บทที่ 1
บทนำ

1.1 มูลเหตุจูงใจ

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (biosurfactant) หมายถึง สารชีวโมเลกุลที่มีสมบัติเป็นสารลดแรงตึงผิว (surface-active substance) ซึ่งผลิตได้จากจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ เช่น แบคทีเรีย ราและยีสต์บางชนิด (Cooper และ Zajic, 1980) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีโครงสร้างเป็นแอมฟิพาติก (amphipatic structure) ซึ่งประกอบด้วยส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic portion) และส่วนที่ชอบน้ำ (hydrophilic portion) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพเมื่อละลายอยู่ในตัวทำละลายเช่น น้ำ จะเกิดการรวมตัวกันเป็นโครงสร้างที่เรียกว่า ไมเซลล์ (micelle) โดยจะหันเอาส่วนที่ชอบน้ำไว้ด้านนอก และส่วนที่ชอบไขมันไว้ด้านใน ความเข้มข้นที่เหมาะสมที่ทำให้สารลดแรงตึงผิวเกิดการรวมตัวเป็นไมเซลล์เรียกว่า ความเข้มข้นวิกฤติของการเกิดไมเซลล์ (Critical Micelle Concentration ,CMC) ซึ่งจะมีค่าจำเพาะสำหรับสารลดแรงตึงผิวแต่ละชนิด โครงสร้างไมเซลล์ในน้ำจะอยู่ตัวเนื่องจากแรงดึงดูดระหว่างหมู่ไฮโดรคาร์บอนซึ่งอยู่ด้านในของไมเซลล์ แรงนี้เรียกว่าแรงกระทำระหว่างส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic interaction) การเกิดโครงสร้างในรูปไมเซลล์ทำให้สารลดแรงตึงผิวละลายน้ำได้และสามารถลดแรงตึงระหว่างวัฏภาค(phase) ของสารที่มีขั้วแตกต่างกันได้เช่น ระหว่างน้ำมันกับน้ำ อากาศกับน้ำ หรือน้ำกับของแข็ง (Desai และคณะ, 1994) จากคุณสมบัติที่กล่าวข้างต้นทำให้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพทวีความสำคัญทางเศรษฐกิจมากขึ้น และมีการนำมาใช้แทนสารลดแรงตึงผิวจากการสังเคราะห์ทางเคมีเนื่องจากถูกย่อยสลายได้ทางชีวภาพ ไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม มีความเป็นพิษต่ำ อีกทั้งสามารถผลิตจากสารตั้งต้นที่มาจากทรัพยากรที่นำกลับมาใช้ใหม่ได้ (Kosaric และคณะ, 1984; Mercade และคณะ, 1993; Babu และคณะ, 1996; PatelและDesai,1997; Daniel และคณะ, 1998)

เนื่องจากสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีโครงสร้างและสมบัติที่ต่างกันทำให้สามารถนำมาประยุกต์ใช้งานได้อย่างกว้างขวาง เช่น ใช้เป็นสารอิมัลซิฟายเออร์ สารทำให้เกิดฟอง ตัวทำละลายและสารลดความหนืดเป็นต้น ปัจจุบันได้มีการใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพในทางการค้าอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง เช่น แชมพูและครีมทาผิว และจากปัญหาสิ่งแวดล้อมที่พบในปัจจุบันไม่ว่าจะเป็นมลพิษในอากาศ ดิน และน้ำ ปัญหาที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งที่พบบ่อยคือมลพิษทางทะเลทั้งขยะและคราบน้ำมันที่ลอยอยู่บนผิวน้ำซึ่งก่อปัญหาต่อนิเวศวิทยาทางทะเลอย่างมาก เนื่องจากเมื่อมีคราบน้ำมันลอยอยู่บนผิวน้ำ อากาศและแสงแดดก็ไม่สามารถส่องลงไปยังใต้ทะเลได้ พืชและสัตว์ทะเลก็จะได้รับความเสียหาย วิธีหนึ่งที่สามารถขจัดคราบน้ำมันที่ลอยอยู่ได้คือการใช้สารลดแรงตึงผิว

เข้ามาจับกับคราบน้ำมันเพื่อให้เกิดการกระจายตัวของหยดน้ำมัน ทำให้ออกซิเจนสามารถถ่ายเทสู่น้ำทะเลได้อย่างปกติ นอกจากนี้ทางกองทัพเรือ ได้มีความประสงค์จะนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพไปใช้เพื่อทำความสะอาดคราบน้ำมันที่ปนเปื้อนมากับน้ำในอับเฉาเรือ งานวิจัยนี้จึงได้รับความสนับสนุนจากกองทัพเรือในการพัฒนาการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพให้ได้ปริมาณสูงขึ้น

ปัจจุบันสารลดแรงตึงผิวชีวภาพยังมีต้นทุนการผลิตที่สูง หากสามารถใช้วัตถุดิบในการผลิตที่มีราคาถูกและสามารถหาได้ง่ายในประเทศไทยเช่น น้ำมันปาล์ม ซึ่งปัจจุบันประเทศไทยผลิตน้ำมันปาล์มถึง 1.48 ล้านตันต่อปี (Kosaric N, 1993) จะเป็นการเพิ่มความคุ้มทุนและการพัฒนาอุตสาหกรรมการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ นอกจากนี้งานวิจัยที่ผ่านมาพบว่า *Pseudomonas* sp. สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้หลายชนิด ได้แก่ สารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดไกลโคลิปิด เช่น แรมโนลิปิด ผลิตโดย *Pseudomonas aeruginosa* (Lang และ Wullbrandt, 1999) แรมโนลิปิดเป็นสารที่พบมากใน *Pseudomonas* spp. โดยแรมโนลิปิดบริสุทธิ์ที่ความเข้มข้นระหว่าง 10-200 มิลลิกรัมต่อ ลิตร สามารถลดแรงตึงผิวให้อยู่ระหว่าง 25-30 mN/m โครงสร้างของแรมโนลิปิดนั้นมีด้วยกันหลายแบบ ซึ่ง *Pseudomonas* sp.บางชนิดผลิตแรมโนลิปิดได้หลายชนิดโดยจะแตกต่างในส่วนกรดไขมัน นอกจากนั้นยังมีสารลดแรงตึงผิวชนิดอื่นที่ผลิตโดย *Pseudomonas* sp. ได้แก่ สารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดไลโพเพพไทด์และไลโพโปรตีน และสารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดพอลิเมอริกเซอร์แฟกแตนท์ เช่น โปรตีน พีเอ ผลิตโดย *Pseudomonas aeruginosa* (Desai และ Banat, 1997) โดยสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตจาก *Pseudomonas* sp. มีค่าแรงตึงผิวอยู่ระหว่าง 25-30 มิลลินิวตันต่อเมตร (mN/m)

จากที่กล่าวมาข้างต้น งานวิจัยนี้ ได้นำ *Pseudomonas* sp. สายพันธุ์ A41 ซึ่งได้จากดินบริเวณดอนหอยหลอด จังหวัดสมุทรปราการโดย อารีย์ กังฉิน ในปี 2542 รายงานการคัดสายพันธุ์ว่าสามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ลดแรงตึงผิวได้ 30 มิลลินิวตันต่อเมตร (mN/m) และมีค่า การกระจายตัวของน้ำมัน เท่ากับ 132.79 ตารางเซนติเมตร(cm^2) ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ทราบสูตรโครงสร้างทางเคมี ที่ใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน แต่เมื่อใช้น้ำมันปาล์มเป็นแหล่งคาร์บอนพบว่าได้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพนี้ลดแรงตึงผิวได้ 29 มิลลินิวตันต่อเมตร (mN/m) และมีค่า การกระจายตัวของน้ำมัน เท่ากับ 154 ตารางเซนติเมตร(cm^2) ซึ่งมีค่ามากกว่าเมื่อใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน นอกจากนั้นยังสามารถเกิดอิมัลชันกับสารประกอบไฮโดรคาร์บอนชนิดต่างๆ ได้อีกด้วย งานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยที่ทำต่อจากงานวิจัยของอารีย์ (2542) และณรงค์ (2543) ซึ่ง ศึกษาการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากน้ำมันปาล์ม โดย *Pseudomonas sp.* A41 ในถังหมักแบบไม่ต่อเนื่อง โดยภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตสารลดแรงตึงผิวที่ค่าความเป็นกรดด่าง 7.5 ความเร็วรอบใบกวน 600 รอบต่อนาที และเปอร์เซ็นต์น้ำมันปาล์ม 2 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก แต่ได้ความเข้มข้นของเซลล์ค่อนข้างต่ำคือ 2.59 ซึ่งมีผลให้ อัตราการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพต่ำด้วยคือ 0.1 มิลลินิวตัน ลิตรต่อกรัม

เซลล์ ต่อเมตร ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้น เพื่อเพิ่มอัตราการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ โดยการศึกษาการผลิตในถังปฏิกรณ์แบบกึ่งต่อเนื่อง ซึ่งคาดว่าจะสามารถเพิ่มความเข้มข้นของจุลินทรีย์ นอกไปจากนี้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้จะถูกนำไปทดสอบประสิทธิภาพการใช้งานเปรียบเทียบกับสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ซึ่งปัจจุบันใช้อยู่ในกองทัพเรือ

1.2 วัตถุประสงค์

เพื่อเพิ่มอัตราการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจาก *Pseudomonas sp.* A41 โดยอาศัยกระบวนการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.3.1 เป็นการเพิ่มคุณค่าของน้ำมันปาล์ม โดยอาศัยจุลินทรีย์เพื่อผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีคุณค่าสูงขึ้น

1.3.2 เป็นแนวทางในการลดปัญหาสิ่งแวดล้อมโดยใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพซึ่งสามารถย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ

1.3.3 เป็นประโยชน์สำหรับการพัฒนาระบบการหมักแบบต่อเนื่องต่อไป

1.4 ขอบเขตของงานวิจัย

1.4.1 การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

ในงานวิจัยนี้ทำการศึกษาโดยใช้น้ำมันปาล์มเป็นแหล่งคาร์บอน

- ศึกษาผลของอัตราส่วนระหว่างปริมาณคาร์บอนและไนโตรเจน (C:N) ที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ และการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพของจุลินทรีย์ *Pseudomonas* sp.A41 ในขวดรูปชมพู่ โดยเปลี่ยนแปลงค่าอัตราส่วนระหว่างปริมาณคาร์บอนและไนโตรเจน (C:N) ระหว่าง 5 ถึง 200 โดยพิจารณาจากค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจำเพาะ ผลได้ของเซลล์และผลิตภัณฑ์ต่อสารอาหาร
- ศึกษาการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในถังปฏิกรณ์แบบกึ่งต่อเนื่องขนาด 10 ลิตร โดยควบคุมค่าอัตราส่วนระหว่างปริมาณคาร์บอนและไนโตรเจน (C:N) ที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในช่วงแรกของการหมัก และ อัตราส่วนระหว่างปริมาณคาร์บอนและไนโตรเจน (C:N) ที่เหมาะสมกับการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในช่วงหลังของการหมักโดยหาเวลาที่เหมาะสมในการเปลี่ยนค่าอัตราส่วนระหว่างปริมาณ

คาร์บอนและไนโตรเจน (C:N) ในระหว่างการหมัก โดยพิจารณาจากค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจำเพาะ ผลได้ของเซลล์และผลิตภัณฑ์ต่อสารอาหาร

เพื่อให้ได้อัตราการผลิตสูงที่สุด ทั้งนี้ ควรควบคุมปัจจัยอื่นๆ ให้คงที่(ณรงค์,2543) ดังนี้

(1) ปริมาณแหล่งคาร์บอน ควบคุมที่ 2.0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก

(2) ค่าความเป็นกรด ด่าง ควบคุมที่ 7.5

(3) ความเร็วรอบของใบกวน ควบคุมที่ 600 รอบต่อนาที

1.4.2 การทดสอบประสิทธิภาพของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพตามเวลา

โดยเปรียบเทียบเสถียรภาพของสารลดแรงตึงผิวที่ผลิตได้ กับสารลดแรงตึงผิวที่กองทัพเรือใช้อยู่ในปัจจุบัน