บทที่ 1

บทนำ

น้ำตาลทรายเป็นผลิตผลจากการเกษตรของประเทศไทย ที่ทำรายได้ให้แก่ประเทศเป็นจำนวนมากในแต่ละปี ทั้งยังมีบทบาทสำคัญในทางเศรษฐกิจทั้งในระดับประเทศและระดับโลก วัตถุดิบสำคัญที่ใช้ในการผลิตน้ำตาลทรายมี 2 ชนิด คือ อ้อย และหัวผักกาดหวาน (1) สำหรับประเทศไทย อ้อยเป็นวัตถุดิบสำหรับการผลิตน้ำตาลทรายเพียงอย่างเดียว

อ้อย มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Saccharum officinarum* ในประเทศไทยมีการปลูกอ้อยทั่วทุกภาค ซึ่งแต่ละภาคมีการปลูกพันธุ์อ้อยที่แตกต่างกันไป ตามลักษณะอากาศและสภาพดินเฉพาะถิ่น (2) อ้อยให้ผลผลิตสูงสุดเมื่ออายุประมาณ 11 ถึง 16 เดือน การตรวจความเข้มข้นของน้ำอ้อยนั้น โดยทั่วไปจะทำโดยวัดด้วย รีแฟรคโตมิเตอร์ หรือไฮโดรมิเตอร์ ค่าที่อ่านได้จะมีหน่วยเป็นดีกรีบริกซ์ (°brix) สำหรับการตรวจสอบความบริสุทธิ์ของน้ำอ้อย นิยมใช้กล้อง Polariscope ซึ่งจะทำให้เราทราบเปอร์เซ็นต์ของน้ำตาลซูโครสที่ปนอยู่ในของแข็งที่ละลายได้เรียกค่านี้ว่า"Polarization หรือ Pol" การเก็บเกี่ยวอ้อยอาจทำได้โดยใช้แรงงานคนหรือเครื่องจักร โดยอ้อยที่ขนส่งสู่โรงงานควรจะสะอาด มียอดอ้อยน้อย ไม่มีใบแห้ง อีกทั้งควรมีปริมาณดินทรายและสิ่งสกปรกน้อย จึงจะเหมาะสมในการหีบ ทั้งนี้เนื่องจากว่า ใบและยอดอ้อยจะมีสารพวกน้ำตาลรีดิวซ์และสารประกอบอินทรีย์ ซึ่งจะเป็นอุปสรรคในการทำใสและยังแปรสภาพเป็นสารอื่น ที่จะเป็นเหตุให้น้ำอ้อยเปลี่ยนสีได้ ในขณะที่ดินทรายที่เจือปนมาจะเป็นอุปสรรคต่อเครื่องจักรในกระบวนการผลิต กล่าวคือจะเพิ่มกากตะกอน (Filter cake) มากขึ้น (2)

สำหรับสถานภาพของอ้อยและน้ำตาลในประเทศไทย พบว่า ในปัจจุบันมีพื้นที่ปลูกอ้อยทั่วประเทศประมาณ 4.8 ล้านไร่ รายละเอียดแสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1

เปรียบเทียบผลการสำรวจอ้อยประจำฤดูการผลิตปี 2532/33 และ 2531/32

เขตปลูกอ้อย	ปี 2532/33		ปี 2531/32	
	พื้นที่ปลูกอ้อยทั้งหมด(ไร่)	ปริมาณอ้อย (ตัน)	พื้นที่ปลูกอ้อยทั้งหมด(ไร่)	ปริมาณอ้อย (ตัน)
ภาคเหนือ	984,819	5,131,548	857,298	6,032,541
ภาคกลาง	2,313,449	17,709,827	2,190,781	21,027,353
ภาคตะวันออก	607,436	4,603,302	603,324	4,429,935
ภาคตะวันออก-เฉียงเหนือ	892,931	6,615,937	678,727	5,206,187
รวม	4,798,635	35,060,614	4,330,130	36,695,916

ที่มา: เอกสารอ้างอิงหมายเลข 3

ประเทศไทยมีโรงงานน้ำตาลทั้งหมด 46 โรงงาน กระจายอยู่ตามภาคต่างๆ ได้แก่ ภาคเหนือ 9 โรงงาน ภาคกลาง 22 โรงงาน ภาคตะวันออก 9 โรงงาน และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 6 โรงงาน จากสถิติที่ผ่านมาประเทศไทยมีการผลิตน้ำตาล และกากน้ำตาล (Molasses) ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2

ผลผลิตและประสิทธิภาพการผลิตน้ำตาลและกากน้ำตาล

ฤดูการผลิต	ผลผลิต (ล้านตัน)			ผลผลิตเฉลี่ยต่ออ้อย 1 ตัน (กิโลกรัม)	
	อ้อย	น้ำตาล	กากน้ำตาล	น้ำตาล	กากน้ำตาล
2527/28	25.053	2.471	1.351	98.65	53.93
2528/29	23.999	2.491	1.193	103.81	49.74
2529/30	24.441	2.535	1.206	103.73	49.33
2530/31	27.189	2.591	1.372	95.31	50.46
2531/32	36.695	3.898	1.746	106.32	47.62
2532/33	35.060	3.349	1.719	99.79	51.22
2533/34	40.547	3.817	2.174	94.14	53.63

ที่มา: เอกสารอ้างอิงหมายเลข 3 และ 4

กระบวนการผลิตน้ำตาลทราย

กระบวนการผลิตน้ำตาลทรายของโรงงานแต่ละแห่งย่อมใช้กรรมวิธีในการผลิตที่แตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นกับปัจจัยของความต้องการ ความพร้อมในด้านเงินทุน การจัดทำเครื่องจักรอุปกรณ์การผลิต ตลอดจนความสามารถในการจัดการ อย่างไรก็ตาม กระบวนการผลิตน้ำตาลทรายจะประกอบด้วยขั้นตอนหลัก (5,11) ดังต่อไปนี้

1.การขนถ่ายอ้อยลงบนสะพานป้อนอ้อย โดยขนถ่ายอ้อยจากรถบรรทุกซึ่งผ่านการตรวจสอบลักษณะคุณภาพ และน้ำหนักอ้อย แล้วลงบนสะพานอ้อยโดยเครื่องขนถ่ายอ้อยแบบต่างๆกันเช่น แบบคราดหรือ แบบแท่นเทรถบรรทุกอ้อยระบบไฮโดรลิค แบบเครื่องกว้านหรือปั้นจั่น เป็นต้น เมื่ออ้อยถูกถ่ายลงบนสะพานป้อนอ้อยแล้วจะผ่านเข้าเครื่องมือเตรียมอ้อยชนิดต่างๆ

2.การเตรียมอ้อยป้อนลูกหีบ เป็นการแปรรูปอ้อยให้อยู่ในลักษณะที่ชุดลูกหีบสามารถกัดน้ำอ้อยหรือน้ำตาล ได้สะดวกและมีประสิทธิภาพ เครื่องมือเตรียมอ้อยชุดต่างๆ ได้แก่ มีดหนุนสับอ้อย จะทำหน้าที่สับเกลี่ยอ้อยให้ส่วนบนของกองอ้อยมีระดับต่ำลงและสม่ำเสมอกับการป้อนเข้ามีดสับชุดต่อไป ซึ่งจะทำหน้าที่ทอนอ้อยให้เป็นท่อนขนาดเล็กลงไปตามลำดับก่อนเข้าเครื่องฉีกอ้อยที่จะฉีกย่อยอ้อยให้เป็นฝอยละเอียดพอสมควรโดยการตีด้วยแท่งค้อน

3.การสกัดน้ำอ้อย เครื่องมือที่ใช้สกัดน้ำอ้อย ได้แก่ ชุดลูกหีบที่ติดตั้งเป็นแถวต่อเนื่องกัน แถวหนึ่งอาจจะประกอบด้วยชุดลูกหีบ 4 ถึง 7 ชุด ซึ่งปกติชุดหนึ่งๆใช้ลูกกลิ้ง 3 ลูก วางในตำแหน่งชุดสามเหลี่ยม ลูกกลิ้งแต่ละลูกของชุดลูกหีบจะมีฟันและร่องผิวแนบต่างๆกันโดยทำหน้าที่ที่แตกต่างกัน คือ เพื่อช่วยจับยึดอ้อยที่ป้อนเข้ามา ช่วยสกัดและระบายน้ำอ้อยลงรางน้ำอ้อย และช่วยคายกากอ้อยออกจากชุดลูกหีบ กากอ้อยจะนำไปเป็นเชื้อเพลิงใช้ในเตาหม้อน้ำ

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

น้ำอ้อยรวมที่ผ่านตะแกรงแยกกากอ้อยแล้ว จะถูกส่งไปเข้ากรรมวิธีทำน้ำอ้อยให้ใสต่อไป อย่างไรก็ตามระหว่างที่ทำการสกัดน้ำอ้อย จะต้องดูแลไม่ให้น้ำอ้อยสูญเสียปริมาณโดยการรั่วไหลจากปั๊มหรือท่อต่างๆ ตลอดจนมิให้เกิดการเสื่อมเสียคุณภาพเนื่องจากการทำลายน้ำตาลจากจุลินทรีย์ ซึ่งประการหลังนี้ป้องกันได้โดยการรักษาความสะอาดบริเวณหน่วยลุกหีบ โดยการฉีดล้างด้วยไอน้ำหรือใช้สารเคมีทำลายจุลินทรีย์ที่อนุญาตให้ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

4.การทำน้ำอ้อยให้ใส เมื่อได้น้ำอ้อยจากการหีบมาแล้ว จะเข้าสู่กรรมวิธีการทำให้ใส โดยปกติกรรมวิธีทำน้ำอ้อยให้ใสมี 3 วิธี ดังนี้

4.1 Defecation method หมายถึงการแยกสิ่งสกปรกออกจากน้ำอ้อยด้วยวิธีตกตะกอน โดยให้ความร้อนแก่น้ำอ้อยและผสมกับน้ำปูนขาว น้ำตาลทรายดิบที่ได้จะไม่ใช้สำหรับการบริโภค แต่จะใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตน้ำตาลทรายบริสุทธิ์

4.2 Sulphitation method หมายถึงการฟอกสีแยกสิ่งสกปรกออกจากน้ำอ้อยด้วยก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ซึ่งได้จากการเผากำมะถัน

4.3 Carbonation method หมายถึงการฟอกสีแยกสิ่งสกปรกออกจากน้ำอ้อยด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งได้จากฟลิวก๊าซ (flue gas) ในปล่องเตาหม้อไอน้ำหรือได้จากการเผาหินปูนกับถ่านโค้ก

น้ำตาลทรายขาวที่ใช้กรรมวิธีฟอกสีแบบ sulphitationจะใช้ปริมาณปูนขาวน้อยกว่าแบบ carbonation แต่ลักษณะสีของน้ำตาลโดยเฉลี่ยจะแย่กว่า ช่วงการเปลี่ยนแปลงสีระหว่างเก็บจะสั้นกว่า และ % recovery ต่ำกว่า อย่างไรก็ตามน้ำตาลทรายขาวที่ผลิตจากทั้งสองกรรมวิธีใช้บริโภคได้โดยตรง แต่กรณีที่จะนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารจะใช้กรรมวิธี carbonation มากกว่า เพราะมีสารไม่บริสุทธิ์ทางเคมีติดค้างน้อยกว่า

5.<u>การต้มน้ำอ้อยให้เป็นน้ำเชื่อม</u> น้ำอ้อยใสที่ผ่านกรรมวิธีการทำให้ใสตามระบบต่างๆดังกล่าวข้างต้น จะถูกส่งเข้าชุดหม้อต้ม ซึ่งจะต้มระเหยอย่างต่อเนื่องกันจนออกมาเป็นน้ำเชื่อมที่มีความเข้มข้นตามต้องการ หม้อต้มที่ใช้อาจจะเป็นระบบ 4 ถึง 6 ชุด ซึ่งชุดหนึ่งๆจะประกอบด้วยหม้อต้ม 1 ใบหรือมากกว่า จากนั้นจะถ่ายน้ำเชื่อมที่ได้ไปเก็บไว้ในถังพักน้ำเชื่อม

6.<u>การต้มเคี่ยวน้ำเชื่อมให้เป็นผลึกน้ำตาล</u> น้ำเชื่อมจากถังพักน้ำเชื่อมจะถูกนำไปต้มเคี่ยวในหม้อเคี่ยวซึ่งใช้ความร้อนต่ำภายใต้สุญญากาศ โดยทั่วไปการเคี่ยวน้ำเชื่อมให้เป็นผลึกน้ำตาล มีอยู่ 3 วิธี

6.1 วิธีเคี่ยวให้เกิดผลึกน้ำตาลขึ้นมาเอง ซึ่งจะต้องเคี่ยวจนกระทั่งความเข้มข้นของน้ำเชื่อมเพิ่มขึ้นถึงภาวะเหนือจุดอิ่มตัวสูงสุด แล้วจึงลดความเข้มข้นลงมาเลี้ยงผลึกน้ำตาลที่เกิดขึ้นจนได้ขนาดที่ต้องการ

6.2 วิธีกระตุ้นให้เกิดผลึกน้ำตาลอย่างฉับพลัน (shock seeding)

6.3 วิธีเติมเชื้อน้ำตาลจำนวนจริง (true seeding) ซึ่งได้จากการบดน้ำตาลทรายขาวในแอลกอฮอล์ หรือบางครั้งเรียกว่า wet seeding

จนได้น้ำเชื่อมที่อยู่ในลักษณะเต็มไปด้วยผลึกน้ำตาล เรียกว่า"แมสคิท" (massecuite) ซึ่งจะมีน้ำเหลืออยู่ประมาณ 8-10 เปอร์เซ็นต์

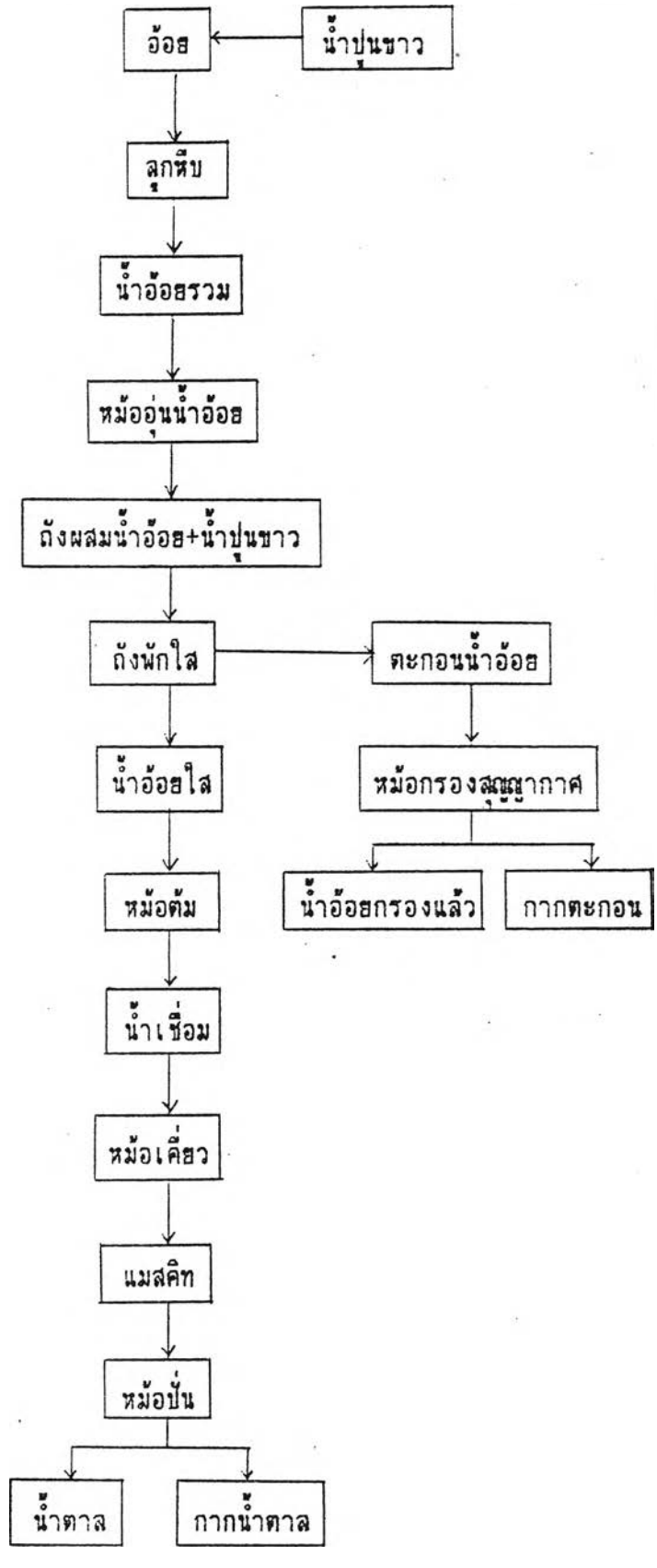
7.<u>การเลี้ยงผลึกน้ำตาลทรายในถังพักผลึก</u> เนื่องจากแมสคิทที่ปล่อยออกมาจากหม้อเคี่ยวประกอบด้วยผลึกน้ำตาลทรายและน้ำเลี้ยงผลึก ซึ่งในน้ำเลี้ยงผลึกจะยังคงมีปริมาณน้ำตาลละลายอยู่มากพอที่จะตกผลึกออกมาอีก เมื่ออุณหภูมิของแมสคิทลดลง

ช่วงเวลาพักของแมสคิท จะเร็วหรือช้าขึ้นอยู่กับชนิดและคุณภาพของแมสคิท เช่น กรณีที่ผลิตเป็นน้ำตาลทรายขาว อาจจะไม่มีการพักเลี้ยงผลึกของแมสคิทเลยจะปล่อยลงรางกวน(mixer)เพื่อป้อนหม้อปั่นน้ำตาลโดยตรง ทั้งนี้เพราะความหนืดของน้ำเลี้ยงผลึกมีอัตราการตกผลึกสูง แต่ถ้าต้องการเก็บผลผลิตน้ำตาลในขั้นนี้ให้สูงขึ้น ก็จะมีการพักเลี้ยงผลึกประมาณ 2 ถึง 4 ชั่วโมง เป็นต้น

8.<u>การปั่นแยกผลึกน้ำตาลทรายในหม้อปั่น</u> การแยกผลึกน้ำตาลออกจากแมสคิทอาศัยการทำงานของหม้อปั่นน้ำตาลซึ่งมีหลายแบบ ตัวหม้อรับแมสคิททุกแบบจะทำด้วยโลหะมีรูที่ข้างหม้อเป็นแถวๆ สำหรับระบายกากน้ำตาลขณะหม้อปั่นทำงาน โดยกากน้ำตาลจะแยกตัวจากแมสคิทด้วยแรงหนีจุดศูนย์กลาง ทิ้งผลึกน้ำตาลให้ค้างอยู่บนตะแกรงหม้อปั่นแล้วลอดผ่านแผ่นโครงรองรับตะแกรง รวมตัวกันไหลออกจากช่องระบายน้ำตาลที่อยู่หลังหม้อปั่น

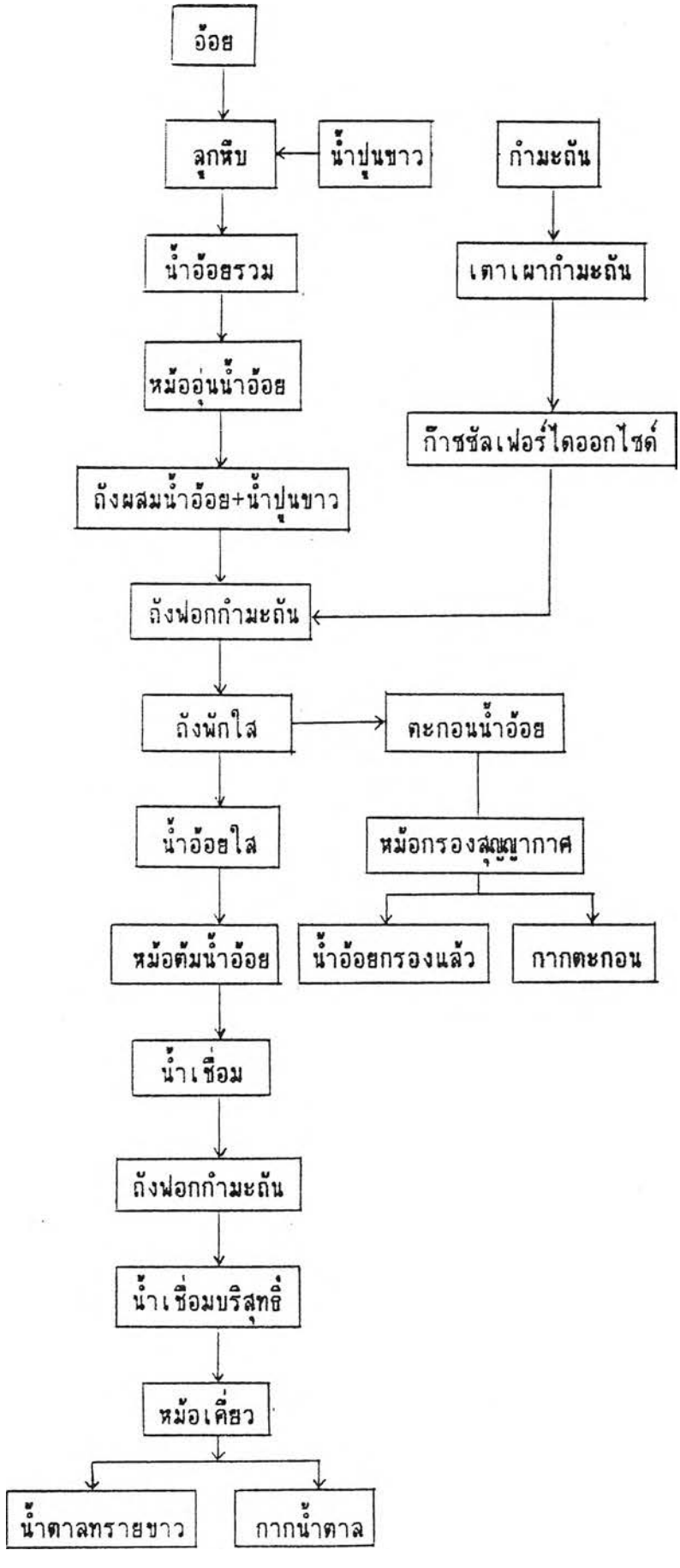
9.<u>การอบ บรรจุ และเก็บน้ำตาล</u> น้ำตาลทรายที่ออกจากหม้อปั่น ปกติจะมีความชื้นอยู่ในช่วง 1-2 % ยกเว้นจะมีการใช้ไอน้ำอบไล่ความชื้นบางส่วนออกไป อย่างไรก็ตาม ถ้าปล่อยให้มีความชื้นอยู่กับผลึกน้ำตาลดังกล่าว น้ำตาลทรายที่ชื้นนี้จะเสื่อมคุณภาพเร็วและถูกทำลายโดยเชื้อแบคทีเรียได้ง่าย ดังนั้น จึงต้องมีการนำน้ำตาลทรายที่ออกจากหม้อปั่นแล้ว ไปผ่านหม้ออบน้ำตาลก่อนจึงนำไปบรรจุและเก็บต่อไป

รูปที่ 1 กรรมวิธีการผลิตน้ำตาลทรายดิบ



ที่มา: เอกสารอ้างอิงหมายเลข 5

<u>รูปที่2</u> กรรมวิธีการผลิตน้ำตาลทรายขาว



ที่มา: เอกสารอ้างอิงหมายเลข 5

ดังนั้น กระบวนการผลิตน้ำตาลทรายของโรงงาน จำเป็นต้องมีประสิทธิภาพดี จึงจะให้ผลผลิตสูง แต่อย่างไรก็ตาม จะพบการสูญเสียของน้ำตาลในน้ำอ้อยอยู่เสมอ ซึ่งไม่เพียงพบเฉพาะในโรงงานเท่านั้น ยังเกิดขึ้นที่ไร่อ้อยด้วย สาเหตุของการสูญเสียพอสรุปได้ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3

การสูญเสียของน้ำตาลในน้ำอ้อยทั้งที่เกิดในไร่อ้อยและในโรงงาน

การสูญเสียในไร่อ้อย	การสูญเสียในโรงงาน
1. การตัดอ้อยทิ้งไว้ในไร่เป็นเวลานาน แบคทีเรียสามารถเข้าไปในรอยแผล เกิดกิจกรรมของเอนไซม์ ทำให้สูญเสียน้ำตาล	1. การรั่วไหลที่เกิดขึ้น ตั้งแต่สะพานลูกหีบ ท่อส่ง ถังพัก ปั๊ม เป็นต้น
2. เกิดจากการปนเปื้อนของพวกดินทราย ทำให้เกิดความยุ่งยากในการกำจัดทิ้ง ส่วนพวกจุลินทรีย์ทำให้เกิดการบูดเน่า	2. กิจกรรมของแบคทีเรีย รา ยีสต์ และกิจกรรมของเอนไซม์
3. ความไม่สมบูรณ์ของอ้อย อ้อยที่เป็นโรคจะมีน้ำตาลรีดิวซ์สูง เช่นเดียวกับสารประกอบอินทรีย์อื่น ทำให้เกิดการบูดเน่า ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสาร ก่อให้เกิดการสูญเสีย	3. การที่น้ำตาลรีดิวซ์ถูกทำลาย แล้วเกิดสารอื่นขึ้นมาจำนวนมาก เช่น กรด และสารที่มีสี ทำให้น้ำตาลมีสีเหลือง และทำให้เกิดความหนืดเพิ่มขึ้น ซึ่งมีผลให้การปั่นน้ำตาลทำได้ยาก
4. เวลาของการขนส่งที่ชักช้า จะทำให้อ้อยที่บรรทุกอยู่เกิดความร้อน ซึ่งจะทำให้น้ำตาลซูโครส ไฮโดรไลซ์เป็นกลูโคส และฟรักโตสได้ง่าย	4. เกิดเนื่องจากการทำลายน้ำตาลซูโครส เช่น เกิดการไหม้ของน้ำตาลในหม้อเคี่ยว
	5. เกิดจากการสูญเสียทางเครื่องจักร

ที่มา: เอกสารอ้างอิงหมายเลข 6, 7, 12

สาเหตุหนึ่งของการสูญเสียที่สำคัญในโรงงาน เกิดเนื่องจากสารเดกซ์แทรน ซึ่งสารนี้สร้างได้โดยแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบ เช่น *Aerobacter* sp., *Streptococcus* sp., *Streptobacterium* sp. และ *Leuconostoc* sp. โดยเฉพาะ *Leuconostoc dextranicum* และ *Leuconostoc mesenterroides* เป็นแบคทีเรียที่พบมากในน้ำอ้อย ทั้งนี้เนื่องจากน้ำอ้อย มีองค์ประกอบต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 4 ที่จะทำให้แบคทีเรียนำไปใช้เพื่อการเจริญเติบโตได้ดี อีกทั้งน้ำตาลซูโครสในน้ำอ้อยยังเป็นสับสเตรทสำหรับการสร้างเดกซ์แทรนขึ้นมาด้วย (11)

ตารางที่ 4 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำอ้อย (Sugar cane juice)

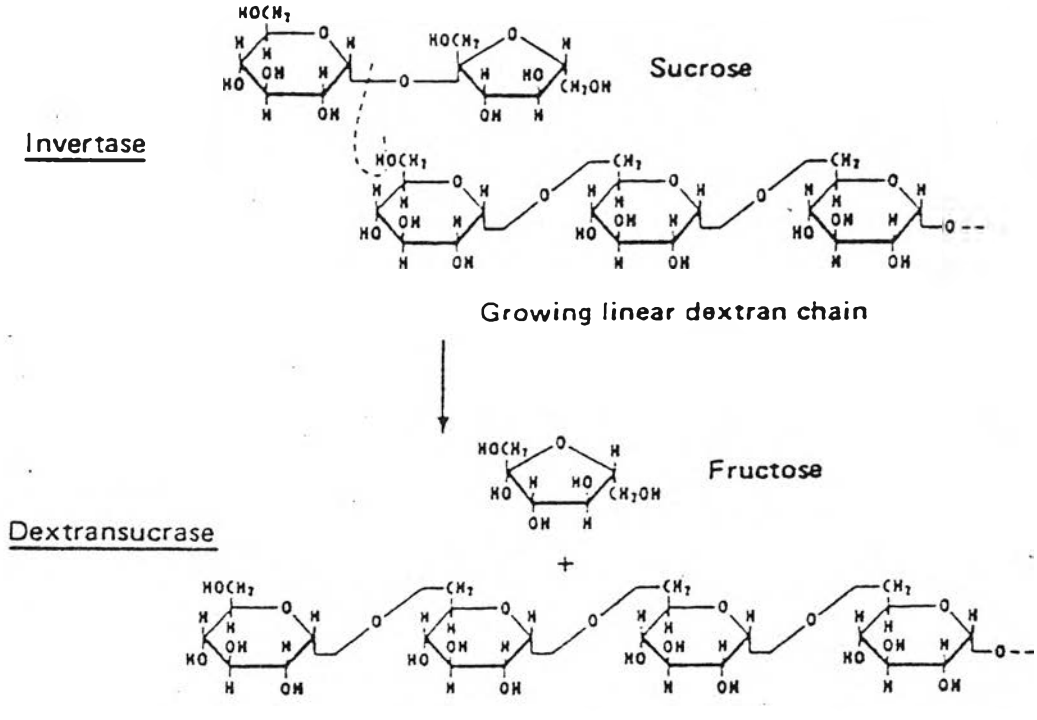
องค์ประกอบในส่วนที่กินได้ 100 กรัม	หน่วย	ปริมาณเฉลี่ย
pH ของอ้อยปกติที่เจริญเต็มที่		5.18
พลังงานอาหาร (Food Energy)	แคลลอรี่	55.5
ความชื้น (Moisture)	เปอร์เซ็นต์	84.95
โปรตีน (Protein)	กรัม	0.345
ไขมัน (Fat)	กรัม	0.2
คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด (Total carbohydrate)	กรัม	14.3
เถ้า (Ash)	กรัม	0.3
แคลเซี่ยม (Calcium)	มิลลิกรัม	12.
ฟอสฟอรัส (Phosphorus)	มิลลิกรัม	8.5
เหล็ก (Iron)	มิลลิกรัม	0.55
โซเดียม (Sodium)	มิลลิกรัม	2
โปตัสเซียม (Potassium)	มิลลิกรัม	102
วิตะมิน เอ (β-carotene equivalent)		มีเล็กน้อย
วิตะมิน บี 1 (Thiamine)	มิลลิกรัม	0.01
วิตะมิน บี 2 (Riboflavin)	มิลลิกรัม	0.01
ไนอะซีน (Niacin)	มิลลิกรัม	0.1
วิตะมิน ซี (Ascorbic acid)		มีเล็กน้อย

ที่มา:ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิงหมายเลข 11

เดกซ์แทรน (Dextran)

เดกซ์แทรนเป็นสารประกอบโอโมโพลิเมอร์ของน้ำตาลกลูโคส ที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะแอลฟา 1-6 เป็นแกนหลัก และมีการแตกแขนงโดยเชื่อมต่อกับแกนหลักด้วยพันธะแอลฟา 1-3 และบางส่วนเป็นพันธะแอลฟา 1-4 หรือ 1-2 (11) ปฏิกิริยาในการสร้างเดกซ์แทรนนั้น แคตาไลซ์โดเดกซ์แทรนซูเครส หรือเรียกอีกชื่อหนึ่งว่ากลูโคซิล-ทรานเฟอเรส (E.C.2.4.1.5, α-1,6-glucan:D-fructose-2-glucosyltrans-ferase) เอนไซม์นี้สามารถย่อยสลายน้ำตาลซูโครสในน้ำอ้อย ให้เป็นหน่วยของน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลฟรักโตส จากนั้นหน่วยของน้ำตาลกลูโคสจะมาจับต่อกันเป็นสายโพลิเมอร์ของกลูโคสด้วยพันธะแอลฟา 1-6 เป็นแกนหลัก ดังรูปที่ 3

Sucrose + (Glucose)$_n$ (1-6) $\xrightarrow{\text{DEXTRANSUCRASE}}$ Dextran(1-6)+ D-Fructose



รูปที่ 3 ปฏิกิริยาการเกิดเดกซ์แทรนจากเดกซ์แทรนซูเครส (11)

สืบเนื่องจากโมลิเมอร์ของเดกซ์แทรนที่ถูกสร้างขึ้นนั้น มีจำนวนหน่วยย่อยของกลูโคสต่างกันในช่วงกว้างมาก จึงยังผลให้เดกซ์แทรนที่ได้มีน้ำหนักโมเลกุลกว้างตาม คือตั้งแต่หลายพันขึ้นไปจนถึงหลายล้านดอลตัน โดยน้ำหนักโมเลกุลและชนิดของการแตกแขนงย่อย จะขึ้นอยู่กับชนิดและสายพันธุ์ของแบคทีเรียที่สร้าง เดกซ์แทรนที่มีจำนวนหน่วยของกลูโคสมากจะมีคุณสมบัติที่หนืดเหนียว อันเป็นลักษณะสำคัญที่ก่อให้เกิดปัญหาต่อกระบวนการผลิตน้ำตาลทรายในโรงงาน ซึ่งผลกระทบต่างๆพอสรุปได้ดังนี้ (12-14)

1. เดกซ์แทรนจะจับเกาะกับผิวของท่อส่งน้ำอ้อยในโรงงานและทำให้เกิดการอุดตันของท่อส่งน้ำอ้อย เป็นผลทำให้อัตราไหลของน้ำอ้อยต่ำลง
2. เดกซ์แทรนสามารถจับแบคทีเรียอื่นๆ และเมื่อแบคทีเรียเหล่านี้ใช้น้ำตาลเป็นแหล่งอาหาร จะปล่อยเมตาโบไลท์ในรูปของกรดอินทรีย์หลายชนิดออกมาทำให้ความเป็นกรดของน้ำอ้อยสูงขึ้น ซึ่งเป็นสาเหตุให้น้ำอ้อยบูดเปรี้ยว
3. ในบางกรณี น้ำตาลฟรักโตสที่เหลืออยู่สลายตัวให้กรดอินทรีย์ และเกิดสารประกอบที่มีสีขึ้น
4. มีผลต่อกรรมวิธีทำใสของน้ำอ้อย คือต้องใช้พลังงานมาก
5. เกิดผลึกรูปเข็มเป็นอุปสรรคต่อการปั่นแยก และทำให้ตะแกรงอุดตัน และอาจยังผลให้ต้องปิดโรงงานเพื่อทำความสะอาดอุปกรณ์ทั้งหมด

จากผลกระทบดังกล่าว เห็นได้ว่าเดกซ์แทรนเป็นอุปสรรคที่ก่อให้เกิดความสูญเสียขึ้นในกระบวนการผลิตน้ำตาลทราย ดังนั้น หากมีวิธีกำจัดเดกซ์แทรนออกจากน้ำอ้อยได้ นอกจากจะเป็นการช่วยลดความเสียหายเนื่องจากเดกซ์แทรนแล้ว ยังจะช่วยให้ประสิทธิภาพในการผลิตน้ำตาลดีขึ้น และสืบเนื่องจากมีการพบว่าเดกซ์แทรนนั้นเป็นสับสเตรทของเดกซ์แทรนเนส อีกทั้งเป็นที่ทราบกันดีว่าปฏิกิริยาเอนไซม์เป็นปฏิกิริยาที่มีความจำเพาะและเกิดได้เร็วมาก ดังนั้น การใช้เดกซ์แทรนเนสมาย่อยสลายเดกซ์แทรนในโรงงานน้ำตาลจึงควรเป็นวิธีหนึ่งที่มีประสิทธิภาพสูง

เดกซ์แทรนเนส (Dextranase)

เดกซ์แทรนเนส มีชื่อเรียกตามระบบว่า E.C.3.2.1.11 (α-1,6 glucan 6-glucohydrolase) มีความจำเพาะในการย่อยสลายพันธะที่เชื่อมหน่วยของกลูโคสในสายเดกซ์แทรนชนิดแอลฟา 1,6 เอนไซม์นี้สามารถย่อยพันธะที่เชื่อมโมเลกุลของกลูโคสจากปลายด้านหนึ่งของเดกซ์แทรน แล้วตัดทีละโมเลกุลของกลูโคส (Exo-splitting hydrolysis) หรือเกิดขึ้นที่จุดใดจุดหนึ่งบนสายเดกซ์แทรนซึ่งเป็นปฏิกิริยาการย่อยสลายแบบอิสระ (Endo-splitting hydrolysis) ทำให้ได้น้ำตาลในรูปโพลิเมอร์ที่สั้นลง ทั้งนี้รูปแบบของการย่อยจะขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ (15,16) เดกซ์แทรนเนสนี้พบได้ทั้งในจุลินทรีย์ และเนื้อเยื่อของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมบางชนิด (17-22) ที่ทำการศึกษากัน ส่วนใหญ่จะเป็นเอนไซม์จากจุลินทรีย์กลุ่มต่างๆ เช่น รา ยีสต์ แบคทีเรีย และแอคติโน-มัยซีส ดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5

เชื้อจุลินทรีย์บางชนิดที่ผลิตเดกซ์แทรนเนส

เชื้อจุลินทรีย์	เอกสารอ้างอิง
รา ได้แก่	
Aspergillus sp.	23,24
A.carneus	25
Chaetomium gracile	17,26
Gibberella fujikuroi	17
Penicillium funiculosum	27-29
P.luteum	30
P.verruculosum	16,31
P.aculeatum	32
Verticillium sp.	16,23
ยีสต์ ได้แก่	
Lipomyces starkeyi	21,33
แอคติโนมัยซีตีส ได้แก่	
Actinomyces israelrii	20,34
Streptomyces cinamonensis	20
แบคทีเรีย ได้แก่	
Achromobacter sp.	23
Bacillus sp.	18
Bacteroids sp.	19
Brevibacterium sp.	35
Flavobacterium sp.	36
Cytophaga johnsonii	23
Lactobacillus bifidus	23
Streptococcus mitis	20

ปฏิกิริยาการย่อยสลายของเดกซ์แทรนเนส โดยทั่วไปแล้วจะเป็นการย่อยสลายแบบอิสระ ทำให้สายเดกซ์แทรนที่ถูกย่อยแล้วมีขนาดสั้นลง โดยอาจพบอยู่ในรูปของโอลิโกเมอร์ ไดเมอร์ หรือโมโนเมอร์ของน้ำตาลกลูโคส แต่ส่วนใหญ่แล้วจะพบอยู่ในรูปของน้ำตาลไอโซมอลโตส (37) ผลของการย่อยสลายเดกซ์แทรนนี้นอกจากจะทำให้สายเดกซ์แทรนมีขนาดสั้นลงแล้ว ยังมีผลทำให้คุณสมบัติความหนืดเหนียวลดลงและละลายน้ำได้ดีขึ้น ซึ่งจะแก้ไขปัญหาการอุดตันของท่อส่งน้ำอ้อย ตลอดจนปัญหาต่างๆ ดังที่กล่าวมาข้างต้นได้

การนำเดกซ์แทรนเนสไปแก้ปัญหาในอุตสาหกรรมผลิตน้ำตาลนั้น ได้รับความนิยมมาก ทั้งนี้เพราะเดกซ์แทรนเนสมีความจำเพาะสูง และไม่ก่อให้เกิดปัญหาอื่นๆตามมาในขั้นตอนการผลิต ในปัจจุบันนี้ได้มีการผลิตเดกซ์แทรนเนสในเชิงพาณิชย์แล้ว ดังตัวอย่างเช่น

Dextranase 25L และ 50L ของบริษัท NOVO ประเทศเดนมาร์ก (37)

Glucanase D-1 ของบริษัท Pfizer ประเทศสหรัฐอเมริกา (38,39)

Talozyme ของบริษัท Tate and Lyle ประเทศอังกฤษ (40)

และได้มีการนำเอนไซม์เหล่านี้ไปใช้แก้ปัญหาของเดกซ์แทรนในโรงงานน้ำตาลในส่วนต่างๆของโลก เช่น ในประเทศออสเตรเลีย จาไมก้า เปอร์โตริโก้ อินเดีย และบางประเทศในทวีปอเมริกาใต้

Imrie and Tilbury (39) ได้รายงานการใช้เดกซ์แทรนเนสในหมู่เกาะ West Indies ไว้ว่าจากการทดลองใช้เอนไซม์จำนวน 3 หน่วยต่อน้ำอ้อย 100 มล. เป็นเวลา 20 นาที ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส สามารถกำจัดเดกซ์แทรนได้ถึงร้อยละ 68.5

สำหรับปริมาณของเดกซ์แทรนเนสที่ควรใช้นั้น Tilbury and French(40) ได้รายงานว่าอัตราการใช้เดกซ์แทรนเนสนี้ จะขึ้นอยู่กับแต่ละสถานที่ โดยขึ้นกับปริมาณเดกซ์แทรนที่ตรวจพบในแต่ละสถานที่ ในกรณีที่มีเดกซ์แทรนปริมาณปานกลางหรือสูงกว่าควรใช้เอนไซม์ 6-7 หน่วยต่อน้ำอ้อย 100 มล. และการเพิ่มอุณหภูมิเป็น 50 องศาเซลเซียสจะทำให้การกำจัดเดกซ์แทรนเป็นไปได้ดีขึ้น ซึ่งกำจัดเดกซ์แทรนได้ถึงร้อยละ 66

Inkerman(41)ได้รายงานถึงการใช้เดกซ์แทรนเนสในประเทศออสเตรเลีย ว่า การใช้เอนไซม์นี้จะมีประโยชน์ต่อโรงงานน้ำตาลมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีที่อ้อยได้รับความเสียหายก่อนจะนำเข้าหีบ โดยใช้เอนไซม์ 5-10 หน่วยต่อน้ำอ้อย 100 มล.ในภาวะการผลิตปกติ นอกจากนี้เขาได้เสนอแนะว่า ถ้ามีเดกซ์แทรนเนสที่สามารถทำงานได้ที่อุณหภูมิสูงก็จะดีขึ้น โดยเฉพาะเอนไซม์ที่สามารถทำงานได้ดีที่อุณหภูมิสูงกว่า 70 องศาเซลเซียส เนื่องจากเดกซ์แทรนเนสเชิงพาณิชย์ในปัจจุบันนี้จะเกิดการสูญเสียแอคติวิตีเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 60 องศาเซลเซียส

นอกจากนี้ Jolly และ Prakash (42) ยังได้ทดลองกำจัดเดกซ์แทรนโดยใช้เดกซ์แทรนเนส (NOVO 25L) ในประเทศอินเดีย โดยใช้ปริมาณเอนไซม์ 100 ppm. ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ซึ่งสามารถกำจัดเดกซ์แทรนได้ร้อยละ 48-52

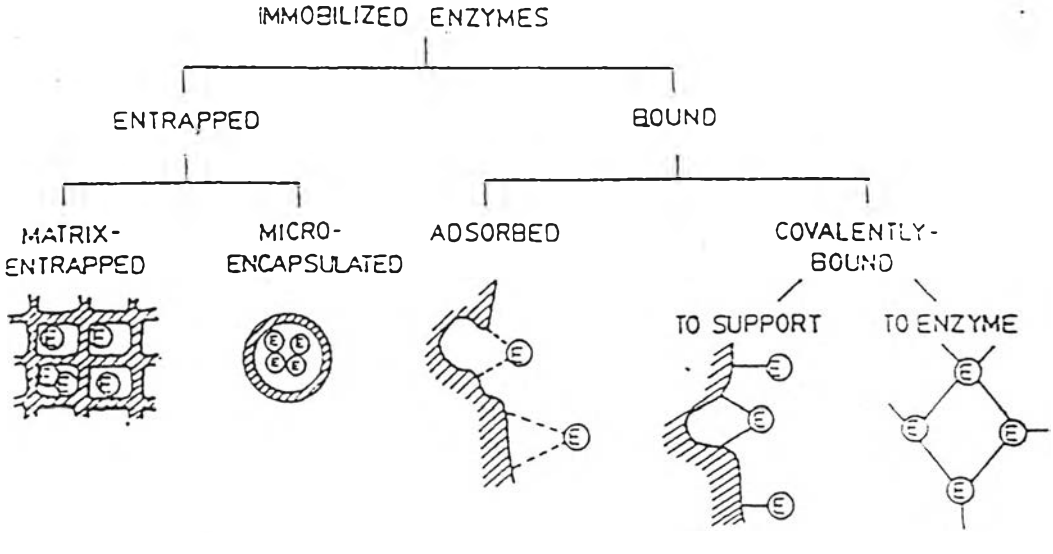
อย่างไรก็ตามการใช้เดกซ์แทรนเนสในโรงงานผลิตน้ำตาลยังประสบกับปัญหาของราคาที่สูง และการใช้ประโยชน์จากเอนไซม์ที่จะใช้ได้เพียงครั้งเดียว ไม่สามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้อีก เช่นเดียวกับเอนไซม์ชนิดอื่น ดังนั้น จึงมีผู้พยายามคิดค้นหาวิธีการใช้เอนไซม์ได้อย่างคุ้มค่า และวิธีหนึ่งที่น่าสนใจ คือ การตรึงรูปเอนไซม์ ซึ่งปัจจุบันได้มีการพัฒนานำมาใช้กันอย่างแพร่หลาย

การตรึงรูปเอนไซม์ (Immobilization)

การตรึงรูปเอนไซม์ หมายถึง การจำกัดเอนไซม์ให้อยู่ในขอบเขตที่กำหนดให้ แต่ยังคงคุณสมบัติในการเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ ตามระบบการสร้างเครื่องปฏิกรณ์เอนไซม์ตรึงรูปนั้น (43) อีกทั้งยังได้มีการพบว่าเอนไซม์ตรึงรูป มีสมบัติที่ดีขึ้นหลายประการ ได้แก่

1. สามารถแยกเอนไซม์ตรึงรูปออกจากสิ่งแวดล้อมที่มีปฏิกิริยาเกิดขึ้นได้ง่าย
2. สามารถนำเอนไซม์ตรึงรูปกลับมาใช้ได้อีก
3. กระบวนการผลิตที่ใช้เอนไซม์ตรึงรูปสามารถนำมาทำในระบบต่อเนื่องได้
4. เอนไซม์บางชนิดหลังจากตรึงรูปแล้ว จะมีคุณสมบัติบางประการเปลี่ยนแปลงไปในทางที่เป็นประโยชน์ต่อการนำมาใช้ในอุตสาหกรรม เช่น ความเสถียรต่อความร้อน (thermal stability), การเก็บรักษา (storage), ความจำเพาะต่อสารตั้งต้น (substrate specificity), ความไวในการตอบสนองต่อตัวยับยั้ง (sensitivity of inhibitor), อุณหภูมิ , ความเป็นกรดด่างที่มีความเหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ เป็นต้น

วิธีการตรึงรูปเอนไซม์สามารถแบ่งได้เป็น 4 ประเภท ตามรูปที่ 4 และมีรายละเอียดดังนี้



รูปที่ 4 การตรึงเอนไซม์แบบต่างๆ

1. การจำกัดเขตเอนไซม์ในตัวพยุง (Matrix-entrapped)

เป็นการกักขังเอนไซม์ไว้ในโพรงของเจล เกิดจากการโพลิเมอไรเซชันของเจลในสารละลายที่มีเอนไซม์อยู่ด้วย ได้เป็นโครงสร้างของเจลที่ขังเอนไซม์ให้อยู่ตามโพรงในโครงสร้างของเจลเหล่านั้น

2. การจำกัดเขตเอนไซม์ในแคปซูลขนาดเล็ก (Microencapsulated)

เป็นการตรึงรูปเอนไซม์ในลูกทรงกลมผนังบางแบบกึ่งซึมผ่านได้ (semipermeable membrane) ผนังบางนี้จะไม่ยอมให้เอนไซม์ที่ถูกกักไว้ภายในซึมผ่านออกมา แต่จะยอมให้สับสเตรทและผลิตภัณฑ์ซึมผ่านได้

3. การตรึงเอนไซม์กับตัวพยุงโดยหลักการดูดซับ (Adsorption)

การดูดซับกับตัวพยุงนั้นเกิดขึ้นเนื่องจากแรงดึงดูดได้หลายแบบ เช่น พันธะเชิงไอออน พันธะไฮโดรเจน แรงวันเดอร์วาล วิธีนี้ดีในแง่ที่เกิดการตรึงรูปง่าย ไม่ซับซ้อน และภาวะการตรึงรูปไม่รุนแรง แต่แรงดึงดูดดังกล่าวไม่ใช่แรงที่เกิดอย่างถาวรจึงเป็นปัญหาอย่างมากสำหรับการตรึงรูปเอนไซม์ เนื่องจากโมเลกุลของโปรตีนเอนไซม์หลุดจากตัวพยุงได้ง่าย เมื่อพันธะดังกล่าวถูกทำลายด้วยสารที่มีแรงไอออนสูง

4. การตรึงรูปเอนไซม์โดยอาศัยพันธะโควาเลนท์

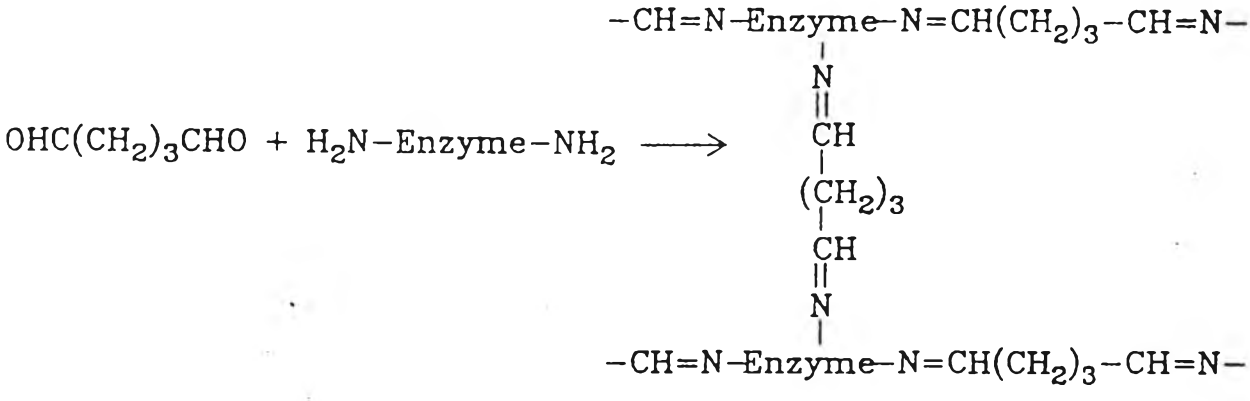
วิธีนี้แบ่งได้เป็น 2 แบบ คือ

4.1 การเชื่อมติดกับตัวพยุงที่ไม่ละลายน้ำด้วยพันธะโควาเลนท์

การตรึงวิธีนี้เกิดจากการเชื่อมระหว่างกลุ่มฟังชันนัลบนตัวพยุงกับเอนไซม์ เกิดปฏิกิริยาเชื่อมกันเป็นพันธะโควาเลนท์ใหม่ บางครั้งจะนำตัวพยุงมากระตุ้นโดยเปลี่ยนให้เป็นอนุพันธ์ต่างๆ การเชื่อมเอนไซม์ติดกับตัวพยุงจะพยายามเชื่อมโดยใช้กลุ่มฟังชันนัลของเอนไซม์ที่ไม่มีผลต่อปฏิกิริยาการเร่งด้วยเอนไซม์ แต่บางครั้งก็ควบคุมไม่ได้ เพราะเกิดการเชื่อมแบบสุ่ม เอนไซม์มักมีอายุการใช้งานยาวนานกว่าวิธีการตรึงแบบอื่นๆ

4.2 <u>การเชื่อมโยงด้วยพันธะโควาเลนท์เป็นอนุภาคขนาดใหญ่โดยใช้สารไบฟังชันนัล</u>

การตรึงวิธีนี้ทำโดยใช้สารไบฟังชันนัลซึ่งสารนี้จะทำหน้าที่ตรึงรูประหว่างโมเลกุลของโปรตีนเอนไซม์ ทำให้เกิดอนุภาคขนาดใหญ่ขึ้น วิธีการตรึงรูปแบบนี้จะเกิดง่าย ไม่ค่อยซับซ้อน สามารถควบคุมคุณสมบัติทางกายภาพและขนาดของอนุภาคที่ตรึงได้ แต่ข้อเสียของวิธีนี้ คือ เอนไซม์จะเสียแอคติวิตีไปในกระบวนการตรึงรูปด้วยสารพวกนี้ จึงมีข้อจำกัดในการนำไปใช้งาน แต่ก็มีสารไบฟังชันนัลตัวหนึ่ง คือ กลูตารัลดีไฮด์ นิยมนำมาใช้ตรึงรูป ซึ่งปฏิกิริยาการตรึงรูปนี้เป็นปฏิกิริยาที่ผันกลับไม่ได้ และสามารถคงทนอยู่ได้ในสภาพความเป็นกรดด่างหรืออุณหภูมิที่รุนแรง ดังแสดงในรูปที่ 5



<u>รูปที่ 5</u> ปฏิกิริยาการตรึงเอนไซม์กับโปรตีนโดยเกิดพันธะเชื่อมระหว่างโมเลกุลโดยกลูตารัลดีไฮด์ (45)

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

จากที่กล่าวมาข้างต้นการตรึงรูปเอนไซม์แต่ละวิธี จะมีข้อดีข้อเสียแตกต่างกัน จำเป็นต้องเลือกใช้ให้เหมาะสมในแต่ละสภาพ อย่างไรก็ตามการตรึงรูปเอนไซม์เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ทางอุตสาหกรรม สิ่งที่ต้องคำนึงถึง คือ ราคา กรรมวิธีการเตรียมที่ไม่ยุ่งยากซับซ้อน และจะต้องมีความคงทนด้วย (46)

สำหรับการตรึงรูปเดกซ์แทรนเนสนั้น มีผู้ศึกษากันบ้าง แต่ยังไม่กว้างขวางนัก ดังมีรายงานการวิจัยที่พอจะรวบรวมได้ อาทิ เช่น

Sugiura และ Ito (26) ได้ตรึงรูปเดกซ์แทรนเนสกับ Sepharose 4 B โดยใช้ cyanogen bromide เป็นตัวกระตุ้น พบว่า ความคงทนต่อความร้อนและความเป็นกรดด่างเพิ่มขึ้น สามารถนำมาใช้ในระบบต่อเนื่องและสามารถใช้ซ้ำอีกได้

Ramesh และ Singh (47) ซึ่งได้ศึกษาการตรึงรูปเดกซ์แทรนเนสบน zirconia coated alkylamine glass โดยวิธี glutaraldehyde coupling พบว่าเอนไซม์มีคุณสมบัติในการทนความร้อนได้สูงขึ้น และสามารถเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ได้ถึง 20 วัน โดยไม่มีการสูญเสียแอคติวิตี

Madhu และ Prabhu (48) ได้รายงานถึงการตรึงรูปเดกซ์แทรนเนสบนเบนโทไนต์ ซึ่งพบว่าสามารถเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ได้ถึง 3 สัปดาห์โดยไม่มีการสูญเสียแอคติวิตี นอกจากนี้ถ้าเติม 20% ของซูโครสลงไปด้วย จะทำให้สามารถทนความร้อนได้สูงขึ้น

ในงานวิจัยนี้จะศึกษาหาตัวพยุง ที่สามารถนำมาใช้ในการตรึงรูปเดกซ์แทรนเนส โดยคำนึงถึงด้านราคา และเป็นวัสดุที่หาได้ง่ายในประเทศ เช่น คาร์บอนกัมมันต์ (activated carbon) ทราย (sand) เม็ดแก้ว (glass beads) เป็นต้น

สำหรับการตรึงรูปเอนไซม์บนคาร์บอนได้มีการศึกษามานาน บ้างก็ตรึงรูปเอนไซม์กับตัวพยุงโดยหลักการดูดซับ บ้างก็อาศัยวิธีการเชื่อมโยงด้วยพันธะโควาเลนท์เป็นอนุภาคใหญ่โดยใช้สารไบฟังชันนัล หรือบ้างก็ใช้การเชื่อมกับตัวพยุงที่ไม่ละลายน้ำด้วยพันธะโควาเลนท์ ซึ่งพบว่าสองวิธีแรกนั้นให้ผลไม่น่าพอใจเมื่อเทียบกับวิธีหลัง ซึ่งเหตุผลเป็นดังเช่นที่กล่าวข้างต้น

Stoner และคณะ (49) ได้ศึกษาการตรึงรูปเอนไซม์ทริพซินโดยดูดซับบนผงคาร์บอน และตามด้วยวิธีเชื่อมโยงขวางระหว่างโมเลกุลเอนไซม์โดยใช้กลูตาอัลดีไฮด์ พบว่า เอนไซม์ยังคงแสดงแอคติวิตีในการเร่งปฏิกิริยาได้ 2-3 สัปดาห์ และยังสามารถนำมาใช้ใหม่ได้ และการเตรียมเอนไซม์ตรึงรูปวิธีนี้ยังเป็นวิธีที่ง่ายและสะดวกอีกด้วย

ในขณะที่ Liu และคณะ (50) ได้ศึกษาการตรึงรูปแลกเตสบนคาร์บอนโดยวิธีเดียวกับ Stoner และคณะ แต่พบว่าให้ผลไม่น่าพอใจ กล่าวคือสูญเสียแอคติวิตีไปอย่างรวดเร็ว นอกจากนี้ยังปรับปรุงโดยใช้ p-aminophenol และ 1-phenol-2-amino-4-sulfonic acid ไปจับกับคาร์บอนเพื่อให้เกิดหมู่อะมิโนที่พื้นผิวของคาร์บอนสำหรับทำปฏิกิริยากับกลูตาอัลดีไฮด์ ซึ่งเป็นการเพิ่มคุณสมบัติการยึดติด แต่ยังพบว่าให้ผลดีขึ้นเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ในขณะที่สารประกอบฟีนอลมีผลเสียต่อสุขภาพด้วย ดังนั้น วิธีนี้จึงไม่เหมาะสม

Cho และคณะ (51,52) ทำการตรึงรูปเอนไซม์หลายชนิดโดยใช้คาร์บอนเป็นตัวพยุง ใช้วิธีเชื่อมด้วยพันธะโควาเลนท์ พร้อมทั้งศึกษาคุณสมบัติของเอนไซม์ตรึงรูป พบว่า คุณสมบัติบางประการได้เปลี่ยนแปลงในทางที่ดีขึ้น เช่น ความจำเพาะต่อสารตั้งต้นสูงขึ้น ช่วงความเป็นกรดด่างที่มีความเหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์กว้างขึ้น

นอกจากนี้ Lantero,Jr. (53) ได้ศึกษาถึงการตรึงรูปเอนไซม์หลายชนิดบนคาร์บอนโดยใช้สารประกอบโพลีอะมีน ซึ่งมีหมู่อะมิโนที่จะไปจับกับคาร์บอนและปล่อยให้หมู่อะมิโนเป็นอิสระเพื่อทำปฏิกิริยาต่อไป ซึ่งหมู่อะมิโนอิสระนี้ จะไปทำปฏิกิริยากับสารประกอบไบฟังชันนัล จากนั้นหมู่เอมีนอิสระของเอนไซม์จะมาเชื่อมด้วยพันธะโควาเลนท์ซึ่งการตรึงรูปเอนไซม์บนคาร์บอนนี้ พบว่ามีคุณสมบัติทางกายภาพที่ดีมาก

จะเห็นได้ว่าการใช้คาร์บอนเป็นตัวพยุงในการตรึงรูปเอนไซม์นั้น ยังไม่ค่อยมีการพัฒนาเท่าที่ควร ทั้งๆที่คาร์บอนมีคุณสมบัติที่น่าสนใจ และราคาเป็นที่น่าพึงพอใจ กล่าวคือ คุณสมบัติที่สำคัญของคาร์บอน ได้แก่ มีพื้นที่ผิวมาก สามารถทนต่อแรงกระทบได้ดี มีความเสถียรในอุณหภูมิที่ทำเอนไซม์ตรึงรูป และไม่ถูกย่อยสลายด้วยจุลินทรีย์ ไม่เป็นพิษ และไม่เป็นอันตราย รวมทั้งสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้

ปัจจุบันนี้ ได้มีการนำคาร์บอนไปใช้ในอุตสาหกรรมแล้ว ซึ่งโดยทั่วไปมักจะใช้ในการกำจัดสีและกลิ่นในผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมอาหาร อุตสาหกรรมน้ำตาล และอุตสาหกรรมยา เป็นต้น (51-53)

นอกจากคาร์บอนแล้ว ทรายเป็นตัวพยุงอีกตัวหนึ่งที่นำมาใช้ในการตรึงรูปเอนไซม์ซึ่งสามารถใช้กับเอนไซม์หลายตัว เช่น แลคโตเปอร์ออกซิเดส เบตา-ฟรุคโต-ฟิวราโนซิเดส เบตา-กาแลคโตซิเดส ครีเอตินิเนส ยูรีเอส และแอลกอฮอล์-ดีไฮโดรจีเนส (54-56)

Puvanakrishnan และคณะ(57)ได้ศึกษาการตรึงรูปเอนไซม์ทริพซินบนทรายด้วยการเชื่อมติดแบบพันธะโควาเลนท์ โดยใช้3-อะมิโนโพรพิลไทรเอทอกซีไซเลน (APTS)เป็นสารกระตุ้น และกลูตารัลดีไฮด์เป็นสารสร้างพันธะร่วม พบว่าเอนไซม์ตรึงรูปที่ได้มีความคงทนต่อความร้อน และความเป็นกรดด่างดีกว่าเอนไซม์อิสระ

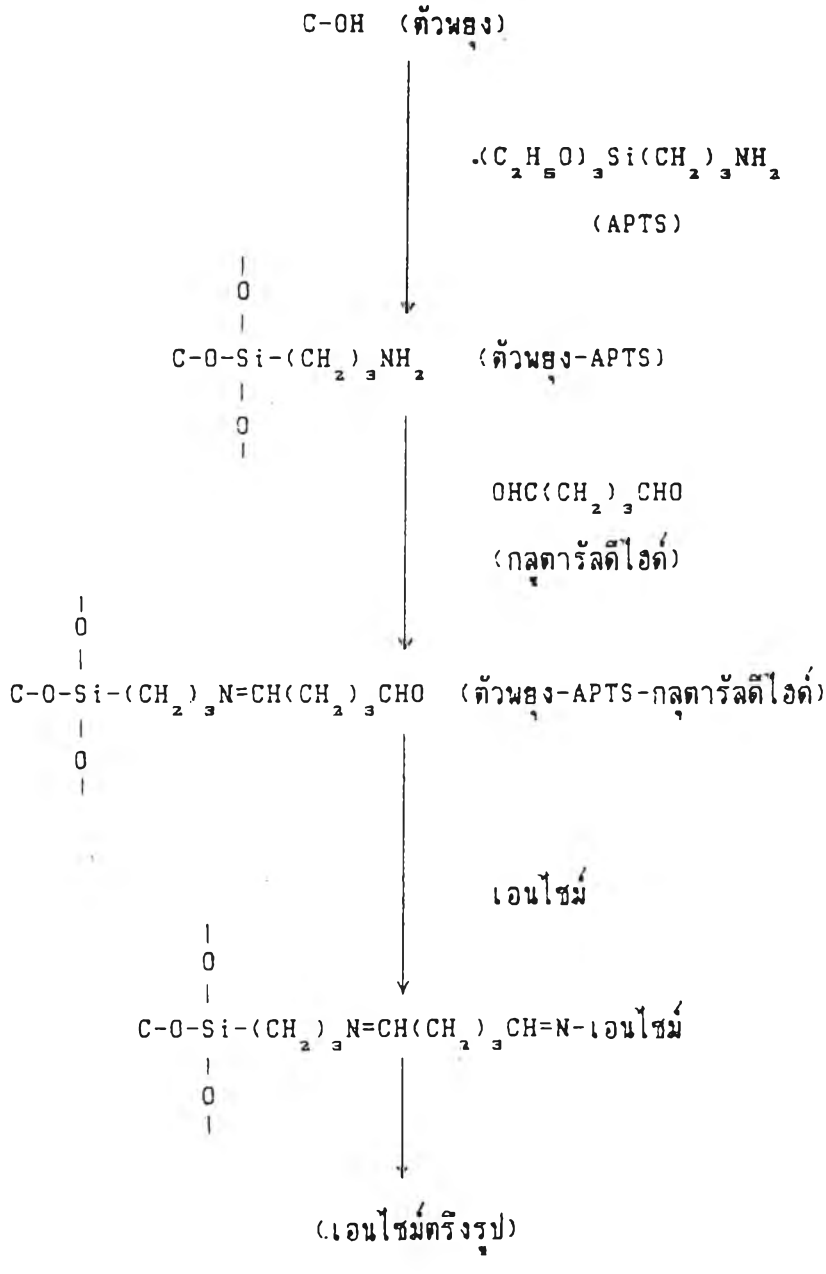
Anprung และคณะ (58)ทำการตรึงรูปเรนนินบนทรายโดยวิธีการสร้างพันธะโควาเลนท์ใช้ APTS 5% โดยปริมาตรเป็นตัวกระตุ้น กลูตารัลดีไฮด์ 2.5% เป็นสารสร้างพันธะร่วม และเอนไซม์ 0.05% โดยปริมาตร พบว่าค่า K_m ของเอนไซม์ตรึงรูปต่ำกว่าเอนไซม์อิสระ 1.6เท่า และมีครึ่งชีวิตของเอนไซม์ตรึงรูปนานกว่า 4 เดือน

กาญจนา ปุญญโฆษะ (10)ตรึงรูปยีสต์ทำเบียร์ที่มีอินเวอร์เทสบนทรายโดยใช้เซลล์ยีสต์ตรึงร่วมกับโพลีเอทธิลีนเอมีน และกลูตารัลดีไฮด์ เซลล์ตรึงรูปสามารถเก็บในลักษณะแห้งที่ 4 องศาเซลเซียสได้โดยมีค่าครึ่งชีวิต 270 วัน ค่า K_m 12.76 มิลลิโมลาร์ และอัตราเร็วสูงสุดของการเกิดปฏิกิริยา 1,148.37 หน่วย

เม็ดแก้ว (glass beads) เป็นตัวพยุงอีกตัวหนึ่งที่ประสบความสำเร็จในการนำมาใช้ตรึงรูปเอนไซม์เช่นกัน โดยเฉพาะวิธีเชื่อมติดด้วยพันธะโควาเลนท์ด้วย amino-functional silane coupling agent ได้แก่ ทริพซิน ปาเปน กลูโคสออกซิเดส อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส และยูรีเอส (59-61) ซึ่งข้อดีของเม็ดแก้วนี้ คือไม่ถูกย่อยสลายด้วยจุลินทรีย์ มีความคงทนต่อความร้อนและความเป็นกรดด่าง และทนต่อแรงกระแทกได้ดี ทั้งยังมีความเสถียรที่อุณหภูมิห้อง สามารถเก็บไว้ได้นาน (62-65)

ตัวพยุงที่ศึกษาในงานวิจัยนี้ ได้แก่ คาร์บอนกัมมันต์ (activated carbon) ทราย (sand) และเม็ดแก้ว (glass beads) ซึ่งมีหมู่ไฮดรอกซิลเป็นหมู่ไวต่อปฏิกิริยา (reactive group) ที่จะใช้เชื่อมติดกับเอนไซม์ (51) และกลไกที่คาดว่าจะเกิดขึ้นในขั้นตอนของการตรึงรูปเดกซ์แทรนเนสบนตัวพยุงเหล่านี้ด้วยพันธะโควาเลนท์ โดยมี APTS และ CNBr เป็นสารกระตุ้น ร่วมกับกลูตารัลดีไฮด์เป็นสารสร้างพันธะร่วม แสดงดังรูปที่ 6 และ 7 ตามลำดับ

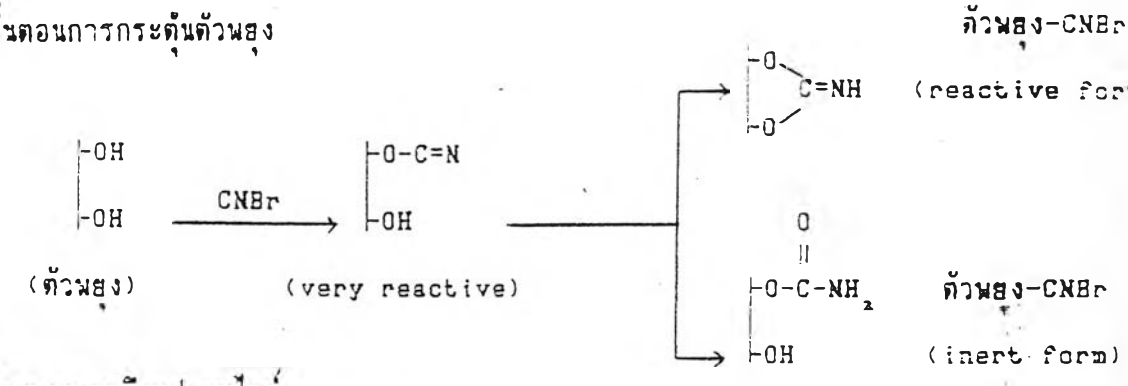
รูปที่ 6 กลไกที่คาดว่าจะเกิดขึ้นในขั้นตอนของการตรึงรูปเอนไซม์ด้วยพันธะโควาเลนท์ โดยมี APTS เป็นสารกระตุ้น และกลูตารัลดีไฮด์เป็นสารสร้างพันธะร่วม



ที่มา: ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิงหมายเลข 45

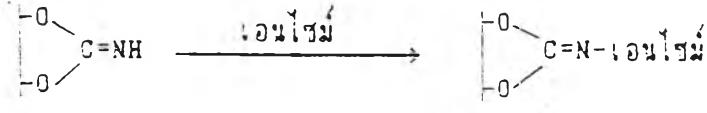
รูปที่ 7 กลไกที่คาดว่าจะเกิดขึ้นในขั้นตอนของการตรึงรูปเอนไซม์ด้วยพันธะโควาเลนท์ โดยมี CNBr เป็นสารกระตุ้น และกลูตารัลดีไฮด์เป็นสารสร้างพันธะร่วม

(1) ขั้นตอนการกระตุ้นตัวพยุง

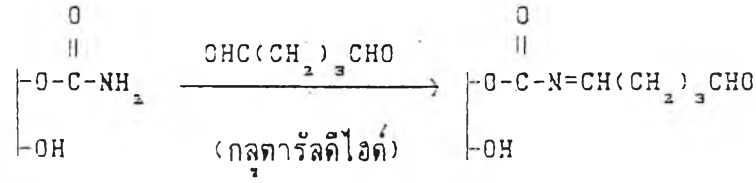


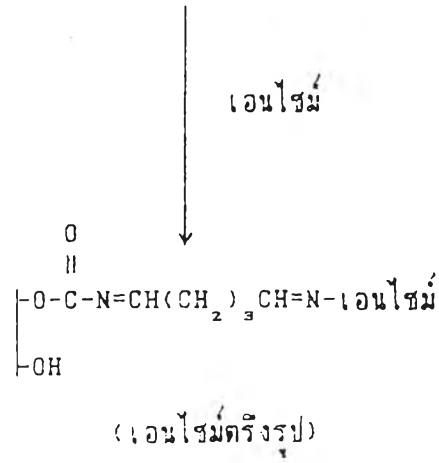
(2) ขั้นตอนการตรึงรูปเอนไซม์

A กรณี reactive form (ไม่เกิดขั้นตอนการสร้างพันธะร่วมโดยกลูตารัลดีไฮด์)



B กรณี inert form (เกิดขั้นตอนการสร้างพันธะร่วมโดยกลูตารัลดีไฮด์ก่อน)





ที่มา: ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิงหมายเลข 45

จากรูปที่ 6 สารกระตุ้น APTS เกิดปฏิกิริยาเชื่อมกับหมู่ไฮดรอกซิลของตัวพยุง เกิดเป็นสารประกอบ ตัวพยุง-APTS จากนั้นจะทำปฏิกิริยากับกลูตารัลดีไฮด์ ซึ่งเป็นสารสร้างพันธะร่วมก่อนแล้วจึงเชื่อมกับเอนไซม์ ได้เป็นเอนไซม์ตรึงรูป

สำหรับรูปที่ 7 สารกระตุ้น CNBr เมื่อทำปฏิกิริยาเชื่อมกับหมู่ไฮดรอกซิลของตัวพยุง สามารถเกิดผลิตภัณฑ์ได้มากกว่า 1 รูป โดยอาจอยู่ในรูปของ reactive form หรือ inert form ซึ่งยังผลให้การจับตัวของเอนไซม์ต่อตัวพยุงเกิดขึ้นแตกต่างกัน โดยที่ถ้าอยู่ในรูปของ reactive form จะจับกับเอนไซม์โดยไม่มีกลูตารัลดีไฮด์เป็นสารสร้างพันธะร่วม ในขณะที่อยู่ในรูปของ inert form กลูตารัลดีไฮด์จะทำหน้าที่เป็นสารสร้างพันธะร่วม เกิดเป็นสารประกอบ ตัวพยุง-CNBr-กลูตารัลดีไฮด์ ก่อนจึงเชื่อมติดกับเอนไซม์ ได้เป็นเอนไซม์ตรึงรูปในช่วงสุดท้าย

ดังนั้นในงานวิจัยนี้ จึงมุ่งที่จะหาตัวพยุงที่เหมาะสมและเป็นไปได้สำหรับการประยุกต์ใช้ในระดับอุตสาหกรรม สำหรับตรึงรูปเดกซ์แทรนเนสที่ผลิตจาก *Penicillium* sp.สายพันธุ์ 61 ซึ่งเป็นเชื้อราที่แยกได้จากแหล่งดินในประเทศไทย โดยเอก แสงวิเชียร (9) ซึ่งพบว่าสามารถผลิตเอนไซม์ได้สูง มีความจำเพาะต่อสับสเตรทสูง อีกทั้งยังมีคุณสมบัติที่สามารถทำงานได้ที่อุณหภูมิสูง เหมาะสมต่อการนำไปใช้แก้ปัญหาเดกซ์แทรนในโรงงานน้ำตาลซึ่งมีอุณหภูมิสูง ทั้งนี้จะเป็นการประหยัดพลังงานที่ไม่ต้องลดอุณหภูมิ (cool down) ของน้ำอ้อยก่อนมา treat ด้วยเดกซ์แทรนเนส พร้อมทั้งศึกษาการตรึงรูปเดกซ์-แทรนเนสแบบการเชื่อมด้วยพันธะโควาเลนท์ ซึ่งมี APTS และ CNBrเป็นสารกระตุ้น และกลูตารัลดีไฮด์เป็นสารสร้างพันธะร่วม ทั้งนี้เพื่อเป็นการพัฒนาวิธีการนำเอนไซม์ไปใช้อย่างมีประสิทธิภาพ พร้อมทั้งหาภาวะที่เหมาะสมในการตรึง และศึกษาสมบัติของเดกซ์แทรนเนสตรึงรูปด้วย ซึ่งจะเป็นข้อมูลขั้นต้นในการนำไปประยุกต์ใช้เพื่อเป็นประโยชน์ต่อไป