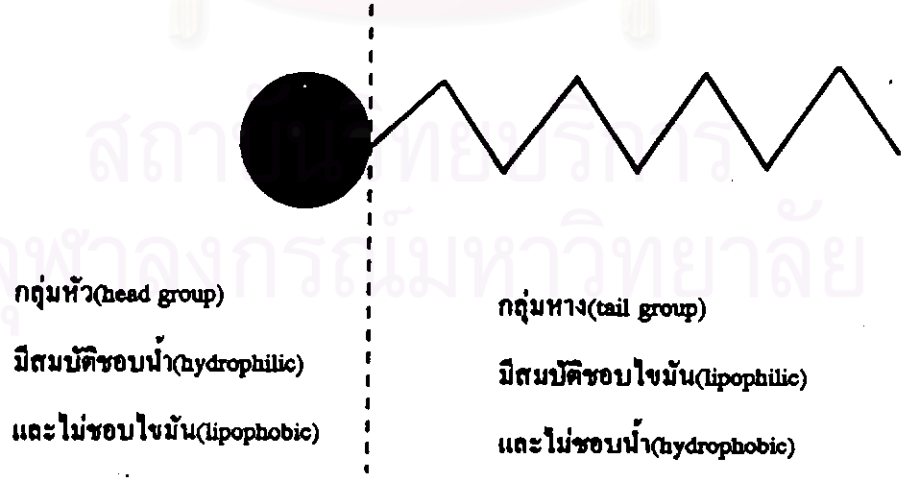
บทที่ 1

บทนำ

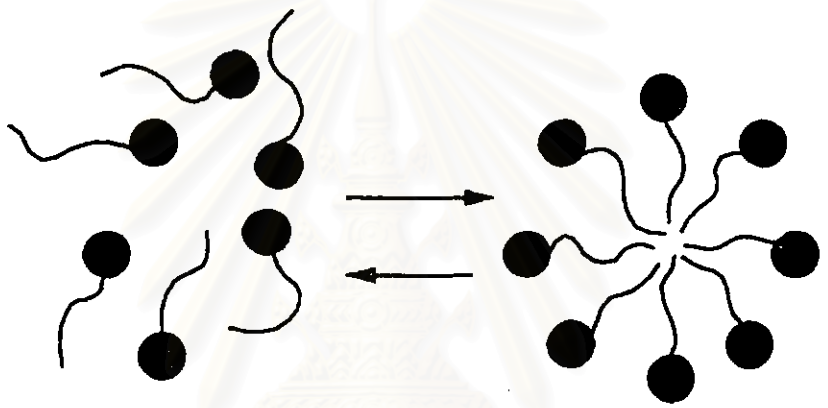
สารลดแรงตึงผิว (surfactant) มีโครงสร้างของโมเลกุลเป็นแบบแอมฟิฟิลิก (amphiphilic) ประกอบด้วย 2 ส่วน คือ ส่วนที่ชอบตัวทำละลาย และส่วนที่ไม่ชอบตัวทำละลาย ส่วนหนึ่งจะเป็นส่วนไฮโดรฟิลิก (hydrophilic) คือส่วนที่ชอบน้ำอีกส่วนหนึ่งเป็น ไฮโดรโฟบิก (hydrophobic) คือ ส่วนที่ไม่ชอบน้ำ เมื่ออยู่ในสารละลายโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวจะสะสมอยู่บริเวณผิว (surface) ของตัวทำละลายและส่งผลให้เกิดการลดค่าแรงตึงผิวของตัวทำละลายนั้น ค่าแรงตึงผิว (surface tension) มีหน่วยเป็น มิลลินิวตันต่อเมตร (mN/m) หรือ ไดน์ (dyne) โดยทั่วไปสารลดแรงตึงผิวสามารถทำหน้าที่ลดแรงตึงผิวระหว่างสองพื้นผิวที่ประจันกันได้ เช่น ลดแรงตึงผิวระหว่างของแข็งกับของเหลว ระหว่างของเหลวกับของเหลว และระหว่างของเหลวกับก๊าซ ค่าแรงตึงผิวระหว่างพื้นผิวของสารที่ประจันกันนี้เรียกว่า ค่า interfacial tension

โครงสร้างโดยทั่วไปของสารลดแรงตึงผิวแสดงดังรูปที่ 1.1 ส่วนหัว (head group) คือส่วนที่ชอบน้ำ และไม่ชอบไขมันมีสมบัติมีขั้ว ส่วนหาง (tail group) คือส่วนที่ไม่ชอบน้ำ แต่ชอบไขมัน และมีสมบัติไม่มีขั้ว



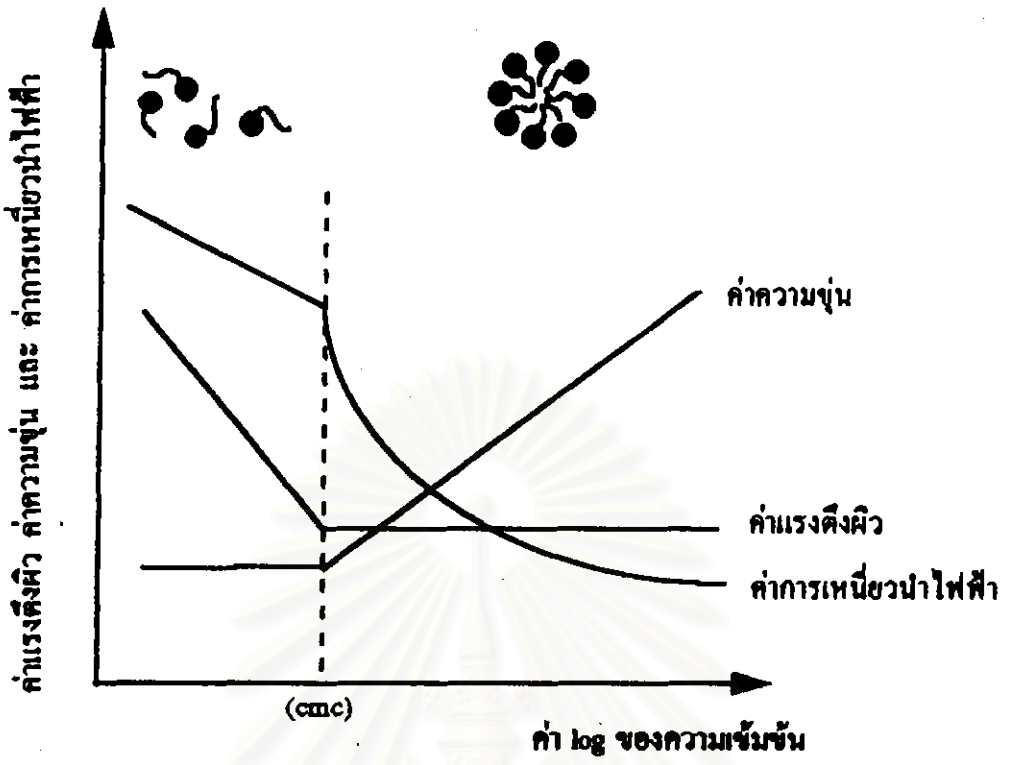
รูปที่1.1 โครงสร้างโดยทั่วไปของสารลดแรงตึงผิว (Davies และ Rideal ,1961)

เมื่อสารลดแรงตึงผิวมีความเข้มข้นสูงในตัวทำละลาย โมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวจะหันส่วนที่ไม่ชอบตัวทำละลายเข้าหากัน ด้วยแรงขับสำหรับการรวมตัวของสารลดแรงตึงผิว (surfactant self-association) เกิดเป็นโครงสร้างที่ เรียกว่า ไมเซลล์ (micelle) ขึ้น ดังรูปที่ 1.2 ความเข้มข้น ณ. จุดที่ทำให้โมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวมารวมตัวกันนี้เป็นคุณสมบัติเฉพาะของสารลดแรงตึงผิวแต่ละชนิดเรียกความเข้มข้น ณ จุดนี้ว่า critical micelle concentration (cmc) ลักษณะการเกิดไมเซลล์ แสดงดังรูปที่ 1.2



รูปที่ 1.2 การเกิดไมเซลล์ของโมเลกุลสารลดแรงตึงผิว (Davies และ Rideal ,1961)

การเกิดไมเซลล์จะมีผลต่อค่าแรงตึงผิวของสารละลาย เมื่อความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวในสารละลายเพิ่มขึ้น ค่าแรงตึงผิวของสารละลายจะลดลงจนถึงจุด critical micelle concentration ค่าแรงตึงผิวของสารละลายจะไม่ลดลงอีก ถึงแม้ว่าความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวในสารละลายจะยังคงเพิ่มขึ้นอยู่ทั้งนี้ เนื่องจากโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวในสารละลายจะรวมตัวกันเป็นไมเซลล์ แต่เมื่อวัดค่าความขุ่นของสารละลายพบว่าค่าความขุ่นของสารละลายยังคงเพิ่มขึ้น ตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นของสารลดแรงตึงผิว และค่าการเหนี่ยวนำไฟฟ้า ของสารละลายจะลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวเพิ่มขึ้นดัง รูปที่ 1.3 (Davies และ Rideal ,1961)



รูปที่ 1.3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวในสารละลายกับค่าแรงตึงผิว ค่าความขุ่น และค่าการเหนี่ยวนำไฟฟ้าของสารละลาย (Davies และ Rideal ,1961)

สารที่ละลายได้ยากในน้ำ เช่น สารอินทรีย์ประเภทไฮโดรโฟบิก ถ้านำไปละลายในสารละลายไมเซลล์ ขีดการละลายของสารอินทรีย์จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ทั้งนี้เนื่องจากโมเลกุลของสารอินทรีย์จะกระจัดกระจายเข้าไปอยู่ภายในไมเซลล์ของสารลดแรงตึงผิว และส่วนที่ไม่ชอบน้ำของสารลดแรงตึงผิวที่อยู่ภายในไมเซลล์จะทำหน้าที่เพิ่มการละลาย การละลายจะเพิ่มมากยิ่งขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวสูงกว่าค่า critical micelle concentration (cmc) การละลายส่วนมากมักจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิว การใช้งานสารลดแรงตึงผิวในงานด้านต่างๆ ได้แก่สารทำเปียก (wetting agents), ตัวทำอีมัลสิไฟ (emulsifiers) demulsifiers, ตัวกระจาย (dispersants), สารยับยั้งการสึกกร่อน (corrosion inhibitors), สารทำให้เกิดฟอง (foam boosters), สารลดฟอง (defoamers), สบู่ (soaps), ดีเทอร์เจนท์ (detergents),ตัวทำ-ละลาย (solubilizers), สารต้านไฟฟ้าสถิตย์ (antistatic agents), สารขึ้นรูปพลาสติก (plasticizers) และชื่อที่เรียกตามโครงสร้าง ได้แก่ แอมฟิไฟล์ (amphiphiles), แอมฟิพาธ (amphipaths) เป็นต้น การใช้งานสารลดแรงตึงผิวในการตั้งตำหรับยาเตรียมและเครื่องสำอางค์ในประเทศไทยดูได้จากเอกสารอ้างอิง(พิมพรรณ พิทยานุกูล, 2533)

สารลดแรงตึงผิวธรรมชาติ (natural surfactants)

สารลดแรงตึงผิวสามารถพบได้ในธรรมชาติ ในสิ่งมีชีวิตทั่วไป และมีความสำคัญต่อสิ่งมีชีวิต เช่น ในเยื่อหุ้มเซลล์ที่มีฟอสโฟลิปิด (phospholipid) ฟอสโฟลิปิดนี้จะทำหน้าที่เป็นสารลดแรงตึงผิวในเยื่อหุ้มเซลล์

ในน้ำนมไขมันส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปไทรกลีเซอไรด์ แต่มีจำนวนน้อยที่อยู่ในรูปฟอสโฟลิปิด และ ไดกลีเซอไรด์ ซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิวที่ช่วยให้อิมัลชั่นในนมเสถียร ในระหว่างกระบวนการย่อย อาหารจำพวกไขมันจะถูกทำให้เป็นอิมัลชั่น โดยฟอสโฟลิปิด หรือไมโนกลีเซอไรด์ จากนั้นเอนไซม์ไลเปส (lipase) จากตับอ่อนจะย่อยไตรกลีเซอไรด์ ที่อยู่ในรูปของอิมัลชั่นน้ำมันในน้ำ (oil/water) อิมัลชั่นนี้จะถูกเปลี่ยนให้เป็นกรดไขมันอิสระและไมโนกลีเซอไรด์ ซึ่งทั้งสองเป็นสารลดแรงตึงผิวที่แรง และสามารถเกิดไมเซลล์ร่วมกับเกลือน้ำดี ได้เป็นไขมันละลายง่าย (solubilised fat) ที่จำเป็นซึ่งสามารถผ่านผนังลำไส้ได้ เกลือน้ำดี ซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิวนี้จะผลิตขึ้นในตับและนำไปเก็บไว้ในถุงน้ำดี สารลดแรงตึงผิวที่พบในระบบเลือดได้แก่ ซีรัมอัลบูมินซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารก่ออิมัลชั่นที่ดี และยังสารลดแรงตึงผิวที่ได้จากธรรมชาติอื่นๆ เช่น อคาเซีย(acacia) เจลาติน(gelatin) ลาโนลิน(lanolin) ขี้ผึ้ง(beewax) และเลซิติน (lecithin) เป็นต้น (Clint,1992)

สารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ (Synthetic surfactants) (Clint ,1992)

การดำเนินกิจกรรมและกระบวนการต่าง ๆ ทั้งในบ้านเรือนและในโรงงานอุตสาหกรรมต้องอาศัยสารลดแรงตึงผิว ซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิวที่ได้จากการสังเคราะห์มากกว่าสารลดแรง-ตึงผิวที่ได้จากธรรมชาติ สารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ที่ผลิตได้จากปิโตรเลียมเช่น แอลกอฮอล์ อัลคิลเบนซิน อัลคิลฟีนอล หรือผลิตจากวัตถุดิบธรรมชาติเช่น ได้จากน้ำมันพืช น้ำมันสัตว์ และไขมัน กรดไขมันและอัลกอฮอล์ คาร์โบไฮเดรต เป็นต้น โดยผ่านกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางเคมี ตัวอย่างของสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ที่ดีที่สุดคือ ดีเทอร์เจนท์ (detergent) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในการทำความสะอาด โดยมีส่วนประกอบหลักเป็นสารลดแรงตึงผิว สบู่เป็นดีเทอร์เจนท์ที่มีปรากฏตั้งแต่สมัยโรมัน ในตอนแรกสบู่ถูกผลิตขึ้นภายในครัวเรือน ต่อมาเมื่ออุตสาหกรรมขนสัตว์ได้เจริญเติบโตขึ้นเป็นผลให้มีโรงงานผลิตสบู่เพื่อเป็นการค้าขึ้นในศตวรรษที่ 13 แม้ว่าสบู่ยังคงมีมูลค่ามากและมีแนวโน้มที่จะเพิ่มมากขึ้นแต่ก็มีการแนะนำสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ขึ้น ในปี 1940 เป็นการเริ่มต้นของวิวัฒนาการของผลิตภัณฑ์ทำความสะอาด ทั้งใน

บ้านเรือน และโรงงานอุตสาหกรรม ปัจจุบันทั่วโลกได้มีการใช้ผลิตภัณฑ์สารลดแรงตึงผิว ประมาณ 1,000,000 ตันต่อปี ซึ่งนอกจากใช้ในบ้านเรือนแล้ว ในอุตสาหกรรมใหญ่ๆก็มีการใช้สารลดแรงตึงผิวเช่น อุตสาหกรรมการฟอกย้อม อุตสาหกรรมเส้นใย อุตสาหกรรมถลุงแร่ อุตสาหกรรมน้ำมัน อุตสาหกรรมยาฆ่าแมลง อุตสาหกรรมยา และอุตสาหกรรมพลาสติก ซึ่งแต่ละชนิดเป็นอุตสาหกรรมหลัก และทั้งหมดต่างใช้สารลดแรงตึงผิว จึงจัดได้ว่าสารลดแรงตึงผิว มีบทบาทที่สำคัญยิ่ง ในทางเศรษฐกิจ(Clint,1992)

<u>ชนิดของสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ (Clint ,1992)</u>

สารลดแรงตึงผิวส่วนใหญ่เป็นสารละลาย ซึ่งประกอบด้วยส่วนของโมเลกุลแอมฟิฟิลิก 2 ส่วนได้แก่ ส่วนที่ชอบน้ำ (hydrophilic) และส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) เราสามารถจำแนกชนิดของสารลดแรงตึงผิว โดยอาศัยความแตกต่างในโครงสร้างของโมเลกุล ได้ดังนี้

1. กลุ่มชอบน้ำ (hydrophilic)

สามารถแบ่งกลุ่มของ สารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ ตามโครงสร้างของโมเลกุล ความแรงของขั้ว และ ประจุ ของกลุ่มที่ชอบน้ำหรือกลุ่มหัว (head group)

1.1 Anionic surfactants (สารลดแรงตึงผิวประจุลบ) ตัวอย่างของสารลดแรงตึงผิวกลุ่มนี้ประกอบด้วยสบู่ ($-CO_2^-$) และสารดีเทอร์เจนสังเคราะห์ในยุคต้นๆ ซึ่งประกอบด้วย ซัลโฟเนต (sulphonates($-SO_3^-$)) และซัลเฟต (Sulphates ($-SO_4^-$)) ทั้งหมดยังคงเป็นสารลดแรงตึงผิวที่นิยมใช้ในงานทำความสะอาด โดยที่ซัลโฟเนต (sulphonates) และซัลเฟต (sulphates) มีสมบัติเหนือกว่าคาร์บอกซิเลต (carboxylates) โดยสามารถทนต่ออิออนของโลหะในน้ำกระด้างได้ดีมาก

1.2 Cationic surfactants (สารลดแรงตึงผิวประจุบวก) มักจะเป็นพวกควอเทอร์นารีแอมโมเนียม (quaternary ammonium), อิมมิดาโซลิเนียม (imidazolinium) หรือสารประกอบอัลคิล ไพริดิเนียม (alkyl pyridinium) ในทางปฏิบัติประจุบวกที่กลุ่มหัว (head group) ของมันจะทำให้สามารถจับกับประจุลบบนเส้นใย เช่น ฝ้าย และ ผม ได้แน่นมาก จึงนิยมใช้ในงานที่เกี่ยวกับกับผ้า และในครีมนวดผม

1.3 Zwitterionic surfactants หรือ Amphoteric surfactant เป็นสารลดแรงตึงผิวที่โครงสร้างของโมเลกุลประกอบด้วยทั้งประจุลบ และประจุบวก มีโครงสร้างของบีเทน (betaines

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

($-N^{+}(CH_3)_2\ CH_2\ SO^{-}_3$)) หรือ ซัลโฟบีเทน (sulphobetaines ($-N^{+}(\ CH_3)_2CH_2SO^{-}_3$)สารประกอบกลุ่มนี้ให้ความละมุนต่อผิวหนังมากกว่า Anionic surfactants และระคายเคืองตาน้อยมาก จึงนิยมใช้กับแชมพูเด็ก

1.4 Non-ionic surfactants เป็นสารลดแรงตึงผิวที่ไร้ประจุ ตัวอย่างที่สำคัญ ได้แก่ เอธทอกซิเลต (ethoxylate ($-(OCH_2\ CH_2\ )n\ OH$) ที่ใช้งานอย่างกว้างขวางสำหรับการชะล้างโดยสามารถทำให้เกิดอีมัลชั่นที่อุณหภูมิต่ำ สารลดแรงตึงผิวในกลุ่มนี้ เรียกว่า สารประกอบเซมิโพลาร์ (semi-polar) เช่น amine oxides , sulphoxide และ phosphine oxides โครงสร้างของโมเลกุลส่วนใหญ่มักจะประกอบด้วยเอธิลีน ออกไซด์ (ethylene oxide chain) ซึ่งเป็นส่วนที่ชอบน้ำ (hydrophilic part) ข้อดีของสารกลุ่มนี้คือ ไม่เป็นพิษ สามารถใช้ได้กับค่าความเป็นกรด-ด่างในช่วงกว้าง

1.5 Combination surfactants คือสารลดแรงตึงผิวที่รวมเอากลุ่มหัว (head group) ที่กล่าวมาแล้วข้างต้นในข้อ 1.1,1.2,1.3 และ1.4 ไว้ในสารลดแรงตึงผิวชนิดเดียว โดยทั่วไปจะรวมเอาทั้งกลุ่ม non-ionic และกลุ่ม anionic เข้าไว้ เช่น alkyl ethoxy sulphates ($-(OCH_2\ CH_2)n\ OSO^{-}_3$) สารลดแรงตึงผิวในกลุ่มนี้มีความละมุนต่อผิวหนัง จึงมักใช้กับผลิตภัณฑ์ที่ผิวหนังมักสัมผัสด้วย เช่น น้ำยาล้างจาน และแชมพู

2. กลุ่มไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic group)

ส่วนนี้ของสารลดแรงตึงผิวจะเป็น ส่วนหาง (tail group) และโดยทั่วไปจะเป็นกลุ่มไฮโดรคาร์บอน (hydrocarbon) ส่วนหางของสารลดแรงตึงผิวประเภทสบู่ มักจะเป็นกลุ่มอัลคิล(alkyl group) ที่อยู่ในรูปกรดไขมันที่ได้จากการย่อยไขมันและน้ำมัน ในยุคต้นๆ สบู่ประกอบด้วยอัลคิล เบนซีน ซัลโฟเนต (alkyl benzene sulphonates) ซึ่งเป็นกลุ่มอัลคิลที่มักจะมีกิ่งบนสายโซ่ สายอัลคิลที่มีกิ่งนี้จะย่อยสลายทางชีวภาพได้ยาก จึงยังคงตกค้างอยู่ในน้ำทิ้งที่บำบัดแล้วเป็นเหตุให้เกิดฟองในแม่น้ำลำธาร อย่างไรก็ดีได้มีการใช้อัลคิล เบนซีน ซัลโฟเนต ที่มีโครงสร้างเป็นสายตรงแทน ซึ่งสามารถย่อยสลายทางชีวภาพได้ และเพื่อให้ปลอดภัยต่อสภาวะแวดล้อมยิ่งขึ้น ได้มีการทำให้กลุ่มหาง(tail group)ของสบู่ปราศจากสารประกอบอะโรมา-ติก (aromatic)ซึ่งย่อยสลายทางชีวภาพได้ยาก

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (Biosurfactant)

สารลดแรงตึงผิวที่ผลิตโดยจุลินทรีย์ มักจะเป็นสารจำพวกไขมัน (lipids) คุณสมบัติของสารลดแรงตึงผิวเหล่านี้ เป็นผลมาจากการรวมกันของความมีขั้วและไม่มีขั้วไว้ในโมเลกุลเดียว ความไม่มีขั้วหรือส่วนที่ไม่ชอบน้ำจะเป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนทั่วไป ตัวอย่างเช่น สายโซ่ไฮโดรคาร์บอนของกรดไขมัน ความมีขั้วหรือกลุ่มที่ชอบน้ำเช่น กลุ่มที่ทำหน้าที่ เอสเทอร์และแอลกอฮอล์ของไขมัน ฟอสเฟตที่เป็นส่วนประกอบของฟอสโฟลิปิด และน้ำตาลของไกลโคลิปิด (Cooper และคณะ, 1980)

ในการผลิตสารลดแรงตึงผิวจากจุลินทรีย์ วิธีการวัด surface activity ที่ใช้บอกคุณภาพของสารลดแรงตึงผิวเป็นสิ่งสำคัญ ส่วนใหญ่ใช้วิธีวัดจากส่วนใสของน้ำเลี้ยงเชื้อที่ได้หลังจากผ่านการเลี้ยงเชื้อ โดยค่าแรงตึงผิวของน้ำกลั่นจะเท่ากับ 72 mN/m พบว่าเซลล์เพาะเลี้ยง *Corynebacterium lepus* สามารถลดแรงตึงผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อจาก 72 mN/m ลงมาต่ำกว่า 30 mN/m ในระหว่างการเลี้ยงเชื้อ อย่างไรก็ดี เมื่อมีการผลิตสารลดแรงตึงผิวมากเกินพอการเจือจางส่วนใสของน้ำเลี้ยงเชื้อเพื่อเพิ่มค่าแรงตึงผิวให้ถึงจุด critical micelle concentration (cmc) นั้นเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการหาปริมาณของสารลดแรงตึงผิวโดยคร่าวๆ (Cooper และคณะ, 1979)

วิธีอื่นที่ใช้วัดหาค่า surface activity มีหลายวิธีเช่น การวัดค่า interfacial tension ความเสถียรของอีมัลชั่นระหว่างน้ำและน้ำมันก็เป็นวิธีหนึ่งที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย การเกิดฟอง การวัดความสามารถในการกระจายน้ำมัน (oil displacement) นอกจากนี้พบว่าการแตกของโปรโตพลาสต์ และการยับยั้งการแข็งตัวของเลือด ก็เป็นคุณสมบัติหนึ่งของสารลดแรงตึงผิว-ชีวภาพ (Arima และคณะ, 1968 ; Cooper และคณะ, 1987 ; Morikawa และคณะ, 1993)

ความสามารถในการทำให้น้ำและน้ำมันรวมกันเป็นอีมัลชั่นได้นี้ เป็นคุณสมบัติที่สำคัญสำหรับจุลินทรีย์หลายชนิด จุลินทรีย์เหล่านี้ส่วนใหญ่สามารถใช้สารประกอบไฮโดรคาร์บอนเป็นแหล่งคาร์บอนได้ซึ่งรวมทั้งที่มีโครงสร้างเป็นสายตรง มีกิ่งบนโครงสร้าง เป็นไซคลิก-อัลเคน (cyclic alkanes) เป็นอัลคีน (alkenes) และเป็นอะโรมาติก (aromatics) จุลินทรีย์ที่สามารถใช้สารประกอบไฮโดรคาร์บอนในน้ำเป็นแหล่งอาหารได้ จะต้องมีความสามารถในการผลิตสารลดแรงตึงผิว สารลดแรงตึงผิวที่จุลินทรีย์ผลิตจะทำให้เกิดอีมัลชั่นระหว่างน้ำกับน้ำมันเป็นผลทำให้น้ำมันมีสภาพเป็นหยดเล็กๆอยู่ในน้ำเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวระหว่างน้ำกับน้ำมัน พื้นที่ผิวเหล่านี้ช่วยส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์โดยทำให้จุลินทรีย์สัมผัสกับน้ำมันได้มากขึ้นดังนั้นการเพิ่มขึ้นของสารลดแรงตึงผิวในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีทั้งน้ำและน้ำมันจะช่วยกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์ได้ (Cooper และ Zajic , 1980)

ประโยชน์ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพถูกใช้ทำความสะอาดคราบน้ำมันทั้งในน้ำและบนดิน จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวได้ถูกเติมลงในน้ำมันเพื่อให้ใช้น้ำมันเป็นแหล่งอาหาร จุลินทรีย์จะผลิตสารลดแรงตึงผิวเพื่อให้ตัวมันเข้าถึงน้ำมันได้ดีขึ้น จึงทำให้เกิดการย่อยสลายน้ำมันทางชีวภาพ ทั้งจากตัวจุลินทรีย์ที่ผลิตสารลดแรงตึงผิวเองและจากจุลินทรีย์ชนิดอื่น ถ้าคราบน้ำมันอยู่บนผิวน้ำ การเติมสารลดแรงตึงผิวจะช่วยให้น้ำมันกระจายตัวออกไป ในประเทศคูเวตได้มีการใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตจากแบคทีเรียในการทำความสะอาดถังเก็บน้ำมัน (Banatและคณะ,1994) ประโยชน์ที่สำคัญของสารลดแรงตึงผิวทางชีวภาพ คือ ช่วยให้จุลินทรีย์เจริญบนสารประกอบไฮโดรคาร์บอนได้ดี และผลิตผลิตภัณฑ์ที่เป็นประโยชน์ออกมาจำนวนมาก ตัวอย่างของการนำสารลดแรงตึงผิว มาใช้ในกระบวนการผลิต ได้แก่ ในกระบวนการผลิต single-cell protein กรดอะมิโน น้ำตาล polysaccharides กรด-นิวคลีอิก (nucleic acids) วิตามิน และรงควัตถุ (pigment) แม้ว่ามันจะมีประโยชน์แต่ในทางตรงข้าม สารลดแรงตึงผิวทางชีวภาพ สามารถก่อให้เกิดปัญหาได้เช่นกัน จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในถังน้ำมันเชื้อเพลิง และความสามารถในการทำให้เกิดอิมัลชั่นของมัน ทำให้น้ำแพร่เข้าไปในน้ำมันได้ และทำให้ถังน้ำมันเกิดสนิม (Cooper และ Zajic , 1980; Fiechter,1992)

การจัดกลุ่มสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

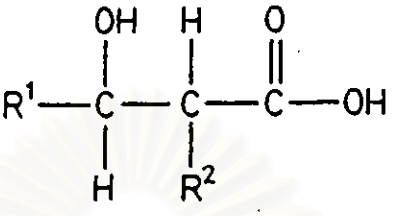
สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ สามารถจัดกลุ่มตามโครงสร้างทางเคมีออกเป็น 4 กลุ่มใหญ่ด้วยกัน คือ

1 . สารลดแรงตึงผิวที่มีส่วนประกอบของคาร์โบไฮเดรต (carbohydrate-containing surfactants)

1.1 Trehalose lipids โดยปกติสารลดแรงตึงผิวและสารก่ออิมัลชั่น ที่สร้างจากจุลินทรีย์มักมีสมบัติเป็นพวกไกลโคลิปิด ในกรณีนี้มีไดแซคคาไรด์ ทรีฮาโลส ซึ่งจะถูกปล่อยออกมานอกเซลล์ของ Coryneform และแบคทีเรียสายพันธุ์ใกล้เคียง

ทรีฮาโลสลิปิด เป็นสารก่ออิมัลชั่น ที่ดีมากแยกได้จาก*Arthrobacter paraffineus* KY4303 ที่เลี้ยงในอาหาร n-paraffins พบว่าแต่ละโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวจะประกอบด้วย

ทรีฮาโลส และกรดไขมัน 2 ตัว คือ β-hydroxy α-branched fatty acids รวมเรียกว่า corynomycolic acids ซึ่งแสดงโครงสร้างดังรูปที่ 1.4



รูปที่ 1.4 โครงสร้างของ corynomycolic acids :R^1 และ R^2 จะถูกแทนที่ด้วยกลุ่ม อัลคิล (Cooper และคณะ 1979)

R1 มีจำนวนคาร์บอนอะตอมอยู่ระหว่าง 18 ถึง 23 อะตอม และ R2 มีจำนวนคาร์บอนอะตอมอยู่ระหว่าง 7 ถึง 12 ตัว ทรีฮาโลสลิปิด ที่แยกได้จาก *A. paralffineus* ที่เจริญบนอัลเคน (alkane) จะสังเกตเห็นอีมัลชั่นของไฮโดรคาร์บอนกับส่วนที่เป็นน้ำ (Suzuki และคณะ,1969) สามารถแยกทรีฮาโลสลิปิดจาก Nocardia ที่เจริญบนอัลเคนได้ ซึ่งทรีฮาโลสลิปิดนี้จะมีปริมาณน้อยมาก เมื่อจุลินทรีย์ชนิดนี้เจริญบนกลีเซอรอล ทรีฮาโลสลิปิด จะก่อให้เกิดอีมัลชั่นระหว่างน้ำกับสารประกอบไฮโดรคาร์บอน และกระตุ้นการเจริญของ Nocardia บนไฮโดรคาร์บอน การเติม ทรีฮาโลสลิปิดที่บริสุทธิ์ลงในขวดเขย่าเล็กน้อยก่อนการเติมหัวเชื้อ จะทำให้น้ำหนักแห้งของเซลล์เพิ่มขึ้น ส่วนใหญ่ ทรีฮาโลสลิปิด มีลักษณะเฉพาะโดยทั่วไปเหมือนกัน คือโครงสร้าง α - branched β - hydroxy fatty acids 2 ตัว เชื่อมด้วยพันธะเอสเทอร์กับโมเลกุลทรีฮาโลส กรดตัวหนึ่งเชื่อมด้วยพันธะเอสเทอร์กับ glucose dimer 2 โมเลกุล (Rapp และ Wagner ,1976 อ้างถึงใน Cooper และ Zajic,1980)

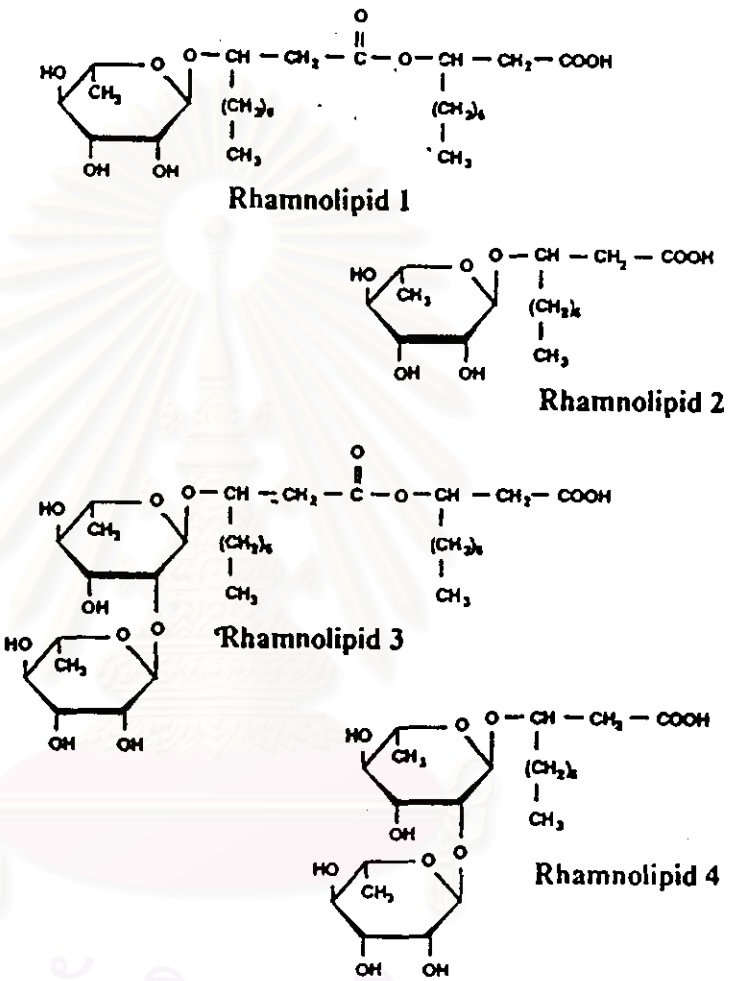
พบว่าสามารถเพิ่มการผลิตไกลโคไลปิดให้มากขึ้นได้ โดยเปลี่ยนแหล่งอาหารที่ใช้ในการเจริญของแบคทีเรีย ตัวอย่างเช่นเมื่อ Arthrobacter , Corynebacterium และ Nocardia เจริญบนซูโครส หรือฟรุกโตส ส่วนที่เป็นทรีฮาโลสของทรีฮาโลสลิปิดจะมีการเปลี่ยนแปลง เมื่อใช้ซูโครสเป็นแหล่งอาหาร จะได้ 2 sucrose glycolipids ที่มี corynomycolic 1 หรือ 2 โมเลกุล (Suzuki และคณะ,1974) เมื่อใช้ฟรุกโตสเป็นแหล่งอาหารจะได้ fructose 6-corynomycolate และ fructose 1.6-dicorynomycolate (Itoh และคณะ,1974)

1.2 Rhamnolipid เป็นไกลโคลิปิดที่ประกอบด้วย น้ำตาลแรมโนส และ β-hydroxy-carboxylic acids ที่พบได้จาก *Pseudomonas aeruginosa* โดยแรมโนลิปิดตัวแรกที่พบมีลักษณะเฉพาะ คือ ประกอบด้วย แรมโนส 2 โมเลกุล และ β-hydoxydecanoic 2 โมเลกุล โครงสร้างของสารประกอบนี้เป็น 2-O-α-L-rhamnopyranosyl-α-L-rhamnopyranosyl-β-hydroxydecanoyl-β-hydroxydecanoate ดังแสดงไว้ในรูปที่ 1.5 (Rhamnolipid 1) (Edwards และคณะ,1965 อ้างถึงใน Cooper และZajic,1980) แรมโนลิปิดต่างจากทรีฮาโลสลิปิดตรงที่กรดไขมันไม่ได้เชื่อมต่อกับน้ำตาลด้วยพันธะเอซิล (acyl) ไฮดรอกซิลของกรดตัวที่หนึ่งจะจับกับคาร์โบไฮเดรตของกรด ตัวที่สองด้วยเหตุนี้จึงมีกลุ่ม carboxyl อิสระในไกลโคลิปิด พบแรมโนลิปิดตัวที่สอง (แรมโนลิปิด 2) ซึ่งคล้ายกับแรมโนลิปิด 1 แต่มีแรมโนสเพียงหน่วยเดียว (ดังแสดงโครงสร้างไว้ในรูปที่ 1.5) คาดว่าแรมโนลิปิด 2 จะเป็นสารตั้งต้น(precursor) ของแรมโนลิปิ 1 (Itoh และคณะ, 1971 อ้างถึงใน Cooper และZajic,1980)

จากการวัดสมบัติสารลดแรงตึงผิวของไขมันแรมโนลิปิด 1 พบว่าค่าแรงตึงผิวต่ำสุดของสารละลายแรมโนลิปิด 1 ในบัฟเฟอร์ 0.1 M $NaHCO_3$ มีค่าต่ำกว่า 40 mN/m ค่า critical micelle concentration ประมาณ 0.006 % และสามารถทำให้เกิดอีมัลชั่นที่เสถียรมากโดยพบว่าอีมัลชั่นที่ได้มีความเสถียรมากกว่าอีมัลชั่นที่ได้จากสารลดแรงตึงผิวทางการค้า 2 ชนิด คือ ทวีน 20 และ Noigen EA 141 มีข้อสันนิษฐานว่าหน้าที่ของแรมโนลิปิด ที่ผลิตออกนอกเซลล์ของ *P. aeruginosa* นั้นมีหน้าที่ทำให้แหล่งไฮโดรคาร์บอนเกิดอีมัลชั่น เนื่องจากพบว่า *P. aeruginosa* จะสร้างแรมโนลิปิดมากกว่าในขณะที่เจริญบนไฮโดรคาร์บอนเมื่อเปรียบเทียบกับกลูโคส จากการทดลองแยกแรมโนลิปิด และทำให้บริสุทธิ์ เพื่อหาผลกระทบเมื่อเพิ่มสารนี้ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ยังไม่มีการเติมหัวเชื้อลงไป พบว่าการเพิ่มขึ้นของอัตราการเจริญของ *P. aeruginosa* แปรผันโดยตรงกับการเพิ่มขึ้นของปริมาณแรมโนลิปิด และเพิ่มขึ้นสูงสุดเมื่อปริมาณแรมโนลิปิดเท่ากับ 0.0025% สารลดแรงตึงผิวทางการค้าก็สามารถกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์ได้เช่นกัน แต่ยังไม่พบว่าสารลดแรงตึงผิวชนิดใดมีผลกระตุ้นการเจริญของ *P. aeruginosa* เมื่อเจริญบนกลูโคส แรมโนลิปิด 1 สามารถกระตุ้นการเจริญของ *P. aeroginosa* สายพันธุ์อื่นได้เมื่อเจริญบน n-hexadecane แต่ไม่สามารถกระตุ้นการเจริญของแบคทีเรียชนิดอื่นๆ บน n-hexadecane ได้ (Hisatsuka และคณะ, 1971)

Itoh และ Suzuk ในปี 1972 แสดงให้เห็นว่า แรมโนลิปิด 2 หรือ แรมโนลิปิด 1 นั้น มีความจำเป็นสำหรับการเจริญของ *P. aeroginosa* บนไฮโดรคาร์บอน โดยทำการแยกสายพันธุ์กลายพันธุ์ของ *P. aeruginosa* ที่ไม่สามารถเจริญบนไฮโดรคาร์บอนและไม่สามารถสร้างแรมโนลิ-ปิดได้ เมื่อเติมแรมโนลิปิด 1 หรือ แรมโนลิปิด 2 ที่แยกได้จากสายพันธุ์อื่นลงในอาหารเลี้ยง

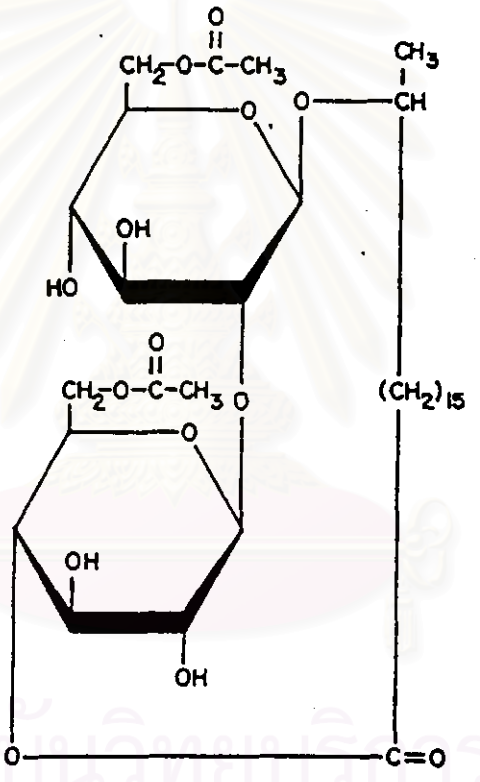
เชื้อพบว่าสายพันธุ์กลายพันธุ์จะสามารถเจริญได้ดีบนไฮโดรคาร์บอน ทรียาโลสลิปิดที่แยกได้จาก Nocardia หรือ Corynebacterium สามารถกระตุ้นการเจริญของ *P. aeruginosa* สายพันธุ์กลายพันธุ์ที่เจริญบนไฮโดรคาร์บอนได้บ้างแต่น้อยกว่าแรมโนลิปิด ต่อมาได้มีการพบแรมโนลิปิดอีก 2 ชนิดคือ แรมโนลิปิด 3 และแรมโนลิปิด 4 สำหรับโครงสร้างได้แสดงไว้ในรูปที่ 1.5 (Fiechter,1992)



รูปที่ 1.5 แสดงโครงสร้างที่แตกต่างกัน 4 แบบ ของแรมโนลิปิดทั้ง 4 ชนิด ซึ่งสังเคราะห์โดย *Pseudomonas aeruginosa* DSM 2659 RL1 และ RL3 นั้นพบได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ส่วน RL2 และ RL4 พบได้เฉพาะในระยะพักของเซลล์เท่านั้น (Kosaric,1993)

1.3 Sophorose lipids เป็นสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดย ยีสต์สายพันธุ์ Torulopsis ซึ่งผลิตไกลโคลิปิดที่คล้ายกับแรมโนลิปิด ไม่มีการศึกษาถึงขีดความสามารถในการลดแรงตึงผิวของไขมันชนิดนี้ อย่างไรก็ดีสารนี้สามารถก่อให้เกิดอิมัลชั่นซึ่งจำเป็นต่อจุลินทรีย์ในการหมักไฮโดรคาร์บอน

Gorin และคณะ (1961) แยก โซโฟโรสลิปิด ตัวแรกจาก *Torulopsis magnoliae* ซึ่งคล้ายกับแรมโนลิปิด 1 จาก *P. aeruginosa* คือ ประกอบด้วย disaccharide (เช่น โซโฟโรส) เชื่อมด้วยพันธะไกลโคซิดิกกับหมู่ไฮดรอกซิลของกรด hydroxycarboxylic และไม่เหมือนแรมโนลิปิด1 ตรงที่มีกรดไขมันเพียง 1 ตัว และมีอะซิเตต 1 หรือ 2 กลุ่มติดอยู่กับ sophorose ด้วยพันธะเอซิล นอกจากนี้พบว่ากลุ่มไฮดรอกซิลไม่ได้อยู่บนตำแหน่ง β- Carbons ของกรดไขมันแต่อยู่บนคาร์บอนตัวรองสุดท้ายของสายอัลคิล สำหรับโซโฟโรสลิปิดที่แยกได้จาก *Torulopsis gropengiesseri* พบว่าทั้งกลุ่มไฮดรอกซิล และ กลุ่มคาร์บอกซิลของกรดไขมันเชื่อมต่อกับโซโฟโรส ทำให้เกิด Macrocyclic lactose ring สำหรับโครงสร้างแสดงไว้ในรูปที่ 1.6



รูปที่ 1.6 โครงสร้าง lactone ของ sophorose lipid จาก Torulopsis (Cooper และคณะ, 1979)

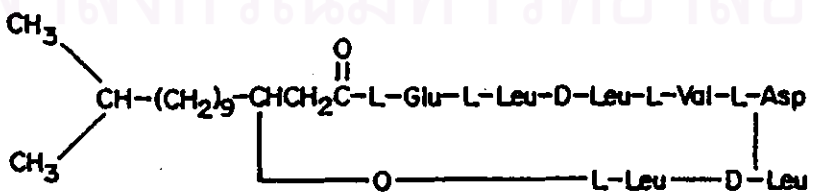
ในการผลิตโซโฟโรสลิปิด โครงสร้างและปริมาณของโซโฟโรสลิปิดสามารถได้รับ ผลกระทบจากการเติมซับสเตรทตัวที่ 2 ได้ โซโฟโรสลิปิดเป็นสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีขีดความสามารถอยู่ในระดับที่น่าสนใจ สามารถปรับปรุงการผลิตโซโฟโรสลิปิดได้โดยเปลี่ยนสภาวะการเจริญ และ เปลี่ยนสายพันธุ์ของ Torulopsis ที่ใช้ในการผลิต ยิ่งไปกว่านั้นการเติมซับสเตรทร่วมอาจทำให้ปริมาณ sophorose lipid ที่ได้สูงถึง 17 กรัมต่อลิตร (Tulloch และคณะ, 1962 อ้างถึงใน Cooper และ Zajic,1980)

1.4 Diglycosyl diglyceride คือ ไกลโคลิปิดที่ธรรมดาที่สุดที่พบในจุลินทรีย์ ขีดความสามารถของสารลดแรงตึงผิว glycosyldiglycerides ไม่มีการทดสอบไว้ อย่างไรก็ดี Brundish และคณะ (1967)(อ้างถึงใน Cooper และ Zajic,1980) ตั้งข้อสังเกตว่าโครงสร้างของสารลดแรงตึงผิวกลุ่มนี้ประกอบด้วย ส่วนหัวซึ่งเป็นโมเลกุลที่มีขั้วละลายน้ำได้ และส่วนหางที่ชอบไขมันซึ่งประกอบด้วยกลุ่ม อัลคิล 2 กลุ่ม

1.5 Polysaccharide-lipid complexes Kaeppeli และ Fiechter (1977) พบสารประกอบเชิงซ้อน Polysaccharide-Lipid ที่เชื่อม(bound)กับซับสเตรทไฮโดรคาร์บอนของยีสต์ *Candida tropicalis* สารประกอบนี้แยกได้จากผนังเซลล์ พบว่าสามารถทำให้เกิดอิมัลชั่นระหว่าง hexadecane กับน้ำได้ *Acinetobacter calcoacetieus* RAG-1 ผลิตสาร bioemulsifier ที่เรียกว่า Emulsan เป็น lipoheteropolysaccharide polyanionic ซึ่ง bioemulsifier นี้พบที่บริเวณผนังเซลล์ด้านนอกของแบคทีเรียกรัมลบ (Fiechter, 1992) Emulsan สามารถทำให้เกิดอิมัลชั่นที่เสถียรอยู่ได้ยาวนานและทนต่อการปั่นแยก นอกจาก Emulsan และสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในกลุ่มนี้แล้ว ก็ยังมี Biodispersan ซึ่งผลิตโดย *A.calcoaceticus* A 2 มีส่วนประกอบเป็น anionic hetero-polysaccharide และLiposan ซึ่งผลิตโดย *C.lipolytica* เป็นต้น (Kosaric, 1993)

2. สารลดแรงตึงผิวที่ประกอบด้วยกรดอะมิโน (amino acid-containg surfactant)

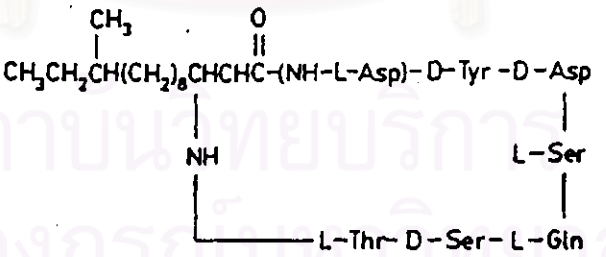
2.1 ไลโปเปปไทด์ (lipopeptide) ถูกแยกได้จากแบคทีเรียหลายชนิด แต่มีจำนวนน้อยที่มีคุณสมบัติของสารลดแรงตึงผิวที่ดี อย่างไรก็ดี ไลโปเปปไทด์ที่ผลิตโดย *Bacillus subtilis* เป็นสารลดแรงตึงผิวที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดที่ได้มีการรายงานในเอกสารอ้างอิง สารประกอบชนิดนี้มี 2 ชื่อ คือ Surfactin (เซอร์แฟกติน) (Arima และ คณะ,1968) และ Subtilysin (ซับติไลซิน) (Bernheimer และ Avigad, 1970) โครงสร้างแสดงดังรูปที่ 1.7



รูปที่ 1.7 โครงสร้างของเซอร์แฟกติน ซึ่งเป็นไลโปเปปไทด์ แยกได้จาก *Bacillus subtilis* (Cooper และคณะ, 1979)

เซอร์แฟกตินประกอบด้วยกรดอะมิโนยาว 7 ตัว เชื่อมต่อด้วยพันธะโควาเลนท์ โดยปลายข้างหนึ่งเชื่อมต่อกับกลุ่มคาร์บอกซิล และปลายอีกข้างต่อกับกลุ่มไฮดรอกซิลของ β-hydroxy fatty acid เซอร์แฟกตินเป็นสารลดแรงตึงผิวที่มีประสิทธิภาพดีเยี่ยมในการลดแรงตึงผิวโดยปริมาณเล็กน้อยเพียง 0.005%โดยน้ำหนักก็สามารถลดค่าแรงตึงผิวของ 0.1 m $NaHCO_3$ จาก 71.6 mN/m ลงเหลือ 27.9 mN/m คุณสมบัติเด่นของสารประกอบนี้คือสามารถย่อยเม็ดเลือดแดงของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และย่อยสเฟียโรพลาสท์ของแบคทีเรียได้ นอกจากนี้ยังช่วยยืดระยะเวลาการแข็งตัวของไฟบริน โดยยับยั้งการเปลี่ยนโมโนเมอร์ของไฟบรินไปเป็นโพลิเมอร์ของไฟบริน (Arima และคณะ, 1968)

แม้ว่าจะมีไลโปเปปไทด์หลายชนิดที่แยกได้จากแบคทีเรีย และมีโครงสร้างแบบ amphipathic แต่ความสามารถลดแรงตึงผิวพบว่ายังมีน้อยมาก (Takahara และ คณะ,1976; Peyoux และ คณะ,1976;Besson และ คณะ,1977;Walton และ Woodruff,1949 อ้างถึงใน Cooper และZajic,1980) ได้มีรายงานถึงการผลิตไลโพเพพไทด์ใน *Bacillus subtilis* ว่ามีการสร้างไลโพเพพไทด์อย่างน้อยอีก 2 ชนิดนอกเหนือจากเซอร์แฟกติน สารเหล่านี้คล้ายเซอร์แฟกตินตรงที่มี cyclic peptide เชื่อมต่อกับกรดไขมันดังตัวอย่างในรูปที่ 1.8 แต่มีความต่างจากเซอแฟกติน ตรงที่กรดในสารประกอบเหล่านี้มี β-amino ทำหน้าที่แทน β-hydroxyl เพพไทด์เหล่านี้สามารถย่อยสลาย (lytic)และมีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ (antimicrobial)



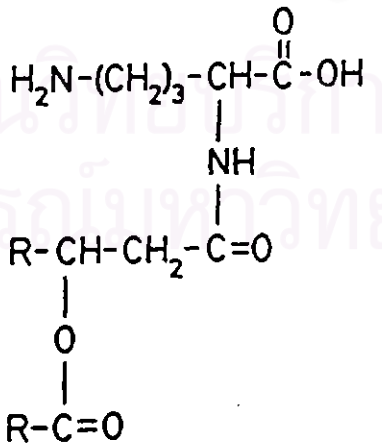
รูปที่ 1.8 analogs surfactin ตัวหนึ่งที่แยกได้จาก *Bacillus subtilis* ประกอบด้วย β-amino fatty acid แทนที่ β-hydroxy fatty acid (Cooper และคณะ, 1979)

Corynebacterium lepus ผลิตไลโปเปปไทด์ ซึ่งลดค่าแรงตึงผิวของน้ำกลั่นลงได้ถึง 52 mN/m (Cooper และ คณะ,1979) 35 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักของไลโพเพพไทด์ คือ โปรตีน

และที่เหลือเป็นกรดคาร์บอกซิลิกซึ่งประกอบด้วย กรดไขมันอิ่มตัว 25 เปอร์เซ็นต์ และกรด Corynomycolic อีก 75 เปอร์เซ็นต์ ไลโปเปปไทด์ทั้ง 2 ชนิดแสดงให้เห็นถึงช่วงกว้างของไอโซเมอร์ (isomer) ซึ่งเชื่อว่าเป็นผลมาจากการเจริญบนซับสเตรทที่ประกอบด้วยของผสมอัลเคน (mixture alkanes) (Cooper และคณะ, 1979)

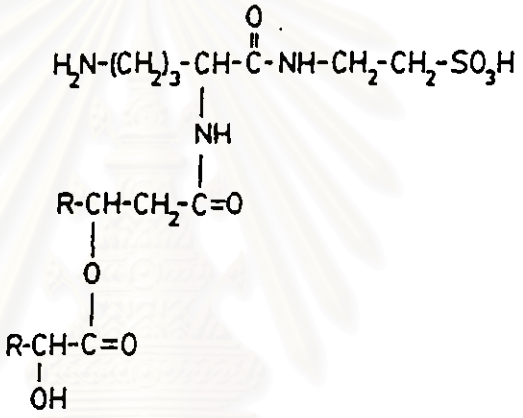
นอกจากนี้พบว่ามีความหลากหลายของไลโพเพพไทด์อื่นๆที่แยกได้เช่นจาก Asselineau (1966)(อ้างถึงใน Cooper และ Zajic ,1980) แยก Esperine จาก *Bacillus mesentericus* ซึ่งประกอบด้วยกรด β-hydroxycarboxylic, L-Asp, L-Glu, L-Val, L-Leu และ D-Leu Peptidolipid "Na" จาก *Nocardia asteroides* ประกอบด้วยกรด β-hydoxyeicosanoic , 2L-Thr,L-Val, L-Pro , L-Ala, D-Ala และ D-allo-Ile Peptidolipid "J" จาก *Mycobacterium paratuberculosis*, ประกอบด้วย กรดไขมัน, กรด eiconanoic, L-Phe, D-Phe, L-Ala, L-Leu และ L-Ile Fortuitine จาก *Mycobacterium fortuilium* ประกอบด้วย กรด Carboxylic แบบง่ายๆ ส่วนใหญ่จะเป็นกรด eicosanoic และกรด docosanoic, 3 L-Val, 2 L-Thr, 1 L-Ala และ 1 L-Pro และ 2 Meleu ตัวอย่างสุดท้ายของไขมันนี้ก็คือ peptidolipid Na ซึ่งมีโครงสร้างเป็นวงกลม (cyclic) คล้ายเซอร์แฟกติน

2.2 Ornithine Lipids Wilkinson (1972)(อ้างถึงใน Cooper และZajic,1980)ทำการแยกไขมันจาก *Psuedomonas rubescens* ที่ประกอบด้วยกรดอะมิโนเพียงตัวเดียว คือ ornithine และมีสมบัติในการก่ออีมัลชั่น (emulsification) โครงสร้างของสารประกอบแสดงดังรูปที่ 1.9 ประกอบด้วย กรด β-hydroxycarboxylic และกรด carboxylic ต่อด้วยพันธะเอสเทอร์กับไฮดรอกซิล (hydroxyl) ของกรดตัวที่ 1



รูปที่ 1.9 โครงสร้างของ ornithine ประกอบด้วยไขมันที่แยกจาก *Pseudomonas rubescens* ; R- แทนกลุ่มอัลคิล (alkyl) (Cooperและคณะ,1979)

กรด β-hydroxy จะถูกเชื่อมด้วย เอไมด์ (amide) เข้ากับกลุ่ม α-amino ของ ornithine ส่วนของไขมันมีโครงสร้างเป็น zwitterion มีทั้งกลุ่มคาร์บอกซิลอิสระ และกลุ่มเอมีนอิสระ Knoche และ Shiveley (1972) (อ้างถึงใน Cooper และ Zajic,1980) ได้รายงานถึงไขมันที่คล้ายกันแต่มีกรดคาร์บอกซิลิกที่แตกต่างกันแยกได้จาก *Thiobacillus thiooxidans* Tahara และคณะ (1976) พบ *Agrobacterium tumefaciens* ผลิตไขมันที่มีโครงสร้างโดยทั่วไปเหมือนกัน แต่ ornithine ถูกแทนที่ด้วย Lysine Tahara และคณะ(1976) แยกสารประกอบซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงที่ไขมัน orinithine ชื่อ Cerilipin จาก *Gluconobacter cerinus* โครงสร้างแสดงดังรูปที่ 1.10



รูปที่ 1.10 โครงสร้างของ cerilipin แยกจาก *Gluconobacter cerinus* ; R-ถูกแทนที่ด้วยอัลคิล (alkyl) (Cooper และคณะ,1979)

2.3 พวกที่มีธรรมชาติเป็นโปรตีน (protein) Hisatsuka และคณะ (1972, 1975, 1977) (อ้างถึงใน Cooper และ Zajic,1980) แยก "protein-like activator" เพื่อใช้ในปฏิกริยาออกซิเดชั่น n-alkane จาก P.aeruginosa มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 14,300 ดาลตันและมีกรดอะมิโน 147 ตัว ตามลำดับ สารกระตุ้น (activator) นี้สามารถทำให้เกิดอีมัลชั่นระหว่างน้ำกับ hexadecane ได้ และสามารถกระตุ้นการเจริญของ P.aeruginosa บน hexadecane ถ้าทำให้สารประกอบนี้ออกจากเซลล์โดยใช้ ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) พบว่าความสามารถในการออกซิเดชั่น n-hexadecane ของจุลินทรีย์จะสูญเสียไป

3. ฟอสโฟลิปิด (phospholipid)

ฟอสโฟลิปิดพบได้ในจุลินทรีย์แทบทุกชนิด แต่มีอยู่ส่วนน้อยที่ปลดปล่อยฟอสโฟลิปิดออกมานอกเซลล์ หรือสามารถวัดคุณสมบัติลดแรงตึงผิวของไขมันนี้ได้ รูปที่ 1.11 แสดงโครงสร้างทั่วไปของฟอสโฟลิปิด ซึ่งประกอบด้วย หน่วยกลีเซอรอลต่อด้วยพันธะเอสเทอร์ กับกรดไขมัน 2 ตัว และฟอสเฟต 1 กลุ่ม

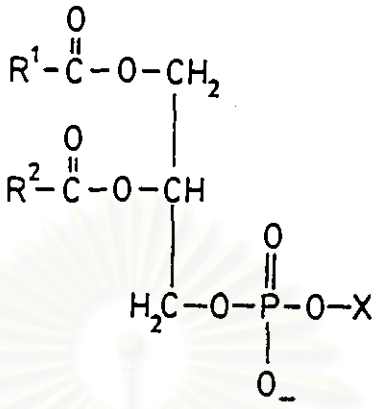
Jones และ Starkey (1961) รายงานถึง *Thiobacillus thiooxidans* ที่ผลิตสารที่ทำให้เกาะติด (wet) แร่ซัลเฟอร์ได้มากเกินพอสำหรับการเจริญ และในระหว่างการเจริญนั้นสารนี้สามารถลดค่าแรงตึงผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อลงจาก 72 mN/m เหลือ 49 mN/m ส่วนใสของน้ำเลี้ยงเชื้อที่ได้หลังจากเลี้ยงเชื้อ 7 วัน ยังคงสามารถเกาะติด (wet) แร่ซัลเฟอร์ได้ และสามารถแยกฟอสโฟลิปิดหลายชนิดได้จากส่วนใสของอาหารหลังการเลี้ยงเชื้อ Umbreit (1971)(อ้างถึงใน Cooper และ Zajic,1980) สามารถแยก wetting agent ในรูป phosphatidylethanolamine ได้จาก *T.thiooxidans* พบว่าไขมันนี้ไม่ได้อยู่ในส่วนใสของน้ำเลี้ยงเชื้อแต่ปรากฏอยู่ในเซลล์

Cooper และ คณะในปี 1979 สามารถแยกสารลดแรงตึงผิวผสมประเภทไขมัน จาก *Corynebacterium lepus* ที่สามารถลดค่าแรงตึงผิวของน้ำกลั่นลงได้ถึง 49 mN/m ของผสมนี้ประกอบด้วยฟอสโฟลิปิดที่หลากหลาย ได้แก่ ฟอสฟาติดิลกลีเซอรอล(phosphatidylglyceol), ฟอสฟาติดิลลิโนซิทอล (phosphatidylinosital), ฟอสฟาติดิลกลีเซอรอลฟอสเฟต(phosphatidyl glycerol phosphate), คาร์ดิโอลิปิด(cardiolipin) และ ฟอสฟาติดิลลิโนซิทอลแมนโนไซด์ (phosphatidylinositol mannoside)

การปลดปล่อยฟอสโฟลิปิดชนิดที่ผลิตส่งออกนอกเซลล์แบคทีเรียนั้น สามารถถูกกระตุ้นได้ ตัวอย่างเช่น เมื่อเติมเพนนิซิลลิน หรือเซฟาโลสปอรินลงในการเพาะเลี้ยงเซลล์ *Coryneacterium alkanolyticum* พบว่าปริมาณของฟอสโฟลิปิดที่ปลดปล่อยออกนอกเซลล์มีปริมาณเพิ่มขึ้น (Nakao และคณะ , 1973)

ปริมาณฟอสโฟลิปิดผสมที่ผลิตโดยจุลินทรีย์จะได้รับผลกระทบจากซับสเตรท ตัวอย่างเช่น *Candida tropicalis* สามารถสร้างฟอสโฟลิปิดได้ในปริมาณมากกว่าหากเจริญบน n-alkanes เทียบกับเมื่อเจริญบนกลูโคส ดังนั้นปริมาณของฟอสโฟลิปิดที่ผลิตจะขึ้นอยู่กับแหล่งอาหารและภาวะของการเจริญ (Mishina และคณะ , 1977)

VanDeenen และคณะ (1962) (อ้างถึงใน Cooper และ Zajic , 1980) แสดงให้เห็นว่า ฟิล์ม (flim) ของ phosphatidylcholine, phosphatidylserine, phosphatidylethanolamine และ phosphatidic acid ทั้งหมดมีคุณสมบัติของพื้นผิวแตกต่างกัน อย่างไรก็ดี ความแตกต่างอย่างมากจะถูกพบเมื่อความยาวของสายกรดไขมันในฟอสโฟลิปิดแต่ละชนิดเปลี่ยนแปลงไป



รูปที่ 10.11 โครงสร้างโดยทั่วไปของฟอสโฟลิปิดที่แยกได้จากจุลินทรีย์ R^1 และ R^2 ถูกแทนที่ด้วยกลุ่มอัลคิล X=H เมื่อเป็น phosphatidic acid; $X=CH_2NH_2$ เมื่อเป็น phosphatidylethanolamine

$X=CH_2CH(NH_2)COOH$ เมื่อเป็นphosphatidlyserine; X=inositol เมื่อเป็น phosphatidylinositol

X=inositol substituted with one or more mannose เมื่อเป็น phosphatidylinositol mannosides

$X=CH_2CHOHCH_2OH$ เมื่อเป็น phosphatidylglycerol;$X=CH_2CHOHCH_2OPO_3^-$ เมื่อเป็น phosphatidylglycerol phosphate. Cardiolipin ประกอบด้วยphosphatidic acid 2หน่วยเชื่อมต่อด้วยพันธะเอสเทอร์กับglycerol ตำแหน่งที่1และ3 (Cooperและคณะ,1979)

4. กรดไขมัน (fatty acid) และไขมันธรรมชาติ (natural lipids)

กรดไขมันและไขมันธรรมชาติพบในเซลล์จุลินทรีย์ทุกชนิด เมื่อผลิตแล้วมักจะปลดปล่อยออกนอกเซลล์ (extracellulary) ไขมันเหล่านี้ประกอบด้วย กรดคาร์บอกซิลิก แอลกอฮอล์ เอสเทอร์ โมโนกลีเซอไรด์ (monoglycerides) ไดกลีเซอไรด์ (diglyceride) ไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) ซึ่งต่างมีผลต่อความสามารถของสารลดแรงตึงผิว (อ้างถึงใน Cooper และ Zajic ,1980)

ตัวอย่างเกือบทั้งหมดของไขมันธรรมชาติ หรือกรดไขมันที่ปลดปล่อยออกนอกเซลล์โดยจุลินทรีย์ ได้จากจุลินทรีย์ที่เจริญบนไฮโดรคาร์บอน แสดงให้เห็นว่าสารเหล่านี้อาจจะเป็นส่วนสำคัญที่ทำให้ไฮโดรคาร์บอนเกิดอีมัลชั่น กรดคาร์บอกซิลิกเป็นสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่สำคัญกว่าไขมันธรรมชาติ (natural lipid) และจะประกอบอยู่ในสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเกือบทุกชนิด (Cooper และ Zajic, 1980) *Corynebacterium lepus* ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพผสมเมื่อเจริญบนน้ำมันก๊าด ซึ่งลดค่าแรงตึงผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อลงเหลือ 30 mN/m (Cooper และคณะ, 1979) ช่วงแรกของการหมักในระยะเอ็กซ์โปเนนเชียลของการเจริญ (exponential growth phase) สารลดแรงตึงผิวหลักที่พบ คือ กรดโคโรโนมัยโคลิก (corynomycolic acid) โดยที่ระยะนี้ความเข้มข้นของกรดนี้เพิ่มขึ้นสูงสุด และลดลงในเวลาต่อมา โดยถูกแทนที่ด้วยของผสมไขมันที่มีขั้ว (polar lipids) ในระยะการเจริญสเตชันนารี (stationary growth phase)

พบว่าเมื่อใส่กรดโคโรโนมัยโคลิกลงในน้ำ (0.5 กรัมต่อลิตร) จะลดค่าแรงตึงผิวของน้ำกลั่นจากประมาณ 72 mN/m ลงเหลือประมาณ 40 mN/m และแปรผันเล็กน้อยเมื่อค่าความเป็นกรด-ด่างแปรผัน ในขณะที่ค่า interfacial tension เมื่อวัดกับเฮ็กซาเด็กเคน (hexadecane) มีค่าประมาณ 10 mN/m และขึ้นอยู่กับค่าความเป็นกรด-ด่าง

ความยาวของสายไฮโดรคาร์บอนชับสเตรท มีผลต่อความยาวของสายกรดไขมันโดยทั่วไปที่ผลิตโดยจุลินทรีย์ ไฮโดรคาร์บอนที่มีจำนวนอะตอมของคาร์บอนเป็นเลขคี่ มีผลทำให้กรดไขมันมีจำนวนอะตอมของคาร์บอนเป็นเลขคี่ด้วย บ่อยครั้งที่พบว่า จำนวนคาร์บอนอะตอมของกรดไขมันจะเท่ากับจำนวนคาร์บอนอะตอมของไฮโดรคาร์บอนชับสเตรท

Odier (1976) (อ้างถึง Cooper และ Zajic , 1980) ทำศึกษาจุลินทรีย์ที่เจริญในถังน้ำมันเชื้อเพลิงจุลินทรีย์ที่พบทั้งหมดสามารถย่อยสลาย (degrading) พาราฟิน (paraffinic fraction) ได้ จุลินทรีย์ที่พบมีหลายชนิดเช่น Pseudomonas, Mycoccus, Penicillium, Aspergillus,Acinetobacter ทั้งหมดผลิตกรดไขมันส่งออกนอกเซลล์ในปริมาณที่สามารถตรวจพบได้ Makula และ Finnerty ,(1972) พบว่า *Micrococcus cerificans* จะผลิตกรดไขมันส่งออกนอกเซลล์เมื่อเจริญบนไฮโดรคาร์บอน แต่จะไม่ผลิตเมื่อเจริญบนชับสเตรทที่ละลายน้ำ

Shiio และ Uchio (1971) (อ้างถึง Cooper และ Zajic , 1980) รายงานถึงยีสต์ที่ผลิตกรดไขมันไดคาร์บอกซิลิกส่งออกนอกเซลล์ (extracellular dicarboxylic fatty acid) แต่ผลผลิตที่ดีที่สุดพบใน *Candida cloacae* 310 ยีสต์ชนิดนี้ให้ผลผลิตกรดไดคาร์บอกซิลิกมากถึง 29.3 กรัมต่อลิตร เมื่อเจริญบน n-hexadecane

ตารางที่ 1 แสดงชนิดต่างๆ ของสารลดแรงตึงผิวที่ผลิตโดยจุลินทรีย์ (Kosaric ,1993)

ชนิดของสารลดแรงตึงผิว	ชนิดของจุลินทรีย์ที่ผลิต
A. Glycolipids	
Trehalose mycolates	*Rhodococcus erythropolis*
	Arthrobacter paraffineus
	Mycobacterium phlei
Trehalose esters	*Mycobacterium fortitum*
	Micromonospora spp.
	Mycobacteriun smegmatis
	Mycobacterium paraflinicum
	Rhodococcus erythropolis
Mycolstes of mono-, di-, and trisaccharide	*Corynebacterium diphtheriae*
	Mycobacterium smegmatis
	Arthrobacter spp.
Rhamnolipids	*Pseudomonas spp.*
	Torulopsis bombicola
	Torutopsis petrophihum
	Torulopsis apicola
	Candida spp.
B. Phospholipids and Fatty Acids	
Phospholipids and fatty acids	*Candida spp.*
	Corynebacterium spp.
	Micrococcus sp
	Acinetobacter sp
Phospholipids	*Thiobacillus thiooxidans*

ศูนย์วิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ชนิดของสารลดแรงตึงผิว	ชนิดของจุลินทรีย์ที่ผลิต
C. Lipopeptides and Lipoproteins	
Gramicidens	*Bacillus brevis*
Polymyxins	*Bacillus polymyxa*
Omithine-lipid	*Pseudomonas rubescens*
	Thiobacillus thiooxidans
Cerilipin	*Gluconobacter cerinus*
Lysin-lipid	*Agrobacterium tumefaciens*
	Streptomyces sioyaensis
Surfactin. subtilysin	*Bacillus subtilis*
Peptide-lipid	*Bacillus licheniformis*
D. Polymeric Surfactants	
Lipheteropolysaccharide	*Arthrobacter calcoaceticus RAG-1*
Heteropolysaccharide	A. calcoaccticus A2
Polysaccharide-protein	*A. Calcoacelucus strains*
	Candida lipolytica
Manno-protein	*S. cerevisiae*
Carbohydrate-protein	*Candida petrophilum*
	Endomycopsis lipolytica
Mannan-lipid complex	*Candida tropicalis*
Mannose/erthrose-lipid	*Ustilago maydis*
Carbohydrate-protein-lipid complex	*Pseudomonas spp.*
	Pseudomonas fluorescens
	Debaryomyces polymorphus

ชนิดของสารลดแรงตึงผิว	ชนิดของจุลินทรีย์ที่ผลิต
E. Particulnte Biosurfactants	
Membrane vesicles	*Acineotobacter sp. H01-N*
Fimbriae	*A. calcoacetieus*
Whole cells	Variety of microbes

ตารางที่ 1. 2 ตัวอย่างของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ได้รับการจดสิทธิบัตรแล้ว (Kosaric,1993)

ผลิตภัณฑ์	จุลินทรีย์	สิทธิบัตร
Biosurfactant	Arthrobacter sp.	Nikko Bio Technica Co.,Ltd., Shizuka Japan US 5344913(1994)
Lipopeptide	*Methylomonas clara* ATCC31226	Hoechst AG,DE 3312166(1984)
Sophorose lipid	*Torulopsis bombicola*	Kao Soap Co.,Ltd. DE 2834118 (1979),DE 2938383(1980),Jpn Kokai Tokkyo Koho 8192,786 (1981). EP 0005004(1983)
Emulsan	*Arthrobacter* sp ATCC 31012	Biotechnol.Aktienges., US 4276094(1981)
Biosurfactant	Arthrobacter,Bacillus,Coryne-bacterium,Nocardia,Pseudomonas	Canadian Patents andDevelopment Ltd.,CA 1114759(1981)
Biosurfactant	*Penicillium spiculisporum*	Inoue-Japax Research Inc., Jpn., Kokai 7837,189(1978)
Surfactin	*Bacillus subtilis* ATCC 21331	Takada Chemical Ind. Ltd., US 3687926(1972)

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดย *Bacillus subtilis*

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (biosurfactant) ที่ผลิตโดย *Bacillus subtilis* มีชื่อเรียก 2 ชื่อคือ เซอร์แฟกติน (Arima และคณะ , 1968) และสับทิไลซิน (Bernheimer และ Avigad , 1970) แต่ส่วนใหญ่นิยมใช้ชื่อ เซอร์แฟกติน เป็นชื่อสารลดแรงตึงผิวทางชีวภาพ ที่ผลิตโดย *Bacillus subtilis*

เซอร์แฟกตินเป็นสารประเภทกรด (acidic substance) ละลายได้ในน้ำด่าง (alkaline water) และในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น เมทานอล (methanol), เอทานอล (ethanol), อะซีโตน (acetone) เอทิลอะซีเตท (ethylacetate) คลอโรฟอร์ม (chloroform) เมทิลลีนคลอไรด์ และเฮกเซน เป็นต้น การเติมแอมโมเนียมซัลเฟต $(NH_4)_2SO_4$ 50% ให้อิ่มตัว หรือเติมไดวาเลนท์แคทไอออน ในสารละลายด่างที่มีเซอร์แฟกตินจะทำให้เซอร์แฟกตินไม่สามารถละลายได้และตกตะกอนในที่สุด

เซอร์แฟกตินมีคุณสมบัติยับยั้งการแข็งตัวของเลือด เมื่อเติมเซอร์แฟกตินลงในระบบ-ธรอมบินไฟบริโนเจน การจับตัวกันของไฟบริน (fibrin clot) จะถูกยับยั้งในทันที และระยะ-เวลาที่ใช้ในการจับตัวกันจะนานมากขึ้น (Arima และคณะ, 1968) นอกจากนี้พบว่าเซอร์แฟกติน สามารถทำให้ เม็ดเลือดแดง สเฟียโรพลาสต์ และโปรโตพลาสต์ของแบคทีเรีย แตกได้ (Ohno และคณะ, 1995) *Bacillus subtilis* สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพประเภทไลโพเพปไทด์ ที่มีคุณสมบัติหลากหลาย (Cooper และคณะ, 1987; Fiechter, 1992) นอกเหนือจากความสามารถในการลดแรงตึงผิว สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดย *B.subtilis* เป็นสารที่ทำให้เกิดอีมัลชั่น(Cooper และคณะ,1987) เป็นสารปฏิชีวนะ (Kluge และคณะ,1988) และสามารถทำให้น้ำมันกระจายตัว (oil displacement) (Morikawa และคณะ ,1993)

บทบาทของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในอนาคต

ในอุตสาหกรรมมีความต้องการสารลดแรงตึงผิวสูงมาก มูลค่าของสารลดแรงตึงผิวในตลาดทั่วโลกมีมูลค่ามากถึง 2.3 พันล้านดอลลาร์ในปี 1993 และจะเพิ่มขึ้นเป็น 3 พันล้านดอลลาร์ในปี 1997 สารเหล่านี้ทั้งหมดได้จากการสังเคราะห์ทางเคมีโดยใช้ปิโตรเลียมเป็นวัตถุดิบ นับเป็นมูลค่าและปริมาณมหาศาล เนื่องจากสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ทนต่อการย่อยสลาย

ทางชีวภาพ และปริมาณที่มากของมันเป็นพิษต่อระบบนิเวศน์ในสิ่งแวดล้อม จึงมีความคิดที่จะนำเอาสารลดแรงตึงผิวชีวภาพซึ่งถูกย่อยสลายทางชีวภาพได้ง่ายกว่า และเป็นพิษน้อยกว่ามาใช้ทดแทนสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ ด้วยคุณสมบัติที่กว้างของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ เช่น เป็นสารก่ออีมัลชั่น, เป็นสารเกาะติด (wetting), สารช่วยทำให้เกิดฟอง, สารช่วยในการละลาย ด้วยเหตุนี้จึงทำให้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพสามารถประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมหลายชนิด เช่น อุตสาหกรรมเกษตร, อุตสาหกรรมก่อสร้าง, อุตสาหกรรมอาหารและเบียร์, อุตสาหกรรมทำความสะอาด, อุตสาหกรรมเครื่องหนัง, อุตสาหกรรมกระดาษ, อุตสาหกรรมเหล็ก, อุตสาหกรรมเส้นใย, เครื่องสำอาง, อุตสาหกรรมยา และแม้แต่อุตสาหกรรมปิโตรเลียม สารลดแรงตึงผิวชีวภาพเป็นสารประกอบที่มีโครงสร้างหลากหลาย ทำให้มีลักษณะเฉพาะและคุณสมบัติทางฟิสิกส์แตกต่างกัน นอกจากนี้การเปลี่ยนซับสเตรทในการเจริญของจุลินทรีย์จะทำให้ได้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีความสามารถต่างออกไปอีกด้วย แต่การนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมาใช้แทนสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ในทางอุตสาหกรรมนั้นยังมีข้อจำกัดเนื่องจากต้นทุนในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพยังมีราคาสูงกว่าเมื่อเทียบกับสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ ดังนั้นการปรับปรุงกระบวนการผลิตและการหาภาวะที่เหมาะสมในการผลิต เพื่อให้ได้ผลผลิตที่มีคุณภาพและมีปริมาณมาก เพื่อลดต้นทุนการผลิตจึงเป็นสิ่งจำเป็นอย่างยิ่ง นอกจากสามารถใช้แทนสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ในอุตสาหกรรมแล้ว สารลดแรงตึงชีวภาพรวมทั้งจุลินทรีย์ที่ผลิต สามารถใช้ในการกำจัดคราบน้ำมันที่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อมทั้งในน้ำและบนบก ซึ่งเป็นการช่วยแก้ไขปัญหาสิ่งแวดล้อมอีกทางเลือกหนึ่ง (Cooper และ Zajic, 1980 ; Fiechter, 1992)

<u>ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ</u>

1. องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ

จุลินทรีย์ใช้พลังงานในกิจกรรมต่างๆ และใช้ผลิตสารตั้งต้นโดยกระบวนการสลายพลังงานเพื่อนำไปผลิตสารประกอบที่เซลล์ต้องการในการเจริญและการผลิตผลิตภัณฑ์ (Product) โดยพลังงานที่ได้มาจากอาหารเลี้ยงเชื้อ

องค์ประกอบที่สำคัญของอาหารเลี้ยงเชื้อ ได้แก่

1.1 แหล่งคาร์บอน

แหล่งคาร์บอนสำคัญมากในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ คาร์บอนที่ต่างชนิดกัน เช่น กลีเซอรอล กลูโคส และเอทานอล สามารถใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการผลิต rhamnolipid โดย *Pseudomonas* sp. แต่ n-alkanes เป็นแหล่งคาร์บอนที่ให้ผลผลิตที่ดีกว่า ความยาวของสายไฮโดรคาร์บอนที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอนพบว่า มีผลต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ แหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพแต่ละชนิดจะต่างกันไป ขึ้นอยู่กับชนิดของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและชนิดของจุลินทรีย์ เช่น Pseudomonas เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่ขาดความสามารถในการใช้แลกโตส (lactose) เป็นแหล่งคาร์บอน แหล่งคาร์บอนสามารถชักนำให้จุลินทรีย์บางชนิดผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ เช่น *Pseudomonas aerceginosa* และ *Candida* sp. เมื่อเจริญบน n-alkanes จะผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพออกมาในอาหารเลี้ยงเชื้อ แต่หากเปลี่ยนคาร์บอนเป็นคาร์โบไฮเดรต จะไม่สามารถตรวจพบสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพอาจถูกยับยั้ง (repression) ได้ โดยกลูโคส หรือเมทตาบอไลท์ปฐมภูมิ (primary metabo-lites) เช่น *Actinobactor calcoaceticus* และ *A.paraffineus* ไม่สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้เมื่อเจริญบนกรดอินทรีย์และกลูโคส ในทางตรงข้าม เซอร์แฟกตินซึ่งผลิตโดย *B. subtilis* ตรวจพบเมื่อเซลล์ใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน และจะถูกยับยั้งเมื่อเติมสารไฮโดรคาร์บอนลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ เช่นเดียวกับ *P.aeruginosa* 44T1 จะผลิต rhamnolipid ระหว่างการเจริญที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนและจะไม่สามารถเจริญได้ รวมทั้งไม่สามารถผลิต rhamnolipid ได้ เมื่อใช้ n-alkanes เป็นแหล่งคาร์บอน (Kosaric, 1993)

1.2 แหล่งไนโตรเจน

แหล่งไนโตรเจนที่ใช้ในอาหารเลี้ยงเชื้อมีความสำคัญมากต่อเมตาบอลิสมของเซลล์ รวมทั้งการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพด้วย เช่นเดียวกับแหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจะแตกต่างกันไป ขึ้นอยู่กับชนิดของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและชนิดของจุลินทรีย์ เช่น เกลือแอมโมเนียมและยูเรีย เป็นแหล่งไนโตรเจนที่ดีสำหรับผลิตสารลดแรงตึงผิวของ *A.paraffineus* Mulligan และ Gibbs (1989) แสดงถึงการแปรผันตรงระหว่างปริมาณของกลูตามีน (glutamine) กับสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดย *P.aeruginosa* RC-11 แต่แอมโมเนียและกลูตามีนที่ความเข้มข้นสูงจะยับยั้ง (repressed) การสร้างเอนไซม์และสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ Santos และคณะ (1984) ทำการทดลองพบ rhamnolipid ในน้ำหมักของ

P.aeruginosa เมื่อแหล่งไนโตรเจนถูกใช้หมดแล้ว และเริ่มเข้าสู่ระยะสเตชันนารีของการเจริญ (stationary growth phase) และหากเติมแหล่งไนโตรเจนลงไปอีกจะมีผลยับยั้งการสังเคราะห์ rhamnolipid โดยเซลล์ในระยะพัก (resting cells) พบการสร้างไกลโคลิปิดชนิดใหม่ภายใต้ภาวะจำกัดไนโตรเจน โดย *R.erythropolis* รายงานโดย Ristau และ Wagner (1983)(อ้างถึงใน Kosaric, 1993) พบผลที่คล้ายกันใน *A.calcoaceticus* RAG เมื่อขาดกรดอะมิโนมีผลทำให้ผลิต emulsan มากขึ้น Santos และคณะ (1984) แสดงการเจริญของ *P.aeruginosa* ภายใต้ภาวะที่ไม่จำกัดคาร์บอน ใช้ไนเตรทเป็นแหล่งไนโตรเจน โดยปราศจากผงสกัดยีสต์เป็นผลทำให้ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้สูง ในการแปรผันแหล่งไนโตรเจน เพื่อผลิตไกลโคลิปิดโดย *N.corynebacteroids* ซึ่งได้ทำการทดลองโดย Powalla และคณะ (1989) พบว่า แหล่งไนโตร-เจนอนินทรีย์ให้ผลผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพสูงกว่า ซึ่งโซเดียมไนเตรท ($NaNo_3$) เป็นแหล่งไนโตรเจนที่ให้ผลผลิตสูงที่สุด (Kosaric, 1993)

1.3 แหล่งเกลือแร่และวิตามิน

แหล่งเกลือแร่และวิตามินนอกจากจะเป็นปัจจัยที่จุลินทรีย์ต้องการใช้เพื่อการเจริญเติบโตแล้ว ยังมีผลให้เกิดการกดหรือกระตุ้นการสร้างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยจุลินทรีย์อีกด้วย ใน *P.aeruginosa* DSM 2659 Santos และคณะ (1986) แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ของแร่ธาตุกับปริมาณของ rhamnolipid ที่เพิ่มสูงขึ้น พบว่าแร่เหล็กจะมีผลยับยั้งอย่างมากเมื่อมีความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อกรัมกลูโคส การจำกัดแร่เหล็กจะมีผลกระตุ้นการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพของ *P. fluorescens* (Kosaric, 1993) ในทางตรงข้าม การผลิตเซอร์แฟกตินโดย *B.subtilis* พบว่าสามารถถูกกระตุ้นได้โดยการเติมเหล็กและเกลือแมงกานีสลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ (Cooper และคณะ,1981)

2. ภาวะที่เหมาะสมในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

2.1 อุณหภูมิ

พบว่าอุณหภูมิสามารถเปลี่ยนแปลงส่วนประกอบของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตขึ้นได้คล้ายกับแหล่งคาร์บอน อุณหภูมิมีความสำคัญต่อกระบวนการสร้าง และการกระจายตัว (distribution) ของไขมันและกรดไขมัน อุณหภูมิมีผลกระทบต่อกระบวนการสร้างไขมันนอก

เหนือจากระดับ (degree) ของความไม่อิ่มตัว ตัวอย่างเช่น มีผลเปลี่ยนแปลงความยาวของสายกรดไขมัน มีผลต่อระดับ(levels) ของกิ่งของกรดไขมัน(fatty acid branching) และ cyclization มีผลต่อการกระจายตัวและความแตกต่างของสัดส่วนระหว่างไกลโคลิปิดและฟอสโฟลิปิด ที่เกิดเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดย *A.paraffincus* และ *Pseudomanas* SP.DSM-2874 ได้รับผลกระทบอย่างมากเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ (Kosaric, 1993)

2.2 ความเป็นกรด-ด่าง

ความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อมีความสำคัญต่อการเจริญของจุลินทรีย์มาก เนื่องจากการเจริญของจุลินทรีย์หรือสิ่งมีชีวิตต่างๆ ถูกควบคุมโดยกระบวนการเมตาโบลิซึม ซึ่งมีเอนไซม์เป็นตัวสำคัญ และการทำงานของเอนไซม์มีผลกระทบจากความเป็นกรด-ด่าง โดยทั่วไปค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมในการเจริญของจุลินทรีย์แต่ละชนิดจะแตกต่างกันไป ราและยีสต์จะเจริญได้ดีในช่วงค่าความเป็นกรด-ด่างค่อนข้างต่ำ แต่แบคทีเรียจะเจริญได้ดีในช่วงค่าความเป็นกรด-ด่างที่เป็นกลาง องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นปัจจัยสำคัญอันหนึ่งที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างในระหว่างการเลี้ยงเชื้อ เนื่องจากจุลินทรีย์จะมีการย่อย-สลายสารอาหารเพื่อเป็นแหล่งพลังงาน ถ้าในอาหารเลี้ยงเชื้อมีองค์ประกอบที่เป็นโปรตีน และไนโตรเจน เมื่อถูกย่อยสลายจะปลดปล่อยสารที่เป็นแอมโมเนีย หรืออัลคาไลน์อื่นๆ ออกมา แต่ถ้าในอาหารเลี้ยงเชื้อมีองค์ประกอบที่เป็นคาร์โบไฮเดรต เมื่อถูกย่อยสลายจะขับสารที่เป็นกรดอินทรีย์ออกมา ซึ่งสิ่งที่ขับออกมานี้ จะทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเปลี่ยนแปลงไป จนอยู่ในสภาพที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ (วิบูลย์ลักษณ์, 1993) นอกจากนี้ค่าความเป็นกรด-ด่างยังมีผลต่อการผลิตของจุลินทรีย์ ได้พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นปัจจัยที่สำคัญมากในการผลิต rhamnolipid โดย *Pseudomonas* sp. และการผลิต sophorolipid โดย *T.bombicola* อย่างไรก็ดี ไม่พบผลกระทบของค่าความเป็นกรด-ด่างต่อปริมาณการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ โดย *P.fluorescence* ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง ระหว่าง 6.5 ถึง 8 (Kosaric, 1993)

2.3 การให้อากาศ

การให้อากาศ, การกวนหรือการเขย่า เป็นการเพิ่มปริมาณออกซิเจนให้กับจุลินทรีย์เพื่อนำไปใช้ในกระบวนการเมตาลอลิซึมทางหนึ่ง นอกจากนี้เป็นการช่วยให้จุลินทรีย์อยู่ในสภาพสาร

แขวนลอย สามารถดูดซึมปริมาณออกซิเจนเพื่อนำไปใช้ได้มากขึ้น ออกซิเจนที่จุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ได้นั้นต้องอยู่ในรูปของโมเลกุลออกซิเจนที่ละลายหรืออยู่ในรูปของเหลว การละลายของออกซิเจนในน้ำมีปริมาณจำกัด ออกซิเจนสามารถละลายในสื่อกลางที่เป็นน้ำได้เพียงไม่กี่มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยอากาศที่ความดัน 1 บรรยากาศ นับว่าน้อยมากเมื่อเทียบกับปริมาณออกซิเจนที่จุลินทรีย์ต้องการ ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่หนาแน่นมากอาจต้องการออกซิเจนสูงถึง 50 กรัมต่อลิตร ดังนั้นจึงจำเป็นต้องทำให้มีออกซิเจนละลายเข้าไปในอาหารเหลวอยู่ตลอดเวลาโดยการถ่ายเทจากอากาศ ซึ่งวิธีการที่ง่ายที่สุดในการเพิ่มปริมาณออกซิเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อคือ การเขย่าหรือการกวน วิธีนี้จะช่วยให้จุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศเจริญเติบโตได้ด้วยความหนาแน่นสูงภายใต้ภาวะที่เป็นอันหนึ่งอันเดียวกัน ดังนั้นจะเห็นว่าในขั้นตอนของกระบวนการหมักจึงต้องมีการให้อากาศตลอดเวลา (วิบูลย์ลักษณ์, 1993) การถ่ายเทออกซิเจนจากอากาศสู่อาหารเลี้ยงเชื้อสามารถถูกรบกวนได้โดยสารลดแรงตึงผิว ในปี 1990 Sheppard และ Cooper ทำการศึกษาถึงผลกระทบของสารลดแรงตึงผิวต่อการผลิตเซอร์แฟกติน ในถังหมักไซโคลนคอลัมน์ (cyclone cloumn reactor) โดย *B.subtilis* และได้ผลสรุปว่า การถ่ายเทออกซิเจน เป็นปัจจัยหนึ่งที่สำคัญเป็นกุญแจสำหรับการหาภาวะที่เหมาะสม และการขยายกำลังผลิตเซอร์แฟกติน (Kosaric, 1993) ในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดย *B.licheniformis* พบว่าในภาวะที่มีอากาศน้อย (semiareobic) จะให้ผลผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพสูงกว่าในสภาวะที่มีอากาศ (aerobic) และภาวะไร้อากาศ (anaerobic) (Jenny, 1990)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย