บทที่ 5
สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

งานวิจัยนี้รายงานการศึกษาผลของการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยยีสต์ *Pichia anomala* MUE24 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร แบบแบช เพื่อเพิ่มปริมาณผลผลิตสารลดแรงตึงผิว เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมแป้งข้าว เพื่อให้แป้งข้าวมีคุณภาพที่ดีขึ้น

ยีสต์ *Pichia anomala* MUE24 ที่ใช้ในการทดลองนี้ได้มาจากกลายพันธุ์ยีสต์ *Pichia anomala* PY1 ซึ่งแยกมาจากข้าวหมากที่อำเภอ พนัสนิคม จังหวัด ชลบุรี โดยนางสาวธนัสถา เชียงอุทัย เมื่อปี พ.ศ. 2549 [5] และนางสาวพรทิพย์ ศิริเรืองสกุล [6] ได้ทำการกลายพันธุ์เพื่อเพิ่มการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยการก่อการกลายพันธุ์โดยใช้รังสีอัลตราไวโอเลต และทำการคัดเลือกสายพันธุ์กลายที่ได้โดยคัดเลือกการทดสอบค่าการกระจายน้ำมัน และค่าแรงตึงผิว ซึ่งให้ผลดีกว่าสายพันธุ์ PY1 มาทำการกลายพันธุ์อีกครั้งด้วยสารเอทิลมีเทนซัลโฟเนท (Ethylmethanesulfonate) จากนั้นทำการคัดเลือกสายพันธุ์กลายที่ได้ จึงได้ยีสต์สายพันธุ์กลาย MUE24 มาทำการศึกษาต่อ เมื่อทำการศึกษาองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพของ *Pichia anomala* MUE24 พบว่ายีสต์สายพันธุ์กลาย MUE 24 สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในอาหารเหลวปรับปรุงสูตรที่ประกอบด้วย KH_2PO_4 0.02 เปอร์เซ็นต์ $MgSO_4.7H_2O$ 0.02 เปอร์เซ็นต์ สารสกัดยีสต์ 0.64 เปอร์เซ็นต์ $NaNO_3$ 0.11 เปอร์เซ็นต์ น้ำมันถั่วเหลือง 13.34 เปอร์เซ็นต์ และกลูโคส 6.66 เปอร์เซ็นต์ ควบคุมค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นเท่ากับ 4.5 โดยมีภาวะการเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในระดับขวดเขย่าอัตราเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 วัน โดยสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้มีค่าแรงตึงผิวต่ำสุด36.0 mN/m ค่าการกระจายน้ำมันเท่ากับ 34.95 ตารางเซนติเมตร และให้ผลผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเท่ากับ 0.55 กรัมต่อลิตร ซึ่งมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดย *Pichia anomala* สายพันธุ์ PY1 ที่ใช้น้ำมันถั่วเหลืองเป็นแหล่งคาร์บอนเพียงชนิดเดียว คือให้ผลผลิต 0.26 กรัมต่อลิตร [5] สอดคล้องกับการทดลองก่อนหน้านี้ที่รายงานว่า เมื่อทำการเปรียบเทียบการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยใช้สารตั้งต้นเป็นคาร์โบไฮเดรตร่วมกับสารที่ไม่ชอบน้ำหรือสารที่ชอบไขมันจะให้ผลผลิตมากกว่าการใช้แหล่งคาร์บอนเพียงชนิดเดียว [65, 66] โดยยีสต์จะใช้น้ำตาลในกระบวนการเมแทบอลิซึมขั้นแรกของเซลล์ และสังเคราะห์ส่วนของไฮดรอกซิล แฟตตี้แอซิด (hydroxyl fatty acid) ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากสารตั้งต้นที่เป็นสารที่ไม่ชอบน้ำหรือสารที่ชอบไขมัน และเชื่อมต่อโดยตรงกับส่วนที่เป็นน้ำตาลของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพประเภทไกลโคลิพิด [67] ผลผลิตที่ได้ก็จะมีลักษณะคล้ายน้ำมัน เพราะสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้จากสารตั้งต้นที่เป็นน้ำมันพืชส่วนมากจะเป็น lactonic form ที่ไม่บริสุทธิ์ (Hu และ Ju, 2001)

ต่อมานำมาผลิตในถังหมักขนาด 5 ลิตรแบบ batch โดยควบคุม pH 4.5 ตลอดการทดลอง พบการเจริญแบบ diauxic คือมี exponential phase 2 ช่วง คือช่วง 12-24 ชั่วโมง และ 84-108 ชั่วโมง โดยพบว่าค่าการกระจายน้ำมันมีค่าสูงขึ้นตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพระหว่างการผลิตในระดับขวดเขย่าและการผลิตในถังหมักพบว่าให้ค่าผลิตภัณฑ์ค่าการเจริญที่สูงกว่าในการผลิตในถังหมัก เนื่องมาจากการผลิตในถังหมักนั้นมีการควบคุม

222725008

อุณหภูมิ อัตราเร็วใบกวน และมีการควบคุมอัตราการให้อากาศ จึงสามารถควบคุมการผลิตได้ดีกว่าในระดับขวดเขย่า ต่อมาเมื่อทำการผลิตในถังหมักแบบไม่มีการควบคุม pH พบว่าชั่วโมงที่ 72 ที่ pH ประมาณ 7-8 ให้ค่าการกระจายน้ำมันได้สูงที่สุด และให้ค่าแรงตึงผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อต่ำที่สุด ซึ่งน้ำเลี้ยงเชื้อมีลักษณะเป็นครีมน้ำนมสีขาว และให้ค่าการกระจายน้ำมันต่ำลงและค่าแรงตึงผิวสูงขึ้นเมื่อผ่านชั่วโมงที่ 96 เป็นต้นไป เนื่องมาจากน้ำตากลูโคสและน้ำมันถั่วเหลืองที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอนนั้นได้หมดไป และเซลล์อาจนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ไปใช้เป็นแหล่งคาร์บอนทดแทน [63] ทำให้ค่าของผลิตภัณฑ์มีค่าต่ำลง และเมื่อคำนวณค่าจลนพลศาสตร์เพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในระดับขวดเขย่า ในถังหมักแบบควบคุม pH และในถังหมักแบบไม่ควบคุม pH พบว่าที่ 72 ชั่วโมงในการผลิตในถังหมักแบบไม่ควบคุม pH ให้ค่า P (g/L) สูงที่สุด คือ 19.4057 ให้ค่า $Y_{p/s}$ (g-P/g-S) สูงที่สุดคือ 0.1351 ให้ค่า μ สูงที่สุดคือ 0.6200 ต่อชั่วโมง และยังให้ค่า specific productivity (mg-P/g-X/h) สูงที่สุดคือ 5.8874 ดังนั้น ในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเพื่อนำไปประยุกต์ใช้กับแป้งข้าว จึงทำการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยผลิตในถังหมักแบบ batch โดยไม่ควบคุม pH และทำการสกัดสารที่เวลาเพาะเลี้ยง 72 ชั่วโมง เพื่อให้ได้ผลผลิตสารลดแรงตึงผิวสูงที่สุดในการทำการทดองต่อไป นอกจากนี้ ยังมีการทดลองให้อากาศที่อัตรา 2 vvm แต่เกิดฟองมากและล้นออกมานอกถังหมัก จึงทำให้ไม่สามารถทำการทดลองที่ภาวะนี้ได้ และ Adamczak และ Bednarsk [33] ศึกษาเกี่ยวกับอัตราการให้อากาศกับการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดย *C. Antarctica* พบว่าการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่อัตราการให้อากาศเป็น 2 vvm พบว่าเกิดฟองมากและมีการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพลดลง 84% เนื่องจากเกิดการยับยั้งของผลผลิตที่เกิดขึ้น (end-product inhibition)

การสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ทดลองทำการสกัดแบบสกัดจากน้ำเลี้ยงเชื้อเพียงอย่างเดียวและสกัดจากน้ำเลี้ยงเชื้อที่ยังไม่ได้แยกเซลล์ออก พบว่าที่เวลา 72 ชั่วโมง ทำการสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพแบบสกัดพร้อมเซลล์ได้ปริมาณสารลดแรงตึงผิวชีวภาพสูงที่สุด คือ 34.061 กรัมต่อลิตร และได้ค่า specific productivity 9.97×10^{-3} g/L.h.g cell dry weight และเมื่อนำมาวิเคราะห์ต่อด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบ Analytical Thin-Layer Chromatography พบว่าได้ 3 fractions และได้ค่า R_f เท่ากับ 0.95 0.88 และ 0.84 ตามลำดับ จากนั้นทำการยืนยันด้วยมอริชรีเอเจนต์ พบว่าสารลดแรงตึงผิวที่สกัดโดยวิธีนี้ให้ผลทดสอบบวกกับมอริชรีเอเจนต์ จึงสันนิษฐานได้ว่า *P. anomala* สายพันธุ์ MUE24 สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบหรือเป็นสารประเภทไกลโคลิพิด และเมื่อนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้มาทดสอบหาค่า CMC พบว่าได้ค่า CMC เท่ากับ 116 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งจะใช้ค่าความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวที่เหนือค่า CMC นี้ในการนำไปประยุกต์ใช้กับแป้งข้าวต่อไป

จากนั้น นำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ไปประยุกต์ใช้กับแป้งข้าว โดยเริ่มจากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของแป้งข้าว พบว่าแป้งข้าวมีองค์ประกอบของปริมาณความชื้น 11.34 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณเส้นใย 0.28 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณโปรตีน 10.28 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณไขมัน 0.77 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณเถ้า 0.89 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่คำนวณจากผลต่างมี 87.78 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นทำการทดสอบคุณสมบัติของแป้งข้าวชัยนาทที่เปลี่ยนไปเมื่อใส่สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้ จากการทดสอบคุณสมบัติในการเกิดเพสต์ (gelatinization) ที่อุณหภูมิต่าง ๆ เมื่อ

222725008

เติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ความเข้มข้นต่างๆพบว่า เมื่อเติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ความเข้มข้น 120-300 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 3% ของน้ำหนักแป้งนั้น เมื่อพบความเปลี่ยนแปลงของค่าความหนืดอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับแป้งที่ไม่มีการเติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ดังนั้นจึงทำการเติมสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ไม่มีการเจือจางความเข้มข้นลงไป พบว่าทำให้แป้งเกิดรีโทรเกรเดชันที่ดีขึ้น คือ ให้ค่า breakdown สูงขึ้น คือความต่างของค่าความหนืดสูงสุดกับค่าความหนืดต่ำสุด ซึ่งแสดงให้เห็นว่าแป้งมีความทนต่อความร้อนและแรงเฉือนลดลง และให้ค่า setback มากขึ้น โดยค่า setback คือ ความต่างของค่าความหนืดสุดท้ายกับค่าความหนืดต่ำสุด เช่นเดียวกับการใช้โซโฟโรลิพิดมาตรฐาน ซึ่งทำให้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารที่ต้องการความอยู่ตัวได้ดี นอกจากนี้ยังทำให้แป้งมีคุณสมบัติในการอุ้มน้ำ การละลาย และการพองตัวที่ดีขึ้นเมื่อแปรผันตามความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ใช้อีกด้วย ดังนั้น จากการวิจัยในครั้งนี้ จึงสรุปได้ว่า การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในถังหมักแบบแบชขนาด 5 ลิตร โดยการสกัดพร้อมเซลล์ให้ปริมาณสารลดแรงตึงผิวเพิ่มมากขึ้นจากระดับขวดเขย่าหลายเท่า และการนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมาประยุกต์ใช้กับแป้งข้าวชัยนาท พบว่าทำให้แป้งมีคุณสมบัติที่ดีขึ้น สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในกระบวนการอุตสาหกรรมอาหารต่างๆ ได้ดีขึ้น คือ เมื่อแป้งถูกทำให้สุกและทิ้งไว้ให้เย็น แป้งจะสามารถอยู่ตัวเป็นก้อน ไม่เหนียว เหมาะสำหรับทำอาหารที่ต้องการความอยู่ตัว เช่น ขนมกล้วย ขนมขี้หนู และนำไปขึ้นรูปเป็นเส้นก๋วยเตี๋ยว เส้นขนมจีนได้ดีขึ้น เนื่องจากแป้งมีความสามารถในการคืนตัวดีขึ้น ทำให้สามารถขึ้นรูปเป็นเส้นก๋วยเตี๋ยวได้ง่าย ทำให้ตัดเส้นก๋วยเตี๋ยวได้โดยไม่ติดมีด เป็นการลดระยะเวลาในการผลิตเส้นก๋วยเตี๋ยว เป็นต้น

2227250008