

Fermentation, Separation and Bioassay of Thuringiensin

吳美貌 著、曾耀銘、徐泰浩

E-mail: 8301236@mail.dyu.edu.tw

ABSTRACT

本研究中以三株蘇力菌變種 *B.t. tolworthi*, *B.t. darmstadiensis*, *B.t. thuringiensis* 與仙人掌桿菌(*Bacillus cereus*) 共同比較, 以法國巴斯德研究所 de Barjac 博士提供之蘇力菌素為標準品, 經由高效液相層析 (HPLC) 分析, 在多次重複試驗中發現在相同培養條件下以 *B. t. darmstadiensis* 所分泌之蘇力菌素量最高。經由 NB, BHI, TSB, TPB與 SMB 五種培養基培養顯示, 使用前述不同菌株, *B. t. darmstadiensis*於 SMB 中可生成最高量之蘇力菌素; 在搖瓶培養測試時, 最適化之培養溫度、酸鹼度與振盪培養轉速分別為 30 °C, pH 7 與 250 rpm。在 3 公升醱酵槽之擴大化試驗中, 以 HPLC 全程偵測發現蘇力菌素量形成累聚時程在 9?24 小時間, 24 小時後所形成之蘇力菌素並無明顯增加。在四槽標準化試驗中, 以最適之醱酵操作條件 30 °C, pH 7.0, 500 rpm 和 1.11 VVM, 蘇力菌素形成量可高達 1.34 g/L, 為目前所知發表文獻資料中所顯示的 4 倍量以上。利用家蠅幼蟲進行生物檢定部份, 化蛹階段之 EC50值為 1.64 µg/g 人工飼料; 成蟲階段之 EC50 值為 0.83 µg/g 人工飼料; 含孢子、內、外毒素之全醱酵液之混合毒效較之離心上清液有加成的防治效果。在分離製備程序中, 兩相系統 (two-phase aqueous system) 結果顯示, 15% PEG 8000 / 10% K₂HPO₄ 得到之分離係數, K = 0.19 為最佳, 擴大處理後之平均回收率達 85.5%; 另以 PEI 沉澱對蘇力菌素進行分離純化, 以 0.05% 之濃度分離效果最理想, 擴大化之平均回收率達 95.5%; 各項實驗均同時以生物檢定法及 HPLC 測定蘇力菌素; 系列結果比較顯示: 該高效液相層析法分析具有高靈敏度與精確性, 應用在醱酵過程中蘇力菌素之偵測為甚可靠之定量方法。

Keywords : *Bacillus thuringiensis* ; Thuringiensin ; Fermentation ; HPLC

Table of Contents

0

REFERENCES

0