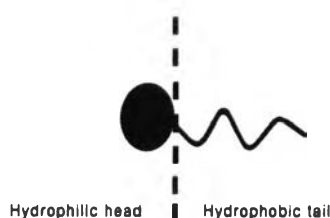


## บทที่ 2

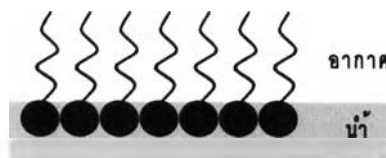
### ปริทรรศน์วรรณกรรม

#### 2.1 สารลดแรงตึงผิว (Surfactant)

สารลดแรงตึงผิว คือ สารที่สามารถลดแรงตึงผิว (surface tension) ของของเหลว และแรงตึงผิวระหว่างผิวที่ประจัน (interfacial tension) ระหว่างของเหลวกับของเหลว หรือของเหลวกับของแข็งได้ และเป็นสารประกอบที่มีโครงสร้างแบบแอมฟิพาติก (amphipathic structure) ประกอบด้วย 2 ส่วน คือ ส่วนที่มีขั้ว หรือส่วนที่ชอบน้ำ (hydrophilic) และส่วนที่ไม่มีขั้ว หรือส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) ดังรูปที่ 2.1 ดังนั้นสารลดแรงตึงผิวจึงมีสมบัติที่สำคัญ คือ ช่วยลดแรงตึงผิวระหว่างวัฏภาค (phase) สองชนิด โดยโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวจะไปสะสมระหว่างผิวสัมผัส ได้แก่ ผิวสัมผัสระหว่างของเหลวด้วยกัน ผิวสัมผัสระหว่างของเหลวกับแก๊ส ตัวอย่างเช่น การกระจายตัวของสารลดแรงตึงผิวระหว่างผิวสัมผัสของน้ำกับอากาศ โมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวจะหันส่วนที่มีขั้วเข้าสู่ด้านโมเลกุลของน้ำ และหันส่วนที่ไม่มีขั้วออกสู่อากาศ โดยโมเลกุลจะกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอบนผิวน้ำของน้ำ ทำให้สามารถลดแรงตึงผิวของน้ำได้ ดังแสดงในรูปที่ 2.2 [10]



รูปที่ 2.1 โครงสร้างของสารลดแรงตึงผิว

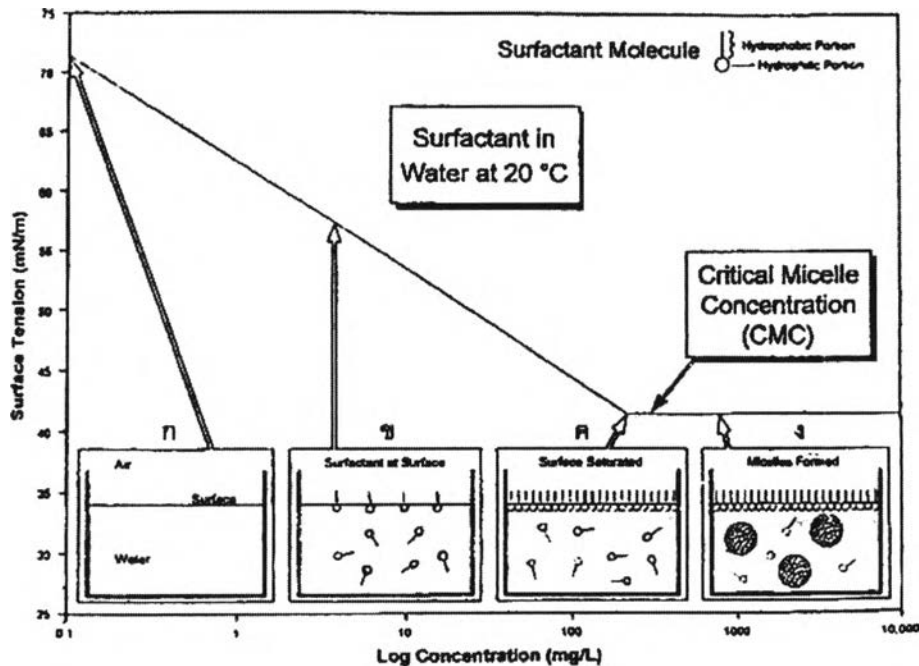


รูปที่ 2.2 การกระจายตัวของโมเลกุลสารลดแรงตึงผิว

ที่มา <http://oldweb.pharm.su.ac.th/chemistry-in-life/d030.htm>

เมื่อสารลดแรงตึงผิวละลายอยู่ในสารละลาย จะส่งผลให้ค่าแรงตึงผิวมีค่าลดลง เช่น น้ำกลั่นมีค่าแรงตึงผิว 72 mN/m เมื่อเติมสารลดแรงตึงผิวลงไป ค่าแรงตึงผิวจะลดลงเหลือ 30 mN/m สารลดแรงตึงผิวจะไปมีบทบาทในการลดแรงตึงผิวระหว่างน้ำกับอากาศ โดยเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวเรื่อยๆ จะส่งผลให้สารลดแรงตึงผิวมีความเข้มข้นสูงขึ้นจนไม่สามารถแทรกตัวระหว่างผิวสัมผัสของสองวัฏภาคได้อีก โมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวส่วนเกินจะจัดเรียงตัวเป็นโครงสร้างที่เรียกว่า ไมเซลล์ (micelle) ซึ่งความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวน้อยที่สุดที่ทำให้เกิดการรวมตัวเป็นโครงสร้างไมเซลล์ เรียกว่า ความเข้มข้นวิกฤติการเกิดไมเซลล์ (critical micelle concentration, CMC) และหากเพิ่มความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวอีก ค่าแรงตึงผิวของสารละลายก็จะไม่มีการเปลี่ยนแปลง ดังแสดงในรูปที่ 2.3 ซึ่งค่า CMC นี้เป็นค่าที่บ่งชี้ถึงความสามารถ

การละลายของสารลดแรงตึงผิว และยังบอกถึงประสิทธิภาพของสารลดแรงตึงผิวชนิดนั้นๆ ได้ โครงสร้างไมเซลล์ประกอบด้วยโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิว 20-200 โมเลกุล [11]



รูปที่ 2.3 การเกิดโครงสร้างไมเซลล์ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในน้ำ

ที่มา : Gilman [12]

เมื่อเพิ่มเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจนถึงจุด Critical Micelle Concentration (CMC) ก) เป็นภาวะที่ไม่มีสารลดแรงตึงผิว ข) สารลดแรงตึงผิวละลายอยู่ในน้ำโดยหันส่วนที่ไม่ชอบน้ำออกสู่ผิวน้ำ ค) Critical Micelle Concentration (CMC) เป็นจุดที่โมเลกุลสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเพิ่มขึ้นจนเต็มผิวสัมผัสของสองวัฏภาค เริ่มเกิดโครงสร้างไมเซลล์ และ ง) เมื่อเกิดเป็นโครงสร้างไมเซลล์แล้วค่าแรงตึงผิวมีค่าคงที่ไม่ลดลงอีกแม้ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจะเพิ่มขึ้นก็ตาม [12]

สารลดแรงตึงผิว แบ่งออกเป็นกลุ่มหลัก ๆ ได้ 2 กลุ่ม คือ สารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ หรือ สารลดแรงตึงผิวทางเคมี และสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

ในปัจจุบันสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก เนื่องจากมีข้อดีมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับสารลดแรงตึงผิวทางเคมี คือ มีความเป็นพิษต่ำ ย่อยสลายได้ง่าย เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม สามารถขยายการผลิตสู่การผลิตขนาดใหญ่ได้ และคงประสิทธิภาพที่ดีในภาวะต่างๆที่ไม่เหมาะสม เช่น ภาวะที่มีอุณหภูมิ ค่าความเป็นกรดต่างสูงหรือต่ำมาก และภาวะที่มีความเข้มข้นของเกลือสูง เป็นต้น ในขณะที่สารลดแรงตึงผิวทางเคมี มีความเป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม ย่อยสลายได้ยาก และกระบวนการผลิตมีผลิตภัณฑ์พลอยได้ซึ่งเป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม ดังนั้นการศึกษากการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจึงได้รับความสนใจ และถูกนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างกว้างขวางในปัจจุบัน

## 2.2 สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (Biosurfactant)

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ คือ กลุ่มของผลิตภัณฑ์ที่ผลิตโดยจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ โดยจัดจำแนกตามลักษณะของโครงสร้างทางเคมี และจุลินทรีย์ที่ผลิต โครงสร้างประกอบด้วยส่วนที่มีขั้วหรือส่วนที่ชอบน้ำ เช่น กรดชนิดต่างๆ สายเปปไทด์แคทไอออนหรือแอนไอออน โมโนแซกคาไรด์ ไดแซกคาไรด์ หรือโพลีแซกคาไรด์ และส่วนที่ไม่มีขั้วหรือไม่ชอบน้ำ เช่น สารไฮโดรคาร์บอนที่อิ่มตัวและไม่อิ่มตัว หรือกรดไขมัน เป็นต้น สารลดแรงตึงผิวชีวภาพแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มหลัก คือ กลุ่มที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ เรียกว่า สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (biosurfactants) เช่น ไลโพลเปปไทด์ และ ไกลโคลิพิด และกลุ่มที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง เรียกว่า สารก่ออิมัลชันทางชีวภาพ (bioemulsifiers) และนอกจากนี้ สารลดแรงตึงผิวชีวภาพยังแบ่งออกเป็น 6 ชนิด ได้แก่ 1. ไกลโคลิพิด (glycolipid) ซึ่งสามารถแบ่งออกเป็นกลุ่มย่อยได้อีก 4 ชนิด คือ แรมโนลิพิด (rhamnolipid) ทรีฮาโลลิพิด (trehalolipid) โซโฟโรลิพิด (sophorolipid) และ แมนโนซิลอิริทริทอล ลิพิด (mannosylerythritol lipid, MEL) 2. ไลโพลเปปไทด์และไลโปโปรตีน (lipopeptide and lipoprotein) ซึ่งแบ่งออกเป็นกลุ่มย่อยได้หลายกลุ่ม เช่น เซอร์แฟคติน (surfactin) และไลเคนซิน เอ (lichenysin A) 3. กรดไขมันและไขมัน (fatty acid and neutral lipid) 4. ฟอสโฟลิพิด (phospholipid) 5. สารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดพอลิเมอร์ (polymeric biosurfactants) และ 6. สารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดอนุภาค (particulate biosurfactants) [13]



ตารางที่ 2.1 ตารางแสดงชนิดและจุลินทรีย์ที่ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ และมีความสำคัญต่อเศรษฐกิจในปัจจุบัน [13]

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ	จุลินทรีย์	ความสำคัญทางเศรษฐกิจในปัจจุบัน
Cellobiose lipids	<i>Ustilago maydis</i>	Antifungal compounds
Serrawettin	<i>Serratia marcescens</i>	Emulsification of hydrocarbons
Polyol lipids	<i>Rhodotorula glutinis</i> , <i>R. graminis</i>	Anti-proliferative activity
Trehalose lipids	<i>Rhodococcus erythropolis</i> , <i>Arthrobacter</i> sp., <i>Nocardia erythropolis</i> , <i>Corynebacterium</i> sp.,	Dissolution of hydrocarbons
Ornithine lipids	<i>Pseudomonas</i> sp., <i>Thiobacillus thiooxidans</i> , <i>Agrobacterium</i> sp.	Bio-emulsifiers
Viscosin	<i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Leuconostoc mesenteriods</i>	Surface active lipopeptides
Rhamnolipids	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Pseudomonas chlororaphis</i> , <i>Serratia rubidea</i>	Bioremediation, Antimicrobial and biocontrol properties
Carbohydrate-lipid	<i>P. fluorescens</i> , <i>Debaryomyces polymorphus</i>	Bio-emulsifiers
Protein PA	<i>P. aeruginosa</i>	Bio-emulsifiers
Diglycosly diglycerides	<i>Lactobacillus fermentum</i>	Bio-remediation
Whole cell	<i>Cyanobacteria</i>	Bio-flocculent
Fatty acid/ neutral lipids	<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>Insidiosus</i>	Bio-emulsifiers

ตารางที่ 2.1 ตารางแสดงชนิดและจุลินทรีย์ที่ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ และมีความสำคัญต่อเศรษฐกิจในปัจจุบัน [13] (ต่อ)

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ	จุลินทรีย์	ความสำคัญทางเศรษฐศาสตร์ในปัจจุบัน
Sophorolipids	<i>Candida bombicola</i> , <i>C. antarctica</i> , <i>C. botistae</i>	Antimicrobial, Antiviral, Spermicidal
Liposan	<i>C. tropicalis</i>	Bio-emulsan
Monosylerythritol lipids	<i>C.</i> <i>antarctica</i> , <i>Kurtzmanomyces</i> sp., <i>Pseudozyma</i> <i>siamensis</i>	Antifungal compounds
Surfactin/ Iturin	<i>B. subtilis</i> , <i>B. amyloliquefaciens</i>	Antimicrobial properties
Subtilisin	<i>B. subtilis</i>	Antimicrobial properties
Amino acid lipids	<i>Bacillus</i> sp.	Antimicrobial properties
Lichenysin	<i>Bacillus licheniformis</i> , <i>B. subtilis</i>	Microbially enhanced oil recovery (MEOR)
Peptide lipids	<i>B. licheniformis</i>	Antimicrobial properties
Phospholipids	<i>Acinetobacter</i> sp.	Bioremediation
Vesicles & fimbriae	<i>Acinetobacter</i> <i>calcoaceticus</i> , <i>P. marginilis</i> , <i>P. maltophila</i>	Bioremediation
Emulsan	<i>A. calcoaceticus</i>	Microbially enhanced oil recovery (MEOR)
Alasan	<i>A. radioresistens</i>	Biodegradation of polyaromatic compounds



222725008

## 2.3 กระบวนการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

การจัดเรียงตัวของผนังเซลล์สิ่งมีชีวิต มีลักษณะเป็นลิพิดไบเลเยอร์ เกิดจากโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเรียงตัวเป็นผนังสองชั้น โดยหันส่วนที่ไม่มีขั้วหรือสายไฮโดรคาร์บอนเข้าหาส่วนที่ไม่มีขั้วเช่นเดียวกัน และหันส่วนที่มีขั้วออกนอกเซลล์ (extracellular) และไซโตพลาสซึม (cytoplasm) ในเซลล์ จากลักษณะดังกล่าวทำให้การนำแหล่งอาหารคาร์บอนและกระบวนการขนย้าย (transport) ไฮโดรคาร์บอนเข้าสู่เซลล์ทำได้ง่ายขึ้น จากการรวมตัวระหว่างสารประกอบไฮโดรคาร์บอนกับสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

ในการเลี้ยงเชื้อที่มีการเติมสารลดแรงตึงผิว หรือจุลินทรีย์ผลิตขึ้นมาเอง ส่งผลให้การละลายและการกระจายตัวของโมเลกุลสารประกอบไฮโดรคาร์บอนในสารละลายดีขึ้น กรณีที่สารประกอบไฮโดรคาร์บอนมีขนาดใหญ่กว่าขนาดของจุลินทรีย์ จุลินทรีย์จะเกาะล้อมรอบหดยอดสารประกอบไฮโดรคาร์บอนโดยตรงและอาศัยสารลดแรงตึงผิวช่วยในการยึดเกาะ จากนั้นจึงเกิดการขนย้ายสารเข้าไปในเซลล์ โดยอาศัยการกระจายตัวของสารประกอบไฮโดรคาร์บอนรวมตัวกับโมเลกุลสารลดแรงตึงผิวในรูปของไมเซลล์ ทำให้สามารถขนย้ายผ่านผนังเซลล์ได้ [14, 15]

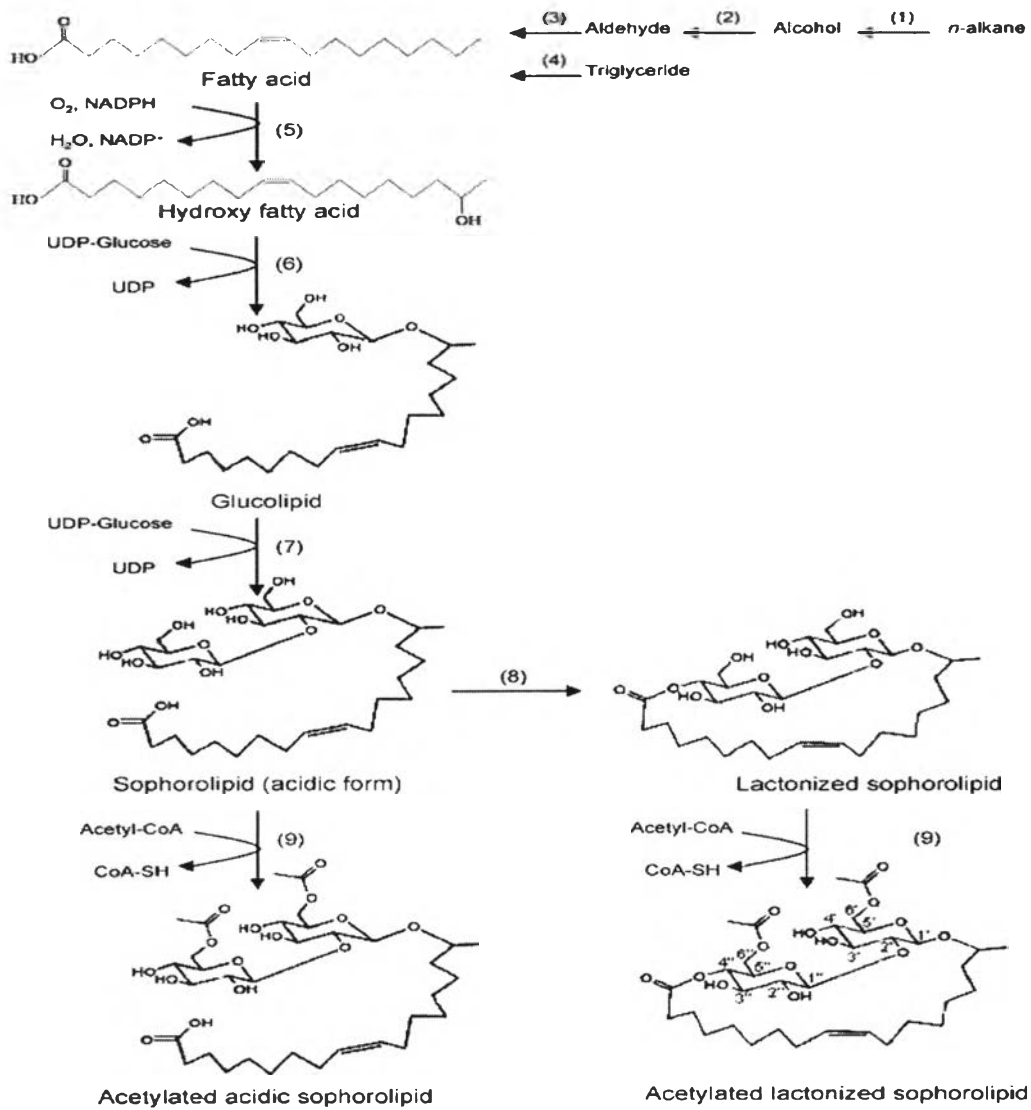
แหล่งคาร์บอนต่างชนิดกัน ย่อมมีลักษณะการนำไปใช้ของจุลินทรีย์แตกต่างกัน สำหรับการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพนั้นนิยมใช้ทั้งแหล่งคาร์บอนชนิดที่ละลายน้ำ และไม่ละลายน้ำเป็นสารตั้งต้น หากเติมเฉพาะแหล่งคาร์บอนที่ละลายน้ำในการเลี้ยงจุลินทรีย์ กรดไขมันจะถูกสร้างจาก *de novo* โดยไพรูเวตที่ได้จากปฏิกิริยาไกลโคไลซิส ถูกเปลี่ยนเป็นอะซิติล โคเอ จากนั้นจึงถูกนำไปใช้ผ่านทางกระบวนการ บีตา ออกซิเดชัน เพื่อใช้สำหรับการเจริญของเซลล์ทำให้ขาดสารตั้งต้นในการสังเคราะห์กรดไขมัน การแก้ไขปัญหานี้ทำได้โดยการเติมแหล่งคาร์บอนชนิดไม่ละลายน้ำ เพื่อเป็นสารตั้งต้นสำหรับส่วนของกรดไขมันในการสร้างโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ตัวอย่างการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ชนิดแมนโนซิลอิทธิทธิลลิพิด และโซโฟโรลิพิด เป็นสารลดแรงตึงผิวที่ยีสต์สามารถผลิตได้เป็นปริมาณมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งโซโฟโรลิพิดนั้นผลิตจากยีสต์ที่ไม่ก่อโรค จึงได้รับความสนใจเป็นอย่างยิ่ง โครงสร้างหลักของโซโฟโรลิพิดประกอบด้วยกลูโคสและกรดไขมัน ในอาหารเลี้ยงเชื้อจึงควรมีแหล่งคาร์บอนทั้งสองชนิดนี้ ในขั้นตอนการผลิตหากใช้อัลเคนเป็นแหล่งคาร์บอนในการเลี้ยงเชื้อ เอนไซม์ไซโตโครม พี450 โมโนออกซิจีเนส (Cytochrome P450 monooxygenase) จะทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ปลายสายอัลเคน ได้เป็นแอลกอฮอล์ จากนั้นเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส (alcohol dehydrogenase) และเอนไซม์อัลดีไฮด์ดีไฮโดรจีเนส (aldehyde dehydrogenase) จะเข้าทำปฏิกิริยาต่อ เกิดเป็นอัลดีไฮด์ (aldehyde) และกรดไขมัน ตามลำดับ ถ้าหากใช้สารตั้งต้นเป็นไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) เอนไซม์ไลเปส (lipase) จะเข้ามาทำปฏิกิริยาได้เป็นกรดไขมัน และกรดไขมันที่ได้จะเข้าสู่กระบวนการบีตาออกซิเดชันต่อไป

ขั้นแรก กรดไขมันจะถูกเติมหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่งปลายสาย ( $\omega$ ) หรือ ตำแหน่งก่อนปลายสาย ( $\omega-1$ ) ได้เป็นไฮดรอกซิล แพตตี้แอซิด hydroxyl fatty acid จากการทำงานของ เอนไซม์ NADP โมโนออกซิจีเนส ที่ตรึงอยู่บนเยื่อเซลล์ (membrane bound NADP monooxygenase) หรือไซโตโครม พี450 โมโนออกซิจีเนส จากนั้นเอนไซม์ไกลโคซิลทรานสเฟอเรส I (glycosyltransferase I) จะเติมกลูโคสจากนิวคลีโอไทด์ แอคติเวท กลูโคส (nucleotide-activate



glucose) [uridine diphosphate (UDP)-glucose] เข้าที่หมู่ไฮดรอกซิลของกรดไขมันที่ตำแหน่ง C1' ด้วยพันธะไกลโคซิดิก ได้เป็น กลูโคลิพิด (glucolipid) ต่อจากนั้นเอนไซม์ไกลโคซิลทรานสเฟอเรส II (glycosyltransferase II) จะทำการเติมกลูโคสตัวที่สองที่ตำแหน่ง C2' ของกลูโคสตัวแรก เกิดเป็นโซโฟโรลิพิดในรูปของแอซิดิก (acidic form) และโซโฟโรลิพิดเหล่านี้มักจะถูกเปลี่ยนแปลงต่อด้วยการทำปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน (esterification) ภายในเซลล์ ส่งผลให้หมู่คาร์บอกซิลที่ปลายกรดไขมันเชื่อมต่อกับหมู่ไฮดรอกซิลของน้ำตาลโซโฟโรส ที่ตำแหน่ง 4" หรือบางครั้งอาจเกิดที่ตำแหน่ง 6' หรือ 6" เกิดเป็นวง เรียกว่ารูปแบบแลกติก (lactonic form) และอาจเกิดปฏิกิริยาการเติมหมู่อะซิติลที่ส่วนหัวที่เป็นคาร์โบไฮเดรตที่ตำแหน่ง 6' และ/หรือ 6" โดยเอนไซม์อะซิติลทรานสเฟอเรส (acetyl transferase) แสดงในรูปที่ 2.4





รูปที่ 2.4 แสดงกระบวนการผลิตโซไฟโวลิปิดจาก *Candida bombicola* ATCC

22214

- (1) cytochrome P450 monooxygenase (2) alcohol-dehydrogenase  
 (3) aldehyde-dehydrogenase (4) lipase (5) cytochrome P450 monooxygenase  
 (6) glycosyltransferase I (7) glycosyltransferase II (8) lactonesterase  
 (9) acetyl transferase

ที่มา: Van Bogaert และคณะ [16]





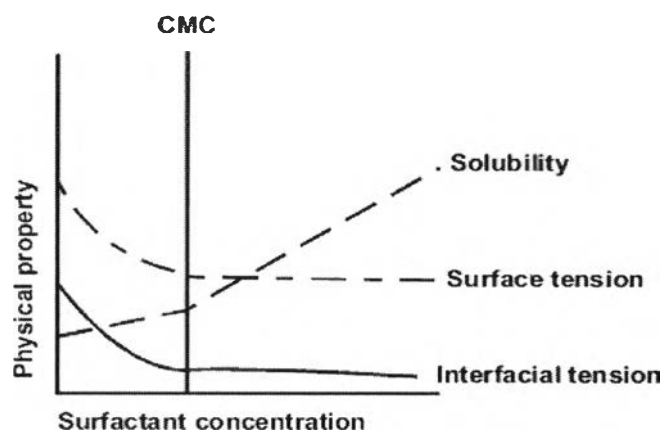
## 2.4 การวิเคราะห์ สมบัติของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

### 2.4.1 ค่าแรงตึงผิว (surface tension)

ค่าแรงตึงผิว หมายถึง แรงที่กระทำระหว่างของเหลวกับอากาศ มีหน่วยเป็น  $\text{mN/m}$  หรือ  $\text{dyne/cm}$  โมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีโครงสร้างแบบแอมฟิฟิลิก จะสะสมบริเวณผิวหน้าของวัฏภาคที่แตกต่างกัน ทำให้แรงกระทำระหว่างของเหลวกับอากาศลดลง เมื่อความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเพิ่มขึ้น ค่าแรงตึงผิวจะลดลงเรื่อยๆ โดยทั้งสองค่านี้อาจมีความสัมพันธ์กันจนกระทั่งถึงจุดที่ความเข้มข้นมากพอจนเกิดการรวมตัวเป็นโครงสร้างไมเซลล์ เรียกว่า ความเข้มข้นวิกฤติการเกิดไมเซลล์ (critical micelle concentration, CMC) ที่จุดนี้เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ค่าแรงตึงผิวจะไม่เปลี่ยนแปลง ซึ่งค่า CMC สามารถบ่งบอกถึงประสิทธิภาพของสารลดแรงตึงผิวชนิดนั้นๆได้ ดังแสดงในรูป 2.5 ความสามารถในการละลายสารที่ไม่ละลายน้ำจะเริ่มที่ CMC และค่อยๆ เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของไมเซลล์ การวัดค่าแรงตึงผิวทำได้โดยใช้เครื่อง tensiometer ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมอย่างกว้างขวาง เนื่องจากค่อนข้างแม่นยำ ไม่ยุ่งยาก ทำได้สะดวกและรวดเร็วในอุณหภูมิต่ำ ค่าแรงตึงผิวของน้ำบริสุทธิ์เท่ากับ  $72 \text{ mN/m}$  และสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ถือว่ามีประสิทธิภาพดีจะทำให้ค่าแรงตึงผิวลดลงเหลือ  $35 \text{ mN/m}$  [17]



222725008



รูปที่ 2.5 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าแรงตึงผิว แรงตึงระหว่างผิวที่ประจัน และค่าการละลายกับ ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

ที่มา: Mulligan [18]

#### 2.4.2 ค่าแรงตึงระหว่างผิวที่ประจัน (interfacial tension)

ค่าแรงตึงผิวระหว่างผิวที่ประจัน หมายถึง แรงที่กระทำระหว่างของเหลวกับของเหลวที่มีของวิภาคต่างกัน มีหน่วยเป็น  $\text{mN/m}$  การวัดค่าแรงตึงระหว่างผิวที่ประจันจะวัดระหว่างน้ำและสารประกอบไฮโดรคาร์บอน เช่น น้ำมัน เฮกซาเดเคน หรือน้ำมันก๊าด โดยทั่วไปค่าแรงตึงระหว่างผิวที่ประจันของน้ำกับเฮกซาเดเคนมีค่าเท่ากับ  $50 \text{ mN/m}$  และค่าแรงตึงระหว่างผิวที่ประจันของน้ำกับน้ำมันก๊าดมีค่าเท่ากับ  $30\text{-}40 \text{ mN/m}$  ซึ่งเมื่อเติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจะสามารถลดแรงตึงระหว่างผิวที่ประจันลงเหลือ  $0.1\text{-}1.0 \text{ mN/m}$  [19]

#### 2.4.3 การก่ออิมัลชัน (emulsification)

อิมัลชันเป็นระบบที่ประกอบด้วยของเหลว 2 ชนิดที่เข้ากันไม่ได้ หรือไม่ละลายในกันและกัน โดยมีของเหลวชนิดหนึ่งกระจายตัวเป็นหยดเล็กๆอยู่ในของเหลวอีก เป็นระบบที่มีความคงตัวทางเทอร์โมไดนามิกส์ต่ำ จึงต้องมีการเติมสารลดแรงตึงผิวลงไปเพื่อลดแรงตึงระหว่างผิวของของเหลวทั้งสอง และลดพลังงานอิสระที่พื้นผิว เป็นการช่วยเพิ่มความคงตัวของอิมัลชัน โดยสามารถแบ่งตามชนิดของของเหลวที่เป็นวิภาคภายใน และวิภาคภายนอกได้เป็น 3 ชนิด คือ ชนิดน้ำในน้ำมัน (W/O emulsion) ชนิดน้ำมันในน้ำ (O/W emulsion) และอิมัลชันเชิงซ้อน (multiple emulsion) โดยเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาคมีขนาดระหว่าง  $0.5\text{-}100$  ไมโครเมตร [20] การวัดประสิทธิภาพในการเกิดอิมัลชันอาจทำได้ด้วยการวัดค่าดัชนีการเกิดอิมัลชัน คือ การวัดอัตราส่วนระหว่างความสูงของอิมัลชันและความสูงของของเหลวในหลอดทั้งหมดเมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง [21] หรือค่าการดูดกลืนแสง [22] และอาจวัดความเสถียรของอิมัลชันที่เกิดขึ้นโดยวัดค่าดัชนีการเกิดอิมัลชันในระยะเวลาที่นานออกไป



#### 2.4.4 ค่าการกระจายตัวของน้ำมัน (oil displacement activity)

เป็นการวัดประสิทธิภาพของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในการทำให้แผ่นฟิล์มของน้ำมันสังเคราะห์บนผิวน้ำเกิดเป็นวงใส (clear zone) โดยวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของพื้นที่วงใส แล้วคำนวณหาพื้นที่วงกลมตามสูตร  $\pi r^2$  มีหน่วยเป็นตารางเซนติเมตร โดยกำหนด 1 ตารางเซนติเมตรของการกระจายตัวของน้ำมันสังเคราะห์เท่ากับ 1 หน่วย วิธีนี้เป็นวิธีที่ไม่ยุ่งยากและประหยัดค่าใช้จ่าย และยังเป็นวิธีที่เหมาะสมในการวัดกิจกรรมของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์แล้ว เนื่องจากวิธีนี้ใช้สารปริมาณเพียงเล็กน้อยในการวิเคราะห์ คือ 10 ไมโครลิตรเท่านั้น [23]

#### 2.4.5 ค่า Hydrophilic-Lipophilic balance (HLB)

ค่า HLB คือสมบัติที่ชอบน้ำและชอบน้ำมันในโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิว ตามทฤษฎีสารลดแรงตึงผิวที่มีค่า HLB สูงระหว่าง 8-18 จะให้อิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ และที่มีค่า HLB ต่ำระหว่าง 3-6 จะให้อิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมัน ค่า HLB นี้เป็นค่าเฉพาะตัว ซึ่งจะต่างกันไปตามโครงสร้างของสารลดแรงตึงผิวชนิดนั้นๆ เช่น สารลดแรงตึงผิวชนิดโซโพลีโพรพิลีน มีค่า HLB เท่ากับ 10-13 [16] ชนิดแมนโนซิลอิทธิทรอล ลิพิด ที่ผลิตโดย *Candida sp.* SY16 มีค่า HLB เท่ากับ 8.8 [24] เป็นต้น

#### 2.4.6 การเตรียมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพให้บริสุทธิ์บางส่วนและการวิเคราะห์โครงสร้าง

การเตรียมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพให้บริสุทธิ์บางส่วนนั้น นิยมใช้วิธีโครมาโทกราฟี (Chromatography) เป็นเทคนิคที่เป็นประโยชน์ในการแยกสาร ตรวจสอบ และวิเคราะห์ชนิดของสาร โดยอาศัยหลักการการละลายของสารในตัวทำละลายและการถูกดูดซับที่แตกต่างกัน กล่าวคือ สารที่ละลายในตัวทำละลายได้ดีและถูกดูดซับน้อยจะเคลื่อนที่ออกมาก่อน ส่วนสารที่ละลายได้น้อยและถูกดูดซับได้ดีจะเคลื่อนที่ออกมาทีหลัง การแยกของสารนั้นอาศัยความแตกต่างของอัตราการเคลื่อนที่ระหว่างสารตัวอย่าง วิธีการนี้มีเฟส 2 เฟส คือ เฟสอยู่กับที่ (stationary phase) กับเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) [25] ส่วนการวิเคราะห์โครงสร้างนั้น นิยมใช้แมสสเปกโทรเมตรี (Mass spectrometry) ซึ่งเป็นเทคนิคทางเคมีวิเคราะห์ที่ใช้วิเคราะห์สารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ เพื่อตรวจสอบข้อมูลโครงสร้าง มวลโมเลกุลของสาร ทำนายถึงปริมาณและองค์ประกอบในสารนั้นๆ โดยอ่านจากค่าสเปกตรัม วิธีนี้จัดเป็นเทคนิคขั้นสูงมีความไว (sensitivity) ในการวิเคราะห์สูง สามารถวิเคราะห์ได้ทั้งแบบเจาะจงและแบบทั่วไป ทั้งในเชิงคุณภาพและปริมาณ ด้วยการทำให้โมเลกุลแตกตัวเป็นไอออนด้วยวิธีต่างๆ เช่น electrospray ionization (ESI) และ atmospheric pressure chemical ionization (APCI) ในระยะหลังได้พัฒนาการทำให้เกิดไอออนโดยใช้พลังงานต่ำ (soft ionization) เช่น matrix-assisted laser desorption/ionization (MALDI) จะใช้ UV lasers เช่น ไนโตรเจนเลเซอร์ ที่ความยาวคลื่น 337 นาโนเมตร ซึ่งสามารถทำให้เกิดไอออนได้โดยสารไม่สลายตัว จึงเหมาะสำหรับการวิเคราะห์สารที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ระเหยได้ยาก จำพวกสารชีวโมเลกุล เช่น โปรตีนเพปไทด์และน้ำตาล ส่วนมวลของไอออนที่เกิดขึ้นสามารถวิเคราะห์ด้วยวิธีต่างๆ ดังนี้ time of flight (TOF), magnetic sector ion trap ซึ่งจะทำให้เกิดสเปกตรัมของไอออนได้อย่างสมบูรณ์ การวิเคราะห์มวลด้วย TOF มีข้อดีที่แตกต่างจากวิธีอื่น คือสามารถบันทึกค่ามวลของไอออนได้ทั้งหมดในเวลาอันรวดเร็ว จึงช่วยลดระยะเวลาในการวิเคราะห์ และยังให้ผลการวิเคราะห์ที่เชื่อถือได้

แมสสเปกโตรเมตรีจะตรวจวัดไอออนที่เกิดขึ้นและปรากฏเป็นพีก (peak) บนสเปกตรัมตามขนาดมวลต่อประจุของไอออน ( $m/z$ )

## 2.5 การพัฒนากระบวนการทางจุลินทรีย์เพื่อให้ได้ผลผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในปริมาณสูงสุด

การพัฒนากระบวนการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่สำคัญอื่นๆอาจทำได้โดยการใช้ผลผลิตที่เหลือทิ้งต่างๆมาใช้ในกระบวนการผลิต การกลายพันธุ์สายพันธุ์จุลินทรีย์ให้ผลมีการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ดีขึ้น เป็นต้น และยังมีวิธีต่างๆมากมายที่ช่วยพัฒนาให้การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีประสิทธิภาพสูงสุด ดังต่อไปนี้ [13]

### 2.5.1 การหาภาวะที่เหมาะสมในกระบวนการผลิตทางชีวภาพ

ชนิด คุณภาพ และปริมาณในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพนั้น ขึ้นอยู่กับภาวะในการเพาะเลี้ยง เช่น ความเป็นกรดต่าง อุณหภูมิ การกวน การให้อากาศ อัตราการเจือจาง ความเข้มข้นของโลหะหนัก และธรรมชาติของแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจน มีการศึกษาอย่างมากมายเกี่ยวกับการหาภาวะที่เหมาะสมของคุณสมบัติทางเคมีกายภาพในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ปัจจัยทางภาวะแวดล้อมนั้นเป็นปัจจัยสำคัญในการเกิดผลผลิตและการเกิดคุณลักษณะของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ นอกจากนี้ ปริมาณของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ จะขึ้นอยู่กับกระบวนการในการหาภาวะที่เหมาะสมในการผลิต แร่ธาตุต่างๆ องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ และสารตั้งต้นในกระบวนการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ก็ส่งผลสำคัญต่อการผลิตเช่นกัน มีการรายงานว่าการจำกัดแหล่งไนโตรเจน จะช่วยเพิ่มพูนการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพใน *P. aeruginosa* BS-2 และ *U. maydis* และการเติมเหล็กและแมงกานีสในอาหารเลี้ยงเชื้อ จะช่วยเพิ่มผลผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดย *B. subtilis* นอกจากนี้ ความสัมพันธ์ของสัดส่วนของแร่ธาตุต่างๆต่อปริมาณแหล่งคาร์บอนก็ส่งผลต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพด้วย เช่น ปริมาณแหล่งคาร์บอนต่อปริมาณแหล่งไนโตรเจน (C:N) ปริมาณแหล่งคาร์บอนต่อปริมาณฟอสฟอรัส (C:P) ปริมาณแหล่งคาร์บอนต่อปริมาณเหล็ก (C:Fe) หรือ ปริมาณแหล่งคาร์บอนต่อปริมาณแมกนีเซียม (C:Mg) เป็นต้น

วิธีทั่วไปในการหาภาวะที่เหมาะสมของอาหารเลี้ยงเชื่อนั้น ศึกษาได้จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยหนึ่งๆต่อเวลา ณ ขณะนั้น ในขณะที่ยึดปัจจัยอื่นๆให้คงที่ แต่อย่างไรก็ตาม วิธีนี้ไม่สามารถรองรับการหาภาวะที่เหมาะสมของการเกิดเมตาบอลิท์อื่นๆได้ จึงมีการนำการศึกษาทางสถิติมาช่วยในการพัฒนากระบวนการหาภาวะที่เหมาะสม คือ วิธีการพื้นผิวผลตอบสนอง หรือ Response surface methodology (RSM) ซึ่งเป็นการศึกษาสำรวจความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรผกผันกับหนึ่งหรือมากกว่าหนึ่งการตอบสนอง เคยมีการรายงานวิธีนี้ใช้ในการหาปริมาณอาหารเลี้ยงเชื้อ ปริมาณหัวเชื้อ และภาวะแวดล้อมต่างๆที่เหมาะสมในการเพิ่มพูนผลผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดเซอร์แฟคติน (surfactin) โดย *B. subtilis* และวิธี RSM นี้ ยังถูกนำไปประยุกต์ใช้ในการเพิ่มพูนผลผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ โดย *P. aeruginosa* AT10 *Lactococcus lactis* และ *Streptococcus thermophiles* นอกจากนี้ ยังมีการศึกษาการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและการผลิตเอนไซม์โปรตีเอส (protease) ใน *B. licheniformis* โดยการใช้ผลผลิตทางการเกษตร เช่น แป้ง

ข้าวโพด และแป้งถั่วเหลือง เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจน ตามลำดับ ซึ่งวิธีการหาภาวะที่เหมาะสมเหล่านี้ จะช่วยระบบอุตสาหกรรมในการออกแบบการผลิตที่ใช้วัตถุดิบราคาถูก และดีที่สุดใน การพัฒนาการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพต่อไป

## 2.5.2 การศึกษาอิทธิพลขององค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ส่งผลต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

โดยทั่วไป สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดยจุลินทรีย์นั้น จะสามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ดีกว่าในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีซับซ้อนที่ไม่สามารถละลายน้ำได้ แต่ในยีสต์บางชนิดการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพต้องการซับซ้อนที่แตกต่างออกไป เช่น คาร์โบไฮเดรต ซึ่งละลายน้ำได้ การใช้แหล่งคาร์บอนที่ต่างชนิดกันในการผลิต จะส่งผลต่อโครงสร้างของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ คุณสมบัติ และสามารถสำรวจคุณสมบัติต่อการนำไปประยุกต์ใช้ต่อไปได้ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาอย่างมากมายเกี่ยวกับการหาองค์ประกอบและคุณลักษณะของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ที่ขึ้นอยู่กับธรรมชาติของแหล่งไนโตรเจน เช่น เหล็ก แมกนีเซียม แมงกานีส ฟอสฟอรัส และซัลเฟอร์ในอาหารเลี้ยงเชื้อด้วย

### 2.5.2.1 แหล่งคาร์บอน (carbon sources)

ในปัจจุบัน สารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีราคาแพงกว่าสารลดแรงตึงผิวที่สังเคราะห์ทางเคมี เนื่องจากมีต้นทุนในการผลิตที่สูง การลดต้นทุนการผลิตอาจทำได้โดยการเลือกใช้วัตถุดิบที่มีราคาถูกมาใช้เป็นแหล่งอาหาร จากรายงานของ Zinjard และ Pant [26] รายงานว่าการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดย *Yarrowia lipotica* NCIM3589 สามารถใช้แหล่งคาร์บอนที่ละลายน้ำได้ในการผลิต เช่น กลูโคส กลีเซอรอล และโซเดียมอะซิเตท เป็นต้น และ Sarubbo และคณะ [27] สามารถระบุได้เป็นครั้งแรกว่า การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดย *Y. lipotica* IA1055 สามารถใช้กลูโคสเพียงอย่างเดียวเป็นแหล่งคาร์บอน ซึ่งสามารถสรุปได้ว่า การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพนั้น ไม่จำเป็นต้องมีสารประกอบไฮโดรคาร์บอนเป็นแหล่งคาร์บอนเท่านั้น

การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดย *B. subtilis* MTCC2423 สามารถติดตามได้โดยการวัดค่าแรงตึงผิวที่ลดลงของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีเซลล์ การลดลงของค่าแรงตึงผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อจะลดลงได้มาก เมื่อใช้กลูโคส ซูโครส ไตรโซเดียมซิเตรท โซเดียมไพรูเวท สารสกัดจากยีสต์ และสารสกัดจากเนื้อ เป็นแหล่งคาร์บอน Lukondeh และคณะ [28] รายงานว่า แล็กโทสยังถูกใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการผลิตแมนแนนโปรตีนโดย *Kluyveromyces marxianus* การผลิตสารก่ออิมัลชันที่ได้ปริมาณสูงสุดถูกพบเมื่อผลิตจาก *C. glabrata* ที่แยกได้จากตะกอนของดินโกงกาง ที่ใช้น้ำมันเมล็ดฝ้าย (7.5%) และกลูโคส (5.0%) เป็นแหล่งคาร์บอน โดยพบว่าได้ปริมาณ 10 กรัมต่อลิตรหลังจาก 144 ชั่วโมง Kitamoto และคณะ [29] ศึกษาการผลิต MEL จาก *C. antarctica* โดยใช้ n-alkanes ที่แตกต่างกันเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าการผลิตนั้นขึ้นอยู่กับความยาวของสาย alkane ที่ใช้เป็นซับซ้อน และพบว่าให้ MEL ปริมาณสูงสุดเมื่อใช้ n-octadecane เป็นแหล่งคาร์บอน นอกจากนี้ Cavalero และ Cooper [30] แสดงผลการผลิตโซโฟโรลิพิดจาก *C. bombicola* ATCC22214 ว่าจะมีการผลิตเพิ่มขึ้นตามความยาวของสาย n-alkane ที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอน (จาก C12 ถึง C15) จาก

รายงานเหล่านี้ แสดงให้เห็นว่าจุลินทรีย์ที่ต่างชนิดกัน ตอบสนองต่อแหล่งคาร์บอนที่ต่างชนิดกันด้วย กากน้ำตาล ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์พลอยได้จากการผลิตน้ำมันถั่วเหลือง ร่วมกับกรดโอเลอิกได้ถูกนำมาทดสอบใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการผลิตโซโฟโรลิพิดจาก *C. bombicola* ด้วย ซึ่งสามารถแยกโซโฟโรลิพิดได้ถึง 21 กรัมต่อลิตร และ 97 เปอร์เซ็นต์อยู่ในรูปของแกล็กโทน และสามารถลดค่าแรงตึงผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อได้ต่ำสุดที่ 37 mN/m (pH6) และ 38 mN/m (pH9) และได้ค่าความเข้มข้นวิกฤตการเกิดไมเซลล์ (CMC) ที่ 6 มิลลิกรัมต่อลิตรที่ pH6 และ 13 มิลลิกรัมต่อลิตรที่ pH9

ตารางที่ 2.2 ตารางแสดงแหล่งคาร์บอนสำหรับการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดต่างๆ [13]

แหล่งคาร์บอน	ส่วนที่ใช้	ผลิตภัณฑ์ที่ได้
Cassava	Flour	Biosurfactant
Soybean oil	Seeds	Rhamnolipid
Sugar beet	Peels	Biosurfactant
Sweet potato	Peels	Biosurfactant
Sweet Sorghum	Peels	Biosurfactant
Rice and wheat bran	Stem Husk	Biosurfactant
Sugarcane Bagasse	Stem Husk	Biosurfactant
Cashew Apple juice	Pomace	Biosurfactant
Dairy Whey	Whey	Bioemulsifiers

จากที่กล่าวมาข้างต้น แหล่งคาร์บอนต่างๆ เช่น กลูโคส กลีเซอรอล อะซิเตท และกรดอินทรีย์ต่างๆ รวมถึงแอลเคน (n-alkanes) นั้นมีราคาแพง และไม่สามารถลดต้นทุนในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ ดังนั้น วิธีการหนึ่งที่จะช่วยลดค่าใช้จ่ายในการผลิต คือ การใช้ผลผลิตทางการเกษตรหรือทางอุตสาหกรรมแทนการใช้สารบริสุทธิ์ต่างๆเป็นแหล่งคาร์บอนในการผลิต

#### 2.5.2.2 แหล่งไนโตรเจน (nitrogen sources)

ไนโตรเจนเป็นสิ่งสำคัญในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ เนื่องจากเป็นส่วนประกอบสำคัญของโปรตีน ซึ่งสำคัญต่อการเจริญของจุลินทรีย์ และสำคัญต่อการผลิตเอนไซม์ที่ใช้ในกระบวนการผลิต แหล่งของไนโตรเจนต่างๆที่ใช้ในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ได้แก่ ยูเรีย เปปไทน์ แอมโมเนียมซัลเฟต แอมโมเนียมไนเตรท โซเดียมไนเตรท สารสกัดจากเนื้อ และสารสกัดจากมอลต์ เป็นต้น สารสกัดจากยีสต์นั้น นิยมอย่างกว้างขวางในการใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ แต่ความเข้มข้นที่เหมาะสมนั้น ขึ้นอยู่กับธรรมชาติของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิต และอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ โดยปกติ การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจะเกิดขึ้นเมื่อแหล่งไนโตรเจนลดลงจนถึงช่วงที่การเจริญของเชื้อคงที่ (stationary phase)

การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากยีสต์ *R. glutinis* IIP30 พบว่าการผลิตโดยใช้โปแตสเซียมไนเตรท ให้ผลผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมากกว่าการใช้แอมโมเนียมซัลเฟตหรือยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจน นอกจากนี้ Lukondeh และคณะ [28] สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจาก *K. marxianus* FII510700 โดยใช้สารสกัดจากยีสต์ (2 กรัมต่อลิตร) และแอมโมเนียมซัลเฟต (5 กรัมต่อลิตร) เป็นแหล่งไนโตรเจน

### 2.5.3 การศึกษาอิทธิพลของภาวะแวดล้อมที่ส่งผลต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

ปัจจัยทางภาวะแวดล้อมนั้นสำคัญอย่างมากต่อปริมาณผลผลิตและลักษณะสมบัติของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ดังนั้น เพื่อให้ได้ปริมาณสารลดแรงตึงผิวชีวภาพสูงสุด จึงจำเป็นต้องหาภาวะต่างๆที่เหมาะสม เนื่องจากการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพนั้น มีปัจจัยมากมายที่ส่งผลต่อการผลิต เช่น ความเป็นกรดต่าง (pH) อุณหภูมิ การให้อากาศ และอัตราการกวน เป็นต้น

#### 2.5.3.1 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)

อิทธิพลของความเป็นกรดต่างต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดย *C. Antarctica* ศึกษาได้จากการใช้ฟอสเฟตบัฟเฟอร์และแปรผันค่า pH จาก 4-8 โดยทุกๆการทดลองดูผลจากการลดลงของผลผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเมื่อเทียบกับการใช้น้ำกลั่น Zinjarde และ Pant [26] ศึกษาเกี่ยวกับผลของค่า pH เริ่มต้นในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ พบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจะถูกผลิตได้มากที่สุด เมื่อมีค่า pH เป็น 8.0 ซึ่งเป็นค่า pH ตามธรรมชาติของน้ำทะเล นอกจากนี้ยังได้ศึกษาการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดไกลโคลิพิดในสภาวะเป็นกรด จาก *C. antarctica* และ *C. apicola* พบว่าเมื่อมีการควบคุม pH ที่ 5.5 จะให้ผลผลิตไกลโคลิพิดสูงที่สุด และพบว่าการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจะลดลงเมื่อไม่มีการควบคุม pH ดังนั้นแสดงให้เห็นว่ากระบวนการควบคุม pH ในระหว่างการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพนั้นถือเป็นปัจจัยที่สำคัญอย่างหนึ่ง

#### 2.5.3.2 อุณหภูมิ (temperature)

โดยทั่วไป มีการรายงานว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจะสามารถผลิตได้ที่อุณหภูมิระหว่าง 25-30 องศาเซลเซียส Casas และ Ochoa [31] รายงานว่าการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดย *C. bombicola* ที่อุณหภูมิ 25 และ 30 องศาเซลเซียสนั้นให้ผลการผลิตเหมือนกัน แต่การผลิตที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสให้ค่าน้ำหนักเซลล์ต่ำกว่าและมีอัตราการใช้กลูโคสสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการผลิตที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส Deshpande และ Daniels [32] พบว่า *C. bombicola* สามารถเจริญได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในขณะที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียสเป็นอุณหภูมิที่ดีที่สุดสำหรับการผลิตโซโฟโรลิพิด และการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดย *C. Antarctica* พบว่าการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิเป็นสาเหตุของการแปรผันการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ นอกจากนี้ MEL จะสามารถผลิตได้มากที่สุดเมื่อกระบวนการผลิตควบคุมอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส



### 2.5.3.3 ความเข้มข้นของโลหะหนัก (Metal ion concentration)

ความเข้มข้นของโลหะหนักนั้นมีบทบาทที่สำคัญในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในการเป็น cofactors ที่สำคัญของเอนไซม์หลากหลายชนิดที่ใช้ในกระบวนการผลิต การผลิตเซอร์แฟคตินที่ได้ปริมาณสูงสุดจะเกิดขึ้นเมื่อเติม  $Fe^{2+}$  ลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อ และคุณสมบัติของเซอร์แฟคตินจะเปลี่ยนไปตามสารอนินทรีย์ต่างๆที่ใช้ในกระบวนการผลิตด้วย

### 2.5.3.4 การให้อากาศ และการกวน (Aeration and agitation)

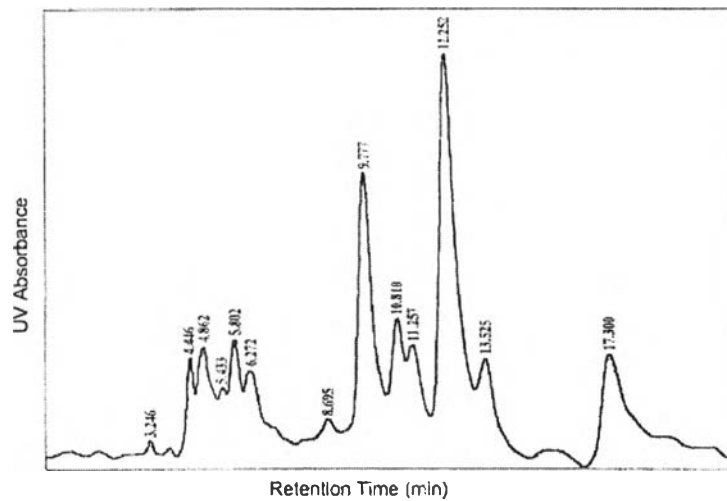
Desai และ Banat [11] รายงานว่า *N. erythropolis* และ *A. calcoaceticus* จะผลิตสารลดแรงตึงผิวได้น้อยลงเมื่อมีแรงเฉือนเพิ่มขึ้น แต่ในยีสต์ต่างๆไปจะสามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ดีขึ้นเมื่อเพิ่มอัตราการกวนและอัตราการให้อากาศ Adamczak และ Bednarsk [33] ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับอัตราการให้อากาศกับการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดย *C. Antarctica* พบว่าการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ดีที่สุดเมื่อควบคุมอัตราการให้อากาศเป็น 1 vvm และควบคุมค่าความเข้มข้นของออกซิเจนที่ละลายน้ำให้อยู่ที่ 50% แต่เมื่อเพิ่มอัตราการให้อากาศเป็น 2 vvm พบว่าเกิดฟองมากและมีการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพลดลง 84% เนื่องจากเกิดการยับยั้งของผลผลิตที่เกิดขึ้น (end-product inhibition)

## 2.5.4 การศึกษาวิธีการเก็บเกี่ยวผลผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

แม้ว่าการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจะผลิตได้มากที่สุดเมื่อใช้อาหารเลี้ยงเชื้อและสภาวะต่างๆที่เหมาะสม แต่กระบวนการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพก็ยังไม่เสร็จสิ้น ถ้าหากยังไม่ผ่านกระบวนการเก็บเกี่ยวผลผลิตภายหลังกระบวนการหมัก สำหรับการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพนี้ กระบวนการเก็บเกี่ยวผลผลิตต้องใช้ต้นทุนสูงถึง 60% ของกระบวนการผลิตทั้งหมด ซึ่งมีวิธีการมากมายที่พัฒนาเพื่อปรับปรุงคุณภาพในการเก็บเกี่ยวผลผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ตัวอย่างเช่น การเก็บเกี่ยวโดยวิธี HPLC โดยใช้โพลีโรลิติดที่ได้จากกระบวนการหมัก ก่อนผ่านการแยกด้วย HPLC ได้ ผ่านขั้นตอนการแยกบนโครมาโทกราฟีแบบบางมาแล้ว โดยการวิเคราะห์โพลีโรลิติดนั้นนิยมใช้คอลัมน์ C-18 เป็นเฟสคงที่ และใช้สารละลายอะซิโตไนไตรล์ (acetonitrile) เป็นเฟสเคลื่อนที่ ตรวจวัดด้วยเครื่อง UV detector ที่ 207 นาโนเมตร อัตราการชะเท่ากับ 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที จากนั้นโพลีโรลิติดที่มีโครงสร้างแบบต่างๆ จะแยกออกที่เวลาแตกต่างกัน ดังแสดงในรูปที่ 2.7 [34]







รูปที่ 2.6 โครมาโทแกรม HPLC ของไซโฟโรลิติบริสุทธ์บางส่วน  
ผลิตโดย *Torulopsis bombicola* และใช้น้ำมันถั่วเหลืองเป็นแหล่งคาร์บอน

ที่มา: Hu และ Ju [34]

และจากนั้นนิยมวิเคราะห์โครงสร้างของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ โดยวิธีแมสสเปกโตรเมตรี (MS) ซึ่งสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่จะนำมาวิเคราะห์ด้วยวิธี MS นี้ ต้องผ่านการทำให้มีความบริสุทธิ์เบื้องต้นก่อน ตัวอย่างเช่น ไซโฟโรลิติตต้องผ่านการแยกด้วย TLC และ HPLC มาก่อน จึงนำมาวิเคราะห์ด้วยวิธีนี้ต่อไป จากการศึกษาของ Hu และ Ju [34] พบว่า ไซโฟโรลิติตที่ผลิตโดยใช้กลูโคสร่วมกับน้ำมันถั่วเหลืองเป็นแหล่งคาร์บอน จะมีโครงสร้างทั้งรูปแบบแลคโตน ชนิด C18:0 C18:1 C18:2 และ C16:0 มีค่ามวลโมเลกุล (m/z) เท่ากับ 688.9 686.9 684.9 และ 661.2 ตามลำดับ และรูปแบบอะซิติค ชนิด C18:0 C18:1 C18:2 และ C16:0 มีค่ามวลโมเลกุล (m/z) เท่ากับ 707.0 705.0 703.0 และ 679.3 ตามลำดับ รวมถึงอาจเกิดการเติมหมู่อะซิติล 1-2 หมู่ และมีการขาดหายของกลูโคสในน้ำตาลไซโฟโรสได้เช่นกัน ซึ่งการเก็บเกี่ยวผลผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพยังมีอีกมากมายหลายวิธี ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 2.3 ตารางแสดงวิธีการเก็บเกี่ยวผลผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ [13]

วิธีการ	กลไกที่ใช้
Adsorption on wood	Adsorption
Adsorption on Polystyrene	Adsorption
Ion exchange Chromatography	Charge separation
Solvent extraction	Dissolves in organic solvents
Centrifugation	Due to Centrifugal force
Acid Precipitation	Insoluble at low pH
Membrane Ultra filtration	Micelles formation
Selective Crystallization	Redissolution in organic solvents
Ammonium Sulphate precipitation	Salting out of protein
Organic Solvent extraction	Solubility in organic solvent
Foam fractionation	Surface activity
Thin layer chromatography	Difference in relative flow against solvent
Dialysis	Difference in solute concentration
Lyophilization	Cryodesiccation
Iso-electric focusing	Electric charge difference

## 2.6 การประยุกต์ใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

ตลาดที่ใหญ่ที่สุดสำหรับการนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพไปประยุกต์ใช้ คือ การนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมน้ำมัน ทั้งการผลิตปิโตรเลียม และบริษัทน้ำมันต่างๆ ส่วนการประยุกต์ใช้ในด้านอื่นๆที่ใกล้เคียงกัน เช่น การบำบัดน้ำมันทางชีวภาพ ทั้งบนบก ในทะเล การกำจัดตะกอนน้ำมันจากถังน้ำมัน และการเพิ่มการเก็บเกี่ยวน้ำมัน ตลาดที่ใหญ่เป็นอันดับสอง ได้แก่ การนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพไปประยุกต์ใช้ในโรงงานสี โดยใช้สารลดแรงตึงผิวเป็นอิมัลซิไฟเออร์ และยังใช้ในอุตสาหกรรมเคลือบผิว เคลือบกระดาษต่างๆอีกด้วย และยังนำไปประยุกต์ใช้อุตสาหกรรมสิ่งทอ การทำเหมืองแร่ การบำบัดน้ำ ลดการเกิดฟองในอุตสาหกรรมถ่านหิน และใช้เป็นวัตถุกันเสียในอุตสาหกรรมไม้ได้อีกด้วย

นอกจากนี้ สารลดแรงตึงผิวชีวภาพยังถูกนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เครื่องสำอาง สารซักล้างต่างๆ และอุตสาหกรรมการเกษตรอีกด้วย จึงเห็นได้ว่า ในปัจจุบันสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเริ่มมีบทบาทสำคัญในระดับอุตสาหกรรม มีการนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพไปประยุกต์ใช้อย่างกว้างขวาง ดังแสดงในตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 ตารางแสดงการนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพไปประยุกต์ใช้ในด้านต่างๆ [35]

หน้าที่	การประยุกต์ใช้
Emulsifiers and dispersants	Cosmatic, paints, additive for rolling oil
Solubilizers and microemulsions	Toiletries, phamaceuticals
Wetting and penetrating agents	Pharmaceuticals, textile industry, paints
Detergents	Household, agriculture products, high tech products
Foaming agents	Toiletries, cosmetic, ore floatation
Thickening agents	Paints
Metal sequestering agents	Mining
Vesicle forming materials	Cosmetics, drug delivery systems
Microbial growth enhancers	Sewage sludge treatments for oily waste, fermentation
Demulsifiers	Waste treatment
Viscosity reducing agents	Pipeline transportation
Dispersants	Coal-oil mixture, coal-water slurry
Resource recovery agent	Tertiary recovery of oil



222725008

### 2.6.1 ด้านสิ่งแวดล้อม

การปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม เกิดจากโรงงานอุตสาหกรรมและสารพิษจากการเกษตร ปปล่อยสารประกอบอินทรีย์ และอนินทรีย์ลงในสิ่งแวดล้อมทั้งทางตรงและทางอ้อม สารประกอบเหล่านี้ก่อให้เกิดปัญหาการตกค้างในสิ่งแวดล้อม ยากแก่การกำจัดทำลาย เนื่องจากสารเหล่านี้จับกับอนุภาคของดินได้ง่าย จึงมีการนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมาช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการบำบัดสารพิษ การประยุกต์ใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพในการกำจัดสารประกอบอินทรีย์ พวกไฮโดรคาร์บอนนั้น สารลดแรงตึงผิวสามารถช่วยรักษาความเสถียรระหว่างน้ำมันกับน้ำ ช่วยกำจัดสารปนเปื้อนด้วยวิธีการละลายแบบเทียม (pseudosolubilization) ช่วยในการเกิดอิมัลชันซึ่งจะช่วยเพิ่มค่าการละลายของไฮโดรคาร์บอนภายในไมเซลล์ ทำให้ผิวสัมผัสระหว่างน้ำมันกับน้ำเพิ่มขึ้น [36] ซึ่งจะเป็นการเพิ่มความสามารถในการเจริญของจุลินทรีย์บนไฮโดรคาร์บอน (bioavailability) เป็นการช่วยกำจัดไฮโดรคาร์บอนออกจากดินให้มีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น [37]

### 2.6.2 ด้านการแพทย์

ปัจจุบันจุลินทรีย์คือตัวยาปฏิชีวนะมีจำนวนเพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้การรักษาเป็นไปได้ยาก ดังนั้น สารลดแรงตึงผิวชีวภาพซึ่งมีสมบัติในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ ทั้งแบคทีเรียแกรมบวก แกรมลบและรา อีกทั้งยังมีประสิทธิภาพและมีความปลอดภัย จึงเป็นอีกทางเลือกที่น่าสนใจอย่างยิ่ง ในวงการแพทย์ ตัวอย่างเช่น เซอร์แฟคติน สามารถต้านการอักเสบ ต้านไวรัส ชักนำให้เกิด การตาย (apoptosis) ในเซลล์มะเร็งเต้านมของมนุษย์ (Human breast cancer MCF-7) ได้ [38] รวมถึงยับยั้งการเกิด ไฟบรินคลอท ยับยั้ง cyclic adenosine monophosphate (cAMP) ไลโคไนซิน อิทุริน เอ แดปโตมายซิน พูมิลาซิดิน วิสโคซิโนไมด์ มีสมบัติในการต้านไวรัสและราได้ [39] โซโฟโรลิพิด สามารถต้านเชื้อไวรัส HIV [37] และยับยั้งการหลั่งไซโตไคน์ (cytokine) ได้ [40] นอกจากนี้ยังมีรายงานการใช้ไลโปโซมและอนุพันธ์ของโคเลสเตอรอลที่ผลิตโดยแมนโนซิลอิทธิพลลิพิดสำหรับการขนถ่ายยีน ซึ่งมีประสิทธิภาพและปลอดภัยกว่าการใช้ไวรัสเป็นเวกเตอร์ [41]

### 2.6.3 ด้านอุตสาหกรรมน้ำมัน

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในกระบวนการนำน้ำมันขึ้นมาใช้ การทำความสะอาดถังเก็บน้ำมัน และกระบวนการขนส่งน้ำมันผ่านท่อ โดยสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจะช่วยเพิ่มความสามารถในการละลายของสารประกอบต่างๆ ในปิโตรเลียมกับน้ำ ช่วยลดความหนืดของน้ำมัน ช่วยกำจัดน้ำออกจากน้ำมันก่อนเข้าสู่กระบวนการถัดไป นอกจากนี้ยังช่วยในการเกิดอิมัลชันของน้ำมัน รวมถึงลดการเกิดฟิล์มของน้ำมันกับชั้นหิน จากการศึกษาของ Makkar และ Cameotra [42] พบว่า สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดย *Bacillus licheniformis* JF-2 และ *B. subtilis* ซึ่งทนร้อนและทนเค็ม สามารถดึงน้ำมันขึ้นมาใช้ได้มากขึ้น 9.3-62 เปอร์เซ็นต์

### 2.6.4 ด้านเครื่องสำอาง

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดไกลโคลิพิด ได้รับความนิยมในการนำมาใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางในปริมาณมาก เนื่องจากสามารถเข้ากับผิวหนังได้ดี ไม่เกิดการระคายเคือง

หรือเป็นอันตรายต่อผิวหนังมนุษย์ [43] เช่น โซโฟโรลิพิทที่ผลิตโดย *Candida bombicola* มีสมบัติในการให้ความชุ่มชื้น ช่วยต่อต้านแบคทีเรีย เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และยังเชื่อว่ามีสมบัติในการกระตุ้นการสังเคราะห์เลปตินผ่านเซลล์แอดิพไซต (adipocytes) ซึ่งจะช่วยลดไขมันส่วนเกินในผิวหนังชั้นเนื้อเยื่อใต้หนัง (subcutaneous) ได้ [44] รวมไปถึงการนำโซโฟโรลิพิทไปใช้เป็นส่วนผสมสำคัญในเชิงพาณิชย์ ได้แก่ ผลิตภัณฑ์รักษาผิว แชมพูป้องกันรังแค ผลิตภัณฑ์ระงับกลิ่นกาย ในชื่อ ยี่ห้อ Sopholiance โดยบริษัท Groupe soliance ประเทศฝรั่งเศส แผ่นมาร์คหน้า สบู่ล้างหน้า สบู่เหลว ในชื่อยี่ห้อ Sopholine ประเทศเกาหลี และเป็นสารให้ความชุ่มชื้นใน ลิบสติค อายแซโดว์ แป้งอัดแข็ง ในชื่อยี่ห้อ Sofina โดยบริษัท Kao ประเทศญี่ปุ่น [45] เป็นต้น รวมถึงแมนโนซิลอิทริทอลลิพิท ก็มีการนำมาใช้เป็นตัวอิมัลซิไฟเออร์ในเครื่องสำอาง ซึ่งมีสมบัติในการต่อต้านริ้วรอย ช่วยให้ผิวเนียนเรียบ นอกจากนี้แรมโนลิพิทที่ผลิตโดย *Pseudomonas* sp. ยังมีสมบัติในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ ซึ่งจำเป็นสำหรับเครื่องสำอางในการช่วยป้องกันการปนเปื้อนจากการสัมผัสเป็นประจำจากผู้ใช้ และมีสมบัติเป็นอิมัลซิไฟเออร์ที่ดี ช่วยเรื่องการเข้ากันและเนื้อสัมผัสที่ดีในเครื่องสำอางอีกด้วย [46]

## 2.6.5 ด้านอุตสาหกรรมอาหาร

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพเป็นประโยชน์หลายด้านในอุตสาหกรรมอาหาร เนื่องจากสมบัติในการลดการยึดเกาะ (anti-adhesive) ประกอบกับสามารถก่ออิมัลชัน และยังมีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ ซึ่งน่าสนใจสำหรับใช้เป็นสารยับยั้งและทำลายการเกิดไบโอฟิล์มในพื้นผิวที่ต้องสัมผัสอาหาร รวมทั้งยังเป็นส่วนประกอบในอาหารที่มีสมบัติหลากหลาย อย่างไรก็ตาม การนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมาใช้ในอาหารยังเป็นที่ถกเถียงถึงความปลอดภัย และราคาต้นทุนการผลิตสูง ดังนั้น จึงมีการนำวัสดุเหลือทิ้งจากภาคการเกษตรมาใช้เป็นสารตั้งต้นเพื่อลดต้นทุน รวมถึงการเลือกใช้จุลินทรีย์กลุ่ม *Lactobacilli* และยีสต์ ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่ได้รับการยอมรับว่าเป็น GRAS จึงน่าสนใจอย่างยิ่งสำหรับการประยุกต์ใช้ในภาคอาหารและยาต่อไป

นอกจากนี้ ยังมีการนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เพื่อควบคุมการรวมตัวของหยดไขมันในอาหาร ส่งเสริมให้คุณภาพของแป้งสาลี มีผิวสัมผัสดีขึ้น ช่วยยืดอายุการเก็บผลิตภัณฑ์ที่มีแป้งเป็นส่วนประกอบ ป้องกันการกระเด็นของน้ำมันระหว่างทอด นอกจากนี้ยังเพิ่มความเข้ากันเป็นเนื้อเดียวในผลิตภัณฑ์ที่มีไขมัน เช่น เบเกอรี่และไอศกรีม จะมีการใส่สารลดแรงตึงผิวชีวภาพเพื่อเพิ่มความเนียน เพิ่มการละลายของไขมัน และช่วยรักษาความเสถียรของไขมัน แรมโนลิพิทยังสามารถช่วยเพิ่มคุณภาพของครีมเนย ครัวซองต์ และผลิตภัณฑ์แช่แข็ง รวมถึงใช้เป็นสารต้านการยึดเกาะของจุลินทรีย์ในบริเวณพื้นผิวที่ต้องสัมผัสกับอาหาร เพื่อป้องกันการเน่าเสียและการแพร่กระจายของเชื้อโรคในโรงงานอาหาร [47] โดยจากการศึกษาของ Meylheuc และคณะ [48] พบว่า สารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดไม่มีประจุที่ผลิตโดย *Pseudomonas fluorescens* สามารถลดจำนวนของ *Listeria monocytogenes* LO28 บนพื้นผิวของสแตนเลส สตีล และ โพลีเตตระฟลูออโรเอทิลีน (polytetrafluoroethylene) ได้



ตารางที่ 2.5 หน้าที่ต่างๆ ของสารลดแรงตึงผิวที่ใช้เป็นอิมัลซิไฟเออร์ในอาหารชนิดต่างๆ

[17]

หน้าที่	ตัวอย่างผลิตภัณฑ์
Emulsification (water-in-oil)	Margarine
Emulsification (oil-in-water)	Mayonnaise
Aeration	Whipped toppings
Improvement of whippability	Whipped toppings
Inhibition of fat crystallization	Candy
Softening	Candy
Antistaling	Bread
Dough conditioning	Bread dough
Improvement of loaf volume	Bread
Reduction of shortening requirements	Bread
Pan release agent	Yeast-leavened and other dough and batter products
Fat stabilizer	Food oil
Antispattering agent	Margarine and frying oils
Antisticking agent	Caramel candy
Protective coating	Fresh fruits and vegetables
Surfactant	Molasses



222725008

ตารางที่ 2.5 หน้าที่ต่างๆ ของสารลดแรงตึงผิวที่ใช้เป็นอิมัลซิไฟเออร์ในอาหารชนิดต่างๆ [17] (ต่อ)

หน้าที่	ตัวอย่างผลิตภัณฑ์
Viscosity control	Molten chocolate
Improvement of solubility	Instant potatoes
Starch complexation	Cake icing
Humectant	Cake icing
Plasticizer	Sugar productions
Stabilization of flavor oils	Ice cream
Promotion of “dryness”	Whipped topping
Freeze-thaw stability	Instant soups
Inhibition of sugar crystallization	Panned coating

โดยอุตสาหกรรมอาหารที่น่าสนใจในการนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพไปใช้ให้เกิดประโยชน์ ได้แก่ อุตสาหกรรมแป้ง โดยโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวซึ่งประกอบด้วยส่วนที่มีขั้วและไม่มีขั้ว ทำให้ส่วนที่ไม่มีขั้วของสารลดแรงตึงผิวไปเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับโมเลกุลของแป้งในส่วนที่เป็นแอมิโลสและส่วนที่เป็นสายตรงของแอมิโลเพกตินโดยการแทรกเข้าไปอยู่ในบริเวณที่ไม่มีขั้วของสายเกลียวคู่ ทำให้ความยาวของส่วนที่มีขั้วเปลี่ยนไป ซึ่งส่งผลต่อการเกิดเจลลาติโนเซชันโดยทำให้แป้งมีคุณลักษณะที่ดีขึ้น คือ เพิ่มความสามารถในการเกิดเจลลาติโนเซชัน ความสามารถในการเป็นสารเพิ่มความหนืดที่ดีขึ้น ลดการเกิดการคิ่นตัวในอาหารบางชนิดให้น้อยลง หรือสร้างคุณสมบัติใหม่ เช่น ละลายได้ในอุณหภูมิห้อง จึงได้มีการนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมาใช้ในการปรับปรุงคุณภาพของแป้งในการทำขนมปัง หรือไอศกรีม โดยเพิ่มความคงตัว เนื้อสัมผัส ปริมาตรของเนื้อแป้ง เป็นต้น [9] โดยในงานวิจัยนี้สนใจที่จะทำการปรับปรุงคุณภาพของแป้งข้าวชัณนาท ซึ่งเป็นแป้งที่มีปริมาณแอมิโลสสูง และถูกใช้อย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรมอาหาร ซึ่งเมื่อทำการปรับปรุงคุณภาพแล้ว เมื่อถูกทำให้สุกและทิ้งไว้ให้เย็น แป้งจะสามารถอยู่ตัวเป็นก้อน ไม่เหนียว เหมาะสำหรับการทำอาหารที่ต้องการความอยู่ตัว เช่น ขนมกล้วย ขนมขี้หนู เส้นก๋วยเตี๋ยว เส้นขนมจีน เป็นต้น

### 2.6.5.1 อุตสาหกรรมแป้ง

แป้งเป็นคาร์โบไฮเดรตที่สะสมอยู่ในพืชชั้นสูง พบในคลอโรพลาสต์ (ในใบ) และในส่วนที่พืชใช้เป็นแหล่งเก็บอาหาร เช่น เมล็ดและหัว มนุษย์ได้รับแป้งจากพืชแตกต่างกันตามภูมิประเทศในโลก ทางด้านทวีปอเมริกาเหนือ/กลาง จะมีข้าวโพด ข้าวสาลีเป็นแหล่งให้แป้งที่สำคัญ ทางยุโรปมีมันฝรั่ง และแถบเอเชีย แอฟริกา มีข้าวและมันสำปะหลัง เป็นต้น แต่ที่สำคัญที่มีการใช้กันทั่วโลก คือ แป้งข้าวโพด แป้งมันฝรั่ง แป้งข้าวสาลี และแป้งมันสำปะหลัง แป้งเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญในโภชนาการของมนุษย์ อาหารทั้งหมดส่วนใหญ่จะมีแป้งเป็นองค์ประกอบหลักของทุกชนิด

ถึงแม้ว่าบทบาทที่สำคัญของแป้งคือ ใช้เป็นแหล่งอาหารพลังงานสูงของมนุษย์ แต่จากคุณสมบัติเฉพาะของแป้ง จึงได้มีการนำแป้งมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เพื่อปรับปรุงคุณสมบัติของอาหาร เช่น ทำให้เกิดเจล ควบคุมความคงตัวและเนื้อสัมผัสของอาหารจำพวกซอส ซุป และน้ำปรุงรสอาหาร ป้องกันเนื้อสัมผัสของอาหารเสียรูปเนื่องจากกระบวนการแช่แข็งและคืนรูปจากเยือกแข็ง (freeze-thaw) สภาวะกรด การทำพาสเจอร์ไรเซชัน (pasteurization) และสเตอริไรเซชัน (sterilization) เป็นต้น นอกจากนี้ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารแล้ว ยังมีการนำแป้งมาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอื่นๆ เช่น อุตสาหกรรมกระดาษ อุตสาหกรรมสิ่งทอ อุตสาหกรรมยา อุตสาหกรรมกาว และอุตสาหกรรมแป้งดัดแปร เป็นต้น

คำว่า “แป้ง” ในการผลิตนั้น หมายถึง คาร์โบไฮเดรตที่มีองค์ประกอบของคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจนเป็นส่วนใหญ่ มีสิ่งอื่นเจือปน เช่น โปรตีน ไขมัน เกลือแร่ น้อยมาก ส่วนแป้งที่ผลิตโดยทั่วไปที่ยังมีส่วนประกอบอื่นๆอยู่มาก จะเรียกว่า ฟลาวัวร์ (flour) ตัวอย่างเช่น แป้งข้าวโพด แป้งข้าวสาลี ถ้ายังมีส่วนประกอบของโปรตีนสูง ก็จะจัดอยู่ในประเภทฟลาวัวร์ เรียกว่า corn flour, wheat flour เช่นเดียวกันกับแป้งข้าวเจ้าที่ยังมีโปรตีน 7 ถึง 8 % ก็จะใช้เรียก rice flour แต่เมื่อมีสิ่งเจือปนอันหมายถึงโปรตีน ไขมัน เกลือแร่อื่นๆ ถูกสกัดออกไป จนเหลือแป้งบริสุทธิ์เป็นส่วนใหญ่ จึงเรียกว่าเป็นแป้งสตาร์ช (starch) สำหรับแป้งมันสำปะหลังที่ผลิตในประเทศไทย ปัจจุบันผลิตโดยกรรมวิธีทันสมัย มีความบริสุทธิ์ของแป้งสูง จัดเป็นแป้งสตาร์ช (cassava starch) คำว่าแป้งที่จะกล่าวต่อไปนี้จึงหมายถึงแป้งสตาร์ช และเนื่องจากแป้งสตาร์ชมีความบริสุทธิ์สูง แป้งสตาร์ชที่ยังไม่ได้ถูกทำการดัดแปรหรือแปรรูป นิยมเรียกว่าแป้งดิบ (raw starch หรือ native starch) ซึ่งจะตรงกันข้ามกับแป้งที่ถูกดัดแปรรูปแล้ว ที่เรียกว่าโมดิไฟด์สตาร์ช (modified starch) หรือแป้งดัดแปร

#### 1. องค์ประกอบภายในแป้ง

แป้งเป็นคาร์โบไฮเดรตที่ประกอบด้วยคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน ในอัตราส่วน 6 : 10 : 5 มีสูตรเคมีโดยทั่วไปคือ  $(C_6H_{10}O_5)_n$  แป้งเป็นพอลิเมอร์ของกลูโคส ซึ่งประกอบด้วยหน่วยของน้ำตาลกลูโคสมาเชื่อมต่อกันด้วยพันธะกลูโคซิดิก (glucosidic linkage) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 1 ทางด้านตอนปลายของสายพอลิเมอร์ที่มีหน่วยกลูโคสที่มีหมู่แอลดีไฮด์ (aldehyde group) เรียกว่า ปลายรีดิวซิง (reducing end group) แป้งประกอบด้วยพอลิเมอร์ของกลูโคส 2 ชนิด คือ พอลิเมอร์เชิงเส้น (แอมิโลส) และพอลิเมอร์เชิงกิ่ง (แอมิโลเพกติน) แป้งจากแหล่งที่ต่างกันจะมีอัตราส่วนของแอมิโลสและแอมิโลเพกตินแตกต่างกัน (ดังตารางที่ 2.6)



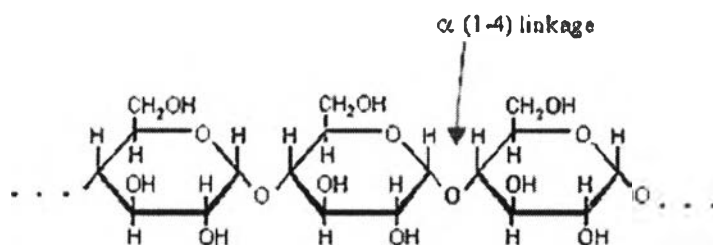


ตารางที่ 2.6 สมบัติที่สำคัญของแอมิโลสและอะมิโลเพทิน [49]

คุณสมบัติ	แอมิโลส	อะมิโลเพทิน
ลักษณะโครงสร้าง	สารประกอบของน้ำตาลกลูโคส เกาะกันเป็นเส้นตรง	สารประกอบของน้ำตาลกลูโคส เกาะกันเป็นกิ่งก้าน
พันธะที่จับ	$\alpha - 1,4$	$\alpha - 1,4$ และ $\alpha - 1,6$
ขนาด	200 – 2,000 หน่วยกลูโคส	มากกว่า 10,000 หน่วยกลูโคส
การละลาย	ละลายน้ำได้น้อยกว่า	ละลายน้ำได้ดีกว่า
การทำปฏิกิริยากับไอโอดีน	สีน้ำเงิน	สีแดงม่วง
การจับตัว	เมื่อให้ความร้อนแล้วทิ้งไว้จะจับ ตัวเป็นวุ้นและแผ่นแข็ง	ไม่จับตัวเป็นแผ่นแข็ง

## 1) แอมิโลส

แอมิโลสเป็นพอลิเมอร์เชิงเส้นที่ประกอบด้วยกลูโคสประมาณ 2,000 หน่วย เชื่อมต่อกันด้วยพันธะกลูโคซิดิก (Zglucosidic linkage) ชนิดแอลฟา-1,4 ( $\alpha - 1,4$ ) ดังรูปที่ 2.7

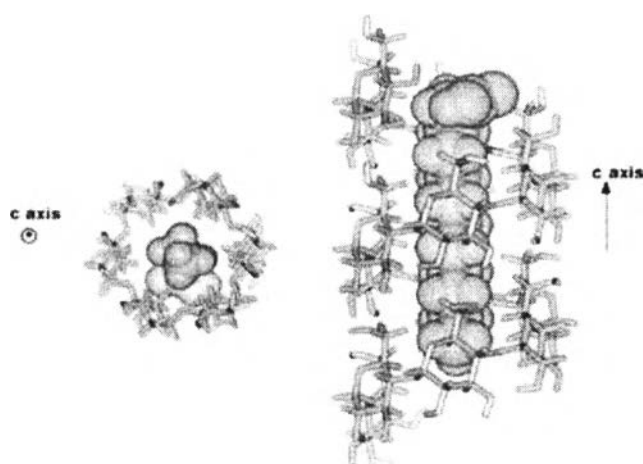


รูปที่ 2.7 โครงสร้างของแอมิโลส

ที่มา กล้าณรงค์ และเกื้อกุล [8]

แป้งจากธัญพืช เช่น แป้งข้าวโพด แป้งสาลี แป้งข้าวฟ่าง มีปริมาณแอมิโลสสูงประมาณ 28% แป้งจากรากและหัว เช่น แป้งมันสำปะหลัง แป้งมันฝรั่ง แป้งสาคุมีปริมาณแอมิโลสต่ำประมาณ 20% แป้งข้าวเหนียว ไม่มีแอมิโลสเลย และแป้งข้าวโพดแอมิโลเมส มีแอมิโลสสูงมากถึง 80% น้ำหนักโมเลกุลของแอมิโลสอยู่ในช่วง  $10^5$  ถึง  $10^6$  ดาลตัน ซึ่งแอมิโลสในแป้งแต่ละชนิดจะมีน้ำหนักโมเลกุลที่แตกต่างกันไป ในแป้งมันฝรั่งและแป้งมันสำปะหลังมีน้ำหนักโมเลกุลสูงกว่าในแป้งข้าวโพดและแป้งสาลี แป้งแต่ละชนิดมีขนาดโมเลกุลหรือระดับขั้นการเกิดพอลิเมอร์ (Degree of polymerization, DP) ของแอมิโลสแตกต่างกัน แป้งมันฝรั่งและแป้งมันสำปะหลังมีขนาดโมเลกุลของแอมิโลสอยู่ในช่วง 1,000 ถึง 6,000 สูงกว่าแป้งข้าวโพดและแป้งข้าวสาลี ซึ่งมีขนาดโมเลกุลของแอมิโลสอยู่ในช่วง 200 ถึง 1,200 แป้งที่มีโมเลกุลของแอมิโลสยาวขึ้นจะมีแนวโน้มในการเกิดรีโทรเกรเดชัน (retrogradation) ลดลง ในธรรมชาติแอมิโลสมีกิ่งก้านอยู่บ้างแต่ไม่มาก คุณสมบัติทางโครงสร้างของอะมิโลสของแป้งหลายชนิด แสดงดังตารางที่ 2.7

แอมิโลสสามารถรวมตัวเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับไอโอดีน และสารประกอบอินทรีย์อื่นๆ เช่น บิวทานอล กรดไขมัน สารลดแรงตึงผิว ฟีนอล และไฮโดรคาร์บอน สารประกอบเชิงซ้อนเหล่านี้จะไม่ละลายในน้ำ โดยแอมิโลสจะพันเป็นเกลียวล้อมรอบสารประกอบอินทรีย์ ดังรูปที่ 2.8 นอกจากนี้ แอมิโลสที่รวมตัวกับไอโอดีนจะให้สีน้ำเงิน ซึ่งใช้เป็นลักษณะเฉพาะที่บ่งบอกถึงแป้งที่มีองค์ประกอบของแอมิโลส



รูปที่ 2.8 ภาพจำลองการจับตัวของแอมิโลสกับสารอินทรีย์

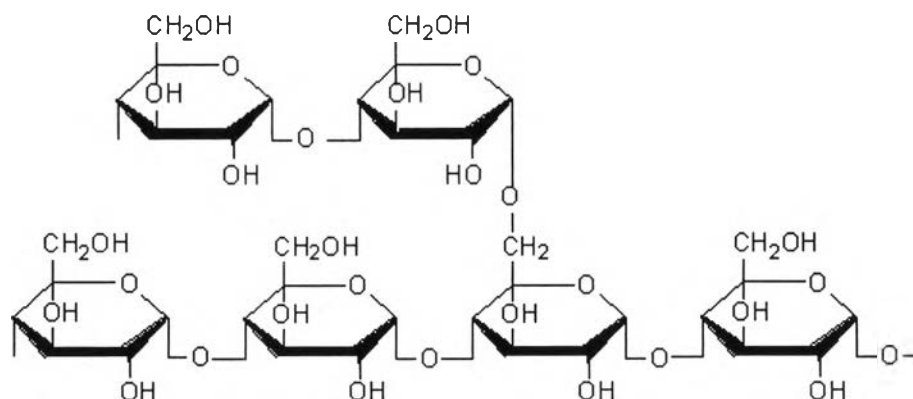
ที่มา <http://eu.lib.kmutt.ac.th/elearning/Courseware/BCT611/chapter2.html>

ตารางที่ 2.7 สมบัติที่สำคัญของแอมิโลสและแอมิโลเพกติน [49]

แหล่งแป้ง	ปริมาณแอมิโลส (%)	เบต้าแอมิโลซิสจำกัด (%)	ขนาดโมเลกุล (DP) เฉลี่ย	จำนวนสายเฉลี่ย (NC)	ความยาวสายเฉลี่ย	โมเลกุลกิ่ง (%)
แป้งสาลี	28	88	1,300	4.8	270	27
แป้งข้าวโพด	28	82	930	2.7	340	44
แป้งข้าวเจ้า	17					
อินดิกา (Indica)		73	1,000	4.0	250	49
จาโปนิก (Japonica)		81	1,100	3.4	320	31
แป้งมันสำปะหลัง	17	75	2,600	7.6	340	42
แป้งมันฝรั่ง	21	80	4,900	9.5	240	

## 2) แอมิโลเพกติน

แอมิโลเพกตินเป็นพอลิเมอร์เชิงกิ่งของกลูโคส ส่วนที่เป็นเส้นตรงของกลูโคสเชื่อมต่อกันด้วยพันธะกลูโคซิดิกชนิด  $\alpha$ -1,4 และส่วนที่เป็นกิ่งสาขาที่เป็นพอลิเมอร์กลูโคสสายสั้น มีขนาดโมเลกุล (DP) อยู่ในช่วง 10 ถึง 60 หน่วย เชื่อมต่อกันด้วยพันธะกลูโคซิดิกชนิด  $\alpha$ -1,6 ดังรูปที่ 2.9



รูปที่ 2.9 โครงสร้างแอมิโลเพกติน

ที่มา กล้าณรงค์ และเกื้อกุล [8]

ตารางที่ 2.8 ปริมาณและสัดส่วนของแอมิโลสและอะมิเพกตินในแป้งแต่ละชนิด [50]

	แป้งมันฝรั่ง	แป้งข้าวโพด	แป้งสาลี	แป้งมันสำปะหลัง	แป้งข้าวโพดเหนียว
แอมิโลส (%น้ำหนักแห้ง)	21	28	28	17	0
แอมิโลเพกติน (%น้ำหนักแห้ง)	79	72	72	83	100
ขนาดโมกุล (DP) ของแอมิโลส (หน่วยน้ำตาลกลูโคส)	3000	800	800	3000	-
ขนาดโมกุล (DP) ของแอมิโลเพกติน (หน่วยน้ำตาลกลูโคส)	$2 \times 10^6$	$2 \times 10^6$	$2 \times 10^6$	$2 \times 10^6$	$2 \times 10^6$
จำนวนโมเลกุลแอมิโลส ( $\times 10^{20}$ ) ในแป้ง 1 กรัม	30	130	130	20	0
จำนวนโมเลกุลแอมิโลเพกติน ( $\times 10^{17}$ ) ในแป้ง 1 กรัม	150	130	130	150	190
สัดส่วนจำนวนโมเลกุลของแอมิโลสต่ออะมิเพกติน	200	1,000	1,000	150	0
ขนาดโมเลกุล (DP) เฉลี่ยของโมเลกุลแป้ง (หน่วยน้ำตาลกลูโคส)	14,000	3,000	3,000	18,000	2,000,000

แอมิโลเพกตินถือว่ามีความสำคัญมากกว่าแอมิโลสทั้งด้านโครงสร้าง หน้าที่ การนำไปใช้ ดังนั้นเมื่อมีแอมิโลเพกตินเพียงอย่างเดียวสามารถรวมตัวเพื่อสร้างเม็ดแป้งได้ ปริมาณของแอมิโลส และแอมิโลเพกตินที่แตกต่างกันทำให้สมบัติของแป้งต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 2.9 แป้งจากข้าวโพด สายพันธุ์ที่มีปริมาณแอมิโลสสูงถึง 70% คือ ข้าวโพดอะมิโลเมส (amylomaize) และสายพันธุ์ที่ไม่มี แอมิโลส คือ ข้าวโพดเหนียว (waxy maize)

ตารางที่ 2.9 คุณสมบัติของแป้งข้าวโพดที่มีปริมาณแอมิโลสต่างกัน

ชนิดแป้ง	ปริมาณ แอ มิโลส (%)	คุณสมบัติ
ข้าวโพดเหนียว (waxy maize)	0-1	แป้งเปียกใส มีการคืนตัวหลังสุก (setback) น้อย ไม่เกิดเจล และเจมีการสูญเสีย น้ำ (syneresis) น้อย ยืดหยุ่นได้
ข้าวโพด (maize)	27	เกิดเจที่แข็งแรง แป้งเปียกขุ่น
ข้าวโพดอะมิโลเมส (amylomaize)	50-70	เม็ดแป้งพองตัวได้ยาก เกิดเจลที่ แข็ง แป้งเปียกขุ่น อุณหภูมิการเกิดแป้งเปียกสูง

### 3) สารตัวกลาง

สารตัวกลางมีเพียงส่วนน้อยในแป้งบางชนิด องค์ประกอบนี้มีน้ำหนักโมเลกุลน้อยกว่าแอมิโลเพกติน แต่ใหญ่กว่าแอมิโลส และเมื่อตรวจสอบด้วยเทคนิคนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ ( $^{13}\text{C}$  Nuclear Magnetic Resonance) พบว่าสารตัวกลางในแป้งสาลีจะมีโครงสร้างที่คล้ายคลึงกับแอมิโลเพกตินแต่มีกิ่งที่สั้นกว่า นอกจากนี้มีรายงานว่าสารตัวกลางในแป้งข้าวโอตสามารถเกิดสีน้ำเงินกับไอโอดีนได้เช่นเดียวกับแอมิโลส แต่มีค่าสัมพรรคภาพไอโอดีน (iodine affinity) และค่าความเข้มของสีน้ำเงิน (blue value) ต่ำกว่าแอมิโลสแต่มากกว่าแอมิโลเพกติน แต่จะมีกิ่งที่ยาวกว่า

### 4) ส่วนประกอบอื่นๆภายในเม็ดแป้ง

ส่วนประกอบอื่นๆภายในเม็ดแป้ง แบ่งออกเป็น

- ส่วนที่ไม่ใช่แป้งที่แยกได้จากแป้ง (particulate material) ได้แก่ โปรตีนที่ไม่ละลาย และผนังเซลล์ซึ่งจะมีผลกระทบต่อกระบวนการผลิตแป้ง
- ส่วนที่ติดกับพื้นผิวของเม็ดแป้ง (surface material) ซึ่งสามารถสกัดออกได้โดยไม่ต้องทำลายเม็ดแป้ง เช่น เยื่อหุ้มอะมิโลพลาสต์
- ส่วนที่ติดอยู่ภายในเม็ดแป้ง (internal components) มารดแยกออกได้โดยการทำลายเม็ดแป้ง เช่น ไขมันในแป้งจากธัญพืช หมู่ฟอสเฟตในแป้งมันฝรั่ง และสารประกอบไนโตรเจนในแป้ง

ส่วนประกอบอื่นที่มีผลต่อลักษณะและคุณสมบัติของเม็ดแป้งที่สำคัญ ได้แก่ ไขมัน โปรตีน เถ้า และฟอสฟอรัส ซึ่งมีปริมาณแตกต่างกันในแป้งแต่ละชนิด ดังแสดงในตารางที่ 2.10

ตารางที่ 2.10 องค์ประกอบของแป้งชนิดต่างๆ [50]

ชนิดแป้ง	ความชื้น 65% RH, 20°C	% ไขมัน	% โปรตีน	% เถ้า	% ฟอสฟอรัส
แป้งข้าวโพด	13	0.6	0.35	0.1	0.015
แป้งมันฝรั่ง	19	0.05	0.06	0.4	0.08
แป้งสาลี	14	0.8	0.4	0.15	0.06
แป้งมันสำปะหลัง	13	0.1	0.1	0.2	0.01
แป้งข้าวโพดเหนียว	13	0.2	0.25	0.07	0.007
แป้งข้าวฟ่าง	13	0.7	0.3	0.08	ไม่มีรายงาน
แป้งข้าวเจ้า	ไม่มีรายงาน	0.8	0.45	0.5	0.1
แป้งสาคู	ไม่มีรายงาน	0.1	0.1	0.2	0.02
แป้งข้าวโพดอะมิโลเมส	13	0.4	ไม่มีรายงาน	0.2	0.07
แป้งมันเทศ	13	ไม่มีรายงาน	ไม่มีรายงาน	0.1	ไม่มีรายงาน

#### 4.1) ไขมัน

โดยส่วนใหญ่แป้งจะมีองค์ประกอบของไขมันอยู่ต่ำกว่า 1% ชนิดของไขมันที่มีอยู่ในแป้งมีผลต่อคุณสมบัติของแป้ง เช่น มีผลต่อความเหนียวของแป้ง ดังนั้นในการวิเคราะห์คุณสมบัติของแป้งจะต้องกำจัดไขมันออกจากแป้งโดยสกัดด้วยตัวทำละลายหรือย่อยสลายโดยใช้เอนไซม์ ไขมันที่รวมอยู่ในเม็ดแป้งจะส่งผลกระทบต่อลักษณะคุณสมบัติของแป้ง โดยจะลดความสามารถในการพองตัว การละลาย และการจับตัวของน้ำกับแป้ง เมื่อเกิดฟิล์มและแป้งเปียกหรือเพสต์ (paste) ไขมันจะรวมตัวกับแอมิโลสเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนเฉื่อย (inert complex) ทำให้ฟิล์มและแป้งเปียกมีลักษณะทึบแสงหรือขุ่น นอกจากนี้กรดไขมันไม่อิ่มตัวซึ่งอยู่บริเวณพื้นผิวเม็ดแป้งจะทำให้เกิดกลิ่นไม่พึงประสงค์เนื่องมาจากเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน แต่สำหรับไขมันที่รวมตัวเชิงซ้อนกับแอมิโลสจะไม่ก่อให้เกิดกลิ่นเนื่องจากสามารถต้านทานการเกิดออกซิเดชันได้ แป้งจากธัญพืช เช่น แป้งข้าวโพด แป้งข้าวสาลี มีกลิ่นแรงกว่าแป้งข้าวโพดข้าวเหนียว แป้งมันสำปะหลัง และแป้งมันฝรั่ง เนื่องจากมีองค์ประกอบของไขมันสูง

#### 4.2) ไนโตรเจน (โปรตีน)

ภายในแป้งมีส่วนประกอบของโปรตีนอยู่ต่ำกว่า 1% โดยโปรตีนจะเกาะอยู่บริเวณพื้นผิว ผิวของเม็ดแป้ง ทำให้เกิดผลกระทบต่อลักษณะของแป้ง คือ ทำให้เกิดประจุบนพื้นผิวเม็ดแป้ง มีผลต่อการกระจายของเม็ดแป้ง ทำให้แป้งมีอัตราการดูดซับน้ำ อัตราการพองตัว และอัตราการเกิดเจลลาคีโนสเปลี่ยนแปลงไป ทำให้เกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction) ระหว่างการทำปฏิกิริยาของ

กรดอะมิโนกับน้ำตาลรีดิวซิง สีและกลิ่นของผลิตภัณฑ์จะเปลี่ยนแปลงไป (โดยส่วนใหญ่ปฏิกิริยาเช่นนี้เกิดขึ้นกับแป้งจากธัญพืช เนื่องจากมีปริมาณโปรตีนสูง)

#### 4.3) เถ้า

แป้งโดยทั่วไปมีองค์ประกอบของสารอนินทรีย์ เช่น โซเดียม โปแทสเซียม แมกนีเซียม และแคลเซียม สามารถวิเคราะห์หาปริมาณได้จากส่วนที่เหลือหรือถ้าจากการเผาไหม้โดยสมบูรณ์ ปริมาณเถ้าในแป้งมันฝรั่งจะสัมพันธ์กับหมู่ฟอสฟอรัสในแป้ง สำหรับเถ้าในแป้งจากธัญพืชจะสัมพันธ์กับปริมาณฟอสฟอไลพิด

#### 4.4) ฟอสฟอรัส

แป้งส่วนใหญ่มีองค์ประกอบของฟอสฟอรัสอยู่น้อยกว่า 0.1% โดยแป้งจากธัญพืชมีฟอสฟอรัสในรูปฟอสฟอไลพิด (phospholipid) ประมาณ 0.02 ถึง 0.06% และสำหรับแป้งจากพืชหัวและราก เช่น แป้งจากมันฝรั่ง มีองค์ประกอบของฟอสฟอรัสประมาณ 0.3 ถึง 0.4% ฟอสฟอรัสภายในแป้งอยู่ในรูปฟอสเฟตเชื่อมกับหมู่ไฮดรอกซิลที่คาร์บอนตำแหน่ง 3 และ 6 ( $C_3$  และ  $C_6$ ) ของหน่วยกลูโคส แป้งมันฝรั่งมีองค์ประกอบของฟอสฟอรัสทำให้มีประจุพื้นผิวเป็นลบ แรงผลักระหว่างประจุลบจะทำให้แป้งมันฝรั่งมีคุณสมบัติพองตัวง่าย และมีความหนืดสูงกว่าแป้งชนิดอื่นๆ

## 2. คุณสมบัติของแป้ง

### 1) การดูดซับน้ำ การพองตัวและการละลาย

เมื่อเติมน้ำลงในแป้งและตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เม็ดแป้งจะดูดซับน้ำที่เติมลงไปภายใต้สภาวะบรรยากาศของห้อง จนเกิดสมดุลระหว่างความชื้นภายในเม็ดแป้งกับน้ำที่เติมและความชื้นในบรรยากาศ ปริมาณน้ำที่ถูกดูดซับจะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ แป้งส่วนใหญ่เมื่อเกิดสมดุลภายใต้บรรยากาศจะมีความชื้น 10 ถึง 17% น้ำที่อยู่ในเม็ดแป้งมีอยู่ด้วยกัน 3 รูปแบบ คือ น้ำในผลึก น้ำในรูปที่ไม่อิสระ (bound water) และน้ำในรูปอิสระ (free water) โดยมีการจับกับแป้งได้แน่นตามลำดับ และแป้งที่มีความชื้น 8 ถึง 10% สามารถจับกับน้ำได้แน่นกว่าแป้งที่มีความชื้นสูงกว่านี้ เนื่องจากการจับของน้ำกับหมู่ไฮดรอกซิลที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 6 ของกลูโคสแต่ละหน่วยของแป้ง จะได้สตาร์ชโมโนไฮเดรต [ $n(C_6H_{10}O_5 \cdot H_2O)$ ]

น้ำหรือของเหลวชนิดอื่นสามารถแพร่ผ่านเข้าไปในร่างแหของไมเซลล์ (micelles) ในเม็ดแป้งได้อย่างอิสระ ทดสอบได้จากการแขวนลอยเม็ดแป้งในสารละลายไอโอดีนเจือจาง จะเกิดสีขึ้นในเม็ดแป้ง เมื่อใส่โซเดียมไทโอซัลเฟตลงไป พบว่าสีจะหายไปอย่างรวดเร็ว และเมื่อนำมาส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบว่าเม็ดแป้งประกอบด้วยรูพรุนจำนวนมากซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวคัดขนาดโมเลกุล รูพรุนเหล่านี้อาจจะเกิดขึ้นในขั้นตอนการทำแห้งในกระบวนการผลิตแป้ง หรืออาจจะมิอยู่แล้วในแป้งธรรมชาติ แต่มีขนาดขยายใหญ่ขึ้น เนื่องจากขั้นตอนการทำแห้งในกระบวนการผลิตแป้ง

แป้งดิบจะไม่ละลายในน้ำที่มีอุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิเจลลิตีไนซ์ เนื่องจากมีพันธะไฮโดรเจนซึ่งเกิดจากหมู่ไฮดรอกซิลของโมเลกุลแป้งที่อยู่ใกล้ๆกันเชื่อมต่อกันอยู่ แต่เมื่ออุณหภูมิห้องของสารผสมน้ำแป้งเพิ่มสูงกว่าช่วงอุณหภูมิในการเกิดเจลลิตีไนซ์ พันธะไฮโดรเจนจะถูกทำลาย โมเลกุลของ

น้ำจะเข้ามาจับกับหมู่ไฮดรอกซิลที่เป็นอิสระ เม็ดแป้งเกิดการพองตัว ทำให้การละลาย ความหนืด และความใสเพิ่มขึ้น คุณสมบัติของการบิดระนาบแสงโพลาไรซ์ (birefringence) ในเม็ดแป้งจะหมดไป ปัจจัยที่มีผลต่อการพองตัว และความสามารถในการละลายคือ ชนิดของแป้ง ความแข็งแรง และลักษณะของร่างแหภายในเม็ดแป้ง สิ่งเจือปนภายในเม็ดแป้งที่ไม่ใช่คาร์โบไฮเดรต ปริมาณน้ำในสารละลายแป้ง และการตัดแปรงทางเคมี รูปแบบในการพองตัว และการละลายของเม็ดแป้งแต่ละชนิดจะมีรูปแบบที่แตกต่างกันไป

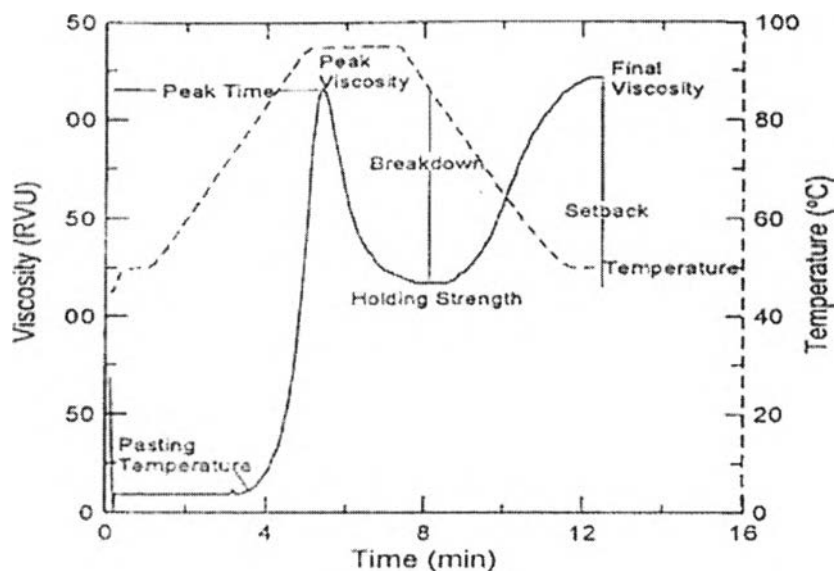
เมื่อให้ความร้อนแก่สารละลายน้ำแป้ง เม็ดแป้งจะเกิดการพองตัว และบางส่วนของแป้งจะละลายออกมา กำลังการพองตัวของแป้งจะแสดงเป็นปริมาตรหรือน้ำหนักของเม็ดแป้งที่เพิ่มขึ้นมากที่สุดเมื่อเม็ดแป้งพองตัวได้อย่างอิสระในน้ำ สำหรับความสามารถในการละลายจะแสดงเป็นน้ำหนักของแข็งทั้งหมดในสารละลายที่สามารถละลายได้ ซึ่งคุณสมบัติทั้งสองนี้มีความสัมพันธ์กัน คุณสมบัติในการพองตัวและความสามารถในการละลายของแป้งแต่ละชนิดที่ 95 องศาเซลเซียส แสดงดังตารางที่ 2.11

ตารางที่ 2.11 คุณสมบัติในการพองตัวและความสามารถในการละลายของแป้งแต่ละชนิดที่ 95 องศาเซลเซียส

แป้ง	กำลังการพองตัว	การละลาย (%)
มันฝรั่ง	> 1,000	82
สาคุ	97	39
มันสำปะหลัง	71	48
พุทธรักษา	72	37
ท้าวยายม่อม	54	28
มันเทศ	46	18
ข้าวโพด	24	25
ข้าวฟ่าง	22	22
ข้าวสาลี	21	41
ข้าวเจ้า	19	18
ข้าวโพดข้าวเหนียว	64	23
ข้าวเจ้าข้าวเหนียว	56	13
ข้าวฟ่างข้าวเหนียว	49	19
ถั่ว (wrinkled pea)	6	19
ข้าวโพดชนิดแอมิโลสสูง	6	12
ถั่วการ์บาโซ	13	15

## 2) ความหนืด

ความหนืดเป็นสมบัติเฉพาะตัวที่สำคัญของแป้ง เกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อความหนืดของแป้ง ได้แก่ ชนิดของแป้ง และการตัดแปรงแป้งด้วยวิธีต่างๆ เช่น การตัดแปรงโดยวิธีทางกายภาพ การตัดแปรงด้วยกรดหรือด่างหรือเอนไซม์ การตัดแปรงแป้งด้วยปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชัน และการตัดแปรงโดยวิธีโครสลิง เป็นต้น นอกจากปัจจัยทั้งสองดังกล่าวมาแล้ว ปัจจัยอื่นๆที่เกี่ยวข้องอันเนื่องมาจากชนิดของแป้งเมื่อวิเคราะห์ลงในรายละเอียดคือ ขนาดของเม็ดแป้ง ปริมาณแอมิโลส ก็มีผลสำคัญต่อความหนืด กล่าวคือ ขนาดเม็ดแป้งที่ใหญ่ ย่อมมีกำลังการพองตัวสูง และให้ความหนืดสูงสุด (peak viscosity) สูง ปริมาณแอมิโลสมีผลต่อการเกิดรีโทรเกรเดชัน (retrogradation) ถ้าแป้งชนิดใดมีปริมาณแอมิโลสสูงย่อมแสดงค่าความหนืดสุดท้าย (final viscosity) สูงด้วยเช่นกัน สำหรับปัจจัยทางภายนอกคือ ถ้ามีการใช้ความร้อนสูงหรือมีการใช้แรงกลมาก จะทำให้เม็ดแป้งแตกและค่าความหนืดลดลง การใช้เครื่องมือวัดความหนืดโดยเครื่องวัดความหนืดแบบรวดเร็ว (RVA) จะได้กราฟดังรูปที่ 2.10



รูปที่ 2.10 รูปแสดงกราฟผลของการวัดความหนืดด้วยเครื่อง RVA

ที่มีแกน x เป็นเวลา แกน y อ่านได้ 2 แกน ด้านหนึ่งเป็นความหนืดในหน่วย RVU และอีกด้านหนึ่ง

เป็นอุณหภูมิในหน่วย °C

ที่มา กล้าณรงค์ และเกื้อกุล [8]



## 2.6.6 ด้านอื่นๆ

ด้านการเกษตร การที่สารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีสมบัติในการทำให้เปียก (wettability) จึงนำมาใช้ในเป็นส่วนผสมในปุ๋ยหรือยาฆ่าแมลง เพื่อช่วยให้การกระจายตัวในดินดีขึ้น นอกจากนี้แรมโนลิพิดยังมีสมบัติเป็นสารควบคุมทางชีวภาพ โดยการทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ และยังสามารถทำลายซุโอสปอร์ของจุลินทรีย์ที่ก่อโรคในพืช เช่น *Pythium* sp., *Phytophthora* sp. และ *Plasmopara* sp. [35]

บริษัท Saraya ประเทศญี่ปุ่นสามารถผลิตโซโฟโรลิพิดในเชิงพาณิชย์ได้โดยใช้เป็นสารทำความสะอาดในน้ำยาล้างจาน [51] และจากคุณสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ จึงนำมาใช้เป็นส่วนผสมในการทำความสะอาดผักและผลไม้ [52] นอกจากนี้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพยังสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมกระดาษ สี และเซรามิก โดยใช้เยื่อโพรทอลิแซคคาไรด์ จาก *Macrocystis pyrifera* และ *Azotobacter vinelandii* เป็นสารช่วยกระจายตัวในโรงงานผลิตเซรามิก [53] ดังตารางที่ 2.12

ด้วยประโยชน์และสมบัติหลายประการที่กล่าวมาข้างต้นเกี่ยวกับสารลดแรงตึงผิวชีวภาพทำให้ปัจจุบันสารลดแรงตึงผิวได้รับความสนใจในการนำมาประยุกต์ใช้ในระดับอุตสาหกรรม และในเชิงพาณิชย์มากขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดไกลโคลิพิดที่มักพบได้ในผนังเซลล์ยีสต์ ซึ่งสารลดแรงตึงผิวชีวภาพนั้นได้มีการจดสิทธิบัตรแล้วทั่วโลกเป็นจำนวนถึง 225 สิทธิบัตร ในจำนวนนี้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดโซโฟโรลิพิดที่ผลิตจากยีสต์ได้ถูกจดสิทธิบัตรปริมาณมากที่สุดคือ 24 เปรเซ็นต์ [54] ดังแสดงตัวอย่างของสิทธิบัตรในตารางที่ 2.13 ดังนั้น จึงได้มีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากยีสต์มากขึ้น เนื่องจากยีสต์นั้นสามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ในปริมาณสูง และหลังออกมาภายนอกเซลล์ง่ายต่อการเก็บเกี่ยว อย่างไรก็ตามเพื่อให้การผลิตมีประสิทธิภาพสูงสุด และต้นทุนการผลิตต่ำลง จำต้องมีการศึกษาพัฒนาแหล่งอาหารให้มีราคาถูกหรือจากวัสดุเหลือใช้ ภาวะการเลี้ยงเชื้อ และปัจจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้องในทุกขั้นตอนการผลิต ทั้งนี้หากสามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีความคุ้มค่า และมีราคาไม่สูงจนเกินไปนัก จะทำให้สามารถแข่งขันเชิงเศรษฐศาสตร์กับสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ได้ ซึ่งหากมีการนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพไปใช้ทดแทนสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ทางเคมีมากขึ้นเท่าใด นั้นย่อมหมายความว่าช่วยลดการเกิดมลภาวะเป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อมมากยิ่งขึ้นเท่านั้น



222725008

ตารางที่ 2.12 การประยุกต์ใช้สารลดแรงตึงผิวชนิดต่างๆ [55]

การประยุกต์ใช้	ผลของสารลดแรงตึงผิว
<b>Metals</b> Concentration of ores Cutting and forming	Wetting and foaming, collectors and frothers Wetting, emulsification, lubrication and corrosion inhibition in rolling oils, cutting oils
<b>Casting</b> Rust and scale removal Plating	In picking and electrolytic cleaning Wetting and foaming in electrolytic plating
<b>Paper</b> Pulp treatment Paper machine Calender	Deresinification, washing Defoaming, color leveling and dispersing Wetting and leveling, coating and coloring
<b>Paint and protective coating</b> Pigment preparation Latex paints	Dispersing and wetting of pigment during grinding Emulsification, dispersion of pigment, stabilize latex, retard sedimentation and pigment separation, rheology
<b>Waxes and polishes</b>	Emulsify waxes, stabilize emulsions, antistat
<b>Petroleum production/product</b> Drilling fluids	Emulsify oil, disperse solids, modify rheological properties of drilling fluids for oil and gas wells
<b>Textiles</b> Preparation of fibers  Dyeing and printing	Detergent and emulsifier in raw wool scoring; dispersant in viscose rayon spinbath; lubricant and antistat in spinning of hydrophobic filaments Wetting, penetration, solubilization, emulsification, dye leveling, detergency and dispersion
<b>Agricultural</b> Phosphate fertilizers Spray application	Prevent caking during storage Wetting, dispersing, suspending of powdered pesticides and emulsification of pesticide solutions



222725008

ตารางที่ 2.12 การประยุกต์ใช้สารลดแรงตึงผิวชนิดต่างๆ [55] (ต่อ)

การประยุกต์ใช้	ผลของสารลดแรงตึงผิว
<b>Building and construction</b>	
Paving	Improve bond of asphalt to gravel and sand
Concrete	Promote air entertainment
<b>Elastomers and plastics</b>	
Emulsion polymerization	Solubilization, emulsification of monomers
Foamed polymers	Introduction of air, control of cell size
Latex adhesive	Promote wetting, improve bond strength
Plastic articles	Antistatic agents
Plastic coating and laminating	Wetting agent
<b>Food and beverages</b>	
Food processing plants	For cleaning sanitizing
Fruit and vegetables	Improve removal of pesticides, and in wax coating
Bekery and icecream	Solubilize flavor oils, control consistency, retard staling
Crystallization of sugar	Improve washing, reduce processing time
Cooking fat and oils	Prevent spattering due to super heat and water
<b>Industrial cleaning</b>	
Janitorial supplies	Detergent and sanitizing
Descaling	Wetting agents and corrosion inhibitors in acid cleaning of boiler tubes and heat exchangers
Soft goods	Detergents for laundry and dry cleaning
<b>Leather</b>	
Skins	Detergent and emulsifier in decreasing
Tanning	Promote weting and penetration
Hides	Emulsifiers in fat liquoring
Dyeing	Promote wetting and penetration



222725008

ตารางที่ 2.13 ตัวอย่างการจดสิทธิบัตรของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดยยีสต์ [54]

จุลินทรีย์	หัวข้อ	หมายเลขสิทธิบัตร	วันที่ตีพิมพ์	ผู้จดสิทธิบัตร
<i>T. bombicola</i>	ส่วนประกอบเครื่องสำอาง สำหรับผิวและเส้นผม	US 4297340	27-10-1981	Abe Y., Inoue S., Ishida A.
Sophorolipid producers	วิธีปรับปรุงคุณภาพของ ผลิตภัณฑ์จากแป้งสาลี	JP 61205449	11-09-1986	Akira S., Akira Y.
<i>Candida</i> spp.	การใช้โซโฟโรลิพิด ชนิดแลคโตน สำหรับรักษารังแคและระงับกลิ่น กาย	EP0209783,B1	28-01-1987	Rothlisberger R., Mager H., Wagner F.
<i>C. bombicola</i> 22214	อนุพันธ์ของโซโฟโรลิพิด	JP 06100581	12-04-1994	Yutaka I., Yasuo G., Masaru K.
<i>Micropolyspora</i>	เตตระกลูโคสและกรดไขมันชนิด เอสเทอร์	JP 06298784	25-10-1994	Ishigami Y., Gama Y., Someya J., Takamori Y., Ito T.
Sophorolipid producers	สารช่วยรักษาความสดของไม้ตัด ดอก	US 5536155	16-07-1996	Futaki K., Shigeno K., Hoshi K.
Sophorolipid producers	การใช้โซโฟโรลิพิดใน เครื่องสำอางและการรักษา ผิวหนัง	WO 97/01343	25-06-1996	Maingault M.
<i>C. bombicola</i>	กระบวนการผลิตโซโฟโรลิพิดโดย <i>C. bombicola</i>	ES 2103688	16-09-1997	Casas P. J. A., Garcia-Ochoa S.
Sophorolipid producers	การใช้โซโฟโรลิพิดเป็นสาร กระตุ้นเมตาบอลิซึมในผิวหนัง ชั้นไฟโบรบลาสต์	US 6057302	02-05-2000	Borziex F.
Sophorolipid producers	เป็นส่วนประกอบในการขนส่ง แบบเยือกแข็ง	JP 2001131538	15-05-2001	Masaru K. Takahashi N., Yoji A., Kazuo N., Tatsu N., Sumiko T.,



222725008

ตารางที่ 2.13 ตัวอย่างการจดสิทธิบัตรของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดยยีสต์ [54] (ต่อ)

จุลินทรีย์	หัวข้อ	หมายเลขสิทธิบัตร	วันที่ตีพิมพ์	ผู้จดสิทธิบัตร
<i>C. Antarctica</i> T-34	วิธีสำหรับรักษาน้ำมันขอสลับ เกลือ	JP 2002101847	09-04-2002	Furubayashi M., Nakahara T., Nomura N., Okada K., Nakajima T.
<i>C. bombicola</i> <i>C. bogoriensis</i> <i>C. magnoliae</i> <i>C. apicola</i>	วิธีการผลิตและการนำโซโฟโร ลิพิดไปใช้	US 6433152	13-08-2002	Lang S., Brakemeier A., Seiffert-Storicko A.
Sophorolipid producer	การใช้โซโฟโรลิพิดใน เครื่องสำอาง	CA 2192595	-	Hilliton G., Marchal R., Stoltz C., Borzeix F.
Sophorolipid producer	การใช้โซโฟโรลิพิดเป็นสาร กระตุ้นเมตาบอลิซึมในผิวหนังชั้น ไฟโบรบลาสต์ และการ สังเคราะห์คอลลาเจน	US 6596265	22-07-2003	Borzeix C. F.
<i>C. bombicola</i>	เป็นสารต้านอสุจิ และ/หรือสาร ต้านไวรัส	WO2005089522 US2004242501 US2005164955	29-09-2005	Gross R. A., Shah V., Doncel G. F.
Sophorolipid producer	ผงซักฟอก ชนิดฟองน้อยที่ย่อย สลายทางชีวภาพ และทน อุณหภูมิได้ในช่วงกว้าง	WO 03002700	09-01-2003	Furuta T., Igarashi K., Hirata Y.
Sophorolipid producer	ใช้เป็นสารลดสัดส่วน และ/หรือ กระตุ้นการสังเคราะห์ เลปติน ผ่าน adipocyte และช่วยลด ไขมันส่วนเกินในชั้น subcutaneous	WO2004108063	16-12-2004	Pellicier F., Andre P.



222725008