สำนักงานวิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

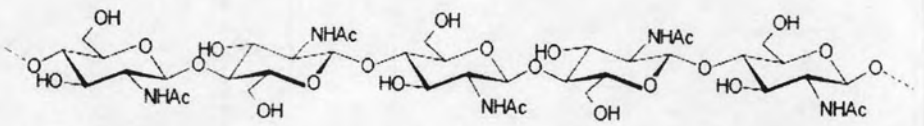
วารสารปริทัศน์

2.1 พอลิแซ็กคาไรด์ (Polysaccharides)

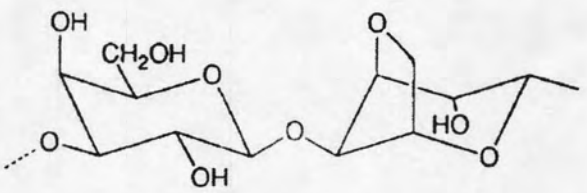
พอลิแซ็กคาไรด์เป็นสารพวกคาร์โบไฮเดรตที่ประกอบด้วยน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวอยู่ในรูปของฟูราโนส (5 membered rings) หรือ ไพราโนส (6 membered rings) หลายๆโมเลกุลเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิกเป็นสายยาว (Paul, 1979) และอาจมีการแตกกิ่งก้านสาขาหรือไม่มี โดยมากจะมีน้ำหนักโมเลกุลสูง สามารถละลายน้ำได้ และมีสมบัติเป็นสารจำพวกไฮโดรคอลลอยด์ สามารถดูดน้ำได้ดี เมื่อละลายในของเหลวจะทำให้ของเหลวมีความหนืดมากขึ้น (Margaritis และ Pace, 1985) พอลิแซ็กคาไรด์เป็นพอลิเมอร์ทางชีวภาพที่มีอยู่ทั่วไป สร้างขึ้นจากมอโนแซ็กคาไรด์ (Binkley และ Dekker, 1988) มีความสามารถในการเชื่อมต่อโมเลกุลน้ำตาลที่แตกต่างกันถึง 7 ชนิด รวมไปถึงการเชื่อมกับสารประกอบที่ไม่ใช่น้ำตาล เช่น Glycosaminoglycans (GAGs) (Crescenzi, 1995) พอลิฟีนอลิก หรือโปรตีน (Binkley และ Dekker, 1988)

พอลิแซ็กคาไรด์สามารถพบได้ในธรรมชาติ โดยผลิตจากพืช (กัมอะราบิก กัมทรากาแคนท์ ลาชกัม กัวร์กัม) สัตว์ (ไคติน) และสาหร่าย (วุ้น แอลจิน คาราจีแนน ฟอร์เซลลาแรน) มีโครงสร้างดังรูปที่ 2.1 โดยผ่านกระบวนการสกัดแยกและทำให้บริสุทธิ์ และยังได้จากการสังเคราะห์ขึ้นอีกด้วย (Whistler และ Miller, 1993) มีบทบาทมากในหลายๆ อุตสาหกรรม เช่น อุตสาหกรรมอาหาร อุตสาหกรรมเคมี อุตสาหกรรมทอผ้า อุตสาหกรรมขุดเจาะน้ำมัน ฯลฯ (Margaritis และ Pace, 1985) ในปี 1990 ได้มีการนำเข้ากัม (พอลิแซ็กคาไรด์) คิดเป็นมูลค่าถึง 14.37 ล้านบาท โดยเพิ่มจากปี 1989 ซึ่งประเทศไทยนำเข้ามาเป็นมูลค่า 6.3 ล้านบาท โดยนำเข้าจาก จีน อินเดีย อังกฤษ ฮอนดูรัส ซูดาน แคนาดา สหรัฐอเมริกา เยอรมัน และญี่ปุ่น (ศศิธร โชติศศิธร., 2536) โดยกัมชนิดต่างๆ ที่มีจำหน่ายในประเทศต้องสั่งซื้อจากต่างประเทศ ซึ่งยังไม่มีการผลิตเพื่อใช้ในประเทศ และยังไม่เพียงพอต่อความต้องการซึ่งมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทุกปี เนื่องจากการขยายตัวของอุตสาหกรรมต่างๆ (ภาวิณี โลหะนะ, 2524)

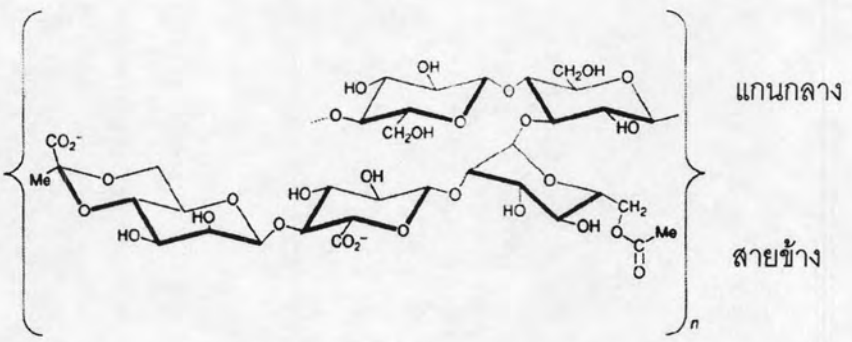
Rogovin และคณะ (1961) ได้พยายามศึกษาค้นคว้าเพื่อผลิตกัมจากเชื้อจุลินทรีย์เพื่อทดแทนกัมที่ผลิตจากพืชซึ่งมีปริมาณลดลงและไม่เพียงพอต่อการบริโภค โดยพบว่า เชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459 สามารถผลิตสารแซนแทนกัมที่มีสมบัติดี ซึ่งต่อมาได้นำมาใช้กันอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมอาหาร โดยค้นพบครั้งแรกในปี 1950 โดยนักวิทยาศาสตร์แห่งสถาบัน NRRL (The Northern Regional Research Laboratories) ประเทศสหรัฐอเมริกา



(ก)



(ข)



(ค)

รูปที่ 2.1 โครงสร้างพอลิแซ็กคาไรด์ ก) ไคตินที่พบในสัตว์จำพวกแมลง กุ้ง และปู ข) วุ้นที่พบในสาหร่าย ค) แซนแทนกัมที่พบในเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459

ที่มา : Whistler และ Miller (1993)

2.1.1 ความหมายและความสำคัญของเอกโซพอลิแซ็กคาไรด์

เอกโซพอลิแซ็กคาไรด์ หรือ เอกตร้าเซลล์ลูลาร์พอลิแซ็กคาไรด์ ส่วนใหญ่จะเรียกว่า พอลิแซ็กคาไรด์ มีลักษณะเป็นสายยาว ประกอบด้วยกิ่งก้านสาขาที่เป็นหน่วยย่อยของน้ำตาลหรือดัดแปลงมาจากน้ำตาล (De Vuyst และ Degeest, 1999) พอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้จากจุลินทรีย์สามารถพบได้ภายในเซลล์เป็นแหล่งสะสมอาหาร (แป้งหรือไกลโคเจนอยู่ในแกรนูล) เกี่ยวข้องกับ cell layers หรืออยู่ภายนอกเซลล์เป็นอิสระ มีลักษณะเมือก หรือเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่สร้างแล้วปล่อยออกนอกเซลล์ พอลิแซ็กคาไรด์เกี่ยวข้องกับ cell layers ประกอบด้วย (ก) ไลโพพอลิแซ็กคาไรด์ มีอยู่ในผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบ (ข) เปปติโดไกลแคน (peptidoglycans) ส่วนใหญ่อยู่ในผนังเซลล์ของแบคทีเรีย ซึ่งสายพอลิแซ็กคาไรด์เชื่อมโดยผ่านทางสายเพปไทด์สั้นๆ (ค) ไทโคอิก แอซิด (teichoic acids) ซึ่งมีอยู่ในผนังเซลล์และเมมเบรนของแบคทีเรียแกรมบวก และ (ง) พอลิแซ็กคาไรด์ที่เป็นแคปซูล จับอยู่ที่ผนังเซลล์ (Graber และคณะ, 1988) พอลิแซ็กคาไรด์ส่วนมากมีหน่วยย่อยของน้ำตาลเป็นกลูโคส กาแลคโทส และแรมโนสในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน (Yamamoto และคณะ, 1995; Lemoine และคณะ, 1997; Faber และคณะ, 1998; De Vuyst และ Degeest, 1999) บางพวกก็ประกอบด้วย น้ำตาลที่มีหมู่อะมิโน (Robijn และคณะ, 1996; Stingele และคณะ, 1996) ซึ่งพบอยู่ภายนอกเซลล์ เนื่องจากเป็นโครงสร้างผิวด้านนอกของเซลล์จุลินทรีย์ และสามารถประยุกต์เป็นพอลิเมอร์ได้เพราะมีองค์ประกอบที่หลากหลายและสมบัติทางกายภาพที่แตกต่างกันด้วย พอลิแซ็กคาไรด์เหล่านี้เป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์จุลินทรีย์ เช่นแมนแนนของยีสต์ ไทโคอิกและไทยูโรนิก แอซิดของแบคทีเรีย ไลโพพอลิแซ็กคาไรด์ และเปปติโดไกลแคน ซึ่งเป็นแหล่งที่เต็มไปด้วยคาร์โบไฮเดรต นอกจากนี้พอลิแซ็กคาไรด์อาจจะพบรวมกับสารโมเลกุลใหญ่อื่นๆ หรือแยกออกจากเซลล์ของจุลินทรีย์ได้ เอกโซพอลิแซ็กคาไรด์สามารถพบได้มากในพวกโพรแคริโอติก โดยมีความสัมพันธ์กันแบบได้อาหารจากซาก (saprophytes) และก่อให้เกิดโรคได้ในคน สัตว์ และพืช (Sutherland, 1990)

จุลินทรีย์ที่ผลิตพอลิแซ็กคาไรด์เต็มไปด้วย 6-deoxysugars ซึ่งพบโดยมากในแบคทีเรีย สาหร่าย และรา แยกได้จากสิ่งแวดล้อมแตกต่างกันและมีความสามารถทางเมตาบอลิซึมต่างกัน แบ่งเป็น 2 กลุ่ม (Graber และคณะ, 1988)

น้ำตาลแอลโดสชนิดดีออกซี ประกอบด้วย 6-deoxy-altrose 6-deoxy-glucose (quinovose) 6-deoxy-mannose (แรมโนส) 6-deoxy-gulose 6-deoxy-idose 6-deoxy-galactose (ฟูโคส) 6-deoxy-talose 6-deoxy-allose

น้ำตาลคีโตสชนิดดีออกซี ประกอบด้วย 6-deoxy-psicose 6-deoxy-fructoes 6-deoxy-sorbose และ 6-deoxy-tagatose

ในจำนวนกลุ่มนี้มี 3 ชนิด จากแบคทีเรียที่สามารถหาได้ทางการค้า ดังตารางที่ 2.1 6-deoxy-glucose สกัดได้จากเปลือกต้นซินโคนาที่ใช้ทำยาควินิน 6-deoxy-mannose ส่วนใหญ่แยกมาจากกัมอะราบิก และผนังเซลล์แบคทีเรียด้วย ผิวของกระต่าย หรือใบของพืชไม้พุ่มเตี้ย *Solanum chacoensis* และ 6-deoxy-galactose มีอยู่ในสาหร่าย และในกัมทรากาแคนท์ อีกสิ่งหนึ่งในแหล่งธรรมชาติคือ แอล-แรมโนส (L-rhamnose) มีอยู่ในยางจากรอยแตกของน้ำตาลเมเปิล โครงสร้างแสดงดังรูปที่ 2.2

ตารางที่ 2.1 แบคทีเรียผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ที่ประกอบด้วย 6-deoxysugars (6-d-s)

สายพันธุ์	6-deoxysugars	ตำแหน่งของ (6-d-s)
Acinetobacter calcoaceticus	L-rhamnose	(C, F)
Acetobacter xylinum	L-rhamnose	-
Actinomyces israelii	-	(CW)
Actinomyces viscosus	L-rhamnose	(F)
Aerobacter cloacae	L-fucose	(F)
Alcaligenes sp.	L-fucose, L-rhamnose	(F)
Alcaligenes faecalis	L-fucose, L-rhamnose	(CW)
Arizona sp.	L-fucose	-
Arthrobacter carbozolum	L-rhamnose	(F)
Arthrobacter simplex	L-rhamnose	(F)
Azotobacter chroococcum	L-rhamnose	(F)
Azotobacter indicum	L-rhamnose	(F)
Azotobacter vinelandii	L-rhamnose	(F)

หมายเหตุ (F) อยู่เป็นอิสระ (C) เกี่ยวข้องกับเซลล์ (CW) ผนังเซลล์ (-) ไม่ถูกระบุ ไม่พบตำแหน่ง

ที่มา : Graber, M. และคณะ (1988)

ตารางที่ 2.1 แบคทีเรียผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ที่ประกอบด้วย 6-deoxysugars (6-d-s) (ต่อ)

สายพันธุ์	6-deoxysugars	ตำแหน่งของ (6-d-s)
Bacillus megaterium	L-rhamnose	(CW)
Bacillus polymyxa	L-fucose	(F)
Bacillus oligonitrophilus	L-rhamnose	(F)
Bacillus subtilis	L-fucose	(F)
Bacterium cadaveris	L-rhamnose	(CW)
Beijerinckia mobilis	L-rhamnose	(F)
Blastobacter viscosus	L-rhamnose	(F)
Chromatobacterium prodigiosum	L-rhamnose	(CW)
Chromobacterium violaceum	L-rhamnose, L-fucose	(CW)
Chlorobium thiosulphatophilum	L-rhamnose	(CW)
Citrobacter freundii	L-rhamnose	(CW)
Corynebacterium floccumfaciens	L-rhamnose, L-fucose	(F)
Corynebacterium insidiosum	L-fucose	(F)
Corynebacterium midriganese	-	(F)
Corynebacterium tritici	L-rhamnose	(F)
Enterobacter sakazaki	L-fucose	(F)
Escherichia alkalescens	-	(CW)
Escherichia coil	L-fucose, L-rhamnose	(C, CW)
Escherichia dispar	-	(CW)
Flavobacterium ugilinosum	L-fucose	(F)
Klebsiella sp.	L-fucose, L-rhamnose	(F, C)
Klebsiella aerogenes	L-rhamnose	(CW)
Klebsiella pneumoniae	L-fucose	(C)
Lactobacillus bifidus	-	(F)

หมายเหตุ (F) อยู่เป็นอิสระ (C) เกี่ยวข้องกับเซลล์ (CW) ผนังเซลล์ (-) ไม่ถูกระบุ ไม่พบตำแหน่ง

ที่มา : Graber, M. และคณะ (1988)

ตารางที่ 2.1 แบคทีเรียผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ที่ประกอบด้วย 6-deoxysugars (6-d-s) (ต่อ)

สายพันธุ์	6-deoxysugars	ตำแหน่งของ (6-d-s)
Lactobacillus casei rhamnosus	L-rhamnose	(CW)
Marine bacterium	L-rhamnose	-
Methylomonas methanica	L-fucose	-
Methylococcus thermophilus	L-rhamnose	-
Methylocystis parvus	L-rhamnose, L-fucose	-
Mycobacterium album	L-rhamnose	-
Mycobacterium tuberculosis	-	(CW)
Myxobacterium sp.	D-rhamnose	-
Pseudomonas sp.	L-fucose, L-rhamnose	(F, CW)
Pseudomonas aeruginosa	L-rhamnose	(CW)
Pseudomonas atlantica	L-rhamnose	(F)
Pseudomonas cepacia	D-rhamnose	(CW)
Pseudomonas elodea	L-rhamnose	(F)
Pseudomonas hydrogenovora	L-rhamnose	(F)
Pseudomonas maltophilia	L-rhamnose	(CW)
Pseudomonas solanacearum	L-fucose, L-rhamnose	(F)
Rhizobium sp.	L-rhamnose	(C, F)
Rhizobium cowpea	L-rhamnose	(F)
Rhizobium japonicum	L-rhamnose	(F)
Rhodospirillum rubrum	L-fucose, L-rhamnose	(CW)
Salmonella sp.	L-rhamnose	(CW)
Salmonella anatum	L-rhamnose	-
Salmonella barilly	L-fucose	(F)
Salmonella choleraesuis	L-fucose	(F)
Salmonella champaign	L-fucose	-

หมายเหตุ (F) อยู่เป็นอิสระ (C) เกี่ยวข้องกับเซลล์ (CW) ผนังเซลล์ (-) ไม่ถูกระบุ ไม่พบตำแหน่ง

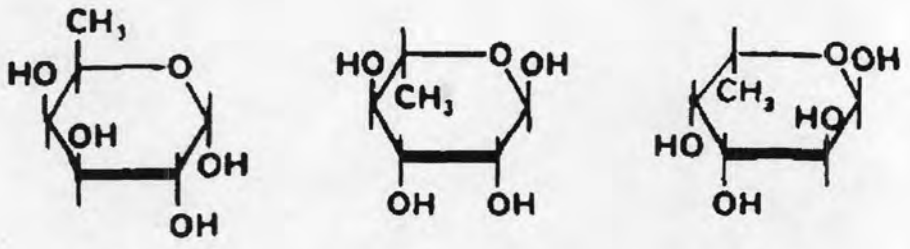
ที่มา : Graber, M. และคณะ (1988)

ตารางที่ 2.1 แบคทีเรียผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ที่ประกอบด้วย 6-deoxysugars (6-d-s) (ต่อ)

สายพันธุ์	6-deoxysugars	ตำแหน่งของ (6-d-s)
Salmonella dakar	L-rhamnose	-
Salmonella enteritidis	L-fucose, L-rhamnose	(F)
Salmonella gallinarum	L-rhamnose	(CW)
Salmonella typhimurium	L-fucose	(F)
Salmonella paratyphi B	L-fucose	(F)
Salmonella wandsworth	L-fucose	-
Serratia marcescens	L-rhamnose	-
Serratia piscatorum	L-rhamnose	(F)
Shigella boydii	L-rhamnose	(CW)
Shigella dysenteriae	L-rhamnose, L-fucose	-
Shigella Flexneri	L-rhamnose	-
Streptococcus sp.	L-rhamnose	(CW)
Streptococcus bovis	L-rhamnose, 6-d-L-talose	(CW)
Streptococcus mitior	L-rhamnose	(C)
Streptococcus pneumoniae	L-rhamnose, L-fucose	(CW)
Streptococcus sanguis	L-rhamnose	(C)
Streptococcus sobrinus	L-rhamnose	(CW)
Xanthomonas sp.	L-rhamnose	(F)
Xanthomonas campestris	L-rhamnose	(CW)
Xanthomonas juglandis	L-rhamnose	(F)
Yersinia pseudotuberculosis	L-fucose	-
Yersinia enterolitica	6-d-L-altrose	-

หมายเหตุ (F) อยู่เป็นอิสระ (C) เกี่ยวข้องกับเซลล์ (CW) ผนังเซลล์ (-) ไม่ถูกระบุ ไม่พบตำแหน่ง

ที่มา : Graber, M. และคณะ (1988)



(ก) (ข) (ค)

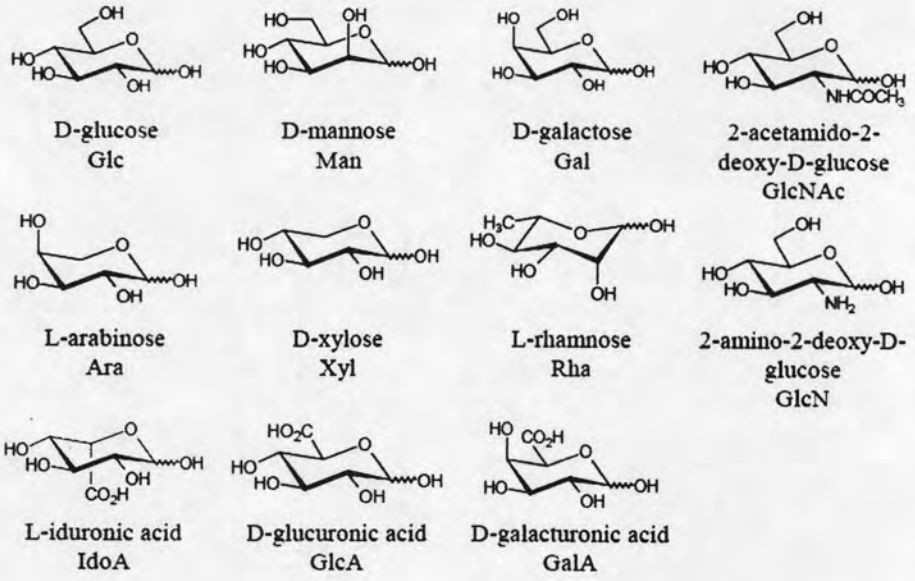
รูปที่ 2.2 ก) 6-deoxy-D-glucose หรือ quinovose (ข) 6-deoxy-L-mannose หรือ แรมโนส และ (ค) 6-deoxy-L-galactose หรือ ฟูโคส

ที่มา : Graber, M. และคณะ (1988)

2.1.2 องค์ประกอบของเอกโซพอลิแซ็กคาไรด์

ส่วนใหญ่เอกโซพอลิแซ็กคาไรด์ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรต โดยมีน้ำตาลหลายชนิด อาจจะมีสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์แทนที่อยู่ด้วย คาร์โบไฮเดรตถูกพบในเอกโซพอลิแซ็กคาไรด์เป็นจำนวนมาก โดยส่วนใหญ่น้ำตาลทั่วไปที่พบในพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้จากพืชและสัตว์เป็นพวกน้ำตาลดี-กลูโคส (D-glucose) น้ำตาลดี-กาแลคโทส (D-galactose) และน้ำตาลดี-แมนโนส (D-mannose) ในรูปไพราโนส ซึ่งอยู่ในเอกโซพอลิแซ็กคาไรด์จำนวนมาก และที่พบบ่อยเป็นพวก 6-deoxyhexoses น้ำตาลแอล-ฟูโคส (L-fucose) และ น้ำตาลแอล-แรมโนส (L-rhamnose) ความแตกต่างระหว่างยูแคริโอต และโพรแคริโอตสังเกตได้จากน้ำตาลเพนโตส พอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้จากยูแคริโอตประกอบด้วยน้ำตาลเพนโตส เช่น น้ำตาลดี-ไรโบส (D-ribose) หรือ น้ำตาลดี-ไซโลส (D-xylose) แต่จะพบได้น้อยกว่าเมื่อเทียบกับพอลิเมอร์ที่ได้จากโพรแคริโอต ยกเว้นในสาหร่าย แบคทีเรียที่มีน้ำตาลเพนโตสอาจจะพบพอลิแซ็กคาไรด์ในรูป sheath ส่วนใหญ่เอกโซพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้จากแบคทีเรียเป็นพอลิแอนไอออนิกในธรรมชาติ ซึ่งเป็น ยูโรนิก แอซิด (uronic acid) กับ ดี-กลูคิวโรนิก แอซิด (D-glucuronic acid) โดยพบได้บ่อย ส่วน ดี-กาแลคทิวโรนิก แอซิด (D-galacturonic acid) จะพบได้น้อยกว่า และพอลิแซ็กคาไรด์จำนวนน้อยที่มีดี-แมนนิวโรนิก แอซิด (D-mannuronic acid) โดยทั่วไปพอลิแซ็กคาไรด์จาก *Rhizobium* ประกอบด้วย ดี-กลูคิวโรนิก แอซิด และ ดี-กาแลคทิวโรนิก แอซิด และพอลิแซ็กคาไรด์จาก Staphylococcus aureus สายพันธุ์ M ประกอบด้วย 2-acetamido-2-deoxy-D-fucose และ 2-acetamido-2-deoxy-D-galacturonic acid (Sutherland, 1990)

Cerning และคณะ (1988) ได้รายงานว่า พอลิแซ็กคาไรด์โดยส่วนใหญ่ประกอบด้วย กลูโคส และกาแลคโทส จำนวนน้อยเป็นไซโลส อะราบิโนส แรมโนส และแมนโนส มีโครงสร้างดังรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 โครงสร้างมอโนแซ็กคาไรด์ที่พบมากที่สุดในพอลิแซ็กคาไรด์

ที่มา : Whistler และ BeMiller (1993)

Hung และคณะ (2005) พบว่า พอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตโดย *Pseudomonas fluorescens* สายพันธุ์ Biovar II ประกอบด้วย กาแลคโทส แมนโนส แรมโนส กลูโคส ฟูโคส ไรโบส อะราบิโนส และไซโลส ส่วน (Kachlany และคณะ, 2001) แสดงให้เห็นว่าเมื่อทำบริสุทธิ์พอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตโดย *Pseudomonas putida* สายพันธุ์ G7 ประกอบด้วยมอโนแซ็กคาไรด์พวก กลูโคส แรมโนส ไรโบส *N*-อะเซทิลgalactosamine และกลูคิวโรนิก แอซิด

Guentas และคณะ (2000) ได้รายงานว่า มีพอลิแซ็กคาไรด์ที่เพิ่มขึ้นมาชนิดใหม่จากสายพันธุ์ *Rhizobium* โดยประกอบไปด้วย หน่วยย่อยๆไดแซ็กคาไรด์ของกลูโคส และกลูคิวโรนิก แอซิค

เจลแลนกัมเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่ปล่อยออกมานอกเซลล์มีลักษณะเป็นเส้นตรง ประกอบด้วย กลูคิวโรนิก แอซิค แรมโนส และกลูโคส ซึ่งผลิตโดย *Pseudomonas elodea* (Kang และ Veeder, 1982; Kang และ Pettitt, 1993)

นอกจากนี้ยังพบมอโนแซ็กคาไรด์ตัวอื่นๆซึ่งเป็นน้ำตาลที่พบได้น้อย มอโนแซ็กคาไรด์เหล่านั้นอาจจะอยู่ในรูปแอล-เฮกโซส (L-hexose) หรือฟูราโนสของน้ำตาลเฮกโซส กลูโคส และกาแลคโทส ทั้งยังรวมถึงน้ำตาลในกลุ่ม *N*-อะเซทิลamino จำนวนมาก ซึ่งอาจจะยังไม่พบในพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้จากจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญในอุตสาหกรรม พอลิแซ็กคาไรด์จากแบคทีเรีย *Escerichia coli* มีน้ำตาลที่มีหมู่อะมิโนอยู่ แต่จะไม่มีในกลุ่ม *Xanthomonas* หรือ *Klebsiella* น้ำตาลที่มีหมู่อะมิโนที่พบบ่อยคือ *N*-อะเซทิล-D-glucosamine และ *N*-อะเซทิล-D-galactosamine บางครั้ง *N*-อะเซทิล-D-mannosamine สามารถพบได้บ้างเช่นกัน ส่วนน้ำตาลที่มีหมู่อะมิโนที่พบได้ยากมาก เช่น ฟูโคซามีน และทาโรซามีน น้ำตาลบางประเภทที่ไม่ธรรมดาเป็นองค์ประกอบในเอกโซพอลิแซ็กคาไรด์ คือ ketodeoxyoctonic acid (KDO), 3-keto-deoxy-D-*manno*octulosonic acid โดยส่วนใหญ่น้ำตาลพวกนี้จะพบในส่วนแกนของไลโพพอลิแซ็กคาไรด์จากผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบ ซึ่งมีจำนวนจำกัดในพอลิเมอร์ แต่เมื่อไม่นานมานี้พบว่ามีในส่วนประกอบของยูแคริโอต และเป็นองค์ประกอบของเอกโซพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้จากแบคทีเรีย *Escerichia coli* (Sutherland, 1990)

2.1.2.1 ส่วนแทนที่อินทรีย์

พอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจากจุลินทรีย์นอกเหนือจากมีคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบแล้ว ยังประกอบด้วยส่วนแทนที่ๆ เชื่อมต่อด้วยเอสเทอร์ (ester-linked substituents) จำนวนมาก และ pyruvate ketals ซึ่งพบได้มากในเอกโซพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้จากแบคทีเรีย แต่ไม่ค่อยพบในพอลิเมอร์จากยูแคริโอติก อะซิเตตเป็น ester-linked substituents ที่ไม่มีประจุบนโมเลกุลของพอลิแซ็กคาไรด์ ในตรงกันข้าม pyruvate ketals ซึ่งในธรรมชาติมีประจุลบของพอลิเมอร์ โดยทั่วไปไพรูเวตอยู่ในอัตราส่วน stoichiometric กับองค์ประกอบน้ำตาลของพอลิแซ็กคาไรด์ และเชื่อมกับ neutral hexose (Sutherland, 1990)

เอกโซพอลิแซ็กคาไรด์ที่ปลดปล่อยออกจากเซลล์ เช่น *Rhizobium leguminosarum, Rhizobium trifolii* และ *Rhizobium phaseoli* เป็นออกตะแซ็กคาไรด์ที่ประกอบขึ้นจากหน่วยย่อยของดี-กลูคิวโรนิก แอซิด และไพรูเวตเชื่อมกับน้ำตาลดี-กาแลคโทส และน้ำตาลดี-กลูโคส ด้วย ketal (Zevenhuizen, 1984)

เอกโซพอลิแซ็กคาไรด์บางตัวมีไพรูเวตอยู่เดี่ยวๆ เป็นพอลิเมอร์ที่มีประจุลบ ซึ่งเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตโดย *Escerichia coli* (Anderson และคณะ, 1987) และ *Zoogloea ramigera* พอลิเมอร์จะประกอบด้วย น้ำตาลดี-กลูโคส และน้ำตาลดี-กาแลคโทส เป็นมอโนแซ็กคาไรด์เท่านั้น มีไพรูเวตเชื่อมกับกาแลคโทส พอลิเมอร์อีกตัวหนึ่งซึ่งมีลักษณะคล้ายกันที่ผลิตโดย *Pseudomonas marginalis* แต่มีไพรูเวต และซักซิเนทแทน (Osman และ Fett, 1989)

จากรายงานพบว่ามีอะมิโน แอซิด จำนวนมากในเอกโซพอลิแซ็กคาไรด์ ซึ่งซีรีน (serine) ถูกพบในพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตโดย *Escerichia coli* สายพันธุ์ K40 ส่วนแอล-กลูตามิก แอซิด (L-glutamic acid) ถูกพบในพอลิแซ็กคาไรด์ของ *Klebsiella aerogenes* สายพันธุ์ 82 (Sutherland, 1990)

2.1.2.2 ส่วนแทนที่อนินทรีย์

พอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้จากแบคทีเรียพบฟอสเฟสเป็นจำนวนมากและบ่อย (Sutherland, 1990) ซึ่งมีความสำคัญเกี่ยวกับการสร้างภูมิคุ้มกัน เอกโซพอลิแซ็กคาไรด์จำนวนมากมีลักษณะคล้ายกับกรดไทโคอิกที่อยู่ในผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวก แบคทีเรียหลายสายพันธุ์ผลิตพอลิเมอร์ที่ประกอบด้วยฟอสเฟต และเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่สร้างภายนอกเซลล์ ซึ่งฟอสเฟตจะไม่มีในพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรียแกรมลบ เช่น *Klebsiella Rhizobium Xanthononas* และ *Pseudomonas* แต่สามารถพบได้ในพอลิแซ็กคาไรด์ของ *Escerichia coli* หลายสายพันธุ์ และองค์ประกอบสารอนินทรีย์ที่อยู่ในโครงสร้างของเอกโซพอลิแซ็กคาไรด์จะเป็นพอลิเมอร์แบบ polyanionic โดยจะอยู่ในรูปของเกลือที่มีการรวมกันของประจุลบ ซึ่งบางทีอาจจะจับกันแน่นกับตัวอื่นมากกว่า ดังนั้นอัลจิเนตจะจับกับแคลเซียม แบเรียม และสตรอนเตียมอย่างแข็งแรง ในขณะที่พอลิแซ็กคาไรด์ XM6 จาก *Enterobacter* จับกับโซเดียม และแคลเซียม ไอออนต่างๆจะอยู่รวมกับพอลิเมอร์ระหว่างการผลิต แต่สามารถนำออกไปได้โดยกระบวนการที่เหมาะสม เช่น ion exchange และ electrodialysis ฯลฯ และทำให้เปลี่ยนไปเป็น free acid หรือ อยู่ในรูปของเกลือ ซึ่งสิ่งนี้คือความสำคัญในการตัดสินสมบัติทางกายภาพของเอกโซพอลิแซ็กคาไรด์ แต่โดยทั่วไปไม่ต้องการสำหรับผลิตภัณฑ์ทางการค้า ประเภทของ non-carbohydrate substituents ที่พบในเอกโซพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้จากจุลินทรีย์ ดังแสดงในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 Non-carbohydrate substituents ของเอกโซพอลิแซ็กคาไรด์จากแบคทีเรียแกรมลบ

หน่วยแทนที่	ชนิดของพันธะ	ประจุสุทธิ	จุลินทรีย์ที่ผลิต
กรดอินทรีย์			
Acetate	Ester	None	พบมากใน *Klebsiella* spp; colanic acid
Glycerate	Ester	Negative	*Sphingomonas paucimobilis* *Pseudomona elodea*
Hydroxybutanoate	Ester	None	*Rhizobium trifolii*, *Rhizobium leguminosarum*, etc.
Propionate	Ester	None	พบบ้างใน *Escerichia coli*
Pyruvate	ketal	Negative	พบมากใน *Klebsiella* spp; colanic acid
Succinate	Half ester	Negative	*Rhizobium sp.*, *Agrobacterium* sp.
กรดอนินทรีย์			
Phosphate		Negative	พบในบางสกุล พบน้อยใน spp. แกรมลบ
Sulphate		Negative	cyanobacteria; *Haloferax mediterranea*
กรดอะมิโน			
L-glutamate			*Klebsiella aerogenes* สายพันธุ์ K82
Serine			*Escerichia coli* สายพันธุ์ K40

ที่มา : Sutherland (1990) และ Sutherland (2001)

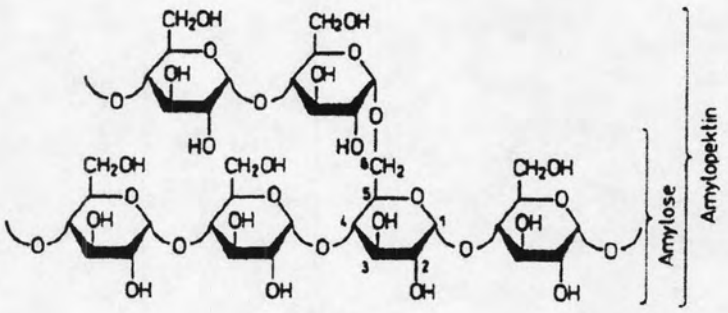
2.2 การจำแนกชนิดของพอลิแซ็กคาไรด์

2.2.1 จำแนกตามหน้าที่ของพอลิแซ็กคาไรด์

สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 แบบ ดังต่อไปนี้ คือ (Linton และคณะ, 1991)

2.2.1.1 **พอลิแซ็กคาไรด์สะสม** (Storage polysaccharides)

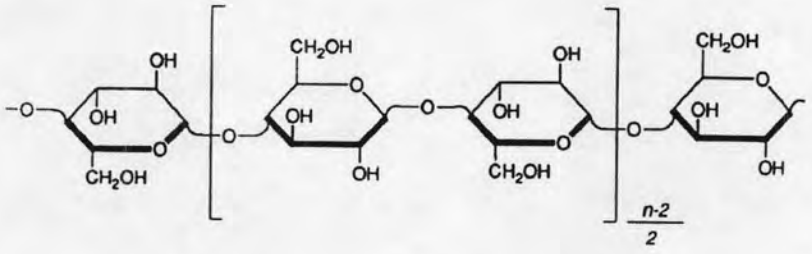
คือ ส่วนที่รวบรวมเก็บสะสมไว้ในเซลล์ เมื่อมีความต้องการหรือยามขาดแคลนจะนำไปใช้ โดยจะถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์กลายเป็นกลูโคส แล้วจึงนำไปใช้ต่อไป เช่น แป้งในพืช มีโครงสร้างดังรูปที่ 2.4 ไกลโคเจนในสัตว์



รูปที่ 2.4 โครงสร้างแป้งในพืชที่ประกอบด้วยอะไมโลส [poly(1,4-α-D-glucose)] และอะไมโลเพคติน [1,6-branched amylose]
ที่มา : Whistler และ Miller (1993)

2.2.1.2 **พอลิแซ็กคาไรด์โครงสร้าง** (Structure polysaccharides)

คือ พวกที่เสริมสร้างความแข็งแรงให้แก่เซลล์ เช่น เซลลูโลสในพืช มีโครงสร้างดังรูปที่ 2.5 ไคตินในเปลือกกุ้งและปู รวมทั้งในโครงสร้างผนังเซลล์ของรา



รูปที่ 2.5 โครงสร้างเซลลูโลสในพืช

ที่มา : Whistler และ Miller (1993)

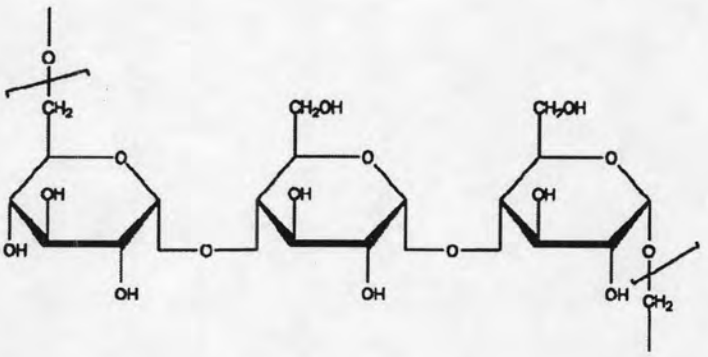
2.2.2 จำแนกตามชนิดของมอโนแซ็กคาไรด์ที่เป็นองค์ประกอบ

ส่วนใหญ่ลำดับโครงสร้างทางเคมีของพวก homopolymeric หรือ heteropolymeric (Margaritis และ Pace, 1985) เกิดจากน้ำตาลและองค์ประกอบที่ไม่ใช่น้ำตาล มารวมกันของมอโนแซ็กคาไรด์ต่อกับ non-carbohydrate substituents และชนิดของตัวเชื่อมที่แตกต่างกันรวมกันเป็นสารพอลิแซ็กคาไรด์ ซึ่งมีความแตกต่างกันในแบคทีเรีย (Keene และ Lindberg, 1983) โครงสร้างพอลิแซ็กคาไรด์ของแบคทีเรียแกรมลบส่วนใหญ่อยู่ในลักษณะไม่ซับซ้อน ประกอบด้วย ฮอมอพอลิแซ็กคาไรด์ (พอลิเมอร์ประกอบด้วยกลูโคส) หรือ เฮเทอโรพอลิแซ็กคาไรด์ซึ่งประกอบด้วย หน่วยย่อยจากไดแซ็กคาไรด์ถึงออกตะแซ็กคาไรด์ 2-4 ชนิดของมอโนแซ็กคาไรด์และกลุ่มเอซิลจำนวนมาก (Sutherland, 2001) พอลิแซ็กคาไรด์สามารถจัดประเภทเป็น ฮอมอพอลิแซ็กคาไรด์ (Homopolysaccharides) และ เฮเทอโรพอลิแซ็กคาไรด์ (Heteropolysaccharides) (Yuen, 1974; Weiss และ Ollis, 1980; Byrom, 1991; Jorris และ Vandamme, 1993; Garcia-Ochoa และคณะ, 1995)

2.2.2.1 ฮอมอพอลิแซ็กคาไรด์ (Homopolysaccharides)

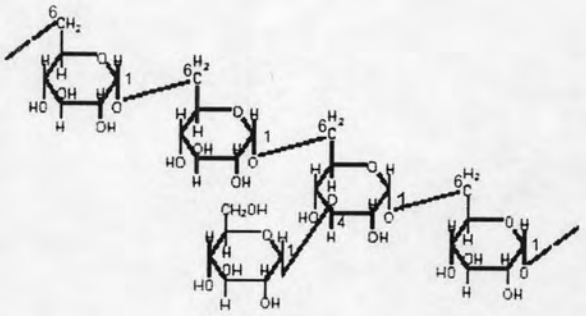
คือ พอลิแซ็กคาไรด์ที่ประกอบด้วยมอโนแซ็กคาไรด์เพียงชนิดเดียว เช่น พูลลูแลน (Pullulan) เดกซ์แทรน (Dextran) ซึ่งมีกลูโคสเป็นองค์ประกอบ และยังมีตัวอย่างอีก เช่น เซลลูโลส (Cellulose) มิวแทน (Mutan) อัลเทอร์แนน (Alternan) เวลแลน (Welman) ลีแวน (Levan) เคอร์ดแลน (Curdlan) (Laws และคณะ, 2001) และสเคลอโรกลูแคน (Scleroglucan) (Sutherland, 1990) โดยการสร้างพอลิแซ็กคาไรด์ประเภทนี้สันนิษฐานว่าถูกสร้างมาจากการทำงานและการควบคุมของเอนไซม์ที่มีระบบไม่ซับซ้อน

พูลลูแลนเป็นฮอมอพอลิแซ็กคาไรด์ ที่มีลักษณะเป็นเส้นตรง ประกอบด้วยหน่วยของมอลโทไทรโอส (maltotriose) เชื่อมด้วย α(1→4) และ α(1→6) glucan โดยหน่วยกลูโคสในมอลโทไทรโอสจะเชื่อมกันด้วยพันธะ α(1→4) glucosidic ในขณะที่มอลโทไทรโอสจะเชื่อมกับตัวอื่นด้วยพันธะ α(1→6) glucosidic ซึ่งผลิตโดย *Pullularia pullulans* (*Aureobasidium pullulans*) และผลิตภัณฑ์คล้ายกับราสายพันธุ์อื่น *Tremella mesenterica* และ *Cyttaria harioti* (Taguchi และคณะ, 1973; Leduy และคณะ, 1988; Sutherland, 1990) โครงสร้างแสดงดังรูปที่ 2.6



รูปที่ 2.6 โครงสร้างของพูลลูแลน

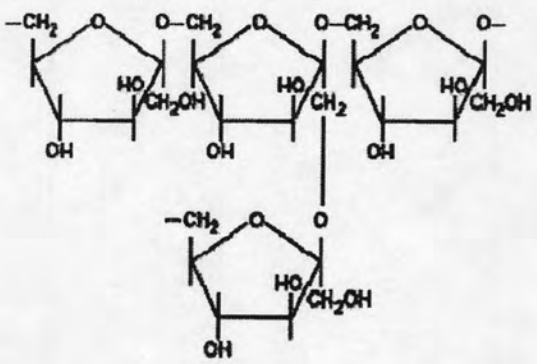
เดกซ์แทรนเป็นฮอมอพอลิแซ็กคาไรด์ชนิดที่ผลิตและปลดปล่อยออกมาภายนอกเซลล์ (exopolysaccharide) (Jeanes และคณะ, 1954; Robyt, 1986; Broadbent และคณะ, 2003) ที่ประกอบขึ้นจากหน่วยย่อยของน้ำตาลดี-กลูโคส ที่ได้จากการสลายของซูโครสมาจับกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก (glycosidic linkage) หรือที่เรียกว่า กลูแคน (glucan) โดยพันธะนี้จะเป็นชนิด α-1,6 เป็นส่วนใหญ่ และยังประกอบด้วยพันธะไกลโคซิดิกชนิด α-1,2 α-1,3 และ α-1,4 เป็นส่วนของกิ่งสาขาอีกด้วย (Jeanes และคณะ, 1954; Robyt, 1986; Dols-Lafargue และคณะ, 1997b; Park และคณะ, 2001) ดังรูปที่ 2.7 ซึ่งสามารถผลิตโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ *Leuconostoc* sp. Streptococcus sp. และ *Acetobacter* sp. (Qader และคณะ, 2005)



รูปที่ 2.7 โครงสร้างของเดกซ์แทรน

ที่มา : Pharmacosmos (2006)

ลีแวนเป็นพอลิเมอร์ที่เป็นฟรุคโทส ประกอบด้วย β-(2,6)-frutosyl-fructose เชื่อมต่อโมเลกุลและสายอื่น โครงสร้างแสดงดังรูปที่ 2.8 น้ำหนักโมเลกุลที่ได้จากจุลินทรีย์หรือจากการย่อยด้วยเอนไซม์อยู่ที่ประมาณ 2.5×10^6 (Iizuka และคณะ, 1993) ผลิตโดย *Zymomonas mobilis* (Bekers และคณะ, 2005)

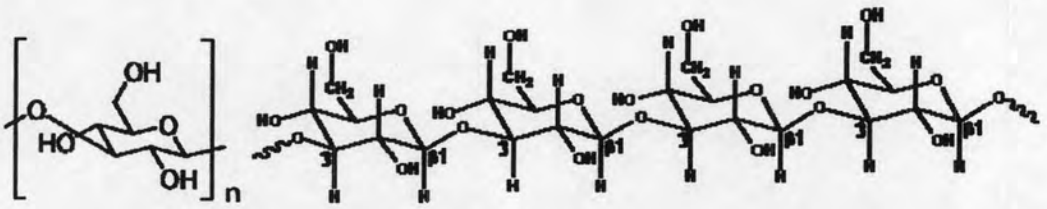


รูปที่ 2.8 โครงสร้างของลีแวน

ที่มา : Montana Polysaccharides Corp. (2007)

เคอร์ดแลน หรือ β-1,3-glucan เป็นพอลิเมอร์ของกลูโคส 1,3-β-D-glucan ที่น้ำหนักโมเลกุลสูง ซึ่งไม่ละลายน้ำ โดยประกอบด้วย β-(1,3) เชื่อมกับกลูโคสที่เหลือ โครงสร้างแสดงดังรูปที่ 2.9 และมีประจุเป็นกลาง สามารถรวมตัวเป็นเป็นเจลที่ยืดหยุ่นได้เป็นสารแขวนลอยกับน้ำเมื่อโดนความร้อน ผลิตได้จากแบคทีเรียสายพันธุ์ *Alcaligenes faecalis* var. *myxogenes* *Agrobacterium* sp. และ *Rhizobium* sp. (Sutherland, 1990)

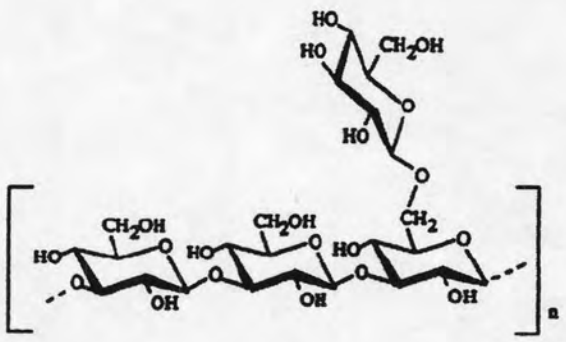
หอสมุดกลาง สำนักงานวิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 2.9 โครงสร้างของเคอร์ดแลน

ที่มา : Chaplin (2008)

สเคลอโรกลูแคน เป็นพอลิเมอร์ที่มีกิ่งก้านประกอบด้วย สายหลักของ (1⟶3) เชื่อมกับหน่วย β-D-glucopyranosyl โดยทุก 3 หน่วย จะมีหน่วย β-D-glucopyranosyl เดี่ยว เชื่อมด้วย (1⟶6) (Bluhm และคณะ, 1982; Rizk และคณะ, 1994) โครงสร้างแสดงดังรูปที่ 2.10 ซึ่งมีความสัมพันธ์กับ β-D-glucans ผลิตโดยราหลายสายพันธุ์รวมถึง *Sclerotium rolfsii* และ *Schizophyllum commune* (Sutherland, 1990)



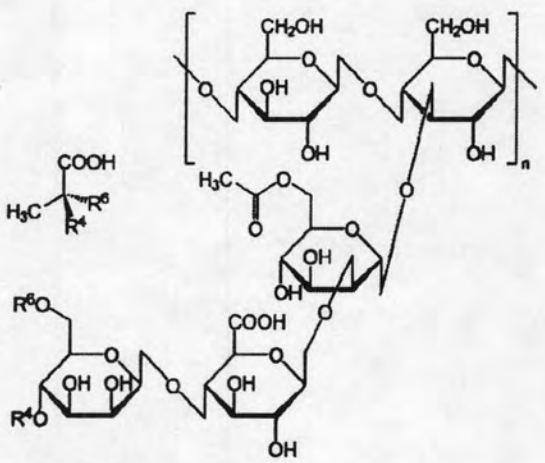
รูปที่ 2.10 โครงสร้างของสเคลอโรกลูแคน

ที่มา : Coviello และคณะ (2005)

2.2.2.2 เฮเทอโรพอลิแซ็กคาไรด์ (Heteropolysaccharides)

คือ พอลิแซ็กคาไรด์ที่ประกอบด้วยมอโนแซ็กคาไรด์ตั้งแต่ 2 ชนิดขึ้นไป เช่น แซนแทน (Xanthan) ประกอบด้วย กลูโคสและแมนโนส เจลแลน (gellan) (Laws และคณะ, 2001) อัลจิเนตที่ผลิตโดยแบคทีเรีย ซักซิโนไกลแคน (Succinoglycan) (Sutherland, 1990) เป็นต้น โดยการสร้างพอลิแซ็กคาไรด์ประเภทนี้สันนิษฐานว่าถูกสร้างขึ้นมาจากการทำงานและการควบคุมของเอนไซม์ที่มีระบบซับซ้อน

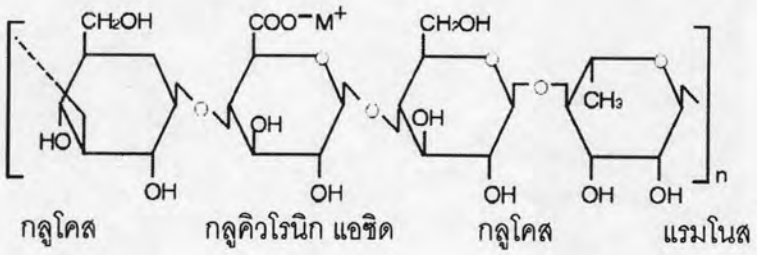
แซนแทนเป็นเฮเทอโรพอลิแซ็กคาไรด์ ซึ่งผลิตโดยการหมักแบบใช้อากาศของ *Xanthomonas campestris* ประกอบขึ้นจากหน่วยย่อยเพนตะแซ็กคาไรด์ (pentasaccharide) ประกอบไปด้วย ดี-กลูโคส ดี-แมนโนส ดี-กลูคิวโรนิก แอซิด ในอัตราส่วนทั้งหมด 2:2:1 โดยมี acetal-เชื่อม pyruvic acid และ D-อะเซทิล groups (Baird, 1989) ซึ่งแกนกลาง (backbone) ของสายพอลิแซ็กคาไรด์ประกอบด้วยสองหน่วยของ β-D-glucose เชื่อมตรงตำแหน่ง 1 และ 4 สายด้านข้าง (side chain) ประกอบด้วยแมนโนส 2 ตัว และกลูคิวโรนิก 1 ตัว ดังนั้นทั้งสายจึงประกอบด้วยหน่วยน้ำตาล 5 หน่วยซ้ำ สายข้างเชื่อมกับกลูโคสอื่นตำแหน่งที่ 3 ของแกนกลาง หน่วยของแมนโนสมีกลุ่ม pyruvic acid เชื่อมเป็น ketal ที่ตำแหน่ง 4 และ 6 หน่วยแมนโนสอื่นมีกลุ่มอะเซทิล ตำแหน่งที่ 6 โดยสายเหล่านี้จะอยู่ในรูป double helix ทำให้มีประสิทธิภาพสูงทางด้านความหนืด (Sutherland, 1990; Mandala และคณะ, 2004) โครงสร้างแสดงดังรูปที่ 2.11



รูปที่ 2.11 โครงสร้างของแซนแทน

ที่มา : Zamora (2006)

เจลแลนเป็นเฮเทอโรพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีเส้นตรงเป็นหน่วยเตตระแซ็กคาไรด์ ชนิดที่ผลิตและปลดปล่อยออกมาภายนอกเซลล์ โดย *Sphingomonas paucimobilis* (ชื่อเดิม *Pseudomonas elodea*) (Kang และ Veeder, 1982; Martin และคณะ, 1996) ประกอบด้วยดี-กลูโคส (Glc), ดี-กลูคิวโรนิก แอซิด (GlcA) และที่เหลือเป็นแอล-แรมโนส (Rha) (Jansson และคณะ, 1983) ซึ่ง (1-3)-b-β-glucose, (1-4)-β-D-glucuronic acid, (1-4)-β-D-glucose และ (1-4)-β-L-rhamnose เป็นแกนกลาง (Noda และคณะ, 2008) โครงสร้างแสดงดังรูปที่ 2.12

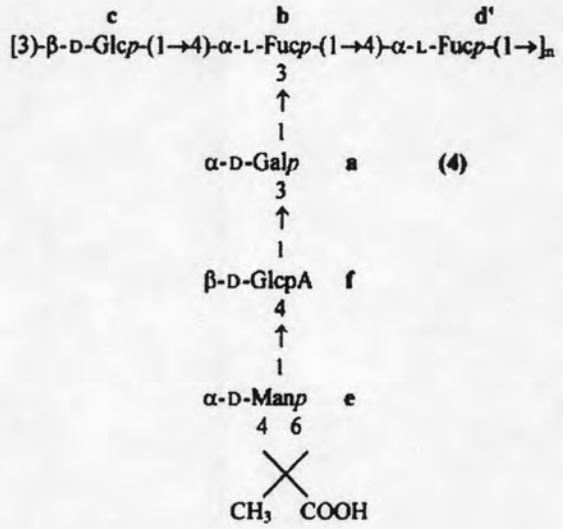


รูปที่ 2.12 โครงสร้างของเจลแลน

ที่มา : Paradise (2007)

ในการค้นพบสมัยก่อนการผลิตเมือกของจุลินทรีย์ 600 โคโลนี จากน้ำตาลหัวบีทจากประเทศฟินแลนด์ ใน 600 โคโลนีมี 170 ผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ได้ได้ ซึ่งเป็นเฮเทอโรพอลิแซ็กคาไรด์ 35% โดยแต่ก่อนเชื่อว่าเป็นฮอมอพอลิแซ็กคาไรด์ 95% ที่ผลิตโดยจุลินทรีย์ที่อยู่ในน้ำตาลหัวบีทเน่าเสีย เหมือนลีแวนหรือเดกซ์แทรน หนึ่งในไอโซเลตพบว่าเป็น *Enterobacter amnigenus* ซึ่งผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเฮเทอโรพอลิเมอร์ซึ่งประกอบด้วย ดี-กลูโคส ดี-กาแลคโทส แอล-ฟูโคส และดี-แมนโนส โครงสร้างหลัก(ปฐมภูมิ) แสดงดังรูปที่ 2.13 จากโครงสร้างพบว่ามีลักษณะคล้ายกันมากกับแบคทีเรียที่ผลิตพอลิเมอร์ 2 สายพันธุ์ โดยคล้ายกับ Clavan ที่ผลิตโดย *Clavibacter michiganensis* subsp. *insidiosus* มีแกนกลางแต่สายข้างสั้นกว่าประกอบด้วย pyruvylated galactose residue เท่านั้น และคล้ายกับพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตโดย *Pseudomonas* sp. สายพันธุ์ 1.15 แยกจากสิ่งแวดล้อม แตกต่างเพียง pyruvylated galactose ถูกแทนที่ด้วย pyruvylated mannose (Cescutti และคณะ, 2005)

Pyruvate ketals เป็นหมู่แทนที่ (substituents) ที่ส่วนมากมีอยู่ในพอลิแซ็กคาไรด์จากแบคทีเรียแกรมลบ และส่วนท้ายของสายข้างในพอลิแซ็กคาไรด์จาก *Enterobacter amnigenus* (f และ e ในโครงสร้าง 4) ในรูปที่ 2.13 คล้ายกับแซนแทนจาก *Xanthomonas campestris* (Cescutti และคณะ, 2005)



รูปที่ 2.13 โครงสร้างหลักของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตโดย *Enterobacter amnigenus*

ที่มา : Cescutti และคณะ (2005)

พอลิแซ็กคาไรด์ของ *Streptococcus thermophilus* สายพันธุ์ OR 901 แยกจากหางนมที่เอาโปรตีนออก เป็นเฮเทอโรพอลิเมอร์ของ D-galactopyranose และ L-rhamnopyranose residues ในอัตราส่วน 5:2 และมีหน่วยย่อยเป็นเฮปตะแซ็กคาไรด์แบบกิ่งก้าน (Bubb และคณะ, 1997)

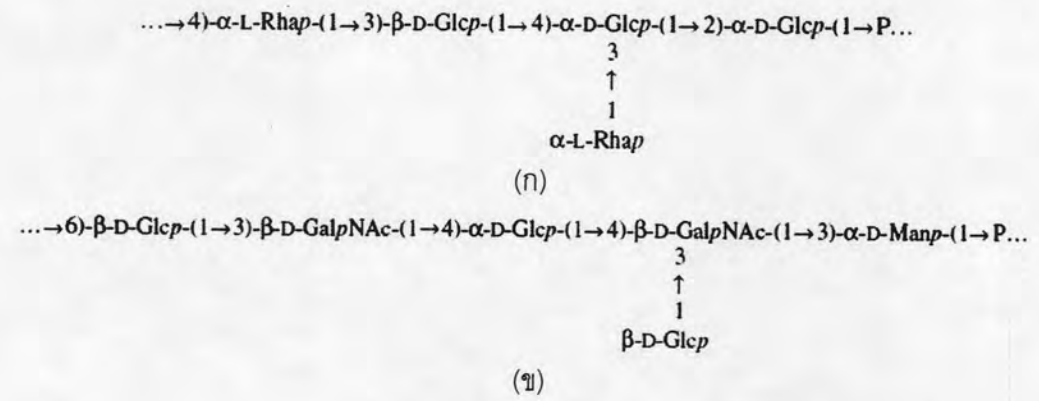
2.3 พอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้จากจุลินทรีย์ (Microbial polysaccharides)

จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ได้มีทั้งแบคทีเรีย ยีสต์ และรา เช่น *Xanthomonas campestris* ผลิตแซนแทนกัม *Pseudomonas elodea* ผลิตเจลแลน *Leuconostoc mesenteroides* ผลิตเดกซ์แทรน *Alcaligenes* sp. ผลิตเวลแลน และแรมแซน (Rhamsan) *Alcaligenes faecalis* var. *myxogenes* ผลิตเคอร์ดแลน หรือซักซิโนไกลแคน *Aureobasidium pullulans* ผลิตพูลลูแลน *Sclerotium rolfsii* ผลิตสเคลอโรกลูแคน เป็นต้น ซึ่ง

จุลินทรีย์เหล่านี้มีทั้งที่ก่อโรคและไม่ก่อโรค โดยจุลินทรีย์ต่างชนิดกันจะสร้างพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีหน้าที่แตกต่างกันไป สามารถจำแนกได้เป็น 3 แบบ คือ (Paul, 1979)

1 พอลิแซ็กคาไรด์ที่เป็นโครงสร้าง (Structural polysaccharides)

พอลิแซ็กคาไรด์เป็นองค์ประกอบที่แทรกอยู่ในผนังเซลล์และในบางกรณีอาจรวมตัวกับส่วนประกอบอื่น เช่น ไลปิด เป็นไลโพพอลิแซ็กคาไรด์ และกรดไทโคอิก ซึ่งอยู่ในผนังเซลล์และเมมเบรนของแบคทีเรียแกรมบวก (Graber และคณะ, 1988) ที่ผลิตโดย *Clostridium difficile* (Ganeshapillai และคณะ, 2008) แสดงโครงสร้างดังรูปที่ 2.14

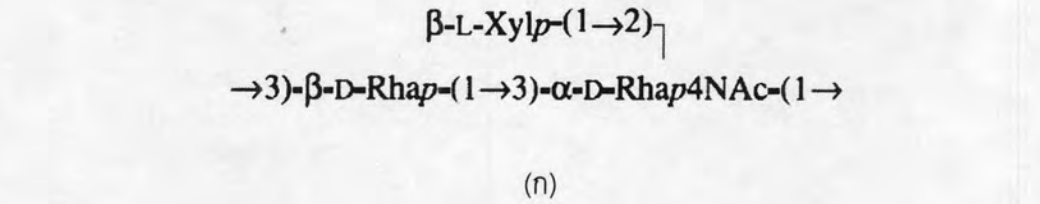


รูปที่ 2.14 โครงสร้างของกรดไทโคอิกที่เป็นโครงสร้างพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตโดย *Clostridium difficile* ที่ประกอบด้วยหน่วยย่อยของ ก) pentaglycosyl phosphate ข) hexaglycosyl phosphate

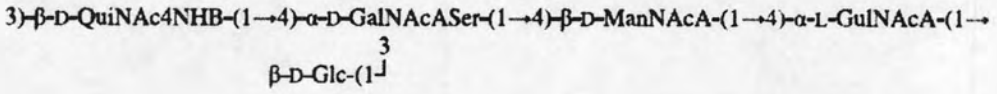
ที่มา : Ganeshapillai และคณะ (2008)

ไลโพพอลิแซ็กคาไรด์พบในผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบ (Graber และคณะ, 1988) มีบทบาทสำคัญในสัตว์ที่มีความสัมพันธ์แบบปรสิต อย่างไรก็ตามไลโพพอลิแซ็กคาไรด์ก็ยังมีความสัมพันธ์ระหว่างแบคทีเรียก่อโรคและพืชอีกด้วย (Evidente และ Motta, 2002) ซึ่งจะมีน้ำตาลแรมโนสใน O-specific polysaccharide ของแบคทีเรียที่ก่อโรคในพืช กลุ่มของแรมโนสที่เป็นแกนกลางจะถูกแสดงว่าอยู่ใน O-specific-polysaccharide ของไลโพพอลิแซ็กคาไรด์จากสายพันธุ์ *Xanthomonas* และ *Pseudomonas* ที่ก่อโรคในพืช (Jansson, 1999; Evidente และ Motta, 2002) โครงสร้างแสดงดังรูปที่ 2.15 และแบคทีเรียที่ก่อโรคในพืชตัวอื่นอีก เช่น *Pantoea agglomerans* สายพันธุ์ FL1 (Cimmino และคณะ, 2008) ดังแสดงรูปที่ 2.16

ตัวอย่างแบคทีเรียที่สร้างไลโพพอลิแซ็กคาไรด์ เช่น *Cellulophaga fucicola* เป็นโครงสร้าง O-polysaccharide ใหม่ ประกอบด้วย 5,7-diacetamido-3,5,7,9-tetradeoxy-L-glycero-L-manno-non-2-ulosonic acid residue (pseudoaminic acid, Psep) (Perepelov และคณะ, 2007) และ *Burkholderia cepacia* สายพันธุ์ ASP B 2D (Leone และคณะ, 2006)



(ก)

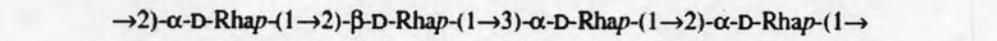


(ข)

รูปที่ 2.15 โครงสร้างของ O-specific polysaccharide (OPS) จากไลโพพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตโดย ก) *Xanthomonas cassavae* สายพันธุ์ GSPB 2437

ข) *Pseudomonas* sp. สายพันธุ์ OX1

ที่มา : Senchenkova และคณะ (2004) และ Leone และคณะ (2008)



รูปที่ 2.16 โครงสร้างของ O-specific polysaccharide ของไลโพพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตโดย *Pantoea agglomerans* สายพันธุ์ FL1

ที่มา : Cimmino และคณะ (2008)

2 พอลิแซ็กคาไรด์ที่สร้างภายในเซลล์ (Intracellular polysaccharides)

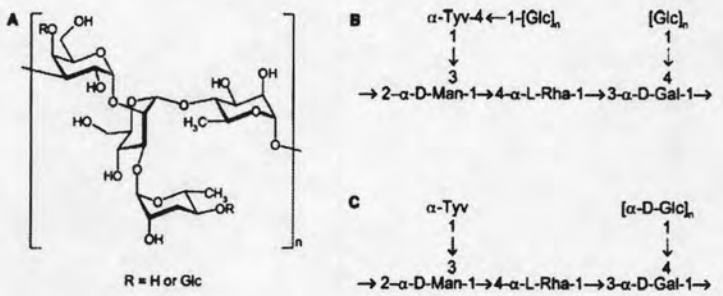
พอลิแซ็กคาไรด์บางส่วนจะรวมเป็นส่วนหนึ่งของเยื่อหุ้มเซลล์ (Cytoplasmic membrane) โดยทำหน้าที่เป็นแหล่งสะสมอาหารจำพวกคาร์บอนหรือแหล่งสะสมพลังงานของเซลล์

3 พอลิแซ็กคาไรด์ที่สร้างภายนอกเซลล์ (Extracellular polysaccharides)

พอลิแซ็กคาไรด์ชนิดนี้สร้างขึ้นเพื่อเป็นโครงสร้างที่ใช้ห่อหุ้มเซลล์ที่เรียกว่าแคปซูล ตัวอย่างจาก *Salmonella enteritidis* (Snyder และคณะ, 2006) *Rhizobium rubi* สายพันธุ์ DSM 30149 (Castro และคณะ, 2008) *Kaistella flava* (Gargiulo และคณะ, 2008) และ *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* (Marie-Deutsch และคณะ, 2008)

บางชนิดที่สร้างและปล่อยออกมาภายนอกเซลล์ ละลายอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ในระดับอุตสาหกรรมจึงนิยมนำเชื้อเหล่านี้มาใช้ในการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์มากกว่าจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ เพราะง่ายต่อการสกัดแยกออกจากผนังเซลล์

แคปซูลที่ผลิตได้จาก *Salmonella enteritidis* พบว่าแซ็กคาไรด์ปฐมภูมิที่อยู่ในแคปซูลของ *S. enteritidis* มีลักษณะโครงสร้างแบบกิ่ง 4 กิ่ง โดยหน่วยย่อยมีลักษณะดังรูปที่ 2.17 ซึ่งในหน่วยย่อยจะมีการเชื่อมต่อของกลูโคสเข้าไปที่ตำแหน่งสายข้างของไทวีโลส (tyvelose) และกาแลคโทส ซึ่งสามารถพบได้เป็นจำนวนมากในแคปซูลจากแบคทีเรียแกรมลบนอกจากนี้มีกรดไขมันในระดับที่บ่งชี้ได้เป็นไขมัน (Snyder และคณะ, 2006)



รูปที่ 2.17 โครงสร้างพอลิแซ็กคาไรด์ที่เป็น Capsular polysaccharide ที่ผลิตโดย *Salmonella enteritidis* A) โครงสร้างโดยรวม B) หน่วยโอลิโกแซ็กคาไรด์ที่มีรูปเส้นตรง C) โครงสร้างเส้นตรงของหน่วยย่อย O-Ag

ที่มา : Snyder และคณะ (2006)

Rhizobium rubi สายพันธุ์ DSM 30149 เป็นแบคทีเรียแกรมลบที่ก่อโรคในพืช ซึ่งผลิตพอลิแซ็กคาไรด์เป็นแบบเส้นตรง ประกอบด้วย α-L-rhamnose สองหน่วย และ β-L-acofriose หนึ่งหน่วย โดยมีหน่วยย่อยเป็นลักษณะดังรูปที่ 2.18 มีลักษณะคล้ายกับไลโพฟิลิก (lipophilic) อีกสายพันธุ์ของ *Rhizobium rubi* เป็นพอลิเมอร์ที่มีประจุลบสูง (Castro และคณะ, 2008)

$$[4)\text{-}\alpha\text{-L-Rha}p\text{-}(1\rightarrow3)\text{-}\alpha\text{-L-Rha}p\text{-}(1\rightarrow2)\text{-}\beta\text{-L-3OMe-Rha}p\text{-}(1\rightarrow]_n$$

รูปที่ 2.18 โครงสร้างพอลิแซ็กคาไรด์ที่เป็น Capsular polysaccharide
Rhizobium rubi สายพันธุ์ DSM 30149
ที่มา : Castro และคณะ (2008)

พอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้จากจุลินทรีย์เป็นพอลิเมอร์ที่ละลายน้ำ และในธรรมชาติอาจจะมีประจุไฟฟ้า หรือไม่มีประจุไฟฟ้า (Kumar และคณะ, 2004) โดยสามารถจำแนกชนิดของพอลิแซ็กคาไรด์ออกตามลักษณะประจุไฟฟ้าที่อยู่บนโมเลกุลของพอลิแซ็กคาไรด์ได้ 3 ชนิด คือ (Margaritis และ Pace, 1985)

1 พอลิแซ็กคาไรด์ที่มีประจุลบ (Anionic polysaccharides)

บางครั้งเรียกว่า Acidic polysaccharides เช่น แซนแทนที่มีหมู่อะเซทิล กับไพรูเวตอยู่บนโมเลกุล

ตัวอย่างแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์สามารถผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีประจุลบได้จาก *Cryptococcus laurentii* var. *flavescens* (Okutani, 1984) *Klebsiella pneumoniae* (Kang และคณะ, 1983) *Pseudomonas* sp. (Williams และ Winpenny, 1977) *Arthrobacter viscosus* (Sloneker และคณะ, 1968) *Pestalotiopsis* sp.(Kwon และคณะ, 1996) *Bacillus* sp.(Suh และคณะ, 1997) *Enterobacter* sp. (Yokoi และคณะ, 1997) และ *Zoogloea ramigera* (Suh และคณะ, 1997) รวมทั้งแสดงในตารางที่ 2.3

2 พอลิแซ็กคาไรด์ที่มีประจุเป็นกลาง (Neutral polysaccharides)

ได้แก่ ลีแวน พูลลูแลน เดกซ์แทรน และสเคลอโรกลูแคน เป็นต้น ตัวอย่างจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีประจุเป็นกลางแสดงในตารางที่ 2.4 และดังตัวอย่างด้านล่าง

Enterobacter aggromerans ประกอบด้วยกลูโคสและกาแลคโทส (Yoo และ Chnng, 1989; Yoo และคณะ, 1989)

Lactobacillus delbrueckii ssp. *bulgaricus* สายพันธุ์ LBB.B332 เป็นเพนตะแซ็กคาไรด์เส้นตรง ประกอบด้วย ดี-กลูโคส, ดี-กาแลคโทส และ แอล-แรมโนส ในอัตราส่วน 1:2:2 (Sanchez-Medina และคณะ, 2007)

3 พอลิแซ็กคาไรด์ที่มีประจุบวก (Cationic polysaccharides)

ได้แก่ พวกที่มีหมู่แอมโมเนีย (NH_3) ฯลฯ หรือมีหมู่ของกรดอะมิโนบางตัวต่ออยู่ ตัวอย่างพอลิเมอร์ที่เป็นพอลิกลูตาเมต (polyglutamate) เช่น *Bacillus subtilis* (Yokoi และคณะ, 1995; Yokoi และคณะ, 1996; Ashiuchi และคณะ, 2001) และ *Bacillus licheniformis* (Hoppensack และคณะ, 2003)

พอลิเมอร์ที่เป็นโปรตีนผลิตโดย *Rhodococcus erythropolis* (Takeda และคณะ , 1991) พอลิเมอร์ที่เป็นไกลโคโปรตีนผลิตโดย *Arcuadendron* sp.(Lee และคณะ, 1995)

ตารางที่ 2.3 พอลิแซ็กคาไรด์ที่มีประจุลบ (Anionic polysaccharides)

จุลินทรีย์	หน่วยย่อยของพอลิแซ็กคาไรด์	เอกสารอ้างอิง
Alteromonas infernus	Nonasaccharide ประกอบด้วย กลูโคส กาแลคโทส กลูคิวโรนิก แอซิด กาแลคทิวโรนิก แอซิด และแรมโนสไม่แน่นอน	Roger และคณะ (2004)
Erwinia persicina	Branched pentasaccharide	Kiessling และคณะ (2005)
Rhodococcus erythropolis สายพันธุ์ PR4	Pentasaccharide ประกอบด้วย กลูโคส, N-acetylglucosamine, กลูคิวโรนิกแอซิด, และฟูโคส ในอัตราส่วน 2:1:1:1	Urai และคณะ (2007)
Burkholderia tropica	Pentasaccharide ประกอบด้วย Rha, Glc และ GlcA ใน อัตราส่วน 2.0:2.0:1.0	Serrato และคณะ (2008)
Alloiococcus otitidis	Trisaccharide ประกอบด้วย N-acetyl-D-glucosamine (GlcpNAc), 6-substituted N-acetyl-D-galactosamine (GalpNAc), 4-substituted D-กลูคิวโรนิกแอซิด (GlcpA) และ แอล-กลูตามิก แอซิด (Glu)	Arar และคณะ (2008)
Sphingomonas elodea	เจลแลนกัม ประกอบด้วย ดี-กลูโคส (Glc), ดี-กลูคิวโรนิก แอซิด (GlcA) และที่เหลือเป็น แอล-แรมโนส (Rha)	Jansson และคณะ(1983) และ O'Neill และคณะ(1983)

ตารางที่ 2.4 พอลิแซ็กคาไรด์ที่มีประจุเป็นกลาง (Neutral polysaccharides)

ชื่อสามัญ	หน่วยย่อยของพอลิแซ็กคาไรด์	ชนิดของจุลินทรีย์
เดกซ์แทรน	- Glu 1-->6 Glc -	*Acetobacter* spp.
	Some 1-->2, 1-->3, and 1-->4 linkages	*Leuconostoc messenteroides*
		Leuconostoc dextranicum
		Streptococcus mutans
พูลลูแลน	-->6 (Glc 1-->4 Glc 1 -->4 Glc) 1-->	*Pullularia pullulans*
เคอร์ดแลน	- Glc 1-->3 Glc -	*Agrobacterium*
		Alcaligenes faecalis
สเคลอโรกลูแคน	- Glc 1-->3 Glc -	*Sclerotium glucanicum*
	6-->b Glc	*S. delphinii*
		S. rilfsii
เซลลูโลส	- Glc 1-->4 Glc -	*Acetobacter* spp.
ลีแวน	- Fru 2-->6 Fru	*Bacillus* spp.
		Leuconostoc messenteroides
	Glc, Gal, Mann, Hept, Fru, Rha	*Seratia marcescens*
	Glc, Gal, Rha, Mann	*Pseudomonas* สายพันธุ์ NCLB 11264
แซนแทน	- Glc 1-->4 Glc 3<--1 Mann 6-Oac	*Xanthomonas campestris*
	2<--1GlcA 4<--1 Mann 4,6-O Pyruvate	
อัลจิเนต	- D-MannA 1-->4 D-MannA -	*Pseudomonas aeruginosa*
	- L-GulA 1-->4 L-GulA -	*Azotobacter vinelandii*

Ac	อะซิเตต	Mann	แมนโนส
Fru	ฟรุกโทส	MannA	แมนนิวโรนิก แอซิด
Gal	กาแลคโทส	GulA	กลูคิวโรนิก แอซิด
Glc	กลูโคส	GlcA	กลูคิวโรนิก

2.4 ประโยชน์และการประยุกต์ใช้พอลิแซ็กคาไรด์

ในสมัยก่อนพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้จากพืช และสาหร่าย จะใช้เป็นสารอิมัลซิไฟล์เออร์ สารให้ความคงตัว สารทำให้ข้น และสารก่อเจลได้ จุลินทรีย์เริ่มมีความสนใจ และทางเลือกมากกว่า เนื่องจากสามารถเจริญได้ภายใต้ภาวะที่ควบคุม และผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีลักษณะเฉพาะ พอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตขึ้นได้จากจุลินทรีย์หลายชนิด ดังแสดงในตารางที่ 2.5 มีโครงสร้างสำคัญและบทบาทหน้าที่หลากหลายโดยเป็นองค์ประกอบของเจล ก่อการจับกลุ่ม การเป็นอิมัลซิไฟล์เออร์ การดูดซับ องค์ประกอบของฟิล์ม (Yalpani และ Sandford, 1987) และการป้องกัน เนื่องจากมีสมบัติทางด้านเคมีฟิสิกส์แตกต่างกันไป (Margaritis และ Pace, 1985) และมีหน้าที่แปลกใหม่ทางด้านสมบัติของไหล สามารถนำไปใช้งานได้ในหลายๆอุตสาหกรรม เช่น อุตสาหกรรมทางเคมี อุตสาหกรรมอาหาร อุตสาหกรรมยา อุตสาหกรรมปิโตรเลียม และอุตสาหกรรมอื่นๆ (Kang และ Pettitt, 1993) มีประโยชน์ทางการแพทย์ รวมทั้งเป็นที่ยอมรับโดยกว้างเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์ทางเทคโนโลยีชีวภาพ (Lee และคณะ, 1997; Sutherland, 1998) นอกจากนี้พอลิแซ็กคาไรด์ยังมีบทบาทสำคัญในการรวมกลุ่มของเซลล์แบคทีเรียในตะกอน ฟิล์มทางชีวภาพ ความคงตัวของโครงสร้างฟิล์ม การคงตัวของน้ำ องค์ประกอบในสารดูดซับที่จับโลหะหนักที่ปนเปื้อนมาจากน้ำทิ้ง (Zhang และคณะ, 2006)

พอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจากจุลินทรีย์ทำหน้าที่เป็น biomaterial ชนิดใหม่ และประยุกต์ใช้ทางอุตสาหกรรมย่อยมากมายอีกด้วย เช่น สิ่งทอ สารซักฟอก สารหรือวัสดุที่ใช้ติด (กาว) microbial enhanced oil recovery (MEOR) การบำบัดน้ำเสีย dredging การต้มกลั่น กระบวนการ downstream การทำเครื่องสำอางค์ เกี่ยวกับทางเภสัชวิทยา และใช้เป็นสารปรุงแต่งในอาหาร (Yalpani และ Sandford, 1987)

ตัวอย่างของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้จากจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญทางอุตสาหกรรม คือ เด็กซ์แทรน แซนแทน เจลแลน พูลลูแลน กลูแคนในยีสต์ และอัลจิเนตที่ผลิตโดยแบคทีเรีย (De Vuyst และ Degeest, 1999)

2.4.1 ด้านอุตสาหกรรมอาหาร

พอลิแซ็กคาไรด์ที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเป็นชนิดที่สามารถละลายน้ำได้ และมีสมบัติเป็นสารจำพวกไฮโดรคอลลอยด์ สามารถดูดน้ำได้ดี เมื่อละลายในของเหลวจะทำให้ของเหลวมีความข้นหนืดมากขึ้น จึงมีการนำสารจำพวกพอลิแซ็กคาไรด์นี้ไปใช้เป็นสารให้ความข้นหนืดในผลิตภัณฑ์อาหาร นอกจากนี้พอลิแซ็กคาไรด์ยังมีสมบัติอื่นๆอีกขึ้นอยู่กับสมบัติเฉพาะตัวของพอลิแซ็กคาไรด์นั้นๆ (Margaritis และ Pace, 1985)

บทบาทของพอลิแซ็กคาไรด์ในอาหารคือ ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสมบัติของไหล (rheological properties) ของน้ำที่มีอยู่ในอาหารที่จะเป็นผลให้เนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์เปลี่ยนแปลงไป เนื่องจากความสามารถของการทำข้น ส่วนใหญ่พอลิแซ็กคาไรด์จึงได้ถูกนำไปใช้ เช่น ในแยม ซ๊อส น้ำเชื่อม หรือไส้ขนม (Sanford และ Baird, 1983) และก่อลักษณะเจลในลูกกวาด เจลลี่ พาย ไส้ขนมต่างๆ และอิมัลชัน เช่นในน้ำสลัด นอกจากนี้ยังใช้ในการเคลือบลูกกวาด การทำให้ไอศกรีมและน้ำสลัดขึ้นรูปได้ (Sutherland, 1990) ในบางครั้งสามารถทำให้สารสองชนิดที่ตัวมันเองไม่ก่อเจล ก่อเป็นเจลร่วมกันได้โดยมีลักษณะที่ดีเมื่ออยู่ในปาก สารบางอย่างเช่น แซนแทน นอกจากมีสมบัติข้างต้นแล้ว ยังให้ความหวานและรสชาติที่ดีด้วย นอกจากนี้ยังมีสารก่อการจับกลุ่มจำนวนมากที่เคยใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น การแยกเซลล์จุลินทรีย์ออกจากขั้นตอน downstream ในกระบวนการหมัก (Prasertsan และคณะ, 2006) จะเห็นได้ว่าพอลิเมอร์ที่กล่าวไปข้างต้นมีบทบาทต่อการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารอย่างกว้างขวาง

การประยุกต์ใช้เจลแลนในอุตสาหกรรมอาหาร การทำลูกกวาด แยม เยลลี่ ประกอบรวมตัวในอาหาร เติมลงในพาย พุดดิ้ง และผลิตภัณฑ์นมหลายชนิด เช่น ไอศครีม และโยเกิร์ต (Sanderson และ Clark, 1983; Morris, 1995)

พอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตโดยแลคติก แอซิด แบคทีเรียมีบทบาทสำคัญในสมบัติด้านความหนืด และการเพิ่มรสชาติในโยเกิร์ตและนมหมักอื่นๆ ชีสไขมันต่ำ และผลิตภัณฑ์นมเนย ของหวาน ดังนั้นจึงมีความสนใจทางด้านอุตสาหกรรมอาหาร (De Vuyst, 2000) นอกจากนี้พอลิแซ็กคาไรด์กลุ่ม บีตา-ดี-กลูแคน (β-D-glucan) พบว่า มีความสามารถด้านเกล็ดเลือด ต่อต้านมะเร็งหรือเกี่ยวกับทางด้านภูมิคุ้มกัน (Sutherland, 1998) และพอลิแซ็กคาไรด์ในข้าวโอ๊ตยังสามารถลดระดับโคเลสเตอรอลได้ด้วย (Braaten และคณะ, 1994)

2.4.2 ด้านการบำบัดน้ำเสีย

ในปัจจุบันสารก่อการจับกลุ่ม ที่มีอยู่ทั่วไปในกระบวนการอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น การบำบัดน้ำเสีย การทำน้ำดื่มให้บริสุทธิ์ และกระบวนการ downstream ในกระบวนการหมัก (Shih และคณะ, 2001) แม้ว่าสารก่อการจับกลุ่ม ที่สังเคราะห์ทางเคมีมีลักษณะเฉพาะตัว รวมทั้งมีประสิทธิภาพและราคาถูก แต่สารเหล่านี้ย่อยสลายยาก บางครั้งสารที่สังเคราะห์เป็นสารก่อการจับกลุ่มก่อให้เกิดปัญหาทางสุขภาพและเพิ่มภาวะเสี่ยงทางสิ่งแวดล้อม ตัวอย่างเช่น พอลิอะคริลาไมด์ เป็นที่นิยมในการใช้เป็นสารก่อการจับกลุ่ม เกิดจากการรวมตัวของอะคริลาไมด์ซึ่งตรวจพบว่าเป็นพิษต่อประสาท และเป็นสารก่อมะเร็งต่อคน (Dearfield และ Abermathy, 1988; Yokoi และคณะ, 1997) เมื่อไม่นานนี้สารก่อการจับกลุ่มทางชีวภาพ เริ่มมีความสำคัญและน่าสนใจที่จะนำมาใช้แทนที่สารก่อการจับกลุ่ม ที่สังเคราะห์ทางเคมี (Jang และคณะ, 2001) เพราะย่อยสลายทางธรรมชาติได้ และมีความปลอดภัยต่อระบบนิเวศน์ (He และคณะ, 2004) ความต้องการเพื่อหาวิธีที่ปลอดภัย และได้ประสิทธิภาพในการแยกโลหะหนักออกจากน้ำเสียโดยใช้สารก่อการจับกลุ่มทางชีวภาพ ผลิตจากสาหร่าย แบคทีเรีย รา และยีสต์ เป็นพอลิเมอร์ทางชีวภาพ ที่ปล่อยออกมานอกเซลล์ ประกอบด้วยโปรตีน ไกลโคโปรตีน พอลิแซ็กคาไรด์ ลิพิด ไกลโคลิพิด ซึ่งสามารถเกิดมีปฏิกิริยากันระหว่างโลหะประจุบวกของโลหะหนักและบทบาทหน้าที่ในกลุ่มประจุลบของพอลิแซ็กคาไรด์ (Salehizadeh และ Shojaosadati, 2003; Iyer และคณะ, 2004) โดยพอลิแซ็กคาไรด์สามารถใช้แยกโลหะหนักจากน้ำที่ก่อมลพิษ และเกิดปฏิกิริยาระหว่างพอลิเมอร์ที่ผลิตจากจุลินทรีย์และโลหะหนักที่เป็นพิษ (Corzo และคณะ, 1994; Loaec และคณะ, 1997) โดยส่วนใหญ่สารก่อการจับกลุ่มจากจุลินทรีย์เป็นพอลิแซ็กคาไรด์และส่วนมากผลิตได้จากแบคทีเรีย เช่น *Alcaligenes cupidus* สายพันธุ์ KT-201(Toeda และ Kurane, 1991) *A. latus* สายพันธุ์ B-16 (Kurane และ Nohata, 1991) และ *Bacillus* sp. สายพันธุ์ DP-152 (Suh และคณะ, 1997)

ถึงแม้ว่าสารก่อการจับกลุ่มทางชีวภาพ เหล่านี้จะมีการจับกลุ่มกันได้หนาแน่น ซึ่งต้องขึ้นกับประจุบวกด้วย ตัวอย่างเช่น สารก่อการจับกลุ่มทางชีวภาพ (Bioflocculants) ที่ผลิตโดย *Klebsiella* sp. สายพันธุ์ S11 ไม่สามารถจับกลุ่มได้ถ้าไม่มีการเติมสารละลาย $CaCl_2$ (Dermlim และคณะ, 1999) และที่ผลิตโดย *Enterobacter aerogenes* ต้องการ Zn^{2+} สำหรับการจับกลุ่ม (Lu และคณะ, 2005) นอกจากนี้ Ca^{2+} ยังถูกเสนอว่าเป็นไอออนที่มีความสามารถในสารจับกลุ่มอีกด้วย (Salehizadeh และ Shojaosadati, 2001) เนื่องจากในสารจับกลุ่มมีไอออนบวกเหล่านี้ที่

ราคาสูงและก่อมลพิษ จึงมีการคัดแยกจุลินทรีย์ชนิดใหม่ซึ่งสามารถผลิตสารก่อการจับกลุ่มทางชีวภาพ ที่ไม่ขึ้นกับประจุบวก (Zheng และคณะ, 2008)

เมื่อไม่นานนี้มีการศึกษาถึงการใช้พอลิแซ็กคาไรด์ดูดซับโลหะหนักโดย *Paenibacillus jamilae* (Morillo และคณะ, 2006) และได้ค้นพบ *Gyrodinim impudicum* สายพันธุ์ KG03 เป็นแพลงค์ตอนอยู่ในทะเลผลิตสารก่อการจับกลุ่มทางชีวภาพ มีลักษณะเป็น acidic heteropolysaccharide ประกอบด้วยกาแลคโทส ยูโรนิก แอซิด เป็นองค์ประกอบหลักและรองตามลำดับ (Yim และคณะ, 2007) นอกจากนี้การใช้สารดูดซับทางชีวภาพกับตะกั่ว (Pb) ทองแดง (Cu) และสังกะสี (Zn) ได้รายงานว่า มีพอลิแซ็กคาไรด์ตัวใหม่ที่มีประจุลบผลิตโดย *Bacillus firmus* (Salehizadeh และ Shojaosadati, 2003) ส่วนการผลิตโดยแบคทีเรียในทะเลเป็นพวก Zoogloea sp. ซึ่งมีความคล้ายกัน และเป็นที่รู้กันว่าพอลิแซ็กคาไรด์มีความสามารถในการดูดซับโลหะที่มีไอออนพวกแคดเมียม เหล็ก ตะกั่ว และโครเมียมเช่นกัน (Kong และคณะ, 1998)

2.4.3 ผลิตภัณฑ์ทางการค้า (Commercial products)

ปัจจุบันในทางการค้าพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้จากจุลินทรีย์ต่างๆ จากแบคทีเรียหลายสายพันธุ์ สาหร่ายที่มีอยู่ในทะเล รา และพืช (Kwon และคณะ, 1996) เป็นที่ยอมรับเนื่องจากเหตุผลหลายข้อ(ก) ลักษณะทางชีววิทยาคล้ายกับพอลิเมอร์ของยูแคริโอติกโดยมี hyaluronic acid เป็นต้นแบบ (ข) มีความหนืดที่ดี หรือเป็นสารแขวนลอยที่มีความคงตัวสูงภายใต้ภาวะช่วงค่าความเป็นกรดเบสและอุณหภูมิ (ค) พอลิแซ็กคาไรด์อื่นๆ รวมถึง homopolymeric β-D-glucans มีกิจกรรมทางชีววิทยา เป็นตัวกระตุ้นภูมิคุ้มกันหรือสารยับยั้งมะเร็ง ในยุโรปและอเมริกาเหนือแซนแทน และเจลแลนเป็นที่ยอมรับสำหรับใช้ในอาหารอย่างกว้างขวาง แบคทีเรียแกรมลบอื่นๆยังไม่ได้ food grade (Sutherland, 2001)

พอลิแซ็กคาไรด์หลายชนิดมาจากแบคทีเรียแกรมลบซึ่งใช้ทางการค้า แต่ในปัจจุบันมีจำนวนจำกัดที่นำมาเป็นผลิตภัณฑ์ทางอุตสาหกรรม พอลิแซ็กคาไรด์เหล่านี้รวมถึงเซลลูโลสที่มาจากแบคทีเรีย เคอร์ดแลน (ในญี่ปุ่น) เจลแลน และแซนแทน (Sutherland, 2001) ซึ่งที่มีความสำคัญส่วนใหญ่เป็นแซนแทน ผลิตโดยแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* เนื่องด้วยมีสมบัติการไหลที่ดีเยี่ยม แซนแทนกัมจึงถูกใช้ในงานประยุกต์ต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 2.6

I25287187

โดยส่วนใหญ่ในอุตสาหกรรมอาหาร ใช้ทำข้น สารแขวนลอยและสารให้ความคงตัว (ความเสถียร) (Katzbauer, 1998) แต่ยังรวมถึงเดกซ์แทรน อัลจิเนต และพูลลูแลน (Blanch และ Clark, 1996)

เจลแลน เคอร์ดแลน และอัลจิเนต ที่ผลิตโดยแบคทีเรีย เป็นตัวอย่างของพอลิแซ็กคาไรด์ที่อยู่ในลักษณะเจลที่สร้างจากจุลินทรีย์ (Paul และคณะ, 1986) สารก่อเจล (Gelling agents) ใช้ในการให้รสสัมผัส และสมบัติการทำข้นในอาหาร เกี่ยวกับทางเภสัชกรรม และผลิตภัณฑ์อื่นๆ โดยส่วนใหญ่วุ้นและอัลจิเนตจากสาหร่ายใช้เป็นสารก่อเจล แต่เพราะผลิตภัณฑ์ขาดแคลน ความไม่คงตัว และคุณภาพ และราคาสูง จึงมีพยายามหาสารก่อเจลจากจุลินทรีย์ และได้รายงานว่า สายพันธุ์ *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium* และ *Agrobacterium* ผลิตพอลิแซ็กคาไรด์อยู่ในรูปของเจล (Kang และคณะ, 1982; Kang และ Pettitt, 1993)

เจลแลนที่ผลิตโดย *Spingomonas paucimobilis* มีการประยุกต์ใช้กว้างขวาง สามารถใช้ที่ปริมาณต่ำอยู่ในรูปประจุลบ เพื่อผลิตเจลได้โปร่งแสงและทนความร้อน ซึ่งนำมาใช้ทางการค้าโดยบริษัท Kelco (USA) ถูกใช้แทนวุ้นและเป็นสารปรุงแต่งในอาหาร ตามที่รายงานพบว่า ผลผลิตที่ได้รับจากแบคทีเรียตัวนี้ต่ำ (0.25 กิโลกรัมต่อแหล่งคาร์บอน 1 กิโลกรัม) เมื่อเทียบกับจุลินทรีย์ทางการค้าที่สำคัญตัวอื่นที่สามารถผลิตได้ เช่น แซนแทน (ประมาณ 0.6 กิโลกรัมต่อแหล่งคาร์บอน 1 กิโลกรัม) (Lobas และคณะ, 1992) นอกจากนี้ยังมี Gelrite เป็นเจลแลนที่ใช้ในทางการค้าเพื่อเตรียมอาหารแข็งสำหรับแบคทีเรียทนความร้อนโดยเฉพาะ มีประโยชน์สำหรับเตรียมน้ำมันผสมสีที่ใช้เกี่ยวกับตา และเกี่ยวกับเภสัชกรรมทางด้านอื่นๆอีก (Shangu และคณะ, 1983)พูลลูแลนใช้แทนที่แป้งที่มีแคลอรี่ต่ำในอาหาร เพราะมันไม่ได้ย่อยโดยเอนไซม์ *in vivo* (Hijiya และ Shiosaka, 1977) นอกเหนือจากนี้ยังพบการประยุกต์ใช้โดยกว้างในอุตสาหกรรมอาหาร อุตสาหกรรมทางเคมี และอุตสาหกรรมทางยา (Yuen, 1974; Leduy และคณะ, 1988)

ลีแวน มีสมบัติด้านความหนืด ละลายน้ำและน้ำมันได้ เป็นสารแขวนลอยและมีสมบัติด้านของไหล สามารถรวมได้กับเกลือ และเป็นสารลดแรงตึงผิว ทนต่อความร้อน กรดและเบส เป็นองค์ประกอบของฟิล์ม และมีสมบัติทางชีวภาพ ใช้เป็นอิมัลซิไฟล์เออร์ สารคงตัว และ thickener encapsulating agent osmoregulator cryoprotector เป็นที่น่าสนใจสำหรับประยุกต์ใช้ในสาขาต่างๆ (Han, 1990; Suzuki, 1993) ทางการแพทย์ลีแวนใช้แทนที่พลาสมา prolongator of drug activity, radio protector, ต้านมะเร็งและ antihyperlipidemic agent (Liepa และคณะ, 1993)

ตารางที่ 2.5 การผลิตพอลิแซ็กคาไรด์โดยจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ

จุลินทรีย์	ซับสเตรต	ผลผลิต	เอกสารอ้างอิง
Zymomonas mobilis สายพันธุ์ NCIB 8938	2% ซูโครส	ลีแวน	Ribbons และคณะ (1962); Dawes และคณะ (1966)
Azotobacter vinelandii สายพันธุ์ NCIB 9068	ซูโครส	อัลจิเนต	Deavinและคณะ (1977)
Alcaligenes faecalis var. *myxogenes* สายพันธุ์ 10C3 LFO 13140	กลูโคส	เคอร์ดแลน	Harada (1977)
Xanthomonas fuscans	2% กลูโคส	พอลิเมอร์ของกลูโคส แมนโนส ไรโบส และ 6-deoxy-L-mannose	Konicek และคณะ (1977)
Methylomonas mucose สายพันธุ์ NRRL B-5696	4.55% เมทานอล	พอลิแซ็กคาไรด์	Tam และ Finn (1977)
Aureobasidium pullulans สายพันธุ์ S-1	5% ซูโครส	พูลลูแลน	Ono และคณะ (1977)
Sclerotium delphinii และ *Sclerotium glucanicum*	5% w/v starch	สเคลอโรกลูแคน	Compere และ Griffith, (1978)
Sclerotium rolfsii สายพันธุ์ ATCC 15206	3% กลูโคส	สเคลอโรกลูแคน	Compere และ Griffith, (1978)
Methylocytis parvus สายพันธุ์ OBBP	1% w/v เมทานอล	พอลิเมอร์ของกลูโคส 81.9% แรมโนส 14% กลูโคส 0.7% แมนโนส 1.9% และ กาแลคโทส 1.5%	Hou และคณะ (1979)

ตารางที่ 2.5 การผลิตพอลิแซ็กคาไรด์โดยจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ (ต่อ)

จุลินทรีย์	ซับสเตรต	ผลผลิต	เอกสารอ้างอิง
Alcaligenes viscosus สายพันธุ์ NRRL B-182	6% แลคโทส	ลีแวน	Stauffer และ Leeder (1978)
Xanthomonas campestris สายพันธุ์ NRRL B-1459	6% แลคโทส	แซนแทนกัม	Stauffer และ Leeder (1978)
Zoogloa ramigera สายพันธุ์ NRRL B-3669	6% แลคโทส	กาแลคโทกลูแคน	Stauffer และ Leeder (1978)
Arthrobacter viscosus สายพันธุ์ NRRL B-1973	6% แลคโทส	พอลิเมอร์ของกาแลคโทส กลูโคส และกลูคิวโรนิก แอซิด	Stauffer และ Leeder (1978)
Pseudomonas viscogena สายพันธุ์ TS-1004	1% เมทานอล	พอลิเมอร์ของกาแลคโทส กลูโคส แมนโนส และกลูคิวโรนิก แอซิด	Misaki และคณะ (1979)
Bacillus polymyxa	8% ซูโครส	ลีแวน	Han และ Clarke (1990)
Aeromonas salmonicida	กลูโคส	พอลิแซ็กคาไรด์ (EPS) และ Capsular polysaccharide	Bonet และคณะ(1993)
Serratia sp.	ซูโครส และกลูโคส	ลีแวน	Kojima และคณะ(1993)

ตารางที่ 2.5 การผลิตพอลิแซ็กคาไรด์โดยจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ (ต่อ)

จุลินทรีย์	ซับสเตรต	ผลผลิต	เอกสารอ้างอิง
Zoogloea sp.	2% กลูโคส	พอลิเมอร์ประกอบด้วย กลูโคส 87.6% ไซโลส 8.6% แมนโนส 0.8% ไรโบส 1.7% กาแลคโทส 0.1% อะราบิโนส 0.4% และ กลูคิวโรนิก แอซิด 0.8%	Beedle และคณะ, 2000
Xanthomonas cassavae สายพันธุ์ GSPB 2437	1% ซูโครส	แรมโนส ไซโลส และ 4-อะมิโน-4,6-ไดดีออก ซีแมนโนส	Senchenkova และคณะ (2004)
Leuconostoc mesenteroides สายพันธุ์ PCSIR-4 และ PCSIR-9	10% ซูโครส	เดกซ์แทรน	Qader และคณะ (2005)

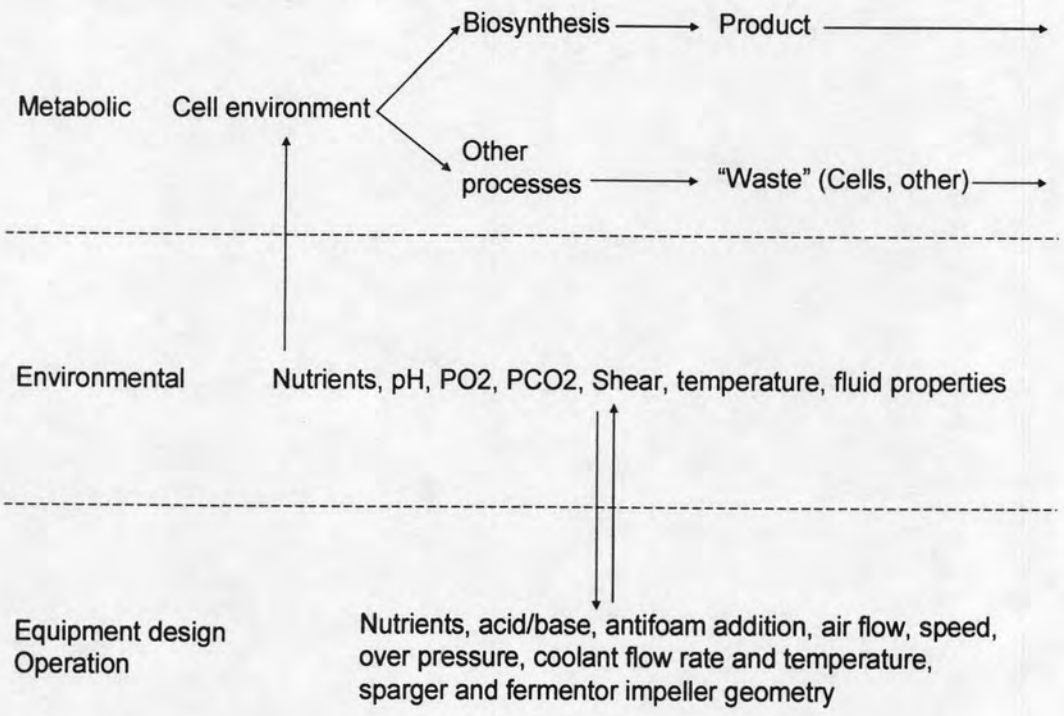
ตารางที่ 2.6 การประยุกต์ทางอุตสาหกรรมของแซนแทน

Physical properties	Usage
Adhesive	Icings and glazes
Suspension	Laundry chemicals, paper coatings, liquid
Emulsifying agent	feed supplements, herbicides, flowable
Encapsulation	pesticides, agrichemical sprays
Flocculant	Salad and other dressings
Shear thinning/	Powdered flavours
viscosity	Water clarification, ore extraction
control	Oil drilling muds
Stabiliser	Ice cream, salad dressings
Swelling agent	Processed meat products
Syneresis inhibitor	Cheeses, frozen foods
Thickening agent	Jams, sauces, syrups and pie fillings
Viscosity/cross linking	Hydraulic fracturing
Viscosity control	Abrasives, jet printing
Stabilisation	Thixotrophic paints
Foamstabilisation	Beer, fire fighting fluids
Gelling agent	Explosives, blockage of permeable zones in oil reservoirs

ที่มา : Sutherland และ Kennedy (1996)

2.5 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์

การที่จะประสบผลสำเร็จในการเลี้ยงจุลินทรีย์ เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ตามที่ได้กำหนดไว้ในแง่ปริมาณความเข้มข้น ปริมาณผลผลิต รวมทั้งสมบัติของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้กำหนดไว้ทางการค้า สิ่งที่สำคัญคือ ความสามารถในการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ของจุลินทรีย์ ว่ามีกลไกการผลิตอย่างไร การแยกเซลล์ออกอย่างไร และมีผลพลอยได้อะไรจากการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ ซึ่งทำให้ทราบว่าปัจจัยใดบ้างที่มีผลต่อการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ ได้แก่ สารอาหาร ค่าความเป็นกรดเบส ปริมาณแร่ธาตุ ความต้องการอากาศ อุณหภูมิ ดังแสดงตารางที่ 2.7 แล้วนำมาผลิตภายใต้เครื่องมือที่มีการออกแบบมาเพื่อให้เหมาะสมต่อความต้องการของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ (Margaritis และ Pace, 1985) ดังแสดงในตารางที่ 2.6



รูปที่ 2.19 แสดงปัจจัยที่ต้องคำนึงถึงในการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์

ที่มา : Margaritis และ Pace (1985)

อย่างไรก็ตามในกระบวนการผลิตที่ดำเนินการอยู่ให้คุ้มทุน แบคทีเรียจำนวนมากให้ผลผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ที่ต่ำ ดังนั้นการศึกษาสูตรอาหาร และภาวะที่เหมาะสมในการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์เป็นปัจจัยสำคัญประการแรก โดยทั่วไปปริมาณของคาร์บอนและไนโตรเจนมีส่วนสัมพันธ์กัน และอุณหภูมิพบว่า ก็เป็นปัจจัยสำคัญในการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์เช่นกัน (Sutherland, 1990; Cerning และคณะ, 1992; Kimmel และคณะ, 1998)

โมเลกุลของพอลิแซ็กคาไรด์ส่วนใหญ่มีขนาดอยู่ในช่วง 50,000 ถึง 4,000,000 DP (degree of polymerization) ทั้งนี้ปัจจัยที่มีผลต่อความแตกต่างกันทางโครงสร้างเคมี และขนาดโมเลกุลของพอลิแซ็กคาไรด์ ตลอดจนมามีอิทธิพลต่ออัตราการผลิตมากหรือน้อย ขึ้นกับชนิดของสายพันธุ์ อุณหภูมิ ความเป็นกรดเบส และแหล่งอาหารที่ใช้ในการผลิต เช่น แหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน อันส่งผลโดยตรงต่อคุณภาพ และผลผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ที่จุลินทรีย์สังเคราะห์ขึ้น (Lachke และ Rale, 1994) Sutherland (1977) ได้กล่าวว่าน้ำหนักโมเลกุลของพอลิแซ็กคาไรด์ขึ้นอยู่กับอัตราการเจริญของเชื้อ โดยพอลิแซ็กคาไรด์ประเภทฮอมอพอลิแซ็กคาไรด์นี้ ส่วนใหญ่ผลิตจากน้ำตาลซูโครสโดยมีสมบัติทางเคมีที่แตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับหลายๆปัจจัย ได้แก่ ชนิดของอาหาร ระยะเวลาในการเจริญ ความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส และการสร้างเอนไซม์ที่ใช้ในการตัดสายพอลิแซ็กคาไรด์ บางทีอาจจะมีผลต่อน้ำหนักโมเลกุลและโครงสร้างของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้ เช่น การผลิตและสมบัติของแซนแทนกัมมีอิทธิพลจากสายพันธุ์แบคทีเรีย (Rodriguez และ Aguilar, 1997; Moreira และคณะ, 2001) อาหารเลี้ยงเชื้อ (Garcia และคณะ, 1992; Amanullah และคณะ, 1998; Letisse และคณะ, 2001; Chaitali และคณะ, 2003) ซับสเตรต (Liakopoulou-Kyriakides และคณะ, 1997; Liakopoulou-Kyriakides และคณะ, 1999; Papi และคณะ, 1999; Yoo และ Harcum, 1999; Lopez และคณะ, 2001; Kalogiannis และคณะ, 2003; Lopez และคณะ, 2004) อุณหภูมิ (Shu และ Yang, 1990; Shu และ Yang, 1991) ค่าความเป็นกรดเบส (Esgalhado และคณะ, 1995) ระยะเวลาในการหมัก (Cacik และคณะ, 2001) อัตราการให้อากาศ (Peters และคณะ, 1989; Amanullah และคณะ, 1998) ชนิดของตัวกระตุ้น (Sanchez และคณะ, 1992; Amanullah และคณะ, 1998; Garcia และ Gomez, 1998) และการให้ออกซิเจน (Sriram และคณะ, 1998; Garcia และคณะ, 2000) ซึ่งจะต้องพัฒนาหาภาวะให้เหมาะสม

Sutherland (1972) กล่าวว่าโดยทั่วไป องค์ประกอบของพอลิแซ็กคาไรด์ไม่ขึ้นกับองค์ประกอบของอาหาร แต่โดยส่วนใหญ่แบคทีเรียที่มีเมือกเหนียวจะผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ภายใต้ภาวะเลี้ยงเชื้อต่างๆ ซึ่งปริมาณและองค์ประกอบของพอลิแซ็กคาไรด์มีผลมาจากภาวะการหมักและองค์ประกอบของอาหาร น้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตโดย *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (Grobben และคณะ, 1996) และ *Lactobacillus casei* (Kojic และคณะ, 1992) ได้รายงานว่าขึ้นกับองค์ประกอบของอาหาร ภาวะการเลี้ยงเชื้อ แหล่งคาร์บอน และอัตราการเจริญ แต่ไม่ส่งผลต่อน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตโดย *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* NIZO B40 ซึ่งประกอบด้วยกลูโคส กาแลคโทส และแรมโนส ในอัตราส่วน 2.2:1.3:1.0 (Looijesteijn และ Hugenholtz, 1999)

สำหรับการศึกษาเรื่องอิทธิพลของภาวะเลี้ยงเชื้อในการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์จำเป็นที่จะคงให้การเจริญเป็นเส้นตรงตามปกติ หรือ ศึกษาการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ภายใต้ภาวะไม่เจริญ เช่นแบคทีเรียแกรมลบจำนวนมาก คือ *Enterobacter aerogenes* (Sutherland, 1985) *Pseudomonas* (Williams และ Wimpenny, 1980) และ*Rhizobium leguminosarum* (Breedveld และคณะ, 1993) ซึ่งเป็นที่รู้กันว่าเซลล์ไม่เจริญแต่สามารถผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ได้ (Looijesteijn และ Hugenholtz, 1999)

ลักษณะพอลิแซ็กคาไรด์และปริมาณที่ผลิตได้มีอิทธิพลจากปัจจัยหลายอย่าง เช่น สายพันธุ์ ส่วนประกอบของอาหาร (แหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจน) ชนิดของแหล่งคาร์บอน และภาวะการเลี้ยงเชื้อ (อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรดเบส เวลา และอื่นๆ) (De Vuyst และ Degeest, 1999; Looisjesteijn และคณะ, 1999; Tallon และคณะ, 2003) ซึ่งได้อธิบายความแตกต่างของผลผลิตที่ออกมาในทางตรงกันข้ามกี่ยวกับการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ ทำให้ต้องคำนึงถึงสิ่งเหล่านี้โดยมีความสนใจที่จะพบพอลิแซ็กคาไรด์ชนิดใหม่ที่เหมาะสมต่อการประยุกต์ใช้งานเพิ่มขึ้น หรือให้มีศักยภาพทางอุตสาหกรรม หรือจะประยุกต์ใช้ภาวะเลี้ยงเชื้อที่แตกต่างกันหรือไม่ก็ใช้สายพันธุ์ใหม่ (Looisjesteijn และคณะ, 2000) เช่นเดียวกับ (Cerning และคณะ, 1994) ได้กล่าวว่า การผลิตพอลิแซ็กคาไรด์และองค์ประกอบน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวขึ้นกับแหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน และอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนในอาหารสำหรับการเจริญ

2.6 แหล่งอาหารที่มีผลต่อการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์

2.6.1 แหล่งคาร์บอน

องค์ประกอบของอาหารมีบทบาทสำคัญในการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ (Dreveton และคณะ, 1994) โดยปกติการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ใช้แหล่งคาร์บอนปริมาณ 3-4.5% (กลูโคส ซูโครส และอื่นๆ) และเติมเชื้อ 5-10% (Kang และ Pettitt, 1993) ตัวอย่างของพอลิเมอร์จำพวกพอลิแซ็กคาไรด์เหล่านี้ได้แก่ แซนแทน ที่ผลิตโดย *Xanthomonas campestris* จากแลคโทส (Stauffer และ Leeder, 1978) เคอร์ดแลนโดย *Alcaligene faecalis* จากกลูโคส (Harada, 1977) เดกซ์แทรนโดย *Leuconostoc* spp. จากน้ำตาลทราย (ซูโครส) (Qader และคณะ, 2005)

(Manresa และคณะ, 1987) ได้รายงานเกี่ยวกับการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ของ *Pseudomonas* sp. สายพันธุ์ GSP-910 ว่าสามารถใช้แหล่งคาร์บอนทั้งหมดที่ทดสอบได้ (กลูโคส ซูโครส แมนโนส กาแลคโทส ฟรุคโทส ไซโลส แลคโทส และมอลโทส) แต่ผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ได้ในปริมาณสูงเมื่อใช้กลูโคส ซูโครส และไซโลส เป็นแหล่งคาร์บอน นอกจากนี้ในงานวิจัยต่างๆพบว่าการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์โดย *Pseudomonas* sp. เพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณแหล่งคาร์บอนที่มากพอในปริมาณที่เหมาะสม (Congregado และคณะ, 1985) และมีแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* ซึ่งก่อโรคในพืชสังเคราะห์พอลิแซ็กคาไรด์ได้ปริมาณสูงเมื่อใช้กลูโคสและซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงาน (Sutherland, 2001)ส่วนใหญ่แบคทีเรียที่ผลิตพอลิแซ็กคาไรด์จะใช้อัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจนที่สูงในอาหารเลี้ยงเชื้อ และลดปริมาณสารอาหารเสริมลง (Fett, 1993)

เมื่อใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน *Pseudomonas putida* และ *Pseudomonas fluorescens* ผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ประกอบไปด้วย กลูโคส กาแลคโทส และไพรูเวต (Read และ Costerton, 1987) โดยทำนองเดียวกันกับงานวิจัยอื่นที่พบว่า พอลิแซ็กคาไรด์ที่แยกจาก *Pseudomonas caryophylli* สายพันธุ์ CFR 1705 เจริญในอาหารที่มีแลคโทส ประกอบด้วย แรมโนส แมนโนส และกลูโคส ในอัตราส่วน 1:3.26:4.97 ตามลำดับ (Sudhamani และคณะ, 2004)

(Yurlova และคณะ, 1994) ได้รายงานว่าปริมาณองค์ประกอบของอาหาร มีความสัมพันธ์กันกับผลผลิต โดยผลผลิตพลูลูแลนเริ่มต้นประมาณ 23 กรัมต่อลิตร เมื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสมผลผลิตสุดท้ายเพิ่มเป็น 28 กรัมต่อลิตร ใช้ระยะเวลาการหมัก 120 ชั่วโมง

ในเชื้อ *Pediococcus damnosus* สายพันธุ์ IOEB8801 พบว่าปริมาณกลูโคสที่สูงขึ้นมีผลต่อองค์ประกอบของพอลิแซ็กคาไรด์ (Walling และคณะ, 2005)

2.6.2 แหล่งไนโตรเจน

ในรายงานต่างๆ พบว่า การใช้แอมโมเนียมไนเตรตเป็นแหล่งไนโตรเจน สามารถเพิ่มการเจริญของเซลล์ แต่ไม่มีความจำเป็นสำหรับเพิ่มการผลิตของเจลแลนกัมโดย *Sphingomonas paucimobilis* สายพันธุ์ NK2000 (Chung และคณะ, 2001) และพบว่า แบคโตเพปโตน (Bacto-peptone) มีความจำเป็นต่อการเจริญของเซลล์ และการผลิตเจลแลนกัม จึงเลือกใช้ Bacto-peptone เป็นแหล่งไนโตรเจนในส่วนประกอบอาหาร เพื่อผลิตเจลแลนกัมในราคาสูง (Jin และคณะ, 2003)

ในการศึกษาแลคติก แอซิดแบคทีเรียหลายสายพันธุ์ พบว่าความสัมพันธ์ระหว่างพอลิแซ็กคาไรด์กับแหล่งไนโตรเจนมีส่วนเกี่ยวข้องกัน (Kimmel และคณะ, 1998; Degeest และ DeVuyst, 1999)

2.7 ปัจจัยทางกายภาพที่เหมาะสมต่อการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์

2.7.1 อุณหภูมิ

อุณหภูมิในการเลี้ยงเชื้อเป็นปัจจัยสำคัญในการสังเคราะห์พอลิแซ็กคาไรด์ โดยส่วนใหญ่พอลิแซ็กคาไรด์ทางการค้าที่ผลิตโดยจุลินทรีย์เป็นพวกที่เจริญอยู่ในช่วงอุณหภูมิ 20-45 องศาเซลเซียส (mesophiles) (Lawson และ Sutherland, 1978) ส่วนใหญ่แบคทีเรียที่ผลิตพอลิแซ็กคาไรด์จะชอบอุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิที่ใช้ในการเจริญ (Fett, 1993) อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์จากแบคทีเรียสายพันธุ์อื่นๆ เช่น *E. herbicola* ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส *Alteromonas* สายพันธุ์ HYD-1545 ที่อุณหภูมิ 25-29 องศาเซลเซียส (Vincent และคณะ, 1994)

Shu และ Yang (1990; 1991) ได้รายงานว่าแซนแทนกัมมีปริมาณสูงขึ้น เมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิระหว่าง 30 องศาเซลเซียส และ 33 องศาเซลเซียส โดยทำนองเดียวกับ Esgalhado และคณะ (1995) ได้อ้างว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมจาก 25 องศาเซลเซียส ถึง 30 องศาเซลเซียส

2.7.2 ความเป็นกรดเบส

การเจริญของจุลินทรีย์หรือสิ่งมีชีวิตต่างๆ ถูกควบคุมโดยกระบวนการเมตาบอลิซึม ซึ่งมีเอนไซม์เป็นตัวสำคัญ และการทำงานของเอนไซม์จะได้รับผลกระทบจากความเป็นกรดเบส องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นปัจจัยสำคัญอันหนึ่งที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดเบสในระหว่างการเลี้ยงเชื้อ เนื่องจากจุลินทรีย์มีการย่อยสลายสารอาหารเพื่อเป็นแหล่งพลังงาน ถ้าในอาหารเลี้ยงเชื้อมีองค์ประกอบที่เป็นโปรตีน และไนโตรเจน เมื่อถูกย่อยสลายจะปลดปล่อยสารที่เป็นแอมโมเนีย หรืออัลคาไลน์อื่นๆออกมา แต่ถ้าในอาหารเลี้ยงเชื้อมีองค์ประกอบที่เป็นคาร์โบไฮเดรต เมื่อถูกย่อยสลายจะขับสารที่เป็นกรดอินทรีย์ออกมา ซึ่งจะทำให้ค่าความเป็นกรดเบสของอาหารเปลี่ยนแปลงไป จนอยู่ในสภาพที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญ การควบคุมค่าความเป็นกรดเบสมีอิทธิพลต่อการเพิ่มปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ (Dlamini และ Peiris, 1997) และส่งผลให้ความหนืดดีขึ้นภายใต้การควบคุมค่าความเป็นกรดเบส (Gassem และคณะ, 1997) Pace (1981) ได้รายงานว่าค่าความเป็นกรดเบสมีอิทธิพลต่อการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์มากกว่าการเจริญของเซลล์ และค่าความเป็นกรดเบสมีผลทางตรงในการสังเคราะห์ของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องต่อการการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ (Lawson และ Sutherland, 1978) นอกจากนี้ค่าความเป็นกรดเบสเริ่มต้นมีผลต่อน้ำหนักโมเลกุลของผลิตภัณฑ์อีกด้วย (Jeanes, 1977) ตัวอย่างจาก *A. pullulans* ค่าความเป็นกรดเบสเริ่มต้น 5-7 และ 7-8 ให้น้ำหนักพูลลูแลนที่มีโมเลกุลสูง (1.5-4×10^6) และน้ำหนักโมเลกุลต่ำ (5-10×10^4) ตามลำดับ (Margaritis และ Pace, 1985) สำหับการผลิตแซนแทนโดย *X. campestris* ค่าความเป็นกรดเบสต้องต่ำกว่า 5.0 ภาวะความเป็นกรดให้ผลผลิตต่ำลงเพราะพอลิเมอร์สามารถย่อยสลายที่ค่าความเป็นกรดเบสต่ำ (Clarke และคณะ, 1991)

ในการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ทางการค้าที่สนใจเกี่ยวกับประจุลบมีความจำเป็นต้องควบคุมค่าความเป็นกรดเบส (สมบัติความเป็นกรดของพอลิเมอร์ทางชีวภาพทำให้ค่าความเป็นกรดเบสลดลง ดังนั้นจึงจำเป็นต้องเติมความเป็นเบสมากขึ้น เพื่อรักษาค่าความเป็นกลาง) (Pace, 1981)โดยค่าความเป็นกรดเบสที่ประมาณ 7 พบว่าส่งผลต่อการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์มากกว่าการเจริญของเซลล์ (Silman และ Rogovin, 1972) สำหรับการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์สูงสุดของเชื้อ *P. aeruginosa* และ *Micrococcus* sp.เมื่อมีค่าความเป็นกรดเบสที่เหมาะสมเท่ากับ 7 ส่วนเชื้อ *Ochrobactrum* sp.มีค่าความเป็นกรดเบสที่เหมาะสมเท่ากับ 8 (Kilic และ Donmez, 2008)

ก่อนหน้านี้สามารถแยกเชื้อ *Pediococcus parvulus* สายพันธุ์ 2.6 ที่มีลักษณะเมือกเหนียว จากน้ำผลไม้เน่าจากประเทศ Basque (Fernandez และคณะ, 1996) พบว่าสายพันธุ์นี้ผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ปริมาณสูงสุด 0.12 กรัมต่อลิตร โดยไม่ควบคุมค่าความเป็นกรดเบสในการเลี้ยงเชื้อ (Dueñas และคณะ, 2003)

2.7.3 การให้อากาศหรือการกวน

การเพิ่มปริมาณออกซิเจนให้กับจุลินทรีย์เพื่อนำไปใช้ในกระบวนการเมตาบอลิซึมทางหนึ่ง นอกจากนี้ยังเป็นการช่วยให้จุลินทรีย์อยู่ในสภาพแขวนลอย สามารถดูดซึมปริมาณออกซิเจนเพื่อนำไปใช้ได้มากขึ้น ซึ่งออกซิเจนที่จุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ได้นั้นต้องอยู่ในรูปของโมเลกุลออกซิเจนที่ละลายหรืออยู่ในรูปของเหลว การละลายของออกซิเจนในน้ำมีปริมาณจำกัด ออกซิเจนสามารถละลายในสื่อกลางที่เป็นน้ำได้เพียงไม่กี่มิลลิกรัมต่อลิตรด้วยอากาศที่ความดัน 1 บรรยากาศ นับว่าน้อยมากเมื่อเทียบกับปริมาณออกซิเจนที่จุลินทรีย์ต้องการ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องทำให้มีออกซิเจนละลายเข้าไปในอาหารเหลวอยู่ตลอดเวลา โดยการถ่ายเทจากอากาศ ซึ่งช่วยให้จุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศเจริญได้ด้วยความหนาแน่นสูงภายใต้ภาวะที่เป็นอันหนึ่งอันเดียวกัน ดังนั้นในขั้นตอนกระบวนการหมักจึงต้องมีการให้อากาศตลอดเวลา การมีออกซิเจนเพียงพอที่จะนำไปใช้ได้โดยควบคุมการให้อากาศและความเร็วในการกวนสามารถรักษาปริมาณออกซิเจนที่ละลายอยู่ได้ไม่น้อยกว่า 30% (ในกรณีที่มีอยู่ 60%) ซึ่งเหมาะสมสำหรับการผลิตพอลิเมอร์ (McNeely, 1967) มีความสอดคล้องกับในรายงานอื่นๆ

Peters และคณะ (1989) ได้พบว่า การกวนให้อากาศส่งผลต่อการผลิตแซนแทน ซึ่งต้องเพิ่มระยะเวลาของการเพาะเลี้ยง นอกจากนี้ผลผลิตจะสูงที่ความเร็วรอบ 600 รอบต่อนาที ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับการให้ออกซิเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อ (Peters และคณะ, 1992; Sanchez และคณะ, 1992; Amanullah และคณะ, 1998; Garcia และ Gomez, 1998; Sriram และคณะ, 1998; Garcia และคณะ, 2000) การผลิตแซนแทนกัมจะสูงขึ้นเมื่อได้รับความเร็วรอบที่ 1000 รอบต่อนาที และระยะเวลาการหมักที่ 50 ชั่วโมง (Amanullah และคณะ, 1998) (Gibbs และ Seviour, 1996) ได้พบว่าอัตราการกวนสูง (750 รอบต่อนาที หรือมากกว่า) ผลชัดเจนว่าผลผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตโดย *A. pullulans* ลดลงมาก เมื่อเปรียบเทียบกับความเร็วที่ต่ำกว่า (125-500 รอบต่อนาที) ในขณะที่ปริมาณเซลล์เพิ่มขึ้น ดังนั้นปริมาณออกซิเจนที่เหมาะสมขึ้นกับสายพันธุ์ของจุลินทรีย์

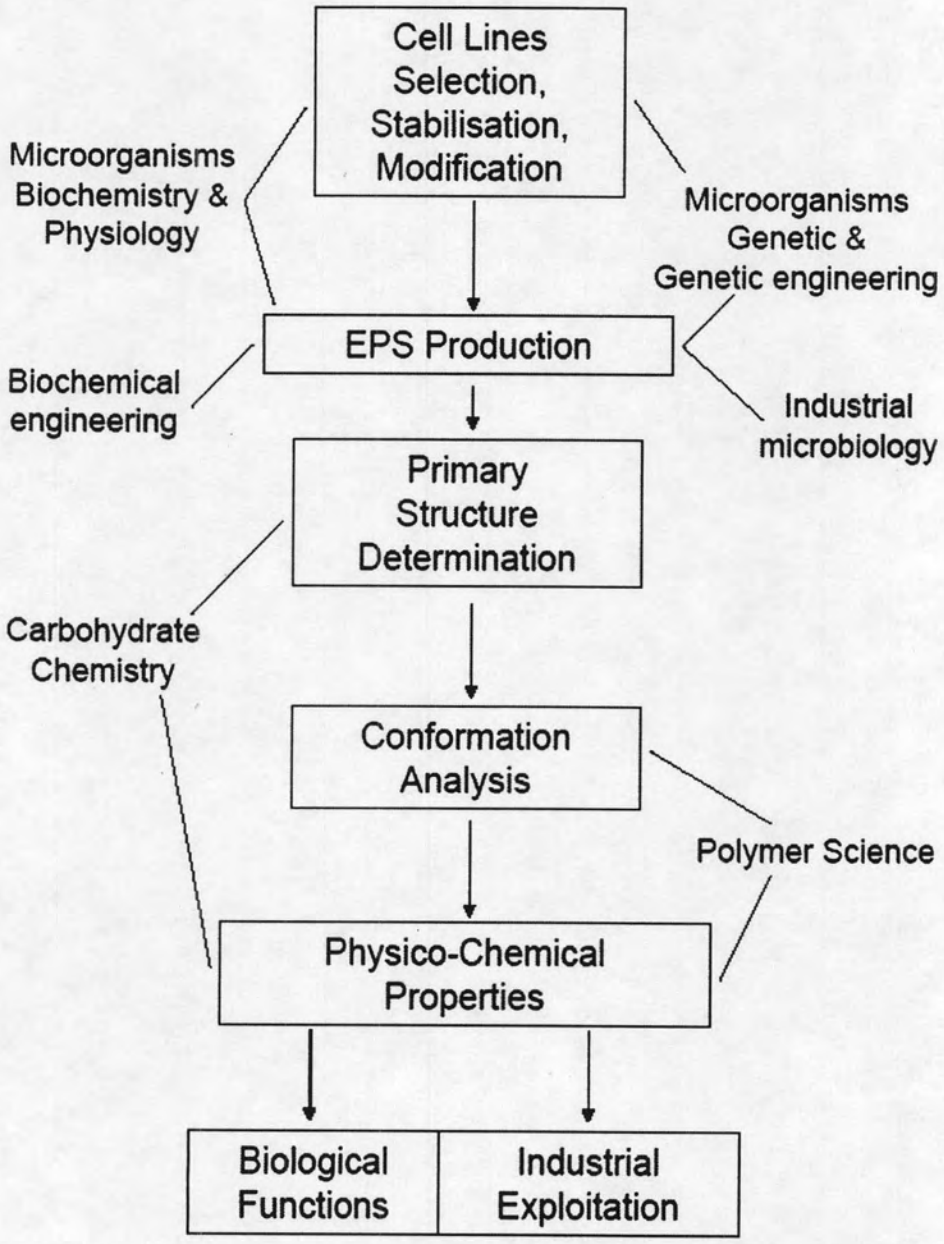
ตารางที่ 2.7 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์โดยแบคทีเรียสายพันธุ์ต่างๆ

จุลินทรีย์	แหล่งคาร์บอน	แหล่งไนโตรเจน	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ค่าความเป็นกรดเบส	ความเร็วรอบในการให้อากาศ (รอบต่อนาที)	น้ำหนักผลผลิต (กรัมต่อลิตร)	ระยะเวลาในการเลี้ยง	เอกสารอ้างอิง
Agrobacterium radiobacter	ซูโครส 2.62% (ในระบบถังหมัก)	KNO_3 0.26%	30	6.24	250	2.26%	3 วัน	Triveni และคณะ (2001)
Sphingomonas paucimobilis สายพันธุ์ NK2000	กลูโคส 2%	เพปโตน 0.05%	30	6.5-6.8	200	4.95	3 วัน	Jin และคณะ (2003)
Arthrobacter viscosus	ไซโลส 2.5% (ในระบบถังหมัก)	ยีสต์สกัด 2%	28	7	800	10	15 วัน	Lopez และคณะ (2003)
Enterobacter cloacae สายพันธุ์ WD7	ซูโครส 3% (ในระบบถังหมัก)	ยีสต์สกัด 0.05%	30	7	200	4.8	3 วัน	Prasertsan และคณะ (2008)

2.8 การศึกษาการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์

การศึกษาเกี่ยวกับเรื่องพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้ดำเนินมา ส่วนใหญ่จะเป็นเพื่อการสรรหาพอลิแซ็กคาไรด์ชนิดใหม่ๆ โดยนำพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้มาวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี และตรวจสอบสมบัติต่างๆ เช่น ความข้นหนืด การเกิดเจล และการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ รวมทั้งการศึกษาเพื่อพัฒนานำวัตถุดิบราคาถูกมาใช้ งานวิจัยในยุโรปกำลังมุ่งศึกษาเพื่อคัดแยกเชื้อที่ผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ หรือเชื้อใหม่ที่ผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีใช้อยู่แต่สามารถผลิตได้มากกว่าเดิม หลังจากที่ผ่านการพัฒนามาถึง 12 ปี ดังนั้นจึงทำให้มีการศึกษาเพิ่มเติมกันมากทั้งในประเทศสหรัฐอเมริกา ญี่ปุ่น รวมทั้งประเทศต่างๆในแถบยุโรป เพื่อที่จะให้ได้เอกโซพอลิแซ็กคาไรด์และ Capsular polysaccharides (CPS)

แนวทางสำหรับการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์เพื่อผลิตเป็นอุตสาหกรรม ควรจะมีการคัดเลือกเชื้อที่มีความสามารถในการผลิตคงที่ โดยทำการศึกษาจุลินทรีย์ทั้งทางด้านชีวเคมีและโครงสร้างพื้นฐาน รวมทั้งจัดจำแนกว่าเป็นเชื้อจำพวกใด รวมไปถึงการปรับปรุงสายพันธุ์โดยใช้เทคนิคทางด้านพันธุวิศวกรรม จากนั้นนำไปเข้าสู่กระบวนการผลิตเอกโซพอลิแซ็กคาไรด์ โดยศึกษาทางด้านวิศวกรรมทางชีวเคมีและจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม แล้วตรวจสอบสมบัติเบื้องต้นของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้ โดยศึกษาด้านเคมีของคาร์โบไฮเดรต รวมไปถึงการใช้ความรู้ทางด้านวิทยาศาสตร์พอลิเมอร์มาช่วยปรับปรุงสมบัติทางด้านฟิสิกส์และเคมี เพื่อให้ได้สมบัติที่สามารถนำไปใช้ได้ในอุตสาหกรรม (Crescenzi, 1995) ดังรูปที่ 2.20



รูปที่ 2.20 แนวทางการศึกษาการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์

ที่มา : Crescenzi (1995)