

สุคา สุภาววินสวัสดิ์ : ผลของซับสเตรตต่อสัดส่วนของ 3-ไฮดรอกซีวาเลอเรตในพอลิ(3-ไฮดรอกซีบิวทิเรต-โค-3-ไฮดรอกซีวาเลอเรต) ซึ่งผลิตจาก *Bacillus* sp. BA-019 (EFFECT OF SUBSTRATES ON THE 3-HYDROXYVALERATE MOLE FRACTION IN POLY (3-HYDROXYBUTYRATE-CO-3-HYDROXYVALERATE) PRODUCED BY *Bacillus* sp. BA-019)

อ.ที่ปรึกษา : รศ.ดร.สงศรี ฤทธิพิริชา ; 136 หน้า. ISBN 974-333-846-2

จากการศึกษาพบว่า *Bacillus* sp. BA-019 ใช้น้ำตาลทราย 10 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอนในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ดีกว่าการใช้ฟรักโทส การใช้แหล่งคาร์บอนเดียวเป็นซับสเตรตเพื่อผลิตเฮทเทอร์โรพอลิเมอร์ พบว่า ซับสเตรตประเภทเกลือของกรดอินทรีย์และน้ำตาลใช้เป็นแหล่งคาร์บอนเดียวเพื่อการผลิตโคพอลิเมอร์พอลิ(3-ไฮดรอกซีบิวทิเรต-โค-3-ไฮดรอกซีวาเลอเรต) ได้ แต่ได้สัดส่วนของ 3-ไฮดรอกซีวาเลอเรตต่ำ ส่วนกลุ่มของน้ำมันพืชและแอลกอฮอล์ไม่สามารถใช้เป็นซับสเตรตได้ ซับสเตรตประเภทเกลือไนโตรเจนไม่มีผลต่อการเพิ่มสัดส่วนของ 3-ไฮดรอกซีวาเลอเรต แต่พบว่ายูเรียทำให้เชื้อผลิตโคพอลิเมอร์ได้ปริมาณสูงกว่าเมื่อใช้แอมโมเนียมซัลเฟต แอมโมเนียมคลอไรด์และสารสกัดจากยีสต์ ภาวะในการเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* sp. BA-019 ได้แก่ ค่าความเป็นกรดค้างของอาหารเริ่มต้นที่ 7.5 - 8.5 ทำให้ได้สัดส่วนของ 3-ไฮดรอกซีวาเลอเรตเท่ากับ 7 - 9 โมลเปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่าที่ค่าความเป็นกรดค้างต่ำกวานี้ และปริมาณอากาศที่เหมาะสม คือ ปริมาณอากาศระดับปานกลางในขวดเขย่า พบว่า *Bacillus* sp. BA-019 ผลิต 3-ไฮดรอกซีวาเลอเรตสัดส่วนสูงที่สุดได้เท่ากับ 65 โมลเปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 72 ชั่วโมงของการเลี้ยงเชื้อ เมื่อใช้โซเดียมวาเลอเรตปริมาณ 20 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอนเดียว เมื่อใช้แหล่งคาร์บอนผสมเป็นน้ำตาลทราย 15 กรัมต่อลิตรร่วมกับโซเดียมวาเลอเรต 5 กรัมต่อลิตร พบว่า เชื้อนี้ผลิตได้สัดส่วนของ 3-ไฮดรอกซีวาเลอเรตสูงเท่ากับ 22 โมลเปอร์เซ็นต์ที่ 48 ชั่วโมง และเพิ่มเป็น 26 โมลเปอร์เซ็นต์เมื่อเลี้ยงเชื้อนานขึ้นเป็น 60 ชั่วโมง และได้โคพอลิเมอร์ปริมาณสูงด้วยเท่ากับ 35.18 เปอร์เซ็นต์คือน้ำหนักเซลล์แห้ง ซับสเตรตที่ใช้ได้คือรองลงมา ได้แก่ แหล่งคาร์บอนผสมระหว่างน้ำตาลทราย 15 กรัมต่อลิตรกับโซเดียมโทรฟิโอะเนต 5 กรัมต่อลิตร โดยพบว่าเชื้อผลิต 3-ไฮดรอกซีวาเลอเรตได้เท่ากับ 20 โมลเปอร์เซ็นต์ และได้ปริมาณโคพอลิเมอร์เท่ากับ 32.18 เปอร์เซ็นต์คือน้ำหนักเซลล์แห้ง อัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนเท่ากับ 500 มีผลทำให้ *Bacillus* sp. BA-019 ผลิต 3-ไฮดรอกซีวาเลอเรตได้สัดส่วนที่สูงเท่ากับ 24 โมลเปอร์เซ็นต์ซึ่งสูงกว่าที่อัตราส่วนอื่น รวมทั้งได้ปริมาณโคพอลิเมอร์เท่ากับ 50.44 เปอร์เซ็นต์คือน้ำหนักเซลล์แห้งซึ่งสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ การจำกัดปริมาณแมกนีเซียมซัลเฟตในอาหารเลี้ยงเชื้อมีผลต่อสัดส่วนของ 3-ไฮดรอกซีวาเลอเรตในโคพอลิเมอร์ แต่การจำกัดโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตพบว่า ไม่มีผลต่อการเพิ่มหรือลดสัดส่วนของ 3-ไฮดรอกซีวาเลอเรต ผลการเติมซับสเตรตประเภทซัลไฟเมนต์พบว่า เมทไรโอไนต์เป็นกรดอะมิโนชนิดเดียวที่มีผลให้สัดส่วน 3-ไฮดรอกซีวาเลอเรตสูงกว่าชุดที่ไม่เติมและชุดที่เติมกรดอะมิโนชนิดอื่น ส่วนการเติมโซเดียมซัลเฟตมีผลให้การผลิต 3-ไฮดรอกซีวาเลอเรตได้ต่ำเพียง 7 โมลเปอร์เซ็นต์ แต่มีผลทำให้ปริมาณโคพอลิเมอร์พอลิ(3-ไฮดรอกซีบิวทิเรต-โค-3-ไฮดรอกซีวาเลอเรต) เพิ่มขึ้นสูงที่สุดเท่ากับ 55.35 เปอร์เซ็นต์คือน้ำหนักเซลล์แห้ง

SUDA SUPACHAVINSWAD : EFFECT OF SUBSTRATES ON THE 3-HYDROXYVALERATE MOLE FRACTION IN POLY(3-HYDROXYBUTYRATE-CO-3-HYDROXYVALERATE) PRODUCED BY *Bacillus* sp. BA-019.

THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. SONGSRI KULPREECHA, Ph.D. 136 pp. ISBN 974-333-846-2 .

It was found that 10 g/l of refined cane sugar was more suitable to use as carbon-source than that of fructose in seed culture medium of *Bacillus* sp. BA-019. The result of utilization of single carbon source for heteropolymer production, showed that salts of some organic acid and sugars were assimilated as single carbon for producing the poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) [PHBV] with a low mole % of 3-hydroxyvalerate [3HV]. Vegetable oil and alcohol were not utilized as single carbon substrate. Nitrogen sources had no effect on 3HV mole fraction but the amount of copolymer PHBV was increased in the medium containing urea than that of $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NH_4Cl or yeast extract. The initial pH of production medium and amount of air in culture broth showed some effect on 3HV production, i.e. 7-9 mole % of 3HV was obtained at pH between 7.5 - 8.5 more than that of the lower pH values. Moderate levels of air in shaken flask culture resulted in higher mole fraction of 3HV than at lower or higher level of air in the culture broth. *Bacillus* sp. BA-019 was capable of producing 3HV as high as 65 mole % at 72 h. of cultivation in medium containing 20 g/l of sodium valerate as single carbon substrate. In the mixed carbon source of 15 g/l of refined cane sugar and 5 g/l of sodium valerate, 22 mole % of 3HV was produced at 48 h and increased to 26 mole % at 60 h., and the high amount (35.18 % by dry cell weight) of PHBV was also obtained. The mixed carbon source of 15g/l refined cane sugar and 5g/l sodium propionate were also found suitable for PHBV production by *Bacillus* sp. BA-019, as 20 mole % of 3HV and 32.18 % by dry cell weight of copolymer PHBV were detected. C/N ratio of 500 (mole/mole) enhanced 3HV production by *Bacillus* sp. BA-019 as indicated from the highest amount of 3HV (24 mole %). The amount of PHBV was also increased remarkably up to 50.44 % by dry cell weight. It was shown that limitation of MgSO_4 had effect on 3HV mole fraction but KH_2PO_4 had no effect. Supplementation of methionine showed higher 3HV mole fraction than without addition or addition of other amino acids. The supplementation of sodium citrate decreased 3HV mole fraction (7 mole %) but significantly increased PHBV content up to 55.35 % by dry cell weight