

## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลอง

1. *Bacillus* sp. BA-019 ผลิต PHB ได้ปริมาณมากระดับหนึ่ง เมื่อใช้น้ำตาลทรายเป็นแหล่งคาร์บอน ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจน สารละลาย trace element เท่ากับ 1 มิลลิลิตรต่อลิตร ได้น้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 4.67 กรัมต่อลิตร ปริมาณ PHB สูงสุดเท่ากับ 2.07 กรัมต่อลิตร คิดเป็น 44.40 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ที่เวลา 18 ชั่วโมงของการเลี้ยงเชื้อ

2. การเพิ่มปริมาณสารละลาย trace element มีผลต่อการผลิต PHB คือเมื่อใส่สารละลาย trace element ปริมาตร 2 มิลลิลิตรต่อลิตร *Bacillus* sp. BA-019 มีการผลิต PHB ได้สูงสุดเพิ่มขึ้นเป็น 2.54 กรัมต่อลิตร คิดเป็นปริมาณ PHB เท่ากับ 55.75 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ที่เวลา 18 ชั่วโมงของการเลี้ยงเชื้อ

3. อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อปฏิกิริยาดีพอลิเมอไรเซชันในเซลล์ของ *Bacillus* sp. BA-019 คือที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ค่า pH เริ่มต้นเท่ากับ 7.0 ในภาวะที่ไม่มีการเขย่า ได้ปริมาณโมโนเมอร์ R3HB เท่ากับ  $0.36 \pm 9.47 \times 10^{-2}$  กรัมต่อลิตร คิดเป็น 13.95 เปอร์เซ็นต์ต่อปริมาณ PHB เริ่มต้น

4. การเขย่ามีผลต่อปฏิกิริยาดีพอลิเมอไรเซชันในเซลล์ของ *Bacillus* sp. BA-019 กล่าวคือเมื่อป้อนสารผสมปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ค่า pH เริ่มต้นเท่ากับ 7.0 ในภาวะที่มีการเขย่าไม่พบว่ามีการผลิตโมโนเมอร์ R3HB

5. ค่า pH ที่เหมาะสมต่อปฏิกิริยาดีพอลิเมอไรเซชันคือ ที่ค่า pH ของสารผสมปฏิกิริยาที่ควบคุมเท่ากับ 5.5 *Bacillus* sp. BA-019 ผลิตโมโนเมอร์ R3HB ได้เพิ่มขึ้นสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญ ได้ความเข้มข้นของโมโนเมอร์ R3HB เท่ากับ  $1.62 \pm 5.11 \times 10^{-2}$  กรัมต่อลิตร คิดเป็น เปอร์เซ็นต์ต่อผลผลิตเท่ากับ 94.74 เปอร์เซ็นต์ต่อปริมาณ PHB เริ่มต้น

6. ตรวจสอบได้ว่าโมโนเมอร์ R3HB ที่ผลิตจากปฏิกิริยาดีพอลิเมอไรเซชัน ถูกปล่อยออกมาออกเซลล์ทั้งหมด โดยภายหลังการทำปฏิกิริยาดีพอลิเมอไรเซชันนำเซลล์ *Bacillus* sp. BA-019 ไปตรวจหาปริมาณโมโนเมอร์ R3HB พบว่าไม่พบโมโนเมอร์ R3HB เหลืออยู่ภายในเซลล์

7. เพื่อตรวจหาว่าพอลิเมอร์ PHB ถูกดีพอลิเมอไรเซชัน เป็นโมโนเมอร์ R3HB ทั้งหมดหรือไม่ ศึกษาโดยนำเซลล์ *Bacillus* sp. BA-019 ภายหลังจากทำปฏิกิริยาดีพอลิเมอไรเซชันไปตรวจหาปริมาณ PHB ที่เหลืออยู่ภายในเซลล์พบว่า หลังจากบ่มสารผสมปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส, ควบคุมค่า pH เท่ากับ 4.0 นาน 72 ชั่วโมง พบว่ามี PHB เหลืออยู่มากที่สุดเท่ากับ 1.10 กรัมต่อลิตร คิดเป็น 29.64 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง และเซลล์ที่บ่มในสารผสมปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส, ควบคุมค่า pH เท่ากับ 5.5 นาน 72 ชั่วโมง มีความเข้มข้นของ PHB เหลือน้อยที่สุดเท่ากับ 0.02 กรัมต่อลิตร คิดเป็น 0.55 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง

8. หลังจากผ่านขั้นตอนทำให้ R3HB บริสุทธิ์ แล้ววิเคราะห์โครงสร้างด้วยวิธีโปรตอน NMR พบว่าสาร R3HB ยังไม่บริสุทธิ์เพียงพอจากวิธีที่ใช้ จึงต้องมีการศึกษาวิธีทำให้บริสุทธิ์มากขึ้นต่อไป

9. เพื่อให้มี R3HB ผลิตและสะสมอยู่ปริมาณมาก กิจกรรมของเอนไซม์ R3HB dehydrogenase ต้องมีน้อยที่สุด หรือไม่มีเลย พบว่าภาวะที่กิจกรรมของเอนไซม์ R3HB dehydrogenase สูงที่สุดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ค่า pH เท่ากับ 4.0 มีกิจกรรมจำเพาะเท่ากับ 1.21 หน่วยต่อมิลลิกรัมโปรตีน

10. เมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 16S rDNA ของ *Bacillus* sp. BA-019 เปรียบเทียบกับ GenBank พบว่ามีความเหมือนกับลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ complete 16S rDNA ของ *Bacillus megaterium* ถึง 99 เปอร์เซ็นต์ จึงจัดจำแนก *Bacillus* sp. BA-019 เป็น *Bacillus megaterium*

#### ข้อเสนอแนะ

1. ศึกษาภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตโมโนเมอร์ R3HB ในระดับขยายส่วน
2. ศึกษาวิธีการทำให้ได้โมโนเมอร์ R3HB ที่บริสุทธิ์