บทที่ 4

ผลการวิจัย

การศึกษาอิทธิพลขององค์ประกอบในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีผลต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

การศึกษาอิทธิพลขององค์ประกอบในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีผลต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ โดยชนิดและปริมาณของแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่ใช้ในการศึกษา คือ น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลทราย น้ำมันถั่วเหลือง และ กากน้ำตาล โดยใช้ปริมาณของแหล่งคาร์บอนแต่ละชนิดเท่ากับ 1, 2 และ 4 เปอร์เซ็นต์ ในอาหาร MSM ตามลำดับ ส่วนแหล่งไนโตรเจนที่ใช้ในการศึกษาคือ $NaNO_3$, NH_4NO_3, Glutamic acid และ Peptone โดยใช้ปริมาณของแหล่งไนโตรเจนแต่ละชนิดเท่ากับ 0.125, 0.25 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ในอาหาร MSM ตามลำดับ จากการศึกษาพบว่า ชนิดและปริมาณของแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่เหมาะสมในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมากที่สุด ได้แก่ น้ำตาลทราย และ NH_4NO_3 ปริมาณ 2 เปอร์เซ็นต์ และ 0.25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยได้ค่า EC และ EA เท่ากับ 16.0 และ 45.1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตาราง 4 ถึงตาราง 11) จากผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ Two-way ANOVA (ตาราง 12) พบว่าแหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน และปริมาณของแหล่งไนโตรเจน มีอิทธิพลต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพแตกต่างกันไปเมื่อเปรียบเทียบจากการทดสอบ Emulsification activity และ Emulsification capacity ส่วนปริมาณของแหล่งคาร์บอนมีอิทธิพลต่อการทดสอบ Emulsification capacity แต่ไม่มีผลต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยมีผลต่อทดสอบ Emulsification activity

ตาราง 4 ผลการทดสอบประสิทธิภาพ Emulsification capacity (%) **ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดยเชื้อ** *E. cloacae* LK5 **ในอาหารเลี้ยงเชื้อ** MSM **ที่มีส่วนผสมของน้ำตาลกลูโคส กับแหล่งไนโตรเจนในอัตราส่วนต่างๆ**

แหล่งไนโตรเจน		น้ำตาลกลูโคส (%)		
ชนิด	ปริมาณ(%)	1	2	4
$NaNO_3$	0.125	3.9 ± 0.55^{c}	4.6 ± 1.62^{f}	3.1 ± 0.15^{d}
	0.25	3.2 ± 0.78^{c}	8.7 ± 1.55^{cdef}	3.3 ± 0.81^{d}
	0.5	8.2 ± 2.15^{c}	9.3 ± 0.78^{cde}	7.6 ± 3.56^{c}
NH_4NO_3	0.125	23.2 ± 4.90^{b}	13.8 ± 0.60^{ab}	1.3 ± 0.04^{d}
	0.25	44.1 ± 9.03^{a}	17.7 ± 0.93^{a}	15.6 ± 0.29^{b}
	0.5	13.2 ± 5.60^{b}	8.6 ± 5.48^{defg}	20.0 ± 0.72^{a}
Peptone	0.125	6.8 ± 0.77^{c}	9.0 ± 1.56^{cdef}	2.9 ± 0.13^{d}
	0.25	4.7 ± 0.44^{c}	4.8 ± 0.89^{ef}	2.9 ± 0.20^{d}
	0.5	4.9 ± 2.53^{c}	8.4 ± 2.05^{defg}	1.4 ± 0.06^{d}
Glutamic acid	0.125	4.2 ± 0.44^{c}	6.8 ± 2.47^{efg}	3.0 ± 0.17^{d}
	0.25	5.4 ± 1.50^{c}	11.2 ± 2.31^{bcd}	2.9 ± 0.19^{d}
	0.5	8.8 ± 1.35^{c}	13.3 ± 0.79^{bc}	9.1 ± 0.86^{c}
One-way ANOVA		***	***	***

ทำการวิเคราะห์ทางสถิติ One-way ANOVA แสดงนัยสำคัญ (Significant) ที่ *** $P \leq 0.01$, ** $P \leq 0.05$, * $P \leq 0.10$ และ NS = Not significant จากข้อมูลค่าเฉลี่ยของ Emulsification capacity โดยข้อมูลในสดมภ์เดียวกันที่มีตัวอักษรกำกับเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยวิธี Tukey HSD test ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์

ตาราง 5 ผลการทดสอบประสิทธิภาพ Emulsification activity (%) ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดยเชื้อ *E. cloacae* LK5 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MSM ที่มีส่วนผสมของน้ำตาลกลูโคส กับแหล่งไนโตรเจนในอัตราส่วนต่างๆ

แหล่งไนโตรเจน		น้ำตาลกลูโคส (%)		
ชนิด	ปริมาณ(%)	1	2	4
$NaNO_3$	0.125	66.7±3.23^{bc}	84.7±7.67^{a}	55.9±4.40^{d}
	0.25	48.3±19.48^{c}	77.2±33.16^{ab}	94.1±1.75^{a}
	0.5	55.8±3.80^{c}	70.0±5.54^{abc}	60.5±4.34^{b}
NH_4NO_3	0.125	32.1±4.85^{d}	60.6±2.81^{c}	51.1±6.78^{c}
	0.25	36.1±7.77^{cd}	59.5±3.24^{c}	56.7±5.35^{bc}
	0.5	46.2±7.80^{c}	63.4±0.71^{bc}	60.7±2.12^{b}
Peptone	0.125	88.6±13.28^{ab}	85.9±8.57^{a}	95.3±1.07^{a}
	0.25	34.1±6.19^{d}	49.9±16.7^{cd}	94.8±1.38^{a}
	0.5	48.6±10.11^{c}	60.3±2.51^{c}	56.5±2.31^{bc}
Glutamic	0.125	91.7±9.30^{a}	6.2±5.11^{d}	6.4±3.00^{c}
acid	0.25	67.2±43.61^{abc}	2.8±1.75^{d}	0.3±0.81^{c}
	0.5	75.6±29.65^{abc}	3.7±1.50^{d}	0±0^{c}
One-way ANOVA		***	***	***

ทำการวิเคราะห์ทางสถิติ One-way ANOVA แสดงนัยสำคัญ (Significant) ที่ *** $P \leq 0.01$, ** $P \leq 0.05$, * $P \leq 0.10$ และ NS = Not significant จากข้อมูลค่าเฉลี่ยของ Emulsification activity โดยข้อมูลในสดมภ์เดียวกันที่มีตัวอักษรกำกับเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยวิธี Tukey HSD test ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์

ตาราง 6 ผลการทดสอบประสิทธิภาพ Emulsification capacity (%) **ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดยเชื้อ** *E. cloacae* LK5 **ในอาหารเลี้ยงเชื้อ** MSM **ที่มีส่วนผสมของน้ำตาลทราย กับแหล่งไนโตรเจนในอัตราส่วนต่างๆ**

แหล่งไนโตรเจน		น้ำตาลทราย (%)		
ชนิด	ปริมาณ(%)	1	2	4
$NaNO_3$	0.125	2.8±0.22^{d}	3.3±1.64^{de}	3.0±0.25^{d}
	0.25	4.9±3.10^{d}	6.7±3.11^{cde}	3.0±0.38^{d}
	0.5	8.9±3.31^{abcd}	10.3±1.66^{bcd}	14.5±0.76^{a}
NH_4NO_3	0.125	15.0±8.94^{a}	11.2±2.86^{abc}	6.8±0.12^{bcd}
	0.25	11.3±2.30^{ab}	16.0±1.60^{a}	15.5±0.08^{a}
	0.5	12.4±1.89^{ab}	13.8±1.12^{ab}	9.2±0.76^{b}
Peptone	0.125	6.1±0.33^{bc}	3.4±0.86^{de}	4.2±0.09^{bcd}
	0.25	3.1±0.45^{c}	3.4±0.93^{de}	3.8±0.69^{cd}
	0.5	9.0±3.44^{abc}	8.8±0.57^{bcd}	2.7±0.02^{d}
Glutamic acid	0.125	3.4±0.71^{c}	2.7±1.25^{e}	3.0±0.02^{cd}
	0.25	2.9±0.07^{c}	6.0±2.36^{cde}	5.2±0.58^{bcd}
	0.5	5.1±1.37^{bc}	9.2±7.58^{ab}	7.5±0.68^{bc}
One-way ANOVA		***	***	***

ทำการวิเคราะห์ทางสถิติ One-way ANOVA แสดงนัยสำคัญ (Significant) ที่ *** $P \leq 0.01$, ** $P \leq 0.05$, * $P \leq 0.10$ และ NS = Not significant จากข้อมูลค่าเฉลี่ยของ Emulsification capacity โดยข้อมูลในสดมภ์เดียวกันที่มีตัวอักษรกำกับเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยวิธี Tukey HSD test ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์

ตาราง 7 ผลการทดสอบประสิทธิภาพ Emulsification activity (%) **ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดยเชื้อ** *E. cloacae* LK5 **ในอาหารเลี้ยงเชื้อ** MSM **ที่มีส่วนผสมของน้ำตาลทราย กับแหล่งไนโตรเจนในอัตราส่วนต่างๆ**

แหล่งไนโตรเจน		น้ำตาลทราย (%)		
ชนิด	ปริมาณ(%)	1	2	4
$NaNO_3$	0.125	49.0±13.42^{bc}	76.8±18.67^{ab}	93.7±1.42^{a}
	0.25	37.1±15.70^{c}	61.2±2.45^{b}	65.2±1.30^{bc}
	0.5	46.6±10.28^{bc}	54.9±9.46^{b}	64.8±0^{bc}
NH_4NO_3	0.125	54.0±3.26^{bc}	58.9±9.31^{b}	42.2±2.66^{c}
	0.25	39.9±17.18^{c}	45.1±18.66^{b}	60.2±0.85^{bc}
	0.5	53.4±10.42^{bc}	55.1±9.11^{b}	60.3±8.50^{bc}
Peptone	0.125	97.2±1.03^{a}	93.2±1.45^{a}	91.3±4.47^{a}
	0.25	47.8±5.13^{bc}	96.0±1.79^{a}	73.5±9.96^{ab}
	0.5	59.1±1.62^{bc}	42.6±14.09^{b}	58.0±6.25^{bc}
Glutamic	0.125	90.9±8.76^{a}	39.2±31.21^{b}	27.0±1.30^{cd}
acid	0.25	91.5±9.31^{a}	35.5±10.36^{b}	3.3±1.15^{d}
	0.5	65.2±4.03^{b}	42.3±34.17^{b}	2.0±0^{d}
One-way ANOVA		***	***	***

ทำการวิเคราะห์ทางสถิติ One-way ANOVA แสดงนัยสำคัญ (Significant) ที่ *** $P \leq 0.01$, ** $P \leq 0.05$, * $P \leq 0.10$ และ NS = Not significant จากข้อมูลค่าเฉลี่ยของ Emulsification activity โดยข้อมูลในสดมภ์เดียวกันที่มีตัวอักษรกำกับเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยวิธี Tukey HSD test ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์

ตาราง 8 ผลการทดสอบประสิทธิภาพ Emulsification capacity (%) ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดยเชื้อ *E. cloacae* LK5 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MSM ที่มีส่วนผสมของน้ำมันถั่วเหลือง กับแหล่งไนโตรเจนในอัตราส่วนต่างๆ

แหล่งไนโตรเจน		น้ำมันถั่วเหลือง (%)		
ชนิด	ปริมาณ(%)	1	2	4
$NaNO_3$	0.125	1.6±0.12	1.6±0.06	1.8±0.86[a]
	0.25	1.5±0.13	2.1±1.30	1.4±0.09[b]
	0.5	1.5±0.06	2.3±2.12	1.4±0.10[b]
NH_4NO_3	0.125	1.5±0.07	1.5±0.12	1.4±0.04[b]
	0.25	1.5±0.25	1.5±0.18	1.5±0.09[ab]
	0.5	1.4±0.46	1.5±0.13	1.5±0.04[b]
Peptone	0.125	1.5±0.07	1.4±0.08	1.4±0.09[b]
	0.25	1.4±0.10	1.5±0.13	1.7±0.30[a]
	0.5	1.5±0.07	1.5±0.16	1.5±0.09[ab]
Glutamic acid	0.125	1.5±0.07	1.4±0.16	1.5±0.08[ab]
	0.25	1.5±0.13	1.4±0.08	1.4±0.20[ab]
	0.5	1.4±0.09	1.5±0.06	1.4±0.12[ab]
One-way ANOVA		NS	NS	***

ทำการวิเคราะห์ทางสถิติ One-way ANOVA แสดงนัยสำคัญ (Significant) ที่ *** $P \leq 0.01$, ** $P \leq 0.05$, * $P \leq 0.10$ และ NS = Not significant จากข้อมูลค่าเฉลี่ยของ Emulsification capacity โดยข้อมูลในสดมภ์เดียวกันที่มีตัวอักษรกำกับเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยวิธี Tukey HSD test ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์

ตาราง 9 ผลการทดสอบประสิทธิภาพ Emulsification activity (%) ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดยเชื้อ *E. cloacae* LK5 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MSM ที่มีส่วนผสมของน้ำมันถั่วเหลือง กับแหล่งไนโตรเจนในอัตราส่วนต่างๆ

แหล่งไนโตรเจน		น้ำมันถั่วเหลือง (%)		
ชนิด	ปริมาณ(%)	1	2	4
$NaNO_3$	0.125	0 ± 0^{c}	0 ± 0^{b}	0 ± 0^{c}
	0.25	0 ± 0^{c}	6.3 ± 6.02^{ab}	0 ± 0^{c}
	0.5	0 ± 0^{c}	0 ± 0^{b}	0 ± 0^{c}
NH_4NO_3	0.125	0 ± 0^{c}	11.2 ± 12.34^{a}	0 ± 0^{c}
	0.25	0 ± 0^{c}	0 ± 0^{a}	0 ± 0^{c}
	0.5	0 ± 0^{c}	8.7 ± 9.52^{a}	0 ± 0^{c}
Peptone	0.125	13.0 ± 14.60^{bc}	15.9 ± 14.79^{a}	0 ± 0^{c}
	0.25	0 ± 0^{c}	26.0 ± 29.24^{a}	0 ± 0^{c}
	0.5	0 ± 0^{c}	18.8 ± 20.70^{a}	5.4 ± 3.40^{bc}
Glutamic acid	0.125	43.6 ± 9.03^{a}	6.0 ± 4.33^{a}	39.4 ± 5.30^{ab}
	0.25	49.7 ± 21.68^{b}	17.3 ± 8.44^{a}	32.6 ± 2.75^{b}
	0.5	55.2 ± 2.18^{a}	26.1 ± 12.90^{a}	46.6 ± 10.46^{a}
One-way ANOVA		***	***	***

ทำการวิเคราะห์ทางสถิติ One-way ANOVA แสดงนัยสำคัญ (Significant) ที่ *** $P \leq 0.01$, ** $P \leq 0.05$, * $P \leq 0.10$ และ NS = Not significant จากข้อมูลค่าเฉลี่ยของ Emulsification activity โดยข้อมูลในสดมภ์เดียวกันที่มีตัวอักษรกำกับเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยวิธี Tukey HSD test ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์

ตาราง 10 ผลการทดสอบประสิทธิภาพ Emulsification capacity (%) **ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดยเชื้อ** *E. cloacae* LK5 **ในอาหารเลี้ยงเชื้อ** MSM **ที่มีส่วนผสมของกากน้ำตาล กับแหล่งไนโตรเจนในอัตราส่วนต่างๆ**

แหล่งไนโตรเจน		กากน้ำตาล (%)		
ชนิด	ปริมาณ(%)	1	2	4
$NaNO_3$	0.125	1.4±0.16[ab]	1.4±0.06	1.5±0.08
	0.25	1.6±0.20[ab]	1.5±0.06	1.5±0.08
	0.5	1.5±0.17[ab]	1.4±0.08	1.4±0.14
NH_4NO_3	0.125	1.4±0.03[ab]	1.4±0.08	1.4±0.09
	0.25	1.5±0.08[ab]	1.4±0.08	1.5±0.07
	0.5	1.4±0.04[ab]	1.4±0.13	1.4±0.08
Peptone	0.125	1.3±0.20[ab]	1.4±0.04	1.4±0.10
	0.25	1.3±0.25[b]	1.7±0.78	1.4±0.07
	0.5	1.5±0.11[ab]	1.3±0.03	1.4±0.19
Glutamic	0.125	1.6±0.09[a]	1.4±0.04	1.4±0.05
acid	0.25	1.6±0.09[ab]	1.5±0.08	1.4±0.07
	0.5	1.5±0.04[a]	1.5±0.09	1.5±0.25
One-way ANOVA		***	NS	NS

ทำการวิเคราะห์ทางสถิติ One-way ANOVA แสดงนัยสำคัญ (Significant) ที่ *** $P \leq 0.01$, ** $P \leq 0.05$, * $P \leq 0.10$ และ NS = Not significant จากข้อมูลค่าเฉลี่ยของ Emulsification capacity โดยข้อมูลในสดมภ์เดียวกันที่มีตัวอักษรกำกับเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี Tukey HSD test ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์

ตาราง 11 ผลการทดสอบประสิทธิภาพ Emulsification activity (%) **ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดยเชื้อ** *E. cloacae* LK5 **ในอาหารเลี้ยงเชื้อ** MSM **ที่มีส่วนผสมของกากน้ำตาล กับแหล่งไนโตรเจนในอัตราส่วนต่างๆ**

แหล่งไนโตรเจน		กากน้ำตาล (%)		
ชนิด	ปริมาณ(%)	1	2	4
$NaNO_3$	0.125	27.1 ± 11.58^{cd}	33.0 ± 10.42^{cde}	19.9 ± 14.96^{bc}
	0.25	39.7 ± 11.28^{bcd}	29.3 ± 11.13^{de}	18.4 ± 2.88^{bc}
	0.5	37.6 ± 7.42^{bcd}	47.0 ± 5.90^{abc}	40.7 ± 9.47^{a}
NH_4NO_3	0.125	26.6 ± 8.87^{bc}	38.2 ± 5.49^{bcd}	20.7 ± 11.46^{bc}
	0.25	27.7 ± 12.52^{bc}	51.8 ± 9.52^{ab}	24.6 ± 6.44^{b}
	0.5	47.0 ± 6.55^{ab}	27.8 ± 14.10^{cd}	15.0 ± 10.42^{bc}
Peptone	0.125	24.9 ± 15.24^{c}	43.2 ± 4.68^{bc}	6.9 ± 5.59^{c}
	0.25	29.1 ± 10.29^{bc}	27.1 ± 11.97^{cd}	10.4 ± 4.42^{c}
	0.5	25.5 ± 18.41^{c}	22.4 ± 13.88^{d}	10.6 ± 6.97^{c}
Glutamic acid	0.125	43.1 ± 4.15^{abc}	53.3 ± 2.75^{ab}	52.2 ± 2.30^{a}
	0.25	50.4 ± 13.46^{a}	53.5 ± 3.19^{ab}	53.7 ± 8.19^{a}
	0.5	62.1 ± 0.72^{a}	61.8 ± 1.62^{a}	55.0 ± 3.23^{a}
One-way ANOVA		***	***	***

ทำการวิเคราะห์ทางสถิติ One-way ANOVA แสดงนัยสำคัญ (Significant) ที่ *** $P \leq 0.01$, ** $P \leq 0.05$, * $P \leq 0.10$ และ NS = Not significant จากข้อมูลค่าเฉลี่ยของ Emulsification activity โดยข้อมูลในสดมภ์เดียวกันที่มีตัวอักษรกำกับเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยวิธี Tukey HSD test ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์

ตาราง 12 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ Two-Way ANOVA เพื่อดูความสัมพันธ์ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดยเชื้อ *E. cloacae* LK5 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MSM ที่มีส่วนผสมของชนิดและปริมาณของแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนชนิดต่าง ๆ ในการทดสอบ Emulsification capacity และ Emulsification activity

ผลการวิเคราะห์	ตัวแปร	แสดงค่านัยสำคัญทางสถิติของ	
		EC	EA
Two-Way ANOVA	แหล่งคาร์บอน	***	***
	ปริมาณของแหล่งคาร์บอน	***	*
	แหล่งคาร์บอน x ปริมาณของแหล่งคาร์บอน	***	NS
	แหล่งไนโตรเจน	***	***
	ปริมาณของแหล่งไนโตรเจน	***	**
	แหล่งไนโตรเจน x ปริมาณของแหล่งไนโตรเจน	***	***
	แหล่งคาร์บอน x แหล่งไนโตรเจน	***	***

ทำการวิเคราะห์ทางสถิติ Two-way ANOVA แสดงนัยสำคัญ (Significant) ที่ *** $P \leq 0.01$, ** $P \leq 0.05$, * $P \leq 0.10$ และ NS = Not significant

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในถังหมักที่มีผลต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในถังหมักที่มีผลต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ โดยใช้แหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่เหมาะสมในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากผลการทดลองที่ 1. พบว่า น้ำตาลทราย และ NH_4NO_3 ที่ระดับความเข้มข้น 2 และ 0.25 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่เหมาะสมที่สุดในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ โดยจากการทดลองเมื่อใช้อัตราการหมุนของใบพัดเท่ากับ 250, 300 และ 350 รอบต่อนาที และอัตราการเติมอากาศเท่ากับ 0.5, 1.0 และ 1.5 vvm ในอาหาร MSM ตามลำดับ พบว่า อัตราการหมุนของใบพัดที่ 250 รอบต่อนาที และอัตราการเติมอากาศที่ 1.5 vvm เป็นอัตราที่เหมาะสมที่สุดในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในถังหมัก โดยได้ค่า EC และ EA เท่ากับ 33.8 และ 60.7 เปอร์เซ็นต์ จากผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ Two-way ANOVA พบว่าอัตราการเติมอากาศและอัตราการหมุนของใบพัดมีความสัมพันธ์ต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ โดยสามารถดูได้จากผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของการทดสอบ Emulsification capacity และ Emulsification activity (ตาราง 13)

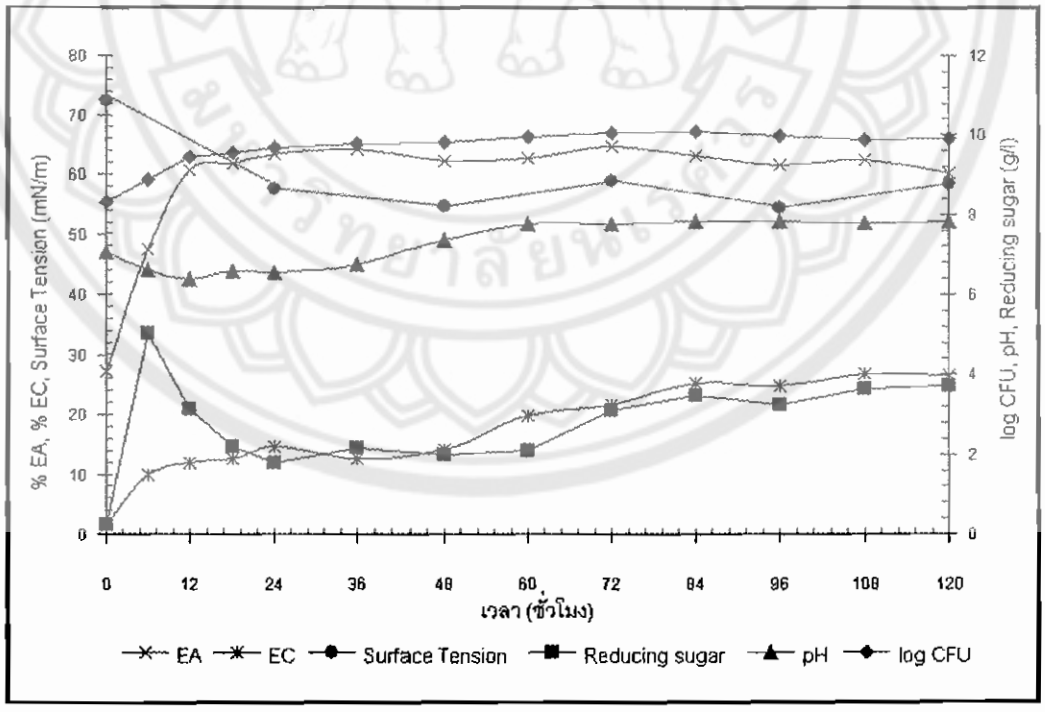
ตาราง 13 ผลการทดสอบประสิทธิภาพ Emulsification capacity (%) **และ** Emulsification activity (%) **ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดยเชื้อ** *E. cloacae* LK5 **ในอาหารเลี้ยงเชื้อ** MSM **ที่มีอัตราการเติมอากาศ และอัตราการหมุนของใบพัด ที่ระดับต่างๆ**

สภาวะในถังหมัก		Emulsification capacity (%)	Emulsification activity (%)
อัตราการเติมอากาศ (vvm)	อัตราการหมุนของใบพัด (rpm)		
0.5	250	1.4±0.009[f]	27.1±2.490[d]
	300	1.5±0.054[f]	26.7±6.308[d]
	350	3.1±0.147[f]	39.1±1.828[c]
1.0	250	28.9±0.583[bc]	56.5±2.310[b]
	300	30.9±1.048[b]	62.4±0.248[b]
	350	20.5±0.827[d]	70.4±4.242[a]
1.5	250	33.8±1.808[a]	60.7±1.922[b]
	300	27.1±0.675[c]	61.1±2.289[b]
	350	9.1±0.322[e]	62.1±1.267[b]
One-way ANOVA		***	***
ผลการวิเคราะห์ ANOVA	อัตราการเติมอากาศ	***	***
	อัตราการหมุนของใบพัด	***	***
	อัตราการเติมอากาศ*อัตราการหมุนของใบพัด	***	*

ทำการวิเคราะห์ทางสถิติ One-way และ Two-way ANOVA แสดงนัยสำคัญ (Significant) ที่ *** $P \leq 0.01$, ** $P \leq 0.05$, * $P \leq 0.10$ และ NS = Not significant จากข้อมูลค่าเฉลี่ยของ Emulsification capacity และ Emulsification activity โดยข้อมูลในสดมภ์เดียวกันที่มีตัวอักษรกำกับเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยวิธี Tukey HSD test ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์

การศึกษาจลนศาสตร์ของการหมัก (fermentation kinetics)

จากการศึกษาจลนศาสตร์ในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในถังหมักที่มีองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อและสภาวะในถังหมักที่เหมาะสม โดยใช้ระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 5 วัน จากการศึกษาพบว่าการเจริญของเชื้อซึ่งสามารถดูได้จากค่า log CFU มีการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วใน 12 ชั่วโมงแรกและเริ่มคงที่ตลอดการเลี้ยงเชื้อ เป็นเวลา 5 วัน และเมื่อดูปริมาณ reducing sugar ซึ่งเป็นค่าที่บ่งบอกถึงแหล่งคาร์บอนที่มีอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งจากการศึกษาพบว่าในช่วง 12 ชั่วโมงแรก ค่า reducing sugar มีค่าสูงขึ้นและลดลง ซึ่งสอดคล้องกับการเจริญของเชื้อซึ่งมีความต้องการอาหารในการเจริญเติบโตในช่วงแรก ส่วน pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อที่แสดงให้ทราบถึงการเปลี่ยนแปลงของสภาวะแวดล้อม พบว่าค่าความเป็นกรดเบสจะลดลงในช่วงแรกและมีค่าเพิ่มขึ้นและเริ่มคงที่ เมื่อเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมง ซึ่งบ่งบอกถึงกระบวนการเมตาบอลิซึมของเชื้อได้ ส่วนการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพสามารถดูได้จากค่า EA, EC และ Surface Tension ซึ่งค่า EA มีค่าสูงขึ้นในช่วง 12 ชั่วโมงแรกและเริ่มคงที่ ซึ่งค่า EA ที่สูงขึ้นในช่วงแรกมีค่าสอดคล้องกับ Surface Tension ซึ่งมีการลดลง และ ค่า EC ที่เพิ่มขึ้น ซึ่งแสดงให้ทราบว่าในอาหารเลี้ยงเชื้อมีการผลิตและสะสมของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเพิ่มขึ้น (ภาพ 15)



ภาพ 15 การศึกษาจลนศาสตร์ในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในถังหมัก

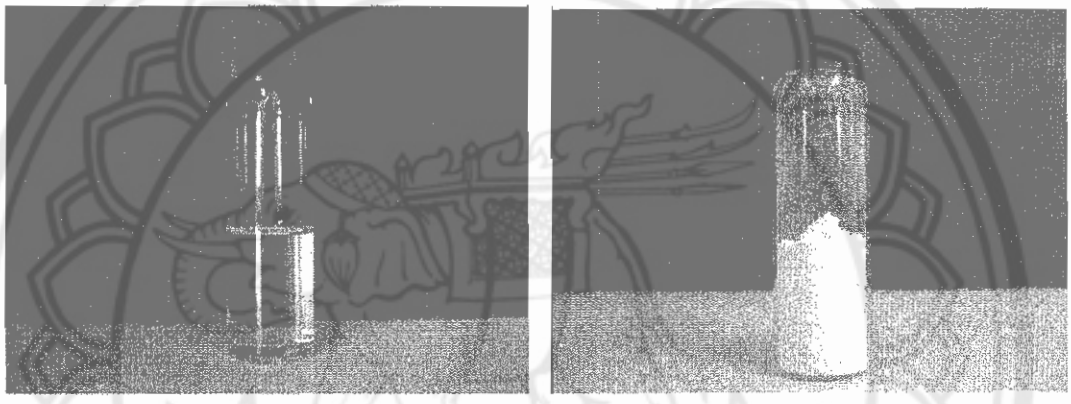
จากการศึกษาสามารถนำมาคำนวณหาค่าทางจลนศาสตร์ในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพได้ โดยคำนวณหาค่าผลผลิต (Yield) ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพได้เท่ากับ 0.34 และ 0.55 กรัมของสารสกัดต่อกรัมของน้ำตาลทราย ตามลำดับ และเมื่อนำมาคำนวณหาปริมาณของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพต่อน้ำหนักแห้งของเซลล์ จะได้เท่ากับ 1.34 และ 1.88 กรัมของสารสกัดต่อกรัมของน้ำหนักแห้งของเซลล์ ตามลำดับ และเมื่อคำนวณหาค่าความสามารถในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพต่อเวลา (Volumetric productivity) ได้เท่ากับ 0.066 และ 0.092 กรัมต่อชั่วโมง จากการศึกษาสามารถหาคุณสมบัติของเชื้อ *E. cloacae* LK5 ในถังหมักได้ โดยอัตราการเจริญจำเพาะ (Specific growth rate,μ) ได้เท่ากับ 0.17 ต่อชั่วโมง (ตาราง 14)

ตาราง 14 คุณสมบัติของเชื้อ *E. cloacae* LK5 **และค่าทางจลนศาสตร์ในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพในถังหมัก**

ตัวอย่าง	ปริมาณสารสกัด (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณสารต่อน้ำหนักแห้งของเซลล์ (กรัมต่อกรัม)	Yield (กรัมของสารสกัดต่อกรัมของน้ำตาลทราย)	Volumetric productivity (กรัมต่อชั่วโมง)	คุณสมบัติของเชื้อ *E. cloacae* LK5	
					น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)	Specific growth rate (ต่อชั่วโมง)
สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ	7.88	1.34	0.39	0.066	5.9 ± 0.29	0.17
สารก่ออิมัลชันชีวภาพ	11.06	1.88	0.55	0.092		

การสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพเบื้องต้น

จากการศึกษาการสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพพบว่าเมื่อสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม/เมทานอล (2:1) สามารถสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพได้ ปริมาณสารสกัดเท่ากับ 7.88 และ 11.06 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยลักษณะของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่สกัดได้มีลักษณะเป็นสารละลายเหลวสีเหลืองเข้ม และสารก่ออิมัลชันชีวภาพที่สกัดได้มีลักษณะเป็นผงละเอียดสีเหลืองอ่อน (ภาพ 16)



ก. ข.

ภาพ 16 ลักษณะสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพที่ผลิตจากเชื้อ *E. cloacae* LK5

ก. สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

ข. สารก่ออิมัลชันชีวภาพ

การศึกษาคุณสมบัติบางประการของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพ

1. การศึกษาคุณสมบัติของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพ

การศึกษาคุณสมบัติของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพ ในการเกิด Emulsification activity, Emulsification capacity, Oil displacement area และ pH โดยในการทดลองใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (ปริมาตรโดยปริมาตร) และสารก่ออิมัลชันชีวภาพ (น้ำหนักโดยปริมาตร) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ละลายใน 0.02 M Tris-HCl buffer pH 7.3 จากการทดลองพบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพให้ค่า EA เท่ากับ 0 และ 59.1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ให้ค่า EC เท่ากับ 1.4 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ให้ค่า ODA เท่ากับ 4.9 และ 1.7 ตารางเซนติเมตร ตามลำดับ และ pH ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเมื่อนำไปละลายใน 0.02 M Tris-HCl buffer pH 7.3 เท่ากับ 2.8 และ 2.9 ตามลำดับ และเมื่อวัด pH ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยตรงโดยใช้กระดาษลิตมัสพบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมี pH น้อยกว่า 1 (ตาราง 15) ซึ่งจากผลการทดลองดังกล่าวทำให้ทราบว่า pH ของ Tris-HCl buffer ที่ลดลงเป็นผลมาจากกระบวนการสกัดสารที่มีการปรับ pH ของตัวอย่างก่อนทำการสกัด

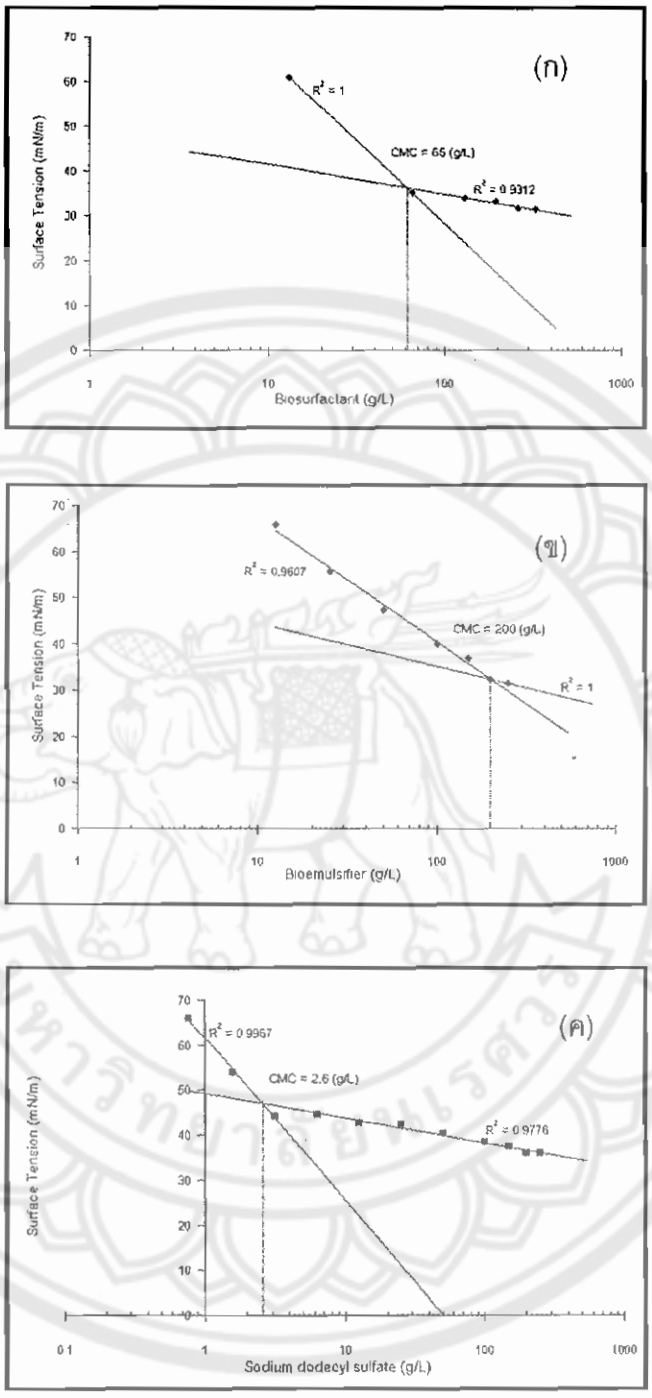
ตาราง 15 การศึกษาคุณสมบัติบางประการของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพ

ตัวอย่าง	การทดสอบ			
	EA (%)	EC (%)	ODA (cm^2)	pH
Negative control (0.02 M Tris-HCl buffer)	0	1.3±0.29	0	7.30
Positive control (1 % SDS)	63.9±1.97	>100±1.58	28.3±2.50*	7.30
น้ำหมักชีวภาพไม่แยกเซลล์	60.7±1.26	33.8±1.80	0.8±0.15	7.65
น้ำหมักชีวภาพแยกเซลล์	60.0±2.10	33.0±1.52	0.8±0.17	7.64
10 % สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ	0±2.18	1.4±0.19	4.9±1.30	2.80
10 % สารก่ออิมัลชันชีวภาพ	59.1±0.05	1.5±0.25	1.8±1.25	2.91
100 % สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ	nd	nd	38.5±1.25*	<1**

* ปริมาณที่ใช้ทดสอบ 1 µl จากปกติ 10 µl, ** ทดสอบโดยกระดาษลิตมัส
nd = ไม่ได้ทำการทดสอบ

2. การศึกษาจุด Critical micelle concentration ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพ

จากการศึกษา Critical micelle concentration ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพ โดยทดสอบความสามารถของสารในการลดแรงตึงผิวของน้ำกลั่น จากการทดลองพบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพมีจุด CMC เท่ากับ 65 และ 200 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยเมื่อนำไปเปรียบเทียบกับ SDS พบว่า SDS ใช้สารจำนวนน้อยกว่าโดยมีจุด CMC อยู่ที่ 2.6 กรัมต่อลิตร แต่สารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพสามารถลดแรงตึงผิวได้ต่ำกว่า SDS โดยสามารถลดแรงตึงผิวของน้ำกลั่นลงได้เท่ากับ 35.1 และ 32.4 mN/m ตามลำดับ ซึ่ง SDS สามารถลดแรงตึงผิวของน้ำกลั่นลงได้เท่ากับ 44.1 mN/m (ภาพ 17)



ภาพ 17 ค่า Critical micelle concentration

ก. สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

ข. สารก่ออิมัลชันชีวภาพ

ค. Sodium dodecyl sulfate

การวิเคราะห์ชนิดและองค์ประกอบของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพ

1. การศึกษาคุณสมบัติการละลายของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพ ในตัวทำละลายชนิดต่างๆ

การศึกษาคุณสมบัติการละลายของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพ ในตัวทำละลายชนิดต่างๆ เพื่อศึกษาดูว่าสารสกัดเป็นสารที่มีขั้วหรือไม่มีขั้ว และเพื่อศึกษาตัวทำละลายที่ใช้ในการทำละลายสารก่ออิมัลชันชีวภาพเพื่อนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบโดยเทคนิค TLC โดยใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (ปริมาตรโดยปริมาตร) และสารก่ออิมัลชันชีวภาพ (น้ำหนักโดยปริมาตร) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ในตัวทำละลายชนิดต่างๆ จากการทดลองพบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพสามารถละลายได้ในตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว คือ Methanol, Acetone, Chloroform, Toluene และ Hexane โดยไม่ละลายในน้ำกลั่น ส่วนสารก่ออิมัลชันชีวภาพ ไม่ละลายใน น้ำกลั่น, Methanol, Acetone, Chloroform, Toluene และ Hexane (ตาราง 16) จากผลการศึกษาทำให้ไม่สามารถนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบของสารก่ออิมัลชันชีวภาพด้วยเทคนิค TLC ได้เนื่องจากไม่สามารถละลายได้ในตัวทำละลายที่ใช้ทดสอบ

ตาราง 16 การละลายของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพในตัวทำละลายชนิดต่างๆ

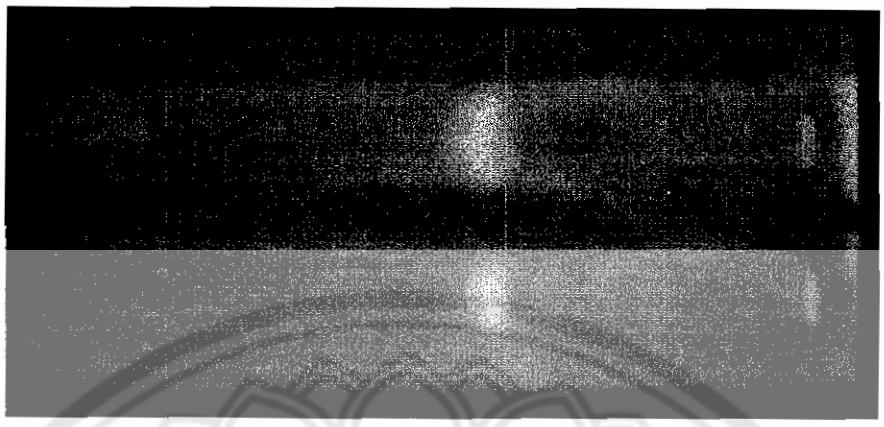
ตัวอย่าง	ตัวทำละลาย					
	น้ำกลั่น	Methanol	Acetone	Chloroform	Toluene	Hexane
สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ	*	***	***	***	***	***
สารก่ออิมัลชันชีวภาพ	**	**	**	**	**	**

*** ไม่ละลายมีการแยกชั้นกันอย่างชัดเจน, ** ละลายได้แต่ละลายไม่หมด, *** ละลายได้ดี**

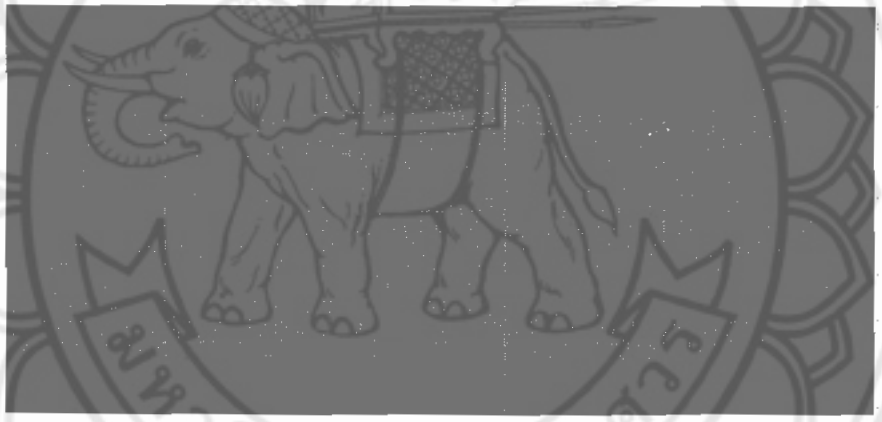
2. **การวิเคราะห์องค์ประกอบของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ**

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพด้วยเทคนิค TLC พบว่า สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่สกัดได้จากเชื้อ *E. cloacae* LK5 มีกลุ่มอะมิโนเป็นองค์ประกอบ เนื่องจากเมื่อส่องภายใต้แสงยูวีที่ความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร เกิดการเรืองแสงสีน้ำเงินขึ้น แสดงว่ามีหมู่อะมิโนอยู่ในตัวอย่าง (ภาพ 18) อีกทั้งยังสามารถตรวจพบไขมันเป็นองค์ประกอบอีกด้วยโดยเมื่อสเปรย์ด้วย Rhodamine B แล้วนำไปส่องภายใต้ยูวีที่ความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร เกิดการเรืองแสงสีเหลืองอ่อนขึ้น (ภาพ 19) และเมื่ออบด้วยเกล็ดไอโอดีน มีปฏิกิริยาเกิดขึ้นโดยเห็นเป็นแถบสีน้ำตาล ส่วนการทดสอบการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 256 นาโนเมตร เป็นการตรวจสอบแถบสารที่ไม่สามารถเรืองแสงที่ความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร จากผลการตรวจสอบพบแถบสารเกิดขึ้น 2 แถบ (ภาพ 20) โดยแถบสารที่มีการดูดกลืนแสงนั้น มีอยู่หนึ่งแถบสารที่มีขนาดใหญ่ ซึ่งเป็นแถบสารที่ตรวจพบกลุ่มอะมิโนและไขมัน ส่วนอีกหนึ่งแถบสารอาจเป็นสารเจือปนที่อยู่ในสารลดแรงตึงผิวชีวภาพสกัด และจากผลการศึกษาดังกล่าวสรุปผลการวิเคราะห์องค์ประกอบได้ว่ามีกลุ่มอะมิโนและไขมันเป็นองค์ประกอบอยู่ในสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

ภาพ 18 การเรืองแสงของแผ่น TLC ภายใต้ยูวีที่ความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร



ภาพ 19 การเรืองแสงของแผ่น TLC เมื่อสเปรย์ด้วย Rhodamine B และดูการเรืองแสงยูวีที่ความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร



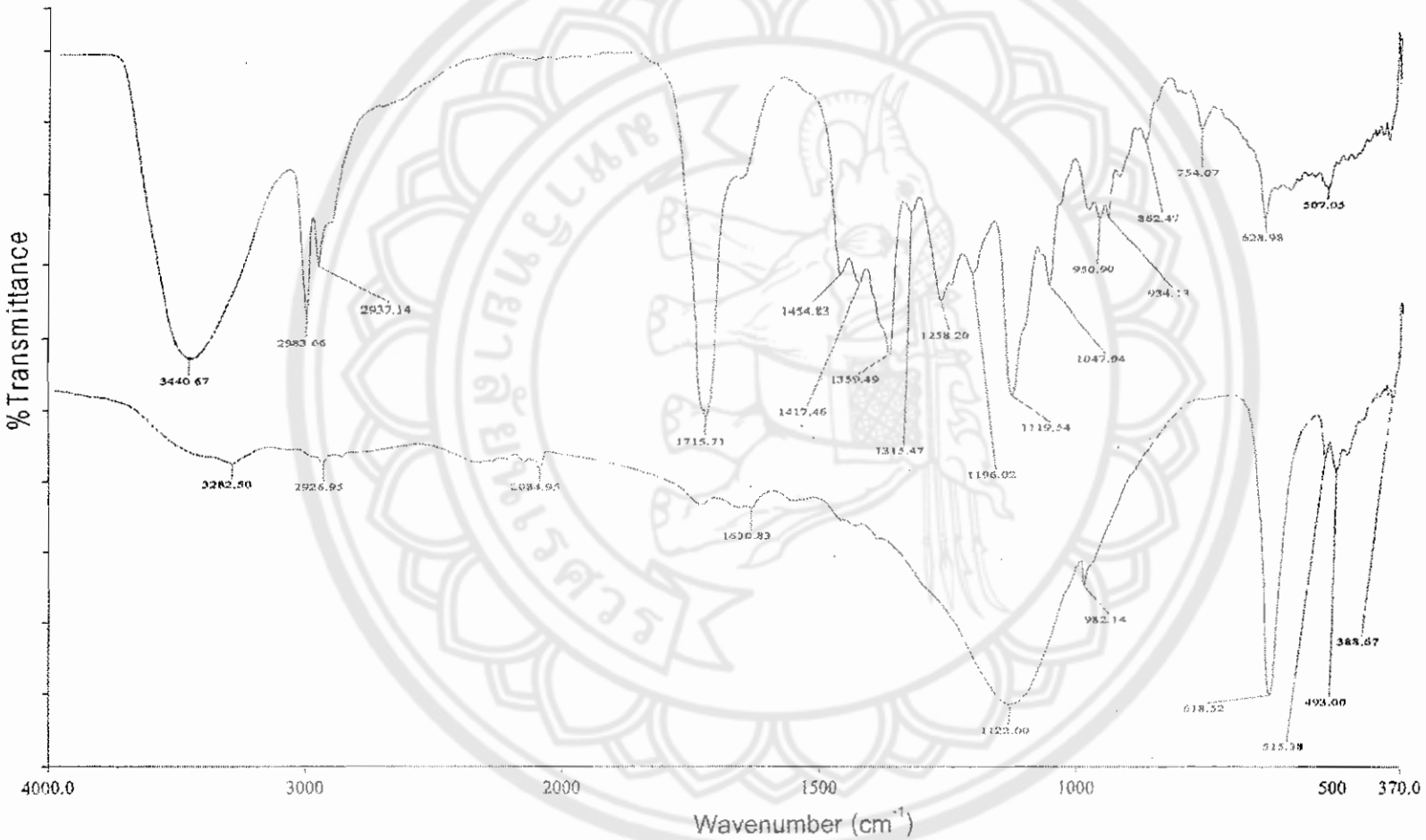
ภาพ 20 การเรืองแสงของแผ่น TLC ภายใต้ยูวีที่ความยาวคลื่น 256 นาโนเมตร

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพด้วยเทคนิค Fourier Transform Infrared (FT-IR) Spectroscopy (ภาพ 21) พบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่สกัดได้เป็นองค์ประกอบที่พบอยู่ในสารก่ออิมัลชันชีวภาพ ซึ่งสามารถดูได้จากการซ้อนทับกันของผลการวิเคราะห์โดย FT-IR โดยจากผลการวิเคราะห์สารก่ออิมัลชันชีวภาพนั้นยังไม่สามารถวิเคราะห์องค์ประกอบได้อย่างชัดเจนเนื่องจากมีสารประกอบหลายชนิดปนกันอยู่ นอกจากนี้เชื้อ *Enterobacter cloacae* LK5 เป็นเชื้อที่สามารถผลิต exopolysaccharide ได้ ดังนั้นสารก่ออิมัลชันชีวภาพที่สกัดได้จึงมี exopolysaccharide, ไขมัน และ โปรตีน เป็นองค์ประกอบและจากการวิเคราะห์สารลดแรงตึงผิวชีวภาพพบว่าประกอบด้วยกลุ่มของโปรตีนโดยสามารถวิเคราะห์

พบกลุ่มอะมิโนอยู่ในองค์ประกอบ โดยพบหมู่ฟังก์ชัน N-H ที่ความยาวคลื่น 3440 cm^{-1} และที่ 1119-1360 cm^{-1} เป็นการแสดงออกของหมู่ฟังก์ชัน C-N และยังพบการแสดงออกของหมู่ aliphatic hydrogens (C-H) และ carbonyl (=O) โดย aliphatic hydrogens มีการแสดงออกที่ 2983-2937 cm^{-1} และ 1417-1454 cm^{-1} ส่วน carbonyl มีการแสดงออกที่ 1717 cm^{-1} (ตาราง 17) ส่งผลให้สรุปได้ว่ากลุ่มของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตจากเชื้อ *E. cloacae* LK5 เมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบด้วยวิธี TLC และ FT-IR ในการวิเคราะห์พบว่าเป็นสารกลุ่มลิโปเปปไทด์ (Lipopeptides)

ตาราง 17 องค์ประกอบของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพที่สกัดได้จากเชื้อ *E. cloacae* LK5 ด้วยเทคนิค Fourier Transform Infrared

หมู่ฟังก์ชัน	ค่าความยาวคลื่นมาตรฐาน (cm^{-1})	สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ	
		ค่าความยาวคลื่น (cm^{-1})	Intensity
N-H	3300-3500	3440	Medium (one band)
C-H	2850-3000	2983, 2937	Strong
C-H	1350-1480	1417-1454	Variable
C=O	1750-1700	1715	Strong
C-N	1080-1360	1119	Medium-weak



ภาพ 21 การเปรียบเทียบองค์ประกอบของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (ก.) และสารก่ออิมัลชันชีวภาพ (ข.) โดยการวิเคราะห์ด้วยวิธี FT-IR spectroscopy

การทดสอบประสิทธิภาพของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในการประยุกต์ใช้ในด้านการบำบัดสภาพแวดล้อม อุตสาหกรรมปิโตรเลียม และอุตสาหกรรมอื่นๆ

1. การทดสอบประสิทธิภาพของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในการประยุกต์ใช้ในด้านบำบัดสภาพแวดล้อม

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในการประยุกต์ใช้ในด้านบำบัดสภาพแวดล้อม โดยเมื่อนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมาทดสอบประสิทธิภาพในการชะน้ำมันออกจากเม็ดทราย (Oil removal) ด้วยวิธี Sand pack test เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่า เมื่อใช้ปริมาณของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเท่ากับ 1, 5, 10 และ 30 เปอร์เซ็นต์ และน้ำหมักชีวภาพที่แยกเซลล์ออก จากการทดลองพบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพสามารถชะน้ำมันออกจากเม็ดทรายได้ดีที่สุดเมื่อใช้ปริมาณของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ เท่ากับ 30 เปอร์เซ็นต์ โดยได้ค่า Oil removal เท่ากับ 89.0 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำไปเทียบกับ SDS แล้วพบว่าเมื่อใช้ความเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับ SDS โดย SDS มีค่าประมาณ 91.0 เปอร์เซ็นต์ (ตาราง 18)

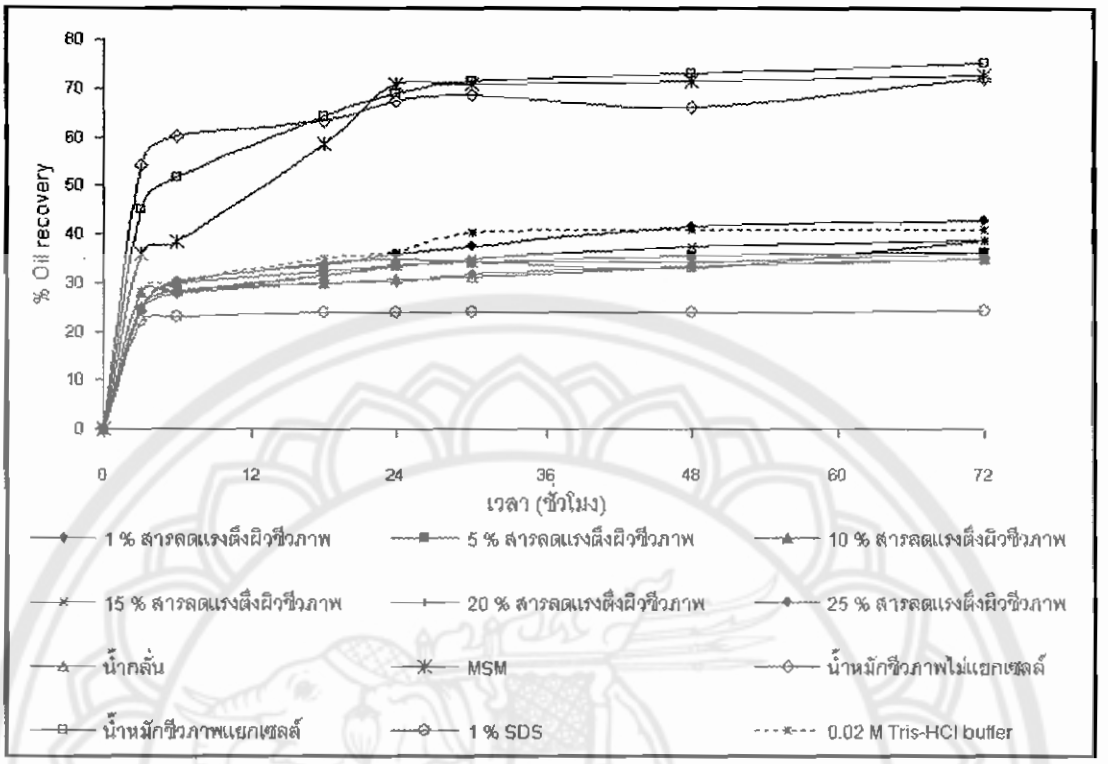
ตาราง 18 ผลการทดสอบประสิทธิภาพ Oil removal (%) ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดยเชื้อ *E. cloacae* LK5 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MSM โดยวิธี Sand pack test

ชนิดและปริมาณของสารทดสอบ		% Oil removal
ชนิด	ความเข้มข้น	
Positive control (SDS)	1 %	91.0±1.00[a]
Negative control (Tris-HCl buffer)	0.02 M	52.0±2.00[c]
สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (สารสกัด)	1 %	61.7±2.88[c]
	5 %	71.7±2.88[b]
	10 %	73.3±2.88[b]
	30 %	89.0±1.73[a]
น้ำหมักชีวภาพที่แยกเซลล์	-	71.7±2.08[b]
One-way ANOVA		***

ทำการวิเคราะห์ทางสถิติ One-way ANOVA แสดงนัยสำคัญ (Significant) ที่ *** $P \leq 0.01$, ** $P \leq 0.05$, * $P \leq 0.10$ และ NS = Not significant จากข้อมูลค่าเฉลี่ยของ % Oil removal โดยข้อมูลในสดมภ์เดียวกันที่มีตัวอักษรกำกับเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยวิธี Tukey HSD test ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์

2. **การทดสอบประสิทธิภาพของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในการประยุกต์ใช้ในด้านอุตสาหกรรมปิโตรเลียม**

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในการประยุกต์ใช้ในด้านอุตสาหกรรมปิโตรเลียม โดยเมื่อนำน้ำหมักชีวภาพที่แยกเซลล์แบคทีเรียออกกับน้ำหมักชีวภาพที่ไม่แยกเซลล์ออก และสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ มาทดสอบ Oil recovery ด้วยวิธี De-emulsification พบว่าเมื่อใช้น้ำหมักชีวภาพที่แยกเซลล์ออก และ น้ำหมักชีวภาพที่ไม่แยกเซลล์ สามารถเกิด Oil recovery ได้ดีที่สุด โดยได้ค่าเท่ากับ 75.4 และ 72.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเวลา 72 ชั่วโมง (ภาพ 22) ซึ่งมีค่าสูงกว่า SDS ถึง 3 เท่า โดย SDS มีความสามารถในการเกิด oil recovery ได้เพียง 25 เปอร์เซ็นต์

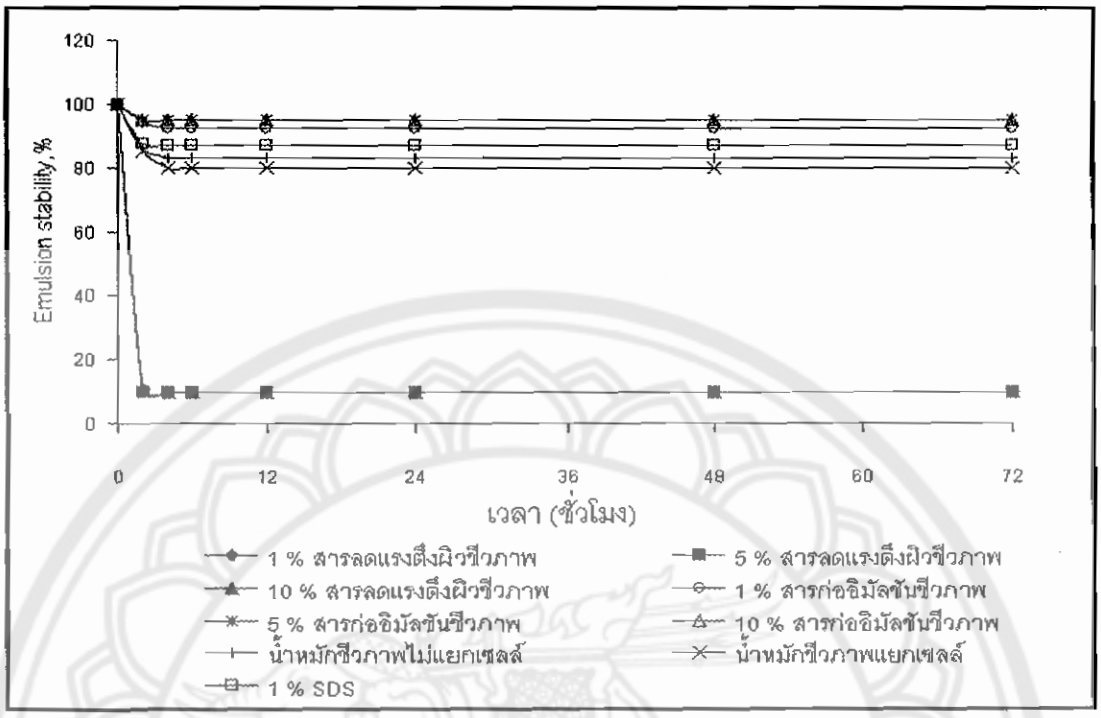


ภาพ 22 ผลการทดสอบประสิทธิภาพ Oil recovery **ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดยเชื้อ** *E. cloacae* LK5 **ในอาหารเลี้ยงเชื้อ** MSM

3. การทดสอบประสิทธิภาพของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพในการประยุกต์ใช้ในด้านอุตสาหกรรมอื่น ๆ

3.1 การศึกษาความคงตัวของการเกิดอิมัลชัน (Emulsification stability)

การทดสอบประสิทธิภาพของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพในการประยุกต์ใช้ในด้านอุตสาหกรรมอื่นๆ โดยศึกษาความคงตัวของการเกิดอิมัลชัน ซึ่งใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (ปริมาตรโดยปริมาตร) และสารก่ออิมัลชันชีวภาพ (น้ำหนักโดยปริมาตร) เข้มข้น 1, 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ จากการทดลองพบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ไม่มีความคงตัวของการเกิดอิมัลชันโดยอิมัลชันที่เกิดขึ้นมีการเสียสภาพไปเมื่อเวลาผ่านไป 2 ชั่วโมง โดยมีค่า %ES ประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ ส่วนสารก่ออิมัลชันชีวภาพและ SDS มีความคงตัวของการเกิดอิมัลชันได้นานถึง 72 ชั่วโมง (ภาพ 23) ซึ่งเมื่อตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 30 วัน พบว่าอิมัลชันของสารก่ออิมัลชันชีวภาพและ SDS ยังคงตัวอยู่ที่ 92.3 และ 87.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ



ภาพ 23 ผลการทดสอบความคงตัวของการเกิดอิมัลชัน

3.2 **การศึกษาความสามารถในการเกิดฟอง** (Foamability)

การศึกษาความสามารถของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพในการเกิดฟอง โดยทดสอบความสามารถของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (ปริมาตรโดยปริมาตร) และสารก่ออิมัลชันชีวภาพ (น้ำหนักโดยปริมาตร) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ละลายใน 0.02 M Tris-HCl buffer pH 7.3 ปริมาตร 20 มิลลิลิตร จากการศึกษาพบว่าเมื่อเติมอากาศในอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อนาที สารลดแรงตึงผิวชีวภาพสามารถเกิดฟองขึ้นในอัตรา 27.8 มิลลิลิตรต่อนาที ส่วนสารก่ออิมัลชันชีวภาพเกิดฟองขึ้นและคงที่อยู่ที่ 34 มิลลิลิตร ไม่มีการเกิดฟองเพิ่มขึ้นและมีปริมาตรไม่ถึงสเกลที่กำหนดคือ 250 มิลลิลิตร จึงทำให้ไม่สามารถนำมาคำนวณได้ แต่เมื่อเพิ่มอัตราการเติมอากาศเป็น 700 มิลลิลิตรต่อนาที พบว่าสามารถเกิดฟองขึ้นในอัตรา 295.0 มิลลิลิตรต่อนาที และเมื่อนำไปเปรียบเทียบกับ 1 เปอร์เซ็นต์ SDS พบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพมีอัตราการเกิดฟองน้อยกว่า SDS โดย SDS สามารถเกิดฟองขึ้นในอัตรา 309.4 มิลลิลิตรต่อนาที (ตาราง 19)

ตาราง 19 การศึกษาความสามารถในการเกิดฟอง (Foamability) ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพ

ตัวอย่าง	ลักษณะฟองที่เกิดขึ้น	อัตราการเกิดฟอง (มิลลิลิตรต่อนาที)
Negative control (0.02 M Tris-HCl buffer)	ไม่เกิดฟอง	0
Positive control (1 % SDS)	ฟองมีขนาดเท่ากันและมีอัตราการเพิ่มปริมาณของฟอง	309.8 ± 18.6
10 % สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ	ฟองมีขนาดไม่คงที่และมีอัตราการเพิ่มปริมาณของฟอง	27.8 ± 1.74
10 % สารก่ออิมัลชันชีวภาพ	ฟองมีขนาดคงที่และไม่มีอัตราการเพิ่มปริมาณของฟอง	ฟองคงที่อยู่ที่ 34 มิลลิลิตร
10 % สารก่ออิมัลชันชีวภาพ (เมื่อเพิ่มอัตราการเติมอากาศเป็น 700 มิลลิลิตรต่อนาที)	ฟองมีขนาดเท่ากันและมีอัตราการเพิ่มปริมาณของฟอง	295.0 ± 20.5