หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1
บทนำ

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (biosurfactant) หมายถึง สารชีวโมเลกุลที่มีสมบัติเป็นสารลดแรงตึงผิว (surface-active substance) ซึ่งสร้างโดยสิ่งมีชีวิตโดยเฉพาะอย่างยิ่งจุลินทรีย์ ชนิดต่างๆ เช่น แบคทีเรีย ราและยีสต์บางชนิด (Cooper และ Zajic, 1980) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีโครงสร้างเป็นแอมฟิพาติก (amphipatic structure) ซึ่งประกอบด้วยส่วนที่ชอบไขมัน (lipophilic portion) และส่วนที่ชอบน้ำ (hydrophilic portion) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพเมื่อละลายอยู่ในตัวทำละลายเช่น น้ำ จะเกิดการรวมตัวกันเป็นโครงสร้างที่เรียกว่า ไมเซลล์ (micelle) โดยจะหันเอาส่วนที่ชอบน้ำไว้ด้านนอก และส่วนที่ชอบไขมันไว้ด้านใน ความเข้มข้นที่เหมาะสมที่ทำให้สารลดแรงตึงผิวเกิดการรวมตัวเป็นไมเซลล์เรียกว่า ความเข้มข้นของการเกิดไมเซลล์ Critical Micelle Concentration (CMC) ซึ่งจะมีค่าจำเพาะสำหรับสารลดแรงตึงผิวแต่ละชนิด โครงสร้างไมเซลล์ในน้ำจะอยู่ตัวเนื่องจากแรงดึงดูดระหว่างหมู่ไฮโดรคาร์บอนซึ่งอยู่ด้านในของไมเซลล์ แรงนี้เรียกว่าแรงกระทำระหว่างส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic interaction) การเกิดโครงสร้างในรูปไมเซลล์ทำให้สารลดแรงตึงผิวละลายน้ำได้ และสามารถลดแรงตึงระหว่างชั้น(phase) ของสารที่มีขั้วแตกต่างกันได้เช่น ระหว่างน้ำมันกับน้ำ อากาศกับน้ำ หรือน้ำกับของแข็ง (Desai และคณะ, 1994) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้จากจุลินทรีย์สามารถแบ่งได้ตามโครงสร้างทางเคมีเป็น 6 ชนิด ได้แก่ ไกลโคลิปิด (glycolipids) ไลโพเพพไทด์และไลโพโปรตีน (lipopeptide and lipoproteins) กรดไขมันและไขมัน (fatty acid and neutral lipid) ฟอสโฟลิปิด(phospholipids) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีโครงสร้างเป็นพอลิเมอร์ (polymeric biosurfactants) และสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีลักษณะเป็นอนุภาค(particulate surfactants) (Desai และ Banat, 1997)

ปัจจุบันสารลดแรงตึงผิวชีวภาพทวีความสำคัญทางเศรษฐกิจมากขึ้น และมีการนำมาใช้แทนสารลดแรงตึงผิวจากการสังเคราะห์ทางเคมีเนื่องจากถูกย่อยสลายได้ทางชีวภาพ ไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม มีความเป็นพิษต่ำ อีกทั้งสามารถผลิตจากสารตั้งต้นที่มาจากทรัพยากรที่นำกลับมาใช้ใหม่ได้ (Kosaric และคณะ, 1984; Mercade และคณะ, 1993; Babu และคณะ, 1996; PatelและDesai,1997; Daniel และคณะ, 1998) เนื่องจากสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีโครงสร้างและสมบัติที่ต่างกันทำให้สามารถนำมาประยุกต์ใช้งานได้อย่างกว้างขวาง เช่น ใช้เป็นสารอิมัลซิฟายเออร์ สารทำให้เกิดฟอง ตัวทำละลายและสารลดความหนืดเป็นต้น ปัจจุบันได้มีการใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพในทางการค้า เช่น Emulsan จาก *Arthobacter* sp. ATCC31012 ในการขจัดคราบน้ำมัน, Sorphorolipid จาก *Torulopsis bombicola* ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง เช่น แชมพูและครีมทาผิว นอกจากนั้นยังมีรายงานถึง Trehalose lipid จาก *Rhodococcus erythroposis* DSM 43215, Fructose lipid จาก *Arthrobacter paraffincus* ATCC 15591, Surfactin จาก *Bacillus subtilis* ATCC 21331 และLipopeptide จาก

Methylomonas clasa ATCC 31226 เป็นสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีการผลิตทางการค้า(Kosaric N, 1993) อย่างไรก็ตามสารลดแรงตึงผิวชีวภาพยังมีต้นทุนการผลิตที่สูง หากสามารถใช้วัตถุดิบในการผลิตที่มีราคาถูกและสามารถหาได้ง่ายในประเทศไทยเช่น น้ำมันปาล์ม ซึ่งปัจจุบันประเทศไทยผลิตน้ำมันปาล์มถึง 1.48 ล้านตันต่อปี เป็นการเพิ่มความคุ้มทุนและการพัฒนาอุตสาหกรรมการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้

ได้มีรายงานว่า *Pseudomonas* sp. สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้หลายชนิด ได้แก่ สารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดไกลโคลิปิด เช่น แรมโนลิปิด ผลิตโดย *Pseudomonas aeruginosa* (Lang และ Wullbrandt, 1999) แรมโนลิปิดเป็นสารที่พบมากใน *Pseudomonas* spp. โดยแรมโนลิปิดบริสุทธิ์ที่ความเข้มข้นระหว่าง 10-200 มก.ต่อ ลิตร สามารถลดแรงตึงผิวให้อยู่ระหว่าง 25-30 mN/m โครงสร้างของแรมโนลิปิดนั้นมีด้วยกันหลายแบบ แบ่งเป็น 6 กลุ่มใหญ่ตามรายงานของ Lang และ Wullbrandt (1999) ซึ่ง *Pseudomonas* sp.บางชนิดผลิตแรมโนลิปิดได้หลายชนิดโดยจะแตกต่างในส่วนกรดไขมันตามรายงานของ Abalos A.และคณะในปี 2001 แรมโนลิปิดยังสามารถนำไปใช้ประโยชน์เช่น นำไปกำจัดคราบน้ำมันในทะเล กำจัดสารพิษพวก PAHเป็นอิมัลซิฟายเออร์ในเครื่องสำอางและยา กำจัดศัตรูพืชจำพวกรา และยังสามารถสกัดแรมโนสไปใช้เป็นสารปรุงแต่งอาหาร นอกจากนั้นยังมีสารลดแรงตึงผิวชนิดอื่นที่ผลิตโดย *Pseudomonas* sp. ได้แก่ สารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดไลโพเพพไทด์และไลโพโปรตีน เช่น วิสโคซิน ผลิตโดย *Pseudomonas fluorescens* (Desai และ Banat, 1997) และสารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดพอลิเมอริก เซอร์แฟกแตนท์ เช่น โปรตีน พีเอ ผลิตโดย *Pseudomonas aeruginosa* (Desai และ Banat, 1997) โดยสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตจาก *Pseudomonas* sp. มีค่าแรงตึงผิวอยู่ระหว่าง 25-30 มิลลินิวตันต่อเมตร (mN/m) (Desai และ Banat,1997) จะเห็นได้ว่า *Pseudomonas* sp. ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้หลายชนิด แต่ละชนิดมีสมบัติแตกต่างกันตามโครงสร้าง ดังนั้นจากความสัมพันธ์ของโครงสร้างและสมบัติของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจึงมีความเป็นไปได้ที่จะสามารถปรับปรุงคุณภาพของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ทั้งจากวิธีการทางเคมีและทางพันธุวิศวกรรม (Morikawa และคณะ, 2000)

การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจาก *Pseudomonas* sp. A41 เป็นเพียงการผลิตในระดับห้องปฏิบัติการ หากต้องการนำไปใช้งานในระดับอุตสาหกรรมต้องคำนึงถึงปัจจัยทางเศรษฐกิจ เช่น ราคาวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิต ในงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้น้ำปาล์มเป็นแหล่งคาร์บอนเนื่องจากสามารถผลิตได้ภายในประเทศและมีราคาถูก อีกทั้งสามารถเพิ่มคุณค่าน้ำมันปาล์มได้หากนำมาใช้ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพนี้ *Pseudomonas* sp. สายพันธุ์ A41 ซึ่งได้จากดินบริเวณดอนหอยหลอด จังหวัดสมุทรปราการ โดย อารีย์ กังฉิน ในปี 2542 รายงานการแยกว่าสามารถสร้างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ลดแรงตึงผิวได้ 30 มิลลินิวตันต่อเมตร (mN/m) และมีค่า oil displacement เท่ากับ 132.79 cm^2 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ทราบสูตรโครงสร้างทางเคมี ที่ใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน แต่เมื่อใช้น้ำมันปาล์มเป็นแหล่งคาร์บอนพบ

ว่าได้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพนี้ลดแรงตึงผิวได้ 29 มิลลินิวตันต่อเมตร (mN/m) และมีค่า oil displacement เท่ากับ 154 cm^2 ซึ่งมีแอคติวิตีมากกว่าเมื่อใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน นอกจากนั้นยังสามารถเกิดอิมัลชันกับสารประกอบไฮโดรคาร์บอนชนิดต่างๆ ได้อีกด้วย ดังนั้นสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดย *Pseudomonas* sp. สายพันธุ์ A41 เมื่อใช้น้ำมันปาล์มเป็นแหล่งคาร์บอนจึงน่าจะมีการศึกษาถึงชนิดของโครงสร้างและสมบัติเพื่อที่จะนำไปปรับปรุงคุณภาพให้ดียิ่งขึ้นต่อไป

วัตถุประสงค์

เพื่อหาสมบัติของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้จาก *Pseudomonas* sp. สายพันธุ์ A41 โดยใช้น้ำมันปาล์มเป็นแหล่งคาร์บอน

ขั้นตอนการดำเนินงาน

1. หาภาวะที่เหมาะสมในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดย *Pseudomonas* sp.สายพันธุ์ A41
2. ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและทำบริสุทธิ์
3. หาสมบัติทางชีวเคมีของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้
4. แสดงลักษณะสมบัติของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยการวิเคราะห์หามวลของสาร หาโครงสร้างทางเคมีด้วยวิธี LC-MS และ IR

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทราบภาวะที่เหมาะสมในการผลิตและทราบสมบัติของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้จาก *Pseudomonas* sp. สายพันธุ์ A41 เมื่อใช้น้ำมันปาล์มเป็นแหล่งคาร์บอน ซึ่งจะเป็นข้อมูลเพื่อพัฒนาไปใช้ในอุตสาหกรรมต่อไป