บทที่ 3

ทฤษฎี

3.1 บทนำ

ในการศึกษาปฏิกิริยาเรโซลูชั่นของเมนทอลเรซิมิกด้วยเอนไซม์ไลเปสตรึงรูปบนเรซินแลกเปลี่ยนไอออน มีทฤษฎีที่เกี่ยวข้องกับการดำเนินงานวิจัยนี้หลายทฤษฎี ซึ่งจะแบ่งการศึกษาทฤษฎีออกเป็นเจ็ดส่วน คือ ในส่วนแรกจะกล่าวถึงเอนไซม์ตรึงรูป ส่วนที่สองเป็นเรื่องของตัวพยุงสำหรับตรึงเอนไซม์ ส่วนที่สามจะเป็นวิธีการตรึงเอนไซม์ ส่วนที่สี่เป็นเรื่องจลนพลศาสตร์ของเอนไซม์ ส่วนที่ห้าเป็นเรื่องของปัจจัยที่มีผลต่อการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ตรึงรูป ส่วนที่หกจะเป็นเรื่องของผลกระทบของการถ่ายเทมวลสาร และในส่วนสุดท้ายเป็นเรื่องของเครื่องปฏิกรณ์แบบ แพคเบด

3.2 เอนไซม์ตรึงรูป (Immobilized enzyme)

เอนไซม์ตรึงรูปหมายถึง เอนไซม์ที่โมเลกุลถูกจับไว้ในขอบเขตที่จำกัดอาจมีการสร้างพันธะทางเคมีขึ้นหรือไม่ก็ได้ เอนไซม์ตรึงรูปจะมีคุณสมบัติในการละลายน้ำได้ยากขึ้นหรือไม่ละลายเลย โดยเอนไซม์ตรึงรูปยังคงมีแอคติวิตีของการเร่งปฏิกิริยาอยู่ ทำให้สามารถนำเอาเอนไซม์ตรึงรูปกลับมาใช้ซ้ำได้หลายครั้งอย่างต่อเนื่อง ปัจจัยที่สำคัญสำหรับการตรึงเอนไซม์คือการเลือกใช้ตัวพยุงและวิธีการตรึงรูปเอนไซม์

3.3 ตัวพยุงสำหรับตรึงเอนไซม์

ชนิดของตัวพยุงจะมีอิทธิพลต่อประสิทธิภาพในการทำงานของเอนไซม์ตรึงรูป (แอคติวิตีและความเสถียรของเอนไซม์) ไม่มีตัวพยุงชนิดใดที่สามารถตรึงเอนไซม์ได้ทุกรูปแบบ แต่อย่างไรก็ตามตัวพยุงที่ดีควรมีคุณลักษณะจำเพาะดังต่อไปนี้

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

- มีพื้นที่ผิวมากเพื่อใช้สำหรับการจับยึด
- มีการซึมผ่านของสารได้
- ไม่ละลายน้ำ
- เสถียรต่อสารเคมี , ความร้อน , และแรงกระทบ
- มีรูปร่างและขนาดที่พอเหมาะ
- มีความต้านทานต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์
- สามารถนำกลับคืนมาใช้ใหม่ได้อีก

ในการนำไปใช้งานนั้น ควรจะพิจารณาถึงสมบัติของตัวพยุงในส่วนของพื้นที่ผิว รูปร่าง องค์ประกอบและการดัดแปลงเป็นต้น ตัวพยุงอาจจัดแบ่งออกเป็น 2 จำพวก คือ สารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ แต่การจัดจำพวกเช่นนี้ไม่เพียงพอต่อการชี้ถึงความสามารถในการจับยึดเอนไซม์ สมบัติที่บอกความสามารถนี้คือ พื้นที่ผิวและขนาดรูพรุน (pore size) ดังนั้นในที่นี้จะกล่าวถึงการแบ่งจำพวกโดยอาศัยโครงรูปของตัวพยุงมาประกอบอีกส่วนหนึ่งด้วย

3.3.1 การแบ่งจำพวกตามลักษณะทางกายภาพ

ตัวพยุงแบ่งออกเป็น 2 ประเภทตามลักษณะทางกายภาพคือ ตัวพยุงที่ไม่มีรูพรุน และตัวพยุงที่มีรูพรุน

3.3.1.1 ตัวพยุงที่ไม่มีรูพรุน

เมื่อใช้ตัวพยุงที่ไม่มีรูพรุนมาตรึงเอนไซม์ จะทำให้เอนไซม์มีโอกาสที่จะถูกจับยึดไว้ได้ในปริมาณที่จำกัด เนื่องจากสารพยุงชนิดนี้มีพื้นที่ผิวต่อปริมาตรต่ำ ด้วยเหตุนี้จึงมีการใช้เส้นใยหรือสารที่มีลักษณะเป็นเม็ดขนาดเล็ก เพื่อที่จะให้มีขนาดของพื้นที่ผิวมากพอที่จะให้เอนไซม์ยึดเกาะได้ แต่อย่างไรก็ตามสารเหล่านี้จะก่อปัญหาทั้งในการแยกออกจากส่วนผสมของปฏิกิริยาและในการใช้สำหรับระบบต่อเนื่อง เพราะจะทำให้แรงดันภายในระบบลดต่ำลงสืบเนื่องจากการอัดแน่นของตัวพยุง ตัวพยุงชนิดนี้มีข้อดีบางประการซึ่งได้แก่ ลักษณะทางกายภาพที่ทำให้เอนไซม์ถูกจับไว้ที่ผิวรอบนอกของตัวพยุง ซึ่งลักษณะเช่นนี้จะทำให้สับเสตรทเข้าทำปฏิกิริยาได้ง่าย

3.3.1.2 ตัวพยุงที่มีรูพรุน

การที่ตัวพยุงที่เป็นสารอินทรีย์หรือสารอนินทรีย์ที่มีลักษณะเป็นรูพรุน จะทำให้สารเหล่านี้มีพื้นที่ผิวมากขึ้นเมื่อเทียบในปริมาณ 1 หน่วยน้ำหนักกับตัวพยุงที่ไม่มีรูพรุน ดังนั้นตัวพยุงที่มีรูพรุนจะสามารถจับเอนไซม์ไว้ได้มาก ซึ่งลักษณะเช่นนี้ทำให้การประยุกต์ใช้ในทางอุตสาหกรรมได้ผลดี อย่างไรก็ตามตัวพยุงที่มีรูพรุนก็มีข้อจำกัด เนื่องจากพื้นที่ภายในรูพรุนของเอนไซม์ที่ถูกตรึงนั้นจะต้องมีขนาดของรูพรุนใหญ่เพียงพอสำหรับให้โมเลกุลของสับเสตรทผ่านเข้าไปทำปฏิกิริยา และในขณะเดียวกันก็จะต้องให้สารผลิตภัณฑ์ผ่านออกไปได้สะดวก ทั้งนี้เพื่อลดปัญหาที่เกิดจากการแพร่กระจายของสับเสตรทและสารผลิตภัณฑ์ที่ผ่านเข้าและออกจากตัวพยุง ซึ่งในตารางที่ 3.1 ได้แสดงการเปรียบเทียบข้อดีและข้อบกพร่องของตัวพยุงที่มีรูพรุนและไม่มีรูพรุน

ตารางที่ 3.1 เปรียบเทียบข้อดีและข้อบกพร่องของตัวพยุงที่ไม่มีรูพรุนและมีรูพรุน

ชนิดของตัวพยุง	ข้อดี	ข้อบกพร่อง
ไม่มีรูพรุน	มีความต้านทานการถ่ายเทมวลสารน้อย	-มีพื้นที่ผิวต่อปริมาตรต่ำ มีความจุในการตรึงเอนไซม์ต่ำ ในกรณีที่ตัวพยุงมีลักษณะเป็นเม็ดละเอียดจะทำให้ยากต่อการแยกออก ไม่สะดวกในการใช้ระบบต่อเนื่องเพราะปัญหาจากแรงดันลดลง และอัตราการไหลผ่านถูกจำกัด
มีรูพรุน	มีพื้นที่ผิวต่อปริมาตรมาก มีความจุเอนไซม์สูง	-จำกัดการแพร่กระจายของสาร -มีราคาสูง(ในกรณีที่ควบคุมขนาดรูพรุน)

3.3.2 การแบ่งจำพวกตามลักษณะทางเคมี

ตัวพยุงแบ่งออกเป็น 2 ประเภทตามสมบัติทางเคมี ได้แก่ตัวพยุงที่เป็นสารอินทรีย์และตัวพยุงที่เป็นสารอนินทรีย์

3.3.2.1 ตัวพยุงที่เป็นสารอินทรีย์

ตัวพยุงที่เป็นสารอินทรีย์จะมีข้อได้เปรียบในการใช้งานทาง อุตสาหกรรม เอนไซม์ตรึงรูปที่ผลิตได้ในทางการค้าส่วนมากจะใช้ตัวพยุงเป็นสารอินทรีย์ ทั้งนี้เนื่องจากตัวพยุงอินทรีย์มีกลุ่มฟังก์ชัน (functional group) จำนวนมากที่สามารถตรึงเอนไซม์ได้อย่างมีประสิทธิภาพด้วยการสร้างพันธะเคมีกับกลุ่มคาร์บอกซิล (carboxyl group) หรือกลุ่มอะมิโน (amino group) ของเอนไซม์ ด้วยการดูดซับหรือการดึงดูดระหว่างไอออน (Ionic bond) ตัวพยุงที่เป็นสารอินทรีย์ส่วนมากจะเป็นพอลิเมอร์ (Polymer) แสดงดังตารางที่ 3.2

3.3.2.2 ตัวพยุงที่เป็นสารอนินทรีย์

ในการตรึงเอนไซม์ในสมัยเริ่มแรกได้ใช้ตัวพยุงที่เป็น สารอนินทรีย์แต่ในระยะเวลาต่อมาพบว่าตัวพยุงจากสารอินทรีย์มีประสิทธิภาพสูงกว่า ดังนั้นการพัฒนาการใช้ตัวพยุงจากสารอนินทรีย์จึงมีน้อย แต่อย่างไรก็ตามตัวพยุงที่เป็นสารอนินทรีย์ก็มีความน่าสนใจในการนำไปใช้งานเนื่องมาจาก ตัวพยุงที่เป็นสารอนินทรีย์ส่วนใหญ่จะได้มาจากธรรมชาติ ซึ่งหาได้ง่าย ทนต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ง่ายต่อการรักษา มีอายุการใช้งานนานและสามารถนำกลับคืนมาใช้ใหม่ได้

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3.2 การจัดประเภทของตัวพยุงโดยใช้สมบัติทางเคมี

ตัวพยุงที่เป็นสารอินทรีย์	ตัวพยุงที่เป็นสารอนินทรีย์
พอลิเมอร์ธรรมชาติ	แร่ธาตุธรรมชาติ
พอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharide)	ดินเอททาพูลไกท์ (attapulgite)
: เซลลูโลส (celluloses)	หินพูไมซ์ (pumice stone)
แป้ง	ทราย
เยการ์ (agar)	เบนโทไนซ์ (bentonite)
อกาโรส (agarose)	
อัลจิเนต (alginate)	
คาร์ราจิเนน(carrageenan)	
โปรตีน : คอลลาเจน (collagen)	
เจลาทิน (gelatin)	
ไหม	
คาร์บอน	
พอลิเมอร์สังคราะห์	สารสังเคราะห์
พอลิสไตรีน (polystyrene)	แก้วมีรูพรุน / แก้วไม่มีรูพรุน
พอลิเอไครเลต (polyacrylate)	อลูมินา (alumina)
: เอไครเลต (acrylaye)	ซิลิกา (siliga)
เอไครเลไมด์ (acrylamide)	เหล็กออกไซด์
พอลิเมอร์ของไวนิลและอัลลิล (vinyl and allyl polymers)	นิเกิล / นิเกิลออกไซด์
พอลิเมอร์ของแมเลอิคแอนไฮไดรด์ (meleic anhydride polymers)	
พอลิเอไมด์ (polyamide)	
: ไนลอน (nylon)	

3.4 วิธีการตรึงเอนไซม์

สามารถจำแนกได้ 2 วิธีใหญ่ๆ คือ วิธีทางกายภาพ (Physical method) และวิธีทางเคมี (Chemical method)

3.4.1 วิธีทางกายภาพ

วิธีทางกายภาพแบ่งออกเป็น 2 วิธี คือการดูดซับทางกายภาพ (Physical adsorption) บนสารพยุงและวิธีห่อหุ้ม (Entrapment method)

3.4.1.1 การดูดซับทางกายภาพ

เป็นการดูดซับของเอนไซม์บนผิวภายนอกของตัวพยุงที่ไม่ละลายน้ำ วิธีการตรึงรูปโดยวิธีนี้จะไม่มีผลกระทบต่อโครงรูปสามมิติ และแอกติวิตีของเอนไซม์ เนื่องจากอาศัยแรงดึงดูดที่ค่อนข้างอ่อน เช่นแรงแวนเดอร์วาลล์ พันธะไฮโดรเจนและแรงไฮโดรโฟบิกในการยึดเกาะเอนไซม์กับตัวพยุง ความสามารถในการดูดซับของเอนไซม์จากการตรึงด้วยวิธีนี้จะขึ้นอยู่กับค่าความเป็นกรด-ด่าง ความเข้มข้นของไอออนในสารละลาย ความเข้มข้นของเอนไซม์ และอุณหภูมิ การควบคุมสภาวะต่างๆ เหล่านี้ให้เหมาะสมจะช่วยทำให้มีการดูดซับเอนไซม์ได้ดีและรักษาแอกติวิตีของเอนไซม์ไว้ได้ ตัวพยุงที่นิยมใช้กันมากได้แก่ อลูมินา , คาร์บอนกัมมันต์ , แก้ว , และโพลิเมอร์ธรรมชาติเช่น แป้ง คอลลาเจน เป็นต้น

แต่ในกรณีที่ตัวพยุงมีส่วนของโมเลกุลที่สามารถแลกเปลี่ยนประจุได้ (Ion-exchange residue) การเชื่อมกันระหว่างเอนไซม์กับตัวพยุงจะใช้พันธะไอออนิกในการยึดเกาะ (Ionic binding method) ทั้งนี้เพราะเอนไซม์เมื่ออยู่ในรูปสารละลายจะมีประจุเสมอ เนื่องจากมีการแตกตัวของสายรอง(side chain) ของกรดอะมิโนของเอนไซม์ ชนิดของประจุและจำนวนของประจุของโมเลกุลเอนไซม์ขึ้นกับความเป็นกรด-ด่างของสารละลาย สามารถใช้ตัวพยุงชนิดแลกเปลี่ยนไอออน

ที่มีประจุตรงข้ามกันยึดจับเอนไซม์ไว้ โดยใช้สารแลกเปลี่ยนไอออนบวก (cation exchanger) หรือสารแลกเปลี่ยนไอออนลบ (anion exchanger) จับเอนไซม์ที่มีประจุบวกและลบตามลำดับ การตรึงเอนไซม์ด้วยวิธีเหล่านี้ทำได้ง่าย ก่อให้เกิดความเสียหายกับเอนไซม์น้อยที่สุด และมีต้นทุนในการตรึงไม่สูงนัก

เมื่อแบ่งประเภทของตัวพยุงที่ใช้สำหรับตรึงเอนไซม์ด้วยแรงดึงดูดประจุ โดยอาศัยสมบัติการแลกเปลี่ยนไอออน จะได้ 2 ประเภท คือตัวพยุงที่แลกเปลี่ยนไอออนลบ (anionic-exchanger) และตัวพยุงที่แลกเปลี่ยนไอออนบวก (cationic-exchanger) ตามตารางที่ 3.3

ตารางที่ 3.3 ตัวพยุงที่แลกเปลี่ยนประจุสำหรับตรึงเอนไซม์

ตัวพยุงที่แลกเปลี่ยนประจุลบ	ตัวพยุงที่แลกเปลี่ยนประจุบวก
DEAE-cellulose	CM-cellulose
AE-cellulose	Cellulose phosphate
TAEA-cellulose	CM-Sephadex
DEAE-sephadex	Dextran sulfate
QAE-sephadex	Amberlite IRC-50
DEAE-Bio-Gel A	Amberlite IRC-200
Amberlite IRA 93	
Amberlite IRA 94	
Amberlite IRA 910	
Amberlite IRA 938	
Dowex MWA-1	

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.4.1.2 วิธีห่อหุ้ม

วิธีห่อหุ้มเป็นวิธีตรึงรูปแบบรวมเอนไซม์อิสระไว้ในช่องว่างของตาข่ายพอลิเมอร์หรือห่อหุ้มเอนไซม์อิสระ ไว้ด้วยเยื่อบางที่ยอมให้สารซึมผ่านได้บ้าง (semipermeable membrane) ดังนั้นจึงแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ ห่อหุ้มเอนไซม์ในช่องตาข่าย (lattice type) และห่อหุ้มเอนไซม์ในแคปซูลขนาดเล็ก (microcapsule type)

<u>การห่อหุ้มเอนไซม์ในช่องตาข่ายของโพลิเมอร์ที่ไม่ละลายน้ำ</u>

การตรึงเอนไซม์ด้วยวิธีนี้ทำได้ในลักษณะที่ผสมเอนไซม์เข้ากับสารห่อหุ้มในขณะกำลังเกิดพอลิเมอร์ โมเลกุลของเอนไซม์จะถูกห่อหุ้มด้วยช่องตาข่ายอย่างสม่ำเสมอทุกช่องอย่างช้าๆ การตรึงเอนไซม์ลักษณะนี้อาจจะส่งผลกระทบต่อเสถียรภาพของเอนไซม์โดยตรง เนื่องจากสารที่กำลังรวมตัวเป็นโพลิเมอร์มักจะมีปฏิกิริยารุนแรง ตัวอย่างพอลิเมอร์ที่ใช้ได้แก่ แป้ง ไคติน (chitin) ชิโตซาน (chitosan) , อัลจิเนต (alginate) , คาราจิเนน (karrageenan) เป็นต้น

<u>การห่อหุ้มเอนไซม์ในแคปซูลขนาดเล็ก</u>

เอนไซม์สามารถถูกตรึงโดยแคปซูลขนาดเล็กที่เตรียมจากพอลิเมอร์ที่เป็นสารอินทรีย์ เยื่อพอลิเมอร์จะล้อมรอบเอนไซม์โดยที่สามารถปล่อยสับเสตรทและผลิตภัณฑ์ซึมผ่านได้ ประโยชน์ของการตรึงเอนไซม์ด้วยวิธีนี้ได้แก่ เอนไซม์และ สับเสตรทจะทำปฏิกิริยาได้มาก และสามารถตรึงเอนไซม์หลายชนิดในขั้นตอนเดียว โดยไม่จำกัดว่าเอนไซม์นั้นจะผ่านการตรึงด้วยวิธีอื่นมาแล้วหรือไม่ ข้อบกพร่องที่สำคัญของการตรึงเอนไซม์ด้วยวิธีนี้คือ ไม่สามารถใช้สำหรับกรณีที่ สับเสตรทมีมวลโมเลกุลสูง บางครั้งเอนไซม์อาจถูกทำลายแอกติวิตีในระหว่างกระบวนการตรึง เอนไซม์อาจจะเข้าไปฝังอยู่ในผนังของเยื่อพอลิเมอร์ และเทคนิคบางขั้นตอนที่ใช้ในการตรึงอาจมีการทำให้มีการสูญเสียเอนไซม์ออกจากแคปซูลได้

3.4.2 วิธีทางเคมี

เป็นการยึดเกาะเอนไซม์กับตัวพยุงไว้ด้วยพันธะโคเวเลนท์ การตรึงเอนไซมวิธีนี้ค่อนข้างยุ่งยากซับซ้อน ค่าใช้จ่ายค่อนข้างสูง และ กระบวนการที่ใช้ค่อนข้างรุนแรงสำหรับเอนไซม์ ดังนั้นในบางครั้งอาจทำให้เอนไซม์สูญเสียค่าแอกติวีตีและอาจเปลี่ยนสภาวะในการทำงาน แต่เนื่องจากมีพันธะยึดเหนี่ยวที่แข็งแรงเอนไซม์จึงทำให้เอนไซม์หลุดออกจากตัวพยุงได้ยาก ตัวพยุงที่ผ่านการตรึงด้วยวิธีนี้ไม่สามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ การตรึงเอนไซม์ด้วยวิธีทางเคมีจำแนกได้ 2 วิธีคือ การเชื่อมไขว้หรือการเชื่อมขวาง (Cross - linking method) และการดูดซับด้วยพันธะโคเวเลนท์ (Covalent binding method)

3.4.2.1 การเชื่อมไขว้หรือการเชื่อมขวาง

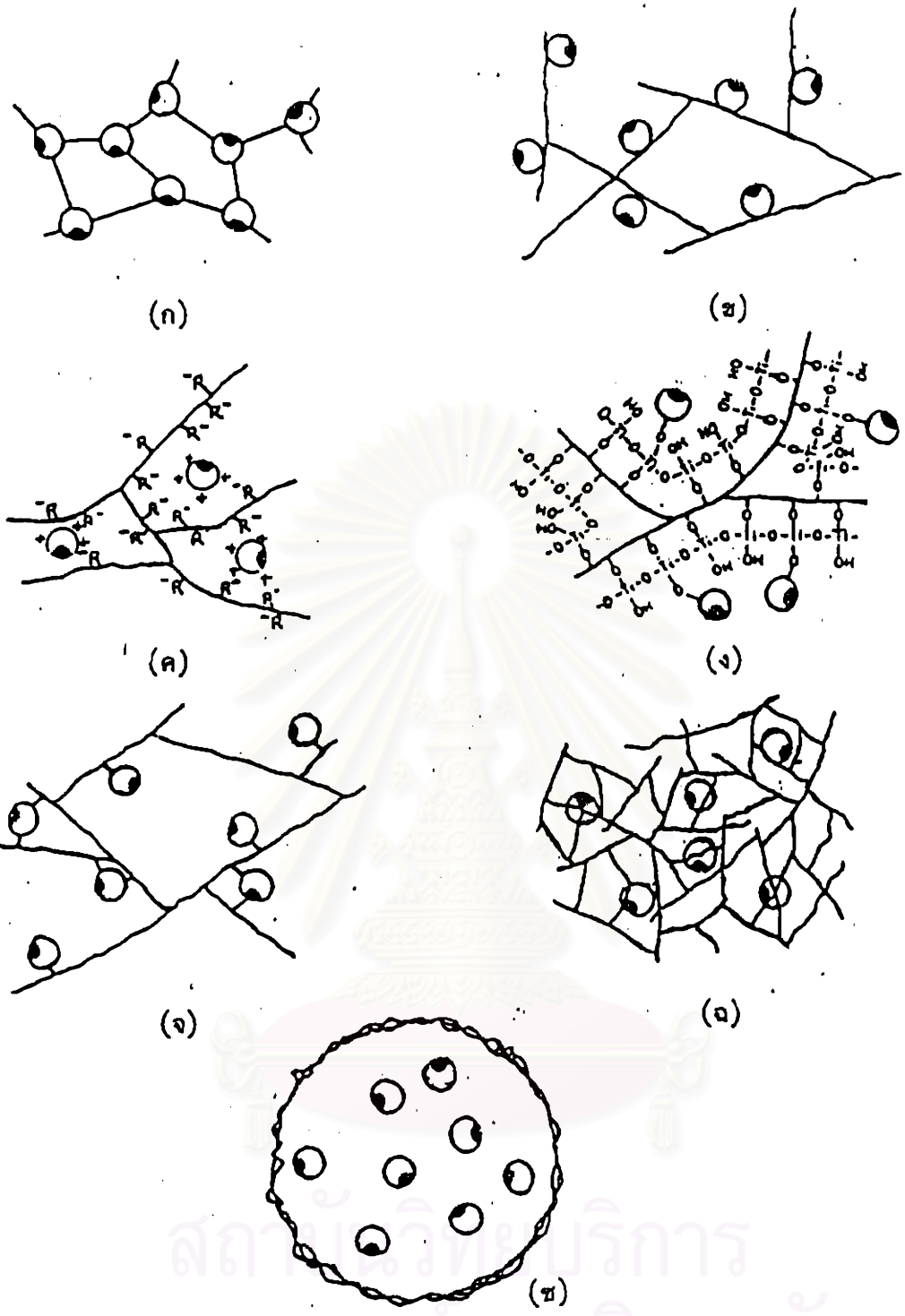
การทำเอนไซม์ตรึงรูปโดยวิธีนี้อาศัยวิธีการสร้างพันธะเคมี แต่วิธีนี้ไม่ต้องใช้ตัวพยุง เอนไซม์จะถูกตรึงอยู่ได้โดยการสร้างพันธะเชื่อมขวางระหว่างโมเลกุลของเอนไซม์ โดยใช้สารเคมีที่มีกลุ่มฟังก์ชันมากกว่า 2 กลุ่ม (bi- or multifunctional reagents) หรือเรียกว่า cross-linkers เป็นตัวเชื่อม ซึ่งมีผลให้เอนไซม์หลายโมเลกุลเกาะกลุ่มกลายเป็นโมเลกุลใหญ่ ละลายน้ำได้น้อยลง สารที่ใช้ในการเชื่อมขวางเช่น กลูทารัลดีไฮด์ (glutaraldehyde) , เฮกซะเมทิลลีน ไดไอโซไซยาเนท (hexamethylene diisocyanate) เป็นต้น การเลือกสภาวะในการทดลองเพื่อให้เกิดการเชื่อมไขว้อย่างจำเพาะบนกลุ่มฟังก์ชันของเอนไซม์ทำได้ยาก สภาวะที่เหมาะสมในการเชื่อมไขว้ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของเอนไซม์, ชนิดของสารเชื่อมไขว้ , ความเป็นกรดด่าง , ความเข้มข้นของไอออนในสารละลาย , อุณหภูมิ และเวลาในการเกิดปฏิกิริยา

3.4.2.2 การตรึงด้วยพันธะโคเวเลนท์กับตัวพยุง

เป็นการตรึงโดยการทำให้เกิดพันธะโคเวเลนท์ (covalent binding) ระหว่างกลุ่มฟังก์ชันของเอนไซม์กับหมู่ที่ไวต่อปฏิกิริยา (reactive group) ของตัวพยุง การเลือกสภาวะในการตรึงเอนไซม์ด้วยวิธีนี้ค่อนข้างยุ่งยาก การเลือกใช้ปฏิกิริยาให้เหมาะสมต้องคำนึงถึงความว่องไวในการเกิดปฏิกิริยาของหมู่ฟังก์ชันของตัวพยุง ความเข้มข้นของกรดอะมิโนที่มีกลุ่มฟังก์ชันของเอนไซม์ สิ่งที่

สำคัญคือ กรดอะมิโนที่มีหน้าที่เร่งปฏิกิริยาต้องไม่เกิดพันธะกับตัวพยุง การตรึงด้วยวิธีนี้จะทำให้แรงยึดระหว่างเอนไซม์กับตัวพยุงสูงเป็นเพราะการเกิดพันธะโคเวเลนท์จะต้องผ่านขั้นตอนการสลายพันธะเดิม ดังนั้นพลังงานการสลายพันธะยิ่งสูง โมเลกุลใหม่ที่ได้จะมีพันธะโคเวเลนท์ที่แข็งแรง และเสถียรมาก ด้วยเหตุนี้สภาวะของการเกิดปฏิกิริยาจึงค่อนข้างรุนแรง และมีผลโดยตรงกับบริเวณเร่งของเอนไซม์ และโครงรูปสามมิติด้วย ซึ่งทุกวิธีดังกล่าวสามารถแสดงได้ดังรูปที่ 3.1

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.1 ลักษณะของเอนไซม์ที่ตรึงรูปด้วยวิธี

(ก) การเชื่อมไขว้ ระหว่างโมเลกุลของเอนไซม์

(ข) การดูดซับ

(ค) การตรึงด้วยพันธะไอออนิก

(ง) การเชื่อมไขว้โดยใช้สารเชื่อมไขว้

(จ) การเชื่อมด้วยพันธะโคเวเลนท์

(ฉ) การห่อหุ้มในช่องตาข่าย

(ช) การห่อหุ้มในแคปซูล

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

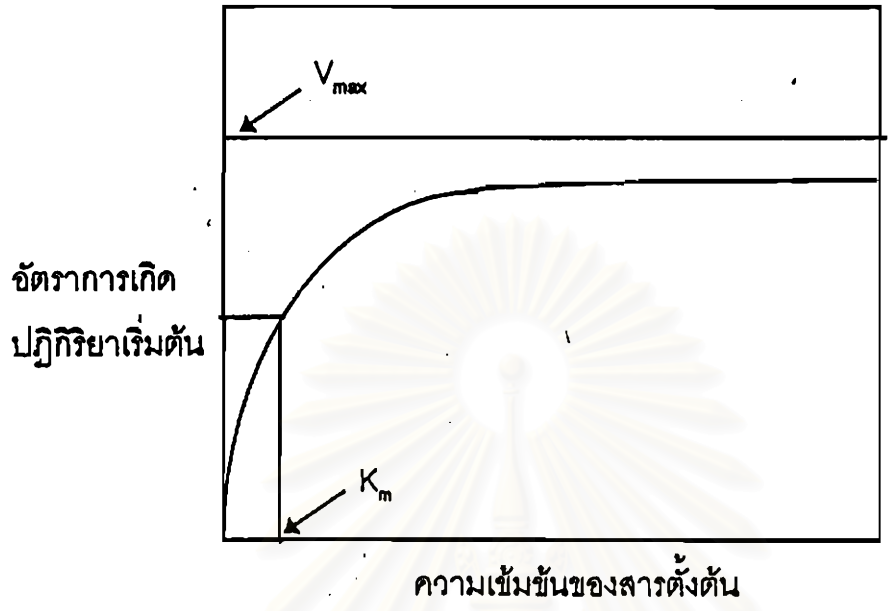
3.5 จลนพลศาสตร์ของเอนไซม์

การศึกษาจลนพลศาสตร์ของเอนไซม์ คือ การศึกษาถึงผลของปัจจัยต่างๆ มีผลต่ออัตราเร็วของปฏิกิริยา (reaction rate) รวมทั้งกลไกในการทำงานของเอนไซม์ เอนไซม์ที่ต่างชนิดกันก็จะมีกลไกในการทำงานที่แตกต่างกัน แต่ยังคงมีหลักการและพื้นฐานเดียวกัน จลนพลศาตร์ของปฏิกิริยาที่มีเอนไซม์เป็นตัวเร่งสามารถศึกษาได้จากการวัดความเร็วเริ่มต้นของปฏิกิริยา ในปฏิกิริยาที่มีเอนไซม์เป็นตัวเร่งส่วนมากพบว่าเมื่อเอนไซม์ทำปฏิกิริยาอยู่ชั่วระยะเวลาหนึ่งมักจะเกิดการสูญเสียสภาพทางธรรมชาติ (denature) ซึ่งทำให้ความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ลดลง มีผลทำให้การวัดอัตราเร็วของปฏิกิริยาไม่ถูกต้อง ซึ่งเราสามารถแก้ปัญหานี้ได้โดยการวัดความเร็วเริ่มต้นโดยพิจารณาเฉพาะช่วงเวลาสั้นๆหลังจากเริ่มทำปฏิกิริยา เพราะในขณะที่วัดความเร็วเริ่มต้นนั้นเอนไซม์จะยังไม่สูญเสียสภาพทางธรรมชาติและผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นยังอยู่ในระดับความเข้มข้นที่น้อยจนถือว่าไม่มีผลยับยั้งการเกิดปฏิกิริยา (product inhibition) ในการวัดความเร็วเริ่มต้นจะวัดความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์ (product) ที่เพิ่มขึ้นต่อเวลา หรือความเข้มข้นของสับเสตรท (substrate) ที่ลดลงไปต่อเวลา ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความสะดวกในขั้นตอนการวัด

3.5.1 จลนพลศาสตร์ของปฏิกิริยาที่มีสับเสตรทตัวเดียว

ในการศึกษาปฏิกิริยาที่มีสับเสตรทตัวเดียวนั้น กำหนดให้ปริมาณเอนไซม์คงที่ แล้วแปรค่าความเข้มข้นของสับเสตรท ทำการวัดค่าความเร็วเริ่มต้นของปฏิกิริยาจะได้ความสัมพันธ์ระหว่างความเร็วเริ่มต้นของปฏิกิริยา [V] และความเข้มข้นของสับเสตรท [S] ได้กราฟดังรูปที่ 3.2

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.2 ผลของความเข้มข้นของสับเตรทและอัตราการเกิดปฏิกิริยาเริ่มต้น

ขั้นตอนต่างๆที่เอนไซม์ทำปฏิกิริยากับสับเสตรท คือ

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} ES \qquad (3.1)$$

$$ES \xrightarrow{k_2} E + P \qquad (3.2)$$

ปฏิกิริยาในสมการที่ 3.2 จะเป็นขั้นตอนในการกำหนดความเร็วของปฏิกิริยาทั้งหมด เนื่องจากปฏิกิริยาในสมการที่ 3.1 เกิดขึ้นเร็วมากความเร็วของปฏิกิริยา [V] จึงขึ้นอยู่กับปฏิกิริยาในสมการที่ 3. 2 หรือขึ้นกับ [ES] ดังนั้น

$$V = k_2[ES] \quad (3.3)$$

พบว่าที่เวลาใดๆ จะได้ว่า

ปฏิกิริยาการเกิด $$ES = \frac{d[ES]}{dt} = k_1[E][S] \quad (3.4)$$

ปฏิกิริยาของการสลาย $$ES = -\frac{d[ES]}{dt} = k_{-1}[ES] + k_2[ES] \quad (3.5)$$

ในสภาวะที่คงตัว $$K_1[E][S] = k_{-1}[ES] + k_2[ES]$$

$$\frac{[E][S]}{[ES]} = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} = K_m \quad (3.6)$$

เนื่องจากการวัดปริมาณความเข้มข้นของเอนไซม์อิสระ [E] และ [ES] ในทางปฏิบัตินั้นทำได้ยาก จึงต้องทำการเปลี่ยนรูปสมการใหม่โดยแทนค่า [E] เป็น $[E_0]$ โดย

$$[E_0] = [E] + [ES]$$

แทนค่า [E] ด้วย $[E_0] - [ES]$ จะได้

$$K_m = \frac{([E_0] - ES])[S]}{[ES]} \quad (3.7)$$

$$[ES] = \frac{[E_0][S]}{K_m + [S]} \quad (3.8)$$

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เมื่อแทนค่าสมการที่ 3.8 ลงในสมการที่ 3.3 จะได้

$$V = \frac{k_2 [E_0] [S]}{K_m + [S]} \qquad (3.9)$$

ถ้าในกรณีที่ความเข้มข้นของสับเสตรทสูงเกินพอแล้วความเข้มข้นของเอนไซม์ทั้งหมด($[E_0]$) จะอยู่ในรูปของ [ES] ซึ่งจะทำให้ $V = V_{max}$ เมื่อแทนลงในสมการ 3.9

$$V = \frac{V_{max} [S]}{K_m + [S]} \qquad (3.10)$$

เมื่อนำผลการทดลองมาวิเคราะห์โดยการเขียนกราฟระหว่าง V กับ [S] จะได้กราฟ ไฮเปอร์โบลา ซึ่งค่อนข้างยุ่งยากในการประเมินค่า V_{max} และ K_m เพื่อที่จะสามารถหาค่าทั้งสองได้อย่างแม่นยำ จึงต้องหาวิธีเขียนกราฟความสัมพันธ์ออกมาเป็นเส้นตรง โดยการเขียนกราฟแบบไลน์วีฟเวอร์-เบอร์ก (Lineweaver-Burk plot) เป็นกราฟระหว่าง 1/ [V] และ 1/ [S] ซึ่งความสัมพันธ์นี้สามารถหาสมการแบบไมเคลิส-เมนเทน ดังนี้

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{max}} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}} \qquad (3.11)$$

จากสมการ (3.1) ถ้า $V = V_{max} / 2$ จะได้

$$\frac{V_{max}}{2} = \frac{V_{max} [S]}{K_m + [S]}$$

$$K_m + [S] = 2 [S]$$

$$K_m = [S] \qquad (3.12)$$

จากสมการที่ 3.12 จะเห็นได้ว่า K_m คือความเข้มข้นของสับเสตรทที่ทำให้ความเร็วเริ่มต้นมีค่าเท่ากับครึ่งหนึ่งของความเร็วเริ่มต้นสูงสุด หน่วยของ K_m จะเหมือนกับหน่วยของสับเสตรท ถ้าหน่วยของสับเสตรทเป็นโมลต่อลิตร ค่า K_m ก็จะมีหน่วยเป็นโมลต่อลิตรด้วย

เนื่องจาก V_{max} เท่ากับ $k_2 [E_0]$ ซึ่งแสดงว่า V_{max} จะคงที่เมื่อความเข้มข้นทั้งหมดของเอนไซม์คงที่ แต่ถ้าหากค่าความเข้มข้นทั้งหมดของเอนไซม์เปลี่ยนแปลงไปแล้วจะทำให้ V_{max} เปลี่ยนแปลงไปด้วย และจากสมการที่ 3. 6

$$K_m = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$$

ในกรณีที่ $k_{-1} \geq\geq k_2$ เพราะฉะนั้น $K_m = k_{-1} / k_1$ ดังนั้นการพิจารณาค่า K_m จึงขึ้นกับปฏิกิริยาในสมการที่ 3.1 เพียงอย่างเดียว หรืออีกนัยหนึ่งขึ้นกับ dissociation constant (k_2) ถ้า K_m มีค่าต่ำแสดงว่าเอนไซม์สามารถสร้าง [ES] ได้มาก ($k_1 \geq k_{-1}$) เนื่องจากความเร็วของปฏิกิริยาทั้งหมดขึ้นกับปริมาณ [ES] ดังนั้นสามารถที่จะอธิบายได้ว่า ถ้าเอนไซม์ทั้งหมดอยู่ในรูปของ [ES] ความเร็วของปฏิกิริยาจะสูง (ค่า K_m จะต่ำ)

แต่โดยทั่วไปแล้วปฏิกิริยาที่มีสับเสตรทตัวเดียวนั้นพบได้น้อยมาก ส่วนใหญ่ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในสิ่งมีชีวิต หรือปฏิกิริยาโดยทั่วๆไปมักจะมี สับเสตรทมากกว่าสองตัว ทำให้การศึกษาจลนพลศาสตร์ของปฏิกิริยานั้นยุ่งยากซับซ้อน และในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ใช้ สับเสตรทสองชนิดคือเมนทอลเรซิมิกและเฮกซิลอะซิเตต

3.5.2 กลไกของปฏิกิริยาที่มีสับเสตรทสองตัว

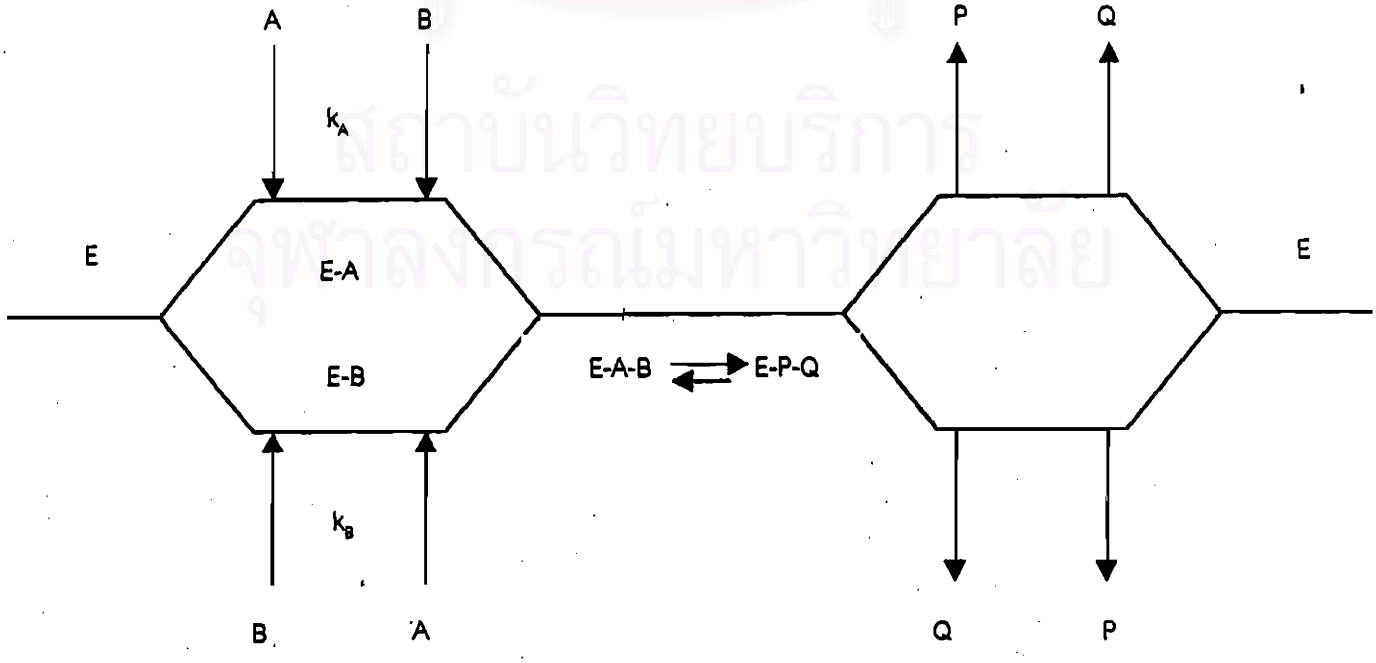
กลไกของปฏิกิริยาที่มีสับเสตรทสองตัว แบ่งออกเป็น 2 แบบ

3.5.2.1 กลไกแบบลำดับ (sequential mechanism)

เป็นกลไกที่มีสับเสตรททั้งสองตัวเข้าทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ก่อนที่จะมีผลิตภัณฑ์เกิดขึ้น ปฏิกิริยาที่มีกลไกแบบนี้เรียกว่าปฏิกิริยา single – displacement กลไกแบบนี้สามารถแบ่งย่อยได้อีก 2 ชนิด

Rapid equilibrium random bi bi

กลไกชนิดนี้เป็นกลไกที่สับเสตรททั้งสองตัวเข้าทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ ก่อนที่ผลิตภัณฑ์สองตัวเกิดขึ้น และสับเสตรทตัวใดตัวหนึ่งจะจับกับเอนไซม์ก่อนก็ได้ ในทำนองเดียวกันผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นสองตัวนั้นตัวใดตัวหนึ่งจะถูกปล่อยออกจากเอนไซม์ก่อนก็ได้ นั่นคือการจับของสับเสตรทและการปล่อยผลิตภัณฑ์เป็นแบบสุ่ม (random) สามารถเขียนกลไกการทำงานได้เป็น

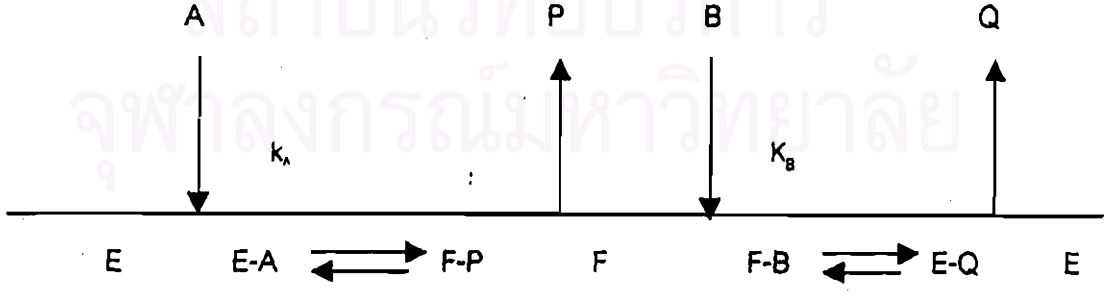


Ordered bi bi

กลไกชนิดนี้เป็นกลไกที่ สับเสตรททั้งสองตัว (A และ B) เข้าทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ก่อนที่จะมีผลิตภัณฑ์สองตัว (P และ Q) เกิดขึ้น แต่จะเห็นได้ว่าสับเสตรท A จะจับกับเอนไซม์ก่อนสับเสตรท B และผลิตภัณฑ์ P จะถูกปล่อยออกจากเอนไซม์ก่อน ผลิตภัณฑ์ Q นั้นคือ การจับของสับเสตรทและการปล่อยผลิตภัณฑ์จะเกิดขึ้นอย่างมีระเบียบ ซึ่งสามารถเขียนแผนภาพของการเกิดปฏิกิริยาได้เป็น

3.5.2.2 กลไกแบบไม่ลำดับ (non- sequential mechanism)

กลไกชนิดนี้เป็นกลไกที่สับเสตรทตัวแรก เมื่อทำปฏิกิริยากับเอนไซม์แล้วสามารถให้ผลิตภัณฑ์ตัวแรกเกิดขึ้นในปฏิกิริยาได้โดยไม่ต้องอาศัยสับเสตรทตัวที่สอง กลไกของปฏิกิริยาชนิดนี้เรียกว่ากลไกแบบ ping pong bi bi ซึ่งสามารถเขียนเป็นแผนภาพของปฏิกิริยาได้เป็น



3.6 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ตรึงรูป

การตรึงเอนไซม์ จะทำให้ได้เอนไซม์ตรึงรูปซึ่งอาจจะมีการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติต่างๆจากเอนไซม์อิสระ ซึ่งโดยปกติเอนไซม์ตรึงรูปจะมีความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาลดลงเมื่อเทียบกับเอนไซม์อิสระก่อนได้รับการตรึง

3.6.1 ค่าความเป็นกรด-ด่าง

โดยทั่วๆไป แอคติวิตีของเอนไซม์จะถูกกระทบด้วยสภาวะแวดล้อม โดยเฉพาะค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลายที่ใช้ในการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ ทั้งนี้เพราะค่าความเป็นกรด-ด่างมีผลทำให้สภาพธรรมชาติของเอนไซม์เปลี่ยนแปลงไป

เมื่อเอนไซม์ถูกตรึงจะทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมที่สุดในการทำงาน (opimum pH) ของเอนไซม์เปลี่ยนแปลงหรือไม่ก็ได้ แต่ส่วนมากแล้วมักเปลี่ยนแปลงไป แนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างในการทำงานของเอนไซม์ และการเปลี่ยนแปลงแอคติวิตีของเอนไซม์ที่ค่าความเป็นกรด-ด่างต่างๆ ขึ้นอยู่กับประจุของโมเลกุลของเอนไซม์ และประจุของตัวพยุง เมื่อเอนไซม์ถูกตรึงด้วยตัวพยุงที่มีประจุ จะมีสมบัติทางจลนพลศาสตร์แตกต่างจากเอนไซม์อิสระ ทั้งนี้เพราะผลกระทบของแรงสัมผัสของประจุบนตัวพยุง ซึ่งจะส่งผลทำให้สารที่มีประจุ (เช่น สับเสตรทและสารผลิตภัณฑ์บางชนิด ไฮโดรเจนไอออน ไฮดรอกซิลไอออน เป็นต้น) มีความแตกต่างกัน ณ บริเวณรอบๆเอนไซม์กับสารละลายของปฏิกิริยาทั้งหมด ผลกระทบจากอิทธิพลดังกล่าว จะส่งผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมที่สุดในการทำงานและแอคติวิตีของเอนไซม์ตรึงมีค่าแตกต่างไปจากเอนไซม์อิสระ

3.6.2 อุณหภูมิ

แอคติวิตีของเอนไซม์จะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิในลักษณะเดียวกับการเร่งปฏิกิริยาเคมี เนื่องจากการกระตุ้นของเอนไซม์ในปฏิกิริยาจะขึ้นกับอุณหภูมิ ตามความสัมพันธ์ของสมการอาร์รีเนียส (Arrhenius equation)

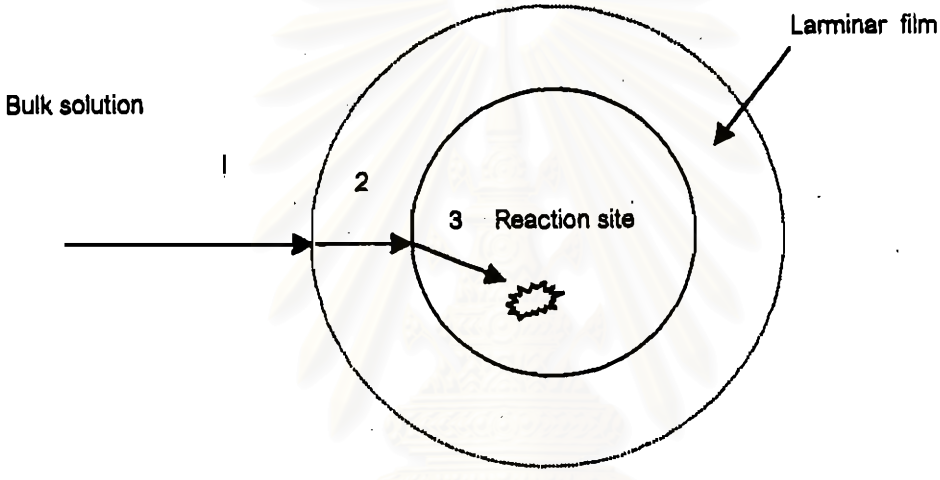
$$K(T) = A_0 e^{-E/RT} \qquad (3.13)$$

ปฏิกิริยาเคมีส่วนใหญ่จะให้อัตราการเกิดปฏิกิริยาสูงขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น การเพิ่มอุณหภูมิจะช่วยเพิ่มพลังงานจลน์ที่โมเลกุลของสับเสตรท ซึ่งจะทำให้เกิดการชนกันได้มากขึ้นต่อหน่วยเวลา เอนไซม์ตรึงจะมีอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการทำงาน (optimum temperature) ถ้าใช้อุณหภูมิที่สูงกว่าอุณหภูมินี้แอคติวิตีจะลดลง เนื่องจากเอนไซม์เป็นสารประกอบเชิงซ้อนของโปรตีน และแอคติวิตีในการเร่งปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นเนื่องจากโครงสร้างในระดับตติยภูมิ (tertiary structure) เรียงตัวอย่างมีระเบียบในทิศทางที่จะต้องจับกับสับเสตรทที่บริเวณจับและบริเวณเร่งของตัวเร่งปฏิกิริยา โครงสร้างระดับตติยภูมินี้มีพันธะที่มีแรงดึงดูดที่ค่อนข้างอ่อน การเพิ่มอุณหภูมิมากจนเกินไปจะทำให้ โครงสร้างตติยภูมิจะเสียหาย มีผลให้เอนไซม์สูญเสียสภาพทางธรรมชาติ และสูญเสียความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาไป

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.7 ผลกระทบของการถ่ายเทมวลสาร

เมื่อทำการตรึงรูปเอนไซม์บนตัวพยุง การเคลื่อนที่ของสับเสตรทเพื่อเข้าทำปฏิกิริยากับเอนไซม์จะต้องผ่านชั้นความต้านทานจากการถ่ายเทมวลสาร (mass transfer resistance) ซึ่งความต้านทานนี้จะไม่เกิดขึ้นในเอนไซม์อิสระ การเคลื่อนที่ของสับเสตรทเพื่อที่เข้าทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ตรึงรูป สามารถแบ่งได้ออกเป็น 3 ขั้นตอน (James M. Lee ,(1992)) ดังรูปที่ 3. 3



รูปที่ 3.3 เส้นทางการเคลื่อนที่ของสับเสตรทเพื่อเข้าทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ตรึงรูป

1. สับเสตรทจะเคลื่อนที่จากสารละลาย ภายนอก (bulk solution) ไปยังผิวของตัวพยุง

2. สับเสตรทจะแพร่ผ่านเข้าไปยังชั้นฟิล์มบางๆที่อยู่นิ่ง (laminar film) ที่ผิวของตัวพยุง

3.สับเสตรทจะแพร่ผ่านเข้าไปในรูพรุนของตัวพยุงเพื่อเข้าทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ในตัวพยุง

ในการเคลื่อนที่ของสับเสตรทเพื่อเข้าไปทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ตรึงรูปนั้นจะมีชั้นความต้านทานการเคลื่อนที่เกิดขึ้น เรียกแรงต้านทานการเคลื่อนที่นี้ว่า ความต้านทานการถ่ายเทมวลสาร(mass transfer resistance) ซึ่งสามารถแบ่งได้ออกเป็น 2 แบบ

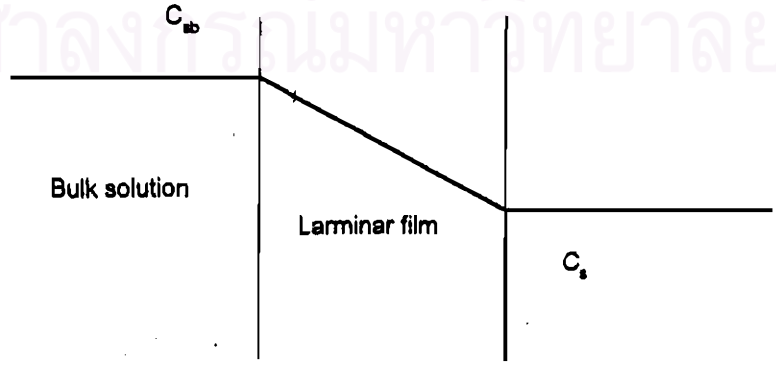
1 ความต้านทานการถ่ายเทมวลสารภายนอก (external mass transfer resistance) ซึ่งเป็นผลมาจากสับเสตรทแพร่ผ่านชั้นฟิล์มที่ผิวตัวพยุง และเข้าทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ที่ผิวของตัวพยุง

2 ความต้านทานการถ่ายเทมวลสารภายใน (internal mass transfer resistance) ซึ่งเป็นผลมาจากการที่สับเสตรทเคลื่อนที่เข้าไปรูพรุนของตัวพยุง และเข้าทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ภายในรูพรุน

ในงานวิจัยนี้จะศึกษาเฉพาะความต้านทานการถ่ายเทมวลสารภายนอกเท่านั้น เนื่องจากเมื่อนำเอนไซม์ตรึงรูปไปทำการ Scanning Electron Microscope (SEM) จะเห็นได้ว่าขนาดโมเลกุลของเอนไซม์จะมีขนาดใหญ่กว่าขนาดรูพรุนมาก แสดงได้ดังภาคผนวก.ค เอนไซม์จะถูกตรึงอยู่ที่เฉพาะบนผิวของตัวพยุงเท่านั้น

3.7.1 ความต้านทานการถ่ายเทมวลสารภายนอก

เมื่อสับเสตรทเข้าทำปฏิกิริยาเฉพาะที่ผิวของตัวพยุง จะเกิดความต้านทานการถ่ายเทมวลสารภายนอกขึ้น โดยอัตราการถ่ายเทมวลสารขึ้นอยู่กับผลต่างความเข้มข้นของสับเสตรท แสดงดังสมการที่ 3.14



รูปที่ 3.4 แสดงการถ่ายเทมวลสารภายนอก

$$N_s = k_c a(C_{sb}-C_s) \quad (3.14)$$

ในการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ตรึงรูปที่สภาวะคงที่ (steady state) อัตราการเกิดปฏิกิริยาเท่ากับอัตราการถ่ายเทมวล แสดงดังสมการที่ 3.15

$$V_p = k_c a(C_{sb}- C_s) = \frac{V_{max}C_s}{K_m+ C_s} \quad (3.15)$$

สมการนี้แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสับเสตรทที่สารละลายภายนอก และ ความเข้มข้นที่ผิวของเอนไซม์ตรึงรูป จากสมการที่ 3.15 สามารถเขียนให้อยู่ในรูปตัวแปรไร้หน่วย (dimensionless form) เมื่อ

$$C_s' = \frac{C_s}{C_{sb}} \quad (3.16)$$

$$N_{Da} = \frac{V_{max}}{k_c aCsb} \quad (3.17)$$

$$\beta = \frac{C_{sb}}{K_m} \quad (3.18)$$

สมการที่ 3.15 สามารถเขียนให้อยู่ในรูปตัวแปรไร้หน่วย

$$\frac{1-C_s'}{N_{Da}} = \frac{\beta C_s'}{1+\beta C_s'} \quad (3.19)$$

ค่า N_{Da} คือค่า Damkohler number ซึ่งเป็นค่าที่แสดงถึงอัตราส่วนระหว่างอัตราการเกิดปฏิกิริยาสูงสุดต่ออัตราการถ่ายเทมวลสูงสุด

ถ้า $N_{Da} << 1$ แสดงว่าอัตราการถ่ายเทมวลมีค่ามากกว่าอัตราการเกิดปฏิกิริยา ซึ่งแสดงว่าอัตราการเกิดปฏิกิริยาเป็นค่าที่ควบคุมปฏิกิริยาดังสมการที่ 3.20

$$V_p = \frac{V_{max}C_s}{K_m + C_s} \qquad (3.20)$$

ถ้า $N_{Da} >> 1$ แสดงได้ว่าอัตราการเกิดปฏิกิริยามีค่ามากกว่าอัตราการถ่ายเทมวลซึ่งแสดงว่าอัตราการถ่ายเทมวลเป็นค่าที่ควบคุมปฏิกิริยาดังสมการที่ 3.21

$$V_p = k_c a C_{sb} \qquad (3.21)$$

การที่อัตราการเกิดปฏิกิริยามีค่าต่ำเป็นเพราะค่าความต้านทานของการถ่ายเทมวล เราสามารถอธิบายปรากฏการณ์ดังกล่าวด้วยค่า effectiveness factor η สามารถนิยามได้เป็น

$$\eta = \frac{\text{อัตราการเกิดปฏิกิริยาที่แท้จริง}}{\text{อัตราการเกิดปฏิกิริยาที่ไม่มีข้อจำกัดการถ่ายเทมวลสาร}} \qquad (3.22)$$

และเมื่อกำหนดให้เอนไซม์ทุกๆโมเลกุลอยู่ในสารละลายสับเสตรทที่มีความ เข้มข้นเท่ากับสารละลายสับเสตรทที่มีความเข้มข้นเท่ากับสารละลายภายนอกจะได้ความสัมพันธ์ดังสมการที่ 3.23

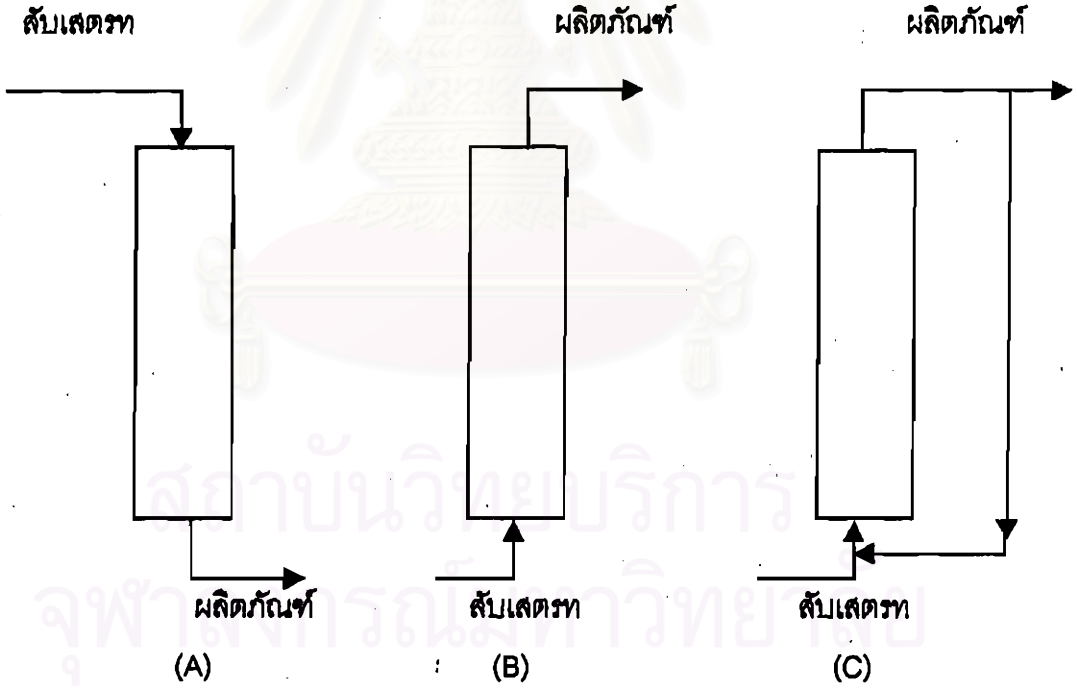
$$\eta = \frac{\dfrac{V_{max}C_s}{K_m + C_s}}{\dfrac{V_{max}C_{sb}}{K_m + C_{sb}}} = \frac{\dfrac{\beta C_s'}{1+\beta C_s'}}{\dfrac{\beta}{1+\beta}} \qquad (3.23)$$

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ซึ่งค่า η เป็นฟังก์ชันของ C_s' และ β ถ้า C_s' เท่ากับ 1 ความเข้มข้นของสับเสตรทที่ผิวของตัวพยุงจะเท่ากับความเข้มข้นของสับเสตรทภายนอก เมื่อแทน C_s' เท่ากับ 1 ในสมการที่ 3.22 จะได้ค่า η เท่ากับ 1 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าไม่มีข้อจำกัดการถ่ายเทมวลสาร แต่เมื่อ C_s' มีค่าเข้าใกล้ศูนย์ ค่า η ก็จะเข้าใกล้ศูนย์ด้วย ซึ่งแสดงว่าอัตราการถ่ายเทมวลช้ากว่าอัตราการเกิดปฏิกิริยามาก

3.8 เครื่องปฏิกรณ์แบบแพคเบด (Packed bed reactor))

เครื่องปฏิกรณ์แบบแพคเบดนับเป็นเครื่องปฏิกรณ์ที่ใช้กับเอนไซม์ตรึงรูปอย่างกว้างขวางที่สุด ความเร็วของการไหลของสารละลายสับเสตรทมีผลต่ออัตราเร็วของปฏิกิริยาด้วย ถ้าพิจารณาทิศทางการไหลของสับเสตรทมี 3 แบบ



รูปที่ 3.5 เครื่องปฏิกรณ์แบบแพคเบดสำหรับเอนไซม์ตรึงรูป

3.7.1 วิธีการไหลจากระดับสูงไปต่ำ (downward flow method) ตามรูปที่ 3.5 A

3.7.2 วิธีการไหลจากระดับต่ำไปสูง (upward flow method) ตามรูปที่ 3.5 B

3.7.3 วิธีการไหลซ้ำรอบ (recycling method) ตามรูปที่ 3.5 C

สำหรับในกรณีการประยุกต์ใช้งานในอุตสาหกรรม ทิศทางการไหลสารละลายสับเสตรท เป็นสิ่งสำคัญ วิธีการไหลจากกระดับต่ำไปสูงจะเป็นวิธีที่เหมาะกับการใช้งานในอุตสาหกรรม ทั้งนี้ เพราะวิธีการไหลจากกระดับสูงไปต่ำมักจะก่อให้เกิดกรณีการอัดแน่นของตัวพยุงในคอลัมน์ นอกจากนี้เมื่อปฏิกิริยาที่มีแก๊สเกิดขึ้น วิธีการไหลจากระดับต่ำไปสูงจะเหมาะสมกว่าด้วย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย