การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดย *Pichia anomala* MUE24 ในถังหมัก และการใช้เพื่อดัดแปลงสมบัติของแป้งข้าว

นางสาวทิวาพร ปั้นรัตน์

2227725008

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ภาควิชาจุลชีววิทยา
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2556
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

5471985623

PRODUCTION OF BIOSURFACTANT BY *Pichia anomala* MUE24 IN FERMENTER AND ITS USE FOR MODIFICATION OF RICE FLOUR PROPERTIES

Miss Tiwaporn Punrat

2227725008

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Industrial Microbiology
Department of Microbiology
Faculty of Science
Chulalongkorn University
Academic Year 2013

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดย *Pichia anomala* MUE24 ในถังหมัก และการใช้เพื่อดัดแปลงสมบัติของแป้งข้าว
โดย	นางสาวทิวาพร ปั้นรัตน์
สาขาวิชา	จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	รองศาสตราจารย์ จิราภรณ์ ธนียวัน
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	รองศาสตราจารย์ ดร. จิรารัตน์ อนันตกูล

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

(ศาสตราจารย์ ดร.สุพจน์ หารหนองบัว)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชุลี ยมภักดี)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์ จิราภรณ์ ธนียวัน)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์ ดร. จิรารัตน์ อนันตกูล)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุชาดา จันทร์ประทีป นภาธร)

.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(รองศาสตราจารย์ ดร.สาโรจน์ ศิริศันสนียกุล)

ทิวาพร ปั้นรัตน์ : การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดย *Pichia anomala* MUE24 ในถังหมัก และการใช้เพื่อดัดแปลงสมบัติของแป้งข้าว. (PRODUCTION OF BIOSURFACTANT BY *Pichia anomala* MUE24 IN FERMENTER AND ITS USE FOR MODIFICATION OF RICE FLOUR PROPERTIES) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รศ. จิราภรณ์ ธนียวัน, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: รศ. ดร. จิรารัตน์ อนันตกูล, 96 หน้า.

การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดย *Pichia anomala* MUE24 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวปรับปรุงสูตรที่ประกอบด้วย KH_2PO_4 0.02% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.02% สารสกัดยีสต์ 0.64% $NaNO_3$ 0.01% น้ำมันถั่วเหลือง 13.34% และ น้ำตาลกลูโคส 6.66% (น้ำหนักต่อปริมาตร) ซึ่งควบคุม pH เริ่มต้นเท่ากับ 4.5 ในระดับขวดเขย่า ควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส อัตราเร็วในการเขย่า 200 รอบต่อนาที หลังจากเพาะเลี้ยงเชื้อไป 7 วัน ได้ผลผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 0.55 กรัมต่อลิตร ค่าแรงตึงผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อลดลงจาก 52.5 มิลลินิวตันต่อเมตร เป็น 36 มิลลินิวตันต่อเมตร จากนั้นเพื่อพัฒนาและเพิ่มผลผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ทำการเลี้ยงเชื้อในถังหมักขนาด 5 ลิตร แบบแบช โดยควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 168 ชั่วโมง โดยใช้ pH เริ่มต้นที่ 4.5 ไม่ควบคุม pH พบว่าที่เวลา 72 ชั่วโมง ได้ผลผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเท่ากับ 19.4057 กรัมต่อลิตร และคำนวณค่าทางจลนพลศาสตร์ได้ค่า biosurfactant yield ($Y_{P/S}$) และค่า productivity (Q_P) เท่ากับ 0.1351 g-P/g-S และ 0.2695 g-P/L/h ตามลำดับ และการสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพพร้อมเซลล์ สามารถเพิ่มผลผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ถึง 34.061 กรัมต่อลิตร สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้สามารถลดค่าแรงตึงผิวของน้ำบริสุทธิ์ได้ถึง 29 มิลลินิวตันต่อเมตร และมีค่าความเข้มข้นวิกฤติการเกิดไมเซลล์ (CMC) เท่ากับ 116 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยคุณสมบัติของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพยังสามารถก่ออิมัลชันต่อน้ำมันในอุตสาหกรรมอาหาร ได้แก่ น้ำมันเมล็ดชา น้ำมันดอกทานตะวัน และน้ำมันถั่วเหลือง เป็นต้น นอกจากนี้ การเติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพลงในแป้งข้าว ยังช่วยเพิ่มการเกิดรีโทรเกรเดชันในแป้ง เพิ่มคุณสมบัติในการอุ้มน้ำ การละลาย และการพองตัวที่ดีขึ้น

222725008

ภาควิชา	จุลชีววิทยา	**ลายมือชื่อนิสิต**	ทิวาพร ปั้นรัตน์
สาขาวิชา	จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม	**ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก**	
ปีการศึกษา	2556	**ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม**	

5471985623 : MAJOR INDUSTRIAL MICROBIOLOGY
KEYWORDS: BIOSURFACTANT / SOPHOROLIPID / STARCH

TIWAPORN PUNRAT: PRODUCTION OF BIOSURFACTANT BY *Pichia anomala* MUE24 IN FERMENTER AND ITS USE FOR MODIFICATION OF RICE FLOUR PROPERTIES. ADVISOR: ASSOC. PROF. JIRAPORN THANIYAVARN, CO-ADVISOR: ASSOC. PROF. JIRARAT ANUNTAGOOL, ,Ph.D., 96 pp.

Biosurfactant from *Pichia anomala* MUE24 was produced upon cultivating in modified medium containing 0.02% (w/v) KH_2PO_4, 0.02% (w/v) $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.64% (w/v) yeast extract, 0.11% (w/v) $NaNO_3$,13.34% soy bean oil and 6.66% glucose. An initial pH of the 4.5 was adjusted and the culture was incubated at 30°C in shake flask at 200 rpm. After 7 days of cultivation, cells released surfactant into culture medium at 0.55 g/L. The biosurfactant obtained was able to reduce surface tension of the medium from 52.5 mN/m to 36.0 mN/m. A scale up in batch cultivation was further performed in a 5 liter bioreactor controlled at 30 °C, 1 vvm without pH control. After 72 h of cultivation, biosurfactant concentration was found at 19.4057 g/L. Kinetic parameters showed biosurfactant yield ($Y_{P/S}$) and productivity (Q_P), of 0.1351 g-P/g-S and 0.2695 g-P/L/h, respectively. An extraction of biosurfactant with whole cell could increase biosurfactant production of 34.061 g/L. The resulted crude biosurfactant was able to reduced surface tension of pure water to 29 mN/m with a critical micelle concentration (CMC) of 116 mg/l. Further characterization showed that it could form stable oil in water emulsions with various types of vegetable oils such as camellia seed oil, sunflower oil and soybean oil etc. Furthermore, addition of biosurfactant into rice starch could improve retrogradation, increase water holding capacity and swelling power of rice starch.

2227250S8

Department: Microbiology
Field of Study: Industrial Microbiology
Academic Year: 2013

Student's Signature
Advisor's Signature
Co-Advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จไปได้ด้วยความช่วยเหลืออย่างดียิ่งของ รองศาสตราจารย์จิราภรณ์ ธนียวัน อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และรองศาสตราจารย์ ดร. จิรารัตน์ อนันตกูล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ซึ่งได้ให้ความรู้ ความเมตตา คำแนะนำและข้อคิดเห็นต่างๆ ในการทำวิจัย ตลอดจนตรวจแก้ไขต้นฉบับวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์ ซึ่งผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชุลี ยมภักดี ที่กรุณารับเป็นประธานกรรมการในการสอบ ตลอดจนให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นต่างๆ

ขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุชาดา จันทร์ประทีป นภาธร และรองศาสตราจารย์ ดร. สาโรจน์ ศิริศันสนียกุล ที่กรุณารับเป็นกรรมการในการสอบตลอดจนให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นต่างๆ และช่วยตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ คณาจารย์และเจ้าหน้าที่ทุกท่านในภาควิชาจุลชีววิทยา จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่กรุณาให้ความรู้ คำแนะนำ และอำนวยความสะดวกต่างๆ แก่ผู้วิจัย รวมถึงอาจารย์ทุกท่านที่ผ่านมาในชีวิต ที่ได้อบรมสั่งสอนมาจนสำเร็จการศึกษา

ขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ให้ทุนอุดหนุนการศึกษาในระดับบัณฑิตศึกษาจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เพื่อเฉลิมฉลองวโรกาสที่พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวทรงเจริญพระชนมายุครบ 72 พรรษา เพื่อสนับสนุนทุนการศึกษาในระดับปริญญามหาบัณฑิต

ขอขอบพระคุณทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2555 ภายใต้โครงการวิจัยเรื่อง ผลิตภัณฑ์จากจุลินทรีย์สำหรับใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ทุกท่านของบัณฑิตวิทยาลัย ที่ได้ช่วยอำนวยความสะดวกต่างๆ

ขอขอบคุณ พี่ๆ เพื่อนๆ น้องๆ ทุกคนในภาควิชาจุลชีววิทยา จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ห้องปฏิบัติการ 402 ตึกแถบนีละนิธิ หรือ 1804/14 ตึกมหาวชิรุณหิศ สำหรับการแบ่งปันรอยยิ้ม เสียงหัวเราะ ความช่วยเหลือ กำลังใจ และความหวังดีที่มีให้เสมอมา

ท้ายที่สุดขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา พี่ชาย และน้องสาวที่อยู่เคียงข้าง ให้การสนับสนุนการช่วยเหลือ และแบ่งเบาความกังวลใจ รวมถึงให้กำลังใจเป็นอย่างดีในทุกๆด้านแก่ผู้วิจัยเสมอมาจนสำเร็จการศึกษาไปได้ด้วยดี

2227725008

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญ ..... ช

สารบัญตาราง ..... ฎ

สารบัญภาพ ..... ฑ

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ประวัติความเป็นมา 1

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย 3

1.3 ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย 3

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 3

บทที่ 2 ปริทรรศน์วรรณกรรม 4

2.1 สารลดแรงตึงผิว (Surfactant) 4

2.2 สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (Biosurfactant) 6

2.3 กระบวนการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 9

2.4 การวิเคราะห์ สมบัติของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 12

2.4.1 ค่าแรงตึงผิว (surface tension) 12

2.4.2 ค่าแรงตึงระหว่างผิวที่ประจัน (interfacial tension) 13

2.4.3 การก่ออิมัลชัน (emulsification) 13

2.4.4 ค่าการกระจายตัวของน้ำมัน (oil displacement activity) 14

2.4.5 ค่า Hydrohilic-Lipophilic balance (HLB) 14

2.4.6 การเตรียมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพให้บริสุทธิ์บางส่วนและการวิเคราะห์โครงสร้าง 14

2.5 การพัฒนากระบวนการทางจุลินทรีย์เพื่อให้ได้ผลผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในปริมาณสูงสุด 15

2.5.1 การหาภาวะที่เหมาะสมในกระบวนการผลิตทางชีวภาพ 15

2.5.2 การศึกษาอิทธิพลขององค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ส่งผลต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 16

2227250008

หน้า

2.5.2.1 แหล่งคาร์บอน (carbon sources) 16
2.5.2.2 แหล่งไนโตรเจน (nitrogen sources) 17
2.5.3 การศึกษาอิทธิพลของภาวะแวดล้อมที่ส่งผลต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 18
2.5.3.1 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) 18
2.5.3.2 อุณหภูมิ (temperature) 18
2.5.3.3 ความเข้มข้นของโลหะหนัก (Metal ion concentration) 19
2.5.3.4 การให้อากาศ และการกวน (Aeration and agitation) 19
2.5.4 การศึกษาวิธีการเก็บเกี่ยวผลผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 19
2.6 การประยุกต์ใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 21
2.6.1 ด้านสิ่งแวดล้อม 23
2.6.2 ด้านการแพทย์ 23
2.6.3 ด้านอุตสาหกรรมน้ำมัน 23
2.6.4 ด้านเครื่องสำอาง 23
2.6.5 ด้านอุตสาหกรรมอาหาร 24
2.6.5.1 อุตสาหกรรมแป้ง 26
1. องค์ประกอบภายในแป้ง 27
2. คุณสมบัติของแป้ง 33
2.6.6 ด้านอื่นๆ 36
บทที่ 3 อุปกรณ์วิธีดำเนินการวิจัย 41
1. อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง 41
2. เคมีภัณฑ์ที่ใช้ในการทดลอง 42
3. วิธีดำเนินการทดลอง 43
3.1 การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดย *Pichia anomala* MUE24 ในระดับขวดเขย่า 43
3.1.1 การเตรียมหัวเชื้อ 43
3.1.2 การติดตามการเจริญและผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในอาหารเหลวกำหนดสูตร 43
3.2 การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดย *Pichia anomala* MUE24 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยกระบวนการหมักแบบแบช 43

222725008

หน้า

3.2.1 การเตรียมหัวเชื้อ 43
3.2.2 การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยควบคุม pH เท่ากับ 4.5 ตลอดการทดลอง 43
3.2.3 การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยไม่ควบคุม pH 44
3.2.4 การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยไม่ควบคุม pH เป็นเวลา 96 ชั่วโมง 44
3.3 การหาน้ำหนักแห้งของเซลล์ 44
3.4 การวัดค่าความเป็นกรดด่าง 44
3.5 การวัดค่าการกระจายน้ำมัน (Oil displacement test) 45
3.6 การวัดค่าแรงตึงผิว (Surface tension) 45
3.7 การหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 45
3.8 การหาปริมาณน้ำมันที่เหลือในอาหารเลี้ยงเชื้อ 45
3.9 การย้อมเซลล์ด้วยสี nile red เพื่อศึกษาไขมันที่สะสมภายในเซลล์ 45
3.10 สกัดแยกสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ 46
3.10.1 การสกัดสารลดแรงตึงผิวจากน้ำเลี้ยงเชื้อ 46
3.10.2 การสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากน้ำเลี้ยงเชื้อที่ยังไม่ได้แยกเซลล์ออก 46
3.11 การวัดค่าดัชนีการก่ออิมัลชัน (Emulsion index) 46
3.12 การหาค่าความเข้มข้นวิกฤตของการเกิดไมเซลล์ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (CMC : Critical micelle concentration) 46
3.13 การเตรียมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพให้บริสุทธิ์บางส่วนด้วย Analytical Thin-Layer Chromatograph 47
3.14 การทดสอบสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ด้วยสารละลายมอริช (molisch's test) 47
3.15 คำนวณค่าต่างๆทางจลนพลศาสตร์การหมัก 47
3.16 การนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้มาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารจำพวกแป้งข้าว 48
3.16.1 วิเคราะห์สมบัติต่างๆของแป้งข้าวชัยนาท 48
3.16.2 การศึกษาผลของความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีต่อสมบัติของแป้งข้าว 49
บทที่ 4 ผลการทดลอง 50

222725008

หน้า

4.1 การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในระดับขวดเขย่า 50
4.2 การผลิตสารลดแรงตึงผิวในถังหมักขนาด 5 ลิตร แบบแบช โดยควบคุม pH 4.5 ตลอดการทดลอง 51
4.2 การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในถังหมักแบบ batch โดยไม่ควบคุม pH เป็นเวลา 7 วัน .. 53
4.3 การย้อมเซลล์ด้วยสี nile red เพื่อศึกษาไขมันที่สะสมภายในเซลล์ 58
4.4 การสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 59
4.5 การเตรียมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพให้บริสุทธิ์บางส่วนด้วย Analytical Thin-Layer Chromatograph 60
4.6 การคำนวณค่าต่างๆทางจลนพลศาสตร์การหมัก เพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการผลิตสารลดแรงตึงผิวในทั้งระดับขวดเขย่า ในระบบปฏิกรณ์ชีวภาพแบบควบคุม pH4.5 และไม่ควบคุม pH ณ เวลาต่างๆ ดังต่อไปนี้ 63
4.7 การหาค่าดัชนีการก่ออิมัลชัน (Emulsion Index) 64
4.8 การหาค่าความเข้มข้นวิกฤติของการเกิดไมเซลล์ (Critical micelle concentration; CMC)65
4.9 การนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้มาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารจำพวกแป้งข้าว67
4.9.1 วิเคราะห์สมบัติของแป้งข้าวที่มีแอมิโลสสูงที่มีใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร 67
4.9.2 ผลของการเติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อสมบัติของแป้งข้าว 68
บทที่ 5 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง 74
..... 77
รายการอ้างอิง 77
ภาคผนวก ก สูตรอาหารและวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ 83
ภาคผนวก ข สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง 85
ภาคผนวก ค หลักการการวัดค่าแรงตึงผิวด้วยวิธี Du Nouy Ring 86
ภาคผนวก ง ถังหมักที่ใช้ในการทดลอง 89
ภาคผนวก จ กราฟมาตรฐานน้ำตาลรีดิวซ์เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี Dinitrosalicylic acid (Bernfield, 1955) 93
ภาคผนวก ฉ ตารางแสดงการวิเคราะห์ผลทางสถิติของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีต่อการเกิดเพสต์ของแป้งข้าวชัยนาท แบบ ONE WAY ANOVA 94
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ 96

2227725008

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 ตารางแสดงชนิดและจุลินทรีย์ที่ผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ และความสำคัญต่อเศรษฐกิจในปัจจุบัน 7

2.2 ตารางแสดงแหล่งคาร์บอนสำหรับการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดต่างๆ 17

2.3 ตารางแสดงวิธีการเก็บเกี่ยวผลผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 21

2.4 ตารางแสดงการนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพไปประยุกต์ใช้ในด้านต่าง 22

2.5 หน้าที่ต่างๆ ของสารลดแรงตึงผิวที่ใช้เป็นอิมัลสิไฟเออร์ในอาหารชนิดต่างๆ 25

2.6 สมบัติที่สำคัญของแอมิโลสและอะมิโลเพทิน 28

2.7 สมบัติที่สำคัญของแอมิโลสและแอมิโลเพกติน 29

2.8 ปริมาณและสัดส่วนของแอมิโลสและอะมิเพกทินในแป้งแต่ะชนิด 30

2.9 คุณสมบัติของแป้งข้าวโพดที่มีปริมาณแอมิโลสต่างกัน 31

2.10 องค์ประกอบของแป้งชนิดต่างๆ 32

2.11 คุณสมบัติในการพองตัวและความสามารถในการละลายของแป้งแต่ละชนิดที่ 95 องศาเซลเซียส 34

2.12 การประยุกต์ใช้สารลดแรงตึงผิวชนิดต่างๆ 37

2.13 ตัวอย่างการจดสิทธิบัตรของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตโดยยีสต์ 39

4.1 แสดงค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าความเป็นกรดด่าง ค่าแรงตึงผิว และค่าการกระจายน้ำมันของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีเซลล์ เมื่อเลี้ยง *Pichia anomala* MUE24 ในอาหารเหลวกำหนดสูตร ที่มีน้ำมันถั่วเหลืองและกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่าอัตราเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 3 5 และ 7 วัน 50

4.2 แสดงค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง ค่ากระจายตัวของน้ำมัน ค่าแรงตึงผิว Δค่าแรงตึงผิว pH ค่า Dissolve oxygen และ ค่า Reducing sugar เมื่อเลี้ยง *Pichia anomala* MUE24 ในอาหารเหลวกำหนดสูตรในถังหมักโดยควบคุม pH 4.5 ตลอดการทดลอง เป็นเวลา 168 ชั่วโมง 52

ตารางที่ หน้า

4.3 แสดงค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง ค่ากระจายตัวของน้ำมัน ค่าแรงตึงผิว Δค่าแรงตึงผิว pH ค่า Dissolve oxygen ค่า Reducing sugar และค่า Residue oil เมื่อเลี้ยง *Pichia anomala* MUE24 ในอาหารเหลวกำหนดสูตรในถังหมักโดยไม่ควบคุม pH เป็นเวลา 168ชั่วโมง 54

4.4 ผลการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดย *P. anomala* MUE24 ในถังหมักแบบ batch ที่อัตราการให้อากาศ 1 vvm อัตราเร็วใบกวน 400 rpm เป็นเวลา 4 วัน เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญเติบโตและการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 57

4.5 ตารางเปรียบเทียบผลการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดย *P. anomala* MUE24 60

4.6 ตารางแสดงอัตราการเคลื่อนที่ (R_f) ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ 62

4.7 แสดงค่าการกระจายน้ำมันของแต่ละลำดับส่วนที่สกัดพร้อมเซลล์และแยกเซลล์ 62

4.8 เปรียบเทียบผลการคำนวณค่าต่างๆทาง kinetic ของการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดย *Pichia anomala* สายพันธุ์ MUE24 ในระดับขวดเขย่า และในระบบปฏิกรณ์ชีวภาพแบบ Batch แบบควบคุม pH 4.5 ตลอดการทดลอง และแบบไม่ควบคุม pH ที่เวลา 168 และ 72 ชั่วโมง 64

4.9 แสดงค่าการก่ออิมัลชัน (Emulsification activity) และความเสถียรของการก่อนอิมัลชัน (Emulsification stability) หรือค่าดัชนีการก่ออิมัลชัน (Emulsion Index) ที่เวลาต่างๆ ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ต่อน้ำมันที่ใช้ทางอาหารชนิดต่างๆ 65

4.10 ค่าความเข้มข้นวิกฤติของการเกิดไมเซลล์ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้จาก *P. anomala* MUE24 66

4.11 แสดงผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของแป้งข้าวชัยนาท 68

4.12 แสดงผลของการวิเคราะห์ความหนืดที่เวลาและอุณหภูมิต่างๆเมื่อแปรผันความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 69

4.13 แสดงการเปรียบเทียบผลของการวิเคราะห์ความหนืดที่เวลาและอุณหภูมิต่างๆ เมื่อใช้ชุดควบคุม (ไม่ใส่สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ) ใช้โซโฟโรลิพิดมาตรฐาน และใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ 70

222725008

สารบัญภาพ

รูปที่		หน้า
2.1	โครงสร้างของสารลดแรงตึงผิว	4
2.2	การกระจายตัวของโมเลกุลสารลดแรงตึงผิว	4
2.3	การเกิดโครงสร้างไมเซลล์ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในน้ำ	5
2.4	แสดงกระบวนการผลิตโซโฟโรลิพิดจาก *Candida bombicola* ATCC 22214	11
2.5	ความสัมพันธ์ระหว่างค่าแรงตึงผิว แรงตึงระหว่างผิวที่ประจัน และค่าการละลายกับความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ	13
2.6	โครมาโทแกรม HPLC ของโซโฟโรลิพิดบริสุทธิ์บางส่วน	20
2.7	โครงสร้างของแอมิโลส	28
2.8	ภาพจำลองการจับตัวของแอมิโลสกับสารอินทรีย์	29
2.9	โครงสร้างแอมิโลเพกติน	30
2.10	รูปแสดงกราฟผลของการวัดความหนืดด้วยเครื่อง RVA	35
4.1	การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยยีสต์ *Pichia anomala* สายพันธุ์ MUE24 ในระดับขวดเขย่า	51
4.2	การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยยีสต์ *Pichia anomala* สายพันธุ์ MUE24 ในถังหมักแบบ Batch ควบคุม pH 4.5 ตลอดการทดลอง	53
4.3	การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยยีสต์ *Pichia anomala* สายพันธุ์ MUE24 ในถังหมักแบบ Batch โดยไม่ควบคุม pH เป็นเวลา 7 วัน	54
4.4	การเปลี่ยนแปลงของอาหารเลี้ยงเชื้อจากการผลิตารลดแรงตึงผิวชีวภาพในถังหมักแบบ batch ที่เวลา 0 ชั่วโมง, 72 ชั่วโมง และ 96 ชั่วโมงตามลำดับ	56
4.5	การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยยีสต์ *Pichia anomala* สายพันธุ์ MUE24 ในถังหมักแบบ Batch โดยไม่ควบคุม pH เป็นเวลา 4 วัน	58
4.6	แสดงไขมันที่สะสมภายในตัวเซลล์ *Pichia anomala* MUE24 ที่อายุ 3 วัน และ 7 วัน เมื่อย้อมเซลล์ด้วยสี Nile Red แล้วส่องด้วยกล้องฟลูออเรสเซนส์	59

2227225008

รูปที่ หน้า

4.7 แสดงปริมาณไขมันที่สะสมภายในตัวเซลล์ *Pichia anomala* MUE24 ที่อายุ 3 วัน และ 7 วัน เมื่อส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน 59

4.8 ผลการวิเคราะห์สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบ Analytical Thin-Layer Chromatography 61

4.9 ผลการทดสอบสารลดแรงตึงผิวที่สกัดได้จากการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (สกัดพร้อมเซลล์) ที่อัตราการให้อากาศ 1 vvm อัตราเร็วใบกวน 400 rpm เป็นเวลา 7 วัน ด้วยมอริช รีเอเจนท์ 63

4.10 ค่า CMC ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตจาก *Pichia anomala* สายพันธุ์ MUE24 จากการเขียนกราฟระหว่างค่า log ความเข้มข้นของสารและค่าแรงตึงผิว 67

4.11 แสดงกราฟผลของการวัดความหนืดด้วยเครื่อง RVA เปรียบเทียบระหว่างการทดลองชุดควบคุม(ไม่ใส่สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ) และการทดลองที่เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพความเข้มข้นตั้งแต่ 120-300 มิลลิกรัมต่อลิตร 69

4.12 แสดงผลการวิเคราะห์ความหนืดโดยเครื่อง RVA เมื่อใช้ชุดควบคุม (ไม่ใส่สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ) ใช้โซโฟโรลิพิดมาตรฐาน และใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ 71

4.13 แสดงความสามารถในการอุ้มน้ำของแป้งข้าวชัยนาทที่ความเข้มข้นต่างๆของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 72

4.14 แสดงความสามารถในการละลายของแป้งข้าวที่อุณหภูมิ 60, 65, 70, 75 และ 80 °C เมื่อแปรผันความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 73

4.15 แสดงความสามารถในการพองตัวของแป้งข้าวที่อุณหภูมิ 60, 65, 70, 75 และ 80 °C เมื่อแปรผันความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 73

222725008