

บทที่ 19

ความล่าช้าในการเจริญเติบโต (Growth Lag)

19.1 คำนำ

ธรรมชาติและสาเหตุแห่งการริรอล่าช้าในการเจริญเติบโตของแมกที่เรีย ภายหลังจากที่ไก่ใส่เชื้อแมกที่เรียลงไปในการแล้วไก่ถึงจุดความสนใจของนักชีววิทยา เป็นอย่างมากตลอดช่วงของปี ค.ศ. 1930-40 อย่างไรก็ตามการแสวงถึงพื้นฐานแห่ง สาเหตุนี้ไ้ถูกจัดทำขึ้นจนกระทั่งค้นพบกลไกในการสังเคราะห์และการควบคุมเอนไซม์ ความรู้เกี่ยวกับสาเหตุในการริรอล่าช้ามีความสำคัญเนื่องจากจำเป็นต่อการควบคุม และการกระทำให้มีระยะสั้นเขา ในทางตรงกันข้ามการริรอล่าช้าอาจถูกใช้เป็นตัวแปร เสริมเกี่ยวกับผลกระทบเนื่องจากสิ่งแวดล้อมต่อเชื้อจุลินทรีย์

การล่าช้าในการเจริญเป็นระยะเวลาแห่งการเปลี่ยนแปลงในช่วงก่อน หน้าที่ย่ออัตราความเร็วในการเจริญเติบโตเฉพาะจะเพิ่มมากขึ้นจนถึงค่าสูงสุดและเป็น ลักษณะประจำของสภาพแวดล้อมสำหรับเชื้อจุลินทรีย์ คำนิยามเชิงปริมาณเกี่ยวกับการ ริรอล่าช้าในการเจริญเติบโตไ้ถูกกล่าวถึงมาแล้วในตอนที่ 2.8

การล่าช้าที่แท้จริงไ้ถูกนิยามเป็นการล่าช้าในการเจริญเติบโตของ ประชากรทั้งหมด แต่การล่าช้าที่ปรากฏอาจเกิดขึ้นไ้ถ้าส่วนหนึ่งของประชากรมีการ เจริญเติบโตตั้งแต่เริ่มต้นด้วยอัตราความเร็วสูงสุดเต็มที่แล้วแต่ส่วนอื่นของประชากรยัง คงล้มเหลวในการเจริญเติบโตตลอดช่วงของการล่าช้าอาจมีการกวัดแกว่งของอัตรา ความเร็วในการเจริญเติบโตเฉพาะ ตัวอย่างของการกวัดแกว่งอย่างหนึ่งก็คือการเพิ่มขึ้น เป็นชั้นคอนของจำนวนเซลล์เนื่องจากการแบ่งตัวโดยพร้อมเพรียงกัน แต่โดยปกติการ พร้อมเพรียงกันเช่นนี้มีกหายไปภายหลังจากหนึ่งหรือสองชั่วอายุ เชื้อแมกที่เรียหรือยีสต์ ที่ออกมายกเมื่อดูดถ่ายออกมาใส่ลงสู่อาหารใหม่อาจทำให้จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตลดน้อยลงอัน มีสาเหตุมาจากการตายเนื่องจากถูกเร่งโดยซิมบิโตรคังไ้กล่าวมาแล้วในตอนที่ 18.2.3

19.2 การล่าหลังที่ปรากฏ (Apparent lag)

การเจริญเติบโตแต่เพียงบางส่วนของแหล่งเชื้อจุลินทรีย์ (inoculum) อาจมีสาเหตุเนื่องมาจากจุลินทรีย์ส่วนหนึ่งได้ตายไปหรือจากการใช้สื่อกลางอาหารเพื่อการคัดเลือก ถ้าให้ α เป็นเพียงส่วนหนึ่งของชีวมวลที่สามารถเจริญเติบโตได้ อัตราความเร็วในการเจริญเติบโตของชีวมวลทั้งหมด (x) อาจถูกกำหนดได้โดย

$$dx/dt = \mu \alpha x \quad 19.1$$

ซึ่ง $\mu \alpha$ คืออัตราความเร็วในการเจริญเติบโตเฉพาะที่ปรากฏในขณะที่ x เพิ่มขึ้นเนื่องจากการเติมใส่เข้ามาใหม่ของเซลล์ที่มีชีวิต $\alpha \rightarrow 1$ และ $\mu \alpha \rightarrow \mu$ ซึ่งเป็นอัตราความเร็วในการเจริญเติบโตเฉพาะที่แท้จริง

การล่าหลังที่ปรากฏอาจชี้แจงว่ามีแต่เพียงเซลล์เก่าเหล่านี้อาจเปลี่ยน-แปลงทางพันธุกรรมไปแล้วบางเซลล์ในประชากรนี้เท่านั้นที่สามารถเจริญเติบโตได้ ระยะเวลาในการล่าหลังที่ยาวนานเช่นนี้อาจปรากฏขึ้นได้นานถึง 20 ชั่วโมงในเชื้อแบคทีเรีย และสามารถใช้เป็นกฎเกณฑ์กำหนดได้ว่าการเจริญเติบโตนั้นเกิดขึ้นเนื่องจากการคัดเลือกเซลล์ที่เปลี่ยนแปลงไปแล้วจำนวนหนึ่ง ตัวอย่างเช่นการคัดเลือก Escherichia coli ที่สามารถเจริญเติบโตได้ในน้ำคาลดูลูโคสที่มี 3-ฟลูออโรกลูโคสปรากฏอยู่ (Miles & Pirt, 1973)

การล่าหลังในการเจริญเติบโตของเซลล์สัตว์เลี้ยงถูกควายน่านมในสื่อกลางอาหารที่จำกัดปราศจากโปรตีนถูกพบว่ามีผลเป็นอย่างมากเมื่อมีเมทิลเซลลูโลสปรากฏอยู่ (Birch & Pirt, 1970) กลไกเนื่องจากผลกระทบเช่นนี้ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด

19.3 การล่าหลังอย่างแท้จริง (True lag)

สาเหตุพื้นฐานของการล่าหลังในการเจริญเติบโตอย่างแท้จริงก็คือ (1) การเปลี่ยนแปลงทางโภชนาการ (2) การเปลี่ยนแปลงในสิ่งแวดล้อมทางกายภาพ (3) การมีสารยับยั้งปรากฏอยู่ (4) การงอกของเซลล์ (5) สถานะภาพของแหล่งเชื้อจุลินทรีย์

สามปัจจัยแรกอาจต้องการคุณสมบัติทางค่าน้ำในโพรงบางอย่างของชีวมวล เพื่อทำให้เหมาะสมต่อสภาวะแวดล้อมใหม่หรือเปลี่ยนแปลงแนวทางการ เมตาโบลิซึมใหม่ของชีวมวลเพื่อเอาชนะสิ่งแวดล้อมที่เป็นภัยได้ ตัวอย่าง เช่นการเปลี่ยนแปลงพีเอช

การเปลี่ยนแปลงทางโภชนาการบางครั้งก็อาจร่วมด้วยกับการชักนำให้เกิดเอนไซม์ใหม่ขึ้นมาหนึ่งหรือมากกว่าหนึ่งชนิดและต้องการระยะเวลาเพื่อให้มีการสังเคราะห์เอนไซม์ใหม่นั้นจนกระทั่งมีปริมาณที่เหมาะสม ระยะเวลาที่ต้องการอาจเป็นไปได้ตั้งแต่ 10 นาทีขึ้นไปจนถึงหลายชั่วโมง สำหรับเชื้อจุลินทรีย์บางสายพันธุ์การชักนำเพื่อให้เกิดเอนไซม์สำหรับแหล่งพลังงานและธาตุคาร์บอนใหม่อาจไม่สามารถทำได้จนกว่าจะมีแหล่งพลังงานและธาตุคาร์บอนชนิดเดิมที่คนเคยใช้โคอยู่แล้วปรากฏอยู่บ้าง เล็กน้อย ตัวอย่างเช่นการเปลี่ยนแปลงจากที่เคยใช้น้ำตาลกลูโคสไปใช้น้ำตาลแลคโตสโดย Penicillium chrysogenum อาจเกิดขึ้นได้ในส่วนผสมของน้ำตาลกลูโคสแต่จะไม่เกิดขึ้นถ้าใช้โมซีเลียมที่ขาดแคลนน้ำตาลกลูโคสอยู่ก่อนแล้วใส่ลงไปในสื่อกลางอาหารที่มีน้ำตาลแลคโตสเป็นแหล่งธาตุคาร์บอนเพียงอย่างเดียว การปรับปรุงตัวของเซลล์สัตว์เพื่อให้สามารถใช้กรกกลูตามิกเป็นขั้วสเตรคโตค็อกต้องการให้มีกลูตามีนจำนวนหนึ่งปรากฏอยู่ด้วย (Blaker et al., 1971)

การล่าเหยื่อในการเจริญเติบโตอาจถูกแสดงออกได้ในรูปของเวลาที่ต้องการเพื่อต่อต้านสารยับยั้งที่ปรากฏอยู่ในสื่อกลางอาหาร ความเป็นพิษเนื่องจากธาตุย่อยบางครั้งก็มีความสำคัญต่อสื่อกลางอาหารชั้นต่ำอย่างง่ายมากกว่าในสื่อกลางอาหารธรรมชาติที่อุดมสมบูรณ์ไปด้วยสารอาหารต่าง ๆ เช่น กรดอะมิโนที่สามารถรวมตัวเป็นสารประกอบซับซ้อนกับโลหะไอออนได้ ความเป็นพิษเนื่องจากกรดอินทรีย์มักขึ้นอยู่กับการเป็นพิษเป็นอย่างมาก โดยจะลดลงตามการเพิ่มขึ้นของค่าพีเอช ขั้วสเตรคตบางอย่างอาจทำหน้าที่เป็นสารยับยั้งและระยะเวลาหลังก็อาจขึ้นอยู่กับการใช้ในการลดความเข้มข้นของขั้วสเตรคตนั้นลงมาถึงค่าที่ยอมรับเมื่ออัตราการเร็วในการเจริญเติบโตสูงสุดได้ (ตอนที่ 17.8) ผลผลิตบางอย่างจากแหล่งเชื้อจุลินทรีย์อาจยับยั้งการเจริญเติบโต ตัวอย่าง เช่นสมาชิกของ Lactobacillaceae บางพวกเมื่อถ่ายแยกออกมาจากสภาพที่เป็นแอนแอโรบิกแล้วใส่ลงไปในสื่อกลางอาหารที่เป็นแอโรบิกอาจสะสมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ซึ่งมีศักยภาพเป็นสารยับยั้ง

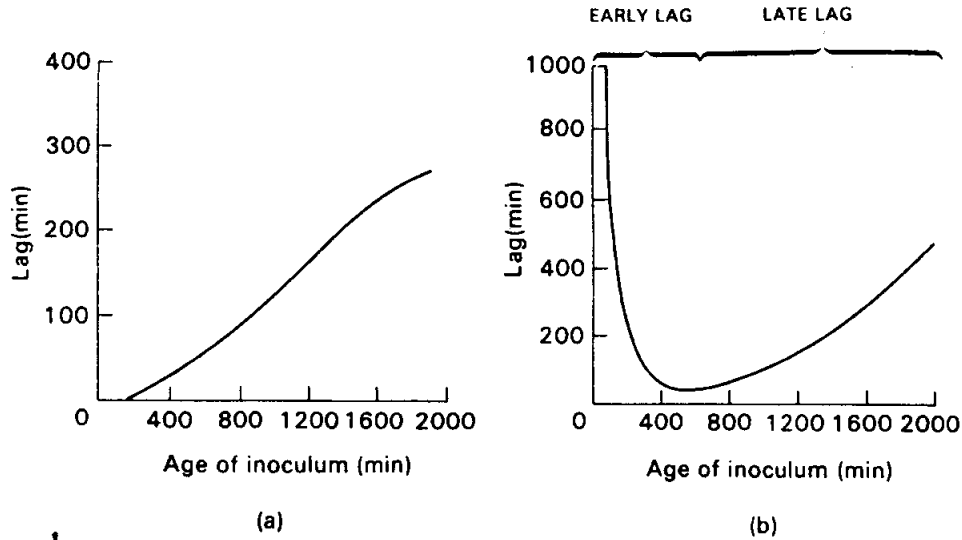
การเจริญเติบโตได้ เพอร็อกซิซอซึ่มทำให้เกิดเอนไซม์เพอร็อกซิเลสเพื่อกำจัด
ไฮโดรเจนเพอร็อกซิซอซึ่ม การล่าเหยื่อที่มีสาเหตุมาจากเพอร็อกซิซอซึ่มอาจเพิ่มขึ้นตาม
ขนาดของแหล่ง เชื้อจุลินทรีย์เนื่องจากการผลิตไฮโดรเจนเพอร็อกซิซอซึ่มเป็นสัณฐานโคขตรง
ต่อความเข้มข้นของเซลล์ (Seeley & Vandemark, 1951)

ถ้าแหล่ง เชื้อจุลินทรีย์ประกอบด้วยสปอร์การล่าเหยื่อก่อนการเจริญเติบโต
ทางร่างกายจะหมายถึงระยะเวลาในการงอกของสปอร์

19.4 ผลกระทบเนื่องจากแหล่ง เชื้อจุลินทรีย์

ความรู้เกี่ยวกับผลกระทบเชิงปริมาณเนื่องจากอายุของ แหล่ง เชื้อจุลินทรีย์ต่อ
การล่าเหยื่อในการเจริญเติบโตของแมคทีเรียส่วนใหญ่ตั้งอยู่บนพื้นฐานการศึกษาจากเชื้อ
Klebsiella aerogenes โดย Lodge และ Hinshelwood (1943) ทานทั้งสอง
โควัคอายุของแหล่ง เชื้อจุลินทรีย์ตามอำเภอใจอย่างหยาบ ๆ จากช่วงเริ่มต้นของระยะ
ลอการิทึมเมื่อมีประชากรเซลล์แมคทีเรียเป็นจำนวน 10^6 /มล. ผลกระทบเนื่องจากอายุ
โควัคแสดงไว้ในรูปที่ 19.1 แต่ก็ยังขึ้นอยู่กับชนิดของสื่อกลางอาหารด้วยว่าถูกทำให้หยุดในชั้นค่า
กัวยหน้ากาลกูลโคสและแอมโมเนียเป็นแหล่งของคาร์บอนและไนโตรเจนแต่เพียงอย่างเดียว
หรือว่าแอมโมเนียนั้นถูกทดแทนด้วยแอสปาราจีน ในสื่อกลางอาหารกลูโคส-แอสปาราจีน
ความล่าช้าในการเจริญเติบโตปรากฏขึ้นอย่างหยาบ ๆ เมื่อแหล่ง เชื้อจุลินทรีย์ที่นำมาใช้นั้น
เป็น เชื้อจุลินทรีย์ที่เริ่มเข้าสู่ระยะหยุดนิ่งแล้วแต่ถ้าแหล่ง เชื้อจุลินทรีย์มีอายุมากขึ้นการล่าเหยื่อ
ก็จะยาวนานขึ้นเขาใกล้เคียงกับค่าสูงสุด อย่างไรก็ตามการมีอายุมากขึ้นของ แหล่ง เชื้อจุลินทรีย์
ทำให้การล่าเหยื่อกลายเป็นสิ่งที่แสดงออกถึงการลดความสามารถในการสืบพันธุ์หรือความ
สามารถในการดำรงชีพมากขึ้นและอาจโควัคมีผลกระทบเนื่องมาจากการตายของ เซลล์
การล่าเหยื่อในสื่อกลางอาหารกลูโคสแอมโมเนีย(รูปที่ 19.1 b) อาจยาวนานมากเมื่อแหล่ง
เชื้อจุลินทรีย์ที่นำมาใช้นั้นเป็น เชื้อจุลินทรีย์ที่อยู่ในช่วง เริ่มต้นของระยะการเจริญเติบโตแบบ
ลอการิทึม การล่าเหยื่อจะอยู่ในชั้นค่าสูงเมื่อแหล่ง เชื้อจุลินทรีย์มีอายุใกล้เคียงสิ้นสุดระยะ
ลอการิทึมแล้วและจะเพิ่มมากขึ้นเมื่อแหล่ง เชื้อจุลินทรีย์เข้าสู่ระยะหยุดนิ่ง ดังนั้น Lodge
และ Hinshelwood จึงโควัคจำแนกให้แตกต่างกันเป็นการล่าเหยื่อช่วงต้นซึ่งเกิดจากการใช้

แหล่ง เชื้อจุลินทรีย์ที่ไ้จากกระยะลอการิทึมช่วงต้น และการล่าหลังช่วงปลายซึ่งเกิดจาก การใช้แหล่ง เชื้อจุลินทรีย์ที่ไ้จากกระยะหยุดนิ่ง



รูปที่ 19.1 Lag as a function of 'inoculum age' in cultures of *Klebsiella aerogenes*: (a) in glucose-asparagine-salts medium; (b) in glucose-ammonia-salts medium. (Redrawn from Lodge & Hinshelwood, 1943)

การล่าหลังช่วงต้นอาจถูกกระตุ้นได้โดยการเติมของเหลวปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ ที่กรองไ้จากเชื้อจุลินทรีย์ในกระยะลอการิทึมช่วงปลายหรือโดยการเพิ่มขนาดของแหล่ง เชื้อ จุลินทรีย์ แตกต่างจากการล่าหลังช่วงปลายหรือการล่าหลังในสื่อกลางอาหาร แอสพาราจีน ซึ่งจะไม่ไ้ได้รับผลกระทบทั้งจากการเติมของเหลวที่กรองไ้จากเชื้อจุลินทรีย์หรือจากการ เพิ่มขนาดของแหล่ง เชื้อจุลินทรีย์ จากการค้นพบว่าการล่าหลังช่วงต้นอาจถูกกระตุ้นได้โดย การเติมสารบางอย่าง เช่น แอสพาราจีนซึ่งเปลี่ยนแปลงมาจากสื่อกลางต่าง ๆ ในวงจร กรดซิทริกหรือโดยการเพิ่มขนาดของแหล่ง เชื้อจุลินทรีย์ทำให้วนระยะถึงวิถีทางที่จะระงับ ไม่ไ้ไ้ได้รับผลกระทบเนื่องจากมีคาร์บอนไดออกไซด์ละลายอยู่ในสื่อกลางอาหารน้อยเกินไป ทั้งแสดงในตอนที่ 8.10 Lodge และ Hinshelwood ได้ทดลองเป่าอากาศให้เป็นฟอง ผ่านเข้าไปในเชื้อ *K. aerogenes* พบว่าสาเหตุของการล่าหลังช่วงต้นอาจเกิดขึ้นเนื่อง จากการขาดแคลนคาร์บอนไดออกไซด์ สาเหตุของการล่าหลังในสื่อกลางแอสพาราจีนและ การล่าหลังช่วงปลายในสื่อกลางอาหารอื่นต่าง ๆ จะไ้กล่าวถึงต่อไปในตอนที่ 19.6

19.5 ผลกระทบเนื่องจากอุณหภูมิ

ผลกระทบเนื่องจากอุณหภูมิต่อการล่าช้าในการเจริญเติบโตของเชื้อ Staphylococcus สปีชีส์ต่าง ๆ ในสื่อกลางอาหารที่อุดมสมบูรณ์ได้แสดงไว้ในตารางที่ 19.1 พบว่าการล่าช้าในการเจริญเติบโตในกรณีนี้เกือบจะเป็นสัดส่วนตายตัวต่อช่วงระยะเวลาในการทวีคูณจึงเสนอว่าการล่าช้าอาจเป็นตัวแปรเสริมที่มีประโยชน์ต่อผลกระทบเนื่องจากสภาพแวดล้อมกับอัตราความเร็วในการเจริญเติบโตเฉพาะ

ตารางที่ 19.1 Effect of temperature on growth lag of a *Staphylococcus* species in peptone medium (Cooper, 1963)

Temperature (°C)	Doubling time (t_d , min)	Lag (L, min)	(L/ t_d)
25	64	120	1.9
30	38	66	1.7
35	29	50	1.7
40	27	39	1.5

19.6 ขบวนการเมตาโบลิซึมในขณะการล่าช้า

การล่าช้าที่เกิดขึ้นเนื่องจากการใช้แหล่งเชื้อจุลินทรีย์ที่อยู่ในระยะหยุดนิ่งมีความจำเป็นต่อการจัดระเบียบขององค์กรต่าง ๆ ภายในเซลล์เสียใหม่เพื่อปรับการเปลี่ยนแปลงที่ทำให้หยุดการเจริญเติบโตกลับกลายเป็นเซลล์ที่เจริญเติบโตได้ (ตอนที่ 18.2) ส่วนประกอบของ เอนไซม์และอาร์เอ็นเอบางส่วนภายในเซลล์จำเป็นต้องถูกจัดทำให้เกิดขึ้นมาใหม่ในช่วงระหว่างการล่าช้า แบบจำลองของ Aiba และคณะ (1967) ที่ใช้อธิบายการล่าช้าในการเจริญเติบโตของ เชื้อยีสต์เสนอว่าการสังเคราะห์อาร์เอ็นเอเป็นสิ่งที่กำหนดช่วงระยะเวลาในการล่าช้า ดังนั้นการล่าช้าในการเจริญเติบโตจึงเป็นสิ่งจำเป็นต่อการปรากฏการณ์ในการสูงขึ้นของอัตราความเร็วในการเจริญเติบโตซึ่งที่บรรยายโดย Maaloe และ Kjeldgard (1966, p.98) และยังคงแสดงให้เห็นว่าการสูงขึ้นของอัตราความเร็วในการเจริญเติบโตของแบคทีเรียจะติดตามมาภายหลังจากการสูงขึ้นของปริมาณอาร์เอ็นเอ

Griffiths และ Pirt (1967) พบว่าเซลล์ร่างกายของหนูที่เพาะเลี้ยงไว้ในอาหารมีแบบฉบับการไซกรกอะมีโนในช่วงระยะเวลาแห่งการลำเลียงแตกต่างกันเป็นอย่างมากจากช่วงระยะเวลาที่มีการเจริญเติบโตแบบลอกการิทึม โดยเฉพาะการไซกรกอะมีโนต่าง ๆ ในช่วงระหว่างการลำเลียงจะสูงมากขึ้นเป็นหลายเท่ากว่าในช่วงระยะที่มีการเจริญเติบโตแบบลอกการิทึม

19.7 สรุป

มีสาเหตุหลายอย่างที่ทำให้เกิดการลำเลียงในการเจริญเติบโต เพื่อที่จะหลีกเลี่ยงหรือทำให้การลำเลียงมีน้อยที่สุดแหล่ง เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ควรนำมาจากระยะซึ่งใกล้จะสิ้นสุดการเจริญเติบโตแบบลอกการิทึมในสภาวะที่ใกล้เคียงกันกับสื่อกลางอาหารใหม่ที่จะถ่ายเชื้อจุลินทรีย์ลงไปให้มากที่สุดเท่าที่จะทำได้ ขนาดของแหล่ง เชื้อจุลินทรีย์ความปกติกวรมีจำนวนมากเท่าที่จะสะดวกแต่ก็มีข้อยกเว้นตามกฎที่โตกล่าวไว้ในตอนที่ 19.3 การเติมของเหลวปราศจากเซลล์ที่กรองไคจากเชื้อจุลินทรีย์บางครั้งก็ถือว่าเป็นการปรับสภาพของสื่อกลางอาหารซึ่งอาจมีจุดประสงค์เกี่ยวกับการเพิ่มขนาดของแหล่ง เชื้อจุลินทรีย์

ยังไม่ได้มีการศึกษาถึงการลำเลียงในการเจริญเติบโตที่เกิดขึ้นเนื่องจากธรรมชาติของข้อบ่งชี้ที่กำหนดจากอัตราการเจริญเติบโตในแหล่ง เชื้อจุลินทรีย์แต่ดูเหมือนว่าการศึกษานี้ส่วนใหญ่มีใช้แค่แหล่ง ราชูคาร์บอนและพลังงานเป็นข้อบ่งชี้ที่กำหนดจากอัตราการเจริญเติบโต ผลกระทบบางอย่างที่รวมเกี่ยวกับการลำเลียงในการหมักแบบเก็บกักอาจถูกกระตุ้นจากการสูงขึ้นของอัตราความเร็วในการเจริญเติบโตในการหมักแบบคงที่ทางเคมี.