

## สารบัญ

| บทที่   | หน้า |
|---|------|
| 1 บทนำ.....   | 1    |
| ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....   | 1    |
| จุดมุ่งหมายของการวิจัย.....   | 3    |
| ขอบเขตของการวิจัย.....  | 3    |
| 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....   | 5    |
| สารลดแรงตึงผิว (surfactant).....  | 5    |
| สารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ (synthetic surfactants).....   | 6    |
| สารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากจุลินทรีย์ (biosurfactant).....  | 8    |
| จุลินทรีย์ที่ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ.....  | 14   |
| สารก่ออิมัลชันชีวภาพ (bioemulsifier).....   | 17   |
| อิทธิพลขององค์ประกอบในอาหารเลี้ยงเชื้อและสภาวะที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อที่มีผลต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ.....                                  | 18   |
| การนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพไปใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมปิโตรเลียม<br>ด้านบำบัดสภาพแวดล้อมที่เป็นอันตรายประกอบไฮโดรคาร์บอน<br>และอุตสาหกรรมอื่นๆ..... | 24   |
| 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....   | 29   |
| อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับใช้ในการดำเนินการวิจัย.....   | 29   |
| เชื้อแบคทีเรีย.....   | 30   |
| สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ.....   | 30   |
| วิธีดำเนินการวิจัย.....   | 32   |
| 4 ผลการวิจัย.....   | 45   |
| การศึกษาอิทธิพลขององค์ประกอบในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีผลต่อ<br>การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ.....  | 45   |



## สารบัญ (ต่อ)

| บทที่                | หน้า |
|----------------------|------|
| สรุปผลการวิจัย.....  | 85   |
| ข้อเสนอแนะ.....      | 86   |
| บรรณานุกรม.....      | 87   |
| ภาคผนวก.....         | 98   |
| อภิธานศัพท์.....     | 105  |
| ประวัติผู้วิจัย..... | 107  |



## สารบัญตาราง

### ตาราง

|  | หน้า |
|--|------|
| 1 จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ.....   | 15   |
| 2 การวางแผนแบบ fractional factorial design (FFD) เพื่อศึกษาชนิดและปริมาณของแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมในกระบวนการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ.....  | 33   |
| 3 การวางแผนแบบ fractional factorial design (FFD) เพื่อศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในถังหมักที่ใช้ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ .....  | 37   |
| 4 ผลการทดสอบประสิทธิภาพ Emulsification capacity (%) ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดยเชื้อ <i>E. cloacae</i> LK5 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MSM ที่มีส่วนผสมของน้ำตาลกลูโคส กับแหล่งไนโตรเจนในอัตราส่วนต่างๆ.....    | 46   |
| 5 ผลการทดสอบประสิทธิภาพ Emulsification activity (%) ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดยเชื้อ <i>E. cloacae</i> LK5 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MSM ที่มีส่วนผสมของน้ำตาลกลูโคส กับแหล่งไนโตรเจนในอัตราส่วนต่างๆ .....   | 47   |
| 6 ผลการทดสอบประสิทธิภาพ Emulsification capacity (%) ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดยเชื้อ <i>E. cloacae</i> LK5 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MSM ที่มีส่วนผสมของน้ำตาลทราย กับแหล่งไนโตรเจนในอัตราส่วนต่างๆ.....      | 48   |
| 7 ผลการทดสอบประสิทธิภาพ Emulsification activity (%) ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดยเชื้อ <i>E. cloacae</i> LK5 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MSM ที่มีส่วนผสมของน้ำตาลทราย กับแหล่งไนโตรเจนในอัตราส่วนต่างๆ.....      | 49   |
| 8 ผลการทดสอบประสิทธิภาพ Emulsification capacity (%) ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดยเชื้อ <i>E. cloacae</i> LK5 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MSM ที่มีส่วนผสมของน้ำตาลกลีเซอรอล กับแหล่งไนโตรเจนในอัตราส่วนต่างๆ..... | 50   |
| 9 ผลการทดสอบประสิทธิภาพ Emulsification activity (%) ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดยเชื้อ <i>E. cloacae</i> LK5 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MSM ที่มีส่วนผสมของน้ำตาลกลีเซอรอล กับแหล่งไนโตรเจนในอัตราส่วนต่างๆ..... | 51   |

## สารบัญญัตินี้ (ต่อ)

### ตาราง

### หน้า

|  |    |
|--|----|
| 10 ผลการทดสอบประสิทธิภาพ Emulsification capacity (%) ของสารลดแรงดึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดยเชื้อ <i>E. cloacae</i> LK5 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MSM ที่มีส่วนผสมของกากน้ำตาล กับแหล่งไนโตรเจนในอัตราส่วนต่างๆ .....   | 52 |
| 11 ผลการทดสอบประสิทธิภาพ Emulsification activity (%) ของสารลดแรงดึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดยเชื้อ <i>E. cloacae</i> LK5 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MSM ที่มีส่วนผสมของกากน้ำตาล กับแหล่งไนโตรเจนในอัตราส่วนต่างๆ .....   | 53 |
| 12 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ Two-Way ANOVA เพื่อดูความสัมพันธ์ของสารลดแรงดึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดยเชื้อ <i>E. cloacae</i> LK5 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MSM ที่มีส่วนผสมของชนิดและปริมาณของแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนชนิดต่างๆ ในการทดสอบ Emulsification capacity และ Emulsification activity ..... | 54 |
| 13 ผลการทดสอบประสิทธิภาพ Emulsification capacity (%) และ Emulsification activity (%) ของสารลดแรงดึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดยเชื้อ <i>E. cloacae</i> LK5 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MSM ที่มีอัตราการเติบโตมากกว่า และอัตราการหมักของแบคทีเรียในระดับต่างๆ .....  | 56 |
| 14 คุณสมบัติของเชื้อ <i>E. cloacae</i> LK5 และค่าทางจุลชีววิทยาในการผลิตสารลดแรงดึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพในถังหมัก .....   | 59 |
| 15 การศึกษาคุณสมบัติบางประการของสารลดแรงดึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพ .....  | 62 |
| 16 การละลายของสารลดแรงดึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพในตัวทำละลายชนิดต่างๆ .....   | 64 |
| 17 องค์ประกอบของสารลดแรงดึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพที่สกัดได้จากเชื้อ <i>E. cloacae</i> LK5 ด้วยเทคนิค Fourier Transform Infrared .....  | 67 |
| 18 ผลการทดสอบประสิทธิภาพ Oil removal (%) ของสารลดแรงดึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดยเชื้อ <i>E. cloacae</i> LK5 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MSM โดยวิธี Sand pack test .....  | 70 |

## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตาราง

หน้า

19 การศึกษาความสามารถในการเกิดฟอง (Foamability) ของ

สารลดแรงดึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพ.....73



## สารบัญภาพ

ภาพ

หน้า

|    |   |    |
|----|---|----|
| 1  | การจัดเรียงตัวของสารลดแรงตึงผิวซึ่งมีโครงสร้างเป็นโมเลกุลแอมฟิพาติก (amphipatic molecules).....   | 6  |
| 2  | โครงสร้างรูปแบบต่างๆ ของ rhamnolipids ที่ผลิตจากเชื้อ <i>Pseudomonas</i> sp. ....   | 10 |
| 3  | โครงสร้างของ sophorolipid ที่ผลิตจากเชื้อ <i>C. bombicola</i> .....   | 11 |
| 4  | โครงสร้างของ cyclic lipopeptides ที่ผลิตจากเชื้อ <i>Bacillus brevis</i> .....   | 13 |
| 5  | โครงสร้างของ surfactin ที่ผลิตจากเชื้อ <i>Bacillus</i> sp. ....   | 13 |
| 6  | โครงสร้างของ Polymeric surfactants.....   | 14 |
| 7  | ลักษณะของเชื้อ <i>Enterobacter cloacae</i> LK5 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์.....  | 18 |
| 8  | ระบบถังหมักที่ต่อเข้ากับระบบ foam collection.....   | 22 |
| 9  | ระบบถังหมักที่ต่อเข้ากับระบบ foam recycling system.....   | 23 |
| 10 | การจัดเรียงตัวของสารลดแรงตึงผิวเมื่อจับกับสารประกอบไฮโดรคาร์บอน.....  | 25 |
| 11 | การทดสอบ Emulsification capacity test<br>หลอดที่ 1 Lubricating oil (2 drops) + biosurfactant 2 ml<br>+ 0.2 M Tris-HCl buffer 2 ml<br>หลอดที่ 2 Lubricating oil (4 drops) + biosurfactant 2 ml<br>+ 0.2 M Tris-HCl buffer 2 ml<br>หลอดที่ 3 Lubricating oil (8 drops) + biosurfactant 2 ml<br>+ 0.2 M Tris-HCl buffer 2 ml<br>หลอดที่ 4 Lubricating oil (10 drops) + biosurfactant 2 ml<br>+ 0.2 M Tris-HCl buffer 2 ml..... | 34 |
| 12 | การทดสอบ Emulsification activity<br>หลอดที่ 1 น้ำมันก๊าด + น้ำกลั่น<br>หลอดที่ 2 น้ำมันก๊าด + fermentation broth ยังไม่ได้นำไป vortex<br>หลอดที่ 3, 4 และ 5 น้ำมันก๊าด + fermentation broth หลังนำไป vortex<br>หลอดที่ 6 น้ำมันก๊าด + SDS.....  | 35 |

## สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพ

หน้า

|    |   |    |
|----|---|----|
| 13 | การทดสอบ Oil displacement area.....   | 36 |
| 14 | การแยกชั้นของสารสกัดและอาหารเลี้ยงเชื้อ   |    |
|    | A ชั้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ   |    |
|    | B ชั้นของสารก่ออิมัลชันชีวภาพ   |    |
|    | C ชั้นของสารลดแรงดึงผิวชีวภาพ.....  | 39 |
| 15 | การศึกษาด้านศาสตร์ในการผลิตสารลดแรงดึงผิวชีวภาพในถังหมัก.....   | 57 |
| 16 | ลักษณะสารลดแรงดึงผิวชีวภาพและสารก่ออิมัลชันชีวภาพที่ผลิตจากเชื้อ <i>E. cloacae</i> LK5  |    |
|    | ก. สารลดแรงดึงผิวชีวภาพ   |    |
|    | ข. สารก่ออิมัลชันชีวภาพ.....  | 60 |
| 17 | ค่า Critical micelle concentration  |    |
|    | ก. สารลดแรงดึงผิวชีวภาพ   |    |
|    | ข. สารก่ออิมัลชันชีวภาพ   |    |
|    | ค. Sodium dodecyl sulfate.....  | 63 |
| 18 | การเรียงแสงของแผ่น TLC ภายใต้ยูวีที่ความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร.....  | 65 |
| 19 | การเรียงแสงของแผ่น TLC เมื่อส่องปรายด้วย Rhodamine B และดูการเรืองแสงยูวีที่ความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร.....                        | 66 |
| 20 | การเรียงแสงของแผ่น TLC ภายใต้ยูวีที่ความยาวคลื่น 256 นาโนเมตร.....  | 66 |
| 21 | การเปรียบเทียบองค์ประกอบของสารลดแรงดึงผิวชีวภาพ (ก.) และสารก่ออิมัลชันชีวภาพ (ข.) โดยการวิเคราะห์ด้วยวิธี FT-IR spectroscopy..... | 68 |
| 22 | ผลการทดสอบประสิทธิภาพ Oil recovery ของสารลดแรงดึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดยเชื้อ <i>E. cloacae</i> LK5 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MSM.....       | 71 |
| 23 | ผลการทดสอบความคงตัวของสารก่ออิมัลชัน.....   | 72 |