บทที่ 1

บทนำ

ในปัจจุบันได้มีการพัฒนาอุตสาหกรรมต่างๆเพิ่มมากขึ้น แต่ในกระบวนการผลิตยังมีการใช้สารเคมีเป็นส่วนมาก ทำให้กำจัดของเสียได้ยาก เป็นมลพิษต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม ดังนั้นจึงมีการนำวิธีทางเทคโนโลยีชีวภาพมาช่วย เช่น การใช้เอนไซม์เป็นต้น เซลลูเลสเป็นเอนไซม์กลุ่มหนึ่งที่มีบทบาทสำคัญในอุตสาหกรรมหลายประเภท เช่น อุตสาหกรรมการหมัก อุตสาหกรรมอาหาร ใช้ในกระบวนการหมักร่วมกับยีสต์ในการผลิตแอลกอฮอล์และโดยเฉพาะอย่างยิ่งอุตสาหกรรมสิ่งทอซึ่งในกระบวนการผลิตผ้าและการย้อมสีมีการใช้สารเคมีต่างๆ รวมทั้งมีการใช้แป้ง ทำให้เป็นภาระต่อการบำบัดน้ำเสีย เซลลูเลสจึงเป็นทางเลือกใหม่ที่มีความสำคัญเพื่อใช้แทนที่สารเคมีดังกล่าว เพราะสามารถนำไปใช้ในกระบวนการต่างๆ ในสิ่งทอได้หลายประเภท เช่น biopolishing และ scouring เพื่อเป็นการกำจัดขนบนผ้าใยฝ้ายเซลลูโลสและกำจัดสิ่งสกปรกบนผ้าตามลำดับ (Galante *et al.*, 1998) นอกจากนี้ในการใช้เอนไซม์ยังมีข้อดีหลายข้อคือ ทำงานได้ดีในช่วงอุณหภูมิที่ไม่สูงมากคืออยู่ในช่วง 40 ถึง 50 องศาเซลเซียส ในขณะที่การใช้วิธี alkali scouring โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ใช้อุณหภูมิสูงถึง 100 องศาเซลเซียส ทำให้เป็นการลดพลังงานที่ใช้ อีกทั้งน้ำเสียจากการใช้เอนไซม์นั้นมีค่าความเป็นกรดและด่างไม่สูง บำบัดได้ง่าย นอกจากนั้นองค์ประกอบของผ้าไม่ถูกทำลาย เพราะเซลลูเลสเป็นเอนไซม์ที่มีความจำเพาะสูง ไม่ทำปฏิกิริยากับสารอื่นที่ปนมาด้วย และภาวะที่ใช้ไม่รุนแรงมาก ที่สำคัญสามารถนำไปใช้กับกระบวนการต่างๆ ร่วมกับเอนไซม์ชนิดอื่นได้เช่น อะไมเลส และ เพคติเนสเป็นต้น (Li and Hardin, 1997) แม้ว่าเซลลูเลสจะมีความจำเป็นต่ออุตสาหกรรมสิ่งทอ แต่ต้นทุนการผลิตยังค่อนข้างสูง แต่ในบางครั้งกระบวนการผลิตสิ่งทอต้องการใช้เซลลูเลสที่มีแอคติวิตีของเอกโซกลูคาเนสต่ำแต่มีเอนโดกลูคาเนสสูงเพื่อป้องกันไม่ให้เส้นใยเซลลูโลสถูกทำลายมากนัก (Hartzell and Hsieh, 1998) เนื่องจากเอกโซกลูคาเนสเป็นเอนไซม์ที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อเซลลูโลสในรูปผลึก (crystalline cellulose) เช่น ฝ้าย ค่อนข้างมาก (Mandel and Reese, 1999) ดังนั้นในบางครั้งจึงต้องการเซลลูเลสที่มีแอคติวิตีของเอกโซกลูคาเนสต่ำ ขณะที่ต้องการเอนโดกลูคาเนสสูงเพราะเอนโดกลูคาเนสไม่ทำปฏิกิริยาที่รุนแรงต่อเส้นใยผ้า ดังนั้นจึงได้มีผู้ทำการวิจัยในการผลิตเซลลูเลสจากจุลินทรีย์หลายชนิด เช่น *Pellicularia filamentosa* (Mizukoshi *et al.*, 1977) *Thermoascus aurantiacus* (Grajek, 1987 ; Gomes *et al.*, 2000) *Trichoderma reesei* (Xiao-Bin *et al.*, 1998) *Bacillus subtilis* (Krishna, 1999) *Aspergilus niger* (Ortega *et al.*, 2000) และ *Humicola insolen* (Karlsson, 2000) แต่ในกระบวนการผลิตต้องมีการควบคุมภาวะ

ให้เหมาะสม เช่น การผลิตเซลลูเลสจาก *Trichoderma reesei* QM-9414 ต้องคำนึงถึงภาวะการผลิตและภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ เช่น ค่าความเป็นกรดและด่าง อุณหภูมิ ความเข้มข้นของสารตั้งต้นและเอนไซม์ โดยพบว่าภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์คือที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ความเป็นกรดและด่างเท่ากับ 4.5 ความเข้มข้นของเอนไซม์ 40 ยูนิตต่อกรัมสับสเตรท และสารตั้งต้น 2.5 เปอร์เซ็นต์ เป็นสภาวะที่เหมาะสมที่ทำให้มีการย่อยสลายให้น้ำตาลมากที่สุด (Krishna *et al.*, 2000) ในด้านวิธีการผลิตนั้นเมื่อเปรียบเทียบระหว่างวิธี solid-state fermentation (SSF) และวิธี submerged fermentation (SmF) พบว่าวิธี SSF ทำให้เชื้อราหลายชนิดมีการผลิตเซลลูเลสในกลุ่มเอนโดกลูคาเนสสูงกว่าวิธี SmF (Grajek, 1987) การเพิ่มแหล่งอาหารเสริมบางชนิด เช่น กลีเซอรอล พบว่ามีส่วนทำให้มีการผลิตเซลลูเลสในส่วนของเอนโดกลูคาเนสเพิ่มขึ้น (Kalra *et al.*, 1984) นอกจากนี้แอคติวิตีของ เซลลูเลสยังถูกยับยั้งได้โดยโลหะหนักบางชนิด เช่น Cu^{++} Fe^{+++} และ Sodium dodecyl sulfate หรือการถูกออกซิไดซ์เป็นต้น (Mizukoshi *et al.*, 1977) ดังนั้นการเติมสารบางชนิด เช่น ไดไทรโอทรีออล เพื่อป้องกันการเกิดออกซิไดซ์สามารถช่วยเพิ่มแอคติวิตีของเซลลูเลสโดยเฉพาะเอนโดกลูคาเนสได้ (ชุลีพร จูงสาย, 2535) แต่ข้อจำกัดของการผลิตเซลลูเลสในอุตสาหกรรมคือ ถ้าใช้เซลลูโลสบริสุทธิ์เป็นแหล่งคาร์บอนในการผลิตเซลลูเลสจะทำให้ต้นทุนการผลิตค่อนข้างสูงเนื่องจากเซลลูโลสบริสุทธิ์มีราคาแพง ดังนั้นเพื่อเป็นแนวทางการในแก้ปัญหาดังกล่าวจึงได้มีการวิจัยเพื่อหาวัสดุทางการเกษตรชนิดต่างๆ ที่มีราคาถูกมาทดแทนซึ่งยังเป็นการช่วยลดขยะที่เกิดจากการเกษตรด้วย เช่น ฟางข้าว (Vlasenko *et al.*, 1997 ; Ortega *et al.*, 2000) ฟางข้าวสาลี (Acebal *et al.*, 1986 ; Awafo *et al.*, 2000) ชานอ้อย (Kawamori *et al.*, 1986, Aiello *et al.*, 1996 ; Gutierrez-Correa *et al.*, 1999) รำข้าวสาลี (Smits *et al.*, 1996 ; Xiao-Bin *et al.*, 1999) และก้านเครือกล้วย (Krishna , 1999) เป็นต้น แต่การนำวัสดุการเกษตรเหล่านี้มาใช้ต้องมีการปรับสภาพและควบคุมการผลิตให้เหมาะสม เช่น การผลิตเซลลูเลสจาก *Trichoderma reesei* QM 9414 จากฟางข้าวที่มีการปรับสภาพทั้งทางกายภาพและทางเคมีให้เป็นแหล่งเซลลูโลส มีความเหมาะสมกว่าฟางข้าวสาลีที่ไม่ได้ปรับสภาพ (Acebal *et al.*, 1986) โดยทั่วไปการปรับสภาพวัสดุทางการเกษตรนั้นนิยมใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่อุณหภูมิสูง เช่น แช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส จะทำให้สามารถกำจัดเฮมิเซลลูโลสออกไปได้มาก รวมไปถึงลิกนินบางส่วน และมีเซลลูโลสที่อยู่ในรูปที่สามารถใช้ได้เพิ่มขึ้นจากเดิม 24 เป็น 69 เปอร์เซ็นต์ เหมาะสำหรับนำไปผลิตเซลลูเลสจาก *Trichoderma reesei* และ *Aspergilus niger* (Ortega *et al.*,2000) มีรายงายการทดลองใช้วัสดุการเกษตรชนิดต่างๆ ได้แก่ รำข้าวสาลี รำข้าว ฟางข้าว และก้านเครือกล้วยเป็นแหล่งเซลลูโลสในการผลิตเซลลูเลสจาก *Bacillus subtilis* พบว่าก้านเครือกล้วยเป็นแหล่งเซลลูโลสที่ดีต่อการผลิตเซลลูเลสในกลุ่ม

เอนโดกลูคาเนส (Krishna, 1999) ดังนั้นถ้าสามารถผลิตเซลลูเลสจากวัสดุการเกษตร เช่น ก้านใบกล้วย ซังข้าวโพด โดยใช้เชื้อราที่มีเซลลูเลสในกลุ่มเอนโดกลูคาเนสสูง เช่น *Trichoderma reesei Acrophialophola* sp. *Aspergillus* spp. และ *Penicillium* spp. จะสามารถช่วยลดต้นทุนการผลิตเอนไซม์ และช่วยกำจัดขยะเหลือทิ้งจากการเกษตรลงได้ โดยเอนไซม์ที่ผลิตได้สามารถนำไปประยุกต์ในอุตสาหกรรมสิ่งทอ เช่น ในกระบวนการกำจัดสิ่งสกปรกบนผ้าฝ้ายได้

วัตถุประสงค์

เพื่อผลิตเอนโดเอนริซเซลลูเลสจากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรและเพื่อนำไปประยุกต์ในกระบวนการกำจัดสิ่งสกปรกบนผ้าฝ้าย

ขอบเขตงานวิจัย

รายงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อผลิตเซลลูเลสที่มีแอคติวิตีของเอนโดกลูคาเนสสูงในภาวะที่ใช้ต้นทุนการผลิตต่ำจากเชื้อรา *Trichoderma reesei Acrophialophola* sp. และเชื้อราที่คัดแยกได้จากธรรมชาติ เช่น *Aspergillus* และ *Penicillium* เนื่องจากเป็นเชื้อราที่สร้างเซลลูเลสในกลุ่มเอนโดกลูคาเนสสูง โดยการหาภาวะการผลิตที่เหมาะสม เช่น การคัดเลือกแหล่งไนโตรเจน แหล่งอาหารเสริม และการใช้เศษวัสดุจากการเกษตรชนิดต่างๆ เช่น ก้านใบกล้วย ก้านเครือกล้วย ซังข้าวโพด และใบอ้อย เป็นแหล่งเซลลูโลสเพื่อทดแทนการใช้เซลลูโลสบริสุทธิ์ที่มีราคาแพง เนื่องจากมีรายงานพบว่าซังข้าวโพดและใบอ้อย เป็นวัสดุการเกษตรที่มีเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบสูง (วารุณี และวลัยกานต์, 2541) ในขณะที่ก้านเครือกล้วยเป็นแหล่งเซลลูโลสที่ดีต่อการผลิตเซลลูเลสโดยเฉพาะในกลุ่มเอนโดกลูคาเนส (Krishna,1999) เพื่อนำเอนไซม์ที่ผลิตได้ไปทดสอบประสิทธิภาพและประยุกต์ในอุตสาหกรรมสิ่งทอ เช่น ในกระบวนการกำจัดสิ่งสกปรกบนผ้าฝ้าย เป็นต้น

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย