การผลิตเทอรพอลิเมอร์ พอลิ(3-ไฮดรอกซีบิวทิเรต-โค-3-ไฮดรอกซีวาเลอเรต-โค-4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต) โดย *Alcaligenes* sp. A-04

นางสาว สุชาดา จันทร์ประทีป

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ภาควิชาจุลชีววิทยา
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2539

ISBN 974-636-514-2

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

T223A0129

PRODUCTION OF TERPOLYMER POLY(3-HYDROXYBUTYRATE-CO-3-HYDROXYVALERATE-CO-4-HYDROXYBUTYRATE) BY *Alcaligenes* sp. A-04

Miss Suchada Chanprateep

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of

Master of Science in Industrial Microbiology

Department of Microbiology

Graduate School

Chulalongkorn University

Academic Year 1996

ISBN 974-636-514-2

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การผลิตเทอร์พอลิเมอร์ พอลิ(3-ไฮดรอกซีบิวทิเรต-โค-3-ไฮดรอกซีวาเลอเรต-โค-4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต) โดย *Alcaligenes* sp. สายพันธุ์ A-04
โดย	นางสาว สุชาดา จันทร์ประทีป
ภาควิชา	จุลชีววิทยา
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร. ส่งศรี กุลปรีชา
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อมร เพชรสม

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ ศุภวัฒน์ ชุติวงศ์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. ไพเราะ ปิ่นพานิชการ)

.....อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ ดร. ส่งศรี กุลปรีชา)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อมร เพชรสม)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ อรอุษา สรวารี)

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

สุชาดา จันทร์ประทีป : การผลิตเทอร์พอลิเมอร์ พอลิ(3-ไฮดรอกซีบิวทิเรต-โค-3-ไฮดรอกซีวาเลอเรต-โค-4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต) โดย *Alcaligenes* sp. A-04 (PRODUCTION OF TERPOLYMER POLY (3-HYDROXYBUTYRATE-CO-3-HYDROXYVALERATE-CO-4-HYDROXYBUTYRATE) BY *Alcaligenes* sp. A-04) อ.ที่ปรึกษา : รศ.ดร. สังศรี กุลปรีชา, อ.ที่ปรึกษาร่วม : ผศ.ดร. อมร เพชรสม, 144 หน้า, ISBN 974-636-514-2.

ในการศึกษาการผลิตเทอร์พอลิเมอร์จาก *Alcaligenes* sp. A-04 พบว่ากล้าเชื้อที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเทอร์พอลิเมอร์เป็นกล้าเชื้ออายุ 16 ชั่วโมง ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงกล้าเชื้อ ซึ่งเติมฟรักโทส และกรดวาเลอริก ปริมาณ 3 และ 1 กรัมต่อลิตรตามลำดับ *Alcaligenes* sp. A-04 สามารถผลิตเทอร์พอลิเมอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงโดยไม่ต้องเติมแหล่งคาร์บอนสำหรับ 3HB โมโนเมอร์ พบว่าเมื่อเติมแหล่งคาร์บอนสำหรับ 3HB โมโนเมอร์ ได้แก่ ฟรักโทส และกรดบิวทิริก กับเมื่อไม่เติมแหล่งคาร์บอนสำหรับ 3HB โมโนเมอร์ พบว่าเมื่อไม่เติมแหล่งคาร์บอนสำหรับ 3HB โมโนเมอร์ ได้ปริมาณเทอร์พอลิเมอร์สูงกว่า แต่มี 3HB โมโนเมอร์ประกอบอยู่น้อยกว่า เมื่อเทียบกับการมีแหล่งคาร์บอนเป็นฟรักโทสหรือกรดบิวทิริก นอกจากโซเดียม-4ไฮดรอกซีบิวทิเรตแล้ว *Alcaligenes* sp. A-04 สามารถใช้ 1,4 บิวเทนดิออล เป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับ 4HB โมโนเมอร์ได้ การเลี้ยงเชื้อแบบ 2 ขั้นตอนในอาหาร MSM โดยใช้กล้าเชื้อที่เหมาะสมและมีกรดวาเลอริกโซเดียม-4ไฮดรอกซีบิวทิเรตเป็นแหล่งคาร์บอนผสม *Alcaligenes* sp. A-04 สามารถผลิตเทอร์พอลิเมอร์ได้ปริมาณสูงสุดเท่ากับ 67.83% ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งที่เวลา 60 ชั่วโมง โดยการควบคุมภาวะการเลี้ยงเชื้อทำให้สามารถผลิตเทอร์พอลิเมอร์ที่มีสัดส่วนของโมโนเมอร์แตกต่างกันได้ 6 ชนิด การปรับปรุงขั้นตอนการสกัดและการทำให้ผลิตภัณฑ์บริสุทธิ์มีผลให้สามารถลดจำนวนชนิด และปริมาณของตัวทำละลายอินทรีย์ได้ และยังทำให้ได้ผลผลิตเทอร์พอลิเมอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงอีกด้วย แผ่นฟิล์มเทอร์พอลิเมอร์ที่ผลิตได้จาก *Alcaligenes* sp. A-04 ซึ่งมีสัดส่วนของโมโนเมอร์ต่างกัน มีผลให้สมบัติทางเชิงกล เคมี และกายภาพแตกต่างกัน สมบัติโดยรวมของเทอร์พอลิเมอร์ที่ได้มีความใกล้เคียงกับพอลิไอโซพรีน พอลิ-เอทธิลีน ออกไซด์ พอลิไวนิล เอทธิล อีเทอร์ พอลิ 1-เพนทีน และพอลิไวนิล บิวทิล อีเทอร์ และพบว่า P(10%3HB-co-40%3HV-co-50%4HB) ที่ผลิตได้มีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยสูงสุด (1.10×10^6) และมีค่าการกระจายของน้ำหนักโมเลกุลใกล้กับ 1.0 มากที่สุด

ภาควิชา จุลชีววิทยา ลายมือชื่อนิสิต สุชาดา จันทร์ประทีป

สาขาวิชา จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

ปีการศึกษา 2539 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

C626319 : MAJOR INDUSTRIAL MICROBIOLOGY
KEY WORD: P(3HB-CO-3HV-CO-4HB) / TERPOLYMER / *Alcaligenes* sp. / CHARACTERIZATION

SUCHADA CHANPRATEEP : PRODUCTION OF TERPOLYMER POLY (3-HYDROXY-BUTYRATE-CO-3-HYDROXYVALERATE-CO-4-HYDROXYBUTYRATE) BY *Alcaligenes* sp. A-04 THESIS ADVISOR : ASSO. PROF. SONGSRI KULPREECHA, Ph.D. THESIS COADVISOR : ASSIST. PROF. AMORN PETHSOM, Ph.D. 144 pp. ISBN 974-636-514-2

In the study of terpolymer production by *Alcaligenes* sp. A-04, 16 hour-culture cultivated in seed culture medium containing 3 g/l of fructose and 1 g/l of valeric acid was suitable as a seed culture for terpolymer production. *Alcaligenes* sp. A-04 could produce terpolymer with high molecular weight without addition of any carbon source for 3HB monomer. Without addition of fructose or butyric acid as a C-source for 3HB monomer higher terpolymer content with lower mole fraction of 3HB monomer than that with those C-source added was obtained. Besides sodium-4-hydroxybutyrate, 1,4 butanediol could also be used by *Alcaligenes* sp. A-04 as a carbon source for 4HB monomer. By 2 steps cultivation in MSM medium with the suitable seed culture using valeric acid and sodium-4-hydroxybutyrate as mixed carbon source, the highest terpolymer content produced by *Alcaligenes* sp. A-04 was 67.83% by dry cell weight at 60 hr. of cultivation. Under specific cultivation conditions, 6 types of terpolymer with various mole fractions of monomer were produced. I improvement of extraction and purification procedures resulted in decreasing numbers and volume of organic solvents used and also yield high molecular weight of terpolymer. The mechanical, chemical and physical properties of various types of terpolymer films from *Alcaligenes* sp. A-04 were different from each other due to their differences in mole fraction of monomers. Most of the properties of terpolymers produced in this present work were similar to these of polyisoprene, polyethylene oxide, polyvinyl ethyl ether, poly-1-pentene and polyvinyl n-butyl ether. Terpolymer of P(10%3HB-co-40%3HV-co-50%4HB) from *Alcaligenes* sp. A-04 showed the highest molecular weight of (1.10×10^{6}) with the polydispersity index of nearly 1.0.

ภาควิชา จุลชีววิทยา ลายมือชื่อนิสิต สุชาดา จันกาประทีป

สาขาวิชา จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

ปีการศึกษา 2539 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยความช่วยเหลืออย่างดียิ่งของ รองศาสตราจารย์ ดร. ส่งศรี กุลปรีชา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ซึ่งท่านได้กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำอันมีค่า และข้อคิดเห็นต่างๆของงานวิจัยด้วยดีตลอดมา รวมทั้งได้ช่วยแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น ศิษย์จึงขอกราบขอบพระคุณอย่างสูงสุดไว้ ณ. ที่นี้

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อมร เพชรสม ที่ได้กรุณารับเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ซึ่งท่านได้กรุณาให้คำแนะนำ และข้อคิดเห็นต่างๆของงานวิจัยด้วยดีตลอดมา

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ไพเราะ ปิ่นพานิชการ ที่ได้กรุณารับเป็นประธานกรรมการสอบ และแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ อรอุษา สรวารี ที่กรุณารับเป็นกรรมการสอบ และแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

งานวิจัยนี้ส่วนหนึ่งได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยของบัณฑิตวิทยาลัย ดังนั้นจึงขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัยและเจ้าหน้าที่ทุกท่าน ที่ได้อำนวยความสะดวกต่างๆ

ขอขอบคุณวิทยาลัยปิโตรเคมีและปิโตรเลียม และ คุณ ศิริประภา รัตตัญญู ที่ได้ให้ความช่วยเหลือในการใช้เครื่องมือเพื่อการวิเคราะห์สมบัติด้านต่างๆของงานวิจัยนี้

ขอขอบคุณพี่ๆ เจ้าหน้าที่ของภาควิชาจุลชีววิทยาทุกท่าน ที่ได้ให้กำลังใจและให้ความช่วยเหลือด้วยดีตลอดมา

ขอขอบคุณพี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ ภาควิชาจุลชีววิทยาทุกท่าน ตลอดจนเพื่อนทุกคนที่ได้ให้กำลังใจและให้ความช่วยเหลือด้วยดีตลอดมา

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อและคุณแม่ ที่คอยเป็นกำลังใจ ให้ความช่วยเหลือสนับสนุนทั้งกำลังกาย กำลังทรัพย์ อย่างดียิ่ง และขอขอบคุณน้องสาวทั้งสองที่ได้ให้กำลังใจด้วยดีตลอดเวลาจนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... จ

กิตติกรรมประกาศ..... ฉ

สารบัญ..... ช

สารบัญตาราง..... ฌ

สารบัญรูป..... ฐ

คำย่อ..... ด

บทที่

1 บทนำ

PHA..... 4

โครงสร้างของ PHA..... 6

การค้นพบ PHA..... 7

ความสามารถในการสร้างและสะสม PHA โดย *Alcaligenes eutrophus*..... 8

วิถีการสังเคราะห์ PHAใน *A.eutrophus*..... 12

วิถีการสังเคราะห์ PHB..... 12

วิถีการสังเคราะห์ P(3HB-co-3HV)..... 14

วิถีการสังเคราะห์ P(3HB-co-4HB)..... 16

สมบัติทางกายภาพและเชิงกลของ PHA..... 20

สมบัติทางกายภาพของพอลิเมอร์..... 21

สมบัติทางเชิงกลของพอลิเมอร์..... 22

ผลของสัดส่วน 3HB 3HV และ4HB (โมลเปอร์เซ็นต์) ที่มีต่อสมบัติด้านต่างๆ ของ PHA..... 24

การขึ้นรูป PHA..... 26

การนำ PHA ไปประยุกต์ใช้ทางการแพทย์..... 27

การนำ PHA ไปใช้เพื่อทดแทนผลิตภัณฑ์พลาสติกจากอุตสาหกรรมปิโตรเคมี..... 29

แนวทางการนำ PHA ไปใช้ประโยชน์..... 29

มูลเหตุในการทำการวิจัย..... 30
วัตถุประสงค์ของงานวิจัย..... 32
ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย..... 32
2 อุปกรณ์และวิธีการดำเนินการวิจัย.
อุปกรณ์และเคมีภัณฑ์..... 33
จุลินทรีย์..... 37
อาหารเลี้ยงเชื้อ..... 37
วิธีวิเคราะห์..... 39
3 ผลการทดลอง
การเตรียมกล้าเชื้อให้มีปริมาณเซลล์มากและมีประสิทธิภาพในการสร้างพอลิเมอร์.... 46
การศึกษาชนิด ปริมาณของแหล่งคาร์บอนและระยะเวลาในการเลี้ยง *Alcaligenes* sp. A-04 เพื่อผลิตเทอร์พอลิเมอร์ P(3HB-co-3HV-co-4HB) ให้มีสัดส่วนของแต่ละโมโนเมอร์แตกต่างกัน..... 63
การศึกษาวิธีเลี้ยง *Alcaligenes* sp. A-04 ในอาหารเพื่อการผลิตแบบ 2 ขั้นตอน..... 81
การศึกษาลักษณะ สมบัติทางกายภาพ และเชิงกลของเทอร์พอลิเมอร์ที่แปรสัดส่วนของแต่ละโมโนเมอร์แตกต่างกัน..... 84
4 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง..... 102
รายการอ้างอิง..... 121
ภาคผนวก..... 128
ก การหาปริมาณฟรักโทส และแอมโมเนียมซัลเฟตที่เหมาะสมในอาหารเพื่อการผลิต (การเลี้ยงเชื้อในอาหารเพื่อการผลิตขั้นตอนที่ 1)..... 129
ข การเตรียมกราฟมาตรฐาน สูตรอาหารและสารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย..... 131
ค สูตรการคำนวณ..... 134
ง กราฟมาตรฐาน..... 136
ประวัติผู้เขียน..... 144

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	จุลินทรีย์ที่สามารถสร้างและสะสม PHA	4
2	การเปรียบเทียบน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยของ PHA จากจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ	8
3	การผลิตเทอร์พอลิเมอร์ P(3HB-co-4HB) โดย A.eutrophus เมื่อใช้กรด 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรตและกรดวาเลอริกเป็นแหล่งคาร์บอน	10
4	การเปรียบเทียบความสามารถในการสร้างและสะสม P(3HB-co-4HB) โดย *A.eutrophus* เมื่อใช้แหล่งคาร์บอนต่างชนิดกัน	15
5	สมบัติทางกายภาพและเชิงกลของ PHA จาก *A.eutrophus* เปรียบเทียบกับพอลิเมอร์จากอุตสาหกรรมปิโตรเคมี	23
6	การเปรียบเทียบผลของการเพิ่มสัดส่วน 3HV ในช่วง 0-71 โมลเปอร์เซ็นต์ที่มีต่อสมบัติด้านต่างๆของ P(3HB-co-3HV)	25
7	การเปรียบเทียบผลของการเพิ่มสัดส่วน 4HB ในช่วง 0-44 โมลเปอร์เซ็นต์ที่มีต่อสมบัติด้านต่างๆของ P(3HB-co-4HB)	26
8	เปรียบเทียบการเติบโต ปริมาณ PHA ที่ผลิตคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง (และกรัมต่อลิตร) ปริมาณฟรักโทสและแอมโมเนียมซัลเฟตที่เหลือ เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes* sp. A-04 ที่มีอายุกล้าเชื้อต่างๆ จากอาหารเลี้ยงกล้าเชื้อทั้ง 4 ชนิด ในอาหารเพื่อการผลิตเทอร์พอลิเมอร์	50-56
9	เปรียบเทียบการเติบโต ปริมาณเทอร์พอลิเมอร์ สัดส่วนของแต่ละโมโนเมอร์ และค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหาร เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes* sp. A-04 ในอาหาร MSM โดยไม่เสริมแหล่งคาร์บอนสำหรับ 3HB โมโนเมอร์	65
10	เปรียบเทียบการเติบโต ปริมาณเทอร์พอลิเมอร์ สัดส่วนของแต่ละโมโนเมอร์ และค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหาร เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes* sp. A-04 โดยใช้แหล่งคาร์บอนสำหรับ 3HB โมโนเมอร์ เป็นฟรักโทสเปรียบเทียบกับกรดบิวทิริก	68
11	เปรียบเทียบการเติบโต ปริมาณเทอร์พอลิเมอร์ สัดส่วนของแต่ละโมโนเมอร์ และค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหาร เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes* sp. A-04 ในอาหารเพื่อการผลิตตามรายงานของ Doi และคณะ (1992) เปรียบเทียบกับเมื่อเลี้ยงในอาหารเพื่อการผลิต MSM	73

12 เปรียบเทียบการเติบโต ปริมาณเทอร์พอลิเมอร์ สัดส่วนของแต่ละโมโนเมอร์ และค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหาร เมื่อใช้ 1,4-บิวเทนไดออล 10 และ 20 กรัม ต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับ 4HB โมโนเมอร์แทนโซเดียม-4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต..... 78

13 การเติบโต ปริมาณเทอร์พอลิเมอร์ สัดส่วนของแต่ละโมโนเมอร์ และค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหาร เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes* sp. A-04 ในอาหาร MSM แบบ 2 ขั้นตอน..... 82

14 ภาวะในการผลิตเทอร์พอลิเมอร์โดย *Alcaligenes* sp. A-04 โดยแปรผันชนิดของอาหารผลิตเพื่อการ ชนิดและปริมาณของแหล่งคาร์บอน ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตและระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อ เพื่อให้ได้สัดส่วนแต่ละโมโนเมอร์ต่างๆกัน..... 85

15 สัดส่วนของโมโนเมอร์แต่ละชนิด น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณเทอร์พอลิเมอร์ เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes* sp. A-04 ในอาหารเลี้ยงกล้าเชื้อเพื่อการผลิต..... 85

16 ค่าอุณหภูมิหลอมเหลวและอุณหภูมิกลาสทรานซิชันของเทอร์พอลิเมอร์..... 93

17 น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยน้ำหนัก น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยจำนวนและค่าดัชนีการกระจายของน้ำหนักโมเลกุลของเทอร์พอลิเมอร์ P(3HB-co-3HV-co-4HB) จาก *Alcaligenes* sp. A-04 ที่มีสัดส่วนของโมโนเมอร์ต่างกัน..... 95

18 สมบัติเชิงกล ของเทอร์พอลิเมอร์ P (3HB-co-3HV-co-4HB) จาก *Alcaligenes* sp. A-04 ที่มีสัดส่วนของโมโนเมอร์ต่างกันเปรียบเทียบกับพลาสติกจากปิโตรเคมี ซึ่งทำการทดสอบในสภาวะเดียวกัน..... 101

19 ลักษณะของแผ่นฟิล์มเทอร์พอลิเมอร์ที่ผลิตโดย *Alcaligenes* sp. A-04 ซึ่งมีสัดส่วนของแต่ละโมโนเมอร์แตกต่างกัน..... 110

20 สมบัติทางกายภาพและเชิงกลของเทอร์พอลิเมอร์ที่มีสัดส่วนของโมโนเมอร์แตกต่างกัน ซึ่งผลิตโดย *Alcaligenes* sp. A-04 (*) เปรียบเทียบกับ PHA จาก *A.eutrophus* โดยคณะผู้วิจัยกลุ่มอื่น..... 112

21 ค่าอุณหภูมิหลอมเหลวและอุณหภูมิกลาสทรานซิชัน ของพลาสติกจากปิโตรเคมีที่มีค่าใกล้เคียงกับพอลิเมอร์ที่ผลิตได้ในงานวิจัยนี้..... 114

22 เปรียบเทียบสมบัติเชิงกลของเทอร์พอลิเมอร์ ที่มีสัดส่วนของโมโนเมอร์แตกต่างกัน ซึ่งผลิตโดย *Alcaligenes* sp. A-04 (*) กับ PHA จาก *A.eutrophus* ซึ่งรวบรวมข้อมูลจากคณะผู้วิจัยกลุ่มต่างๆ..... 115

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1	โครงสร้างของพอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอต	7
2	โครงสร้างของ single operon ที่ควบคุมการสังเคราะห์ PHA ใน *A.eutrophus*	11
3	วิถีการสังเคราะห์และการย่อยสลาย PHB โดย *A.eutrophus*	11
4	วิถีการสังเคราะห์ PHB โดย *A.eutrophus* เมื่อใช้แหล่งคาร์บอนต่างชนิดกัน	12
5	วิถีการสังเคราะห์ P(3HB-co-3HV) โดย *A.eutrophus* เมื่อใช้กรดโพรพิโอนิกเป็นแหล่งคาร์บอน	13
6	วิถีการสังเคราะห์ PHB และ P(3HB-co-3HV) โดย *A.eutrophus* เมื่อใช้กรดบิวทิริกและกรดวาเลอริกเป็นแหล่งคาร์บอน	14
7	วิถีการสังเคราะห์ P(3HB-co-4HB) โดย *A.eutrophus* จากแหล่งคาร์บอนต่างชนิดกัน	16
8	วิถีการสังเคราะห์ P(3HB-co-4HB) โดยเติมแอมโมเนียมซัลเฟตและซิเตรตเพื่อผลิต P(3HB-co-4HB) ที่มีสัดส่วน 4HB โมโนเมอร์ 70-100 เปอร์เซ็นต์	17
9	แสดงโครงสร้างของ PHA แบบหัวต่อหางและมีลักษณะเป็นไอโซแทกติก	19
10	แสดงการกระจายน้ำหนักโมเลกุลของ PHB จาก *A.eutrophus* เมื่อใช้ฟรักโทสเป็นแหล่งคาร์บอน	21
11	เปรียบเทียบการเติบโต และปริมาณฟรักโทสที่เหลือ เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes* sp. A-04 ในอาหารเลี้ยงกล้าเชื้อที่แปรผันปริมาณฟรักโทสและกรดวาเลอริก	47
12	เปรียบเทียบการเติบโต และปริมาณฟรักโทสที่เหลือ เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes* sp. A-04 ในอาหารเลี้ยงกล้าเชื้อที่แปรผันปริมาณฟรักโทสและกรดวาเลอริก	48
13	การเติบโต ปริมาณPHA ฟรักโทสและแอมโมเนียมซัลเฟตที่เหลือ เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes* sp. A-04 จากอาหารเลี้ยงกล้าเชื้อชุดควบคุม (ก) อายุกล้าเชื้อ 16 ชั่วโมง ในอาหาร MSM	57
14	เปรียบเทียบการเติบโต ปริมาณ PHA ฟรักโทสและแอมโมเนียมซัลเฟตที่เหลือ เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes* sp. A-04 จากอาหารเลี้ยงกล้าเชื้อเติมฟรักโทส 4 กรัมต่อลิตร (อาหารเลี้ยงกล้าเชื้อ ข) อายุกล้าเชื้อ 16 24 และ 32ชั่วโมงในอาหาร MSM	58
15	เปรียบเทียบการเติบโต ปริมาณ PHA ฟรักโทสและแอมโมเนียมซัลเฟตที่เหลือเมื่อเลี้ยง *Alcaligenes* sp. A-04 จากอาหารเลี้ยงกล้าเชื้อเติมฟรักโทส 3 และกรดวาเลอริก 1 กรัมต่อลิตร (อาหารเลี้ยงกล้าเชื้อ ค) อายุกล้าเชื้อ 16 24 32 และ 40 ชั่วโมง ในอาหาร MSM	59-60

16 เปรียบเทียบการเติบโต ปริมาณ PHA ฟรักโทสและแอมโมเนียมซัลเฟตที่เหลือเมื่อเลี้ยง *Alcaligenes* sp. A-04 จากอาหารเลี้ยงกล้าเชื้อเติมฟรักโทส 2 และกรดวาเลอริก 2 กรัมต่อลิตร (อาหารเลี้ยงกล้าเชื้อ ง) อายุกล้าเชื้อ 16 32 40 และ 48 ชั่วโมง ในอาหาร MSM 61-62

17 การเติบโต ปริมาณเทอร์พอลิเมอร์ (รูป ก) และสัดส่วนของแต่ละโมโนเมอร์ (รูป ข) เมื่อไม่เสริมแหล่งคาร์บอนสำหรับ 3HB โมโนเมอร์..... 66

18 เปรียบเทียบการเติบโต และปริมาณเทอร์พอลิเมอร์ เมื่อเสริมแหล่งคาร์บอนสำหรับ 3HB โมโนเมอร์ เป็นฟรักโทส (ก) เปรียบเทียบกับกรดบิวทิริก (ข)..... 69

19 แสดงสัดส่วนของแต่ละโมโนเมอร์ เมื่อเสริมแหล่งคาร์บอนสำหรับ3HB โมโนเมอร์ เป็นฟรักโทส (ก) เปรียบเทียบกับกรดบิวทิริก (ข)..... 70

20 เปรียบเทียบการเติบโต และปริมาณเทอร์พอลิเมอร์ เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes* sp. A-04 ในอาหารเพื่อการผลิตตามสูตรของDoi และคณะ (1992) กับอาหาร MSM..... 74

21 แสดงสัดส่วนของแต่ละโมโนเมอร์ เมื่อเลี้ยง *Alcaligenes* sp. A-04 ในอาหารเพื่อการผลิตตามสูตรของ Doi และคณะ (1992) (ก) กับอาหาร MSM (ข) 75

22 เปรียบเทียบการเติบโต และปริมาณเทอร์พอลิเมอร์ เมื่อใช้ 1,4-บิวเทนไดออลเป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับ 4HB โมโนเมอร์แทนโซเดียม-4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต..... 79

23 สัดส่วนของแต่ละโมโนเมอร์ เมื่อใช้ 1,4-บิวเทนไดออลเป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับ 4HB โมโนเมอร์แทนโซเดียม-4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต..... 80

24 การเติบโต และปริมาณเทอร์พอลิเมอร์ เมื่อเลี้ยง *Alclaigenes* sp. A-04 ในอาหาร MSM แบบ 2 ขั้นตอน..... 83

25 สัดส่วนแต่ละโมโนเมอร์ เมื่อเลี้ยง *Alclaigenes* sp. A-04 ในอาหาร MSM แบบ 2 ขั้นตอน 83

26 เทอร์พอลิเมอร์ P(3HB-co-3HV-co-4HB) จาก *Alclaigenes* sp. A-04 ที่มีสัดส่วนแต่ละโมโนเมอร์แตกต่างกัน เพื่อศึกษาลักษณะ สมบัติทางกายภาพและเชิงกล..... 86

27 การสกัดเทอร์พอลิเมอร์ P(3HB-co-3HV-co-4HB) ออกจากเซลล์ *Alclaigenes* sp. A-04 โดยการใช้คลอโรฟอร์มหมุนเวียนในการสกัดด้วยชุด soxhlet apparatus 88

28 ลักษณะของสารผลิตภัณฑ์ระหว่างขั้นตอนการทำให้บริสุทธิ์ โดยการตกตะกอนด้วยเฮกเซน..... 89

29 ลักษณะของแผ่นฟิล์มเทอร์พอลิเมอร์ P(3HB-co-HV-co-4HB) จาก *Alclaigenes* sp. A-04 ที่มีสัดส่วนของโมโนเมอร์แต่ละชนิดแตกต่างกัน..... 91

30 เปรียบเทียบโครมาโตแกรมแสดงระดับความเป็นผลึกของเทอร์พอลิเมอร์ P(3HB-co-HV-co-4HB) จาก *Alclaigenes* sp. A-04 ที่มีสัดส่วนของโมโนเมอร์แต่ละชนิดแตกต่างกัน จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี XRD 96-98
31 กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณน้ำหนักเซลล์เปียก (กรัมต่อลิตร)..... 136
32 กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)..... 136
33 กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณฟรักโทสในช่วงความเข้มข้น 0-10 กรัมต่อลิตร..... 137
34 กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณแอมโมเนียมไนเตรต ในช่วงความเข้มข้น 0-50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร..... 137
35 กราฟมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ปริมาณ PHB ในช่วงความเข้มข้น 0-10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร..... 138
36 โครมาโตแกรมสารมาตรฐาน 3HB (ก) 3HV (ข) และ 4HB (ค) ซึ่งทำการวิเคราะห์ด้วยวิธี GC..... 139
37 ตัวอย่างโครมาโตแกรมของเทอร์พอลิเมอร์ P(3HB-co-3HV-co-4HB) จาก *Alcaligenes* sp. A-04 ซึ่งทำการวิเคราะห์ด้วยวิธี GC..... 140
38 โครมาโตแกรมของเทอร์พอลิเมอร์ P(3HB-co-3HV-co-4HB) จาก *Alcaligenes* sp.A-04 ที่มีสัดส่วนของแต่ละโมโนเมอร์แตกต่างกัน ซึ่งทำการวิเคราะห์หาน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยและค่า PDI ด้วยวิธี GPC.....141-143

คำย่อ

คำย่อ	คำอธิบาย
°ซ	องศาเซลล์เซียส
นน.	น้ำหนักเซลล์แห้ง
DCW	น้ำหนักเซลล์แห้ง (dry cell weight)