บทที่ 5

อภิปราย สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

การศึกษาอิทธิพลขององค์ประกอบในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีผลต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

จากการศึกษาอิทธิพลขององค์ประกอบในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีผลต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพพบว่า กลูโคสและ NH_4NO_3 ปริมาณ 1 และ 0.25 เปอร์เซ็นต์ สามารถให้ค่า EC สูงที่สุดโดยให้ค่า EC เท่ากับ 44.06 เปอร์เซ็นต์ และให้ค่า EA เท่ากับ 36.13 เปอร์เซ็นต์ แต่เนื่องจากน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนที่มีราคาสูง ซึ่งในกระบวนการผลิตทางอุตสาหกรรมนั้นมีความจำเป็นที่จะต้องคำนึงถึงต้นทุนในกระบวนการผลิตด้วย ซึ่งหลังจากการวิเคราะห์ผลการศึกษาพบว่าแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่เหมาะสมในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพทางอุตสาหกรรมที่สุด ได้แก่ น้ำตาลทราย และ NH_4NO_3 ปริมาณ 2 และ 0.25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยได้ค่า EC และ EA เท่ากับ 15.95 และ 45.11 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากน้ำตาลทรายมีราคาถูกกว่าน้ำตาลกลูโคสค่อนข้างมาก อีกทั้งยังสามารถหาซื้อได้ง่ายอีกด้วย นอกจากนี้ NH_4NO_3 ยังเป็นแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ โดย NH_4NO_3 สามารถจัดอยู่ในกลุ่มของอนินทรีย์ไนโตรเจนซึ่งเชื้อสามารถนำไปใช้ได้ง่าย โดยเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญในสภาวะที่มีอากาศนั้นสามารถใช้ NH_4NO_3 ได้ในรูปของ NH_4^+ และ NO_3^- ซึ่งในขั้นแรกเชื้อแบคทีเรียจะใช้แหล่งไนโตรเจนในรูปของ NH_4^+ ก่อน จนกระทั่ง NH_4^+ หมด จุลินทรีย์จึงใช้ NO_3^- ในการเจริญเติบโต จากลักษณะดังกล่าวจึงส่งผลให้เชื้อ *E. cloacae* LK5 สามารถใช้ NH_4NO_3 ในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ดีที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Makkar และ Cameotra (1997a) ซึ่งได้ทำการศึกษาอิทธิพลของแหล่งไนโตรเจนต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากเชื้อแบคทีเรีย *B. subtillis* พบว่าแหล่งไนโตรเจนมีความสำคัญต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ และเชื้อ *B. subtillis* สามารถใช้ NH_4NO_3 ในการเจริญและผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ และจากการเลี้ยงเชื้อ *E. cloacae* LK5 ในอาหาร MSM ที่ใช้แหล่งคาร์บอนเป็นน้ำมันถั่วเหลืองและกากน้ำตาลพบว่า เชื้อ *E. cloacae* LK5 สามารถใช้น้ำมันถั่วเหลืองในการเจริญได้แต่ไม่ดีเท่าที่ควร และเมื่อใช้กากน้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอนพบว่า เชื้อ *E. cloacae* LK5 สามารถเจริญได้แต่ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ไม่ดี และจากการเลี้ยงเชื้อโดยใช้แหล่งอินทรีย์ไนโตรเจน คือ peptone และ glutamic acid พบว่าลักษณะของอาหารเลี้ยงเชื้อลักษณะข้นขึ้น ซึ่งพบว่าเชื้อมีการผลิตเยื่อเมือกออกมาซึ่งคาดว่าเป็น

exopolysaccharide (Bandaiphet and Prasertsan, 2006; Prasertsan et al., 2006) โดยเยื่อเมือกที่เชื้อสร้างขึ้นมานั้นทำหน้าที่ป้องกันเซลล์แบคทีเรียและช่วยในการเกาะติดกันพื้นผิวของสิ่งแวดล้อม (Neidhardt, Ingraham and Schaechter, 1990) จากลักษณะดังกล่าวส่งผลให้เยื่อเมือกเป็นอุปสรรคในการสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ เพราะทำให้ไม่สามารถแยกเซลล์จุลินทรีย์ออกจากอาหารเลี้ยงเชื้อได้ และจากการศึกษาวิจัยพบว่าค่า EA นั้นมีค่าไม่แน่นอนเท่ากับค่า EC โดยสามารถดูได้จากค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยเมื่อสังเกตดูลักษณะของอิมัลชันที่เกิดขึ้นในการทดสอบ EA พบว่าในตัวอย่างที่มีค่า EA ใกล้เคียงกัน เมื่อสังเกตลักษณะอิมัลชันที่เกิดขึ้นพบว่าอิมัลชันมีลักษณะและขนาดที่แตกต่างกัน ซึ่งแตกต่างจากค่า EC โดยการทดสอบ EC นั้นทำการทดสอบโดยค่อยๆ หยดสารประกอบไฮโดรคาร์บอน (น้ำมันหล่อลื่น) ลงไป ทำให้สามารถทดสอบประสิทธิภาพของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้เต็มประสิทธิภาพ ดังนั้นในกระบวนการตัดสินใจเลือกจึงใช้ค่า EC เป็นค่าหลัก ซึ่งสอดคล้องกับคำกล่าวของ Karanth, Deo และ Veenanadig (1999) ที่ว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพสามารถวัดค่า EC ได้แต่ไม่สามารถแสดงค่า EA ได้แน่นอน เนื่องจากเป็นคุณสมบัติของสารก่ออิมัลชันชีวภาพ ซึ่งสามารถทำให้เกิดสภาพอิมัลชันที่มีลักษณะดีและคงตัว

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในถังหมักที่มีผลต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

หลังจากการศึกษาหาชนิดและปริมาณของแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่เหมาะสมในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากการทดลองที่ 1 ต่อมาทำการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในถังหมักโดยดูความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการหมุนของใบพัดและอัตราการเติมอากาศต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ จากการศึกษาพบว่าสภาวะที่เหมาะสมที่สุดคือ อัตราการหมุนของใบพัดและอัตราการเติมอากาศ เท่ากับ 250 รอบต่อนาที และ 1.5 vvm ตามลำดับ ซึ่งจากการศึกษาพบว่าเมื่อเพิ่มอัตราการหมุนของใบพัดและอัตราการเติมอากาศเพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้เชื้อผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเพิ่มมากขึ้น ซึ่งสามารถดูได้จากค่า EC และ EA ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อ *E. cloacae* LK5 เป็นเชื้อกลุ่ม aerobic bacteria ที่มีความต้องการอากาศในการเจริญเติบโต (Bandaiphet and Prasertsan, 2006) แต่อย่างไรก็ตามเมื่อเพิ่มอัตราการหมุนของใบพัดและอัตราการเติมอากาศจนถึงระดับหนึ่ง ค่า EC ซึ่งเป็นค่าที่แสดงถึงปริมาณของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีค่าลดลง ซึ่งการเพิ่มอัตราการหมุนของใบพัดและอัตราการเติมอากาศส่งผลให้เกิดฟองเพิ่มขึ้นจำนวนมาก นอกจากนี้ยังส่งผลถึงเชื้อแบคทีเรียโดยทำให้ตัวเซลล์ของแบคทีเรียติดอยู่บริเวณผิวของฟองทำให้เชื้อแบคทีเรียใช้อาหารเลี้ยงเชื้อได้น้อยลงจึงส่งผลต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพด้วย แม้ว่าจะมีระบบ Foam collector เพื่อช่วยในการหมุนเวียนฟองก็ตาม ซึ่ง

ผลการทดลองสอดคล้องกับ Yeh, Wei และ Chang (2006) ที่ทำการศึกษาการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากเชื้อ *B. subtilis* โดยจากการศึกษาพบว่าอัตราการหมุนของใบพัดและอัตราการเติมอากาศที่เหมาะสมต่อการผลิต Surfactin มากที่สุดคือ 300 รอบต่อนาที และ 1.5 vvm ตามลำดับ

การศึกษาจลนศาสตร์ของการหมัก (Fermentation kinetics)

จากการศึกษาจลนศาสตร์ในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในถังหมัก พบว่าการเจริญของเชื้อมีการเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 12 ชั่วโมงแรก โดยสามารถจัดให้อยู่ในช่วง Log phase ได้ ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณ reducing sugar ที่มีการเพิ่มขึ้นในช่วงแรกและลดลง โดยในช่วง Log phase เชื้อมีการผลิตเอนไซม์ออกมาเพื่อสลายซูโคสที่เป็นสวนประกอบหลักในน้ำตาลทรายให้กลายเป็นแหล่งคาร์บอนที่เชื้อสามารถนำไปใช้ในกระบวนการแบ่งเซลล์ และถ้าดูจากค่า pH ที่เปลี่ยนแปลงไปสามารถบอกให้ทราบได้ถึงการใช้แหล่งไนโตรเจนของเชื้อ โดยสมใจ ศิริโภค (2544) กล่าวว่า เมื่อเชื้อใช้แหล่งไนโตรเจนที่เป็น NH_4NO_3 ในช่วงแรกเชื้อจะให้ NH_4^+ เป็นแหล่งไนโตรเจนก่อนทำให้เกิดสภาวะที่เป็นกรดขึ้น จนกระทั่ง NH_4^+ หมด จุลินทรีย์จึงสังเคราะห์เอนไซม์ Nitrate reductase และใช้ไนเตรทเป็นแหล่งไนโตรเจน ทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อมีค่า pH สูงขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับคุณสมบัติของเชื้อเมื่อเปรียบเทียบข้อมูลในหนังสือวิธีการทดสอบและจัดจำแนกแบคทีเรีย (Holt et al., 1994) พบว่าเชื้อสามารถเกิดปฏิกิริยา ไนตริฟิเคชันและใช้ซูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญได้ ส่วนการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพสามารถดูได้จากค่า Surface tension, EA และ EC โดยค่า Surface tension สามารถบ่งบอกได้ว่าในอาหารเลี้ยงเชื้อมีสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเป็นองค์ประกอบอยู่แต่ไม่สามารถบอกถึงปริมาณที่มีได้ โดยได้ค่า Surface tension เท่ากับ 54 mN/m ซึ่งมีค่าสอดคล้องกับการศึกษาของ Toledo และคณะ (2006) ที่ทำการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพพบว่าเชื้อ *Enterobacter* sp. ลดแรงตึงผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อลงได้จนมีแรงตึงผิวเท่ากับ 53.4 mN/m

จากการศึกษาสามารถคำนวณหาค่าผลผลิต (Yield) ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพได้เท่ากับ 0.34 และ 0.55 กรัมของสารสกัดต่อกรัมของน้ำตาลทรายตามลำดับ และเมื่อคำนวณค่าความสามารถในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพต่อเวลา (volumetric productivity) ได้เท่ากับ 0.066 และ 0.092 กรัมต่อชั่วโมง และสามารถคำนวณหาค่าอัตราการเพิ่มจำนวนขึ้นเป็น 2 เท่า (Generation time) ของเชื้อได้เท่ากับ 4.2 ชั่วโมง ค่าอัตราการเจริญจำเพาะ (Specfic growth rate) ได้เท่ากับ 0.17 ต่อ

ชั่วโมง และได้น้ำหนักแห้งของเซลล์เท่ากับ 5.9 กรัมต่อลิตรเมื่อเลี้ยงเชื้อในถังหมัก โดยเมื่อเปรียบเทียบกับผลการศึกษาของ Yeh, Wei และ Chang (2006) ที่ศึกษาการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกลุ่ม Lipopeptide ชนิด Surfactin จากเชื้อ *B. subtilis* ในถังหมัก พบว่าเชื้อ *E. cloacae* LK5 ที่ทำการศึกษามีประสิทธิภาพในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ดีกว่า โดยเชื้อ *B. subtilis* สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้เท่ากับ 6.45 กรัมต่อลิตร ได้ผลผลิตต่อน้ำตาลกลูโคสเท่ากับ 0.161 กรัมของสารสกัดต่อกรัมของกลูโคส และได้อัตราการผลิตสารต่อระยะเวลาเท่ากับ 0.106 กรัมต่อชั่วโมง ซึ่งมีค่ามากกว่าการผลิตจากเชื้อ *E. cloacae* LK5 เนื่องจากเชื้อ *B. Subtilis* ใช้ระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อเพียง 80 ชั่วโมง จึงส่งผลให้ได้ค่าผลผลิตต่อชั่วโมงที่สูงกว่า

การสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพเบื้องต้น

จากการศึกษาการสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพพบว่า คลอโรฟอร์ม/เมทานอล (2:1) สามารถสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันออกมาได้ โดยได้ปริมาณสารเท่ากับ 7.88 และ 11.06 กรัมต่อลิตร ซึ่งในการสกัดนั้นสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจะละลายอยู่ในส่วนของคลอโรฟอร์ม/เมทานอล ซึ่งแยกชั้นอยู่ด้านล่าง ส่วนการสกัดสารก่ออิมัลชันชีวภาพนั้นสามารถทำการสกัดโดยการเก็บสารละลายที่อยู่ด้านล่างซึ่งเป็นชั้นที่มีการละลายของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและชั้นตรงกลางที่มีลักษณะเป็นสีขาวขุ่นและเกิดอิมัลชัน ดังนั้นจากการเก็บตัวอย่างส่งผลให้สารก่ออิมัลชันชีวภาพที่สกัดได้มีส่วนผสมของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพประกอบอยู่ด้วย ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Batista และคณะ (2006) ที่ทำการคัดแยกเชื้อที่มีความสามารถในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพจากบริเวณที่มีการปนเปื้อนของสารประกอบไฮโดรคาร์บอน ซึ่งแสดงให้เป็นว่าเชื้อแบคทีเรียมีความสามารถในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพได้ในเชื้อชนิดเดียวกัน อีกทั้งยังสอดคล้องกับการศึกษาของ Iyer, Mody และ Jha (2006) ได้ทำการศึกษาคุณสมบัติของเชื้อ *Enterobacter cloacae* ที่แยกได้จากทะเลในการผลิต exopolysaccharide โดยพบว่าเชื้อมีความสามารถในการผลิตสารก่ออิมัลชันชีวภาพออกมาได้ โดยได้ปริมาณสารเท่ากับ 10 กรัมต่อลิตร นอกจากนี้การศึกษาของ Bandaiphet และ Prasertsan (2006) ยังพบว่าเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *E. cloacae* มีความสามารถในการผลิต exopolysaccharides ออกมาได้ โดย El-Tayeb และ Khodair (2007) ได้ทำการศึกษาสารก่ออิมัลชันชีวภาพจากเชื้อ *Pseudomonas* sp. UBF 2 และพบว่าสารก่ออิมัลชันชีวภาพสามารถผลิตได้จากแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิต exopolysaccharides

การศึกษาคุณสมบัติบางประการของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพ

1. การศึกษาคุณสมบัติของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพ

จากการศึกษาคุณสมบัติของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพในการทดสอบ Emulsification activity, Emulsification capacity, Oil displacement area และ pH โดยในการศึกษาพบว่าน้ำหมักชีวภาพที่ไม่ได้แยกเซลล์ออกและน้ำหมักชีวภาพที่แยกเซลล์ออกมีค่า EA, EC, ODA และ pH ไม่แตกต่างกัน โดยน้ำหมักชีวภาพไม่แยกเซลล์และน้ำหมักชีวภาพแยกเซลล์ให้ค่า EA เท่ากับ 60.7 และ 60.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ให้ค่า EC เท่ากับ 33.8 และ 33.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ได้ค่า ODA เท่ากับ 0.8 และ 0.8 ตารางเซนติเมตร ตามลำดับ และ pH เท่ากับ 7.65 และ 7.64 ตามลำดับ ซึ่งค่า EA มีผลสอดคล้องกับการศึกษาของ Toledo และคณะ (2006) ที่ทำการแยกเชื้อ *E. cloacae* Nr3 ได้และทำการทดสอบค่า EA โดยใช้ Octane, Xylene และ Toluene ในการทดสอบพบว่ามีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 63, 65 และ 66 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งจากการศึกษาสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (ปริมาตรโดยปริมาตร) และสารก่ออิมัลชันชีวภาพ (น้ำหนักโดยปริมาตร) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเมื่อทดสอบค่า EA, EC, และ ODA พบว่าได้เท่ากับ 0, 1.4 เปอร์เซ็นต์ 4.9 ตารางรางเซนติเมตร และ pH ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเท่ากับ 2.8 ตามลำดับ ซึ่งจากข้อมูลของ Karanth, Deo และ Veenanadig (1999) กล่าวว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีความสามารถในการลดแรงตึงผิวระหว่างอากาศกับน้ำ ซึ่งคุณสมบัติที่สามารถตรวจสอบว่ามีสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเป็นองค์ประกอบคือค่า EC และ ODA ซึ่งจากการศึกษาพบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพสกัดเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ สามารถแสดงค่า ODA ได้แต่ค่า EC ที่ได้มีค่าน้อยมาก ซึ่ง Prommachan (2002) ได้ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของ pH ต่อการทำงานของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ โดยพบว่าเมื่อ pH ของสภาวะแวดล้อมมีค่าต่ำลงส่งผลให้ค่า EC ลดลงตามไปด้วย และสอดคล้องกับข้อมูลของ Morikawa, Hirata และ Imanaka (2000) ที่ทำการศึกษาคุณสมบัติของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกลุ่ม lipopeptide พบว่า pH มีผลต่อค่า ODA ด้วย โดยเมื่อ pH ของสภาพแวดล้อมมีค่าต่ำลงค่า ODA จะมีค่าลดลงตามไปด้วย และเมื่อ pH มีค่าสูงขึ้นส่งผลให้ค่า ODA มีค่าสูงขึ้นตามไปด้วย โดยมีค่า ODA สูงที่สุดเมื่อ pH เท่ากับ 13.5 เช่นเดียวกับสารก่ออิมัลชันชีวภาพซึ่งสอดคล้องกับคำกล่าวของ Karanth, Deo และ Veenanadig (1999) ซึ่งกล่าวว่าสารก่ออิมัลชันชีวภาพจะไม่มีการแสดงออกของค่า EC และเมื่อทดสอบค่า ODA ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ พบว่าได้เท่ากับ 38.5 ตารางเซนติเมตร ซึ่งให้ค่ามากกว่า 1 เปอร์เซ็นต์ SDS ซึ่งให้ค่าเท่ากับ 28.3 ตาราง

เซนติเมตร อีกทั้งพบว่าลักษณะของการเกิดวงใสในการทดสอบ ODA ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพสกัดมีความคงตัวที่ดีกว่า SDS

2. การศึกษาจุด Critical micelle concentration ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพ

จากการศึกษาจุด Critical micelle concentration ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพ โดยการทดสอบความสามารถของสารในการลดแรงตึงผิวของน้ำกลั่น จากการศึกษาพบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพมีจุด CMC เมื่อทดสอบกับน้ำกลั่นเท่ากับ 65 และ 200 กรัมต่อลิตร โดยสามารถลดแรงตึงผิวของน้ำกลั่นได้ถึง 35.1 และ 32.4 mN/m ซึ่งเมื่อนำผลการศึกษาเปรียบเทียบกับ SDS พบว่า SDS มีจุด CMC ที่น้อยกว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพเท่ากับ 2.6 กรัมต่อลิตร โดยสามารถลดแรงตึงผิวของน้ำกลั่นได้เท่ากับ 45 mN/m แต่จากผลการศึกษาพบว่าทั้งสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพมีความสามารถในการลดแรงตึงผิวที่ดีกว่า SDS โดยได้ค่า Surface Tension ที่ต่ำกว่า ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับผลการศึกษาของ Nitschke และ Pastore (2006) ที่ทำการศึกษาคุณสมบัติของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากเชื้อ *B. subtilis* พบว่ามีค่า CMC เท่ากับ 33 มิลลิกรัมต่อลิตร และพบว่าแรงตึงผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อมีความเกี่ยวข้องกับ pH ของอาหารโดยตรง โดยถ้าอาหารเลี้ยงเชื้อมี pH อยู่ที่ 5 ถึง 12 จะเป็นค่าที่เหมาะสมที่สุด โดยถ้าอาหารเลี้ยงเชื้อมี pH อยู่ระหว่าง 2 ถึง 4 พบว่าแรงตึงผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อที่วัดได้มีค่าสูง โดยยิ่งมีความเป็นกรดสูงขึ้นความสามารถในการลดแรงตึงผิวของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพก็จะลดลงตามไปด้วย ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาเนื่องจาก pH ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพมีค่าความเป็นกรดสูง ดังนั้นจึงส่งผลถึงปริมาณสารที่ใช้ในการลดแรงตึงผิวของน้ำกลั่น ซึ่งจะต้องใช้ปริมาณสารที่มากขึ้นในการลดแรงตึงผิวของน้ำกลั่นลงจนถึงจุด CMC

การวิเคราะห์ชนิดและองค์ประกอบของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพ

1. การศึกษาคุณสมบัติการละลายของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพ ในตัวทำละลายชนิดต่างๆ

จากการศึกษาคุณสมบัติการละลายของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพในตัวทำละลายชนิดต่างๆ เพื่อศึกษาคุณสมบัติของสารสกัดว่าเป็นสารกลุ่มใด และเพื่อศึกษาการละลายของสารเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ชนิดของสารในการทดสอบ TLC โดยตัวทำละลายที่ใช้ในการศึกษาไล่จากความมีขั้วต่ำจนถึงความมีขั้วสูง คือ Hexane, Toluene, Chloroform, Acetone, Methanol และ น้ำกลั่น ตามลำดับ ซึ่งจากผลการศึกษาพบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพไม่สามารถละลายในน้ำกลั่น แต่สามารถละลายได้ใน Hexane, Toluene, Chloroform, Acetone และ Methanol ซึ่งเป็นสารที่มีขั้วน้อยกว่าน้ำกลั่น ส่วนสารก่ออิมัลชันชีวภาพละลายได้ไม่ดีในตัวทำละลายที่ใช้ในการศึกษา โดยมีบางส่วนที่เป็นเศษตะกอนที่ไม่ละลายผสมอยู่ ซึ่งอาจเป็นเพราะสารก่ออิมัลชันชีวภาพมีสารประกอบอื่นๆ อยู่ด้วย เช่น exopolysaccharide (Bandaiphet and Prasertsan, 2006) จากผลการศึกษาส่งผลให้ไม่สามารถนำสารก่ออิมัลชันชีวภาพไปวิเคราะห์องค์ประกอบด้วยเทคนิค TLC ได้ เนื่องจากสารก่ออิมัลชันชีวภาพสามารถละลายในตัวทำละลายชนิดต่างๆ ได้น้อย

2. การวิเคราะห์องค์ประกอบของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพด้วยเทคนิค TLC เพื่อศึกษาชนิดของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพพบว่า เมื่อนำแผ่น TLC ที่ทำการพัฒนาแล้วไปทำการวิเคราะห์แผ่น TLC พบว่าสามารถตรวจพบกลุ่มของไขมัน โดยการใช้ Iodine และ Rhodamine B ในการวิเคราะห์ ซึ่ง Iodine จะทำปฏิกิริยากับไขมันโดยเกิดเป็นสีน้ำตาลแดงเกิดขึ้น และเมื่อทำการสเปรย์ด้วย Rhodamine B และส่องดูด้วยแสง UV พบว่าเกิดการเรืองแสงขึ้นเป็นจุดสีเหลืองบนพื้นสีส้มอมชมพู และจากการวิเคราะห์ยังพบว่ามีอะมิโนเป็นองค์ประกอบ โดยเมื่อส่องแผ่น TLC ด้วย UV ที่ความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร กลุ่มอะมิโนจะทำปฏิกิริยากับกลุ่มแอลดีไฮด์อิสระส่งผลให้ปรากฏเป็นจุดสีน้ำเงิน (Dawson et al., 1986) และจากการวิเคราะห์ด้วย Alkaline potassium permanganate พบว่าตรวจไม่พบคาร์โบไฮเดรต นอกจากนี้ยังพบว่าจุดที่ตรวจพบไขมันและจุดที่ตรวจพบอะมิโนเป็นจุดเดียวกัน ทั้งนี้เนื่องจากสารลดแรงตึงผิวมีโครงสร้างโมเลกุลเป็นแอมฟิพาติกโมเลกุล ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Prommachan (2002) ซึ่งทำการศึกษาการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกลุ่ม surfactin จาก *Bacillus* MUV4 โดยจาก

การศึกษาชนิดของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยวิธี TLC พบว่าสมารถตรวจพบไขมันและกรดอะมิโนอยู่ที่จุดเดียวกัน

และจากการวิเคราะห์องค์ประกอบของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยเครื่อง FT-IR พบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีหมู่ฟังก์ชันของ N-H และ C-N ซึ่งแสดงว่ามีอะมิโนเป็นองค์ประกอบ และยังพบ C-H ซึ่งแสดงถึงหมู่ฟังก์ชัน aliphatic hydrogens และ C=O ซึ่งแสดงถึงหมู่ฟังก์ชัน carbonyl (Coates, 2000) ซึ่งเป็นหมู่ฟังก์ชันที่พบเป็นองค์ประกอบอยู่ในกลุ่มของไขมัน (Gurr and Harwood, 1991) ส่วนสารก่ออิมัลชันชีวภาพไม่สามารถระบุได้อย่างชัดเจนเนื่องจากสารก่ออิมัลชันชีวภาพมีองค์ประกอบของสารหลายชนิดปนอยู่ โดยทั้งนี้เกิดจากการที่เชื้อ *E. cloacae* LK5 สามารถผลิต exopolysaccharide ได้ จึงส่งผลให้สารก่ออิมัลชันชีวภาพมีทั้ง exopolysaccharide, ไขมัน และ โปรตีนเป็นองค์ประกอบ (Iyer, Mody and Jha, 2006) แต่อย่างไรก็ตามสำหรับสารลดแรงตึงผิวชีวภาพนั้นสามารถสรุปได้ว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตจากเชื้อ *E. cloacae* LK5 เป็นสารกลุ่มลิโปเปปไทด์ (lipopeptides)

การทดสอบประสิทธิภาพของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในการประยุกต์ใช้ในด้านการบำบัดสภาพแวดล้อม อุตสาหกรรมปิโตรเลียม และอุตสาหกรรม

1. การทดสอบประสิทธิภาพของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในการประยุกต์ใช้ในด้านบำบัดสภาพแวดล้อม

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในการประยุกต์ใช้ในการบำบัดสภาพแวดล้อมที่มีการปนเปื้อนน้ำมัน (Oil removal) โดยวิธี Sand pack test ซึ่งประยุกต์จากวิธีการของ Makkar และ Cameotra (1997a) โดยการทำงานของสารลดแรงตึงผิวนั้นจะอาศัยคุณสมบัติของความมีขั้วและความไม่มีขั้วของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในการดึงน้ำมันที่มีการเกาะอยู่กับเม็ดทรายให้แยกตัวออกมา ซึ่งจากการศึกษาพบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (ปริมาตรโดยปริมาตร) เข้มข้น 1, 5, 10 และ 30 เปอร์เซ็นต์ สามารถเกิด Oil removal ได้เท่ากับ 61, 71, 73 และ 89 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งจากการศึกษาพบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเข้มข้น 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับน้ำหมักชีวภาพที่แยกเซลล์ออก โดยน้ำหมักชีวภาพสามารถเกิด Oil removal ได้เท่ากับ 71 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเมื่อนำผลการศึกษาเปรียบเทียบกับ Tris-HCl buffer ซึ่งเป็น Negative control พบว่ามีประสิทธิภาพดีกว่า โดย Tris-HCl buffer สามารถเกิด Oil removal ได้เพียง 52 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเมื่อนำผลการศึกษาเปรียบเทียบกับ SDS พบว่า SDS (น้ำหนักโดยปริมาตร) เข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ สามารถเกิด Oil removal ได้ดีกว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ โดย SDS เกิด Oil removal ได้เท่ากับ 91 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่า

ใกล้เคียงกับการใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์ ในการทดสอบ ซึ่งจากการศึกษาพบว่าถ้าปริมาณของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีความเข้มข้นหรือมีประสิทธิภาพดีจะใช้เวลาในการซึมผ่านของสารทดสอบนานขึ้นด้วย โดยในการศึกษาแสดงให้เห็นว่าถ้าต้องการนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพไปใช้ในสิ่งแวดล้อมอาจไม่มีความจำเป็นที่จะใช้สารสกัดเนื่องจากน้ำหมักชีวภาพมีความสามารถในการเกิด Oil removal ได้ดีซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับสารลดแรงตึงผิวชีวภาพสกัดเข้มข้น 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ โดยในการทดสอบใช้อัตราส่วนของสารสกัดต่ออัตราส่วนของน้ำมันก๊าดเท่ากับ 1 ต่อ 1 ซึ่งถ้ามีการนำไปใช้จริงเพื่อให้มีประสิทธิ์ภาพมากขึ้นอาจใช้อัตราส่วนเพิ่มมากขึ้นเพื่อให้มีประสิทธิภาพดีขึ้น ซึ่งจากผลการศึกษาสอดคล้องกับการศึกษาของ Eliseev และคณะ (1991) ได้ทำการศึกษาคุณสมบัติของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกลุ่ม Surfactin ที่ผลิตจากเชื้อ *Bacillus* sp. ในการแยกน้ำมันก๊าดออกจากทรายด้วยวิธี Sand pack test พบว่าสามารถแยกน้ำมันก๊าดออกมาได้ถึง 62 เปอร์เซ็นต์โดยใช้ความเข้มข้นของสารเท่ากับ 0.04 มิลลิกรัมต่อลิตร และสอดคล้องกับการศึกษาของ Makkar และ Cameotra (1997a) ได้ทำการศึกษาคุณสมบัติของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากเชื้อ *B. subtilis* สายพันธุ์ MTCC1472 และ MTCC2423 สามารถนำน้ำมันกลับคืนมาได้ถึง 56 เปอร์เซ็นต์

2. การทดสอบประสิทธิภาพของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในการประยุกต์ใช้ในด้านอุตสาหกรรมปิโตรเลียม

จากการศึกษาประสิทธิภาพของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในการประยุกต์ใช้ในด้านอุตสาหกรรมปิโตรเลียม โดยวิธี De-emulsification เพื่อทดสอบความสามารถของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในการนำน้ำมันที่อยู่ในรูปอิมัลชันกลับมาใช้ใหม่ (oil recovery) ซึ่งจากการศึกษาพบว่าเมื่อนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ความเข้มข้น 1, 5, 10, 15, 20 และ 25 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรโดยปริมาตร) พบว่าสามารถเกิด Oil recovery ได้เท่ากับ 35, 36, 36, 39, 39 และ 42 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนน้ำหมักชีวภาพที่แยกเซลล์ออกกับน้ำหมักชีวภาพที่ไม่แยกเซลล์แบคทีเรียออกสามารถเกิด Oil recovery ได้เท่ากับ 75 และ 72 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยเมื่อเปรียบเทียบกับ SDS พบว่า SDS เข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักโดยปริมาตร) มีความสามารถในการเกิด Oil recovery ได้ไม่ดีโดยมีอัตราการเกิดเท่ากับ 25 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าน้อยกว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและน้ำหมักชีวภาพ แต่จากการศึกษาพบว่า อาหารเลี้ยงเชื้อ MSM (Negative control) มีความสามารถในการเกิด Oil recovery ด้วย ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับผลการเกิด Oil recovery ของน้ำหมักชีวภาพที่แยกเซลล์ออกและไม่แยกเซลล์ ดังนั้นจากการศึกษาแสดงให้ทราบว่าการเกิด Oil recovery ของน้ำหมักชีวภาพนั้นอาจเกิดจากสารเคมีต่างๆ ที่เป็นองค์ประกอบอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ แต่จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าสารลดแรงตึงผิว

ชีวภาพมีความสามารถในการเกิด Oil recovery ได้แต่ผลที่ได้อาจไม่ดีนัก และจากการศึกษาของ Nadarajah, Singh และ Owen (2001) ซึ่งทำการศึกษาเชื้อแบคทีเรียผสม (mixed culture) ในการเกิด De-emulsification โดยสามารถเกิด Oil recovery ได้เท่ากับ 96 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งมีประสิทธิภาพที่ดีกว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพสกัดทั้งนี้อาจเกิดจากการทำงานร่วมกันของแบคทีเรียผสมที่ใช้ในการทดสอบ

3. การทดสอบประสิทธิภาพของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพในการประยุกต์ใช้ในด้านอุตสาหกรรมอื่นๆ

3.1 การศึกษาความคงตัวของการเกิดอิมัลชัน

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพในการประยุกต์ใช้ในด้านอุตสาหกรรมอื่นๆ โดยการศึกษาความคงตัวของการเกิดอิมัลชัน (Emulsification stability) เพื่อทดสอบความสามารถของสารสกัดเมื่อนำมาใช้เป็นสารก่ออิมัลชันเพื่อนำไปเป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์ต่างๆ จากการศึกษาพบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพไม่มีความคงตัวของการเกิดอิมัลชัน ส่วนสารก่ออิมัลชันชีวภาพมีความสามารถในการคงตัว โดยเมื่อเวลาผ่านไป 72 ชั่วโมงสารก่ออิมัลชันชีวภาพ เข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักโดยปริมาตร) มีความคงตัวเท่ากับ 92.3 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเปรียบเทียบกับ SDS พบว่ามีความคงตัวที่ใกล้เคียงกันโดย SDS เข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักโดยปริมาตร) ซึ่งมีความคงตัวเท่ากับ 87.0 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อติดตามศึกษาความคงตัวของสารก่ออิมัลชันชีวภาพและ SDS พบว่ายังมีความคงตัวอยู่เท่าเดิมเมื่อเวลาผ่านไปมากกว่า 30 วัน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Iyer, Mody และ Jha (2006) ที่ศึกษาการผลิตสารก่ออิมัลชันชีวภาพจากเชื้อ *E. cloacae* โดยทดสอบความคงตัวของอิมัลชันกับสารประกอบไฮโดรคาร์บอนและน้ำมันชนิดต่างๆ พบว่าเมื่อทดสอบความคงตัวกับ Hexane และ น้ำมันก๊าด ได้ค่าความคงตัวของอิมัลชันเท่ากับ 95 และ 60 เปอร์เซ็นต์ โดยความคงตัวของอิมัลชันที่เกิดขึ้นมีความคงตัวนานกว่า 9 วัน โดยใช้ปริมาณของสารก่ออิมัลชันในการทดสอบเพียง 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยความคงตัวของอิมัลชันขึ้นอยู่กับปริมาณของสารและการทำงานของโปรตีนในสารก่ออิมัลชันชีวภาพ โดยสามารถนำสารก่ออิมัลชันชีวภาพไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารได้ซึ่งสามารถใช้เป็นสารเพิ่มความหนืดได้ และเมื่อเปรียบเทียบกับผลการศึกษาของ Batista และคณะ (2006) พบว่ามีความสอดคล้องกันโดย Batista และคณะ ได้ทำการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียจากแหล่งที่มีการปนเปื้อนของสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่มีความสามารถในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพ โดยพบว่าเชื้อที่คัดแยกได้หลายชนิดมีความคงตัวของอิมัลชันของน้ำหมักชีวภาพอยู่ที่ระหว่าง 40 ถึง 60 เปอร์เซ็นต์

3.2 การศึกษาความสามารถของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพในการเกิดฟอง

จากการศึกษาความสามารถของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพในการเกิดฟอง โดยทดสอบความสามารถของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรโดยปริมาตร) พบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพสามารถสร้างฟองขึ้นในอัตรา 27.8 มิลลิลิตรต่อนาที ซึ่งลักษณะของฟองที่เกิดขึ้นมีขนาดไม่คงที่ ซึ่งจากการศึกษาแสดงให้ทราบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากเชื้อ *E. cloacae* LK5 มีความสามารถในการลดแรงตึงผิวระหว่างของเหลวกับอากาศซึ่งสอดคล้องกับ Karanth, Deo และ Veenanadig (1999) ที่ได้รายงานคุณสมบัติของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพไว้ ส่วนสารก่ออิมัลชันชีวภาพ (น้ำหนักโดยปริมาตร) เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เมื่อให้อากาศปริมาณ 100 มิลลิลิตรต่อนาที พบว่าเกิดฟองขึ้นโดยความสูงของฟองที่เกิดขึ้นมีความสูงคงตัวอยู่ที่ 34 มิลลิลิตร ซึ่งส่งผลให้ไม่สามารถนำมาคำนวณหาอัตราการเกิดฟองได้ แต่เมื่อมีการเพิ่มอากาศเป็น 700 มิลลิลิตรต่อนาที พบว่ามีฟองเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วซึ่งสามารถคำนวณอัตราการเกิดฟองเมื่อเติมอากาศในอัตรา 700 มิลลิลิตรต่อนาที ได้เท่ากับ 295.0 มิลลิลิตรต่อนาที จากผลการศึกษาดังกล่าวอาจเกิดจากปริมาณอากาศที่เติมในอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อนาทีไม่เพียงพอในการสร้างฟองให้เกิดขึ้น ซึ่งเมื่อนำผลการศึกษาเทียบกับ SDS พบว่า SDS มีความสามารถในการสร้างฟองที่ดีกว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพและขนาดฟองที่เกิดขึ้นมีขนาดคงที่กว่า โดยสามารถหาอัตราการเกิดฟองได้เท่ากับ 309.8 มิลลิลิตรต่อนาที ซึ่งการที่สารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีอัตราการสร้างฟองที่น้อยอาจเกิดจากสารยังไม่มีความบริสุทธิ์พอหรือสภาวะแวดล้อมยังไม่เหมาะสมต่อการทำงานของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ โดยจากการศึกษาพบว่าคุณสมบัติของสารก่ออิมัลชันชีวภาพที่มีความสามารถในการช่วยให้ของเหลวที่มีขั้วและไม่มีขั้วเกิดการรวมตัวกันได้ อีกทั้งยังมีสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเป็นองค์ประกอบอยู่ด้วยนั้น มีความเหมาะสมกว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในการนำไปใช้เป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดต่างๆ

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากเชื้อ *Enterobacter cloacae* LK5 ในถังหมัก เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิต ศึกษาชนิดและคุณสมบัติบางประการของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ ทดสอบประสิทธิภาพของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในการประยุกต์ใช้ในด้านการบำบัดสภาพแวดล้อม ในอุตสาหกรรมปิโตรเลียม และในด้านอุตสาหกรรมอื่นๆ สามารถสรุปผลการศึกษาได้ดังนี้

1. สภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากเชื้อ *Enterobacter cloacae* LK5 ซึ่งแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมคือ น้ำตาลทราย 2 เปอร์เซ็นต์ และ NH_4NO_3 0.25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในถังหมักคือ อัตราการหมุนของใบพัดเท่ากับ 250 รอบต่อนาทีและอัตราการเติมอากาศเท่ากับ 1.5 vvm

2. การสกัดสารเบื้องต้นสามารถสกัดสารได้ 2 ชนิดคือ สารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพ โดยได้ปริมาณสารเท่ากับ 7.88 และ 11.06 กรัมต่อลิตร โดยมีค่าผลผลิต (Yield) เท่ากับ 0.39 และ 0.55 กรัมของสารสกัดที่ได้ต่อกรัมของน้ำตาลทราย สามารถคำนวณอัตราการผลิตสาร (Volumetric productivity) ได้เท่ากับ 0.066 และ 0.092 กรัมต่อชั่วโมง และผลผลิตของสารต่อน้ำหนักแห้งได้เท่ากับ 1.34 และ 1.88 กรัมของสารสกัดต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ และจากการศึกษาพบว่าเชื้อ *Enterobacter cloacae* LK5 สามารถลดแรงตึงผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อจาก 72.3 mN/m ลงมาที่ 54.3 mN/m

3. การศึกษาคุณสมบัติบางประการของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพ โดยทำการทดสอบ Emulsification activity และ Emulsification capacity พบว่าน้ำหมักชีวภาพไม่แยกเซลล์ น้ำหมักชีวภาพแยกเซลล์ สารก่ออิมัลชันชีวภาพ และสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีค่า EA เท่ากับ 60, 60, 59 และ 0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยมีค่า EC เท่ากับ 33, 32, 1.4 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยมีค่า ODA เท่ากับ 0.8, 0.8, 1.8 และ 4.9 ตารางเซนติเมตร ตามลำดับ โดยพบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์มี pH น้อยกว่าหรือเท่ากับ 1 และมีค่า ODA เท่ากับ 38.5 ตารางเซนติเมตร

4. การศึกษาจุด CMC พบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีจุด CMC เท่ากับ 65 กรัมต่อลิตร และสามารถลดแรงตึงผิวของน้ำกลั่นจาก 77.3 ลงจนถึง 35.1 mN/m ส่วนสารก่ออิมัลชันชีวภาพมีจุด CMC เท่ากับ 200 กรัมต่อลิตร และสามารถลดแรงตึงผิวของน้ำกลั่นจาก 77.3 ลงจนถึง 32.4 mN/m

5. สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่สกัดได้จากเชื้อ *Enterobacter cloacae* LK5 จัดเป็นสารกลุ่ม lipopeptides ซึ่งมีหมู่อะมิโนและไขมันเป็นองค์ประกอบ ส่วนสารก่ออิมัลชันชีวภาพยังไม่สามารถระบุกลุ่มของสารได้อย่างชัดเจน เนื่องจากมี exopolysaccharide ที่เชื้อผลิตขึ้นเป็นองค์ประกอบอยู่ด้วย

6. ผลการประยุกต์ใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพ พบว่าสามารถนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพไปประยุกต์ใช้ในการบำบัดสภาพแวดล้อมและในอุตสาหกรรมปิโตรเลียม จากการศึกษาพบว่าน้ำหมักชีวภาพแยกเซลล์มีความเหมาะสมในการนำไปประยุกต์ใช้ โดยพบว่าสามารถเกิด oil removal และ oil recovery ได้เท่ากับ 71.7 และ 75.4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และจากการศึกษาคุณสมบัติของสารก่ออิมัลชันชีวภาพพบว่ามีความเหมาะสมในการนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอื่นๆ โดยพบว่ามีความคงตัวของอิมัลชันเมื่อใช้ปริมาณสารเพียง 1 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 92.3 เปอร์เซ็นต์ โดยความคงตัวของอิมัลชันมีความคงตัวนานกว่า 30 วัน และพบว่ามีขนาดฟองและอัตราการเกิดฟองที่ดีโดยมีอัตราการเกิดฟองเท่ากับ 295.0 มิลลิลิตรต่อนาที เมื่อให้ปริมาณอากาศเท่ากับ 700 มิลลิลิตรต่อนาที

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพ เช่น pH, NaCl อุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานเพื่อประโยชน์ในการนำไปประยุกต์ใช้จริงต่อไป

2. ควรมีการศึกษาด้านการปรับปรุงสายพันธุ์เพื่อให้เชื้อมีการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพในปริมาณที่มากขึ้น

3. ควรมีการศึกษาความเป็นพิษของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพเพื่อเป็นข้อมูลในการพัฒนาการผลิตไปสู่ภาคอุตสาหกรรมหรือนำไปประยุกต์ใช้จริง