

ธัญญา เขียงอุทัย : การผลิตและลักษณะสมบัติของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากยีสต์ที่คัดเลือกได้ (PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF BIOSURFACTANT FROM THE SELECTED YEAST) อ. ที่ปรึกษา : รศ. จิราภรณ์ ธนียวัน, อ. ที่ปรึกษาร่วม, ผศ. ดร. สุเทพ ธนียวัน 111 หน้า. ISBN 974-14-2533-3.

การคัดเลือกยีสต์ที่ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากแหล่งต่างๆ สามารถแยกยีสต์สายพันธุ์ PY1 จากอาหารหมักดองพื้นบ้านของประเทศไทย จากอำเภอบ้านฉาง จังหวัดชลบุรี มีสามารถสูงสุดในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ เมื่อจำแนกสายพันธุ์พบว่าเป็น *Pichia anomala* ยีสต์ *Pichia anomala* สายพันธุ์ PY1 สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุดเมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวปรับปรุงสูตรที่ประกอบด้วย 0.02%  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0.02%  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0.1% สารสกัดยีสต์ 0.4%  $\text{NaNO}_3$  และ 4% น้ำมันถั่วเหลือง ควบคุมค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 5.5 ภาวะการเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 30 ° C ในระดับขวด เขย่าอัตราเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 วัน สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้มีค่าแรงตึงผิวต่ำสุด 28 mN/m ค่าจุดวิกฤตของการเกิดไมเซลล์ (CMC) เท่ากับ 180 mg/l และค่าการกระจายน้ำมันเท่ากับ 95.07  $\text{cm}^2$  เมื่อวิเคราะห์สารที่ทำบริสุทธิ์บางส่วนที่ได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อโดยใช้ TLC พบว่ามีส่วนประกอบ 6 ส่วน ที่มีค่า  $R_f$  เท่ากับ 0.94 0.86 0.8 0.73 0.62 และ 0.52 (F1-F6) ตามลำดับ ซึ่ง F2 ให้ค่าการกระจายน้ำมันสูงสุดและถูกนำไปทำให้บริสุทธิ์อีกครั้งด้วย preparative TLC และ HPLC การทำให้บริสุทธิ์ด้วย HPLC ใช้คอลัมน์ Cosmosil 5C18- AR ะด้วยลิเนียร์เกรเดียนท์ (10-100% อะซิโตรไนโตรท์) ตรวจผลด้วย UV detector ลำดับส่วนของตัวอย่างสารตำแหน่ง F2 จาก HPLC ที่มีค่าการกระจายน้ำมันมากจะถูกวิเคราะห์ต่อไปด้วย LC-MS แสดงค่ามวลโมเลกุลของสาร ส่วนใหญ่มีค่าเท่ากับ 658, 674 และ 691 ซึ่งเทียบเคียงได้กับมวลของไซโฟโรลิพิดที่มีกรดไขมันเป็นองค์ประกอบของ  $[\text{C}20]_{\text{Lactone}} + \text{Na}$   $\text{C}20 + \text{Na}$  และ  $\text{C}20 + \text{Na}$  (oxidized form) ตามลำดับ

# # 4672274123 : MAJOR INDUSTRIAL MICROBIOLOGY

KEY WORD: BIOSURFACTANT/ *Pichia anomala* / CMC

TANASTA CHIANGUTHAI: PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF BIOSURFACTANT FROM THE SELECTED YEAST. THESIS ADVISOR: ASSOC. PROF. JIRAPORN THANİYAVARN, THESIS COADVISOR: ASST. PROF. SUTEP THANİYAVARN, Ph. D. 111 p. ISBN 974-14-2533-3.

Biosurfactant producing yeasts were isolated from various sources. Among these, a strain designated PY1, isolated from Thai fermented food at Panatnikhom, Chonburi province, which was later identified as *Pichia anomala* gave the best biosurfactant activity. The strain gave high biosurfactant activity when cultivated in production medium containing 0.02%  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0.02%  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0.1% Yeast extract, 0.4%  $\text{NaNO}_3$  and 4% Soybean oil at pH 5.5, 30 °C with 200 rpm- shaking for 7 days. The biosurfactant-yielded could lower surface tension down to 28 mN/m with CMC value of 180 mg/l and 95.07  $\text{cm}^2$  in term of oil displacement. TLC analysis of partially purified products revealed 6 components at  $R_f$  value of 0.94, 0.86, 0.8, 0.73, 0.62 and 0.52 (F1- F6), respectively. F2 fraction which showed highest activity for oil displacement was further purified by preparative TLC and HPLC. Purification by HPLC was carried out via gradient system (10- 100% acetonitrile) on Cosmosil 5C18- AR column and monitored by UV detector. The active peak eluted with oil displacement activities were submitted to LC- MS analysis. The mostly of molecular weights are 658, 674 and 691 revealed nearly of sophorolipid compound containing fatty acid of  $[\text{C}20]_{\text{Lactone}} + \text{Na}$ ,  $\text{C}20 + \text{Na}$  and  $\text{C}20 + \text{Na}$  (oxidized form) respectively.