



## บทที่ 1

### บทนำ

ในปัจจุบันเอนไซม์ (enzyme) ซึ่งเป็นสารชีวโมเลกุลจำพวกโปรตีนที่มีหน้าที่เร่งปฏิกิริยาเคมีต่างๆ ในสิ่งมีชีวิตเข้ามามีบทบาทมาก ทั้งในด้านอุตสาหกรรมและการแพทย์ เนื่องจากเอนไซม์มีคุณสมบัติเฉพาะตัวที่สำคัญคือ มีความจำเพาะต่อสับสเตรต (substrate) สูงมาก จึงสามารถเร่งปฏิกิริยาโดยไม่ทำให้เกิดผลิตภัณฑ์อื่น (by products) สามารถเร่งปฏิกิริยาในสิ่งมีชีวิตได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงกว่าตัวเร่งสังเคราะห์หลายล้านเท่า ด้วยปริมาณเอนไซม์เพียงระดับไมโครโมลาร์ นอกจากนี้เอนไซม์ยังสามารถเร่งปฏิกิริยาได้ภายใต้ภาวะที่ไม่รุนแรง (mild condition) [1] ทำให้มีการนำเอนไซม์จากสิ่งมีชีวิตมาใช้ประโยชน์เป็นปริมาณมากและใช้กันอย่างกว้างขวาง ซึ่งเพกตินเอส (pectinase) ก็เป็นเอนไซม์ชนิดหนึ่งที่มีการนำมาใช้มากในอุตสาหกรรมผลิตน้ำผลไม้ ไวน์ โกโก้ และกาแฟ

เนื่องจากประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมมีผลผลิตทางการเกษตรเป็นจำนวนมาก จึงทำให้มีผลผลิตเหลือจากการบริโภคและส่งออก ผลไม้เป็นผลผลิตทางการเกษตรชนิดหนึ่งที่มีเหลือจากการบริโภค และส่งออกเป็นจำนวนมาก ทำให้เกิดอุตสาหกรรมการแปรรูปผลไม้มาเป็นน้ำผลไม้ และในปัจจุบันน้ำผลไม้เป็นที่ต้องการของผู้บริโภคมากขึ้น โดยเฉพาะน้ำผลไม้สำเร็จรูป นอกจากการแปรรูปมาเป็นน้ำผลไม้แล้วยังมีการแปรรูปเป็นไวน์ (wine) อีกด้วย ซึ่งเป็นการเปลี่ยนผลผลิตทางการเกษตรให้เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีราคาสูงขึ้นและมีอายุการเก็บรักษานานขึ้น คุณสมบัติประการหนึ่งที่สำคัญสำหรับน้ำผลไม้บางชนิด เช่น น้ำแอปเปิล น้ำฝรั่ง น้ำองุ่น เป็นต้น คือ ต้องการน้ำผลไม้ที่ใสมีเฉพาะกลิ่นและรสที่ใกล้เคียงกับผลไม้สด ไม่ต้องการความขุ่นอันเนื่องจากเนื้อผลไม้ ความขุ่นของน้ำผลไม้เกิดจากเพกติน (pectin) โปรตีน และแป้งในน้ำผลไม้ซึ่งต้องกำจัดให้หมดไปจนไม่มีตะกอนตกค้างไม่ว่าจะเก็บไว้ที่อุณหภูมิใดๆ แต่น้ำผลไม้ที่ได้จากกระบวนการแยกทางกลนั้นจะมีความหนืดสูงและมีความขุ่นที่ไม่ถาวร ซึ่งความหนืดและความขุ่นที่เกิดขึ้นนั้นส่วนหนึ่งมาจากเพกตินที่มีอยู่ในน้ำผลไม้ [2] กระบวนการทำให้น้ำผลไม้และไวน์ใส สามารถทำได้ง่ายและสะดวกโดยการใช้เอนไซม์เพกตินเอส (pectinase) ย่อยสลายเพกตินให้มีขนาดเล็กลงก่อน (depectinization) นอกจากนั้นเอนไซม์เพกตินเอสยังใช้ในการช่วยสกัดน้ำผลไม้ โดยทำให้น้ำผลไม้ดื่มง่ายต่อการสกัด [3] และยังใช้ในอุตสาหกรรมอื่นๆ ได้แก่ การเอาเมือกหรือยางเหนียวที่เกิด

จากการหมักออกในกระบวนการผลิตกาแฟ การเพิ่มผลผลิตในการสกัดน้ำมัน เช่น ปาล์ม งาม เป็นต้น เอนไซม์ที่ใช้ในอุตสาหกรรมดังกล่าวส่วนใหญ่ผลิตจากเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ในสมัยก่อนการใช้เอนไซม์ในอุตสาหกรรมจะใช้เอนไซม์ในรูปเอนไซม์อิสระ ซึ่งจะเห็นว่าสามารถใช้เอนไซม์ได้เพียงครั้งเดียว และต้องสูญเสียเอนไซม์ไปกับผลิตภัณฑ์ โดยเฉพาะอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ที่ต้องใช้เอนไซม์เป็นจำนวนมากจะต้องสูญเสียเอนไซม์ไปเป็นจำนวนมากด้วยเช่นกัน ซึ่งเอนไซม์ส่วนใหญ่มีราคาค่อนข้างสูง นอกจากนั้นยังต้องสูญเสียค่าใช้จ่ายในการแยกเอนไซม์ออกจากผลิตภัณฑ์ด้วย ทำให้ต้นทุนในการผลิตเพิ่มขึ้น จึงมีการคิดค้นและพัฒนาเพื่อให้สามารถใช้เอนไซม์เป็นไบโอคะตะลิสต์ (biocatalyst) ในปฏิกิริยาได้หลายครั้ง และสามารถแยกออกจากผลิตภัณฑ์ได้ง่าย เทคนิคดังกล่าวนั้นก็คือ การตรึงรูปเอนไซม์ (immobilized enzyme)

การตรึงรูปเอนไซม์ เป็นการเปลี่ยนสถานะของเอนไซม์จากสารเร่งปฏิกิริยาที่เป็นของเหลว ให้กลายเป็นสารเร่งปฏิกิริยาที่เป็นของแข็งที่ไม่ละลายน้ำ หรือละลายได้น้อยมาก โดยการนำเอนไซม์อิสระมาจำกัดให้อยู่ในขอบเขตที่กำหนดหรือจัดไว้ หรือนำมาจับยึดไว้กับตัวกลางที่ไม่ละลายน้ำ หรือทำให้โมเลกุลเอนไซม์จับเชื่อมกันเองจนมีขนาดใหญ่ขึ้น ซึ่งวิธีการเหล่านี้ล้วนเป็นวิธีการช่วยแก้ปัญหาดังกล่าวข้างต้น เอนไซม์ตรึงรูปนี้ เมื่อใช้งานแล้ว สามารถแยกนำกลับมาใช้ใหม่ได้อีกหลายครั้งจนกว่าแอกติวิตี (activity) หรือความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์จะลดต่ำลงมาก ทำให้ประหยัดกว่าการใช้ในรูปของเอนไซม์อิสระ และสามารถใช้ภาวะในการทำปฏิกิริยาที่เหมือนหรือแตกต่างไปจากเอนไซม์อิสระเดิมได้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับทางเลือกชนิดของตัวกลางที่จับยึดกับวิธีการตรึงรูป ทำให้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้กว้างขวางมากกว่าการใช้เอนไซม์อิสระซึ่งจะต้องใช้ภาวะการทำปฏิกิริยาที่จุดหนึ่งที่เหมาะสมเท่านั้น ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการศึกษาและพัฒนาวิธีการตรึงรูปเอนไซม์ ตลอดจนการศึกษาจลนพลศาสตร์ของเอนไซม์ตรึงรูปเพื่อช่วยให้เข้าใจการทำงานของเอนไซม์และสามารถนำเอนไซม์ไปใช้ให้เกิดประโยชน์ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากที่สุด เอนไซม์ตรึงรูปค่อนข้างมีเสถียรภาพที่ดีกว่าเอนไซม์ในรูปอิสระ สามารถใช้งานในระบบที่มีเอนไซม์หลายตัวได้ และใช้ได้ทั้งในลักษณะแบบต่อเนื่องหรือเป็นครั้งคราว เอนไซม์ที่จะนำมาตรึงรูปไม่จำเป็นต้องทำให้บริสุทธิ์มากนักก็สามารถทำงานได้ดีเหมือนเอนไซม์บริสุทธิ์ สำหรับเครื่องปฏิกรณ์ที่จะใช้กับเอนไซม์ตรึงรูปก็สามารถเลือกใช้ให้เหมาะสมได้ขึ้นอยู่กับรูปแบบของการตรึงรูป และสารที่ใช้เป็นสับสเตรต แต่เนื่องจากในระดับอุตสาหกรรมนั้นการใช้เอนไซม์ตรึงรูปส่วนใหญ่จะใช้ในระบบที่ต่อเนื่อง ซึ่งถึงปฏิกรณ์แบบหนึ่งที่นิยมใช้มากก็คือ ถังปฏิกรณ์แบบแพ็กเบด (packed bed reactor) เนื่องจากสามารถควบคุมการทำงานได้ง่าย ให้ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนจากสับสเตรตไปเป็นผลผลิตสูงกว่าการใช้ถังแบบต่อเนื่อง และยังให้ผลผลิตสูงกว่าด้วย โดยเฉพาะเมื่อระบบเป็นแบบที่ผลผลิตเป็นตัวขยับยังอัตราการเกิดปฏิกิริยา

[4] จึงจะเห็นได้ว่าการใช้เอนไซม์ตรีงรูปในระบบแบบต่อเนื่องนั้นมีข้อดีอยู่หลายประการ จึงควรมีการศึกษาและพัฒนาการใช้เอนไซม์ตรีงรูปในระบบแบบต่อเนื่อง เพื่อให้สามารถนำไปใช้ได้ในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

#### วัตถุประสงค์

1. ศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการตรีงรูปเอนไซม์เพกตินเอส
2. เปรียบเทียบสมบัติทางจลนพลศาสตร์ระหว่างเอนไซม์อิสระกับเอนไซม์ตรีงรูป
3. ศึกษาผลของอัตราการใช้ของสับสเตรต และความเข้มข้นของสับสเตรตต่อแอกติวิตีของเอนไซม์ตรีงรูปในถังปฏิกรณ์แบบแพ็กเบด
4. ศึกษาเสถียรภาพของเอนไซม์ตรีงรูปที่มีต่ออายุการใช้งาน