....10  |
| 2.3      | แสดงน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณ PHB ในเซลล์เมื่อใช้แหล่งอาหารต่างกัน.....12  |
| 2.4      | แสดงอัตราการเจริญเติบโตของการเจริญเติบโตต่อกลูโคสและปริมาณ PHB<br>ภายในเซลล์ เมื่อจำกัดปัจจัยต่างๆกัน.....16   |
| 2.5      | แสดงการเปรียบเทียบคุณสมบัติต่าง ๆ ของ PHB กับ พอลิเมอร์อื่นๆ.....22  |
| 5.1      | แสดงผลการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>A. eutrophus</i> NCIMB 11599 ในถังหมัก<br>แบบต่อเนื่องขั้นตอนแรก ที่ C/N ratio ต่างๆ เมื่ออัตราการเจริญ 0.08 ต่อชั่วโมง.....57                           |
| 5.2      | แสดงผลการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>A. eutrophus</i> NCIMB 11599 ในถังหมัก<br>แบบกึ่งต่อเนื่องขั้นตอนที่สอง ที่อัตราการเจริญของการป้อนเข้าจาก<br>ถังหมักแรกต่างๆ เมื่อ C/N ratio = 33.....73 |
| 5.3      | แสดงการเปรียบเทียบการผลิต PHB จากงานวิจัยที่ผ่านมากับงานวิจัยนี้.....83  |

## สารบัญรูป

| รูปที่ | หน้า  |
|--------|---|
| 2.1    | แสดงสูตรโครงสร้างของ PHB.....4  |
| 2.2    | ภาพตัดของเซลล์ <i>Alcaligenes eutrophus</i> จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน<br>แสดง PHB แกรนูลภายในเซลล์.....5          |
| 2.3    | แสดงผลิตภัณฑ์จากอะซิติลโคเอนในภาวะที่มีสารอาหารสมดุล และในภาวะที่มี<br>สารอาหารไม่สมดุล แบบมีคาร์บอนมากเกินไป.....6 |
| 2.4    | แสดงการควบคุมการสังเคราะห์และการย่อยสลาย PHB.....8  |
| 3.1    | กระบวนการหมักแบบต่อเนื่อง (n) Chemostat (๗) Turbidostat.....25  |
| 3.2    | กระบวนการหมักแบบต่อเนื่อง.....26  |
| 3.3    | กระบวนการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง.....29  |
| 3.4    | กระบวนการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง.....30  |
| 4.1    | แสดงเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารนิวเทรียนเอการ์แบบแข็งเอียง.....39  |
| 4.2    | แสดงหัวเชื้อตั้งต้น ในขวดแก้วทรงกรวยขนาด 500 มิลลิลิตร.....39   |
| 4.3    | ภาพถ่ายแสดงการหมักแบบต่อเนื่องขั้นตอนเดียว.....41   |
| 4.4    | ภาพถ่ายแสดงการผลิตพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตในการหมักแบบสองขั้นตอน.....42   |
| 4.5    | แผนภาพแสดงการผลิตพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตในการหมักแบบสองขั้นตอน.....43  |
| 5.1    | แสดงการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>A.eutrophus</i> NCIMB 11599<br>ในการเพาะเลี้ยงแบบไม่ต่อเนื่อง.....48                  |

## สารบัญรูป (ต่อ)

| รูปที่ | หน้า  |
|--------|---|
| 5.2    | แสดงเปรียบเทียบปริมาณเซลล์ กลูโคส และไนโตรเจน ที่ได้จากการเพาะเลี้ยง<br>แบบต่อเนื่องที่อัตราการเจือจาง 0.08 ต่อชั่วโมง.....50   |
| 5.3    | แสดงลักษณะของเชื้อ <i>A.eutrophus</i> NCIMB 11599 เมื่อส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์<br>กำลังขยาย 1000 เท่า .....51  |
| 5.4    | แสดงเปรียบเทียบปริมาณเซลล์ กลูโคส และไนโตรเจน ที่ได้จาก<br>การเพาะเลี้ยงการหมักแบบต่อเนื่องที่อัตราการเจือจาง 0.08 ต่อชั่วโมง<br>เมื่อใช้สารในการปรับค่าความเป็นกรด-ด่างต่างกัน.....52      |
| 5.5    | แสดงเปรียบเทียบปริมาณเซลล์ กลูโคส และไนโตรเจน ที่ได้จาก<br>การเพาะเลี้ยงการหมักแบบต่อเนื่องที่อัตราการเจือจาง 0.08 ต่อชั่วโมง<br>โดยใช้ (NH <sub>4</sub> )OH ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง.....54 |
| 5.6    | แสดงการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>A.eutrophus</i> NCIMB 11599 ในการเพาะเลี้ยง<br>แบบต่อเนื่องเมื่อ C/N ratio เท่ากับ 22.....55  |
| 5.7    | แสดงการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>A.eutrophus</i> NCIMB 11599 ในการเพาะเลี้ยง<br>แบบต่อเนื่องเมื่อ C/N ratio เท่ากับ 33.....55  |
| 5.8    | แสดงการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>A.eutrophus</i> NCIMB 11599 ในการเพาะเลี้ยง<br>แบบต่อเนื่องเมื่อ C/N ratio เท่ากับ 44.....56  |

## สารบัญรูป (ต่อ)

| รูปที่ | หน้า   |
|--------|--|
| 5.9    | แสดงปริมาณเซลล์, PHB และ residual biomass เมื่อแปรผันอัตราส่วนโดย<br>โมลของคาร์บอนต่อไนโตรเจน.....59   |
| 5.10   | แสดงอัตราผลผลิตเซลล์, PHB และ residual biomass เมื่อแปรผัน<br>อัตราส่วนโดยโมลของคาร์บอนต่อไนโตรเจน.....60  |
| 5.11   | แสดงผลได้ของเซลล์, PHB และ residual biomass เมื่อแปรผัน<br>อัตราส่วนโดยโมลของคาร์บอนต่อไนโตรเจน.....61   |
| 5.12   | แสดงการหาขนาดของถังหมักที่สอง.....64   |
| 5.13   | แสดงการเจริญเติบโตของเชื้อ A.eutrophus ในการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่อง<br>สองขั้นตอน เมื่อนำหมักจากถังหมักแรกป้อนเข้าด้วยอัตราการเจือจาง<br>0.08 ต่อชั่วโมง และ C/N ratio =33.....66 |
| 5.14   | แสดงการเจริญเติบโตของเชื้อ A.eutrophus โดยการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่อง<br>ในถังหมักแรก เมื่อ C/N ratio และ อัตราการเจือจาง เท่ากับ 33<br>และ 0.10 ตามลำดับ.....68                   |
| 5.15   | แสดงการเจริญเติบโตของเชื้อ A.eutrophus โดยการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่อง<br>ในถังหมักแรก เมื่อ C/N ratio และ อัตราการเจือจาง เท่ากับ 33<br>และ 0.12 ตามลำดับ.....68                   |
| 5.16   | แสดงปริมาณเซลล์, PHB และ residual biomass ในถังหมักแรก<br>ที่อัตราเจือจางต่างๆ.....69  |

## สารบัญรูป (ต่อ)

| รูปที่  | หน้า |
|---|------|
| 5.17  | 70   |
| แสดงการเจริญเติบโตของเชื้อ A.eutrophus โดยการเพาะเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่อง     |      |
| ในถังหมักที่สอง เมื่อป้อนน้ำหมักจากถังแรกด้วยอัตราการเจือจาง                |      |
| 0.08 ต่อชั่วโมง และ C/N ratio =33.....                                      |      |
| 5.18  | 71   |
| แสดงการเจริญเติบโตของเชื้อ A.eutrophus โดยการเพาะเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่อง     |      |
| ในถังหมักที่สอง เมื่อน้ำหมักจากถังแรกป้อนเข้าด้วยอัตราการเจือจาง            |      |
| 0.10 ต่อชั่วโมง และ C/N ratio =33.....                                      |      |
| 5.19  | 72   |
| แสดงการเจริญเติบโตของเชื้อ A.eutrophus โดยการเพาะเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่อง     |      |
| ในถังหมักที่สอง เมื่อน้ำหมักจากถังแรกป้อนเข้าด้วยอัตราการเจือจาง            |      |
| 0.12 ต่อชั่วโมง และ C/N ratio =33.....                                      |      |
| 5.20  | 75   |
| แสดงปริมาณเซลล์ residual biomass อัตราผลผลิตของเซลล์ และอัตราผล             |      |
| ผลิตของ residual biomass ในถังหมักที่สอง ช่วงระหว่างการป้อนน้ำหมัก          |      |
| จากถังหมักแรก.....  |      |
| 5.21  | 76   |
| แสดงปริมาณ PHB และอัตราผลผลิต PHB ในถังหมักที่สอง                           |      |
| ช่วงระหว่างการป้อนน้ำหมักจากถังหมักแรก.....                                 |      |
| 5.22  | 77   |
| แสดงอัตราผลผลิตของ PHB หลังจากปิดการป้อนน้ำหมักจากถังหมักแรก.....           |      |
| 5.23  | 79   |
| แสดงการเจริญเติบโตของเชื้อ A.eutrophus ในการเพาะเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่อง..... |      |

## สารบัญรูป (ต่อ)

| รูปที่ | หน้า   |
|--------|--|
| 5.24   | แสดงการเปรียบเทียบการหมักแบบกึ่งต่อเนื่องกับการหมักแบบสองขั้นตอน<br>โดยใช้เวลาในการเพาะเลี้ยง 100 ชั่วโมง.....81 |
| 5.25   | แสดงการเปรียบเทียบการหมักแบบกึ่งต่อเนื่องกับการหมักแบบสองขั้นตอน<br>โดยใช้เวลาในการเพาะเลี้ยง 150 ชั่วโมง.....82 |



## สัญลักษณ์

$F$  = อัตราการไหลเข้าและออกของสารละลายอาหาร ในถังหมักแรก (l/hr)

$F_{out}$  = อัตราการไหลออกของน้ำหมักจากถังหมักที่สอง (l/hr)

$F_{acid-base}$ ,  $F_{antifoam}$  = อัตราการไหลของกรด-ด่าง, antifoam (l/hr)

$F_{evap}$  = อัตราการระเหยของน้ำหมัก (l/hr)

$X_0$  = ความเข้มข้นของเซลล์ในสารละลายที่เข้าถังหมักแรก (g/l)

$X$  = ความเข้มข้นของเซลล์ (g/l)

$S_0$  = ความเข้มข้นสารละลายที่เข้าถังหมักแรก (g/l)

$S$  = ความเข้มข้นสารละลาย (g/l)

$P_0$  = ความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ในสารละลายที่เข้าถังหมักแรก (g/l)

$P$  = ความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ (g/l)

$V$  = ปริมาตรของของเหลวในถังหมัก (l)

$D$  = อัตราการป้อนสารอาหารต่อปริมาตรถังหมัก ( $h^{-1}$ )

$\mu$  = อัตราการเจริญจำเพาะของเซลล์ ( $h^{-1}$ )

$v$  = อัตราการสร้างผลิตภัณฑ์จำเพาะ ( $h^{-1}$ )

$\gamma$  = อัตราการตายจำเพาะ ( $h^{-1}$ )

$K$  = อัตราการสลายตัวของผลิตภัณฑ์ ( $h^{-1}$ )

$m$  = อัตราการใช้สารอาหารเพื่อการยั้งชีพ ( $h^{-1}$ )

$Y_{X/S}$  = ผลได้ของเซลล์จากสารอาหาร (g/g)

$Y_{P/S}$  = ผลได้ของผลิตภัณฑ์จากสารอาหาร (g/g)

$Y_{P/X}$  = ผลได้ของผลิตภัณฑ์จากเซลล์ (g/g)

t = เวลา (h)

หมายเหตุ

ตัวเลข 1 และ 2 ด้านล่าง หมายถึง ถังหมักแรกและถังหมักที่สอง ตามลำดับ