บทที่ 5

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาชนิดของสารตั้งต้นที่เหมาะสมสำหรับโมโนเมอร์แต่ละชนิดในการผลิตเทอร์พอลิเมอร์ P(3HB-co-3HV-co-4HB) โดย *Bacillus* sp. BA-019 และเมื่อเลือกชนิดของสารตั้งต้นที่เหมาะสมได้ จึงศึกษาความเข้มข้นที่แตกต่างกันของสารตั้งต้นทั้งสามชนิดในการสังเคราะห์โมโน-เมอร์ 3HB 3HV และ 4HB ในเทอร์พอลิเมอร์ นอกจากนี้ได้ทำการศึกษาสมบัติทางกายภาพและสมบัติเชิงกลบางประการของแผ่นเทอร์พอลิเมอร์ตัวอย่างที่ผลิตได้ ทั้งนี้เพื่อใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการเลือกใช้ชนิดและความเข้มข้นของสารตั้งต้นที่เหมาะสมในการผลิตเทอร์พอลิเมอร์ที่มีองค์ประกอบของโมโนเมอร์ แต่ละชนิดในสัดส่วนที่เหมาะสมกับการใช้งานต่อไป

5.1 การศึกษาชนิดของสารตั้งต้นสำหรับโมโนเมอร์แต่ละชนิดที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเทอร์พอลิเมอร์ P(3HB-co-3HV-co-4HB) จาก *Bacillus* sp. BA-019

จากที่ได้กล่าวข้างต้นแล้วว่าในงานวิจัยนี้ได้เริ่มต้นในการเลือกสารตั้งต้นที่เหมาะสมสำหรับการผลิตโมโนเมอร์แต่ละชนิดในเทอร์พอลิเมอร์ ซึ่งประกอบด้วยโมโนเมอร์ 3HB 3HV และ 4HB ดังนี้

5.1.1 การศึกษาชนิดของสารตั้งต้นสำหรับโมโนเมอร์ 3HB

ผลการศึกษาสารตั้งต้นของโมโนเมอร์ของ 3HB เมื่อใช้กากน้ำตาลพบว่า ได้สัดส่วนของโมโนเมอร์ 3HB สูงที่สุด คือ 96 โมลเปอร์เซ็นต์ ซึ่งมากกว่าชุดการทดลองที่ใช้ ซูโครส และน้ำตาลทราย ดังที่เป็นที่ทราบแล้วว่ากากน้ำตาลนั้นมีองค์ประกอบอยู่หลายชนิดทั้ง ซูโครส ฟรุกโตส และกลูโคส นอกจากนี้ยังมีแร่ธาตุ และวิตามิน รวมทั้งโคแฟกเตอร์บางชนิดที่จำเป็น จึงอาจเป็นไปได้ที่มีผลช่วยให้การเจริญของ *Bacillus* sp. BA-019 รวมทั้งวิถีการสังเคราะห์ 3HB ได้มากขึ้น ดังนั้นโมโนเมอร์อีกสองชนิดคือ 3HV และ 4HB ที่สังเคราะห์ได้จึงมีสัดส่วนที่น้อยมากเมื่อเทียบกับน้ำตาลอีกสองชนิด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ พิสิษฐ คงกำเนิด(2540) ที่รายงานว่า กากน้ำตาลช่วยให้มีการสร้างโมโนเมอร์ 3HB โดยเชื้อ *Bacillus* sp. BA-019 สูงที่สุด ดังนั้นจึงเป็นผลให้สัดส่วนของ 3HV ในโคพอลิเมอร์

P(3HB-co-3HV) ที่ได้มีสัดส่วนที่น้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับเมื่อใช้น้ำตาลทราย กลูโคส และฟรุกโตส เป็นสารตั้งต้น แต่กากน้ำตาลมีสีเข้มมาก ทำให้ในขั้นตอนการสกัดเซลล์จำเป็นต้องใช้สารเคมีปริมาณมากในการกำจัดสี และสารละลายที่ใช้ในกระบวนการสกัดพอลิเมอร์จากเซลล์เป็นสารเคมีที่เป็นพิษต่อสภาพแวดล้อมด้วย งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการผลิตเทอร์พอลิเมอร์ ซึ่งต้องมีสัดส่วนของโมโนเมอร์อีกสองชนิด (3HV และ 4HB) ในสัดส่วนที่เหมาะสม ดังนั้นการใช้กากน้ำตาลซึ่งมีผลให้ได้ 3HB ในสัดส่วนที่สูงเกินไป จึงไม่เหมาะต่อการนำมาใช้งาน ส่วนสารตั้งต้นสำหรับโมโนเมอร์ 3HB อีกสองชนิดที่ใช้ในงานวิจัยนี้ คือ ซูโครส และ น้ำตาลทราย พบว่าซูโครสและน้ำตาลทราย สังเคราะห์ 3HB ได้เท่ากับ 74 และ 70 โมลเปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในด้านปริมาณเทอร์พอลิเมอร์ที่ผลิตได้ เมื่อใช้ซูโครส และน้ำตาลทราย พบว่าได้ปริมาณใกล้เคียงกัน (38.83 และ 33.18 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ตามลำดับ) รวมทั้งราคาของซูโครสมีราคาสูงกว่าน้ำตาลทราย ดังนั้นจึงเลือกใช้น้ำตาลทรายเป็นสารตั้งต้นสำหรับการศึกษาต่อไป

5.1.2 การศึกษาสารตั้งต้นที่เหมาะสมสำหรับโมโนเมอร์ 3HV

ในงานวิจัยนี้ได้ใช้ เกลือโพรพิโอเนต และ เกลือวาเลอเรต ในการศึกษาพบว่า เมื่อใช้เกลือวาเลอเรตมีผลให้ได้โมโนเมอร์ 3HV มากกว่าเมื่อใช้เกลือโพรพิโอเนตเล็กน้อย (28 และ 26 โมลเปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) แต่เกลือวาเลอเรตอาจมีความเป็นพิษต่อเซลล์มากกว่าโพรพิโอเนต(เมื่อใช้เกลือวาเลอเรตได้น้ำหนักเซลล์น้อยกว่าเมื่อใช้เกลือโพรพิโอเนต) จึงได้เลือกใช้เกลือโพรพิโอเนตเป็นสารตั้งต้นของโมโนเมอร์ 3HV ต่อไป ผลการศึกษาข้างต้นสอดคล้องกับงานวิจัยของ สุดา สุภาชวินสวัสดิ์ (2542) โดยเชื้อ *Bacillus* sp. BA-019 ซึ่งพบว่าการใช้เกลือวาเลอเรตเป็นสารตั้งต้นของ 3HV ในการผลิตโคพอลิเมอร์ P(3HB-co-3HV) ได้สัดส่วนของ 3HV มากกว่าเมื่อใช้เกลือโพรพิโอเนต และจากการทบทวนเอกสารงานวิจัยเกี่ยวกับกลไกการสังเคราะห์ P(3HB-co-3HV) โดย *Alcaligenes* sp. เมื่อใช้เกลือวาเลอเรตเป็นสารตั้งต้นเดี่ยว ได้สัดส่วนโมโนเมอร์ของ 3HV สูงถึง 90 โมลเปอร์เซ็นต์ อธิบายได้ว่าเกลือวาเลอเรตถูกเมตาบอไลซ์ด้วยปฏิกิริยาบีตาออกซิเดชัน เป็น ดี-3-ไฮดรอกซีวาเลอริล โคเอ ซึ่งเปลี่ยนเป็น 3HV โดยตรงโดยที่ไม่มีการตัดสายคาร์บอน ดังได้แสดงวิถีการสังเคราะห์ในรูปที่ 7 (Doi และคณะ , 1987b) Dawes และ Senior (1973) รายงานว่าในการสังเคราะห์ 3HV จากเกลือโพรพิโอเนตนั้นเกิดจากการรวมตัวของ อะซิติล โคเอ ซึ่งได้จากปฏิกิริยาดีคาร์บอกซิเลชัน ของเกลือโพรพิโอเนต กับ โพรพิโอนิล โคเอ ดังนั้นจึงพบว่า เมื่อใช้กรดโพรพิโอนิกทำให้ได้สัดส่วนโมโนเมอร์ของ 3HV ต่ำกว่าเมื่อใช้กรดวาเลอริกเป็นสารตั้งต้น

5.1.3 การศึกษาสารตั้งต้นที่เหมาะสมสำหรับการผลิตโมโนเมอร์ 4HB

ผลการวิจัยนี้พบว่า เมื่อใช้ โซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต เป็นสารตั้งต้น (ร่วมกับน้ำตาลทราย และเกลือโพรพิโอเนต) สามารถผลิตเทอร์พอลิเมอร์ที่มีสัดส่วนของ 4HB สูงที่สุดเท่ากับ 18 โมลเปอร์เซ็นต์ ที่ชั่วโมงที่ 36 เมื่อใช้ 1,4-บิวเทนไดออล เป็นสารตั้งต้น ไม่พบการสังเคราะห์4HB ทั้งนี้ยังไม่สามารถให้เหตุผลได้ เนื่องจาก *Bacillus* sp. BA-019 เป็นเชื้อที่แยกได้ใหม่และยังไม่มีการศึกษาวิถีการสังเคราะห์ PHA ส่วนเมื่อใช้แกมมา-บิวทิโรแลกโตน พบการสะสม 4HB สูงที่สุดเมื่อชั่วโมงที่ 12 เท่ากับ 6 โมลเปอร์เซ็นต์ และลดลงตามเวลาการเลี้ยงเชื้อ และยังพบว่าไม่มีการเจริญของเชื้อรวมทั้งมีการผลิตเทอร์พอลิเมอร์น้อยมาก ทั้งนี้เนื่องจากความเป็นพิษของแกมมา-บิวทิโรแลกโตน ซึ่งสอดคล้องกับรายงานวิจัยของ Doi (1990) ที่พบว่าการเปลี่ยนแกมมา-บิวทิโรแลกโตน เป็น 4-ไฮดรอกซีบิวทิริล โคเอ นั้นต้องผ่านปฏิกิริยาไฮโดรไลซีส และเป็นสารที่มีความเป็นพิษสูงทำให้น้ำหนักเซลล์ลดลง ในทำนองเดียวกันกับรายงานการวิจัยของ Kunioka และคณะ (1989) พบว่าน้ำหนักเซลล์แห้งลดลงเมื่อความเข้มข้นของแกมมา-บิวทิโรแลกโตน เพิ่มขึ้น รวมถึงความสามารถในการผลิตโคพอลิเมอร์ที่ลดลงด้วย ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Choi (1999) พบว่าการใช้แกมมา-บิวทิโรแลกโตนเป็นสารตั้งต้นสำหรับผลิตโคพอลิเมอร์ โดยเชื้อ *Hydrogenophaga pseudoflava* พบว่าการเจริญและการผลิตโคพอลิเมอร์น้อยมากคือ 0.64 กรัมต่อลิตร และ 1.3 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ตามลำดับ แต่พบการสังเคราะห์โมโนเมอร์ 4HB ในสัดส่วนที่สูงและสามารถผลิต P(4HB) ได้ในการเลี้ยงแบบสามขั้นตอน ซึ่งแตกต่างจากงานวิจัยที่ผลิตโคพอลิเมอร์ P(3HB-co-4HB) จากเชื้อ *Alcaligenes eutrophus* พบว่า เมื่อใช้โซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต เป็นสารตั้งต้น พบว่า สามารถสังเคราะห์ 4HB ได้สูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารตั้งต้นชนิดอื่น ทั้งนี้อาจว่าความสามารถในใช้สารตั้งต้นสำหรับการผลิตพอลิเมอร์ขึ้นอยู่กับจุลินทรีย์ แต่ละชนิด ซึ่งมีระบบเอนไซม์สำหรับใช้ในวิถีการสังเคราะห์แตกต่างกัน

5.2 การศึกษาความเข้มข้นของสารตั้งต้นต่อสัดส่วนของโมโนเมอร์แต่ละชนิด 3HB 3HV และ 4HB เพื่อผลิตเทอร์พอลิเมอร์ P(3HB-co-3HV-co-4HB) จาก *Bacillus* sp. BA-019

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาความเข้มข้นของสารตั้งต้นของโมโนเมอร์ทั้งสามชนิดในสัดส่วนที่แตกต่างกันเพื่อศึกษาถึงความเข้มข้นของสารตั้งต้นต่อการสังเคราะห์โมโนเมอร์แต่ละชนิด โดยใช้น้ำตาลทรายเป็นสารตั้งต้นของ 3HB เกลือโพรพิโอเนต เป็นสารตั้งต้นของ 3HV และ โซเดียม 4-ไฮดรอก-ซีบิวทิเรต

เป็นสารตั้งต้นสำหรับ 4HB จากงานวิจัยนี้พบว่าปริมาณความเข้มข้นของสารตั้งต้นมีผลต่อการสังเคราะห์โมโนเมอร์แต่ละชนิดดังนี้

น้ำตาลทรายมีผลทำให้สัดส่วนของ 3HB มากขึ้นเมื่อมีน้ำตาลทรายเข้มข้นมากขึ้น โดยพบว่า 3HB สูงที่สุดเท่ากับ 89 โมลเปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตามความสามารถในการสังเคราะห์โมโนเมอร์ 3HB ในโคพอลิเมอร์หรือเทอร์พอลิเมอร์ นั้นไม่ได้ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของน้ำตาลเพียงอย่างเดียว เนื่องจากเมื่อความเข้มข้นของสารตั้งต้นสำหรับโมโนเมอร์อีกสองชนิด(เกลือโพรพิโอเนต และโซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต)เพิ่มขึ้นพบว่า สัดส่วนของ 3HB ที่ได้น้อยลง ทั้งนี้อาจจะเนื่องจากเกลือโพรพิโอเนต และโซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรตถูกใช้เป็นสารตั้งต้นเพื่อการสังเคราะห์เป็นโมโนเมอร์ 3HV และ 4HB ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Lee และคณะ (1997) ที่พบว่า เมื่อความเข้มข้นของสารตั้งต้นสำหรับ 4HB คือ โซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต เพิ่มขึ้น สัดส่วนของโมโนเมอร์ 4HB ในโคพอลิเมอร์ P(3HB-co-4HB) เพิ่มขึ้น แต่สัดส่วนของโมโนเมอร์ 3HB ลดลง

Bacillus sp. BA-019 สามารถผลิตเทอร์พอลิเมอร์ ที่มีสัดส่วนของ 3HV สูงขึ้นเมื่อใช้เกลือโพรพิโอเนตในความเข้มข้นที่สูงขึ้น โดยที่ความเข้มข้นของเกลือโพรพิโอเนต 100 มิลลิโมลาร์ ได้สัดส่วนของ 3HV สูงที่สุดเท่ากับ 49 โมลเปอร์เซ็นต์ และจากงานวิจัยนี้พบว่า เมื่อความเข้มข้นของเกลือโพรพิโอเนตเพิ่มขึ้น มีผลต่อการเจริญของเชื้อ *Bacillus* sp. BA-019 อย่างเห็นได้ชัด คือ เมื่อเกลือ โพรพิโอเนตเพิ่มขึ้นน้ำหนักเซลล์แห้งลดลง ซึ่งอาจจะเกิดจากความเป็นพิษของเกลือโพรพิโอเนตต่อเซลล์ของ *Bacillus* sp. BA-019 ก็อาจเป็นได้ สอดคล้องกับรายงานของ Lee และคณะ (1995) เมื่อเลี้ยง *Bacillus thuringensis* R-510 เมื่อใช้กรดโพรพิโอนิกเท่ากับ 0.1- 2.0 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ได้ 3HV เพิ่มขึ้นจาก 33 เป็น 80 โมลเปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อความเข้มข้นของกรดโพรพิโอนิกเท่ากับ 2.0 เปอร์เซ็นต์(น้ำหนักต่อปริมาตร) ไม่มีการเจริญของเชื้อ เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Bertrand และคณะ (1990) พบว่า *Pseudomonas pseudoflava* สามารถสังเคราะห์ 3HV ได้ และเมื่อใช้กรดโพรพิโอนิกเข้มข้นเท่ากับ 0.3 กรัมต่อลิตร ได้สัดส่วนของ 3HV สูงที่สุด แต่มีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ Son และ Lee (1996) ศึกษาการสังเคราะห์ 3HV จากการเลี้ยง *Pseudomonas* sp. EL-2 ในอาหารที่มีกูลโคส 10 กรัมต่อลิตร และกรดโพรพิโอนิก 4 กรัมต่อลิตร ได้ 3HV ในสัดส่วนที่สูงถึง 49.3 โมลเปอร์เซ็นต์ และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกรดเพิ่มขึ้นการเจริญของเชื้อลดลง

การผลิตเทอร์พอลิเมอร์ โดยเชื้อ *Bacillus* sp. BA-019 ในงานวิจัยนี้ได้เลือกใช้ โซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต เป็นสารตั้งต้นสำหรับ 4HB พบว่าความเข้มข้นของสารตั้งต้นนี้มีผลต่อสัดส่วนของ 4HB ในเทอร์พอลิเมอร์ เช่นเดียวกันกับสัดส่วนของ 3HV ซึ่งขึ้นอยู่กับน้ำตาลทรายและเกลือโพรพิโอ

เนต โดยจากงานวิจัยพบว่าที่ความเข้มข้นสูงสุดของโซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต (100 มิลลิโมลาร์) และความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารตั้งต้นอีกสองชนิด คือ เกลือโพรพิโอเนต (25 มิลลิโมลาร์) และไม่มีน้ำตาลทราย ทำให้ได้เทอร์พอลิเมอร์ที่มีสัดส่วนของ 4HB สูงที่สุดเท่ากับ 78 โมลเปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Kimura และคณะ (1999) ที่ศึกษาการผลิต P(3HB-co-4HB) จากเชื้อ *Ralstonia eutropha* H16 พบว่าเมื่อความเข้มข้นของโซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต กล่าวคือ เมื่อใช้เกลือโพรพิโอเนต : โซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต เท่ากับ 18 : 2 และ 15 : 5 กรัมต่อลิตร สัดส่วนของ 4HB เพิ่มขึ้น จาก 62 เป็น 82 โมลเปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นอกจากนี้ รายงานของ Kang และคณะ (1995) ใช้เชื้อ *Alcaligenes latus* ผลิต P(3HB-co-4HB) จากกรดบิวทิริก ร่วมกับ โซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต เมื่อแปรผันความเข้มข้นของสารตั้งต้นทั้งสองชนิดพบว่าสัดส่วนของโมโนเมอร์เปลี่ยนไปตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นของสารตั้งต้นที่เพิ่มขึ้น โดยได้สัดส่วนของ 4HB สูงที่สุดเท่ากับ 83 โมลเปอร์เซ็นต์ และ 3HB สูงสุดเท่ากับ 17 โมลเปอร์เซ็นต์ ในวิถีการสังเคราะห์ 4HB โซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต ถูกเปลี่ยนเป็น 4-ไฮดรอกซีบิวทิริลโคเอ ได้โดยตรง ซึ่งทำให้การเพิ่มความเข้มข้นของโซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต ทำให้สัดส่วนของ 4HB เพิ่มขึ้น และมีสัดส่วนที่มากกว่า 3HV จากรายงานของ Kang (1995) และ Kunioka และคณะ (1989a) มีผลที่สอดคล้องกันคือ เมื่อความเข้มข้นของกรด 4-ไฮดรอกซีบิวทิริก เพิ่มขึ้น สัดส่วนของโมโนเมอร์ 4HB สูงขึ้น แต่ความเข้มข้นของสารตั้งต้นที่เพิ่มขึ้นกลับไม่มีผลต่อการเจริญและการสะสมของ PHA

5.3 การศึกษาการผลิตเทอร์พอลิเมอร์จาก *Bacillus* sp. BA-019 โดยใช้แกมมา-บิวทิโรแลกโตน เพื่อลดต้นทุนการผลิต ด้วยการเลี้ยงเชื้อแบบสองขั้นตอน

จากผลการวิจัยข้อ 4.1.3 พบว่าแกมมา-บิวทิโรแลกโตน มีความเป็นพิษต่อเซลล์สูงมาก เมื่อเทียบกับสารตั้งต้นตัวอื่น จึงต้องเปลี่ยนวิธีการเลี้ยงเชื้อเพื่อทำให้เซลล์ *Bacillus* sp. BA-019 สามารถทนต่อความเป็นพิษของสารชนิดนี้ได้ วิธีการเลี้ยงแบบสองขั้นตอนสามารถนำมาใช้แก้ปัญหานี้เช่นเดียวกับ รายงานของ Doi (1990) ที่ได้ปรับปรุงวิธีการเลี้ยง *A. eutrophus* แบบสองขั้นตอนในการผลิต P(3HB-co-4HB) Choi และคณะ (1995) (อ้างถึงใน Choi และคณะ, 1999) ได้รายงานการเลี้ยงเชื้อแบบสองขั้นตอนเพื่อการผลิตโคพอลิเมอร์ P(3HB-co-4HB) จากเชื้อ *Hydrogenophaga psuedoflava* โดยสารตั้งต้นสำหรับการผลิตโมโนเมอร์ 4HB คือ แกมมา-บิวทิโรแลกโตน ซึ่งความเป็นพิษต่อเซลล์ แต่การเลี้ยงเชื้อแบบสองขั้นตอนสามารถผลิตโคพอลิเมอร์ P(3HB-co-4HB) ที่มีโมโนเมอร์ 4HB มากกว่า 66 โมลเปอร์เซ็นต์ โดยวิธีการเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* sp. BA-019 แบบสองขั้นตอน

ในการวิจัยนี้พบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของแกมมา-บิวทิโรแลกโตน จาก 25 และ 50 มิลลิโมลาร์ ทำให้สัดส่วนของ 4HB เพิ่มขึ้นจาก 15 เป็น 32 โมลเปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ผลการทดลองข้อที่ 4.2) แต่การเพิ่มความเข้มข้นของแกมมา-บิวทิโรแลกโตนที่มากเกินไปมีผลในการยับยั้งการผลิตเทอร์พอลิเมอร์และมีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อ

5.4 การศึกษาลักษณะสมบัติทางกายภาพและเชิงกลของเทอร์พอลิเมอร์บางชนิด ที่ประกอบด้วยโมโนเมอร์ที่มีสัดส่วนแตกต่างกัน ซึ่งผลิตจาก *Bacillus* sp. BA-019

ผลิตเทอร์พอลิเมอร์ *Bacillus* sp. BA-019 โดยมีสัดส่วนของโมโนเมอร์ที่เหมาะสมต่าง ๆ กัน มีรายงานของคณะผู้วิจัยหลายกลุ่มเกี่ยวกับสมบัติของโคพอลิเมอร์ที่มี 3HB และ 3HV หรือ 4HB เป็นองค์ประกอบ โดยจากรายงานของ Doi (1990) พบว่า พอลิเมอร์ที่มีสัดส่วนของ 3HV ที่เหมาะสมในการใช้งานไม่ควรเกิน 37 โมลเปอร์เซ็นต์ และที่ผลิตทางการค้ามีไม่เกิน 24 โมลเปอร์เซ็นต์ 4HB ไม่ควรเกิน 20 โมลเปอร์เซ็นต์ ดังนั้นในงานวิจัยนี้ ได้เลือกสัดส่วนของสารตั้งต้นในการผลิตเทอร์พอลิเมอร์ให้มีสัดส่วนของโมโนเมอร์ทั้งสองชนิดนี้ในสัดส่วนของโมโนเมอร์ 3HV และ 4HB ประมาณไม่เกิน 20 โมลเปอร์เซ็นต์ ได้แก่ P(3HB-co-9%3HV-co-10%4HB) P(3HB-co-17%3HV-co-22%4HB) และ P(3HB-co-20%3HV-co-14%4HB) เมื่อนำเทอร์พอลิเมอร์ทั้งสามมาทดสอบสมบัติทางกายภาพด้วยการวิเคราะห์ อุณหภูมิหลอมเหลว และ อุณหภูมิกลาสทรานซิชัน ผลจากงานวิจัยนี้พบว่าแผ่นฟิล์ม P(3HB-co-17%3HV-co-22%4HB) และ P(3HB-co-20%3HV-co-14%4HB) มีค่าอุณหภูมิกลาสทรานซิชัน เท่ากับ -12.6 และ –12.9 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ส่วนค่าอุณหภูมิหลอมเหลวเท่ากับ 143.7 และ 142.8 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ทั้งนี้อาจเนื่องจากแผ่นฟิล์มทั้งสองประกอบด้วย 3HB และ 3HV ใกล้เคียงกัน สำหรับเทอร์พอลิเมอร์ P(3HB-co-9%3HV-co-10%4HB) มีทั้งค่าอุณหภูมิกลาสทรานซิชัน และ ค่าอุณหภูมิหลอมเหลว สูงกว่าคือ –10.7 และ 150.9 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากเทอร์พอลิเมอร์นี้มีสัดส่วนของ 3HB สูงกว่าสัดส่วนอื่น ซึ่งในรายงานของ Doi (1990) กล่าวว่า PHB มีโครงสร้างที่เป็นผลึกสูง ดังนั้นทำให้มีค่าอุณหภูมิหลอมเหลว และอุณหภูมิกลาสทรานซิชัน สูง คือ 177 และ 10 องศาเซลเซียส ตามลำดับ แต่การที่เทอร์พอลิเมอร์มีสัดส่วนของ 3HV และ 4HB ร่วมด้วย ซึ่งรายงานการศึกษาหลายกลุ่มงานวิจัยได้รายงานว่าสัดส่วนของโมโนเมอร์ทั้งสองชนิดมีผลในการลดอุณหภูมิหลอมเหลว และ อุณหภูมิกลาสทรานซิชัน ดังที่กล่าวมาข้างต้น

สมบัติเชิงกลของเทอร์พอลิเมอร์ในงานวิจัยนี้ โดยจากผลการทดลอง 4.4.2 พบว่าเมื่อสัดส่วนของพอลิเมอร์ที่ต่างไป มีผลทำให้สมบัติเชิงกลแตกต่างกันออกไปทั้งนี้เนื่องมาจากสัดส่วนของโมโน-

เมอร์ที่แตกต่างกัน โดยเทอร์พอลิเมอร์ที่มีสัดส่วนของ 4HB สูงมีผลทำให้พอลิเมอร์มีความยืดหยุ่นสูงกว่าเนื่องมาจากโครงสร้างของ 4HB ไม่รวมตัวเป็นผลึกกับ 3HB เนื่องจากขนาดโมเลกุลที่ยาวกว่า และเป็นเส้นตรงซึ่งต่างจาก 3HV ซึ่งสามารถรวมเป็นผลึกได้กับ 3HB ดังนั้นเทอร์พอลิเมอร์ที่มี 4HB ในสัดส่วนที่สูงทำให้โครงสร้างอสันฐานสูงขึ้นส่งผลต่อความสามารถในการยืดหยุ่นของพอลิเมอร์(Doi, 1990 และ Mitomo และคณะ , 2001) พบว่าการที่แผ่นฟิล์ม P(3HB-co-17%3HV-co-22%4HB) ที่ผลิตได้มีค่าเปอร์เซ็นต์การยืดตัวสูงที่สุด และมีค่าความแข็งแรงของพอลิเมอร์ต่ำที่สุด คือ Young's modulus เท่ากับ 245.35 MPa ส่วน P(3HB-co-9%3HV-co-10%4HB) มี ค่าเปอร์เซ็นต์การยืดตัวต่ำกว่า แต่มีค่า Young's modulus สูงที่สุดคือ 403.5 MPa ซึ่งแสดงถึงความแข็งแรงของพอลิเมอร์ ซึ่งเป็นลักษณะที่สำคัญของพอลิเมอร์ที่มี 3HB สูง อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบสมบัติบางประการของแผ่นฟิล์มเทอร์พอลิเมอร์เหล่านี้กับพอลิเมอร์สังเคราะห์ทางปิโตรเคมี พบว่า P(3HB-co-9%3HV-co-10%4HB) มีค่า Young's modulus สูงกว่า พอลิเอทิลีนชนิดความหนาแน่นต่ำ (LDPE) ค่าอุณหภูมิหลอมเหลว และค่าอุณหภูมิกลาสทรานซิชันใกล้เคียงกับ พอลิโพรไพลีน(PP) ส่วนค่าเปอร์เซ็นต์การยืดตัวมีค่าใกล้เคียงกับพอลิสไตรีน(PS) แผ่นฟิล์ม P(3HB-co-17%3HV-co-22%4HB) และ P(3HB-co-20%3HV-co-14%4HB) มี ค่า Young's modulus ใกล้เคียงกับพอลิเอทิลีนชนิดความหนาแน่นสูง (HDPE) อย่างไรก็ตามไบโอพอลิเมอร์มีสมบัติบางประการที่ยังด้อยกว่าพลาสติกจากปิโตรเคมี ดังสรุปในตารางที่ 21 แต่ผลการศึกษาที่ได้สามารถใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้น ในการผลิตเทอร์พอลิเมอร์ที่มีสมบัติตามต้องการได้ รวมทั้งสามารถปรับปรุงสมบัติบางประการของไบโอพอลิเมอร์ที่ด้อยกว่าพอลิเมอร์จากปิโตรเคมี โดยการเติมสารเติมแต่งบางชนิด เช่นเดียวกับการผลิตพลาสติกจากปิโตรเคมีทั่วไป ซึ่งต้องมีการเติมสารเติมแต่งต่างๆ เพื่อให้มีสมบัติที่ดีตามลักษณะการใช้งาน หรืออาจจะนำมาผสม (blend) กับพลาสติกจากปิโตรเคมีบางชนิดที่เหมาะสมเพื่อช่วยเสริมสมบัติบางประการซึ่งกันและกันให้ดียิ่งขึ้น

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 21 เปรียบเทียบสมบัติทางกายภาพและเชิงกล ของเทอร์พอลิเมอร์ที่มีสัดส่วนของโมโนเมอร์แตกต่างกันซึ่งผลิตโดย *Bacillus* sp.BA-019 (*) และ PHA จาก *A. eutrophus* กับพลาสติกจากปิโตรเคมีทางการค้าบางชนิด ซึ่งรวบรวมจากกลุ่มวิจัยกลุ่มต่าง ๆ (Holmes, 1988 ; Kunioka, 1989 ; Doi, 1989 ; Doi, 1990 ; Lee, 1996 ; Mitomo, 2001 ;http://www.maropolymeronline.com และ สุชาดา จันทร์ประทีป, 2539)

PHA			Tg	Tm	Young's modulus	Tensile strength	Elongation
3HB	3HV	4HB	(°C)	(°C)	(MPa)	(MPa)	(%)
100	0	0	10	179	3500	40	0.4
97	3	0	8	170	2900	38	-
91	9	0	6	162	1900	37	-
75	25	0	-6	137	700	30	-
97	0	3	-	-	-	28	45
90	0	10	-	-	-	24	242
82	0	18	-4	165	-	26	444
31	0	69	-36	50	-	17	591
0	0	100	-48	54	-	104	1000
10	6	84	-47.1	54.3	118.03	9.03	300.1
4	3	93	-51.6	54.8	127.3	13.7	429.9
81*	9	10	-10.7	150.9	403.5	10.37	2.57
61*	17	22	-12.9	143.7	245.4	21.37	8.71
66*	20	14	-12.6	142.8	368.75	11.6	3.14
Polypropylene			-10	170	1700	40	400
LDPE			-25	115	300	14	650
HDPE			-68	130	830	31	100
Polystyrene			74	-	2300	36	2.5

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สรุปผลงานวิจัย

1. *Bacillus* sp. BA-019 สามารถผลิตเทอร์พอลิเมอร์ P(3HB-co-3HV-co-4HB) ได้ โดยสารตั้งต้นที่เหมาะสมสำหรับโมโนเมอร์ 3HB ได้แก่ น้ำตาลทราย สัดส่วนโมโนเมอร์ 3HB อยู่ในช่วง 64 – 70 โมลเปอร์เซ็นต์ การผลิตเทอร์พอลิเมอร์ เท่ากับ 33.18 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง

2. สารตั้งต้นที่เหมาะสมสำหรับโมโนเมอร์ 3HV คือ เกลือโพรพิโอเนต โดยสัดส่วนของ 3HV สูงสุดเท่ากับ 26 โมลเปอร์เซ็นต์ ซึ่งน้อยกว่าเกลือวาเลอเรตเล็กน้อย แต่พบว่า การเจริญสูงกว่าเมื่อใช้เกลือโพรพิโอเนตเป็นสารตั้งต้นโดยค่าน้ำหนักเซลล์แห้งสูงที่สุดเท่ากับ 2.44 กรัมต่อลิตร

3. สารตั้งต้นที่เหมาะสมสำหรับโมโนเมอร์ 4HB คือ โซเดียม-4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต ได้สัดส่วนของโมโนเมอร์ 4HB สูงที่สุดเท่ากับ 18 โมลเปอร์เซ็นต์ การเจริญและการผลิตเทอร์พอลิเมอร์สูงที่สุดได้แก่ 2.51 กรัมต่อลิตร และ 35.86 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ตามลำดับ

4. การแปรความเข้มข้นของน้ำตาลทรายที่เพิ่มขึ้นมีผลให้สัดส่วนของโมโนเมอร์ 3HB ที่เป็นองค์ประกอบในเทอร์พอลิเมอร์ P(3HB-co-3HV-co-4HB) เพิ่มขึ้น โดยเมื่อใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลทรายเท่ากับ 15 กรัมต่อลิตร พบว่า *Bacillus* sp. BA-019 สามารถสังเคราะห์โมโนเมอร์ 3HB ได้สูงที่สุดเท่ากับ 89 โมลเปอร์เซ็นต์

5. เมื่อใช้ความเข้มข้นของเกลือโพรพิโอเนตมากขึ้นสัดส่วนของ 3HV เพิ่มขึ้น โดยสัดส่วนของ 3HV สูงที่สุดเท่ากับ 49 โมลเปอร์เซ็นต์ เมื่อใช้เกลือโพรพิโอเนต เข้มข้นเท่ากับ 100 มิลลิโมลาร์

6. สัดส่วนของโมโนเมอร์ 4HB ที่เป็นองค์ประกอบของเทอร์พอลิเมอร์ แปรผันโดยตรงกับความเข้มข้นของโซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต เมื่อความเข้มข้นของสารตั้งต้นเพิ่มขึ้นมีผลให้สัดส่วนของ 4HB สูงขึ้น และเมื่อความเข้มข้นของโซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต เท่ากับ 100 มิลลิโมลาร์ *Bacillus* sp.BA-019 สังเคราะห์โมโนเมอร์ 4HB ได้สูงที่สุดเท่ากับ 78 โมลเปอร์เซ็นต์

7. การเจริญของเชื้อ *Bacillus* sp. BA-019 แปรผันโดยตรงกับความเข้มข้นของน้ำตาลทราย เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลทรายเพิ่มขึ้นการเจริญของเชื้อจะเพิ่มขึ้น น้ำหนักเซลล์แห้งสูงที่สุดเท่ากับ 3.33 กรัมต่อลิตร เมื่อมีน้ำตาลทรายเข้มข้น 15 กรัมต่อลิตร แต่เมื่อความเข้มข้นของเกลือโพรพิโอเนตเพิ่มมากขึ้นมีผลทำให้การเจริญของเชื้อลดลง ส่วนความเข้มข้นของโซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต พบว่าไม่มีต่อการเจริญของเชื้อ *Bacillus* sp. BA-019

8. *Bacillus* sp. BA-019 สามารถผลิตเทอร์พอลิเมอร์สูงที่สุด เท่ากับ 41.02 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งที่เวลา 36 ชั่วโมง ของการเลี้ยงเชื้อ โดยปริมาณเทอร์พอลิเมอร์ขึ้นอยู่กับ

ความเข้มข้นของน้ำตาลทราย ในการทดลองที่ไม่มีน้ำตาลทรายในสารอาหารได้ปริมาณเทอร์พอลิเมอร์ต่ำกว่ามากคือ อยู่ในช่วง 3.12 – 11.76 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง

9. *Bacillus* sp. BA-019 สามารถเจริญ และผลิตเทอร์พอลิเมอร์ได้ เมื่อใช้แกมมา-บิวทิโรแลกโตนเป็นสารตั้งต้นของ 4HB ด้วยการเลี้ยงเชื้อแบบสองขั้นตอน โดยปริมาณเซลล์เริ่มต้นที่เหมาะสม เท่ากับ 3.40 กรัมต่อลิตร การเจริญสูงที่สุดคิดเป็นน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 4.29 กรัมต่อลิตร (แกมมา-บิวทิโรแลกโตน เข้มข้นเท่ากับ 25 มิลลิโมลาร์) สัดส่วนของโมโนเมอร์ 4HB สูงที่สุดเท่ากับ 32 โมลเปอร์เซ็นต์ เมื่อใช้แกมมา-บิวทิโรแลกโตนเพิ่มขึ้นเท่ากับ 50 มิลลิโมลาร์

10. ด้านสมบัติเชิงกลและสมบัติทางกายภาพ ของแผ่นฟิล์มเทอร์พอลิเมอร์ P(3HB-co-3HV-co-4HB) ที่ผลิตจากเชื้อ *Bacillus* sp. BA-019 พบว่าแผ่นฟิล์มที่มีสัดส่วนของโมโนเมอร์ 4HB สูง ได้แก่ P(3HB-co-17%3HV-co-22%4HB) และแผ่นฟิล์มที่มีสัดส่วนของ 3HV สูง ได้แก่ P(3HB-co-20%3HV-co-14%4HB) มีค่าเปอร์เซ็นต์การยืดตัวสูง ค่าYoung's modulus ต่ำ และค่าอุณหภูมิกลาสทรานซิชัน กับค่าอุณหภูมิหลอมเหลวมีค่าต่ำใกล้เคียงกัน ส่วนแผ่นฟิล์มที่มีสัดส่วนของ 3HB สูงที่สุดคือ 81 โมลเปอร์เซ็นต์ ได้แก่ฟิล์ม P(3HB-co-9%3HV-co-10%4HB) พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การยืดตัวต่ำกว่า และค่า Young's modulus สูงกว่า และมีค่าอุณหภูมิกลาสทรานซิชัน กับค่าอุณหภูมิหลอมเหลวสูงกว่า จึงมีลักษณะแข็งและเปราะกว่า แผ่นฟิล์มอีกสองชนิด ในการศึกษานี้

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย