บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* SCMU106 ซึ่งได้ศึกษาสภาวะการผลิตที่ให้ได้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่มีคุณภาพดีที่สุด ตามที่ได้รายงานไว้ในปีที่ 2 (รายงานฉบับสมบูรณ์ ปี พ.ศ. 2551) ดังนี้ ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วย monosodium glutamate 5g/L, K_2HPO_4 1.02 g/L, $MgSO_4.7H_2O$ 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 ปั่นด้วยใบพัดความเร็ว 500 รอบต่อนาที 48 ชั่วโมง ปั่นแยกเซลล์ออก แล้วทำให้แห้งด้วยเครื่อง freeze dryer ได้ผงแห้งสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (Freeze dried powder crude biosurfactant, FCBS) มีสีเหลือง ซึ่งได้ทดสอบกับความเป็นพิษกับเซลล์ vero-GFP (African green monkey kindy fibroblast) ผลปรากฏว่าไม่มีความเป็นพิษกับเซลล์ (รายงานฉบับสมบูรณ์ ปี พ.ศ. 2551)

จากนั้นนำมาแยกสกัด ทำให้บริสุทธิ์และทดสอบเอกลักษณ์ด้วยขบวนการทางเคมีวิธีต่างๆ เช่น การตกตะกอนด้วยกรดเข้มข้น HCl การทำปฏิกริยา hydrolysis และ methanolysis เป็นต้น รวมทั้งการใช้ TLC, Column chromatography, การตรวจวิเคราะห์ด้วย NMR และ LC-MS พบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่แยกได้ได้มีองค์ประกอบหลักเป็นน้ำตาลแรมโนส และ กรดไขมัน ซึ่งเป็นผลที่ยืนยันได้จากการทดสอบหลายวิธีร่วมกัน และผลจากการตรวจวิเคราะห์ด้วย LC-MS พบว่า สารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่แยกได้นี้คือ RhaRha-C10C10 มีมวลโมเลกุลประมาณ 649 มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็น dirhamnolipid

เมื่อนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ มาศึกษาคุณสมบัติเบื้องต้น พบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพละลายได้ดีใน น้ำกลั่น, 1% Tween 80 และ glycerin ละลายได้เล็กน้อยใน propylene glycol และ ethanol ไม่ละลายใน mineral oil เมื่อทดสอบการระคายเคือง โดยวิธี Zein test พบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพไม่ก่อระคายเคือง โดยมีค่า Zein number =0.0207 สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ มีคุณสมบัติในการทำให้เปียกที่ดีพอๆกับ Sodium lauryl sulfate (SLS) โดยที่เมื่อทำการทดสอบหา wetting time พบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพใช้เวลาในการทำให้สำลีเปียกชุ่มเท่ากับ 1 วินาที ซึ่งเท่ากับสารละลาย SLS เมื่อทดสอบการเกิดฟอง พบว่า สารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีคุณสมบัติในการเกิดฟองน้อยกว่า SLS แต่ให้ฟองที่ละเอียดกว่า ในการทดสอบ detergency property พบว่า สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ มี detergency property ที่น้อยกว่า Tween 80 และ SLS (squalene titer point เท่ากับ 21.21, 27.03 และ30.72 ตามลำดับ) สำหรับคุณสมบัติในการก่ออิมัลชั่นนั้น สำหรับ hydrocarbon oils (Mineral oil, Xylene, Kerosene) พบว่า สารลดแรงตึงผิวชีวภาพมีความสามารถในการก่ออิมัลชั่น ได้น้อยกว่า Tween 80 และ SLS (Mineral oil และ Kerosene) แต่ ยกเว้นสำหรับ Xylene, นั้น กลับพบว่า สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ มีความสามารถในการก่ออิมัลชั่นได้ดีกว่า Tween

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

80 ในส่วนของ vegetable oils (Olive oil, Soy bean oil , Sun flower oil) ในการเตรียมที่อุณหภูมิห้องนั้น พบว่า ที่ความเข้มข้น 0.5-1.5 % สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ มีความสามารถในการก่ออิมัลชั่นได้น้อยกว่า Tween 80 และ SLS แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 2-10 % สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ จะมีความสามารถในการก่ออิมัลชั่นได้ดีใกล้เคียงกับ Tween 80 และ SLS นอกจากนี้ยังพบว่า การเพิ่มอุณหภูมิในการเตรียมอิมัลชั่น จะช่วยเพิ่มอำนาจในการก่ออิมัลชั่น โดยมี % Emulsification Activity (E0) ที่ เพิ่มขึ้นในทุกกรณี

เมื่อนำสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ มาศึกษาทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย พบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 5% สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ สารมารถยับยั้งเชื้อ *β-hemolysis streptococcus group A, Staphylococcus aureus ATTC 29213, Methicillin resistant Staphylococcus aureus (MRSA)* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวกได้ดี แต่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli ATCC 25922* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบได้ และมีค่า MIC 0.39-25 mg/ml และ ค่า MBC 0.39-30 mg/ml ตามลำดับ

เมื่อนำ สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ มาศึกษาทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในหลอดทดลอง พบว่า สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน โดยวิธี TBARS มีค่า IC_{50}= 9.3 mg/ml และวิธี DPPH มีค่า IC_{50}= 3.8 mg/ml ซึ่งมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันต่ำกว่าสารมาตรฐาน Quercetin, Kaempferol และ BHT.

ผลจากการวิจัยนี้สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* SCMU106 ที่แยกได้จากดินที่ปนเปื้อนน้ำมันในอู่ซ่อมรถ ซึ่งได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตระดับ pilot scale ใน fermenter ขนาด5 ลิตร (ดังได้กล่าวข้างต้นนี้) ซึ่งสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้นี้ มีประสิทธิภาพและปลอดภัย สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพและความงามได้ต่อไป โดยการนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สำหรับใช้ภายนอกในการต้านเชื้อแบคทีเรียที่ผิวหนัง หรืออาจนำมาเตรียมเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางสำหรับชะลอความแก่ เนื่องจากมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่ดี ซึ่งงต้องมีการทดสอบประสิทธิภาพทางคลินิคและทดสอบการระคายเคืองต่อผิวหนังในอาสาสมัคร ก่อนนำมาใช้ประโยชน์ในอนาคต