การผลิตพอลิบีตาไฮดรอกซีบิวทีเรต โดยแบคทีเรียสายพันธุ์ BA-019 ที่แยกได้

นางสาว รัตนศิริ มุทิตากุล

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

ภาควิชาจุลชีววิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ.2538

ISBN 974-632-947-2

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I20580147

PRODUCTION OF POLY-β-HYDROXYBUTYRATE BY AN ISOLATE BACTERIAL STRAIN BA-019

Miss Rattanasiri Mutitakul

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science

Department of Microbiology

Graduate School

Chulalongkorn University

1995

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การผลิตพอลิบีตาไฮดรอกซีบิวทีเรตโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ BA-019 ที่แยกได้

โดย นางสาว รัตนศิริ มุทิตากุล

ภาควิชา จุลชีววิทยา

อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร.ส่งศรี กุลปรีชา

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(รองศาสตราจารย์ ดร.สันติ ถุงสุวรรณ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุเทพ ธนียวัน)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา

(รองศาสตราจารย์ ดร. ส่งศรี กุลปรีชา)

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.ไพเราะ ปิ่นพานิชการ)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อมร เพชรสม)

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

รัตนศิริ มุทิตากุล : การผลิตพอลิบีตาไฮดรอกซีบิวทีเรต โดยแบคทีเรียสายพันธุ์ BA-019 ที่แยกได้ (PRODUCTION OF POLY-β-HYDROXYBUTYRATE BY AN ISOLATE BACTERIAL STRAIN BA-019) อ.ที่ปรึกษา : รศ.ดร.สิ่งศรี กุลปรีชา, 164 หน้า. ISBN 974-632-947-2

จากจุลินทรีย์จำนวน 30 ชนิด ที่แยกได้จากตัวอย่างต่าง ๆ พบว่า สายพันธุ์ BA-019 สามารถสร้างและสะสม พอลิบีตาไฮดรอกซีบิวทีเรต (PHB) ได้ปริมาณสูงกว่าสายพันธุ์อื่น ๆ เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำตาลซูโครสปริมาณ 10 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน โดยได้ปริมาณเท่ากับ 13.21 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งที่เวลา 24 ชั่วโมงของเวลาเลี้ยงเชื้อ จึงเลือกจุลินทรีย์สายพันธุ์ BA-019 สำหรับการวิจัยต่อไป จากลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสมบัติทางชีวเคมี เชื้อสายพันธุ์ BA-019 จัดอยู่ในแบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* จากการตรวจสักษณะโดยวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและเคมี (ก๊าซโครมาโตกราฟี อินฟราเรดสเปคตรัม คาร์โบฮอน 13 นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปคตรัม โปรตอน-นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปคตรัม การวิเคราะห์ธาตุไฮโดรเจนและคาร์บอน การหาจุดหลอมเหลว การหาอุณหภูมิกลาสทรานซิชันของสารผลิตภัณฑ์ที่สกัดได้จากเชื้อ BA-019 เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน PHB พิสูจน์ได้ว่าสารผลิตภัณฑ์ที่ได้จากเชื้อ BA-019 คือ PHB ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุล (โดยวิธี GPC) เท่ากับ 3.9×10^6 ปัจจัยที่เหมาะสมสำหรับการสร้างและสะสม PHB โดยเชื้อ BA-019 มีดังนี้ ภาวะทางกายภาพ คือ อุณหภูมิเท่ากับ 30 องศาเซลเซียส พีเอชเท่ากับ 6.0 องค์ประกอบของสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ ประกอบด้วย สารอาหารหลัก ได้แก่ แหล่งคาร์บอน คือ กากน้ำตาลปริมาณ 4 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ซึ่งทำให้เชื้อสร้าง PHB ได้เพิ่มขึ้นเป็น 31.84 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ในเวลา 24 ชั่วโมงของการเลี้ยงเชื้อ แหล่งไนโตรเจนคือ แอมโมเนียมซัลเฟตเท่ากับ 1.0 กรัมต่อลิตร โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต เท่ากับ 2.0 กรัมต่อลิตร ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต เท่ากับ 0.6 กรัมต่อลิตร แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรตเท่ากับ 0.2 กรัมต่อลิตร และสารสกัดจากยีสต์ปริมาณ 0.1 กรัมต่อลิตร การเติมสารทวีน 80 ซึ่งเป็นสาร dissociating agent ปริมาณ 2.5 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร) ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ มีผลทำให้เชื้อ Ba-019 มีการสร้าง PHB เพิ่มมากขึ้นถึง 47.48 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ที่เวลา 36 ชั่วโมงของการเลี้ยงเชื้อ

ภาควิชา จุลชีววิทยา	ลายมือชื่อนิสิต รัตนศิริ มุทิตากุล
สาขาวิชา จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา
ปีการศึกษา 2538	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม -

C526164 : MAJOR : INDUSTRIAL MICROBIOLOGY
KEY WORD: POLY-B-HYDROXYBUTYRATE / MOLASSES / BIODEGRADABLE PLASTIC

RATTANASIRI MUTITAKUL : PRODUCTION OF POLY-β-HYDROXYBUTYRATE BY AN ISOLATE BACTERIAL STRAIN BA-019. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. SONGSRI KULAPREECHA, Ph.D. 164 pp. ISBN 974-632-947-2

Out of 30 microbial strain isolated from various kinds of samples, strain BA-019 was found to produce and accumulate poly-β-hydroxybutyrate (PHB) in higher amount than those of the other isolates when cultivated for 24 hrs in culture medium containing 10 g/l of sucrose as carbon source, i.e. 13.21% by cell dry weight. Bacterial strain BA-019 was selected for further studies. Strain BA-019 was identified as *Bacillus* species from its morphological characteristics and biochemical properties. After characterization of the product extracted from strain BA-019 comparing with that of the authentic PHB by physical and chemical analyses (gas chromatography, IR spectrum, ^{13}C-NMR, ^{1}H-NMR, elemental analysis of H and C melting point and T_g), the polymer of strain BA-019 was characterized to be PHB with M_w (by GPC) of 3.9×10^6. The optimal conditions for the formation and accumulation of PHB by strain BA-019 in shake flask cultivation were as follows : temperature 30°C, pH 6.0 amount of the major components in MSM medium were as follows : 4% (wt./vol.) of cane molasses as carbon source which enhanced the PHB content up to 31.84% by cell dry weight at 24 hrs of cultivation, 1.0 g/l of $(NH_4)_2SO_4$ as nitrogen source, 2.0 g/l of KH_2PO_4, 0.6 g/l of NaH_2PO_4, 0.2 g/l of $MgSO_4.7H_2O$, and 0.1 g/l of yeast extract. Addition of 2.5% (vol./vol.) of Tween 80, one of dissociating agents, into the culture medium significantly increased PHB producing by strain BA-019 up to 47.48% by cell dry weight at 36 hrs of cultivation.

ภาควิชา จุลชีววิทยา ลายมือชื่อนิสิต วัฒนศิริ มุติตากุล

สาขาวิชา จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

ปีการศึกษา 2538 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม -

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยความช่วยเหลือ และ กรุณาอย่างยิ่งของ รองศาสตราจารย์ ดร.ส่งศรี กุลปรีชา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ซึ่งท่านได้กรุณาให้คำแนะนำให้ความช่วยเหลือในแนวคิด กำลังใจ และ ความเข้าใจ ซึ่งมีค่ายิ่งต่อการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ รวมทั้งได้ช่วยแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น ข้าพเจ้าจึงขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้ด้วย

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุเทพ ธนียวัน ที่กรุณารับเป็นประธานกรรมการสอบ และ รองศาสตราจารย์ ดร.ไพเราะ ปิ่นพานิชการ ผศ.ดร.อมร เพชรสม ที่กรุณารับเป็นกรรมการสอบ ให้คำแนะนำต่างๆ รวมทั้ง แก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ ดร.ศรัณย์ โปษยะจินดา ที่กรุณาเอื้อเฟื้อในการวิเคราะห์ตัวอย่างโดยเครื่อง GPC และ เครื่อง DSC

ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ และ เจ้าหน้าที่ของภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่ได้ให้คำแนะนำ และช่วยเหลือด้วยดีตลอดการศึกษาหลักสูตรนี้

ทุนการวิจัยครั้งนี้ได้รับการอุดหนุนการวิจัยของบัณฑิตวิทยาลัย จึงขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัย

ขอขอบคุณ อรุณ ชาญชัยเชาว์วิวัฒน์ ชนัญ ผลประไพ และ อัญชนา ศุรติชจร ที่ได้ให้คำแนะนำ กำลังใจ และให้ความช่วยเหลือแก่ข้าพเจ้าด้วยดีตลอดมา

ขอขอบคุณ สุนีย์ โชตินีรนาถ และ เพื่อนๆ น้องๆ ที่ได้ให้กำลังใจ และให้ความช่วยเหลือแก่ข้าพเจ้า

ท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ วิมล และอุไรวรรณ รวมถึงน้องชาย วิทวัส มุทิตากุล ที่ให้ความช่วยเหลือ เป็นกำลังใจในการทำวิทยานิพนธ์นี้ ตั้งแต่เริ่มต้นจนเสร็จสมบูรณ์

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... จ

กิตติกรรมประกาศ..... ฉ

สารบัญ..... ช

สารบัญรูป..... ช

สารบัญตาราง..... ฌ

คำย่อ..... ฑ

บทที่

1 บทนำ..... 1

2 อุปกรณ์ และวิธีดำเนินงานวิจัย..... 23

3 ผลการวิจัย..... 46

4 สรุป และวิจารณ์ผลการทดลอง..... 118

รายการอ้างอิง..... 136

ภาคผนวก..... 148

ประวัติผู้เขียน..... 164

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1	สูตรโครงสร้างของหน่วยย่อย (monomer) ของ PHA (---) พันธะเอสเทอร์ และคือ บีต้า-คาร์บอน.....	3
2	สเปกตรัมที่วิเคราะห์โดยวิธี IR spectrophotometry ของ เฮ็ทเทอโรพอลีเมอร์ และ PHB.....	6
3	สเปกตรัมที่วิเคราะห์โดยวิธี NMR spectrometry ของ เฮ็ทเทอโรพอลีเมอร์ และ PHB.....	6
4	สเปกตรัมที่วิเคราะห์โดยวิธี IR spectrophotometry ของ PHB ที่สกัดได้จากจุลินทรีย์ต่างๆ.....	12
5	สเปกตรัมที่วิเคราะห์โดยวิธี ^{13}C NMR spectrometry ของสารละลาย PHB ในคลอโรฟอร์มที่ 125 MHz 27 °ซ.....	14
6	สเปกตรัมที่วิเคราะห์โดยวิธี ^{1}H NMR spectrometry ของสารละลาย PHB ในคลอโรฟอร์มที่ 125 MHz 27 °ซ.....	15
7	วิถีการเปลี่ยน Acetyl CoA ไปเป็นสารต่างๆ เมื่อเซลล์เติบโตภายใต้สภาวะที่มีสารอาหารสมดุลย์และสภาวะที่สารบางอย่างถูกจำกัด แต่มีปริมาณคาร์บอนมากเกินพอ	19
8	วงจรการสังเคราะห์ การย่อยสลาย PHB และเอนไซม์ที่เกี่ยวข้อง.....	20
9	แบคทีเรียสายพันธุ์ BA-019เลี้ยงบนอาหาร MSM กำลังขยาย x1000 เท่า.....	51
10	แผ่นฟิล์ม PHB ที่สกัดแยกได้จากเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ BA-019.....	52
11	โครมาโตแกรมเมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธีโครมาโตกราฟี แบบผิวบางของ PHB มาตรฐาน และ สารผลิตภัณฑ์ ที่สกัดแยกได้จาก เชื้อ BA-019 ที่ความเข้มข้นต่างๆกัน	54
12	โครมาโตแกรมที่วิเคราะห์โดยวิธี GC ของ(1) สารผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจากเชื้อ BA-019 (2) PHB มาตรฐาน (3) P(3HB-co-24%3HV) (4) P(4HB).....	56
13	สเปกตรัมที่วิเคราะห์โดยวิธี IR spectrophotometry ของ (1)สารผลิตภัณฑ์จากเชื้อ BA-019 (2) PHB มาตรฐาน.....	58

14 สเปกตรัมที่วิเคราะห์โดยวิธี ^{1}H NMR spectrometry ของ (1)สารผลิตภัณฑ์จาก เชื้อ BA-019 (2) PHB มาตรฐาน..... 60

15 สเปกตรัมที่วิเคราะห์โดยวิธี ^{13}C NMR spectrophotometry(1)สารผลิตภัณฑ์จาก เชื้อ BA-019 (2) PHB มาตรฐาน..... 61

16 ค่าอุณหภูมิหลอมเหลว (T_m) ที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง DSC ของ (1)สารผลิตภัณฑ์จาก เชื้อ BA-019 (2) PHB มาตรฐาน..... 64

17 ค่า T_g ที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง DSC ของ (1) สารผลิตภัณฑ์จากเชื้อ BA-019 (2) PHB มาตรฐาน..... 65

18 โครมาโตแกรมที่วิเคราะห์โดยวิธี GPC ของ(1)สารผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจากเชื้อ BA-019 (2) PHB มาตรฐาน..... 67

19 การเติบโตของแบคทีเรีย ค่าพีเอช และ ค่าความขุ่นที่ 600 นาโนเมตร เมื่อเลี้ยง เชื้อ BA-019 ในอาหารสูตรอุดม (Rich medium) นานเป็นเวลา 48 ชั่วโมง 73

20 ปริมาณ PHB น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าพีเอช ที่เวลาต่างๆของการเลี้ยงเชื้อ BA-019ใน อาหาร MSM ที่มีกากน้ำตาล 4 เปอร์เซนต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) และแอมโมเนียม ซัลเฟต ปริมาณ 1 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน และแหล่งไนโตรเจน ตามลำดับ 85

21 ปริมาณ PHB น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำตาลที่เหลือ เมื่อเลี้ยงเชื้อ BA-019 ในอาหาร MSM ที่มีกากน้ำตาล 4 เปอร์เซนต์(น้ำหนักต่อปริมาตร)และ แอมโมเนียม ซัลเฟต ปริมาณ 1 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน และแหล่งไนโตรเจน ตามลำดับ 86

22 ปริมาณ PHB น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณ$(NH_4)_2SO_4$ ปริมาณโปรตีน เมื่อเลี้ยงเชื้อ BA-019ในอาหาร MSM ที่มีกากน้ำตาล 4 เปอร์เซนต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) และ แอมโมเนียมซัลเฟตปริมาณ 1 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน และแหล่งไนโตรเจน ตามลำดับ..... 87

23 ปริมาณ PHB น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าพีเอช เมื่อเลี้ยงเชื้อ BA-019ในอาหาร MSM ที่มี กากน้ำตาล 4 เปอร์เซนต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) และ แอมโมเนียมซัลเฟต ปริมาณ 1 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน และ แหล่งไนโตรเจน ตามลำดับ..... 88

24 การสร้างสปอร์ของเชื้อ BA-019 ที่เลี้ยงบนอาหาร MSM ซึ่งมีกากน้ำตาล ปริมาณ 4 เปอร์เซนต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร)และแอมโมเนียมซัลเฟตปริมาณ 1 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งไนโตรเจน ตามลำดับ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง..... 89

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1 คุณสมบัติทางกายภาพของ เฮทเทอโรพอลีเมอร์ และ PHB..... 5

2 การสะสมของ PHA ในจุลินทรีย์ต่างๆ..... 8

3 สมบัติทางเคมีและกายภาพของ PP และ PHB..... 10

4 ปริมาณ PHB น้ำหนักเซลล์แห้ง ที่สร้าง และสะสม โดยเชื้อ BA-012 BA-014 BA-016 และ BA-019 ในอาหาร MSM ที่มีน้ำตาลกลูโคส ฟรุกโตส และซูโครส ปริมาณ 10 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน..... 49

5 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และทางชีวเคมี ของแบคทีเรียสายพันธุ์ BA-019..... 50

6 ปริมาณธาตุคาร์บอนและธาตุไฮโดรเจนของ PHB ในสาร PHB มาตรฐาน ใน สาร PHB มาตรฐาน และในสารผลิตภัณฑ์ ที่สร้างโดยเชื้อ BA-019 และ ค่าที่ได้จากการคำนวณ..... 62

7 การเปรียบเทียบการตรวจวิเคราะห์ คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมี ของสารผลิตภัณฑ์ กับ PHB มาตรฐาน..... 68

8 น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าพีเอช ค่าความขุ่นที่ 600 นาโนเมตร ของเชื้อ BA-019 ที่เลี้ยงในอาหารสูตรอุดม (Rich medium)..... 72

9 ปริมาณ PHB น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าพีเอช ที่สร้างและสะสมโดยเชื้อ BA-019 ในอาหาร MSM ซึ่งมีน้ำตาลซูโครส น้ำตาลทรายขาว น้ำตาลทรายแดง ปริมาณ 10 กรัมต่อลิตร และ กากน้ำตาล ปริมาณ 2 เปอร์เซนต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) เป็นแหล่งคาร์บอน..... 75

10 ปริมาณ PHB น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าพีเอช ที่สร้าง และสะสมโดยเชื้อ BA-019 ในอาหาร MSM ที่มีน้ำตาลซูโครส น้ำตาลทรายขาว น้ำตาลทรายแดง ปริมาณ 20 กรัมต่อลิตร และ กากน้ำตาล ปริมาณ 4 เปอร์เซนต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) เป็นแหล่งคาร์บอน..... 77

11 ปริมาณ PHB น้ำหนักเซลล์แห้ง ที่สร้างและสะสมโดยเชื้อ BA-019 ที่มีกากน้ำตาล ปริมาณ 4 เปอร์เซนต์(น้ำหนักต่อปริมาตร)เป็นแหล่งคาร์บอน และแปรผันปริมาณ แอมโมเนียมซัลเฟต ตั้งแต่ 0.5 ถึง 2.0 กรัมต่อลิตร..... 81

สารบัญตาราง (ต่อ)

12 ปริมาณ PHB น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าพีเอช ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต ปริมาณโปรตีน และ ปริมาณน้ำตาลที่เหลือ ที่สร้างและสะสมโดยเชื้อ BA-019 ในอาหาร MSM ซึ่งมีกากน้ำตาลปริมาณ 4 เปอร์เซนต์(น้ำหนักต่อปริมาตร)เป็นแหล่งคาร์บอน และ แอมโมเนียมซัลเฟต ปริมาณ 1 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งไนโตรเจน เป็นเวลา 72 ชั่วโมง..... 84

13 ปริมาณ PHB น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าพีเอช เมื่อเลี้ยงเชื้อ BA-019 ในอาหาร MSM ที่มีปริมาณกากน้ำตาลเท่ากับ 4 เปอร์เซนต์(น้ำหนักต่อปริมาตร)และมีแอมโมเนียมซัลเฟต 1 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน และ แหล่งไนโตรเจน โดยแปรผันค่าพีเอชเริ่มต้น..... 92

14 ปริมาณ PHB น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าพีเอช เมื่อเลี้ยงเชื้อ BA-019 ในอาหาร MSM ที่ใช้ปริมาณกากน้ำตาล เท่ากับ 4 เปอร์เซนต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) และใช้แอมโมเนียมซัลเฟต 1 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน และ แหล่งไนโตรเจนตามลำดับ แปรผันค่าอุณหภูมิในการเลี้ยงเชื้อ..... 94

15 ปริมาณ PHB น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าพีเอช เมื่อเลี้ยงเชื้อ BA-019 ในอาหาร MSM ที่มีปริมาณกากน้ำตาล เท่ากับ 4 เปอร์เซนต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) และมีแอมโมเนียมซัลเฟต 1 กรัมต่อลิตร ปรับพีเอช และควบคุมอุณหภูมิ เท่ากับ 6 และ 30 °ซ ตามลำดับ เมื่อแปรผันอัตราส่วน ปริมาณ KH_2PO_4 ต่อ Na_2HPO_4 97

16 ชนิด และปริมาณของฟอสเฟต โพแทสเซียม และปริมาณฟอสเฟตรวม (ในหน่วยกรัมต่อลิตร) ที่มีในอาหารเลี้ยงเชื้อ MSM เพื่อศึกษาผลของชนิด และสัดส่วนของฟอสเฟต และโพแทสเซียม ที่มีต่อปริมาณ PHB ที่ผลิตโดยเชื้อ BA-019..... 100

17 ปริมาณ PHB น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าพีเอช ที่สร้างและสะสมจากเชื้อ BA-019 ในอาหาร MSM ที่มีปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต เท่ากับ 1 กรัมต่อลิตร และกากน้ำตาลปริมาณ 4 เปอร์เซนต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ปรับค่าพีเอช และควบคุมอุณหภูมิเท่ากับ 6 และ 30 °ซ เมื่อแปรผันชนิดและสัดส่วนของฟอสเฟต และโพแทสเซียม..... 101

สารบัญตาราง (ต่อ)

18 ปริมาณ PHB น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าพีเอช เมื่อเลี้ยงเชื้อ BA-019 ในอาหาร MSM ที่มีปริมาณกากน้ำตาลเท่ากับ 4 เปอร์เซนต์(น้ำหนักต่อปริมาตร)และมีปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต 1 กรัมต่อลิตร ปรับพีเอช และควบคุมอุณหภูมิ เท่ากับ 6 และ 30 °ซ ตามลำดับ และ แปรผันปริมาณ $MgSO_4$ ในอาหารเลี้ยงเชื้อ..... 105

19 ก.ปริมาณ PHB น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าพีเอช เมื่อเลี้ยงเชื้อ BA-019 ในอาหาร MSM ซึ่งมีกากน้ำตาล ปริมาณ 4 เปอร์เซนต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) เป็นแหล่งคาร์บอน ปรับพีเอช และควบคุมอุณหภูมิ เท่ากับ 6 และ 30 °ซ ตามลำดับ แปรผันชนิดของแหล่งอินทรีย์ไนโตรเจน ปริมาณ 0.10 กรัมต่อลิตร..... 108

19 ข.ปริมาณ PHB น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าพีเอช เมื่อเลี้ยงเชื้อ BA-019 ในอาหาร MSM ซึ่งมีกากน้ำตาล ปริมาณ 4 เปอร์เซนต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) เป็นแหล่งคาร์บอน ปรับพีเอช และควบคุมอุณหภูมิ เท่ากับ 6 และ 30 °ซ แปรผันชนิดของแหล่งอินทรีย์ไนโตรเจน ปริมาณ 1.0 กรัมต่อลิตร..... 110

20 ปริมาณ PHB น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าพีเอช เมื่อเลี้ยงเชื้อ BA-019 ในอาหาร MSM ที่มีปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตเท่ากับ 1 กรัมต่อลิตร และกากน้ำตาล ปริมาณ 4 เปอร์เซนต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) เป็นแหล่งคาร์บอน ปรับพีเอช และควบคุมอุณหภูมิ เท่ากับ 6 และ 30 °ซ แปรผันชนิดและสาร dissociating agents 114

สัญลักษณ์ และ คำย่อ

PHA = พอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีอัลคาโนเอท (Poly-β-hydroxyalkanoate)

PHB = พอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทีเรต (Poly-β-hydroxybutyrate)

pH = ค่าพีเอช

มล. = มิลลิลิตร

Hz = Hertz

cm^{-1} = unit of wave number(IR)

ppm = part per million

°ซ = องศาเซลเซียส

% by wt= เปอร์เซนต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง