

พันทิพา โพธิ์วัน : การผลิตเซลลูโลสโดย *Acetobacter xylinum* ที่อุณหภูมิสูง

(PRODUCTION OF CELLULOSE BY *Acetobacter xylinum* AT HIGH TEMPERATURE)

อาจารย์ที่ปรึกษา : ผศ.ดร. สุเมธ ตันตระเจียร, 107 หน้า. ISBN 974-17-6649-1

งานวิจัยนี้คัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตเซลลูโลสได้จากผลไม้ต่างๆ 108 ไอโซเลต และพบว่าเชื้อ G9 G11 G16 R9 และ R9/2 สามารถผลิตเซลลูโลสได้ในอุณหภูมิสูง เมื่อทำการทดสอบทางชีวเคมีและทดสอบ 16s rDNA sequence เทียบกับเชื้อ Type strain พบว่าทั้ง 5 ไอโซเลตเป็น *Acetobacter xylinum* ที่อุณหภูมิ 37°C และ 40°C เชื้อ G9 เป็นสายพันธุ์ที่สามารถเจริญและสร้างแผ่นวุ้นเซลลูโลสได้ดี และที่ 42 °C สามารถเจริญและสร้างแผ่นวุ้นเซลลูโลสได้ดีที่สุด จึงเลือกเชื้อนี้มาศึกษาผลของปริมาณสารอินทรีย์ต่อการผลิตแผ่นวุ้นเซลลูโลส โดยเติมน้ำตาลซูโครสในอาหารน้ำมะพร้าวที่มีปริมาณน้ำตาลอยู่ 3.07%(w/v) 0 1 3 และ 5%(w/v) แลคเตท 0 0.1 0.15 และ 0.2%(v/v) และเมไธโอนีน 0 0.0025 0.0050 และ 0.0075%(w/v) พบว่าเมื่อเติมน้ำตาลซูโครส 5%(w/v) เชื้อ G9 สร้าง แผ่นวุ้นหนาที่สุด เมื่อบ่มที่ 37°C 40°C และ 42 °C คือ 14.91 7.12 และ 5.79 มิลลิเมตร ผลผลิตเซลลูโลส 3.54 2.477 และ 1.05 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ การเติมแลคเตทปริมาณ 0.15 %(v/v) เชื้อสร้างแผ่นวุ้นที่ 37°C หนาสุด 15.03 มิลลิเมตร ผลผลิตเซลลูโลส 3.68 กรัมต่อลิตร และถ้าเติมแลคเตท 0.20 %(v/v) เชื้อสร้างแผ่นวุ้นที่ 40°C และ 42°C หนา 7.55 และ 4.12 มิลลิเมตร ผลผลิตเซลลูโลส 3.49 และ 2.25 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และการเติมเมไธโอนีน 0.0075%(w/v) เชื้อสร้างแผ่นวุ้นหนา 14.78 มิลลิเมตรที่ 37°C ผลผลิตเซลลูโลส 3.75 กรัมต่อลิตร การเติมเมไธโอนีน 0.0025%(w/v) เชื้อสร้างแผ่นวุ้นที่ 40 °C และ 42°C หนา 4.16 และ 3.85 มิลลิเมตร ผลิตเซลลูโลสได้ 2.05 และ 1.25 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อทำการทดลองใส่สารอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิดร่วมกันในอาหารเหลวน้ำมะพร้าว พบว่า อาหารเหลวน้ำมะพร้าวที่เติมน้ำตาล 5%(w/v) แลคเตท 0.2%(v/v) และ เมไธโอนีน 0.005 %(w/v) เชื้อ G9 สามารถเจริญและให้ผลผลิตเซลลูโลสสูงสุด ที่อุณหภูมิ 37 °C 40 °C และ 42 °C ให้วุ้นหนา 15.55 8.56 และ 4.57 มิลลิเมตร ปริมาณเซลลูโลส 4.15 3.51 และ 2.54 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อทดลองนำเชื้อ G9 มาเลี้ยงในอาหารน้ำชา พบว่า ให้ผลผลิตสูงกว่าเลี้ยงในอาหารน้ำมะพร้าว และเมื่อแยกสารตามลำดับส่วนด้วยเทคนิค Gel filtration chromatography ได้ fraction ทั้งหมด 95 fraction และพบว่าที่มีผลต่อการผลิตเซลลูโลสของเชื้อคือ fraction ที่ 40 42 45 46 53 54 55 และ 56 ในขณะที่ fraction ที่ให้ผลดีที่สุดสำหรับการเจริญและผลิตเซลลูโลสคือ fraction ที่ 53 ซึ่งในลำดับนี้มีองค์ประกอบในรูปของโปรตีน น้ำตาลทั้งหมด และสารประกอบฟีนอลิก ในรูปของ gallic acid อยู่ในปริมาณ 0.019 0.134 และ 0.308 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

168623

4472348823: MAJOR BIOTECHNOLOGY

KEY WORD : *Acetobacter xylinum* / HIGH TEMPERATURE/ BACTERIAL CELLULOSE

PANTIPA PHOWAN : PRODUCTION OF CELLULOSE BY *Acetobacter xylinum* AT HIGH TEMPERATURE. THESIS ADVISOR : ASST. SUMATE TANTRATIAN, Ph.D., 107 pp.

ISBN 974-17-6649-1

The isolation of bacterial that have ability to produce cellulose gel was done. Out of 108 isolates, the isolates of G9, G11, G16, R9 and R9/2 were found to produce cellulose gel under high temperature. These 5 isolates were subjected to study the biochemical characteristics and analysed for 16s rDNA sequences. They were identified to be *Acetobacter xylinum*. The isolate G9 was found to be able to produce high amount of cellulose under 37-42 °C. It was chosen to study for the effect of various chemicals on the production of cellulose by the addition of chemicals to coconut medium, which contained total sugar 3.07% (w/v) , at 0, 2, 5 and 8% (w/v) of sucrose ; lactate at 0, 0.1, 0.15 and 0.20 % (v/v) and methionine at 0, 0.0025, 0.005 and 0.0075% (w/v). It was found that the addition of sucrose at 5% (w/v) produced the thickness pellicle of 14.91 7.12 and 5.79 millimeters , cellulose production 3.54 2.47 and 1.05 gram/litres at 37 40 and 42 °C , respectively. The addition of lactate at 0.15% (v/v) to the medium showed the thickest pellicle at 15.03 millimeters and cellulose production 3.68 gram/litres at 37 °C and addition of lactate at 0.20% (v/v) showed the thickness pellicle at 7.55 and 4.12 millimeters and cellulose production 3.49 and 2.25 gram/litres at 40 and 42 °C, respectively. The addition of methionine at 0.0075 % (w/v) in the medium produced the thickest pellicle of 14.78 millimeters and cellulose production 3.75 gram/litres at 37 °C and the concentration of 0.0025 % (w/v) produced the thickness pellicle of 4.16 and 3.85 millimeters and cellulose production 2.055 and 1.25 gram/litres at 40 and 42 °C respectively. The combination of these three effects were also studied. The isolate G9 was cultured in the coconut medium with the addition of 5% (w/v) sucrose, 0.20 % (v/v) lactate and 0.0075% (w/v) methionine under 42 °C. The isolate produced cellulose pellicle with the thickness of 15.55 8.56 and 4.57 millimeters and cellulose production 4.15 3.51 and 2.54 gram/litres at 37, 40 and 42 °C, respectively. When cultured G9 on the medium contain tea leave extraction under high temperature. It was found to be able to produce higher amount of cellulose than cultured in coconut medium, the extraction of tea leaves was fractionated by gel filtration chromatography. There were 95 fractions collected. It was found that the fraction number 40, 42, 45, 46, 53, 54, 55 and 56 induced the production of cellulose gel in the basal medium, while the fraction 53 showed the highest production. The composition of this fraction was found to be compound of 0.019, 0.134 and 0.308 mg/l of protein, total sugar and phenolic as gallic acid, respectively.