

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในระดับขวดเขย่า

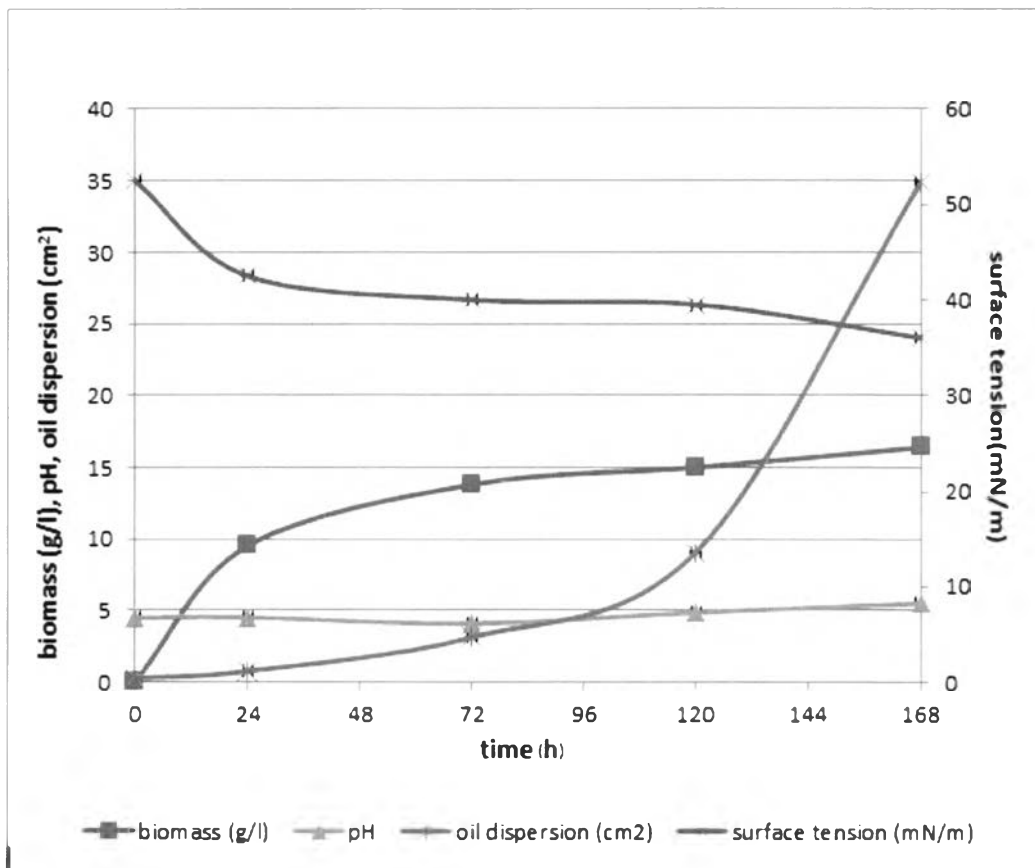
เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเชื้อยีสต์ *Pichia anomala* MUE24 เพื่อผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในระดับขวดเขย่า ด้วยอาหารเหลวกำหนดสูตรที่มีกลูโคสและน้ำมันถั่วเหลืองเป็นแหล่งคาร์บอน ควบคุมค่าความเป็นกรดต่างเริ่มต้นเท่ากับ 4.5 บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่าอัตราเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 วัน แล้วนำน้ำเลี้ยงเชื้อมาหาค่าหน้าหนักเซลล์แห้ง วัดค่าความเป็นกรดต่าง ค่าแรงตึงผิวของน้ำเลี้ยงเชื้อ และค่าการกระจายน้ำมัน โดยจากผลการทดลองพบว่าเซลล์มีการเจริญเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในวันที่ 1 ถึงวันที่ 3 จากนั้นจะเพิ่มขึ้นเล็กน้อย และมีประสิทธิภาพของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพดีขึ้นเรื่อยๆ จนถึงวันที่ 7 พบว่ามีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดคือ 16.4 กรัมต่อลิตร ค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 5.52 ให้ค่าการกระจายน้ำมันสูงสุดคือ 34.95 ตารางเซนติเมตร และสามารถลดแรงตึงผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อจาก 52.5 mN/m เป็น 36.0 mN/m คือได้ค่า ΔST เท่ากับ 16.5 mN/m ดังแสดงในตารางที่ 4.1 และรูปที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 แสดงค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าความเป็นกรดต่าง ค่าแรงตึงผิว และค่าการกระจายน้ำมันของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีเซลล์ เมื่อเลี้ยง *Pichia anomala* MUE24 ในอาหารเหลว กำหนดสูตร ที่มีน้ำมันถั่วเหลืองและกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่าอัตราเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 3 5 และ 7 วัน

เวลาในการบ่ม (วัน)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/L)	pH	ST (mN/m)	ΔST^*	ค่าการกระจายน้ำมัน (cm ²)
0	0.00±0.00	4.50±0.00	52.5±0.29	-	0.28±0.10
1	9.5±0.15	4.52±0.02	42.5±0.50	10.0	0.78±0.15
3	13.8±0.25	4.09±0.05	40.0±0.76	12.5	3.14±0.26
5	15±0.20	4.87±0.04	39.5±0.29	13.0	9.08±0.10
7	16.4±0.32	5.52±0.01	36.0±0.50	16.5	34.95±0.55

* ΔST คือ ผลต่างของค่าแรงตึงผิว ณ เวลาเริ่มต้นและเมื่อสิ้นสุดการทดลอง





รูปที่ 4.1 การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยยีสต์ *Pichia anomala* สายพันธุ์ MUE24 ในระดับขวดเขย่า

4.2 การผลิตสารลดแรงตึงผิวในถังหมักขนาด 5 ลิตร แบบแบช โดยควบคุม pH 4.5 ตลอดการทดลอง

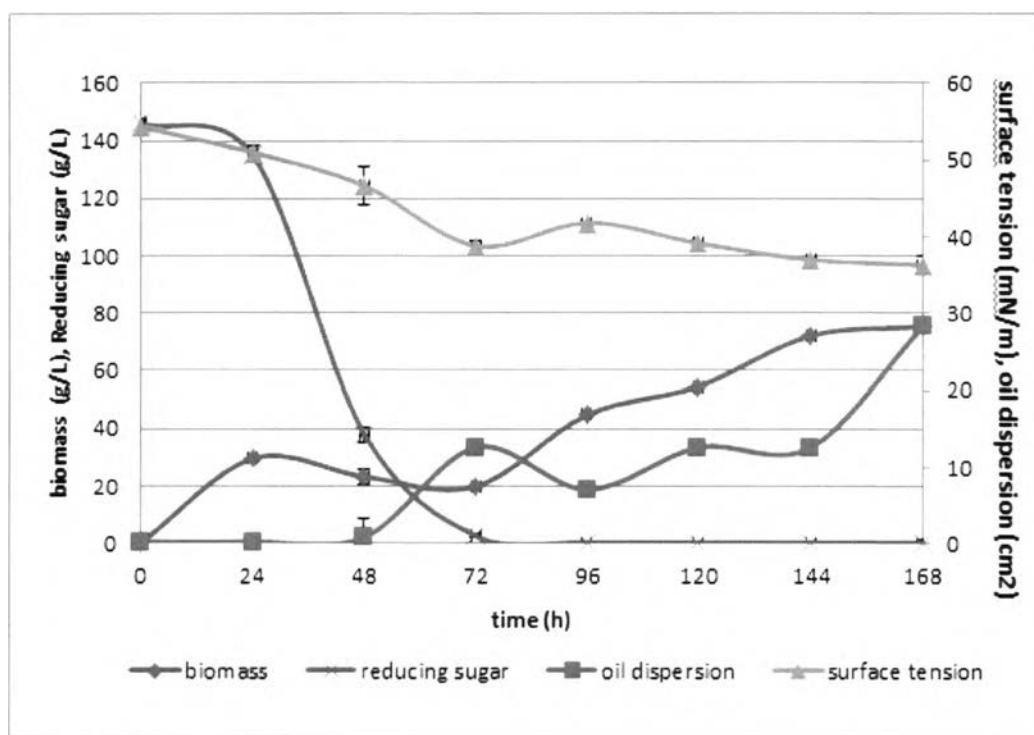
ทำการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในถังหมักแบบ Batch ด้วยอาหารชนิดเดียวกับระดับขวดเขย่า โดยควบคุมการเพาะเลี้ยงที่ pH 4.5 ตลอดการทดลอง อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ควบคุมอัตราเร็วรอบกวนในถังเป็น 400 รอบต่อนาที และควบคุมอัตราการให้อากาศ 1 vvm เป็นเวลา 168 ชั่วโมง แล้วนำน้ำเลี้ยงเชื้อมาวิเคราะห์หน้าหนักเซลล์แห้ง วัดค่าแรงตึงผิว ค่าการกระจายน้ำมัน และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 แสดงค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง ค่ากระจายตัวของน้ำมัน ค่าแรงตึงผิว Δ ค่าแรงตึงผิว pH ค่าปริมาณออกซิเจนที่ละลาย (Dissolve oxygen) และ ค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugar) เมื่อเลี้ยง *Pichia anomala* MUE24 ในอาหารเหลวกำหนดสูตรในถังหมักโดยควบคุม pH 4.5 ตลอดการทดลอง เป็นเวลา 168 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l)	ค่าการกระจายตัวของน้ำมัน (cm ²)	ค่าแรงตึงผิว (mN/m)	Δ ST (mN/m)	ปริมาณออกซิเจนที่ละลาย (%)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (g/L)
0	0.097±0.29	0.126±0.03	54.33±0.39	0	97.6	145.98±1.14
24	29.69±0.68	0.126±0.02	51±0.58	3.33	44.9	134.80±0.90
48	23.31±0.51	0.785±0.12	46.67±0.50	7.66	36.9	38.0±2.52
72	19.994±0.58	12.56±0.50	38.83±0.53	15.5	1.6	0.49±0.40
96	44.798±0.53	7.069±0.53	41.83±0.53	12.5	25.1	0.49±0.40
120	54.668±0.19	12.56±0.50	39.17±0.53	15.16	46.8	0.231±0.50
144	72.136±0.54	12.56±0.33	37±0.58	17.33	68.6	0.31±0.10
168	75.46±1.03	28.27±0.52	36.33±0.42	18	73.0	0.24±1.05



222725008



รูปที่ 4.2 การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยยีสต์ *Pichia anomala* สายพันธุ์ MUE24 ในถังหมักแบบแบช ควบคุม pH 4.5 ตลอดการเพาะเลี้ยง

จากผลการทดลอง การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในระดับขวดเขย่า นั้น พบว่าการเจริญของเชื้อเข้าสู่ระยะการเจริญแบบเอ็กโพเนนเชียล (exponential phase) ในเวลา 24 ชั่วโมง และเซลล์เริ่มเข้าสู่ระยะที่การเจริญคงที่ (stationary phase) ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 72 เป็นต้นไป และการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยวัดค่าแรงตึงผิวและจากค่าการกระจายน้ำมันของสารในช่วงเวลาต่างๆ เป็นแบบ growth associated คือมีความสัมพันธ์กับการเจริญของเชื้อ ส่วนการผลิตในถังหมัก พบว่าเชื้อมีการเจริญแบบ diauxic มี exponential phase 2 ช่วง คือ 12-24 ชั่วโมง และ 84-108 ชั่วโมง และจากค่าการกระจายน้ำมันซึ่งใช้เป็นตัวแทนความสามารถในการผลิตสาร พบว่าชั่วโมงที่ 48-72 หรือช่วง stationary phase ของการเจริญของเชื้อช่วงแรกค่าการกระจายน้ำมันมีค่าสูงชันอย่างมีนัยสำคัญ และชั่วโมงที่ 84-168 พบว่าค่าการกระจายน้ำมันสูงชันตามลำดับ พร้อมกับการเจริญของเชื้อในช่วงที่ 2 ของการเจริญแบบ diauxic และมีพบว่าประสิทธิภาพของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพดีขึ้นเรื่อยๆ จนถึง 168 ชั่วโมง พบว่ามีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงที่สุดคือ 75.46 กรัมต่อลิตร ให้ค่าการกระจายน้ำมันสูงที่สุดคือ 28.274 ตารางเซนติเมตร และสามารถลดแรงตึงผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อจาก 54.33 mN/m เป็น 36.33 mN/m คือได้ค่า ΔST เท่ากับ 18 mN/m ซึ่งดีกว่าในระดับขวดเขย่า

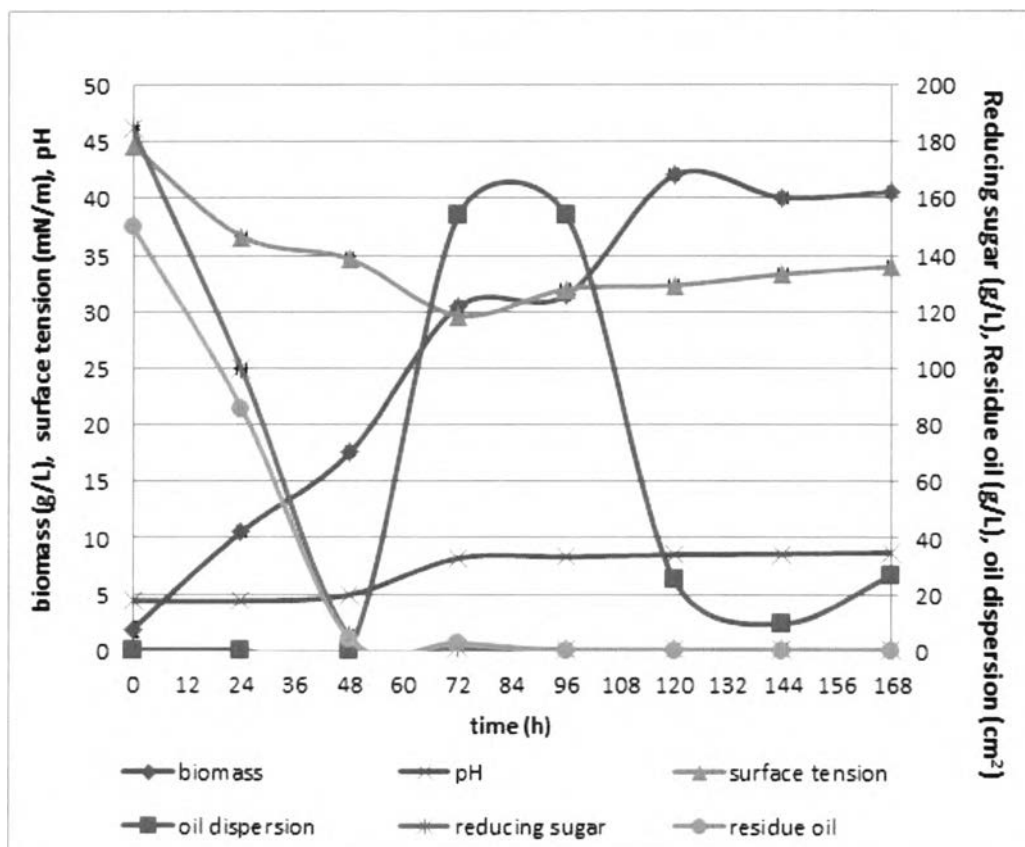
4.2 การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในถังหมักแบบ batch โดยไม่ควบคุม pH เป็นเวลา 7 วัน

เพาะเลี้ยงยีสต์ *Pichia anomala* MUE24 ในอาหารเหลวกำหนดสูตร อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส pH เริ่มต้น 4.5 ควบคุมอัตราเร็วรอบกวนในถังเป็น 400 รอบต่อนาที และควบคุมอัตราการ

ตารางที่ 4.3 แสดงค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง ค่ากระจายตัวของน้ำมัน ค่าแรงตึงผิว Δ ค่าแรงตึงผิว pH ค่าปริมาณออกซิเจนที่ละลาย (Dissolve oxygen) ค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugar) และค่าปริมาณน้ำมันที่เหลือ (Residue oil) เมื่อเลี้ยง *Pichia anomala* MUE24 ในอาหารเหลวกำหนดสูตรในถังหมักโดยไม่ควบคุม pH เป็นเวลา 168 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (g/l)	ค่าการกระจายตัวของน้ำมัน (cm ²)	ค่าแรงตึงผิว (mN/m)	Δ ST (mN/m)	pH	ปริมาณออกซิเจนที่ละลาย (%)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (g/L)	ปริมาณน้ำมันที่เหลือ (g/L)
0	1.872±0.22	0.096±0.01	44.67±0.19	0.00	4.41	98.6	184.64±0.51	149.8±0.64
24	10.578±0.50	0.159±0.02	36.67±0.51	8.00	4.39	55.1	99.86±0.54	85.8±0.12
48	17.554±0.25	0.159±0.02	34.67±0.19	18.00	4.94	43.5	5.073±0.56	4.2±0.25
72	30.45±0.50	153.94±0.00	29.67±0.51	24.00	8.22	56.0	1.481±0.29	2.8±0.16
96	31.462±0.50	153.94±0.00	32.00±0.57	15.67	8.34	59.1	0.391±0.11	0±0.00
120	42.05±0.56	25.201±0.53	32.33±0.19	16.34	8.54	49.5	0.304±0.17	0±0.00
144	40.07±1.11	9.616±0.26	33.33±0.51	14.34	8.62	65.6	0.299±0.06	0±0.00
168	40.59±0.23	26.70±0.85	34.00±0.58	17.67	8.74	80.4	0.265±0.07	0±0.00

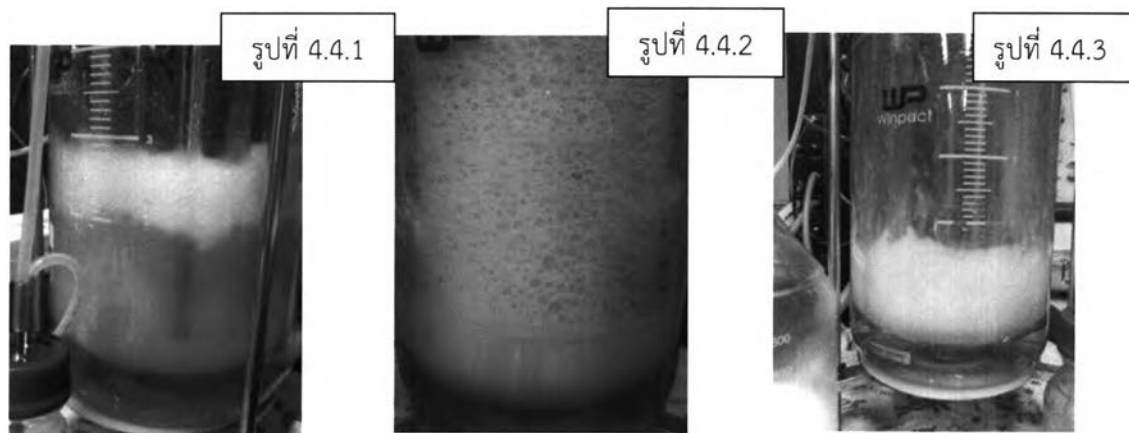
ให้อากาศ 1 vvm เป็นเวลา 7 วัน โดยไม่มีการควบคุม pH และนำน้ำเลี้ยงเชื้อมาทำการวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้ง วัดค่าแรงตึงผิว ค่าการกระจายน้ำมัน ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณน้ำมันที่เหลืออยู่ ได้ผลการทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 4.3 และรูปที่ 4.3



รูปที่ 4.3 การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยยีสต์ *Pichia anomala* สายพันธุ์ MUE24 ในถังหมักแบบ Batch โดยไม่ควบคุม pH เป็นเวลา 7 วัน

จากผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.3 และรูปที่ 4.3 พบว่าที่ชั่วโมงที่ 72 น้ำเลี้ยงเชื้อให้ค่าการกระจายตัวของน้ำมันสูงที่สุดมีค่าเท่ากับ 153.94 cm^2 (เต็มพื้นที่การทดสอบ) และสามารถลดค่าแรงตึงผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อได้มากที่สุด Δ ค่าแรงตึงผิว เท่ากับ 24.00 จากนั้นมีค่าลดลงในชั่วโมงที่ 96 เนื่องจากแหล่งคาร์บอนคือน้ำตาลกลูโคสและน้ำมัน ซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนหมดลงไปในชั่วโมงที่ 48 นอกจากนี้ Zhang และคณะ [63] อธิบายไว้ว่าเซลล์มีการนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพไปใช้เป็นแหล่งคาร์บอนเมื่อแหล่งคาร์บอนหมดลง จึงทำให้มีค่าความสามารถต่าง ๆ ของสารลดแรงตึงผิวลดลงไปด้วย และการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยไม่ควบคุม pH นี้ พบการเปลี่ยนแปลงของอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งแตกต่างจากการผลิตโดยควบคุม pH 4.5 ตลอดการทดลองอาหารเลี้ยงเชื้อจะเป็นสีเหลืองใสตลอดการทดลอง ซึ่งในการผลิตแบบไม่ควบคุม pH นี้ อาหารเลี้ยงเชื้อจะมีลักษณะจากเริ่มต้นที่อาหารเลี้ยงเชื้อมีลักษณะเป็นสีเหลืองใส ดังแสดงในรูปที่ 4.4.1 ต่อมาเมื่อถึงชั่วโมงที่ 72 อาหารเลี้ยงเชื้อมีลักษณะเป็นครีมนํ้านมสีขาวและเกิดฟองจำนวนมาก ดังแสดงในรูปที่ 4.4.2 และเมื่อเวลาผ่านไปถึงชั่วโมงที่ 96 เป็นต้นไป อาหารยังคงมีลักษณะเป็นครีมนํ้านมสีขาว แต่ฟองที่เกิดขึ้นในชั่วโมงที่ 72 นั้นลดลงไป ดังแสดงในรูป 4.4.3 ซึ่งระหว่างชั่วโมงที่ 48-72 นี้ pH มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ซึ่งคาดว่าเป็นช่วงที่เชื้อใช้น้ำตาลหมด เช่นเดียวกับการทดลองแบบคุม pH 4.5 และ pH ที่

เหมาะสมต่อประสิทธิภาพของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพคือช่วง pH ประมาณ 7 ซึ่งส่งผลต่อค่าการกระจายน้ำมันให้มีค่าสูงที่สุด และลดค่าแรงตึงผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อต่ำสุด ดังแสดงในรูปที่ 4.3



รูปที่ 4.4 (4.4.1-4.4.3) การเปลี่ยนแปลงของอาหารเลี้ยงเชื้อจากการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในถังหมักแบบ batch ที่เวลา 0 ชั่วโมง, 72 ชั่วโมง และ 96 ชั่วโมงตามลำดับ

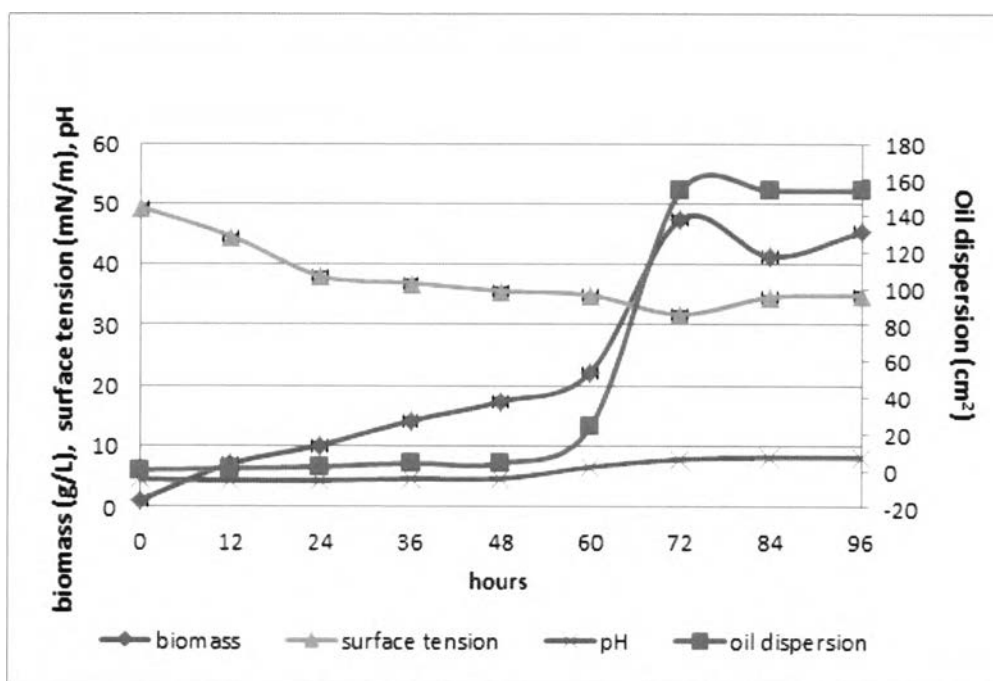
จากนั้นทำการทดลองผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในถังหมักขนาด 5 ลิตรแบบแบช เป็นเวลา 96 ชั่วโมง เพื่อศึกษาความสัมพันธ์และการเปลี่ยนแปลงภายในถังหมักที่ทำการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ พบว่าเซลล์มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วในชั่วโมงที่ 60 ถึง 72 ซึ่งสอดคล้องกับประสิทธิภาพในการลดค่าแรงตึงผิวและเพิ่มค่าการกระจายน้ำมัน โดยพบว่าเมื่อพ้นชั่วโมงที่ 72 ไปแล้ว เซลล์มีการเจริญช้าลง และประสิทธิภาพในการลดค่าแรงตึงผิวและเพิ่มค่าการกระจายน้ำมันต่ำลงด้วย ดังแสดงในตารางที่ 4.4 และรูปที่ 4.5 ซึ่งคาดว่าเกิดจากสาเหตุเช่นเดียวกันกับการทดลองเมื่อผลิตเป็นเวลา 7 วัน คือเชื้อมีการใช้แหล่งคาร์บอนจนหมดและมีการนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนของสายคาร์บอนสายยาวไปใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญเติบโตแทนน้ำตาลและน้ำมันซึ่งถูกใช้จนหมดไป

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

เวลา (ชั่วโมง)	น้ำหนักเซลล์ แห้ง (g/l)	ค่าการกระจาย ตัวของน้ำมัน (cm^2)	ค่าแรงตึงผิว (mN/m)	Δ ค่าแรง ตึงผิว (mN/m)	pH	ปริมาณ ออกซิเจน ที่ละลาย (%)
0	1.046±0.22	0.025±0.01	49.40±0.35	0.00	4.5	93.3
12	7.061±0.10	0.7854±0.01	44.67±0.19	4.73	4.29	54.0
24	10.144±0.54	1.96±0.23	38.07±0.56	11.33	4.32	51.6
36	14.227±0.25	3.9761±0.01	37.00±0.50	12.40	4.64	72.6
48	17.388±0.50	3.94±0.03	35.67±0.51	13.73	4.66	67.8
60	22.256±0.51	23.7583±0.13	35.00±0.29	14.40	6.61	46.0
72	47.447±0.50	153.94±0.00	31.83±0.54	17.57	7.92	60.1
84	41.346±0.50	153.94±0.00	34.67±0.19	14.73	8.22	57.1
96	45.361±0.50	153.94±0.00	34.9±0.55	14.50	8.25	42.9



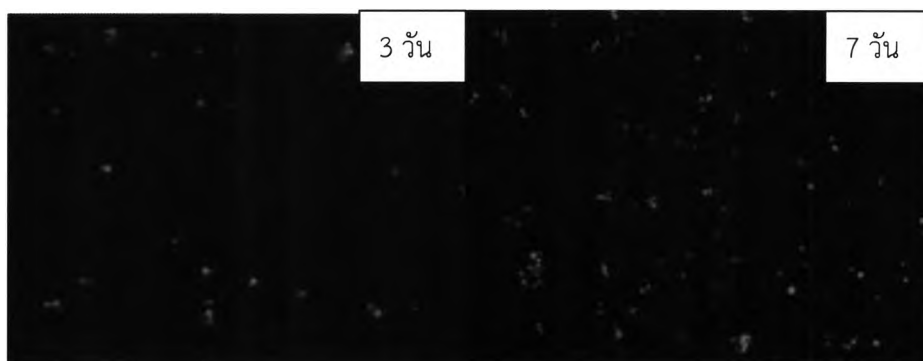
222725008



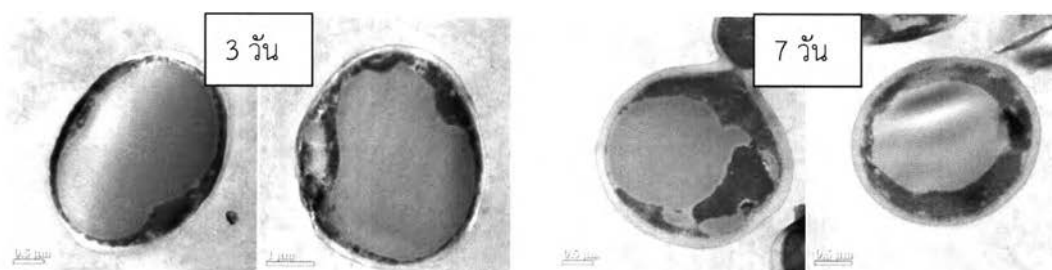
รูปที่ 4.5 การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยยีสต์ *Pichia anomala* สายพันธุ์ MUE24 ในถังหมักแบบ Batch โดยไม่ควบคุม pH เป็นเวลา 4 วัน

4.3 การย้อมเซลล์ด้วยสี Nile red เพื่อศึกษาไขมันที่สะสมภายในเซลล์

ทำการปั่นเหวี่ยงเก็บตะกอนเซลล์ที่เวลา 3 วัน และ 7 วัน เพื่อนำเซลล์ *Pichia anomala* MUE24 มาย้อมด้วยสี Nile red แล้วส่องด้วยกล้องฟลูออเรสเซนส์ และนำไปส่องต่อด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (TEM) เพื่อศึกษาลักษณะการสะสมสารประเภทไขมันภายในตัวเซลล์ตามเปรียบเทียบขนาดและปริมาณของสารลดแรงตึงผิวที่สะสมอยู่ในเซลล์ตามที่ Morita และคณะ [57] ได้รายงานไว้ว่าสีแดงที่เห็นในกล้องฟลูออเรสเซนส์คือไขมันที่สะสมอยู่ในตัวเซลล์ ซึ่งจากการย้อมและส่องกล้องฟลูออเรสเซนส์และกล้อง TEM ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 4.6 และ 4.7 โดยพบว่าที่เวลา 7 วัน เซลล์มีการสะสมไขมันน้อยลง จะเห็นได้จากขนาดและสีแดงที่เรืองแสงภายในเซลล์มีขนาดเล็กกว่าเซลล์ที่เวลา 3 วัน จึงคาดว่า หลังจาก 3 วันแล้ว เซลล์ได้มีการนำไขมันที่สะสมไปใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญเติบโต



รูปที่ 4.6 แสดงไขมันที่สะสมภายในตัวเซลล์ *Pichia anomala* MUE24 ที่อายุ 3 วัน และ 7 วัน เมื่อย้อมเซลล์ด้วยสี Nile Red แล้วส่องด้วยกล้องฟลูออเรสเซนส์



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

4.4 การสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

จากผลการทดลองข้อ 4.3 ที่พบว่าภายในเซลล์มีการสะสมไขมันทำให้มีความสนใจทำการสกัดแยกสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยไม่แยกเซลล์ออก ตามวิธีของ Ueda และคณะ [58] โดยการนำตัวอย่างที่เก็บแต่ละตัวอย่างมาต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 15 นาที เพื่อให้เซลล์แตก ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำทั้งเซลล์และน้ำเลี้ยงเชื้อมาทำการสกัดด้วยเฮกเซนปริมาตร 50 มิลลิลิตร เก็บชั้นของส่วนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ยังมีเซลล์มาสกัดต่อด้วยเอทิลอะซิเตดปริมาตร 50 มิลลิลิตร 3 รอบ จากนั้นนำไประเหยภายใต้ภาวะสุญญากาศ แล้วชั่งน้ำหนักสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้เป็นกรัมต่อลิตร และทำวิธีเดียวกันกับข้างต้นแต่ทำการปั่นเหวี่ยงให้เซลล์ตกตะกอนแล้วแยกเซลล์ออกไป โดยนำเฉพาะส่วนน้ำเลี้ยงเชื้อมาสกัดด้วยเฮกเซนและเอทิลแอซิเตด เพื่อให้ได้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพตามลำดับ จากนั้นเปรียบเทียบความสามารถในการสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพด้วยวิธีทั้ง 2 นี้ ได้ผลดังแสงในตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ตารางเปรียบเทียบผลการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดย *P. anomala*

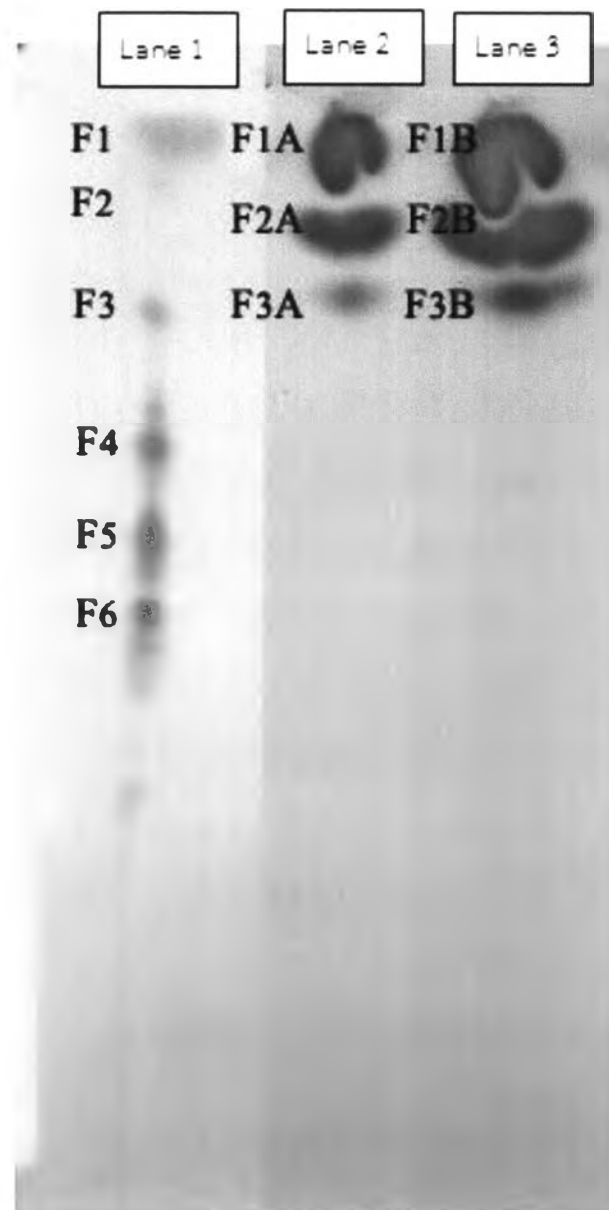
MUE24

	ปริมาณสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ที่สกัดได้ (g/L)	specific productivity ($\text{g}\cdot\text{L}^{(-1)}\cdot\text{h}^{(-1)}\cdot\text{g}^{(-1)}$ cell dry weight)
ขวดเขย่า	0.55	1.99×10^{-4}
1 vvm, 400 rpm, 7 วัน, pH 4.5 ตลอดการทดลอง	1.95	1.54×10^{-4}
1 vvm, 400 rpm, 7 วัน	1.173	1.50×10^{-4}
1 vvm, 400 rpm, 7 วัน (สกัดพร้อมเซลล์)	11.87	1.51×10^{-3}
1 vvm, 400 rpm, 3 วัน	19.4057	5.68×10^{-3}
1 vvm, 400 rpm, 3 วัน (สกัดพร้อมเซลล์)	34.061	9.97×10^{-3}

จากตารางที่ 4.5 พบว่าการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในถังหมักแบบ Batch โดยไม่ควบคุม pH ให้ผลผลิต crude สารลดแรงตึงผิวมากที่สุดที่ 72 ชั่วโมงและทำการสกัดจากน้ำเลี้ยงเชื้อพร้อมเซลล์ ในการทดลองต่อไป จึงทำการผลิตและวิเคราะห์ผลการทดลองโดยทำการเลี้ยงเซลล์เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เพื่อให้ได้ผลผลิตของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพสูงที่สุดเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในการปรับปรุงคุณภาพของแป้งข้าวต่อไป

4.5 การเตรียมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพให้บริสุทธิ์บางส่วนด้วย Analytical Thin-Layer Chromatography

นำสารลดแรงตึงผิวที่ผลิตได้ ปรับความเข้มข้นเป็น 20 mg/mL ด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ มาวิเคราะห์ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบ Analytical Thin-Layer Chromatography พบว่าได้ 3 ลำดับส่วน ในขณะที่โซโฟโรลิพิตมาตรฐาน ได้ทั้งหมด 6 ลำดับส่วน โดยลำดับส่วนที่ 1-3 ของทั้งโซโฟโรลิพิตมาตรฐานและสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้มีค่า R_f ตรงกัน คือได้ค่า R_f ประมาณ 0.95 0.88 และ 0.84 ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 4.8 จากนั้นหาค่า R_f ของการเคลื่อนที่ได้ดังแสดงในตารางที่ 4.6



รูปที่ 4.8 ผลการวิเคราะห์สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบ Analytical Thin-Layer Chromatography

Lane 1 คือ โซโฟโรลิพิดมาตรฐาน

Lane 2 คือ สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่สกัดโดยแยกเซลล์ออกแล้ว

Lane 3 คือ สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่สกัดพร้อมเซลล์

ตารางที่ 4.6 ตารางแสดงอัตราการเคลื่อนที่ (R_f) ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้

	R_f ของแต่ละลำดับส่วน					
	(F ₁)	(F ₂)	(F ₃)	(F ₄)	(F ₅)	(F ₆)
1. Standard sophorolipid	0.95	0.90	0.86	0.81	0.75	0.70
2. Crude BS 1 vvm, 400 rpm, 3 วัน	(F ₁ A) 0.95	(F ₂ A) 0.88	(F ₃ A) 0.84	-	-	-
3. Crude BS 1 vvm, 400 rpm, 3 วัน (สกัดพร้อมเซลล์)	(F ₁ B) 0.95	(F ₂ B) 0.88	(F ₃ B) 0.84	-	-	-

เมื่อนำแต่ละลำดับส่วน มาทดสอบค่าการกระจายน้ำมัน ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.7 ซึ่งพบว่าการสกัดพร้อมเซลล์ในแต่ละลำดับส่วน ให้ผลค่าการกระจายน้ำมันดีกว่าการสกัดโดยแยกเซลล์ออกก่อน โดยลำดับส่วน ที่ให้ค่าการกระจายน้ำมันสูงที่สุดคือ F₂B ที่ทำการสกัดพร้อมเซลล์ คือให้ค่าการกระจายน้ำมันเท่ากับ 153.94 cm² ดังแสดงในตารางที่ 4.7

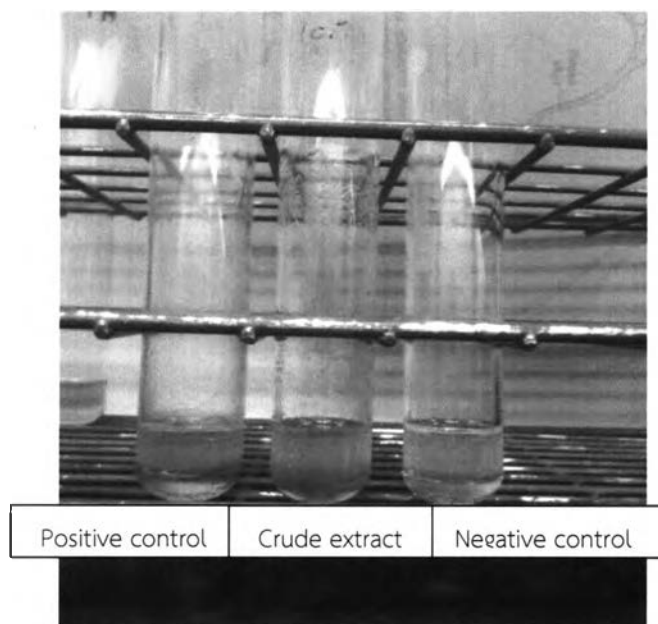
ตารางที่ 4.7 แสดงค่าการกระจายน้ำมันของแต่ละลำดับส่วนที่สกัดพร้อมเซลล์และแยกเซลล์

Fraction ที่	ค่าการกระจายน้ำมัน (cm ²)
F ₁ A	38.48
F ₂ A	132.73
F ₃ A	113.10
F ₁ B	132.73
F ₂ B	153.94
F ₃ B	113.10

จากนั้นได้ทำการทดลองสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพทั้ง 3 แบบ คือแบบสกัดจากเซลล์เพียงอย่างเดียว สกัดจากน้ำเลี้ยงเชื้อเพียงอย่างเดียว และสกัดจากน้ำเลี้ยงเชื้อพร้อมเซลล์ ที่เวลา 72 ชั่วโมง เพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการสกัดสารลดแรงตึงผิว เพื่อให้ได้วิธีที่สามารถสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมากที่สุด พบว่าการสกัดจากน้ำเลี้ยงเชื้อพร้อมเซลล์ ให้ผลการผลิตสารลดแรงตึงผิวสูงที่สุดคือได้ 34.061 กรัมต่อลิตร ในขณะที่การสกัดจากเซลล์เพียงอย่างเดียวและสกัดจากน้ำเลี้ยงเชื้อเพียงอย่างเดียวให้ผลผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเท่ากับ 10.9680 และ 19.4057 กรัมต่อลิตรตามลำดับ จึงทำการสกัดสารลดแรงตึงผิวโดยวิธีนี้ที่เวลา 72 ชั่วโมง เพื่อนำไปทำการประยุกต์ใช้กับแป้งข้าวต่อไป จากนั้นทำการยืนยันด้วยมอริชรีเอเจนต์ พบว่าสารลดแรงตึงผิวที่สกัดโดยวิธีนี้ให้ผลทดสอบบวกกับมอริชรีเอเจนต์ จึงสันนิษฐานได้ว่า *Pichia anomala* สายพันธุ์ MUE24 สามารถผลิต



สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบหรือเป็นสารประเภทไกลโคลิพิด ดังแสดงในรูปที่ 4.9 ซึ่งมีการศึกษาโดย HPLC-MS โดยทิวาพร [7] แล้วว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ มีผลการพิสูจน์โครงสร้างเทียบเคียงได้กับสารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดโซโฟโรลิพิด



รูปที่ 4.9 ผลการทดสอบสารลดแรงตึงผิวที่สกัดได้จากการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (สกัดพร้อมเซลล์) ที่อัตราการให้อากาศ 1 vvm อัตราเร็วใบกวน 400 rpm เป็นเวลา 7 วัน ด้วย มอริซ ริ เอเจนท์

4.6 การคำนวณค่าต่างๆทางจลนพลศาสตร์การหมัก เพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการผลิตสารลดแรงตึงผิวในทั้งระดับขวดเขย่า ในระบบปฏิกรณ์ชีวภาพแบบควบคุม pH4.5 และไม่ควบคุม pH ณ เวลาต่างๆ ดังต่อไปนี้

$$X = \text{น้ำหนักรวมเซลล์แห้ง (g/l)} \quad P = \text{น้ำหนักรวมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่สกัดได้ (g/l)}$$

$$Y_{P/S} = \text{ผลผลิตที่ได้ต่อซับสเตรต (g-P/g-S)} \quad Q_P = \text{Productivity (g-P/L/h)}$$

$$\text{Specific productivity} = Q_P(\text{mg-P/L/h}) / g\text{-X/l}$$

$$\text{Specific growth rate} = \mu = \frac{\ln(X_2 - X_1)}{t_2 - t_1}, \quad t_2 > t_1$$

ตารางที่ 4.8 เปรียบเทียบผลการคำนวณค่าต่างๆทางจลนพลศาสตร์ของการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดย *Pichia anomala* สายพันธุ์ MUE24 ในระดับขวดเขย่า และในระบบปฏิบัติการชีวภาพแบบ Batch แบบควบคุม pH 4.5 ตลอดการทดลอง และแบบไม่ควบคุม pH ที่เวลา 168 และ 72 ชั่วโมง

Parameters	Shake flask 168h	Bioreactor 168h With pH control	Bioreactor 168h without pH control	Bioreactor 72h without pH control
X (g/l)	16.40	75.46	63.184	45.776
P (g/l)	0.55	1.95	4.2080	19.4057
$Y_{P/S}$ (g-P/g-S)	0.0038	0.0135	0.0292	0.1351
Q_p (g-P/l/h)	0.003	0.0116	0.0250	0.2695
μ	0.0087	0.0797	0.3693	0.6200
Specific productivity (mg-P/g-X/h)	0.199	0.154	0.3957	5.8874

จากตารางที่ 4.8 เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพระหว่างการผลิตในระดับขวดเขย่าและในถังหมัก ด้วยการคำนวณค่าจลนพลศาสตร์นั้น พบว่าค่า P (ผลิตภัณฑ์) และค่า μ (specific growth rate) ของการผลิตในถังหมักทั้งแบบควบคุม และไม่ควบคุม pH ให้ค่าสูงกว่า คือมีความสามารถในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพดีกว่าระดับขวดเขย่า เนื่องจากจากการผลิตในถังหมักนั้นมีการควบคุมอุณหภูมิ อัตราเร็วใบกวน และควบคุมอัตราการให้อากาศ จึงทำให้สามารถควบคุมการผลิตได้ดีกว่าในระดับขวดเขย่า นอกจากนี้ พบว่าการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในถังหมัก แบบ batch โดยไม่ควบคุม pH เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ให้ค่า P หรือผลผลิตสูงสุด และให้ค่า μ และค่า Specific productivity สูงที่สุดอีกด้วย ดังนั้น ในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเพื่อนำไปประยุกต์ใช้กับแป้งข้าวต่อไป จึงทำการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยผลิตในถังหมักแบบ batch โดยไม่ควบคุม pH และทำการสกัดสารที่เวลาเพาะเลี้ยง 72 ชั่วโมง เพื่อให้ได้ผลผลิตสารลดแรงตึงผิวสูงสุดและดีที่สุดในการทำการทดลองต่อไป

4.7 การหาค่าดัชนีการก่ออิมัลชัน (Emulsion Index)

เมื่อวัดค่าดัชนีการก่ออิมัลชัน โดยใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพร่วมกับน้ำมันที่ใช้ทางอาหารต่างๆ คือ น้ำมันเมล็ดงา น้ำมันคาโนล่า น้ำมันดอกทานตะวัน น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันปาล์ม น้ำมันรำข้าว น้ำมันเมล็ดชา และน้ำมันตะไคร้ ตามวิธีของ Shepherd และคณะ [22] พบว่าความสามารถในการก่ออิมัลชัน (Emulsification activity) ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพต่อน้ำมันชนิดต่างๆ มีค่าอยู่ที่

0.1-1.0 โดยเฉลี่ยอยู่ที่ประมาณ 0.5 โดยน้ำมันตะไคร้มีค่าความสามารถในการก่ออิมัลชันสูงสุด คือ 1.311 และค่าความเสถียรในการก่ออิมัลชัน (Emulsification stability) ต่อน้ำมันชนิดต่างๆ เช่น น้ำมันเมล็ดชา น้ำมันดอกทานตะวัน และน้ำมันถั่วเหลือง ที่ 24 ชั่วโมง (E_{24}) มีค่ามากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำมันคาโนลา และน้ำมันรำข้าว มีค่าความเสถียรในการก่ออิมัลชันต่ำสุด อยู่ที่ประมาณ 44 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นในวันที่ 3 5 และ 7 ค่าความเสถียรในการก่ออิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพต่อน้ำมันต่างๆจะค่อยๆคงที่ โดยพบว่าเมื่อถึงวันที่ 7 การก่ออิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพต่อน้ำมันจะสูงสุด เมื่อก่ออิมัลชันร่วมกับ น้ำมันดอกทานตะวัน และน้ำมันเมล็ดชา คือ 90.08% และ 78.10% ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.9

ตารางที่ 4.9 แสดงค่าการก่ออิมัลชัน (Emulsification activity) และความเสถียรของการก่ออิมัลชัน (Emulsification stability) หรือค่าดัชนีการก่ออิมัลชัน (Emulsion Index) ที่เวลาต่างๆ ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ต่อน้ำมันที่ใช้ทางอาหารชนิดต่างๆ

ชนิดน้ำมัน	ค่าการก่ออิมัลชัน (OD units)	ค่าดัชนีความเสถียรของอิมัลชัน (%)			
		E_{24} (1 วัน)	E_{72} (3 วัน)	E_{120} (5 วัน)	E_{168} (7 วัน)
ทรिสบ์เฟอร์	0.215	79.07	73.95	70.23	50.70
น้ำมันเมล็ดชา	0.137	97.08	97.81	86.86	78.10
น้ำมันคาโนลา	0.625	49.28	25.28	23.52	20.80
น้ำมันดอกทานตะวัน	0.373	99.20	92.76	91.15	90.08
น้ำมันถั่วเหลือง	0.194	97.94	96.39	81.44	69.07
น้ำมันมะกอก	0.424	63.21	25.24	25.99	25.00
น้ำมันรำข้าว	0.649	44.68	35.59	35.59	33.28
น้ำมันปาล์ม	0.677	68.98	69.57	67.36	66.17
น้ำมันตะไคร้	1.311	53.93	36.61	35.39	33.79

4.8 การหาค่าความเข้มข้นวิกฤติของการเกิดไมเซลล์ (Critical micelle concentration; CMC)

ค่าความเข้มข้นวิกฤติของการเกิดไมเซลล์หรือค่าจุดวิกฤติการเกิดไมเซลล์ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ สามารถทำได้โดยเจือจางสารลดแรงตึงผิว ด้วย 50 มิลลิโมลาร์ ทรिสบ์เฟอร์ ไตรโบฟเฟอร์ ที่มีความเป็นกรดต่างเท่ากับ 8 เตรียมให้มีความเข้มข้นต่างๆ ตั้งแต่ 0.01-20,000 มิลลิกรัมต่อลิตร นำแต่ละความเข้มข้นไปวัดค่าแรงตึงผิวระหว่างของเหลวและอากาศที่ลดลง และนำไปเขียนกราฟเพื่อหาค่า CMC พบว่า ค่าแรงตึงผิวที่วัดได้สามารถแบ่งออกได้เป็นสองช่วง โดยในช่วงแรกค่าแรงตึงผิวจะมีค่าลดลงเรื่อยๆ ตามความเข้มข้นของสารที่เพิ่มขึ้น ส่วนในช่วงที่สองค่าแรงตึงผิวจะมีค่าค่อนข้างคงที่ ไม่ขึ้นกับความเข้มข้น ซึ่งความเข้มข้นวิกฤติของการเกิดไมเซลล์นี้เป็นค่าที่มีความจำเพาะในสารแต่ละชนิด และยังสามารถถึงประสิทธิภาพของสารลดแรงตึงผิวชนิดนั้นๆ ได้ จาก

การหาค่า CMC ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ในการทดลองได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.10 โดยพบว่าค่า CMC ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้จาก *P. anomala* MUE24 มีค่าเท่ากับ 116 มิลลิกรัมต่อลิตร และค่าแรงตึงผิว ณ การเกิดไมเซลล์ (γ_{CMC}) เท่ากับ 29.67 mN/m ซึ่งให้ค่า CMC และค่าแรงตึงผิว ณ การเกิดไมเซลล์ต่ำกว่าสารลดแรงตึงผิวทางเคมี คือ โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต และ ไทรทอน เอกซ์ 100 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้มีประสิทธิภาพสูงกว่าสารลดแรงตึงผิวทางเคมี

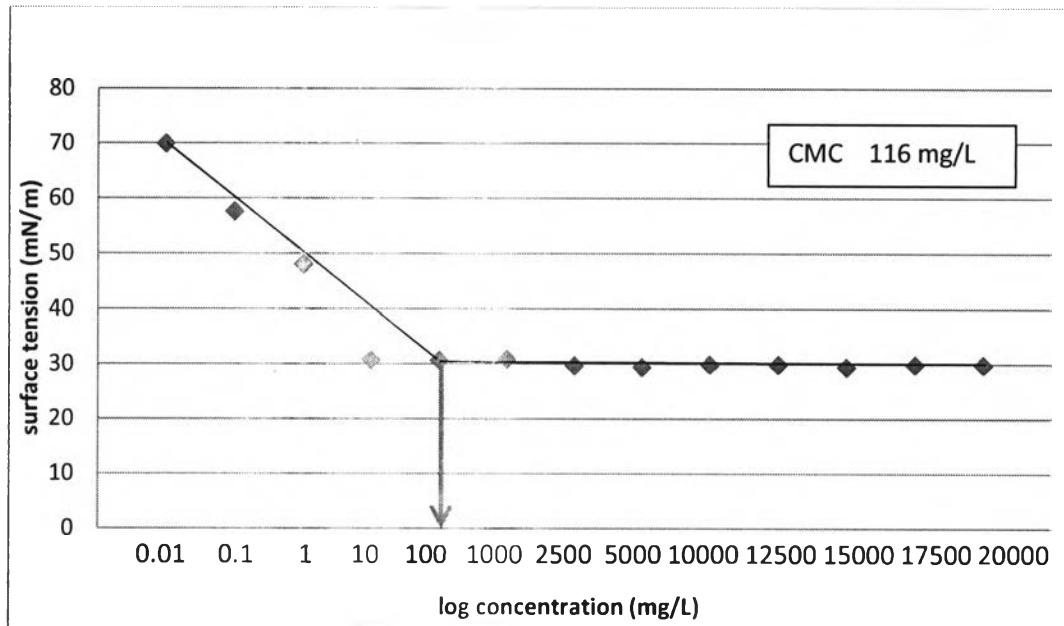
ตารางที่ 4.10 ค่าความเข้มข้นวิกฤติของการเกิดไมเซลล์ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้จาก *P. anomala* MUE24

สารลดแรงตึงผิว	ค่า CMC (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ค่า γ_{CMC} (แรงตึงผิว ณ การเกิดไมเซลล์) (mN/m)
สารลดแรงตึงผิวชีวภาพจาก <i>P. anomala</i> MUE24	116	29.67
โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต*	1,004	38
ไทรทอน เอกซ์ 100*	537	36

*ที่มา Das และคณะ [64]



222725008



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

4.9 การนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้มาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารจำพวกแป้งข้าว

4.9.1 วิเคราะห์สมบัติของแป้งข้าวที่มีแอมิโลสสูงที่มีใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของฟลาวัวร์ (แป้งข้าวชัณนาท) ได้แก่ ปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน เส้นใยหยาบ และคาร์โบไฮเดรต ซึ่งส่งวิเคราะห์ที่สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร หน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีแป้ง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.11

ตารางที่ 4.11 แสดงผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของแป้งข้าวชัยนาท

การวิเคราะห์	ปริมาณ
ปริมาณความชื้น (Moisture content)	11.34±0.01 (%wet basis)
ปริมาณเส้นใย (Fiber content)	0.28±0.01 (%dry basis)
ปริมาณโปรตีน (Protein content)	10.28±0.05 (%dry basis)
ปริมาณไขมัน (Fat content)	0.77±0.02 (%dry basis)
ปริมาณเถ้า (Ash content)	0.89±0.04 (%dry basis)
ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (Carbohydrate content) วิเคราะห์โดยผลต่าง	87.78 (%dry basis)

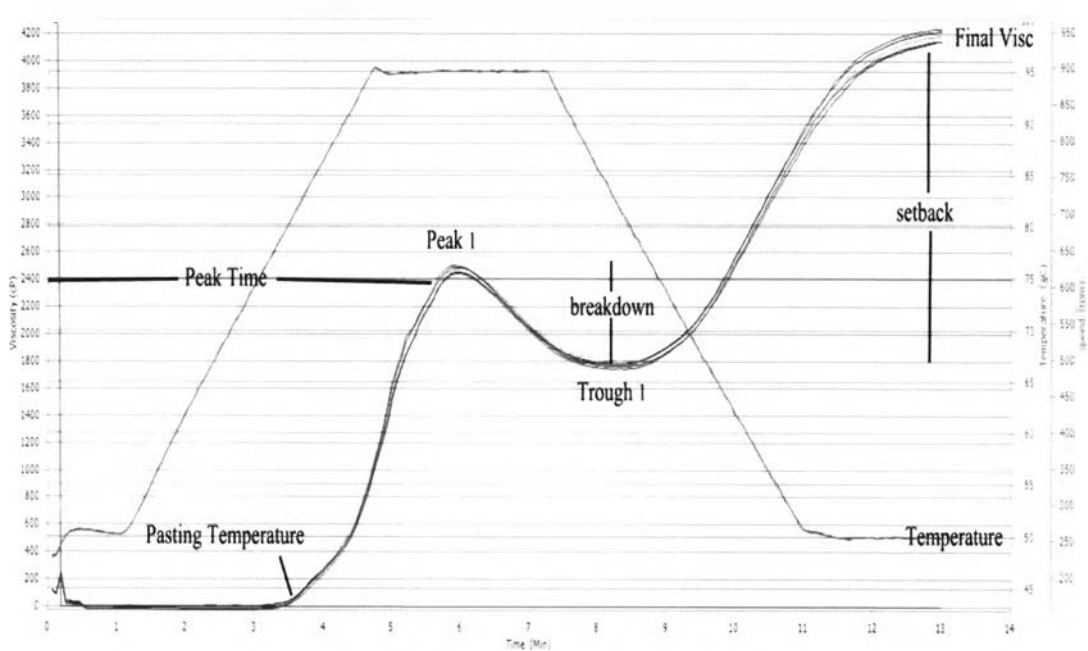
4.9.2 ผลของการเติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อสมบัติของแป้งข้าว

แปรผันความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพอย่างน้อย 5 ระดับเหนือค่า CMC คือ 120 150 200 250 และ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร (ค่า CMC = 116.16 มิลลิกรัมต่อลิตร) ต่อสมบัติของแป้ง โดยทดสอบสมบัติการเกิดเพสต์โดยใช้เครื่องวิเคราะห์ความหนืดแบบรวดเร็ว ทดสอบความสามารถในการอุ้มน้ำ การพองตัวและการละลายที่อุณหภูมิต่างๆ โดยเตรียมสารลดแรงตึงผิวผสมกับแป้ง ตามรายงานของ เกรียงศักดิ์ (2548) คือ เตรียมสารลดแรงตึงผิวให้มีปริมาณเป็น 3% ของน้ำหนักแป้งที่ใช้

1) ทดสอบสมบัติการเกิดเพสต์โดยใช้เครื่องวิเคราะห์ความหนืดแบบรวดเร็ว

เมื่อแปรผันความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 5 ระดับ คือ 120 150 200 250 และ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าได้ค่าความหนืดที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (วิเคราะห์ด้วยโปรแกรมทางสถิติ spss คือได้ค่า $P > 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4.12 โดยค่า Peak 1 คือ ค่าความหนืดสูงสุด Trough คือ ค่าความหนืดต่ำสุด Break down คือ ความต่างระหว่างค่าความหนืดสูงสุดกับค่าความหนืดต่ำสุด Final Visc คือ ค่าความหนืดสุดท้าย Setback คือ ความต่างระหว่างค่าความหนืดสุดท้ายกับค่าความหนืดต่ำสุด Peak Time คือ เวลาที่ทำให้เกิดค่าความหนืดสูงสุด และ Pasting Temp คือ อุณหภูมิที่ทำให้เกิดค่าความหนืดสูงสุด ดังแสดงในรูปที่ 4.11





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

ตารางที่ 4.12 แสดงผลของการวิเคราะห์ความหนืดที่เวลาและอุณหภูมิต่างๆเมื่อแปรผันความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (mg/L)	Peak 1 (RVU)	Trough 1 (RVU)	Breakdown (RVU)	Final Visc (RVU)	Setback (RVU)	Peak Time (min)	Pasting Temp (°C)
0	2478	1772	706	4166	2394	6	80.825
120	2501	1793	708	4212.5	2419.5	5.93	80.725
150	2456	1765	691	4181.5	2416.5	5.965	80.625
200	2583	1855	728	4314.5	2459.5	5.965	80.8
250	2467	1783	684	4156.5	2373.5	6	80.75
300	2471.5	1755	716.5	4165	2410	5.965	80.325

จากผลการทดลองข้างต้นทำให้คาดเดาได้ว่าความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวที่ใช้ในการทดสอบการเกิดเฟสดีของแป้งไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าความหนืดของแป้ง ดังนั้นจึงนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่สกัดแล้ว โดยไม่ทำการเจือจาง ได้ผลการทดลองที่แตกต่างจากเดิม คือมีค่า Breakdown และค่า Setback ที่แตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (ความเข้มข้นของสารลดแรง

เลขหมู่..... ๒๕๖๖
เลขทะเบียน..... ๗๑๕๙
รับเดือนปี..... ๓๑ ต.ค. ๒๕๖๖

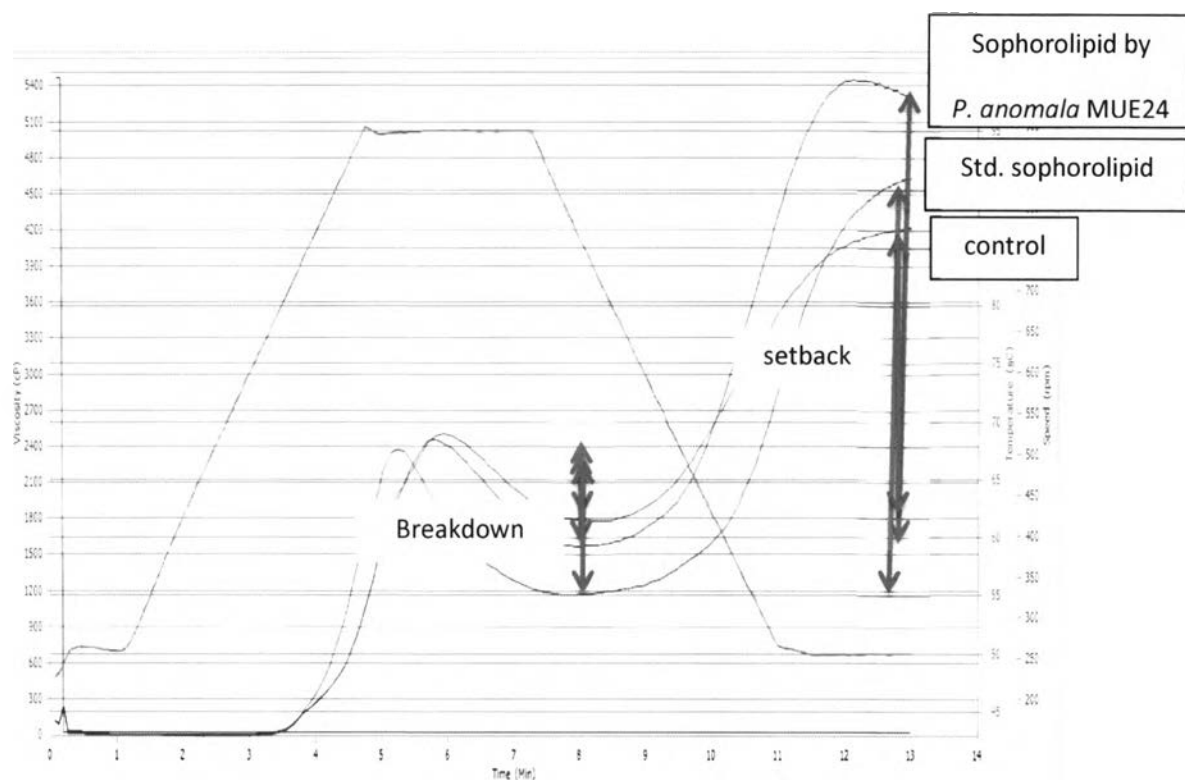
ตั้งผิวชีวภาพ 0 mg/L) เมื่อวิเคราะห์โดยโปรแกรมทางสถิติ spss คือให้ค่า $P < 0.05$ โดยพบว่าเมื่อเติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพลงไปแล้ว ทำให้ค่า Breakdown สูงขึ้น ซึ่งแสดงให้เห็นว่าแบ่งตัวอย่างที่ใส่สารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีความคงทนต่อความร้อนและแรงเฉือนลดลง และยังทำให้ค่า Setback สูงขึ้นด้วย คือแบ่งมีการคืนตัวดีขึ้น เช่นเดียวกับโซโฟโรลิพิดมาตรฐานซึ่งให้ค่า Breakdown และค่า Setback สูงขึ้นเช่นกัน ดังแสดงในตารางที่ 4.13 ซึ่งหมายถึงมีการเพิ่มการเกิดรีโทรเกรเดชันของแบ่งข้าวชยันนาท ซึ่งทำให้แบ่งเหมาะแก่การนำไปขึ้นรูปเป็นเส้นก๋วยเตี๋ยวทำให้เส้นแห้ง และแข็งตัวได้เร็ว ทำให้สามารถตัดเป็นเส้นก๋วยเตี๋ยวได้ง่ายโดยไม่ติดมีด ซึ่งเป็นการลดระยะเวลาในการผลิตเส้นก๋วยเต๋ือนั่นเอง โดยผลของค่าความหนืดที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆโดยเครื่อง RVA ของชุดควบคุมโซโฟโรลิพิดมาตรฐาน และสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ ให้ผลดังแสดงในรูปที่ 4.12

ตารางที่ 4.13 แสดงการเปรียบเทียบผลของการวิเคราะห์ความหนืดที่เวลาและอุณหภูมิต่างๆ เมื่อใช้ชุดควบคุม (ไม่ใส่สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ) ใช้โซโฟโรลิพิดมาตรฐาน และใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้

	Peak 1 (RVU)	Trough 1 (RVU)	Breakdown (RVU)	Final Visc (RVU)	Setback (RVU)	Peak Time (min)	Pasting Temp (°C)
Sophorolipid 0 mg/L	2478	1772	706	4166	2394	6	80.825
Standard sophorolipid	2373	1166	1207	4629	3463	5.27	80.75
Biosurfactant produced by <i>P. anomala</i> MUE24	2445.5	1563.5	882	5329.5	3766	5.765	80.35



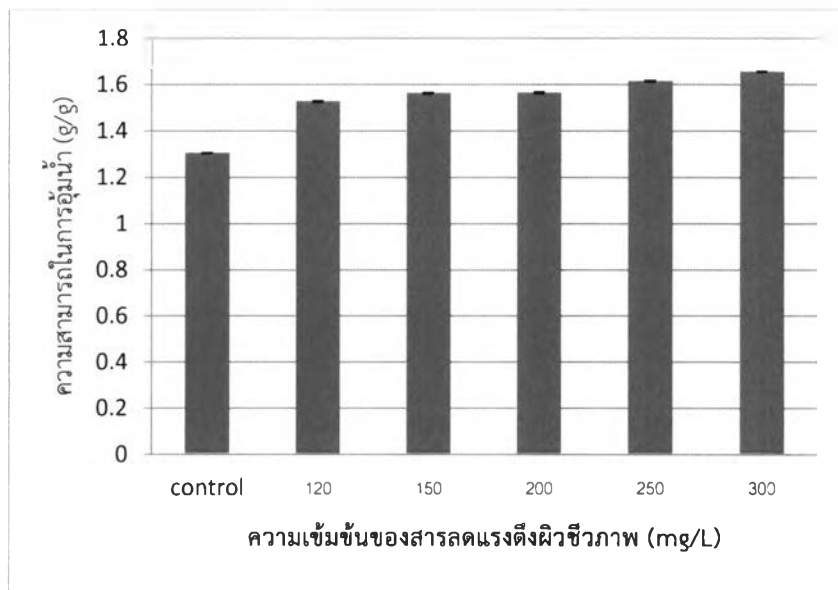
222725008



รูปที่ 4.12 แสดงผลการวิเคราะห์ความหนืดโดยเครื่อง RVA เมื่อใช้ชุดควบคุม (ไม่ใส่สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ) ใช้โซโฟโรลิพิดมาตรฐาน และใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้

2) การทดสอบความสามารถในการอุ้มน้ำ (water holding capacity)

จากการทดสอบความสามารถในการอุ้มน้ำของแป้งข้าวชัณนาทเมื่อทำการเพิ่มความเข้มข้นสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ตั้งแต่ช่วง 120-300 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า สารลดแรงตึงผิวชีวภาพช่วยให้แป้งข้าวชัณนาทมีความสามารถในการอุ้มน้ำเพิ่มขึ้น เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 4.13

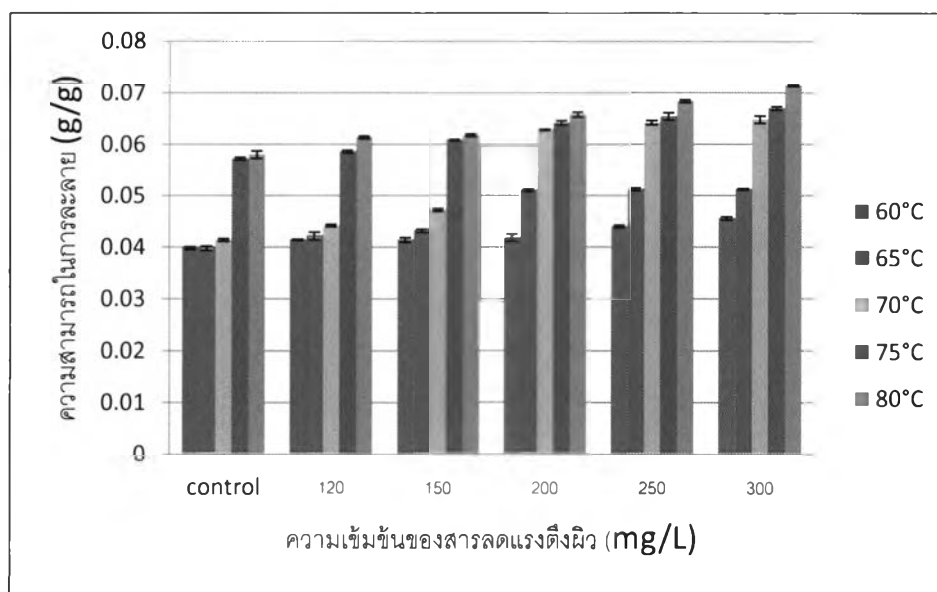


รูปที่ 4.13 แสดงความสามารถในการอมน้ำของแป้งข้าวชัณนาทที่ความเข้มข้นต่างๆของสารลดแรงดึงผิวชีวภาพ

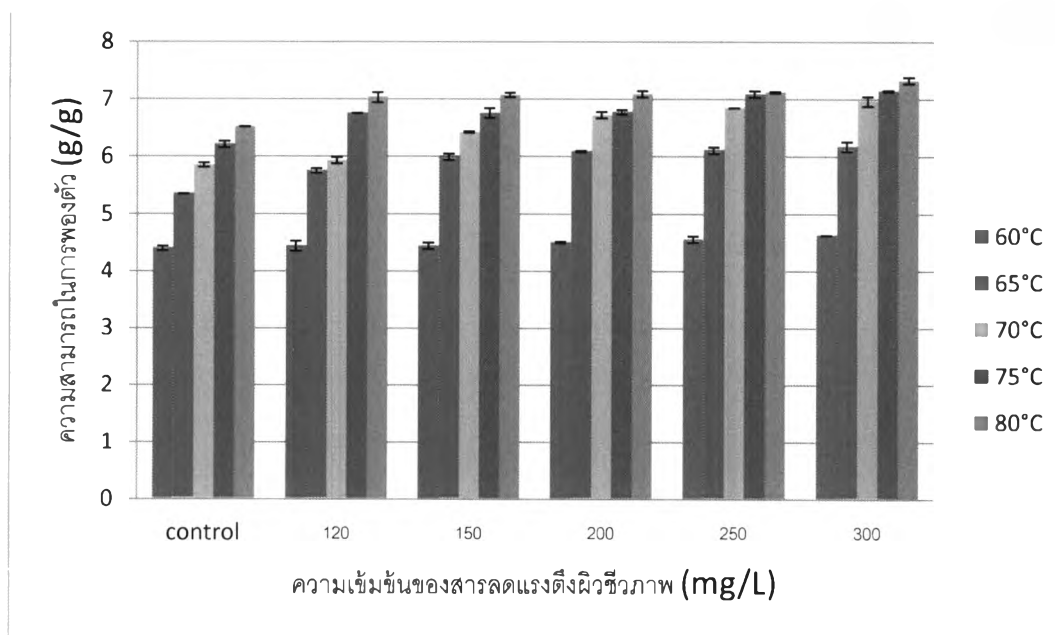
3) การทดสอบการพองตัวและการละลายที่อุณหภูมิต่างๆ

ก่อนทำการทดสอบการพองตัวและการละลายของแป้ง ได้ทำการทดสอบความเสถียรของสารลดแรงดึงผิวชีวภาพที่อุณหภูมิต่างๆ โดยนำสารลดแรงดึงผิวชีวภาพที่ผลิตไปละลายใน 50 มิลลิโมลาร์ ทริสไฮโดรคลอไรด์บัฟเฟอร์ ที่มีความเป็นกรดต่างเท่ากับ 8 แล้วนำไปต้มที่อุณหภูมิ 60 70 80 และ 100 องศาเซลเซียส รวมถึงการนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยออโตคลีฟที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที พบว่าสารลดแรงดึงผิวชีวภาพยังคงให้ค่าการกระจายน้ำมันไม่เปลี่ยนแปลงคือ ให้ค่าการกระจายน้ำมันเท่ากับ 153.94 ตารางเซนติเมตร

จากการทดสอบความสามารถในการละลายและการพองตัวของแป้งข้าวชัณนาทเมื่อทำการเพิ่มสารลดแรงดึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ในช่วงความเข้มข้น 120-300 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า สารลดแรงดึงผิวชีวภาพช่วยให้แป้งข้าวชัณนาทมีความสามารถในการละลายและการพองตัวเพิ่มขึ้น เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารลดแรงดึงผิวชีวภาพทุกอุณหภูมิที่ทำการทดสอบ ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 4.14 และ รูปที่ 4.15 ตามลำดับ



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



รูปที่ 4.15 แสดงความสามารถในการป้องกันตัวของแป้งข้าวที่อุณหภูมิ 60, 65, 70, 75 และ 80 °C เมื่อแปรผันความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ