บทที่ 1
บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในปัจจุบันพลาสติกเข้ามามีบทบาทในการใช้ชีวิตประจำวันเป็นอย่างมาก โดย พอลิเอทิลีน พอลิไวนิลคลอไรด์ พอลิสเตียรีน เป็นพอลิเมอร์สังเคราะห์ซึ่งส่วนใหญ่ใช้กับอุตสาหกรรมพลาสติก เนื่องจากเหมาะสำหรับนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ คุณสมบัติที่โดดเด่นคือ ความเหนียว ทนต่อแรงฉีกและแรงดึง สามารถกันน้ำได้ และมีน้ำหนักเบา อีกทั้งยังมีราคาถูกกว่าวัสดุประเภทอื่น ๆ ส่งผลให้การใช้พลาสติกมีอัตราการเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง (Aamer et al., 2008) ตัวอย่างกลุ่มผลิตภัณฑ์จากพลาสติกที่มีการใช้อย่างแพร่หลาย คือ ผลิตภัณฑ์ในกลุ่มบรรจุภัณฑ์ ตัวอย่างเช่น ลัง กล่อง ขวด ถุงประเภทต่าง ๆ และแผ่นฟิล์มสำหรับห่อสิ่งของ อีกทั้งถูกนำมาใช้เป็นอุปกรณ์ในครัวเรือน เครื่องใช้ไฟฟ้า ชิ้นส่วนยานยนต์ เครื่องกีฬา รวมทั้งเครื่องมือแพทย์ (สุทธิเกตติ์ ทัดพิทักษ์กุลม, 2553; Reddy et al., 2003) แต่ข้อเสียของพลาสติกสังเคราะห์คือ ใช้เวลาในการย่อยสลายนานซึ่งส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม จึงทำให้เกิดสะสมเป็นขยะพลาสติกจำนวนมาก ด้วยเหตุนี้จึงมีการค้นคว้าเพื่อพัฒนาวัสดุทดแทนที่มีคุณสมบัติเทียบได้กับพอลิเมอร์สังเคราะห์ แต่สามารถย่อยสลายและผลิตจากวัสดุหมุนเวียนได้โดยกระบวนการทางชีวภาพเรียกว่า พอลิเมอร์ชีวภาพ (ศิริรัตน์ ศิริพรวิศาส, 2552) โดยพบว่าพอลีไฮดรอกซีบิวทีเรตเป็นพลาสติกชีวภาพชนิดที่มีคุณสมบัติที่ดีสุดและใกล้เคียงกับพอลิเมอร์สังเคราะห์ ซึ่งได้รับความสนใจอย่างกว้างขวางในภาคอุตสาหกรรมและนำมาประยุกต์ใช้ทั้งทางการแพทย์ และการเกษตร (Zhang et al., 2004)

จุลินทรีย์สามารถผลิตพอลิไฮดรอกซีบิวทิเรตได้โดยสังเคราะห์ขึ้นภายในเซลล์เก็บไว้เป็นแหล่งอาหารและพลังงานสำรองภายในเซลล์เมื่อมีแหล่งคาร์บอนที่มากเกินพอ แต่ถูกจำกัดออกซิเจน ไนโตรเจนหรือฟอสฟอรัส โดยสะสมอยู่ในรูปของเม็ดกรานูล (Granule) กระจายภายในเซลล์ (Luengo et al., 2003) โดยทั่วไปแล้วจุลินทรีย์ที่นิยมนำมาใช้ในการผลิตมากที่สุดได้แก่ *Alcaligenes eutrophus* เนื่องจากเป็นแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสะสมพอลิไฮดรอกซีบิวทิเรตได้สูงแต่เป็นแบคทีเรียที่เลี้ยงยาก จึงไม่สามารถที่จะหาวิธีการเลี้ยงให้มีอัตราการเจริญเติบโตที่สูงได้ ถึงแม้จะทราบสภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงแบคทีเรียก็ตาม

(หยาดฝน มหาทรัพย์ไพบูลย์, 2542) ดังนั้นการพัฒนากระบวนการผลิต โดยการเปลี่ยนแปลงชนิดของสารอาหาร รวมถึงการปรับปรุงสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ให้สามารถผลิตพอลิไฮดรอกซีบิวทิเรตที่มีคุณภาพดีและมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นตัวอย่าง เช่น การตัดต่อยีน *phaCAB* จาก *Ralstonia eutropha* เข้าสู่ *Escherichia coli* โดยใช้เทคนิคทางพันธุวิศวกรรม เพื่อให้สามารถสังเคราะห์ PHA ได้ (Sudesh et al., 2000) หรือการชักนำให้จุลินทรีย์เกิดการกลาย ซึ่งใช้การฉายรังสีแกมมา (Divyashree et al., 2009) หรือสารเคมี (Hikmet et al., 2003) ก็ยังเป็นแนวทางที่น่าสนใจ แม้ในปัจจุบันสามารถผลิตพอลิไฮดรอกซีบิวทิเรตในระดับอุตสาหกรรมบ้างแล้วแต่ยังไม่เป็นที่นิยมอย่างกว้างขวาง เนื่องจากราคาวัตถุดิบที่นำมาใช้ผลิต ทำให้ต้นทุนในการผลิตยังสูงอยู่มาก เมื่อเทียบกับต้นทุนการผลิตเม็ดพลาสติกสังเคราะห์จากปิโตรเคมีจึงทำให้พอลิไฮดรอกซีบิวทิเรตที่ผลิตได้ยังคงมีราคาแพง โดยพบว่ามีค่าใช้จ่ายเกี่ยวกับวัตถุดิบประมาณร้อยละ 40 และค่าใช้จ่ายในการเก็บเกี่ยวผลิตภัณฑ์ประมาณร้อยละ 26 (Choi & Lee, 1997) ดังนั้นการเลือกใช้วัตถุดิบที่มีราคาถูก เช่น แป้งมันสำปะหลัง กากน้ำตาล ซูโครส หางนม กรดไขมัน กลีเซอรอล ของเสียจากกระบวน การบำบัดน้ำ น้ำตาลที่ได้จากการสลายเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส แป้งมันสำปะหลังที่ผ่านการ ย่อยสลาย (Cassava starch hydrolysate) และกากมันสำปะหลัง เป็นต้น สำหรับผลิตพอลิไฮดรอกซีบิวทิเรตในระดับอุตสาหกรรมจึงมีความสำคัญ ซึ่งอาจช่วยลดต้นทุนของการผลิตลงได้ (Leda et al., 2009; Nath et al., 2008)

สำหรับในการวิจัยมุ่งเน้นในการนำกากมันสำปะหลังมาใช้ประโยชน์เป็นหลัก เนื่องจากองค์ประกอบของกากมันสำปะหลังยังคงมีแป้งเป็นองค์ประกอบประมาณร้อยละ 50 โดยน้ำหนักแห้ง และมีส่วนเส้นใยประมาณร้อยละ 20 โดยน้ำหนักแห้ง นอกจากนี้ยังมีส่วนประกอบ อื่น ๆ ที่เป็นสารอินทรีย์หลงเหลืออยู่ สามารถนำมาใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตผลิตภัณฑ์หลายชนิด เช่น เอทธานอล กรดอินทรีย์ โปรตีนเซลล์เดียว สารประกอบที่ให้กลิ่นต่าง ๆ และเอนไซม์ เป็นต้น (Pandey et al., 2000; Soccol et al., 2006) ซึ่งเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังที่ส่งออกเกือบทั้งหมดอยู่ในรูปของมันเส้น มันอัดเม็ดและแป้งมันสำปะหลัง ซึ่งมีราคาต่ำและขึ้นอยู่กับปัจจัยจากตลาดต่างประเทศทั้งในเรื่องราคาและปริมาณความต้องการที่ไม่แน่นอนอีกทางหนึ่ง โดยการแปรรูปผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังไปถึงผลิตภัณฑ์ขั้นปลาย เช่น พลาสติกชีวภาพ เด็กซ์ทรินกลูโคสเหลวจะก่อให้เกิดมูลค่าเพิ่มขึ้นอีกร้อยละ 80 คิดเป็น 76,500 ล้านบาท โดยเฉพาะจากพลาสติกชีวภาพเพียงอย่างเดียวมีมูลค่า 40,000 ล้านบาท (ธีระ สูตะบุตร และคณะ, 2548)

ในการวิจัยครั้งนี้ได้คัดเลือกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตพลาสติกชีวภาพชนิดพอลิไฮดรอกซีบิวทิเรตได้สูง โดยใช้วิธีการทรีตแบคทีเรียด้วยการฉายรังสีแกมมา สารเคมี และรังสีแกมมาร่วมกับสารเคมี พร้อมทั้งศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการใช้สารอาหารราคาถูกโดยเฉพาะ

แป้งมันสำปะหลังหรือกากมันปะหลังเป็นแหล่งคาร์บอน พร้อมกับการศึกษาปริมาณที่เหมาะสมของไนโตรเจนและแร่ธาตุต่าง ๆ ที่จำเป็น และศึกษาการเลี้ยงแบคทีเรียเพื่อผลิตพอลิไฮดรอกซีบิวทิเรตในถังหมัก ตลอดจนวิธีการสกัดและการแยกบริสุทธิ์พลาสติกชีวภาพที่ผลิตได้ เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการพัฒนาการผลิตพลาสติกชีวภาพในระดับโรงงานต้นแบบต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาผลของการได้รับรังสีแกมมา และสาร 2- aminoanthracene (2-AA) ต่อความสามารถในการผลิต PHB ของ *Alcaligenes lactus* TISTR 1403

2. เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเจริญ และการผลิตพอลิไฮดรอกซีบิวทิเรตของแบคทีเรีย *Alcaligenes lactus* TISTR 1403 ที่ได้รับรังสีแกมมาร่วมกับสาร 2-aminoanthracene (2-AA) ในระดับห้องปฏิบัติการ พร้อมทั้งเพิ่มขนาดการผลิตในระดับถังปฏิกรณ์

สมมติฐานการวิจัย

1. การได้รับรังสีแกมมาร่วมสาร 2-aminoanthracene (2-AA) ทำให้แบคทีเรียผลิต PHB ได้แตกต่างจากสายพันธุ์เดิม

2. ปัจจัยการผลิตต่าง ๆ ได้แก่ ชนิดและความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอน ชนิดและความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจน ค่าความเป็นกรดด่าง มีผลต่อการเจริญและการสร้าง PHB ของแบคทีเรียที่ได้รับรังสีแกมมาร่วมกับสาร 2-aminoanthracene (2-AA)

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

1. แบคทีเรีย *Alcaligenes lactus* TISTR 1403 ที่ได้รับรังสีแกมมาร่วมกับสาร 2-AA สามารถนำมาใช้ผลิต PHB ในระดับโรงงานได้

2. สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเจริญและการผลิต PHB ตลอดจนวิธีการสกัดและการแยกบริสุทธิ์พลาสติกชีวภาพที่ผลิตได้ สามารถใช้ข้อมูลสำหรับการผลิต PHB ในระดับโรงงานต้นแบบต่อไป

3. วิธีการเลี้ยงแบคทีเรียที่ได้รับการทรีตโดยการฉายรังสีแกมมาร่วมกับสาร 2-AA จากเพื่อผลิตพลาสติกชีวภาพในระดับถังปฏิกรณ์ สามารถเพิ่มปริมาณของเซลล์และผลผลิต PHB ให้ได้ปริมาณสูงขึ้น

4. การใช้สารอาหารราคาถูกโดยเฉพาะแป้งมันสำปะหลังหรือกากมันปะหลังเป็นแหล่งคาร์บอน อาจเป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับผลิต PHB ในระดับโรงงานต้นแบบได้

ขอบเขตการศึกษา

1. ทำการทรีตแบคทีเรียโดยการฉายรังสีแกมมาร่วม การใช้สาร 2- aminoanthracene (2-AA) และการฉายรังสีแกมมาร่วมกับสาร 2-AA และคัดเลือกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตพลาสติกชีวภาพได้สูง

2. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตพลาสติกชีวภาพชนิดพอลิไฮดรอกซีบิวทิเรตจากแบคทีเรียที่คัดเลือกได้จากการเหนี่ยวนำให้เกิดการกลายพันธุ์ได้แก่ ชนิดและความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอน ชนิดและความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจน ค่าความเป็นกรดด่างและอุณหภูมิ พร้อมทั้งนำสภาวะที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อบนเครื่องเขย่ามาเพิ่มขนาดการผลิต PHB ในระดับถังปฏิกรณ์