

รายงานการวิจัย

เรื่อง

การผลิตโคพอลิเมอร์จากน้ำเสียโรงงานแปรรูปอาหารทะเลโดยใช้เชื้อ

Achromobacter sp. ที่แยกได้จากตะกอนเร่ง

Production of co-polymer from seafood processing industrial
wastewater using *Achromobacter* sp. Isolated from activated sludge

จัดทำโดย

ปิยะรัตน์ บุญแสวง

เบญจมาศ เขียรศิลป์

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพอุตสาหกรรม คณะอุตสาหกรรมเกษตร

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

งบประมาณแผ่นดินประจำปี 2551-2552

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิต Polyhydroxyalkanoate (PHA) จากน้ำเสียโรงงานอาหารทะเล โดยใช้แบคทีเรียที่แยกได้จากระบบแอสปีอาร์ท จากการศึกษาองค์ประกอบของน้ำเสียจากถังสร้างกรดที่จะนำมาใช้ พบว่ามีปริมาณกรดและมีปริมาณซีไอดี เท่ากับ 207.46 และ 1,875 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ เมื่อทำการศึกษากการแยกและคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียจากกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์จากระบบแอสปีอาร์ทที่สามารถสะสม PHA ไว้ภายในเซลล์ โดยทดสอบการติดสีของ Sudan Black B พบว่าสามารถคัดเลือกเชื้อได้ 4 ไอโซเลท คือ PSU-I, PSU-M, PSU-V และ PSU-X หลังจากนั้นนำเชื้อที่ได้มาเทียบเคียงสายพันธุ์จุลินทรีย์ โดยใช้เทคนิค 16s rDNA พบว่า PSU-I และ PSU-M เทียบเคียงได้เป็น *Achromobacter xylosoxidans* และ *Achromobacter* sp. ตามลำดับ ส่วน PSU-V และ PSU-X เทียบเคียงได้เป็น *Acinetobacter baumannii* จากนั้นจึงนำเชื้อทั้ง 4 ไอโซเลทมาเลี้ยงในน้ำเสียจากถังสร้างกรดของโรงงานอาหารทะเล ที่มีการเติมกรดโพธิโอติก 60 มิลลิโมลาร์ เป็นแหล่งคาร์บอน ด้วยความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง (30 ± 2 องศาเซลเซียส) พบว่าเชื้อ *A. xylosoxidans* PSU-I และ *Achromobacter* sp. PSU-M ให้การผลิต PHA สูงสุด (0.45 และ 0.41 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ) และเมื่อทำการศึกษากการผสมเชื้อจุลินทรีย์ พบว่าการเลี้ยงเชื้อผสมระหว่าง *A. xylosoxidans* PSU-I และ *Achromobacter* sp. PSU-M ให้การผลิต PHA สูงสุด (0.52 กรัมต่อลิตร) นอกจากนี้ยังพบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการผลิต PHA คือ การเติมเชื้อเริ่มต้นที่ 10% ในน้ำเสียที่เติมกรดควาลิริก 60 มิลลิโมลาร์ ซึ่งผ่านการฆ่าเชื้อ และปรับพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเป็น 7 บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ให้อากาศในอัตรา 1.0 vvm ร่วมกับการกวนที่ 200 รอบต่อนาที พบว่า สามารถเจริญและผลิต PHA ได้สูงสุดเท่ากับ 3.20 และ 2.29 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ คิดเป็น 71.5% ของปริมาณเซลล์ และจากการศึกษาการผลิต PHA แบบกึ่งต่อเนื่องของการเลี้ยงเชื้อผสมระหว่าง *Achromobacter xylosoxidans* PSU-I และ *Achromobacter* sp. PSU-M ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมเป็นเวลา 72 ชั่วโมง หลังจากนั้นทำการถ่ายน้ำหมักออก 50% และเติมอาหารใหม่ 50% พบว่า หลังจากเปลี่ยนถ่ายอาหารใหม่ภายใน 48 ชั่วโมง (ชั่วโมงที่ 120) ปริมาณเซลล์และปริมาณ PHA เท่ากับ 3.20 และ 2.29 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ มีการสะสม PHA ภายในเซลล์ 72.7% ของน้ำหนักเซลล์แห้ง โดยมีปริมาณเซลล์และ PHA ที่เท่ากับการเติมอาหารแบบครั้งเดียวแต่ใช้ระยะเวลาที่สั้นลง โดย PHA ที่ได้เป็นโคพอลิเมอร์ชนิด Polyhydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate (PHBV) มีสัดส่วนของ HB และ HV เท่ากับ 30.56 และ 69.44% โมล

Abstract

This research studied the optimum conditions for polyhydroxyalkanoates (PHA) production from seafood processing wastewater using bacterial strains isolated from sequencing batch reactor (SBR) system. Characteristic of wastewater contained acid concentration of 207.46 mg/L and COD of 1,875 mg/L. The isolation and screening of bacteria from consortium obtained from SBR system for PHA accumulation in cell were investigated by staining with Sudan Black B. It was found that four isolates; PSU-I, PSU-M, PSU-V and PSU-X were positively stained. Afterward, the positive isolates was identified base on the 16s rDNA technique. The isolates PSU-I and PSU-M were *Achromobacter xylosoxidans* and *Achromobacters* sp., respectively, whereas PSU-V and PSU-X were *Acinetobacter baumannii*. Furthermore, four isolates were cultivated in wastewater supplemented with 60 mM propionic acid under shaking flask at 200 rpm and at room temperature. The cultivation of *A. xylosoxidans* PSU-I and *Achromobacter* sp. PSU-M gave the maximum PHA production (0.45 and 0.41 g/L, respectively). Moreover, the mixed culture was investigated. It was found that the mixed culture of *A. xylosoxidans* PSU-I and *Achromobacter* sp. PSU-M gave the maximum PHA production (0.52 g/L). In addition, the optimum condition for PHA production was by using 10% inoculation in the sterile wastewater supplemented with 60mM of valeric acid and initial pH of 7.0 and cultivated at aeration of 1 vvm and agitation of 200 rpm. Under circumstantial condition, the cell and PHA content were 3.20 and 2.29 g/L, respectively with PHA content of 71.5%. Also, the cultivation of *A. xylosoxidans* PSU-I and *Achromobacter* sp. PSU-M in semi-continuous mode was investigated with 50% medium transfer after 72 h. It was found that the cell and PHA content of 3.20 and 2.29 g/L, respectively with PHA content of 72.7% was obtained within 48 h after medium transfer (total time of 120 h). It indicated that the cell and PHA content in semi-continuous mode were the same as in the batch mode, but the time for cultivation was reduced. The obtained PHA is copolymer of poly - hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate (PHBV) consisting of 30.56% HB fraction and 69.44% HV fraction.