บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาผลของปริมาณสารอาหารต่อการผลิต PHB

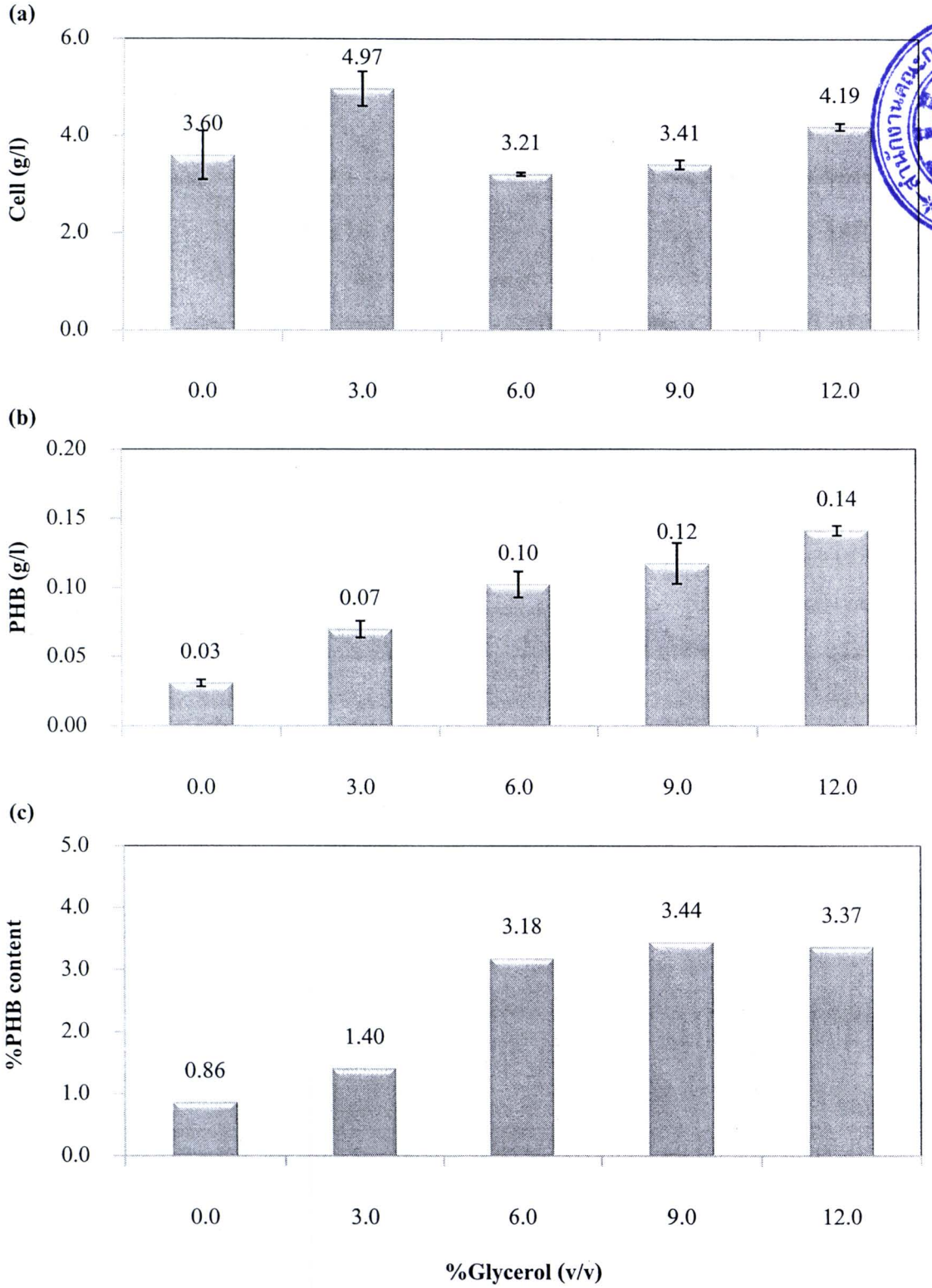
1. การศึกษาผลของปริมาณกลีเซอรอล

จากการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ S13 ในอาหารเหลวสูตร MB medium ปริมาตร 50 มิลลิลิตรที่มีการเปลี่ยนความเข้มข้นของกลีเซอรอลในช่วง 0.0% - 12.0% โดยปริมาตร เป็นเวลา 36 ชั่วโมง เพื่อศึกษาความเข้มข้นของกลีเซอรอลที่เหมาะสมต่อการผลิต PHB พบว่า เซลล์สามารถเจริญได้ในทุกความเข้มข้น แต่เจริญได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้น 3.0 % (v/v) โดยปริมาณเซลล์ที่ได้ คือ 4.97 กรัมต่อลิตร ในขณะที่เชื้อ S13 ผลิต PHB ได้มากขึ้นตามความเข้มข้นของกลีเซอรอล ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์นี้สามารถผลิต PHB ได้มากที่สุด เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีกลีเซอรอล 12.0 % (v/v) เท่ากับ 0.141 กรัมต่อลิตร และเมื่อคำนวณ %PHB content พบว่า ที่กลีเซอรอลความเข้มข้น 9.0 % (v/v) มี %PHB content เท่ากับ 3.44% (ดังรูปที่ 3)

การเพาะเลี้ยงเชื้อ *Bacillus thuringiensis* R1 โดยใช้ 1% (v/v) กลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอน สามารถทำให้เชื้อจุลินทรีย์สะสม PHB ได้ 64.10% ของน้ำหนักเซลล์แห้ง (Rohini *et* al., 2006) และจากงานวิจัยของ Chien และคณะ (2007) พบว่า เมื่อเพาะเลี้ยง *Vibrio spp.* ในอาหารที่มีกลีเซอรอล 1% (v/v) สามารถทำให้เซลล์ผลิต PHB ได้ 24-43% และ *Vibrio natrigens* M11 สามารถผลิต PHB ได้มากถึง 41% ของนำหนักเซลล์แห้ง นอกจากนี้ยังมีการใช้กลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อการผลิต PHB โดยเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ แสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 การเปรียบเทียบการผลิต PHB โดยเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ซึ่งใช้กลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอน

Microorganism	Carbon source	% (v/v)	%PHB	Reference
strain S13	glycerol	9.0	3.44	This study
Osmophilic organism	waste glycerol	-	49.6	Koller และคณะ (2005)
Cupriavidus necator JPM134	commercial glycerol	-	70	Shen และคณะ (2009)
E. coli CT1061	commercial glycerol	-	51	Pablo และคณะ (2008)
E. coli (ATCC:PTA–1579)	commercial glycerol	-	60	Mahishi และคณะ (2003)
Bacillus thuringiensis R1	glycerol	1	64.10	Rohini และคณะ (2006)
Vibrio spp.	glycerol	1.0	24-43	Chien และคณะ (2007)
Vibrio natriegens M11	glycerol	1.0	41	Chien และคณะ (2007)



รูปที่ 3 กราฟแสดง (a) ปริมาณเซลล์ (กรัมต่อลิตร), (b) ปริมาณ PHB (กรัมต่อลิตร) และ (c) %PHB content จากเชื้อ S13 เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหาร MB medium ที่มีการเปลี่ยนความเข้มข้นกลีเซอรอลเป็นเวลา 36 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

2. การศึกษาผลของปริมาณเกลือ

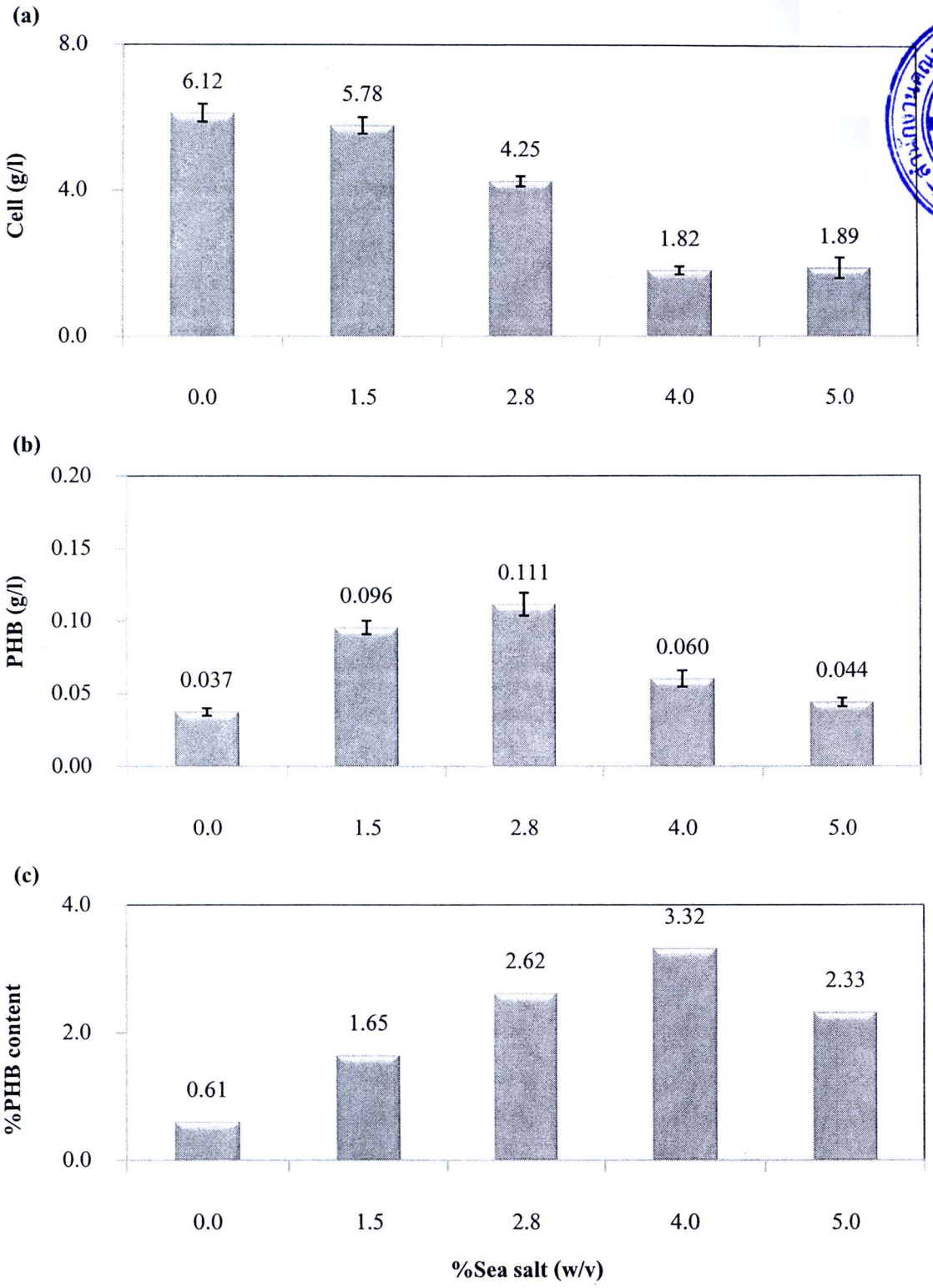
รูปที่ 4 แสดงผลการทดลองของการเพาะเลี้ยงเชื้อ S13 ในอาหารเหลวสูตร MB medium ปริมาตร 50 มิลลิลิตรที่มีการเปลี่ยนความเข้มข้นของเกลือในช่วง 0.0% - 5.0% โดยปริมาตร เป็นเวลา 36 ชั่วโมง เพื่อศึกษาความเข้มข้นของเกลือที่เหมาะสมต่อการผลิต PHB พบว่า เซลล์มีการเจริญเติบโตลดลงเมื่อเกลือมีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น กล่างคือเซลล์เจริญเติบโตได้ดีที่สุด เมื่อไม่มีปริมาณเกลือในอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ และที่ปริมาณเกลือ 2.8% (w/v) พบว่า S13 สามารถสะสม PHB ได้มากที่สุด คือ 0.111 กรัมต่อลิตร เมื่อคำนวณ %PHB content พบว่า ที่เกลือความเข้มข้น 4% (w/v) S13 มี %PHB content เท่ากับ 3.32%

จากการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Haloferax mediterranei* ในอาหารที่มีเกลือ 25% เป็นส่วนประกอบของ Lillo และ Valera (1990) พ บว่า *H. mediterranei* สามารถผลิต PHB ได้มากถึง 60-65% ของน้ำหนักเซลล์แห้ง และจากงานวิจัยของ Taran (2011) ได้เพาะเลี้ยงเชื้อ *Haloarcula sp.* IRU1 (ซึ่งคัดแยกได้จากทะเลสาบในประเทศอิหร่าน) โดยใช้อาหารที่มีปริมาณเกลือ 25% พบว่า เชื้อจุลินทรีย์มี %PHB content เท่ากับ 46.6% ของน้ำหนักเซลล์แห้ง นอกจากนี้ Pandian และคณะ (2010) ได้ใช้ sea water ที่มีความเข้มข้น 350 มิลลิลิตรต่อลิตรเป็นองค์ประกอบของอาหาร พบว่า ปริมาณ PHB ที่เชื้อจุลินทรีย์สะสม เท่ากับ 11.32 กรัมต่อลิตร ซึ่งตารางที่ 2 แสดงการเปรียบเทียบจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ที่มีความสามารถในการผลิต PHB โดยเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีเกลือเป็นองค์ประกอบ

ตารางที่ 2 การเปรียบเทียบการผลิต PHB โดยเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ซึ่งเพาะเลี้ยงด้วยอาหารที่มีเกลือเป็นองค์ประกอบ

Microorganism	Salt	% (w/v)	%PHB	Reference
strain S13	Sea salt	4.0	3.32	This study
Haloferax mediterranei	NaCl	25	60-65	Lillo และ Rodriguez-Valera (1990)
Halomonas boliviensis	NaCl	4.5	88	Quillaguamán และคณะ (2006)
Vibrio spp.	NaCl	2.8	24-43	Chien และคณะ (2007)
Vibrio natriegens M11	NaCl	4	41	Chien และคณะ (2007)
Vibrio sp. MK4	NaCl	30	3.77	Arun และคณะ (2009)
Bacillus megaterium SRKP-3	Sea water	0.035	11.32*	Pandian และคณะ (2010)
Haloarcula sp. IRU1	NaCl	25	46.6	Taran (2011)

หมายเหตุ * หน่วย: กรัมต่อลิตร



รูปที่ 4 กราฟแสดง (a) ปริมาณเซลล์ (กรัมต่อลิตร), (b) ปริมาณ PHB (กรัมต่อลิตร) และ (c) %PHB content จากเชื้อ S13 เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหาร MB medium ที่มีกลีเซอรอล 9% โดยปริมาตร และมีการเปลี่ยนความเข้มข้นเกลือในช่วง 0.0%-5.0% โดยปริมาตร เป็นเวลา 36 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส