บทที่ 1

บทนำ

ในปัจจุบันปัญหาอันเกิดจากขยะพลาสติกตกค้าง เนื่องมาจากการที่ขยะพลาสติกเหล่านั้นไม่สามารถย่อยสลายได้ด้วยกระบวนการตามธรรมชาติ นับเป็นปัญหาที่รุนแรงยิ่งขึ้นไปทุกวัน จึงได้มีการพัฒนากระบวนการหลายอย่าง เพื่อกำจัดขยะพลาสติกปริมาณมากเหล่านี้ วิธีการหนึ่งก็คือ การพัฒนาวัสดุทดแทนที่มีคุณสมบัติใช้แทนพลาสติกได้ แต่มีคุณสมบัติที่สามารถถูกย่อยสลาย หรือสลายตัวไปได้โดยวิธีการตามธรรมชาติ ตัวอย่างของวัสดุเหล่านี้ ได้แก่ พอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอต (PHAs), พอลิแล็คไทด์ (polylactide), พอลิแซ็คคาไรด์ เป็นต้น

พอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรต (Poly-β-hydroxybutyrate) หรือ PHB เป็นวัสดุที่จัดอยู่ในกลุ่มของพอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอต (PHAs) ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ที่ได้จากการสังเคราะห์ของเชื้อจุลินทรีย์ มีคุณสมบัติเทียบเคียงได้กับพลาสติกสังเคราะห์ พอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอตมีข้อดีของทั้งพลาสติกที่สังเคราะห์จากสารในกลุ่มปิโตรเคมี (Lee S. Y., 1995) และข้อดีของพอลิเมอร์ที่เป็นผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ ซึ่งได้แก่ การย่อยสลายได้ด้วยกระบวนการทางธรรมชาติ และนอกจากนี้กระบวนการผลิตพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตจากการหมัก มีข้อดีคือ สามารถใช้วัตถุดิบจากธรรมชาติเป็นสารอาหารและได้ผลิตภัณฑ์ในระยะเวลาอันสั้น การใช้พอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตทดแทนผลิตภัณฑ์จากปิโตรเคมีจึงนับเป็นวิธีการแก้ปัญหาขยะพลาสติกตกค้างวิธีหนึ่ง ซึ่งจะมีส่วนช่วยรักษาสภาพสิ่งแวดล้อมให้ดีขึ้น

พอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรต เป็นพอลิเมอร์ซึ่งได้จากการสังเคราะห์ของเชื้อจุลินทรีย์ มีคุณสมบัติเป็นพลาสติกที่ขึ้นรูปได้เมื่อใช้ความร้อน (Thermoplastic polyester) มีจุดหลอมเหลวอยู่ประมาณ 180 องศาเซลเซียส โดยปกติมักจะเปรียบเทียบคุณสมบัติกับพลาสติกจำพวกพอลิโพรพิลีน (Anderson, 1990) เนื่องจากมีจุดหลอมเหลวที่ใกล้เคียงกัน และภายหลังจากปรับปรุงคุณภาพบางประการ จะสามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้ในหลายๆ ลักษณะ เช่น สามารถนำไปแผ่เป็นแผ่นฟิล์มบางๆ, นำไปทำเป็นเส้นใย, หรือขึ้นรูปเป็นรูปทรงต่างๆ ได้ (Byrom, 1987) เช่นเดียวกันกับพลาสติกสังเคราะห์ที่มีการใช้กันอยู่ในปัจจุบัน และเนื่องจากพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตเป็นพอลิเมอร์ที่ได้จากการสังเคราะห์ของเชื้อจุลินทรีย์ ดังนั้นจึงสามารถถูกย่อยสลายกำจัดให้หมดไปได้ด้วยเชื้อจุลินทรีย์เช่นเดียวกัน พอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตสามารถผลิตขึ้นจากกระบวนการหมัก คุณภาพที่ได้ในแต่ละครั้งมีความแน่นอนในเชิง

คุณภาพ ทั้งนี้เพราะเราสามารถควบคุมภาวะการหมักต่างๆ ให้เป็นไปตามวิธีการได้อย่างค่อนข้างแม่นยำ

ในปัจจุบันการใช้พอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตยังไม่เป็นที่แพร่หลาย เนื่องจากพลาสติกที่ผลิตขึ้นจากพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตมีราคาสูง จึงใช้เฉพาะในกลุ่มสินค้าที่มีราคาต่อหน่วยสูงเท่านั้น สาเหตุสำคัญของราคาขายที่สูงนี้ สืบเนื่องจากต้นทุนการผลิตต่อหน่วยมีราคาแพง หากสามารถเพิ่มปริมาณของผลิตภัณฑ์ได้ในเวลาที่รวดเร็วขึ้น ก็จะสามารถลดต้นทุนการผลิตลงได้ และแนวทางการแก้ไขปัญหาขยะพลาสติกตกค้างด้วยการใช้พลาสติกที่ย่อยสลายได้เองด้วยกระบวนการทางธรรมชาติก็จะใกล้ความเป็นจริงมากยิ่งขึ้น

แนวทางการพัฒนากระบวนการผลิตพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรต แบ่งออกเป็นสองแนวทางใหญ่ๆ คือ เน้นพัฒนาไปทางด้านกระบวนการหมัก และในอีกแนวทางหนึ่ง คือ เน้นพัฒนากระบวนการสกัดแยก และทำให้บริสุทธิ์ เพื่อให้สกัดแยกได้มากขึ้น และลดค่าใช้จ่ายลง แนวทางพัฒนากระบวนการหมักนั้นยังแบ่งย่อยๆ ออกเป็นอีกหลายกลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่หาทางเพิ่มค่าร้อยละของการเปลี่ยนแปลงสารอาหารไปเป็นผลิตภัณฑ์ (%conversion) โดยอาศัยวิธีการทางวิศวกรรมพันธุศาสตร์ ทำการดัดแปลงเชื้อจุลินทรีย์บางชนิดเพื่อให้สร้างพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตขึ้นครั้งละมากๆ ซึ่งผลที่ได้เมื่อเปรียบเทียบกับจุลชีพที่ใช้ผลิตพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตในปัจจุบันยังไม่อาจนับได้ว่าน่าพอใจนัก ค่าอัตราผลผลิต (productivity) ที่สูงขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับการพัฒนาในแนวเดิมไม่คุ้มกับค่าใช้จ่ายที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากมีความจำเป็นต้องใช้อาหารเลี้ยงเชื้อแบบซับซ้อน นอกจากนี้ยังมีกลุ่มที่พัฒนาไปทางด้านหาทางเปลี่ยนแปลงชนิดของสารอาหาร และกลุ่มที่ใช้จุลชีพต่างชนิดไปจากกระบวนการในปัจจุบัน อย่างไรก็ดีแนวทางพัฒนากระบวนการผลิตพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรต โดยการพัฒนากระบวนการหมัก ซึ่งใช้เชื้อจุลินทรีย์ Alcaligenes eutrophus ยังนับเป็นแนวทางที่น่าสนใจที่สุดในปัจจุบัน เนื่องมาจากเชื้อจุลินทรีย์ชนิดนี้สามารถสังเคราะห์ และสะสมพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตไว้ภายในเซลล์ได้ในปริมาณที่มาก สามารถใช้สารอาหารได้หลายชนิด สามารถใช้อาหารเลี้ยงเชื้อชนิดที่มีราคาถูกได้ (Lee S. Y., 1995) และเท่าที่ตรวจพบในปัจจุบัน ยังคงเป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่ให้ค่าอัตราผลผลิตสูง (Kim และคณะ, 1994)

โดยปกติเชื้อจุลินทรีย์จะสร้างพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตในภาวะที่มีสารอาหารต่างๆ ไม่สมดุล กล่าวคือมีปริมาณคาร์บอนมากกว่าสารอาหารชนิดอื่นๆ มากๆ พอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตที่เกิดขึ้นจะถูกเก็บสะสมไว้ภายในตัวเซลล์ เมื่อเชื้อจุลินทรีย์เข้าสู่สภาวะที่มีอาหารขาดแคลน จึงจะนำเอาพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตที่เก็บสะสมไว้มาใช้ ดังนั้นแนวทางในการเพิ่มปริมาณของผลิตภัณฑ์ในเวลาที่รวดเร็วขึ้น ก็คือ ปรับสภาวะของการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ให้อยู่ในภาวะที่เหมาะกับการเจริญเติบโต และให้ปริมาณเซลล์มาก ๆ จากนั้นจึงเปลี่ยนสภาวะการเพาะเลี้ยงเป็นแบบที่เหมาะต่อการสร้างพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรต เพาะ

เลี้ยงต่อไปจนกระทั่งได้พอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตในปริมาณที่ต้องการจึงหยุดการเพาะเลี้ยง นำเชื้อจุลินทรีย์มาสกัดแยกพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตออกมา

แนวทางในการเปลี่ยนสภาวะการเพาะเลี้ยง ซึ่งในที่นี้คือ การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของสารอาหารภายในถังหมัก สามารถทำได้หลายวิธี วิธีหนึ่งก็คือ การเติมสารป้อนลงไปในถังหมัก เพื่อปรับเปลี่ยนความเข้มข้นของสารอาหารภายในถังหมักโดยไม่มีการถ่ายน้ำหมักออก วิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์แบบนี้เรียกว่า การหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง (fed-batch fermentation)

โดยอาศัยวิธีการควบคุมการเติมสารป้อนที่เหมาะสมในระหว่างการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง จะสามารถควบคุมสภาวะความเข้มข้นของสารอาหาร เพื่อให้เชื้อจุลินทรีย์เจริญเติบโตด้วยอัตราที่สูงมากตลอดเวลา (ทำให้น้ำหมักมีความเข้มข้นเซลล์สูง ๆ)

นอกจากนี้การควบคุมสารป้อนที่มีสารอาหารไม่สมดุล โดยขาดแคลนสารอาหารบางชนิด เช่น ไนโตรเจน ในขณะที่มีปริมาณคาร์บอนที่มากเกินพอ จะช่วยกระตุ้นให้เกิดการสังเคราะห์พอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตขึ้น และสามารถเพิ่มค่าอัตราผลผลิตพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตจากจุลชีพได้

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลจากกระบวนการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง (fed-batch fermentation) แบบควบคุมค่าความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนในอาหารเพาะเลี้ยงระหว่างช่วงเจริญเติบโต (growth phase) และควบคุมอัตราส่วนของคาร์บอนกับไนโตรเจนของสารป้อนในช่วงสร้างผลิตภัณฑ์ (production phase) ที่มีผลต่อค่าอัตราผลผลิตของกระบวนการผลิตพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรต
2. เพื่อศึกษาหาค่าอัตราผลผลิตพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตสูงสุดในถังหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง

ขอบเขตงานวิจัย

1. ทำการหมักเพื่อผลิตพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรตในแบบกึ่งต่อเนื่องโดยใช้จุลินทรีย์ Alcaligenes eutrophus สายพันธุ์ ATCC 17697
2. ศึกษารูปแบบ และ วิธีการป้อนสารอาหารที่มีผลต่ออัตราผลผลิตพอลิ-บีตา-ไฮดรอกซีบิวทิเรต โดยวิธีการที่ทำการศึกษา คือ
   - 2.1 วิธีการควบคุมการเติมแหล่งคาร์บอนในแบบกึ่งต่อเนื่อง เพื่อให้ได้อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของเชื้อจุลินทรีย์สูงสุดตลอดเวลาที่อยู่ในช่วงเจริญเติบโต
   - 2.2 วิธีการควบคุมค่าอัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนของสารป้อน ในแบบที่มีการให้ไนโตรเจนบ้างในช่วงสร้างผลิตภัณฑ์
3. แหล่งคาร์บอนที่จะใช้ศึกษา คือ กลูโคส และฟรุกโตส