บทที่ 2

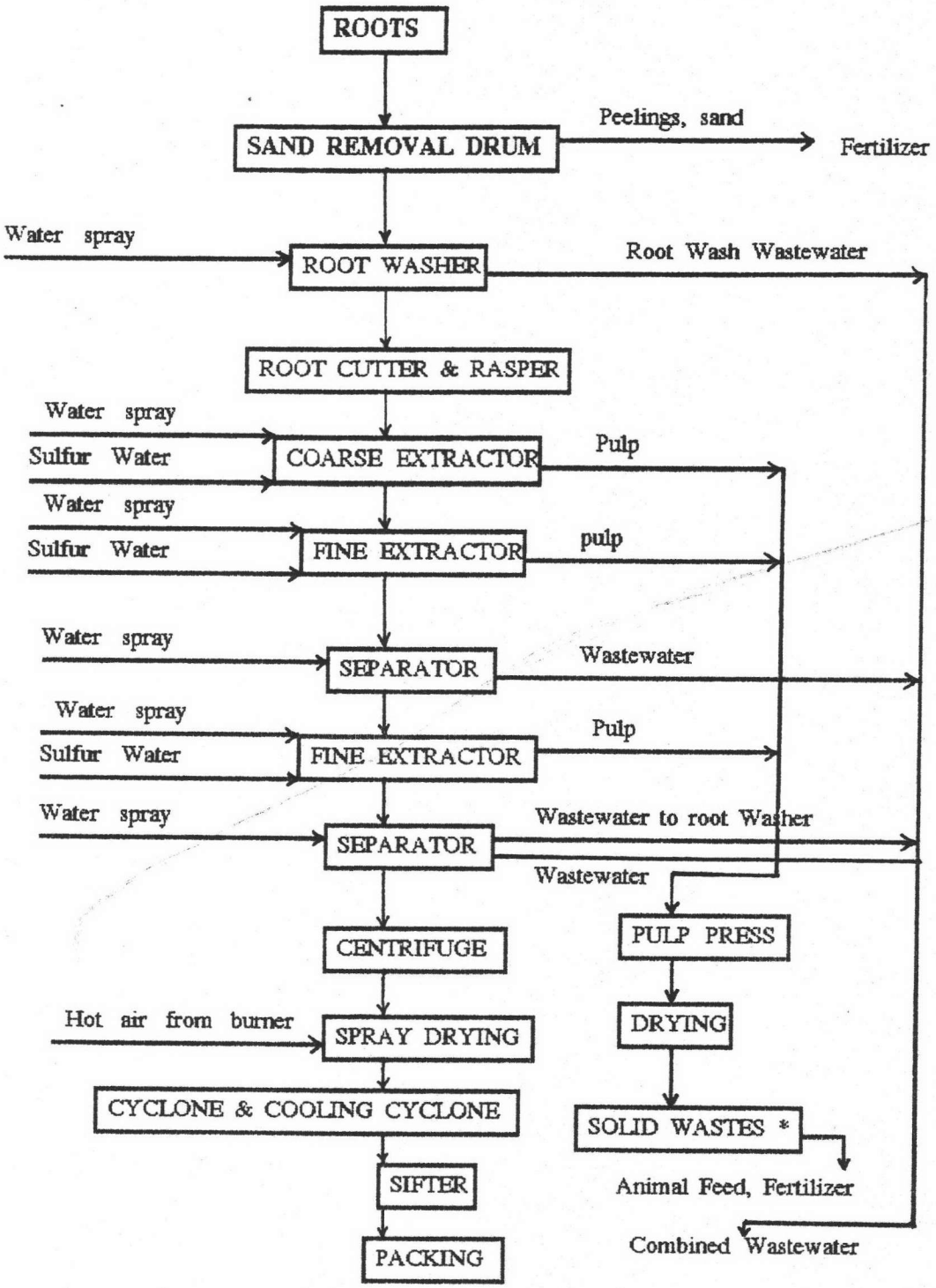
วารสารปริทัศน์

ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับมันสำปะหลังและการผลิตแป้งมันสำปะหลัง

มันสำปะหลังเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย และมีบทบาทต่อเศรษฐกิจและสังคมไทยเป็นอย่างมาก มันสำปะหลังโดยทั่วไปมี 2 ชนิด คือ ชนิดหวานและชนิดขม (สุรินทร์ เศรษฐมานิต, 2525) ชนิดหวานใช้เพื่อนำมาบริโภคโดยตรง ส่วนมันสำปะหลังชนิดขมจะถูกนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ได้แก่ มันเส้น มันอัดเม็ด แป้งมัน กากมัน แป้งสาคู และเม็ดสาคู กรรมวิธีการผลิตแป้งมันสำปะหลังมี 2 วิธี คือ กรรมวิธีการผลิตแป้งมันสำปะหลังแบบสลัดแห้งหรือแป้งมันสำปะหลังเกรดหนึ่ง (first grade tapioca starch) และกรรมวิธีการผลิตแป้งมันสำปะหลังแบบอังไฟหรือแป้งมันสำปะหลังเกรดสอง (second grade tapioca starch)

1. กรรมวิธีการผลิตแป้งมันสำปะหลังแบบสลัดแห้งหรือแป้งมันสำปะหลังเกรดหนึ่ง (first grade tapioca starch)

กรรมวิธีการผลิตแสดงดังภาพที่ 1 มีขั้นตอนดังนี้ หัวมันจะถูกส่งเข้าสู่ตะแกรงร่อนทราย (sand removal drum) เพื่อกำจัดดินและทรายที่ติดมากับหัวมัน และลอกผิวออก ซึ่งดิน ทราย และผิวมันที่แยกออกมาได้นี้จะนำไปใช้ทำปุ๋ยอินทรีย์ ต่อจากนั้นหัวมันที่ปอกเปลือกแล้วจะถูกส่งไปยังเครื่องล้างหัวมัน (root washer) ทำความสะอาดโดยใช้น้ำฉีดหัวมันที่ล้างเรียบร้อยแล้วจะส่งต่อไปยังเครื่องหั่น หั่นหัวมันเป็นชิ้นเล็ก ๆ ขนาดประมาณ 1-2 นิ้วและผ่านเข้าสู่เครื่องขูดหัวมัน (root rasper) ทำให้ได้มันสำปะหลังชิ้นละเอียด หลังจากนั้นจะเข้าสู่เครื่องแยกหยาบ (coarse extractor) แยกเอากากมันสำปะหลังออกจากน้ำแป้ง กากที่ได้จะนำเข้าเครื่องอัดกาก และนำไปตากแห้ง ได้เป็นกากมันสำปะหลังชนิดแห้ง และขายเพื่อเป็นอาหารสัตว์ต่อไป ส่วนน้ำแป้งที่ถูกแยกออกจากกากมันจะถูกส่งไปยังเครื่องแยกละเอียด (fine extractor) และเครื่องแยก (separators) เพื่อแยกกากมันออกให้หมด และ



รูปที่ 1 กรรมวิธีการผลิตแป้งมันสำปะหลังแบบสลัดแห้งหรือแป้งมันสำปะหลังเกรดหนึ่ง (first grade tapioca starch)

หมายเหตุ * = กากมันสำปะหลัง

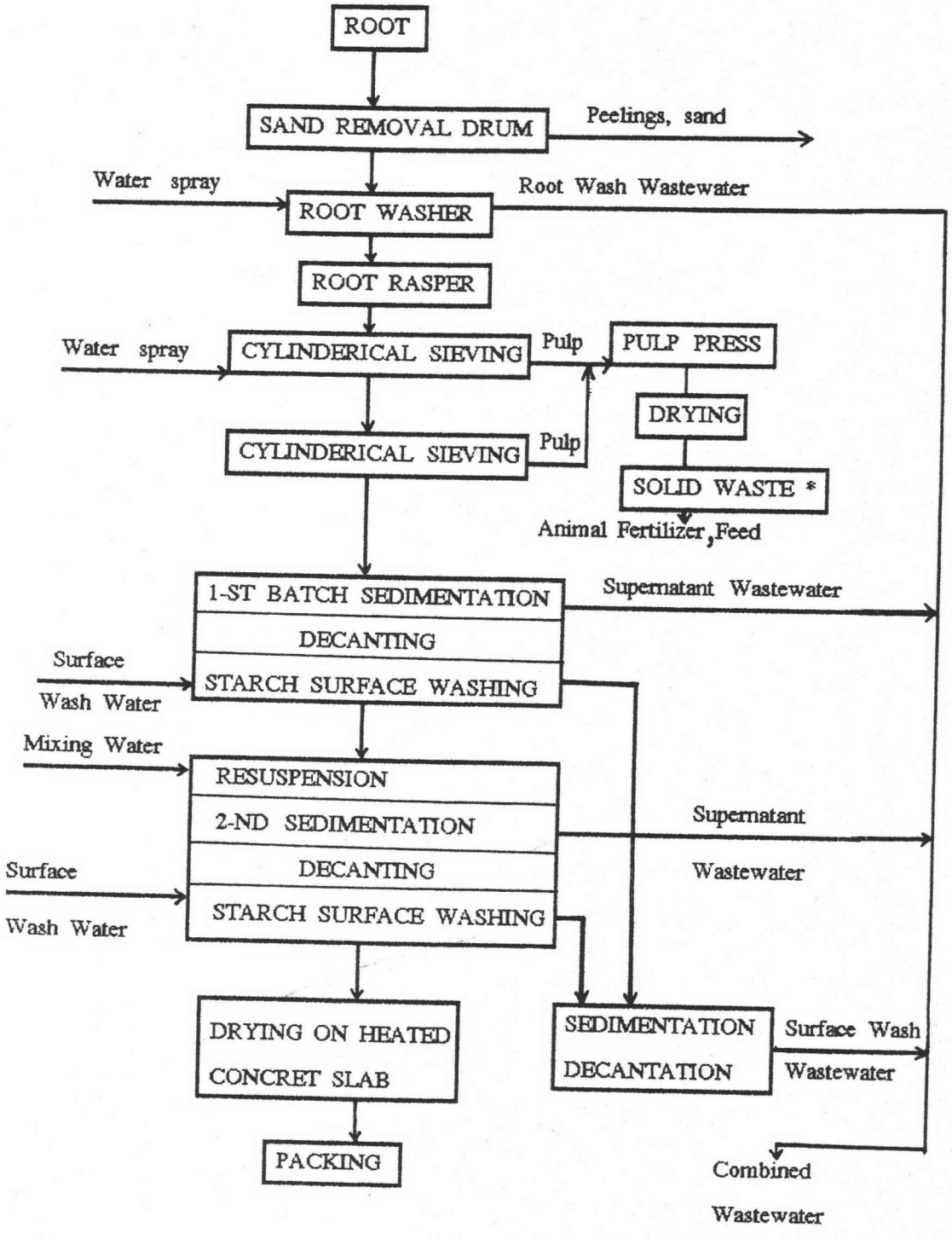
ที่มา : สุรินทร์ เศรษฐมานิต (2525)

ทำให้น้ำแป้งข้นขึ้น น้ำแป้งข้นจะถูกส่งเข้าเครื่องเหวี่ยงเพื่อแยกน้ำออก น้ำที่ถูกแยกออกนี้ยังมีแป้งหลงเหลืออยู่จะถูกนำกลับเข้าสู่เครื่องแยกละเอียดหน่วยแรกใหม่ แป้งที่แยกเอาน้ำออกแล้วจะถูกพ่นเข้าสู่ท่อไอร้อน มีลมร้อนจากเตาเผาอุณหภูมิประมาณ 200 องศาเซลเซียส เป่าเข้ามาด้วยความดันสูง ลมจะพัดเอาแป้งขึ้นไปตามปล่องและตกลงสู่ไซโคลน (cyclone) และทำให้เย็นโดยใช้ไซโคลนเย็น (cooling cyclone) แป้งที่ได้จะส่งเข้าสู่เครื่องร่อนแป้ง (sifter) และทำการบรรจุต่อไป

2. <u>กรรมวิธีการผลิตแป้งมันสำปะหลังแบบอังไฟหรือแป้งมันสำปะหลังเกรดสอง (second grade tapioca starch)</u>

กรรมวิธีการผลิตแสดงดังภาพที่ 2 มีวิธีคล้ายคลึงกับการผลิตแป้งมันสำปะหลังแบบสลัดแห้ง หลังจากได้มันสำปะหลังที่ขูดเป็นชิ้นละเอียดแล้ว มันสำปะหลังนี้จะถูกส่งไปยังตะแกรงร่อนรูปทรงกระบอก มีการหมุนและฉีดพ่นน้ำตลอดเวลา เพื่อชะแป้งให้หลุดออกจากชิ้นมันละเอียด แป้งมันจะแยกตัวจากกากมันเป็นน้ำแป้งไหลลงสู่ถังด้านล่าง ส่วนกากมันจะถูกนำไปเข้าเครื่องอัด และทำแห้ง ได้เป็นกากมันสำปะหลังแห้ง น้ำแป้งที่ได้ถูกส่งไปรวมกันในบ่อแป้ง ทิ้งไว้ประมาณ 24 ชั่วโมงเพื่อให้แป้งตกตะกอน ปล่อยน้ำใสทิ้ง ส่วนชั้นระหว่างน้ำใสกับแป้งจะมีแป้งหลงเหลืออยู่บ้าง ซึ่งเรียกว่า ชั้นขี้แป้ง ขี้แป้งนี้จะปล่อยไปยังบ่อขี้แป้ง เมื่อทิ้งไว้นาน ๆ ก็จะนำกลับมาแยกเอาน้ำแป้งอีกครั้ง หลังจากปล่อยน้ำใสและน้ำขี้แป้งออกไปแล้ว จะมีการล้างทำความสะอาดผิวแป้ง จากนั้นจะมีการเติมน้ำลงไปเล็กน้อย และใช้ไม้รูปทรงกระบอกลงไปตีแป้งให้กลายเป็นน้ำแป้งอีก น้ำแป้งจากหลาย ๆ บ่อจะสูบมารวมกันเพื่อให้ตกตะกอนใหม่ ทิ้งไว้อีก 24 ชั่วโมง ทำการระบายน้ำใสทิ้ง ส่วนน้ำขี้แป้งถูกสูบไปรวมไว้ยังบ่อขี้แป้ง แป้งที่ตกตะกอนในบ่อแป้งจะมีการล้างทำความสะอาดผิวหน้าแป้งอยู่เสมอจนแป้งแข็งได้ที่ จึงนำไปเกลี่ยลงบนพื้นคอนกรีต มีไฟคอยสุมให้ความร้อนอยู่ด้านล่าง น้ำแป้งที่ถูกความร้อนจะระเหยน้ำออกจนได้แป้งที่แห้ง แป้งแห้งจะมีขนาดเท่าเมล็ดข้าว จึงต้องนำไปบดให้ละเอียดก่อนการบรรจุ

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 2 กรรมวิธีการผลิตแป้งมันสำปะหลังแบบอังไฟหรือแป้งมันสำปะหลังเกรดสอง (second grade tapioca starch)

หมายเหตุ * = กากมันสำปะหลัง

ที่มา : สุรินทร์ เศรษฐมานิต (2525)

กากมันสำปะหลัง

กากมันสำปะหลังเป็นผลพลอยได้จากการผลิตแป้งมันสำปะหลัง 2 วิธี คือ กรรมวิธีการผลิตแป้งมันสำปะหลังเกรดหนึ่ง (สลัดแห้ง) และกรรมวิธีการผลิตแป้งมันสำปะหลังเกรดสอง (อังไฟ) องค์ประกอบส่วนใหญ่ของกากมันสำปะหลังเป็นพวกคาร์โบไฮเดรต มีโปรตีนอยู่ในปริมาณต่ำ และพบว่าสถานที่เพาะปลูกมีผลต่อปริมาณองค์ประกอบต่าง ๆ

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีบางชนิดของกากมันสำปะหลัง

การวิเคราะห์	ปริมาณ
แป้ง	59.77 เปอร์เซ็นต์
ไนโตรเจน	0.29 เปอร์เซ็นต์
ความชื้น	9.25 เปอร์เซ็นต์
Fe^{++}	155 มิลลิกรัม / กิโลกรัม
Mn^{++}	4 มิลลิกรัม / กิโลกรัม
Mg^{++}	1,100 มิลลิกรัม / กิโลกรัม
Cu^{++}	4 มิลลิกรัม / กิโลกรัม
Zn^{++}	21 มิลลิกรัม / กิโลกรัม

ที่มา : จิราภรณ์ โล่ห์วงศ์วัฒน (2525)

ตารางที่ 2 องค์ประกอบของกากมันสำปะหลังที่เก็บในช่วงเดือน กรกฎาคม-สิงหาคม

สถานที่เก็บ c205 ตัวอย่าง	เปอร์เซ็นต์เฉลี่ย					
	ความชื้น	โปรตีน	ไขมัน	คาร์โบไฮเดรต	ไฟเบอร์	เถ้า
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ	.99-12.67	1.46-2.3	0.16-0.43	50.93-70.50	12.15-21.11	2. 9-15.91
ภาคตะวันออก	7.44-11.0	1.77- 2.53	0.27-0.52	4 .72-70.07	12.56-24.13	7.29-17.51

ที่มา : สาวิตร ตระกูลน่าเลื่อมใส (2530)

ตารางที่ 1 และ 2 แสดงผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของกากมันสำปะหลัง จากตารางจะเห็นว่า องค์ประกอบส่วนใหญ่ของกากมันสำปะหลังเป็นพวกคาร์โบไฮเดรต มีโปรตีนอยู่ในปริมาณที่ต่ำ จึงมักขายในราคาที่ถูกเพื่อนำไปผสมในอาหารสัตว์ โดยใช้เป็นแหล่งของพลังงาน ได้มีการศึกษาและวิจัยเพื่อนำกากมันสำปะหลังมาใช้ประโยชน์ให้มากที่สุด โดยการเพิ่มคุณค่าและราคาให้กับกากมันสำปะหลัง เช่น การผลิตกรดมะนาวในระดับอุตสาหกรรมในไต้หวันและไทยโดยใช้กากมันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบ ซึ่งทำการผลิตแบบการหมักแบบแห้ง (อัจฉริยา จารุจินดา, 2529) สาวิตร ตระกูลน่าเลื่อมใส (2530) นำกากมันสำปะหลังมาใช้เลี้ยงเชื้อ Rhodopseudomonas gelatinosa เพื่อเป็นอาหารปลา และเพิ่มประสิทธิภาพการเลี้ยงปลาและคุณค่าทางโภชนาการโดยการเลี้ยงผสมกับเชื้อ Rhodopseudomonas sphaeroids P47 เซลของแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสองชนิดนี้มี โปรตีน กรดอะมิโน ตลอดจนวิตามินและรงควัตถุในปริมาณสูง และไม่ปรากฏความเป็นพิษในสัตว์เลี้ยง จึงเหมาะที่จะนำมาใช้เป็นแหล่งอาหารเสริมโปรตีน หรือคุณค่าทางโภชนาการอื่น ๆ แก่สัตว์ได้ นอกจากนี้การนำกากมันสำปะหลัง

มาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตกลูโคส ก็เป็นวิธีที่น่าสนใจวิธีหนึ่ง เนื่องจากในกากมันสำปะหลังมีแป้งเป็นองค์ประกอบจำนวนมาก

แป้ง (Starch)

แป้งเป็นคาร์โบไฮเดรตชนิดหนึ่งซึ่งเป็นอาหารที่ให้พลังงาน ได้จากธรรมชาติโดยการสังเคราะห์แสงของพืช มีสูตรโมเลกุล $(C_6H_{10}O_5)_n$ แป้งที่ได้จากพืชต่างชนิดกันจะมีลักษณะของเม็ดแป้งต่างกัน ซึ่งตรวจดูได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์ ลักษณะเฉพาะของเม็ดแป้งนี้ใช้เป็นตัวบ่งชี้ชนิดของแป้งได้ โดยทั่วไปมักพบแป้งในราก ลำต้น และเมล็ดของพืช

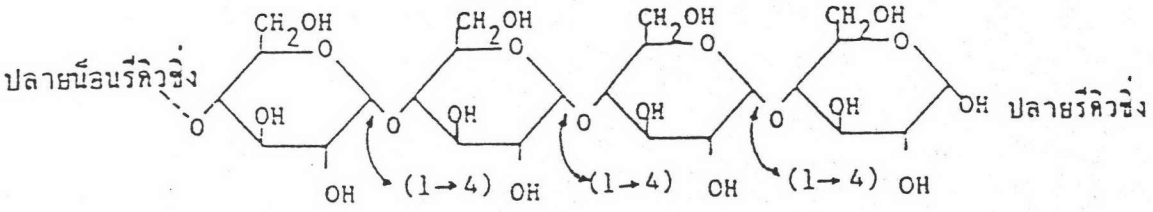
แป้งเป็นโพลีแซคคาไรด์ที่ประกอบด้วยกลูโคสต่อกันเป็นสายโซ่ยาว โดยปฏิกิริยาคอนเดนเซชัน (condensation polymerization) ปฏิกิริยาการรวมตัวของกลูโคส 2 โมเลกุล จะสูญเสียน้ำ 1 โมเลกุล (Dziedzic and Kearsley, 1984) ในโมเลกุลของแป้งประกอบด้วยโครงสร้างที่แตกต่างกัน 2 ชนิด คือ อะไมโลสและอะไมโลเพคติน

อะไมโลส (Amylose)

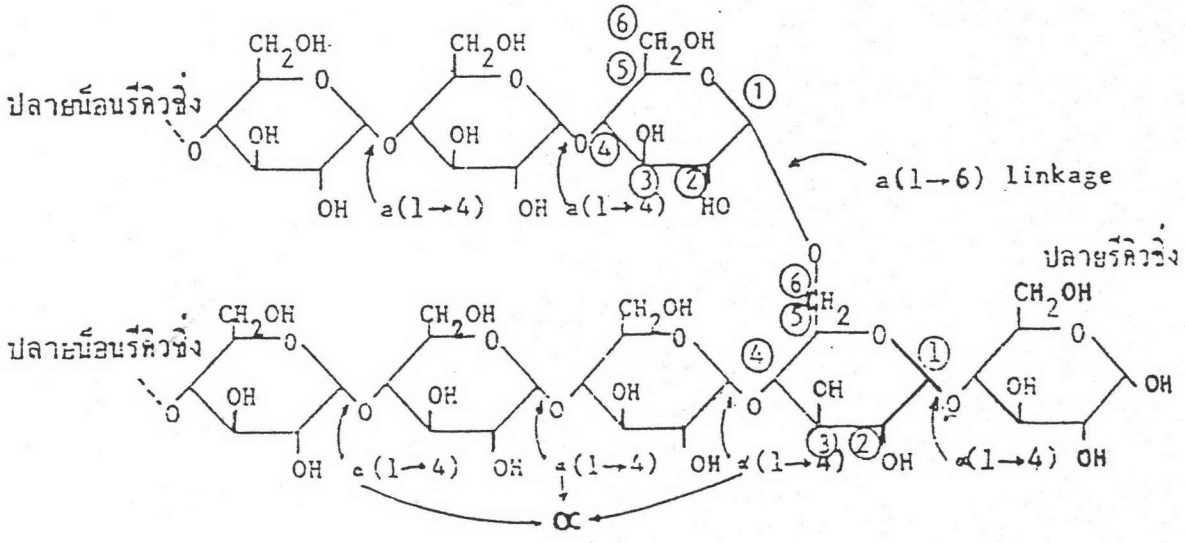
อะไมโลสประกอบด้วยดีกลูโคสประมาณ 100-1,000 หน่วย ยึดต่อกันด้วยพันธะ α(1-4) glycosidic linkage เป็นสายโซ่ยาว (linear chain) ไม่มีกิ่งก้าน โดยทั่วไปแป้งมันสำปะหลังประกอบด้วยอะไมโลสประมาณ 18 เปอร์เซ็นต์ อะไมโลสเป็นส่วนที่ละลายน้ำได้ เมื่อทำปฏิกิริยากับสารละลายไอโอดีนจะให้สีน้ำเงินเข้ม (intense blue) โครงสร้างของอะไมโลสแสดงดังรูปที่ 3 (Dziedzic and Kearsley, 1984)

อะไมโลเพคติน (Amylopectin)

อะไมโลเพคตินประกอบด้วยดีกลูโคสต่อกันเป็นสายโซ่ยาวด้วยพันธะ α(1-4) glycosidic linkage และดีกลูโคสที่มีแขนงแยกออกทุก ๆ 20-30 หน่วย ตรงจุดแยกกลูโคสจะต่อกันด้วยพันธะ α(1-6) glycosidic linkage อะไมโลเพคตินเป็นส่วนที่ไม่ละลายน้ำ โดยทั่วไปแป้งมันสำปะหลังประกอบด้วยอะไมโลเพคตินประมาณ 82 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยอย่างน้อยที่สุดประมาณ 1,000,000 และเมื่อทำปฏิกิริยากับสารละลายไอโอดีนจะให้สีม่วงแดง (violet red) โครงสร้างของอะไมโลเพคตินแสดงดังรูปที่ 4



รูปที่ 3 โครงสร้างของอะไมโลส

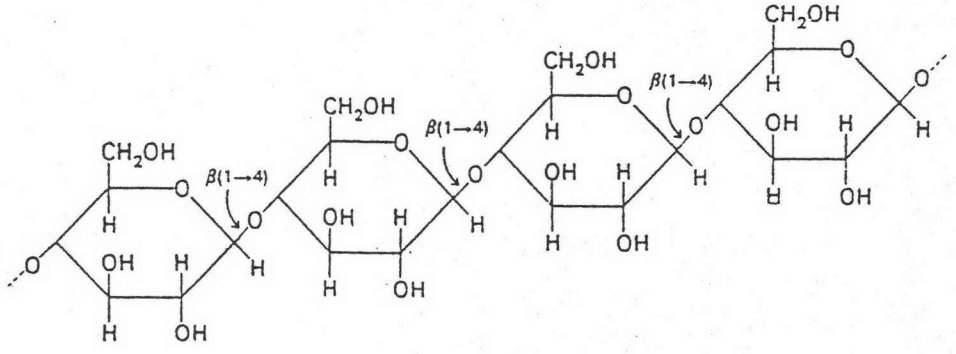


รูปที่ 4 โครงสร้างของอะไมโลเพคติน

เนื่องจากแป้งประกอบด้วยอะไมโลสและอะไมโลเพคติน ซึ่งมีคุณสมบัติแตกต่างกัน ดังนั้นคุณสมบัติของแป้งจึงขึ้นอยู่กับอัตราส่วนเชิงโมลของอะไมโลสและอะไมโลเพคติน

เซลลูโลส

เซลลูโลสเป็นโพลีแซคคาไรด์ ซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญของผนังเซลพืช ประกอบขึ้นจาก D-glucose ต่อกันแบบเส้นตรง เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ β (1-4) glycosidic linkage โดยจะมี D-glucopyranase ต่อกันอยู่ตั้งแต่ 300 - 15,000 หน่วย



รูปที่ 5 โครงสร้างของเซลลูโลส

เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยแป้ง

เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลได้แก่พวกเอนไซม์อะไมเลส ซึ่งเป็น extracellular enzyme พบทั้งในสัตว์ เซลพืช และจากการสร้างของจุลินทรีย์ (Adam, 1953; Underkofler, 1954)

เอนไซม์อะไมเลสสามารถแบ่งตามตำแหน่งการย่อยแป้งได้เป็น 2 ประเภท คือ

1. Endoamylase

ย่อยแป้งแบบสุ่มที่ตำแหน่ง α(1-4) ทำให้ได้น้ำตาลรีดิวซ์และเดกตริน เอนไซม์ประเภทนี้ คือ แอลฟาอะไมเลส หรือ amylo (1-4) dextrinase มีชื่อทางเคมีว่า 1,4- α-D-glucan glucanohydrolase (EC 3.2.1.1)

2. Exoamylase

ย่อยแป้งจากปลายนอนรีดิวซ์เข้าไป เอนไซม์ประเภทนี้ได้แก่ บีตาอะไมเลส และกลูโคอะไมเลส

2.1 บีตาอะไมเลส หรือ amylo (1-4) maltosidase หรือ 1,4- α-D- glucan

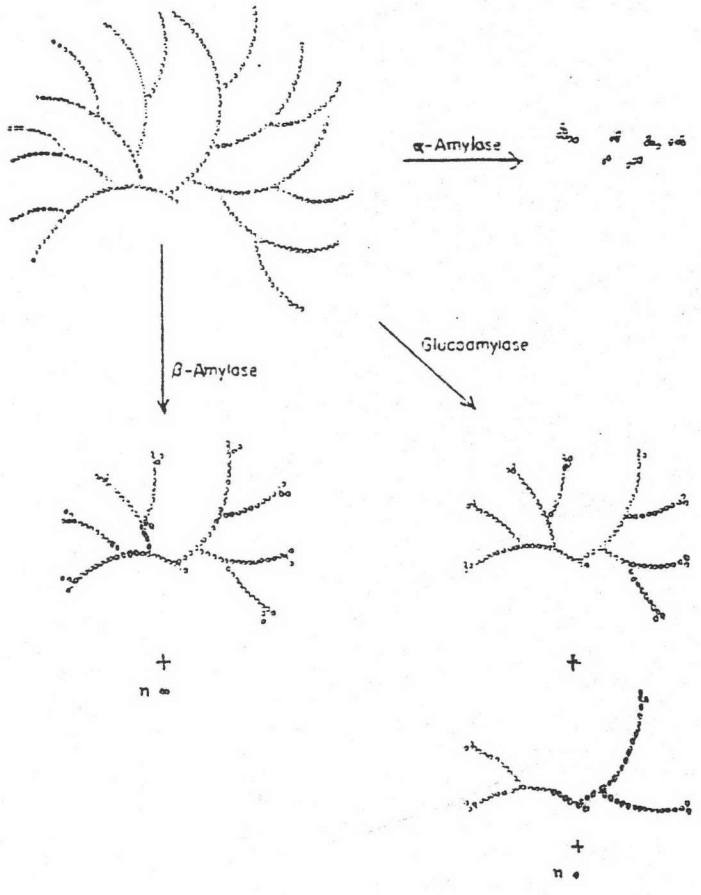
maltohydrolase (EC 3.2.1.2) จะย่อยแป้งที่ตำแหน่ง α(1-4) glycosidic linkage เข้าไปทีละ 2 หน่วยของกลูโคส แต่ไม่สามารถย่อยสลายพันธะที่ต่อแบบ α- D(1-6) ได้ ดั้งนั้นผลที่ได้นอกจากน้ำตาลมอลโตสแล้วจะมีพวกลิมิตเดกตรินที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงปนอยู่ด้วย เอนไซม์ชนิดนี้พบมากในพืชชั้นสูง เช่น ธัญพืช และมันเทศ

2.2 กลูโคอะไมเลส หรือ แกมมาอะไมเลส หรือ amylo (1-4,1-6) glucosidase หรือ 1,4 -α-D-glucan glucohydolase (EC 3.2.1.3) สามารถย่อยแป้งได้อย่างสมบูรณ์จากปลายนอนรีดิวซ์ ที่ตำแหน่ง α(1-4), α(1-3) และ α(1-6) เข้าไปทีละหน่วย ถ้าผลการย่อยสมบูรณ์จะได้กลูโคสเพียงอย่างเดียว

เอนไซม์กลูโคอะไมเลส แบ่งเป็น 2 ชนิดใหญ่ ๆ คือ (Yashino and Hayashida, 1978)

1. ชนิดที่สามารถย่อยแป้งดิบได้ (raw starch digestive) หรือ GA-I
2. ชนิดที่ไม่สามารถย่อยแป้งดิบได้ (raw starch indigestive) หรือ GA-I' และ GA-II

GA-I เป็นเอนไซม์ที่สำคัญในการย่อยแป้งดิบให้เป็นน้ำตาล เอนไซม์นี้จะถูกเปลี่ยนเป็น GA-I' และ GA-II ได้เมื่อถูกย่อยด้วยเอนไซม์โปรติเอส และ α-manosidase (Hayashida and Yoshino, 1978) ซึ่งทำให้ไม่สามารถย่อยแป้งดิบได้



รูปที่ 6 ผลผลิตที่ได้จากการย่อยสลายแป้งด้วยเอนไซม์อะไมเลสทั้ง 3 ชนิด

แหล่งของเอนไซม์อะไมเลส

เอนไซม์อะไมเลสจะพบอยู่ทั่วไปในสิ่งมีชีวิต ทั้งนี้เพราะเป็นเอนไซม์ที่มีความสำคัญต่อการใช้ประโยชน์จากแป้ง ซึ่งเป็นอาหารสำคัญอย่างหนึ่งของสิ่งมีชีวิต แต่ปริมาณเอนไซม์ที่พบนั้นจะแตกต่างกันไปตามชนิดของอวัยวะและชนิดของสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ ในพืชพบในเมล็ดข้าวที่กำลังงอก ในสัตว์พบในน้ำลายและตับอ่อน ในปัจจุบันไม่ค่อยนิยมใช้เอนไซม์ที่ผลิตจากพืชและสัตว์โดยตรง เพราะต้องใช้วัตถุดิบจำนวนมากและต้นทุนการผลิตค่อนข้างสูง จึงหันมาสนใจเอนไซม์ที่ผลิตจากจุลินทรีย์เพราะเป็นแหล่งเอนไซม์ที่มีปริมาณไม่จำกัด (วราวุฒิ ครูส่ง, 2528) นอกจากนี้พืชและสัตว์มีการเจริญเติบโตเป็นไปอย่างช้ามาก ระยะเวลาของการขยายพันธุ์นาน

ต้องใช้พื้นที่ในการปลูกหรือเลี้ยงมาก ความสามารถในการใช้อาหารไม่กว้างนัก คุณภาพและปริมาณของเอนไซม์อาจเปลี่ยนตามฤดูกาลและสภาพแวดล้อม แต่ในทางตรงกันข้ามจุลินทรีย์สามารถใช้วัตถุดิบเป็นอาหารได้อย่างกว้างขวาง ต้องการพื้นที่ในการผลิตน้อย ผลิตเอนไซม์ได้ครั้งละมาก ๆ ในระยะเวลาสั้น และสามารถเพิ่มความสามารถของจุลินทรีย์ในการสร้างเอนไซม์ให้มีคุณภาพดีขึ้นโดยการทำให้เกิดการกลายพันธุ์ (mutation) แล้วคัดเลือกสายพันธุ์ที่ดีที่สุดมาใช้ แต่อย่างไรก็ตามขั้นตอนการผลิตและวิธีการเก็บเกี่ยวเอนไซม์มีขั้นตอนที่ยุ่งยากทำให้เอนไซม์มีราคาแพง ดังนั้นการนำเอนไซม์มาใช้จึงควรใช้ให้คุ้มค่ามากที่สุด

<u>เอนไซม์เซลลูเลส</u> (Cellulase) (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2535)

สับสเตรทของเซลลูเลส คือ เซลลูโลส ซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรตที่มีมากที่สุดในธรรมชาติชนิดหนึ่ง สังเคราะห์ได้จาก UDP- หรือ GDP-glucose (=donor) และ [O-β-D-glucopyranosyl-(1->4)]$_n$ (=acceptor) ได้โพลีเมอร์ของกลูโคสในลักษณะ β-configuration คือ β-1,4 เป็นโพลีเมอร์ที่ละลายน้ำได้น้อยมาก ดังนั้นปฏิกิริยาจึงช้า (inert) ต่อพวกไฮโดรเลส หรือ hydrolytic enzyme เอนไซม์ที่ย่อยสลายเซลลูโลสและอนุพันธ์ของเซลลูโลส คือ เซลลูเลส โดยทั่วไปเป็นเอนไซม์ผสมประกอบด้วยเอนไซม์หลายชนิดทำงานร่วมกันคือ

1. เอนไซม์ C_1 หรือเรียก hydrogen bondase ทำหน้าที่กระตุ้นหรือแตกสลายเซลลูโลสให้มีสภาพที่เหมาะสม คือ ทำให้พันธะไฮโดรเจนอ่อนลง (weakening) สำหรับเป็นสับสเตรทของเซลลูเลสลำดับต่อไป คือ เอนไซม์ C_x, กลูคาเนส ทั้งนี้พบว่าไม่มีหลักฐานการย่อยสลายพันธะไกลโคซิล

2. เอนไซม์ C_x หรือ β-1,4 glucanases

เป็นเซลลูเลสที่ย่อยสลายพันธะในเซลลูโลส หรืออนุพันธ์ของเซลลูโลสที่ละลายน้ำได้ แต่ไม่สามารถย่อยสลายสับสเตรทที่มีโครงสร้างซับซ้อนได้ กล่าวคือ สามารถย่อยสลายพันธะ β-1,4 ของสับสเตรทสังเคราะห์ เช่น คาร์บอกซีเมธิลเซลลูโลส (CMC) หรือไฮดรอกซีเอธิลเซลลูโลส แบ่งเอนไซม์ในกลุ่มนี้เป็น 2 ชนิด คือ

2.1 Endo-β-1,4 glucanases ย่อยสลายสายโพลีเมอร์ภายในสายอย่างอิสระ ได้ผลผลิตเป็นโอลิโกเมอร์และกลูโคส

2.2 Exo-β-1,4 glucanases ย่อยสลายสายโพลีเมอร์จากปลายสายด้านไม่มีหมู่รีดิวซ์ไปอย่างมีระเบียบและมีการเปลี่ยน configuration ของผลผลิต คือ เปลี่ยน β - เป็น α - configuration ได้ผลผลิตเป็น cellobiose และกลูโคส

3. β-Glucosidases คล้าย exo-β-1,4 glucanases คือมี common substrates เป็น cellobiose ถึง cellohexose (กลูโคส จาก 2-6 units) แต่อัตราการย่อยสลายแตกต่างกัน คือ อัตราเร็วจะลดลงเมื่อความยาวสายโพลีเมอร์เพิ่มขึ้น และผลผลิตที่ได้คือ กลูโคส ซึ่งมี configuration เปลี่ยนจากเดิม

<u>สมบัติทั่วไปของเซลลูเลส</u>

1. มีมวลโมเลกุลโดยเฉลี่ย 63,000 (homogeneous <u>Myrothecium verrucaria</u> cellulases)

2. pH optimum ที่ 5.5-6.0

3. เสถียรที่ 100 องศาเซลเซียส 5 นาที pH 7.0

4. ถูกยับยั้งด้วยอิออนของโลหะหนัก, -SH reagents, oxidizing-reducing agents และโดยผลผลิต คือ กลูโคส

5. วัดแอคติวิตีจากการวัดหมู่รีดิวซ์ที่เกิด นิยมใช้สับสเตรทที่ละลายน้ำได้ดี คือ สับสเตรทสังเคราะห์ เช่น คาร์บอกซีเมธิลเซลลูโลส

<u>จลนศาสตร์ของเอนไซม์</u> (Enzyme kinetic)

Michaelis และ Menten ได้เสนอกลไกของปฏิกิริยาที่มีเอนไซม์เป็นตัวเร่งดังสมการ

$$E + S \underset{k_2}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} ES \underset{k_4}{\overset{k_3}{\rightleftharpoons}} E + P \quad \text{.....(1)}$$

ES คือ Enzyme-substrate complex เกิดจากการรวมตัวของเอนไซม์ (E) และสับสเตรท (S)

อัตราเร็วในการเกิด ES หรือ $\frac{d[ES]}{dt} = k_1[E][S]$; k_4 มีค่าน้อยมาก

อัตราเร็วในการสลายตัวของ ES หรือ $-\frac{d[ES]}{dt} = (k_2+k_3)[ES]$

ที่ภาวะคงที่ (steady state) ความเข้มข้นของ ES จะเปลี่ยนแปลงไปด้วยอัตราช้ามาก เมื่อเทียบกับอัตราการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของ S และ P หมายความว่าอัตราเร็วในการเกิด ES เท่ากับอัตราเร็วในการสลายตัวของ ES

$$k_1[E][S] = (k_2+k_3)[ES] \quad \text{.....(2)}$$

สมมติ $[E_0]$ เป็นความเข้มข้นทั้งหมดของเอนไซม์

$$[E_0] = [E] + [ES]$$

$$[E] = [E_0] - [ES] \quad \text{.....(3)}$$

แทนค่า (3) ใน (2)

$$k_1[E_0][S] - k_1[ES][S] = (k_1+k_3)[ES]$$

$$k_1[E_0][S] = [ES](k_2+k_3+k_1[S])$$

$$[ES] = \frac{k1[E_0][S]}{(k_2+k_3) + k_1[S]} \quad \text{.....(4)}$$

เมื่อ $\frac{k_2+k_3}{k_1} = Km$ หรือค่าคงที่ Michaelis-Menten

$$[ES] = \frac{[E_0][S]}{Km + [S]} \quad \text{.....(5)}$$

อัตราเร็วของปฏิกิริยา (V) จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับ ES

$$V = \frac{d[P]}{dt} = k_3[ES]$$

$$[ES] = \frac{V}{k_3} \quad \text{.....(6)}$$

แทน (6) ใน (5)

$$V = \frac{k_3[E_0][S]}{Km + [S]}$$

$$V = \frac{Vmax\,[S]}{Km + [S]} \quad \text{.....(7)}$$

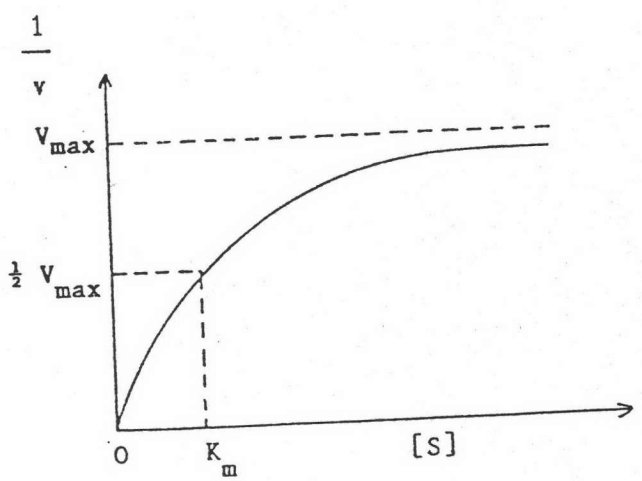
โดยที่ $Vmax = k_3[E_0]$

สมการ (7) คือ สมการของ Michaelis-Menten ค่า Km เรียกว่าค่าคงที่ Michaelis-Menten เมื่อเขียนกราฟระหว่าง V กับ [S] จะมีลักษณะ hyperbola ดังแสดงในรูปที่ 7 ค่า Vmax เป็นอัตราเร็วสูงสุดของปฏิกิริยาเมื่อความเข้มข้นของสับสเตรทมีค่าสูง ([S]>>Km) จนเอนไซม์ทั้งหมดอยู่ในรูป ES Km มีค่าเท่ากับความเข้มข้นของสับสเตรท เมื่อ V = Vmax/2

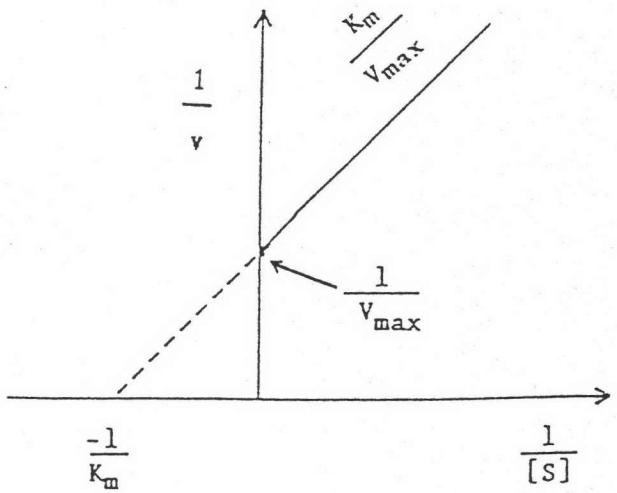
สมการ (7) เมื่อกลับเศษเป็นส่วนจะได้สมการของ Lineweaver Burk

$$\frac{1}{V} = \frac{Km \cdot 1}{Vmax \quad [S]} + \frac{1}{Vmax} \qquad \text{.....(8)}$$

ค่า Km และ Vmax หาได้จากการเขียนกราฟระหว่าง 1/V กับ 1/[S] ดังแสดงในรูปที่ 8



รูปที่ 7 Substrate Saturation curve



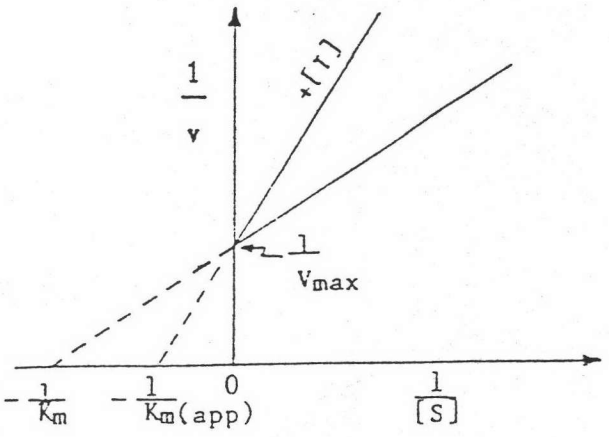
รูปที่ 8 Lineweaver-Burk plot

ตัวยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (Inhibitor)

ตัวยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เป็นสารที่ไปลดแอคติวิตีของเอนไซม์หรือทำให้เอนไซม์หยุดทำงาน การยับยั้งแบ่งออกเป็น

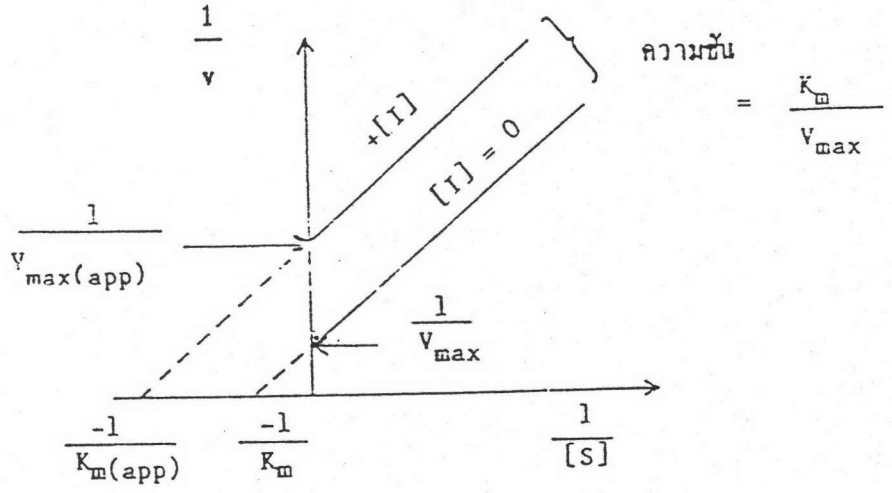
1. การยับยั้งแบบผันกลับได้ (reversible inhibitor) ตัวยับยั้งสามารถจับกับ E หรือ ES ในปฏิกิริยาที่ผันกลับได้เช่นเดียวกับที่สับสเตรทจับกับเอนไซม์ เมื่อแยกตัวยับยั้งชนิดนี้ออกไป เอนไซม์จะกลับมามีประสิทธิภาพดังเดิม การยับยั้งแบบผันกลับได้แบ่งออกเป็น 3 ชนิด คือ

1.1 Competitive inhibition ตัวยับยั้งสามารถแข่งขันกับสับสเตรทในการจับเอนไซม์อิสระและทำให้เอนไซม์อิสระหมดประสิทธิภาพที่จะจับกับสับสเตรทได้ และเอนไซม์ที่มีสับสเตรทจับอยู่แล้วก็ไม่สามารถจับกับตัวยับยั้งนี้ได้ เมื่อเกิดการยับยั้งแบบนี้ ค่า Km จะสูงขึ้น แต่ max คงเดิม แสดงดังรูปที่ 9



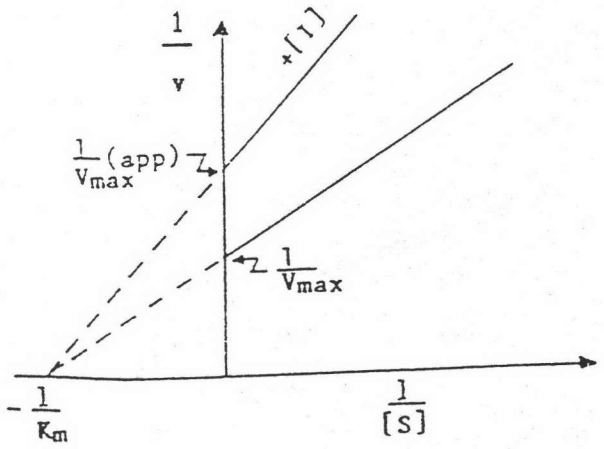
รูปที่ 9 การยับยั้งแบบ Competitive inhibition

1.2 Uncompetitive inhibition ตัวยับยั้งชนิดนี้ไม่จับกับเอนไซม์อิสระ แต่จะจับกับ ES กลายเป็น ESI และไม่สามารถทำปฏิกิริยาต่อไปได้หรือทำให้ปฏิกิริยาช้าลง การยับยั้งแบบนี้ทำให้ทั้งค่า Km และ Vmax ลดลง แสดงดังรูปที่ 10



รูปที่ 10 การยับยั้งแบบ Uncompetitive inhibition

1.3 Non-compettitive inhibition ตัวยับยั้งสามารถจับกับเอนไซม์อิสระ และ ES ทำให้ไม่สามารถทำปฏิกิริยาต่อไปได้ หรือทำให้ปฏิกิริยาช้าลง การยับยั้งแบบนี้มีผลทำให้ค่า Vmax ลดลง แต่ค่า Km คงที่ แสดงดังรูปที่ 11



รูปที่ 11 การยับยั้งแบบ Non-competitive inhibition

2. การยับยั้งแบบถาวร (Irreversible inhibition)

ตัวยับยั้งเอนไซม์ประเภทนี้จับกับโมเลกุลเอนไซม์ด้วยพันธะโควาเลนท์ (covalent bond) การแยกตัวยับยั้งออกจากเอนไซม์ทำได้ยากมาก ทำให้เอนไซม์หมดประสิทธิภาพไปอย่างถาวร

การผลิตกลูโคสจากแป้ง

การค้นพบการผลิตกลูโคส เริ่มต้นในปี ค.ศ.1811 โดยนาย Kirchhoff นักเคมีชาวเยอรมันได้นำแป้งผสมกับกรด H_2SO_4 แล้วนำไปให้ความร้อนจนเดือด พบว่าผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นมีรสหวาน และเมื่อเย็นลงสามารถตกผลึกได้ ต่อมาได้มีการนำกรดต่าง ๆ มาใช้ย่อยสลายแป้ง เช่น H_2CO_3, HCl, HNO_3 และพบว่า กรด HNO_3 สามารถย่อยสลายแป้งได้ดีกว่ากรด HCl หรือ H_2SO_4 แต่การย่อยสลายแป้งด้วยกรดอย่างเดียวจะมีปฏิกิริยาข้างเคียงเกิดขึ้นด้วย (กล้าณรงค์ ศรีรอต, 2521) การใช้กรดเพียงอย่างเดียวนั้น การย่อยพันธะระหว่างกลูโคส

จะเกิดขึ้นแบบสุ่ม (Langlois, 1953) ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีขนาดทั้งใหญ่กว่ากลูโคสและเล็กกว่ากลูโคสเกิดขึ้น เนื่องจากโมเลกุลของกลูโคสเกิดการแตกตัว กลายเป็น levulinic และ formic acid ทำให้สารละลายกลูโคสมีสีเหลืองหรือน้ำตาล (Dziedzic and Kearsley, 1984) นอกจากนี้ภายหลังการย่อยสลายด้วยกรดจะต้องทำให้เป็นกลางโดยใช้ด่าง ทำให้เกิดเกลือขึ้น ซึ่งเกลือของกรดต่าง ๆ เหล่านี้จะมีผลต่อรสของสารละลายกลูโคส จึงได้มีการพัฒนาการใช้เอนไซม์มาย่อยสลายแป้งแทนการใช้กรด ปัจจุบันการย่อยสลายด้วยกรดจึงไม่เป็นที่นิยมเนื่องจากเหตุผลต่าง ๆ ที่ได้กล่าวไว้ข้างต้น แต่อย่างไรก็ดีอุตสาหกรรมการผลิตแบะแซภายในประเทศยังมีการย่อยสลายแป้งโดยใช้กรดอยู่

การย่อยสลายแป้งโดยการใช้เอนไซม์เริ่มครั้งแรกในปี ค.ศ..1833 โดย Frenchmann และ Payen (Dziedzic and Kearsley, 1984) ได้นำ diastase จากข้าวบาร์เลย์ที่กำลังงอก (malt) มาช่วยในการผลิตน้ำเชื่อมมอลโตส ต่อมาพบว่า diastase เป็นเอนไซม์ผสมระหว่างแอลฟาอะไมเลสกับบีตาอะไมเลส ซึ่งเอนไซม์สองตัวนี้มีคุณสมบัติในการย่อยแตกต่างกัน โดยแอลฟาอะไมเลสจะย่อยพันธะ α(1-4)glycosidic linkage แบบสุ่ม ส่วนบีตาอะไมเลส จะย่อยแป้งจากปลาย non-reducing ที่ตำแหน่ง α(1-4)glycosidic linkage เข้าไปทีละ 2 หน่วยของกลูโคส ในปี ค.ศ. 1894 Takamine (Mc. Gregor, 1986) ได้ใช้เอนไซม์ผสมระหว่างแอลฟาอะไมเลสกับบีตาอะไมเลสจากเชื้อ Aspergillus oryzae ในการย่อยสลายแป้ง พบว่าได้มอลโตสความเข้มข้นสูงกว่าใช้กรด Hoa และคณะ (1943) รายงานว่ามีการใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลสเริ่มแรกประมาณปี ค.ศ.1938 โดยพบเอนไซม์กลูโคอะไมเลสจากการเลี้ยงเชื้อราในรำข้าว และพบว่าสามารถนำรำข้าวที่มีเชื้อราเจริญนี้ไปใช้แทนข้าวมอลท์ในการผลิตแอลกอฮอล์ได้ และในปี ค.ศ. 1941 ได้มีการผลิตโคจิโดยเลี้ยงเชื้อรา Aspergillus oryzae บนรำข้าว และนำโคจินี้ไปใช้แทนข้าวมอลท์บางส่วนในการผลิตแอลกอฮอล์ได้ (Underkofler, 1954) Corman และ Langlykke (1948) ได้ศึกษาปฏิกิริยาของกลูโคอะไมเลส พบว่าประสิทธิภาพของเอนไซม์ในการย่อยมอลโตส, เดกตริน และ แป้ง ไปเป็นกลูโคสดีกว่าเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส หลังจากปีค.ศ.1950 ได้มีการใช้เอนไซม์อย่างแพร่หลาย แต่กระบวนการผลิตยังเป็นแบบไม่ต่อเนื่อง(batch) และในปีค.ศ.1960 ได้มีการพัฒนาการใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลสเพื่อให้ปฏิกิริยาการย่อยเกิดได้อย่างสมบูรณ์ ได้ผลิตภัณฑ์เป็นกลูโคส โดยใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสทำปฏิกิริยากับแป้งก่อนในขั้นตอน liquefaction และเอนไซม์กลูโคอะไมเลสทำปฏิกิริยาต่อในขั้นตอน saccharification (Dziedzic and Kearsley, 1984)

โดยทั่วไปการย่อยแป้งโดยใช้เอนไซม์อะไมเลส จะใช้กับแป้งที่ถูกทำให้สุกก่อน เนื่องจากแป้งดิบมีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำ(nondispersible) และต้านทานต่อการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ แป้งที่อยู่ในรูป granule หรือแป้งดิบจะไม่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ ต้องให้ความร้อนแก่แป้งให้อยู่ใน

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปสารละลาย จะทำให้เกิด gelatinization มีความหนืดเพิ่มขึ้น เนื่องจาก granule ของแป้งขยายตัวดูดซึมน้ำเข้าไปทำให้สูญเสียลักษณะ birefringence การย่อยสลายด้วยเอนไซม์จึงเกิดได้เร็วขึ้น พบว่าเอนไซม์อะไมเลสจากตับอ่อนของหมูย่อยสลายแป้งข้าวโพดสุกได้เร็วกว่าแป้งข้าวโพดดิบถึง 22 เท่า ส่วนเอนไซม์อะไมเลสจากเชื้อ Bacillus subtillis ย่อยสลายแป้งสุกได้เร็วกว่าแป้งดิบถึง 323 เท่า และเอนไซม์อะไมเลสที่ได้จาก Aspergillus oryzae สามารถย่อยแป้งสุก ได้เร็วกว่าแป้งดิบถึง 120,000 เท่า (Reed and Underkofler, 1966) ส่วน Balls และ Schwimmer(1944) พบว่าเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสบางชนิดสามารถย่อยสลายแป้งดิบได้ แต่อัตราการย่อยจะช้ากว่าแป้งสุก เนื่องจากเม็ดแป้งมีชั้นของ เฮมิเซลลูโลส ไขมัน โปรตีน และ อะไมโลเพคติน คลุมอยู่ Fujii, Homma และ Taniguchi (1987) พบว่าแอลฟาอะไมเลส มีความสามารถในการย่อยแป้งดิบต่ำกว่าเอนไซม์กลูโคอะไมเลส แต่เมื่อใช้เอนไซม์ทั้งสองชนิดร่วมกันในการย่อยแป้งดิบ พบว่าความสามารถในการย่อยแป้งดิบเพิ่มขึ้นมากกว่า 2 เท่าของผลรวมความสามารถในการย่อยแป้งดิบของเอนไซม์แต่ละชนิด เอนไซม์อะไมเลสจะมีความสามารถในการย่อยแป้งดิบได้ถ้ามีการดูดซับของเอนไซม์กับเม็ดแป้ง และความสามารถของเอนไซม์ในการย่อยแป้งดิบจะสูง ถ้าเอนไซม์นั้นมีความสามารถในการย่อยมีพันธะ α(1-6) สูง (debranching activity) (Ueda และ Saha, 1983) นอกจากนี้ถ้ามีการเติมเอนไซม์เซลลูเลส จะช่วยให้การเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาลสูงขึ้นด้วย (Menezes และคณะ 1978) Ureda (1978) ได้ศึกษาการดูดซับ (adsorption) ของเอนไซม์อะไมเลสบนแป้งดิบ และพบว่า น้ำตาลกลูโคสและมอลโตสจะยับยั้งการดูดซับของเอนไซม์บนโมเลกุลแป้งดิบและยับยั้งการย่อยสลายแป้งดิบ ดังนั้นในการย่อยสลายแป้งดิบจะต้อง dialysis เพื่อแยกเอาน้ำตาลออก

อัลทราฟิลเทรชัน (Ultrafiltration)

อัลทราฟิลเทรชัน คือกระบวนการใช้เมมเบรนสำหรับแยกสารโมเลกุลใหญ่ ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 1,000-100,000 ออกจากสารละลาย หลักการของอัลทราฟิลเทรชัน คือการให้ความดันแก่สารละลาย ระหว่าง 1-10 บรรยากาศ ตัวทำละลายซึ่งส่วนมากคือ น้ำและสารโมเลกุลเล็กจะผ่านเมมเบรน ในขณะเดียวกันสารโมเลกุลใหญ่จะถูกกักไว้ ในกรณีที่นำมาดัดแปลงใช้กับเอนไซม์อะไมเลสในการผลิตกลูโคส เอนไซม์ซึ่งเป็นโปรตีนมีขนาดโมเลกุลใหญ่จะถูกเมมเบรนกักไว้ ส่วนน้ำ น้ำตาลกลูโคส และสารที่มีโมเลกุลเล็ก ๆ จะลอดผ่านเมมเบรนออกมาได้

การผลิตกลูโคสซึ่งเป็นสารให้ความหวานชนิดหนึ่งที่สามารถผลิตได้จากแป้งโดยอาศัยเอนไซม์มาย่อยสลายแป้งเพื่อเปลี่ยนเป็นน้ำตาล การผลิตจากแบบไม่ต่อเนื่อง(batch) เป็นระบบที่

มีอัตราการผลิตต่ำ และผลิตภัณฑ์ที่ได้แต่ละครั้งไม่แน่นอน นอกจากนี้เมื่อสิ้นสุดกระบวนการผลิตเอนไซม์จะถูกทำลายทิ้งไป ซึ่งเป็นวิธีที่จะใช้ประโยชน์จากเอนไซม์เพียงครั้งเดียว เนื่องจากเอนไซม์มีราคาแพงจึงพยายามหาวิธีในการใช้เอนไซม์อย่างคุ้มค่า และวิธีหนึ่งที่น่าสนใจ คือ การตรึงเอนไซม์ (immobilizes enzyme) ซึ่งหมายถึงการทำให้เอนไซม์เคลื่อนที่ไปมาไม่ได้ หรือเคลื่อนที่ไปมาได้ในพื้นที่จำกัด หรืออาจทำให้เอนไซม์อยู่ในรูปของเอนไซม์ที่ไม่ละลายน้ำ (water-insoluble) เพื่อที่จะได้นำเอนไซม์กลับมาใช้ได้อีก แต่การตรึงเอนไซม์แบบให้ติดกับตัวพยุง(support) ถ้าเลือกวิธีการตรึงรูปไม่เหมาะสม มักพบปัญหาการสูญเสียแอคติวิตี (activity) ของเอนไซม์ไปบางส่วนที่ติดกับตัวพยุง การประยุกต์ใช้อัลทราฟิลเทรชันก็ถือว่าเป็นการตรึงเอนไซม์ชนิดหนึ่ง เนื่องจากเป็นการกักเอนไซม์ให้เคลื่อนที่ไปมาได้ในพื้นที่จำกัด สามารถแยกผลิตภัณฑ์ออกจากระบบได้ และเอนไซม์สามารถวนกลับมาใช้ใหม่ได้ (Mc.Gregor, 1986)

เนื่องจากปฏิกริยาที่ใช้เอนไซม์โดยทั่วไป เมื่อดำเนินไประยะเวลาหนึ่ง จะพบว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้จะมีผลไปรบกวนการทำงานของเอนไซม์ ทำให้การทำงานของเอนไซม์ลดลง ซึ่งการผลิตกลูโคสจากแป้งนี้ ผลิตภัณฑ์ที่ได้คือ กลูโคสเป็นสารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แบบ Competitive (ณรงค์ อัศวสุนทรากูร, 2534) ดังนั้นถ้าเราสามารถแยกผลิตภัณฑ์ออกมาได้ก็จะเป็นการช่วยให้ประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ดีขึ้น

<u>กลไกในการไหลผ่านเยื่อแผ่น</u> (Kimura and Nakao, 1984)

model ที่ใช้ในการวิเคราะห์กลไกการกรองแบบอัลทราฟิลเทรชันในระบบแบบไม่ต่อเนื่อง (batch) สามารถแบ่งออกเป็น model ต่าง ๆ ได้ดังนี้

1. Concentration Polarization model (รูปที่ 12)

สมบัติการกรองแบบอัลทราฟิลเทรชันโดยทั่วไปแล้วจะแสดงด้วยอัตราเร็วการไหลผ่านเยื่อแผ่นของสารละลาย และค่าสัมประสิทธิ์รีเจคชัน (rejection coefficient) ของตัวถูกละลาย อัตราการไหลผ่านเยื่อแผ่น (flux) คือ ปริมาตรของสารละลายที่ไหลผ่านทะลุเยื่อแผ่นต่อ 1 หน่วยเวลา และต่อ 1 หน่วยพื้นที่เยื่อแผ่น ส่วนค่าสัมประสิทธิ์รีเจคชันโดยปกติจะนิยามด้วยสมการต่อไปนี้

$$\sigma_{obs} = 1 - C_p/C_b \quad \text{.....(9)}$$

ค่าสัมประสิทธิ์รีเจคชันนี้เรียกว่า ค่าสัมประสิทธิ์รีเจคชันปรากฏ (σ_{obs}),

ค่า C_p คือค่าความเข้มข้นของเพอมิเอท และ C_b คือค่าความเข้มข้นของสารละลายเริ่มต้นก่อนการกรองแต่ในการกรองแบบอัลทราฟิลเทรชัน ตัวถูกละลายจะถูกพัดพาตามกระแสที่ไหลผ่านเยื่อแผ่นมาที่ผิวหน้าเยื่อแผ่น และถูกเยื่อแผ่นกักไว้ ทำให้เกิดการสะสมตัวอยู่บริเวณผิวหน้าเยื่อแผ่น ทำให้ความเข้มข้นของตัวถูกละลายหน้าเยื่อแผ่นสูงกว่าความเข้มข้นของสารละลายเริ่มต้น (bulk solution) ปรากฏการณ์นี้เรียกว่า Concentration Polarization ซึ่งมีอิทธิพลอย่างสูงต่อปรากฏการณ์การไหลผ่านเยื่อแผ่น

ผลของ Concentration Polarization ทำให้ตามความเป็นจริงแล้วเยื่อแผ่นจะทำหน้าที่กักกั้นสารละลายที่มีความเข้มข้นที่เท่ากับความเข้มข้นที่ผิวหน้าเยื่อแผ่น (C_m) ดังนั้น ค่าสัมประสิทธิ์รีเจคชันจริง (σ) จะแสดงได้ดังนี้

$$\sigma = 1 - C_p/C_m \quad \text{.....(10)}$$

ค่าสัมประสิทธิ์รีเจคชันจริงนี้เป็นค่าสัมประสิทธิ์รีเจคชันที่แสดงสมบัติการกรองแบบอัลทราฟิลเทรชัน แต่ในทางปฏิบัติไม่สามารถที่จะทำการวัดความเข้มข้นที่ผิวหน้าเยื่อแผ่นได้ รูปที่ 12 แสดง model ของ Concentration Polarization ตัวถูกละลายจะถูกกักกั้นโดยเยื่อแผ่น ทำให้เกิดชั้นขอบเขต (boundary layer) ที่มี concentration gradient ระหว่างเยื่อแผ่นและ bulk solution และจาก concentration gradient นี้จะทำให้ตัวถูกละลายแพร่กลับ (difuse) ไปสู่ bulk solution เมื่อเข้าสู่ภาวะเสถียร ปริมาณตัวถูกละลายที่ถูกพาเข้ามาสู่เยื่อแผ่นจะเท่ากับผลรวมของปริมาณตัวถูกละลายแพร่กลับสู่ bulk solution และปริมาณที่ตัวถูกละลายไหลผ่านเยื่อแผ่น จากสมดุลมวลจะแสดงได้ดังต่อไปนี้

$$q \cdot C = D (dC / dx) + q_s \quad \text{.....(11)}$$

ในที่นี้ q, q_s คือ อัตราเร็วการไหลผ่านเยื่อแผ่น และอัตราเร็วการไหลของตัวถูกละลาย ค่า D คือค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ (difusivity) ของตัวถูกละลาย ค่า C คือค่าความเข้มข้นของตัวถูกละลาย ณ ตำแหน่งใด ๆ

Boundary Condition ของภาวะเสถียรแสดงได้ดังนี้

$$x = 0, \quad C = C_b$$

$$x = \delta, \quad C = C_m$$

δ คือ ความหนาของชั้นขอบเขต (boundary layer) และ q_s สามารถแสดงได้ดังนี้

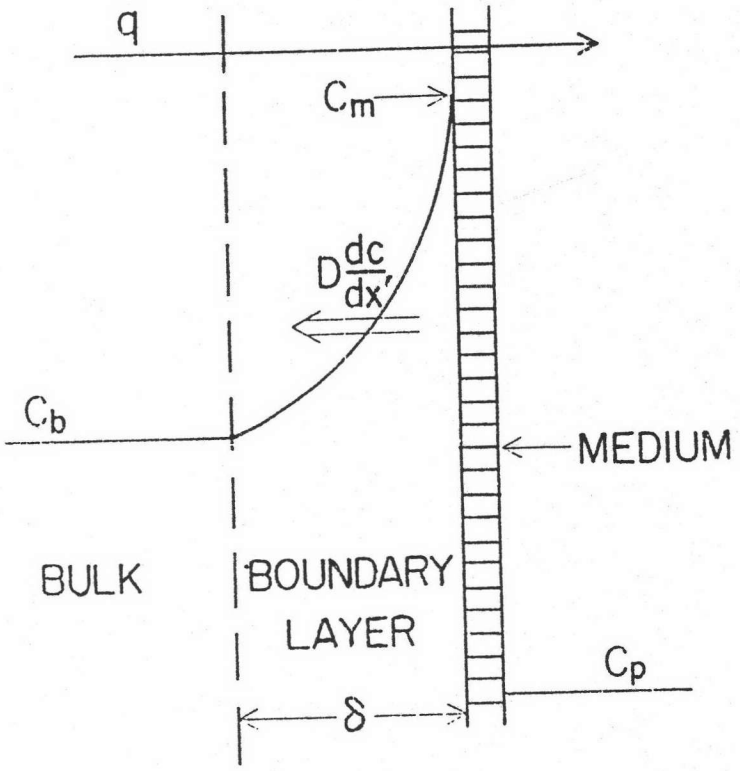
$$q_s = q \cdot C_p \quad \text{.....(12)}$$

เมื่ออินทิเกรตสมการ (11) โดยใช้ ภาวะขอบ (boundary condition) และสมการที่ (12) จะได้สมการที่เรียกว่า Concentration Polarization equation ดังสมการต่อไปนี้

$$q = k \ln \{ (C_m - C_p) / (C_b - C_p) \} \quad \text{..... (13)}$$

ในที่นี้ k คือ ค่าสัมประสิทธิ์การถ่ายโอนมวล (mass transfer coefficient) ของตัวถูกละลายภายในชั้น Concentration Polarization ซึ่ง

$$k = D / S$$



รูปที่12 Concentration Polarization model

ที่มา : Pradistsuwana (1991)

2. Gel Polarization model (รูปที่ 13)

การกรองแบบอัลทราฟิลเทรชันนั้นโดยทั่วไปจะถูกนำไปประยุกต์ใช้กับสารละลายจำพวกโพลิเมอร์ ซึ่งมีค่า difusivity ของตัวถูกละลายที่เป็นโพลิเมอร์ที่ต่ำ ทำให้ปริมาณตัวถูกละลายที่แพร่กลับเข้าสู่ bulk solution ตามที่อธิบายไว้ในหัวข้อ Concentration Polarization model เป็นผลทำให้ความเข้มข้นหน้าเยื่อแผ่นมีค่าสูงมาก ความเข้มข้นที่สูงขึ้นนี้ เมื่อสูงจนถึงความเข้ม

ข้นเจล (gel concentration) ของตัวถูกละลาย ก็จะเกิดเป็นชั้นที่เรียกว่า ชั้นเจลเหนือหน้าเยื่อแผ่น ซึ่งเจลนี้จะมีความต้านทานต่อการไหลผ่านที่สูงทำให้อัตราเร็วการไหลผ่านเยื่อแผ่นลดลงอย่างรวดเร็ว และหลังจากเกิดชั้นเจลนี้ขึ้นแล้ว ถึงแม้ว่าจะเพิ่มความดันในการกรองให้สูงขึ้น ก็จะเพียงแต่ทำให้ความหนาของชั้นเจลสูงขึ้น แต่อัตราการไหลของเพอมิเอทผ่านเยื่อแผ่นจะไม่สูงขึ้น ค่าอัตราเร็วการไหลของเพอมิเอตจำกัด (limiting flux) q_{lim} ตาม model นี้ จะแสดงได้ด้วยสมการที่ (5) โดยเปลี่ยน C_m เป็นความเข้มข้นของชั้น gel C_g จะได้

$$q_{lim} = k \ln \{ (C_g - C_p) / (C_b - C_p) \} \quad \text{..... (15)}$$

โดยทั่วไปแล้วค่าสัมประสิทธิ์รีเจคชันของตัวถูกละลายที่ก่อเป็นชั้นเจลนี้จะสูงมาก โดยเฉพาะเมื่อเวลาเกิดเป็นชั้น gel ด้วยแล้ว ค่าสัมประสิทธิ์นี้จะมีค่าใกล้ 1 ดังนั้น

$$q_{lim} = k \ln (C_g - C_p) \quad \text{..... (16)}$$

อัตราการไหลผ่านเยื่อแผ่น ยังสามารถแสดงได้โดยใช้ความต้านทานการไหลผ่าน ถ้าให้ R_m เป็นค่าความต้านทานของแผ่นเยื่อที่มีต่อการไหลผ่าน มีนิยามดังต่อไปนี้

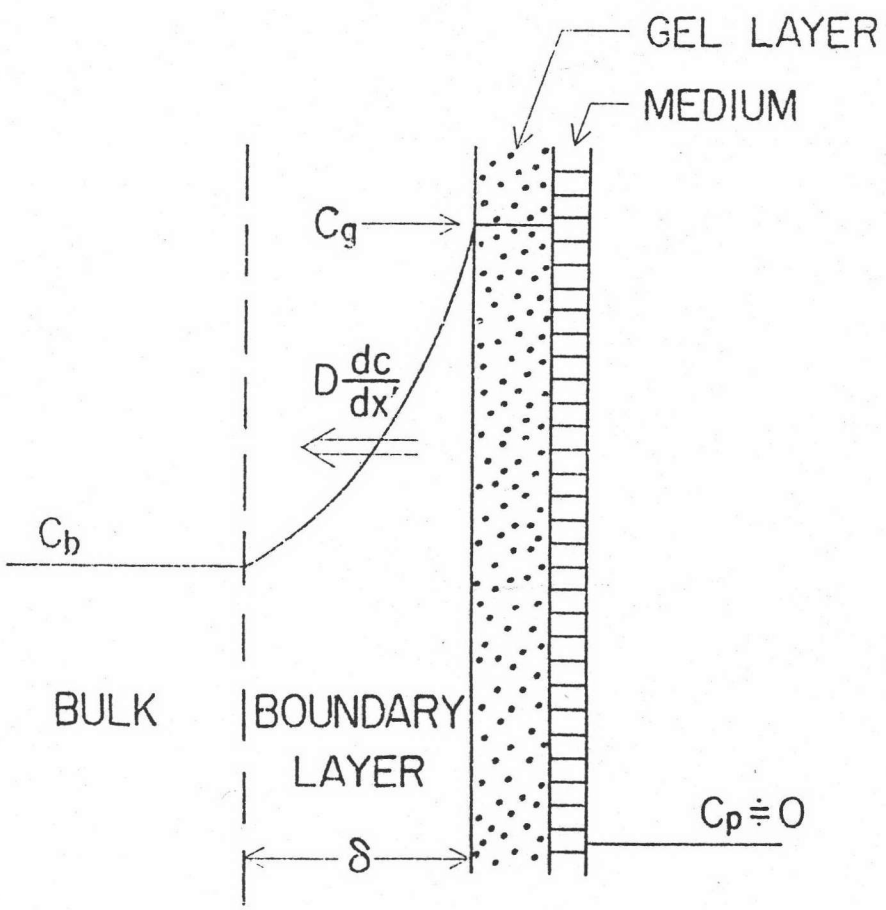
$$q_w = \Delta P / R_m \quad \text{.....(17)}$$

ในที่นี้ q_w คืออัตราการไหลผ่านของน้ำบริสุทธิ์ , ΔP คือความแตกต่างของความดันระหว่างผิวหน้าทั้งสองของเยื่อแผ่น และเมื่อมีชั้นเจลเกิดขึ้น ความต้านทานชั้นเจล R_g เมื่อรวมเข้ากับความต้านทานของเยื่อแผ่น R_m ในแบบอนุกรมก็จะได้เป็นความต้านทานรวมที่มีต่อการไหลของเพอมิเอท ดังนั้นอัตราเร็วการไหลของเพอมิเอทที่ผ่านแผ่นเยื่อจะได้

$$q_{lim} = (\Delta P - \Delta \pi) / (R_m - R_g) \quad \text{..... (18)}$$

ในที่นี้ $\Delta\pi$ คือ ความแตกต่างของความดันออสโมติคระหว่างผิวหน้าทั้งสองของเยื่อแผ่น แต่โดยปกติแล้วใน Gel Polarization model ค่า $\Delta\pi$ จะน้อยกว่าค่า ΔP มากจนละทิ้งได้ และในช่วงของ limiting flux ความต้านทานของชั้นเจลจะมากกว่าค่าความต้านทานของแผ่นเยื่อมาก ดังนั้น สมการที่ (10) จึงเขียนใหม่ได้ดังนี้

$$q_{lim} = \Delta P / R_g$$



รูปที่ 13 Gel Polarization model

ที่มา : Pradistsuwana (1991)

ได้มีการพัฒนานำอัลทราฟิลเทรชันไปใช้ เช่น ในปี ค.ศ. 1970 Buttgerwort , Wang และ Sinskey ได้ศึกษากระบวนการย่อยสลายแป้งโดยใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสจาก Bacillus subtillis ใน Ultrafiltration membrane reactor (Amicon model 400) Mw. cut off 10,000 ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น คือ ได-โอลิโก และโพลีแซคคาไรด์จะผ่านเยื่อแผ่นสังเคราะห์ออกมา ส่วนสารตั้งต้นและเอนไซม์จะถูกกักไว้ภายในเครื่องปฏิกรณ์จากการทดลองพบว่าตลอดระยะเวลา 30 ชั่วโมงที่ใช้ในการทดลองที่สภาวะที่จะไม่มีการสูญเสียแอคติวิตีของเอนไซม์ แต่เพอมิเอทจะค่อย ๆ ลดลง เนื่องจากเกิดการสะสมของแป้งขนาดเล็กบนผิวเมมเบรน ในปี ค.ศ.1974 Closset, Cobb และ Shah ได้ศึกษากระบวนการย่อยสลายแป้งโดยใช้เอนไซม์บีตาอะไมเลส (Mw.197,000) ในเครื่องปฏิกรณ์เยื่อแผ่นแบบท่อ (tubular membrane reactor) เยื่อแผ่นมี Mw. Cut off 18,000 เมื่อการทดลองดำเนินไป พบว่าเพอมิเอทฟลักซ์ลดลงเนื่องจากเกิดคอนเซนเตรชั่น โพลลาไรเซชัน (Concentration polarization) หรือเจล โพลาไรเซชัน (Gel polarization) ของลิมิตเดกตริน (limit dextrin) กับแป้งส่วนที่ยังไม่ถูกย่อยสลายบนผิวหน้าเยื่อแผ่น ผู้ทดลองจึงได้เสนอแนะแนวทางแก้ไขโดยเพิ่มแรงเฉือน (shear) ที่ผิวหน้าเยื่อแผ่นหรืออาจใช้เอนไซม์ผสม เช่น บีตาอะไมเลสผสมกับแอลฟาอะไมเลสและกลูโคอะไมเลส หรือพูลูเนส เพื่อที่จะทำให้โมเลกุลของแป้งสั้นลง โดยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและทำให้ความหนืดลดลงด้วย ในปีเดียวกันนี้ Tachaner, Cobb และ Shah (1974) ได้ศึกษาการย่อยแป้งต่อจาก Closset และคณะ (1974) โดยใช้เอนไซม์บีตาอะไมเลส (Mw.197,000) กับแอลฟาอะไมเลส (Mw.60,000) ที่ได้จากข้าวบาร์เลย์ จากการทดลองพบว่ามีความแตกต่างกับการทดลองของ Closset และคณะ คือมีการสูญเสียสารตั้งต้น เนื่องจากแป้งจะถูกเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสย่อยทำให้แป้งมีขนาดเล็กลงบางส่วนสามารถไหลผ่านเยื่อแผ่นออกมาก่อนที่จะได้ผลิตภัณฑ์ แต่การทดลองของ Closset และคณะเยื่อแผ่นสามารถกักสารตั้งต้นได้หมด เนื่องจากสารตั้งต้น (แป้ง) และผลิตภัณฑ์(มอลโตส) มีขนาดแตกต่างกันมาก

Utapap และ Ishizaki (1989) ได้ทำการแยกกลูโคสออกจาก reactor filtration microporous membrane พบว่ากลูโคสที่แยกได้ไม่มีการปนเปื้อนของสารอื่น และไม่มีจุลินทรีย์ปะปนออกมา ส่วน Sims และ Cheryan (1992) ได้พัฒนาระบบย่อย liquefied corn starch แบบต่อเนื่องโดยใช้ membrane reactor เพื่อที่จะแยกผลิตภัณฑ์ คือ กลูโคสออกจากระบบแต่ที่ได้ยังไม่ดีนัก