ชื่อวิทยานิพนธ์ การผลิตพอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอตโดยใช้กรดคาร์บอกซิลิกที่ได้จากการหมักเส้นใยปาล์ม

ชื่อผู้เขียน นายธงชัย วงศ์สุวรรณ

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ

ปีการศึกษา 2549

บทคัดย่อ

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตพอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอต (Polyhydroxyalkanoates, PHA) โดยใช้จุลินทรีย์ *Ralstonia eutropha* TISTR 1095 โดยใช้กรดคาร์บอกซิลิกที่ได้จากการหมักเส้นใยปาล์มเป็นแหล่งคาร์บอน จากผลการหมักเส้นใยปาล์มในถังปฏิกรณ์ไร้อากาศขนาด 20 ลิตร ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วันพบว่าจะให้ปริมาณกรดและมีปริมาณอินทรีย์คาร์บอนทั้งหมด (Total Organic Carbon, TOC) เท่ากับ 840 และ 2,655 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในการศึกษาความเข้มข้นของสารอาหารแต่ละปัจจัย พบว่าการเติมกรดบิวทีริก 5 กรัมต่อลิตร จะมีผลส่งเสริมให้มีการเจริญและเก็บสะสม PHA สูงขึ้น ในขณะที่การเพิ่มความเข้มข้นของปริมาณฟอสเฟตและการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนไม่มีผลต่อการส่งเสริมการผลิต PHA และเมื่อทำการศึกษาผลร่วมของแต่ละปัจจัยโดยใช้วิธี Response Surface Methodology (RSM) พบว่าสารอาหารที่เหมาะสมประกอบด้วย โซเดียมโพรพิโอเนต กรดบิวทีริก แอมโมเนียมซัลเฟต และไดโพแทสเซียมไฮโดเจนฟอสเฟต เท่ากับ 2.5, 6.53, 1.5 และ 0.03 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งจะให้ปริมาณเซลล์ 1.52 กรัมต่อลิตร ปริมาณ PHA 0.64 กรัมต่อลิตร และมีการเก็บสะสม PHA คิดเป็นร้อยละ 46.5 ของเซลล์จุลินทรีย์

จากการศึกษาสภาวะเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการผลิต PHA ในถังหมักขนาด 5 ลิตร พบว่าการควบคุมพีเอชอาหารเริ่มต้นเท่ากับ 7.0 การให้อากาศเท่ากับ 1.0 vvm และความเร็วรอบของการกวนเท่ากับ 100 รอบต่อนาที เป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิต PHA ของจุลินทรีย์ และเมื่อเปรียบเทียบกระบวนการเพาะเลี้ยง พบว่าการเพาะเลี้ยงแบบกึ่งกะที่มีการเติมแหล่งคาร์บอนสองครั้ง จะมีการเจริญและการผลิต PHA สูงกว่าการเพาะเลี้ยงแบบกะโดยในการเพาะเลี้ยงแบบกึ่งกะมีอัตราการเจริญจำเพาะเท่ากับ 0.03 ต่อชั่วโมง ได้ปริมาณเซลล์และ PHA จากสารอาหารเท่ากับ 1.30 และ 0.83 กรัมต่อกรัม TOC สามารถลดปริมาณสารอินทรีย์ในน้ำหมักคิดเป็นร้อยละ 28.74 ในขณะที่การเพาะเลี้ยงแบบกะจะมีอัตราการเจริญจำเพาะเท่ากับ 0.02 ต่อชั่วโมง ผลผลิตของเซลล์

และ PHA จากสารอาหารเท่ากับ 1.03 และ 0.45 กรัมต่อกรัม TOC ตามลำดับ และสามารถลดปริมาณสารอินทรีย์ในน้ำหมักคิดเป็นร้อยละ 23.52

จากการศึกษาคุณสมบัติของพอลิเมอร์ที่ผลิตได้จาก *R. eutropha* TISTR 1095 โดยการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS, NMR และ FT-IR พบว่า ผลที่ได้จากการวิเคราะห์คล้ายกันกับผลของ PHBV และจากการศึกษาคุณสมบัติด้วยเครื่อง DSC และ X-ray diffractometer พบว่ามีอุณหภูมิหลอมเหลวและอุณหภูมิแข็งตัวของผลึกเท่ากับ 135.3 และ 112.7 องศาเซลเซียส ตามลำดับและมีค่า % crystallinity เท่ากับ 55.88 ซึ่งคุณสมบัติเหล่านี้สามารถบ่งบอกได้ว่า PHA ที่ผลิตได้เป็นโคพอลิเมอร์ (PHBV) ของไฮดรอกซีบิวทีเรตกับไฮดรอกซีวารีเรต โดยมีสัดส่วนหน่วยย่อยของ HB และ HV คิดเป็นร้อยละ 81.7 และ 18.3 จากการศึกษาหาน้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์ที่ผลิตได้โดยใช้การวัดความหนืดมีค่าเท่ากับ 448,900 ดาลตัน

Thesis Title	Production of Polyhydroxyalkanoates (PHA) Using Carboxylic Acid Produced from Palm Oil Fiber Fermentation
Author	Mr. Thongchai Wongsuvan
Major Program	Biotechnology
Academic Year	2006

ABSTRACT

The optimum conditions for production of Polyhydroxyalkanoates (PHA) by *Ralstonia eutropha* TISTR 1095 using carboxylic acid from palm oil fiber fermentation as carbon source were investigated. The palm oil fiber was anaerobically fermented in 20 l-reactor at 30 °C for 10 days. The result showed that acid and total organic carbon concentration of 840 and 2,655 mg/l, respectively were obtained in palm oil fiber fermented broth. In this study, the one variable at a time method was used to examine the optimum nutrient concentration. It was found that the addition of 5 g/l butyric acid in palm oil fiber fermented broth could stimulate cell growth and PHA accumulation. Whereas phosphate supplement and C:N ratio adjustment had no effect on PHA production. Furthermore, the combined effects of all test variables were studied using Response Surface Methodology (RSM). It was found that the optimum medium was palm oil fiber fermented broth supplemented with sodium propionate, butyric acid, ammonium sulphate and dipotassium hydrogen phosphate of 2.5, 6.53, 1.5 and 0.03 g/l, respectively. These gave dry cell weight of 1.52 g/l, PHA concentration of 0.64 g/l and 46.5 % of PHA content (PHA/dry cell weight).

The optimum condition for PHA production was studied in 5 l-fermentor. It was found that initial pH medium of 7.0, aeration of 1.0 vvm and agitation at 100 rpm were the optimum conditions for cell growth and PHA production by *R. eutropha*. Also the fed-batch fermentation was investigated with two-time medium addition. The results showed that the fed-batch fermentation gave higher cell growth and PHA production than batch fermentation. In the fed-batch fermentation, the specific growth rate, yield of cell ($Y_{x/s}$) and yield of PHA ($Y_{p/s}$) were 0.03 h^{-1}, 1.30 and 0.83 g/gTOC, respectively with 28.7% TOC consumption. Whereas in the batch fermentation, specific growth rate, yield of cell ($Y_{x/s}$) and yield of PHA ($Y_{p/s}$) were 0.02 h^{-1}, 1.03 and 0.45 g/gTOC, respectively with 23.5% TOC consumption. Structural composition of PHA

produced from palm oil fiber fermented broth was investigated with GC-MS, NMR and FT-IR techniques. The results obtained from these techniques were similar to those of PHBV. The studies on general physical properties by DSC and X-ray diffractometer revealed that polymer had melting temperature (Tm), crystalline temperature (Tc) and % crytallinity as 135.3 ^{o}C, 112.7 ^{o}C and 55.88%, respectively. These properties indicated, This compound to be copolymer of hydroxybutyrate and hydroxyvalerate (PHBV), consisting of 81.7 %HB and 18.3 % HV. The molecular weight (M_v) of the polymer was 448,900 dalton as determined by viscometry technique.