237373

บทคัดย่อ

ยีสต์ *Pichia anomala* PY1 ที่ใช้ในการทดลองนี้ถูกแยกมาจากข้าวหมากที่อำเภอ พนัสนิคม จังหวัด ชลบุรี จากการศึกาการเจริญ และการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในอาหารเหลวกำหนดสูตรที่มีน้ำมันถั่วเหลือง 4% เป็นแหล่งคาร์บอน มี $NaNO_3$ 0.4 % เป็นแหล่งไนโตรเจน ควบคุมค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นเท่ากับ 5.5 บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่าอัตราเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 วัน โดยส่วนน้ำเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีเซลล์ มีค่าการกระจายน้ำมันสูงสุด 5.07 ตารางเซนติเมตร มีค่าแรงตึงผิวต่ำสุดในวันที่ 7 เท่ากับ 38 มิลลินิวตันต่อเมตร และเมื่อทำการก่อการกลายพันธุ์เพื่อเพิ่มการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยสาร Ethylmethane sulfonate คัดเลือกได้ยีสต์สายพันธุ์กลาย PY 12, PY 44, PY 189 พบว่ายีสต์สายพันธุ์กลายสามารถให้พื้นที่กระจายน้ำมันได้ดีกว่าประมาณ 1.14 1.69 และ 2.15 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์ PY 1 ตามลำดับ และให้ค่า ΔST อยู่ในช่วง 24-26 มิลลินิวตันต่อเมตร และทำการกลายพันธุ์ *Pichia anomala* PY1 ด้วยรังสีอัลตราไวโอเลตร่วมกับสาร Ethylmethane sulfonate คัดเลือกได้ยีสต์สายพันธุ์กลาย MUE24 ยีสต์สายพันธุ์กลายสามารถให้พื้นที่กระจายน้ำมันได้ดี 3-5 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์ PY1 ให้ค่า ΔST ใกล้เคียงกับสายพันธุ์ PY1 คือเท่ากับ 21 มิลลินิวตันต่อเมตร จากการวิเคราะห์สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้จากยีสต์สายพันธุ์กลายทั้ง 4 สายพันธุ์ ด้วยวิธีโครมาโตกราฟีแบบ Analytical Thin-Layer Chromatography พบว่า มีจำนวนลำดับส่วนไม่เท่ากัน และลำดับส่วนที่มีการกระจายน้ำมันสูงสุดของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้จากยีสต์สายพันธุ์กลายแต่ละสายพันธุ์จะมีค่าคงที่ของอัตราส่วนการเคลื่อนที่ (R_f) ที่ต่างจากของยีสต์ *Pichia anomala* PY1 และการศึกษาความสามารถในการก่ออิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้โดยการวัดค่าความเสถียรในการก่ออิมัลชัน (Emulsification stability) และค่าดัชนีการเกิดอิมัลชัน (Emulsion Index) ต่อน้ำมัน 2 ชนิดได้แก่ น้ำมันคาโนลา และน้ำมันถั่วเหลืองที่ 24 ชั่วโมง ซึ่งให้ค่าค่าดัชนีการเกิดอิมัลชันมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ ในน้ำมันคาโนลา คือ ยีสต์สายพันธุ์กลาย PY 12, PY 44, PY 189 และ MUE 24 และให้ค่าค่าดัชนีการเกิดอิมัลชันมากกว่า 80-90 เปอร์เซ็นต์ ในน้ำมันถั่วเหลือง คือยีสต์สายพันธุ์กลาย PY 44 และ MUE 24

Pichia anomala PY1 employed in the present study was isolated from_Khao Mak_obtained from Amphor Panasnikhom, Cholburi Province. Its growth and biosurfactant production was carried out in defined medium consists of 4% soil bean oil as carbon source, 0.4% $NaNO_2$ as nitrogen source at initial pH of 5.5, 30 degree Celsius and agitation rate of 200 rpm. After 7 days, its supernatant fluid showed maximum oil dispersion activity of 5.7 cm^2 and lowest surface tension on the same day at 38 millinewton/meter. Mutagenesis of this strain by ethylmethane sulfonate (EMS) yields a number of mutants, among these strain PY12, PY44 and PY189 revealed better oil dispersion activities of 1.14, 1.69 and 2.15 times more than their respective parental strain PY1 while the Δ ST were in the range of 24-26 milli-newton/meter. The wild type strain was further subjected to UV-induced and EMS-mutagenesis. Among the mutants isolated, strain MUE24 revealed a 3-5 folds increased in oil dispersion activity compared to parental strain PY1 with Δ ST close to PY1 at 21 milli-newton/meter. Analysis of the biosurfactants produced via analytical TLC demonstrated that the 4 strains possess different patterns of bands, in addition the active band for each biosurfactant with oil dispersion activity were of different Rf and were differed from that of parental; *Pichia anomala* PY1. Emulsification stability and emulsifying index at 24 hours toward canola oil were higher than 90% in all of the 4 strains; PY12, PY44, PY189 and MUE24 and in between 80-90% in soy bean oil by strains PY44 and MUE24.