

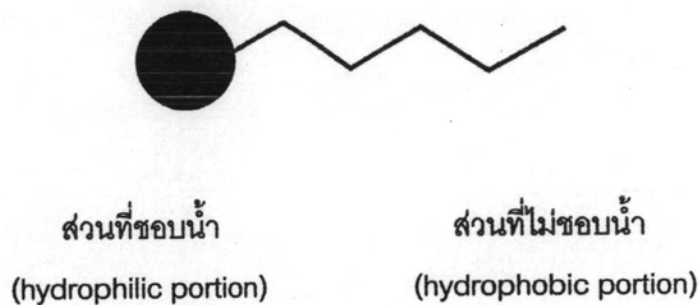
บทที่ 2

ปริทรรศน์วรรณกรรม

สารลดแรงตึงผิว (surfactant) ถูกใช้อย่างแพร่หลายทั้งในอุตสาหกรรมปิโตรเลียม สิ่งทอ เครื่องจักร กระจก พอลิเมอร์ พลาสติก ยา เครื่องสำอาง และอาหาร เป็นต้น สารลดแรงตึงผิวที่ใช้ในอุตสาหกรรมดังกล่าวมีอยู่มากมายหลายชนิด แต่ก็ยังคงมีการพัฒนาเพื่อให้ได้สารใหม่ที่มีประสิทธิภาพมากกว่าเดิม (Cameotra และ Makkar, 1998) ในปี 1997 อุตสาหกรรมการผลิตสารลดแรงตึงผิวมีมูลค่ามากกว่า 9 พันล้านเหรียญอเมริกาต่อปี (Desai และ Banat, 1997) สารลดแรงตึงผิวเหล่านี้ส่วนใหญ่แล้วสังเคราะห์ขึ้นโดยผ่านกระบวนการทางเคมีโดยใช้ปิโตรเลียมเป็นสารตั้งต้น มีความเป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม ย่อยสลายทางธรรมชาติได้ยาก และกระบวนการในการผลิตยังเป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อมอีกด้วย ทำให้มีการออกกฎหมายให้ใช้สารลดแรงตึงผิวที่เข้ากันได้และไม่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม (Maier และ Soberon-Chavez, 2000) ต่อมาสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจึงเป็นที่สนใจมากขึ้น เนื่องจากมันสามารถย่อยสลายเองได้ในธรรมชาติ มีความเป็นพิษต่ำ สามารถเข้ากันได้กับสิ่งแวดล้อม อีกทั้งสามารถผลิตจากสารตั้งต้นที่มีราคาถูกและมาจากทรัพยากรที่นำกลับมาใช้ใหม่ได้ (Mercade และคณะ, 1993; Babu และคณะ, 1996; Ishigami, 1997; Daniel และคณะ, 1998) ตลาดค้าขายสำคัญของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ใหญ่ที่สุดคืออุตสาหกรรมน้ำมันซึ่งรวมไปถึงการผลิตน้ำมันปิโตรเลียม ส่วนในอุตสาหกรรมน้ำมันอื่นๆ เช่น การกำจัดหรือกระจายคราบน้ำมันทั้งบนพื้นดินและในทะเล การย้ายตะกอนน้ำมันออกจากถังเก็บน้ำมัน และเพิ่มประสิทธิภาพในการนำน้ำมันจากแหล่งธรรมชาติมาใช้ประโยชน์ (Banat และคณะ, 2000) ตลาดที่รองลงมาคือ อุตสาหกรรมสี กระจก สิ่งทอ และเซรามิก โดยใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพเป็นตัวช่วยผสมให้สารพอลิเมอร์เข้ากัน (Banat และคณะ, 2000) อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง ได้นำโซไฟโรลิพิด (sophorolipid) ที่ผลิตได้จาก *Candida bombicola* KSM-36 และ *Candida apicola* มาใช้เป็นส่วนประกอบในเครื่องสำอาง และมีสมบัติเป็นตัวให้ความชุ่มชื้นและสามารถเข้าได้ดีกับผิว (Brown, 1991) ทางด้านอุตสาหกรรมอาหารจะใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ เช่น เลซิธิน (Lecithin) เป็นตัวช่วยให้อาหารผสมเป็นเนื้อเดียวกัน (Bloomberg, 1991; Banat และคณะ, 2000) ในด้านการแพทย์ แรมโนลิพิดที่ผลิตจาก *Pseudomonas aeruginosa* (Itoh และคณะ, 1971) และ Mannosylerythritol lipid จาก *Candida antarctica* (Kitamoto และคณะ, 1993) ซึ่งมีสมบัติเป็นสารปฏิชีวนะ

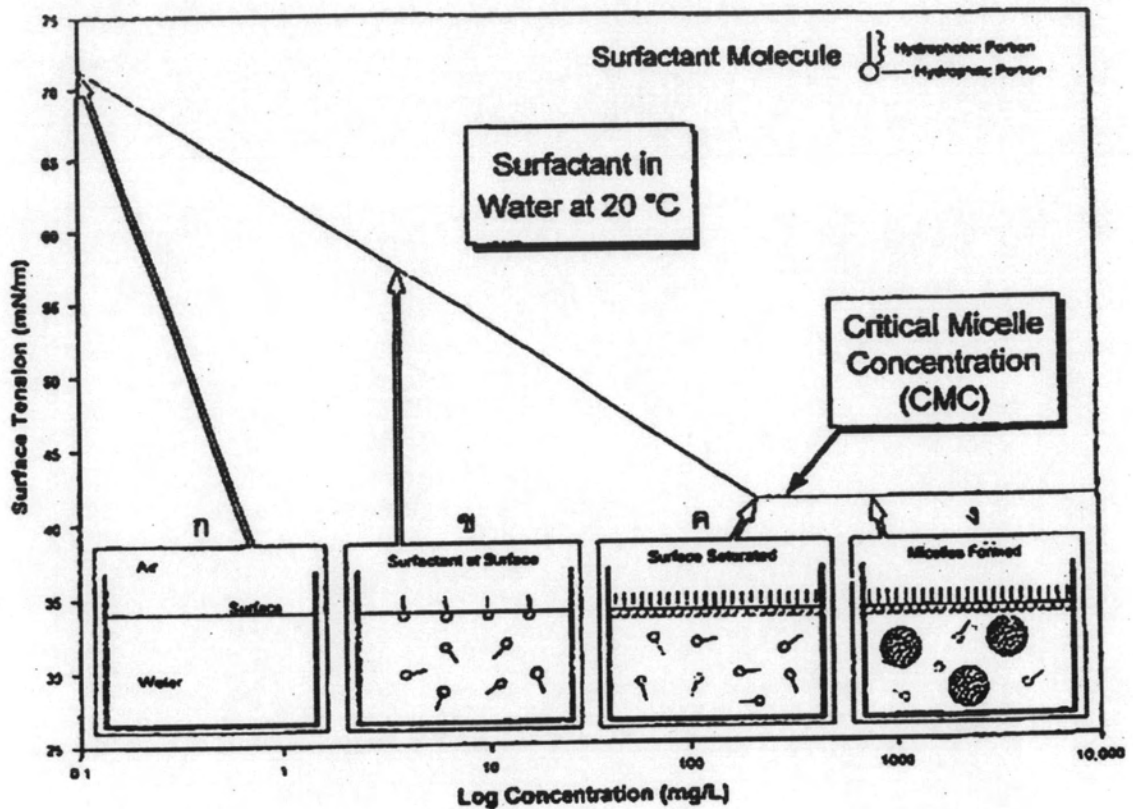
ความหมายและความสำคัญของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (Biosurfactant) หมายถึง สารชีวโมเลกุลที่มีสมบัติเป็นสารลดแรงตึงผิว (surface-active substance) ซึ่งสร้างจากจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ เช่น แบคทีเรีย รา และ ยีสต์บางชนิด (Cooper และ Zajic, 1980) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพของจุลินทรีย์แต่ละชนิดจะมีโครงสร้างแตกต่างกัน แต่มีลักษณะโมเลกุลหลักที่มีโครงสร้างเป็นแอมฟิพาติก ประกอบด้วยส่วนที่มีขั้ว (hydrophilic portion) ได้แก่ โปรตีน และน้ำตาล ซึ่งเป็นโมเลกุลที่มีหมู่คาร์บอกซิลิก หมู่ไฮดรอกซิล หมู่อะมิโน หมู่ฟอสเฟต เป็นต้น ส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic portion) หรือส่วนที่ชอบไขมัน (lipophilic portion) ซึ่งเป็นโมเลกุลพวกไฮโดรคาร์บอน เช่น กรดไขมันทั้งชนิดอิ่มตัว (saturated fatty acid) และกรดไขมันไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid) มีทั้งโมเลกุลใหญ่และโมเลกุลเล็ก ซึ่งจะทำให้ประสิทธิภาพของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพแตกต่างกันไป ดังรูปที่ 2.1 แสดงโครงสร้างของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่เป็นแบบแอมฟิพาติก



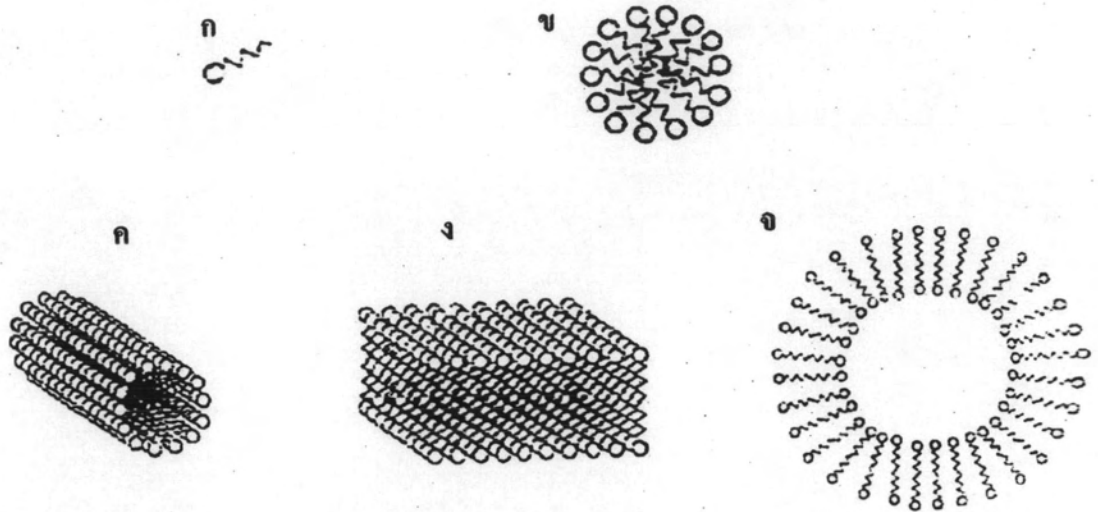
รูปที่ 2.1 ลักษณะโครงสร้างทั่วไปของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (Fiechter, 1992)

จากสมบัติของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีโครงสร้างเป็นแอมฟิพาติก เมื่อสารลดแรงตึงผิวอยู่ในน้ำ ส่วนที่ชอบน้ำจะละลายน้ำได้และส่วนที่ไม่ชอบน้ำจะอยู่บริเวณรอยต่อระหว่างน้ำกับอากาศ การที่สารลดแรงตึงผิวไปอยู่ที่รอยต่อนี้จะทำให้ลดค่าแรงตึงผิวของสารละลายนั้นได้ และโดยส่วนใหญ่แล้วสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจะลดค่าแรงตึงผิวของน้ำจาก 72 mN/m เป็น 30 ± 5 mN/m ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดและความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ สารลดแรงตึงผิวสามารถละลายอยู่ในตัวทำละลายทั้งชนิดมีขั้วและไม่มีขั้ว เมื่อความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวมากขึ้นก็จะไปลดค่าแรงตึงผิวของสารละลาย จนถึงความเข้มข้นหนึ่งที่ทำให้เกิดโครงสร้างที่เรียกว่าไมเซลล์ (micelle) และค่าแรงตึงผิวของสารละลายนั้นจะคงที่ไม่ลดลงไปอีกแม้จะเพิ่มความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพลงไปอีกเท่าใดก็ตามดังแสดงในรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.2 การเกิดโครงสร้างไมเซลล์ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในน้ำเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจนถึงจุด Critical Micelle Concentration (CMC) ก) เป็นภาวะที่ไม่มีสารลดแรงตึงผิว ข) สารลดแรงตึงผิวจะละลายอยู่ในน้ำโดยหันส่วนที่ไม่ชอบน้ำออกสู่น้ำ ค) Critical Micelle Concentration (CMC) เป็นจุดที่ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเพิ่มขึ้นจนถึงระดับที่ก่อให้เกิดโครงสร้างไมเซลล์ และ ง) เมื่อเกิดเป็นโครงสร้างไมเซลล์แล้วค่าแรงตึงผิวมีค่าคงที่ไม่ลดลงอีกแม้ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจะเพิ่มขึ้นก็ตาม (Gilman, 1993)

ความเข้มข้นที่ทำให้เกิดโครงสร้างไมเซลล์ เรียกว่า Critical Micelle Concentration (CMC) คือ ค่าความเข้มข้นที่น้อยที่สุดที่ทำให้สารลดแรงตึงผิวเกิดการรวมตัวเป็นโครงสร้างไมเซลล์ ซึ่งใช้เป็นตัวบ่งถึงประสิทธิภาพของสารลดแรงตึงผิวได้ โครงสร้างไมเซลล์จะประกอบไปด้วยโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิว 20-200 โมเลกุล ค่า CMC ของสารลดแรงตึงผิวแต่ละชนิดจะมีค่าต่างกันและขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ (Desai และ Banat, 1997) นอกจากนี้ค่า CMC ยังสามารถบอกโครงสร้างทุติยภูมิของสารลดแรงตึงผิวได้ เช่น ไมเซลล์ไบเลเยอร์ (bilayer) และไมเซลล์เวสิเคิล (vesicles) เป็นต้น ดังแสดงในรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 โครงสร้างและการจัดเรียงตัวของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (Fiechter, 1992)

- ก) โครงสร้างโมโนเมอร์ (monomer) ของแอมฟิพาติกโมเลกุล
- ข) โครงสร้างไมเซลล์แบบกลม
- ค) โครงสร้างไมเซลล์แบบแท่ง
- ง) โครงสร้างไมเซลล์แบบเลเยอร์
- จ) โครงสร้างไมเซลล์แบบเวสสิเคิล

การที่จะเกิดการจัดเรียงตัวของโครงสร้างไมเซลล์เป็นแบบใดนั้นนอกจากแรงกระทำระหว่างโมเลกุลแล้วยังขึ้นกับชนิดของสารลดแรงตึงผิวว่ามีโครงสร้างแบบใด เช่น โมเลกุลมีลักษณะเป็นโซ่สายสั้นและส่วนหัวที่มีขั้วใหญ่จะเกิดการจัดเรียงตัวเป็นแบบไมเซลล์ทรงกลม ถ้าส่วนหัวมีขนาดเล็กก็จะรวมตัวเป็นไมเซลล์แบบทรงกระบอก หรือส่วนไม่ชอบน้ำเป็นสายยาวก็จะรวมตัวเกิดเป็นไบเลเยอร์ เป็นต้น ด้วยสมบัติที่หลากหลายของโครงสร้างไมเซลล์จึงสามารถนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพไปประยุกต์ใช้ในงานต่างๆ ได้อย่างกว้างขวาง

ค่าที่แสดงถึงประสิทธิภาพของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ นอกจากค่า CMC ที่กล่าวข้างต้นแล้วยังมีอีกหลายค่าได้แก่

1. ค่าแรงตึงผิว (Surface tension)

หมายถึง แรงที่กระทำระหว่างของเหลวและอากาศ ค่าแรงตึงผิวมีหน่วยเป็นมิลลินิวตัน

ต่อเมตร (mN/m) หรือ ดายน์ต่อเซนติเมตร (dyne/cm) ซึ่งค่าแรงตึงผิวของน้ำกลั่นมีค่าเท่ากับ 72 mN/m และสารลดแรงตึงผิวที่ถือว่ามีประสิทธิภาพดีจะทำให้ค่าแรงตึงผิวลดลงต่ำกว่า 35 mN/m (Kosaric, 1993)

2. ค่าแรงตึงผิวระหว่างผิวที่ประจัน (interfacial tension)

หมายถึง แรงที่กระทำระหว่างของเหลวกับของเหลวที่มีเฟสต่างกัน มีหน่วยเป็น mN/m การวัดแรงตึงผิวระหว่างผิวที่ประจันจะวัดระหว่างน้ำและสารประกอบไฮโดรคาร์บอน เช่น น้ำมัน เฮกซะเดคเคน หรือ น้ำมันก๊าด โดยทั่วไปค่าแรงตึงผิวระหว่างผิวที่ประจันของน้ำกับเฮกซะเดคเคน มีค่าเท่ากับ 50 mN/m และค่าแรงตึงผิวระหว่างผิวที่ประจันของน้ำกับน้ำมันก๊าดมีค่าเท่ากับ 30-40 mN/m ซึ่งเมื่อเติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจะสามารถลดแรงตึงผิวที่ประจันลงเหลือ 0.1-1.0 mN/m (Gerson, 1993)

3. การก่อเกิดอิมัลชัน (Emulsification)

คือ ความสามารถในการทำให้น้ำและสารประกอบไฮโดรคาร์บอน เช่น สารละลายอินทรีย์ น้ำมันปิโตรเลียม และน้ำมันพืชชนิดต่างๆ รวมตัวเป็นเนื้อเดียวกัน ซึ่งสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจะทำให้เกิดอิมัลชันระหว่างน้ำกับสารประกอบไฮโดรคาร์บอน เป็นผลทำให้น้ำมันมีสภาพเป็นหยดเล็กๆ อยู่ในน้ำ เป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวระหว่างน้ำและสารประกอบไฮโดรคาร์บอน (Cooper และ Zajic, 1980) การวัดประสิทธิภาพในการเกิดอิมัลชันอาจทำได้โดยการวัดค่าดัชนีการก่อเกิดอิมัลชัน (emulsion index) คือ การวัดอัตราส่วนระหว่างความสูงของอิมัลชันและความสูงของเหลวในหลอดทั้งหมด เมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง (Patel และ Desai, 1997) และอาจวัดความเสถียรของอิมัลชันที่เกิดขึ้นโดยวัดค่าดัชนีการก่อเกิดอิมัลชันในระยะเวลาที่นานออกไป

4. ค่าการกระจายตัวของน้ำมัน (oil displacement activity)

เป็นการวัดประสิทธิภาพของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในการทำแผ่นฟิล์มของน้ำมันบนผิวน้ำเป็นวงใส (clear zone) โดยวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของพื้นที่วงใส คำนวณหาพื้นที่ตามสูตร πr^2 มีหน่วยเป็นตารางเซนติเมตร โดยกำหนด 1 ตารางเซนติเมตรของการกระจายตัวของน้ำมันดิบ เท่ากับ 1 หน่วย นอกจากการวัดค่าการกระจายตัวของน้ำมันจะทำการวัดในสื่อน้ำใสที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อ ซึ่งเป็นวิธีที่ไม่ยุ่งยากและประหยัดค่าใช้จ่าย และยังเป็นวิธีที่เหมาะสมในการวัดกิจกรรมของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์แล้ว เนื่องจากวิธีนี้ใช้สารปริมาณเล็กน้อยในการวิเคราะห์เพียง 10 ไมโครลิตรเท่านั้น (Morikawa และคณะ, 1993)

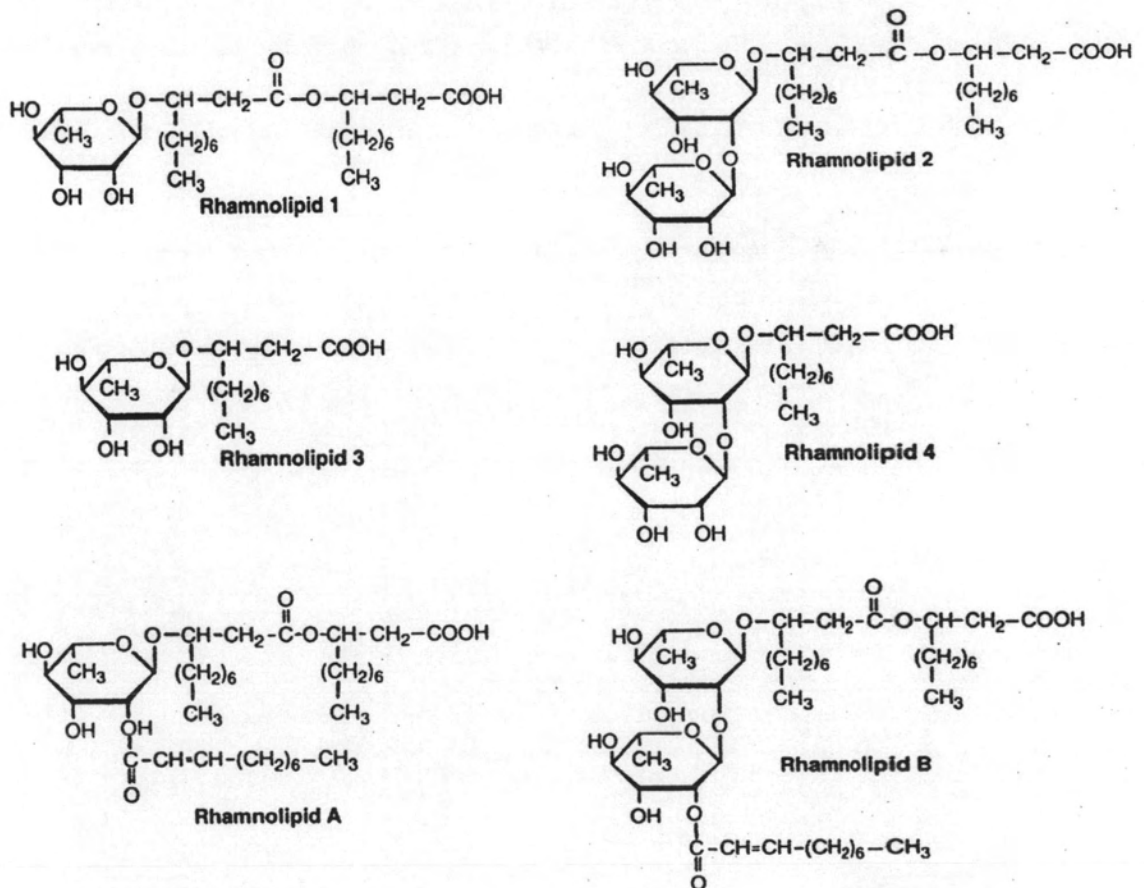
การจัดจำแนกชนิดของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (Biosurfactant Classification)

การจำแนกสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ สามารถแบ่งออกเป็น 6 กลุ่มตามโครงสร้างทางเคมี (Desai และ Banat, 1997) ได้แก่

1. ไกลโคลิพิด (glycolipid)

สารลดแรงตึงผิวชนิดไกลโคลิพิดประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรต เช่น กลูโคส แมนโนส กาแล็กโตส กรดกลูคูโรนิก แรมโนส เชื่อมต่อกับไขมัน เช่น กรดอะลิฟาติกและหมู่ไฮดรอกซี สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่จัดเป็นไกลโคลิพิด ได้แก่ แรมโนลิพิด ทรีฮาโรลิพิด และไซโฟโรลิพิด

1.1 แรมโนลิพิด (rhamnolipid) เป็นสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ประกอบด้วยน้ำตาล แรมโนส 1 หรือ 2 โมเลกุลเชื่อมต่อกับ 1 หรือ 2 โมเลกุลของ β -hydroxydecanoic acid ดังในรูปที่ 2.4 ซึ่งแรมโนลิพิดมีสูตรโครงสร้างต่างกัน 6 แบบที่มีจำนวนแรมโนสและส่วนของ β -hydroxydecanoic acid แตกต่างกันดังแสดงในตารางที่ 2.5 แรมโนลิพิดเป็นไกลโคลิพิดที่มีการศึกษาวิจัยมากที่สุด ซึ่งการผลิตไกลโคลิพิดที่มีแรมโนสเป็นองค์ประกอบโดย *Pseudomonas aeruginosa*



รูปที่ 2.4 โครงสร้างของแรมโนลิพิด ชนิด R1, R2, R3, R4, A และ B ที่ผลิตโดย *Pseudomonas aeruginosa* (Lang และ Wullbrandt, 1999)

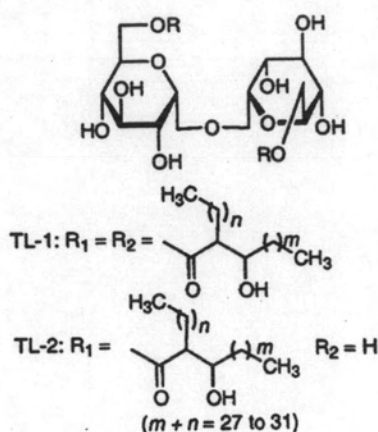
ตารางที่ 2.1 ส่วนประกอบของโครงสร้างและน้ำหนักโมเลกุลของสารแรมโนลิพิดแต่ละชนิด (Lang และ Wullbrandt, 1994)

ชนิดแรมโนลิพิด	ส่วนประกอบของโครงสร้าง		น้ำหนักโมเลกุล (ดาลตัน)
	แรมโนส	กรดไขมัน	
R1	1	2	504
R2	1	1	334
R3	2	2	650
R4	2	1	480
RA	1	3	655
RB	2	4	816

โดยส่วนใหญ่แรมโนลิพิดที่ผลิตโดย *Pseudomonas aeruginosa* ที่ให้ค่าแรงตึงผิวระหว่างพื้นผิวของสารต่อเฮกซาเดเคนเท่ากับ 1 mN/m ค่าแรงตึงผิว เท่ากับ 25-30 mN/m สามารถก่อเกิดอิมัลชันกับสารอัลเคนได้และกระตุ้นให้ *Pseudomonas aeruginosa* เจริญในภาวะมีเฮกซาเดเคนได้

ในปีค.ศ. 1993 Van Dyke และคณะรายงานว่า สารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดแรมโนลิพิดที่ผลิตโดย *Pseudomonas aeruginosa* UG2 ช่วยส่งเสริมการแยกสารประกอบที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic compound) ออกจากดินได้ เช่น แนพทาลีน (naphthalene) แอนทราซีน (anthracene) ฟรีแนนทรีน (phenanthrene) และฟลูออรีน (fluorene) ซึ่งสารประกอบเหล่านี้เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม

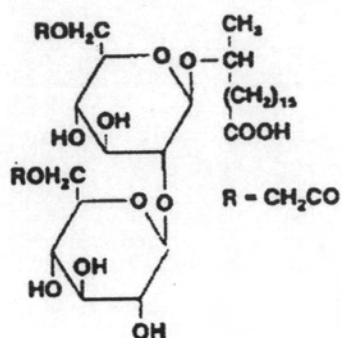
1.2 ทรีฮาโรลิพิด (trehalolipid) โครงสร้างโดยทั่วไปของทรีฮาโรลิพิดประกอบด้วย disaccharide trehalose เชื่อมต่อกับกรดไมโคลิก (mycolic acid) ที่ตำแหน่ง C-6 และ C-6-OH ซึ่งผลิตโดย *Mycobacterium*, *Nocardia* และ *Corynebacterium* sp.



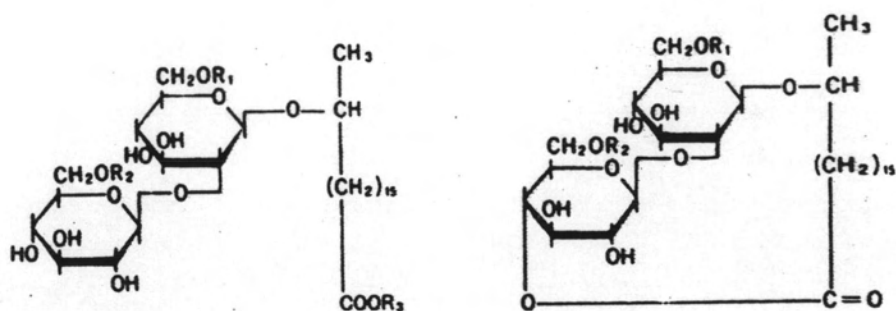
รูปที่ 2.5 โครงสร้างของ Trehalose dimycolate จาก *Rhodococcus erythropolis*.
(Desai และ Banat, 1997)

ทรีฮาโลลิพิดที่ผลิตจากสิ่งมีชีวิตต่างชนิดกันจะมีขนาดและโครงสร้างของกรดไมโคลิกต่างกัน ซึ่งต่างกันที่จำนวนอะตอมของคาร์บอน และความแรงของประจุของสารทรีฮาโลลิพิดจาก *R. erythropolis* และ *Arthrobacter* sp. ให้ค่าแรงตึงผิวต่ำสุดอยู่ในช่วง 25-40 mN/m และค่าแรงตึงผิวระหว่างสารกับเฮกซาเดเคนอยู่ในช่วง 1-5 mN/m

1.3 โซโฟโรลิพิด (sophorolipids) เป็นไกลโคลิพิดที่คล้ายกับแรมโนลิพิดผลิตโดยเชื้อจุลินทรีย์พวกยีสต์เป็นส่วนใหญ่ เช่น *Torulopsis bombicala* (Inoue และ Itoh, 1982) และ *T. petrophilium* (Cooper และ Paddock, 1983) *T. apicola* (Tulloch และคณะ, 1967) ประกอบด้วยไดเมอร์โซโฟโรสเชื่อมต่อกับสายยาวของ hydroxy fatty acid ที่ตำแหน่ง C-6 และ C-6' ด้วยพันธะไกลโคซิดิก โซโฟโรลิพิดที่ผลิตได้จากยีสต์ข้างต้น สามารถใช้สารตั้งต้นได้หลากหลายชนิด ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต (กลูโคส ฟรุคโตส ซูโครส แลคโตส) น้ำมันจากพืช น้ำมันจากสัตว์ และสารประกอบพวกอัลเคน เป็นต้น (Kitamoto และคณะ, 2002) Cutler และ Light, 1979 (อ้างอิงใน Desai และ Banat, 1997) รายงานว่า *Candida bogoriensis* ผลิตไกลโคลิพิดที่มีน้ำตาลโซโฟโรสเชื่อมอยู่กับ docosanoic acid diacetate นอกจากนั้นยังมี *T. petrophilium* ที่ผลิตโซโฟโรลิพิดได้โดยใช้สารตั้งต้นที่เป็นสารประกอบพวกอัลเคน น้ำมันพืช (Cooper และ Paddock, 1983) ทั้ง lactonic และ acidic sophorolipids จะให้ค่าแรงตึงผิวระหว่างสารกับเฮกซาเดเคนจาก 40 mN/m เป็น 5 mN/m และยังคงตัวอยู่ได้เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดต่างและอุณหภูมิ



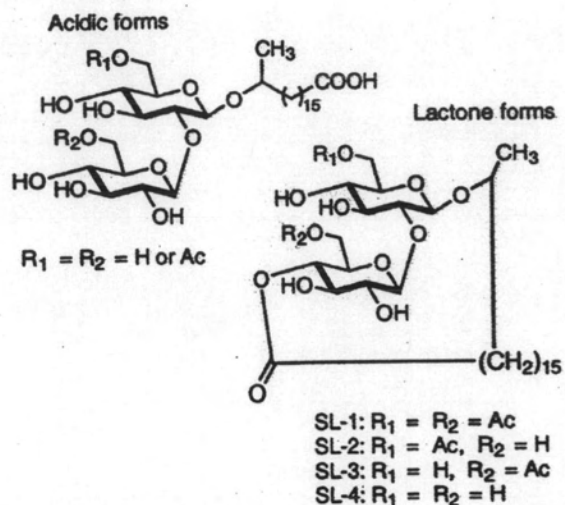
รูปที่ 2.6 โครงสร้างของไซโฟไรลิตดจาก *Torulopsis bombicola* แสดงโตเมอร์ริกไซโฟไรลิตที่เชื่อมต่อกับสายยาวของ hydroxyl fatty acid (C18) (Desai และ Banat, 1997)



- I : $R_1 = R_2 = \text{Ac}, R_3 = \text{H}$
 Acid-SL : $R_1 = R_2 = R_3 = \text{H}$
 Methyl-SL : $R_1 = R_2 = \text{H}, R_3 = \text{Me}$

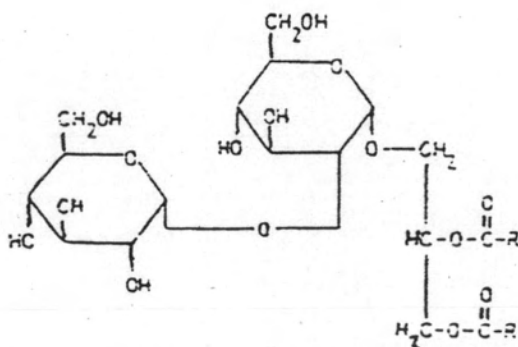
- II : $R_1 = R_2 = \text{Ac}$
 III : $R_1 = \text{H}, R_2 = \text{Ac}$

รูปที่ 2.7 โครงสร้างของไซโฟไรลิตดจาก *Torulopsis bombicola* (Inoue และ Itoh, 1982)
 I: 17-L-[(2'-O-P-D-glucopyranosyl-3-D-glucopyranosyl)]octadecanoic acid 6',6"-diacetate
 II: 1,4"-lactone of type I
 III: 6'-deacetylated derivative of type II



รูปที่ 2.8 โครงสร้างของไซโฟโรลิพิดจาก *Candida bombicola* ซึ่งแสดงโครงสร้างของ lactonic form และ acid form (Kitamoto และคณะ, 2002)

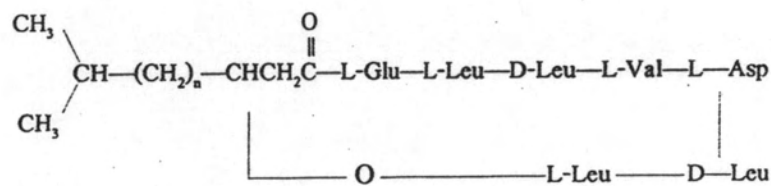
1.3 ไดไกลโคซิล ไดกลีเซอไรด์ (diglycosyl diglycerides) เป็นไกลโคลิพิดชนิดที่พบทั่วไปในจุลินทรีย์ มีสูตรโครงสร้างประกอบด้วยไดไกลโคซิลกับไดกลีเซอไรด์ ที่แตกต่างกัน 5 หมู่ คือ แอลฟา- ไดกลูโคซิลไดกลีเซอไรด์ (α -diglucosyldiglyceride) บีตา- ไดกลูโคซิล- (β - diglucosyl-) ไดแมนโนซิล (dimannosyl-) ไดกาแลคโตซิล- (digalactosyl-) และกาแลคโตซิล- ลกลูโคซิลไดกลีเซอไรด์ (galactosylglucosyldiglycerides) สมบัติของสารไกลโคซิลไดกลีเซอไรด์ ยังไม่ค่อยได้รับการศึกษามากนัก อย่างไรก็ตาม Brundish และคณะ, 1967 (อ้างอิงใน Cooper และ Zajic, 1980) ได้เสนอว่าสารนี้จัดเป็นสารลดแรงตึงผิว เพราะโมเลกุลของสารมีส่วนที่มีขั้วซึ่งชอบน้ำ และมีส่วนไม่มีขั้วเป็นหมู่อัลคิล 2 หมู่ นอกจากนี้ Wichken และ Know (1970) รายงานว่า สารไกลโคซิลไดกลีเซอไรด์ที่แยกได้จาก *Lactobacillus fermenti* สามารถก่อรูปเป็นไมเซลล์ได้



รูปที่ 2.9 โครงสร้างของ α -diglucosyldiglyceride , R = หมู่อัลคิล (Cooper และ Zajic, 1980)

2. ไลโปเพพไทด์ (lipopeptide) และไลโปโปรตีน (lipoprotein)

ไลโปเพพไทด์เป็นสารที่แยกได้จากแบคทีเรียและยีสต์หลายชนิด แต่มีเพียงบางชนิดเท่านั้นที่มีสมบัติเป็นสารลดแรงตึงผิว อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าไลโปเพพไทด์ที่ผลิตโดย *Bacillus subtilis* เป็นสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด ซึ่งมีชื่อเรียกทางเคมีว่า เซอร์แฟกติน (surfactin) หรือ ซับซิลิซิน (subtilysin) (Arima และคณะ, 1968; Bernheimer และ Avigad, 1970 อ้างอิงใน Cooper และ Zajic, 1980)



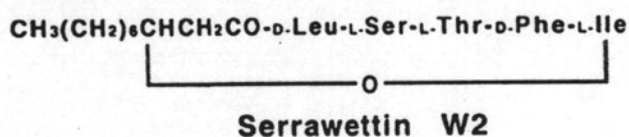
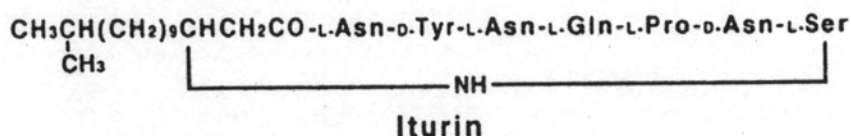
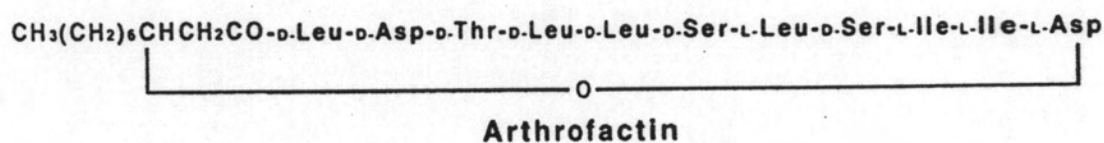
รูปที่ 2.12 โครงสร้างของเซอร์แฟกตินจาก *Bacillus subtilis* (Cooper และ Zajic, 1980)

โครงสร้างของเซอร์แฟกตินประกอบด้วยกรดอะมิโนยาว 7 ตัว เชื่อมต่อกันด้วยพันธะโคเวเลนต์ ปลายข้างหนึ่งเชื่อมต่อกับกลุ่มคาร์บอกซิลและปลายอีกข้างหนึ่งต่อกับกลุ่มไฮดรอกซิลของหมู่ปีตา-ไฮดรอกซีของกรดไขมัน เซอร์แฟกตินเป็นสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีประสิทธิภาพสูงที่มีความเข้มข้นเพียง 0.005 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเซลล์ สามารถลดแรงตึงผิวของสารละลาย 0.1M NaCO₃ จาก 71.6 mN/m เป็น 27.9 mN/m นอกจากนี้เซอร์แฟกตินยังมีสมบัติยับยั้งการแข็งตัวของเลือดโดยจะยับยั้งการจับตัวกันของไฟบรินในระบบธรมบิิน ทำให้ระยะเวลาที่ใช้ในการจับตัวกันจะนานขึ้น (Arima และคณะ, 1968 อ้างอิงใน Cooper และ Zajic, 1980) และสามารถทำให้เม็ดเลือดแดงและโปรโตพลาสต์ของแบคทีเรียแตกได้ จากกิจกรรมการทำให้เม็ดเลือดแดงแตกนี้ทำให้สามารถใช้เป็นวิธีการในการคัดเลือกเชื้อที่สามารถผลิตสารเซอร์แฟกตินได้

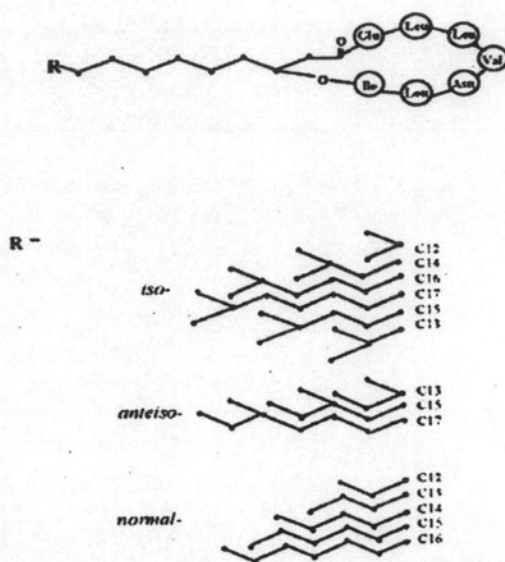
นอกจากนี้ *B. licheniformis* ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพประเภทไลโปเพพไทด์ได้หลายชนิดที่มีความเสถียรต่อ ค่าความเป็นกรดต่าง อุณหภูมิ และความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ได้ดี (McInerney และคณะ, 1990) สารลดแรงตึงผิว BL-86 ที่ผลิตโดย *B. licheniformis* 86 สามารถลดค่าแรงตึงผิวได้ดีที่สุด 27 mN/m และค่าแรงตึงผิวระหว่างสารกับเฮกซาเดคเคน 0.36 mN/m (Horowitz, Gilbert และ Griffin, 1990)

Morikawa และคณะ (1993) ได้รายงานว่า พบสารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดใหม่คือ อาร์โทรแฟกติน (arthrofactin) ซึ่งผลิตโดย *Arthrobacter* sp. MIS 38 มีโครงสร้างเป็น 3-hydroxydecanosyl-D-leucyl-D-asparagyl-D-threonyl-D-leucyl-D-leucyl-D-seryl-L-leucyl-

D-seryl-L-isoleucyl-L-isoleucyl-L-asparagyl lactone สูตรโครงสร้างแสดงในรูปที่ 2.13 ซึ่งมีประสิทธิภาพดีกว่าเซอร์แฟกติน 5 - 7 เท่า มีค่า CMC 1.0×10^{-5} M ขณะที่เซอร์แฟกตินมีค่า CMC 7.0×10^{-5} M ซึ่งสามารถลดแรงตึงผิวได้ดีที่สุด 24 mN/m เมื่อวัดสมบัติการกระจายตัวของน้ำมันจะให้ค่าที่สูงกว่าสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ทางเคมี เช่น ไทรทอน เอ็กซ์ 100 (Triton X-100) และโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (sodium dodecyl sulfate: SDS) Yakimov และคณะ (1995) ได้แสดงให้เห็นว่า สามารถผลิตไลโปเพปไทด์ชนิดใหม่ได้ คือ lichenysin A ผลิตโดย *B. licheniformis* BAS-50 ซึ่งมีส่วนประกอบของ β - hydroxy fatty acid ที่เป็นสายยาว สามารถลดแรงตึงผิวได้ดีที่สุด 28 mN/m มีค่า CMC 12×10^{-6} M

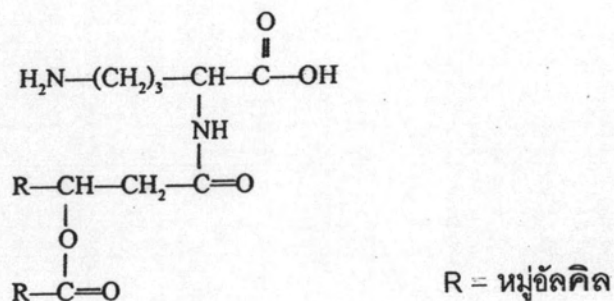


รูปที่ 2.13 โครงสร้างของไลโปเพปไทด์ชนิดต่าง ๆ (Morikawa และคณะ, 1993)

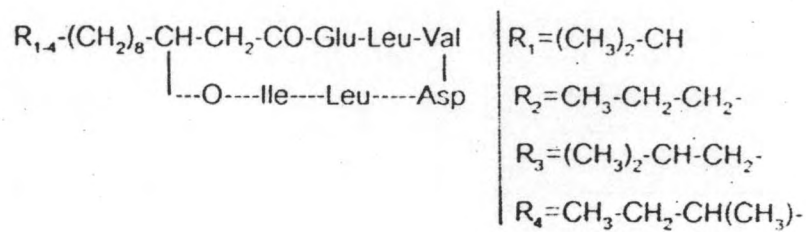


รูปที่ 2.14 โครงสร้างของ lichenysin A (Yakimov และคณะ, 1995)

ตัวอย่างสารลดแรงตึงผิวอื่นในกลุ่มนี้ ได้แก่ orithine containing lipid ผลิตโดย *Pseudomonas rubescens* สูตรโครงสร้างแสดงในรูปที่ 2.15 วิสโคซิน (viscosin) ผลิตโดย *Pseudomonas fluorescens* สูตรโครงสร้างแสดงในรูปที่ 2.16 (Morikawa และคณะ, 1993) lysin-containing lipid ผลิตโดย *Agobacterium tumefaciens* และ ornithine – taurine lipid (cerilipin) ผลิตโดย *Gluconobacter cerinus* (Knoche และ Shively, 1972) สูตรโครงสร้างแสดงในรูปที่ 2.17



รูปที่ 2.15 โครงสร้างของ ornithine containing lipid จาก *Pseudomonas rubescens* (Cooper และ Zajic, 1980)



รูปที่ 2.18 โครงสร้างของ surface-active lipopeptide ที่ผลิตโดย *B. licheniformis* (Jenny, Deltrieu และ Kappeli, 1993 อ้างอิงใน Kosaric และคณะ, 1993)

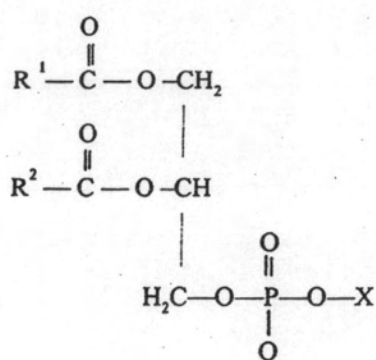
3. กรดไขมันและไขมัน (fatty acid and neutral lipid)

กรดไขมันและไขมันสามารถพบได้ในเซลล์จุลินทรีย์ทุกชนิดและมักปล่อยออกนอกเซลล์ เช่น กรดคาร์บอกซิลิก แอลกอฮอล์ เอสเทอร์ โมโนกลีเซอไรด์ ไดกลีเซอไรด์ และไตรกลีเซอไรด์ ตัวอย่างของกรดไขมันและไขมันที่สามารถลดแรงตึงผิว ได้แก่ กรดโครีโนมัยโคลิก (corynomycolic acid) ที่ความเข้มข้น 0.5 กรัมต่อลิตร สามารถลดแรงตึงผิวของน้ำลงเหลือ 40 mN/m ไขมัน (neutral lipid) ที่มีรายงานว่าสามารถลดแรงตึงผิวคือ ไขมันที่ผลิตจาก *Mycobacterium rhodochrous* เมื่อความเข้มข้นเท่ากับ 0.5 กรัมต่อลิตร สามารถลดแรงตึงผิวของน้ำเหลือ 44 mN/m และยังสามารถเสริมการเจริญของจุลินทรีย์ (Cooper และ Zajic, 1980)

รูปเวททิน อาร์ 1 (rubiwettin R1) ซึ่งเป็นไขมันที่ผลิตจาก *Serratia rubidaea* ATCC 27593 รูปเวททิน อาร์ 1 เป็นไขมันชนิด β -hydroxy fatty acid ที่มีจำนวนคาร์บอน 10 อะตอมเชื่อมต่อกับ β -hydroxy fatty acid ที่มีจำนวนคาร์บอน 12, 14 หรือ 16 อะตอมด้วยพันธะเอสเทอร์ (Matsuyama และคณะ, 1990)

4. ฟอสโฟลิพิด (phospholipids)

ฟอสโฟลิพิดพบในจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ โดยทั่วไปมีสูตรโครงสร้างซึ่งประกอบด้วย กลีเซอรอลเชื่อมต่อกับกรดไขมัน 2 หมู่และฟอสเฟต 1 หมู่ แบคทีเรียและยีสต์ที่ย่อยสลายสารประกอบไฮโดรคาร์บอนได้ สามารถสร้างกรดไขมันและฟอสโฟลิพิดระหว่างการเจริญในภาวะที่มีอัลเคนเป็นสารตั้งต้น โดยกรดไขมันและฟอสโฟลิพิดเหล่านี้มีสมบัติเป็นสารลดแรงตึงผิว (Cirigliano และ Carman, 1985; Robert และคณะ, 1989) Kappeli และ Finnerty (1979) รายงานว่า *Acinetobacter* sp. สายพันธุ์ HO1-N ผลิตฟอสฟาติลเอทานอลามีน (phosphatidylethanolamine) ได้ เมื่อเจริญอยู่ในอาหารที่มีเฮกซาเดเคนเป็นแหล่งพลังงาน



R¹ และ R² = หมู่อัลคิล

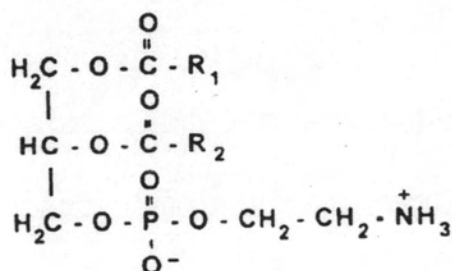
X = H , phosphatidic acid

X = CH₂CH(NH₂)-COOH ,
phosphatidylserine

X = CH₂CH₂N(CH₃)₃ ,
phosphatidyl choline (lecithin)

X = inositol , phosphatidylinositol

รูปที่ 2.19 โครงสร้างของฟอสโฟลิพิด (Shaw, 1974 อ้างอิงใน Cooper และ Zajic, 1980)



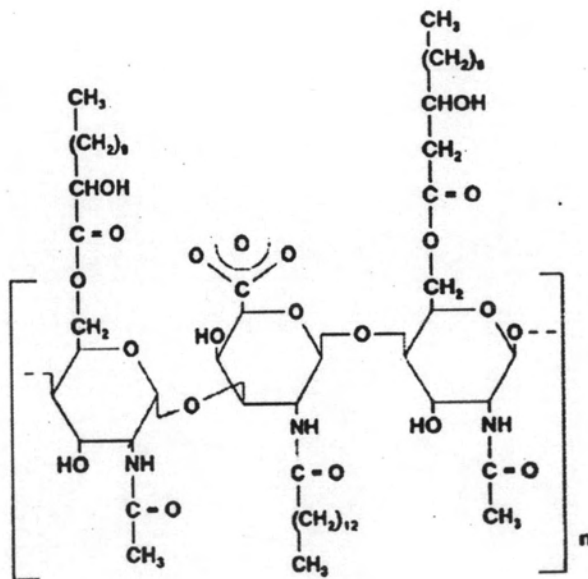
R₁ , R₂ = สายไฮโดรคาร์บอนของกรดไขมัน

รูปที่ 2.20 โครงสร้างของฟอสฟาติลเอทานอลามีน (phosphatidylethanolamine) จาก *Acinetobacter* sp. (Kappeli และ Finnerty, 1979)

นอกจากนี้ยังพบว่ามีจุลินทรีย์ชนิดอื่นที่ผลิตฟอสโฟลิพิดได้ เช่น *Aspergillus* sp. (Kappeli และ Finnerty, 1979) เมื่อเลี้ยงเชื้อในเฮกซาเดเคนและน้ำมันมะกอก (olive oil) นอกจากนี้พบว่า *R. erythropolis* ผลิตฟอสฟาติลเอทานอลามีนได้ เมื่อเลี้ยงเชื้อในอัลเคน ซึ่งสามารถลดแรงตึงผิวระหว่างสารกับเฮกซาเดเคนได้ดีที่สุด 1 mN/m และมีค่า CMC 30 mg/l (Kretschmer, Bock และ Wagner, 1982)

5. สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีโครงสร้างเป็นพอลิเมอร์ (polymeric biosurfactants)

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดพอลิเมอร์ที่รู้จักโดยทั่วไปคือ อิมัลชัน (emulsan) ไลโปแซน (liposan) แมนโนโปรตีน (mannoprotein) และสารประกอบเชิงซ้อนของพอลิแซคคาไรด์กับโปรตีนชนิดอื่นๆ (Desai และ Banat, 1997) Rosenberg และคณะ รายงานว่า *Acinetobacter calcoaceticus* RAG-1 ผลิต polyanionic amphipathic heteropolysaccharide bioemulsifier หรือที่เรียกว่า อิมัลชัน สูตรโครงสร้างแสดงในรูปที่ 2.21 สาย heteropolysaccharide ที่เป็นสายหลักประกอบด้วยหน่วยของกลีเซอไรด์ซ้ำ ๆ กัน 3 ชนิด คือ N-acetyl-D-galactosamine, N-acetylgalactosamine uronic acid และ unidentified N-acetyl amino sugar (Zukerberg และคณะ, 1979) โดยมีกรดไขมันเชื่อมต่อกับพอลิแซคคาไรด์ด้วยพันธะ o-ester อิมัลชันเป็นสารที่ก่อเกิดอิมัลชัน (emulsifying agent) ได้เป็นอย่างดี สำหรับสารประกอบไฮโดรคาร์บอนกับน้ำโดยใช้เพียง 0.001 – 0.01 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจะให้อิมัลชันที่คงตัวมากที่สุดเท่าที่ทราบในปัจจุบัน โดยใช้อัตราส่วนสารละลายต่อน้ำมันเท่ากับ 1 : 4 (Belsky และคณะ, 1979) ถ้าตั้งอิมัลชันไว้นาน ๆ หลังจากผสมสารแล้วอิมัลชันจะแยกเป็น 2 ชั้น โดยชั้นบนจะมีลักษณะเป็นครีมที่เรียกว่า อิมัลชันโนโซล (emulsanosol) ประกอบด้วยน้ำมัน 70 – 75 เปอร์เซ็นต์ของปริมาตรทั้งหมด



รูปที่ 2.21 โครงสร้างของอิมัลชัน จาก *Acinetobacter calcoaceticus* (Rosenberg และคณะ, 1979)

ไบโอดีสเพอร์แซน (biodispersan) เป็นสารที่ *A. calcoaceticus* A2 สร้างขึ้นเป็น anionic heteropolysaccharide ที่มีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย 51,000 ดาลตัน ซึ่งประกอบด้วย น้ำตาลรีดิทซ์ 4 ชนิด ได้แก่ กลูโคซามีน (glucosamine) 6- เมทิลลามีโนเฮกไซส (6-methylaminohexose) กรดกาแลคโตซึนยูโรนิก (galactosine uronic acid) และ unidentified amino sugar ในปี ค.ศ. 1995 Novonvenezia และคณะ รายงานว่าสามารถแยก อะลาซาน (alasan ; anionic alanine- containing heteropolysaccharide - protein) ได้มาจาก *A. radioresistens* KA-53 ซึ่งพบว่าสามารถทำงานได้ดีขึ้น 2.5-3 เท่า เมื่อให้ความร้อน 100 °ซ ในภาวะที่เป็นกลางหรือต่าง ส่วนไลโปแซน (liposan) เป็นสารก่อเกิดอิมัลชันที่สังเคราะห์โดย *Candida lipolytica* (Kappeli และ Fiechter, 1977) ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรต 83 เปอร์เซ็นต์ และโปรตีน 17 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งส่วนที่เป็นคาร์โบไฮเดรตเป็นสายของ heteropolysaccharide ที่ประกอบด้วย กลูโคส กาแลคโตส กาแลคโตซามีน และกรดกาแลคโทโรนิก Cameron และคณะ (1988) รายงานว่า *Saccharomyces cerevisiae* สามารถผลิต แมนโนโปรตีนได้ ซึ่งเป็นโปรตีนที่ก่อเกิดอิมัลชันได้ดีกับน้ำมัน อัลเคน และตัวทำละลาย สารอินทรีย์ เมื่อทำให้บริสุทธิ์พบว่าประกอบด้วยแมนโนส 44 เปอร์เซ็นต์ และโปรตีน 17 เปอร์เซ็นต์ Hisatsuka และคณะ (1972) ได้ทำงานวิจัยแยก protein - like activator จาก *P. aeruginosa* S7B1 ได้และนำมาปรับปรุงใช้เป็นสารก่อเกิดอิมัลชันกับสารประกอบ ไฮโดรคาร์บอน มีน้ำหนักโมเลกุล 14,300 ดาลตัน ประกอบด้วยกรดอะมิโน 147 ตัว เป็นเซอรีน (serine) และทรีโอนีน (threonine) 51 ตัว

Koronelli, Komavova และ Denisov, 1983 (อ้างอิงใน Desai และ Banat, 1997) พบว่า *P. aeruginosa* P-20 ผลิตเพพทิโดไกลโคลิพิด (peptidoglycolipid) ซึ่งประกอบด้วย กรดอะมิโน 52 ตัว กรดไขมัน 11 ตัว และมีส่วนที่เป็นน้ำตาลด้วย Desai, A. J., Panat และ Desai, J. D., 1988 (อ้างอิงใน Desai และ Banat, 1997) ได้อธิบายว่าการผลิตสารก่อเกิดอิมัลชันทางชีวภาพ (bioemulsifier) โดย *P. fluorescens* ระหว่างที่เลี้ยงเชื้อในแก๊สซิลิน ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรต 50 เปอร์เซ็นต์ โปรตีน 19.6 เปอร์เซ็นต์ และไขมัน 10 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งคาร์โบไฮเดรตส่วนใหญ่เป็นทรีฮาโรส และไขมันที่มี lipid-o-dialkyl monoglycerides เป็นส่วนประกอบหลัก

6. สารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดอนุภาค (particulate biosurfactants)

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดอนุภาคเป็นส่วนหนึ่งของ extracellular membrane vesicles ที่มารวมตัวเป็น microemulsion กับสารประกอบไฮโดรคาร์บอนได้ ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการนำอัลเคนเข้าสู่เซลล์ของจุลินทรีย์ สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีลักษณะเป็นอนุภาคที่ผลิตโดย *Acinetobacter* sp. HO1-N ซึ่งมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 20 – 50 นาโนเมตร และประกอบด้วยโปรตีน ฟอสโฟลิพิด และไลโปพอลิแซกคาไรด์ ซึ่งมี membrane vesicle เหมือนกับ outer membrane ของจุลินทรีย์ที่ผลิตขึ้น (Desai และ Banat, 1997) ในปี ค.ศ. 1997 Burd และ Ward รายงานว่า *Pseudomonas marginalis* สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชนิดอนุภาคที่มีชื่อว่า PM-factor ไปพร้อมกับการเจริญของเซลล์

ตารางที่ 2.2 สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้จากจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ (Desai และ Banat, 1997)

ชนิดของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ	จุลินทรีย์	Surface tension (mN/m)	CMC (g/l)	Interfacial tension (mN/m)
Glycolipids				
Rhamnolipids	<i>P. aeruginosa</i>	29	0.1-10	0.25
	<i>Pseudomonas spp.</i>	25-30	4	1
Treharolipids	<i>R. erythropolis</i>	32-36	20	14-17
	<i>N. erythropolis</i>	30	0.3	3.5
	<i>Mycobacterium sp.</i>	38		15
Sophorolipids	<i>T. bombicola</i>	33		1.8
	<i>T. apicola</i>	30		0.9
	<i>T. pretrohihum</i>			
Cellbiolipids	<i>U. zeae, U. maydis</i>			
Lipopeptides and lipoproteins				
Peptide lipid	<i>B. licheniformis</i>	27	12-20	0.1-0.3
Serrawettin	<i>S. marcescens</i>	28-33		
Vicosin	<i>P. fluorescens</i>	26.5	150	
Surfactin	<i>B. subtilis</i>	27-32	23-160	1
Polymyxins	<i>B. polymyxa</i>			
Fatty acids	<i>C. lepus</i>	30	150	2
Neutral lipids	<i>N. erythropolis</i>	32		3
Phospholipids	<i>T. thiooxidans</i>			
Polymeric surfactant				
Emulsan	<i>A. calcoaceticus</i>			
Biodispersan	<i>C. tropicalis</i>			
Mannan-lipid-protein	<i>C. lipolytica</i>			
Particulate biosurfactant				
Vesicle and fimbriae	<i>A. calcoaceticus</i>			
Whole cell	Variety of bacteria			

จลนศาสตร์การหมักสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (Kinetics of fermentative production)

จลนศาสตร์การหมักสารลดแรงตึงผิวชีวภาพนั้นมีหลายรูปแบบตามการแปรผันของระบบที่ใช้ในการหมัก ซึ่งสรุปได้ 4 รูปแบบ ดังนี้

1. การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพควบคู่กับการเจริญของเซลล์

(Growth - associated production)

โดยการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพนั้นจะควบคู่ไปกับการเจริญของจุลชีพ ดังรูปที่ 2.22 ก ตัวอย่างการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพแบบนี้ได้แก่ การผลิตไกลโคลิพิดจาก *Torulopsis bombicola* พบว่าจะเกิดขึ้นในช่วง exponential phase ของการเจริญ โดยมีกลูโคสและน้ำมันจากพืชเป็นแหล่งคาร์บอน (Cooper และ Paddock, 1984)

2. การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในภาวะจำกัดการเจริญ

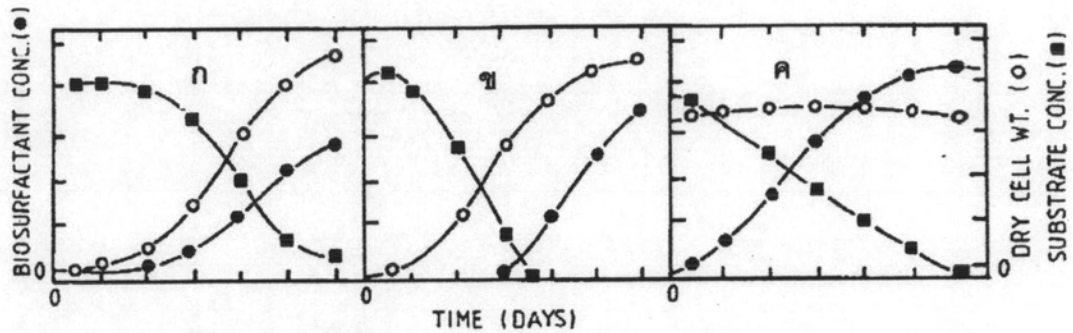
(Growth - limiting conditions)

การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพภายใต้ภาวะเลี้ยงเชื้อที่มีการจำกัดสารตั้งต้น เช่น แหล่งไนโตรเจน โดยเมื่อสารตั้งต้นเหล่านั้นถูกใช้โดยเชื้อจุลินทรีย์หมดลงการผลิตสารลดแรงตึงผิวก็เพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว ดังแสดงในรูปที่ 2.22 ข ตัวอย่างเช่น การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพของ *Torulopsis apicola* การผลิตไกลโคลิพิดจาก *Norcadia* sp. SFC-D และการผลิตสารที่มีสมบัติเป็นอิมัลซิไฟเออร์จาก *Candida tropicalis* IIP-4 เมื่อเลี้ยงเชื้อเจริญมาถึงระยะหนึ่งจนการเจริญคงที่ ปริมาณของไนโตรเจนและแร่เหล็กลดลงจนเกือบหมด แล้วจึงมีการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (Desai และ Banat, 1997)

3. การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในช่วงระยะพักของเซลล์

(Resting cells or immobilized cells)

เป็นภาวะการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยใช้เชื้อที่อยู่ในระยะพักเป็นหัวเชื้อ ในขณะที่เชื้อยังสามารถใช้แหล่งคาร์บอนและสังเคราะห์สารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ โดยการเจริญของเชื้อจะคงที่และรักษาระดับอยู่ตลอดเวลาในระหว่างการเลี้ยงเชื้อ รูปแบบการเจริญแสดงในรูปที่ 2.22 ค ตัวอย่างการผลิตเช่น การผลิตแรมโนลิพิดโดย *Pseudomonas* spp. และ *P.aeruginosa* CFTR-6 (Ramana และ Karanth, 1989) การผลิตไซโฟโรลิพิดโดย *Torulopsis bombicola* (Inoue และ Itoh, 1982) และ *Candida apicola* (Hommel และ Huse, 1993) และการผลิต mannosylerythritol lipid โดย *Candida antarctica* strain T-34 (Kitamoto และคณะ, 1992) เป็นต้น



รูปที่ 2.22 รูปแบบการเจริญของเชื้อแบบต่าง ๆ

- ก) การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพควบคู่กับการเจริญ (Growth – associated production)
 ข) การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพภายใต้ภาวะที่มีการจำกัดการเจริญ (Production under growth limited condition)
 ค) การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยใช้เชื้อในระยะพักหรือเซลล์ตรึง (Production by resting or immobilized cells)

4. การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยมีการเติมสารตั้งต้น

(Precursor supplementation)

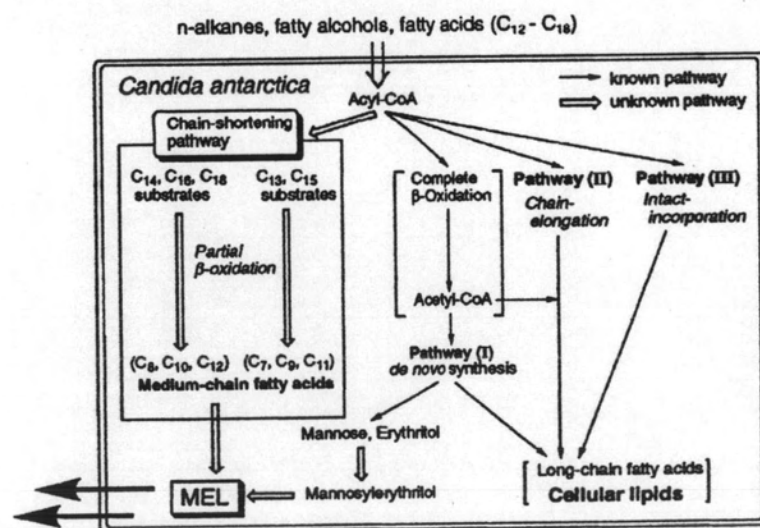
เป็นการเติมสารตั้งต้นสำหรับการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อเพิ่มการผลิตสารลดแรงตึงผิว โดยทำให้ผลผลิตมีการเปลี่ยนแปลงทั้งปริมาณและคุณภาพ เช่น การเติมสารประกอบไลโปฟิลิกลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ *T. bombicola* (Cooper และ Paddock, 1984) มีผลทำให้มีการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ 120-150 กรัมต่อลิตร (Lee และ Kim, 1993) ซึ่งมีค่ามากขึ้นจากเดิม เป็นต้น

กระบวนการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเป็นกระบวนการที่ค่อนข้างยาก ปัจจัยการผลิตที่มีผลต่อชนิดและปริมาณของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ได้แก่ แหล่งคาร์บอน ซึ่งถ้าเป็นกลูโคสจะสามารถนำไปใช้ได้ง่ายโดยผ่านกระบวนการไกลโคไลซิส (glycolysis) แต่ถ้าเป็นไขมันจะต้องถูกย่อยด้วยเอนไซม์ไลเปส แล้วเข้าสู่ขบวนการบีตา-ออกซิเดชัน (β -oxidation) จากนั้นจึงเข้าสู่วัฏจักรเครบส์ต่อไป แหล่งไนโตรเจน แร่ธาตุบางชนิด และปริมาณอาหารที่เหมาะสม นอกจากนี้ยังมีปัจจัยทางกายภาพและทางเคมี เช่น อัตราการให้อากาศ อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรดด่าง และปัจจัยที่สำคัญ คือ สายพันธุ์ของจุลินทรีย์ที่ใช้ต้องเป็นสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตดีที่สุดในภาวะที่เหมาะสม การเปลี่ยนแหล่งอาหารจะส่งผลให้โครงสร้างของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเปลี่ยน และส่งผลให้สมบัติ

ของการเป็นสารลดแรงตึงผิวเปลี่ยนไปด้วย ดังนั้นจึงต้องเลือกสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับเชื้อแต่ละชนิดด้วย นอกจากนี้แหล่งคาร์บอนยังมีผลต่อสารลดแรงตึงผิวชีวภาพด้วยว่าจะเป็นสารที่ปล่อยสู่นอกเซลล์ (extracellular) หรือถูกขังอยู่ในเซลล์ (intracellular) แหล่งไนโตรเจน (N-source) และอัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C:N) ก็มีผลต่อการเกิดการเกิดการผลิตเช่นกัน ดังนั้นประสิทธิภาพการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจะดีหรือไม่ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย

กระบวนการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพของจุลินทรีย์โดยทั่วไป เริ่มต้นจากการนำสารตั้งต้น (สารประกอบไฮโดรคาร์บอนต่างๆ) เข้าสู่เซลล์โดยผ่านผนังเซลล์ ผนังเมมเบรน และเข้าสู่ไซโทพลาซึม สารตั้งต้นที่ผ่านเข้าสู่เซลล์แล้วจะผ่านกระบวนการ β -oxidation แล้วให้สารตั้งต้นตัวใหม่คือ Acetyl CoA ซึ่งเป็นสารตั้งต้นหลักในกระบวนการสร้างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ กระบวนการสร้างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพภายในเซลล์จุลินทรีย์มี 3 pathway ได้แก่ 1) de novo synthesis 2) chain elongation (การนำ Acetyl CoA มาต่อที่ละโมเลกุลจนได้กรดไขมันสายยาว) 3) intact incorporation (การนำ Acetyl CoA 2 โมเลกุลมาต่อกัน) นอกจากกระบวนการที่กล่าวมาแล้วยังมีกระบวนการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่น่าสนใจอีกคือ กระบวนการ chain shortening โดยจะใช้ Acetyl CoA เป็นสารตั้งต้นซึ่งจะจับกับกรดไขมันสายสั้น แล้วผ่านกระบวนการ β -oxidation ที่ไม่สมบูรณ์จะได้กรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ จากนั้นอาจเกิดการรวมตัวของกรดไขมันกับสารชนิดอื่น หรืออาจเกิดการปรับเปลี่ยนโครงสร้างของกรดไขมัน เพื่อให้ได้สารที่สมบูรณ์ยิ่งขึ้น ซึ่งสารนี้อาจอยู่ภายในเซลล์หรือหลังจากออกมาออกเซลล์ขึ้นอยู่กับชนิดของสารและจุลินทรีย์ชนิดนั้น ดังแสดงตัวอย่างกระบวนการผลิตสาร Mannosylethritol lipid (MEL) จากยีสต์ *Candida antarctica* T-34 ในรูปที่ 2.23



รูปที่ 2.23 กระบวนการผลิตสาร Mannosylethritol lipid (MEL) จาก *Candida Antarctica* T-34 (Kitamoto และคณะ, 2002)

แหล่งอาหารที่มีผลต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

1. แหล่งคาร์บอน

ความยาวของสายไฮโดรคาร์บอนที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่ามีผลต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ตัวอย่างเช่น *Corynebacterium hydrocarboclastus* และ *Rhodococcus erythropolis* สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ดี เมื่อเจริญบนไฮโดรคาร์บอนสายตรง (n-alkanes) ที่มีจำนวนคาร์บอนอะตอม C12 ถึง C14 และ C12 ถึง C18 ตามลำดับ ในขณะที่ *Acinetobacter* sp. ต้องการแหล่งคาร์บอนที่เป็น cyclic และ aliphatic carbon เพื่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ และหากความยาวของ n-alkanes เพิ่มขึ้นจาก C10 ถึง C17 ความสามารถในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจะลดลง (Ristau และ Wagner, 1983; Rosenberg และคณะ, 1979) แหล่งคาร์บอนบางชนิดสามารถชักนำให้จุลินทรีย์ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ เช่น กรดไขมัน สารประกอบไฮโดรคาร์บอน หรือกลีเซอรไรด์ จะชักนำให้ *Torulopsis magnoliae* ผลิตไซโฟโรลิพิดได้มากขึ้น (Tulloch และคณะ, 1962) ในขณะเดียวกันแหล่งคาร์บอนบางชนิดอาจมีผลยับยั้งกระบวนการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ เช่น การผลิตไลโปแซนจาก *Candida lipolytica* จะให้ผลผลิตต่ำเมื่อใช้กลูโคส อะซิเตต และกรดไตรคาร์บอกซิลิกเป็นแหล่งคาร์บอน (Cirigliano และ Carman, 1988)

2. แหล่งไนโตรเจน

แหล่งไนโตรเจนมีความสำคัญต่อเมตาบอลิซึมของเซลล์รวมถึงการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพด้วย แหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจะแตกต่างกันไป ขึ้นอยู่กับชนิดของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและชนิดของจุลินทรีย์ Cooper และ Paddock (1984) ได้ทดลองการผลิตไกลโคลิพิดโดย *Torulopsis bombicola* พบว่า $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ เป็นแหล่งไนโตรเจนที่มีผลต่อการเจริญของเซลล์สูงสุด 10.14 g/l และให้ค่าแรงตึงผิว 34 mN/m แต่เมื่อใช้ NH_4Cl เป็นแหล่งไนโตรเจน จะให้ค่าแรงตึงผิวต่ำสุดที่ 31 mN/m เป็นต้น

นอกจากนี้ปริมาณไนโตรเจนที่ใช้ในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจะต้องได้สัดส่วนกับคาร์บอน คือต้องศึกษาค่าอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนและไนโตรเจน (C/N ratio) ให้เหมาะสม พบว่าถ้าอัตราส่วนนี้สูงขึ้น การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจะเพิ่มมากขึ้น (Ristau และ Wagner, 1983)

การจำกัดปริมาณไนโตรเจนไม่เพียงแต่จะเป็นสาเหตุให้มีการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพออกมาได้มากกว่าปกติเท่านั้น เช่น การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจาก *C. tropicalis* IIP-4 (Desai และ Banat, 1997) แต่ยังสามารถเปลี่ยนองค์ประกอบของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตขึ้นอีกด้วย เช่น ในการเจริญของ *R. erythropolis* ในภาวะปกติเชื่อมีการผลิตทรีฮาโลสโคริโนมาย

โคเลทที่ได้รับประจุ ในภาวะที่จำกัดปริมาณไนโตรเจนเชื่อจะเกิดการผลิตทรีฮาโลสเตรอะเอสเทอร์ที่มีประจุลบขึ้นแทน (Ristau และ Wagner, 1983 ; Kosaric, 1993)

3. แหล่งเกลือแร่และวิตามิน

เกลือแร่และวิตามิน เป็นปัจจัยหนึ่งที่จุลินทรีย์ต้องการใช้เพื่อการเจริญเติบโต นอกเหนือจากแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจน นอกจากนี้ยังมีผลในการกระตุ้นหรือกวดการสังเคราะห์สารลดแรงดึงผิวชีวภาพ Guerra- Santos และคณะ (1986) แสดงให้เห็นว่าการจำกัดปริมาณของ Fe^{2+} Mg^{2+} หรือ Ca^{2+} จะมีผลกระตุ้นการผลิตแรมโนลิพิดได้เพิ่มมากขึ้นโดย *Pseudomonas* sp. ในทางตรงข้ามการผลิตเซอร์แฟกตินโดย *B. subtilis* พบว่าสามารถถูกกระตุ้นได้โดยการเติมเหล็กและเกลือแมงกานีสลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ (Cooper และคณะ, 1981)

ปัจจัยทางกายภาพที่เหมาะสมต่อการผลิตสารลดแรงดึงผิวชีวภาพ

1. ความเป็นกรด-ด่าง

การเจริญของจุลินทรีย์หรือสิ่งมีชีวิตต่างๆ ถูกควบคุมโดยกระบวนการเมตาบอลิซึมมีเอนไซม์เป็นตัวสำคัญและการทำงานของเอนไซม์จะได้รับผลกระทบจากความเป็นกรด-ด่าง องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นปัจจัยสำคัญอันหนึ่งที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างในระหว่างการเลี้ยงเชื้อ เนื่องจากจุลินทรีย์จะมีการย่อยสลายสารอาหารเพื่อเป็นแหล่งพลังงาน ถ้าในอาหารเลี้ยงเชื้อมีองค์ประกอบที่เป็นโปรตีน และไนโตรเจน เมื่อถูกย่อยสลายจะปลดปล่อยสารที่เป็นแอมโมเนีย หรือ อัดคาไลนอื่นๆ ออกมา แต่ถ้าในอาหารเลี้ยงเชื้อมีองค์ประกอบที่เป็นคาร์โบไฮเดรต เมื่อถูกย่อยสลายจะขับสารที่เป็นกรดอินทรีย์ออกมา ซึ่งสิ่งที่ขับออกมานี้ จะทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเปลี่ยนแปลงไป จนอยู่ในสภาพที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ นอกจากนี้ค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ ยังมีความสำคัญในการผลิตสารลดแรงดึงผิวชีวภาพของจุลินทรีย์ เช่น การผลิต Single cell oil จากยีสต์ *Yarrowia lipolytica* พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6 จะให้ผลผลิตของไขมันสูงสุด 2.7 g/l ในขณะที่ความเป็นกรด-ด่างสูงและต่ำกว่า 6 จะให้ผลผลิตของไขมันต่ำมาก (Papanikolaou และคณะ, 2002)

2. อุณหภูมิ

พบว่าอุณหภูมิสามารถเปลี่ยนแปลงส่วนประกอบของสารลดแรงดึงผิวชีวภาพที่ผลิตขึ้นได้ คล้ายกับแหล่งคาร์บอน อุณหภูมิมีผลกระทบต่อกระบวนการสร้างไขมัน นอกเหนือจากระดับของความไม่อิ่มตัว ตัวอย่างเช่น มีผลเปลี่ยนแปลงความยาวของสารกรดไขมัน มีผลต่อระดับของกิ่ง

ของกรดไขมัน (fatty acid branching) และ cyclization มีผลต่อการกระจายตัวและความแตกต่างของสัดส่วนระหว่างไกลโคลิพิด และฟอสโฟลิพิดที่เกิดเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ โดยอุณหภูมิมีผลต่อปริมาณของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้จาก *A. parvius* ATCC 19558, *Rhodococcus erythropolis* และ *Pseudomonas* sp. DSM-2874 (Guerra- Santos และคณะ 1986 ; Kosaric และคณะ, 1984)

3. การให้อากาศ

การให้อากาศ การกวน เป็นการเพิ่มปริมาณออกซิเจนให้กับจุลินทรีย์เพื่อนำไปใช้ในกระบวนการเมตาบอลิซึมทางหนึ่ง นอกจากนี้ยังเป็นการช่วยให้จุลินทรีย์อยู่ในสภาพแขวนลอยสามารถดูดซึมปริมาณออกซิเจนเพื่อนำไปใช้ได้มากขึ้น ออกซิเจนที่จุลินทรีย์สามารถนำไปใช้นั้นต้องอยู่ในรูปของโมเลกุลออกซิเจนที่ละลายหรืออยู่ในรูปของเหลว การละลายของออกซิเจนในน้ำมีปริมาณจำกัด ออกซิเจนสามารถละลายในสื่อกลางที่เป็นน้ำได้เพียงไม่กี่มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยอากาศที่ความดัน 1 บรรยากาศ นับว่าน้อยมากเมื่อเทียบกับปริมาณออกซิเจนที่จุลินทรีย์ต้องการ ดังนั้นจำเป็นต้องทำให้มีออกซิเจนละลายเข้าไปในอาหารเหลวอยู่ตลอดเวลาโดยการถ่ายเทจากอากาศ ซึ่งช่วยให้จุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศเจริญได้ด้วยความหนาแน่นสูงภายใต้ภาวะที่เป็นอันหนึ่งอันเดียวกัน ดังนั้นจะเห็นว่าในขั้นตอนของกระบวนการหมักจึงต้องมีการให้อากาศตลอดเวลา Papanikolaou และคณะ (2002) พบว่าอัตราการถ่ายเทอากาศเป็นปัจจัยหนึ่งที่สำคัญสำหรับการผลิต Single cell oil ของยีสต์ *Y. lipolytica* พบว่าที่ความอิมตัวของออกซิเจน 5-15% จะให้ผลผลิตของไขมันเท่ากับ 3 g/l ในขณะที่ความอิมตัวของออกซิเจนสูงถึง 60-70% จะไม่สามารถผลิตไขมันได้

ประโยชน์และการประยุกต์ใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

ปัจจุบันมีผู้สนใจนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพไปใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวาง เนื่องจากสารลดแรงตึงผิวชีวภาพทำหน้าที่ได้หลายประการ ได้แก่

1. สารก่อเกิดอิมัลชัน (emulsification) เป็นสารที่ช่วยทำให้เกิดอิมัลชันหรือทำให้สารที่มีขั้วต่างกันผสมกันได้ดีขึ้น
2. สารแยกเฟส (phase separation) เป็นสารที่ช่วยแยกเฟสสองเฟสที่ต่างกันออกจากกัน
3. สารเปียก (wetting agent) เป็นสารที่ช่วยให้มีความเปียกขึ้นอยู่เสมอ
4. สารก่อฟอง (foaming agent) เป็นสารที่ช่วยทำให้เกิดฟองในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

5. สารช่วยเพิ่มการละลาย (solubilisation) เป็นสารที่ช่วยทำให้สารบางชนิดเกิดการละลายได้ดีขึ้น
6. สารลดการเกิดสนิม (corrosion- inhibition) เป็นสารที่ช่วยยับยั้งการกัดกร่อนที่เกิดจากสนิม
7. สารลดความหนืด (viscosity- reduction)

จะเห็นว่าสามารถใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพทำหน้าที่แทนสารลดแรงตึงผิวทางเคมีได้เป็นอย่างดี นอกจากนี้การใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีข้อดีหลายประการ ได้แก่

- สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดยจุลินทรีย์มีโครงสร้างหลากหลายสามารถเลือกนำไปใช้ให้เหมาะสมกับงานได้โดยง่าย
- สารลดแรงตึงผิวชีวภาพสามารถผลิตจากสารตั้งต้นที่นำกลับมาใช้ได้ใหม่ (renewable substrate)
- สามารถปรับปรุงสายพันธุ์ของจุลินทรีย์โดยใช้เทคนิคทางพันธุวิศวกรรมศาสตร์ (genetic engineering) หรือเทคนิคทางชีวเคมี เพื่อให้เชื่อมีความสามารถในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพให้มีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น
- สารลดแรงตึงผิวชีวภาพสลายตัวได้ง่ายไม่ตกค้างอยู่ในสิ่งแวดล้อมหรือผลิตภัณฑ์ที่นำไปใช้ในกระบวนการผลิต ซึ่งถ้าเป็นสารลดแรงตึงผิวที่สังเคราะห์โดยวิธีทางเคมี สารพวกนี้จะสลายตัวยาก จึงอาจเกิดปัญหาเป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อมได้ในอนาคต (Fiechter, 1992; Kosaric, 1993; Desai และ Banat, 1997)

ถึงแม้ว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจะมีคุณประโยชน์และมีหลายชนิดให้เลือกใช้ อีกทั้งไม่ก่อให้เกิดผลเสียต่อสิ่งแวดล้อม แต่การใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพยังมีน้อยอยู่ทั้งนี้เพราะสารลดแรงตึงผิวดังกล่าวมีราคาแพง ตัวอย่างเช่น สารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ที่ใช้ในการนำน้ำมันจากแหล่งธรรมชาติขึ้นมาใช้ประโยชน์ มีราคาอยู่ที่ 4- 6 เหรียญสหรัฐต่อกิโลกรัม (Rosenberg, 1993) ในขณะที่สารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีราคาแพงกว่าถึง 3- 10 เท่า (Mulligan และ Gibbs, 1993) อุตสาหกรรมที่มีการใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพกันมากก็คือ อุตสาหกรรมปิโตรเลียม ในประเทศคูเวตได้นำไปใช้ล้างถังเก็บน้ำมัน ใสในท่อส่งน้ำมันดิบ เพราะอิมัลชันสามารถลดความหนืดของน้ำมันดิบได้ ทำให้ขนส่งน้ำมันได้รวดเร็วและเสียค่าใช้จ่ายน้อยลง และใช้ทำความสะอาดน้ำมันที่ปนเปื้อนตามชายฝั่งทะเล (Banat, 1995)

ในอุตสาหกรรมอาหาร ซึ่งนิยมใช้สารลดแรงตึงผิวในอาหารจำพวกเครื่องดื่ม ใช้เป็นสารช่วยในการละลาย ช่วยทำให้อาหารนำรับประทานด้วยการทำให้แวววาว หรือด้านสีล้น อาหาร

พวกของอบโดยช่วยให้เป็นเนื้อเดียวกันจากคุณสมบัติเป็นอิมัลซิไฟเออร์ ช่วยทำให้เกิดโฟม ช่วยเพิ่มความหนืด ทำให้เป็นเจลาติน อาหารพวกที่มีนม และ ไข่ เป็นองค์ประกอบซึ่งจะช่วยทำให้เกิดเจลาติน ทำให้เกิดการรวมตัว ช่วยทำให้เกิดโฟม หรือ เพิ่ม fat holding capacity อาหารพวกเนื้อสัตว์ โดยทำเป็นอิมัลซิไฟเออร์ทำให้เกิดเจลาติน เกิดการยึดเกาะและดูดซับ อาหารพวกซूपและน้ำเกรวี่ โดยจะช่วยเพิ่มความหนืด เป็นอิมัลซิไฟเออร์ดูดซับน้ำ รวมทั้งพวกที่ใช้ตบแต่งอาหาร เช่น ทอปปิงต่างๆ และสารผสมในเครื่องสำอางจากคุณสมบัติของสารลดแรงตึงผิวข้างต้น ทำให้สารลดแรงตึงผิวเป็นที่แพร่หลายจากตารางที่ 2.3 จะแสดงตัวอย่างของคุณสมบัติของสารลดแรงตึงผิวที่ใช้ในอาหารชนิดต่างๆ และต่อไปนี้เป็นตัวอย่างที่ใช้เป็นอิมัลซิไฟเออร์ในอาหาร เช่น lecithin และ lecithin derivative, glycerol fatty acid ester, hydroxylic acid และ fatty acid ester, lactylate fatty acid ester, polyglycerol fatty acid ester, ethylene หรือ propylene glycol fatty acid ester, ethoxylated derivative of monoglycerides, sorbitan fatty acid ester และ miscellaneous derivative (Kosaric, 1993)

อย่างไรก็ตามยังเป็นที่ยกเถียงกันว่า จะสามารถใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตจากจุลินทรีย์จะใช้กับอาหารได้หรือไม่ ดังนั้นองค์การอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกา จึงทดสอบสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในด้านคุณค่าทางอาหาร คุณสมบัติต่างๆ ด้านการปรับรส ด้านชีวภาพ และด้านพิษวิทยา สุดท้าย ยังห้ามใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากจุลินทรีย์กับอาหาร แต่อนุญาตให้ใช้ในยา และเครื่องสำอางได้ ในขณะที่ในประเทศญี่ปุ่น อนุญาตให้ใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากจุลินทรีย์กับอาหารได้ เช่น sophorolipid โดยใช้เป็น additive ในแป้งเพื่อเพิ่มอายุของการวางขาย (shelf life) ของขนมอบ และ mannosylerythrytol lipids จาก *Candida antarctica* ที่ผลิตในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำมันถั่วเหลือง นอกจากนั้นยังมีสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่เป็นพอลิเมอร์ เช่น emulsan ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลมากกว่า 200 กิโลดาลตัน ซึ่ง emulsan และ apoemulsan ที่ผลิตจาก *Acinetobacter calcoaceticus* ส่วนในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง โซไฟโรลิพิดที่ผลิตได้จาก *Torulopsis bombicala* ถูกนำไปใช้ในแชมพูและครีมทาผิว (Fiechter, 1992) ตัวอย่างเครื่องสำอางที่ใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ เช่น สบู่ ครีมอาบน้ำ แผ่นป้องกันผิว ผลิตภัณฑ์ป้องกันรังแค น้ำยาล้างคอนแทคเลนส์ ผลิตภัณฑ์ดับกลิ่น ลิปสติก ยาสีฟัน มาสคาร่า อายแชโดว์ สารให้ความชุ่มชื้น ผลิตภัณฑ์แต่งผม เป็นต้น ในสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางคือ แรมโนลิปิด โดยแรมโนลิปิด จะฟอร์มตัวเป็น liposome (Ishigami และคณะ, 1987) โดยสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตจากจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ในวงการอุตสาหกรรมส่วนมากได้จดสิทธิบัตรแล้ว ตามตัวอย่างใน ตารางที่ 2.4 (Kosaric, 1993) นอกจากนั้นสารลดแรงตึงผิวชีวภาพบางชนิดยังเป็นสารปฏิชีวนะ เช่น เซอร์แฟกติน พอลิไมซิน และ แรมโนลิปิด เป็นต้น

ในทางเกษตรกรรมมักใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพเป็น antiphytopathogen กับพวกเชื้อรา ตัวอย่าง เช่น แรมโนลิพิดมีผลกับจุลินทรีย์ที่ก่อโรคในพืช เช่น *Pythium aphanidermatum* (Stangghellini และคณะ, 1996) อีกทั้งใช้เป็น wetting agent คือเป็นสารที่จะทำให้ใบพืชเปียก โดยอาศัยส่วนที่ไม่ชอบน้ำเกาะกับส่วนที่เป็นแวกซ์ของใบไม้ (Bunster และคณะ, 1989) สารลดแรงตึงผิวชีวภาพบางชนิดช่วยทำให้ดินที่แห้งมาก ๆ กลับมีความชุ่มชื้นสามารถปลูกพืชต่าง ๆ ได้ เจริญงอกงามดี

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีประโยชน์หลายด้าน จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องหาวิธีในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพให้เป็นสินค้าที่มีขายในท้องตลาดได้ในราคาที่ไม่สูงเกินไปนัก ทั้งนี้ถ้ามีการใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพแทนสารลดแรงตึงผิวที่สังเคราะห์ทางเคมีมากขึ้นเท่าใด ก็จะเป็นการรักษาสภาพแวดล้อมของโลกเราให้ดีขึ้นด้วย

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพส่วนใหญ่ที่นำมาใช้อย่างแพร่หลายทั้งในอุตสาหกรรมและบ้านเรือนเป็นสารประเภทไกลโคลิพิด เช่น โซไฟโรลิพิด และสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีสมบัติเป็นอิมัลซิไฟเออร์ ที่เป็นส่วนประกอบในเครื่องอุปโภคและบริโภค ซึ่งถือว่าสำคัญต่อมนุษย์มากที่สุด ไกลโคลิพิดเป็นสารธรรมชาติที่มักพบได้ในผนังเซลล์ของจุลินทรีย์จำพวกยีสต์และรา ดังนั้นการนำจุลินทรีย์เหล่านี้มาผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในระดับอุตสาหกรรมจึงเป็นที่สนใจมากขึ้น เนื่องจากความหลากหลายของสายพันธุ์และความสามารถในการใช้แหล่งอาหารของจุลินทรีย์นั้นมีผลให้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้มีโครงสร้างที่หลากหลาย นอกจากนี้การผลิตสารไกลโคลิพิดยังมีกระบวนการที่ไม่ซับซ้อน และให้ผลผลิตของสารลดแรงตึงผิวได้มากกว่าสารชนิดอื่น

ด้วยเหตุผลหลายประการที่กล่าวมาข้างต้นเกี่ยวกับสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ดังนั้นในปัจจุบันจึงได้มีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ได้จากยีสต์กันมากขึ้น และได้เล็งเห็นความสำคัญที่ว่ายีสต์นั้นสามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ในปริมาณสูง และใช้แหล่งอาหารได้หลากหลาย หาได้ง่าย ราคาถูก รวมถึงแหล่งอาหารที่จากวัสดุเหลือใช้จากเกษตรกรรม ซึ่งเป็นผลดีและเป็นทางเลือกหนึ่งในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพให้ได้คุณภาพ ในราคาต้นทุนการผลิตต่ำ รวมทั้งจะต้องพัฒนาคุณภาพให้ดีขึ้นเรื่อย ๆ โดยการหาแหล่งอาหารภาวะการเลี้ยงเชื้อ และปัจจัยต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพให้เหมาะสม เพื่อให้ได้ผลผลิตสูงสุดเหมาะสมที่จะนำมาใช้ในอุตสาหกรรมต่อไป

ตารางที่ 2.3 หน้าที่ต่างๆของสารลดแรงตึงผิวที่ใช้เป็นอิมัลซิไฟเออร์ในอาหารชนิดต่างๆ
(Kosaric, 1993)

Functions	Product examples
Emulsification (water-in-oil)	Margarine
Emulsification (oil-in-water)	Mayonnaise
Aeration	Whipped toppings
Improvement of whippability	Whipped toppings
Inhibition of fat crystallization	Candy
Softening	Candy
Antistaling	Bread
Dough conditioning	Bread dough
Improvement of loaf volume	Bread
Reduction of shortening requirements	Bread
Pan release agent	Yeast-leavened and other dough and batter products
Fat stabilizer	Food oil
Antispattering agent	Margarine and frying oils
Antisticking agent	Caramel candy
Protective coating	Fresh fruits and vegetables
Surfactant	Molasses
Viscosity control	Molten chocolate
Improvement of solubility	Instant drinks
Starch complexation	Instant potatoes
Humectant	Cake icing
Plasticizer	Cake icing
Defoaming agent	Sugar production
Stabilization of flavor oils	Flavor emulsification

ตารางที่ 2.3 หน้าที่ต่างๆของสารลดแรงตึงผิวที่ใช้เป็นอิมัลซิไฟเออร์ในอาหารชนิดต่างๆ
(Kosaric, 1993) (ต่อ)

Functions	Product examples
Promotion of "dryness"	Ice cream
Freeze-thaw stability	Whipped topping
Improved wetting ability	Instant soups
Inhibition of sugar crystallization	Panned coating

ตารางที่ 2.4 ตัวอย่างสิทธิบัตรของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตด้วยจุลินทรีย์ (Kosaric, 1993)

Product	Microorganism	Patent
Emulsan	<i>Arthrobacter</i> sp. ATCC 31012	Biotechnol. ktienges., US 4,276,094 (1981)
Biosurfactant	<i>Corynebacterium hydroblastus</i> NRLL-B_5631	CPDL, US 3,997,398 (1976)
Biosurfactant	<i>Arthrobacter, Bacillus,</i> <i>Corynebacterium, Nocardia,</i> <i>Pseudomonas</i>	CPD, CA 1,114,759 (1981)
Biosurfactant	<i>Arthrobacter</i> RAG1	Gutnick, D., Rosenberg, E. DE 2,415,897 (1987)
Lipopeptide	<i>Methylomonas clara</i> ATCC 31226	Hoescht AG, DE 3,312,166 (1984)
Biosurfactant	<i>Penicillium spiculisporum</i>	Inoue-Japax Research Inc., Jpn Kokai 7,837,189 (1987)
Sophorose lipids	<i>Torulopsis bombicola</i>	Kao Soap Ltd., DE 2,834,118 (1979)
Glycolipids	<i>Arthrobacter paraffineus</i> ATCC 15591	DE 2,938,383 (1980) Kyowa Hakko Kogyo Co.Ltd.
(trehalose lipids)	<i>Corynebacterium hydroblastus</i> ATCC 15592	DE 1,905,472 (1970) US 3,637,461 (1972)

ตารางที่ 2.4 ตัวอย่างสิทธิบัตรของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตด้วยจุลินทรีย์ (Kosaric, 1993)
(ต่อ)

Product	Microorganism	Patent
Fructose lipids	<i>Arthrobacter paraffineus</i> ATCC 15591	Kyowa Hakko Kogyo Co. Ltd. DE 2,440,942 (1975)
Spiculisporic acid	<i>Penicillium spiculisporum</i> ATCC 16071	Kobayashi, Y., Tabuchi, T., US 3,625,826 (1971)
Biosurfactant	<i>Thiobacillus, Bacillus,</i> <i>Nocardia, Pseudomonas</i>	Philips Petroleum Co. US 2,907,389 (1959) US 3,185,216 (1965)
Emulsan	<i>Acinetobacter</i> sp. ATCC 31012	Petroleum Fermentation N.V. US 4,311,829 (1982) US 4,311,832 (1965)
Sophorose lipid	<i>Torulopsis magnoliae</i> <i>Torulopsis apicola</i>	Spencer, J.F.T., Tullich, A.P., Gorin, P.A.J. US 3,205,150 (1965)
Surfactin	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 21331	Takeda Chemical Ind. Ltd. US 3,687,926 (1972)
Biosurfactant	<i>Candida</i> sp.	VEB Petri-chemisches
Biosurfactant	<i>Candida, Pichia, Nocardia,</i> <i>Mycobacterium,</i> <i>Pseudomonas</i>	Kombinant Schedt, DD 139,069 (1979) Wintershall AG, DE 2,401,267 (1975)
Trehalose lipid	<i>Rhodococcus erythropolis</i> DSM 43215	DE 2,843,685 (1980) DE 2,911,016 (1980)
Biosurfactant	<i>Corynebacterium salvinum</i>	Wintershall AG, DE 3,248,167 (1984) Zajic, J.E., Gerson, R.K. US 4,355,109 (1982)

ตารางที่ 2.5 สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้จากยีสต์ในแหล่งคาร์บอนต่างชนิดกัน

จุลินทรีย์	แหล่งคาร์บอนที่ใช้ใน การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ	ระยะเวลา การเลี้ยงเชื้อ	ประเภทของ สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ	อ้างอิง
<i>Torulopsis bombicola</i> ATCC 22214	คาร์โบไฮเดรต และ น้ำมันจากพืชผัก	22 ชม.	ไกลโคลิพิด	Cooper และ Paddock (1984)
<i>Candida antractica</i> T-34	กรดโอเลอิก และ Rapeseed oil	7 วัน	(Mannosylerythritol)	Kitamoto และ คณะ (1990b)
<i>Candida antractica</i> T-34	น้ำมันถั่วเหลือง (soybean oil)	2 วัน	(Mannosylerythritol)	Kitamoto และ คณะ (1993)
<i>Candida bombicola</i>	ไขมันจากสัตว์	68 ชม.	ไซโฟโรลิพิด	Deshpande และ Daniels (1995)
<i>Candida bombicola</i>	น้ำมันดอกทานตะวัน (hexadecane)	2 ชม.	ไซโฟโรลิพิด	Mccaffrey และ Cooper (1995)
<i>Candida bombicola</i>	Canola oil (มีกลูโคสและกาแลคโตส)	5-7 วัน	ไซโฟโรลิพิด	Zhou และ Kosaric (1995)
<i>Candida</i> sp. SY 16 <i>Candida antractica</i> KCTC 7804	น้ำมันถั่วเหลือง (soybean oil)	3 วัน	(Mannosylerythritol)	Kim และ คณะ (1999)
<i>Candida bombicola</i> ATCC 22214	กรดโอเลอิก และ Rapeseed oil	4 วัน	ไซโฟโรลิพิด	Rau และ Hammen (2001)
<i>Candida bombicola</i> ATCC 22214	Lipophilic carbon	11 วัน	ไซโฟโรลิพิด	Cavalero และ Cooper (2003)
<i>Candida ishiwadae</i>	น้ำมันถั่วเหลือง (soybean oil)	7 วัน	(Monoacylglycerols)	Thanomsub และ คณะ (2004)

ตารางที่ 2.6 สารลดแรงตึงผิวชีวภาพประเภท ไกล โคลิพิคจากจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ

ประเภทของ สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ	จุลินทรีย์	ผลผลิต (g/l)	แหล่งคาร์บอนที่ใช้ใน การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ	อ้างอิง
Mannosylerythritol lipid MEL- A, -B, -C	<i>Candida antractica</i> T-34	140	n- Octadecane	Kitamoto และคณะ (2001)
MEL- SY16	<i>Candida antractica</i> KCTC 7804	47	Soybean oil	Kitamoto และคณะ (1992)
MEL-A, -AB, -B	<i>Ustilago maydis</i> DSM 4500	41	Glycerol, oleic acid	Kim และคณะ (1999)
		30	Sunflower oil	Spoeckner และคณะ (1999)
Rhamnolipid RL- 1, -2, -3, -4	<i>Pseudomonas</i> sp. DSM 2874	15	n- Tetradecane	Lang และ Wullbrandt (1999)
RL- 1, -2	<i>P. aeruginosa</i> DSM 7107	112	Soybean oil	Lang และ Wullbrandt (1999)
RL- 1, -2	<i>P. aeruginosa</i> UI 29791	46	Corn oil	Lang และ Wullbrandt (1999)
RL- 1, -2	<i>P. aeruginosa</i> IFO 3924	32	Ethanol	Lang และ Wullbrandt (1999)
RL- A, -B	<i>P. aeruginosa</i> BOP 101	14	n- Paraffin	Ishigami และคณะ (1987)
Trehalose lipid TL- 1, -2	<i>Rhodococcus erythropolis</i> DSM 43215	2	n- Alkane	Lang และ Philp (1998)
Trehalose- tetraester	<i>R. erythropolis</i> DSM 43215	32	n- Decane	Lang และ Philp (1998)
STL- 1, -2	<i>R. erythropolis</i> SD- 74	40	n- Hexadecane	Uchida และคณะ (1989)

ตารางที่ 2.6 สารลดแรงตึงผิวชีวภาพประเภทไกลโกลิพิดจากจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ (ต่อ)

ประเภทของ สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ	จุลินทรีย์	ผลผลิต (g/l)	แหล่งคาร์บอนที่ใช้ใน การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ	อ้างอิง
Cellobiose lipid CL- A, -B, -C	<i>Ustilago maydis</i> ATCC. 14826	16	Coconut oil	Frautz และคณะ (1986)
Sophorose lipid SL mixture	<i>Candida bombicola</i> ATCC 22214	422	Whey, rapeseed oil	Daniel และคณะ (1998)
SL mixture	<i>C. bombicola</i> CBS 6009	317	Glucose, rapeseed esters	Davila และคณะ (1997)
SL mixture (SL- 1: 73%)	<i>C. bombicola</i> ATCC 2214	160	Glucose, canola oil	Zhou และ Kosaric (1995)
SL mixture (lactone)	<i>C. apicola</i> IMET 43747	90	Glucose, sunflower oil	Hommel และคณะ (1994)
Oligosaccharide lipid GL- 1, -2, -3	<i>Tsukumurella</i> sp. DSM 44370	30	Sunflower oil	Vollbrecht และคณะ (1999)