การผลิตและการศึกษาลักษณะสมบัติของเทอร์พอลิเมอร์ พอลิ(3-ไฮดรอกซีบิวทิเรต-โค-3-ไฮดรอกซีวาเลอเรต-โค-4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต) จาก *Bacillus* sp. BA-019

นางสาวศศิพร โกมลเกษรักษ์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ภาควิชาจุลชีววิทยา
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2545

ISBN 974-17-1192-1

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF TERPOLYMER POLY(3-HYDROXYBUTYRATE-CO-3-HYDROXYVALERATE-CO-4-HYDROXYBUTYRATE) FROM *Bacillus* sp. BA-019

Miss Sasiporn Komonkadrux

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Industrial Microbiology
Department of Microbiology
Faculty of Science
Chulalongkorn University
Academic Year 2002

ISBN 974-17-1192-1

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การผลิตและการศึกษาลักษณะสมบัติของเทอร์พอลิเมอร์ พอลิ(3-ไฮดรอกซีบิวทิเรต-โค-3-ไฮดรอกวาเลอเรต-โค-4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต) จาก *Bacillus* sp. BA-019
โดย	นางสาวศศิพร โกมลเกษรักษ์
สาขาวิชา	จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร. ส่งศรี กุลปรีชา

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(รองศาสตราจารย์ ดร. วันชัย โพธิ์พิจิตร)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.ไพเราะ ปิ่นพานิชการ)

.....อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ ดร.ส่งศรี กุลปรีชา)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.อมร เพชรสม)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.หรรษา ปุณณะพยัคฆ์)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ศศิพร โกมลเกษรักษ์ : การผลิตและการศึกษาลักษณะสมบัติของเทอร์พอลิเมอร์ พอลิ(3-ไฮดรอกซีบิวทิเรต-โค-3-ไฮดรอกวาเลอเรต-โค-4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต) จาก *Bacillus* sp. BA-019 (PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF TERPOLYMER POLY(3-HYDROXYBUTYRATE-CO-3-HYDROXYVALERATE-CO-4-HYDROXYBUTYRATE) FROM *Bacillus* SP. BA-019) อ.ที่ปรึกษา : รศ. ดร. ส่งศรี กุลปรีชา: จำนวน 124 หน้า ISBN 974-17-1192-1

ในการศึกษา การผลิตเทอร์พอลิเมอร์ P(3HB-co-3HV-co-4HB) จาก *Bacillus* sp. BA-019 ซึ่งเป็นแบคทีเรียสายพันธุ์ที่แยกได้ใหม่ พบว่า *Bacillus* sp. BA-019 สามารถผลิตเทอร์พอลิเมอร์ พอลิ(3-ไฮดรอกซีบิวทิเรต-โค-3-ไฮดรอกซีวาเลอเรต-โค-4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต) โดยสารตั้งต้นสำหรับผลิตโมโนเมอร์ 3HB ที่ศึกษา ได้แก่ น้ำตาลทราย ซูโครส และกากน้ำตาล พบว่าการใช้น้ำตาลทรายหรือซูโครส ทำให้สังเคราะห์โมโนเมอร์ 3HB ในสัดส่วนที่เหมาะสม และการผลิตเทอร์พอลิเมอร์ใกล้เคียงกัน เลือกใช้น้ำตาลทรายเป็นสารตั้งต้นสำหรับผลิตโมโนเมอร์ 3HB เนื่องจากมีราคาถูกกว่าซูโครส เมื่อใช้เกลือโพรพิโอเนตเป็นสารตั้งต้นสำหรับสังเคราะห์โมโนเมอร์ 3HV พบว่าได้สัดส่วนของ 3HV ใกล้เคียงกันกับการใช้เกลือวาเลอเรตเป็นสารตั้งต้น (26 และ 28 โมลเปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) แต่การเจริญและการผลิตเทอร์พอลิเมอร์เมื่อใช้เกลือโพรพิโอเนตสูงกว่าการใช้เกลือวาเลอเรต ดังนั้นจึงเลือกเกลือโพรพิโอเนตเป็นสารตั้งต้นสำหรับ 3HV ส่วนการศึกษาสารตั้งต้นสำหรับสังเคราะห์โมโนเมอร์ 4HB ได้แก่ โซเดียม-4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต 1,4-บิวเทนไดออล และ แกมมา-บิวทิโรแลกโตน พบว่าเมื่อใช้ โซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต มีผลให้ได้สัดส่วนของโมโนเมอร์ 4HB สูงที่สุดเท่ากับ 18 โมลเปอร์เซ็นต์ การเจริญ คิดเป็นน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 2.51 กรัมต่อลิตร และการผลิตเทอร์พอลิเมอร์เท่ากับ 36 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ซึ่งสูงกว่าการใช้แกมมา-บิวทิโรแลกโตน การศึกษาผลของความเข้มข้นของสารตั้งต้น ที่มีต่อสัดส่วนของโมโนเมอร์แต่ละชนิด พบว่าความเข้มข้นของน้ำตาลทรายที่เพิ่มขึ้นมีผลทำให้สัดส่วนของ 3HB เพิ่มขึ้นโดยค่าสูงสุดเท่ากับ 89 โมลเปอร์เซ็นต์ การเจริญคิดเป็นน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 3.33 กรัมต่อลิตร และการผลิตเทอร์พอลิเมอร์ได้เท่ากับ 41 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ความเข้มข้นของเกลือโพรพิโอเนตที่เพิ่มขึ้นทำให้สัดส่วนของ 3HV เพิ่มขึ้น และได้ค่าสูงที่สุดเท่ากับ 49 โมลเปอร์เซ็นต์ สัดส่วนของโมโนเมอร์ 4HB เพิ่มสูงขึ้นเมื่อความเข้มข้นของโซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรตเพิ่มขึ้นและสูงที่สุดเท่ากับ 78 โมลเปอร์เซ็นต์ การศึกษาวิธีเลี้ยง *Bacillus* sp. BA-019 แบบสองขั้นตอนโดยใช้แกมมา-บิวทิโรแลกโตนเป็นสารตั้งต้นสำหรับ 4HB พบว่าเมื่อใช้ปริมาณเซลล์เริ่มต้นที่เหมาะสมเท่ากับ3.40 กรัมต่อลิตร ได้สัดส่วนของโมโนเมอร์ 4HB เท่ากับ 15 และ 32 โมลเปอร์เซ็นต์ เมื่อมีความเข้มข้นของแกมมา-บิวทิโรแลกโตนเท่ากับ 25 และ 50 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ ในด้านสมบัติทางกายภาพและเชิงกลของแผ่นฟิล์มเทอร์พอลิเมอร์ที่ผลิตได้จากเชื้อ *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 กับค่าอุณหภูมิหลอมเหลวมีค่าต่ำใกล้เคียงกันส่งผลให้แผ่นฟิล์มมีลักษณะเหนียวใสและยืดหยุ่นดี ส่วนแผ่นฟิล์มที่มีสัดส่วนของ 3HB สูงที่สุดคือ 81 โมลเปอร์เซ็นต์ ได้แก่ฟิล์ม P(3HB-co-9%3HV-co-10%4HB) พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การยืดตัวต่ำกว่า ค่า Young's modulus สูงกว่า และมีค่าอุณหภูมิกลาสทรานซิชัน กับค่าอุณหภูมิหลอมเหลวสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับแผ่นฟิล์มเทอร์พอลิเมอร์ที่มี 3HV และ 4HB เป็นองค์ประกอบอยู่สูงกว่า จึงมีลักษณะแข็งและเปราะกว่า แผ่นฟิล์มอีกสองชนิด

ภาควิชา จุลชีววิทยา ลายมือชื่อนิสิต.....ศศิพร โกมลเกษรักษ์.....

สาขาวิชา จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ปีการศึกษา 2545

##4272404023 MAJOR: INDUSTRIAL MICROBIOLOGY

KEY WORD: P(3HB-co-3HV-co-4HB) / TERPOLYMER/*Bacillus* sp. BA-019/PROPERTIES

SASIPORN KOMONKADRUX : PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF TERPOLYMER POLY(3-HYDROXYBUTYRATE-CO-3-HYDROXYVALERATE-CO-4-HYDROXYBUTYRATE) FROM *Bacillus* sp. BA-019. THESIS ADVISOR:ASSOC. PROF. SONGSRI KULPREECHA, Ph.D. 124 ..pp. ISBN 974-17-1192-1

The production of terpolymer P(3HB-co-3HV-co-4HB) from the newly isolated strain ; *Bacillus* sp. BA-019 was investigated. It was found that terpolymer P(3HB-co-3HV-co-4HB) was produced by *Bacillus* sp. BA-019. By using cane sugar, sucrose and cane-molasses as precursors of 3HB monomer, the result showed that suitable mole fraction of 3HB monomer was synthesized and nearly equal or sucrose. Cane sugar was selected as the precursor of 3HB monomer for further study due to lower cost comparing to that of sucrose. Almost equal mole fraction of 3HV monomer were synthesized when sodium propionate and sodium valerate were utiltzed as precursors of 3HV (26 and 28 mole% respectively). Higher growth of *Bacillus* sp. BA-019 and terpolymer production were investigated in medium containing propionate comparing to that of valerate. Thus, propionate was utilized as precursor of 3HV monomer. Sodium-4-hydroxybutyrate, 1,4-butanediol and gamma-butyrolactone were studied as the suitable precursor of 4HB monomer. The result showed that the highest mole fraction (18 mole.%) of 4HB was synthesized from sodium- 4-hydroxybutyrate, higher cell mass (2.51 g/l) and higher terpolymer productions (36% by dry cell weight) were obtained comparing to that using gamma-butyrolactone. The mole fraction of each monomer was affected by concentration of its precursor, i.e. higher mole fraction (89 mole%) of 3HB was detected with the highest dry cell weight (3.33 g/l) and terpolymer content (41% by dry cell weight) when sugar concentration was increased. It was observed that increasing of propionate concentration resulting in increasing of 3HV mole fraction and reached maximum as 49 mole% . Suimilarly, higher 4HB mole fraction was determined when sodium 4-hydroxybutyrate concentration increased highest value at 78 mole%. By using two steps cultivation of *Bacillus* sp. BA-019 with gamma-butyralactone as precursor of 4HB, and 3.40 g/l of cell mass 15 and 32 mole% of 4HB monomer were synthesized with 25 and 50 mM of gamma-butyrolactone, respectively. The physical and mechanical properties of the terpolymer films produced by *Bacillus* sp. BA-019 were studied. The film of terpolymer with higher 4HB mole fraction i.e. P(3HB-co-17%3HV-co-22%4HB) and the terpolymer film with higher 3HV mole fraction i.e. P(3HB-co-20%3HV-co-14%4HB) showed high percent elongation low Young's modolus value, T_g and T_m values were nearly equal low then resulted in transparency and flexibility. The terpolymer film with highest 3HV mole fraction (81mole%) i.e. P(3HB-co9%3HV-co-10%4HB) exhibited lower value of percent elongation, higher value of Young's modulus, T_g and T_m were higher than those of terpolymer film that contain higher 3HV amd 4HB , thus this terpolymer film showed more toughness and brittleness than another two kinds of terpolymer films.

Department/Program Microbiology Student's signature.....

Field of study Industrial Microbiology Advisor's signature.....

Academic year 2002

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยความช่วยเหลืออย่างดียิ่งของรองศาสตราจารย์ ดร. ส่งศรี กุลปรีชา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ท่านได้กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำอันมีค่าและข้อคิดเห็นต่าง ๆ ของงานด้วยดีตลอดมา รวมทั้งได้ช่วยแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น ศิษย์ขอกราบขอบพระคุณอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ไพเราะ ปิ่นพานิชการ ที่กรุณารับเป็นประธานกรรมการสอบและแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.อมร เพชรสม และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.หรรษา ปุณณะพยัคฆ์ ที่กรุณารับเป็นกรรการสอบ และแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์ ที่กรุณาแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ เจ้าหน้าที่ของภาควุลชีววิทยา ตลอดจนพี่ ๆ น้อง ๆ ที่ให้กำลังใจ ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัยด้วยดีตลอดมา

งานวิจัยนี้ส่วนหนึ่งได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยของบัณฑิตวิทยาลัย และบางส่วนจากทุนของสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ดังนั้นจึงขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัยและคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และญาติพี่น้อง ที่ให้กำลังใจในการทำงานวิทยานิพนธ์ตลอดมา

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....จ

กิตติกรรมประกาศ.....ฉ

สารบัญ.....ช

สารบัญตาราง.....ซ

สารบัญรูป.....ฎ

คำย่อ.....ณ

บทที่

1 บทนำ..... 1

2 ตรวจเอกสาร..... ๖

3. อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย..... 28

4. ผลการทดลอง..... 41

5. สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง..... 92

รายการอ้างอิง..... 103

ภาคผนวก..... 112

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์..... 124

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้าที่
1	บริษัทผู้ผลิต PHA ในระดับอุตสาหกรรม	3
2	จุลินทรีย์ที่สามารถสร้างและสะสม PHA	10
3	การผลิตเทอร์พอลิเมอร์ สัดส่วนของโมโนเมอร์ และการเจริญ เมื่อเลี้ยง *Bacillus* sp. BA-019 โดยการใช้สารตั้งต้นเป็น ซูโครส 15 กรัมต่อลิตร เกลือวาเลอเรต 50 มิลลิโมลาร์ โซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต 25 มิลลิโมลาร์	43
4	การผลิตเทอร์พอลิเมอร์ สัดส่วนของโมโนเมอร์ และการเจริญ เมื่อเลี้ยง *Bacillus* sp. BA-019 โดยการใช้สารตั้งต้นเป็นน้ำตาลทราย 15 กรัมต่อลิตร เกลือวาเลอเรต 50 มิลลิโมลาร์ โซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต 25 มิลลิโมลาร์	44
5	การผลิตเทอร์พอลิเมอร์ สัดส่วนของโมโนเมอร์ และการเจริญ เมื่อเลี้ยง *Bacillus* sp. BA-019 โดยการใช้สารตั้งต้นเป็นกากน้ำตาล 15 กรัมต่อลิตร เกลือวาเลอเรต 50 มิลลิโมลาร์ โซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต 25 มิลลิโมลาร์	45
6	การผลิตเทอร์พอลิเมอร์ สัดส่วนของโมโนเมอร์ และการเจริญ เมื่อเลี้ยง *Bacillus* sp. BA-019 โดยการใช้สารตั้งต้นเป็นน้ำตาลทราย 15 กรัมต่อลิตร เกลือวาเลอเรต 50 มิลลิโมลาร์ โซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต 25 มิลลิโมลาร์	47
7	การผลิตเทอร์พอลิเมอร์ สัดส่วนของโมโนเมอร์ และการเจริญ เมื่อเลี้ยง *Bacillus* sp. BA-019 โดยการใช้สารตั้งต้นเป็นน้ำตาลทราย 15 กรัมต่อลิตร เกลือโพรพิโอเนต 50 มิลลิโมลาร์ โซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต 25 มิลลิโมลาร์	48
8	การผลิตเทอร์พอลิเมอร์ สัดส่วนของโมโนเมอร์ และการเจริญ เมื่อเลี้ยง *Bacillus* sp. BA-019 โดยการใช้สารตั้งต้นเป็นน้ำตาลทราย 15 กรัมต่อลิตร เกลือโพรพิโอเนต 50 มิลลิโมลาร์ โซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต 25 มิลลิโมลาร์	50
9	การผลิตเทอร์พอลิเมอร์ สัดส่วนของโมโนเมอร์ และการเจริญ เมื่อเลี้ยง *Bacillus* sp. BA-019 โดยการใช้สารตั้งต้นเป็นน้ำตาลทราย 15 กรัมต่อลิตร เกลือโพรพิโอเนต 50 มิลลิโมลาร์1,4-บิวเทนไดออล 25 มิลลิโมลาร์	51

สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่ **หน้าที่**

10 การผลิตเทอร์พอลิเมอร์ สัดส่วนของโมโนเมอร์ และการเจริญ เมื่อเลี้ยง *Bacillus* sp. BA-019 โดยการใช้สารตั้งต้นเป็นน้ำตาลทราย 15 กรัมต่อลิตร เกลือโพรพิโอเนต 50 มิลลิโมลาร์ แกมมา-บิวทิโรแลกโตน 25 มิลลิโมลาร์..... 52

11.ก สัดส่วนโมโนเมอร์ของ 3HB ที่สังเคราะห์โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อเลี้ยงเชื้อโดยใช้ ความเข้มข้นของน้ำตาลทราย เกลือโพรพิโอเนต และโซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต ที่ความเข้มข้น แตกต่างกัน..... 56

11.ข สัดส่วนโมโนเมอร์ของ 3HV ที่สังเคราะห์โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อเลี้ยงเชื้อโดยใช้ ความเข้มข้นของน้ำตาลทราย เกลือโพรพิโอเนต และโซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต ที่ความเข้มข้น แตกต่างกัน..... 61

11.ค สัดส่วนโมโนเมอร์ของ 4HB ที่สังเคราะห์โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อเลี้ยงเชื้อโดยใช้ ความเข้มข้นของน้ำตาลทราย เกลือโพรพิโอเนต และโซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต ที่ความเข้มข้น แตกต่างกัน..... 66

12 การเจริญ ของ *Bacillus* sp. BA-019 ที่เวลา 36 ชั่วโมง ของการเลี้ยงเชื้อโดยใช้ ความเข้มข้นของน้ำตาลทราย เกลือโพรพิโอเนต และโซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต ที่ความเข้มข้น แตกต่างกัน..... 70

13 ปริมาณเทอร์พอลิเมอร์ P(3HB-co-3HV-co-4HB) ที่เวลา 36 ชั่วโมง ของการเลี้ยงเชื้อ ที่ผลิตจาก *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อเลี้ยงเชื้อโดยใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลทราย เกลือโพรพิโอเนต และโซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต ที่ความเข้มข้น แตกต่างกัน..... 75

14 การผลิตเทอร์พอลิเมอร์ สัดส่วนของโมโนเมอร์ และการเจริญของ *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อใช้ปริมาณเซลล์เริ่มต้นเท่ากับ 1.70 กรัมต่อลิตร..... 80

15 การผลิตเทอร์พอลิเมอร์ สัดส่วนของโมโนเมอร์ และการเจริญของ *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อใช้ปริมาณเซลล์เริ่มต้นเท่ากับ 3.40 กรัมต่อลิตร..... 80

16 การผลิตเทอร์พอลิเมอร์ สัดส่วนโมโนเมอร์ และการเจริญของ *Bacillus* sp. BA-019 ในสูตรอาหาร ก..... 83

17 การผลิตเทอร์พอลิเมอร์ สัดส่วนโมโนเมอร์ และการเจริญของ *Bacillus* sp. BA-019 ในสูตรอาหาร ข..... 83

สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่		หน้าที่
18	การผลิตเทอร์พอลิเมอร์ และการเจริญ เมื่อเลี้ยง *Bacillus* sp. BA-019 โดยอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตทั้งสามสูตร	86
19	ค่าอุณหภูมิหลอมเหลว และอุณหภูมิกลาสทรานซิชันของเทอร์พอลิเมอร์ที่มีสัดส่วนของโมโนเมอร์แตกต่างกัน	89
20	แสดงสมบัติเชิงกลของเทอร์พอลิเมอร์ที่มีสัดส่วนต่าง ๆ กัน	89
21	เปรียบเทียบสมบัติทางกายภาพและเชิงกลของเทอร์พอลิเมอร์ที่มีสัดส่วนของโมโนเมอร์แตกต่างกันซึ่งผลิตโดย *Bacillus* sp.BA-019 (*) และ PHA จาก *A. eutrophus* กับพลาสติกจากปิโตรเคมีทางการค้าบางชนิด ซึ่งรวบรวมจากกลุ่มวิจัยกลุ่มต่าง ๆ	100

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูป

รูปที่		หน้าที่
1	แสดงการย่อยสลายของขวดแชมพูที่ ผลิตจาก PHBV	4
2	วัฏจักรของ PHA	6
3	แกรนูลของ PHB ที่สะสมอยู่ในเซลล์แบคทีเรีย	11
4	สูตรโครงสร้างของ PHA ซึ่ง ~ หมายถึง พันธะเอสเทอร์ และ * หมายถึง ตำแหน่งบีตา คาร์บอน	12
5	วิถีการสังเคราะห์ PHB โดย *A. eutrophus* เมื่อใช้แหล่งคาร์บอนต่างชนิดกัน	14
6	สูตรโครงสร้างของ P(3HB-co-3HV)	15
7	วิถีการสังเคราะห์ของโคพอลิเมอร์ ที่ประกอบด้วยหน่วยของ 3-ไฮดรอกซีบิวทิเรต (3HB) และ 3-ไฮดรอกซีวาเลอเรต (3HV)	16
8	วิถีการสังเคราะห์ P(3HB-co-3HV) โดย *A. eutrophus* เมื่อใช้กรดวาเลอริกเป็นแหล่งคาร์บอนเดี่ยว	17
9	โครงสร้างของ P(3HB-co-4HB)	19
10	วิถีการสังเคราะห์ P(3HB-co-4HB) โดย*Alcaligenes eutrophus* จากสารตั้งต้นต่างชนิดกัน	20
11	โครงสร้างของเทอร์พอลิเมอร์ P(3HB-co-co-3HV-co-4HB)	22
12	แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง ความเค้น — ความเครียด	24
13	เปรียบเทียบการผลิตเทอร์พอลิเมอร์ สัดส่วนของโมโนเมอร์ และการเจริญ เมื่อเลี้ยง *Bacillus* sp. BA-019 โดยการใช้สารตั้งต้นเป็น ซูโครส15 กรัมต่อลิตร เกลือวาเลอเรต 50 มิลลิโมลาร์ โซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต 25 มิลลิโมลาร์	43
14	เปรียบเทียบการผลิตเทอร์พอลิเมอร์ สัดส่วนของโมโนเมอร์ และการเจริญ เมื่อเลี้ยง *Bacillus* sp. BA-019 โดยการใช้สารตั้งต้นเป็นน้ำตาลทราย15กรัมต่อลิตร เกลือวาเลอเรต 50 มิลลิโมลาร์ โซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต 25 มิลลิโมลาร์	44
15	เปรียบเทียบการผลิตเทอร์พอลิเมอร์ สัดส่วนของโมโนเมอร์ และการเจริญ เมื่อเลี้ยง *Bacillus* sp. BA-019 โดยการใช้สารตั้งต้นเป็นกากน้ำตาล15 กรัมต่อลิตร เกลือวาเลอเรต 50 มิลลิโมลาร์ โซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต 25 มิลลิโมลาร์	45

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่		หน้าที่
16	เปรียบเทียบการผลิตเทอร์พอลิเมอร์ สัดส่วนของโมโนเมอร์ และการเจริญ เมื่อเลี้ยง *Bacillus* sp. BA-019 โดยการใช้สารตั้งต้นเป็นน้ำตาลทราย15 กรัมต่อลิตร เกลือวาเลอเรต 50 มิลลิโมลาร์ โซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต 25 มิลลิโมลาร์.....	47
17	เปรียบเทียบการผลิตเทอร์พอลิเมอร์ สัดส่วนของโมโนเมอร์ และการเจริญ เมื่อเลี้ยง *Bacillus* sp. BA-019 โดยการใช้สารตั้งต้นเป็นน้ำตาลทราย15 กรัมต่อลิตร เกลือโพรพิโอเนต 50 มิลลิโมลาร์ โซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต 25 มิลลิโมลาร์.....	48
18	เปรียบเทียบการผลิตเทอร์พอลิเมอร์ สัดส่วนของโมโนเมอร์ และการเจริญ เมื่อเลี้ยง *Bacillus* sp. BA-019 โดยการใช้สารตั้งต้นเป็นน้ำตาลทราย15 กรัมต่อลิตร เกลือโพรพิโอเนต 50 มิลลิโมลาร์ โซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต 25 มิลลิโมลาร์.....	50
19	เปรียบเทียบการผลิตเทอร์พอลิเมอร์ สัดส่วนของโมโนเมอร์ และการเจริญ เมื่อเลี้ยง *Bacillus* sp. BA-019 โดยการใช้สารตั้งต้นเป็นน้ำตาลทราย15กรัมต่อลิตร เกลือโพรพิโอเนต 50 มิลลิโมลาร์ 1,4-บิวเทนไดออล 25 มิลลิโมลาร์.....	51
20	เปรียบเทียบการผลิตเทอร์พอลิเมอร์ สัดส่วนของโมโนเมอร์ และการเจริญ เมื่อเลี้ยง *Bacillus* sp. BA-019 โดยการใช้สารตั้งต้นเป็นน้ำตาลทราย15 กรัมต่อลิตร เกลือโพรพิโอเนต 50 มิลลิโมลาร์ แกมมา-บิวทิโรแลกโตน 25 มิลลิโมลาร์.....	52
21	สัดส่วนของ 3HB ที่สังเคราะห์จาก *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อให้โซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต 15 มิลลิโมลาร์ และแปรความเข้มข้นของน้ำตาลทรายและเกลือโพรพิโอเนต.....	57
22	สัดส่วนของ 3HB ที่สังเคราะห์จาก *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อให้โซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต 25 มิลลิโมลาร์ และแปรความเข้มข้นของน้ำตาลทรายและเกลือโพรพิโอเนต.....	57
23	สัดส่วนของ 3HB ที่สังเคราะห์จาก *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อให้โซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต 50 มิลลิโมลาร์ และแปรความเข้มข้นของน้ำตาลทรายและเกลือโพรพิโอเนต.....	58
24	สัดส่วนของ 3HB ที่สังเคราะห์จาก *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อให้โซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต 75 มิลลิโมลาร์ และแปรความเข้มข้นของน้ำตาลทรายและเกลือโพรพิโอเนต.....	58

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่ **หน้าที่**

25 สัดส่วนของ 3HB ที่สังเคราะห์จาก *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อให้โซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต 100 มิลลิโมลาร์ และแปรความเข้มข้นของน้ำตาลทรายและเกลือโพรพิโอเนต..... 59

26 สัดส่วนของ 3HV ที่สังเคราะห์จาก *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อให้โซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต 15 มิลลิโมลาร์ และแปรความเข้มข้นของน้ำตาลทรายและเกลือโพรพิโอเนต..... 62

27 สัดส่วนของ 3HV ที่สังเคราะห์จาก *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อให้โซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต 25 มิลลิโมลาร์ และแปรความเข้มข้นของน้ำตาลทรายและเกลือโพรพิโอเนต..... 62

28 สัดส่วนของ 3HV ที่สังเคราะห์จาก *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อให้โซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต 50 มิลลิโมลาร์ และแปรความเข้มข้นของน้ำตาลทรายและเกลือโพรพิโอเนต..... 63

29 สัดส่วนของ 3HV ที่สังเคราะห์จาก *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อให้โซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต 75 มิลลิโมลาร์ และแปรความเข้มข้นของน้ำตาลทรายและเกลือโพรพิโอเนต..... 63

30 สัดส่วนของ 3HV ที่สังเคราะห์จาก *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อให้โซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต 100 มิลลิโมลาร์ และแปรความเข้มข้นของน้ำตาลทรายและเกลือโพรพิโอเนต..... 64

31 สัดส่วนของ 4HB ที่สังเคราะห์จาก *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อใช้เกลือโพร-พิโอเนต 25 มิลลิโมลาร์ และแปรความเข้มข้นของโซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรตและน้ำตาลทราย..... 67

32 สัดส่วนของ 4HB ที่สังเคราะห์จาก *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อใช้เกลือโพร-พิโอเนต 50 มิลลิโมลาร์ และแปรความเข้มข้นของโซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรตและน้ำตาลทราย..... 67

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่ หน้าที่

33 สัดส่วนของ 4HB ที่สังเคราะห์จาก *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อใช้เกลือโพร-พิโอเนต 75 มิลลิโมลาร์ และแปรความเข้มข้นของโซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต และน้ำตาลทราย..... 68

34 สัดส่วนของ 4HB ที่สังเคราะห์จาก *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อใช้เกลือโพร-พิโอเนต 100 มิลลิโมลาร์ และแปรความเข้มข้นของโซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต และน้ำตาลทราย..... 68

35 การเจริญของ *Bacillus* sp. BA-019 ที่เวลา 36 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงเชื้อโดยใช้ โซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต 15 มิลลิโมลาร์ แปรความเข้มข้นของน้ำตาลทราย และ เกลือโพรพิโอเนต..... 71

36 การเจริญของ *Bacillus* sp. BA-019 ที่เวลา 36 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงเชื้อโดยใช้ โซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต 25 มิลลิโมลาร์ แปรความเข้มข้นของน้ำตาลทราย และ เกลือโพรพิโอเนต..... 71

37 การเจริญของ *Bacillus* sp. BA-019 ที่เวลา 36 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงเชื้อโดยใช้ โซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต 50 มิลลิโมลาร์ แปรความเข้มข้นของน้ำตาลทราย และ เกลือโพรพิโอเนต..... 72

38 การเจริญของ *Bacillus* sp. BA-019 ที่เวลา 36 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงเชื้อโดยใช้ โซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต 75 มิลลิโมลาร์ แปรความเข้มข้นของน้ำตาลทราย และ เกลือโพรพิโอเนต..... 72

39 การเจริญของ *Bacillus* sp. BA-019 ที่เวลา 36 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงเชื้อโดยใช้ โซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต 100 มิลลิโมลาร์ แปรความเข้มข้นของน้ำตาลทราย และ เกลือโพรพิโอเนต..... 73

40 ปริมาณเทอร์พอลิเมอร์ ที่ผลิตจาก *Bacillus* sp. BA-019 ที่เวลา 36 ชั่วโมง เมื่อให้ โซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต 15 มิลลิโมลาร์ แปรความเข้มข้นของน้ำตาลทราย และ เกลือโพรพิโอเนต..... 76

41 ปริมาณเทอร์พอลิเมอร์ ที่ผลิตจาก *Bacillus* sp. BA-019 ที่เวลา 36 ชั่วโมง เมื่อให้ โซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต 25 มิลลิโมลาร์ แปรความเข้มข้นของน้ำตาลทราย และ เกลือโพรพิโอเนต..... 76

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่ หน้าที่

42 ปริมาณเทอร์พอลิเมอร์ ที่ผลิตจาก *Bacillus* sp. BA-019 ที่เวลา 36 ชั่วโมง เมื่อให้ โซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต 50 มิลลิโมลาร์ แปรความเข้มข้นของน้ำตาลทราย และ เกลือโพรพิโอเนต..... 77

43 ปริมาณเทอร์พอลิเมอร์ ที่ผลิตจาก *Bacillus* sp. BA-019 ที่เวลา 36 ชั่วโมง เมื่อให้ โซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต 75 มิลลิโมลาร์ แปรความเข้มข้นของน้ำตาลทราย และ เกลือโพรพิโอเนต..... 77

44 ปริมาณเทอร์พอลิเมอร์ ที่ผลิตจาก *Bacillus* sp. BA-019 ที่เวลา 36 ชั่วโมง เมื่อให้ โซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต 100 มิลลิโมลาร์ แปรความเข้มข้นของน้ำตาลทราย และ เกลือโพรพิโอเนต..... 78

45 เปรียบเทียบการเจริญของเชื้อ *Bacillus* sp. BA-019 และการผลิตเทอร์พอลิเมอร์ เมื่อใช้ปริมาณเซลล์เริ่มต้นเท่ากับ 1.70 และ 3.40 กรัมต่อลิตร..... 81

46 เปรียบเทียบสัดส่วนของโมโนเมอร์ 4HB ที่ผลิตจาก *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อใช้ปริมาณเซลล์เริ่มต้นเท่ากับ 1.70 และ 3.40 กรัมต่อลิตร..... 81

47 เปรียบเทียบสัดส่วนของโมโนเมอร์ 4HB ที่ผลิตจาก *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร ก. และ ข. 84

48 เปรียบเทียบสัดส่วนของโมโนเมอร์ 3HV ที่ผลิตจาก *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร ก. และ ข. 84

49 สัดส่วนของโมโนเมอร์ที่เป็นองค์ประกอบของเทอร์พอลิเมอร์P(3HB-co-3HV-co-4HB) ผลิตโดย *Bacillus* sp. BA-019..... 87

50 ลักษณะของแผ่นฟิล์มเทอร์พอลิเมอร์ P(3HB-co-3HV-co-4HB) ที่มีสัดส่วนของโมโนเมอร์แต่ละชนิดต่าง ๆ กัน 91

50(ต่อ)ลักษณะของแผ่นฟิล์มเทอร์พอลิเมอร์ P(3HB-co-3HV-co-4HB) ที่มีสัดส่วนของโมโนเมอร์แต่ละชนิดต่าง ๆ กัน 92

คำย่อ

คำย่อ	คำอธิบาย
% by wt	เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง
GC	ก๊าซโครมาโตรกราฟฟี(gas chromatography)
g/l	กรัมต่อลิตร
mM	มิลลิโมลาร์
mol%	โมลเบ่อร์เซ็นต์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย