บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สารลดแรงตึงผิว (surfactant)

คือ สารที่มีความสามารถในการลดแรงตึงผิวระหว่างผิวของของเหลวลง ซึ่งส่งผลให้ของเหลวเกิดการแพร่กระจายตัวได้ดีขึ้น โดยทั่วไปโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวประกอบด้วย

ส่วนที่ชอบน้ำหรือส่วนหัว (Hydrophilic moieties, head group)

ส่วนที่ชอบน้ำ หรือส่วนหัวเป็นส่วนที่สามารถเข้าได้ดีกับน้ำหรือกลุ่มของสารละลายที่มีขั้ว อาจเป็น คาร์โบไฮเดรต (carbohydrate) กรดคาร์บอกซิลิก (carboxylic acid) ฟอสเฟต (phosphate) เปบไทด์วงแหวน (cyclic peptide) และแอลกอฮอล์ เป็นต้น

ส่วนที่ไม่ชอบน้ำหรือส่วนหาง (Hydrophobic moieties, tail group)

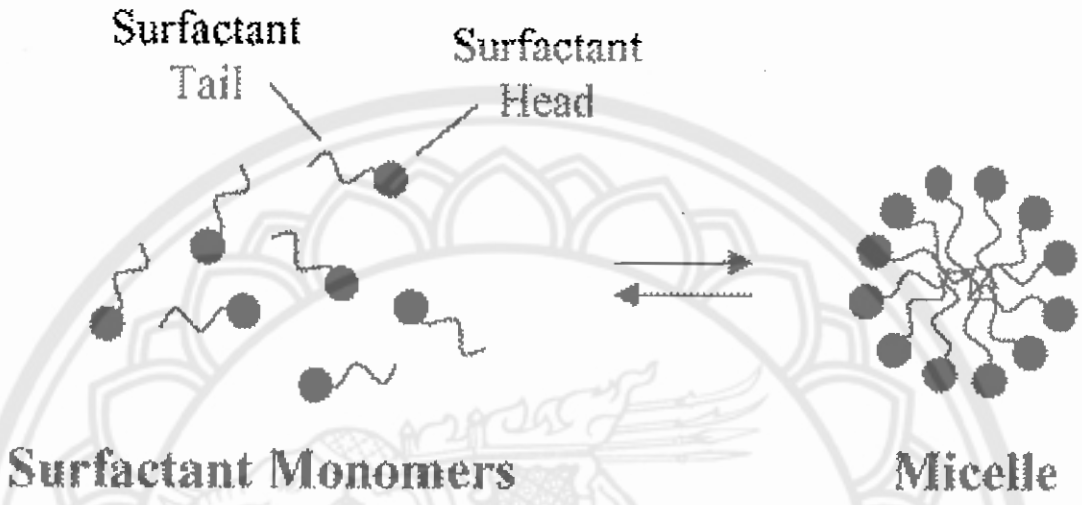
ส่วนที่ไม่ชอบน้ำ หรือส่วนหาง เป็นส่วนที่สามารถเข้าได้ดีกับตัวทำละลายอินทรีย์หรือกลุ่มของสารละลายที่ไม่มีขั้ว เช่น กลุ่มของ hydrocarbon chain, unsaturated fatty acid และ saturated fatty acid

จากลักษณะโครงสร้างดังกล่าวสามารถส่งผลให้เกิดการลดค่าแรงตึงผิวของตัวทำละลายลง ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่ดีในการนำสารลดแรงตึงผิวมาเป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์ซักล้าง (detergent) ผงซักฟอก สารเกิดฟองและการเกิดอิมัลชัน (Desai and Banat, 1997) โดยค่าของแรงตึงผิวมีหน่วยเป็นมิลลินิวตันต่อตารางเมตร (mN/m) หรือ ไดน์ (dyne) โดยทั่วไปสารลดแรงตึงผิวสามารถทำหน้าที่ลดแรงตึงผิวระหว่างสองพื้นที่ผิวที่สัมผัสกันได้ เช่น ลดแรงตึงผิวระหว่างของแข็งกับของเหลว ระหว่างของเหลวกับของเหลว และระหว่างของเหลวกับก๊าซ ค่าแรงตึงผิวระหว่างพื้นผิวของน้ำกับอากาศ เรียกว่า surface tension และค่าแรงตึงผิวระหว่างน้ำกับไฮโดรคาร์บอน เรียกว่า interfacial tension (Kim et al., 1997)

เมื่อสารลดแรงตึงผิวมีความเข้มข้นสูงในตัวทำละลาย โมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวจะหันส่วนที่ไม่ชอบน้ำเข้าหากัน ด้วยแรงจับกันของสารลดแรงตึงผิว (surfactant self-association) เกิดเป็นโครงสร้างที่เรียกว่า ไมเซลล์ (micelle) (ภาพ 1) ซึ่งความเข้มข้น ณ จุดที่ทำให้โมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวมารวมกันนี้ เป็นคุณสมบัติเฉพาะของสารลดแรงตึงผิวแต่ละชนิด เรียกความเข้มข้น ณ จุดนี้ว่า critical micelle concentration (CMC)

การเกิดไมเซลล์ส่งผลต่อค่าแรงตึงผิวของสารละลาย เมื่อความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวในสารละลายเพิ่มขึ้น ค่าแรงตึงผิวของสารละลายจะมีค่าลดลงจนถึงจุด CMC คือ

ค่าแรงตึงผิวของสารละลายจะไม่ลดลงอีก ถึงแม้จะเพิ่มความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวลงไปในสารละลายก็ตาม (Fiechter, 1992)



ภาพ 1 การจัดเรียงตัวของสารลดแรงตึงผิวซึ่งมีโครงสร้างเป็นโมเลกุลแอมฟิพาติก (amphipatic molecules)

ที่มา Rangel-Yagui, Junior and Tavares (2005)

สารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ (synthetic surfactants)

ในปัจจุบันการทำกิจกรรมและกระบวนการต่างๆ ทั้งในบ้านเรือนและโรงงานอุตสาหกรรมมีความจำเป็นต้องอาศัยสารลดแรงตึงผิว ซึ่งสารลดแรงตึงผิวโดยมากเป็นสารสังเคราะห์มากกว่าสารที่ได้มาจากธรรมชาติ สารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ที่ผลิตได้นั้น มาจากกระบวนการปิโตรเคมีหรือผลิตจากวัตถุดิบธรรมชาติโดยผ่านกระบวนการทางเคมี ตัวอย่างของสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ที่ใช้ในชีวิตประจำวัน คือ ดีเทอร์เจนท์ (detergent) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในการทำความสะอาด โดยมีส่วนประกอบหลักเป็นสารลดแรงตึงผิว โดยในปัจจุบันทั่วโลกได้มีการใช้ผลิตภัณฑ์สารลดแรงตึงผิวประมาณ 1,000,000 ตันต่อปี ซึ่งนอกจากมีการนำมาใช้ในบ้านเรือนแล้ว ในโรงงานอุตสาหกรรมใหญ่ๆ ก็มีการนำสารลดแรงตึงผิวไปใช้ เช่น อุตสาหกรรมยาฆ่าแมลง อุตสาหกรรมยา อุตสาหกรรมฟอกย้อม อุตสาหกรรมเส้นใย อุตสาหกรรมถลุงแร่ อุตสาหกรรมน้ำมัน และอุตสาหกรรมพลาสติก จึงจัดได้ว่าสารลดแรงตึงผิวมีบทบาทสำคัญอย่างยิ่งในทางเศรษฐกิจ

ประเภทของสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์

สารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ สามารถจัดจำแนกออกได้เป็นกลุ่มต่างๆ โดยอาศัยความแตกต่างของโครงสร้างของโมเลกุล ได้ดังนี้

1. **กลุ่มที่ชอบน้ำ** (Hydrophilic groups)

สามารถแบ่งกลุ่มของสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ตามโครงสร้างของโมเลกุล โดยอาศัยความแรงของขั้วและประจุของกลุ่มที่ชอบน้ำหรือส่วนหัวในการจัดจำแนก

1.1 **สารลดแรงตึงผิวประจุลบ** (Anionic surfactant) ตัวอย่างของสารลดแรงตึงผิวประจุลบได้แก่ สบู่ ซึ่งส่วนประกอบของสบู่ที่พบส่วนมากคือ สารคาร์บอกซิลิก ($-COO^-$) และสารดีเทอร์เจนท์สังเคราะห์ โดยในยุคต้นๆ มักประกอบด้วยซัลโฟเนต [sulphonates ($-SO^-_3$)] และซัลเฟต [sulphates($-SO^-_4$)] โดยซัลโฟเนตและซัลเฟตมีคุณสมบัติดีกว่าคาร์บอกซิเลต (carboxylates) โดยสามารถทนต่ออิออนของโลหะที่พบในน้ำกระด้างได้ดี จึงส่งผลให้มีการนำสารทั้งสองชนิดมาใช้เป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์ทำความสะอาด

1.2 **สารลดแรงตึงผิวประจุบวก** (cationic surfactant) มักประกอบด้วย ควอเทอร์นารีแอมโมเนียม (quaternary ammonium) อิมมิดาโซเลียม (imidazolium) หรือสารประกอบอัลคิลไพริดิเนียม (alkyl pyridinium compounds) โดยส่วนนี้จะแสดงการมีขั้วบวกออกมา ซึ่งสารลดแรงตึงผิวประจุบวกมักจะจับกับประจุลบบนเส้นใยได้ดี เช่น ฝ้ายหรือเส้นผม จึงมีความนิยมนำมาใช้ในงานที่เกี่ยวข้องกับการทำความสะอาดผ้าและใช้เป็นส่วนประกอบในครีมนวดผม

1.3 **สารลดแรงตึงผิวที่มีทั้งประจุบวกและลบ** (zwitterionic surfactants) เป็นสารลดแรงตึงผิวที่โครงสร้างของโมเลกุลประกอบด้วยประจุบวกและประจุลบ โดยส่วนมากจะอยู่ในรูปของบีเทน [betaines ($-N^+(CH_3)_2CH_2CO_2$)] หรือซัลโฟบีเทน [sulphobetaines ($-N^+(CH_3)_2CH_2SO_3^-$)] ซึ่งส่วนประกอบเหล่านี้มีฤทธิ์อ่อนต่อผิวหนังและดวงตา ทำให้มีความนิยมนำมาใช้เป็นส่วนประกอบในแชมพูสระผมของเด็ก

1.4 **สารลดแรงตึงผิวไร้ประจุ** (non ionic surfactants) ตัวอย่างที่สำคัญ ได้แก่ เอธทอกซิเลต [ethoxylates ($(OCH_2CH_2)_nOH$)] ซึ่งมีความนิยมใช้กันอย่างกว้างขวางสำหรับการชะล้าง โดยสารลดแรงตึงผิวกลุ่มนี้มีความสามารถทำให้เกิดอิมัลชันได้ที่อุณหภูมิต่ำ องค์ประกอบของสารลดแรงตึงผิวกลุ่มนี้อาจมีสารประกอบชนิดเซมิโพลาร์ (semi-polar) รวมอยู่ด้วย เช่น amine oxides, sulphoxides และ phosphine oxides โดยข้อดีของสารลดแรงตึงผิวกลุ่มนี้คือไม่เป็นพิษ สามารถใช้ได้กับค่าความเป็นกรด-ด่างในช่วงที่กว้าง

1.5 **สารลดแรงตึงผิวแบบผสม** (combination surfactants) เป็นการนำสารลดแรงตึงผิวในข้อ 2.1.1, 2.1.2, 2.1.3 และ 2.1.4 มารวมกันไว้ในสารลดแรงตึงผิวชนิดเดียว โดยทั่วไปโครงสร้างของสารลดแรงตึงผิวกลุ่มนี้จะประกอบด้วย alkyl ethoxy sulfates [$(-CH_2CH_2)_nSO_4^-$] ซึ่งสารกลุ่มนี้มีความละมุนต่อผิวหนัง จึงมักนำมาใช้เป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์ที่ต้องใช้กับผิวหนัง เช่น น้ำยาล้างจานและแชมพู เป็นต้น

2. **กลุ่มไม่ชอบน้ำ** (hydrophobic groups)

ซึ่งกลุ่มนี้โดยทั่วไปเป็นส่วน hydrophobic groups หรือส่วนหาง ซึ่งประกอบด้วยกลุ่มของไฮโดรคาร์บอน โดยสารในกลุ่มนี้มีการนำมาทำสบู่กันมาก โดยส่วนประกอบที่หางเป็นการผสมกันของ alkyl groups ซึ่งพบอยู่ในกรดไขมัน ที่ได้มาจากการแตกตัวของน้ำมันและไขมันจากธรรมชาติ โดยในสมัยแรกๆ ของการผลิตสบู่มีการใช้ alkyl benzene sulphonates ในการผลิต โดย alkyl group ที่พบบ่อยจะมีการแตกสายโซ่มาจาก tetrapropylene feedstock ซึ่งผลของการแตกสายโซ่นั้น ส่งผลให้สภาพแวดล้อมเสื่อมลงเพราะเป็นสารที่สลายตัวยาก โดยถ้ามีการปนเปื้อนในแหล่งน้ำจะส่งผลให้แม่น้ำเกิดการเน่าเสีย และทำให้เกิดฟองในแหล่งน้ำนั้นขึ้น อย่างไรก็ตามในปัจจุบันมีการใช้ linear alkyl benzene sulphonates เข้ามาแทนที่เพราะเป็นสารที่สลายตัวง่ายในธรรมชาติ และ alkyl group ที่พบบ่อยเป็น $n\text{-}C_{12}H_{25}$ โดยเฉพาะถ้าส่วนหางไม่มี aromatic component เป็นส่วนประกอบก็จะเป็นการรักษาสภาพแวดล้อมได้มากขึ้น

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากจุลินทรีย์ (Biosurfactants)

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพเป็นกลุ่มโครงสร้างของแอมฟิพาติกโมเลกุลที่เชื้อจุลินทรีย์สร้างขึ้น โดยโมเลกุลเหล่านี้เมื่ออยู่ในสารละลายสามารถลดแรงตึงผิวหน้าและแรงตึงผิวระหว่างผิวหน้าของสารละลายสองชนิดลงได้ ส่งผลให้สารประกอบไฮโดรคาร์บอนสามารถละลายได้ในน้ำ หรือส่วนของน้ำสามารถละลายในสารประกอบไฮโดรคาร์บอนได้ อีกทั้งสารลดแรงตึงผิวชีวภาพยังไม่ก่อให้เกิดการตกค้างของสารเคมีในสิ่งแวดล้อมอีกด้วย ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่เหมาะสมในการนำมาเป็นส่วนประกอบในผงซักฟอก และการเกิดอิมัลชัน (Desai and Banat, 1997)

ประเภทของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

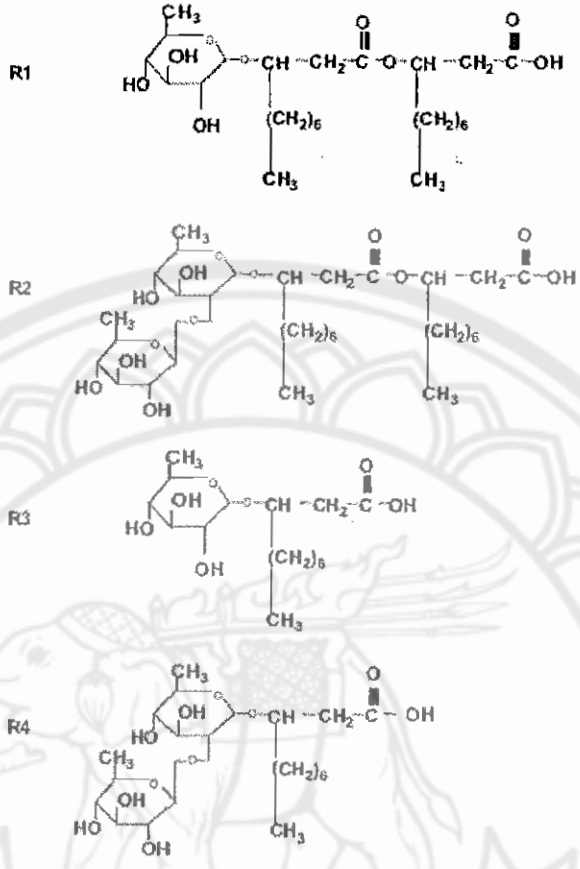
สารลดแรงตึงผิวชีวภาพสามารถจัดจำแนกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ จำแนกตามโครงสร้างและน้ำหนักโมเลกุล แต่วิธีการจำแนกที่นิยมใช้ ได้แก่ การจัดจำแนกตามโครงสร้างของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ซึ่งสามารถแบ่งเป็นกลุ่มหลักๆ 4 กลุ่มดังนี้ คือ

1. **ไกลโคลิปิด** (glycolipid)

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพกลุ่มนี้มีโครงสร้างเป็นคาร์โบไฮเดรต โดยมีการรวมตัวกันของ aliphatic acid สายยาวหรือ hydroxyaliphatic acid และมีส่วนประกอบของ monosaccharides, disaccharides, trisaccharides, tetrasaccharides ซึ่งสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกลุ่มนี้มักประกอบด้วยน้ำตาลชนิดต่างๆ เช่น glucose, mannose, galactose, rhamnose, glucuronic acid และ galactose sulphate โดย fatty acid ที่มีองค์ประกอบอย่างง่ายของ phospholipids สารลดแรงตึงผิวชีวภาพในกลุ่มของไกลโคลิปิดที่รู้จักกันมีดังนี้

1.1 Rhamnolipids

Rhamnolipids เป็นสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตจากเชื้อแบคทีเรียสกุล *Pseudomonas* sp. โดย rhamnolipids ประกอบด้วยน้ำตาล rhamnose จำนวน 1 หรือ 2 โมเลกุล เชื่อมอยู่กับ β-hydroxydecanoic acid ด้วยพันธะไกลโคซิดิค (glycosidic linkage) ปัจจุบันพบว่า rhamnolipids มีโครงสร้างที่แตกต่างกันหลายรูปแบบ (ภาพ 2) โดยโครงสร้างแรกพบเมื่อปี ค.ศ. 1946 โดยผลิตจากเชื้อแบคทีเรีย *P. aeruginosa* (Deziel, 2000; Lang, 2002)



ภาพ 2 **โครงสร้างรูปแบบต่างๆ ของ** rhamnolipids **ที่ผลิตจากเชื้อ** *Pseudomonas* sp.

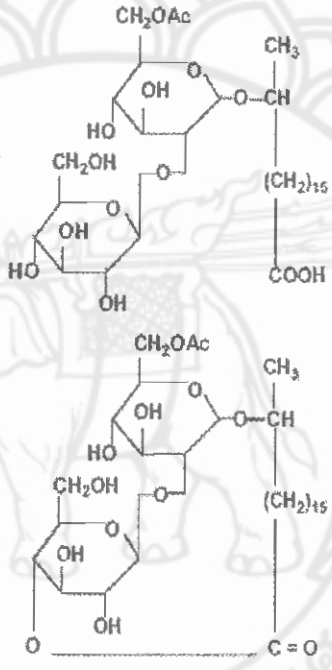
ที่มา Mulligan (2005)

1.2 Trehalolipids

Trehalolipids มักพบในผนังเซลล์ของแบคทีเรียโดยโครงสร้างของ trehalolipids ประกอบด้วยน้ำตาล trehalose 2 โมเลกุลที่เชื่อมต่ออยู่กับ mycolic acid ซึ่งประกอบด้วยสายยาวของ α-branced-β-hydroxy fatty acid ซึ่ง trehalolipids ถูกผลิตโดยแบคทีเรียกลุ่ม *Arthrobacter* sp., *Nocardia* sp., *Corynebacterium* และ *Rhodococcus erythropolis* โดย trehalolipids ที่ผลิตจากเชื้อจุลินทรีย์ต่างชนิดกัน จะมีลักษณะโครงสร้างที่แตกต่างกันในส่วนของอะตอมคาร์บอน โดยแบคทีเรียสกุล *Arthrobacter* sp. สามารถลดแรงตึงผิวระหว่างผิวน้ำกับอากาศ และแรงตึงผิวระหว่างน้ำกับไฮโดรคาร์บอน ในอาหารเลี้ยงเชื้อแบบเหลว (broth culture) ได้ต่ำถึงประมาณ 1-5 mN/m (Li et al., 1984)

1.3 Sophorolipids

Sophorolipids เป็นที่รู้จักตั้งแต่ปี 1961 มักพบในยีสต์สายพันธุ์ต่างๆ เช่น *Troulopsis petrophillum* และ *T. bombicola* (Cooper and Paddock, 1983) โดยโครงสร้างของ sophorolipids ประกอบด้วยน้ำตาล sophorose ที่เชื่อมต่อด้วยพันธะไกลโคซิดิคกับ hydroxyl fatty acid คือ 17-L-hydroxyoctadecanoic และ 17-L-hydroxy-9-octadecenoic acid (ภาพ 3)



ภาพ 3 โครงสร้างของ sophorolipid ที่ผลิตจากเชื้อ *C. bombicola*

ที่มา Mulligan, (2005)

1.4 Monosylerythritol lipids

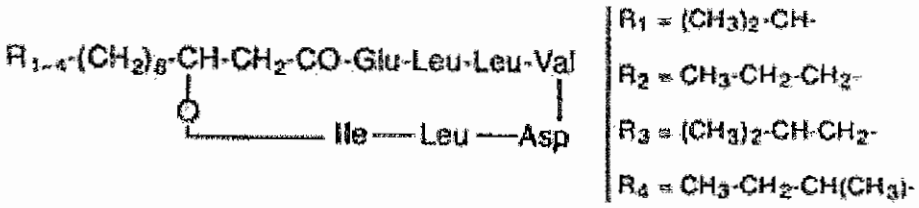
Monosylerythritol lipids เป็นผลผลิตจากเชื้อยีสต์สกุล *Candida* sp. SY16 โดยส่วนประกอบในโครงสร้างประกอบด้วยส่วนที่ชอบน้ำคือ β-D-monopyranosy-(1 ⟶ 4)-O-mesoserythriol ส่วนกลุ่มที่ไม่ชอบน้ำ คือ fatty acid เมื่อนำมาวิเคราะห์หาองค์ประกอบด้วยเครื่อง gas chromatography-mass spectroscopy พบว่าประกอบด้วย hexanoic, dodecanoic, tetradecanoic และ tetradecenoic acid และเมื่อนำไปวิเคราะห์หาโครงสร้างของสารลดแรงตึงผิวชนิดนี้ด้วยเทคนิค NMR ได้เป็น 6-O-acetyl-2,3-di-O-alkanoyl-

β-D-mannopyranosyl-(1 ⟶ 4)-O-meso-erythriol โดยหมู่ acetyl group เชื่อมต่อกับน้ำตาล mannose ตรงตำแหน่งคาร์บอนตำแหน่งที่ 6 (Kim et al., 1999)

2. **ลิโปเปปไทด์** (Lipopeptides หรือ Lipoproteins)

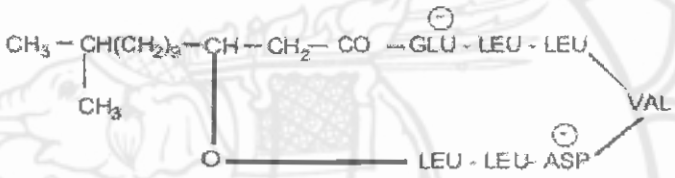
จุลินทรีย์ในสกุล *Bacillus* สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในกลุ่มลิโปเปปไทด์ โดยมีไขมันจับอยู่กับสายเปปไทด์ ซึ่งสารกลุ่มนี้นับว่าเป็นสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุด ตัวอย่างของสารกลุ่ม cyclic lipopeptides (ภาพ 4) ได้แก่ decapeptide antibiotic (gramicidins) เป็นผลผลิตของเชื้อ *Bacillus brevis* และ lipopeptides antibiotic (polymyxins) เป็นผลผลิตของเชื้อ *B. polymyxa* โดยพบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตจากเชื้อ *B. subtilis* ATCC 21332 จัดเป็นสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีประสิทธิภาพมากในกลุ่มนี้ โดยสามารถลดแรงตึงผิวของน้ำจาก 72.0 ลงมาถึง 27.9 mN/m โดยใช้ความเข้มข้นของสารเพียง 0.005 เปอร์เซ็นต์ (Desai and Banat, 1997) ส่วนเชื้อ *B. licheniformis* สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้หลายชนิด ซึ่งขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ ค่า pH และความเค็ม (McInerney, Javaheri and Nagle, 1990) ซึ่ง BL-86 เป็นสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดย *B. licheniformis* 86 สามารถลดแรงตึงผิวระหว่างพื้นผิวของน้ำกับอากาศได้ต่ำถึง 27 mN/m และลดแรงตึงผิวระหว่างน้ำกับสารประกอบไฮโดรคาร์บอน hexadecane ได้ต่ำถึง 0.36 mN/m (Horowitz, Gilbert and Giffin, 1990)

สารในกลุ่มนี้สามารถแบ่งได้เป็น surfactin, Iturin และ fengycin ซึ่งสารทั้ง 3 จะแตกต่างกันที่โครงสร้างและคุณสมบัติ กล่าวคือ Surfactin ประกอบด้วยกรดอะมิโนชนิดแอลฟา 7 โมเลกุล คือ L-Glu-L-Leu-D-Leu-L-Val-L-Asp-D-Leu-L-Leu และ β-hydroxyl fatty acid คาร์บอน 13-15 อะตอม (ภาพ 5) สำหรับ Fengycin มีกรดอะมิโน 10 โมเลกุลต่อกันเป็นวงและมีโมเลกุลของกรดไขมัน 14-17 คาร์บอนอะตอม ขณะที่ Lturin ประกอบด้วยกรดอะมิโนชนิดเบต้า 7 โมเลกุลต่อกันเป็นวงและมีโมเลกุลของกรดไขมัน 14-17 คาร์บอนอะตอม



ภาพ 4 โครงสร้างของ cyclic lipopeptides **ที่ผลิตจากเชื้อ** *Bacillus brevis*

ที่มา Desai and Banat (1997)



ภาพ 5 โครงสร้างของ surfactin **ที่ผลิตจากเชื้อ** *Bacillus* sp.

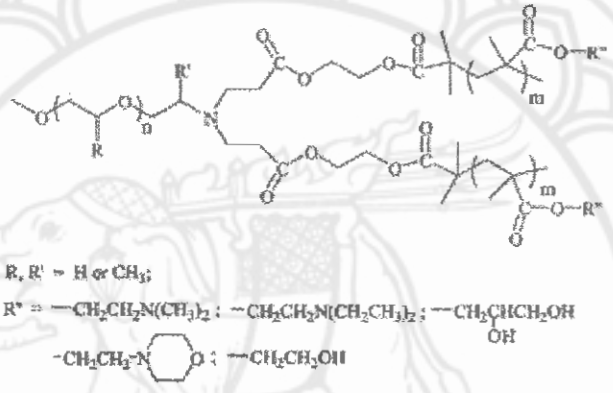
ที่มา Desai and Banat (1997)

3. ฟอสโฟลิปิด กรดไขมัน และนิวทรัลลิปิด (Phospholipids, Fatty acids และ Neutral lipids)

แบคทีเรียและยีสต์หลายชนิดที่มีความสามารถในการเจริญในสารประกอบไฮโดรคาร์บอนได้ พบว่ามีความสามารถในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในกลุ่มนี้ได้ (Cirigliano and Carman, 1984) สำหรับเชื้อจุลินทรีย์ *Acinetobacter* sp. HO1-N สามารถผลิต Phosphatidylethanolamine อยู่ในถุงเล็กๆ มีลักษณะเป็น vesicles (Kappeli and Finnerty, 1979) โดยคุณสมบัติของถุงเล็กๆ นี้ คือ สามารถทำให้เกิด microemulsions ของ alkanes ในน้ำ ซึ่งสามารถสังเกตได้อย่างชัดเจน Phosphatidylethanolamine ถูกผลิตโดยเชื้อ *Rhodococcus erythropolis* ที่เจริญบน n-alkanes สามารถลดแรงตึงผิวระหว่างน้ำกับ hexadecane ได้ต่ำมากถึง 1 mN/m และค่า CMC เท่ากับ 30 มิลลิกรัมต่อลิตร (Kretschmer, Bock and Wagner, 1982)

4. **โพลิเมอร์ริก** (Polymeric surfactants)

โพลิเมอร์ริกส่วนมากเป็นพวก emulsan, liposan, monoprotein และสารประกอบเชิงซ้อนของ polysaccharide protein (ภาพ 6) โดย liposan เป็น extracellular water-soluble emulsifier ที่ถูกผลิตโดย *Candida lipolytica* ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรต 83 เปอร์เซ็นต์ และโปรตีน 17 เปอร์เซ็นต์ โดยในส่วนของคาร์โบไฮเดรตจะเป็น heteropolysaccharide ที่ประกอบด้วย glucose, galactose, galactosamine และ galacturonic acid (Cirigliano and Carman, 1984)



ภาพ 6 โครงสร้างของ Polymeric surfactants

ที่มา Cirigliano and Carman (1984)

จุลินทรีย์ที่ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

จุลินทรีย์ที่ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพส่วนใหญ่ ได้แก่ แบคทีเรีย รา และยีสต์ ซึ่งคุณสมบัติของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ได้ โดยเชื้อจุลินทรีย์ทำการสร้างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพออกมานอกเซลล์และเป็นส่วนหนึ่งของเซลล์ซึ่งมีประโยชน์โดยสามารถใช้อาหารที่ไม่สามารถละลายน้ำในการเจริญ เป็นผลมาจากการรวมตัวกันของความมีขั้วและไม่มีขั้วไว้ในโมเลกุลเดียวกัน ความไม่มีขั้วหรือส่วนที่ไม่ชอบน้ำจะเป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนทั่วไป เช่น สายโซ่ไฮโดรคาร์บอนของไขมัน สำหรับความมีขั้วหรือกลุ่มที่ชอบน้ำ เช่น กลุ่มที่ทำหน้าที่เอสเทอร์และแอลกอฮอล์ของไขมัน ฟอสเฟตที่เป็นส่วนประกอบของฟอสโฟลิปิดและน้ำตาลเป็นส่วนประกอบของไกลโคไลปิด (Desai and Banat, 1997) สารลดแรงตึงผิวที่ดีควรให้ค่า CMC ต่ำ แต่ให้ค่าลดแรงตึงผิวที่สูง (Lin et al., 1998) ชนิดของจุลินทรีย์ที่สามารถสร้างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ดังตาราง 1

ตาราง 1 จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

Class	Biosurfactant	Microorganisms	References
Low molecular weight	Rhamnolipids	*Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia rubidea*	(Benincasa et al., 2004)
	(Hydroxyalkanoyloxy) alkanoic acids (HAAs) Rhamnolipid precursor	*Pseudomonas aeruginosa*	(Déziel et al., 2003)
	Trehalose lipids	*Arthrobacter paraffineus*, *Rhodococcus erythropolis*, *Mycobacterium*	(Uchida et al., 1989)
	Sophorose lipids	*Candida lipolytica*, *Torulopsis bombicola*	(Hommel et al., 1994)
	Cellobiose lipids	*Ustilago maydis*	(Fiechter, 1992)
	Viscosin	*Pseudomonas fluorescens*	(Neu, Haertner and Poralla, 1990)
	Surfactin	*Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus*	(Carrillo et al., 2003)
	Polymixins	*Bacillus polymyxa*	(Falagas and Kasiakou, 2005)
	Gramicidin S	*Bacillus brevis*	(Azuma and Demain, 1996)
	Phospholipids	*Acinetobacter*, *Thiobacillus thiooxidans*	(Lemke, Churchill and Wetzel, 1995)
	Polyol lipids	*Rhodotorula glutinis*, *Rhodotorula graminis*	(Yoon and Rhee, 1983)
	Serrawettin	*Serretia marcescens*	(Li et al., 2005)
	Flavolipids	*Flavobacterium sp.*	(Bodour et al., 2004)
	Sulfonolipids	*Capnocytophaga*, *Corynebacterium*	(Godchaux III and Leadbetter, 1983)

ตาราง 1 (ต่อ)

Class	Biosurfactant	Microorganisms	References
Low molecular weight	Ornithin, lysine peptides	*Gluconobacter cerinus, Thiobacillus thiooxidans, Streptomyces tendae*	(Richter et al., 1998)
	Fatty acids	*Nocardia erythropolis, Arthrobacter parafineus, Corynebacterium lepus, Penicillium spiculisporum, Talaromyces trachyspermus*	(Makkar and Cameotra, 2002)
	Diglycosyl diglycerides	*Rhizobium trifolii*	(Orgambide, Hollingsworth and Dazzo, 1992)
High molecular weight	Alasan	*Acinetobacter radioresistens*	(Navon-Venezia et al., 1995)
	Emulsan	*Acinetobacter calcoaceticus*	(Rosenberg, 1993)
	Biodispersan	*Acinetobacter calcoaceticus*	(Rosenberg et al., 1988)
	Liposan	*Candida lipolytica*	(Cirigliano and Carman, 1984)
	Food emulsifier	*Candida utilis*	(Shepherd et al., 1994)
	Insecticide emulsifier	*Pseudomonas tralucida*	(KA. Anu Appaiah and Karanth, 1991)
	Acetyl heteropolysaccharide	*Sphingomonas paucimobilis*	(Ashtaputre and Shah, 1995)
	Sulfated polysaccharide	*Halomonas eurihalina*	(Martinez Checa et al., 2002)
	N-acetyl and O-pyruvil heteropolysaccharide	*Pseudomonas fluorescens*	(Bonilla et al., 2005)

ที่มา Jonathan et al. (2006)

สารก่ออิมัลชันชีวภาพ (Bioemulsifier)

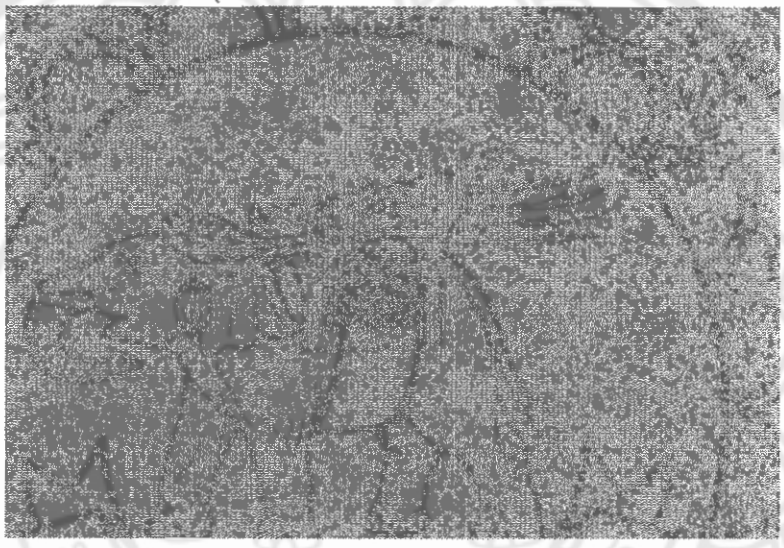
การเป็นสารก่ออิมัลชัน (emulsifier) เป็นคุณสมบัติหนึ่งของสารลดแรงตึงผิว แต่อย่างไรก็ตามโดยมากมีความนิยมเรียกรวมกันว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ โดยสารก่ออิมัลชันชีวภาพมีความสามารถในการลดแรงตึงผิวระหว่างของเหลว 2 ชนิดที่เข้ากันไม่ได้ หรือระหว่างของแข็งกับของเหลว แต่สารก่ออิมัลชันชีวภาพนั้นจะไม่มีคุณสมบัติในการลดแรงตึงผิวระหว่างของเหลวกับอากาศ และเมื่อทำการทดสอบประสิทธิภาพ Emulsification capacity จะไม่พบเหมือนกับสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ แต่เมื่อทดสอบประสิทธิภาพ Emulsification activity และ Emulsification stability จะพบการแสดงออกของสารก่ออิมัลชันชีวภาพ (Karanth, Deo and Veenanadig, 1999) โดยจุลินทรีย์สามารถผลิตสารก่ออิมัลชันชีวภาพออกได้ 2 กลุ่มคือ กลุ่มที่มีมวลโมเลกุลสูงและมีมวลโมเลกุลต่ำ (Rosenberg and Ron, 1997) โดยสารก่ออิมัลชันชีวภาพที่มีมวลโมเลกุลสูง เช่น bioemulsans (Ron and Rosenberg, 2001) amphipathic polysaccharides, proteins, lipopolysaccharides, lipoproteins (Toren et al., 2002) โดยแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตสารก่ออิมัลชันชีวภาพเป็นแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิต polysaccharides เช่น *Xanthomonas*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Erwinia*, *Aureobasidium*, *Leuconostoc* และ *Vibrio* spp. (El-Tayeb and Khodair, 2007)

การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากเชื้อ *Enterobacter cloacae* LK5

เชื้อ *Enterobacter cloacae* จัดเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ รูปท่อน สามารถเคลื่อนที่ได้ โดยเป็นเชื้อที่ต้องการอากาศในการเจริญเติบโต มีขนาดประมาณ 0.3-0.4 x 2.0-5.0 μm (ภาพ 7) ซึ่ง Toledo และคณะ (2006) ได้ทำการแยกเชื้อแบคทีเรียจากของเหลือทิ้งจากกระบวนการขุดเจาะน้ำมัน (waste crude oil) พบว่ามีเชื้อแบคทีเรีย *Enterobacter* sp. อาศัยอยู่และเมื่อนำมาเลี้ยงในอาหาร Mineral liquid media พบว่าเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Enterobacter* sp. มีความสามารถในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยให้ค่า Emulsification activity เมื่อทดสอบกับ n-octane และ xylene เท่ากับ 63.5 และ 65.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ อีกทั้งยังสามารถลดแรงตึงผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อลงได้ถึง 53.4 mN/m

ศิวพร ชัยวัน (2550) ได้ทำการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียจากตัวอย่างดินที่เก็บมาจากบริเวณรอบบ่อดักตะกอนน้ำมันในแหล่งสิริกิติ์ อำเภอลานกระบือ จังหวัดกำแพงเพชร และอู่ซ่อมรถบริเวณตำบลท่าโพธิ์ อำเภอเมืองจังหวัดพิษณุโลก ซึ่งสามารถแยกเชื้อแบคทีเรียได้ทั้งหมด 77 ไอโซเลต เมื่อถูกนำมาทดสอบคุณสมบัติ Emulsification capacity (EC) และ Emulsification activity (EA) พบว่าไอโซเลต LK5 ให้ค่า EC สูงสุด คือ 31.14 เปอร์เซ็นต์ และ ไอโซเลต G2 ให้ค่า EA สูงที่สุดคือ 83.10 เปอร์เซ็นต์ จากการจัดจำแนกโดยวิธีทางชีวเคมีและชุดทดสอบ

API system พบว่าแบคทีเรียทั้งสองไอโซเลตจัดอยู่ในสายพันธุ์ *Enterobacter cloacae* และเมื่อนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่สกัดได้มาทดสอบประสิทธิภาพในการชะน้ำมันออกจากเม็ดทราย (Oil removal) ด้วยวิธี Sand pack test พบว่าสารสกัดจาก *E. cloacae* ไอโซเลต LK5 และ G2 สามารถชะน้ำมันออกจากเม็ดทรายได้ 75.67 และ 77.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ อีกทั้งยังสามารถทำให้เกิดการคืนกลับของน้ำมัน (Oil recovery) ด้วยวิธี De-emulsification activity ได้ 51.68 และ 45.41 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ



ภาพ 7 ลักษณะของเชื้อ *Enterobacter cloacae* LK5 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

อิทธิพลขององค์ประกอบในอาหารเลี้ยงเชื้อและสภาวะที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อที่มีผลต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

1. **แหล่งคาร์บอน**

การศึกษาหาชนิดและปริมาณของแหล่งคาร์บอนมีความสำคัญเป็นอย่างมาก เนื่องจากแหล่งคาร์บอนมีความสำคัญในการสร้างพลังงานและเซลล์ของจุลินทรีย์ โดยจุลินทรีย์ที่เจริญในสภาวะที่มีอากาศจะใช้แหล่งคาร์บอนประมาณร้อยละ 50-55 ในการสร้างเซลล์ (Sandrin, Peypoux and Michel, 1990; สมใจ ศิริโภค, 2544) โดยแหล่งคาร์บอนส่วนใหญ่ที่นำมาใช้ในกระบวนการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ได้แก่ carbohydrates, hydrocarbon และ vegetable oils เป็นต้น

Javaheri และคณะ (1985) ได้แสดงให้เห็นว่าแบคทีเรีย *B. lichenformis* สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ปริมาณมากเมื่อเจริญอยู่ในอาหาร mineral salt medium ที่มี glucose และ 0.1 เปอร์เซ็นต์ yeast extract เป็นส่วนประกอบ และสามารถลดแรงตึงผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อจากประมาณ 70-74 mN/m ลงได้ถึง 28 mN/m

Mercade และคณะ (1996) ได้ทำการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากดินที่มีการปนเปื้อนสารประกอบไฮโดรคาร์บอน โดยใช้น้ำมันหล่อลื่นที่ใช้แล้วเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่ามีเชื้อแบคทีเรียจำนวน 44 สายพันธุ์ ที่สามารถใช้น้ำมันหล่อลื่นที่ใช้แล้วเป็นแหล่งคาร์บอนได้ และพบว่าแบคทีเรียสกุล *Rhodococcus* จำนวน 4 สายพันธุ์ และเชื้อแบคทีเรียสกุล *Bacillus* 1 สายพันธุ์ ที่สามารถลดแรงตึงผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อจาก 55 mN/m ลงได้ถึง 40 mN/m และสามารถลดแรงตึงผิวระหว่างอาหารเลี้ยงเชื้อกับ kerosene ลงจาก 21 mN/m จนเหลือน้อยกว่า 5 mN/m

Kim และคณะ (1997) ได้ทำการศึกษาอิทธิพลของแหล่งคาร์บอนต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* C9 โดยใช้ glucose, n-hexadecane และ soybean oil เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่า *B. subtilis* C9 สามารถลดแรงตึงผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อจาก 72.8 dyne/cm ลงไปเป็น 28.2 dyne/cm

Sim, Ward และ Li (1997) ได้ทำการศึกษาอิทธิพลของแหล่งคาร์บอนต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกลุ่ม Rhamnolipid จากเชื้อแบคทีเรีย *P. aeruginosa* UW-1 โดยใช้ glucose, canola oil และ soy bean oil เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าเชื้อแบคทีเรียสามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ 1.2, 11.0 และ 14.5 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

Patel และ Desai (1997) ได้ทำการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกลุ่ม Rhamnolipid จากเชื้อ *P. aeruginosa* GS3 โดยใช้ molasses และ cornsteep liquor เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจน โดยสามารถผลิต rhamnolipid ได้เท่ากับ 0.24 กรัมต่อลิตร

Haba และคณะ (2000) ได้ทำการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกลุ่ม Rhamnolipid จากแบคทีเรียสกุล *Pseudomonas* โดยใช้น้ำมันสำหรับทอดที่ใช้แล้วเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่ามีเชื้อแบคทีเรียจำนวน 36 สายพันธุ์ ที่สามารถใช้น้ำมันสำหรับทอดที่ใช้แล้วเป็นแหล่งคาร์บอนได้ และพบว่ามีแบคทีเรียสกุล *Pseudomonas* จำนวน 9 สายพันธุ์ ที่สามารถลดแรงตึงผิวของอาหารลงได้ถึง 34-36 mN/m ในขณะที่ *Bacillus* จำนวน 2 สายพันธุ์ สามารถลดแรงตึงผิวของอาหารลงได้ถึง 32-34 mN/m

Benincasa และ Contiero (2001) ได้ทำการศึกษาอิทธิพลของแหล่งคาร์บอนต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกลุ่ม Rhamnolipid จากเชื้อแบคทีเรีย *P. aeruginosa* LBI โดยใช้ Soapstock เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าเชื้อ *P. aeruginosa* LBI สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ 15.9 กรัมต่อลิตร

Costa, Nitschke และ Haddad (2005) ได้ทำการศึกษาอิทธิพลของแหล่งคาร์บอนต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกลุ่ม rhamnolipid จากเชื้อ *P. aeruginosa* strain LBI โดยใช้น้ำมันจาก Buriti (*Mauritia flexuosa*), Cupuacu (*Theobroma grandiflora*), Passion fruit (*Passiflora alata*), Andiroba (*Carapa guianensis*), Brazilian Nut (*Bertholletia excelsa*) และ Babassu (*Orbignya* spp.) เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าเมื่อใช้ Brazilian Nut เป็นแหล่งคาร์บอนสามารถผลิต Rhamnolipid ได้สูงที่สุดคือ 9.9 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือ Passion fruit โดยสามารถผลิตได้เท่ากับ 9.2 กรัมต่อลิตร

Nitschke และ Pastore (2006) ได้ทำการศึกษาอิทธิพลของอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีผลต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* LB5a โดยใช้น้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังมาเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่าสามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ 3 กรัมต่อลิตร ในเวลา 48 ชั่วโมง และสามารถลดแรงตึงผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อลงได้ถึง 26.6 mN/m

Wei และคณะ (2005) ได้ทำการศึกษาอิทธิพลของแหล่งคาร์บอนต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกลุ่ม Rhamnolipid จากเชื้อ *P. aeruginosa* J4 โดยใช้แหล่งคาร์บอน 7 ชนิดคือ glucose, glycerol, olive oil, sunflower oil, grape seed oil, diesel และ kerosene จากการทดลองพบว่าแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมที่สุดคือ olive oil ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ โดยสามารถผลิต Rhamnolipid ได้เท่ากับ 3.6 กรัมต่อลิตร และแหล่งคาร์บอนที่ผลิต Rhamnolipid ได้น้อยที่สุดคือ kerosene ซึ่งสามารถผลิตได้เพียง 0.3 กรัมต่อลิตร

Wu และคณะ (2007) ได้ทำการศึกษาการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกลุ่ม Rhamnolipid จากเชื้อ *P. aeruginosa* EM1 โดยได้ศึกษาแหล่งคาร์บอนทั้งหมด 7 ชนิดคือ glucose, glycerol, sucrose, hexane, oleic acid, olive oil และ soybean oil พบว่าเมื่อใช้แหล่งคาร์บอนเป็น glucose และ glycerol สามารถให้ค่า Yield ได้สูงสุด โดยได้เท่ากับ 7.50 และ 4.93 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

2. แหล่งไนโตรเจน

แหล่งไนโตรเจนที่ใช้ในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีความสำคัญเป็นอย่างมากเช่นเดียวกับแหล่งคาร์บอน เนื่องจากแหล่งไนโตรเจนถูกใช้เป็นแหล่งอาหารและสร้างสารที่จำเป็นต่อการเจริญของแบคทีเรีย โดยพบว่าในเซลล์ของแบคทีเรียมีสวนประกอบของไนโตรเจนอยู่ประมาณร้อยละ 8-10 ของน้ำหนักแห้งของเซลล์จุลินทรีย์

Peypoux และ Michel (1992) พบว่าความเข้มข้นของสาร L-glutamic acid มีผลต่อโครงสร้างของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกลุ่ม surfactin และให้ผลเช่นเดียวกับการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกลุ่ม lichenysin โดยเชื้อแบคทีเรีย *B. lichenformis* BAS50 พบว่าผลผลิตเพิ่มขึ้น 2-4 เท่า เมื่อใช้ L-glutamic acid และ L-aspargine เป็นแหล่งไนโตรเจน (Yakimov, Fredrickson and Timmis, 1996)

Kim และคณะ (1997) พบว่าเชื้อ *B. subtilis* สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้เป็นปริมาณมาก เมื่อใช้ NH_4HCO_3 เป็นแหล่งไนโตรเจน และเมื่อวัดค่า pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเลี้ยงครบ 3 วัน พบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้เป็นปริมาณมากเป็นผลเนื่องมาจากการควบคุมการลดลงของค่า pH ในอาหารโดย NH_4HCO_3

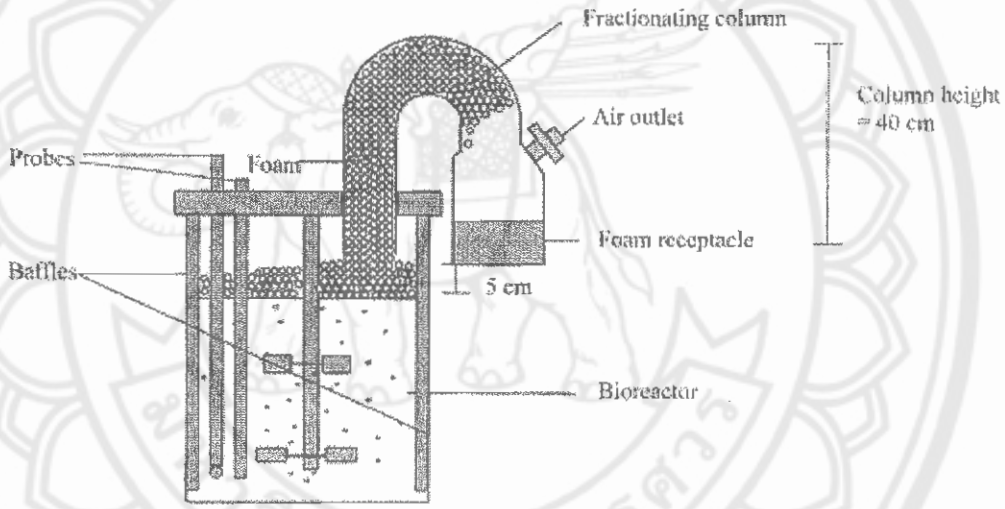
Makkar และ Cameotra (1997) ได้ทำการศึกษาอิทธิพลของแหล่งไนโตรเจนต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* พบว่าเมื่อไม่มีแหล่งไนโตรเจนในอาหารการเจริญของเชื้อและการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเกิดขึ้นได้น้อยมาก ในขณะที่เมื่อใช้สาร $NaNO_3$, KNO_3 และ Urea เป็นแหล่งไนโตรเจน พบว่าเชื้อสามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ดี และเชื้อสามารถใช้สาร NH_4NO_3 ในการเจริญได้แต่สาร NH_2SO_4 ไม่เหมาะสำหรับการเจริญของเชื้อและการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

Wu และคณะ (2007) ได้ทำการศึกษาอิทธิพลของแหล่งไนโตรเจนต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกลุ่ม Rhamnolipid จากเชื้อ *P. aeruginosa* EM1 โดยแหล่งไนโตรเจนที่นำมาศึกษามี 4 ชนิดคือ NH_4Cl, $NaNO_3$, Urea และ Yeast extract พบว่าเมื่อใช้แหล่งไนโตรเจนเป็น $NaNO_3$ สามารถให้ค่า Yield ได้สูงสุด โดยได้เท่ากับ 8.63 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน

3. การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในระบบถังหมัก

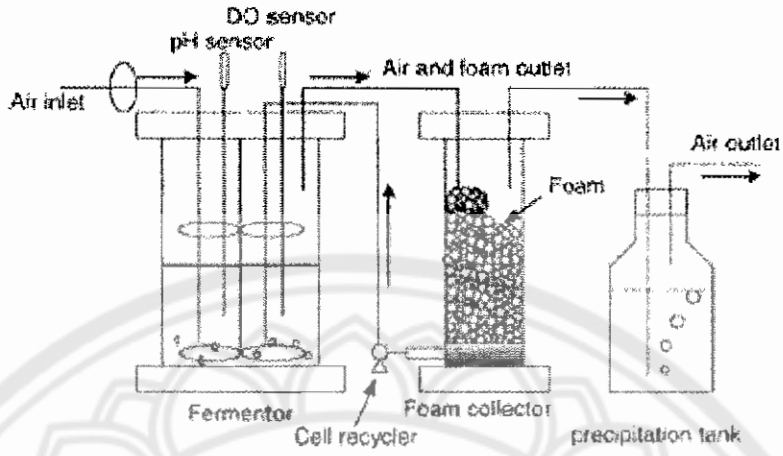
การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในระบบถังหมักมีความสำคัญอย่างมากเนื่องจากการพัฒนาการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพให้เข้าสู่กระบวนการผลิตทางอุตสาหกรรมนั้น จำเป็นที่จะต้องผลิตในจำนวนที่มากขึ้น ซึ่งก่อนที่จะมีการพัฒนาการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพไปจนถึงระดับอุตสาหกรรมได้นั้น มีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องทำการศึกษาในระดับห้องปฏิบัติการใน

ระบบที่มีลักษณะคล้ายกับถังหมักที่ใช้ในระดับอุตสาหกรรมเพียงแต่มีขนาดเล็กกว่า โดยในระบบถังหมักมีการเติมอากาศและการหมุนของใบพัดทำให้มีฟองที่เกิดจากสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจำนวนมาก และฟองที่เกิดขึ้นจะถูกปล่อยออกมาพร้อมกับอากาศทำให้ระบบถังหมักไม่คงที่ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องมีระบบขจัดฟองที่เกิดขึ้น ซึ่งระบบขจัดฟองที่เกิดขึ้นมีหลายวิธีเช่น การใช้สารขจัดฟอง (Antifoam) การใช้ระบบ Foam collection (ภาพ 8) และ การใช้ระบบ Foam recycling system (ภาพ 9) เป็นต้น



ภาพ 8 ระบบถังหมักที่ต่อเข้ากับระบบ foam collection

ที่มา Davis, Lynch and Varley (2001)



ภาพ 9 **ระบบถังหมักที่ต่อเข้ากับระบบ** foam recycling system

ที่มา Yeh, Wei and Chang (2006)

Kim และคณะ (1997) ได้ทำการศึกษาการผลิตและคุณสมบัติของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกลุ่ม Lipopeptide จากเชื้อ *B. subtilis* C9 โดยใช้ Foam collection ต่อเข้าในระบบเพื่อรองรับฟองที่เกิดขึ้นในระบบถังหมัก โดยฟองที่เกิดขึ้นจะถูกเก็บไว้ใน Foam collection จากการศึกษาพบว่าสามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกลุ่ม Lipopeptide โดยใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนพบว่าเมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 25-40 ชั่วโมง สามารถผลิต Surfactin ได้ถึง 4.5 กรัมต่อลิตร

Davis, Lynch และ Varley (1999) ได้ทำการศึกษาการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกลุ่ม Surfactin จากเชื้อ *B. subtilis* ATCC 21332 ในถังหมักระบบ batch culture โดยใช้สารลดฟองจากบริษัท Sigma ในการลดฟองที่เกิดจากระบบการหมัก พบว่าเมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 30-60 ชั่วโมง โดยใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนพบว่าเชื้อ *B. subtilis* ATCC 21332 สามารถผลิต Surfactin ได้เท่ากับ 0.439 กรัมต่อลิตร

Davis, Lynch และ Varley (2001) ได้ทำการศึกษาวิธีการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในถังหมักโดยต่อ Foam collection เข้าในระบบ โดยในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกลุ่ม Surfactin จากเชื้อ *B. subtilis* ATCC 21332 พบว่าเมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 11-50 ชั่วโมง โดยใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนพบว่าสามารถผลิต Surfactin ได้ปริมาณ 4.58 กรัมต่อลิตร

Benincasa และ Contiero (2001) ทำการศึกษาการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในกลุ่ม Rhamnolipid จากเชื้อแบคทีเรีย *P. aeruginosa* LBI ในถังหมักด้วยระบบ batch culture โดยใช้ระบบ foam recycling system ในการขจัดฟอง และใช้ soapstock เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าในกระบวนการผลิตเชื้อ *P. aeruginosa* LBI สามารถให้ปริมาณของ Rhamnolipid เท่ากับ 15.9 กรัมต่อลิตร

Lee และ Kim (2004) ได้ทำการศึกษาอิทธิพลของสารลดฟองที่มีผลต่อกระบวนการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกลุ่ม Lipopeptide จากเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. GB16 พบว่าเมื่อใช้ปริมาณของสารลดฟองชนิด LS-300 ปริมาณ 50 ppm ทำให้ปริมาณของเซลล์ลดลงถึง 50 เปอร์เซ็นต์ และชนิด AF- 2000 ปริมาณ 500 ppm ทำให้ปริมาณเซลล์ลดลงถึง 50 เปอร์เซ็นต์ เช่นกัน

Yeh, Wei และ Chang (2006) ได้ทำการศึกษาอิทธิพลของความเร็วรอบของใบพัดในการกวนและปริมาณอากาศที่เติมลงในถังหมัก โดยใช้ระบบการขจัดฟองแบบ foam recycling system ในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกลุ่ม surfactin จากเชื้อ *B. subtilis* พบว่าเมื่อให้ปริมาณอากาศและความเร็วรอบของใบพัดในการกวนเป็น 1.5 Volume air/Volume medium/min (vvm) และ 300 รอบต่อนาที พบว่าเชื้อ *B. subtilis* สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ดีที่สุดคือได้ค่า surfactin yield เท่ากับ 161 มิลลิกรัมต่อกรัมของกลูโคส และได้ความเข้มข้นของ surfactin เท่ากับ 6.45 กรัมต่อลิตร

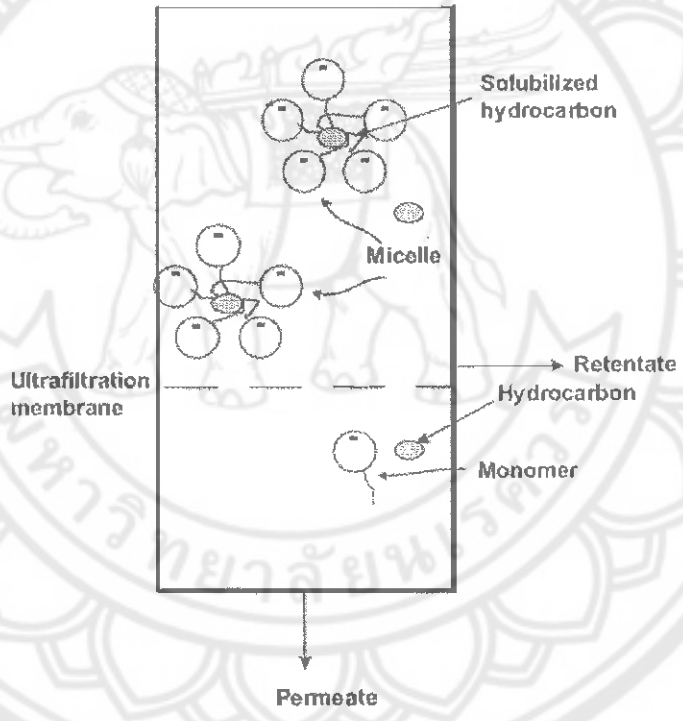
การนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพไปใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมปิโตรเลียม ด้านบำบัดสภาพแวดล้อมที่ปนเปื้อนสารประกอบไฮโดรคาร์บอน และอุตสาหกรรมอื่น ๆ

ปัจจุบันมีการนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมาใช้กันอย่างกว้างขวางในด้านการบำบัดสภาพแวดล้อมที่มีการปนเปื้อนสารประกอบไฮโดรคาร์บอนและการนำมาใช้ประโยชน์ในโรงงานอุตสาหกรรมในวัตถุประสงค์ต่างๆ กัน การที่สารลดแรงตึงผิวชีวภาพเป็นที่รู้จักและมีความนิยมเพิ่มมากขึ้นนั้น เนื่องจากข้อได้เปรียบในเรื่องของความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพโดยไม่ก่อให้เกิดการตกค้างของสารเคมีในสภาพแวดล้อม อีกทั้งยังสามารถทำงานได้ภายใต้สภาวะที่วิกฤติอีกด้วย

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพถูกนำมาใช้ในกระบวนการต่างๆ ในอุตสาหกรรมปิโตรเลียมเพิ่มขึ้น โดยใช้คุณสมบัติในการทำให้เกิด emulsification/de-emulsification เพื่อให้ได้ปริมาณน้ำมันดิบจากกระบวนการขุดเจาะเพิ่มมากขึ้น รวมทั้งการนำน้ำจากกระบวนการล้างในอุตสาหกรรมปิโตรเลียม (liquid waste) กลับมาใช้ใหม่ การแก้ไขปัญหาการปนเปื้อนของ

ป
TP
248
.B57
ป458ก
2551
- 6 ต.ค. 2551
1 42 60090
C.5
สำนักหอสมุด

สารประกอบไฮโดรคาร์บอนในพื้นที่ และการนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมาใช้ประโยชน์ในการควบคุมปัญหาที่เกี่ยวกับสารประกอบไฮโดรคาร์บอน เช่น การทำความสะอาดถัง (tank) เก็บน้ำมันและการเพิ่มการนำน้ำมันกลับมาใช้ใหม่ (oil recovery) ซึ่งโดยปกติแล้วในวงการอุตสาหกรรมปิโตรเลียมนั้น มีการนำสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์มาใช้ในกระบวนการทำความสะอาดน้ำมัน (ภาพ 10) ที่มีการปนเปื้อนอยู่แล้ว แต่สารประกอบเหล่านี้ไม่สามารถย่อยสลายทางชีวภาพได้อีกทั้งยังเป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อมอีกด้วย ด้วยเหตุนี้ในปัจจุบันจึงมีความพยายามที่จะพัฒนาและผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเพื่อนำมามาใช้ประโยชน์กันเพิ่มขึ้น อีกทั้งยังช่วยในการรักษาสภาพแวดล้อมในธรรมชาติอีกด้วย (Banat, 1995)



ภาพ 10 การจัดเรียงตัวของสารลดแรงตึงผิวเมื่อจับกับสารประกอบไฮโดรคาร์บอน

ที่มา Mulligan (2005)

Eliseev และคณะ (1991) ได้ทำการศึกษาคุณสมบัติของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกลุ่ม Surfactin ที่ผลิตจากเชื้อ *Bacillus* sp. ในการแยกน้ำมันก๊าดออกจากทราย (sand pack test)

พบว่าสามารถแยกน้ำมันก๊าดออกมาได้ถึง 62 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ความเข้มข้นเพียง 0.04 มิลลิกรัมต่อลิตร

Scheibenbogen และคณะ (1994) ได้ศึกษาการนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกลุ่ม Rhamnolipid จากเชื้อ *P. aeruginosa* UG2 มาใช้ในการแยกสารประกอบไฮโดรคาร์บอนออกจากดินปนทราย โดยจากการทดลองพบว่าสามารถแยกสารประกอบไฮโดรคาร์บอนออกจากดินได้ระหว่าง 23-59 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นอยู่กับชนิดของสารประกอบไฮโดรคาร์บอนนั้น

Desai และ Banat (1997) ได้ทำการแยกเชื้อแบคทีเรีย *B. lichenformis* JF-2 จากจุดที่มีการใช้น้ำฉีดลงไปในบ่อน้ำมัน (oilfield injection water) พบว่าเชื้อนี้สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีประสิทธิภาพดี โดยให้ค่า CMC เท่ากับ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร และสามารถลดแรงตึงผิวระหว่างพื้นผิวน้ำเกลือกับ decane ได้ถึง 0.001 dyne/cm นอกจากนี้ *B. lichenformis* ยังมีคุณสมบัติเป็นเชื้อพวก anaerobe, halotolerant และ thermotolerant อีกด้วย

Bai, Brusseau และ Miller (1997) ได้ทำการศึกษาการนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพไปประยุกต์ใช้ในการขจัดสารประกอบไฮโดรคาร์บอนออกจากดิน โดยในการทดลองใช้สารลดแรงตึงผิวกลุ่ม anionic monorhamnolipid biosurfactant ที่ผลิตจากเชื้อแบคทีเรีย *P. aeruginosa* ในการแยก hexadecane ออกจากดิน โดยมีการหาปริมาณของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในการแยก hexadecane ด้วย โดยจากการทดลองพบว่าปริมาณของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่เหมาะสมคือ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยสามารถแยก hexadecane ออกจากดินได้เท่ากับ 84 เปอร์เซ็นต์

Makkar และ Cameotra (1997) ได้ทำการทดลอง oil recovery ด้วยวิธี Sand pack test โดยใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส พบว่าสารลดแรงตึงผิวจาก *B. subtilis* สายพันธุ์ MTCC1472 และ MTCC2423 สามารถนำน้ำมันกลับคืนมาได้ถึง 56 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้การที่เชื้อแบคทีเรียนี้มีคุณสมบัติเป็น thermotolerant และสามารถเจริญได้ในช่วง pH 4.5-10.5 อีกทั้งเป็นเชื้อที่สามารถใช้แหล่งคาร์บอนราคาถูกอย่างกากน้ำตาลได้ ทำให้เชื้อนี้มีความเหมาะสมในการนำไปใช้ในภาคสนามเป็นอย่างมาก

Bai, Brusseau และ Miller (1998) ได้ทำการศึกษาการนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกลุ่ม Rhamnolipid ไปใช้ประโยชน์โดยใช้ Rhamnolipid ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อแยกสารประกอบไฮโดรคาร์บอนกลุ่ม hexadecane ที่ pH 6 พบว่ามีความสามารถแยกสารประกอบไฮโดรคาร์บอนออกมาได้ 60 เปอร์เซ็นต์

Maier และ Soberon-Chavez (2000) กล่าวว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกลุ่ม Rhamnolipid เมื่อเติมลงไปในสารประกอบไฮโดรคาร์บอน เช่น hexadecane, octadecane, n-paraffin และ phenanthrene ในลักษณะที่เป็นของเหลว (liquid systems) และ hexadecane, tetradecane, pristine, creosote และสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่มีการปนเปื้อนอยู่ในดิน พบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกลุ่ม Rhamnolipid สามารถบำบัด (biodegradation) สารเหล่านี้ได้

Shulga และคณะ (2000) ได้ศึกษาการใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพในการทำความสะอาดทราย ขนนก และขนสัตว์ โดยใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากเชื้อแบคทีเรีย *P. aeruginosa* PS-17 ในการทดลอง โดยในการทดลองได้ใช้ปริมาณสารลดแรงตึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ผสมลงในน้ำจืดและน้ำทะเล เมื่อนำไปทดสอบกับทราย ขนนก และขนสัตว์ พบว่าเมื่อนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพผสมกับน้ำจืดสามารถขจัดน้ำมันออกไปได้ 95.0, 85.1 และ 82.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมื่อใช้น้ำทะเลเป็นส่วนผสมสามารถขจัดออกได้เท่ากับ 92.3, 77.4 และ 78.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างจากการใช้น้ำจืดและน้ำทะเลที่ไม่ผสมสารในการทำความสะอาด ซึ่งสามารถขจัดสารอยู่ระหว่าง 0.5-2.4 เปอร์เซ็นต์

Nadarajah, Singh และ Owen (2001) ได้ทำการศึกษาเชื้อแบคทีเรียผสม (mixed bacterial cuture) ที่แยกได้จากดินที่มีการปนเปื้อนสารประกอบไฮโดรคาร์บอน โดยได้ทดสอบคุณสมบัติในการเกิด de-emulsification โดยใช้สภาพอิมัลชันผสมระหว่างน้ำมันก๊าดกับน้ำเป็นระบบทดสอบ พบว่าเชื้อแบคทีเรียผสมสามารถทำให้เกิด de-emulsification activity หรือทำให้สภาพอิมัลชันสลายตัว โดยพบว่าสามารถแยกน้ำมันก๊าดออกจากน้ำได้ 44 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 1 ชั่วโมง และสามารถแยกน้ำมันก๊าดออกจากน้ำได้ถึง 96 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งการทำให้สภาพอิมัลชันของน้ำกับน้ำมันที่ปนกันอยู่เกิดการสลายตัวนั้นสามารถนำมาใช้ในอุตสาหกรรมปิโตเลียมได้ เพื่อนำน้ำมันที่อยู่ในสภาพอิมัลชันมาใช้ประโยชน์ให้ได้มากที่สุด

Kosaric (2001) ได้มีการใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพในการเพิ่มความเหนียวของขนมปังและไอศกรีม เพื่อช่วยยืดอายุของขนมปังและช่วยเพิ่มการละลายของน้ำมัน พร้อมทั้งช่วยให้น้ำมันมีความคงตัวที่ดีขึ้น

Urum, Pekdemir และ Gopur (2003) ได้ทำการศึกษาการแยกน้ำมันดิบที่ปนเปื้อนออกจากดินโดยใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดต่างๆ ดังนี้ aescin, lecithin, Rhamnolipid, saponin และ Sodium dodecyl sulfate (SDS) และได้ศึกษาสภาวะต่างๆ ที่เหมาะสมดังนี้ คือ ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสม (5, 20, 35 และ 50 องศาเซลเซียส) ความเข้มข้นของสารลดแรงตึง

ผิวชีวภาพ (0.004, 0.02, 0.1 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์) ปริมาณของสารลดแรงตึงผิว (5, 10, 15 และ 20 มิลลิลิตร) ความเร็วของการเติมอากาศ (shaker speed) (80, 120, 160 และ 200 strokes/min) และระยะเวลาที่ใช้ในการแยกน้ำมันดิบ (5, 10, 15 และ 20 นาที) พบว่าสภาวะที่ 50 องศาเซลเซียส และเวลา 10 นาที เป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุด เมื่อใช้สารลดแรงตึงผิวเป็น SDS, Rhamnolipid และ Saponin โดยสามารถแยกน้ำมันดิบออกมาได้มากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์

Iyer, Mody และ Jha (2006) ได้ทำการศึกษาคุณสมบัติของเชื้อ *Enterobacter cloacae* ที่แยกได้จากทะเลในการผลิต exopolysaccharide ทดสอบคุณสมบัติการเป็นสารก่ออิมัลชันชีวภาพ โดยพบว่าสารที่เชื้อผลิตสามารถเกิดอิมัลชันกับ hexane, benzene, xylene, kerosene, paraffin, cottonseed oil, coconut oil, jojoba oil, castor oil, groundnut oil และ sunflower oil ได้ ซึ่งจากการศึกษาความคงตัวของสารก่ออิมัลชันชีวภาพกับ hexane และ groundnut oil พบว่าอิมัลชันมีความคงตัวที่ดี โดยใช้สารก่ออิมัลชันชีวภาพเข้มข้นเพียง 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งความคงตัวของอิมัลชันที่เกิดขึ้นสามารถคงตัวอยู่ได้นานกว่า 10 วัน โดยทดสอบความสามารถในการคงตัวที่ pH 2-10 และทดสอบในสภาวะที่มีปริมาณของ NaCl เข้มข้น 5-50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่อุณหภูมิเท่ากับ 35-37 องศาเซลเซียส ซึ่งพบว่าสารมีความคงตัวใกล้เคียงกับ arabic, tragacanth, karaya และ xanthan