



บทที่ 1

บทนำ

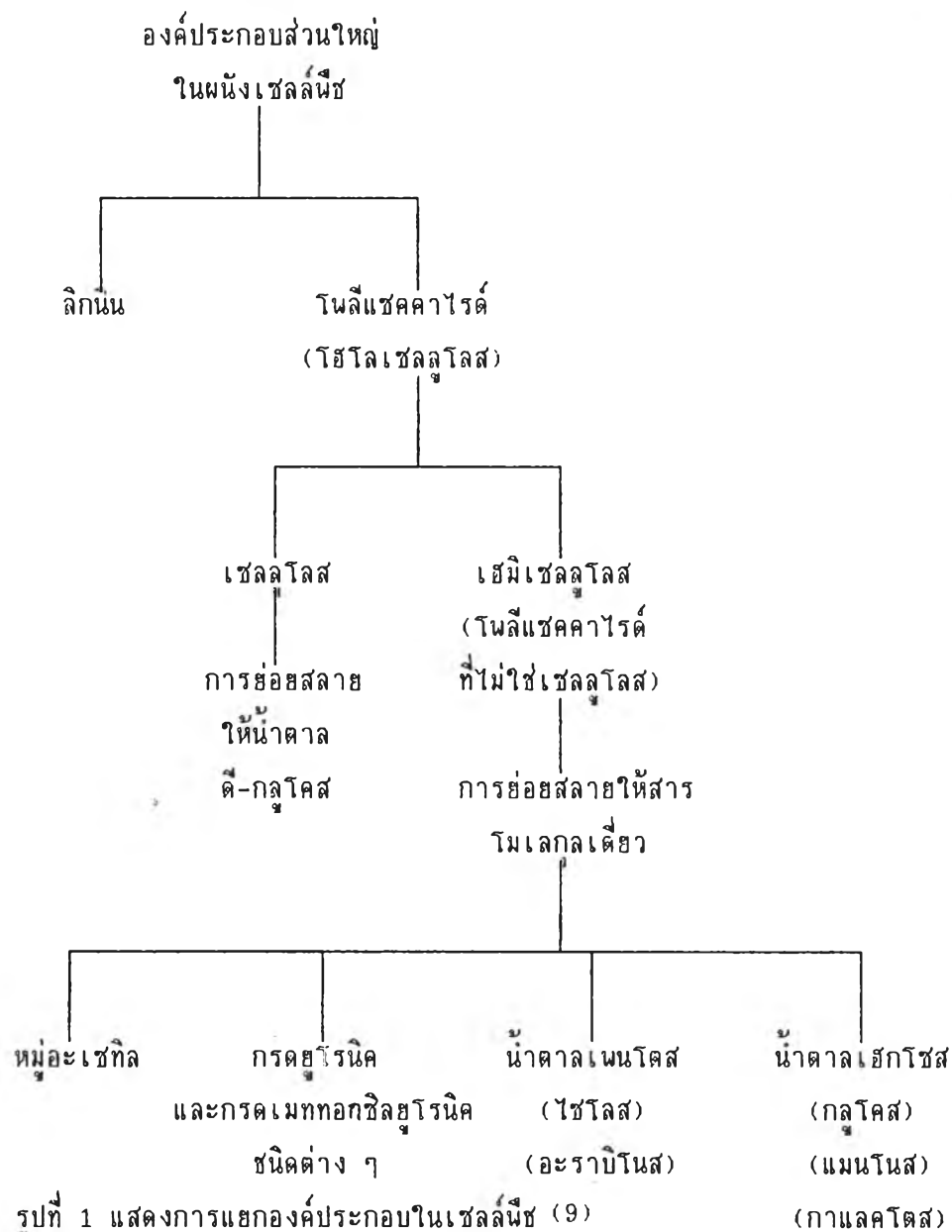
ไม้ยางพารา (Rubber wood) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า Heavea brasiliensis เป็นพันธุ์ไม้ที่มีถิ่นกำเนิดในทวีปอเมริกาใต้ ประเทศบราซิล ได้มีการนำมาปลูกในประเทศไทยครั้งแรกประมาณ พ.ศ. 2442-2444 ที่อำเภอกันตัง จังหวัดตรัง (1) จากการสำรวจพื้นที่สวนยางพาราด้วยภาพถ่ายจากดาวเทียมในปี 2519 โดยกองการยาง กรมวิชาการเกษตร พบว่าประเทศไทยมีพื้นที่สวนยางพาราทั้งหมด 10.65 ล้านไร่ สวนยางพาราที่อายุ 25 ปี จะให้ผลผลิตเนื้อไม้เชิงพาณิชย์ประมาณ 24 ตันต่อไร่ ไม้ยางพาราจัดเป็นไม้เนื้ออ่อน (2) ที่มีความสำคัญและมีคุณค่าทางเศรษฐกิจ ที่มีการนำไปใช้ในปริมาณสูง โดยสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมหลายประเภท โดยใช้ในรูปของไม้แปรรูป ไม้แผ่นเรียบ ไม้บาง ไม้อัด แผ่นปาร์ติเกิลบอร์ด แผ่นใยไม้อัด แผ่นขึ้นไม้อัดซีเมนต์ เฟอร์นิเจอร์ และเยื่อกระดาษ เป็นต้น ผลผลิตจากอุตสาหกรรมไม้ยางพาราส่วนใหญ่ จะถูกส่งไปจำหน่ายในต่างประเทศ พบว่าปัจจุบันมูลค่าการส่งออกของไม้ยางพารา เท่ากับ 820.8 ล้านบาทต่อปี (3,4) และความต้องการผลิตภัณฑ์ไม้ยางพารามีแนวโน้มที่จะเพิ่มขึ้นต่อไป เนื่องจากไม้ยางพารา เป็นไม้ที่มีความหนาแน่นปานกลาง สามารถแปรรูปได้ง่าย มีสีค่อนข้างขาวและมีคุณสมบัติดี เป็นที่ต้องการของตลาดต่างประเทศ (4,5) แต่ไม้ยางพารามีข้อเสียที่สำคัญคือ ถูกทำลายโดยราและแมลงได้ง่าย (1,4,6)

การทำลายเนื้อไม้ที่เกิดโดยรา จะทำให้ไม้มีสีเข้มขึ้นและมีการยุบตัวของไม้เป็นตอนๆ ไม้สีน้ำตาลเข้มขึ้นเนื่องจากการทำลายเซลล์โลสในผนังเซลล์ของเทรซิด และไฟเบอร์ (fiber) ทำให้ไม้สูญเสียความทนทานลง (7) ทั้งนี้ความสามารถในการย่อยสลายเนื้อไม้โดยราขึ้นกับความสามารถในการเจริญและสร้างสายใยแทรกเข้าไปในเนื้อไม้ ราที่พบเป็นสาเหตุในการทำลายไม้มีหลายกลุ่ม ได้แก่ Soft-rot Brown-rot White-rot และรากลุ่ม Blue staining fungi (8) โดยพบลักษณะ การทำลายไม้แตกต่างกัน คือ soft-rot จะเจริญที่ผนังเซลล์ชั้นที่สองของไฟเบอร์ที่ประกอบเป็นเนื้อไม้ทำให้เกิดช่องว่างรูปทรงกระบอกที่มีปลายรูปกรวย มีผลให้ผิวไม้อ่อนตัวลง brown-rot และ white-rot จะเจริญใน cell lumen โดยสายใยของราจะเจริญแทรกผ่านจากเซลล์หนึ่งไปอีกเซลล์หนึ่งของไม้โดยแทรกผ่านทางรอยเปิดที่มีตามธรรมชาติ หรือโดยเจาะรูผ่านผนังเซลล์ (8) สำหรับ blue staining fungi ทำให้เนื้อไม้เสีย โดยการทำให้เกิดสีดำหรือสีน้ำเงินในเนื้อไม้ (1,8) การทำลายเนื้อไม้ โดยราแต่ละกลุ่มนั้นจะมีความแตกต่างกัน รางกลุ่ม

soft- และ brown-rot จะทำลายส่วนประกอบที่เป็นคาร์โบไฮเดรต ได้แก่ ส่วนที่เป็น เซลลูโลส ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของเนื้อไม้ และเฮมิเซลลูโลส ส่วน white-rot จะสามารถย่อยสลายส่วนที่เป็นลิกนิน เพิ่มขึ้นอีกประการหนึ่ง

องค์ประกอบทางชีวเคมีของเนื้อไม้

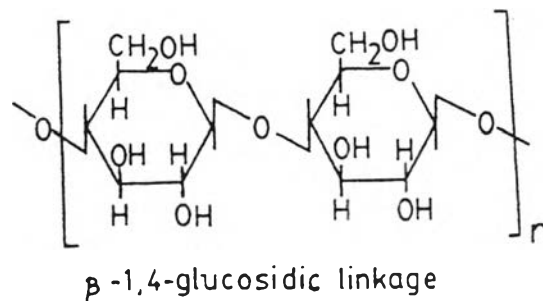
จากการแยกองค์ประกอบของผนังเซลล์พืช พบว่ามีองค์ประกอบอินทรีย์คาร์บอน 3 ประเภทใหญ่ ๆ คือ เซลลูโลสประมาณ 30-50 เปอร์เซ็นต์ เฮมิเซลลูโลสประมาณ 20-40 เปอร์เซ็นต์ และส่วนที่เป็นลิกนินประมาณ 10-15 เปอร์เซ็นต์ (9) ดังแสดงในรูปที่ 1



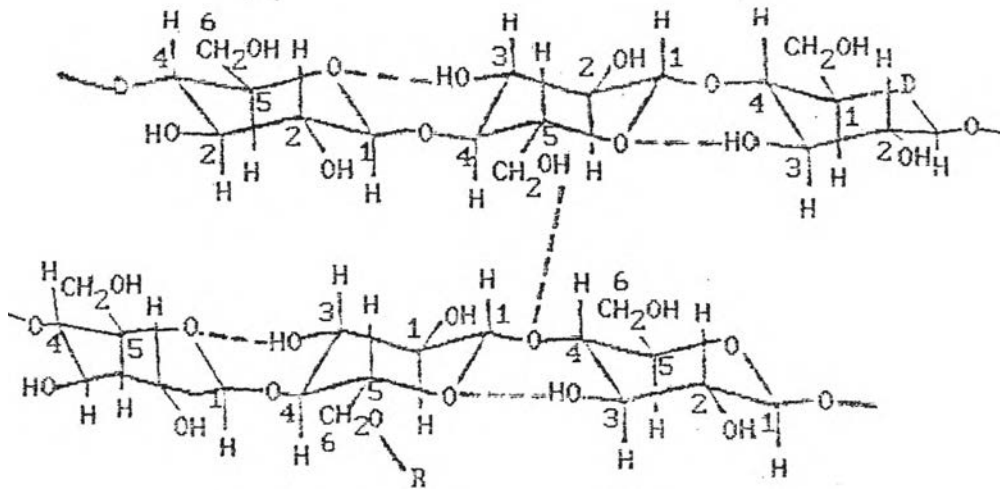
เซลลูโลส (cellulose)

เซลลูโลสเป็นคาร์โบไฮเดรตชนิดโพลีแซคคาไรด์ที่ประกอบด้วยโมเลกุลของดี-กลูโคส (D-glucose) ในรูปบีตา-ดี-กลูโคไพราโนส (β -D-glucopyranose) เชื่อมต่อกันเป็นสายยาวด้วยพันธะไกลโคซิดิก (glycosidic linkage) ที่คาร์บอนอะตอมตำแหน่งที่ 1 กับคาร์บอนอะตอมตำแหน่งที่ 4 ในโมเลกุลถัดไป ดังแสดงในรูปที่ 2 (10)

หนึ่งโมเลกุลเซลลูโลสจะประกอบด้วย ดี-กลูโคส ตั้งแต่ 15 จนถึง 14,000 หน่วย มีค่าน้ำหนักโมเลกุล $0.2-2 \times 10^6$ ดาลตัน (น้ำหนักโมเลกุลของกลูโคสเท่ากับ 180.16 ดาลตัน) ความยาวของหน่วยย่อย ดี-กลูโคส 0.515 nm และความยาวทั้งหมดของโมเลกุลเซลลูโลสมีค่ามากกว่า 5 μ m



รูปที่ 2 สูตรโครงสร้างร่างของเซลลูโลส (10)



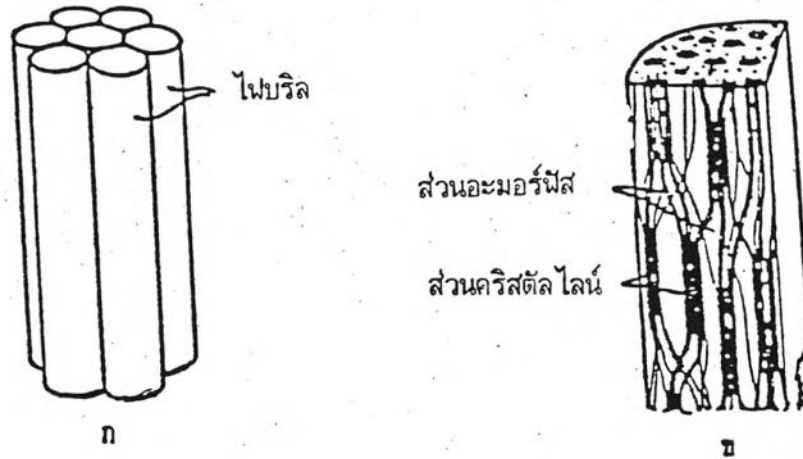
รูปที่ 3 ลักษณะโครงสร้างเซลลูโลส (11)

รูปแบบ (Conformation) ของการจัดเรียงตัวของหน่วยดี-กลูโคส จะอยู่ในลักษณะ chair form แต่ละโมเลกุลในสายเซลลูโลสจะเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไฮโดรเจน (Intramolecule H-bond) ระหว่างหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group, w-OH) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 กับออกซิเจนที่อยู่ในวงแหวน (ring) ของโมเลกุลถัดไปและเชื่อมต่อกันระหว่างสายเซลลูโลส ที่ขนานกันด้วยพันธะไฮโดรเจน (Intermolecule H-bond) ระหว่างคาร์บอนตำแหน่งที่ 6 กับออกซิเจนที่เชื่อมระหว่างโมเลกุลกลูโคส ในอีกสายหนึ่ง ดังรูปที่ 3

จากการจัดเรียงตัวเหล่านี้ทำให้สายเซลลูโลสเรียงตัวขนาน ซึ่งกันและกันอย่างมีระเบียบ ในลักษณะที่เรียกว่า คริสตัลไลน์ไมเซล (Crystalline micelles) โดยแต่ละไมเซลประกอบด้วยโมเลกุลเซลลูโลสประมาณ 100 โมเลกุล มีรูปร่างเป็นแถบหนา ไมเซลประมาณ 10-20 ไมเซลจะมาเรียงตัวเป็นโครงสร้างที่ใหญ่ขึ้นเรียกว่า ไมโครไฟบริล (Microfibril) ซึ่งสามารถจะแบ่งลักษณะโครงสร้างเซลลูโลสในผนังเซลล์พืชตามการจัดเรียงตัวของไมโครไฟบริล ได้ 3 ลักษณะ (11) คือ

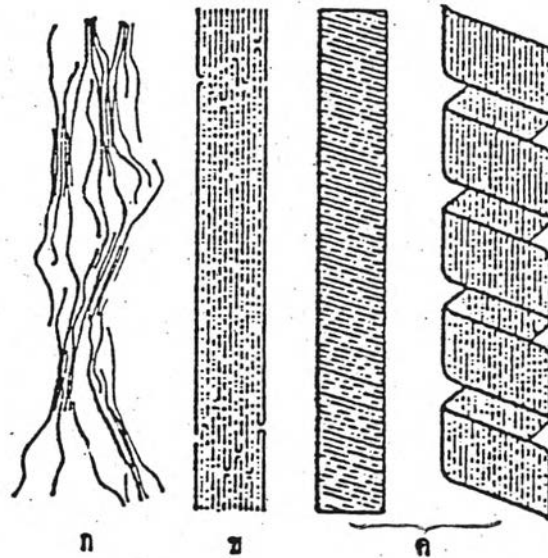
1. Fringe micelles ในไมโครไฟบริล ประกอบด้วยส่วนที่เป็นผลึก (Crystalline) และ อะมอร์ฟัส (Amorphous) (รูป 4,5ก)

2. โครงสร้างเซลล์โลสที่ม้วนหรือพับไปตามแกนของเส้นใยเซลล์โลส (รูป 5 ข)
3. โครงสร้างเซลล์โลสที่มีลักษณะเป็นริบบิ้นหนา เกิดจากการม้วนไปมา โดยตั้งฉากกับแกนของริบบิ้น และริบบิ้นจะม้วนเป็นเกลียว (helix) (รูป 5 ค)



รูปที่ 4 ลักษณะของไฟบริล

- ก. Bundle ของส่วน amorphous หรือ Paralelled fibril
- ข. ภาพตัดด้านข้างของ 1 ไฟบริล



รูปที่ 5 โครงสร้างเซลล์โลสที่พบในผนังเซลล์ของพืชทั่วไป (11)

- ก Fringe micelles ในไมโครไฟบริล
- ข โครงสร้างเซลล์โลสที่ม้วนหรือพับไปตามแกนของเส้นใยเซลล์โลส
- ค โครงสร้างเซลล์โลสที่มีลักษณะเป็นริบบิ้นหนา

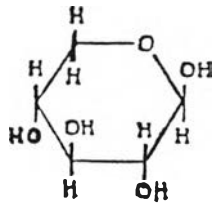
ผนังเซลล์ของพืชจะมีเซลลูโลสจัดเรียงตัวเป็นแถบ ๆ ไม่ติดต่อกันโดยตลอด เมื่อเซลล์แก่เต็มที่ภายในช่องว่างจะเต็มไปด้วยลิกนิน (lignin) นอกจากนี้ยังมีโพลีแซคคาไรด์อื่น ๆ ที่ปะปนอยู่กับเซลลูโลสในผนังเซลล์พืช ได้แก่ ไซแลน (xylan) แมนแนน (mannan) โพลียูโรนิก (polyuronide) อะราแบน (araban) และ กาแลคแตน (galactan) โดยมีกพบในปริมาณที่น้อยกว่าเซลลูโลส (12)

เซลลูโลสไม่ละลายในน้ำ ตัวทำละลายอินทรีย์หรือสารละลายต่างอ่อน แต่ละลายได้ดีในกรด หรือด่างแก่ ดังนี้จึงสามารถจะแบ่งชนิดของเซลลูโลส ตามลักษณะการละลายในกรดหรือด่างได้เป็น 3 ชนิด

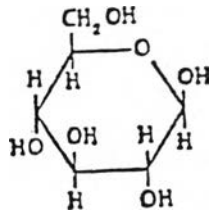
1. แอลฟา-เซลลูโลส (α -cellulose) เป็นเซลลูโลสที่ไม่ละลายในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 17.5 เปอร์เซ็นต์
2. บีตา-เซลลูโลส (β -cellulose) เป็นเซลลูโลสที่สามารถละลายในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 17.5 เปอร์เซ็นต์
3. แกมมา-เซลลูโลส (γ -cellulose) เป็นเซลลูโลสที่สามารถละลายได้ดีทั้งในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 17.5 เปอร์เซ็นต์ และสารละลายกรดเจือจาง

เฮมิเซลลูโลส (Hemicellulose)

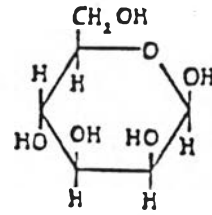
เป็นโพลีเมอร์ของน้ำตาล ที่ประกอบด้วยโพลีแซคคาไรด์หลายชนิดมารวมกัน (Heterogenous) ลักษณะโครงสร้างเป็นกิ่งก้านสาขา ขนาดของโมเลกุลมีความยาว 30-50 หน่วย น้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่าเซลลูโลส ซึ่งมีโครงสร้างเป็นเส้นตรงและประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคสเพียงชนิดเดียว เฮมิเซลลูโลสมีองค์ประกอบหลัก คือ ไซแลน นอกจากนี้ก็ยังมีกลูแคน (glucan), แมนแนน (mannan), กาแลคแตน (galactan) เฮมิเซลลูโลสเมื่อถูกย่อยสลายจะได้น้ำตาลเพนโตสและเฮกโซสอื่นได้แก่ ไซโลส, แมนโนส, กาแลคโตส, อะราบินโนส และกรดยูโรนิกชนิดต่าง ๆ ดังแสดงในรูปที่ 6 (13)



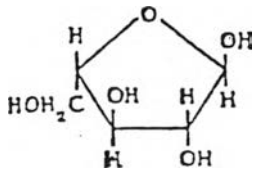
บีตา-ดี-ไซโลไพราโนส



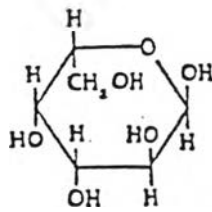
บีตา-ดี-กลูโคไพราโนส



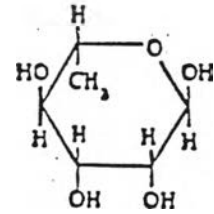
บีตา-ดี-แมนโนไพราโนส



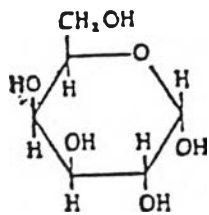
แอลฟา-แอล-อะราบิฟูราโนส



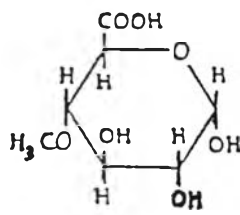
แอลฟา-แอล-ฟูโคไพราโนส



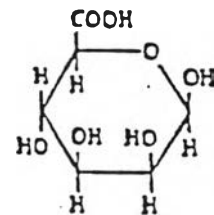
แอลฟา-แอล-เรมโนไดราโนส



แอลฟา-ดี-กาแลคโตไพราโนส

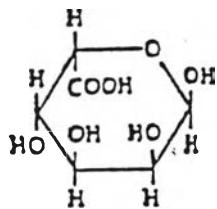


กรด-4-ออริโซ-เมทิล

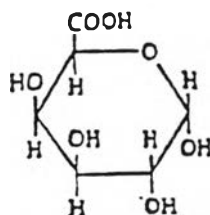


กรด บีตา-ดี-แมนนูโรนิก

แอลฟา-ดี-กลูคูโรนิก



กรดแอลฟา-แอล-กลูคูโรนิก

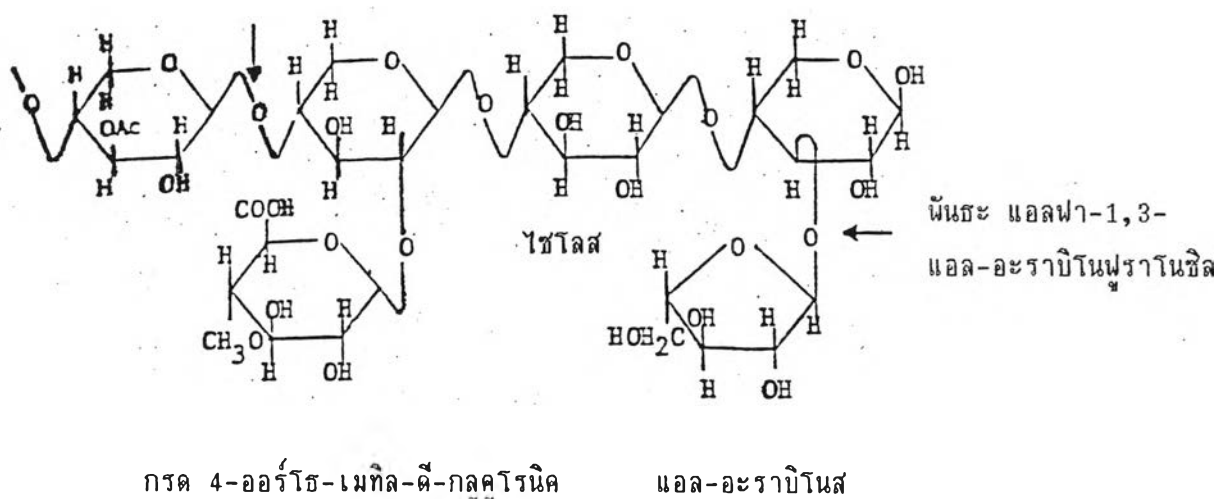


กรดแอลฟา-ดี-กาแลคทูโรนิก

รูปที่ 6 ชนิดของน้ำตาลและกรดคาร์บอนิกที่เป็นองค์ประกอบของเฮมิเซลลูโลส (13)

สำหรับไซแลน ที่เป็นองค์ประกอบหลักของเฮมิเซลลูโลสนั้นเป็นโพลีเมอร์ของน้ำตาลไซโลสที่ต่อกันด้วยพันธะ บีตา-1,4-ไซโลซิดิก (β -1, 4-xylosidic linkage) อาจเป็นเส้นตรงที่มีเฉพาะไซโลสอย่างเดียว หรือมีกิ่งก้านสาขาที่เป็นโพลีแซคคาไรด์ชนิดอื่น ๆ ปรนอยู่เช่น กรดแอล-อะราบิโนฟูรานอส (L-arabinofuranose) เชื่อมต่อกับดี-ไซโลส ที่ตำแหน่ง 0-3 และกรดดีกลูคูโรนิก (D-glucuronic acid) หรือกรด 4-0-เมทิล-กลูคูโรนิก (4-0-methyl-glucuronic acid) ซึ่งต่อกับดี-ไซโลสที่ตำแหน่ง 0-2 ดังแสดงในรูปที่ 7 (14)

พันธะบีตา-1,4-ไซโลซิดิก



รูปที่ 7 โครงสร้างของไซแลน (14)

Ac หมู่อะซิติล (Acetyl group)

เฮมิเซลลูโลส จะไม่ละลายในน้ำ แต่ละลายในด่างและถูกย่อยสลายได้ง่ายกว่าเซลลูโลส

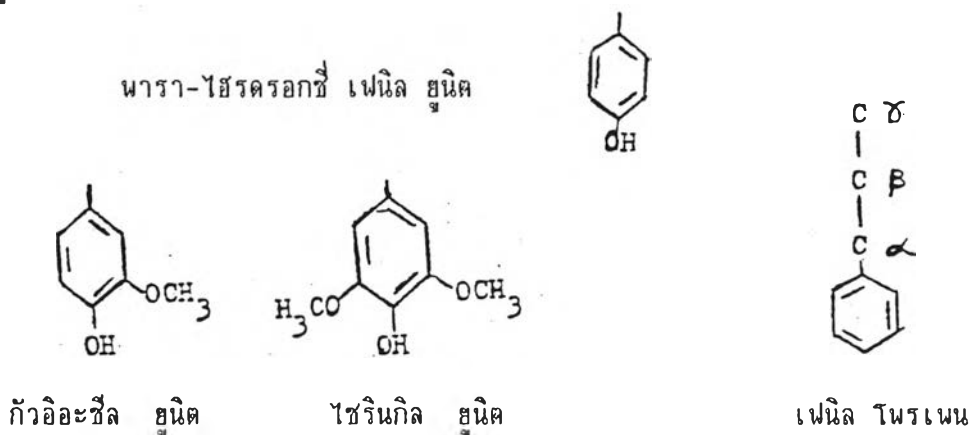
ลิกนิน (Lignin)

เป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์พืช ที่ไม่ใช่โพลีแซคคาไรด์ จะอยู่ภายในโครงสร้างของพืช โดยอยู่รอบเซลลูโลส และป้องกันเซลลูโลสจากการย่อยสลาย ลิกนินไม่ละลายน้ำหรือสารอินทรีย์ชนิดใด โครงสร้างเป็นสารประกอบอะโรมาติก (aromatic compound) ที่ประกอบด้วยหมู่เมทอกซิล (methoxyl group, $-\text{OCH}_3$) หมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group, $-\text{OH}$) และส่วนที่เป็นฟีนอลิก (phenolic) โดยปกติไม่สามารถระบุได้ว่าลิกนิน

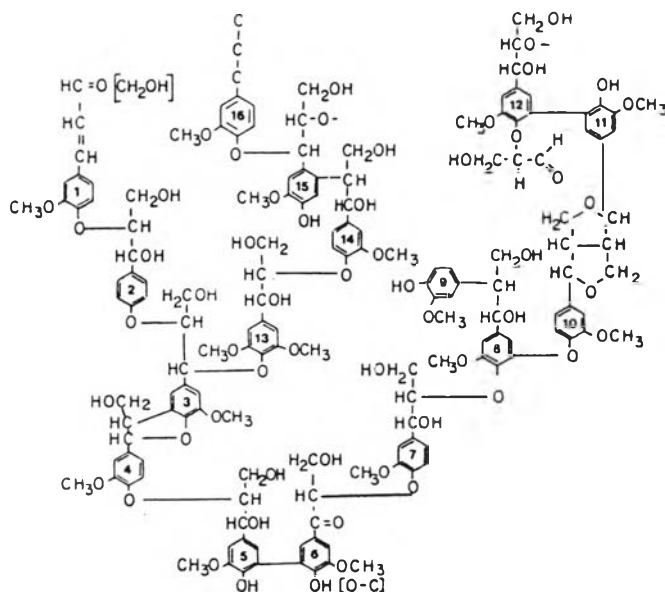
เป็นสารประกอบประเภทใด เพราะไม่สามารถกำหนดโครงสร้างที่แน่นอนได้ ทั้งนี้เนื่องจาก
 ลิกนินจะไม่อยู่ในลักษณะตัวเดียว แต่จะเกาะเป็นสายยาวซึ่งมีอยู่หลายแบบซึ่งประกอบด้วย
 หน่วยเหล่านี้คือ เบนิลโพรเพน กัวอะซิล ไซรินกิล และนาราไฮดรอกซีเฟนิล เป็นต้น
 รูปที่ 8ก

ลักษณะการเชื่อมต่อ (link) ของหน่วยฟีนิล โพรเพน อาจเชื่อมกันที่ตำแหน่ง
 แอลฟา บีตาหรือแกมมา กับ side chain ของหน่วยอื่น หรือที่ตำแหน่ง 4 และ 5 ของวง
 แวนฟีนิล (phenyl ring) ได้เป็นรูปร่างเส้นตรง วงกลม หรือมีกิ่งก้านสาขาก็ได้ ดัง
 แสดงในรูปที่ 8ข

รูปที่ 8 โครงสร้างของลิกนิน (15)



รูปที่ 8ก หน่วยย่อยในโครงสร้างของลิกนิน



รูปที่ 8ข การเรียงตัวของหน่วยย่อยที่เป็นองค์ประกอบในโครงสร้างของลิกนิน

การทำลายเนื้อไม้โดยรา

สาเหตุสำคัญของการทำลายเนื้อไม้ที่เกิดโดยรา เกิดจากการทำงานของเอนไซม์ เซลลูเลส ที่สร้างจากสาขาย่อยของรา ซึ่งจะย่อยสลายเซลลูโลส อันเป็นองค์ประกอบหลักของเนื้อไม้ และการเจริญแพร่กระจายของราบนเนื้อไม้ โดย Rypacek และ Navratilova (16) Eriksson, K.E. (17) พบว่าจุดสำคัญที่เป็นตัวกำหนดอัตราการย่อยสลายของไม้ ขึ้นกับความสามารถในการเจริญของสาขาย่อยแทรกในเนื้อไม้ และในการทำงานของเอนไซม์ ที่สร้างจากสาขาย่อยของรา โดยเอนไซม์ที่ย่อยสลายลิกนิน จะทำให้โครงสร้างในเนื้อไม้เสียหาย ผลให้เอนไซม์ย่อยคาร์โบไฮเดรต เช่น เซลลูเลส และ เฮมิเซลลูเลส แพร่กระจายได้อย่างอิสระในเนื้อไม้ ซึ่งจะทำให้เซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสถูกทำลายได้ง่ายขึ้น (18, 19, 20)

เอนไซม์เซลลูเลส (cellulase)

เซลลูเลส เป็นกลุ่มเอนไซม์ ที่ย่อยสลายสารประกอบเซลลูโลสร่วมกันโดยให้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายคือน้ำตาลกลูโคส จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสมีหลายชนิด ดังตารางที่ 1 โดยพบว่าราเป็นจุลินทรีย์ที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลสได้สูงโดยเฉพาะ Trichoderma reesei ซึ่งเป็นราที่นิยมใช้ในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสทางเชิงพาณิชย์ (21, 22)

ตารางที่ 1 จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลส

รา	แบคทีเรีย	แอคติโนมัยซีตีส
<u>Alternaria</u> sp.	<u>Bacillus</u> sp.	<u>Micromonospora</u> sp.
<u>Aspergillus</u> sp.	<u>Cellulomonas</u> sp.	<u>Nocardia</u> sp.
<u>Chaetomium</u> sp.	<u>Clostridium</u> sp.	<u>Strephomyces</u> sp.
<u>Corprinus</u> sp.	<u>Corynebacterium</u> sp.	<u>Streotasperangium</u> sp.
<u>Foames</u> sp.	<u>Cytophaga</u> sp.	
<u>Fusarium</u> sp.	<u>Polyangium</u> sp.	
<u>Myrothecium</u> sp.	<u>Pseudomonas</u> sp.	
<u>Penicillium</u> sp.	<u>Sporocytophaga</u> sp.	
<u>Polyporus</u> sp.	<u>Vibrio</u> sp.	
<u>Rhizoctonia</u> sp.		
<u>Rhizopus</u> sp.		
<u>Sporotrichum</u> sp.		
<u>Thielavia</u> sp.		
<u>Trametes</u> sp.		
<u>Trichoderma</u> sp.		
<u>Trichothecium</u> sp.		
<u>Verticillium</u> sp.		
<u>Zygorhynchus</u> sp.		

เอนไซม์เซลลูเลสไม่มีสมบัติเป็น multicomponent enzyme โดยมีองค์ประกอบของเอนไซม์อย่างน้อย 3 ชนิด ทำงานร่วมกัน ดังนี้

1. Exo β -1, 4-glucan cellobiohydrolase หรือ Exoglucanase หรือ C_1 (EC. 3.2.1.91)

ทำหน้าที่ย่อยสลายเซลลูโลสและโอลิโกเซลลูโลสไปเป็นเซลโลไบโอส ปฏิริยาการย่อยสลายจะเกิดการย่อยสลายจากด้านปลายของเซลลูโลส

โดยการทำงานของ C_1 จะย่อยสลายเซลลูโลสให้เป็นสายยาวในรูปสายตรง (linear chain)

2. Endo β -1, 4-glucan glucanohydrolase หรือ Endoglucanase หรือ C_x (EC. 3.2.1.4)

ทำหน้าที่ย่อยสลายเซลลูโลสได้เซลโลไบโอส (cellobiose)โอลิโกเซลลูโลส (oligocellulose) และกลูโคส (ในปริมาณที่น้อยมาก) ปฏิริยาการย่อยสลายจะเกิดการย่อยสลายจากด้านในของสายเซลลูโลส และเป็นแบบสุ่ม (random)

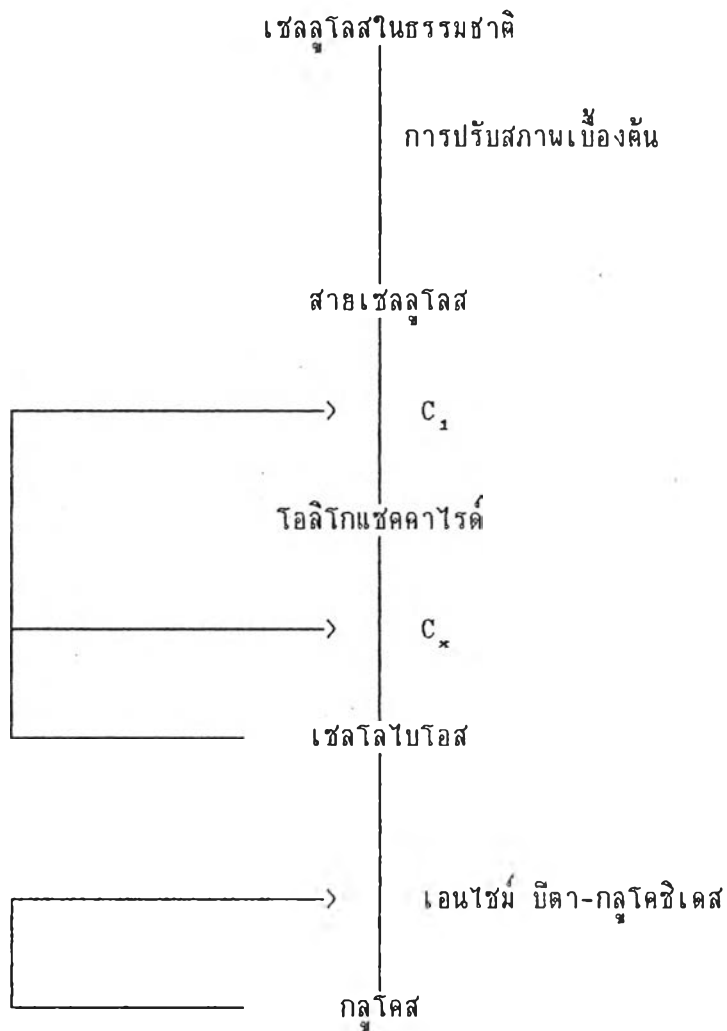
โดย C_x จะย่อยสลายเซลลูโลสสายยาว ได้เซลโลไบโอส

3. β -glucosidase หรือ cellobiase (EC. 3.2.1.21)

ทำหน้าที่ย่อยสลายเซลโลไบโอสเป็นกลูโคส

การทำงานของ C_1 และ C_x เป็นปฏิริยาภายนอกเซลล์ สำหรับการทำงานของเอนไซม์บีตา-กลูโคซิเดส เกิดภายในเซลล์ โดยจะย่อยสลายเซลโลไบโอสที่เกิดจากการทำงานของ C_1 และ C_x ที่ผ่านผนังเซลล์เข้าไปภายในเซลล์

การทำงานของเอนไซม์เหล่านี้ จะถูกยับยั้งโดยผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น โดยเอนไซม์บีตา-กลูโคซิเดส จะถูกยับยั้งโดยกลูโคส ส่วน C_1 และ C_x จะถูกยับยั้งโดยเซลโลไบโอส ดังแสดงในรูปที่ 9



รูปที่ 9 การย่อยสลายและการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (23)

จากการศึกษาพบว่า เอนไซม์ทั้ง 3 ชนิดนี้ต้องทำงานร่วมกัน จึงจะมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายได้สูง เมื่อแยกเอนไซม์ออกจากกันจะทำให้ประสิทธิภาพในการย่อยสลายลดลง และเมื่อนำเอนไซม์ แต่ละชนิดมารวมกันใหม่จะทำให้ประสิทธิภาพการย่อยสลายสูงขึ้น (24) ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 การย่อยสลายฟ้าย ของเอนไซม์เซลลูเลสชนิดต่างๆ ที่ได้จากเชื้อ Trichoderma reesei

ชนิดของเอนไซม์ (เอนไซม์ 0.5 ml, สารละลาย บัฟเฟอร์ pH 4.5, 1 ml)	(%) การละลาย	แอกติวิตีสัมพันธ์ ของเอนไซม์- เซลลูเลส	การคืนสภาพของ แอกติวิตีของ เอนไซม์เซลลูเลส (%)
$C_1 + C_x$	47.70	0.25	104.00
C_1	1.00	< 0.01	1.00
CM-cellulase	3.20	0.01	4.00
Cellobiase	0.80	< 0.01	< 1.00
Cm-cellulase+cellobiase	1.80	< 0.01	2.00
$C_1 + CM - cellulase$	21.00	0.08	35.00
$C_1 + cellobiase$	14.00	0.05	20.60
$C_1 + cellobiase+CM+cellulase$	47.20	0.25	104.00

Lee และ คณะ (25) ศึกษากลไกการย่อยสลายโดยเอนไซม์ พบว่าเอนไซม์เซลลูเลสจะเข้าทำปฏิกิริยากับเซลลูโลส ในบริเวณอะมอร์ฟัส และ คริสตัลไลน์พร้อม ๆ กัน แต่บริเวณอะมอร์ฟัสมีการจัดเรียงตัวของโมเลกุลไม่เป็นระเบียบ ดังนั้นโมเลกุลของเอนไซม์สามารถผ่านเข้าไปย่อยสลายได้ง่ายกว่าบริเวณคริสตัลไลน์การย่อยสลายจะเกิดขึ้นอย่างช้า ๆ ที่บริเวณผิวและย่อยสลายที่ละชั้นช่องไมโครไฟบริล

Teao และคณะ (26) พบว่าอัตราการย่อยสลายเซลลูโลส โดยเอนไซม์เซลลูเลส (rate of hydrolysis) ขึ้นอยู่กับโครงสร้างธรรมชาติของเซลลูโลส เช่น ส่วนที่เป็นอะมอร์ฟัส จะย่อยสลายได้ง่ายกว่าส่วนที่เป็นผลึก องค์ประกอบของเอนไซม์เซลลูเลสที่เข้าทำงาน อันได้แก่ เอคโซไกลูคาเนส เอนโดไกลูคาเนส และบีตา-กลูโคซิเดส และอิทธิพลของสารยับยั้ง การทำงานของเอนไซม์ (27) โดยพบว่าการทำงานของเซลลูเลสถูกยับยั้งได้โดย ไอออนของโลหะหนัก, sulfhydryl reagent, สารออกซิไดซ์, สารรีดิวส์ และ กลูโคส (28)

เซลล์ประกอบด้วยโปรตีนและคาร์โบไฮเดรต (glycoprotein) ในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 30,000-60,000 ดาลตัน (28) มีคุณสมบัติละลายน้ำได้ดี ไม่ต้องการ Co-factor หรือโลหะอื่น ๆ ในการทำปฏิกิริยา โดยทั่วไป เอนไซม์จะทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพเมื่อทำงานในระบบที่มีอุณหภูมิเหมาะสม เอนไซม์มีความคงทนต่ออุณหภูมิสูง คงทนต่อความเป็นกรดต่างช่วง 4.0-8.0 และคงทนต่อสารเคมีได้ดี สามารถเก็บที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส และที่ 4 องศาเซลเซียสได้เป็นเวลาหลายปี สามารถเก็บโดยวิธี freeze dry หรือตกตะกอนด้วยฮาอีโตน หรือเอทานอลโดยไม่เสียคุณสมบัติ (29)

การขยายพันธุ์ของเราเกิดโดยการแพร่กระจายของสปอร์ หรือชิ้นส่วนของสาขาย่อย (30, 31)

สปอร์ (spore) เป็นโครงสร้างที่มีความพร้อมในการขยายพันธุ์ และมีความทนทานต่อสภาวะแวดล้อมสูง (31) เมื่อสปอร์ของราตกลงไปในสิ่งแวดล้อมที่เหมาะสมก็จะเกิดการงอก โดยการงอกของสปอร์แบ่งเป็น 2 ระยะ คือ ระยะโป่งพวม (swelling phase) และระยะสร้างเยื่อทิวป์ (germtube development phase) ระยะโป่งพวมจะเกิดเมื่อมีปัจจัยจากภายนอกมากระตุ้น ได้แก่ กลูโคส ฟอสเฟต ไนโตรเจน ออกซิเจน และน้ำ (32, 33) เป็นระยะที่มีอัตราการหายใจ และอัตราการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ อาร์เอ็นเอ โปรตีน ไขมัน และสารที่เป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์เกิดสูง (32) Martin และคณะพบว่าในระยะนี้จะเกิดการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีของผนังเซลล์ เช่น การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดอะมิโน (33, 34) และยังพบว่าในระยะที่ผนังขึ้นนอกของสปอร์หลุดออกซึ่งในสภาวะปรกติ สปอร์จะมีผนัง 4 ชั้น (34, 35) มีการเปลี่ยนแปลงของออร์แกนเนล โดยจะมีการสร้างเอนโดพลาสมิกเรติคูลัมสูง สำหรับระยะสร้างเยื่อทิวป์พบว่าผนังของเยื่อทิวป์จะเปลี่ยนแปลงมาจาก ผนังชั้นในของสปอร์ เป็นระยะที่ไม่โตรคอนเดรียมีขนาดใหญ่ และมีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนสูง การสร้างกรดนิวคลีอิก การสะสมไขมันและคาร์โบไฮเดรตเกิดสูงซึ่งจะลดลง เมื่อมีการพัฒนาจากเยื่อทิวป์ไปเป็นสาขาย่อยรา (31)

การเจริญของสาขาย่อย (mycelium growth) จะเกิดบริเวณส่วนปลายสาขาย่อย (hyphal tip) ซึ่งเป็นส่วนที่แอคทีฟ ที่สุดของเส้นใยโดยที่ส่วนปลายสาขาย่อยจะมีบริเวณที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโต เรียกว่า apical growth region มีขอบเขตประมาณ 100 μm จากส่วนปลาย เป็นบริเวณที่ไม่มีแวคคิวโอล ภายในไซโทพลาสซึมประกอบด้วย RNA และโปรตีน ในปี 1968 Mc.Clure และคณะพบว่าในบริเวณนี้มี ไมโตรคอนเดรียจำนวนมากและมี Vesicle ที่ทำหน้าที่สร้างเซลล์เมมเบรนและผนังเซลล์ของเรา โดย

สันนิษฐานว่า vesicle เกิดมาจากการ budding ของกอลจิแอมพาราตัสในเซลล์ (36)

การสร้างสปอร์ (spore formation) เกิดเนื่องจากการจำกัดของแหล่งอาหารและอัตราการเจริญที่ต่ำลง (37) ในปี 1981 D.Pitt และ Poole พบว่าเมื่อเติม Ca^{2+} ลงในอาหารเหลวขณะที่มีการเจริญของสาหร่ายมีผลให้การสร้างสปอร์ลดต่ำลง (38) และขณะที่มีการสร้างสปอร์ต้องการใช้ออกซิเจนปริมาณสูง (39) สำหรับการเปลี่ยนแปลงด้านชีวเคมีพบว่าขณะเกิดการสร้างสปอร์จะตรวจพบ SH-group ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดการสร้างสปอร์บนผนัง phialide ซึ่งไม่พบในผนังของเส้นใยปกติ (40,41)

การรักษาเนื้อไม้เพื่อป้องกันการทำลายจากรา

ปัญหาจากการทำลายโดยราเป็นปัญหาสำคัญที่เกิดขึ้นมานานโดยเฉพาะในไม้เนื้ออ่อนเนื่องจากเป็นไม้ที่เจริญเติบโตเร็วจึงมีส่วนประกอบที่เป็น sapwood มากซึ่งเป็นส่วนที่ถูกทำลายได้ง่ายโดยเฉพาะเมื่ออยู่ในสภาพแวดล้อมที่มีความชื้นสูง การทำลายโดยราจะเกิดอย่างรวดเร็วพบว่าเมื่อตัดต้นไม้ยางพาราทิ้งไว้ประมาณ 1 ถึง 2 วัน จะถูกเชื้อราเข้าทำลาย (1,4,42) และสำหรับไม้ยางพาราแปรรูป (สด) เมื่อทิ้งไว้ภายหลังจากการแปรรูปประมาณสองสัปดาห์ จะพบการเจริญของราที่ผิวไม้ประมาณ 62% ของพื้นที่ผิว (surface area) (5) มีผลให้คุณภาพและราคามลิตภัณฑ์ต่ำลง ได้มีการวิจัยเพื่อใช้สารเคมีชนิดต่าง ๆ ในการรักษาเนื้อไม้ยางพาราเพื่อป้องกันการทำลายจากราดังแสดงในตารางที่ 3 แต่ปัจจุบันสารเคมีส่วนใหญ่เป็นสารที่สั่งซื้อจากต่างประเทศ สารบางตัวมีพิษตกค้างสูง และทำให้คุณสมบัติบางอย่างของไม้เสียไปเช่น ทำให้สีของไม้เปลี่ยน (1,5) ไม้ยางพาราที่ผ่านการอาบน้ำยา 1.5 % boric acid + 2.5% borax จะมีค่าการติดกาวค่อนข้างต่ำทำให้ความแข็งแรงของผลิตภัณฑ์ต่ำ (3) สารส่วนใหญ่ มีประสิทธิภาพในการฆ่าราต่ำดังนั้นในการใช้งานต้องใช้ความเข้มข้นสูง ตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ตัวอย่างสารเคมีที่ใช้ในการรักษาเนื้อไม้ยางพาราเพื่อป้องกันการทำลาย
จากรา

สารเคมี	เอกสารอ้างอิง
1.5% Sodium Penta Chloro Phenate (NaPCP)	3,5
1.5% Boric Acid + 2.5% Borax	2,3
1.5% NaPCP + 1.5% Boric Acid + 2.5% Borax	3
15% Impralit B ₁	3
2% Chlodanc + 3% Unicide	3
3% Unicide + 1.5% Boric Acid + 2.5% Borax	3
15% Celbor + 1.5% NaPCP	3,5
1.5% NaPCP + 2% Borax + 0.75% gamma BHC	2
0.1-0.5% Thiocyanomethylthiobenzothiazole+2% Borax	2,6
1-2% Tribromophenol + 0.025% Decamethrin	2
0.5-2.5% Alkylammonium	2,6
25-30% Boron Compounds	2
30% Copper Chrome Arsenic	6
0.01% Synthetic Pyrethroids	5,6
30% Methylene - bis- thiocyanate	6
30% Tribromophenol - metaborate	6

การนำสารประกอบดีบุกอินทรีย์มาใช้ในการป้องกันรักษาเนื้อไม้

ในปี 1954 Van Der Kerk และ Luijten พบว่า triethyltin hydroxide และ triethyltin acetate สามารถป้องกันเนื้อไม้จากการทำลายโดยราได้ หลังจากนั้นมาได้มีรายงาน ถึงการใช้สารประกอบดีบุกอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ กัน เช่น bis (tributyltin) fumalate bis (tributyltin) terephthalate และ tributyltin sulphamate สำหรับป้องกันการทำลายเนื้อไม้โดยรา (43) การพัฒนาเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์สารประกอบดีบุกอินทรีย์ เพื่อนำมาใช้ในการป้องกันเนื้อไม้จากการทำลายโดยรายังคงมีอยู่อย่างต่อเนื่อง (44) ปัจจุบันมีสารประกอบดีบุกอินทรีย์ ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของรา (fungistatic effect) และฆ่ารา (fungicidal effect) ดังแสดงในตารางที่ 4 งานวิจัยเกี่ยวกับสารประกอบดีบุกอินทรีย์ที่ใช้ป้องกันรักษาเนื้อไม้จากราส่วนใหญ่ เป็นการพัฒนาผลิตภัณฑ์ให้มีประสิทธิภาพสูงในงาน สำหรับงานวิจัยเกี่ยวกับผลของสารประกอบดีบุกอินทรีย์ต่อราโดยตรง มีน้อยมาก (45, 46)

สารประกอบดีบุกอินทรีย์ หมายถึง สารประกอบที่มีพันธะระหว่างดีบุกกับคาร์บอน โดยตรงอย่างน้อย 1 พันธะ เนื่องจากดีบุกอยู่ในรูป tetravalent state จึงสามารถแบ่งสารประกอบดีบุกอินทรีย์ โดยอาศัยคุณสมบัติการจัดตัวกับกลุ่ม สารอินทรีย์เป็น 4 กลุ่ม คือ mono di tri และ tetraorganotin (44) สารประกอบดีบุกอินทรีย์ ที่ใช้ในด้านชีวภาพ มักเป็นสารประกอบดีบุกอินทรีย์กลุ่ม triorganotin compounds ($R_3 SnX$) (47) ซึ่งเป็นสารประกอบที่มีพันธะระหว่าง Sn-C 3 พันธะโดย R group (หมู่อินทรีย์สาร) จะถูกแทนที่ได้ด้วยสารอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ พบว่าเมื่อใช้สารอินทรีย์เคมีที่เหมาะสมแทนที่ R group แล้วจะทำให้สารประกอบ triorganotin มีคุณสมบัติการฆ่าทางชีวภาพ (biocidal properties) โดยพบว่าชนิดของ R group ที่แตกต่างกันมีผลต่อการทำลายหรือหยุดการเจริญของสิ่งมีชีวิตชนิดต่าง ๆ กันด้วย (species specific) ดังแสดงในตารางที่ 5 ในขณะที่การแทนที่กลุ่ม X นั้นจะมีผลต่อคุณสมบัติทางฟิสิกส์ เช่น การระเหย และการละลายของสารประกอบ สารประกอบดีบุกอินทรีย์ในกลุ่ม triorganotin มีอยู่ 2 ชนิด ที่มีบทบาทสำคัญต่อการฆ่ารา คืออนุพันธ์ของสารประกอบไตรบิวทิลทิน (tributyltin derivatives) และไตรเฟนิลทิน (triphenyltin derivatives) โดยพบว่ามีการฆ่าทางชีวภาพสูง ในขณะที่มีความเป็นพิษต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมต่ำ (45, 48)

ตารางที่ 4 ตัวอย่างสารประกอบดีบุกอินทรีย์ใช้ในการรักษาเนื้อไม้เพื่อป้องกันการทำลาย
จากรา

สารประกอบดีบุกอินทรีย์	เอกสารอ้างอิง		
trialkyltin acetate	44	49	
trialkyltin ethoxide	49		
tributyltin benzoate	44	49	
tributyltin chloride	44		
tributyltin ethanesulfonate	50	51	
tributyltin ethane monosulfonate	50	52	
tributyltin fluoride	44		
tributyltin maleate	44		
tributyltin methacrylate	44		
tributyltin methanesulfonate	50	51	
tributyltin naphthenate	53	54	
tributyltin phosphate	44		
tributyltin sulphamate	43		
bis (tributyltin) carbonate	43		
bis (tributyltin) fumarate	43		
bis (tributyltin) oxide	45	49	55
bis (tributyltin) sulphate	43		
bis (tributyltin) terephthalate	43		
tris (tributyltin) phosphate	49	55	56
tris (tributylstannyl) phosphate	43	50	
triphenyltin acetate	44		
triphenyltin chloride	44		
triphenyltin hydroxide	44		
1-tricyclohexylstannyl-1,2,4- triazole	44		
s-tributyltin iso-octylthioglycollate	43		
tetrabutylammonium tributylchlorostannate	49		

ตารางที่ 5 ผลการเปลี่ยนแปลงหมู่อินทรีย์สาร (R group) ในสารประกอบ Triorganotin (R_3SnX) ต่อคุณสมบัติการทำลายหรือหยุดการเจริญทางชีวภาพ (45)

ชนิดของหมู่อินทรีย์สาร	ชนิดของสิ่งมีชีวิตที่ถูกทำลายหรือหยุดการเจริญ
เมทิล (Me)	แมลง
เอทิล (Et)	สัตว์เลื้อยคลานด้วยนม
โพรพิล (Pr)	แบคทีเรียชนิดแกรมลบ
บิวทิล (Bu)	แบคทีเรียแกรมบวก ปลา หอย นีซ รา
ฟีนิล (Ph)	ปลา หอย รา
cyclo- C_6H_{11}	ปลา มอด
Ph Me ₂ CCH ₂	ปลา มอด

ประเทศไทยเป็นหนึ่งในประเทศดื่บส่งออก ในปี พ.ศ.2528 เกิดวิกฤตการณ์การผลิตดื่บกลั่นตลาด ทำให้ราคาดื่บกลดต่ำลง จึงได้มีการศึกษาวิธีเพิ่มมูลค่าของดื่บกลั่น โดยการนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์สารประกอบดื่บกลั่น ทำให้สามารถเพิ่มราคา 3-4 เท่า สำหรับงานวิจัยที่เกี่ยวกับสารประกอบดื่บอินทรีย์ที่ใช้ในการรักษาเนื้อไม้เพื่อป้องกันรา นั้น ได้มีการวิจัยเพื่อสังเคราะห์ผลิตภัณฑ์สารประกอบดื่บอินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูงและเหมาะสมแก่การใช้งานในสภาพแวดล้อมตลอดจนภูมิอากาศของประเทศ ซึ่งมีลักษณะร้อนชื้น เหมาะแก่การเจริญของรา (48) ดังนั้นหากสามารถนำสารประกอบดื่บอินทรีย์มายับยั้งการเจริญ และการทำลายเนื้อไม้โดยราเหล่านี้ได้ ก็จะสามารถลดอัตราการสูญเสียของเนื้อไม้ขนานนา และอาจสามารถนำไปใช้กับเนื้อไม้ชนิดอื่น ๆ ได้ในขณะเดียวกันก็จะเป็นวิธีที่สามารถแปรรูปของดื่บให้เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีราคาสูงขึ้นกว่าแร่ดื่บด้วย

งานวิจัยนี้ เป็นการศึกษาผลของสารประกอบดื่บอินทรีย์ต่อรา ที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลสที่แยกจากตัวอย่างไม้ขนานนา เพื่อศึกษาผลของสารประกอบดื่บอินทรีย์ต่อการทำงานของเซลลูเลส และทดสอบหาชนิดสารประกอบดื่บอินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งการออกของสปอร์ การยับยั้งการเจริญของสาขไฮรา ตลอดจนหาข้อมูลเบื้องต้นของการยับยั้ง