

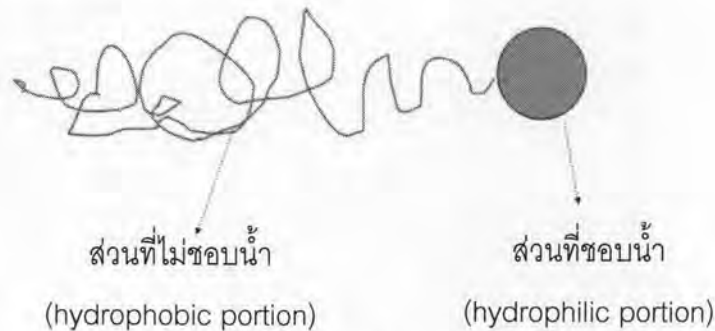
## บทที่ 2

### ปริทรรศน์วรรณกรรม

ปัจจุบันมีการใช้สารลดแรงตึงผิวในอุตสาหกรรมต่างๆ มากมาย ซึ่งตลาดโลกมีความต้องการสารลดแรงตึงผิวประมาณปีละ 10 ล้านตัน โดยครึ่งหนึ่งถูกนำไปใช้เป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์ซักกรีดและทำความสะอาดในครัวเรือน ส่วนที่เหลือใช้ในอุตสาหกรรมอื่นๆ เช่น อุตสาหกรรมเคมี อุตสาหกรรมสิ่งทอ อุตสาหกรรมอาหาร เป็นส่วนผสมในเครื่องสำอาง และเกษตรกรรม เป็นต้น (Van Bogaert และคณะ, 2007) แต่อุตสาหกรรมหลักที่ใช้สารลดแรงตึงผิวคือ อุตสาหกรรมปิโตรเคมี และสารลดแรงตึงผิวที่ใช้เป็นสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ทางเคมี ซึ่งสารประกอบนี้มีความเป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม ก่อให้เกิดปัญหาต่อระบบนิเวศวิทยา โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อทำการชะล้างสารประกอบเหล่านี้จะทำให้เกิดการสะสมในสิ่งแวดล้อมหลังการใช้ (Mann และ Boddy, 2000; Mann และ Bidwell, 2001) อย่างไรก็ตามความก้าวหน้าทางเทคโนโลยีชีวภาพและความเอาใจใส่ต่อสิ่งแวดล้อม ประกอบกับข้อบังคับทางกฎหมายผลักดันให้เกิดความสนใจในสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมากขึ้น (Banat และคณะ, 2000) เนื่องจากสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีความเป็นพิษต่ำ เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม สามารถผลิตได้จากวัตถุดิบที่นำกลับมาใช้ใหม่ได้และมีราคาถูก (Ishigami, 1997; Makkar และ Cameotra, 1999) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีโครงสร้างที่หลากหลาย จึงสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ ได้มากมาย โดยเฉพาะในอุตสาหกรรมปิโตรเคมี เช่น การสกัดน้ำมันจากแหล่งธรรมชาติ การขุดเจาะน้ำมัน ใช้เป็นสารหล่อลื่นในการขนส่งน้ำมัน กำจัดหรือกระจายคราบน้ำมัน อุตสาหกรรมอื่นๆ ได้แก่ เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เสริมสุขภาพ และใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เป็นต้น (Fiechter, 1992; Desai และ Banat, 1997) โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารลดแรงตึงผิวชีวภาพประเภทไกลโคลิพิด เช่น โซไฟโรลิพิดที่ถูกนำมาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหาร เครื่องสำอาง ยา และผลิตภัณฑ์ทำความสะอาด ซึ่งโซไฟโรลิพิดสามารถเข้าไปมีส่วนแบ่งในตลาดการค้าของผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดที่มีส่วนผสมของสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์คือ alkyl-polyglucoside (APGs) โดยมีราคาประมาณ 2 ปอนด์ต่อกิโลกรัม เป็นต้น (Van Bogaert และคณะ, 2007)

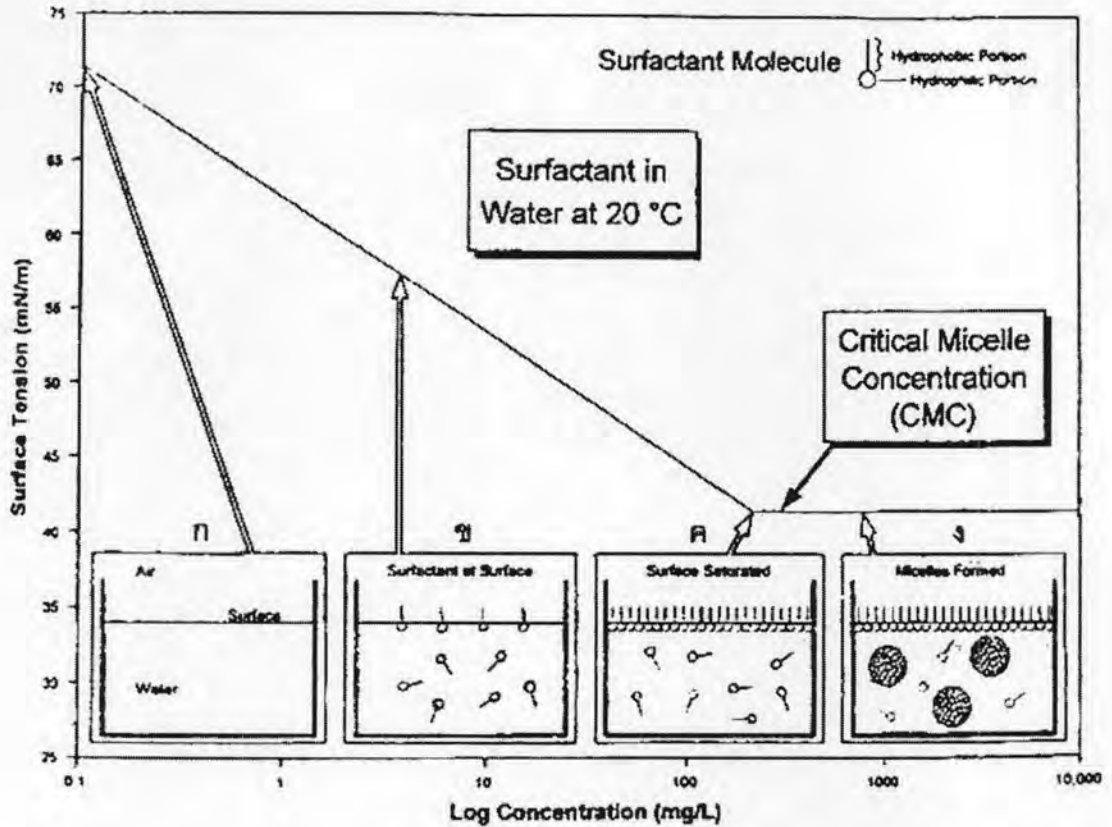
## 2.1 ความหมายและความสำคัญของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (Biosurfactant) หมายถึง สารชีวโมเลกุลที่มีคุณสมบัติเป็นสารลดแรงตึงผิว (surface-active molecule) ซึ่งผลิตจากสิ่งมีชีวิตโดยเฉพาะจุลินทรีย์ (Fiechter, 1992) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีโครงสร้างเป็นแบบแอมฟิพาติก (amphipatic structure) ดังแสดงในรูปที่ 2.1 ซึ่งประกอบด้วยส่วนที่มีขั้ว (hydrophilic portion) ส่วนใหญ่ได้แก่ โปรตีน และน้ำตาลซึ่งเป็นโมเลกุลที่มีหมู่คาร์บอกซิล หมู่ไฮดรอกซิล หมู่อะมิโน หมู่ฟอสเฟต เป็นต้น และส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic portion) หรือส่วนที่ชอบไขมัน (lipophilic portion) ซึ่งจะเป็นโมเลกุลพวกไฮโดรคาร์บอน เช่น กรดไขมันทั้งชนิดอิ่มตัว (saturated fatty acid) และกรดไขมันไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid) มีทั้งขนาดและโครงสร้างแตกต่างกันไปทำให้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีประสิทธิภาพแตกต่างกันไปด้วย



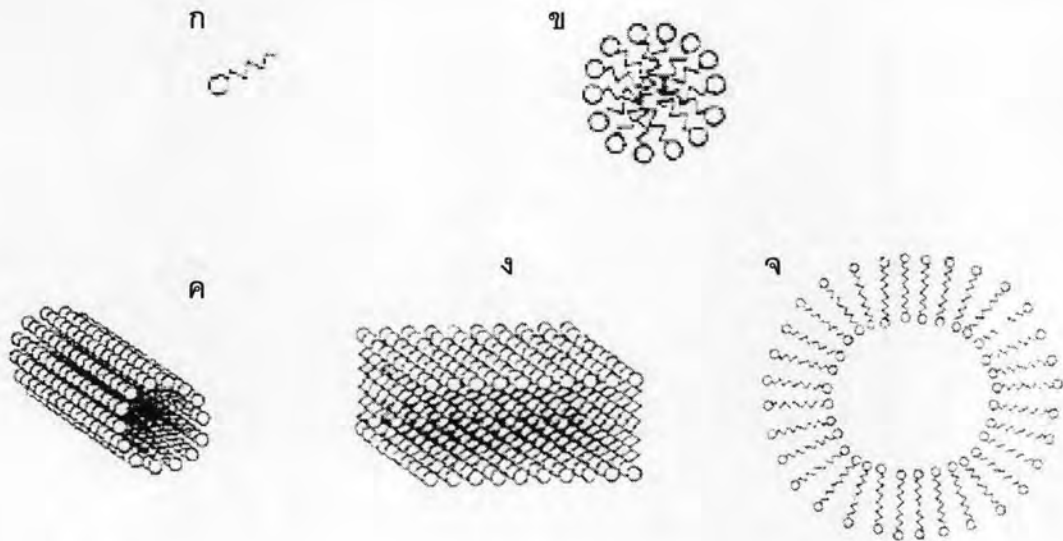
### รูปที่ 2.1 ลักษณะโครงสร้างทั่วไปของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

จากคุณสมบัติของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีโครงสร้างเป็นแบบแอมฟิพาติก สารลดแรงตึงผิวชีวภาพจึงสามารถละลายได้ทั้งในสารละลายที่มีขั้วและไม่มีขั้ว โดยส่วนที่มีขั้วจะละลายอยู่ในน้ำและหันส่วนไม่มีขั้วออกมาสัมผัสอากาศ ทำให้ไปลดแรงตึงผิวของสารละลายได้ โดยสารลดแรงตึงผิวที่มีประสิทธิภาพจะลดค่าแรงตึงผิวของน้ำกลั่นจาก 72 mN/m เหลือ  $30 \pm 5$  mN/m ขึ้นกับชนิดและความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชนิดนั้น (Cooper และ Zajic, 1980) เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวมากขึ้นก็จะไปลดค่าแรงตึงผิวของตัวทำละลาย แต่เมื่อถึงความเข้มข้นหนึ่งที่จะเพิ่มความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวแต่ค่าแรงตึงผิวของตัวทำละลายก็ไม่มีการเปลี่ยนแปลง ณ จุดนี้เรียกว่า Critical micelle concentration (CMC) คือ ค่าความเข้มข้นที่น้อยที่สุดที่ทำให้สารลดแรงตึงผิวเกิดการรวมตัวกันเป็นไมเซลล์ ดังแสดงในรูปที่ 2.2 ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ประสิทธิภาพของสารลดแรงตึงผิวอีกชนิดหนึ่ง โครงสร้างไมเซลล์ประกอบด้วยโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิว 20-200 โมเลกุล ค่า CMC ของสารลดแรงตึงผิวจะมีค่าแตกต่างกันและขึ้นกับอุณหภูมิ (Desai และ Banat, 1997)



รูปที่ 2.2 การเกิดโครงสร้างไมเซลล์ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในน้ำเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจนถึงจุด Critical Micelle Concentration (CMC) ก) เป็นภาวะที่ไม่มีสารลดแรงตึงผิว ข) สารลดแรงตึงผิวละลายอยู่ในน้ำโดยหันส่วนที่ไม่ชอบน้ำออกสู่น้ำ ค) Critical Micelle Concentration (CMC) เป็นจุดที่ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเพิ่มขึ้นจนถึงระดับที่ก่อให้เกิดโครงสร้างไมเซลล์ และ ง) เมื่อเกิดเป็นโครงสร้างไมเซลล์แล้วค่าแรงตึงผิวมีค่าคงที่ไม่ลดลงอีกแม้ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจะเพิ่มขึ้นก็ตาม (Gilman, 1993)

การจัดเรียงตัวของโครงสร้างไมเซลล์ที่แตกต่าง เช่น ไมเซลล์แบบแท่ง ไมเซลล์แบบไบเลเยอร์ ไมเซลล์แบบเวสทิเคิล เป็นต้น นอกจากจะเกิดจากแรงกระทำจากพันธะไฮโดรเจนในโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิว ยังขึ้นกับโครงสร้างของสารลดแรงตึงผิวด้วย เช่น สารลดแรงตึงผิวมีโครงสร้างโมเลกุลเป็นโซ่สายสั้นและส่วนมีขั้วเป็นหัวใหญ่จะเกิดการจัดเรียงตัวเป็นไมเซลล์แบบทรงกลม ถ้าส่วนมีขั้วเป็นหัวขนาดเล็กจะรวมตัวเป็นไมเซลล์แบบทรงกระบอก หรือส่วนไม่มีขั้วเป็นสายยาวก็จะรวมตัวกันเป็นไมเซลล์แบบไบเลเยอร์ เป็นต้น (รูปที่ 2.3) จากโครงสร้างที่หลากหลายของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพนี้จึงสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ ได้มากมาย



รูปที่ 2.3 โครงสร้างและการจัดเรียงตัวของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (Fiechter, 1992)

- ก) โครงสร้างโมโนเมอร์ (monomer) ของแอมฟิพาติกโมเลกุล
- ข) โครงสร้างไมเซลล์แบบกลม
- ค) โครงสร้างไมเซลล์แบบแท่ง
- ง) โครงสร้างไมเซลล์แบบเลเยอร์
- จ) โครงสร้างไมเซลล์แบบเวสิเคิล

นอกจากค่า CMC ที่กล่าวข้างต้นที่สามารถแสดงถึงประสิทธิภาพของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพแล้วยังมีค่าอื่นๆ อีก ได้แก่

1. ค่าแรงตึงผิว (surface tension)

หมายถึง แรงที่กระทำระหว่างของเหลวกับอากาศ มีหน่วยเป็น mN/m หรือ dyne/cm ซึ่งค่าแรงตึงผิวของน้ำบริสุทธิ์เท่ากับ 72 mN/m และสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ถือว่ามีประสิทธิภาพดีจะทำให้ค่าแรงตึงผิวลดลงเหลือ 35 mN/m (Kosaric, 1993)

2. ค่าแรงตึงระหว่างผิวที่ประจัน (interfacial tension)

หมายถึง แรงที่กระทำระหว่างของเหลวกับของเหลวที่มีเฟสต่างกัน มีหน่วยเป็น mN/m การวัดค่าแรงตึงระหว่างผิวที่ประจันจะวัดระหว่างน้ำและสารประกอบไฮโดรคาร์บอน เช่น น้ำมัน เฮกซาเดเคน หรือน้ำมันก๊าด โดยทั่วไปค่าแรงตึงระหว่างผิวที่ประจันของน้ำกับเฮกซาเดเคนมีค่าเท่ากับ 50 mN/m และค่าแรงตึงระหว่างผิวที่ประจันของน้ำกับน้ำมันก๊าดมีค่าเท่ากับ 30-40

mN/m ซึ่งเมื่อเติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจะสามารถลดแรงตึงระหว่างผิวที่ประจันลงเหลือ 0.1-1.0 mN/m (Gerson, 1993)

### 3. การเกิดอิมัลชัน (emulsification)

คือ ความสามารถในการทำให้น้ำและสารประกอบไฮโดรคาร์บอน เช่น น้ำมันปิโตรเลียม สารละลายอินทรีย์ และน้ำมันพืชชนิดต่างๆ รวมตัวเป็นเนื้อเดียวกัน ซึ่งสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจะทำให้เกิดอิมัลชันระหว่างน้ำกับสารประกอบไฮโดรคาร์บอน เป็นผลทำให้น้ำมันมีสภาพเป็นหยดเล็กๆ อยู่ในน้ำ (อิมัลชันชนิด oil in water) เป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวระหว่างน้ำและสารประกอบไฮโดรคาร์บอน (Cooper และ Zajic, 1980) การวัดประสิทธิภาพในการเกิดอิมัลชันอาจทำได้ด้วยการวัดค่าดัชนีการเกิดอิมัลชัน คือ การวัดอัตราส่วนระหว่างความสูงของอิมัลชันและความสูงของของเหลวในหลอดทั้งหมดเมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง (Patel และ Desai, 1997) และอาจวัดความเสถียรของอิมัลชันที่เกิดขึ้นโดยวัดค่าดัชนีการเกิดอิมัลชันในระยะเวลาที่นานออกไป

### 4. ค่าการกระจายตัวของน้ำมัน (oil displacement activity)

เป็นการวัดประสิทธิภาพของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในการทำให้แผ่นฟิล์มของน้ำมันบนผิวน้ำเกิดเป็นวงใส (clear zone) โดยวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของพื้นที่วงใส แล้วคำนวณหาพื้นที่ตามสูตร  $\pi r^2$  มีหน่วยเป็นตารางเซนติเมตร โดยกำหนด 1 ตารางเซนติเมตรของการกระจายตัวของน้ำมันดิบเท่ากับ 1 หน่วย นอกจากการวัดค่าการกระจายตัวของน้ำมันจะทำการวัดในผิวน้ำใสที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อ ซึ่งเป็นวิธีที่ไม่ยุ่งยากและประหยัดค่าใช้จ่าย และยังเป็นวิธีที่เหมาะสมในการวัดกิจกรรมของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์แล้ว เนื่องจากวิธีนี้ใช้สารปริมาณเพียงเล็กน้อยไรการวิเคราะห์ คือ 10 ไมโครลิตรเท่านั้น (Morikawa และคณะ, 1993)

## 2.2 ชนิดของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

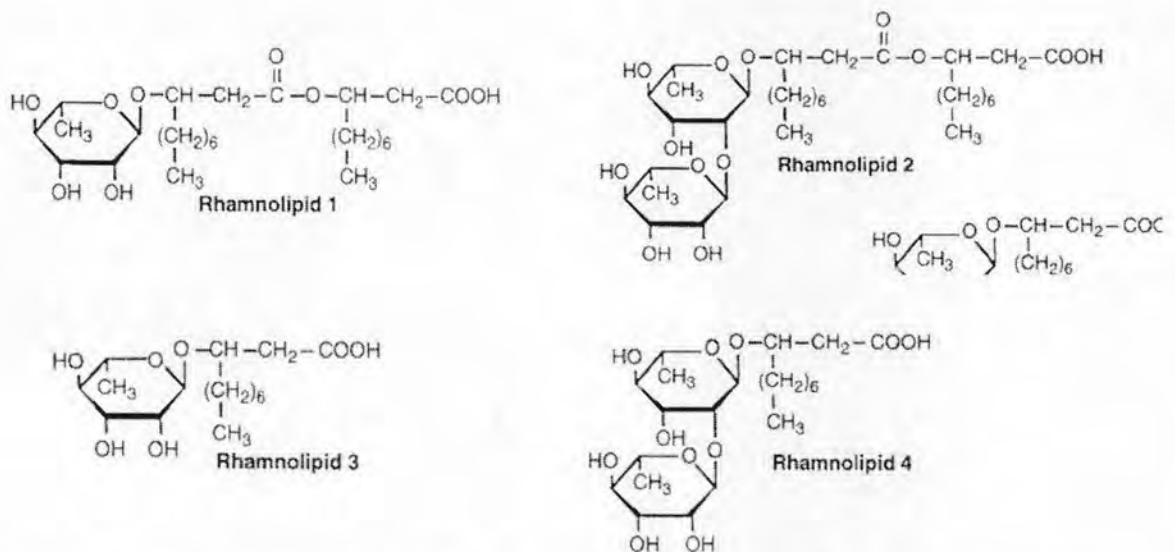
การจำแนกชนิดของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ สามารถแบ่งได้ 6 กลุ่มตามโครงสร้างทางเคมี (Desai และ Banat, 1997) ได้แก่

### 1. ไกลโคลิพิด (glycolipid)

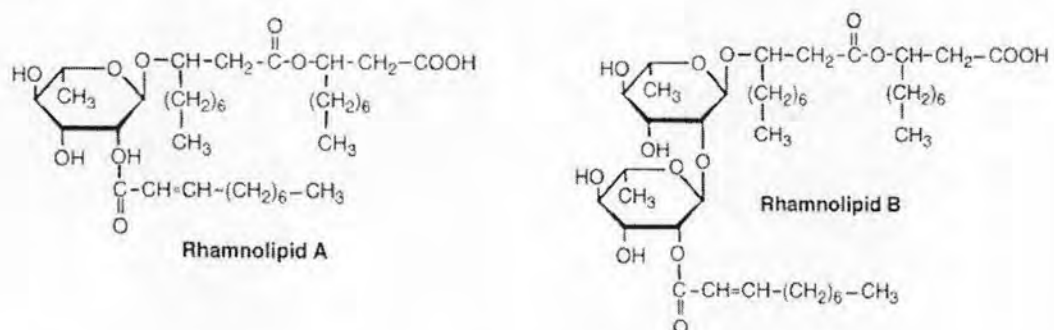
เป็นสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรต เช่น กลูโคส แมนโนส กาแล็คโตส กรดกลูคูโรนิก แรมโนส และกาแล็คโตซัลเฟต เชื่อมต่อกับไขมัน เช่น aliphatic acid และ hydroxyl-aliphatic สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่จัดเป็นไกลโคลิพิด ได้แก่ แรมโนลิพิด (rhamnolipid) ทรีฮาโลลิพิด (trehalolipid) โซโฟโรลิพิด (sophorolipid) ไตรเอซิลกลูโคส (triacylglycerol) แมนโนซิลเออร์ิททอลลิพิด (mannosylerythritol lipid) เป็นต้น

### 1.1 แรมโนลิพิด (rhamnolipid)

มีโครงสร้างประกอบด้วยน้ำตาลแรมโนส 1 หรือ 2 โมเลกุลต่อกับ  $\beta$ -hydroxydecanoic acid 1 หรือ 2 โมเลกุลเช่นกัน แรมโนลิพิดชนิดแรกที่มีการศึกษาใน *Pseudomonas aeruginosa* ซึ่งสามารถจำแนกแรมโนลิพิดออกเป็น 6 ชนิดแตกต่างกันตามจำนวนโมเลกุลของน้ำตาลแรมโนสและ  $\beta$ -hydroxydecanoic ดังแสดงในรูปที่ 2.4 และ 2.5 *Pseudomonas* spp. สามารถผลิตแรมโนลิพิดได้มากกว่า 100 กรัมต่อลิตรเมื่อแหล่งคาร์บอนเป็นน้ำมันถั่วเหลือง 160 กรัมต่อลิตร และมีค่าแรงตึงผิวเท่ากับ 25-30 mN/m ที่ความเข้มข้น 10-200 มิลลิกรัมต่อลิตร (Lang และ Wullbrandt, 1999) นอกจากนี้ยังสามารถก่ออิมชันกับอัลเคนและกระตุ้นการเจริญของ *P.aeruginosa* ในสภาพที่มีเฮกซาเดเคนได้ (Hisatsuka และคณะ, 1971)



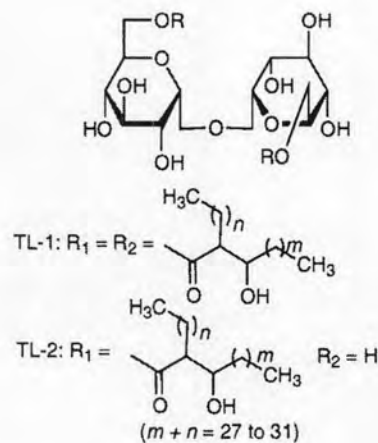
รูปที่ 2.4 โครงสร้างของแรมโนลิพิด ชนิด R1, R2, R3, และ R4 ที่ผลิตโดย *Pseudomonas aeruginosa* (Lang และ Wullbrandt, 1999)



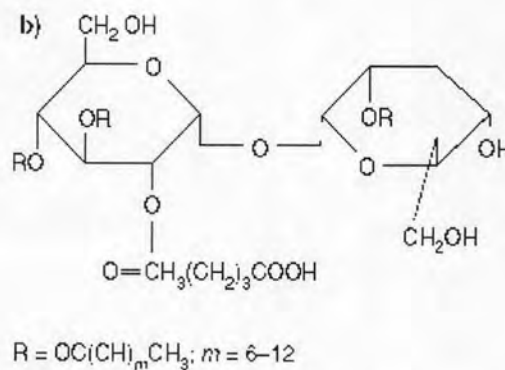
รูปที่ 2.5 โครงสร้างของแรมโนลิพิด ชนิด A และ B ที่ผลิตโดย *Pseudomonas aeruginosa* (Lang และ Wullbrandt, 1999)

### 1.2 ทรีฮาโลลิพิด (trehalolipid)

เป็นสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ประกอบด้วยน้ำตาลทรีฮาโลส 2 โมเลกุลเชื่อมต่อกับสายยาวของ  $\alpha$ -branched- $\beta$ -hydroxy fatty acid หรือ mycolic acid ที่ตำแหน่ง C-6 และ C-6' เคยมีรายงานว่าสามารถผลิตได้จากจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ เช่น *Mycobacterium* *Norcardia* *Rhodococcus* (รูปที่ 2.6) *Arthrobacter* (รูปที่ 2.7) และ *Corynebacterium* ซึ่งสารที่ผลิตได้จากจุลินทรีย์ต่างชนิดกันจะมีขนาดและโครงสร้างของ mycolic acid แตกต่างกันไป นอกจากนี้ยังเคยมีรายงานว่า *Rhodococcus erythropolis* สามารถผลิตทรีฮาโลลิพิดโดยใช้อัลเคนเป็นแหล่งคาร์บอน (Kretschmer และคณะ, 1982)



รูปที่ 2.6 โครงสร้างของ Trehalose dimycolate จาก *Rhodococcus erythropolis* (Desai และ Banat, 1997)



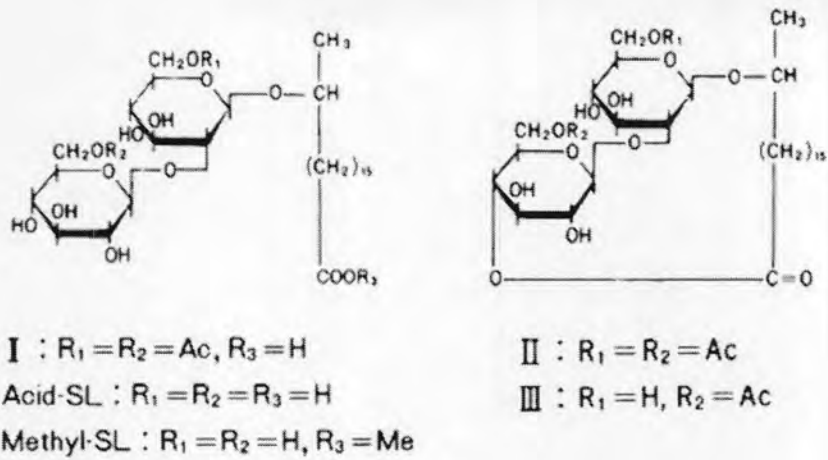
รูปที่ 2.7 โครงสร้างของ Trehalose lipid จาก *Arthrobacter* sp. (Christofi และ Ivshina, 2002)

### 1.3 โซไฟโรลิพิด (sophorolipid)

ส่วนมากสามารถผลิตได้จากยีสต์ เช่น *Torulopsis bombicola* *T. petrophilum* และ *T. apicola* เป็นต้น โดยมีโครงสร้างที่ประกอบด้วยน้ำตาลโซไฟโรสเชื่อมต่อกับสายยาวของ







รูปที่ 2.10 โครงสร้างของไซโฟโรลิพิดจาก *Torulopsis bombicola* (Inoue และ Itoh, 1982)

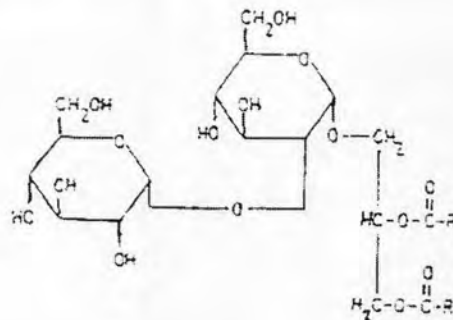
I: 17-L-[(2'-O-β-D-glucopyranosyl-β-D-glucopyranosyl)oxy]octadecanoic acid 6',6"-diacetate

II: 1,4"-lactone of type I

III: 6'-deacetylated derivative of type II

1.4 ไดไกลโคซิล ไดกลีเซอไรด์ (diglycosyl diglyceride)

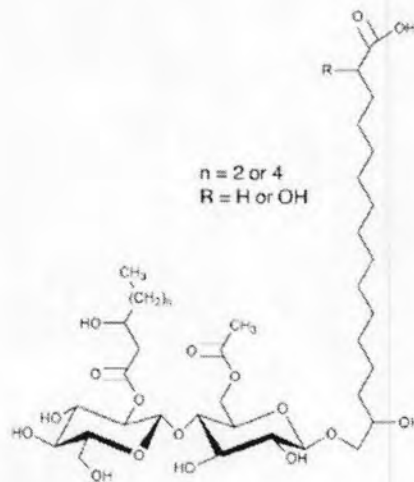
เป็นไกลโคลิพิดที่พบได้ทั่วไปในจุลินทรีย์ มีโครงสร้างแตกต่างกัน 5 ชนิด คือ α-diglycosyldiglyceride (รูปที่ 2.11) , β-diglycosyldiglyceride, dimannosyldiglyceride digalactosyldiglyceride และ galactosylglucosyldiglycerides ซึ่งเป็นกลุ่มของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ยังไม่ค่อยมีการศึกษา แต่อย่างไรก็ตาม Brundish และคณะ ,1967 (อ้างอิงใน Cooper และ Zajic, 1980) ได้เสนอว่าสารกลุ่มนี้จัดเป็นสารลดแรงตึงผิวเพราะมีโครงสร้างประกอบด้วยทั้งส่วนที่มีขั้วหรือชอบน้ำ และส่วนไม่มีขั้ว นอกจากนี้ Wicken และ Knox (1970) รายงานว่า *Lactobacillus fermenti* สามารถผลิตไดไกลโคซิลไดกลีเซอไรด์ที่สามารถก่อรูปเป็นไมเซลล์ได้



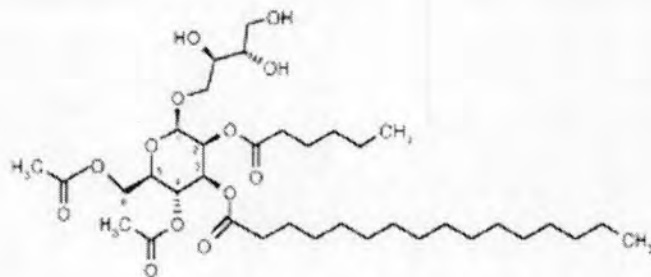
รูปที่ 2.11 โครงสร้างของ α-diglycosyldiglyceride , R = หมู่อัลคิล (Cooper และ Zajic, 1980)

### 1.5 สารประกอบพอลิแซคคาไรด์-ลิพิด (polysaccharide-lipid complexes)

Kappeli และ Fiechter (1977) พบสารประกอบนี้จับกับสารประกอบตั้งต้นไฮโดรคาร์บอนของ *Candida tropicalis* ซึ่งสารประกอบนี้แยกได้จากผนังเซลล์ของยีสต์ และมีคุณสมบัติในการก่ออิมัลชันกับเฮกซาเดคเคนและน้ำ สามารถผลิตสารประกอบเชิงซ้อนนี้ได้ถึง 2.5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเซลล์เมื่อใช้สารประกอบไฮโดรคาร์บอนเป็นสารตั้งต้น แต่จะให้ผลผลิตเพียง 0.1 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเซลล์เมื่อใช้กลูโคสเป็นสารตั้งต้น โครงสร้างที่เป็นส่วนของไขมันประกอบด้วยทั้งไขมันอิ่มตัวและไขมันไม่อิ่มตัว ส่วนมากประกอบด้วยคาร์บอน 14 16 และ 18 อะตอม เช่น มีรายงานว่า *Ustilago maydis* สามารถผลิต cellobiose lipid (รูปที่ 2.12) และ mannosylerythritol lipid (รูปที่ 2.13) ได้ เป็นต้น (Hewald และคณะ, 2005)



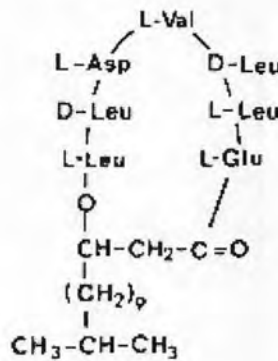
รูปที่ 2.12 โครงสร้างของ Ustilagic acid หรือ Cellobiose lipid จาก *Ustilago maydis* MB215 (Hewald และคณะ, 2005)



รูปที่ 2.13 โครงสร้างของ Ustilipid หรือ Mannosylerythritol lipid จาก *Ustilago maydis* MB215 (Hewald และคณะ, 2005)

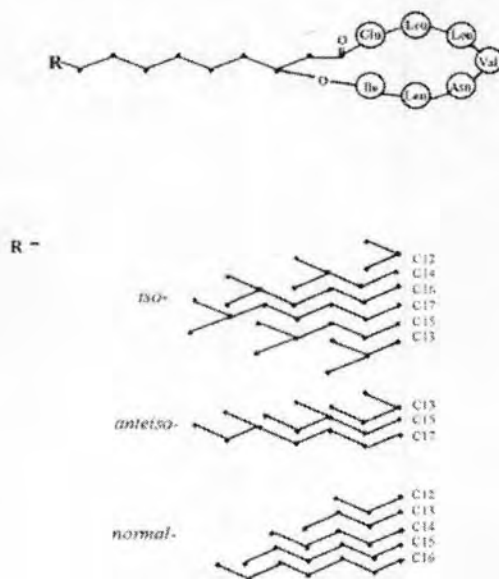
2. ไลโปเพปไทด์และไลโปโปรตีน (lipopeptide and lipoproteins)

เป็นสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่สามารถผลิตได้จากแบคทีเรียและยีสต์หลายชนิด แต่มีเพียงไม่กี่ชนิดที่ได้มีการศึกษาคุณสมบัติการเป็นสารลดแรงตึงผิว ซึ่งส่วนมากมีคุณสมบัติเป็นสารปฏิชีวนะ เช่น เซอร์แฟคติน (surfactin) หรือซับทีไลซิน (subtilysin) จาก *Bacillus subtilis* เป็นสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีประสิทธิภาพสูง มีโครงสร้างประกอบด้วย กรดอะมิโน 7 โมเลกุล เชื่อมต่อกับหมู่คาร์บอกซิล หมู่ไฮดรอกซิลของ  $\beta$ -hydroxyl fatty acid (รูปที่ 2.14) ด้วยพันธะโคเวเลนต์ ที่ความเข้มข้นเพียง 0.005 เปอร์เซ็นต์สามารถลดค่าแรงตึงผิวของ  $\text{NaHCO}_3$  เข้มข้น 0.1 โมลาร์จาก 71.6 mN/m เป็น 27.9 mN/m



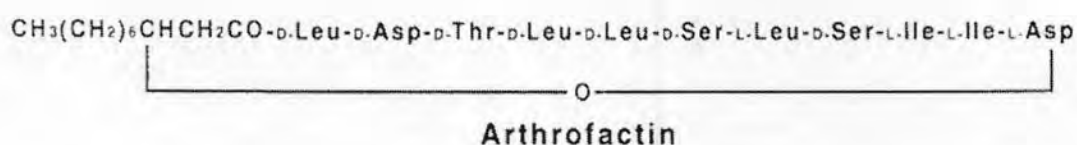
รูปที่ 2.14 โครงสร้างของเซอร์แฟคติน (Rosenberg และ Ron, 1999)

Yakimov และคณะ (1995) รายงานว่า *B.licheniformis* BAS-50 สามารถผลิตไลโปเพปไทด์ คือ ไลเคนโนซิน เอ (lichenysin A) (รูปที่ 2.15) ที่มีส่วนประกอบของสายยาวของ  $\beta$ -hydroxyl fatty acid ซึ่งสามารถลดค่าแรงตึงผิวได้ดีที่สุด 28 mN/m ค่า CMC  $12 \times 10^{-6}$  โมลาร์



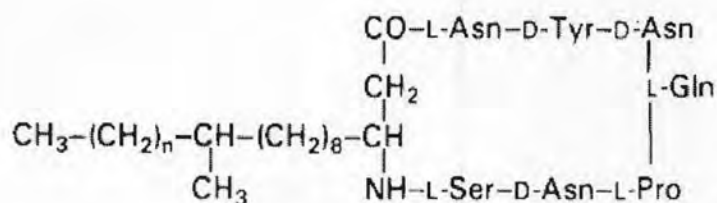
รูปที่ 2.15 โครงสร้างของ lichenysin A (Yakimov และคณะ, 1995)

Morikawa และคณะ (1993) พบสารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดใหม่ คือ อาร์โทรแฟกติน (arthrofactin) ผลิตโดย *Arthrobacter* sp. MIS38 ซึ่งมีโครงสร้างประกอบด้วย 3-hydroxydecanosyl-D-leucyl-D-asparagyl-D-threonyl-D-leucyl-D-seryl-L-leucyl-D-seryl-L-iso-leucyl-L-iso-leucyl-L-asparagyl lactone (รูปที่ 2.16) มีประสิทธิภาพดีกว่าเซอร์แฟคติน 5-7 เท่า สามารถลดค่าแรงตึงผิวได้ดีที่สุด 24 mN/m และมีค่าการกระจายน้ำมันดีกว่าสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ เช่น Triton X-100 และโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (Sodiumdodecyl sulfate: SDS)



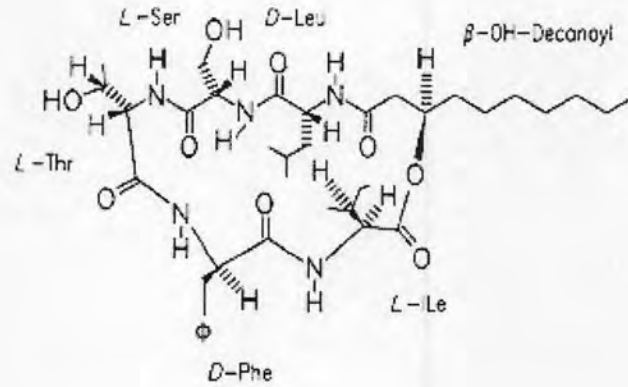
รูปที่ 2.16 โครงสร้างอาร์โทรแฟกติน จาก *Arthrobacter* sp. MIS38 (Morikawa และคณะ, 1993)

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดอื่นในกลุ่มนี้ ได้แก่ กรามิซิดิน (gramicidine) และพอลิมิกซิน (polymyxin) จาก *Bacillus brevis* และ *Bacillus polymyxa* ออร์นิตินลิพิด (Ornithine lipid) และทัวรีนลิพิด (taurine lipid) จาก *Gluconobacter cerinus* IFO3267 ไลซีนลิพิด (lysine lipid) จาก *Agrobacterium tumefaciens* IFO3058 (อ้างอิงใน Desai และ Banat, 1997) Iturin A (Maget-Dana และ Peypoux, 1994) (รูปที่ 2.17) serrawettin W2 (Lindum และคณะ, 1998) (รูปที่ 2.18) และพอลิมิกซิน บี (polymyxin B) จาก *Bacillus polymyxa* (Rosenberg และ Ron, 1999) (รูปที่ 2.19) เป็นต้น

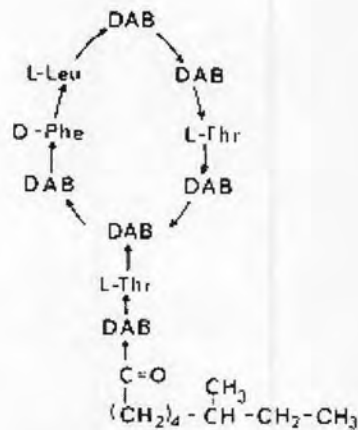


$$n = 0 \text{ or } 1$$

รูปที่ 2.17 โครงสร้างของ Iturin A (Maget-Dana และ Peypoux, 1994)



รูปที่ 2.18 โครงสร้างของ serrawettin W2 (Lindum และคณะ, 1998)



รูปที่ 2.19 โครงสร้างของพอลิมิกซิน บี (polymyxin B) จาก *Bacillus polymyxa* ; DAB, 2,4-diaminobutyric acid (Rosenberg และ Ron, 1999)

### 3. กรดไขมันและไขมัน (fatty acid and natural lipid)

สามารถพบได้ในจุลินทรีย์ทุกชนิด โดยจะผลิตและหลั่งออกนอกเซลล์ เช่น กรดคาร์บอกซิลิก แอลกอฮอล์ เอสเทอร์ ไมโนกลีเซอไรด์ และไตรกลีเซอไรด์ ซึ่งสารเหล่านี้จะผลิตได้จากจุลินทรีย์ที่เจริญบนอาหารที่มีส่วนประกอบของไฮโดรคาร์บอนชี้ให้เห็นถึงคุณสมบัติการก่อกัมมันตของสารได้เป็นอย่างดี นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติในการเป็นสารลดแรงตึงผิว เช่น กรดโครีโนมายโคลิก (corynomycolic acid) จาก *Corynebacterium lepus* ที่สามารถลดค่าแรงตึงผิวของน้ำได้ถึงเชื้อเหลือ 30 mN/m ที่ความเข้มข้นของสารละลายกรดโครีโนมายโคลิก 0.5 กรัมต่อลิตร จะลดค่าแรงตึงผิวเหลือ 40 mN/m และค่าแรงตึงระหว่างผิวที่ประจันต่อเฮกซาเดเคนได้ 10 mN/m นอกจากนี้ยังมีไขมันที่มีคุณสมบัติเป็นสารลดแรงตึงผิวที่ผลิตได้จาก *Mycobacterium rhodochrous* สารที่ได้มีสมบัติในการก่อกัมมันตระหว่างน้ำกับเดเคน และยังส่งเสริมการเจริญ

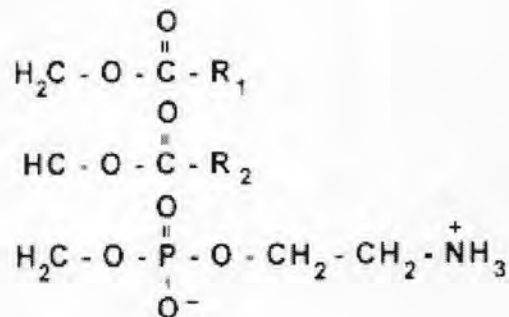
ของ *M. rhodochrous* ในภาวะที่มีเดกเคนได้ด้วย ซึ่งสารนี้มีความเข้มข้น 0.1 กรัมต่อลิตร สามารถลดค่าแรงตึงผิวของน้ำเหลือ 44 mN/m ด้วย (Cooper และ Zajic, 1980)

รูบิเวททิน อาร์ 1 (rubiwettin R1) ซึ่งเป็นลิพิดที่ผลิตจาก *Serratia rubidaea* ATCC27593 เป็นลิพิดชนิด  $\beta$ -hydroxy fatty acid มีจำนวนคาร์บอน 10 อะตอมเชื่อมต่อกับ  $\beta$ -hydroxy fatty acid ที่มีจำนวนคาร์บอน 12 14 หรือ 16 อะตอมด้วยพันธะเอสเทอร์ (Matsuyama และคณะ, 1990)

#### 4. ฟอสโฟลิพิด (phospholipids)

ฟอสโฟลิพิดพบได้ทั่วไปในจุลินทรีย์ แต่มีจำนวนน้อยที่ถูกปล่อยออกนอกเซลล์หรือได้ ทำการวัดค่าแรงตึงผิว โดยทั่วไปโครงสร้างของฟอสโฟลิพิดประกอบด้วยกลีเซอรอลเชื่อมต่อกับ กรดไขมัน 2 หมู่ และฟอสเฟต 1 หมู่ ตัวอย่างฟอสโฟลิพิดที่สามารถสกัดได้จากน้ำเลี้ยงเชื้อ เช่น ฟอสฟาติดีลไอโนซิทอล (phosphatidylinositol) ฟอสฟาติดีลกลีเซอรอล (phosphatidylglycerol) และกรดฟอสฟาติก (phosphatidic acid) จาก *Thiobacillus thiooxidans* และฟอสโฟลิพิดที่สกัดได้จากเซลล์ คือ ฟอสฟาติดีลเอทานอลามีน (phosphatidylethanolamine) (รูปที่ 2.20)

นอกจากนี้ยังมีจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ ที่สามารถผลิตฟอสโฟลิพิดชนิดต่างๆ ได้ เช่น *Corynebacterium lepus*, *Corynebacterium alkanolyticum*, *Candida tropicalis*, *Micrococcus cerificans* เป็นต้น (Cooper และ Zajic, 1980 และ Rosenberg, 1986) โดยฟอสโฟลิพิดที่ผลิตได้จะแตกต่างกันไปขึ้นกับสารตั้งต้นที่ใช้ในการเลี้ยงจุลินทรีย์



รูปที่ 2.20 โครงสร้างของ ฟอสฟาติดีลเอทานอลามีน (phosphatidylethanolamine) จาก *Acinebator* sp. (R1 และ R2 คือ สายไฮโดรคาร์บอนของกรดไขมัน) (Desai และ Banat, 1997)

## 5. สารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดพอลิเมอร์(polymeric biosurfactants)

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีโครงสร้างเป็นพอลิเมอร์ที่เป็นที่รู้จักกันทั่วไป คือ อิมัลชัน (emulsan) (รูปที่ 2.21) ไลโปแซน (liposan) แมนโนโปรตีน (mannoprotein) และสารประกอบเชิงซ้อนของพอลิแซคคาไรด์กับโปรตีน (polysaccharide-protein complex) มีรายงานว่า *Arthrobacter calcoaceticus* RAG-1 สามารถผลิต polyanionic amphipathic heteropolysaccharide bioemulsifier หรือที่เรียกว่าอิมัลชัน โดยมีโครงสร้างที่ประกอบด้วยหน่วยของไตรแซคคาไรด์ซ้ำๆ กัน 3 ชนิด คือ N-acetylamino sugar รวมกันเป็นสายหลักซึ่งเชื่อมต่อกับกรดไขมันด้วยพันธะ O-ester อิมัลชันสามารถก่ออิมัลชันระหว่างสารประกอบไฮโดรคาร์บอนกับน้ำได้ดีที่ความเข้มข้นเพียง 0.001-0.01 เปอร์เซ็นต์ และอิมัลชันที่เกิดขึ้นยังมีความคงตัวอีกด้วย โดยถ้าตั้งอิมัลชันไว้นานๆหลังจากทำการผสมสาร อิมัลชันจะแยกเป็นสองชั้น โดยชั้นบนจะมีลักษณะเป็นครีมที่เรียกว่า อิมัลชันโนโซล (emulsanosol) ที่ประกอบด้วยน้ำมัน 70-75 เปอร์เซ็นต์

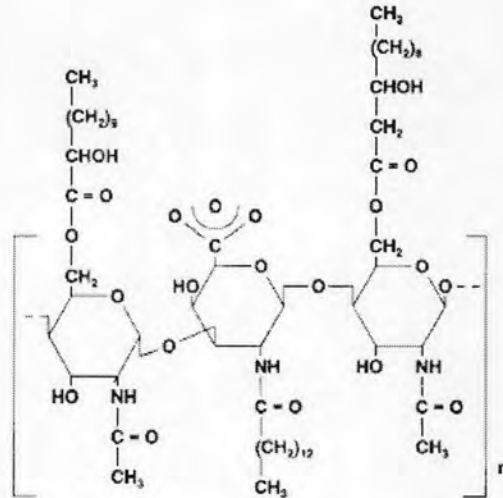
มีรายงานว่า *A. calcoaceticus* A2 ยังสามารถผลิตไบโอดีสเพอร์แซน (biodispersan) ซึ่งเป็น anionic heteropolysaccharide โดยมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 51,400 ดาลตัน และประกอบด้วยน้ำตาลรีดิวซ์ 4 ชนิด คือ กลูโคซามีน (glucosamine) 6-เมทิลอะมิโนเฮกโซส (6-methylaminohexose) กรดกาแลคโตซามีนยูโรนิก (galactosamine uronic acid) และ unidentified amino sugar Navonvenezia และคณะ (1995) พบว่า *Acinetobacter radioresistens* KA-53 สามารถผลิตอะลาซาน (alasan) ซึ่งเป็น anionic alanine-heteropolysaccharide-protein ซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีประสิทธิภาพดีขึ้น 2.5-3 เท่าเมื่อให้ความร้อนที่ 100 องศาเซลเซียสในสภาวะเป็นกรดหรือด่าง

ส่วนไลโปแซนสามารถผลิตได้จาก *Candida lipolytica* ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรต 83 เปอร์เซ็นต์ และโปรตีน 17 เปอร์เซ็นต์ โดยส่วนของคาร์โบไฮเดรตเป็น heteropolysaccharide ที่ประกอบด้วยกลูโคส กาแลคโตส กาแลคโตซามีน และกรดกาแลคทูโรนิก (galacturonic acid) Cameron และคณะ (1988) รายงานว่า *Saccharomyces cerevisiae* สามารถผลิตแมนโนโปรตีนซึ่งเป็นสารก่ออิมัลชันที่ดีกับน้ำมัน อัลเคน และตัวทำละลายอินทรีย์ โดยประกอบด้วยน้ำตาลแมนโนส 44 เปอร์เซ็นต์ และโปรตีน 17 เปอร์เซ็นต์

## 6. สารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดอนุภาค (particulate biosurfactants)

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดอนุภาคเป็นส่วนของ extracellular membrane vesicle ที่รวมตัวกันเป็น microemulsion กับสารประกอบไฮโดรคาร์บอนได้ โดยมีบทบาทที่สำคัญในการนำอัลเคลเข้าสู่เซลล์ของจุลินทรีย์ พบว่า *Acinetobacter* sp. สายพันธุ์ HO1-N สามารถผลิตสาร

ลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดอนุภาคขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 20-50 เซนติเมตร และมีความหนาแน่นการลอยตัว 1.158 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ซึ่งสารลดแรงตึงผิวชีวภาพนี้ประกอบด้วยโปรตีนฟอสโฟลิพิด และไลโปพอลิแซคคาไรด์ โดย membrane vesicle เหมือนกับ outer membrane ของจุลินทรีย์ที่ผลิตขึ้น (Desai และ Banat, 1997)



รูปที่ 2.21 โครงสร้างของอิมัลชัน (emulsan) จาก *Acinebactor calcoaceticus* (Desai และ Banat, 1997)

ตารางที่ 2.1 สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้จากจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ (Desai และ Banat, 1997)

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ	จุลินทรีย์	Surface tension (mN/m)	CMC	Interfacial tension (mN/m)
Glycolipid	<i>Rhamnolipid</i>			
	<i>P. aeruginosa</i>	29		0.25
Trehalolipids	<i>Pseudomonas</i> sp.	25-30	0.1-10	1
	<i>R. erythropolis</i>	32-36	4	14-17
	<i>N. erythropolis</i>	30	20	3.5
	<i>Mycobacterium</i> sp.	38	0.3	15
Sophorolipid	<i>T. bombycola</i>	33		1.8
	<i>T. apicola</i>	30		0.9



ตารางที่ 2.1 สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้จากจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ (Desai และ Banat, 1997)  
(ต่อ)

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ	จุลินทรีย์	Surface tension (mN/m)	CMC	Interfacial tension (mN/m)
Cellobiolipids	<i>T. petrophilum</i> <i>U. zeae, U. maydis</i>			
<b>Lipopeptides and lipoproteins</b>				
Peptide-lipid	<i>B. licheniformis</i>	27	12-20	0.1-0.3
Serrawettin	<i>S. marcescens</i>	28-33		
Viscosin	<i>P. fluorescens</i>	26.5	150	
Surfactin	<i>B. subtilis</i>	27-32	23-160	1
Subtilisin	<i>B. subtilis</i>			
Gramicidins	<i>B. brevis</i>			
Polymyxins	<i>B. polymyxa</i>			
<b>Fatty acid, neutral lipids, and phospholipids</b>				
Fatty acids	<i>C. lepus</i>	30	150	2
Neutral lipids	<i>N. erythropolis</i>	32		3
Phospholipids	<i>T. thiooxidans</i>			
<b>Polymeric surfactants</b>				
Emulsan	<i>A. calcoaceticus</i>			
Biodispersan	<i>A. calcoaceticus</i>			
Mannan-lipid-protein	<i>C. tropicalis</i>			
Liposan	<i>C. lipolytica</i>			
Carbohydrate-protein-lipid	<i>P. fluorescens</i> <i>D. polymorphis</i>	27	10	
Protein PA	<i>P. aeruginosa</i>			
<b>Particulate biosurfactants</b>				
Vesicles and fimbriae	<i>A. calcoaceticus</i>			
Whole cells	Variety of bacteria			

## 2.3 จลศาสตร์การหมักสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (Kinetic of fermentative production)

จลศาสตร์การหมักสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีหลายรูปแบบขึ้นกับแต่ละชนิดของระบบที่ใช้ในการหมัก โดยสามารถสรุปได้ 4 รูปแบบ ดังนี้

### 1. การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพควบคู่กับการเจริญของเซลล์

(Growth-associated production)

โดยการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพรูปแบบนี้จะเกิดขึ้นควบคู่ไปกับการเจริญของเซลล์ ตามรูปที่ 2.22ก เช่น การผลิตแรมโนลิพิดจาก *Pseudomonas aeruginosa* 44T1 (Robert และคณะ, 1989) ไกลโคโปรตีน เอพี-6 (glycoprotein AP-6) จาก *P. fluorescens* 378 (Persson และคณะ, 1988) สารลดแรงตึงผิวจาก *B. cereus* IAF346 และไบโอดีสเพอร์แซนจาก *Bacillus* sp. IAF-343 (Cooper และ Goldenberg, 1987) เป็นต้น

### 2. การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในภาวะจำกัดการเจริญ

(Production under growth-limiting conditions)

การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพรูปแบบนี้จะเกิดขึ้นเมื่อทำการจำกัดสารตั้งต้นที่ใช้ในการผลิต ตามรูปที่ 2.22ข เช่น การผลิตแรมโนลิพิดโดย *Pseudomonas* sp. จะเกิดในช่วงภาวะคงที่ (stationary phase) ของการเจริญและมีแหล่งไนโตรเจนจำกัด โดยเมื่อมีการใช้แหล่งไนโตรเจนจนเกือบหมดจะพบจุลินทรีย์จะเปลี่ยนไปใช้กลูโคสแทนส่งผลทำให้การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเพิ่มขึ้น (Mulligan และ Gibbs, 1989) นอกจากนี้ยังมีตัวอย่างการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพรูปแบบนี้อีก ได้แก่ *Candida tropicalis* IlpP-4 จะผลิตสารก่ออิมัลชันได้ดีในภาวะที่มีแหล่งไนโตรเจนจำกัด (Singh และคณะ, 1990) และสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจาก *Torulopsis apicola* จะเกิดขึ้นช่วงปลาย exponential phase ซึ่งเป็นช่วงที่มีการใช้แหล่งไนโตรเจนจนเกือบหมดแล้ว (Hommel และคณะ, 1987) เป็นต้น

### 3. การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในช่วงระยะพักของเซลล์

(Production by resting or immobilized cells)

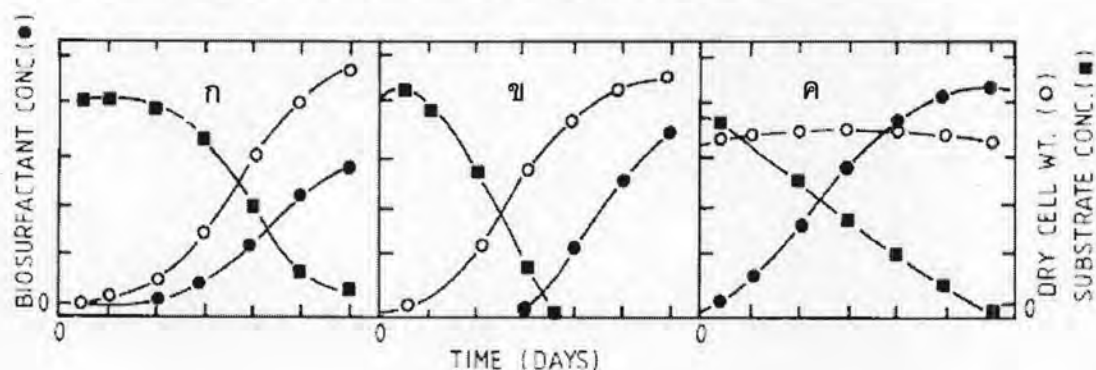
เป็นรูปแบบการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยใช้หัวเชื้อที่อยู่ในระยะพัก โดยเซลล์ยังคงสามารถใช้แหล่งคาร์บอนในการผลิตสารได้ ดังแสดงในรูปที่ 2.22ค เช่น การผลิตแรมโนลิพิดโดย *Pseudomonas aeruginosa* (Reiling และคณะ, 1986) และ *P. aeruginosa* CFTR-6 (Ramana และ Karanth, 1989) ไฮโฟโรลิพิดจาก *Candida apicola* ซึ่งจะผลิตในช่วง stationary phase (Hommel และ Huse, 1993) *Ustilago maydis* จะผลิตเซลโลไบโอดีลิพิด (cellobiolipid)

ได้ดีในภาวะที่มีแหล่งไนโตรเจนจำกัดและในช่วงระยะพักของเซลล์ (Frautz และคณะ, 1986) และ *Candida antarctica* จะผลิตแมนโนซิลอิทริโทล ลิพิด (mannosylerythritol lipid) ได้ดีที่สุดในช่วงระยะพักของเซลล์และในภาวะที่อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเพียงแหล่งคาร์บอน (Kitamoto และคณะ, 1992) เป็นต้น การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพด้วยรูปแบบนี้มีความสำคัญในการลดต้นทุนการสกัดสาร เนื่องจากกระบวนการเจริญของเซลล์และระยะการผลิตสามารถเกิดแยกกันได้

#### 4. การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยมีการเติมสารตั้งต้น

(Production with precursor supplementation)

มีรายงานว่าเมื่อมีการเติมสารตั้งต้นในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ แล้วทำให้ทั้งคุณภาพและปริมาณของผลผลิตเปลี่ยนแปลงไป เช่น การเติมสารประกอบชนิดที่ชอบไขมันร่วมกับแหล่งคาร์บอนที่เป็นคาร์โบไฮเดรตในอาหารเลี้ยงเชื้อ *T. bombycolia* ทำให้ผลผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ได้เพิ่มขึ้นเป็น 70 กรัมต่อลิตร ซึ่งให้ผลผลิตมากกว่าการใช้แหล่งคาร์บอนเพียงชนิดเดียว (Cooper และ Paddock, 1984) เป็นต้น



รูปที่ 2.22 แสดงรูปแบบการเจริญและการผลิตสารของเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ

(ก) การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพควบคู่กับการเจริญของเซลล์ (Growth-associated production)

(ข) การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในภาวะจำกัดการเจริญ (Production under growth-limiting conditions)

(ค) การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในช่วงระยะพักของเซลล์ (Production by resting or immobilized cells) (Desai และ Banat, 1997)

กระบวนการทางจุลชีววิทยาส่วนมากใช้ในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพประเภทไกลโคลิพิดซึ่งส่วนใหญ่มาจากแบคทีเรีย มีเพียงส่วนน้อยที่ผลิตจากยีสต์และรา ยกเว้นแมนโนซิลอิทริโทลและไซโฟโรลิพิดที่เคยมีรายงานว่าสามารถผลิตได้จากยีสต์ ดังแสดงในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 สารลดแรงตึงผิวชีวภาพประเภทไกลโคลิพิดจากจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ (Kitamoto และคณะ, 2002)

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ	จุลินทรีย์	ผลผลิต (กรัมต่อลิตร)	แหล่งคาร์บอน
<b>Mannosylerythritol lipid</b>			
MEL-A, -B and -C	<i>Candida Antarctica</i> T-34	140	<i>n</i> -Octadecane
		47	Soybean oil
MEL-SY 16	<i>C. antarctica</i> KCTC7804	41	Glycerol, oleic acid
MEL-A, -AB and -B	<i>Ustilago maydis</i> DSM4500	30	Sunflower oil
<b>Rhamnolipid</b>			
RL-1, -2, -3 and -4	<i>Pseudomonas</i> sp. DSM2874	15	<i>n</i> -tetradecane
RL-1 and -2	<i>P. aeruginosa</i> DSM7107	112	Soybean oil
RL-1 and -2	<i>P. aeruginosa</i> UI29791	46	Corn oil
RL-1 and -2	<i>P. aeruginosa</i> IFO3924	32	Ethanol
RL-A and -B	<i>P. aeruginosa</i> BOP101	14	<i>n</i> -paraffin
<b>Trehalose lipid</b>			
TL-1 and -2	<i>Rhodococcus</i> <i>erythropolis</i> DSM43215	2	<i>n</i> -alkane
Trehalose-tetraester	<i>R. erythropolis</i> DSM43215	32	<i>n</i> -decane
STL-1 and -2	<i>R. erythropolis</i> SD-74	40	<i>n</i> -hexadecane
<b>Cellobiose lipid</b>			
CL-A, -B and -C	<i>Ustilago maydis</i> ATCC14826	16	Coconut oil
<b>Sophorose lipid</b>			
SL mixture	<i>Candida bombicola</i> ATCC22214	422	Whey, rapeseed oil
SL mixture	<i>C. bombicola</i> CBS6009	317	Glucose, rapeseed oil

ตารางที่ 2.2 สารลดแรงตึงผิวชีวภาพประเภทไกลโคลิพิดจากจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ (Kitamoto และคณะ, 2002) (ต่อ)

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ	จุลินทรีย์	ผลผลิต (กรัมต่อลิตร)	แหล่งคาร์บอน
SL mixture (SL-1: 73%)	<i>C. bombicola</i> ATCC22214	160	Glucose, canola oil
SL (lactone)	<i>C. bombicola</i> IMET43747	90	Glucose, sunflower oil
Oligosaccharide lipid GL-1, -2 and -3	<i>Tsukumurella</i> sp. DSM44370	30	Sunflower oil

## 2.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

### 1. แหล่งคาร์บอน

แหล่งคาร์บอนเป็นปัจจัยที่สำคัญในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ซึ่งสามารถแบ่งได้ 3 กลุ่มหลักๆ คือ คาร์โบไฮเดรต ไฮโดรคาร์บอน และน้ำมันพืช จุลินทรีย์บางชนิดสามารถใช้แหล่งคาร์บอนได้เพียงชนิดเดียว ได้แก่ แหล่งคาร์บอนไม่ละลายน้ำคือ ไฮโดรคาร์บอน หรือน้ำมันพืช หรือบางสายพันธุ์ใช้เพียงคาร์โบไฮเดรต นอกจากนี้จุลินทรีย์บางชนิดยังสามารถใช้แหล่งคาร์บอนทั้ง 2 กลุ่มร่วมกัน (Gautam และ Tyagi, 2006) โดยเฉพาะสารประกอบไฮโดรคาร์บอนเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อชนิดและองค์ประกอบของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิต (Gumienna และคณะ, 2005)

การผลิตไซโฟโรลิพิดจาก *Candida bombicola* ATCC22214 พบว่าส่วนของ hydroxyl-fatty acid จะแตกต่างกันไปตามสารตั้งต้น เช่น เมื่อใช้สารตั้งต้นเป็นโดดีเคน (dodecane) จะให้ไซโฟโรลิพิดที่ประกอบด้วย hydroxydodecanoic fatty acid ซึ่งไม่พบในไซโฟโรลิพิดที่ผลิตได้จากสารตั้งต้นชนิดอื่น เช่นเดียวกับเมื่อใช้อัลเคนเป็นสารตั้งต้นที่มีจำนวนคาร์บอนแตกต่างกันตั้งแต่ 12 ถึง 17 จะพบว่า hydroxyl acid จะมีความยาวเพิ่มขึ้นตามความยาวของสายคาร์บอนของสารตั้งต้น (Cavalero และ Cooper, 2003)

### 2. แหล่งไนโตรเจน

ไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพแตกต่างกันไปขึ้นกับชนิดของจุลินทรีย์และชนิดของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิต เช่น ผลกระทบของแหล่งไนโตรเจน 2 ชนิด คือ

ไซโตเดียมไนเตรทและแอมโมเนียมซัลเฟตต่อการผลิต trehalose 2,3,4,2' tetraester โดย *Rhodococcus* sp. 51T7 พบว่าเมื่อใช้แอมโมเนียมซัลเฟตเป็นแหล่งไนโตรเจนจะทำให้ค่าความเป็นกรดต่างของอาหารเลี้ยงเชื้อลดลงเป็นผลทำให้ไปยับยั้งการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ และเมื่อใช้ไซโตเดียมไนเตรทความเข้มข้น 2.5 กรัมต่อลิตร จะเป็นภาวะที่เหมาะสมที่สุดต่อการผลิตสาร (Espuny และคณะ, 1996) ไลโคเนนโนซินเอจาก *B. licheniformis* BAS50 จะให้ผลผลิต 2 และ 5 เท่าเมื่อเติม L-glutamic acid และ L-asparagine เป็นแหล่งไนโตรเจนตามลำดับ (Yakimov และคณะ, 1996)

การจำกัดอาหารในภาวะการเจริญก็เป็นปัจจัยที่สำคัญในการผลิตสารทุติยภูมิ (secondary metabolite) (David และคณะ, 1999) เช่น *Pseudomonas aeruginosa* จะถูกกระตุ้นให้ผลิตแรมโนลิพิดได้ดีในภาวะที่มีการจำกัดปริมาณไนโตรเจน (Hudak และ Cassidy, 2004; Arino และคณะ, 1996; Wu และ Ju, 1998) นอกจากนี้อัตราส่วนระหว่างไนโตรเจนและคาร์บอนต้องเหมาะสมด้วย เช่น *P. aeruginosa* จะผลิตแรมโนลิพิดได้ดีที่สุดในภาวะจำกัดปริมาณไนโตรเจนและมีอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 16:1 และ 18:1 แต่จะให้ผลผลิตน้อยเมื่ออัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนต่ำกว่า 11:1 (Guerra-Santos และคณะ, 1984)

### 3. แหล่งเกลือแร่และวิตามิน

เกลือแร่และวิตามินเป็นอีกปัจจัยที่สำคัญในการส่งเสริมหรือยับยั้งการเจริญและการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ เช่น การเติมแมกนีเซียม แคลเซียม โพแทสเซียม ไซโตเดียม และแร่ธาตุเสริมในอาหารเลี้ยงเชื้อจะช่วยส่งเสริมการผลิตแรมโนลิพิดจาก *Pseudomonas aeruginosa* (Guerra-Santos และคณะ, 1986) นอกจากนี้ปริมาณเกลือแร่และวิตามินต้องมีอัตราส่วนต่อคาร์บอนที่เหมาะสมด้วย เช่น *Candida ingens* จะผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ดีเมื่อเติมโพแทสเซียมและธาตุเหล็กในอาหารเลี้ยงเชื้อในอัตราส่วนคาร์บอนต่อแร่ธาตุที่สูง (Amezcu-Vega และคณะ, 2007) แตกต่างจากการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจาก *P. fluorescens* จะถูกกระตุ้นเมื่อจำกัดปริมาณธาตุเหล็ก (Persson และคณะ, 1990)

### 4. ความเป็นกรดต่าง

องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดต่างของอาหาร และค่าความเป็นกรดต่างก็เป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการเจริญและการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพของจุลินทรีย์ ซึ่งจุลินทรีย์แต่ละชนิดจะเจริญได้ดีที่ความเป็นกรดต่างแตกต่างกัน เช่น *Rhodococcus* sp. เจริญเติบโตได้ดีที่ค่าความเป็นกรดต่าง 6.5 ถึง 6.8 แต่สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ในช่วงความเป็นกรดต่างกว้างกว่าคือ 6.5 ถึง 7.2 (Abu-Ruwaida และคณะ,

1991) เช่นเดียวกับที่ Cooper และ Goldenberge (1987) เคยรายงานไว้ว่า เมื่อเพิ่มค่าความเป็นกรดต่างของอาหารเลี้ยงเชื้อจาก 6.5 เป็น 7.0 จะส่งเสริมทั้งการเจริญและการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจาก *Bacillus* sp. และถ้าค่าความเป็นกรดต่างต่ำกว่า 5.5 จะยับยั้งทั้งการเจริญและการผลิตสารเช่นกัน แต่การเจริญของ *P. aeruginosa* ได้รับผลกระทบจากค่าความเป็นกรดต่างเพียงเล็กน้อย ขณะที่การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจะลดลงเมื่อค่าความเป็นกรดต่างเปลี่ยนไปจาก 6.2 ถึง 6.4 (Guerra-Santos และคณะ, 1986) เป็นต้น

## 5. อุณหภูมิ

อุณหภูมิเป็นอีกสาเหตุที่ทำให้องค์ประกอบของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเปลี่ยนแปลง และยังส่งผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ที่แตกต่างกัน เช่น *Candida bombicola* ATCC22214 เจริญเติบโตได้ดีที่สุดที่ 28.8 องศาเซลเซียส (Inge และคณะ, 2007) แต่ Gobbert และคณะ (1984) รายงานว่าสามารถผลิตโซโรลิพิด์ได้ดีที่สุดที่ 21 องศาเซลเซียส เป็นต้น ขบวนการหมักส่วนมากทำที่ 25 หรือ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งทั้งสองอุณหภูมินี้สามารถใช้ผลิตโซโรลิพิด์ได้ แต่ที่ 25 องศาเซลเซียส พบว่าการเจริญของจุลินทรีย์ต่ำกว่าแต่อัตราการย่อยสลายกลูโคสสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับที่ 30 องศาเซลเซียส (Casas และ Garcia-Ochoa, 1999) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าอุณหภูมิส่งผลเพียงเล็กน้อยต่อคุณสมบัติของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ เช่น ค่าแรงตึงผิว ค่าแรงตึงระหว่างผิวที่ประจัน และประสิทธิภาพการก่ออิมัลชัน เป็นต้น (Desai และ Banat, 1997)

## 6. อากาศ

การกวนหรือการให้อากาศเป็นการเพิ่มปริมาณออกซิเจนให้กับจุลินทรีย์นำไปใช้ในกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์ ซึ่งกระบวนการหมักจำเป็นต้องมีการให้อากาศในปริมาณที่แตกต่างกันไป และเมื่อเลี้ยงเชื้อในภาวะขวดเขย่าปริมาณอาหารในขวดรูปชมพู่จะส่งผลต่อปริมาณออกซิเจนที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อด้วย เช่น การผลิตโซโรลิพิด์จาก *Candida bombicola* ATCC22214 ในภาวะขวดเขย่าที่อัตราเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 6 วัน พบว่าที่ปริมาณอาหารเลี้ยงเชื้อ 30 และ 70 มิลลิลิตรจะให้ผลผลิตสูงสุด และถ้าเพิ่มปริมาณอาหารเลี้ยงเชื้อจะทำให้ผลผลิตลดลงด้วย (Guilmanov และคณะ, 2002) และการผลิตเซอร์แฟคตินจาก *Bacillus subtilis* ATCC21332 พบว่าที่อัตราการให้อากาศ 1.5 vvm และความเร็วในการเขย่าที่ 300 รอบต่อนาที จะให้ผลผลิตสูงสุด (Yeh และคณะ, 2006) แต่การผลิตเซอร์แฟคตินจาก *B.licheniformis* JF-2 ได้ดีที่สุดในภาวะการจำกัดปริมาณออกซิเจน (Lin และคณะ, 1994) เป็นต้น

## 2.5 กระบวนการผลิตไซโฟโรลิพิด

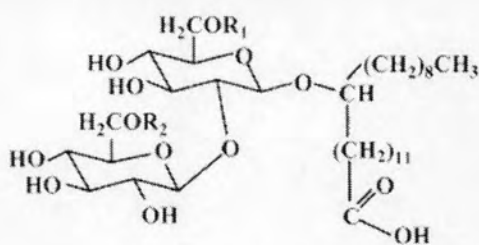
ไกลโคลิพิดเป็นสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตต่อกับไขมัน เป็นชนิดที่ไม่มีประจุ ซึ่งเข้ามามีบทบาทในตลาดของการผลิตสารลดแรงตึงผิวมากขึ้นในช่วง 10 ปีมานี้ เพราะเป็นสารที่มีความเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม มีโครงสร้างที่หลากหลาย ซึ่งส่วนใหญ่ได้มาจากกระบวนการหมัก โดยเฉพาะอย่างยิ่งแรมโนลิพิดและไซโฟโรลิพิด (Van Bogaert และคณะ, 2007)

ไซโฟโรลิพิดเป็นสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ประกอบด้วยน้ำตาลไซโฟโรสต่อกับ hydroxyl fatty acid มีทั้ง acidic form และ lactonic form ดังแสดงในรูปที่ 2.23 เป็นสารที่มีคุณสมบัติในการลดแรงตึงผิวได้ดี ไม่เป็นพิษต่อผิวหนัง จึงมีความสำคัญในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางและผลิตภัณฑ์บำรุงผิว นอกจากนี้ยังมีการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอื่นๆ เนื่องจากคุณสมบัติในการก่ออิมัลชัน และความสามารถในการต่อต้านจุลินทรีย์ เป็นต้น ไซโฟโรลิพิดสามารถผลิตได้จากยีสต์ไม่ก่อโรคหลายชนิด โดยครั้งแรกที่มีการค้นพบว่ายีสต์สามารถผลิตไซโฟโรลิพิดได้ คือ Gorin และคณะ (1961) พบว่า *Torulopsis (Candida) apicola* สามารถผลิตไซโฟโรลิพิดที่มีองค์ประกอบเป็น acetylate 2-O-β-D-glucopyranosyl-D-glucopyranose ต่อกับ 17-L-hydroxyoctadecanoic หรือ 17-L-hydroxyl-Δ9-octadecanoic acid ด้วยพันธะ β-glycoside (Tulloch และคณะ, 1962; Tulloch และ Spencer, 1968)

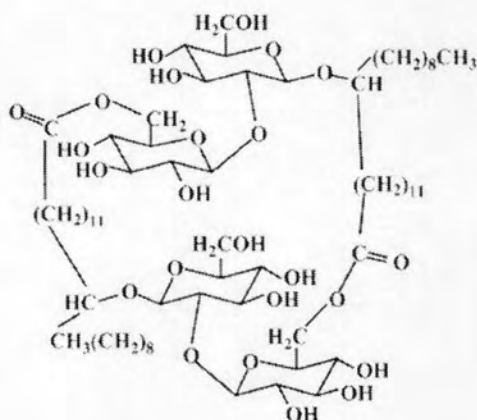
ในปีเดียวกัน Tulloch และคณะ (1968a) ได้ค้นพบยีสต์สายพันธุ์ใหม่ที่สามารถผลิตไซโฟโรลิพิดได้เช่นกัน คือ *Candida bogoriensis* ซึ่งไซโฟโรลิพิดที่ผลิตได้มีโครงสร้างใกล้เคียงกับที่ผลิตได้โดย *C. apicola* แตกต่างเพียงส่วนที่เป็น hydroxyl fatty acid ซึ่งเป็น 13-hydroxydocosanoic acid ส่วนยีสต์สายพันธุ์ที่สามที่ค้นพบคือ *Candida bombicola* ซึ่งไซโฟโรลิพิดที่ผลิตได้ก็มีโครงสร้างใกล้เคียงกับที่ผลิตได้โดย *C. apicola* มากเช่นกัน (Spencer และคณะ, 1970)

ปัจจุบันได้มีการค้นพบยีสต์สายพันธุ์ใหม่ที่สามารถผลิตไซโฟโรลิพิดได้อีกคือ *Wickerhamiella domercqiae* ที่มีโครงสร้างหลักเป็น 17-L-(-oxy)-octadecenoic acid 1,4" – lactone 6',6" – diacetate ซึ่งพบได้ในโครงสร้างของไซโฟโรลิพิดที่ผลิตได้จาก *C. apicola* และ *C. bombicola* เช่นกัน (Jing และคณะ, 2006) นอกจากนี้ Konishi และคณะ (2008) ยังพบยีสต์สายพันธุ์ล่าสุดที่สามารถผลิตไซโฟโรลิพิดได้อีก คือ *Candida batistae* โดยสารที่ผลิตได้มีโครงสร้างที่ใกล้เคียงกับสารที่ได้จาก *C. bombicola* ซึ่งประกอบด้วย 18 – L – ([2' – O – β – D – glucopyranosyl – β – D – glucopyranosyl]) – (oxy) – octadecenoic acid, 6',6" – diacetate

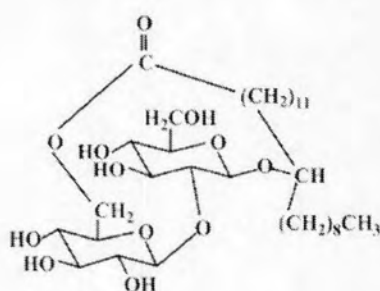




(ก)



(ข)



(ค)

รูปที่ 2.23 แสดงโครงสร้างไซโฟโรลิติด (C22 hydroxy fatty acid) ที่ผลิตจาก *Candida bogoriensis*

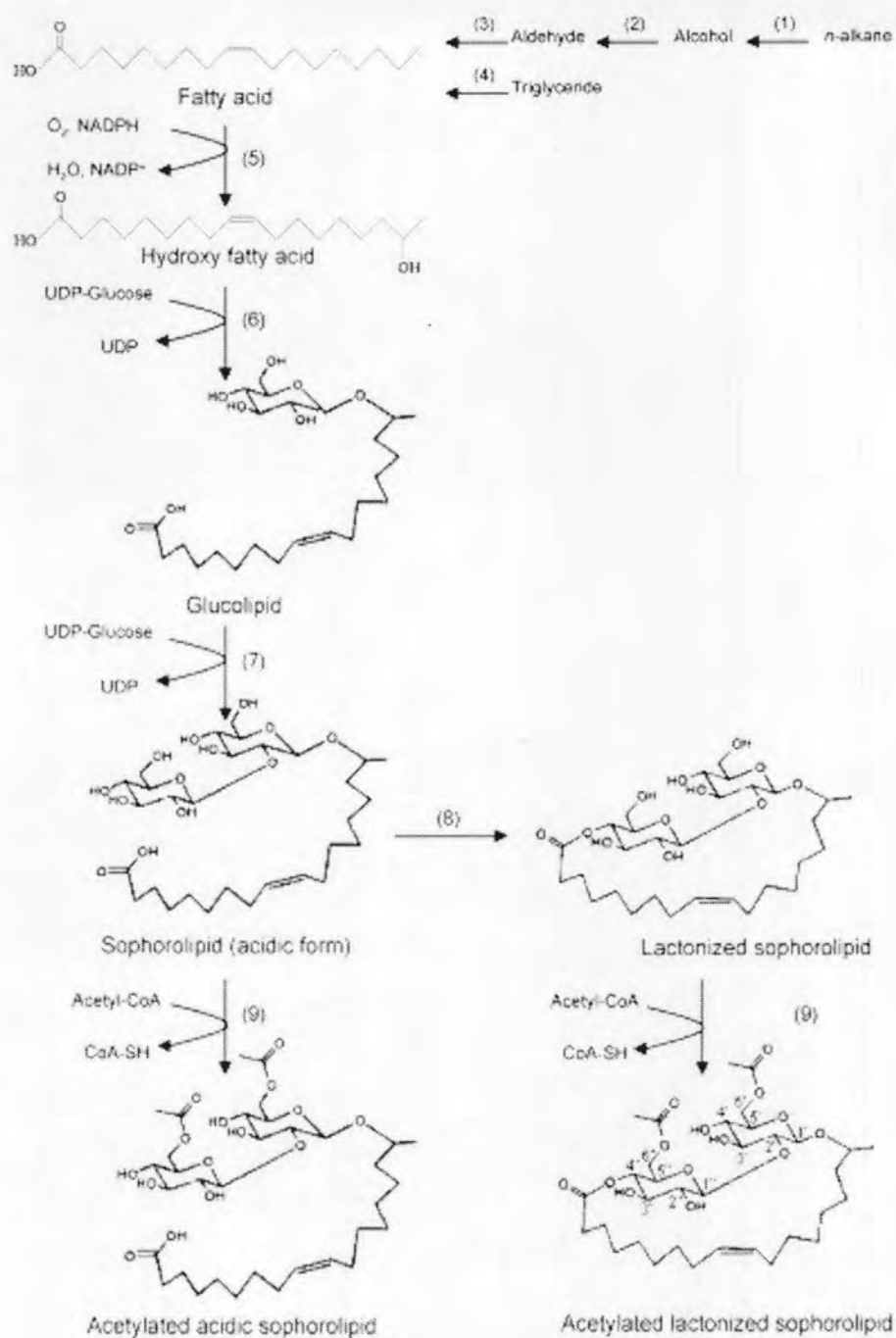
- (ก) 1.  $R_1 = R_2 = \text{COCH}_3$  ; (MW = 764)  
 2.  $R_1 = \text{H}$ ;  $R_2 = \text{COCH}_3$  ; (MW = 722)  
 $R_1 = \text{COCH}_3$ ;  $R_2 = \text{H}$  (MW = 722)  
 3.  $R_1 = R_2 = \text{H}$  ; (MW = 680)

(ข) ไซโฟโรลิติด 2 โมเลกุลต่อกันเป็นไดเมอร์(dimmer) รูปแบบ lactonic form [ $R_1 = R_2 = \text{H}$  ; (MW = 1324)]

(ค) ไซโฟโรลิติดรูปแบบ lactonic form [ $R_1 = R_2 = \text{H}$  ; (MW = 662)] (Nunez และคณะ, 2004)

โดยโครงสร้างหลักของไซโฟโรลิพิดคือ กลูโคสและกรดไขมัน สารประกอบทั้งสองชนิดนี้จึงสามารถเตรียมเป็นส่วนประกอบในอาหารเลี้ยงเชื้อได้เพื่อเป็นสารตั้งต้นในการผลิต โดยเอนไซม์เอสเทอเรส (esterase) จะค่อยๆ ย่อยสลายและปล่อยกรดไขมันออกมา เช่น เมื่อยีสต์เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแอลเคนเป็นแหล่งคาร์บอน จะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) ที่ปลายสายของแอลเคนจากการทำงานของเอนไซม์ cytochrome P450 monooxygenase ได้เป็นแอลกอฮอล์ จากนั้นเอนไซม์แอลกอฮอล์ ดีไฮโดรจีเนส (alcohol-dehydrogenase) และแอลดีไฮด์ ดีไฮโดรจีเนส (aldehyde-dehydrogenase) จะทำงานต่อและได้แอลดีไฮด์ (aldehyde) และกรดไขมันตามลำดับ จากนั้นกรดไขมันก็จะเข้าสู่ขบวนการบีต้าออกซิเดชัน ( $\beta$ -oxidation) แต่ถ้าสารตั้งต้นเป็นไตรกลีเซอไรด์จะถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไลเปส (lipase) ได้กรดไขมันเพื่อเข้าสู่ขบวนการบีต้าออกซิเดชันเช่นกัน

จากนั้นกรดไขมันจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของ NADPH ที่ตำแหน่งปลายสาย ( $\omega$ ) หรือตำแหน่งก่อนปลายสาย ( $\omega-1$ ) ด้วยเอนไซม์ cytochrome P450 monooxygenase ได้ hydroxyl fatty acid และเอนไซม์ glycosyltransferase I จะเติมกลูโคสจาก nucleotide-activate glucose [uridine diphosphate (UDP) - glucose] เข้าไปสร้างพันธะไกลโคไซด์ (glycoside) กับหมู่ไฮดรอกซีที่ตำแหน่ง  $C_1'$  ของกรดไขมันได้กลูโคลิพิด (glucolipid) จากนั้นจะมีการเติมกลูโคสตัวที่สองที่ตำแหน่ง  $C_2'$  ของกลูโคสตัวแรก ด้วยการทำงานของเอนไซม์ glycosyltransferase II ได้ไซโฟโรลิพิดซึ่งอยู่ในรูป acidic form ไม่มีหมู่อะซิทิล จะเกิดการเปลี่ยนรูปไปเป็น lactonic form เมื่อเกิดปฏิกิริยา esterification ของหมู่คาร์บอกซิลของ hydroxyl fatty acid กับหมู่ไฮดรอกซีของน้ำตาลไซโฟโรสที่ตำแหน่ง 4" หรือบางครั้งอาจเกิดที่ตำแหน่ง 6' หรือ 6" จากการทำงานของเอนไซม์ lactonesterase นอกจากนี้ยังสามารถเกิดการเติมหมู่อะซิทิลที่ตำแหน่ง 6' และ/หรือ 6" ได้ด้วยเอนไซม์ acetyl transferase ดังแสดงในรูปที่ 2.24



รูปที่ 2.24 แสดงกระบวนการผลิตไซโฟโรลิพิดจาก *Candida bombicola* ATCC 22214 (1) เอนไซม์ cytochrome P450 monooxygenase (2) เอนไซม์แอลกอฮอล์ ดีไฮโดรจีเนส (alcohol-dehydrogenase) (3) เอนไซม์แอลดีไฮด์ ดีไฮโดรจีเนส (aldehyde-dehydrogenase) (4) เอนไซม์ไลเปส (lipase) (5) เอนไซม์ cytochrome P450 monooxygenase (6) เอนไซม์ glycosyltransferase I (7) เอนไซม์ glycosyltransferase II (8) เอนไซม์ lactonesterase (9) เอนไซม์ acetyl transferase (Van Bogaert และคณะ, 2007)

## 2.6 การประยุกต์ใช้โซโฟลิพิด

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้รับความสนใจในอุตสาหกรรมต่างๆ มากขึ้นเนื่องจากสามารถผลิตได้จากสารตั้งต้นได้หลายชนิด ดังนั้นสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจึงมีข้อดีหลายอย่างเมื่อเปรียบเทียบกับสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ (Kosaric, 1992; Gautam และ Tyagi, 2006) ได้แก่

1. สามารถย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ มีความเป็นพิษต่ำ จึงเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม
2. เนื่องจากไม่เป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตและสามารถย่อยได้ จึงสามารถประยุกต์ใช้ได้กับเครื่องสำอาง ยา และเป็นสารปรุงแต่งอาหาร
3. สามารถผลิตได้จากสารตั้งต้นที่นำกลับมาใช้ใหม่ได้ หาได้ง่าย และราคาถูก เช่น ของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม
4. สารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีโครงสร้างที่หลากหลาย จึงประยุกต์ใช้กับอุตสาหกรรมต่างๆ ได้ดี
5. สามารถปรับปรุงสายพันธุ์จุลินทรีย์ เพื่อให้สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพให้ได้ปริมาณและประสิทธิภาพที่ดีขึ้น

ตลาดของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ใหญ่ที่สุดคือ อุตสาหกรรมน้ำมัน หรืออื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับอุตสาหกรรมน้ำมัน เช่น การบำบัดน้ำมันปนเปื้อนทั้งในดินและน้ำทะเล การกำจัดตะกอนน้ำมันจากถังน้ำมันและการขุดเจาะน้ำมัน เป็นต้น ตลาดรองลงมาของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีประสิทธิภาพในการก่ออิมัลชันได้ดีในพวกอุตสาหกรรมสีและอุตสาหกรรมกระดาษ นอกจากนี้ยังรวมถึงในยางมะตอย ปูนซีเมนต์ สิ่งทอ การกำจัดสารโลหะหนัก อุตสาหกรรมเหมืองแร่ การบำบัดน้ำเสีย อุตสาหกรรมถ่านหิน และการรักษาสภาพไม้ เป็นต้น (อ้างอิงใน Banat และคณะ, 2000)

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพยังมีการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องสำอาง ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาด อุตสาหกรรมเกษตร (Kosaric และคณะ, 1987) เป็นต้น ดังตัวอย่างในตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 การประยุกต์ใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (Ishigami, 1997)

NO.	Function	Application field
1	Emulsifiers and dispersants	Cosmetics, paints, additives for rolling oil
2	Solubilizers and microemulsions	Toiletries, pharmaceuticals
3	Wetting and penetrating agents	Pharmaceuticals, textile industry, paints
4	Detergents	Household, agriculture products, high tech products

ตารางที่ 2.3 การประยุกต์ใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (Ishigami, 1997) (ต่อ)

NO.	Function	Application field
5	Foaming agents	Toiletries, cosmetics, ore floatation
6	Thickening agents	Paints
7	Metal sequestering agents	Mining
8	Vesicle forming materials	Cosmetics, drug delivery systems
9	Microbial growth enhancers	Sewage sludge treatments for oily wastes, fermentation
10	Demulsifiers	Waste treatment
11	Viscosity reducing agents	Pipeline transportation
12	Dispersants	Coal-oil mixture, coal-water slurry
13	Resource recovery agents	Tertiary recovery of oil

เนื่องจากไซโฟโรลิพิดมีโครงสร้างที่แตกต่างกันจึงทำให้มีคุณสมบัติที่แตกต่างกันด้วย โดยไซโฟโรลิพิดที่อยู่ในรูป lactonic form ก็จะมีคุณสมบัติทางชีวภาพและกายภาพที่แตกต่างจาก acidic form ซึ่ง lactonic form จะมีคุณสมบัติในการลดค่าแรงตึงผิว ความสามารถในการก่อกอง และความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดีกว่า acidic form ในขณะที่ acidic form จะมีคุณสมบัติในการละลายที่ดีกว่า lactonic form นอกจากนี้หมู่อะซิติกก็มีผลต่อคุณสมบัติของไซโฟโรลิพิดโดยจะส่งเสริมในการต่อต้านไวรัส และกระตุ้นการทำงานของ cytokine ด้วย (Shah และคณะ, 2005) ไซโฟโรลิพิดจึงถูกนำมาใช้ประโยชน์ด้านต่างๆ ดังนี้

### 1. อุตสาหกรรมปิโตรเคมี

การประยุกต์ใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพกับการทำความสะอาดถังเก็บน้ำมัน โดยจะไปลดความหนืดของน้ำมันทำให้ง่ายต่อการสกัดและขนย้ายน้ำมัน (Bertland และคณะ, 1994) หรือการใช้ในขบวนการขุดเจาะน้ำมัน เช่น ในขบวนการสกัดน้ำมันมีการนำไซโฟโรลิพิดมาเป็นส่วนประกอบช่วยในการกำจัดสารประกอบไฮโดรคาร์บอนออกจากส่วนขุดเจาะน้ำมัน (Baviere และคณะ, 1994) และผลิตสารประกอบไฮโดรคาร์บอนจากตะกอนดินและโคลน (Pesce, 2002) เป็นต้น

## 2. ด้านสิ่งแวดล้อม

การสะสมสารพิษทั้งในดินและในน้ำส่วนมากมาจากโรงงานอุตสาหกรรมต่างๆ และจากกิจกรรมประจำวันของมนุษย์ เช่น สารคลอโรฟินอลจากยาฆ่าแมลงและยาฆ่าวัชพืช แนนพาทาลีนจากอุตสาหกรรมปิโตรเคมี ฟีนอลจากพลาสติกหรืออุตสาหกรรมเหล็ก เพนตะคลอโรฟินอล (pentachlorophenol) จากอุตสาหกรรมไม้ เป็นต้น สารต่างๆ เหล่านี้มีความเป็นพิษและเป็นสารก่อมะเร็งด้วย ดังนั้นโรงงานอุตสาหกรรมจึงต้องมีการบำบัดก่อนปล่อยสู่แหล่งธรรมชาติด้วยวิธีทางเคมี กายภาพ และชีวภาพ ซึ่งวิธีทางชีวภาพก็ให้ประโยชน์อย่างมากเพราะไม่ทิ้งสารพิษตกค้างหลังการบำบัด อาจทำได้โดยการเติมสารอาหารลงไปในธรรมชาติให้จุลินทรีย์ท้องถิ่นนำไปใช้ในการเจริญเติบโตและย่อยสลายสารปนเปื้อนดังกล่าว หรือเติมจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายสารปนเปื้อนดังกล่าวลงไปในพื้นที่นั้นๆ (Kosaric, 2001) นอกจากนี้เคยมีรายงานว่าการใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพในการบำบัดสารอินทรีย์และสารโลหะหนักในสิ่งแวดล้อมได้ด้วย เช่น มีการใช้ไซโฟโรลิดิตในการกำจัดสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่ปนเปื้อนในดินและน้ำใต้ดิน (Ducreux และคณะ, 1997) ไซโฟโรลิดิตที่ผลิตได้จาก *Torulopsis bombicola* ความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ สามารถกำจัดสารโลหะหนัก คือ ทองแดงและสังกะสีที่ปนเปื้อนในดิน 100 และ 3300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ได้ถึง 25 และ 60 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (Mulligan และคณะ, 2001)

## 3. อุตสาหกรรมอาหาร

ในอุตสาหกรรมอาหารสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมักใช้เป็นสารที่ทำหน้าที่ในการก่ออิมัลชัน ซึ่งอิมัลชันมีบทบาทสำคัญในการทำให้เกิดการผสมเข้ากันได้ดีและทำให้เกิดเนื้อสัมผัสที่ดีด้วย นอกจากนี้ยังใช้ในการทำขนมปังและผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ เพราะช่วยในการเปลี่ยนรูปของแป้งและการแตกตัวของไขมัน (อ้างอิงใน Banat และคณะ, 2000) เนื่องจากคุณสมบัติในการก่ออิมัลชันจึงมีรายงานว่ามีการนำไซโฟโรลิดิตมาใช้ในการปรับปรุงคุณภาพของแป้งสาลี และใช้เป็นตัวช่วยในการรักษาสภาพน้ำแข็งที่ใช้แช่เย็นอาหารในการขนส่ง (อ้างอิงใน Van Bogaert และคณะ, 2007) นอกจากนี้ยังมีการนำมาใช้ประยุกต์ในอาหารชนิดต่างๆ มากมาย ดังแสดงในตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 หน้าที่ต่างๆ ของสารลดแรงตึงผิวที่ใช้เป็นอิมัลซิไฟเออร์ในอาหารชนิดต่างๆ  
(Kosaric, 1993)

Functions	Product examples
Emulsification (water-in-oil)	Margarine
Emulsification (oil-in-water)	Mayonnaise
Aeration	Whipped toppings
Improvement of whippability	Whipped toppings
Inhibition of fat crystallization	Candy
Softening	Candy
Antistaling	Bread
Dough conditioning	Bread dough
Improvement of loaf volume	Bread
Reduction of shortening requirements	Bread
Pan release agent	Yeast-leavened and other dough and batter products
Fat stabilizer	Food oil
Antispattering agent	Margarine and frying oils
Antisticking agent	Caramel candy
Protective coating	Fresh fruits and vegetables
Surfactant	Molasses
Viscosity control	Molten chocolate
Improvement of solubility	Instant potatoes
Starch complexation	Cake icing
Humectant	Cake icing
Plasticizer	Sugar productions
Defoaming agent	Flavor emulsification

ตารางที่ 2.4 หน้าที่ต่างๆ ของสารลดแรงตึงผิวที่ใช้เป็นอิมัลซิไฟเออร์ในอาหารชนิดต่างๆ (Kosaric, 1993) (ต่อ)

Functions	Product examples
Stabilization of flavor oils	Ice cream
Promotion of “dryness”	Whipped topping
Freeze-thaw stability	Instant soups
Inhibition of sugar crystallization	Panned coating

#### 4. อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพพบได้บ่อยในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางเนื่องจากมีคุณสมบัติที่ดีคือ มีความชื้นต่ำและไม่เป็นพิษต่อผิวหนัง (Brown, 1991) ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่มีไฮโรลิพิด 1 โมล และโพรไพลีนไกลคอล (propylene) 12 โมล มีความเหมาะสมต่อผิวพรรณและใช้เป็นสารให้ความชุ่มชื้นต่อผิว (Yamane, 1987) ซึ่งไฮโรลิพิดสามารถผลิตได้จากจุลินทรีย์ต่างๆ หลายชนิด เช่น *C. bombicola* KSM-36 โดยใช้น้ำมันปาล์มและกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน *C. apicola* ใช้กลูโคสและน้ำมันเมล็ดทานตะวันเป็นแหล่งคาร์บอน (อ้างอิงใน Banat และคณะ, 2000) เป็นต้น และบริษัท Kao Chemical ได้ใช้ไฮโรลิพิดในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เช่น ยี่ห้อ Sofina เป็นต้น และจากคุณสมบัติการยับยั้งแบคทีเรียจึงใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์รักษาผิว รังแค และระงับกลิ่นกาย (Mager และคณะ, 1987)

#### 5. ด้านอื่นๆ

บริษัท Saraya ประเทศญี่ปุ่นสามารถผลิตไฮโรลิพิดในเชิงพาณิชย์ได้โดยใช้เป็นสารทำความสะอาดในน้ำยาล้างจาน (Futura และคณะ, 2002) และผลิตภัณฑ์ซักผ้า (Hall และคณะ, 1996)

จากคุณสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ จึงนำมาใช้เป็นส่วนผสมในการทำทำความสะอาดผักและผลไม้ (Pierce และ Heilman, 1998) และเป็นสารยับยั้งเชื้อราก่อโรคในพืช เช่น *Phytophthora* sp. และ *Phythium* sp. (Yoo และคณะ, 2005) และยับยั้งการเกิด algal bloom (Gi, 2004) เป็นต้น ทางด้านการแพทย์ใช้ไฮโรลิพิดมาทดลองเพื่อการยับยั้งเซลล์มะเร็ง เช่น Isoda และคณะ (1997) ได้ทดลองนำไฮโรลิพิดมารักษาเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว HL-60 ที่เป็น promyelocyte พบว่าเซลล์ถูกกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงพัฒนาเป็นตัวแก่ที่สามารถทำงาน



ปกติได้ แทนที่เซลล์จะมีการเพิ่มจำนวน และยังไปยังยังการทำงานของ protein kinase C ในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวด้วย เป็นต้น

แม้ว่าไซโฟโรลิพิดจะมีประโยชน์ในอุตสาหกรรมต่างๆ แต่ในความเป็นจริงแล้วจำนวนการจดสิทธิบัตรการนำมาใช้ยังมีไม่มากนัก เนื่องจากยังมีต้นทุนการผลิตที่สูงจึงยังไม่มีนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอย่างเต็มที่ (Rau และคณะ, 2001) ฉะนั้นจึงมีการวิจัยและพัฒนาเพื่อให้ได้ผลผลิตมากที่สุด และใช้สารตั้งต้นที่ราคาถูกเพื่อลดต้นทุนการผลิต เช่น การใช้แหล่งคาร์บอน 2 ชนิด เพื่อกระตุ้นการเจริญและการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพของจุลินทรีย์ โดย Hommel และคณะ (1994) รายงานว่าเมื่อใช้คาร์โบไฮเดรตเป็นแหล่งคาร์บอนชนิดเดียวในการผลิตไซโฟโรลิพิดจะได้ผลผลิตต่ำ เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้กลูโคสซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนที่ละลายน้ำ (hydrophilic carbon source) ร่วมกับแหล่งคาร์บอนที่ไม่ละลายน้ำ (hydrophobic carbon source) เป็นต้น

ตารางที่ 2.5 การผลิตไซโฟโรลิพิดจากยีสต์และแหล่งคาร์บอนต่างชนิดกัน

จุลินทรีย์	แหล่งคาร์บอน	ผลผลิต (กรัมต่อลิตร)	อ้างอิง
<i>Candida bogoriensis</i>	กลูโคส	0.5-1	Tulloch และคณะ, 1968
<i>Torulopsis bombicola</i> ATCC 22214	กลูโคสและน้ำมันถั่ว เหลือง	67	Cooper และ Paddock, 1984
<i>Torulopsis bombicola</i> ATCC 22214	- น้ำมันเมล็ดทานตะวัน และกลูโคส	38	Klekner และคณะ, 1991
	- น้ำมันเมล็ดทานตะวัน และซูโครส	33	
<i>Candida bombicola</i> ATCC 22214	- น้ำมันดอกคำฝอยและ กลูโคส	135	Zhou และ Kosaric, 1992
	- แลคโตสและน้ำมัน มะกอก	46.46	Zhou และ Kosaric, 1993
	- ซูโครสและน้ำมันดอก คำฝอย	58.32	
<i>Torulopsis bombicola</i> ATCC 22214	กลูโคสและน้ำมันถั่ว เหลือง	80	Lee และ Kim, 1993

ตารางที่ 2.5 การผลิตไซโฟโรลิติดจากยีสต์และแหล่งคาร์บอนต่างชนิดกัน (ต่อ)

จุลินทรีย์	แหล่งคาร์บอน	ผลผลิต (กรัมต่อลิตร)	อ้างอิง
<i>Candida apicola</i> IMET 43747	กลูโคส	3.6	Hommel และคณะ, 1994
<i>Candida bombicola</i> ATCC 22214	กลูโคสและ rapeseed ester	340	Davila และคณะ, 1994
<i>Candida bombicola</i> ATCC 22214	ไขมันสัตว์และกลูโคส	120	Deshpande และ Daniels, 1995
<i>Candida bombicola</i> ATCC 22214	- กลูโคสและน้ำมันคาโนลา	150-160	Zhou และ Kosaric, 1995
	- แลคโตสและน้ำมันคาโนลา	90-110	
<i>Candida bombicola</i> ATCC 22214	กลูโคสและกรดโอเลอิก	180	Rau และคณะ, 1996
<i>Candida bombicola</i> ATCC 22214	กลูโคสและ rapeseed ethyl ester	320	Davila และคณะ, 1992
		250-300	Davila และคณะ, 1997
<i>Candida bombicola</i> NRRL Y-17069	กลูโคสและน้ำมันเมล็ดทานตะวัน	120	Casas และ Garcia-Ochoa, 1999
<i>Candida bombicola</i> ATCC 22214	Rapeseed oil และ กลูโคส	> 300	Rau และคณะ, 2001
<i>Candida bombicola</i> ATCC 22214	กลูโคสและกรดโอเลอิก	350	Guilmanov และคณะ, 2002
<i>Candida bombicola</i> ATCC 22214	น้ำตาลกากถั่วเหลืองและกรดโอเลอิก	21	Solaiman และคณะ, 2004
<i>Candida bombicola</i> ATCC 22214	ไบโอดีเซล	60	Ashby และคณะ, 2005
<i>Candida bombicola</i> ATCC 22214	- ไขมันสัตว์	120	Felse และคณะ, 2007
	- น้ำมันมะพร้าว	40	
<i>Candida lipolytica</i> UCP 0988	น้ำมันคาโนลาและ กลูโคส	8	Sarubbo และคณะ, 2007

ตารางที่ 2.5 การผลิตไซโฟโรลิตจากยีสต์และแหล่งคาร์บอนต่างชนิดกัน (ต่อ)

จุลินทรีย์	แหล่งคาร์บอน	ผลผลิต (กรัมต่อลิตร)	อ้างอิง
<i>Candida bombicola</i> ATCC 22214	น้ำตาลกากถั่วเหลือง และกรดโอเลอิก	75	Solaiman และคณะ, 2007
<i>Candida batistae</i> CBS 8550	กลูโคสและน้ำมัน มะกอก	6	Konishi และคณะ, 2008