

ผลการสุ่มตัวอย่างดินและน้ำที่มีน้ำมันปนเปื้อนจำนวน 98 ตัวอย่างจากบริเวณที่มี อุณหภูมิสูงของโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม 5 โรงงาน พบแบคทีเรีย 29 สายพันธุ์ที่สามารถ สร้างวงใสบนอาหารที่มีน้ำมันปาล์มเป็นแหล่งคาร์บอน เมื่อศึกษาสมบัติบางประการด้าน สันฐานวิทยา สรีรวิทยาและชีวเคมี ของแบคทีเรียที่สร้างวงใสได้กว้างที่สุด 3 สายพันธุ์คือ UN16a, PS15 และ IN5 จัดอยู่ในสกุล *Bacillus* โดยแบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus* sp. PS15 ให้ กิจกรรมของไลเปสสูงสุดคือ 0.15 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ที่ 36 ชั่วโมง

ผลการศึกษาองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการเจริญและการผลิตไลเปสโดย *Bacillus* sp. PS15 ในอาหารซึ่งมี K_2HPO_4 0.18 เปอร์เซ็นต์ KH_2PO_4 0.10 เปอร์เซ็นต์ $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.03 เปอร์เซ็นต์ และกำมะถานบิค 0.10 เปอร์เซ็นต์ เมื่อใช้แหล่งคาร์บอนและไนโตรเจน ต่างๆ พบว่า ไชมันวัวความเข้มข้น 1.50 เปอร์เซ็นต์ NH_4NO_3 ความเข้มข้น 0.20 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับยีสต์สกัดความเข้มข้น 0.06 เปอร์เซ็นต์ ให้การผลิตไลเปสสูงสุดคือ 0.38 ยูนิตต่อ มิลลิลิตร ที่ 48 ชั่วโมง ในสภาวะการเลี้ยงคือ พีเอชเริ่มต้น 7.0 ปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อ 50 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร เขย่าด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตไลเปสโดย *Bacillus* sp. PS15 ในถังหมัก ขนาด 3 ลิตร มีอาหารปริมาตร 1.5 ลิตร โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิต ไลเปสจากผลการทดลองข้างต้น พบว่าสภาวะการเลี้ยงที่เหมาะสมคือ พีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 7.0 อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ไม่มีการควบคุมพีเอชของอาหารในระหว่างการเลี้ยง ให้อากาศ 2.0 ปริมาณอากาศต่อปริมาณอาหารต่อนาที อัตราการกวน 200 รอบต่อนาที เชื้อ ผลิตไลเปสได้สูงสุดเท่ากับ 0.22 ยูนิตต่อมิลลิลิตร หลังการเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 36 ชั่วโมง

การศึกษาคูณสมบัติของไลเปสในน้ำมันจาก *Bacillus* sp. PS15 พบว่าพีเอชและ อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานเท่ากับ 9.5 และ 55 องศาเซลเซียส ตามลำดับ และมีความคงตัวสูงในพีเอชช่วง 9.0-9.5 เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เอนไซม์มีกิจกรรมคงเหลือมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ และกิจกรรมลดลงเหลือ 31 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

Abstract

TE138136

From 98 oil-contaminated samples collected from high temperature sections of 5 palm oil mills, 29 isolates formed colonies with clear zone around them on agar plate medium consisted of palm oil as a sole carbon source. The morphological, physiological and biochemical characteristics of the isolates UN16a, PS15 and IN5 that produced large clear zone were examined and identified as genus *Bacillus*. Studies on lipase production in liquid medium revealed that the strain PS15 exhibited the highest lipase activity of 0.15 U/ml at 36 h.

Optimization of lipase production by *Bacillus* sp. PS15 was studied in the medium containing 0.18% K_2HPO_4 , 0.10% KH_2PO_4 , 0.03% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ and 0.10% gum arabic by varying carbon and nitrogen sources. The *Bacillus* sp. PS15 produced maximum lipase activity of 0.38 U/ml at 48 h in 50 ml medium in 250 ml-flask contained 1.50% beef tallow, 0.20% NH_4NO_3 and 0.06% yeast extract., pH 7.0 on a rotary shaker incubator at 200 rpm and 55°C.

When *Bacillus* sp. PS15 was cultivated in 3 L fermentor with 1.5 L working volume in the optimized medium. The optimum culture conditions included the initial pH of 7.0, incubation temperature at 55°C, aeration 2.0 vvm and agitation speed of 200 rpm. The strain PS 15 produced the highest activity of 0.22 U/ml after 36 h of cultivation.

Crude lipase from culture broth of *Bacillus* sp. PS15 had the maximum activity at pH 9.5 and temperature 55°C. The enzyme was stable at pH 9.0-9.5. More than 80% of the enzyme activity remained at 70°C for 2 h while at 80°C for 30 min the lipase activity decreased to 31%.