

جداسازی سویه ای از *Bacillus subtilis* از پساب کارخانه شیر پگاه کرمان برای تولید پلی هیدروکسی بوتیرات

آرمان محسنی^۱، سید احمد عطائی^{۲*}، محمد حسن فضائی پور^۳

۱. کارشناس ارشد مهندسی شیمی - بیوتکنولوژی، دانشگاه شهید باهنر کرمان
۲. استادیار مهندسی شیمی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، (ataie@mail.uk.ac.ir)
۳. دانشیار مهندسی شیمی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

مشخصات مقاله	چکیده
تاریخچه مقاله: دریافت: ۱۵ مرداد ۹۰ دریافت پس از اصلاح: ۱۶ مهر ۹۰ پذیرش نهایی: ۴ آبان ۹۰	از میان پلاستیک‌های زیست تخریب پذیر پلی هیدروکسی آلکانوات و کوپلیمرهای آن به علت قابلیت تجزیه پذیری کامل، انعطاف پذیری، مقاومت در برابر آب و همچنین سادگی فرآیند تولید، نسبت به سایر پلیمرهای زیست تخریب پذیر بیشتر مورد توجه قرار گرفته‌اند. در این پژوهش سویه ای از باسیلوس سوبتیلیس با قابلیت تولید پلی هیدروکسی بوتیرات، از فاضلاب یک کارخانه تولید شیر پاستوریزه جدا شد. گلوکز و عصاره مخمر به ترتیب با غلظت ۳۰ و ۷/۵ گرم در لیتر به عنوان اجزای اصلی محیط کشت مورد استفاده قرار گرفت. نتایج بدست آمده نشان داد که مدت زمان لازم برای انجام فرایند تخمیر ۷۲ ساعت و مقدار بیوپلیمر تولید شده ۰/۵۹ گرم به ازای هر گرم وزن خشک سلول بود.
کلمات کلیدی: پلی هیدروکسی بوتیرات جداسازی باسیلوس سوبتیلیس	
* عهده دار مکاتبات	حقوق ناشر محفوظ است.

۱- مقدمه

امروزه پلاستیک‌ها در تولید انواع فرآورده‌های صنعتی، از صنعت خودروسازی گرفته تا دنیای پزشکی، دارای کاربرد بوده و تنها در ایالات متحده آمریکا سالانه نزدیک به ۵۰ میلیون تن انواع پلاستیک تولید می‌شود. اما این مواد به عنوان زباله‌های مقاوم به تجزیه میکروبی، چالش‌های زیست محیطی پیچیده‌ای به وجود آورده اند [۱]. استفاده از پلیمرهای صنعتی باعث بوجود آمدن مشکلاتی از قبیل دفن پسماندهای جامد و همچنین گرم شدن کره زمین می‌شود [۲]. تاکنون تعداد زیادی از پلاستیک‌های میکروبی نیز در جهان تولید گردیده اما تولید آن‌ها به علت عواملی چون بالا بودن قیمت سوبسترا، محصول دهی کم و همچنین هزینه‌های مربوط به استریل نگه داشتن محیط (جهت جلوگیری از آلوده شدن میکروب‌ها در کشت خالص) به صورت محدود انجام پذیرفته و باعث شده تا این گروه از پلیمرها نتوانند با سایر پلاستیک‌ها رقابت داشته باشند. بر اساس یکی از مطالعات انجام گرفته هزینه قابل توجه مواد اولیه علت اصلی بالا بودن قیمت پلاستیک‌های قابل تجزیه در مقایسه با پلاستیک‌های معمولی عنوان گردیده است [۳]. در گزارشی دیگر هزینه تولید پلیمرهای قابل تجزیه در کشت خالص در حدود ۲۰ برابر قیمت پلاستیک‌های مصنوعی برآورد شده است [۴].

از میان پلاستیک‌های قابل تجزیه که تاکنون تهیه گردیده گروهی تحت عنوان پلی‌هیدروکسی‌آلکانوات^۱ و کوپلیمرهای آن که بالغ بر چهل نوع ترکیب مختلف می‌باشند، به علت قابلیت تجزیه پذیری کامل، انعطاف پذیری، مقاومت ۱۰۰٪ در برابر آب، پایین بودن نسبی هزینه تولید و همچنین سادگی فرآیند تولید نسبت به سایر پلیمرهای زیست تخریب پذیر بیشتر مورد توجه قرار گرفته اند [۵ و ۶]. این نوع ترکیبات به علت خواص فیزیکی، مکانیکی و همچنین به علت سازگاری با بدن حتی در عمل‌های جراحی نیز دارای کاربرد هستند [۷].

این نوع بیوپلیمر که به صورت گرانول^۲ در داخل سلول میکروارگانیسم تجمع یافته و پس از استخراج و خالص‌سازی به پودری سفید رنگ تبدیل می‌شود، توسط گروه‌های مختلف میکروبی تولید می‌شود [۸]. تقریباً ۳۰۰ نوع میکروارگانیسم شامل انواع باکتری‌های گرم مثبت و منفی شناسایی گردیده که قادر به تولید پلی‌هیدروکسی‌آلکانوات می‌باشند. از جمله میکروارگانیسم‌هایی که توانایی تولید پلی‌هیدروکسی‌آلکانوات را

دارند می‌توان به گونه‌های *Bacillus*^۳، *Azotobacter*^۴، *Sudomonas*^۵ و *Alcaligenes*^۶ اشاره نمود [۹].

پلی‌هیدروکسی‌بوتیرات^۷ یکی از مهمترین ترکیبات پلی‌هیدروکسی‌آلکانوات می‌باشد که میکروارگانیسم‌ها آن را به عنوان ذخیره انرژی به صورت درون سلولی در خود ذخیره می‌کنند. این ذخیره به دلیل کمبود منابع مغذی مانند فسفر، نیتروژن، پتاسیم و یا اکسیژن در حضور مقدار اضافی منابع کربن می‌باشد [۱۰]. در مقایسه با پلیمرهای صنعتی، پلی‌هیدروکسی‌بوتیرات انرژی کمتری برای تولید نیاز دارد و به همین دلیل گازهای گلخانه‌ای کمتری تولید می‌شود [۱۱].

پلی‌هیدروکسی‌آلکانوات‌ها به دلیل زیست تخریب پذیری و زیست سازگاری بالایی که دارند بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند. از آنجایی که پلی‌هیدروکسی‌آلکانوات‌ها را می‌توان از منابع تجدید پذیر بدست آورد و پس از تجزیه به دی‌اکسید کربن و آب تبدیل می‌شوند به آنها پلاستیک‌های دوستدار محیط زیست می‌گویند [۱۱].

محتوای پلی‌هیدروکسی‌آلکانوات در واقع بهترین بیان کننده برای توجیه اقتصادی تولید بیوپلیمر می‌باشد. محتوای پلی‌هیدروکسی‌آلکانوات عبارتست از میزان تولید بیوپلیمر نسبت به بیومس^۸ تولیدی. افزایش این محتوا باعث افزایش بهره‌وری می‌شود [۱۲]. بیوسنتز پلی‌هیدروکسی‌آلکانوات تا حد زیادی به نوع منبع کربنی که در اختیار میکروارگانیسم قرار دارد وابسته است. منابع کربن را می‌توان به دو دسته تقسیم بندی کرد: منابعی که ساختار آنها شبیه به ساختار بیوپلیمر تولیدی است و منابعی که ساختار آنها شباهتی به ساختار بیوپلیمر تولیدی ندارد [۱۳]. بیوپلیمرها بر اساس طول زنجیره کربنی به سه دسته تقسیم می‌شوند: زنجیره کوتاه^۹ با زنجیره منومری ۳ تا ۵ اتم کربن، زنجیره متوسط^{۱۰} با زنجیره منومری ۶ تا ۱۴ اتم کربن و ترکیبی از زنجیره کوتاه و زنجیره متوسط که خواص فیزیکی و مکانیکی بهتری نسبت به دو گروه قبلی دارد [۱۳]. پلی‌هیدروکسی‌آلکانوات خواص ترموپلاستیکی شبیه به پلیمرهای صنعتی دارد با این مزیت که زیست تخریب پذیر، زیست‌سازگار و قابل تهیه از منابع تجدید پذیر می‌باشد ولی به علت هزینه‌های بالای تولید توانایی رقابت با پلیمرهای صنعتی

3 - *Bacillus*4 - *Azotobacter*5 - *Pseudomonas*6 - *Alcaligenes*

7 - polyhydroxybutyrate

8 - Biomass

9 - Short chain length

10 - Medium chain length

1 - polyhydroxyalkonate

2 - granule

شدن با عبور سریع لام از روی شعله تثبیت شد. سپس سطح اسمیر به محلول سودان سیاه (۰/۳ گرم سودان سیاه + ۱۰۰ میلی لیتر اتانول ۰/۷۰) آغشته شد. بعد از گذشت ۱۰ دقیقه لام با آب مقطر شسته شده و پس از خشک شدن اسمیر با زایلن شستشو داده شد. پس از این اسمیر به مدت ۱۵ ثانیه با محلول ۰/۵٪ سافرانین آغشته شد. پس از شستشو با آب مقطر و خشک کردن لام با کاغذ صافی پلی هیدروکسی آلکانوات به صورت لکه های سیاه رنگ درون باکتری ها با لنز ۱۰۰ میکروسکوپ نوری مشاهده شد [۱۷].

۲-۳- کشت میکروارگانسیم

میکروارگانسیم مورد نظر توسط لوپ استریل از اسلنت به محیط کشت بذر با ترکیب ذیل تلقیح شد:

گلوکز ۹ گرم بر لیتر، عصاره مخمر ۲/۵ گرم بر لیتر، KH_2PO_4 ، ۲/۵ گرم در لیتر، K_2HPO_4 ، ۲/۵ گرم در لیتر، NH_4NO_3 ، ۰/۵ گرم در لیتر، $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ، ۱ گرم در لیتر، $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ، ۰/۰۰۷ گرم در لیتر، $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ، ۰/۲ گرم در لیتر، $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ، ۰/۰۱ گرم در لیتر.

بعد از گذشت ۴۸ ساعت از گرماگذاری کشت بذر مقدار ۱۰ میلی لیتر از محیط کشت بذر به ۱۰۰ میلی لیتر محیط کشت تولید وارد و گرماگذاری شد. ترکیب محیط کشت تولید مشابه با ترکیب محیط کشت بذر بود با این تفاوت که غلظت گلوکز و عصاره مخمر در اینجا به ترتیب ۳۰ و ۷/۵ گرم بر لیتر بود. لازم به ذکر است که در هنگام تهیه محیط کشت به منظور جلوگیری از واکنش های نامطلوب گلوکز و عصاره مخمر بصورت جداگانه استریل شدند.

۲-۴- بررسی میزان رشد

جهت بررسی میزان رشد از محیط کشت تخمیر در فواصل مشخص دو ساعته نمونه گیری شد. ۱۰ میلی لیتر از نمونه های گرفته شده به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ^۵ و مایع رویی دور ریخته شد. جهت حذف مواد اضافی، بیومس^۶ ته نشین شده با ۵ میلی لیتر آب مقطر به صورت سوسپانسیون در آورده شد و دوباره به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و مایع رویی دور ریخته شد. بیومس بدست آمده به مدت ۲۴ ساعت در دمای

را ندارد، حدود ۷۰ درصد از هزینه های تولید بیوپلیمرها مربوط به سوبسترای مورد استفاده و استخراج بیوپلیمر می باشد [۱۴]. هدف از انجام این پژوهش علاوه بر جداسازی گونه میکروبی مناسب و بومی استان جهت تولید بیوپلیمر، مشخص کردن زمان مناسب جهت پایان عمل تخمیر برای رسیدن به بالاترین بازده تولید پلی هیدروکسی آلکانوات و حداکثر بهره وری می باشد.

۲- مواد و روش تحقیق

۲-۱- جداسازی گونه میکروبی

در این تحقیق از گونه های میکروبی بومی موجود در استان کرمان استفاده شد. برای این کار گونه های میکروبی موجود در فاضلاب کارخانجات روغن نباتی، نوشابه زمزم و شیر پگاه مورد بررسی قرار گرفتند.

نمونه های فاضلاب تحت شرایط استریل به آزمایشگاه منتقل شدند. برای جداسازی گونه های میکروبی ۱ قطره از هر فاضلاب را با آب مقطر استریل، رقیق کرده و به روش استریک پلیت^۱ بر روی محیط کشت نوترینت آگار^۲ کشت داده و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد گرماگذاری شد [۱۵]. کلنی های مجزا به لحاظ شکل، رنگ و مشخصات ظاهری مجدداً با تکنیک کشت استریک پلیت جداسازی شدند. گونه های قارچ، کپک، مخمر و سایر میکروارگانسیم های مزاحم حذف و سپس نمونه های خالص روی اسلنت نگهداری شدند. برای اطمینان از خلوص نمونه ها رنگ آمیزی گرم^۳ انجام شد [۱۵]. در این مرحله ۴۰ سویه میکروبی انتخاب شد.

۲-۲- انتخاب گونه های تولید کننده

پلی هیدروکسی آلکانوات

برای مشخص کردن گونه های تولیدکننده پلی هیدروکسی آلکانوات از روش رنگ آمیزی سودان سیاه^۴ استفاده شد. پس از انجام رنگ آمیزی، گونه هایی که توانایی بیشتری در تولید پلی هیدروکسی آلکانوات داشتند انتخاب شدند [۱۶].

روش رنگ آمیزی سودان سیاه: یک قطره از سوسپانسیون باکتریایی بر روی لام قرار داده و پس از خشک

1 -Streak plate
2 -Nutrient agar
3 -Gram staining
4- Sudan black

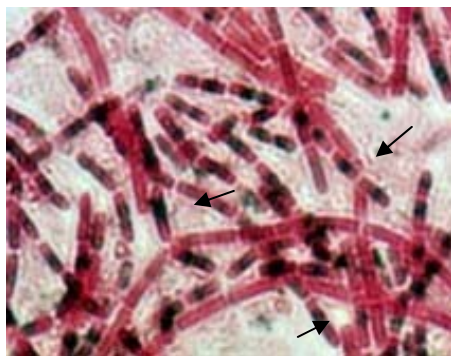
5 -Centrifuge
6 -Biomass

دقیقه در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت، سپس با شدت ۵ درجه سانتی‌گراد در دقیقه به دمای ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد و در نهایت با شدت ۳۵ درجه سانتی‌گراد در دقیقه به دمای ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد رسید.

۳- بحث و نتایج

۳-۱- جداسازی گونه میکروبی

پس از رنگ آمیزی سودان سیاه و مشاهده بوسیله میکروسکوپ نوری با لنز ۱۰۰ گونه‌هایی که توانایی تولید پلی هیدروکسی بوتیرات را داشتند انتخاب شدند. در این مرحله ۱۴ گونه تولید کننده انتخاب شدند. شکل ۱ تصویر رنگ آمیزی شده سودان سیاه را نشان می‌دهد.



شکل (۱): گونه میکروبی به رنگ قرمز و گرانول‌های پلی‌هیدروکسی‌آلکانوات به رنگ آبی تیره

با بررسی نمودارهای به دست آمده از دستگاه کروماتوگراف گازی مشخص شد گونه میکروبی *Bacillus subtilis*^۱ که از فاضلاب کارخانه شیر پگاه کرمان به دست آمده بود، بهترین تولید کننده پلی‌هیدروکسی‌بوتیرات در بین گونه‌های میکروبی جدا شده بود که توانست در مدت ۷۲ ساعت مقدار ۰/۹۴ گرم در لیتر بیوپلیمر تولید کند، پیک پلی‌هیدروکسی‌بوتیرات در دقیقه ۴/۸ و پیک استاندارد داخلی در دقیقه ۶/۶ ظاهر شد (شکل ۲).

۹۰ درجه سانتی‌گراد تا تبخیر کامل آب و ثابت شدن وزن سلولی نگهداری شد و سپس وزن خشک سلولی اندازه‌گیری شد [۱۷].

۲-۵- آنالیز پلی‌هیدروکسی‌بوتیرات با استفاده از کروماتوگراف گازی^۱

پس از پایان گرماگذاری مقدار ۱۰ میلی‌لیتر از هر محیط کشت به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و مایع رویی دور ریخته شد. بیومس حاصل با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر شستشو و جهت حذف مواد اضافی ۱۵ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. با دور ریختن مایع رویی مقدار ۲ میلی‌لیتر کلروفرم و ۱ میلی‌لیتر متانول اسیدی (شامل ۰/۸۵٪ متانول حجمی - حجمی، ۱۵٪/ اسید سولفوریک حجمی - حجمی و ۴۵ گرم در لیتر اسید بنزویک به عنوان استاندارد داخلی) به بیومس به دست آمده و نمونه استاندارد پلی‌هیدروکسی‌بوتیرات اضافه شد. نمونه‌ها و استاندارد به مدت ۲ ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد تا کامل شدن واکنش استری شدن نگهداری شدند. سپس به هر نمونه ۱ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر اضافه و به مدت یک دقیقه به شدت تکان داده شد [۱۷، ۱۸]. با تکان دادن شدید و آرام گرفتن، سه فاز مجزا تشکیل شد (فاز بالایی حاوی اسید سولفوریک، فاز میانی حاوی بقایای میکروبی و فاز پایینی حاوی متیل‌استر هیدروکسی‌آلکانوات)، دو فاز بالایی را توسط پیپت خودکار^۲ دور ریخته و فاز زیرین توسط پیپت پاستور به لوله آزمایش تمیز منتقل و تا قبل از تزریق به دستگاه کروماتوگراف گازی درون یخچال نگهداری شد. مقدار دو میکرولیتر از نمونه‌ها و نمونه استاندارد، به صورت جداگانه به دستگاه کروماتوگراف گازی تزریق شدند.

مشخصات دستگاه به شرح زیر می‌باشد: کروماتوگراف گازی ساخت شرکت واریان^۳ با ستون موئین^۴ (CP-Cil 5CB طول ۳۰ متر و قطر ۰/۳۲ میلی‌متر)، نمایانگر^۵ FID، دمای تزریق کننده^۶ ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد و دمای نمایانگر^۷ ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد استفاده شد. هلیوم به عنوان گاز حامل با دبی حجمی ۲ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده شد. دستگاه به مدت ۱

^۱- Gas chromatography

^۲-Sampler

^۳-Varian Co

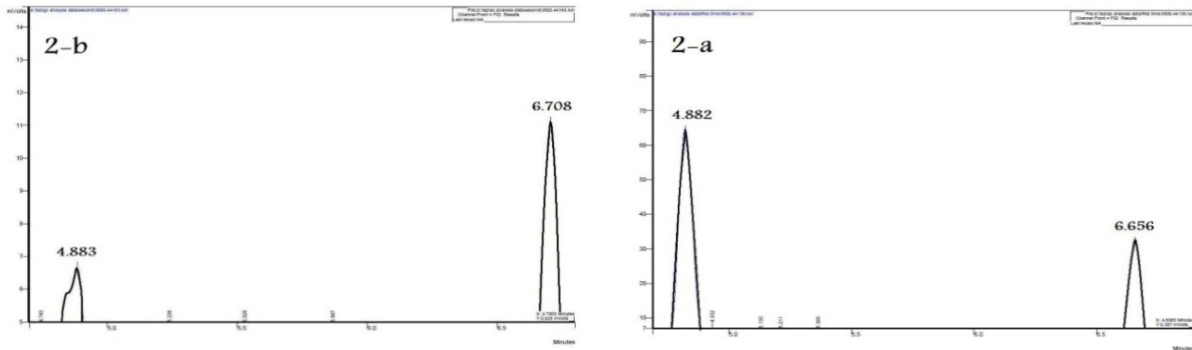
^۴-Capillary column

^۵-FID detector

^۶-Injector temperature

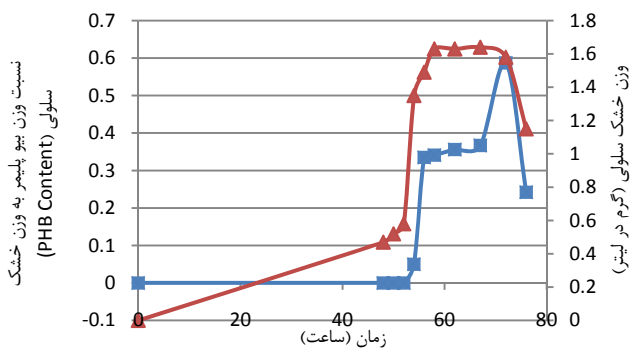
^۷-Detector temperature

جداسازی سویه ای از *Bacillus subtilis* از پساب کارخانه شیر نگاه کرمان برای تولید پلی هیدروکسی بوتیرات



شکل (۲): نمودار گرماتوگراف نمونه استاندارد، (2-a) نمودار کروماتوگراف پلی هیدروکسی بوتیرات تولید شده در گونه باسیلوس سوبتیلیس جدا شده از فاضلاب کارخانه شیر

۲-۳- بررسی روند تولید پلی هیدروکسی بوتیرات با زمان



شکل (۳): نمودار رشد و تولید پلی هیدروکسی بوتیرات با زمان در گونه باسیلوس سوبتیلیس (▲ مربوط به نمودار رشد و ■ مربوط به تولید پلی هیدروکسی بوتیرات با زمان می باشد)

Lonar Lake, India", *Bioresource Technology*, 101, 9765-9771.

- [11] Y. Xie, D. Kohls, I. Noda, D. W. Schaefer, and Y. A. Akpalu (2009) "Poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) nanocomposites with optimal mechanical properties", *Polymer*, 50, 4656-4670.
- [12] M. R. Zakaria, H. Ariffin, N. A. M. Johar, S. Abd-Aziz, H. Nishida, Y. Shirai, and M. A. Hassan (2010) "Biosynthesis and characterization of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) copolymer from wild-type *Comamonas* sp. EB172", *Polymer degradation and stability*, Xxx: 1-5.
- [13] K. H. Chai, T. F. Ooi, A. Saika, T. Tsuge, and K. Sudesh (2010) "Biosynthesis & characterization of novel polyhydroxyalkanoate polymer with high elastic property by *Cupriavidus necator* PHB-4 transformant", *Polymer Degradation and Stability*, 95, 2226-2232.
- [14] M. G. E. Albuquerque, C. A. V. Torres, and M. A. M. Reis (2010) " Polyhydroxyalkanoate (PHA) production by a mixed microbial culture using sugar molasses: Effect of the influence substrate concentration on culture selection", *Water Research*, 44, 3419-3432.
- [15] L. M. Prescott (2002) *Microbiology*, The McGraw-Hill Companies, United State, 1147.
- [16] K. Mizuno, A. Ohta, M. Hyakutake, Y. Ichinomiya, and T. Tsuge (2010) "Isolation of polyhydroxyalkanoate-producing bacteria from a polluted soil and characterization of the isolated strain *Bacillus Cereus* YB-4", *Polymer Degradation and Stability*, Xxx: 1-5.
- [17] S. A. Ataei, E. Vashaghani Farahani, S. A. Shojaosadat, and H. Abdul Tehrani (2008) "Isolation of PHA-producing bacteria from a date syrup waste", *Macromolecule symposium*, 269, 11-16.
- [18] A. Oehmen, B. K. Lehmann, R. J. Zeng, Z. Yuan, and J. Keller (2005) "Optimization of polyhydroxyalkanoate analysis using gas chromatography for enhanced biological phosphorus removal system", *Journal of Chromatography A*, 1070, 131-136.
- [1] N. Mokhtarani, H. Ganjidust, E. Vashaghani Farahani, and S. M. Khaleghi (2007) "Effect of volatile fatty acid in production of polyhydroxyalkanoate by activated sludge" *Journal of polymer technology*, 21, 80-93.
- [2] W. H. Lee, C. Y. Loo, C. T. Nomura, and K. Sudesh, (2008) "Biosynthesis of polyhydroxyalkanoate copolymers from mixtures of plant oils and 3-hydroxyvalerate precursors", *Bioresource technology*, 99, 6844-6851.
- [3] H. Takabatake, H. Satoh, T. Mino, and T. Matsuo (2000) "Recovery of biodegradable plastics from activated sludge process", *Water Sci. Technol.*, 42, 351-356.
- [4] S.Y. Lee (1996) "Review bacterial polyhydroxyalkanoates", *Biotechnol. and Bioeng*, 49, 1-14.
- [5] H. Chua, P.H.F. Yu, and L.Y. Ho (1997), " Recovery of biodegradable polymers from food-processing wastewater activated sludge system", *Journal of Indo-European Studies*, 37(2): 9-13.
- [6] Y. Kumagai (1992) "Enzymatic degradation of binary blends of microbial poly (3-Hydroxybutyrate) with enzymatically active polymers", *Polymer Degradation and Stability*, 37, 253-256.
- [7] A. Pelissero (1987) " Update on Biodegradable Plastics Materials", *Imballaggio*, 38, 54.
- [8] J.T. Pfeffer (1992) *Solid Waste Management Engineering*, Prentice Hall, 72-84.
- [9] B. S. Kim, and H. N. Chang (1998) " Production of poly (3-hydroxybutyrate) from starch Azotobacter chroococcum", *Biothechnol Letters*; 20: 109-112.
- [10] S. O. Kulkarni, P. P. Kanekar, S. S. Nilegaonkar, S. S. Sarnaik, and J. P. Job (2010) "Production & characterization of a biodegradable poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) (PHB-co-PHV) copolymer by moderately haloalkalitolerant *Halomonas campisalis* MCM B-1027 isolated from

Isolation of a strain of *Bacillus subtilis* from “Kerman Pegah milk factory” to produce Polyhydroxybutyrate

A. Mohseni¹, S. A. Ataei^{2,*}, M. H. Fazaelpoor³

1. M.Sc. in Chemical Engineering, Shahid Bahonar University of Kerman.

2. Assistant Professor of Chemical Engineering, Shahid Bahonar University of Kerman.

3. Associate Professor of Chemical Engineering, Shahid Bahonar University of Kerman.

ABSTRACT

Among the biodegradable plastics, polyhydroxyalkanoates and their copolymers are superior due to their degradability, plasticity, resistance against water and also the simplicity of their production. In this research a strain of *Bacillus subtilis* was isolated from wastewater. The strain was grown in a basal mineral medium containing 30 g/L glucose and 7.5 g/L yeast extract. The results from the experiments showed that 72 hours was needed to obtain the optimum amount of poly hydroxy butyrate at 37 °C. The optimum amount was 0.59 g PHB/ g dried cell.

All right reserved.

ARTICLE INFO

Article history:

Received 6 Aug. 2011

Received in revised form 8 Oct. 2011

Accepted 26 Oct. 2011

Key words:

Polyhydroxyalkanoate

Isolation

Bacillus subtilis

Production of biopolymer

Biodegradable

* Corresponding author
