

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

วิธีสังเคราะห์วิตามินบี 12 โดยจุลินทรีย์ *Bacillus megaterium*

อุปกรณ์และสารเคมี

1. เชื้อจุลินทรีย์

B. megaterium

2. สารเคมี

1. Sucrose
2. Na_2SO_4
3. $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$
4. CoCl_2
5. Yeast extract
6. KCL
7. ZnCl_2
8. MnCl_2
9. MgCl_2
10. Citric acid
11. Peptone
12. Glucose

3. อุปกรณ์การทดลอง

1. ตู้ป้อน (Incubators)
2. ตู้อบ (Hot-Air Sterilizing oven)
3. หม้อนึ่งความดัน (Autoclave)
4. เครื่องปรับพีเอช (pH equipment)
5. ตู้ปลอดเชื้อ (Microflow)
6. เครื่องชั่งน้ำหนัก (Balance)
7. ภาชนะสำหรับเตรียมอาหาร (Media Preparation Utensils)
8. หลอดทดลอง (Test Tube)
9. ไมโครปิเปต ()
10. ขวดรูปชมพู่ปริมาตร 250 ml. (Flask)
11. เครื่องเขย่า (Shaker Incubater)

กระบวนการผลิตวิตามินบี 12

1. เตรียม Inoculum เชื้อ *B. megaterium*

เลี้ยงเชื้อ *B. megaterium* บน slant NA Medium



เตรียม Starter โดยนำสปอร์ไปเลี้ยงในอาหารเหลว

ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

2. ทำการหมักแบบ Bach culture

Starter



ใช้ปริมาณ Inoculum size 5% โดยปริมาตรต่อปริมาตร



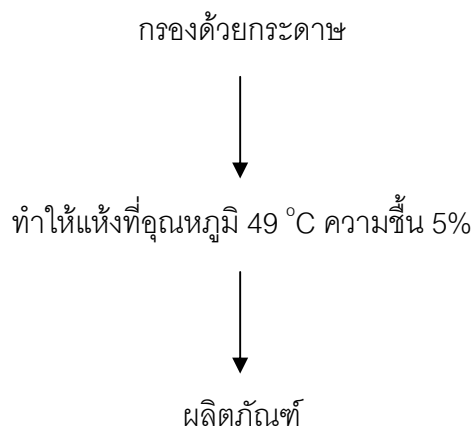
ทำการหมักระดับ flask โดยใช้เครื่อง Shaker Incubator อัตราเร็ว 250 รอบ/นาที

ในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

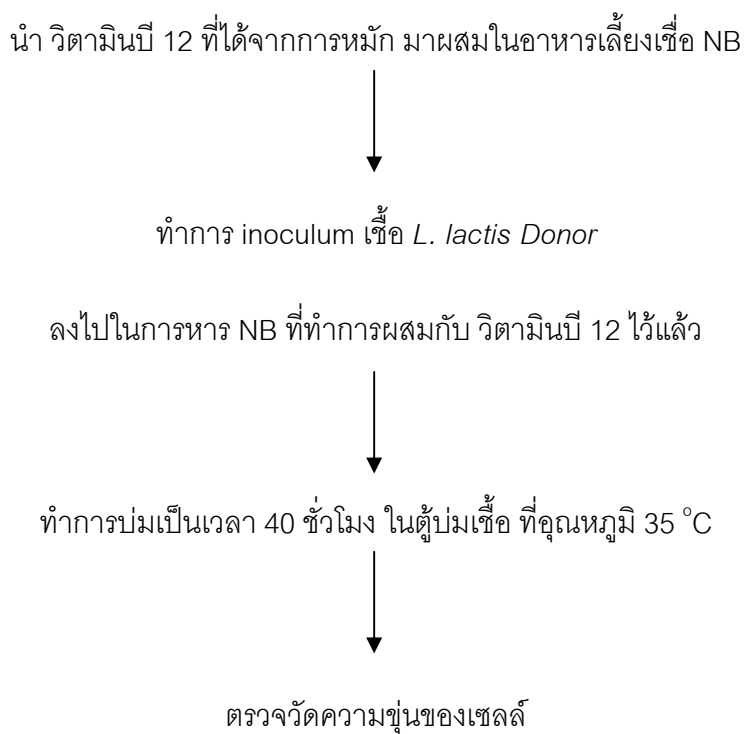


เชื้อผลิตเส้นใย

3. เก็บเกี่ยวผลผลิตวิตามินบี 12



4. วิธีทดสอบปริมาณวิตามินบี 12 ที่ผลิตได้โดยใช้เชื้อ *L. lactis Donor* เป็นตัวทดสอบ





ภาพผนวกที่ 1 ขั้นตอนแบบ Bach Culture



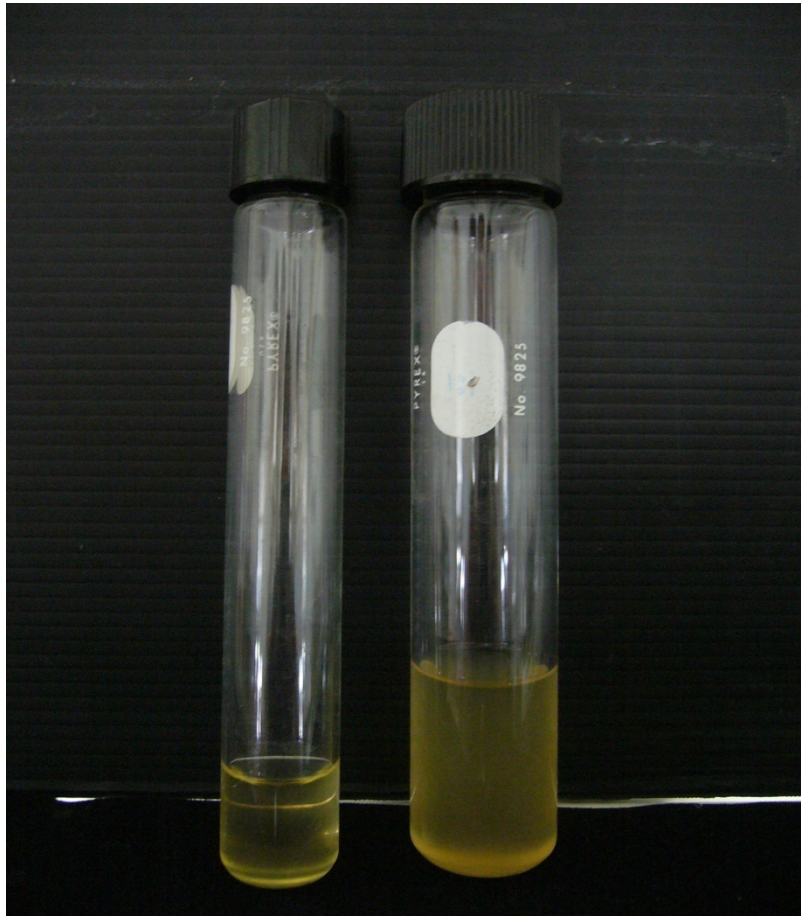
ภาพผนวกที่ 2 ขั้นตอนการกรองโดยมี



ภาพผนวกที่ 3 ขั้นตอนการกรองโดยกระดาษกรอง



ภาพผนวกที่ 4 ผลิตภัณฑ์หลังจากการอบ



ภาพผนวกที่ 5 การตรวจสอบผล

ซ้าย Nutrient Broth + Cyanocobalamin ขวา Nutrient Broth + Cyanocobalamin +
L.lactis Donor