สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ผลของความเร็วใบพัดและอัตราการให้อากาศต่อการผลิตพอลิไฮดรอกซีบิวทาเรต จาก *Alcaligenes latus* TISTR 1403

THE EFFECTS OF STIRRER SPEED AND AERATION RATE ON THE PRODUCTION OF POLYHYDROXYBUTYRATE BY *Alcaligenes latus* TISTR 1403

T117255

นางสาววรรณพรรณ ภู่เล็ก
นางสาววัชรมาศ ม่วงแก้ว
นางสาววิกรรณดา นาควะรี

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ตรหู 117255
เลขทะเบียน
วัน,เดือน,ปี 19 ก.ค. 2554

b 12338850
i

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2553

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

THE EFFECTS OF STIRRER SPEED AND AERATION RATE ON THE PRODUCTION OF POLYHYDROXYBUTYRATE BY *Alcaligenes latus* TISTR 1403

MISS WANNAPAN POOLEX

MISS WATCHARAMAT MUANGKAEW

MISS WIKANDA NAKWARI

A SPECICIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE

IN BIOTECHNOLOGY

FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2010

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ ผลของความเร็วใบพัดและอัตราการให้อากาศต่อการผลิตพอลิไฮดรอกซีบิว-ทาเรตจาก *Alcaligenes latus* TISTR 1403

The effects of stirrer speed and aeration rate on the production of polyhydroxybutyrate by *Alcaligenes latus* TISTR 1403

ชื่อนักศึกษา นางสาววรรณพรรณ ภู่เล็ก 50050759

นางสาววัชรมาศ ม่วงแก้ว 50050764

นางสาววิกรรณดา นาควะรี 50050765

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ

อาจารย์ที่ปรึกษา ดร.วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ประจำปีการศึกษา 2553

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการสอบ รศ.ดวงใจ โอชัยกุล	
กรรมการสอบ ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล	
กรรมการสอบ ดร.วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์	

.....

(รศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง)

ประธานสาขาวิชาชีววิทยา

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	ผลของความเร็วใบพัดและอัตราการให้อากาศต่อการผลิตพอลิไฮดรอกซีบิว-ทาเรตจาก *Alcaligenes latus* TISTR 1403	
ชื่อนักศึกษา	นางสาววรรณพรรณ	ภู่เล็ก
	นางสาววัชรมาศ	ม่วงแก้ว
	นางสาววิกรรณดา	นาควะรี
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต	
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ	
ปีการศึกษา	2553	
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร. วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์	

บทคัดย่อ

พอลิไฮดรอกซีบิวทาเรต (polyhydroxybutyrate, PHB) สามารถผลิตได้จากจุลินทรีย์หลายชนิดในธรรมชาติ *Alcaligenes latus* TISTR 1403 เป็นจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่สามารถผลิต PHB ภายในเซลล์ได้พร้อมกับการเจริญเติบโตซึ่ง PHB เป็นพอลิเมอร์ที่มีคุณสมบัติในการย่อยสลายทางชีวภาพได้และไม่เป็นพิษ สามารถผลิตได้จากแหล่งคาร์บอนที่เป็นน้ำตาล ด้วยเหตุนี้ PHB จึงเป็นประโยชน์สำหรับอุตสาหกรรมการผลิตพลาสติกย่อยสลายได้ ดังนั้นจึงมีหลายงานวิจัยที่ตรวจสอบหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการหมัก PHB ซึ่งจากการศึกษาครั้งก่อนได้รายงานถึงผลของอาหารเลี้ยงเชื้อและสภาวะที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Alcaligenes latus* TISTR 1403 ในระดับฟลาสก์ ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงมีจุดมุ่งเน้นศึกษาถึงผลของความเร็วรอบใบพัดและอัตราการให้อากาศต่อการผลิตพอลิไฮดรอกซีบิวทาเรตจากเชื้อ *Alcaligenes latus* TISTR 1403 ในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยใช้ความเร็วใบพัด (300 400 500 รอบต่อนาที) และอัตราเร็วการให้อากาศที่แตกต่าง (1 2 4 6 ลิตรต่อนาที) พบว่าสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิต PHB ภายในเซลล์มากที่สุดคือสภาวะของการใช้อัตราการให้อากาศ 1 ลิตรต่อนาที และที่ความเร็วรอบใบพัด 500 รอบต่อนาที โดยได้ผลความเข้มข้นพอลิเมอร์สูงสุดถึง 2.0272 กรัมต่อลิตร มีปริมาณพอลิเมอร์สูงถึง ร้อยละ 95.5258 และได้ความเข้มข้นน้ำหนักเซลล์แห้ง 2.1222 กรัมต่อลิตร

คำสำคัญ: *Alcaligenes latus* TISTR 1403, พอลิไฮดรอกซีบิวทาเรต, พลาสติกชีวภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	The effects of stirrer speed and aeration rate on the production of polyhydroxybutyrate by *Alcaligenes latus* TISTR 1403
Students	Wannapan Poolex
	Watcharamat Muangkaew
	Wikanda Nakvari
Degree	Bachelor of Science
Major Program	Biotechnology
Academic Year	2010
Advisor	Vorapat Sanguanchaipaiwong, Ph.D

ABSTRACT

Polyhydroxybutyrate (PHB) could be naturally produced by several microorganisms. *Alcaligenes latus* TIRTS 1403 was known as one of the genera generated intracellular PHB. PHB is a biodegradable and biocompatible polymer that could be produced from renewable carbon sources. Therefore, it is beneficial for the biodegradable plastic industry. Many researches have been reported and required to optimize PHB fermentation conditions. Previously study showed that *Alcaligenes latus* TISTR 1403 was cultivated for the optimization of PHB production in shake flask conditions. This study has been consequently focused on the effects of stirrer speed and aeration rate on the production of PHB by *Alcaligenes latus* TIRTS 1403 in 5-litre bioreactor with three different stirrer speeds (300, 400 and 500 rpm) and four different aeration rates (1, 2, 4 and 6 L/min). The maximum amount of PHB accumulation was achieved when using aeration rate of 1 L/min and stirrer speed of 500 rpm about 95.5258 % polymer content and dry weight cell concentration of 2.1222 g/L.

Keywords: *Alcaligenes latus* TISTR 1403, Polyhydroxybutyrate, biopolymer

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ ดร.วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์ อาจารย์ที่ปรึกษาที่ให้คำแนะนำปรึกษาและตรวจแก้ไขโครงงานพิเศษและขอขอบคุณ รศ.ดวงใจ โอชัยกุล ประธานกรรมการโครงงานพิเศษ และ ดร.สุทธิจิตร ศรีวัชรกุล กรรมการโครงงานพิเศษ ที่ช่วยตรวจสอบแก้ไขโครงงานพิเศษให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ เจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ ประจำภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ซึ่งทุกท่านได้ให้คำแนะนำและช่วยเหลืออำนวยความสะดวกในการทำโครงงานพิเศษ ทั้งยังช่วยเหลือในทางด้านอุปกรณ์ สารเคมีต่างๆและเครื่องมือทางวิทยาศาสตร์ ตลอดระยะเวลาในการทำโครงงานพิเศษ และขอขอบคุณพี่ลาวัลย์ เจ้าหน้าที่ฝ่ายวิทยาศาสตร์ชีวภาพ สถาบันวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ที่ให้เชื้อ *Alcaligenes latus* TISTR 1403 มาใช้ในการทำโครงงานพิเศษในครั้งนี้

ท้ายที่สุดขอขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่และผู้มีอุปการคุณทุกท่านที่ได้อบรมสั่งสอน และให้การสนับสนุนทางการศึกษา กำลังใจ ตลอดจนความช่วยเหลือด้วยดีตลอดมา

คณะผู้จัดทำ

มีนาคม 2554

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

		หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย		I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ		II
กิตติกรรมประกาศ		III
สารบัญ		IV
สารบัญตาราง		VII
สารบัญรูป		X
คำย่อและสัญลักษณ์		XII
บทที่ 1	บทนำ	1
1.1	ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย	1
1.2	วัตถุประสงค์ในการศึกษาในครั้งนี้	3
1.3	ขอบเขตของงานวิจัย	4
1.4	ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการศึกษาในครั้งนี้	4
บทที่ 2	ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
2.1	พอลิไฮดรอกซีแอลคาโนเอต (Polyhydroxyalkanoates, PHAs) และพอลิไฮดรอกซีบิวทาเรต (Polyhydroxybutyrate, PHB)	5
2.2	จุลินทรีย์ที่สามารถผลิต PHAs ได้	7
2.2.1	แบคทีเรียที่ผลิตพอลิไฮดรอกซีบิวทาเรต	11
2.3	กระบวนการเมทาบอลิซึมในการสังเคราะห์พอลิไฮดรอกซีบิวทาเรต	13
2.3.1	การผลิตพอลิไฮดรอกแอลคาโนเอตและพอลิไฮดรอกซีบิวทาเรต	14
2.3.2	ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตพอลิไฮดรอกซีบิวทาเรต	14
2.4	คุณสมบัติของโพลิไฮดรอกซีบิวทาเรต	18
2.5	การนำพอลิไฮดรอซีแอลคาโนเอต ไปใช้ประโยชน์	19
2.6	เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	24

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

		หน้า
บทที่ 3	**วิธีการดำเนินงานวิจัย**	27
	3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง	27
	3.2 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง	27
	3.3 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง	28
	3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์	29
	3.5 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง	29
	3.5.1 การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์จากหลอดเชื้อแห้งแข็ง	30
	3.5.2 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์	30
	3.5.3 การถ่ายเชื้อลงบนอาหารแข็งเพื่อทำการเก็บรักษาเชื้อ	30
	3.6 การเตรียมหัวเชื้อ	31
	3.6.1 การเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้น	31
	3.7 การเพาะเลี้ยงเชื้อในถังหมักชีวภาพ	31
	3.7.1 การศึกษาผลของอัตราการให้อากาศ	31
	3.7.2 การศึกษาผลของความเร็วรอบของใบพัด	31
	3.8 การวิเคราะห์สารต่างๆ	32
	3.8.1 วิธีการวัดการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์	32
	3.8.2 ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์	33
	3.8.3 ความเข้มข้นของพอลิไฮดรอกซีบิวทาเรต	33
	3.9 การวิเคราะห์ทางสถิติ	34
บทที่ 4	**ผลการวิจัยและอภิปรายผล**	35
	4.1 การศึกษาสภาวะอัตราการให้อากาศที่เหมาะสมของการเจริญเติบโตของเชื้อ *Alcaligenes latus* TISTR 1403	35
	4.2 การศึกษาสภาวะความเร็วรอบใบพัดที่เหมาะสมของการเจริญเติบโตของเชื้อ *Alcaligenes latus* TISTR 1403	47

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	57
5.1 สรุปผลวิจัย	57
5.2 ข้อเสนอแนะ	58
เอกสารอ้างอิง	59
ภาคผนวก ก ข้อมูลจากการทดลอง	61
ภาคผนวก ข ข้อมูลที่วิเคราะห์ได้ทางสถิติ	70
ภาคผนวก ค การย้อมสีแบคทีเรีย	107
ภาคผนวก ง ข้อมูลกราฟมาตรฐานกลูโคส	108

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	ชนิดของแบคทีเรียที่สามารถผลิตและสะสม PHA ไว้ภายในเซลล์	8
2.2	การสะสม PHB ในเซลล์จุลินทรีย์ชนิดต่างๆ	15
2.3	เชื้อจุลินทรีย์และแหล่งคาร์บอนที่เชื้อจุลินทรีย์นั้นสามารถใช้ในการผลิต PHA ได้	17
2.4	คุณสมบัติทั่วไปของ PHB เปรียบเทียบกับ พอลิโพรไพลีน (polypropylene, PP) และพอลิสไตรีน (polystrylene, PS)	20
2.5	ตัวอย่างการนำ PHA ไปใช้ประโยชน์	21
4.1	ข้อมูลเฉลี่ยจากการทดลองศึกษาสภาวะอัตราการให้อากาศที่ 1 ลิตรต่อนาทีต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Alcaligenes latus* TISTR 1403 ในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร โดยควบคุมความเร็วรอบใบพัดคงที่ 500 รอบต่อนาที ซึ่งนำไปวาดกราฟในรูปที่ 4.1	35
4.2	ข้อมูลเฉลี่ยจากการทดลองศึกษาสภาวะอัตราการให้อากาศที่ 2 ลิตรต่อนาทีต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Alcaligenes latus* TISTR 1403 ในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร โดยควบคุมความเร็วรอบใบพัดคงที่ 500 รอบต่อนาที ซึ่งนำไปวาดกราฟในรูปที่ 4.2	38
4.3	ข้อมูลเฉลี่ยจากการทดลองศึกษาสภาวะอัตราการให้อากาศที่ 4 ลิตรต่อนาทีต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Alcaligenes latus* TISTR 1403 ในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร โดยควบคุมความเร็วรอบใบพัดคงที่ 500 รอบต่อนาที ซึ่งนำไปวาดกราฟในรูปที่ 4.3	41
4.4	ข้อมูลเฉลี่ยจากการทดลองศึกษาสภาวะอัตราการให้อากาศที่ 6 ลิตรต่อนาทีต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Alcaligenes latus* TISTR 1403 ในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร โดยควบคุมความเร็วรอบใบพัดคงที่ 500 รอบต่อนาที ซึ่งนำไปวาดกราฟในรูปที่ 4.4	43
4.5	ผลจากการเพาะเลี้ยง *Alcaligenes latus* TISTR 1403 ในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร โดยมีอัตราการให้อากาศต่างๆ คือ 1 2 4 และ 6 ลิตรต่อนาที และที่ความเร็วใบพัด 500 รอบต่อนาที ข้อมูลที่ได้จะสัมพันธ์กับความเข้มข้นของพอลิเมอร์ น้ำหนักเซลล์แห้ง ร้อยละของพอลิเมอร์ ปริมาณน้ำตาลที่ใช้ และ ค่าผลได้	46
4.6	ข้อมูลเฉลี่ยจากการทดลองศึกษาสภาวะความเร็วรอบใบพัดคงที่ 300 รอบต่อนาทีต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Alcaligenes latus* TISTR 1403 ในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร โดยควบคุมอัตราการให้อากาศคงที่ 1 ลิตรต่อนาที ซึ่งนำไปวาดกราฟในรูปที่ 4.5	48

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
4.7	ข้อมูลเฉลี่ยจากการทดลองศึกษาสภาวะความเร็วรอบใบพัดคงที่ 400 รอบต่อนาทีต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Alcaligenes latus* TISTR 1403 ในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร โดยควบคุมอัตราการให้อากาศคงที่ 1 ลิตรต่อนาที ซึ่งนำไปวาดกราฟในรูปที่ 4.6	50
4.8	ข้อมูลเฉลี่ยจากการทดลองศึกษาสภาวะความเร็วรอบใบพัดคงที่ 500 รอบต่อนาทีต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Alcaligenes latus* TISTR 1403 ในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร โดยควบคุมอัตราการให้อากาศคงที่ 1 ลิตรต่อนาที ซึ่งนำไปวาดกราฟในรูปที่ 4.7	53
4.9	ผลจากการเพาะเลี้ยง *Alcaligenes latus* TISTR 1403 ในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร โดยมีความเร็วใบพัดต่างๆ คือ 300, 400 และ 500 รอบต่อนาที ที่อัตราการให้อากาศ 1 ลิตรต่อนาที ข้อมูลที่ได้จะสัมพันธ์กับความเข้มข้นของพอลิเมอร์ น้ำหนักเซลล์แห้ง ร้อยละของพอลิเมอร์ ปริมาณน้ำตาลที่ใช้ และ ค่าผลได้	55
ก.1	ข้อมูลเบื้องต้นจากการทดลองศึกษาสภาวะอัตราการให้อากาศที่ 1 ลิตรต่อนาทีต่อเจริญเติบโตของเชื้อ *Alcaligenes latus* TISTR 1403 ในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร โดยควบคุมความเร็วใบพัดคงที่ 500 รอบต่อนาที	60
ก.2	ข้อมูลเบื้องต้นจากการทดลองศึกษาสภาวะอัตราการให้อากาศที่ 2 ลิตรต่อนาทีต่อเจริญเติบโตของเชื้อ *Alcaligenes latus* TISTR 1403 ในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร โดยควบคุมความเร็วใบพัดคงที่ 500 รอบต่อนาที	63
ก.3	ข้อมูลเบื้องต้นจากการทดลองศึกษาสภาวะอัตราการให้อากาศที่ 4 ลิตรต่อนาทีต่อเจริญเติบโตของเชื้อ *Alcaligenes latus* TISTR 1403 ในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร โดยควบคุมความเร็วใบพัดคงที่ 500 รอบต่อนาที	64
ก.4	ข้อมูลเบื้องต้นจากการทดลองศึกษาสภาวะอัตราการให้อากาศที่ 6 ลิตรต่อนาทีต่อเจริญเติบโตของเชื้อ *Alcaligenes latus* TISTR 1403 ในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร โดยควบคุมความเร็วใบพัดคงที่ 500 รอบต่อนาที	66
ก.5	ข้อมูลเบื้องต้นจากการทดลองศึกษาสภาวะความเร็วรอบใบพัดที่ 300 รอบต่อนาทีต่อเจริญเติบโตของเชื้อ *Alcaligenes latus* TISTR 1403 ในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร โดยควบคุมอัตราการให้อากาศที่ 1 ลิตรต่อนาที	67

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
ก.6	ข้อมูลเบื้องต้นจากการทดลองศึกษาสภาวะความเร็วรอบใบพัดที่ 400 รอบต่อนาที ต่อเจริญเติบโตของเชื้อ *Alcaligenes latus* TISTR 1403 ในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร โดยควบคุมอัตราการให้อากาศที่ 1 ลิตรต่อนาที	68
จ.1	ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายกลูโคสมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆ	108

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
2.1	โครงสร้างโดยทั่วไปของพอลิไฮดรอกซีแอลคาโนเอต	6
2.2	สูตรโครงสร้างของโพลิไฮดรอกซีบิวทาเรต	7
2.3	ภาพ PHA ที่สะสมอยู่ในเซลล์ของเชื้อ *Chromatium vinosum*	7
2.4	แบคทีเรีย *Alcaligenes latus* ที่มีการสะสม PHB ภายในเซลล์	12
2.5	วิถีการสังเคราะห์พอลิไฮดรอกซีบิวทาเรต	13
2.6	กระบวนการผลิต PHA และ PHB (ก) ใช้ซับสเตรตเพื่อการเจริญเติบโตและการผลิต PHA และ PHB (ข) การผลิตพอลิเมอร์เมื่อมีการเติมซับสเตรตลงไปหลังการเจริญเติบโต	15
2.7	ตัวอย่างผลิตภัณฑ์จาก PHA	22
4.1	น้ำหนักเซลล์แห้ง ( ), น้ำหนักพอลิเมอร์ ( ),ค่าการเจริญเติบโตของเซลล์ (···×···) และ ความเข้มข้นน้ำตาลที่เหลือ ( )โดยสัมพันธ์กับเวลาที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Alcaligenes latus* TISTR 1403 ในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร ที่อัตราการให้อากาศ 1 ลิตรต่อนาที และความเร็วใบพัด 500 รอบต่อนาที	36
4.2	น้ำหนักเซลล์แห้ง ( ), น้ำหนักพอลิเมอร์ ( ),ค่าการเจริญเติบโตของเซลล์ (···×···) และ ความเข้มข้นน้ำตาลที่เหลือ ( )โดยสัมพันธ์กับเวลาที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Alcaligenes latus* TISTR 1403 ในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร ที่อัตราการให้อากาศ 2 ลิตรต่อนาที และความเร็วใบพัด 500 รอบต่อนาที	39
4.3	น้ำหนักเซลล์แห้ง ( ), น้ำหนักพอลิเมอร์ ( ),ค่าการเจริญเติบโตของเซลล์ (···×···) และ ความเข้มข้นน้ำตาลที่เหลือ ( )โดยสัมพันธ์กับเวลาที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Alcaligenes latus* TISTR 1403 ในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร ที่อัตราการให้อากาศ 4 ลิตรต่อนาที และความเร็วใบพัด 500 รอบต่อนาที	42
4.4	น้ำหนักเซลล์แห้ง ( ), น้ำหนักพอลิเมอร์ ( ),ค่าการเจริญเติบโตของเซลล์ (···×···) และ ความเข้มข้นน้ำตาลที่เหลือ ( )โดยสัมพันธ์กับเวลาที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Alcaligenes latus* TISTR 1403 ในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร ที่อัตราการให้อากาศ 6 ลิตรต่อนาที และความเร็วใบพัด 500 รอบต่อนาที	44

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4.5	น้ำหนักเซลล์แห้ง (→), น้ำหนักพอลิเมอร์ (→),ค่าการเจริญเติบโตของเซลล์ (···×···) และ ความเข้มข้นน้ำตาลที่เหลือ (→) โดยสัมพันธ์กับเวลาที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Alcaligenes latus* TISTR 1403 ในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร ที่ความเร็วใบพัด 300 รอบต่อนาทีและอัตราการให้อากาศ 1 ลิตรต่อนาที	49
4.6	น้ำหนักเซลล์แห้ง (→), น้ำหนักพอลิเมอร์ (→),ค่าการเจริญเติบโตของเซลล์ (···×···) และ ความเข้มข้นน้ำตาลที่เหลือ (→) โดยสัมพันธ์กับเวลาที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Alcaligenes latus* TISTR 1403 ในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร ที่ความเร็วใบพัด 400 รอบต่อนาทีและอัตราการให้อากาศ 1 ลิตรต่อนาที	51
4.7	น้ำหนักเซลล์แห้ง (→), น้ำหนักพอลิเมอร์ (→),ค่าการเจริญเติบโตของเซลล์ และความเข้มข้นน้ำตาลที่เหลือ (→) โดยสัมพันธ์กับเวลา ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Alcaligenes latus* TISTR 1403 ในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร ที่ความเร็วใบพัด 500 รอบต่อนาทีและอัตราการให้อากาศ 1 ลิตรต่อนาที	54
จ.1	กราฟเทียบค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายกลูโคสมาตรฐาน	108

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำย่อและสัญลักษณ์

PHB	คือ	พอลิไฮดรอกซีบิวทาเรต (Polyhydroxybutyrate)
PHAs	คือ	พอลิไฮดรอกซีแอลคาโนเอต (Polyhydroxyalkanoates)
rpm	คือ	รอบต่อนาที (Revolutions per minute)
nm	คือ	นาโนเมตร
MSM	คือ	อาหารเลี้ยงเชื้อมิเนอรอลซอล (Mineral salt medium)
$Y_{x/s}$	คือ	ค่าผลได้ของน้ำหนักเซลล์แห้งที่เกิดขึ้นต่อน้ำตาลที่ถูกใช้
$Y_{p/s}$	คือ	ค่าผลได้ของพอลิเมอร์ที่เกิดขึ้นต่อน้ำตาลที่ถูกใช้

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย

พลาสติกนับว่ามีบทบาทสำคัญต่อการดำรงชีวิต หากเราได้มีโอกาสไปเดินซื้อสินค้าไม่ว่าที่ใดก็ตาม จะพบว่าผลิตภัณฑ์เกือบทุกชนิดที่เราซื้อ อาหารส่วนใหญ่ที่เรารับประทาน และเครื่องดื่มจำนวนมากที่เราดื่มล้วนผลิตขึ้นหรือถูกบรรจุอยู่ภายในภาชนะที่เรียกว่าพลาสติกด้วยกันทั้งสิ้น การใช้พลาสติกมีปริมาณสูงตามปริมาณประชากรโลกที่เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องในแต่ละปี ในทำนองเดียวกันของเหลือทิ้งที่มาจากผลิตภัณฑ์พลาสติกก็ย่อมมีปริมาณมากขึ้นตาม ดังนั้นความเข้าใจเกี่ยวกับพลาสติก รวมถึงผลกระทบจากการใช้วัตถุดิบในการผลิต กระบวนการผลิต การใช้ผลิตภัณฑ์ และการกำจัดผลิตภัณฑ์พลาสติก จึงเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับมนุษย์ผู้ซึ่งอาศัยอยู่บนโลกเดียวกัน ทั้งนี้เพื่อเป็นแนวทางในการร่วมกันลดภาระการจัดการของเสียที่มีอยู่ และป้องกันมลพิษที่อาจเกิดขึ้นอีกหลายด้านในอนาคตอันใกล้ (รมณีย์, 2549)

PHAs หรือ Polyhydroxyalkanoate เป็นสารที่จุลินทรีย์ผลิตขึ้น และเก็บสะสมเป็นแหล่งพลังงานไว้ภายในเซลล์ ส่วนพอลิไฮดรอกซีบิวทาเรต (Polyhydroxybutyrate, PHB) เป็นอะลิฟาติกพอลิเอสเทอร์ที่พบได้ในธรรมชาติ เป็นพอลิเมอร์หนึ่งที่จัดอยู่ในกลุ่ม Polyhydroxyalkanoate ซึ่งถูกผลิตและเก็บสะสมได้ในจุลินทรีย์หลายชนิด คุณสมบัติที่โดดเด่นของ พอลิไดรอกซีบิวทาเรต ได้แก่ เป็นพลาสติกชนิดที่ยืดหยุ่นได้เมื่อได้รับความร้อน ซึ่งส่งผลต่อการขึ้นรูปและการนำไปประยุกต์ใช้ ลักษณะรูปทรงผลึก โดยโครงสร้างภายในเป็นผลึกเพียงบางส่วนและสามารถเกิดผลึกได้ 55-75% โดยเฉพาะจาก side chain ที่ไม่อิ่มตัว ทำให้มีโครงสร้างที่ไม่แน่นอน

คุณสมบัติทางกลศาสตร์ซึ่งคล้ายกับสารสังเคราะห์พอลิเอสเทอร์ เช่น พอลิโพไพลีน แต่พอลิไฮดรอกซีบิวทาเรตจะเปราะมากกว่าพอลิโพไพลีน ความเปราะของพอลิไฮดรอกซีบิวทาเรตดูได้จากขนาดของผลึก นอกจากนี้ยังมีความสามารถในการย่อยสลายได้ตามธรรมชาติและความสามารถในการเข้ากันได้กับเซลล์หรืออวัยวะของสิ่งมีชีวิต ซึ่งพอลิไฮดรอกซีบิวทาเรตมีคุณสมบัติทางกายภาพเช่นเดียวกับเทอร์โมพลาสติก เนื่องจากพอลิไฮดรอกซีบิวทาเรตเป็นเรซินที่มีความหนืดสูงและสามารถทำให้เป็นรูปร่างต่างๆ ได้ที่อุณหภูมิใกล้เคียงหรือมากกว่าจุดหลอมเหลว (จารุณี และคณะ, 2545)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีแบคทีเรียที่อยู่ในสภาวะที่ใช้อากาศและไม่ใช้อากาศหลายชนิดที่สามารถสังเคราะห์พอลิไฮดรอกซีบิวทาเรตไว้ภายในเซลล์ได้ ซึ่งอยู่ในรูปซับไมครอน (Sub-micron) เมื่ออยู่ภายใต้สภาวะที่มีการจำกัดอาหารอื่นและให้แหล่งคาร์บอนให้เพียงพอ ซึ่งในการผลิตพอลิไฮดรอกซีบิวทาเรตโดยกระบวนการทางชีวภาพจะใช้แบคทีเรียสายพันธุ์ *Alcaligenes latus* และปริมาณของพอลิไฮดรอกซี-บิวทาเรตในเซลล์แบคทีเรีย จะมีอยู่ประมาณ 1-30 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง พอลิไฮดรอกซีบิวทาเรตที่สะสมอยู่ในเซลล์เป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่ประกอบด้วย ไขมัน โปรตีนหรือเกลือของพอลิเมอริกแอนไอออน (Polymeric anions) สามารถแยกออกเป็นพอลิเมอร์ที่เป็นโซ่สั้นๆ จากเซลล์เมมเบรนของแบคทีเรีย จากพืช และเนื้อเยื่อของสัตว์ การผลิตพอลิไฮดรอกซีบิวทาเรตโดยใช้จุลินทรีย์เริ่มจากแหล่งน้ำตาลถูกเปลี่ยนเป็นน้ำตาลกลูโคส จากนั้นเข้าสู่ถังหมักซึ่งมีแบคทีเรีย *Alcaligenes latus* ทำหน้าที่เปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสให้เป็นพอลิไฮดรอกซีบิวทาเรตเพื่อนำไปแปรรูปผลิตภัณฑ์พลาสติกภายหลังการใช้งานพอลิไฮดรอกซีบิวทาเรตจะถูกกำจัดได้ 3 ทาง คือ นำกลับมาใช้ใหม่ (recycled) นำไปถม (landfill) และถูกย่อยสลายโดยแบคทีเรีย (biodegrade) ได้เป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์กับน้ำสำหรับการสังเคราะห์แสงของพืชต่อไป

การย่อยสลายทางชีวภาพของพอลิไฮดรอกซีบิวทาเรต จะมีกลไกและเงื่อนไขที่ต่างกัน การสลายตัวทางชีวภาพนั้น เกิดจากสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก เช่น ฟังไจ หรือแบคทีเรีย ปล่อยเอนไซม์ ซึ่งเป็นสารเคมีออกมาย่อยสลาย การย่อยสลายทางชีวภาพ มี 2 วิธี คือ ทำให้ตัวพลาสติกเองสามารถรับเอนไซม์ได้แล้วจึงเกิดการสลายตัวของพลาสติกนี้เรียกว่าไบโอโพลิเมอร์ สามารถย่อยสลายได้โดยแบคทีเรียหลายชนิด เช่น *Alcaligenes eutrophus* ได้เป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์กลับสู่อากาศ และอีกวิธีคือ ใส่สารเติมแต่งที่สามารถย่อยสลายทางชีวภาพเช่น ข้าวโพด ข้าว แป้ง ลงในพลาสติก ซึ่งปัจจัยที่มีผลต่อระยะเวลาในการย่อยสลายทางชีวภาพขึ้นอยู่กับสภาวะแวดล้อมขณะนั้น เช่น ความชื้น อุณหภูมิ ปริมาณออกซิเจน ความเป็นกรด เบส ชนิดของจุลินทรีย์ ที่สามารถปล่อยเอนไซม์ออกมาย่อยพลาสติก พอลิเมอร์ธรรมชาติจะใช้เวลาในการย่อยสลายเป็นวัน แต่พอลิเมอร์สังเคราะห์จะใช้เวลาหลายปีในการสลายตัว (คันธง และคณะ, 2543)

พลาสติกชีวภาพที่ผลิตได้จากจุลินทรีย์มีหลายชนิด เช่น พอลิไฮดรอกซีบิวทาเรต (Polyhydroxybutyrate) แต่พลาสติกชีวภาพมีราคาต้นทุนสูงเมื่อเปรียบเทียบกับพลาสติกสังเคราะห์จึงทำให้ไม่เป็นที่นิยม แต่จะพบว่าพลาสติกชีวภาพมีการค้นพบถึงประโยชน์ของมันมากมายในภาคอุตสาหกรรมดังต่อไปนี้

- การผลิต PHB ทางชีวภาพจากเชื้อ *Alcaligenes latus* ใช้ผลิตสินค้าต่างๆได้เช่น หวี ปากกา และใบพัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ช่วยในการออสทีโออินดักชั่น (osteoinduction)
- ใช้ในทางวิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูก
- PHB ที่มีส่วนประกอบของอนุภาคไฮดรอกซีอาปาไทต์ (hydroxyapatite) จะสามารถนำมาใช้ในการซ่อมแซมเนื้อเยื่อแข็งได้
- PHB ที่มีการเติมฮอร์โมนและยาเข้าไปนั้นมันสามารถใช้ทำพลาสติกเคลือบกันความชื้นในผ้าอ้อมและผ้าอนามัยได้
- สามารถนำไปประยุกต์เป็นแผ่นฟิลม์ทางการแพทย์เพื่อใช้ในโรงพยาบาล

อย่างไรก็ตามจากปัญหาของขยะพลาสติกสังเคราะห์โดยเฉพาะพลาสติกที่มีอายุการใช้งานสั้นและปริมาณการใช้จำนวนมากเช่น ถุงพลาสติก ฟิล์มห่ออาหาร กล่องโฟมที่เพิ่มมากขึ้นเรื่อย ๆยากต่อการกำจัดเพราะจุลินทรีย์ในธรรมชาติย่อยสลายได้ยากจึงทำให้พลาสติกชีวภาพ หรือพลาสติกที่ย่อยสลายได้โดยจุลินทรีย์เข้ามามีบทบาทมากขึ้นเพื่อที่จะทดแทนการใช้พลาสติกสังเคราะห์ และการขยายตัวทางการค้าของ PHB ยังคงล่าช้าไม่ก้าวหน้าเนื่องจากต้นทุนในการผลิตมีค่าสูงเมื่อเปรียบเทียบกับพลาสติกที่ได้มาจากน้ำมันปิโตรเลียม ดังนั้นมันจึงเป็นสิ่งสำคัญต่อผลกระทบทางด้านต้นทุนในกระบวนการต่างๆ แต่ก็พบว่าสามารถทำให้ต้นทุนลดลงและมีแนวทางการประยุกต์ใช้ PHB ในระดับอุตสาหกรรมเพิ่มมากขึ้นได้ จึงมีการวิจัยถึงสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิต PHB ให้ได้ปริมาณสูงสุดโดยจากผลการทดลองครั้งนี้สามารถใช้เป็นประโยชน์เกี่ยวกับภาวะทางเศรษฐกิจของการผลิต PHB ด้วยเชื้อ *Alcaligenes latus* ได้

1.2 วัตถุประสงค์ในการศึกษาในครั้งนี้

1. เพื่อศึกษาสภาวะอัตราการให้อากาศและความเร็วใบพัดที่เหมาะสมต่อการผลิตพอลิไฮดรอกซี-บิวทาเรต
2. เพื่อศึกษาผลได้และอัตราการเจริญเติบโตต่อเวลาของเชื้อ *Alcaligenes latus*
3. เพื่อศึกษาการผลิตและการสกัดสารพอลิไฮดรอกซีบิวทาเรตจากเชื้อ *Alcaligenes latus* ที่ถูกเพาะเลี้ยงในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ทำการศึกษาผลของความเร็วใบพัดและอัตราการให้อากาศต่อการผลิตพอลิไฮดรอกซีบิวทาเรต ซึ่งพอลิไฮดรอกซีบิวทาเรตที่ผลิตขึ้นนี้จะได้จากกระบวนการหมักแบบเบ็ดเสร็จ (batch fermentation) ด้วยเชื้อ *Alcaligenes latus* ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรมินิมอลซอล (Minimal Salt Medium) และควบคุมให้มีค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 7 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราเร็วใบพัด 300 400 และ 500 รอบต่อนาที อัตราเร็วการให้อากาศ 1 2 4 และ 6 ลิตรต่อนาที และทำการสกัดพอลิเมอร์ที่อยู่ภายในเซลล์ด้วยคลอโรฟอร์ม หลังจากนั้นทำการตกตะกอนพอลิเมอร์ด้วยเมทานอลเย็น

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการศึกษาในครั้งนี้

1. สามารถนำพอลิไฮดรอกซีบิวทาเรตที่เป็นพลาสติกชีวภาพนำมาใช้แทนพลาสติกที่ได้จากการสังเคราะห์ด้วยกระบวนการทางเคมี
2. สามารถนำสภาวะอัตราการให้อากาศและความเร็วใบพัดที่เหมาะสมในการผลิตพอลิไฮดรอกซีบิวทาเรตได้มากสุด มาพัฒนาใช้ในระดับอุตสาหกรรม
3. สามารถช่วยลดการใช้พลาสติกที่ไม่สามารถย่อยสลายได้ให้น้อยลงเพื่อรักษาสมดุลของสิ่งแวดล้อม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

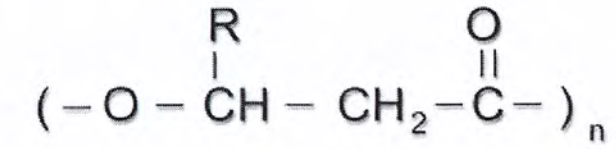
บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 พอลิไฮดรอกซีแอลคาโนเอต (Polyhydroxyalkanoates, PHAs) และ พอลิไฮดรอกซีบิวทาเรต (Polyhydroxybutyrate, PHB)

PHAs เป็นสารที่จุลินทรีย์ผลิตขึ้นและเก็บสะสมไว้ภายในเซลล์ พบในเซลล์จุลินทรีย์หลายสายพันธุ์ในสภาพเลี้ยงที่ไม่สมดุล ได้แก่สภาวะที่มีการกำจัดแหล่งไนโตรเจน แม้ว่า PHAs จะถูกผลิตขึ้นในปริมาณมากและได้มีการศึกษามานานแล้ว แต่เนื่องจากมีคุณสมบัติที่เหมาะสมในการนำมาใช้เป็นแหล่งวัตถุดิบในการทำพลาสติก จึงยังมีการวิจัยเพื่อพัฒนาการผลิต PHAs อยู่ ลักษณะโครงสร้างทั่วไปของ PHAs ประกอบด้วยโมโนเมอร์ของไฮดรอกซีแอซิดหลายๆ โมเลกุลมาเรียงต่อกันโดยมีความแตกต่างกันที่หมู่อัลคิล ดังรูปที่ 2.1 ส่วน PHB เป็นอะลิฟาติกพอลิเอสเตอร์ที่พบได้ในธรรมชาติ เป็นอนุพันธ์ที่จัดอยู่ในกลุ่ม PHAs ซึ่งถูกผลิตและเก็บสะสมได้ในจุลินทรีย์หลายชนิดและมีชื่อทางการค้าว่า "Biopol" ซึ่งปัจจุบันได้หยุดทำการผลิต เนื่องจากผลิตภัณฑ์มีราคาแพง ในปี ค.ศ. 1923 Lemoigne (อ้างโดย จารุณี, 2545) ค้นพบว่า PHB เป็นอนุพันธ์ของ PHAs ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่สำคัญจากแบคทีเรียเป็นครั้งแรกและในปี ค.ศ. 1927 Lemoigne (อ้างโดย จารุณี, 2545) ได้พบว่าการผลิต PHB มีความสำคัญกับการสร้างสปอร์ของ *Bacillus* spp. ซึ่งในปัจจุบันนี้พบว่าองค์ประกอบของไขมันชนิดนี้ถูกสะสมได้ในแบคทีเรียหลายชนิด ในช่วงการเจริญเติบโตคงที่ (Stationary phase) เพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานทดแทน พอลิเมอร์ชนิดนี้จะถูกผลิตและถูกสะสมได้ดีภายใต้สภาวะที่ไม่เหมาะสมในกรณีที่มีการจำกัดแหล่งอาหารที่จำเป็น (จารุณี และคณะ, 2543)

PHAs เป็นพอลิเอสเทอร์ที่ผลิตจากจุลินทรีย์มีหน่วยโมโนเมอร์ทั้งหมดของ PHAs ได้แก่ กรดไฮดรอกซีคาร์บอกซิลิก (Hydroxycarboxylic acids) ประกอบด้วยกลุ่มอาร์ไฮดรอกซี (R-hydroxy - groups) กรดไฮดรอกซีคาร์บอกซิลิกจะมีมากกว่า 140 ชนิดและสามารถรวมกับพอลิเมอร์ไปเป็นหน่วยของโมโนเมอริค (monomeric)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



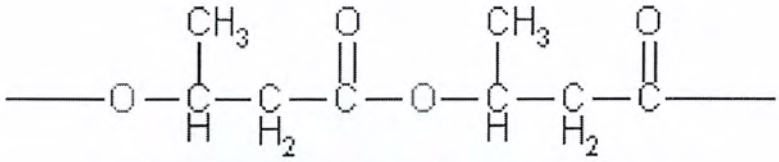
รูปที่ 2.1 โครงสร้างโดยทั่วไปของพอลิไฮดรอกซีแอลคาโนเอต

ที่มา : http://www.landlearn.net.au/newsletter/2004term4/images/2formula.gif (14/08/2553)

PHAs ถูกดึงเอาพอลิเมอร์ออกไปเป็นโมโนเมอร์ด้วยวิธีการทางเคมี ได้แก่ การทำปฏิกิริยาแอลกอฮอล์ไลซีสในสภาวะกรด (acidic alcoholysis) ของ PHAs ไปเป็นเมทิลเอสเทอร์ของโมโนเมอร์โดยการขนส่งเอสเทอร์ (transesterification) ร่วมกับแอลกอฮอล์ไลซีสในสภาวะกรดของ PHAs และ PHAs ถูกตรวจสอบโดยนักเคมีมาแล้วว่ายังไม่สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในระดับอุตสาหกรรมได้ เนื่องมาจากเหตุผลทางเศรษฐกิจรวมไปถึงต้นทุนที่มีราคาสูงและจะต้องใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีราคาสูงในปริมาณมาก

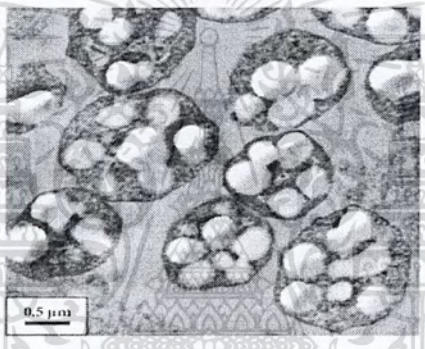
พอลิไฮดรอกซีบิวทาเรต (Polyhydroxybutyrate, PHB) เป็นโฮโมพอลิเมอร์ (homopolymer) ชนิดหนึ่งของ PHAs ส่วนมากจะนิยมนำมาศึกษาในด้านพอลิเอสเทอร์ชีวภาพ (biopolyester) คุณสมบัติของ PHB จะคล้ายกันกับพอลิโพรไพลีน (polypropylene, PP) ซึ่งมีความเป็นผลึกสูง และมีอุณหภูมิหลอมละลายสูงถึง 170-180 องศาเซลเซียส การที่อุณหภูมิหลอมละลายสูงนั้นยากทำให้ยากต่อกระบวนการเกิด PHB ซึ่งพวกโคพอลิเมอร์ (copolymer) จะได้รับความสนใจในการนำไปประยุกต์ใช้ในระดับอุตสาหกรรม ปัจจุบันมีเพียง PHB และพอลิ-3-ไฮดรอกซีบิวทาเรต-โค-3-ไฮดรอกซีวาลีเรต [Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate), P(3HB-co-3HV)] เท่านั้นที่ถูกนำไปผลิตในรูปกึ่งทางการค้า ซึ่งผลิตขึ้นเป็นครั้งแรกโดยบริษัท ZENECA Bioproducts ตามด้วยบริษัท Monsanto ซึ่งการผลิต PHAs จะมีต้นทุนการผลิตที่สูงเมื่อเปรียบเทียบกับพอลิเมอร์ที่ผลิตจากปิโตรเคมี ดังนั้นในกระบวนการผลิตและกระบวนการเก็บเกี่ยว PHAs จะต้องมีการพัฒนาแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ดีที่สุด เพื่อให้เกิดประสิทธิภาพในกระบวนการหมักและกระบวนการเก็บเกี่ยว PHAs (จารุณี และคณะ, 2543)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.2 สูตรโครงสร้างของพอลิไฮดรอกซีบิวทาเรต

ที่มา : http://home.kku.ac.th/uac/journal/year_18_1_2553/4.pdf (14/08/2553)



รูปที่ 2.3 พอลิไฮดรอกซีแอลคาโนเอตที่สะสมอยู่ในเซลล์ของเชื้อ *Chromatium vinosum*

ที่มา : http://www.im.ac.cn/sklmr/ketizu/XiangH/PHA.jpg (14/08/2553)

2.2 จุลินทรีย์ที่สามารถผลิต PHAs ได้

จากการศึกษาวิจัยพบว่า แบคทีเรียที่อยู่ในสภาวะใช้อากาศและไม่ใช้อากาศหลายชนิดสามารถสังเคราะห์ PHA หรือ PHB ไว้ภายในเซลล์ซึ่งอยู่ในรูปซับไมครอนเมื่ออยู่ภายใต้สภาวะที่มีการจำกัดอาหารโดยการให้แหล่งคาร์บอนที่เพียงพอ ได้แก่ ไนโตรเจน แบคทีเรียที่สามารถผลิต PHA ได้แสดงไว้ดังต่อไปนี้ โดยแบคทีเรียเกือบทั้งหมดสามารถเก็บสะสม PHA ได้ 30-80 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเซลล์แห้ง นอกจากนั้นภายใต้สภาวะที่จำเพาะ *Alcaligenes eutrophus* N9A สามารถสะสม PHA ได้ถึง 96 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนั้นไซยาโนแบคทีเรีย (Cyanobacteria) ได้แก่ *Aphanothece* หรือ *Microcoleus* มีการสะสม PHA ในปริมาณที่ต่ำ ส่วน *Enterobacter* จะมาสะสมอยู่ในรูป PHA อย่างไรก็ตามได้มีการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พิสูจน์ให้เห็นว่าวิถีการสังเคราะห์ PHA ทางชีวภาพจาก *A. eutrophus* สามารถที่จะนำมาทำการตัดต่อยีนใน *Escherichia coli* ได้ซึ่งจะพบพอลิเมอร์อยู่ใน *E. coli* เช่นเดียวกันกับเซลล์เมมเบรนของ *Haemophilus influenza* ส่วนแบคทีเรียที่สังเคราะห์แสงได้แก่ *Clostridium* sp. และ *Syntrophomonas* sp. ซึ่งจะเป็นพวกที่ไม่ใช้อากาศพบว่ามีการสะสม PHA เช่นกัน

นอกจากนี้ PHA ยังพบในแบคทีเรียที่ใช้กำมะถันด้วย จากการเกิดและวิวัฒนาการของสายพันธุ์ของสิ่งมีชีวิตเป็นที่สังเกตอย่างเห็นได้ชัดว่า PHA พบได้ทั้ง Enterobacteria และ Archaebacteria (จารุณี และคณะ, 2543) ในการใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดในการดูเซลล์แบคทีเรียจะเห็น PHA อยู่ในรูปกรานูล รูปร่างทรงกลม เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.5 ไมโครเมตร ดังรูปที่ 2.3 ปริมาณของ PHA ในเซลล์แบคทีเรียจะมีอยู่ประมาณ 1-30 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง อย่างไรก็ตามภายใต้การควบคุมในสภาวะหมัก โดยการกำจัดไนโตรเจนหรือออกซิเจน *Azotobacter* และ *Alcaligenes* sp. บางชนิดสามารถสะสมพอลิเมอร์ได้ถึง 90 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้งชีวภาพ และมีเชื้อบางชนิดที่สามารถเลี้ยงในสารพิษได้ ได้แก่ *Ralstonia etropha* และ *Variorax paradoxus* (คันธง และคณะ, 2543)

ตารางที่ 2.1 ชนิดของแบคทีเรียที่สามารถผลิตและสะสม PHA ไว้ภายในเซลล์

จีนัส	ประเภทที่จัดโดย **Bergey's Manual**	ปริมาณ **PHA** สูงสุด (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง)	สารอาหารที่ใช้ผลิต **PHA**
Acinetobacter	10	<1	กลูโคส
Alcaligenes	7	96	ฟรุกโตส
Aphanothece	ไซยาโนแบคทีเรีย	<1	NS
Aquaspirillium	6	ND	NS
Azospirillium	6	75	มาเลต
Azotobacter	7	73	กลูโคส
Bacillus	15	25	กลูโคส
Beggiatoa	2	57	อะซิเตต
Beijerinckia	7	38	กลูโคส
Caulobacter	4	36	กลูโคส/กลูตาเมต
Chloroflexus	1	<1	สารสกัดยีสต์ / ไกลซิลไกลซีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 ชนิดของแบคทีเรียที่สามารถผลิตและสะสม PHA ไว้ภายในเซลล์ (ต่อ)

จีนัส	ประเภทที่จัดโดย **Bergey's Manual**	ปริมาณ **PHA** สูงสุด (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง)	สารอาหารที่ใช้ผลิต **PHA**
Chloroglora	ไซยาโนแบคทีเรีย	10	อะซิเตต / คาร์บอนไดออกไซด์
Chromatium	1	20	อะซิเตต
Chromobacterium	8	37	กลูโคส / เปปโตน
Clostridium	15	13	ทิปโตน / กลูโคส / เปปโตน
Ectothiorhodospira	7	26	กลูโคส
Escherichia[a]	1	ND	NS
Gamphosphaeria	8	ND	ทิปโตน / กลูโคส / สารสกัดยีสต์
Haemophilus[a]	ไซยาโนแบคทีเรีย	ND	ND
Halobacterium	8	ND	Brain-heart-infusion
Hyphomicrobium	13	38	กลูโคส
Lamprocystis	4	ND	เมทานอล, กลูโคส
Lampropedia	1	ND	NS
Leptothrix	10	ND	NS
Methylobacterium	3	67	ไพรูเวต
Methylocystis	7	47	เมทานอล
Methylosinus	ND	70	มีเทน
Micrococcus	7	25	มีเทน
Microroleus	14	28	ทิปโตน / เปปโตน
Methylocystis	ไซยาโนแบคทีเรีย	<1	NS
Moraxella	ไซยาโนแบคทีเรีย	ND	ND
Microplana	10	ND	NS
Nitrobacter	17	ND	เมทานอล
Nitrococcus	12	ND	NS
Nocadia	12	ND	NS
Oceanospirillum	17	14	บิวเทน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 ชนิดของแบคทีเรียที่สามารถผลิตและสะสม PHA ไว้ภายในเซลล์ (ต่อ)

จีนัส	ประเภทที่จัดโดย **Bergey's Manual**	ปริมาณ **PHA** สูงสุด (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง)	สารอาหารที่ใช้ผลิต **PHA**
Paracoccus	6	ND	NS
Photobacterium	10	ND	NS
Pseudomonas	8	ND	NS
Rhizobium	7	67	เมทานอล
Rhodobacter	7	57	แมนนิทอล
Rhodospirillum	1	80	อะซิเตต
Sphaerotilus	1	47	อะซิเตต
Spirilum	3	45	กลูโคส/ เปปโตน
Spirulina	ไซยาโนแบคทีเรีย	40	แลกโตส
Streptomyces	17	6	คาร์บอนไดออกไซด์
Syntrophomonas	9	ND	กลูโคส
Thiobacillus	12	ND	โครโตเนต
Thiocapsa	1	ND	กลูโคส
Thiocystis	1	ND	NS
Thiodictyon	1	ND	NS
Thiopedia	1	ND	NS
Thiosphaera	8	ND	อะซิโตน, คาร์บอนไดออกไซด์
Vibrio	7	ND	NS
Xanthobacter	7	ND	NS

กลุ่มที่ 1 : แบคทีเรียโฟรโตทรอปิก (Phototrophic bacteria) ;

กลุ่มที่ 2 : แบคทีเรียที่มีการเคลื่อนที่แบบลื่นไถล (Gliding bacteria) ;

กลุ่มที่ 3 : แบคทีเรียที่ถูกหุ้มด้วยปลอกหุ้ม (Sheathed bacteria) ;

กลุ่มที่ 4 : แบคทีเรียที่มีการแตกหน่อหรือแบคทีเรียที่มีการเพิ่มจำนวนจากแขนง (Budding and/or appendage bacteria) ;

กลุ่มที่ 6 : แบคทีเรียที่มีรูปร่างเป็นเกลียวและมีรูปร่างโค้ง (Spiral and curved bacteria) ;

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลุ่มที่ 7 : แบคทีเรียแกรมลบที่ต้องการอากาศรูปร่างแท่งและกลม (Gram-negative aerobic rods and cocci) ;

กลุ่มที่ 8 : แบคทีเรียแกรมลบที่ต้องการอากาศเพียงเล็กน้อย (Gram-negative facultative anaerobic bacteria);

กลุ่มที่ 9 : แบคทีเรียแกรมลบที่ต้องการอากาศ (Gram-negative anaerobic bacteria) ;

กลุ่มที่ 10 : แบคทีเรียแกรมลบที่มีรูปร่างทรงกลม (Gram-negative cocci and coccibacilli) ;

กลุ่มที่ 12 : แบคทีเรียแกรมลบเคโมไลโทโทรปิค (Gram-negative chemolithotrophic) ;

กลุ่มที่ 13 : อาเคียแบคทีเรีย (Archaebacteria) ;

กลุ่มที่ 14 : แบคทีเรียแกรมบวกที่มีรูปร่างเป็นทรงกลม (Gram-positive cocci) ;

กลุ่มที่ 15 : แบคทีเรียที่สร้างเอนโดสปอร์เป็นท่อนและทรงกลม (Endospore-forming rods and cocci) ;

กลุ่มที่ 17 : แอคติโนมัยซีส (Actinimycetes) ;

[a] พบ PHB ที่เยื่อหุ้มเซลล์ ไม่อยู่ในรูปอินคลูชั่นภายในเซลล์ (intracellular inclusions) ;

ND : ไม่มีการหาปริมาณ PHA สูงสุด

NS : ไม่บ่งบอกสารอาหาร

ที่มา : Agarwal และคณะ (1995) อ้างโดย จารุณี และคณะ, 2545

2.2.1 แบคทีเรียที่ผลิตพอลิไฮดรอกซีบิวทาเรต

หากจำแนกชนิดของแบคทีเรียที่สามารถผลิตและสะสมพอลิไฮดรอกซีบิวทาเรต สามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ผลิตพอลิไฮดรอกซีบิวทาเรตหลังการเจริญเติบโตสูงสุดและต้องการสารอาหารที่จำเป็นในปริมาณจำกัด เช่น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส แมกนีเซียม หรือซัลเฟอร์ ได้แก่ *Ralstonia eutrophus, Protomonas extorquens, Protomonas oleovorans* เป็นต้น และกลุ่มที่ผลิตพอลิไฮดรอกซีบิวทาเรตระหว่างการเจริญและต้องการสารอาหารที่จำเป็นในปริมาณไม่จำกัด ได้แก่ *Alcaligenes latus, Azotobacter vinelandii* และ recombinant *E. coli* เป็นต้น ในที่นี้จะพูดถึงแต่ *Alcaligenes latus* ที่ใช้ในโครงงานพิเศษนี้เท่านั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อ *Alcaligenes latus*

เชื้อ *Alcaligenes latus* เป็นแบคทีเรียที่อยู่ใน

อาณาจักร Bacteria

ไฟลัม Proteobacteria

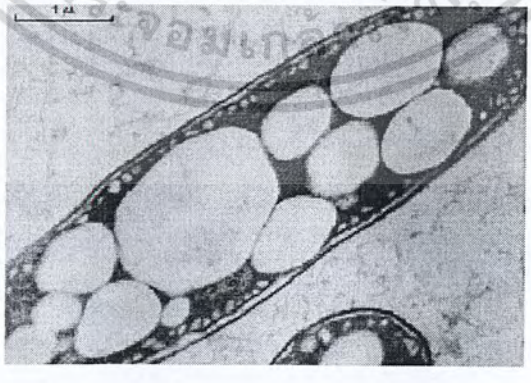
คลาส Beta Proteobacteria

เฟมมิลี่ Alcaligenaceae

จีนัส *Alcaligenes*

Alcaligenes latus เป็นแบคทีเรียรูปแท่งหรือกลม ย้อมติดสีแกรมลบ ไม่มีการสร้างสปอร์ อยู่ในกลุ่มอ็อฟลิเกทแอโรป (obligate aerobe) คือต้องการออกซิเจนสำหรับการเจริญเติบโตถ้าไม่มีออกซิเจนจะเจริญเติบโตไม่ได้ ขนาดของเซลล์มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.2 – 2.4 ไมโครเมตร และมีความยาว 1.6 – 2.4 ไมโครเมตร สามารถเคลื่อนไหวได้โดยใช้แฟลกเจลลา เจริญเติบโตได้ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ค่าพีเอชที่เหมาะสมอยู่ที่ค่า 0.6 – 7.5 เมื่อเชื้อมีการเจริญจะสังเกตเห็นเป็นโคโลนีสีขาวขุ่นค่อนข้างเหลืองถึงชมพูเทา และโคโลนีกลม

ได้มีการศึกษาถึงสรีรวิทยาของจุลินทรีย์เนื่องจากจุลินทรีย์มีความสามารถในการออกซิไดส์แก๊สไฮโดรเจนได้ ให้พลังงานออกมา ในการทดลองในห้องปฏิบัติการเชื้อ *Alcaligenes eutrophus* จะสามารถผลิตพลาสติกที่อยู่ในเซลล์ได้มากกว่าร้อยละ 40 โดยการเลี้ยงในสภาวะอาหารเหลวหรือเลี้ยงในอาหารแข็งในจานเพาะเลี้ยงเชื้อ และเชื้อนี้ยังสามารถนำมาใช้ในโรงงานอุตสาหกรรมการผลิตพอลิไฮดรอกซีบิวทาเรตที่สะสมอยู่ภายในเซลล์ ดังรูปที่ 2.4 (พรเทพ และคณะ, 2553)



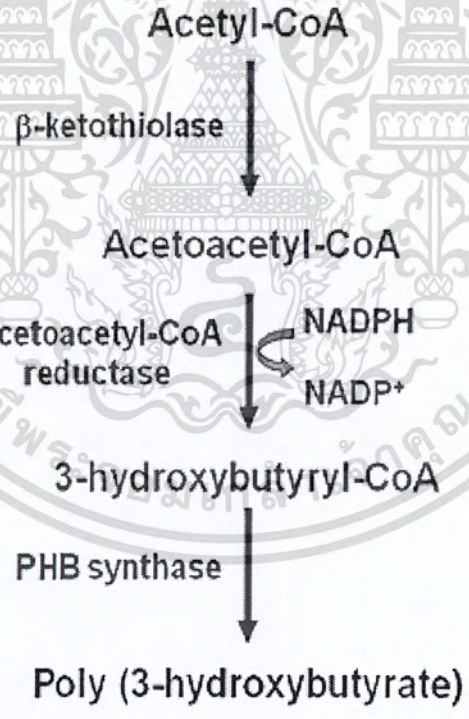
รูปที่ 2.4 แบคทีเรีย *Alcaligenes latus* ที่มีการสะสมพอลิไฮดรอกซีบิวทาเรตภายในเซลล์

ที่มา : http://www.nrc-cnrc.gc.ca/eng/education/innovations/spotlight/maple-sap.html (14/08/2553)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 กระบวนการเมทาบอลิซึมในการสังเคราะห์พอลิไฮดรอกซีบิวทาเรต

การสังเคราะห์ PHB ของแบคทีเรีย จะสร้างขึ้นมาจากอะซิติล-โคเอ ตามรูปที่ 2.5 โดย PHB จะถูกสังเคราะห์ จากการรวมตัวกันของอะซิติล-โคเอ 2 โมเลกุล ให้กลายเป็นอะซิโตอะซิติล-โคเอ ด้วยเอนไซม์ไทโอเลส (thiolase) เร่งให้เกิดการรวมตัวกันของอะซิติล-โคเอ ซึ่งเอนไซม์นี้จะถูกแปลรหัสด้วยยีน phaA ต่อมาเกิดปฏิกิริยารีดักชัน โดยเอนไซม์รีดักเทส (reductase) เป็นตัวรีดิวซ์อะซิโตอะซิติล-โคเอ ไปเป็น 3-ไฮดรอกซีบิวทีริล-โคเอ (3-Hydroxybutyryl-coA) ซึ่งเอนไซม์นี้จะถูกแปลรหัสด้วยยีน phaB และการเกิดกระบวนการพอลิเมอร์ไรเซชันซึ่งเป็นกระบวนการเกิดสารที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ (โพลิเมอร์) จากสารที่มีโมเลกุลเล็ก (โมโนเมอร์) ด้วยเอนไซม์ซินเทส (Syntase) ซึ่งเอนไซม์นี้จะถูกแปลรหัสด้วยยีน phaC เอนไซม์นี้จะเร่งปฏิกิริยาเปลี่ยน 3 ไฮดรอกซีบิวทีริล-โคเอ (3-Hydroxybutyryl-coA) ได้เป็นโพลิเมอร์ของ PHB (Nair และคณะ, 2008)



รูปที่ 2.5 วิถีการสังเคราะห์พอลิไฮดรอกซีบิวทาเรต

ที่มา : http://home.kku.ac.th/uac/journal/year_18_1_2553/4.pdf (14/08/2553)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.1 การผลิตพอลิไฮดรอกแอลคาโนเอตและพอลิไฮดรอกซีบิวทาเรต

กระบวนการผลิต PHA และ PHB มี 2 กระบวนการที่สำคัญ โดยกระบวนการแรกคือ การเติมสารตั้งต้นลงไปเพียงครั้งเดียวเพื่อการเจริญเติบโตของเซลล์ และการผลิต PHA อีกกระบวนการหนึ่งคือ การเติมสารตั้งต้นลงไป 2 ครั้งเพื่อการเจริญเติบโตของเซลล์ และการผลิต PHA ดังรูปที่ 2.6 สารตั้งต้นเพื่อการเจริญเติบโตหรือแหล่งคาร์บอนจะถูกผลิตให้อยู่ในรูปของ ชีวมวลและเกิดการสะสมของพอลิเมอร์ไปพร้อมๆกัน โดยแสดงให้เห็นในรูปแบบของการผลิต PHA ที่เป็นโคพอลิเอสเทอร์หลายๆ รูปแบบใน *R. rubrum* และ *P. oleovorans* ในระหว่างที่เซลล์เจริญสารตั้งต้นจะนำส่วนที่อยู่ในรูปของพอลิเมอร์ไปใช้ในกระบวนการทำงานของเซลล์ ส่วนวิธีทางอุตสาหกรรมการผลิตพอลิเมอร์เป็นลำดับขั้นของกระบวนการซึ่งจุลินทรีย์จะเจริญเติบโตเป็นอันดับแรกในแหล่งคาร์บอนเพื่อให้ได้ชีวมวลในปริมาณที่มาก ต่อจากนั้นอาหารที่จำเป็นจะถูกใช้หมดไป และจะถูกสร้างให้อยู่ในรูปของพอลิเมอร์เมื่อมีการเติมสารตั้งต้นเข้าไปอีกครั้ง สุดท้ายจะถูกเปลี่ยนกลับให้เป็นพอลิเมอร์และจะเติมอาหารเพียงเล็กน้อยเท่านั้นเพื่อให้เซลล์เจริญเติบโต การผลิต PHA ในอุตสาหกรรมนิยมเลือกจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการผลิตพอลิเมอร์ที่มีความจำเพาะในสภาวะการเลี้ยงที่แน่นอน ได้แก่ แบคทีเรียสังเคราะห์แสง (Photosynthetic bacteria) เพราะจุลินทรีย์ชนิดนี้สามารถใช้พลังงานจากแสงมาเป็นพลังงานในการผลิตพอลิเอสเทอร์เหล่านี้ได้ (จารุณี และคณะ, 2543)

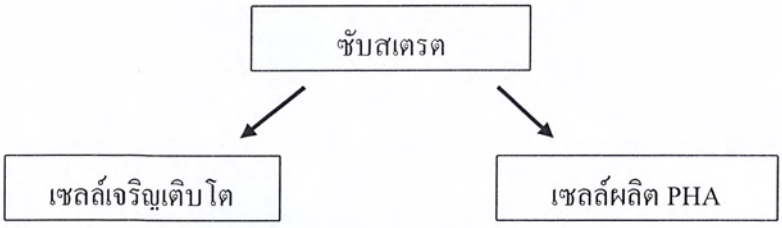
2.3.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตพอลิไฮดรอกซีบิวทาเรต

การผลิตโดยพอลิไฮดรอกซีบิวทาเรตโดยใช้กระบวนการทางชีวภาพนั้นต้องคำนึงหลายๆ ปัจจัยที่มีผลต่อชนิด และคุณสมบัติของพอลิเมอร์ที่ผลิตได้เนื่องจากมีกลไกการสังเคราะห์ที่ซับซ้อน ซึ่งสามารถเปลี่ยนแปลงตามสภาวะแวดล้อม สภาวะที่เหมาะสมต่อการสังเคราะห์พอลิเมอร์ที่ต้องการ ซึ่งมีปัจจัยดังนี้คือ

- **เชื้อจุลินทรีย์**

สายพันธุ์จุลินทรีย์ที่มีผลต่อชนิดหรือกลุ่มของพอลิเมอร์ที่ต้องการจากการศึกษาผลของสายพันธุ์จุลินทร์ พบว่าเมื่อใช้แหล่งคาร์บอนชนิดเดียวกันแต่ใช้จุลินทรีย์ต่างสายพันธุ์จะมีผลทำให้ได้พอลิเมอร์ที่แตกต่างกันออกไป (Anderson และ Wynn, 1995 อ้างอิงโดย ธงชัย, 2549) จากการศึกษาการผลิตสาร PHB จากจุลินทรีย์หลายชนิด พบว่าจุลินทรีย์ต่ละชนิดมีความสามารถในการผลิตพอลิเมอร์ได้แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 2.2 และในปัจจุบันได้มีการนำเอาเทคโนโลยีทางพันธุวิศวกรรมมาใช้เพื่อการพัฒนาศักยภาพในการผลิตพอลิเมอร์ (ธงชัย, 2549)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(ก) ใช้ซับสเตรตเพื่อการเจริญเติบโตและการผลิต PHA และ PHB

(ข) การผลิตพอลิเมอร์เมื่อมีการเติมซับสเตรตลงไปหลังการเจริญเติบโต

รูปที่ 2.6 กระบวนการผลิต PHA และ PHB (ก) ใช้ซับสเตรตเพื่อการเจริญเติบโตและการผลิต PHA และ PHB (ข) การผลิตพอลิเมอร์เมื่อมีการเติมซับสเตรตลงไปหลังการเจริญเติบโต

ที่มา : Agarwal และคณะ, 1995 (อ้างโดยจารุณี และคณะ, 2543)

ตารางที่ 2.2 การสะสม PHB ในเซลล์จุลินทรีย์ชนิดต่างๆ

PHB ที่สะสมภายในเซลล์จุลินทรีย์ชนิดต่างๆ	**การสะสมของ PHB (ร้อยละของน้ำหนักเซลล์แห้ง)**
Alcaligenes eutrophus	96
Azopirillum	75
Azotobacter	73
Baggiatoa	57
Leptothrix	67
Methylocystis	70
Pseudomonas	67
Rhizobium	57
Rhodobacter	80

ที่มา : ดัดแปลงจาก Jogdand 2004 (อ้างอิงโดยธงชัย , 2549)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อจุลินทรีย์ *Alcaligenes eutrophus* (ปัจจุบันเปลี่ยนเป็นชื่อ *Ralstonia eutrophus*) เป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่มีการวิจัยค้นคว้าเพื่อใช้ผลิต PHB กันอย่างกว้างขวาง เนื่องจากจุลินทรีย์ชนิดนี้มีความสามารถที่จะสะสม PHB ไว้ภายในเซลล์ได้มากถึงประมาณร้อยละ 80 โดยน้ำหนักเซลล์ โดยการเพาะเลี้ยงด้วยแหล่งคาร์บอนง่ายๆ เช่น กลูโคส ซึ่งจากการเพาะเลี้ยงแบบกึ่งต่อเนื่องของเชื้อจุลินทรีย์ *Alcaligenes eutrophus* โดยการควบคุมความเข้มข้นของกลูโคสให้คงที่ 10-20 กรัมต่อลิตร สามารถเพิ่มปริมาณเซลล์ได้สูงถึง 164 กรัมต่อลิตร ได้สาร PHB 121 กรัมต่อลิตร ภายใน 50 ชั่วโมง เท่ากับ 2.42 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง (ธงชัย, 2549)

- แหล่งคาร์บอน

แหล่งคาร์บอนมีความสำคัญในการผลิต PHB กระบวนการสังเคราะห์และการสะสม PHB จะเกิดขึ้นสูงหลังจากแบคทีเรียเข้าสู่ระยะการเจริญสูงสุดและภายใต้สภาวะที่มีสารอาหารที่ไม่สมดุล นั้นคือเมื่อมีแหล่งคาร์บอนมากเกินพอแต่มีการกำจัดปัจจัยบางชนิด เช่น ออกซิเจน ฟอสฟอรัส หรือไนโตรเจน เป็นต้น (ธงชัย, 2549) ดังนั้นการศึกษาถึงชนิดและความเข้มข้นแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมจะทำให้การผลิตเกิดขึ้นได้ดี โดยแหล่งคาร์บอนที่ใช้ในการผลิต PHA และ PHB จากจุลินทรีย์มีหลายชนิด ซึ่งแต่ละชนิดมีประสิทธิภาพในการผลิต PHB แตกต่างกัน ดังตารางที่ 2.3

นอกจากนั้นแหล่งคาร์บอนจะมีผลต่อการผลิต PHB แล้วยังมีสารอาหารบางชนิดยังมีผลต่อการผลิต PHB อีกด้วย พบว่าการขาดแคลนสารอาหารขณะเจริญเติบโตจะเป็นผลชักนำให้เกิดการผลิต PHB ได้ ได้แก่ แอมโมเนีย คาร์บอน เหล็ก เป็นต้นในขณะเดียวกันพบว่าสารตั้งต้นต่างๆจะมีผลต่อการผลิต PHB ในเชื้อจุลินทรีย์ ทำให้ได้ PHB ในปริมาณที่แตกต่างกันตามชนิดของสารตั้งต้นที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง (ธงชัย, 2549)

- แหล่งไนโตรเจน

จุลินทรีย์สามารถใช้ไนโตรเจนทั้งที่อยู่ในรูปสารประกอบ สารประกอบอินทรีย์ เช่น กรดอะมิโน เคซีนเปปโตน และยีสต์สกัด รวมถึงสามารถใช้ในรูปสารประกอบอนินทรีย์ไนโตรเจน ได้แก่ การเติมเกลือแอมโมเนียซัลเฟต (NH_4^+) ต่างๆ สำหรับผลิต PHB พบว่า จะเกิดขึ้นเมื่อมีปริมาณไนโตรเจนค่อนข้างจำกัดกล่าวคืออัตราส่วนระหว่างแหล่งคาร์บอนกับไนโตรเจนมีค่าสูง (ธงชัย, 2549)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ตารางที่ 2.3 เชื้อจุลินทรีย์และแหล่งคาร์บอนที่เชื้อจุลินทรีย์นั้นสามารถใช้ในการผลิต PHA ได้

เชื้อจุลินทรีย์	แหล่งคาร์บอน
Alcaligenes eutrophus	กลูโคส, ฟรุกโตส, กรดอะซิติก, กรดโปรปิโอนิก
Alcaligenes latus	กลูโคส, ซูโครส, โมลาส
Azotobacter chroococcum	สตาร์ช
Bacillus megaterium	กลูโคส
Methylobacterium sp.	เมทานอล
Protomonas extorquens	เมทานอล, เอมิลแอลกอฮอล์
Pseudomonas cepacia	แลคโตส, ไซโลส
Recombinant *Esherichai coli*	หางนม
Rhizobium meliloti	ซูโครส
Rhodococcus ruber	กลูโคส

ที่มา : ดัดแปลงมาจาก Khanna และ Srivastana, 2004 (อ้างอิงโดยธงชัย , 2549)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

117255

- อาหารเสริมเกลือแร่

การสะสม PHB จะเกิดขึ้นภายในเซลล์เมื่อจุลินทรีย์อยู่ในสภาวะที่สารอาหารขาดความสมดุล โดยมีปัจจัยบางชนิดจำกัด เช่น ออกซิเจน ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส แมกนีเซียม หรือ ซัลเฟอร์ พบว่า ฟอสฟอรัส แมกนีเซียม ซัลเฟอร์ จัดเป็นแร่ธาตุหลัก ซึ่งจุลินทรีย์ต้องการแร่ธาตุเหล่านี้ในปริมาณมาก พอสมควรโดยเฉพาะอย่างยิ่งฟอสฟอรัสและแมกนีเซียมซึ่งจำเป็นมากเนื่องจากเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาการสร้าง ดังนั้นในการสังเคราะห์พอลิเมอร์จะมีการจำกัดปริมาณแร่ธาตุเหล่านี้ซึ่งมีผลทำให้เกิดการสะสมแหล่งคาร์บอนและพลังงานที่อยู่ในรูปพอลิเมอร์ (ธงชัย, 2549)

- ออกซิเจน

ปริมาณออกซิเจนมีผลต่อการผลิต PHB เนื่องจากในสภาวะที่ออกซิเจนจำกัด เอนไซม์ซิเตรทซินเทสและไอโซซิเตรทดีไฮโดรจีเนสจะถูกยับยั้งการทำงานโดย NADH ทำให้ อะซิทิลโคเอไม่เข้าสู่วัฏจักรเครบ (TCA cycle) แต่จะเปลี่ยนไปเป็นอะซิโตอะซิทิลโคเอ เพื่อเข้าสู่กระบวนการสังเคราะห์ PHB โดยเอนไซม์เบต้า-คีโตไทโอเลส (β-ketothaiolase) จึงมีการสะสม PHB (ธงชัย, 2549)

2.4 คุณสมบัติของพอลิไฮดรอกซีบิวทาเรต

พอลิไฮดรอกซีบิวทาเรต (Polyhydroxybutyrate, PHB) มีคุณสมบัติที่ดีในการนำไปผลิตเป็นพลาสติก เนื่องจากมีคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีใกล้เคียงกับพอลิโพรพิลีนและพอลิสไตลีนซึ่งเป็นพลาสติกสังเคราะห์ ดังตารางที่ 2.4 และ PHB ยังมีคุณสมบัติอื่นๆ อีก ดังนี้

- PHB ไม่ละลายน้ำและสามารถต้านทานต่อปฏิกิริยาไฮโรไลซีส ทำให้ PHB ต่างจากพลาสติกที่ย่อยสลายได้ชนิดอื่นๆ ที่สามารถละลายน้ำได้และมีความไวต่อความชื้น
- PHB สามารถต้านทานต่อรังสีอัลตร้าไวโอเลต และมีความต้านทานต่อกรดและด่างต่ำ
- PHB มีคุณสมบัติในการซึมผ่านออกซิเจนที่ดี แต่ยังน้อยกว่าพอลิโพรพิลีน
- PHBละลายได้ในคลอดรฟอร์ม
- PHB มีความสามารถในการเข้ากันได้กับเซลล์หรืออวัยวะของสิ่งมีชีวิต (biocompatible) และในปัจจุบันได้มีการนำไปประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์,ยา และอุตสาหกรรมต่างๆ
- PHB มีจุดหลอมเหลวที่ 171-182 องศาเซลเซียส มีอุณหภูมิคล้ายแก้ว 5-10 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- PHB จมน้ำ ในขณะที่พอลิโพรพิลีนลอยตัวในน้ำ การจมตัวของ PHB ก่อให้เกิดการย่อยสลายโดยไม่ใช้อากาศ
- PHB ไม่มีความเป็นพิษ
- ความเป็นพลาสติกที่สามารถทำให้เป็นรูปร่างต่างๆได้เมื่อถูกความร้อนและทำให้แข็งได้เมื่อเย็น (thermoplastic)
- มีความยืดหยุ่น (elastomeric)
- PHB เป็นวัสดุทางธรรมชาติและสามารถนำกลับมาใช้ประโยชน์ได้อีก
- สามารถถูกย่อยสลายได้อย่างรวดเร็วด้วยคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำซึ่งเป็นการย่อยสลายทางชีวภาพ (biodegradable)
- ทดแทนพลาสติกที่ได้มาจากน้ำมันปิโตรเลียม (ธงชัย , 2549)

2.5 การนำพอลิไฮดรอซีแอลคาโนเอต ไปใช้ประโยชน์

คุณสมบัติที่มีมากมายของ PHA สามารถนำมาประยุกต์ใช้ประโยชน์ได้อย่างกว้างขวาง ได้แก่ บรรจุภัณฑ์ กาว สี เคลือบกระดาษ เครื่องใช้ไฟฟ้า อุปกรณ์ไฟฟ้าและอิเล็กทรอนิกส์ สารเคมี รถยนต์ เกษตรกรรม ซึ่งจากที่ได้กล่าวถึงพอลิไฮดรอกซีบิวทาเรตมาข้างต้นจะพบว่า PHB ก็คือ PHA ชนิดหนึ่ง ดังนั้นการนำพอลิไฮดรอกซีบิวทาเรตจะกล่าวถึงข้อมูลโดยรวมในการใช้ประโยชน์ของ PHA ดังตารางที่ 2.5 และรูปที่ 2.7 (จารุณี และคณะ, 2543)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.4 คุณสมบัติทั่วไปของ PHB เปรียบเทียบกับ พอลิโพรไพลีน (polypropylene, PP) และพอลิสไตรีน (polystrylene, PS)

พารามิเตอร์	PHB	PP	PS
จุดหลอมเหลว (T_m) (องศาเซลเซียส)	171-182	171-186	240
อุณหภูมิที่มีสภาวะคล้ายแก้ว (T_g) (องศาเซลเซียส)	5-10	-15	85-125
ค่าความเป็นผลึก (เปอร์เซ็นต์)	65-80	65-70	15
ความหนาแน่น (กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร)	1.23-1.25	0.905-0.94	1.05
น้ำหนักโมเลกุล (Mw) ($x\ 10^{-5}$)	1-8	2.2-7	0.008-0.9
การกระจายน้ำหนักโมเลกุล	2.2-3	5-12	1.48-1.54
ความต้านทานต่อการดัดงอ (กิกะปาสคาล)	3.5-4	1.7	2.7
ความต้านทานแรงดึง (เมกะปาสคาล)	40	39	46-60
สภาพการยืดหยุ่น (เปอร์เซ็นต์)	6-8	400	20-30
ความต้านทานต่อรังสีอัลตร้าไวโอเลต	ต่ำ	สูง	ต่ำ
ความต้านทานต่อตัวทำละลาย	ต่ำ	สูง	ต่ำ
คุณสมบัติในการซึมผ่านออกซิเจน	ดี	ต่ำ	ต่ำ
การย่อยสลายทางชีวภาพ	ดี	-	-
อื่นๆ	เนื่องจากมีความหนาแน่นสูงจึงจมน้ำ การจมตัวของ PHB ก่อให้เกิดการย่อยสลายโดยไม่ใช่อากาศ	เนื่องจากมีความหนา แน่นต่ำจึงทำให้สามารถลอยน้ำได้	มีน้ำหนักเบามันวาว

ที่มา : ดัดแปลงจาก Jogdand, 2004 (อ้างอิงโดย ธงชัย , 2549)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.5 ตัวอย่างการนำ PHA ไปใช้ประโยชน์

ประเภท	การนำไปใช้ประโยชน์
เส้นใย	สิ่งทอ พรม ผลิตภัณฑ์เกี่ยวกับสุขอนามัยส่วนบุคคล ผ้าเช็ดหน้า ผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในการกรอง
แผ่นยาง	ฟิล์มคลุมต้นไม้ ถุงใส่ขยะ, ถุงช็อปปิ้ง เครื่องใช้ไฟฟ้า ของเล่นเด็ก รถยนต์
แบบจำลองเรซิน	บรรจุภัณฑ์ เครื่องใช้ไฟฟ้า ของเล่นเด็ก รถยนต์
แผ่นเคลือบ	กระดาษกันน้ำ ผลิตภัณฑ์จากไม้
การแพทย์	ศัลยกรรมเย็บแผล หลอดเลือดเทียม กระดูกเทียม
อื่นๆ	สารละลายเคมี ตัวประสาน

ที่มา : Rehm และคณะ, 1996 (อ้างโดยจารุณี และคณะ, 2543)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<table>
<tr><td rowspan="3">ผลิตภัณฑ์บรรจุหีบห่อ</td><td>ตัวอย่าง
ผลิตภัณฑ์</td><td colspan="3">
ถุงใส่ขนมปังเพื่อรักษาความสดใหม่ให้นานขึ้น
Innovia Films®

ฟิล์มหุ้มให้อากาศผ่านได้และถาดใส่ผัก
EB®

ถุงให้อากาศผ่านได้สำหรับห่อผัก
Natura®</td></tr>
<tr><td>การใช้งาน</td><td colspan="3">แผ่นฟอยล์ แผ่นฟิล์ม หรือโฟมที่กลวงตรงกลางสำหรับกันกระแทก ขวด ถาด พลาสติกกันกระแทก ตาข่าย ถุงกระสอบ ถุง</td></tr>
<tr><td>จุดอ่อน/จุดแข็ง</td><td colspan="3">บรรจุภัณฑ์อาหารที่ปนเปื้อนทางชีวภาพนั้นยากที่จะนำผ่านกระบวนการกลับมาใช้ใหม่ จึงเป็นการใช้งานระยะสั้นเท่านั้น / ไม่ต้องคำนึงถึงปริมาณการทิ้งเนื่องจากสามารถย่อยสลายได้</td></tr>
<tr><td rowspan="3">ภาชนะใส่อาหารแบบใช้แล้วทิ้ง</td><td rowspan="2">ตัวอย่าง
ผลิตภัณฑ์</td><td>
ถ้วยสำหรับใส่อาหาร
NatureWorks®</td><td colspan="2">
ถ้วยย่อยสลายได้ที่งานประชุมเยาวชนผู้นับถือคาทอลิก ปี ค.ศ. 2005 เมืองโคโลญ
Novamont®</td></tr>
<tr><td>
ช้อน มีด ส้อมที่ใช้ครั้งเดียวทิ้งสามารถถูกย่อยเป็นปุ๋ยได้หลังจากใช้แล้ว
Pacovis®</td><td colspan="2">
ถ้วยที่ทำจากแป้งที่ผ่านการเคลือบด้วย PHA สำหรับใส่เครื่องดื่มร้อนและเย็น</td></tr>
<tr><td>การใช้งาน</td><td colspan="3">ภาชนะใส่อาหารแบบชั่วคราว (เช่น ถ้วยชาม แก้วน้ำ) หลอด ฯลฯ</td></tr>
<tr><td>จุดอ่อน/จุดแข็ง</td><td colspan="3">การพัฒนาสมบัติทางกายภาพและทางกลให้มีความคงทนและใช้งานได้ดีในเงื่อนไขที่จำเป็น / เป็นสินค้าที่มีปริมาณการใช้มาก และมีตลาดรองรับมาก</td></tr>
</table>

รูปที่ 2.7 ตัวอย่างผลิตภัณฑ์จาก PHA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เส้นใยและสิ่งทอ	ตัวอย่างผลิตภัณฑ์	เส้นใยสำหรับทอผ้า	เส้นใยดูดซับ NoDax®
	การใช้งาน	เสื้อผ้า เส้นใย	
	จุดอ่อน/จุดแข็ง	ความหลากหลายในประเภทและรูปแบบผลิตภัณฑ์ / สมบัติการแพร่ผ่านของก๊าซและความเงางาม	
การเพาะปลูก การทำสวนไม้ดอก พืชผล พืชไร่	ตัวอย่างผลิตภัณฑ์	ถาดสำหรับเก็บและขนส่งดอกไม้ย่อยสลายได้ NNZ®	กระถางใส่ต้นไม้ย่อยสลายได้หลังการใช้งาน Novamont®	ฟิล์มคลุมดินไถกลบได้หลังจากใช้แล้ว Novamont®
	การใช้งาน	กระถางต้นไม้ ถุงกระสอบใส่ถ่าน แผ่นฟิล์มคลุมดิน ฟิล์มสำหรับผูก ถุงใส่ปุ๋ยหรือเมล็ดพันธุ์พืช		
	จุดอ่อน/จุดแข็ง	ข้อจำกัดด้านราคาของสินค้าจำพวกนี้ / การลดต้นทุนและหมดความยุ่งยากด้านการเก็บขยะหลังการใช้ สามารถใช้งานพร้อมการฝังกลบได้เลย		
การใช้งานทางการแพทย์	ตัวอย่างผลิตภัณฑ์	ด้ายเย็บแผล Gunze®	วัสดุจับยึดกระดูก Gunze®	
	ตัวอย่างการนำไปใช้	ด้ายเย็บแผล การจับยึดกระดูก การผ่าตัดปลูกถ่ายอวัยวะ ถุงมืออนามัย วัสดุใช้กับปาก		
	จุดอ่อน/จุดแข็ง	สมบัติทางกายภาพและทางกล / สมบัติพื้นฐานที่ดีทางชีวภาพ		
ชิ้นส่วนอุปกรณ์ไฟฟ้า	ตัวอย่างการนำไปใช้	วอล์กแมน Sony	แผ่นดีวีดี Sony	ชิ้นส่วน notebook Sanyo โดยวัสดุ NatureWorks®
	ตัวอย่างการนำไปใช้	หน้ากากหุ้มเครื่องซีดี แผ่นดีวีดี ชิ้นส่วนคอมพิวเตอร์ และเครื่องเล่นดีวีดี การ์ดบัตร		
	จุดอ่อน/จุดแข็ง	สามารถย่อยสลายได้หลังจากหมดอายุการใช้งาน เป็นการช่วยลดปริมาณขยะ		

รูปที่ 2.7 ตัวอย่างผลิตภัณฑ์จาก PHA (ต่อ)

ที่มา:http://www.nesdb.go.th/Portals/0/tasks/dev_ability/Profile/industry/%E0%B8%AD%E0%B8%B8%E0%B8%95%E0%B8%AA%E0%B8%B2%E0%B8%AB%E0%B8%81%E0%B8%A3%E0%B8%A3%E0%B8%A1%E0%B9%84%E0%B8%9A%E0%B9%82%E0%B8%AD%E0%B8%9E%E0%B8%A5%E0%B8%B2%E0%B8%AA%E0%B8%95%E0%B8%B4%E0%B8%81.p (14/08/2553)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Kim และคณะ (1993) ทำการศึกษาเกี่ยวกับการนำเชื้อ *Alcaligenes eutrophus* NCIMB 11599 มาใช้ในการผลิตพอลิ-3-ไฮดรอกซีบิวทาเรต (poly(3-hhydroxybutyrate), PHB) จากกลูโคสด้วยกระบวนการหมักอัตโนมัติแบบกึ่งกะ (Fed-batch fermentation) ความเข้มข้นของกลูโคสในอาหารเหลวจะมีการควบคุมไว้ที่ 10 ถึง 20 กรัมต่อลิตร และมีการศึกษาถึงผลกระทบของการจำกัดปริมาณไนโตรเจนต่อการสังเคราะห์ PHB ที่มีการเพาะเลี้ยงแตกต่างกัน 4 ระยะ

จากการทดลองดังกล่าวทำให้ทราบได้ว่าความเข้มข้นและผลิตภัณฑ์ของ PHB สามารถได้รับมาจากการเพาะเลี้ยงแบบกึ่งกะด้วยเชื้อ *Alcaligenes eutrophus* NCIMB 11599 ที่มีการควบคุมความเข้มข้นของกลูโคสซึ่งพบว่าความเข้มข้นของกลูโคสที่สำคัญที่ทำให้ได้ปริมาณความเข้มข้นของเซลล์และความเข้มข้นของ PHB สูงจะมีค่าอยู่ในช่วง 10 – 20 กรัมต่อลิตร และจะได้ค่าความเข้มข้นของ PHB และผลิตภัณฑ์สูงกว่าหลังจากการหยุดให้แอมโมเนียในกระบวนการแต่ความเข้มข้นของเซลล์จะยังคงคงที่ โดยความเข้มข้นของเซลล์ ความเข้มข้นของ PHB และผลผลิต PHB สุดท้ายเพิ่มขึ้นเมื่อมีการหยุดให้แอมโมเนีย ซึ่งความเข้มข้นของ PHB และปริมาณเซลล์ทั้งหมดที่มีค่าสูงนั้นได้มาในเวลา 50 ชั่วโมง เมื่อการให้แอมโมเนียหยุดลงความเข้มข้นของเซลล์มีค่าเท่ากับ 70 กรัมต่อลิตร ค่า PHB ทั้งหมดสูงสุดมีค่าเท่ากับร้อยละ 76 ของน้ำหนักเซลล์แห้ง และผลิตภัณฑ์มีค่าเท่ากับ 2.42 กรัมต่อลิตรจะมีค่าผลได้ของ PHB 0.3 กรัมต่อกรัมกลูโคส

Wang และคณะ (1997) ได้ศึกษาการผลิตพอลิ-3-ไฮดรอกซีบิวทาเรตที่ให้ผลผลิตสูงและมีปริมาณพอลิเมอร์สูงจากการเพาะเลี้ยงแบบกึ่งกะด้วยเชื้อ *Alcaligenes latus* ภายใต้การจำกัดไนโตรเจน พบว่า เชื้อ *Alcaligenes latus* เป็นเชื้อที่สามารถผลิต พอลิ-3-ไฮดรอกซีบิวทาเรต (poly-3-hydroxybutyrate, PHB) ในระหว่างการเจริญเติบโต ภายใต้สภาวะอาหารที่มากเพียงพอ แต่อย่างไรก็ตาม PHB ที่ได้จาการเพาะเลี้ยงแบบกึ่งกะ จะได้ในปริมาณที่ต่ำ ที่ร้อยละ 50 ซึ่งในกระบวนการนี้ยังไม่มีประสิทธิภาพที่ดีในการผลิต PHB ในการงานวิจัยนี้ได้ศึกษาผลของการจำกัดแหล่งไนโตรเจนที่มีผลต่อการผลิต PHB ด้วยเชื้อ *Alcaligenes latus* ในการทดลองการผลิตระดับ ฟลาสก์และการเพาะเลี้ยงแบบเบ็ดเสร็จ ทำให้อัตราการสังเคราะห์ PHB เพิ่มขึ้นจากการจำกัดแหล่งไนโตรเจน ปริมาณ PHB ที่เพิ่มขึ้นจะเพิ่มถึงร้อยละ 87 จากการจำกัดแหล่งไนโตรเจนในการเพาะเลี้ยงแบบเบ็ดเสร็จ ซึ่งเมื่อพิจารณาแล้วพบว่าค่าที่ได้จะมากกว่าการเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะอาหารที่มีแหล่งไนโตรเจนมากเพียงพอซึ่งปริมาณ PHB เพียงร้อยละ50 การเพาะเลี้ยงแบบกึ่งกะ เซลล์จะถูกเพาะเลี้ยงโดยจะป้อนค่าอัตราการละลายออกซิเจน (DO) ที่คงที่และจะจำกัดแหล่งไนโตรเจน การจำกัดแหล่งไนโตรเจนจะให้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซลล์มีความเข้มข้น 76 กรัมโดยน้ำหนักเซลล์แห้งต่อลิตร และใช้ความเข้มข้นของซูโครสที่สำคัญจะอยู่ในช่วง 5-20 กรัมต่อลิตร หลังจากการจำกัดปริมาณไนโตรเจน 8 ชั่วโมงจะพบว่า ความเข้มข้นของเซลล์ ความเข้มข้นของ PHB และ PHB ทั้งหมด มีค่าเท่ากับ 111.7 กรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อลิตร 98.7 กรัมต่อลิตร และร้อยละ 88 ตามลำดับ นอกจากนี้ค่าผลผลิตมีค่าเท่ากับ 4.94 กรัมของ PHB ต่อลิตรต่อชั่วโมง แต่ค่าผลผลิตของ PHB ที่สูงที่สุดมีค่าเท่ากับ 5.13 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง จะได้มาหลังจากเวลาผ่านไป 16 ชั่วโมง

Grothea และคณะ (1999) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงแบบเบ็ดเสร็จของเชื้อ *Alcaligenes latus* สายพันธุ์อเมริกัน 29713 มาสำรวจกระบวนการผลิตพอลิเบต้าไฮดรอกซีบิวทาเรต (poly(β-hydroxybutyrate), PHB) ภายในเซลล์ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ชีวภาพ โดยส่วนใหญ่ในการทดลองจะมีจุดมุ่งหมายเพื่อศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อให้มีการผลิต PHB ได้สูงสุด จึงมีการศึกษาถึงผลกระทบของอุณหภูมิ ค่าพีเอชในการเพาะเลี้ยงเริ่มต้น ค่าไอออนิกสเตรนของอาหารเลี้ยงเชื้อ ความเข้มข้นของธาตุอาหารรอง ชนิดของแหล่งคาร์บอน และอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนกับไนโตรเจน จะพบได้ว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตและการสังเคราะห์ PHB มีค่าอยู่ที่ 33 องศาเซลเซียส แต่อย่างไรก็ตามอุณหภูมิที่มีค่ามากกว่าช่วงของ 25 – 37 องศาเซลเซียส จะส่งผลกระทบต่อการเจริญและการผลิต PHB เพียงเล็กน้อย ในระยะเริ่มต้นค่าพีเอชที่ 6.5 จะให้ผลได้ดีที่สุด จากตัวอย่างการเพาะเลี้ยงมีลักษณะพิเศษคือ มีอัตราการเจริญอย่างจำเพาะสูงสุดเท่ากับ 0.075 ต่อชั่วโมง อัตราการใช้ซูโครสอย่างจำเพาะสูงสุดเท่ากับ 0.38 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และมีค่าอัตราการผลิต PHB อย่างจำเพาะสูงสุดเท่ากับ 0.15 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง แต่จะพบว่า PHB ที่ผลิตมาได้นั้นอาจเกิดการสลายหายไปได้เนื่องจากการไฮโดรไลซิสในระยะการเจริญเติบโตของเซลล์คงที่จึงเป็นข้อมูลที่สำคัญเกี่ยวกับเวลาของการเก็บเกี่ยว และในงานวิจัยเดียวกันนี้ มีการทดสอบในการใช้แหล่งไนโตรเจนที่แตกต่างกัน 4 ชนิด ซึ่งมีทั้งแอมโมเนียมคลอไรด์ แอมโมเนียมซัลเฟต แอมโมเนียมไนเตรต และยูเรีย จะพบว่าแหล่งไนโตรเจนที่ให้ผลดีต่อการเจริญและการสังเคราะห์ PHB คือ แอมโมเนียมคลอไรด์ (อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 21.5) แอมโมเนียมซัลเฟต (อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 28.3) โดยสามารถตรวจสอบได้จากมวลชีวภาพและค่าผลได้ของ PHB ซึ่งค่าผลได้จากการใช้แอมโมเนียมซัลเฟตมีค่าผลได้มากกว่า ส่วนค่าไอออนสเตรนที่มีประจุมากจะส่งผลเสียต่อการผลิต PHB และสัดส่วนของ PHB ภายในเซลล์ซึ่งค่าผลได้ที่สูงที่สุดจะเกิดขึ้นที่ความเข้มข้นของฟอสฟอรัสบัฟเฟอร์ 4 กรัมต่อลิตร

El-sayed และคณะ (2009) ได้ทำการศึกษาถึงกระบวนการผลิตพอลิไฮดรอกซีบิวทาเรตโดยใช้กระบวนการหมักแบบเบ็ดเสร็จและแบบเบ็ดเสร็จ 2 ขั้นตอนด้วยเชื้อ *Ralstonia eutropha* ATCC 17697

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(*Alcaligenes latus*) และ *Alcaligenes latus* ATCC 29712 ซึ่งจะตรวจสอบการผลิต PHB ภายในเซลล์ โดยใช้สภาวะการเขย่าฟลาสก์พบว่า การเจริญเติบโตของเซลล์และการผลิต PHB ได้สูงสุดนั้นจะเกิดขึ้นเมื่อใช้อาหารที่มีส่วนประกอบของกลูโคสหรือซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอนตามลำดับ และแหล่งไนโตรเจนที่ดีที่สุดต่อการผลิต PHB คือ แอมโมเนียมซัลเฟต โดยอาหารที่ใช้ในการผลิตที่มีส่วนประกอบของคาร์บอนและไนโตรเจนในอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่า 12.57 จะให้ PHB ได้สูงที่สุด นอกจากนี้สำหรับเซลล์ที่ผ่านการล้างเซลล์ของเชื้อสายพันธุ์ *Alcaligenes* จะมีค่าความเข้มข้นของ PHB ที่ถูกผลิตขึ้นสูงกว่าเซลล์หยาบที่อยู่ในสารอาหารที่มีอยู่อย่างจำกัด ในการประยุกต์ใช้กระบวนการหมักแบบเบ็ดเสร็จ 2 ขั้นตอนที่มีการจำกัดปริมาณไนโตรเจนนั้นจะทำให้ ร้อยละ PHB ทั้งหมดของเชื้อ *R. eutropha* ATCC 17697 และ *A. latus* ATCC 29712 มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้กระบวนการหมักแบบเบ็ดเสร็จด้วยสภาวะการเขย่าฟลาสก์

Nair และคณะ (2008) พบว่า *Alcaligenes* sp. d_2 เป็นจุลินทรีย์ที่แยกได้จากดิน มีการรายงานก่อนหน้านี้ว่าจุลินทรีย์ที่แยกได้นี้มีความสามารถย่อยสลายฟีนอล ในการวิเคราะห์ฟูริเออร์ ทรานฟอร์ม/อินฟราเรด สเปคโตรสโคปิก ของการย่อยสลายตัวอย่าง จะดูการขาดหายไปของวงอะโรมาติกของฟีนอล และการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง FT/IR สเปกตรัมที่ได้จะแสดงให้เห็นว่ามีกรดพอลิไฮดรอกซีบิว-ทาริก (Polyhydroxybutyric acid) ออกมาสั้น ในการวิเคราะห์จากเครื่องแก๊สโครมาโตแกรม (Gas chromatogram) ของการย่อยสลายตัวอย่างทางชีวภาพพีคที่ 14.997 นาทีจะไม่พบฟีนอลและจะมีพีคที่สูงขึ้นหลังจาก 20 นาที จุลินทรีย์สามารถย่อยสลายฟีนอลได้สำเร็จ 100% ในเวลา 32 ชั่วโมง ทำให้เกิดการผลิต PHB สะสมไว้ภายในเซลล์ *Alcaligenes* sp. d_2 และจากชั่วโมงที่ 8 เป็นต้นไปจะเริ่มมีการสะสมพอลิไฮดรอกซีบิวทาเรต (Polyhydroxybutyrate , PHB) ภายในเซลล์อย่างต่อเนื่อง การผันแปรสภาวะต่างๆ ที่เหมาะสมสำหรับการสะสมของพีเอชบีภายในเซลล์มากที่สุด คือจะใช้พีเอชเท่ากับ 7 ระยะเวลาในการบ่มเชื้อจะใช้เวลา 24 ชั่วโมง ความเข้มข้นของฟีนอล 15 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร และความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต 25 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

คิวเวตต์	ปิเปตขนาด 1 5 10 มิลลิลิตร
ลวดเขี่ยเชื้อ	ฟลาสก์ขนาด 250 500 1000 มิลลิลิตร
ช้อนตักสาร	หลอดปั่นเหวี่ยงขนาด 20 50 มิลลิลิตร
กรวยบุชเนอร์	กระบอกตวงขนาด 100 1000 มิลลิลิตร
กรวยกรองแก้ว	ฟลาสก์ลดความดันขนาด 1000 มิลลิลิตร
ตะเกียงแอลกอฮอล์	บีกเกอร์ ขนาด 100 250 500 1000 มิลลิลิตร
ที่ตั้งหลอดทดลองสแตนเลส	หลอดทดลองแบบมีฝาเกลียวปิดขนาด 20 มิลลิลิตร

3.2 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

เครื่องปั่นเหวี่ยง ยี่ห้อ Falcon 6/300

ตู้บ่มเชื้อแบบเขย่า ยี่ห้อ Gallenkamp

เครื่องเขย่าสาร ยี่ห้อ Vortex-Genie 2

หม้อนึ่งอัดไอ ยี่ห้อ Hirayama รุ่น HA-300MN

ตู้ปลอดเชื้อ ยี่ห้อ ISSCO Laminar flow รุ่น BVT123

ตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ยี่ห้อ Memmert

เครื่องวัดการดูดกลืนแสง ยี่ห้อ UNICO รุ่น U-2800A

เครื่องทำแห้งแบบใช้ความเย็น ยี่ห้อ Heto LyoLab 3000

เครื่องวัดพีเอช ยี่ห้อ DENVER pH/mV/Temp.Meter Model UB-10

เครื่องชั่งน้ำหนัก 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Adventure™ OHAUS รุ่น AR2140

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ถังหมักขนาด 5 ลิตร ยี่ห้อ Biostat ®B (B.Braun Biotech International)

ตู้อบแห้งอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ยี่ห้อ Contherm termotec 2000 oven

ตู้อบแห้งอุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส ยี่ห้อ Contherm designer series oven

ปั๊มลมสุญญากาศ ยี่ห้อ VACUUM PUMP Diaphragm oil free. GAST USA

ตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียส ยี่ห้อ Sanyo ultralow temperature freezer

ตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ยี่ห้อ Commercial Refrigeration รุ่น RIS-080AX

3.3 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

วุ้น (Agar)	กลูโคส (Glucose)
เมทธานอล (CH_3OH)	กรดบอริก (H_3BO_3)
คลอโรฟอร์ม ($CHCl_3$)	ซิงก์ซัลเฟต-7-ไฮเดรต ($ZnSO_4.7H_2O$)
แอมโมเนียมซัลเฟต $(NH_4)_2SO_4$	โคบอลคลอไรด์-6-ไฮเดรต ($CoCl_2.6H_2O$)
กรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) เข้มข้น 5 M	คอปเปอร์ซัลเฟต-5-ไฮเดรต ($CuSO_4.5H_2O$)
กรด 3,5ไดไนโตรซาลิไซลิก (DNS)	ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Na_2HPO_4)
ไดโซเดียมโมลิปเดต ($Na_2MoO_4.2H_2O$)	แคลเซียมคลอไรด์-2-ไฮเดรต ($CaCl_2.2H_2O$)
นิเกิลคลอไรด์-6-ไฮเดรต ($NiCl_2.6H_2O$)	แมงกานีสคลอไรด์-4-ไฮเดรต ($MnCl_2.4H_2O$)
โพแทสเซียมไฮดรอเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)	แมกนีเซียมซัลเฟต-7-ไฮเดรต ($MgSO_4.7H_2O$)
โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เข้มข้น 5 M	แอมโมเนียมเฟอริกซิเตรต (Ammonium ferric citrate)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

สูตรอาหารที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อ คือ Mineral salt medium ที่มีส่วนประกอบดังนี้ (Ashby และคณะ, 1997)

- Minimal Salt Medium สำหรับ *Alcaligenes latus*

กลูโคส	10.0	กรัมต่อลิตร
$(NH_4)_2SO_4$	1.0	กรัมต่อลิตร
Na_2HPO_4	3.4	กรัมต่อลิตร
KH_2PO_4	1.5	กรัมต่อลิตร
$MgSO_4.7H_2O$	0.2	กรัมต่อลิตร
แอมโมเนียมเฟอริกซิเตรด	0.06	กรัมต่อลิตร
$CaCl_2.H_2O$	0.02	กรัมต่อลิตร
Trace-element Solution	1.0	มิลลิลิตรต่อลิตร ซึ่งมีส่วนประกอบดังนี้
$ZnSO_4.7H_2O$	0.10	กรัมต่อลิตร
$MnCl_2.4H_2O$	0.03	กรัมต่อลิตร
H_3BO_3	0.30	กรัมต่อลิตร
$CoCl_2.6H_2O$	0.20	กรัมต่อลิตร
$CuSO_4.5H_2O$	0.07	กรัมต่อลิตร
$NiCl_2.6H_2O$	0.02	กรัมต่อลิตร
$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.03	กรัมต่อลิตร

สำหรับการเตรียมอาหารแข็งจะต้องเติมวุ้น (2%) 20.0 กรัมต่อลิตร เมื่อละลายส่วนประกอบต่างๆ ครบแล้ว ทำการปรับค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ของอาหารเลี้ยงเชื้อให้เป็น 7

3.5 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง

เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ คือ *Alcaligenes latus* TISTR 1403 เป็นสายพันธุ์ที่สามารถผลิต PHB ได้ มาเก็บรักษาด้วยวิธีทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง โดยได้รับความอนุเคราะห์จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.1 การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์จากหลอดเชื้อแห้งแข็ง (Revival of Freeze-Dried cultures)

ใช้แอลกอฮอล์ร้อยละ 70 เช็ดบริเวณรอบๆหลอดจุลินทรีย์ (ampoule) จากนั้นใช้ตะไบเหล็กเลื่อยลงบนบริเวณกึ่งกลางสำลีให้เป็นรอยลึกลงไปในเนื้อแก้ว ใช้ผ้าที่มีความหนารองและทำการหักหลอดจุลินทรีย์ โดยใช้นิ้วหัวแม่มือทั้งสองกดเบาๆ บริเวณด้านตรงข้ามกับรอยเลื่อยนั้น ดึงสำลีทิ้งและใช้ Pasture pipette ดูดอาหารเหลวลงในหลอดจุลินทรีย์เพื่อละลายสารผสมเซลล์จุลินทรีย์ในหลอด ต้องทำในสภาวะที่ปลอดเชื้อ ดูดสารละลายผสมเซลล์จุลินทรีย์จากหลอดจุลินทรีย์ให้หมดลงในอาหารเหลว จากนั้นหยดสารละลายเซลล์จุลินทรีย์ลงบนอาหารแข็งในจานเพาะเลี้ยงเชื้อ (agar plate) จำนวน 1 หยด เพื่อทำการเขี่ยกระจายเชื้อ (streak plate) ให้ได้เป็นโคโลนีเดี่ยวๆ จุลินทรีย์ที่ถ่ายลงในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อแล้ว นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-3 วัน เพื่อดูการเจริญของจุลินทรีย์ เมื่อเชื้อจุลินทรีย์ในจานเพาะเลี้ยงเชื้อมีการเจริญเป็นโคโลนีเดี่ยวๆ ที่ชัดเจน จึงทำการตรวจสอบสายพันธุ์ของเชื้อด้วยการย้อมแกรมซึ่งแสดงในภาคผนวก ง และดูลักษณะของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ รวมทั้งตรวจสอบความบริสุทธิ์ของเชื้อที่เจริญบนอาหาร โดยการสังเกตลักษณะของโคโลนีว่ามีลักษณะที่เป็นลักษณะเฉพาะของ *Alcaligenes latus* TISTR 1403

3.5.2 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์

เมื่อทำการตรวจสอบแล้วพบว่าเชื้อที่นำมามีความบริสุทธิ์และเป็นสายพันธุ์ *Alcaligenes latus* TISTR 1403 แล้ว จึงทำการเขี่ยโคโลนีที่เจริญบนอาหารแข็งมา 1 loop ใส่ลงในอาหารเหลว 50 มิลลิลิตร ที่อยู่ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วนำไปเพาะเลี้ยงใน Mineral salt medium โดยใช้สภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบเครื่อง 200 รอบต่อนาที ควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน เพื่อให้เชื้อจุลินทรีย์เจริญเพิ่มจำนวนมากขึ้น จากนั้น นำเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารเหลวมา 1 loop ไปเลี้ยงบนอาหารแข็งในจานเพาะเลี้ยงเชื้อ (plate) ด้วยการ streak plate รวมทั้ง streak ลงในหลอดฝาเกลียวอาหารแข็ง (slant)

3.5.3 การถ่ายเชื้อลงบนอาหารแข็งเพื่อทำการเก็บรักษาเชื้อ

เขี่ยเชื้อเริ่มต้นจากข้อ 3.5.2 มา 1 loop แล้ว streak ลงบนอาหารแข็งในจานเพาะเลี้ยงเชื้อ (plate) และหลอดฝาเกลียว (slant) แล้วปิดด้วยฝาเกลียว บ่มเชื้อในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เก็บเชื้อไว้ในตู้เย็นเพื่อทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ต้องทำการถ่ายเชื้อทุก 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6 การเตรียมหัวเชื้อ

3.6.1 การเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้น

ทำการเขี่ยเชื้อจากข้อ 3.5.3 มา 1 loop ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาตรเริ่มต้น 50 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร เพาะเลี้ยงในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบเครื่อง 200 รอบต่อนาที ควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และปรับพีเอชให้เท่ากับ 7 เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นทำการเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้นโดยใส่หัวเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 โดยปิเปตหัวเชื้อเริ่มต้นลงไป 10 มิลลิลิตรลงในอาหารปริมาตร 90 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร จำนวน 4 ฟลาสก์

3.7 การเพาะเลี้ยงเชื้อในถังหมักชีวภาพ

ทำการเลี้ยงในในถังหมักแบบเบ็ดเสร็จ (Batch) ขนาด 5 ลิตร โดยใส่หัวเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 โดยปริมาตร ควบคุมให้มีสภาวะค่าออกซิเจนที่ละลาย (Dissolved oxygen) มากกว่าร้อยละ 30 ค่าพีเอชเท่ากับ 7 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยการศึกษาผลของความเร็วรอบของใบพัดและอัตราเร็วการให้อากาศ หลังจากนั้นเก็บตัวอย่างทุก 3 ชั่วโมง

3.7.1 การศึกษาผลของอัตราการให้อากาศ

ทำการศึกษาเพื่อหาอัตราการให้อากาศที่เหมาะสมต่อการผลิต PHB โดยทำการทดลองในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยจะศึกษาอัตราเร็วการให้อากาศ 1 2 4 และ 6 ลิตรต่อนาที และควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ค่าพีเอช เท่ากับ 7 ความเร็วรอบของใบพัด 500 รอบต่อนาที ทำการเก็บตัวอย่างทุก 3 ชั่วโมง จนกว่าค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร จะคงที่ซึ่งแสดงว่าเชื้อเข้าสู่สภาวะการเจริญเติบโตคงที่ นำไปวิเคราะห์หาปริมาณเซลล์และปริมาณ PHB ที่เซลล์ผลิตได้ เลือกสภาวะที่ให้ปริมาณ PHB สูงสุดเพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

3.7.2 การศึกษาผลของความเร็วรอบของใบพัด

เลือกสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิต PHB จากข้อ 3.7.1 มาใช้ในการศึกษาความเร็วรอบของใบพัดที่เหมาะสมต่อการผลิต PHB โดยจะศึกษาความเร็วรอบของใบพัดที่ความเร็ว 300 400 และ 500 รอบต่อนาที ควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ค่าพีเอช เท่ากับ 7 ทำการเก็บตัวอย่างทุก 3 ชั่วโมง จนกว่าค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร จะคงที่ซึ่งแสดงว่าเชื้อเข้าสู่สภาวะการเจริญเติบโตคงที่ นำไปวิเคราะห์หาปริมาณเซลล์และปริมาณ PHB ที่เซลล์ผลิตได้ เลือกสภาวะที่ให้ปริมาณ PHB สูงสุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.8 การวิเคราะห์สารต่างๆ

นำตัวอย่างน้ำหมักที่เก็บจากถังหมักขนาด 5 ลิตรไปวัดหาค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง และวัดค่าความเป็นกรดด่าง ด้วยเครื่องวัดพีเอช แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เพื่อแยกตะกอนไปทำการหาน้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณพอลิเมอร์ ส่วนใสนำไปหาความเข้มข้นน้ำตาลด้วยวิธีในหัวข้อต่อไป

3.8.1 วิธีการวัดการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์

วิธีการวัดการเจริญเติบโตจากค่าการดูดกลืนแสง

นำน้ำหมักที่เก็บตัวอย่างทุกๆ 3 ชั่วโมง จากการเพาะเลี้ยงเชื้อมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร นำค่าที่ได้มาพล็อตกราฟการเจริญเติบโตเพื่อทำเป็นแนวโน้มการเจริญเติบโต แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่คลื่น 600 นาโนเมตร (OD_{600}) กับเวลา (ชั่วโมง)

วิธีการวัดการเจริญเติบโตจากน้ำหนักเซลล์แห้ง

นำน้ำหมักที่เก็บตัวอย่างได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อทุก 3 ชั่วโมงมาทำการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำตะกอนที่ได้ (pellet) ไปล้างด้วยน้ำกลั่น 1 รอบ แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงอีกรอบด้วยความเร็วรอบและเวลาเท่าเดิม นำตะกอนที่ได้ไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียส และนำไปทำการระเหิดที่เครื่องระเหิดแห้ง (Freeze dry) เป็นเวลาประมาณ 12 ชั่วโมง นำตะกอนที่แห้งไปชั่งน้ำหนักเพื่อหาน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม) และค่าผลได้ของน้ำหนักเซลล์แห้งตามสูตรที่ใช้คำนวณด้านล่าง

สูตรการคำนวณปริมาณเซลล์

$$\text{ความเข้มข้นของเซลล์ (กรัมต่อลิตร)} = \frac{\text{น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม)}}{\text{ปริมาตรน้ำหมักที่ใช้}} \times 1000 \text{ มิลลิลิตร}$$

$$\text{ค่าผลได้ของน้ำหนักเซลล์แห้ง } (Y_{x/s}) = \frac{\text{ความเข้มข้นของเซลล์แห้ง}}{\text{ความเข้มข้นน้ำตาลที่ใช้}} \text{(กรัมต่อกรัม)}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.8.2 ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์

นำสารละลายน้ำหมักที่ผ่านการหมุนเหวี่ยงแยกเซลล์ออกแล้ว หรือสารละลายกลูโคสมาตรฐาน (ความเข้มข้น 0-1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ที่ต้องการวิเคราะห์มา 1 มิลลิลิตร เติมลงในหลอดทดลอง เติมสารละลายกรด 3,5ไดไนโตรซาลิไซลิก ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองผสมให้เข้ากัน (Mix) นำหลอดทดลองไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที และลดอุณหภูมิลงทันทีโดยแช่หลอดทดลองลงในอ่างน้ำเย็น จากนั้นจึงทำการเติมน้ำกลั่น 6 มิลลิลิตรและผสมให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย เครื่องวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสง (Spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ให้ค่าการดูดกลืนแสงอยู่ที่ช่วง 0.2-0.8 ถ้าเกินจากช่วงนี้ให้ทำการเจือจาง ทำการคำนวณหาความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวซ์โดยเทียบจากกราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคสมาตรฐาน โดยมีขั้นตอนการทำที่เหมือนกับดังที่กล่าวมาแล้ว หลังจากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร และค่าความเข้มข้นของกลูโคสมาตรฐาน มาพล็อตกราฟจะได้เป็นกราฟมาตรฐาน (ภาคผนวก จ) สำหรับใช้หาปริมาณน้ำตาลของน้ำหมักที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ หาความชันของกราฟมาตรฐานมาคำนวณตามสูตรด้านล่างต่อไปนี้

<u>สูตรการคำนวณหาความเข้มข้นของกลูโคส</u>

$$\text{ความเข้มข้นของน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)} = \frac{\text{ค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร} \times \text{ค่าการเจือจาง}}{\text{ความชันของกราฟมาตรฐาน}}$$

3.8.3 ความเข้มข้นของพอลิไฮดรอกซีบิวทาเรต (ดัดแปลงจาก Law และ Slepecky, 1961)

นำตะกอนเซลล์ไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียส แล้วทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งที่หาน้ำหนักเซลล์แห้งแล้ว มาเติมคลอโรฟอร์มเป็นอัตราส่วน 10:1 โดยปริมาตรต่อน้ำหนักแห้ง ตั้งไว้ 7 วันที่อุณหภูมิห้อง ทำการเขย่าทุกวัน จากนั้นกรองเศษเซลล์ออกด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 แล้ววางหลอดไว้ในตู้ดูดควันจนคลอโรฟอร์มระเหยออกเหลือต่ำกว่า 1 มิลลิลิตร แล้วจึงเติมเมทานอลเย็น (แช่ในตู้เย็นอุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส) เป็นอัตราส่วน 10:1 โดยปริมาตร พอลิเมอร์จะตกตะกอนแล้วไปกรองและทำให้เมทานอลระเหยออกให้หมด เพื่อหาน้ำหนักตะกอนโดยการชั่งน้ำหนักพอลิเมอร์แล้วคำนวณเป็นความเข้มข้นพอลิเมอร์ ร้อยละของพอลิเมอร์ และ ค่าผลได้ของพอลิเมอร์ ตามสูตรที่ใช้คำนวณด้านล่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>สูตรการคำนวณความเข้มข้นของพอลิเมอร์</u>

$$\text{ความเข้มข้นของพอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)} = \frac{\text{น้ำหนักพอลิเมอร์ (กรัม)}}{\text{ปริมาตรน้ำหมักที่ใช้}} \times 1000 \text{ มิลลิลิตร}$$

$$\text{ร้อยละของพอลิเมอร์} = \frac{\text{ความเข้มข้นของพอลิเมอร์}}{\text{ความเข้มข้นของเซลล์แห้ง}} \times 100$$

$$\text{ค่าผลได้ของพอลิเมอร์ (กรัมต่อกรัม)} = \frac{\text{ความเข้มข้นของพอลิเมอร์}}{\text{ความเข้มข้นน้ำตาลที่ใช้}}$$

3.9 การวิเคราะห์ทางสถิติ

จากการทำการทดลองแบบ 3 ซ้ำ จะหาค่าทางสถิติโดยจะทดสอบที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ในการพิจารณาถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งเป็นการวิเคราะห์แบบ One way ANOVA โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป เพื่อวิเคราะห์หาค่าทางสถิติ ดังแสดงในภาคผนวก ข

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและอภิปรายผล

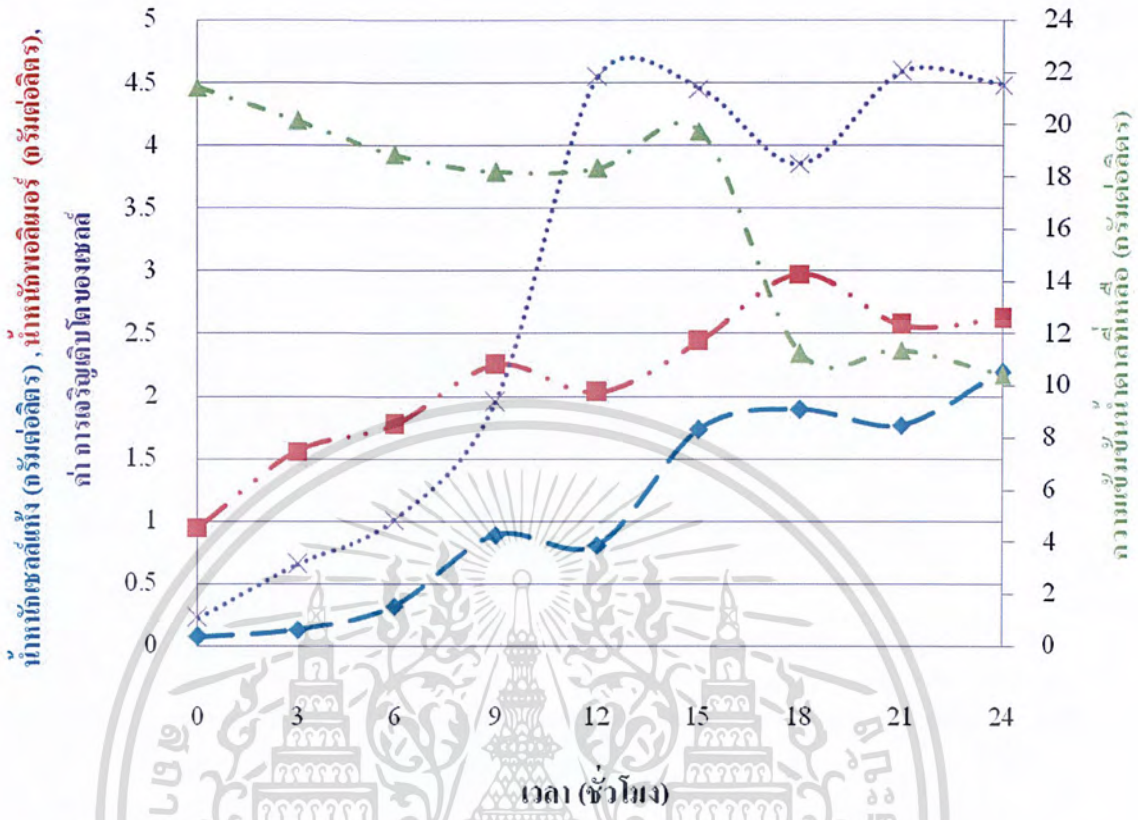
4.1 การศึกษาสภาวะอัตราการให้อากาศที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการผลิต PHB ของเชื้อ *Alcaligenes latus* TISTR 1403

ตารางที่ 4.1 ข้อมูลเฉลี่ยจากการทดลองศึกษาสภาวะอัตราการให้อากาศที่ 1 ลิตรต่อนาทีต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Alcaligenes latus* TISTR 1403 ในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร โดยควบคุมความเร็วรอบใบพัดคงที่ 500 รอบต่อนาที ซึ่งนำไปวาดกราฟในรูปที่ 4.1

เวลา (ชั่วโมง)	อัตราการให้อากาศ 1 ลิตรต่อนาที และความเร็วรอบใบพัด 500 รอบต่อนาที			
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)	ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร
0	$0.0755^{e} \pm 0.0302$	$0.9511^{d} \pm 0.2593$	$21.4401^{a} \pm 0.2279$	$0.2243^{e} \pm 0.0327$
3	$0.1322^{de} \pm 0.0822$	$1.5600^{cd} \pm 0.5763$	$20.1799^{b} \pm 0.9559$	$0.6563^{de} \pm 0.0533$
6	$0.3233^{d} \pm 0.1457$	$1.7722^{bcd} \pm 0.3080$	$18.8865^{cd} \pm 0.8056$	$1.0133^{d} \pm 0.1127$
9	$0.8900^{c} \pm 0.0484$	$2.2577^{abc} \pm 0.2784$	$18.2067^{d} \pm 1.1887$	$1.9533^{c} \pm 0.1749$
12	$0.8111^{c} \pm 0.0998$	$2.0366^{bc} \pm 0.5166$	$18.3393^{d} \pm 0.7614$	$4.5570^{a} \pm 0.4978$
15	$1.7377^{b} \pm 0.1640$	$2.4444^{abc} \pm 0.2255$	$19.7653^{bc} \pm 0.4230$	$4.4566^{a} \pm 0.3878$
18	$1.8977^{b} \pm 0.0421$	$2.9783^{a} \pm 0.0483$	$11.2589^{e} \pm 0.2503$	$3.8566^{b} \pm 0.3763$
21	$1.7722^{b} \pm 0.2836$	$2.5733^{ab} \pm 0.8310$	$11.3750^{e} \pm 0.4288$	$4.5900^{a} \pm 0.3306$
24	$2.1977^{a} \pm 0.0333$	$2.6222^{ab} \pm 0.6848$	$10.4464^{e} \pm 0.6466$	$4.4866^{a} \pm 0.3927$

หมายเหตุ
- a, b, c, d, e แสดงถึงค่าที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
- ค่าที่แสดงคือค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.1 น้ำหนักเซลล์แห้ง ( ) น้ำหนักพอลิเมอร์ ( ) ค่าการเจริญเติบโตของเซลล์ ( ) และความเข้มข้นน้ำตาลที่เหลือ ( ) โดยสัมพันธ์กับเวลา ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Alcaligenes latus* TISTR 1403 ในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร ที่อัตราการให้อากาศ 1 ลิตรต่อนาที และความเร็วใบพัด 500 รอบต่อนาที

การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิต PHB ของเชื้อ *Alcaligenes latus* TISTR 1403 ในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร โดยใช้อาหารมิเนรอล นำหัวเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 ของปริมาตร เติมลงไปในอาหารปริมาตร 4 ลิตร ทำการควบคุมให้มีสภาวะค่าออกซิเจนที่ละลาย (Dissolved oxygen) มากกว่าร้อยละ 30 ค่าพีเอช เท่ากับ 7 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อัตราเร็วใบพัด 500 รอบต่อนาที และทำการเปลี่ยนแปลงอัตราเร็วการให้อากาศที่ 1 (รูปที่ 4.1 และ ตารางที่ 4.1) 2 (รูปที่ 4.2 และ ตารางที่ 4.2) 4 (รูปที่ 4.3 และ ตารางที่ 4.3) และ 6 (รูปที่ 4.4 และ ตารางที่ 4.4) ลิตรต่อนาที ทำการเก็บตัวอย่างทุก 3 ชั่วโมง จนกว่าค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร จะคงที่จะนำไปวิเคราะห์หาน้ำหนักเซลล์แห้ง พอลิเมอร์ ความเข้มข้นน้ำตาล ค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร เพื่อวัดปริมาณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่าผลได้ของ PHB ค่าที่ทำการวัดจะนำไปวิเคราะห์ทางสถิติก่อนนำมาวาดกราฟ โดยผลอยู่ในภาคผนวก ข

ตารางที่ 4.1 และ จากรูปที่ 4.1 แสดงข้อมูลเกี่ยวกับการหมักในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร ที่ใช้อัตราการให้อากาศ 1 ลิตรต่อนาที ซึ่งในระหว่างกระบวนการหมักนี้จะพบการเจริญเติบโตของเซลล์สูงขึ้นอย่างรวดเร็วตั้งแต่ชั่วโมงที่ 6 ซึ่งค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้มีค่าเท่ากับ 1.0133 จนกระทั่งกระบวนการหมักผ่านไป 12 ชั่วโมง จะพบการเจริญเติบโตของเซลล์เริ่มเข้าสู่ระยะการเจริญเติบโตคงที่ โดยค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มีค่าสูงมากกว่า 4.5900 นอกจากนี้ข้อมูลในการหมักเกี่ยวกับความเข้มข้นน้ำตาลที่เหลือในอาหารมีค่าลดลงจาก 21.4401 กรัมต่อลิตร เป็น 10.4465 กรัมต่อลิตร เมื่อกระบวนการหมักสิ้นสุดที่ 24 ชั่วโมง และจากตัวอย่างที่เก็บมาได้จะพบว่ามีปริมาณพอลิเมอร์เพิ่มขึ้นจากจุดเริ่มต้นของการหมักจนกระบวนการหมักผ่านไป 18 ชั่วโมง พบปริมาณพอลิเมอร์ได้สูงสุด 2.9783 กรัมต่อลิตร แต่เมื่อกระบวนการหมักสิ้นสุดที่ 24 ชั่วโมงปริมาณพอลิเมอร์ที่วัดได้มีค่าลดลงเหลือ 2.6222 กรัมต่อลิตรในขณะที่ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงสุดที่ 24 ชั่วโมง เท่ากับ 2.1977 กรัมต่อลิตร มีความเป็นไปได้ว่าเซลล์มีการสลายพอลิเมอร์ที่ผลิตขึ้นมาเพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานในการเจริญเติบโตของเซลล์ตามที่ Philip (2009) ได้เคยรายงานไว้ และเมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของพอลิเมอร์ในแต่ละชั่วโมงที่สภาวะเดียวกันทางสถิติ จะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

รูปที่ 4.2 และ ตารางที่ 4.2 แสดงให้ทราบถึงข้อมูลในกระบวนการหมักขนาด 5 ลิตร ที่ใช้อัตราการให้อากาศ 2 ลิตรต่อนาที ในกรณีนี้จะพบว่าเซลล์มีระยะการปรับตัวนานถึง 6 ชั่วโมง จากนั้นเซลล์มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วจนกระทั่งชั่วโมงที่ 15 เซลล์เริ่มเข้าสู่ระยะการเจริญเติบโตคงที่จนสิ้นสุดกระบวนการหมัก โดยค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้เท่ากับ 3.6900 แสดงว่าเซลล์มีการเจริญเติบโตได้น้อยกว่าสภาวะการหมักที่อัตราการให้อากาศ 1 ลิตรต่อนาที นอกจากนี้ยังพบว่าค่าความเข้มข้นของน้ำตาลที่เหลือในอาหารจะมีค่าลดลงจาก 27.4427 กรัมต่อลิตร เป็น 15.5204 กรัมต่อลิตร และค่าน้ำหนักเซลล์แห้งจะสูงสุดเป็น 1.8633 กรัมต่อลิตร ที่ 18 ชั่วโมง แต่ในสภาวะการหมักนี้จะพบปริมาณพอลิเมอร์สูงสุดได้เพียง 0.4966 กรัมต่อลิตร ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของพอลิเมอร์ในแต่ละชั่วโมงที่สภาวะเดียวกันทางสถิติ พบว่ามีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับระยะเริ่มต้นของการเพาะเลี้ยงในระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังนั้นในสภาวะอัตราการให้อากาศ 2 ลิตรต่อนาที พบการผลิตพอลิเมอร์ต่ำแสดงว่าสภาวะนี้มีความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเซลล์มากกว่าการผลิตพอลิเมอร์

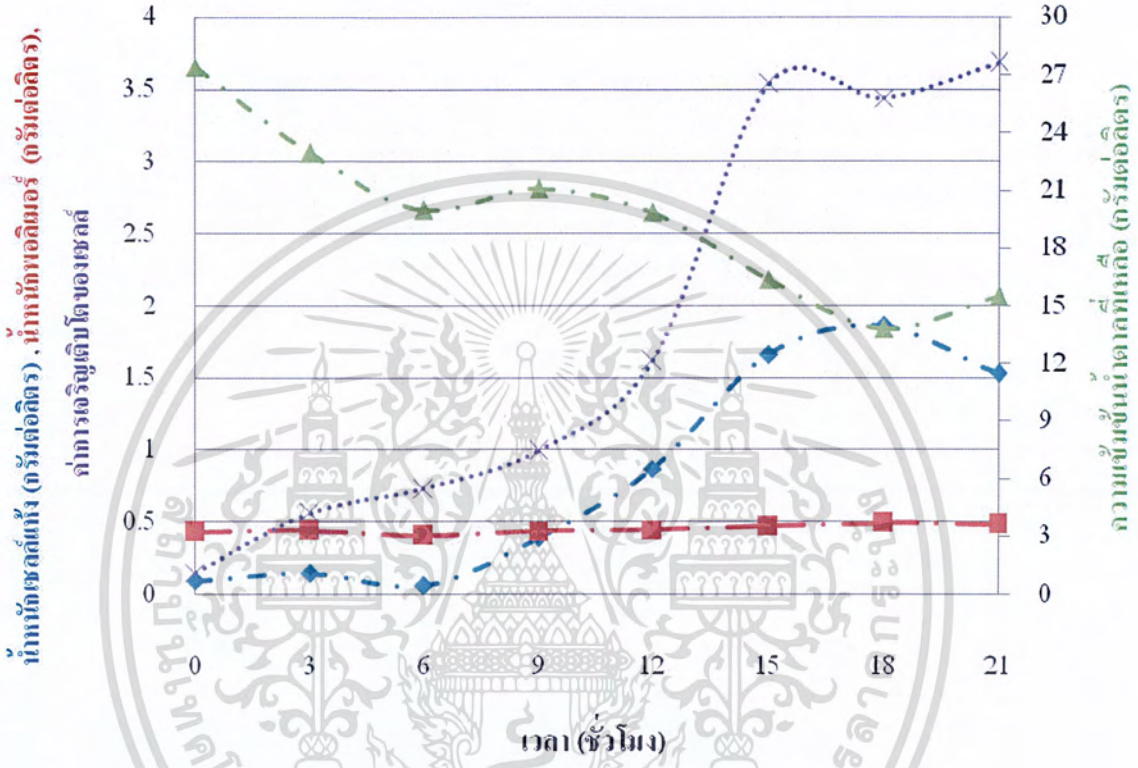
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 ข้อมูลเฉลี่ยจากการทดลองศึกษาสภาวะอัตราการให้อากาศที่ 2 ลิตรต่อนาทีต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Alcaligenes latus* TISTR 1403 ในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร โดยควบคุมความเร็วรอบใบพัดคงที่ 500 รอบต่อนาที ซึ่งนำไปวาดกราฟในรูปที่ 4.2

เวลา (ชั่วโมง)	อัตราการให้อากาศ 2 ลิตรต่อนาที และความเร็วรอบใบพัด 500 รอบต่อนาที			
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)	ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร
0	$0.0966^{e} \pm 0.0384$	$0.4333^{bc} \pm 0.0517$	$27.4427^{a} \pm 0.9752$	$0.1523^{d} \pm 0.0284$
3	$0.1500^{e} \pm 0.0548$	$0.4455^{abc} \pm 0.0107$	$22.9987^{b} \pm 0.4622$	$0.5656^{cd} \pm 0.0331$
6	$0.0633^{e} \pm 0.0133$	$0.4111^{c} \pm 0.0183$	$20.0223^{c} \pm 1.8995$	$0.7316^{c} \pm 0.0549$
9	$0.3922^{d} \pm 0.1039$	$0.4389^{abc} \pm 0.0258$	$21.1250^{c} \pm 1.1127$	$0.9993^{c} \pm 0.0752$
12	$0.8733^{c} \pm 0.1047$	$0.4466^{abc} \pm 0.0337$	$19.8814^{c} \pm 0.3312$	$1.6233^{b} \pm 0.1632$
15	$1.6666^{ab} \pm 0.2272$	$0.4722^{ab} \pm 0.0183$	$16.3827^{d} \pm 0.7995$	$3.5450^{a} \pm 0.2511$
18	$1.8633^{a} \pm 0.0726$	$0.4966^{a} \pm 0.0087$	$13.8291^{e} \pm 0.2984$	$3.4433^{a} \pm 0.6123$
21	$1.5344^{b} \pm 0.1600$	$0.4867^{ab} \pm 0.0458$	$15.5204^{de} \pm 1.2933$	$3.6900^{a} \pm 0.3405$

หมายเหตุ
- a, b, c, d, e แสดงถึงค่าที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
- ค่าที่แสดงคือค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 น้ำหนักเซลล์แห้ง ( ) น้ำหนักพอลิเมอร์ ( ) ค่าการเจริญเติบโตของเซลล์ ( ) และความเข้มข้นน้ำตาลที่เหลือ ( ) โดยสัมพันธ์กับเวลา ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Alcaligenes latus* TISTR 1403 ในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร ที่อัตราการให้อากาศ 2 ลิตรต่อนาที และความเร็วใบพัด 500 รอบต่อนาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนตารางที่ 4.3 และ รูปที่ 4.3 แสดงให้เห็นถึงข้อมูลในกระบวนการหมักขนาด 5 ลิตร ที่ใช้อัตราการให้อากาศ 4 ลิตรต่อนาที เซลล์มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วและต่อเนื่อง โดยจากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร พบว่าที่ 27 ชั่วโมงเซลล์มีการเจริญเติบโตสูงถึง 4.7200 และปริมาณความเข้มข้นของน้ำตาลมีค่าลดลงจากจุดเริ่มต้น 27.4427 กรัมต่อลิตร เหลือ 10.7781 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 24 โดยในระหว่างการหมักครั้งนี้พบว่าปริมาณพอลิเมอร์มีค่าสูงสุดเป็น 1.1677 กรัมต่อลิตรที่ 21 ชั่วโมง และจะมีค่าลดลงเหลือเพียง 0.6100 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 27 เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของพอลิเมอร์ทางสถิติพบว่า มีพอลิเมอร์ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แต่น้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง แสดงว่าพอลิเมอร์ที่สลายไปถูกใช้ไปเพื่อการเจริญเติบโตของเซลล์ ตามที่ Philip (2009) ได้เคยรายงานไว้ ถึงแม้ว่าในสภาวะนี้จะมีการเจริญเติบโตของเซลล์ได้เป็นอย่างดีก็ตาม แต่ปริมาณพอลิเมอร์ที่ได้มายังมีค่าน้อยกว่าสภาวะการหมักที่อัตราการให้อากาศ 1 ลิตรต่อนาที

จากรูปที่ 4.4 และ ตารางที่ 4.4 แสดงข้อมูลในกระบวนการหมักขนาด 5 ลิตร ที่ใช้อัตราการให้อากาศ 6 ลิตรต่อนาที ในข้อมูลนี้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่วัดได้มีค่าเท่ากับ 3.7900 และพบว่าแนวโน้มของค่าการดูดกลืนแสงจะมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ถึงการเจริญเติบโตได้ดี นอกจากนี้ยังสัมพันธ์กับการใช้น้ำตาลโดยดูจากค่าความเข้มข้นของน้ำตาลที่มีอยู่ในอาหารเริ่มต้น 19.3011 กรัมต่อลิตร ลดลงเหลือเพียง 13.6799 กรัมต่อลิตร เมื่อกระบวนการหมักสิ้นสุด จากการวิเคราะห์พอลิเมอร์เมื่อกระบวนการหมักผ่านไป 15 ชั่วโมง จะมีพอลิเมอร์สะสมอยู่สูงถึง 2.3989 กรัมต่อลิตร หลังจากนั้นการย่อยสลายพอลิเมอร์จะเกิดขึ้นตามมาจนมีปริมาณพอลิเมอร์ลดลงเหลือ 1.5489 กรัมต่อลิตร เพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานในการเจริญเติบโตของเซลล์โดยสังเกตได้จากน้ำหนักเซลล์แห้งที่ยังคงมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจากชั่วโมงที่ 15 (ค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง 1.6677 กรัมต่อลิตร) จนกระทั่งกระบวนการหมักสิ้นสุดที่น้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าเท่ากับ 1.9155 กรัมต่อลิตร และเมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของพอลิเมอร์ในทางสถิติ จะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 กับระยะเริ่มต้นของการเพาะเลี้ยง ส่วนผลของสภาวะการหมักที่อัตราการให้อากาศ 6 ลิตรต่อนาที จะให้การเจริญเติบโตของเซลล์ได้ดีใกล้เคียงกันกับสภาวะการหมักที่อัตราการให้อากาศ 1 ลิตรต่อนาที แต่จะพบว่ามีการผลิตพอลิเมอร์ได้น้อยกว่า

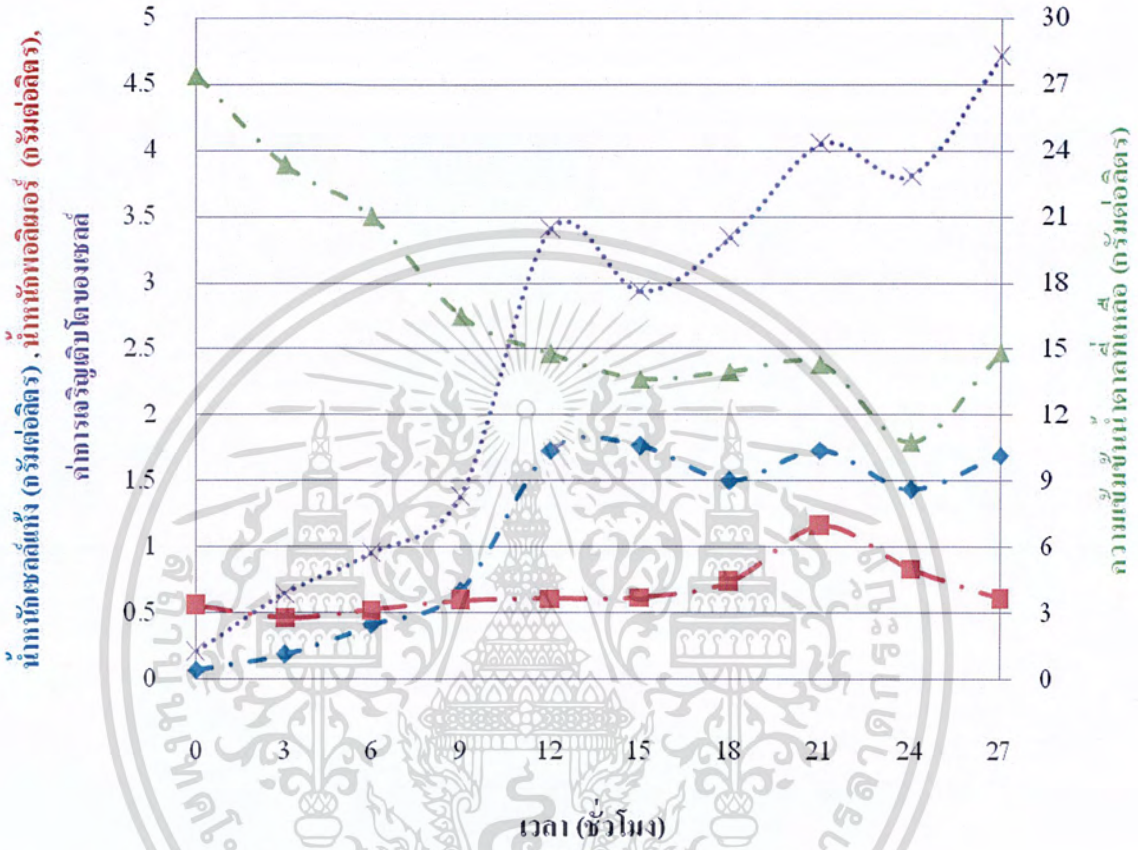
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 ข้อมูลเฉลี่ยจากการทดลองศึกษาสภาวะอัตราการให้อากาศที่ 4 ลิตรต่อนาทีต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Alcaligenes latus* TISTR 1403 ในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร โดยควบคุมความเร็วรอบใบพัดคงที่ 500 รอบต่อนาที ซึ่งนำไปวาดกราฟในรูปที่ 4.3

เวลา (ชั่วโมง)	อัตราการให้อากาศ 4 ลิตรต่อนาที และความเร็วรอบใบพัด 500 รอบต่อนาที			
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)	ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร
0	$0.0751^{c} \pm 0.0071$	$0.5611^{de} \pm 0.0076$	$27.4427^{a} \pm 0.9752$	$0.2130^{h} \pm 0.0337$
3	$0.1933^{de} \pm 0.0472$	$0.4688^{e} \pm 0.0727$	$23.3802^{b} \pm 1.1212$	$0.6516^{g} \pm 0.0436$
6	$0.4167^{d} \pm 0.0100$	$0.5278^{de} \pm 0.0101$	$21.0421^{c} \pm 1.3740$	$0.9583^{g} \pm 0.1025$
9	$0.6655^{c} \pm 0.0763$	$0.5955^{d} \pm 0.0679$	$16.5319^{d} \pm 0.2828$	$1.3816^{f} \pm 0.3278$
12	$1.7355^{a} \pm 0.0887$	$0.6111^{d} \pm 0.0340$	$14.8074^{de} \pm 01.4073$	$3.4166^{cd} \pm 0.2531$
15	$1.7689^{a} \pm 0.0867$	$0.6200^{d} \pm 0.0360$	$13.6633^{e} \pm 1.1127$	$2.9400^{e} \pm 0.20934$
18	$1.5078^{ab} \pm 0.1376$	$0.7389^{c} \pm 0.1222$	$13.9949^{c} \pm 0.0760$	$3.3466^{de} \pm 0.2756$
21	$1.7377^{a} \pm 0.1060$	$1.1677^{a} \pm 0.0236$	$14.3431^{c} \pm 1.1983$	$4.0583^{b} \pm 0.2590$
24	$1.4400^{b} \pm 0.2917$	$0.8400^{b} \pm 0.0200$	$10.7781^{f} \pm 0.5935$	$3.8166^{bc} \pm 0.3354$
27	$1.6977^{a} \pm 0.2567$	$0.6100^{d} \pm 0.0290$	$14.8572^{de} \pm 1.0742$	$4.7200^{a} \pm 0.3602$

หมายเหตุ
- a, b, c, d, e, f, g, h แสดงถึงค่าที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
- ค่าที่แสดงคือค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.3 น้ำหนักเซลล์แห้ง ( ) น้ำหนักพอลิเมอร์ ( ) ค่าการเจริญเติบโตของเซลล์ ( ) และความเข้มข้นน้ำตาลที่เหลือ ( ) โดยสัมพันธ์กับเวลา ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Alcaligenes latus* TISTR 1403 ในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร ที่อัตราการให้อากาศ 4 ลิตรต่อนาที และความเร็วใบพัด 500 รอบต่อนาที

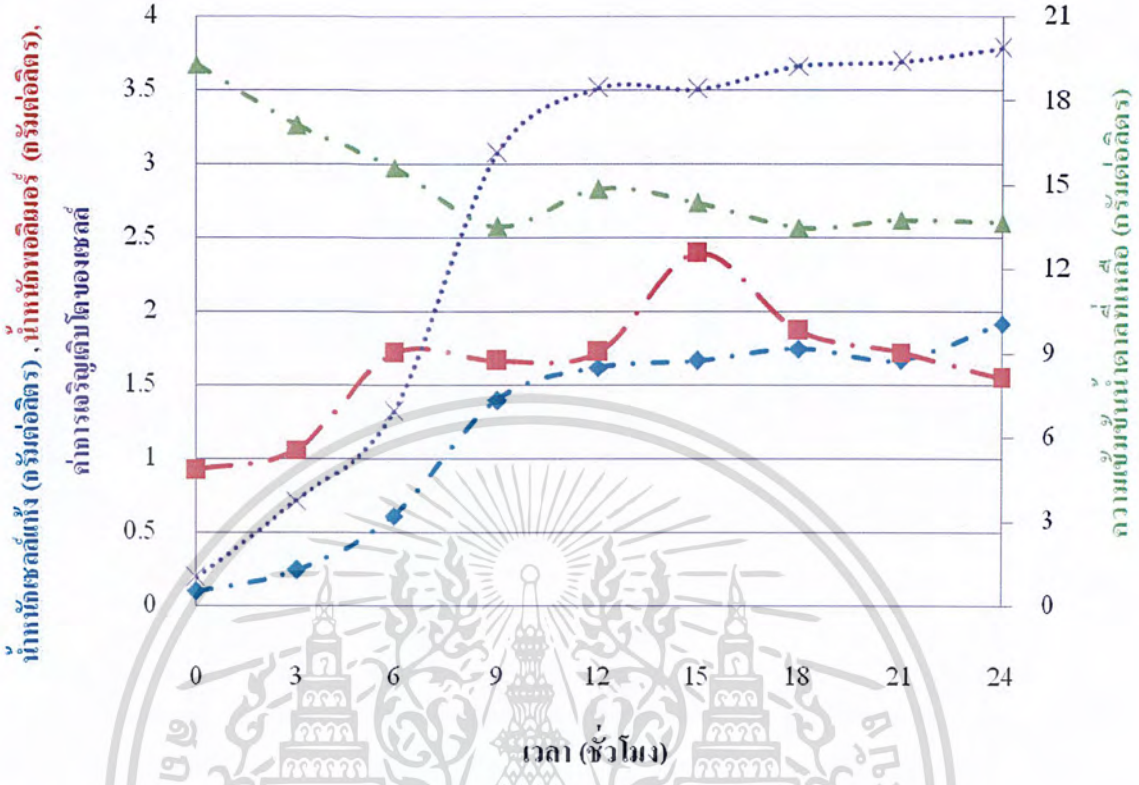
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 ข้อมูลเฉลี่ยจากการทดลองศึกษาสภาวะอัตราการให้อากาศที่ 6 ลิตรต่อนาทีต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Alcaligenes latus* TISTR 1403 ในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร โดยควบคุมความเร็วรอบใบพัดคงที่ 500 รอบต่อนาที ซึ่งนำไปวาดกราฟในรูปที่ 4.4

เวลา (ชั่วโมง)	อัตราการให้อากาศ 6 ลิตรต่อนาที และความเร็วรอบใบพัด 500 รอบต่อนาที			
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)	ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร
0	$0.0955^{e} \pm 0.0287$	$0.9244^{c} \pm 0.1550$	$19.3011^{a} \pm 1.0157$	$0.1926^{e} \pm 0.0141$
3	$0.2422^{e} \pm 0.0378$	$1.0599^{bc} \pm 0.3074$	$17.1455^{b} \pm 0.5657$	$0.7146^{d} \pm 0.0400$
6	$0.6133^{d} \pm 0.0260$	$1.7177^{abc} \pm 0.6637$	$15.6365^{bc} \pm 1.7105$	$1.3200^{c} \pm 0.1216$
9	$1.3989^{c} \pm 0.0670$	$1.6655^{abc} \pm 0.2527$	$13.5306^{c} \pm 0.6729$	$3.0750^{b} \pm 0.2174$
12	$1.6199^{b} \pm 0.0814$	$1.7255^{abc} \pm 0.3152$	$14.8738^{c} \pm 2.4161$	$3.5166^{ab} \pm 0.3378$
15	$1.6677^{b} \pm 0.1323$	$2.3989^{a} \pm 0.4786$	$14.3763^{c} \pm 0.5048$	$3.5083^{ab} \pm 0.3372$
18	$1.7489^{ab} \pm 0.0084$	$1.8722^{ab} \pm 0.7780$	$13.4974^{c} \pm 0.2828$	$3.6666^{a} \pm 0.3419$
21	$1.6711^{b} \pm 0.3113$	$1.7244^{abc} \pm 0.3223$	$13.7627^{c} \pm 0.4622$	$3.6966^{a} \pm 0.4142$
24	$1.9155^{a} \pm 0.0450$	$1.5489^{bc} \pm 0.2534$	$13.6799^{c} \pm 1.2073$	$3.7900^{a} \pm 0.3819$

หมายเหตุ
- a, b, c, d, e แสดงถึงค่าที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
- ค่าที่แสดงคือค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.4 น้ำหนักเซลล์แห้ง ( ) น้ำหนักพอลิเมอร์ ( ) ค่าการเจริญเติบโตของเซลล์ ( ) และความเข้มข้นน้ำตาลที่เหลือ ( ) โดยสัมพันธ์กับเวลา ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Alcaligenes latus* TISTR 1403 ในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร ที่อัตราการให้อากาศ 6 ลิตรต่อนาที และความเร็วใบพัด 500 รอบต่อนาที

จากตารางที่ 4.5 เปรียบเทียบค่าความเข้มข้นพอลิเมอร์ในแต่ละสภาวะ พบว่าที่อัตราการให้อากาศที่ 1 2 4 และ 6 ลิตรต่อนาที จะมีความเข้มข้นพอลิเมอร์ เท่ากับ 2.0272 0.0855 0.6066 และ 1.4744 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ทำให้ทราบว่า อัตราการให้อากาศที่ 1 ลิตรต่อนาที มีความเข้มข้นของพอลิเมอร์มากที่สุด เนื่องจากสภาวะนี้เซลล์สามารถเจริญเติบโตและผลิตพอลิเมอร์ออกมาในระหว่างการเจริญเติบโตได้เป็นอย่างดี ส่วนความเข้มข้นของน้ำหนักเซลล์แห้งในสภาวะที่มีค่าอัตราการให้อากาศเป็น 4 และ 6 ลิตรต่อนาที จะมีความเข้มข้นน้ำหนักเซลล์แห้ง เท่ากับ 1.6598 และ 1.8200 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ แต่ความเข้มข้นพอลิเมอร์ที่วัดได้นั้นมีค่าน้อยแสดงว่าสภาวะทั้งสองนี้ไม่เหมาะสมต่อการผลิตพอลิเมอร์แต่จะเหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์เพื่อให้มีการเจริญเติบโตของเซลล์มากกว่าผลิตพอลิเมอร์ และที่อัตราการให้อากาศ 1 และ 2 ลิตรต่อนาที ความเข้มข้นของน้ำหนักเซลล์แห้งจะมีค่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เท่ากับ 2.1222 และ 1.7667 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบความเข้มข้นพอลิเมอร์และน้ำหนักเซลล์แห้งของอัตราการให้อากาศที่ 1 ลิตรต่อนาที จะเห็นว่าความเข้มข้นของน้ำหนักเซลล์แห้งและความเข้มข้นของพอลิเมอร์มีปริมาณสูงสุด ในขณะที่อัตราการให้อากาศ 2 4 และ 6 ลิตรต่อนาทีนั้นค่าความเข้มข้นเซลล์แห้งและพอลิเมอร์ที่ได้มามีค่าน้อย แสดงว่าที่อัตราการให้อากาศสภาวะนี้ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเซลล์และการผลิต PHB เมื่อทำการสังเกตค่าร้อยละพอลิเมอร์พบว่าในกระบวนการหมักที่อัตราการให้อากาศ 1 ลิตรต่อนาที มีค่าสูงสุดเท่ากับร้อยละ 95.5258 รองลงมาคือร้อยละ 81.0109 และร้อยละ 36.5465 ในกระบวนการหมักที่อัตราการให้อากาศ 6 และ 4 ลิตรต่อนาที ตามลำดับ และที่อัตราการให้อากาศ 2 ลิตรต่อนาที ค่าร้อยละพอลิเมอร์มีค่าต่ำสุดเท่ากับร้อยละ 4.8395 ซึ่งจะสัมพันธ์กับความเข้มข้นพอลิเมอร์

ที่อัตราการให้อากาศ 1 ลิตรต่อนาทีจะมีค่าผลได้ของเซลล์ต่อน้ำตาลเป็น 0.2084 กรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อกรัมน้ำตาล และมีค่าผลได้ของผลิตภัณฑ์ต่อน้ำตาลเป็น 0.1991 กรัมพอลิเมอร์ต่อกรัมน้ำตาล และที่อัตราการให้อากาศ 6 ลิตรต่อนาทีจะมีค่าผลได้ของเซลล์ต่อน้ำตาลเป็น 0.3695 กรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อกรัมน้ำตาล และมีค่าผลได้ของผลิตภัณฑ์ต่อน้ำตาลเป็น 0.2993 กรัมพอลิเมอร์ต่อกรัมน้ำตาล แต่เมื่อสังเกตผลจากการเปรียบเทียบปริมาณการใช้น้ำตาลในระดับที่มีค่าอัตราการให้อากาศเป็น 1 และ 6 ลิตรต่อนาทีนั้นจะพบว่า ที่อัตราการให้อากาศ 1 ลิตรต่อนาทีมีการใช้น้ำตาลไปในปริมาณมากกว่าที่อัตราการให้อากาศ 6 ลิตรต่อนาที ทำให้มีระดับการผลิตพอลิเมอร์ที่ดีกว่าและความเข้มข้นของน้ำหนักเซลล์แห้งมีค่ามากกว่า ในทางกลับกันที่อัตราการให้อากาศ 6 ลิตรต่อนาที มีระดับการใช้น้ำตาลไปน้อยกว่าที่อัตราการให้อากาศ 1 ลิตรต่อนาที แต่ผลที่ได้มาคือมีปริมาณพอลิเมอร์และความเข้มข้นของน้ำหนักเซลล์แห้งน้อยกว่า ซึ่งในทางกลับกันกลับมีค่าผลได้ของเซลล์ต่อน้ำตาลมากกว่า อย่างไรก็ตามในงานวิจัยครั้งนี้มุ่งเน้นที่จะผลิตพอลิเมอร์ จึงให้ความสำคัญกับความเข้มข้นของพอลิเมอร์มากกว่าน้ำหนักเซลล์แห้ง และจากผลการวิจัยของธงชัย (2549) ได้มีการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิต PHA ในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิต PHA ของเชื้อ *Ralstonia eutropha* TISTR 1095 (*Alcaligenes eutropha*) โดยมีการเปลี่ยนแปลงอัตราการให้อากาศที่ 2.5 5 และ 10 ลิตรต่อนาที พบว่าที่อัตราการให้อากาศ 5 ลิตรต่อนาที จะให้ปริมาณเซลล์และ PHA เท่ากับ 2.94 และ 1.51 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งคิดเป็นการสะสม PHA ภายในเซลล์ร้อยละ 51.36 ของน้ำหนักเซลล์แห้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 ผลจากการเพาะเลี้ยง *Alcaligenes latus* TISTR 1403 ในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร โดยมีอัตราการให้อากาศต่างๆ คือ 1 2 4 และ 6 ลิตรต่อนาที และที่ความเร็วใบพัด 500 รอบต่อนาที ข้อมูลที่ได้จะสัมพันธ์กับความเข้มข้นของพอลิเมอร์ น้ำหนักเซลล์แห้ง ร้อยละของพอลิเมอร์ ปริมาณน้ำตาลที่ใช้ และค่าผลได้

อัตราการให้อากาศ (ลิตรต่อนาที)	ความเข้มข้นพอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)	ความเข้มข้นน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ร้อยละของพอลิเมอร์	ปริมาณน้ำตาลที่ใช้ (กรัมต่อลิตร)	$Y_{x/s}$ (กรัมต่อกรัม)	$Y_{p/s}$ (กรัมต่อกรัม)
1	2.0272	2.1222	95.5258	10.1811	0.2084	0.1991
2	0.0855	1.7667	4.8395	13.6136	0.1298	0.0062
4	0.6066	1.6598	36.5465	13.0995	0.1267	0.0463
6	1.4744	1.8200	81.0109	4.9248	0.3695	0.2993

หมายเหตุ ค่าความเข้มข้นที่ได้นำมาจากชั่วโมงที่ให้ค่าดีที่สุดลบกับชั่วโมงเริ่มต้น

จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่าอัตราการให้อากาศที่เหมาะสมต่อการผลิต PHB อยู่ที่ 1 ลิตรต่อนาที ซึ่งให้ปริมาณความเข้มข้นของเซลล์และความเข้มข้น PHB เท่ากับ 2.1222 และ 2.0272 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ที่ชั่วโมงที่ 18 ซึ่งคิดเป็นการสะสม PHB ภายในเซลล์ร้อยละ 95.5258 ของน้ำหนักเซลล์แห้ง เมื่อเปรียบเทียบการผลิต PHB ภายในเซลล์จากการกำหนดอัตราการให้อากาศ 6 ลิตรต่อนาที เป็นสภาวะที่ให้อากาศมากกว่าแต่มีปริมาณความเข้มข้นของเซลล์และความเข้มข้น PHB เท่ากับ 1.8200 และ 1.4744 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ที่ชั่วโมงที่ 18 ซึ่งคิดเป็นการสะสม PHB ภายในเซลล์ร้อยละ 81.0109 ของน้ำหนักเซลล์แห้ง ดังนั้นจึงเลือกการควบคุมอัตราการให้อากาศเท่ากับ 1 ลิตรต่อนาที ในการทดลองชุดต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การศึกษาสภาวะความเร็วรอบใบพัดที่เหมาะสมของการเจริญเติบโตของเชื้อและการผลิต PHB ของเชื้อ *Alcaligenes latus* TISTR 1403

ในขั้นตอนนี้ทำการศึกษาหาความเร็วรอบใบพัดที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ และการผลิต PHB โดยทำการเปลี่ยนแปลงความเร็วรอบใบพัดที่ 300 (รูปที่ 4.5 และ ตารางที่ 4.6) 400 (รูปที่ 4.6 และ ตารางที่ 4.7) และ 500 (รูปที่ 4.7และ ตารางที่ 4.8) และควบคุมอัตราการให้อากาศที่ 1 ลิตรต่อนาที พีเอช 7 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

จากตารางที่ 4.6 และ รูปที่ 4.5 แสดงข้อมูลในกระบวนการหมักขนาด 5 ลิตร ที่ใช้ความเร็วรอบใบพัด 300 รอบต่อนาที โดยในสภาวะการหมักครั้งนี้พบว่า ใน 15 ชั่วโมงแรกของกระบวนการหมักเซลล์ยังคงมีระยะการเจริญเติบโตอยู่ในช่วงการปรับตัวให้เหมาะสมต่อสภาวะภายในถังหมักซึ่งเป็นช่วงเวลาที่ยาวนานที่สุดเมื่อเทียบกับสภาวะอื่นๆ แสดงว่าในสภาวะนี้เซลล์จะมีการเจริญเติบโตช้า โดยบ่งชี้ปริมาณเซลล์ได้จากการวัดค่าการดูดกลืนแสง และพบว่าค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่วัดได้มีค่าเท่ากับ 3.0983 หลังจากนั้นเซลล์จึงเข้าสู่ระยะการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว จนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 21 เซลล์จึงเข้าสู่ระยะการเจริญเติบโตแบบคงที่ ความเข้มข้นของน้ำตาลที่ 0 ชั่วโมงที่มีค่าเท่ากับ 22.0702 กรัมต่อลิตร จะลดลงเหลือ 14.9567 กรัมต่อลิตร ที่ 21 ชั่วโมง จากตัวอย่างที่นำมาสกัดพอลิเมอร์ด้วยคลอโรฟอร์มพบว่ามีพอลิเมอร์เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย โดยมีพอลิเมอร์สูงสุดที่ 15 ชั่วโมง เท่ากับ 0.8888 กรัมต่อลิตรหลังจากนั้นจะเกิดการสลายของพอลิเมอร์ในขณะที่น้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องตลอดกระบวนการหมัก หลังจากเปรียบเทียบค่าความแตกต่างของพอลิเมอร์ ทำให้ทราบว่าค่าพอลิเมอร์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

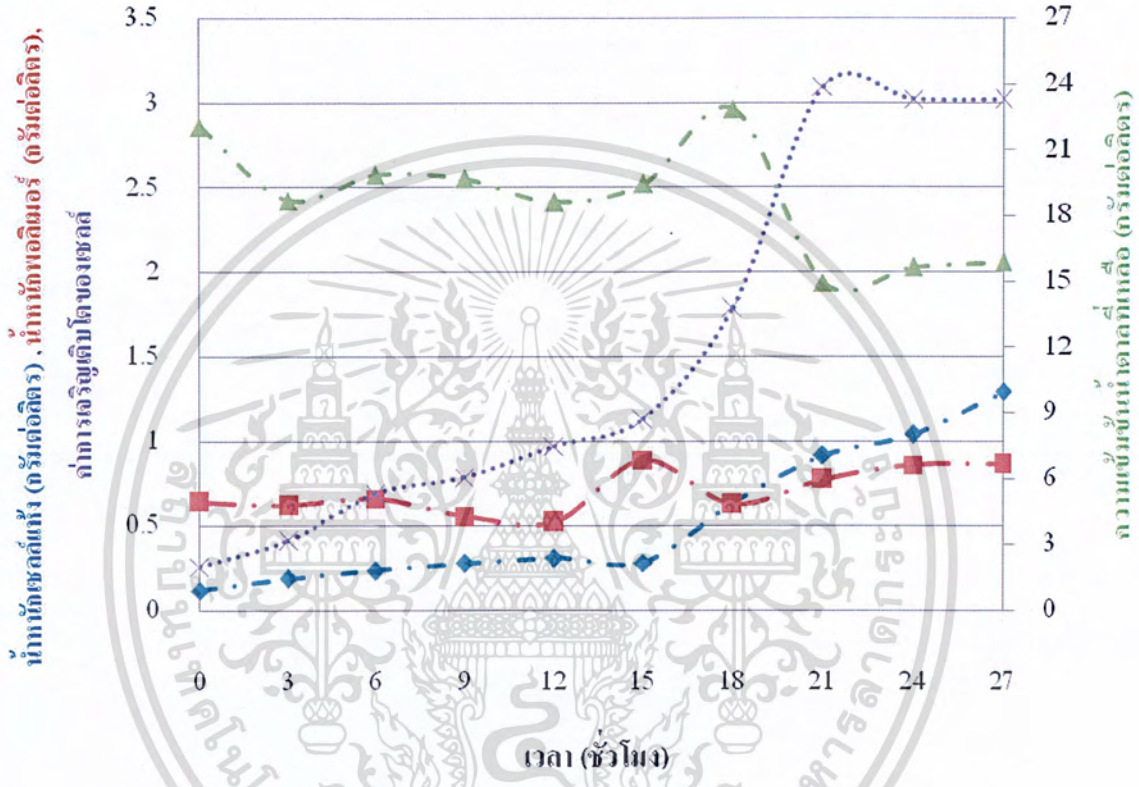
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 ข้อมูลเฉลี่ยจากการทดลองศึกษาสภาวะความเร็วรอบใบพัดคงที่ 300 รอบต่อนาทีต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Alcaligenes latus* TISTR 1403 ในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร โดยควบคุมอัตราการให้อากาศคงที่ 1 ลิตรต่อนาที ซึ่งนำไปวาดกราฟในรูปที่ 4.5

เวลา (ชั่วโมง)	ความเร็วรอบใบพัด **300** รอบต่อนาที และอัตราการให้อากาศ **1** ลิตรต่อนาที			
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)	ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ **600** นาโนเมตร
0	$0.1199^{h} \pm 0.0251$	$0.6388^{a} \pm 0.0250$	$22.0702^{a} \pm 7.8982$	$0.2613^{h} \pm 0.0234$
3	$0.1877^{g} \pm 0.0222$	$0.6200^{a} \pm 0.0927$	$18.7207^{a} \pm 1.8852$	$0.4133^{g} \pm 0.0145$
6	$0.2355^{fg} \pm 0.0069$	$0.6577^{a} \pm 0.1775$	$19.8814^{a} \pm 2.1605$	$0.6880^{f} \pm 0.0217$
9	$0.2777^{ef} \pm 0.0171$	$0.5544^{a} \pm 0.0857$	$19.6990^{a} \pm 2.4253$	$0.7853^{e} \pm 0.0032$
12	$0.3089^{e} \pm 0.0203$	$0.5222^{a} \pm 0.1908$	$18.6212^{a} \pm 2.3754$	$0.9693^{d} \pm 0.0100$
15	$0.2833^{ef} \pm 0.0120$	$0.8888^{a} \pm 0.3466$	$19.4834^{a} \pm 1.5983$	$1.1316^{c} \pm 0.0665$
18	$0.6344^{d} \pm 0.0476$	$0.6266^{a} \pm 0.2228$	$22.8661^{a} \pm 6.5930$	$1.7883^{b} \pm 0.0431$
21	$0.9122^{c} \pm 0.0107$	$0.7744^{a} \pm 0.2085$	$14.9567^{a} \pm 3.2351$	$3.0983^{a} \pm 0.0550$
24	$1.0388^{b} \pm 0.0250$	$0.8578^{a} \pm 0.2163$	$15.6696^{a} \pm 2.2207$	$3.0233^{a} \pm 0.0404$
27	$1.2922^{a} \pm 0.0625$	$0.8622^{a} \pm 0.1965$	$15.8852^{a} \pm 4.2637$	$3.0200^{a} \pm 0.1047$

<u>หมายเหตุ</u>
- a, b, c, d, e, f, g, h แสดงถึงค่าที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
- ค่าที่แสดงคือค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.5 น้ำหนักเซลล์แห้ง (◆) น้ำหนักพอลิเมอร์ (■) ค่าการเจริญเติบโตของเซลล์ (✕) และความเข้มข้นน้ำตาลที่เหลือ(▲)โดยสัมพันธ์กับเวลา ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Alcaligenes latus* TISTR 1403 ในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร ที่ความเร็วใบพัด 300 รอบต่อนาที และ อัตราการให้อากาศ 1 ลิตรต่อนาที

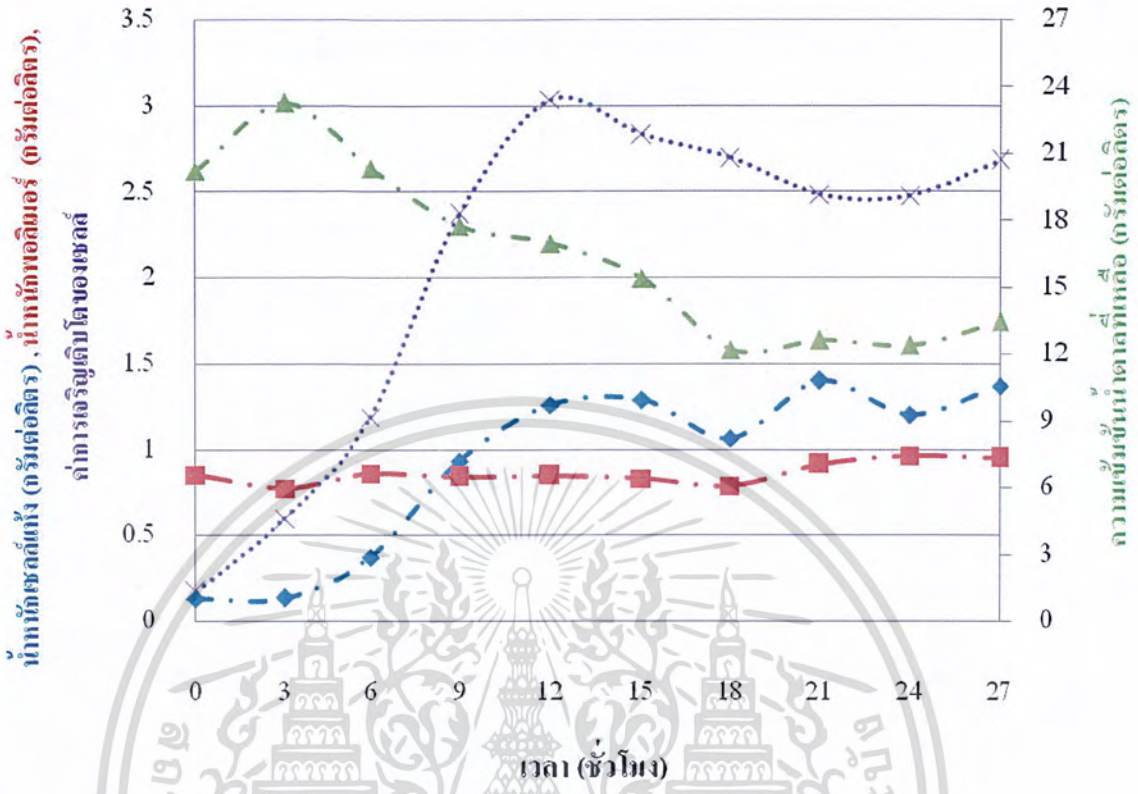
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 ข้อมูลเฉลี่ยจากการทดลองศึกษาสภาวะความเร็วรอบใบพัดคงที่ 400 รอบต่อนาทีต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Alcaligenes latus* TISTR 1403 ในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร โดยควบคุมอัตราการให้อากาศคงที่ 1 ลิตรต่อนาที ซึ่งนำไปวาดกราฟในรูปที่ 4.6

เวลา (ชั่วโมง)	อัตราการให้อากาศ 4 ลิตรต่อนาที และความเร็วรอบใบพัด 500 รอบต่อนาที			
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)	ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร
0	$0.1322^{d} \pm 0.0192$	$0.8533^{ab} \pm 0.1703$	$20.2462^{ab} \pm 2.3183$	$0.1723^{h} \pm 0.0050$
3	$0.1344^{d} \pm 0.0234$	$0.7733^{b} \pm 0.0346$	$23.2973^{a} \pm 3.6342$	$0.5996^{g} \pm 0.0028$
6	$0.3733^{d} \pm 0.1429$	$0.8599^{ab} \pm 0.0503$	$20.5944^{ab} \pm 1.3740$	$1.1886^{f} \pm 0.0280$
9	$0.9355^{c} \pm 0.0367$	$0.8422^{ab} \pm 0.0889$	$17.7755^{bc} \pm 0.9244$	$2.3716^{e} \pm 0.0256$
12	$1.2622^{ab} \pm 0.2431$	$0.8488^{ab} \pm 0.0655$	$16.9796^{bcd} \pm 1.4108$	$3.0383^{a} \pm 0.0028$
15	$1.2922^{ab} \pm 0.0846$	$0.8322^{ab} \pm 0.0560$	$15.4044^{cde} \pm 1.3975$	$2.8333^{b} \pm 0.0225$
18	$1.0644^{bc} \pm 0.2458$	$0.7888^{ab} \pm 0.0442$	$12.2041^{e} \pm 0.2828$	$2.6950^{c} \pm 0.1178$
21	$1.4022^{a} \pm 0.1992$	$0.9144^{ab} \pm 0.1197$	$12.6352^{e} \pm 1.6400$	$2.4850^{d} \pm 0.0217$
24	$1.2034^{abc} \pm 0.0794$	$0.9644^{a} \pm 0.0770$	$12.4031^{e} \pm 0.5318$	$2.4783^{d} \pm 0.0644$
27	$1.3722^{a} \pm 0.2363$	$0.9511^{ab} \pm 0.1420$	$13.4809^{de} \pm 3.5451$	$2.6866^{c} \pm 0.1107$

หมายเหตุ
- a, b, c, d, e, f, g, h แสดงถึงค่าที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
- ค่าที่แสดงคือค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.6 น้ำหนักเซลล์แห้ง ( ) น้ำหนักพอลิเมอร์ ( ) ค่าการเจริญเติบโตของเซลล์ ( ) และความเข้มข้นน้ำตาลที่เหลือ ( ) โดยสัมพันธ์กับเวลา ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Alcaligenes latus* TISTR 1403 ในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร ที่ความเร็วใบพัด 400 รอบต่อนาที และ อัตราการให้อากาศ 1 ลิตรต่อนาที

ในตารางที่ 4.7 และ รูปที่ 4.6 ซึ่งได้แสดงข้อมูลในกระบวนการหมักขนาด 5 ลิตร ที่ใช้ความเร็วรอบใบพัด 400 รอบต่อนาที ในกระบวนการหมักนี้เซลล์จะเข้าสู่ระยะการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วตั้งแต่ชั่วโมงที่ 6 และเริ่มเข้าสู่ระยะการเจริญเติบโตคงที่เมื่อกระบวนการหมักผ่านไป 12 ชั่วโมง แสดงว่าในสภาวะความเร็วรอบใบพัดนี้มีการเจริญเติบโตของเซลล์ที่รวดเร็วทำให้เซลล์เข้าสู่ระยะการเจริญเติบโตคงที่เร็วกว่าความเร็วรอบใบพัด 300 รอบต่อนาที ซึ่งค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่วัดได้คือ 3.0383 ปริมาณน้ำตาลที่ 0 ชั่วโมงมีค่าเท่ากับ 20.2462 กรัมต่อลิตร จะลดลงเหลือ 13.4809 กรัมต่อลิตร จนสิ้นสุดกระบวนการหมัก อย่างไรก็ตามจากตัวอย่างที่เก็บมาเพื่อวิเคราะห์ปริมาณพอลิเมอร์จะพบการผลิตพอลิเมอร์สูงสุดเพียง 0.9644 กรัมต่อลิตรที่ 18 ชั่วโมง ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบค่าความแตกต่างของพอลิเมอร์ พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และมีความเข้มข้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำหนักเซลล์แห้งที่ผลิตได้สูงสุดมีค่าเท่ากับ 1.4022 กรัมต่อลิตรที่ 21 ชั่วโมง แสดงว่าในสภาวะนี้เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเซลล์และไม่เหมาะสมต่อการผลิตพอลิเมอร์

จากตารางที่ 4.8 และรูปที่ 4.7 แสดงข้อมูลเกี่ยวกับการหมักในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร ที่ใช้ความเร็วรอบใบพัด 500 รอบต่อนาที ซึ่งในระหว่างกระบวนการหมักนี้จะพบการเจริญเติบโตของเซลล์สูงขึ้นอย่างรวดเร็วตั้งแต่ชั่วโมงที่ 6 ซึ่งค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้มีค่าเท่ากับ 1.0133 ไปจนกระทั่งกระบวนการหมักผ่านไป 12 ชั่วโมง จะพบการเจริญเติบโตของเซลล์เริ่มเข้าสู่ระยะการเจริญเติบโตคงที่ โดยค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มามีค่าสูงถึง 4.5 นอกจากนี้ข้อมูลในการหมักเกี่ยวกับความเข้มข้นน้ำตาลที่เหลือในอาหารมีค่าลดลงจาก 21.4401 กรัมต่อลิตร เป็น 10.4465 กรัมต่อลิตร เมื่อกระบวนการหมักสิ้นสุดที่ 24 ชั่วโมงและจากตัวอย่างที่เก็บมาได้จะพบว่ามีปริมาณพอลิเมอร์เพิ่มขึ้นจากจุดเริ่มต้นของการหมักจนกระบวนการหมักผ่านไป 18 ชั่วโมง พบปริมาณพอลิเมอร์ได้สูงสุด 2.9783 กรัมต่อลิตร แต่กระบวนการหมักสิ้นสุดที่ 24 ชั่วโมงปริมาณพอลิเมอร์ที่วัดได้มีค่าลดลงเหลือ 2.6222 กรัมต่อลิตร เมื่อเปรียบเทียบค่าความแตกต่างของพอลิเมอร์ ทำให้ทราบว่าค่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ในขณะที่ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าสูงสุดที่ 24 ชั่วโมง มีค่าเท่า 2.1977 กรัมต่อลิตร แสดงว่าเซลล์มีการสลายพอลิเมอร์ที่ผลิตขึ้นมาเพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานในการเจริญเติบโตของเซลล์ตามที่ได้กล่าวมาแล้วในหัวข้อ 4.1

จากตารางที่ 4.9 แสดงข้อมูลต่างๆที่ได้จากกระบวนการหมักในสภาวะความเร็วรอบใบพัด 300 400 และ 500 รอบต่อนาที พบว่ามีค่าความเข้มข้นของน้ำหนักเซลล์แห้งเป็น 1.1722 1.2550 และ 2.1222 กรัมต่อลิตร ค่าความเข้มข้มพอลิเมอร์เท่ากับ 0.2499 0.1111 และ 2.0272 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ทำให้ทราบว่า ความเร็วรอบใบพัดที่ 500 รอบต่อนาที มีค่าความเข้มข้มพอลิเมอร์และความเข้มข้นน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด โดยมีค่าร้อยละของพอลิเมอร์สูงถึงร้อยละ 95.5258 แสดงว่าที่สภาวะนี้เหมาะสมต่อการผลิตพอลิเมอร์ เนื่องจากการกำหนดให้ความเร็วรอบใบพัดมีค่าสูงนั้นจะส่งผลให้ภายในถังหมักมีอากาศในปริมาณมากซึ่งเซลล์สามารถนำอากาศเหล่านี้ไปใช้เพื่อการเจริญเติบโตได้เป็นอย่างดี และสำหรับการกำหนดสภาวะที่ค่าความเร็วรอบใบพัด 400 รอบต่อนาที นั้นมีผลทำให้ความเข้มข้นของน้ำหนักเซลล์แห้งและความเข้มข้นพอลิเมอร์มีค่าน้อยกว่าที่ความเร็วรอบใบพัดเป็น 500 รอบต่อนาที ซึ่งมีร้อยละของพอลิเมอร์วัดได้เพียงร้อยละ 8.6237

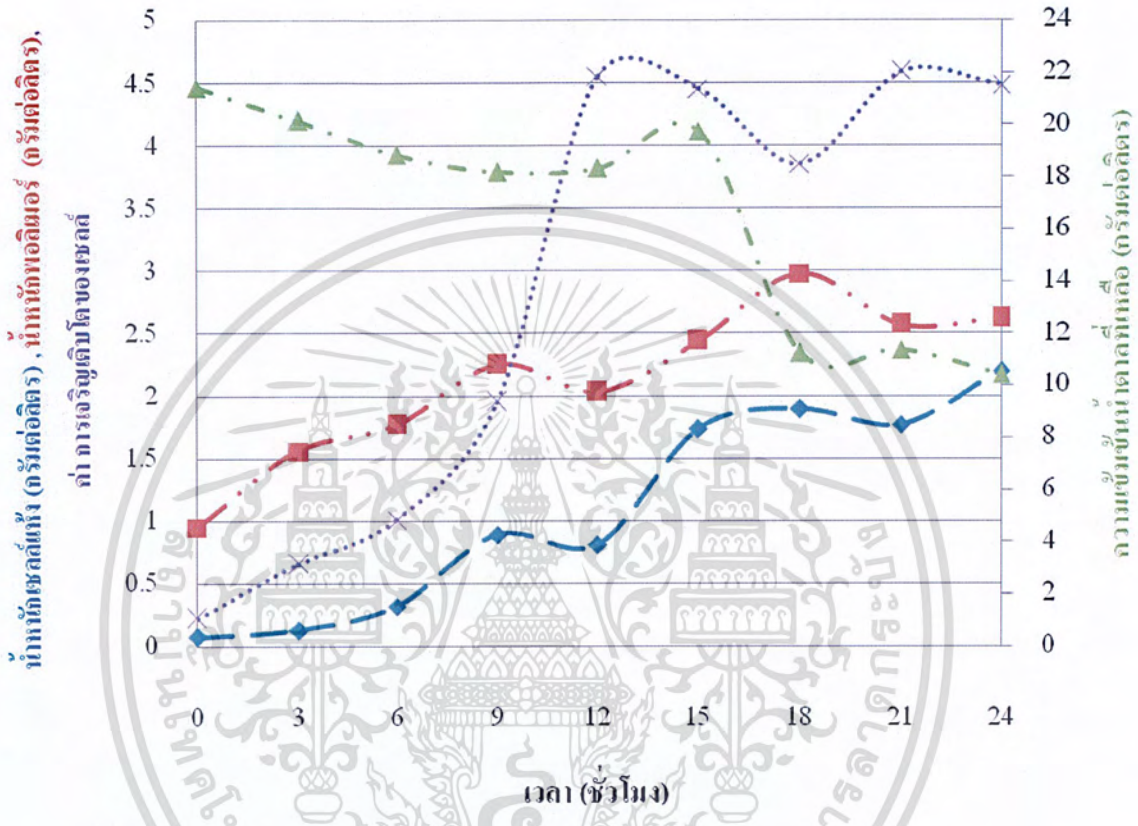
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 ข้อมูลเฉลี่ยจากการทดลองศึกษาสภาวะความเร็วรอบใบพัดคงที่ 500 รอบต่อนาทีต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Alcaligenes latus* TISTR 1403 ในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร โดยควบคุมอัตราการให้อากาศคงที่ 1 ลิตรต่อนาที ซึ่งนำไปวาดกราฟในรูปที่ 4.7

เวลา (ชั่วโมง)	อัตราการให้อากาศ 1 ลิตรต่อนาที และความเร็วรอบใบพัด 500 รอบต่อนาที			
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)	ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร
0	$0.0755^{c} \pm 0.0302$	$0.9511^{d} \pm 0.2593$	$21.4401^{a} \pm 0.2279$	$0.2243^{e} \pm 0.0327$
3	$0.1322^{de} \pm 0.0822$	$1.5600^{cd} \pm 0.5763$	$20.1799^{b} \pm 0.9559$	$0.6563^{de} \pm 0.0533$
6	$0.3233^{d} \pm 0.1457$	$1.7722^{bcd} \pm 0.3080$	$18.8865^{cd} \pm 0.8056$	$1.0133^{d} \pm 0.1127$
9	$0.8900^{c} \pm 0.0484$	$2.2577^{abc} \pm 0.2784$	$18.2067^{d} \pm 1.1887$	$1.9533^{c} \pm 0.1749$
12	$0.8111^{c} \pm 0.0998$	$2.0366^{bc} \pm 0.5166$	$18.3393^{d} \pm 0.7614$	$4.5570^{a} \pm 0.4978$
15	$1.7377^{b} \pm 0.1640$	$2.4444^{abc} \pm 0.2255$	$19.7653^{bc} \pm 0.4230$	$4.4566^{a} \pm 0.3878$
18	$1.8977^{b} \pm 0.0421$	$2.9783^{a} \pm 0.0483$	$11.2589^{e} \pm 0.2503$	$3.8566^{b} \pm 0.3763$
21	$1.7722^{b} \pm 0.2836$	$2.5733^{ab} \pm 0.8310$	$11.3750^{e} \pm 0.4288$	$4.5900^{a} \pm 0.3306$
24	$2.1977^{a} \pm 0.0333$	$2.6222^{ab} \pm 0.6848$	$10.4464^{e} \pm 0.6466$	$4.4866^{a} \pm 0.3927$

หมายเหตุ
- a, b, c, d, e แสดงถึงค่าที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
- ค่าที่แสดงคือค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.7 น้ำหนักเซลล์แห้ง (◆) น้ำหนักพอลิเมอร์ (■) ค่าการเจริญเติบโตของเซลล์ (✕) และความเข้มข้นน้ำตาลที่เหลือ(▲)โดยสัมพันธ์กับเวลา ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Alcaligenes latus* TISTR 1403 ในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร ที่ความเร็วใบพัด 500 รอบต่อนาที และ อัตราการให้อากาศ 1 ลิตรต่อนาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.9 ผลจากการเพาะเลี้ยง *Alcaligenes latus* TISTR 1403 ในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร โดยมีความเร็วใบพัดต่างๆ คือ 300, 400 และ 500 รอบต่อนาที ที่อัตราการให้อากาศ 1 ลิตรต่อนาที ข้อมูลที่ได้จะสัมพันธ์กับความเข้มข้นของพอลิเมอร์, น้ำหนักเซลล์แห้ง, ร้อยละของพอลิเมอร์, ปริมาณน้ำตาลที่ใช้ และ ค่าผลได้

ความเร็วรอบใบพัด (รอบต่อนาที)	ความเข้มข้นพอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)	ความเข้มข้นน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ร้อยละของพอลิเมอร์	ปริมาณน้ำตาลที่ใช้ (กรัมต่อลิตร)	$Y_{x/s}$ (กรัมต่อกรัม)	$Y_{p/s}$ (กรัมต่อกรัม)
300	0.2499	1.1722	21.3188	2.5867	0.4532	0.0966
400	0.1111	1.2550	8.8525	7.8431	0.1600	0.0141
500	2.0272	2.1222	95.5258	10.1811	0.2084	0.1991

หมายเหตุ ค่าความเข้มข้นที่ได้นำมาจากชั่วโมงที่ให้ค่าดีที่สุดลบกับชั่วโมงเริ่มต้น

ในสภาวะที่ความเร็วรอบใบพัด 500 รอบต่อนาที มีระดับการใช้น้ำตาลไป 10.1811 กรัมต่อลิตร ทำให้ได้ค่าผลได้ของเซลล์ต่อน้ำตาลเป็น 0.2084 กรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อกรัมน้ำตาล และค่าผลได้ของผลิตภัณฑ์ต่อน้ำตาลมีค่าเป็น 0.1991 กรัมพอลิเมอร์ต่อกรัมน้ำตาล แต่ในระดับความเร็วรอบใบพัด 300 รอบต่อนาที จะมีการใช้ปริมาณน้ำตาลไปเพียง 2.5867 กรัมต่อลิตร ถือว่าเป็นปริมาณการใช้น้ำตาลไปน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับค่าความเร็วรอบใบพัดที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ ทำให้ได้ค่าผลได้ของเซลล์ต่อน้ำตาลเป็น 0.4532

จากผลการศึกษาค่าผลได้ของเซลล์ต่อน้ำตาล และค่าผลได้ของผลิตภัณฑ์ต่อน้ำตาลเท่ากับ 0.0966 กรัมพอลิเมอร์ต่อกรัมน้ำตาล อาจเป็นไปได้ว่าที่ค่าความเร็วรอบใบพัด 300 รอบต่อนาที มีการใช้น้ำตาลในปริมาณน้อย โดยความเข้มข้นของน้ำหนักเซลล์แห้งจะแสดงถึงการเจริญเติบโตของเซลล์ที่ดี ซึ่งส่งผลให้ค่าผลได้ของเซลล์ต่อน้ำตาลมีค่าสูง และได้ความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์น้อย จึงส่งผลให้ค่าผลได้ของผลิตภัณฑ์ต่อน้ำตาลมีค่าน้อยเช่นเดียวกัน แต่ที่ระดับความเร็วรอบใบพัด 500 รอบต่อนาที มีการใช้น้ำตาลไปในปริมาณมาก โดยมีค่าความเข้มข้นของน้ำหนักเซลล์แห้งแสดงถึงการเจริญเติบโตของเซลล์ที่ดี ส่งผลให้ค่าผลได้ของเซลล์ต่อน้ำตาลมีค่าน้อยกว่าที่ความเร็วรอบใบพัด 300 รอบต่อนาที แต่ได้ความเข้มข้นของพอลิเมอร์มาก ทำให้ค่าผลได้ของผลิตภัณฑ์ต่อน้ำตาลมีค่ามากกว่า และจากผลการวิจัยของธงชัย (2006) ได้มีการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิต PHA ในถังหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขนาด 5 ลิตร โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิต PHA ของเชื้อ *Ralstonia eutropha* TISTR 1095 (*Alcaligenes eutropha*) โดยมีการเปลี่ยนแปลงความเร็วรอบใบพัด 100 200 และ 300 รอบต่อนาที พบว่า ที่ความเร็วรอบใบพัดที่ 100 รอบต่อนาที ให้การสะสม PHA ในเซลล์สูงสุดถึงร้อยละ 77.11 ของน้ำหนักเซลล์แห้ง อาจเป็นเพราะว่าคุณสมบัติเฉพาะตัวของจุลินทรีย์แต่ละชนิดจะมีความเหมาะสมที่ค่าความเร็วรอบใบพัดและอัตราการให้อากาศต่างกัน ทำให้ผลที่ได้ระหว่าง *Alcaligenes latus* และ *Alcaligenes eutropha* มีผลพอลิเมอร์และน้ำหนักเซลล์แห้งแตกต่างกัน และจากผลการทดลองครั้งนี้ พบว่าที่ค่าความเร็วรอบใบพัดจะส่งผลทำให้มีการผลิต PHB มากขึ้น สำหรับกระบวนการหมักที่เซลล์มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว ดังเช่นที่ความเร็วรอบใบพัด 300 รอบต่อนาที จะส่งผลให้แหล่งอาหารที่มีอยู่ถูกใช้ไปเพื่อการเจริญเติบโต ทำให้อาหารที่ใช้สำหรับการผลิตพอลิเมอร์ลดลง ปริมาณพอลิเมอร์ที่วัดได้จึงมีค่าน้อยกว่าที่ความเร็วรอบใบพัด 500 รอบต่อนาที แต่ในกระบวนการหมักที่มีอัตราการเจริญเติบโตช้า ดังเช่นที่ความเร็วรอบใบพัด 500 รอบต่อนาที มีการแบ่งแหล่งอาหารไปเพื่อการเจริญเติบโตของเซลล์และเพื่อการผลิตพอลิเมอร์ได้อย่างสมดุล ทำให้ปริมาณพอลิเมอร์ที่วัดได้จึงมีค่าสูงกว่าที่ความเร็วรอบใบพัดที่ 300 รอบต่อนาทีตามที่ Philip (2009) ได้เคยรายงานไว้

ในการศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อผลิตพอลิเมอร์ให้ได้ปริมาณมากที่สุด จึงให้ความสำคัญที่ความเร็วรอบใบพัด 500 รอบต่อนาที เนื่องจากเป็นสภาวะที่ให้ค่าผลได้ของพอลิเมอร์ต่อน้ำตาลมากกว่าที่ค่าความเร็วรอบใบพัด 300 และ 400 รอบต่อนาที และยังให้พอลิเมอร์มากที่สุดถึงร้อยละ 95.5258

ผลของการทดลองค่าพอลิเมอร์ที่ได้จะมีค่ามากกว่าน้ำหนักเซลล์แห้งเนื่องจากในกระบวนการสกัดพอลิเมอร์จะใช้วิธีตั้งพอลิเมอร์ทิ้งไว้ให้ตัวทำละลายระเหยออกไป แต่การทำให้เซลล์แห้งจะใช้วิธีการทำแห้งแบบใช้ความเย็น (Freeze dry) และ อบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ทำให้น้ำเกิดการระเหยไปได้ดีกว่า มีผลทำให้น้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าน้อยกว่าพอลิเมอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลวิจัย

จากการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของอัตราการให้อากาศและความเร็วรอบใบพัดต่อการเจริญเติบโตของเซลล์และการผลิตพอลิเมอร์ ในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อมิเนอรอลซอลโดยทำการควบคุมให้มีสภาวะค่าออกซิเจนที่ละลาย (Dissolved oxygen) มากกว่าร้อยละ 30 ค่าพีเอช เท่ากับ 7 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ทำการเก็บตัวอย่างทุก 3 ชั่วโมง นำไปวิเคราะห์หาน้ำหนักเซลล์แห้ง พอลิเมอร์ ความเข้มข้นน้ำตาล ค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร เพื่อวัดปริมาณค่าผลได้ของพอลิเมอร์

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของอัตราการให้อากาศต่อการผลิตพอลิเมอร์พบว่า ที่อัตราการให้อากาศ 1 ลิตรต่อนาทีจะมีความเข้มข้นพอลิเมอร์สูงสุดถึง 2.0272 กรัมต่อลิตร คิดเป็นปริมาณพอลิเมอร์ภายในเซลล์สูงถึงร้อยละ 95.5258 ได้ความเข้มข้นน้ำหนักเซลล์แห้ง 2.1222 กรัมต่อลิตร และมีระดับการใช้น้ำตาลไป 10.1811 กรัมต่อลิตร ซึ่งคิดเป็นค่าผลได้ของเซลล์ต่อน้ำตาลเป็น 0.2084 กรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อกรัมน้ำตาล และค่าผลได้ของผลิตภัณฑ์ต่อน้ำตาลมีค่าเป็น 0.1991 กรัมพอลิเมอร์ต่อกรัมน้ำตาล

การศึกษาสภาวะความเร็วรอบใบพัดที่เหมาะสมต่อการผลิตพอลิเมอร์ พบว่า ที่ความเร็วรอบใบพัด 500 รอบต่อนาทีมีความเหมาะสมที่สุด โดยได้ความเข้มข้นน้ำหนักเซลล์แห้ง 2.1222 กรัมต่อลิตร มีความเข้มข้นพอลิเมอร์ 2.0272 กรัมต่อลิตร มีปริมาณพอลิเมอร์สูงถึงร้อยละ 95.5258 มีการใช้น้ำตาลไป 10 .1811 กรัมต่อลิตร ทำให้ได้ค่าผลได้ของเซลล์ต่อน้ำตาลเป็น 0.2084 กรัมน้ำหนักเซลล์แห้งต่อกรัมน้ำตาล และค่าผลได้ของผลิตภัณฑ์ต่อน้ำตาลมีค่าเป็น 0.1991 กรัมพอลิเมอร์ต่อกรัมน้ำตาล

สภาวะอัตราการให้อากาศ 1 ลิตรต่อนาที และความเร็วรอบใบพัด 500 รอบต่อนาที เหมาะสมต่อการผลิตพอลิเมอร์ ในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตรด้วยเชื้อ *Alcaligenes latus* TISTR 1403

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาหาสภาวะอัตราการให้อากาศและความเร็วรอบใบพัดที่เหมาะสมต่อการผลิตพอลิเมอร์ให้ได้สูงสุด ในระดับถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร เมื่อทราบสภาวะที่เหมาะสมแล้ว ในงานทดลองต่อไปควรจะนำสภาวะที่เหมาะสมนี้ไปผลิตพอลิเมอร์ให้ได้ปริมาณมาก และนำพอลิเมอร์นี้ไปศึกษาถึงสภาวะแวดล้อมรวมถึงระยะเวลาในการย่อยสลายพอลิเมอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

คันธง วงศ์วัฒนา, เดชา ศิลป์ศร.2543. การคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีความสามารถย่อยสลายพอลิไฮดรอกซี-บิวทาเรต (Polyhydroxybuterate, PHB). วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

จารุณี เมืองพร, จีราภรณ์ ใจฉกรรจ์ และวาสนา ปีติจะ.2545. การหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการผลิตพอลิไฮดรอกซีแอลคาโนเอต (Polyhydroxyalkanoate, PHA) จากแบคทีเรียที่ย่อยสลายพอลิไฮดรอกซีบิวทาเรต (Polyhydroxybutyrate, PHB) ได้.วิทยานิพนธ์ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ธงชัย วงศ์สุวรรณ. 2549. การผลิตพอลิไฮดรอกซีแอลคาโนเอตโดยใช้กรดคาร์บอกซิลิกที่ได้จากการหมักเส้นใยปาล์ม. วิทยานิพนธ์ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

รมณีย์ หวังดีธรรม. 2549. ไบโอพลาสติกเทคโนโลยีที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย.

รองศาสตราจารย์พรเทพ ถนนแก้ว และตริภรณ์ จันทน์เทศ. 2553. พอลิไฮดรอกซีบิวทาเรต พลาสติกชีวภาพที่ย่อยสลายได้ง่าย. วารสารศูนย์บริการวิชาการ.ปีที่ 18. มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

Ashby RD, Shi F, and Gross AR 1997. Use of Poly(ethylene glycol) to control the end group structure and molecular weight of Poly(3-hydroxybutyrate) formed by *Alcaligenes latus* DSM 1122. Tetrahedron. 53(45). 15209-15223.

El-sayed AA, Hafez AMA, Hemmat, Abdelhady M and Khodair TA. 2009. Production of Polyhydroxybutyrate (PHB) using batch and two-stage batch culture strategies. Australian Journal of Basic and Applied Sciences. 3(2). 617-627

Grothea E, Moo-Younga M and Chisti Y. 1999. Fermentation optimization for the production of poly(β-hydroxybutyric acid) microbial thermoplastic. Enzyme and Microbial Technology. 25. 132–141

Kim BS, Lee SC, Lee SY, Chang HN, Chang YK, Woo SI. Production of poly(3-hydroxybutyric acid) by fed-batch culture of Alcaligenes eutrophus with glucose concentration control. Biotechnol Bioeng 1994;43:892–8.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Law,J.H. and Slepecky, R.A. (1961). Assay of poly-β-hydroxybutyric acid. Journal of Bacteriology.82, 33-36.

Nair IC, Pradeep S, Ajayan MS, Jayachandran K. and Shashidhar S. 2008. Accumulation of intracellular Polyhydroxybutyrate in *Alcaligenes* sp. d_2 under phenol stress. Appl Biochem Biotechnol. 159. 545–552

Philip, S.; Sengupta, S.; Keshavarz, T.; Roy, I. 2009. Effect of Impeller Speed and pH on the Production of Poly(3-hydroxybutyrate) Using *Bacillus cereus* SPV. 10, 691-699

Wang F and Lee SY. 1997. Poly(3-Hydroxybutyrate) production with high productivity and high polymer content by a Fed-Batch culture of *Alcaligenes latus* under nitrogen Limitation. Applied And Environmental Micrology. 3703–3706

[Online]. Avalible : http://www.landlearn.net.au/newsletter/2004term4/images/2formula.gif (14/08/2553)

[Online]. Avalible : http://home.kku.ac.th/uac/journal/year_18_1_2553/4.pdf (14/08/2553)

[Online]. Avalible : http://www.im.ac.cn/sklmr/ketizu/XiangH/PHA.jpg (14/08/2553)

[Online]. Avalible : http://www.nrc-cnrc.gc.ca/eng/education/innovations/spotlight/maple-sap.html (14/08/53)

[Online].Avalible:http://www.nesdb.go.th/Portals/0/tasks/dev_ability/Profile/industry/%E0%B8%AD%E0%B8%B8%E0%B8%95%E0%B8%AA%E0%B8%B2%E0%B8%AB%E0%B8%81%E0%B8%A3%E0%B8%A3%E0%B8%A1%E0%B9%84%E0%B8%9A%E0%B9%82%E0%B8%AD%E0%B8%9E%E0%B8%A5%E0%B8%B2%E0%B8%AA%E0%B8%95%E0%B8%B4%E0%B8%81.p (14/08/2553)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

ข้อมูลจากการทดลอง

ตารางที่ ก.1 ข้อมูลเบื้องต้นจากการทดลองศึกษาสภาวะอัตราการให้อากาศที่ 1 ลิตรต่อนาที ต่อเจริญเติบโตของเชื้อ *Alcaligenes latus* TISTR 1403 ในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร โดยควบคุมความเร็วใบพัดคงที่ 500 รอบต่อนาที

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร	ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)
0	0.2080	21.1914	0.0533	0.6633
	0.2620	21.6391	0.1100	1.1667
	0.2030	21.4899	0.0633	1.0233
3	0.6170	21.0422	0.0933	0.9067
	0.7170	20.3457	0.0767	1.7767
	0.6350	19.1519	0.2267	1.9967
6	0.9320	19.3011	0.1567	2.0067
	0.9660	19.4006	0.3867	1.8867
	1.1420	17.9580	0.4267	1.4233
9	1.8950	17.1620	0.9367	1.9833
	2.1500	19.5001	0.8400	2.2500
	1.8150	17.9580	0.8933	2.5400
12	4.2980	18.7539	0.7000	1.5200
	5.1310	18.8036	0.8400	2.5533
	4.2420	17.4605	0.8933	2.0366
15	4.1800	19.4503	1.8533	2.3600
	4.9000	20.2462	1.5500	2.7000
	4.2900	19.5996	1.8100	2.2733

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.1 ข้อมูลเบื้องต้นจากการทดลองศึกษาสภาวะอัตราการให้อากาศที่ 1 ลิตรต่อนาที ต่อเจริญเติบโตของเชื้อ *Alcaligenes latus* TISTR 1403 ในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร โดยควบคุมความเร็วใบพัดคงที่ 500 รอบต่อนาที (ต่อ)

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร	ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)
18	3.7300	10.9937	1.9433	2.9300
	4.2800	11.4911	1.8600	3.0267
	3.5600	11.2921	1.8900	2.9783
21	4.5200	11.2921	1.9667	1.6400
	4.9500	11.8393	1.9033	3.2333
	4.3000	10.9937	1.4467	2.8467
24	4.2500	10.0983	2.2100	3.3967
	4.9400	11.1926	2.1600	2.3733
	4.2700	10.0485	2.2233	2.0967

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.2 ข้อมูลเบื้องต้นจากการทดลองศึกษาสภาวะอัตราการให้อากาศที่ 2 ลิตรต่อนาที ต่อเจริญเติบโตของเชื้อ *Alcaligenes latus* TISTR 1403 ในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร โดยควบคุมความเร็วใบพัดคงที่ 500 รอบต่อนาที

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร	ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)
0	0.1290	26.4146	0.0833	0.3800
	0.1840	27.5588	0.0667	0.4833
	0.1440	28.3547	0.1400	0.4367
3	0.5370	22.7832	0.1833	0.4500
	0.6020	23.5294	0.1800	0.4533
	0.5580	22.6837	0.0867	0.4333
6	0.7030	20.7934	0.0767	0.3900
	0.7950	21.4152	0.0500	0.4233
	0.6970	17.8585	0.0633	0.4200
9	0.9440	20.1467	0.5100	0.4467
	1.0850	20.8929	0.3133	0.4100
	0.9690	22.3355	0.3533	0.4600
12	1.4700	20.0970	0.7600	0.4167
	1.7950	20.0473	0.8933	0.4400
	1.6050	19.5001	0.9667	0.4833
15	3.4050	15.4707	1.6300	0.4533
	3.8350	16.7143	1.9100	0.4900
	3.3950	16.9631	1.4600	0.4733
18	3.0700	13.5307	1.8967	0.5000
	4.1500	14.1276	1.7800	0.5033
	3.1100	13.8291	1.9133	0.4867
21	3.7750	16.3164	1.6567	0.5267
	3.3150	16.2169	1.3533	0.4967
	3.9800	14.0281	1.5933	0.4367

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.3 ข้อมูลเบื้องต้นจากการทดลองศึกษาสภาวะอัตราการให้อากาศที่ 4 ลิตรต่อนาที ต่อเจริญเติบโตของเชื้อ *Alcaligenes latus* TISTR 1403 ในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร โดยควบคุมความเร็วใบพัดคงที่ 500 รอบต่อนาที

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร	ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)
0	0.1740	26.4146	0.0700	0.5567
	0.2330	27.5588	0.0720	0.5567
	0.2320	28.3547	0.0833	0.5700
3	0.6250	22.6838	0.2100	0.4833
	0.7020	24.6736	0.2300	0.5333
	0.6280	22.7832	0.1400	0.3900
6	1.0150	20.8929	0.4067	0.5300
	1.0200	19.7488	0.4167	0.5367
	0.8400	22.4848	0.4267	0.5167
9	1.1800	16.7641	0.6900	0.5800
	1.7600	16.2169	0.7267	0.6700
	1.2050	16.6149	0.5800	0.5367
12	3.3550	15.6200	1.6600	0.5867
	3.6950	15.6200	1.7133	0.6500
	3.2000	13.1824	1.8333	0.5967
15	2.8450	14.8738	1.6833	0.5900
	3.1800	12.6850	1.8567	0.6600
	2.7950	13.4312	1.7667	0.6100
18	3.1900	13.9286	1.4300	0.6967
	3.6650	14.0779	1.6666	0.8767
	3.1850	13.9784	1.4267	0.6433
21	3.8550	13.5307	1.6700	1.1633
	4.3500	13.7794	1.8600	1.1467
	3.9700	15.7194	1.6833	1.1933

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.3 ข้อมูลเบื้องต้นจากการทดลองศึกษาสภาวะอัตราการให้อากาศที่ 4 ลิตรต่อนาที ต่อเจริญเติบโตของเชื้อ *Alcaligenes latus* TISTR 1403 ในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร โดยควบคุมความเร็วใบพัดคงที่ 500 รอบต่อนาที (ต่อ)

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร	ความเข้มข้นน้ำตาลที่เหลือ (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)
24	3.9900	11.4414	1.6000	0.8200
	4.0300	10.5957	1.1033	0.8600
	3.4300	10.2972	1.6167	0.8400
27	4.5120	13.7296	1.9933	0.6433
	5.1360	15.8687	1.5700	0.5900
	4.5120	14.9733	1.5300	0.5967

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.4 ข้อมูลเบื้องต้นจากการทดลองศึกษาสภาวะอัตราการให้อากาศที่ 6 ลิตรต่อนาที ต่อเจริญเติบโตของเชื้อ *Alcaligenes latus* TISTR 1403 ในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร โดยควบคุมความเร็วใบพัดคงที่ 500 รอบต่อนาที

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร	ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)
0	0.1850	18.5052	0.0700	0.7700
	0.2090	18.9529	0.0900	0.9233
	0.1840	20.4452	0.1267	1.0800
3	0.6690	17.6098	0.2533	0.9133
	0.7440	17.3113	0.2000	1.4133
	0.7310	16.5154	0.2733	0.8533
6	1.2600	14.5753	0.6000	1.3667
	1.4600	14.7245	0.6433	2.4833
	1.2400	17.6098	0.5967	1.3033
9	2.9700	13.4809	1.4700	1.5800
	3.3250	12.8840	1.3900	1.9500
	2.9300	14.2271	1.3367	1.4667
12	3.3550	13.9784	1.5633	1.8100
	3.9050	17.6098	1.7133	1.9900
	3.2900	13.0332	1.5833	1.3767
15	3.2750	14.4758	1.7233	1.9300
	3.8950	13.8291	1.5167	2.8867
	3.3550	14.8240	1.7633	2.3800
18	3.5000	13.1824	1.7567	2.7700
	4.0600	13.5804	1.7400	1.4533
	3.4400	13.7296	1.7500	1.3933
21	3.5200	13.3814	1.3333	1.4967
	4.1700	14.2768	1.7333	2.0933
	3.4000	13.6301	1.9467	1.5833
24	3.4900	13.0332	1.8700	1.8067
	4.2200	15.0728	1.9600	1.5400
	3.6600	12.9337	1.9167	1.3000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.5 ข้อมูลเบื้องต้นจากการทดลองศึกษาสภาวะความเร็วรอบใบพัดที่ 300 รอบต่อนาที ต่อเจริญเติบโตของเชื้อ *Alcaligenes latus* TISTR 1403 ในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร โดยควบคุมอัตราการให้อากาศที่ 1 ลิตรต่อนาที

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร	ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)
0	0.2440	17.4605	0.1233	0.6400
	0.2880	17.5600	0.1433	0.6133
	0.2520	31.1902	0.0933	0.6633
3	0.4270	17.5103	0.1933	0.6033
	0.3980	20.8929	0.1633	0.7200
	0.4150	17.7590	0.2067	0.5367
6	0.6730	17.5103	0.2433	0.7733
	0.7130	20.3955	0.2300	0.7467
	0.6780	21.7386	0.2333	0.4533
9	0.7890	21.3406	0.2967	0.6533
	0.7840	16.9133	0.2733	0.5100
	0.7830	20.8432	0.2633	0.5000
12	0.9800	16.1174	0.3267	0.6533
	0.9680	18.9031	0.3133	0.6100
	0.9600	20.8432	0.2867	0.3033
15	1.0750	17.8087	0.2800	0.6000
	1.2050	19.6493	0.2733	1.2733
	1.1150	20.9924	0.2967	0.7933
18	1.7500	17.7092	0.6233	0.3800
	1.7800	30.2947	0.5933	0.6867
	1.8350	20.5945	0.6867	0.8133
21	3.0950	18.6047	0.9000	0.6133
	3.0450	13.8291	0.9200	0.7000
	3.1550	12.4363	0.9167	1.0100

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.5 ข้อมูลเบื้องต้นจากการทดลองศึกษาสภาวะความเร็วรอบใบพัดที่ 300 รอบต่อนาที ต่อเจริญเติบโตของเชื้อ *Alcaligenes latus* TISTR 1403 ในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร โดยควบคุมอัตราการให้อากาศที่ 1 ลิตรต่อนาที (ต่อ)

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร	ความเข้มข้นน้ำตาลที่เหลือ (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)
24	3.0600	17.2615	1.0133	1.0867
	2.9800	16.6148	1.0633	0.6567
	3.0300	13.1327	1.0400	0.8300
27	2.9300	14.7743	1.2800	0.9533
	3.1350	20.5945	1.2367	0.9967
	2.9950	12.2870	1.3600	0.6367

ตารางที่ ก.6 ข้อมูลเบื้องต้นจากการทดลองศึกษาสภาวะความเร็วรอบใบพัดที่ 400 รอบต่อนาที ต่อเจริญเติบโตของเชื้อ *Alcaligenes latus* TISTR 1403 ในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร โดยควบคุมอัตราการให้อากาศที่ 1 ลิตรต่อนาที

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร	ความเข้มข้นน้ำตาลที่เหลือ (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)
0	0.1670	19.5498	0.1433	1.0500
	0.1730	22.8330	0.1100	0.7567
	0.1770	18.3559	0.1433	0.7533
3	0.6030	23.1315	0.1100	0.7533
	0.5980	19.7488	0.1367	0.7533
	0.5980	27.0116	0.1567	0.8133
6	1.1660	19.1518	0.2167	0.9133
	1.1800	20.7437	0.4067	0.8533
	1.2200	21.8878	0.4967	0.8133

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.6 ข้อมูลเบื้องต้นจากการทดลองศึกษาสภาวะความเร็วรอบใบพัดที่ 400 รอบต่อนาที ต่อเจริญเติบโตของเชื้อ *Alcaligenes latus* TISTR 1403 ในถังปฏิกรณ์ขนาด 5 ลิตร โดยควบคุมอัตราการให้อากาศที่ 1 ลิตรต่อนาที (ต่อ)

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร	ความเข้มข้นน้ำตาลที่เหลือ (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)
9	2.3500	18.4057	0.8933	0.8300
	2.3650	16.7143	0.9600	0.9367
	2.4000	18.2067	0.9533	0.7600
12	3.0350	16.2666	1.3267	0.8833
	3.0400	18.6047	0.9933	0.8900
	3.0400	16.0677	1.4667	0.7733
15	2.8350	14.0779	1.2433	0.8933
	2.8100	15.2717	1.2433	0.7833
	2.8550	16.8636	1.3900	0.8200
18	2.5650	11.8891	1.3467	0.7633
	2.7250	12.4363	0.8967	0.7633
	2.7950	12.2870	0.9500	0.8400
21	2.5100	13.4809	1.5367	1.0467
	2.4700	13.6799	1.4967	0.8833
	2.4750	10.7449	1.1733	0.8133
24	2.4250	12.7347	1.2633	1.0367
	2.4600	11.7896	1.1133	0.9733
	2.5500	12.6850	1.2337	0.8833
27	2.5600	17.5600	1.5467	0.9633
	2.7350	11.7398	1.4667	1.0867
	2.7650	11.1429	1.1033	0.8033

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

ข้อมูลที่วิเคราะห์ได้ทางสถิติ

กระบวนการหมักที่อัตราการให้อากาศ 1 ลิตรต่อนาที และความเร็วรอบใบพัด 500 รอบต่อนาที

Between-Subjects Factors

		N
ชั่วโมง	0	3
	3	3
	6	3
	9	3
	12	3
	15	3
	18	3
	21	3
	24	3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Descriptive Statistics

	ชั่วโมง	Mean	Std. Deviation	N
ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร	0	.224333	.0327159	3
	3	.656333	.0533042	3
	6	1.013333	.1127179	3
	9	1.953333	.1749524	3
	12	4.557000	.4978865	3
	15	4.456667	.3878574	3
	18	3.856667	.3763420	3
	21	4.590000	.3306055	3
	24	4.486667	.3927255	3
	Total	2.866037	1.8186015	27
ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	0	21.440133	.2279613	3
	3	20.179933	.9559903	3
	6	18.886567	.8056998	3
	9	18.206700	1.1887248	3
	12	18.339333	.7614976	3
	15	19.765367	.4230522	3
	18	11.258967	.2503499	3
	21	11.375033	.4288570	3
	24	10.446467	.6466500	3
	Total	16.655389	4.2116677	27
น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	0	.075533	.0302649	3
	3	.132233	.0822305	3
	6	.323367	.1457166	3
	9	.890000	.0484344	3
	12	.811100	.0998380	3
	15	1.737767	.1640456	3
	18	1.897767	.0421896	3
	21	1.772233	.2836968	3
	24	2.197767	.0333761	3
	Total	1.093085	.7978991	27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Descriptive Statistics (ต่อ)

	ชั่วโมง	Mean	Std. Deviation	N
พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)	0	.951100	.2593502	3
	3	1.560033	.5763969	3
	6	1.772233	.3080842	3
	9	2.257767	.2784313	3
	12	2.036633	.5166500	3
	15	2.444433	.2255326	3
	18	2.978333	.0483500	3
	21	2.573333	.8310826	3
	24	2.622233	.6848181	3
	Total	2.132900	.7200026	27

Multivariate Tests(c)

Effect		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
Intercept	Pillai's Trace	.999	5298.720(a)	4.000	15.000	.000
	Wilks' Lambda	.001	5298.720(a)	4.000	15.000	.000
	Hotelling's Trace	1412.992	5298.720(a)	4.000	15.000	.000
	Roy's Largest Root	1412.992	5298.720(a)	4.000	15.000	.000
ชั่วโมง	Pillai's Trace	3.057	7.292	32.000	72.000	.000
	Wilks' Lambda	.000	27.043	32.000	56.912	.000
	Hotelling's Trace	193.520	81.641	32.000	54.000	.000
	Roy's Largest Root	171.659	386.233(b)	8.000	18.000	.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Tests of Between-Subjects Effects

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร	84.289(a)	8	10.536	111.465	.000
	ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	452.288(b)	8	56.536	114.299	.000
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	16.250(c)	8	2.031	120.655	.000
	พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)	9.375(d)	8	1.172	5.140	.002
Intercept	ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร	221.783	1	221.783	2346.308	.000
	ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	7489.853	1	7489.853	15142.220	.000
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	32.261	1	32.261	1916.299	.000
	พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)	122.830	1	122.830	538.797	.000
ชั่วโมง	ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร	84.289	8	10.536	111.465	.000
	ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	452.288	8	56.536	114.299	.000
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	16.250	8	2.031	120.655	.000
	พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)	9.375	8	1.172	5.140	.002
Error	ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร	1.701	18	.095		
	ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	8.903	18	.495		
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	.303	18	.017		
	พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)	4.103	18	.228		
Total	ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร	307.773	27			
	ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	7951.045	27			
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	48.813	27			
	พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)	136.309	27			
Corrected Total	ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร	85.990	26			
	ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	461.192	26			
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	16.553	26			
	พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)	13.478	26			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

อัตราการให้อากาศ 1 ลิตรต่อนาที และความเร็วรอบใบพัด 500 รอบต่อนาที

Homogeneous subsets

ค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร

Duncan

ชั่วโมง	N	Subset				
		1	2	3	4	5
0	3	.224333				
3	3	.656333	.656333			
6	3		1.013333			
9	3			1.953333		
18	3				3.856667	
15	3					4.456667
24	3					4.486667
12	3					4.557000
21	3					4.590000
Sig.		.102	.172	1.000	1.000	.632

ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)

Duncan

ชั่วโมง	N	Subset				
		1	2	3	4	5
24	3	10.446467				
18	3	11.258967				
21	3	11.375033				
9	3		18.206700			
12	3		18.339333			
6	3		18.886567	18.886567		
15	3			19.765367	19.765367	
3	3				20.179933	
0	3					21.440133
Sig.		.142	.277	.143	.480	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)

Duncan

ชั่วโมง	N	Subset				
		2	3	4	5	1
0	3	.075533				
3	3	.132233	.132233			
6	3		.323367			
12	3			.811100		
9	3			.890000		
15	3				1.737767	
21	3				1.772233	
18	3				1.897767	
24	3					2.197767
Sig.		.599	.088	.466	.169	1.000

พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)

Duncan

ชั่วโมง	N	Subset			
		1	2	3	4
0	3	.951100			
3	3	1.560033	1.560033		
6	3	1.772233	1.772233	1.772233	
12	3		2.036633	2.036633	
9	3		2.257767	2.257767	2.257767
15	3		2.444433	2.444433	2.444433
21	3			2.573333	2.573333
24	3			2.622233	2.622233
18	3				2.978333
Sig.		.060	.054	.067	.112

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระบวนการหมักที่อัตราการให้อากาศ 2 ลิตรต่อนาที และความเร็วรอบใบพัด 500 รอบต่อนาที

Between-Subjects Factors

		N
ชั่วโมง	0	3
	3	3
	6	3
	9	3
	12	3
	15	3
	18	3
	21	3

Descriptive Statistics

	ชั่วโมง	Mean	Std. Deviation	N
ค่าการดูดกลืนแสง	0	.152333	.0284312	3
	3	.565667	.0331713	3
	6	.731667	.0549303	3
	9	.999333	.0752352	3
	12	1.623333	.1632738	3
	15	3.545000	.2511971	3
	18	3.443333	.6123180	3
	21	3.690000	.3405510	3
	Total	1.843833	1.4332298	24

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Descriptive Statistics (ต่อ)

	ชั่วโมง	Mean	Std. Deviation	N
ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	0	27.442700	.9752468	3
	3	22.998767	.4622271	3
	6	20.022367	1.8995784	3
	9	21.125033	1.1127110	3
	12	19.881467	.3312068	3
	15	16.382700	.7995520	3
	18	13.829133	.2984500	3
	21	15.520467	1.2933846	3
	Total	19.650329	4.2976324	24
น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	0	.096667	.0384347	3
	3	.150000	.0548442	3
	6	.063333	.0133500	3
	9	.392200	.1039598	3
	12	.873333	.1047866	3
	15	1.666667	.2272297	3
	18	1.863333	.0726445	3
	21	1.534433	.1600370	3
	Total	.829996	.7329066	24
พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)	0	.433333	.0517322	3
	3	.445533	.0107221	3
	6	.411100	.0183475	3
	9	.438900	.0258965	3
	12	.446667	.0337968	3
	15	.472200	.0183747	3
	18	.496667	.0087877	3
	21	.486700	.0458258	3
	Total	.453887	.0375538	24

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Multivariate Tests(c)

Effect		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
Intercept	Pillai's Trace	.999	2506.471(a)	4.000	13.000	.000
	Wilks' Lambda	.001	2506.471(a)	4.000	13.000	.000
	Hotelling's Trace	771.222	2506.471(a)	4.000	13.000	.000
	Roy's Largest Root	771.222	2506.471(a)	4.000	13.000	.000
ชั่วโมง	Pillai's Trace	2.477	3.716	28.000	64.000	.000
	Wilks' Lambda	.001	11.130	28.000	48.294	.000
	Hotelling's Trace	97.187	39.916	28.000	46.000	.000
	Roy's Largest Root	90.453	206.749(b)	7.000	16.000	.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Tests of Between-Subjects Effects

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร	46.063(a)	7	6.580	89.037	.000
	ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	407.757(b)	7	58.251	54.682	.000
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	12.137(c)	7	1.734	127.282	.000
	พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)	.018(d)	7	.003	2.686	.048
Intercept	ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร	81.593	1	81.593	1104.005	.000
	ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	9267.250	1	9267.250	8699.416	.000
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	16.533	1	16.533	1213.757	.000
	พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)	4.944	1	4.944	5305.417	.000
ชั่วโมง	ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร	46.063	7	6.580	89.037	.000
	ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	407.757	7	58.251	54.682	.000
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	12.137	7	1.734	127.282	.000
	พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)	.018	7	.003	2.686	.048
Error	ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร	1.183	16	.074		
	ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	17.044	16	1.065		
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	.218	16	.014		
	พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)	.015	16	.001		
Total	ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร	128.839	24			
	ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	9692.052	24			
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	28.888	24			
	พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)	4.977	24			
Corrected Total	ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร	47.245	23			
	ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	424.802	23			
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	12.354	23			
	พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)	.032	23			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

อัตราการให้อากาศ 2 ลิตรต่อนาที และความเร็วรอบใบพัด 500 รอบต่อนาที

Homogeneous subsets

ค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร

Duncan

ชั่วโมง	N	Subset			
		1	2	3	4
0	3	.152333			
3	3	.565667	.565667		
6	3		.731667		
9	3		.999333		
12	3			1.623333	
18	3				3.443333
15	3				3.545000
21	3				3.690000
Sig.		.081	.081	1.000	.308

ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)

Duncan

ชั่วโมง	N	Subset				
		1	2	3	4	5
18	3	13.829133				
21	3	15.520467	15.520467			
15	3		16.382700			
12	3			19.881467		
6	3			20.022367		
9	3			21.125033		
3	3				22.998767	
0	3					27.442700
Sig.		.062	.321	.180	1.000	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)

Duncan

ชั่วโมง	N	Subset				
		1	2	3	4	5
6	3	.063333				
0	3	.096667				
3	3	.150000				
9	3		.392200			
12	3			.873333		
21	3				1.534433	
15	3				1.666667	1.666667
18	3					1.863333
Sig.		.402	1.000	1.000	.184	.056

พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)

Duncan

ชั่วโมง	N	Subset		
		1	2	3
6	3	.411100		
0	3	.433333	.433333	
9	3	.438900	.438900	.438900
3	3	.445533	.445533	.445533
12	3	.446667	.446667	.446667
15	3		.472200	.472200
21	3		.486700	.486700
18	3			.496667
Sig.		.215	.073	.054

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระบวนการหมักที่อัตราการให้อากาศ 4 ลิตรต่อนาที และความเร็วรอบใบพัด 500 รอบต่อนาที

Between-Subjects Factors

		N
ชั่วโมง	0	3
	3	3
	6	3
	9	3
	12	3
	15	3
	18	3
	21	3
	24	3
	27	3

Descriptive Statistics

	ชั่วโมง	Mean	Std. Deviation	N
ค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร	0	.213000	.0337787	3
	3	.651667	.0436157	3
	6	.958333	.1025102	3
	9	1.381667	.3278846	3
	12	3.416667	.2531962	3
	15	2.940000	.2093442	3
	18	3.346667	.2756961	3
	21	4.058333	.2590528	3
	24	3.816667	.3354599	3
	27	4.720000	.3602666	3
	Total	2.550300	1.5591632	30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Descriptive Statistics (ต่อ)

	ชั่วโมง	Mean	Std. Deviation	N
ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	0	27.442700	.9752468	3
	3	23.380200	1.1212193	3
	6	21.042167	1.3740940	3
	9	16.531967	.2828700	3
	12	14.807467	1.4073490	3
	15	13.663333	1.1127110	3
	18	13.994967	.0760162	3
	21	14.343167	1.1983224	3
	24	10.778100	.5935071	3
	27	14.857200	1.0742656	3
	Total	17.084127	5.0699211	30
น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	0	.075100	.0071715	3
	3	.193333	.0472582	3
	6	.416700	.0100000	3
	9	.665567	.0763411	3
	12	1.735533	.0887635	3
	15	1.768900	.0867209	3
	18	1.507800	.1376213	3
	21	1.737767	.1060658	3
	24	1.440000	.2917103	3
	27	1.697767	.2567196	3
	Total	1.123847	.6865390	30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Descriptive Statistics (ต่อ)

พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)	0	.561133	.0076788	3
	3	.468867	.0727321	3
	6	.527800	.0101799	3
	9	.595567	.0679997	3
	12	.611133	.0340289	3
	15	.620000	.0360555	3
	18	.738900	.1222887	3
	21	1.167767	.0236189	3
	24	.840000	.0200000	3
	27	.610000	.0290326	3
	Total	.674117	.2004501	30

Multivariate Tests(c)

Effect		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
Intercept	Pillai's Trace	.999	3399.767(a)	4.000	17.000	.000
	Wilks' Lambda	.001	3399.767(a)	4.000	17.000	.000
	Hotelling's Trace	799.945	3399.767(a)	4.000	17.000	.000
	Roy's Largest Root	799.945	3399.767(a)	4.000	17.000	.000
ชั่วโมง	Pillai's Trace	3.477	14.779	36.000	80.000	.000
	Wilks' Lambda	.000	31.400	36.000	65.444	.000
	Hotelling's Trace	154.589	66.559	36.000	62.000	.000
	Roy's Largest Root	128.452	285.448(b)	9.000	20.000	.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Tests of Between-Subjects Effects

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร	69.270(a)	9	7.697	125.264	.000
	ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	724.732(b)	9	80.526	77.854	.000
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	13.259(c)	9	1.473	71.935	.000
	พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)	1.107(d)	9	.123	41.981	.000
Intercept	ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร	195.121	1	195.121	3175.613	.000
	ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	8756.022	1	8756.022	8465.487	.000
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	37.891	1	37.891	1850.129	.000
	พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)	13.633	1	13.633	4654.529	.000
ชั่วโมง	ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร	69.270	9	7.697	125.264	.000
	ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	724.732	9	80.526	77.854	.000
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	13.259	9	1.473	71.935	.000
	พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)	1.107	9	.123	41.981	.000
Error	ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร	1.229	20	.061		
	ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	20.686	20	1.034		
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	.410	20	.020		
	พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)	.059	20	.003		
Total	ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร	265.620	30			
	ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	9501.440	30			
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	51.560	30			
	พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)	14.798	30			
Corrected Total	ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร	70.499	29			
	ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	745.419	29			
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	13.669	29			
	พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)	1.165	29			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

อัตราการให้อากาศ 4 ลิตรต่อนาที และความเร็วรอบใบพัด 500 รอบต่อนาที

Homogeneous subsets

ค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร

ชั่วโมง	N	Subset							
		1	2	3	4	5	6	7	8
0	3	.213000							
3	3		.651667						
6	3		.958333						
9	3			1.381667					
15	3				2.940000				
18	3				3.346667	3.346667			
12	3					3.416667	3.416667		
24	3						3.816667	3.816667	
21	3							4.058333	
27	3								4.720000
Sig.		1.000	.145	1.000	.058	.733	.062	.246	1.000

ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)

ชั่วโมง	N	Subset					
		1	2	3	4	5	6
24	3	10.778100					
15	3		13.663333				
18	3		13.994967				
21	3		14.343167				
12	3		14.807467	14.807467			
27	3		14.857200	14.857200			
9	3			16.531967			
6	3				21.042167		
3	3					23.380200	
0	3						27.442700
Sig.		1.000	.211	.062	1.000	1.000	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)

Duncan

ชั่วโมง	N	Subset				
		1	2	3	4	5
0	3	.075100				
3	3	.193333	.193333			
6	3		.416700			
9	3			.665567		
24	3				1.440000	
18	3				1.507800	1.507800
27	3					1.697767
12	3					1.735533
21	3					1.737767
15	3					1.768900
Sig.		.324	.070	1.000	.568	.057

พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)

Duncan

ชั่วโมง	N	Subset				
		1	2	3	4	5
3	3	.468867				
6	3	.527800	.527800			
0	3	.561133	.561133			
9	3		.595567			
27	3		.610000			
12	3		.611133			
15	3		.620000			
18	3			.738900		
24	3				.840000	
21	3					1.167767
Sig.		.061	.078	1.000	1.000	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระบวนการหมักที่อัตราการให้อากาศ 6 ลิตรต่อนาที และความเร็วรอบใบพัด 500 รอบต่อนาที

Between-Subjects Factors

		N
ชั่วโมง	0	3
	3	3
	6	3
	9	3
	12	3
	15	3
	18	3
	21	3
	24	3

Descriptive Statistics

	ชั่วโมง	Mean	Std. Deviation	N
OD	0	.192667	.0141539	3
	3	.714667	.0400791	3
	6	1.320000	.1216553	3
	9	3.075000	.2174281	3
	12	3.516667	.3378733	3
	15	3.508333	.3372437	3
	18	3.666667	.3419552	3
	21	3.696667	.4142865	3
	24	3.790000	.3819686	3
	Total	2.608963	1.4054468	27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Descriptive Statistics (ต่อ)

	ชั่วโมง	Mean	Std. Deviation	N
ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	0	19.301100	1.0157915	3
	3	17.145500	.5657253	3
	6	15.636533	1.7105266	3
	9	13.530667	.6729316	3
	12	14.873800	2.4161173	3
	15	14.376300	.5048581	3
	18	13.497467	.2828700	3
	21	13.762767	.4622073	3
	24	13.679900	1.2073123	3
	Total	15.089337	2.1460279	27
น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	0	.095567	.0287570	3
	3	.242200	.0378897	3
	6	.613333	.0260043	3
	9	1.398900	.0670942	3
	12	1.619967	.0814453	3
	15	1.667767	.1323475	3
	18	1.748900	.0084042	3
	21	1.671100	.3113945	3
	24	1.915567	.0450107	3
	Total	1.219256	.6823402	27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Descriptive Statistics (ต่อ)

	ชั่วโมง	Mean	Std. Deviation	N
พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)	0	.924433	.1550031	3
	3	1.059967	.3074627	3
	6	1.717767	.6637287	3
	9	1.665567	.2527567	3
	12	1.725567	.3152475	3
	15	2.398900	.4786300	3
	18	1.872200	.7780962	3
	21	1.724433	.3223691	3
	24	1.548900	.2534672	3
	Total	1.626415	.5536047	27

Multivariate Tests(c)

Effect		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
Intercept	Pillai's Trace	.997	1400.153(a)	4.000	15.000	.000
	Wilks' Lambda	.003	1400.153(a)	4.000	15.000	.000
	Hotelling's Trace	373.374	1400.153(a)	4.000	15.000	.000
	Roy's Largest Root	373.374	1400.153(a)	4.000	15.000	.000
ชั่วโมง	Pillai's Trace	1.840	1.916	32.000	72.000	.012
	Wilks' Lambda	.003	6.897	32.000	56.912	.000
	Hotelling's Trace	122.557	51.704	32.000	54.000	.000
	Roy's Largest Root	121.261	272.837(b)	8.000	18.000	.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Tests of Between-Subjects Effects

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร	49.905(a)	8	6.238	77.306	.000
	ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	94.593(b)	8	11.824	8.463	.000
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	11.844(c)	8	1.480	101.984	.000
	พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)	4.518(d)	8	.565	2.947	.027
Intercept	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร	183.781	1	183.781	2277.519	.000
	ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	6147.578	1	6147.578	4400.076	.000
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	40.138	1	40.138	2764.886	.000
	พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)	71.421	1	71.421	372.621	.000
ชั่วโมง	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร	49.905	8	6.238	77.306	.000
	ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	94.593	8	11.824	8.463	.000
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	11.844	8	1.480	101.984	.000
	พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)	4.518	8	.565	2.947	.027
Error	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร	1.452	18	.081		
	ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	25.149	18	1.397		
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	.261	18	.015		
	พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)	3.450	18	.192		
Total	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร	235.138	27			
	ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	6267.320	27			
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	52.243	27			
	พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)	79.390	27			
Corrected Total	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร	51.357	26			
	ความเข้มข้นน้ำตาล(กรัมต่อลิตร)	119.741	26			
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	12.105	26			
	พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)	7.968	26			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

อัตราการให้อากาศ 6 ลิตรต่อนาที

Homogeneous subsets

ค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร

ชั่วโมง	N	Subset				
		1	2	3	4	5
0	3	.192667				
3	3		.714667			
6	3			1.320000		
9	3				3.075000	
15	3				3.508333	3.508333
12	3				3.516667	3.516667
18	3					3.666667
21	3					3.696667
24	3					3.790000
Sig.		1.000	1.000	1.000	.087	.288

ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)

ชั่วโมง	N	Subset		
		1	2	3
18	3	13.497467		
9	3	13.530667		
24	3	13.679900		
21	3	13.762767		
15	3	14.376300		
12	3	14.873800		
6	3	15.636533	15.636533	
3	3		17.145500	
0	3			19.301100
Sig.		.066	.135	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)

Duncan

ชั่วโมง	N	Subset				
		1	2	3	4	5
0	3	.095567				
3	3	.242200				
6	3		.613333			
9	3			1.398900		
12	3				1.619967	
15	3				1.667767	
21	3				1.671100	
18	3				1.748900	1.748900
24	3					1.915567
Sig.		.153	1.000	1.000	.244	.107

พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)

Duncan

ชั่วโมง	N	Subset		
		1	2	3
0	3	.924433		
3	3	1.059967	1.059967	
24	3	1.548900	1.548900	
9	3	1.665567	1.665567	1.665567
6	3	1.717767	1.717767	1.717767
21	3	1.724433	1.724433	1.724433
12	3	1.725567	1.725567	1.725567
18	3		1.872200	1.872200
15	3			2.398900
Sig.		.063	.060	.084

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระบวนการหมักที่ความเร็วใบพัด 300 รอบต่อนาที และอัตราการให้อากาศ 1 ลิตรต่อนาที

Between-Subjects Factors

		N
ชั่วโมง	0	3
	3	3
	6	3
	9	3
	12	3
	15	3
	18	3
	21	3
	24	3
	27	3

Descriptive Statistics

	ชั่วโมง	Mean	Std. Deviation	N
OD	0	.261333	.0234379	3
	3	.413333	.0145717	3
	6	.688000	.0217945	3
	9	.785333	.0032146	3
	12	.969333	.0100664	3
	15	1.131667	.0665833	3
	18	1.788333	.0431084	3
	21	3.098333	.0550757	3
	24	3.023333	.0404145	3
	27	3.020000	.1047616	3
	Total	1.517900	1.0946693	30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Descriptive Statistics (ต่อ)

	ชั่วโมง	Mean	Std. Deviation	N
ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	0	22.070233	7.8982795	3
	3	18.720733	1.8852570	3
	6	19.881467	2.1605099	3
	9	19.699033	2.4253009	3
	12	18.621233	2.3754753	3
	15	19.483467	1.5983153	3
	18	22.866133	6.5930980	3
	21	14.956700	3.2351045	3
	24	15.669667	2.2207443	3
	27	15.885267	4.2637219	3
	Total	18.785393	4.2009201	30
น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	0	.119967	.0251661	3
	3	.187767	.0222228	3
	6	.235533	.0069256	3
	9	.277767	.0171422	3
	12	.308900	.0203598	3
	15	.283333	.0120509	3
	18	.634433	.0476849	3
	21	.912233	.0107221	3
	24	1.038867	.0250193	3
	27	1.292233	.0625537	3
	Total	.529103	.4002020	30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Descriptive Statistics (ต่อ)

	ชั่วโมง	Mean	Std. Deviation	N
พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)	0	.638867	.0250193	3
	3	.620000	.0927841	3
	6	.657767	.1775721	3
	9	.554433	.0857669	3
	12	.522200	.1908052	3
	15	.888867	.3466741	3
	18	.626667	.2228009	3
	21	.774433	.2085617	3
	24	.857800	.2163438	3
	27	.862233	.1965193	3
	Total	.700327	.2079576	30

Multivariate Tests(c)

Effect		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
Intercept	Pillai's Trace	1.000	13678.933(a)	4.000	17.000	.000
	Wilks' Lambda	.000	13678.933(a)	4.000	17.000	.000
	Hotelling's Trace	3218.573	13678.933(a)	4.000	17.000	.000
	Roy's Largest Root	3218.573	13678.933(a)	4.000	17.000	.000
ชั่วโมง	Pillai's Trace	2.430	3.441	36.000	80.000	.000
	Wilks' Lambda	.000	32.374	36.000	65.444	.000
	Hotelling's Trace	1626.377	700.246	36.000	62.000	.000
	Roy's Largest Root	1605.334	3567.409(b)	9.000	20.000	.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Tests of Between-Subjects Effects

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร	34.704(a)	9	3.856	1656.247	.000
	ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	188.324(b)	9	20.925	1.294	.300
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	4.627(c)	9	.514	573.982	.000
	พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)	.488(d)	9	.054	1.414	.247
Intercept	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร	69.121	1	69.121	29688.859	.000
	ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	10586.730	1	10586.730	654.592	.000
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	8.399	1	8.399	9377.011	.000
	พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)	14.714	1	14.714	383.895	.000
ชั่วโมง	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร	34.704	9	3.856	1656.247	.000
	ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	188.324	9	20.925	1.294	.300
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	4.627	9	.514	573.982	.000
	พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)	.488	9	.054	1.414	.247
Error	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร	.047	20	.002		
	ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	323.461	20	16.173		
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	.018	20	.001		
	พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)	.767	20	.038		
Total	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร	103.871	30			
	ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	11098.514	30			
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	13.043	30			
	พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)	15.968	30			
Corrected Total	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร	34.751	29			
	ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	511.784	29			
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	4.645	29			
	พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)	1.254	29			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

ความเร็วรอบใบพัด 300 รอบต่อนาทีและอัตราการให้อากาศ 1 ลิตรต่อนาที

Homogeneous subsets

ค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร

Duncan

ชั่วโมง	N	Subset							
		1	2	3	4	5	6	7	8
0	3	.261333							
3	3		.413333						
6	3			.688000					
9	3				.785333				
12	3					.969333			
15	3						1.131667		
18	3							1.788333	
27	3								3.020000
24	3								3.023333
21	3								3.098333
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	.073

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)

Duncan

ชั่วโมง	N	Subset
		1
21	3	14.956700
24	3	15.669667
27	3	15.885267
12	3	18.621233
3	3	18.720733
15	3	19.483467
9	3	19.699033
6	3	19.881467
0	3	22.070233
18	3	22.866133
Sig.		.050

น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)

Duncan

ชั่วโมง	N	Subset							
		1	2	3	4	5	6	7	8
0	3	.119967							
3	3		.187767						
6	3		.235533	.235533					
9	3			.277767	.277767				
15	3			.283333	.283333				
12	3				.308900				
18	3					.634433			
21	3						.912233		
24	3							1.038867	
27	3								1.292233
Sig.		1.000	.065	.078	.242	1.000	1.000	1.000	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)

Duncan

ชั่วโมง	N	Subset
		1
12	3	.522200
9	3	.554433
3	3	.620000
18	3	.626667
0	3	.638867
6	3	.657767
21	3	.774433
24	3	.857800
27	3	.862233
15	3	.888867
Sig.		.061

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระบวนการหมักที่ความเร็วรอบใบพัด 400 รอบต่อนาที และอัตราการให้อากาศ 1 ลิตรต่อนาที

Between-Subjects Factors

		N
ชั่วโมง	0	3
	3	3
	6	3
	9	3
	12	3
	15	3
	18	3
	21	3
	24	3
	27	3

Descriptive Statistics

	ชั่วโมง	Mean	Std. Deviation	N
ค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร	0	.172333	.0050332	3
	3	.599667	.0028868	3
	6	1.188667	.0280238	3
	9	2.371667	.0256580	3
	12	3.038333	.0028868	3
	15	2.833333	.0225462	3
	18	2.695000	.1178983	3
	21	2.485000	.0217945	3
	24	2.478333	.0644851	3
	27	2.686667	.1107174	3
	Total	2.054900	.9798254	30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Descriptive Statistics (ต่อ)

	ชั่วโมง	Mean	Std. Deviation	N
ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	0	20.246233	2.3183767	3
	3	23.297300	3.6342376	3
	6	20.594433	1.3740940	3
	9	17.775567	.9244541	3
	12	16.979667	1.4108297	3
	15	15.404400	1.3975829	3
	18	12.204133	.2828553	3
	21	12.635233	1.6400977	3
	24	12.403100	.5318874	3
	27	13.480900	3.5451890	3
	Total	16.502097	4.1515674	30
น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	0	.132200	.0192258	3
	3	.134467	.0234300	3
	6	.373367	.1429452	3
	9	.935533	.0367282	3
	12	1.262233	.2431951	3
	15	1.292200	.0846973	3
	18	1.064467	.2458698	3
	21	1.402233	.1992683	3
	24	1.203433	.0794484	3
	27	1.372233	.2363130	3
	Total	.917237	.5083590	30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Descriptive Statistics (ต่อ)

	ชั่วโมง	Mean	Std. Deviation	N
พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)	0	.853333	.1703268	3
	3	.773300	.0346410	3
	6	.859967	.0503322	3
	9	.842233	.0889829	3
	12	.848867	.0655283	3
	15	.832200	.0560056	3
	18	.788867	.0442828	3
	21	.914433	.1197742	3
	24	.964433	.0770834	3
	27	.951100	.1420933	3
	Total	.862873	.0997970	30

Multivariate Tests(c)

Effect		Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
Intercept	Pillai's Trace	1.000	13330.870(a)	4.000	17.000	.000
	Wilks' Lambda	.000	13330.870(a)	4.000	17.000	.000
	Hotelling's Trace	3136.675	13330.870(a)	4.000	17.000	.000
	Roy's Largest Root	3136.675	13330.870(a)	4.000	17.000	.000
ชั่วโมง	Pillai's Trace	2.254	2.868	36.000	80.000	.000
	Wilks' Lambda	.000	15.473	36.000	65.444	.000
	Hotelling's Trace	608.427	261.962	36.000	62.000	.000
	Roy's Largest Root	604.406	1343.123(b)	9.000	20.000	.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Tests of Between-Subjects Effects

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร	27.776(a)	9	3.086	941.336	.000
	ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	418.049(b)	9	46.450	11.360	.000
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	6.992(c)	9	.777	30.910	.000
	พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)	.108(d)	9	.012	1.323	.286
Intercept	ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร	126.678	1	126.678	38638.354	.000
	ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	8169.576	1	8169.576	1997.931	.000
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	25.240	1	25.240	1004.229	.000
	พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)	22.337	1	22.337	2467.242	.000
ชั่วโมง	ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร	27.776	9	3.086	941.336	.000
	ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	418.049	9	46.450	11.360	.000
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	6.992	9	.777	30.910	.000
	พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)	.108	9	.012	1.323	.286
Error	ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร	.066	20	.003		
	ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	81.780	20	4.089		
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	.503	20	.025		
	พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)	.181	20	.009		
Total	ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร	154.520	30			
	ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	8669.406	30			
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	32.734	30			
	พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)	22.625	30			
Corrected Total	ค่าการดูดกลืนแสง 600 นาโนเมตร	27.842	29			
	ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)	499.830	29			
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	7.494	29			
	พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)	.289	29			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

ความเร็วรอบใบพัด 400 รอบต่อนาที

Homogeneous subsets

ค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร

ชั่วโมง	N	Subset							
		1	2	3	4	5	6	7	8
0	3	.172333							
3	3		.599667						
6	3			1.188667					
9	3				2.371667				
24	3					2.478333			
21	3					2.485000			
27	3						2.686667		
18	3						2.695000		
15	3							2.833333	
12	3								3.038333
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	.888	.860	1.000	1.000

ความเข้มข้นน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)

ชั่วโมง	N	Subset				
		1	2	3	4	5
18	3	12.204133				
24	3	12.403100				
21	3	12.635233				
27	3	13.480900	13.480900			
15	3	15.404400	15.404400	15.404400		
12	3		16.979667	16.979667	16.979667	
9	3			17.775567	17.775567	
0	3				20.246233	20.246233
6	3				20.594433	20.594433
3	3					23.297300
Sig.		.095	.057	.189	.057	.094

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)

Duncan

ชั่วโมง	N	Subset			
		1	2	3	4
0	3	.132200			
3	3	.134467			
6	3	.373367			
9	3		.935533		
18	3		1.064467	1.064467	
24	3		1.203433	1.203433	1.203433
12	3			1.262233	1.262233
15	3			1.292200	1.292200
27	3				1.372233
21	3				1.402233
Sig.		.092	.063	.121	.182

พอลิเมอร์ (กรัมต่อลิตร)

Duncan

ชั่วโมง	N	Subset	
		1	2
3	3	.773300	
18	3	.788867	.788867
15	3	.832200	.832200
9	3	.842233	.842233
12	3	.848867	.848867
0	3	.853333	.853333
6	3	.859967	.859967
21	3	.914433	.914433
27	3	.951100	.951100
24	3		.964433
Sig.		.060	.063

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

การย้อมสีแบคทีเรีย

การย้อมดูลักษณะรูปร่างเซลล์ด้วยสีแกรม (Gram strain)

สารเคมีที่ใช้ในการย้อมสี

1. สีย้อมคริสตัลไวโอเลต (Crytalviolate)
2. สารละลายแกรมไอโอดีน (Gram iodine)
3. แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ (95% Alcohol)
4. สีย้อมซัลฟรานิน (Sulfranin)

วิธีการทดลอง

1. ล้างสไลด์ด้วยสบู่ ให้สะอาดแล้วผึ่งลมหรือเช็ดให้แห้ง จากนั้นนำสไลด์ไปลนไฟเพื่อกำจัดไขมันที่ติดอยู่บนสไลด์
2. ใช้ loop แตะน้ำกลั่น แล้วนำไปแตะบนสไลด์ 1 หยด
3. เขี่ยเชื้อแบคทีเรียจากจานเพาะเลี้ยงเชื้อ มาสเมียร์ ลงบนหยดน้ำกลั่นให้เชื้อกระจายออกเป็นแผ่นฟิลม์บางๆ
4. ปล่อยให้รอยสเมียร์แห้งในอากาศ แล้วนำไป fix บนเปลวไฟ โดยผ่านเปลวไฟไปมา 2-3 ครั้ง
5. หยดสีย้อมสีคริสตัลไวโอเลตให้ท่วมบริเวณที่สเมียร์ปล่อยไว้ประมาณ 1 นาที
6. เทสีออก แล้วล้างออกด้วยน้ำก๊อก หยดสารละลายแกรมไอโอดีน ลงไปให้ท่วมรอยสเมียร์ปล่อยไว้อีก 1 นาที เทสารละลายแกรมไอโอดีนออก ล้างด้วยน้ำก๊อก
7. ล้างสีออกด้วยแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ ประมาณ 30 วินาที (จนสีไม่ถูกตรึงที่ผนังเซลล์) ล้างด้วยน้ำก๊อก
8. ย้อมทับด้วยสีซัลฟรานินนาน 1 นาที ล้างออก ด้วยน้ำก๊อกแล้วปล่อยให้แห้ง
9. ตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

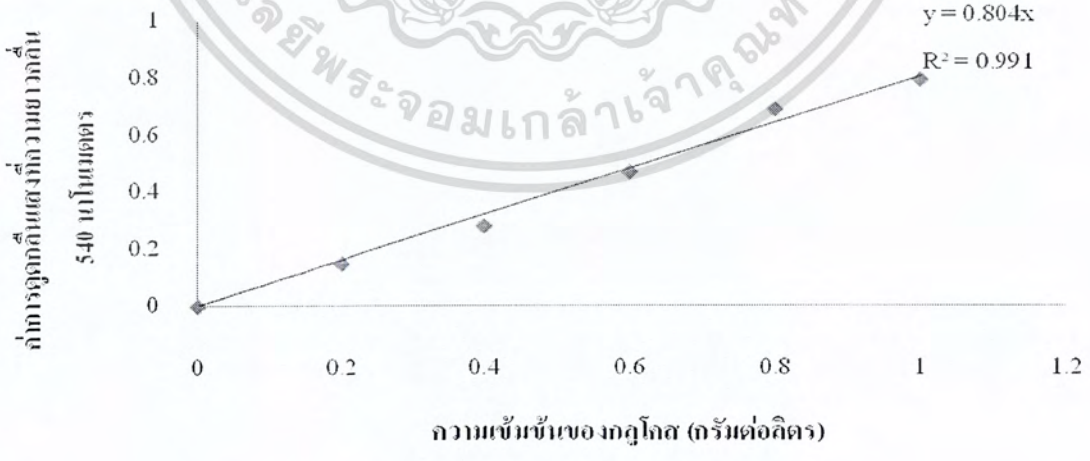
ข้อมูลกราฟมาตรฐานกลูโคส

ตารางที่ จ1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายกลูโคสมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของกลูโคสมาตรฐาน (กรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร
0	0.000
0.2	0.150
0.4	0.281
0.6	0.470
0.8	0.689
1.0	0.793

สูตรการคำนวณหาความเข้มข้นของกลูโคส

$$\text{ความเข้มข้นของน้ำตาล (กรัมต่อลิตร)} = \frac{\text{ค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร} \times \text{ค่าการเจือจาง}}{\text{ความชันของกราฟมาตรฐาน}}$$



ภาพที่ จ.1 กราฟเทียบค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายกลูโคสมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้