

การหายใจระดับเซลล์ของแบคทีเรียกรดอะซิติก: การหมักแบบออกซิเดทีฟ
และการประยุกต์ใช้
Cellular Respiration of Acetic Acid Bacteria: Oxidative Fermentation
and Applications

ศยามพงษ์ พงษ์ดำ*

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสวนดุสิต

Sayampong Pongdam*

Faculty of Science and Technology, Suandusit University

บทคัดย่อ

แบคทีเรียกรดอะซิติก (Acetic Acid Bacteria) เป็นแบคทีเรียที่ต้องใช้ออกซิเจนในกระบวนการหายใจ (Aerobic Bacteria) ถูกจัดอยู่ในวงศ์ Acetobacteriaceae ในระหว่างกระบวนการหมักแบบออกซิเดทีฟสามารถออกซิไดซ์สารอินทรีย์ได้หลายประเภท เช่น เอทานอล น้ำตาล น้ำตาลแอลกอฮอล์ กรดอินทรีย์ โดยมีเอนไซม์หลักที่ช่วยการออกซิไดซ์ ได้แก่ แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส อัลดีไฮด์ดีไฮโดรจีเนส แอลกอฮอล์-อัลดีไฮด์ดีไฮโดรจีเนส กลูโคเนตดีไฮโดรจีเนส และฟอสโฟลัตดีไฮโดรจีเนส ในการประยุกต์ใช้โดยการหมักแบบออกซิเดทีฟ (Oxidative Fermentation) จะได้ผลิตภัณฑ์จากการหมักที่สำคัญ เช่น กรดอะซิติก ไดไฮดรอกซีอะซิโตน แอล-ซอร์บิต เซลลูโลส กรดกลูโคนิก ซึ่งนำมาประยุกต์ใช้ในทางเภสัชกรรม เครื่องสำอาง อุตสาหกรรมอาหาร อุตสาหกรรมเกษตร อุตสาหกรรมเคมี และอุตสาหกรรมสิ่งทอ เป็นต้น ปัจจุบันมีการวิจัยและพัฒนาเพื่อเพิ่มผลผลิตจากกระบวนการหมักโดยแบคทีเรียกรดอะซิติกจำนวนมาก โดยงานวิจัยต้องอาศัยความรู้เกี่ยวกับการหายใจระดับเซลล์ของแบคทีเรีย การออกซิไดซ์สารตั้งต้น เอนไซม์ที่ช่วยเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชัน การพัฒนากระบวนการหมักแบบออกซิเดทีฟจึงเป็นการประยุกต์ใช้ความรู้สาขาต่างๆ เช่น จุลชีววิทยา เทคโนโลยีชีวภาพ กระบวนการผลิต และวิศวกรรมชีวเคมี เป็นต้น

คำสำคัญ: แบคทีเรียกรดอะซิติก การหายใจแบบใช้ออกซิเจน การประยุกต์ใช้ การหมักแบบออกซิเดทีฟ

* ผู้ประสานงานหลัก (Corresponding Author)
e-mail: sayampong@gmail.com

Abstract

Acetic acid bacteria are aerobic bacteria, classified as the Acetobacteraceae family. During oxidative fermentations, they can oxidize many organic compounds, such as ethanol, sugars, sugar alcohols and organic acids. The main oxidative enzymes are alcohol dehydrogenase, aldehyde dehydrogenase, alcohol-aldehyde dehydrogenase, gluconate dehydrogenase and polyol-dehydrogenase. In oxidative fermentation applications, the important products are acetic acid, dihydroxyacetone, L-sorbose, cellulose and gluconic acid, and applications of the products are pharmaceuticals, cosmetics, food industry, agriculture, chemical industry and textile industry. Nowadays, there are many researches and developments for improvement of acetic acid bacteria fermentations. Researches are based on bacterial cellular respiration, substrate oxidation, and oxidative enzymes. The development of oxidative fermentation can be applied in microbiology, biotechnology, manufacturing processes and biochemical engineering.

Keywords: Acetic Acid Bacteria, Aerobic Respiration, Applications, Oxidative Fermentation

บทนำ

ปัจจุบันผลิตภัณฑ์ในท้องตลาดจำนวนมากได้มาจากกระบวนการหมัก แบคทีเรียกรดอะซิติกเป็นแบคทีเรียที่ต้องใช้ออกซิเจนในกระบวนการหายใจ เมื่อนำมาประยุกต์ใช้กับการหมักแบบออกซิเดทีฟ (Oxidative Fermentation) จะสามารถให้ผลิตภัณฑ์ได้หลากหลายชนิด ที่สามารถนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอย่างกว้างขวาง เช่น อุตสาหกรรมอาหาร อุตสาหกรรมเกษตร อุตสาหกรรมเคมี อุตสาหกรรมสิ่งทอ เภสัชกรรม และเครื่องสำอาง (Gullo & Giudici, 2008; Pommerville, 2011) จึงมีการศึกษาเกี่ยวกับชีวเคมีของการเกิดผลิตภัณฑ์จากแบคทีเรียกรดอะซิติกอย่างแพร่หลาย มีการพัฒนาการประยุกต์ใช้ผลิตภัณฑ์เหล่านั้น รวมถึงการวิจัยเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิต (Raspor & Goranovic, 2008) บทความนี้แสดงถึงลักษณะทั่วไปของแบคทีเรียกรดอะซิติก ความสามารถในการออกซิโดซสารอินทรีย์ของแบคทีเรียเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการหมักแบบออกซิเดทีฟ ซึ่งมีความสัมพันธ์อย่างใกล้ชิดกับการหายใจระดับเซลล์ของแบคทีเรียกรดอะซิติก ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการหมักเหล่านั้น การประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์ การนำความรู้เกี่ยวกับการออกซิโดซสารอินทรีย์ประเภทต่างๆ ของแบคทีเรียกรดอะซิติกมาพัฒนาการหมักแบบออกซิเดทีฟ เพื่อเพิ่มอัตราการเกิดผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ แนวทางการวิจัยในอนาคต เช่น การค้นพบแบคทีเรียกรดอะซิติกสายพันธุ์ใหม่ การพัฒนาอาหารเลี้ยงเชื้อ การศึกษาพันธุกรรมของแบคทีเรียกรดอะซิติก การประยุกต์องค์ความรู้ต่างๆ เช่น ชีวเคมี จุลชีววิทยา เทคโนโลยีชีวภาพ เข้ากับกระบวนการหมักและกระบวนการผลิต โดยมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

เนื้อเรื่อง

1. แบคทีเรียกรดอะซิติก (Acetic Acid Bacteria)

แบคทีเรียกรดอะซิติกเป็นแบคทีเรียแกรมลบ (Gram-Negative Bacteria) ต้องใช้ออกซิเจนในกระบวนการหายใจระดับเซลล์ (Strictly Aerobic Bacteria) มีลักษณะเป็นรูปแท่ง (Rod-Shaped Bacteria) มีทั้งสายพันธุ์กลุ่มที่มีแฟลกเจลล่าและไม่มีแฟลกเจลล่า ถูกจัดอยู่ในวงศ์ Acetobacteriaceae สามารถแบ่งได้เป็น 12 สกุล คือ *Acidomonas*, *Acetobacter*, *Gluconobacter*, *Saccharibacter*, *Gluconacerobacter*, *Asaia*, *Kozakia*, *Swaminathania*, *Neoasaia*, *Granulibacter*, *Ameyamaea* และ *Tanticharoenia* (Klawpiyapamornkun et al., 2015) สามารถใช้ในอุตสาหกรรมอย่างกว้างขวาง จุลินทรีย์กลุ่มนี้เป็นที่รู้จักเนื่องจากความสามารถในออกซิโดซ์คาร์โบไฮเดรตได้หลายประเภท และให้ผลิตภัณฑ์หลายกลุ่ม เช่น อัลดีไฮด์ คีโตน และกรดอินทรีย์ เช่น กรดอะซิติก กรดแอสคอบิก ไดไฮดรอกซีอะซิโตน กรดกลูโคนิก และเซลล์ูโลสเป็นต้น ผ่านทางกระบวนการหมักแบบออกซิเดทีฟ โดยมีเอนไซม์ในกลุ่มดีไฮโดรจีเนสเป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการหมัก (Lee et al., 2014; Mamlouk & Gullo, 2013)

เมื่อนำมาประยุกต์ใช้ในกระบวนการหมักแบบออกซิเดทีฟ สายพันธุ์ส่วนใหญ่ทนต่อสภาวะที่เป็นกรดได้ แต่ที่ระดับ pH ต่ำ เนื่องมาจากการสะสมของผลิตภัณฑ์ที่มีคุณสมบัติเป็นกรด แบคทีเรียมักจะมีอัตราการเจริญที่ลดต่ำลง (Hanmoungjai et al., 2008) ในกรณีของความสามารถในการทนอุณหภูมิ บางสายพันธุ์ก็สามารถทนต่อระดับอุณหภูมิที่สูงขึ้นอันเนื่องมาจากความร้อนที่สะสมระหว่างกระบวนการหมักได้ (Moghadami et al., 2013) แบคทีเรียกรดอะซิติกสามารถใช้น้ำตาลหลายชนิดเป็นแหล่งพลังงาน แต่พบว่าสามารถใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งพลังงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Awad et al., 2012) สายพันธุ์ส่วนใหญ่มีความสามารถในการทนต่อสภาวะแวดล้อมที่มีออกซิเจนน้อย แต่ไม่สามารถเจริญได้ดีจะเพิ่มจำนวนได้ดีเมื่อได้รับปริมาณออกซิเจนที่มากพอ (Zheng et al., 2016) พบว่าผลิตภัณฑ์ที่เซลล์แบคทีเรียผลิตได้อาจย้อนกลับมายับยั้งการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณของแบคทีเรียเอง (Bauer et al., 2005)

2. การหายใจระดับเซลล์ของแบคทีเรียกรดอะซิติก

การหายใจระดับเซลล์ของจุลินทรีย์เกิดได้ 2 ลักษณะ คือ การหายใจแบบไม่ใช้ออกซิเจน (Anaerobic Respiration) และการหายใจแบบใช้ออกซิเจน (Aerobic Respiration) การหายใจระดับเซลล์ของแบคทีเรียกรดอะซิติกเป็นกระบวนการหายใจแบบใช้ออกซิเจน คือใช้ออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอนในช่วงสุดท้าย การหายใจระดับเซลล์ของแบคทีเรียกรดอะซิติกประกอบด้วย 4 กระบวนการใหญ่ได้แก่ ไกลโคไลซิส (Glycolysis) การสร้างอะซิติลโคเอ (Acetyl CoA) วัฏจักรเครบส์ (Kreb's Cycle) และห่วงโซ่การถ่ายทอดอิเล็กตรอน (Electron Transport Chain) (Solomon et al., 2010) การสร้าง Adenosine Triphosphate (ATP) โดยวิธีฟอสฟอริเลชันระดับสับสเตรท (Substrate-Level Phosphorylation) จะ

เกิดขึ้นในช่วงไกลโคไลซิส โดยพลังงานที่ได้จากพันธะเคมีจะนำมาใช้ในการเติมหมู่ฟอสเฟต (Pi) เข้าสู่ ADP ได้เป็น ATP ซึ่งเป็นสารพลังงานสูงที่สามารถใช้ได้ภายในเซลล์ (Moat et al., 2002) แบคทีเรียกรดอะซิติกสามารถออกซิโดส์เอทานอลเปลี่ยนเป็นกรดอะซิติก ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการผลิตอะซิติลโคเอ (Acetyl CoA) ที่จะเข้าร่วมกับวัฏจักรเครบส์ แบคทีเรียกรดอะซิติกส่วนใหญ่ใช้วัฏจักรเครบส์เป็นขั้นตอนสำคัญในการผลิต ATP มีแบคทีเรียกรดอะซิติกเพียงบางกลุ่มเท่านั้นที่ไม่มีเอนไซม์ที่จำเป็นสำหรับวัฏจักรเครบส์ จึงไม่สามารถสร้าง ATP ได้จากวัฏจักรดังกล่าว โดยวัฏจักรเครบส์จะให้อิเล็กตรอนพลังงานสูงผ่านทางตัวถ่ายทอดอิเล็กตรอน (Electron Carrier) ดังนั้นแบคทีเรียกรดอะซิติกเกือบทุกชนิดจึงสามารถสร้าง ATP ได้จากห่วงโซ่การถ่ายทอดอิเล็กตรอนที่เกิดขึ้นที่เซลล์เมมเบรนด้านใน (Inner Membrane) โดยเป็นการสร้าง ATP แบบ Oxidative Phosphorylation (Kim & Gadd, 2008) กลไกการหายใจระดับเซลล์ของแบคทีเรียกรดอะซิติกมีผลต่อการนำแบคทีเรียมาประยุกต์ใช้ในกระบวนการหมักอย่างมาก รายละเอียดของการหายใจระดับเซลล์ การออกซิโดส์สารอาหาร เอนไซม์ที่เกี่ยวข้อง ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น และการหมักแบบออกซิเดทีฟได้แสดงไว้ดังต่อไปนี้

3. การหมักแบบออกซิเดทีฟ

การหมักแบบออกซิเดทีฟ คือ กระบวนการหมักที่เกิดจากแบคทีเรียที่ต้องใช้ออกซิเจนในการหายใจระดับเซลล์ มีสารตั้งต้น คือ คาร์โบไฮเดรต แอลกอฮอล์หรือสารอินทรีย์ประเภทอื่นๆ เมื่อเกิดการออกซิโดส์สารตั้งต้น ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นอาจเป็นกรดอินทรีย์ อัลดีไฮด์ หรือคีโตน ผลผลิตจากการออกซิโดส์เหล่านี้จะออกจากเซลล์และปะปนอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ จึงสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ กลไกการหมักแบบออกซิเดทีฟของแบคทีเรียกรดอะซิติกเกี่ยวข้องกับกระบวนการออกซิเดชัน และการถ่ายทอดอิเล็กตรอนบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ การหมักจะได้ผลิตภัณฑ์หลายชนิด เช่น กรดอะซิติก, ไดไฮดรอกซีอะซิโตน, D-Fructose, D-Xylulose, L-Erythrulose, L-Ribulose, 2-Keto-D-Gluconic Acid, 5-Keto-D-Gluconic Acid และสารต้านอนุมูลอิสระ (Deppenmeier & Ehrenreich, 2009; Gómez-Manzo et al., 2015) เนื่องจากผลผลิตจากกระบวนการหมักจะอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ จึงสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้โดยการคัดแยกเซลล์ออกโดยไม่ต้องทำให้เซลล์แตก แล้วจึงทำให้สิ่งที่ต้องการมีความบริสุทธิ์ขึ้นโดยกรรมวิธีที่แตกต่างกันไปตามแต่คุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ที่ต้องการนั้นๆ การทำความเข้าใจเกี่ยวกับกระบวนการหมักแบบออกซิเดทีฟ จึงมีความสำคัญด้วยเหตุนี้ นักวิจัยจากทุกมุมโลกยังคงให้ความสำคัญอย่างต่อเนื่อง โดยเฉพาะปฏิกิริยาทางชีวเคมีที่เกิดขึ้นบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ซึ่งเป็นกลไกหลักในการสังเคราะห์ผลิตภัณฑ์ต่างๆ ที่สามารถนำมาประยุกต์ใช้ประโยชน์ได้ (Gupta et al., 2001; Raspor & Goranovic, 2008) ดังตัวอย่างต่อไปนี้

3.1 กระบวนการหมัก

การหมักแบบออกซิเดทีฟสามารถแบ่งได้ 2 ประเภท คือ Surface Process และ Submerged Process กระบวนการหมักแบบ Surface Process แบ่งย่อยได้ 2 วิธี คือ การหมักแบบช้า (Slow Process) และการหมักแบบเร็ว (Quick Process) การหมักแบบช้าเป็นวิธีการหมักแบบดั้งเดิม อาหารเลี้ยงเชื้อจะถูกบรรจุลงในภาชนะรูปทรงคล้ายถัง แบทที่เรียที่ผิวหน้าจะสัมผัสกับอากาศ และสามารถใช้ออกซิเจนได้ กระบวนการหมักจะใช้เวลานาน จึงไม่เป็นที่นิยมในกระบวนการผลิตเชิงอุตสาหกรรม (Gullo & Giudici, 2008) การหมักแบบเร็วเป็นการหมักที่บรรจุตัวกลาง โดยส่วนใหญ่เป็นวัสดุธรรมชาติที่ประกอบด้วยเซลลูโลส ใช้เป็นที่ยึดเกาะให้แก่แบคทีเรีย อาหารเลี้ยงเชื้อจะถูกเติมทางด้านบนให้ไหลผ่านตัวกลางมาด้านล่าง แบคทีเรียจึงออกซิไดส์สารอาหารต่างๆได้ อาหารเลี้ยงเชื้อจะถูกส่งขึ้นด้านบนถึงหมักอีกจนกว่าจะได้ผลิตภัณฑ์ในปริมาณที่ต้องการ ประสิทธิภาพการผลิตจะสูงจึงเป็นที่นิยมในระดับอุตสาหกรรม กระบวนการหมักแบบ Submerged Process เป็นการหมักที่มีการใช้ไบอวอร์ และมีการเติมอากาศทางด้านล่าง มีระบบกระจายฟองอากาศให้สม่ำเสมอตลอดทั่วถึงหมัก (Gullo et al., 2014) จากคุณสมบัติของแบคทีเรียกรดอะซิติก อันทำให้เกิดข้อจำกัดต่อปริมาณผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ ในกระบวนการหมักส่วนใหญ่ผู้ผลิตจึงพยายามกำหนดสภาวะที่เหมาะสมต่อการเพิ่มผลผลิต เช่น พยายามกำหนดสัดส่วนของอาหารเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ แหล่งคาร์บอน ไนโตรเจน วิตามินและแร่ธาตุที่จำเป็น ในปริมาณที่เหมาะสมกับแบคทีเรียกรดอะซิติกแต่ละชนิด (Awad et al., 2012) การคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีความทนทานต่อสภาวะแวดล้อม เช่น ทนกรดและทนอุณหภูมิสูง (Hanmoungjai et al., 2008; Moghadami et al., 2013) การปรับอัตราการให้อากาศให้เหมาะสม การปรับขนาดและความเร็วของไบออร์ (Stirrer) การเพิ่ม Baffle ลงในระบบการหมัก เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการรับสารอาหารของแบคทีเรีย ศึกษาวิธีการเติมอาหารและอัตราการเติมอาหาร เช่นในระบบกะ (Batch) ระบบกึ่งกะ (Fed-Batch) หรือการใช้เครื่องปฏิกรณ์แบบถังกวนต่อเนื่อง (CSTR) (Gullo et al., 2014) การตรึงเซลล์แบคทีเรียระหว่างกระบวนการหมักเพื่อรักษาปริมาณเซลล์ในระบบให้สูงอยู่เสมอ รวมถึงหาระยะเวลาการหมักที่เหมาะสมเป็นต้น (Black & Nair, 2013; Awad et al., 2012)

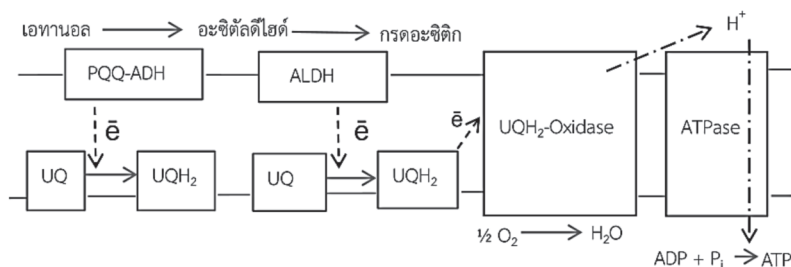
3.2 ออกซิเดชันของเอทานอลโดยแบคทีเรียกรดอะซิติก

การออกซิไดส์เอทานอลโดยแบคทีเรียกรดอะซิติกสามารถแบ่งได้ 2 กรณี คือ 1) ใช้แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสและอัลดีไฮด์ดีไฮโดรจีเนสช่วยเร่งการสร้างกรดอะซิติก 2) ใช้เอนไซม์แอลกอฮอล์-อัลดีไฮด์ดีไฮโดรจีเนสช่วยเร่งการสร้างกรดอะซิติก มีรายละเอียดดังต่อไปนี้

3.2.1 ออกซิเดชันของเอทานอลโดยมีแอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนสและอัลดีไฮด์ดีไฮโดรจีเนสช่วยเร่งปฏิกิริยา

เมื่อแบคทีเรียกรดอะซิติกได้รับเอทานอลเป็นสารอาหาร จะสามารถออกซิไดส์เอทานอลโดยการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ 2 ชนิด คือ แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส (Alcohol Dehydrogenase, ADH) และอัลดีไฮด์ดีไฮโดรจีเนส (Aldehyde Dehydrogenase, ALDH) เอนไซม์ทั้ง

สองชนิดเป็นเอนไซม์ที่ฝังตัวอยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์ (Membrane-Bound Enzyme) โดยฝังตัวอยู่ที่พื้นผิวด้านนอกของ Cytoplasmic Membrane ของแบคทีเรีย เอนไซม์ทั้งสองชนิดจะหันบริเวณเร่ง (Active Site) เข้าหา Periplasmic Space ADH ช่วยเร่งการเปลี่ยนแปลงเอทานอลเป็นอะซีตัลดีไฮด์ โดยเร่งการออกซิไดซ์เอทานอล ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$) ทำให้เอทานอลเสียไฮโดรเจน 2 อะตอมและได้ผลิตภัณฑ์เป็นอะซีตัลดีไฮด์ (CH_3CHO) ส่วน ALDH จะช่วยเร่งการเปลี่ยนอะซีตัลดีไฮด์เป็นกรดอะซิติก โดยปฏิกิริยาออกซิเดชันที่มีการเติมออกซิเจนให้แก่อะซีตัลดีไฮด์ จึงเกิดเป็นกรดอะซิติก (CH_3COOH หรือ AcOH) กรดอะซิติกที่เกิดขึ้นอาจเปลี่ยนเป็นอะซีติลโคเอ โดยการเร่งของเอนไซม์อะซีติลโคเอซินเทส (Acetyl CoA Synthase) และอะซีติลโคเอสามารถเข้าร่วมกับวัฏจักรเครบส์ (Mamlouk & Gullo, 2013) หลังจากนั้นจึงเกิดปฏิกิริยาในช่วงห่วงโซ่การถ่ายทอดอิเล็กตรอน ดังนั้นการใช้เอทานอลเป็นสารอาหารของแบคทีเรียกรดอะซิติก จะเกิดการหายใจระดับเซลล์แบบใช้ออกซิเจนได้อย่างสมบูรณ์ คือ ถึงช่วงสุดท้ายที่มีออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอน (Stoker, 2013) ADH มีโคแฟกเตอร์ คือ Pyrroloquinoline Quinone (PQQ) นิยมใช้สัญลักษณ์ PQQ-ADH แทนคอมเพล็กซ์ของการรวมตัวระหว่างเอนไซม์และโคแฟกเตอร์ดังกล่าว เอทานอลจะถูกออกซิไดซ์ที่บริเวณพื้นผิวของ PQQ เอนไซม์ ADH และ ALDH มีความเชื่อมโยงกับห่วงโซ่การถ่ายทอดอิเล็กตรอนอย่างใกล้ชิด โดยอิเล็กตรอนที่ได้จากปฏิกิริยาออกซิเดชัน จะถูกส่งไปยัง Ubiquinone (UQ) ซึ่งเป็นตัวรับอิเล็กตรอน หลังจากนั้น Ubiquinone ที่ได้รับอิเล็กตรอนแล้วจะเปลี่ยนเป็น Ubiquinol (UQH_2) แล้วจะมีการขนส่งอิเล็กตรอนไปยังเอนไซม์ Ubiquinol Oxidase (UQH_2 -Oxidase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ในกลุ่มออกซิเดสในระบบห่วงโซ่การถ่ายทอดอิเล็กตรอน หลังจากนั้น ubiquinol Oxidase จะส่งอิเล็กตรอนให้แก่ออกซิเจน ซึ่งเป็นตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้าย ได้ผลิตภัณฑ์เป็นน้ำ ในช่วงเดียวกัน Ubiquinol Oxidase จะปลดปล่อยโปรตอน (H^+) ออกสู่ภายนอกเยื่อหุ้มเซลล์ ดังแสดงในภาพที่ 1 และพบว่าในแบคทีเรียอะซิติกมีเอนไซม์ Ubiquinol Oxidase ทำหน้าที่รับอิเล็กตรอนจาก UQH_2 อยู่สองประเภท คือ Cytochrome Bo_3 Oxidase และ Cyanide-Insensitive Quinol Oxidase (CIO) (Miura et al., 2013) ADH และ ALDH จึงมีความสำคัญต่อการออกซิไดซ์แอลกอฮอล์และอัลดีไฮด์ที่แบคทีเรียกรดอะซิติกได้รับจากภายนอกเซลล์ โดยปฏิกิริยาออกซิเดชันจะเกิดในเวลาใกล้เคียงกับกระบวนการสร้าง ATP ของแบคทีเรีย เอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดดังกล่าวจึงมีอิทธิพลต่อการหายใจระดับเซลล์ และการเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียอย่างมาก (Flores-Encarnación et al., 2014) และพบว่าแรงขับเคลื่อนโปรตอน (Proton-Motive Force) ที่เกิดจากการสะสมของไฮโดรเจนไอออนระหว่างเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอกและชั้นใน มีผลต่อการทำงานของ ATPase ที่ช่วยเร่งปฏิกิริยาการสร้าง ATP (Kim & Gadd, 2008)



ภาพที่ 1 การออกซิไดซ์ของเอทานอลโดยแบคทีเรียกรดอะซิติก ที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นใน (ดัดแปลงจาก Mamlouk & Gullo, 2013 และ Gómez-Manzo et al., 2015)

คำย่อ UQ : Ubiquinone ; UQH₂ : Ubiquinol ; UQH₂-Oxidase : Ubiquinol Oxidase ;
PQQ-ADH : คอมเพล็กซ์ระหว่าง ADH และ Pyrroloquinoline Quinone ;
ADH : แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส ; ALDH : อัลดีไฮด์ดีไฮโดรจีเนส

เมื่อศึกษาโครงสร้างของ ADH และ ALDH พบว่า ADH ของแบคทีเรียกรดอะซิติกหลายชนิดเป็นเอนไซม์ที่ประกอบด้วย 3 หน่วยย่อย (Subunit) ในแบคทีเรียกรดอะซิติกแต่ละชนิดจะมีขนาดของหน่วยย่อยที่ไม่เท่ากัน พบว่าหน่วยย่อยที่ 1 มีขนาดอยู่ระหว่าง 71 – 85 กิโลดาลตัน หน่วยย่อยที่ 2 มีขนาดอยู่ระหว่าง 44 – 55 กิโลดาลตัน หน่วยย่อยที่ 3 มีขนาดเล็กที่สุด คืออยู่ระหว่าง 8 – 20 กิโลดาลตัน หน่วยย่อยที่ 1 มีบริเวณเร่ง เป็นหน่วยที่สามารถจับกับ PQQ จึงเป็นหน่วยย่อยที่ทำหน้าที่ในการออกซิไดซ์เอทานอลเป็นอะซิตัลดีไฮด์ หน่วยย่อยที่ 2 จะประกอบด้วย Heme C จำนวน 3 โมเลกุล เป็นบริเวณที่มีการถ่ายทอดอิเล็กตรอนระหว่าง Heme C จึงเป็นหน่วยย่อยที่ช่วยในการถ่ายทอดอิเล็กตรอน (Electron Mediator) ระหว่างกระบวนการออกซิเดชัน หน่วยย่อยที่ 3 ซึ่งมีขนาดเล็กที่สุด ไม่มีส่วนช่วยเร่งการออกซิไดซ์ แต่ทำหน้าที่ช่วยหน่วยย่อยที่ 1 และหน่วยย่อยที่ 2 ให้มีความเสถียร ทำให้เอนไซม์สามารถจับตัวกับ PQQ ได้ สามารถยึดเกาะกับเยื่อหุ้มเซลล์ และมีผลต่อรูปร่างของบริเวณเร่งของหน่วยย่อยที่ 1 ดังนั้นหน่วยย่อยที่ 3 จึงมีส่วนช่วยการทำงานของเอนไซม์เช่นกัน (Yakushi & Matsushita, 2010) ADH ประกอบด้วย heme c และ PQQ เป็นโคแฟกเตอร์ โดย PQQ ถูกจัดเป็นหมู่พรอสทีติก (Prosthetic Group) ของ ADH ที่จับกันอย่างมีความเสถียรสูง เนื่องจากต้องทำให้เอนไซม์เสถียรภาพทางธรรมชาติ จึงสามารถสกัด PQQ ได้ และพบว่า ADH จะทำงานได้ จำเป็นต้องมี Ca²⁺ มาจับตัวกับ PQQ ที่บริเวณเร่ง โดยเอนไซม์สามารถออกซิไดซ์แอลกอฮอล์ได้หลายชนิด เช่น เอทานอล เมทานอล (Flores-Encarnación et al., 2014)

เอนไซม์ ALDH ในแบคทีเรียกรดอะซิติกอาจประกอบด้วย 2 หรือ 3 หน่วยย่อย เช่น ใน *Gluconacetobacter Diazotrophicus* ประกอบด้วย 2 หน่วยย่อยที่มีขนาด 79.7 กิโลดาลตัน และ 50 กิโลดาลตัน พบ PQQ เป็นหมู่พรอสทีติก พบฮีมชนิดบี (Heme b) และพบไซโตโครมซี

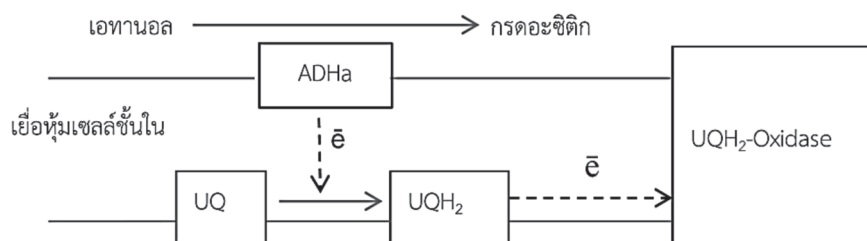
(Cytochromes C) จำนวน 3 โมเลกุลภายในโมเลกุลของเอนไซม์ (Go'omez-Manzo et al., 2010) ในสภาพปกติ ALDH จะไม่มีความสามารถในการเร่งปฏิกิริยา หรืออยู่ในสภาวะเป็น Apoenzyme แต่เมื่อได้รับการกระตุ้นจากโคเอนไซม์ คือ NAD^+ จะทำให้มีความพร้อมในการจับกับสารตั้งต้น คือเปลี่ยนเป็นสภาวะ Holoenzyme ทำให้อะซีตัลดีไฮด์สามารถเข้ามาจับกับบริเวณเร่งของ ALDH ในช่วงนี้จะมีน้ำเข้าให้ออกซิเจนแก่อะซีตัลดีไฮด์ อะซีตัลดีไฮด์จึงเปลี่ยนเป็นกรดอะซิติก และ NAD^+ จะได้รับไฮโดรเจนเกิดเป็น NADH ซึ่งเป็นการถ่ายทอดไฮโดรเจน อันเป็นส่วนหนึ่งของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเมื่อมีการทำงานของเอนไซม์ในกลุ่มดีไฮโดรจิเนส (Mamlouk & Gullo 2013) การทำงานร่วมกันระหว่าง ALDH และ UQH₂-Oxidase จะทำให้โปรตอนผ่านออกจากเยื่อหุ้มเซลล์ไปสะสมอยู่ด้านนอก การสะสมนี้จะทำให้เกิดแรงขับเคลื่อนโปรตอน ที่สามารถผลักดันให้เกิดการสังเคราะห์ ATP โดยมีเอนไซม์ที่ฝังตัวอยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์ คือ ATPase ช่วยเร่งการเกิดปฏิกิริยา (Pommerville, 2011)

3.2.2 ออกซิเดชันของเอทานอลโดยมีแอลกอฮอล์-อัลดีไฮด์ดีไฮโดรจิเนสช่วยเร่งปฏิกิริยา

จากบทความข้างต้น เมื่อแบคทีเรียกรดอะซิติกได้เอทานอลเป็นสารอาหาร จะต้องใช้ ADH และ ALDH ช่วยเร่งการเปลี่ยนเอทานอลเป็นอะซีตัลดีไฮด์ และเร่งการเปลี่ยนอะซีตัลดีไฮด์เป็นกรดอะซิติกตามลำดับ หลังจากนั้นจึงสร้างอะซีติลโคเอเพื่อเข้าสู่วัฏจักรเครบส์ และเกิดกระบวนการห่วงโซ่การถ่ายทอดอิเล็กตรอนตามลำดับ แต่พบว่ากรรมพันธุ์แบบออกซิเดทีฟของเอทานอลใน *Ga. diazotrophicus* มีกลไกที่แตกต่างจากแบคทีเรียกรดอะซิติกอื่นๆ คือ ประกอบด้วยปฏิกิริยา 2 ช่วง ที่ถูกเร่งด้วยเอนไซม์แอลกอฮอล์-อัลดีไฮด์ดีไฮโดรจิเนส (Alcohol-Aldehyde Dehydrogenase, ADHa) โดยที่ ADHa มีความสามารถในการออกซิไดซ์แอลกอฮอล์และอัลดีไฮด์ ได้ผลิตภัณฑ์เป็นกรดอะซิติกโดยไม่ได้ตัวกลางคือสารประกอบอัลดีไฮด์ ADHa จึงมีผลต่อการเจริญของ *Ga. diazotrophicus* โดยปราศจากการได้รับพิษจากอะซีตัลดีไฮด์ แต่เมื่อระดับ pH ลดลงต่ำกว่า 6 จากผลของปริมาณกรดอะซิติกที่สะสม เอนไซม์ ALDH จะสามารถทำงานได้ดีขึ้น (Gómez-Manzo et al., 2015; Mamlouk & Gullo, 2013)

เมื่อศึกษาโครงสร้างของ ADHa พบว่ามีส่วนประกอบเป็น 2 หน่วยย่อย คือ S-I และ S-II ที่มีขนาดประมาณ 72 กิโลดาลตัน และ 44 กิโลดาลตันตามลำดับ โดยมีฮีมอยู่บริเวณกึ่งกลาง และมีโคแฟกเตอร์ คือ PQQ เช่นเดียวกับ ADH และ ALDH การที่ PQQ จับตัวกับส่วน S-I จะมีผลต่อการคงรูปร่างของเอนไซม์และบริเวณเร่ง และในระหว่างการเกิดออกซิเดชันของเอทานอล อิเล็กตรอนที่ได้จะถูกถ่ายทอดจาก S-I ไปสู่ S-II ผ่าน [2Fe-2S] และไซโทโครม CI ที่อยู่บน S-I และไปยังไซโทโครม CII1 ไซโทโครม CII2 และไซโทโครม CII3 ที่อยู่บน S-II ตามลำดับ หลังจากนั้นจึงส่งอิเล็กตรอนไปให้ Ubiquinone และเกิดเป็น Ubiquinol แล้วส่งอิเล็กตรอนไปยัง Ubiquinol Oxidase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เร่งออกซิเดชันในห่วงโซ่การถ่ายทอดอิเล็กตรอน ดังแสดงในภาพที่ 2 (Gómez-Manzo et al., 2015) การพยายามเข้าใจถึงกลไกและขั้นตอนการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาออกซิเดชันภายในเซลล์ของแบคทีเรียกรดอะซิติกของคณะวิจัยกลุ่มต่างๆ สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมทางชีวเคมีและเทคโนโลยีชีวภาพ ในกรณีที่

ต้องการหลีกเลี่ยงการสะสมของอะซิติลโคเอยล์ในผลิตภัณฑ์ จึงช่วยลดขั้นตอนและเวลาในการทำผลิตภัณฑ์ที่ต้องการให้บริสุทธิ์ และแนวทางการศึกษาดังกล่าวอาจนำมาประยุกต์ใช้กับอุตสาหกรรมการหมักประเภทอื่นๆ ในอนาคตก็เป็นได้



ภาพที่ 2 การออกซิไดซ์เอทานอลเป็นกรดอะซิติก โดยมี ADHa ช่วยเร่งปฏิกิริยา

(ดัดแปลงจาก Gómez-Manzo et al., 2015 และ Yakushi & Matsushita, 2010)

คำย่อ UQ : Ubiquinone ; UQH2 : Ubiquinol ; UQH2-Oxidase : Ubiquinol Oxidase ;

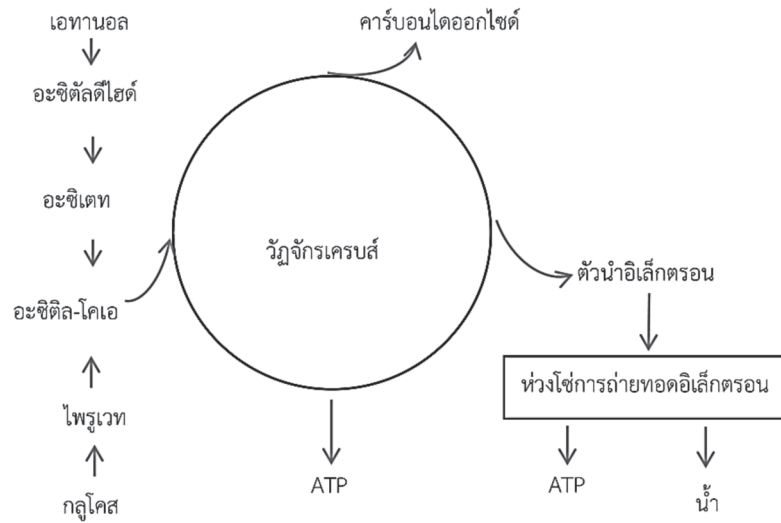
ADHa : แอลกอฮอล์-อัลดีไฮด์ดีไฮโดรจีเนส

3.3 ออกซิเดชันของน้ำตาลโดยแบคทีเรียกรดอะซิติก

3.3.1 ออกซิเดชันของน้ำตาลแล้วได้ผลิตภัณฑ์เป็นโมเลกุลขนาดเล็ก

เมื่อแบคทีเรียกรดอะซิติกได้รับน้ำตาลเป็นสารอาหาร พบว่าแบคทีเรียกรดอะซิติกมีความสามารถในการออกซิไดซ์น้ำตาลได้ดี ในธรรมชาติจะมีโอกาสออกซิไดซ์กลูโคสมากกว่าน้ำตาลชนิดอื่นๆ แต่ก็พบว่าสามารถออกซิไดซ์แมนโนส ซอร์บิต ไรโบส อาราไบโนส กาแลกโตส ฟรุคโตส และไซโลส ได้เช่นเดียวกัน จึงมักพบแบคทีเรียกรดอะซิติกได้ตามผลไม้สุก น้ำผึ้ง หรือดินในสวนที่ปลูกผลไม้รสหวาน (Diba et al., 2015) ในแบคทีเรียกลุ่ม *Acetobacter* spp. จะออกซิไดซ์น้ำตาลโดย Embden-Meyerhof-Parnas และ Entner-Doudoroff Pathways (Attwood et al., 1991; Kim & Gadd, 2008) และโดย Hexose Monophosphate Pathway (Bettelheim et al., 2010) ในช่วงแรกของการออกซิไดซ์น้ำตาลโดยแบคทีเรียกรดอะซิติก จัดเป็นปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ไม่สมบูรณ์ (Incomplete Oxidation) เช่น การออกซิไดซ์กลูโคสได้เป็นกรดกลูโคนิก การออกซิไดซ์ดี-ซอร์บิทอลได้เป็นแอล-ซอร์บิต (Gupta et al., 2001) ในช่วงต่อไปน้ำตาลจะถูกออกซิไดส์เป็นไพรูเวต เมื่อไพรูเวตทำปฏิกิริยากับโคเอนไซม์เอ (CoA) จะเกิดเป็นอะซิติลโคเอนไซม์เอ ซึ่งมีส่วนในการสร้างกรดซิตริกในวัฏจักรเครบส์ ปฏิกิริยาในช่วงวัฏจักรเครบส์จะเกิดในสภาวะที่แบคทีเรียอยู่ในสิ่งแวดล้อมที่มีออกซิเจน โดยพลังงานส่วนใหญ่ที่เซลล์ได้รับได้จากวัฏจักรเครบส์ นอกจากนี้อะซิติลโคเอนไซม์เอยังเป็นสารประกอบที่สามารถเปลี่ยนไปเป็นชีวโมเลกุลอื่นๆ ซึ่งเป็นส่วนประกอบในเซลล์ของแบคทีเรียได้ (Kim & Gadd, 2008) วัฏจักรเครบส์ทำให้ได้

คาร์บอนไดออกไซด์ ATP และอิเล็กตรอนที่พร้อมเข้าสู่ตัวนำอิเล็กตรอน (Electron Carrier) เช่น NAD และ FAD เกิดเป็น NADH และ FADH₂ ที่จะเข้าสู่ห่วงโซ่การถ่ายทอดอิเล็กตรอน พบว่าตัวรับอิเล็กตรอนที่ฝังตัวอยู่ใน Cytoplasmic Membrane ของแบคทีเรียกรดอะซิติกแต่ละสปีชีส์จะแตกต่างกัน ในขั้นตอนสุดท้ายจะมีออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอน และจะได้ผลผลิตสุดท้ายเป็นน้ำ ดังแสดงในภาพที่ 3 (Stoker, 2013) ซึ่งแตกต่างจากแบคทีเรียกลุ่ม *Gluconobacter* spp. ที่น้ำตาลจะถูกออกซิไดซ์โดย Pentose Phosphate Pathway ได้อย่างมีประสิทธิภาพ พบว่า *G. oxydans* 621H ใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนหลักภายในเซลล์ โดยแคทาบอลิซึมของน้ำตาลเกิดขึ้นโดยอาศัย Entner–Doudoroff Pathway และ Pentose Phosphate Pathway (Ostermann et al., 2015) ลักษณะเฉพาะของกลุ่ม *Gluconobacter* spp. คือความสามารถในการออกซิไดซ์กลูโคส (C₆H₁₂O₆) เป็น Glucono Delta-Lactone หรือ GDL (C₆H₁₀O₆) โดยมีกลูโคสดีไฮโดรจีเนส (GDH) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันที่มีการดึงไฮโดรเจนออกจากกลูโคส หลังจากนั้นจะเกิดออกซิเดชันอย่างต่อเนื่อง คือ Glucono Delta-Lactone จะถูกออกซิไดซ์เกิดเป็นกรดกลูโคนิก (C₆H₁₂O₇) และกรดกลูโคนิก (D-Gluconic Acid) จะถูกออกซิไดซ์ไปเป็นกรดคีโตกลูโคนิก (2-Ketogluconic Acid, C₆H₁₀O₇) และกรดไดคีโตกลูโคนิก (2, 5-Diketogluconic Acid, C₆H₈O₇) โดยมีเอนไซม์กลูโคเนทดีไฮโดรจีเนส (GADH) และเอนไซม์คีโตกลูโคเนทดีไฮโดรจีเนส (2-Ketogluconate Dehydrogenase) ช่วยเร่งปฏิกิริยา การเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องดังกล่าว เกิดขึ้นโดยการเคลื่อนย้ายไฮโดรเจนออกจากสารตั้งต้นไปสู่ตัวรับอิเล็กตรอน หรือเกิดการเติมออกซิเจนเข้าสู่โมเลกุลน้ำตาล ปฏิกิริยาส่วนใหญ่ที่เกิดขึ้นในช่วงแรกของการใช้น้ำตาลเป็นสารอาหารจึงเป็นปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชัน โดยกลุ่มของปฏิกิริยาดังกล่าวเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องที่เมมเบรนของแบคทีเรีย พบว่าใน *G. oxydans* กรดกลูโคนิกที่ผ่านเข้าสู่ภายในเซลล์จะถูกเติมหมู่ฟอสเฟตโดยเอนไซม์กลูโคเนทไคเนส (Gluconate Kinase) ช่วยเร่งปฏิกิริยา จึงเกิดเป็นกรดฟอสโฟกลูโคนิก (6-Phosphogluconic Acid, C₆H₁₃O₁₀P) ซึ่งเป็นตัวกลางใน Pentose Phosphate Pathway อันเป็นกระบวนการที่เกี่ยวข้องกับการสร้างสารชีวโมเลกุลภายในเซลล์ แบคทีเรียมากกว่าการย่อยสลายเพื่อให้ได้พลังงาน เช่น ช่วยในการสร้างนิวคลีโอไทด์ กรดไขมัน และกรดอะมิโน (Gupta et al., 2001) จึงพบว่าแบคทีเรียกลุ่ม *Gluconobacter* spp. สามารถเจริญได้ในสิ่งแวดล้อมที่มีน้ำตาลเข้มข้นสูง (Mamlouk & Gullo, 2013)

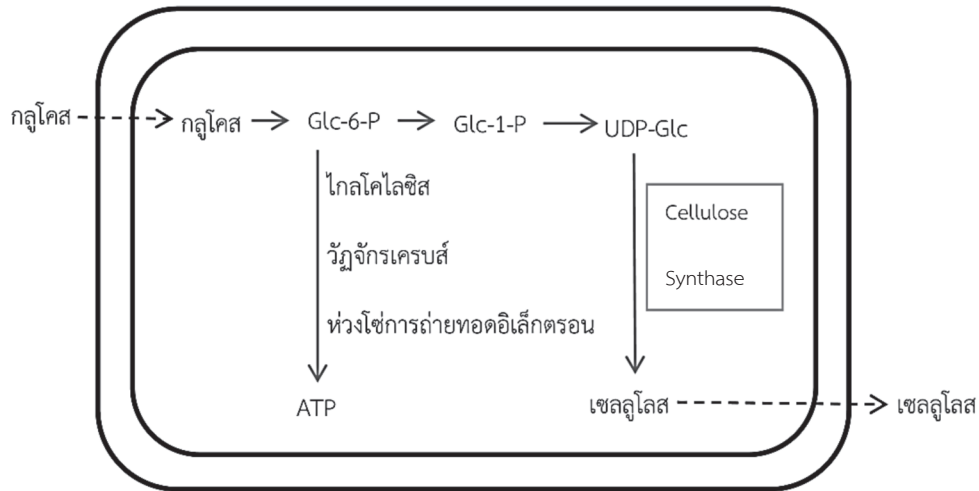


ภาพที่ 3 การออกซิไดซ์น้ำตาลและแอลกอฮอล์ของแบคทีเรียกรดอะซิติก
(ดัดแปลงจาก Bettelheim et al., 2010 และ Kim & Gadd, 2008)

คำย่อ ATP : Adenosine Triphosphate

3.3.2 ออกซิเดชันของน้ำตาลแล้วได้ผลิตภัณฑ์เป็นโพลีเมอร์ขนาดใหญ่

แบคทีเรียกรดอะซิติกบางชนิด เช่น *A. xylinum* หลังจากออกซิไดซ์กลูโคสเป็นกรดกลูโคนิก และได้กรดอะซิติกออกสู่ภายนอกเซลล์ จะผลิตสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิ (Secondary Metabolite) คือ เซลลูโลส ซึ่งจัดเป็นเซลลูโลสจากแบคทีเรีย (Bacterial Cellulose) โดยการเจริญของ *A. xylinum* จะมีลักษณะเป็นไบโอฟิล์ม (Biofilm) คือ เซลล์อาศัยอยู่ร่วมกัน มีเซลลูโลสที่แบคทีเรียปล่อยออกมาจากเซลล์ทำหน้าที่ปกป้องและสร้างสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญ (Lestari et al., 2014; Tomita & Kondo, 2009) โดยเอนไซม์ที่ใช้ในการเร่งปฏิกิริยาการสังเคราะห์เซลลูโลส คือ เอนไซม์เซลลูโลสซินเทส (Cellulose Synthase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่จับอยู่กับเยื่อหุ้มเซลล์ เอนไซม์จะทำงานได้ต่อเมื่อมี Cyclic Diguanylic Acid (c-di-GMP) เป็นตัวกระตุ้น (Allosteric Activator) โดยการจับที่แอลโลสเทอริกไซต์ แล้วช่วยให้เอนไซม์เร่งการสังเคราะห์เซลลูโลสได้ พบว่าแบคทีเรียสามารถใช้น้ำตาลเป็นสารตั้งต้นได้หลายชนิด เช่น กลูโคส ฟรุคโตส ซูโครส โดยน้ำตาลจะเปลี่ยนแปลงเป็น Uridine Diphosphate Glucose (UDP-Glucose) ก่อนการสังเคราะห์เป็นเซลลูโลส ในกรณีของการเปลี่ยนกลูโคสเป็นเซลลูโลสจะเกิดการเปลี่ยนแปลง 4 ขั้นตอน คือ กลูโคส $\longrightarrow$ Glucose-6-Phosphate $\longrightarrow$ Glucose-1-Phosphate $\longrightarrow$ UDP-Glucose $\longrightarrow$ เซลลูโลส ดังแสดงในภาพที่ 4 (Lee et al., 2014; Suwanposri et al., 2013)



ภาพที่ 4 กระบวนการเปลี่ยนแปลงกลูโคสเป็นเซลลูโลสและการใช้กลูโคสเพื่อให้ได้พลังงานภายในเซลล์ของ *A. xylinum* (ดัดแปลงจาก Lee et al., 2014)

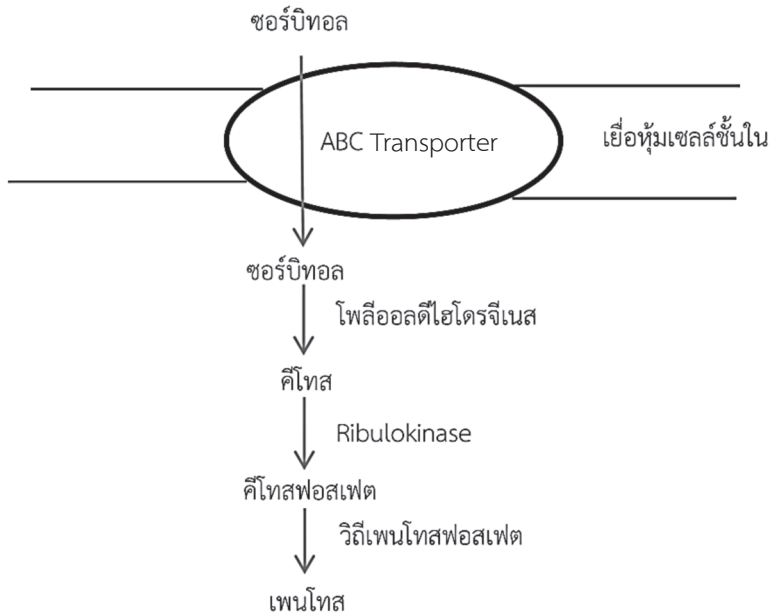
คำย่อ Glc-6-P : Glucose-6-Phosphate, Glc-1-P : Glucose-1-Phosphate, UDP-Glc : Uridine Diphosphate Glucose (UDP-Glucose), ATP : Adenosine Triphosphate

3.4 ออกซิเดชันของน้ำตาลแอลกอฮอล์ในแบคทีเรียกรดอะซิติก

เมื่อแบคทีเรียกรดอะซิติกได้รับน้ำตาลแอลกอฮอล์ (Sugar Alcohols) เป็นสารอาหารจะสามารถออกซิไดซ์น้ำตาลแอลกอฮอล์หลายชนิด โดยมี Sugar-Alcohol Dehydrogenase ที่ฝังตัวอยู่ในเมมเบรน ช่วยเร่งปฏิกิริยา (Adachi et al., 2001) โดยหน้าที่ของ Sugar-Alcohol Dehydrogenase คือช่วยเร่งออกซิเดชันที่มีการดึงไฮโดรเจนออกจากสารตั้งต้น โดยส่วนที่มีการเปลี่ยนแปลงคือหมู่ไฮดรอกซิลของน้ำตาลแอลกอฮอล์ เช่น เปลี่ยนกลีเซอรอล ($C_3H_8O_3$) เป็นไดไฮดรอกซีอะซิโตน หรือ DHA ($C_3H_6O_3$), ดี-ซอร์บิทอล ($C_6H_{14}O_6$) เป็นแอล-ซอร์บอส ($C_6H_{12}O_6$), D-Mannitol ($C_6H_{14}O_6$) เป็น D-Fructose ($C_6H_{12}O_6$), D-Arabitol ($C_5H_{12}O_5$) เป็น Xylulose ($C_5H_{10}O_5$) (Raspor & Goranovic, 2008) ใน *G. oxydans* พบว่าการออกซิไดซ์กลีเซอรอลถูกเร่งปฏิกิริยาโดยเอนไซม์ที่จับอยู่กับเยื่อหุ้มเซลล์ คือ กลีเซอรอล-ซอร์บิทอลดีไฮโดรจีเนส (Glycerol-Sorbitol Dehydrogenase) ซึ่งมีความสามารถในการเร่งการออกซิไดซ์ดี-ซอร์บิทอลเป็นแอล-ซอร์บอส และเร่งการออกซิไดซ์กลีเซอรอลเป็นไดไฮดรอกซีอะซิโตน พบว่ากลีเซอรอล-ซอร์บิทอลดีไฮโดรจีเนสเป็น Quinoproteins คือต้องมีควิโนนเป็นโคแฟกเตอร์ และเอนไซม์จะฝังตัวอยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์ โดยที่บริเวณเร่งของเอนไซม์จะหันเข้าหา Periplasm แม้ว่า *G. Oxydans* จะมีความสามารถในการออกซิไดซ์สารอินทรีย์ได้หลากหลายชนิด เช่น คาร์โบไฮเดรต แอลกอฮอล์ น้ำตาลแอลกอฮอล์ แต่กระบวนการออกซิไดซ์ดังกล่าวเป็นการออกซิไดซ์ที่ไม่สมบูรณ์ (Incomplete Oxidation) เนื่องจาก

ผลิตภัณฑ์ที่ได้ยังเป็นสารประกอบที่มีพลังงานสูง ไม่ได้เกิดออกซิเดชันอย่างสมบูรณ์ในวัฏจักรเครบส์และห่วงโซ่การถ่ายทอดอิเล็กตรอน ผลิตภัณฑ์เหล่านั้นจึงยังไม่ถูกใช้พลังงานอย่างสมบูรณ์จนได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ การออกซิไดซ์น้ำตาลแอลกอฮอล์ของแบคทีเรียกรดอะซิติกมีผลพลอยได้ที่สำคัญนอกจากการได้พลังงาน เนื่องจากผลิตภัณฑ์ที่ได้จะเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ชีวโมเลกุลอื่นๆ ที่จำเป็นภายในเซลล์ (Prust et al., 2005; Raspor & Goranovic, 2008) ในกรณีของการนำน้ำตาลแอลกอฮอล์เข้าสู่เซลล์ของ *G. oxydans* นั้น ที่เยื่อหุ้มเซลล์จะมี ATP-Binding Cassette Transporters (ABC Transporters) ช่วยในการนำน้ำตาลแอลกอฮอล์ เช่น ซอลบิทอลและแมนนิทอลเข้าสู่ภายในเซลล์ หลังจากนั้นจะมีเอนไซม์โพลีออลดีไฮโดรจีเนสเปลี่ยนน้ำตาลแอลกอฮอล์ให้เป็นน้ำตาลคีโทส โพลีออลดีไฮโดรจีเนสเป็นเอนไซม์ที่มีความสามารถในการออกซิไดซ์ Polyhydroxy Alcohol โดยเอนไซม์จะฝังตัวอยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นใน และหันบริเวณเร่งเข้าสู่ไซโทพลาสซึม (Davidson et al., 2008)

โครงสร้างของโพลีออลดีไฮโดรจีเนสใน *G. oxydans* ประกอบด้วย 3 หน่วยย่อย หน่วยแรกมีขนาดประมาณ 67 กิโลดาลตัน เป็นหน่วยที่ทำหน้าที่ในการเร่งปฏิกิริยา หน่วยที่ 2 และ 3 มีขนาดประมาณ 46 และ 15 กิโลดาลตัน ตามลำดับ และพบว่าเอนไซม์มีความสามารถในการออกซิไดซ์แอลกอฮอล์ที่มีหมู่ไฮดรอกซิลได้มากถึง 3 หมู่ แต่ไม่มีความสามารถในการออกซิไดซ์ Cyclic Alcohols (VanLare & Claus, 2007) และจะมีเอนไซม์ Ribulokinase ช่วยเร่งการเติมหมู่ฟอสเฟตเข้าสู่โมเลกุลน้ำตาลคีโทส เกิดเป็นน้ำตาลคีโทสฟอสเฟต (Ketose-Phosphate) แล้วจึงเข้าสู่วิถีเพนโทสฟอสเฟตจึงได้เป็นเพนโทส เพื่อเป็นสารตั้งต้นในการสร้างชีวโมเลกุลต่างๆ ภายในเซลล์ ดังแสดงในภาพที่ 5 (Davidson et al., 2008; Prust et al., 2005)



ภาพที่ 5 การนำซอร์บิทอลเข้าสู่ภายในเซลล์ *G. oxydans* และการปรับเปลี่ยนซอร์บิทอลเป็นคีโทสฟอสเฟต เพื่อเข้าสู่วิถีเพนโทสฟอสเฟต (ดัดแปลงจาก Prust et al., 2005 และ Davidson et al., 2008)

3.5 ออกซิเดชันของกรดอินทรีย์ในแบคทีเรียกรดอะซิติก

แบคทีเรียกรดอะซิติกสามารถออกซิไดซ์กรดอินทรีย์ได้เช่นกัน โดยการออกซิไดซ์เกิดขึ้นภายในวัฏจักรเครบส์ กรดบางชนิดเป็นตัวกลางในวัฏจักรเครบส์ เช่น กรดซิตริก กรดซักซินิก กรดมาลิก แต่กรดบางชนิด เช่น กรดอะซิติก และกรดไพรูวิก ต้องเปลี่ยนเป็นอะซีติลโคเอก่อนจึงจะเข้าสู่วัฏจักรเครบส์ได้ ผลผลิตจากการออกซิไดซ์ คือ คาร์บอนไดออกไซด์ (Bettelheim et al., 2010; Moat et al., 2002) เอนไซม์สำคัญที่เร่งการออกซิไดซ์กรดอินทรีย์ได้แก่ ไอโซซิเตรตดีไฮโดรจีเนส อัลฟาคีโทกลูทาเรตดีไฮโดรจีเนส ซักซินิกดีไฮโดรจีเนส และมาเลตดีไฮโดรจีเนส ช่วยเร่งการออกซิไดส์กรดซิตริก กรดอัลฟาคีโทกลูทาริก กรดซักซินิก และกรดมาลิก ตามลำดับ ระหว่างการออกซิไดซ์จะทำให้ได้สารนำอิเล็กตรอน ได้แก่ NADH และ $FADH_2$ ซึ่งแบคทีเรียสามารถนำไปใช้ในการสร้าง ATP ในช่วงห่วงโซ่การถ่ายทอดอิเล็กตรอน กรดอินทรีย์จึงเป็นแหล่งพลังงานของแบคทีเรียกรดอะซิติกได้เช่นกัน ผ่านออกซิเดชันที่เกิดขึ้นในวัฏจักรเครบส์ แต่การออกซิไดซ์กรดอินทรีย์บางชนิดอาจไม่เกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ในวัฏจักรเครบส์เสมอไป เช่น *Acetobacter pasteurianus* สามารถออกซิไดซ์กรดแลกติก เกิดเป็น 3-Hydroxybutanone หรือ Acetoin ซึ่งเป็นสารที่มีสีเหลืองอ่อน ลักษณะคล้ายเนย ระบายง่าย พบได้ในไวน์ที่เก็บไว้นานและเกิดการสะสมของกรดแลกติก (Xiao & Xu, 2007) พบว่าเมื่อมีปริมาณ ATP ที่เพียงพอ *A. aceti* และ

A. pasteurianus มีกลไกยับยั้งการสร้าง NADH จากการออกซิไดซ์กรดอินทรีย์ในวัฏจักรเครบส์ และในกรณีที่มีเอทานอลในสิ่งแวดล้อมสูง *A. aceti* และ *A. pasteurianus* จะลดอัตราการออกซิไดซ์กรดอินทรีย์ในวัฏจักรเครบส์เช่นเดียวกัน เนื่องจากแบคทีเรียกรดอะซิติกสามารถออกซิไดซ์เอทานอลโดย ADH และ ALDH ที่ฝังตัวอยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์ด้านใน และปฏิกิริยาดังกล่าวสามารถสร้าง ATP ได้ (Sakurai et. al., 2013) ในกรณีของแบคทีเรียกลุ่ม *Gluconobacter* ไม่มีปฏิกิริยาในส่วนวัฏจักรเครบส์ เนื่องจากไม่มีเอนไซม์ 2 ชนิดหลัก คือ อัลฟาคีโทกลูทาเรตดีไฮโดรจีเนส และ ซักซินิกดีไฮโดรจีเนส จึงไม่สามารถออกซิไดซ์กรดอะซิติกและกรดแลกติกไปเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ นั่นคือไม่สามารถได้พลังงานจากกรดอินทรีย์ แต่จะได้พลังงานจากการออกซิไดซ์น้ำตาลและแอลกอฮอล์ แล้วได้ผลิตภัณฑ์เป็นกรดอินทรีย์และสารประกอบคีโตนตามลำดับ (Gupta et al., 2001) เป็นที่น่าสังเกตว่าในกรณีที่มีสารอาหารอื่น แบคทีเรียกรดอะซิติกเลือกที่จะใช้แหล่งพลังงานประเภทอื่นมากกว่าการใช้กรดอินทรีย์เป็นแหล่งพลังงาน

4. การประยุกต์ใช้แบคทีเรียกรดอะซิติก

4.1 กรดอะซิติก

กรดอะซิติกที่ได้จากแบคทีเรียกรดอะซิติกถูกนำมาใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชู สามารถแบ่งน้ำส้มสายชูที่ได้จากแบคทีเรียตามวิธีการผลิตได้ 2 ประเภท คือ น้ำส้มสายชูหมักและน้ำส้มสายชูกลั่น น้ำส้มสายชูหมัก คือ น้ำส้มสายชูที่ได้จากการหมัก ผลไม้ เมล็ดธัญพืช น้ำตาล กากน้ำตาล การหมักมี 2 ช่วง คือ การหมักน้ำตาลให้ได้เอทานอลโดยใช้ยีสต์ และการหมักเอทานอลให้ได้กรดอะซิติก โดยแบคทีเรียกรดอะซิติก (Raspor & Goranovic, 2008) น้ำส้มสายชูกลั่น ได้จากการนำเอทานอลที่มีความเข้มข้นประมาณ 10 % มาหมักกับแบคทีเรียกรดอะซิติกให้ได้กรดอะซิติก พบว่าการเติมสารอาหาร เช่น น้ำตาลกลูโคส เพปโทน (Peptone) สารสกัดจากยีสต์ (Yeast Extract) และการเติมแร่ธาตุ เช่น แคลเซียมคาร์บอเนต แอมโมเนียมซัลเฟต โซเดียมคลอไรด์ แมกนีเซียมซัลเฟต จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตได้ และอาจผลิตน้ำส้มสายชูกลั่นได้จากการนำน้ำส้มสายชูที่ได้จากการหมักมากลั่นให้ได้กรดอะซิติกที่มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น น้ำส้มสายชูกลั่นที่ได้จึงมีลักษณะใส ไม่มีตะกอนที่เกิดจากการจับตัวของสารอินทรีย์และเซลล์แบคทีเรีย ปริมาณสารปนเปื้อนอื่นๆ จะมีน้อย เมื่อบรรจุขวดสู่ผู้บริโภค น้ำส้มสายชูกลั่นจะมีความเข้มข้นของกรดอะซิติกไม่น้อยกว่า 4% พบว่ากระบวนการกลั่นในระดับอุตสาหกรรมมีต้นทุนต่อหน่วยที่ต่ำเมื่อเทียบกับการกลั่นในห้องปฏิบัติการ (Gullo et al., 2014; Yakushi & Matsushita, 2010; Wongsudaluk & Nooniam, 2013)

4.2 ไดไฮดรอกซีอะซิโตน

ไดไฮดรอกซีอะซิโตนถูกจัดเป็นสารเวชสำอางในกลุ่มกรดไฮดรอกซี (Hydroxy Acid) เมื่อพิจารณาถึง สีสัน โครงสร้างและความกระชับของผิว จะสามารถใช้ได้กับทุกสภาพผิว (Amnuakit, 2009) ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง จะใช้เป็นครีมเปลี่ยนสีผิวให้เข้มข้น (Indoor Tanning Lotion) โดยไดไฮดรอกซีอะซิโตนจะทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนของเซลล์ที่ตายแล้วในผิวหนังชั้น Stratum Corneum ทำให้เกิดรังควันที่มีสีเข้ม รังควันดังกล่าวจะคงอยู่ประมาณ 3 ถึง 7 วันแล้วจะค่อยๆ จางหายไป โดยลักษณะของ

ผลิตภัณฑ์ในท้องตลาดอาจอยู่ในรูปครีม เจล หรือสเปรย์ (Garone et al., 2015) ไดไฮดรอกซีอะซิโตนยังสามารถใช้ในอุตสาหกรรมเคมีโพลิเมอร์ เช่น ใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตโมโนเมอร์ เพื่อเป็นส่วนประกอบในสารโพลิเมอร์ร่วม (Copolymer) (Simon et al., 2012) ในกระบวนการผลิตไดไฮดรอกซีอะซิโตน *G. oxydans* จะออกซิโดซีกลิเซอรอลเกิดเป็นไดไฮดรอกซีอะซิโตน โดยจะต้องใช้ออกซิเจนเข้าร่วมในปฏิกิริยา ดังนั้นการเติมอากาศในถังหมัก การออกแบบรูปร่างถังหมัก และระบบการกวนจึงเป็นสิ่งจำเป็น การกำหนดปริมาณกลีเซอรอลเริ่มต้นที่เหมาะสมจะมีผลต่อการเจริญและการผลิตไดไฮดรอกซีอะซิโตนของแบคทีเรีย การหมักสามารถทำได้ในระบบกะ (Batch) และอาจทำการหมักด้วยระบบกึ่งกะ (Fed-batch) ซึ่งจะมีการเติมกลีเซอรอลให้แก่แบคทีเรียในปริมาณและจำนวนครั้งที่เหมาะสม เพื่อสะดวกต่อการควบคุมปริมาณกลีเซอรอลให้เหมาะสมต่อความต้องการของแบคทีเรีย (Zheng et al., 2016; Hu et al., 2010) ในระดับอุตสาหกรรมสามารถผลิตไดไฮดรอกซีอะซิโตนในเครื่องปฏิกรณ์แบบกึ่งต่อเนื่อง (Semi-Continuous Bioreactor) ซึ่งเป็นระบบการผลิตที่มีการระบายผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นออกจากระบบ จึงช่วยลดปริมาณไดไฮดรอกซีอะซิโตนในระบบให้อยู่ในระดับที่เหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรียและอัตราการเกิดผลิตภัณฑ์ (Bauer et al., 2005)

4.3 แอล-ซอร์โบส (L-Sorbose)

แอล-ซอร์โบสเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว สามารถใช้เป็นสารให้ความหวานเนื่องจากมีความหวานใกล้เคียงกับซูโครส ใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตวิตามินซี (กรดแอสคอร์บิก) ในทางอุตสาหกรรมสามารถผลิต แอล-ซอร์โบสได้โดยการหมักดี-ซอร์บิทอลโดยใช้แบคทีเรียในกลุ่ม *Gluconobacter* spp. (Gupta et al., 2001) หลังจากนั้นจึงใช้ปฏิกิริยาเคมีเปลี่ยน แอล-ซอร์โบสเป็นอินเทอร์มีเดียท คือ 2-Keto-L-Gulonic Acid (2KGA) และได้ผลิตภัณฑ์สุดท้าย คือ วิตามินซี การผลิตแอล-ซอร์โบสโดยแบคทีเรียกรดอะซิติกจะได้ผลิตภัณฑ์ที่มีความปลอดภัยสูง เนื่องจากไม่ผ่านปฏิกิริยาทางเคมี (Raspor & Goranovic, 2008)

4.4 เซลลูโลส

เซลลูโลสที่ได้จากแบคทีเรียกรดอะซิติกเป็นโพลิเมอร์ที่มีโมโนเมอร์เป็นกลูโคส และเป็นเซลลูโลสที่มีความบริสุทธิ์ ไม่มีการเจือปนของลิกนิน และเพกติน ดังเช่นเซลลูโลสจากพืช พบว่ามีความแข็งแรง และสามารถซับน้ำได้ดี จึงนำมาใช้ประโยชน์ได้ เช่น ใช้ผลิตกระดาษที่มีคุณภาพสูงและมีความทนทาน (Basta & El-saied, 2009) ในธรรมชาติแบคทีเรียจะผลิตเซลลูโลสออกสู่สิ่งแวดล้อมเพื่อปกป้องเซลล์ของมันเอง เซลลูโลสที่ได้สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้หลายประเภท เช่น ในทางการแพทย์ใช้เป็นหนังเทียมชั่วคราวเมื่อเกิดบาดแผล โดยช่วยให้แผลแห้งได้ง่ายและช่วยลดอาการระคายเคือง และยังใช้ทำหลอดเลือดเทียมได้อีกด้วย (Lee et al., 2014) เซลลูโลสที่ดียังสามารถใช้เป็นอาหาร คือ วัณมะพร้าว (NATA De Coco) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากหมักแบบออกซิเดทีฟของ *A. xylinum* โดยการใช้น้ำตาลทรายและน้ำมะพร้าวเป็นแหล่งคาร์บอน ภายใต้สภาวะที่มีค่า pH ประมาณ 4 เซลลูโลสจากแบคทีเรียเป็นอาหารที่ให้พลังงานต่ำ เพราะมนุษย์ไม่มีความสามารถในการไฮโดรไลส์เซลลูโลสให้เกิดเป็นกลูโคส ปัจจุบันมีความ

พยายามในการพัฒนาสูตรอาหารสำหรับแบคทีเรียกรดอะซิติกที่ใช้ในการผลิตเชลลูโลส โดยส่วนใหญ่จะใช้แหล่งคาร์บอน (Carbon Source) คือ ซูโครสจากน้ำตาลทราย และน้ำผลไม้ที่ได้รับความนิยม เช่น น้ำมะพร้าว น้ำสับปะรด นอกจากจะได้อาหารที่มีพลังงานต่ำ ยังได้กลิ่นและรสอันเป็นที่ถูกใจของผู้บริโภค (Maichan et al., 2012) พบว่าวัสดุเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมเกษตรสามารถใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและสามารถให้เชลลูโลสที่มีคุณภาพได้เช่นกัน (Lestari et al., 2014)

4.5 กรดกลูโคนิก

แบคทีเรียกลุ่ม *Gluconobacter* spp. สามารถออกซิไดซ์กลูโคสได้เป็นกรดกลูโคนิก กรดกลูโคนิกที่ได้สามารถนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น ใช้ป้องกันการเกิดลิโมนโปรตีนในอุตสาหกรรมที่เกี่ยวข้องนม (Dairy Industry) ใช้ทำสารทำความสะอาดที่มีความปลอดภัย เพื่อใช้กับภาชนะที่ใช้ประกอบและบรรจุอาหาร ในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์ ใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิต Calcium Gluconate ซึ่งเป็นอาหารเสริมแคลเซียม (Stasiak & Błazejak 2009) หรือใช้รักษาอาการขาดแคลเซียมในสัตว์เลี้ยงภายในบ้าน ในทางเภสัชกรรมใช้ในการผลิต Ferrous Gluconate ใช้รักษาโรคโลหิตจาง ใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิต Sodium Gluconate ที่ใช้เป็นส่วนประกอบในการผลิตสบู่ ถ้าใช้ปริมาณมากสามารถเป็นดีเทอร์เจนต์ล้างภาชนะ และยังมีคุณสมบัติในการกำจัดสนิม ใช้ในอุตสาหกรรมสิ่งทอ เช่น ใช้ปรับเนื้อผ้า โพลีเอสเตอร์ และใช้ในการปรับผิวของกระดาษ (Ramachandran et al., 2006)

จากความสามารถของแบคทีเรียกรดอะซิติกในการออกซิไดซ์สารอินทรีย์ได้หลากหลายชนิด และทำให้เกิดซึ่งผลิตภัณฑ์ต่างๆ ดังแสดงข้างต้น สามารถนำผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมาประยุกต์ใช้กับอุตสาหกรรมได้หลายประเภท ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลิตภัณฑ์จากแบคทีเรียกรดอะซิติกและการประยุกต์ใช้

ผลิตภัณฑ์	การประยุกต์ใช้	แบคทีเรีย	เอกสารอ้างอิง
กรดอะซิติก	ใช้ผลิตน้ำส้มสายชู เอสเทอร์ สารโพลีเมอร์ สีย้อมผ้า ยาฆ่าแมลง	<i>Acetobacter</i> spp.	Raspor & Goranovic (2008)
ไดไฮดรอกซีอะซิโตน	อุตสาหกรรมการผลิตยา อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง	<i>Gluconobacter</i> spp.	Stasiak & Błazejak (2009); Amnuait (2009)
แอล-ซอร์บอส	การผลิตวิตามินซี (กรดแอสคอร์บิก)	<i>Gluconobacter</i> spp.	Raspor & Goranovic (2008)
เซลลูโลส	ผลิตวันมะพร้าว ใช้ในการผลิตกระดาษ ใช้ปิดแผลที่เกิดจากไฟไหม้	<i>A. xylinum</i>	Maichan et al. (2012); Lee et al. (2014)
กรดกลูโคนิก	อุตสาหกรรมอาหาร เช่น นม ขนมอบ อุตสาหกรรมยา เช่น ยารักษาโรคโลหิตจาง อุตสาหกรรมเคมี เช่น ดีเทอร์เจนท์	<i>Gluconobacter</i> spp.	Ramachandran et al. (2006)

5. แนวโน้มการวิจัยและพัฒนาในอนาคต

การวิจัยเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการหมักแบบออกซิเดทีฟของแบคทีเรียกรดอะซิติก อาจแบ่งได้หลายประเภท เช่น การพัฒนาสารอาหารที่ให้แก่แบคทีเรีย ศึกษาการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการหมัก ศึกษาแบคทีเรียกรดอะซิติกเมื่อเจริญร่วมกับจุลินทรีย์อื่น การค้นหาแบคทีเรียสายพันธุ์ใหม่ การศึกษาทางพันธุวิศวกรรม และการศึกษาการหมักในเชิงวิศวกรรมชีวเคมี โดยมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

5.1 ศึกษาการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการหมัก

ปัจจุบันมีความพยายามในการศึกษาผลของเอนไซม์ที่มีต่อการสร้างผลิตภัณฑ์ของแบคทีเรียกรดอะซิติก เช่น พบว่าใน *Gluconobacter frateurii* CHM43 ความสามารถของ Glycerol Dehydrogenase (GLDH) จะมีประสิทธิภาพลดลง เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น แต่เมื่อเพิ่มปริมาณ PQQ พบว่า Glycerol Dehydrogenase จะทำงานได้ดีขึ้น สามารถเร่งการออกซิไดซ์ดี-ซอร์บิทอลเกิดเป็นแอล-ซอร์บอสได้มากขึ้น (Hattori et al., 2012) บางกลุ่มศึกษาการทำงานของเอนไซม์ที่ฝังตัวอยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์ด้านใน เช่น เอนไซม์ในกลุ่มดีไฮโดรจีเนส ที่ทำงานร่วมกับชีวโมเลกุลภายในเยื่อหุ้มเซลล์อื่นๆ เช่น โปรตีนหรือ

คอมเพล็กซ์ต่างๆ ที่เป็นตัวรับส่งอิเล็กตรอน ส่วนใหญ่จะศึกษาโครงสร้าง การทำงาน และผลิตภัณฑ์ที่ดีไฮโดรจีเนสผลิตได้ (Yakushi & Matsushita, 2010) มีการค้นพบแบคทีเรียกรดอะซิติก *Asia bogorensis* เป็นแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตกรดอะซิติกได้ดี ในขณะที่สามารถเจริญได้อย่างรวดเร็วเมื่อเปรียบเทียบกับแบคทีเรียกลุ่ม *Acetobacter*, *Gluconobacter* และ *Gluconacetobacter* เมื่อศึกษาห่วงโซ่การถ่ายเทอิเล็กตรอน พบว่าแบคทีเรีย *A. bogorensis* ไม่มี Quinoprotein Alcohol Dehydrogenase แต่มีเอนไซม์ตัวอื่นที่สามารถออกซิไดซ์น้ำตาลและน้ำตาลแอลกอฮอล์ได้ มีคุณสมบัติคล้าย Quinoprotein Glycerol Dehydrogenase และมีเอนไซม์ Ubiquinol Oxidase เป็นเอนไซม์ออกซิเดสตัวสุดท้ายในห่วงโซ่การถ่ายเทอิเล็กตรอน ที่ถูกยับยั้งการทำงานโดยไซยาไนด์ได้ (Ano et al., 2008) มีการวิจัยเพื่อพัฒนากระบวนการหมักน้ำส้มสายชูในระดับอุตสาหกรรม โดยการหาระดับอุณหภูมิที่เหมาะสมพบว่าควรควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ที่ 30 องศาเซลเซียส เนื่องจากระดับอุณหภูมิที่สูงจะทำให้เกิดการเสียสภาพทางธรรมชาติ (Denaturation) ของโปรตีน และทำให้เยื่อหุ้มเซลล์และเอนไซม์ในเยื่อหุ้มเซลล์ถูกทำลายหรือหลุดออกมาจากเยื่อหุ้มเซลล์ เอนไซม์เหล่านั้นจึงไม่สามารถเร่งปฏิกิริยาการผลิตอะซิติกได้ อัตราการผลิตน้ำส้มสายชูจึงเกิดได้น้อยลง และพบว่าการสะสมของกรดอะซิติกในอาหารเลี้ยงเชื้อจะทำให้แบคทีเรียมีความสามารถในการทนต่อความร้อนได้น้อยลง (Gullo et al., 2014) ในอุตสาหกรรมการผลิตไวน์ แบคทีเรียกรดอะซิติกในระบบการหมักจะมีเอนไซม์ Glycerol Dehydrogenase ที่จะเร่งการเปลี่ยนกลีเซอรอลเป็นไดไฮดรอกซีอะซิโตน เอนไซม์ดังกล่าวอยู่ที่เยื่อหุ้มเซลล์ และทำให้เกิดการสะสมของไดไฮดรอกซีอะซิโตนในไวน์ ซึ่งมีผลต่อกลิ่นและรสของไวน์ (Stasiak & Blazejak, 2009; Zhong-Ce et al., 2010) และจากความสามารถในการออกซิไดซ์กรดอินทรีย์ของแบคทีเรียกรดอะซิติก ถ้าเป็นในกรณีของการผลิตน้ำส้มสายชู การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวจะทำให้คุณภาพผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูลดลงได้ (Moat et al., 2002; Gullo et al., 2014)

5.2 การค้นพบแบคทีเรียกรดอะซิติกสายพันธุ์ใหม่

ปัจจุบันมีความพยายามในการหาแบคทีเรียกรดอะซิติกที่มีประสิทธิภาพในการให้ผลผลิตที่สูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง เช่น กลุ่มวิจัยหลายคณะศึกษาชนิดของแบคทีเรียกรดอะซิติกที่พบในผลไม้ที่เริ่มเน่าเสีย เนื่องจากมีโอกาสพบแบคทีเรียกลุ่มดังกล่าวสูง เช่น มะม่วง องุ่น สับปะรด แล้วทดสอบความสามารถในการออกซิไดส์เอทานอลเพื่อเปลี่ยนเป็นกรดอะซิติก (Diba et al., 2015) การคัดแยกแบคทีเรียกรดอะซิติกกลุ่มทนความร้อนจากน้ำผึ้ง และศึกษาความทนทานต่อสิ่งแวดล้อมที่มีเอทานอล (Kappeng & Pathom-aree, 2009) การคัดแยกแบคทีเรียกรดอะซิติกจากพืชในตระกูลท้อ เช่น Peach, Apricot และ Nectarine โดยศึกษาคุณสมบัติของแบคทีเรีย แล้วหาสภาวะที่เหมาะสมที่ใช้ในการผลิตกรดอะซิติก (Sharafi et al., 2010) บางกลุ่มพยายามศึกษาเมทาบอลิซึมของแบคทีเรียกรดอะซิติกในการผลิตน้ำส้มสายชูตามกรรมวิธีแบบดั้งเดิม และพยายามปรับปรุงสภาวะต่างๆ เช่น อัตราการเติมออกซิเจน การป้องกันการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์อื่นๆ เพื่อการเพิ่มผลผลิต (Gullo & Giudici, 2008) มีการศึกษาประสิทธิภาพการผลิตและคุณภาพของน้ำส้มสายชูที่ได้จากแบคทีเรียกรดอะซิติกชนิดต่างๆ เช่น แบคทีเรีย

ที่คัดแยกจากผลเชอรี่ (Maal & Shafiee, 2010) คัดแยกแบคทีเรียจากผลไม้หมักดอง (Klawpiyapamornkun et al., 2015) ในกระบวนการหมักที่มีการสะสมของความร้อนมักจะทำให้เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการหมักทำงานได้น้อยลง จึงมีความพยายามในการค้นหาแบคทีเรียที่ให้ผลผลิตสูงแม้อยู่ในสภาวะของการหมักที่มีอุณหภูมิเพิ่มขึ้น พบว่าเมื่อทำการหมักโดยไม่ควบคุมอุณหภูมิ *G. frateurii* CHM43 สามารถเจริญในสภาวะที่มีอุณหภูมิสูง ให้แอลกอฮอล์ในปริมาณสูง และยังช่วยประหยัดค่าใช้จ่ายในการควบคุมอุณหภูมิของถังหมักอีกด้วย (Hattori et al., 2012)

โดยปัจจัยที่สำคัญที่ใช้ในการศึกษาความหลากหลายและของแบคทีเรียกรดอะซิติกของนักวิจัยกลุ่มต่างๆ มีความคล้ายคลึงกัน คือ มักจะศึกษาการใช้สารอาหารที่แบคทีเรียได้รับจากสิ่งแวดล้อมเพื่อให้ได้พลังงาน ผลิตภัณฑ์ที่แบคทีเรียสามารถผลิตได้ และงานวิจัยส่วนใหญ่มุ่งเน้นแนวทางการนำแบคทีเรียกรดอะซิติกที่ค้นพบมาใช้ประโยชน์ในทางอุตสาหกรรม ซึ่งส่วนใหญ่เป็นการหมักแบบออกซิเดทีฟในอุตสาหกรรมอาหาร ทั้งในกรณีของการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิต และการป้องกันการเกิดผลิตภัณฑ์อื่นๆที่ไม่ต้องการ

5.3 การพัฒนาอาหารที่ใช้ในการหมัก

ตัวอย่างของการวิจัยเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการหมักแบบออกซิเดทีฟโดยการพัฒนาอาหารที่ใช้ในการหมัก คือ การวิจัยเพื่อพัฒนาการผลิตน้ำส้มสายชู ปัจจุบันยังคงมีการวิจัยอย่างต่อเนื่อง โดยเน้นศึกษาการเปลี่ยนแปลงของชีวโมเลกุลช่วงที่เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันภายในแบคทีเรียกรดอะซิติก ทั้งในระดับห้องปฏิบัติการและศึกษาในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ (Bioreactor) ที่ได้รับการพัฒนาให้มีประสิทธิภาพในการผลิตสูง (Gullo et al., 2014) หรือศึกษาในถังหมัก (Fermenter) แบบดั้งเดิม โดยมีความพยายามในการพัฒนาสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อคัดเลือกสารตั้งต้นในกระบวนการหมักแบบออกซิเดทีฟ การหาระดับ pH ที่เหมาะสม เพื่อนำสภาวะที่เหมาะสมมาประยุกต์ใช้กับเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพที่มีขนาดใหญ่ขึ้น เพื่อประยุกต์ใช้ในระดับอุตสาหกรรม เช่น มีความพยายามในการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตกรดอะซิติกของ *A. aceti* โดยการปรับปรุงสัดส่วนของส่วนผสมต่างๆ ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ กลูโคสซึ่งเป็นแหล่งพลังงานหลัก มีเพปไทด์เป็นแหล่งของกรดอะมิโน และ สารสกัดจากยีสต์เป็นแหล่งของวิตามินและแร่ธาตุ และได้ศึกษาผลของการควบคุมระดับ pH ตลอดการหมัก พบว่าการไม่ควบคุมจะให้ผลผลิตที่สูงกว่า (Awad et al., 2012)

5.4 การศึกษาทางพันธุวิศวกรรม

มีความพยายามในการเพิ่มความสามารถในการผลิตกรดอะซิติกโดยพันธุวิศวกรรม เช่น การศึกษาการแสดงออกของยีนที่กำกับการสร้าง ADH และการตอบสนองต่อเอทานอลและกรดอะซิติกที่มีความเข้มข้นสูง ในแบคทีเรียกรดอะซิติกที่มีความสามารถในการเจริญในที่ที่มีอุณหภูมิสูง (Theeragool, 2005) การพิจารณาถึงจีโนมและศึกษาพลาสติกของแบคทีเรียกรดอะซิติกที่มีความสามารถในการเจริญได้ดีในสภาวะที่เป็นกรด และสามารถให้กรดอะซิติกในปริมาณสูง เพื่อเปรียบเทียบกับจีโนมของแบคทีเรียกรด

อะซิติกอื่นๆ เพื่อใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงและมีความเสถียร เมื่อใช้งานในระดับอุตสาหกรรม (Prust et al., 2005) การทำให้แบคทีเรีย *Acetobacter pasteurianus* เกิดการกลายพันธุ์โดยใช้แสง UV พบว่าได้สายพันธุ์ใหม่ที่มีความสามารถในการผลิตกรดอะซิติกได้สูงขึ้นทั้งในระบบการหมักแบบกะในฟลาสก์ และระบบการหมักแบบ Frings-Acetator (Qi et al., 2014)

5.5 การศึกษากระบวนการหมักในเชิงวิศวกรรมชีวเคมี

ในเชิงวิศวกรรมชีวเคมีได้มีการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกรดอะซิติกเช่นกัน โดยการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระดับ pH อุณหภูมิ และเวลา ที่มีผลต่อความสามารถในการผลิตกรดอะซิติกโดย *A. acetii* แล้วใช้วิธีการแสดงผลตอบสนองแบบโครงร่างพื้นผิว (Response Surface Methodology) เพื่อการสร้างแบบจำลองทางจลนศาสตร์ (Kinetic Model) หาสภาวะที่เหมาะสมต่อกระบวนการผลิตมาประยุกต์ใช้ในการผลิตระดับอุตสาหกรรม (Ghosh et al., 2012) มีการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระดับ pH ปริมาณเซลล์ ปริมาณเซลล์ลูโลสที่แบคทีเรียในสกุล *Gluconacetobacter* สามารถผลิตได้ และเวลาของการหมักแบบออกซิเดทีฟ ซึ่งการศึกษาในลักษณะดังกล่าวจะมีประโยชน์ในการเลือกเวลาในการหมักที่เหมาะสม (Suwanposri et al., 2013) ปัญหาเกี่ยวกับการลดลงของผลิตภัณฑ์ที่ต้องการและการเพิ่มขึ้นของผลิตภัณฑ์ที่ไม่ต้องการ สามารถแก้ไขได้โดยการศึกษาระยะเวลาในการหมักที่เหมาะสมเช่นกัน ซึ่งโดยทั่วไปจะศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเซลล์ ผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ ผลิตภัณฑ์ที่ไม่ต้องการ และเวลาที่ใช้ในการหมัก (Awad et al., 2012) พบว่าวัสดุที่ใช้ทำเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพรวมถึงลักษณะและระยะเวลาในการเก็บ จะมีผลต่อความเสถียรของคุณภาพน้ำส้มสายชู (Storage Stability) ทั้งในกรณีขององค์ประกอบทางเคมีและลักษณะของกลิ่นและรส (Gullo et al., 2014) ดังนั้นการศึกษผลของระยะเวลาในการหมักที่มีต่อคุณภาพและปริมาณของผลิตภัณฑ์จึงมีความสำคัญอย่างมากเนื่องจากช่วยกำหนดระยะเวลาที่เหมาะสมในการผลิตแต่ละรอบ

5.6 การศึกษาแบคทีเรียกรดอะซิติกเมื่อทำงานร่วมกับจุลินทรีย์อื่น

นักวิจัยหลายกลุ่มทำการศึกษาแบคทีเรียกรดอะซิติกพร้อมกับการศึกษายีสต์กลุ่มที่สามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้ เช่น ยีสต์กลุ่ม *Saccharomyces* เนื่องจากแอลกอฮอล์เป็นสารอาหารที่แบคทีเรียกรดอะซิติกสามารถใช้เป็นแหล่งพลังงานได้ ตัวอย่างเช่น มีความพยายามในการใช้แบคทีเรียกรดอะซิติกในการบำบัดของเสียที่เกิดจากอุตสาหกรรมอาหาร โดยการใช้ยีสต์เปลี่ยนสารประกอบอินทรีย์ที่ได้จากของเสียให้เป็นเอทานอล แล้วให้แบคทีเรียกรดอะซิติกเปลี่ยนเอทานอลเป็นกรดอะซิติก คัดแยกเฉพาะของเหลว แล้วนำมากลับให้เป็นกรดอะซิติกที่มีความบริสุทธิ์มากขึ้นเพื่อนำมาใช้ประโยชน์ได้ และผลพลอยได้ คือ ช่วยลดปริมาณสารอินทรีย์ที่ปล่อยสู่แหล่งน้ำสาธารณะ (Li et al., 2014) มีการพัฒนาการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากเปลือกและกากส้มเขียวหวานจากโรงงานผลิตน้ำส้มคั้น โดยอาศัยกระบวนการหมักตามธรรมชาติ ก่อนการหมักได้ปรับค่าความหวานด้วยน้ำตาลทรายเป็น 20 องศาบริกซ์ หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในเวลา 4 สัปดาห์จะได้แอลกอฮอล์ประมาณร้อยละ 9 และในเวลา 8 สัปดาห์ได้

กรดอะซิติก 1.84 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร และพบว่าการหมักแบบมีอากาศจะได้ปริมาณกรดอะซิติกมากกว่าการหมักแบบไม่มีอากาศ (Wongsudaluk & Nooniam, 2013) เนื่องจากเอทานอลเป็นสารตั้งต้นในการผลิตกรดอะซิติกโดยแบคทีเรียกรดอะซิติก และปัจจุบันมีการศึกษาเกี่ยวกับกระบวนการผลิตเอทานอลจากจุลินทรีย์หลากหลายชนิดอย่างต่อเนื่อง ดังนั้นเพื่อให้การผลิตกรดอะซิติกในเชิงอุตสาหกรรมมีประสิทธิภาพ คณะวิจัยที่ต้องการพัฒนากระบวนการผลิตกรดอะซิติกจึงจำเป็นต้องศึกษาและคำนึงถึงประสิทธิภาพการทำงานของแบคทีเรียกรดอะซิติกเมื่อต้องทำงานร่วมกับจุลินทรีย์อื่นๆ ที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับกระบวนการผลิตเช่นกัน

5.7 การวิจัยเพื่อการผลิตและพัฒนาผลิตภัณฑ์ในระดับอุตสาหกรรม

การวิจัยเพื่อการผลิตและพัฒนาผลิตภัณฑ์ในระดับอุตสาหกรรมเป็นการวิจัยเชิงบูรณาการที่ต้องใช้องค์ความรู้ใหม่ๆ เกี่ยวกับการเลือกใช้แบคทีเรียกรดอะซิติกสายพันธุ์ใหม่ การทำงานของเอนไซม์ในกระบวนการหมัก การพัฒนาอาหารสำหรับการหมัก พื้นฐานทางวิศวกรรมชีวเคมีและวิศวกรรมอุตสาหการเพื่อการขยายกำลังการผลิตจากระดับห้องปฏิบัติการไปสู่ระดับโรงงานอุตสาหกรรม ตัวอย่างของการวิจัยเพื่อการผลิต ในกรณีของอุตสาหกรรมที่ใช้กระบวนการหมักแบบดั้งเดิม (Traditional Fermentation) เช่น การผลิตน้ำส้มสายชูที่ทำการหมักในถังไม้ (Wooden Barrel) ได้ทำการหมักน้ำส้มสายชูโดย *Acetobacter pasteurianus* โดยศึกษา 2 กรณี คือ ผลของรูปทรงถังหมักและชนิดของไม้ที่ใช้ทำถังหมัก ที่มีต่อระยะเวลาการหมักน้ำส้มสายชูที่ผลิตจากไวน์ พบว่ารูปทรงของถังหมักจะมีผลต่อพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างอากาศและน้ำหมัก สามารถส่งผลต่อประสิทธิภาพการหมักน้ำส้มสายชูเมื่อทำการผลิตในระดับอุตสาหกรรมอย่างมีนัยสำคัญ แต่ชนิดของไม้ที่ใช้ทำถังหมักไม่ส่งผลต่อประสิทธิภาพและเวลาในการหมัก (Hidalgo et al., 2010) การวิจัยเพื่อพัฒนาการผลิตโดยส่วนใหญ่มุ่งเน้นไปที่การหมักแบบ Submerged Process เช่น มีการสร้างถังหมักต้นแบบ (Pilot Fermenter) สำหรับผลิตน้ำส้มสายชู โดยจัดสิ่งแวดล้อม ปัจจัยต่างๆ ที่ส่งผลต่อการผลิตกรดอะซิติก รวมถึงรูปร่างของถังหมัก ให้เหมือนการผลิตในระดับอุตสาหกรรม แล้วศึกษาลักษณะและอัตราการให้อากาศที่ส่งผลถึงความสามารถในการเติมออกซิเจนสู่อาหารเลี้ยงเชื้อภายในถังหมัก ศึกษาระดับอุณหภูมิที่เหมาะสม พลังงานที่ต้องใช้ แล้วสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ เพื่อนำข้อมูลที่ได้มาคำนวณประสิทธิภาพการหมักและประมาณต้นทุนที่ต้องใช้ เพื่อวางแผนการผลิตน้ำส้มสายชูโดยถังหมักในระดับอุตสาหกรรม (González-Sáiz et al., 2009) มีการพัฒนาการผลิตเซลล์ูโลสจาก *A. xylinum* KJ1 โดยการพัฒนาถังหมักต้นแบบในระดับ Pilot Scale ลักษณะทรงสูง แล้วศึกษาผลของการเติมอากาศ และการปรับรูปร่างบริเวณตอนกลางของถังหมักให้มีลักษณะเป็นทรงกลมคล้ายกระเปาะ ที่มีต่อประสิทธิภาพการผลิตและคุณสมบัติของเซลล์ูโลสที่ผลิตได้ พบว่าเซลล์ูโลสที่ผลิตได้มีขนาดโมเลกุลและค่าความคงทนต่อแรงดึงที่ลดลง แต่ได้เซลล์ูโลสที่มีความบริสุทธิ์ โครงสร้างของเส้นใยมีการประสานตัวระหว่างกันที่สูงระหว่างกระบวนการผลิตเมื่อเติมออกซิเจนบริสุทธิ์ให้แก่ระบบ พบว่าประสิทธิภาพการผลิตเซลล์ูโลสเพิ่มขึ้น 12 เปอร์เซ็นต์ คือผลิตได้ 6.8 กรัมต่อลิตร พบว่ากระบวนการผลิตยังมีความสะดวกรวดเร็วและระดับออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักก็เพียงพอต่อความต้องการของ *A. xylinum* KJ1 (Choi et al., 2009)

เมื่อพิจารณาคุณสมบัติของแบคทีเรียกรดอะซิติกและลักษณะของปฏิกิริยาชีวเคมีที่เกี่ยวข้อง สามารถวิจัยและพัฒนาเพื่อหาแนวทางการเพิ่มผลผลิตได้ โดยสรุปดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แนวทางการวิจัยและพัฒนาเพื่อเพิ่มผลผลิตจากแบคทีเรียกรดอะซิติก

ผลิตภัณฑ์	คุณสมบัติของแบคทีเรีย	แนวทางการเพิ่มผลผลิต	เอกสารอ้างอิง
กรดอะซิติก	แบคทีเรียกรดอะซิติกมีความสามารถในการออกซิไดซ์น้ำตาลได้ดี โดยเฉพาะกลูโคส	ศึกษาสัดส่วนของกลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดอะซิติก	Awad et al. (2012)
	เมื่อมีปริมาณกรดสะสม จะเกิดการออกซิไดซ์สารอาหารลดลง และผลิตกรดอะซิติกได้ลดลง	ศึกษาสายพันธุ์ที่สามารถทนกรด สามารถผลิตกรดอะซิติกได้ในสภาวะที่มีกรดสะสมในถังหมัก	Hanmoungjai et al. (2008); Sharafi et al. (2010); Klawpiyapamornkun et al. (2015)
	การหมักแบบออกซิเดทีฟจะทำให้เกิดความร้อนสะสมในระบบและที่อุณหภูมิสูงขึ้น อัตราการผลิตกรดอะซิติกจะลดลง	ศึกษาสายพันธุ์ที่สามารถผลิตกรดอะซิติกได้ดี ที่อุณหภูมิสูง และยังได้ประโยชน์ คือ ช่วยลดค่าใช้จ่ายในการควบคุมอุณหภูมิของถังหมัก	Moghadami et al. (2013); Diba et al. (2015)
ไดไฮดรอกซีอะซิโตน (DHA)	การออกซิไดซ์กลีเซอรอลต้องใช้ออกซิเจนเข้าร่วมในปฏิกิริยา	ศึกษาผลของการเพิ่มอัตราการให้อากาศ (Aeration) และผลของการเพิ่ม Baffle ลงในระบบการหมักที่มีต่ออัตราการผลิตไดไฮดรอกซีอะซิโตน	Zheng et al. (2016)
	ปริมาณกลีเซอรอลในอาหารเลี้ยงเชื้อสามารถยับยั้งการผลิตไดไฮดรอกซีอะซิโตน	เปลี่ยนระบบการให้กลีเซอรอลแก่แบคทีเรียเป็นระบบกึ่งกะ (Fed-Batch) โดยแบ่งการให้กลีเซอรอลแก่ถังหมักเป็น 6 ครั้ง	Hu et al. (2010)
	ปริมาณไดไฮดรอกซีอะซิโตนที่สะสมสามารถยับยั้งการผลิตไดไฮดรอกซีอะซิโตน	- การผลิตในเครื่องปฏิกรณ์แบบกึ่งต่อเนื่อง - การตรึงเซลล์แบคทีเรียและหมักใน Stirred-Tank Reactor	Bauer et al. (2005); Black & Nair (2013)

ตารางที่ 2 แนวทางการวิจัยและพัฒนาเพื่อเพิ่มผลผลิตจากแบคทีเรียกรดอะซิติก (ต่อ)

ผลิตภัณฑ์	คุณสมบัติของแบคทีเรีย	แนวทางการเพิ่มผลผลิต	เอกสารอ้างอิง
แอล-ซอร์บอส	การออกซิไดซ์ดี-ซอร์บิทอลได้เป็นแอล-ซอร์บอสเกิดในช่วงแรกของการออกซิไดซ์น้ำตาล แอล-ซอร์บอสจึงเป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นก่อนผลิตภัณฑ์จากการหมักประเภทอื่นๆ และเมื่อการหมักดำเนินต่อไประบบการหมักจะให้ผลิตภัณฑ์อื่นๆ ที่ไม่ต้องการ	ตรึงเซลล์แบคทีเรียในระบบการหมัก เพื่อรักษาปริมาณเซลล์ในระบบให้สูงอยู่เสมอ และหาระยะเวลาการหมักที่เหมาะสมที่ให้แอล-ซอร์บอสในปริมาณที่สูงสุด ก่อนที่ระบบการหมักจะให้ผลิตภัณฑ์อื่นๆ	Fidaleo et al. (2006)
	กระบวนการหมักทำให้เกิดความร้อนสะสมที่อุณหภูมิสูงอัตราการออกซิไดซ์ดี-ซอร์บิทอลจะลดลง	หาแบคทีเรียสายพันธุ์ที่สามารถออกซิไดซ์ดี-ซอร์บิทอลได้ดีที่อุณหภูมิสูง	Hattori et al. (2012)
	หลังจากการหมักอาหารเลี้ยงเชื้อจะมีกรดอะซิติกสะสมเป็นอุปสรรคต่อการเจริญของแบคทีเรีย	หาสายพันธุ์ที่มีความสามารถในการเจริญในสภาวะที่เป็นกรด และยังสามารถออกซิไดซ์ดี-ซอร์บิทอลได้เป็นแอล-ซอร์บอส	Hanmoungjai et al. (2008)

ตารางที่ 2 แนวทางการวิจัยและพัฒนาเพื่อเพิ่มผลผลิตจากแบคทีเรียกรดอะซิติก (ต่อ)

ผลิตภัณฑ์	คุณสมบัติของแบคทีเรีย	แนวทางการเพิ่มผลผลิต	เอกสารอ้างอิง
เซลลูโลส	<i>A. xylinum</i> สามารถออกซิไดซ์กลูโคสเป็น UDP-Glucose ก่อนการเกิดพอลิเมอร์เซชันได้เป็นเซลลูโลส	ศึกษาผลของอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีกลูโคสเป็นส่วนประกอบที่มีต่อการผลิตเซลลูโลส	Maichan et al. (2012); Mikkelsen et al. (2009)
	อาหารเสริมประเภทต่างๆ ส่งผลต่อการผลิตสารเมแทบอลิท์ทุติยภูมิของ <i>A. xylinum</i>	ศึกษาผลของอาหารเสริมชนิดต่างๆ ที่มีต่อการผลิตเซลลูโลส	Cheng et al. (2009)
	<i>A. xylinus</i> สามารถใช้กลูโคสและไซโลสเป็นแหล่งพลังงาน และสามารถผลิตเซลลูโลสได้	ใช้วัสดุเหลือใช้จากโรงงานแปรรูปไม้มาใช้เป็นแหล่งกลูโคสและไซโลส และยังช่วยลดค่าใช้จ่าย	Kiziltas et al. (2015)
กรดกลูโคนิก	กลูโคสถูกออกซิไดซ์โดยมีกลูโคสออกซิเดสช่วยเร่งปฏิกิริยา แต่ความเป็นกรดที่เพิ่มขึ้นภายในระบบการหมักจะยับยั้งการทำงานของกลูโคสออกซิเดส	เพิ่มอัตราการผลิตกรดกลูโคนิกโดยการเติม Neutralising Agent ระหว่างการหมัก เพื่อให้ระบบการหมักมีระดับ pH ที่เป็นกลาง	Ramachandran et al. (2006)

สรุป

บทความนี้ได้นำเสนอเกี่ยวกับแบบที่เรียกรดอะซิดิก เช่น สัณฐาน การหายใจระดับเซลล์ การประยุกต์ใช้งานโดยการหมักแบบออกซิเดทีฟ ซึ่งสามารถใช้สารตั้งต้นได้หลายประเภท เช่น เอทานอล น้ำตาล น้ำตาลแอลกอฮอล์ กรดอินทรีย์ และได้ผลิตภัณฑ์หลากหลายชนิด เช่น กรดอะซิดิก ไดไฮดรอกซีอะซิโตน แอล-ซอร์บิโอส เซลลูโลส และกรดกลูโคนิก ผลิตภัณฑ์จากแบบที่เรียกรดอะซิดิกสามารถนำมาประยุกต์ใช้ได้ เช่น ในอุตสาหกรรมอาหาร อุตสาหกรรมเคมี อุตสาหกรรมสิ่งทอ อุตสาหกรรมเกษตร อุตสาหกรรมกระดาษ เกล็ดขี้ผึ้ง เครื่องสำอาง และการแพทย์ การศึกษาเกี่ยวกับการเพิ่มประสิทธิภาพ กระบวนการหมักแบบออกซิเดทีฟต้องอาศัยองค์ความรู้ทางจุลชีววิทยา และเทคโนโลยีชีวภาพ เพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการผลิต และเนื่องจากจุดมุ่งหมายของการผลิตในระดับอุตสาหกรรม คือ การเพิ่มอัตราการผลิต การลดเวลาในการผลิต ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีมาตรฐาน การลดต้นทุนการผลิต และลดการเกิดผลิตภัณฑ์อื่นๆ ที่ไม่ต้องการ ดังนั้นการศึกษาเกี่ยวกับเวลาที่ใช้ในการหมักแบบออกซิเดทีฟจึงมีความสำคัญ เพราะการเลือกเวลาในการหมักที่เหมาะสมจะช่วยลดการเกิดผลิตภัณฑ์อื่นๆ ที่ไม่ต้องการ ช่วยลดการทำลายผลิตภัณฑ์ที่ต้องการโดยแบคทีเรียเอง หรือช่วยลดการทำปฏิกิริยาระหว่างผลิตภัณฑ์ที่ต้องการกับสารเคมีอื่นๆ ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการหมัก การประยุกต์ใช้งานในระดับอุตสาหกรรมจึงต้องนำองค์ความรู้ทางวิศวกรรมชีวเคมีมาประยุกต์ใช้ อย่างไรก็ตามก่อนการเลือกช่วงของตัวแปรอิสระ เช่น ระดับความเป็นกรด-ด่าง ระดับอุณหภูมิ เวลาในการหมัก และความเข้มข้นของสารอาหารประเภทต่างๆ ผู้วิจัยต้องศึกษาข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับการหายใจระดับเซลล์ของแบคทีเรียกรดอะซิดิกก่อน เพื่อประหยัดเวลา สามารถเลือกชนิดของเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพที่เหมาะสม ขนาดพื้นที่ที่ต้องใช้ ชนิดของวัตถุดิบ ซึ่งล้วนมีผลต่องบประมาณที่ใช้ในการวิจัย เนื่องจากปัจจัยต่างๆ ที่ส่งผลต่ออัตราการการผลิตมีความสัมพันธ์กับลักษณะการหายใจระดับเซลล์ดังที่กล่าวมาข้างต้นแนวโน้มการวิจัยในอนาคตจะเกี่ยวข้องกับการพัฒนาสารอาหารและอาหารเสริมที่จำเป็นที่ควรให้แก่แบคทีเรีย ซึ่งช่วยให้การออกซิโดซ์สารอาหารหลักเป็นผลิตภัณฑ์เกิดได้อย่างมีประสิทธิภาพ การศึกษาการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการหมักจะช่วยให้แบคทีเรียสามารถใช้สารอาหารอย่างคุ้มค่า และให้ปริมาณผลผลิตอย่างสูงสุด นอกจากนั้นการศึกษาแบคทีเรียกรดอะซิดิกเมื่อทำงานร่วมกับจุลินทรีย์อื่นๆ จะช่วยให้สามารถประยุกต์ใช้งานแบคทีเรียกรดอะซิดิกเข้ากับงานประเภทอื่นๆ ได้มากขึ้น การศึกษาทางพันธุวิศวกรรมและการค้นหาแบคทีเรียสายพันธุ์ใหม่จะช่วยให้ได้สายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูง มีความคงทนต่อสภาวะแวดล้อม และมีความเสถียร สามารถให้ผลิตภัณฑ์ในปริมาณที่สม่ำเสมอ เป็นปัจจัยที่สำคัญเช่นกัน อย่างไรก็ตามการนำผลการวิจัยไปประยุกต์ใช้ในระดับอุตสาหกรรม ไม่ควรคำนึงเฉพาะปริมาณผลผลิตเพียงประการเดียว เนื่องจากการเก็บเกี่ยวผลผลิตมีปัจจัยอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องด้วย เช่น ปริมาณเซลล์หรือชีวมวลที่ต้องคัดแยกออก คุณภาพของผลิตภัณฑ์ เวลาในการทำความสะอาดระบบการหมัก ค่าจ้างพนักงานเพื่อทำงานล่วงเวลา ระยะเวลาที่เหมาะสมของแต่ละหน่วยการผลิต ซึ่งอาจทำให้เกิดความไม่สมดุลของสายการผลิต ทำให้เกิดความสูญเสียไปเนื่องจากการรอคอย เช่น ปัญหาที่เป็นคอขวด (Bottleneck) เป็นต้น

References

- Adachi, O., Fujii, Y., Ano, Y., Moonmangmee, D., Toyama, H., Shinagawa, E., Theeragool, G., Lotong, N. & Matsushita, K. (2001). Membrane-bound sugar alcohol dehydrogenase in acetic acid bacteria catalyzes L-ribulose formation and NAD-dependent ribitol dehydrogenase is independent of the oxidative fermentation. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 65 (1), 115-125.
- Amnuait, T. (2009). Cosmeceuticals. *Thai Pharmaceutical and Health Science Journal*, 4 (1), 94-110.
- Ano, Y., Toyama, H., Adachi, O. & Matsushita, K. (2008). Energy metabolism of a unique acetic acid bacterium, *Asaia bogorensis*, that lacks ethanol oxidation activity. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 72 (4), 989-997.
- Attwood, M. M., Van Dijken, J. P. & Pronk, J. T. (1991). Glucose Metabolism and Gluconic Acid Production by *Acetobacter diazotrophicus*. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 72 (2), 101-105.
- Awad, H. M., Diaz, R., Malek, R. A., Othman, N. Z., Aziz, R. A. & El Enshasy, H. A. (2012). Efficient Production Process for Food Grade Acetic Acid by *Acetobacter aceti* in Shake Flask and in Bioreactor Cultures. *E-Journal of Chemistry*, 9 (4), 2275-2286.
- Basta, A. H. & El-Saied, H. (2009). Performance of improved bacterial cellulose application in the production of functional paper. *Journal of Applied Microbiology*, 107 (6), 2098-2107.
- Bauer, R., Katsikis, N., Varga, S. & Hekmat, D. (2005). Study of the inhibitory effect of the product dihydroxyacetone on *Gluconobacter oxydans* in a semi-continuous two-stage repeated-fed-batch process. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 28 (1), 37-43.
- Bettelheim, F. A., Brown, W. H., Campbell, M. K., Farrell, S. O. & Torres, O. J. (2010). *Introduction to Organic and Biochemistry* (pp. 774-793). California: Cengage Learning.
- Black, C. S. & Nair, G. R. (2013). Bioconversion of Glycerol to Dihydroxyacetone by Immobilized *Gluconacetobacter xylinus* Cells. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*, 4 (5), 310-314.

- Cheng, K., Catchmark, J. M. & Demirci, A. (2009). Effect of different additives on bacterial cellulose production by *Acetobacter xylinum* and analysis of material property. *Cellulose*, 16 (6), 1033–1045.
- Choi, C. N., Song, H. J., Kim, M. J., Chang, M. H. & Kim, S. J. (2009). Properties of bacterial cellulose produced in a pilot-scale spherical type bubble column bioreactor. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 26 (1), 136–140.
- Davidson, A. L., Dassa, E., Orelle, C. & Chen, J. (2008). Structure, Function, and Evolution of Bacterial ATP-Binding Cassette Systems. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 72 (2), 317–364.
- Deppenmeier, U. & Ehrenreich, A. (2009). Physiology of Acetic Acid Bacteria in Light of the Genome Sequence of *Gluconobacter oxydans*. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, 16 (2), 69–80.
- Diba, F., Alam, F. & Talukder, A. A. (2015). Screening of Acetic Acid Producing Microorganisms from Decomposed Fruits for Vinegar Production. *Advances in Microbiology*, 5 (5), 291–297.
- Fidaleo, M., Charaniya, S., Solheid, C., Diel, U., Laudon, M., Ge, H., Scriven, L. E. & Flickinger, M. C. (2006). A model system for increasing the intensity of whole-cell biocatalysis: Investigation of the rate of oxidation of D-sorbitol to L-sorbose by thin bi-layer latex coatings of non-growing *Gluconobacter oxydans*. *Biotechnology and Bioengineering*, 95 (3), 446–458.
- Flores-Encarnación, M., González-Gutiérrez, J. Y., Amador-Bravo, D., Bravo-Juárez, L. A. & Cabrera-Maldonado, C. (2014). A bacterial novel quinone participating in multiple functions in higher organisms. *Global Advanced Research Journal of Medicine and Medical Science*, 3 (7), 132–138.
- Garone, M., Howard, J. & Fabrikant, J. (2015). A Review of Common Tanning Methods. *The Journal of Clinical and Aesthetic Dermatology*, 8 (2), 43–47.
- Ghosh, S., Chakraborty, R., Chatterjee, G. & Raychaudhuri, U. (2012). Study on fermentation conditions of palm juice vinegar by response surface methodology and development of a kinetic model. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 29 (3), 461–472.

- Go´mez-Manzo, S., Chavez-Pacheco, J. L., Contreras-Zentella, M., Sosa-Torres, M. E., Arreguín-Espinosa, R., Pe´rez de la Mora, M., Membrillo-Herna´ndez, J. & Escamilla, J. E. (2010). Molecular and Catalytic Properties of the Aldehyde Dehydrogenase of *Gluconacetobacter diazotrophicus*, a Quinoheme Protein Containing Pyrroloquinoline Quinone, Cytochrome b, and Cytochrome c. *Journal of bacteriology*, 192 (21), 5718–5724.
- Go´mez-Manzo, S., Escamilla, J. E., Gonza´lez-Valdez, A., Lo´pez-Vel´azquez, G., Vanoye-Carlo, A., Marcial-Quino, J., Mora-de la Mora, I., Garcia-Torres, I., Enrı´quez-Flores, S., Contreras-Zentella, M. L., Arreguín-Espinosa, R., Kroneck, P. & Sosa-Torres, M. E. (2015). The Oxidative Fermentation of Ethanol in *Gluconacetobacter diazotrophicus* Is a Two-Step Pathway Catalyzed by a Single Enzyme: Alcohol-Aldehyde Dehydrogenase (ADHa). *International Journal of Molecular Sciences*, 16 (1), 1293-1311.
- Gonza´lez-Sa´iza, J., Garrido-Vidala, D. & Pizarrob, C. (2009). Scale up and design of processes in aerated-stirred fermenters for the industrial production of vinegar. *Journal of Food Engineering*, 93 (1), 89–100.
- Gullo, M. & Giudici, P. (2008). Acetic acid bacteria in traditional balsamic vinegar: phenotypic traits relevant for starter cultures selection. *International Journal of Food Microbiology*, 125 (1), 46–53.
- Gullo, M., Verzelloni, E. & Canonico, M. (2014). Aerobic submerged fermentation by acetic acid bacteria for vinegar production: Process and biotechnological aspects. *Process Biochemistry*, 49 (10), 1571-1578.
- Gupta, A., Singh, V. K., Qazi, G. N. & Kumar, A. (2001). *Gluconobacter oxydans*: Its Biotechnological Applications. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, 3 (3), 445-456.
- Hanmoungjai, W., Chukeatirote, E., Yamada, Y., Sahachaisaree, V., Lumyong, P., Takata, G., Izumori, K. & Lumyong, S. (2008). L-Sorbose Production by Acidotolerant Acetic Acid Bacteria Isolated from Thailand Sources. *Chiang Mai Journal of Science*, 35 (2), 382-390.

- Hattori, H., Yakushi, T., Matsutani, M., Moonmangmee, D., Toyama, H., Adachi, O. & Matsushita, K. (2012). High-temperature sorbose fermentation with thermotolerant *Gluconobacter frateurii* CHM43 and its mutant strain adapted to higher temperature. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 95 (6), 1531–1540.
- Hidalgo, C., Vegasa, C., Mateoa, E., Tesfayeb, W., Cerezob, A. B., Callejónb, R. M., Pobleta, M., Guillamón, J. M., Masa, A. & Torijaa, M. J. (2010). Effect of barrel design and the inoculation of *Acetobacter pasteurianus* in wine vinegar production. *International Journal of Food Microbiology*, 141 (1), 56–62.
- Hu, Z. C., Liu, Z. Q., Zheng, Y. G. & Shen, Y. C. (2010). Production of 1,3-Dihydroxyacetone from Glycerol by *Gluconobacter oxydans* ZJB09112. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 20 (2), 340–345.
- Kappeng, K. & Pathom-aree, W. (2009). Isolation of acetic acid bacteria from honey. *Maejo International Journal of Science and Technology*, 3 (1), 71–76.
- Kim, B. H. & Gadd, G. M. (2008). *Bacterial Physiology and Metabolism* (pp. 85-125). Cambridge: Cambridge University Press.
- Kiziltas, E. E., Kiziltas, A. & Gardner, D. J. (2015). Synthesis of bacterial cellulose using hot water extracted wood sugars. *Carbohydrate Polymers*, 124 (17), 131–138.
- Klawpiyapamornkun, T., Bovonsombut, S. & Bovonsombut, S. (2015). Isolation and Characterization of Acetic acid Bacteria from Fruits and Fermented fruit juices for Vinegar Production. *Food and Applied Bioscience Journal*, 3 (1), 30–38.
- Lee, K. Y., Buldum, G., Mantalaris, A. & Bismarck, A. (2014). More than meets the eye in bacterial cellulose: biosynthesis, bioprocessing, and applications in advanced fiber composites. *Macromolecular Bioscience*, 14 (1), 10-32.
- Lestari, P., Elfrida, N., Suryani, A. & Suryadi, Y. (2014). Study on the Production of Bacterial Cellulose from *Acetobacter xylinum* using Agro-Waste. *Jordan Journal of Biological Sciences*, 7 (1), 75-80.
- Li, Y., He, D., Niu, D. & Zhao, Y. (2014). Acetic acid production from food wastes using yeast and acetic acid bacteria micro-aerobic fermentation. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 38 (5), 863-869.

- Maal, K. B. & Shafiee, R. (2010). Isolation and Characterization of an *Acetobacter* Strain from Iranian White-Red Cherry as a Potential Strain for Cherry Vinegar Production in Microbial Biotechnology. *Asian Journal of Biotechnology*, 2 (1), 53-59.
- Maichan, W., Kammanglakan, P., Sudpruek, S., Prudprom, K., Anchana, C., Pongpanich, J. & Laloknam, S. (2012). Production of Bacterial Cellulose by *Acetobacter xylinum* TISTR086 Using Agricultural Products as Carbon Sources. *Journal of Research on Science, Technology and Environment for Learning*, 3 (2), 92–97.
- Mamlouk, D. & Gullo, M. (2013). Acetic Acid Bacteria: Physiology and Carbon Sources Oxidation. *Indian Journal of Microbiology*, 53 (4), 377–384.
- Mikkelsen, D., Flanagan, B. M., Dykes, G. A. & Gidley, M. J. (2009). Influence of different carbon sources on bacterial cellulose production by *Gluconacetobacter xylinus* strain ATCC 53524. *Journal of Applied Microbiology*, 107 (2), 576–583.
- Miura, H., Mogi, T., Ano, Y., Migita, C. T., Matsutani, M. & Yakushi, T. (2013). Cyanide-insensitive quinol oxidase (CIO) from *Gluconobacter oxydans* is a unique terminal oxidase subfamily of cytochrome bd. *Journal of Biochemistry*, 153 (6), 535-45.
- Moat, A. G., Foster, J. W. & Spector, M. P. (2002). *Microbial Physiology* (pp. 350-393) (4th ed.). New York: John Wiley & Sons.
- Moghadami, F., Soudi, M. R., Sepehr, S. & Rezvanianzade, M. R. (2013). Evaluation of Thermotolerance of Native Strains of Acetic acid Bacteria in Iran. *International Research Journal of Applied and Basic Sciences*, 4 (9), 2670-2675.
- Ostermann, S., Richhardt, J., Bringer, S., Bott, M., Wiechert, W. & Oldiges, M. (2015). 13C Tracers for Glucose Degrading Pathway Discrimination in *Gluconobacter oxydans* 621H. *Metabolites*, 5 (3), 455-474.
- Pommerville, J. C. (2011). *Fundamentals of Microbiology* (pp. 162-193). Massachusetts: Jones & Bartlett Learning.
- Prust, C., Hoffmeister, M., Liesegang, H., Wiezer, A., Fricke, W. F., Ehrenreich, A., Gottschalk, G. & Deppenmeier, U. (2005). Complete genome sequence of the acetic acid bacterium *Gluconobacter oxydans*. *Nature Biotechnology*, 23 (2), 195-200.

- Qi, Z., Wang, W., Yang, H. & Yu, X. (2014). Mutation of *Acetobacter pasteurianus* by UV irradiation under acidic stress for high-acidity vinegar fermentation. *International Journal of Food Science and Technology*, 49 (2), 468–476.
- Ramachandran, S., Fontanille, P., Pandey, A. & Larroche, C. (2006). Gluconic Acid: Properties, Applications and Microbial Production. *Food Technology and Biotechnology*, 44 (2), 185–195.
- Raspor, P. & Goranovic, D. (2008). Biotechnological Applications of Acetic Acid Bacteria. *Critical Reviews in Biotechnology*, 28 (2), 101–124.
- Sakurai, K., Yamazaki, S., Ishii, M., Igarashi, Y. & Arai, H. (2013). Role of the glyoxylate pathway in acetic acid production by *Acetobacter aceti*. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 115 (1), 32–36.
- Sharafi, S. M., Rasooli, I. & Beheshti-Maal, K. (2010). Isolation, characterization and optimization of indigenous acetic acid bacteria and evaluation of their preservation methods. *Iranian Journal of Microbiology*, 2 (1), 38-45.
- Simon, J., Olsson, J. V., Kim, H., Tenney, I. F. & Waymouth, R. M. (2012). Semicrystalline Dihydroxyacetone Copolymers Derived from Glycerol. *Macromolecules*, 45 (23), 9275–9281.
- Solomon, E., Berg, L. & Martin, D. W. (2010). *Biology* (pp. 173-182). California: Cengage Learning.
- Stasiak, L. & Błazejak, S. (2009). Acetic acid Bacteria – Perspectives of Application in Biotechnology. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 59 (1), 17-23.
- Stoker, S. (2013). *General Organic and Biological Chemistry* (pp. 862-873). California: Cengage Learning.
- Suwanposri, A., Yukphan, P., Yamada, Y. & Ochaikul, D. (2013). Identification and biocellulose production of *Gluconacetobacter* strains isolated from tropical fruits in Thailand. *Maejo International Journal of Science and Technology*, 7 (1), 70-82.
- Theeragool, G. (2005). *Studies on Expression of Alcohol Dehydrogenase Gene and Adaptive Responses to High Concentrations of Ethanol and Acetic Acid in Thermotolerant Acetic Acid Bacteria* (Research report). (pp. 4-29). Bangkok: Thailand Research Fund.

- Tomita, Y. & Kondo, T. (2009). Influential factors to enhance the moving rate of *Acetobacter xylinum* due to its nanofiber secretion on oriented templates. *Carbohydrate Polymers*, 77 (4), 754–759.
- VanLare, I. J. & Claus, G. W. (2007). Purification and properties of NAD(P)-independent polyol dehydrogenase complex from the plasma membrane of *Gluconobacter oxydans*. *Canadian Journal of Microbiology*, 53 (4), 504-508.
- Wongsudaluk, W. & Nooniam, T. (2013). Development of Fermented Vinegar from Tangerine Peels and Pomaces. *SDU Research Journal*, 6 (1), 159-170.
- Xiao, Z. & Xu, P. (2007). Acetoin metabolism in bacteria. *Critical Reviews in Microbiology*, 33 (2), 127-140.
- Yakushi, T. & Matsushita, K. (2010). Alcohol dehydrogenase of acetic acid bacteria: structure, mode of action, and applications in biotechnology. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 86 (5), 1257–1265.
- Zheng, X. J., Jin, K. Q., Zhang, L., Wang, G. & Liu, Y. P. (2016). Effects of oxygen transfer coefficient on dihydroxyacetone production from crude glycerol. *The Brazilian Journal of Microbiology*, 4 (7), 129–135.
- Zhong-Ce, H., Liu, Z., Zheng, Y. & Shen, Y. (2010). Production of 1,3-Dihydroxyacetone from Glycerol by *Gluconobacter oxydans* ZJB09112. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 20 (2), 340–345.

Translated Thai References

- กัญจนา อีระกุล. (2548). การศึกษาการแสดงออกของยีน *Alcohol dehydrogenase* และการตอบสนองต่อเอทานอลและกรดอะซิติกความเข้มข้นสูงในแบคทีเรียกรดน้ำส้มที่ร้อน (รายงานผลการวิจัย). (น. 4-29). กรุงเทพฯ: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย.
- ธนกร อำนวยกิจ. (2009). เวชสำอาง. *Thai Pharmaceutical and Health Science Journal*, 4 (1), 94-110.
- วิจิตรา ใหม่จันทร์, พิชามณูย์ กำมั่งละการ, สุวรรณ สุดปรีก, กุลนันท์ ปุติพรหม, ชุตินา อันชนะ, จันท์ทิมา พงษ์พานิช และสุรศักดิ์ ละลอกน้ำ. (2555). การผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum* TISTR086 โดยใช้ผลผลิตทางการเกษตรเป็นแหล่งคาร์บอน. *วารสารหน่วยวิจัยวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อมเพื่อการเรียนรู้*, 3 (2), 92-97.
- วิภาวรรณ วงศ์สุตาลักษณ์ และฐิติมาพร หนูเนียม. (2556). การพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักจากเปลือกและกากส้มเหลือใช้. *วารสารวิจัย มสค สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*, 6 (1), 159-170.

ผู้เขียน

ดร.ศยามพงษ์ พงษ์ดำ

หลักสูตรเทคโนโลยีเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสวนดุสิต

e-mail : sayampong@gmail.com