

หัวข้อโครงการวิจัย	ความหลากหลายของแบคทีเรียบริเวณรอบรากพืชที่สามารถผลิตพลาสติกชีวภาพชนิดพอลิไฮดรอกซีแอลคาโนเอท (พีเอชเอ) เพื่อการประยุกต์ใช้ประโยชน์ในเชิงอุตสาหกรรมพลาสติกชีวภาพ
รหัสโครงการวิจัย	SUT1-111-63-12-02(NEW)
ผู้เขียน	อาจารย์ ดร.วาสนา เป็นเครือ
ปีที่วิจัย	2565

## บทคัดย่อ

การใช้พลาสติกจากปิโตรเคมีส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมโดยเฉพาะในด้านการจัดการของเสียที่เกิดขึ้น รวมทั้งกระบวนการผลิตยังก่อให้เกิดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการผลิตพลาสติกชีวภาพชนิดพอลิไฮดรอกซีแอลคาโนเอท (พีเอชเอ) จากจุลินทรีย์ที่แยกได้จากดินรอบรากพืชในจังหวัดนครราชสีมา ลำปางและชลบุรี ด้วยวิธี Dilution spread plate บนอาหาร Mineral salt medium (MSM) ที่เติมกากน้ำตาลความเข้มข้น 1 Brix° เป็นแหล่งคาร์บอน จากนั้นทำการคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการผลิตพลาสติกชีวภาพชนิดพีเอชเอโดยการย้อมเม็ดพลาสติกชีวภาพภายในเซลล์จุลินทรีย์ด้วยวิธี Nile red staining ภายใต้อกล้องจุลทรรศน์เรืองแสงและวิเคราะห์เชิงปริมาณด้วย Gas chromatography โดยใช้สถิติ One-way ANOVA ในการวิเคราะห์ผลการทดลอง นอกจากนี้ทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา ชีวเคมีเบื้องต้นและวิวัฒนาการทางพันธุกรรมของยีน 16S rRNA ของแบคทีเรียคัดเลือก 5 ไอโซเลท ผลการวิจัยพบว่า แบคทีเรียจำนวน 396 ไอโซเลทถูกแยกจากตัวอย่างดินรอบรากพืชจำนวน 40 ตัวอย่างดิน และสามารถสะสมเม็ดพลาสติกชีวภาพชนิดพีเอชเอภายในเซลล์ ทั้งนี้พบว่าเมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี Gas chromatography แบคทีเรียจำนวน 5 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท WP14-2, WP18-1, WP32-2, WP43-4 และ WP45-2 สามารถผลิตพอลิไฮดรอกซีวาลอเรท (พีเอชวี) ได้สูงสุด คือ  $78.73 \pm 1.29$ ,  $66.70 \pm 2.72$ ,  $58.69 \pm 0.53$ ,  $71.72 \pm 2.84$  และ  $89.03 \pm 1.17$  มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ นอกจากนี้จากการศึกษาความวิวัฒนาการทางพันธุกรรมเพื่อบ่งชี้ชนิดของจุลินทรีย์ด้วยยีน 16S rRNA พบว่า ไอโซเลท WP45-2 มีความใกล้เคียงกับ *Streptomyces viridochromogenes* (99.57%) มากที่สุด ผลการวิจัยยังแสดงให้เห็นว่าจุลินทรีย์รอบพืชมีความสามารถในการเป็นแหล่งผลิตพลาสติกชีวภาพชนิด PHAs โดยใช้กากน้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอน

คำสำคัญ : พอลิไฮดรอกซีแอลคาโนเอท, พลาสติกชีวภาพ, จุลินทรีย์รอบรากพืช

<b>Research Title</b>	Diversity of polyhydroxyalkanoate (PHA)-producing bacteria from rhizosphere soil for bioplastic industrial application
<b>Research code</b>	SUT1-111-63-12-02(NEW)
<b>Author</b>	Dr. Watsana Penkhruie
<b>Year</b>	2022

## Abstract

The use of petroleum-based plastics affects the environment, especially in terms of waste management. Moreover, the production process also related with carbon oxide emission. This research aim at studying on polyhydroxyalkanoates (PHAs) production from microorganisms which were isolated from rhizosphere soil samples in Nakhon Ratchasima, Lampang and Chonburi provinces. The soil samples were prepared using dilution spread plate method on mineral salt medium (MSM) containing 1 Brix° molasses. Primary and secondary screening were investigated using Nile red staining under fluorescent microscope and gas chromatography for selecting the highest efficiency of PHAs-producing microorganisms. One-way ANOVA Statistical analysis was implemented. Moreover, the morphological characteristics, biochemical characteristics and 16S rRNA phylogeny of selected 5 isolates were studied. The results showed that a total of 396 bacterial isolates were isolated from 40 rhizosphere soil samples. It can accumulate PHAs inside their cells. A total of 5 isolates including WP14-2, WP18-1, WP32-2, WP43-4 and WP45-2 showed the high polyhydroxyvalerate (PHV) yields as  $78.73 \pm 1.29$ ,  $66.70 \pm 2.72$ ,  $58.69 \pm 0.53$ ,  $71.72 \pm 2.84$  และ  $89.03 \pm 1.17$  mg/L, respectively. Isolate WP45-2 showed the highest PHV productivity and presented the greatest similarity to *Streptomyces viridochromogenes* (99.57%). It was also indicated that rhizosphere microorganisms can be PHAs bioplastic producer using molasses as a carbon source.

**Keyword :** Polyhydroxyalkanoates, Bioplastics, Rhizospheric microorganisms