บทที่ 1
บทนำ

ปัจจุบันมีการพยายามที่นำวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรและอุตสาหกรรมกลับมาใช้ประโยชน์มากที่สุด ซึ่งนอกจากจะเป็นการนำเอาวัสดุเหลือทิ้งมาใช้ให้เกิดประโยชน์ยังเป็นการกำจัดของเสียอีกทางหนึ่งด้วย เช่น การนำเปลือกถั่วเหลือง ซังข้าวโพด ฟางข้าว และ ขี้เลื่อยมาย่อยสลายโดยเอนไซม์เซลลูเลส หรือ เฮมิเซลลูเลส ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยสลายสามารถนำไปใช้ประโยชน์ด้านอื่น เช่น นำไปผสมในอาหารสัตว์ทำให้การย่อยสลายในระบบทางเดินอาหารง่ายขึ้น ส่งเสริมให้เชื้อในกลุ่มจุลินทรีย์ประจำถิ่น (normal flora) ทำงานได้ดีขึ้น นอกจากนี้ยังพัฒนาเอนไซม์ที่มีคุณสมบัติเกี่ยวกับการย่อยสลายเซลลูโลสมาใช้ในระบบอุตสาหกรรม เช่น อุตสาหกรรมการฟอกสีกระดาษ และ อุตสาหกรรมผลิตน้ำตาล เป็นต้น

ประเทศไทยมีการส่งออกกุ้งมากขึ้นทำให้เกิดปัญหาด้านการกำจัดของเสียจากอุตสาหกรรมแปรรูปกุ้ง โดยปริมาณหัวกุ้งและเปลือกกุ้งที่เป็นของเหลือทิ้งจากขบวนการผลิตมีมาก การนำหัวกุ้งและเปลือกกุ้งไปใช้ประโยชน์ในปัจจุบันมีน้อย ส่วนใหญ่จะนำไปตากแห้งและใช้เป็นส่วนผสมในอาหารสัตว์ เพื่อใช้เป็นแหล่งโปรตีนผสม หรืออาจนำไปผลิตไซเลจ (silage) ซึ่งเป็นโปรตีนที่ได้จากหัวกุ้งใช้เป็นส่วนผสมในอาหารสัตว์ แต่อย่างไรก็ตามยังพบว่ามีการตกค้างของกากเหลือทิ้งจากเปลือกกุ้งและหัวกุ้งในปริมาณที่สูง ก่อให้เกิดปัญหาหลายประการ ได้แก่ ส่งกลิ่นเหม็นรบกวนและเป็นแหล่งของเชื้อโรค รวมทั้งก่อให้เกิดมลพิษทางน้ำอีกด้วย ทำให้โรงงานเสียค่าใช้จ่ายในการกำจัดทิ้ง ในต่างประเทศ เช่น ญี่ปุ่น ได้นำเอาของเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมแปรรูปกุ้งมาผลิตโปรตีนเซลล์เดี่ยว (วิไล, 2539) ซึ่งเป็นการพัฒนาการนำของเสียมาใช้ใหม่ให้มีค่าและเพื่อประโยชน์ทางการค้า ในขณะที่ประเทศไทยก็เป็นประเทศเกษตรกรรมมีของเหลือทิ้งทางการเกษตรและอุตสาหกรรมอย่างมากมาย ถ้าหากนำของเหลือทิ้งเหล่านี้กลับมาใช้ใหม่ให้คุ้มค่า ก็เป็นการลดมลภาวะทางสิ่งแวดล้อมได้อีกทางหนึ่งด้วย

ไคตินเป็นสารโพลิเมอร์จากธรรมชาติ สามารถย่อยสลายได้ แหล่งของไคติน คือ สัตว์ที่มีเปลือกหรือสัตว์ที่มีปลอกหุ้มตัวที่มีลักษณะแข็ง มีทั้งสัตว์บก เช่น แมงป่อง ตัวไหม และ สัตว์ทะเล เช่น กุ้งและปู เป็นต้น ไคตินเป็นสารที่ไม่สามารถละลายในตัวทำละลายทั่ว ๆ ไปได้ เช่น น้ำ หรือแอลกอฮอล์ แต่ละลายในกรดเกลือเข้มข้น จึงไม่นิยมใช้ แต่ไคโตซานละลายได้ง่ายในตัวทำละลายที่เป็นกรด สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้หลากหลาย เช่น อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง

ก็ใช้เพื่อให้เกิดความหนืดในส่วนผสมครีมทาผิว ครีมนวดผม ในอุตสาหกรรมอาหารใช้เพื่อกรองน้ำผลไม้ ไวน์ และเครื่องดื่ม ช่วยเพิ่มความใสให้แก่ผลิตภัณฑ์ เป็นต้น ไคตินและไคโตซานมีคุณสมบัติเด่นที่ไม่ก่อให้เกิดปัญหาด้านสิ่งแวดล้อมเหมือนสารที่สังเคราะห์ขึ้นจากกรรมวิธีทางเคมี เช่น พลาสติกและโฟม ปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์จึงให้ความสนใจทำงานวิจัยเกี่ยวกับการผลิตไคตินและไคโตซาน รวมทั้งการนำไปใช้ประโยชน์ในทางอุตสาหกรรมได้กว้างขวางยิ่งขึ้น

ไคติเนสเป็น multi-complex enzyme โดยทั่ว ๆ ไปแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ endo-chitinase และ exo- chitinase หรือ N-acetylglucosamidase โดย endo-chitinase จะย่อยไคตินแบบสุ่มภายในส่วนของโพลิเมอร์ได้เป็น diacetylchitobiose และได้ triacetylchitotriose บ้างเล็กน้อย ในขณะที่ exo-chitinase จะย่อยจากปลาย non-reducing ของสายไคตินได้เป็น N-acetylglucosamine โมเลกุลเดี่ยว การแบ่งไคติเนสออกเป็น exo-chitinase และ endo-chitinase จะขึ้นอยู่กับชนิดของสับสเตรท จึงทำให้สิ่งมีชีวิตสร้างไคติเนสที่มีคุณสมบัติแตกต่างกัน แต่ละชนิดจะมีความจำเพาะกับสับสเตรทและให้ผลิตภัณฑ์จากการย่อยสลายสับสเตรทแบบจำเพาะเช่นกัน (Shaikh and Despande, 1993)

การหมักในสภาพแข็ง (Solid Substrate Fermentation, SSF) เป็นการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์โดยใช้สับสเตรทที่เป็นของแข็ง ส่วนมากมักเป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร หรือ ธัญญาพืชที่เป็นสารอินทรีย์เชิงซ้อนที่ไม่ละลายน้ำ โดยการหมักในสภาพแข็งเป็นการหมักที่ต้องการน้ำเพื่อช่วยให้อาหารแห้งมีความชื้นพอเหมาะต่อการเจริญของจุลินทรีย์เท่านั้น มักนิยมใช้ในการผลิตเอนไซม์ (Stredansky and Conti, 1999) และบางครั้งอาจเสริมอาหารพวกโปรตีนและเกลือแร่ที่จำเป็นเพื่อช่วยในการเจริญของจุลินทรีย์ด้วย การหมักโดยสภาพแข็งมีข้อดี คือ ต้นทุนต่ำ ใช้เทคนิคและวิธีการง่าย ๆ ไม่ซับซ้อน มีการระบายความร้อนจากช่องว่างระหว่างสับสเตรท และ มีความชื้นต่ำทำให้ลดการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์อื่น (Larroche, 1999) แต่ในขั้นตอนการหมักแบบสภาพแข็ง อุณหภูมิในระหว่างการหมักจะเพิ่มสูงขึ้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องใช้จุลินทรีย์ที่ทนอุณหภูมิสูงในการหมัก การที่อุณหภูมิของระบบสูงขึ้นสามารถที่จะลดการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์อื่น ๆ ได้ แบคทีเรียเป็นจุลินทรีย์ที่พบได้ทั่ว ๆ ไปในสิ่งแวดล้อมและแพร่กระจายอยู่ทั่วโลก มีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายอินทรีย์สารต่าง ๆ ในธรรมชาติ แบคทีเรียส่วนใหญ่มักสร้าง extracellular enzyme ที่ย่อยสลายสารในกลุ่มโพลิเมอร์ได้หลายชนิด เช่น chitinase, xylanase, protease และ cellulase แบคทีเรียบางชนิดสร้างสารทุติยภูมิ (secondary metabolite) ที่มีประโยชน์ต่อมนุษย์ ปัจจุบันเอนไซม์ที่ผลิตจากแบคทีเรียเริ่มมีความสำคัญเพิ่มมากขึ้นทางอุตสาหกรรมและทางการแพทย์เพราะมีความจำเพาะกับสับสเตรท และ ความคงตัวสูง แบคทีเรียหลายชนิดสามารถผลิตไคติเนสได้ เช่น *Aerobacter* sp., *Bacillus* sp., *Enterobacter* sp., *Pseudomonas* sp. และ *Serratia* sp. จากการศึกษาพบว่า *Bacillus* sp.

สามารถผลิตไคติเนสได้มากที่สุด ตัวอย่างเช่น *B. subtilis* เมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีไคตินเป็นแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจน จะผลิตไคติเนสและปล่อยออกมานอกเซลล์ การสร้างไคติเนสถูกชักนำโดยไคตินและอนุพันธ์ของไคติน สามารถตรวจพบไคติเนสและไคโตไบโอสที่ย่อยสลายไคตินและไคโตซานได้ (Brurberg *et.al.*, 1996)

วัตถุประสงค์ของการวิจัยเพื่อคัดเลือกแบคทีเรียที่แยกได้จากดินในนาข้าวที่สามารถผลิตไคติเนส โดยวิธีการหมักบนอาหารแข็งโดยใช้เปลือกกุ้งเป็นสับสเตรท ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีบางประการเพื่อบ่งบอกชนิดของเชื้อที่ผลิตไคติเนสได้สูงสุดที่แยกได้จากดินในประเทศไทย ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์ ต่อจากนั้นทำให้เกิดการกลายพันธุ์ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตไคติเนส และ การทำเอนไซม์ให้บริสุทธิ์

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University