บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 การศึกษาอายุกล้าเชื้อที่เหมาะสมสำหรับการเจริญ

เลี้ยงเชื้อ *Bacillus* sp. BA-019 ในอาหารสำหรับเลี้ยงกล้าเชื้อตามวิธีดำเนินการวิจัยในข้อ 5.1 วัดการเจริญทุกๆ3 ชั่วโมง หาน้ำหนักเซลล์แห้ง แสดงผลการทดลองดังตารางที่ 3 พบว่า *Bacillus* sp. BA-019 มีการเจริญจนถึงชั่วโมงที่ 12 จากนั้นน้ำหนักเซลล์จะค่อนข้างคงที่และลดลงเล็กน้อยจนสิ้นสุดการทดลอง โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด 10.46 กรัมต่อลิตร ที่ 12 ชั่วโมง ให้อัตราการเจริญจำเพาะสูงสุดเท่ากับ0.55 ต่อชั่วโมง จึงเลือกกล้าเชื้ออายุ 12 ชั่วโมงไปใช้ในงานวิจัยขั้นต่อไป

ตารางที่ 3 การเจริญของ*Bacillus* sp. BA-019 ในอาหารสำหรับเลี้ยงกล้าเชื้อ

Time (h)	DCW (g/l)	μ (h^{-1})
0	0.07	-
3	0.18	0.31
6	0.55	0.37
9	2.03	0.44
12	10.46	0.55
15	9.95	-0.02
18	9.71	-0.01
21	9.63	0.00
24	9.36	-0.01

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การศึกษาในถังหมักแบบแบช

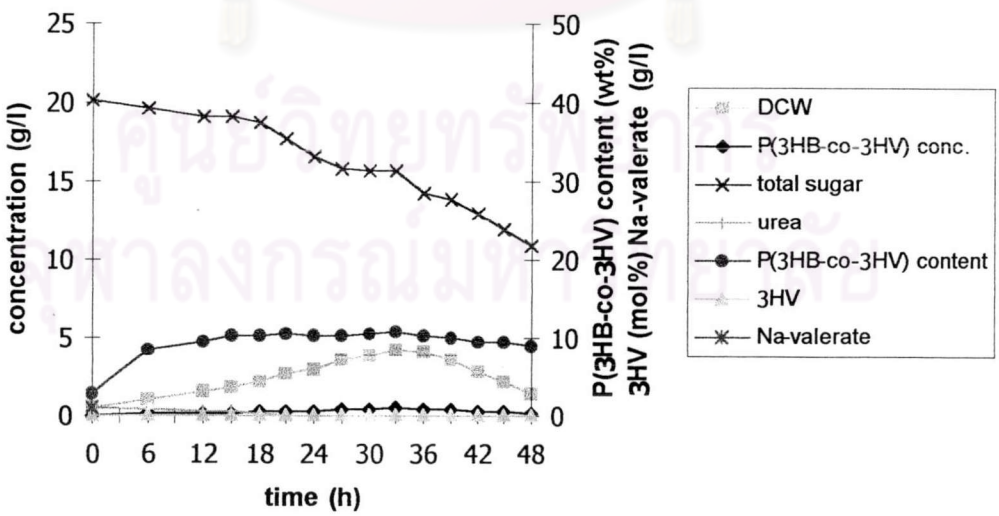
4.2 การศึกษาผลของชนิดและปริมาณของสารตั้งต้นต่อการผลิต P(3HB-co-3HV)

การผลิตโคพอลิเมอร์ P(3HB-co-3HV) ของ *Bacillus* sp. BA-019 ขึ้นอยู่กับสารตั้งต้นที่ใช้เป็นสำคัญ โดยสารตั้งต้นสำหรับ 3HB คือ น้ำตาลทราย (20กรัมต่อลิตร) และสารตั้งต้นสำหรับ 3HV คือ โซเดียมโพรพิโอเนตและโซเดียมวาเลอเรต (จากวิถีการสังเคราะห์ รูปที่ 5 และ 6) สารตั้งต้นสำหรับการสังเคราะห์โมโนเมอร์ 3HV ซึ่งได้แก่โซเดียมโพรพิโอเนตและโซเดียมวาเลอเรตนั้น ถ้ามีในความเข้มข้นสูงจะทำให้ได้สัดส่วนโดยโมลของ 3HV สูง แต่สารตั้งต้นเหล่านี้เป็นพิษต่อเซลล์มีผลยับยั้งการเจริญของเซลล์ (Doi และคณะ, 1992) การผลิต P(3HB-co-3HV) ที่มีสัดส่วนโดยโมลของ 3HV สูง ความเข้มข้นของเซลล์และปริมาณ P(3HB-co-3HV) ที่ได้จะต่ำกว่าการผลิต P(3HB-CO-3HV) ที่มีสัดส่วนโดยโมลของ 3HV ต่ำ (Doi, 1990; Lee, 1996b) ดังนั้นจึงต้องศึกษาหาชนิดและปริมาณของสารตั้งต้นที่เหมาะสมต่อการสังเคราะห์โมโนเมอร์ 3HV โดยแปรความเข้มข้นของสารตั้งต้นแต่ละชนิดเท่ากับ 2.5 5.0 7.5 และ 10.0 กรัมต่อลิตร ในอาหารเพื่อการผลิต

ในการทดลองแรก ได้ใช้สารตั้งต้นสำหรับการผลิตโคพอลิเมอร์เป็นน้ำตาลทราย คิดเป็นปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเท่ากับ 20 กรัมต่อลิตร และไม่ใส่โซเดียมโพรพิโอเนตหรือโซเดียมวาเลอเรต มีแหล่งไนโตรเจนคือยูเรียปริมาณเท่ากับ1.14 กรัมต่อลิตรซึ่งพบว่าถูกใช้หมดไปอย่างรวดเร็วและถูกใช้หมดไปที่เวลา 18 ชั่วโมงของการเลี้ยงเชื้อ ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4 และรูปที่ 9 พบว่าเชื้อ *Bacillus* sp. BA-019 มีการเจริญสูงสุดที่เวลา33 ชั่วโมงของการเลี้ยงเชื้อ โดยได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 4.27 กรัมต่อลิตร ได้ปริมาณและความเข้มข้นของ P(3HB-co-3HV) สูงสุดเท่ากับ 10.77 เปอร์เซนต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง และ 0.46 กรัมต่อลิตร ที่เวลา 33 ชั่วโมง ตามลำดับ ตลอดระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อไม่พบว่ามีการสังเคราะห์โมโนเมอร์ 3HV เลย และพอลิเมอร์ที่ได้ประกอบด้วยโมโนเมอร์ 3HB เพียงชนิดเดียว ซึ่งจัดเป็นโฮโมพอลิเมอร์ PHB ทั้งนี้เนื่องจากไม่มีสารตั้งต้นสำหรับโมโนเมอร์ 3HV ในอาหารเพื่อการผลิต

ตารางที่ 4 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อใช้น้ำตาลทรายเป็นแหล่งคาร์บอน

Time	DCW	P(3HB-co-3HV)		Monomer (mol%)		Total sugar	urea
(h)	(g/l)	(g/l)	(wt%)	3HB	**3HV**	(g/l)	(g/l)
0	0.52	0.02	2.95	100	0	20.14	1.14
6	1.05	0.09	8.57	100	0	19.59	0.60
12	1.49	0.14	9.40	100	0	19.08	0.39
15	1.76	0.18	10.23	100	0	19.05	0.12
18	2.15	0.22	10.23	100	0	18.72	0.40
21	2.68	0.28	10.45	100	0	17.63	0.01
24	3.01	0.31	10.30	100	0	16.58	0.00
27	3.58	0.37	10.34	100	0	15.78	0.01
30	3.82	0.40	10.47	100	0	15.67	0.00
33	**4.27**	**0.46**	**10.77**	100	0	15.59	0.00
36	4.11	0.42	10.22	100	0	14.29	0.00
39	3.56	0.36	10.11	100	0	13.81	0.00
42	2.76	0.26	9.53	100	0	12.90	0.00
45	2.24	0.22	9.60	100	0	11.96	0.00
48	1.45	0.13	8.97	100	0	10.91	0.00



รูปที่ 9 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อใช้น้ำตาลทรายเป็นแหล่งคาร์บอน

ในการทดลองขั้นต่อไปจึงได้ใช้สารตั้งต้นเพื่อการสังเคราะห์ 3HV ซึ่งได้แก่ โซเดียมโพรพิโอเนตและโซเดียมวาเลอเรตร่วมกับน้ำตาลทราย ในการทดลองที่มีการใช้น้ำตาลทราย 20 กรัมต่อลิตร และมีโซเดียมโพรพิโอเนตเท่ากับ 2.5 กรัมต่อลิตร ดังแสดงผลการทดลองในตารางที่ 5 และรูปที่ 10 พบว่า *Bacillus* sp. BA-019 มีการเจริญได้สูงสุดที่เวลา 39 ชั่วโมง โดยได้น้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 3.06 กรัมต่อลิตร ได้ความเข้มข้นและปริมาณ P(3HB-co-3HV) สูงสุดที่เวลา 42 ชั่วโมงของการเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 0.32 กรัมต่อลิตร และ 10.53 เปอร์เซนต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ตามลำดับ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสัดส่วนโดยโมลของ 3HV เพิ่มขึ้นตามเวลาการเลี้ยงเชื้อ และได้ค่าสูงสุดเท่ากับ 20 โมลเปอร์เซนต์ ที่เวลา 39 ชั่วโมง และพบว่าโซเดียมโพรพิโอเนตได้ถูกนำไปใช้และลดลงจนหมดที่เวลา 36 ชั่วโมงส่วนน้ำตาลทรายถูกนำไปใช้และลดลงตามระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อเช่นกัน โดยยูเรียถูกใช้ไปหมดอย่างรวดเร็ว พบว่ามีค่าเป็น 0 กรัมต่อลิตรที่เวลา 18 ชั่วโมง

เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมโพรพิโอเนตเป็น 5 กรัมต่อลิตร (ส่วนน้ำตาลทรายความเข้มข้นเท่ากับ 20 กรัมต่อลิตรคงเดิม) ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 6 และรูปที่ 11 พบว่า *Bacillus* sp. BA-019 มีการเจริญตามลำดับ ได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดที่วลา 36 ชั่วโมง เท่ากับ 2.81 กรัมต่อลิตร ปริมาณ P(3HB-co-3HV)สูงสุดเท่ากับ 12.26 เปอร์เซนต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง และได้ความเข้มข้น P(3HB-co-3HV) สูงสุดเท่ากับ 0.32 กรัมต่อลิตร สำหรับสัดส่วนโดยโมลของ 3HV จะค่อยๆเพิ่มสูงขึ้นตามเวลาการเลี้ยงเชื้อ ได้ค่าสูงสุดเท่ากับ 24 โมลเปอร์เซนต์ที่ 39 ชั่วโมง พบว่าโพรพิโอเนตที่มีปริมาณเพิ่มขึ้นในการทดลองนี้มีผลทำให้ถูกใช้หมดช้าลง โดยถูกใช้หมดลงที่เวลา 45 ชั่วโมง แหล่งไนโตรเจนคือยูเรียถูกใช้หมดไปประมาณ 18 ชั่วโมงของการเลี้ยงเชื้อ

ในการทดลองที่มีน้ำตาลทราย 20 กรัมต่อลิตร และมีโซเดียมโพรพิโอเนตเพิ่มเป็น 7.5 กรัมต่อลิตร ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 7 และรูปที่ 12 พบว่าเชื้อ *Bacillus* sp. BA-019 มีการเจริญสูงสุดคิดเป็นน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 2.56 กรัมต่อลิตร ที่เวลาการเลี้ยงเชื้อ 39 ชั่วโมง ได้โคพอลิเมอร์เข้มข้นเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อเช่นเดียวกับการเจริญและได้ความเข้มข้นสูงสุดเท่ากับ 0.17 กรัมต่อลิตร ที่เวลา 39 ชั่วโมง ได้ปริมาณP(3HB-co-3HV)สูงสุดที่เวลาการเลี้ยงเชื้อ 42 ชั่วโมงเท่ากับ 6.64 เปอร์เซนต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ได้สัดส่วนโดยโมลของ 3HV สูงสุดเท่ากับ 16 โมลเปอร์เซนต์ ซึ่งน้อยกว่าชุดการทดลองก่อนหน้านี้ และสารตั้งต้นโซเดียมโพรพิโอเนตเหลืออยู่เท่ากับ 3.23 กรัมต่อลิตร และยูเรียถูกใช้หมดไปที่เวลา18 ชั่วโมง

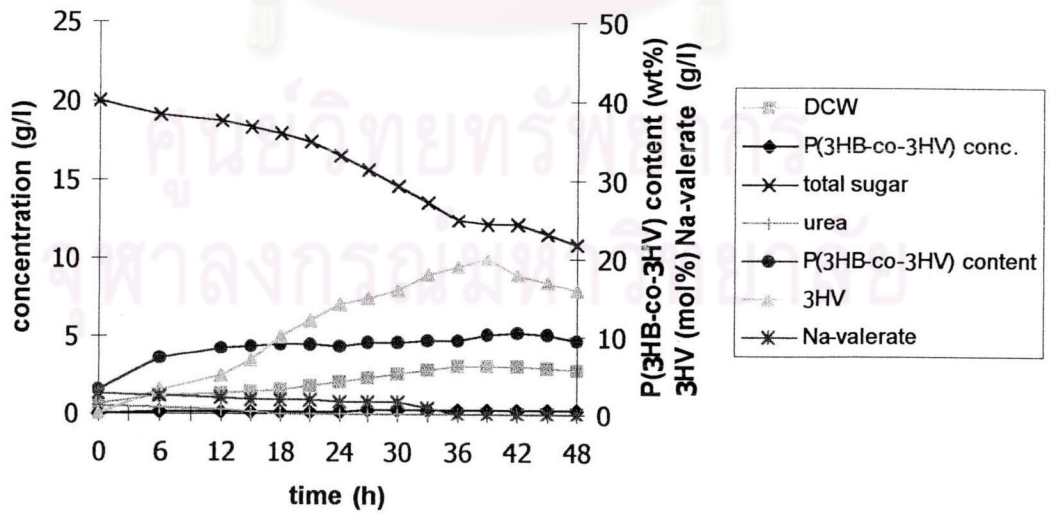
เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารตั้งต้นโซเดียมโพรพิเนตเป็น 10 กรัมต่อลิตร และคงความเข้มข้นของน้ำตาลทรายเท่ากับ 20 กรัมต่อลิตรไว้ ดังแสดงผลการทดลองในตารางที่ 8 และรูปที่ 13 พบว่าการเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) ของเชื้อ *Bacillus* sp. BA-019 ลดลงอย่างชัดเจน โดยได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 1.62 กรัมต่อลิตรในเวลา 33 ชั่วโมงของการเลี้ยงเชื้อ ได้ P(3HB-co-3HV) เข้มข้นสูงสุดเท่ากับ 0.07 กรัมต่อลิตรที่ 39 ถึง 42 ชั่วโมง คิดเป็นปริมาณ P(3HB-co-3HV) สูงสุดเท่ากับ 5.15 เปอร์เซนต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ที่ 42 ชั่วโมง ส่วนการสังเคราะห์โมโนเมอร์ 3HV เพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลาและได้ค่าสูงสุดเท่ากับ 14 โมลเปอร์เซนต์ที่ 42 ชั่วโมง สำหรับน้ำตาลทรายและโซเดียมโพรพิโอเนตนั้นเหลืออยู่มากที่สุด โดยมีความเข้มข้นเท่ากับ 14.67 กรัมต่อลิตร และ 6.68 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง

เมื่อเปรียบเทียบการใช้สารตั้งต้นเป็นโซเดียมโพรพิโอเนตที่มีความเข้มข้นต่างๆกันแล้ว อาจเป็นเพราะโซเดียมโพรพิโอเนตมีความเป็นพิษต่อเซลล์ (Doi และคณะ, 1992) โดยที่เมื่อแปรความเข้มข้นของโซเดียมโพรพิโอเนตเท่ากับ 2.5 5.0 7.5 และ 10 กรัมต่อลิตร น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดที่ได้ลดลงจาก 4.27 กรัมต่อลิตร (ในการทดลองที่ไม่ได้เติมโซเดียมโพรพิโอเนต) เหลือ 3.06 2.81 2.56 และ 1.62 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และมีผลทำให้การผลิตโคพอลิเมอร์ลดต่ำลง โดยมีการการผลิตโคพอลิเมอร์ลดลงจาก 0.46 กรัมต่อลิตร (ในการทดลองที่ไม่ได้เติมโซเดียมโพรพิโอเนต) เหลือ 0.32 0.32 0.17 และ 0.07 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ แต่การสังเคราะห์โมโนเมอร์ 3HV สูงสุดได้เท่ากับ 24 โมลเปอร์เซนต์ เมื่อใช้โซเดียมโพรพิโอเนตเข้มข้น 5.0 กรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำตาลทราย 20 กรัมต่อลิตร

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 5 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อใช้น้ำตาลทราย และโซเดียมโพรพิโอเนต 2.5 กรัมต่อลิตร

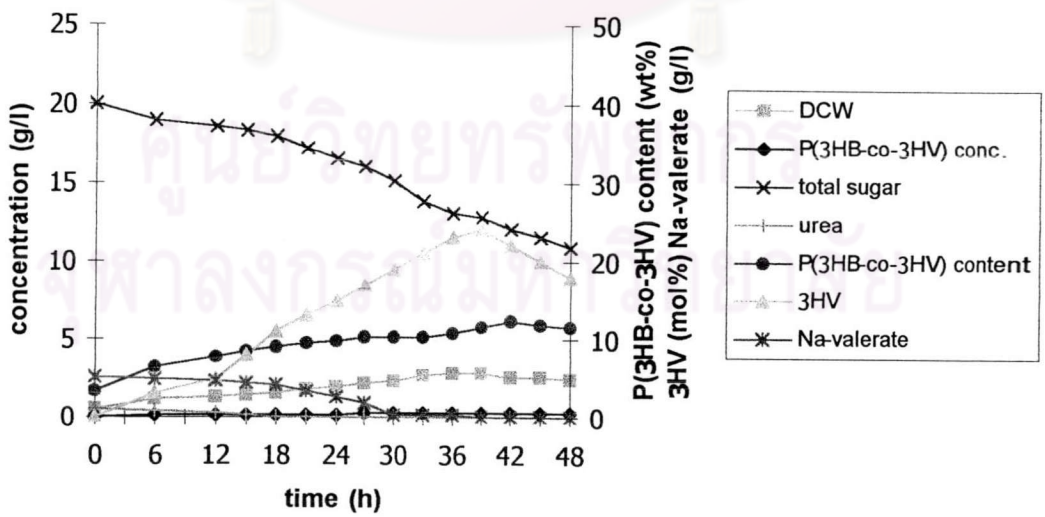
Time	DCW	P(3HB-co-3HV)		Monomer (mol%)		Total sugar	Na-Valerate	urea
(h)	(g/l)	(g/l)	(wt%)	3HB	**3HV**	(g/l)	(g/l)	(g/l)
0	0.58	0.02	3.12	100	0	19.99	2.49	1.14
6	1.13	0.08	7.08	97	3	19.11	2.25	0.78
12	1.29	0.11	8.53	95	5	18.76	2.12	0.50
15	1.47	0.13	8.84	93	7	18.31	1.88	0.16
18	1.60	0.14	8.99	90	10	17.95	1.87	0.06
21	1.78	0.16	8.99	88	12	17.39	1.68	0.02
24	2.04	0.18	8.82	86	14	16.50	1.65	0.01
27	2.29	0.21	9.17	85	15	15.58	1.60	0.00
30	2.52	0.23	9.13	84	16	14.66	1.51	0.00
33	2.77	0.26	9.39	82	18	13.58	0.88	0.00
36	3.02	0.29	9.60	81	19	12.43	0.00	0.00
39	**3.06**	0.31	10.13	80	**20**	12.24	0.00	0.00
42	3.04	**0.32**	**10.53**	82	18	12.13	0.00	0.00
45	2.94	0.30	10.20	83	17	11.58	0.00	0.00
48	2.83	0.27	9.54	84	16	10.95	0.00	0.00



รูปที่ 10 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อใช้น้ำตาลทราย และโซเดียมโพรพิโอเนต 2.5 กรัมต่อลิตร

ตารางที่ 6 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อใช้น้ำตาลทราย และโซเดียมโพรพิโอเนต 5.0 กรัมต่อลิตร

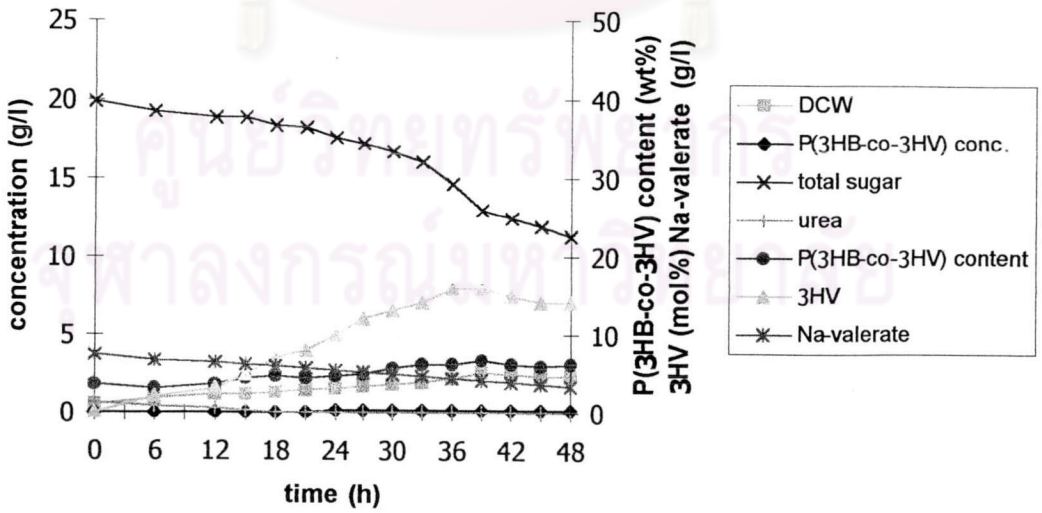
Time	DCW	P(3HB-co-3HV)		Monomer (mol%)		Total sugar	Na-Valerate	urea
(h)	(g/l)	(g/l)	(wt%)	3HB	3HV	(g/l)	(g/l)	(g/l)
0	0.49	0.02	3.40	100	0	19.99	5.02	1.12
6	1.10	0.07	6.36	97	3	19.02	4.82	0.76
12	1.32	0.10	7.58	95	5	18.53	4.50	0.54
15	1.42	0.12	8.45	92	8	18.28	4.36	0.22
18	1.56	0.14	8.97	89	11	17.89	4.04	0.08
21	1.78	0.17	9.55	87	13	17.21	3.44	0.02
24	1.96	0.19	9.69	85	15	16.60	2.65	0.00
27	2.13	0.22	10.33	83	17	15.97	1.90	0.01
30	2.34	0.24	10.26	81	19	15.13	0.15	0.00
33	2.64	0.27	10.23	79	21	13.84	0.15	0.00
36	**2.81**	0.30	10.68	77	23	13.06	0.15	0.00
39	2.77	**0.32**	11.55	76	**24**	12.86	0.11	0.00
42	2.61	**0.32**	**12.26**	78	22	12.03	0.09	0.00
45	2.53	0.30	11.86	80	20	11.59	0.00	0.00
48	2.42	0.28	11.57	82	18	10.95	0.00	0.00



รูปที่ 11 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อใช้น้ำตาลทราย และโซเดียมโพรพิโอเนต 5.0 กรัมต่อลิตร

ตารางที่ 7 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อใช้น้ำตาลทราย **และโซเดียมโพรพิโอเนต 7.5 กรัมต่อลิตร**

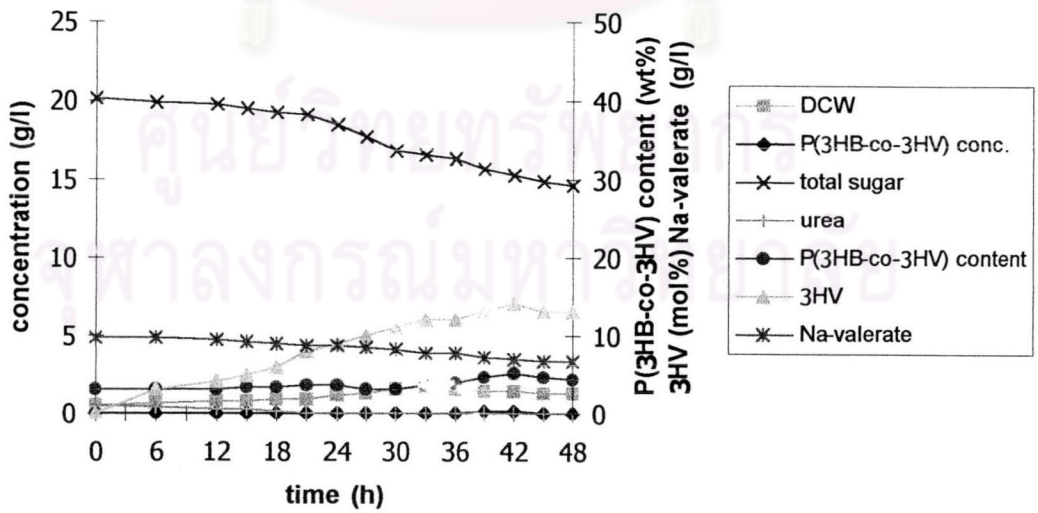
Time	DCW	P(3HB-co-3HV)		Monomer (mol%)		Total sugar	Na-Valerate	urea
(h)	(g/l)	(g/l)	(wt%)	3HB	3HV	(g/l)	(g/l)	(g/l)
0	0.53	0.02	3.53	100	0	19.92	7.43	1.15
6	0.93	0.03	3.04	98	2	19.28	6.64	0.80
12	1.11	0.04	3.60	97	3	18.88	6.42	0.54
15	1.12	0.05	4.46	95	5	18.86	6.15	0.28
18	1.31	0.06	4.58	93	7	18.33	5.87	0.06
21	1.36	0.06	4.41	92	8	18.17	5.60	0.02
24	1.54	0.07	4.55	90	10	17.56	5.38	0.01
27	1.65	0.08	4.85	88	12	17.15	5.11	0.01
30	1.76	0.10	5.68	87	13	16.71	4.76	0.00
33	1.92	0.12	6.25	86	14	16.03	4.53	0.00
36	2.24	0.14	6.25	84	**16**	14.55	4.31	0.00
39	**2.56**	**0.17**	**6.64**	84	**16**	12.99	4.12	0.00
42	2.46	0.15	6.10	85	15	12.47	3.80	0.00
45	2.36	0.14	5.93	86	14	11.92	3.57	0.00
48	2.26	0.14	6.19	86	14	11.34	3.23	0.00



รูปที่ 12 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อใช้น้ำตาลทราย **และโซเดียมโพรพิโอเนต 7.5 กรัมต่อลิตร**

ตารางที่ 8 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อใช้น้ำตาลทราย และโซเดียมโพรพิโอเนต 10.0 กรัมต่อลิตร

Time	DCW	P(3HB-co-3HV)		Monomer (mol%)		Total sugar	Na-Valerate	urea
(h)	(g/l)	(g/l)	(wt%)	3HB	3HV	(g/l)	(g/l)	(g/l)
0	0.51	0.02	3.08	100	0	20.11	9.75	1.14
6	0.63	0.02	3.17	97	3	19.92	9.66	0.81
12	0.71	0.02	3.10	96	4	19.74	9.42	0.60
15	0.81	0.03	3.33	95	5	19.49	9.15	0.22
18	0.89	0.03	3.37	94	6	19.27	8.87	0.04
21	0.96	0.03	3.47	92	8	19.05	8.75	0.02
24	1.15	0.04	3.48	91	9	18.41	8.60	0.00
27	1.34	0.04	3.07	90	10	17.70	8.40	0.00
30	1.56	0.05	3.01	89	11	16.82	8.12	0.00
33	**1.62**	0.06	3.64	88	12	16.56	7.80	0.00
36	1.56	0.06	3.97	88	12	16.29	7.57	0.00
39	1.44	**0.07**	4.58	87	13	15.70	7.18	0.00
42	1.36	**0.07**	**5.15**	86	**14**	15.28	6.88	0.00
45	1.28	0.06	4.69	87	13	14.84	6.75	0.00
48	1.25	0.06	4.48	87	13	14.67	6.68	0.00



รูปที่ 13 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อใช้น้ำตาลทราย และโซเดียมโพรพิโอเนต 10.0 กรัมต่อลิตร

เมื่อเปลี่ยนสารตั้งต้นสำหรับ 3HV จากโซเดียมโพรพิโอเนตมาเป็นโซเดียมวาเลอเรต โดยใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นที่ 2.5 5.0 7.5 และ 10.0 กรัมต่อลิตรโดยคงความเข้มข้นของน้ำตาลทรายเท่ากับ 20 กรัมต่อลิตรในทุกชุดการทดลอง ดังแสดงผลการทดลองในตารางที่ 9 และรูปที่ 14 เมื่อใช้โซเดียมวาเลอเรต 2.5 กรัมต่อลิตร พบว่าเชื้อ *Bacillus* sp. BA-019 มีการเจริญสูงสุดคิดเป็นน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 2.61 กรัมต่อลิตร ความเข้มข้นและปริมาณโคพอลิเมอร์สูงสุดเท่ากับ 0.28 กรัมต่อลิตร และ 10.73 เปอร์เซนต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ที่เวลาการเลี้ยงเชื้อ 39 ชั่วโมง ได้สัดส่วนของ 3HV สูงสุดเท่ากับ 34 โมลเปอร์เซนต์ ที่เวลาการเลี้ยงเชื้อ 39 ชั่วโมงเช่นเดียวกัน โดยที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลทรายลดลงตามเวลาของการเลี้ยงเชื้อ และใช้สารตั้งต้นโซเดียมวาเลอเรตหมดในชั่วโมงที่ 45 ของการเลี้ยงเชื้อ โดยยูเรียลดลงอย่างรวดเร็วและหมดที่เวลา 18 ชั่วโมงของการเลี้ยงเชื้อ

ในการทดลองที่มีน้ำตาลทราย 20 กรัมต่อลิตร และมีโซเดียมวาเลอเรต 5.0 กรัมต่อลิตร ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 10 และรูปที่ 15 พบว่าเชื้อ *Bacillus* sp. BA-019 มีการเจริญสูงสุดคิดเป็นน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 2.48 กรัมต่อลิตร ที่เวลาการเลี้ยงเชื้อ 39 ชั่วโมง ซึ่งมีค่าน้อยกว่าการทดลองก่อน ได้โคพอลิเมอร์เข้มข้นเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อได้เข้มข้นสูงสุดเท่ากับ 0.34 กรัมต่อลิตร และได้ปริมาณ P(3HB-co-3HV)สูงสุดเท่ากับ 14.03 เปอร์เซนต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ที่เวลา 36 ชั่วโมง ได้ค่าสัดส่วนโดยโมลของ 3HV สูงสุดถึง 40 โมลเปอร์เซนต์ เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 39 ชั่วโมง โดยที่มีน้ำตาลทรายเหลืออยู่ความเข้มข้นเท่ากับ 12.58 กรัมต่อลิตร สารตั้งต้นโซเดียมวาเลอเรตเหลืออยู่เท่ากับ 2.73 กรัมต่อลิตร เมื่อสิ้นสุดการทดลอง และยูเรียถูกใช้หมดไปในชั่วโมงที่ 18 ของการเลี้ยงเชื้อ

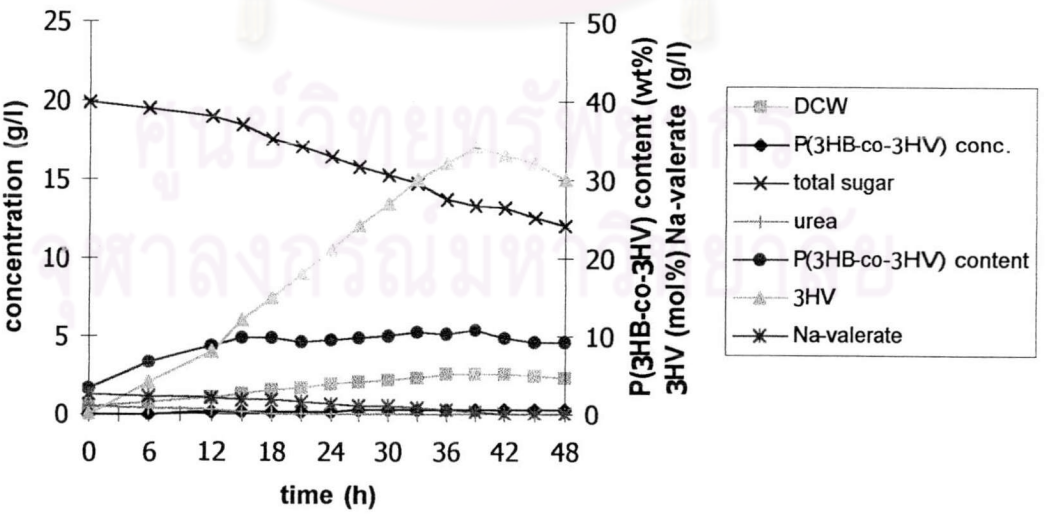
ในการทดลองที่เพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมวาเลอเรตเป็น 7.5 กรัมต่อลิตร ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 11 และรูปที่ 16 พบว่าเชื้อ *Bacillus* sp. BA-019 มีการเจริญตามลำดับ ได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดที่เวลา 39 ชั่วโมง เท่ากับ 2.03 กรัมต่อลิตร ปริมาณP(3HB-co-3HV)สูงสุดเท่ากับ 9.78 เปอร์เซนต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งในชั่วโมงที่ 42 ของการเลี้ยงเชื้อ และได้ความเข้มข้น P(3HB-co-3HV) สูงสุดเท่ากับ 0.18 กรัมต่อลิตร ในช่วงเวลาการเลี้ยงเชื้อ 36 ถึง 42 ชั่วโมง สำหรับสัดส่วนโดยโมลของ 3HV จะค่อยๆเพิ่มสูงขึ้นตามเวลาการเลี้ยงเชื้อ ได้ค่าสูงสุดเท่ากับ 38 โมลเปอร์เซนต์ ที่ 39 ชั่วโมง ส่วนสารตั้งต้นพบว่าโซเดียมวาเลอเรตที่เพิ่มขึ้นในการทดลองนี้มีผลทำให้ถูกใช้หมดช้าลง โดยมีความเข้มข้นเท่ากับ 5.73 กรัมต่อลิตร และน้ำตาลทรายที่เหลือเท่ากับ 13.00 กรัมต่อลิตร เมื่อสิ้นสุดการทดลอง

ในการทดลองที่มีเพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมวาเลอเรตสูงสุดเท่ากับ 10.0 กรัมต่อลิตร ดังแสดงผลการทดลองในตารางที่ 12 และรูปที่ 17 พบว่า *Bacillus* sp. BA-019 มีการเจริญได้สูงสุดที่เวลา 36 ชั่วโมง โดยได้น้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 1.45 กรัมต่อลิตร ได้ P(3HB-co-3HV) ความเข้มข้นสูงสุดที่เวลา 39 ชั่วโมงเท่ากับ 0.13 กรัมต่อลิตร และปริมาณP(3HB-co-3HV) สูงสุดที่เวลา 42 ชั่วโมงของการเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 9.56 เปอร์เซนต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง สัดส่วนโดยโมลของ 3HV เพิ่มขึ้นตามเวลาการเลี้ยงเชื้อ และได้ค่าสูงสุดเท่ากับ 37 โมลเปอร์เซนต์ ที่เวลาการเลี้ยงเชื้อ 30 ถึง 36 ชั่วโมง และพบว่าสารตั้งต้นโซเดียมวาเลอเรตได้ถูกนำไปใช้และลดลงเหลือ 7.99 กรัมต่อลิตร เมื่อสิ้นสุดการทดลอง

เมื่อเปรียบเทียบการใช้โซเดียมวาเลอเรตที่ความเข้มข้นต่างกัน พบว่าโซเดียมวาเลอเรตน่าจะมีความเป็นพิษต่อเซลล์ โดยที่เมื่อแปรความเข้มข้นของโซเดียมวาเลอเรตเท่ากับ 2.5 5.0 7.5 และ 10 กรัมต่อลิตร น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดที่ได้ลดลงจาก 4.27 กรัมต่อลิตร (ในการทดลองที่ไม่ได้เติมโซเดียมวาเลอเรต) เหลือ 2.61 2.48 2.03 และ 1.45 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และมีผลทำให้การผลิตโคพอลิเมอร์ลดต่ำลง โดยมีการการผลิตโคพอลิเมอร์ลดลงจาก 0.46 กรัมต่อลิตร (ในการทดลองที่ไม่ได้เติมโซเดียมวาเลอเรต) เหลือ 0.28 0.34 0.18 และ 0.13 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนการสังเคราะห์โมโนเมอร์ 3HV สูงสุดเท่ากับ 40 โมลเปอร์เซนต์ เมื่อใช้โซเดียมวาเลอเรตเข้มข้น 5.0 กรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำตาลทราย 20 กรัมต่อลิตร ในการเพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมวาเลอเรตขึ้นตามลำดับเป็น 5.0 7.5 และ 10.0 กรัมต่อลิตรนั้น สังเกตุพบว่าปริมาณน้ำตาลทรายและโซเดียมวาเลอเรตที่เหลือในน้ำหมักมีค่าสูงขึ้นตามปริมาณโซเดียมวาเลอเรตที่เพิ่มขึ้น ทั้งนี้อาจเนื่องจากความเป็นพิษต่อเซลล์ ซึ่งมีความสัมพันธ์โดยตรงกับน้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้รวมถึงปริมาณโคพอลิเมอร์ซึ่งลดลงตามลำดับ ดังนั้นเมื่อเซลล์มีความเข้มข้นน้อยการนำน้ำตาลทรายและโซเดียมวาเลอเรตไปใช้จึงน้อยลง ในด้านสัดส่วนของ 3HV พบว่าไม่แตกต่างกันมากนัก โดยได้สัดส่วน 3HV สูงสุดเท่ากับ 40 โมลเปอร์เซนต์ เมื่อใช้โซเดียมวาเลอเรตเท่ากับ 5.0 กรัมต่อลิตร

ตารางที่ 9 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อใช้น้ำตาลทราย และโซเดียมวาเลอเรต 2.5 กรัมต่อลิตร

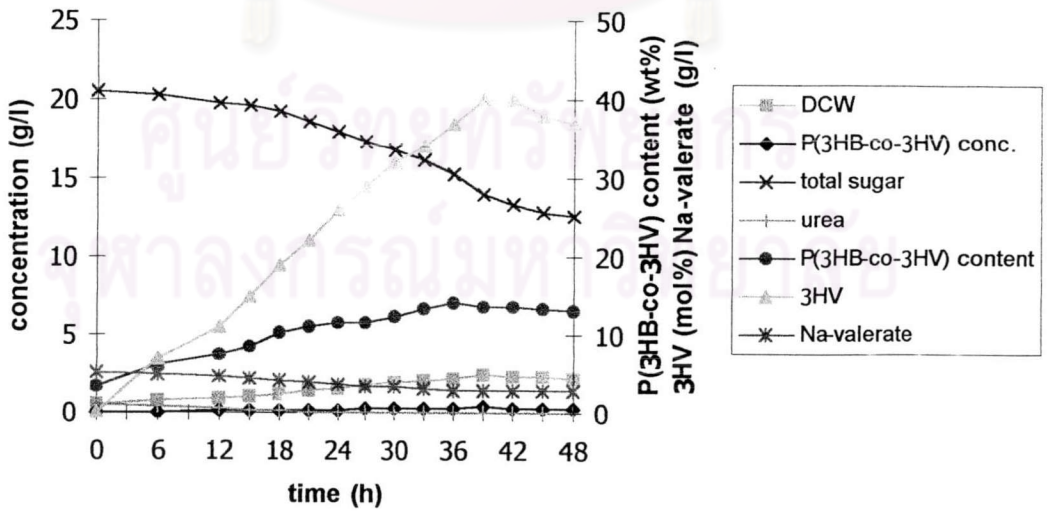
Time	DCW	P(3HB-co-3HV)		Monomer (mol%)		Total sugar	Na-Valerate	urea
(h)	(g/l)	(g/l)	(wt%)	3HB	3HV	(g/l)	(g/l)	(g/l)
0	0.55	0.02	3.25	100	0	19.88	2.46	1.15
6	0.76	0.05	6.58	96	4	19.54	2.34	0.80
12	1.04	0.09	8.65	92	8	18.93	2.15	0.54
15	1.23	0.12	9.76	88	12	18.45	1.86	0.28
18	1.54	0.15	9.74	85	15	17.59	1.72	0.06
21	1.72	0.16	9.30	82	18	17.03	1.51	0.02
24	1.89	0.18	9.52	79	21	16.45	1.35	0.01
27	2.06	0.20	9.71	76	24	15.82	1.13	0.01
30	2.19	0.22	10.05	73	27	15.30	0.94	0.00
33	2.31	0.24	10.39	70	30	14.78	0.74	0.00
36	2.54	0.26	10.24	68	32	13.73	0.52	0.00
39	**2.61**	**0.28**	**10.73**	66	**34**	13.38	0.21	0.00
42	2.57	0.25	9.73	67	33	13.18	0.07	0.00
45	2.46	0.23	9.35	68	32	12.57	0.00	0.00
48	2.36	0.22	9.32	70	30	11.99	0.00	0.00



รูปที่ 14 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อใช้น้ำตาลทราย และโซเดียมวาเลอเรต 2.5 กรัมต่อลิตร

ตารางที่ 10 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อใช้น้ำตาลทราย และโซเดียมวาเลอเรต 5.0 กรัมต่อลิตร

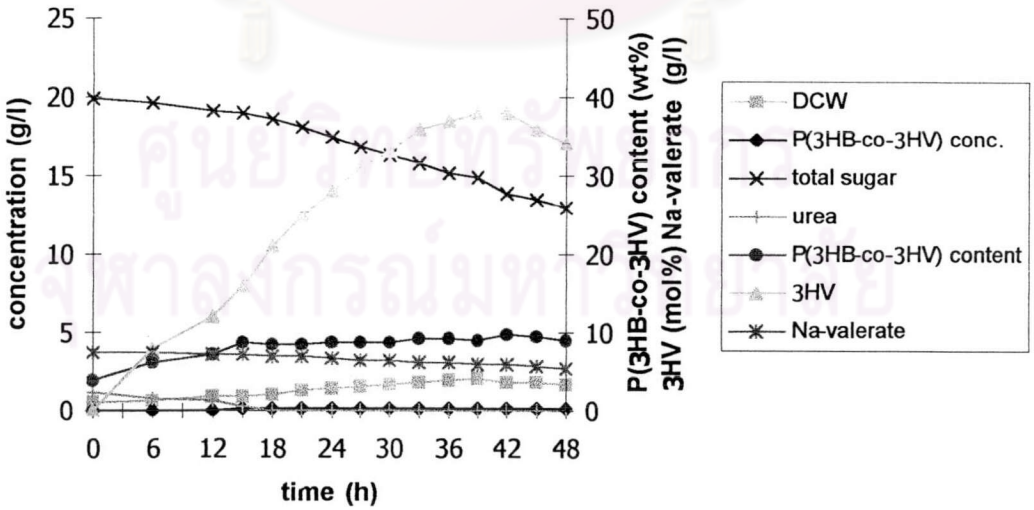
Time	DCW	P(3HB-co-3HV)		Monomer (mol%)		Total sugar	Na-Valerate	urea
(h)	(g/l)	(g/l)	(wt%)	3HB	3HV	(g/l)	(g/l)	(g/l)
0	0.57	0.02	3.32	100	0	20.54	5.02	1.14
6	0.75	0.05	6.27	93	7	20.25	4.90	0.78
12	0.96	0.07	7.42	89	11	19.79	4.72	0.50
15	1.05	0.09	8.57	85	15	19.56	4.36	0.16
18	1.18	0.12	10.17	81	19	19.20	4.03	0.06
21	1.36	0.15	11.03	78	22	18.64	3.78	0.02
24	1.57	0.18	11.46	74	26	17.93	3.49	0.01
27	1.74	0.20	11.49	71	29	17.30	3.36	0.00
30	1.88	0.23	12.23	68	32	16.74	3.26	0.00
33	2.01	0.27	13.43	66	34	16.18	3.14	0.00
36	2.21	0.31	**14.03**	63	37	15.26	2.88	0.00
39	**2.48**	**0.34**	13.71	60	**40**	13.94	2.75	0.00
42	2.36	0.32	13.56	60	**40**	13.31	2.71	0.00
45	2.27	0.30	13.22	62	38	12.82	2.70	0.00
48	2.23	0.29	13.00	63	37	12.58	2.73	0.00



รูปที่ 15 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อใช้น้ำตาลทราย และโซเดียมวาเลอเรต 5.0 กรัมต่อลิตร

ตารางที่ 11 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อใช้น้ำตาลทราย และโซเดียมวาเลอเรต 7.5 กรัมต่อลิตร

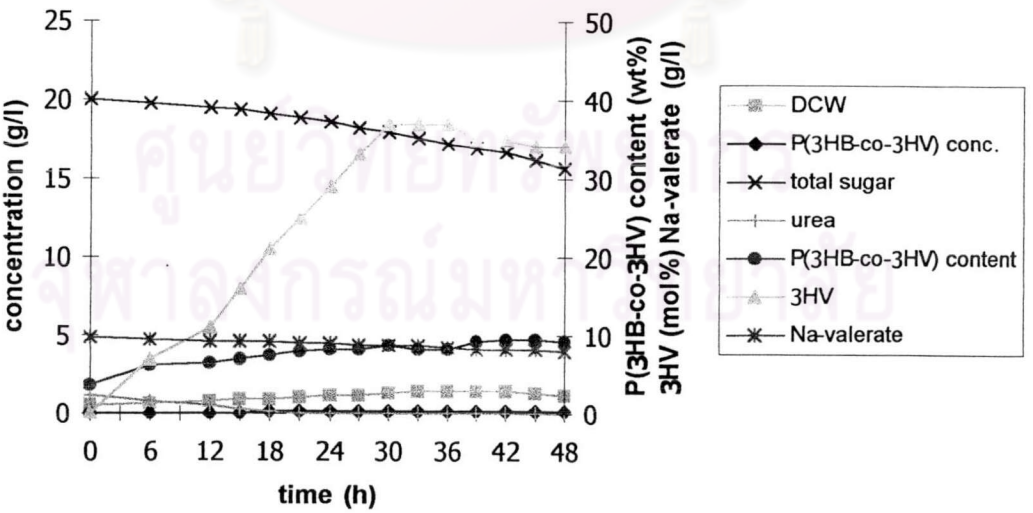
Time	DCW	P(3HB-co-3HV)		Monomer (mol%)		Total sugar	Na-Valerate	urea
(h)	(g/l)	(g/l)	(wt%)	3HB	3HV	(g/l)	(g/l)	(g/l)
0	0.47	0.02	3.87	100	0	19.87	7.39	1.14
6	0.65	0.04	6.15	92	8	19.58	7.33	0.81
12	0.84	0.06	7.14	88	12	19.16	7.26	0.60
15	0.93	0.08	8.60	84	16	18.94	7.13	0.22
18	1.06	0.09	8.49	79	21	18.58	7.05	0.04
21	1.23	0.11	8.54	75	25	18.05	6.98	0.02
24	1.42	0.13	8.80	72	28	17.40	6.67	0.00
27	1.59	0.14	8.81	69	31	16.77	6.45	0.00
30	1.71	0.15	8.77	67	33	16.29	6.32	0.00
33	1.82	0.17	9.34	64	36	15.82	6.21	0.00
36	1.96	**0.18**	9.18	63	37	15.18	6.12	0.00
39	**2.03**	**0.18**	8.87	62	**38**	14.83	5.93	0.00
42	1.84	**0.18**	**9.78**	62	**38**	13.85	5.81	0.00
45	1.77	0.17	9.60	64	36	13.46	5.68	0.00
48	1.69	0.15	8.88	66	34	13.00	5.49	0.00



รูปที่ 16 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อใช้น้ำตาลทราย และโซเดียมวาเลอเรต 7.5 กรัมต่อลิตร

ตารางที่ 12 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อใช้น้ำตาลทราย และโซเดียมวาเลอเรต 10.0 กรัมต่อลิตร

Time	DCW	P(3HB-co-3HV)		Monomer (mol%)		Total sugar	Na-Valerate	urea
(h)	(g/l)	(g/l)	(wt%)	3HB	3HV	(g/l)	(g/l)	(g/l)
0	0.52	0.02	3.50	100	0	20.02	9.86	1.12
6	0.66	0.04	6.06	93	7	19.80	9.58	0.76
12	0.78	0.05	6.41	89	11	19.53	9.31	0.54
15	0.86	0.06	6.98	84	16	19.33	9.21	0.22
18	0.94	0.07	7.45	79	21	19.11	9.15	0.08
21	1.02	0.08	7.84	75	25	18.86	9.06	0.02
24	1.11	0.09	8.11	71	29	18.55	8.98	0.00
27	1.20	0.10	8.33	67	33	18.22	8.77	0.01
30	1.28	0.11	8.59	63	**37**	17.90	8.65	0.00
33	1.36	0.11	8.09	63	**37**	17.56	8.62	0.00
36	**1.45**	0.12	8.28	63	**37**	17.14	8.51	0.00
39	1.40	**0.13**	9.29	65	35	16.90	8.33	0.00
42	1.36	**0.13**	**9.56**	65	35	16.69	8.21	0.00
45	1.27	0.12	9.45	66	34	16.20	8.14	0.00
48	1.18	0.11	9.11	66	34	15.67	7.99	0.00



รูปที่ 17 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อใช้น้ำตาลทราย และโซเดียมวาเลอเรต 10.0 กรัมต่อลิตร

เมื่อเปรียบเทียบการเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) ที่มีน้ำตาลทรายเป็นแหล่งคาร์บอนและมีโซเดียมโพรพิโอเนตหรือโซเดียมวาเลอเรตความเข้มข้น 2.5 5.0 7.5 และ 10.0 กรัมต่อลิตรเป็นสารตั้งต้นสำหรับการสังเคราะห์โมโนเมอร์ 3HV โดยเชื้อ *Bacillus* sp. BA-019 พบว่าสารตั้งต้นทั้งสองชนิดมีความเป็นพิษต่อเซลล์ (Doi, 1990; Lee, 1996b) โดยที่การเจริญสูงสุดมีค่าลดลงเมื่อมีการเติมโซเดียมโพรพิโอเนตหรือโซเดียมวาเลอเรตลงไปอย่างชัดเจนและลดลงเรื่อยๆเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารตั้งต้น โดยที่โซเดียมวาเลอเรตมีความเป็นพิษสูงกว่าโซเดียมโพรพิโอเนต เนื่องจากการเจริญสูงสุดในการเติมโซเดียมวาเลอเรตแต่ละความเข้มข้นต่ำกว่าการเติมโซเดียมโพรพิโอเนต ดังแสดงในตารางที่ 13

ตารางที่ 13 เปรียบเทียบการเจริญและผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อใช้น้ำตาลทรายร่วมกับโซเดียมโพรพิโอเนตและโซเดียมวาเลอเรตความเข้มข้น 2.5 ถึง 10.0 กรัมต่อลิตร

Propionate/Valerate (g/l)	DCW (g/l)	P(3HB-co-3HV)		Monomer (mol%)	
		(g/l)	(wt%)	3HB	3HV
ไม่เติม (ชุดควบคุม)	4.27^{e}	0.46^{e}	10.77^{b}	100	0^{a}
Na-Propionate 2.5	3.06^{d}	0.32^{d}	10.53^{b}	80	20^{c}
Na-Propionate 5.0	2.81^{c,d}	0.32^{d}	12.26^{c}	76	24^{c}
Na-Propionate 7.5	2.56^{c}	0.17^{b}	6.49^{a}	84	16^{b}
Na-Propionate 10.0	1.62^{a}	0.07^{a}	5.15^{a}	86	14^{b}
Na-Valerate 2.5	2.61^{c,d}	0.28^{c}	10.73^{b}	66	34^{d}
Na-Valerate 5.0	2.48^{c}	0.34^{d}	14.03^{d}	60	40^{e}
Na-Valerate 7.5	2.03^{b}	0.18^{b}	9.78^{b}	62	38^{d,e}
Na-Valerate 10.0	1.45^{a}	0.13^{a,b}	9.56^{b}	63	37^{d,e}

หมายเหตุ อักษรที่ต่างกันบนตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันหมายถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$ (ภาคผนวก ง)

การผลิต P(3HB-co-3HV) และการสังเคราะห์โมโนเมอร์ 3HV มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในช่วงความเข้มข้นของสารตั้งต้นทั้งสองชนิดเท่ากับ 2.5 ถึง 5.0 กรัมต่อลิตร โดยให้ค่าการผลิต P(3HB-co-3HV) และการสังเคราะห์โมโนเมอร์ 3HV ที่ดีที่สุดอยู่ที่การเติมสารตั้งต้นความเข้มข้น 5.0 กรัมต่อลิตร ทั้งการเติมโซเดียมโพรพิโอเนตและการเติมโซเดียมวาเลอเรตเป็นสารตั้งต้น ได้ความเข้มข้นของ P(3HB-co-3HV) เท่ากับ 0.32 และ 0.34 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ สอดคล้องกับการทดลองของ สุดา สุภาชวินสวัสดิ์ (2542) ซึ่งรายงานว่าการใช้โซเดียมวาเลอเรตความเข้มข้น

5.0 กรัมต่อลิตร ให้ผลการผลิต P(3HB-co-3HV) และการสังเคราะห์โมโนเมอร์ 3HV ดีที่สุด และเมื่อใช้ความเข้มข้นของสารตั้งต้นสูงกว่า 5.0 กรัมต่อลิตรมีผลยับยั้งการผลิต P(3HB-co-3HV) อย่างชัดเจน โดยความเข้มข้นของ P(3HB-co-3HV) ลดลงจาก 0.32 กรัมต่อลิตร เหลือ 0.17 กรัมต่อลิตรในการใช้โซเดียมโพรพิโอเนต และลดลงจาก 0.34 กรัมต่อลิตร เหลือ 0.18 กรัมต่อลิตรในการใช้โซเดียมวาเลอเรต สำหรับการสังเคราะห์โมโนเมอร์ 3HV จะลดลงเล็กน้อยเมื่อใช้ความเข้มข้นของสารตั้งต้นสูงกว่า 5.0 กรัมต่อลิตร จากผลการทดลองที่ได้เลือกใช้การเติมโซเดียมวาเลอเรตความเข้มข้น 5.0 กรัมต่อลิตรเป็นสารตั้งต้น โดยได้การเจริญสูงสุดเท่ากับ 2.48 กรัมต่อลิตร การผลิต P(3HB-co-3HV) สูงสุดเท่ากับ 0.31 กรัมต่อลิตร ปริมาณ P(3HB-co-3HV) สูงสุดเท่ากับ 14.03 เปอร์เซนต์โดยน้ำหนักเซลล์แห้ง และได้สัดส่วนโดยโมลของ 3HV เท่ากับ 40 โมลเปอร์เซนต์ ในการทดลองขั้นต่อไป

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.3 การศึกษาผลของเกลือของกรดอินทรีย์และกรดอินทรีย์บางชนิดต่อการผลิต P(3HB-co-3HV)

Eggink และคณะ (1993) ศึกษาผลของกรดโอเลอิกต่อการเลี้ยง *Alcaligenes eutrophus* สายพันธุ์กลาย พบว่าสามารถเพิ่มการผลิต PHB ได้ Yim และคณะ (1995) ศึกษาผลของโซเดียมอะซิเตตและกรดโอเลอิกต่อการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย recombinant *E. coli* พบว่าโซเดียมอะซิเตตทำให้ได้ความเข้มข้นเซลล์ ความเข้มข้นของ P(3HB-co-3HV) และสัดส่วนโดยโมลของ 3HV เพิ่มสูงขึ้น ส่วนกรดโอเลอิกจะไปกระตุ้นปฏิกริยาบีต้าออกซิเดชั่นซึ่งส่งเสริมการเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) Marangoni และคณะ(2000) พบว่ากรดโอเลอิกมีผลทำให้ปริมาณ P(3HB-co-3HV) เพิ่มขึ้นจาก 18.3 เป็น 28.3 เปอร์เซนต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง แต่สัดส่วนโดยโมลของ 3HV ลดลงจาก 25.4 โมลเปอร์เซนต์ เหลือเพียง 10 โมลเปอร์เซนต์ Ramsay และคณะ (1990) พบว่าโซเดียมซิเตรตมีผลในการเพิ่มการเจริญของเชื้อ *Alcaligenes* sp., *Bacillus* sp. และ *Pseudomonas* sp. และเพิ่มปริมาณการผลิต P(3HB-co-3HV) อีกด้วย ศิรวิทย์ สิตปรีชา(2541) ศึกษาผลของกรดโอเลอิกต่อการผลิต PHB โดย Alcaligenes sp. A-04 พบว่ามีการเพิ่มการเจริญและการผลิต PHB

การวิจัยขั้นตอนนี้เป็นการศึกษาผลของเกลือของกรดอินทรีย์และกรดอินทรีย์บางชนิดต่อการผลิต P(3HB-co-3HV) จาก *Bacillus* sp. BA-019 โดยถ่ายกล้าเชื้อ *Bacillus* sp. BA-019 ลงในอาหารเพื่อการผลิตโดยใช้ภาวะที่ปรับปรุงแล้วตามข้อ 4.2 มีน้ำตาลทรายเข้มข้นเท่ากับ 20 กรัมต่อลิตร และโซเดียมวาเลอเรตเข้มข้นเท่ากับ 5.0 กรัมต่อลิตร แปรความเข้มข้นของโซเดียมซิเตรต โซเดียมอะซิเตต และกรดโอเลอิก เท่ากับ 0.5 และ 1.0 กรัมต่อลิตร

จากผลการทดลองก่อน ใช้น้ำตาลทรายความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร และโซเดียมวาเลอเรตความเข้มข้น 5.0 กรัมต่อลิตรเป็นสารตั้งต้น เมื่อเติมโซเดียมซิเตรต 0.5 กรัมต่อลิตร ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 14 และรูปที่ 18 เชื้อ *Bacillus* sp. BA-019 มีการเจริญที่ดีขึ้นอย่างชัดเจนโดยได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดถึง 7.30 กรัมต่อลิตร และการผลิต P(3HB-co-3HV) เพิ่มสูงขึ้นตามการเจริญได้ความเข้มข้นสูงสุดเท่ากับ 1.45 กรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อ 30 ชั่วโมง และได้ปริมาณ P(3HB-co-3HV) สูงสุดเท่ากับ 19.86 เปอร์เซนต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง แต่ได้สัดส่วนโดยโมลของ 3HV ลดลงจาการทดลองก่อนหน้าโดยได้สัดส่วนโดยโมลของ 3HV สูงสุดเท่ากับ 16 โมลเปอร์เซนต์ ที่เวลาการเลี้ยงเชื้อ 39 ชั่วโมง ความเข้มข้นของน้ำตาล

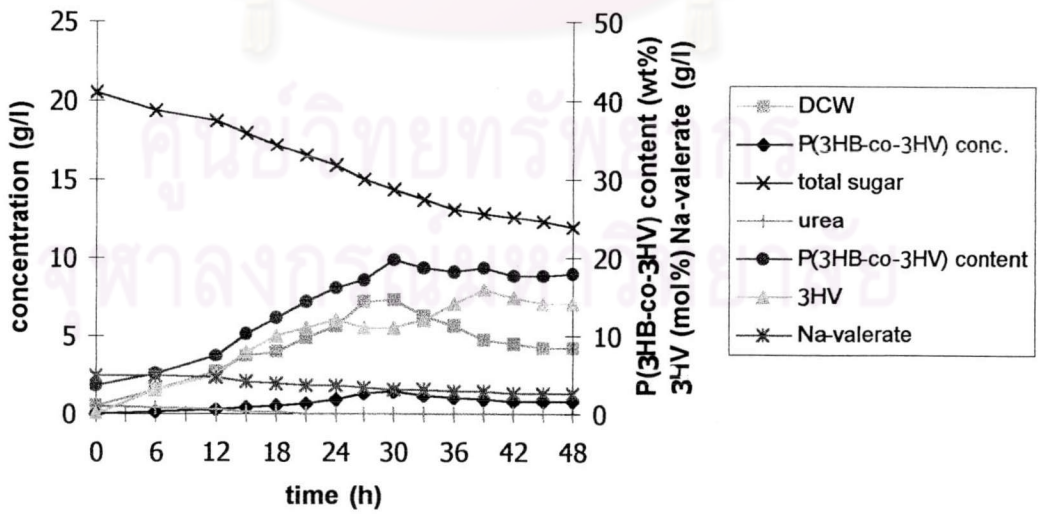
ทรายและโซเดียมวาเลอเรตลดลงตามเวลาการเลี้ยงเชื้อ ยูเรียถูกนำไปใช้หมดอย่างรวดเร็วเมื่อเวลา 18 ชั่วโมง

เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมซิเตรตเป็น 1.0 กรัมต่อลิตร พบว่าเชื้อ *Bacillus* sp. BA-019 มีการเจริญและการผลิตโคพอลิเมอร์สูงขึ้นกว่าการเติมโซเดียมซิเตรตความเข้มข้น 0.5 กรัมต่อลิตรเล็กน้อย ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 15 และรูปที่ 19 โดยได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 7.89 กรัมต่อลิตร ได้โคพอลิเมอร์เข้มข้นสูงสุดเท่ากับ 1.74 กรัมต่อลิตร ที่เวลาการเลี้ยงเชื้อ 33 ชั่วโมง ปริมาณโคพอลิเมอร์สูงสุดเท่ากับ 22.05 เปอร์เซนต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งที่เวลา 36 ชั่วโมง และได้สัดส่วนโดยโมลของ 3HV สูงสุดเท่ากับ 13 โมลเปอร์เซนต์ ยูเรียถูกใช้หมดไปเมื่อเวลา 18 ชั่วโมงของการเลี้ยงเชื้อ ความเข้มข้นของน้ำตาลทรายและโซเดียมวาเลอเรตลดลงและคงเหลือเท่ากับ 11.63 และ 1.98 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 14 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อเติมโซเดียมซิเตรต 0.5 กรัมต่อลิตร

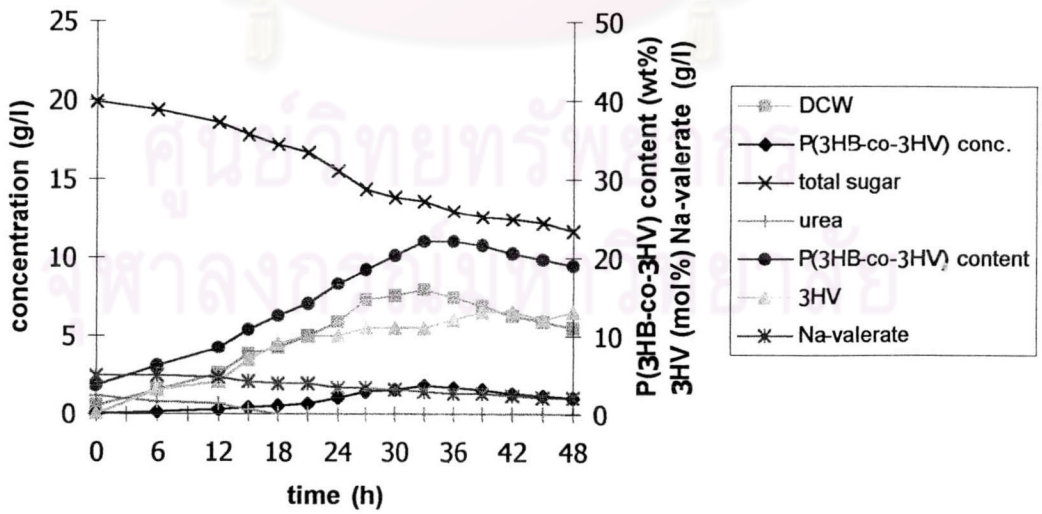
Time	DCW	P(3HB-co-3HV)		Monomer (mol%)		Total sugar	Na-Valerate	urea
(h)	(g/l)	(g/l)	(wt%)	3HB	**3HV**	(g/l)	(g/l)	(g/l)
0	0.53	0.02	3.58	100	0	20.54	4.95	1.14
6	1.57	0.08	5.10	97	3	19.42	4.82	0.77
12	2.66	0.20	7.52	95	5	18.66	4.65	0.51
15	3.78	0.39	10.32	92	8	17.96	4.16	0.16
18	4.01	0.49	12.22	90	10	17.15	3.84	0.06
21	4.88	0.70	14.34	89	11	16.55	3.65	0.02
24	5.70	0.92	16.14	88	12	15.87	3.51	0.01
27	7.19	1.24	17.25	89	11	14.99	3.36	0.00
30	**7.30**	**1.45**	**19.86**	89	11	14.32	3.19	0.00
33	6.22	1.16	18.65	88	12	13.71	3.06	0.00
36	5.69	1.04	18.28	86	14	13.02	2.93	0.00
39	4.75	0.89	18.74	84	**16**	12.77	2.73	0.00
42	4.54	0.80	17.62	85	15	12.59	2.66	0.00
45	4.29	0.76	17.72	86	14	12.31	2.54	0.00
48	4.17	0.75	17.99	86	14	11.98	2.50	0.00



รูปที่ 18 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อเติมโซเดียมซิเตรต 0.5 กรัมต่อลิตร

ตารางที่ 15 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อเติมโซเดียมซิเตรต 1.0 กรัมต่อลิตร

Time	DCW	P(3HB-co-3HV)		Monomer (mol%)		Total sugar	Na-Valerate	urea
(h)	(g/l)	(g/l)	(wt%)	3HB	**3HV**	(g/l)	(g/l)	(g/l)
0	0.51	0.02	3.72	100	0	19.84	4.95	1.14
6	1.49	0.09	6.04	97	3	19.33	4.79	0.80
12	2.59	0.22	8.49	96	4	18.57	4.53	0.60
15	3.79	0.41	10.82	93	7	17.77	4.23	0.23
18	4.26	0.53	12.44	91	9	17.23	3.94	0.04
21	4.98	0.70	14.06	90	10	16.65	3.75	0.02
24	5.89	0.98	16.64	90	10	15.46	3.42	0.00
27	7.33	1.36	18.55	89	11	14.32	3.29	0.00
30	7.56	1.53	20.24	89	11	13.87	3.03	0.00
33	**7.89**	**1.74**	**22.05**	89	11	13.65	2.86	0.00
36	7.46	1.64	21.98	88	12	12.91	2.67	0.00
39	6.95	1.49	21.44	87	**13**	12.62	2.44	0.00
42	6.34	1.30	20.50	87	**13**	12.46	2.26	0.00
45	5.87	1.16	19.76	88	12	12.24	2.15	0.00
48	5.55	1.05	18.92	87	**13**	11.63	1.98	0.00



รูปที่ 19 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อเติมโซเดียมซิเตรต 1.0 กรัมต่อลิตร

เมื่อเปรียบเทียบการเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดยเชื้อ *Bacillus* sp. BA-019 ดังแสดงในตารางที่ 16 พบว่าการเติมโซเดียมซิเตรตมีผลส่งเสริมการเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) อย่างชัดเจนโดยได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเพิ่มขึ้นจาก 2.48 กรัมต่อลิตร (ชุดควบคุม) เป็น 7.30 และ 7.89 กรัมต่อลิตร เมื่อเติมโซเดียมซิเตรตความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และได้ความเข้มข้น P(3HB-co-3HV) สูงสุดเพิ่มขึ้นจาก 0.31 กรัมต่อลิตร (ชุดควบคุม) เป็น 1.45 และ 1.74 กรัมต่อลิตร เมื่อเติมโซเดียมซิเตรตความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ สอดคล้องกับการทดลองของ อติพล บุญเรืองถาวร(2543) เมื่อเติมโซเดียมซิเตรตความเข้มข้น 0.2 ถึง 1.0 กรัมต่อลิตร มีผลทำให้มีการการเจริญและการผลิต PHB โดย *Bacillus* sp. BA-019 เพิ่มสูงขึ้น แต่ได้สัดส่วนโดยโมลของ 3HV ลดลงจาก 40 โมลเปอร์เซนต์ เหลือ 16 และ 13 โมลเปอร์เซนต์ เมื่อเติมโซเดียมซิเตรตความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ดังนั้นในการศึกษานี้ชุดควบคุมจึงให้การผลิต P(3HB-co-3HV) ที่มีสัดส่วนโดยโมลของ 3HV สูงที่สุด

ตารางที่ 16 เปรียบเทียบการเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อเติมโซเดียมซิเตรต 0.5 และ 1.0 กรัมต่อลิตร

Na-Citrate (g/l)	DCW (g/l)	P(3HB-co-3HV)		Monomer (mol%)	
		(g/l)	(wt%)	3HB	3HV
ไม่เติม (ชุดควบคุม)	2.48[a]	0.34[a]	14.03[a]	60	40[b]
0.5	7.30[b]	1.45[b]	19.86[b]	84	16[a]
1.0	7.89[b]	1.74[c]	22.05[c]	87	13[a]

หมายเหตุ อักษรที่ต่างกันบนตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันหมายถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$ (ภาคผนวก ง)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

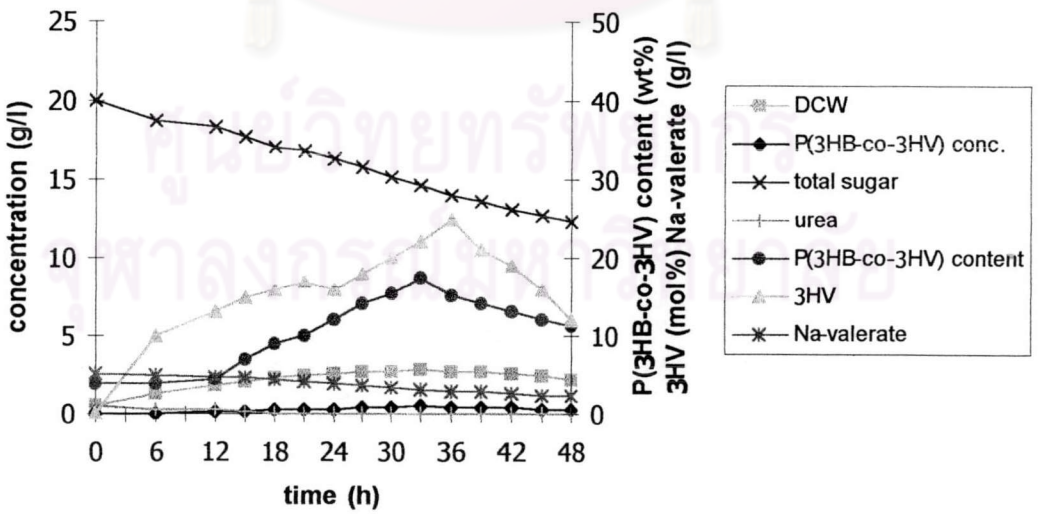
ในการทดลองถัดมา ได้มีการเติมโซเดียมอะซิเตตความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 กรัมต่อลิตร โดยการเติมโซเดียมอะซิเตต 0.5 กรัมต่อลิตร ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 17 และรูปที่ 20 เชื้อ *Bacillus* sp. BA-019 มีการเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) สูงสุดเท่ากับ 2.76 และ 0.48 กรัมต่อลิตรตามลำดับ ที่เวลาการเลี้ยงเชื้อ 30 ชั่วโมง ได้ปริมาณ P(3HB-co-3HV) สูงสุดเท่ากับ 17.39 เปอร์เซนต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งที่เวลา 33 ชั่วโมง สำหรับสัดส่วนโดยโมลของ 3HV เพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อได้ค่าสูงสุดเท่ากับ 25 โมลเปอร์เซนต์ ที่ 36 ชั่วโมง จากนั้นจึงลดลงจนสิ้นสุดการทดลอง โดยที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลทรายและโซเดียมวาเลอเรตคงเหลือเท่ากับ 12.48 และ 2.06 กรัมต่อลิตร

เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมอะซิเตตเป็น 1.0 กรัมต่อลิตร ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 18 และรูปที่ 21 พบว่าเชื้อ *Bacillus* sp. BA-019 มีการเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) สูงสุดเท่ากับ 2.98 และ 0.55 กรัมต่อลิตร เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 33 ชั่วโมง ตามลำดับ ซึ่งให้ผลดีกว่าการเติมโซเดียมอะซิเตต 0.5 กรัมต่อลิตรเพียงเล็กน้อย แต่ได้สัดส่วนโดยโมลของ 3HV สูงสุดลดลงเหลือ 18 โมลเปอร์เซนต์ ที่เวลา 45 ชั่วโมง ส่วนปริมาณ P(3HB-co-3HV) สูงสุดเท่ากับ 18.46 เปอร์เซนต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งที่เวลา 36 ชั่วโมง โดยที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลทรายและโซเดียมวาเลอเรตคงเหลือเท่ากับ 12.33 และ 2.29 กรัมต่อลิตร

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 17 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อเติมโซเดียมอะซิเตต 0.5 กรัมต่อลิตร

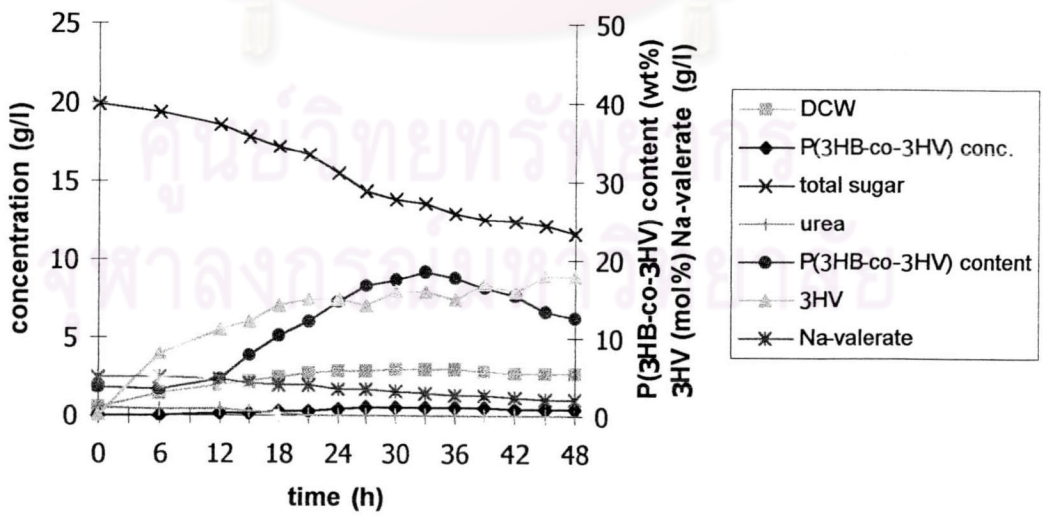
Time	DCW	P(3HB-co-3HV)		Monomer (mol%)		Total sugar	Na-Valerate	urea
(h)	(g/l)	(g/l)	(wt%)	3HB	3HV	(g/l)	(g/l)	(g/l)
0	0.49	0.02	3.87	100	0	19.94	5.09	1.15
6	1.27	0.05	3.94	90	10	18.76	4.88	0.81
12	1.84	0.08	4.35	87	13	18.32	4.72	0.55
15	2.03	0.14	6.90	85	15	17.64	4.56	0.27
18	2.26	0.20	8.85	84	16	17.11	4.34	0.06
21	2.43	0.24	9.88	83	17	16.81	4.15	0.02
24	2.57	0.31	12.06	84	16	16.32	3.89	0.01
27	2.63	0.37	14.07	82	18	15.75	3.54	0.01
30	2.71	0.42	15.50	80	20	15.13	3.27	0.00
33	**2.76**	**0.48**	**17.39**	78	22	14.66	3.06	0.00
36	2.70	0.41	15.19	75	**25**	14.01	2.81	0.00
39	2.63	0.37	14.07	79	21	13.62	2.72	0.00
42	2.53	0.33	13.04	81	19	13.11	2.55	0.00
45	2.39	0.29	12.13	84	16	12.65	2.36	0.00
48	2.20	0.25	11.36	88	12	12.33	2.29	0.00



รูปที่ 20 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อเติมโซเดียมอะซิเตต 0.5 กรัมต่อลิตร

ตารางที่ 18 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อเติมโซเดียมอะซิเตต 1.0 กรัมต่อลิตร

Time	DCW	P(3HB-co-3HV)		Monomer (mol%)		Total sugar	Na-Valerate	urea
(h)	(g/l)	(g/l)	(wt%)	3HB	**3HV**	(g/l)	(g/l)	(g/l)
0	0.51	0.02	3.72	100	0	19.84	4.95	1.14
6	1.36	0.05	3.46	92	8	19.33	4.79	0.79
12	1.93	0.09	4.66	89	11	18.57	4.53	0.49
15	2.23	0.17	7.62	88	12	17.77	4.23	0.16
18	2.42	0.25	10.33	86	14	17.23	3.94	0.06
21	2.63	0.32	12.17	85	15	16.65	3.75	0.02
24	2.76	0.40	14.49	85	15	15.46	3.42	0.01
27	2.84	0.47	16.55	86	14	14.32	3.29	0.00
30	2.93	0.51	17.41	84	16	13.87	3.03	0.00
33	**2.98**	**0.55**	**18.46**	84	16	13.65	2.86	0.00
36	2.90	0.51	17.59	85	15	12.91	2.67	0.00
39	2.81	0.46	16.37	83	17	12.62	2.44	0.00
42	2.75	0.42	15.27	84	16	12.46	2.26	0.00
45	2.72	0.36	13.24	82	**18**	12.24	2.15	0.00
48	2.70	0.34	12.59	82	**18**	11.63	1.98	0.00



รูปที่ 21 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อเติมโซเดียมอะซิเตต 1.0 กรัมต่อลิตร

เมื่อเปรียบเทียบการเติมโซเดียมอะซิเตตความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 กรัมต่อลิตร ดังแสดงผลในตารางที่ 19 พบว่าการเติมโซเดียมอะซิเตตมีผลทำให้เชื้อ *Bacillus* sp. BA-019 มีการเจริญดีขึ้นกว่าในชุดควบคุม โดยได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 4.89 และ 5.11 กรัมต่อลิตร เมื่อเติมโซเดียมอะซิเตตความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ความเข้มข้นและปริมาณของ P(3HB-co-3HV) ลดลงเล็กน้อยเมื่อเทียบกับการทดลองในชุดควบคุม สำหรับสัดส่วนโดยโมลของ 3HV ลดลงเหลือ 25 และ 18 โมลเปอร์เซนต์ เมื่อเติมโซเดียมอะซิเตตความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งต่างกับการทดลองของ Yim และคณะ (1995) ที่ทำการเติมโซเดียมอะซิเตตในการเลี้ยง recombinant *E. coli* ได้อธิบายไว้ว่าโซเดียมอะซิเตตถูกนำไปใช้โดยผ่านทางเอนไซม์อะเซทิลโคเอซินทิเทส ซึ่งสามารถเปลี่ยนสารตั้งต้นโซเดียมโพรพิโอเนตไปเป็นโพรพิโอนิลโคเอได้ด้วยแล้วเข้าสู่วิถีการสังเคราะห์ P(3HB-co-3HV) ได้มากและรวดเร็วขึ้น

ตารางที่ 19 เปรียบเทียบการเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อเติมโซเดียมอะซิเตต 0.5 และ 1.0 กรัมต่อลิตร

Na-Acetate	DCW	P(3HB-co-3HV)		Monomer (mol%)	
(g/l)	(g/l)	(g/l)	(wt%)	3HB	3HV
ไม่เติม (ชุดควบคุม)	2.48[a]	0.34[a]	14.03[a]	60	**40**[c]
0.5	2.76[a,b]	0.48[b]	17.39[b]	75	25[b]
1.0	**2.98**[b]	**0.55**[b]	**18.46**[b]	82	18[a]

หมายเหตุ อักษรที่ต่างกันบนตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันหมายถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$ (ภาคผนวก ง)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

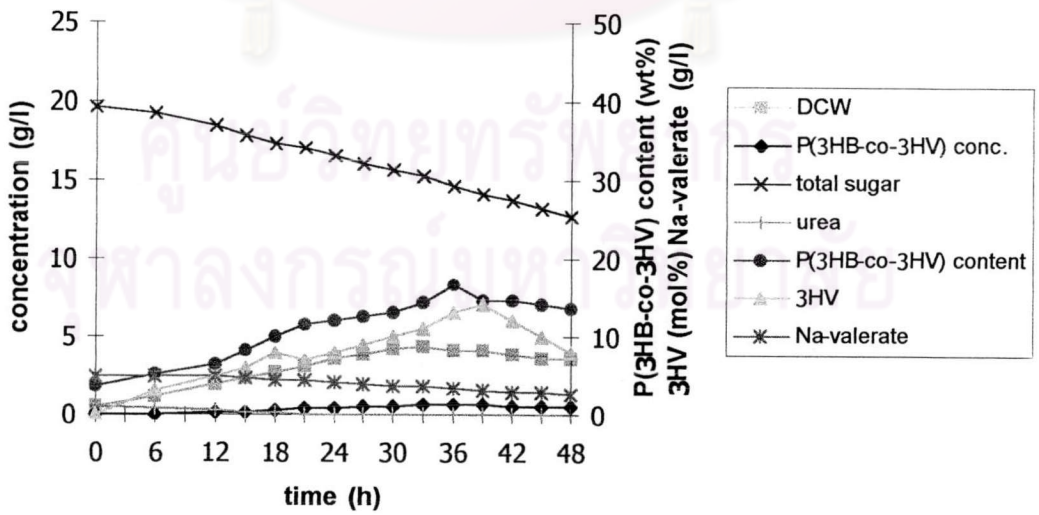
ต่อมาเมื่อได้ทำการทดลองใช้กรดโอเลอิกความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 กรัมต่อลิตร แทนการใช้โซเดียมซิเตรตและโซเดียมอะซิเตตแล้ว พบว่าการเติมกรดโอเลอิกความเข้มข้น 0.5 กรัมต่อลิตร ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 20 และรูปที่ 22 การเจริญของเชื้อ *Bacillus* sp. BA-019 เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 4.33 กรัมต่อลิตรที่เวลาการเลี้ยงเชื้อ 33 ชั่วโมง เช่นเดียวกับความเข้มข้นของโคพอลิเมอร์ที่ได้ค่าสูงสุดเท่ากับ 0.69 กรัมต่อลิตรที่เวลาการเลี้ยงเชื้อ 36 ชั่วโมง สำหรับปริมาณโคพอลิเมอร์และสัดส่วนโดยโมลของ 3HV ได้ค่าสูงสุดอยู่ที่ 36 ชั่วโมงของการเลี้ยงเชื้อเช่นเดียวกัน โดยมีปริมาณโคพอลิเมอร์สูงสุดเท่ากับ 16.63 เปอร์เซนต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง และสัดส่วนโดยโมลของ 3HV สูงสุดเท่ากับ 14 โมลเปอร์เซนต์

เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกรดโอเลอิกเป็น 1.0 กรัมต่อลิตร ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 21 และรูปที่ 23 โดยได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 4.23 กรัมต่อลิตรที่เวลาการเลี้ยงเชื้อ 33 ชั่วโมง สำหรับการผลิต P(3HB-co-3HV) และสังเคราะห์โมโนเมอร์ 3HV ได้ค่าสูงสุดอยู่ที่ 33 ชั่วโมงของการเลี้ยงเชื้อเช่นเดียวกัน โดยมีการผลิต P(3HB-co-3HV) สูงสุดเท่ากับ 0.82 กรัมต่อลิตร ปริมาณ P(3HB-co-3HV) สูงสุดเท่ากับ 19.39 เปอร์เซนต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง และสัดส่วนโดยโมลของ 3HV สูงสุดเท่ากับ 12 โมลเปอร์เซนต์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 20 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อเติมกรดโอเลอิก 0.5 กรัมต่อลิตร

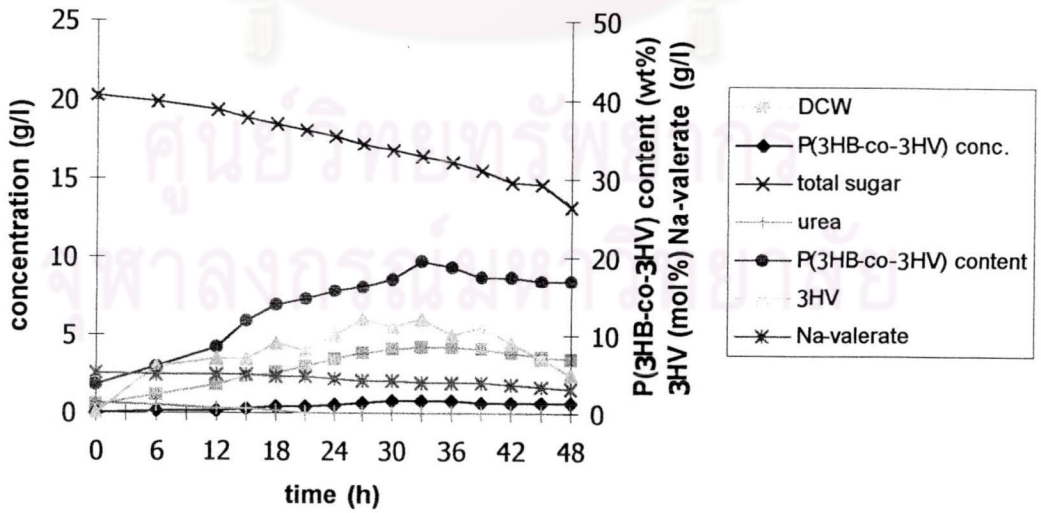
Time	DCW	P(3HB-co-3HV)		Monomer (mol%)		Total sugar	Na-Valerate	urea
(h)	(g/l)	(g/l)	(wt%)	3HB	**3HV**	(g/l)	(g/l)	(g/l)
0	0.52	0.02	3.64	100	0	19.63	4.97	1.14
6	1.17	0.06	5.13	97	3	19.23	4.90	0.79
12	1.89	0.12	6.35	95	5	18.43	4.86	0.58
15	2.32	0.19	8.19	94	6	17.85	4.62	0.21
18	2.69	0.27	10.04	92	8	17.34	4.43	0.04
21	3.02	0.35	11.59	93	7	16.99	4.27	0.02
24	3.56	0.43	12.08	92	8	16.54	4.10	0.00
27	3.91	0.49	12.53	91	9	16.02	3.84	0.00
30	4.23	0.55	13.00	90	10	15.64	3.67	0.00
33	**4.33**	0.62	14.32	89	11	15.21	3.52	0.00
36	4.15	**0.69**	**16.63**	87	13	14.59	3.34	0.00
39	4.09	0.60	14.67	86	**14**	14.11	3.16	0.00
42	3.87	0.57	14.73	88	12	13.78	2.89	0.00
45	3.64	0.51	14.01	90	10	13.24	2.70	0.00
48	3.53	0.48	13.60	92	8	12.63	2.60	1.14



รูปที่ 22 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อเติมกรดโอเลอิก 0.5 กรัมต่อลิตร

ตารางที่ 21 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อเติมกรดโอเลอิก 1.0 กรัมต่อลิตร

Time	DCW	P(3HB-co-3HV)		Monomer (mol%)		Total sugar	Na-Valerate	urea
(h)	(g/l)	(g/l)	(wt%)	3HB	**3HV**	(g/l)	(g/l)	(g/l)
0	0.53	0.02	3.58	100	0	20.24	5.03	1.15
6	1.18	0.07	5.93	94	6	19.88	4.95	0.81
12	1.79	0.15	8.38	93	7	19.42	4.88	0.52
15	2.29	0.27	11.79	93	7	18.86	4.79	0.25
18	2.54	0.35	13.78	91	9	18.43	4.62	0.06
21	3.01	0.44	14.62	92	8	18.07	4.51	0.02
24	3.46	0.54	15.61	90	10	17.64	4.36	0.01
27	3.81	0.62	16.27	88	**12**	17.21	4.13	0.01
30	4.12	0.71	17.23	89	11	16.84	4.01	0.00
33	**4.23**	**0.82**	**19.39**	88	**12**	16.43	3.94	0.00
36	4.20	0.79	18.81	90	10	16.00	3.95	0.00
39	4.04	0.70	17.33	89	11	15.46	3.76	0.00
42	3.84	0.67	17.45	91	9	14.79	3.55	0.00
45	3.61	0.61	16.90	93	7	14.62	3.24	0.00
48	3.42	0.58	16.96	95	5	13.26	3.11	0.00



รูปที่ 23 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อเติมกรดโอเลอิก 1.0 กรัมต่อลิตร

เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกรดโอเลอิกเป็น 1.0 กรัมต่อลิตร ให้ผลการทดลองไม่แตกต่างจากการเติมกรดโอเลอิก 0.5 กรัมต่อลิตรมากนัก ผลดังแสดงในตารางที่ 22 โดยได้ค่าการเจริญ การผลิตโคพอลิเมอร์ และการสังเคราะห์โมโนเมอร์ 3HV ใกล้เคียงกัน โดยที่มีการเจริญสูงสุดมากกว่าชุดควบคุม ในขณะที่การผลิตโคพอลิเมอร์ และการสังเคราะห์โมโนเมอร์ 3HV น้อยกว่าชุดควบคุม เกิดจาก ปฏิกริยาบีต้าออกซิเดชั่นทำให้ได้อะเซทิลโคเอ ซึ่งเชื้อนำไปใช้เพื่อการเจริญได้ นอกจากนี้อะเซทิลโคเอยังสามารถเข้าสู่วิถีการสังเคราะห์โมโนเมอร์ 3HB ได้ (ตามวิถีการสังเคราะห์รูปที่ 5 และรูปที่ 6) ทำให้ได้สัดส่วนโดยโมลของ 3HV ลดน้อยลง (Lee, Lee และ Chang, 1995; Son และ Lee, 1996; สุดา สุภาชวินสวัสดิ์, 2542)

ตารางที่ 22 เปรียบเทียบการเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อเติมกรดโอเลอิก 0.5 และ 1.0 กรัมต่อลิตร

Oleic Acid	DCW	P(3HB-co-3HV)		Monomer (mol%)	
(g/l)	(g/l)	(g/l)	(wt%)	3HB	3HV
ไม่เติม (ชุดควบคุม)	2.48[a]	0.46[a]	14.03[a]	60	**40**[b]
0.5	**4.33**[b]	0.69[b]	16.63[b]	16	14[a]
1.0	4.23[b]	**0.82**[c]	**19.39**[c]	88	12[a]

หมายเหตุ อักษรที่ต่างกันบนตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันหมายถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$ (ภาคผนวก ง)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.4 การศึกษาผลของอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่อการผลิต P(3HB-co-3HV)

Rhee และคณะ (1993) ศึกษาการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Alcaligenes* sp. SH-69 จากกลูโคสและแอมโมเนียมซัลเฟต โดยมีสารตั้งต้นสำหรับ 3HV เป็นโซเดียมโพรพิโอเนต พบว่าได้ปริมาณ P(3HB-co-3HV) สูงขึ้น เมื่ออัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (โมลต่อโมล) สูงขึ้น ได้สัดส่วนโดยโมลของ 3HV สูงสุดเท่ากับ 6.3 โมลเปอร์เซนต์เมื่อสิ้นสุดการทดลอง Shimizu และคณะ (1999b) ศึกษาอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนในการเลี้ยง *Alcaligenes eutrophus* เมื่ออัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่ำ พบว่ามีการเจริญสูงขึ้นแต่ปริมาณP(3HB-co-3HV) น้อยกว่าเลี้ยงในอาหารที่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนสูง

การวิจัยขั้นตอนนี้เป็นการศึกษาผลของอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่อการผลิต P(3HB-co-3HV) จาก *Bacillus* sp. BA-019 โดยถ่ายกล้าเชื้อ *Bacillus* sp. BA-019 ลงในอาหารเพื่อการผลิตโดยใช้ภาวะที่ปรับปรุงแล้วตามข้อ 4.3 แปรอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 4 8 15 30 60 100 และ 200 โมลต่อโมล โดยมีค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 15 เป็นชุดควบคุม

เมื่อใช้อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 4 ได้น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณ P(3HB-co-3HV) สูงสุดเท่ากับ 9.21 กรัมต่อลิตร และ 13.03 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งตามลำดับ ที่เวลาการเลี้ยงเชื้อ 36 ชั่วโมง ได้สัดส่วนโดยโมลของ 3HV ไม่เกิน 5 โมลเปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับปริมาณสารตั้งต้นโซเดียมวาเลอเรตที่ลดลงเล็กน้อยตลอดการทดลอง ดังแสดงผลในตารางที่ 23 และรูปที่ 24

เมื่อใช้อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 8 ได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 5.32 กรัมต่อลิตร ที่ 33 ชั่วโมง และปริมาณP(3HB-co-3HV) สูงสุดเท่ากับ 11.93 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ที่ 36 ชั่วโมง ได้สัดส่วนโดยโมลของ 3HV ประมาณ 7 โมลเปอร์เซ็นต์ ดังแสดงผลในตารางที่ 24 และรูปที่ 25

เมื่อใช้อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 15 (ชุดควบคุม) เชื้อ *Bacillus* sp. BA-019 มีการเจริญสูงสุดคิดเป็นน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 2.48 กรัมต่อลิตร ที่เวลาการเลี้ยงเชื้อ 39 ชั่วโมง และได้ปริมาณP(3HB-co-3HV)สูงสุดเท่ากับ 14.03 เปอร์เซนต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ที่เวลา 36 ชั่วโมง ได้ค่าสัดส่วนโดยโมลของ 3HV สูงสุดถึง 40 โมลเปอร์เซนต์ เมื่อเลี้ยงเชื้อไปเป็นระยะเวลา 39 ดังแสดงผลในตารางที่ 25 และรูปที่ 26

เมื่อใช้อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 30 เชื้อ *Bacillus* sp. BA-019 มีการเจริญสูงสุดที่ 30 ชั่วโมง ได้น้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 1.91 กรัมต่อลิตรและปริมาณ P(3HB-co-3HV) สูงสุดที่ 39 ชั่วโมงเท่ากับ 18.75 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ได้สัดส่วนโดยโมลของ 3HV สูงสุดเท่ากับ 44 โมลเปอร์เซ็นต์ ที่ 33 ชั่วโมง ดังแสดงผลในตารางที่ 26 และรูปที่ 27

เมื่อใช้อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 60 เชื้อ *Bacillus* sp. BA-019 มีการเจริญสูงสุดที่ 27 ชั่วโมง ได้น้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 1.54 กรัมต่อลิตรและปริมาณ P(3HB-co-3HV) สูงสุดที่ 33 ชั่วโมงเท่ากับ 21.38 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ได้สัดส่วนโดยโมลของ 3HV สูงสุดเท่ากับ 33 โมลเปอร์เซ็นต์ ที่ 33 ชั่วโมงเช่นเดียวกัน ดังแสดงผลในตารางที่ 27 และรูปที่ 28

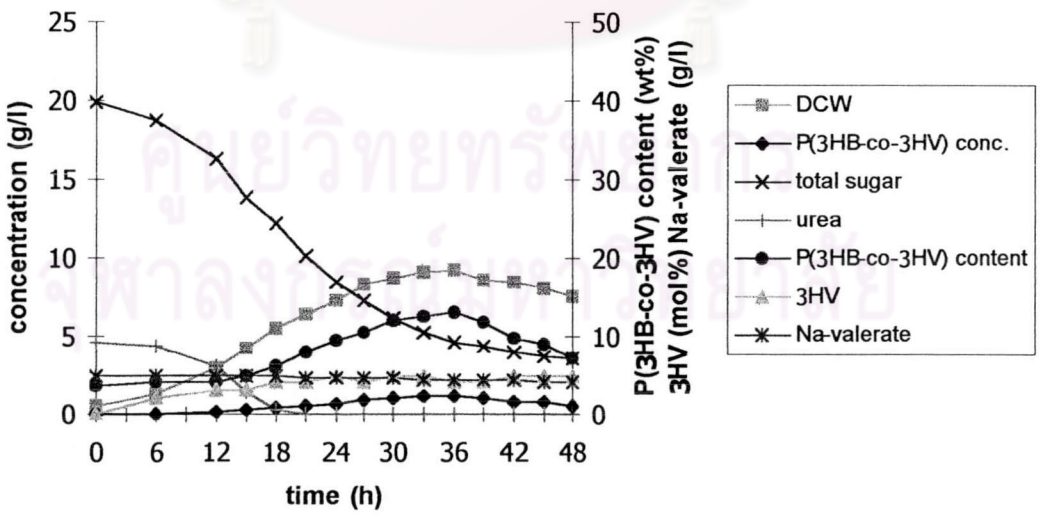
เมื่อใช้อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 100 พบว่าเชื้อ *Bacillus* sp. BA-019 มีการเจริญสูงสุดได้น้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 1.26 กรัมต่อลิตร ที่ 27 ชั่วโมง มีปริมาณ P(3HB-co-3HV) สูงสุดเท่ากับ 20.18 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ที่ 33 ชั่วโมง และสัดส่วนโดยโมลของ 3HV สูงสุดเท่ากับ 24 โมลเปอร์เซ็นต์ ที่ 36 ชั่วโมง ดังแสดงผลในตารางที่ 28 และรูปที่ 29

ปริมาณของน้ำตาลทรายและโซเดียมวาเลอเรตลดลงตามเวลาการเลี้ยงเชื้อ ส่วนยูเรียถูกใช้หมดอย่างรวดเร็วเมื่อเลี้ยงเชื้อไปเป็นเวลา18-24 ชั่วโมง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 23 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อใช้อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 4

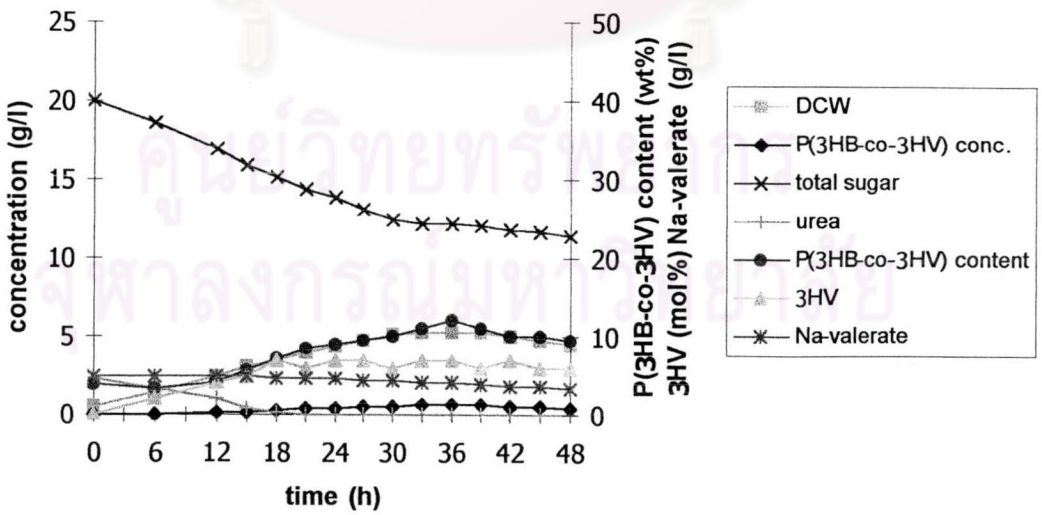
Time	DCW	P(3HB-co-3HV)		Monomer (mol%)		Total sugar	Na-Valerate	urea
(h)	(g/l)	(g/l)	(wt%)	3HB	3HV	(g/l)	(g/l)	(g/l)
0	0.45	0.02	3.63	100	0	19.89	4.97	4.56
6	1.22	0.05	4.10	98	2	18.77	4.93	4.32
12	2.95	0.12	4.07	97	3	16.32	4.87	3.11
15	4.23	0.21	4.96	97	3	13.86	4.82	1.35
18	5.45	0.34	6.24	96	4	12.21	4.75	0.22
21	6.40	0.51	7.97	96	4	10.11	4.69	0.05
24	7.34	0.69	9.40	95	5	8.49	4.64	0.00
27	8.33	0.88	10.50	96	4	7.33	4.60	0.00
30	8.72	1.04	11.93	95	5	6.20	4.52	0.00
33	9.16	1.14	12.45	95	5	5.31	4.46	0.00
36	**9.21**	**1.20**	**13.03**	96	4	4.67	4.38	0.00
39	8.65	1.03	11.91	96	4	4.36	4.31	0.00
42	8.47	0.82	9.68	95	5	3.98	4.26	0.00
45	8.02	0.71	8.85	95	5	3.76	4.20	0.00
48	7.60	0.54	7.11	95	5	3.56	4.11	0.00



รูปที่ 24 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อใช้อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 4

ตารางที่ 24 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 **เมื่อใช้อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 8**

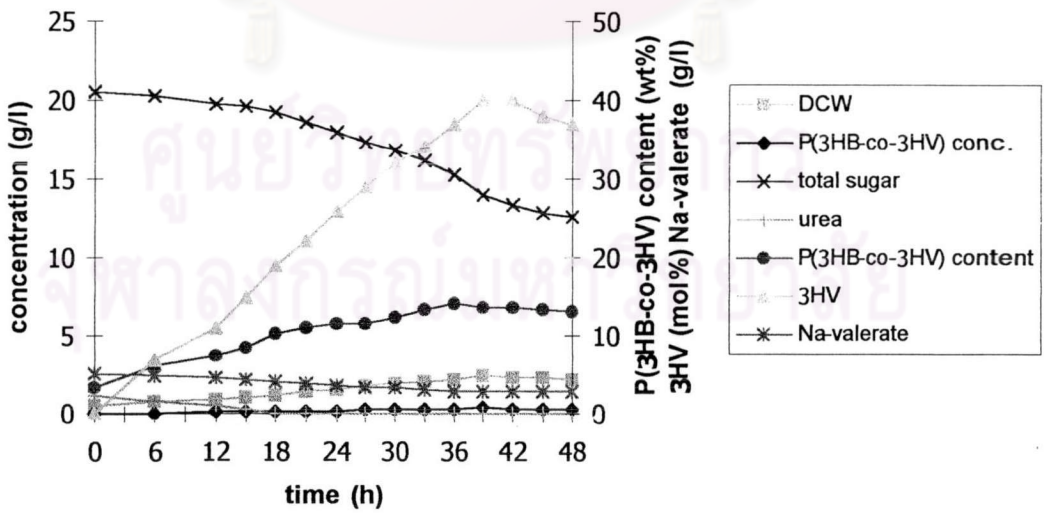
Time	DCW	P(3HB-co-3HV)		Monomer (mol%)		Total sugar	Na-Valerate	urea
(h)	(g/l)	(g/l)	(wt%)	3HB	**3HV**	(g/l)	(g/l)	(g/l)
0	0.49	0.02	3.87	100	0	19.94	4.95	2.28
6	1.37	0.05	3.43	98	2	18.53	4.87	1.67
12	2.41	0.10	4.15	96	4	16.87	4.81	1.06
15	3.04	0.17	5.59	95	5	15.86	4.76	0.35
18	3.46	0.25	7.23	93	7	15.19	4.63	0.12
21	3.95	0.33	8.35	94	6	14.40	4.55	0.05
24	4.33	0.39	9.01	93	7	13.80	4.59	0.02
27	4.76	0.45	9.45	93	7	13.11	4.34	0.00
30	5.14	0.51	9.92	94	6	12.50	4.26	0.00
33	**5.32**	0.59	11.09	93	7	12.21	4.11	0.00
36	5.28	**0.63**	**11.93**	93	7	12.17	4.01	0.00
39	5.20	0.58	11.15	94	6	12.09	3.87	0.00
42	4.94	0.50	10.12	93	7	11.83	3.64	0.00
45	4.79	0.48	10.02	94	6	11.68	3.52	0.00
48	4.52	0.43	9.51	94	6	11.41	3.42	0.00



รูปที่ 25 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 **เมื่อใช้อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 8**

ตารางที่ 25 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 **เมื่อใช้อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 15** (ชุดควบคุม)

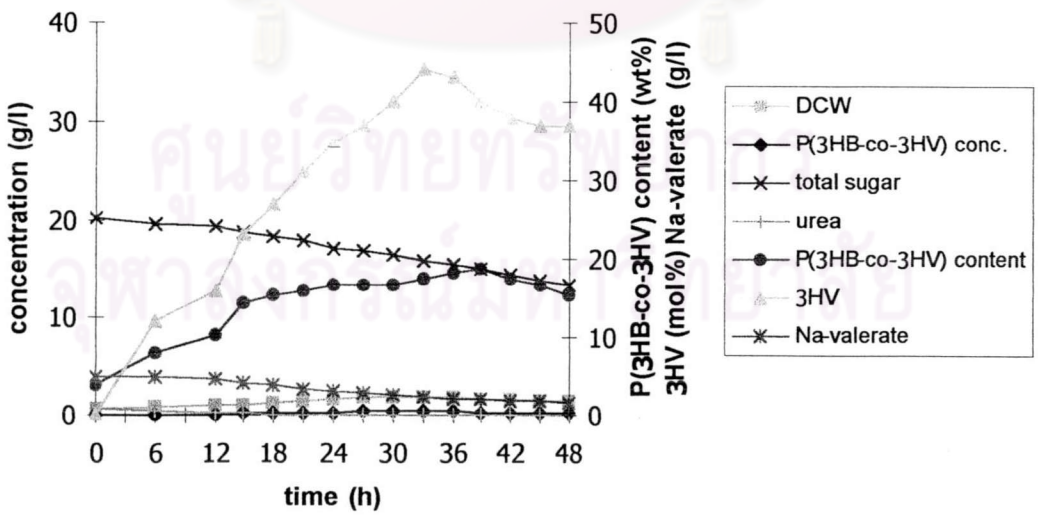
Time	DCW	P(3HB-co-3HV)		Monomer (mol%)		Total sugar	Na-Valerate	urea
(h)	(g/l)	(g/l)	(wt%)	3HB	3HV	(g/l)	(g/l)	(g/l)
0	0.57	0.02	3.32	100	0	20.54	5.02	1.15
6	0.75	0.05	6.27	93	7	20.25	4.90	0.81
12	0.96	0.07	7.42	89	11	19.79	4.72	0.55
15	1.05	0.09	8.57	85	15	19.56	4.36	0.27
18	1.18	0.12	10.17	81	19	19.20	4.03	0.06
21	1.36	0.15	11.03	78	22	18.64	3.78	0.02
24	1.57	0.18	11.46	74	26	17.93	3.49	0.01
27	1.74	0.20	11.49	71	29	17.30	3.36	0.01
30	1.88	0.23	12.23	68	32	16.74	3.26	0.00
33	2.01	0.27	13.43	66	34	16.18	3.14	0.00
36	2.21	0.31	**14.03**	63	37	15.26	2.88	0.00
39	**2.48**	**0.34**	13.71	60	**40**	13.94	2.75	0.00
42	2.36	0.32	13.56	60	**40**	13.31	2.71	0.00
45	2.27	0.30	13.22	62	38	12.82	2.70	0.00
48	2.23	0.29	13.00	63	37	12.58	2.73	0.00



รูปที่ 26 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 **เมื่อใช้อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 15** (ชุดควบคุม)

ตารางที่ 26 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 **เมื่อใช้อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 30**

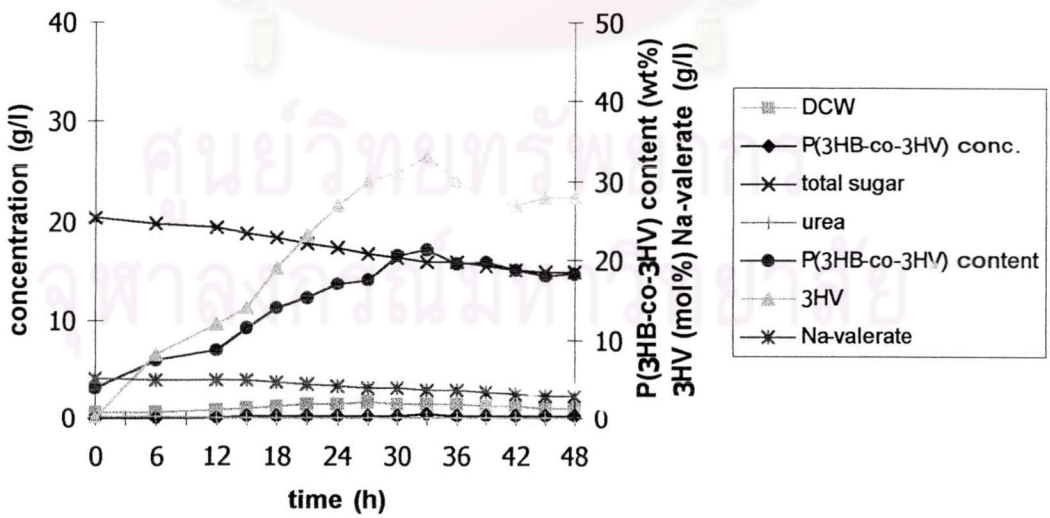
Time	DCW	P(3HB-co-3HV)		Monomer (mol%)		Total sugar	Na-Valerate	urea
(h)	(g/l)	(g/l)	(wt%)	3HB	3HV	(g/l)	(g/l)	(g/l)
0	0.52	0.02	3.85	100	0	20.08	4.99	0.58
6	0.75	0.06	8.00	88	12	19.46	4.89	0.37
12	0.98	0.10	10.20	84	16	19.28	4.68	0.24
15	1.11	0.16	14.41	77	23	18.68	4.22	0.13
18	1.31	0.20	15.27	73	27	18.17	3.88	0.09
21	1.50	0.24	16.00	69	31	17.84	3.45	0.04
24	1.68	0.28	16.67	65	35	17.12	3.05	0.02
27	1.85	0.31	16.76	63	37	16.86	2.71	0.00
30	**1.91**	0.32	16.75	60	40	16.33	2.48	0.00
33	1.88	**0.33**	17.55	56	**44**	15.74	2.28	0.00
36	1.76	0.32	18.18	57	43	15.32	2.11	0.00
39	1.60	0.30	**18.75**	60	40	14.89	1.96	0.00
42	1.61	0.28	17.39	62	38	14.26	1.88	0.00
45	1.50	0.25	16.67	63	37	13.75	1.76	0.00
48	1.49	0.23	15.44	63	37	13.34	1.62	0.00



รูปที่ 27 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 **เมื่อใช้อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 30**

ตารางที่ 27 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 **เมื่อใช้อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 60**

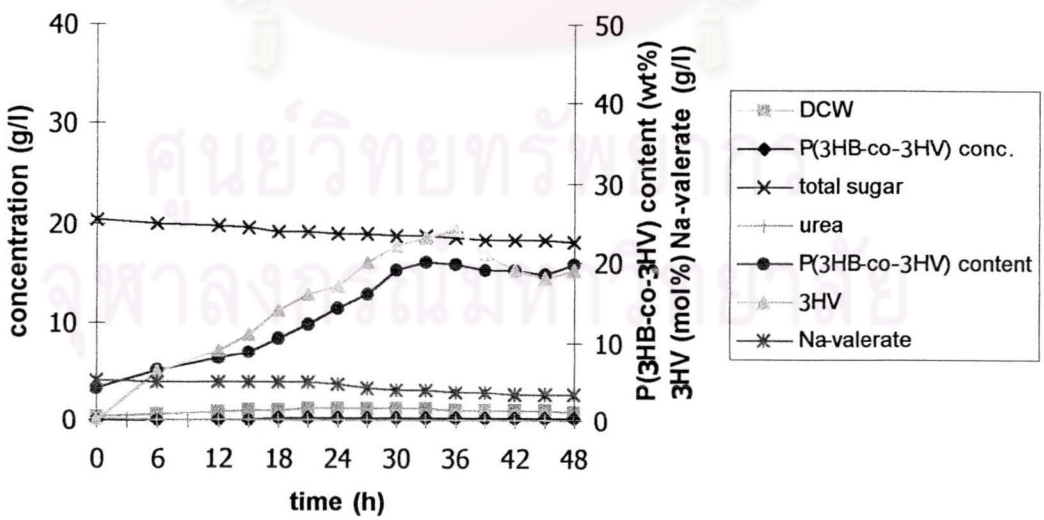
Time	DCW	P(3HB-co-3HV)		Monomer (mol%)		Total sugar	Na-Valerate	urea
(h)	(g/l)	(g/l)	(wt%)	3HB	3HV	(g/l)	(g/l)	(g/l)
0	0.54	0.02	3.70	100	0	20.22	4.99	0.28
6	0.63	0.05	7.46	92	8	19.72	4.91	0.13
12	0.81	0.07	8.64	88	12	19.36	4.83	0.04
15	0.97	0.11	11.34	86	14	18.76	4.70	0.01
18	1.14	0.16	14.04	81	19	18.23	4.52	0.00
21	1.32	0.20	15.15	77	23	17.69	4.34	0.00
24	1.41	0.24	17.02	73	27	17.16	4.12	0.00
27	**1.54**	0.27	17.53	70	30	16.72	3.82	0.00
30	1.46	0.30	20.55	69	31	16.25	3.72	0.00
33	1.45	**0.31**	**21.38**	67	**33**	15.88	3.61	0.00
36	1.38	0.27	19.57	70	30	15.74	3.45	0.00
39	1.26	0.25	19.84	72	28	15.34	3.29	0.00
42	1.17	0.22	18.80	73	27	14.99	3.16	0.00
45	1.11	0.20	18.02	72	28	14.88	2.86	0.00
48	1.04	0.19	18.27	72	28	14.91	2.73	0.00



รูปที่ 28 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 **เมื่อใช้อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 60**

ตารางที่ 28 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อใช้อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 100

Time	DCW	P(3HB-co-3HV)		Monomer (mol%)		Total sugar	Na-Valerate	urea
(h)	(g/l)	(g/l)	(wt%)	3HB	3HV	(g/l)	(g/l)	(g/l)
0	0.48	0.02	4.17	100	0	20.22	4.99	0.14
6	0.62	0.04	6.45	94	6	19.98	4.93	0.03
12	0.77	0.06	7.79	91	9	19.71	4.87	0.01
15	0.92	0.08	8.70	89	11	19.45	4.80	0.01
18	1.07	0.11	10.28	86	14	19.19	4.74	0.00
21	1.16	0.14	12.07	84	16	19.03	4.70	0.00
24	1.19	0.17	14.29	83	17	18.98	4.68	0.00
27	1.26	0.20	15.87	80	20	18.86	4.00	0.00
30	1.16	0.22	18.97	78	22	18.68	3.82	0.00
33	1.14	0.23	20.18	77	23	18.65	3.78	0.00
36	1.06	0.21	19.81	76	24	18.51	3.63	0.00
39	0.95	0.18	18.95	79	21	18.31	3.43	0.00
42	0.94	0.18	19.15	81	19	18.30	3.41	0.00
45	0.92	0.17	18.48	82	18	18.26	3.38	0.00
48	0.86	0.17	19.77	81	19	18.16	3.35	0.00



รูปที่ 29 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อใช้อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 100

เมื่อเปรียบเทียบผลของการแปรค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 4 8 15 (ชุดควบคุม) 30 60 100 และ 200 โมลต่อโมล ดังแสดงในตารางที่ 29 พบว่าเมื่ออัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนมีค่าต่ำ (อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 4) พบว่า *Bacillus* sp. BA-019 มีการเจริญสูงสุดถึง 9.21 กรัมต่อลิตร และลดลงตามค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่เพิ่มสูงขึ้น และมีการเจริญสูงสุดเหลือเพียง 1.26 กรัมต่อลิตร ที่อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 100 มีการผลิต P(3HB-co-3HV) ได้ดีที่สุด เมื่อใช้อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 60 โมลต่อโมล ได้ปริมาณ P(3HB-co-3HV) สูงสุดเท่ากับ 21.38 เปอร์เซนต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง และได้สัดส่วนโดยโมลของ 3HV สูงสุดเท่ากับ 44 โมลเปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 29 เปรียบเทียบการเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อแปรค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 4 ถึง 100 โมลต่อโมล

C/N ratio	DCW	P(3HB-co-3HV)		Monomer (mol%)	
	(g/l)	(g/l)	(wt%)	3HB	3HV
4	**9.16**^{e}	**1.20**^{d}	13.03^{a}	95	5^{a}
8	5.32^{d}	0.63^{c}	11.93^{a}	93	7^{a}
15 (ชุดควบคุม)	2.48^{c}	0.34^{b}	14.03^{a}	60	40^{c}
30	1.91^{b}	0.33^{b}	18.75^{b}	56	**44**^{c}
60	1.54^{a,b}	0.31^{b}	**21.38**^{c}	67	33^{b}
100	1.26^{a}	0.23^{a}	20.18^{c}	76	24^{b}

หมายเหตุ อักษรที่ต่างกันบนตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันหมายถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$ (ภาคผนวก ง)

ดังนั้นอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่เหมาะสมสำหรับการผลิต P(3HB-co-3HV) และทำให้ได้สัดส่วนของ 3HV สูงสุดคือ อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 30 โมลต่อโมล

การศึกษาในถังหมักแบบเฟดแบช

4.5 การศึกษาผลของอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนอาหารป้อนเข้าต่อการผลิตP(3HB-co-3HV)

จากการทดลองที่ผ่านมาการผลิต P(3HB-co-3HV) ยังได้ในปริมาณที่ไม่น่าพอใจ ซึ่งขึ้นอยู่กับความเข้มข้นเซลล์ ปริมาณโคพอลิเมอร์ภายในเซลล์ รวมถึงปริมาณสวอาหารจำกัด สารมัธยันธ์ที่อาจเป็นพิษต่อเซลล์มีเพิ่มมากขึ้น ทำให้การเลี้ยงแบบแบชมีข้อจำกัดในการเลี้ยงให้ได้ความเข้มข้นของเซลล์และผลผลิตสูง Yamane และ Shimizu (1984) ได้รายงานว่ากระบวนการหมักแบบเฟดแบชสามารถเพิ่มปริมาณเซลล์ให้สูงขึ้น เพราะเป็นระบบที่สามารถเติมอาหารตามความต้องการได้จึงไม่มีผลของปริมาณสารอาหารที่สูงเกินไปจนทำให้มีการยับยั้งการเจริญของเซลล์ รูปแบบการเติมอาหารของการเลี้ยงเชื้อแบบเฟดแบชก็มีแตกต่างกันแล้วแต่วัตถุประสงค์ของงาน Rhee และคณะ(1993) ได้ทำการเลี้ยง *Alcaligenes* sp. SH-69 เพื่อผลิต P(3HB-co-3HV) โดยการเลี้ยงเชื้อแบบเฟดแบชซึ่งใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนพบว่าหลังจากการเจริญของเซลล์ชั่วโมงที่ 20 โดยได้น้ำหนักเซลล์แห้งประมาณ 35 กรัมต่อลิตร ได้เติมสารละลายแอมโมเนียมซัลเฟตลงในอาหารเลี้ยงเชื้อพร้อมกับการเติมกลูโคส เพื่อรักษาอัตราส่วนของกลูโคสต่อแอมโมเนียม (C/N ratio) ไว้ที่ 4.3 14.3 และ 23.1 โมลต่อโมล ผลที่ได้คือเมื่อเติมแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนที่มีอัตราส่วนของ C/N สูง (ปริมาณแอมโมเนียมต่ำ) ได้ให้ปริมาณโคพอลิเมอร์สูงขึ้น

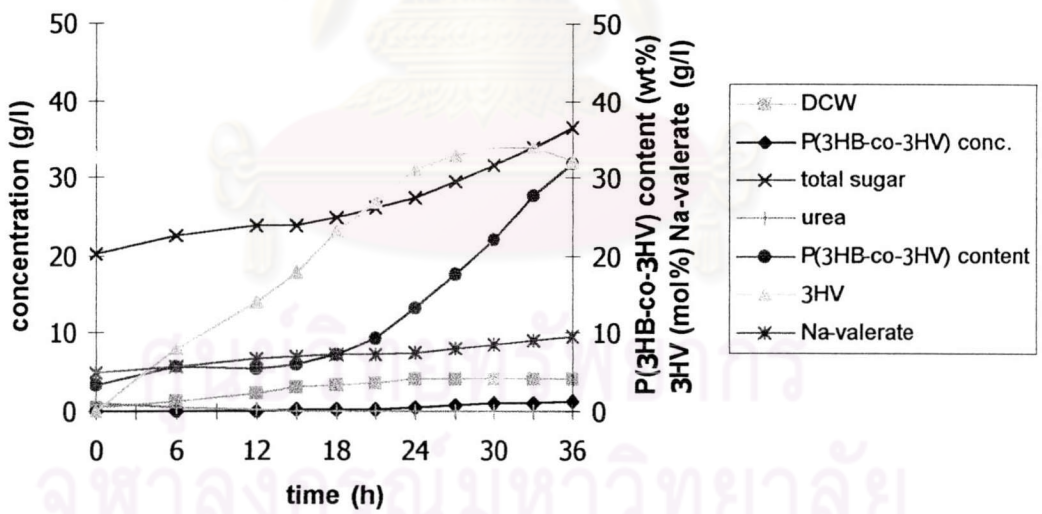
การวิจัยขั้นตอนนี้เป็นการศึกษาผลของสารอาหารป้อนเข้าต่อการผลิต P(3HB-co-3HV) จาก *Bacillus* sp. BA-019 โดยถ่ายกล้าเชื้อ *Bacillus* sp. BA-019 ลงในอาหารเพื่อการผลิตโดยใช้ภาวะที่ปรับปรุงแล้วตามข้อ 4.4 มีน้ำตาลทรายเข้มข้นเท่ากับ 20 กรัมต่อลิตร และโซเดียมวาเลอเรตเข้มข้นเท่ากับ 5 กรัมต่อลิตร ใช้อาหารป้อนเข้าเป็นอาหารเพื่อการผลิตที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลทรายเท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร โซเดียมวาเลอเรต 25 กรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับการใช้อาหารป้อนเข้าที่มียูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจนมีค่าอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 15 30 และ 60 โมลต่อโมล ควบคุมค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7.00 ± 0.05 ควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และค่าออกซิเจนละลาย (dissolved oxygen) ไม่ต่ำกว่า 60 เปอร์เซนต์ของอากาศอิ่มตัว ตลอดระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อ เก็บตัวอย่างทุก 3 ชั่วโมง เป็นเวลา 36 ชั่วโมง วิเคราะห์หาน้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณโคพอลิเมอร์ สัดส่วนโดยโมลของ 3HV และปริมาณสารตั้งต้นที่เหลือ

ในการทดลองที่มีน้ำตาลทรายความเข้มข้นเท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร โซเดียมวาเลอเรตความเข้มข้นเท่ากับ 25 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอนเพียงอย่างเดียวในอาหารป้อนเข้าโดยที่ไม่มีแหล่งไนโตรเจนอยู่เลย ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 30 และรูปที่ 30 พบว่ามีการเจริญสูงสุดอยู่ที่ 33 ชั่วโมงของการเลี้ยงเชื้อ ได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 4.18 กรัมต่อลิตร และการผลิต P(3HB-co-3HV) สูงสุดเท่ากับ 1.30 กรัมต่อลิตร หรือคิดเป็น 31.86 เปอร์เซนต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 36 ชั่วโมง ซึ่งการเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) ในการทดลองนี้เพิ่มขึ้นจากการเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* sp. BA-019 แบบแบชอย่างชัดเจน น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดและการผลิต P(3HB-co-3HV) สูงสุดเท่ากับ 1.91 และ 0.33 กรัมต่อลิตรตามลำดับ แต่ได้สัดส่วนโดยโมลของ 3HV ลดลงจาก 44 เหลือ 34 โมลเปอร์เซนต์ น้ำตาลทรายและโซเดียมวาเลอเรตมีความเข้มข้นสูงขึ้นอย่างช้าๆตลอดการทดลอง กระทั่งมีความเข้มข้นเท่ากับ 36.41 และ 9.60 กรัมต่อลิตรตามลำดับ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ส่วนยูเรียซึ่งเป็นแหล่งไนโตรเจนและไม่มีอยู่ในอาหารป้อนเข้าลดลงอย่างรวดเร็วและหมดไปในการเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 21 ชั่วโมง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 30 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อมีน้ำตาลทรายและโซเดียมวาเลอเรตในอาหารป้อนเข้า

Time	DCW	P(3HB-co-3HV)		Monomer (mol%)		Total sugar	Na-Valerate	urea
(h)	(g/l)	(g/l)	(wt%)	3HB	**3HV**	(g/l)	(g/l)	(g/l)
0	0.51	0.02	3.32	100	0	20.12	5.01	0.56
6	1.22	0.07	5.74	92	8	22.49	5.74	0.28
12	2.25	0.12	5.33	86	14	23.90	6.61	0.12
15	2.98	0.18	6.04	82	18	23.96	6.95	0.05
18	3.44	0.25	7.27	77	23	24.83	7.16	0.02
21	3.75	0.35	9.33	73	27	26.15	7.32	0.00
24	4.06	0.54	13.30	69	31	27.47	7.55	0.00
27	4.11	0.72	17.52	67	33	29.57	7.96	0.00
30	4.14	0.91	21.98	66	**34**	31.73	8.46	0.00
33	**4.18**	1.16	27.75	66	**34**	33.86	9.06	0.00
36	4.08	**1.30**	**31.86**	68	32	36.41	9.60	0.00



รูปที่ 30 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อมีน้ำตาลทรายและโซเดียมวาเลอเรตในอาหารป้อนเข้า (เริ่มเติมสารป้อนเข้าภายใน 3 ชั่วโมงแรกของการเลี้ยงเชื้อ)

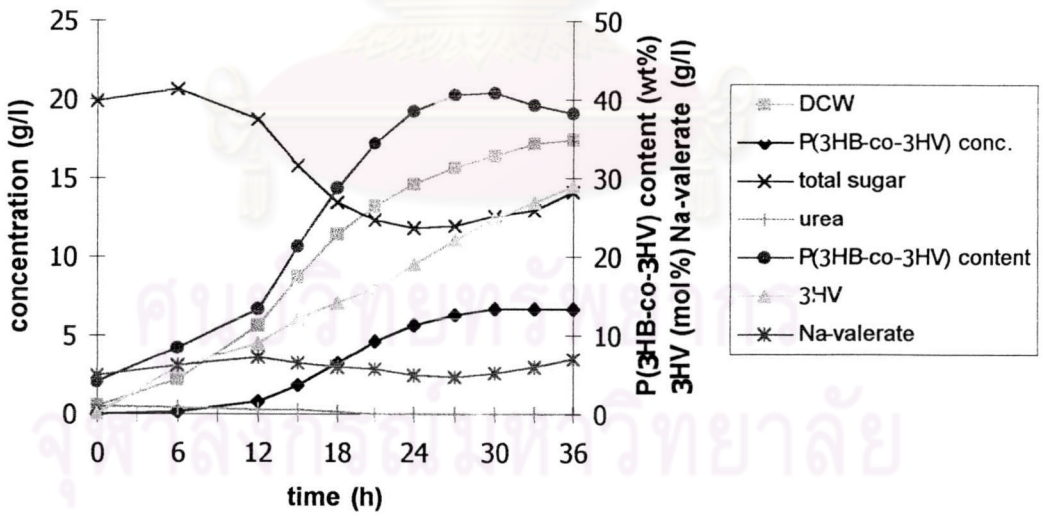
เมื่อใช้น้ำตาลทราย 100 กรัมต่อลิตรและโซเดียมวาเลอเรต 25 กรัมต่อลิตร และเพิ่มยูเรียสำหรับเป็นแหล่งไนโตรเจนในอาหารป้อนเข้า โดยแปรความเข้มข้นของยูเรียให้ได้อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 15 ถึง 60 โมลต่อโมล เมื่ออัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 15 ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 31 และรูปที่ 31 พบว่าการเจริญของเชื้อ *Bacillus* sp. BA-019 มีการเพิ่มขึ้นอย่างมาก ได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดถึง 17.47 กรัมต่อลิตร เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 36 ชั่วโมง P(3HB-co-3HV) มีความเข้มข้นสูงสุดเท่ากับ 6.73 กรัมต่อลิตร ที่เวลา 33 ชั่วโมง ได้ปริมาณ P(3HB-co-3HV) สูงสุดเท่ากับ 40.71 เปอร์เซนต์ต่อน้ำหนักแซลล์แห้ง เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 30 ชั่วโมง และได้สัดส่วนโดยโมลของ 3HV สูงสุดเท่ากับ 29 โมลเปอร์เซนต์ ที่เวลา 36 ชั่วโมง น้ำตาลทรายและโซเดียมวาเลอเรตมีความเข้มข้นลดลงและค่อยๆสูงขึ้นจนมีความเข้มข้นเท่ากับ 14.16 และ 6.88 กรัมตามลำดับ ส่วนยูเรียถูกใช้ไปและลดลงอย่างต่อเนื่อง

เมื่อใช้อาหารป้อนเข้าที่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 30 ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 32 และรูปที่ 32 พบว่าเชื้อ *Bacillus* sp. BA-019 มีการเจริญสูงสุดเท่ากับ 11.59 กรัมต่อลิตรเมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 36 ชั่วโมง ความเข้มข้นและปริมาณโคพอลิเมอร์สูงสุดที่เวลาเลี้ยงเชื้อ 36 ชั่วโมง เท่ากับ 3.67 กรัมต่อลิตร และ 31.67 เปอร์เซนต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ซึ่งเป็นเวลาเดียวกับที่ได้สัดส่วนโดยโมลของ 3HV สูงสุดเท่ากับ 45 โมลเปอร์เซนต์ ความเข้มข้นของน้ำตาลทรายและโซเดียมวาเลอเรตเพิ่มขึ้นหลังจากมีการเติมสารอาหารป้อนเข้า โดยมีความเข้มข้นของน้ำตาลทรายและโซเดียมวาเลอเรตเท่ากับ 21.02 และ 6.89 กรัมต่อลิตรเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ยูเรียมีความเข้มข้นลดลงอย่างรวดเร็ว และคงเหลือเพียงเล็กน้อยจนสิ้นสุดการทดลอง

เมื่อใช้อาหารป้อนเข้าที่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 60 ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 33 และรูปที่ 33 พบว่าเชื้อ *Bacillus* sp. BA-019 มีการเจริญสูงสุดที่เวลา 39 ชั่วโมง ได้น้ำหนักหนักเซลล์แห้งและ P(3HB-co-3HV) เข้มข้นสูงสุดเท่ากับ 8.43 และ 1.55 กรัมต่อลิตร ได้ปริมาณ P(3HB-co-3HV) สูงสุดเท่ากับ 19.08 เปอร์เซนต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 42 ชั่วโมง ซึ่งเป็นเวลาเดียวกับที่ได้สัดส่วนโดยโมลของ 3HV สูงสุดเท่ากับ 38 โมลเปอร์เซนต์ โดยมีความเข้มข้นของน้ำตาลทรายและโซเดียมวาเลอเรตเท่ากับ 22.95 และ 6.16 กรัมต่อลิตรเมื่อสิ้นสุดการทดลอง และยูเรียมีความเข้มข้นลดลงอย่างรวดเร็วจนถึงชั่วโมงที่ 18 และคงเหลือเพียงเล็กน้อยจนสิ้นสุดการทดลอง

ตารางที่ 31 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อใช้น้ำตาลทราย โซเดียมวาเลอเรตและยูเรียในอาหารป้อนเข้า**มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 15**

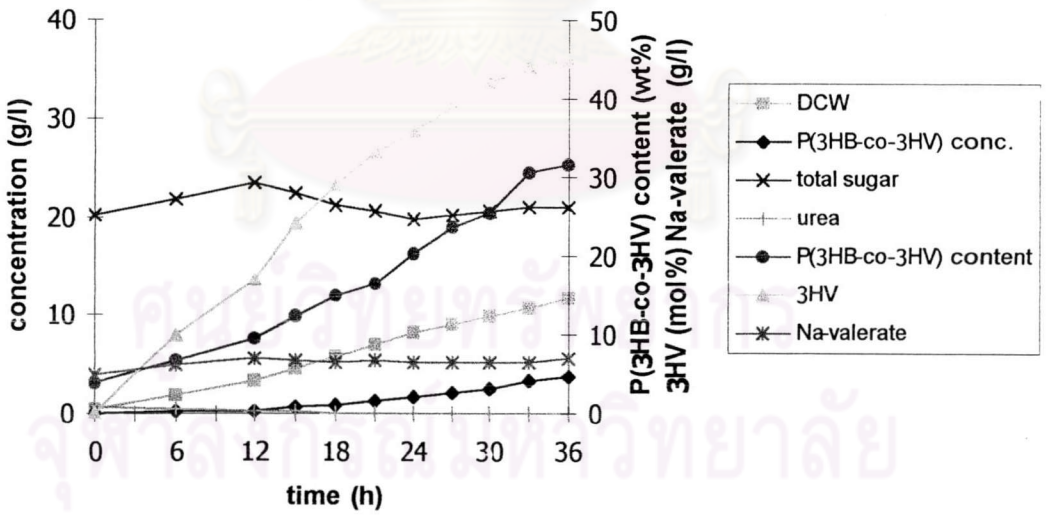
Time	DCW	P(3HB-co-3HV)		Monomer (mol%)		Total sugar	Na-Valerate	urea
(h)	(g/l)	(g/l)	(wt%)	3HB	**3HV**	(g/l)	(g/l)	(g/l)
0	0.47	0.02	4.03	100	0	19.86	4.93	0.57
6	2.13	0.18	8.45	94	6	20.67	6.25	0.43
12	5.67	0.76	13.40	91	9	18.66	7.18	0.32
15	8.69	1.84	21.17	88	12	15.78	6.46	0.21
18	11.36	3.26	28.70	86	14	13.43	5.94	0.11
21	13.24	4.56	34.44	84	16	12.26	5.54	0.05
24	14.67	5.65	38.51	81	19	11.76	4.80	0.02
27	15.62	6.32	40.46	78	22	11.99	4.70	0.03
30	16.36	6.66	**40.71**	75	25	12.53	5.09	0.02
33	17.21	**6.73**	39.11	73	27	12.90	5.92	0.01
36	**17.47**	6.67	38.18	71	**29**	14.16	6.88	0.01



รูปที่ 31 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อใช้น้ำตาลทราย โซเดียมวาเลอเรตและยูเรียในอาหารป้อนเข้า**มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 15** (เริ่มเติมสารป้อนเข้าภายใน3 ชั่วโมงแรกของการเลี้ยงเชื้อ)

ตารางที่ 32 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อใช้น้ำตาลทราย โซเดียมวาเลอเรตและยูเรียในอาหารป้อนเข้า**มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 30**

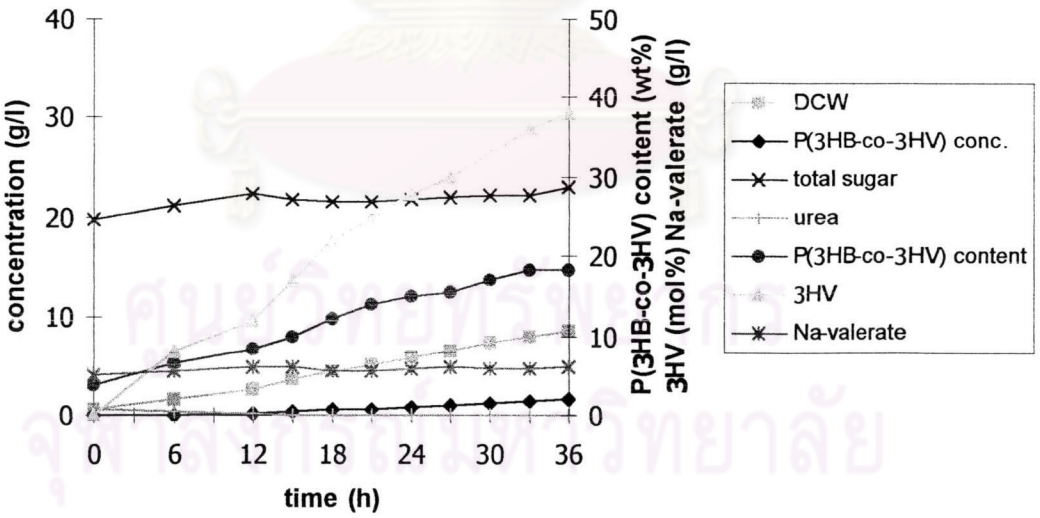
Time	DCW	P(3HB-co-3HV)		Monomer (mol%)		Total sugar	Na-Valerate	urea
(h)	(g/l)	(g/l)	(wt%)	3HB	**3HV**	(g/l)	(g/l)	(g/l)
0	0.49	0.02	3.87	100	0	20.12	4.98	0.58
6	1.83	0.12	6.56	90	10	21.80	6.10	0.37
12	3.18	0.30	9.43	83	17	23.45	7.02	0.24
15	4.52	0.56	12.39	76	24	22.28	6.65	0.13
18	5.84	0.87	14.90	71	29	21.17	6.46	0.09
21	7.03	1.16	16.50	67	33	20.45	6.55	0.04
24	8.21	1.67	20.34	64	36	19.76	6.38	0.02
27	9.07	2.13	23.48	61	39	20.03	6.31	0.02
30	9.86	2.51	25.46	58	42	20.51	6.41	0.02
33	10.64	3.24	30.45	56	44	21.02	6.29	0.02
36	**11.59**	**3.67**	**31.67**	55	**45**	21.02	6.89	0.01



รูปที่ 32 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อใช้น้ำตาลทราย โซเดียมวาเลอเรตและยูเรียในอาหารป้อนเข้า**มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ** 30 (เริ่มเติมสารป้อนเข้าภายใน3 ชั่วโมงแรกของการเลี้ยงเชื้อ)

ตารางที่ 33 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อใช้น้ำตาลทราย โซเดียมวาเลอเรตและยูเรียในอาหารป้อนเข้า**มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 60**

Time	DCW	P(3HB-co-3HV)		Monomer (mol%)		Total sugar	Na-Valerate	urea
(h)	(g/l)	(g/l)	(wt%)	3HB	**3HV**	(g/l)	(g/l)	(g/l)
0	0.52	0.02	3.85	100	0	19.68	5.02	0.56
6	1.53	0.10	6.54	92	8	21.15	5.51	0.32
12	2.66	0.22	8.27	88	12	22.26	6.18	0.16
15	3.57	0.35	9.80	83	17	21.78	6.06	0.06
18	4.38	0.53	12.10	78	22	21.60	5.67	0.03
21	5.13	0.71	13.84	75	25	21.60	5.68	0.02
24	5.87	0.88	14.99	72	28	21.63	5.72	0.02
27	6.55	1.01	15.42	70	30	21.84	6.03	0.01
30	7.21	1.23	17.06	67	33	22.11	5.91	0.00
33	7.93	1.45	18.28	64	36	22.20	5.78	0.01
36	**8.43**	**1.55**	**18.39**	62	**38**	22.95	6.16	0.00



รูปที่ 33 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อใช้น้ำตาลทราย โซเดียมวาเลอเรตและยูเรียในอาหารป้อนเข้า**มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ** 60 (เริ่มเติมสารป้อนเข้าภายใน3 ชั่วโมงแรกของการเลี้ยงเชื้อ)

เมื่อเปรียบเทียบผลของอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนในอาหารป้อนเข้า ผลดังแสดงในตารางที่ 34 พบว่าการเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) ของเชื้อ *Bacillus* sp. BA-019 เพิ่มขึ้นตามปริมาณไนโตรเจนในอาหารป้อนเข้า ได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 17.47 11.59 8.43 และ 4.18 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้อาหารป้อนเข้าที่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 15 (ไนโตรเจนสูง) 30 60 และ อาหารป้อนเข้าที่มีแต่แหล่งคาร์บอนเท่านั้น (ไม่มีไนโตรเจน) ตามลำดับ ได้ P(3HB-co-3HV) สูงสุดเท่ากับ 6.73 3.67 1.55 และ 1.30 กรัมต่อลิตรเมื่อใช้อาหารป้อนเข้าที่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 15 30 60 และไม่มีไนโตรเจนตามลำดับ ปริมาณ P(3HB-co-3HV) สูงสุดเท่ากับ 40.71 31.67 และ 18.39 เปอร์เซนต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งเมื่อใช้อาหารป้อนเข้าที่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 15 30 และ 60 ตามลำดับ สำหรับสัดส่วนโดยโมลของ 3HV พบว่าจะมีค่าสูงขึ้นเมื่อใช้อาหารป้อนเข้าที่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 30 และ 60 (ไนโตรเจนต่ำ) ได้สัดส่วนโดยโมลของ 3HV สูงสุดเท่ากับ 45 โมลเปอร์เซนต์ เมื่อใช้อาหารป้อนเข้าที่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 30 จึงเลือกอาหารป้อนเข้าที่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 30 สำหรับงานวิจัยขั้นต่อไป

ตารางที่ 34 เปรียบเทียบการเจริญและการผลิตP(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อใช้น้ำตาลทราย โซเดียมวาเลอเรตและยูเรียในอาหารป้อนเข้ามีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 15 ถึง 60

อาหารป้อนเข้า	DCW	P(3HB-co-3HV)		Monomer (mol%)	
	(g/l)	(g/l)	(wt%)	3HB	3HV
ไม่มีไนโตรเจน	4.18^{a}	1.30^{a}	31.86^{b}	66	34^{a,b}
C/N 15	**17.47**^{d}	**6.73**^{c}	**40.71**^{c}	69	29^{a}
C/N 30	11.59^{c}	3.67^{b}	31.67^{b}	55	**45**^{c}
C/N 60	8.43^{b}	1.55^{a}	18.39^{a}	57	38^{b}

หมายเหตุ อักษรที่ต่างกันบนตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันหมายถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$ (ภาคผนวก ง)

4.6 การศึกษาผลของความเข้มข้นของอาหารป้อนเข้าต่อการผลิต P(3HB-co-3HV)

จากการทดลองที่ผ่านมาอาหารป้อนเข้าที่มีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 30 ได้สัดส่วนโดยโมลของ 3HV สูงที่สุดเท่ากับ 45 โมลเปอร์เซนต์ แต่เชื้อ *Bacillus* sp. BA-019 ยังมีการเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) ต่ำอยู่ Choi และ Lee (1999) เลี้ยง recombinant *E. coli* แบบเฟดแบชพบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของกลูโคสและกรดโพรพิโอนิกในอาหารป้อนเข้ามีผลทำให้ได้ความเข้มข้นของ P(3HB-co-3HV) สูงขึ้น อดิพล บุญเรืองถาวร (2543) พบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของกากน้ำตาลที่มีน้ำตาลทั้งหมดจาก 150 กรัมต่อลิตร เป็น 400 กรัมต่อลิตร ในอาหารป้อนเข้าเพื่อการผลิต PHB โดย *Bacillus* sp. BA-019 สามารถเพิ่มการเจริญและการผลิต PHB ได้

ในการทดลองขั้นตอนนี้ต้องการศึกษาผลของความเข้มข้นของอาหารป้อนเข้าโดยเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลทรายเป็น 200 และ 400 กรัมต่อลิตร และใช้โซเดียมวาเลอเรตที่มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้นตามสัดส่วนของน้ำตาลทราย และคงอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนของอาหารป้อนเข้าเท่ากับ 30 ในทุกการทดลอง ควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.00 $\pm$ 0.05 และค่าออกซิเจนละลายไม่ต่ำกว่า60 เปอร์เซนต์ของอากาศอิ่มตัว ตลอดระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อ เก็บตัวอย่างทุก 3 ชั่วโมง เป็นเวลา 36 ชั่วโมง วิเคราะห์หาน้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณโคพอลิเมอร์ สัดส่วนโดยโมลของ3HV และปริมาณสารตั้งต้นที่เหลือ

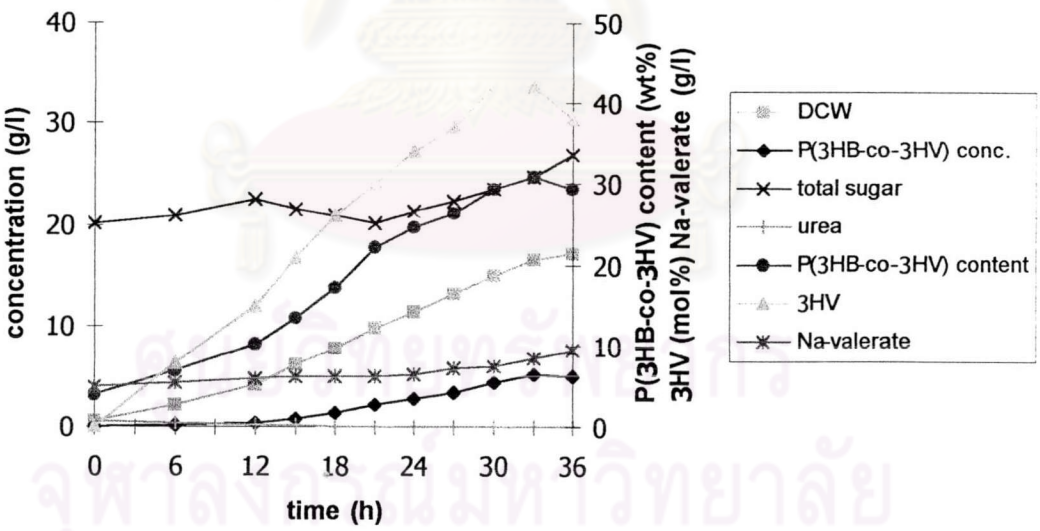
เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลทรายในอาหารป้อนเข้าเป็น 200 กรัมต่อลิตร โซเดียมวาเลอเรตเพิ่มเป็น 50 กรัมต่อลิตร อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 30 ดังแสดงในตารางที่ 35 และรูปที่ 34 พบว่าเชื้อ *Bacillus* sp. BA-019 มีการเจริญสูงสุดที่เวลา36 ชั่วโมง ได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 17.16 กรัมต่อลิตร ได้ P(3HB-co-3HV) เข้มข้นสูงสุดเท่ากับ 5.11 กรัมต่อลิตร คิดเป็น 30.91 เปอร์เซนต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง และได้สัดส่วนโดยโมลของ 3HV สูงสุดเท่ากับ 42 โมลเปอร์เซนต์ น้ำตาลทรายและโซเดียมวาเลอเรตมีความเข้มข้นเพิ่มสูงขึ้นตามลำดับ ส่วนยูเรียถูกนำไปใช้อย่างรวดเร็วและเกือบหมดเมื่อสิ้นสุดการเลี้ยงเชื้อ

เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลทรายในอาหารป้อนเข้าเป็น 400 กรัมต่อลิตร มีโซเดียมวาเลอเรตเท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 30 ดังแสดงในตารางที่ 36 และรูปที่ 35 พบว่าเชื้อ *Bacillus* sp. BA-019 มีการเจริญคิดเป็นน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดถึง 19.03 กรัมต่อลิตร ที่เวลาเลี้ยงเชื้อ 36 ชั่วโมง ได้ความเข้มข้นของโคพอลิเมอร์สูงสุดเท่ากับ 5.94 กรัมต่อลิตร คิดเป็น 31.21 เปอร์เซนต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ได้สัดส่วนโดยโมลของ 3HV สูงสุดเท่ากับ 37 โมลเปอร์เซนต์ซึ่งใกล้เคียงกับการทดลองที่ใช้อาหารป้อนเข้าที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลทรายเท่ากับ 200 กรัมต่อลิตร การเพิ่มขึ้นของน้ำตาลทรายกับโซเดียมวาเลอเรตและผลการลดลงของยูเรียมีรูปแบบเช่นเดียวกับการทดลองก่อนหน้า

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 35 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อใช้อาหารป้อนเข้ามี**ความเข้มข้นของน้ำตาลทรายเท่ากับ 200 กรัมต่อลิตร**

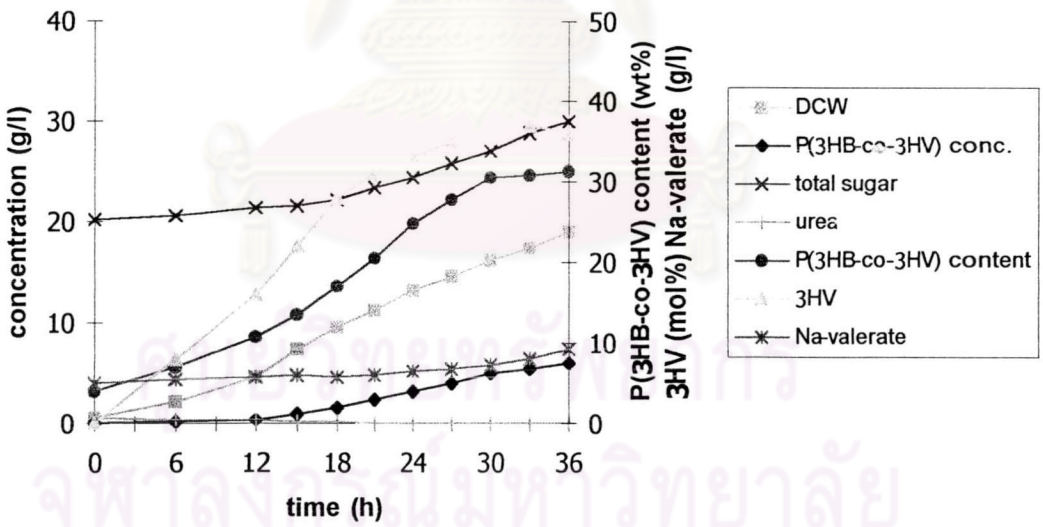
Time	DCW	P(3HB-co-3HV)		Monomer (mol%)		Total sugar	Na-Valerate	urea
(h)	(g/l)	(g/l)	(wt%)	3HB	**3HV**	(g/l)	(g/l)	(g/l)
0	0.50	0.02	4.00	100	0	20.12	5.01	0.59
6	2.14	0.15	7.01	92	8	20.90	5.50	0.39
12	4.18	0.43	10.29	85	15	22.52	5.93	0.28
15	6.13	0.83	13.54	79	21	21.47	6.11	0.15
18	7.83	1.34	17.11	74	26	20.92	6.25	0.05
21	9.69	2.14	22.08	70	30	20.05	6.19	0.03
24	11.32	2.79	24.65	66	34	21.27	6.50	0.04
27	13.11	3.46	26.39	63	37	22.33	7.20	0.01
30	14.87	4.36	29.32	58	**42**	23.42	7.56	0.02
33	16.53	**5.11**	**30.91**	58	**42**	24.61	8.46	0.02
36	**17.16**	5.03	29.31	62	38	26.83	9.34	0.01



รูปที่ 34 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 **เมื่อใช้อาหารป้อนเข้ามีความเข้มข้นของน้ำตาลทรายเท่ากับ 200 กรัมต่อลิตร** (เริ่มเติมสารป้อนเข้าภายใน 3 ชั่วโมงแรกของการเลี้ยงเชื้อ)

ตารางที่ 36 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อใช้อาหารป้อนเข้ามี**ความเข้มข้นของน้ำตาลทรายเท่ากับ 400 กรัมต่อลิตร**

Time	DCW	P(3HB-co-3HV)		Monomer (mol%)		Total sugar	Na-Valerate	urea
(h)	(g/l)	(g/l)	(wt%)	3HB	3HV	(g/l)	(g/l)	(g/l)
0	0.51	0.02	3.92	100	0	20.12	4.96	0.57
6	2.26	0.16	7.08	92	8	20.57	5.39	0.40
12	4.65	0.50	10.75	84	16	21.49	5.76	0.32
15	7.36	0.99	13.45	78	22	21.63	6.02	0.22
18	9.67	1.64	16.96	72	28	22.17	5.75	0.13
21	11.22	2.31	20.59	69	31	23.47	6.05	0.06
24	13.13	3.25	24.75	67	33	24.41	6.38	0.04
27	14.67	4.08	27.81	65	35	25.72	6.79	0.02
30	16.15	4.93	30.53	63	**37**	27.09	7.18	0.02
33	17.36	5.32	30.65	63	**37**	28.73	8.08	0.02
36	**19.03**	**5.94**	**31.21**	64	36	29.91	9.16	0.01



รูปที่ 35 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อใช้อาหารป้อนเข้ามี**ความเข้มข้นของน้ำตาลทรายเท่ากับ 400 กรัมต่อลิตร** (เริ่มเติมสารป้อนเข้าภายใน 3 ชั่วโมงแรกของการเลี้ยงเชื้อ)

เมื่อเปรียบเทียบการเจริญและการผลิตP(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 ผลดังแสดงในตารางที่ 37 พบว่าค่าน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของน้ำตาลทรายในอาหารป้อนเข้า โดยได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 13.16 17.16 และ 22.03 กรัมต่อลิตร เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลทรายในอาหารป้อนเข้าเท่ากับ 100 200 และ 400 กรัมต่อลิตรตามลำดับ เช่นเดียวกับความเข้มข้นของโคพอลิเมอร์ที่ได้ความเข้มข้นสูงสุดเท่ากับ 3.67 5.11 และ 5.94 กรัมต่อลิตร เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลทรายในอาหารป้อนเข้าเท่ากับ 100 200 และ 400 กรัมต่อลิตรตามลำดับ ในขณะที่ปริมาณโคพอลิเมอร์ในทุกการทดลองมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ สำหรับสัดส่วนโดยโมลของ 3HV เมื่อใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลทรายในอาหารป้อนเข้าเป็น 100 และ 200 กรัมต่อลิตรนั้นใกล้เคียงกัน และลดลงเล็กน้อยเมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลทรายในอาหารป้อนเข้าเท่ากับ 400 กรัมต่อลิตร จึงเลือกใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลทรายในอาหารป้อนเข้าเท่ากับ 200 กรัมต่อลิตร สำหรับการทดลองขั้นต่อไป

ตารางที่ 37 เปรียบเทียบการเจริญและการผลิตP(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อใช้อาหารป้อนเข้ามีความเข้มข้นของน้ำตาลทรายเท่ากับ 100 ถึง 400 กรัมต่อลิตร

Sugar Conc.	DCW	P(3HB-co-3HV)		Monomer (mol%)	
(g/l)	(g/l)	(g/l)	(wt%)	3HB	3HV
100(ชุดควบคุม)	13.16[a]	3.67[a]	**31.67**[a]	55	**45**[b]
200	17.16[b]	5.11[b]	30.91[a]	58	42[b]
400	**22.03**[c]	**5.94**[c]	31.21[a]	63	37[a]

หมายเหตุ อักษรที่ต่างกันบนตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันหมายถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$ (ภาคผนวก ง)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.7 การศึกษาผลของปริมาณสารละลาย trace element ต่อการผลิต P(3HB-co-3HV)

จากการทดลองที่ผ่านมา สามารถเพิ่มการเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) ได้ แต่ยังไม่มีผลต่อการเพิ่มสัดส่วนโดยโมลของ 3HV Beaulieu และคณะ (1995) ศึกษาการผลิต PHB โดย Alcaligenes eutrophus พบว่าเมื่อใช้กากน้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอนทำให้ได้การเจริญและการผลิต PHB ได้ดีที่สุด เนื่องจากมีแร่ธาตุและวิตามินในกากน้ำตาล Son และ Lee (1996) ผลิต P(3HB-co-3HV) จาก *Pseudomonas* sp. EL-2 พบว่าความเข้มข้นของแร่ธาตุมีผลต่อการผลิต P(3HB-co-3HV) และการสังเคราะห์โมโนเมอร์ 3HV Park และคณะ (1997) เลี้ยง *Bacillus thuringiensis* R-510 ในระดับขวดเขย่าเพื่อผลิต P(3Hb-co-3HV) พบว่าความเข้มข้นของ trace element มีผลทำให้ปริมาณ P(3Hb-co-3HV) และสัดส่วนโดยโมลสูงขึ้น แต่มีผลต่อการเจริญเพียงเล็กน้อย Page และคณะ (1997) ผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Azotobacter salinetris* จากน้ำตาลชนิดต่างๆ พบว่าการใช้ corn syrup beet molasses และ cane molasses เป็นแหล่งคาร์บอน มีผลทำให้การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) เพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากสารประกอบและแร่ธาตุที่มีอยู่มากในแหล่งคาร์บอนนั้นๆ

การวิจัยขั้นตอนนี้เป็นการศึกษาผลของปริมาณ trace element ในอาหารป้อนเข้า โดยเลือกใช้ความเข้มข้นของ trace element เท่ากับ 2 และ 3 มิลลิลิตรต่อลิตร เทียบกับอาหารป้อนเข้าเดิมที่มี trace element เข้มข้นเพียง 1 มิลลิลิตรต่อลิตร มีน้ำตาลทรายและโซเดียมวาเลอเรตในอาหารป้อนเข้าเข้มข้นเท่ากับ 200 และ 50 กรัมต่อลิตรตามลำดับ อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนของอาหารป้อนเข้าเท่ากับ 30 ควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.00 ± 0.05 และค่าออกซิเจนละลายไม่ต่ำกว่า 60 เปอร์เซนต์ของอากาศอิ่มตัว ตลอดระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อ เก็บตัวอย่างทุก 3 ชั่วโมง เป็นเวลา 36 ชั่วโมง วิเคราะห์หาน้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณโคพอลิเมอร์ สัดส่วนโดยโมลของ3HV และปริมาณสารตั้งต้นที่เหลือ

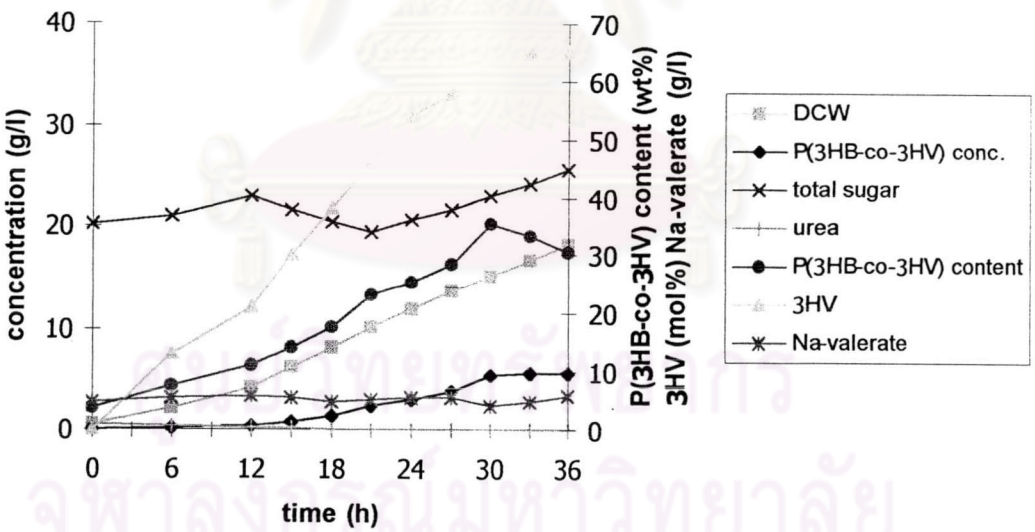
การทดลองที่มี trace element ในอาหารป้อนเข้า 2 มิลลิลิตรต่อลิตร ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 33 และรูปที่ 36 พบว่าเชื้อ *Bacillus* sp. BA-019 มีการเจริญสูงสุดในชั่วโมงที่ 36 ของการเลี้ยงเชื้อ ได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 18.13 กรัมต่อลิตร ได้ความเข้มข้นของ P(3HB-co-3HV) สูงสุดเท่ากับ 5.55 กรัมต่อลิตรเมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 33 ชั่วโมง และได้ปริมาณ P(3HB-co-3HV) สูงสุดเท่ากับ 35.21 เปอร์เซนต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งในชั่วโมงที่ 30 ของการเลี้ยงเชื้อ สำหรับสัดส่วนโดยโมลของ 3 HV พบว่ามีการสังเคราะห์โมโนเมอร์ของ 3HV เพิ่มมากขึ้น โดยได้สัดส่วนโดยโมลสูงสุดเท่ากับ 65 โมลเปอร์เซนต์ในชั่วโมงที่ 33 ถึง 36

การทดลองที่มี trace element ในอาหารป้อนเข้าเพิ่มขึ้นเป็น 3 มิลลิลิตรต่อลิตร ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 39 และรูปที่ 37 พบว่าเชื้อ *Bacillus* sp. BA-019 มีการเจริญสูงสุดในชั่วโมงที่ 36 ของการเลี้ยงเชื้อ ได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 18.44 กรัมต่อลิตร ได้ความเข้มข้นและปริมาณของ P(3HB-co-3HV) สูงสุดเท่ากับ 5.32 กรัมต่อลิตร และ 28.85 เปอร์เซนต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง สัดส่วนของ 3 HV สูงสุดเท่ากับ 47 โมลเปอร์เซนต์ตามเวลาการเลี้ยงเชื้อ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 38 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อมีปริมาณ trace element 2 **มิลลิลิตรต่อลิตร**

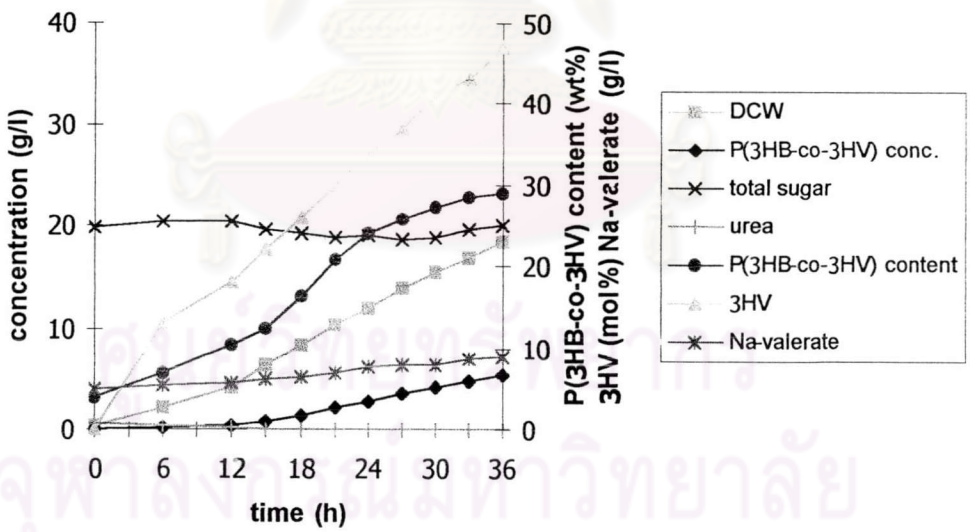
Time	DCW	P(3HB-co-3HV)		Monomer (mol%)		Total sugar	Na-Valerate	urea
(h)	(g/l)	(g/l)	(wt%)	3HB	**3HV**	(g/l)	(g/l)	(g/l)
0	0.52	0.02	3.85	100	0	20.16	4.89	0.58
6	2.12	0.16	7.55	87	13	21.06	5.46	0.34
12	4.06	0.45	11.08	79	21	22.88	5.74	0.24
15	6.16	0.88	14.29	70	30	21.53	5.48	0.12
18	8.20	1.46	17.80	62	38	20.30	4.99	0.06
21	10.03	2.34	23.33	54	46	19.49	5.18	0.04
24	11.86	3.00	25.30	46	54	20.51	5.56	0.03
27	13.63	3.86	28.32	42	58	21.59	5.42	0.02
30	15.11	5.32	**35.21**	37	63	22.96	4.13	0.02
33	16.67	**5.55**	33.29	35	**65**	24.25	4.90	0.02
36	**18.13**	5.50	30.34	35	**65**	25.64	5.80	0.01



รูปที่ 36 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อมีปริมาณ trace element 2 **มิลลิลิตรต่อลิตร** (เริ่มเติมสารป้อนเข้าภายใน3 ชั่วโมงแรกของการเลี้ยงเชื้อ)

ตารางที่ 39 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อมีปริมาณ trace element 3 **มิลลิลิตรต่อลิตร**

Time	DCW	P(3HB-co-3HV)		Monomer (mol%)		Total sugar	Na-Valerate	urea
(h)	(g/l)	(g/l)	(wt%)	3HB	**3HV**	(g/l)	(g/l)	(g/l)
0	0.49	0.02	4.08	100	0	19.82	4.95	0.56
6	2.18	0.15	6.88	87	13	20.44	5.36	0.32
12	4.16	0.43	10.34	82	18	20.48	5.74	0.20
15	6.32	0.79	12.50	78	22	19.66	6.21	0.07
18	8.25	1.34	16.24	74	26	19.30	6.45	0.05
21	10.26	2.14	20.86	70	30	18.78	7.03	0.04
24	11.94	2.86	23.95	66	34	18.92	7.64	0.04
27	13.84	3.55	25.65	63	37	18.62	7.92	0.02
30	15.46	4.21	27.23	59	41	18.88	8.03	0.02
33	16.83	4.81	28.58	57	43	19.64	8.57	0.02
36	**18.44**	**5.32**	**28.85**	53	**47**	19.92	8.86	0.01



รูปที่ 37 การเจริญและการผลิต P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อมีปริมาณ trace element 3 **มิลลิลิตรต่อลิตร** (เริ่มเติมสารป้อนเข้าภายใน3 ชั่วโมงแรกของการเลี้ยงเชื้อ)

เมื่อเปรียบเทียบการเจริญและการผลิตP(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 ผลดังแสดงในตารางที่ 40 พบว่าค่าน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเพิ่มขึ้นตามปริมาณของ trace element ในอาหารป้อนเข้า โดยได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 17.16 18.13 และ 18.44 กรัมต่อลิตร เมื่อปริมาณของ trace element ในอาหารป้อนเข้าเท่ากับ 1 (ชุดควบคุม) 2 และ 3 มิลลิลิตรต่อลิตรตามลำดับ ส่วนความเข้มข้นของโคพอลิเมอร์ที่ได้มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ปริมาณโคพอลิเมอร์ในทุกการทดลองมีค่าใกล้เคียงกัน โดยได้ที่ปริมาณโคพอลิเมอร์สูงสุดเท่ากับ 35.21 เปอร์เซนต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง เมื่อปริมาณของ trace element ในอาหารป้อนเข้าเท่ากับ 2 มิลลิลิตรต่อลิตร สัดส่วนโดยโมลของ 3HV มีค่าสูงสุดเท่ากับ 65 โมลเปอร์เซนต์เมื่อใช้ปริมาณของtrace element ในอาหารป้อนเข้าเท่ากับ 2 มิลลิลิตรต่อลิตร

ตารางที่ 40 เปรียบเทียบการเจริญและการผลิตP(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 เมื่อมีปริมาณtrace element 1 ถึง 3 มิลลิลิตรต่อลิตร

trace element	DCW	P(3HB-co-3HV)		Monomer (mol%)	
(ml/l)	(g/l)	(g/l)	(wt%)	3HB	3HV
1 (ชุดควบคุม)	17.16[a]	5.11[a]	30.91[a]	58	42[a]
2	18.13[b]	**5.55**[a]	**35.21**[b]	35	**65**[c]
3	**18.44**[b]	5.39[a]	29.42[a]	50	50[b]

หมายเหตุ อักษรที่ต่างกันบนตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันหมายถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$ (ภาคผนวก ง)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.8 การแยกพอลิเมอร์ให้มีสัดส่วนของ 3HV สูงโดยการตกตะกอนโคพอลิเมอร์ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์บางชนิด

โคพอลิเมอร์ที่ผลิตได้ประกอบด้วยสายพอลิเมอร์จำนวนมาก โดยที่สายพอลิเมอร์เหล่านั้นมีสัดส่วนโดยโมลของ 3HV แตกต่างกัน และจากสมบัติที่สายพอลิเมอร์ที่มีสัดส่วนโดยโมลของ 3HV ต่ำจะสามารถตกตะกอนได้ง่ายกว่าสายพอลิเมอร์ที่มีสัดส่วนโดยโมลของ 3HV สูง ดังนั้นการเลือกใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีสมบัติไม่ทำละลายโคพอลิเมอร์(เช่น อะซิโตน เมทานอล เอทานอล และ เฮกเซน) และสามารถละลายได้ในคลอโรฟอร์มซึ่งเป็นตัวทำละลายของโคพอลิเมอร์ จะมีผลทำให้เกิดการตะกอนของสายพอลิเมอร์ที่มีสัดส่วนโดยโมลของ 3HV ต่ำ ส่วนสายพอลิเมอร์ที่มีสัดส่วนโดยโมลของ 3HV สูงจะยังคงละลายอยู่ในตัวทำละลายอินทรีย์ผสม (Ramsay และคณะ, 1994)

ในการทดลองนี้ได้นำโคพอลิเมอร์ที่ได้จากการทดลองสุดท้ายซึ่งมีสัดส่วนโดยโมลของ 3HV อยู่ 65 โมลเปอร์เซนต์ มาสกัดได้มาละลายในคลอโรฟอร์ม จากนั้นเติมตัวทำละลายอินทรีย์ลงไปช้าๆ กวนให้เข้ากันจนเกิดตะกอนขาวขุ่นจึงหยุดเติม แล้วกวนต่ออีก30 นาที กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 นำส่วนตัวทำละลายไประเหยแห้งได้ส่วนของแข็งสีขาว นำพอลิเมอร์ทั้งสองส่วนไปวิเคราะห์ปริมาณ ความบริสุทธิ์ และสัดส่วนโดยโมลของ3HV

เมื่อเปรียบเทียบผลของการตกตะกอนโคพอลิเมอร์ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์บางชนิด ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 41 พบว่าปริมาณของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้แตกต่างกันโดยสามารถเรียงลำดับตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ปริมาณจากมากไปน้อยคือ เฮกเซน อะซิโตน เมทานอล และเอทานอล ตามลำดับ และความบริสุทธิ์ที่ได้จาการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ต่างชนิดกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทั้งในส่วนของตะกอนและส่วนของแข็งสีขาว โดยที่ส่วนตะกอนจะมีความบริสุทธิ์(93.7 ถึง 96.3 เปอร์เซ็นต์) สูงกว่าส่วนของแข็งสีขาว (86.1 ถึง 88.4 เปอร์เซ็นต์) สำหรับสัดส่วนโดยโมลของ 3HV ที่ได้นั้นมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญโดยในส่วนของตะกอนนั้นได้สัดส่วนโดยโมลของ 3HV เท่ากับ 26 35 39 และ 18 โมลเปอร์เซนต์ เมื่อใช้ตัวทำละลายอินทรีย์เป็น อะซิโตน เมทานอล เอทานอล และ คลอโรฟอร์ม ตามลำดับ และโคพอลิเมอร์ที่ได้จากส่วนของแข็งสีขาวนั้นมีสัดส่วนโดยโมลของ 3HV เท่ากับ 75 72 70 และ 79 โมลเปอร์เซนต์ เมื่อใช้ตัวทำละลายอินทรีย์เป็น อะซิโตน เมทานอล เอทานอล และ คลอโรฟอร์ม ตามลำดับ

ตารางที่ 41 เปรียบเทียบความบริสุทธิ์ และสัดส่วนโดยโมลของ3HV ของโคพอลิเมอร์ เมื่อตกตะกอนด้วยตัวทำละลายอินทรีย์บางชนิด

solvent	volume	ส่วนตะกอน		ส่วนของแข็งสีขาว	
	(ml)	purity (%)	3HV (mol%)	purity (%)	3HV (mol%)
acetone	53	94.7[a]	26[b]	87.6[a]	75[b]
methanol	45	95.8[a]	35[c]	87.8[a]	72[a]
ethanol	41	96.3[a]	39[d]	88.4[a]	70[a]
hexane	62	93.7[a]	18[a]	86.1[a]	79[c]

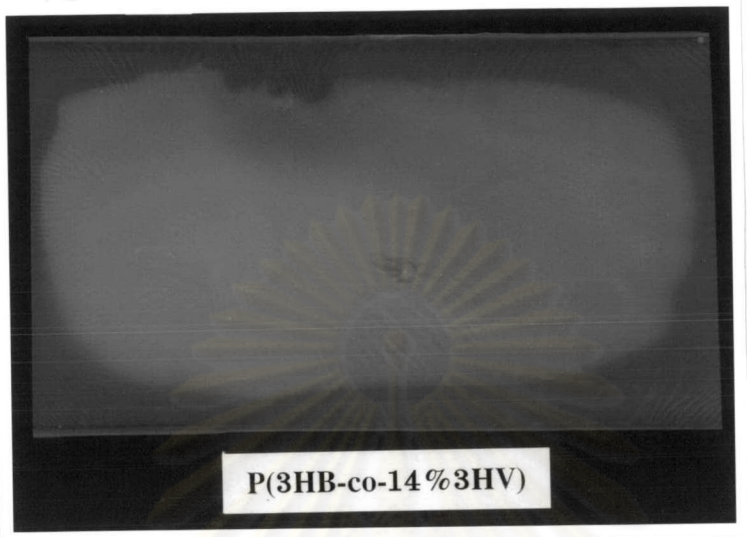
หมายเหตุ อักษรที่ต่างกันบนตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันหมายถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$ (ภาคผนวก ง)

การตกตะกอนของโคพอลิเมอร์เกิดขึ้นจากความมีขั้ว (polarity) ที่เปลี่ยนแปลงไปของตัวทำละลาย โดยที่ อะซิโตน เมทานอล และเอทานอล มีผลทำให้ความมีขั้วของตัวทำละลายเพิ่มขึ้น ส่วนเฮกเซนมีผลทำให้ความมีขั้วของตัวทำละลายลดลง เมื่อพิจารณาถึงความบริสุทธิ์และสัดส่วนของ 3HV ที่ได้ใกล้เคียงกัน เมทานอลจึงเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ที่เหมาะสมสำหรับการตกตะกอนพอลิเมอร์เนื่องจากมีราคาถูกและได้พอลิเมอร์ที่มีสมบัติใกล้เคียงกับการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดอื่น

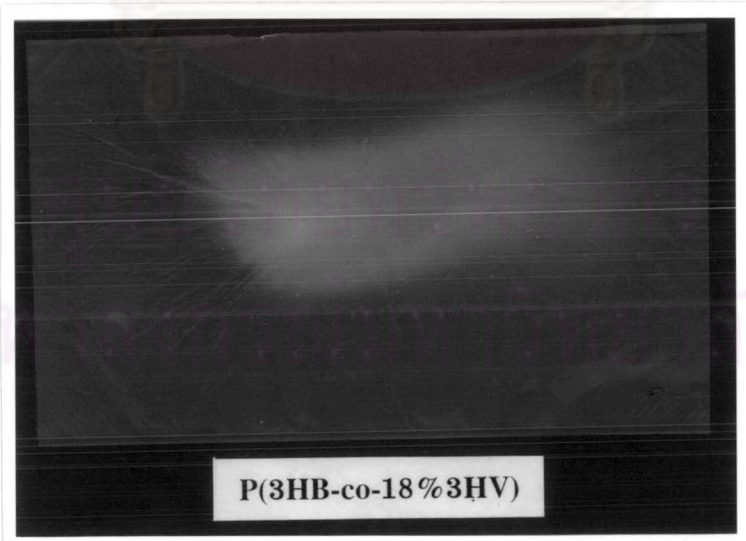
นำโคพอลิเมอร์ที่ได้จากการตกตะกอนมาแผ่เป็นฟิล์มเพื่อนำไปวิเคราะห์สมบัติเชิงกลบางประการ (ตัวอย่างแผ่นฟิล์มดังในรูปที่ 38) ส่วนโคพอลิเมอร์ที่ได้จากส่วนของแข็งสีขาวไม่สามารถแผ่แผ่นฟิล์มได้เนื่องจากมีลักษณะแข็งเปราะมาก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

(ก)

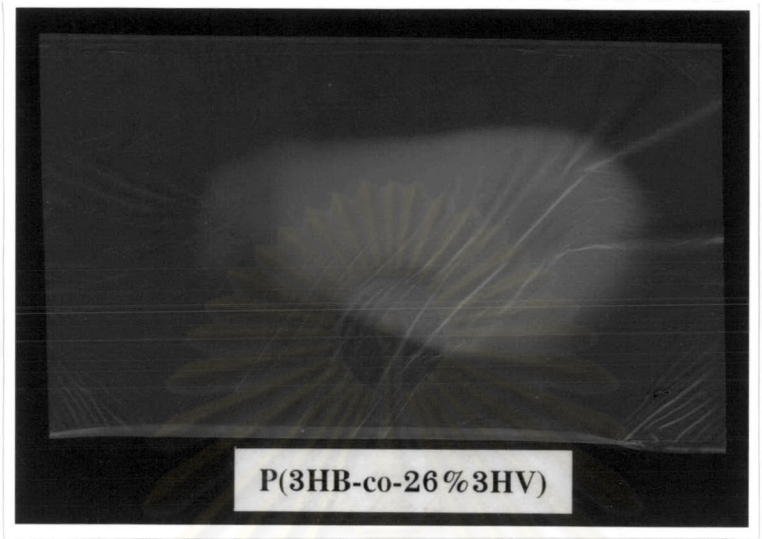


(ข)



รูปที่ 38 ตัวอย่างแผ่นฟิล์ม P(3HB-co-3HV) (ก) 3HV 14 mol% (ข) 3HV 18 mol%

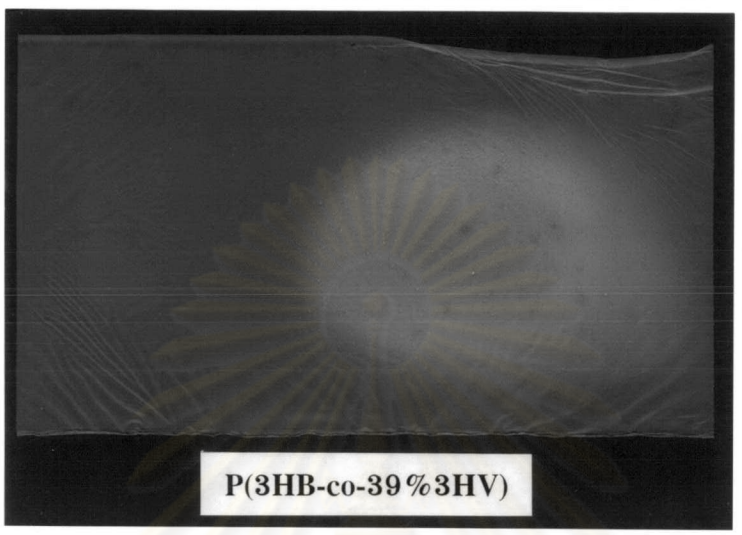
(ค)



(ง)

รูปที่ 38(ต่อ) ตัวอย่างแผ่นฟิล์ม P(3HB-co-3HV) (ค) 3HV 26 mol% (ง) 3HV 35 mol%

(จ)



รูปที่ 38(ต่อ) ตัวอย่างแผ่นฟิล์ม (จ) 3HV 39 mol%

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.9 การศึกษาสมบัติเชิงกลบางประการของ P(3HB-co-3HV) ที่ได้

นำโคพอลิเมอร์ที่ได้จากการตกตะกอน ซึ่งมีสัดส่วนโดยโมลของ 3HV เท่ากับ 18 26 35 และ 39 โมลเปอร์เซนต์ มาวิเคราะห์สมบัติเชิงกล ได้แก่ ค่าการต้านแรงดึง (tensile strength) ค่าการยืดจนขาด (elongation to break) และค่าโมดูลัสของยัง (Young's modulus) เปรียบเทียบกับโคพอลิเมอร์มาตราฐานที่มีสัดส่วนโดยโมลของ 3HV เท่ากับ 14 โมลเปอร์เซนต์ ผลการวิเคราะห์ดังแสดงในตารางที่ 42 พบว่าสัดส่วนโดยโมลของ 3HV มีผลต่อสมบัติเชิงกลของโคพอลิเมอร์ โดยที่สัดส่วนโดยโมลของ 3HV สูงขึ้นทำให้ค่าการทนแรงดึงลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ต่างกับค่าการยืดจนขาดซึ่งเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของสมบัติทั้งสองเป็นผลให้ค่าโมดูลัสของยังมีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อสัดส่วนโดยโมลของ 3HV สูงขึ้น เนื่องจากค่าโมดูลัสของยังสามารถหาได้จากอัตราส่วนของค่าการทนแรงดึงต่อค่าการยืดจนขาด

ตารางที่ 42 เปรียบเทียบสมบัติเชิงกลบางประการของP(3HB-co-3HV) ที่ได้

P(3HB-co-3HV)	tensile strength (Mpa)	elongation to break (%)	Young's modulus (Mpa)
14%3HV	16.67^{e}	7.45^{a}	223.76^{e}
18%3HV	11.67^{d}	11.66^{b}	100.09^{d}
26%3HV	8.33^{c}	13.48^{c}	61.80^{c}
35%3HV	6.34^{b}	17.42^{d}	36.39^{b}
39%3HV	2.92^{a}	17.27^{d}	16.91^{a}

หมายเหตุ อักษรที่ต่างกันบนตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันหมายถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$ (ภาคผนวก ง)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย