

ทิพย์สุดา ทิพย์สงวน : การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกตรึงบน aquaporousgel และการประยุกต์ใช้เป็นสารกระจายคราบน้ำมัน . (Production of biosurfactants by aquaporousgel-immobilized lactic acid bacteria and their application as oil dispersants) อ.ที่ปรึกษาหลัก : รศ. ดร.เอกวิมล ลือพร้อมชัย, อ.ที่ปรึกษาร่วม : ดร.วิชญา รงค์สยามานนท์,ดร.ณิชากร คอนดี

งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจาก *Weissella cibaria* PN3 ด้วยการใช้เซลล์ตรึงบน aquaporousgel และประยุกต์ใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพสำหรับเป็นสารกระจายคราบน้ำมันในทะเล กระบวนการตรึงเซลล์บนวัสดุที่มีรูพรุนช่วยให้สามารถนำเชื้อแบคทีเรียกลับมาใช้ซ้ำได้อย่างคงรักษากิจกรรมการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้เช่นเดิม งานวิจัยนี้ศึกษาการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยเริ่มต้นในระดับขวดเขย่า ซึ่งใช้น้ำมันถั่วเหลืองร้อยละ 2 โดยปริมาตร เป็นแหล่งคาร์บอนเมื่อเวลาผ่านไป 72 ชั่วโมง แบคทีเรียเซลล์ตรึงจะถูกนำกลับมาใช้ซ้ำในรอบการผลิตถัดไปโดยการเติมอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตชุดใหม่ จากนั้นสกัดน้ำเลี้ยงปราศจากเซลล์และตะกอนเซลล์เพื่อให้ได้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดปล่อยออกนอกเซลล์และชนิดที่เกาะที่ผิวเซลล์ ตามลำดับ ผลการศึกษาเซลล์ตรึงบนวัสดุที่ผ่านการใช้งานด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดพบว่า ผิวของวัสดุตรึงมีความขรุขระเพิ่มขึ้นและเกิดการอุดตันบริเวณรูของวัสดุตรึง ดังนั้น จึงเลือกใช้สารละลายยาฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่มีค่าความเป็นกรดต่าง เท่ากับ 8 สำหรับล้างแบคทีเรียเซลล์ตรึงก่อนการใส่ซ้ำในรอบการผลิตถัดไป นอกจากนี้ศึกษาการกระตุ้นแบคทีเรียเซลล์ตรึงโดยเพิ่มความสามารถในการทำกิจกรรมด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด LB เป็นเวลา 2 วัน ในทุกๆสักรอบการผลิตโดยผลผลิตสูงสุดพบในรอบการผลิตที่ 4 ซึ่งสารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดปล่อยออกนอกเซลล์ และชนิดที่เกาะที่ผิวเซลล์ มีค่า 1.46 และ 1.99 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ แม้ว่าผลการวิเคราะห์คุณสมบัติของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดที่ปล่อยออกนอกเซลล์และชนิดที่เกาะที่ผิวเซลล์พบว่ามีความแตกต่างกัน อย่างไรก็ตามสารลดแรงตึงผิวชีวภาพทั้งสองชนิดจัดเป็นสารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดไกลโคลิพิด เมื่อนำไปประยุกต์ใช้โดยการนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดปล่อยออกนอกเซลล์และชนิดที่เกาะที่ผิวเซลล์ผสมกับสารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดลิโปเปปไทด์เพื่อใช้เป็นสารกระจายคราบน้ำมันชนิดชีวภาพ พบว่า สูตรสารกระจายคราบน้ำมันที่เกิดการผสมระหว่างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดที่เกาะที่ผิวเซลล์กับสารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดลิโปเปปไทด์ ให้ประสิทธิภาพในการกระจายตัวสูงสุดที่ 81 เปอร์เซ็นต์ในน้ำมันเตาชนิด C และยังพบว่าเป็นสูตรที่มีต้นทุนถูกที่สุดอีกด้วย ดังนั้นสารกระจายคราบน้ำมันชนิดชีวภาพจึงเป็นทางเลือกหนึ่งในการบำบัดการปนเปื้อนของน้ำมันเตาในทะเล นอกจากนี้การขยายขนาดการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพสามารถประยุกต์ใช้แบคทีเรียเซลล์ตรึงในระบบการผลิตแบบกึ่งต่อเนื่องภายใต้ถังปฏิกรณ์ชีวภาพที่มีใบกวน โดยพบว่าผลผลิตสูงสุดเกิดขึ้นในการรอบการผลิตที่ 1 ซึ่งสารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดปล่อยออกนอกเซลล์และชนิดที่เกาะที่ผิวเซลล์มีค่า 1.59 และ 1.77 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ อีกทั้งแบคทีเรียเซลล์ตรึงยังสามารถนำกลับมาใช้ซ้ำสำหรับรอบการผลิตถัดไปได้อีกด้วย เมื่อทดสอบการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยการใช้ไขมันทอดใช้แล้วและน้ำมันพร้าวเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่า ปริมาณสารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดที่เกาะที่ผิวเซลล์จะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นถึง 2.68 กรัมต่อลิตร ซึ่งวิธีดังกล่าวสามารถช่วยลดต้นทุนการผลิตลงได้ ดังนั้น การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยใช้แบคทีเรียเซลล์ตรึง โดยเฉพาะในกลุ่มแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกจึงเป็นอีกหนึ่งในทางเลือกสำหรับการเพิ่มผลผลิตและการลดต้นทุนการผลิตอย่างมีประสิทธิภาพ

สาขาวิชา	การจัดการสารอันตรายและสิ่งแวดล้อม	ลายมือชื่อนิสิต	ทิพย์สุดา ทิพย์สงวน
ปีการศึกษา	2564	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก	เอกวิมล ลือพร้อมชัย
		ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม	วิชญา รงค์สยามานนท์
		ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม	ณิชากร คอนดี

5887843220 : MAJOR HAZARDOUS SUBSTANCE AND ENVIRONMENTAL MANAGEMENT


KEYWORD: Biosurfactant ; Immobilized cells; Glycolipid; Biosurfactant-based dispersant

Tipsuda Subsangan : Production of biosurfactants by aquaporousgel-immobilized lactic acid bacteria and their application as oil dispersants. Advisor: Assoc. Prof. EKAWAN LUEPROMCHAI, Ph.D.
Co-advisor: Witchaya Rongsayamanont, Ph.D., NICHAKORN KHONDEE, Ph.D.

This study aimed to produce biosurfactants by aquaporousgel-immobilized *Weissella cibaria* PN3 and apply the biosurfactant for formulating oil spill dispersants. The immobilization of bacterial cells on a porous carrier allowed the reuse of inoculum and maintained the biosurfactant producing activity. The initial biosurfactant production was conducted in flasks and utilized 2%(v/v) of soybean oil as carbon source. After 72 h, the immobilized cells were repeatedly used for the next cycle by replacing the culture broth with fresh productive medium. Extracellular and cell-bound biosurfactants were extracted from cell-free broth and cell pellets, respectively. SEM analysis of used immobilizing carrier showed the increased surface roughness and clogged carrier pores. Therefore, PBS buffer, (pH 8.0) was selected to wash the used immobilizing carrier. The immobilized cells were further reactivated with LB medium for 2 days in every three cycles. The maximum yields of extracellular (1.46g/L) and cell-bound biosurfactants (1.99 g/L) was found at the 4th production cycle. Extracellular and cell-bound biosurfactants had different properties but both were characterized as glycolipid biosurfactant. Extracellular/cell-bound biosurfactant was formulated with lipopeptide as biosurfactant-based dispersant. Formulations composing of cell-bound biosurfactant and lipopeptide showed the highest dispersant effectiveness with 81% of fuel c and had the lowest dispersant cost; therefore, it could be an alternative dispersant for fuel oil spill remediation. To scale-up biosurfactant production, the immobilized cells were applied to a stirred tank fermenter, which was operated semi-continuously. The maximum yields of extracellular (1.59 g/L) and cell-bound biosurfactants (1.77 g/L) was found at the 1st production cycle and immobilized cells were repeatedly used for several cycles. When waste frying oil and coconut water were used as substrate for biosurfactant production, the biosurfactant yield especially cell-bound biosurfactant increased to 2.68 g/L and the production cost was reduced. Therefore, biosurfactant production with immobilized-*Weissella cibaria* PN3 is one the effective way for enhancing biosurfactant yield and reducing production cost.

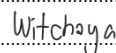
Field of Study: Hazardous Substance and
Environmental Management

Academic Year: 2021

Student's Signature 

Advisor's Signature 

Co-advisor's Signature 

Co-advisor's Signature 



422530916

CU Thesis 5887843220 dissertation / recv: 03122564 09:21:27 / seq: 24