

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษากระบวนการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง เพื่อการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากน้ำมันปาล์มดิบโดยจุลินทรีย์ *Pseudomonas* sp.A41 มีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มอัตราการผลิตของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากกระบวนการหมักแบบไม่ต่อเนื่องโดยแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่ใช้คือน้ำมันปาล์มดิบและใช้แอมโมเนียมซัลเฟตตามลำดับ ซึ่งในส่วนของงานวิจัยได้มีการศึกษาถึงผลของอัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N) ที่มีต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ โดยอัตราส่วนของ C/N ที่ใช้มีค่า 5, 50, 100, 150 และ 200 ตามลำดับโดยจะกำหนดความเข้มข้นของน้ำมันปาล์มดิบแห้งที่ 20 กรัมต่อลิตร ส่วนปริมาณไนโตรเจนจะเปลี่ยนไปตามอัตราส่วนของ C/N ต่างๆ ซึ่งจากการทดลองในขวดรูปชมพู่พบว่า ที่อัตราส่วนของ C/N เท่ากับ 50 จะให้อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงที่สุด เท่ากับ 0.86 ต่อชั่วโมง Y_{xc} และ Y_{xn} มีค่า 0.27 และ 3.11 กรัมต่อกรัมสารตั้งต้นตามลำดับ และที่อัตราส่วนของ C/N 150 จะให้อัตราการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพสูงที่สุดเท่ากับ 8.49 มิลลิวัตตันต่อเมตรต่อกรัมเซลล์ต่อชั่วโมง ค่า Y_{pc} สูงที่สุดเท่ากับ 3.40 มิลลิวัตตันต่อเมตรต่อกรัม น้ำมันปาล์มดิบ ดังนั้นจึงนำสองอัตราส่วนนี้มาใช้ในกระบวนการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง โดยศึกษาถึงผลของเวลาที่ใช้ในการเปลี่ยนอัตราส่วนของ C/N จาก 50 ไปเป็น 150 โดยเวลาที่ใช้ในการเปลี่ยนอัตราส่วนคือ เวลาที่ 6, 9, 12 และ 15 ชั่วโมง ควบคุมความเข้มข้นของสารตั้งต้นให้คงที่ ทำได้โดยอาศัยการป้อนสารอาหารแบบทวีคูณ ควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดต่างที่ 7.5 อัตราการให้อากาศที่ 60 เปอร์เซ็นต์วากาศอิมิตัว ความเร็วรอบของการปั่นกวนที่ 600 รอบต่อนาที ซึ่งพบว่าในช่วงแรกให้อัตราส่วน C/N เท่ากับ 50 จุลินทรีย์มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะใกล้เคียงกัน แต่หลังจากช่วงการเจริญเติบโตแบบทวีคูณ อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะจะลดลงเช่นเดียวกับอัตราการผลิตผลิตภัณฑ์จำเพาะและผลได้ของเซลล์และผลิตภัณฑ์ต่อสารตั้งต้น โดยพบว่าเมื่อทำการเปลี่ยนอัตราส่วน C/N ที่ 12 ชั่วโมงจะให้อัตราการเจริญเติบโต สูงที่สุด 0.19 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง แต่ก็ให้อัตราการผลิตต่ำที่สุด 0.03 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ในขณะที่การเปลี่ยน C/N ที่เวลาอื่นมีอัตราการผลิตเท่ากับ 0.04 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง นั้นแสดงว่าเวลาในการเปลี่ยน C/N มีผลต่อการผลิตเซลล์มากกว่าอัตราการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ กระบวนการหมักแบบกึ่งต่อเนื่องให้อัตราการผลิตเซลล์และสารลดแรงตึงผิวชีวภาพสูงกว่าการเพาะเลี้ยงแบบไม่ต่อเนื่อง 126.92 และ 25 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ หลังจากนั้นได้มีการทดสอบประสิทธิภาพ (Effectiveness) การทำงานของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้เปรียบเทียบกับสารลดแรงตึงผิวที่ทางกองทัพเรือ ใช้พบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ผลิตได้มีประสิทธิภาพมากกว่าสารลดแรงตึงผิวที่ทางกองทัพเรือใช้ 7.13 เปอร์เซ็นต์

This project is the study of fed-batch fermentation for biosurfactant production from crude palm oil by *Pseudomonas* sp. A41 with the objective of increasing biosurfactant productivity from batch process. Carbon and nitrogen sources used were crude palm oil and ammonium sulphate, respectively. The first part of project was to investigate effects of carbon to nitrogen mole ratio (C/N) on specific growth and production rate. The ratio studied were respectively, 5, 50, 100, 150 and 200 and obtained by keeping initial crude palm oil concentration constant at 20 g l⁻¹ in every cases, while varying ammonium sulphate concentration in accordance to the specified C/N ratios. Experimental result in shake flasks indicated that at C/N equals to 50, specific growth rate was at the maximum value at 0.86 hr⁻¹. $Y_{x/c}$ and $Y_{x/n}$ were 0.27 g g⁻¹ oil and 3.11 g g⁻¹ ((NH₄)₂SO₄), respectively. On the other hand, specific production rate and $Y_{p/c}$ were found optimum at C/N equals 150 at value of 8.49 mM⁻¹g cell⁻¹hr⁻¹ and 3.40 mM⁻¹g⁻¹, respectively. This C/N ratios were further applied as controlled condition in fed batch fermentation. Fed-batch fermentation experiments were carried out to investigate switching time from C/N equals 50 to 150, these switching time were 6, 9, 12 and 15 hours of fermentation. Exponential feed strategy was used to control nutrient concentrations. Other operating conditions were 30°C, pH 7.5, 60% air saturation, and stressing speed of 600 rpm. The highest specific growth and production rates were found within the first six hours and later decreased. Switching time of 12 hrs was give highest growth rate of 0.19 g l⁻¹hr⁻¹. Other switching time gave equal production rate at 0.04 g.l⁻¹hr⁻¹. It was, therefore, conclude that switching time had more effect on cell growth than biosurfactant production. Fed batch fermentation strategy according to high growth rate and production rate than batch fermentation were 126.92% and 25% respectively. The final part of the project was to test effectiveness of biosurfactant produced in comparison to a surfactant with is currently used in the Royal Navy. The biosurfactant produced demonstrated 7.13% higher effectiveness than the commercial surfactant.