

**การแยก คัดเลือกและศึกษาคุณสมบัติของแบคทีเรีย *Corynebacterium* กลุ่มที่ผลิต  
กรดกลูตามิกสายพันธุ์ทนอุณหภูมิสูงที่แยกได้ในประเทศไทย**

**Isolation Screening and Characterization of Thermotolerant Glutamic Acid –  
Producing *Corynebacterium* Isolated in Thailand**

**คำนำ**

ปัจจุบันมีการนำกรดอะมิโนมาใช้ในงานด้านต่าง ๆ อย่างมากมาย เช่น การใช้ทางด้านอุตสาหกรรมอาหารเพื่อเป็นสารปรุงรส หรือเป็นอาหารสัตว์ การใช้ทางการแพทย์เพื่อใช้ในการช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษาโรค หรือใช้ทางด้านอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง เป็นต้น ความต้องการกรดอะมิโนในแต่ละปีมีมากกว่า 2,000,000 ตัน (Hermann, 2003) ซึ่งในจำนวนนั้น กรดกลูตามิกเป็นกรดอะมิโนที่มีความต้องการมากกว่า 1,000,000 ตันต่อปี (Eggeling and Sahm, 1999) และเพิ่มขึ้นทุกๆปี โดยใช้เป็นสารปรุงแต่งรสในอุตสาหกรรมอาหารที่รู้จักกันดีคือ โมโนโซเดียมกลูตาเมต และยังสามารถใช้ในทางการแพทย์โดยทำให้การรักษาโรคตับมีประสิทธิภาพได้อีกด้วย ปัจจุบันการผลิตกรดกลูตามิกใช้วิธีการหมักโดยจุลินทรีย์ โดยเฉพาะแบคทีเรีย และกลุ่มของแบคทีเรียที่สามารถผลิตกรดกลูตามิกได้ในปริมาณที่สูงเพียงพอที่จะนำไปใช้ทางด้านอุตสาหกรรมได้ คือ แบคทีเรียในกลุ่ม *Corynebacteriaceae* ซึ่งแบคทีเรียที่สำคัญในกลุ่มนี้ ได้แก่ *C. glutamicum* ซึ่งในปัจจุบันใช้เป็นสายพันธุ์ในการผลิตกรดกลูตามิกในระดับอุตสาหกรรม นอกจากนี้ยังมี *C. ammoniagenes*, *C. callunae* และ *C. efficiens* ก็เป็นสายพันธุ์ที่สามารถผลิตกรดกลูตามิกได้เช่นกัน

การผลิตกรดอะมิโนโดยกระบวนการหมักส่วนใหญ่นิยมใช้วิธีการหมักแบบเบ็ดเสร็จ (batch fermentation) การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในอาหารเหลวที่มีส่วนประกอบที่เหมาะสมกับจุลินทรีย์แต่ละชนิด โดยใช้สภาวะที่มีการให้อากาศและการกวนอย่างเพียงพอ ซึ่งการผลิตกรดอะมิโนบางชนิด เช่น กรดกลูตามิก จำเป็นจะต้องควบคุมสภาพแวดล้อมในการหมักอย่างเคร่งครัด โดยเฉพาะการให้อากาศ ความเป็นกรดด่าง และอุณหภูมิ ดังนั้นในการผลิตเพื่อให้ได้ผลผลิตในปริมาณสูงและมีต้นทุนในการผลิตต่ำ จึงมีการปรับปรุงสายพันธุ์เพื่อปรับปรุงการผลิตให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้น เช่น การปรับปรุงสายพันธุ์ให้แบคทีเรียกลายเป็น auxotroph mutant หรือ

regulatory mutant เพื่อให้ได้ผลผลิตสูงขึ้น อย่างไรก็ตามการเลี้ยงแบคทีเรียดังกล่าวกระทำได้ยากในระดับอุตสาหกรรม เนื่องจากเมื่อทำการเลี้ยงเป็นเวลานาน จะมีโอกาสเปลี่ยนไปเป็นเซลล์ที่ไม่มีพลาสมิด (plasmid free cell) ซึ่งเกิดจากการที่พลาสมิดไม่คงตัว อย่างไรก็ตาม ในการนำจุลินทรีย์มาใช้ในอุตสาหกรรม โดยเฉพาะทางด้านการผลิตสารประกอบอินทรีย์ชนิดต่างๆ มักมีอุปสรรคในด้านที่ต้องมีการควบคุมอุณหภูมิให้เหมาะสมกับการเจริญของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตนั้นๆ และในกระบวนการผลิตโดยใช้ถังหมักมักทำให้เกิดความร้อน ทำให้อุณหภูมิภายในถังหมักสูงขึ้นซึ่งจะมีผลกระทบกับการเจริญของจุลินทรีย์ และมีผลทำให้ผลผลิตลดลง ในกระบวนการผลิตจึงต้องมีระบบหล่อเย็น (cooling system) สำหรับควบคุมอุณหภูมิให้คงที่อยู่เสมอ ซึ่งเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้ต้นทุนการผลิตสูงขึ้น ดังนั้น หากมีการคัดเลือก และนำจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิปานกลางไปจนถึงอุณหภูมิสูง (Thermotolerant microorganisms) และมีความสามารถในการผลิตสารที่ต้องการดังกล่าวได้มาใช้ ระบบหล่อเย็นอาจไม่มีความจำเป็น ซึ่งจะทำให้ต้นทุนการผลิตลดลงได้

การคัดเลือกจุลินทรีย์ที่สามารถทนอุณหภูมิสูงได้นั้น น่าจะได้มีการคัดเลือกจากสภาพแวดล้อมที่เอื้อต่อสภาพการเจริญในช่วงอุณหภูมิที่กว้าง สำหรับประเทศไทยตั้งอยู่ในภูมิอากาศเขตร้อน จึงมีความเหมาะสมในการที่จะคัดเลือก และรวบรวมจุลินทรีย์สายพันธุ์ทนอุณหภูมิสูงที่มีศักยภาพสูงในการที่จะนำมาประยุกต์ใช้ในการผลิตสารประกอบอินทรีย์ เช่น กรดอะมิโน เป็นต้น

งานวิจัยนี้จึงมีความสนใจที่จะแยก จัดจำแนก คัดเลือก และรวบรวมแบคทีเรียสายพันธุ์ทนอุณหภูมิสูงที่สามารถผลิตกรดกลูตามิกได้ ซึ่งยังไม่มีผู้วิจัยมาก่อน เพื่อใช้เป็นแหล่งในการศึกษาหาข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับ *Corynebacterium* สายพันธุ์ทนอุณหภูมิสูงที่ผลิตกรดกลูตามิก ซึ่งข้อมูลเบื้องต้นได้แก่ ลักษณะความผันแปรทางพันธุกรรม (genetic variation) ลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา ซึ่งข้อมูลเหล่านี้จะเป็นประโยชน์ในการที่จะนำแบคทีเรียเหล่านี้ไปประยุกต์ใช้เพื่อการผลิตกรดอะมิโน โดยเฉพาะปัจจัย การลดต้นทุนการผลิต นอกจากนี้ยังใช้เป็นจุลินทรีย์ต้นแบบสำหรับการศึกษาเพื่อที่จะพัฒนาความสามารถในการผลิต และเพิ่มประสิทธิภาพของการผลิตกรดอะมิโนชนิดนี้ในสายพันธุ์ทนอุณหภูมิสูง

## วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อแยกแบคทีเรียในกลุ่ม *Corynebacterium* ที่ผลิตกรดกลูตามิกจากตัวอย่างต่างๆ ในประเทศไทย
2. เพื่อจัดจำแนกแบคทีเรียในกลุ่ม *Corynebacterium* ที่ผลิตกรดกลูตามิก โดยวิธีทางชีวเคมี และวิธีทางพันธุศาสตร์
3. เพื่อคัดเลือกแบคทีเรีย *Corynebacterium* ที่ผลิตกรดกลูตามิกสายพันธุ์ทนอุณหภูมิสูง (Thermotolerant strain)
4. เพื่อศึกษาคุณสมบัติทางการเจริญ และการผลิตกรดกลูตามิกของแบคทีเรีย *Corynebacterium* สายพันธุ์ทนอุณหภูมิสูงที่คัดเลือกได้