

ชื่อเรื่อง การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในถังหมักจากเชื้อ Enterobacter cloacae LK5

ผู้วิจัย ปริญญา ไกรวุฒินันท์

ประธานที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศิริพรรณ สารินทร์

กรรมการที่ปรึกษา ดร.ศิริวรรณ วิชัย

ประเภทสารนิพนธ์ วิทยานิพนธ์ วท.ม. สาขาวิชาจุลชีววิทยา, มหาวิทยาลัยนเรศวร, 2550

คำสำคัญ สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, สารก่ออิมัลชันชีวภาพ, ถังหมัก, Enterobacter cloacae LK5

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากเชื้อ Enterobacter cloacae LK5 ในถังหมัก และทดสอบประสิทธิภาพของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในการประยุกต์ใช้ในด้านอุตสาหกรรมปิโตรเลียม ด้านสิ่งแวดล้อม และด้านอุตสาหกรรม โดยทำการเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหาร Mineral salt medium ที่มีชนิดและปริมาณของแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจน อัตราการหมุนของไบปัด และอัตราการให้อากาศที่ระดับต่างๆ กัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน แล้วนำมาตรวจสอบการผลิตและประสิทธิภาพของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ได้ โดยการทดสอบ Emulsification capacity test (EC) และ Emulsification activity test (EA) จากการทดลองพบว่าปริมาณน้ำตาลทราย 2 เปอร์เซ็นต์ และ NH_4NO_3 0.25 เปอร์เซ็นต์ เป็นชนิดและปริมาณของแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่เหมาะสมในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีประสิทธิภาพดีและมีต้นทุนการผลิตต่ำ โดยมีค่า EC และ EA เท่ากับ 15.95 และ 45.12 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบอัตราการหมุนของไบปัดและอัตราการให้อากาศในถังหมัก พบว่าอัตราการหมุนของไบปัด 250 รอบต่อนาที และอัตราการให้อากาศ 1.5 vvm เป็นอัตราที่เหมาะสมในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีประสิทธิภาพสูงสุด ซึ่งมีค่า EC และ EA เท่ากับ 33.78 และ 60.71 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยเชื้อ E. cloacae LK5 สามารถผลิตสารได้ 2 ชนิดคือ สารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพ โดยสามารถลดแรงตึงผิวของน้ำกลั่นลงจนถึง 35.1 และ 31.4 mN/m ตามลำดับ และมีจุด critical micelle concentration (CMC) เท่ากับ 65 และ 200 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพมีผลผลิตเท่ากับ 0.39 และ 0.55 กรัมของสารสกัดต่อกรัมของน้ำตาลทราย มีอัตราการผลิตเท่ากับ 0.066 และ 0.092 กรัม

ต่อชั่วโมง และได้ปริมาณสารสกัดเท่ากับ 7.88 และ 11.06 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งเมื่อนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์บางส่วน มาทำการวิเคราะห์องค์ประกอบด้วยวิธี Thin layer chromatography (TLC) และ Fourier-transform infrared (FT-IR) พบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีไขมันและกลุ่มอะมิโนเป็นองค์ประกอบ ซึ่งจากการวิเคราะห์เบื้องต้นสามารถจัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพอยู่ในกลุ่มของลิโปเปปไทด์ (lipopeptides) สำหรับสารก่ออิมัลชันชีวภาพยังไม่สามารถระบุกลุ่มของสารได้เนื่องจากสารก่ออิมัลชันชีวภาพมีการปนเปื้อนจากสารเมือก (exopolysaccharide) ของแบคทีเรีย เมื่อนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพมาทดสอบประสิทธิภาพในการชะน้ำมันออกจากเม็ดทราย (oil removal) ด้วยวิธี Sand pack test พบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ เข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ (v/v) สามารถชะน้ำมันออกมาได้ 71.7 เปอร์เซ็นต์ และยังสามารถทำให้เกิดการคืนกลับของน้ำมันเท่ากับ 36 เปอร์เซ็นต์ ส่วนสารก่ออิมัลชันชีวภาพ เข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ (w/v) เมื่อทดสอบความคงตัวของอิมัลชันพบว่ามีความคงตัวอยู่ที่ 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อตั้งทิ้งไว้เป็นเวลามากกว่า 30 วัน และเมื่อนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ มาทดสอบความสามารถในการเกิดฟองพบว่า มีอัตราการเกิดฟองอยู่ที่ 27.8 มิลลิลิตรต่อนาที จากการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพที่ผลิตจากเชื้อ *E. cloacae* LK5 สามารถพัฒนาสู่กระบวนการผลิตในปริมาณที่มากขึ้นและสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในด้านบำบัดสภาพแวดล้อมที่ปนเปื้อนน้ำมัน ด้านอุตสาหกรรมปิโตรเลียม และในด้านอุตสาหกรรมอื่นๆ ได้

Title PRODUCTION OF BIOSURFACTANT IN FERMENTER BY
ENTEROBACTER CLOACAE LK5

Author Parinya Kraivuttinun

Advisor Assistant Professor Siripun Sarin, Ph.D.

Co - Advisor Siriwan Wichai, Ph.D.

Type of Degree Thesis M.S. in Microbiology, Naresuan University, 2007

Keywords Biosurfactant, Bioemulsifiere, Fermenter, Enterobacter cloacae LK5

ABSTRACT

The aims of this research were to investigate the optimal conditions for biosurfactant production from Enterobacter cloacae LK5 in fermenter, and to determine the efficiency of biosurfactant for application of oil remediation, enhancing oil recovery and stabilizing emulsion. The bacterial strain was cultured in the mineral salt medium which had various parameters including the medium composition and the cultivation conditions of fermenter at 30 °C for 5 days. The Emulsification capacity test (EC) and Emulsification activity test (EA) were exploited in order to assess the efficiency of biosurfactant production after cultured period. The results showed that the EC and EA values of the efficient produced biosurfactant obtained from the medium consisted of 2 % sugar (as carbon source) and 0.25 % NH₄NO₃ (as nitrogen source) were 15.95 % and 45.12 %, respectively, and from the fermenter cultivation conditions using agitation and aeration rate at 250 rpm and 1.5 vvm were 33.78 % and 60.71 %, respectively. The strain E. cloacae LK5 was able to produce both biosurfactant and bioemulsifier, reducing the surface tension of water to 35.1 and 31 mN/m respectively, giving a CMC value of about 65 g/L and 200 g/L respectively, and the volumetric productivity of 0.066 and 0.092 g/h, respectively. The concentrations of biosurfactant and bioemulsifier were 7.88 and 11.06 g/l respectively, and the yields were 0.39 g of biosurfactant/g of sugar and 0.55 g of bioemulsifier/g of sugar. The compositions of partial purified extracted biosurfactant and bioemulsifier were analyzed using Thin layer chromatography (TLC) and Fourier-transform infrared spectroscopy (FT-IR). The biosurfactant showed functional

groups of lipid and amino, preliminary chemical characterization revealed that the biosurfactant had a lipopeptide composition. However the bioemulsifier still could not group into any types, according to bacterial exopolysaccharide contamination. The crude extracted biosurfactant and bioemulsifier from *E. cloacae* LK5 were further investigated for oil removal potential by sand pack test, oil recovery using de-emulsification activity and emulsion property using emulsion stability. Interestingly, the results showed that the oil removal potential of 5 % (v/v) biosurfactant were 71.7 % and oil recovery were 36 %, while the emulsion stability of 5 % (w/v) bioemulsifier were 95 % intervals up to 30 days. In addition, the foamability of 10 % biosurfactant were 27.8 ml/min. In conclusion, the results indicated that the production of biosurfactant and bioemulsifier by *E. cloacae* LK5 were able to enhance and their properties apply for remediation of oil contaminated environment, enhancing oil recovery and other industrial uses.

