วรัญญา สุวรรณสิงห์. 2554. **การหมักน้ำอ้อยคั้นแบบกะเพื่อผลิตไบโอพอลิเมอร์โดยแบคทีเรียสายพันธุ์บริสุทธิ์และที่คัดแยกได้.** วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: ผศ.ดร. ผกาวดี แก้วกันเนตร

บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษากระบวนการหมักน้ำอ้อยคั้นแบบกะเพื่อผลิตไบโอพอลิเมอร์พอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอท (พีเอชเอ)โดยใช้จุลินทรีย์สายพันธุ์บริสุทธิ์และสายพันธุ์ที่คัดแยกได้จากสิ่งแวดล้อม จากการศึกษาคุณลักษณะของน้ำอ้อย พบว่ามีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดประมาณ 200-300 กรัมต่อลิตรและมีปริมาณน้ำตาลหลักได้แก่ซูโครส กลูโคสและฟรุคโตส จากนั้นจะเก็บตัวอย่างดินและน้ำอ้อย เพื่อคัดแยกจุลินทรีย์ที่สามารถใช้น้ำตาลซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าคัดแยกได้ 36 ไอโซเลตแต่มีเพียง 4 ไอโซเลต (รหัส SV13, SV19, SC114, SC126) ที่นำมาศึกษาการสะสมพีเอชเอและพบว่าไอโซเลต SV13 สะสมได้สูงสุดที่ 177 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร หลังจากเพาะเลี้ยง 20 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที ค่าพีเอช 7 โดยใช้หัวเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 โดยปริมาตรและความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 10 กรัมต่อลิตร และได้นำไอโซเลต SV13 ไปจัดจำแนกสายพันธุ์ด้วยเทคนิค 16S rDNA พบว่ามีความใกล้เคียงกับแบคทีเรีย *Bacillus cereus* (99% identity) ขณะเดียวกันแบคทีเรีย *Alcaligenes latus* TISTR 1403 สามารถสะสมพีเอชเอสูงสุดที่ 138 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ภายใต้สภาวะเดียวกับที่ใช้ในไอโซเลต SV13 เมื่อเปรียบเทียบความสามารถระหว่างสองสายพันธุ์ เฉพาะไอโซเลต SV13 ถูกเลือกนำไปศึกษาเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมของกระบวนการหมักโดยใช้การออกแบบทางสถิติเพื่อหาพื้นที่ตอบสนองทั้งในระดับฟลาสก์และในถังหมัก โดยทำการกลั่นกรองปัจจัยจากแผนการทดลองแบบ Plackett & Burman ซึ่งพบว่าค่าพีเอชและไนโตรเจนมีผลต่อการผลิตพีเอชเอที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 70 และ 65 ในขณะที่ ปริมาณน้ำตาลเริ่มต้น ความเร็วรอบในการเขย่าและไนโตรเจน มีผลต่อน้ำหนักเซลล์แห้งที่ระดับความเชื่อมั่นมากกว่าร้อยละ 80 จากนั้นจะใช้แผนการทดลอง central composite design (CCD) เพื่อหาพื้นที่ตอบสนองที่ดีที่สุดจากปัจจัย 2 ชนิดคือค่าพีเอชและไนโตรเจน พบว่ารูปแบบการทดลองมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (p<0.05) โดยมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) 0.9818 จากการทดสอบรูปแบบพื้นที่ตอบสนองและสมการความสัมพันธ์ พบว่าค่าจากการทดลองมีค่าใกล้เคียงกับค่าจากสมการ โดยปริมาณการผลิตพีเอชเอสูงสุดในฟลาสก์และในถังหมักเท่ากับ 1.546 และ 0.034 กรัมต่อลิตร คิดเป็นร้อยละ 38.31 และ 2.98 ของปริมาณพีเอชเอต่อน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

Waranya Suwannasing. 2011. **Batch Fermentation of Sugarcane Juice for Production of Biopolymer by Pure and Isolated Bacterial Strains.** Master of Science Thesis in Biotechnology, Graduate School, Khon Kaen University.
Thesis Advisor: Asst. Prof. Dr. Pakawadee Kaewkannetra

ABSTRACT

This research work is to study batch fermentation of sugarcane juice for production of polyhydroxyalkanoates (PHAs) biopolymer by pure and isolated bacterial strains. Firstly, the juice was characterized and consisted of total sugar concentration in range of 200-300 gL^{-1} and three kinds of sugar as sucrose, glucose and fructose. Soil and sugarcane samples were collected to screen PHAs producing microbes. It was found that 36 isolates can be utilized sucrose as a carbon source although only 4 isolates coded as SV13, SV19, SC114 and SC126 were picked and the strain SV13 showed maximum PHAs accumulation at about 177 μgmL^{-1} after 20 hr cultivation under temperature at 37°C, 200 rpm, pH 7 with 10% (v/v) inoculums and 10 gL^{-1} total sugar concentration. In addition, the SV13 was further identified by 16S rDNA technique and found closely to *Bacillus cereus* (99% identity). While, pure strain of *Alcaligenes latus* TISTR 1403 was reached to accumulate maximum PHAs at 138 μgmL^{-1} under the same condition that was used for isolate SV13. Comparing their ability, only SV13 was chosen to further study the process optimization in both flask scale and fermentor by using statistic response surface methodology (RSM). Preliminary screening was employed by Plackett and Burman design. It was found that 2 factors of pH and nitrogen were affected for PHAs production with 70% and 65% confidence levels while 3 factors as initial total sugar, agitation rate and nitrogen were impacted to dry cell weight (DCW) at more than 80% confidence level. Then, central composite design (CCD) was carried out by 2 factors (pH and nitrogen) to model equation. The results revealed the significant model (p<0.05) with determinating coefficient (R^2) was 0.9818. Verification and validation of the response surface model were obtained that the actual value showed nearly to the predict value from the equation model. Maximum PHAs production obtained in flask and the fermentor were 1.546 gL^{-1} and 0.034 gL^{-1} that equivalent to 38.31% and 2.98% (w/w) of PHAs to DCW, respectively.