

คศิพร โกลมเกษรภัทร์ : การผลิตและการศึกษาลักษณะสมบัติของเทอร์พอลิเมอร์ พอลิ(3-ไฮดรอกซีบิวทิเรต-โค-3-ไฮดรอกวาเลอเรต-โค-4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต) จาก *Bacillus* sp. BA-019 (PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF TERPOLYMER POLY(3-HYDROXYBUTYRATE-CO-3-HYDROXYVALERATE-CO-4-HYDROXYBUTYRATE) FROM *Bacillus* SP. BA-019) อ.ที่ปรึกษา: รศ. ดร. สงครี กุลปรีชา: จำนวน 124 หน้า ISBN 974-17-1192-1

ในการศึกษา การผลิตเทอร์พอลิเมอร์ P(3HB-co-3HV-co-4HB) จาก *Bacillus* sp. BA-019 ซึ่งเป็นแบคทีเรียสายพันธุ์ที่แยกได้ใหม่ พบว่า *Bacillus* sp. BA-019 สามารถผลิตเทอร์พอลิเมอร์ พอลิ(3-ไฮดรอกซีบิวทิเรต-โค-3-ไฮดรอกซีวาเลอเรต-โค-4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต) โดยสารตั้งต้นสำหรับผลิตโมโนเมอร์ 3HB ที่ศึกษา ได้แก่ น้ำตาลทราย ซูโครส และกากน้ำตาล พบว่าการใช้น้ำตาลทรายหรือซูโครส ทำให้สังเคราะห์โมโนเมอร์ 3HB ในสัดส่วนที่เหมาะสม และการผลิตเทอร์พอลิเมอร์ใกล้เคียงกัน เลือกใช้น้ำตาลทรายเป็นสารตั้งต้นสำหรับผลิตโมโนเมอร์ 3HB เนื่องจากมีราคาถูกกว่าซูโครส เมื่อใช้เกลื่อโพพิโอะเนตเป็นสารตั้งต้นสำหรับสังเคราะห์โมโนเมอร์ 3HV พบว่าได้สัดส่วนของ 3HV ใกล้เคียงกันกับการใช้เกลื่อวาเลอเรตเป็นสารตั้งต้น (26 และ 28 มิลเปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) แต่การเจริญและการผลิตเทอร์พอลิเมอร์เมื่อใช้เกลื่อโพพิโอะเนตสูงกว่าการใช้เกลื่อวาเลอเรต ดังนั้นจึงเลือกเกลื่อโพพิโอะเนตเป็นสารตั้งต้นสำหรับ 3HV ส่วนการศึกษาสารตั้งต้นสำหรับสังเคราะห์โมโนเมอร์ 4HB ได้แก่ โซเดียม-4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต 1,4-บิวเทนไดออล และ แกมมา-บิวทิโรแลกโตน พบว่าเมื่อใช้ โซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรต มีผลให้ได้สัดส่วนของโมโนเมอร์ 4HB สูงที่สุดเท่ากับ 18 มิลเปอร์เซ็นต์ การเจริญ คิดเป็นน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 2.51 กรัมต่อลิตร และการผลิตเทอร์พอลิเมอร์เท่ากับ 36 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ซึ่งสูงกว่าการใช้แกมมา-บิวทิโรแลกโตน การศึกษามลของความเข้มข้นของสารตั้งต้น ที่มีต่อสัดส่วนของโมโนเมอร์แต่ละชนิด พบว่าความเข้มข้นของน้ำตาลทรายที่เพิ่มขึ้นมีผลทำให้สัดส่วนของ 3HB เพิ่มขึ้นโดยค่าสูงสุดเท่ากับ 89 มิลเปอร์เซ็นต์ การเจริญคิดเป็นน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 3.33 กรัมต่อลิตร และการผลิตเทอร์พอลิเมอร์ได้เท่ากับ 41 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ความเข้มข้นของเกลื่อโพพิโอะเนตที่เพิ่มขึ้นทำให้สัดส่วนของ 3HV เพิ่มขึ้น และได้ค่าสูงที่สุดเท่ากับ 49 มิลเปอร์เซ็นต์ สัดส่วนของโมโนเมอร์ 4HB เพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของโซเดียม 4-ไฮดรอกซีบิวทิเรตเพิ่มขึ้นและสูงที่สุดเท่ากับ 78 มิลเปอร์เซ็นต์ การศึกษาวิธีเลี้ยง *Bacillus* sp. BA-019 แบบสองขั้นตอนโดยใช้แกมมา-บิวทิโรแลกโตนเป็นสารตั้งต้นสำหรับ 4HB พบว่าเมื่อใช้ปริมาณเซลล์เริ่มต้นที่เหมาะสมเท่ากับ 3.40 กรัมต่อลิตร ได้สัดส่วนของโมโนเมอร์ 4HB เท่ากับ 15 และ 32 มิลเปอร์เซ็นต์ เมื่อมีความเข้มข้นของแกมมา-บิวทิโรแลกโตนเท่ากับ 25 และ 50 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ ในด้านสมบัติทางกายภาพและเชิงกลของแผ่นฟิล์มเทอร์พอลิเมอร์ที่ผลิตได้จากเชื้อ *Bacillus* sp. BA-019 พบว่าแผ่นฟิล์มที่มีสัดส่วนของโมโนเมอร์ 4HB สูง ได้แก่ P(3HB-co-17%3HV-co-22%4HB) และแผ่นฟิล์มที่มีสัดส่วนของ 3HV สูง ได้แก่ P(3HB-co-20%3HV-co-14%4HB) มีค่าเปอร์เซ็นต์การยืดตัวสูง ค่าYoung's modulus ต่ำ และค่าอุณหภูมิกลาสทรานซิชัน กับค่าอุณหภูมิหลอมเหลวมีค่าต่ำใกล้เคียงกันส่งผลให้แผ่นฟิล์มมีลักษณะเหนียวใสและยืดหยุ่นดี ส่วนแผ่นฟิล์มที่มีสัดส่วนของ 3HB สูงที่สุดคือ 81 มิลเปอร์เซ็นต์ ได้แก่ฟิล์ม P(3HB-co-9%3HV-co-10%4HB) พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การยืดตัวต่ำกว่า ค่า Young's modulus สูงกว่า และมีค่าอุณหภูมิกลาสทรานซิชัน กับค่าอุณหภูมิหลอมเหลวสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับแผ่นฟิล์มเทอร์พอลิเมอร์ที่มี 3HV และ 4HB เป็นองค์ประกอบอยู่สูงกว่า จึงมีลักษณะแข็งและเปราะกว่า แผ่นฟิล์มอีกสองชนิด

KEY WORD: P(3HB-co-3HV-co-4HB) / TERPOLYMER/*Bacillus* sp. BA-019/PROPERTIES

SASIPORN KOMONKADRUX : PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF TERPOLYMER

POLY(3-HYDROXYBUTYRATE-CO-3-HYDROXYVALERATE-CO-4-HYDROXYBUTYRATE)

FROM *Bacillus* sp. BA-019. THESIS ADVISOR:ASSOC. PROF. SONGSRI KULPREECHA, Ph.D.

124 ..pp. ISBN 974-17-1192-1

The production of terpolymer P(3HB-co-3HV-co-4HB) from the newly isolated strain ; *Bacillus* sp. BA-019 was investigated. It was found that terpolymer P(3HB-co-3HV-co-4HB) was produced by *Bacillus* sp. BA-019. By using cane sugar, sucrose and cane-molasses as precursors of 3HB monomer, the result showed that suitable mole fraction of 3HB monomer was synthesized and nearly equal or sucrose. Cane sugar was selected as the precursor of 3HB monomer for further study due to lower cost comparing to that of sucrose. Almost equal mole fraction of 3HV monomer were synthesized when sodium propionate and sodium valerate were utilized as precursors of 3HV (26 and 28 mole% respectively). Higher growth of *Bacillus* sp. BA-019 and terpolymer production were investigated in medium containing propionate comparing to that of valerate. Thus, propionate was utilized as precursor of 3HV monomer. Sodium-4-hydroxybutyrate, 1,4-butanediol and gamma-butyrolactone were studied as the suitable precursor of 4HB monomer. The result showed that the highest mole fraction (18 mole.%) of 4HB was synthesized from sodium- 4-hydroxybutyrate, higher cell mass (2.51 g/l) and higher terpolymer productions (36% by dry cell weight) were obtained comparing to that using gamma-butyrolactone. The mole fraction of each monomer was affected by concentration of its precursor, i.e. higher mole fraction (89 mole%) of 3HB was detected with the highest dry cell weight (3.33 g/l) and terpolymer content (41% by dry cell weight) when sugar concentration was increased. It was observed that increasing of propionate concentration resulting in increasing of 3HV mole fraction and reached maximum as 49 mole% . Similarly, higher 4HB mole fraction was determined when sodium 4-hydroxybutyrate concentration increased highest value at 78 mole%. By using two steps cultivation of *Bacillus* sp. BA-019 with gamma-butyralactone as precursor of 4HB, and 3.40 g/l of cell mass 15 and 32 mole% of 4HB monomer were synthesized with 25 and 50 mM of gamma-butyrolactone, respectively. The physical and mechanical properties of the terpolymer films produced by *Bacillus* sp. BA-019 were studied. The film of terpolymer with higher 4HB mole fraction i.e. P(3HB-co-17%3HV-co-22%4HB) and the terpolymer film with higher 3HV mole fraction i.e. P(3HB-co-20%3HV-co-14%4HB) showed high percent elongation low Young's modulus value, T_g and T_m values were nearly equal low then resulted in transparency and flexibility. The terpolymer film with highest 3HV mole fraction (81mole%) i.e. P(3HB-co9%3HV-co-10%4HB) exhibited lower value of percent elongation, higher value of Young's modulus, T_g and T_m were higher than those of terpolymer film that contain higher 3HV and 4HB , thus this terpolymer film showed more toughness and brittleness than another two kinds of terpolymer films.