บทที่ 1

บทนำ

ในปัจจุบัน วัสดุพลาสติกสังเคราะห์มีบทบาทสำคัญอย่างยิ่งในชีวิตประจำวันของมนุษย์ เนื่องมาจากความสะดวกในการใช้สอย ทว่าพลาสติกเหล่านี้ส่วนทำลายได้ยากอันก่อให้เกิดปัญหาต่อสิ่งแวดล้อม แนวทางที่มีความเป็นไปได้ในการแก้ปัญหาดังกล่าว คือการพัฒนาพลาสติกชนิดใหม่ที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพ (biodegradable plastic) เช่น พอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรต (PHB) ซึ่งเป็นสารที่ได้จากเซลล์จุลินทรีย์ พลาสติกดังกล่าวนี้มีคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีใกล้เคียงกันกับพลาสติกสังเคราะห์ จึงสามารถนำไปใช้ในรูปลักษณะของฟิล์ม (film), ไฟเบอร์ (fiber), ชีท (sheet) หรือหล่อให้เป็นรูปทรงต่างๆได้ตามต้องการ นอกจากนี้พลาสติกดังกล่าวยังสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในทางการแพทย์ได้อีกด้วย เช่น นำมาผลิตไหมละลาย, เส้นเลือดเทียม (blood vessels replacements), กระดูกเทียมและแผ่นติดฟันปลอม (bone replacements and plates) เป็นต้น (Lee, S. Y., 1996)

แนวทางการพัฒนากระบวนการผลิต PHB แบ่งออกเป็นสามแนวทางใหญ่ๆ คือ แนวทางการพัฒนาด้านการคัดเลือกสายพันธุ์ โดยอาศัยวิธีการทางวิศวกรรมพันธุศาสตร์ (genetic engineering) ทำการดัดแปลงสายพันธุ์จุลินทรีย์บางชนิด เพื่อให้ได้สายพันธุ์ที่สามารถผลิต PHB เช่นตามธรรมชาติ *Escherichia coli* ไม่สามารถสังเคราะห์ PHB ได้ จึงทำการตัดต่อเอาสารพันธุกรรมของ *Alcaligenes eutrophus* ส่วนที่ทำหน้าที่เป็นรหัสสำหรับเอนไซม์ที่ใช้ในการสังเคราะห์ PHB เข้าไปใส่ใน *Escherichia coli* ทำให้เชื้อจุลินทรีย์ดัดแปลงนี้สามารถสังเคราะห์และสะสม PHB ได้ (Schubert P.

และคณะ, 1988) แนวทางที่สองการพัฒนากระบวนการแยกและการทำให้บริสุทธิ์ เพื่อให้สกัดแยกได้มากขึ้น และลดค่าใช้จ่ายลง และแนวทางสุดท้าย คือการพัฒนากระบวนการหมัก

การพัฒนากระบวนการหมัก PHB ในปัจจุบันทำได้หลายวิธี เช่น การหมักแบบไม่ต่อเนื่อง (Senior,P.J. และคณะ, 1972, Lee, I. Y. และคณะ, 1993 Akiyama, M. และ Doi, Y., 1993) การหมักแบบไม่ต่อเนื่องสองขั้นตอน (Vincenzini, M. และคณะ, 1997, Tanaka K. และ Ishizaki, 1994) กระบวนการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง (Lee, S. Y. และคณะ, 1995, Kim, S. W. และคณะ, 1996, Yamane, T. และคณะ,1996, Kim, B. S. และคณะ,1994, Ryu, H. W. และคณะ, 1997, ศิริพงษ์ วิงวอน, 1996) การหมักแบบต่อเนื่องขั้นตอนเดียว (Senior,P.J. และคณะ, 1972, Gostomski, P. A. และ Bungay, H. R. ,1996) การหมักแบบต่อเนื่องสองขั้นตอน (Jang J. H. และ Rogers P.L.,1995) ตลอดจนการประยุกต์ใช้เทคนิคไมโครฟิลเตรชันช่วยในกระบวนการผลิต PHB (อภิชาติ แสงรุ่งเรืองกิจ, 1996) จากรายงานการวิจัยที่ผ่านมา พบว่าวิธีการหมักแบบกึ่งต่อเนื่องเป็นวิธีที่นิยมใช้กัน และได้รายงานไว้ว่ากระบวนการสร้างและสะสม PHB จะเกิดขึ้นภายหลังจากที่เซลล์จุลินทรีย์เจริญเติบโตสูงสุด และอยู่ภายใต้ภาวะที่สารอาหารไม่สมดุล กล่าวคือ มีปริมาณไนโตรเจน, ฟอสเฟต, ซัลเฟต, แมกนีเซียม และออกซิเจน จำกัด แต่มีแหล่งคาร์บอนมากเกินพอ (Dawes, E. A. และ Senior, P. J., 1973) ดังนั้นแนวทางหนึ่งที่น่าจะเพิ่มผลผลิต PHB ได้ คือ การหมักแบบสองขั้นตอน โดยในขั้นตอนที่หนึ่งเลี้ยงเซลล์ให้มีปริมาณมากๆ ในภาวะอาหารสมบูรณ์ และกระตุ้นให้เซลล์สร้างและสะสม PHB ได้มากขึ้นในขั้นตอนที่สองภายใต้ภาวะที่สารอาหารไม่สมดุล ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นที่จะศึกษาการผลิต PHB จาก *Alcaligenes eutrophus* NCIMB 11599 โดยการหมักแบบสองขั้นตอน โดยมีวัตถุประสงค์และขอบเขตการวิจัยดังนี้

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมในการผลิตพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรต (PHB) จาก *Alcaligenes eutrophus* NCIMB 11599 โดยการหมักแบบสองขั้นตอน

ขอบเขตการศึกษา

1. ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อ *A. eutrophus* NCIMB 11599 โดยการหมักแบบไม่ต่อเนื่อง

2. ศึกษาผลของปริมาณสารอาหารในสายป้อนต่อผลได้ของเซลล์ต่อสารอาหาร ผลได้ของผลิตภัณฑ์ต่อสารอาหาร ผลได้ของผลิตภัณฑ์ต่อเซลล์ และอัตราผลผลิตผลิตภัณฑ์ โดยการหมักแบบต่อเนื่องขั้นตอนแรก

3. ศึกษาหาขนาดของถังหมักที่สอง

4. ศึกษาการเพาะเลี้ยงเชื้อ *A. eutrophus* NCIMB 11599 โดยการหมักแบบต่อเนื่องสองขั้นตอน

5. ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อ *A. eutrophus* NCIMB 11599 โดยการหมักแบบสองขั้นตอน และศึกษาผลของอัตราการเจือจางต่อผลได้ของเซลล์ต่อสารอาหาร ผลได้ของผลิตภัณฑ์ต่อสารอาหาร ผลได้ของผลิตภัณฑ์ต่อเซลล์ และอัตราผลผลิตผลิตภัณฑ์

6. ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อ *A. eutrophus* NCIMB 11599 โดยการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง

7. เปรียบเทียบ PHB ที่ได้จากการหมักแบบสองขั้นตอนกับกระบวนการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง