ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ และเอนไซม์ไลเปสโดย เชื้อแบคทีเรีย ที่แยกจากดินบริเวณที่มีการปนเปื้อนน้ำมัน

ผู้เขียน นางสาวดุษฎีพรรณ พงษ์สุวรรณ

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยา)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ศ. ดร. สายสมร ลำยอง ประธานกรรมการ
รศ. พิมพร ลีลาพรพิสิฐ กรรมการ

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ในการทำวิจัยครั้งนี้คือการหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ โดยทำการแยกเชื้อแบคทีเรียจากดินบริเวณที่มีการปนเปื้อนของน้ำมัน 4 บริเวณหลักในจังหวัดเชียงใหม่ จากการทดสอบความสามารถในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพด้วยวิธี oil displacement area (ODA), surface tension (ST) และ emulsification activity (EA) จากตัวอย่างเชื้อ 114 ไอโซเลท พบว่า ไอโซเลท OL2-8 ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพดีที่สุด เมื่อนำมาทดสอบคุณลักษณะทางสัณฐานวิทยาและชีวเคมีบางประการพบว่าไอโซเลทดังกล่าวจัดอยู่ในจีนัส *Pseudomonas* จากการนำลำดับเบสบางส่วนของ 16S rRNA มาศึกษาโดยเทคนิคทางอณูชีววิทยา พบว่ามีความคล้ายคลึงกับ *Pseudomonas aeruginosa* strain DS10-129 เปอร์เซ็นต์ความเหมือนเท่ากับ 100% เมื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพพบว่า *P. aeruginosa* OL2-8 สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ดีที่สุดเมื่ออาหาร pH เริ่มต้นเท่ากับ 8.0 ที่อุณหภูมิ 37°C เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง ในอาหาร Mckeen medium ที่ประกอบด้วยน้ำมันปาล์มและ peptone ที่ความเข้มข้น 1.0% (v/v) และ 0.1% (v/v) ตามลำดับ (ODA = 109.94 cm^2, ST = 27.87 mN/m และ EA = 56.66%) และ NaCl 0.1 กรัมต่อ trace element 100 มิลลิลิตร มีผลต่อประสิทธิภาพของอิมัลชั่นที่เกิดขึ้น

P. aeruginosa OL2-8 มีความสามารถในการย่อยสลาย tributyrin ให้วงใสกว้าง 1.047 เซนติเมตร จึงนำมาทดสอบความสามารถในการผลิตเอนไซม์ไลเปสในอาหาร lipase production

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

medium วางแผนการทดลองแบบ CCD โดยใช้โปรแกรม Statistica พบว่าปริมาณของคาร์บอน (Tween 80 0.1%) และไนโตรเจน ($(NH_4)_2SO_4$ 0.275%) ที่ปริมาณเหมาะสมจะได้ค่าเอนไซม์ไลเปสสูงสุด (lipase activity 1.32 U/ml และ specific activity 6.241 U/mg protein)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Thesis Title Optimization in the Production of Biosurfactant and Lipase by Bacteria Isolated from Oil-contaminated Soils

Author Miss Dutsadeepan Pongsuwan

Degree Master of Science (Biology)

Thesis Advisory Committee Prof. Dr. Saisamorm Lumyong Chairperson
Assoc. Prof. Pimporn Leelapornpisit Member

ABSTRACT

The objective of this study was to find out the optimal conditions of biosurfactant producing bacteria isolated from oil-contaminated soil, collected from four sites in Chiang Mai province. Oil displacement area (ODA), surface tension (ST) and emulsification activity (EA) tests were used to determine biosurfactant producing efficiency. Among 114 bacterial isolates tested, isolate OL2-8 exhibited the maximum biosurfactant producing activity. Morphological and biochemical characteristics revealed that isolate OL2-8 is in the genus *Pseudomonas*. A molecular technique study using the 16S rRNA gene sequence analysis showed that isolate OL2-8 is closely related to *Pseudomonas aeruginosa* with a similarity value of 100%. Optimum conditions for biosurfactant production were found when *P. aeruginosa* OL2-8 was cultivated on an initial pH of 8.0 and incubated at 37ºC for 72 hours using Mckeen medium containing 1.0% (v/v) palm oil as the sole carbon source and peptone 0.1% (v/v) as a nitrogen source. Evaluation of salt and mineral, additions showed that 0.1 g of NaCl in 100 ml of trace element demonstrates the highest biosurfactant production and efficiency of emulsification with ODA, ST and EA values of 109.94 cm^2, 27.87 mN/m, and 56.66%, respectively.

P. aeruginosa OL2-8 showed the widest clear zone of 1.047 cm on tributyrin agar and produced the highest amount of enzyme lipase when compared to all other tested isolates. An analysis of carbon and nitrogen sources used CCD methodology (Statistica program) showed

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

that Tween 80 at 0.1% as a carbon source and $(NH_4)_2SO_4$ 0.275% as a nitrogen source resulted in the highest lipase activity (1.32 U/ml) and specific activity (6.241 U/mg protein).

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved