สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยบูรพา
ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตพอลิเบต้าไฮดรอกซีบิวทิเรตโดยการเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายและการปรับสภาวะการเลี้ยงที่เหมาะสมโดยการเพาะเลี้ยงแบบกะและเติมกะ

จารุวรรณ ศรีเส็ง

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

20 มิ.ย. 2557
338616

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
พฤษภาคม 2557

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยบูรพา

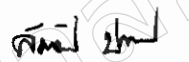
คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์และคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ได้พิจารณาวิทยานิพนธ์ของ จารุวรรณ ศรีเส็ง ฉบับนี้แล้ว เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม ของมหาวิทยาลัยบูรพาได้

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

..... อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

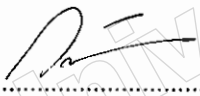
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กรองจันทร์ รัตนประดิษฐ์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์



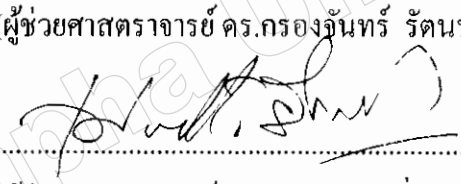
..... ประธาน

(ดร.สมจิตต์ ปาละกาศ)



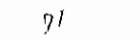
..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กรองจันทร์ รัตนประดิษฐ์)



..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เศรษฐวัชร ฉ่ำศาสตร์)



..... กรรมการ

(ดร.พอจิต นันทนาวัฒน์)

คณะวิทยาศาสตร์อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม ของมหาวิทยาลัยบูรพา

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เอกรัฐ ศรีสุข)

วันที่...3...เดือน...กรกฎาคม...พ.ศ. 2557

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

งานวิจัยฉบับนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากศูนย์ความเป็นเลิศด้านอนามัย
สิ่งแวดล้อม พิษวิทยา และการบริหารจัดการสารเคมี
ประจำปีการศึกษา 2554

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยความกรุณาจากผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กรองจันทร์ รัตนประดิษฐ์ อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก ที่กรุณาให้คำปรึกษาและแนะนำแนวทางที่ถูกต้อง ตลอดจนตรวจสอบปรับปรุงและแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ด้วยความละเอียดถี่ถ้วน และเอาใจใส่ด้วยดีเสมอมา ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งเป็นอย่างยิ่ง จึงขอกราบขอบพระคุณอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบคุณศูนย์ความเป็นเลิศด้านอนามัยสิ่งแวดล้อม พิษวิทยา และการบริหารจัดการสารเคมี ที่ให้ทุนสนับสนุนช่วยเหลือในการทำวิจัยจนงานวิจัยครั้งนี้เสร็จสิ้นไปด้วยดี

ขอขอบคุณภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่ช่วยอำนวยความสะดวกทางด้านสถานที่ และเครื่องมือในการวิเคราะห์ตัวอย่าง

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ และคุณแม่ และสมาชิกในครอบครัวทุกท่านที่เอาใจใส่คอยให้กำลังใจและสนับสนุนผู้วิจัยเสมอมา

ขอขอบคุณ นางสาวขวัญฤทัย มาลัยเรือง ที่ให้คำปรึกษา และความช่วยเหลือตลอดระยะเวลาของการทำวิจัย รวมถึง เพื่อน ๆ พี่ ๆ ที่แวะเวียนมาให้ความช่วยเหลือ และกำลังใจระหว่างการทำวิจัยครั้งนี้

คุณค่าและประโยชน์ของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบเป็นกตัญญูกตเวทิตาแด่บิดา มารดา บูรพาอาจารย์ และผู้มีพระคุณทุกท่านทั้งในอดีตและปัจจุบัน ที่ทำให้ข้าพเจ้าเป็นผู้มีการศึกษาและประสบความสำเร็จมาจนตราบเท่าทุกวันนี้

จารุวรรณ ศรีเส็ง

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

53910951: สาขาวิชา: วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม; วท.ม. (วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม)
คำสำคัญ: พอลิเบต้าไฮดรอกซีบิวทิเรต/ *Alcaligenes latus*

จารุวรรณ ศรีเส็ง: การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตพอลิเบต้าไฮดรอกซีบิวทิเรตโดยการเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายและการปรับสภาวะการเลี้ยงที่เหมาะสมโดยการเพาะเลี้ยงแบบกะและเติมกะ (ENHANCEMENT OF POLY-β-HYDROXYBUTYRATE PRODUCTION BY INDUCED MUTATION AND CONDITION OPTIMIZATION USING BATCH AND FED-BATCH CULTIVATIONS) คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: กรองจันทร์ รัตนประดิษฐ์, Ph.D. 122 หน้า. ปี พ.ศ. 2557.

การเพิ่มศักยภาพการผลิตพอลิเบต้าไฮดรอกซีบิวทิเรต (PHB) ของเชื้อ *Alcaligeneslatus* TISTR 1403/γ-2AA ด้วยการเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายซ้ำและการปรับปรุงสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและการสร้างผลิตภัณฑ์ พบว่า การเหนี่ยวนำซ้ำด้วยการได้รับสัมผัสรังสีเหนือม่วงร่วมกับสาร 2-อะมิโนแอนทราซีน จำนวน 2 ครั้ง ตามด้วยการได้รับสัมผัสสารอะคริฟลาวิน(Acriflavin) ทำให้เชื้อสามารถเจริญและผลิต PHB ได้สูงสุด เมื่อนำมาปรับสภาวะการเพาะเลี้ยงด้วยการเลี้ยงด้วยสูตรอาหารดัดแปลงโดยใช้กากน้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร น้ำแช่ข้าวโพด 4 กรัมต่อลิตร และโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 2.5 กรัมต่อลิตร สามารถผลิตมวลเซลล์แห้งและ PHB ได้เท่ากับ 15.62±0.00 และ 9.73±0.06 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และเมื่อขยายขนาดการเพาะเลี้ยงไปสู่ระดับถังปฏิกรณ์ชีวภาพ ด้วยการเพาะเลี้ยงแบบกะและเติมกะ พบว่า เชื้อที่ผ่านการกลายสามารถผลิต PHB ได้เพิ่มขึ้นเป็น 11.83±0.29 และ 32.20±0.10 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

53910951: MAJOR: ENVIRONMENTAL SCIENCE; M.Sc. (ENVIRONMENTAL SCIENCE)

KEYWORDS: POLY-β-HYDROXYBUTYRATE / *Alcaligenes latus*

CHARUWAN SRISENG: ENHANCEMENT OF POLY-β-HYDROXYBUTYRATE PRODUCTION BY INDUCED MUTATION AND CONDITION OPTIMIZATION USING BATCH AND FED-BATCH CULTIVATIONS. ADVISORY COMMITTEE: KRONGCHAN RATANAPHADIT, Ph.D. 122 P. 2014.

PHB production potential of *Alcaligenes latus* TISTR 1403/γ-2AA was improved via sequential induced mutation and optimization of culture conditions. It was found that sequential induced mutation of *Alcaligenes latus* TISTR 1403/γ-2AA commence by UV exposure following by twice of exposure to 2AA and terminated by acriflavin provided interesting isolate that increased growth and PHB production. After optimization of culture conditions, culture of new isolate using modified culture media composed of 30 g/l molasses, 4 g/l corn steep liquor and 2.5 potassium dihydrogen phosphate leading to production of 15.62±0.00 and 9.73±0.06 g/l for cell mass and PHB, respectively. Up scaling to fermentor with batch and fed-batch cultivation could increasing PHB production to 11.83±0.29 and 32.20±0.10 g/l, respectively.

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... จ

สารบัญ..... ฉ

สารบัญตาราง..... ซ

สารบัญภาพ..... ฎ

บทที่

1 บทนำ..... 1

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา..... 1

วัตถุประสงค์ของการวิจัย..... 2

สมมติฐานของการวิจัย..... 2

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... 3

ขอบเขตของการวิจัย..... 3

กรอบของการวิจัย..... 4

2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 5

พลาสติกชีวภาพ..... 5

แนวโน้มการใช้และผลิตพลาสติกชีวภาพ..... 6

พอลิเบต้าไฮดรอกซีบิวทิเรต (Poly-ß-hydroxybutyrate) หรือ PHB..... 8

กระบวนการสังเคราะห์พอลิเบต้าไฮดรอกซีบิวทิเรต..... 12

ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตพอลิเบต้าไฮดรอกซีบิวทิเรตของจุลินทรีย์..... 14

การใช้ประโยชน์ของพอลิเบต้าไฮดรอกซีบิวทิเรต..... 21

การปรับปรุงพันธุ์..... 22

วิธีการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์..... 26

3 วิธีการดำเนินการวิจัย..... 32

วัสดุอุปกรณ์..... 32

วิธีการทดลอง..... 35

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญ (ต่อ)

บทที่		หน้า
4	ผลการวิจัย	44
	การเหนี่ยวนำแบคทีเรียด้วยสารเคมี และรังสีร่วมกับสารเคมี	44
	ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตพอลิเบต้าไฮดรอกซีบิวทิเรต	54
	ผลของการขยายขนาดการเพาะเลี้ยงสู่ระดับถังปฏิกรณ์ชีวภาพ	78
	การศึกษาลักษณะสัณฐานของแบคทีเรีย	86
	การตรวจสอบชนิดและปริมาณของพอลิเบต้าไฮดรอกซีบิวทิเรต	88
5	อภิปราย และสรุปผล	92
	อภิปรายผล	92
	สรุปผลการทดลอง	100
บรรณานุกรม		102
ภาคผนวก		110
	ภาคผนวก ก	111
	ภาคผนวก ข	115
ประวัติย่อของผู้วิจัย		122

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2-1	สัดส่วนและการเติบโตของพลาสติกชีวภาพชนิดต่าง ๆ	7
2-2	คุณสมบัติของพอลิเบต้าไฮดรอกซีบิวทิเรตเทียบกับพอลิโพรพิลีน	9
2-3	การย่อยสลายของพอลิเบต้าไฮดรอกซีบิวทิเรตในสภาวะต่าง ๆ	12
2-4	การสะสมพอลิเบต้าไฮดรอกซีบิวทิเรตในเซลล์จุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ	15
2-5	เปรียบเทียบผลผลิตพอลิเบต้าไฮดรอกซีบิวทิเรตและแหล่งคาร์บอนที่ใช้.....	16
2-6	รายชื่อสายพันธุ์จุลินทรีย์/วัตถุดิบและบริษัทที่ผลิตพลาสติกชีวภาพ.....	22
3-1	องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการศึกษา.....	38
4-1	การรอดชีวิตของเชื้อที่ได้รับสัมผัสรังสีเหนือม่วงตามด้วยสาร 2-อะมิโนแอนทราซีน (ครั้งที่ 1).....	45
4-2	การรอดชีวิตของเชื้อที่ได้รับสัมผัสรังสีเหนือม่วงตามด้วยสาร 2-อะมิโนแอนทราซีน (ครั้งที่ 2).....	47
4-3	การรอดชีวิตของเชื้อที่ได้รับสัมผัสรังสีเหนือม่วงตามด้วยสารอะคริฟลาวิน.....	49
4-4	การรอดชีวิตของเชื้อที่ได้รับสัมผัสรังสีเหนือม่วงตามด้วยสาร 5-โบรโมยูราซิล.....	51
4-5	การรอดชีวิตของเชื้อที่ได้รับสัมผัสสารอะคริฟลาวิน.....	52
4-6	การรอดชีวิตของเชื้อที่ได้รับสัมผัสสาร 5-โบรโมยูราซิล.....	53
4-7	การเปรียบเทียบการผลิตพอลิเบต้าไฮดรอกซีบิวทิเรตของเชื้อที่ผ่านการเหนี่ยวนำซ้ำ..	54
4-8	ค่ามวลเซลล์แห้ง ปริมาณ PHB สูงสุด และร้อยละปริมาณการสะสม PHB ภายในเซลล์ ของเชื้อทั้งสองสายพันธุ์ที่เลี้ยงในสูตรอาหารแตกต่างกัน.....	57
4-9	สัมประสิทธิ์ผลได้ของ PHB สัมประสิทธิ์ผลได้ของ PHB จากสารอาหาร สัมประสิทธิ์ผลได้ของเซลล์จากสารอาหาร และอัตราจำเพาะของการเกิดผลิตภัณฑ์ของเชื้อทั้งสองสายพันธุ์ที่เลี้ยงในสูตรอาหารแตกต่างกัน.....	59
4-10	ค่ามวลเซลล์แห้ง ปริมาณ PHB สูงสุด และร้อยละปริมาณการสะสม PHB ภายในเซลล์ ของเชื้อทั้งสองสายพันธุ์ที่เลี้ยงในสูตรอาหารที่ความเข้มข้นของกากน้ำตาลแตกต่างกัน.....	63

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

4-11 สัมประสิทธิ์ผลได้ของ PHB สัมประสิทธิ์ผลได้ของ PHB จากสารอาหาร สัมประสิทธิ์ผลได้ของเซลล์จากสารอาหาร และอัตราจำเพาะของการเกิดผลิตภัณฑ์ของเชื้อทั้งสองสายพันธุ์ที่เลี้ยงในสูตรอาหารที่ความเข้มข้นของกากน้ำตาลแตกต่างกัน..... 65

4-12 ค่ามวลเซลล์แห้ง ปริมาณ PHB สูงสุด และร้อยละปริมาณการสะสม PHB ภายในเซลล์ ของเชื้อทั้งสองสายพันธุ์ที่เลี้ยงในสูตรอาหารที่ความเข้มข้นของน้ำแช่ข้าวโพดแตกต่างกัน..... 69

4-13 สัมประสิทธิ์ผลได้ของ PHB สัมประสิทธิ์ผลได้ของ PHB จากสารอาหาร สัมประสิทธิ์ผลได้ของเซลล์จากสารอาหาร และอัตราจำเพาะของการเกิดผลิตภัณฑ์ของเชื้อทั้งสองสายพันธุ์ที่เลี้ยงในสูตรอาหารที่ความเข้มข้นของน้ำแช่ข้าวโพดแตกต่างกัน..... 71

4-14 ค่ามวลเซลล์แห้ง ปริมาณ PHB สูงสุด และร้อยละปริมาณการสะสม PHB ภายในเซลล์ ของเชื้อทั้งสองสายพันธุ์ที่เลี้ยงในสูตรอาหารที่ความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตแตกต่างกัน..... 75

4-15 สัมประสิทธิ์ผลได้ของ PHB สัมประสิทธิ์ผลได้ของ PHB จากสารอาหาร สัมประสิทธิ์ผลได้ของเซลล์จากสารอาหาร และอัตราจำเพาะของการเกิดผลิตภัณฑ์ของเชื้อทั้งสองสายพันธุ์ที่เลี้ยงในสูตรอาหารที่ความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตแตกต่างกัน..... 78

4-16 ค่ามวลเซลล์แห้ง ปริมาณ PHB สูงสุด และร้อยละปริมาณการสะสม PHB ภายในเซลล์ของเชื้อทั้งสองสายพันธุ์ที่เพาะเลี้ยงแบบกะในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ..... 81

4-17 สัมประสิทธิ์ผลได้ของ PHB สัมประสิทธิ์ผลได้ของ PHB จากสารอาหาร สัมประสิทธิ์ผลได้ของเซลล์จากสารอาหาร และอัตราจำเพาะของการเกิดผลิตภัณฑ์ของเชื้อทั้งสองสายพันธุ์ ที่เพาะเลี้ยงแบบกะในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ..... 82

4-18 ค่ามวลเซลล์แห้ง ปริมาณ PHB สูงสุด และร้อยละปริมาณการสะสม PHB ภายในเซลล์ของเชื้อทั้งสองสายพันธุ์ที่เพาะเลี้ยงแบบเติมกะในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ..... 85

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

4-19 สัมประสิทธิ์ผลได้ของ PHB สัมประสิทธิ์ผลได้ของ PHB จากสารอาหาร สัมประสิทธิ์ผลได้ของเซลล์จากสารอาหาร และอัตราจำเพาะของการเกิดผลิตภัณฑ์ของเชื้อทั้งสองสายพันธุ์ ที่เพาะเลี้ยงแบบเติมกะในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ..... 86

4-20 ปริมาณ PHB ที่ผลิตได้ภายในเซลล์ของเชื้อทั้งสองสายพันธุ์โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน PHB จาก Aldrich..... 91

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

1-1 กรอบของการวิจัย..... 4

2-1 แนวโน้มการผลิตพลาสติกชีวภาพของโลก..... 6

2-2 ลักษณะของเซลล์จุลินทรีย์ที่มีการสะสมพอลิเบต้าไฮดรอกซีบิวทิเรต..... 8

2-3 โครงสร้างทางเคมีของพอลิเบต้าไฮดรอกซีบิวทิเรต..... 10

2-4 ลักษณะการย่อยสลายของพอลิเบต้าไฮดรอกซีบิวทิเรต..... 12

2-5 วิถีการสังเคราะห์พอลิเบต้าไฮดรอกซีบิวทิเรตในแบคทีเรีย..... 13

2-6 การแสดงออกของ pha CBA cluster สำหรับการสังเคราะห์พอลิเบต้าไฮดรอกซีบิวทิเรต 14

3-1 ขั้นตอนการเหนี่ยวนำเชื้อสายพันธุ์เดิม (*A. latus* TISTR 1403/γ-2AA)..... 37

3-2 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด รุ่น LEO 1450 VP ยี่ห้อ LEO..... 40

3-3 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน รุ่น TECNAI 20 ยี่ห้อ Philips..... 41

4-1 ลักษณะของโคโลนีที่ได้รับสัมผัสรังสีเหนือม่วงเป็นเวลา 12 นาที ตามด้วย
สาร 2-อะมิโนแอนทราซีน..... 44

4-2 ลักษณะของโคโลนีที่ได้รับสัมผัสรังสีเหนือม่วง ตามด้วยสาร 2-อะมิโนแอนทราซีน... 46

4-3 ลักษณะของโคโลนีที่ได้รับสัมผัสรังสีเหนือม่วง ตามด้วยสารอะคริฟลาวิน..... 48

4-4 ลักษณะของโคโลนีที่ได้รับสัมผัสรังสีเหนือม่วง ตามด้วยสาร 5-โบรโมยูราซิล..... 50

4-5 ลักษณะของโคโลนีที่ได้รับสัมผัสสารอะคริฟลาวิน..... 52

4-6 การเปลี่ยนแปลงของมวลเซลล์แห้งและปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของเชื้อสายพันธุ์กลายซ้ำ
ที่เลี้ยงในสูตรอาหารที่แตกต่างกัน 55

4-7 การเปลี่ยนแปลงของมวลเซลล์แห้งและปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของเชื้อสายพันธุ์เดิม
ที่เลี้ยงในสูตรอาหารที่แตกต่างกัน 56

4-8 การเปรียบเทียบมวลเซลล์แห้งและปริมาณ PHB สูงสุด ในสูตรอาหารที่แตกต่างกัน..... 58

4-9 การเปลี่ยนแปลงของมวลเซลล์แห้งและปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของเชื้อสายพันธุ์กลายซ้ำ
ที่เลี้ยงในสูตรอาหารที่ความเข้มข้นของกากน้ำตาลแตกต่างกัน..... 61

4-10 การเปลี่ยนแปลงของมวลเซลล์แห้งและปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของเชื้อสายพันธุ์เดิม
ที่เลี้ยงในสูตรอาหารที่ความเข้มข้นของกากน้ำตาลแตกต่างกัน..... 62

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

4-11 การเปรียบเทียบมวลเซลล์แห้งและปริมาณ PHB สูงสุดที่เลี้ยงในสูตรอาหารที่ความเข้มข้นของกากน้ำตาลแตกต่างกัน..... 63

4-12 การเปลี่ยนแปลงของมวลเซลล์แห้งและปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของเชื้อสายพันธุ์กลายซ้ำ ที่เลี้ยงในสูตรอาหารที่ความเข้มข้นของน้ำแช่ข้าวโพดแตกต่างกัน..... 66

4-13 การเปลี่ยนแปลงของมวลเซลล์แห้งและปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของเชื้อสายพันธุ์เดิมที่เลี้ยงในสูตรอาหารที่ความเข้มข้นของน้ำแช่ข้าวโพดแตกต่างกัน..... 67

4-14 การเปรียบเทียบมวลเซลล์แห้งและปริมาณ PHB สูงสุดที่เลี้ยงในสูตรอาหารที่ความเข้มข้นของน้ำแช่ข้าวโพดแตกต่างกัน..... 69

4-15 การเปลี่ยนแปลงของมวลเซลล์แห้งและปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของเชื้อสายพันธุ์กลายซ้ำ ที่เลี้ยงในสูตรอาหารที่ความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตแตกต่างกัน..... 72

4-16 การเปลี่ยนแปลงของมวลเซลล์แห้งและปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของเชื้อสายพันธุ์เดิมที่เลี้ยงในสูตรอาหารที่ความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตแตกต่างกัน..... 73

4-17 การเปรียบเทียบมวลเซลล์แห้งและปริมาณ PHB สูงสุดที่เลี้ยงในสูตรอาหารที่ความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตแตกต่างกัน..... 76

4-18 การเปลี่ยนแปลงของมวลเซลล์แห้งและปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของเชื้อสายพันธุ์กลายซ้ำ ที่เพาะเลี้ยงแบบกะในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ..... 79

4-19 การเปลี่ยนแปลงของมวลเซลล์แห้งและปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของเชื้อสายพันธุ์เดิมที่เพาะเลี้ยงแบบกะในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ..... 80

4-20 การเปลี่ยนแปลงของมวลเซลล์แห้งและปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของเชื้อสายพันธุ์กลายซ้ำ ที่เพาะเลี้ยงแบบเติมกะในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ..... 83

4-21 การเปลี่ยนแปลงของมวลเซลล์แห้งและปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของเชื้อสายพันธุ์เดิมที่เพาะเลี้ยงแบบเติมกะในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ..... 84

4-22 ลักษณะของเซลล์จุลินทรีย์ที่มีการสะสม PHB ที่ส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM)..... 86

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

4-23 ลักษณะของเชื้อสายพันธุ์เดิม ที่ส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM)..... 87

4-24 ลักษณะของเชื้อสายพันธุ์กลายซ้ำ ที่ส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM)..... 88

4-25 โครมาโตแกรมของพอลิเมอร์ที่ผลิตได้จากเชื้อทั้งสองสายพันธุ์ที่เลี้ยงในอาหารที่ใช้กากน้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอน..... 89

4-26 โครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน PHB จาก Aldrich โดยใช้กรดเบนโซอิกเป็น internal standard..... 89

4-27 มวลสเปคตรัมของ Butanoic acid, 3-hydroxy-methyl ester ที่สกัดได้จากเชื้อทั้งสองสายพันธุ์ที่เลี้ยงในอาหารที่ใช้กากน้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอนเทียบกับมวลสเปคตรัมของสาร PHB จาก Library search NIST08..... 90

4-28 สูตรโครงสร้างของ Butanoic acid, 3-hydroxy-methyl ester ที่สกัดได้จากเชื้อทั้งสองสายพันธุ์ที่เลี้ยงในอาหารที่ใช้กากน้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอน..... 90

ข-1 กราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส..... 118

ข-2 กราฟมาตรฐานจากสารมาตรฐาน PHB จาก Aldrich..... 120

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University