สำนักงานวิทยทรัพยากร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ประวัติความเป็นมา

พอลิเมอร์เป็นสารที่เกิดจากหน่วยย่อยมาเชื่อมต่อกัน ที่รู้จักกันดีได้แก่ พอลิเพพไทด์ที่เกิดจากการเชื่อมต่อกันของกรดอะมิโน และพอลิแซ็กคาไรด์ที่เชื่อมต่อกันโดยหน่วยย่อยของมอโนแซ็กคาไรด์จำนวนย่อย หากมีจำนวนมากจะทำให้มีน้ำหนักโมเลกุลสูง มีสมบัติอุ้มน้ำได้ (Morin, 1998) เมื่อละลายน้ำทำให้มีสมบัติ 2 ประการ คือ ก่อให้เกิดลักษณะข้นหนืดหรือคอลลอยด์ (Thickening agent) และเจล (Gelling Agent) (Mitchell, 1979) ซึ่งเป็นลักษณะที่พึงประสงค์ในอุตสาหกรรมอาหารประเภทที่ต้องการความหนืดหรือข้น (Shih และคณะ, 2001; Ashiuchi และคณะ, 2004) พอลิแซ็กคาไรด์มีประโยชน์ใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น อุตสาหกรรมขุดเจาะน้ำมัน อุตสาหกรรมทอผ้า อุตสาหกรรมเคมี อุตสาหกรรมอาหาร (Margaritis และ Pace, 1985) อุตสาหกรรมการทำความสะอาด การบำบัดน้ำเสีย อุตสาหกรรมเครื่องสำอางค์ อุตสาหกรรมยา และใช้เป็นสารปรุงแต่งในอาหาร ฯลฯ (Yalpani, 1987) และยังมีสมบัติอื่นๆอีกขึ้นอยู่กับสมบัติเฉพาะตัวของพอลิแซ็กคาไรด์นั้นๆ ทำให้สามารถนำไปใช้งานได้หลากหลาย เช่น ใช้เป็นสารอิมัลซิไฟเออร์ สารทำให้เสถียร สารจับเกาะ สารก่อเจล สารทำให้เลือดแข็งตัว สารหล่อลื่น สารขึ้นรูปฟิล์ม สารทำข้น สารที่ให้แขวนลอย (Margaritis และ Pace, 1985) สารช่วยจับตกตะกอน (Flocculation) และสารดูดซับ (Absorption) (Yalpani, 1987) นอกจากนี้ยังมีกิจกรรมทางด้านสรีรวิทยาที่หลากหลายในคน เช่น การต่อต้านมะเร็ง (anti-tumor) ไวรัส (Anti-viral) และการอักเสบ (Anti-inflammatory) และสามารถเป็นตัวกระตุ้นสำหรับ Interferon Platelet Aggregation Inhibition และ Colony Stimulating Factor Synthesis (Calazans GMT, 1997)

ปัจจุบันพอลิแซ็กคาไรด์ที่ใช้ในอุตสาหกรรมสามารถผลิตได้จากธรรมชาติ และจากการสังเคราะห์ที่มีจำหน่ายในท้องตลาดซึ่งผลิตได้จาก พืช สัตว์ และจุลินทรีย์ โดยแหล่งใหญ่ๆ ผลิตได้จากพืชและสัตว์ (Whistler และ Miller, 1993) สำหรับจุลินทรีย์นั้นเป็นแหล่งผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ที่สำคัญเช่นกัน เพราะสามารถผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีโครงสร้างแตกต่างกันกว่า 200 ชนิด ในขณะที่พอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้จากพืชมีเพียง 25 ชนิด (Linton และคณะ, 1991) ในปัจจุบันการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์จากจุลินทรีย์ทวีความสำคัญมากขึ้น เนื่องจากพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้มีสมบัติเฉพาะตัวที่ดี เช่น แซนแทนกัมมีสมบัติด้านความหนืด ความเสถียรต่อความเป็น

กรดและด่างที่กว้าง สามารถทนต่ออุณหภูมิที่สูง (Thermotolerance) และอีกประการที่สำคัญ คือ ในการผลิตเอกโซพอลิแซ็กคาไรด์จากจุลินทรีย์สามารถควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์ที่ได้ โดยไม่ต้องคำนึงถึงสภาพดินฟ้าอากาศ ฤดูกาล หรือมลพิษทางทะเล ในขณะที่เราต้องคำนึงถึงปัจจัยเหล่านี้เมื่อผลิตพอลิแซ็กคาไรด์จากพืชหรือสาหร่าย (จันทร์จนา ตันสกุล, 2539) การผลิตพอลิแซ็กคาไรด์จากแบคทีเรียมีข้อได้เปรียบ คือ สามารถควบคุมคุณภาพของพอลิแซ็กคาไรด์ได้โดยควบคุมภาวะที่ใช้ในการหมัก และสามารถผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ได้เป็นจำนวนมาก ส่วนการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์จากพืชยังมีข้อจำกัด คือ พืชชนิดหนึ่งๆ มักจะผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ได้หลายชนิดพร้อมๆกัน ทำให้ต้องมีขั้นตอนในการแยกพอลิแซ็กคาไรด์ตัวที่ต้องการออกมา ทำให้มีค่าใช้จ่ายสูง (Whistler, 1993)

จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ได้มีทั้งจุลินทรีย์ที่ก่อโรคและจุลินทรีย์ที่ไม่ก่อโรค โดยพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้จากจุลินทรีย์ต่างชนิดกัน จะให้การสร้างและหน้าที่แตกต่างกันไป (Paul, 1979)ส่วนใหญ่พอลิเมอร์จากแบคทีเรียจะเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่ปลดปล่อยออกนอกเซลล์เพื่อใช้เป็นชั้นแคปซูล สำหรับป้องกันเซลล์ และเป็นอาหารสะสมไว้ใช้เมื่อขาดแคลน (Shih และคณะ, 2001; Ashiuchi และคณะ, 2004) หรือบางชนิดที่สร้างและปล่อยออกมาภายนอกเซลล์โดยละลายอยู่ในอาหารเหลวเรียกว่า พอลิแซ็กคาไรด์นอกเซลล์ หรือ เอกโซพอลิแซ็กคาไรด์ (EPS) จึงนิยมนำมาใช้ในการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ในระดับอุตสาหกรรมมากกว่าจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ เพราะง่ายต่อการสกัด และแยกออกจากผนังเซลล์ (Paul, 1979) สารพวกนี้แม้จะมีโครงสร้างที่มีขนาดใหญ่และบางกรณีซับซ้อน แต่จุลินทรีย์สามารถผลิตได้ง่ายและรวดเร็วจากวัตถุดิบที่มีราคาถูก จึงมีการใช้สารเหล่านี้ในปริมาณมากแทนสารที่ต้องสังเคราะห์ทางเคมี (Stauffer และ Leeder., 1978)

อย่างไรก็ตามในกระบวนการผลิตสารจำพวกพอลิเมอร์ที่ดำเนินการอยู่นั้น ส่วนประกอบจำนวนมากยังต้องพึ่งพาจากต่างประเทศ ทำให้ต้องสูญเสียรายได้จากการนำเข้าสิ่งเหล่านี้ ดังนั้นหากเราสามารถผลิตสารเหล่านี้ได้เอง ซึ่งทำได้โดยการใช้จุลินทรีย์ที่มีอยู่ผนวกกับการใช้เทคนิคทางเทคโนโลยีชีวภาพ โดยเฉพาะการใช้จุลินทรีย์ ซึ่งประเทศไทยเป็นประเทศในเขตร้อนชื้นที่มีความหลากหลายของจุลินทรีย์สูง ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้บางชนิดสามารถผลิตสารทางชีวภาพที่มีคุณค่าสูงโดยใช้วัสดุทางการเกษตรได้ ก็จะเป็นการผลิตสารเหล่านี้ได้เองในประเทศทดแทนการนำเข้าจากต่างประเทศ ดังมีรายงานว่าสารพวกเดกซ์แทรนโดย *Leuconostoc mesenteroides* แซนแทนโดย *Xanthomonas campestris* (Stauffer และ Leeder., 1978) เคอร์ดแลนโดย *Alcaligenes faecalis* var. *myxogenes* (Harada, 1977) สเคลอโรกลูแคนโดย

Sclerotium roffsii ฯลฯ (Harada, 1977; Stauffer และ Leeder., 1978) ซึ่งเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้โดยแบคทีเรียและรา พอลิเมอร์แต่ละชนิดก็มีข้อดีข้อด้อยภายในตัวมันเองตามชนิดการใช้งานที่ต้องการ

จุลินทรีย์ที่มีความเหมาะสมต่อการผลิตพอลิเมอร์ที่พึงประสงค์ได้แก่ 1) พอลิเมอร์ที่ผลิตได้ให้ความหนืดสูงที่ความเข้มข้นที่ต่ำ 2) ให้สมบัติทางกายภาพที่ดี 3) สามารถผลิตได้อย่างมีประสิทธิภาพโดยการใช้แหล่งคาร์บอนที่มีราคาถูก และ 4) พอลิเมอร์ถูกปลดปล่อยสู่อาหารเพาะเลี้ยงภายในเวลาอันสั้น (น้อยกว่าหนึ่งอาทิตย์) แต่เชื้อที่แยกจากธรรมชาติอาจให้ผลตรงเพียงบางข้อ จึงจำเป็นต้องมีการหาภาวะที่เหมาะสมเพิ่มด้วย จากข้อมูลนี้จะเห็นได้ว่า มีปัจจัยหลายประการที่สำคัญต่อการคัดเลือกเชื้อและชนิดของพอลิเมอร์ที่ต้องการ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีเป้าหมายที่จะผลิตพอลิเมอร์จากจุลินทรีย์ที่มีความปลอดภัยเป็นที่ต้องการในอุตสาหกรรม ทำให้สามารถแข่งขันกับประเทศผู้ผลิตอื่นได้ ซึ่งแม้ว่าสิ่งเหล่านี้มีรายงานการผลิตอยู่แล้วในประเทศอื่นๆ แต่ประเทศไทยมีวัตถุดิบในรูปผลผลิตการเกษตรที่สามารถนำมาใช้เลี้ยงจุลินทรีย์ให้ผลิตสารเหล่านี้ได้ จึงเท่ากับเป็นการดำเนินการชนิดเพิ่มมูลค่าจากสิ่งเหลือใช้มาเปลี่ยนให้เป็นสิ่งที่มีราคาสูงขึ้น และยังอาจได้สารชนิดใหม่ที่เป็นประโยชน์ได้ด้วย ความรู้ที่ได้รับจะทำให้สามารถผลิตสารเหล่านี้ได้เอง เพื่อใช้อย่างน้อยที่สุดภายในประเทศแทนการนำเข้าจากต่างประเทศ อันจะยังผลให้ผลผลิตมีราคาถูกลงสามารถแข่งขันกับประเทศอื่นได้

1.2 วัตถุประสงค์

เพื่อคัดเลือกและจำแนกชนิดแบคทีเรียที่สามารถผลิตสารจำพวกพอลิแซ็กคาไรด์โดยที่ให้ผลผลิตสูง ศึกษาส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ และภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ รวมทั้งวิเคราะห์องค์ประกอบเบื้องต้นและหาสมบัติของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้

1.3 ขั้นตอนการดำเนินการ

1 คัดเลือกแบคทีเรียสายพันธุ์ที่มีความสามารถในการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ได้ในปริมาณสูง

2 ศึกษาทางอนุกรมวิธานของแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ได้ในปริมาณสูง และวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 16SrDNA

3 ศึกษารูปแบบการเจริญและการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ในอาหารเหลว

4 ศึกษาสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ และปริมาณส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์

หอสมุดกลาง สำนักงานวิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

5 หาภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์

6 วิเคราะห์การเจริญของแบคทีเรียและสกัดแยกพอลิแซ็กคาไรด์

7 ศึกษาสมบัติของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้

8 เตรียมพอลิแซ็กคาไรด์ให้บริสุทธิ์บางส่วน และตรวจสอบผลิตภัณฑ์จากการย่อยสลายพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้ ด้วยชุดเครื่องมือไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี (high performance liquid chromatography, HPLC) และเครื่องสเปกโทรมิเตอร์ โดยโปรแกรม UV WINLAB

1.4 ประโยชน์ที่ได้รับ

งานวิจัยนี้ทำให้สามารถผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ได้ปริมาณสูงในภาวะที่เหมาะสมจากแบคทีเรียที่คัดเลือกได้ และอาจเป็นชนิดใหม่ๆ ที่มีสมบัติดีขึ้น รวมทั้งทราบองค์ประกอบและสมบัติเบื้องต้นของพอลิแซ็กคาไรด์ ซึ่งเป็นข้อมูลเพื่อนำไปใช้พัฒนาอุตสาหกรรมประเภทต่างๆ