บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

2.1 มันสำปะหลัง

มันสำปะหลัง มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ คือ *Manihot esculenta* ซึ่งเป็นพืชที่ปลูกทั่วไปในแถบเมืองร้อน ปลูกได้ตลอดทั้งปี ทนต่อความแห้งแล้ง ปลูกง่ายไม่ต้องการน้ำมาก ไม่มีแมลงและโรคพืชรบกวน นอกจากนี้ยังให้ผลผลิตค่อนข้างสูง จึงเพาะปลูกกันมาก ในประเทศไทยมีพื้นที่ในการเพาะปลูกมันสำปะหลังประมาณ 9 ล้านไร่ ได้ผลผลิตหัวมันสดประมาณ 20 ล้านตันต่อปี โดย 30 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนนี้ถูกแปรรูปเป็นแป้งมันสำปะหลัง และอีกประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์ถูกแปรรูปไปเป็นมันเส้นและมันอัดเม็ด (สมาคมวิทยาศาสตร์การเกษตรแห่งประเทศไทย, 2541) มีอุตสาหกรรมที่เกี่ยวข้องกับผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังต่าง ๆ มากมาย ซึ่งมีแนวโน้มที่กำลังการผลิตได้จะขยายตัวเพิ่มขึ้นเป็นลำดับ ในปี 2540 ประเทศไทยส่งออกผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังได้ประมาณ 5,125,000 ตัน คิดเป็น มูลค่า 19,850 ล้านบาท (กรมเศรษฐกิจการพาณิชย์, 2540) จึงกล่าวได้ว่ามันสำปะหลังเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย สินค้าส่งออกดังกล่าวนั้นได้แก่ มันอัดเม็ด มันเส้น แป้งมันสำปะหลัง โมดิไฟด์สตาร์ช เดกตริน และผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังอื่น ๆ

มันสำปะหลังสามารถนำมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ ได้มากมายหลายประเภท ดังรูปที่ 1 ในแง่การใช้ประโยชน์จากมันสำปะหลังที่สำคัญสามารถแบ่งได้ดังนี้

1. เป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญต่อมนุษย์

มันสำปะหลังเป็นพืชที่ให้พลังงานสูง เมื่อเทียบกับต้นทุนการผลิตที่ต่ำ จึงทำให้มันสำปะหลังถูกนำไปใช้ในการบริโภคโดยตรง

2. แป้งมันสำปะหลังและแป้งมันสำปะหลังดัดแปร

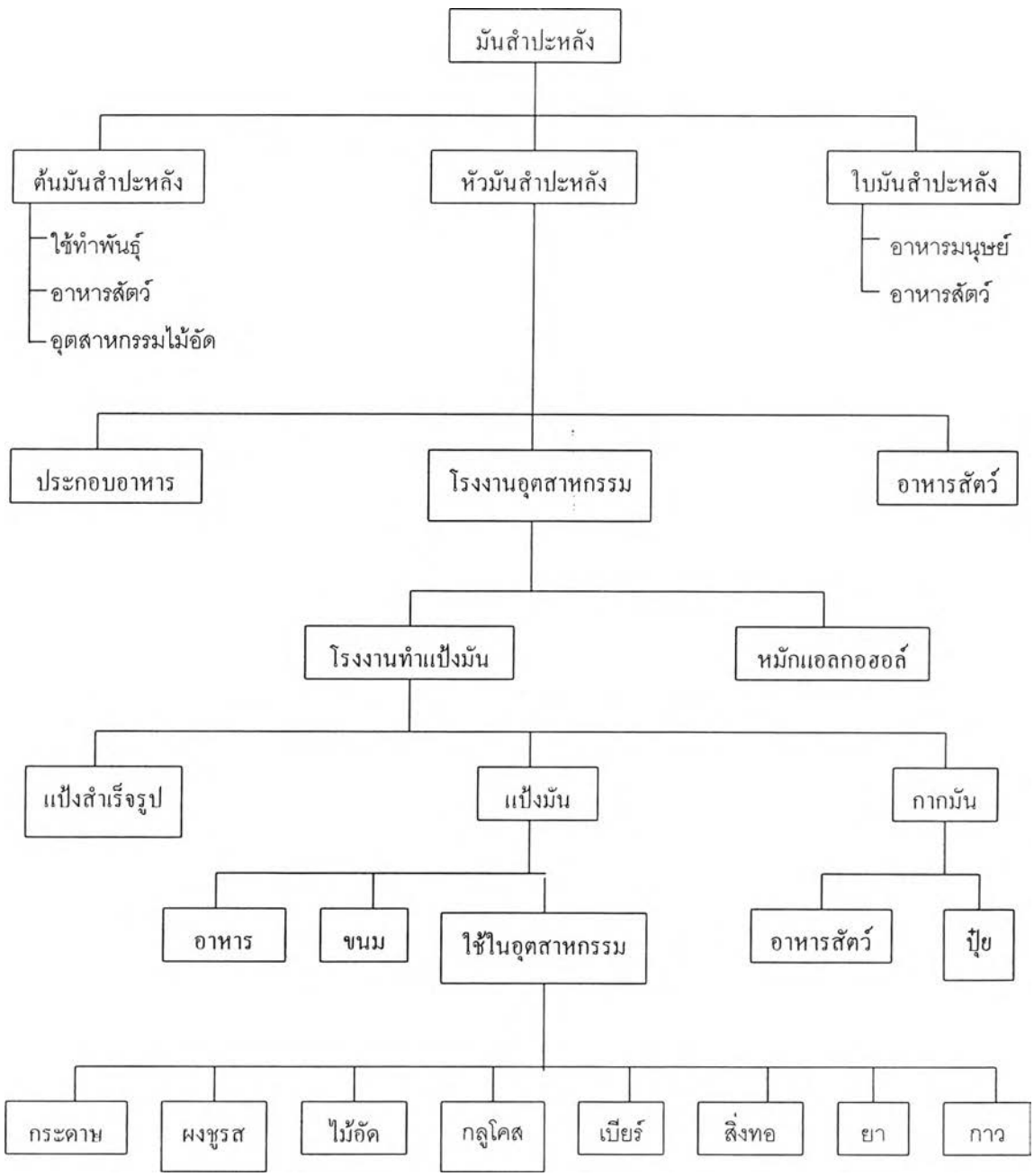
แป้งที่ผลิตได้จากมันสำปะหลังนอกจากสามารถนำไปประกอบอาหาร แล้วยังนำไปใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ ได้หลากหลาย เช่น การทำซ๊อส ผงชูรส อุตสาหกรรมสิ่งทอ อุตสาหกรรมเภสัชกรรม อุตสาหกรรมกาว อุตสาหกรรมกระดาษ อุตสาหกรรมไม้อัด กลูโคส และอื่นๆ

3. อาหารสัตว์

เนื่องจากหัวมันสำปะหลังมีแป้งเป็นองค์ประกอบหลักสามารถนำมาเป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรทที่มีราคาถูก เหมาะสำหรับใช้เป็นวัตถุดิบหลักในการประกอบอาหารสัตว์

4. อุตสาหกรรมผลิตแอลกอฮอล์

แป้งที่เป็นองค์ประกอบหลักของหัวมันสำปะหลังสามารถนำมาใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตแอลกอฮอล์ได้ โดยการเปลี่ยนแป้งให้กลายเป็นน้ำตาลแล้วจึงนำไปผลิตเป็นแอลกอฮอล์ต่อไป



รูปที่ 1 การใช้ประโยชน์จากผลิตภัณฑ์มันสำปะหลัง (แน่งน้อย อัมรามร, 2531)

2.2 กากมันสำปะหลัง

กากมันสำปะหลังเป็นผลพลอยได้ที่เกิดจากกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังซึ่งการผลิตแป้งมันสำปะหลังมีขั้นตอนโดยสังเขป คือ หัวมันสำปะหลังจะถูกนำไปล้างให้สะอาดและสับเป็นชิ้นเล็ก ๆ เพื่อนำไปเข้าเครื่องโม่บดให้ละเอียด ซึ่งจะได้ของเหลวที่ประกอบด้วย แป้ง น้ำ และกากมันปนกันอยู่ จากนั้นนำของเหลวดังกล่าวเข้าเครื่องสกัดกาก ที่จะทำหน้าที่แยกกากมันออกจากน้ำแป้งโดยอาศัยแรงเหวี่ยง หลังจากนั้นจึงนำแป้งที่ได้ไปเข้าเครื่องอบแห้ง แล้วบรรจุถุงต่อไป ส่วนกากมันที่ได้จากเครื่องสกัดกากจะถูกนำไปเข้าเครื่องอัดกาก แล้วตากให้แห้งในลานตาก

โดยทั่วไปกากมันสำปะหลังจะมีราคาต่ำ ถูกนำไปใช้ผสมเป็นอาหารสัตว์ แต่เนื่องจากองค์ประกอบหลัก (ตารางที่ 1) คือ คาร์โบไฮเดรทและไฟเบอร์ ซึ่งมีปริมาณรวมกันกว่า 80 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก กากมันสำปะหลังจึงมีศักยภาพที่จะนำไปใช้เป็นสารตั้งต้นที่มีราคาถูก หาได้ง่าย และมีปริมาณมาก สำหรับการผลิตผลิตภัณฑ์ต่างๆ ต่อไปอีกมากมาย จึงทำให้มีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการใช้ประโยชน์จากกากมันสำปะหลังกันอย่างกว้างขวางเพื่อให้เกิดประโยชน์มากที่สุดและเป็นการเพิ่มมูลค่าของกากมันสำปะหลังด้วย

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีของกากมันสำปะหลัง (สุนีย์ โชตินีรนาท, 2539)

องค์ประกอบ	ปริมาณร้อยละเฉลี่ย (โดยน้ำหนัก)
ความชื้น	12.24 ± 0.27
โปรตีน	3.39 ± 0.04
ไขมัน	0.24 ± 0.15
ไฟเบอร์	15.26 ± 0.08
เถ้า	2.65 ± 0.02
คาร์โบไฮเดรท	66.22

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตัวอย่างงานวิจัย ที่เกี่ยวข้องกับการใช้ประโยชน์จากกากมันสำปะหลังมีดังเช่น

จิราภรณ์ โล่ห์วงศ์วัฒน์ (2525) ศึกษาการผลิตกรดมะนาวโดยเชื้อ *Aspergillus niger* An12 จากวัสดุที่ประกอบด้วยกากมันสำปะหลังผสมรำข้าวเจ้า

สาวิตร ตระกูลน่าเลื่อมใส (2530) การเลี้ยงเชื้อ *Rhodopseudomonas gelatinosa* จากกากมันสำปะหลังเพื่อผลิตเป็นอาหารปลาและการเพิ่มประสิทธิภาพการเลี้ยงและคุณค่าทางโภชนาการโดยเลี้ยงผสมกับเชื้อ *Rhodopseudomonas sphaeroides* P47

กล้าณรงค์ ศรีรอต (2538) ศึกษาความรู้เบื้องต้นในการผลิตกลูโคสซีรับจากแป้งและกากมันสำปะหลัง

สินีนาถ เจียมอนุกูลกิจ (2539) การผลิตกรดมะนาวโดย *Candida oleophila* NN39 จากสารละลายน้ำตาลที่ได้จากการย่อยกากมันสำปะหลัง

ชิดพงศ์ ประดิษฐสุวรรณ, สุเมธ ตันตระเธียร และโปรดปราน สิริธีรศาสน์ (2540) ศึกษาภาวะของอัลทราฟิลเทรชันต่อการผลิตน้ำตาลกลูโคสจากกากมันสำปะหลัง

ธันยาภรณ์ นาวินวรรณ (2542) ได้ศึกษาการผลิตแซนแทนกัมจากกากมันสำปะหลังโดยทำการเปลี่ยนแป้งและไฟเบอร์ในกากมันสำปะหลังเป็นน้ำตาลกลูโคสก่อนโดยย่อยด้วยกรดหรือเอนไซม์ แล้วนำสารละลายกลูโคสที่ได้ เลี้ยงเชื้อ *Xanthomonas campestris* เพื่อผลิตแซนแทนกัม

Budiatman และ Lonsane (1987) ศึกษาการใช้กากมันสำปะหลังทดแทนการใช้รำข้าวสาลีในการหมักด้วยอาหารแข็ง

Sukara, Melliawati และ Saono (1992) ศึกษาการผลิตอะไมเลสของยีสต์จากผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังหมักและกากมันสำปะหลัง

จากตัวอย่างงานวิจัยดังกล่าวข้างต้น อาจกล่าวได้ว่า การย่อยกากมันสำปะหลังให้เป็นน้ำตาลกลูโคสเป็นหนทางหนึ่งในการใช้ประโยชน์และเพิ่มคุณค่ากากมันสำปะหลัง โดยมีงานวิจัยที่ได้นำกากมันสำปะหลังมาย่อยให้เป็นน้ำตาลกลูโคส เพื่อนำไปใช้เป็นสารตั้งต้นของผลิตภัณฑ์ต่างๆ มากมาย แต่อย่างไรก็ตาม ควรมีการศึกษาเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตน้ำตาลกลูโคสจากกากมันสำปะหลังให้มากขึ้น ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อ ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์เพื่อผลิตน้ำตาลกลูโคส โดยใช้การกรองแบบอัลทราฟิลเทรชันเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยกากมันสำปะหลัง

2.3 การย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์

การย่อยกากมันสำปะหลังเพื่อผลิตน้ำตาลกลูโคส สามารถทำได้ 2 วิธี คือ การย่อยด้วยกรดหรือเอนไซม์ สำหรับการย่อยด้วยกรดปฏิกิริยาจะเกิดในภาวะที่รุนแรงต้องใช้อุณหภูมิสูง ถึงแม้ว่าปฏิกิริยาจะเกิดอย่างรวดเร็ว แต่น้ำตาลที่ได้บางส่วนถูกทำปฏิกิริยาต่อไป เปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์อื่น เช่น เฟอร์ฟูรอลหรือสารเคมีอื่นๆ ซึ่งมีผลให้น้ำตาลมีสีคล้ำและรสขม ส่วนการย่อยด้วยเอนไซม์จะเป็นภาวะที่ไม่รุนแรง และผลิตภัณฑ์ที่ได้จะมีความบริสุทธิ์กว่าการย่อยด้วยกรด

เนื่องจากกากมันสำปะหลังมีองค์ประกอบหลักคือ แป้ง ซึ่งอยู่ภายในเซลล์ที่ไม่ถูกทำลายในระหว่างกระบวนการผลิตแป้ง ดังนั้นในการย่อยกากมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์เพื่อผลิตน้ำตาลกลูโคส จึงต้องทำลายผนังเซลล์ (cell wall) เพื่อให้สารประกอบที่อยู่ภายในเซลล์ถูกปลดปล่อยออกมา (Sreenath, Frey และ Rodalo, 1984) เอนไซม์ต่างๆ ที่จำเป็นต้องใช้จึงมีหน้าที่ย่อยสลายผนังเซลล์พืช เพื่อสกัดแป้งที่อยู่ภายในเซลล์ และย่อยแป้งเพื่อเปลี่ยนเป็นน้ำตาลกลูโคส

2.3.1 การย่อยผนังเซลล์พืช

เนื่องจากโครงสร้างหลักของผนังเซลล์พืชประกอบด้วยเซลลูโลส (cellulose) และสารประกอบเพคติน (pectic substance) การยึดเกาะกันระหว่างองค์ประกอบทั้งสองนี้ ส่งผลให้ผนังเซลล์พืชมีความแข็งแรง ดังนั้นในการย่อยผนังเซลล์พืชจึงต้องทำลายโครงสร้างของเซลลูโลสและสารประกอบเพคติน โดยเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยเซลลูโลสและสารประกอบเพคติน คือ เซลลูเลส (cellulase) และเพกทิเนส (pectinase) ตามลำดับ

2.3.1.1 การย่อยเซลลูโลส

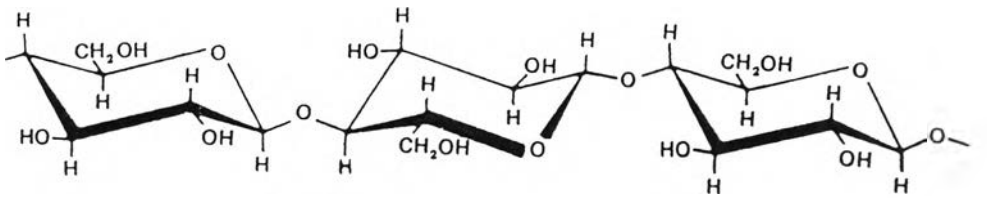
เซลลูโลส เป็นสารโพลีแซคคาไรด์ซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญของผนังเซลล์พืช ทำให้เซลล์พืชมีความแข็งแรง ซึ่งโครงสร้างของเซลลูโลสประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคสต่อกันเป็นสายตรงด้วยพันธะ β-1,4 ไกลโคซิดิก (รูปที่ 2)

2.3.1.2 เซลลูเลส (ปราณี อ่านเปรื่อง , 2543)

เอนไซม์ที่ย่อยสลายเซลลูโลส คือ เซลลูเลส ซึ่งเป็นเอนไซม์หลายชนิดทำงานร่วมกัน ได้แก่

1. เอนไซม์ C_1 หรือเรียก hydrogen bondase

มีหน้าที่ทำให้พันธะไฮโดรเจนอ่อนลง เพื่อกระตุ้นหรือแตกสลายเซลลูโลสให้มีสภาพที่เหมาะสมสำหรับเป็นสับสเทรตของเซลลูเลสลำดับต่อไปคือ เอนไซม์ C_x



รูปที่ 2 โครงสร้างของเซลลูโลส (รัชนี ตัณฑะพานิชกุล , 2537)

2. เอนไซม์ C_x หรือ β -1,4 glucanases

ทำหน้าที่ย่อยสลายพันธะในเซลลูโลส หรืออนุพันธ์ของเซลลูโลสที่ละลายน้ำได้ คือ ย่อยสลายพันธะ β -1,4 ไกลโคซิดิก แบ่งเอนไซม์กลุ่มนี้ เป็น 2 ชนิด คือ

2.1 Endo - β -1,4 glucanases ย่อยสลายสายพอลีเมอร์ภายในสายอย่างอิสระ ได้ผลผลิต คือ โอลิโกเมอร์และกลูโคส

2.2 Exo - β -1,4 glucanases ย่อยสลายสายพอลีเมอร์จากปลายด้านที่ไม่มีหมู่รีดิวซ์เข้าไปอย่างมีระเบียบ และมีการเปลี่ยนแปลงโครงรูปของผลผลิต คือ β - configuration เป็น α - configuration ซึ่งผลผลิตที่ได้คือ เซลโลไบโอสและกลูโคส

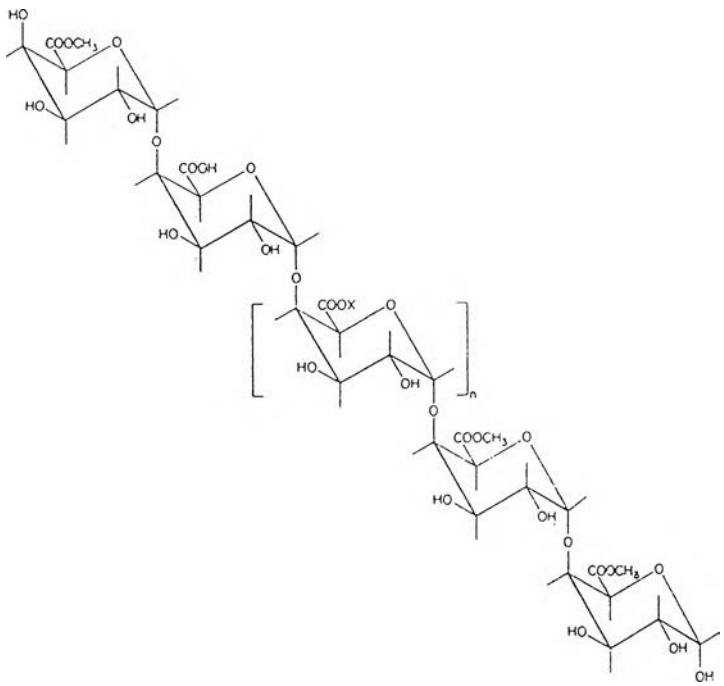
3. β - glucosidase

ลักษณะปฏิกิริยาคล้าย Exo - β -1,4 glucanases แต่อัตราการย่อยสลายต่างกัน คือ อัตราเร็วจะลดลงเมื่อความยาวสายพอลิเมอร์เพิ่มขึ้น มีสับสเทรตเป็น เซลโลไบโอสถึงเซลโลเฮกซ์โอส (กลูโคสจาก 2 – 6 หน่วย) และผลผลิตที่ได้ คือ กลูโคส ซึ่งมีโครงรูปเปลี่ยนจากเดิม

2.3.1.3 การย่อยสลายสารประกอบเพคติน (ปราณี อ่านเปรื่อง , 2543)

สารประกอบเพคติน เป็นส่วนประกอบที่มีอยู่ประมาณ 35 เปอร์เซ็นต์ของผนังเซลล์พืชชั้นแรก (primary cell wall) (Bidwell, 1995) และชั้นระหว่างเซลล์ (middle lamella) ของพืชชั้นสูง ทำให้เนื้อเยื่อพืชเกาะกันเกิดความแข็งแรงสำหรับโครงสร้างของสารประกอบเพคตินประกอบ

ด้วยกรดกาแลคทูโรนิก (galacturonic acid) ต่อกันด้วยพันธะ α -1,4 ไกลโคซิดิก ซึ่งมีหมู่คาร์บอกซิลบางส่วนถูกเอสเทอริไฟด์ด้วยเมทานอล (รูปที่ 3) สำหรับสายโมโนเมอร์ที่ไม่ถูกเอสเทอริไฟด์เรียกว่ากรดเพคติค ถ้าถูกเอสเทอริไฟด์เล็กน้อย เรียกว่า กรดเพคตินิค และถ้าหมู่คาร์บอกซิลประมาณ 75 เปอร์เซ็นต์ถูกเอสเทอริไฟด์ เรียกว่า เพคติน



รูปที่ 3 โครงสร้างของสารประกอบเพคติน

2.3.1.4 เพกทิเนส

เอนไซม์ที่ย่อยสลายสารประกอบเพคติน คือ เพกทิเนส ซึ่งแบ่งได้ 3 ชนิด คือ

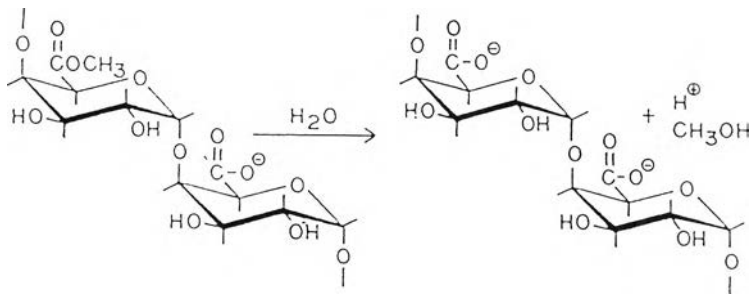
1. เพคตินเอสเทอร์เรส (Pectinesterase)

มีชื่อตามระบบว่า Pectin pectylhydrolase เร่งปฏิกิริยาการแยกหมู่เมทิลจากสารประกอบเพคตินที่มีการเติมหมู่เมทิลที่หมู่คาร์บอกซิล โดยไม่ย่อยสลายพันธะไกลโคซิล ได้ผลผลิตจากปฏิกิริยา คือ กรดเพคติค กรดเพคตินิค และเมทานอล และลักษณะของปฏิกิริยาของเพคตินเอสเทอร์เรส ดังรูปที่ 4(a)

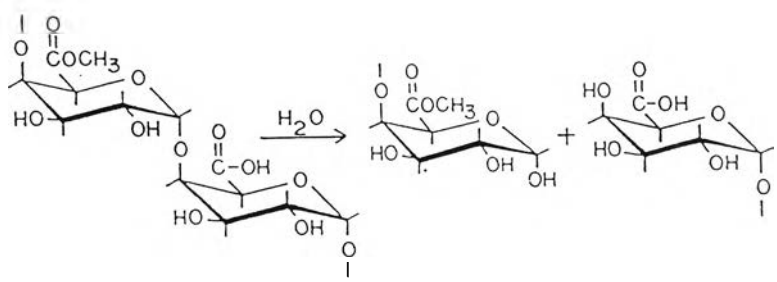
2. พอลิกาแลคทูโรเนส (Polygalacturonases)

มีชื่อตามระบบว่า Poly - α - 1,4 galacturonide glycanohydrolase ทำหน้าที่ย่อยพันธะไกลโคซิลในสารประกอบเพคติน มีลักษณะปฏิกิริยาดังรูปที่ 4(b) ได้ผลผลิตจากปฏิกิริยา

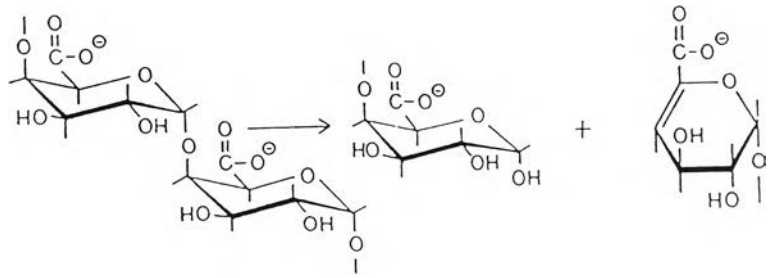
(a) เพคตินเอสเทอร์เรส



(b) พอลิกาแลคทูโรเนส



(c) เพคเทตไลเอส



รูปที่ 4 ลักษณะปฏิกิริยาของเพกทิเนส (a) เพคตินเอสเทอร์เรส (b) พอลิกาแลคทูโรเนส (c) เพคเทตไลเอส

คือ สารประกอบเพคตินสายสั้น ทำให้เกิดหมู่รีดิวซ์เพิ่มขึ้น สามารถแบ่งกลุ่มย่อยของพอลิกาแลคทูโรเนสตามลักษณะการย่อยสลาย คือ

- กลุ่มย่อยสลายแบบสุ่ม (endo splitting polygalacturonases) แบ่งได้ 2 กลุ่ม คือ
    ก. Endo – polymethylgalacturonases จำเพาะต่อสับสเทรตที่มีเมทิลเอสเทอร์ โดยจะไฮโดรไลซ์สับสเทรตที่เป็นเพคตินได้ดีกว่ากรดเพคติค และมีลักษณะการย่อยแบบไม่เป็นระเบียบในสายพอลิเมอร์
    ข. Endo – polygalacturonases จำเพาะต่อสับสเทรตที่ไม่มีหมู่เมทิลเอสเทอร์ โดยจะไฮโดรไลซ์สับสเทรตที่เป็นกรดเพคติคได้ดีกว่าเพคติน และมีลักษณะการย่อยแบบไม่เป็นระเบียบในสายพอลิเมอร์
- กลุ่มย่อยสลายแบบเป็นระเบียบ (exo splitting polygalacturonases) แบ่งได้ 2 กลุ่ม คือ
    ก. Exo – polymethylgalacturonases จำเพาะต่อสับสเทรตที่มีเมทิลเอสเทอร์ โดยจะไฮโดรไลซ์สับสเทรตที่เป็นเพคตินได้ดีกว่ากรดเพคติค และมีลักษณะการย่อยแบบเป็นระเบียบจากปลายสายพอลิเมอร์
    ข. Exo – polygalacturonases จำเพาะต่อสับสเทรตที่ไม่มีเมทิลเอสเทอร์ โดยจะไฮโดรไลซ์สับสเทรตที่เป็นกรดเพคติคได้ดีกว่าเพคติน และมีลักษณะการย่อยแบบเป็นระเบียบจากปลายสายพอลิเมอร์

3. เพคเทต ไลเอส (Pectate lyases)

มีชื่อตามระบบว่า Poly - α - 1,4 -D- galacturonide lyase เป็นเพกทิเนสที่อยู่ในกลุ่มไลเอส โดยจะย่อยสลายพันธะไกลโคซิลในเพคติน หรือกรดเพคติค แล้วได้สารพอลิเมอร์สายสั้นที่สายหนึ่งมีปลายรีดิวซ์ และอีกสายพอลิเมอร์มีพันธะคู่ โดยเพคทตไลเอสจะต้องการ Ca^{2+} เป็นตัวกระตุ้น ลักษณะของปฏิกิริยาดังรูปที่ 4(c) สามารถแบ่งกลุ่มของเพคเทตไลเอสได้เช่นเดียวกับพอลิกาแลคทูโรเนส คือ

- กลุ่มย่อยสลายแบบสุ่ม (Endo splitting pectate lyases)
    ก. จำเพาะต่อสับสเทรตที่มีเมทิลเอสเทอร์ ซึ่งสับสเทรต เป็นเพคติน และลักษณะการย่อยแบบไม่เป็นระเบียบ
    ข. จำเพาะต่อสับสเทรตที่ไม่มีเมทิลเอสเทอร์ ซึ่งสับสเทรต เป็นกรดเพคติค และลักษณะการย่อยแบบไม่เป็นระเบียบ
- กลุ่มย่อยสลายแบบมีระเบียบ (Exo splitting pectate lyases)
    ก. จำเพาะต่อสับสเทรตที่มีเมทิลเอสเทอร์ ซึ่งสับสเทรต เป็นเพคติน และลักษณะการย่อยแบบเป็นระเบียบจากปลายไม่มีรีดิวซ์

ข. จำเพาะต่อสับสเทรตที่ไม่มีเมทิลเอสเทอร์ ซึ่งสับสเทรต เป็นกรดเพคติค และลักษณะการย่อยแบบเป็นระเบียบจากปลายไม่มีรีดิวซ์

โดยทั่วไปเพกทิเนสที่ผลิตเพื่อจำหน่ายในทางการค้า จะเป็นส่วนผสมของเพกทิเนสทั้ง 3 ชนิด คือ เพคตินเอสเทอร์เรส พอลิกาแลคทูโรเนส และเพคเทตไลเอส และยังมีส่วนของเอนไซม์ชนิดอื่นรวมอยู่ด้วยในสัดส่วนต่างๆ กัน เพื่อวัตถุประสงค์ในการใช้งานในด้านนั้นๆ ด้วย เช่น เซลลูเลส ไซลาเนส อะไมเลส และโปรติเอส เป็นต้น (Pilnik และ Rombouts, 1979)

เนื่องจากโครงสร้างของผนังเซลล์พืชจะอยู่ในลักษณะที่สารประกอบเพคตินจับกับเส้นใยของเซลลูโลสมีผลทำให้ผนังเซลล์พืชมีความแข็งแรง ซึ่งมีงานวิจัยมากมายที่ใช้เพกทิเนสร่วมกับเซลลูเลสในการย่อยสลายเซลล์พืช เพื่อสกัดสารต่าง ๆ ที่อยู่ภายในเซลล์ออกมา ซึ่งมีตัวอย่างงานวิจัยที่ใช้เอนไซม์ร่วมในการนี้ ดังเช่น

อรุณี เพียรทวีรัชต์ และปราณี อ่านเปรื่อง (2536) ศึกษาผลของเพกทิเนส เซลลูเลส และอะไมเลส ต่อการผลิตน้ำกล้วยหอม พบว่าการนำเซลลูเลสใช้ร่วมกับเพกทิเนสจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยสลายเนื้อกล้วยหอมได้

Voragen , Heutink และ Pilnik (1980) ศึกษาการย่อยผนังเซลล์ของแอปเปิ้ล โดยการใช้เอนไซม์ผสมระหว่างเซลลูเลสและเพกทิเนส พบว่าเอนไซม์เพกทิเนสจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของเอนไซมม์เซลลูเลสในกรย่อยผนังเซลล์ของแอปเปิ้ล

Sreenath , Frey และ Radola (1984) ศึกษาการย่อยแครอทโดยการใช้เซลลูเลสร่วมกับเพกทิเนส พบว่าสามารถช่วยเสริมการย่อยสลายเซลล์พืชได้อย่างมีประสิทธิภาพดีกว่าการใช้เอนไซม์ชนิดใดชนิดหนึ่งเพียงอย่างเดียว

Wicker , Vassallo และ Echeverria (1988) สกัดเพคตินเอสเทอร์เรส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่อยู่ที่ผนังเซลล์ (cell wall bound enzyme) ของส้ม โดยใช้เพกทิเนสร่วมกับเซลลูเลสในการย่อยสลายผนังเซลล์ พบว่าการใช้เอนไซม์ร่วม 2 ชนิดดังกล่าว ทำให้สามารถสกัดเพคตินเอสเทอร์เรสได้เพิ่มขึ้น

Padmanabhan และ Lonsane (1992) ศึกษาสมบัติของแป้งมันสำปะหลังที่ได้จากการใช้เพกทิเนสและเซลลูเลสช่วยในการสกัด เปรียบเทียบกับวิธีการสกัดแป้งโดยทั่วไป ซึ่งการใช้เพกทิเนสร่วมกับเซลลูเลสทำให้สามารถสกัดแป้งได้เพิ่มขึ้น 40 เปอร์เซ็นต์

จากงานวิจัยดังกล่าวข้างต้นพบว่า การใช้เพกทิเนสร่วมกับเซลลูเลสในการย่อยสลายผนังเซลล์พืช สามารถสกัดสารต่างๆ ที่อยู่ภายในเซลล์ได้ ซึ่งการใช้เอนไซม์ผสมดังกล่าวจะ

ช่วยเสริมการย่อยสลายเซลล์พืชได้อย่างมีประสิทธิภาพดีกว่าใช้เอนไซม์ชนิดใดชนิดหนึ่งเพียงอย่างเดียว

2.3.2 การย่อยแป้ง

2.3.2.1 องค์ประกอบของแป้ง

แป้งประกอบด้วยพอลิเมอร์ 2 ชนิดได้แก่ อะไมโลส (amylose) และอะไมโลเพคติน (amylopectin) (รูปที่ 5) อะไมโลสจะประกอบด้วยหน่วยของน้ำตาลกลูโคสมาต่อกันเป็นสายตรงด้วยพันธะ α - 1,4 ไกลโคซิดิก ประมาณ 200 – 2,000 หน่วย สำหรับอะไมโลเพคตินประกอบด้วยหน่วยของน้ำตาลกลูโคสมาต่อกันเป็นโซ่ตรง และมีแขนงที่ทุก ๆ 20 – 30 หน่วยของพันธะ α - 1,4 ไกลโคซิดิก ด้วยพันธะ α - 1,6 ไกลโคซิดิก ดังนั้นแป้งจึงประกอบด้วยน้ำตาลชนิดเดียว คือ น้ำตาลกลูโคส ซึ่งสูตรโครงสร้างทั่วไปของแป้ง คือ $(C_6H_{10}O_5)_n$

2.3.2.2 อะไมเลส

สำหรับเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยแป้ง ได้แก่ อะไมเลส ซึ่งแบ่งได้ 3 ชนิด คือ

1. แอลฟาอะไมเลส (α - amylase)

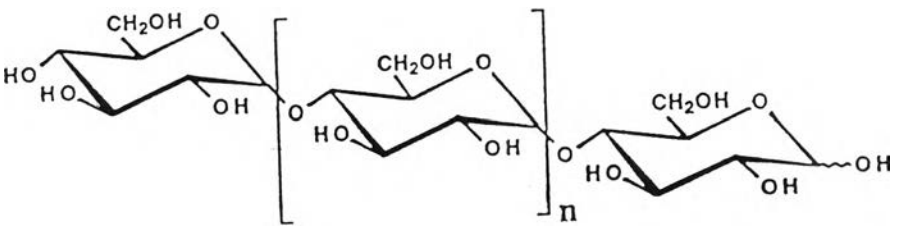
มีชื่อตามระบบว่า α - 1,4 – glucan 4 – glucanohydrolase ทำหน้าที่ย่อยแป้ง โดยจะตัดพันธะ α - 1,4 ไกลโคซิดิก ซึ่งการทำงานจะเป็นการตัดแบบสุ่ม สำหรับเอนไซม์ชนิดนี้ต้องการ Ca^{2+} เป็นตัวร่วมในการย่อย ได้ผลผลิตเป็นกลูแคน และลิมิตเดกซ์ทริน

2. บีตาอะไมเลส (β - amylase)

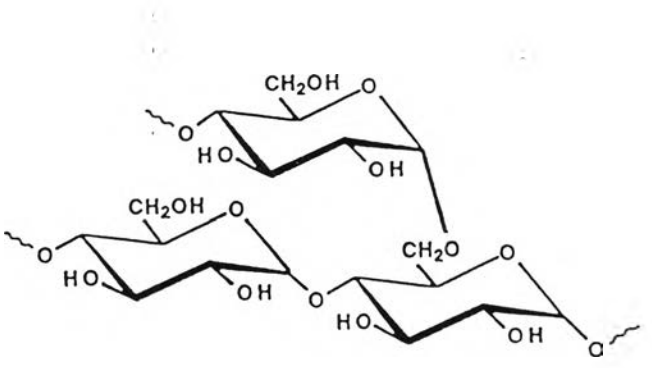
มีชื่อตามระบบว่า α - 1,4 - glucan maltohydrolase ทำหน้าที่ย่อยแป้งโดยจะตัดพันธะ α - 1,4 ไกลโคซิดิก โดยมีลักษณะการตัดแบบเป็นระเบียบ จากปลายสายด้านไม่มีหมูรีดิวซ์ เข้าสู่ภายในสายทีละ 1 หน่วยของมอลโตส หรือทีละ 2 หน่วยกลูโคส และหยุดปฏิกิริยาที่พันธะ α - 1,6 ไกลโคซิดิก ผลผลิตที่ได้ จะเป็นน้ำตาลมอลโตส และมีลิมิตเดกซ์ทรินปนอยู่ด้วย

3. แกมมาอะไมเลส (γ - amylase) หรือกลูโคอะไมเลส (glucoamylase)

มีชื่อตามระบบว่า α - 1,4 - glucan glucohydrolase ทำหน้าที่ย่อยแป้งโดยจะตัดพันธะไกลโคซิลที่ตำแหน่ง α - 1,4 , α - 1,6 และ α - 1,3 โดยการทำงานจะเป็นการตัดแบบเป็นระเบียบ จากปลายสายด้านที่ไม่มีหมูรีดิวซ์เข้าไปทีละ 1 หน่วยของกลูโคส ซึ่งผลผลิตที่ได้ก็คือ กลูโคส



อะไมโลส



อะไมโลเพคติน

รูปที่ 5 โครงสร้างของอะไมโลสและอะไมโลเพคติน (Carioca และคณะ, 1996)

2.3.2.3 ขั้นตอนในการย่อยแป้ง ประกอบด้วย 3 ขั้นตอน คือ

1. การเกิดเจลลาติไนเซชัน (Gelatinization)

เป็นขั้นตอนในการเตรียมแป้งให้มีสภาพเหมาะสมต่อการย่อยด้วยอะไมเลสเนื่องจากเป็นเอนไซม์ในกลุ่มไฮโดรเลส ซึ่งจะเร่งปฏิกิริยาการสลายพันธะเคมีในสารประกอบ ด้วยน้ำจึงต้องทำให้เม็ดแป้งดูดซึมน้ำเข้าไป เพื่อให้อะไมเลสสามารถทำงานได้ โดยกลไกในการเกิดการ

เจลลาติไนเซชันจะเกิดขึ้นได้เมื่อให้ความร้อนแก่น้ำแป้ง ทำให้พันธะไฮโดรเจนระหว่างหมู่ไฮดรอกซิลในโมเลกุลของแป้งถูกทำลาย โมเลกุลของน้ำจะเข้าไปจับกับหมู่ไฮดรอกซิลที่เป็นอิสระ ทำให้เม็ดแป้งเกิดการพองตัวและใสขึ้น ความหนืดของน้ำแป้งก็จะเพิ่มขึ้นเนื่องจากโมเลกุลของน้ำอิสระที่อยู่รอบๆ เหลือน้อยลง เม็ดแป้งจึงเคลื่อนที่ยากขึ้น สำหรับแป้งมันสำปะหลังมีช่วงอุณหภูมิในการเกิดเจลเท่ากับ 60 – 65 องศาเซลเซียส (สมาคมวิทยาศาสตร์การเกษตรแห่งประเทศไทย , 2541)

2. การเกิดลิเคอแฟคชัน (Liquefaction)

เป็นขั้นตอนลดความหนืดของแป้งที่ผ่านกระบวนการเจลลาติไนเซชันมาแล้ว เอนไซม์ที่ใช้ในขั้นตอนนี้ คือ แอลฟาอะไมเลส ซึ่งจะย่อยโมเลกุลของแป้งแบบสุ่มทำให้แป้งมีโมเลกุลเล็กลงและมีความหนืดลดลง

3. การเกิดแซคคาริฟิเคชัน (Saccharification)

เป็นกระบวนการย่อยแป้งขั้นสุดท้ายเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์น้ำตาลที่ต้องการซึ่งเอนไซม์ที่ใช้ในกระบวนการนี้ ได้แก่ บีตาอะไมเลส หรือกลูโคสอะไมเลส ผลผลิตที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ดังกล่าวจะเป็น มอลโตสหรือกลูโคส ตามลำดับ

2.4 จลนพลศาสตร์ของเอนไซม์ (Enzyme kinetics)

Michaelis และ Menten ได้เสนอกลไกการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ดังสมการ (1)

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

กลไกการเร่งปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์ (E) กับสับสเทรต (S) เกิดขึ้นโดยการจับตัวกันของโมเลกุลของเอนไซม์ และสับสเทรต เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน (ES) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาย้อนกลับได้และเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว จากนั้น ES จะสลายได้เป็นผลผลิต (P) และเอนไซม์อิสระ ซึ่งเป็นปฏิกิริยาย้อนกลับได้เช่นกัน แต่ช้ากว่าปฏิกิริยาการเกิด ES จึงจัดปฏิกริยาการสลาย ES เป็นปฏิกิริยาที่กำหนดความเร็วของปฏิกิริยาทั้งหมด

Michaelis และ Menten ได้อธิบายการสร้างสมการความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสับสเทรตและความเร็วปฏิกิริยา โดยกำหนดให้

$[E_o]$ = ความเข้มข้นของเอนไซม์ทั้งหมด

$[ES]$ = ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่จับกับสับสเทรต

$[E]$ = ความเข้มข้นของเอนไซม์อิสระ

$[S_o]$ = ความเข้มข้นของสับสเทรตเริ่มต้นทั้งหมด

$[S]$ = ความเข้มข้นของสับสเทรตอิสระ

$[P]$ = ความเข้มข้นของผลผลิต

$$[E_o] = [E] + [ES] \qquad (2)$$

ข้อกำหนดในการสร้างสมการ

1. $[S_o] >> [E_o]$ ความเข้มข้นของสับสเทรตทั้งหมดต้องสูงกว่าความเข้มข้นของเอนไซม์ทั้งหมดมากๆ ซึ่งความเร็วของปฏิกิริยาที่เกิดจะเป็นความเร็วปฏิกิริยาสูงสุด (V_{max})

2. ในการวัดความเร็วปฏิกิริยาเริ่มต้นนั้น ปฏิกิริยาการสลาย ES ไปเป็นผลผลิตจะเป็นปฏิกิริยาไม่ย้อนกลับ เนื่องจากในช่วงเริ่มต้นปฏิกิริยาจะเกิดผลผลิตน้อยมาก ดังนั้นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจะเป็นการเพิ่มผลผลิตให้มากขึ้นเพื่อปรับสมดุลของปฏิกิริยา ซึ่งจะได้ลักษณะของปฏิกิริยาดังสมการ (3)

$$E + S \underset{k_2}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} ES \xrightarrow{k_3} E + P \qquad (3)$$

3. อัตราเร็วในการเกิด ES = อัตราเร็วในการสลาย ES , ที่ภาวะคงตัว (Steady state)

$$\frac{dES}{dt} = \frac{-dES}{dt} \qquad (4)$$

4. เนื่องจากปฏิกิริยา $ES \xrightarrow{k_3} E + P$ เกิดช้า จึงเป็นปฏิกิริยาที่กำหนดความเร็วของปฏิกิริยาทั้งหมด ดังนั้น ความเร็วของปฏิกิริยา (v) จึงขึ้นอยู่กับปฏิกิริยาดังกล่าว ซึ่งมีค่าตามสมการ (5)

$$v = k_3 [ES] \qquad (5)$$

การสร้างสมการ Michaelis - Menten

เนื่องจากสมการ (4)

$$\frac{dES}{dt} = \frac{-dES}{dt} \qquad (4)$$

จากสมการ (3) จะได้ $k_1[E][S] = k_2[ES] + k_3[ES]$ (6)

$$\frac{[E][S]}{[ES]} = \frac{k_2 + k_3}{k_1} = k_m \qquad (7)$$

K_m เรียกว่า ค่าคงที่ของ Michaelis – Menten

จากสมการ (2) $[E_o] = [E] + [ES]$ จะได้ $[E] = [E_o] - [ES]$ (8)

ดังนั้น

$$K_m = \frac{([E_0] - [ES])[S]}{[ES]} \qquad (9)$$

$$[ES] = \frac{[E_0][S]}{K_m + [S]} \qquad (10)$$

จากสมการ (5) จะได้

$$[ES] = \frac{v}{k_3} \qquad (11)$$

เมื่อ [S] สูงเกินพอ, $[E_o]$ จะอยู่ในรูปของ [ES] และ $v = V_{max}$ แทนค่าใน (5) จะได้

$$V_{max} = k_3[E_0] \qquad (12)$$

$$[E_0] = \frac{V_{max}}{k_3} \qquad (13)$$

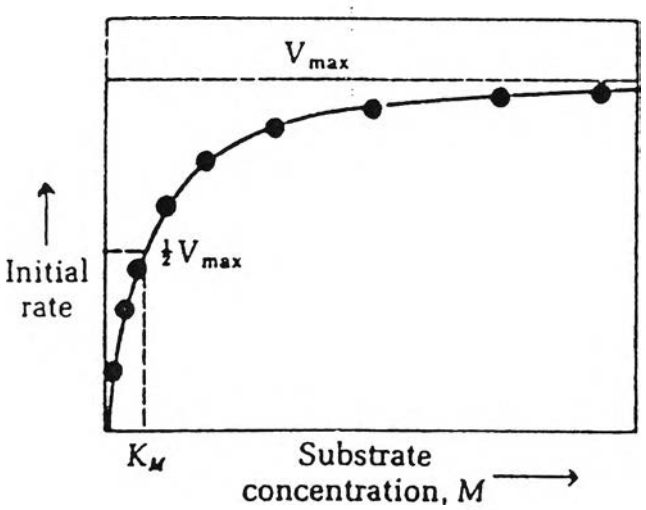
แทนค่า (11) และ (13) ใน (10)

$$v = \frac{V_{max}[S]}{K_m + [S]} \qquad (14)$$

เรียกว่า สมการของ Michaelis - Menten

ในการศึกษาจลนพลศาสตร์ของเอนไซม์โดยการกำหนดให้ปริมาณเอนไซม์คงที่และแปรความเข้มข้นของสับสเทรตแล้ววัดความเร็วเริ่มต้นของปฏิกิริยา จะได้กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเร็วเริ่มต้น และความเข้มข้นของสับสเทรต ดังรูปที่ 6 ซึ่งเรียกว่า substrate saturation curve ซึ่งมีลักษณะเป็น rectangular hyperbola

เมื่อปริมาณสับสเทรตต่ำจะได้ first order kinetics คือ ความเร็วเริ่มต้นจะขึ้นกับความเข้มข้นของสับสเทรตอย่างเดียว แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสับสเทรตจะได้ zero order kinetics คือความเร็วเริ่มต้นไม่ขึ้นกับความเข้มข้นของสับสเทรตอีกต่อไป ความเร็วตรงจุดนี้จะคงที่ถึงแม้จะเพิ่มปริมาณสับสเทรตอีกก็ตาม เรียกว่า ความเร็วปฏิกิริยาสูงสุด สำหรับค่า K_m มีค่าเท่ากับ ความเข้มข้นของสับสเทรตที่ทำให้ความเร็วปฏิกิริยาเป็นครึ่งหนึ่งของความเร็วปฏิกิริยาสูงสุด ดังนั้นค่า K_m จึงเป็นค่าคงที่สำหรับเอนไซม์แต่ละชนิด ซึ่งเป็นค่าความสัมพันธ์ ระหว่างความเข้มข้นของสับสเทรตและความเร็วปฏิกิริยา



รูปที่ 6 Substrate saturation curve

สามารถอธิบายลักษณะปฏิกิริยาโดยการแทนค่าความเข้มข้นของสับสเทรตในสมการ Michaelis – Menten ได้ดังนี้

1. ปฏิกิริยาในระยะ first order kinetics จะเกิดขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสับสเทรตต่ำ คือ $[S] \leq 0.01K_m$ (ในเชิงปฏิบัติ $[S] \cong 0.05K_m$)

จากสมการ (14)

$$v = \frac{V_{max}[S]}{K_m + [S]}$$

แทนค่า $[S] = 0.05\ K_m$

$$v = \frac{V_{max}[S]}{K_m + 0.05K_m}$$

เนื่องจาก $0.05K_m$ มีค่าน้อยมาก
จึงได้

$$v = \frac{V_{max}\ [S]^1}{K_m}$$

$$v \ \alpha \ [S]^1$$

เป็น first order kinetics

2. ปฏิกิริยาในระยะ zero order kinetics จะเกิดขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสับสเทรตสูง คือ $[S] \geq 100K_m$ (ในเชิงปฏิบัติ $[S] \cong 20K_m$)
แทนค่า $[S] = 20\ K_m$

$$v = \frac{V_{max}[S]}{K_m + [S]}$$

เนื่องจาก K_m มีค่าน้อยมากเมื่อเทียบกับ $[S] = 20K_m$

$$v = V_{max}[S]^0$$

$$v \ \alpha \ [S]^0$$

ซึ่งเป็น zero order kinetics

2.5 อัลทราฟิลเทรชัน (Ultrafiltration)

อัลทราฟิลเทรชัน คือ กระบวนการกรองเพื่อแยกสารที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ระหว่าง 1,000 - 100,000 ออกจากสารละลายหรือสารที่มีโมเลกุลเล็กโดยการใช้เมมเบรน (membrane) ซึ่งมีรูขนาดเล็กในการกรอง ประกอบกับการใช้ความดันในการผลักดันให้เกิดการแยกของสารดังกล่าว

หลักการของอัลทราฟิลเทรชัน คือ การให้ความดันแก่สารละลาย ซึ่งจะอยู่ในช่วง 150 - 1,000 kPa ทำให้สารโมเลกุลเล็กสามารถเคลื่อนที่ผ่านเมมเบรนออกมาได้ แต่สารที่มีขนาดใหญ่กว่าขนาดรูของเมมเบรน จะไม่สามารถผ่านออกมา และถูกกักไว้บนผิวหน้าของเมมเบรน สำหรับขนาดของโมเลกุลที่เล็กที่สุดที่ไม่สามารถผ่านเมมเบรนได้ จะเรียกว่า molecular weight cut off ซึ่งเป็นค่าที่บอกความสามารถในการกรองของเมมเบรน โดยในการเลือกใช้เมมเบรนในการกรองสารแต่ละชนิดนั้น จำเป็นจะต้องพิจารณาถึง molecular weight cut off ที่เหมาะสม (Butler, 1992)

กลไกการไหลผ่านเมมเบรน

ในขั้นตอนของการกรองนั้น มีกลไกการไหลของสารละลาย 2 แบบ (Butler, 1992) ได้แก่

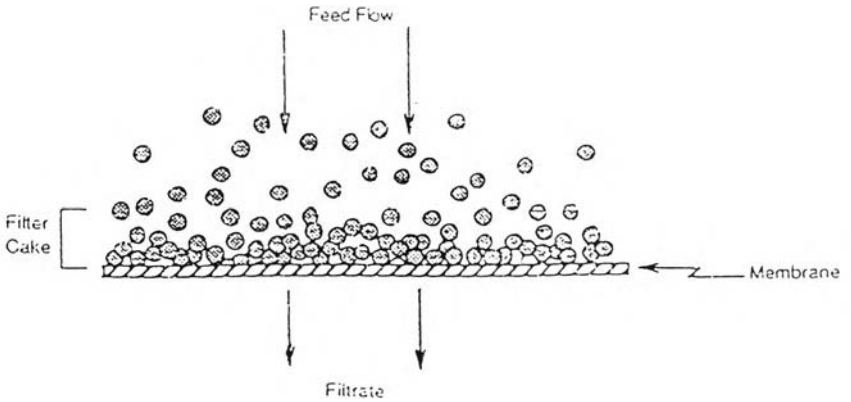
1. Dead end filtration

เป็นการกรองที่มีการไหลของสารละลายลงไปตามแนวของเมมเบรน ดังรูปที่ 7(a) ซึ่งในการกรองแบบอัลทราฟิลเทรชัน ตัวถูกละลายจะถูกพัดพาไปตามกระแสมาที่ผิวหน้าของเมมเบรน และถูกเมมเบรนกักไว้ ทำให้เกิดการสะสมของโมเลกุลของสารที่อยู่ที่ผิวหน้าของเมมเบรน เกิดเป็นชั้นเค้กกรอง เรียกว่า ชั้นเจล ซึ่งชั้นเจลนี้ มีความต้านทานต่อการไหลผ่านที่สูงมากทำให้อัตราเร็วของการไหลผ่านเมมเบรนลดลงอย่างรวดเร็ว และหลังจากการเกิดชั้นเจลนี้แล้ว ถึงแม้ว่าจะเพิ่มความดันในการกรองให้สูงขึ้น ก็จะเพียงแต่ทำให้ความหนาของชั้นเจลสูงขึ้นแต่อัตราการไหลผ่านของสารละลายจะไม่สูงขึ้น

2. Cross flow filtration

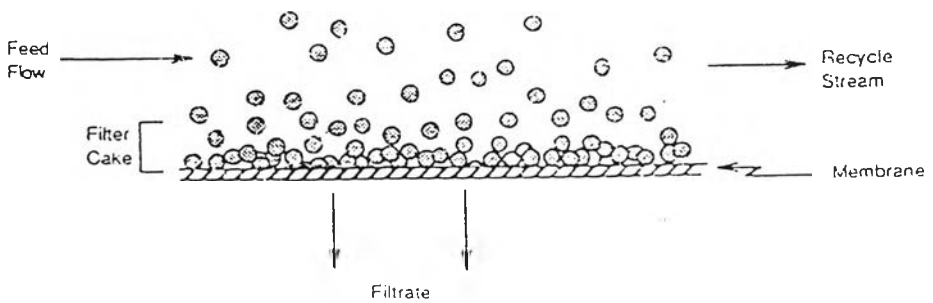
เป็นการกรองที่มีการไหลของสารละลายในลักษณะตั้งฉากกับแนวของเมมเบรนดังรูปที่ 7(b) ทำให้เกิดแรงเฉือนจากการเคลื่อนที่ของสารละลายผ่านผิวหน้าเมมเบรน ซึ่งการกรองแบบนี้จะช่วยลดความหนาของชั้นเจลและเป็นการลดความต้านทานการกรองด้วย

(a)



Dead end filtration

(b)



Cross flow filtration

รูปที่ 7 กลไกการไหลผ่านเมมเบรน (a) Dead end filtration, (b) Cross flow filtration

ปัจจุบันได้มีการนำการกรองแบบอัลทราฟิลเทรชันมาใช้งานด้านเทคโนโลยีชีวภาพในด้านต่างๆ มากมาย เช่น การผลิตน้ำดื่ม การบำบัดน้ำเสีย หรือใช้ในการแยกโปรตีนหรือไขมัน เป็นต้น ซึ่งมีตัวอย่างงานวิจัยเกี่ยวกับเรื่องนี้ ได้แก่

Ko , Chen และ Lai (1993) ศึกษาการบำบัดน้ำเสียจากกระบวนการผลิตแป้งถั่วเขียวโดยใช้การกรองแบบอัลทราฟิลเทรชันแยกโปรตีนออกจากน้ำเสีย ทำให้สามารถใช้ประโยชน์จากถั่วเขียวได้อย่างเต็มที่ พบว่าการใช้เมมเบรนขนาด molecular weight cut off (MWCO) 30,000 สามารถแยกโปรตีนออกจากน้ำเสียได้ 87.8 เปอร์เซ็นต์ โดยแยกได้ดีกว่าการใช้เมมเบรนขนาด MWCO 500,000 ซึ่งแยกโปรตีนได้ 50.3 เปอร์เซ็นต์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Lee และ Kim (1993) ได้ทำการย่อยเซลลูโลสด้วยเอนไซม์เซลลูเลสเพื่อผลิตน้ำตาลกลูโคสโดยพบว่า การย่อยในเครื่องปฏิกรณ์อัลทราฟิลเทรชันทำให้สามารถนำเอนไซม์กลับมาใช้ใหม่ได้อีก และการกรองเอากลูโคสออกไปยังเป็นการลดการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลสด้วย

Huang และคณะ (1995) ได้ศึกษาการใช้การกรองแบบอัลทราฟิลเทรชันในการแยกกรดกลูตามิกออกจากระบบ ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีความบริสุทธิ์ขึ้น 3.3 เปอร์เซ็นต์ และประสิทธิภาพในการผลิตสูงขึ้น 11.1 เปอร์เซ็นต์

Mameri และคณะ (1996) ได้ศึกษาการใช้อัลทราฟิลเทรชันในการบำบัดน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์ปลา พบว่าสามารถลดค่าความต้องการอ๊อกซิเจนทางชีวภาพ (BOD) ลงได้ 80% และยังสามารถแยกโปรตีนจากน้ำเสียดังกล่าวโดยทำให้โปรตีนเข้มข้นขึ้น 7 เท่า

Kobayashi และคณะ (1996) ศึกษาผลของประจุของเมมเบรนที่ใช้ในการกรองแบบอัลทราฟิลเทรชัน ต่อประสิทธิภาพในการบำบัดน้ำเสียที่ประกอบด้วยเปปโทน พบว่า เมมเบรนที่มีประจุบวกจะทำให้ชั้นเจลของเปปโทน หนากว่าเมมเบรนที่ไม่มีประจุและเมมเบรนที่มีประจุลบ เนื่องจากมีการจับกันระหว่างประจุบวกของเมมเบรนและหมู่คาร์บอกซิลของเปปโทน

Spagnuolo และคณะ (1999) ศึกษาการย่อยหัวผักกาดด้วย arabinases เพื่อผลิต arabinose โดยแยกเอาเพกตินและเซลลูโลสออกโดยการกรองแบบอัลทราฟิลเทรชัน พบว่า การย่อยแบบ semicontinuous สามารถผลิต arabinose ได้ปริมาณเท่ากับการย่อยแบบ batch แต่ใช้ปริมาณเอนไซม์น้อยกว่า 3.5 เท่า

Cass และคณะ (2000) ศึกษาการผลิต hexanal ซึ่งเป็นสารให้กลิ่นรสจากมะเขือเทศด้วยเอนไซม์ที่สกัดจากมะเขือเทศ พบว่า การย่อยร่วมกับการกรองแบบอัลทราฟิลเทรชัน สามารถผลิต hexanal ด้วยอัตรา 5.1 ไมโครกรัม/นาที โดยเอนไซม์ยังทำงานอยู่ในระบบได้เป็นเวลามากกว่า 1 สัปดาห์

Ordonez , Jeon และ Roberts (2000) ศึกษาคุณสมบัติของโยเกิร์ตที่ผลิตจากนมที่ผ่านการกรองแบบอัลทราฟิลเทรชัน พบว่า มีปริมาณโปรตีนและแคลเซียมสูงกว่าโยเกิร์ตที่ผลิตจากนมที่ไม่ผ่านการกรอง โดยมีรสชาดและเนื้อสัมผัสที่ดีด้วย

2.6 การใช้อัลทราฟิลเทรชันในการย่อยแป้งด้วยเอนไซม์

การนำอัลทราฟิลเทรชันมาใช้กับการย่อยแป้งด้วยเอนไซม์ เป็นหนทางหนึ่งในการนำการกรองแบบอัลทราฟิลเทรชันมาประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์ เนื่องจากการย่อยแบบ batch มีข้อเสีย คือ ต้องใช้ถังขนาดใหญ่ในการย่อยเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ในปริมาณมาก หลังจากการย่อยต้องมี

ขั้นตอนในการแยกผลิตภัณฑ์ออกจากสิ่งเจือปนอื่น ๆ และเอนไซม์ที่ใช้ก็จะใช้ได้เพียงครั้งเดียว ซึ่งจากเหตุผลต่าง ๆ ดังกล่าว จึงได้มีการประยุกต์เอาการกรองแบบอัลทราฟิลเทรชันมาใช้กับการย่อยแป้งด้วยเอนไซม์ในถังปฏิกรณ์ ซึ่งถือว่าเป็นการตรึงเอนไซม์ชนิดหนึ่งโดยเอนไซม์สามารถเคลื่อนที่ได้อย่างอิสระในพื้นที่ขนาดจำกัด รวมทั้งแป้งซึ่งเป็นสารโมเลกุลใหญ่จะถูกกักไว้ในระบบเนื่องจากไม่สามารถเคลื่อนที่ผ่านเมมเบรนได้ ส่วนผลิตภัณฑ์ซึ่งเป็นน้ำตาลและสารโมเลกุลเล็กจะเคลื่อนที่ผ่านเมมเบรนออกไปได้ ซึ่งข้อดีของระบบนี้ คือ สามารถนำเอนไซม์กลับมาใช้ใหม่ได้อีกโดยไม่ต้องทำให้อยู่ในรูปของเอนไซม์ตรึงรูป (Immobilized enzyme) ซึ่งในการเตรียมเอนไซม์ตรึงรูปนั้นมีขั้นตอนที่ยุ่งยาก และมีผลให้เอนไซม์เสียแอคติวิตีได้ ดังนั้นการนำอัลทราฟิลเทรชันมาใช้กับการย่อยแป้งด้วยเอนไซม์ จะทำให้กระบวนการผลิตสามารถทำในระบบต่อเนื่องได้โดยไม่ต้องทำให้เอนไซม์อยู่ในลักษณะของเอนไซม์ตรึงรูป และนอกจากการใช้อัลทราฟิลเทรชันกรองเอาผลิตภัณฑ์ออกจากระบบแล้ว ยังเป็นการช่วยลดการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ในกรณีที่ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมีผลต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ด้วย

งานวิจัยเกี่ยวกับการใช้อัลทราฟิลเทรชันในการย่อยแป้งด้วยเอนไซม์ ได้แก่

Darnoko, Cheryan และ Artz (1989) ได้ศึกษาการย่อยแป้งมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลสในเครื่องปฏิกรณ์อัลทราฟิลเทรชันโดยการย่อยแบบ continuous พบว่า สามารถผลิตน้ำตาลกลูโคสได้มากกว่าการย่อยแบบ batch ประมาณ 10-11 เท่า หลังจากการย่อยเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

Nakajima และคณะ(1990) ศึกษาการย่อยแป้งด้วยเอนไซม์ผสมระหว่างบีตาอะไมเลสและพัลลูลาเนส (pullulanase) ในเครื่องปฏิกรณ์อัลทราฟิลเทรชัน ซึ่งใช้เมมเบรนที่มีค่า molecular weight cut off เท่ากับ 30,000 พบว่าสามารถกักเอนไซม์ไว้ในระบบได้ 99.9% ซึ่งการย่อยแบบ continuous ด้วยระบบดังกล่าวนี้ สามารถย่อยแป้งเป็นน้ำตาลมอลโตสได้ดีกว่าการย่อยแบบ batch

Sims และ Cheryan (1992) ได้ศึกษาการย่อยแป้งข้าวโพดในเครื่องปฏิกรณ์อัลทราฟิลเทรชัน โดยได้ศึกษาผลของความเข้มข้นของเอนไซม์ ความเข้มข้นของสับสเทรต และปัจจัยอื่น ๆ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพของการย่อยและพบว่าการย่อยแบบ continuous สามารถผลิตกลูโคสได้สูงกว่าการย่อยแบบ batch 10-20 เท่า และต่อมาในปีเดียวกัน Sims และ Cheryan ได้ทำการวิจัยต่อจากเดิม คือ ศึกษาผลของความดันต่ออัตราการไหลผ่านเมมเบรน พบว่า ที่ความดันที่ใช้ในการกรองเดียวกัน อัตราการกรองผ่านเมมเบรนจะคงที่ ไม่ว่าอัตราการไหลผ่านขวาง (cross flow) ผิว

หน้าเมมเบรนจะเพิ่มขึ้นก็ตาม นอกจากนี้ยังได้ศึกษาค่าสัมประสิทธิ์รีเจคชันของเมมเบรนที่มีต่อเอนไซม์ พบว่า มีค่าสูงมาก แสดงให้เห็นว่าเมมเบรนมีความสามารถในการกักเอนไซม์ได้ดี

Gaouar และคณะ (1997) ศึกษาการใช้เครื่องปฏิกรณ์อัลทราฟิลเทรชันในการผลิตน้ำตาลมอลโตสจากแป้งมันสำปะหลังโดยการย่อยด้วยเอนไซม์ 2 ชนิด คือ แอลฟาอะไมเลสและพัลลูลาเนส โดยศึกษาถึงปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการย่อยภายในเครื่องปฏิกรณ์อัลทราฟิลเทรชัน และพบว่าการย่อยด้วยเอนไซม์ 2 ชนิดดังกล่าวทำให้สามารถเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาลมอลโตสได้ถึง 72 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งถ้าหากย่อยด้วยแอลฟาอะไมเลสเพียงชนิดเดียว จะทำให้ความสามารถในการย่อยลดลง 11 เปอร์เซ็นต์