



การคัดเลือกและการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตไลเปสจากแบคทีเรียชอบด่าง

Selection and Optimization for Lipase Production from Alkalophilic Bacteria

วิภูมิก้าวทอง

Wiphum Kaewthong

๗

เลขที่	QR90 ๗๖4 2539
เลขที่
.....	23 / พ.ค. / 39

Order Key	7762
BIB Key	95420

วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

Master of Science Thesis in Biotechnology

Prine of Songkla University

2539

ชื่อวิทยานิพนธ์ การคัดเลือกและการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตไลเปสจาก
แบคทีเรียชอบด่าง

ผู้เขียน นายวิภูมิ แก้วทอง

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ

ปีการศึกษา 2538

บทคัดย่อ

จากตัวอย่างดินและน้ำจำนวน 175 ตัวอย่าง ที่สุ่มจากโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม
โรงงานแปรรูปอาหารทะเลและโรงฆ่าสัตว์ สามารถแยกแบคทีเรียชอบด่างที่ผลิตไลเปสได้
ทั้งหมด 22 สายพันธุ์ พบว่า 5 สายพันธุ์คือ สายพันธุ์ TA 40, TA 42, TA 43, TA 53 และ
TA 60 มีประสิทธิภาพในการผลิตไลเปสสูง เมื่อศึกษาการผลิตไลเปสของแบคทีเรียทั้ง 5
สายพันธุ์ พบว่าทุกสายพันธุ์ให้การผลิตไลเปสสูงสุดที่ 48 ชั่วโมง โดยเฉพาะสายพันธุ์ TA 43
ให้การผลิตไลเปสสูงสุด 4.36 ยูนิตต่อมล. เมื่อศึกษาสมบัติบางประการด้านสัณฐานวิทยา
สรีรวิทยา และชีวเคมี พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ TA 43 คือ *Vibrio* sp.

ผลการศึกษาองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการเจริญและการผลิตไลเปสโดย
Vibrio sp. TA 43 เมื่อใช้แหล่งไนโตรเจนและคาร์บอนต่างๆ พบว่า ยีสต์สกัดที่ความเข้มข้น
1.0 % และแมนนิทอลที่ความเข้มข้น 1.5 % ให้การผลิตไลเปสสูงสุดคือ 6.80 ยูนิตต่อมล.
นอกจากนี้สามารถใช้ NH_4NO_3 ความเข้มข้น 0.5 % ร่วมกับยีสต์สกัดที่ความเข้มข้น 0.1 %
ทดแทนการใช้ยีสต์สกัดที่ความเข้มข้น 1.0 % เป็นแหล่งไนโตรเจนเพียงอย่างเดียว โดยให้การ
ผลิตไลเปสเท่ากับ 6.55 ยูนิตต่อมล.

ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตไลเปสโดย *Vibrio* sp. TA 43 ในอาหาร
เลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วย ยีสต์สกัด 0.1 % แมนนิทอล 1.5 % NH_4NO_3 0.5 % K_2HPO_4 0.1 %
 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.04 % และ Na_2CO_3 1.0 % พบว่าทั้งพีเอช อุณหภูมิ และการให้ออกาศมี
ผลต่อการเจริญและการผลิตไลเปสของเชื้อ โดยมีสภาวะการเลี้ยงที่เหมาะสมคือ พีเอช
เริ่มต้นเท่ากับ 9.5 ปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อ 50 มล. ในฟลาสก์ขนาด 250 มล. เขย่า 200
รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 35°ซ เชื้อผลิตไลเปสได้สูงสุดเท่ากับ 7.26 ยูนิตต่อมล. หลังการเลี้ยง
เชื้อเป็นเวลา 48 ชั่วโมง

จากการศึกษาคุณสมบัติบางประการของไลเปสจาก *Vibrio* sp. TA 43 พบว่าไลเปสที่ได้ มีพีเอชและอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานเท่ากับ 8.0 และ 55°ซ ตามลำดับ และมีความคงตัวสูงในช่วงพีเอช 7.0-10.0 เอนไซม์มีแอกทิวิตีเหลืออยู่มากกว่า 70 % เมื่อเก็บไว้ที่ 60°ซ เป็นเวลา 30 นาที และถูกทำลายเมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 80°ซ เป็นเวลา 30 นาที

Thesis Title Selection and Optimization for Lipase Production from Alkalophilic Bacteria
Author Mr. Wiphum Kaewthong
Major Program Biotechnology
Academic Year 1995

Abstract

From one hundred and seventy five soil and water samples collected from a palm oil mill, two seafood processing factories and a slaughter house, 22 isolates were found to produce lipase on alkaline medium. The isolates TA 40, TA 42, TA 43, TA 53 and TA 60 showed a high lipase activity. Studies on lipase production from the 5 strains revealed that they all produced the highest lipase activity after 48 hr cultivation. The strain TA 43 produced the highest lipase activity of 4.36 U/ml. The morphological, physiological and biochemical characteristics of this bacteria were examined and it was identified as *Vibrio* sp.

Nutritional factors affecting on growth and lipase production by *Vibrio* sp. TA 43 were studied. When 1.0 % yeast extract and 1.5 % mannitol were used as nitrogen and carbon sources, respectively, the strain TA 43 produced maximum lipase activity of 6.80 U/ml. In addition, the strain TA 43 could produce lipase activity of 6.55 U/ml when 0.1 % yeast extract and 0.5 % NH_4NO_3 were used instead of 1.0 % yeast extract.

Optimum culture condition for lipase production from *Vibrio* sp. TA 43 were investigated using the medium containing 0.1% yeast extract, 1.5% mannitol, 0.5% NH_4NO_3 , 0.1% K_2HPO_4 , 0.04% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ and 1.0% Na_2CO_3 . It was found that pH, temperature and aeration affected both growth and lipase production. The optimum culture conditions included the initial pH of 9.5, medium volume of 50 ml in 250 ml flask, shaker speed of 200 rpm and incubation temperature at 35°C. Under these conditions the strain TA 43 produced the highest lipase activity of 7.26 U/ml after 48 hr cultivation.

Crude lipase produced from *Vibrio* sp. TA 43 had the optimal activity at pH 8.0 and temperature at 55°C. The enzyme was stable at pH range of 7.0-10.0. More than 70% of the enzyme activity remained after incubated at 60°C for 30 min and was destroyed after incubated at 80°C for 30 min.