

แบคทีเรีย 82 ไอโซเลต ที่แยกได้จากตัวอย่างดินและน้ำ 18 แหล่ง โดยใช้อาหาร Nutrient Agar (NA) เมื่อนำมาคัดเลือกแบคทีเรียที่ย่อยสลาย polyhydroxybutyrate (PHB) ด้วยเทคนิค replica plating บน HB agar (hydroxybutyrate 0.5เปอร์เซ็นต์) และ PHB agar (poly-β-hydroxybutyrate 0.5 เปอร์เซ็นต์) สามารถคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียได้ 45 ไอโซเลต และ 32 ไอโซเลตตามลำดับ นำกลุ่มตัวอย่างที่คัดเลือกได้ในขั้นต้น มาคัดเลือกแบบต่อเนื่อง (sequential screening) ได้แบคทีเรีย 2 ชนิดคือ *Bacillus cereus* PHB-1 และ *Escherichia coli* PHB-2 จากนั้นนำเชื้อบริสุทธิ์ที่ได้มาบ่มใน PHB broth ที่อุณหภูมิห้อง ความเร็วในการเขย่า 200 รอบต่อนาที พบว่าเชื้อ PHB-1 และ PHB-2 มีอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุดเท่ากับ 0.112 และ 0.153 ต่อชั่วโมง ตามลำดับ ประสิทธิภาพในการย่อยสลาย PHB ของ PHB-1 และ PHB-2 เมื่อเปรียบเทียบกับ PHB เหลืออยู่ในวันที่ 7 พบว่ามี PHB เหลืออยู่เท่ากับ 58.5 และ 40.9 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกัน และแตกต่างกับตัวควบคุมที่ไม่ถูกย่อยสลายด้วยจุลินทรีย์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

เมื่อศึกษาการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการผลิต PHB ในอาหาร PHB medium โดยใช้แหล่งคาร์บอน คือ กลูโคส หางนม กากมอลต์ น้ำทิ้งจากโรงงานผลิตน้ำมันปาล์ม กากน้ำตาล น้ำมันมะพร้าวเป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าเชื้อ PHB-1 ซึ่งสามารถย่อย PHB ได้ และเชื้อ *A.eutrophus* TISTR 1403 ซึ่งเป็นเชื้อมาตรฐาน มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดในหางนมเท่ากับ 0.5254 และในน้ำมันมะพร้าวมีค่าเท่ากับ 0.0753 ต่อชั่วโมงตามลำดับ ผลการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิต PHA จากเชื้อ PHB-1 พบว่าน้ำมันมะพร้าวให้ประสิทธิภาพการผลิตสูงสุด เท่ากับ 0.39019 กรัม PHA ต่อกรัมเซลล์ ตามด้วยน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตน้ำมันปาล์ม หางนม กากมอลต์ กากน้ำตาล กลูโคส ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.23844, 0.11731, 0.04055, 0.01745, และ 0.01226 กรัม PHA ต่อกรัมเซลล์ตามลำดับ โดยน้ำมันมะพร้าวมีความแตกต่างกับแหล่งคาร์บอนชนิดอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิต PHA ในเชื้อทั้ง 2 ชนิดด้วยวัตถุดิบที่ให้ประสิทธิภาพการผลิตสูงสุด คือ น้ำมันมะพร้าว พบว่าเชื้อ PHB-1 มีประสิทธิภาพการผลิตสูงกว่าเชื้อ *A.eutrophus* TISTR 1403 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนประสิทธิภาพการผลิต PHB จากเชื้อ PHB-1 พบว่าหางมะพร้าวให้ประสิทธิภาพการผลิตสูงสุด คือ 0.08739 กรัม PHB ต่อกรัมเซลล์ ตามด้วย กากมอลต์ น้ำทิ้งจากโรงงานผลิตน้ำมันปาล์ม กลูโคส กากน้ำตาล น้ำมันมะพร้าว ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.01328, 0.01139, 0.00862, 0.00433 และ 0.00186 กรัม PHB ต่อกรัมเซลล์ ตามลำดับและมีประสิทธิภาพในการผลิต PHB โดยใช้หางมะพร้าวแตกต่างจากแหล่งคาร์บอนอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิต PHB ของทั้ง 2 เชื้อ ด้วยวัตถุดิบที่ประสิทธิภาพการผลิตสูงสุดคือหางมะพร้าว พบว่าเชื้อ PHB-1 มีประสิทธิภาพในการผลิตสูงกว่าการผลิตโดยเชื้อ *A.eutrophus* TISTR 1403 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

The bacterial isolate (82 isolates) on Nutrient Agar (NA), collected from 18 soil and water samples, were screened on HB medium (0.5% 3-hydroxybutyrate) and PHB medium (0.5% poly- $\beta$ -hydroxybutyrate) by replica plating technique. 45 isolates of HB-degrading bacteria and 32 isolates of PHB-degrading bacteria were selected from the primary screening. *Bacillus cereus* PHB-1 and *Escherichia coli* PHB-2, the most effective bacteria for PHB degradation, were eventually obtained after sequential screening in PHB broth by the enrichment technique. Efficiency of PHB degradation was studied by incubating the selective culture in PHB broth. The cultivations were operated at room temperature, and shaking at 200 rpm. The maximum specific growth rates of PHB-1 and PHB-2 were 0.112 and 0.153 h<sup>-1</sup>, respectively. At day 7 of degradation, the residual PHB in media contained PHB-1 and PHB 2 were 58.5 and 40.9%, respectively. The statistical comparisons of residual PHB from 3 treatments of PHB medium (control, degradation by PHB-1, and degradation by PHB-2) indicated that each treatment was significantly different, at 95% confidence.

Growth and efficiency of PHB production in PHB medium were studied by comparing various carbon sources : glucose, whey, spent malt, waste-water from palm oil production, molasses, and coconut oil. PHB-degrading bacteria (PHB-1) and standard culture for PHB production (*A. utrophus* TISTR 1403) were cultivated in PHB medium with various carbon sources for 48 hours. Maximum specific growth rate of PHB degrading PHB-1 was 0.5254 h<sup>-1</sup> in whey, and maximum specific growth rate of *A. eutrophus* TISTR 1403 was 0.0753 h<sup>-1</sup> in coconut oil. The highest efficiency for PHA production of PHB-1 by using coconut oil as carbon source was 0.39019 g.PHA/g.cell, significantly different from those of other carbon sources : waste-water from palm oil production, whey, spent malt, molasses and glucose, which were 0.23844, 0.11731, 0.04055, and 0.01226 g.PHA/g.cell, respectively. The highest efficiency for PHA production of PHB-1 was significantly higher than that of *A. eutrophus* TISTR 1403. In addition, the highest efficiency for PHB production of PHB-1 by using whey as carbon source was 0.0879 g.PHB/g.cell, significantly different from those of other carbon sources: spent malt, waste water from palm oil production, glucose, molass, and coconut, which were 0.01328, 0.01139, 0.00862, 0.00433, and 0.00186 g.PHB/g.cell, respectively. The highest efficiency for PHB production of PHB-1 was significantly higher than that of *A. eutrophus* TISTR 1403, at 95 percent confidence.