วราวุธ ธนะมูล. 2555. **การเปลี่ยนเชิงชีวภาพของน้ำข้าวฟ่างหวานเพื่อผลิตพอลีไฮดรอกซีอัลคาโนเอท**. วิทยานิพนธ์ปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: ผศ. ดร. ผกาวดี แก้วกันเนตร, ผศ. ดร. ไพบูลย์ ด่านวิรุทัย

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการผลิตไบโอพอลีเมอร์ชนิดพอลีไฮดรอกซีอัลคาโนเอท 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 aryabhattai* ร้อยละ 99.7 ดังนั้นจึงได้เลือก *B. aryabhattai* เพื่อใช้ผลิต PHAs ในระดับถังหมักต่อไป และจากการศึกษาสภาวะในการเจริญที่เหมาะสมโดยการแปรผันค่าความเป็นกรดด่าง (5-9) พบว่าจุลินทรีย์ดังกล่าวให้ผลผลิตของ PHAs สูงสุดที่ค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 6.5 เมื่อแปรผันแหล่งไนโตรเจน 5 ชนิดได้แก่ ยูเรีย เปปโตน ยีสต์สกัด แอมโมเนียมคลอไรด์และแอมโมเนียมซัลเฟต พบว่ายูเรียมีความเหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ *B. aryabhattai* จากนั้นเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเจริญและผลิต PHAs ด้วยการออกแบบการทดลองโดยใช้โปรแกรม Design expert (trial version) เพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสมโดยใช้วิธี Response surface methodology (RSM) พบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับจุลินทรีย์ *B. aryabhattai* เป็นดังนี้ ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 70.57 กรัมต่อลิตร ยูเรีย 9.37 กรัมต่อลิตร โซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 4 กรัมต่อลิตร โปตัสเซียมฟอสเฟต 1 กรัมต่อลิตร แมกนีเซียมซัลเฟต 0.1 กรัมต่อลิตร และธาตุอาหารเสริม 1 มิลลิลิตรต่อลิตร โดยในระดับฟลาสก์ 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 ที่ได้จากการหมักน้ำข้าวฟ่างหวานนั้นมีโครงสร้างส่วนใหญ่เช่นเดียวกับสารมาตรฐานของพอลีเมอร์ชีวภาพของพอลีไฮดรอกซีไฮดรอกซีบิวไทเรต (PHB)

Varavut Tanamool. 2012. **Bioconversion of Sweet Sorghum Juice for Production of Polyhydroxyalkanoate.** Doctor of Philosophy Thesis in Biotechnology, Graduate School, Khon Kaen University.

Thesis Advisors: Asst. Prof. Dr. Pakawadee Kaewkannetra,
Asst. Prof. Dr. Paiboon Danvirutai

ABSTRACT

This research aims to study the production of a biopolymer of polyhydroxyalkanoates (PHAs) using sweet sorghum juice (SSJ) via batch and fed-batch fermentations by microorganisms isolated from sugar cane plantation soil comparing with 3 capable PHAs producing strains of *Alcaligenes latus* TISTR 1403, *Alcaligenes eutrophus* TISTR 1095 and *Hydrogenophaga* sp, respectively. The SSJ was characterised and contained of total sugar concentration at 207.43 g/L and composed of three main sugars as glucose (12.32 g/L), fructose (5.75 g/L) and sucrose (175.97 g/L), respectively. The three isolated strains coded as S4, S6 and S11were selected for cultivation in the SSJ medium containing 20 g/L initial total sugar of SSJ in shaking flask. The results showed that the strain S4 which was identified by 16S rDNA sequencing as *Bacillus aryabhattai* (99.7 %), could grow better than other strains. This strain was selected for further fermentation in fermenter scale. The optimal condition for growth under variation of pH (5-9) was found at 6.5 to obtain the maximum PHAs production. Comparing among nitrogen sources studied, viz. urea, peptone, yeast extract, ammonium chloride (NH_4Cl) and ammonium sulphate ($(NH_4)_2SO_4$) for PHAs production, it evidenced that urea was the most suitable for the growth of *B. aryabhattai*. Then, Design Expert program (trial version) was used to optimize growth condition and the production of PHAs by response surface methodology (RSM). The optimal medium compositions were obtained as follows; 70.57 g/L of total sugar, 9.37 g/L urea, 4 g/L Na_2HPO_4, 1 g/L KH_2PO_4, 0.1 g/L $MgSO_4$ $7H_2O$ and 1 mL/L trace element. The maximum dry cell weight (DCW) and PHAs concentration were 6.22 g/L and 2.43 g/L. When the production was extended to 3 L bioreactor, a maximum DCW and PHAs concentration raised to 10.38 g/L and 4.36 g/L. Furthermore, fed-batch fermentation could improve DCW and PHAs

concentration approximately 3 folds (28.65 g/L and 15.57 g/L). The recovered PHAs exhibited the structure and thermal properties highly similar to the standard biopolymer of polyhydroxybutyrate (PHB).