รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

ศิริพงษ์ วิงวอน. การควบคุมอัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนในสารป้อนเพื่อเพิ่มอัตราการผลิตของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทีเรตจาก *Alcaligenes eutrophus* ATCC 16797 ในปฏิกรณ์ชีวมวลแบบกึ่งต่อเนื่อง. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมเคมี บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2539.

ส่งศรี กุลปรีชา. การผลิตโพลีเมอร์ที่ย่อยสลายได้โดยธรรมชาติจากจุลินทรีย์. รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2538.

สถิดา ไกรลาศ. การเพิ่มอัตราผลผลิตตัวทำละลาย ในกระบวนการหมักแอซีโตน-บิวทานอล โดยระบบต่อเนื่องแบบสองขั้นตอน. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมเคมี บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2539.

อภิชาติ แสงรุ่งเรืองกิจ. การผลิตพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทีเรตโดย *Alcaligenes eutrophus* ATCC 16797 ในปฏิกรณ์ชีวมวลด้วยการใช้ไมโครฟิลเตรชัน. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมเคมี บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2539.

ภาษาอังกฤษ

Akiyama, M. and Doi, Y. Production of Poly (3-Hydroxyalkanoate) from α, ω - Alkanedioic Acids and Hydroxylated Fatty Acids by *Alcaligenes sp.* Biotechnol. Lett. 15 (1993) : 163-168.

Ashwell, G. New calorimetric methods of sugar analysis. Method in Enzymology. 8 (1966) : 85-98.

Beaulieu, M. Beaulieu, Y., Melinard, J. Pandian, S. and Goulet, J. Influence of Ammonium Salts and Cane Molasses on Growth of *Alcaligenes eutrophus* and Production of Polyhydroxybutyrate. Appl. Environ. Microbiol. (1995) : 165-169.

Byrom, D. Polymer Synthesis by Microorganisms : Technology and Economics. TIBTECH. 5 (1987) : 246-250.

Dawes, E. A., and Senior, P. J. The Role and Regulation of Energy Reserve Polymer in Microorganisms. Adv. Microbial. Physiol. 10 (1973) : 135-266.

Doi, Y. Microbial Polyesters , Japan : VCH Publishers, Inc., 1990 : 63-67, 148-151.

Gostomski, P. A. and Bungay, H. R. Effect of Glucose and NH_4^+ Levels on Poly (β-Hydroxybutyrate) Production and Growth in a Continuouns Culture of *Alcaligenes eutrophus*. Biotechnol. Prog. 12 (1996) : 234-239.

Griffin, G. J. L. Chemistry and Technology of Biodegradable Polymers. London : Blackle Academic and Profressional., 1994 : 57-61.

Jang, J. H. and Rogers, P. L. Two Stage Continuous Evalution of Biopolymer Production by *Alcaligenes* sp. Sh-69. 4th Pacific RIM Biotechnology Conference. Melboume, 1995, pp. 257-258.

Kim, B. S., Lee, S. C., Lee, S. Y., Chang, H. N., Chang, Y. K., Woo, S.I. Production of Poly (3-Hydroxybutyric acid) by Fed-Batch Culture of *Alcaligenes eutrophus* with Glucose Concentration Control. Biotechnol. Bioeng. 43 (1994) : 892-898.

Kim, B. S., Lee, S. Y., Chang, H. N. Production of Poly-3-hydroxybutyrate by Fed-Batch Culture of Recombinant *Escherichia coli*. Biotechnol. Lett. 14 (1992) : 811-816.

Kim, S. W., Kim, P., Lee, H.S., Kim, J. H. High Production of Poly-β-Hydroxybutyrate (PHB) from *Methylobacterium organophilum* under Potassium Limitation. Biotechnol. Lett. 18 (1996) : 25-30.

Lee, I. Y., Nam, S. W., Choi, E. S. Chang, H. N. and Park, Y. H. Production of Poly -β-Hydroxybutyrate and Measurement of Related Enzyme Activities in *Alcaligenes eutrophus*. J. Ferment. Bioeng. 76 (1993) : 416-418.

Lee, S. Y. Bacterial Polyhydroxyalkanoates. Biotechnol. Bioeng. 49 (1996) : 1-14.

Lee, S. Y., Lee, Y. K. and Chang, H. N. Stimulatory Effects of Amino Acids and Oleic Acid on Poly (3-Hydroxybutyrate) Synthesis by Recombinant *Escherichia coli*. J. Ferment. Bioeng. 79 (1995) : 177-180.

Ryu, H. W., Hahn, S. K., Chang, Y. K., and Chang, H. N. Production of Poly (3-β-Hydroxybutyrate) by High Cell Density Fed-Batch Culture of *Alcaligenes eutrophus* with Phosphate Limitation. Biotechnol. Bioeng. 55 (1997) : 28-32.

Schubert, P., Steinbuchel, A. Schleel, H., Cloning of the *Alcaligenes eutrophus* Genes for Synthesis of Poly-β-Hydroxybutyrate Acid and Synthesis of PHB in *Escherichia coli*. Journal of bacteriology. 170 (1988) : 5837-5847.

Scragg, A. H., Biotechnology for engineers. England : ELLIS HORWOOD LIMITED., 1943 : 199-213.

Senior, P. J., Beech, G. A. Ritchie, G.A.F. and Dawes E. A. The Role of Oxygen Limitation in The Formation of Poly-β-Hydroxybutyrate during Batch and Continuous Culture of *Azotobacter beijerinckii*. Biochem J. 128 (1972) : 1193-1201.

Suzuki, T., Yamane, Y. and Shimizu. S. Mass Production of Poly-β-Hydroxybutyric Acid by Fed-Batch Culture with Controlled Carbon/Nitrogen Feeding. Appl. Microbiol. Biotechnol. 24 (1986) :370-374.

Suzuki, T., Yamane, Y. and Shimizu. S. Mass Production of Poly-β-Hydroxybutyric Acid by Fully Automatic Fed-Batch Culture of Methylotroph. Appl. Microbiol. Biotechnol. 23 (1986a) :322-329.

Suzuki, T., Yamane, Y. and Shimizu. S. Kinetics and Effect of Nitrogen Source Feeding on Production of_Poly-β-Hydroxybutyric Acid by Fed-Batch Culture. Appl. Microbiol. Biotechnol. 23 (1986b) :366-369.

Tanaka, K and Ishizaki, A. Production of Poly-β-Hydroxybutyrate acid from carbon dioxide by two-stage culture method employing *Alcaligenes eutrophus* ATCC 17697[T]. J. Ferment Bioen. 77 (1994) : 425-427.

Tanaka, K. and Ishizaki, A. Production of Poly (D-3-Hydroxybutyrate) from CO_2, H_2, and O_2 by High Cell Density Autotrophic Cultivation of *Alcaligenes eutrophus*. Biotechnol. Bioeng. 45 (1995) : 268-275.

Vincenzini, M., Marchini, A., Ena, A. and Phillippis, R. D. H_2 and Poly -β-Hydroxybutyrate, Two Alternative Chemicals from Purple Non Sulfur Bacteria. Biotechnol. Lett. 19 (1997) : 759-762.

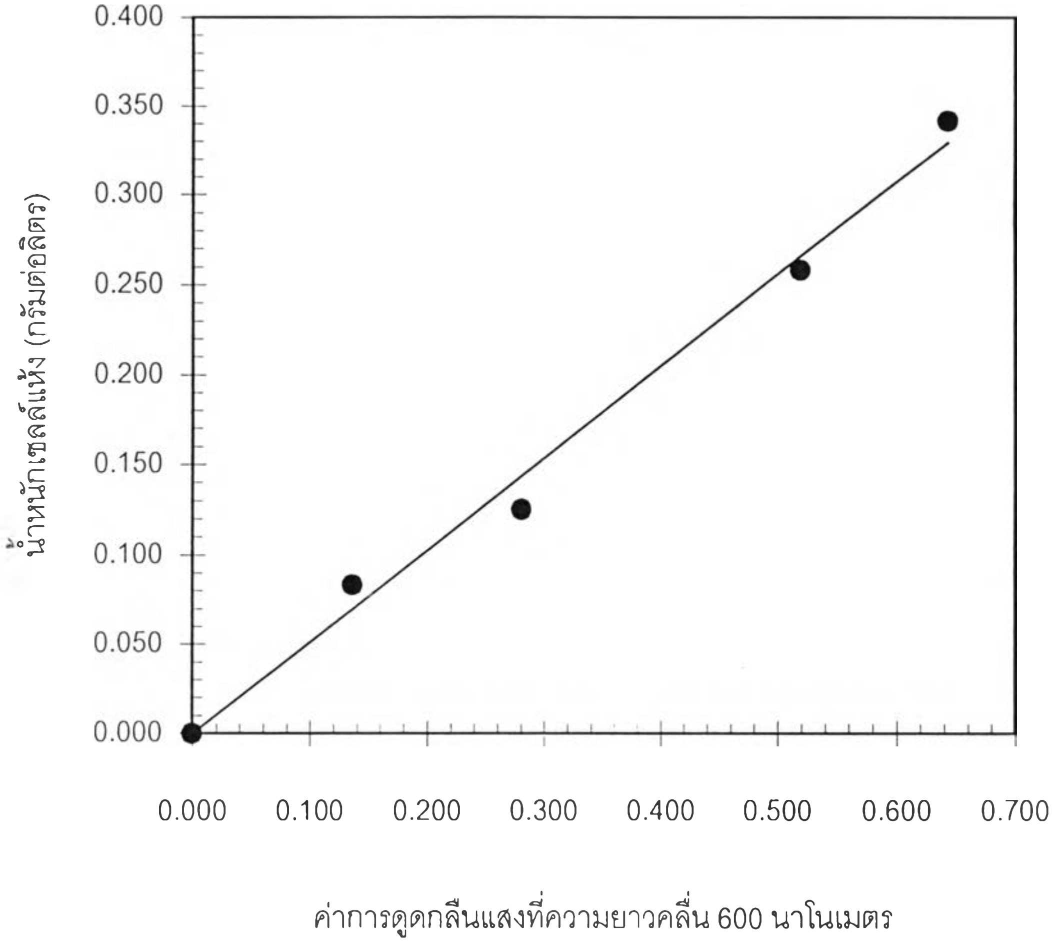
Weatherburn,.M. W. Phenol-Hypochlorite Reaction for Determination of Ammonia. Analytical Chemistry. 8 (1967) :971-974.

Yamane, T., Fukunaga, M. and Lee, Y. W. Increase PHB Productivity by High - Cell - Density Fed - Batch Culture of *Alcaligenes latus*, a Growth - Associated PHB Producer. Biotechnol. Bioeng. 50 (1996) : 197-202.

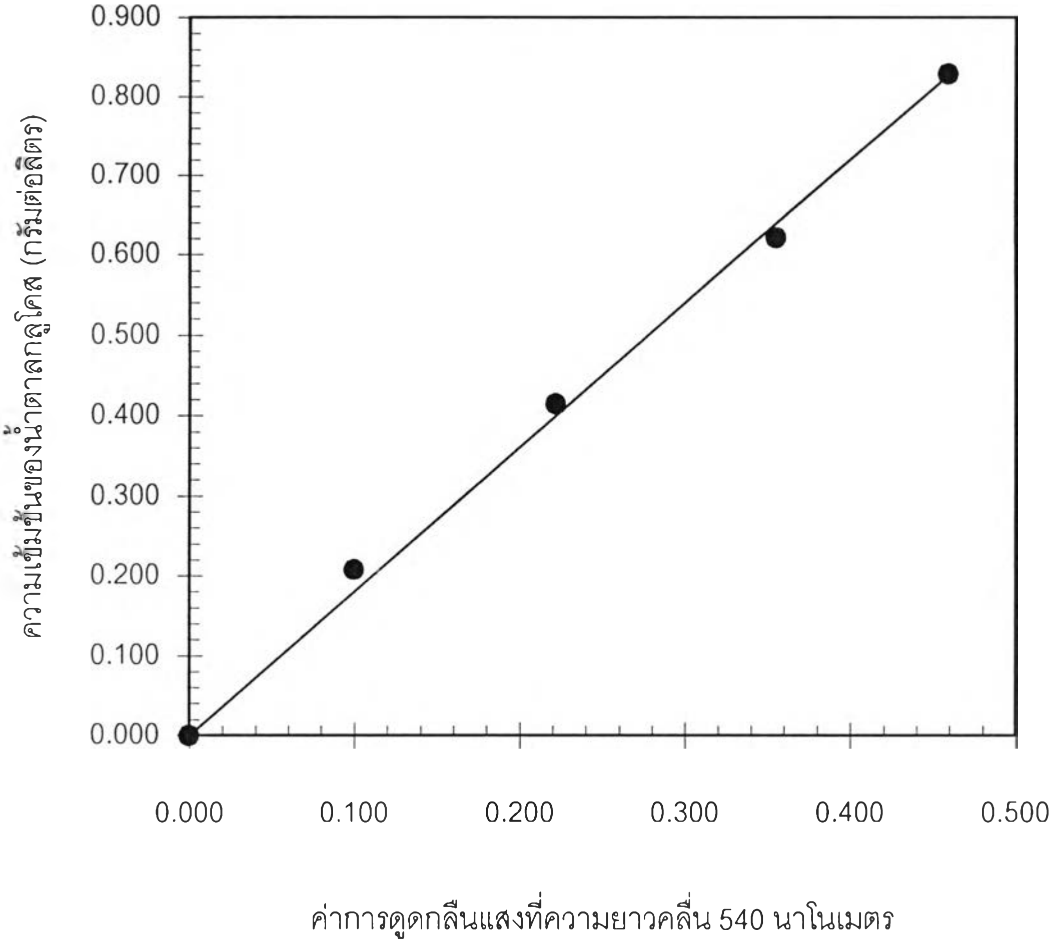
ภาคผนวก

ภาคผนวก ก.

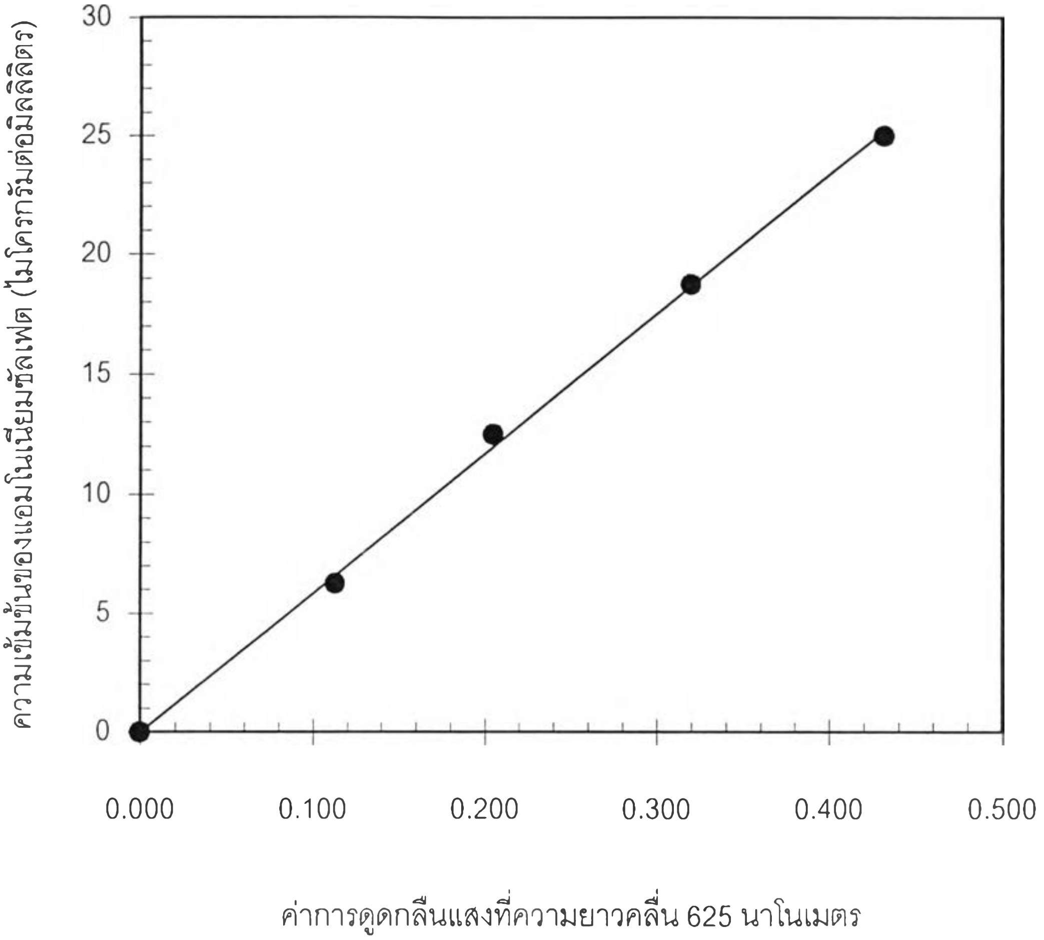
เส้นกราฟมาตรฐานต่าง ๆ



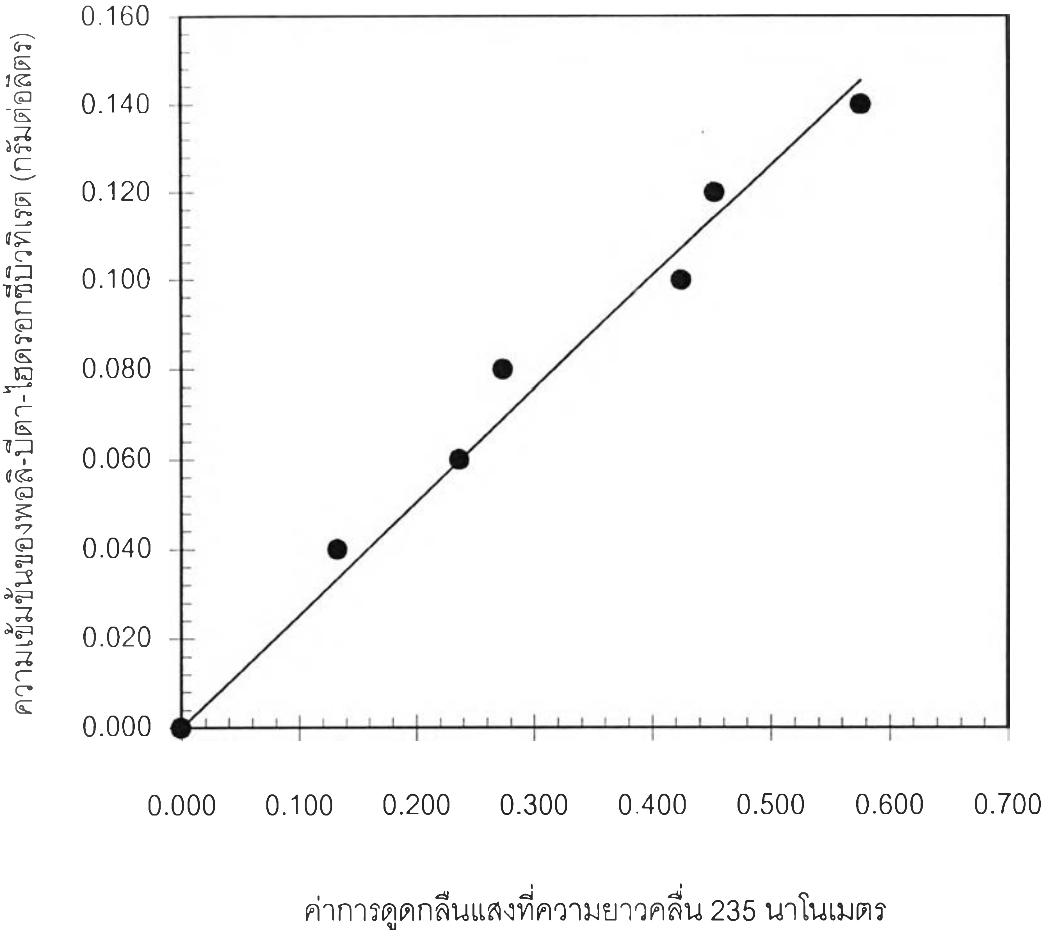
รูปที่ ก.1 แสดงกราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง



รูปที่ ก.2 แสดงกราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณน้ำตาลกลูโคส



รูปที่ ก.3 แสดงกราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต



รูปที่ ก.4 แสดงกราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรต

ภาคผนวก ข.

ข้อมูลผลการทดลอง

ตาราง ข.1 แสดงการเพาะเลี้ยงเชื้อ *A.eutrophus* NCIMB 11599 ในการเพาะเลี้ยงแบบไม่ต่อเนื่อง

อายุการเพาะเลี้ยง (ชั่วโมง)	ปริมาณเซลล์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณไนโตรเจน (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณ PHB (กรัมต่อลิตร)	residual biomass (กรัมต่อลิตร)
0	0.551	20.124	3.279	-	-
3	0.933	19.352	3.058	0.004	0.930
5	1.853	18.965	2.625	-	-
7	2.781	15.837	2.309	0.128	2.653
9	4.485	14.948	0.554	-	-
11	6.279	7.822	0.319	0.411	5.869
12	8.253	4.282	0.000	-	-
14	10.918	0.462	0.002	0.942	9.976
16	9.919	0.265	0.003	-	-
18	9.893	0.238	0.005	0.833	9.060
20	9.534	0.234	0.000	-	-
22	9.329	0.153	0.000	-	-
24	8.381	0.220	0.000	0.688	7.693
26	8.637	0.216	0.000	-	-
28	7.997	0.241	0.000	-	-
30	7.868	0.257	0.000	0.636	7.233
32	7.433	0.263	0.000	-	-
38	7.023	0.243	0.000	-	-
42	6.741	0.295	0.000	0.537	6.203

ตาราง ข.2 แสดงการเพาะเลี้ยงเชื้อ *A.eutrophus* NCIMB 11599 ในการหมักแบบต่อเนื่องขั้นตอนแรก โดยแปรผันสูตรอาหารในสายป้อน

อายุการเพาะเลี้ยง (ชั่วโมง)	ปริมาณเซลล์ (กรัมต่อลิตร)			ปริมาณน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)			ปริมาณไนโตรเจน (กรัมต่อลิตร)		
	ก	ข	ค	ก	ข	ค	ก	ข	ค
0	0.332	0.786	0.270	22.828	19.892	20.086	3.683	3.702	3.767
8	1.151	4.434	1.307	20.201	13.558	18.058	3.135	1.769	3.420
10	2.312	6.049	2.409	19.545	9.927	15.740	2.788	0.810	2.409
13	4.998	11.021	4.351	14.794	5.272	9.608	1.799	1.943	1.163
15	7.894	12.482	5.685	9.096	2.530	8.691	0.792	1.866	0.473
16	9.406	12.405	6.433	6.180	1.796	7.378	0.531	2.030	0.355
17	11.508	12.969	7.830	4.230	1.700	8.363	0.468	2.225	0.180
18	13.815	13.302	8.189	2.260	1.642	7.493	0.411	2.348	0.159
19	14.635	12.712	8.855	1.410	2.047	7.474	0.455	2.615	0.172
20	14.122	11.790	9.342	1.255	2.395	6.180	0.550	3.230	0.130
22	12.943	11.508	11.610	2.202	3.399	4.075	0.785	3.107	0.433
24	11.226	10.508	11.034	4.287	4.461	6.315	1.330	3.661	2.610
26	9.534	9.252	11.367	6.875	4.809	8.343	1.630	3.630	2.735
28	7.740	8.714	10.790	8.942	6.199	9.425	1.671	3.927	2.861
30	6.664	7.125	10.765	9.888	7.500	12.244	1.810	-	-
32	6.049	6.177	10.701	10.757	7.900	13.480	1.979	-	-
34	4.665	5.152	10.201	10.950	8.100	14.794	1.882	-	-

หมายเหตุ (ก) ปริมาณกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร และปริมาณไนโตรเจน 4 กรัมต่อลิตร (ข) ปริมาณกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร และปริมาณไนโตรเจน 7 กรัมต่อลิตร

(ค) ปริมาณกลูโคส 30 กรัมต่อลิตร และปริมาณไนโตรเจน 7 กรัมต่อลิตร

ตาราง ข.3 แสดงการเพาะเลี้ยงเชื้อ *A.eutrophus* NCIMB 11599 ในการหมักแบบต่อเนื่องขั้นตอนแรกโดยแปรผัน สารที่ใช้ในการปรับความเป็นกรด-ด่าง

อายุการเพาะเลี้ยง	ปริมาณเซลล์ (g/l)		ปริมาณน้ำตาล (g/l)		ปริมาณไนโตรเจน (g/l)	
(ชั่วโมง)	ก	ข	ก	ข	ก	ข
0	0.270	0.308	20.086	23.272	3.767	3.886
8	1.307	1.453	18.058	20.568	3.420	3.948
10	2.409	1.858	15.740	20.665	2.409	3.876
14	5.485	4.184	10.699	15.499	0.668	3.901
16	6.433	7.202	7.378	7.822	0.355	3.548
18	8.189	9.893	7.493	5.697	0.159	4.214
19	8.855	10.970	7.474	3.901	0.172	4.368
21	10.265	13.020	5.118	2.704	0.093	4.583
22	11.610	13.302	4.075	2.820	0.433	4.317
23	11.521	13.994	5.215	3.554	0.979	4.296
24	11.034	12.328	6.315	3.882	2.610	4.430
25	11.136	12.379	7.513	4.558	3.779	4.922
27	11.341	12.507	8.923	4.442	3.958	5.373
28	10.790	12.559	9.425	4.790	2.861	5.332
29	10.739	13.661	10.236	5.350	3.179	5.629
30	10.765	11.764	12.244	5.890	3.542	5.865
32	10.701	10.816	13.480	7.802	-	6.337
34	10.201	9.663	14.794	9.251	-	6.419
36	9.547	9.406	17.613	10.970	-	6.665
39	8.740	7.868	19.236	14.195	-	6.588

หมายเหตุ (ก) ใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ (ข) ใช้แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์

ตาราง ข.4 แสดงการเพาะเลี้ยงเชื้อ *A.eutrophus* NCIMB 11599 ในการหมักแบบต่อเนื่องขั้นตอนแรก โดยแปรผันสูตรอาหารในสายป้อน และใช้ $(NH_4)OH$ ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง

อายุการเพาะเลี้ยง	ปริมาณเซลล์ (g/l)		ปริมาณน้ำตาล (g/l)		ปริมาณไนโตรเจน (g/l)	
(ชั่วโมง)	ก	ข	ก	ข	ก	ข
0	0.308	0.194	23.272	22.789	3.886	3.743
8	1.453	1.141	20.568	21.437	3.948	3.507
10	1.858	1.525	20.665	20.568	3.876	3.527
12	2.730	2.211	17.865	20.423	3.904	3.784
14	4.184	3.319	15.499	16.455	3.948	3.896
16	7.202	5.844	7.822	11.858	3.548	3.855
18	9.893	9.381	5.697	9.579	4.214	4.009
19	10.970	10.149	3.901	7.030	4.368	3.302
20	11.995	10.765	3.129	5.466	3.978	3.384
21	13.020	13.276	2.704	4.674	4.583	2.620
22	13.302	13.686	2.820	4.017	4.317	3.363
23	13.994	14.455	3.554	3.747	4.296	3.220
24	12.328	14.865	3.882	3.708	4.430	3.086
25	12.379	14.635	4.558	3.264	4.922	2.984
26	11.892	14.020	4.500	3.129	5.158	2.974
27	12.507	14.763	4.442	3.129	5.373	2.748
28	12.559	14.891	4.790	3.148	5.332	2.574
33	10.816	15.557	7.802	3.418	6.337	2.307
35	9.663	14.942	9.251	3.418	6.419	1.892
37	9.406	14.404	10.970	3.360	6.665	1.784
39	9.047	14.378	12.573	3.167	6.747	1.692
41	7.868	13.404	14.195	3.264	6.629	1.354
43	6.792	13.123	16.899	3.090	6.511	1.692
45	6.138	12.482	18.444	3.051	6.088	1.456
47	5.421	12.918	19.796	2.955	5.665	1.405
49	4.844	12.277	21.727	2.646	6.127	1.712
50	-	12.328	-	2.433	-	1.723
52	-	12.738	-	2.491	-	1.733
54	-	12.174	-	2.627	-	1.764
56	-	12.123	-	2.144	-	1.794
58	-	13.148	-	2.375	-	1.553
60	-	13.020	-	2.511	-	1.313
62	-	12.482	-	2.800	-	1.318
64	-	12.251	-	2.994	-	1.323
66	-	12.226	-	2.588	-	1.349
68	-	13.866	-	2.433	-	1.375

หมายเหตุ (ก) ปริมาณกลูโคส 30 กรัมต่อลิตร และปริมาณไนโตรเจน 7 กรัมต่อลิตร

(ข) ปริมาณกลูโคส 30 กรัมต่อลิตร และปริมาณไนโตรเจน 2 กรัมต่อลิตร

ตาราง ข.5 แสดงการเพาะเลี้ยงเชื้อ *A.eutrophus* NCIMB 11599 ในการหมักแบบต่อเนื่องขั้นตอนแรกที่ C/N = 22

อายุการเพาะเลี้ยง	ปริมาณเซลล์	ปริมาณน้ำตาล	ปริมาณไนโตรเจน	ปริมาณ PHB	ปริมาณ PHB	residusl biomass
(ชั่วโมง)	(กรัมต่อลิตร)	(กรัมต่อลิตร)	(กรัมต่อลิตร)	(กรัมต่อลิตร)	(เปอร์เซ็นต์ PHB ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง)	(กรัมต่อลิตร)
0	0.282	22.297	3.563	-	-	-
14	3.639	14.739	3.615	-	-	-
17	7.407	6.646	3.574	-	-	-
19	11.457	0.596	3.615	-	-	-
25	11.226	0.592	2.990	0.780	6.95	10.446
31	11.149	0.581	2.428	0.460	4.13	10.689
37	9.432	0.534	2.115	0.600	6.36	8.832
43	9.278	0.470	2.053	0.660	7.11	8.618
51	9.586	0.493	1.823	0.520	5.42	9.066
55	9.406	0.422	1.875	0.500	5.32	8.906
61	9.278	0.407	1.667	0.720	7.76	8.558
65	9.509	0.474	1.646	0.660	6.94	8.849

ตาราง ข.6 แสดงการเพาะเลี้ยงเชื้อ *A.eutrophus* NCIMB 11599 ในการหมักแบบต่อเนื่องขั้นตอนแรกที่ C/N = 33

อายุการเพาะเลี้ยง (ชั่วโมง)	ปริมาณเซลล์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณไนโตรเจน (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณ PHB (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณ PHB (เปอร์เซ็นต์ PHB ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง)	residusl biomass (กรัมต่อลิตร)
0		18.091	4.001	-	-	-
14	3.332	16.378	3.814	-	-	-
16	5.651	13.327	3.792	-	-	-
21	14.660	2.612	3.473	3.160	21.55	11.500
27	15.737	3.383	3.033	3.540	22.50	12.197
35	15.865	6.209	2.517	4.080	25.72	11.785
43	13.404	7.515	1.945	3.660	27.30	9.744
49	14.045	8.457	1.978	4.400	31.33	9.645
55	12.994	9.591	1.989	3.700	28.47	9.294
59	11.354	11.475	2.022	3.120	27.48	8.234
63	11.380	13.659	1.835	2.880	25.31	8.500

ตาราง ข.7 แสดงการเพาะเลี้ยงเชื้อ *A.eutrophus* NCIMB 11599 ในการหมักแบบต่อเนื่องขั้นตอนแรกที่ C/N = 44

อายุการเพาะเลี้ยง (ชั่วโมง)	ปริมาณเซลล์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณไนโตรเจน (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณ PHB (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณ PHB (เปอร์เซ็นต์ PHB ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง)	residusl biomass (กรัมต่อลิตร)
0	0.162	23.930	3.717	-	-	-
12	0.968	22.075	3.637	-	-	-
18	3.780	16.849	3.166	1.320	34.92	2.460
21	8.560	8.351	3.446	2.500	29.20	6.060
23	12.815	5.509	3.206	3.440	26.84	9.375
25	16.326	2.969	2.815	4.960	30.38	11.366
29	18.069	2.852	2.765	6.000	33.21	12.069
35	20.837	5.587	2.194	7.240	34.75	13.597
41	19.684	5.587	1.843	6.860	34.85	12.824
47	19.120	7.345	1.192	7.180	37.55	11.940
53	18.761	10.354	1.312	7.240	38.59	11.521
59	18.864	15.237	0.972	7.040	37.32	11.824
63	16.916	13.831	0.381	6.600	39.02	10.316

ตาราง ข.8 แสดงการเพาะเลี้ยงเชื้อ *A.eutrophus* NCIMB 11599 ในการหมักแบบต่อเนื่องขั้นตอนแรก อัตราการเจือจาง 0.10 ต่อชั่วโมง และอัตราส่วนโดยโมลของคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 33

อายุการเพาะเลี้ยง (ชั่วโมง)	ปริมาณเซลล์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณไนโตรเจน (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณ PHB (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณ PHB (เปอร์เซ็นต์ PHB ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง)	residusl biomass (กรัมต่อลิตร)
0	0.253	21.991	3.694	-	-	-
16	8.509	7.645	3.626	2.2	25.85	6.309
18	11.867	4.524	4.136	3.72	31.35	8.147
20	15.506	1.571	3.298	4.76	30.70	10.746
22	16.531	3.937	3.264	5.06	30.61	11.471
24	17.044	2.220	3.196	5.12	30.04	11.924
28	16.121	4.691	2.572	5.34	33.12	10.781
32	14.789	6.849	2.255	5.2	35.16	9.589
36	14.225	8.315	2.119	4.82	33.88	9.405
40	13.507	9.111	1.949	4.46	33.02	9.047
44	13.071	10.386	1.836	3.66	28.00	9.411
48	11.918	11.885	1.779	4.12	34.57	7.798
52	11.815	11.802	1.926	3.84	32.50	7.975
58	11.764	11.718	1.813	1.76	14.96	10.004
62	11.559	11.593	1.711	3.34	28.89	8.219

ตาราง ข.9 แสดงการเพาะเลี้ยงเชื้อ *A.eutrophus* NCIMB 11599 ในการหมักแบบต่อเนื่องขั้นตอนแรก อัตราการเจือจาง 0.12 ต่อชั่วโมง และอัตราส่วนโดยโมลของคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 33

อายุการเพาะเลี้ยง	ปริมาณเซลล์	ปริมาณน้ำตาล	ปริมาณไนโตรเจน	ปริมาณ PHB	ปริมาณ PHB	residusl biomass
(ชั่วโมง)	(กรัมต่อลิตร)	(กรัมต่อลิตร)	(กรัมต่อลิตร)	(กรัมต่อลิตร)	(เปอร์เซ็นต์ PHB ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง)	(กรัมต่อลิตร)
0	0.177	13.624	4.098	0.12		0.057
14	8.458	8.252	3.538	1.04	12.30	7.418
16	12.969	3.169	3.658	2.42	18.66	10.549
18	15.122	0.464	3.391	3.44	22.75	11.682
22	16.993	1.353	2.750	4.28	25.19	12.713
26	15.814	3.530	2.470	4.1	25.93	11.714
30	14.865	7.902	2.176	3.94	26.50	10.925
34	10.073	12.716	1.962	2.86	28.39	7.213
38	8.612	16.286	2.016	2.08	24.15	6.532
42	9.381	16.487	1.762	2.28	24.31	7.101
46	8.971	17.320	1.749	2.12	23.63	6.851
50	9.432	17.488	1.682	2.16	22.90	7.272
54	8.919	16.691	1.762	1.82	20.41	7.099
58	8.355	17.782	1.682	1.98	23.70	6.375
62	9.457	17.278	1.735	2.2	23.26	7.257

ตาราง ข.10 แสดงการเพาะเลี้ยงเชื้อ *A.eutrophus* NCIMB 11599 ในการหมักแบบกึ่งต่อเนื่องขั้นตอนที่สอง (เมื่อน้ำหมักจากถังแรกป้อนเข้าด้วยอัตราการเจือจาง 0.08 ต่อชั่วโมง และ C/N ratio =33)

อายุการเพาะเลี้ยง (ชั่วโมง)	ปริมาณเซลล์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณไนโตรเจน (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณ PHB (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณ PHB (เปอร์เซ็นต์ PHB ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง)	residual biomass (กรัมต่อลิตร)
39	18.607	2.466	2.191	5.190	27.89	13.417
43	22.759	10.097	0.017	4.010	17.62	18.749
47	27.552	11.946	0.006	6.390	23.19	21.162
51	31.653	14.986	0.009	7.300	23.06	24.353
55	34.703	14.965	0.001	8.470	24.41	26.233
59	35.318	16.453	-	9.480	26.84	25.838
61	34.447	11.904	0.004	9.600	27.87	24.847
63	35.754	17.516	-	12.030	33.65	23.724
65	37.189	13.647	-	12.840	34.53	24.349
69	40.213	11.883	-	13.830	34.39	26.384
73	42.136	12.542	-	15.280	36.26	26.856
77	44.442	15.688	0.002	16.620	37.40	27.822
83	45.263	10.331	-	15.130	33.43	30.133
85	44.340	18.472	0.001	14.220	32.07	30.120

ตาราง ข.11 แสดงการเพาะเลี้ยงเชื้อ *A.eutrophus* NCIMB 11599 ในการหมักแบบกึ่งต่อเนื่องขั้นตอนที่สอง (เมื่อน้ำหมักจากถังแรกป้อนเข้าด้วยอัตราการเจือจาง 0.10 ต่อชั่วโมง และ C/N ratio =33)

อายุการเพาะเลี้ยง (ชั่วโมง)	ปริมาณเซลล์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณไนโตรเจน (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณ PHB (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณ PHB (เปอร์เซ็นต์ PHB ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง)	residual biomass (กรัมต่อลิตร)
42	17.018	10.445	1.166	2.890	16.98	14.128
46	20.683	8.152	-	5.080	24.56	15.603
50	26.809	9.723	0.010	7.400	27.60	19.409
54	29.756	14.309	0.004	7.820	26.28	21.936
60	35.062	15.838	0.003	9.760	27.84	25.302
64	37.343	17.324	0.002	12.220	32.72	25.123
66	39.906	11.507	-	12.740	31.93	27.166
70	42.853	11.889	0.002	13.980	32.62	28.873
72	44.160	15.455	0.002	15.580	35.28	28.581
74	42.905	11.040	-	13.840	32.26	29.064
76	44.160	8.874	0.003	14.810	33.54	29.350
78	43.545	14.691	-	14.980	34.40	28.565

ตาราง ข.12 แสดงการเพาะเลี้ยงเชื้อ *A.eutrophus* NCIMB 11599 ในการหมักแบบกึ่งต่อเนื่องขั้นตอนที่สอง
(เมื่อน้ำหมักจากถังแรกป้อนเข้าด้วยอัตราการเจือจาง 0.12 ต่อชั่วโมง และ C/N ratio =33)

อายุการเพาะเลี้ยง (ชั่วโมง)	ปริมาณเซลล์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณไนโตรเจน (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณ PHB (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณ PHB (เปอร์เซ็นต์ PHB ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง)	residual biomass (กรัมต่อลิตร)
46	9.457	14.241	2.049	2.410	25.48	7.047
50	13.584	14.116	0.358	3.260	24.00	10.324
54	17.146	12.904	0.008	4.770	27.82	12.376
58	22.016	13.322	0.001	5.880	26.71	16.136
60	24.400	11.318	0.001	6.200	25.41	18.200
64	27.527	13.322	0.001	7.620	27.68	19.907
66	31.089	15.577	-	10.620	34.16	20.469
70	35.190	15.744	0.001	12.100	34.39	23.090
72	35.985	10.900	-	13.960	38.79	22.025
74	36.113	15.243	0.001	14.380	39.82	21.733
79	35.703	13.573	0.002	13.740	38.49	21.962

ตาราง ข 13 แสดงการเพาะเลี้ยงเชื้อ *A. eutrophus* NCIMB 11599 ในการหมักแบบต่อเนื่องสองขั้นตอน (เมื่อน้ำหมักจากถังแรกป้อนเข้าด้วยอัตราการเจือจาง 0 06 ต่อชั่วโมง และ C/N ratio =33)

อายุการเพาะเลี้ยง (ชั่วโมง)	ปริมาณเซลล์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณไนโตรเจน (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณ PHB (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณ PHB (เปอร์เซ็นต์ PHB ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง)	residual biomass (กรัมต่อลิตร)
30	15 865	2 163	2 497	3 900	24 58	11 965
32	17 762	21 418	2 325	-	-	
34	18 736	18 590	1 969	4 500	24 02	12 976
36	18 351	13 249	1 576	-	-	-
38	21 145	11 144	1 323	-	-	-
40	21 862	9 463	0 001	5 820	26 62	16 042
42	26 143	13 693	-	-	-	-
44	32 806	7 745	0 001	-	-	-
46	35 433	12 669	-	9 500	26 81	25 933
48	36 715	10 101	0 000	-	-	-
50	39 022	10 661	-	-	-	-
52	41 328	9 019	0 001	-	-	-
54	42 610	9 212	-	-	-	-
56	49 210	11 704	0 001	-	-	-
58	52 798	18 386	-	15 000	28 41	37 798
60	51 132	13 114	0 000	-	-	-
62	50 235	10 970	0 000	-	-	-
64	49 338	14 311	-	-	-	-
66	50 747	12 824	0 000	-	-	-
68	48 313	11 839	-	-	-	-
70	46 262	14 311	0 001	11 960	25 85	34 302
74	41 777	19 043	0 004	-	-	-
76	41 136	18 193	0 004	-	-	-
78	39 214	14 620	0 004	-	-	-
80	38 445	14 620	0 004	-	-	-
82	38 317	12 824	0 004	10 460	27 30	27 857
86	36 779	13 809	0 004	9 980	27 14	26 799
90	31 781	12 500	0 004	-	-	-
94	29 987	14 620	0 047	8 060	26 88	21 927
98	29 987	17 800	0 046	-	-	-
102	29 346	16 500	0 052	10 920	37 21	18 426
106	29 346	14 900	0 049	14 100	48 05	15 246
110	28 577	10 000	0 049	-	-	-
118	23 887	9 946	0 049	11 460	47 98	12 427
122	23 631	16 377	0 045	-	-	-
128	22 606	15 450	0 026	10 500	46 45	12 106
137	20 632	7 416	0 008	9 140	44 30	11 492

ตาราง ข.14 แสดงการเพาะเลี้ยงเชื้อ *A.eutrophus* NCIMB 11599 ในการเพาะเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่อง

อายุการเพาะเลี้ย (ชั่วโมง)	ปริมาณเซลล์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณไนโตรเจน (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณ PHB (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณ PHB เปอร์เซ็นต์ PHB ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง	residusl biomass (กรัมต่อลิตร)
0	0.231	21.920	4.255	-	-	-
8	1.182	21.631	3.445	-	-	-
10	2.454	21.124	3.138	0.284	11.57	2.170
12	3.857	20.617	3.404	-	-	-
14	5.248	15.306	4.266	-	-	-
16	7.638	8.063	3.702	1.017	13.32	6.620
18	10.226	14.562	4.276	-	-	-
20	14.199	10.506	2.307	2.881	20.29	11.318
22	18.992	5.195	3.261	-	-	-
24	25.246	26.864	3.117	-	-	-
26	34.165	13.075	2.584	-	-	-
28	41.726	8.691	2.020	5.898	14.14	35.828
30	53.823	17.671	2.143	-	-	-
32	61.128	9.714	2.543	-	-	-
34	72.533	13.616	2.984	9.281	12.80	63.252
36	76.762	9.734	1.738	-	-	-
38	84.195	15.740	1.492	17.097	20.31	67.097
40	89.192	12.785	-	-	-	-
42	93.806	11.105	0.001	28.240	30.10	65.566
44	94.831	20.086	-	-	-	-
46	99.701	16.551	0.001	-	-	-
48	102.776	14.504	0.001	41.520	40.40	61.256
50	102.648	12.418	0.001	41.920	40.84	60.728

ภาคผนวก ค.

ตัวอย่างการคำนวณ

ภาคผนวก ค.1 การคำนวณหาค่าคงที่ทางจลนพลศาสตร์ ในถังหมักที่สอง

(กรณีที่ C/N ratio = 33 และ D = 0.08 ต่อชั่วโมง)

1. ช่วงระหว่างการป้อนน้ำหมักจากถังหมักแรก

1.1 เซลล์

เซลล์ ณ จุดที่ปริมาตรครบ 7 ลิตร = 35.754 g/l

เวลาที่ใช้จนกระทั่งปริมาตรครบ 7 ลิตร = 31 h.

คิดเป็น เซลล์ทั้งหมด = (35.754 g/l) x (7 l)

= 250.278 g

อัตราผลผลิตเซลล์ = $\dfrac{(35.754 \text{ g/l}) \times (7 \text{ l})}{(7 \text{ l}) \times (31 \text{ h.})}$

= 1.153 g/l-h.

1.2 PHB

ปริมาณ PHB ภายในเซลล์ = 25.07 % PHB ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง

คิดเป็น PHB = $\dfrac{(25.07 \text{ \%PHBต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง}) \times (35.754 \text{ g/l})}{100}$

= 8.964 g/l

PHB ทั้งหมด = (8.964 g/l) x (7 l)

= 62.745 g

อัตราผลผลิต PHB = $\dfrac{(8.964 \text{ g/l}) \times (7 \text{ l})}{(7 \text{ l}) \times (31 \text{ h.})}$

= 0.289 g/l-h.

1.3 residual biomass

คิดเป็น ปริมาณ residual biomass		=	35.754 - 8.964 g/l	
		=	26.790	g/l
residual biomass ทั้งหมด		=	(26.790 g/l) x (7 l)	
		=	187.533	g
อัตราผลผลิต residual biomass		=	$\frac{(26.790\ g/l) \times (7\ l)}{(7\ l) \times (31\ h.)}$	
		=	0.864	g/l-h.

2. ช่วงหลังจากปิดการป้อนน้ำหมักจากถังหมักแรก

1.1 เซลล์

เวลาที่ใช้จนกระทั่งสิ้นสุดการหมัก		=	22	h.
ปริมาตรน้ำตาล 500 g/l ที่ใช้ทั้งหมด		=	1.421	l
ปริมาณเซลล์		=	44.276	g/l
คิดเป็น	เซลล์ทั้งหมด	=	(44.276 g/l) x (7 + 1.421) l	
		=	372.848	g
	อัตราผลผลิตเซลล์	=	2.013	g/l-h.

1.2 PHB

ปริมาณ PHB ภายในเซลล์		=	34.19	% PHB ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง
คิดเป็น	PHB	=	15.137	g/l
	PHB ทั้งหมด	=	127.477	g

อัตราผลผลิต PHB	=	0.688	g/l-h.

3.3 residual biomass

คิดเป็น ปริมาณ residual biomass	=	29.139	g/l
residual biomass ทั้งหมด	=	245.371	g
อัตราผลผลิต residual biomass	=	1.324	g/l-h.

ภาคผนวก ค.2 การเปรียบเทียบการหมักแบบสองขั้นตอนกับการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง

ข้อกำหนดเบื้องต้น : ปริมาตรถังหมักเริ่มต้น 5 ลิตร

ใช้เวลาในการเพาะเลี้ยง 100 ชั่วโมง

1. การหมักแบบสองขั้นตอน

- เวลาการเพาะเลี้ยงแบบไม่ต่อเนื่อง 17 ชั่วโมง
- เวลาการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่องในถังหมักแรกจนกระทั่งเซลล์เข้าสู่ภาวะคงที่ และพร้อมที่จะป้อนเข้าสู่ถังหมักที่สอง 10 ชั่วโมง
- เวลาที่ปล่อยให้เซลล์เกิดการสะสม PHB ภายหลังจากหยุดการป้อนน้ำหมัก จากถังหมักแรก 5 ชั่วโมง

ดังนั้น เหลือเวลาทั้งหมด = 100 – 17 – 10 - 5 = 68 ชั่วโมง

อัตราการเจือจางที่ใช้ = 0.1 ต่อชั่วโมง

คิดเป็นอัตราการไหล (F= D * V) = (5 l) x (0.1 h^{-1}) = 0.5 ลิตรต่อชั่วโมง

ดังนั้น จะได้ปริมาตรน้ำหมักทั้งหมด = (68) x (0.5) = 34 ลิตร

จากการทดลอง ปริมาณ PHB ที่ได้ = 14.528 กรัมต่อลิตร

ดังนั้น คิดเป็น PHB ทั้งหมด = (14.528) x (34)

= 493.9 กรัม

อัตราการผลิต PHB = 493.9 / 100 = 4.939 กรัมต่อชั่วโมง

2. การหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง

จากการทดลอง

	ปริมาตรน้ำหมักสุดท้ายที่ได้	=	5.9 ลิตร
	ปริมาณ PHB ที่ได้	=	41.291 กรัมต่อลิตร
	เวลาที่ใช้ในการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง 1 ครั้ง	=	50 ชั่วโมง
ดังนั้น	คิดเป็นจำนวนครั้งที่หมักได้	=	100 / 50
		=	2 ครั้ง
	PHB ทั้งหมด	=	(41.921) x (5.9) x (2)
		=	487.2 กรัม
	อัตราการผลิต PHB	=	487.2 / 100 = 4.872 กรัมต่อชั่วโมง

ภาคผนวก ค.3 การเปรียบเทียบการหมักแบบสองขั้นตอนกับการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง

ข้อกำหนดเบื้องต้น : ปริมาตรถังหมักเริ่มต้น 5 ลิตร

ใช้เวลาในการเพาะเลี้ยง 150 ชั่วโมง

1. การหมักแบบสองขั้นตอน

- เวลาการเพาะเลี้ยงแบบไม่ต่อเนื่อง 17 ชั่วโมง
- เวลาการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่องในถังหมักแรกจนกระทั่งเซลล์เข้าสู่ภาวะคงที่ และพร้อมที่จะป้อนเข้าสู่ถังหมักที่สอง 10 ชั่วโมง
- เวลาที่ปล่อยให้เซลล์เกิดการสะสม PHB ภายหลังจากหยุดการป้อนน้ำหมักจากถังหมักแรก 5 ชั่วโมง

ดังนั้น เหลือเวลาทั้งหมด = 150 – 17 – 10 - 5 = 118 ชั่วโมง

อัตราการเจือจางที่ใช้ = 0.1 ต่อชั่วโมง

คิดเป็นอัตราการไหล (F= D * V) = (5 l) x (0.1 h^{-1}) = 0.5 ลิตรต่อชั่วโมง

ดังนั้น จะได้ปริมาตรน้ำหมักทั้งหมด = (118) x (0.5) = 59 ลิตร

จากการทดลอง ปริมาณ PHB ที่ได้ = 14.528 กรัมต่อลิตร

ดังนั้น คิดเป็น PHB ทั้งหมด = (14.528) x (59)

= 857.2 กรัม

อัตราการผลิต PHB = 857.2 / 150 = 5.715 กรัมต่อชั่วโมง

2. การหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง

จากการทดลอง

	ปริมาตรน้ำหมักสุดท้ายที่ได้	=	5.9 ลิตร
	ปริมาณ PHB ที่ได้	=	41.291 กรัมต่อลิตร
	เวลาที่ใช้ในการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง 1 ครั้ง	=	50 ชั่วโมง
ดังนั้น	คิดเป็นจำนวนครั้งที่หมักได้	=	150 / 50
		=	3 ครั้ง
	PHB ทั้งหมด	=	(41.921) x (5.9) x (3)
		=	742.0 กรัม
	อัตราการผลิต PHB	=	742.0 / 150 = 4.872 กรัมต่อชั่วโมง

3. เปรียบเทียบการหมักแบบสองขั้นตอน กับการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง

การหมักแบบสองขั้นตอนให้ปริมาณ PHB มากกว่าแบบกึ่งต่อเนื่อง

$$\text{คิดเป็น} = \frac{(5.715 - 4.872)}{4.872} \times 100\%$$

$$= 17.30\ \%$$

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียน

นางสาวพิมพ์ชนก นาคราช เกิดเมื่อวันที่ 2 ตุลาคม พ.ศ. 2518 ที่อำเภอพนมทวน จังหวัดกาญจนบุรี สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยศิลปากร ในปีการศึกษา 2538 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิศวกรรมศาสตร์มหาบัณฑิต ที่จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อ พ.ศ. 2539

ส่วนหนึ่งของงานวิจัยนี้ได้นำไปเสนอในงาน “Regional Symposium on Chemical Engineering 1999” ระหว่างวันที่ 22-24 พฤศจิกายน 2542 ณ โรงแรมสิมิหลาบีช จ.สงขลา ในหัวข้อเรื่อง "Biodegradable Homopolymer PHB Production in Two-Stage Chemostat of *Alcaligenes eutrophus* NCIMB 11599"