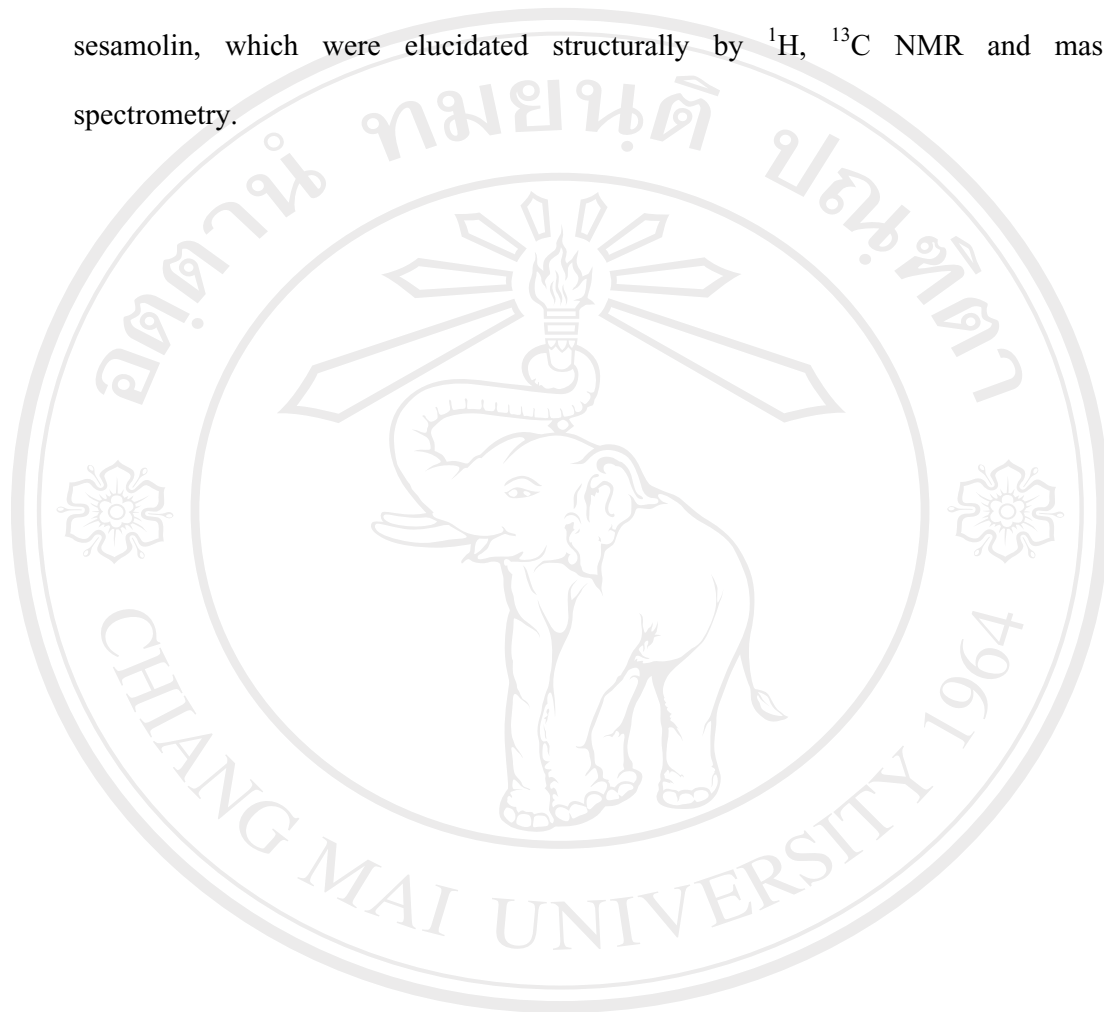


Thesis Title	Characterization of Biosurfactant Produced by Actinomycetes Isolated from Soil	
Author	Ms. Intira Thampayak	
Degree	Doctor of Philosophy (Biotechnology)	
Thesis Advisory Committee	Prof.Dr.Saisamorn Lumyong	Chairperson
	Assoc.Prof.Dr.Somboon Anuntalabhochai	Member
	Asst.Prof.Dr.Naowarat Cheeptham	Member
	Asst.Prof.Dr.Sunanta Wangkarn	Member
	Dr.Puttinan Meepowpan	Member

Abstract

Two hundred and twenty-nine soil actinomycetes were initially screened for extracellular biosurfactant activity by a drop-collapse method in liquid medium containing sesame oil, soybean oil, grape seed oil, or sunflower oil as sole source of carbon. It was found that three isolates, S71, S72 and S177 were capable of producing biosurfactant. Morphological and chemotaxonomic analysis revealed that these isolates in the genus *Streptomyces*. Phylogenetic analysis using 16S rDNA sequence showed that isolates S71 and S177 were closely related to *S. griseoflavus* sharing 99% 16S rDNA similarities, whereas isolate S72 was closely related to *S. fradiae* sharing only 98% 16S rDNA similarity. Isolate S72 was selected for further study of biosurfactant production. Kim's medium supplemented with sesame oil as carbon source was used as growth and biosurfactant producing medium and incubated at room temperature. The biosurfactant was isolated from the cell-free culture broth by liquid-liquid extraction with a mixture of chloroform:methanol (2:1 v/v). The crude extract has no toxic to both large cell lung carcinoma and 3T3 normal mouse

fibroblast cell line. The crude extract was purified by flash column chromatography and preparative thin layer chromatography. Two main components, sesamin and sesamolin, which were elucidated structurally by ^1H , ^{13}C NMR and mass spectrometry.



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright© by Chiang Mai University

All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การตรวจสอบลักษณะสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดย

เชื้อแอกติโนมัยซีสที่แยกได้จากดิน

ผู้เขียน นางสาวอินทรา แอมพักษณ์

ปริญญา วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ศ.ดร.สายสมร ถ้อยของ ประธานกรรมการ

รศ.ดร.สมบูรณ์ อนันตลาโภชัย กรรมการ

ผศ.ดร.เนาวรัตน์ ชีพธรรม กรรมการ

ผศ.ดร.สุนันทา ว่างานต์ กรรมการ

ดร.พุดินันท์ มีเผ่าพันธ์ กรรมการ

บทคัดย่อ

ได้คัดกรองเชื้อแอกติโนมัยซีสที่สร้างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากตัวอย่างดินจำนวน 229 ไอโซเลตด้วยวิธี drop collapse โดยเลี้ยงเชื้อในอาหารที่ใช้ไขมันพืช ได้แก่ ไขมันงา ไขมันถั่วเหลือง ไขมันเมล็ดคองุ่น และน้ำมันทานตะวัน เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่ามี 3 ไอโซเลตจากทั้งหมด

219 ไอโซเลตที่ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ คือ S71, S72 และ S177 เมื่อนำมาจัดกลุ่มโดยอาศัยคุณสมบัติทางรูปร่างลักษณะและองค์ประกอบทางเคมีพบว่าจัดอยู่ในสกุล *Streptomyces* จากการนำลำดับเบสบางส่วนของ 16S rDNA ของทั้ง 3 ไอโซเลตมาทำ phylogenetic tree พบว่า S71 และ S177 มีความเหมือนกับ *S. griseoflavus* 99% ส่วน S72 เหมือนกับ *S. fradiae* 98% เมื่อ

นำ S72 มาศึกษาการผลิตและหาชนิดของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่เชื้อสร้างขึ้น โดยใช้ Kim's medium ที่เติมน้ำมันงาเป็นแหล่งคาร์บอน เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อและผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ บ่ม

เพาะที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นทำการสกัดสารลดแรงดึงผิวชีวภาพจากอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากเซลล์ ด้วยสารผสมระหว่างคลอโรฟอร์มและเมทานอลในอัตราส่วน 2:1 สารสกัดที่ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์เพาะเลี้ยง 2 ชนิด คือ large cell lung carcinoma และ 3T3 normal mouse fibroblast cell line นำสารสกัดที่ได้ไปทำให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี flash column chromatography และ preparative thin layer chromatography จากการพิสูจน์โครงสร้างด้วยโปรตอน, คาร์บอน เอ็นเอ็มอาร์ และแมสสเปกโตรเมตรี ได้สารประกอบหลัก 2 ตัว คือ sesamin และ sesamolin

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved