ชื่อวิทยานิพนธ์ การผลิตและการย่อยสลายพอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอตจากน้ำเสียโดยใช้ *Ralstonia eutropha* TISTR 1095

ผู้เขียน นางสาวดวงนภา แซ่ลิ่ม

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ

ปีการศึกษา 2549

บทคัดย่อ

ในปัจจุบันการใช้พอลิเมอร์ย่อยสลายได้ เช่น พอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอต (polyhydroxyalkanoates, PHA) เป็นแนวทางหนึ่งในการแก้ปัญหาขยะพลาสติก ในงานวิจัยนี้มุ่งเน้นที่จะศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิต PHA จากจุลินทรีย์ *Ralstonia eutropha* โดยใช้น้ำเสียโรงงานอุตสาหกรรมและศึกษาศักยภาพในการย่อยสลายของ PHA ในการทดลองเริ่มต้นโดยศึกษาแหล่งของน้ำเสียในการผลิต PHA โดยใช้น้ำเสียจากโรงงานฉลองอุตสาหกรรมน้ำยางข้น โรงงานห้องเย็นโชติวัฒน์และโรงงานทรอปิคอลแคนนิ่ง เติมหัวเชื้อเริ่มต้น 10% ในน้ำเสีย ทำการเพาะเลี้ยงที่ 30 ^{0}ซ บนเครื่องเขย่าความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ผลการทดลองพบว่าน้ำเสียโรงงานอุตสาหกรรมทรอปิคอลแคนนิ่งให้ปริมาณเซลล์และ PHA สูงสุด (0.37 และ 0.12 กรัมต่อลิตร) ตามลำดับ หลังจากนั้นได้มีการศึกษาผลของความเข้มข้นของการเติมกรด พบว่า การเติมกรดผสมคือ เติม propionic acid และ butyric acid อย่างละ 5 กรัมต่อลิตร จะให้ปริมาณเซลล์และPHA สูงสุดเท่ากับ 1.36 และ 0.46 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ นอกจากนี้ยังได้ศึกษาผลของอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (32, 44 และ 55) โดยเติมแอมโมเนียมซัลเฟตและผลของการเติมฟอสเฟต (2.5, 5, และ 10 กรัมต่อลิตร) เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมไนโตรเจน (C:N เท่ากับ 66) และไม่มีการเติมฟอสเฟต ผลการทดลองพบว่า การเพิ่มความเข้มข้นของปริมาณฟอสเฟตและการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนไม่มีผลต่อการส่งเสริมการผลิต PHA นอกจากนี้ได้มีการศึกษาผลของอัตราการให้อากาศ (0, 0.5, 1 และ 2 vvm) และอัตราการกวน (100,200 และ 300 รอบต่อนาที) ในถังปฏิกรณ์ ขนาด 3 ลิตร พบว่า อัตราการให้อากาศที่ 1.0 vvm, อัตราการกวนที่ 100 rpm และไม่มีการควบคุมพีเอช (พีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 7.0)ให้การผลิตเซลล์และ PHA สูงสุดเท่ากับ 4.48 และ 1.35 กรัมต่อลิตร ภายใน 72 ชั่วโมง ตามลำดับ จากการศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของ PHA ที่ผลิตได้จาก *R.eutropha* TISTR 1095 พบว่ามีค่าอุณหภูมิหลอมเหลว (T_m) เท่ากับ 141.36 ^{0}ซ และอุณหภูมิการเกิดผลึก (T_c) มีค่าเท่ากับ 62.7^{0}ซ จากการศึกษาหาน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย (M_v) พอลิเมอร์ที่ได้โดยใช้การวัดความหนืดมีค่าเท่ากับ 383,700 ดาลตัน ค่าการต้านทานแรงดึง (Tensile strength) เท่ากับ

1.34 MPa และค่าเปอร์เซ็นต์การยืดตัวเมื่อขาด (% elongation) มีค่าเท่ากับ 40.91%

จากการศึกษาการย่อยสลาย PHA ในดินโดยเปรียบเทียบ PHA จาก *Ralstonia eutropha* กับแผ่นฟิล์ม PHB และ PHBV ทางการค้า และพลาสติกสังเคราะห์ (PP) พบว่าเมื่อสัปดาห์ที่ 2 ผ่านไป PHA จาก *Ralstonia eutropha*, PHB, และ PHBV ทางการค้า มีค่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่หายไปเท่ากับ 2.3%, 0.8% และ 0.55% ตามลำดับ และเมื่อระยะเวลาผ่านไปที่ 8 สัปดาห์ พบว่าฟิล์มมีเปอร์เซ็นต์การย่อยสลายเพิ่มขึ้นโดย PHA ที่ผลิตได้มีค่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่หายไปเท่ากับ 3.2 %, PHB 7.87 % และ PHBV 0.46% ตามลำดับ แต่ชุดที่เป็นพลาสติกสังเคราะห์ (PP) ไม่มีการเปลี่ยนแปลง

Thesis Title	Production and Biodegradation of Polyhydroxyalkanoate (PHA) from Wastewater Using *Ralstonia eutropha* TISTR 1095
Author	Miss Duangnapa Saelim
Major Program	Biotechnology
Academic Year	2006

ABSTRACT

Recently, the use of biodegradable polymers such as polyhydroxyalkanoates (PHA) has been proposed as a solution to the problem of plastic waste. This research aims to study the effect of culture conditions for PHA production from *Ralstonia eutropha* TISTR 1095 using industrial wastewater and the degradation potential of PHA. Firsty, the wastewater source was studied for PHA production. The wastewater from Chalong Latex Indutry, Hongyen Chotiwat Indutry and Troppical Canning Industry was used. The 10% (v/v) inoculum was added in wastewater. The cultivation was conducted at 30^{o}C on a rotary shaker incubator at 200 rpm for 72 h. The result shows that the wastewater from Troppical canning Industry gave the maximum cell and PHA concentration (0.37 and 0.12 g/l, respectively). Furthermore, the effect of acid addition on PHA production was investigated. The result shows that the optimal acid addition was found to be the mixture of 5 g/l propionic acid and 5 g/l butyric acid. Under this condition, the concentration of cell and PHA reached 1.36 g/l and 0.46 g/l, respectively. Also, the effect of C:N ratio (32, 44 and 55) using $NH_4(SO_4)_2$ and phosphate addition (2.5, 5, 10 g/l) was investigated comparing with the control without nitrogen and phosphate addition (C:N ratio of 66). The result indicated that it was not necessary to use nitrogen and phosphate supplement. Furthermore, the effect of aeration rate (0, 0.5, 1, 2 vvm) and agitation rate (100, 200, 300 rpm) were examined in 3 L fermentor. The results show that the maximum PHA was obtained in 72 h of cultivation at the aeration rate of 1.0 vvm and the agitation rate of 100 rpm without pH-control (initial pH=7.0). The maximum cell and PHA concentration were 4.48 and 1.35 g/l, respectively. The properties of PHA from *Ralstonia eutropha* TISTR1095 was studied. It was found that melting and crystalline temperatures were 141.36 ^{0}C and 62.7 ^{0}C, respectively. Also, the average molecular weight (M_v) was 383,700 Dalton. The tensile strength and % elongation at break were 1.34 MPa and 40.91%,

respectively. In addition, the biodegradability of the PHA was monitored in soils. The comparison of PHA from *Ralstonia eutropha* with commercial PHB and PHBV and synthetic plastics (PP) was examined. It was found that films of PHA from *Ralstonia eutropha*, commercial PHB and PHBV were degraded about 2.0%, 0.8%, 0.55% recpectively within 2 weeks and 3.2%, 7.87% and 0.46% recpectively within 8 weeks. However, the synthetic plastics (PP) were not degraded within 8 weeks.