

## รายการอ้างอิง

### ภาษาไทย

- จงระวี ทะล่อมสิน. ผลของสารลดแรงตึงผิวต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ. โครงการงานระดับปริญญาบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2544.
- ณรงค์ ลักษณะนาภิรมย์. การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ โดย Pseudomonas sp. A41 ในถังหมักแบบไม่ต่อเนื่อง. วิทยานิพนธ์ ปริญญาโทบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมเคมี บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2543.
- นพรัตน์ วานิชสุขสมบัติ. การผลิตและลักษณะสมบัติของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตจาก Pseudomonas sp. สายพันธุ์ A41 โดยใช้ น้ำมันปาล์มเป็นแหล่งคาร์บอน. ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ภาควิชาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2545.
- พรสุข จงประสิทธิ์. คู่มือการใช้สารเคมีขจัดคราบน้ำมัน. กรมควบคุมมลพิษ, กรุงเทพฯ, 2544. วิศวกรรมสถานแห่งประเทศไทยในพระบรมราชูปถัมภ์. คู่มือวิเคราะห์น้ำและน้ำเสีย. กรุงเทพฯ, 2545.
- องอาจ ธนศินิตย์ และ จิตนภา มาดี. การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันปาล์ม. โครงการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2537.
- อารีย์ กังฉิน. การคัดแยกจุลินทรีย์ที่ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ. วิทยานิพนธ์ ปริญญาโทบัณฑิต ภาควิชาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2542.

## ภาษาอังกฤษ

- Abalos, A., Pinazo, A., Infante, M.R., Casals, M., Garcia, F. and Manresa, A. Physicochemical and antimicrobial properties of new rhamnolipids produced by *Pseudomonas aeruginosa* AT10 from soybean oil refinery wastes. Langmuir. 17(2001): 1367-1371
- Arino,S.,Marchal,R.,Vandecasteele,J.P. Identification and production of a rhamnolipidic biosurfactant by a *Pseudomonas* species. Appl.Microbiol.Biotechnol. 45(1996):162-168.
- Babu, P.S., Vaidya, A.N., Bal, A.S., Kapur, R., Juwarkar, A. and Khanna, P. Kinetics of biosurfactant production by *Pseudomonas aeruginosa* strain BS2 from industrial waste. Biotechnol Lett. 18(1996): 263 – 268.
- Benincasa ,M.,Contiero,J.,Manresa,M.A. and Moraes,I.O.Rhamnolipid production by *Pseudomonas aeruginosa* LBI growing on soapstock as the sole carbon source.J. Food Eng.54(2002):283-288.
- Cameitra,S.S.and Makkar,R.S. Synthesis of biosurfactants in extreme conditions. Appl.Microbiol.Biotechnol. 50(1998):520-529.
- Chayabutra Chawala, Wu Jian and Ju Lu-Kwang. Rhamnolipid production by *Pseudomonas aeruginosa* under denitrification:Effects of Limiting nutrients and carbon substrates.Biotechnol.Bioeng.72(2000):25-33.
- Churchill, S.A., Griffin, R.A., Jones, L.P. and Churchill, P.F. Biodegradation rate enhancement of hydrocarbons by an oleophilic fertilizer and a rhamnolipid biosurfactant. J. Environ. Qual. 24(1995): 19 – 28.
- Clint, J.H. Micelle formation. Surfactant aggregation, pp. 82-129. New York : Chapman and Hall, 1992.
- Cooper,D.G. and Zajic,J.E. Surface active compounds from microorganisms. Adv.Appl.Microbiol. 26(1980):229-256.

- Cooper, D.G., Macdonald, R., Duff, S.J.B. and Kosaric, N. Enhanced production of surfactin from *Bacillus subtilis* by continuous product removal and metal cation addition. Appl Microbiol 26(1981): 229 – 256.
- Cooper, D.G. Biosurfactants. Microbiol. Sci. 3(1986): 145-1459.
- Das, M., Das, S.K., and Mukherjee, R.K. Surface active properties of Culture filtrates of *Micrococcus* species grown on *n*-alkanes and sugar. Biores. Technol. 63(1998):231-295.
- Daniel, H.J., Otto, R.T., Binder, M. and Syldatk, C. Sophorolipid production with high yields on whey concentrated and rape seed oil without consumption of lactose. Biotechnol Lett. 20(1998): 805 – 807.
- Davila, A.M., Machal, R., and Vendecastele, J.P. Kinetics and balance of fermentation free from product inhibition: sophorose lipid production by *Candida bombicola*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 38(1992):6-11.
- Davis, D.A., Linch, H.C. and Varley, J. The production of surfactin in batch culture by *Bacillus subtilis* ATCC21332 is strongly influenced by the conditions of nitrogen metabolism. Enz. Micro. Technol. 25(1999):322-329.
- Desai, J.D. and Banat, I.M. Microbial production of surfactant and their commercial potential. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 61(1997):47-64.
- Desai, J.D. and Desai, A.J. Production of biosurfactants. In N. Kosaric (ed), Biosurfactant : production, properties, applications, pp. 65 - 98. New York : Marcel Dekker, 1993.
- Desai, J.D., Desai, A.J. and Patel, M.R. Advances in the production of biosurfactants and their commercial applications. J.SCI.IND.RES. 53(1994): 619 – 629.
- Deziel, E., Paquette, G., Villemur, R., Lepine, F., and Bisailon, J.G. Biosurfactant production by a soil *Pseudomonas* strain growing on polycyclic aromatic hydrocarbons. Appl. Environ. Microbiol. 62(1996):1908-1912.

- Espuny, M.J., Egido, S., Rodon, I., Manresa, A., and Mercade, M.E. Nutritional requirements of biosurfactant producing strain *Rhodococcus* sp.51T7. Biotech. Letters. 18(1996):521-526.
- Fiechter, A. Biosurfactants: moving towards industrial application. Trends. Biotechnol. 10(1992): 208-217.
- Foght, J.M., Gutnick, D.L. and Westlake, D.W.S. Effect of emulsan on biodegradation of crude oil by pure and mixed bacterial cultures. Appl. Environ. Microbiol. 55(1989):36-42.
- Gerson, D.F. The biophysics of microbial surfactants : growth on insoluble substrates. In N. Kosaric (ed), Biosurfactant : production, properties, applications, pp. 169 – 286. New York : Marcel Dekker, 1993.
- Guerra-Santos, L., Kappeli, O. and Fiechter, A. Dependence of *Pseudomonas aeruginosa* continuous culture biosurfactant production on nutritional and environmental factors. Appl. Microbiol. Biotechnol. 24(1986): 443-448.
- Haba, E., Espuny, M.J., Busquets, M. and Manresa, A. Screening and production of rhamnolipids by *Pseudomonas aeruginosa* 47T2 NCIB 40044 from waste frying oils. J. Appl. Microbiol. 88 (2000): 379-387
- Herman, D.C., Zhang, Y. and Miller, R.M. Rhamnolipid (biosurfactant) effects on cell aggregation and biodegradation of residual hexadecane under saturated flow conditions. Appl. Environ. Microbiol. 63(1997b): 3622-3627.
- Hisatsuka, K., Nakahara, T., Sano, N., and Yamada, K. Formation of rhamnolipids by *Pseudomonas aeruginosa* and its function in hydrocarbon fermentation, Agric. Biol. Chem. 35(1971):686-692.
- Hommel, R.M. and Huse, K. Regulation of sophorose lipid production by *Candida (torulopsis) apicola*. Biotech. Lett. 15(1993):853-858.

- Ishigami, Y. and Suzuki, S. Development of biochemicals-functionlization of biosurfactants and natural dyes. Prog. Org. Coat. 31(1997): 51-61.
- Itoh,S.,Honda,H.,Tomita,F., and Suzuki,T. Rhamnolipids produced by *pseudomonas aeruginosa* grown on n-paraffin (Mixture of C<sub>12</sub>,C<sub>13</sub>, and C<sub>14</sub> fractions), J. antibiot.24(1971):855-859.
- Kim Soon Han, Lim Ee Jong, Lee Sang Ok, Lee Jae Dong and Lee Tae Ho. Purification and characterization of biosurfactants from *Nocardia sp.* L-417. Biotechnol. Appl. Biochem. 31(2000):249-253.
- Kitamoto,D.,Fuzishiro,T.,Yanagishita,H., Nakane, t. and Nakahara,T. Production of monosylerythritol lipids as biosurfactants by resting cell of *Candida Antarctica*. Biotech.Lett. 14(1992):305-310.
- Kosaric, N. Biosurfactant \*Production \*Property \*Application. Surfactant Science Series: vol 48 Marcel Dekker, Inc. New York, 1993.
- Kretschmer, A., Bock, H., and Wagner, F. Chemical and physical characterization of interfacial-active lipids from *Rhodococcus erythropolis* grown on n-alkanes. Appl. Environ. Microbiol. 44(1982):486-870.
- Lang, S. and Wullbrandt, D. Rhamnolipid-biosynthesis, microbial production and application potential. Appl. Microbiol. Biotechnol. 51 (1999): 22-32.
- Lee Young, Lee Sang Yup and Yang Ji-Won. Production of rhamnolipid biosurfactant by fed batch culture of *Pseudomonas aeruginosa* using Glucose as a sole carbon source. Biosci. Biotechnol. Biochem. 63(1999):946-947.
- Linhardt.J.Robert, Bakhit Raga, and Daneils Lacy. Microbially produced rhamnolipid as a source of rhamnolipid. Biotechnol. Bioeng. 33(1989):365-368.
- Maier, R.M. and Soberon-Chavez, G. *Pseudomonas aeruginosa* rhamnolipids :biosynthesis and potential applications. Appl. Microbiol. Biotechnol. 54(2000): 625-633.

- Matsufuji M , Nakata K ,Yoshimoto A. High production of rhamnolipids by *Pseudomonas Aeruginosa* growing on ethanol . Biotechnol Lett. 19(1997) : 1213-1215 .
- Makkar,R.S. and Cameotra,SS. Production of biosurfactant at mesophilic and thermophilic conditions by strain of *Bacillus subtilis* J. Ind. Microbiol.Biotechnol. 20(1998):48-52.
- Manresa, M.A., Bastida, J., Mercade, M.E., Robert, M., Andres J. de., Espuny, M.J. and Guinea, J. Kinetic studies on surfactant production by *Pseudomonas aeruginosa* 44T1. J. Ind. Microbiol. 8(1991): 133 – 136.
- Myers,R.H.In 'Resonse Surface Methodology'.Eds:Allyn and Bacon. 27-175. Inc.Boston, 1980.
- Mercade, M.E., Manresa, A., Robert, M., Espuny, M.J., de Andres, C. and Guinea, J. Olive oil mill effluent (OOME). New substrate for biosurfactant production. Bioresource Tecnol. 43(1993): 1 – 6.
- Mulligan,C.N., Cooper,D.G., and Neufeld,R.J. Selection of microbes producing biosurfactants in media without hydrocarbons. J.Ferment. Technol. 62(1984):311-314.
- Ochsner, U.A. and Reiser, J. Autoinducer-mediated regulation of rhamnolipid biosurfactant synthesis in *Pseudomonas aeruginosa*. Proc. Natl. Acad. Sci. 92 (1995): 6424-6428.
- Ochsner, U.S., Reiser, J. Fiechter, A. and Witholt, B. Production of *Pseudomonas aeruginosa* rhamnolipid biosurfactants in heterologous hosts. Appl. Environ. Microbiol. 61(1995): 3503 – 3506.
- Parra, J.L., Pastor, J., Comelles, F., Manresa, M.A. and Bosch, M.P. Studies of biosurfactants obtained from olive oil. Tenside. Surf. Det. 27(1990): 302 – 306.
- Patel, R.M. and Desai, A.J. Surface-active properties of rhamnolipids from *Pseudomonas aeruginosa* GS3. J. Basic. Microbiol. 37(1997): 281-286.

- Rahman ,K.S.M.,Rahman Thahira,J.,McClellan Stephen,Marchant Roger and Banat Ibrahim,M. Rhamnolipid biosurfactant production by strains of *Pseudomonas aeruginosa* using low cost raw materials.UK:University of Ulster, 2002.
- Ramana,K.V. and Karanth,N.G. Factor affecting biosurfactant production using *Pseudomonas aeruginosa* CFTR-6 under submerged conditions. J.Chem.Tech.Biotechnol. 45(1989):249-257.
- Robert,M., Mercade,M.E.,Bosch,M.P., Parra,J.L.,Espuny,M.J.,Manresa,M.A., Guinea,J. Effect of the carbon source on biosurfactant production by *Pseudomonas aeruginosa* 44T1. Biotechnol.Lett. 11(1989):871-874.
- Rosenberg, E.Microbial surfactants. CRC Crit Rev. Biotechnol. 3(1986): 109-132.
- Sekelsky, A.M.,and Shreve, G.S. Kinetic model of biosurfactant-enhanced hexadecane biodegradation by *Pseudomonas aeruginosa*. Biotechnol. Bioeng. 63(1998):401-409.
- Sen, R. Response surface optimization of the critical media components for the production of surfactant. J. Chem. Tech. Biotechnol.68(1997): 263 – 270.
- Sim, L., Ward, O.P. and Li, Z.Y. Production and characterization of a biosurfactant isolated from *Pseudomonas aeruginosa* UW-1. J. Indus. Microbiol. Biotechnol. 19(1997): 232-238.
- Suzuki, T., Hayashi, K., Fujikawa, K. and Tsukamoto, K. The chemical structure of polymyxin E. The identities of polymyxin E<sub>1</sub> with colistin A and polymyxin E<sub>2</sub> with colistin B. J. Biol. Chem. 57(1965): 226 – 227.
- Van Dyke, M.I., Couture, P., Brauer, M., Lee, H. and Trevors, J.T. *Pseudomonas aeruginosa* UG2 rhamnolipid biosurfactants: structural characterization and their use in removing hydrophobic compounds from soil. Can. J. Microbiol. 39(1993): 1071-1078.
- Williams, A.G. and Wimpenny, J.W.T. Exopolysaccharide production by *Pseudomonas* NCIB11264 grown in continuous culture. J. Gener. Microbiol. 104(1978): 47- 57.

- Wilson, N.G. and Bradley, G. The effect of immobilization on rhamnolipid production by *Pseudomonas fluorescens*. *J. Appl. Bacteriol.* 81(1996) :525-530.
- Wu Jian and Ju Lu-Kwang. Extracellular particles of polymeric material formed in n-hexadecane fermentation by *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Biotechnol.* 59(1998):193-202.
- Yamane, T. Enzyme technology for the lipid industry: an engineering overview. *J. Am. Oil. Chem Soc.* 64(1987): 1657-1662.
- Zhang, Y. and Miller, R.M. Enhanced Octadecane dispersion and biodegradation by a *Pseudomonas* rhamnolipids surfactant (Biosurfactant). *Appl.*



ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

## ภาคผนวก ก

## สูตรและวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

## 1. อาหารแข็งนิวเทรียนท์ (Nutrient Agar)

เนื้อสกัด (beef extract)	3.0	กรัม
แบคโตเปปโตน (bacto peptone)	5.0	กรัม
วุ้นผง (agar)	20.0	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มล.

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน

## 2. อาหารเหลวกำหนดสูตร (Define medium)

น้ำมันปาล์ม <sup>1</sup>	20.0	กรัม.
แอมโมเนียมซัลเฟต ((NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	4.0	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต (MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O)	0.4	กรัม
โปตัสเซียมคลอไรด์ (KCl)	0.2	กรัม
แคลเซียมคลอไรด์ (CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O)	0.1	กรัม
กรดฟอสเฟอริก (H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> )	0.5	มล.
กรดบอริก (H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> )	1.53	มิลลิกรัม
คอปเปอร์ซัลเฟต (CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O)	0.284	มิลลิกรัม
แมงกานีสซัลเฟต (MnSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O)	1.71	มิลลิกรัม
โซเดียมโมลิบเดต (Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O)	0.7	มิลลิกรัม
ซิงค์ซัลเฟต (ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O)	2.9	มิลลิกรัม
เฟอร์รัสซัลเฟต (FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O)	4.3	มิลลิกรัม
โคบอลต์คลอไรด์ (CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O)	0.1	มิลลิกรัม
อีดีทีเอ (EDTA)	200.0	มิลลิกรัม
แคลเซียม-แพนโททีเนต (Calcium Pantothenate)	1.176	มิลลิกรัม
ไบโอติน (Biotin)	5.88	ไมโครกรัม
กรดโฟลิก (Folic acid)	5.88	ไมโครกรัม
อินโนซิทอล (Inositol)	0.588	ไมโครกรัม

ไนอาซิล (Niacin)	1.176	ไมโครกรัม
กรดพาราอะมิโนเบนโซอิก ( <i>p</i> -Aminobenzoic acid)	0.588	มิลลิกรัม
ไพโรดอกซิน-ไฮโดรคลอไรด์ (Pyridoxine-HCl)	1.176	มิลลิกรัม
ไรโบฟลาวิน (Riboflavin)	0.588	มิลลิกรัม
ไทอามีน-ไฮโดรคลอไรด์ (Thiamine-HCl)	1.176	มิลลิกรัม
ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ )	14.0	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มล.

หมายเหตุ <sup>1</sup> เปลี่ยนแหล่งคาร์บอนเป็น กลูโคส และ น้ำมันปาล์มดิบ ในปริมาณที่เท่ากัน

ปรับค่าความเป็นกรดเป็นด่างให้ได้ 7.0 แล้วนำมาเชื้อที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐาน สำหรับสารละลายวิตามินได้แก่ แคลเซียม-แพนโททีเนต ไบโอดีน กรดฟอลิก อินโนซิทอล ไนอาซิน กรดพาราอะมิโนเบนโซอิก ไพโรดอกซิน-ไฮโดรคลอไรด์ ไรโบฟลาวิน ไทอามีน-ไฮโดรคลอไรด์ ทำให้ปราศจากเชื้อด้วยการกรอง

### 3. สารละลายฟีนอล

ฟีนอล	50	กรัม
เอทานอล 95 %	500	มิลลิลิตร

### 4. สารละลายโซเดียมไนโตรพลัสไซด์

โซเดียมไนโตรพลัสไซด์	2.5	กรัม
น้ำดีไอออไนซ์	500	มิลลิลิตร

เก็บในขวดสีชา มีอายุการใช้งาน 1 เดือน

### 5. อัลคาไรตรีเอเจน

โซเดียมซเตรท	100	กรัม
โซเดียมไฮดรอกไซด์	5	กรัม
น้ำดีไอออไนซ์	500	มิลลิลิตร

## 6. สารละลายออกซิไดซ์ซึ่ง

อัลคาไรตรีเอเจน

100 มิลลิลิตร

สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรด์ 1.5 นอมอล

25 มิลลิลิตร

ภาคผนวก ข

## ภาคผนวก ข

## ข.1 แหล่งคาร์บอนที่เหมาะสม

การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ *Pseudomonas* sp.A41 ในขวดรูปชมพู่เขย่า โดยให้แหล่งคาร์บอนต่างๆ กันคือ กลูโคส น้ำมันปาล์ม และน้ำมันปาล์มดิบ ที่ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก มีบางกรณีจะใช้ปริมาณ 1.01 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักเพื่อเปรียบเทียบกรณีปริมาณคาร์บอนอะตอมเท่าๆกันกับกลูโคส ทำการเก็บตัวอย่างทุกๆ 4 ชั่วโมงเป็นเวลา 24 ชั่วโมงซึ่งจะได้ผลการทดลองจากการศึกษาการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ มีการติดตามการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ และการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยนำมาวิเคราะห์หาน้ำหนักเซลล์แห้ง และวัดค่าแรงตึงผิว

จากผลการทดลองที่ได้สามารถนำมาหาอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และอัตราการผลิตผลิตภัณฑ์จำเพาะเพื่อแสดงถึงความสามารถในการเจริญเติบโต และ ความสามารถในการผลิตผลิตภัณฑ์ของจุลินทรีย์ *Pseudomonas* sp.A41 เปรียบเทียบระหว่างแหล่งคาร์บอนต่างๆกัน โดยความสามารถในการผลิตผลิตภัณฑ์นั้นคำนวณจากค่าแรงตึงผิวที่ลดลง เนื่องจากผลิตภัณฑ์ที่เพิ่มขึ้นจะทำให้ค่าแรงตึงผิวลดลง ซึ่งได้ผลการคำนวณดังตารางที่ ข.1

ตาราง ที่ ข.1 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะอัตราการผลิตผลิตภัณฑ์จำเพาะ และความสามารถในการผลิตผลิตภัณฑ์ ของจุลินทรีย์ *Pseudomonas* sp.A41 ที่ได้จากการเลี้ยงโดยใช้แหล่งคาร์บอนชนิดต่างๆ ในขวดรูปเขย่าชมพู่ ขนาด 500 มิลลิลิตร บนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง และที่ค่าความเป็นกรด ต่าง เริ่มต้น ที่ 7.5

แหล่งคาร์บอน	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (ต่อชั่วโมง)	อัตราการผลิตผลิตภัณฑ์จำเพาะ (มิลลินิวตัน ต่อกรัมเซลล์ต่อ ชั่วโมงต่อเมตร)	ความสามารถในการผลิตผลิตภัณฑ์ (มิลลินิวตันต่อเมตรต่อชั่วโมง)
กลูโคส 20 กรัมต่อลิตร	0.1658	0.0242	0.0705
น้ำมันปาล์ม 10.1 กรัมต่อลิตร	0.0767	0.09	0.2079
น้ำมันปาล์ม 20 กรัมต่อลิตร	0.2245	0.178	0.1214
น้ำมันปาล์มดิบ 10.1 กรัมต่อลิตร	0.1221	0.0606	0.2825
น้ำมันปาล์มดิบ 20 กรัมต่อลิตร	0.2636	0.2358	0.2624

จากการคำนวณจะพบว่าเมื่อเลี้ยงจุลินทรีย์ *Pseudomonas* sp.A41 ด้วยน้ำมันปาล์มดิบที่ปริมาณ 20 กรัมต่อลิตรทำให้จุลินทรีย์มีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุดคือ 0.26 ต่อชั่วโมง ซึ่งมีค่าสูงกว่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะที่ต่ำที่สุดที่ได้จากน้ำมันปาล์มที่ 10.1 กรัมต่อลิตร ถึง 271.4เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากปริมาณคาร์บอนอะตอมที่มีอยู่น้อย ทำให้เจริญเติบโตได้น้อยและจากค่าอัตราการผลิตผลิตภัณฑ์จำเพาะ พบว่าจุลินทรีย์ที่เลี้ยงโดยใช้น้ำมันปาล์มดิบ 20 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอนจะให้อัตราการผลิตผลิตภัณฑ์สูงสุด คือ 0.24 มิลลิกรัมต่อเมตรต่อกรัมเซลล์ต่อชั่วโมง ส่วนความสามารถในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (productivity) เมื่อใช้ แหล่งคาร์บอนต่างๆกันในการเลี้ยง จุลินทรีย์พบว่า การเลี้ยงด้วยน้ำมันปาล์มดิบที่ 10.1 กรัมต่อลิตร จะมีความสามารถในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (productivity) สูงที่สุด 0.28 มิลลิกรัมต่อเมตรต่อชั่วโมงซึ่งใกล้เคียงกับการเลี้ยงด้วยน้ำมันปาล์มดิบที่ 20 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีค่า 0.26 มิลลิกรัมต่อเมตรต่อชั่วโมง

ดังที่กล่าวมานั้นทำให้เราเลือกใช้ใช้น้ำมันปาล์มดิบที่ความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอนในการทดลองต่อไปเนื่องจากให้อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูง และให้อัตราการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพสูงเช่นเดียวกัน อีกทั้งน้ำมันปาล์มดิบยังมีราคาถูกและผลิตได้มากในประเทศไทย ซึ่งน้ำมันปาล์มดิบที่ใช้ในการทดลองนี้ได้รับความอนุเคราะห์มาจาก บริษัทชุมชนพรอุตสาหกรรมน้ำมันปาล์มจำกัด

## ข. 2 แหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสม

หลังจากที่ทำการทดลองหาแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโต และการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ของจุลินทรีย์ *Pseudomonas* sp.A41 แล้ว จึงทำการทดลองเพื่อหาแหล่งไนโตรเจนอื่นที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตและการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ เนื่องจากแหล่งไนโตรเจนที่ใช้คือ แอมโมเนียมไนเตรท ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ) นั้นถ้าหากนำมาใช้ในกระบวนการหมักแบบกึ่งต่อเนื่องจะมีความยุ่งยากในการวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนเนื่องจากจะต้องทำการวิเคราะห์หาทั้งปริมาณไนโตรเจนจากแอมโมเนีย และไนโตรเจนจากไนเตรท ดังนั้น จึงเลือกแหล่งไนโตรเจนอีกชนิดหนึ่งเพื่อนำมาทดลองเปรียบเทียบการเจริญเติบโตและการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพนั้นคือ แอมโมเนียมซัลเฟต ( $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ) ซึ่งได้ทำการทดลองในขวดรูปชมพู่เขย่า ขนาด 500 มิลลิลิตร และทำการเก็บตัวอย่างทุกๆ 4 ชั่วโมง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำมาวิเคราะห์ปริมาณเซลล์ และค่าแรงตึงผิวที่ลดลง

จากผลการทดลอง นำมาคำนวณหาอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจำเพาะ และ ความสามารถในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (productivity) ซึ่งได้ผลการคำนวณดังตารางที่ ข.2



ตารางที่ ข.2 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะอัตราการผลิตผลิตภัณฑ์จำเพาะ และความสามารถในการผลิตผลิตภัณฑ์ ของจุลินทรีย์ *Pseudomonas* sp.A41 ที่ได้จากการเลี้ยงโดยใช้แหล่งไนโตรเจนชนิดต่างๆในขวดเขย่ารูปชมพู่ ขนาด 500 มิลลิลิตร บนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง และที่ค่าความเป็นกรด ต่าง เริ่มต้น ที่ 7.5

แหล่งไนโตรเจน	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (ต่อชั่วโมง)	อัตราการผลิตสารลดแรงตึงผิว ชีวภาพจำเพาะ (กรัมต่อกรัมเซลล์ต่อชั่วโมง)	ความสามารถในการผลิตสารลดแรง ตึงผิวชีวภาพ (กรัมต่อชั่วโมง)
$\text{NH}_4\text{NO}_3$	0.1624	5.3095	1.0417
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0.2134	5.1235	1.1833

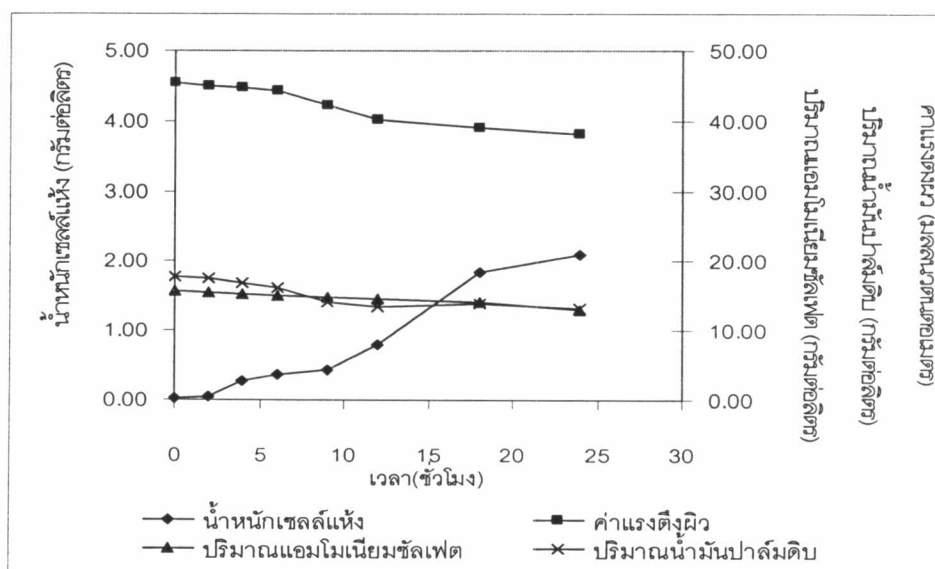
จากค่าที่คำนวณได้พบว่า แอมโมเนียมซัลเฟตให้ทั้งอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และความสามารถในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ สูงกว่าแอมโมเนียมไนเตรท ทั้งที่ให้อัตราปริมาณเท่ากันคือ 4 กรัมต่อลิตร (ณรงค์ ,2543) และเนื่องจากเราสามารถวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนจากแอมโมเนียมซัลเฟตได้สะดวกกว่าโดยวิเคราะห์จากการวัดแอมโมเนียในน้ำหมัก ดังนั้นจึงเลือกแอมโมเนียมซัลเฟตเป็นแหล่งไนโตรเจนสำหรับการทดลองต่อไป

### ข.3 การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่อัตราส่วนระหว่างคาร์บอนและไนโตรเจน ต่างๆกัน

การทดลองหาอัตราส่วนระหว่าง C/N ที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ โดยเลือกอัตราส่วน C/N ทั้งหมด 5 ค่ามาทำการทดลองคือ 5, 50,100,150 และ 200 โดยค่า C/N ที่ได้นี้มีวิธีการคำนวณดัง ภาคผนวก ค. แหล่งคาร์บอนที่ใช้คือน้ำมันปาล์มดิบ และแหล่งไนโตรเจนคือ แอมโมเนียมซัลเฟต ทดลองเลี้ยง จุลินทรีย์ขวดเขย่ารูปชมพู่ ขนาด 500 มล. และเก็บตัวอย่างทุกๆ 2 และ 3 ชั่วโมงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยมีผลการทดลองเป็นดังนี้

ตารางที่ ข.3 การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ *Pseudomonas* sp.A41 ใน ที่อัตราส่วนของ C/N เท่ากับ 5 ในขวดเขย่ารูปชมพู่ ขนาด 500 มิลลิลิตร บนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง และที่ค่าความเป็นกรด ต่าง เริ่มต้น ที่ 7.5

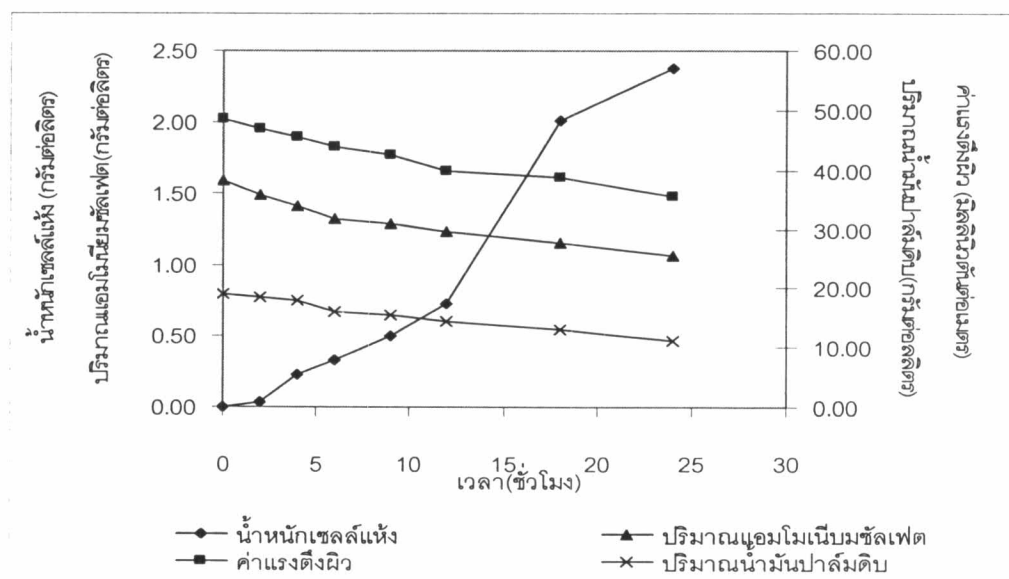
เวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของเซลล์ (กรัมต่อลิตร)	ค่าแรงตึงผิว (มิลลินิวตันต่อเมตร)	ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำมันปาล์มดิบ (กรัมต่อลิตร)
0	0.01	45.50	15.86	17.78
2	0.04	45.00	15.50	17.65
4	0.28	44.80	15.25	16.84
6	0.37	44.30	14.99	16.27
9	0.44	42.30	14.82	14.08
12	0.81	40.20	14.66	13.42
18	1.85	39.10	14.27	13.86
24	2.11	38.20	13.02	13.34



รูปที่ ข.1 การเจริญเติบโต และการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ของจุลินทรีย์ *Pseudomonas* sp.A41 ที่อัตราส่วนของ C/N เท่ากับ 5 ในขวดเขย่ารูปชมพู่ ขนาด 500 มิลลิลิตร บนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง และที่ค่าความเป็นกรด ต่าง เริ่มต้น ที่ 7.5

ตารางที่ ข.4 การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ *Pseudomonas sp.A41* ที่อัตราส่วนของ C/N เท่ากับ 50 ในขวดเขย่ารูปชมพู่ ขนาด 500 มิลลิลิตร บนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง และที่ค่าความเป็นกรด ต่าง เริ่มต้น ที่ 7.5

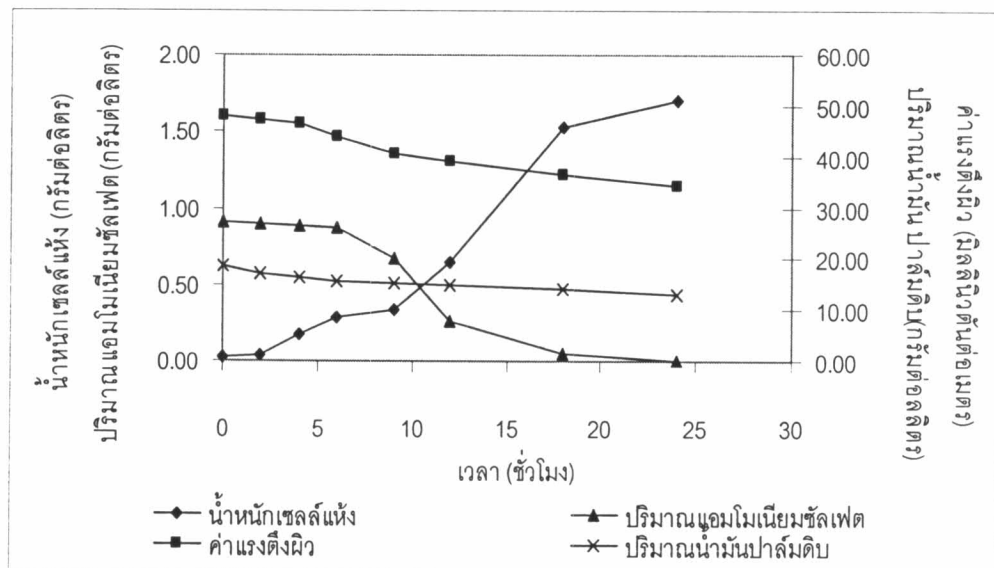
เวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของเซลล์ (กรัมต่อลิตร)	ค่าแรงตึงผิว (มิลลินิวตันต่อเมตร)	ปริมาณน้ำมันปาล์มดิบ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต (กรัมต่อลิตร)
0	0.01	48.50	18.93	1.59
2	0.04	47.00	18.45	1.49
4	0.23	45.60	17.85	1.42
6	0.33	43.90	16.12	1.32
9	0.50	42.56	15.36	1.29
12	0.72	40.00	14.48	1.23
18	2.01	38.90	12.92	1.15
24	2.37	35.70	11.20	1.06



รูปที่ ข.2 การเจริญเติบโต และการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ของจุลินทรีย์ *Pseudomonas sp.A41* ที่อัตราส่วนของ C/N เท่ากับ 50 ในขวดเขย่ารูปชมพู่ ขนาด 500 มิลลิลิตร บนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง และที่ค่าความเป็นกรด ต่าง เริ่มต้น ที่ 7.5

ตารางที่ ข.5 การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ *Pseudomonas sp.A41* ที่อัตราส่วนของC/N เท่ากับ 100 ในขวดเขย่ารูปชมพู่ ขนาด 500 มิลลิลิตร บนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง และที่ค่าความเป็นกรด ต่าง เริ่มต้น ที่ 7.5

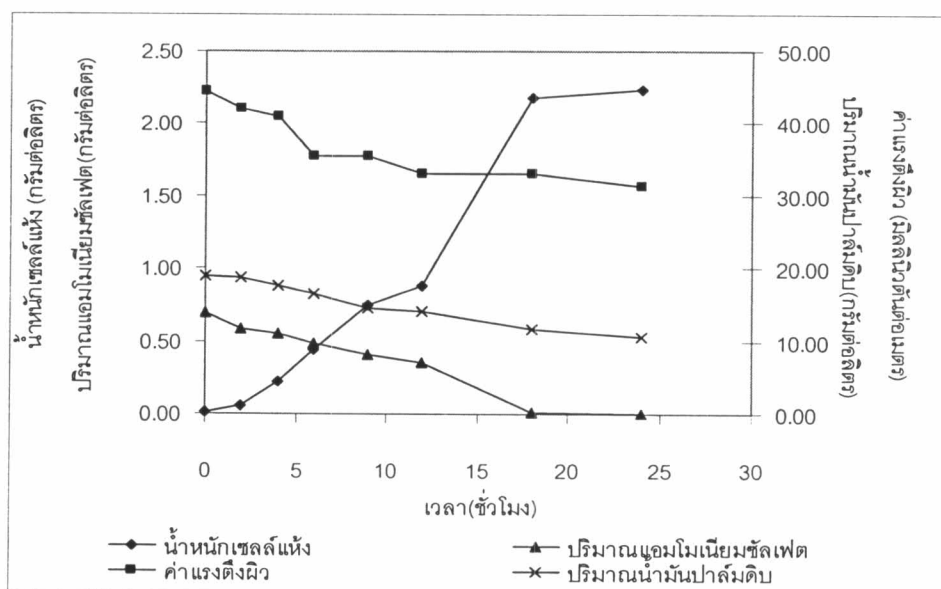
เวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของเซลล์ (กรัมต่อลิตร)	ค่าแรงตึงผิว (มิลลินิวตันต่อเมตร)	ปริมาณน้ำมันปาล์มดิบ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต (กรัมต่อลิตร)
0	0.02	48.00	18.70	0.90
2	0.04	47.20	17.30	0.89
4	0.18	46.50	16.40	0.88
6	0.28	44.00	15.68	0.87
9	0.34	40.50	15.23	0.67
12	0.65	39.00	14.88	0.26
18	1.53	36.40	14.23	0.04
24	1.70	34.20	12.99	0.00



รูปที่ ข.3 การเจริญเติบโต และการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ของจุลินทรีย์ *Pseudomonas sp.A41* ที่อัตราส่วนของ C/N เท่ากับ 100 ในขวดเขย่ารูปชมพู่ ขนาด 500 มิลลิลิตร บนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง และที่ค่าความเป็นกรด ต่าง เริ่มต้น ที่ 7.5

ตารางที่ ข.6 การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ *Pseudomonas* sp.A41 ที่อัตราส่วนของ C/N เท่ากับ 150 ในขวดเขย่ารูปชมพู่ ขนาด 500 มิลลิลิตร บนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง และที่ค่าความเป็นกรด ต่าง เริ่มต้น ที่ 7.5

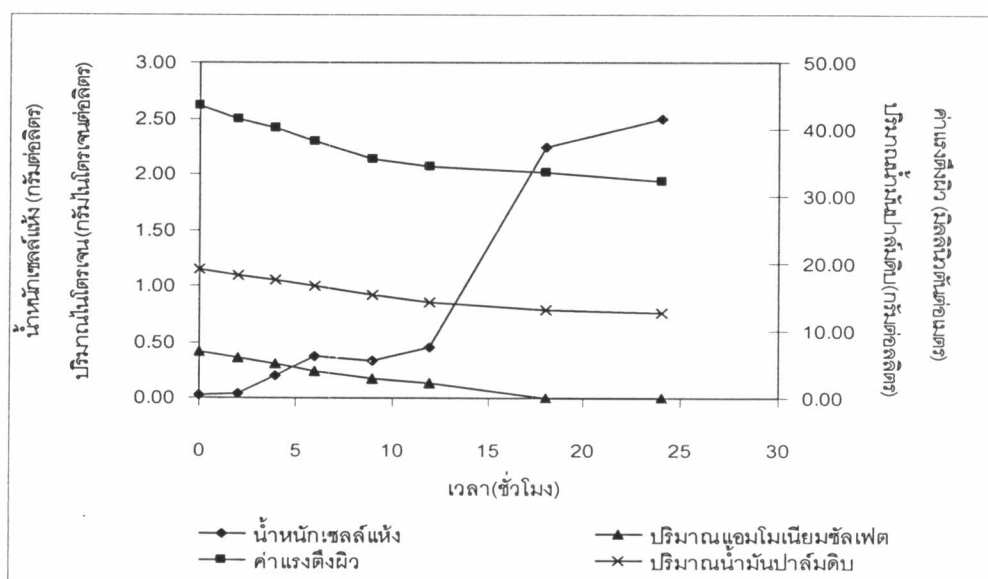
เวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของเซลล์ (กรัมต่อลิตร)	ค่าแรงดึงผิว (มิลลินิวตันต่อเมตร)	ปริมาณน้ำมันปาล์มดิบ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต (กรัมต่อลิตร)
0	0.01	44.50	18.91	0.70
2	0.05	42.00	18.72	0.58
4	0.22	41.00	17.58	0.55
6	0.44	35.50	16.50	0.48
9	0.75	35.50	14.52	0.41
12	0.88	33.00	14.08	0.35
18	2.18	33.00	11.64	0.01
24	2.24	31.30	10.60	0.00



รูปที่ ข. 4 การเจริญเติบโต และการผลิตสารลดแรงดึงผิวชีวภาพ ของจุลินทรีย์ *Pseudomonas* sp.A41 ที่อัตราส่วนของ C/N เท่ากับ 150 ในขวดเขย่ารูปชมพู่ ขนาด 500 มิลลิลิตร บนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง และที่ค่าความเป็นกรด ต่าง เริ่มต้น ที่ 7.5

ตารางที่ ข.7 การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ *Pseudomonas sp.A41* ที่อัตราส่วนของ C/N เท่ากับ 200 ในขวดเขย่ารูปชมพู่ ขนาด 500 มิลลิลิตร บนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง และที่ค่าความเป็นกรด ต่าง เริ่มต้น ที่ 7.5

เวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของเซลล์ (กรัมต่อลิตร)	ค่าแรงดึงผิว (มิลลินิวตันต่อเมตร)	ปริมาณน้ำมันปาล์มดิบ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต (กรัมต่อลิตร)
0	0.02	43.60	19.11	0.41
2	0.04	41.50	18.20	0.37
4	0.21	40.20	17.50	0.31
6	0.38	38.30	16.60	0.25
9	0.33	35.60	15.30	0.17
12	0.46	34.50	14.24	0.13
18	2.24	33.50	13.20	0.00
24	2.49	32.12	12.60	0.00



รูปที่ ข.5 การเจริญเติบโต และการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ของจุลินทรีย์

*Pseudomonas sp.A41* ที่อัตราส่วนของ C/N เท่ากับ 200 ในขวดเขย่ารูปชมพู่ ขนาด 500 มิลลิลิตร บนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิห้อง และที่ค่าความเป็นกรด ต่าง เริ่มต้น ที่ 7.5

#### ข.4 เวลาที่ใช้ในการเปลี่ยนอัตราส่วนระหว่าง C/N

เมื่อเราทราบอัตราส่วนระหว่าง C/N ที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ และอัตราส่วนที่เหมาะสมสำหรับการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยพิจารณาจากอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะและอัตราการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจำเพาะ แล้ว ต่อไปจึงนำอัตราส่วนที่ได้นี้ไปใช้ในกระบวนการหมักแบบกึ่งต่อเนื่องซึ่งศึกษาผลของเวลาที่ใช้ในการเปลี่ยนอัตราส่วนระหว่าง C/N ที่มีต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ และการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ซึ่งเพาะเลี้ยงในถังหมักขนาด 10 ลิตร ควบคุมให้ปริมาณน้ำมันปาล์มและปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตในถังหมักให้คงที่โดยให้อัตราการป้อนสารอาหารเป็นเอกซิโบนเนสเซียล ให้ปริมาตรเริ่มต้นเป็น 4 ลิตร ภายในถังควบคุมอัตราการให้อากาศที่ 60 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรด ต่าง 7.5 ความเร็วรอบของการปั่นกววน 600 รอบต่อนาที ทำการเก็บตัวอย่างทุกๆ 3 ชั่วโมงจนปริมาตรในถังเป็น 10 ลิตร นำสารตัวอย่างไปวิเคราะห์หาน้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณน้ำมันปาล์มดิบ ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต และปริมาณสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ซึ่งได้ข้อมูลดังตารางต่อไปนี้

ตารางที่ ข.8 การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ *Pseudomonas sp.A41* ในถงหมักแบบกึ่งต่อเนื่องที่เวลาในการเปลี่ยนอัตราส่วนของ C/N เท่ากับ 6 ชั่วโมง โดยควบคุมความเร็วรอบที่ 600 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส การให้อากาศ 60 เปอร์เซ็นต์ และที่ค่าความเป็นกรด ต่าง ที่ 7.5

เวลา (ชั่วโมง)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณสารลดแรงตึงผิว ที่ค่าการเจือจาง100เท่า (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต ที่ใช้ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำมันปาล์มดิบ ที่ใช้ (กรัมต่อลิตร)
0	0.085	0.000	0.000	0.000
3	0.128	0.029	0.308	1.017
6	0.984	0.140	0.135	0.600
9	2.549	0.145	0.918	0.246
12	2.678	0.357	0.083	1.427
15	2.890	0.396	0.395	4.047
18	3.459	0.565	0.955	9.760
21	3.893	0.898	2.472	25.741
24	3.954	0.956	5.543	55.579
27	4.126	1.005	10.148	103.622



ตารางที่ ข.9 การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ *Pseudomonas sp.A41* ในถุงหมักแบบกึ่งต่อเนื่องที่ เวลาในการเปลี่ยนอัตราส่วนของ C/N เท่ากับ 9 ชั่วโมง โดยควบคุมความเร็วรอบที่ 600 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส การให้อากาศ 60 เปอร์เซ็นต์ และที่ค่าความเป็นกรด ต่าง ที่ 7.5

เวลา (ชั่วโมง)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณสารลดแรงตึงผิว ที่ค่าการเจือจาง 100 เท่า (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต ที่ใช้ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำมันปาล์มดิบ ที่ใช้ (กรัมต่อลิตร)
0	0.240	0.000	0.000	0.000
3	0.517	0.193	0.122	0.746
6	1.638	0.372	0.090	1.847
9	1.917	0.507	0.673	7.539
12	2.340	0.580	0.891	0.000
15	2.378	0.821	0.105	0.693
18	2.475	0.850	0.391	3.835
21	2.683	0.918	0.965	8.703
24	2.695	0.947	2.347	27.496
27	3.345	0.966	5.639	55.112
30	4.210	1.014	10.175	103.657

ตารางที่ ข.10 การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ *Pseudomonas sp.A41* ในถุงหมักแบบกึ่งต่อเนื่องที่ เวลาในการเปลี่ยนอัตราส่วนของ C/N เท่ากับ 12 ชั่วโมง โดยควบคุมความเร็วรอบที่ 600 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส การให้อากาศ 60 เปอร์เซ็นต์ และที่ค่าความเป็นกรด ด่าง ที่ 7.5

เวลา (ชั่วโมง)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณสารลดแรงตึงผิว ที่ค่าการเจือจาง 100 เท่า (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต ที่ใช้ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำมันปาล์มดิบ ที่ใช้ (กรัมต่อลิตร)
0	0.145	0.000	0.000	0.000
3	0.467	0.135	0.000	0.746
6	1.488	0.319	0.191	1.847
9	1.507	0.382	0.673	7.539
12	2.405	0.425	2.857	24.859
15	2.625	0.502	0.885	0.000
18	2.660	0.541	0.143	1.580
21	3.000	0.580	0.370	2.559
24	3.155	0.647	0.849	10.181
27	5.008	0.696	2.485	24.708
30	5.825	0.705	5.642	57.596
33	6.188	0.744	10.135	103.076

ตารางที่ ข.11 การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ *Pseudomonas sp.A41* ในถุงหมักแบบกึ่งต่อเนื่องที่ เวลาในการเปลี่ยนอัตราส่วนของ C/N เท่ากับ 15 ชั่วโมง โดยควบคุมความเร็วรอบที่ 600 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส การให้อากาศ 60 เปอร์เซ็นต์ และที่ค่าความเป็นกรด ต่าง ที่ 7.5

เวลา (ชั่วโมง)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณสารลดแรงตึงผิว ที่ค่าการเจือจาง 100 เท่า (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต ที่ใช้ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำมันปาล์มดิบ ที่ใช้ (กรัมต่อลิตร)
0	0.085	0.000	0.000	0.000
3	0.467	0.193	0.071	0.000
6	0.583	0.261	0.056	2.326
9	0.975	0.309	0.624	6.539
12	1.055	0.357	2.860	25.825
15	1.208	0.382	11.525	106.145
18	1.933	0.560	1.016	0.777
21	2.238	0.865	0.091	0.302
24	2.430	0.947	0.271	4.058
27	4.028	0.966	0.992	9.301
30	4.153	1.121	2.501	25.680
33	4.478	1.203	5.596	56.854

ภาคผนวก ค

## ภาคผนวก ค

## ค. 1 ตัวอย่างการคำนวณผลการทดลอง

การคำนวณค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของเซลล์ และอัตราการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจำเพาะ อัตราการใช้แหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนจำเพาะ จากการเพาะเลี้ยง *Pseudomonas* sp.A41 บนอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนและไนโตรเจนต่างๆกัน 5 ค่า คือ 5, 50, 100, 150 และ 200 โคนทำการทดลองที่อุณหภูมิห้องในขวดรูปชมพู่เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วแยกส่วนไซมาวิเคราะห์ค่าแรงตึงผิว ปริมาณไนโตรเจนและคาร์บอน ส่วนเซลล์ที่แยกออกแล้วนำไปอบแล้วชั่งน้ำหนักเซลล์แห้ง ซึ่งสามารถคำนวณค่าต่างๆได้ดังนี้

ค.1.1 คำนวณหาอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของเซลล์ ( specific growth rate ,  $\mu$ )

ทำสมมูลมวลของเซลล์ในกระบวนการหมักแบบไม่ต่อเนื่องจะได้

$$\frac{dx}{dt} = \mu x \quad \text{ค.1}$$

เมื่อ  $x$  = ความเข้มข้นของเซลล์ ( กรัมต่อลิตร)

$t$  = เวลา ( ชั่วโมง)

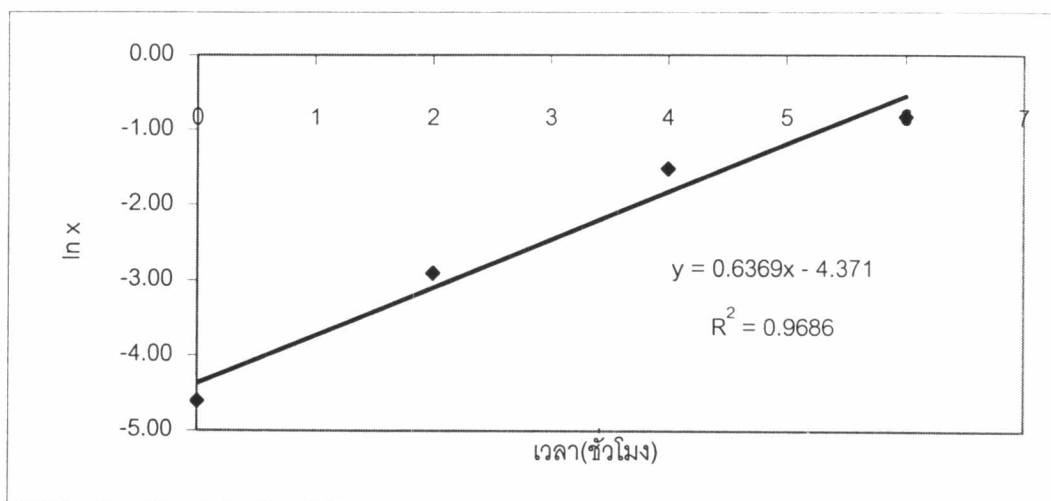
$\mu$  = อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ( ต่อชั่วโมง)

จัดรูปสมการที่ ค.1 แล้วทำการอินทิเกรต จะได้

$$\int_{x_0}^x \frac{dx}{x} = \int_{t_0}^t \mu dt \quad \text{ค. 2}$$

$$\ln x = \mu t + \ln x_0 \quad \text{ค.3}$$

เมื่อนำค่าต่างๆ มาเขียนกราฟระหว่าง  $\ln x$  กับเวลา โดยในแต่ละอัตราส่วนของ C/N จะเลือกช่วงของการคำนวณที่ช่วงเวลาเดียวกันนั้นคือเวลาที่จุลินทรีย์มีการเจริญเติบโตเป็นเอกซโปเนนเชียล ซึ่งจะได้ตัวอย่างกราฟในกรณีที่ใช้อัตราส่วน C/N 150 ดังรูปที่ ค.1 ซึ่งกรณีอัตราส่วนอื่นๆก็จะได้กราฟเช่นเดียวกัน



รูปที่ ค.1 ความสัมพันธ์ระหว่าง ค่า ln ของน้ำหนักเซลล์แห้ง กับเวลา

กราฟแสดงความสัมพันธ์ของเวลา กับ  $\ln(x)$  จะมีแนวโน้มเป็นเส้นตรง ดังกราฟรูปที่ ค.5 ในผลการทดลอง ความชันของกราฟที่ได้คือ ค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ( $\mu$ ) ซึ่งผลการคำนวณในกรณีนี้ที่อัตราส่วนของ C/N ต่างๆ แสดงในตาราง ในส่วนผลการทดลอง

#### ค.1.2 การคำนวณอัตราการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจำเพาะ

จากการทำสมดุลความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (production balance) ในกระบวนการหมักแบบไม่ต่อเนื่อง

$$\frac{dP}{dt} = \rho x \quad \text{ค4}$$

เมื่อ  $P$  = ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (กรัมต่อลิตร)

$\rho$  = อัตราการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจำเพาะ

(กรัมผลิตภัณฑ์ต่อกรัมเซลล์ต่อชั่วโมง)

จัดรูปสมการที่ ค4 แล้วทำการอินทิเกรตจะได้

$$\int_{P_0}^P dP = \rho \int_{t_0}^t x dt \quad \text{ค5}$$

$$\Delta P = P - P_0 = \rho \int_{t_0}^t x dt \quad \text{ค6}$$

กำหนดให้การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ( $\Delta P$ ) ที่เพิ่มขึ้นจะแปรผกผันกับการเปลี่ยนแปลงค่าแรงตึงผิวที่ลดลง ( $\Delta S$ ) ดังนั้น

$$\Delta P = -a\Delta S \quad \text{ค7}$$

จากรูปที่ ข4 ในภาคผนวก ข. ซึ่งแสดงการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ สามารถหาค่า  $\int_{t_0}^t x dt$  ได้โดยการอินทิเกรตสมการโพลีโนเมียลของกราฟน้ำหนักเซลล์แห้ง แล้วให้

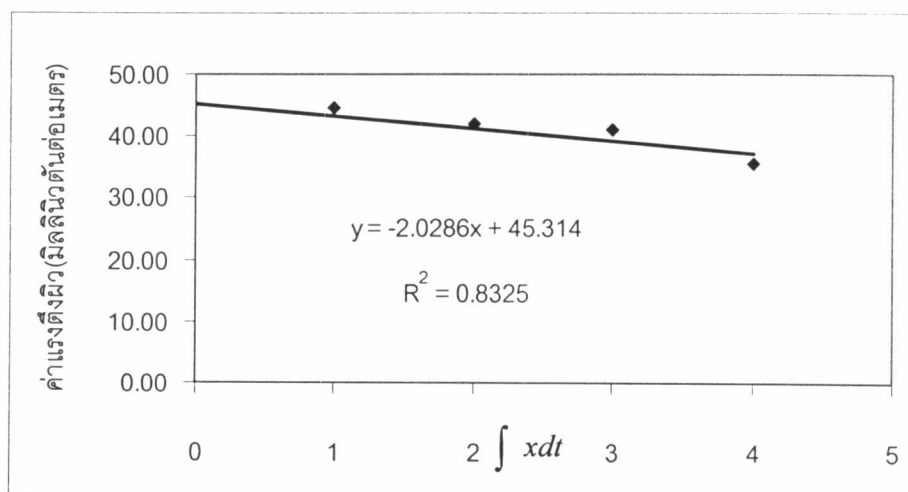
$$\int_{t_0}^t x dt = C \quad \text{ค8}$$

ได้

$$-\Delta s = \rho C \quad \text{ค9}$$

เมื่อ  $\rho$  = อัตราการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจำเพาะรวม  
(มิลลิกรัมลิตรต่อกรัมเซลล์ต่อเมตรต่อชั่วโมง)

จากสมการที่ ค9 นำค่าที่คำนวณได้นำมาเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่า  $\Delta S$  และ  $C$  ในแต่ละแหล่งคาร์บอนที่ใช้ ซึ่งจะได้ตัวอย่างกราฟดังรูปที่ ค2 ซึ่งเป็นกรณีที่อัตราส่วนของ C/N 150 ซึ่งกรณีอื่นๆก็ได้กราฟดังเช่นเดียวกัน



**รูปที่ ค.2** ความสัมพันธ์ระหว่าง ค่าแรงดึงผิว กับค่าอินทิเกรตของความเข้มข้นของเซลล์

กราฟความสัมพันธ์ระหว่าง C กับ  $-\Delta S$  จะมีแนวโน้มเป็นเส้นตรง ดังกราฟรูปที่ ค.2 ความชันของกราฟที่ได้ คือค่าอัตราการผลิตสารลดแรงดึงผิวชีวภาพจำเพาะ ( $\rho$ ) ซึ่งแสดงผลในตาราง ในส่วนของผลการทดลอง

### ค.1.3 การคำนวณอัตราการใช้สารตั้งต้นจำเพาะ

การหาค่าความสามารถในการใช้แหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนของจุลินทรีย์ โดยการทำสมดุลของสับสเตรท ดังนี้

$$\frac{d(SV)}{dt} = -r_s Vx \quad \text{ค10}$$

เมื่อ S = ความเข้มข้นของสับสเตรท (กรัมต่อลิตร)

V = ปริมาตร (ลิตร)

X = ปริมาณเซลล์ (กรัมต่อลิตร)

$$V \frac{ds}{dt} = -r_s Vx \quad \text{ค11}$$



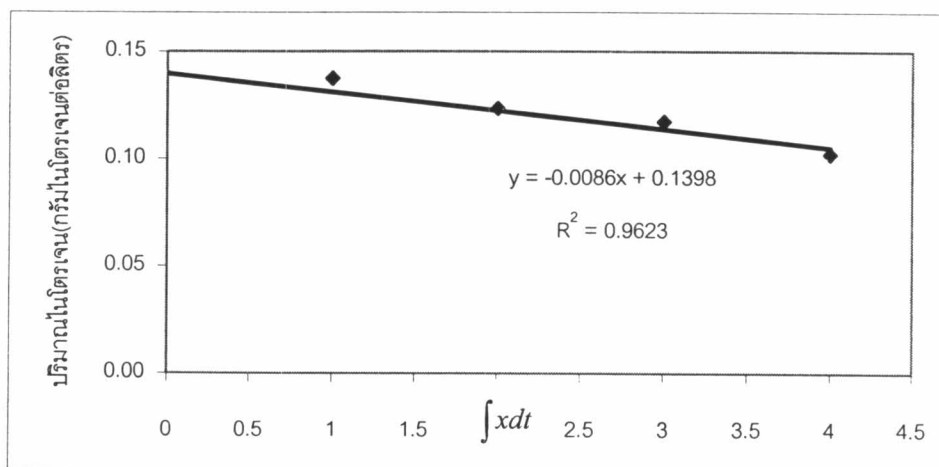
อินทิเกรตสมการที่ ค11 จะได้

$$\int_{s_0}^s ds = -r_s \int_{t_0}^t x dt \quad \text{ค12}$$

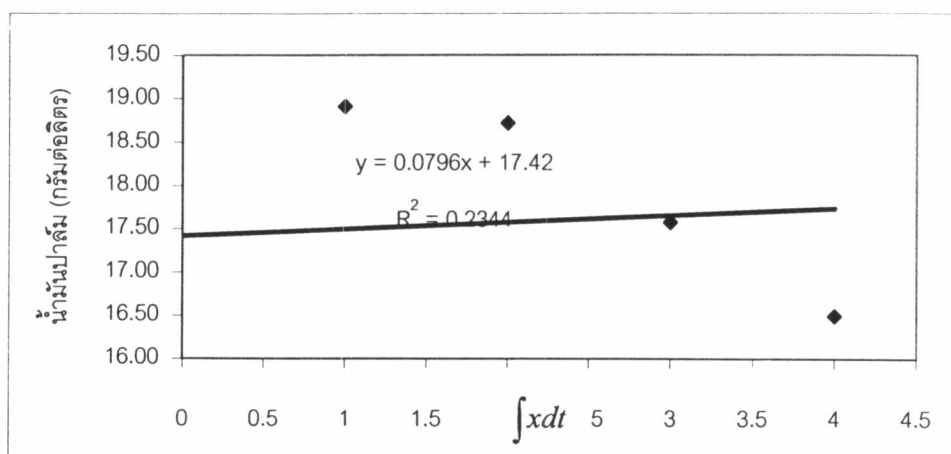
ถ้ากำหนดให้  $C = \int_{t_0}^t x dt$

$$\Delta s = -r_s C \quad \text{ค13}$$

เมื่อเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสับสเตอร์ท กับ C จะได้ความสัมพันธ์เป็นความสามารถในการใช้สับสเตอร์ท ของจุลินทรีย์ ดังกราฟที่ ค7 และ ค8 ซึ่งเป็นตัวอย่างที่อัตราส่วน C/N เท่ากับ 150 โดยที่อัตราส่วนอื่นๆก็จะได้ในทำนองเดียวกัน



รูปที่ ค.3 ความสัมพันธ์ระหว่าง ปริมาณไนโตรเจน กับค่าอินทิเกรตของความเข้มข้นของเซลล์



รูปที่ ๑๔.๔ ความสัมพันธ์ระหว่าง ปริมาณคาร์บอน กับค่าอินทิเกรตของความเข้มข้นของเซลล์

จากกราฟทั้งสองนี้จะได้ความสัมพันธ์ของกราฟเป็นเส้นตรงซึ่งจะให้ความชันของเส้นกราฟเท่ากับอัตราการใช้สารตั้งต้นจำเพาะ ซึ่งแสดงค่าต่างๆที่ได้ไว้ดังตาราง ในส่วนของผลการทดลอง

#### ๑.๑.๔ การคำนวณผลได้ของเซลล์และผลิตภัณฑ์ต่อสารอาหาร (Yield)

ผลได้ของเซลล์ต่อปริมาณแหล่งคาร์บอนสามารถคำนวณได้จาก

$$Y_{x/c} = \frac{\Delta x}{\Delta c}$$

๑ ๑๔

ซึ่งที่ผลได้ของเซลล์ต่อแหล่งไนโตรเจน และผลได้ของผลิตภัณฑ์ต่อแหล่งคาร์บอนก็สามารถหาได้ในทำนองเดียวกันนี้

## ค.2 การคำนวณอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนและไนโตรเจน (C/N ratio)

จากโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ของ องอาจ และจินตนา (2537) ซึ่งได้ทำการศึกษาองค์ประกอบของน้ำมันปาล์ม พบว่ามีองค์ประกอบดังนี้

ตารางที่ ค.1 องค์ประกอบของน้ำมันปาล์ม (องอาจ และจินตนา,2537)

ประเภทของกรดไขมัน	ชื่อสามัญ	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก	น้ำหนักโมเลกุล
Dodecanoic acid (12:0) <sup>1</sup>	กรดลอริก (Lauric)	1.32	200
Tetradecanoic acid (14:0) <sup>1</sup>	กรดไมริสติก (Myristic)	1.61	228
14-Methyl-petadecanoic acid (16:0) <sup>1</sup>	กรดปาล์มมิติก (Plamitic)	38.84	256
9,11-Octadecanoic acid (18:2) <sup>1</sup>	กรดไลโนเลอิก (Linoleic)	10.76	280
9-Octadecanoic acid (18:1) <sup>1</sup>	กรดโอเลอิก (Oleic)	42.34	282
Ocyadecanoic acid (18:0) <sup>1</sup>	กรดสเตียริก (Stearic)	5.13	284

หมายเหตุ <sup>1</sup> อัตราส่วนจำนวนคาร์บอนต่อไนโตรเจนอะตอม

จากองค์ประกอบของน้ำมันปาล์มดังกล่าวสามารถคำนวณหาโมลของคาร์บอนและไนโตรเจนในแต่ละองค์ประกอบของน้ำมันปาล์มได้ดังตารางที่ ค.2

ตารางที่ ค.2 การคำนวณโมลของคาร์บอนและไนโตรเจนในแต่ละองค์ประกอบของน้ำมันปาล์ม

ชื่อสามัญ	เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก	น้ำหนักโมเลกุล	จำนวนคาร์บอนอะตอม	จำนวนไนโตรเจนอะตอม	เปอร์เซ็นต์โมลของกรดไขมัน	เปอร์เซ็นต์โมลคาร์บอน	เปอร์เซ็นต์โมลไนโตรเจน
กรดลอริก (Lauric)	1.32	200	12	0	0.007	0.079	0.000
กรดไมริสติก (Myristic)	1.61	228	14	0	0.007	0.099	0.000
กรดปาล์มมิติก (Plamitic)	38.84	256	16	0	0.152	2.428	0.000
กรดไลโนเลอิก (Linoleic)	10.76	280	18	2	0.018	0.330	0.037
กรดโอเลอิก (Oleic)	42.34	282	18	1	0.150	2.703	0.150
กรดสเตียริก (Stearic)	5.13	284	18	0	0.038	0.682	0.000

จากการคำนวณเราจะได้โมลของคาร์บอนในน้ำมันปาล์มรวมทั้งหมดเท่ากับ 6.320 และโมลของไนโตรเจนรวมเท่ากับ 0.187 ซึ่งเมื่อคิดเทียบกับปริมาณน้ำมันปาล์มที่ใช้คือ 2 เปอร์เซ็นต์ หรือ 20 กรัมต่อลิตรนั้น จะได้โมลของคาร์บอนเท่ากับ 1.264 โมลคาร์บอนต่อลิตรและโมลไนโตรเจนเท่ากับ 0.037 โมลไนโตรเจนต่อลิตร ซึ่งจะเห็นได้ว่าโมลไนโตรเจนในน้ำมันปาล์มมีค่าค่อนข้างน้อยมากกรณีนี้จึงไม่นำมาคิดในอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนและไนโตรเจนด้วย ดังนั้นเมื่อเรากำหนดให้ปริมาณคาร์บอนคองที่เราจะสามารถหาปริมาณไนโตรเจนที่ต้องใช้ในแต่ละอัตราส่วนระหว่าง C/N ได้ โดยคิดเป็นอัตราส่วนโดยโมลทั้งหมด

อัตราส่วนระหว่างคาร์บอนและไนโตรเจนที่ใช้ในการทดลองมีทั้งหมด 5 อัตราส่วนด้วยกัน คือ 5 ,50, 100,150 และ 200 ซึ่งในแต่ละอัตราส่วนสามารถคำนวณปริมาณแอมโมเนียมที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอนได้ดังนี้

**ตารางที่ ค.3** ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) ที่ใช้ในแต่ละอัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจน โดยให้ปริมาณน้ำมันปาล์มดิบคองที่ 20 กรัมต่อลิตร

อัตราส่วนระหว่างคาร์บอนและไนโตรเจน	200	150	100	50	5
แอมโมเนียมซัลเฟต ((NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ) (กรัม)	0.42	0.55	0.83	1.66	16.68

### ค.3 การคำนวณอัตราการป้อนสารอาหารในกระบวนการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง

จากกระบวนการหมักแบบไม่ต่อเนื่องทำให้เราทราบค่าพารามิเตอร์ต่างๆได้แก่ อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการใช้คาร์บอนและไนโตรเจนจำเพาะ ซึ่งสามารถนำมาคำนวณหาอัตราการป้อนสารอาหารโดยเริ่มจาก

สมการสมดุลสับสเตรท

$$\frac{d(VS)}{dt} = FS_0 - r_s V_0 x$$

- เมื่อ  $S$  = ความเข้มข้นของสับสเตอร์ท (กรัมต่อลิตร)  
 $S_0$  = ความเข้มข้นของสับสเตอร์ทเริ่มต้น (กรัมต่อลิตร)  
 $F$  = อัตราการป้อนสาร (ลิตรต่อชั่วโมง)  
 $V_0$  = ปริมาตรเริ่มต้น (ลิตร)  
 $r_s$  = อัตราการใช้สับสเตอร์ทจำเพาะ (กรัมต่อลิตรต่อกรัมเซลล์ต่อชั่วโมง)  
 $x$  = ปริมาณเซลล์ (กรัม)

ทำการดิฟสมการ 2 ตัวแปรจะได้

$$V \frac{ds}{dt} + S \frac{dV}{dT} = FS_0 - r_s V_0 x \quad \text{ค16}$$

เมื่อ  $\frac{dV}{dt} = F$

$$V \frac{dS}{dt} = FS_0 - FS - r_s V_0 x \quad \text{ค17}$$

กำหนดให้ความเข้มข้นของสับสเตอร์ทในถังคงที่  $\frac{dS}{dt} = 0$  ดังนั้น

$$FS_0 - FS - r_s V_0 x = 0 \quad \text{ค18}$$

จัดรูปสมการใหม่จะได้

$$F = \frac{(r_s x V_0)}{S_0 - S} \quad \text{ค19}$$

จากสมการสมดุลเซลล์ ค1  $\frac{dx}{dt} = \mu x$  ทำการอินทิเกรตจะได้

$$x = x_0 e^{\mu t} \quad \text{ค20}$$

แทนสมการ ค 20 ลงในสมการ ค19 จะได้

$$F = \frac{(r_s x_0 e^{\mu t} V_0)}{S_0 - S} \quad \text{ค21}$$

จากสมการ ค20 เราสามารถคำนวณหาอัตราการป้อนที่เวลาต่างๆได้ โดยค่าพารามิเตอร์ต่างๆที่รู้ได้จากการคำนวณจากผลการทดลองในถังหมักแบบไม่ต่อเนื่องที่อัตราส่วน ระหว่าง C/N เท่ากับ 50 ได้อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเท่ากับ 0.5152 ต่อชั่วโมง อัตราการใช้คาร์บอนจำเพาะ 1.77 กรัมไขมันปาล์มดิบต่อกรัมเซลล์ต่อลิตรต่อชั่วโมง และที่อัตราส่วนระหว่าง C/N เท่ากับ 150 ได้อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเท่ากับ 0.3495 ต่อชั่วโมง การใช้คาร์บอนจำเพาะ 2.90 กรัมไขมันปาล์มดิบต่อกรัมเซลล์ต่อลิตรต่อชั่วโมง ส่วนพารามิเตอร์อื่นๆคือ ปริมาตรเริ่มต้น ความเข้มข้นของไขมันปาล์มดิบระหว่างการทดลอง ให้คงที่ในทั้งสองอัตราส่วนโดยมีค่า 4 ลิตร , 20 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

ส่วนความเข้มข้นของน้ำมันปาล์มดิบเริ่มต้น กรณีอัตราส่วนของ C/N 50 เท่ากับ 800 กรัมต่อลิตร ที่ C/N 150 เท่ากับ 300 กรัมต่อลิตร ซึ่งใช้ความเข้มข้นต่างกันเนื่องจากที่อัตราส่วนของ C/N 150 นั้นถ้าใช้ความเข้มข้นสูงๆจะทำให้อัตราการป้อนสารต่ำกว่าความสามารถในการทำงานของปั๊มมากดังนั้นจึงเลือกให้ความเข้มข้นต่ำกว่า โดยให้ผลการคำนวณดังตาราง ค.4

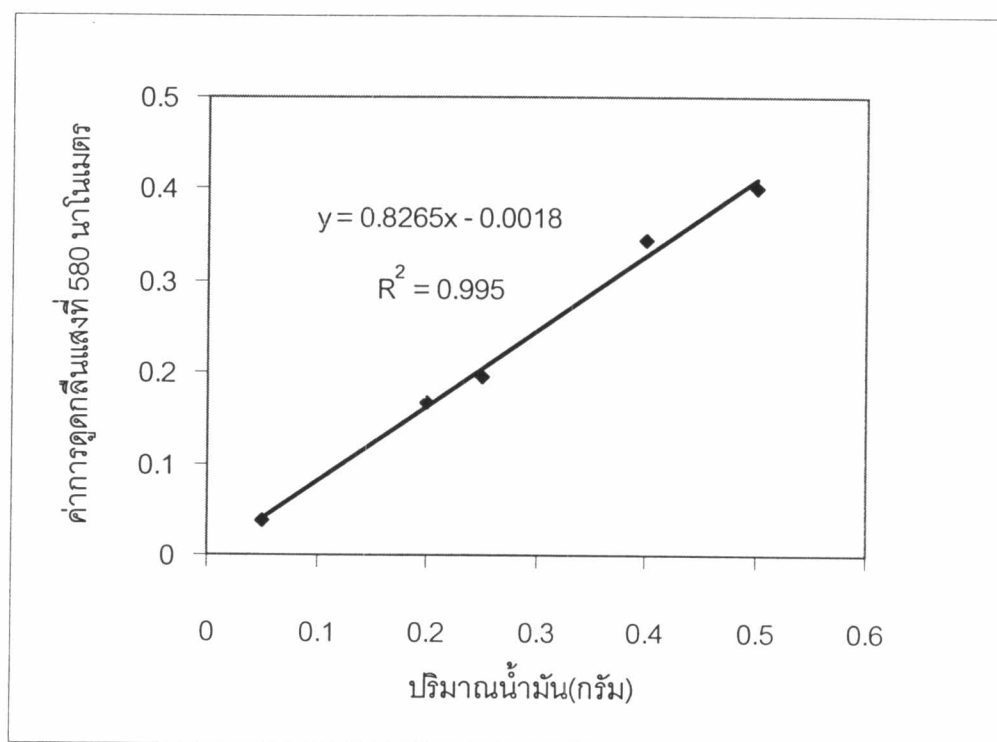
และในการทดลองทำการป้อนแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนไปพร้อมๆกันดังนั้นจึงต้องมีการคำนวณความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตเพื่อให้สัมพันธ์กับความเข้มข้นของน้ำมันปาล์มดิบ โดยแทนค่า อัตราการใช้ไนโตรเจนจำเพาะแทนอัตราการใช้คาร์บอนจำเพาะ และความเข้มข้นแอมโมเนียมซัลเฟตในถังแทนความเข้มข้นของน้ำมันปาล์มดิบในถัง ลงในสมการที่ ค 20 เพื่อหาความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตเริ่มต้น ซึ่งคำนวณแล้วจะได้ความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตที่อัตราส่วนของ C/N 50 และ 150 เท่ากับ 86.13 กรัมต่อลิตร และ 28.35 กรัมต่อลิตรตามลำดับ

**ตารางที่ ค.4** อัตราการป้อนสารที่เวลาต่างๆกรณีอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนและไนโตรเจน เท่ากับ 50 และ 150 ที่เวลาในการเปลี่ยนอัตราส่วนต่างๆ

เวลา (ชั่วโมง)	อัตราการป้อนสาร (ลิตรต่อชั่วโมง)				
	C/N=50	C/N=150			
		6	9	12	15
0	0.0005	0.0021	0.0021	0.0022	0.0025
3	0.0021	0.0059	0.0060	0.0062	0.0071
6	0.0100	0.0169	0.0170	0.0176	0.0204
9	0.0469	0.0482	0.0485	0.0502	0.0581
12	0.2199	0.1374	0.1384	0.1433	0.1659
15	1.0317	0.3920	0.3950	0.4088	0.4734
18	4.8395	1.1187	1.1270	1.1664	1.3507
21	22.7010	3.1919	3.2158	3.3282	3.8539

#### ค.4 การทดสอบประสิทธิภาพของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้จากสารลดแรงตึงผิวที่กองทัพเรือใช้อยู่ในปัจจุบัน

จากตัวอย่างน้ำมันที่ได้ออกจากการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์นำมาสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพออกด้วยสารละลายคลอโรฟอร์มและเอทานอลในอัตราส่วน 2:1 จากนั้นนำมาทดสอบประสิทธิภาพของสารลดแรงตึงผิวโดยทดสอบกับตัวอย่างน้ำมันดิบที่ได้มาจากกองทัพเรือ แล้วนำไปวัดปริมาณน้ำมันที่กระจายตัวอยู่ในน้ำด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 580 นาโนเมตร ซึ่งต้องนำมาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานดังรูปที่ ค.6



รูปที่ ค.5 มาตรฐานของปริมาณน้ำมันที่กระจายตัวอยู่ในน้ำกับค่าการดูดกลืนแสงที่ 580 นาโนเมตร

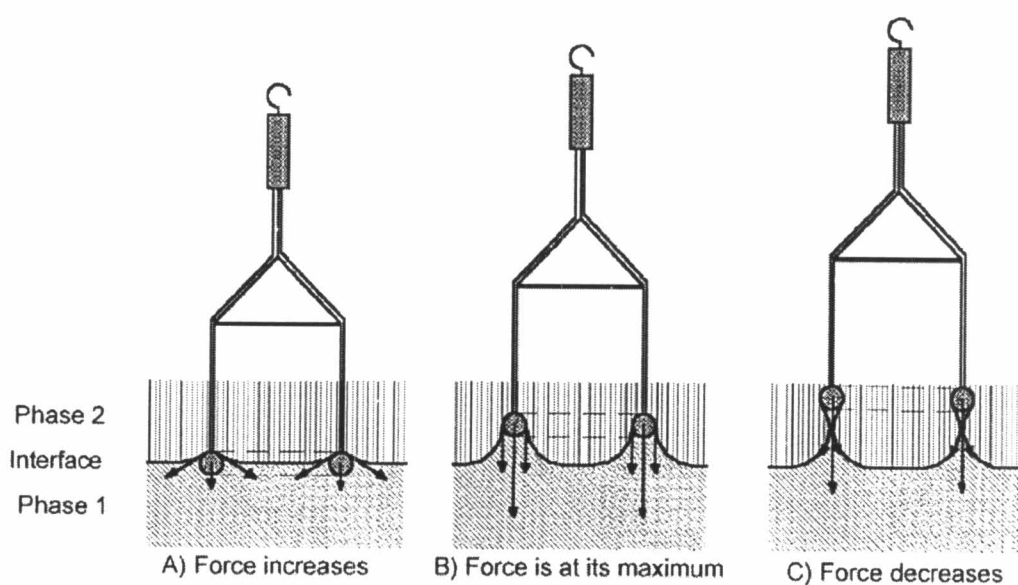
ภาคผนวก ง



## ภาคผนวก ง

## หลักการการวัดค่าแรงตึงผิวด้วยวิธี Du Nouy Ring

การวัดค่าแรงตึงผิวด้วยวิธี ring method หรือ Du Nouy Ring method ค้นคิดโดย Lecomte Du Nouy ในปี 1919 ซึ่งวิธีนี้จะพิจารณาวงแหวนทองคำขาว (platinum ring) ในแนวระนาบโดยวงแหวนทองคำขาวจะจมในของเหลว และถูกยกขึ้น แรงสูงสุดที่ใช้ในการดึงวงแหวนทองคำขาวพ้นของเหลวคือ ค่าแรงตึงผิว (surface tension) คุณสมบัติของวงแหวนทองคำขาวก็คือ ความยาวที่ถูกทำให้เปียก (wetted length) ซึ่งรวมทั้งรัศมีด้านในและด้านนอกของวงแหวนทองคำขาวที่ทำให้เปียกโดยของเหลว



รูปที่ ง.1 ขั้นตอนการวัดค่าแรงตึงผิวด้วยวิธี Du Nouy Ring

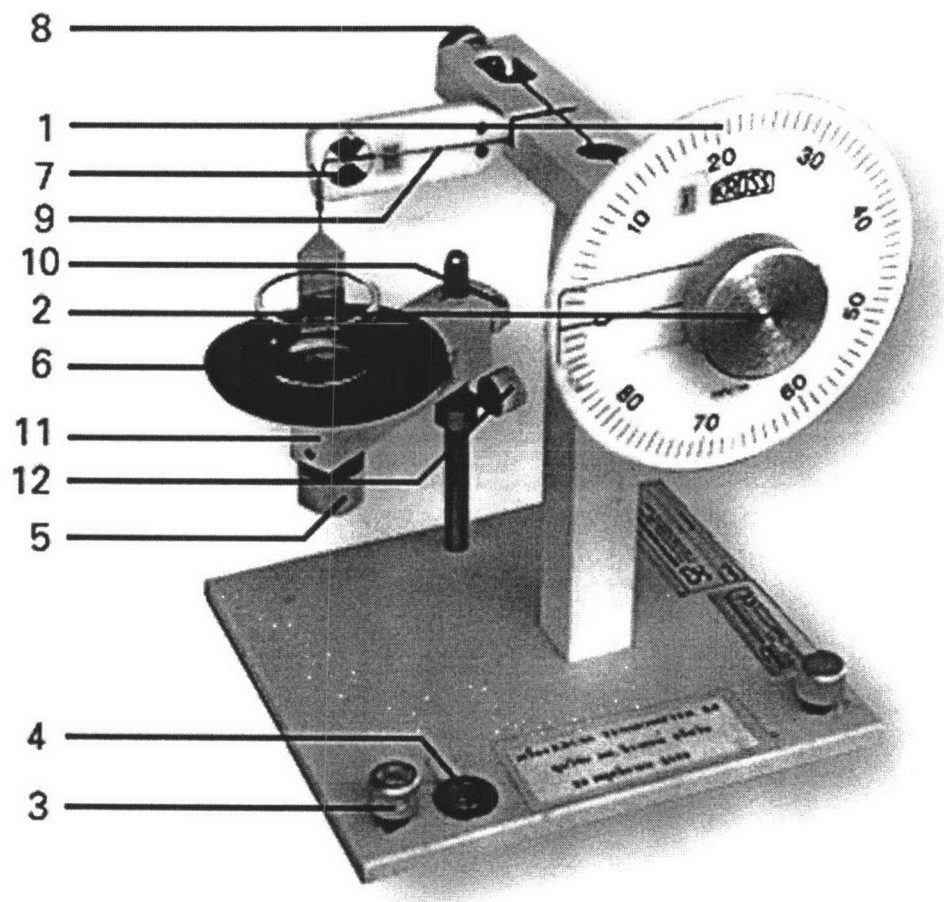
วัดค่าแรงตึงผิวด้วยวิธี Du Nouy Ring เป็นวิธีวัดสารละลายที่มีสารลดแรงตึงผิว ดังนั้นถ้าพื้นผิวใหม่ถูกสร้างขึ้นขณะทำการวัดค่าแรงตึงผิว เช่นเมื่อวงแหวนยกตัวขึ้นทำให้ไม่รู้พื้นผิวอย่างแน่นอน และค่าแรงตึงผิวที่วัดได้ก็เปลี่ยนไป

## อุปกรณ์ที่ใช้ในการวัดค่าแรงตึงผิว

ลักษณะและองค์ประกอบของเครื่องวัดค่าแรงตึงผิว (Tensiometer) รุ่น K6 ของบริษัท KRUSS ประเทศเยอรมัน แสดงดังรูป เครื่องวัดค่าแรงตึงผิวนี้ทำการวัดที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียสตลอดทำการทดลอง

ขั้นตอนการวัดค่าแรงตึงผิวด้วยเครื่องวัดค่าแรงตึงผิว มีดังนี้

1. ปรับ handwheel with point (2) ให้สเกลมีค่าศูนย์
2. ปรับ zero adjustment (8) โดยหมุนทวนเข็มนาฬิกาให้ balance beam (9) อยู่ในตำแหน่งสมดุลกึ่งกลางของ mark (7)
3. ปรับระดับที่วางสารตัวอย่างโดยหมุน (10) แล้วยกขึ้นให้อยู่ในระดับที่ต้องการ
4. แขนง ring ลงใน balance beam (9) ปรับให้อยู่ในตำแหน่งสมดุลโดยหมุน zero adjustment (8) ตามเข็มนาฬิกา
5. ใส่สารตัวอย่างในที่ใส่สารตัวอย่างประมาณ 10 – 15 มล. วางลงบน sample table (6) แล้วหมุน micrometer screw (5) ตามเข็มนาฬิกาเพื่อยกที่ใส่สารตั้งอย่างขึ้นให้สัมผัสกับ ring โดยให้ ring จมอยู่ในตัวอย่างไม่น้อยกว่า 5 มม.
6. เมื่อ ring สัมผัสกับตัวอย่างแล้วอาจต้องปรับ balance beam (9) ให้อยู่ในตำแหน่งสมดุลอีกครั้ง โดยหมุน zero adjustment (8) ทวนเข็มนาฬิกา
7. เริ่มวัดค่าแรงตึงผิวโดยหมุน micrometer screw (5) ทวนเข็มนาฬิกาอย่างช้าๆ ในขณะเดียวกันก็หมุน pointer (2) ตามเข็มนาฬิกาอย่างช้าๆ โดยรักษาให้ balance beam (9) อยู่ในตำแหน่งสมดุล
8. เมื่อ ring หลุดออกจากตัวอย่างอ่านค่าแรงตึงผิวตามสเกล (1) มีหน่วยเป็น มิลลินิวตันต่อเมตร
9. เมื่อเสร็จการทดลองล้าง ring ด้วยน้ำกลั่นสะอาดให้แห้ง (หรือผ่านเปลวไฟ) เก็บเข้ากล่องไม้ ส่วน vessel ล้างให้สะอาดด้วยน้ำกลั่นขับให้แห้ง
10. การเก็บเครื่องจะต้องปรับ zero adjustment (8) ให้ balance beam(9) ยกขึ้น เพื่อป้องกันการแกว่งของ balance beam ปรับที่วางตัวอย่างให้อยู่ในระดับเดิม แล้วหมุนเข้าหาตัวเครื่อง(13)



รูปที่ ง.2 องค์ประกอบของเครื่องวัดค่าแรงดึงผิวรุ่น K6 บริษัท KRUSS ประเทศเยอรมัน

- |                                       |                                       |
|---------------------------------------|---------------------------------------|
| 1. Scale in mN/m                      | 7. Mark                               |
| 2. Handwheel with pointer             | 8. Handwheel for zero-adjust          |
| 3. Screws for regulation of the level | 9. Balance-beam                       |
| 4. Box level                          | 10. Handwheel for fixing the crossbar |
| 5. Micrometer screw                   | 11. Carrier of sample-table           |
| 6. Sample table                       | 12. Handwheel for fixing the crossbar |

### ข้อควรระวัง

1. ห้ามกดปุ่มที่ด้านหลังของ zero adjustment (8) เด็ดขาดเพราะจะทำให้ wire หลุดได้
2. ห้ามหมุน zero adjustment (8) เกิน 1 รอบ
3. การใช้ ring ต้องใช้ด้วยความระมัดระวังอย่าให้บิดเบี้ยวเพราะถ้า ring เสียรูปจะทำให้การวัดค่าผิดพลาดได้
4. การใช้ vessel ต้องใช้ด้วยความระมัดระวัง

### ข้อแนะนำ

1. ขณะวัดค่าแรงตึงผิว ถ้าทำการหมุน micrometer screw (5) และ pointer(2) อย่างช้าๆจะทำให้เกิดความผิดพลาดน้อย
2. ring, vessel มีคุณสมบัติทนไฟ สามารถผ่านเปลวไฟได้ในกรณีที่จำเป็น
3. ขณะแขวน ring ลงบน balance beam (9) อาจต้องใช้เครื่องมือช่วยเล็กน้อย

### ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวเลิศลักษณ์ แก้ววิมล เกิดวันที่ 1 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2522 ที่อำเภอโพธิ์ทอง จังหวัดอ่างทอง สำเร็จการศึกษาระดับประถมศึกษาที่โรงเรียน วัดศีลขันธารามวิทยาคมในปีการศึกษา 2533 จากนั้นได้เข้าศึกษาต่อในระดับมัธยมศึกษาตอนต้นที่โรงเรียนสตรีอ่างทอง และเข้าศึกษาในระดับมัธยมศึกษาตอนปลายที่โรงเรียนอ่างทองปัทมโรจน์วิทยาคม โดยจบการศึกษในปีการศึกษา 2539 จากนั้นได้เข้าศึกษาต่อในระดับปริญญาตรี วิทยาศาสตร์บัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรม (ปัจจุบันเปลี่ยนเป็นคณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม) มหาวิทยาลัยศิลปากร สำเร็จการศึกษาในปรการศึกษา 2543 หลังจากนั้นได้เข้าศึกษาต่อในระดับปริญญาโทบริหารธุรกิจ ในภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัยในปีการศึกษา 2544