

### สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

**การเตรียมกล้าเชื้อเพื่อให้ได้ปริมาณเซลล์มาก และมีประสิทธิภาพในการสร้างเทอร์พอลิเมอร์**

เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes* sp. A-04 ในอาหารเลี้ยงกล้าเชื้อชุกควบคุม (rich medium) กับอาหารเลี้ยงกล้าเชื้อที่เติมฟรักโทสเพื่อให้ได้ปริมาณเซลล์มาก และกรดวาเลอริก ซึ่งกระตุ้นให้เซลล์พร้อมใช้กรดเป็นแหล่งคาร์บอน ปริมาณต่างกันพบว่ารูปแบบการเติบโต (น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด) ไม่แตกต่างกันอย่างชัดเจน และเนื่องจากวัตถุประสงค์ของการศึกษานี้นอกจากต้องการเชื้อที่มีปริมาณเซลล์มากแล้ว ยังต้องการกล้าเชื้อที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเทอร์พอลิเมอร์ ดังนั้นจึงนำรูปแบบการเติบโตที่ศึกษาได้ในการทดลองนี้เป็นแนวทางในการศึกษาขั้นต่อไป โดยเลือกอายุกล้าเชื้อบางช่วงในอาหารเลี้ยงกล้าเชื้อ 4 ชนิดดังกล่าวนำไปเลี้ยงในอาหาร MSM โดยวิธีการเลี้ยงแบบ 2 ขั้นตอน เพื่อให้ได้กล้าเชื้อที่มีปริมาณมากและมีประสิทธิภาพในการสร้างเทอร์พอลิเมอร์ สรุปว่ากล้าเชื้อที่เหมาะสมต่อการนำไปผลิตเทอร์พอลิเมอร์ ควรเป็นกล้าเชื้อที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงกล้าเชื้อซึ่งเติมฟรักโทส 3 และกรดวาเลอริก 1 กรัมต่อลิตร เลี้ยงนาน 16 ชั่วโมง เมื่อนำมาเลี้ยงในอาหาร MSM เติมฟรักโทส 5 และ แอมโมเนียมซัลเฟต 0.3 กรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นปริมาณที่วิจัยแล้วว่าเหมาะสมสำหรับการเพิ่มปริมาณเซลล์ในขั้นตอนการเลี้ยงเชื้อขั้นที่ 1 เลี้ยงเชื่อนาน 36 ชั่วโมง ได้น้ำหนักเซลล์แห้ง 1.95 กรัมต่อลิตร สามารถผลิต PHA 67.83 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง และสามารถใช้ฟรักโทสหมดก่อนถึงระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อในขั้นตอน 2 โดยจะกล่าวถึงการเลี้ยงเชื้อในขั้นตอนที่ 2 ภายหลังการหาชนิด ปริมาณแหล่งคาร์บอน และระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อ

จากการทบทวนเอกสารในงานวิจัยเรื่องการผลิตเทอร์พอลิเมอร์ ยังไม่พบรายงานเกี่ยวกับการศึกษาการเตรียมกล้าเชื้อสำหรับการผลิตเทอร์พอลิเมอร์ นอกจากในรายงานของ Doi และคณะ (1989) ซึ่งเป็นการผลิตโคพอลิเมอร์ ไดกล่าเชื้อซึ่งเตรียมโดยวิธีเดียวกับงานวิจัยนี้ กล่าวคือเป็นการปั่นเซลล์จากอาหารเลี้ยงกล้าเชื้อแล้วรวมเซลล์ทั้งหมด ใช้เซลล์ประมาณ 0.4 กรัม (น้ำหนักเซลล์เปียก) ต่อปริมาตรอาหารเพื่อการผลิต 50 มิลลิลิตร ในส่วนของคณะผู้วิจัย อัญชญา สุรติขจร (2537) ศึกษาการผลิตโคพอลิเมอร์ จากศึกษาการผลิตเทอร์พอลิเมอร์เบื้องต้น ได้ใช้กล้าเชื้ออายุ 16 ชั่วโมง (mid-log phase) ซึ่งคาดว่าเป็นกล้าเชื้อที่กำลังมีการเติบโตได้ดี แต่ยังมีได้พิจารณาในด้านของความต้องการกล้าเชื้อปริมาณมาก และเป็นกล้าเชื้อที่มีประสิทธิภาพในการผลิตเทอร์พอลิเมอร์ เนื่องจากงานวิจัยของ อัญชญา สุรติขจร (2537) มีวัตถุประสงค์หลักเพื่อศึกษาการผลิตโคพอลิเมอร์ ซึ่งต่างจากวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ที่มุ่งศึกษาเฉพาะการผลิตเทอร์พอลิเมอร์

ดังนั้นจึงเริ่มศึกษาตั้งแต่ขั้นตอนการเตรียมกล้าเชื้อ ให้มีความเหมาะสมสำหรับการผลิตเทอร์พอลิเมอร์ และจากปัญหาในงานวิจัยของอัญชญา ศุรติขจร (2537) พบว่าต้องการเชื้อเริ่มต้นปริมาณมาก เพื่อให้พอเพียงต่อการใช้เป็นเซลล์เริ่มต้นในการผลิตโคพอลิเมอร์ เนื่องจากแหล่งคาร์บอนที่ใช่บางชนิดเป็นกรดทำให้เชื้อมีการเติบโตได้น้อย จึงต้องใช้วิธีการปั่นเซลล์แล้วรวบรวมเซลล์โดยวิธีปลอดเชื้อได้ประมาณ 0.6 กรัม (น้ำหนักเซลล์เปียก) ต่อปริมาณอาหารเพื่อการผลิต 50 มิลลิลิตร ซึ่งเป็นวิธีที่สิ้นเปลืองอาหารเลี้ยงกล้าเชื้อและมีความยุ่งยาก เพื่อลดปัญหาดังกล่าวจึงปรับปรุงขั้นตอนการผลิตเทอร์พอลิเมอร์ด้วยวิธีเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเพื่อการผลิตเป็น 2 ขั้นตอน โดยใช้ปริมาณกล้าเชื้อจากอาหารเลี้ยงกล้าเชื้อ 2 เปอร์เซ็นต์ต่อปริมาณของอาหารเพื่อการผลิตโดยไม่ต้องปั่นเซลล์ เพื่อเป็นการเพิ่มปริมาณเซลล์ให้มากเพียงพอต่อการเลี้ยงเชื้อในขั้นตอนที่ 2 ซึ่งในการเลี้ยงเชื้อในอาหารเพื่อการผลิตขั้นตอนที่ 1 นี้ได้ปริมาณเซลล์เพิ่มขึ้นเป็น ประมาณ 0.3 กรัม (น้ำหนักเซลล์เปียก) ในอาหารเพื่อการผลิตปริมาตร 50 มิลลิลิตร

**การศึกษาชนิด ปริมาณแหล่งคาร์บอน และระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อ *Alcaligenes* sp. A-04 เพื่อผลิตเทอร์พอลิเมอร์ P(3HB-co-3HV-co-4HB) ให้มีสัดส่วนแต่ละโมโนเมอร์แตกต่างกัน**

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อผลิตเทอร์พอลิเมอร์ P(3HB-co-3HV-co-4HB) โดย *Alcaligenes* sp. A-04 ซึ่งเป็นเทอร์พอลิเมอร์ที่ประกอบด้วยโมโนเมอร์ 3 ชนิดได้แก่ 3HB 3HV และ 4HB เมื่อศึกษาวิธีการสังเคราะห์พบว่าโมโนเมอร์แต่ละชนิดสามารถผลิตจากแหล่งคาร์บอนได้หลายชนิด ดังนั้นจึงศึกษาเพื่อหาแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมสำหรับโมโนเมอร์แต่ละชนิด โดยแหล่งคาร์บอนสำหรับ 3HV โมโนเมอร์ ใช้กรดควาเลอร์ริก เช่นเดียวกับงานวิจัยของอัญชญา ศุรติขจร (2537) ซึ่งศึกษาการผลิตโคพอลิเมอร์ P(3HB-co-3HV) โดยเชื้อเดียวกันและรายงานไว้ว่าแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมสำหรับ 3HV โมโนเมอร์ คือ กรดควาเลอร์ริก

ผลงานวิจัยแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมสำหรับ 3HB โมโนเมอร์ โดยการเปรียบเทียบภาวะที่ไม่เสริมแหล่งคาร์บอนสำหรับ 3HB โมโนเมอร์กับภาวะการเสริมแหล่งคาร์บอนโดยใช้ฟรักโทสหรือกรดบิวทริก เนื่องจากการสังเคราะห์ 3HB โมโนเมอร์ใน *Alcaligenes* sp. A-04 สามารถสังเคราะห์ได้มากกว่า 1 วิธี และสามารถสังเคราะห์จากแหล่งคาร์บอนหลายชนิด ผลวิจัยสรุปว่าสามารถผลิตเทอร์พอลิเมอร์โดยไม่ต้องเสริมแหล่งคาร์บอนสำหรับ 3HB โมโนเมอร์ เพราะเมื่อเปรียบเทียบทั้ง 3 ภาวะดังกล่าวพบว่า เมื่อไม่เสริมแหล่งคาร์บอนสำหรับ 3HB โมโนเมอร์ได้ปริมาณเทอร์พอลิเมอร์สูงกว่า แต่มี 3HB ประกอบอยู่น้อยกว่า เมื่อเทียบกับการมีแหล่งคาร์บอนเป็นฟรักโทสหรือกรดบิวทริก และการไม่เสริมแหล่งคาร์บอนสำหรับ 3HB โมโนเมอร์ยังทำให้ผลิตเทอร์พอลิเมอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ซึ่งนับว่าเป็นข้อได้เปรียบประการหนึ่ง นอกจากนั้น

ยังเป็นการลดชนิดของแหล่งคาร์บอนที่ใช้ในการผลิต ซึ่งทำให้การแปรสัณฐานระหว่างแหล่งคาร์บอน 2 ชนิด เพื่อผลิตเทอร์พอลิเมอร์ให้มีสัดส่วนของโมโนเมอร์ต่างๆกัน ทำได้ง่ายกว่าการใช้แหล่งคาร์บอน 3 ชนิด งานวิจัยนี้นอกจากศึกษาความเหมาะสมของแหล่งคาร์บอนในด้านปริมาณเทอร์พอลิเมอร์และสัดส่วนของ 3HB โมโนเมอร์แล้ว ยังคำนึงถึงผลต่อน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยของเทอร์พอลิเมอร์ เนื่องจาก *Alcaligenes* sp. A-04 สามารถสังเคราะห์ 3HB โมโนเมอร์จากภาวะที่ศึกษาดังกล่าว ได้มากกว่า 1 วิธีการสังเคราะห์ ได้แก่ วิธีที่ไม่ต้องเสริมแหล่งคาร์บอนสำหรับ 3HB โมโนเมอร์ วิธีที่ใช้ฟรักโทสและวิธีที่ใช้กรดบิวทิริก ซึ่งแต่ละวิธีการสังเคราะห์อาจทำให้มีผลต่อขนาดของโมเลกุลของพอลิเมอร์ที่สังเคราะห์ได้

ในการศึกษาแหล่งคาร์บอนที่เป็นฟรักโทสหรือกรดบิวทิริก Oeding และ Schlegel (1973) รายงานว่าเมื่อใช้ฟรักโทสเป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับ 3HB โมโนเมอร์จะถูกเมตาโบไลซ์ได้อะซิติกโคเอ ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของวิธีการสังเคราะห์ PHB จากนั้นอะซิติกโคเอ 2 โมเลกุลจะรวมเป็นอะซิโตอะซิติกโคเอแล้วเข้าสู่วิธีการสังเคราะห์ PHB ในขณะที่ Heinzle และ Lafferty (1980) รวมทั้ง Suzuki (1986) รายงานว่าเมื่อกรดบิวทิริกถูกเมตาโบไลซ์โดยปฏิกิริยาบีตา-ออกซิเดชันเป็นอะซิโตอะซิติกโคเอแล้วสามารถสังเคราะห์เป็นสายพอลิเมอร์ของ PHB โดยไม่มีการลดจำนวนของคาร์บอนอะตอม สำหรับแหล่งคาร์บอนเพื่อการสังเคราะห์ 3HB และ 4HB งานวิจัยนี้ได้ใช้กรดวาเลอริกและโซเดียม-4-ไฮดรอกซีบิวทิเรตตามลำดับ ดังที่อธิบายขั้นตอนของวิธีการสังเคราะห์ ซึ่งกล่าวถึงสารตัวกลางต่างๆ เริ่มจากกรดวาเลอริกจนได้ 3HV โมโนเมอร์ และจากโซเดียม-4-ไฮดรอกซีบิวทิเรตจนได้ 4HB โมโนเมอร์ วิธีการสังเคราะห์แสดงในบทนำรูปที่ 5 6 และ 7 ตามลำดับ กรดวาเลอริกเมื่อถูกเมตาโบไลซ์โดยปฏิกิริยาบีตา-ออกซิเดชันเป็น 3-ไฮดรอกซีวาเลอริล-โคเอ พบว่า 3-ไฮดรอกซีวาเลอริล-โคเอ บางส่วนสามารถถูกเมตาโบไลซ์เป็นอะซิติกโคเอและไพรูวิกอินิลโคเอ ซึ่งอะซิติกโคเอเป็นสารตั้งต้นของการสังเคราะห์ PHB (Doi, 1988) สำหรับโซเดียม-4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต เมื่อถูกใช้เป็นแหล่งคาร์บอนจะถูกเปลี่ยนเป็น 4-ไฮดรอกซีบิวทิริล-โคเอ จากนั้น 4-ไฮดรอกซีบิวทิริล-โคเอจึงเข้าสู่ปฏิกิริยาบีตา-ออกซิเดชัน ในปฏิกิริยานี้พบว่า 4-ไฮดรอกซีบิวทิริล-โคเอส่วนใหญ่เปลี่ยนเป็น D-3-ไฮดรอกซีบิวทิริลโคเอ ซึ่งจะเปลี่ยนเป็นโมโนเมอร์ของ 3HB (Kunioka และคณะ 1989) ดังนั้นถึงแม้จะไม่เสริมแหล่งคาร์บอนสำหรับ 3HB โมโนเมอร์ แต่ *Alcaligenes* sp. A-04 ยังคงสามารถสังเคราะห์ 3HB โมโนเมอร์พร้อมกับ 3HV และ 4HB โมโนเมอร์ Doi (1990) รายงานว่าน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยของ PHA ขึ้นกับสายพันธุ์ของจุลินทรีย์และชนิดของแหล่งคาร์บอน (ดังแสดงในตารางที่ 3) ดังนั้นการศึกษาเพื่อเลือกชนิดของแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมสำหรับแต่ละโมโนเมอร์ จึงจำเป็นต้องหาน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยของพอลิเมอร์ซึ่งผลิตจากแหล่งคาร์บอนแต่ละชนิด เพราะน้ำหนัก

โมเลกุลเฉลี่ยมีอิทธิพลต่อสมบัติทางกายภาพและเชิงกลของพอลิเมอร์เป็นอย่างมาก Flory (1940) รวมทั้ง Nakamura และคณะ (1989) [อ้างถึงใน Doi, 1990] รายงานว่า เมื่อจุลินทรีย์สังเคราะห์โมโนเมอร์แต่ละชนิดแล้ว พบว่าแต่ละโมโนเมอร์จะมาต่อกันเป็นสายพอลิเมอร์แบบสุมควยปฏิกิริยาการเกิดพอลิเมอร์แบบควบแน่น (condensation polymerization) โดยปฏิกิริยาดังกล่าวจะเกิดขึ้นและสิ้นสุดภายในเซลล์จุลินทรีย์ Doi และ kunioka (1989) รายงานว่า เอนไซม์ซึ่งทำหน้าที่ในปฏิกิริยาการเกิดโคพอลิเมอร์ (copolymerization) ใน *A. eutrophus* คือ เอนไซม์ PHA synthase โดยปริมาณ D-3-ไฮดรอกซีบิวทิริล-โคเอ จะมีผลยับยั้งปฏิกิริยาการเกิดโคพอลิเมอร์ทำให้ปฏิกิริยาการเกิดโคพอลิเมอร์สิ้นสุด (termination reaction) ดังนั้นผลจากงานวิจัยนี้ซึ่งสามารถผลิตเทอร์พอลิเมอร์ได้น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยสูงที่สุด เมื่อไม่เสริมแหล่งคาร์บอนสำหรับ 3HB โมโนเมอร์ รวมทั้งมีขนาดของโมเลกุลใกล้เคียงกัน (ค่า PDI เท่ากับ 1.13 ดังที่อธิบายไว้ในบทนำว่า เมื่อค่า PDI เท่ากับ 1 แสดงว่าทุกโมเลกุลมีขนาดเท่ากัน) อาจเป็นผลจากการไม่เสริมแหล่งคาร์บอนสำหรับ 3HB โมโนเมอร์ ทำให้ปริมาณของ D-3-ไฮดรอกซีบิวทิริล-โคเอ เพิ่มขึ้นมากกว่าการเสริมแหล่งคาร์บอนสำหรับ 3HB โมโนเมอร์ ดังนั้นปฏิกิริยาการเกิดพอลิเมอร์จึงสามารถดำเนินได้นานขึ้นและมีอัตราการเกิดปฏิกิริยาก่อนข้างคงที่ พอลิเมอร์ที่สังเคราะห์ได้จึงมีความยาวเพิ่มขึ้น รวมทั้งมีขนาดของโมเลกุลใกล้เคียงกัน

จากผลงานวิจัยพบว่า เมื่อสังเกตสัดส่วนของแต่ละโมโนเมอร์ตลอดระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อจากภาวะการเลี้ยงเชื้อทั้ง 3 แบบ พบว่าชนิดของแหล่งคาร์บอนสำหรับ 3HB โมโนเมอร์มีผลต่อสัดส่วนของแต่ละโมโนเมอร์ที่ระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อต่างกัน Doi (1989) ได้ศึกษาการผลิตโคพอลิเมอร์ P(3HB-co-4HB) โดยเปรียบเทียบชนิดแหล่งคาร์บอนสำหรับ 3HB โมโนเมอร์ระหว่างฟรักโทสและกรดบิวทริก เมื่อใช้แกมมา-บิวทิโรแลคโตน เป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับ 4HB โมโนเมอร์ และรายงานว่ 3HB โมโนเมอร์ และ 4HB โมโนเมอร์ จะเข้ารวมเป็นโคพอลิเมอร์ของ P(3HB-co-4HB) โดยมีสารตัวกลางในวิธีการสังเคราะห์คือ D-3-ไฮดรอกซีบิวทิริล-โคเอ และ 4-ไฮดรอกซีบิวทิริล-โคเอ (ดังที่ได้อธิบายในบทนำและแสดงวิธีการสังเคราะห์ในรูปที่ 7) เมื่อใช้กรดบิวทริกเป็นแหล่งคาร์บอนพบว่า D-3-ไฮดรอกซีบิวทิริล-โคเอ มาจากปฏิกิริยาปัดออกซิเดชันเท่านั้น และรายงานว่สารตัวกลางของวิธีการเปลี่ยนกรดบิวทริกเป็น D-3-ไฮดรอกซีบิวทิริล-โคเอ อาจมีผลทำให้ปฏิกิริยาการเปลี่ยน 4-ไฮดรอกซีบิวทิริล-โคเอ เป็น D-3-ไฮดรอกซีบิวทิริล-โคเอ ถูกยับยั้ง ดังนั้นเมื่อใช้กรดบิวทริกเป็นแหล่งคาร์บอน จึงผลิต P(3HB-co-4HB) ที่มีสัดส่วนของ 4HB โมโนเมอร์สูงกว่าเมื่อใช้ฟรักโทสเป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับ 3HB โมโนเมอร์ ซึ่งพบว่า D-3-ไฮดรอกซีบิวทิริล-โคเอถูกสังเคราะห์ได้จากทั้งวิธีการสังเคราะห์ของฟรักโทส และแกมมา-บิวทิโรแลคโตน เป็นผลให้สัดส่วนของ 4HB โมโนเมอร์ลดลง เมื่อระยะเวลาการ

เลี้ยงเชื้อนานขึ้น ดังนั้นในงานวิจัยนี้เมื่อใช้ฟรักโทสเป็นแหล่งคาร์บอน สัดส่วนของ 4HB โมโนเมอร์จึงน้อยกว่าเมื่อใช้กรดบิวทริกเป็นแหล่งคาร์บอน และลดลงเมื่อระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อนานขึ้น สำหรับกรดวาเลอริกสามารถเปลี่ยนเป็น D-3-ไฮดรอกซีบิวทริล-โคเอ ได้เช่นกันแต่เป็นส่วนน้อย (ดังแสดงในรูปที่ 6) ด้วยเหตุผลที่กล่าวมาแล้วข้างต้น ทำให้เมื่อใช้กรดวาเลอริก ร่วมกับฟรักโทสสัดส่วนของ 3HV โมโนเมอร์จะเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อ ในขณะที่เมื่อใช้กรดวาเลอริกร่วมกับกรดบิวทริกพบว่าสัดส่วนของ 3HV โมโนเมอร์จะค่อนข้างคงที่ตลอดระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อ ซึ่งเป็นผลจากแหล่งคาร์บอนทั้งหมดเข้าสู่ปฏิกิริยาบีตา-ออกซิเดชัน สำหรับภาวะการไม่เสริมแหล่งคาร์บอนของ 3HB โมโนเมอร์พบว่า สัดส่วนของ 3HV โมโนเมอร์ระยะแรกจะสูงแล้วเริ่มลดลง ในขณะที่สัดส่วนของ 4HB โมโนเมอร์ ระยะแรกมีเพียงเล็กน้อยแล้วเริ่มเพิ่มขึ้นเมื่อสัดส่วนของ 3HV โมโนเมอร์ลดลง แสดงว่าเชื้อ *Alcaligenes* sp. A-04 ใช้กรดวาเลอริกเป็นแหล่งคาร์บอนก่อนโซเดียม-4-ไฮดรอกซีบิวทริเรต

ในส่วนของคณะผู้วิจัยซึ่งศึกษาการผลิต PHB โดยใช้แหล่งคาร์บอนเป็นฟรักโทส (อรุณชาญชัยชาววิวัฒน์, 2536 และ ชนัญญ ผลประไพ, 2537) และการผลิตโคพอลิเมอร์ซึ่งมี 3HB โมโนเมอร์เป็นองค์ประกอบ โดยใช้กรดบิวทริกเป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับ 3HB โมโนเมอร์ (อัญชญา สุรดิขจร, 2537) ยังมิได้มีการศึกษาเปรียบเทียบความเหมาะสมของแหล่งคาร์บอนระหว่างฟรักโทสและกรดบิวทริก รวมทั้งยังมีได้นำพอลิเมอร์ที่ผลิตได้จากแหล่งคาร์บอนทั้ง 2 ชนิดไปวิเคราะห์หาหน้าหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยวิธี GPC

ผลงานวิจัยแหล่งคาร์บอนสำหรับ 4HB โมโนเมอร์ ซึ่งอัญชญา สุรดิขจร (2537) ใช้โซเดียม-4-ไฮดรอกซีบิวทริเรตเป็นแหล่งคาร์บอน ในการผลิตโคพอลิเมอร์ P(3HB-co-4HB) โดย *Alcaligenes* sp. A-04 ได้โคพอลิเมอร์ที่มีสัดส่วน 4HB โมโนเมอร์สูงสุด 38 โมลเปอร์เซ็นต์ ขณะที่ Kunioka และ Doi (1990) รายงานว่าโคพอลิเมอร์ที่มีสัดส่วนของ 4HB สูงกว่า 40 โมลเปอร์เซ็นต์ จะมีสมบัติที่ดีขึ้นคือมีความยืดหยุ่นคล้ายยาง และเพิ่มอัตราการถูกย่อยสลาย โดย Doi และคณะ (1992) รายงานว่าสามารถผลิตโคพอลิเมอร์ที่มีสัดส่วน 4HB โมโนเมอร์ 70-100 โมลเปอร์เซ็นต์ เมื่อเลี้ยง *A.eutrophus* ในอาหารเพื่อการผลิตตามรายงานของ Doi และคณะ (1992) ดังนั้นจึงใช้อาหารชนิดดังกล่าวเลี้ยง *Alcaligenes* sp. A-04 เปรียบเทียบกับเมื่อเลี้ยงในอาหาร MSM โดยเติมแหล่งคาร์บอนที่มีชนิดเดียวกันและปริมาณเท่ากัน ผลการทดลองเลี้ยง *Alcaligenes* sp. A-04 ในอาหารเพื่อการผลิตตามรายงานของ Doi และคณะ (1992) สามารถผลิตเทอร์พอลิเมอร์ที่มีสัดส่วนของ 4HB โมโนเมอร์สูงขึ้น (สูงที่สุด 93 โมลเปอร์เซ็นต์ เมื่อเลี้ยงนาน 96 ชั่วโมง) และมีสัดส่วนของ 4HB โมโนเมอร์สูงกว่าเมื่อเลี้ยงในอาหาร MSM ซึ่งสามารถผลิต 4HB โมโนเมอร์สูงขึ้นเช่นกัน (สูงที่สุด 66 โมลเปอร์เซ็นต์ เมื่อเลี้ยงนาน 60 ชั่วโมง) ซึ่งมีสัดส่วนของ 4HB

โมโนเมอร์สูงกว่าที่อุยชุนา สุรติขจร (2537) รายงานไว้) นอกจากนี้ยังพบว่าอาหารเพื่อการผลิตตามรายงานของ Doi และคณะ (1992) สามารถผลิตเทอร์พอลิเมอร์ได้ปริมาณสูงกว่าอาหาร MSM ทั้งนี้เนื่องจากมีปริมาณแร่ธาตุและสารอาหารที่จำเป็นไม่เท่ากัน Asenjo และคณะ (1995) ได้รายงานว่าปริมาณแมกนีเซียมและฟอสเฟตจำกัดในอาหารเพื่อการผลิตจะมีผลต่อน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยของพอลิเมอร์ ในงานวิจัยนี้จึงได้เปรียบเทียบการผลิตเทอร์พอลิเมอร์จากอาหารเพื่อการผลิตทั้ง 2 สูตร (สูตรตามรายงานของ Doi และคณะ (1992) และ MSM) เมื่อได้ฟิล์มเทอร์พอลิเมอร์แล้วนำไปวิเคราะห์หาน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยพบว่า เทอร์พอลิเมอร์ที่ผลิตจากอาหารเพื่อการผลิตตามรายงานของ Doi และคณะ (1992) มีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยต่ำกว่าเทอร์พอลิเมอร์ที่ผลิตจากอาหาร MSM (เป็นสูตรอาหารที่คณะผู้วิจัยใช้) อย่างชัดเจน แต่มีสัดส่วนของ 4HB โมโนเมอร์สูง ดังนั้นงานวิจัยต่อมาซึ่งเป็นการศึกษาการใช้ 1,4-บิวเทนไดออล ซึ่งมีราคาถูกกว่า โซเดียม-4-ไฮดรอกซี-บิวทิเรตเป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับ 4HB โมโนเมอร์ จึงศึกษาเฉพาะในอาหาร MSM เท่านั้น โดยเปรียบเทียบกับ โซเดียม-4-ไฮดรอกซีบิวทิเรตเพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นในด้านปริมาณเทอร์พอลิเมอร์และสัดส่วนของ 4HB โมโนเมอร์ ผลงานวิจัยแสดงว่า *Alcaligenes* sp. A-04 สามารถใช้ 1,4-บิวเทนไดออลเป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับ 4HB โมโนเมอร์ ได้ปริมาณเทอร์พอลิเมอร์ 34.08 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณมวลชีวภาพ 8.34 กรัมต่อลิตร โดยมีสัดส่วนของ 4HB โมโนเมอร์ในช่วง 50-57 โมลเปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับ Doi ซึ่งรายงานไว้ในปี 1990 เมื่อใช้ 1,4-บิวเทนไดออลเป็นแหล่งคาร์บอน สามารถผลิตเทอร์พอลิเมอร์ได้ 22 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณมวลชีวภาพ 5.3 กรัมต่อลิตร โดยมีสัดส่วนของ 4HB โมโนเมอร์ 11 โมลเปอร์เซ็นต์ จากงานวิจัยนี้พบว่า *Alcaligenes* sp. A-04 เป็นสายพันธุ์ที่สามารถใช้ 1,4-บิวเทนไดออลเป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับ 4HB โมโนเมอร์ได้ดี แต่เนื่องจาก 1,4-บิวเทนไดออล เป็นสารเคมีที่มีก่อให้เกิดการระคายเคืองเมื่อสัมผัสสาร เป็นพิษต่อไตและระบบประสาท ดังนั้นการเลือกใช้เป็นแหล่งคาร์บอน จึงยังต้องมีการพิจารณาความเหมาะสม ซึ่ง Kunioka และคณะ (1989) ได้รายงานไว้ว่ามีแหล่งคาร์บอนอีกหลายชนิดที่สามารถใช้เป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับ 4HB โมโนเมอร์ได้ (ดังแสดงในตารางที่ 3) ซึ่งควรจะต้องมีการศึกษาวิจัยต่อไป

#### การเลี้ยงเชื้อ *Alcaligenes* sp. A-04 เพื่อเพิ่มการผลิตเทอร์พอลิเมอร์แบบ 2 ขั้นตอน

จากผลวิจัยข้อ 3.1 ซึ่งเป็นการเตรียมกล้าเชื้อ คัดเลือกอายุและชนิดของอาหารเลี้ยงกล้าเชื้อเพื่อนำมาเลี้ยงในอาหาร MSM ขั้นตอนที่ 1 โดยนำกล้าเชื้อ *Alcaligenes* sp. A-04 อายุ 16 ชั่วโมงจากอาหารเลี้ยงกล้าเชื้อเดมฟรักโทส 3 และกรควาเลอร์ริก 1 กรัมต่อลิตร มาเลี้ยงในอาหาร MSM (โดยใช้ปริมาณกล้าเชื้อ 2 เปอร์เซ็นต์ต่อปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อ 50 มิลลิลิตร) ซึ่งเดมฟรักโทส 5

และแอมโมเนียมซัลเฟต 0.3 กรัมต่อลิตร เพื่อเพิ่มปริมาณเซลล์ใหม่ปริมาณพอเพียงต่อการผลิต เทอร์พอลิเมอร์ เลียงเชื่อนาน 36 ชั่วโมง ในขั้นตอนที่ 2 เป็นการเติมแหล่งคาร์บอนและแอมโมเนียมซัลเฟต (อัตราส่วน 20 ต่อ 0.1 กรัมต่อลิตร) แหล่งคาร์บอนที่เติมในงานวิจัยนี้คือ กรดวาเลอริก 10 และไซโตลิม-4-ไฮดรอกซีบีวทิเรด 10 กรัมต่อลิตร โดยไม่เติมแหล่งคาร์บอนสำหรับ 3HB โมโนเมอร์ (จากผลสรุปการวิจัยข้อ 2) ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหาร MSM หลังการเติมแหล่งคาร์บอนให้ได้ประมาณ 7.00 ด้วยกรดและด่างที่ฆ่าเชื้อแล้ว ผลสรุปว่า สามารถผลิตเทอร์พอลิเมอร์ได้สูงกว่าทุกการทดลอง (67.83 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง) โดยได้ปริมาณเซลล์เริ่มต้นจากอาหาร MSM ในขั้นตอนที่ 1 มากพอ ทำให้สามารถลดขั้นตอนการเตรียมกล้าเชื้อโดยวิธีปั่น แล้วยรวบรวมนเซลล์ (โดยลักษณะปลอดเชื้อ) ทำให้การทำงานสะดวก ลดขั้นตอนและระยะเวลา และลดความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนอาหารเลี้ยงกล้าเชื้อ

**การศึกษาลักษณะ สมบัติทางกายภาพและเชิงกลของเทอร์พอลิเมอร์ซึ่งประกอบด้วยโมโนเมอร์ที่มีสัดส่วนแตกต่างกัน**

เทอร์พอลิเมอร์ที่ผลิตเพื่อการศึกษาที่แปรผันใหม่มีสัดส่วนที่เหมาะสมของโมโนเมอร์แต่ละชนิดตามรายงานของคณะผู้วิจัยหลายกลุ่มเกี่ยวกับสมบัติของโคพอลิเมอร์ที่มี 3HB 3HV และ 4HB เป็นองค์ประกอบ โดยเลือกแปรผันให้เทอร์พอลิเมอร์มีสัดส่วนของ 3HV น้อยกว่า 40 และ 4HB มากกว่า 40 โมลเปอร์เซ็นต์ สำหรับ 3HB โมโนเมอร์นั้นแปรผันตามสัดส่วนที่เหลือ เนื่องจากยากแก่การควบคุมสัดส่วนเพราะสามารถสังเคราะห์ได้มากกว่า 1 วิธีและสังเคราะห์ได้จากแหล่งคาร์บอนทุกชนิดที่ใช้ในงานวิจัยนี้ (ดังที่ได้อธิบายในผลงานวิจัยเรื่องชนิดของแหล่งคาร์บอน)

เทอร์พอลิเมอร์ที่ผลิตได้ในงานวิจัยนี้ นอกจากมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาลักษณะและสมบัติต่างๆของเทอร์พอลิเมอร์ที่ผลิตได้ประกอบด้วยโมโนเมอร์แต่ละชนิดต่าง ๆ กัน ยังได้ศึกษาผลของชนิดของแหล่งคาร์บอนและอาหารเพื่อการผลิตที่มีต่อหน้าหนักโมเลกุลเฉลี่ยของเทอร์พอลิเมอร์พร้อมกันด้วย ในงานวิจัยนี้แปรผันสัดส่วนของแต่ละโมโนเมอร์ให้แตกต่างกัน โดยการเลือกชนิดของแหล่งคาร์บอนและอาหารเพื่อการผลิต รวมทั้งระยะเวลาที่ใช้เลี้ยงเชื้อ ซึ่งเทอร์พอลิเมอร์ที่ผลิตได้มีสัดส่วนของแต่ละโมโนเมอร์ ดังนี้

ตัวอย่างที่ 1 P(10%3HB-co-40%3HV-co-50%4HB)

ตัวอย่างที่ 2 P(11%3HB-co-34%3HV-co-55%4HB)

ตัวอย่างที่ 3 P(11%3HB-co-23%3HV-co-66%4HB)

ตัวอย่างที่ 4 P(12%3HB-co-12%3HV-co-76%4HB)

ตัวอย่างที่ 5 P(10%3HB-co-6%3HV-co-84%4HB)

ตัวอย่างที่ 6 P(4%3HB-co-3%3HV-co-93%4HB)

งานวิจัยนี้ได้ปรับปรุงขั้นตอนการสกัดและทำให้สารผลิตภัณฑ์บริสุทธิ์โดยใช้ Soxhlet apparatus ซึ่งเป็นเครื่องมือที่สามารถใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ในการสกัด (solvent extraction) หมุนเวียนเพื่อสกัดเทอร์พอลิเมอร์ออกจากเซลล์ (เซลล์ที่ถูกทำให้ระเหิดแห้งภายใต้สภาวะสุญญากาศ) โดยวิธีนี้มีผู้วิจัยหลายคณะรายงานเกี่ยวกับวิธีการ และชนิดของสารเคมีที่ใช้แตกต่างกัน จากการทบทวนเอกสารเพื่อปรับปรุงขั้นตอนใหม่มีความเหมาะสมในการสกัดเทอร์พอลิเมอร์และทำให้สารผลิตภัณฑ์บริสุทธิ์โดยเป็นขั้นตอนที่มีประสิทธิภาพและสะดวก ใช้สารเคมีเพียง 2 ชนิดคือคลอโรฟอร์ม (สกัดและเป็นตัวทำละลายเทอร์พอลิเมอร์) และเฮกเซน (ตกตะกอนเพื่อให้สารผลิตภัณฑ์) พบว่าเมื่อผ่านขั้นตอนการสกัดและทำให้สารผลิตภัณฑ์มีความบริสุทธิ์แล้วได้ปริมาณสารผลิตภัณฑ์สุทธิมากกว่า 95 เปอร์เซ็นต์ต่อสารผลิตภัณฑ์เริ่มต้นภายในเซลล์ เนื่องจาก Kunioka และ Doi (1988) รายงานว่า 4HB โมโนเมอร์บางส่วนสามารถละลายในอะซิโตน ซึ่งจะมีผลต่อสัดส่วนของ 4HB โมโนเมอร์ภายหลังการสกัด งานวิจัยนี้จึงไม่ใช้อะซิโตนในการสกัดแยกไขมันชนิดอื่นจากเซลล์จุลินทรีย์ (ไขมันบางชนิดในเซลล์จุลินทรีย์สามารถละลายในคลอโรฟอร์ม) เช่นเดียวกับงานวิจัยอื่น งานวิจัยนี้ใช้วิธีตกตะกอนในเฮกเซนอย่างซ้ำๆ หลายๆ ครั้งเพื่อให้สารผลิตภัณฑ์บริสุทธิ์ และสามารถใช้เฮกเซนหมุนเวียนเพื่อตกตะกอนเทอร์พอลิเมอร์ได้ การตกตะกอนอย่างซ้ำๆ ในเฮกเซนมีผลดีทำให้เทอร์พอลิเมอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงตกตะกอนมาก่อน จึงสามารถกำจัดเทอร์พอลิเมอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำได้ เนื่องจากจะแขวนลอยอยู่ในเฮกเซน นอกจากนี้เทอร์พอลิเมอร์ที่ตกตะกอนในเฮกเซนมีลักษณะคล้ายยางเมื่อทิ้งให้มีการตกตะกอนอิมิตัวจะรวมเป็นแผ่น จึงไม่ต้องใช้วิธีปั่นเพื่อแยกตะกอนเทอร์พอลิเมอร์ ซึ่งวิธีการเดิมของคณะผู้วิจัยนี้ใช้วิธีทำให้เซลล์แตกด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ซึ่งจัดเป็นวิธี chemical digestion แล้วทำให้สารผลิตภัณฑ์บริสุทธิ์โดยการตกตะกอนด้วยตัวทำละลายอินทรีย์หลายชนิด วิธีการเหล่านี้ทำให้สูญเสียสารผลิตภัณฑ์ไปในแต่ละขั้นตอน นอกจากนี้สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์สามารถย่อยสายพอลิเมอร์เป็นสายสั้นๆ ทำให้น้ำหนักโมเลกุลต่ำและมีค่าดัชนีการกระจายกว้างขึ้น และการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์หลายชนิดในการทำให้บริสุทธิ์



เป็นการทำให้ต้นทุนการผลิตสูงขึ้น ถึงแม้ว่างานวิจัยเกี่ยวกับการสกัดและการทำให้สารผลิตภัณฑ์บริสุทธิ์ในระยะหลังเป็นวิธีการปรับปรุงทาง chemical digestion แต่วิธีการดังกล่าวปรับปรุงให้เหมาะสมสำหรับ PHB โดยพบว่าในหลายขั้นตอนมีผลทำให้สมบัติบางประการของเทอร์พอลิเมอร์สูญเสียไป และตัวทำละลายอินทรีย์บางชนิดไม่สามารถใช้ได้กับเทอร์พอลิเมอร์ ดังนั้นวิธีการที่ปรับปรุงนี้นอกจากเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพ สะดวกและเหมาะสมกับเทอร์พอลิเมอร์แล้ว ยังสามารถใช้ได้กับโคพอลิเมอร์ชนิดต่างๆอีกด้วย

ลักษณะของเทอร์พอลิเมอร์ภายหลังการทำให้บริสุทธิ์แล้วนำไปขึ้นรูปโดยวิธี solvent casting เป็นแผ่นฟิล์ม พบว่าสัดส่วนของโมโนเมอร์แต่ละชนิดมีผลต่อลักษณะทางกายภาพหลายประการ ดังแสดงสรุปในตารางที่ 19

ตารางที่ 19 ลักษณะของแผ่นฟิล์มเทอร์พอลิเมอร์ที่ผลิตโดย *Alcaligenes* sp. A-04 ซึ่งมีสัดส่วนของแต่ละโมโนเมอร์แตกต่างกัน

สัดส่วน (โมลเปอร์เซ็นต์)			การขึ้นรูป	ลักษณะเมื่อมองด้วยตา	ลักษณะเมื่อสัมผัส	ดัดทดสอบด้วยมือ
3HB	3HV	4HB				
10	40	50	เร็ว	ใสและโปร่งแสง	อ่อนตัว คงรูปดี	รอยขาดเรียบ
11	34	55	เร็ว	ใสแต่ไม่โปร่งแสง	อ่อนนุ่ม	รอยขาดเรียบ
11	23	66	เร็ว	ใสแต่ไม่โปร่งแสง	อ่อนนุ่มเพิ่มขึ้น	รอยขาดเรียบ
12	12	76	เร็ว	ใสแต่ไม่โปร่งแสง	อ่อนนุ่มเริ่มยืดหยุ่น	ยึดตัวเล็กน้อย
10	6	84	นาน	ใสแต่ไม่โปร่งแสง	อ่อนนุ่มและยืดหยุ่น	ยึดตามแนวแรงดึง
4	3	93	นาน	ใสแต่ไม่โปร่งแสง	อ่อนนุ่มและยืดหยุ่น	ยึดตามแนวแรงดึง

ซึ่งลักษณะดังกล่าวเป็นผลจากโครงสร้างการจัดเรียงตัวของโมเลกุลและความสามารถในการเกิดผลึกของแต่ละโมโนเมอร์ที่เป็นองค์ประกอบในเทอร์พอลิเมอร์กล่าวคือ พอลิเมอร์ที่ไม่เป็นผลึกหรือพอลิเมอร์อสัณฐาน จะมีสมบัติแข็ง เปราะ และใส เมื่อโครงสร้างของพอลิเมอร์เป็นระเบียบมากขึ้นและสามารถเกิดผลึกได้บางส่วน จะมีสมบัติเหนียว ยืดหยุ่นและทึบแสง เนื่องจากผลึกขวางทางเดินของแสง จากการทบทวนเอกสารงานวิจัยเกี่ยวกับผลของสัดส่วน 3HB 3HV และ 4HB ต่อสมบัติต่างๆของโคพอลิเมอร์ P(3HB-co-3HV) และ P(3HB-co-4HB) ซึ่งใช้อ้างอิงในงานวิจัยนี้ Organ และ Barham (1986) ศึกษาผลของสัดส่วน 3HV โมโนเมอร์ ต่อสมบัติด้านต่างๆ พบว่า โคพอลิเมอร์ที่มีสัดส่วนของ 3HV โมโนเมอร์เพิ่มมากขึ้น จะไปลดระดับความ

เป็นผลึก คาอูมทงูมิหลอมเหลว และคาอูมทงูมิกลาสทรานซิชัน ส่งผลให้โคพอลิเมอร์มีความเหนียวและใสเพิ่มขึ้น ดังนั้นเทอร์พอลิเมอร์ที่มีสัดส่วนของ 3HV สูงที่สุดในงานวิจัยนี้ คือ 40 โมลเปอร์เซ็นต์ จึงมีลักษณะโปร่งใสและโปร่งแสงมากที่สุด Kunioka และ Doi (1989) รายงานว่า P(3HB-co-4HB) ที่มีสัดส่วนของ 4HB สูงขึ้นจะมีลักษณะอ่อนนุ่ม ยืดหยุ่น และลักษณะโดยทั่วไปของ P(3HB-co-4HB) จะขาวทึบแสง ซึ่ง Scandola และคณะ (1990) รายงานว่าลักษณะดังกล่าว เนื่องจาก 4HB โมโนเมอร์ไม่สามารถเกิดผลึกร่วมกับ 3HB โมโนเมอร์ได้เพราะมีโครงสร้างของผลึกต่างกัน ทำให้โคพอลิเมอร์ที่มีสัดส่วนของ 4HB โมโนเมอร์เพิ่มขึ้นเป็นโคพอลิเมอร์ที่เป็นผลึกบางส่วนจึงมีลักษณะทึบแสง Marchessault และคณะ (1988) รายงานว่าโครงสร้างผลึกของ PHB คล้ายกับโครงสร้างผลึกของ PHV จึงทำให้สามารถเกิดผลึกร่วมกันได้จากรายงานดังกล่าวแสดงว่า 4HB โมโนเมอร์ไม่สามารถเกิดผลึกร่วมกับ 3HV โมโนเมอร์ได้ โดยเกิดผลึกแยกเป็น 3HB lactice และ 4HB lattice ดังนั้นเมื่อแปรผันให้เทอร์พอลิเมอร์มีสัดส่วนของ 3HV น้อยลงในขณะที่สัดส่วนของ 4HB สูงขึ้น จึงทำให้ได้แผ่นฟิล์มที่มีสมบัติหลากหลาย ตั้งแต่พลาสติกยืดหยุ่น (flexible plastic) จากสมบัติของ 3HV lactice ไปจนถึงพลาสติกอีลาสติก (elastic plastic) ซึ่งเป็นสมบัติของ 4HB lattice เทอร์พอลิเมอร์ที่มีสัดส่วน 4HB สูงขึ้นจะอ่อนนุ่มมากขึ้น มีความยืดหยุ่นมากขึ้น มีลักษณะทึบแสงมากขึ้น แต่ยังคงมีความใสทั้งนี้เนื่องจากมี 3HV โมโนเมอร์เป็นองค์ประกอบ นอกจากนี้ยังพบว่า P(12%3HB-co-12%3HV-co-76%4HB) มีลักษณะพิเศษเมื่อขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มบางๆ มีความหนาน้อยกว่า 0.25 มิลลิเมตร จะมีลักษณะใส (transparency) และโปร่งแสง (translucent) มีความเหนียวยืดตัวได้เล็กน้อยคล้ายแผ่นฟิล์มถนอมอาหาร แต่เมื่อขึ้นรูปเป็นแผ่นหนามากกว่า 0.25 มิลลิเมตร จะมีลักษณะทึบแสงและมีความแข็งมากกว่า

จากผลการศึกษาสมบัติทางกายภาพของเทอร์พอลิเมอร์ที่มีสัดส่วนของโมโนเมอร์แต่ละชนิดแตกต่างกันผลิตโดย *Alaligenes* sp. A-04 สรุปรูปเปรียบเทียบกับ PHA ซึ่งผลิตโดย *A.eutrophus* จากคณะผู้วิจัยกลุ่มอื่น ดังแสดงในตารางที่ 20

ตารางที่ 20 สมบัติทางกายภาพและเชิงกลของเทอร์พอลิเมอร์ที่มีสัดส่วนของโมโนเมอร์แตกต่างกันซึ่งผลิตโดย *Alcaligenes* sp. A-04 (\*) เปรียบเทียบกับ PHA ชนิดต่างๆจาก *A. eutrophus* ซึ่งรวบรวมข้อมูลจากคณะผู้วิจัยกลุ่มต่างๆ (Kuzioka, 1989 และ Doi, 1990)

สัดส่วน (โมลเปอร์เซ็นต์)			T <sub>g</sub> (°C)	T <sub>m</sub> (°C)	M <sub>w</sub>	M <sub>n</sub>	PDI
3HB	3HV	4HB					
100	0	0	10	177	-	7.82×10 <sup>5</sup>	1.8
76	24	0	-6	138	-	1.38×10 <sup>5</sup>	1.9
55	45	0	-10	75	-	4.00×10 <sup>5</sup>	2.4
29	71	0	-13	87	-	2.54×10 <sup>5</sup>	2.0
89	0	11	-	160	-	2.23×10 <sup>5</sup>	2.5
83	0	17	-	152	-	3.32×10 <sup>5</sup>	2.4
18	0	82	-	40	-	1.29×10 <sup>5</sup>	2.4
(*) 10	40	50	-13.7	87.6	1.10×10 <sup>6</sup>	9.67×10 <sup>5</sup>	1.13
(*) 11	34	55	-15.9	99.9	5.98×10 <sup>5</sup>	2.99×10 <sup>5</sup>	2.00
(*) 11	23	66	-17.7	91.8	6.62×10 <sup>5</sup>	1.90×10 <sup>5</sup>	3.46
(*) 12	12	76	-21.1	87.3	5.51×10 <sup>5</sup>	1.73×10 <sup>5</sup>	3.18
(*) 10	6	84	-47.1	54.3	1.77×10 <sup>5</sup>	6.27×10 <sup>4</sup>	2.82
(*) 4	3	93	-51.6	54.8	4.15×10 <sup>5</sup>	1.33×10 <sup>5</sup>	3.11

ผลงานวิจัยการศึกษาสมบัติทางกายภาพของเทอร์พอลิเมอร์พบว่า เทอร์พอลิเมอร์ที่ผลิตได้มีลักษณะอ่อนนุ่มที่อุณหภูมิห้อง เนื่องจากมีค่าอุณหภูมิกลาสทรานซิชันต่ำกว่าอุณหภูมิห้องมาก (มีค่าติดลบ) และเทอร์พอลิเมอร์ที่มีสัดส่วน 4HB โมโนเมอร์สูงกว่า 84 โมลเปอร์เซ็นต์มีค่าอุณหภูมิกลาสทรานซิชันอยู่ในช่วงพลาสติกอีลาสติก [ค่าอุณหภูมิกลาสทรานซิชันของพลาสติกอีลาสติกที่เหมาะสมอยู่ในช่วง -50 ถึง -75 องศาเซลเซียส (เสาวรจน ช่วยจุลจินต, 2538)] เมื่อเปรียบเทียบ PHA ชนิดต่างๆพบว่า 4HB โมโนเมอร์มีผลต่ออุณหภูมิกลาสทรานซิชันและอุณหภูมิหลอมเหลวของ PHA มากที่สุด โดยเมื่อ PHA มีสัดส่วนของ 4HB โมโนเมอร์เพิ่มขึ้นจะลดค่าอุณหภูมิกลาสทรานซิชันและอุณหภูมิหลอมเหลวอย่างชัดเจน ซึ่ง Scandola และคณะ (1990) รายงานสอดคล้องกับผลการทดลองนี้ว่า 4HB โมโนเมอร์มีผลไปลดค่าอุณหภูมิกลาสทรานซิชันและอุณหภูมิหลอมเหลวมากกว่า 3HV โมโนเมอร์ แต่อย่างไรก็ตาม Doi (1990) ศึกษาผลของ

3HV โมโนเมอร์ ที่มีต่อค่าอุณหภูมิกลาสทรานซิชันและอุณหภูมิหลอมเหลวของโคพอลิเมอร์ P(3HB-co-3HV) พบว่าเมื่อโคพอลิเมอร์มีสัดส่วนของ 3HV โมโนเมอร์เพิ่มขึ้นแต่ไม่เกิน 40 โมลเปอร์เซ็นต์จะมีผลลดค่าอุณหภูมิกลาสทรานซิชันและอุณหภูมิหลอมเหลว โดยโคพอลิเมอร์ที่มีสัดส่วนของ 3HV ในช่วง 40 โมลเปอร์เซ็นต์จะมีค่าอุณหภูมิหลอมเหลวต่ำสุดเท่ากับ 75 องศาเซลเซียส ซึ่งในงานวิจัยนี้ เทอร์พอลิเมอร์ที่มีสัดส่วนของ 3HV โมโนเมอร์เท่ากับ 40 โมลเปอร์เซ็นต์มีค่าอุณหภูมิหลอมเหลวเท่ากับ 87.6 องศาเซลเซียส และมีค่าอุณหภูมิหลอมเหลวสูงขึ้นเมื่อมีสัดส่วน 3HV โมโนเมอร์ลดลง และพบว่า 4HB โมโนเมอร์มีผลต่อค่าอุณหภูมิกลาสทรานซิชันและอุณหภูมิหลอมเหลวมากกว่า 3HV โมโนเมอร์ ดังนั้นเทอร์พอลิเมอร์ที่มีสัดส่วน 4HB โมโนเมอร์มากกว่า 84 โมลเปอร์เซ็นต์ จึงมีค่าอุณหภูมิหลอมเหลวต่ำสุดประมาณ 54 องศาเซลเซียส แต่พบว่าค่าอุณหภูมิหลอมเหลวที่วิเคราะห์ได้สูงกว่าโคพอลิเมอร์ P(3HB-co-4HB) ที่มีสัดส่วนของ 4HB โมโนเมอร์เท่ากับ 82 โมลเปอร์เซ็นต์ (มีค่าอุณหภูมิหลอมเหลวเท่ากับ 40 องศาเซลเซียส) ซึ่งเป็นผลจากการที่เทอร์พอลิเมอร์มี 3HB โมโนเมอร์เป็นองค์ประกอบ จึงช่วยสมบัติให้มีค่าอุณหภูมิหลอมเหลวสูงขึ้น เมื่อเปรียบเทียบค่าอุณหภูมิหลอมเหลวและอุณหภูมิกลาสทรานซิชันกับพลาสติกจากปิโตรเคมีพบว่าใกล้เคียงกับ พอลิไอโซพรีน (polyisoprene) ซึ่งเป็นยางธรรมชาติ พอลิเอทิลีนออกไซด์ (polyethylene oxide) พอลิไวนิล เอทิลอีเทอร์ (polyvinyl ethyl ether) พอลิ 1-เพนทีน (poly-1-pentene) และพอลิไวนิล บิวทิล-อีเทอร์ (polyvinyl n-butyl ether) ดังแสดงในตารางที่ 21

ตารางที่ 21 แสดงค่าอุณหภูมิหลอมเหลวและอุณหภูมิกลาสทรานซิชัน ของพลาสติกจากปิโตรเคมีที่มีค่าใกล้เคียงกับเทอร์พอลิเมอร์ที่ผลิตได้ในงานวิจัยนี้ (เสาวรจน ชาญจุลจิติน, 2538)

พอลิเมอร์	T <sub>g</sub> (°C)	T <sub>m</sub> (°C)
polyisoprene (cis)	-73	28
polyisoprene (trans)	-60	74
poly 1-pentene	-40	75
polyethylene oxide	-66	66
polyvinyl ethyl ether	-25	86
polyvinyl-n-butyl ether	-52	64

ผลการวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยของเทอร์พอลิเมอร์ที่ผลิตโดย *Alcaligenes* sp. A-04 พบว่าน้ำหนักโมเลกุลขึ้นกับชนิดของแหล่งคาร์บอนและอาหารเพื่อการผลิต เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยของ PHA ชนิดต่างๆพบว่า P(10%3HB-co-40%3HV-co-50%4HB) มีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยสูงที่สุด และมีค่า PDI ใกล้เคียง 1 มากที่สุด ซึ่งเป็นสมบัติที่ดีประการหนึ่งที่จะทำให้สามารถนำไปใช้ทดแทนพลาสติกจากอุตสาหกรรมปิโตรเคมีได้ดีกว่า PHA ชนิดอื่น สำหรับเทอร์พอลิเมอร์ชนิดอื่นๆ พบว่าได้น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยจำนวนและค่า PDI ใกล้เคียงกันกับ PHA จากคณะผู้วิจัยกลุ่มอื่นๆดังกล่าว (ดังแสดงในตารางที่ 20)

ตารางที่ 22 เปรียบเทียบสมบัติเชิงกลของ เทอร์พอลิเมอร์ที่มีสัดส่วนของโมโนเมอร์แตกต่างกัน ซึ่งผลิตโดย *Alcaligenes* sp. A-04 (\*) กับ PHA จาก *A.eutrophus* ซึ่งรวบรวมข้อมูลจากคณะผู้วิจัยกลุ่มต่างๆ (Holmes, 1988 ; Kunioka, 1989 ; Doi, 1989 และ Doi, 1990)

PHA	Young's modulus (MPa)	Tensile strength (MPa)	Elongation to break (%)	Toughness (MPa)
P(3HB)	3500	40	0.4	-
P(3HB-co-3HV)				
3 mol% 3HV	2900	38	-	-
9 mol% 3HV	1620	190	37	-
14 mol% 3HV	1500	150	35	-
20 mol% 3HV	1450	120	32	-
25 mol% 3HV	1370	70	30	-
P(3HB-co-4HB)				
3 mol% 4HB	-	28	45	-
10 mol% 4HB	-	24	242	-
16 mol% 4HB	-	26	444	-
44 mol% 4HB	-	10	511	-
64 mol% 4HB	30	17	591	-
90 mol% 4HB	100	65	1080	-
P(3HB-co-3HV-co-4HB)				
(*)10%3HB 40%3HV 50%4HB	502.636	8.579	3.717	0.218
(*)11%3HB 34%3HV 55%4HB	618.016	10.098	3.201	0.264
(*)11%3HB 23%3HV 66%4HB	392.490	8.698	5.044	0.323
(*)12%3HB 12%3HV 76%4HB	141.937	4.045	8.544	0.390
(*)10%3HB 6%3HV 84%4HB	118.030	9.030	300.129	19.462
(*) 4%3HB 3%3HV 93%4HB	127.277	13.729	429.921	33.066

ผลงานการศึกษาสมบัติเชิงกลของเทอร์พอลิเมอร์ที่มีสัดส่วนของโมโนเมอร์แตกต่างกันในการทดลองข้อ 3.4.5 พบว่าเทอร์พอลิเมอร์ที่มีสัดส่วนของโมโนเมอร์ต่างกัน แสดงสมบัติเชิงกลของพลาสติกยืดหยุ่นและพลาสติกที่ค่อนข้างเป็นอลาสติก เนื่องจากเทอร์พอลิเมอร์มีความเหนียวและบางตัวอย่างสามารถยืดตัวออกตามแนวแรงการดึงทดสอบและสามารถหดตัวกลับได้เล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับสมบัติเชิงกลกับพลาสติกจากปิโตรเคมีได้แก่ ถุงร้อนชนิดใสและขุน ถุงเย็น และถุงหิ้วชนิดสามารถถูกย่อยสลายด้วยแสง UV ซึ่งทำการทดสอบที่สภาวะเดียวกัน ดังแสดงในตารางที่ 18 พบว่า เทอร์พอลิเมอร์มีสมบัติบางประการที่ดีกว่าพลาสติกจากปิโตรเคมี เช่น มีค่า stress at Max.Load (MPa) ต่ำกว่าพลาสติกจากอุตสาหกรรมปิโตรเคมี ซึ่งแสดงถึงความสามารถในการรับแรงกระทำจากภายนอก ดังจะเห็นได้ว่าแผ่นฟิล์มเทอร์พอลิเมอร์จะขาดได้ง่ายกว่าพลาสติกจากปิโตรเคมี ในขณะที่เดียวกันเทอร์พอลิเมอร์ก็มีสมบัติบางประการที่ดีกว่า เช่น เทอร์พอลิเมอร์ทุกตัวอย่างมีค่า Young's Modulus ซึ่งแสดงถึงความแข็งแรงของวัสดุสูงกว่าถุงเย็น และยังพบสมบัติบางประการที่น่าสนใจของเทอร์พอลิเมอร์บางตัวอย่าง คือ P(4%3HB-co-3%3HV-co-93%4HB) มีความเหนียวมากกว่าถุงเย็น มีระยะยืดก่อนขาดใกล้เคียงกับถุงร้อนชนิดขุน และมากกว่าถุงหิ้วรวมทั้งถุงเย็น ในขณะที่ P(11%3HB-co-34%3HV-co-55%4HB) มีค่า Young's Modulus ใกล้เคียงกับถุงร้อนชนิดใส และมากกว่าถุงร้อนชนิดขุนรวมทั้งถุงเย็น อย่างไรก็ตามค่าเปรียบเทียบดังกล่าวยังไม่อาจบอกได้ว่า เทอร์พอลิเมอร์ P(3HB-co-3HV-co-4HB) ซึ่งผลิตโดย *Alcaligenes* sp. A-04 ที่มีสัดส่วนของโมโนเมอร์แตกต่างกัน ในการศึกษาที่เหมาะสมสำหรับนำมาใช้ทดแทนพลาสติกจากปิโตรเคมีชนิดใด แต่สามารถใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นซึ่งเมื่อทราบวัตถุประสงค์ของการนำไปใช้งานแล้ว จะทำให้สามารถเลือกผลิตเทอร์พอลิเมอร์ที่มีสมบัติตามที่ต้องการได้เหมาะสม รวมทั้งสามารถปรับปรุงสมบัติบางประการที่ดีกว่า โดยการเติมสารเติมแต่งบางชนิด เช่นเดียวกับการผลิตพลาสติกจากปิโตรเคมีทั่วไป ซึ่งต้องมีการเติมสารเติมแต่งต่างๆเพื่อให้มีสมบัติที่ดีตามลักษณะการใช้งาน หรืออาจจะนำมาผสม (blend) กับพลาสติกจากปิโตรเคมีบางชนิดที่เหมาะสมเพื่อช่วยสมบัติบางประการซึ่งกันและกันให้ดียิ่งขึ้น

เมื่อเปรียบเทียบสมบัติเชิงกลของเทอร์พอลิเมอร์ที่ผลิตโดย *Alcaligenes* sp. A-04 ในงานวิจัยนี้กับ PHA จาก *A.eutrophus* ซึ่งรวบรวมจากคณะผู้วิจัยกลุ่มต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 22 พบว่า สัดส่วนของ 3HB 3HV และ 4HB มีผลต่อสมบัติเชิงกลของเทอร์พอลิเมอร์ สามารถสรุปได้ว่า 3HV โมโนเมอร์ และ 4HB โมโนเมอร์ ต่างมีผลทำให้พอลิเมอร์มีค่าการต้านแรงดึง (tensile strength ,MPa) ลดลง ทำให้พลาสติกเหนียวขึ้น และ มีระยะยืดก่อนขาดเพิ่มขึ้น และพบว่าเทอร์พอลิเมอร์ P(3HB-co-3HV-co-4HB) มีสมบัติที่ดีของแต่ละโมโนเมอร์รวมกัน โดยมีความเหนียวและใสจากการมี 3HV โมโนเมอร์เป็นองค์ประกอบมีความยืดหยุ่นไปจนถึง

อิลาสติก เนื่องจากมี 4HB โมโนเมอร์ เป็นองค์ประกอบ มีความแข็งแรงแต่ไม่แข็งจนเปราะอย่าง PHB เนื่องจากเทอร์พอลิเมอร์ที่ผลิตขึ้นเพื่อการศึกษานี้มีองค์ประกอบของ 3HV และ 4HB โมโนเมอร์มากกว่า 3HB โมโนเมอร์ นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพในกลุ่มของ ไบโอฟอลิเมอร์พบว่า เทอร์พอลิเมอร์มีลักษณะทางกายภาพดีกว่า PHB P(3HB-co3HV) และ P(3HB-co-4HB) โดยแผ่นฟิล์มจะสามารถขึ้นรูปได้ง่าย มีความใสและความโปร่งแสง มีลักษณะอ่อนนุ่มไม่แข็ง จึงสามารถขึ้นรูปได้ตามแบบแม่พิมพ์ โดยการนำเทอร์พอลิเมอร์มาขึ้นรูปตามวิธีของพลาสติกจากปิโตรเคมีนั้น เนื่องจากเทอร์พอลิเมอร์มีจุดหลอมเหลวค่อนข้างต่ำ ดังนั้นวิธีการขึ้นรูปอาจต้องปรับปรุงขั้นตอนและวิธีการเพื่อให้มีความเหมาะสมกับเทอร์พอลิเมอร์ ดังเช่นที่ได้มีการปรับปรุงแล้วสำหรับ PHB และ P(3HB-co-3HV) จนสามารถผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ในระดับอุตสาหกรรมได้ในปัจจุบัน (Holmes, 1988 ; Doi, 1990) ทั้งนี้สามารถผลิตให้เทอร์พอลิเมอร์มีสมบัติตามที่ต้องการโดยการแปรผันสัดส่วนของแต่ละโมโนเมอร์ได้ ซึ่งสามารถทำได้โดยการแปรผัน ชนิดของแหล่งคาร์บอน อาหาร และระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อ ดังที่ได้ศึกษาและรายงานไว้ในงานวิจัยนี้



## สรุปผลงานวิจัย

1. เตรียมกล้าเชื้อ *Alcaligenes* sp. A-04 ที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเทอร์พอลิเมอร์ โดยมีปริมาณเซลล์มากและมีประสิทธิภาพในการสร้างเทอร์พอลิเมอร์ ได้แก่ กล้าเชื้อที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงกล้าเชื้อ ซึ่งเติมฟรักโทส 3 และกรควาเลอริก 1 กรัมต่อลิตร มีอายุ 16 ชั่วโมง เมื่อนำกล้าเชื้อไปเลี้ยงในอาหารเพื่อการผลิต (MSM) ขั้นตอนที่ 1 ได้ปริมาณเซลล์เท่ากับ 6 กรัม (น้ำหนักเซลล์เปียก) ในอาหาร 1 ลิตร ซึ่งเป็นวิธีการที่ทำให้ไม่ต้องเตรียมกล้าเชื้อโดยการเลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงกล้าเชื้อปริมาณมาก ปั่นเซลล์ แล้วจึงรวบรวมเซลล์โดยวิธีปลอดเชื้อ นับว่าเป็นการลดขั้นตอนที่ยุ่งยากลงไปได้และสามารถลดการสิ้นเปลืองอาหารเลี้ยงเชื้อด้วย

2. สามารถผลิตเทอร์พอลิเมอร์จาก *Alcaligenes* sp. A-04 โดยไม่ต้องเติมแหล่งคาร์บอนเสริมสำหรับ 3HB โมโนเมอร์ พบว่าการที่ไม่ต้องเติมแหล่งคาร์บอนเสริมสำหรับ 3HB โมโนเมอร์มีข้อดีที่ทำให้สามารถผลิตเทอร์พอลิเมอร์ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลสูง และเป็นการลดจำนวนชนิดของแหล่งคาร์บอนที่ใช้ในการผลิตด้วย ทำให้การแปรส่วนของแหล่งคาร์บอน (เพื่อผลิตเทอร์พอลิเมอร์ให้มีสัดส่วนของโมโนเมอร์หลากหลาย) เหลือเพียง 2 ชนิด ซึ่งทำได้ง่ายขึ้นกว่าการใช้แหล่งคาร์บอน 3 ชนิด

3. เปรียบเทียบการเติมแหล่งคาร์บอนเสริมสำหรับ 3HB โมโนเมอร์ที่ศึกษา ได้แก่ ฟรักโทส หรือกรดบิวทิริก กับภาวะที่ไม่เติมแหล่งคาร์บอนเสริมสำหรับ 3HB โมโนเมอร์ พบว่าเมื่อไม่เติมแหล่งคาร์บอนเสริมสำหรับ 3HB โมโนเมอร์ได้ปริมาณเทอร์พอลิเมอร์สูงกว่า แต่มี 3HB โมโนเมอร์ประกอบอยู่น้อยกว่า เมื่อเทียบกับการมีแหล่งคาร์บอนเสริมเป็นฟรักโทส หรือกรดบิวทิริก

4. การใช้โซเดียม-4ไฮดรอกซีบิวทิเรต เป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับ 4HB โมโนเมอร์ ในอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งรายงานโดย Doi (1992) ทำให้ *Alcaligenes* sp. A-04 ผลิตเทอร์พอลิเมอร์ที่มีปริมาณพอลิเมอร์ และ สัดส่วนของ 4HB โมโนเมอร์สูงกว่าเมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหาร MSM แต่เทอร์พอลิเมอร์ที่ผลิตจากอาหารสูตรของ Doi มีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยต่ำกว่าเทอร์พอลิเมอร์ที่ผลิตจากอาหาร MSM

5. *Alcaligenes* sp. A-04 สามารถใช้ 1,4 บิวเทนไดออล เป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับ 4HB โมโนเมอร์ได้ โดยได้ปริมาณเทอร์พอลิเมอร์ และ สัดส่วน 4HB โมโนเมอร์สูงพอสมควร

6. การเลี้ยงเชื้อ *Alcaligenes* sp. A-04 แบบ 2 ขั้นตอน เพื่อเพิ่มการผลิตพบว่า การเลี้ยงเชื้อขั้นตอนที่ 1 ในอาหาร MSM ซึ่งใช้กล้าเชื้อที่เหมาะสมจากผลการศึกษาในช่วงแรก ทำให้ได้ปริมาณเซลล์มากพอ และเซลล์มีประสิทธิภาพในการผลิตเทอร์พอลิเมอร์ได้ดี เมื่อนำมาเลี้ยงเชื้อต่อในอาหาร MSM เป็นขั้นตอนที่ 2 โดยเติมแหล่งคาร์บอน (กรดวาเลอริก สำหรับ 3HV โมโนเมอร์ โซเดียม-4ไฮดรอกซีบิวทีเรต สำหรับ 4HB โมโนเมอร์ และ ไม่เติมแหล่งคาร์บอนเสริมสำหรับ 3HB โมโนเมอร์) เพื่อการผลิตเทอร์พอลิเมอร์ได้ผลว่า ผลิตเทอร์พอลิเมอร์ได้ปริมาณสูงสุด เท่ากับ 67.83 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ซึ่งเทอร์พอลิเมอร์ที่ผลิตได้สูงสุด เมื่อเริ่มงานวิจัยนี้มีปริมาณเท่ากับ 25.87 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง

7. การควบคุมภาวะการเลี้ยงเชื้อและโดยการเลือกชนิด และ ปริมาณของแหล่งคาร์บอน ทำให้ผลิตเทอร์พอลิเมอร์ที่มีสัดส่วนของโมโนเมอร์แตกต่างกันได้ 6 ชนิด โดยมีสัดส่วนของ 3HV โมโนเมอร์ และ 4HB โมโนเมอร์ค่าต่ำจนถึงค่าสูง ส่วนสัดส่วนของ 3HB โมโนเมอร์ แปรตาม ภาวะที่ใช้เลี้ยงเชื้อ เทอร์พอลิเมอร์ที่ผลิตได้ 6 ชนิด ได้แก่

- |                                   |                                   |
|-----------------------------------|-----------------------------------|
| 1.) P(10%3HB-co-40%3HV-co-50%4HB) | 4.) P(12%3HB-co-12%3HV-co-76%4HB) |
| 2.) P(11%3HB-co-34%3HV-co-55%4HB) | 5.) P(10%3HB-co-6%3HV-co-84%4HB)  |
| 3.) P(11%3HB-co-23%3HV-co-66%4HB) | 6.) P(4%3HB-co-3%3HV-co-93%4HB)   |

8. ปรับปรุงขั้นตอนการสกัด และ ทำให้สารผลิตภัณฑ์บริสุทธิ์อย่างมีประสิทธิภาพ โดยสามารถลดจำนวนชนิดและปริมาณตัวทำละลายอินทรีย์ จึงเป็นการลดต้นทุนการผลิตได้ทางหนึ่ง และทำให้ผลิตได้เทอร์พอลิเมอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง โดยสามารถกำจัดเทอร์พอลิเมอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำออกได้ในกระบวนการทำให้พอลิเมอร์บริสุทธิ์

9. แผ่นฟิล์มพอลิเมอร์ที่ผลิตได้จาก *Alcaligenes* sp. A-04 ซึ่งมีสัดส่วนของโมโนเมอร์แตกต่างกันมีสมบัติทางกายภาพ เคมี และเชิงกลแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับปริมาณของโมโนเมอร์แต่ละชนิด (3HB 3HV และ 4HB) ที่เป็นองค์ประกอบ

สมบัติโดยรวมของเทอร์พอลิเมอร์ทุกชนิดที่ผลิตได้ในงานวิจัยนี้ นอกจากมีสมบัติเฉพาะตัวที่เป็นข้อได้เปรียบ คือ ถูกย่อยสลายได้โดยธรรมชาติแล้ว พบว่ามีสมบัติใกล้เคียงกับพอลิ

ไอโซพรีน ซึ่งเป็นยางธรรมชาติ และพอลิเมอร์สังเคราะห์ ได้แก่ พอลิเอทิลีน ออกไซด์ พอลิไวนิล เอทิล อีเทอร์ พอลิ 1-เพนทีน และพอลิไวนิล บิวทิล อีเทอร์

10. เทอร์พอลิเมอร์ P(10%3HB-co-40%3HV-co-50%4HB) ที่ผลิตได้ในงานวิจัยนี้ มีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยสูงสุด และมีค่า PDI ใกล้เคียง 1.0 มากที่สุด ซึ่งเป็นสมบัติที่สามารถนำไปใช้ทดแทนพลาสติกจากอุตสาหกรรมปิโตรเคมีได้ดีกว่า PHA ชนิดอื่น ๆ

จากการศึกษาสมบัติของเทอร์พอลิเมอร์ทั้ง 6 ชนิด ที่มีสัดส่วนของโมโนเมอร์แตกต่างกัน ทำให้ทราบว่าเราสามารถเลือกผลิตเทอร์พอลิเมอร์ที่มีสมบัติตามความต้องการได้เมื่อทราบวัตถุประสงค์ในการใช้งาน โดยสามารถปรับปรุงลักษณะบางประการ และคงลักษณะที่ดีบางประการไว้ จึงนับว่าข้อมูลที่ได้จากผลการวิจัยนี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการเลือกผลิตเทอร์พอลิเมอร์จาก *Alcaligenes* sp. A-04 เพื่อการใช้งานได้ต่อไป