

ในการศึกษาการผลิตโคพอลิเมอร์ P(3HB-co-3HV) โดยเชื้อ *Bacillus* sp. BA-019 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร พบว่ากล้าเชื้อที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเป็นกล้าเชื้ออายุ 12 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารเพื่อการผลิตโคพอลิเมอร์ ซึ่งได้แก่อาหาร Mineral Salt Medium (MSM) พบว่า *Bacillus* sp. BA-019 สามารถใช้โซเดียมวาเลอเรตเป็นสารตั้งต้นสำหรับการสังเคราะห์โมโนเมอร์ 3HV ได้ดีที่สุด โดยเมื่อใช้โซเดียมวาเลอเรตเท่ากับ 5 กรัมต่อลิตร และน้ำตาลทรายเท่ากับ 20 กรัมต่อลิตร โดยมียูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจน ได้สัดส่วนโดยโมลของ 3HV เท่ากับ 44 โมลเปอร์เซ็นต์ ผลผลิตโคพอลิเมอร์ได้เท่ากับ 14.03 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ผลการทดลองได้พบว่าการเติมโซเดียมซิติเรต โซเดียมอะซิเตต หรือกรดโอเลอิก เป็นซับสเตรต มีผลช่วยให้การเจริญและการผลิตโคพอลิเมอร์ได้ดีขึ้น แต่สัดส่วนโดยโมลของ 3HV ที่สังเคราะห์ได้มีค่าน้อยลง อัตราส่วนระหว่างคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่เหมาะสมเท่ากับ 30 ซึ่งมีผลให้ได้สัดส่วนโดยโมลของ 3HV เท่ากับ 43 โมลเปอร์เซ็นต์ ได้ปริมาณโคพอลิเมอร์เท่ากับ 18.75 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักเซลล์แห้ง เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* sp. BA-019 แบบเฟดแบชโดยใช้อาหารป้อนเข้าซึ่งมีน้ำตาลทรายเท่ากับ 100 กรัมต่อลิตร โซเดียมวาเลอเรตเท่ากับ 25 กรัมต่อลิตรคิดเป็นอัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 30 พบว่าเชื้อมีการเจริญสูงโดยได้น้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 13.16 กรัมต่อลิตร โคพอลิเมอร์ P(3HB-co-3HV) ผลิตได้เพิ่มขึ้นเป็น 31.67 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง และมีการสังเคราะห์ 3HV ได้มากเท่ากับ 45 โมลเปอร์เซ็นต์ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลทรายและโซเดียมวาเลอเรตในอาหารป้อนเข้าเป็น 200 และ 50 กรัมต่อลิตรโดยคงอัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 30 ได้น้ำหนักเซลล์เพิ่มขึ้นเป็น 17.16 กรัมต่อลิตร ปริมาณโคพอลิเมอร์และสัดส่วนโดยโมลของ 3HV เท่ากับ 30.91 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง และ 42 โมลเปอร์เซ็นต์ตามลำดับ พบว่าการสังเคราะห์โมโนเมอร์ 3HV เพิ่มอย่างชัดเจนโดยการเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายเกลือแร่ในอาหารป้อนเข้าเป็น 2 มิลลิลิตรต่อลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ ผลการศึกษาพบว่าสัดส่วนโดยโมลของ 3HV ที่ได้สูงสุดเพิ่มขึ้นเป็น 65 โมลเปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นสัดส่วนโดยโมลที่สูงมากในโคพอลิเมอร์ P(3HB-co-3HV) เมื่อตกตะกอนโคพอลิเมอร์ P(3HB-co-3HV) ที่สกัดได้ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ พบว่าเฮกเซนเป็นตัวทำละลายที่สามารถแยกส่วนของโคพอลิเมอร์ที่มี 3HV ซึ่งมีความบริสุทธิ์เท่ากับ 86.1 เปอร์เซ็นต์ และมีสัดส่วนโดยโมลของ 3HV ได้สูงถึง 79 โมลเปอร์เซ็นต์

Production of copolymer P(3HB-co-3HV) by *Bacillus* sp. BA-019 in a 5 L jar fermentor was studied. Seed culture at 12 h. was found to be suitable for growth. Mineral Salt Medium (MSM) was used as a production medium of copolymer. It was shown that sodium valerate was the best precursor for 3HV biosynthesis by *Bacillus* sp. BA-019. By using 5 g/l of sodium valerate and 20 g/l of cane sugar and urea, 44 mole percent of 3HV monomer and 14.03 percent of copolymer by dry cell weight were obtained. Addition of sodium citrate, sodium acetate or oleic acid as a supplement resulted in enhancing growth and copolymer production but less amount of synthesized 3HV monomer was obtained. The optimal C/N ratio was 30, while 43 mole percent of 3HV monomer and 18.75 percent of copolymer by dry cell weight were detected. In fed batch cultivation with feeding nutrient solution containing 100 g/l of cane sugar, 25 g/l of sodium valerate or equivalent to 30 mole/mole of C/N, dry cell weight increased to 13.16 g/l and copolymer P(3HB-co-3HV) content increased upto 31.67 percent by dry cell weight with higher 3HV synthesis at 45 mole percent. When feeding nutrient solution containing higher concentration of cane sugar (200 g/l) and sodium valerate (50 g/l) was investigated, with fixed C/N ratio at 30, larger dried cell weight of 17.16 g/l was obtained with 30.91 percent by dry cell weight of polymer content and 42 mole percent of 3HV monomer. The synthesis of 3HV monomer was remarkably increased by the addition of 2 ml. of trace elements per litre of culture medium in feeding solution. It was shown that the highest mole fraction of 3HV monomer was 65 mole percent, which was the large mole fraction of 3HV in copolymer P(3HB-co-3HV). Using various organic solvent to fractionate yielded the copolymer with 86.1 percent purity and high mole fraction of 3HV at 79 mole percent.