การผลิต Biosurfactant จากเชื้อ Actinomycetes ที่แยกได้จากดินที่มีการปนเปื้อนสารประกอบไฮโดรคาร์บอน

BIOSURFACTANT PRODUCTION BY ISOLATED ACTINOMYCETES FROM SOIL CONTAMINATED HYDROCARBON

ฐปน ชื่นบาล ศรีกาญจนา คล้ายเรือง และ ภาณรินทร์ ปรีชาวัฒนากร

Tapana Cheunbarn Srikanjana Kluyruang and Panarin Prechawattanakorn

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

บทคัดย่อ

การคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยซีสจากตัวอย่างดิน 14 แหล่งตัวอย่าง ในเขตจังหวัดเชียงใหม่ สามารถแยกเชื้อแอคติโนมัยซีสได้จำนวน 163 ไอโซเลต เมื่อนำเชื้อทั้งหมดมาทดสอบการผลิต biosurfactant เบื้องต้น โดยดูจากคุณสมบัติในการย่อยสลายเม็ดเลือดแดง พบว่ามี 20 ไอโซเลต ที่มีคุณสมบัตินี้ จึงนำเชื้อดังกล่าวไปเลี้ยงในอาหาร mineral salt medium ซึ่งมีแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกัน 3 ชนิด คือ กลูโคส กลีเซอรอล และ hexadecane หลังจากนั้นนำน้ำเลี้ยงเชื้อมาทดสอบการทำให้เกิด emulsion โดยวิธี xylene emulsification assay ซึ่งเป็นอีกคุณสมบัติหนึ่งที่สามารถใช้ในการคัดเลือกเชื้อที่ผลิต biosurfactant จากขั้นตอนนี้มีเชื้อแอคติโนมัยซีสที่มีประสิทธิภาพสูงในการทำให้เกิด emulsion คือ BS_1A_{67} BS_1A_{69} และ BS_4A_3 เมื่อใช้ กลูโคส และ hexadecane เป็นแหล่งคาร์บอน ส่วน BS_3A_2 จะเกิดได้ดีในอาหารที่มี กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน และ $BS_{13}A_5$ จะเกิดได้ดีในอาหารที่มี กลีเซอรอล เป็นแหล่งคาร์บอน นอกจากนี้เมื่อนำน้ำเลี้ยงเชื้อไปวัดค่าแรงตึงผิว พบว่า เชื้อทั้ง 5 ไอโซเลตสามารถลดแรงตึงผิวของอาหารลงได้ แต่จะให้ผลดีที่สุดกับการใช้ hexadecane โดย BS_1A_{67} ลดแรงตึงผิวได้ดีที่สุด จากการจำแนกชนิดของเชื้อแอคติโนมัยซีสไอโซเลต BS_1A_{67} ดังกล่าว พบว่าอยู่ในจีนัส *Streptomyces* เมื่อนำเชื้อทั้งหมดมาศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญกับการผลิต biosurfactant โดยใช้ hexadecane สามารถสรุปได้ว่าเชื้อทั้ง 5 ไอโซเลต จะมีการปลดปล่อย biosurfactant ได้ดี ในการเจริญระยะ stationary phase เมื่อนำน้ำเลี้ยงเชื้อมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีบางอย่างคือ โปรตีน น้ำตาลทั้งหมด และฟอสฟอรัส พบว่า BS_3A_2 และ $BS_{13}A_5$ ผลิต biosurfactant ที่ประกอบด้วย โปรตีน และน้ำตาล ในขณะที่ BS_1A_{67} BS_1A_{69} และ BS_4A_3 ประกอบด้วย โปรตีน น้ำตาล และฟอสฟอรัส

Abstract

This study was conducted to isolate actinomycetes from fourteen soil samples in Chiang Mai and Lampun provinces. The results showed that one hundred and sixty three actinomycetes were obtained from soil samples. Blood haemolysis was used as an initial selection criterion for the primary isolation of surfactant-producing actinomycetes. Which twenty actinomycetes isolates show this characteristic. After that twenty haemolytic isolates were cultured in mineral salt medium containing three different carbon sources (glucose, glycerol, and hexadecane) and their screened for biosurfactant production by xylene emulsification assay. The results demonstrate that three isolates (BS_1A_{67}, BS_1A_{69}, and BS_4A_3) had a high emulsification activity in glucose, while BS_3A_2 had a high emulsification in glucose and $BS_{13}A_5$ had a high emulsification in glycerol. All five isolates can reduce the surface tension of mineral salt medium but they gave the best result in medium containing hexadecane. All three isolates had a high emulsification activity and were also good at reducing surface tension. BS_1A_{67} gave the highest result in reducing surface tension and identified as *Strepomyces*. When studying the relationship between growth and biomass production, using hexadecane and oil as carbon sources, all five isolates released biosurfactant well during stationaty phase. BS_3A_2 and $BS_{13}A_5$ produced biosurfactant composing of protein and sugar while BS_1A_{67}, BS_1A_{69} and BS_4A_3 produced biosurfactant composing of protein, sugar and phosphorus, when analyzed the chemical components of culture broth.