การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยจุลินทรีย์ *Pseudomonas* sp.A41 ในถังหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง

นางสาว เลิศลักษณ์ แก้ววิมล

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี ภาควิชาวิศวกรรมเคมี
คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2546

ISBN 974-17-4728-4

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

BIOSURFACTANT PRODUCTION BY *Pseudomonas* sp. A41 IN FED BATCH FERMENTOR

Miss Lerdluk Kaewvimol

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Engineering in Chemical Engineering

Department of Chemical Engineering

Faculty of Engineering

Chulalongkorn University

Academic Year 2003

ISBN 974-17-4728-4

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดย*Pseudomonas* sp.A41 ในถังหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง
โดย	นางสาว เลิศลักษณ์ แก้ววิมล
สาขาวิชา	วิศวกรรมเคมี
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สีรุ้ง ปรีชานนท์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุเทพ ธนียวัน

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิศวกรรมศาสตร์

(ศาสตราจารย์ ดร. ดิเรก ลาวัณย์ศิริ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. ธวัชชัย ชรินพานิชกุล)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สีรุ้ง ปรีชานนท์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุเทพ ธนียวัน)

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. จิรกานต์ เมืองนาโพธิ์)

.....กรรมการ

(นาวาเอกหญิง กัลยา อำนวย)

เลิศลักษณ์ แก้ววิมล : การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดย *Pseudomonas* sp. A41 ในถังหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง(BIOSURFACTANT PRODUCTION BY *Pseudomonas* sp. A41 IN FED-BATCH FERMENTOR)
อาจารย์ที่ปรึกษา : ผศ. ดร. สีรุ้ง ปรีชานนท์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม : ผศ. ดร. สุเทพ ธนียวัน
129 หน้า ISBN 974-17-4728-4

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษากระบวนการหมักแบบกึ่งต่อเนื่องเพื่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากน้ำมันปาล์มดิบโดยจุลินทรีย์ *Pseudomonas* sp.A41มีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มอัตราการผลิตของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากกระบวนการหมักแบบไม่ต่อเนื่องโดยแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่ใช้คือน้ำมันปาล์มดิบและใช้แอมโมเนียมซัลเฟตตามลำดับ ซึ่งในส่วนแรกของงานวิจัยได้มีการศึกษาถึงผลของอัตราส่วนโดยโมลของคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N) ที่มีต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ โดยอัตราส่วนของ C/N ที่ใช้มีค่า 5 , 50, 100,150 และ 200 ตามลำดับโดยจะกำหนดความเข้มข้นของน้ำมันปาล์มดิบคงที่ที่ 20 กรัมต่อลิตร ส่วนปริมาณไนโตรเจนจะเปลี่ยนไปตามอัตราส่วนของ C/N ต่างๆ ซึ่งจากการทดลองในขวดรูปชมพู่เขย่าพบว่า ที่อัตราส่วนของ C/N เท่ากับ 50 จะให้อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงที่สุด เท่ากับ 0.86 ต่อชั่วโมง $Y_{x/c}$ และ $Y_{x/n}$ มีค่า 0.27 และ 3.11 กรัมต่อกรัมสารตั้งต้นตามลำดับ และที่อัตราส่วนของ C/N 150 จะให้อัตราการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพสูงที่สุดเท่ากับ 8.49 มิลลินิวตันต่อเมตรต่อกรัมเซลล์ต่อชั่วโมง ค่า $Y_{p/c}$สูงที่สุดเท่ากับ 3.40 มิลลินิวตันต่อเมตรต่อกรัมน้ำมันปาล์มดิบ ดังนั้นจึงนำสองอัตราส่วนนี้มาใช้ในกระบวนการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง โดยศึกษาถึงผลของเวลาที่ใช้ในการเปลี่ยนอัตราส่วนของ C/N จาก 50 ไปเป็น 150 โดยเวลาที่ใช้ในการเปลี่ยนอัตราส่วนคือ เวลาที่ 6 , 9, 12 และ 15 ชั่วโมง ควบคุมความเข้มข้นของสารตั้งต้นให้คงที่ ทำได้โดยอาศัยการป้อนสารอาหารแบบทวีคูณ ควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่างที่ 7.5 อัตราการให้อากาศที่ 60เปอร์เซ็นต์อากาศอิ่มตัว ความเร็วรอบของการปั่นกวนที่ 600 รอบต่อนาที ซึ่งพบว่าในช่วงแรกที่ให้อัตราส่วน C/N เท่ากับ 50 จุลินทรีย์มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะใกล้เคียงกัน แต่หลังจากช่วงการเจริญเติบโตแบบทวีคูณ อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะจะลดลงเช่นเดียวกับอัตราการผลิตผลิตภัณฑ์จำเพาะและผลได้ของเซลล์และผลิตภัณฑ์ต่อสารตั้งต้น โดยพบว่าเมื่อทำการเปลี่ยนอัตราส่วน C/N ที่ 12 ชั่วโมงจะให้อัตราการเจริญเติบโต สูงที่สุด 0.19 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง แต่ก็จะให้อัตราการผลิตต่ำที่สุด 0.03 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ในขณะที่การเปลี่ยน C/N ที่เวลาอื่นมีอัตราการผลิตเท่ากันที่ 0.04 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง นั่นแสดงว่าเวลาในการเปลี่ยน C/N มีผลต่อการผลิตเซลล์มากกว่าอัตราการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ กระบวนการหมักแบบกึ่งต่อเนื่องให้อัตราการผลิตเซลล์และสารลดแรงตึงผิวชีวภาพสูงกว่าการเพาะเลี้ยงแบบไม่ต่อเนื่อง 126.92 และ 25 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ หลังจากนั้นได้มีการทดสอบประสิทธิภาพ (Effectiveness) การทำงานของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้เปรียบเทียบกับสารลดแรงตึงผิวที่กองทัพเรือใช้พบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้มีประสิทธิภาพมากกว่าสารลดแรงตึงผิวที่ทางกองทัพเรือใช้ 7.13 เปอร์เซ็นต์

ภาควิชาวิศวกรรมเคมี ลายมือชื่อนิสิต.....เลิศลักษณ์.....
สาขาวิชา วิศวกรรมเคมี ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....
ปีการศึกษา 2546 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

4470799521 :MAJOR CHEMICAL ENGINEERING

KEY WORD: BIOSURFACTANT / RHAMNOLIPIDS / FED BATCH FERMENTATION

LERDLUK KAEWVIMOL: THESIS TITLE (BIOSURFACTANT PRODUCTION BY *Pseudomonas* sp. A41 IN FED-BATCH FERMENTOR) THESIS ADVISOR : ASSIST. PROF. SEEROONG PRICHANONT, Ph.D., THESIS COADVISOR : ASSIST. PROF. SUTHEP THANIYAVARN, 129 pp. ISBN 974-17-4728-4

This project is the study of fed-batch fermentation for biosurfactant production from crude palm oil by *Pseudomonas* sp. A41 with the objective of increasing biosurfactant productivity from batch process. Carbon and nitrogen sources used were crude palm oil and ammonium sulphate, respectively. The first part of project was to investigate effects of carbon to nitrogen mole ratio (C/N) on specific growth and production rate. The ratio studied were respectively, 5, 50, 100, 150 and 200 and obtained by keeping initial crude palm oil concentration constant at 20 gl^{-1} in every cases,while varying ammonium sulphate concentration in accordance to the specified C/N ratios.Experimental result in shake flasks indicated that at C/N equals to 50, specific growth rate was at the maximum value at 0.86 hr^{-1}, $Y_{X/C}$ and $Y_{X/N}$ were 0.27 g g^{-1} oil and 3.11g $g^{-1}((NH_4)_2SO_4)$,respectively. On the other hand, specific production rate and $Y_{P/C}$ were found optimum at C/N equals 150 at value of 8.49 $mNm^{-1}gcell^{-1}hr^{-1}$ and 3.40 $mNm^{-1}g^{-1}$,respectively. This C/N ratios were further applied as controlled condition in fed batch fermentation. Fed-batch fermentation experiments were carried out to investigate switching time from C/N equals 50 to 150, these switching time were 6, 9, 12 and 15 hours of fermentation. Exponential feed strategy was used to control nutrient concentrations. Other operating conditions were 30^0C ,pH 7.5, 60% air saturation, and stressing speed of 600 rpm. The highest specific growth and production rates were found within the first six hours and later decreased. Switching time of 12 hrs was give highest growth rate of 0.19 g $l^{-1}hr^{-1}$. Other switching time gave equal production rate at 0.04 g.$l^{-1}hr^{-1}$.It was, therefore, conclude that switching time had more effect on cell growth than biosurfactant production. Fed batch fermentation strategy according to high growth rate and production rate than batch fermentation were 126.92% and 25% respectively. The final part of the project was to test effectiveness of biosurfactant produced in comparison to a surfactant with is currently used in the Royal Navy. The biosurfactant produced demonstrated 7.13% higher effectiveness than the commercial surfactant.

Department Chemical Engineering	Student's signature.....
Field of study Chemical Engineering	Advisor's signature.....
Academic year 2003	Co- advisor's signature.....

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยความช่วยเหลืออย่างดียิ่งจากบุคคลหลายๆท่าน ผู้วิจับขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สีรุ้ง ปรีชานนท์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุเทพ ธนียวัน อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ได้ให้คำแนะนำวิธีการทำงานวิจัยตลอดจนตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์

บริษัทชุมพรอุตสาหกรรมน้ำมันปาล์มจำกัด ที่กรุณาเอื้อน้ำมันปาล์มดิบเพื่อใช้ในงานวิจัยจนสำเร็จลุล่วง

กรมวิทยาศาสตร์ทหารเรือ กองทัพเรือ สำหรับทุนอุดหนุนงานวิจัย และเครื่องคอมพิวเตอร์สำหรับใช้ในงานวิจัย

คุณ ณรงค์ ลักษณาภิรมย์ (พี่ตี๋) ที่กรุณาให้คำแนะนำในการทำงานวิจัย และให้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ต่องานวิจัย ตลอดมาถึงแม้จะรบกวนเวลาพักผ่อนก็ตาม คุณนพรัตน์ วานิชสุขสมบัติ (พี่ปู) สำหรับคำแนะนำด้านการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์และการวัดค่าแรงตึงผิวของสารตัวอย่างและข้อมูลอื่นๆที่เป็นประโยชน์สำหรับงานวิจัย

งานวิจัยนี้จะสำเร็จลงไม่ได้ถ้าขาดบุคคลเหล่านี้ นายจีรัณ กิ่งแก้ว ที่ให้คำปรึกษาข้อแนะนำในการทำงานวิจัยและช่วยประกอบอุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย นางสาวพึงใจ บุญยืน นางสาวทัศนประภา เลิศศรีมงคล นายจตุพล เสือมี นายตรีธาร อมราลิขิต สำหรับความช่วยเหลือและแรงงานในขณะทำงานวิจัย นางสาวพรทิพย์ วงศ์สุโชโต นายคุณาวุฒิ บุญญานพคุณ นางสาวศิริวรรณ ศิลาพากุล นายกฤษฎ์ ลิลิตตระการกุล สำหรับคำแนะนำในการใช้คอมพิวเตอร์ และบรรยากาศที่ดีในการพิมพ์วิทยานิพนธ์ นายณัฐพันธ์ ศรีรัตน์ นายนราวุธ ทองมะโรงสี นายรวิศ เฉ่งสกุล นายสิทธิรักษ์ พิตรปรีชา สำหรับคำแนะนำในการใช้คอมพิวเตอร์ นายณัฐวุฒิ ลักษณาปัญญากุล สำหรับคำแนะนำในการเขียนวิทยานิพนธ์ นายชัยวัฒน์ ถนอมญาติ นายชาญวิทย์ ตรีเดช นายสมเกียรติ์ ทีสกุล สำหรับความช่วยเหลือในการล้างถังหมัก และเสบียงอร่อยๆ

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา น้องๆสำหรับกำลังใจและให้ความสนับสนุนในการศึกษาตลอดมา

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญ ..... ช

สารบัญตาราง ..... ฌ

สารบัญรูป ..... ฎ

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 มูลเหตุจูงใจ.....1

1.2 วัตถุประสงค์.....3

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....3

1.4 ขอบเขตของงานวิจัย.....3

บทที่ 2 ทฤษฎี.....5

2.1 ลักษณะโครงสร้างของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ.....5

2.2 การจำแนกสารสดแรงตึงผิวชีวภาพ.....12

2.3 กระบวนการขนย้ายอาหารเข้าเซลล์.....17

2.4 ลักษณะการเกิดผลิตภัณฑ์.....20

2.5 กระบวนการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง (Fed batch Fermentation).....24

บทที่ 3 ตรวจเอกสาร.....29

3.1 ชนิดของจุลินทรีย์และผลิตภัณฑ์ที่ผลิตได้.....29

3.2 การทดสอบสารลดแรงตึงผิวในเชิงคุณภาพและปริมาณ.....31

3.3 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อกระบวนการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพของ *Pseudomonas* sp.....35

บทที่ 4 วิธีการทดลอง.....45

4.1 อุปกรณ์และเคมีภัณฑ์.....45

4.2 เชื้อจุลินทรีย์.....47

4.3 วิธีการทดลอง.....47

บทที่ 5 ผลการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลอง.....53

5.1 การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในกระบวนการหมักแบบไม่ต่อเนื่อง.....53

5.2 การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์โดยกระบวนการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง.....66

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

5.3 การทดสอบประสิทธิภาพของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้กับสารลดแรงตึงผิวที่กองทัพเรือใช้ในปัจจุบัน (% Effectiveness).....80
บทที่ 6 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....82
6.1 สรุปผลการทดลอง.....82
6.2 ข้อเสนอแนะ.....84
รายการอ้างอิง 85
ภาคผนวก.....93
ภาคผนวก ก 94
ภาคผนวก ข 98
ภาคผนวก ค 112
ภาคผนวก ง 124
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์. 129

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 3.1 สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้จากจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ณรงค์ (2543).....30
ตารางที่ 3.2 การผลิต Rhamnolipids (RL) จาก *Pseudomonas* sp. ในสภาวะปกติ 36
ตารางที่ 3.3 ความสามารถในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ เมื่อเติมสารลดแรงตึงผิวเริ่มต้นต่างกัน (จงระวี,2544).....42
ตารางที่ 3.4 กระบวนการหมักแบบต่างๆที่ใช้ในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 44
ตารางที่ 5.1 ผลได้ของเซลล์ และผลิตภัณฑ์ต่อสารอาหาร.....60
ตารางที่ 5.2 อัตราจำเพาะทางจลนพลศาสตร์ต่างๆที่คำนวณได้ ที่อัตราส่วนโดยโมลระหว่างคาร์บอนและ ไนโตรเจน เท่ากับ 50 และ 150.....65
ตารางที่ 5.3 อัตราการผลิตเซลล์และสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยกระบวนการหมักแบบไม่ต่อเนื่องและกระบวนการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง.....79
ตารางที่ 5.4 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้กับสารลดแรงตึงผิวที่กองทัพเรือใช้(CHEMTEC 307).....81
ตาราง ที่ ข.1 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะอัตราการผลิตผลิตภัณฑ์จำเพาะ และความสามารถในการผลิตผลิตภัณฑ์ ของจุลินทรีย์ *Pseudomonas* sp.A41 ที่ได้จากการเลี้ยงโดยใช้แหล่งคาร์บอนชนิดต่างๆ 99
ตารางที่ ข.2 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะอัตราการผลิตผลิตภัณฑ์จำเพาะ และความสามารถในการผลิตผลิตภัณฑ์ ของจุลินทรีย์ *Pseudomonas* sp.A41 ที่ได้จากการเลี้ยงโดยใช้แหล่งไนโตรเจนชนิดต่างๆ.....101
ตารางที่ ข.3 การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ *Pseudomonas* sp.A41 ใน ที่อัตราส่วนของ C/N เท่ากับ 5 102
ตารางที่ ข.4 การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ *Pseudomonas sp.*A41 ที่อัตราส่วนของ C/N เท่ากับ 50.....103
ตารางที่ ข.5 การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ *Pseudomonas sp.*A41 ที่อัตราส่วนของC/N เท่ากับ 100 104
ตารางที่ ข.6 การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ *Pseudomonas* sp.A41 ที่อัตราส่วนของ C/N เท่ากับ 150 105

สารบัญตาราง(ต่อ)

หน้า

ตารางที่ ข.7 การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ *Pseudomonas sp.*A41 ที่อัตราส่วนของ C/N เท่ากับ 200 106
ตารางที่ ข.8 การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ *Pseudomonas sp.*A41 ในถงหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง ที่เวลาในการเปลี่ยนอัตราส่วนของ C/N เท่ากับ 6 ชั่วโมง 108
ตารางที่ ข.9 การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ *Pseudomonas sp.*A41 ในถงหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง ที่เวลาในการเปลี่ยนอัตราส่วนของ C/N เท่ากับ 9 ชั่วโมง 109
ตารางที่ ข.10 การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ *Pseudomonas sp.*A41 ในถงหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง ที่เวลาในการเปลี่ยนอัตราส่วนของ C/N เท่ากับ 12 ชั่วโมง 110
ตารางที่ ข.11 การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ *Pseudomonas sp.*A41 ในถงหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง ที่เวลาในการเปลี่ยนอัตราส่วนของ C/N เท่ากับ 15 ชั่วโมง 111
ตารางที่ ค.1 องค์ประกอบของน้ำมันปาล์ม (องอาจ และจินตนา,2537).....119
ตารางที่ ค.2 การคำนวณโมลของคาร์บอนและไนโตรเจนในแต่ละองค์ประกอบ ของน้ำมันปาล์ม.....119
ตารางที่ ค.3 ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต($(NH4)_2SO4$) ที่ใช้ในแต่ละอัตราส่วนของ คาร์บอนต่อไนโตรเจน โดยให้ปริมาณน้ำมันปาล์มดิบคงที่ ที่ 20 กรัมต่อลิตร...120
ตารางที่ ค.4 อัตราการป้อนสารที่เวลาต่างๆกรณีอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนและ ไนโตรเจนเท่ากับ 50 และ 150ที่เวลาในการเปลี่ยนอัตราส่วนต่างๆ.....122

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 2.1 โครงสร้างของสารลดแรงตึงผิว.....6
รูปที่ 2.2 การกระจายตัวของโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวบนผิวน้ำ.....6
รูปที่ 2.3 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวกับค่าแรงตึงผิวเพื่อแสดงการหาค่าความเข้มข้นวิกฤตของไมเซลล์ 7
รูปที่ 2.4 แสดงโครงสร้างและการจัดเรียงตัวของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ.....8
รูปที่ 2.5 การรวมตัวของโมเลกุลสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 10
รูปที่ 2.6 โครงสร้างของทรีฮาโลสลิปิด 13
รูปที่ 2.7 โครงสร้างของโซโฟโรลิปิด 13
รูปที่ 2.8 โครงสร้างของแรมโนลิปิดทั้ง 4 ชนิด.....14
รูปที่ 2.9 โครงสร้างของฟอสโฟลิปิด.....15
รูปที่ 2.10 โครงสร้างของเปปไทด์และกรดอะมิโน.....15
รูปที่ 2.11โครงสร้างของอิมัลแซน ที่ผลิตจาก *Acinetobacter calcoaceticus*.....16
รูปที่ 2.12 โครงสร้างของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดอนุภาค 17
รูปที่ 2.13 แสดงการขนถ่ายสารประกอบไฮโดรคาร์บอนเข้าสู่เซลล์.....18
รูปที่ 2.14 กลไกการนำสารประกอบอัลเคนผ่านกรดไขมันไปใช้ภายในเซลล์.....20
รูปที่ 2.15 ลักษณะการเกิดผลิตภัณฑ์ในรูปแบบต่างๆ.....23
รูปที่ 2.16 การเพาะเลี้ยงแบบครั้งคราว.....24
รูปที่ 3.1 โครงสร้างของแรมโนลิปิด ที่ได้จากการเลี้ยง *Paeruginosa* 33
รูปที่ 3.2 การแยกของแรมโนลิปิดชนิดต่างๆเมื่อทำการแยกด้วยไฮเพอร์ฟอร์มานซ์ ลิควิดโครมาโตกราฟี.....34
รูปที่ 3.3 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของเซลล์.....39
รูปที่ 3.4 อัตราการผลิต ผลิตภัณฑ์จำเพาะ.....39
รูปที่ 3.5 การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ *Pseudomonas* ATCC10145.....42
รูปที่ 3.6 การเจริญเติบโตของเซลล์ น้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณแรมโนลิปิดที่ผลิตได้ ความเข้มข้นของกลูโคส โดยวิธีการหมักแบบกึ่งต่อเนื่องของ*Pseudomonas* YPJ-80 43
รูปที่ 4.1 การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในขวดรูปชมพู่เขย่า.....49
รูปที่ 4.2 ถังหมักขนาด 10 ลิตร.....50

สารบัญรูป (ต่อ)

หน้า

รูปที่ 5.1 การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ *Pseudomonas* sp.A41 การผลิต
สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ และการเปลี่ยนแปลงปริมาณแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจน
ที่อัตราส่วนของ C/N เท่ากับ 150 ในขวดรูปชมพู่ 56
รูปที่ 5.2 ความสัมพันธ์ระหว่าง ln x กับ เวลาที่อัตราส่วนของ C/N เท่ากับ 150 ในขวดรูปชมพู่..57
รูปที่ 5.3 การเปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการผลิต
สารลดแรงตึงผิวชีวภาพจำเพาะ (ก) และอัตราการใช้น้ำมันปาล์มดิบ
และแอมโมเนียมซัลเฟตจำเพาะ (ข) ที่อัตราส่วนของ C/N ต่างๆกัน.....59
รูปที่ 5.4 การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ *Pseudomonas* sp.A41 การผลิต
สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ และการเปลี่ยนแปลงปริมาณแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจน
ที่อัตราส่วนของ C/N เท่ากับ 50 (ก) และ 150 (ข) 63
รูปที่ 5.5 การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ *Pseudomonas* sp.A41 ความเข้มข้น
(กรัมต่อลิตร)ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ และการเปลี่ยนแปลงปริมาณแหล่งคาร์บอน
และไนโตรเจน ที่อัตราส่วนของ C/N เท่ากับ 50 (ก) และ 150 (ข) 64
รูปที่ 5.6 รูปแบบการป้อนสารอาหารโดยกระบวนการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง
ที่เวลาในการเปลี่ยนอัตราส่วน C/N เท่ากับ 6 ชั่วโมง.....67
รูปที่ 5.7 การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ *Pseudomonas* sp.A41 การผลิต
สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ในกระบวนการหมักแบบกึ่งต่อเนื่องเมื่อเวลา
ที่เปลี่ยนอัตราส่วนระหว่าง C/N คือ 6 ชั่วโมง 68
รูปที่ 5.8 การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ *Pseudomonas* sp.A41 การผลิต
สารลดแรงตึงผิวชีวภาพในกระบวนการหมักแบบกึ่งต่อเนื่องเมื่อเวลา
ที่เปลี่ยนอัตราส่วนระหว่าง C/N คือ 9 ชั่วโมง 68
รูปที่ 5.9 การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ *Pseudomonas* sp.A41 การผลิต
สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ในกระบวนการหมักแบบกึ่งต่อเนื่องเมื่อเวลา
ที่เปลี่ยนอัตราส่วนระหว่าง C/N คือ 12 69

สารบัญรูป(ต่อ)

หน้า

รูปที่ 5.10 การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ *Pseudomonas* sp.A41 การผลิตสารลดแรงตึงผิวในกระบวนการหมักแบบกึ่งต่อเนื่องเมื่อเวลาที่เปลี่ยนอัตราส่วนระหว่าง C/N คือ 15 69
รูปที่ 5.11 ความสัมพันธ์ระหว่าง ln x กับ เวลา ของการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ *Pseudomonas* sp.A41 การผลิตสารลดแรงตึงผิวในกระบวนการหมักแบบกึ่งต่อเนื่องเมื่อเวลาที่เปลี่ยนอัตราส่วนระหว่าง C/N คือ 6 ชั่วโมง.....70
รูปที่ 5.12 ความสัมพันธ์ระหว่าง ln x กับ เวลา ของการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ *Pseudomonas* sp.A41 การผลิตสารลดแรงตึงผิวในกระบวนการหมักแบบกึ่งต่อเนื่องเมื่อเวลาที่เปลี่ยนอัตราส่วนระหว่าง C/N คือ 9 ชั่วโมง 70
รูปที่ 5.13 ความสัมพันธ์ระหว่าง ln x กับ เวลา ของการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ *Pseudomonas* sp.A41 การผลิตสารลดแรงตึงผิวในกระบวนการหมักแบบกึ่งต่อเนื่องเมื่อเวลาที่เปลี่ยนอัตราส่วนระหว่าง C/N คือ 12 ชั่วโมง.....71
รูปที่ 5.14 ความสัมพันธ์ระหว่าง ln x กับ เวลา ของการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ *Pseudomonas* sp.A41 การผลิตสารลดแรงตึงผิวในกระบวนการหมักแบบกึ่งต่อเนื่องเมื่อเวลาที่เปลี่ยนอัตราส่วนระหว่าง C/N คือ 15 ชั่วโมง.....71
รูปที่ 5.15 การเปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของจุลินทรีย์ *Pseudomonas* sp.A41ในระหว่างการหมักแบบไม่ต่อเนื่องและกึ่งต่อเนื่อง.....73
รูปที่ 5.16 การเปรียบเทียบอัตราการผลิตจำเพาะของจุลินทรีย์ *Pseudomonas* sp.A41ในระหว่างการหมักแบบไม่ต่อเนื่องและกึ่งต่อเนื่อง.....74
รูปที่ 5.17 การเปรียบเทียบอัตราการใช้แหล่งคาร์บอนจำเพาะของจุลินทรีย์ *Pseudomonas* sp.A41ในระหว่างการหมักแบบไม่ต่อเนื่องและกึ่งต่อเนื่อง.....75
รูปที่ 5.18 การเปรียบเทียบอัตราการใช้แหล่งไนโตรเจนจำเพาะของจุลินทรีย์ *Pseudomonas* sp.A41ในระหว่างการหมักแบบไม่ต่อเนื่องและกึ่งต่อเนื่อง.....76
รูปที่ ข.1 การเจริญเติบโต และการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ของจุลินทรีย์ *Pseudomonas* sp.A41 ที่อัตราส่วนของ C/N เท่ากับ 5 102
รูปที่ ข.2 การเจริญเติบโต และการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ของจุลินทรีย์ *Pseudomonas* sp.A41 ที่อัตราส่วนของ C/N เท่ากับ 50 103

สารบัญรูป(ต่อ)

หน้า

รูปที่ ข.3 การเจริญเติบโต และการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ของจุลินทรีย์ *Pseudomonas* sp.A41 ที่อัตราส่วนของ C/N เท่ากับ 100 104
รูปที่ ข.4 การเจริญเติบโต และการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ของจุลินทรีย์ *Pseudomonas* sp.A41 ที่อัตราส่วนของ C/N เท่ากับ 150 105
รูปที่ ข. 5 การเจริญเติบโต และการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ของจุลินทรีย์ *Pseudomonas* sp.A41 ที่อัตราส่วนของ C/N เท่ากับ 200 106
รูปที่ ค.1 ความสัมพันธ์ระหว่าง ค่า ln ของน้ำหนักเซลล์แห้ง กับเวลา.....114
รูปที่ ค.2 ความสัมพันธ์ระหว่าง ค่าแรงตึงผิว กับค่าอินทิเกรตของความเข้มข้นของเซลล์.....116
รูปที่ ค.3 ความสัมพันธ์ระหว่าง ปริมาณไนโตรเจน กับค่าอินทิเกรตของความเข้มข้นของเซลล์.....117
รูปที่ ค.4 ความสัมพันธ์ระหว่าง ปริมาณคาร์บอน กับค่าอินทิเกรตของความเข้มข้นของเซลล์.....118
รูปที่ ค.5 กราฟมาตรฐานของปริมาณน้ำมันที่กระจายตัวอยู่ในน้ำกับค่าการดูดกลืนแสงที่ 580 นาโนเมตร.....123
รูปที่ ง.1 ขั้นตอนการวัดค่าแรงตึงผิวด้วยวิธี Du Nouy Ring.....125
รูปที่ ง.2 องค์ประกอบของเครื่องวัดค่าแรงตึงผิวรุ่น K6 บริษัท KRUSS ประเทศเยอรมัน.....127