

บทคัดย่อ

โครงการวิจัยนี้เป็นการศึกษากระบวนการต้นน้ำถึงปลายน้ำเพื่อผลิตไบโอพอลิเมอร์ชนิดพอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอท (PHAs) จากวัตถุดิบที่มีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบหลัก 2 ชนิดได้แก่ น้ำคั้นข้าวฟ่างหวานและน้ำอ้อยคั้น โดยใช้แบคทีเรีย 3 สายพันธุ์ได้แก่ *Alcaligenes latus* TISTR 1403, *A. eutrophus* TISTR 1095 และ *Hydrogenophaga* sp และจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้จากดิน 3 ชนิดรหัส S4 S6 และ S11 ตามลำดับ พบว่าจุลินทรีย์รหัส S4 สามารถเจริญและผลิต PHAs ได้สูงกว่าสายพันธุ์อื่นๆ ซึ่งจากการบ่งชี้โดยเทคนิคทางพันธุกรรม 16s rDNA พบว่ามีความคล้ายคลึงกับแบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus aryabhattai* (99.7%) ดังนั้นจึงได้เลือก *B. aryabhattai* เพื่อใช้ผลิต PHAs ในกรณีของการหมักน้ำคั้นข้าวฟ่างหวาน จากการศึกษาองค์ประกอบหลักในน้ำคั้นต้นข้าวฟ่างหวานและน้ำอ้อย พบว่าน้ำตาลเป็นองค์ประกอบอยู่หลายชนิด โดยมีน้ำตาลรวมทั้งหมดเท่ากับ 207.43 และ 105.5 กรัมต่อลิตร จากการศึกษาการหมักน้ำคั้นข้าวฟ่างหวานแบบกะและแบบกึ่งกะ โดยใช้ *B. aryabhattai* พบว่าในฟลาสก์เขย่าสามารถผลิตเซลล์แห้งและปริมาณ PHAs ที่ผลิตได้สูงสุดเท่ากับ 6.22 และ 2.43 กรัมต่อลิตร ใช้เวลาในการหมัก 66 ชั่วโมง คิดเป็นผลได้มวลเซลล์ ($Y_{x/s}$) เท่ากับ 0.17 กรัมเซลล์แห้งต่อกรัมน้ำตาลรวมที่ถูกใช้ คิดเป็นผลได้ผลิตภัณฑ์ ($Y_{p/s}$) เท่ากับ 0.066 กรัม PHAs ต่อกรัมน้ำตาลรวมที่ถูกใช้ จุลินทรีย์สามารถสะสม PHAs เท่ากับ 39.07% โดยน้ำหนัก และคิดเป็นอัตราการผลิตเท่ากับ 0.037 กรัมต่อลิตรชั่วโมง สำหรับการหมักแบบกะในถังหมักพบว่าที่เวลาหมัก 72 ชั่วโมงได้ปริมาณเซลล์แห้งจุลินทรีย์และปริมาณ PHAs สูงสุดเท่ากับ 10.38 และ 4.36 กรัมต่อลิตร คิดเป็นผลได้มวลเซลล์และผลได้ผลิตภัณฑ์เท่ากับ 0.19 และ 0.081 จุลินทรีย์สามารถสะสม PHAs เท่ากับ 42% โดยน้ำหนัก และคิดเป็นอัตราการผลิตเท่ากับ 0.061 กรัมต่อลิตรชั่วโมง ในขณะที่การหมักแบบกึ่งกะภายในถังหมัก พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณเซลล์แห้งของจุลินทรีย์และปริมาณ PHAs ได้สูงสุดเท่ากับ 14.20 และ 4.84 กรัมต่อลิตร คิดเป็นอัตราการผลิตเท่ากับ 0.073 กรัมต่อลิตรชั่วโมง ภายหลังการหมักนาน 66 ชั่วโมง ในกรณีการหมักน้ำอ้อยคั้นแบบกะในฟลาสก์โดยใช้แบคทีเรีย *A. eutrophus* พบว่า ความเข้มข้นของน้ำตาลรวมที่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์เท่ากับ 50 กรัมต่อลิตร ซึ่งได้เซลล์แห้งสูงสุดและปริมาณ PHAs สูงสุดเท่ากับ 6.0129 และ 1.8377 กรัมต่อลิตร โดยใช้เวลาในการหมักทั้งสิ้น 60 ชั่วโมง คิดเป็นผลได้มวลเซลล์ เท่ากับ 0.1634 กรัมเซลล์แห้งต่อกรัมน้ำตาลรวมที่ถูกใช้ คิดเป็นผลได้ผลิตภัณฑ์เท่ากับ 0.0499 กรัม PHAs ต่อกรัมน้ำตาลรวมที่ถูกใช้ คิดเป็นผลได้ผลิตภัณฑ์จำเพาะ ($Y_{p/x}$) เท่ากับ 0.3056 กรัม PHAs ต่อกรัมเซลล์แห้ง และคิดเป็นอัตราการผลิตเท่ากับ 0.0306 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และในกรณีการหมักแบบกะภายในถังหมัก พบว่าที่เวลาหมัก 60 ชั่วโมงได้ปริมาณเซลล์แห้งจุลินทรีย์และปริมาณ PHAs สูงสุดเท่ากับ 5.8806 และ 1.2812 กรัมต่อลิตร คิดเป็นผลได้มวลเซลล์เท่ากับ 0.1897 คิดเป็นผลได้ผลิตภัณฑ์ เท่ากับ 0.0413 คิดเป็นผลได้ผลิตภัณฑ์จำเพาะ เท่ากับ 0.2180 และคิดเป็นอัตราการผลิตเท่ากับ 0.0213 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าศักยภาพของการใช้น้ำคั้นข้าวฟ่างหวานและน้ำอ้อยเป็นวัตถุดิบตั้งต้นเพื่อผลิตเป็นสารผลิตภัณฑ์ PHAs ที่มีมูลค่าเพิ่มสูงขึ้น

ABSTRACT

This research project is to study upstream to downstream processes for production of biopolymers of polyhydroxyalkanoates (PHAs) from two sugar based agricultural raw materials as sweet sorghum juice (SSJ) and sugarcane juice by three bacterial strains of *Alcaligenes latus* TISTR 1403, *Alcaligenes eutrophus* TISTR 1095 and *Hydrogenophaga* sp. and including 3 strains coded as S4, S6 and S11 that were isolated from soil environment. It was found that the Isolate S4, identified by 16s rDNA morphology and found as *Bacillus aryabhattai* (99.7 % similarly), can be grown better than other strains. Thus, it was chosen to further study for production of PHAs from sweet sorghum juice. Then, composition of the both juices were characterised and found that the juice contained of total sugar concentrations at 207.43 gL^{-1} for the SSJ and at 105.5 gL^{-1} for the sugarcane juice. Batch fermentation of the SSJ were performed in both flask and fermentor. The results from flask scale revealed that maximum biomass, biomass yields ($Y_{x/s}$), PHAs yield ($Y_{p/s}$) and productivity of 6.22 gL^{-1} , 0.17 gg^{-1} , 2.43 gL^{-1} , 0.066 gg^{-1} and $0.037 \text{ gL}^{-1}\text{h}^{-1}$, respectively, were obtained after 66 h fermentation while in case of fermentor, a maximum dry biomass of 10.38 gL^{-1} biomass yields ($Y_{x/s}$) and PHAs content at 4.36 gL^{-1} were obtained after 72 hr fermentation. The results were equivalent to biomass ($Y_{x/s}$), PHAs yield ($Y_{p/s}$) and productivity at 0.19 gg^{-1} , 0.081 gg^{-1} and $0.061 \text{ gL}^{-1}\text{h}^{-1}$, respectively. When fed-batch fermentation was further considered, it was found that the cell density, PHAs concentration and the productivity could improve and showed maximum values at 14.20 gL^{-1} , 4.84 gL^{-1} and $0.073 \text{ gL}^{-1}\text{h}^{-1}$, respectively after 66 h fed batch cultivation. In case of batch fermentation of sugar cane juice in shake flask by pure bacterial strains of *A. latus* TISTR 1403 and *A. eutrophus* TISTR 1095, it was found that the *A. eutrophus* could grow better than the *A. latus*. Thus, only the *A. eutrophus* was further cultivated via batch fermentation in both shask flask and fermentor. For flask scale, the dry cell mass (DCM) and maximum PHAs were obtained at 6.013 gL^{-1} and 1.84 gL^{-1} after 60 hr fermentation that were converted to biomass yield ($Y_{x/s}$) and product yield ($Y_{p/s}$) of 0.163 and $0.050 \text{ gL}^{-1}\text{h}^{-1}$ while, specific product yield ($Y_{p/x}$) and productivity were reached at 0.306 and $0.031 \text{ gL}^{-1}\text{h}^{-1}$. In case of fermentor, the DCM and the maximum PHAs were obtained at 5.881 gL^{-1} and 1.281 gL^{-1} that were calculated to values of $Y_{x/s}$, $Y_{p/s}$, $Y_{p/x}$ and productivity at about 0.190, 0.041, 0.218 and $0.0213 \text{ gL}^{-1}\text{h}^{-1}$, respectively. The results obtained clearly demonstrated the great potential use of the SSJ and the sugarcane juice as raw materials for production of added value product of PHAs.