

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ทฤษฎีหรือแนวคิดที่เกี่ยวข้อง

1. เอนไซม์

เอนไซม์ เป็นชีวโมเลกุลที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในระบบชีวภาพ สามารถเปลี่ยนแปลง สับสเตรท (substrate) ให้เป็นผลิตภัณฑ์ในสถานะที่ไม่รุนแรง โดยปริมาณเอนไซม์ ไม่เปลี่ยนแปลง (เปี่ยมสุข, 2551)

1.1 เอนไซม์เซลลูเลส

1.1.1 ลักษณะของเอนไซม์เซลลูเลส

เอนไซม์เซลลูเลสเป็นเอนไซม์ผสม (multicomponent enzyme) ที่ประกอบด้วยเอนไซม์ อย่างน้อย 3 ชนิด ทำงานร่วมกันดังนี้

1) เอนไซม์ C₁ หรือไฮโดรเจน บอนด์เอส (hydrogen bondase) ทำหน้าที่กระตุ้นหรือ ย่อยเซลลูโลสในสภาพธรรมชาติให้เป็นสายโพลีแซคคาไรด์สั้นๆ ทำให้พันธะไฮโดรเจนอ่อนลงและมีสภาพที่เหมาะสมสำหรับเป็นสับสเตรท (substrate) ของเอนไซม์เซลลูเลสอันดับต่อไป คือ β - 1,4 - glucanase

2) เอนไซม์ C_x หรือบีต้า-1,4-กลูคาเนส (β - 1,4 - glucanase) เป็นเอนไซม์ที่ ทำหน้าที่ย่อยโพลีแซคคาไรด์สายสั้นๆ จนได้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเล็กๆ จะสามารถย่อยสลาย อนุพันธ์ของเซลลูโลสที่ละลายน้ำได้ ยกตัวอย่างเช่น คาร์บอกซีเมทิลเซลลูเลส (carboxymethylcellulase, CMC) ไฮดรอกซีเมทิลเซลลูเลส (hydroxymethylcellulase) แต่ไม่ สามารถย่อยสลายสับสเตรทที่มีโครงสร้างซับซ้อนได้ เอนไซม์กลุ่มนี้แบ่งเป็น 2 ชนิด คือ

2.1) เอนโด-บีต้า-1,4-กลูคาเนส (Endo - β - 1,4 - glucanase) เป็นเอนไซม์ที่ย่อย เซลลูโลสทั้งที่มีโครงสร้างที่มีการจัดเรียงตัวแบบไม่เป็นระเบียบ (amorphous) และแบบเป็น ระเบียบ (crystalline) ซึ่งจะทำลายพันธะที่ตำแหน่ง β - 1,4 - glucosidic linkage บริเวณที่เป็น amorphous หรืออนุพันธ์ของเซลลูโลส เช่น คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส และเซลโลไบโอส สายสั้นๆ แบบสุ่ม ทำให้ได้กลูโคสและ โอลิโกเมอร์ชนิดเซลโลไบโอสเป็นผลิตภัณฑ์หลัก

2.2) เอกโซ-บีต้า-1,4-กลูคาเนส (Exo - β - 1,4 - glucanase) เป็นเอนไซม์ที่ย่อยสลาย สารโพลีเมอร์ของ β - 1,4 - glucosidic จากปลายด้านที่เป็นนอนรีดิวซ์ (non - reducing) และ

รีดิวซ์ (reducing end) ที่ละโมเลกุลอย่างจำเพาะกับโครงสร้างในลักษณะ crystalline cellulose และมีการเปลี่ยนแปลง configuration ของสารจาก β - configuration ไปเป็น α - configuration ทำให้ได้ผลผลิตเป็นน้ำตาลเซลโลไบโอสและกลูโคส

3) เอนไซม์บีต้า-กลูโคซิเดส (β - glucosidase) เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อยสลายผลิตภัณฑ์ที่ได้จาก Cx ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ จะย่อยโมเลกุลของเซลโลไบโอสและเซลโลเฮกโซส (cellohexose คือกลูโคสจาก 2 - 6 ยูนิต) ได้เป็นกลูโคส สามารถย่อยสลายกรดเซลลูไบโอนิก (cellubionic acid) ให้เป็นกลูโคโนแลกโตน (gluconolactone) และกลูโคส เอนไซม์นี้มีบทบาทสำคัญในการทำงานร่วมกับเอนไซม์เอนโดและเอกโซ-บีต้า-1,4-กลูคาเนสที่จะย่อยสลายเซลลูโลสให้เป็นกลูโคส

1.1.2 คุณสมบัติทั่วไปของเอนไซม์เซลลูเลส (สุควาคี, 2543)

1) เอนไซม์ Cx มีมวลโมเลกุล 42,000 เอนไซม์เอนโด-บีต้า-กลูคาเนสมีมวลโมเลกุล 23,000 - 58,000 เอนไซม์เอกโซ-บีต้า-กลูคาเนสมีมวลโมเลกุล 60,000 - 62,000 และเอนไซม์บีต้า-กลูโคซิเดสมีมวลโมเลกุล 76,000

2) เอนไซม์เซลลูเลสที่ได้จากจุลินทรีย์จะมีอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานประมาณ 50 องศาเซลเซียส ยกเว้นจุลินทรีย์ทนความร้อนบางชนิด มีความคงทนต่อ pH ในช่วงระหว่าง pH 4.0 - 9.0 แต่ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับแหล่งที่มาของเอนไซม์ และความคงทนต่อสารเคมี

3) ละลายน้ำได้แต่ถูกยับยั้งด้วยไอออนของโลหะหนัก -SH reagents, oxidizing reducing agents และโดยผลผลิตตัวเอง คือ กลูโคส

4) สามารถวัดกิจกรรมการทำงานจากการวัดหุมรีดิวซ์ที่เกิด นิยมใช้สับสเตรทที่ละลายน้ำได้ดี คือ สับสเตรทสังเคราะห์ เช่น คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส

5) เชื้อราที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจะเจริญได้ในช่วงระดับ pH 3.5 - 8.0 และที่อุณหภูมิระหว่าง 30 - 80 องศาเซลเซียส ทั้งนี้ยังขึ้นกับปัจจัยอื่นๆ ที่เหมาะสมกับเชื้อแต่ละชนิด

6) สามารถเก็บที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส และที่ 4 องศาเซลเซียส ได้นานหลายปี หรือเก็บโดยวิธี Freeze dry หรือตกตะกอนด้วยอะซีโตนหรือเอทานอล โดยไม่สูญเสียคุณสมบัติ

1.2 เอนไซม์ไซลานเนส

1.2.1 ลักษณะของเอนไซม์ไซลานเนส (เปี่ยมสุข, 2551)

ไซลานเนสมี 2 ชนิด คือ endo - 1,4 - β (E.C. 3.2.1.8, ชื่อตามระบบคือ β - 1,4 - xylan xylanohydrolase) เร่งปฏิกิริยาการย่อยแบบสุ่มในสายโพลิเมอร์ของไซแลน ซึ่งมีแกนหลัก

ไซโลส (xylose) ต่อกันด้วยพันธะ β - 1,4 ได้โอลิโกแซคคาไรด์ของไซโลส และชนิด exo-1,4 - β (E.C. 3.2.1.37, ชื่อตามระบบคือ β - 1,4 - xylan xylohydrolase) ซึ่งย่อยโอลิโกแซคคาไรด์จากปลายอนรีควิวซ์ให้ความยาวสายสั้นลง เอกโซไซแลนที่ขอบย่อยไซโลไบโอสให้ได้ไซโลสมีชื่อเฉพาะว่า บีต้า-ไซโลซิเดส (β - xylosidase)

เนื่องจากโครงสร้างไซแลนมีความแตกต่างกันมากขึ้นกับแหล่งที่พบ เช่น ในหญ้ามีโครงสร้างหลักเป็นโฮโมโพลิเมอร์ของไซโลส ในขณะที่ไซแลนในเมล็ดธัญพืชมีโครงสร้างที่เป็นกิ่งก้านมาก คือ เป็นเฮเทอโรโพลิเมอร์ มีกลุ่มอื่นต่อที่โซ่กิ่งของแกนหลักซึ่งส่วนใหญ่เป็นอะราบิโนสและกรดกลูโคโรนิก ดังนั้น การย่อยไซแลนให้สมบูรณ์นอกจากจะต้องใช้เอนไซม์ไซลานเนสชนิดเอนโดและเอกโซแล้ว ยังต้องใช้เอนไซม์ที่ย่อยโซ่กิ่งอีกด้วย เอนไซม์ทั้งระบบนี้รวมเรียกว่า เอนไซม์ไซลานโนไลติก (xylanolytic enzymes)

1) เอนโดไซลานเนส

แหล่งของไซลานเนส คือ ราและแบคทีเรีย โดยมีรา *Trichoderma* spp. และ *Aspergillus* spp. เป็นแหล่งสำคัญของเอนไซม์ที่ใช้ในอุตสาหกรรม และเอนไซม์เอนโดไซลานเนส (EX) เป็นเอนไซม์ที่ถูกนำมาใช้มากที่สุดในกลุ่มเอนไซม์ย่อยไซแลน เมื่อเปรียบเทียบโครงสร้างของ EX จากแหล่งต่างๆ พบว่า EX มี 2 กลุ่มใหญ่ คือ EXs ในไกลโคซิลไฮโดรเลส สกุลที่ 10 และ 11 เอนไซม์ EXs สกุลที่ 10 จะใช้สับสเตรทได้หลากหลายมากกว่า EXs สกุลที่ 11 และสามารถย่อยสับสเตรทไซแลนไกลด์ตำแหน่งที่มีการแทนที่ หรือมีการต่อโซ่ข้างได้ดีกว่า ทำให้เกิดผลิตภัณฑ์ขนาดเล็กกว่า

2) เอกโซไซลานเนส

เนื่องจากความชอบสับสเตรทของเอกโซไซลานเนสที่ขอบย่อยโอลิโกแซคคาไรด์สายยาวกับบีต้า - ไซโลซิเดสที่ขอบย่อยเซลโลไบโอสไม่มีการแยกขอบเขตที่ชัดเจน ในรายงานส่วนใหญ่จะใช้ชื่อบีต้า - ไซโลซิเดส (BXL) แทนเอนไซม์ทุกชนิดที่ย่อยบีต้าไซโลสจากปลายอนรีควิวซ์ BXLs มีขนาดใหญ่กว่า EXs มีน้ำหนักโมเลกุล 26 - 360 กิโลดาลตัน อาจมี 1, 2 หรือ 4 หน่วยย่อย BXLs ในแบคทีเรียและยีสต์ส่วนใหญ่ไม่มีคาร์โบไฮเดรตเป็นส่วนประกอบ และเป็นเอนไซม์ในเซลล์ เช่น BXL จาก *Bacillus pumilus* ซึ่งเป็นเอนไซม์ในเซลล์ที่มีการศึกษากันมากและถูกจัดไว้ในสกุลที่ 43 ของไกลโคซิลไฮโดรเลส ในขณะที่ BXLs จากราที่มีการศึกษามากที่สุด คือ จาก *Aspergillus* spp. และ *Trichoderma* spp. เป็นเอนไซม์นอกเซลล์ที่ถูกจัดไว้ในไกลโคซิลไฮโดรเลส สกุลที่ 3

2. การผลิตเอนไซม์ในกระบวนการหมักบนอาหารแข็ง

การใช้วัสดุเหลือทิ้งทางเกษตรกรรมเป็นแหล่งอาหารสำหรับผลิตเอนไซม์โดยจุลินทรีย์ เป็นแนวทางหนึ่งในการลดต้นทุนการผลิตและเพิ่มผลผลิตของเอนไซม์ การผลิตเอนไซม์โดยใช้วัสดุเหลือทิ้งทางเกษตรกรรมเป็นแหล่งอาหารเลี้ยงเชื้อมีทั้งในสภาพการหมักแบบแข็ง (solid state Fermentation) และการหมักในสภาพของเหลว (Liquid Fermentation) ข้อได้เปรียบของการหมักในสภาพของเหลวเมื่อเปรียบเทียบกับการหมักแบบแข็ง คือ สามารถควบคุมสภาพแวดล้อมในระหว่างกระบวนการหมักได้ดีและง่ายกว่า อย่างไรก็ตามการหมักบนอาหารแข็งมีข้อดีเหนือกว่าการหมักในสภาพของเหลว คือ สามารถให้ผลผลิตต่อหน่วยวัสดุหมักสูงกว่า ไม่ค่อยพบปัญหาเกี่ยวกับการปนเปื้อนของแบคทีเรีย ใช้เชื้อเริ่มต้นในรูปของสปอร์ จึงไม่จำเป็นต้องใช้ถังเตรียมเชื้อเริ่มต้น (seed tank) เทคนิคการให้อากาศในวัสดุหมักทำได้ง่ายกว่าในสภาพการหมักแบบเหลว นอกจากนี้การหมักแบบแข็งซึ่งเป็นการเจริญของจุลินทรีย์บนวัสดุแข็งที่ไม่มีน้ำในรูปอิสระ แต่จะอยู่ในลักษณะดูดซึมนั้นจะเหมาะสมกับเชื้อรา ซึ่งมีความสามารถในการชอนไชไปตามวัสดุหมักอันมีผลทำให้สามารถสัมผัสกับอาหารได้อย่างใกล้ชิดมีผลทำให้การสร้างเอนไซม์ได้สูงกว่าการหมักในสภาพของเหลว

2.1 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการผลิตเอนไซม์ในกระบวนการหมักบนอาหารแข็ง (ชลดนิชา, 2548)

ประสิทธิภาพในการสังเคราะห์เอนไซม์ในกระบวนการหมักแบบแข็งนั้น นอกจากจะขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ที่ใช้แล้วยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่นๆ เช่น ปัจจัยทางกายภาพ องค์ประกอบของอาหาร ตลอดจนการสร้างสปอร์ของเชื้อรา

2.1.1 ปัจจัยทางกายภาพ (Physical factor)

ปัจจัยทางกายภาพเป็นปัจจัยที่สำคัญที่ควบคุมการหมักบนอาหารแข็ง ปัจจัยเหล่านี้ ได้แก่ อัตราการไหลเวียนของอากาศ ความชื้นของวัสดุหมัก ขนาดและรูปร่างของวัสดุหมัก ปริมาณของวัสดุหมักและระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง วัสดุหมักที่มีขนาดเหมาะสมจะมีพื้นที่ผิวให้จุลินทรีย์ยึดเกาะได้มาก แต่ถ้ามีขนาดเล็กเกินไปจะทำให้เกิดปัญหาการถ่ายเทอากาศไม่ดี ความชื้นและอุณหภูมิเป็นปัจจัยทางกายภาพที่สำคัญที่สุดในการควบคุมระบบการหมักแบบอาหารแข็ง โดยเป็นปัจจัยควบคุมการสร้างเอนไซม์ การไหลเวียนอากาศจะเปลี่ยนแปลงไปพร้อมกับการเปลี่ยนแปลงความชื้นของวัสดุหมัก

2.2 องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ชนิดของสับสเตรตและสารเหนียวน้ำ วัสดุหมักที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิตเอนไซม์ส่วนใหญ่เป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร ซึ่งเป็นประเภทลิกโนเซลลูโลส และเอนไซม์ที่ใช้ในอาหารสัตว์ส่วนใหญ่เป็นเอนไซม์ชนิดเหนียวน้ำ (inducible enzymes) การเติมสารเหนียวน้ำ (inducer) ในอาหารเลี้ยงเชื้อจะมีอิทธิพลทำให้จุลินทรีย์สร้างเอนไซม์ได้เพิ่มขึ้น

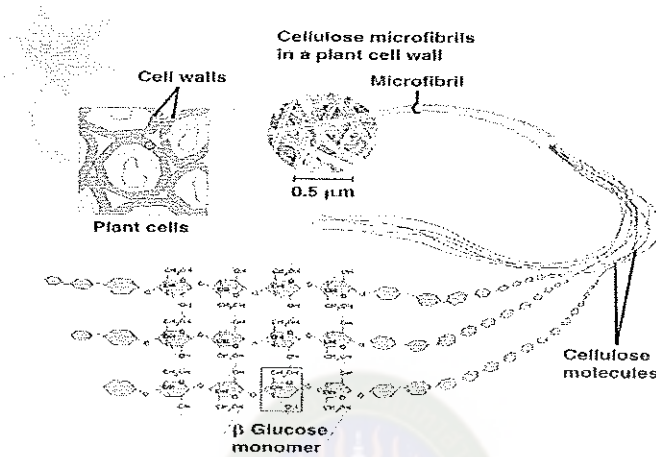
2.2.1 แหล่งคาร์บอน

สำหรับการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อ *T. reesei* นั้นมีความสัมพันธ์กับการเจริญของเชื้อ คือ ถ้าเชื้อมีการเจริญเติบโตจะมีการผลิตเอนไซม์สูง ดังนั้นอาหารเพาะเลี้ยงต้องมีความเหมาะสมสนับสนุนการเจริญ และอาจมีส่วนของสารที่ก่อให้เกิดการเหนียวน้ำการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสและไซลันเนส อาหารที่เพาะเลี้ยงส่วนที่สำคัญ คือ ส่วนของแหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน และแร่ธาตุต่างๆ พืชและวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรต่างๆจะมีเฮมิเซลลูโลส (Hemicellulose), เซลลูโลส (Cellulose) และสารประกอบเพกติน (Pectic substances) เป็นองค์ประกอบอยู่มาก สารประกอบพวกเฮมิเซลลูโลส, เซลลูโลส และเพกติน เป็นโพลีแซ็กคาไรด์ที่พบมากในผนังเซลล์ (Cell wall) ของพืชขณะที่พืชยังมีชีวิตและอยู่ในสภาพที่สมบูรณ์จะไม่ถูกทำลายโดยจุลินทรีย์ต่างๆ เนื่องจากมีสารที่ขยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์ แต่หลังจากที่พืชตายหรือมีบาดแผลเกิดขึ้น สารยับยั้งจะถูกทำลาย โครงสร้างของพืชก็จะถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์ที่ผลิตขึ้นโดยจุลินทรีย์

สารที่เป็นองค์ประกอบในพืช ได้แก่

1) เซลลูโลส (Cellulose) เป็นสารประกอบโพลีแซ็กคาไรด์ ที่มีประมาณ 40-50 เปอร์เซ็นต์ในผนังเซลล์พืช ประกอบด้วยหน่วยย่อยของน้ำตาลกลูโคสหลายๆ หน่วยมาต่อกันเป็นเส้นยาวด้วยพันธะแบบ β -1,4-glycosidic bond ลักษณะเป็นโพลีเมอร์สายตรง ไม่มีกิ่งก้านสาขา และเป็นโฮโมโพลีเมอร์ (homopolymer) ของ β -D-glucose ที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ β -1,4-glycosidic linkage โดยมีค่า degree of polymerization อยู่ในช่วงประมาณ 100 ถึงมากกว่า 10,000 ซึ่งเกาะรวมกันภายใน crystalline microfibrils เซลลูโลสมีน้ำหนักโมเลกุลตั้งแต่ 20,000 ถึง 750,000 คาลตันซึ่งเท่ากับ 100 - 4,000 หน่วยกลูโคส โมเลกุลของเซลลูโลสเรียงตัวเป็นมัดเรียกว่า ไฟบริล (fibril) โดยมีพันธะไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นระหว่างหมู่ไฮดรอกซิลของน้ำตาลกลูโคสที่อยู่ใกล้กันของเซลลูโลสสายหนึ่งกับเซลลูโลสอีกสายหนึ่งเชื่อมต่อกันเป็นไฟบริล นอกจากนั้นเซลลูโลสที่พบในทั้งไม้เนื้ออ่อนและไม้เนื้อแข็งมีความทนต่อกรดได้

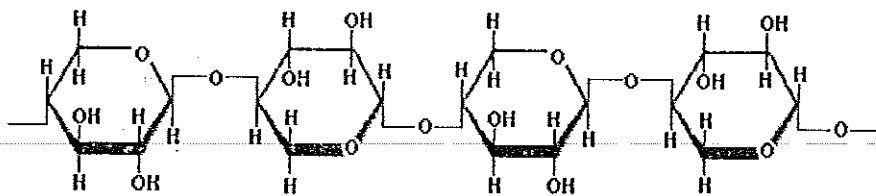
มากกว่าเฮมิเซลลูโลส เมื่อเกิดการย่อยสลายโดยสมบูรณ์ด้วยกรดหรือเอนไซม์จะได้น้ำตาลกลูโคสอย่างเคียว แต่ถ้าย่อยสลายไม่สมบูรณ์จะได้เซลโลไบโอส



ภาพที่ 1 โครงสร้างของเซลลูโลส

ที่มา : <http://www.learners.in.th/file/dawood/view/83293&docid=ZcGFUhf6v-VJjM&imgurl>

2) เฮมิเซลลูโลส (Hemicellulose) เป็นสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง พบมากเป็นอันดับสองรองจากเซลลูโลส โดยพบประมาณ 20-30 เปอร์เซ็นต์ในผนังเซลล์พืช สามารถสกัดได้ด้วยสารละลายที่เป็นด่าง เฮมิเซลลูโลสเป็นสารประกอบเฮเทอโรโพลีแซคคาไรด์ (heteropolysaccharide) ประกอบด้วยไซแลน (xylan) กลูโคแมนแนน (glucomannans) กาแลกแตน (galactans) และกลูแคน (glucan) ไซแลนเป็นองค์ประกอบที่พบมากที่สุดในการเฮมิเซลลูโลส โดยมีโครงสร้างหลักที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ β-1,4-linkage ของน้ำตาลไซโลส และมีกิ่งก้านเป็นน้ำตาลหรืออนุพันธ์ของน้ำตาลต่างๆ พบเป็นองค์ประกอบประมาณ 7 - 30 เปอร์เซ็นต์ในผนังเซลล์ของพืช ลักษณะโครงสร้างหลักของไซแลนคือโพลีเมอร์ของน้ำตาลไซโลส ซึ่งเชื่อมต่อกันด้วย 1,4-β-linkage มีสูตรทางเคมี คือ $C_5H_8O_4$



ภาพที่ 2 โครงสร้างของเฮมิเซลลูโลส

ที่มา : <http://www.scientificpsychic.com/fitness/carbohydrates2.html>

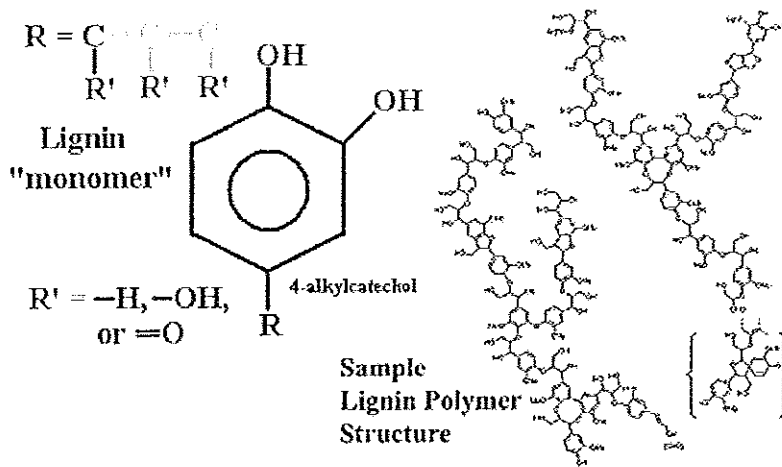
เนื่องจากเฮมิเซลลูโลสมีโครงสร้างเป็นกิ่งก้านสาขา และประกอบด้วยน้ำตาลหลายๆ ชนิด ดังนั้นเอนไซม์ที่ย่อยสลายเฮมิเซลลูโลสให้สมบูรณ์จึงมีมากกว่าเอนไซม์ที่ย่อยสลายเซลลูโลส เอนไซม์ที่ย่อยสลายเฮมิเซลลูโลสจะเรียกว่า เฮมิเซลลูเลส ซึ่งได้แก่ อะราบินาเนส (L-arabinanases), กาแลคตาเนส (D-galactanases), แมนนาเนส (D-mannanases), ไชลานเนส (D-xylanases) และอื่นๆ เป็นต้น โดยทั่วไปเฮมิเซลลูโลสในพืชจะมีโครงสร้างหลักเป็นโพลีเมอร์ของน้ำตาลไซโลสที่เชื่อมต่อกันด้วย 1,4- β -linkage โดยมีกิ่งก้านเป็นน้ำตาลเพนโตส เฮกโซส หรือกรดยูโรนิกอื่นๆ การย่อยสลายโครงสร้างหลักที่เป็นโพลีเมอร์ของน้ำตาลไซโลสที่เชื่อมต่อกันจะต้องอาศัยการทำงานของเอนไซม์ไชลานเนส โดยพบว่าเอนไซม์ไชลานเนสประกอบด้วยเอนไซม์ 3 ชนิด ทำงานร่วมกันคือ

2.1) เอนโดไชลานเนส (Endo-xylanases) ($1 \rightarrow 4 - \beta - D - \text{xylan xylohydrolases}$; EC 3.2.1.8) การเข้าทำการย่อยสลายพันธะ 1,4-glycosidic bond ของ $\beta - D - \text{xylopyranoside}$ บริเวณด้านในของสายไซแลน ปฏิกริยาของเอนไซม์ต่อสับสเตรตจะขึ้นอยู่กับความยาวของสายโพลีเมอร์น้ำตาลไซโลส ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ชนิดนี้ คือ ไซโลไบโอส (Xylobiose), ไซโลไตรโอส (Xylotriose) และไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ (Xylo-oligosaccharides)

2.2) เอกโซไชลานเนส (Exo-xylanases) ($1 \rightarrow 4 - \beta - D - \text{xylan xylohydrolases}$; EC 3.2.1.37) เอนไซม์ชนิดนี้จะย่อยสลายไซแลน และไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีสายยาวๆ ไปเป็นไซโลสได้ดี แต่จะย่อยสลายไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ที่เป็นสายสั้นๆ ได้น้อย

2.3) บีต้า-ไซโลซิเดส ($\beta - \text{xylosidases}$) (Xylobiases; Exo - $1,4 - \beta - D - \text{xylosidases}$; EC 3.2.1.37) เอนไซม์ชนิดนี้จะย่อยสลายไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีสายสั้นๆ ไปเป็นไซโลส

3) ลิกนิน (Lignin) เป็นองค์ประกอบหนึ่งที่มีอยู่ในพืชซึ่งจัดเป็นโพลีเมอร์ที่ประกอบด้วยฟีนิลโพรเพน (phenylpropane) เกิดจากฟีนิลโพรเพนแต่ละหน่วยเชื่อมต่อกันด้วยพันธะเอสเทอร์ และคาร์บอน - คาร์บอน ลิกนินในโครงสร้างไม่มีอยู่ประมาณ 20-35 เปอร์เซ็นต์ เป็นสารประกอบที่มีมวลโมเลกุลสูง และไม่มีโครงสร้างที่แน่นอน ในธรรมชาติสามารถสร้างพันธะโควาเลนต์กับหมู่ L-arabinosyl และ glucuronosyl residue ของไซแลน จึงเป็นไปได้ว่ามีการสร้าง cross-link ระหว่างลิกนินกับไซแลน หรือไซแลนกับโพลีแซคคาไรด์อื่นๆ ลิกนินในเนื้อไม้มีหน้าที่เป็นตัวเชื่อมระหว่างเยื่อชั้นนอก (outer layer) ของเส้นใย (fiber) และเป็นสิ่งที่เพิ่มความแข็งแรงให้แก่เส้นใย



ภาพที่ 3 โครงสร้างของลิกนิน

ที่มา : <http://www.withfriendship.com/user/levis/lignin.php>

สำหรับการทดลองนี้เลือกใช้แหล่งคาร์บอนจาก 2 แหล่ง คือ

1) ช้างข้าวโพด

ลักษณะทั่วไป : ช้างข้าวโพดได้จากการสีข้าวโพดเพื่อนำเมล็ดมาใช้งานส่วนใหญ่เป็นข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ใน ส่วนของลำต้น จะถูกคัด หลังจากการเก็บเกี่ยวแล้ว

แหล่ง : ปัจจุบันการสีข้าวโพดจะใช้เครื่องจักรที่สามารถเคลื่อนที่ไปตามไร่ข้าวโพด ดังนั้นจะสามารถหาช้างข้าวโพดและต้นข้าวโพดได้ตามไร่ข้าวโพดทั่วไป

การนำไปใช้งาน : ช้างข้าวโพดมีประโยชน์หลายอย่าง นำไปเป็นวัตถุดิบผลิตแอลกอฮอล์ เป็นเชื้อเพลิงผสมกับโมลาสเพื่อเลี้ยงสัตว์ เป็นต้น ส่วนลำต้นนำไปเลี้ยงสัตว์ได้เช่นกัน

จุดเด่น : ช้างข้าวโพดมีค่าความร้อนสูง เมื่อเทียบกับชีวมวลอื่นๆ ส่วนลำต้นข้าวโพดมีส่วนหนึ่งที่ไม่ได้นำไปใช้งานชาวไร่ข้าวโพดจะไถฝังกลบในไร่

จุดด้อย : ช้างข้าวโพดมีการนำไปใช้ประโยชน์หลายอย่าง ดังนั้นต้องพิจารณาถึงแหล่งที่มีการนำไปใช้งานน้อยที่สุด เพื่อไม่ให้มีการแก่งแย่งกันซื้อ ส่วนลำต้น ข้าวโพดจะเก็บรวบรวมลำบากต้องใช้แรงงานมาก

2) ชานอ้อย

ลักษณะทั่วไป : ชานอ้อย หมายถึงส่วนของลำต้นอ้อยที่หีบเอาน้ำอ้อยหรือน้ำตาลออกแล้ว องค์ประกอบของชานอ้อย จะประกอบไปด้วย ลิกนิน และน้ำตาล น้ำตาลก็จะมีทั้งน้ำตาลไซโลส กลูโคส อะราบิโนส

แหล่ง : ชานอ้อยสามารถหาได้จากโรงงานน้ำตาลเป็นส่วนใหญ่หลังกระบวนการหีบอ้อย และตามร้านขายน้ำอ้อยทั่วไป

การนำไปใช้งาน : ชานอ้อยมีการนำไปใช้ประโยชน์ดังนี้

(ที่มา : http://guru.sanook.com/search/knowledge_search.php)

การใช้ประโยชน์โดยตรง

ก) ใช้เป็นอาหารมนุษย์ ส่วนของลำต้นที่เก็บน้ำตาลสามารถนำมาเป็นอาหารของมนุษย์ได้เช่นทำเป็นอ้อยควั่น หรือบิบนาน้ำอ้อยเพื่อบริโภคโดยตรงหรือทำเป็นไอศกรีม เป็นต้น นอกจากนี้ยังใช้ลำต้นประกอบอาหาร เช่น คัมเค็มปลาได้อีกด้วย

ข) ใช้เป็นอาหารสัตว์ ใบ ยอด และส่วนของลำต้นที่ยังอ่อนใช้เป็นอาหารสัตว์ เช่น วัวควายได้โดยตรง แต่ถ้าต้องการให้ได้ผลดีควรใช้วิธีหมักก่อนให้สัตว์กิน

ค) ใช้เป็นเชื้อเพลิง ในอนาคตเมื่อเชื้อเพลิงที่ได้จากไม้หายาก ใบอ้อยแห้ง (trash) อาจจะเป็นแหล่งของพลังงานและเชื้อเพลิงที่สำคัญ ทั้งนี้เพราะ ใบอ้อยแห้งให้พลังงานค่อนข้างสูงมาก กล่าวกันว่าคุณค่าของพลังงานที่ได้จากใบอ้อยแห้งของอ้อยที่ให้ผลผลิตไร่ละ 16 ตัน นั้นเพียงพอสำหรับรถแทรกเตอร์ขนาดกลางทำงาน ได้ถึง 80 ชั่วโมง

ง) ใช้เป็นวัตถุดิบหรือบำรุงดิน ใบอ้อยแห้งเมื่อใช้คลุมดินจะช่วยรักษาความชื้นและป้องกันวัชพืชด้วย ในขณะเดียวกันก็จะกลายเป็นอาหารของจุลินทรีย์ต่างๆ ซึ่งบางพวกสามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้ ทำให้ไนโตรเจนในดินเพิ่มขึ้นอันเป็นผลดีแก่อ้อย นอกจากนี้รากและเหง้าที่อยู่ในดินเมื่อนำเปื้อยผุพังก็จะเป็นปุ๋ยแก่ดินนั้นต่อไป

การใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรม

ก) ใช้ในอุตสาหกรรมน้ำตาล ในทางเคมีน้ำตาลส่วนใหญ่ที่ได้จากอ้อยเป็นน้ำตาลซูโครส นอกจากนี้ก็มีน้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลฟรุคโตสอยู่ด้วย ซึ่งทั้งสองชนิดนี้รวมเรียกว่าน้ำตาลอินเวิร์ต (invert sugar) ในทางการค้าน้ำตาลจากอ้อยมีชื่อเรียกต่างๆ กันตามความบริสุทธิ์และกรรมวิธีในการผลิต เช่น น้ำตาลแดงหรือน้ำตาลทรายแดง (brown sugar, gur, jaggery, muscovado) น้ำตาลดิบหรือน้ำตาลทรายดิบ (raw sugar) น้ำตาลทรายขาว (white sugar หรือ plantation white sugar) น้ำตาลทรายบริสุทธิ์ หรือน้ำตาล

