บทคัดย่อ

การผลิตพอลิเมอร์พลาสติกสลายตัวได้ทางชีวภาพเป็นที่สนใจ เพื่อใช้ทดแทนพลาสติกจากปิโตรเคมี พอลิไฮดรอกซีแอลคาโนเอท (พีเอชเอ) เป็นพอลิเมอร์พลาสติกสลายตัวได้ทางชีวภาพชนิดหนึ่ง ที่ได้จากกระบวนการทางชีวภาพของจุลินทรีย์ และมีศักยภาพในการใช้ประโยชน์ด้านการแพทย์และบรรจุภัณฑ์ การผลิตพอลิเมอร์พลาสติกชีวภาพชนิดพีเอชเอนี้ยังมีข้อจำกัดด้านวัตถุดิบ กระบวนการผลิต และกรรมวิธีการสกัด ส่งผลให้มีต้นทุนการผลิตสูงและมีความเสี่ยงจากตัวทำละลายอันตรายที่ใช้เป็นสารสกัด การศึกษาครั้งนี้จึงมุ่งพัฒนากระบวนการผลิตพอลิเมอร์พลาสติกชีวภาพชนิดพีเอชเอที่มีความเหมาะสมต่อการใช้งานโดยแบคทีเรียสายพันธุ์เฉพาะจากวัตถุดิบแป้งมันสำปะหลังที่มีราคาถูก ผลสำเร็จที่ได้อาจช่วยสร้างมูลค่าเพิ่มและเสถียรภาพด้านราคาแก่พืชผลทางการเกษตร เน้นการพัฒนากระบวนการเลี้ยงจุลินทรีย์เพื่อผลิตสารและกรรมวิธีการสกัดสารพอลิเมอร์พลาสติกชีวภาพที่ลดการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์อันตรายเพื่อให้มีต้นทุนการผลิตต่ำและลดความเสี่ยงจากสารที่เป็นพิษ แบคทีเรียสายพันธุ์เฉพาะที่ใช้ศึกษาเป็นสายพันธุ์ปลอดภัย คัดแยกได้ในประเทศไทย ต่างกันจำนวน 2 สายพันธุ์ คือ *Chryseobacterium* sp. SUT-NZT6 และ SUT-NZT9 เมื่อเลี้ยงแบคทีเรียให้ผลิตพอลิเมอร์พีเอชเอระดับห้องปฏิบัติการแบบกึ่งกะสองขั้นตอน ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพที่บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อจากผลการศึกษาปริมาตร 5-10 ลิตร ด้วยสภาวะเหมาะสมที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ให้อากาศ 2.0 ลิตรต่อนาที กวนด้วยความเร็ว 300 รอบต่อนาที การเลี้ยงแบคทีเรียในขั้นตอนแรกใช้อาหารสมบูรณ์เตรียมจากแป้งมันสำปะหลังปริมาณ 30 กรัมต่อลิตร (น้ำหนักแห้ง) ปริมาตร 3 ใน 5 ส่วนของปริมาตรสุดท้าย เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเติมอาหารขั้นต่ำที่มีกลูโคสความเข้มข้นสุดท้าย 10 กรัมต่อลิตร ให้ครบปริมาตรสุดท้าย เลี้ยงแบคทีเรียต่ออีก 48 ชั่วโมง สามารถผลิตเซลล์แบคทีเรียสายพันธุ์ SUT-NZT6 และ SUT-NZT9 ได้โดยเฉลี่ย 81.57 และ 79.48 กรัมต่อลิตร (น้ำหนักเปียก) ราว 15 และ 14 กรัมต่อลิตร (น้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ ที่มีพีเอชเอสะสมไม่น้อยกว่าร้อยละ 26 ของน้ำหนักเซลล์แห้ง ได้ทดสอบคุณลักษณะของพอลิเมอร์พลาสติกชีวภาพชนิดพีเอชเอในเบื้องต้น ด้านความเหมาะสมต่อการใช้งาน พบว่าพีเอชเอที่ผลิตจากแบคทีเรียสายพันธุ์เฉพาะทั้ง 2 สายพันธุ์ มีพอลิ-ไฮดรอกซีอัลคาโนเอทชนิดพอลิ-3ไฮดรอกซีบิวทิเรท และพอลิ-4ไฮดรอกซีบิวทิเรท เป็นส่วนประกอบ สามารถทำฟิล์มและขึ้นรูปได้ดี พีเอชเอจากแบคทีเรียสายพันธุ์ SUT-NZT6 และ SUT-NZT9 มีอุณหภูมิหลอมสูงโดยเฉลี่ย 168.60 และ 167.55 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ใกล้เคียงกับพอลิเมอร์ที่ได้จากปิโตรเคมีที่ใช้งานทั่วไปชนิดโพลีเอทิลีนและพอลิโพรไพลีน ชนิดไอโซแท็กติก พอลิโพรไพลีน (มีอุณหภูมิหลอมประมาณ 139 และ 171 องศาเซลเซียส ตามลำดับ) พร้อมทั้งได้พัฒนาวิธีการสกัดพอลิเมอร์พีเอชเอจากเซลล์แบคทีเรียสายพันธุ์เฉพาะที่ศึกษานั้น เป็นกรรมวิธีที่ไม่ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์อันตรายที่มีประสิทธิภาพสูงเป็นสารสกัด และสามารถพัฒนาต่อให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้นและต้นทุนต่ำกว่าวิธีที่ใช้กันอย่างแพร่หลายทั่วไป

Abstract

The biodegradable plastic polymers have been being of interest to replace plastics from petrochemicals. Polyhydroxyalkanoates (PHA) are a group of biodegradable polymers synthesized and stored in some bacterial cells as water-insoluble inclusions, and recognized as plastics. The polymers could be produced by microbial technology and potentially used for medical and packaging materials. The production of PHA is still limited by raw materials, production process, and extraction method, resulting in high production costs and the risk from dangerous extraction solvents. This study; therefore, aimed to produce the desirable PHA from cassava starch, a cheap raw material, by the selected specific bacterial strains, with emphasizing on developing the bacterial cultivation process and the bio-polymer extraction method to obtain the low PHA production cost and low risk with toxic solvents for extracting the bio-polymers. The efficient use of this starchy raw material could result in value added and price stability of the agricultural product. Two different non-pathogenic bacterial strains, *Chryseobacterium* sp. SUT-NZT6 and SUT-NZT9, isolated from their natural habitats in Thailand, were selected for PHA production in laboratory scale using 5-10 L of the optimized media in a bioreactor under optimum cultivation conditions at 30°C, with aeration rate at 2.0 L/min, and agitation speed at 300 rpm. Two steps of fed batch cultivation were performed by firstly growing each bacterial pure culture in three-fifths of volume of the suitable complex medium prepared from cassava starch (30 g/L, dry weight) for 24 h. Secondly, the minimal medium containing glucose at the final concentration of 10 g/L, was added to make up to the final volume, and further cultivated for 48 h. Yields of SUT-NZT6 and SUT-NZT9 cell mass of 81.57 and 79.48 g/L (wet weight) or approximately 15 and 14 g/L (dry weight), respectively, accumulating PHA at least 26% of dry cells were achieved. For preliminary testing the suitability for application, the bio-polymers produced by both specific bacterial strains were found to contain poly(3-hydroxybutyrate) [P(3HB)] and poly(4-hydroxybutyrate) [P(4HB)], and exhibit high melting temperatures at 168.60 and 167.55°C, respectively, closed to the most common petro-plastics in daily life, polyethylene (~139°C) and polypropylene (isotactic polypropylene, ~171°C). The PHA polymers could be fabricated into film, and be used for moulding. The method for extracting PHA from cells of the selected bacterial strains was also developed to be simple and avoid the expensive and toxic risk solvent, which could be further modified to be the cheap and efficient extraction method.