

ชื่อวิทยานิพนธ์	การผลิตและการทำบริสุทธิ์สารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากเชื้อแบคทีเรีย <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> subsp. <i>anitratus</i> SM7 ที่แยกได้จากทะเล
ผู้เขียน	นางสาวกุลนรี เพชรรงค์
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
ปีการศึกษา	2550

บทคัดย่อ

เชื้อ *Acinetobacter calcoaceticus* subsp. *anitratus* SM7 ที่แยกได้จากน้ำทะเลที่ปนเปื้อนคราบน้ำมันจากทะเลสาบสงขลา สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพแล้วปลดปล่อยออกมานอกเซลล์เมื่อเลี้ยงในอาหาร minimal salt medium (พีเอช 7.0) ที่ประกอบด้วย *n*-heptadecane 0.3% เป็นแหล่งคาร์บอนและมีแอมโมเนียมไฮโดรเจนคาร์บอเนต 0.1% เป็นแหล่งไนโตรเจน โดยเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิห้อง (30 ± 2 องศาเซลเซียส) และเขย่าด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที พบว่าเชื้อสามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้สูงสุดที่เวลา 48 ชั่วโมง น้ำหมักปริมาตร 1 ลิตร เมื่อตกตะกอนสารลดแรงตึงผิวชีวภาพด้วยเอทานอล 95% จะได้ตะกอนสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 2.94 กรัม โดยมีค่าความเข้มข้นที่น้อยที่สุดที่ทำให้เกิดอิมัลชันเท่ากับ 0.04 กรัมต่อมิลลิลิตร การศึกษาสมบัติเบื้องต้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ พบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่สกัดได้มีความคงตัวที่พีเอช 6 ถึง 12 โดยมีค่า emulsification activity อยู่ในช่วง 63.26% ถึง 67.37% สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่สกัดได้มีความคงตัวที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ถึง 80 องศาเซลเซียส โดยมีค่า emulsification activity อยู่ในช่วง 65.50% ถึง 68.28% สารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีความคงตัวต่อโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 12% พบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพยังคงมีค่า emulsification activity สูงกว่า 60% นอกจากนี้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่สกัดได้ยังมีความคงตัวต่อแมกนีเซียมคลอไรด์และแคลเซียมคลอไรด์ ที่ความเข้มข้น 0.06% และ 0.1% ตามลำดับ สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่สกัดได้สามารถมีกิจกรรมได้ในน้ำทะเล โดยมีค่า emulsification activity เท่ากับ 62.52% สารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีความสามารถในการอิมัลซิไฟด์ทั้ง aliphatic hydrocarbon และ aromatic hydrocarbon จากการศึกษองค์ประกอบเบื้องต้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผ่านการทำบริสุทธิ์บางส่วนจาก *A. calcoaceticus* subsp. *anitratus* SM7 พบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีโพลีแซคคาไรด์และโปรตีนเป็นองค์ประกอบและมีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยเท่ากับ 1.97×10^6 จากการวัดด้วย Gel Permeation Chromatography

Thesis Title	Production and Purification of Biosurfactant from Marine Bacterium, <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> subsp. <i>anitratus</i> SM7
Author	Miss Kulnaree Phetrong
Major Program	Biotechnology
Academic Year	2007

ABSTRACT

Acinetobacter calcoaceticus subsp. *anitratus* SM7, isolated from oil-spilled seawater in Songkhla Lake, Thailand, was found to produce an extracellular biosurfactant. *A. calcoaceticus* subsp. *anitratus* SM7 produced biosurfactant when cultivated in minimal salt medium (pH 7.0 at room temperature (30 ± 2 °C) with agitation rate of 200 rpm) containing 0.3% *n*-heptadecane and 0.1% ammonium hydrogen carbonate as carbon source and nitrogen source, respectively and produced the highest emulsification activity at 48 h. Crude biosurfactant was recovered from the culture supernatant by ethanol precipitation to yield 2.94 g/l and had a critical emulsifier concentration of 0.04 g/ml. The crude biosurfactant was stable at pH range 6-12 with emulsification activity in the range of 63.26-67.37% and exhibited emulsification activity 65.50-68.28% when heated at temperature ranging from 30 °C to 80 °C. In the presence of NaCl up to 12%, the crude biosurfactant still exhibited emulsification activity more than 60% and was stable in MgCl₂ and CaCl₂ solution up to 0.06% and 0.1%, respectively. Emulsification activity of crude biosurfactant when dissolved in seawater was 62.52%. Biosurfactant crude extract was capable of emulsifying both pure aliphatic and aromatic hydrocarbons. Preliminary chemical characterization of partially purified biosurfactant indicated polysaccharide and protein composition. The molecular mass of biosurfactant produced by *A. calcoaceticus* subsp. *anitratus* SM7 was estimated to be 1.97×10^6 by Gel Permeation Chromatography.