บทที่ 5
สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ได้ทำการหาภาวะที่เหมาะสมในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวกำหนดสูตรที่ใช้น้ำมันปาล์มเป็นแหล่งคาร์บอนโดย *Pseudomonas* sp. สายพันธุ์ จากนั้นนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่บริสุทธิ์บางส่วนไปหาสมบัติทางชีวเคมี เช่น ภาวะที่เหมาะสมในการทำงาน ความเสถียรต่ออุณหภูมิ และค่าความเป็นกรดเป็นด่าง รวมทั้งความสามารถในการเกิดอิมัลชั่นกับสารละลายชนิดต่างๆ เป็นต้น ตลอดจนเปรียบเทียบความสามารถในการกระจายน้ำมันกับสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ และวิเคราะห์โครงสร้างของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้โดยอาศัย LC-MS และ IR โดยนำมาเปรียบเทียบกับสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีรายงานไว้

ภาวะที่เหมาะสมในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดย *Pseudomonas* sp. สายพันธุ์ A41 เมื่อใช้น้ำมันปาล์มเป็นแหล่งคาร์บอนเพียงชนิดเดียวคือ น้ำมันปาล์มที่ใช้มีปริมาณคาร์บอนเท่ากับ 71.907 % (w/v) และใช้แอมโมเนียมไนเตรทเป็นแหล่งไนโตรเจน ที่อุณหภูมิห้อง อัตราการเขย่าที่ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 3 วัน จากรูปที่ 4.3 แสดงการเจริญและการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพพบที่ระยะ resting stage อยู่ในช่วงเวลา 3 วันของการเจริญ ซึ่งคลอดคล้องกับรายงานของ Manresa และคณะในปี 1991 ในงานวิจัยนี้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดแรมโนลิปิดที่ผลิตได้จาก *Pseudomonas aeruginosa* sp. สายพันธุ์ A41 มีปริมาณสูงสุดเมื่ออยู่ในระยะ stationary phase สำหรับปริมาณของแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเท่ากับ 0.14 %(w/v) และมีอัตราส่วนระหว่างคาร์บอนและไนโตรเจนที่เหมาะสมเท่ากับ 10.29 โดยถ้าลดอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนเป็น 6.14 จะมีปริมาณแรมโนสซึ่งเป็นตัวแทนของแรมโนลิปิดน้อยกว่าถึงครึ่งหนึ่งซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Williams และ Wimpenny ในปี 1978 ที่รายงานว่าหากควบคุมปริมาณไนโตรเจนในการผลิตให้มีปริมาณน้อยจะให้ปริมาณสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในปริมาณมาก และรายงานของ Matsufuji และคณะในปี 1997 พบว่า เมื่อควบคุมปริมาณไนโตรเจนโดยมีอัตราส่วนระหว่างคาร์บอน และไนโตรเจนเท่ากับ 18 จะให้ปริมาณแรมโนลิปิดสูงสุด อย่างไรก็ตามอัตราส่วนระหว่างคาร์บอน และไนโตรเจนที่เหมาะสมมีความผันแปรโดยขึ้นกับชนิดของจุลินทรีย์ที่ใช้ ตัวอย่าง เช่น *Pseudomonas aeruginosa* 44T1 มีอัตราส่วนระหว่างคาร์บอน(น้ำมันมะกอก) และ ไนโตรเจน (โซเดียมไนเตรท) เท่ากับ 6.6 (Manresa และคณะ, 1991) *Pseudomonas aeruginosa* 47T2 มีอัตราส่วนระหว่างคาร์บอน (น้ำมันมะกอก)และ ไนโตรเจน(โซเดียมไนเตรท) เท่ากับ 8.0 (Haba และคณะ, 2000) เป็นต้น นอกจากนั้น Guerra-Santos และคณะ ในปี 1986 ยังพบว่าเมื่อควบคุมปริมาณ แมกนีเซียม แคลเซียม โพแทสเซียม โซเดียม จะสามารถผลิต แรมโนลิปิดได้ในปริมาณสูง

งานวิจัยนี้จึงใช้อาหารเลี้ยงเชื้อเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวกำหนดสูตรซึ่งทำให้ควบคุมปริมาณแร่ธาตุต่างๆ ได้เพื่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพให้ผลผลิตสูงสุด

เมื่อบ่มเซลล์เป็นเวลา 3 วัน พบว่าค่าแรงตึงผิวของน้ำเลี้ยงเชื้อปราศจากเซลล์เท่ากับ 29 mN/m ซึ่งถือว่าเป็นค่าแรงตึงผิวที่ลดลงต่ำเมื่อเทียบกับ *Pseudomonas* spp. อื่นๆ เช่น 34 mN/m ของ *Pseudomonas aeruginosa* 47T2 ในน้ำเลี้ยงเชื้อปราศจากเซลล์เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำมันมะกอกเป็นแหล่งคาร์บอน (Haba และคณะ, 2000) 30 mN/m ของ *Pseudomonas fluorescens* 378 ในน้ำเลี้ยงเชื้อปราศจากเซลล์ที่ใช้ซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอน (Persson และคณะ, 1988) 27.7 – 30.4 mN/m ในน้ำเลี้ยงเชื้อปราศจากเซลล์ของ *Pseudomonas aeruginosa* UW-1 เมื่อใช้ canola oil เป็นแหล่งคาร์บอน (Sim และคณะ, 1997) และ 40 mN/m ของน้ำเลี้ยงเชื้อปราศจากเซลล์ *Pseudomonas aeruginosa* S7B1 (Hisatsuka และคณะ, 1971) เป็นต้น ค่า CMC $^{-1}$ และ ค่าการกระจายน้ำมันของน้ำเลี้ยงเชื้อปราศจากเซลล์ เท่ากับ 200 เท่า และ 201.06 cm^2 ตามลำดับ ค่า CMC $^{-1}$ จากน้ำเลี้ยงเชื้อปราศจากเซลล์ที่ผลิตได้มีค่าสูงเมื่อเปรียบเทียบกับ *Pseudomonas aeruginosa* 44T1 ซึ่งมีค่า CMC $^{-1}$ จากน้ำเลี้ยงเชื้อปราศจากเซลล์เท่ากับ 20.0 เท่า (Robert และคณะ, 1989) ถึงกระนั้นรายงานส่วนมากนิยมรายงานค่า CMC (mg/l) เป็นค่าที่หาจากสารสกัดบางส่วน หรือ แรมโนลิปิดที่บริสุทธิ์บางส่วน

ในภาวะที่เหมาะสม *Pseudomonas* sp. สายพันธุ์ A41 ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเท่ากับ 1.70 กรัมของน้ำตาลแรมโนสต่อลิตร ในน้ำเลี้ยงเชื้อปราศจากเซลล์ *Pseudomonas aeruginosa* 47T2 สามารถผลิตแรมโนลิปิดได้ 2.7 กรัมของน้ำตาลแรมโนสต่อลิตร (Haba และคณะ, 2000) หลังจากการสกัดด้วยสารละลายอินทรีย์จะให้ผลผลิต 1.8 กรัมต่อลิตร และมี production yield ($Y_{P/S}$) 0.125 กรัมต่อกรัม ในขณะที่เมื่อใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนจะให้ผลผลิต 0.9 กรัมต่อลิตร และ production yield ($Y_{P/S}$) 0.113 กรัมต่อกรัม ดังนั้นอาหารเลี้ยงเชื้อกำหนดสูตรที่ใช้น้ำมันปาล์มเป็นแหล่งคาร์บอนให้ production yield ที่สูงมากกว่าเมื่อใช้กลูโคสเป็นเล็กน้อย อย่างไรก็ตามในการใช้งานในระดับอุตสาหกรรมซึ่งน้ำมันปาล์มเป็นแหล่งคาร์บอนที่มีราคาถูกกว่ากลูโคส จึงมีความเหมาะสมที่จะประยุกต์ใช้ระดับอุตสาหกรรมเมื่อเปรียบเทียบ production yield กับ *Pseudomonas* sp. สายพันธุ์อื่นๆ ที่วิเคราะห์น้ำตาลแรมโนสเป็นตัวแทนของแรมโนลิปิด ได้แก่ *Pseudomonas aeruginosa* 47T2 ซึ่งมี production yield ($Y_{P/S}$) 0.44 กรัมต่อกรัม (Haba และคณะ, 2000) ซึ่งรายงานส่วนมากจะรายงาน production yield ($Y_{P/S}$) เป็นกรัมของแรมโนลิปิดต่อกรัมของแหล่งคาร์บอน ผลงานวิจัยนี้จึงไม่สามารถเปรียบเทียบด้วยได้ แต่อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าน้ำหนักของน้ำตาลแรมโนสที่วิเคราะห์ได้ 1 เท่าเป็น 3 เท่าของน้ำหนักแรมโนลิปิด (Abalos และคณะ, 2001)

สมบัติของสารลดแรงตึงผิวที่บริสุทธิ์บางส่วนที่ผลิตจาก *Pseudomonas* sp. A41 เมื่อใช้น้ำมันปาล์มเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่ามีค่า CMC เท่ากับ 50 mg/l หรือ ค่า CMC $^{-1}$ เท่ากับ 2 mg/l และ

ค่า γCMC เท่ากับ 30 mN/m จากรายงานของ Mata-Sandoval และคณะ ในปี 1999 พบว่าค่า CMC ของ $RhaC_{10}$ หรือ $RhaRhaC_{10}$ เท่ากับ 200 mg/l แต่ถ้าเป็นแรมโนลิปิดผสมโดยมี $RhaC_{10}C_{10}$ เป็นส่วนมาก ค่า CMC อยู่ระหว่าง 5-60 mg/l ส่วนพวกที่เป็น $RhaRhaC_{10}C_{10}$ มีค่า CMC อยู่ระหว่าง 40-65 mg/l และยังพบว่า $RhaRhaC_{10}C_{10}C_{10:1}$ (Rhamnolipid B) Na salt มีค่า CMC เท่ากับ 260 mg/l และ $RhaRhaC_{10}C_{10}C_{10:1}$(Rhamnolipid B) methyl ester มีค่า CMC เท่ากับ 400 mg/l (Lang และ Wullbrandt, 1999)

ภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่บริสุทธิ์บางส่วนที่ผลิตจาก *Pseudomonas* sp. สายพันธุ์ A41 ที่ใช้น้ำมันปาล์มเป็นแหล่งคาร์บอน จากผลการทดลองพบว่าการกระจายน้ำมันที่อุณหภูมิตั้งแต่ 4 – 100 ^{o}C อยู่ระหว่าง 16.62 – 19.63 cm^2 ซึ่งจากรูปที่ 4.6 แสดงค่าการกระจายน้ำมันแตกต่างกันไม่เกิน 5 % สรุปได้ว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้สามารถกระจายน้ำมันได้ที่อุณหภูมิตั้งแต่ 4 – 100 ^{o}C แต่การหาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานไม่สามารถหาค่าแรงตึงผิวได้เพราะเครื่อง tensiometer ไม่สามารถวัดค่าแรงตึงผิวที่อุณหภูมิแตกต่างจากอุณหภูมิห้องมากๆ ได้ และนอกจากนั้นค่าแรงตึงผิวยังขึ้นกับอุณหภูมิ คือถ้าอุณหภูมิสูงค่าแรงตึงผิวจะต่ำ และในทางตรงข้ามเมื่ออุณหภูมิต่ำค่าแรงตึงผิวจะสูง ค่าความเป็นกรดเป็นด่างตั้งแต่ 2 – 12 มีค่าแรงตึงผิวอยู่ระหว่าง 29 – 30.4 mN/m และเมื่อพิจารณารูปที่ 4.5 พบว่าค่าความเป็นกรดเป็นด่างที่ทำให้ค่าแรงตึงผิวลดลงต่ำที่สุดอยู่ในช่วง 7 – 9 ซึ่งมีค่าแรงตึงผิวเท่ากับ 29 mN/m ส่วนค่าการกระจายน้ำมันที่มากที่สุดเท่ากับ 19.63 cm^2 เมื่อมีค่าความเป็นกรดเป็นด่างเท่ากับ 8 การทำงานของสารลดแรงตึงผิวจะดีหรือไม่ขึ้นกับการรวมตัวของโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิว ซึ่งค่าความเป็นกรดเป็นด่างต่างๆ ทำให้เกิดการรวมตัวที่แตกต่างกัน จากการรายงานของ Ishigami และคณะ ในปี 1987 พบว่าแรมโนลิปิดชนิด A ($RhaC_{10}C_{10}C_{10}$) และ ชนิด B ($RhaRhaC_{10}C_{10}C_{10}$) ที่ค่าความเป็นกรดเป็นด่างเท่ากับ 4.3 – 5.8 จะเกิดการรวมตัวเป็น vesicle และจะรวมตัวเป็น lamella ที่ค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 6.0 –6.5 และเกิดการรวมตัวเป็นไมเซลล์ที่ค่าความเป็นกรดเป็นด่างมากกว่า 6.8 ซึ่งการรวมเป็นโครงสร้างต่างๆ เนื่องค่าความกรดเป็นด่างที่เปลี่ยนไปสามารถย้อนกลับได้ แรมโนลิปิดชนิด A และ ชนิด B ที่ผลิตจาก *Pseudomonas aeruginosa* BOP 100 พบว่ามีน้ำหนักของไมเซลล์ต่างกันที่ค่าความเป็นกรดเป็นด่างต่างกัน คือ แรมโนลิปิดชนิด A มีน้ำหนักไมเซลล์เท่ากับ 38 kDa ที่ค่าความเป็นกรดเป็นด่างเท่ากับ 7.35 และ แรมโนลิปิดชนิด B มีน้ำหนักไมเซลล์เท่ากับ 7 kDa ที่ค่าความเป็นกรดเป็นด่างเท่ากับ 8.5 (Yamaguchi และคณะ, 1976) จากรูปที่ 4.11 พบว่าปริมาณของโซเดียมคลอไรด์มีผลต่อการกระจายน้ำมัน โดยเมื่อมีปริมาณโซเดียมคลอไรด์มากกว่า 3 % แต่ไม่มีผลกับการวัดแรงตึงผิวโดยความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ตั้งแต่ 0.5 – 5 % ค่าแรงตึงผิวมีค่าอยู่ระหว่าง 29 – 30 mN/m

ในแง่ความเสถียรของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพต่อภาวะต่างๆ เช่น ความเป็นกรดเป็นด่าง อุณหภูมิและ เกลือโซเดียมคลอไรด์ สารนี้มีความเสถียรต่อความเป็นกรดเป็นด่างตั้งแต่ 2 – 12 และเสถียรต่อความเข้มข้นของเกลือระหว่าง 0.5 – 5 %(w/v) ตลอดระยะเวลา 6 เดือนที่ทำการวิจัย และยังเสถียรอุณหภูมิ 100 ^{o}C นาน 15 ชั่วโมง และที่ 121 ^{o}C ครั้งละ 40 นาที 6 ครั้ง แต่ในการวิจัยความเสถียรของการกระจายน้ำมันพบว่าเสถียรที่ค่าความเป็นกรดเป็นด่างตั้งแต่ 8 –12 และเสถียรต่อความเข้มข้นของเกลือระหว่าง 0.5 – 3 %(w/v) ตลอดระยะเวลา 6 เดือน และเสถียรที่อุณหภูมิ 100 ^{o}C นาน 15 ชั่วโมง แต่ที่ 121 ^{o}C ค่าการกระจายน้ำมันจะลดลงตามเวลาที่บ่มและจำนวนครั้งที่บ่มและ เมื่อบ่มนาน 40 นาที 3 ครั้งมีเปอร์เซนต์ค่าการกระจายน้ำน้ำมันลดลงมากกว่า 50% ดังนั้นสารลดแรงตึงผิวที่ทำบริสุทธิ์บางส่วนอาจมีสารประกอบอื่นนอกเหนือจากแรมโนลิปิดที่มีความสามารถในการกระจายน้ำมันที่ไม่เสถียรที่ค่าความเป็นกรดเป็นด่างต่ำ ซึ่งแรมโนลิปิดสามารถจัดเรียงตัวได้ดังเดิมจากที่ค่าความเป็นกรดเป็นด่างต่ำ เป็นค่าความเป็นกรดเป็นด่างสูง (Ishigami และคณะ, 1987)

เมื่อทดสอบหาค่าอิมัลชั่น อินเด็กซ์ ในตัวทำละลายอินทรีย์พบว่าทั้งในน้ำเลี้ยงเชื้อปราศจากเซลล์และสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่บริสุทธิ์บางส่วนเกิดอิมัลชั่นได้ดีกับไดคลอโรมีเทนโดยมีค่าอีมัลชั่นอินเด็กซ์ระหว่าง 62 – 67 เป็นระยะเวลา 3 เดือน และในไซโคลเฮกเซน เฮกเซน โทลูอีน ไซลีน เบนซีน ในสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเกิดอิมัลชั่นได้ดีกว่าในน้ำเลี้ยงเชื้อปราศจากเซลล์คือที่เวลา 30 วันไม่พบค่าอิมัลชั่น อินเด็กซ์ในน้ำเลี้ยงเชื้อปราศจากเซลล์ แต่ที่เวลา 30 วัน ค่าอิมัลชั่น อินเด็กซ์ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่บริสุทธิ์บางส่วนจะลดลงแต่ก็ไม่เกิน 60% ค่าอิมัลชั่น อินเด็กซ์ของน้ำเลี้ยงเชื้อปราศจากเซลล์และสาเหตุที่สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ทำบริสุทธิ์บางส่วนไม่สอดคล้องกันอาจเนื่องมาจากในน้ำเลี้ยงเชื้อปราศจากเซลล์ประกอบด้วยโปรตีนชนิดต่างๆ เป็นจำนวนมากซึ่งอาจมีผลต่อการเกิดอิมัลชั่น และค่าความเป็นขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ไม่สัมพันธ์กับการเกิดอิมัลชั่นข้างต้น การเกิดอิมัลชั่นกับน้ำมันจะเกิดได้ดีกว่าในตัวทำละลายอินทรีย์ในสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่บริสุทธิ์บางส่วนมีค่าอิมัลชั่น อินเด็กซ์เสถียรเป็นเวลา 30 วัน ยกเว้นในน้ำมันก๊าด น้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันปาล์ม โดยค่าอิมัลชั่น อินเด็กซ์ในน้ำมันก๊าดลดลงประมาณ 82% ในน้ำมันถั่งเหลืองลดลงประมาณ 39% และในน้ำมันปาล์มลดลงประมาณ 28% ซึ่งการเกิดอิมัลชั่นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่บริสุทธิ์บางส่วนที่ผลิตได้มีค่าอิมัลชั่น อินเด็กซ์ และความเสถียรน้อยกว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ใน *Pseudomonas* sp. สายพันธุ์อื่นๆ เมื่อทดสอบในน้ำเลี้ยงเชื้อปราศจากเซลล์ เช่น *Pseudomonas aeruginosa* 47T2 สามารถเกิดอิมัลชั่นกับน้ำมันก๊าด มีค่าอิมัลชั่น อินเด็กซ์เท่ากับ 57.7 *Pseudomonas* sp. 55T1 สามารถเกิดอิมัลชั่นกับน้ำมันก๊าด มีค่าอิมัลชั่น อินเด็กซ์เท่ากับ 56 *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27823 สามารถเกิดอิมัลชั่นกับน้ำมันก๊าด มีค่าอิมัลชั่น อินเด็กซ์เท่ากับ 60 ซึ่งเชื้อทั้งหมดข้างต้นเกิดอิมัลชั่นเสถียรนานถึง 3 เดือน (Haba และคณะ, 2000) การละลายของสารลดแรงตึงผิวที่ผลิตได้ในตัวทำละลายชนิดต่างๆ พบว่า ละลายได้ดีใน เมทานอลและ

คลอโรฟอร์ม ละลายได้ค่อนข้างดีใน น้ำที่ค่าความเป็นกรดเป็นด่างเท่ากับ 8และเอทานอล ไม่ละลายในเฮกเซน ซึ่งสอดคล้องกับแรมโนลิปิดชนิด RhaC10C10 และ RhaRhaC10C10 ตามรายงานของบริษัท Jeneil biosurfactant Co, LLC. ในปี 2001

การกระจายน้ำมันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้เปรียบเทียบกับสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์พบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีความสามารถในการกระจายน้ำมันได้ดีกว่า SDS, CPC, Tween 80 และโนเบิล ดิสเพอร์แซน (ที่ใช้ในกองทัพเรือ) แต่มีความสามารถด้อยกว่า Triton X-100 เพียงเล็กน้อย และเมื่อเปรียบค่า CMC ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ และสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์พบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่บริสุทธิ์บางส่วนมีค่า CMC ต่ำกว่าสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ดังแสดงตามตารางข้างล่าง

ตารางที่ 5.1 แสดงค่า CMC ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเปรียบเทียบกับสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ (นิรันดร์ รุ่งสว่าง, 2542)

ชนิดสารลดแรงตึงผิว	ค่า CMC (mg/l)
สารลดแรงตึงผิวชีวภาพจาก *Pseudomonas* sp. A41	50
Sodium dodedecyl sulfate (SDS)	900
Cetylpyridinium chloride (CPC)	500
Tween 80	200
Triton X-100	120

ดังนั้นสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีประสิทธิภาพการกระจายน้ำมันและความสามารถในการลดแรงตึงผิวเมื่อมีความเข้มข้นต่ำ (ค่า CMC ที่น้อยกว่า) จึงมีลักษณะสมบัติที่ดีกว่าสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ ทั้งยังสามารถย่อยสลายได้ไม่เป็นพิษกับสิ่งแวดล้อม

เมื่อนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพให้บริสุทธิ์ด้วยทินแลย์ เยอร์ โครมาโตกราฟี silica gel 60 คอลัมน์ โครมาโตกราฟี และ HPLC ได้เลือก peak จาก HPLC ที่มีค่าการกระจายน้ำมันสูงและดูดกลืนแสงได้มากที่ 220 nm มาวิเคราะห์หาโครงสร้างด้วย LC-MS และ IR ซึ่งพบว่าตัวอย่างที่เลือกนำมาวิเคราะห์มีทั้ง hydroxyfatty acid และสารประกอบที่คาดว่าน่าจะเป็น RhaC10C10Na^{+} นอกจากนี้ยังพบสารที่ไม่สามารถระบุได้คือ สารที่มีมวลโมเลกุลประมาณ 660 เมื่อวิเคราะห์ด้วย IR มีหมู่ฟังก์ชั่นคล้ายแรมโนลิปิด แต่อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบ UV-Visible spectrum ที่ได้จากการหาปริมาณน้ำตาลแรมโนสตามวิธีของ Dische และ Shettles ในปี 1948 ของน้ำตาลที่ผลิตได้ใน

Pseudomonas sp. และตัวอย่างที่ผ่าน silica gel 60 คอลัมน์ โครมาโตกราฟี พบว่าเป็นวิธีวิเคราะห์ที่จำเพาะกับน้ำตาลแรมโนส ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่า *Pseudomonas* sp. สายพันธุ์ A41 สามารถผลิตแรมโนลิปิด แต่ไม่สามารถระบุโครงสร้างของแรมโนลิปิดที่ผลิตได้อย่างชัด ซึ่งอาจวิเคราะห์โครงสร้างด้วยวิธีเคมีอื่นๆ ต่อไป

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตจาก *Pseudomonas* sp. สายพันธุ์ A41 มีภาวะที่เหมาะสมในการผลิตคือ ใช้อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน 10.29 อัตราการเขย่า 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อมีน้ำมันปาล์มเป็นแหล่งคาร์บอนมีผลผลิต 1.8 กรัม (น้ำแรมโนส) ต่อลิตรและ production yield ($Y_{P/S}$) เท่ากับ 0.125 กรัมต่อกรัม ค่า CMC ของสารลดแรงตึงผิวที่ผลิตได้เท่ากับ 50 มก.ต่อ ลิตร และยังพบว่ามีความเสถียรต่อภาวะต่างๆ คือค่าความเป็นกรดเป็นด่างในช่วงกว้าง ทนต่ออุณหภูมิสูง และทนต่อ 3% ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ ทั้งยังมีประสิทธิภาพในการกระจายน้ำมันและ ความสามารถลดแรงตึงผิวได้ดีกว่าสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์

ข้อเสนอแนะ

1. ควรศึกษาด้านพันธุ์ศาสตร์ของ *Pseudomonas* sp. สายพันธุ์ A41 อาจนำไปใช้เพิ่มผลผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้โดยทำการพัฒนาทางพันธุ์วิศวกรรม หรือวิธีอื่นที่เหมาะสม

2. ศึกษาเปรียบเทียบกับแหล่งคาร์บอนที่เป็น medium chain fatty acid เช่นน้ำมันมะพร้าว ว่าสามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวได้เป็นผลอย่างไร และทดสอบส่วน fatty acid ของแรมโนลิปิดที่ได้จากแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกันโดยใช้ GC-MS

3. *Pseudomonas* sp. A41 สร้างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีส่วนประกอบของสารต่างๆ อยู่หลายชนิด ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงคุณสมบัติและประสิทธิภาพของสารแต่ละชนิดต่อไป เพื่อประยุกต์ใช้ในอนาคตต่อไป