ห้องสมุดงานวิจัย

บทที่ 2

ทฤษฎี

ประเทศไทยมีการเพาะปลูกมันสำปะหลังเป็นพืชเศรษฐกิจ มีเนื้อที่ปลูกมากเป็นอันดับ 4 รองจาก ข้าว ข้าวโพด และยางพารา แหล่งปลูกมันสำปะหลังที่สำคัญที่สุด ได้แก่ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ซึ่งมีเนื้อที่ปลูกรวมกันมากกว่าร้อยละ 60 ของเนื้อที่ปลูกทั้งประเทศ รองลงมา ได้แก่ ภาคกลาง ซึ่งรวมภาคตะวันออกและภาคตะวันตก มีเนื้อที่ปลูกประมาณร้อยละ 26 และภาคเหนือมีเนื้อที่ปลูกประมาณร้อยละ 12 แต่ไม่มีการปลูกในพื้นที่ภาคใต้ มันสำปะหลังเป็นพืชหัวที่มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูง และมีปริมาณโปรตีนต่ำ โดยเฉลี่ยแล้วหัวมันสำปะหลังสดประกอบด้วยน้ำร้อยละ 60-65 คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 30-35 (หรือร้อยละ 70-90 ของน้ำหนักแห้ง) โปรตีน (crude protein) ร้อยละ1-2 ไขมันประมาณร้อยละ 0.3 เยื่อใยร้อยละ 1-2 แร่ธาตุร้อยละ 1 สำหรับวิตามินนั้นพบว่ามีวิตามินซีสูง ส่วนไนอะซิน วิตามินบีสิบสอง วิตามินบีหนึ่ง และวิตามินเอ มีปริมาณต่ำ ซึ่งพอลีแซ็คคาไรด์ในหัวมันสำปะหลังประกอบด้วย แป้ง เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) และเซลลูโลส (cellulose) เป็นองค์ประกอบหลัก โดยมีแป้ง (starch) เป็นองค์ประกอบ ส่วนใหญ่แป้งในหัวมันสำปะหลังซึ่งมีประมาณร้อยละ 64-72 ของพอลีแซ็คคาไรด์ (ทรงศักดิ์, 2543)

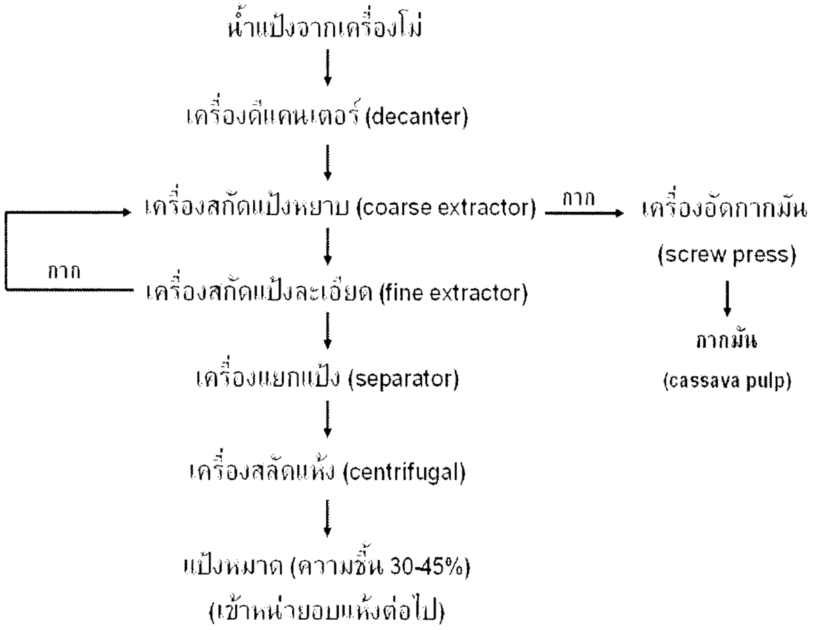
2.1 <u>การแปรรูปของมันสำปะหลัง</u>

มันสำปะหลังเป็นพืชให้แป้งที่มีความบริสุทธิ์มากกว่าพืชชนิดอื่น ดังนั้นผลผลิตมันสำปะหลังเกือบทั้งหมดถูกนำไปใช้ในการผลิตแป้งมันสำปะหลัง อัตราการแปรรูปจากหัวมันสดเป็นแป้งมันขึ้นอยู่กับเปอร์เซ็นต์แป้งของหัวมันสด ถ้าหัวมันสดมีเปอร์เซ็นต์แป้งประมาณร้อยละ 20 จะใช้หัวมันสด 5 กิโลกรัมในการผลิตแป้ง 1 กิโลกรัม และจะได้กากมันประมาณ 0.4 ถึง 0.5 กิโลกรัม สำหรับประเทศไทย อุตสาหกรรมผลิตแป้งมันสำปะหลังถือว่าเป็นอุตสาหกรรมแปรรูปทางการเกษตรที่สำคัญของประเทศ แป้งที่ผลิตมากที่สุด คือ แป้งมันสำปะหลัง ซึ่งเป็นแป้งคุณภาพสูง มีสิ่งแปลกปลอมน้อย ในช่วง พ.ศ. 2536–2551 สามารถผลิตมันสำปะหลังได้ในปริมาณปีละกว่า 15-27 ล้านตัน (ที่มา: ศูนย์สารสนเทศการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร) สามารถผลิตแป้งมันสำปะหลังได้เป็นจำนวนมาก และส่งออกแป้งมันสำปะหลังไปยังต่างประเทศประมาณ 12 ล้านตัน (ที่มา: กรมการค้าต่างประเทศ; ข้อมูลตั้งแต่เดือนมกราคม-มิถุนายน 2551) การใช้แป้งมันสำปะหลังในประเทศไทยใช้มากในอุตสาหกรรมผงชูรส และสารให้ความหวาน และยังใช้ในอุตสาหกรรมกระดาษ อาหาร สิ่งทอ กาว ใช้เป็นส่วนผสมในยารักษาโรค สารตั้งต้นสำหรับผลิตสารให้ความหวาน และยังใช้บริโภคโดยตรงในครัวเรือน

จากกระบวนการสกัดแป้ง (แสดงดังรูปที่ 2.1) พบว่ามีส่วนที่เป็นกากมันสำปะหลังเหลือทิ้งจากกระบวนการแปรรูป ดังนั้นจึงมีความพยายามที่จะใช้ประโยชน์จากกากมันสำปะหลัง

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ห้องสมุดงานวิจัย
วันที่ 15 ส.ค. 2555
244822

เหล่านี้ โดยการใช้เป็นอาหารสัตว์ และทำเป็นปุ๋ย อย่างไรก็ตามด้วยจำนวนที่มากของกากมันสำปะหลัง จึงมีการส่งเสริมให้แปรรูปของกากมันสำปะหลังให้เป็นสารที่มีมูลค่าสูงขึ้น เมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบของกากมันสำปะหลังพบว่าองค์ประกอบหลักของกากมันสำปะหลังประกอบด้วย แป้งและไฟเบอร์ ร้อยละ 50-66 และ 15-27 ตามลำดับ (Chotineeranat และคณะ, 2004; Sriroth และคณะ, 2000; Srinorakutara และคณะ, 2006)



รูปที่ 2.1 ขั้นตอนการสกัดแป้งมันสำปะหลัง (กล้าณรงค์ และเกื้อกูล, 2546)

2.2 <u>องค์ประกอบของแป้ง</u>

แป้งเป็นพอลีแซ็คคาไรด์ มีองค์ประกอบใหญ่ๆ 2 ชนิด คือ อะไมโลส (amylose) และอะไมโลเพคติน (amylopectin) ซึ่งมีการเรียงตัวต่างกัน แบ่งได้เป็น 2 แบบ แบบแรกสายพอลีเมอร์ของอะไมโลสเรียงตัวขนานกันอย่างเป็นระเบียบ มีอะไมโลสบางส่วนเรียงขนานกับส่วนที่เป็นสายตรงส่วนนอกของอะไมโลเพคติน และยึดติดกันด้วยพันธะไฮโดรเจนทำให้โมเลกุลบริเวณนี้จับกันอย่างหนาแน่นและมีแรงยึดเหนี่ยวสูง บริเวณนี้เรียกว่า crytalline regions หรือ micelles crytalline regions มีความสามารถในการดูดน้ำและพองตัวต่ำมาก ส่วนแบบที่สองโมเลกุลเรียงตัวกันอย่างไม่เป็นระเบียบ ซึ่งแรงดึงดูดระหว่างสายพอลีเมอร์ของอะไมโลสและอะไมโลเพคตินต่ำกว่าแบบที่หนึ่ง บริเวณที่มีการจัดเรียงตัวของโมเลกุลแบบนี้เรียกว่า amorphous regions เป็นส่วนที่ดูดน้ำได้ดีและพองตัวได้ง่าย (Fennema, 1976) ทั้ง 2 องค์ประกอบนี้จะเป็นตัวกำหนดสมบัติทางฟิสิกส์ ขนาดโมเลกุล การละลายน้ำ และคุณสมบัติการเกิดสีกับสารละลายไอโอดีนซึ่งจะเปลี่ยนแปลงสีตามความเข้มข้นของ

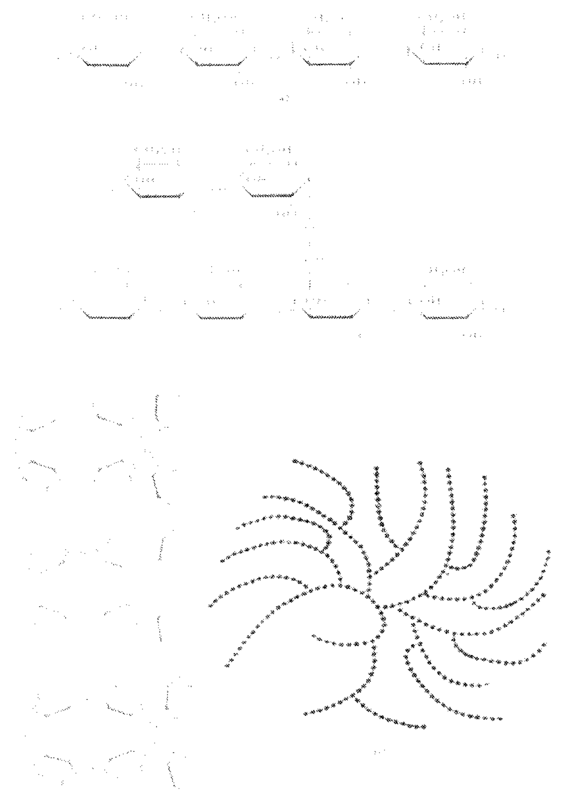
น้ำตาลรีดิวซ์ คือ ถ้ามีน้ำตาลรีดิวซ์น้อยจะมีสีน้ำเงินเข้มจนถึงม่วง ถ้ามีน้ำตาลรีดิวซ์มากจะมีสีแดงจนถึงไม่มีสี (White และคณะ, 1973)

ก. อะไมโลส (amylose) เป็นส่วนประกอบที่มีโครงสร้างต่อกันด้วยพันธะ α-1,4 glycosidic ของ D-glucose ซึ่งใน 1 สายของอะไมโลสจะประกอบด้วย D-glucose ตั้งแต่ 250–300 ยูนิต โดยทั่วไปแป้งมีอะไมโลสเป็นส่วนประกอบประมาณร้อยละ 20–25 ส่วนที่เหลือร้อยละ 80–75 เป็นส่วนของอะไมโลเพคติน น้ำหนักโมเลกุลของอะไมโลสมีตั้งแต่ไม่กี่พัน จนถึง 150,000 พันธะ α-1,4 glycosidic ไม่ได้ต่อกันเป็นสายตรง แต่จะขดเป็นเกลียว (helix) วนซ้าย (ดังรูปที่ 2.2) ประกอบด้วยกลูโคส 6 ยูนิตต่อ 1 เกลียว ระยะห่างระหว่างรอบของเกลียว (pitch) ประมาณ 0.8 นาโนเมตรและเส้นผ่านศูนย์กลางของเกลียวประมาณ 1.4 นาโนเมตร (Rawn, 1983) อะไมโลสเมื่อทำปฏิกิริยากับสารละลายไอโอดีน จะเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงินเข้ม (deep blue) (Orten และ Neuhaus, 1970) อะไมโลสถูกย่อยสลายได้โดยอัลฟาอะไมเลสและเบต้าอะไมเลส ซึ่งเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดนี้พบในน้ำดีและในน้ำลายสัตว์ (Rawn, 1983) นอกจากนี้ยังพบได้ในจุลินทรีย์ เช่น ยีสต์ รา และแบคทีเรีย

ข. อะไมโลเพคติน (amylopectin) อะไมโลเพคตินมีโครงสร้างคล้ายขนแปรง (brush–shaped) (Fukumoto และคณะ, 1958) โดยมีสาขา (branch) แตกออกจากสายหลัก (ดังรูปที่ 2.2) ซึ่งทำให้อะไมโลสมีข้อแตกต่างจากอะไมโลเพคติน โดยแต่ละสาขาจะแยกจากสายหลักทุกๆ 29-30 ยูนิต (White และคณะ, 1973) โครงสร้างของอะไมโลเพคตินประกอบด้วย พันธะ 2 ชนิด คือ พันธะ α-1,4 glycosidic และบริเวณที่แตกสาขาเป็นพันธะ α-1,6 glycosidic ซึ่งส่วนที่เป็นสาขานี้ประกอบด้วยกลูโคสประมาณ 20-25 ยูนิต แต่ทั้งโมเลกุลของแป้งในส่วนของอะไมโลเพคตินอาจประกอบด้วยกลูโคสถึง 1,000 ยูนิต (Wurzburg, 1986) โดยปริมาณอะไมโลสในแป้งแต่ละชนิดจะแตกต่างกันไป และพบว่าในแป้งมันสำปะหลังประกอบด้วยอะไมโลสประมาณร้อยละ 16 ที่เหลือเป็นอะไมโลเพคตินซึ่งสัดส่วนดังกล่าวแตกต่างกันตามอายุของหัวมัน อะไมโลเพคตินเมื่อทำปฏิกิริยากับสารละลายไอโอดีนได้เป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีแดงม่วงหรือน้ำตาลความแตกต่างของอะไมโลสและอะไมโลเพคตินแสดงดังตารางที่ 2.1 (อรวรรณ, 2529)

ตารางที่ 2.1 ความแตกต่างของอะไมโลสและอะไมโลเพคติน (Kerr, 1950)

อะไมโลส	อะไมโลเพคติน
1. ประกอบด้วยโมเลกุลกลูโคสที่ต่อกัน กิ่งก้านสาขา เป็นเส้นตรง	1. ประกอบด้วยโมเลกุลกลูโคสต่อกันมี เหมือนกิ่งไม้
2. ประกอบด้วยกลูโคส 200–1,200 หน่วย	2. แต่ละกิ่งมีกลูโคส 20–25 หน่วย
3. ละลายน้ำได้ดีกว่า	3. ละลายน้ำได้น้อยกว่า
4. เมื่อต้มในน้ำจะมีความข้นหนืดน้อยและขุ่น	4. ข้นหนืดมากและใส
5. ให้สีน้ำเงินกับสารละลายไอโอดีน	5. ให้สีม่วงแดงหรือสีน้ำตาลแดงกับสารละลายไอโอดีน
6. ต้มแล้วตั้งทิ้งไว้จะจับตัวเป็นวุ้นได้	6. ไม่จับตัวเป็นวุ้น



รูปที่ 2.2 โครงสร้างของอะไมโลสและอะไมโลเพคติน (John, 1992)

a. อะไมโลส c. โครงสร้างของอะไมโลสขดเป็นเกลียว

b. อะไมโลเพคติน d. โครงสร้างของอะไมโลเพคตินเป็นกิ่งก้านสาขา

2.3 <u>เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในการย่อยแป้ง</u>

เอนไซม์อะไมเลส หรือที่เรียกว่า amylolytic enzyme เป็นเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยแป้ง พบได้ทั่วไปทั้งจากพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ โดยมักถูกปล่อยออกมานอกเซลล์ (extracellular enzyme) เอนไซม์ชนิดนี้สามารถย่อยสลายพันธะ α-1,4 glycosidic และ α-1,6 glycosidic ที่มีอยู่ใน อะไมโลส และอะไมโลเพคติน ซึ่งเป็นองค์ประกอบของแป้ง ไกลโคเจน และผลิตภัณฑ์ที่เกี่ยวข้องให้ได้เป็นน้ำตาลชนิดต่างๆ อะไมเลส แบ่งออกได้เป็น 3 ประเภท (Fogarty และ Kelly, 1980) คือ

1. Exo-acting amylase หรือ Exoglycosidase เอนไซม์ในกลุ่มนี้มี 3 ชนิด ได้แก่

ก) อะไมโลกลูโคซิเดส (amyloglucosidase) [EC. 3.2.1.3, glucoamylase, γ-amylase] เป็นเอนไซม์ที่สามารถย่อยแป้งจนได้กลูโคส โดยการสลายพันธะ α-1,4 glycosidic และ α-1,6 glycosidic ในการย่อยสลายพันธะจะเริ่มจากปลายด้าน non-reducing ของอะไมโลส และอะไมโลเพคติน พีเอชที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์อยู่ระหว่าง 4.5-5.0 ส่วนอุณหภูมิอยู่ในช่วง 40-60 องศาเซลเซียส เอนไซม์ชนิดนี้มักผลิตได้จากเชื้อรา ความสามารถในการย่อยสลายขึ้นกับขนาดและโครงสร้างโมเลกุลของวัตถุดิบ ตลอดจนตำแหน่งของพันธะก็เป็นสิ่งสำคัญที่มีผลต่อการย่อยสลาย

ข) เบต้าอะไมเลส (β-amylase) [EC. 3.2.1.2, α-1,4 glucan maltohydrolase] เป็นเอนไซม์ที่พบทั่วไปในพืชชั้นสูง เช่น เมล็ดธัญพืช และเป็น extracellular enzyme ของจุลินทรีย์ โดยเอนไซม์นี้สามารถสลายพันธะ α-1,4 glycosidic แต่ไม่สามารถย่อยสลายพันธะ α-1,6 glycosidic ของอะไมโลเพคติน โดยเอนไซม์จะเริ่มย่อยสลายอะไมโลสและอะไมโลเพคตินจากปลายด้าน non-reducing โดยจะสลายพันธะไกลโคซิดิกห่างกันทุกๆ 2 พันธะเรื่อยไป และจะสิ้นสุดเมื่อสลายพันธะใกล้ถึงจุดที่แตกสาขา ดังนั้นเมื่อเอนไซม์ย่อยสลายอะไมโลสอย่างสมบูรณ์จะได้เป็นน้ำตาลมอลโตส แต่การย่อยสลายอะไมโลเพคติน จะได้ทั้งน้ำตาลมอลโตส และ β-limit dextrin รวมกัน พีเอชที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์อยู่ระหว่าง 6.8-7.0 และอุณหภูมิในช่วง 40-50 องศาเซลเซียส

ค) Exo-acting enzyme ชนิดอื่นๆ Exo-acting enzyme สามารถย่อยแป้งให้ได้เป็นน้ำตาลกลูโคส 4 หรือ 6 โมเลกุล ได้มีการศึกษาพบว่าจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์ชนิดนี้ ได้แก่ *Pseudomonas stutzeri* ซึ่งสามารถผลิต extracellular maltotetraose-producing amylase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ผลิตน้ำตาลกลูโคส 4 โมเลกุลจากวัตถุดิบที่มีโครงสร้างเป็นสาย (linear) และเป็นสาขา (branched) ในการย่อยสลายอะไมโลเพคตินจะได้ maltotetraose และ limit dextrin ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงๆ โดยสลายพันธะที่ 4 ของ α-1,4 glycosidic จากปลายด้าน non-reducing ช่วงพีเอชที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์นี้ค่อนข้างกว้าง โดยอยู่ในช่วงพีเอชระหว่าง 6.5-10.5 และอุณหภูมิที่เหมาะสมประมาณ 47 องศาเซลเซียส นอกจากนี้พบว่า *Aerobacter aerogenes* สามารถผลิตเอนไซม์ maltohexaose producing amylase ซึ่งผลิตน้ำตาล 6 คาร์บอนจากอะไมโลสและอะไมโลเพคติน พีเอช

ที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 6-8 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เอนไซม์เหล่านี้จะมีน้ำหนักโมเลกุลสูงตั้งแต่ 12,500 จนถึง 125,000 กิโลดาลตัน

2. Endo-acting amylase หรือ Endoglycosidase

เอนไซม์ชนิดนี้ ได้แก่ α-1,4 glucan-4–glucanohydrolase หรือที่รู้จักทั่วไปว่า อัลฟาอะไมเลส (EC. 3.2.1.1) นอกจากนี้ยังมีชื่อทางการค้าต่างๆ เช่น Taka–amylase A Buclamase Foretizyme และ Termamyl เอนไซม์ชนิดนี้ผลิตจากจุลินทรีย์หลายชนิด มีสมบัติในการย่อยสลายพันธะ α-1,4 glycosidic อย่างสุ่ม แต่ไม่สามารถสลายพันธะ α-1,6 glycosidic ในอะไมโลเพคตินได้ สมบัติและกลไกการทำงานของเอนไซม์ขึ้นกับแหล่งที่มาของเอนไซม์ ซึ่งสมบัตินี้จะมีผลทำให้ปฏิกิริยาการเกิดสีระหว่างแป้งที่ถูกย่อยสลายกับสารละลายไอโอดีนลดลงอย่างรวด เร็วและยังมีผลทำให้ความหนืดของสารละลายแป้งลดลง การย่อยสลายอะไมโลสอย่างสมบูรณ์ได้น้ำตาลมอลโตสและมอลโตไตรโอส (maltotriose) ส่วนผลของการย่อยสลายอะไมโลเพคตินได้น้ำตาลกลูโคส มอลโตส และกลุ่มของ α-limited dextrin ที่ประกอบด้วยกลูโคสตั้งแต่ 4 ยูนิตขึ้นไป โดยมีพันธะ α-1,6 glycosidic อยู่ด้วยเสมอ อัลฟาอะไมเลสมักพบในปริมาณมากในน้ำดีและในน้ำลายสัตว์ และเป็นเอนไซม์ที่พบได้มากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับอะไมเลสชนิดอื่นๆ ที่ผลิตได้จากแบคทีเรีย ยีสต์ รา สัตว์ และพืชบางชนิด น้ำหนักโมเลกุลของอัลฟาอะไมเลส ประมาณ 50,000 ปกติจะเสถียรที่พีเอชช่วง 5.5-8.0 แต่จะมีเสถียรภาพที่พีเอชสูงขึ้น เมื่ออยู่ในสภาวะที่มี Ca^{2+} ปริมาณสูงๆ ส่วนพีเอชที่เหมาะสมในการทำงานอยู่ระหว่าง 4.8-6.5 และกิจกรรมของเอนไซม์ถูกทำลายเมื่ออยู่ในอุณหภูมิสูงกว่า 50 องศาเซลเซียส แต่มีจุลินทรีย์บางชนิดที่สามารถเจริญ และผลิตอัลฟาอะไมเลสที่ทนต่ออุณหภูมิสูงๆ ได้ เช่น *Bacillus acidocaldarius* ที่ผลิตเอนไซม์ ทำงานได้ดีที่อุณหภูมิ 76 องศาเซลเซียส พีเอช 5.0-8.0 หรือ *B. stearothermophilus* ผลิตเอนไซม์ที่ทนต่อความร้อนได้ดีที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นต้น (Fogarty และ Kelly, 1980)

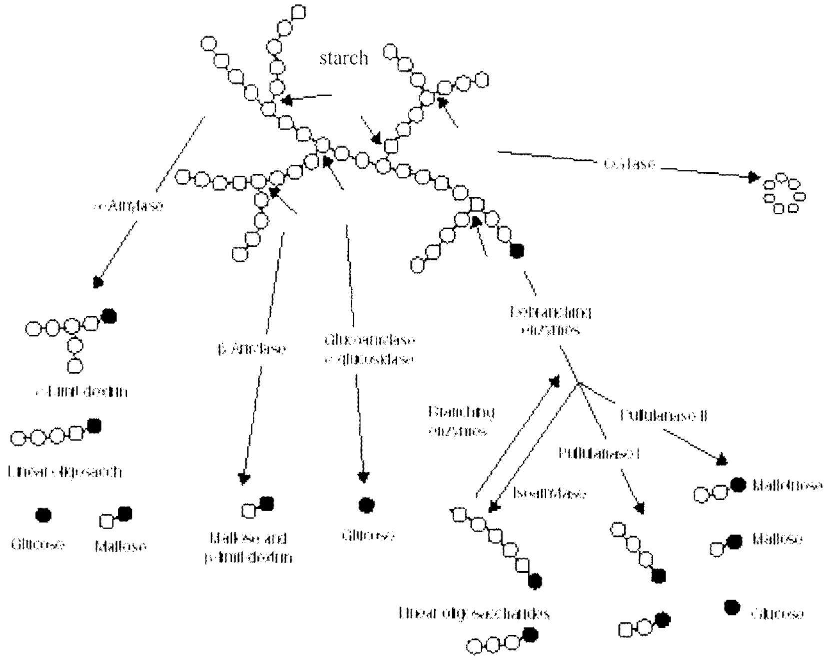
3. Debranching Enzyme

เป็นเอนไซม์ที่มีความจำเพาะต่อการสลายพันธะ α-1,6 glycosidic เท่านั้น ดังนั้นเอนไซม์ชนิดนี้จึงไม่สามารถย่อยสลายอะไมโลส แต่สามารถย่อยสลายอะไมโลเพคตินได้ debranching enzyme แบ่งได้เป็น 2 ชนิด คือ

ก) Pullulanase (EC. 3.2.1.41) พบครั้งแรกจาก *Aerobacter aerogenes* โดยเอนไซม์นี้สามารถย่อยสลาย pullulan ได้เกือบสมบูรณ์ และผลิตภัณฑ์ที่ได้ คือ maltotriose แต่เอนไซม์ชนิดนี้ไม่สามารถย่อยสลาย isomaltose ได้ พีเอชที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์อยู่ระหว่าง 5.0-7.0 และอุณหภูมิที่เหมาะสมประมาณ 45-50 องศาเซลเซียส

ข) Isoamylase (EC.3.2.1.68) เป็น debranching enzyme ซึ่งสามารถสลายพันธะ α-1,6 glycosidic ในอะไมโลเพคติน แต่ไม่สามารถย่อยสลาย pullulan พีเอชที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 5.0-6.4 อุณหภูมิประมาณ 40-52 องศาเซลเซียส เป็นช่วงที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์

ซึ่งการย่อยแป้งของอะไมเลสชนิดต่างๆ สามารถสรุปและแสดงดังรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 การย่อยแป้งของอะไมเลสชนิดต่างๆ (วงกลมสีดำคือน้ำตาลรีดิวซ์)
(Bertoldo and Antranikian, 2002)

2.4 <u>Carbohydrate-binding module (CBM)</u>

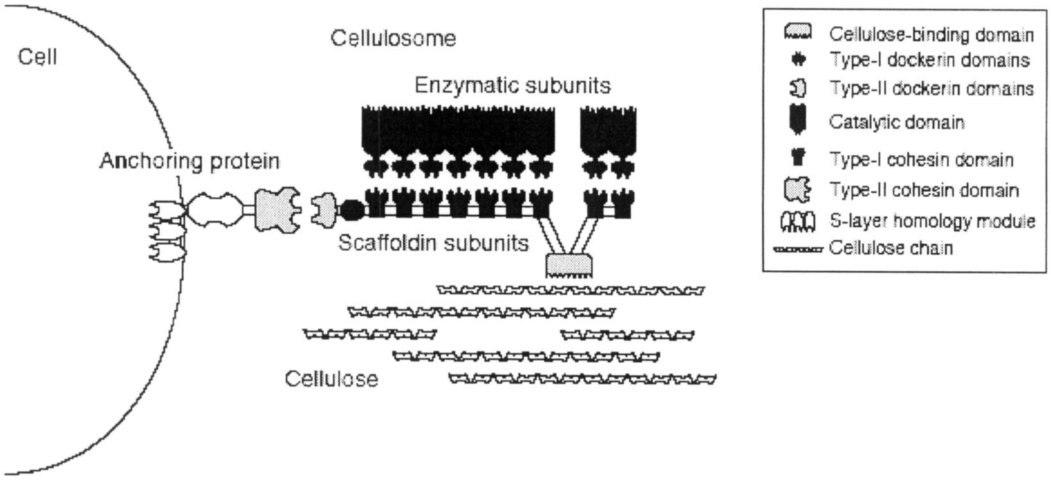
เอนไซม์ที่ย่อยสายพอลีแซ็คคาไรด์ เช่น อะไมเลส เซลลูเลส และ ไซลาเนส ซึ่งย่อยแป้ง เซลลูโลส และไซแลน ตามลำดับ ที่ได้จากสิ่งมีชีวิตบางชนิดประกอบด้วย catalytic และ non-catalytic carbohydrate-binding module (CBM) เช่น starch-binding domain (SBD) cellulose-binding domain (CBD) และ xylan-binding domain (XBD) โดยทั่วไป CBM มีความจำเพาะต่อพอลีแซ็คคาไรด์ที่เป็นสับสเตรทของเอนไซม์ และช่วยในการย่อยสับสเตรทที่ไม่ละลายน้ำ หากตัด CBMs ออกจากโครงสร้างของเอนไซม์จะทำให้การย่อยสับสเตรทที่ไม่ละลายน้ำลดลงมาก แต่การย่อยสับสเตรทที่ละลายน้ำไม่เปลี่ยนแปลง (Southall และคณะ, 1999)

Carbohydrate-binding module (CBM) เป็นกลุ่มโปรตีนที่สามารถจับกับคาร์โบไฮเดรตได้ และเนื่องจากมีการค้นพบ modules ใน carbohydrate-active enzymes ที่จับกับคาร์โบไฮเดรตอื่นๆ นอกเหนือจากเซลลูโลส ดังนั้นจึงมีการจัดแบ่งกลุ่มโปรตีนนี้ใหม่โดยใช้คำว่า CBMs และแบ่งออกเป็น family โดยเน้นการจัดเรียงตัวของกรดอะมิโนที่คล้ายคลึงกัน และลักษณะโครงสร้าง 3 มิติมากกว่าความเฉพาะเจาะจงกับสับสเตรท (Bourne และ Henrissat, 2001) ซึ่งในปัจจุบันมีการจัดกลุ่ม CBMs ออกเป็น 52 families (last update 01 August, 2008; <u>http://www.cazy.org/index.html</u>) โดย carbohydrate-binding module ที่แสดงลักษณะเป็น starch-

binding domain มีเพียง 6 family เท่านั้น ซึ่งจัดอยู่ใน family CBM 20 21 25 34 41 และ 45 และจากข้อมูลของ CBM ทั้ง 6 family พบว่ามีการค้นพบ starch-binding domain ในกลุ่มจุลินทรีย์ *Thermoanaerobacterium* เพียงสายพันธุ์เดียว คือ *Thermoanaerobacterium thermsulforigenes* EM1

2.5 <u>เอนไซม์เชิงซ้อน</u>

เอนไซม์เชิงซ้อน (Multienzyme complexes) เป็นกลุ่มเอนไซม์ที่มีโครงสร้างซับซ้อน มีขนาดโมเลกุลใหญ่ เกิดจากการอยู่ร่วมกันของเอนไซม์หน่วยย่อย (subunit) หลายชนิด (multiproteins) ทั้งในกลุ่มเซลลูโลไลติกและไซลาโนไลติกเอนไซม์ โดยแต่ละหน่วยย่อยจับอยู่กับโปรตีนที่เรียกว่า scaffoldin (Bayer และคณะ, 1998; Shoham และคณะ, 1999; Schwarz, 2001; Doi และคณะ, 2003; Doi และ Kosugi, 2004; Desvaux, 2005) ทำให้เอนไซม์เชิงซ้อนมีโครงสร้างที่แข็งแรง มีเสถียรภาพ และมีประสิทธิภาพในการย่อยสลาย cellulosic materials เนื่องจากการทำงานร่วมกันระหว่างเอนไซม์แต่ละหน่วยย่อย เอนไซม์เชิงซ้อนชนิดแรกพบอยู่ในรูปของเซลลูโลโซม เริ่มมีการศึกษาครั้งแรกในปี 1983 โดย Lamed และคณะ ได้ศึกษาใน *Clostridium cellulolyticum* สายพันธุ์ YS และพบรูปแบบของเอนไซม์ที่ผลิตออกมานอกเซลล์ (extracellular enzyme) ซึ่งมีความซับซ้อนส่วนใหญ่เป็น cellulolytic enzymes ซึ่งผลิตออกมารวมกันอยู่ที่ผนังเซลล์ มีขนาดมวลโมเลกุลสูง เอนไซม์แต่ละชนิดมี mode of action แตกต่างกันและรวมกันอยู่อย่างมีเสถียรภาพ (รูปที่ 2.4) จึงสามารถทำงานร่วมกันได้อย่างมีประสิทธิภาพ (synergistic effect) สามารถย่อยสลายเซลลูโลสซึ่งอัดตัวกันแน่น (crystalline) ให้ผลิตภัณฑ์เป็นกลูโคสได้ (Gal และคณะ, 1997; Doi และคณะ, 2003) สำหรับรูปแบบของเอนไซม์เชิงซ้อนนั้นแตกต่างกันขึ้นกับชนิดของจุลินทรีย์ และสภาวะในการเจริญโดยเฉพาะชนิดของแหล่งคาร์บอน (Williams และ Withers, 1982; Mohand-Qussaid และคณะ, 1999)



รูปที่ 2.4 องค์ประกอบของเซลลูโลโซมยึดเกาะระหว่างเซลล์กับเซลลูโลส (Shoham และคณะ, 1999)

เอนไซม์เชิงซ้อนส่วนใหญ่พบในกลุ่มเอนไซม์เซลลูเลส เรียกว่า เซลลูโลโซม และในกลุ่มไซลาเนส เรียกว่า ไซลาโนโซม ส่วนกลุ่มเอนไซม์อะไมเลสเชิงซ้อนยังไม่พบรายงานมาก่อนหน้านี้ ปัจจุบันมีการนำเอนไซม์เชิงซ้อนของเซลลูโลโซมมาประยุกต์ใช้ในการย่อยสลายวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร ซึ่งประกอบด้วย เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน โดยสารประกอบเหล่านี้มีโครงสร้างที่ยากต่อการย่อยสลาย จึงไม่สามารถย่อยอย่างสมบูรณ์ได้โดยใช้เอนไซม์เพียงชนิดเดียว โดยเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสเมื่อถูกย่อยสลายโดยสมบูรณ์จะได้ผลิตภัณฑ์หลักเป็นน้ำตาลกลูโคสและไซโลส ตามลำดับ ซึ่งน้ำตาลทั้งสองชนิดนี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ในอุตสาหกรรมหลากหลายชนิด เช่น ใช้ผลิตเป็นอาหารโดยตรง หรือใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตแอลกอฮอล์ กรดอินทรีย์ น้ำตาลแอลกอฮอล์ โปรตีนเซลล์เดียว สารให้กลิ่นรส และแก๊สมีเทน ซึ่งสามารถนำไปพัฒนาใช้เป็นเชื้อเพลิงได้ (Demain และคณะ 2005, Doi และคณะ, 2003) เป็นต้น