บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาของปัญหา

เอนไซม์ไลเปส (triacylglycerol acylhydrolases EC 3.1.1.3) เป็นเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสไลปิดได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็นกรดไขมันอิสระและกลีเซอรอล นอกจากนี้เอนไซม์ไลเปสมีกิจกรรมจำเพาะต่อการเร่งปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน และทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน (Macrae, 1983, p. 291; Villeneuve, et al., 2000, p. 113; Gutierrez, Carelli and Ferreira, 2007, p. 35) ปัจจุบันมีการใช้ประโยชน์เอนไซม์ไลเปสในอุตสาหกรรมเทคโนโลยีชีวภาพเพิ่มมากขึ้น โดยเฉพาะอุตสาหกรรมผลิตน้ำมันพืช อุตสาหกรรมอาหารสำเร็จรูปและเครื่องปรุงรส อุตสาหกรรมนมและผลิตภัณฑ์ อุตสาหกรรมผลิตกระดาษ อุตสาหกรรมเครื่องหนัง อุตสาหกรรมผลิตสารซักล้างและทำความสะอาดในครัวเรือน อุตสาหกรรมเวชภัณฑ์และเครื่องสำอาง (Jaeger and Reetz, 1998, p. 396; Villeneuve, et al., 2000, pp. 113-116; Sharma, et al., 2001, pp. 630-634; Hasan, et al., 2006, p. 237) นอกจากนี้เอนไซม์ไลเปสสามารถใช้ในการปรับปรุง ดัดแปลงคุณสมบัติของไลปิด เพื่อผลิตไบโอดีเซลซึ่งเป็นพลังงานทดแทนน้ำมันดีเซลที่มีราคาสูงมาก และเป็นปัญหาวิกฤตในปัจจุบัน (Iso, et al., 2001, pp. 54-57; Motsumoto, et al., 2001 pp. 515-518; Ana, Pizarro and Park, 2003, p. 1077; Zhang, et al., 2003, pp. 10-11; Hama, et al., 2004, pp. 155-168; Hana, et al., 2007, pp. 273-278) รวมทั้งประยุกต์ใช้ประโยชน์เอนไซม์ไลเปสในการบำบัดของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม และชุมชนที่มีการปนเปื้อนของไลปิด โดยนอกจากช่วยลดมลภาวะแล้ว ยังได้ผลพลอยได้ที่นำไปใช้ประโยชน์ด้านต่างๆ (Scioli and Vollaro, 1997, pp. 2520-2522; Zhang, et al., 2003, pp. 10-11; D' Annibale, et al., 2006, pp. 1829-1832) จากเหตุผลที่กล่าวมาทำให้เอนไซม์ไลเปสมีมูลค่าการซื้อขายสูงเป็นอันดับต้นๆ ในตลาดการค้าเอนไซม์ นอกจากนี้ประมาณการณ์ว่าเอนไซม์ไลเปสจะมีมูลค่าสูงขึ้นในอนาคตอันใกล้ (Hasan, et al., 2006, p. 237) จึงทำให้มีการศึกษาเกี่ยวกับเอนไซม์ไลเปสอย่างกว้างขวาง และมีการเผยแพร่ผลงานมากกว่า 1,000 เรื่องในแต่ละปี (Jaeger and Eggert, 2002, p. 390) สำหรับแหล่งที่พบเอนไซม์ไลเปส คือ พืช สัตว์ และ จุลินทรีย์ โดยจุลินทรีย์เป็นแหล่งที่พบ และนำเอนไซม์ไลเปสมาศึกษาเพื่อใช้ประโยชน์มากที่สุด (Sharma, et al., 2001, pp. 636-639; Saxena, et al., 2003, p. 1; Kojima and Shimizu, 2003, p. 226) โดยเฉพาะในอุตสาหกรรมมีการใช้ประโยชน์เอนไซม์ไลเปสจากจุลินทรีย์มากกว่าเอนไซม์ไลเปสจากพืชและสัตว์ เนื่องจากเอนไซม์ไลเปสจากจุลินทรีย์

มีข้อได้เปรียบหลายประการ เช่น จุลินทรีย์มีอัตราการเจริญสูง เพาะเลี้ยงได้ง่ายในอาหารที่มีองค์ประกอบไม่ยุ่งยาก ไม่ต้องใช้พื้นที่มากในการเพาะเลี้ยง ไม่ได้รับผลกระทบสูงจากการเปลี่ยนแปลงของภูมิอากาศและฤดูกาลมีปริมาณเอนไซม์สูงกว่าพืชและสัตว์ในระยะเวลาเพาะเลี้ยงเท่ากัน สกัดและทำบริสุทธิ์ง่าย การปรับปรุงพันธุกรรมและการคัดเลือกสามารถทำได้ง่ายไม่ยุ่งยาก และสามารถปรับสภาวะให้เหมาะสมต่อการเจริญได้ง่ายกว่าพืชและสัตว์

ในบรรดาจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์ไลเปส แบคทีเรียเป็นจุลินทรีย์ที่มีข้อมูลพื้นฐานของการศึกษาวิจัยมากที่สุด กอปรกับแบคทีเรียมีอัตราการเจริญสูงกว่าจุลินทรีย์กลุ่มอื่นๆ ที่ผลิตเอนไซม์ไลเปส นอกจากนี้แบคทีเรียสามารถใช้สับสเตรทได้หลากหลาย เอนไซม์ไลเปสของแบคทีเรียมีความคงตัวสูง และสามารถทำงานได้ภายใต้สภาวะแวดล้อมกดดัน เช่น ในสภาวะที่อุณหภูมิและความดันสูง เป็นต้น แบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสพบได้ทั่วไปในแหล่งอาศัยหลายชนิด เช่น ดินและน้ำเสียจากครัวเรือน ภัตตาคาร และโรงงานอุตสาหกรรมอาหารที่มีการปนเปื้อนของไลปิด อย่างไรก็ตามดินป่าไม้เป็นแหล่งอาศัยที่สำคัญแหล่งหนึ่งของแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปส เนื่องจากมีความอุดมสมบูรณ์ของธาตุอาหารที่แบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสสามารถเมตาบอไลซ์เพื่อการเจริญและผลิตเอนไซม์ไลเปสได้ โดยเฉพาะดินป่าไม้ที่มีอินทรียวัตถุซึ่งพบไลปิดและอนุพันธุ์ของไลปิดเป็นองค์ประกอบ เช่น ดินป่าไม้บริเวณที่มีพืชให้น้ำมันหรือน้ำยางในกลุ่มของ สนสองใบ สนสามใบ ยางนา ยางแดง กฤษณา และอบเชยเป็นพืชเด่น นอกจากนี้ในระบบนิเวศป่าไม้ที่พบในพื้นที่ป่าอนุรักษ์ในเขตอุทยานแห่งชาติ และเขตห้ามล่าสัตว์ป่า เป็นบริเวณที่มีความหลากหลายทางชีวภาพของแบคทีเรียสูง จึงคาดว่าน่าจะเป็นแหล่งอาศัยของแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสที่ยังมีการศึกษาวิจัยจำกัด ดังนั้นการศึกษาวิจัยแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสที่อาศัยอยู่ในระบบนิเวศป่าไม้ดังกล่าวอาจพบแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสสายพันธุ์ใหม่ที่มีศักยภาพสูงเพื่อผลิตเอนไซม์ไลเปสที่นำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ ดังที่กล่าวมาข้างต้นในอนาคต

วัตถุประสงค์

1. เพื่อคัดแยกและจัดจำแนกแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสจากดินป่าไม้ที่มีศักยภาพสูงเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรม
2. เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์ไลเปสจากแบคทีเรียสายพันธุ์ที่คัดแยกได้

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้แบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสสายพันธุ์ใหม่ที่มีศักยภาพสูงเพื่อการอุตสาหกรรม
2. ทราบสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสสายพันธุ์ใหม่ที่คัดแยกได้

ขอบเขตของการวิจัย

1. คัดแยกแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสจากดินตัวอย่างของป่าผลัดใบและไม่ผลัดใบที่เก็บรวบรวมจากผืนป่าธรรมชาติในเขตห้ามล่าสัตว์ป่าเขาค้อ อุทยานแห่งชาติน้ำหนาว อุทยานแห่งชาติทุ่งแสลงหลวง และอุทยานแห่งชาติภูหินร่องกล้า
2. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสสายพันธุ์ที่คัดแยกได้ โดยพิจารณาจากชนิดและความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอน และแหล่งไนโตรเจน ปริมาณออกซิเจน อุณหภูมิ พีเอช และระยะเวลาที่เก็บเกี่ยวเซลล์ เป็นต้น
3. จัดจำแนกแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสที่คัดแยกได้โดยใช้การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของ small subunit ribosomal DNA (SSU rDNA)

สมมติฐานของการวิจัย

ดินป่าไม้เป็นแหล่งอาศัยที่สำคัญแหล่งหนึ่งของแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปส โดยเฉพาะดินป่าไม้ที่มีอินทรียวัตถุซึ่งพบไลปิดและอนุพันธุ์ของไลปิดเป็นองค์ประกอบ