

พิธีฐ กงกำเนิด : ผลของแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนต่อการเติบโตของ

Bacillus sp. BA-019 และการผลิตพอลิ(3-ไฮดรอกซีบิวทิเรต-โค-3-ไฮดรอกซีวา

เลอเรต) (EFFECT OF CARBON AND NITROGEN SOURCES ON GROWTH OF

Bacillus sp. BA-019 AND PRODUCTION OF POLY(3-HYDROXYBUTYRATE-CO-3-

HYDROXYVALERATE)

อ. ที่ปรึกษา รศ.ดร. ส่งศรี กุลปรีชา, 126 หน้า. ISBN 974-639-042-2

ในการศึกษาการผลิตโคพอลิเมอร์ P(3HB-co-3HV) โดย *Bacillus* sp. BA-019 พบว่ากล้าเชื้อที่เหมาะสมสำหรับการเติบโตและการผลิตโคพอลิเมอร์เป็นกล้าเชื้ออายุ 24 ชั่วโมง ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงกล้าเชื้อซึ่งประกอบด้วยฟรุกโตสปริมาณ 10 กรัมต่อลิตร และปริมาณกล้าเชื้อเริ่มต้นที่ใช้เท่ากับ 0.18 กรัม(น้ำหนักเซลล์แห้ง)ต่อปริมาตรอาหาร 50 มิลลิตร โดยเลี้ยงเชื้อในอาหาร MSM ซึ่งประกอบด้วยแหล่งคาร์บอน 20 กรัมต่อลิตร และแอมโมเนียมซัลเฟต 1.0 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งไนโตรเจนเพื่อการสังเคราะห์และสะสมโคพอลิเมอร์ P(3HB-co-3HV) เลี้ยงเชื่อนานเป็นเวลา 36 ชั่วโมง ได้ศึกษาการใช้กรดอินทรีย์บางชนิดและเกลือของกรดอินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอนเดี่ยว พบว่ามีการเติบโตและได้ปริมาณโคพอลิเมอร์สูงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วยกรดโฟสฟิโอนิก กรดบิวทิริก และกรดควาเลอริก ซึ่งได้สัดส่วนของโมโนเมอร์ 3HV อยู่ในช่วง 5-70 โมลเปอร์เซ็นต์ ได้ปริมาณ P(3HB-co-3HV) สูงสุดเมื่อใช้กรดโฟสฟิโอนิกเป็นแหล่งคาร์บอน(17.30 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง) เมื่อใช้แหล่งคาร์บอนผสมระหว่างน้ำตาลชนิดต่างๆกับกรดอินทรีย์ พบว่าได้ปริมาณ P(3HB-co-3HV) ใกล้เคียงกันในอาหารที่ประกอบด้วยน้ำตาลทรายขาวหรือน้ำตาลทรายแดงผสมกรดบิวทิริก (39.17 และ 38.09 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งตามลำดับ) *Bacillus* sp. BA-019 มีการเติบโตได้ใกล้เคียงกันในแหล่งคาร์บอนผสมที่เป็นกรดอินทรีย์ 2 ชนิด (กรดโฟสฟิโอนิกกับกรดบิวทิริก กรดโฟสฟิโอนิกกับกรดควาเลอริก และกรดบิวทิริกกับกรดควาเลอริก) ได้ปริมาณโคพอลิเมอร์สูงสุดในอาหารที่มีแหล่งคาร์บอนผสมเป็นกรดควาเลอริก กับกรดบิวทิริก เท่ากับ 29.30 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง ได้สัดส่วนโมโนเมอร์ 3HV สูงสุดเท่ากับ 30 โมลเปอร์เซ็นต์เมื่อใช้แหล่งคาร์บอนผสมเป็นกรดโฟสฟิโอนิกกับกรดควาเลอริก พบว่ากากน้ำตาลกับกรดโฟสฟิโอนิกเป็นแหล่งคาร์บอนผสมที่มีผลให้การเติบโตและการสังเคราะห์ P(3HB-co-3HV) ได้สูงสุดโดยได้น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณโคพอลิเมอร์เท่ากับ 5.67 กรัมต่อลิตร และ 53.43 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งตามลำดับ แหล่งไนโตรเจน (แอมโมเนียมซัลเฟต) ปริมาณจำกัดสำหรับการเติบโตและการผลิต P(3HB-co-3HV) เท่ากับ 0.1 กรัมต่อลิตรเมื่อใช้แหล่งคาร์บอนเป็นกากน้ำตาลและกรดโฟสฟิโอนิก โดยได้น้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณโคพอลิเมอร์สูงสุดเท่ากับ 5.06 กรัมต่อลิตร และ 54.54 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้งตามลำดับ ได้สัดส่วนโมโนเมอร์ 3HV เท่ากับ 16 โมลเปอร์เซ็นต์ อัตราส่วนระหว่างคาร์บอน (กากน้ำตาลกับกรดโฟสฟิโอนิก) ต่อไนโตรเจนที่เหมาะสมเท่ากับ 300 โมลต่อโมล โดยได้น้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 6.75 กรัมต่อลิตร ได้ปริมาณ P(3HB-co-3HV) เท่ากับ 50.38 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง และได้สัดส่วนของโมโนเมอร์ 3HV เท่ากับ 16 โมลเปอร์เซ็นต์ น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยของโคพอลิเมอร์ที่ผลิตได้อยู่ในช่วง 2.98×10^5 - 4.63×10^6 ค่าดัชนีการกระจายของน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยที่ต่ำสุดของโคพอลิเมอร์บางชนิดที่นำไปวิเคราะห์เท่ากับ 1.39 พบว่าแผ่นฟิล์มโคพอลิเมอร์ที่ผลิตโดย *Bacillus* sp. BA-019 ซึ่งมีสัดส่วนโมโนเมอร์ต่างกันมีสมบัติทางกายภาพบางประการแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสัดส่วนโมโนเมอร์ของ 3HB และ 3HV ที่เป็นองค์ประกอบ

C726391 : MAJOR INDUSTRIAL MICROBIOLOGY

KEY WORD. Bacillus sp. / POLY (3-HYDROXYBUTYRATE-co-3-HYDROXYVALERATE)

PISIT KHUNGGUMNERD : EFFECT OF CARBON AND NITROGEN SOURCES ON
 GROWTH OF *Bacillus* sp. BA-019 AND PRODUCTION OF POLY(3-HYDROXYBUTYRATE-CO-3-HYDROXYVALERATE). THESIS ADVISOR : ASSO. PROF. SONGSRI KULPREECHA, Ph.D.
 126 pp. ISBN 974-639-042-2

In the study of copolymer P(3HB-co-3HV) production by *Bacillus* sp. BA-019, 0.18 g(cell dry wt.) per 50 ml medium of 24 h-culture cultivated in seed culture medium containing with 10 g/l of fructose was suitable as seed culture for growth and copolymer production. Synthesis and accumulation of P(3HB-co-3HV) was investigated in MSM medium containing 20 g/l of carbon source, 1.0 g/l of ammonium sulfate and cultivation period was 36 h. Using some organic acids and their salts as single carbon source, high amount of cell mass and copolymer content was obtained in the medium containing propionic acid, butyric acid and valeric acid which the mole fraction of 3HV monomer was in the range of 5-70 mole percent. The highest P(3HB-co-3HV) content was detected in the medium containing propionic acid as carbon source (17.30 percent by dry wt). When some kind of sugars and organic acids were used as mixed carbon-sources, almost some P(3HB-co-3HV) content was determined when carbon source used were refine sugar and brown mixed with butyric acid (39.17 and 38.09 percent by dry wt, respectively). Almost equal amount of cell mass of *Bacillus* sp. BA-019 was determined in the mixed carbon source using 2 kinds of organic acids. (i.e. propionic acid and butyric acid, propionic acid and valeric acid, butyric acid and valeric acid), the highest copolymer content (29.30 percent by cell dry wt.) was detected in the medium containing valeric acid and butyric acid. The highest mole fraction of 3HV (30 mole percent) was formed in the mixed carbon-source of propionic acid and valeric acid. Maximum growth (5.67 g/l cell dry wt) and high P(3HB-co-3HV) synthesis (53.43 percent by dry wt.) was observed in the medium containing cane molasses and propionic acid. Limited amount of nitrogen source (ammonium sulfate) for growth and P(3HB-co-3HV) production was 0.1 g/l using cane molasses and propionic acid as carbon-source; maximum cell dry wt. and highest copolymer content were 5.06 g/l and 54.54 percent by cell dry wt., respectively with 16 mole percent of 3HV was obtained. Optimal C/N (cane molasses and ammonium sulphate) ratio for growth and copolymer production was 300 mole/mole; 6.75 g/l of cell dry wt. and 50.38 percent by cell dry wt. of P(3HB-co-3HV) with 16 mole percent of 3HV were determined. Average molecular weight (M_w) of some copolymers P(3HB-co-3HV) produced by *Bacillus* sp. BA-019 was in the range of 2.98×10^5 - 4.63×10^6 and 1.39 was the lowest PDI of some copolymer analysed. The copolymer films produced by *Bacillus* sp. BA-019 with various mole fraction of monomer possess different physical properties which due to the composition of 3HB and 3HV in the copolymers.