หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

เซลลูโลส (cellulose) เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) และลิกนิน (lignin) เป็นองค์ประกอบหลักในผนังเซลล์ของพืช ซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนในธรรมชาติที่สำคัญ ไซแลน (xylan) เป็นองค์ประกอบหลักของเฮมิเซลลูโลส พบตามธรรมชาติทั้งในไม้เนื้ออ่อนและไม้เนื้อแข็ง (Parisi, 1989; Ericksson Blanchette and Ander ,1990)

ไซแลนเนสเป็นเอนไซม์ที่ย่อยสลายไซแลน ให้เป็นน้ำตาลดีไซโลส (D-xylose) การย่อยสลายไซแลนให้สมบูรณ์โดยใช้เอนไซม์จะต้องมีเอนไซม์หลายตัวเข้ามาเกี่ยวข้องซึ่งรวมเรียกเป็นกลุ่มของไซแลนเนสมีเอนไซม์ที่สำคัญ 2 ตัวคือ endo-1,4-β-D-xylanase (EC 3.2.1.8) ย่อยไซแลนส่วนที่เป็นสายหลักแบบสุ่ม และ 1,4-β-D-xylosidase (EC 3.2.1.37) ซึ่งเปลี่ยนไซโลโอลิโก-เมอร์ (xylooligomer) เป็นน้ำตาลไซโลส ไซแลนเนสนั้นมีศักยภาพในการนำไปใช้ประโยชน์ในเทคโนโลยีทางชีวภาพได้คือ การทำเยื่อกระดาษแบบชีวภาพ (Eriksson, 1985) การฟอกสีเยื่อกระดาษ (Jurasek and Paice, 1988; Kantelinen *et al*.., 1988) อุตสาหกรรมอาหารสัตว์(Wong Tan and Saddler, 1988) และการเปลี่ยนสารประกอบลิกโนเซลลูโลส (lignocellulose) เป็นอาหารสัตว์และพลังงาน (Eriksson, 1985; Jeffries, 1985) ซึ่งในธรรมชาติมีสิ่งมีชีวิตหลายชนิดทั้งแบคทีเรีย รา และยีสต์ มีความสามารถในการสร้างไซแลนเนสได้ และได้รับความสนใจศึกษาในการผลิตไซแลนเนสเพื่อใช้ประโยชน์ (Christov และ Prior,1994; Gomes *et al*.,1993) เนื่องจากเจริญได้รวดเร็ว เพาะเลี้ยงได้ง่าย ผลิตเอนไซม์ออกมานอกเซลล์ (Biely, 1985) สามารถนำไปใช้ได้ง่าย พบว่า *Aureobasidium pullulans* ซึ่งเป็นราที่มีรูปร่างเหมือนยีสต์ผลิตไซแลนเนสได้ในปริมาณสูง ขณะที่ไม่ผลิตเซลลูเลส (cellulase) (Leathers, 1986; Myburgh Prior and Kilian, 1991) ทำให้ได้รับความสนใจเนื่องจากเป็นคุณสมบัติที่ดีและเหมาะสมที่จะนำไปใช้ประโยชน์ได้ แต่การผลิตมีต้นทุนสูงเนื่องจากไซแลนและไซโลสเป็นสารที่มีราคาแพงจึงได้มีผู้ทดลองนำวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรเพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนให้กับจุลินทรีย์ในการผลิตไซแลนเนส (Kami *et al*.,1993)

อุตสาหกรรมกระดาษเป็นอุตสาหกรรมที่มีการใช้มวลชีวภาพมากในปัจจุบัน ปี 1995 ประเทศสหรัฐอเมริกาผลิตกระดาษ และผลิตภัณฑ์อื่นที่ทำจากเศษไม้มากกว่า 82 ล้านเมตริกตัน คิดเป็นมูลค่าประมาณ 166 พันล้านเหรียญ (Anon, 1996 cited in Kirk and Jeffries, 1996) และมีการใช้เพิ่มมากขึ้นทุกปี ซึ่งคาดว่าจะเป็นอุตสาหกรรมที่มีการเจริญเติบโตที่ดีในอนาคต ในกระบวนการผลิตเยื่อกระดาษจำเป็นต้องมีขั้นตอนการฟอกสีเยื่อกระดาษทำให้เกิดสารพิษตกค้างและมีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม จึงมีแนวความคิดที่จะใช้วิธีการฟอกเยื่อกระดาษโดยใช้เอนไซม์ที่

ผลิตจากจุลินทรีย์ เนื่องจากสามารถย่อยไซแลนออกจากเยื่อกระดาษได้โดยไม่มีผลกระทบต่อส่วนประกอบอื่นๆของกระดาษ Bok Goers และ Eveleigh (1993) ได้เสนอให้ใช้ไซแลนเนสเป็นตัวฟอกสีชีวภาพในอุตสาหกรรมฟอกเยื่อกระดาษ Christov และ Prior (1996a) รายงานว่าเมื่อใช้ไซแลนเนสฟอกเยื่อกระดาษ สามารถลดไซแลนจากเยื่อกระดาษที่ยังไม่ผ่านการฟอกทางเคมีได้สูงถึง 50 เปอร์เซ็นต์ และการใช้ไซแลนเนสที่ผลิตจาก *Aureobasidium pullulans* ฟอกเยื่อกระดาษก่อนการฟอกด้วยสารเคมีจะลดปริมาณการใช้คลอรีนลงได้ 50 เปอร์เซ็นต์โดยที่ค่าความขาวสว่าง (brightness) ของเยื่อกระดาษยังคงอยู่ที่ 93 เปอร์เซ็นต์ (Christov and Prior, 1996b cited in Christov *et al.*, 1997) แม้ว่าการใช้สารเคมีในการขั้นตอนการทำกระดาษจะทำให้ได้ปริมาณเยื่อสูงถึง 97 เปอร์เซ็นต์ แต่ขณะเดียวกันสารเคมีที่ใช้จะไปมีผลทำให้คุณภาพของเยื่อกระดาษที่ได้ลดลงด้วยซึ่งมีความสำคัญต่อการบดเยื่อกระดาษ รูพรุนของกระดาษ การปรับปรุงคุณภาพของกระดาษ ทั้งยังมีผลต่อความต้านทานแรงดึงของกระดาษและความต้านทานแรงฉีกขาด (Noe *et al.*, 1986; Viikari *et al.*, 1987; Christov and Prior, 1994) มีผู้พบว่าหลังจากที่ฟอกเยื่อกระดาษจากไม้สนด้วยสารเคมี mercuric acetate จะเกิดสาร hexeneuronic acid groups (Gellerstedt and Li, 1996) โดยตรวจสอบด้วย NMR spectroscopy และ HPLC method และเมื่อนำไซแลนเนสมาฟอกเยื่อกระดาษก็มีการตรวจพบสารกลุ่มนี้ เช่นกัน ซึ่งอาจเป็นผลจากการทำปฏิกิริยาของไซแลนเนสกับเยื่อกระดาษ กลไกการทำปฏิกิริยาของไซแลนเนสก็ยังเป็นสิ่งน่าสนใจและยังไม่ทราบแน่ชัด

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตไซแลนเนสของ *A. pullulans* สองสายพันธุ์ และติดตามผลของการทำปฏิกิริยาของไซแลนเนสจาก *A. pullulans* สองสายพันธุ์ต่อเยื่อกระดาษยูคาลิปตัส

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัยนี้

ทราบวิธีการผลิตไซแลนเนสจาก *A. pullulans* และเป็นแนวทางในการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมฟอกเยื่อกระดาษเพื่อช่วยลดปัญหาสิ่งแวดล้อมที่เกิดจากการฟอกสีด้วยสารเคมีและเพิ่มคุณภาพกระดาษ

ขอบเขตงานวิจัย

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาการผลิตไซแลนเนสจาก *A. pullulans* สองสายพันธุ์คือ ATCC และสายพันธุ์ NRRL โดยได้ศึกษาถึงภาวะที่เหมาะสมได้แก่ ภาวะการเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิที่เหมาะ

สม และใช้แหล่งคาร์บอนที่เป็นวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร เพื่อลดต้นทุนการผลิต จากนั้นผลิตไซแลนเนสให้ได้ปริมาณมาก นำมาทำให้บริสุทธิ์ด้วยการตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต นำเอนไซม์ที่ได้มาทดสอบกับเยื่อกระดาษ ศึกษาผลของเอนไซม์ คือ ค่าความขาว-สว่าง ค่าคัปปานัมเบอร์ของเยื่อ และนำน้ำที่ได้จากการฟอกเยื่อไปตรวจดูด้วยเครื่อง spectrophotometer เพื่อหาสารประเภทโครโมฟอร์ (chromophore)ที่เกิดจากการฟอกเยื่อกระดาษด้วยไซแลนเนส