

เชื้อแบคทีเรีย *Rhizobium* sp. 6.1C1 สายพันธุ์ดั้งเดิม และสายพันธุ์กลาย จำนวน 10 ไอโซเลต ที่ได้จากการฉายรังสี ถูกนำมาศึกษาแหล่งของคาร์บอน ไนโตรเจน และค่า pH เริ่มต้น เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตวิตามินบีหก ที่อุณหภูมิ 37 และ 50°C โดยวัดการเจริญของเชื้อด้วยค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตรและวัดปริมาณวิตามินบีหก (mg/L) ด้วย agar diffusion assay ในแหล่งคาร์บอนจำนวน 11 ชนิด พบว่า ทั้งสายพันธุ์ดั้งเดิมและสายพันธุ์กลายสามารถใช้แหล่งคาร์บอนทั้งหมดในการเจริญทั้งที่อุณหภูมิ 37 และ 50°C แต่ไม่สามารถใช้น้ำตาลคาร์บอนสามหรือห้าในการผลิตวิตามินบีหกได้ที่อุณหภูมิ 50°C นอกจากนี้ยังพบว่า ค่าการเจริญของเชื้อไม่สัมพันธ์กับปริมาณวิตามินบีหกที่ผลิตขึ้น ทั้งในสายพันธุ์ดั้งเดิมและสายพันธุ์กลาย เมื่อตรวจสอบการเจริญและการผลิตวิตามินบีหกในแหล่งไนโตรเจนจำนวน 9 ชนิด พบว่า ทั้งสายพันธุ์ดั้งเดิมและสายพันธุ์กลายสามารถใช้แหล่งไนโตรเจนทั้งหมดในการเจริญได้ทั้งที่อุณหภูมิ 37 และ 50°C แต่เชื้อเจริญและผลิตวิตามินบีหกในแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอนินทรีย์ได้ไม่ดีนัก และมีการผลิตวิตามินบีหกต่ำลงในเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมและสายพันธุ์กลาย เมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิ 50°C เมื่อศึกษาค่า pH เริ่มต้น (pH 5, 7 และ 10) ของอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งในเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมและสายพันธุ์กลายที่อุณหภูมิ 37 และ 50°C พบว่า เชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมและสายพันธุ์กลาย ผลิตวิตามินบีหกได้ไม่ดีนักในสถานะที่เป็นต่าง โดยเชื้อสายพันธุ์กลาย 08-503 ผลิตวิตามินบีหกสูงที่สุดในกลุ่มเชื้อสายพันธุ์กลาย (0.64 ± 0.03 mg/L) ที่อุณหภูมิ 50°C และค่า pH 7 ซึ่งสูงกว่าประมาณสองเท่าของเชื้อดั้งเดิม (0.35 ± 0.09 mg/L) ที่อุณหภูมิ 37°C และค่า pH 7 เมื่อตรวจสอบรูปของวิตามินบีหกที่ผลิตขึ้นโดยวิธี reverse phase HPLC พบว่า เชื้อสายพันธุ์กลายบางไอโซเลต สามารถผลิตวิตามินบีหกในรูปอื่น นอกเหนือจากที่พบในเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิม และการใช้คอลัมน์แลกเปลี่ยนประจุบวก Dowex 50W×8 ในการสกัดบริสุทธิ์วิตามินบีหกบางส่วนจากอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งเชื้อสายพันธุ์ดั้งเดิมและสายพันธุ์กลาย พบว่าสามารถแยกน้ำตาลที่เป็นสารอาหารหลักออกได้

The effect of carbon and nitrogen sources and initial pHs were studied in 10 isolates of mutant and wild type *Rhizobium* sp. 6.1C1 for improve vitamin B6 production at 37 and 50°C. Cell growth and amount of vitamin B6 production (mg/L) were measured by the optical density at 600 nm and agar diffusion assay, respectively. Among 11 carbon sources, wild type and mutants could utilize all kind of carbon sources for growth at both 37 and 50°C. However, they could not use three- or five-carbon sugar for vitamin B6 production at 50°C. The production conditions of the vitamin B6 did not coincide with those for growth in both wild type and mutants. Among 9 nitrogen sources, wild type and mutants could utilize all kind of nitrogen sources for growth at both 37 and 50°C. Inorganic nitrogen was least suitable for vitamin B6 production and the production was decrease in wild type and mutants at 50°C. The effects of initial pH (5, 7 and 10) were examined at 37 and 50°C. Both wild type and mutants were least suitable for vitamin B6 production in alkaline condition. Strain 08-503 showed the highest vitamin B6 production (0.64 ± 0.03 mg/L) at initial pH 7 and 50°C, that it was approximately two fold higher than that of wild type (0.35 ± 0.09 mg/L) at initial pH 7 and 37°C. Reverse phase HPLC analysis showed that the forms of vitamin B6 produced mutants were different from that of wild type. The partial purification of crude media in both wild type and mutants were done by Dowex 50W×8 cation exchange column showed that it could remove sugar, the main carbon source in this media.