

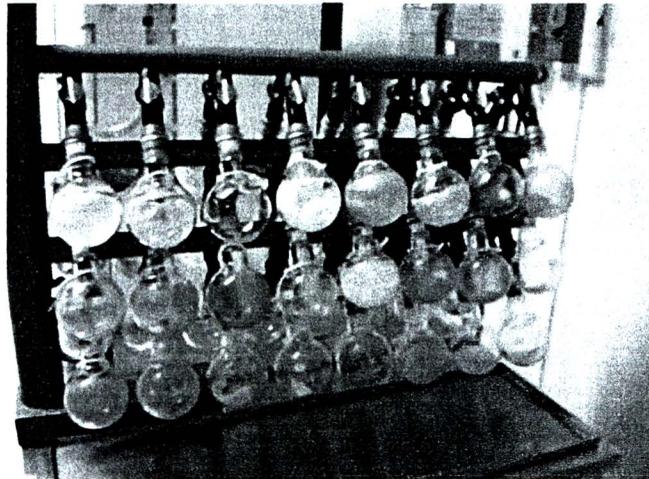
บทที่ 4

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

ตอนที่ 1: การผลิต สกัดแยกสารบริสุทธิ์ และศึกษาโครงสร้างของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

1.1การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* SCMU106 ในถังหมัก

ได้ทำ การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* SCMU106 ซึ่งได้ศึกษาสภาวะการผลิตที่ให้ได้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีคุณภาพดีที่สุด ตามที่ได้รายงานไว้ในปีที่ 2 (รายงานฉบับสมบูรณ์ ปี พ.ศ. 2551) ดังนี้ ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วย monosodium glutamate 5g/L, K_2HPO_4 1.02 g/L, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 1.0 g/L, KCl 0.5 g/L, Glucose 5 g/L, $(NH_4)_2HPO_4$ 0.3 g/L, Corn oil 1%, Trance 1ml/L, pH 8, Temp.37°C, ความเร็วรอบในการกวนเท่ากับ 500 รอบต่อนาที และสามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ภายใน 2 วัน ของการเพาะเลี้ยงเชื้อ โดยได้เพาะเลี้ยงเชื้อในถังหมักขนาด 5 ลิตร ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส บั่นด้วยใบพัดความเร็ว 500 รอบต่อนาที 48 ชั่วโมง ทำการปั่นเหวี่ยง(centrifugation) เพื่อแยกเซลล์ออก แล้วทำให้แห้งด้วยเครื่อง freeze dryer ดังแสดงในรูปที่ 4.1 สารลดแรงตึงผิวทางชีวภาพที่ได้จะมีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลือง เรียกว่า ผงแห้งสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (Freeze dried powder crude biosurfactant, FCBS) เมื่อสัมผัสอากาศซึ่งมีน้ำเป็นองค์ประกอบหรือมีความชื้น จะเกิดการจับตัวเป็นก้อน เหนียวเหนียว ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของเบญจมาศและคณะ (2545)

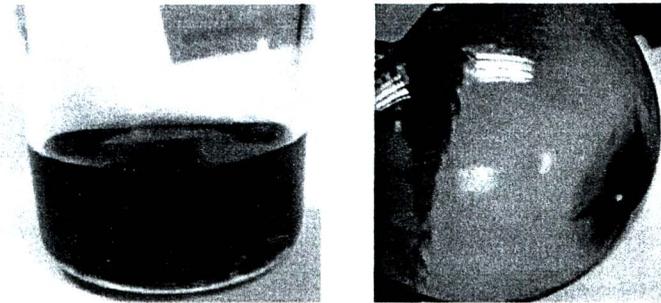


รูปที่ 4.1: ลักษณะของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ได้หลังจาก การทำให้แห้งด้วยเครื่อง freeze dryer

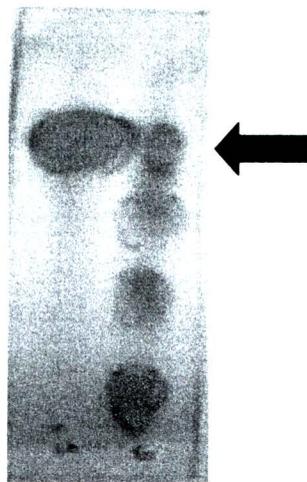
1.2: การแยกสกัดและทดสอบเอกลักษณ์ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

1.2.1 การทดสอบกลุ่มของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพวิธีที่ 1

เมื่อนำผงแห้งสารลดแรงตึงผิวชีวภาพดังกล่าว มาสกัดด้วย hexane และ ethyl acetate จะได้สารสกัดแยกส่วนเอทิลอะซิเตต มีสีน้ำตาล ได้น้ำหนักเท่ากับ 692.5 มิลลิกรัม (รูป 4.2) และเมื่อวิเคราะห์ส่วนประกอบของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพด้วย TLC เพื่อทดสอบคุณลักษณะของสารที่สกัดได้ ผลแสดงในรูปที่ 4.3



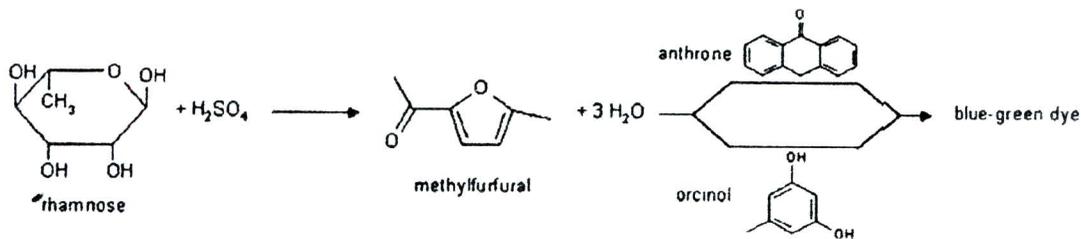
รูปที่ 4.2: ลักษณะของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพส่วนเอทิลอะซิเตต หลังจากระเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันต่ำด้วยเครื่อง rotary evaporator



Lane 1 Lane 2

รูปที่ 4.3: TLC pattern ของสารสกัดแยกส่วนของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่สกัดได้ Lane 1= Hexane extract Lane 2=Ethylacetate extract โดยใช้ mobile phase คือ $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 9:1$

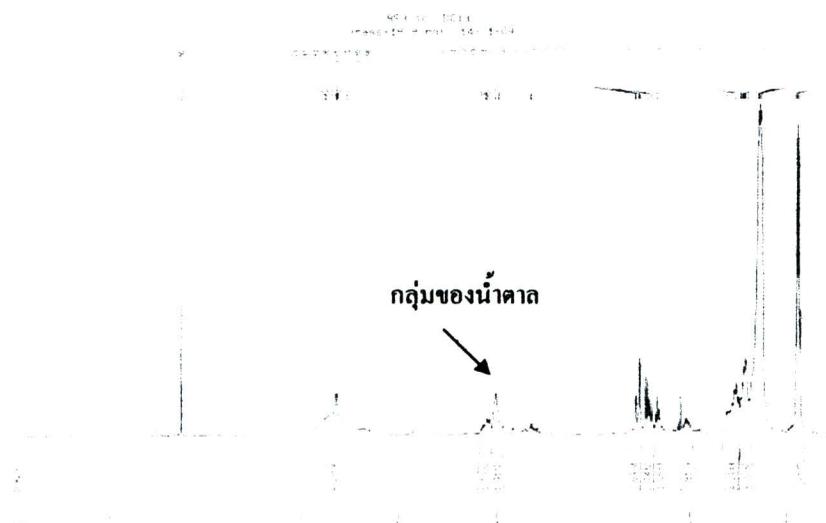
จากรูปที่ 4.3 จะสังเกตเห็นแถบสีของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ พบว่า ค้านซ้ายมือจะเป็นส่วนของ สารสกัดแยกส่วนด้วยเฮกเซน เมื่อพ่นด้วย orcinol แล้วจะปรากฏเป็นแถบสีม่วง โดยมีค่า Rf เท่ากับ 0.75 ในขณะที่แถบสีด้านขวามือจะเป็นส่วนสกัดแยกส่วนด้วยเอทิลอะซิเตต และพบการเกิดแถบสีเป็นสีเขียว แสดงว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพดังกล่าวน่าจะเป็นสารในกลุ่มแรมโนไลปิด (Rhamnolipid) ทั้งนี้เพราะว่า สารในกลุ่มดังกล่าวเมื่อทดสอบด้วย orcinol จะทำปฏิกิริยา และจะปรากฏเป็นสีเขียวน้ำเงิน 4 แถบ โดยมีค่า Rf เท่ากับ 0.1, 0.32, 0.5 และ 0.75 ตามลำดับ ซึ่งเหมือนกับการรายงานของ Heyd และคณะ (2008) ดังแสดง ปฏิกิริยาในรูปที่ 4.4



รูปที่ 4.4 ปฏิกิริยาของน้ำตาลแรมโนสกับ orcinol

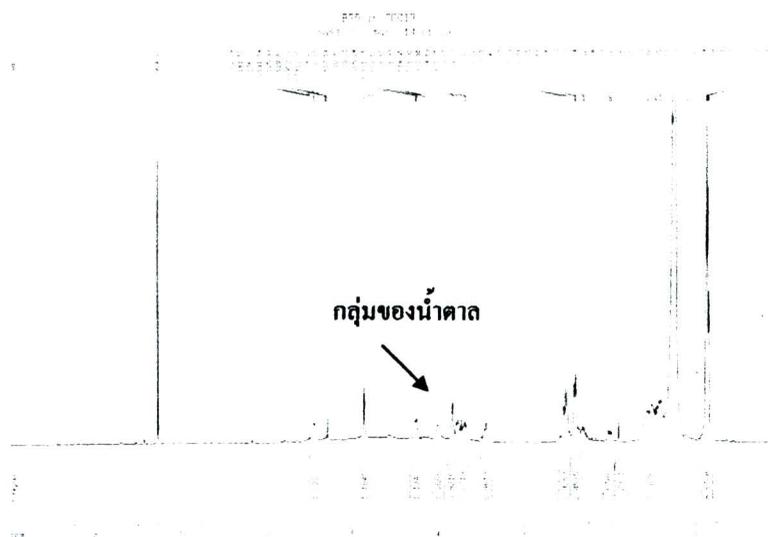
การแยกบริสุทธิ์สารลดแรงตึงผิวชีวภาพด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟี (Column chromatography)

เมื่อนำเอาสารลดแรงตึงผิวอย่างหยาบที่สกัดได้จากข้อ 1.1 มาทำการแยกให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟี ซึ่งใช้สารสกัดหยาบเท่ากับ 0.6925 กรัม ลงในคอลัมน์ขนาดความกว้าง 3.0 เซนติเมตร ได้ความสูง 15.0 เซนติเมตร เก็บ fraction ในหลอดทดลองและตรวจสอบบนแผ่น TLC โดยพ่นด้วย orcinol รวม fraction ที่เกิดแถบเหมือนกันเข้าด้วยกัน แล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันต่ำด้วยเครื่อง rotary evaporator สามารถเก็บได้ทั้งหมด 13 fraction และนำ fraction ที่ได้แถบเดี่ยว (fraction ที่ 3,5 และ 9) ไปตรวจสอบความบริสุทธิ์ด้วยวิธี NMR ผลปรากฏดังแสดงในรูปที่ 4.5-4.7

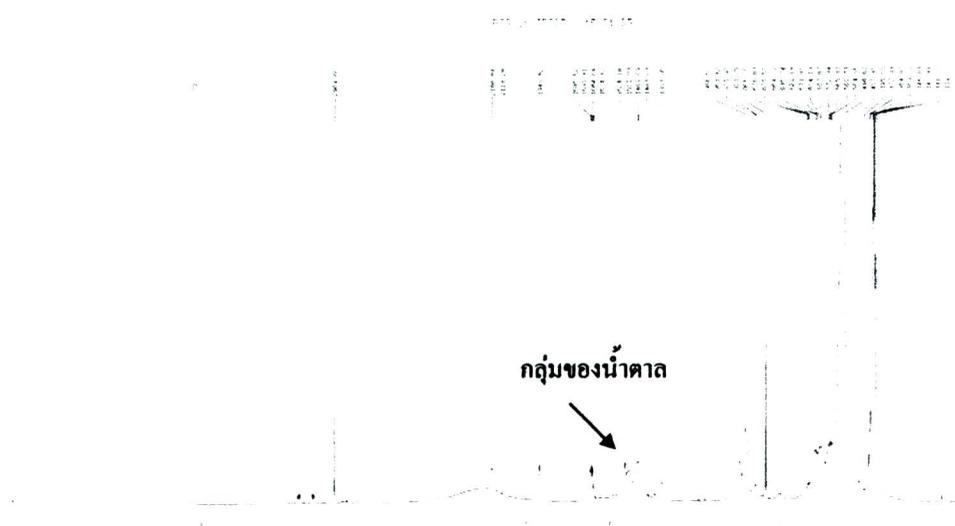


รูปที่ 4.5: NMR โครมาโตแกรมของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ fraction ที่ 3

จากโครมาโตแกรมรูปที่ 4.5 จะพบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่แยกได้ยังไม่มีความบริสุทธิ์สามารถอธิบายได้ดังนี้ chemical shift ของโปรตอนของ $-CH_3$ อยู่ในช่วงเท่ากับ 1-2 ppm, $-CH_2 = 2-3$ ppm, $-OH = 5-6$ ppm จากโครมาโตแกรมดังกล่าวไม่สามารถมองเห็นกลุ่มของ $COOH$ ซึ่งจะมีโปรตอนในช่วง 8-12 ppm ดังนั้นจึงต้องเพิ่มการตรวจวิเคราะห์ NMR ให้อยู่ในช่วงที่มี chemical shift ครอบคลุมในช่วงดังกล่าว



รูปที่ 4.6: NMR โครมาโตแกรมของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ fraction ที่ 5



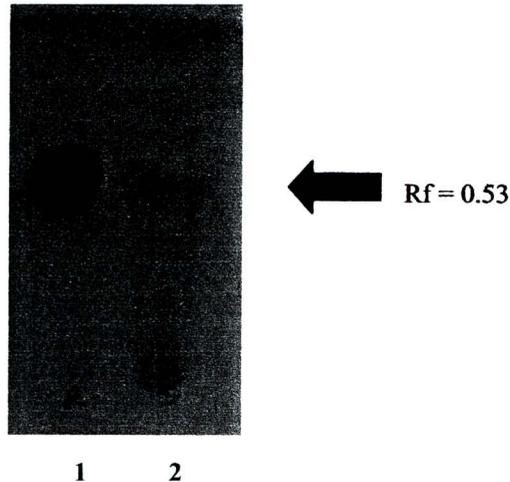
รูปที่ 4.7: NMR โครมาโตแกรมของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ fraction ที่ 9

จาก รูปที่ 4.6 และ 4.7 เป็น $^1\text{H-NMR}$ โครมาโตแกรมของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ fraction ที่ 5 และ 9 จะพบ chemical shift ของ CH_3 ในช่วง 1-2 ppm และ $\text{CH}_2 = 2-3$ ppm และกลุ่ม CH-OH ในช่วง 3.6 ppm จาก chemical shift ดังกล่าว ยังไม่สามารถระบุได้อย่างชัดเจนว่า สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่แยกได้นั้น มีโครงสร้างอย่างไร เพราะว่า chemical shift ที่ปรากฏในโครมาโตแกรมไม่สามารถมองเห็นครบทุกองค์ประกอบ และมีความไม่บริสุทธิ์ ดังนั้นจึงสามารถบอกได้เป็นข้อมูลเบื้องต้นว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีโปรตอน NMR ข้างเคียงอย่างไร เพื่อใช้เป็นส่วนประกอบในการพิจารณาโครงสร้างต่อไป ดังนั้นเพื่อยืนยันลักษณะและโครงสร้างของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพต้องมีการวิเคราะห์เพิ่มเติม โดยการแยกให้มีความบริสุทธิ์และใช้ $^{13}\text{C-NMR}$ เพื่อวิเคราะห์จำนวนคาร์บอนอะตอมในโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ตลอดจนการทำ FTIR เพื่อวิเคราะห์หมู่ของสารต่างๆ ตลอดจนการใช้ Mass spectrum เพื่อดูขนาดของโมเลกุลของสาร ซึ่งจากผลที่ได้สามารถนำมาเปรียบเทียบและวิเคราะห์โครงสร้างได้อย่างถูกต้องต่อไป

1.2.2 การทดสอบกลุ่มของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพวิธีที่ 2

เมื่อทำการสกัดแยกสารลดแรงตึงผิวชีวภาพด้วยสารละลายคลอโรฟอร์มจะทำให้สารที่ไม่มีขั้วเช่นไขมันแยกตัวออกมาก่อน เหลือไว้เพียงแต่ส่วนที่มีขั้ว จึงได้ทำการทดสอบต่อโดยการทำ TLC เทียบกับน้ำตาลมาตรฐานคือน้ำตาลแรมโนส (จุดด้านซ้ายของแผ่น TLC) และตัวอย่างของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

(จุดค้ำขาของแผ่น TLC) จากผลทดลองพบว่าเมื่อใช้ โดยใช้ mobile phase คือ acetonitril:water =17:3 และใช้ anisaldehyde เป็นตัวสเปรย์ จะสังเกตเห็นจุดของสารเป็นสีเขียวน้ำเงินขึ้นตรงกันกับจุดของสารมาตรฐาน น้ำตาลแรมโนส ซึ่งให้ค่า $R_f = 0.53$ ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีส่วนประกอบของน้ำตาลแรมโนสเป็นองค์ประกอบ ซึ่งโครงสร้างของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพน่าจะเป็น rhamnolipid



รูปที่ 4.8: TLC chromatogram ของสารที่ทดสอบ 1= น้ำตาลแรมโนส 2=สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ โดยใช้ mobile phase คือ acetonitril:water =17:3

-การหาระบบที่เหมาะสมต่อการแยกสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

นำสารตัวอย่างไปหาระบบของตัวทำละลายที่เหมาะสมด้วยแผ่น TLC โดยระบบที่เหมาะสมสำหรับการแยกสารลดแรงตึงผิวชีวภาพคือ ดังนี้ Hexane : Chloroform : Methanol : acetic acid = 50 : 30 : 10 : 2 เมื่อพ่นด้วยสารละลายไทมอล (Thymol) จะปรากฏเป็นแถบสีน้ำตาล (รูปที่ 4.9)



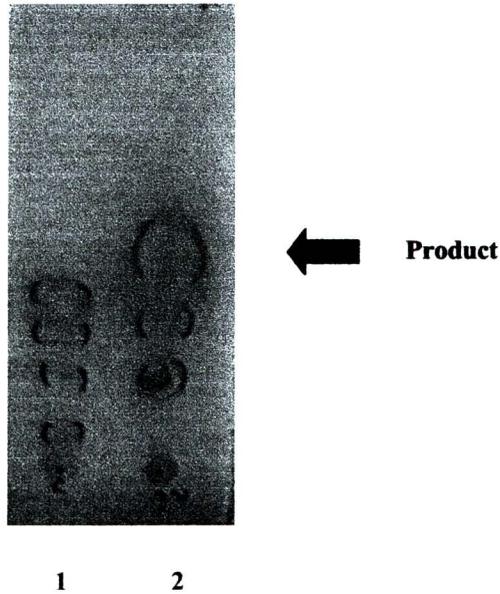
1 2

รูปที่ 4.9: การหาระบบที่เหมาะสมต่อการแยกสารลดแรงดึงผิวชีวภาพ ซึ่ง Lane 1 = สารลดแรงดึงผิวชีวภาพที่สกัดด้วย methanol Lane 2 = สารลดแรงดึงผิวชีวภาพที่สกัดด้วย chloroform โดยใช้ mobile phase คือ Hexane : Chloroform : Methanol : acetic acid = 50 : 30 : 10 : 2

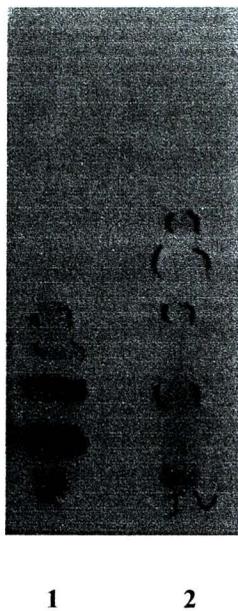
-การแยกองค์ประกอบทางเคมีของสารลดแรงดึงผิวชีวภาพ

การทำปฏิกิริยา Methanolysis

จากการทำ methanolysis ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่จะทำการตัดโครงสร้างของสารลดแรงดึงผิวชีวภาพของสารในกลุ่ม glycolipid ให้ได้หมู่น้ำตาลและหมู่น้ำมัน เพื่อนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบต่อไป ด้วยวิธีทางโครมาโตกราฟี สารที่ได้จากการทำ methanolysis จะมีลักษณะเป็นสีน้ำตาล ชั่งน้ำหนักได้ 0.15 กรัม และเมื่อนำมาแยกบนแผ่น TLC โดยใช้ระบบของตัวทำละลายที่เป็นเฟสเคลื่อนที่เหมือนเดิม จะได้จุดของสารเป็นสีเหลืองบนแผ่น TLC โดยใช้ไอโอดีนเป็นตัวตรวจสอบ (รูปที่ 4.10) จากโครมาโตแกรมที่สังเกตเห็นได้ชัดเจน จะมีการเปลี่ยนแปลงของจุดบนแผ่น TLC คือ หลังจากการทำปฏิกิริยา methanolysis แล้วจะเกิดโปรคักส์เกิดขึ้น (ลูกศรสีดำ) และเมื่อใช้สารละลาย thymol เป็นตัวตรวจสอบจะปรากฏเป็นจุดบนแผ่น TLC ดังแสดงในรูปที่ 4.11



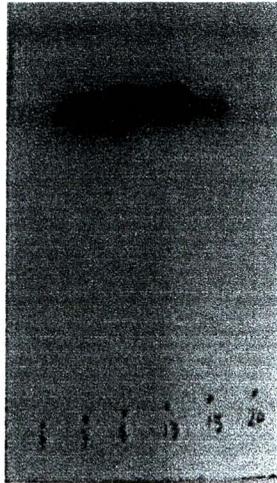
รูปที่ 4.10: โครมาโตแกรมของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพหลังจากผ่านกระบวนการ methanolysis โดยใช้ mobile phase คือ Hexane : Chloroform : Methanol : acetic acid = 50 : 30 : 10 : 2 และมีไอโอดีนเป็นตัวตรวจสอบ Lane 1 = crude biosurfactant Lane 2 = ผลิตภัณฑ์ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพหลังจากผ่านกระบวนการ methanolysis



รูปที่ 4.11: โครมาโตแกรมของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพหลังจากผ่านกระบวนการ methanolysis โดยใช้ mobile phase คือ Hexane : Chloroform : Methanol : acetic acid = 50 : 30 : 10 : 2 และมีสารละลาย thymol เป็นตัวตรวจสอบ

การแยกสารด้วยคอลัมน์โครมาโตกราฟี (Column chromatography)

เมื่อนำสารตัวอย่างที่ผ่านกระบวนการ methanolysis ดังกล่าวข้างต้น มาบรรจุลงในคอลัมน์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.5 เซนติเมตร โดยใช้ซิลิกาเจลขนาดรูพรุนเท่ากับ 0.060-0.2 มิลลิเมตร ให้ได้ความสูงของคอลัมน์เท่ากับ 25 เซนติเมตร สารละลายที่ใช้ในการชะสารตัวอย่างคือ Hexane: Chloroform : Methanol : acetic acid = 50 : 30 : 10 : 2 ทำการเก็บตัวอย่างใส่ในหลอดทดลองขนาดกลางปริมาตร 20 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำส่วนที่แยกเก็บได้ไปทดสอบตำแหน่งของสารบนแผ่น TLC สารที่มีจุดเหมือนกันบนแผ่น TLC (ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น) ให้รวมกันแล้วนำไประเหยด้วย evaporator ซึ่งพบว่าเมื่อทำการแยกด้วยคอลัมน์โครมาโตกราฟีแล้วจะทำให้ได้สารที่ปรากฏบนแผ่น TLC เป็นจุดสีน้ำตาลเข้มเพียงจุดเดียวแสดงว่าสารที่แยกได้มีความบริสุทธิ์ ไม่มีสารตัวอื่นมาปนเปื้อน (รูปที่ 4.12) ซึ่งสารที่ได้จะต้องนำไปวิเคราะห์ต่อด้วยวิธี LC-MS และ/ หรือ NMR เพื่อหาโครงสร้างของสารลดแรงดึงผิวชีวภาพ



รูปที่ 4.12: TLC pattern ของ สารลดแรงดึงผิวชีวภาพที่แยกบริสุทธิ์ด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟี solvent system ได้แก่ Hexane: Chloroform : Methanol : acetic acid = 50 : 30 : 10 : 2

1.3 การทดสอบคุณสมบัติทางเคมีเพื่อหาหน่วยน้ำตาลและองค์ประกอบในโครงสร้างของสารลดแรงดึงผิวชีวภาพ

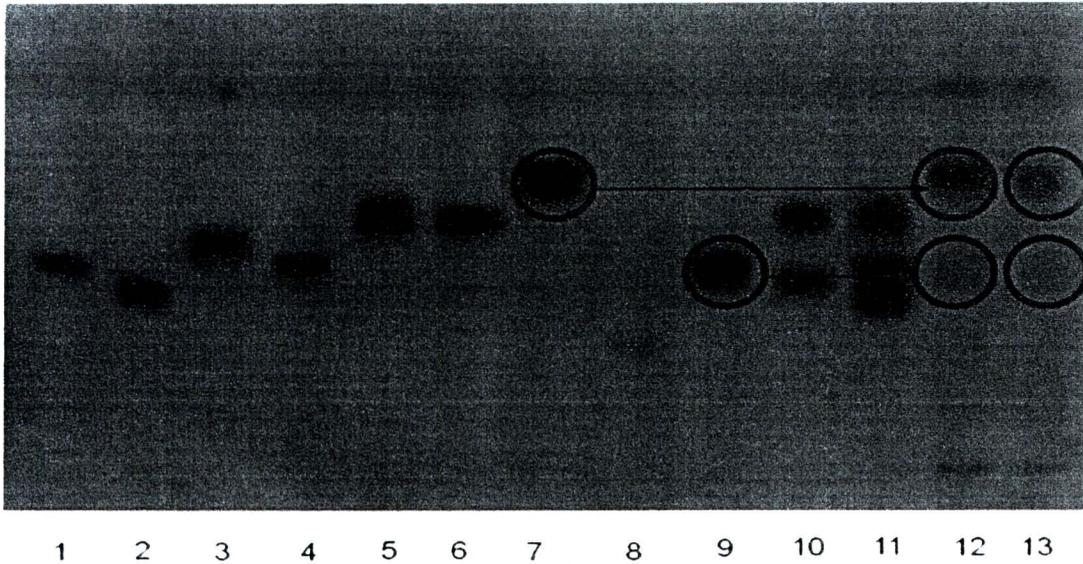
1.3.1 การทำ Hydrolysis

เมื่อทำการ hydrolysis สารลดแรงดึงผิวชีวภาพแล้ว นำมาทดสอบโครมาโตกราฟีด้วยเครื่องมือ Linomat 4 LAMAG พบว่าจะเกิดแถบของสารเคลื่อนที่บนแผ่น TLC เมื่อพ่นด้วย p-anisaldehyde ซึ่งจะให้ค่า R_f ที่แตกต่างกันดังปรากฏในตารางที่ 4.1 และรูปที่ 4.13 โดยสารลดแรงดึงผิวชีวภาพจะให้ค่า R_f คือ 0.7, 0.26, 0.39, 0.53 ซึ่งตรงกับสารมาตรฐานคือน้ำตาลแรมโนส (R_f = 0.53) และเกิดสีเขียวเมื่อพ่นด้วย p-anisaldehyde จึงทำให้สามารถระบุชนิดของน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบภายในโมเลกุลของสารลดแรงดึงผิว

ชีวภาพภาพได้ คือน้ำตาลแรมโนส ทำให้ทราบว่าองค์ประกอบของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตจากเชื้อ *P. aeruginosa* SCMU106 น่าจะเป็น rhamnolipid เพราะโครงสร้างของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพชนิดนี้จะประกอบด้วยหมู่ น้ำตาลแรมโนส (rhamnose) ต่อกับกรดไขมัน (Kitamoto, et.al., 2002 and Bhattacharyya, et.al., 2003) นอกจากนี้ยังพบน้ำตาลแมนโนส (mannose) โดยมีค่า Rf = 0.37 เมื่อพ่นด้วย p-anisaldehyde จะให้สีน้ำตาล ซึ่งสันนิษฐานได้ว่า โครงสร้างของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพอาจจะมีการกลุ่มของน้ำตาลแมนโนสเป็นองค์ประกอบรวมกัน ฉะนั้นอาจจะต้องมีการทดสอบเพื่อยืนยันด้วยการใช้เครื่อง LC-MS วิเคราะห์ต่อไป การใช้เครื่องโครมาโตกราฟีด้วยเครื่องมือ Linomat 4 LAMAG วิเคราะห์นั้นก็มีข้อดีคือสามารถกำหนดปริมาณของสาร ได้เท่ากันเมื่อเทียบกับสารมาตรฐานและมีความแม่นยำแน่นอน เมื่อสารเคลื่อนที่บนแผ่น TLC และฉีดพ่นด้วยสารที่วิเคราะห์เพื่อบ่งชนิดขององค์ประกอบของสารตัวอย่างจะเห็นได้อย่างชัดเจนและคมชัด ข้อควรระวังของการใช้เครื่อง โครมาโตกราฟีด้วยเครื่องมือ Linomat 4 LAMAG คือ การดูแลสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบด้วยเข็มฉีดยา ต้องดูดีๆ ไม่ให้มีฟองอากาศอยู่ในหลอดฉีดยา เพราะหากมีฟองอากาศเกิดขึ้นเครื่องมือจะไม่ทำงาน ซึ่งแก้ไข โดยทำการล้างเข็มฉีดยาด้วยน้ำกลั่นแล้วดูสารตัวอย่างใหม่ นอกจากนี้ควรดูแลสารตัวอย่างให้มีปริมาณมากกว่าปริมาณสารที่กำหนดไว้เล็กน้อย

ตารางที่ 4.1: ค่า Rf ของสารมาตรฐานเทียบกับสารลดแรงตึงผิวชีวภาพหลังจากการทำ hydrolysis

สาร	ค่า Rf
D(+)-Glucose Monohydrate	0.38
D(+)-Galactose	0.33
D(+)-Arabinose	0.41
D(-)-Fructose	0.38
L(-)-Fucose	0.47
D(+)-Xylose	0.46
L-Rhamnose Monohydrate	0.53
D-Glucuronic acid	0.23
D(+)-Mannose	0.37
D(+)-Glucose/D(+)-Xylose	0.36, 0.54
D(+)-Galactose/D(+)-Mannose/L(-)-Fucose	0.31, 0.37, 0.47
Biosurfactant	0.7, 0.26, 0.39, 0.53



รูปที่ 4.13: TLC โครมาโตแกรมของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพหลังจากทำการ hydrolysis

1=Glucose, 2=Galactose, 3=Arabinose, 4=Fructose, 5=Fucose, 6=Xylose, 7=Rhamnose, 8=Glucuronic acid, 9=Mannose, 10=Glucose+Xylose, 11=Galactose+Mannose+Fucose, 12-13=Biosurfactant

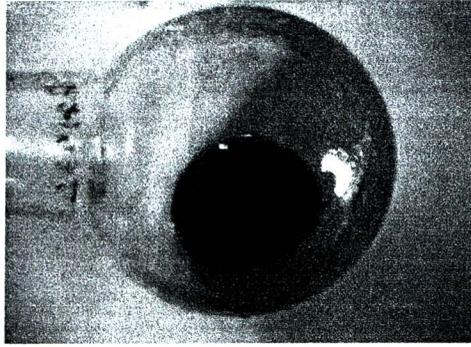
1.4 การแยกบริสุทธิ์สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

1.4.1. การตกตะกอนสารลดแรงตึงผิวชีวภาพด้วยกรดเข้มข้น HCl

เมื่อทำการหยดสารละลายกรด HCl เข้มข้นลงไปบนสารละลายลดแรงตึงผิวชีวภาพ พบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ จะมีลักษณะขุ่นเหมือนมีตะกอนสีขาวเกิดขึ้น หลังจากนั้นนำไปบ่มที่ห้องเย็นเป็นเวลา 1 คืน พบว่า ตะกอนของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจะตกตะกอนนอนตรงกันหมดตลอด ซึ่งสังเกตเห็นได้สายตา แต่ยังไม่สามารถแยกออกเป็นสองชั้นชัดเจนดังนั้นจึงต้องนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ตกตะกอนดังกล่าวไปทำ centrifugation และพบว่าจะแยกออกเป็นสองชั้น ชั้นบนเป็นสารละลายสีเหลืองใส ส่วนชั้นล่างจะเป็นตะกอนสีขาว ซึ่งตะกอนสีขาวดังกล่าวคือ crude biosurfactant

1.4.2. การสกัดสารลดแรงตึงผิวชีวภาพด้วยตัวทำละลาย

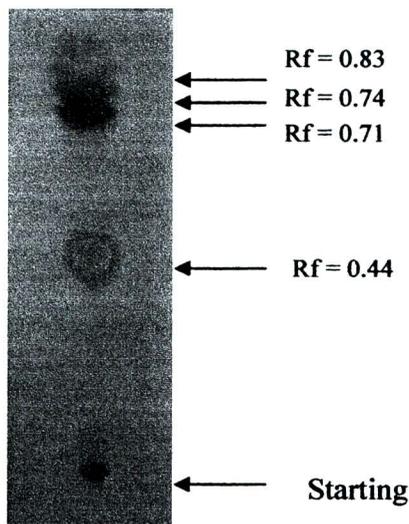
เมื่อนำ crude biosurfactant ที่ได้หลังจากการตกตะกอน มาสกัดด้วยตัวทำละลายสองชนิดคือ chloroform:methanol =2:1 ในกรวยแยก พบว่าสารละลายแยกออกเป็นสองชั้น ชั้นบนจะมีสีเหลืองใส ส่วนชั้นล่างจะมีตะกอนเหลืออยู่ นำส่วนบนไปทำการระเหยด้วย evaporator ภายใต้สภาวะสุญญากาศ โดยควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ 40 °C สารที่ได้จะมีลักษณะขุ่นหนืด มีสีน้ำตาลคล้ายน้ำผึ้งดังแสดงใน รูปที่ 4.14



รูปที่ 4.14: สารลดแรงตึงผิวชีวภาพเมื่อระเหยภายใต้สภาวะสุญญากาศ โดยควบคุมอุณหภูมิที่ 40 °C

1.4.3. การทดสอบด้วย Thin layer chromatography (TLC)

เมื่อนำ crude biosurfactant ที่ได้มาตรวจสอบหาองค์ประกอบอย่างหยาบ ด้วยวิธี Thin layer chromatography (TLC) โดยมีตัวทำละลายเคลื่อนที่คือ คลอโรฟอร์ม:เมทานอล:กรดอะซิติก (65:15:2) โดยปริมาตร และเมื่อพ่นด้วย H_2SO_4 เป่าให้แห้งแล้วนำไปอบที่ 110 องศาเซลเซียส พบว่าจะสังเกตเห็นแถบสีเหลืองเกิดขึ้น ซึ่งมีค่า $R_f = 0.44, 0.71, 0.74$ และ 0.83 ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 4.15

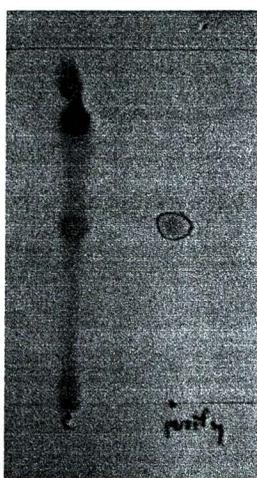


รูปที่ 4.15: โครมาโตแกรมของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ เมื่อใช้ตัวทำละลายเคลื่อนที่คือ คลอโรฟอร์ม : เมทานอล : กรดอะซิติก เท่ากับ 65 : 15 : 2 (v/v/v) และพ่นด้วย 15% H_2SO_4

1.4.4. การแยกด้วยคอลัมน์โครมาโตกราฟี (Column chromatography)

เมื่อทำการแยกสารสกัดอย่างหยาบของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟีแบบคอลัมน์ โดยคอลัมน์ silica gel 60 (200–425 mesh, 0.035–0.075 mm) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5 cm

สูง 30 cm โดยใช้ตัวชะคือ คลอโรฟอร์ม : เมทานอล : กรดอะซิติก เท่ากับ 65 : 15 : 2 โดยปริมาตร และเก็บแฟกชันละๆ 10 ml จากนั้นตรวจสอบลักษณะของสารบนแผ่น TLC เพื่อติดตามสารที่เคลื่อนที่บนแผ่น TLC และรวมแฟกชัน (fraction) ที่มีลักษณะโครมาโตแกรมเหมือนกันเข้าด้วยกัน พบว่าสามารถแยกสารให้บริสุทธิ์ได้ 1 ชนิด ดังแสดงในรูปที่ 4.16 โดยให้ค่า $R_f = 0.44$ เมื่อชั่งน้ำหนักพบว่าน้ำหนักเท่ากับ 69.75 mg สารบริสุทธิ์ที่แยกได้มีลักษณะเป็นสีน้ำตาล หนืด เหนียว เมื่อถูกอากาศ ส่วนสารในแฟกชันอื่นๆ ยังมีส่วนที่ไม่บริสุทธิ์ปนกันจึงไม่สามารถแยกสารดังกล่าวได้



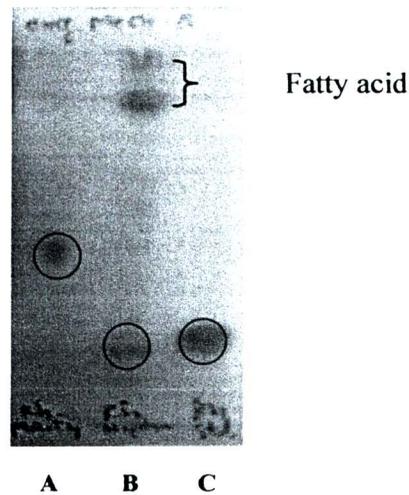
1 2

รูปที่ 4.16: โครมาโตแกรมของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่แยกบริสุทธิ์ด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟี

1) crude biosurfactant, 2) purify biosurfactant

1.4.5. ไฮโครไลซิสของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่แยกบริสุทธิ์ด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟี

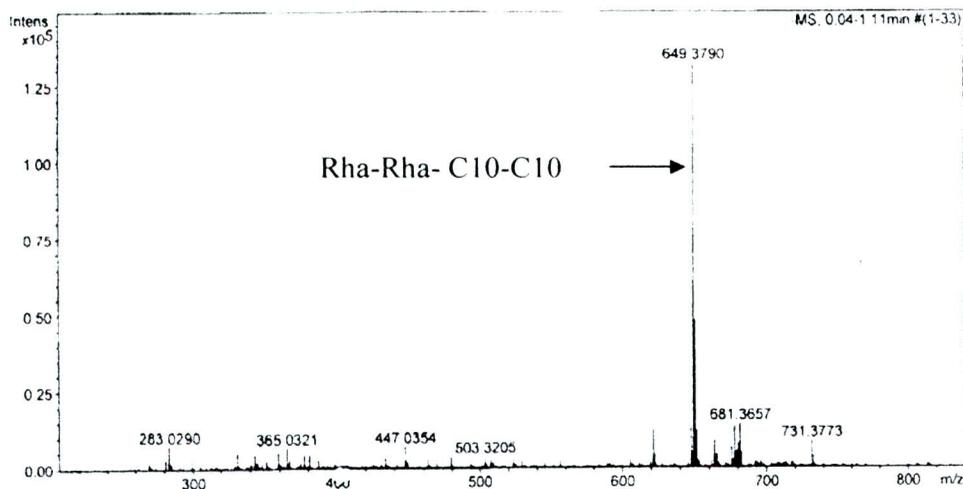
เมื่อนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่แยกบริสุทธิ์แล้วด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟี มาทำการไฮโดรไลซิสด้วยกรด TFA แล้วนำไปให้ความที่ 100 องศาเซลเซียสนาน 2 ชั่วโมง พบว่าสามารถแยกสารได้เป็นสองกลุ่มด้วยกันคือ ส่วนที่เป็นน้ำตาลและส่วนที่เป็นกรดไขมัน เมื่อทดสอบบนแผ่น TLC โดยใช้ น้ำตาลแรมโนสเป็นสารมาตรฐานเปรียบเทียบกับสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ จากรูปที่ 4 A คือสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่แยกบริสุทธิ์ ส่วน B คือ การทำไฮโดรไลซิสของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่แยกบริสุทธิ์แล้ว ในขณะที่ C สารละลายมาตรฐานน้ำตาลแรมโนสความเข้มข้น 25 mg/ml จากโครมาโตแกรมดังกล่าวจะเห็นได้อย่างชัดเจนว่า สารลดแรงตึงผิวชีวภาพเป็นสารที่มีองค์ประกอบแรมโนสอยู่ในโมเลกุล เพราะเมื่อทำการไฮโดรไลซิสแล้ว จะปรากฏเป็นแถบสีเหลืองซึ่งตรงกับแถบของน้ำตาลแรมโนสที่ใช้เป็นสารมาตรฐานเปรียบเทียบกับ ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ในขั้นต้นว่า สารลดแรงตึงผิวชีวภาพดังกล่าวเป็นสารในกลุ่มแรมโนไลปิด และเพื่อที่จะยืนยันและระบุถึงโครงสร้างของโมเลกุลของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพดังกล่าว จึงต้องใช้การวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือทางเคมีวิเคราะห์ต่อไป



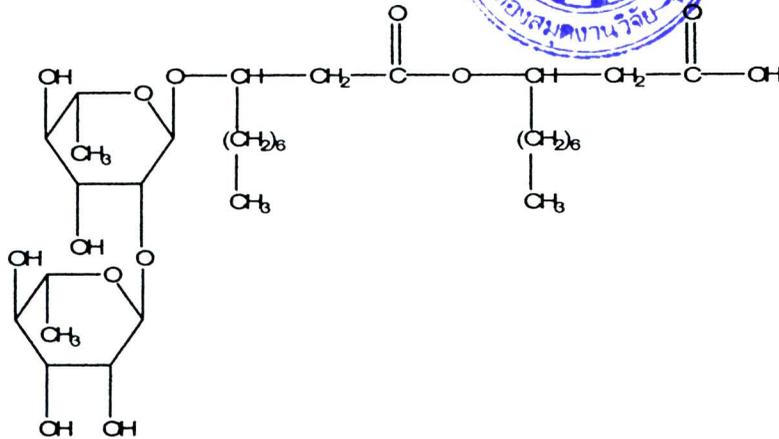
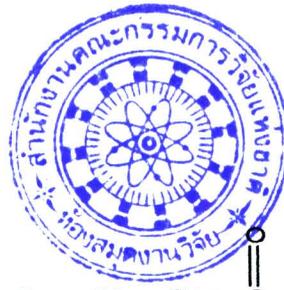
รูปที่ 4.17: การเปรียบเทียบสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่แยกบริสุทธิ์ (A) กับสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ทำการไฮโดรไลซิส (B) โดยใช้สารละลายแรมโนสเป็นสารมาตรฐาน (C)

1.5 การวิเคราะห์โครงสร้างของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

เมื่อทำการวิเคราะห์โครงสร้างของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพหลังจากการแยกให้บริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์โครมาโตกราฟี โดยใช้ ESI-MS พบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพดังกล่าว มีมวลโมเลกุลประมาณ 649 ซึ่งแสดงโครมาโตแกรมในรูปที่ 4.18 ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบมวลโมเลกุลดังกล่าวกับโครงสร้างของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในการรายงานปรากฏว่า สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่สร้างจากแบคทีเรีย SCMU106 คือ Rha-Rha-C10-C10 โดยมีสูตรโครงสร้างทางเคมี ดังแสดงในรูปที่ 4.19



รูปที่ 4.18 : โครมาโตแกรมของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพวิเคราะห์โดยใช้ ESI-MS



รูปที่ 4.19 : โครงสร้างทางเคมีของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่สร้างจากแบคทีเรีย SCMU106 คือ dihamnolipid (rhamno-3 hydroxydocanoyl-3-hydroxydecanoic acid)

1.6. การตกผลึกของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

เมื่อนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่แยกบริสุทธิ์แล้วมาทำการตกผลึกพบว่า โดยการปรับสภาพให้เป็นกรดก่อนแล้วบ่มไว้ที่ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า สารลดแรงตึงผิวชีวภาพสามารถตกผลึกได้ และลักษณะของผลึกที่ได้มีลักษณะคล้ายกับแท่งเข็ม ดังแสดงในรูปที่ 4.20



รูปที่ 4.20: แสดงลักษณะของผลึกของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ กำลังขยาย 10 เท่า ในกล้องจุลทรรศน์

ตอนที่ 2: การศึกษาคุณสมบัติการละลายของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

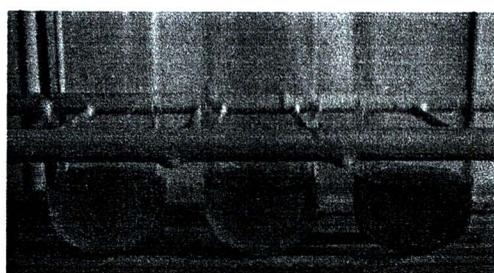
2.1 การละลายของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในน้ำกลั่น

จากการสังเกตการณ์ละลายของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในน้ำกลั่น พบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพสามารถละลายได้ในทุกความเข้มข้นที่อุณหภูมิห้องและที่ 60°C โดยลักษณะที่ปรากฏมีดังนี้ สารละลายมีสีส้มที่ความเข้มข้น 1:1 ส่วนที่ความเข้มข้นอื่นๆ จะมีสีเหลืองอ่อน ไม่มีการตกตะกอนหรือจับตัวเป็นก้อน เมื่อตั้งทิ้งไว้ ณ อุณหภูมิห้องนานสองเดือน ลักษณะที่ปรากฏยังคงเดิมแต่จะมีสีเข้มขึ้นกว่าปกติ และเมื่อตั้งทิ้งไว้นาน 2 เดือน ลักษณะก็ยังคงเหมือนเดิม ดังแสดงในตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.21

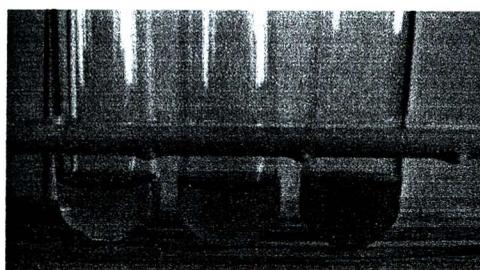
ตารางที่ 4.2: ลักษณะที่ปรากฏของการละลายของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในน้ำกลั่น

Solvent	Room Temp.		60 °C	
	Solubility	Appearance	Solubility	Appearance
1:1	+++	O	+++	O
1:10	+++	Y	+++	Y
1:30	+++	Y	+++	Y

หมายเหตุ : O= สีเหลืองเข้ม Y= สีเหลืองอ่อน P= ตกตะกอน



1:30 1:10 1:1



1:30 1:10 1:1

รูปที่ 4.21 : การละลายของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในน้ำกลั่นที่ความเข้มข้น 1:30, 1:10 และ 1:1 (w/v) ณ อุณหภูมิห้อง (ซ้าย) และ 60 °C (ขวา) เมื่อตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 2 เดือน

2.2 การละลายของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพใน propylene glycol

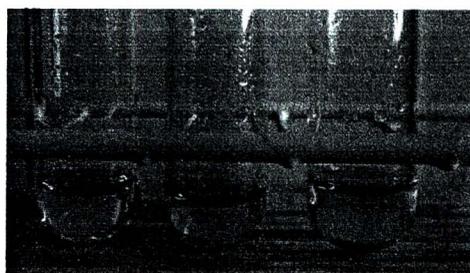
เมื่อทดสอบการละลายของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพใน propyleneglycol พบว่า ณ ที่ อุณหภูมิห้อง สารลดแรงตึงผิวจะละลายได้เล็กน้อย มีสีเหลืองอ่อน โดยเฉพาะที่ความเข้มข้น 1:1 จะสังเกตการละลายเป็นสีเหลืองชัดเจน เกิดตะกอนที่ก้นหลอดทดลองในทุกความเข้มข้น ไม่จับตัวกันเป็นก้อน ในขณะที่เมื่อผ่าน

ความร้อนที่ 60 °C ลักษณะที่ปรากฏยังคงเหมือนเดิม และเมื่อตั้งทิ้งไว้นาน 2 เดือน ลักษณะก็ยังคงเหมือนเดิม ดังแสดงในตารางที่ 4.3 และรูปที่ 4.22

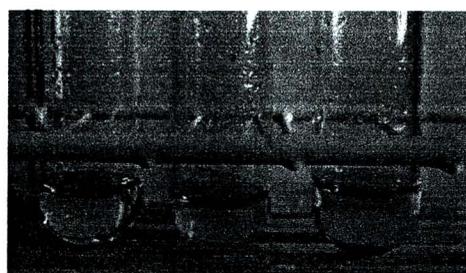
ตารางที่ 4.3 ลักษณะที่ปรากฏของการละลายของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพใน propylene glycol (PG)

Solvent	Room Temp.		60 °C	
	Solubility	Appearance	Solubility	Appearance
1:1	+	Y,P	+	Y,P
1:10	+	Y,P	+	Y,P
1:30	+	Y,P	+	Y,P

หมายเหตุ : O= สีเหลืองเข้ม Y= สีเหลืองอ่อน P= ตกตะกอน



1:30 1:10 1:1



1:30 1:10 1:1

รูปที่ 4.22: การละลายของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพใน propylene glycol ที่ความเข้มข้น 1:30, 1:10 และ 1:1 (w/v) ณ อุณหภูมิห้อง (ซ้าย) และ 60 °C ขวา) เมื่อตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 2 เดือน

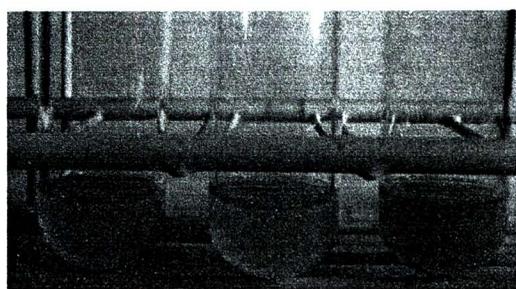
2.3. การละลายของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพใน 1% tween 80

เมื่อทดสอบการละลายของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพใน tween 80 ที่ความเข้มข้น 1% ในน้ำ พบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพสามารถละลายได้มากในทุกความเข้มข้น ณ อุณหภูมิห้องและที่ผ่านความร้อน 60 °C ซึ่งลักษณะที่ปรากฏคือ ในความเข้มข้น 1:1 สารละลายจะมีสีส้มส่วนความเข้มข้นอื่นจะมีสีเหลืองอ่อน ไม่มีการตกตะกอน การจับตัวกันเป็นก้อนและเมื่อตั้งทิ้งไว้ ณ อุณหภูมิห้องนาน 2 เดือน ลักษณะที่ปรากฏยังคงเดิม ดังแสดงในตารางที่ 4.4 และรูปที่ 4.23

ตารางที่ 4.4: ลักษณะที่ปรากฏของการละลายของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพใน 1% Tween 80

Solvent	Room Temp.		60 °C	
	Solubility	Appearance	Solubility	Appearance
1:1	+++	O	+++	O
1:10	+++	Y	+++	Y
1:30	+++	Y	+++	Y

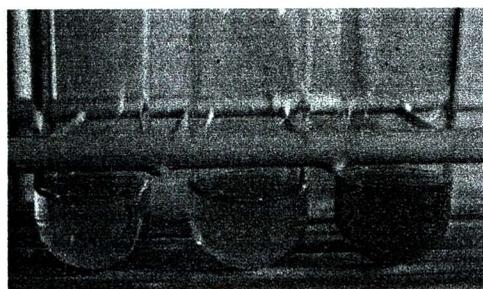
หมายเหตุ : O= สีเหลืองเข้ม Y= สีเหลืองอ่อน P= ตกตะกอน



1:30

1:10

1:1



1:30

1:10

1:1

รูปที่ 4.23: การละลายของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพใน 1% tween 80 ที่ความเข้มข้น 1:30, 1:10 และ 1:1 (w/v) ณ อุณหภูมิห้อง (ซ้าย) และ 60 °C ขวา) เมื่อดังตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 2 เดือน

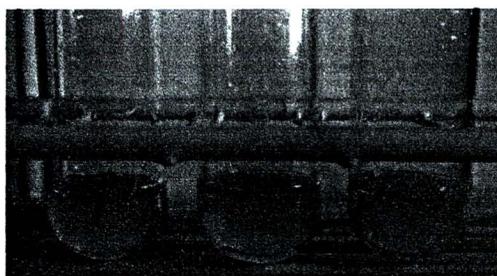
2.4. การละลายของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพใน glycerin

จากการทดสอบการละลายของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพใน glycerin พบว่า ในตอนแรกสารละลายจะมีสีเหลืองในทุกความเข้มข้น มีลักษณะหนืดเล็กน้อย ณ อุณหภูมิห้อง และเมื่อนำไปผ่านความร้อน สีจะเข้มข้นกว่าเดิม ความหนืดน้อยลงและ เมื่อดังตั้งไว้ ณ อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 เดือน พบว่า สารลดแรงตึงผิวชีวภาพสามารถละลายได้ในทุกความเข้มข้น ลักษณะของสีที่ปรากฏยังคงเหมือนเดิมมีความหนืดเล็กน้อย ดังแสดงในตารางที่ 4.5 และรูปที่ 4.24

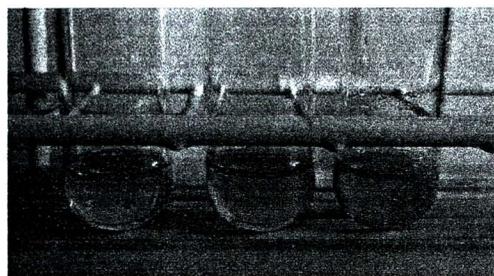
ตารางที่ 4.5: ลักษณะที่ปรากฏของการละลายของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพใน glycerin

Solvent	Room Temp.		60 °C	
	Solubility	Appearance	Solubility	Appearance
1:1	+++	O	+++	O
1:10	+++	Y	+++	Y
1:30	+++	Y	+++	Y

หมายเหตุ : O= สีเหลืองเข้ม Y= สีเหลืองอ่อน P= ตกตะกอน



1:30 1:10 1:1



1:30 1:10 1:1

รูปที่ 4.24 : การละลายของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพใน glycerin ที่ความเข้มข้น 1:30, 1:10 และ 1:1 (w/v) ณ อุณหภูมิห้อง (ซ้าย) และ 60 °C ขวา) เมื่อตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 2 เดือน

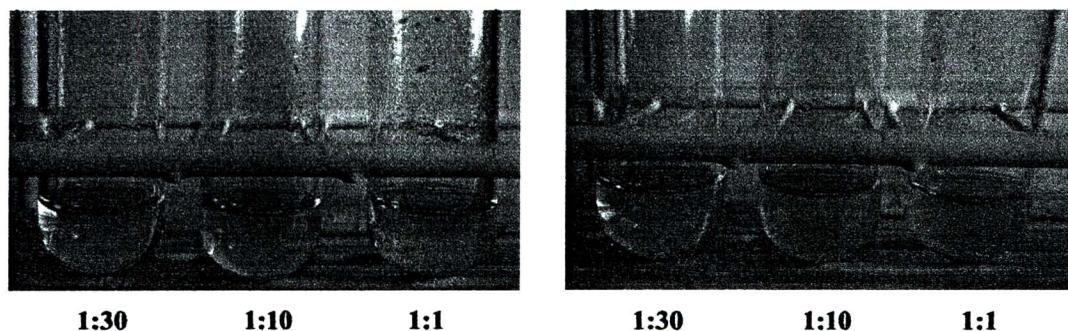
2.5. การละลายของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพใน ethanol

จากการศึกษาการละลายของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในเอทานอล ผลการทดสอบมีดังนี้ ณ อุณหภูมิห้อง สารลดแรงตึงผิวชีวภาพละลายได้เพียงเล็กน้อย สารละลายจะมีสีเหลือง มีการตกตะกอน ไม่มีความหนืด เมื่อนำไปผ่านความร้อนที่ 60 °C สารละลายจะมีสีเข้มขึ้นกว่าเดิมแต่ยังสภาพเป็นสีเหลืองไม่มีความหนืด มีตะกอน และเมื่อตั้งทิ้งไว้ ณ อุณหภูมิห้องนาน 2 เดือน ลักษณะที่ปรากฏยังคงเหมือนเดิม ดังแสดงในตารางที่ 4.6 และรูปที่ 4.25

ตารางที่ 4.6: ลักษณะที่ปรากฏของการละลายของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพในเอทานอล

Solvent	Room Temp.		60 °C	
	Solubility	Appearance	Solubility	Appearance
1:1	+	Y,P	+	Y,P
1:10	+	Y,P	+	Y,P
1:30	+	Y,P	+	Y,P

หมายเหตุ : O= สีเหลืองเข้ม Y= สีเหลืองอ่อน P= ตกตะกอน



รูปที่ 4.25: การละลายของสารลดแรงดึงผิวชีวภาพใน ethanol ที่ความเข้มข้น 1:30, 1:10 และ 1:1 (w/v) ณ อุณหภูมิห้อง (ซ้าย) และ 60 °C ขวา) เมื่อตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 2 เดือน

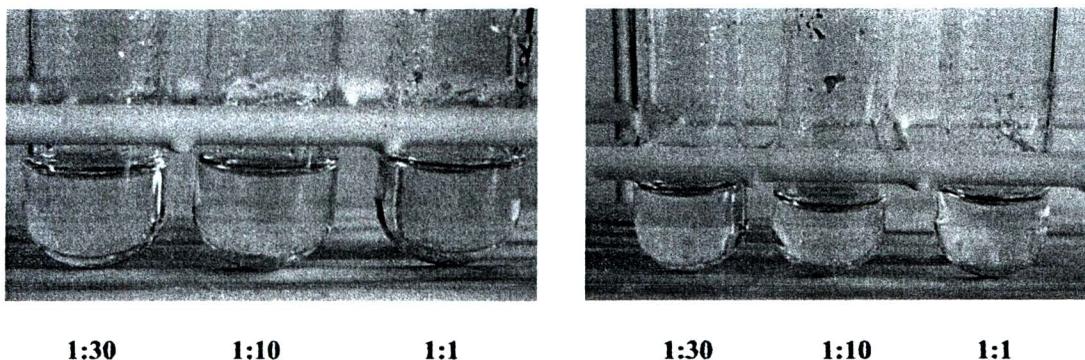
2.6. การละลายของสารลดแรงดึงผิวชีวภาพใน mineral oil

ผลการทดสอบการละลายของสารลดแรงดึงผิวชีวภาพใน mineral oil สามารถสรุปได้ดังนี้ ณ อุณหภูมิห้อง และ เมื่อผ่านความร้อน 60 °C สารลดแรงดึงผิวชีวภาพไม่สามารถละลายได้ ลักษณะของสารละลายในหลอดทดลองยังคงใส มีตะกอนของสารลดแรงดึงผิวชีวภาพตกลงตรงกันหลอดทดลอง และ ตะกอน และเมื่อตั้งทิ้งไว้ ณ อุณหภูมิห้องนาน 2 เดือน ลักษณะที่ปรากฏยังคงเหมือนเดิม ดังแสดงในตารางที่ 4.7 และรูปที่ 4.26

ตารางที่ 4. 7: ลักษณะที่ปรากฏของการละลายของสารลดแรงดึงผิวชีวภาพใน mineral oil

Solvent	Room Temp.		60 °C	
	Solubility	Appearance	Solubility	Appearance
1:1	+	N,P	+	N,P
1:10	+	N,P	+	N,P
1:30	+	N,P	+	N,P

หมายเหตุ : O= สีเหลืองเข้ม Y= สีเหลืองอ่อน P= ตกตะกอน N=ไม่ละลาย



รูปที่ 4.26: การละลายของสารลดแรงดึงผิวชีวภาพใน mineral oil ที่ความเข้มข้น 1:30, 1:10 และ 1:1 (w/v) ณ อุณหภูมิห้อง (ซ้าย) และ 60 °C ขวา) เมื่อตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 2 เดือน

จากการศึกษาการละลายของสารลดแรงดึงผิวชีวภาพในตัวทำละลายคือ น้ำ, propylene glycol, 1% tween 80, glycerine, ethanol และ mineral oil ที่สภาวะอุณหภูมิห้องและที่ 60 °C เป็นเวลา 2 เดือนพบว่า สารลดแรงดึงผิวชีวภาพละลายได้ดีมากคือ น้ำกลั่น, 1% tween 80 และ glycerin ทั้งสองสภาวะ ส่วน propylene glycol และ ethanol ละลายได้เล็กน้อยในทั้งสองสภาวะเช่นกัน สำหรับ mineral oil ไม่สามารถละลายได้ในทั้งสองสภาวะ

ตอนที่ 3: การศึกษาการระคายเคืองผิวหนังของสารลดแรงดึงผิวชีวภาพโดยวิธี Zein test

เมื่อทำการทดสอบการระคายเคืองของสารลดแรงดึงผิวชีวภาพที่ผลิตจากเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* SCMU106 โดยวิธี Zein test พบว่า ให้ค่า Zeine numbers เท่ากับ = 0.0207 g/100g ดังแสดงในตารางที่ 4.8 และ 4.9 ตามลำดับ ซึ่งเมื่อนำไปเปรียบเทียบกับช่วง Zein number ตามการรายงานของ Pezron และคณะ (1996) พบว่า zein number ช่วงดังกล่าวไม่มีผลการระคายเคืองของผิวหนัง เพราะอยู่ในช่วง Zein numbers ระหว่าง 0-200 g/100 g ของตัวอย่างที่วิเคราะห์ ดังนั้นจึงสามารถกล่าวได้ว่า สารลดแรงดึงผิวชีวภาพมีความปลอดภัยสูง มีความเป็นพิษต่ำ (Kosaric, 1992; Kitamoto, *et. al.*, 2002) จึงได้มีการนำเอาสารลดแรงดึงผิวชีวภาพไปประยุกต์ใช้กับอุตสาหกรรมชนิดต่างๆ เช่น อุตสาหกรรมอาหาร และ เครื่องสำอาง (Penaron, *et. al.*, 1996 และ Kosaric, 1992)

ตารางที่ 4.8: ผลการวิเคราะห์การระคายเคืองของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพด้วยวิธี zein test

Wt. sample(g) : Ws	1.004
Vol. HCl (Blank) (mL) : Vb	0.40
Vol. HCl (Sample) (mL) : Vs	0.75
Conc. HCl (N)	0.0986
% Nitrogen = $(1.4007 \times (V_a - V_b) \times \text{Conc. HCl}) / W_s$	0.0483
% Protein = % nitrogen x factor (6.25)	0.3019

ตารางที่ 4.9: ผลการวิเคราะห์การระคายเคืองของ Zein ด้วยวิธี Zein test

Wt. sample(g) : Ws	1.0026
Vol. HCl (Blank) (mL) : Vb	0.40
Vol. HCl (Sample) (mL) : Vs	0.75
Conc. HCl (N)	0.0986
% Nitrogen = $(1.4007 \times (V_a - V_b) \times \text{Conc. HCl}) / W_s$	0.0276
% Protein = % nitrogen x factor (6.25)	0.1722

ดังนั้น ปริมาณไนโตรเจนของ Biosurfactants ที่สร้างจากเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* SCMU106 จะมีค่าเท่ากับ

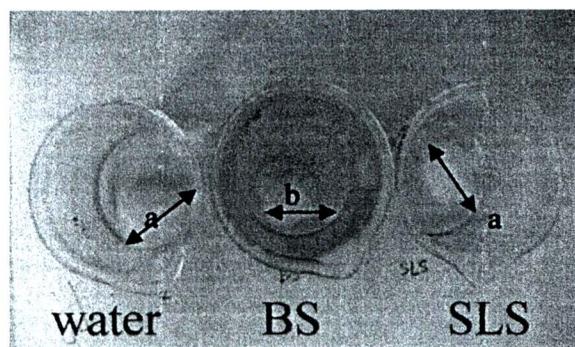
$$\begin{aligned}
 \% \text{ Nitrogen of biosurfactant} &= \text{Total nitrogen of biosurfactant} - \text{Total nitrogen of zein} \\
 &= 0.0483 - 0.0276 \\
 &= 0.0207 \text{ g/100g}
 \end{aligned}$$

การรายงานผลการทดสอบปริมาณ zein จะรายงานผลในรูปแบบ zein number (ZN) โดยมีหลักเกณฑ์ดังนี้ (Götte, 1967) , For ZNs ranging from 0-200 : no skin inflammation ดังนั้นสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจึงเป็นสารไม่ก่อระคายเคือง

ตอนที่ 4: คุณสมบัติการทำให้เปียก การเกิดฟอง และการชำระล้าง (detergency) ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

4.1 ผลการทดสอบ wetting time ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

จากการทดสอบคุณสมบัติ เวลาในการทำให้สำลีเปียกชุ่ม (wetting time) ในสารละลายของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ สารละลาย SLS และน้ำ พบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพใช้เวลาในการทำให้สำลีเปียกชุ่มเท่ากับ 1 วินาที ซึ่งเท่ากับสารละลาย SLS ส่วนน้ำใช้เวลาในการทำให้สำลีเปียกชุ่มทั่วก่อนเท่ากับ 2 เท่า คือ 2 วินาที แสดงว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ มีคุณสมบัติทำให้สำลีเปียกชุ่มได้ดีเท่ากับสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ (SLS) ที่ความเข้มข้น 0.1% (w/v) และมีคุณสมบัติดีกว่าน้ำ เมื่อสังเกตลักษณะการแผ่ขยายของก้อนสำลีในสารละลายของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ พบว่าก้อนสำลีจะไม่แผ่ขยายมาก (b) ซึ่งเมื่อเทียบกับสารละลายของสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ (SLS) และน้ำ พบว่าจะแผ่ขยายมากกว่า นั่นแสดงให้เห็นว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีคุณสมบัติในการเกาะตัวของสำลีได้ดีกว่า SLS และน้ำ



รูปที่ 4.27: ลักษณะของก้อนสำลีที่เปียกชุ่มหลังจากจุ่มในสารละลายลดแรงตึงผิวชีวภาพ น้ำ และ SLS ที่ความเข้มข้น 0.1% ณ อุณหภูมิห้อง

4.2 ผลการทดสอบการเกิดฟองและความเสถียรของฟองของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

เมื่อทดสอบการเกิดฟองของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ พบว่าเมื่อเขย่ากระบอกควงในตอนแรก จะสังเกตฟองสีขาวเกิดขึ้น เนื้อฟองละเอียด เมื่อทำการตั้งทิ้งไว้ ณ อุณหภูมิห้องในเวลาต่างๆ ฟองที่เกิดขึ้นจะค่อยๆ ลดลง ลักษณะความพรุนของฟองอากาศมีขนาดเล็ก ดังแสดงในตารางที่ 4.10 และเมื่อเปรียบเทียบลักษณะของการเกิดฟองกับสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์คือ SLS ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากัน พบว่าลักษณะของฟองของ SLS จะมีมากกว่า แต่เป็นที่น่าสังเกตคือความพรุนของฟองจะมีมากกว่าฟองที่เกิดจากสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (ตารางที่ 4.11) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าความหยาบของฟองที่เกิดจาก SLS มีมากกว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ และเมื่อตั้งทิ้งไว้ในเวลาต่างๆ พบว่าฟองยังมีความเสถียรมากกว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ดังแสดงในกราฟรูปที่ 28 และ รูปที่ 29

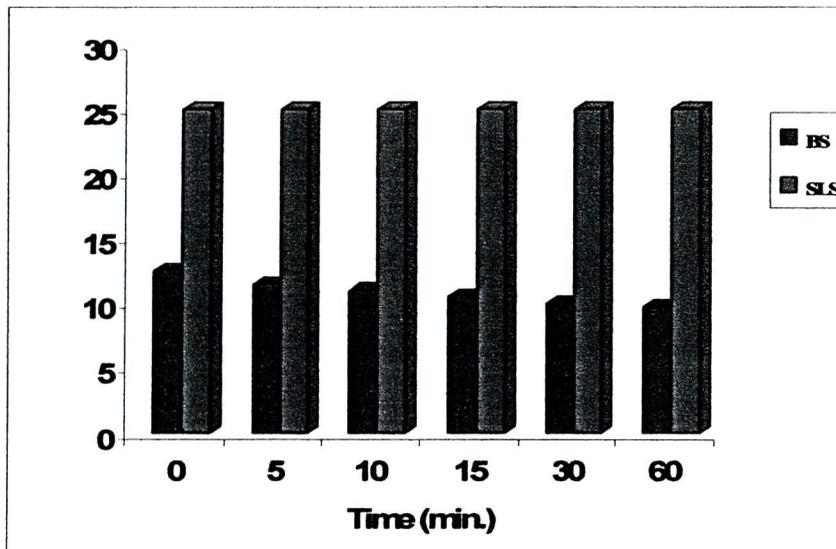
ตารางที่ 4.10: ลักษณะการเกิดฟองของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ณ เวลาต่างๆ

เวลา (นาท)	ความสูงของฟอง (cm)			ความหนาของฟอง	ลักษณะฟอง	เสถียรภาพของฟอง
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย			
ทันที	12.5	12.5	12.5±0	+3	ฟองสีขาว มีรูพรุนระหว่างฟองอากาศเล็ก	เสถียร
5	12.3	11.5	11.9±0.56	+3	ฟองสีขาว มีรูพรุนระหว่างฟองอากาศเล็ก	เสถียร
10	11.0	11.0	11.0±0	+3	ฟองสีขาว มีรูพรุนระหว่างฟองอากาศเล็ก	เสถียร
15	10.5	10.5	10.5±0	+3	ฟองสีขาว มีรูพรุนระหว่างฟองอากาศเล็ก	ฟองลดลง
30	10.0	10.0	10.0±0	+3	ฟองสีขาว มีรูพรุนระหว่างฟองอากาศเล็ก	ฟองลดลง
60	9.8	9.8	9.8±0	+2	ฟองสีขาว มีรูพรุนระหว่างฟองอากาศเล็ก	ฟองลดลง

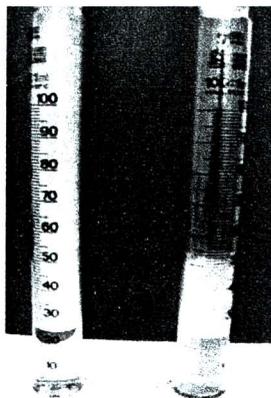
ตารางที่ 4.11: ลักษณะของการเกิดฟองของสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ SLS

เวลา (นาท)	ความสูงของฟอง (cm)			ความหนาของฟอง	ลักษณะฟอง	เสถียรภาพของฟอง
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย			
ทันที	25	25	25±0	+2	ฟองสีขาว มีรูพรุนระหว่างฟองอากาศใหญ่	เสถียร
5	25	25	25±0	+2	ฟองสีขาว มีรูพรุนระหว่างฟองอากาศใหญ่	เสถียร
10	25	25	25±0	+2	ฟองสีขาว มีรูพรุนระหว่างฟองอากาศใหญ่	เสถียร
15	25	25	25±0	+1	ฟองสีขาว มีรูพรุนระหว่างฟองอากาศใหญ่มาก	เสถียร
30	25	25	25±0	+1	ฟองสีขาว มีรูพรุนระหว่างฟองอากาศใหญ่มาก	เสถียร
60	25	25	25±0	+1	ฟองสีขาว มีรูพรุนระหว่างฟองอากาศใหญ่มาก	เสถียร

หมายเหตุ : ความหนาของฟอง : +3 = ฟองมีความหนาของน้อย, +2 = ฟองมีความหนาปานกลาง , +1 = ความหนาของฟองมาก



รูปที่ 4.28: เปรียบเทียบการเกิดฟองของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกับสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ SLS

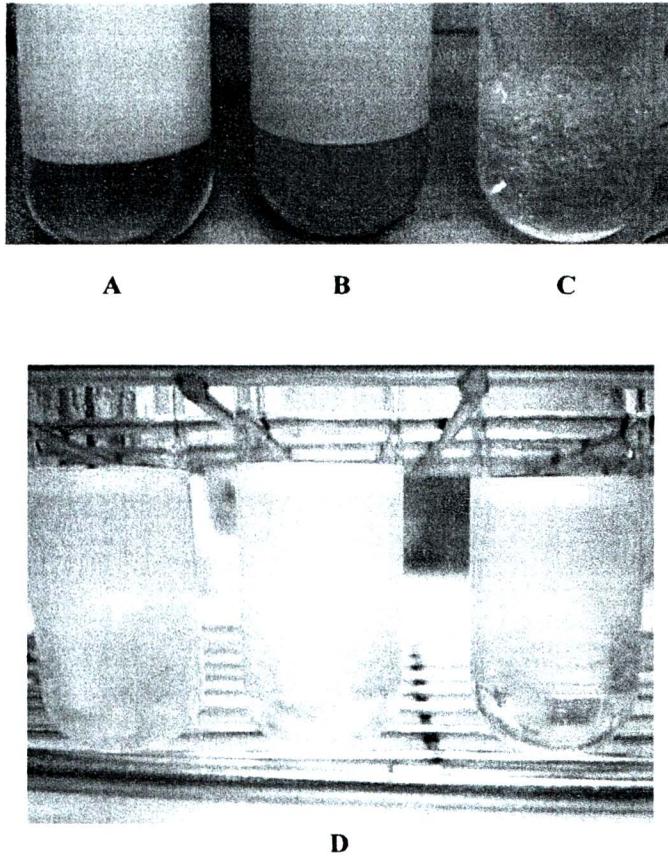


รูปที่ 4.29: การเกิดฟองของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (ขวา) เปรียบเทียบกับ SLS (ซ้าย) เมื่อเวลาผ่านไป 60 นาที

4.3 การทดสอบ detergency ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

จากการทำไตเตรชันของสารตัวอย่างแต่ละชนิดเพื่อหาค่าคุณสมบัติ detergency พบว่าสารละลาย SLS ใช้จำนวนหยดน้อยที่สุดในการไตเตรตกับ squalene ในหลอดทดลอง โดยจะทำให้เม็ดไขมันแตกตัวหมด เมื่อใช้ SLS เท่ากับ 3.66 หยด ในขณะที่ Tween 80 และ สารลดแรงตึงผิวชีวภาพใช้จำนวนหยดเท่ากับ 4.16 และ 5.83 หยดตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 4.30 และเมื่อคำนวณหาปริมาณ squalene titer test พบว่า

สารละลาย SLS ให้ค่า squalene titer มากที่สุดเท่ากับ 30.72 ในขณะที่ Tween 80 และสารลดแรงตึงผิวชีวภาพให้ค่า squalene titer point เท่ากับ 27.03 และ 21.21 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.12



รูปที่ 4.30: การหายไปของเม็ดไขมันเมื่อหยดด้วยสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ โดยที่ A คือ Tween 80 , B คือ biosurfactant, C คือ control และ D คือ SLS

ตารางที่ 4.12 คุณสมบัติ detergency ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเมื่อเปรียบเทียบกับสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์

สารตัวอย่าง	จำนวนหยด	Squalene titer
Biosurfactnat	5.83± 0.75	21.21
Tween 80	4.16 ±0.41	27.03
SLS	3.66 ±0.52	30.72

ตัวอย่างการคำนวณหา squalene titer test

เนื่องจาก 25 หยดของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ = 1 ml

1 หยดของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ = 0.05 ml

1 หยดของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ = 0.01334 g

ดังนั้น สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 5.83 หยด มีน้ำหนักเท่ากับ 0.070702 กรัม

จากสมการ

Squalene titer point = 1.5 g of squalene / grams of biosurfactant solution added

สามารถแทนค่า ได้ดังนี้

$$\text{Squalene titer point} = 1.5 \text{ g} / 0.070702 = 21.21$$

ดังนั้น squalene titer point ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีค่าเท่ากับ 21.21

สรุปได้ว่าค่า Squalene titer point ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีค่าเท่ากับ 21.21 ส่วน tween 80 มีค่าเท่ากับ 27.03 ในขณะที่ SLS ให้ค่า Squalene titer test สูงที่สุดเท่ากับ 30.72 ตามลำดับ ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวสามารถชี้ให้เห็นได้ว่า ความสามารถในการเป็น detergency ของสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ SLS และ Tween 80 ดีกว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ณ ความเข้มข้น 10 %

ตอนที่ 5:คุณสมบัติการก่ออิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

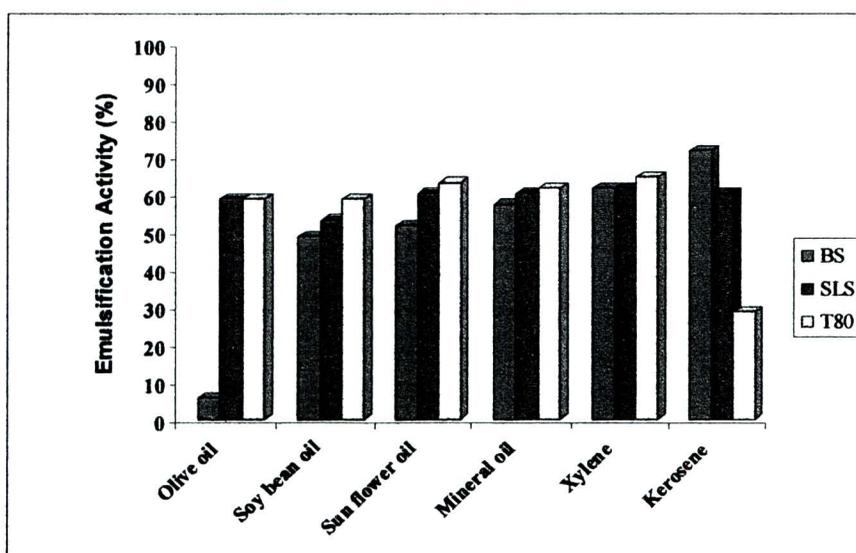
5.1 ผลการศึกษาการก่ออิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

การทดสอบการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween80 ที่ความเข้มข้น 0.5% ต่อน้ำมันชนิดต่างๆ ณ อุณหภูมิห้องและ 75 °C

จากการศึกษาการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและเปรียบเทียบกับสารลดแรงตึงผิวที่สังเคราะห์ในสภาวะที่ทำการวัดทันทีหลังจากผสมให้เข้ากันแล้วพบว่า สารลดแรงตึงผิวชีวภาพจะเกิดอิมัลชันได้ดีกับน้ำมันที่ประกอบด้วย hydrocarbon ได้ดีกว่า vegetative oil โดยจะเกิดอิมัลชันได้น้อยที่สุดกับ Olive oil คือ 5.71 % และเกิดอิมัลชันได้มากที่สุดกับน้ำมันก๊าด(kerosene) ที่ 71.43 % ตามลำดับ ในขณะที่เมื่อเปรียบเทียบกับสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ระหว่าง SLS กับ Tween 80 นั้นจะให้ผลการเกิดอิมัลชันสูงสุดกับ Xylene เท่ากับ 61.43 และ 64.28 % ตามลำดับ ดังแสดงในตาราง 4.13 และรูปที่ 4.31 ลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันที่เกิดขึ้นแสดงดังตารางที่ 4.14, รูปที่ 4.32, 4.33, และ 4.34 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.13: ประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween80 ที่ความเข้มข้น 0.5% ต่อน้ำมันชนิดต่างๆ ในเวลาที่ทำการทดลอง (E0) ณ อุณหภูมิห้อง

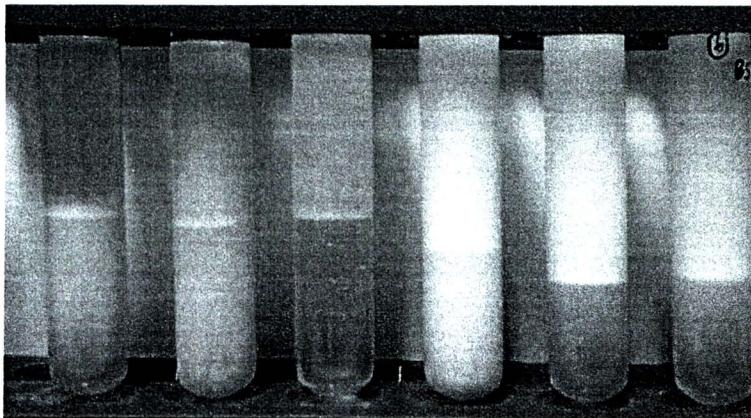
Oils	% Emulsification activity (E0)		
	BS	SLS	T80
Olive oil	5.71	58.57	58.57
Soy bean oil	48.57	52.86	58.57
Sun flower oil	51.42	60.00	62.86
Mineral oil	57.14	60.00	61.43
Xylene	61.43	61.43	64.28
Kerosene	71.43	60.0	28.57



รูปที่ 4.31: ประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween80 ที่ความเข้มข้น 0.5% ต่อน้ำมันชนิดต่างๆ ในเวลาที่ทำการทดลอง ณ อุณหภูมิห้อง

ตารางที่ 4.14: ลักษณะทางกายภาพของการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween 80 ที่ความเข้มข้น 0.5% ต่อน้ำมันชนิดต่างๆ ในเวลาที่ทำกรทดลอง ณ อุณหภูมิห้อง

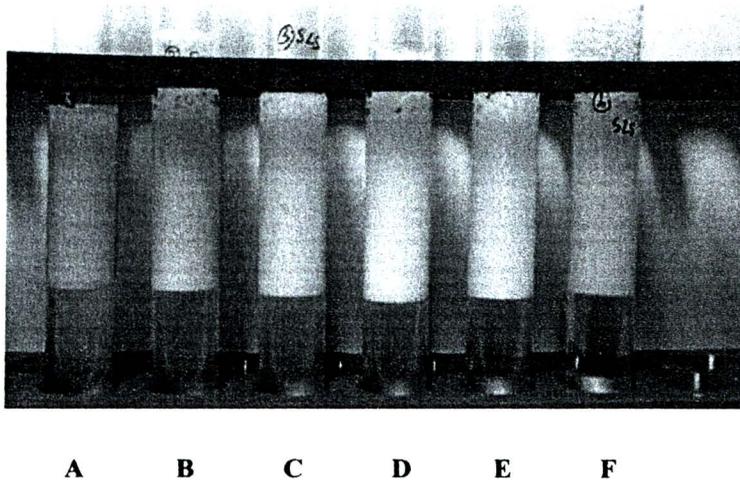
Oils	ลักษณะทางกายภาพที่เกิดขึ้น		
	BS	SLS	T80
Olive oil	อิมัลชันสีขาวแยกชั้น	อิมัลชันสีครีมเขียวด้านบน	อิมัลชันสีครีมเขียว
Soy bean oil	อิมัลชันสีครีม	อิมัลชันมีสีครีม	อิมัลชันมีสีครีม
Sun flower oil	อิมัลชันสีขาว	อิมัลชันมีสีขาว	อิมัลชันมีสีขาว
Xylene	อิมัลชันสีขาวอมเขียว	อิมัลชันมีสีขาว	อิมัลชันมีสีขาว
Kerosene	อิมัลชันสีขาวอมเขียว	อิมัลชันมีสีขาว ฟองมีขนาดใหญ่	สารละลายแยกเป็นสามชั้น อิมัลชันสีขาวเกิดขึ้นกลาง
Mineral oil	อิมัลชันสีขาวอมเขียว	อิมัลชันมีสีขาว	อิมัลชันมีสีขาว



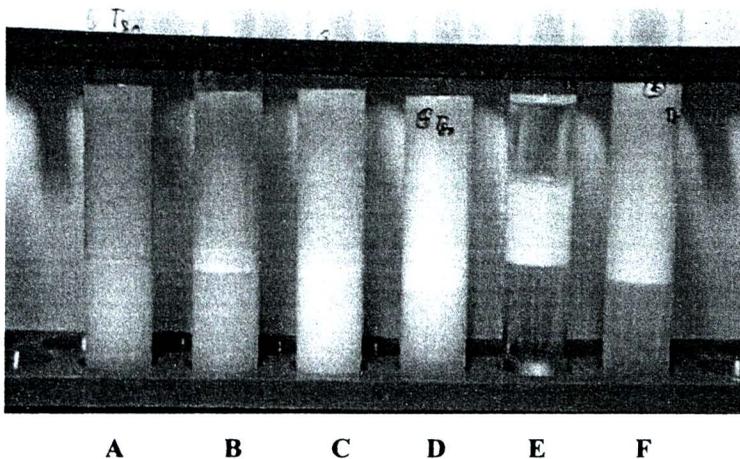
A B C D E F

รูปที่ 4.32: ลักษณะของอิมัลชันที่เกิดจากสารลดแรงตึงผิวชีวภาพความเข้มข้น 0.5% ต่อน้ำมันชนิดต่างๆ

A = Olive oil, B= Soy bean oil, C= Sun flower oil, D= Xylene, E=Kerosine F=Mineral oil



รูปที่ 4.33: ลักษณะของอิมัลชันที่เกิดจากสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ (SLS) ความเข้มข้น 0.5% ต่อน้ำมันชนิดต่างๆ ; A = Olive oil, B= Soy bean oil, C= Sun flower oil, D= Xylene, E=Kerosine F=Mineral oil

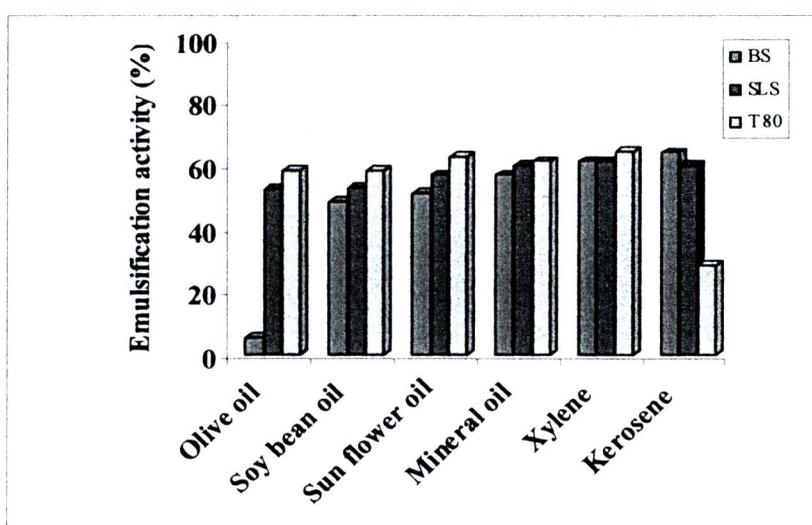


รูปที่ 4.34: ลักษณะของอิมัลชันที่เกิดจากสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ Tween 80 ความเข้มข้น 0.5% ต่อน้ำมันชนิดต่างๆ ; A = Olive oil, B= Soy bean oil, C= Sun flower oil, D= Xylene, E=Kerosine F=Mineral oil

เมื่อนำอิมัลชันที่เกิดขึ้นตั้งทิ้งไว้ ณ อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้ววัดค่าประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชัน (E24) พบว่า ให้ผลใกล้เคียงกับตอนเริ่มต้น ดังแสดงในตารางที่ 4.15 โดยสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจะให้ค่าประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันสูงสุดต่อ kerosene เท่ากับ 64.26% และน้อยที่สุดกับ olive oil คือเท่ากับ 5.71% ในขณะที่ สารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ SLS จะให้ค่าประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันสูงสุดกับ xylene เท่ากับ 61.43% และให้น้อยที่สุดกับ olive oil เท่ากับ 52.57% สำหรับ Tween 80 จะให้ค่าประสิทธิภาพการเกิดอิมัลชันสูงสุดกับ xylene เท่ากับ 64.28% และให้ค่าประสิทธิภาพการเกิดอิมัลชันน้อยที่สุดกับ kerosene เท่ากับ 28.57% (รูปที่ 4.34)

ตารางที่ 4.15: ประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween80 ที่ความเข้มข้น 0.5% ค่อน้ำมันชนิดต่างๆ ในเวลา 24 ชั่วโมง (E24) ณ อุณหภูมิห้อง

Oils	% Emulsification activity (E24)		
	BS	SLS	T80
Olive oil	5.71	52.57	58.57
Soy bean oil	48.57	52.86	58.57
Sun flower oil	51.42	57.14	62.86
Mineral oil	57.14	60.0	61.43
Xylene	61.43	61.43	64.28
Kerosene	64.26	60.0	28.57



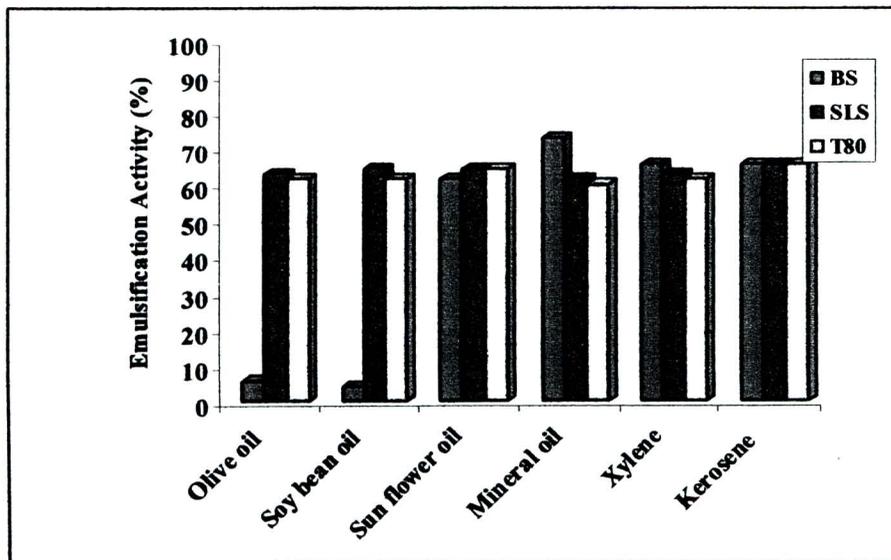
รูปที่ 4.35: ประสิทธิภาพในการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween80 ที่ความเข้มข้น 0.5% ค่อน้ำมันชนิดต่างๆ ในเวลา 24 ชั่วโมง (E24) ณ อุณหภูมิห้อง

เมื่อนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ที่ระดับความเข้มข้น 0.5% ไปให้ความร้อนที่ 75 องศาเซลเซียส เพื่อดูผลกระทบของความร้อนต่อการเปลี่ยนแปลงการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกับสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ ผลปรากฏว่าประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์โดยส่วนใหญ่จะมีค่ามากกว่าเมื่อไม่ให้ความร้อน โดยสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจะให้ค่าประสิทธิภาพการเกิดอิมัลชันต่อ mineral oil ได้มากที่สุดถึง 72.85% และน้อยที่สุดกับ olive oil เท่ากับ 5.71% ในขณะที่ SLS จะให้ประสิทธิภาพการเกิดอิมัลชันสูงที่สุดเท่ากับ

kerosene คือ 65.71% และน้อยที่สุดเท่ากับ 62.85 ต่อ olive oil สำหรับ Tween80 จะให้ค่าประสิทธิภาพการเกิดอิมัลชันมากที่สุดต่อ kerosene เท่ากับ 65.71% และน้อยที่สุดคือ 60.00 ต่อ mineral oil ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.16 และ รูปที่ 4.36

ตารางที่ 4.16: ประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween80 ที่ความเข้มข้น 0.5% ค่อน้ำมันชนิดต่างๆ ในเวลาที่ทำกรทดลอง (E0) ณ อุณหภูมิ 75 °C

Oils	% Emulsification Activity (E0)		
	BS	SLS	T80
Olive oil	5.71	62.85	61.42
Soy bean oil	4.28	64.28	61.42
Sun flower oil	61.42	64.28	64.28
Mineral oil	72.85	61.42	60.00
Xylene	65.71	62.85	61.42
Kerosene	65.71	65.71	65.71

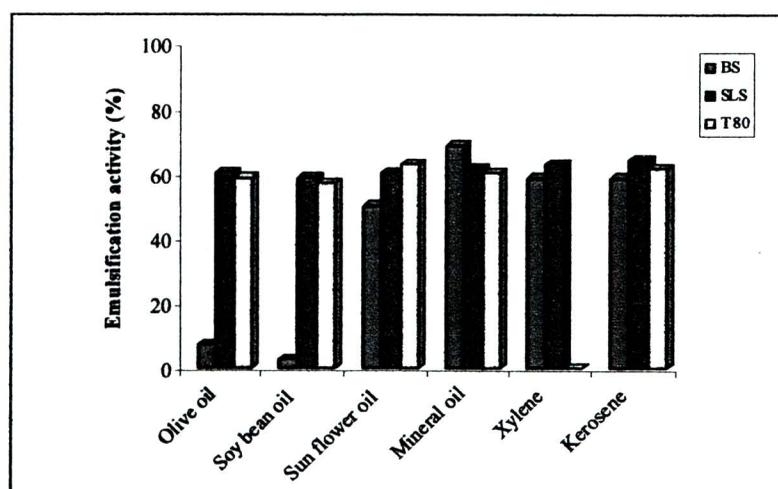


รูปที่ 4.36: ประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween80 ที่ความเข้มข้น 0.5% ค่อน้ำมันชนิดต่างๆ ในเวลาที่ทำกรทดลอง ณ อุณหภูมิ 75 °C

เมื่อนำอิมัลชันที่เกิดจากสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ที่ระดับความเข้มข้น 0.5% ตั้งทิ้งไว้ ณ อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้ววัดประสิทธิภาพ ณ เวลา 24 ชั่วโมงกลับพบว่า ประสิทธิภาพการเกิดอิมัลชันลดน้อยลง กล่าวคือ mineral oil ประสิทธิภาพการเกิดอิมัลชันจะลดลงตอนที่ให้ความร้อน ณ 75 องศาเซลเซียส จาก 72.85% เป็น 68.57% ส่วน SLS จะให้ค่าสูงสุดของประสิทธิภาพการเกิดอิมัลชันต่อ kerosene เท่ากับ 64.29% ในขณะที่ Tween 80 นั้นค่าประสิทธิภาพการเกิดอิมัลชันลดลงจาก 65.71% เป็น 61.42% ตามลำดับ (ตารางที่ 4.17 และรูปที่ 4.37)

ตารางที่ 4.17: ประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween80 ที่ความเข้มข้น 0.5% ต่อน้ำมันชนิดต่างๆ เวลา 24 ชั่วโมง (E24) ณ อุณหภูมิ 75 °C

Oils	% Emulsification Activity (E24)		
	BS	SLS	T80
Olive oil	5.14	60.00	58.57
Soy bean oil	2.85	58.57	57.14
Sun flower oil	50.00	60.00	62.86
Mineral oil	68.57	61.42	60.00
Xylene	58.57	62.86	62.86
Kerosene	58.57	64.29	61.42

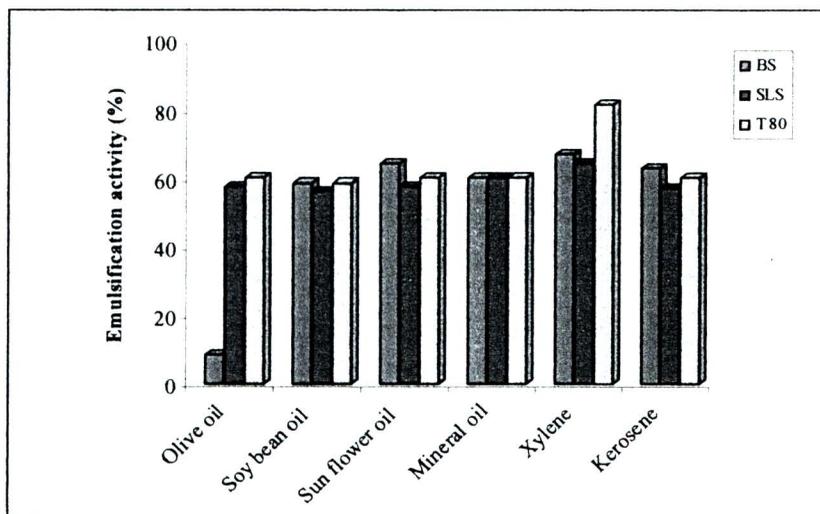


รูปที่ 4.37: ประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween80 ที่ความเข้มข้น 0.5% ต่อน้ำมันชนิดต่างๆ เวลา 24 ชั่วโมง (E24) ณ อุณหภูมิ 75 °C

เมื่อเปลี่ยนความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์จาก 0.5% เป็น 1% ประสิทธิภาพในการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่เตรียม ณ อุณหภูมิห้อง จะเพิ่มมากขึ้น จากตารางที่ 4.18 และรูปที่ 4.38 สามารถอธิบายได้ว่า สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween 80 จะให้ค่าประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันมากที่สุดต่อ xylene เท่ากับ 67.14, 64.28 และ 81.43% ตามลำดับ และเมื่อตั้งอิมัลชันไว้ ณ อุณหภูมิห้องนาน 24 ชั่วโมง (E24) พบว่าประสิทธิภาพในการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween 80 จะให้ค่าประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันที่ไม่เปลี่ยนแปลง แสดงว่ามีความเสถียรมากกว่าที่ระดับความเข้มข้น 0.5% (ตารางที่ 4.18 และรูปที่ 4.38)

ตารางที่ 4.18: ประสิทธิภาพในการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween80 ที่ความเข้มข้น 1% ต่อน้ำมันชนิดต่างๆ ในเวลาขณะทำการทดลอง (E0) ณ อุณหภูมิห้อง

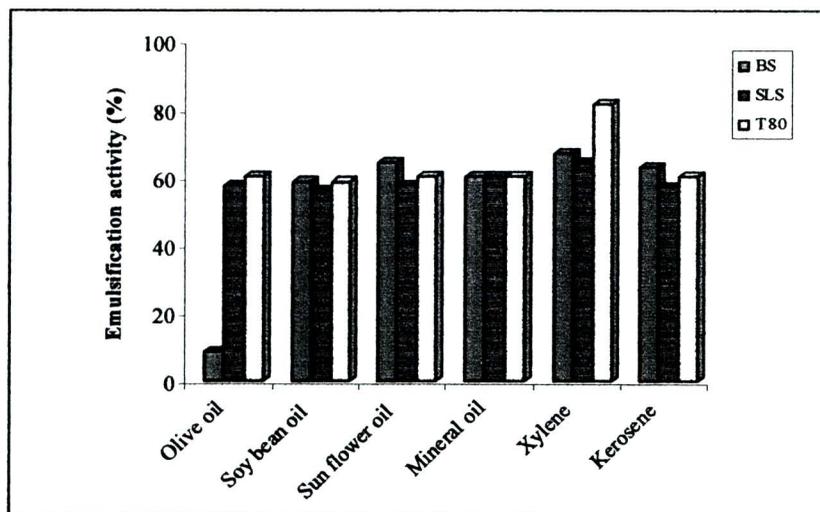
Oils	% Emulsification Activity (E0)		
	BS	SLS	T80
Olive oil	8.57	57.57	60.00
Soy bean oil	58.57	56.25	58.57
Sun flower oil	64.28	57.57	60.00
Mineral oil	60.00	60.00	60.00
Xylene	67.14	64.28	81.43
Kerosene	62.85	57.14	60.00



รูปที่ 4.38: ประสิทธิภาพในการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween 80 ที่ความเข้มข้น 1% ต่อน้ำมันชนิดต่างๆ ในเวลาที่ทำการทดลอง ณ อุณหภูมิห้อง

ตารางที่ 4.19: ประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween80 ที่ความเข้มข้น 1% ต่อน้ำมันชนิดต่างๆ ในเวลา 24 ชั่วโมง (E24) ณ อุณหภูมิห้อง

Oils	% Emulsification Activity (E24)		
	BS	SLS	T80
Olive oil	8.57	57.57	60.00
Soy bean oil	58.57	56.25	58.57
Sun flower oil	64.28	57.57	60.00
Mineral oil	60.00	60.00	60.00
Xylene	67.14	64.28	81.43
Kerosene	62.85	57.14	60.00



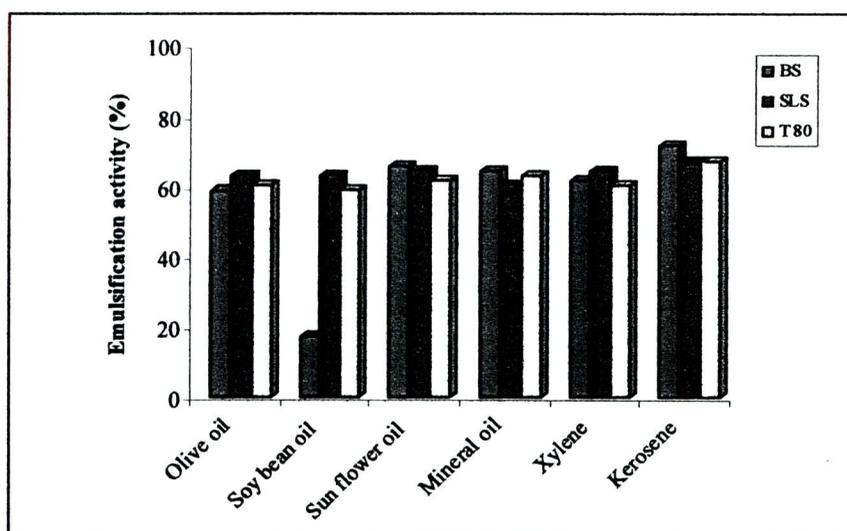
รูปที่ 4.39: ประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween80 ที่ความเข้มข้น 1% ต่อน้ำมันชนิดต่างๆ ในเวลา 24 ชั่วโมง (E24) ณ อุณหภูมิห้อง

ตารางที่ 4.20 และรูปที่ 4.40 เป็นการศึกษาประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween 80 ที่ระดับความเข้มข้น 1% โดยทำการวัดค่าประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันในเวลาที่ทำการทดลอง ณ อุณหภูมิ 75 °C ซึ่งพบว่า สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween 80 จะให้ค่าประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันได้ดีที่สุดกับ kerosene คือ 71.43, 67.14 และ 67.14% ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับระดับความเข้มข้นเดียวกันคือ 1% ก่อนให้ความร้อนที่ 75 °C พบว่าประสิทธิภาพของการ

เกิดอิมัลชันจะเพิ่มขึ้น ยกเว้น Tween 80 คือ ณ ความเข้มข้นเดียวกันในสภาวะก่อนให้ความร้อนจะมีประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันได้ดีกว่าเมื่อให้ความร้อนและจะเกิดได้ดีที่สุดกับ xylene คือ 81.43%

ตารางที่ 4.20: ประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween80 ที่ความเข้มข้น 1% ต่อน้ำมันชนิดต่างๆ ในเวลาที่ทำการทดลอง (E0) ณ อุณหภูมิ 75 °C

Oils	% Emulsification Activity (E0)		
	BS	SLS	T80
Olive oil	58.57	62.86	60.00
Soy bean oil	17.14	62.86	58.82
Sun flower oil	65.57	64.28	61.42
Mineral oil	64.28	60.00	62.86
Xylene	61.42	64.28	60.00
Kerosene	71.43	67.14	67.14



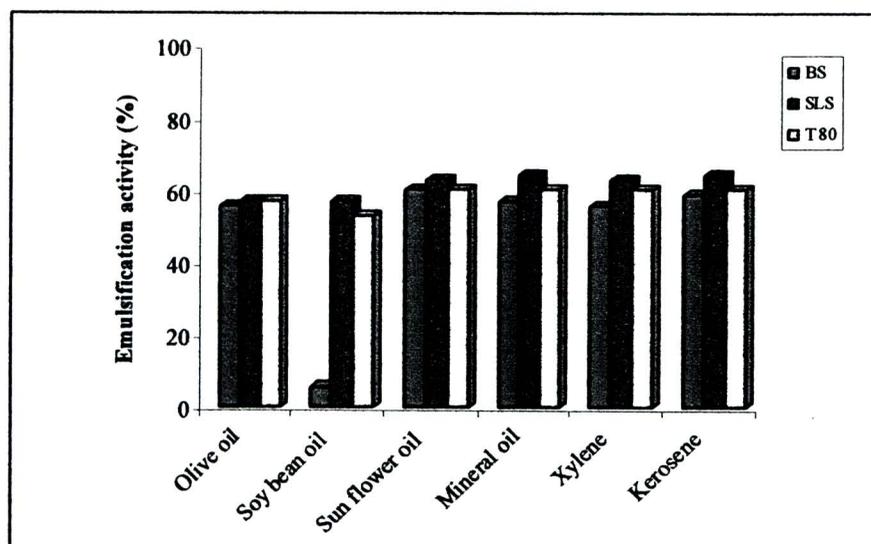
รูปที่ 4.40: ประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween80 ที่ความเข้มข้น 1% ต่อน้ำมันชนิดต่างๆ ในเวลาที่ทำการทดลอง ณ อุณหภูมิ 75 °C

เมื่อศึกษาถึงประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween80 ที่ความเข้มข้น 1% ต่อน้ำมันชนิดต่างๆ ในเวลา 24 ชั่วโมง (E24) ณ อุณหภูมิ 75 °C (ตารางที่ 4.21 และรูปที่

4.41) พบว่าประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันจะลดน้อยลงอย่างเห็นได้ชัดโดยเฉพาะอย่างยิ่ง สารลดแรงตึงผิวชีวภาพจะมีค่าประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันจาก 71.43% ใน kerosene แต่เมื่อตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมงจะเหลือค่าประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันเท่ากับ 58.86%

ตารางที่ 4.21: ประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween80 ที่ความเข้มข้น 1% ต่อน้ำมันชนิดต่างๆ ในเวลา 24 ชั่วโมง (E24) ณ อุณหภูมิ 75 °C

Oils	% Emulsification Activity (E24)		
	BS	SLS	T80
Olive oil	55.71	57.14	57.14
Soy bean oil	5.71	57.14	52.86
Sun flower oil	60.00	62.86	60.00
Mineral oil	57.14	60.00	60.00
Xylene	55.71	62.86	60.00
Kerosene	58.86	64.28	60.00

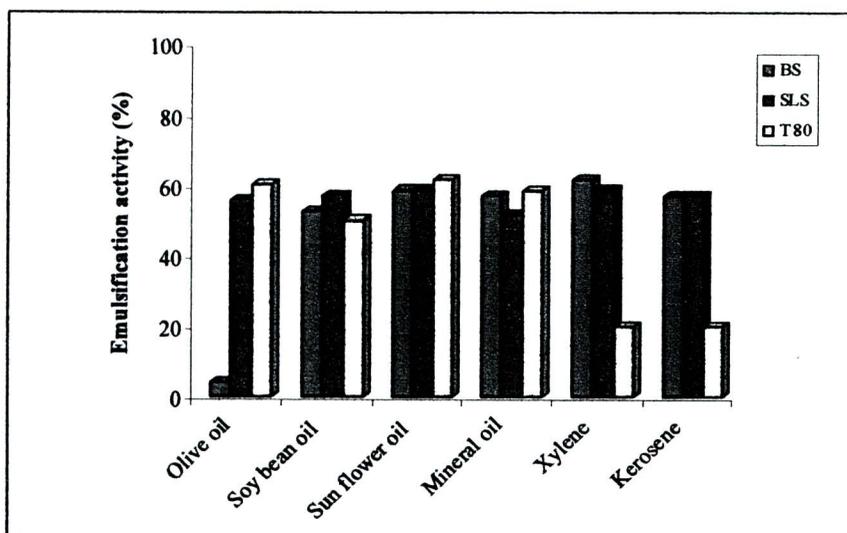


รูปที่ 4.41: ประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween80 ที่ความเข้มข้น 1% ต่อน้ำมันชนิดต่างๆ ในเวลา 24 ชั่วโมง (E24) ณ อุณหภูมิ 75 °C

ณ ระดับความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween80 ที่ความเข้มข้น 1.5% พบว่า ประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจะเกิดได้ดีที่สุดกับ xylene =61.42% ในขณะที่ SLS จะให้ค่าประสิทธิภาพการเกิดอิมัลชันสูงสุดกับ sun flower oil และ xylene = 57.14% ส่วน Tween 80 ให้ผลดีที่สุดกับ sun flower oil = 61.53% (ตารางที่ 4.22 และรูปที่ 4.42)

ตารางที่ 4.22: ประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween80 ที่ความเข้มข้น 1.5% ต่อน้ำมันชนิดต่างๆ ในเวลาที่ทำการทดลอง (E0) ณ อุณหภูมิห้อง

Oils	% Emulsification Activity (E0)		
	BS	SLS	T80
Olive oil	4.28	55.71	60.27
Soy bean oil	52.56	57.14	50.00
Sun flower oil	58.57	58.57	61.53
Mineral oil	57.14	51.42	58.33
Xylene	61.42	58.57	20.00
Kerosene	57.14	57.14	20.00



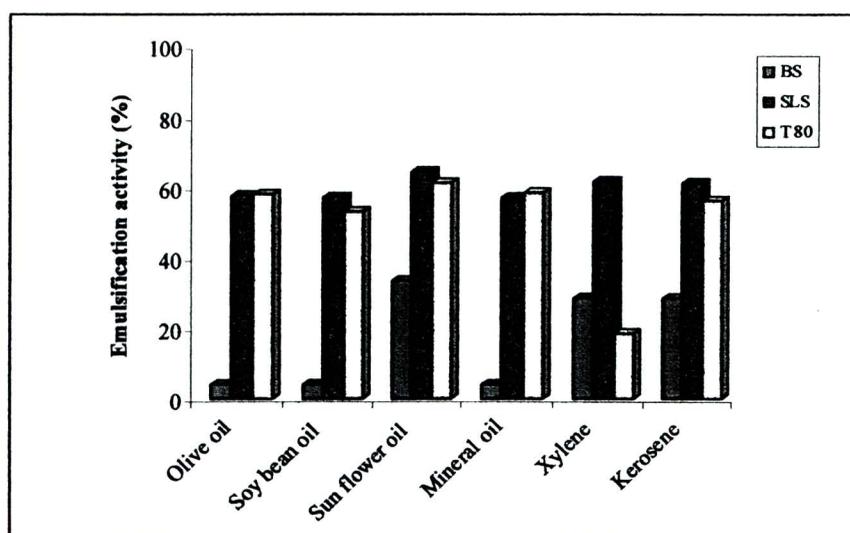
รูปที่ 4.42: ประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween80 ที่ความเข้มข้น 1.5% ต่อน้ำมันชนิดต่างๆ ในเวลาที่ทำการทดลอง ณ อุณหภูมิห้อง



จากการตั้งหลอดทดลองที่เกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween80 ที่ความเข้มข้น 1.5% ค่อน้ำมันชนิดต่างๆ ในเวลา 24 ชั่วโมง (E24) ณ อุณหภูมิห้อง พบว่าประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจะลดลงมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ SLS และ Tween 80 โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ประสิทธิภาพการเกิดอิมัลชันกับ soy bean oil และ mineral oil แต่เป็นที่น่าสังเกตว่า สารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์จะมีค่าการเกิดอิมัลชันเพิ่มขึ้นเล็กน้อย เมื่อตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ดังแสดงในตารางที่ 4.23 และรูปที่ 4.43

ตารางที่ 4.23: ประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween80 ที่ความเข้มข้น 1.5% ค่อน้ำมันชนิดต่างๆ ในเวลา 24 ชั่วโมง (E24) ณ อุณหภูมิห้อง

Oils	% Emulsification Activity (E24)		
	BS	SLS	T80
Olive oil	4.17	57.33	58.10
Soy bean oil	4.17	57.14	52.86
Sun flower oil	33.33	64.28	61.04
Mineral oil	4.28	57.14	58.33
Xylene	28.57	61.42	18.57
Kerosene	28.57	61.11	56.16

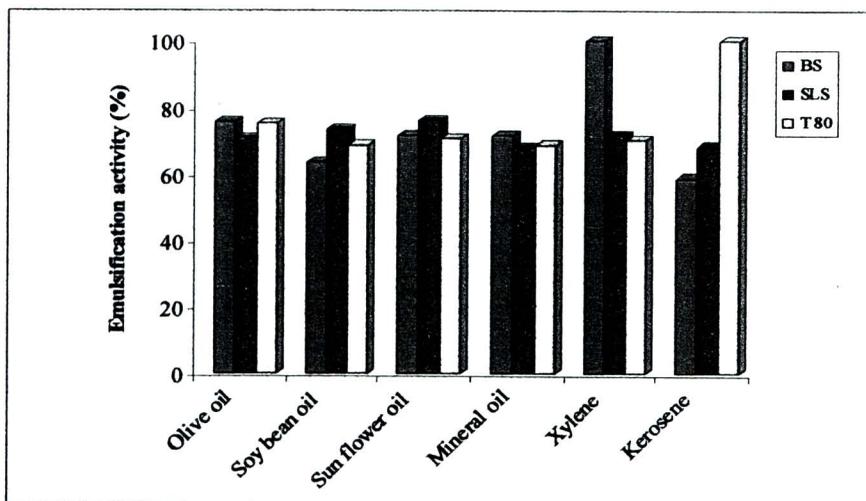


รูปที่ 4.43: ประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween80 ที่ความเข้มข้น 1.5% ค่อน้ำมันชนิดต่างๆ ในเวลา 24 ชั่วโมง (E24) ณ อุณหภูมิห้อง

ในสภาวะที่ให้ความร้อนกับสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ SLS และ Tween80 ณ ระดับความเข้มข้น 1.5% ที่ 75 องศาเซลเซียส พบว่าประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันจะเพิ่มมากขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารลดแรงตึงผิวชีวภาพสามารถแสดงประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันได้สูงถึง 100% กับ xylene ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์จะเกิดได้ดีกว่า ในขณะที่ SLS จะมีประสิทธิภาพการเกิดอิมัลชันได้สูงที่สุดกับ sun flower oil = 76.06% และ Tween 80 จะได้ค่าที่ดีที่สุดกับ kerosene = 100% ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.24 และรูปที่ 4.44

ตารางที่ 4.24: ประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween80 ที่ความเข้มข้น 1.5% ค่อน้ำมันชนิดต่างๆ ในเวลาที่ทำกรทดลอง (E0) ณ อุณหภูมิ 75 °C

Oils	% Emulsification Activity (E0)		
	BS	SLS	T80
Olive oil	75.71	70.42	75.00
Soy bean oil	63.23	73.13	68.57
Sun flower oil	71.42	76.06	70.67
Mineral oil	71.42	67.65	68.57
Xylene	100.00	71.43	70.00
Kerosene	58.57	68.12	100.00

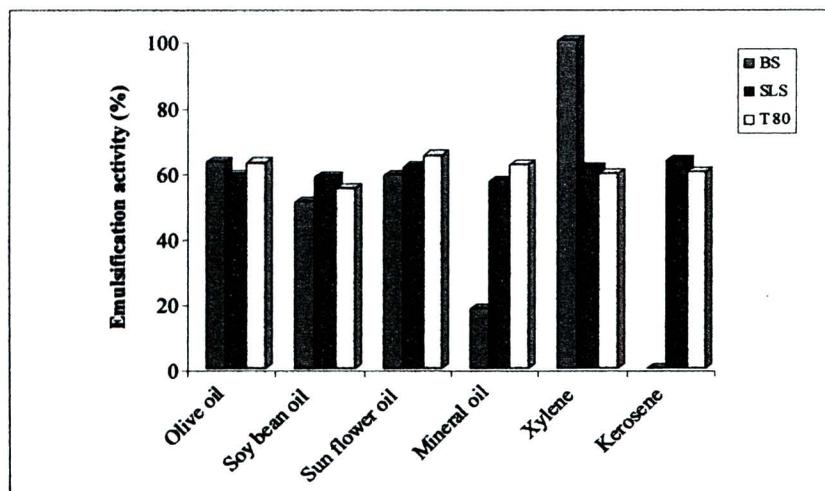


รูปที่ 4.44: ประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween80 ที่ความเข้มข้น 1.5% ค่อน้ำมันชนิดต่างๆ ในเวลาที่ทำกรทดลอง ณ อุณหภูมิ 75 °C

จากการศึกษาประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween80 ที่ความเข้มข้น 1.5% ค่อน้ำมันชนิดต่างๆ ในเวลา 24 ชั่วโมง (E24) ณ อุณหภูมิ 75 °C (ตารางที่ 4.25 และรูปที่ 4.45) พบว่า ประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพยังคงความสามารถในการเกิดอิมัลชันได้สูงที่สุดกับ xylene ซึ่งมีค่าเท่ากับ 100% ในขณะที่การเกิดอิมัลชันกับน้ำมันชนิดอื่นลดน้อยลงตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์คือ SLS และ Tween80 ก็ให้ค่าประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันลดลงเช่นเดียวกัน ซึ่งแสดงให้เห็นว่า การเพิ่มอุณหภูมิมีผลอย่างมากต่อค่าประสิทธิภาพการเกิดอิมัลชัน

ตารางที่ 4.25: ประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween80 ที่ความเข้มข้น 1.5% ค่อน้ำมันชนิดต่างๆ ในเวลา 24 ชั่วโมง (E24) ณ อุณหภูมิ 75 °C

Oils	% Emulsification Activity (E24)		
	BS	SLS	T80
Olive oil	62.86	58.67	62.67
Soy bean oil	50.72	58.33	54.93
Sun flower oil	58.90	61.33	64.94
Mineral oil	18.06	57.14	61.84
Xylene	100	61.11	59.46
Kerosene	0	63.16	59.72

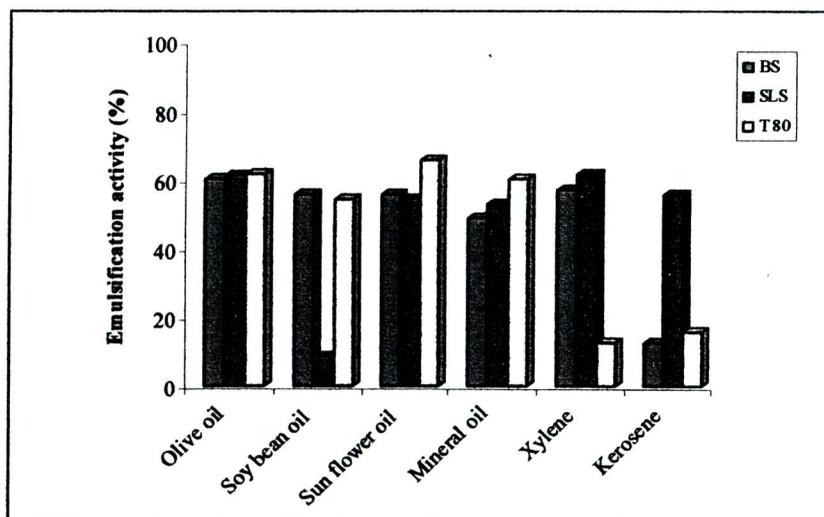


รูปที่ 4.45: ประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween80 ที่ความเข้มข้น 1.5% ค่อน้ำมันชนิดต่างๆ ในเวลา 24 ชั่วโมง (E24) ณ อุณหภูมิ 75 °C

เมื่อเปลี่ยนความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween 80 เป็น 2% เพื่อดูประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชัน ในสภาวะที่ทำการทดลอง ณ อุณหภูมิห้อง พบว่าน้ำมัน olive oil มีประสิทธิภาพต่อการเกิดอิมัลชันกับสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้มากที่สุดคือ 60.00% ส่วน SLS จะให้ค่าสูงสุดต่อการเกิดอิมัลชันกับ xylene เท่ากับ 61.42% และ tween 80 จะให้ค่าประสิทธิภาพการเกิดอิมัลชันกับน้ำมันเมล็ดทานตะวันได้สูงสุดเท่ากับ 65.71% ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาจากตารางที่ 4.26 และรูปที่ 4.46 จะพบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจะมีประสิทธิภาพต่อการเกิดอิมัลชันต่อ vegetative oil มากกว่า hydrocarbon oil

ตารางที่ 4.26: ประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween80 ที่ความเข้มข้น 2% ต่อน้ำมันชนิดต่างๆ ในเวลาทำการทดลอง (E0) ณ อุณหภูมิห้อง

Oils	% Emulsification Activity (E0)		
	BS	SLS	T80
Olive oil	60.00	61.11	61.42
Soy bean oil	55.71	8.57	54.28
Sun flower oil	55.71	54.28	65.71
Mineral oil	48.71	52.85	60.00
Xylene	57.14	61.42	12.86
Kerosene	12.86	55.71	15.71

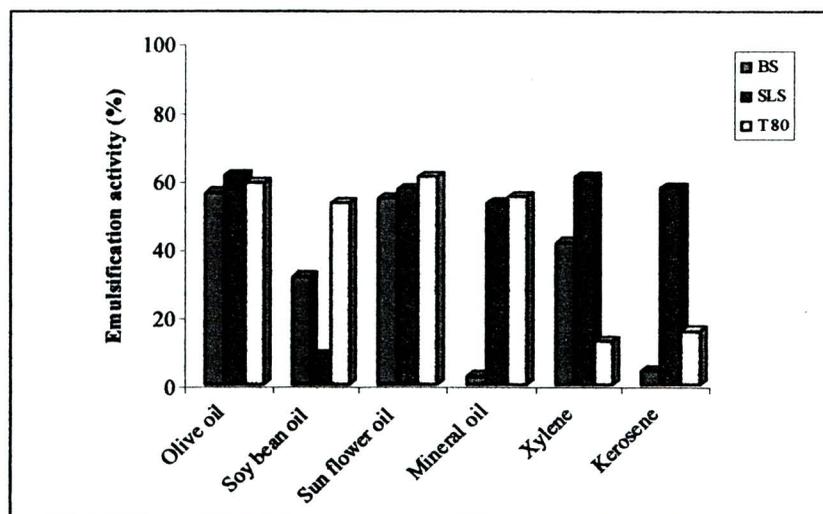


รูปที่ 4.46: ประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween80 ที่ความเข้มข้น 2% ต่อน้ำมันชนิดต่างๆ ในเวลาทำการทดลอง (E0) ณ อุณหภูมิห้อง

จากตารางที่ 4.27 และรูปที่ 4.47 จะพบว่าค่าประสิทธิภาพการเกิดอิมัลชันจะลดลงเมื่อตั้งทิ้งไว้ที่ อุณหภูมิห้องนาน 24 ชั่วโมง โดยสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและ SLS สามารถเกิดอิมัลชันได้ดีที่สุดกับ olive oil เท่ากับ 55.88% และ 61.04% ตามลำดับ ในขณะที่ Tween80 จะให้ค่าประสิทธิภาพต่อการอิมัลชันได้ดีที่สุดกับน้ำมันเมล็ดทานตะวัน เท่ากับ 60.76% และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์แล้วจะพบว่า SLS จะมีประสิทธิภาพการเกิดอิมัลชันได้ดีกับ vegetative oil และ hydrocarbon oil และยังมีเสถียรภาพที่ดีกว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ เพราะยังคงสภาพการเกิดอิมัลชันได้ดี

ตารางที่ 4.27: ประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween80 ที่ความเข้มข้น 2% ค่อยน้ำมันชนิดต่างๆ ในเวลา 24 ชั่วโมง (E24) ณ อุณหภูมิห้อง

Oils	% Emulsification Activity (E24)		
	BS	SLS	T80
Olive oil	55.88	61.04	58.90
Soy bean oil	31.42	8.57	52.86
Sun flower oil	54.28	56.94	60.76
Mineral oil	2.53	52.90	54.79
Xylene	41.42	60.51	12.86
Kerosene	4.17	57.53	15.60

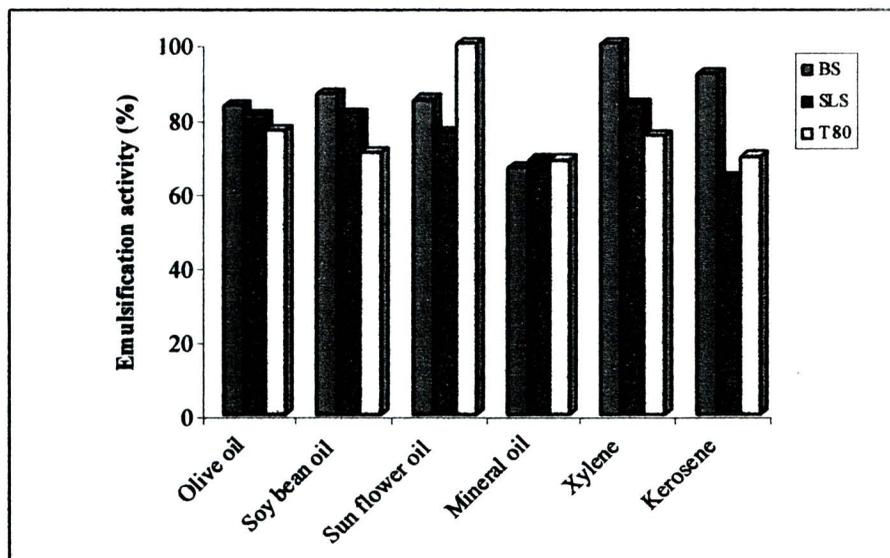


รูปที่ 4.47: ประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween80 ที่ความเข้มข้น 2% ค่อยน้ำมันชนิดต่างๆ ในเวลา 24 ชั่วโมง (E24) ณ อุณหภูมิห้อง

จากการพิจารณาผลการทดสอบประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ที่ระดับความเข้มข้น 2.0% ในภาวะที่มีการให้ความร้อนที่ 75 องศาเซลเซียสพบว่า สารลดแรงตึงผิวชีวภาพจะมีประสิทธิภาพสูงกว่าสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ ดังแสดงในตารางที่ 4.28 และรูปที่ 4.48 ซึ่งก็แสดงให้เห็นว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีคุณสมบัติที่ดีกว่าสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ ณ ระดับความเข้มข้นที่เท่ากัน คือ 2.0%

ตารางที่ 4.28: ประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween80 ที่ความเข้มข้น 2% ต่อน้ำมันชนิดต่างๆ ในเวลาทำการทดลอง (E0) ณ อุณหภูมิ 75 °C

Oils	% Emulsification Activity (E0)		
	BS	SLS	T80
Olive oil	83.08	80.56	76.39
Soy bean oil	86.57	80.88	70.42
Sun flower oil	84.85	75.76	100.00
Mineral oil	66.67	68.57	68.57
Xylene	100	83.58	75.00
Kerosene	91.78	63.64	69.44

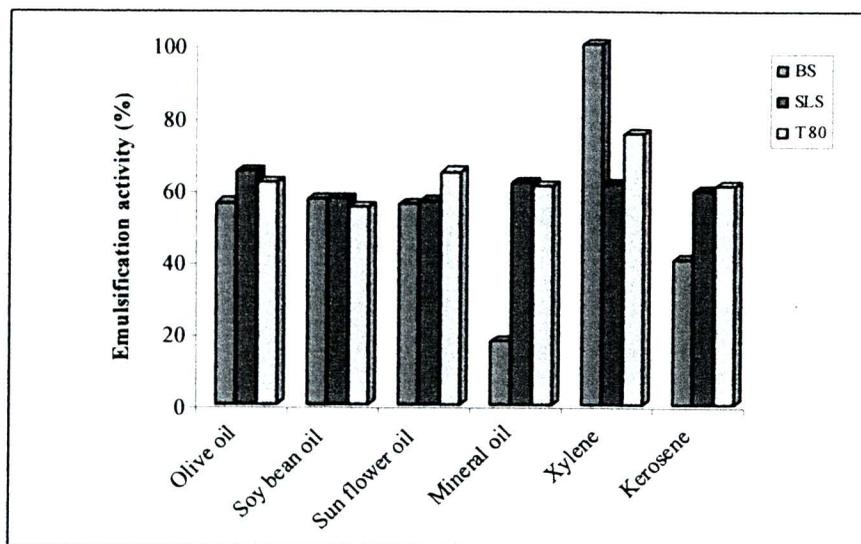


รูปที่ 4.48: ประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween80 ที่ความเข้มข้น 2% ต่อน้ำมันชนิดต่างๆ ในเวลาทำการทดลอง ณ อุณหภูมิ 75 °C

เมื่อนำอิมัลชันที่เกิดจากน้ำมันชนิดต่างๆ กับสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกับสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมงหลังจากผ่านความร้อนที่ 75 °C แล้วพบว่า ค่าประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันลดลง ในลักษณะใกล้เคียงกันเมื่อเปรียบเทียบระหว่างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพกับสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ ดังแสดงในตารางที่ 4.29 และรูปที่ 4.49 แต่ สารลดแรงตึงผิวชีวภาพจะมีประสิทธิภาพดีกว่าสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ กับ mineral oil และ kerosene ในขณะที่กับ xylene ประสิทธิภาพการเกิดอิมัลชันยังคงสูงเท่าเดิมคือ 100% ซึ่งมีค่าสูงที่สุดเมื่อเทียบกับ SLS กับ Tween 80

ตารางที่ 4.29: ประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween80 ที่ความเข้มข้น 2% ต่อน้ำมันชนิดต่างๆ ในเวลา 24 ชั่วโมง (E24) ณ อุณหภูมิ 75 °C

Oils	% Emulsification Activity (E24)		
	BS	SLS	T80
Olive oil	55.88	64.79	61.64
Soy bean oil	57.14	57.14	54.93
Sun flower oil	55.52	56.34	64.47
Mineral oil	17.50	61.43	60.53
Xylene	100.00	61.11	75.00
Kerosene	40.28	59.46	60.56

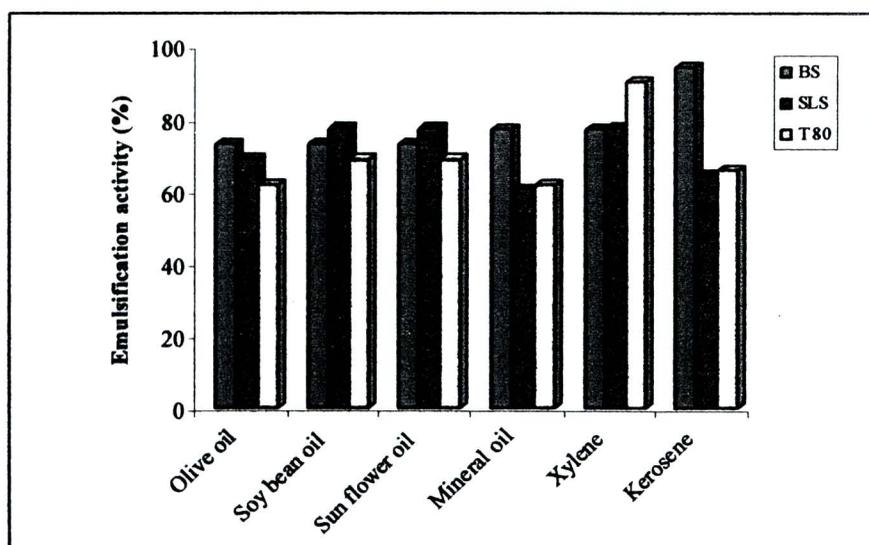


รูปที่ 4.49: ประสิทธิภาพในการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween 80 ที่ความเข้มข้น 2% ต่อน้ำมันชนิดต่างๆ ในเวลา 24 ชั่วโมง (E24) ณ อุณหภูมิ 75 °C

ตารางที่ 4.30 และรูปที่ 4.50 เป็นการศึกษาถึงประสิทธิภาพของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ต่อการเกิดอิมัลชันที่ระดับความเข้มข้น 5.0% ณ อุณหภูมิห้อง ผลการทดลองพบว่า สารลดแรงตึงผิวชีวภาพจะมีประสิทธิภาพการเกิดอิมัลชันได้สูงที่สุดเมื่อเทียบกับ SLS และ Tween80 โดยให้ค่าสูงที่สุดกับ kerosene คือ 94.28% สำหรับ SLS ให้ค่าประสิทธิภาพการเกิดอิมัลชันสูงที่สุดคือ 77.14% กับ soy bean oil, sun flower oil และ xylene ตามลำดับ ส่วน Tween 80 ให้ค่าประสิทธิภาพต่อการเกิดอิมัลชันได้สูงที่สุดกับ xylene เท่ากับ 90.00%

ตารางที่ 4.30: ประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween80 ที่ความเข้มข้น 5% ต่อน้ำมันชนิดต่างๆ ในเวลาที่ทำกรทดลอง (E0) ณ อุณหภูมิห้อง

Oils	% Emulsification Activity (E0)		
	BS	SLS	T80
Olive oil	72.86	68.57	61.42
Soy bean oil	72.86	77.14	68.57
Sun flower oil	72.86	77.14	68.57
Mineral oil	76.92	60.00	61.42
Xylene	76.92	77.14	90.0
Kerosene	94.28	64.28	65.71

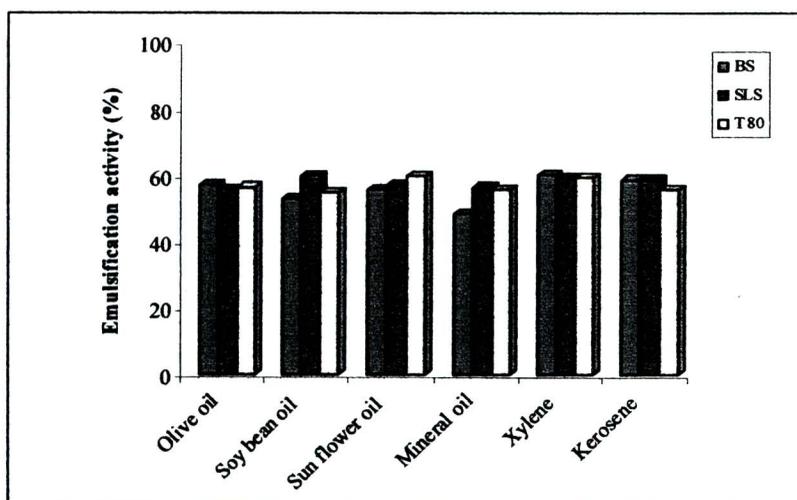


รูปที่ 4.50: ประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween80 ที่ความเข้มข้น 5% ต่อน้ำมันชนิดต่างๆ ในเวลาที่ทำกรทดลอง ณ อุณหภูมิห้อง

เมื่อทำการทดสอบถึงประสิทธิภาพการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ ณ ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 5% หลังจากการตั้งทิ้งไว้ ณ อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (E24) พบว่า ประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจะดีที่สุดที่ xylene โดยมีค่าประสิทธิภาพการเกิดอิมัลชันได้สูงสุดถึง 60% ในขณะที่ SLS และ Tween 80 ให้ค่าประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันประมาณ 59% ดังแสดงในตารางที่ 4.31 และรูปที่ 4.51

ตารางที่ 4.31: ประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween80 ที่ความเข้มข้น 5% ต่อน้ำมันชนิดต่างๆ ในเวลา 24 ชั่วโมง (E24) ณ อุณหภูมิห้อง

Oils	% Emulsification Activity (E24)		
	BS	SLS	T80
Olive oil	56.94	55.71	56.34
Soy bean oil	52.86	59.72	54.93
Sun flower oil	55.71	57.14	59.72
Mineral oil	48.52	56.34	55.56
Xylene	60.00	59.14	59.15
Kerosene	58.57	58.90	55.56

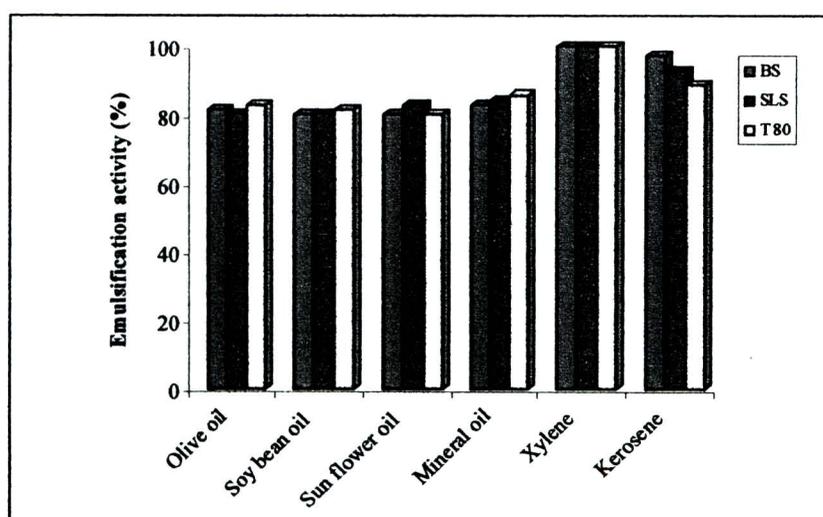


รูปที่ 4.51: ประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween80 ที่ความเข้มข้น 5% ต่อน้ำมันชนิดต่างๆ ในเวลา 24 ชั่วโมง (E24) ณ อุณหภูมิห้อง

จากตารางที่ 4.32 และรูปที่ 4.52 สามารถอธิบายได้ว่า ความสามารถในการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพเมื่อเปรียบเทียบกับสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ ที่ระดับความเข้มข้น 5% ณ อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส ไม่มีความแตกต่างกัน เพราะสังเกตจากประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันมีค่าใกล้เคียงกันมาก

ตารางที่ 4.32: ประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween80 ที่ความเข้มข้น 5% ค่อน้ำมันชนิดต่างๆ ในเวลาที่ทำกรทดลอง (E0) ณ อุณหภูมิ 75 °C

Oils	% Emulsification Activity (E0)		
	BS	SLS	T80
Olive oil	81.42	80.00	82.86
Soy bean oil	80.00	80.00	81.42
Sun flower oil	80.00	82.86	80.00
Mineral oil	82.86	84.28	85.71
Xylene	100.00	100.00	100.00
Kerosene	97.14	92.85	88.57

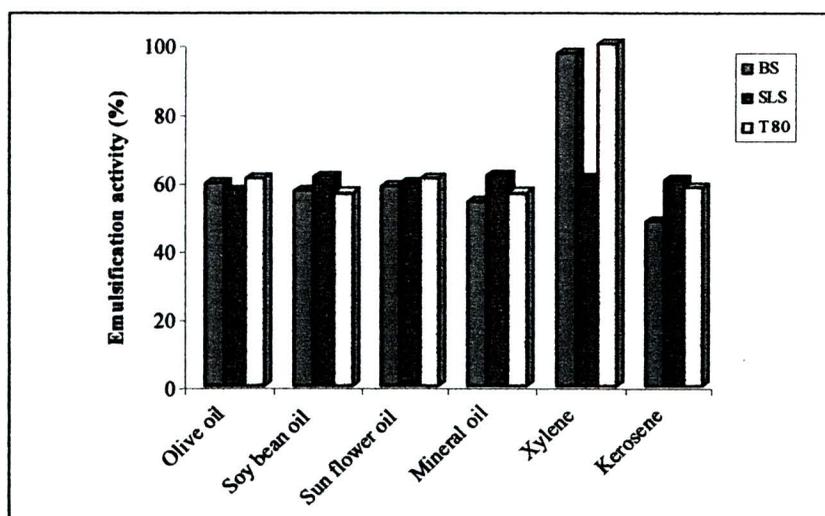


รูปที่ 4.52: ประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween80 ที่ความเข้มข้น 5% ค่อน้ำมันชนิดต่างๆ ในเวลาที่ทำกรทดลอง (E0) ณ อุณหภูมิห้อง

เมื่อตั้งอิมัลชันที่เกิดขึ้น ณ อุณหภูมิห้องนาน 24 ชั่วโมง (E24) พบว่าประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันมีค่าลดลงอย่างชัดเจน โดย SLS ที่ทำปฏิกิริยากับ xylene จะมีค่าประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันจาก 100% เหลือเพียง 60.56% ซึ่งลดลงกว่า 40% ในขณะที่สารลดแรงตึงผิวชีวภาพลดลงเพียง 3 % ดังแสดงในตารางที่ 4.33 และรูปที่ 4.53

ตารางที่ 4.33: ประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween80 ที่ความเข้มข้น 5% ต่อน้ำมันชนิดต่างๆ ในเวลา 24 ชั่วโมง (E24) ณ อุณหภูมิ 75 °C

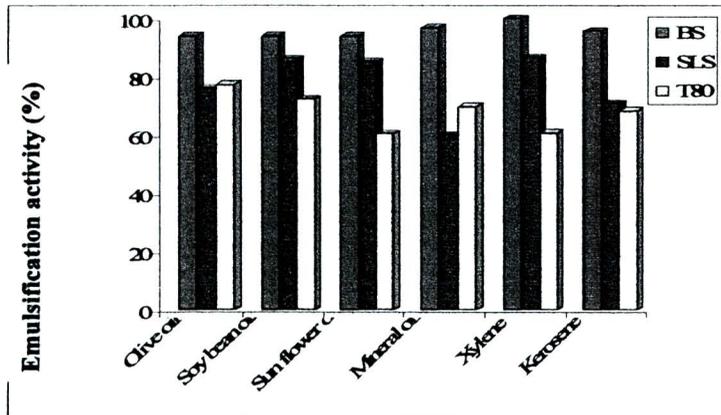
Oils	% Emulsification Activity (E24)		
	BS	SLS	T80
Olive oil	59.15	57.14	60.56
Soy bean oil	57.14	61.11	56.33
Sun flower oil	58.33	59.15	60.56
Mineral oil	53.73	61.43	56.33
Xylene	97.14	60.56	100.00
Kerosene	47.89	60.00	57.75



รูปที่ 4.53: ประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween80 ที่ความเข้มข้น 5% ต่อน้ำมันชนิดต่างๆ ในเวลา 24 ชั่วโมง (E24) ณ อุณหภูมิ 75 °C

ตารางที่ 4.34 ประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween80 ที่ความเข้มข้น 10% ค่อน้ำมันชนิดต่างๆ ในเวลาที่ทำการทดลอง (E0) ณ อุณหภูมิห้อง

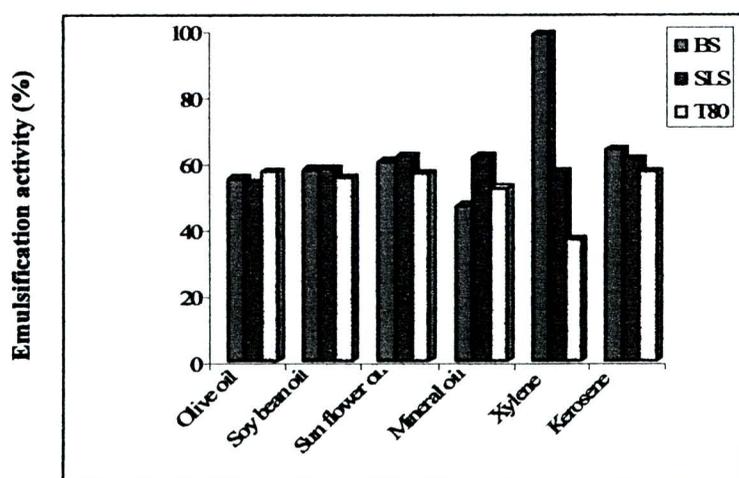
Oils	% Emulsification Activity (E0)		
	BS	SLS	T80
Olive oil	93.94	76.19	77.42
Soy bean oil	94.03	86.15	72.31
Sun flower oil	93.94	85.00	60.53
Mineral oil	96.88	60.00	69.70
Xylene	100.00	86.57	60.71
Kerosene	95.65	70.97	68.18



รูปที่ 4.54: กราฟแสดงประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween80 ที่ความเข้มข้น 10% ค่อน้ำมันชนิดต่างๆ ในเวลาที่ทำการทดลอง ณ อุณหภูมิห้อง

ตารางที่ 4.35: ประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween80 ที่ความเข้มข้น 10% ต่อน้ำมันชนิดต่างๆ ในเวลา 24 ชั่วโมง (E24) ณ อุณหภูมิห้อง

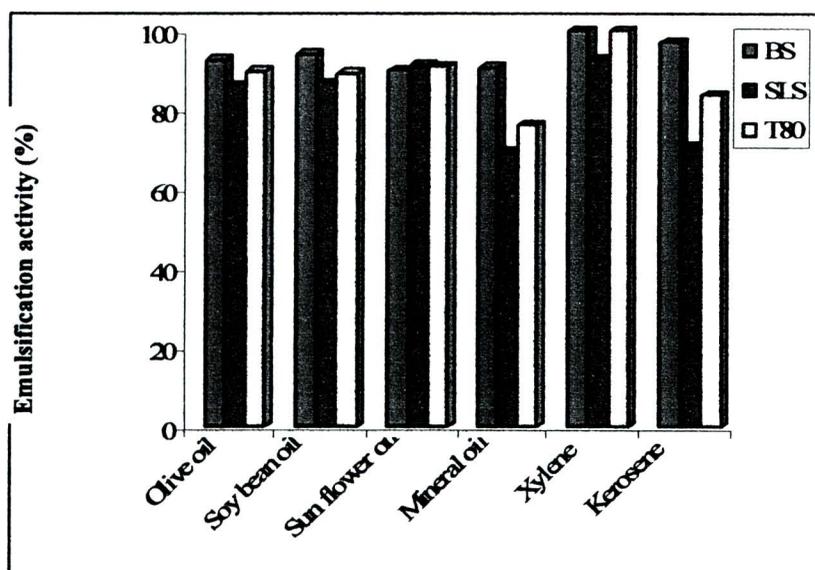
Oils	% Emulsification Activity (E24)		
	BS	SLS	T80
Olive oil	55.07	53.84	57.14
Soy bean oil	57.81	57.97	55.22
Sun flower oil	60.29	61.53	56.71
Mineral oil	46.87	61.53	52.23
Xylene	98.48	57.14	36.62
Kerosene	63.77	60.87	57.14



รูปที่ 4.55: แสดงประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween80 ที่ความเข้มข้น 10% ต่อน้ำมันชนิดต่างๆ ในเวลา 24 ชั่วโมง (E24) ณ อุณหภูมิห้อง

ตารางที่ 4.36: ประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween80 ที่ความเข้มข้น 10% ต่อน้ำมันชนิดต่างๆ ในเวลาที่ทำกรทดลอง ณ อุณหภูมิ 75 °C

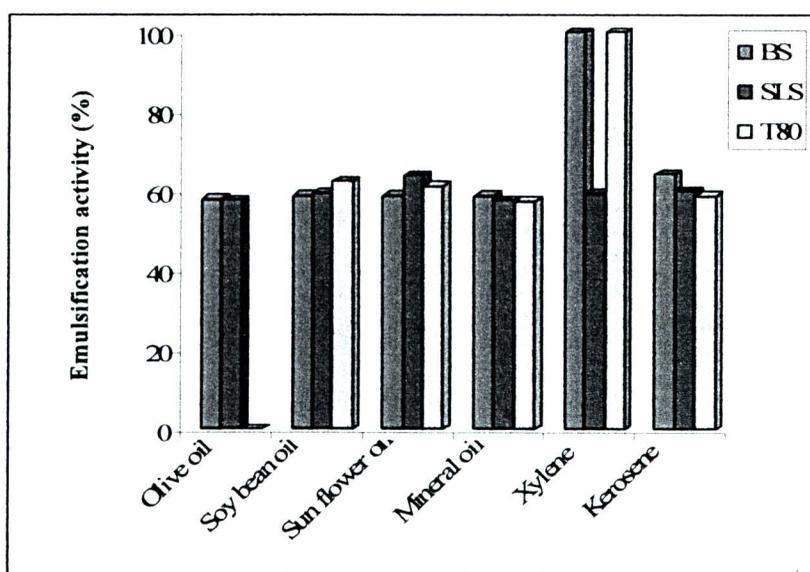
Oils	% Emulsion		
	BS	SLS	T80
Olive oil	92.42	86.15	89.70
Soy bean oil	93.94	86.57	89.23
Sun flower oil	89.95	91.04	90.91
Mineral oil	90.77	69.23	76.12
Xylene	100	92.64	100
Kerosene	97.14	70.77	83.82



รูปที่ 4.56: แสดงประสิทธิภาพของการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween80 ที่ความเข้มข้น 10% ต่อน้ำมันชนิดต่างๆ ในเวลาที่ทำกรทดลอง ณ อุณหภูมิ 75 °C

ตารางที่ 4.37: ประสิทธิภาพในการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween 80 ที่ความเข้มข้น 10% ต่อน้ำมันชนิดต่างๆ ในเวลา 24 ชั่วโมง (E24) ณ อุณหภูมิ 75 °C

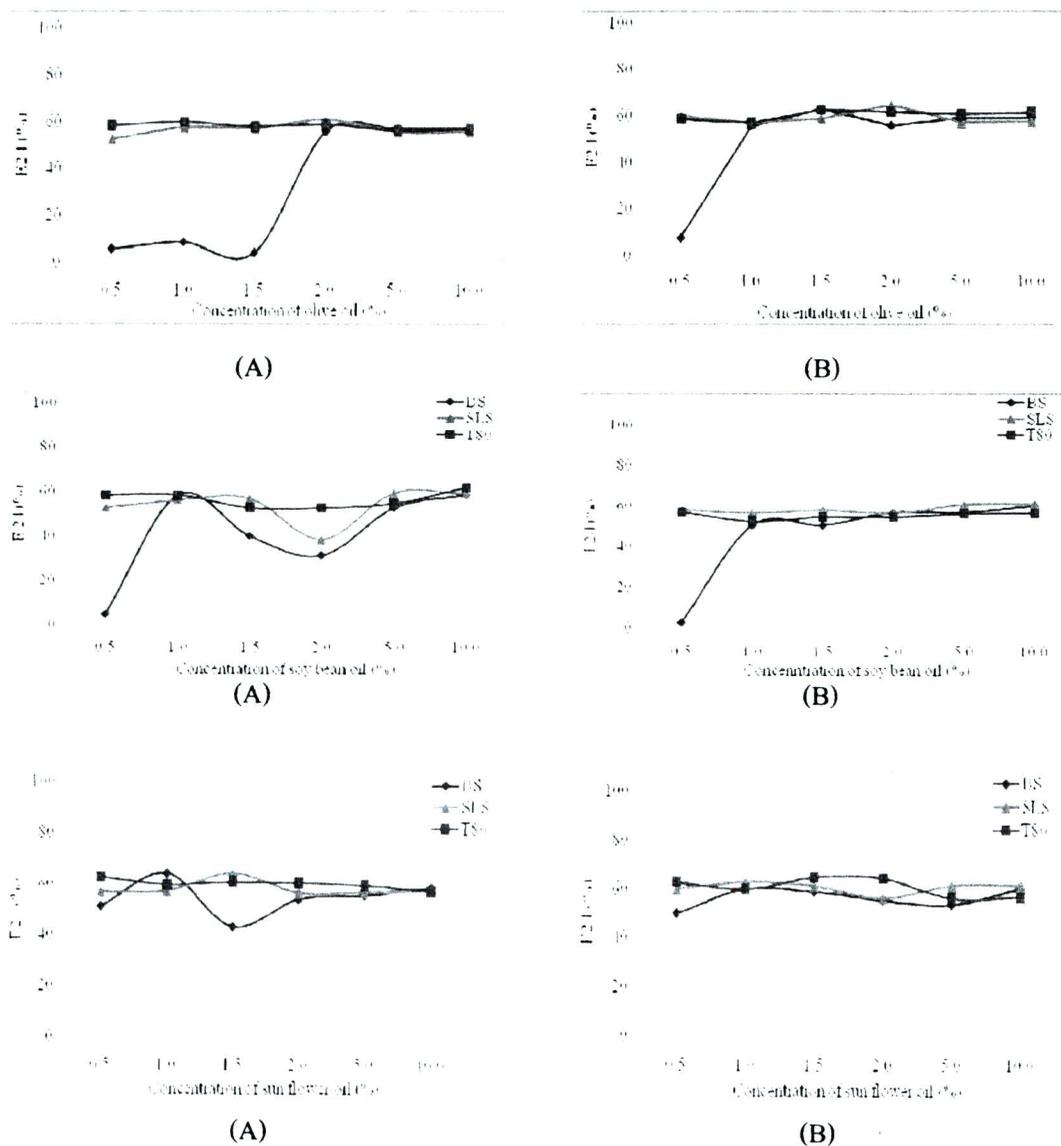
Oils	% Emulsification Activity (E24)		
	BS	SLS	T80
Olive oil	57.97	57.57	61.43
Soy bean oil	58.82	59.42	62.32
Sun flower oil	58.82	63.77	61.19
Mineral oil	58.82	57.58	57.35
Xylene	100.00	59.42	100.00
Kerosene	64.28	60.00	58.88



รูปที่ 4.57: แสดงประสิทธิภาพในการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween 80 ที่ความเข้มข้น 10% ต่อน้ำมันชนิดต่างๆ ในเวลาที่ในเวลา 24 ชั่วโมง (E24) ณ อุณหภูมิ 75 °C

กล่าวโดยสรุปได้ว่า จากการศึกษาคุณสมบัติในการก่ออิมัลชันนั้น ในการเตรียมที่อุณหภูมิห้อง สำหรับ vegetable oils (Olive oil, Soy bean oil, Sun flower oil) ที่ความเข้มข้น 0.5-1.5 % สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ มีความสามารถในการก่ออิมัลชันได้น้อยกว่า Tween 80 และ SLS แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น

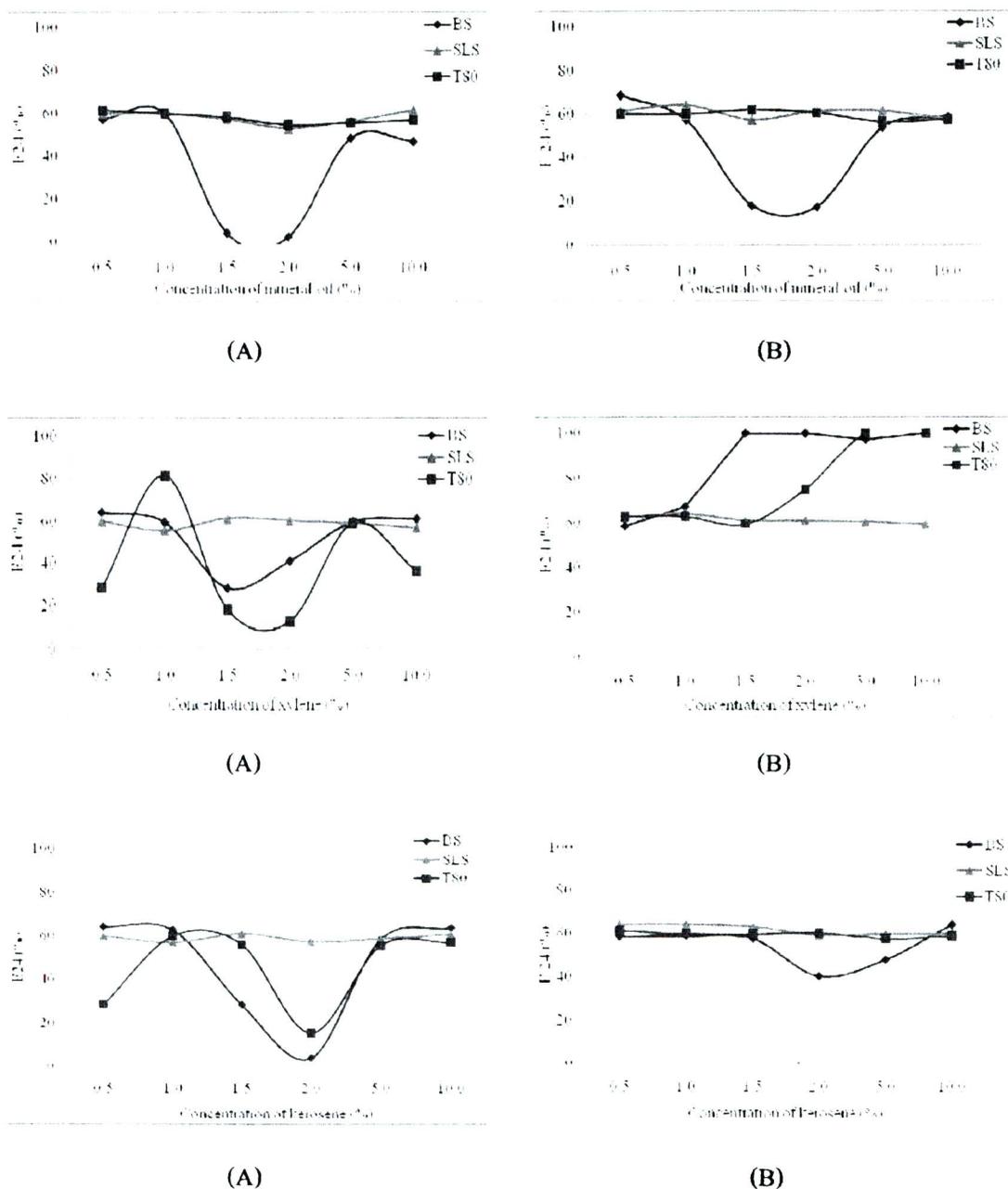
2-10 % สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ จะมีความสามารถในการก่ออิมัลชันได้ดีใกล้เคียงกับ Tween 80 และ SLS นอกจากนี้ยังพบว่า การเพิ่มอุณหภูมิในการเตรียมอิมัลชัน จะช่วยเพิ่มอำนาจในการก่ออิมัลชัน โดยมี % Emulsification Activity (E 0 และ E 24) เพิ่มขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 4.58



รูปที่ 4.58: ประสิทธิภาพในการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween 80 ที่ความเข้มข้น ความเข้มข้นต่างๆ ต่อ vegetable oils เปรียบเทียบการเตรียมที่อุณหภูมิ ห้อง (A) และที่ 75 °C (B)

ส่วนของ hydrocarbon oils (Mineral oil, Xylene, Kerosene) นั้น ในการเตรียมที่อุณหภูมิ ห้อง พบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ มีความสามารถในการก่ออิมัลชันได้น้อยกว่า Tween 80 และ SLS สำหรับ Mineral oil และ Kerosene แต่ สำหรับ Xylene, นั้น กลับพบว่า สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ มีความสามารถในการก่ออิมัลชันได้ดีกว่า Tween 80 และเมื่อ เพิ่มอุณหภูมิในการเตรียมอิมัลชัน จะช่วยเพิ่มอำนาจในการ

ก่ออิมัลชัน โดยมี % Emulsification Activity (E0 และ E 24) เพิ่มขึ้นเช่นกัน โดยที่สำหรับ Xylene, นั้น กลับพบว่า สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ มีความสามารถในการก่ออิมัลชันได้ดีกว่า Tween 80 และ SLS ดัง แสดงในรูปที่ 4.59



รูปที่ 4.59: ประสิทธิภาพในการเกิดอิมัลชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, SLS และ Tween 80 ที่ความเข้มข้น ความเข้มข้นต่างๆ ต่อ hydrocarbon oils เปรียบเทียบการเตรียมที่อุณหภูมิ ห้อง (A) และที่ 75 °C (B)

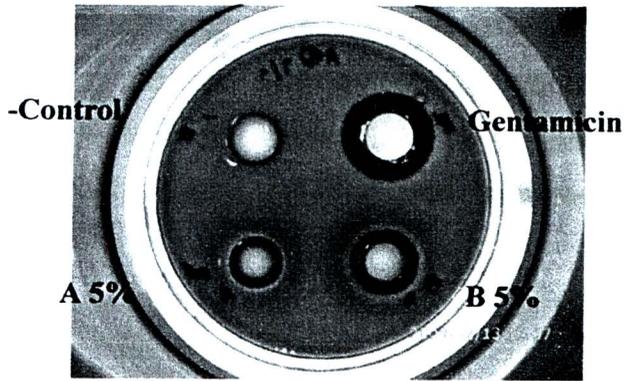
ตอนที่ 6: การศึกษาคุณสมบัติการต้านเชื้อแบคทีเรียของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

ผลจากการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ A (ผลิตครั้งที่ 1) และ B (ผลิตครั้งที่ 2) ที่ระดับความเข้มข้น 5% (ใช้น้ำในการละลาย) ต่อเชื้อแบคทีเรีย *β-hemolysis streptococcus group A*, *Staphylococcus aureus ATCC 29213*, MRSA (แบคทีเรียแกรมบวก) และเชื้อ *Escherichia coli ATCC 25922* (แบคทีเรียแกรมลบ) พบว่า สารลดแรงตึงผิวชีวภาพทั้ง A และ B สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้ดี แต่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli ATCC 25922* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบได้ ดังแสดงในตารางที่ 4.38 และรูปที่ 4.58 และมีค่า MIC และ MBC ดังแสดงในตารางที่ 4.39

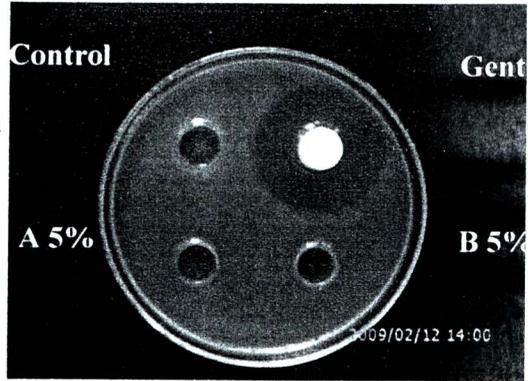
ตารางที่ 4.38: ผลการทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย โดยวิธี Agar cup ต่อเชื้อแบคทีเรีย

สารสกัด	Inhibition zone (mean ± SD ,mm.)		Inhibition zone (mean ± SD ,mm.)	
	<i>β-hemolysis streptococcus group A</i>	<i>Staphylococcus aureus ATCC 29213</i>	MRSA	<i>Escherichia coli ATCC 25922</i>
A 5%	14.5±0.70	25.17±0.23	24.83±0.24	-
B 5%	17.00±0.00	25.50±0.70	25.00±0.00	-
control	-	-	-	-
G	23.5±0.70	29.50±0.70	-	43.33±0.46

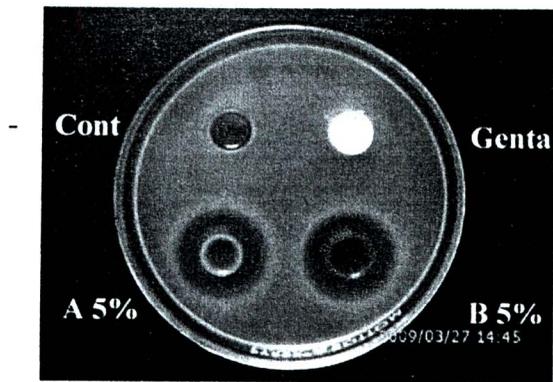
หมายเหตุ: A คือ ตัวอย่าง A, B คือ ตัวอย่าง B Control คือ น้ำ (Negative control)
G คือ Gentamicin (Positive control) - ไม่เกิด Inhibition zone



β-hemolysis streptococcus group A



Escherichia coli ATCC 25922



MRSA



Staphylococcus aureus ATTC 29213

รูปที่ 4.60: ผลการทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย โคขิวรี Agar cup ต่อเชื้อแบคทีเรีย

ตารางที่ 4.39: ค่า MIC และ MBC ต่อเชื้อแบคทีเรียของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

สารที่ทดสอบ	<i>S. aureus</i>		<i>MRSA</i>		<i>β group A</i>	
	ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)					
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
B	3.12	6.25	25	50	0.39	0.39
Gentamicin	0.39	0.78	-	-	0.19	0.78

ตอนที่ 7: การศึกษาทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ

ผลการประเมินประสิทธิภาพของสารต้านออกซิเดชัน

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในหลอดทดลอง พบว่า สารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันได้ โดยวิธี TBARS มีค่า $IC_{50} = 9.3$ mg/ml และวิธี DPPH มีค่า $IC_{50} = 3.8$ mg/ml ซึ่งมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันต่ำกว่าสารมาตรฐาน Quercetin, Kaempferol และ BHT. ดังแสดงในตารางที่ 4.40

ตารางที่ 4.40: ค่า IC_{50} ของ Biosurfactant และสารมาตรฐาน เมื่อทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี TBARS และ DPPH

sample	IC_{50} (mg/ml)	
	TBARS method	DPPH method
Biosurfactant	9.3	3.8
BHT	0.43	0.06
Quercetin	0.038	0.005
Kaempferol	0.121	0.011