บทที่ 1

บทนำ

เอนไซม์ คือกลุ่มของกรดอะมิโนที่รวมตัวกันขึ้นเป็นโมเลกุลของโปรตีนซึ่งสามารถทำหน้าที่เป็นตัวเร่ง (Catalyst) ปฏิกิริยาเคมีต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นในระบบการดำรงชีพของสิ่งมีชีวิตทั่วไป จากลักษณะทางธรรมชาติและความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ส่งผลให้มีการนำเอาเอนไซม์ไปใช้ในงานต่างๆอย่างกว้างขวาง เช่น ในอุตสาหกรรมการผลิตอาหารและเครื่องดื่มสำเร็จรูป อุตสาหกรรมการผลิตเส้นใยและผงซักฟอก ในด้านการแพทย์ และอุตสาหกรรมการผลิตยา เป็นต้น

เอนไซม์มีความแตกต่างจากตัวเร่งปฏิกิริยาทางเคมี (Chemical catalyst) ทั่ว ๆ ไป กล่าวคือ เอนไซม์สามารถเร่งปฏิกิริยาเคมีภายใต้สภาวะอุณหภูมิและความดันปกติ ปฏิกิริยาของการใช้เอนไซม์จะมีลักษณะมุ่งจำเพาะต่อสารตั้งต้น จึงทำให้ได้สารผลิตภัณฑ์มากและมีผลิตภัณฑ์พลอยได้ (by product)น้อย ด้วยลักษณะเช่นนี้ทำให้เอนไซม์มีความเหมาะสมในการใช้งานมากกว่าตัวเร่งปฏิกิริยาทางเคมี แต่การนำเอาเอนไซม์มาประยุกต์ใช้ในการผลิตระดับอุตสาหกรรมนั้นยังมีข้อจำกัด ทั้งนี้เนื่องจากปัญหาการปนเปื้อนของเอนไซม์ที่ออกมากับผลิตภัณฑ์ และโดยทั่วไปเอนไซม์มักมีความเสถียรต่ำ ซึ่งทำให้กระบวนการแยกและการทำเอนไซม์ให้บริสุทธิ์ต้องใช้ต้นทุนสูง การนำเทคโนโลยีการตรึงรูปเอนไซม์มาประยุกต์ใช้สามารถที่จะแก้ไขปัญหาเหล่านี้ ซึ่งจะทำให้ไม่มีเอนไซม์เหลือตกค้างอยู่ในผลิตภัณฑ์ สามารถนำเอนไซม์กลับมาใช้ใหม่ได้ และปฏิกิริยาสามารถดำเนินไปได้อย่างต่อเนื่อง

สำหรับในโครงงานวิจัยนี้ได้สนใจศึกษาการตรึงรูปเอนไซม์บนเรซินแลกเปลี่ยนไอออนเพื่อแยกเมนทอลเรซิมิก โดยการตรึงเอนไซม์ คือการจับหรือกักเอนไซม์ไว้ในขอบเขตจำกัด อาจมีโมเลกุลใหญ่ขึ้นด้วยการเชื่อมพันธะเคมี หรือไม่มีพันธะเคมีก็ได้

ปฏิกิริยาที่ทำการศึกษาในโครงงานวิจัยนี้คือ ปฏิกิริยา ทรานเอสเทอริฟิเคชั่น (Transesterification reaction) ของเมนทอลเรซิมิก (±Menthol) กับเฮกซิลอะซิเตต (Hexyl acetate) โดยใช้เอนไซม์ไลเปสจาก Candida cylindracea เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาทางชีวภาพตรึงรูปบนเรซินแลกเปลี่ยนไอออน Dowex MWA – 1 และใช้ไอโซออกเทน (Isooctane) เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ ผลิตภัณฑ์ที่ได้คือ (-) เมนทิลอะซิเตต [(-) Menthyl acetate] และเฮกซานอล (Hexanol) เป็นผลิตภัณฑ์พลอยได้ ส่วน (+) เมนทอลเป็นส่วนที่ไม่ถูกทำปฏิกิริยา ซึ่งแสดงสมการเคมีได้ดังนี้

(±) Menthol + Hexyl acetate $\xrightarrow[\text{Isooctane}]{\text{Lipase}}$ (-) Menthyl acetate + Hexanol + (+) Menthol

(R_3OH) ($R_1COO\,R_2$) ($R_1COO\,R_3$) (R_2OH)

ผลิตภัณฑ์ (-) เมนทิลอะซิเตตที่ได้ มีความน่าสนใจทำการศึกษาด้วยสาเหตุสำคัญสองประการ คือ ประการแรก (-)เมนทิลอะซิเตตเมื่อผ่านกระบวนการไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) โดยใช้เอนไซม์ไลเปสจาก Candida cylindracea ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีค่าความบริสุทธิ์เชิงแสงสูงคือ (-) เมนทอล ซึ่งในงานวิจัยในภาคอุตสาหกรรมเภสัช และอุตสาหกรรมเคมีเกษตรได้ให้ความสำคัญในการศึกษาพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่มีค่าความบริสุทธิ์เชิงแสงสูงเป็นอย่างมาก เนื่องจากมีการค้นพบว่าคู่สารชนิดเดียวกันที่เป็นไอโซเมอร์เชิงแสงซึ่งกันและกันอาจให้ผลในทางเภสัชที่แตกต่างกันหรือตรงข้ามกัน ทั้งนี้เนื่องจากร่างกายมนุษย์ประกอบไปด้วยเอนไซม์ซึ่งมีความว่องไวต่อความแตกต่างทางไอโซเมอร์เชิงแสงนี้ ประการที่สอง (-) เมนทิลอะซิเตตที่ได้เป็นเทอร์พีนเอสเทอร์ (Terpene ester) ชนิดหนึ่งที่ใช้กันอย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรมน้ำหอมและเป็นสารเติมแต่งกลิ่นของอาหาร การสังเคราะห์สองประเภทนี้ สามารถทำได้ทั้งในกระบวนการทางเคมีและชีวกรรม หากแต่ในกระบวนการหลังซึ่งใช้เอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาจะทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพสูงกว่า อีกทั้งยังเป็นสารที่ถือได้ว่าสังเคราะห์จากกระบวนการทางธรรมชาติ

1 จุดประสงค์ของการวิจัย

1.1 เพื่อศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมในการตรึงรูปเอนไซม์ไลเปสบนเรซินแลกเปลี่ยนไอออน สำหรับปฏิกิริยาแยกสารผสมเมนทอลเรซิมิก ((+,-) Menthol) ในตัวทำละลายอินทรีย์ไอโซออกเทน

1.2 เพื่อศึกษาจลนพลศาสตร์ของปฏิกิริยาสำหรับเอนไซม์ไลเปสที่ถูกตรึงบนเรซินแลกเปลี่ยนไอออนเปรียบเทียบกับเอนไซม์อิสระ เพื่อประโยชน์ในการพัฒนาไปสู่กระบวนการผลิตในถังปฏิกรณ์แบบ แพคเบดต่อไป

1.3 เพื่อศึกษาถึงผลกระทบของอัตราการไหลของเมนทอลเรซิมิกและเฮกซิลอะซิเตตต่อการทำปฏิกิริยาของสารในถังปฏิกรณ์แบบเพคเบด และศึกษาถึงเสถียรภาพในการทำงานของเอนไซม์ไลเปส ตรึงรูปในถังปฏิกรณ์แบบ แพคเบด

2 ขอบเขตงานวิจัย

2.1 ศึกษาถึงปัจจัยที่เหมาะสมในการตรึงรูปเอนไซม์ไลเปสบนเรซินแลกเปลี่ยนไอออน

2.1.1 ศึกษาหาเวลาที่เหมาะสมในการตรึงรูปเอนไซม์ไลเปสบนเรซินแลกเปลี่ยนไอออน(ศึกษาในช่วง 1 ถึง 24 ชั่วโมง)

2.1.2 ศึกษาหาค่าความเป็นกรด – ด่างที่เหมาะสมในการตรึงรูปเอนไซม์ไลเปสบนเรซินแลกเปลี่ยนไอออน (ศึกษาในช่วง 5 ถึง 10)

2.1.3 ศึกษาหาค่าความเข้มข้นของเอนไซม์ไลเปสที่เหมาะสมในการตรึงรูป (ศึกษาในช่วง 8 ถึง 20 กรัมต่อลิตร)

2.2 ศึกษาจลนพลศาสตร์ของปฏิกิริยาสำหรับเอนไซม์ไลเปสที่ถูกตรึงบนเรซินแลกเปลี่ยนไอออน

2.2.1 ศึกษาการแปรเปลี่ยนค่าความเข้มข้นของเมนทอลเรซิมิกและเฮกซิลอะซิเตตเพื่อหาค่าคงที่ทางจลนพลศาสตร์

2.3 ศึกษาการทำปฏิกิริยาในเครื่องปฏิกรณ์เอนไซม์แบบ แพคเบด

2.3.1 ศึกษาผลกระทบของอัตราการไหลของเมนทอลเรซิมิก และเฮกซิลอะซิเตตในเครื่องปฏิกรณ์แบบ แพคเบด

2.3.2 ศึกษาถึงเสถียรภาพในการทำงานของเอนไซม์ในเครื่องปฏิกรณ์แบบ แพคเบด

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย