

วรารุช ฐานะมูล. 2555. การเปลี่ยนเชิงชีวภาพของน้ำข้าวฟ่างหวานเพื่อผลิตพอลิไฮดรอกซี

อัลคาโนเอท. วิทยานิพนธ์ปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: ผศ. ดร. ผกาวัคิ แก้วกันเนตร, ผศ. ดร. ไพบุลย์ ดำนวิรุทัย

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการผลิตไบโอพอลิเมอร์ชนิดพอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอท จากน้ำข้าวฟ่างหวานผ่านการหมักแบบกะและแบบกึ่งกะโดยใช้จุลินทรีย์ที่คัดแยกได้จากดินที่ใช้ปลูกอ้อยเปรียบเทียบกับจุลินทรีย์สายพันธุ์อ้างอิงที่สามารถผลิต PHAs 3 สายพันธุ์ได้แก่ *Alcaligenes latus* TISTR 1403, *Alcaligenes eutrophus* TISTR 1095 และ *Hydrogenophaga* sp. จากการศึกษาองค์ประกอบของน้ำข้าวฟ่างหวาน พบว่ามีปริมาณน้ำตาลรวมเท่ากับ 207.43 กรัมต่อลิตร ประกอบด้วยน้ำตาลหลัก 3 ชนิดคือ น้ำตาลกลูโคส ฟรุคโตส และซูโครส โดยมีปริมาณเท่ากับ 12.32, 5.75 และ 175.97 กรัมต่อลิตรตามลำดับ เมื่อนำจุลินทรีย์ทั้ง 3 สายพันธุ์ มาเลี้ยงในอาหารที่มีน้ำตาลรวมในน้ำข้าวฟ่างหวานเริ่มต้น 20 กรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้จากดิน 3 ชนิด รหัส S4 S6 และ S11 ตามลำดับ พบว่าจุลินทรีย์รหัส S4 สามารถเจริญเติบโตและผลิต PHAs ได้สูงกว่าจุลินทรีย์สายพันธุ์อื่นๆ ซึ่งภายหลังจากการบ่งชี้โดยเทคนิคทางพันธุกรรม 16S rDNA พบว่าจุลินทรีย์ดังกล่าวมีความคล้ายคลึงกับสายพันธุ์ *Bacillus aryabhatai* ร้อยละ 99.7 ดังนั้นจึงได้เลือก *B. aryabhatai* เพื่อใช้ผลิต PHAs ในระดับถังหมักต่อไป และจากการศึกษาสภาวะในการเจริญที่เหมาะสมโดยการแปรผันค่าความเป็นกรดต่าง (5-9) พบว่าจุลินทรีย์ดังกล่าวให้ผลผลิตของ PHAs สูงสุดที่ค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 6.5 เมื่อแปรผันแหล่งไนโตรเจน 5 ชนิดได้แก่ ยูเรีย เปปโตน ยีสต์สกัด แอมโมเนียมคลอไรด์และแอมโมเนียมซัลเฟต พบว่ายูเรียมีความเหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ *B. aryabhatai* จากนั้นเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเจริญและผลิต PHAs ด้วยการออกแบบการทดลองโดยใช้โปรแกรม Design expert (trial version) เพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสมโดยใช้วิธี Response surface methodology (RSM) พบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับจุลินทรีย์ *B. aryabhatai* เป็นดังนี้ ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 70.57 กรัมต่อลิตร ยูเรีย 9.37 กรัมต่อลิตร โซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 4 กรัมต่อลิตร โพตัสเซียมฟอสเฟต 1 กรัมต่อลิตร แมกนีเซียมซัลเฟต 0.1 กรัมต่อลิตร และธาตุอาหารเสริม 1 มิลลิลิตรต่อลิตร โดยในระดับฟลาस्क สามารถผลิตเซลล์แห้งและปริมาณ PHAs ได้สูงสุดเท่ากับ 6.22 และ 2.43 กรัมต่อลิตร เมื่อขยายขนาดการหมักแบบกะภายในถังหมักขนาด 3 ลิตร พบว่าได้ปริมาณเซลล์แห้งจุลินทรีย์และปริมาณ PHAs สูงสุดเท่ากับ 10.38 และ 4.36 กรัมต่อลิตร ยิ่งไปกว่านั้นการหมักแบบกึ่งกะภายในถังหมักขนาด 3 ลิตร

พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณเซลล์แห้งของจุลินทรีย์และปริมาณ PHAs ได้ประมาณ 3 เท่าของการหมักแบบกะ โดยปริมาณเซลล์แห้งของจุลินทรีย์และปริมาณ PHAs เท่ากับ 28.65 และ 15.57 กรัมต่อลิตร จากนั้น PHAs ที่ผลิตได้นั้นนำมาทดสอบโครงสร้างและคุณสมบัติทางความร้อนพบว่า PHAs ที่ได้จากการหมักน้ำข้าวฟ่างหวานนั้นมีโครงสร้างส่วนใหญ่เช่นเดียวกับสารมาตรฐานของพอลิเมอร์ชีวภาพของพอลิไฮดรอกซีไฮดรอกซีบิวไทเรต (PHB)