บทที่ 4

บทสรุปและวิจารณ์

โดยทั่วไปจุลินทรีย์จะมีการสร้างและสะสม PHA ได้ปริมาณมากหรือน้อยนั้นจะขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น องค์ประกอบและชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ ความสามารถทางสรีระของจุลินทรีย์ และสภาวะของการเลี้ยงเชื้อ เป็นต้น จุลินทรีย์จะสร้างและสะสม PHA เมื่ออยู่ภายใต้สภาวะที่สารอาหารขาดสมดุลย์ กล่าวคือมีการจำกัดสารอาหารบางชนิด เช่น ไนโตรเจน ฟอสเฟต แมกนีเซียม และ ซัลเฟอร์ เป็นต้น และมีแหล่งคาร์บอนมากเกินพอ (Brandl และคณะ, 1990 และ Byrom, 1987) โดย PHA จะถูกสร้างและสะสมเพื่อเป็นแหล่งคาร์บอน และพลังงานเก็บไว้ใช้ในยามขาดแคลนสารอาหารที่จำเป็นในการเติบโต (Evan และคณะ, 1990) แต่ถ้าสารอาหารในอาหารเลี้ยงเชื้อมีความสมดุลย์ จุลินทรีย์จะใช้อาหารที่สมบูรณ์นี้ในวิถีเมตาโบลิซึมเพื่อสร้างพลังงานที่ใช้ในการเติบโต และสังเคราะห์องค์ประกอบของเซลล์ Sonnleitner และคณะ (1979) ได้ศึกษาจลศาสตร์ของการสังเคราะห์ PHB โดย *Alcaligenes eutrophus* H16 พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงการเจริญและการสังเคราะห์ PHB เป็น 3 ระยะคือ ระยะของการเจริญของเซลล์ซึ่งควบคู่ไปกับการสังเคราะห์ PHB ระยะของการเพิ่มปริมาณ PHB ในขณะที่มีปริมาณโปรตีนและองค์ประกอบของเซลล์คงที่ และระยะที่มีการสะสมปริมาณ PHB สูงสุด อรุณ ชาญชัยเชาว์วิวัฒน์ (2536) ได้ทำการเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04 แบบ 2 ขั้นตอน โดยขั้นแรกเป็นการเลี้ยงเชื้อ เพื่อให้ได้ปริมาณเซลล์มากในอาหารสูตรอุดม แล้วจึงย้ายเซลล์มาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่เหมาะสมต่อการสร้าง PHB (อาหาร MSM) ทำให้สามารถเพิ่มปริมาณ PHB จาก 0.75 กรัม/ลิตร เป็น 2.03 กรัม/ลิตร ชนัญ ผลประไพ (2537) ได้ทำการเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04 ในอาหารที่ให้ปริมาณกล้าเชื้อมาก พบว่าในอาหารสูตรอุดมซึ่งมีฟรุกโตสเป็นองค์ประกอบ เวลานาน 30 ชม. ได้ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งสูงเท่ากับ 8.79 กรัม/ลิตร และได้ PHB เพิ่มขึ้นจาก 0.52 เป็น 0.64 กรัม/ลิตร ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้เลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04 แบบ 2 ขั้นตอน เพื่อการผลิตโคโพลีเมอร์ P(3HB-3HV) โดยขั้นแรกเลี้ยงเชื้อในอาหารสูตรอุดมที่ให้ปริมาณกล้าเชื้อมากและมีความสามารถกล้าเชื้อในการผลิตโคโพลีเมอร์ได้ปริมาณสูง และขั้นที่ 2 เป็นการเลี้ยงเชื้อเพื่อการสร้างและสะสมโคโพลีเมอร์ จากผลการวิจัยพบว่าปริมาณเซลล์ที่ได้ใกล้เคียงกัน

กันในอาหารเลี้ยงหัวเชื้อทั้งสองสูตร แต่เซลล์ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงหัวเชื้อสูตรที่ 1 สามารถผลิต PHA ปริมาณสูงกว่าเซลล์ที่เลี้ยงในอาหารสูตรที่ 2 ดังนั้นจึงใช้อาหารเลี้ยงหัวเชื้อสูตรที่ 1 เป็นอาหารสำหรับการเลี้ยงหัวเชื้อในการเลี้ยงแบบ 2 ขั้นตอน เพื่อเตรียมเป็นกล้าเชื้อและถ่ายเซลล์ลงในอาหาร MSM เวลาที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงหัวเชื้อในอาหารสูตรนี้เท่ากับ 16 ชม ได้ปริมาณกล้าเชื้อเท่ากับ 3.5 กรัม/ลิตร ซึ่งจะนำไปใช้เป็นกล้าเชื้อสำหรับถ่ายลงในอาหาร MSM เพื่อการผลิตโคโพลีเมอร์ต่อไป

จากผลการวิจัยพบว่า *Alcaligenes sp.* A-04 สามารถผลิตโคโพลีเมอร์ P(3HB-3HV) ได้ปริมาณสูงจากแหล่งคาร์บอนที่เป็นกรดอินทรีย์ โดยเฉพาะกรดวาเลอริก เมื่อใช้กล้าเชื้อเท่ากับ 0.4 กรัม (น้ำหนักเซลล์เปียก)/ขวด เลี้ยงเชื้อเป็นเวลานาน 48 ชม. มีปริมาณโคโพลีเมอร์สูงถึง 48 %ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง หรือคิดเป็น 1.62 กรัม/ลิตร ได้ความเข้มข้นของเซลล์เท่ากับ 3.31 กรัม/ลิตร ซึ่งทำให้มีโมโนเมอร์ของ 3HV สูงถึง 96 โมลเปอร์เซนต์ เนื่องจากเชื้อนี้อยู่ในสกุล *Alcaligenes* ดังนั้นจึงใช้วิถีที่ 2 ในการเมตาโบไลซ์กรดวาเลอริก ส่วนใหญ่เป็น 3HV โดยไม่มีการตัดสายคาร์บอน จึงเลือกกรดวาเลอริกเป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับการหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโคโพลีเมอร์ เนื่องจากโคโพลีเมอร์เป็นสารผลิตภัณฑ์ที่สะสมอยู่ภายในเซลล์ การเลี้ยงเพื่อให้ได้สารผลิตภัณฑ์มาก จึงต้องคำนึงถึงปริมาณของสารผลิตภัณฑ์ทั้งในด้านการสะสมโคโพลีเมอร์(% ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง) และความเข้มข้นของเซลล์(น้ำหนักเซลล์แห้ง/ปริมาตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ)ด้วย พบว่าเมื่อกล้าเชื้อเริ่มต้นเท่ากับ 0.4 กรัม(น้ำหนักเซลล์เปียก)/ขวด เลี้ยงเชื้อนาน 60 ชม. ได้ความเข้มข้นของเซลล์เท่ากับ 3.98 กรัม/ลิตร ปริมาณโคโพลีเมอร์เท่ากับ 51 % ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง หรือคิดเป็น 2.03 กรัม/ลิตร โดยได้มากกว่าสภาวะควบคุม (0.4 กรัม (นน.เซลล์เปียก) /ขวด เลี้ยงเชื้อนาน 48 ชม.) จากผลการวิจัยที่กล่าวมา พบว่าจะได้โคโพลีเมอร์ปริมาณสูง เมื่อเซลล์สามารถสะสมโคโพลีเมอร์ในเซลล์สูง และมีการเติบโตได้ดี (น้ำหนักเซลล์แห้งสูง) ดังนั้นจึงทำการแปรผันปริมาณกล้าเชื้อเริ่มต้นสำหรับถ่ายลงในอาหารเพื่อการผลิตเพื่อให้ได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงขึ้น จากผลการวิจัยพบว่าปริมาณกล้าเชื้อเริ่มต้นที่เหมาะสมเท่ากับ 0.6 กรัม (น้ำหนักเซลล์เปียก)/ขวด ได้ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 4.97 กรัม/ลิตร เชื้อมีการสร้างและสะสมโคโพลีเมอร์ได้เท่ากับ 52% ต่อน้ำหนักเซลลแห้ง หรือคิดเป็น 2.58 กรัม/ลิตร ดังนั้นสภาวะในการเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04 ที่เหมาะสมในอาหารสำหรับการสร้างและสะสมโคโพลีเมอร์คือ ปริมาณกล้าเชื้อเท่ากับ 0.6 กรัม(น้ำหนักเซลล์เปียก)/ขวด ระยะเวลานาน 60 ชม.ซึ่งผลการวิจัยที่ได้สอดคล้องกับรายงานของDoi และคณะ(1987) ที่ได้รายงานไว้ว่า เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes eutrophus*

NC1B 11599 โดยใช้กล้าเชื้อเริ่มต้นเท่ากับ 0.2-0.3 กรัม (น้ำหนักเซลล์เปียก)/ขวด ได้ปริมาณโคโพลีเมอร์เท่ากับ 36 % ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง แต่เมื่อใช้เซลล์เริ่มต้นเท่ากับ 0.4 กรัม(น้ำหนักเซลล์เปียก)/ขวด ได้ปริมาณโคโพลีเมอร์เพิ่มขึ้นเป็น 46 % ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง (Doi และคณะ ,1988)

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาถึงผลของปริมาณสารอาหารในอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยศึกษาปริมาณที่เหมาะสมของสารอาหารที่จำเป็นต่อการสร้าง และสะสมโคโพลีเมอร์ของ *Alcaligenes sp.* A-04 ซึ่งได้แก่ แหล่งคาร์บอน (กรดวาเลอริก) แหล่งไนโตรเจน ($(NH_4)_2SO_4$) แหล่งฟอสเฟต(KH_2PO_4 และ Na_2HPO_4) และแหล่งแมกนีเซียม ($MgSO_4$) ซึ่งจากผลการวิจัยพบว่าปริมาณแหล่งคาร์บอน(กรดวาเลอริก)มากเกินพอที่เหมาะสมสำหรับ *Alcaligenes sp.*A-04 เท่ากับ 20 กรัม/ลิตร ได้น้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 4.88 กรัม/ลิตร และได้ปริมาณโคโพลีเมอร์เท่ากับ 2.29 กรัม/ลิตร (47% ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง) เมื่อปริมาณกรดวาเลอริกน้อยกว่า 20 กรัม/ลิตร (4 และ 10 กรัม/ลิตร) ไม่เพียงพอต่อการเติบโตและการสะสมโคโพลีเมอร์ ซึ่งปริมาณโคโพลีเมอร์เพียง 27 และ 34 % ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง และไม่มีกรดวาเลอริกเหลือเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาเลี้ยงเชื้อ ซึ่งอาจอธิบายได้ว่าเมื่อเซลล์ขาดแคลนแหล่งคาร์บอนและพลังงานจากภายนอก ทำให้เซลล์เกิดกระบวนการสลาย PHA ที่สะสมภายในเซลล์ โดยเอนไซม์ดีโพลีเมอเรส และได้อะซิติลโคเอเพื่อนำมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงาน (Dawes Senior ,1973) ในขณะที่การเพิ่มปริมาณกรดวาเลอริกเริ่มต้นมากกว่า 20 กรัม/ลิตร *Alcaligenes sp.* A-04 มีการเติบโตน้อยมากและไม่มีการสะสมโคโพลีเมอร์เลย ซึ่งอาจเนื่องมาจากความเป็นพิษต่อเซลล์ของกรดวาเลอริกที่มีปริมาณมาก (Ramsay และคณะ ,1986) ปริมาณจำกัดของแหล่งไนโตรเจน (แอมโมเนียมซัลเฟต) แหล่งฟอสเฟต (KH_2PO_4:Na_2HPO_4) และแหล่งแมกนีเซียม ที่เหมาะสมสำหรับการสร้างและสะสมโคโพลีเมอร์โดย *Alcaligenes sp.* A-04 เท่ากับ 0.1 1.0:0.30 และ 0.05 กรัม/ลิตร ตามลำดับ ซึ่งปริมาณเหล่านี้เท่ากันกับปริมาณที่เหมาะสมของสารชนิดเดียวกัน ซึ่งศึกษาโดย อรุณ ชาญชัยเชาว์วิวัฒน์(2536) ซึ่งอาจอธิบายได้ว่าเนื่องจากเป็นเชื้อสายพันธุ์เดียวกัน จึงใช้ปริมาณจำกัดของสารอาหารเหล่านี้เท่ากันในการสร้างและสะสมโคโพลีเมอร์ Byrom (1987) และ Holmes (1985) ได้รายงานว่า *Alcaligenes eutrophus* จะสร้าง PHB เมื่อการเติบโตถูกจำกัดโดยปริมาณไนโตรเจน ฟอสเฟต และ ออกซิเจน จากรายงานของ Repaske (1976) พบว่าการสร้าง PHB ของ *Alcaligenes eutrophus* จะเกิดขึ้นเมื่อจำกัดปริมาณไนโตรเจน ฟอสเฟต แมกนีเซียม หรือซัลเฟต ในการวิจัยนี้พบว่าปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตที่จำกัดเท่ากับ 0.1 กรัม/ลิตร และเมื่อปริมาณแอมโมเนียม

ซัลเฟตจำกัดสูงกว่า 0.1 กรัม/ลิตร ในอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่าการสะสมโคโพลีเมอร์จะลดลง จึงอาจสรุปได้ว่าการจำกัดให้มีแอมโมเนียมซัลเฟตในปริมาณน้อย ทำให้เซลล์สามารถสะสมปริมาณโคโพลีเมอร์ (% ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง) ได้สูงกว่าในสภาวะที่มีปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตมาก มีรายงานการศึกษาถึงผลของปริมาณไนโตรเจนต่อการผลิต PHB โดย *Protomonas extorquens* ในสภาวะการเพาะเลี้ยงแบบ fed-batch ซึ่งได้รายงานว่าเมื่อให้สารละลายแอมโมเนีย (33 % ammonia water)ในอัตรา 0.02-0.08 กรัมแอมโมเนีย/ชม. เซลล์จะผลิต PHB ได้สูงถึง 60% ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง แต่เมื่อเพิ่มอัตราการให้สารละลายแอมโมเนียเป็น 0.26-0.53 กรัมแอมโมเนีย/ชม. พบว่าการสังเคราะห์ PHB จะลดลง (Suzuki และคณะ ,1986)จากผลการวิจัยนี้พบว่าการจำกัดปริมาณแหล่งไนโตรเจน ฟอสเฟต และแมกนีเซียม ไม่มีผลต่อสัดส่วนของโมโนเมอร์ เมื่อเซลล์อยู่ในสภาวะที่มีแหล่งคาร์บอนมากเพียงพอ (กรดวาเลอริกเท่ากับ 20 กรัม/ลิตร) ต่อการเติบโตและการสะสมโคโพลีเมอร์ จากรายงานของ Doi และคณะ (1990) พบว่าภายใต้สภาวะที่ไม่มีแหล่งไนโตรเจน กระบวนการสังเคราะห์และการสลาย PHA ภายในเซลล์ของ *Alcaligenes eutrophus* มีลักษณะเป็นวัฏจักร กล่าวคือภายในเซลล์จะมีทั้งการสังเคราะห์และการสลาย PHA ได้สารตัวกลาง (intermediate)คืออะซิติลโคเอ ซึ่งจากการวิจัยนี้พบว่า เมื่อให้แหล่งไนโตรเจนจำกัดที่เหมาะสมเท่ากับ 0.1 กรัม/ลิตร ซึ่งเป็นปริมาณที่ *Alcaligenes sp.* A-04 สามารถใช้ได้หมด และเมื่อปริมาณของกรดวาเลอริกต่ำและไม่เพียงพอต่อการเติบโตและการสร้างโคโพลีเมอร์ (เท่ากับ 4 และ 10 กรัม/ลิตร) พบว่าสัดส่วนของ 3HVจะน้อยกว่า (เท่ากับ 85 และ 88 โมลเปอร์เซนต์) สัดส่วนของ 3HV (เท่ากับ 95 โมลเปอร์เซนต์)เมื่อให้กรดวาเลอริกปริมาณมากเกินพอที่เหมาะสมเท่ากับ 20 กรัม/ลิตร จากรายงานของ Doi และคณะ(1990)ที่กล่าวมาอาจนำมาอธิบายได้ว่าเมื่อ *Alcaligenes sp.* A-04 ใช้แหล่งไนโตรเจนหมด เซลล์จะมีทั้งกระบวนการสังเคราะห์และสลายโคโพลีเมอร์ และเนื่องจากปริมาณกรดวาเลอริกที่ไม่เพียงพอ 4, 10 ทำให้เกิดสลายโคโพลีเมอร์มากกว่าการสังเคราะห์ เพื่อให้ได้อะซีติลโคเอสำหรับการเข้าสู่วัฏจักรเครปส์เพื่อสร้างพลังงาน ดังนั้นปริมาณของอะซิติลโคเอจึงลดลง เนื่องจากอะซิติลโคเอบางส่วนเข้าสู่วัฏจักรเครปส์ และบางส่วนเกิดการรวมตัวกันเองเพื่อสร้างเป็นอะซิโตอะซิติลโคเอและได้เป็น 3HB ดังนั้นโอกาสที่โพรพิโอนิลโคเอ (จากการสลายของ 3HV) จะรวมกับอะซิติลโคเอที่เหลือจึงน้อยลง มีผลทำให้สัดส่วนของ 3HV ต่อ 3HB ลดลง และเมื่อเพิ่มปริมาณของกรดวาเลอริกเป็น 20 กรัม/ลิตร ทำให้ปริมาณของ 3HV เพิ่มขึ้น ดังนั้นสัดส่วนของ 3HB จึงสูงขึ้นถึง 95 โมลเปอร์เซนต์

การเพิ่มปริมาณกรดวาเลอริก (แหล่งคาร์บอน) และปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต (แหล่งไนโตรเจน) ในปริมาณทวีคูณของ 20:0.1 ซึ่งเป็นอัตราส่วนที่เหมาะสมต่อการสร้างโคโพลีเมอร์ของ *Alcaligenes sp.* A-04 พบว่าเมื่อปริมาณกรดวาเลอริก: แอมโมเนียมซัลเฟตเท่ากับ 10:0.05 หรือ 0.5 เท่าของ 20:0.1 *Alcaligenes sp.* A-04 ยังมีการสร้างและสะสมโคโพลีเมอร์ แต่ได้ปริมาณต่ำกว่าที่อัตราส่วนของกรดวาเลอริก : แอมโมเนียมซัลเฟตเท่ากับ 20:0.1 ในทางตรงกันข้ามเมื่อปริมาณทวีคูณของอัตราส่วนมากกว่า 1 เช่น 40:0.2 และ 60:0.3 เป็นต้น เซลล์จะไม่มีการสร้างและสะสมโคโพลีเมอร์ นอกจากนี้พบว่ามีการเติบโตน้อยมาก จึงเป็นการสนับสนุนว่าในการสร้างและสะสมโคโพลีเมอร์ของ *Alcaligenes sp.* A-04 ปริมาณแหล่งคาร์บอน (กรดวาเลอริก) ที่เหมาะสมเท่ากับ 20 กรัม/ลิตร และปริมาณแหล่งไนโตรเจน(แอมโมเนียมซัลเฟต)ที่เหมาะสมเท่ากับ 0.1 กรัม/ลิตร

จากผลวิจัยนี้พบว่า *Alcaligenes sp.* A-04 เป็นสายพันธุ์ที่สามารถใช้แหล่งคาร์บอนได้หลายกลุ่ม เช่น กรดอินทรีย์ ที่มีคาร์บอนอะตอมตั้งแต่ 2 ถึง 5 อะตอม ได้แก่ โซเดียมอะซิเตท กรดโพรพิโอนิก โซเดียม-4-ไฮดรอกซีบิวทิเรท กรดบิวทิริก และกรดวาเลอริก ซึ่งมีรายงานจากผู้วิจัยหลายกลุ่ม ได้ใช้ *Alcaligenes sp.* ผลิต PHA (Doi และคณะ,1987 ;Kunioka และคณะ, 1988 ;Kunioka และคณะ, 1988 และ Doi และคณะ, 1987) และได้พบว่า *Alcaligenes sp.* ส่วนใหญ่สามารถใช้แหล่งคาร์บอนที่เป็นกรดอินทรีย์ที่มีสายคาร์บอนอะตอมสั้น ซึ่งต่างจากจุลินทรีย์กลุ่ม *Pseudomonas sp.* ซึ่งเติบโตและสร้างโพลีเมอร์จากแหล่งคาร์บอนที่เป็น อัลเคน และกรดอัลคาโนอิก ซึ่งมีคาร์บอนอะตอมตั้งแต่ 6 ถึง 12 ได้และโมโนเมอร์ที่เชื้อผลิตได้ส่วนใหญ่ จะมีสายคาร์บอนอะตอมยาวเท่ากับสายคาร์บอนอะตอมของสับสเตรท และพบ 3HB และ 3HV น้อยมาก (Anderson และ Dawes, 1990) ผลงานวิจัยนี้พบว่าในกลุ่มกรดอินทรีย์นั้น *Alcaligenes sp.* A-04 สามารถใช้กรดวาเลอริกในการเติบโตและสร้างโคโพลีเมอร์ได้ โดยมีปริมาณของ 3HV สูงสุด อาจอธิบายได้ว่า เนื่องจากเซลล์ได้ใช้วิถีที่เสนอโดย Doi และคณะ (1987) ในการสังเคราะห์ 3HV จากกรดวาเลอริกโดยตรงและไม่ผ่านการทำลายสายคาร์บอน ดังนั้นการใช้กรดวาเลอริกเป็นแหล่งคาร์บอนจึงให้ปริมาณสัดส่วนของ 3HV ต่อ 3HB สูง (เท่ากับ 95:5 โมลเปอร์เซนต์) ในขณะเมื่อใช้กรดโพรพิโอนิกอาจอธิบายได้จากการใช้วิถีที่เสนอโดย Senior และ Dawes (1973); Oeding และ Schlegel (1973) ซึ่งอธิบายไว้ว่าในการสังเคราะห์ 3HV จากการรวมตัวของอะซิติลโคเอ ซึ่งได้จากเมตาโบลิซึมของกรดโพรพิโอนิกกับโพรพิโอนิลโคเอ ดังนั้นจึงพบว่าสัดส่วนโมโนเมอร์ของ 3HV:3HB เมื่อใช้โพรพิโอนิกเป็นแหล่งคาร์บอน

จะต่ำกว่าเมื่อใช้กรดวาเลอริกเป็นแหล่งคาร์บอน ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Doi และคณะ (1987) *Alcaligenes eutrophus* NCIB 11599 สามารถสังเคราะห์โคโพลีเมอร์ที่มี 3HV สูงถึง 90 โมลเปอร์เซนต์จากกรดวาเลอริก จากการวิจัยนี้เมื่อใช้แหล่งคาร์บอนที่มีอะตอมคู่ เช่น กรดบิวทิริก และโซเดียมอะซิเตท ผลิตภัณฑ์จะเป็น P(3HB) ปริมาณการสะสม PHB ที่ได้จากกรดบิวทิริกจะสูงกว่าปริมาณ PHB ที่ได้จากโซเดียมอะซิเตท เนื่องจาก 3HB จะได้จากกรดบิวทิริกโดยตรง ในขณะที่ 3HB จากโซเดียมอะซิเตทจะต้องถูกเมตาโบไลซ์ไปเป็นอะซิติลโคเอ อะซิโตอะซิติลโคเอ แล้วจึงได้บิวทิริลโคเอ หรือต้องใช้โซเดียมอะซิเตท 2 โมลต่อ 3HB 1 โมล นอกจากนี้ได้พบว่า *Alcaligenes sp.* A-04 ยังสามารถใช้น้ำมันพืชเป็นแหล่งคาร์บอนในการสังเคราะห์ PHB ได้ ซึ่งคล้ายกับ *Alcaligenes eutrophus* สายพันธุ์ AK201 (Akiyama และคณะ , 1992) การที่เชื้อสามารถใช้น้ำมันพืชเป็นแหล่งคาร์บอนและสังเคราะห์ PHB ได้จากน้ำมันพืชนั้น แสดงให้เห็นว่า ในน้ำมันพืชนั้นประกอบด้วยกรดไขมันชนิดอิ่มตัว และไม่อิ่มตัวที่มีคาร์บอนอะตอมเป็นเลขคู่ จากผลงานวิจัยนี้พบว่า *Alcaligenes sp.* A-04 สามารถใช้กลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอนในการเติบโต และสังเคราะห์ PHB ได้ โดยมีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งสูงเท่ากับ 4.58 กรัม/ลิตร และได้ปริมาณ PHB เท่ากับ 0.78 กรัม/ลิตร หรือเท่ากับ 17 % ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง

รายงานของ Page (1989) ได้เสนอผลการวิจัยการผลิต PHB โดย *Azotobacter vinelandii* สายพันธุ์ UWD เมื่อใช้กลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอน ในสภาวะที่มีแอมโมเนียมอะซิเตทเป็นแหล่งไนโตรเจน การใช้กลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอนในการสร้าง PHB ได้นั้น Tortora และคณะ, 1989 ได้อธิบายว่า เซลล์สามารถเปลี่ยน กลีเซอรอลให้เป็นไดไฮดรอกซี อะซีโตน ฟอสเฟต (dihydroxy acetone phosphate) ซึ่งเป็นสารตัวกลาง (intermediate) ที่มีคาร์บอน 3 อะตอม ซึ่งถูกสร้างในขั้นตอนของกระบวนการไกลโคไลซิล (glycolysis) สารตัวกลางนี้จะถูกเมตาโบไลซ์ได้อะซิติลโคเอ (Tortora และคณะ, 1989) ซึ่งเป็นสารตัวกลางสำหรับการสร้าง PHB เซลล์ไม่สามารถใช้แมนนิทอล และซอร์บิทอลเป็นแหล่งคาร์บอนในการสร้าง PHB และพบการเติบโตของเซลล์ในแหล่งคาร์บอน 2 ชนิดนี้น้อยมาก สำหรับแหล่งคาร์บอนในกลุ่มแอลกอฮอล์ พบว่า *Alcaligenes sp.* A-04 สามารถใช้บิวทานอลและเอทธานอลในการสร้าง PHB ได้ โดยการใช้บิวทานอลเป็นแหล่งคาร์บอน ได้ปริมาณ PHB สูงกว่าเมื่อใช้เอทธานอลเป็นแหล่งคาร์บอน โดยปริมาณ PHB สูงสุดเท่ากับ 16 % ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง และ *Alcaligenes sp.* A-04 สามารถใช้เอทธานอลความเข้มข้นต่ำได้ดีกว่าที่ความเข้มข้นสูง แต่

Alcaligenes sp. ไม่สามารถใช้เมทธานอลเป็นแหล่งคาร์บอนได้ จากผลการวิจัยนี้สรุปได้ว่า *Alcaligenes sp.* A-04 สามารถใช้แหล่งคาร์บอนในกลุ่มของกรดอินทรีย์ได้ดี โดยเฉพาะอย่างยิ่งกรดวาเลอริก ซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนที่ทำให้ผลิต 3HV ได้ปริมาณสูง จึงได้ศึกษาการสร้างโคโพลีเมอร์ที่มีสัดส่วนของ 3HB และ 3HV ในปริมาณต่างๆกัน โดยใช้แหล่งคาร์บอนผสม พบว่าในขณะที่มีการเพิ่มปริมาณของกรดบิวทิริก หรือฟรุกโตสต่อปริมาณของกรดวาเลอริกที่ลดลง มีผลในการเพิ่มปริมาณของ 3HB ดังนั้นสัดส่วนโมลเปอร์เซนต์ของ 3HB: 3HV ในโคโพลีเมอร์จึงเพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นผลสอดคล้องกับงานวิจัยของ Doi และคณะ (1988) ที่พบว่า *Alcaligenes eutrophus* NC1B 11599 สามารถสร้างโคโพลีเมอร์ P(3HB-3HV) ในสัดส่วนต่างๆได้ โดยมี 3HV ตั้งแต่ 0 ถึง 85 โมลเปอร์เซนต์ โดยใช้กรดบิวทิริก:กรดวาเลอริก ปริมาณเท่ากับ 20:0 ถึง 0:20 กรัม/ลิตร จากผลการวิจัยที่อัตราส่วนเดียวกันของแหล่งคาร์บอนผสมพบว่า *Alcaligenes sp.* A-04 เมื่อเลี้ยงในแหล่งคาร์บอนผสมของกรดวาเลอริกกับฟรุกโตส *Alcaligenes sp.* A-04 มีการเติบโตดีกว่าในแหล่งคาร์บอนผสมของกรดวาเลอริกกับกรดบิวทิริก จึงสรุปได้ว่าฟรุกโตสเป็นแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการเจริญมากกว่ากรดบิวทิริก นอกจากนี้สัดส่วนของ 3HB ต่อ 3HV จากการเลี้ยงในกรดวาเลอริกกับกรดบิวทิริกจะสูงกว่ากรดวาเลอริกต่อฟรุกโตส เนื่องจาก 3HB จะได้จากกรดบิวทิริกโดยตรง (Doi และคณะ, 1988) ในขณะที่ 3HB จากฟรุกโตสจะต้องผ่านขั้นตอนของอะซิติลโคเอ (Oeding และ Schlegel, 1973 และ Senior และ Dawes, 1973)

จากผลงานวิจัยนี้ *Alcaligenes sp.* A-04 สามารถสร้างโคโพลีเมอร์ P(3HB-4HB) จากกรดบิวทิริก และโซเดียม-4-ไฮดรอกซีบิวทิเรทเป็นแหล่งคาร์บอนที่ให้ 4HB และ 3HB และเมื่อเพิ่มปริมาณกรดบิวทิริกซึ่งให้ 3HB จึงทำให้สัดส่วนของ 3HB ต่อ 4HB เพิ่มขึ้น พบว่า *Alcaligenes sp.* A-04 สามารถสร้างโคโพลีเมอร์ที่มี 4HB ตั้งแต่ 0 ถึง 36 โมลเปอร์เซนต์ จากการใช้แหล่งคาร์บอนผสมของกรดบิวทิริก:โซเดียม-4-ไฮดรอกซีบิวทิเรทปริมาณ 20:0 ถึง 0:20 กรัม/ลิตร ในทำนองเดียวกัน *Alcaligenes sp.* A-04 สามารถสร้างเทอร์โพลีเมอร์ P(3HB-3HV-4HB) ได้จากแหล่งคาร์บอนผสมของ กรดบิวทิริก กรดวาเลอริก และโซเดียม-4-ไฮดรอกซีบิวทิเรท โดยสัดส่วนของโมโนเมอร์จะขึ้นอยู่กับสัดส่วนของแหล่งคาร์บอนทั้ง 3 ชนิด จึงสรุปได้ว่า *Alcaligenes sp.* A-04 สามารถผลิตโคโพลีเมอร์ และเทอร์โพลีเมอร์ ในสัดส่วนต่างๆกันได้โดยใช้แหล่งคาร์บอนผสมของกรดอินทรีย์ที่สัดส่วนต่างๆกัน

การเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04 ในระดับ ถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยใช้ปริมาณแหล่งคาร์บอนเท่ากับ 20 กรัม/ลิตร และปริมาณกล้าเชื้อเท่ากับ 12 กรัม (น้ำหนัก

เซลล์เปียก)/ลิตร ซึ่งเป็นสภาวะเดียวกันกับที่ใช้ในระดับขวดเขย่า แต่เพิ่มปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตเป็น 1.0 กรัม/ลิตร มีการควบคุม pH เท่ากับ 7.0 (อรุณ ชาญชัยเชาว์วิวัฒน์, 2536) และมีอัตราการกวนและการให้อากาศเท่ากับ 600 รอบ/นาที และ 1.8 vvm ตามลำดับ พบว่าสภาวะดังกล่าวจะทำให้ *Alcaligenes sp.* A-04 มีการเติบโตและสะสมผลิตภัณฑ์สูงกว่าการเลี้ยงในระดับขวดเขย่าที่มีสภาวะของกล้าเชื้อ และปริมาณแหล่งคาร์บอนที่เท่ากัน หรือใกล้เคียงกัน ทั้งนี้อาจเนื่องจากสภาวะการเลี้ยงในถังหมัก (อุณหภูมิ pH อัตราการกวน และอัต4ราการให้อากาศ) มีการควบคุมอย่างสม่ำเสมอ และมีปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตสูงกว่าระดับเขย่าขวด 10 เท่า ดังนั้นจึงพบว่าการเติบโตของ *Alcaligenes sp.* A-04 ในระดับถังหมักสูงกว่าในระดับขวดเขย่า ในงานวิจัยนี้การเลี้ยงเชื้อในถังหมักมีการควบคุม pH เท่ากับ 7 ตลอดการทดลอง ส่วนการเลี้ยงในระดับเขย่าขวดโดยใช้กรดอินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอน เมื่อเวลาสิ้นสุดการวิจัยพบว่า pH มีค่า สูงขึ้นเท่ากับ 8.5-9.0 (เริ่มต้นที่ pH เท่ากับ 7.0) เนื่องจากเซลล์ได้ใช้อนุมูลของกรดในการเติบโต และการสร้างโพลีเมอร์ ดังนั้นในน้ำหมักจึงสะสมอนุมูลไฮดรอกซิล มีผลทำให้ pH เพิ่มขึ้น แต่การเลี้ยงในระดับถังหมักสามารถควบคุม pH ให้เท่ากับ 7.0 ตลอดการเลี้ยงจึงมีผลทำให้การสะสมโคโพลีเมอร์ในระดับถังหมักเพิ่มขึ้นจากในระดับขวดเขย่า สัดส่วนของโมโนเมอร์ ที่ได้จากการใช้แหล่งคาร์บอนผสมเดียวกันในระดับถังหมักและระดับขวดเขย่าจะแตกต่างกัน จากการศึกษารูปแบบการเติบโต และการสร้างโคโพลีเมอร์ P(3HB-82% 3HV) ในระดับถังหมักพบว่าสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ช่วง ซึ่งสอดคล้องกับรายงานวิจัยของ Sonnleitner และคณะ (1979) จากการวิจัยพบว่าช่วงแรก (เวลา 0-35 ชม.) เป็นช่วงของการเติบโตของเซลล์โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้งที่เพิ่มขึ้น และมีการใช้แอมโมเนียมซัลเฟตจนเกือบหมด ช่วงที่ 2 (เวลา 35-54 ชม.) เป็นช่วงการสะสมโคโพลีเมอร์ และมีการเติบโตสูงสุดและคงที่ เนื่องจาก *Alcaligenes sp.* A-04 มีการสะสมโพลีเมอร์เพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว ในขณะที่มี residuel biomass คงที่ น้ำหนักเซลล์ที่เพิ่มขึ้นมากในช่วงนี้จึงมาจากปริมาณของโพลีเมอร์ที่ถูกสะสมภายในเซลล์ และช่วงที่ 3 (เวลา 54-68 ชม.) เป็นช่วงของการสะสมโคโพลีเมอร์สูงสุด และคงที่ โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณโคโพลีเมอร์เท่ากับ 8.47 และ 4.74 กรัม/ลิตร ตามลำดับ

จากงานวิจัยนี้ เมื่อสกัดสารผลิตภัณฑ์ออกจากเซลล์ และนำมาผ่านการทำให้บริสุทธิ์จากการสังเกตแผ่นฟิล์มชนิดต่างๆ พบว่ามีลักษณะแตกต่างกัน คือ แผ่นฟิล์มของ P(3HB) มีลักษณะสีขาวขุ่น แข็ง และเปราะ ในขณะที่แผ่นฟิล์มของ P(3HB-14% 3HV) และ P(3HB-97 % 3HV) มีความใสขึ้น นิ่มและยืดได้มากกว่า P(3HB) แผ่นฟิลม์ของ P(3HB-38% 4HB) มีสีขาวขุ่นคล้ายกับ P(3HB) แต่มีผิวสัมผัสที่นิ่ม คล้ายกับยางอีกด้วย จึงสรุปได้ว่าลักษณะของฟิล์ม

ที่แตกต่างกันนี้ เนื่องมาจากชนิด และสัดส่วนของโมโนเมอร์ที่ประกอบอยู่ในสารผลิตภัณฑ์นั้น (Holmes, 1985 และ Nakahara และคณะ, 1992)

จากการตรวจลักษณะของสารผลิตภัณฑ์โดยวิธี IR spectrophotometry ในงานวิจัยนี้ พบว่าหมู่ฟังก์ชั่นของสารมาตรฐาน P(3HB-24% 3HV) และสารผลิตภัณฑ์ P(3HB-97% 3HV) P(3HB-38% 4HB) และ P(3HB-39% 3HV-13% 4HB) มีลักษณะเหมือนกันทุกประการคือ มีพีกของหมู่คาร์บอนิลที่ 1726 cm^{-1} และพีกของหมู่ C-O Stretching ซึ่งสรุปได้ว่าสารเหล่านี้เป็นโพลีเอสเทอร์

จากการตรวจลักษณะของสารผลิตภัณฑ์โดยวิธี NMR spectroscopy ในงานวิจัยนี้ พบว่า ^{1}H NMR และ ^{13}C NMR สเปกตรัมของสารผลิตภัณฑ์ P(3HB-97% 3HV) มีลักษณะเหมือนกันกับ สารมาตรฐาน P(3HB-24% 3HV) และสอดคล้องกับรายงานของผู้วิจัยหลายกลุ่ม (Doi และคณะ, 1986; Bluhm และคณะ, 1986; Bloembergen และคณะ, 1986 และ Kamiya และคณะ, 1989) ^{1}H NMR และ ^{13}C NMR สเปกตรัมของสารผลิตภัณฑ์ P(3HB-38% 4HB) มีลักษณะสอดคล้องกับสเปกตรัมที่รายงานโดย Doi และคณะ (1988) และ ^{1}H ^{13}C NMR สเปกตรัมของเทอร์โพลีเมอร์ P(3HB-39% 3HV-13% 4HB) มีลักษณะสอดคล้องกับสเปกตรัมของเทอร์โพลีเมอร์ที่รายงานโดย Kunioka และคณะ (1988)

น้ำหนักโมเลกุลของสารมาตรฐาน P(3HB-14% 3HV) มีค่าอยู่ในช่วง 400,000-750,000 และน้ำหนักโมเลกุลของสารผลิตภัณฑ์ P(3HB-39% 3HV-13% 4HB) และ P(3HB-82% 3HV) จาก *Alcaligenes sp.* A-04 โดยวิธี GPC มีค่าเท่ากับ 134,800 และ 130,100 ตามลำดับ การบอกถึงน้ำหนักโมเลกุลของสาร นอกจากใช้ค่าน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย (Mw) แล้ว ยังสามารถใช้ค่า [η] (ซึ่งเป็นดัชนีที่มีค่าสัมพันธ์กับค่า Mw โดยที่ $[\eta] = KMw^{a}$) บอกถึงน้ำหนักโมเลกุลได้ด้วย กล่าวคือโพลีเมอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลมากจะมีค่า [η] สูง จากผลการวิจัยพบว่าค่า [η] ของ P(3HB-14% 3HV) P(3HB) P(3HB-97% 3HV) P(3HB-38% 4HB) P(48% 3HB-39% 3HV-13% 4HB) และ P(3HB-82% 3HV) มีค่าเรียงจากมากไปหาน้อยเท่ากับ 0.94 0.61 0.54 0.35 0.34 และ 0.23 ตามลำดับ ซึ่งอาจชี้ให้เห็นถึงแนวโน้มของน้ำหนักโมเลกุลของโพลีเมอร์เหล่านั้น โดยโพลีเมอร์ที่มีค่า [η] เท่ากับ 0.61 0.54 และ 0.35 ควรจะมีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วงของ 130,100 ถึง 750,000 นอกจากนี้การที่น้ำหนักโมเลกุลของโพลีเมอร์ที่ต่างกัน อาจเนื่องมาจากวิธีการสกัดแยก สภาวะของการเติบโตของจุลินทรีย์เช่น pH อุณหภูมิ ปริมาณ และชนิดของสารอาหารที่จำเป็น และชนิดของจุลินทรีย์นั้น (Ballard

และคณะ, 1987)

จากการวิจัยของ Holmes (1985) Mimota (1987) Scandola และคณะ (1992) Nakamura และ Doi (1992) พบว่าโฮโมโพลีเมอร์ P(3HB) มีค่าระดับความเป็นผลึกสูง(crystallinity) หรือมีบริเวณที่เป็นผลึก (crystalline) มาก เมื่อมีโมโนเมอร์ชนิดอื่น เช่น 3HV และ 4HB เข้าไปอยู่ในสายโพลีเมอร์ มีผลทำให้ระดับความเป็นผลึกลดลงมีบริเวณที่เป็นอสัญฐาน (amorphous) เพิ่มขึ้น ซึ่งมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต่อสมบัติทางกายภาพ เช่น Tm และ Tg ลดลง ในงานวิจัยนี้พบว่า Tm ของ P(3HB) ที่ได้จาก *Alcaligenes sp.* A-04 มีค่าเท่ากับ 183 °ซ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ อรุณ ชาญชัยเชาว์วิวัฒน์ (เท่ากับ 180-183 °ซ) เมื่อสารผลิตภัณฑ์อยู่ในรูปของโคโพลีเมอร์ที่มี 3HV หรือ 4HB และเทอร์โพลีเมอร์ที่มีทั้ง 3HV และ 4HB อยู่ในสายโพลีเมอร์ มีผลทำให้ค่า Tm ลดลง พบว่า P(3HB-14% 3HV) P(3HB-97% 3HV) และ P(3HB-39% 3HV-13% 4HB)มีค่า Tm ลดลงเหลือเท่ากับ 159 106 และ 93 °ซ ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Plage และ Schulten (1990) Scandola และคณะ (1992) และ Kunioka และคณะ (1988) ในทำนองเดียวกัน Tg มีค่าลดลง เมื่อโพลีเมอร์นั้นอยู่ในรูปของโคโพลีเมอร์หรือเทอร์โพลีเมอร์ที่มี 3HV และ 4HBจากผลการวิจัยพบว่าค่า Tg ของ P(3HB) เท่ากับ 8 °ซ ซึ่งใกล้เคียงกับรายงานของ Mimoto (1987) ที่ได้รายงาน Tg ของ P(3HB) เท่ากับ 9 °ซ ส่วนค่า Tg ของ P(3HB-14% 3HV) และ P(48% 3HB-39% 3HV-13% 4HB) มีค่า Tg ลดลงเหลือเท่ากับ 3 และ -10 °ซ ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Mimoto (1987) และ Nakamura และ Doi (1990) เมื่อโพลีเมอร์อยู่ในรูปของโคโพลีเมอร์ หรือเทอร์โพลีเมอร์ พบว่าระดับความเป็นผลึกจะลดลง ซึ่งนอกจากมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพ (Tm และ Tg ลดลง) แล้วยังมีผลต่อสมบัติเชิงกลด้วย กล่าวคือเมื่ออยู่ในรูปโฮโมโพลีเมอร์ P(3HB) จะมีลักษณะแข็งและเปราะไม่ยืดหยุ่น เมื่อเพิ่มปริมาณของ 3HV ในสายโพลีเมอร์ ทำให้โพลีเมอร์นั้นมีความนิ่มและยืดหยุ่นขึ้น ซึ่งทำให้ง่ายต่อกระบวนการทางโพลีเมอร์ และนำไปประยุกต์การใช้งานได้ดีขึ้น (Holmes, 1985) จากผลการวิจัยสมบัติเชิงกลของสารผลิตภัณฑ์ที่ได้จาก *Alcaligenes sp.* A-04 พบว่า P(3HB) มีความแข็ง (stiffness) สูงสุด (2,693 MPa) นอกจากนี้ P(3HB) ยังมีค่าความเหนียว (toughness) ต่ำที่สุด (0.02 MPa) ค่าแรงสูงสุดที่ทำให้ specimen ของ P(3HB) ขาดมีค่าต่ำสุด และระยะการถูกได้น้อยที่สุด (0.4 mm) ซึ่งชี้ให้เห็นถึงความแข็งและความเปราะของ P(3HB) เมื่ออยู่ในรูปโคโพลีเมอร์พบว่าสมบัติเชิงกลจะดีขึ้น กล่าวคือ P(3HB-97% 3HV) P(3HB-14%

3HV) และ P(48% 3HB-39% 3HV-13% 4HB) มีค่าความแข็งลดลงเท่ากับ 767 675 และ 222 MPa ตามลำดับ และค่าความเหนียวเพิ่มขึ้นเท่ากับ 2.0 2.9 และ 7.4 ตามลำดับ ระยะการถูกดึงพบว่าเทอร์โพลีเมอร์มีค่าสูงสุดเท่ากับ 7.4 mm ซึ่งชี้ให้เห็นว่าเทอร์โพลีเมอร์มีความเหนียวและยืดหยุ่นได้ดีกว่าโคโพลีเมอร์ และ P(3HB) ค่าการต้านแรงดึง (stress at max. load หรือ tensile strenght) เป็นค่าที่บอกถึงความแข็งแรงของการยึดเหนียวระหว่างโมเลกุล ซึ่งโดยทั่วไปจะพบว่าโพลีเมอร์ที่เป็นสายตรง หรือมีระดับความเป็นผลึกสูงจะมีค่าการต้านแรงดึงสูงกว่าโพลีเมอร์ที่มีกิ่ง หรือมีระดับความเป็นผลึกต่ำ (Berius, 1991) ดังนั้นจึงพบว่าในกลุ่มของไบโอโพลีเมอร์ ค่าการต้านแรงดึงของ P(3HB) มีค่าสูงสุดเท่ากับ 9.603 MPa เมื่ออยู่ในรูปโคโพลีเมอร์ หรือเทอร์โพลีเมอร์ ค่าการต้านแรงดึงจะลดลง โดยทั่วไป PE ที่ใช้เป็นถุงพลาสติกจะผลิตจาก low-density polyethylene (LDPE) ซึ่งมีลักษณะโครงสร้างเป็นกิ่งก้าน และมีระดับความเป็นผลึกอยู่ในช่วงกลาง (50-65 %) จึงทำให้มีค่า impact strenght สูงและมีลักษณะยืดหยุ่น PP จะเป็นโพลีเมอร์ที่มีลักษณะเหนียว และค่าความแข็งสูงกว่า PE จากงานวิจัยนี้เมื่อเปรียบเทียบสมบัติเชิงกลระหว่างปิโตรโพลีเมอร์กับไบโอโพลีเมอร์ พบว่าแรงสูงสุดที่ใช้ในการดึงให้ specimen ขาดมีค่าไม่แตกต่างกันมากนัก แต่ปิโตรโพลีเมอร์มีสมบัติเชิงกลอื่นที่ดีกว่าไบโอโพลีเมอร์ กล่าวคือปิโตรโพลีเมอร์มีค่าการต้านแรงดึง ความเหนียว และระยะที่ถูกดึงที่มากกว่า และความแข็งที่น้อยกว่าไบโอโพลีเมอร์ เนื่องมาจากในกระบวนการผลิตโพลีเมอร์ทางอุตสาหกรรมจะเติมสารแต่งเติมหลายชนิดเพื่อเพิ่มสมบัติเชิงกลให้ดีขึ้น และเหมาะสมต่อการนำไปประยุกต์ใช้งาน (Berins, 1991) จากงานวิจัยนี้สรุปได้ว่าไบโอโพลีเมอร์ที่เป็นโคโพลีเมอร์และเทอร์โพลีเมอร์มีสมบัติเชิงกลที่ดีกว่าโฮโมโพลีเมอร์ P(3HB) โดยเมื่ออยู่ในรูปโคโพลีเมอร์และเทอร์โพลีเมอร์ค่าความแข็งที่ลดลง และความเหนียวที่เพิ่มขึ้น ทำให้โคโพลีเมอร์ และเทอร์โพลีเมอร์สามารถนำไปประยุกต์ใช้งานได้มากกว่า และสะดวกกต่อการนำเข้ากระบวนการทางโพลีเมอร์ (Holmes, 1985) ซึ่งสามารถทำได้โดยการเลี้ยง *Alcaligenes sp.* A-04 ในแหล่งคาร์บอนผสมทั้งในด้านชนิดและสัดส่วนของแหล่งคาร์บอนที่เลือกได้ ซึ่งจะต้องมีการศึกษาต่อไป เมื่อเปรียบเทียบกับปิโตรโพลีเมอร์ (PP และ PE) พบว่าสมบัติเชิงกลของไบโอโพลีเมอร์ด้อยกว่าปิโตรโพลีเมอร์ ในด้านการต้านแรงดึง และความเหนียว จึงอาจนำไบโอโพลีเมอร์ไปประยุกต์ใช้ในด้านการแพทย์ (Korsato และคณะ, 1983) เช่น แคปซูลบรรจุยา ไหมเย็บแผล ด้านการเกษตร เช่น แคปซูลที่บรรจุยาปราบศัตรูพืช (herbicide และ pesticide) หรืออาจมีการนำไปใช้ทดแทนปิโตรโพลีเมอร์บางชนิดก็อาจทำได้ โดยการเติมสารแต่งเติมบางชนิดให้เหมาะกับวัตถุประสงค์และการใช้งาน

สรุปผลของงานวิจัย

1 อาหารสูตรที่เหมาะสมที่ใช้เป็นอาหารสำหรับเลี้ยงกล้าเชื้อ *Alcaligenes sp.* สายพันธุ์ A-04 คืออาหารสูตรที่ 1 ในข้อ (2.3.2) เลี้ยงเชื้อเป็นเวลานาน 16 ชม.

2 ปริมาณกล้าเชื้อที่เหมาะสมเท่ากับ 0.6 กรัม(น้ำหนักเซลล์เปียก)/ขวด และเวลาที่เหมาะสมในการสร้างและสะสมโคโพลีเมอร์ในอาหาร MSM เท่ากับ 60 ชม.

3 ปริมาณสารอาหารหลักที่เหมาะในอาหาร MSM ประกอบด้วยแหล่งคาร์บอนเท่ากับ 20 กรัม/ลิตร แอมโมเนียมซัลเฟตเท่ากับ 0.1 กรัม/ลิตร โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตเท่ากับ 1.0 กรัม/ลิตร ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตเท่ากับ 0.3 กรัม/ลิตร และแมกนีเซียมซัลเฟตเท่ากับ 0.05 กรัม/ลิตร

4 *Alcaligenes sp.* A-04 สามารถสร้าง และสะสม PHA จากแหล่งคาร์บอนหลายชนิด ได้แก่ กรดอินทรีย์ โดยเมื่อใช้ กรดอินทรีย์ที่มีคาร์บอนอะตอมเลขคี่ (กรดวาเลอริก และกรดโพพิโอนิก) โคโพลีเมอร์ P(3HB-co-3HV) และเมื่อใช้กรดอินทรีย์ที่มีคาร์บอนอะตอมเลขคู่จะได้ PHB (กรดบิวทิริก โซเดียม-4-ไฮดรอกซีบิวทิเรท และโซเดียมอะซิเตท) น้ำมันพืช (น้ำมันปาล์ม น้ำมันข้าวโพด น้ำมันถั่วเหลืองผสมเมล็ดฝ้าย น้ำมันเมล็ดทานตะวัน) โดยพบว่าเชื้อนี้จะสะสม PHB โพลีไฮดรอกซี (กลีเซอรอล แต่ไม่พบการสร้างและสะสม PHB เมื่อใช้แมนนิทอล และซอร์บิทอล) และ แอลกอฮอล์(บิวทานอล และเอทธานอล แต่ไม่พบการสร้าง และสะสม PHB เมื่อใช้เมทธานอล)

5 *Alcaligenes sp.* A-04 สามารถใช้แหล่งคาร์บอนที่เป็นกรดอินทรีย์ได้ดี โดยเฉพาะอย่างยิ่งกรดวาเลอริก ซึ่งนอกจากพบว่าได้น้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 4.92 กรัม/ลิตร ปริมาณการสะสมโคโพลีเมอร์เท่ากับ 47% ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง หรือเท่ากับ 2.31 กรัม/ลิตร แล้ว กรดวาเลอริกเป็นแหล่งคาร์บอนที่ทำให้มีการสะสมโคโพลีเมอร์ และมี 3HV สูงถึง 95 โมลเปอร์เซนต์

6 *Alcaligenes sp.* A-04 สามารถสร้างและสะสมโคโพลีเมอร์ P(3HB-co-3HV)สัดส่วนต่างๆ ซึ่งมี 3HV ตั้งแต่ 0-95 โมลเปอร์เซนต์ โดยใช้แหล่งคาร์บอนผสมระหว่าง กรดวาเลอริก กับกรดบิวทิริก และกรดวาเลอริก กับฟรุกโตส

7 *Alcaligenes sp.* A-04 สามารถสร้าง และสะสมโคโพลีเมอร์ P(3HB-4HB) สัดส่วนต่างๆ ซึ่งมี 4HB ตั้งแต่ 0-38 โมลเปอร์เซนต์ โดยใช้แหล่งคาร์บอนผสมระหว่างกรดบิวทิริก และโซเดียม-4-ไฮดรอกซีบิวทิเรท

8 *Alcaligenes sp.* A-04 สามารถสร้างและสะสมเทอร์โพลีเมอร์ P(3HB-4HB -3HV) สัดส่วนต่างๆโดยใช้แหล่งคาร์บอนผสมระหว่าง กรดวาเลอริก กรดบิวทิริก และโซเดียม-4-ไฮดรอกซีบิวทิเรท

9 การเลี้ยงในระดับถังหมักขนาด 5 ลิตร แบบ batch cultivation โดยมีการควบคุม pH เท่ากับ 7.0 อุณหภูมิเท่ากับ 30 °ซ อัตราการกวนเท่ากับ 600 รอบ/นาที และ อัตราการให้อากาศเท่ากับ 1.8 vvmตามลำดับ ปริมาณแหล่งคาร์บอน และแหล่งไนโตรเจน เท่ากับ 20 และ1.0 กรัม/ลิตร ตามลำดับ มีผลทำให้ *Alcaligenes sp.* A-04 มีการเติบโตและมีการสะสมโคโพลีเมอร์สูงกว่าในระดับขวดเขย่า เมื่อให้แหล่งคาร์บอนผสมในสัดส่วนที่เท่ากัน

10 สมบัติเชิงกลของไบโอโพลีเมอร์ด้อยกว่าปิโตรโพลีเมอร์ กล่าวคือมีค่าความเหนียว และการต้านแรงดึงต่ำกว่า

11 สมบัติปรับปรุงสมบัติทางเคมีและสมบัติเชิงกลของ PHA ให้ดีขึ้นโดยทำให้อยู่ในรูปโคโพลีเมอร์ P(3HB-co-3HV) และเทอร์โพลีเมอร์ P(3HB-3Hv-4HB) กล่าวคือเมื่อเปรียบเทียบกับโฮโมโพลีเมอร์ P(3HB) พบว่าทั้งโคโพลีเมอร์และเทอร์โพลีเมอร์นั้นมีความแข็งลดลง และมีความเหนียวเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังมีผลทำให้ค่า Tm และ Tg ลดลง