บทที่ 5

วิเคราะห์และสรุปผลการทดลอง

5.1 การศึกษาผลการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Alcaligenes eutrophus* NCIMB 11599

หลังจากทำการหมักแบบกึ่งต่อเนื่องในถังหมักขนาด 10 ลิตรไปได้ 76 ชั่วโมง พบว่าจะได้ปริมาณเซลล์ประมาณ 90 กรัมต่อลิตร ผลการทดลองแสดงได้ดังตารางที่ ข.1 และมีปริมาณพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตอยู่ในเซลล์ประมาณ 54 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเซลล์แห้ง

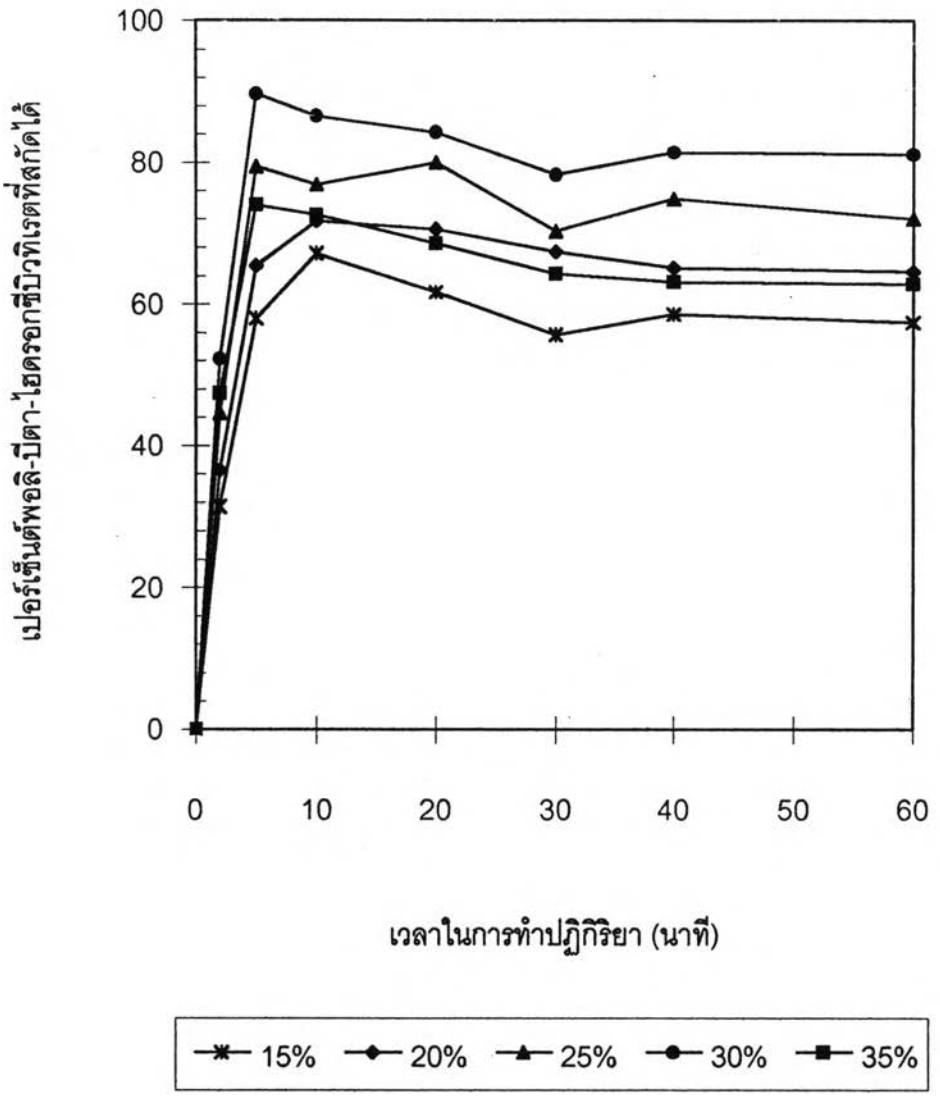
5.2 การศึกษาผลการย่อยเซลล์โดยวิธีทางเคมี และทางกล

การศึกษาในหัวข้อนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาภาวะที่เหมาะสมในการย่อยเซลล์ โดยเปรียบเทียบกันระหว่างการย่อยเซลล์โดยวิธีทางเคมีด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ และการย่อยเซลล์โดยวิธีทางกลด้วยโฮโมจิไนเซอร์ และคลื่นเหนือเสียง การเปรียบเทียบผลการย่อยเซลล์วิเคราะห์จากปริมาณพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตที่สกัดได้

5.2.1 ศึกษาการย่อยเซลล์ด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์

จากการศึกษาการย่อยเซลล์ด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ ที่ความเข้มข้น 15, 20, 25, 30 และ 35 เปอร์เซ็นต์ปริมาตรต่อปริมาตร ที่เวลา 2, 5, 10, 20, 30, 40 และ 60 นาที ผลการทดลองแสดงได้ดังรูปที่ 5.1 พบว่า ที่ความเข้มข้นสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ 15, 20, 25 และ 30 เปอร์เซ็นต์ปริมาตรต่อปริมาตร จะให้เปอร์เซ็นต์การสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ เนื่องจากการเพิ่มความเข้มข้นสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์จะทำให้ความเป็นเบสมากขึ้น เป็นผลให้เกิดปฏิกิริยาที่ผนังเซลล์รุนแรงมากยิ่งขึ้นทำให้เซลล์แตกได้มากขึ้นจึงสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตได้มากขึ้น โดยจะได้เปอร์เซ็นต์การสกัดมากที่สุด

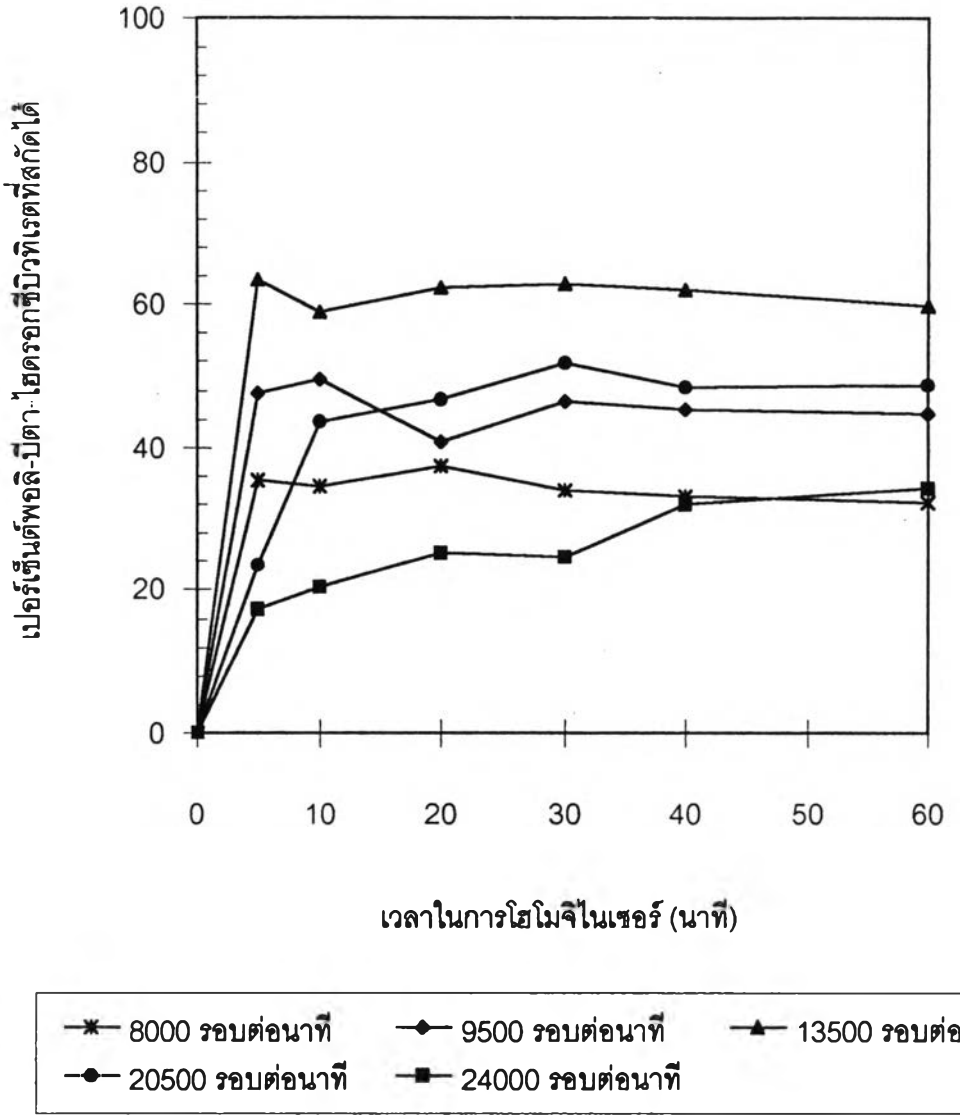
ประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์ของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตทั้งหมด ที่ความเข้มข้นสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ 30 เปอร์เซ็นต์ปริมาตรต่อปริมาตร ที่เวลา 5 นาที ส่วนที่ความเข้มข้นสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ 35 เปอร์เซ็นต์ปริมาตรต่อปริมาตร จะได้เปอร์เซ็นต์การสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตน้อยลง เนื่องจากปริมาณความเข้มข้นสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์มากเกินไปทำให้เกิดปฏิกิริยาที่ผนังเซลล์รุนแรงจนเข้าไปทำลายตัวผลิตภัณฑ์ด้วย เพราะการใช้สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์จะไม่มีการเลือกทำปฏิกิริยา และที่เวลาหลังจาก 5 นาทีไปแล้วจะเห็นว่าเปอร์เซ็นต์การสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตจะลดลงเล็กน้อย ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการทำปฏิกิริยากับสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์เป็นเวลานานขึ้น เป็นผลให้ผลิตภัณฑ์อาจถูกทำลายไปบางส่วน



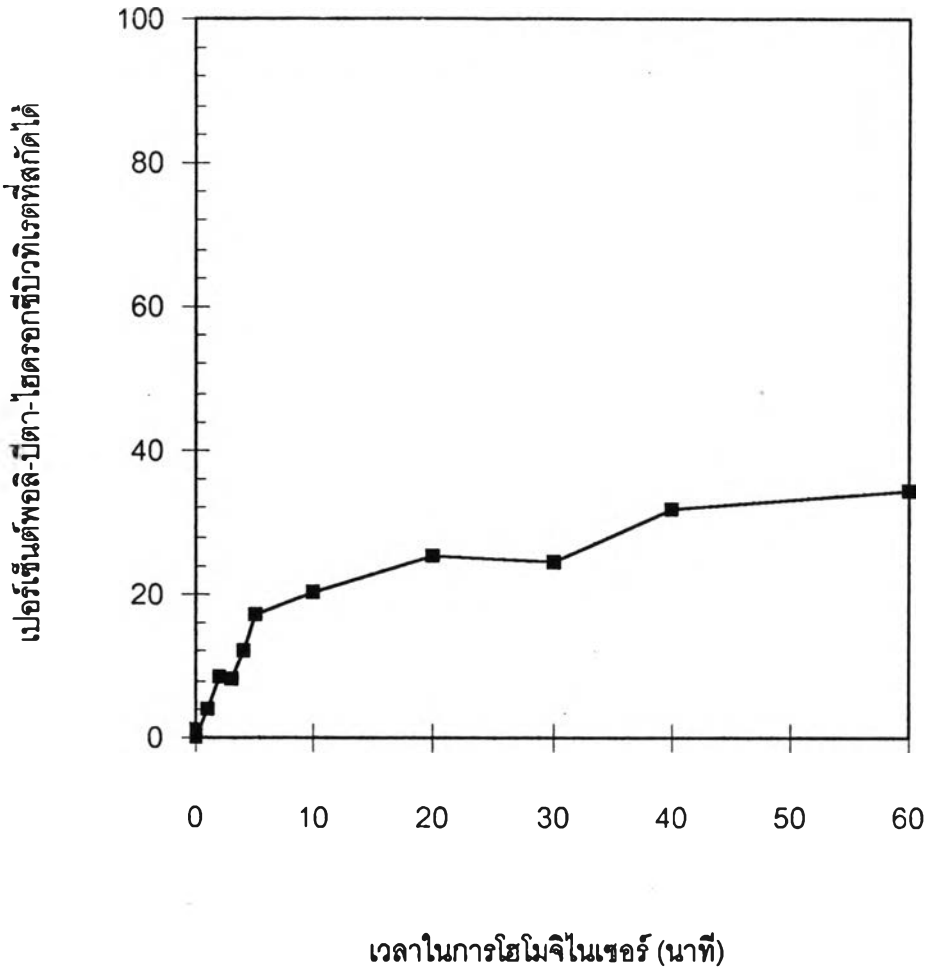
รูปที่ 5.1 แสดงเปอร์เซ็นต์การสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตที่เวลาต่างๆกัน ที่ความเข้มข้นสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์เป็น 15, 20, 25, 30 และ 35 เปอร์เซ็นต์ปริมาตรต่อปริมาตร

5.2.2 ศึกษาการย่อยเซลล์ด้วยโฮโมจิไนเซอร์

จากการศึกษาการย่อยเซลล์ด้วยโฮโมจิไนเซอร์ ที่ความเร็ว 8000, 9500, 13500, 20500 และ 24000 รอบต่อนาที ที่เวลา 5, 10, 20, 30, 40 และ 60 นาทีตามลำดับ ผลการทดลองแสดงได้ดังรูปที่ 5.2 พบว่า ที่ความเร็ว 8000, 9500 และ 13500 รอบต่อนาทีจะให้เปอร์เซ็นต์การสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตเพิ่มขึ้นตามความเร็วรอบที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากการเพิ่มความเร็วรอบทำให้แรงเฉือนเพิ่มขึ้นเป็นผลให้เซลล์ถูกทำให้แตกได้มากขึ้น จึงสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตได้มากขึ้นด้วย โดยจะได้เปอร์เซ็นต์การสกัดมากที่สุดประมาณ 64 เปอร์เซ็นต์ของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตทั้งหมด ที่ความเร็วโฮโมจิไนเซอร์ 13500 รอบต่อนาที ที่เวลา 5 นาที ส่วนที่ความเร็วโฮโมจิไนเซอร์ 20500 และ 24000 รอบต่อนาที จะได้เปอร์เซ็นต์การสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตลดลงตามลำดับ อาจจะเป็นผลมาจากแรงเฉือนที่มากเกินไปจนทำลายตัวผลิตภัณฑ์ด้วย และเนื่องจากที่เวลา 5 นาที อาจจะนานเกินไปจนทำลายตัวผลิตภัณฑ์ จึงได้ทำการทดลองสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตที่ทุกๆ 1 นาที ภายในช่วง 5 นาทีแรก โดยใช้ความเร็วโฮโมจิไนเซอร์ 24000 รอบต่อนาที ผลการทดลองแสดงได้ดังรูปที่ 5.3 พบว่า ไม่ได้ช่วยเพิ่มเปอร์เซ็นต์การสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตแต่อย่างใด



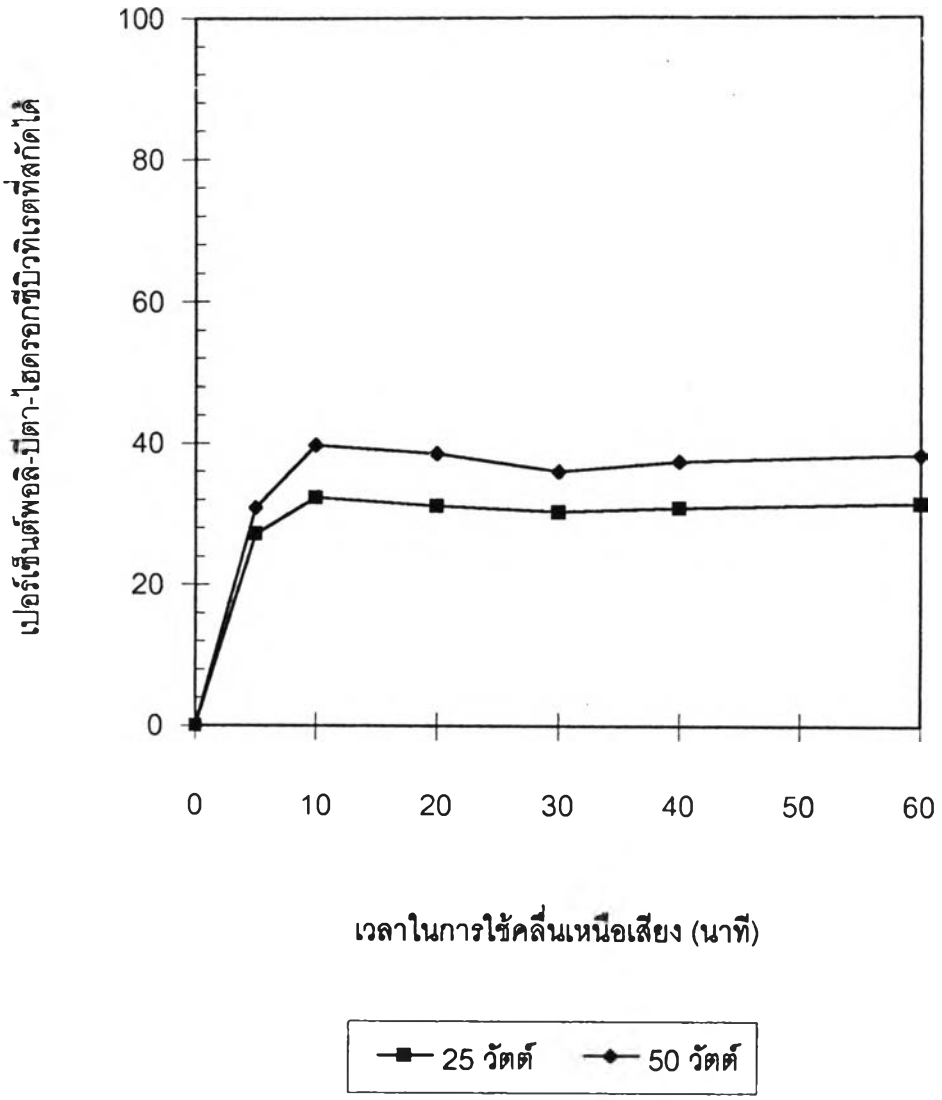
รูปที่ 5.2 แสดงเปอร์เซ็นต์การสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตที่เวลาต่างๆกัน ที่ความเร็วโฮโมจิไนเซอร์ 8000, 9500, 13500, 20500 และ 24000 รอบต่อนาที



รูปที่ 5.3 แสดงเปอร์เซ็นต์การสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตที่เวลา 1 ถึง 5 นาที ที่ความเร็วโฮโมจิไนเซอร์ 24000 รอบต่อนาที

5.2.3 ศึกษาการย่อยเซลล์ด้วยคลื่นเหนือเสียง

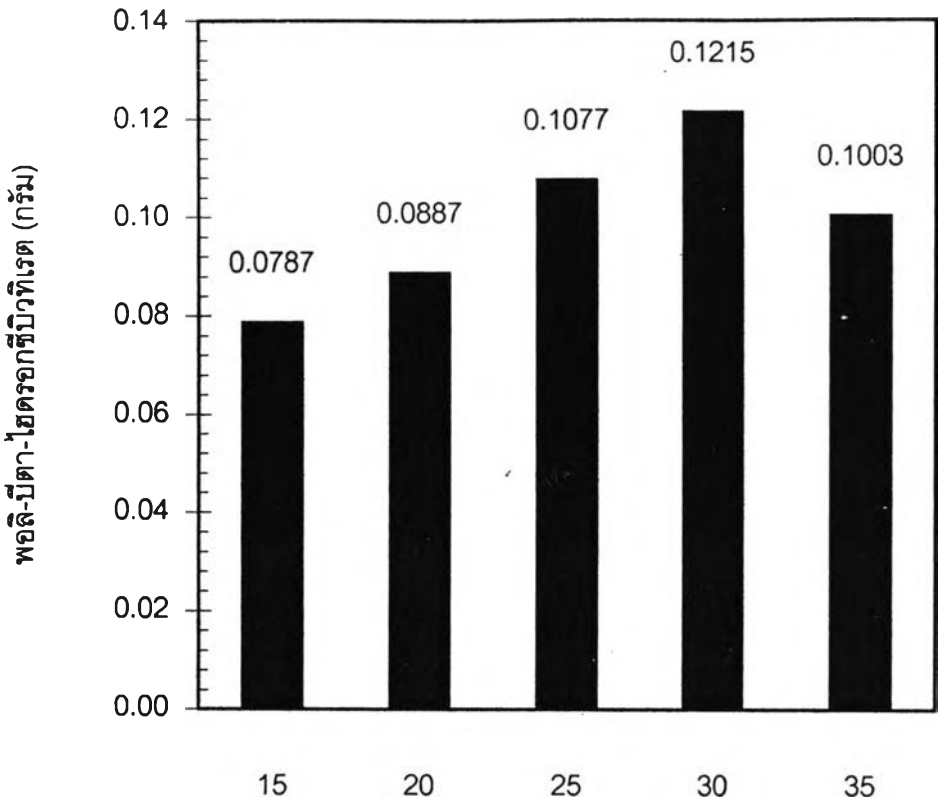
จากการศึกษาการย่อยเซลล์ด้วยคลื่นเหนือเสียง ที่กำลัง 25 และ 50 วัตต์ ที่เวลา 5, 10, 20, 30, 40 และ 60 นาทีตามลำดับ ผลการทดลองแสดงได้ดังรูปที่ 5.4 พบว่า เปอร์เซ็นต์การสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตเพิ่มขึ้นตามเวลาจนค่อนข้างคงที่ และในการใช้คลื่นเหนือเสียงที่กำลัง 50 วัตต์ จะให้เปอร์เซ็นต์การสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตสูงกว่าที่ 25 วัตต์ เนื่องจากกำลังที่สูงขึ้นจะส่งผลต่อความดันในช่วงอัดและช่วงขยายมากขึ้นเป็นผลทำให้เซลล์แตกได้ดีขึ้น จึงทำให้สกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตได้มากขึ้นโดยจะได้เปอร์เซ็นต์การสกัดมากที่สุดประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์ของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตทั้งหมด ที่เวลา 10 นาที



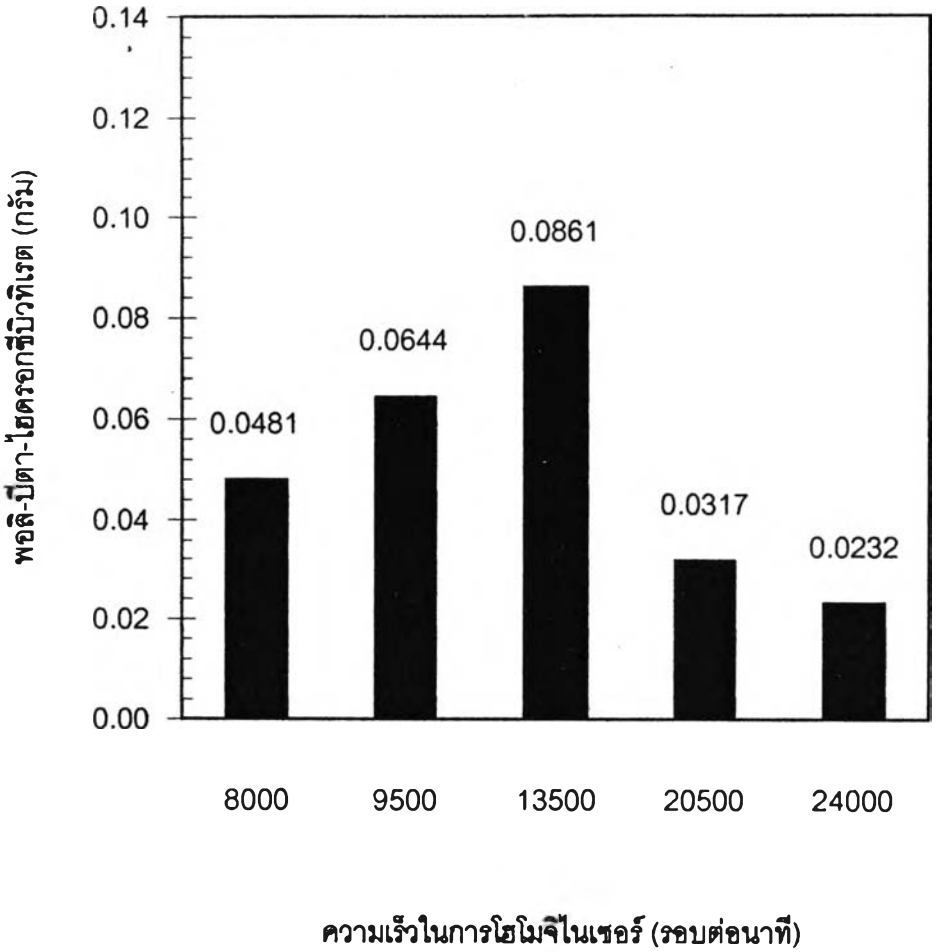
รูปที่ 5.4 แสดงเปอร์เซ็นต์การสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตที่เวลาต่างๆกัน ที่กำลังในการใช้คลื่นเหนือเสียงเป็น 25 และ 50 วัตต์

5.2.4 การเปรียบเทียบผลการย่อยเซลล์โดยวิธีทางเคมีด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์และโดยวิธีทางกลด้วยโฮโมจิไนเซอร์ และคลื่นเหนือเสียง

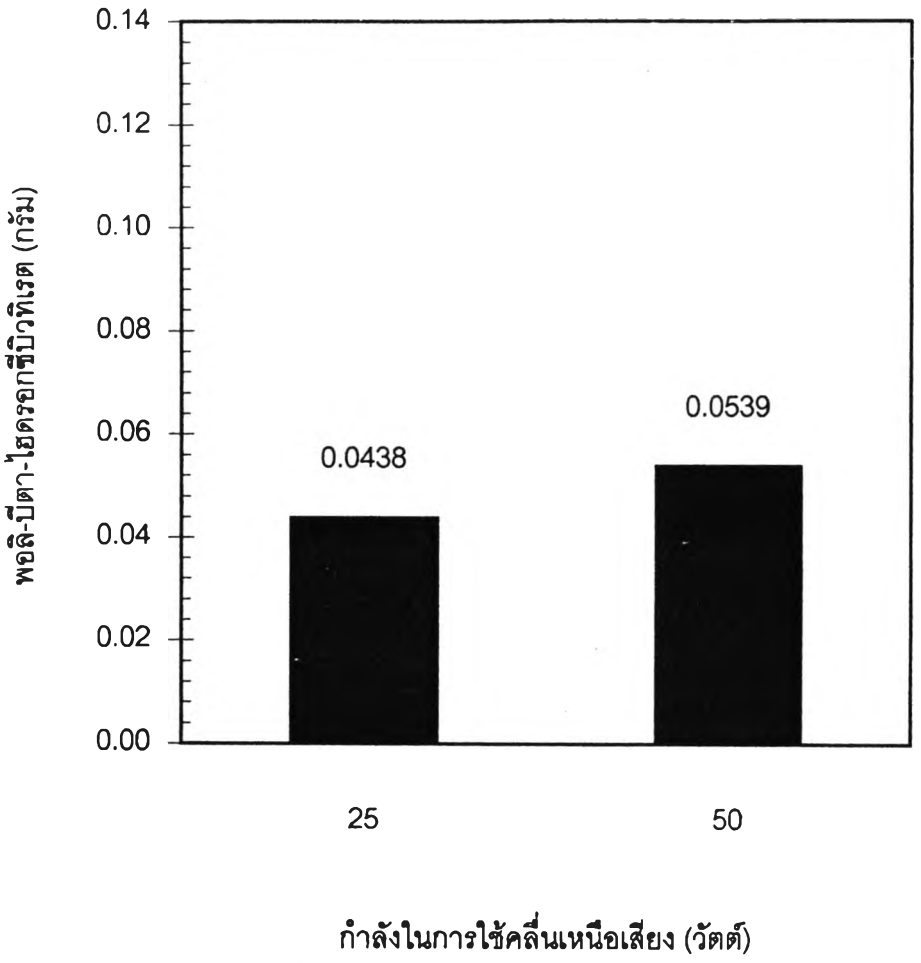
จากการศึกษาการย่อยเซลล์ทั้ง 3 วิธี โดยเปรียบเทียบปริมาณพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตที่สกัดได้ จากภาวะที่ดีที่สุดของแต่ละวิธี การย่อยเซลล์ด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์แสดงได้ดังรูปที่ 5.5 พบว่า ที่ความเข้มข้นสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์เป็น 30 เปอร์เซ็นต์ปริมาตรต่อปริมาตร จะสกัดได้ปริมาณพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตสูงสุดคือ 0.1215 กรัม ที่เวลา 5 นาที การย่อยเซลล์ด้วยโฮโมจิไนเซอร์ แสดงได้ดังรูปที่ 5.6 จะสกัดได้ปริมาณพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตสูงสุดคือ 0.0861 กรัม ที่เวลา 5 นาที และการย่อยเซลล์ด้วยคลื่นเหนือเสียง แสดงได้ดังรูปที่ 5.7 จะสกัดได้ปริมาณพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตสูงสุดคือ 0.0539 กรัม ที่เวลา 10 นาที ดังนั้นเมื่อเปรียบเทียบกันทั้ง 3 วิธีแล้ว แสดงได้ดังรูปที่ 5.8 จะเห็นได้ว่าการใช้สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ที่ 30 เปอร์เซ็นต์ปริมาตรต่อปริมาตร ที่เวลา 5 นาที จะให้ผลการย่อยเซลล์ดีที่สุดโดยการเปรียบเทียบจากอัตราการสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตเริ่มต้น ดังนั้นจะใช้สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ที่ 30 เปอร์เซ็นต์ปริมาตรต่อปริมาตร ที่เวลา 5 นาทีในการทดลองต่อๆไป



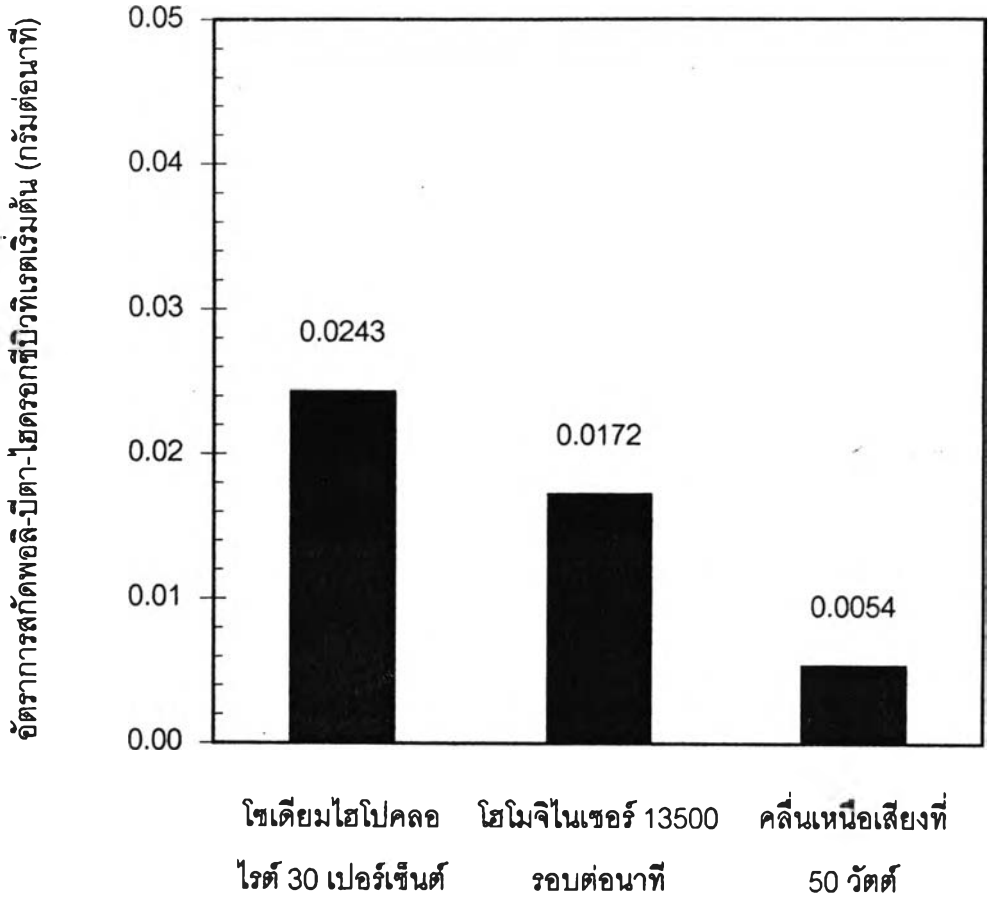
รูปที่ 5.5 แสดงปริมาณการสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตที่ความเข้มข้นสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ต่างกัน ที่เวลา 5 นาที



รูปที่ 5.6 **แสดงปริมาณการสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตที่ความเร็วในการโฮโมจิไนเซอร์ต่างกัน ที่เวลา** 5 **นาที**



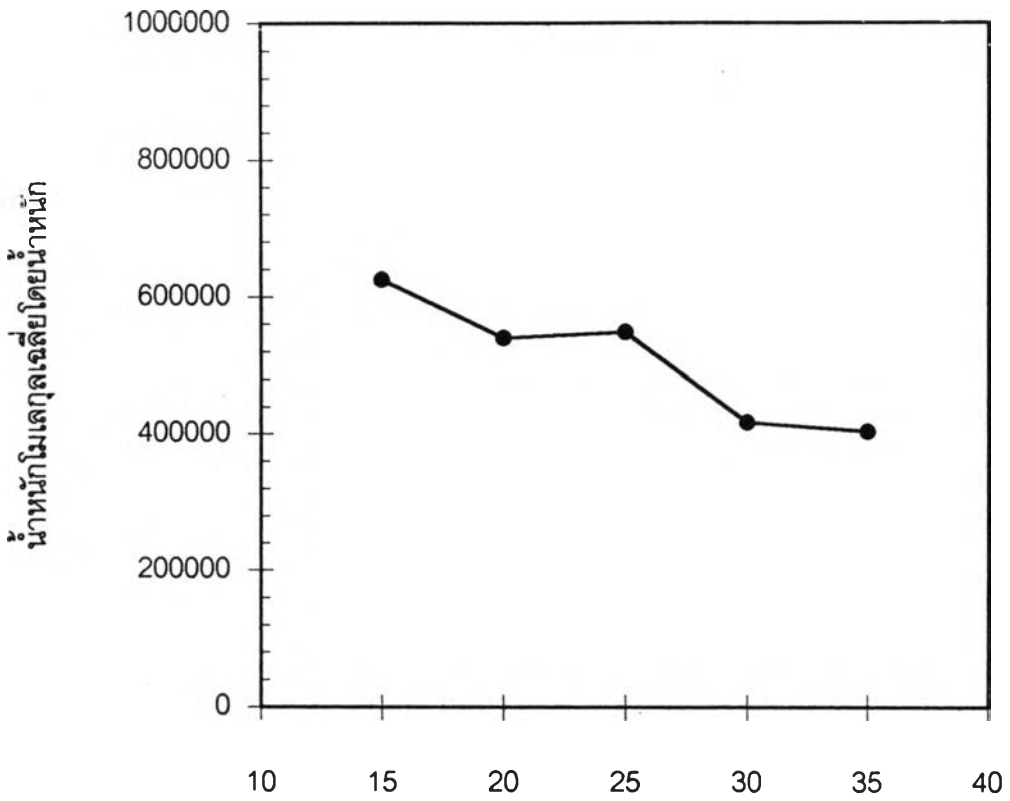
รูปที่ 5.7 แสดงปริมาณการสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตที่กำลังในการใช้คลื่นเหนือเสียงต่างกัน ที่เวลา 10 นาที



รูปที่ 5.8 **แสดงการเปรียบเทียบอัตราการสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตเริ่มต้นจากวิธีการย่อยเซลล์ต่างกัน**

5.2.5 ศึกษาผลการย่อยเซลล์ด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ต่อน้ำหนักโมเลกุล

จากการศึกษาการย่อยเซลล์ด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ต่อน้ำหนักโมเลกุล โดยทำการทดลองที่ความเข้มข้นสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ 15, 20, 25, 30 และ 35 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตรต่อปริมาตร ที่เวลา 5 นาที ผลการทดลองแสดงได้ดังรูปที่ 5.9 พบว่า น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยน้ำหนักจะลดลงตามความเข้มข้นสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ที่เพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่าที่ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์สูงขึ้น จะมีแนวโน้มทำให้สายโซ่โมเลกุลของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตสั้นลง



รูปที่ 5.9 **แสดงการเปรียบเทียบผลของความเข้มข้นสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ต่อน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยน้ำหนัก**

5.3 การศึกษาการสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตในถังกวนแบบไม่ต่อเนื่อง

การศึกษาในหัวข้อนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตในถังกวนแบบไม่ต่อเนื่อง ซึ่งได้แก่ อัตราส่วนระหว่างวัฏภาคตัวทำละลายต่อวัฏภาคสารละลาย อัตราการกวน และปริมาณเซลล์ในสารละลาย การเปรียบเทียบผลการสกัดวิเคราะห์จากปริมาณพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตที่สกัดได้

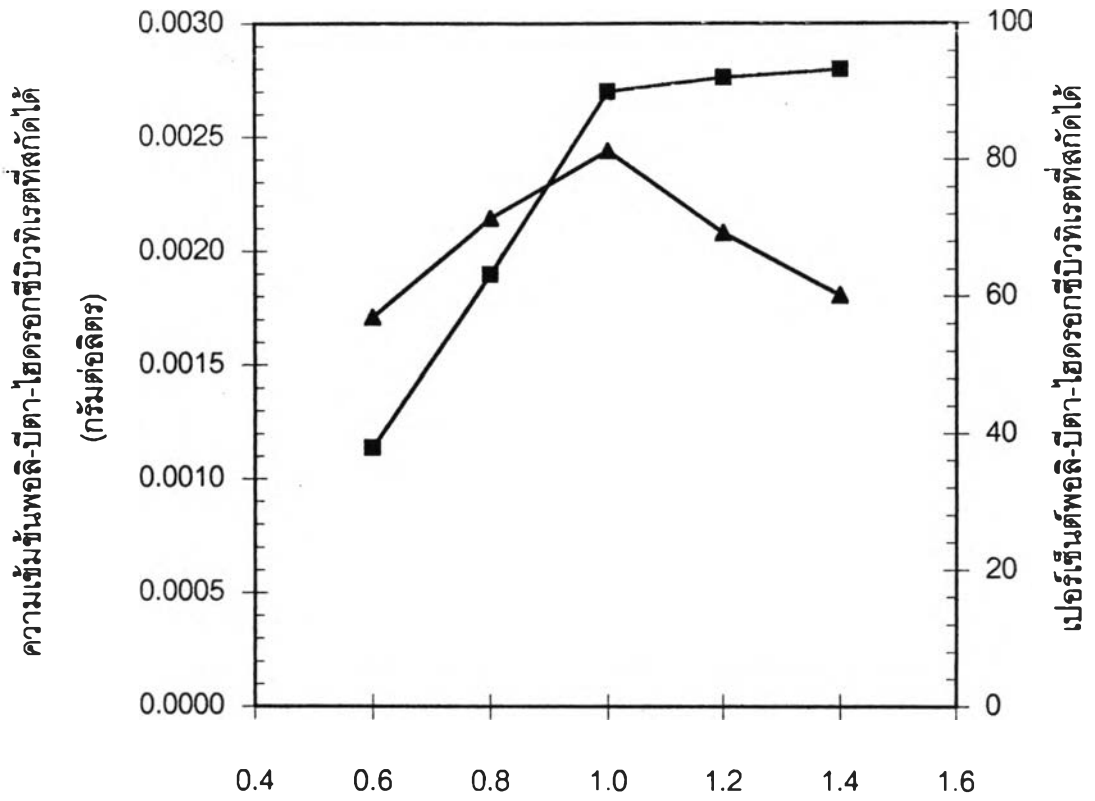
5.3.1 การศึกษาผลของอัตราส่วนระหว่างวัฏภาคตัวทำละลาย (คลอโรฟอร์ม) ต่อวัฏภาคสารละลาย (สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์) ต่อการสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรต

จากการศึกษาผลของอัตราส่วนระหว่างวัฏภาคคลอโรฟอร์มต่อวัฏภาคสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ในการสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรต โดยทำการทดลองที่อัตราส่วนระหว่างคลอโรฟอร์มต่อสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ 0.6, 0.8, 1.0, 1.2, และ 1.4 ตามลำดับ ในถังกวนแบบไม่ต่อเนื่อง ที่อัตราการกวน 450 รอบต่อนาที ที่เวลา 5 นาที ผลการทดลองแสดงได้ดังรูปที่ 5.10 พบว่า ที่อัตราส่วนระหว่างสองวัฏภาคเพิ่มขึ้น อัตราการสกัดต่อมิลลิลิตรต่อนาทีเพิ่มขึ้น และเมื่อคิดเป็นเปอร์เซ็นต์การสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตตามปริมาณคลอโรฟอร์มที่ใช้ พบว่า เปอร์เซ็นต์การสกัดเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจนกระทั่งถึงที่อัตราส่วนระหว่างสองวัฏภาคเท่ากับ 1.0 เนื่องจากการเพิ่มปริมาณคลอโรฟอร์มทำให้ค่า ϕ เพิ่มขึ้น แสดงได้ดังตารางที่ 5.1 เป็นผลให้ค่า a เพิ่มขึ้นตามสมการ 3.18 จึงมีผลให้อัตราการสกัดมากขึ้น ส่วนที่อัตราส่วนระหว่างสองวัฏภาคมากกว่า 1.0 อัตราการสกัดต่อมิลลิลิตรต่อนาทีลดลง เนื่องจากการเพิ่มปริมาณคลอโรฟอร์มมากเกินไปทำให้ค่า ϕ ลดลง เป็นผลให้ค่า a ลดลงด้วย แต่เมื่อคิดเป็นเปอร์เซ็นต์การสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตตามปริมาณคลอโรฟอร์มที่ใช้ พบว่า เปอร์เซ็นต์การสกัดเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย

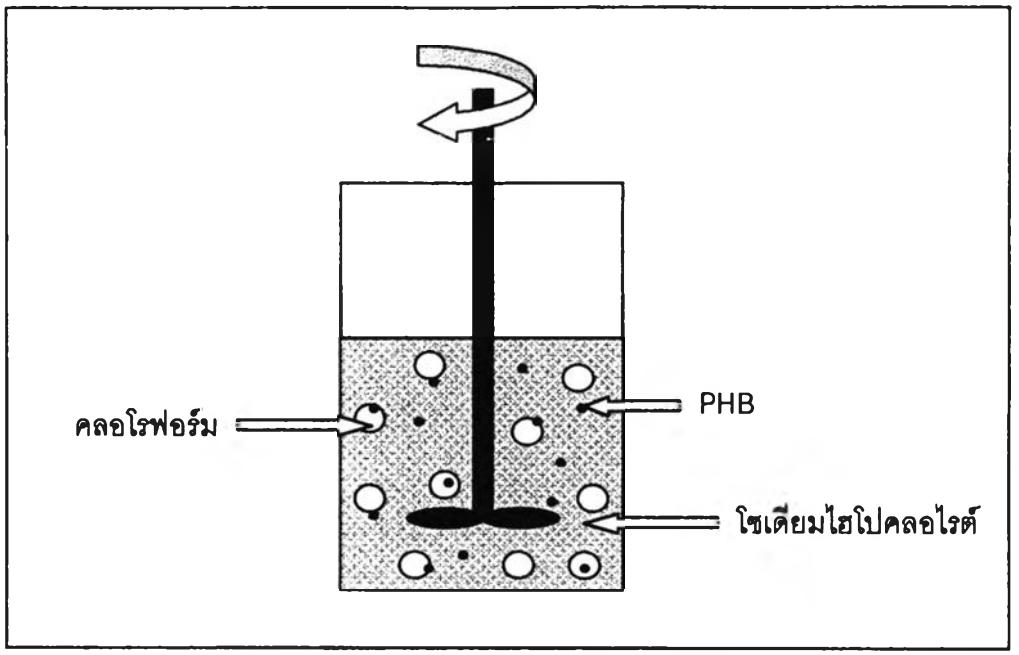
ตารางที่ 5.1 แสดงค่า ϕ และรูปแบบการกระจายตัว ที่เปลี่ยนแปลงไปตามอัตราส่วนระหว่างวัฏภาคคลอโรฟอร์มต่อวัฏภาคสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์

อัตราส่วนระหว่างวัฏภาคคลอโรฟอร์มต่อวัฏภาคสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์	ค่า ϕ	รูปแบบการกระจายตัว
0.6	0.3750	ตามรูป 5.11
0.8	0.4444	ตามรูป 5.11
1.0	0.5000	ตามรูป 5.11
1.2	0.4545	ตามรูป 5.12
1.4	0.4167	ตามรูป 5.12

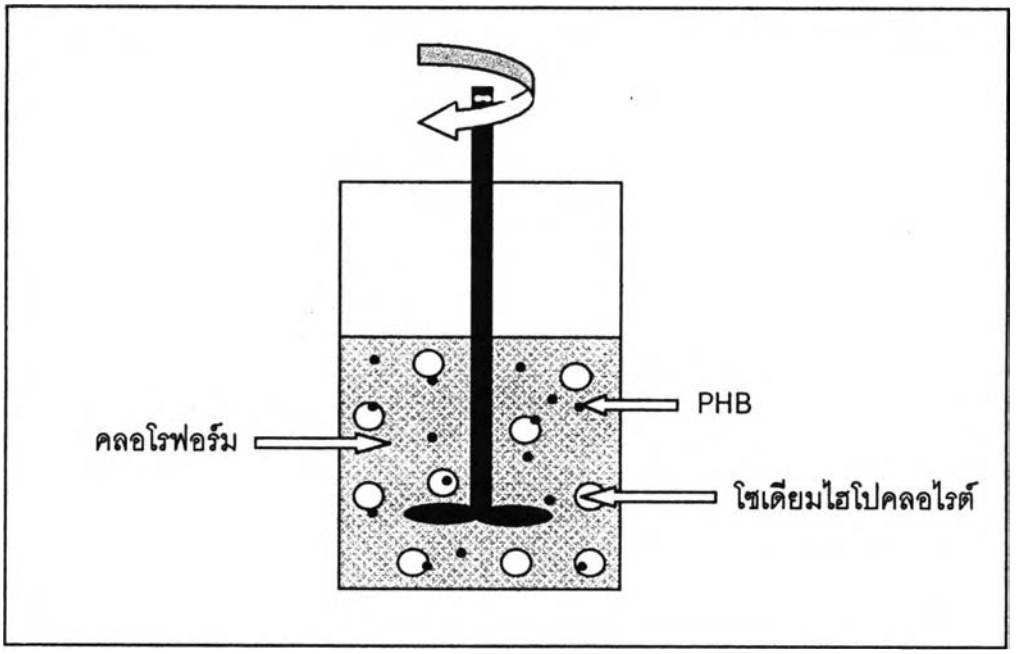
แต่เมื่อพิจารณาถึงการทดลองนี้ ต้องตั้งอยู่บนสมมติฐานว่าต้องเกิดการกวนเป็นอย่างดีทั้งสองวัฏภาค (well mixed) เพื่อให้เกิดชั้นฟิล์มบางที่สุดทั้งสองวัฏภาคจะได้ค่า K_{L_1} และ K_{L_2} มีค่ามากๆ นั่นคืออัตราการสกัดจะเกิดขึ้นเร็วมาก โดยพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตจะละลายเข้าไปในคลอโรฟอร์มทันที ดังนั้นตัวแปรที่มีผลต่ออัตราการสกัดจะอยู่ที่ค่าพื้นที่ผิวสัมผัสจำเพาะ (a) เป็นสำคัญ และจากการศึกษาผลของอัตราส่วนระหว่างสองวัฏภาค ต่อความเข้มข้นของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตที่สกัดได้ พบว่า ที่อัตราส่วนระหว่างสองวัฏภาคเท่ากับ 1.0 จะสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตได้ความเข้มข้นสูงสุด แสดงได้ดังรูปที่ 5.13 และเมื่ออัตราส่วนระหว่างสองวัฏภาคมากกว่า 1.0 จะสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตได้ความเข้มข้นลดลง เพราะว่าการเพิ่มปริมาณคลอโรฟอร์มเป็นการเจือจาง เนื่องจากว่าปริมาณพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตที่สกัดได้เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ดังนั้นในการทดลองต่อไปในถังกวนแบบไม่ต่อเนื่อง จะทำการทดลองโดยใช้อัตราส่วนระหว่างวัฏภาคคลอโรฟอร์มต่อวัฏภาคสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์เท่ากับ 1.0



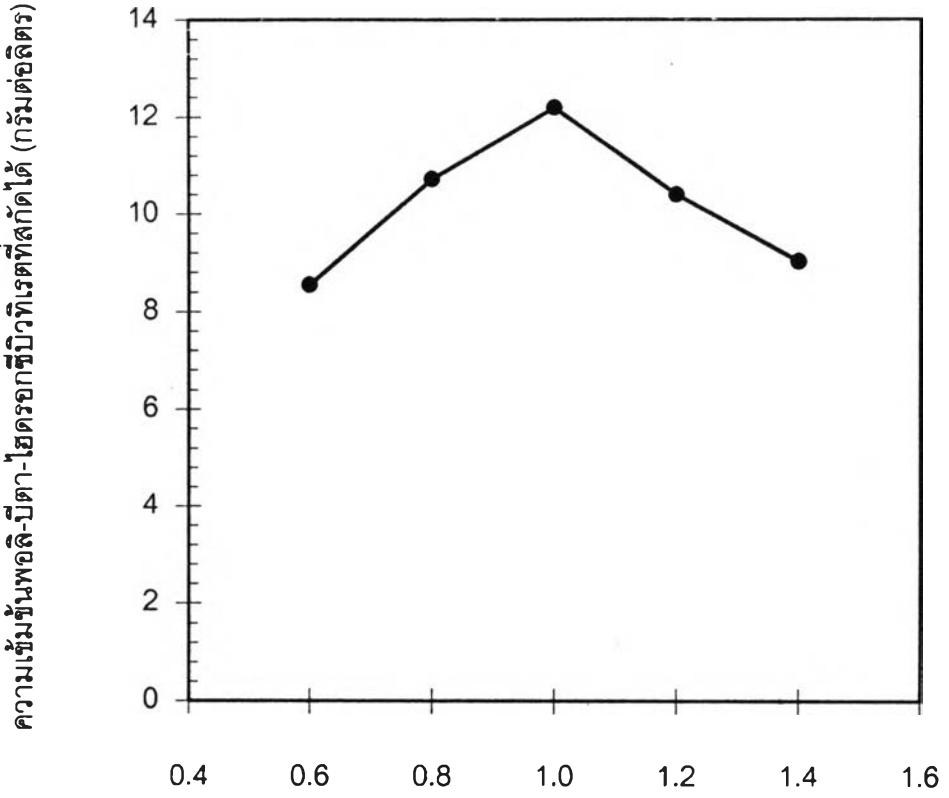
รูปที่ 5.10 **แสดงผลของอัตราส่วนระหว่างวัฏภาคคลอโรฟอร์มต่อวัฏภาคสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ต่ออัตราและเปอร์เซ็นการสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตจากถังกวนแบบไม่ต่อเนื่อง**



รูปที่ 5.11 แสดงการกระจายตัวของวัฏภาคคลอโรฟอร์มในวัฏภาคสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์



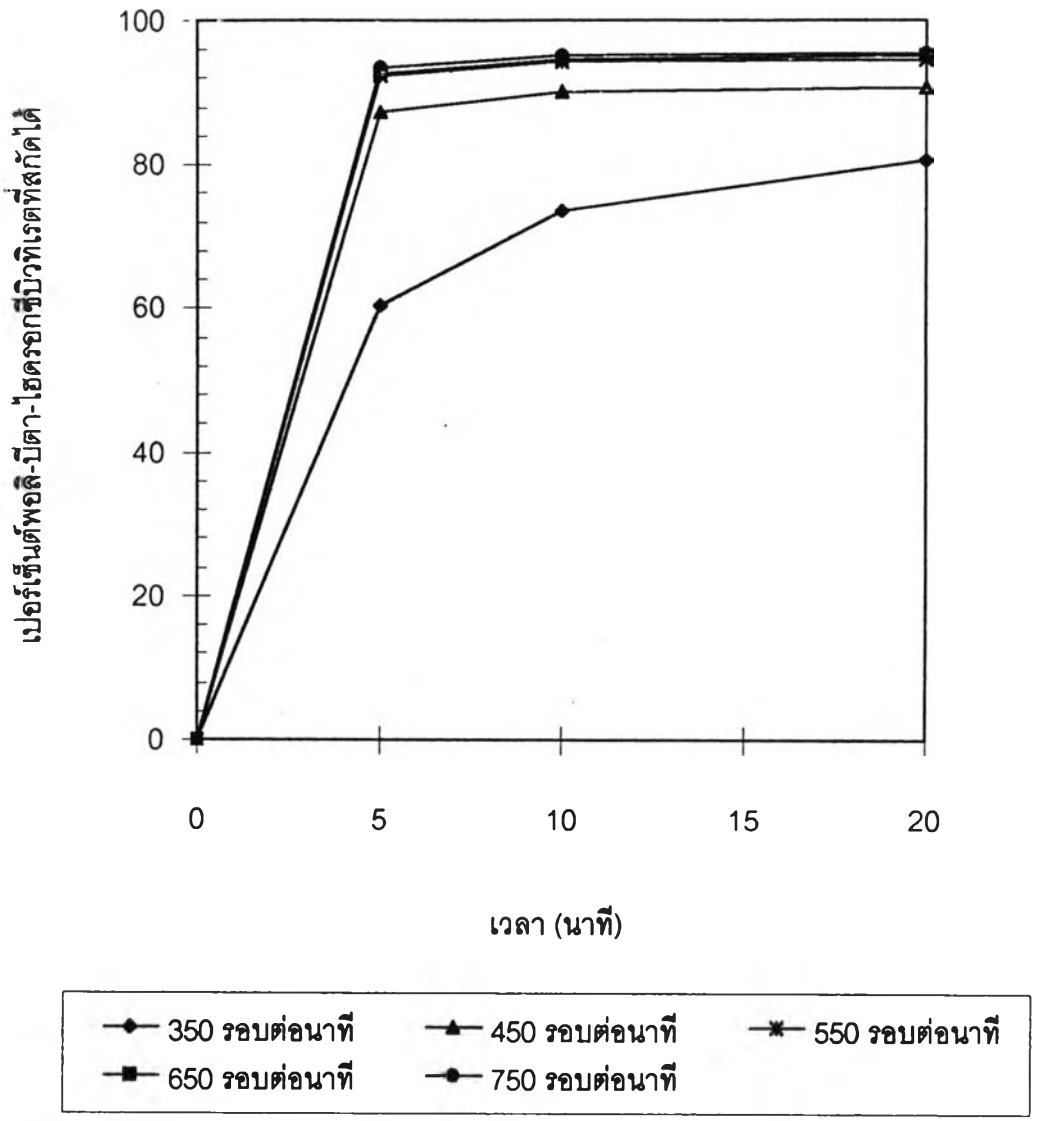
รูปที่ 5.12 แสดงการกระจายตัวของวัฏภาคสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ในวัฏภาคคลอโรฟอร์ม



ปที่ 5.13 แสดงผลของอัตราส่วนระหว่างวัฏภาคคลอโรฟอร์มต่อวัฏภาคสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ต่อความเข้มข้นพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตที่สกัดได้

5.3.2 การศึกษาผลของอัตราการกวนในการสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตจากถังกวนแบบไม่ต่อเนื่อง

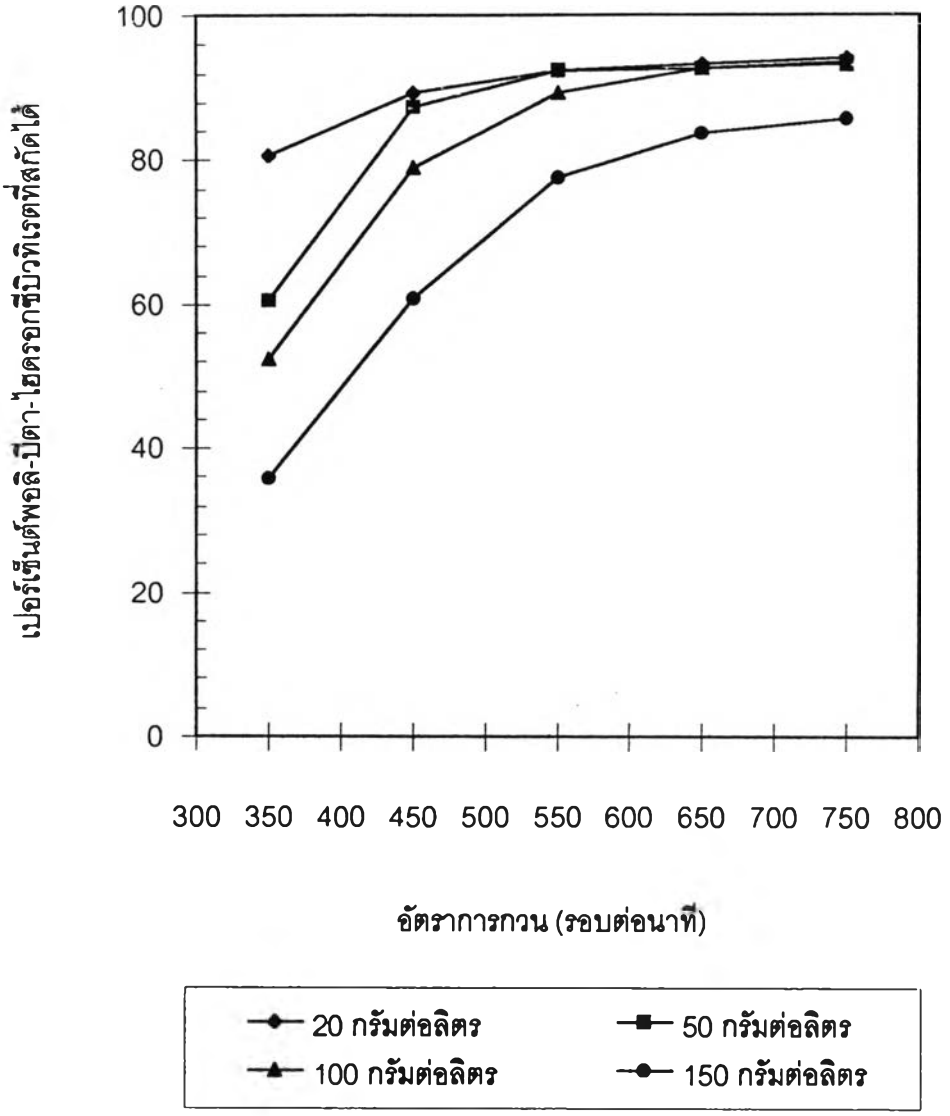
จากการศึกษาผลของอัตราการกวนในการสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตจากถังกวนแบบไม่ต่อเนื่อง โดยทำการทดลองที่อัตราการกวน 350, 450, 550, 650, และ 750 รอบต่อนาที ที่อัตราส่วนระหว่างสองวัฏภาคเป็น 1.0 ที่เวลา 5, 10, และ 20 นาทีตามลำดับ ผลการทดลองแสดงได้ดังรูปที่ 5.14 พบว่า เปอร์เซ็นต์การสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตจะเพิ่มขึ้นตามอัตราการกวนที่เพิ่มขึ้น ไปจนถึงที่อัตราการกวน 550 รอบต่อนาที เนื่องจากการเพิ่มอัตราการกวนจะเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสจำเพาะ (a) ตามสมการที่ 3.18 เป็นผลให้สามารถสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตได้มากขึ้น แต่เมื่ออัตราการกวนเกิน 550 รอบต่อนาทีแล้ว จะได้เปอร์เซ็นต์การสกัดไม่เพิ่มขึ้น หรือเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากที่อัตราการกวน 550 รอบต่อนาที เป็นอัตราการกวนสูงที่สุดที่จะทำให้อนุภาคมีขนาดเล็กที่สุดแล้ว ถึงแม้จะกวนต่อไปก็ไม่ทำให้อนุภาคเล็กไปกว่านี้ได้อีก และจะเห็นว่าที่เวลา 5 นาที จะได้อัตราการสกัดสูงสุด และเมื่อเวลาผ่านไปอัตราการสกัดจะลดลง ทั้งนี้เป็นเพราะแรงขับเนื่องจากความเข้มข้นลดลง



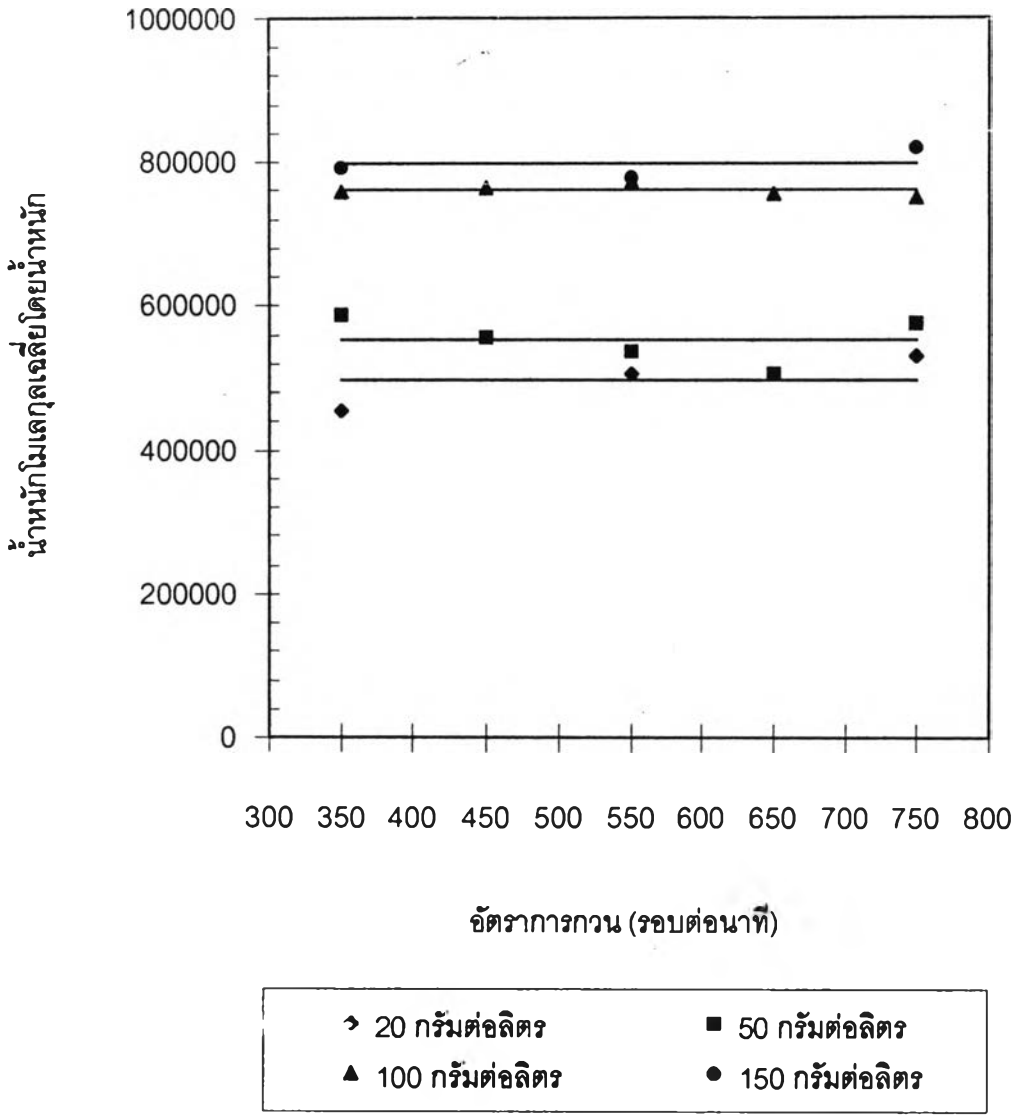
รูปที่ 5.14 แสดงผลของอัตราการกวนต่อการสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตใน ถังกวนแบบไม่ต่อเนื่อง

5.3.3 การศึกษาผลของปริมาณเซลล์ในสารละลายที่เหมาะสมในการสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตจากถังกวนแบบไม่ต่อเนื่อง

จากการศึกษาผลของปริมาณเซลล์ในสารละลายที่เหมาะสมในการสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตจากถังกวนแบบไม่ต่อเนื่อง โดยทำการทดลองที่ปริมาณเซลล์ 1.0, 2.5, 5.0 และ 7.5 กรัม (คิดเป็นความเข้มข้นเซลล์เท่ากับ 20, 50, 100 และ 150 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ) ที่อัตราการกวน 350, 450, 550, 650, และ 750 รอบต่อนาทีตามลำดับ ที่อัตราส่วนระหว่างสองวัฏภาคเป็น 1.0 และที่เวลา 5 นาที ผลการทดลองแสดงได้ดังรูปที่ 5.15 พบว่า เปอร์เซ็นต์การสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตจะเพิ่มขึ้นเมื่ออัตราการกวนเพิ่มขึ้น และจะได้เปอร์เซ็นต์การสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตเพิ่มขึ้น เมื่อใช้ปริมาณเซลล์ 7.5, 5.0, 2.5 และ 1.0 กรัมตามลำดับ อธิบายได้ว่าที่ปริมาณเซลล์น้อยๆ สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์จะส่งผลต่อการย่อยเซลล์ได้มากกว่าที่ปริมาณเซลล์มากๆ ทำให้ได้เปอร์เซ็นต์การสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตมาก แต่จะได้น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยน้ำหนักน้อยลงไปด้วย เนื่องจากผลของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ ผลการทดลองแสดงได้ดังรูปที่ 5.16 นอกจากนี้ยังพบว่าอัตราการกวนไม่มีผลต่อน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยน้ำหนัก อย่างไรก็ตามที่ปริมาณเซลล์ 5.0 กรัม (คิดเป็นความเข้มข้นเซลล์เท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร) และอัตราการกวนที่ 550 รอบต่อนาที จะให้เปอร์เซ็นต์การสกัดที่เหมาะสมเท่ากับ 89 เปอร์เซ็นต์ของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตทั้งหมด ซึ่งจะได้นำไปใช้ในการทดลองอื่นต่อไป



รูปที่ 5.15 **แสดงผลของความเข้มข้นเซลล์ต่อการสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตใน ถังกวนแบบไม่ต่อเนื่อง ที่อัตราการกวนต่างกัน**



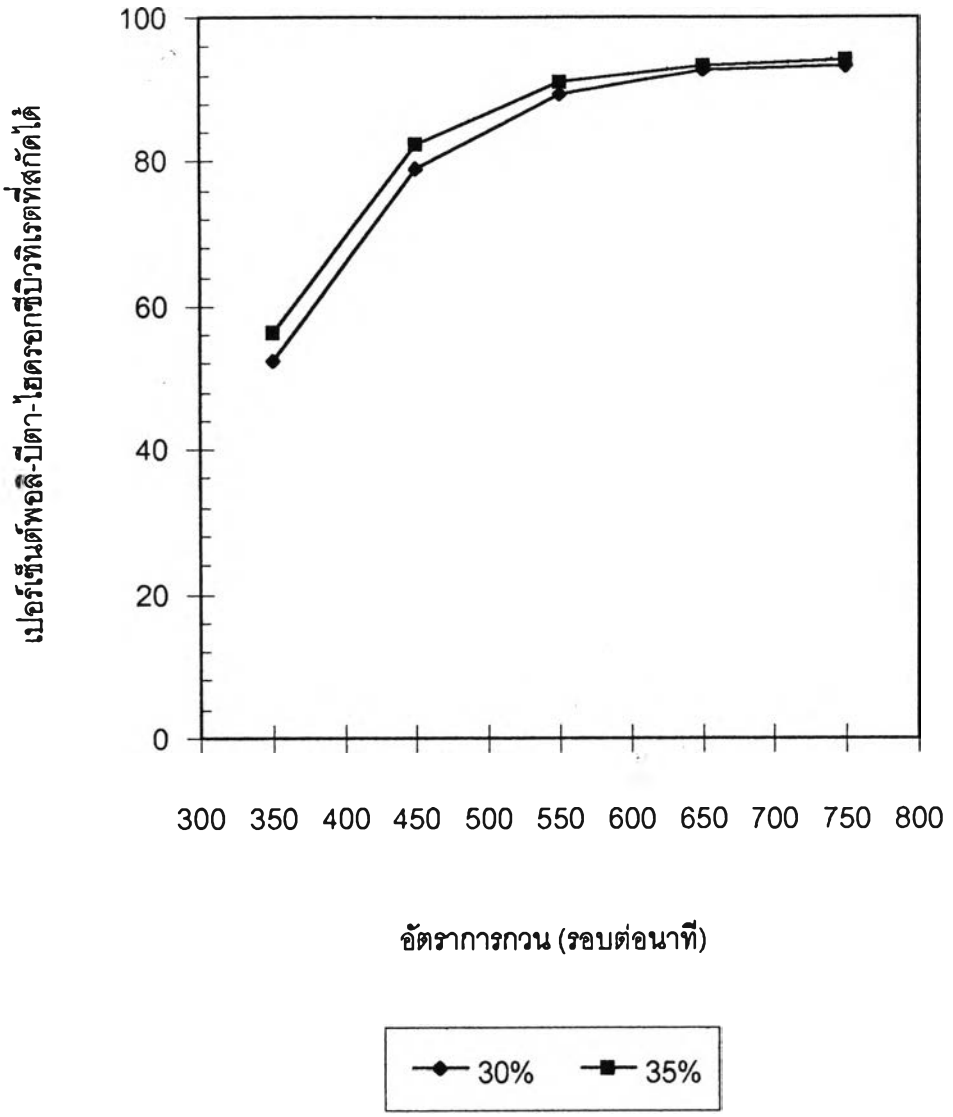
รูปที่ 5.16 แสดงผลของความเข้มข้นเซลล์ต่อน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยน้ำหนักจากการสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตในถังกวนแบบไม่ต่อเนื่อง ที่อัตราการกวนต่างกัน

5.4 การศึกษา shielding effect ของคลอโรฟอร์มในการสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตจากถังกวนแบบไม่ต่อเนื่อง และความบริสุทธิ์ของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตที่สกัดได้

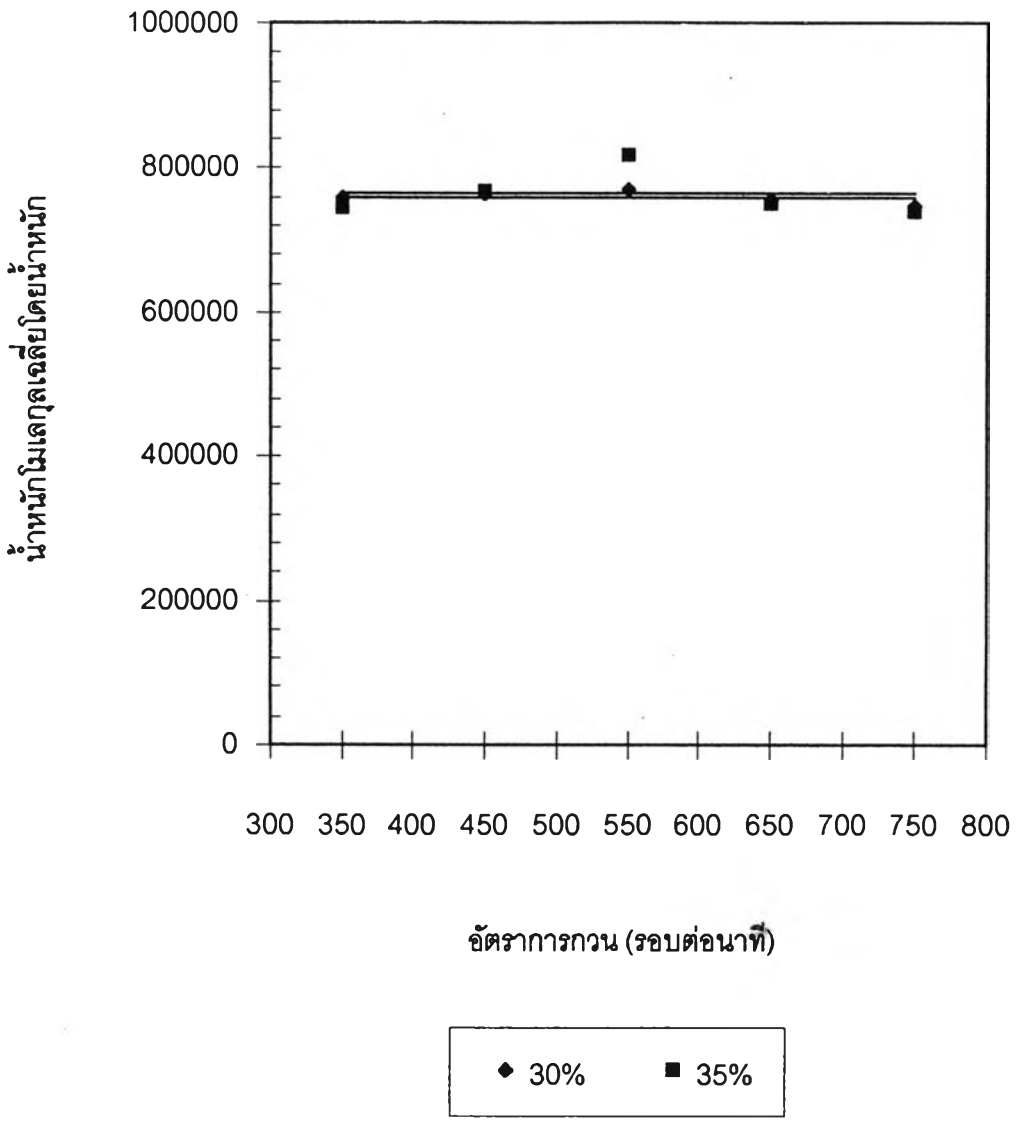
การศึกษาในหัวข้อนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์พอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตที่สกัดได้ และน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยน้ำหนักที่ได้จากการทดลองในส่วนของการย่อยเซลล์ก่อนการสกัดและในส่วนของการย่อยเซลล์พร้อมๆกับการสกัด และความบริสุทธิ์ของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตที่สกัดได้

จากการศึกษา shielding effect ของคลอโรฟอร์มในการสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตจากถังกวนแบบไม่ต่อเนื่อง โดยทำการทดลองที่ความเข้มข้นสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์เป็น 30 และ 35 เปอร์เซ็นต์ปริมาตรต่อปริมาตร ที่อัตราการกวน 350, 450, 550, 650, และ 750 รอบต่อนาทีตามลำดับ ที่เวลา 5 นาที ผลการทดลองแสดงได้ดังรูปที่ 5.17 พบว่า เปอร์เซ็นต์การสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรต ที่ความเข้มข้นสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์เป็น 35 เปอร์เซ็นต์ปริมาตรต่อปริมาตร จะมากกว่าที่ 30 เปอร์เซ็นต์อยู่เล็กน้อยที่อัตราการกวนเดียวกัน ซึ่งให้ผลตรงข้ามกับการทดลองในส่วนของการย่อยเซลล์ก่อนการสกัด (ที่ความเข้มข้นสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ 35 เปอร์เซ็นต์ปริมาตรต่อปริมาตร จะได้เปอร์เซ็นต์การสกัดน้อยกว่า) ทั้งนี้เป็นผลมาจาก shielding effect ของคลอโรฟอร์ม ซึ่งการย่อยเซลล์และการสกัดจะเกิดขึ้นพร้อมกัน ทำให้พอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตที่หลุดออกมานอกเซลล์จะถูกส่งผ่านเข้าไปยังวัฏภาคของคลอโรฟอร์มทันที จึงทำให้มีโอกาสสัมผัสกับสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ได้น้อยลง ในขณะที่การย่อยเซลล์ก่อนแล้วจึงทำการสกัดทีหลัง จะทำให้พอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตบางส่วนอาจถูกทำลาย เนื่องจากมีโอกาสสัมผัสกับสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ได้นานกว่า เมื่อพิจารณาถึงน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยน้ำหนักที่ได้ ดังแสดงในรูปที่ 5.18 พบว่าการสกัดโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ 30 และ 35 เปอร์เซ็นต์ปริมาตรต่อปริมาตร ที่อัตราการกวนต่างกัน จะให้ค่าน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยน้ำหนักใกล้เคียงกันที่ประมาณ 760000 ในขณะที่ทำการย่อย

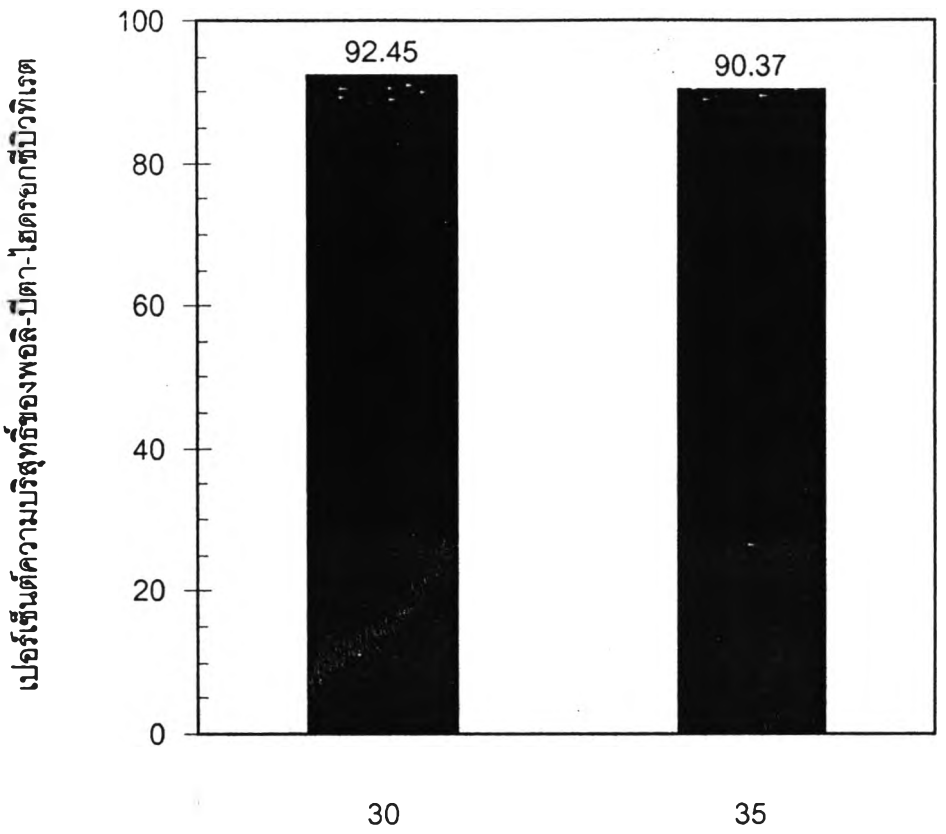
เซลล์ก่อนการสกัดที่ภาวะสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ 30 และ 35 เปอร์เซ็นต์ปริมาตรต่อปริมาตร เหมือนกัน จะให้ค่าน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยน้ำหนักใกล้เคียงกันเช่นเดียวกัน ที่ประมาณ 410000 (แสดงได้ดังรูปที่ 5.9) ดังนั้นการสกัดโดยย่อยเซลล์ไปพร้อมๆกันจะเหมาะสมกว่า เพราะจะได้น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยน้ำหนักสูงกว่า เนื่องจากผลของ shielding effect จากคลอโรฟอร์ม ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Hahn และคณะ (1994) และเนื่องจากความบริสุทธิ์ของพอลิเมอร์นั้นมีความสำคัญต่อการนำไปใช้งาน จึงได้ทำการทดลองเปรียบเทียบความบริสุทธิ์ของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตที่สกัดได้ จากการใช้สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ 30 และ 35 เปอร์เซ็นต์ปริมาตรต่อปริมาตรตามลำดับ ที่อัตราการกวน 550 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ผลการทดลองแสดงได้ดังรูปที่ 5.19 พบว่า ที่ความเข้มข้นสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์เท่ากับ 30 เปอร์เซ็นต์ปริมาตรต่อปริมาตร จะให้ค่าความบริสุทธ์ของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตสูงกว่า เนื่องจากที่ความเข้มข้นสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์เท่ากับ 35 เปอร์เซ็นต์ปริมาตรต่อปริมาตร สามารถย่อยเซลล์ได้ดีกว่าทำให้มีซากเซลล์เจือปนอยู่กับพอลิเมอร์ที่สกัดได้มากกว่า ทำให้ได้ความบริสุทธิ์ของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตลดลง ดังนั้นความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ที่เหมาะสมสำหรับการสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตในถังกวนแบบไม่ต่อเนื่องคือ 30 เปอร์เซ็นต์ปริมาตรต่อปริมาตร



รูปที่ 5.17 แสดงผลของความเข้มข้นสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ต่อการสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตในถังกวนแบบไม่ต่อเนื่องที่อัตราการกวนต่างกัน



รูปที่ 5.18 แสดงผลของความเข้มข้นสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ต่อน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยน้ำหนักในถังกวนแบบไม่ต่อเนื่องที่อัตราการกวนต่างกัน



รูปที่ 5.19 แสดงผลของความเข้มข้นสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ต่อความบริสุทธิ์ของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตที่สกัดได้

5.5 การเปรียบเทียบผลการสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตที่ได้จากงานวิจัยนี้กับงานวิจัยที่ผ่านมา

จากงานวิจัยนี้ภาวะที่เหมาะสมในการสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตจากถังกวนแบบไม่ต่อเนื่อง พบว่า สามารถสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตได้ 89 เปอร์เซ็นต์ของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตทั้งหมด ความบริสุทธิ์ของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตเท่ากับ 92.45 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยน้ำหนักเท่ากับ 771675 และดัชนีพอลิดิสเพร์สเท่ากับ 5.09 โดยใช้ความเข้มข้นสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์เท่ากับ 30 เปอร์เซ็นต์ปริมาตรต่อปริมาตร อัตราส่วนระหว่างวัฏภาคเท่ากับ 1.0 อัตราการกวนเท่ากับ 550 รอบต่อนาที และเวลาในการกวนเท่ากับ 5 นาที และนำผลการสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตจากถังกวนแบบไม่ต่อเนื่องจากภาวะที่เหมาะสมทำการเปรียบเทียบกับงานวิจัยที่ผ่านมา แสดงได้ดังตารางที่ 5.2 และเมื่อเปรียบเทียบงานวิจัยนี้กับงานวิจัยที่ใกล้เคียงกันของ Hahn และคณะ (1994) พบว่า การสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตจากงานวิจัยนี้ จะให้เปอร์เซ็นต์ความบริสุทธิ์น้อยกว่า เปอร์เซ็นต์การสกัดใกล้เคียงกัน น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยน้ำหนักน้อยกว่า และดัชนีพอลิดิสเพร์สสูงกว่า แต่ในงานวิจัยนี้จะใช้เวลาในการสกัดน้อยกว่ามาก ทั้งนี้เนื่องจากการทดลองในงานวิจัยนี้จะมีการกวนร่วมด้วย จึงทำให้เกิดการกระจายตัวของวัฏภาคสารละลายและวัฏภาคตัวทำละลายได้สม่ำเสมอกว่า เป็นผลให้อัตราการสกัดเกิดขึ้นเร็วกว่า

ตารางที่ 5.2 แสดงผลสรุปการสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตจากเชื้อจุลินทรีย์ และวิธีการสกัดต่างๆกัน

เชื้อจุลินทรีย์	วิธีการสกัด	สารเคมีที่ใช้	เวลา	เปอร์เซ็นต์ความบริสุทธิ์	เปอร์เซ็นต์การสกัด	Mw	PI	รายการอ้างอิง
A.eutrophus	ตัวทำละลาย	Methylene chloride หรือ chloroform	15 นาที	95	-	1050000 และ 930000	-	Ramsey และคณะ (1994)
A.eutrophus DSM 545	สารเคมี	NaOCl	1 ชั่วโมง	95	-	600000	4.5	Berger และคณะ (1989)
A.eutrophus DSM 545	สารเคมี	NaOCl และ surfactant	15 นาที	97-98	-	730000 - 790000	-	Ramsey(1990)
Recombinant *E.coli*	สารเคมี	0.2 *N* NaOH	1 ชั่วโมง	98.5	91.3	1900000	2.68	Choi และ Lee (1998)
A.eutrophus NCIMB 11599	สารเคมีร่วมกับตัวทำละลาย	การกระจายตัวของ NaOCl และ chloroform	1 ชั่วโมง	97	-	1000000	2	Hahn และคณะ (1993)
A.eutrophus NCIMB 11599	สารเคมีร่วมกับตัวทำละลาย	การกระจายตัวของ NaOCl และ chloroform	90 นาที	97	91	1020000	3.48	Hahn และคณะ (1994)
A.eutrophus NCIMB 11599	สารเคมีร่วมกับตัวทำละลาย	การกระจายตัวของ NaOCl และ chloroform	5 นาที	92.45	89	771675	5.09	งานวิจัยนี้

5 6 การศึกษาสมบัติบางประการของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตที่สกัดได้

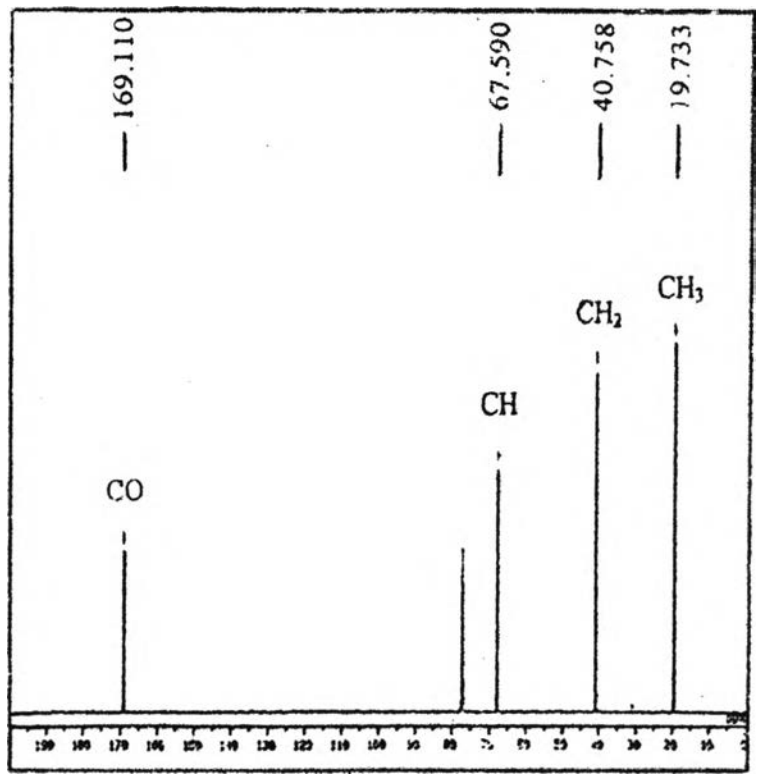
5.6.1 การศึกษาหมู่องค์ประกอบของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตโดยใช้เครื่อง NMR

จากผลการศึกษาหมู่องค์ประกอบของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรต ดังแสดงในรูปที่ 5.20 เพื่อยืนยันว่าสารที่สกัดได้เป็นพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตจริง โดยทำการเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ที่ได้จากการทดลองนี้ กับงานวิจัยของ Yoshiharu Doi และคณะ (1986) ดังแสดงในตารางที่ 5.3 ผลการเปรียบเทียบ พบว่า ตำแหน่งที่เกิดการเรโซแนนซ์เกือบจะเป็นตำแหน่งเดียวกันจึงน่าจะเป็นสารชนิดเดียวกัน ทำให้สรุปได้ว่าสารที่สกัดได้เป็นพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตจริง

ตารางที่ 5.3 แสดงการเปรียบเทียบเรโซแนนซ์ของ ^{13}C ของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตที่ 125 MHz

^{13}C resonance	$\delta\ ^{13}C^{a}$ (Yoshiharu Doi, 1986)	$\delta\ ^{13}C^{a}$ (การทดลองที่ 5.6.1)
CH_3	19.79	19.733
CH_2	40.82	40.758
CH	67.64	67.590
C=O	169.16	169.110

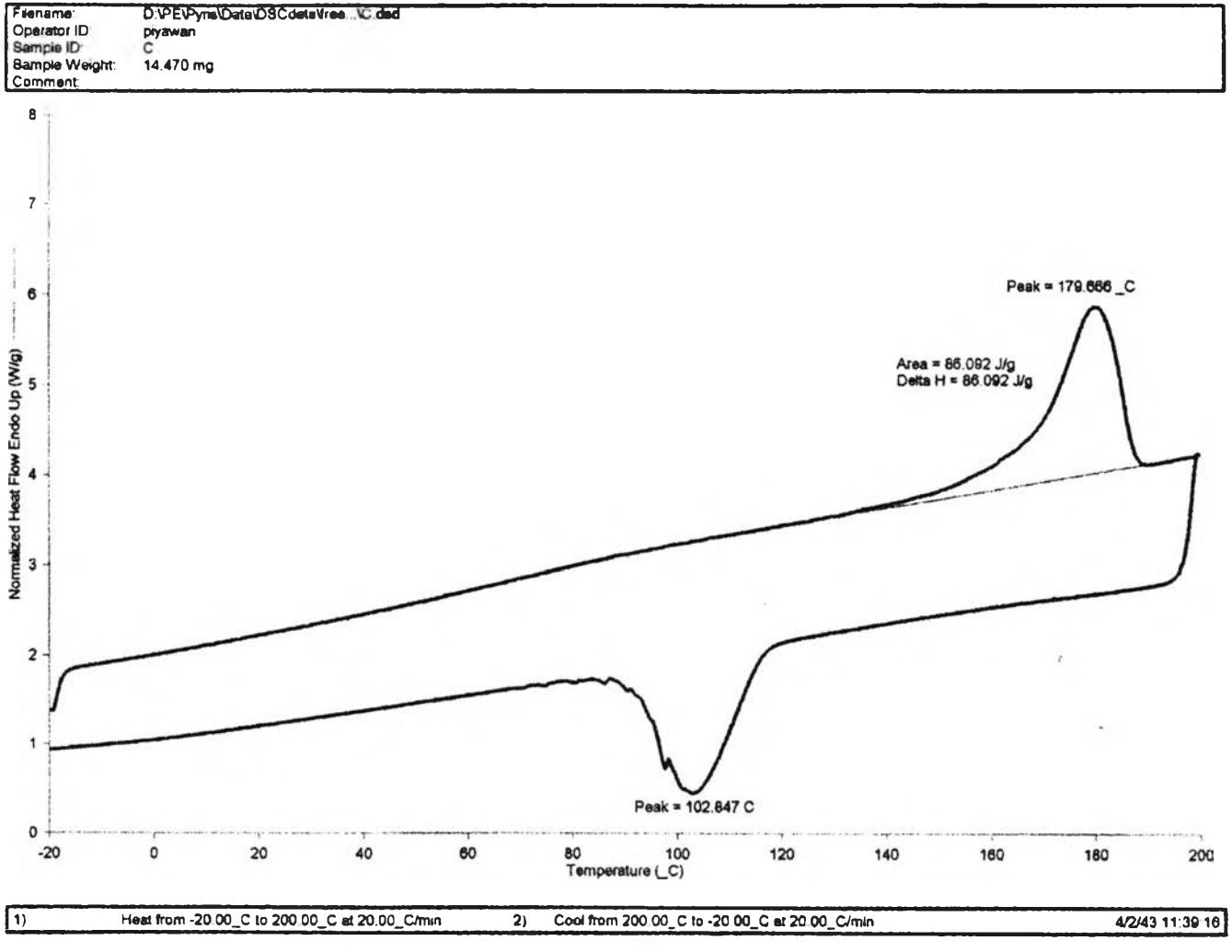
[a]Chemical shifts are in ppm



รูปที่ 5.20 แสดงผลเรโซแนนซ์ของ ^{13}C ของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตที่ 125 MHz โดยใช้ $CDCl_3$ เป็นสารอ้างอิง

5.6.2 การศึกษาอุณหภูมิหลอมตัวผลึก (T_m), อุณหภูมิแข็งตัวของผลึก (T_c) และ พลังงานความร้อนที่ใช้หลอมตัวผลึก (ΔH) ของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตโดยใช้เครื่อง DSC

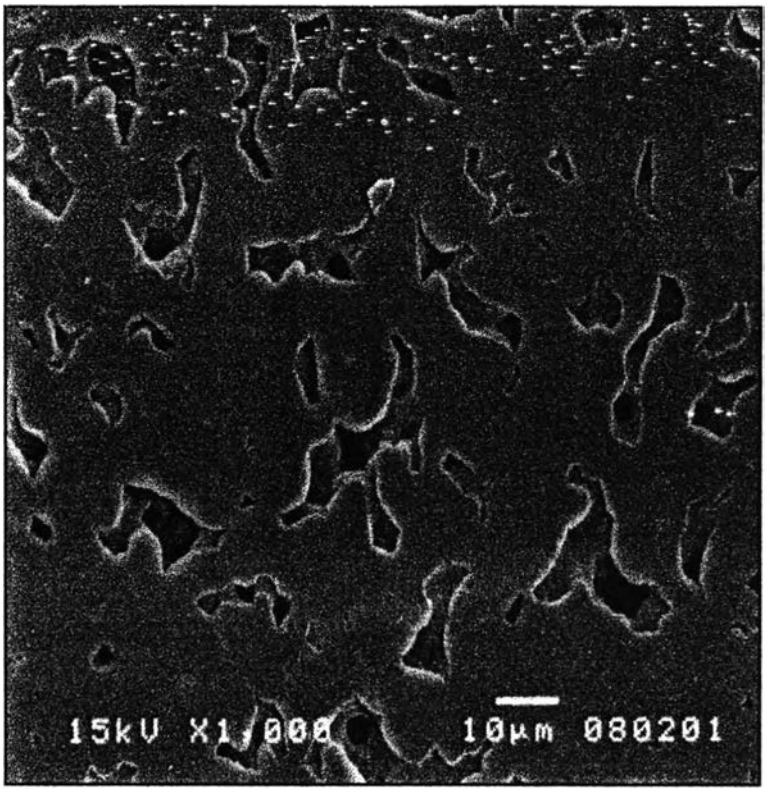
จากผลการทดลองโดยเทคนิค DSC ที่อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสต่อนาที ดังแสดงในรูปที่ 5.21 พบว่า อุณหภูมิหลอมตัวผลึก, T_m ประมาณ 180 องศาเซลเซียส อุณหภูมิแข็งตัวของผลึก, T_c ประมาณ 103 องศาเซลเซียส และปริมาณความร้อนทั้งหมดที่ใช้หลอมตัวผลึก (enthalpy of fusion, ΔH) ประมาณ 86 จูลต่อกรัม และจากค่าปริมาณความร้อนทั้งหมดที่ใช้หลอมตัวผลึก สามารถหาเปอร์เซ็นต์ความเป็นผลึกได้โดยกำหนดให้ปริมาณความร้อนทั้งหมดที่ใช้หลอมตัวผลึกที่ 100 เปอร์เซ็นต์ความเป็นผลึกของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรต ทางทฤษฎีมีค่าเป็น 146 จูลต่อกรัม (Hahn, 1995) ดังนั้นจะหาเปอร์เซ็นต์ความเป็นผลึกของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตได้เท่ากับ 59 เปอร์เซ็นต์



รูปที่ 5.21 แสดงอุณหภูมิหลอมตัวผลึก (T_m), อุณหภูมิแข็งตัวของผลึก (T_c), และปริมาณความร้อนทั้งหมดที่ใช้หลอมตัวผลึก (ΔH)

5.6.3 การศึกษาลักษณะพื้นผิวของแผ่นฟิล์มพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรต

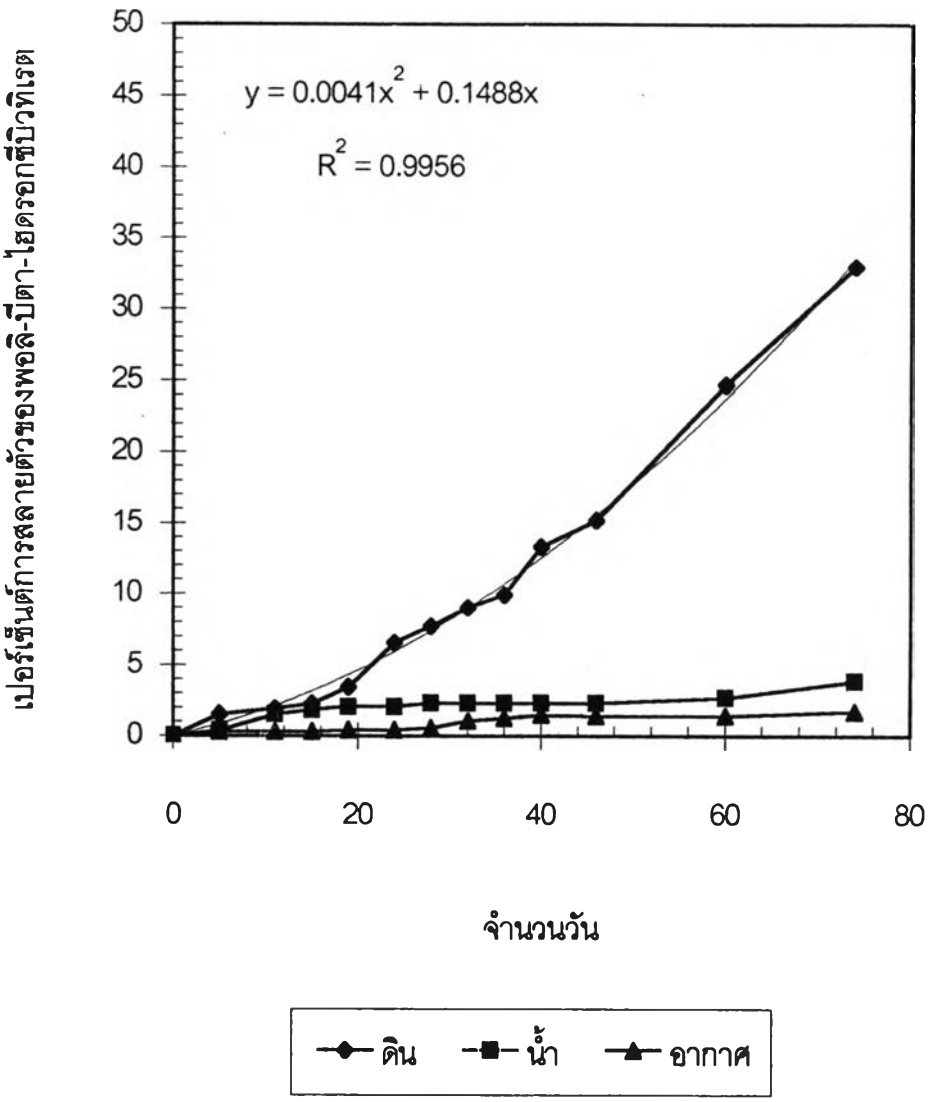
จากผลการศึกษาลักษณะพื้นผิวของแผ่นฟิล์มพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรต ทำการทดลองโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ส่องลงไปบนพื้นผิวของแผ่นฟิล์มพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตที่ได้จากการระเหยคลอโรฟอร์ม ผลการทดลองแสดงได้ดังรูปที่ 5.22 พบว่า พื้นผิวของแผ่นฟิล์มพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตมีลักษณะเป็นรูกระจายเกือบทั่วทั้งแผ่น โดยจะมีขนาดของรูตั้งแต่ประมาณ 1-10 ไมโครเมตร ซึ่งรูที่ได้เกิดจากการระเหยของคลอโรฟอร์ม



รูปที่ 5.22 แสดงผลการใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ส่องลงไปบนพื้นผิวของแผ่นฟิล์มพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตที่ได้จากการระเหยของคลอโรฟอร์ม

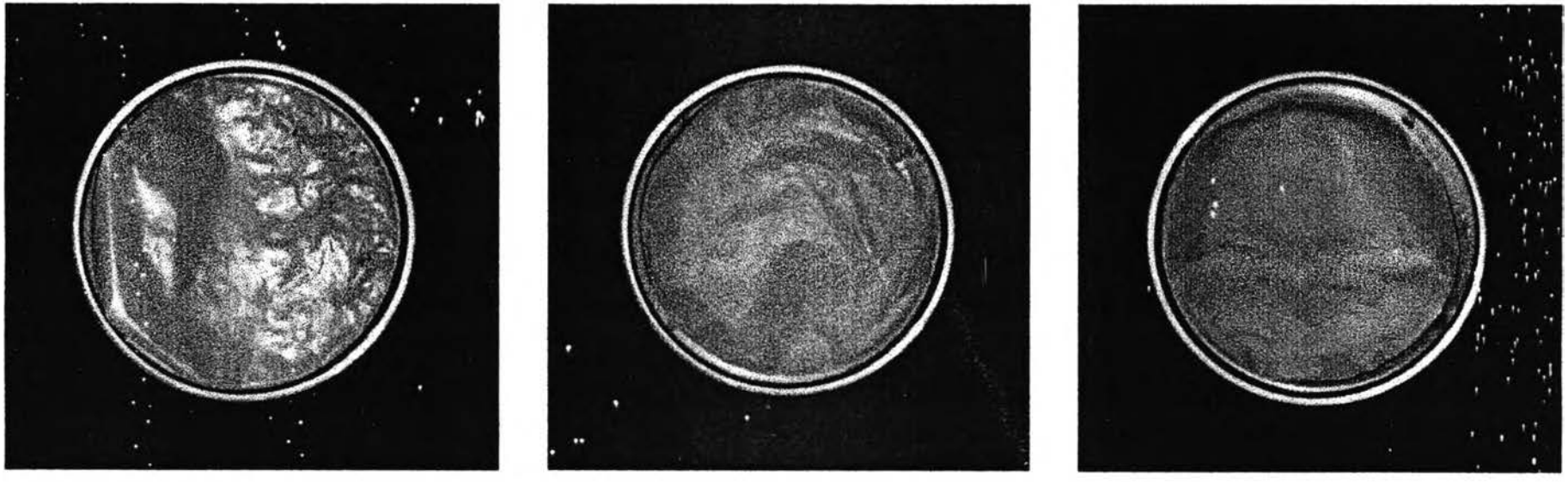
5.6.4 การศึกษาการสลายตัวในสิ่งแวดล้อมต่างๆของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรต

จากผลการศึกษาการสลายตัวของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรต ได้ทำการทดลองโดยนำฟิล์มของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตที่ได้จากการระเหยคลอโรฟอร์มออก จะได้น้ำหนักฟิล์มประมาณ 0.15 กรัม เส้นผ่าศูนย์กลางเท่ากับ 90 มิลลิเมตร และความหนาประมาณ 0.033 มิลลิเมตร ไปไว้ในสิ่งแวดล้อมที่ต่างกันคือ ดิน น้ำ และอากาศ เก็บตัวอย่างมาชั่งน้ำหนักเป็นระยะๆ ผลการทดลองแสดงได้ดังรูปที่ 5.23 และดูการเปลี่ยนแปลงโดยการถ่ายรูปไว้ แสดงได้ดังรูปที่ 5.24 ถึง 5.32 พบว่า พอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตที่อยู่ในดินจะถูกย่อยสลายได้ดีกว่า โดยจะสลายตัวไปประมาณ 1/4 ของน้ำหนักทั้งหมด ภายในเวลา 60 วัน การย่อยสลายของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตสามารถย่อยสลายได้เองในดินที่มีความชื้น เนื่องจากเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซีส (hydrolysis) ซึ่งเป็นไปตามการทดลองของ Scott (Scott, 1995) แสดงได้ดังรูปที่ 5.33 และจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในดินตามธรรมชาติยังสามารถสร้างเอนไซม์ภายนอกออกมาเพื่อย่อยพื้นผิวของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตได้ (Griffin, 1994) และเมื่อนำข้อมูลมาสร้างความสัมพันธ์ระหว่างการย่อยสลายของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตกับเวลา พบว่า พอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตจะสลายตัวหมดภายในเวลา 140 วัน

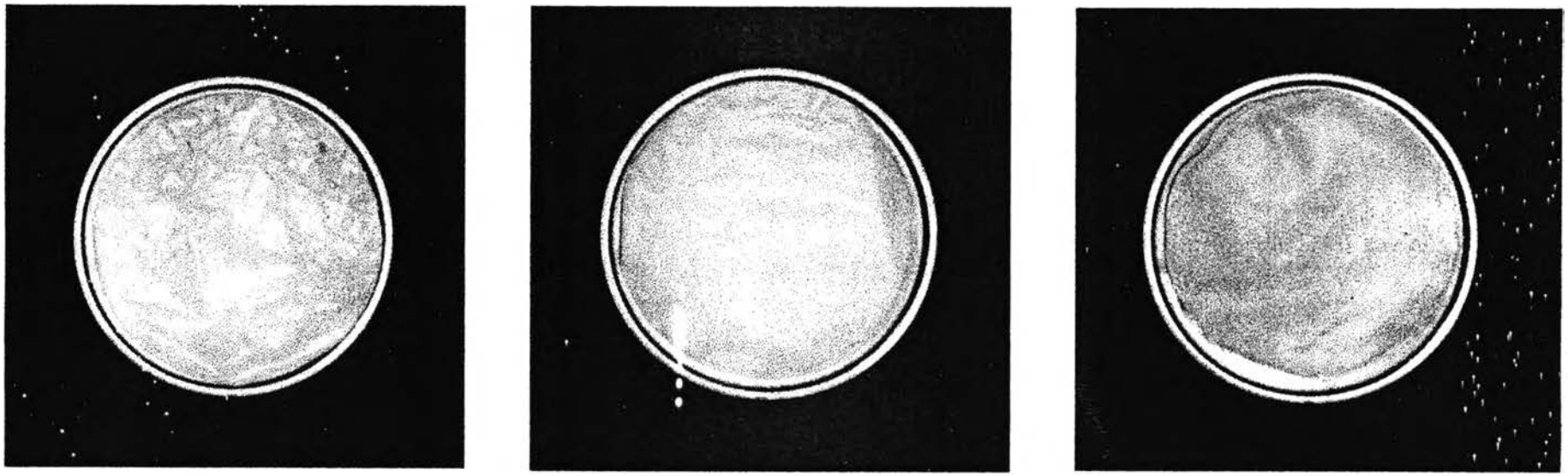


รูปที่ 5.23 **แสดงเปอร์เซ็นต์การสลายตัวของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตต่อจำนวนวันในสิ่งแวดล้อมชนิดต่างๆ**

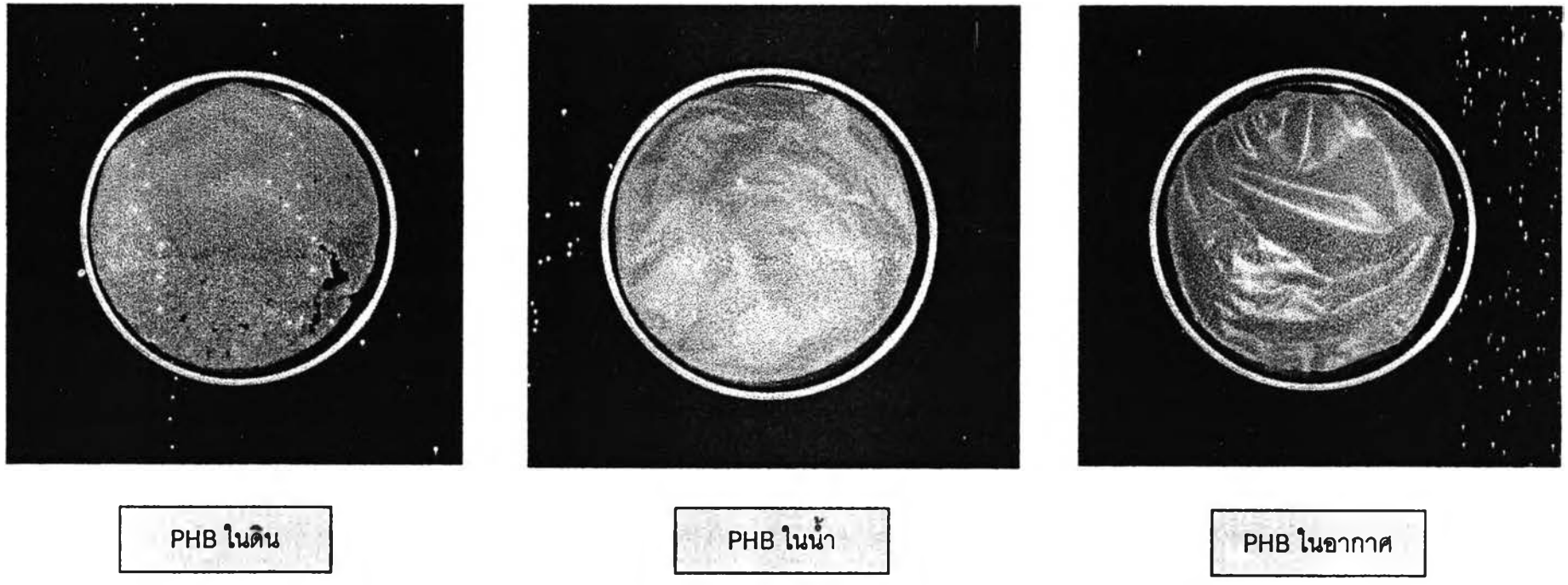
รูปที่ 5.24 แสดงการเปลี่ยนแปลงของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตในสิ่งแวดล้อมชนิดต่างๆในวันที่ 0



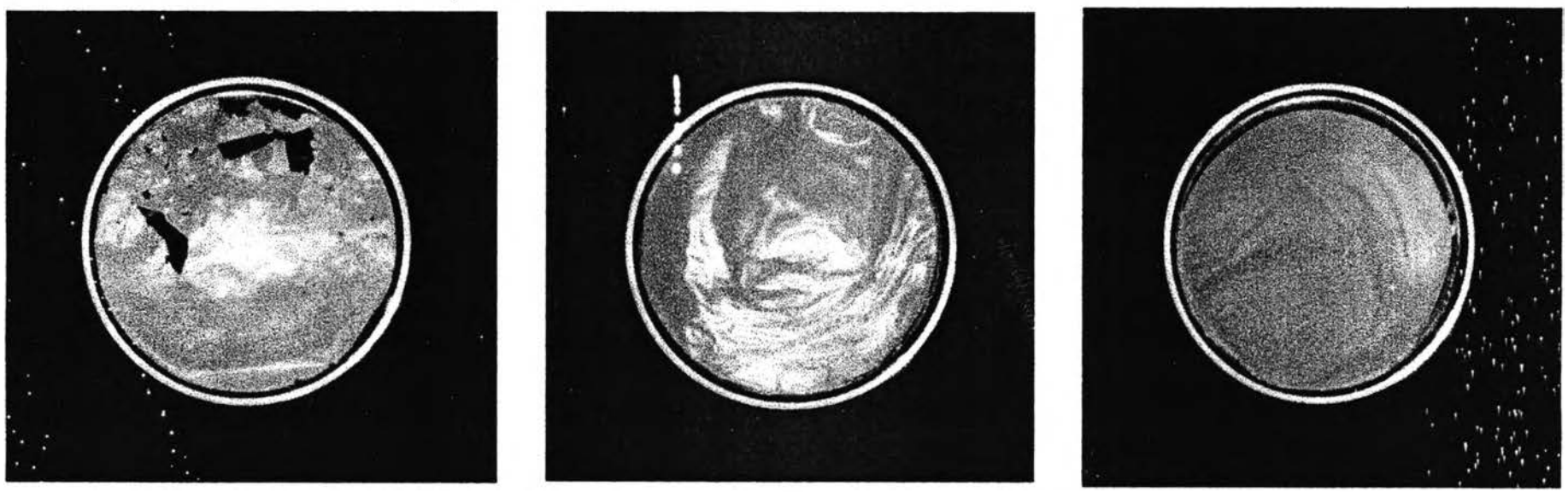
รูปที่ 5.25 แสดงการเปลี่ยนแปลงของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตในสิ่งแวดล้อมชนิดต่างๆในวันที่ 24



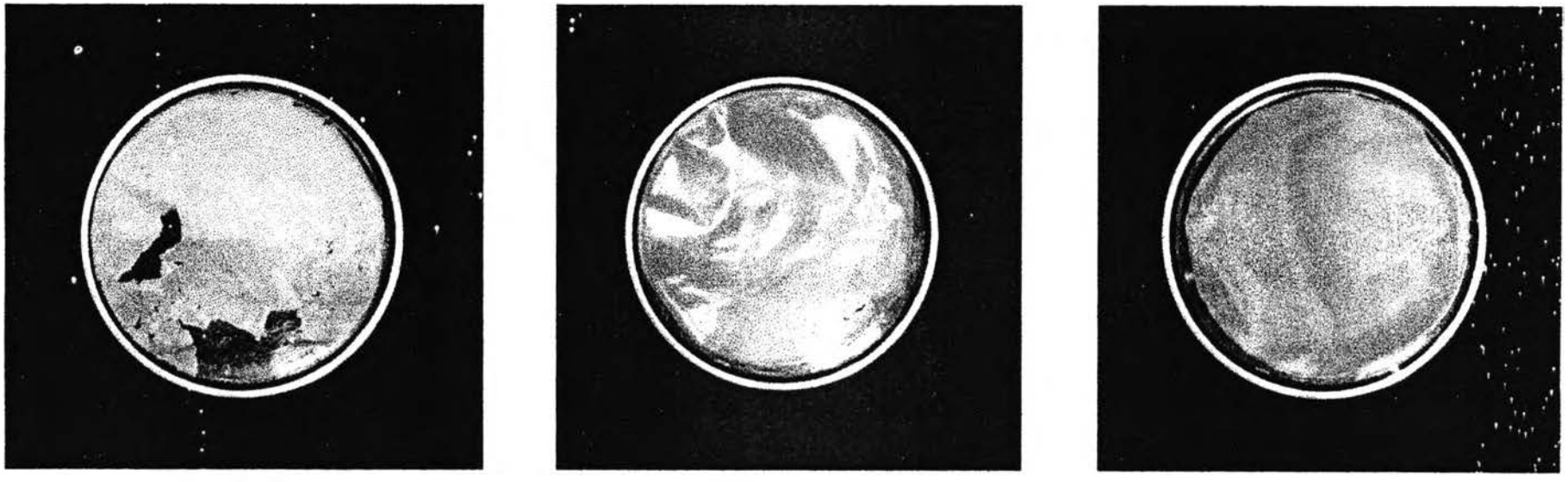
รูปที่ 5.26 แสดงการเปลี่ยนแปลงของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตในสิ่งแวดล้อมชนิดต่างๆในวันที่ 28



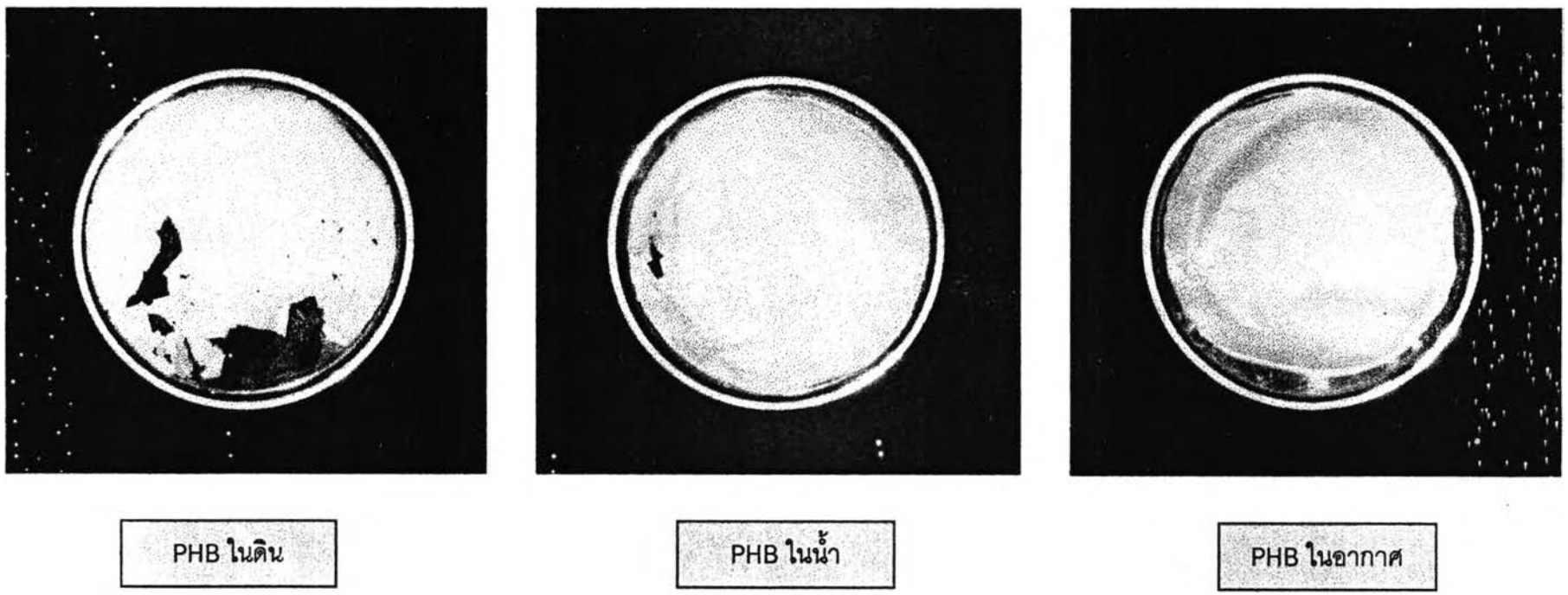
รูปที่ 5.27 แสดงการเปลี่ยนแปลงของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตในสิ่งแวดล้อมชนิดต่างๆในวันที่ 32



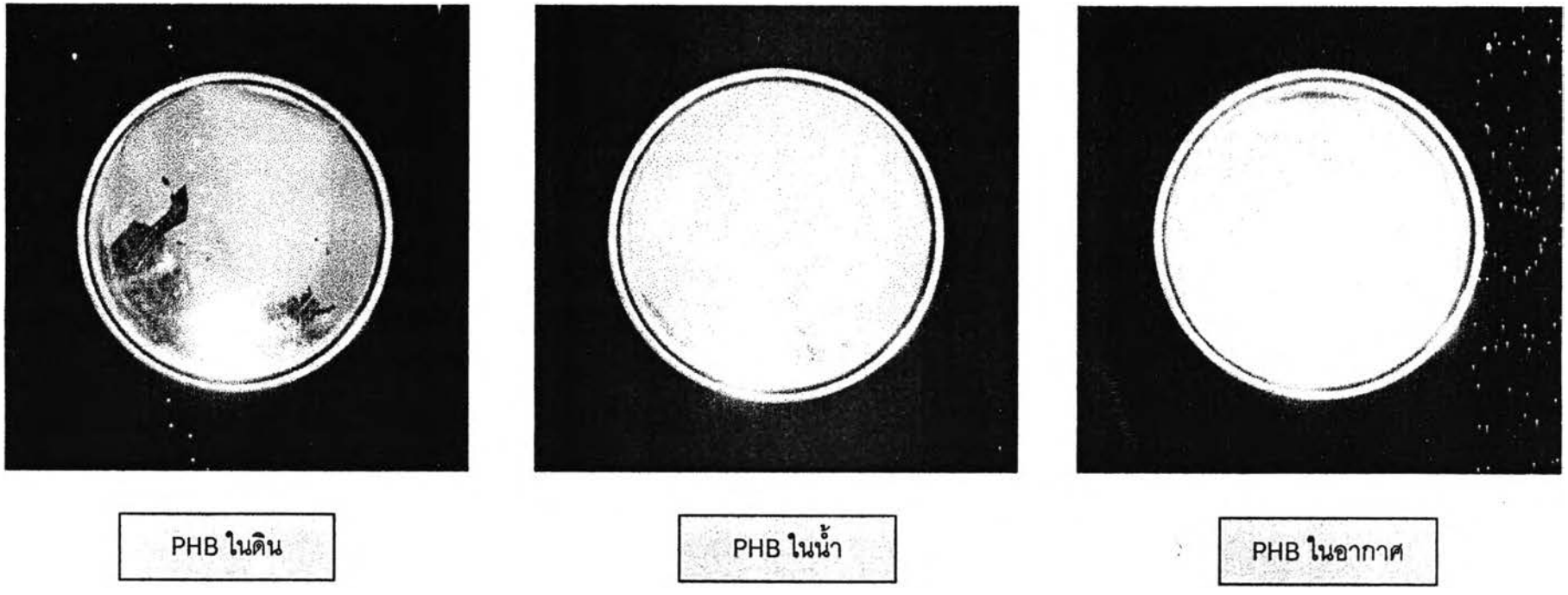
รูปที่ 5.28 แสดงการเปลี่ยนแปลงของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตในสิ่งแวดล้อมชนิดต่างๆในวันที่ 36



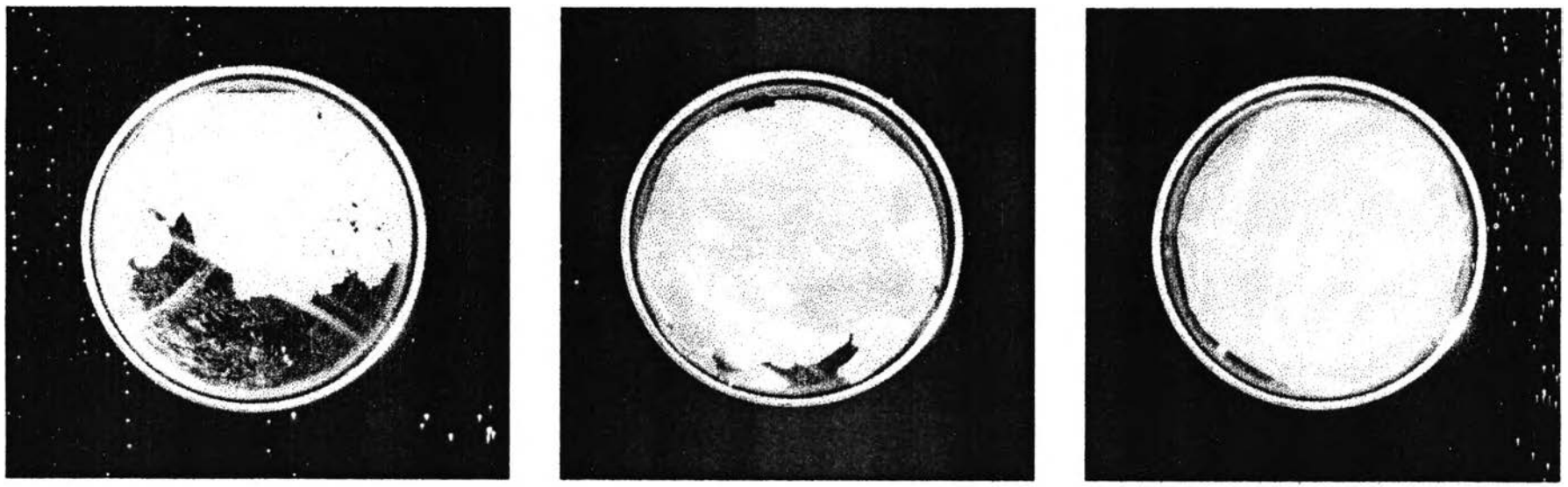
รูปที่ 5.29 แสดงการเปลี่ยนแปลงของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตในสิ่งแวดล้อมชนิดต่างๆในวันที่ 40



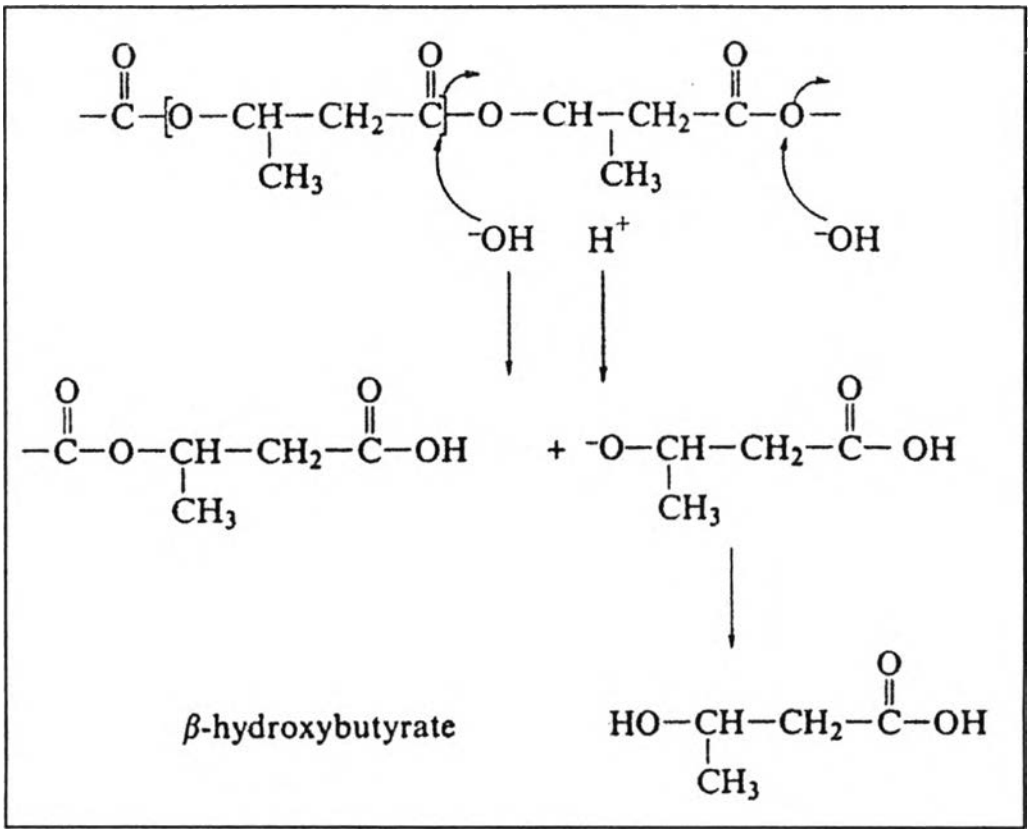
รูปที่ 5.30 แสดงการเปลี่ยนแปลงของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตในสิ่งแวดล้อมชนิดต่างๆในวันที่ 46



รูปที่ 5.31 แสดงการเปลี่ยนแปลงของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตในสิ่งแวดล้อมชนิดต่างๆในวันที่ 60



รูปที่ 5.32 แสดงการเปลี่ยนแปลงของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตในสิ่งแวดล้อมชนิดต่างๆในวันที่ 74



รูปที่ 5.32 แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซีสของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรต (Scott, 1995)

5.7 สรุปผลการทดลอง

5.7.1 การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ *Alcaiigenes eutrophus* NCIMB 11599 ในถังหมักขนาด 10 ลิตรแบบกึ่งต่อเนื่อง จะได้ปริมาณเซลล์สูงสุดประมาณ 90 กรัมต่อลิตร และมีปริมาณพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตอยู่ในเซลล์ประมาณ 54 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเซลล์แห้ง

5.7.2 การย่อยเซลล์โดยวิธีทางเคมีด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ และการย่อยเซลล์โดยวิธีทางกลด้วยโฮโมจิไนเซอร์ และคลื่นเหนือเสียง พบว่าภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยเซลล์คือ การใช้สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ที่ความเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์ปริมาตรต่อปริมาตร ที่เวลา 5 นาที โดยจะให้เปอร์เซ็นต์การสกัดสูงที่สุดเท่ากับ 90 เปอร์เซ็นต์ของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตทั้งหมด และได้น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยน้ำหนักเท่ากับ 416522

5.7.3 ภาวะที่เหมาะสมในการสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตจากถังกวนแบบไม่ต่อเนื่อง คือ การใช้สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ที่ความเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์ปริมาตรต่อปริมาตร อัตราส่วนระหว่างวัฏภาคคลอโรฟอร์ม ต่อวัฏภาคสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์เท่ากับ 1.0 อัตราการกวนเท่ากับ 550 รอบต่อนาที เวลาในการกวน 5 นาที และความเข้มข้นเซลล์เริ่มต้นเท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร โดยจะให้เปอร์เซ็นต์การสกัดเท่ากับ 89 เปอร์เซ็นต์ของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตทั้งหมด ความบริสุทธิ์ของ พอลิเมอร์เท่ากับ 92.45 เปอร์เซ็นต์ และได้น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยน้ำหนักเท่ากับ 771675

5.7.4 การเกิด shielding effect ของคลอโรฟอร์มในถังกวนที่มีการสกัดพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตพร้อมๆกับการย่อยเซลล์ สามารถป้องกันการย่อยสลายของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตได้

5.7.5 คุณลักษณะและสมบัติของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตที่สกัดได้ พบว่าพอลิเมอร์ที่สกัดได้เป็นพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตจริง และอุณหภูมิหลอมตัวผลึก (T_m) เท่ากับ 180 องศาเซลเซียส อุณหภูมิแข็งตัวของผลึก (T_c) เท่ากับ 103 องศาเซลเซียส และปริมาณความร้อนทั้งหมดที่ใช้หลอมตัวผลึก (enthalpy of fusion, ΔH) เท่ากับ 86 จูลต่อกรัม และเปอร์เซ็นต์ความเป็นผลึกของพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตประมาณ 59 เปอร์เซ็นต์ และลักษณะพื้นผิวของแผ่นฟิล์มพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตที่ได้จากการระเหยคลอโรฟอร์มออกมีลักษณะเป็นรูกระจายเกือบทั่วทั้งแผ่น โดยจะมีขนาดของรูตั้งแต่ประมาณ 1-10 ไมโครเมตร

5.7.6 การย่อยสลายของแผ่นฟิล์มพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตน้ำหนักประมาณ 0.15 กรัม เส้นผ่าศูนย์กลางเท่ากับ 90 มิลลิเมตร และความหนาประมาณ 0.033 มิลลิเมตร ที่ได้จากการระเหยคลอโรฟอร์มออกจะเกิดขึ้นได้ดีที่สุดในดิน โดยจะถูกย่อยสลายไปประมาณ 1/4 ของน้ำหนักทั้งหมดภายในเวลา 60 วัน และจากการสร้างความสัมพันธ์ระหว่างการย่อยสลายกับเวลา พบว่า พอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตจะสลายตัวหมดภายในเวลา 140 วัน

5.8 ข้อเสนอแนะ

5.8.1 ควรมีการเปลี่ยนชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ ซึ่งอาจจะทำให้ประสิทธิภาพในการสกัดดีกว่านี้ได้

5.8.2 เนื่องจากการตกตะกอนพอลิเมอร์ที่อยู่ในคลอโรฟอร์มต้องใช้ปริมาณเฮกเซนจำนวนมาก เมื่อใช้เสร็จแล้วต้องทิ้งไป จึงควรจะมีกระบวนการแยกสารสองชนิดนี้แล้วนำกลับมาใช้ใหม่ เพื่อลดค่าใช้จ่ายในการใช้ตัวทำละลาย

5.8.3 พอลิเมอร์ที่สกัดได้ควรจะนำไปทำการขึ้นรูป และนำไปงานใช้งานจริง