บทที่ 2

ทบทวนเอกสาร

Acetobacter xylinum

แบคทีเรียในแฟมิลี Acetobacteraceae อยู่ในกลุ่ม Alphaproteobacteria ประกอบด้วย 6 จีนัส คือ *Acetobacter, Acidomona, Asaia, Gluconacetobacter, Gluconobacter* และ *Kozakia* ลักษณะทั่วไปของ *Acetobacter* (ตาราง 1) มีรูปร่างตั้งแต่รูปไข่ จนกระทั่งรูปร่างแท่งตรง หรือโค้งงอเล็กน้อย ติดสีกรัมลบ เซลล์มีขนาดกว้างxยาว ประมาณ 0.6-0.8 μm x 1.0-1.4 μm มักอยู่แบบเดี่ยว เป็นคู่ หรือเป็นสายโซ่ เซลล์มีทั้งเคลื่อนที่ได้และไม่ได้ หากเซลล์เคลื่อนที่ได้ จะมีแฟลกเจลลาเป็นแบบ Peritrichous หรือ มีแฟลกเจลลาที่ด้านข้าง ไม่พบการสร้างเอนโดสปอร์ เป็น Obligate aerobe เมตาบอลิซึ่มเป็นแบบใช้ออกซิเจน โคโลนีมีสีขาว ซึ่งสายพันธุ์ส่วนใหญ่จะไม่สร้างรงควัตถุ (Pigments) บางสายพันธุ์สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ หรือมีโคโลนีเป็นสีชมพูจากสาร Porphyrins ที่สร้างขึ้น แบคทีเรียให้ผลบวกกับ Catalase test แต่ให้ผลลบกับ Oxidase test ไม่สามารถย่อยเจลาติน และไม่สร้าง H_2S สามารถออกซิไดซ์ เอธานอลให้กลายเป็นกรดอะซีติกได้ ซึ่งกรดอะซีติกจะถูกออกซิไดซ์ต่อให้กลายเป็น CO_2 และ H_2O สามารถใช้เอธานอล กลูโคส และกลีเซอรอลเป็นแหล่งของคาร์บอนเพื่อการเจริญได้

กรดสร้างจาก *n*-propanol, *n*-butanol และ D-Glucose เชื้อในจีนัสนี้ไม่สามารถสลายแลคโตส และแป้งได้ แบคทีเรียอยู่ในกลุ่มของ Chemoorganotroph สามารถเจริญได้ดีในอุณหภูมิระหว่าง 25 - 30°C และ pH ที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตอยู่ระหว่าง 5.4 – 6.3

แบคทีเรียในจีนัส *Acetobacter* แยกได้จากน้ำส้มสายชู เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ เช่น สาเก เบียร์ ไวน์ ไซเดอร์ เตกิลลา ไวน์ปาล์ม และไวน์โกโก้ นอกจากนี้ เชื้อดังกล่าวยังสามารถแยกได้จากผลไม้อาทิ องุ่น ฝรั่ง ซาโปดิลลา มะเฟือง มังคุด มะม่วง กล้วย มะละกอ ดอกไม้ และจากแหล่งอื่นๆ เช่นน้ำมะพร้าว เมล็ดปาล์มและเต้าหู้ (Kersters *et al.*, 2006) เชื้อในจีนัสนี้ บางสายพันธุ์ทำให้เกิดโรค Pink disease ใน น้ำสับปะรด เกิดโรคเน่าในแอปเปิลและแพร์ (Holt *et al.*, 1994)

ตาราง 1 ลักษณะทั่วไปของแบคทีเรียในจีนัส *Acetobacter*

ลักษณะ	Genus *Acetobacter*
การย้อมกรัม (Gram reaction)	Negative
รูปร่างเซลล์	Rods or coccobacilli, straight or curved
เส้นผ่าศูนย์กลางเซลล์ ,µm	0.6 – 0.8
การเคลื่อนที่ของเซลล์ในอาหารเหลว	+ หรือ -
การจัดเรียงตัวของแฟลกเจลลา	
Polar or subpolar	-
Lateral	+
การเจริญที่ 60°C หรือสูงกว่า	-
ปฏิกิริยาจากเอนไซม์ Oxidase	-
การออกซิไดซ์เอธานอลเป็นกรดอะซีติกที่ pH 4.5	+
การออกซิไดซ์เอธานอลที่มากเกินไป	+
การออกซิไดซ์ DL-Lactate ให้กลายเป็น CO_2 และ H_2O	+
การออกซิไดซ์ Acetate ให้กลายเป็น CO_2 และ H_2O	+
การตรึง N_2 ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนจำกัด	+ หรือ -
การเป็นเชื้อก่อโรคในสิ่งมีชีวิต	
มนุษย์ และ/หรือ สัตว์	-
พืช	+
การสร้างคีโตน (Ketogenesis)	+ หรือ -
การสร้างรงควัตถุสีน้ำตาลละลายน้ำได้บนอาหาร GYC	-
ความต้องการ Growth Factors	+ หรือ -

ตาราง 1(ต่อ)

ลักษณะ	Genus *Acetobacter*
ผลิตภัณฑ์ที่สร้างจาก D-glucose	
2-Ketogluconic acid	+ หรือ –
5-Ketogluconic acid	+ หรือ –
2,5-Diketogluconic acid	+ หรือ –
Acetylmethylcarbinol (Voges-Proskauer)	+ หรือ –
การเจริญที่ความเข้มข้นของกลูโคส 30%	-
การเจริญบนอาหาร Frateur's Hoyer mannitol medium	-
การสร้างกรดจาก	
D-Arabinose	-
i-Inositol	-
Maltose	-
การเจริญในแหล่งคาร์บอน	
L-Arabinose	-
D-Mannose, D-lyxose, L-lyxose	-
n-Propanol	+ หรือ –
Acetate	+ หรือ –
Glycerate	+ หรือ –
Lactate	+ หรือ –
D-Mannitol	+
Methanol	-

หมายเหตุ: + หรือ – คือ ปฏิกิริยามีความแตกต่างระหว่างสปีชีส์ หรือระหว่างสายพันธุ์ในสปีชีส์

ที่มา: Holt *et al.*, 1994

Acetobacter xylinum เป็นแบคทีเรียที่มีรูปร่างแท่ง ติดสีกรัมลบ ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต (Aerobic) สามารถสร้างเซลลูโลสออกมานอกเซลล์ได้ เจริญได้ดีในอาหารที่มีเอธานอลและกลูโคส เป็นแหล่งของคาร์บอนได้ สามารถสร้าง 5-Ketogluconic acid จากกลูโคส (ตาราง 2) มี Doubling Time ในสภาวะการเลี้ยงแบบสภาวะนิ่ง (Static culture) อยู่ที่ระหว่าง 8-10 ชั่วโมง และในสภาวะเขย่า (Agigated system) ที่ 4-6 ชั่วโมง (Bungay *et al.*, 1997)

ตาราง 2 ลักษณะเฉพาะของ *Acetobacter xylinum*

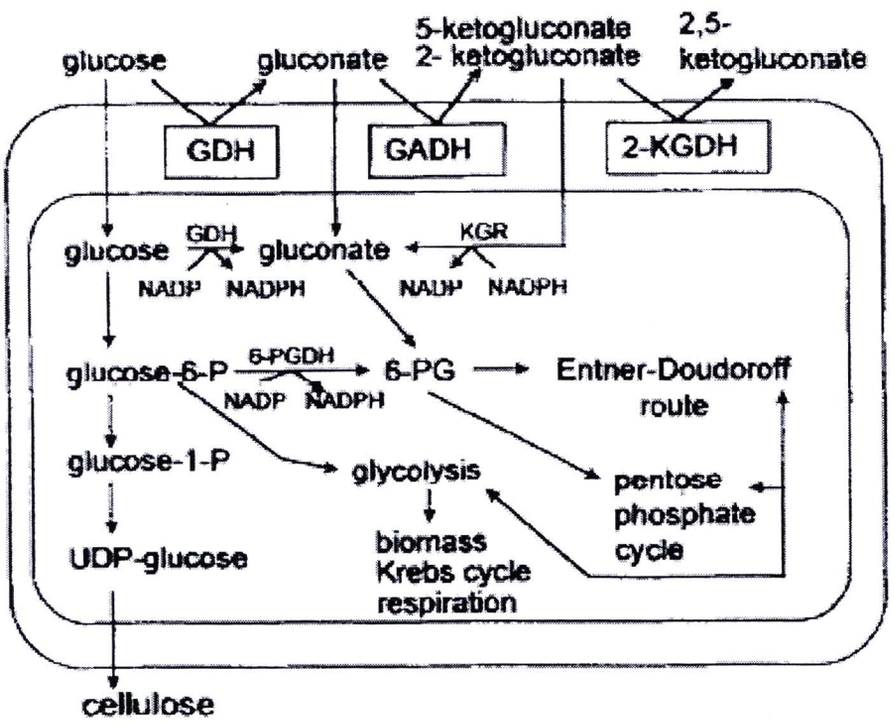
ลักษณะ	*Acetobacter xylinum*
การสร้าง	
รงควัตถุสีน้ำตาลละลายน้ำได้บนอาหาร GYC	-
Gamma-pyrones จาก D-Glucose	-
Gamma-pyrones จาก D-Fructose	-
5-Ketogluconic acid จาก D-Glucose	+
2,5-Diketogluconic acid จาก D-Glucose	-
การสร้างคีโตนจากกลีเซอรอล	+
การเจริญจากแหล่งคาร์บอน	
เอธานอล	+
Dulcitol	-
Sodium acetate	-
Methanol	-
การเจริญในกรดอะมิโนที่ปรากฏอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ D-Mannitol เป็นแหล่งคาร์บอน	
L-glycine, L-threonine, L-tryptophan	-
L-glutamine	-
L-asparagine	-
การเจริญในอาหารที่มี 10% Ethanol	-
การเจริญในอาหารที่มีกลูโคสความเข้มข้น 30%	-

หมายเหตุ: + หรือ – คือ ปฏิกิริยามีความแตกต่างระหว่างสปีชีส์ หรือระหว่างสายพันธุ์ในสปีชีส์

ที่มา: Holt *et al.*, 1994

เมตาบอลิซึ่มของคาร์บอนใน *Acetobacter xylinum*

Acetobacter xylinum มีความสามารถในการใช้แหล่งคาร์บอนที่หลากหลายชนิด กระบวนการที่เกี่ยวข้อง กับการเมตาบอลิสมคาร์โบไฮเดรตของ *Acetobacter xylinum* มี ด้วยกัน 2 Pathways คือ วัฏจักร Pentose Phosphate สำหรับการออกซิเดชันคาร์โบไฮเดรต และ วัฏจักรเครปส์ (Krep's cycle) สำหรับการออกซิเดชันกรดอินทรีย์และสารที่เกี่ยวข้อง (ภาพ 1) ใน *A. xylinum* จะไม่พบฟอสโฟฟรุกโตไคเนส หรือพบได้น้อย ส่งผลให้ปฏิกิริยาไกลโคไลติกไม่เกิดขึ้น หรือเกิดขึ้นได้น้อย แสดงให้เห็นว่า *A. xylinum* ไม่สามารถใช้กลูโคสได้ในสภาวะไร้ออกซิเจน (Vandamme *et al.*, 1997)



ภาพ 1 วิถีเมตาบอลิซึ่มคาร์บอนของ *A. xylinum*

ที่มา: Vandamme *et al,* 1997

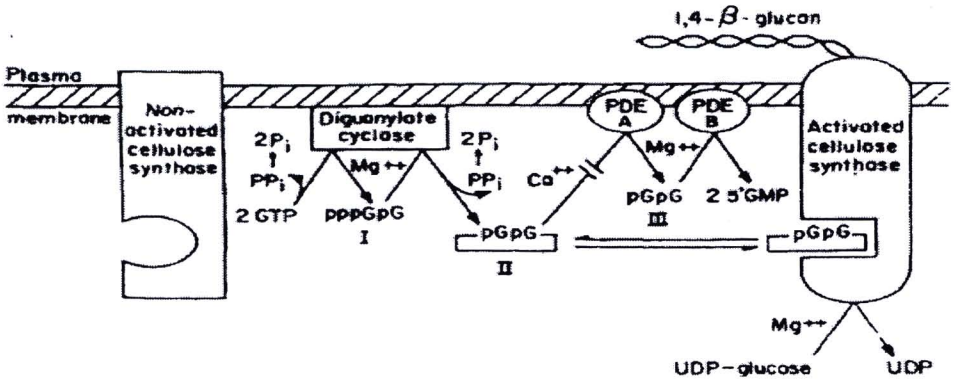
กระบวนการสร้างเซลลูโลสของ *A. xylinum*

Uridine diphosphoglucose (UDPG) เป็นสารตัวกลางที่นำมาใช้ในการสร้างสาย 1,4-β-glucan โดยมี glucose-1-phosphate เป็นสารเริ่มต้น ผ่านกระบวนการที่อาศัยเอนไซม์ UDP-glucose pyrophosphorylase ซึ่งเอนไซม์ดังกล่าว สามารถทำงานได้โดยไม่ได้รับผลกระทบจากความเข้มข้นของกลูโคส หรือฟรุคโตสที่มีอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ นอกจากนี้ยังพบว่า เซลล์ที่สามารถสร้างเซลลูโลส เอนไซม์ UDP-glucose pyrophosphorylase จะสามารถทำงานได้ดีกว่าในเซลล์ที่ไม่มีการสร้างเซลลูโลส 100 เท่า

กระบวนการสร้างสาย 1,4-β-glucan เกิดขึ้นโดยการทำงานของเอนไซม์ 1,4-β-D-glucosyltransferase ซึ่งเกาะติดอยู่ที่เยื่อหุ้มเซลล์ โดยมี c-di-GMP ทำหน้าที่เป็นตัวควบคุมการสังเคราะห์ (Key regulatory element) ซึ่งเป็น Allosteric activator ของเอนไซม์ 1,4-β-D-glucosyltransferase โดย c-di-GMP จะจับกับเอนไซม์ ที่ตำแหน่ง regulatory site ซึ่งเป็นตำแหน่งจับคนละตำแหน่งกับตำแหน่งสังเคราะห์ (Catalytic site) หรือตำแหน่งที่ใช้ในการจับกับสับเสตรท (Substrate-binding site) การจับระหว่าง c-di-GMP และเอนไซม์ 1,4-β-D-glucosyltransferase จะจับกันในทิศทางผันกลับ ซึ่งหากไม่มี c-di-GMP เข้ามาช่วยจับกับเอนไซม์ การทำงานของเอนไซม์ดังกล่าว จะไม่เกิดขึ้น

c-di-GMP สังเคราะห์โดยเอนไซม์ Diguanylate cyclase โดยใช้ Guanosine triphosphate เป็นสับเตรท และใช้ GTP 2 โมเลกุล ผ่านตัวกลาง pppGpG (ภาพ 2)

กระบวนการสังเคราะห์สายเซลลูโลสจะหยุดโดยกิจกรรมของเอนไซม์ 2 ชนิด คือ Phosphodiesterase A และ B (PDE A, PDE B) โดย PDE A จะเปลี่ยน c-di-GMP เป็น pGpG โดย pGpG จะสลายตัว เพื่อสร้างเป็น 5'-GMP 2 โมเลกุล อย่างรวดเร็ว PDE A สามารถยับยั้งการทำงานได้ด้วยไอออนของ Ca^{2+} (Vandamme *et al.*, 1997)



ภาพ 2 แบบจำลองการควบคุมการสังเคราะห์เซลลูโลสของ *A. xylinum*

ที่มา: Vandamme *et al,* 1997

สำหรับการสร้างสาย 1,4-β-glucan เอนไซม์ Cellulose Synthase จะไปกระตุ้นการสังเคราะห์เซลลูโลส โดยการเชื่อมต่อหน่วยกลูโคสให้กลายเป็นสาย 1,4-β-glucan การสร้างเส้นใยเซลลูโลส (Precellulosic polymer) เกิดขึ้นใน Cytoplasmic membrane ในกระบวนการสร้างสาย 1,4-β-glucan ได้มี 2 ทฤษฎีที่อธิบายถึงกระบวนการดังกล่าว ในทฤษฎีแรก ได้สันนิษฐานว่าการสังเคราะห์สาย 1,4-β-glucan ไม่ได้เกี่ยวข้องกับสารตัวกลางไขมัน (Lipid intermediate) กลูโคสจะเติมเข้าไปที่ปลายสาย non-reducing ของสายโพลิแซคคาไรด์ ซึ่งปลายสาย reducing จะเป็นปลายที่เพิ่งเริ่มสร้างใหม่ ตั้งอยู่ไกลออกไปจากเซลล์ มุมบิดระหว่างกลูโคสที่อยู่ติดกัน 2 โมเลกุลในโมเลกุลของเซลลูโลสมีค่า 180° และสายโซ่ที่ยาวขึ้นจะรักษาการบิดของแกนเป็นสองเท่า ของ 1,4-β-glucan ส่วนในทฤษฎีที่สอง กล่าวไว้ว่าการสังเคราะห์สาย 1,4-β-glucan เกี่ยวข้องกับสารตัวกลางไขมัน (Lipid intermediate)

ในจลน์ศาสตร์การสร้างเซลลูโลสของเชื้อ *A. xylinum* ที่เพาะเลี้ยงในน้ำมะพร้าวเป็นเวลา 3-14 วัน ที่อุณหภูมิ 28°C โดยผันแปรชนิดของแหล่งไนโตรเจน และปริมาณของน้ำตาล พบว่าเชื้อดังกล่าว ใช้ $(NH_4)_2HPO_4$ เป็นแหล่งของไนโตรเจนได้ดีกว่า $(NH_4)_2SO_4$ เล็กน้อย เชื้อเริ่มสร้างเซลลูโลสในวันที่ 4 ของการทดลอง ในด้านการใช้แหล่งของคาร์บอน พบการเปลี่ยนแปลงของกลูโคสและซูโครสที่แตกต่างกัน โดยระหว่างการทดลองปริมาณของกลูโคสไม่เปลี่ยนแปลงไปมากนักและอยู่ในระดับสมดุลย์เมื่อระยะเวลาผ่านไป หากแต่ปริมาณของซูโครส จะลดลงเรื่อยๆ จนกระทั่งเกือบถึงศูนย์เมื่อสิ้นสุดกระบวนการ เป็นที่น่าสังเกตว่าน้ำตาลฟรุกโตส ซึ่งเป็นน้ำตาลที่

ได้มาจากการ Hydrolysis ของน้ำตาลซูโครส กลับไม่พบในการทดลองนี้ในช่วงท้ายของกระบวนการ ซึ่งเมื่อทดลองเพิ่มโดยการเลี้ยงเชื้อดังกล่าวนี้ในอาหารที่เติมฟรุคโตสลงไปเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าเชื้อสายพันธุ์เดียวกันนี้ไม่สามารถสร้างเซลลูโลสจากแหล่งคาร์บอนดังกล่าวได้ (Budhiono *et al.*, 1999)

ในการสร้างเซลลูโลส พบว่า *A. xylinum* จะสร้างที่บริเวณผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ ความสามารถในการผลิตเซลลูโลสของเชื้อ จะเป็นสัดส่วนกันกับพื้นที่ผิวของขวดเลี้ยงเชื้อ (Budhiono *et al.*, 1999, Phunsri *et al.*, 2003)

สมบัติของเซลลูโลสจากแบคทีเรีย

เซลลูโลสจากแบคทีเรีย เป็นโพลีเมอร์ที่มีความบริสุทธิ์ ปราศจากลิกนิน และเฮมิเซลลูโลส มีค่า crystallinity และ degree of polymerization สูง ค่า water holding capacity อยู่ในช่วงระหว่าง 60 -700 เท่าของน้ำหนักเซลลูโลสแห้ง มีค่า shape retention และ tear resistance ที่สูงกว่าเส้นใยสังเคราะห์หลายชนิด ค่า tensile strength ของเซลลูโลสจากแบคทีเรีย สูงกว่าฟิล์มโพลีเอทธิลีน หรือ ไวนิลคลอไรด์ถึง 5 เท่า ค่า Young's modulus ของเซลลูโลสจากแบคทีเรีย มีค่า 30 GPa สูงว่าโพลีเมอร์อินทรีย์ทั่วไป 4 เท่า เมื่อนำเซลลูโลสจากแบคทีเรียไปปั่นให้เป็นชิ้นเล็กๆ แล้วขึ้นรูปใหม่ ค่า Young's modulus ของแผ่นเซลลูโลสจากเซลลูโลสตีปั่นนี้ จะลดลงไป 1 ใน 3 ของค่า Young's modulus เดิม (Bungay *et al.*, 1997)

การประยุกต์ใช้เซลลูโลสจากแบคทีเรีย

มีการทดลองนำเซลลูโลสจากแบคทีเรีย ประยุกต์ใช้เป็นฟิล์มห่อหุ้ม ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกแฟรงเฟิร์ตที่บรรจุแบบสุญญากาศ (Vacuum-packaged frankfurters) เพื่อต้านการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค *Listeria monocytogenes* ได้ใช้เซลลูโลส ที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Gluconobacter xylinus* K3 ในอาหาร Corn Steep Liquor-Mannitol เป็นเวลา 4 วัน แล้วนำแผ่นเซลลูโลสมาแช่ในสารละลายไนซิน ที่ความเข้มข้น 625 IU/ml เป็นเวลา 6 ชั่วโมง แผ่นเซลลูโลสดังกล่าว มีผลในการยับยั้ง *L. monocytogenes* ที่มีอยู่ในไส้กรอกแฟรงเฟิร์ตเตอร์ ซึ่งทำให้ปริมาณเชื้อลดลง 1 logCFU/g

หลังจากการจัดเก็บที่ 4°C เป็นเวลา 8 วัน แสดงให้เห็นถึงศักยภาพของฟิล์มเซลลูโลสต้านจุลชีพ ที่สามารถพัฒนาใช้กับผลิตภัณฑ์อาหารได้ (Nguyen *et al.*, 2008)

เซลลูโลสแบคทีเรีย ได้มีการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อาหารแนวใหม่ โดยการเติมเนื้อผลไม้ เช่น สตรอเบอรี่ ราสเบอรี่ สับปะรด ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อให้ได้แยม ในลักษณะเป็นแผ่น ซึ่งมีลักษณะคล้ายกับเนยแข็งแผ่น สามารถวางบนแผ่นขนมปัง ขนมปังปิ้ง หรือมัฟฟินได้ ซึ่งสะดวกต่อผู้บริโภคที่ไม่ต้องเสียเวลาทาแยมบนขนมปัง เมื่อใช้ในการผลิตขนมอบ ผลิตภัณฑ์แยมในรูปแบบแผ่น จะช่วยให้ไส้ขนมกระจายตัว อย่างสม่ำเสมอ และไม่ทำให้ไส้ขนมหกไหลออกมาจากตัวขนมได้อีกด้วย (Bungay *et al.*, 1997)

Monacus-nata complex เป็นผลิตภัณฑ์อาหารที่รวมเอาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพอย่าง monacolin K ที่ช่วยในการลดโคเลสเตอรอล เข้ากับ เซลลูโลสจากแบคทีเรียที่เป็นเส้นใยอาหาร *Monacus*-nata complex ผลิตโดยการหมักเซลลูโลสร่วมกับเชื้อรา *Monascus ruber* และ *M. pilosus* ในอาหารเหลว เป็นเวลา 6 วัน *Monascus ruber* และ *M. pilosus* สามารถแทรกเส้นใยเชื้อราเข้าไปภายในเซลลูโลส เกิดเป็น *Monacus*-nata complex ได้ สูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยง *Monacus*-nata complex ประกอบไปด้วย 5% glucose, 1.5% ammonium phosphate หมักที่ pH 6.0 – 7.0 จะทำให้ได้ปริมาณ monacolin K 157 mg/l *Monacus*-nata complex ที่ได้ ไม่ทนต่อการล้างน้ำ และความร้อน แต่ทนต่อการแช่ในสารละลายที่มี pH 3.0 – 7.0 โดยที่ pH 3.0 มีปริมาณ monacolin K ลดลงเล็กน้อย *Monacus*-nata complex แบบสด สามารถนำมาประยุกต์เป็นผลิตภัณฑ์อาหารได้ แต่อย่างไรก็ตาม ปริมาณ monacolin K จะลดลง หากนำผลิตภัณฑ์ดังกล่าวไปผ่านกระบวนการทางความร้อน (Ng *et al.*, 2004)

นอกจากการประยุกต์ใช้เซลลูโลสจากแบคทีเรีย ในอุตสาหกรรมอาหารที่กล่าวมาข้างต้นนั้น เซลลูโลสจากแบคทีเรีย ยังนำมาเป็นสารให้ความข้นหนืด (Thickening agent) และสารให้ความคงตัว (Stabilizing agent) ในผลิตภัณฑ์อาหารแปรรูป และยังใช้เป็นใยอาหารได้อีกด้วย เนื่องจากเซลลูโลสไม่สามารถย่อยได้ในลำไส้ของมนุษย์ (Chawla *et al.*, 2009)

ได้มีการศึกษาถึงการประยุกต์ใช้เซลลูโลสจากแบคทีเรีย เพื่องานตรึงเอนไซม์ (Enzyme immobilization) Glucoamylase ซึ่งเป็นเอนไซม์หลัก ที่ใช้ในกระบวนการแปรรูปแป้ง เพื่อต่อยอด

ในการตกผลึกกลูโคส และทำน้ำเชื่อมกลูโคส พบว่า การตรึงเอนไซม์ด้วยวิธี Epoxy with glutaraldehyde and EDC coupling จะให้ % relative activity ที่สูงที่สุด เอนไซม์ที่ตรึงอยู่ในเม็ดเซลลูโลสจากแบคทีเรีย จะมีช่วง pH ที่เหมาะสมและอุณหภูมิที่เหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์ ที่กว้างกว่าเอนไซม์ที่ทำงานแบบอิสระ และค่า relative activity ของเอนไซม์ที่ติดตรึงจะสูงขึ้นกว่า 80% ในช่วง pH 5-7 และสามารถนำเอนไซม์ติดตรึง มาใช้ซ้ำได้ถึง 14 ครั้ง (Wu *et al.*, 2008)

เซลลูโลสจากแบคทีเรีย ยังได้มีการนำมาประยุกต์ใช้กับงานทางการแพทย์ เพื่อการรักษาบาดแผลเรื้อรัง เช่น แผลเปื่อยที่บริเวณขา (Venous leg ulcer) แผลกดทับ (Bedsore) และแผลเปื่อยของผู้ป่วยโรคเบาหวาน (Diabetic ulcers) ซึ่งบาดแผลดังกล่าว เป็นบาดแผลที่รักษาหายได้ยาก จึงได้มีการศึกษาถึง วัสดุปิดแผลต่างๆที่จะนำมารักษาบาดแผลเหล่านี้ให้กลับสู่สภาพปกติ ไม่ว่าจะเป็น ไฮโดรคอลลอยด์ ไฮโดรเจล ที่ผลิตจากวัสดุธรรมชาติ และสังเคราะห์ขึ้น ซึ่งวัสดุที่นำมาใช้ต้องมีคุณสมบัติในการสร้างสภาวะแวดล้อมของบาดแผลให้มีความชุ่มชื้น สามารถทำงานได้เช่นเดียวกับผิวหนังเทียม ทั้งในแง่ของโครงสร้าง และหน้าที่ โดยวัสดุปิดแผล จะต้องไม่ก่อสารพิษ ไม่ติดไฟ เข้ากันได้เป็นอย่างดีกับสิ่งมีชีวิต ไม่ทำให้เกิดการต่อต้าน มีคุณสมบัติในการป้องกันการติดเชื้อจากเชื้อก่อโรคที่มีอยู่ทั่วไป สามารถควบคุมปริมาณของเหลวจากแผล ลดอาการเจ็บปวดระหว่างการรักษา สร้างหรือรักษาความชื้นของแผลให้เหมาะสม รวมไปถึงสามารถนำพา หรือส่งยารักษาบาดแผลเข้าสู่บาดแผลได้ ซึมซับหนองออกจากแผลที่จะเกิดขึ้นในระหว่างการอักเสบ มีค่า mechanical strength สูง รวมไปถึงค่า ความยืดหยุ่น (Elasticity) สูง และสามารถปรับให้เข้ากับบาดแผลได้อีกด้วย ซึ่งเซลลูโลสจากแบคทีเรีย มีคุณสมบัติดังกล่าว โดยสามารถส่งผ่านยาปฏิชีวนะหรือยาตัวอื่นๆเข้าสู่บาดแผล ในขณะเดียวกันก็สามารถป้องกันการติดเชื้อจากภายนอกได้ เป็นวัสดุตกแต่งบาดแผลแนวใหม่ได้สามารถใช้งานได้เป็นอย่างดี (Chawla *et al.*, 2009)

เซลลูโลสจากแบคทีเรียมีอีกหนึ่งลักษณะพิเศษ คือ มีการคัดเลือกที่ต่ำ และยอมให้ของเหลวจำพวกน้ำ และสารละลายอื่นที่ละลายในน้ำผ่าน อาทิ กลูโคส ซูโครส เอธานอล สารละลาย NaCl และ KCl นอกเหนือจากที่กล่าวมาในข้างต้น เซลลูโลสจากแบคทีเรียยังมีความโปร่งใส ทำให้สามารถสังเกตการเปลี่ยนแปลงของบาดแผลได้ตลอดการรักษา โดยไม่ต้องเปิด

บาดแผล ลดโอกาสเสี่ยงจากการติดเชื้อลง เซลลูโลสจากแบคทีเรีย นำมาประยุกต์ใช้กับผลิตภัณฑ์ทางเภสัชกรรมหลายรูปแบบ อาทิ ผิวหนังเทียม สำหรับผู้ป่วยบาดแผลไฟไหม้ ผู้ป่วยโรคมะเร็งผิวหนัง แผลเย็บ บาดแผลที่บริเวณผิวหนัง บาดแผลเรื้อรัง การลอกผิวหน้า ผู้ได้รับการกรอหน้าและใช้กับผู้บริจาค และผู้รับบริจาคผิวหนังจากการปลูกถ่ายผิวหนัง (Skin graft) (Czaja *et al.*, 2005)

เซลลูโลสจากแบคทีเรีย ยังนำมาประยุกต์ใช้อีกหลายอย่าง อาทิ กระดาษที่ทำมากจากเซลลูโลสของแบคทีเรีย หรือในวงการไฟฟ้า การเติมผงทองแดงละเอียดลงไประหว่างกระบวนการสร้างเซลลูโลส ซึ่งทำให้เซลลูโลสที่ได้ เมื่อนำมาทำเป็นแผ่นแห้งแล้วนั้น มีความเหนียวสูง ภายในแผ่นเซลลูโลสแบคทีเรียแห้ง จะมีชั้นของทองแดงอยู่ภายในด้วย โดยความหนาของชั้นทองแดงดังกล่าว ก็สามารถกำหนดได้เช่นกัน ซึ่งแผ่นเซลลูโลสดังกล่าว สามารถพัฒนาไปใช้เป็นแผงวงจรแบบใหม่ขึ้น ซึ่งหากเราเปลี่ยนโลหะ จากทองแดงเป็นเหล็ก จะทำให้แผ่นเซลลูโลสจากแบคทีเรียแห้งที่ได้ มีคุณสมบัติเหนี่ยวนำแม่เหล็กได้อีกด้วย (Bungay *et al.*, 1997)

การประยุกต์ใช้ของเหลือจากภาคอุตสาหกรรมเกษตรมาใช้ประโยชน์ทางจุลินทรีย์

ได้มีงานวิจัย ที่เกี่ยวข้องกับการนำของเหลือทิ้งจากทางภาคอุตสาหกรรมเกษตร มาประยุกต์ใช้เป็นอาหารเลี้ยง *Acetobacter xylinum* เพื่อการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรีย

มีการศึกษาถึงการนำน้ำผลไม้ที่เหลือทิ้งจากภาคอุตสาหกรรมเกษตร มาเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ *A. xylinum* NBRC 13693 ด้วยกัน 5 ชนิด ได้แก่ ส้ม (*Citrus unchiu* Marc.), แอปเปิล (*Malus domestica* Borkh), สับปะรด (*Ananus comosus* (L.)Merr.), แพร์ญี่ปุ่น (*Pyrus pyrifolia* var. *culta*) และ องุ่น (*Vitis* spp.) พบว่า ส้มเป็นผลไม้ที่เหมาะสมกับการนำมาเลี้ยงเชื้อดังกล่าวมากที่สุด ให้ปริมาณเซลลูโลสมากที่สุด 5.9 กรัม/ลิตร รองลงมาคือสับปะรด ที่ให้ปริมาณเซลลูโลส 4.1 กรัม/ลิตร เมื่อดูถึงสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยง *A. xylinum* ทั้ง 3 ชนิด พบว่า อาหารที่มีการเติม HS Medium ซึ่งมี Peptone และ Yeast Extract ที่เป็นแหล่งไนโตรเจน จะให้ปริมาณของเซลลูโลสที่สูงที่สุด *A. xylinum* NBRC 13693 ที่ใช้ในการศึกษา ไม่สามารถผลิตเซลลูโลสได้ในอาหารที่มีเพียงน้ำผลไม้เท่านั้น จำเป็นต้องมีแหล่งไนโตรเจนให้กับเชื้อเพิ่มเติม โดยในส้ม ประสิทธิภาพในการผลิตเซลลูโลสของเชื้อจะเพิ่มขึ้น 3.3 เท่า เมื่อเติม HS Medium ลงไป เปรียบเทียบกับในอาหารที่มีเพียง

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

น้ำผลไม้อย่างเดียว นอกจากนี้ ในน้ำส้มน่าจะมีสารที่ช่วยส่งเสริมการเจริญของเชื้อ และการสร้างเซลลูโลส เนื่องจากเมื่อเปรียบเทียบกับอาหารเลี้ยงเชื้อสังเคราะห์ ที่มีการเติมปริมาณน้ำตาลเท่ากับปริมาณน้ำตาลที่มีอยู่ในน้ำส้ม และเติมไนโตรเจนลงไปในปริมาณเท่ากันนั้น กลับพบว่าให้ปริมาณของเซลลูโลสที่แตกต่างกัน (Kurosumi *et al.*,2008)

ในการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการผลิตเซลลูโลสของ *A. xylinum* 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *A. xylinum* TISTR 893, *A. xylinum* TISTR 975 และ *A. xylinum* TISTR 998 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารน้ำมะพร้าวและน้ำสับปะรด พบว่า เมื่อเลี้ยงในน้ำมะพร้าว *A. xylinum* TISTR 998 สร้างเซลลูโลสได้สูงกว่าอีกสองสายพันธุ์ โดย *A. xylinum* TISTR 998 ให้ปริมาณของเซลลูโลส 553.33 g/L เมื่อเปรียบเทียบค่า Qp (Specific rate of product formation) พบว่า *A. xylinum* TISTR 998 มีค่าดังกล่าวสูงกว่าจุลินทรีย์อีก 2 สายพันธุ์ 2 เท่า ในการเลี้ยง *A. xylinum* ทั้ง 3 สายพันธุ์ในน้ำสับปะรด พบว่า *A. xylinum* TISTR 893 ให้ปริมาณของเซลลูโลสสูงที่สุด 576.66 g/L มีค่า Qp 4,702.08 g/g/h เมื่อเปรียบเทียบค่า Qp ระหว่าง สายพันธุ์ที่ให้ปริมาณเซลลูโลสสูงที่สุด ในอาหารเลี้ยงเชื้อน้ำมะพร้าว และน้ำสับปะรด พบว่า *A. xylinum* TISTR 998 ที่เลี้ยงในอาหารน้ำมะพร้าวจะมีประสิทธิภาพในการผลิตสูงกว่า จากข้อมูลดังกล่าว จึงสรุปได้ว่า การผลิตเซลลูโลสที่ดีที่สุด คือการใช้ *A. xylinum* TISTR 998 เป็นจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตเซลลูโลส ที่เพาะเลี้ยงในอาหารน้ำมะพร้าว ในสภาวะดังกล่าว การผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียให้ค่า Qp (Specific rate of product formation) ที่สูงที่สุด (Kongruan, 2007)

ในการพัฒนานำแกลบมาใช้ในการเลี้ยงเชื้อ *Acetobacter xylinum* ได้ศึกษาถึงกระบวนการก่อนนำมาใช้ (Pre treatment) ของแกลบ ก่อนมาผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อ *A. xylinum* ATCC 23769 โดยศึกษาถึงกระบวนการย่อยแกลบเพื่อให้ได้เป็นโมเลกุลขนาดเล็ก 2 รูปแบบ คือ การย่อยโดยใช้กรด (Acid Hydrolysis) และ การย่อยด้วยเอนไซม์ (Enzymolysis process) พบว่า การย่อยด้วยเอนไซม์นั้น ปริมาณของน้ำตาล รีดิวซิ่ง จะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการย่อย ปริมาณของน้ำตาลรีดิวซิ่ง ที่ได้จากการย่อยด้วยกรดจะได้ 4.18 กรัม/ 100 กรัมของแกลบ และกระบวนการย่อยด้วยเอนไซม์ จะได้น้ำตาลรีดิวซิ่ง 0.78 กรัม/ 100 กรัมของแกลบ สรุปได้ว่ากระบวนการย่อยแกลบก่อนนำไปใช้ที่เหมาะสมคือ การย่อยแกลบด้วยกรด

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ห้องสมุดงานวิจัย
วันที่ 17 ต.ค. 2555
เลขทะเบียน 247767
เลขเรียกหนังสือ

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิตเซลลูโลสของอาหารที่มีการเติมกลูโคสเพียงอย่างเดียว กับอาหารที่มีการเติมแกลบที่ผ่านกระบวนการย่อยด้วยกรด พร้อมทั้งเติมกลูโคสลงไปด้วยนั้น พบว่าอาหารที่เติมแกลบที่ผ่านกระบวนการย่อยด้วยกรด ให้ผลผลิตเซลลูโลสในปริมาณที่สูงกว่าอาหารที่มีการเติมกลูโคสลงไปอย่างเดียว โดยไม่จำเป็นต้องเติมโปรตีน หรือวิตามิน เช่นสารสกัดจากยีสต์เพิ่มเติม (Goelzer *et al.*, 2008)

การนำโมลาสมาใช้ประโยชน์เป็นอาหารเลี้ยง *A. xylinum* พบว่า *A. xylinum* IFO 13772 สามารถผลิตเซลลูโลสได้สูงที่สุด จากแบคทีเรียที่ทำการศึกษาทั้ง 6 สายพันธุ์ เมื่อพิจารณาถึงอาหารที่ใช้เลี้ยง *A. xylinum* พบว่า อาหารที่เติมโมลาส 5% (MO) และ อาหารโมลาสที่เติมลิกโนซัลเฟต 1% (MOL) ให้ผลผลิตเซลลูโลสได้ดีว่า HS Medium อย่างมีนัยสำคัญ ผลการทำ HPLC แสดงให้เห็นว่าปริมาณกรดกลูโคนิกในอาหาร MO และ MOL จะต่ำกว่าในอาหาร HS ในทุกๆสายพันธุ์ที่ทำการศึกษา เพราะฉะนั้นการเพิ่มขึ้นของปริมาณเซลลูโลสที่ผลิตขึ้นได้ในอาหาร MO และ MOL จึงเกี่ยวข้องกับปริมาณของกรดกลูโคนิกที่มีอยู่ในระบบ ซึ่งจากการศึกษา พบว่าค่า pH ในอาหาร MO ที่สิ้นสุดการทดลองมีค่า 4.2 ซึ่งไม่ได้ต่ำกว่าระดับที่เหมาะสมของการเจริญของ *A. xylinum* หากแต่ค่า pH ของ HS กลับต่ำลงถึง 2.7 ซึ่งต่ำกว่าระดับที่เชื้อสามารถเจริญเติบโตได้ (Keshk *et al.*,2006)

เต้าหู้ และน้ำเวย์เต้าหู้

เต้าหู้ เป็นอาหารที่มีประวัติศาสตร์มาเป็นระยะเวลายาวนาน ทั้งในจีน ญี่ปุ่น และไทย เป็นอาหารที่ได้รับความนิยมอย่างแพร่หลาย เนื่องจากหาซื้อได้ง่าย มีราคาถูก และย่อยง่าย ชาวจีนเชื่อว่าการรับประทานเต้าหู้เป็นประจำ ช่วยทำให้ร่างกายแข็งแรง เมื่อมีการศึกษาทางวิทยาศาสตร์สมัยใหม่ พบว่า เต้าหู้มีโปรตีนสูง และคุณค่าทางอาหารที่ไม่ต่างจากโปรตีนที่ได้จากเนื้อสัตว์ ทั้งยังมีไขมันต่ำกว่าเนื้อสัตว์อีกด้วย นอกจากปริมาณโปรตีนที่สูงแล้ว ในถั่วเหลือง ซึ่งเป็นวัตถุดิบในการผลิตเต้าหู้ ยังมีวิตามินและแร่ธาตุอื่นๆ อาทิ ไขมันไม่อิ่มตัว และธาตุเหล็ก (สุมิตรา, 2548)

ในกระบวนการผลิตเต้าหู้ น้ำเต้าหู้ หรือนมถั่วเหลือง จะตกตะกอนด้วยเกลือ เช่น แมกนีเซียมซัลเฟต แคลเซียมซัลเฟต กรด หรือเอนไซม์ ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์สองส่วน คือ ของแข็ง ซึ่งเป็นส่วนของเต้าหู้ และของเหลวที่เหลือจากกระบวนการผลิต คือ น้ำเวย์เต้าหู้ น้ำเวย์เต้าหู้

จัดเป็นของเหลือทิ้งจากภาคการผลิต มีมูลค่าต่ำ เนื่องจากมีค่าทางการตลาดน้อย โดยส่วนใหญ่แล้วน้ำเวย์เต้าหู้ถูกนำมาทิ้ง ซึ่งสร้างปัญหาให้กับโรงงาน และสิ่งแวดล้อมโดยรอบโรงงานทั้งสิ้น ซึ่งในน้ำเวย์เต้าหู้ มีปริมาณโปรตีน และแร่ธาตุสูง โดยมีโปรตีนประมาณ 9% น้ำตาล 2.23% และ แร่ธาตุซึ่งได้จากกระบวนการตกตะกอนอยู่ 70% (Ounis *et al.*, 2008)

มีการศึกษาถึงการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจาก *Candida utilis* TISTR 5001 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5343 โดยใช้น้ำเวย์เต้าหู้ พบว่า *C. utilis* TISTR 5001 เจริญได้ดีที่ความเข้มข้นของน้ำเวย์ 100% โดยเติมซูโครสที่ 3% และ แอมโมเนียมซัลเฟต 0.4% ได้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด 6.92 g/l และ *Sacch. cerevisiae* TISTR 5343 เจริญได้ดีในน้ำเวย์เต้าหู้ที่เติมซูโครส 7% และแอมโมเนียมซัลเฟต 0.6% ได้น้ำหนักเซลล์แห้งที่ 6.07 g/l การเพาะเลี้ยงยีสต์ทั้งสองประเภทในอาหารน้ำเวย์เต้าหู้ ให้ผลที่ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการเลี้ยงยีสต์ทั้งสองในอาหาร Sabouraud Dextrose Broth (คันธรส และคณะ, 2549)

ในการเจริญของ *Lactobacillus paracasei* spp. *paracasei* ในน้ำเวย์เต้าหู้ พบว่า น้ำเวย์เต้าหู้สามารถใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับ *L. paracasei* spp. *paracasei* ได้เป็นอย่างดี เชื้อสามารถใช้กลูโคส และฟรุคโตสที่มีอยู่ในน้ำเวย์เต้าหู้ เพื่อการหมักได้อย่างสมบูรณ์ เมื่อเปรียบเทียบกับการเจริญในอาหาร cow rehydrated skim milk ได้ผลผลิตที่น้อยกว่าการเลี้ยงในน้ำเวย์เต้าหู้ แต่ในอาหาร MRS broth เชื้อจะเจริญได้ดีกว่าในน้ำเวย์ จึงเพิ่มสารอาหารที่สำคัญลงไปในน้ำเวย์เพิ่มเติม พบว่าแหล่งของไนโตรเจนที่เหมาะสมที่สุด คือ yeast extract และ tryptone การเลี้ยง *L. paracasei* spp. *paracasei* (Thi *et al.*, 2003)

การใช้ประโยชน์ของน้ำเวย์ ที่ผ่านกระบวนการแยกสารด้วยไฟฟ้า ก่อนนำไปใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับ *Lactobacillus plantarum* LB17 พบว่าวิธีการ skimming และ demineralization กับน้ำเวย์เต้าหู้ช่วยทำให้ได้ %recovery ของโปรตีนและแร่ธาตุเริ่มต้นเท่ากับ 45% และ 54% ตามลำดับ จึงได้เลือกใช้ demineralization เป็นกระบวนการเริ่มต้น

L. plantarum ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ใช้ demineralized skimmed tofu whey (DSTW) เป็นส่วนประกอบพื้นฐาน สตาชีโอส แรฟฟีโนส และ ซูโครส ในน้ำเวย์เต้าหู้ ถูกนำไปใช้มากกว่า 60% ของปริมาณน้ำตาลเริ่มต้น แสดงให้เห็นว่า DSTW มีศักยภาพในการเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อต้นทุนต่ำ

สำหรับเชื้อในกลุ่ม Lactobacillus นอกจากนี้ สารเหลือจากการการตกตะกอน และ โปรตีนจากกระบวนการ demineralization และ skimming สามารถนำกลับไปใช้ในกระบวนการผลิต เพื่อเพิ่มปริมาณผลผลิตได้ (Ounis *et al.*, 2007)