การกักเก็บเอนไซม์โปรติเอสด้วยการอบแห้งแบบพ่นฝอยสำหรับผงซักฟอก

นางสาวอภิสรา ศรีสายหยุด

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี ภาควิชาวิศวกรรมเคมี

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2556

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)

เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)

are the thesis authors' files submitted through the Graduate School.

ENCAPSULATION OF PROTEASE BY SPRAY DRYING FOR LAUNDRY DETERGENT

Miss Apisara Srisaiyud

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Engineering Program in Chemical Engineering

Department of Chemical Engineering

Faculty of Engineering

Chulalongkorn University

Academic Year 2013

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การกักเก็บเอนไซม์โปรติเอสด้วยการอบแห้งแบบพ่นฝอยสำหรับผงซักฟอก
โดย	นางสาวอภิสรา ศรีสายหยุด
สาขาวิชา	วิศวกรรมเคมี
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อภินันท์ สุทธิธารธวัช

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีคณะวิศวกรรมศาสตร์
(ศาสตราจารย์ ดร.บัณฑิต เอื้ออาภรณ์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรงค์ ปวราจารย์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อภินันท์ สุทธิธารธวัช)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.ธวัชชัย ชรินพาณิชกุล)

.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(ดร. อุรชา รักษ์ตานนท์ชัย)

อภิสรา ศรีสายหยุด : การกักเก็บเอนไซม์โปรติเอสสด้วยการอบแห้งแบบพ่นฝอยสำหรับผงซักฟอก. (ENCAPSULATION OF PROTEASE BY SPRAY DRYING FOR LAUNDRY DETERGENT) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผศ.ดร.อภินันท์ สุทธิธารธวัช, 144 หน้า.

ในปัจจุบันเอนไซม์ถูกนำมาใช้กันมากขึ้นในหลายๆ อุตสาหกรรม เพื่อลดต้นทุนด้านพลังงานและสารเคมีสังเคราะห์ โดยอุตสาหกรรมผงซักฟอกก็เป็นอีกอุตสาหกรรมหนึ่งที่มีแนวคิดในการนำเอนไซม์มาประยุกต์ใช้ร่วมกับการทำความสะอาดเสื้อผ้า แต่เอนไซม์เป็นโปรตีนที่มีความเปราะบางและไวต่อการเสื่อมสภาพจากสภาวะแวดล้อม ซึ่งผงซักฟอกเองก็มีความเป็นด่างสูง อีกทั้งยังประกอบด้วยสารเคมีมากมายหลายชนิดที่อาจมีผลให้เอนไซม์เสื่อมสภาพลง ในหลายๆ งานวิจัยที่ผ่านมาได้นำเทคโนโลยีการกักเก็บสารมากักเก็บเอนไซม์เพื่อป้องกันเอนไซม์จากการถูกทำให้สูญเสียคุณสมบัติด้วยปัจจัยแวดล้อมภายนอกต่างๆ ในงานวิจัยนี้จึงได้ทดลองกักเก็บเอนไซม์โปรติเอสในสองรูปแบบ คือรูปแบบสารประกอบเชิงซ้อน และรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อน ด้วยกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอย ซึ่งมีแป้งดัดแปรเป็นวัสดุห่อหุ้ม น้ำมันไตรกลีเซอร์ไรด์ที่มีความยาวสายโซ่ขนาดกลางและสารลดแรงตึงผิวพลูโรนิคถูกใช้ในการเตรียมอิมัลชันเชิงซ้อน อุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอย, ปริมาณเอนไซม์ต่อปริมาณสารห่อหุ้ม และ ปริมาณของแข็งในสารสายป้อนรูปแบบสารละลาย ที่มีต่อแอคติวิตีของเอนไซม์ถูกศึกษาในเอนไซม์ผงรูปแบบสารประกอบเชิงซ้อน การควบคุมการปลดปล่อยเอนไซม์ถูกศึกษาในเอนไซม์ที่เตรียมจากอิมัลชันเชิงซ้อน โดยได้ศึกษาศึกษาอิทธิพลของปริมาณน้ำมันต่อเอนไซม์ และศึกษาอิทธิพลของขนาดของหยดน้ำมัน ที่มีต่อการควบคุมการปลดปล่อยเอนไซม์ นอกจากนี้ยังได้ศึกษาเสถียรภาพในการเก็บรักษาเอนไซม์ที่อุณหภูมิ 4, 25 และ 45 องศาเซลเซียสอีกด้วย ซึ่งจากผลการทดลองพบว่า อุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอยยิ่งสูงจะทำให้เอนไซม์ยิ่งสูญเสียแอคติวิตีในระหว่างกระบวนการกักเก็บ ในขณะที่การเพิ่มปริมาณเอนไซม์ต่อปริมาณสารห่อหุ้มช่วยลดการสูญเสียแอคติวิตีระหว่างกระบวนการกักเก็บได้ และการเพิ่มปริมาณของแข็งในระบบมีผลต่อการลดลงของแอคติวิตี เอนไซม์ผงที่ได้จากการเตรียมสารสายป้อนในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนสามารถช่วยควบคุมการปลดปล่อยของเอนไซม์ได้ โดยผงเอนไซม์ที่ใช้อัตราส่วนปริมาณน้ำมันต่อเอนไซม์มากที่สุด จะแสดงผลการควบคุมการปลดปล่อยได้ดีที่สุด นอกจากนี้การกักเก็บเอนไซม์ในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนยังช่วยรักษาเสถียรภาพในการเก็บรักษาผงเอนไซม์ได้มากกว่าการกักเก็บเอนไซม์ในรูปแบบสารประกอบเชิงซ้อนอีกด้วย

ภาควิชา.....วิศวกรรมเคมี.....ลายมือชื่อนิสิต.....

สาขาวิชา.....วิศวกรรมเคมี.....ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก.....

ปีการศึกษา.....2556.....

5470453921: MAJOR CHEMICAL ENGINEERING

KEYWORDS: ENCAPSULATION / PROTEASE / LAUNDRY DETERGENT / SPRY DRYING / MULTIPLE EMULSIONS / CONTROL RELEASE

APISARA SRISAIYUD: ENCAPSULATION OF PROTEASE BY SPRAY DRYING FOR LAUNDRY DETERGENT. ADVISOR: ASST. PROF. APINAN SOOTTITANTAWAT, D.Eng., 144 pp.

Nowadays, Enzymes are more active in various industries especially detergent industry. Nevertheless, enzymes are fragile and sensitive to environmental factors that can affect enzyme activity. Encapsulation technology can improve enzymes for an excellent stability and compatibility with a wide range of commercial solid detergent. In this study, two types of encapsulated protease, matrix and multiple emulsions (W/O/W), were prepared by spray drying. The HI-CAP100 was used as wall material of both types. MCT oil and Pluronic L-31 were used in the preparation of multiple emulsions. Effect of inlet air temperature of spray drying and initial enzyme content in feed solution on enzyme powder activity was studied. Then, solid content of feed stream also experimentally be examined. Weight ratio between oil : enzyme, oil droplet size were applied on the studying of the controlling release of multiple emulsion powder. Moreover, the storage stability test which studied at 4, 25 and 45°C was applied on both powder types. The results showed that high inlet air temperature affects protease activity degradation during spray drying. The use of high concentration of protease in feed result the final enzyme activity maximum but it affected the increasing of moisture content in the powder. Enzyme powder from multiple emulsion preparation can be used for controlling release. The highest weight ratio of oil : enzyme provide the best controlling release. The encapsulation of enzyme can protect the loss of enzyme activity in storage stability test.

Department: ……Chemical Engineering……Student's Signature……

Field of Study: ……Chemical Engineering……Advisor's Signature……

Academic Year: …2011……

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สามารถสำเร็จลุล่วงด้วยดี ตามวัตถุประสงค์ที่กำหนด เนื่องด้วยได้รับความช่วยเหลือจาก ผศ.ดร.อภินันท์ สุทธิธารธวัช อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้ให้ความกรุณาให้คำปรึกษาและวิเคราะห์งานวิจัย เพื่อแก้ไขปัญหาจนสำเร็จลุล่วงด้วยดี ตลอดจนเป็นผู้ที่ให้กำลังใจในการทำงานเสมอมา

ขอขอบคุณ ผศ.ดร.วรงค์ ปวราจารย์ ประธานกรรมการ รศ.ดร.ธวัชชัย ชรินพาณิชกุล และ ดร.อุรชา รักษ์ตานนท์ชัย กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ สำหรับความช่วยเหลือตั้งแต่การตรวจสอบโครงร่างวิทยานิพนธ์ ให้คำปรึกษาแนะนำ ตลอดจนแก้ไขเพิ่มเติมส่วนที่บกพร่องของงานวิจัยนี้

ขอขอบคุณ ดร.อลิสา วังใน และสมาชิกห้องวิจัยคณะวิทยาศาสตร์ ภาควิชาชีวเคมี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความช่วยเหลือในการทำวิจัย ให้คำปรึกษา ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้เครื่องมือ และให้กำลังใจการทำงานตลอดมา

ขอขอบคุณ คุณศรัญญา พันปี นักวิจัยศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ สำหรับความช่วยเหลือในงานวิจัยและความอนุเคราะห์ในการใช้เครื่องมือวิเคราะห์

ขอขอบคุณครัวครอบครัวที่คอยให้การสนับสนุน และเป็นกำลังใจให้มาตลอด ขอขอบคุณพี่ๆ เพื่อนๆ และสมาชิกทุกคนในศูนย์เชี่ยวชาญเทคโนโลยีอนุภาค ที่ให้ความช่วยเหลือในด้านข้อมูลในการทำวิจัยข้อคิดเห็นต่างๆ และกำลังใจที่มอบให้มาอย่างต่อเนื่อง และขอขอบคุณ คุณภูษณิศา ภัทรโชติเศวต ที่ให้ความช่วยเหลือในการดำเนินการด้านการเงินสำหรับจัดซื้ออุปกรณ์ และค่าใช้จ่ายในการทำงานวิจัย

และสุดท้าย ขอขอบคุณทุนอุดหนุนการศึกษาระดับบัณฑิตศึกษา คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่มอบทุนการศึกษาพร้อมค่าใช้จ่ายในการศึกษาและการทำวิจัยตลอดการเรียนในระดับปริญญาโท

จึงขอกล่าวนามและแสดงความขอบคุณไว้ ณ ที่นี้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญ ..... ช

สารบัญตาราง ..... ญ

สารบัญรูป ..... ณ

บทที่

1 บทนำ 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย 4

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย 5

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 6

2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 7

2.1 เอนไซม์โปรติเอสสำหรับอุตสาหกรรมผงซักฟอก 7

2.2 เทคโนโลยีการกักเก็บสาร 12

2.3 เทคนิคการอบแห้งแบบพ่นฝอย 20

2.4 อิมัลชัน 29

2.5 อิมัลชันเชิงซ้อน 32

2.6 สมการอธิบายการปลดปล่อยเอนไซม์ 34

3 วิธีการดำเนินงานวิจัย 36

3.1 การเตรียมสารสายป้อนของเอนไซม์โปรติเอสในรูปแบบสารละลาย และอิมัลชันเชิงซ้อน 36

3.1.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง 36

3.1.2 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง 37

3.1.3 วิธีการทดลอง 38

หน้า

3.2 การเตรียมผงเอนไซม์แห้งด้วยกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอย 40
3.2.1 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง 40
3.2.2 วิธีการทดลอง 41
3.3 วิธีวิเคราะห์ค่าแอคติวิตีและการทดสอบการควบคุมการปลดปล่อย
ของผงเอนไซม์โปรติเอส 41
3.3.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง 41
3.3.2 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง 42
3.3.3 วิธีการทดลอง 44
3.4 การทดสอบความเสถียรในสภาวะการเก็บรักษา 45
3.5 การวิเคราะห์ลักษณะเฉพาะของผงเอนไซม์โปรติเอส 46
3.5.1 วิเคราะห์ลักษณะโครงสร้างของอนุภาค 46
3.5.2 วิเคราะห์ขนาดอนุภาค 46
3.5.3 วิเคราะห์ความชื้นของอนุภาค 47
4 ผลการศึกษาและการวิเคราะห์ข้อมูล 49
4.1 การศึกษาอิทธิพลของการอบแห้งแบบพ่นฝอยจากการเตรียม
สารสายป้อนรูปแบบสารละลาย 49
4.1.1 อิทธิพลของอุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอย
ต่อค่าแอคติวิตีคงเหลือและความชื้นของผงแห้ง 49
4.1.2 อิทธิพลของอัตราส่วนของปริมาณเอนไซม์ต่อวัสดุห่อหุ้ม
ในสารสายป้อนต่อค่าแอคติวิตีคงเหลือของเอนไซม์ 54
4.1.3 อิทธิพลของปริมาณของแข็งในสารสายป้อนต่อค่าแอคติวิตีคงเหลือ 58
4.1.4 ผลของอุณหภูมิในการเก็บรักษาที่มีต่อแอคติวิตีของผงเอนไซม์แห้ง 61
4.2 การศึกษาอิทธิพลของการอบแห้งแบบพ่นฝอยจากการเตรียมสารสายป้อน
รูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อน 72
4.2.1 อิทธิพลของอุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอย
ต่อค่าแอคติวิตีคงเหลือของเอนไซม์ 75

หน้า

4.2.2 อิทธิพลของอัตราส่วนของปริมาณน้ำมันต่อเอนไซม์ที่มีต่อค่าแอคติวิตีคงเหลือของเอนไซม์ 79
4.2.3 อิทธิพลของขนาดของอิมัลชันน้ำมันในน้ำที่มีต่อค่าแอคติวิตีคงเหลือของเอนไซม์ 81
4.2.4 ผลของอุณหภูมิในการเก็บรักษาที่มีต่อแอคติวิตีของผงเอนไซม์แห้ง 83
4.3 การศึกษาการควบคุมการปลดปล่อยของผงเอนไซม์ที่ได้จากการอบแห้งแบบพ่นฝอยสารสายป้อนรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อน 95
4.3.1 อิทธิพลของการเตรียมสารสายป้อนในรูปแบบสารละลายและรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนต่อการควบคุมการปลดปล่อยเอนไซม์ 95
4.3.2 อิทธิพลของอัตราส่วนของปริมาณน้ำมันต่อเอนไซม์ต่อการควบคุมการปลดปล่อยเอนไซม์ 101
4.3.3 อิทธิพลของขนาดของอิมัลชันน้ำมันในน้ำต่อการควบคุมการปลดปล่อยเอนไซม์ 105
4.4 การศึกษาและเปรียบเทียบผลการกักเก็บเอนไซม์ทางการค้าและเอนไซม์ที่ผลิตได้จากห้องวิจัยคณะวิทยาศาสตร์ 107
4.4.1 อิทธิพลของกระบวนการกักเก็บที่มีต่อเอนไซม์จากห้องวิจัยคณะวิทยาศาสตร์ 107
4.4.2 อิทธิพลของอุณหภูมิในการเก็บรักษาที่มีต่อเอนไซม์จากห้องวิจัยคณะวิทยาศาสตร์ 110
5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 116
5.1 สรุปผลการวิจัย 116
5.2 ข้อเสนอแนะ 117
รายการอ้างอิง 119
ภาคผนวก 124
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ 144

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 ค่า HLB ของตัวกระทำอิมัลชันชนิดไม่มีขั้วที่ใช้ในเชิงการค้าบางชนิด 31

2.2 แสดงโมเดลสมการที่ใช้ในการศึกษาลักษณะของการปลดปล่อย 34

4.1 แสดงค่าของอุณหภูมิของอากาศขาออกในการอบแห้งแบบพ่นฝอย
และค่าความชื้นของผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ได้จากการอบแห้ง
สารสายป้อนในรูปแบบสารละลายที่อุณหภูมิของอากาศขาเข้า
ในการอบแห้งแบบพ่นฝอยค่าต่างๆ 50

4.2 แสดงค่าแอคติวิตีคงเหลือหลังผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยของผงแห้ง
ของเอนไซม์โปรติเอสที่ได้จากการอบแห้งสารสายป้อนในรูปแบบสารละลาย
ที่อุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอยค่าต่างๆ 51

4.3 แสดงค่าแอคติวิตีของผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ได้จากการอบแห้ง
สารสายป้อนในรูปแบบสารละลายที่อัตราส่วนปริมาณเอนไซม์ต่อ
แป้งดัดแปรค่าต่างๆ เมื่ออุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอย
110 องศาเซลเซียส 56

4.4 แสดงค่าแอคติวิตีของผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ได้จากการอบแห้ง
สารสายป้อนในรูปแบบสารละลายที่อัตราส่วนปริมาณเอนไซม์ต่อ
แป้งดัดแปรค่าต่างๆ เมื่ออุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอย
190 องศาเซลเซียส 57

4.5 แสดงค่าแอคติวิตีของผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ได้จากการอบแห้ง
สารสายป้อนในรูปแบบสารละลายที่ปริมาณของแข็งในสารสายป้อนค่าต่างๆ
เมื่ออุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอย 110 องศาเซลเซียส 60

4.6 แสดงค่าแอคติวิตีของผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ได้จากการอบแห้ง
สารสายป้อนในรูปแบบสารละลายที่ปริมาณของแข็งในสารสายป้อนค่าต่างๆ
เมื่ออุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอย 190 องศาเซลเซียส 60

ตารางที่ หน้า

4.7 แสดงค่ายูนิตแอคติวิตีของเอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการกักเก็บ
ในรูปแบบสารละลายที่ถูกจัดเก็บในสภาวะอุณหภูมิต่างๆ..... 64
4.8 แสดงค่ายูนิตแอคติวิตีต่อกรัมของแข็งของเอนไซม์โปรติเอส
ที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบสารละลายที่ถูกจัดเก็บ
ในสภาวะอุณหภูมิต่างๆ..... 65
4.9 แสดงค่าแอคติวิตีคงเหลือของเอนไซม์โปรติเอสที่ได้จากการเตรียมสารสายป้อน
ในรูปแบบอิมัลชันที่อัตราส่วนของปริมาณน้ำมันต่อเอนไซม์ค่าต่างๆ..... 75
4.10 แสดงค่าแอคติวิตีคงเหลือหลังผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอย
ของผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ได้จากการอบแห้งสารสายป้อน
ในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อน ที่อุณหภูมิของอากาศขาเข้า
ในการอบแห้งแบบพ่นฝอย 110 และ 190 องศาเซลเซียส 76
4.11 แสดงค่าแอคติวิตีคงเหลือหลังผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยของผงแห้ง
ของเอนไซม์โปรติเอสรูปแบบสารประกอบเชิงซ้อนและรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อน
ที่อุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอย 190 องศาเซลเซียส..... 78
4.12 แสดงค่าแอคติวิตีคงเหลือหลังผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยของผงแห้ง
ของเอนไซม์โปรติเอสที่ได้จากการอบแห้งสารสายป้อนในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อน
ในอัตราส่วนของปริมาณชั้นน้ำมันต่อเอนไซม์ค่าต่างๆ ที่อุณหภูมิของอากาศขาเข้า
ในการอบแห้งแบบพ่นฝอย 100 และ 190 องศาเซลเซียส 79
4.13 แสดงค่าอุณหภูมิของอากาศขาออกในกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอย,
ระยะเวลาในการคงตัวของอิมัลชันเอนไซม์ในน้ำมัน และค่าแอคติวิตีคงเหลือ
ของผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ได้จากการอบแห้งสารสายป้อน
ในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนในอัตราส่วนของปริมาณชั้นน้ำมันต่อเอนไซม์ค่าต่างๆ
ที่อุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอย 190 องศาเซลเซียส..... 80
4.14 แสดงขนาดของหยดน้ำมันในอิมัลชันที่ได้จากการเตรียมด้วยเครื่องโฮโมจิไนเซอร์
ความเร็วรอบและระยะเวลาในการปั่นกวนต่างๆ 82

ตารางที่ หน้า

4.15 แสดงค่าแอคติวิตีคงเหลือหลังผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยของผงแห้ง ของเอนไซม์โปรติเอสที่ได้จากการอบแห้งสารสายป้อนในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อน ที่ขนาดของหยดน้ำมันค่าต่างๆ เมื่ออุณหภูมิของอากาศขาเข้า ในการอบแห้งแบบพ่นฝอย 100 และ 190 องศาเซลเซียส 82

4.16 แสดงค่ายูนิตแอคติวิตีของเอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการกักเก็บ ในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อน ที่ถูกจัดเก็บในสภาวะอุณหภูมิต่างๆ..... 85

4.17 แสดงค่ายูนิตแอคติวิตีต่อกรัมของแข็งของเอนไซม์โปรติเอส ที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อน ที่ถูกจัดเก็บในสภาวะอุณหภูมิต่างๆ..... 86

4.18 แสดงค่าแอคติวิตีคงเหลือหลังผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยของผงแห้ง ของเอนไซม์โปรติเอสที่ได้จากการเตรียมสารสายป้อนในรูปแบบสารละลาย และอิมัลชันเชิงซ้อนที่ถูกทดสอบการควบคุมการปลดปล่อยในสารละลายผงซักฟอก โดยเทียบกับผงเอนไซม์ที่ถูกทดสอบการควบคุมการปลดปล่อยในน้ำ ในอัตราส่วนของปริมาณน้ำมันต่อเอนไซม์ 90:10 เมื่ออุณหภูมิของอากาศขาเข้า ในการอบแห้งแบบพ่นฝอย 110 องศาเซลเซียส 98

4.19 แสดงค่าพารามิเตอร์ที่ใช้โมเดลสมการของ Avrami เพื่อจำลองกราฟแสดงการควบคุมการปลดปล่อยเอนไซม์..... 98

4.20 แสดงค่าพารามิเตอร์จากโมเดลสมการของ Avrami, First order และ Second Orderในการจำลองกราฟแสดงการควบคุมการปลดปล่อยเอนไซม์ 100

4.21 แสดงค่าพารามิเตอร์จากโมเดลสมการ First order ในการจำลอง กราฟแสดงการควบคุมการปลดปล่อยเอนไซม์ของผงเอนไซม์ รูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนที่ถูกเตรียมในอัตราส่วนของ ปริมาณน้ำมันต่อเอนไซม์ค่าต่างๆ..... 103

4.22 แสดงระยะเวลาในการคงตัวของอิมัลชันเอนไซม์ในน้ำมัน ที่อัตราส่วนน้ำมันต่อเอนไซม์ค่าต่างๆ..... 105

ตารางที่ หน้า

4.23 แสดงขนาดของหยดน้ำมันในอิมัลชันที่ได้จากการเตรียมด้วยเครื่องโฮโมจิไนเซอร์ ความเร็วรอบและระยะเวลาในการปั่นกวนต่างๆ 105
4.24 แสดงค่าพารามิเตอร์ที่ใช้โมเดลสมการของ Avrami เพื่อจำลอง กราฟแสดงการควบคุมการปลดปล่อยเอนไซม์ของผงเอนไซม์ รูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนที่ถูกเตรียมให้มีขนาดของหยดน้ำมันในอิมัลชันค่าต่างๆ 107
4.25 แสดงค่าแอคติวิตีของผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ผลิตได้มากจาก ห้องวิจัยคณะวิทยาศาสตร์ ก่อนและหลังผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอย ที่อุณหภูมิของอากาศขาเข้า 110 องศาเซลเซียส โดยเตรียมสารสายป้อน ในรูปแบบสารละลาย 108
4.26 แสดงการเปรียบเทียบค่าแอคติวิตีของผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสทางการค้า และเอนไซม์โปรติเอสที่ผลิตได้มากจากห้องวิจัยคณะวิทยาศาสตร์ หลังผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิของอากาศขาเข้า 110 องศาเซลเซียส โดยเตรียมสารสายป้อนในรูปแบบสารละลาย 108
4.27 แสดงการเปรียบเทียบค่าแอคติวิตีของเอนไซม์โปรติเอสดิบระหว่าง เอนไซม์โปรติเอสทางการค้าและเอนไซม์โปรติเอสที่ผลิตได้มากจาก ห้องวิจัยคณะวิทยาศาสตร์..... 109
4.28 แสดงค่ายูนิตแอคติวิตีของเอนไซม์โปรติเอสจากห้องวิจัยคณะวิทยาศาสตร์ ที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบสารละลายที่ถูกจัดเก็บในสภาวะอุณหภูมิต่างๆ..... 113
4.29 แสดงค่ายูนิตแอคติวิตีต่อกรัมของแข็งของเอนไซม์โปรติเอส จากห้องวิจัยคณะวิทยาศาสตร์ที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบสารละลาย ที่ถูกจัดเก็บในสภาวะอุณหภูมิต่างๆ..... 114
ก.1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์แอคติวิตีของเอนไซม์ผง ที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบสารละลาย สำหรับการศึกษาอิทธิพลของ อุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอยค่าต่างๆ 125
ก.2 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์แอคติวิตีของเอนไซม์ดิบ ที่ไม่ผ่านกระบวนการกักเก็บ สำหรับการศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิของอากาศ ขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอยค่าต่างๆ..... 126

ตารางที่ หน้า

ก.3 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์แอคติวิตีของเอนไซม์สายป้อนสำหรับการอบแห้งแบบพ่นฝอยของเอนไซม์ผง ณ อุณหภูมิของอากาศขาเข้า 110°C ที่อัตราส่วนปริมาณเอนไซม์ต่อปริมาณของแข็งในสารสายป้อนค่าต่างๆ 127

ก.4 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์แอคติวิตีของเอนไซม์ผงที่ผ่านกระบวนการกักเก็บด้วยการอบแห้งแบบพ่นฝอย ณ อุณหภูมิของอากาศขาเข้า 110°C ที่อัตราส่วนปริมาณเอนไซม์ต่อปริมาณของแข็งในสารสายป้อนค่าต่างๆ 128

ก.5 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์แอคติวิตีของเอนไซม์สายป้อนสำหรับการอบแห้งแบบพ่นฝอยของเอนไซม์ผง ณ อุณหภูมิของอากาศขาเข้า 190°C ที่อัตราส่วนปริมาณเอนไซม์ต่อปริมาณของแข็งในสารสายป้อนค่าต่างๆ 129

ก.6 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์แอคติวิตีของเอนไซม์ผงที่ผ่านกระบวนการกักเก็บด้วยการอบแห้งแบบพ่นฝอย ณ อุณหภูมิของอากาศขาเข้า 190°C ที่อัตราส่วนปริมาณเอนไซม์ต่อปริมาณของแข็งในสารสายป้อนค่าต่างๆ 130

ก.7 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์แอคติวิตีของเอนไซม์ผงที่ผ่านกระบวนการกักเก็บด้วยการอบแห้งแบบพ่นฝอย ณ อุณหภูมิของอากาศขาเข้า 110°C ที่ปริมาณของแข็งในสารสายป้อนค่าต่างๆ 131

ก.8 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์แอคติวิตีของเอนไซม์ผงที่ผ่านกระบวนการกักเก็บด้วยการอบแห้งแบบพ่นฝอย ณ อุณหภูมิของอากาศขาเข้า 190°C ที่ปริมาณของแข็งในสารสายป้อนค่าต่างๆ 132

ก.9 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์แอคติวิตีของเอนไซม์อิมัลชันก่อนและหลังปั่นกวนด้วยโฮโมจิไนเซอร์ ความเร็วรอบ 15,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ที่อัตราส่วนปริมาณชั้นน้ำมันต่อเอนไซม์ในสารละลายอิมัลชันค่าต่างๆ 133

ก.10 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์แอคติวิตีของเอนไซม์ในสารละลายสายป้อนรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อน สำหรับทำเอนไซม์ผงที่ผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยที่ 110 องศาเซลเซียส ที่อัตราส่วนปริมาณชั้นน้ำมันต่อเอนไซม์ในสารละลายอิมัลชันค่าต่างๆ ในแต่ละช่วงเวลาการเกิดปฏิกิริยา 134

ตารางที่ หน้า

ก.11 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์แอคติวิตีของเอนไซม์ผง รูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อน ที่ผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยที่ 110 องศาเซลเซียส ที่อัตราส่วนปริมาณชั้นน้ำมันต่อเอนไซม์ในสารละลายอิมัลชันค่าต่างๆ ในแต่ละช่วงเวลาการเกิดปฏิกิริยา 136

ก.12 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์แอคติวิตีของเอนไซม์ ในสารละลายสายป้อนรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อน สำหรับทำเอนไซม์ผงที่ ผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยที่ 190 องศาเซลเซียส ที่อัตราส่วน ปริมาณชั้นน้ำมันต่อเอนไซม์ในสารละลายอิมัลชันค่าต่างๆ ในแต่ละช่วงเวลาการเกิดปฏิกิริยา 138

ก.13 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์แอคติวิตีของเอนไซม์ผง รูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อน ที่ผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยที่ 190 องศาเซลเซียส ที่อัตราส่วนปริมาณชั้นน้ำมันต่อเอนไซม์ในสารละลาย อิมัลชันค่าต่างๆ ในแต่ละช่วงเวลาการเกิดปฏิกิริยา 140

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
2.1	แสดงกลไกการทำงานของเอนไซม์โปรติเอส	7
2.2	แสดงการจำแนกประเภทของเอนไซม์โปรติเอส	8
2.3	แสดงโครงสร้างของไมโครแคปซูล	12
2.4	แสดงโครงสร้างของไมโครแคปซูลชนิดต่าง ๆ	13
2.5	แสดงการเกิดมอลโตเดกซ์ตรินด้วยเอนไซม์	17
2.6	แสดงปฏิกิริยาการเกิดแป้งดัดแปรโดยการเติมหมู่ออคเทนิลซัคซินิคแอนไฮไดร์ด	18
2.7	แสดงโครงสร้างของแป้งดัดแปร HI-CAP 100	19
2.8	แสดงการกักเก็บสารโดยใช้เทคนิคการอบแห้งแบบพ่นฝอย	20
2.9	แสดงหลักการทำงานของเครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอย	21
2.10	หัวฉีดแบบหมุน	22
2.11	หัวฉีดแบบแรงดัน	23
2.12	หัวฉีดแบบสองของไหล	23
2.13	แสดงทิศทางการไหลของของเหลวและอากาศร้อน	25
2.14	การจัดเรียงตัวของตัวกระทำอิมัลชันแบบต่าง ๆ	30
3.1	เครื่องโฮโมจิไนเซอร์	37
3.2	เครื่องปั่นกวน	38
3.3	เครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอย	40
3.4	เครื่องวัดการดูดกลืนแสง	42
3.5	ตู้อบ	43
3.6	เครื่องเหวี่ยงตกตะกอน	44
3.7	เครื่องวิเคราะห์ขนาดและการกระจายตัวของอนุภาค	47
3.8	เครื่องวิเคราะห์ความชื้นของอนุภาค	48
4.1	แสดงร้อยละของค่าแอคติวิตีคงเหลือของผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอส ที่อุณหภูมิของอากาศขาเข้าในกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยค่าต่างๆ	53

รูปที่ หน้า

4.2 แสดงร้อยละของค่าแอคติวิตีคงเหลือหลังผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอย ของผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่อัตราส่วนปริมาณเอนไซม์ต่อวัสดุห่อหุ้มค่าต่างๆ..... 55

4.3 แสดงร้อยละของค่าแอคติวิตีคงเหลือหลังผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอย ของผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ปริมาณของของแข็งในสารสายป้อนค่าต่างๆ 59

4.4 แสดงร้อยละของค่าแอคติวิตีคงเหลือของเอนไซม์โปรติเอส ที่ไม่ผ่านกระบวนการกักเก็บในสภาวะอุณหภูมิค่าต่างๆ..... 62

4.5 แสดงร้อยละของค่าแอคติวิตีคงเหลือหลังผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอย ของผงเอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบสารละลาย ถูกจัดเก็บเพียงอย่างเดียวและถูกจัดเก็บร่วมกับผงซักฟอกอัตราส่วนโดยน้ำหนัก 1:1 ในสภาวะอุณหภูมิค่าต่างๆ..... 63

4.6 แสดงลักษณะของผงแห้งที่เกี่ยวข้องกับการทดสอบความเสถียรในการเก็บรักษา ก่อนทำการทดสอบ 66

4.7 แสดงลักษณะของผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการกักเก็บ ในรูปแบบสารละลาย ที่ถูกจัดเก็บเพียงอย่างเดียวในสัปดาห์ที่ 5 ณ สภาวะอุณหภูมิต่างๆ 67

4.8 แสดงลักษณะของผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการกักเก็บ ในรูปแบบสารละลายที่ถูกจัดเก็บเพียงอย่างเดียว ณ สภาวะอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ในสัปดาห์ต่างๆ..... 68

4.9 แสดงลักษณะของผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการกักเก็บ ในรูปแบบสารละลายที่ถูกจัดเก็บร่วมกับผงซักฟอกอัตราส่วน 1:1 ในสัปดาห์ที่ 5 ณ สภาวะอุณหภูมิต่างๆ 69

4.10 แสดงลักษณะของผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการกักเก็บ ในรูปแบบสารละลายที่ถูกจัดเก็บร่วมกับผงซักฟอกอัตราส่วน 1:1 ณ สภาวะอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ในสัปดาห์ต่างๆ..... 70

4.11 แสดงผลการทดสอบผลของสารลดแรงตึงผิวต่อการตกตะกอนของเอนไซม์ 74

รูปที่ หน้า

4.12 แสดงลักษณะทางกายภาพของผงเอนไซม์แห้งที่ผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อน 77

4.13 แสดงร้อยละของค่าแอคติวิตีคงเหลือหลังผ่านการทดสอบความเสถียรในการเก็บรักษาของผงเอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อน ที่ถูกจัดเก็บเพียงอย่างเดียวและถูกจัดเก็บร่วมกับผงซักฟอกอัตราส่วนโดยน้ำหนัก 1:1 ในสภาวะอุณหภูมิค่าต่างๆ 84

4.14 แสดงลักษณะของผงแห้งที่เกี่ยวข้องกับการทดสอบความเสถียรในการเก็บรักษาก่อนทำการทดสอบ 87

4.15 แสดงลักษณะของผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อน ที่ถูกจัดเก็บเพียงอย่างเดียวในสัปดาห์ที่ 5 ณ สภาวะอุณหภูมิต่างๆ 88

4.16 แสดงลักษณะของผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนที่ถูกจัดเก็บเพียงอย่างเดียว ณ สภาวะอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ในสัปดาห์ต่างๆ 89

4.17 แสดงลักษณะของผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อน ที่ถูกจัดเก็บเพียงร่วมกับผงซักฟอกอัตราส่วน 1:1 ในสัปดาห์ที่ 5 ณ สภาวะอุณหภูมิต่างๆ 90

4.18 แสดงลักษณะของผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบอิมัลชันที่ถูกจัดเก็บร่วมกับผงซักฟอกอัตราส่วน 1:1 ณ สภาวะอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ในสัปดาห์ต่างๆ 91

4.19 แสดงร้อยละของค่าแอคติวิตีคงเหลือหลังผ่านการทดสอบความเสถียรในการเก็บรักษาของผงเอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบสารละลายและรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อน ที่ถูกจัดเก็บเพียงอย่างเดียวในสภาวะอุณหภูมิค่าต่างๆ 93

รูปที่ หน้า

4.20 แสดงร้อยละของค่าแอคติวิตีคงเหลือหลังผ่านการทดสอบความเสถียร ในการเก็บรักษาของผงเอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการกักเก็บ ในรูปแบบสารละลายและรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อน ที่ถูกจัดเก็บร่วมกับผงซักฟอก ในสภาวะอุณหภูมิค่าต่างๆ 94

4.21 แสดงสัดส่วนโดยน้ำหนักของความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ที่เวลาใดๆ ต่อความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ระยะเวลาการเกิดปฏิกิริยาค่าต่างๆ 97

4.22 แสดงสัดส่วนโดยน้ำหนักของความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ที่เวลาใดๆ ต่อความเข้มข้น ของผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ระยะเวลาการเกิดปฏิกิริยาค่าต่างๆ ของเอนไซม์ผง ที่ได้จากกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิของอากาศขาเข้า 110 องศาเซลเซียส จากการเตรียมอิมัลชันที่มีสัดส่วนของเอนไซม์ต่อน้ำมันค่าต่างๆ..... 102

4.23 แสดงผลของปริมาณชั้นน้ำมันในผงเอนไซม์ที่มีต่อแนวโน้มของค่าพารามิเตอร์ k จากโมเดลสมการ First order 104

4.24 แสดงสัดส่วนโดยน้ำหนักของความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ที่เวลาใดๆ ต่อความเข้มข้น ของผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ระยะเวลาการเกิดปฏิกิริยาค่าต่างๆ ของเอนไซม์ผง ที่ได้จากกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยเมื่ออุณหภูมิของอากาศขาเข้า 110 องศาเซลเซียส จากการเตรียมอิมัลชันเอนไซม์ในน้ำมัน ที่ขนาดหยดน้ำมันค่าต่างๆ 106

4.25 แสดงร้อยละของค่าแอคติวิตีคงเหลือหลังผ่านการทดสอบความเสถียร ในการเก็บรักษาของเอนไซม์โปรติเอสจากห้องวิจัยคณะวิทยาศาสตร์ ที่ไม่ผ่านกระบวนการกักเก็บในสภาวะอุณหภูมิค่าต่างๆ..... 111

4.26 แสดงร้อยละของค่าแอคติวิตีคงเหลือหลังผ่านการทดสอบความเสถียร ในการเก็บรักษาของผงเอนไซม์โปรติเอสจากห้องวิจัยคณะวิทยาศาสตร์ ที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบสารละลายถูกจัดเก็บเพียงอย่างเดียว ในสภาวะอุณหภูมิค่าต่างๆ 112

ข.1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของไทโรซีน..... 142

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในปัจจุบันที่สภาวะการแข่งขันทางธุรกิจสูง สิ่งสำคัญอันเป็นที่ยอมรับซึ่งจะทำให้การขยายตัวทางธุรกิจประสบความสำเร็จ นั่นคือการวางแผนทางการตลาดที่ดี แต่ในขณะเดียวกันผู้ประกอบการจะต้องไม่ละเลยที่จะพัฒนาผลิตภัณฑ์และกระบวนการผลิต โดยใช้องค์ความรู้ต่างๆ เพื่อเพิ่มมูลค่าให้กับธุรกิจและเกิดประโยชน์สูงสุดต่อผู้บริโภค ด้วยเหตุผลดังกล่าวทำให้หลายๆ อุตสาหกรรมได้มีการนำเอาสารชีวภาพ (Biological) มาใช้กันมากขึ้น เพื่อลดต้นทุนด้านพลังงานและสารเคมีสังเคราะห์ (Chemical) ที่มีราคาสูง ซึ่งบ่อยครั้งยังเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค อีกทั้งยังทำลายสิ่งแวดล้อมในทางอ้อมอีกด้วย โดยหนึ่งในสารชีวภาพที่มีการนำมาประยุกต์ใช้ร่วมกับหลายๆ อุตสาหกรรมอย่างแพร่หลาย คือ เอนไซม์ (Enzyme)

เอนไซม์คือสารชีวภาพประเภทโปรตีน พบได้ในสิ่งมีชีวิตทุกชนิด ตั้งแต่จุลินทรีย์ พืช สัตว์ รวมทั้งมนุษย์ โดยมีหน้าที่สำคัญคือเปลี่ยนแปลงสารเคมีและรักษาสมดุลในสิ่งมีชีวิต ยกตัวอย่างเช่น เอนไซม์โปรติเอส (Protease) ในกระเพาะอาหารทำหน้าที่ย่อยโปรตีน (Proteins) ให้กลายเป็นกรดอะมิโน (Amino acid) ซึ่งร่างกายสามารถดูดซึมไปใช้ได้ เป็นต้น แต่หน้าที่พิเศษของเอนไซม์ซึ่งแตกต่างจากโปรตีนหรือ มหชีวโมเลกุลทั่วไป คือ การเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (Biological catalyst) ได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงกว่าตัวเร่งปฏิกิริยาสังเคราะห์ (Chemical catalyst) หลายล้านเท่า ในปริมาณเอนไซม์เพียงเล็กน้อยเท่านั่น ซึ่งสามารถทำงานได้อย่างรวดเร็วและต่อเนื่องในสภาวะที่เหมาะสม โดยไม่มีการสูญเสียหรือเสียสภาพ และไม่ทำให้เกิดผลิตภัณฑ์อื่นอีกด้วย เพราะเหตุนี้จึงได้มีการนำเอนไซม์มาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมมากมาย อาทิ การแพทย์ ยา สารซักล้าง อาหาร และอาหารสัตว์ เป็นต้น

อุตสาหกรรมผงซักฟอก (Detergent) ก็เป็นอีกอุตสาหกรรมหนึ่งที่มีแนวคิดในการนำเอนไซม์มาประยุกต์ใช้ร่วมกับการทำความสะอาดเสื้อผ้า เพราะเอนไซม์มีความสามารถในการย่อยสลายสารชีวโมเลกุล ทั้ง คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน และเส้นใย เมื่อนำเอนไซม์ไปผสมรวมกับผงซักฟอกก็จะทำให้การทำความสะอาดมีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้น กล่าวคือ เอนไซม์จะทำหน้าที่ย่อยสลายสารชีวโมเลกุลขนาดใหญ่ที่ไม่ละลายน้ำให้กลายเป็นหน่วยย่อย (Monomer) ของสารชีวโมเลกุลนั้นซึ่งสามารถละลายน้ำได้ ยกตัวอย่างเช่น เอนไซม์โปรติเอสจะทำหน้าที่ย่อยสลายสารชีวโมเลกุลประเภทโปรตีน อาทิ คราบเลือด คราบนม ให้กลายเป็นกรดอะมิโน ซึ่งเป็นหน่วยที่เล็กที่สุดของโปรตีน ทำให้คราบโปรตีนดังกล่าวที่ติดอยู่บนเสื้อผ้าหลุดละลายน้ำออกมาได้ง่ายมากขึ้น ในทำนองเดียวกันกับเอนไซม์อะไมเลส (Amylase) และเอนไซม์ไลเปส (Lipase) ซึ่งสามารถย่อยสลายสารชีวโมเลกุลประเภทคาร์โบไฮเดรตและไขมันได้ตามลำดับ นอกจากนี้เอนไซม์ที่สามารถย่อยสารชีวโมเลกุลประเภทเส้นใยก็อาจจะช่วยให้ผงซักฟอกมีคุณสมบัติทำให้เส้นใยผ้านุ่มขึ้นอีกด้วย

การเติมเอนไซม์ผสมรวมไปกับผงซักฟอกคงไม่ใช่เรื่องที่ง่ายนัก เพราะเอนไซม์เป็นโปรตีนที่มีความเปราะบางและไวต่อการเสื่อมสภาพจากสภาวะแวดล้อม ทั้งความร้อน ความเป็นกรดด่าง แม้กระทั่งสารเคมีบางอย่างที่อาจมีคุณสมบัติยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้ ซึ่งผงซักฟอกเองก็มีความเป็นด่างสูง อีกทั้งยังประกอบด้วยสารเคมีมากมายหลายชนิดที่อาจมีผลให้เอนไซม์เสื่อมสภาพ โดยเฉพาะเอนไซม์โปรติเอสที่มีคุณสมบัติย่อยสลายสารชีวโมเลกุลประเภทโปรตีน ก็จะย่อยสลายตัวเอนไซม์เองด้วย (Autolysis) ทำให้กระบวนการผลิตผงซักฟอกที่มีส่วนผสมของเอนไซม์โปรติเอสนี้ต้องมีความซับซ้อนมากยิ่งขึ้น เพราะผู้ผลิตไม่สามารถผสมเอนไซม์ลงไปในผงซักฟอกได้โดยตรง ยิ่งไปกว่านั้นหากต้องการเพิ่มประสิทธิภาพให้กับผงซักฟอกด้วยการเติมเอนไซม์ผสมลงไปในผงซักฟอกมากกว่าหนึ่งชนิด เช่น การเติมเอนไซม์โปรติเอสและเอนไซม์ไลเปสผสมลงไปในผงซักฟอกเพื่อให้ผงซักฟอกมีคุณสมบัติย่อยสลายสารชีวโมเลกุลทั้งประเภทโปรตีนและไขมันไปพร้อมกัน ก็จะยิ่งทำให้กระบวนการผลิตมีความซับซ้อนมากยิ่งขึ้น เพราะนอกจากจะต้องคำนึงถึงการย่อยสลายเอนไซม์ด้วยกันเองแล้ว การควบคุมลำดับการปลดปล่อยเอนไซม์ให้ออกไปทำงานร่วมกับผงซักฟอก โดยไม่ให้เอนไซม์ไปขัดขวางการทำงานกันเอง ก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ต้องพิจารณาเพิ่มขึ้นอีก ซึ่งส่งผลให้ผงซักฟอกชีวภาพนั้นไม่ได้ประสิทธิภาพตามความต้องการ ความน่าสนใจของปัญหานี้จึงเป็นแรงบันดาลใจให้เกิดความสนใจที่จะค้นคว้าหาแนวทางในการแก้ไขปัญหาดังกล่าวขึ้น

จากงานวิจัยที่ได้ศึกษามาพบว่า มีเทคโนโลยีหนึ่งที่สามารถช่วยป้องกันเอนไซม์หรือสารสำคัญอื่นๆ จากการถูกทำให้สูญเสียคุณสมบัติด้วยปัจจัยแวดล้อมภายนอกต่างๆ โดยเทคโนโลยีดังกล่าวนี้คือเทคโนโลยีการกักเก็บสาร (Encapsulation Technology) เป็นกระบวนการที่สารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ที่สำคัญ (Core-material) ซึ่งอาจจะเป็นสารชนิดเดียวหรือสารผสมถูกกักเก็บไว้ภายในเปลือกหรือวัสดุห่อหุ้ม (Wall-material) โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อควบคุมการปลดปล่อยของสารที่อยู่ภายใน (Control release) และป้องกันการสูญเสียคุณสมบัติของสารจากการทำปฏิกิริยาโดยปัจจัยแวดล้อมภายนอก ทั้งอากาศ แสง อุณหภูมิ ความชื้น ความเป็นกรดด่าง เป็นต้น ซึ่งเทคโนโลยีการกักเก็บนี้สามารถทำได้หลากหลายรูปแบบในกระบวนการที่แตกต่างกันไป เช่น กระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอย (Spray drying), กระบวนการอบแห้งแบบเยือกแข็ง (Freeze drying), กระบวนการเคลือบโดยใช้เทคนิค ฟูลอิดไดส์เบด (Fluidized bed- coating), กระบวนการใช้ไลโปโซมในการหุ้ม (Liposome entrapment), กระบวนการเอ็กซ์ทรูชัน (Extrusion), กระบวนการสเปรย์ชิลลิงและสเปรย์คูลลิง (Spray chilling and Spray cooling) และกระบวนการโคเอเซอร์เวชัน (Coacervation) เป็นต้น แต่ถึงแม้ว่าเทคโนโลยีการกักเก็บสารจะสามารถทำได้หลากหลายรูปแบบก็ตาม ในหลายๆ รูปแบบก็มีกระบวนการที่ซับซ้อน และบางครั้งก็ไม่เหมาะต่อการนำไปประยุกต์ใช้งาน โดยกระบวนการหนึ่งที่เป็นที่นิยม ซึ่งสามารถทำได้โดยง่าย ไม่ซับซ้อน และใช้งานได้ในระดับอุตสาหกรรม นั่นคือ กระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอย

กระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอย เป็นกระบวนการกักเก็บสารสำคัญในรูปของผงแห้ง โดยใช้หลักการถ่ายเทความร้อนจากอากาศร้อนแก่ของเหลว ที่ประกอบด้วยสารที่ใช้เป็นวัสดุห่อหุ้ม, สารตัวทำละลาย ซึ่งปกติมักนิยมใช้สารตัวทำละลายที่สามารถระเหยได้ง่าย และสารสำคัญที่ต้องการกักเก็บ ซึ่งได้แก่เอนไซม์ โดยปกติจะอยู่ในน้ำเลี้ยง เมื่อของเหลวดังกล่าวถูกป้อนผ่านเข้าเครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอย ของเหลวจะถูกพ่นเป็นละอองออกมาผ่านอากาศร้อน ทำให้ตัวทำละลายและน้ำเลี้ยงเอนไซม์ถูกระเหยออกไปอย่างรวดเร็ว เอนไซม์ที่เหลืออยู่จะถูกทำให้แห้งไปพร้อมๆ กับสารที่ใช้เป็นวัสดุห่อหุ้ม โดยจะถูกกักเก็บไว้ภายในสารห่อหุ้มในลักษณะที่เป็นผงแห้ง ผงแห้งที่ได้จากของเหลวที่ถูกเตรียมในรูปแบบสารละลาย (Solution) นี้จะมีลักษณะเป็นสารประกอบเชิงซ้อน (Matrix) กล่าวคือมีหยดเอนไซม์กระจายตัวอยู่ทั่วไปในเนื้อวัสดุห่อหุ้ม ในขณะเดียวกันหากสารสำคัญที่ต้องการกักเก็บนั้นต่างสถานะกับสารละลาย เช่น น้ำมันหอมระเหยกับน้ำ เป็นต้น ก็สามารถเตรียมของเหลวก่อนป้อนเข้าเครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอยในรูปแบบอิมัลชัน (Emulsion) ได้ ซึ่งเป็นเทคนิค

การกักเก็บสารที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวางในด้านเวชศาสตร์การแพทย์ เครื่องสำอาง โดยเฉพาะอย่างยิ่งการกักเก็บสารที่มีความไวต่อสภาพแวดล้อม เช่น สารให้กลิ่นและสารหอมระเหยต่างๆ เป็นต้น โดยมีทั้งการกักเก็บในรูปแบบอิมัลชันน้ำมันในน้ำ (O/W) และน้ำในน้ำมัน (W/O) โดยลักษณะของผงแห้งที่ได้ก็จะเป็นสารประกอบเชิงซ้อนเช่นกัน จึงทำให้เกิดแนวคิดที่จะนำวิธีการเตรียมเอนไซม์ในรูปอิมัลชันเชิงซ้อน (Multiple emulsion) ซึ่งจะอยู่ในรูปของ น้ำในน้ำมันในน้ำ (W/O/W) มาใช้กับการกักเก็บเอนไซม์สองชนิดที่มีเอนไซม์โปรติเอสร่วมด้วย โดยชั้นในสุดจะเป็นเอนไซม์ที่อยู่ในน้ำเลี้ยงชนิดที่หนึ่งซึ่งจะกระจายตัวอยู่ในชั้นของน้ำมัน และหยดน้ำมันนี้ก็จะกระจายตัวอยู่ชั้นของสารละลายน้ำแป้งซึ่งจะใช้เป็นสารห่อหุ้ม โดยมีเอนไซม์อีกชนิดหนึ่งกระจายตัวอยู่เป็นชั้นน้ำด้านนอกสุด จากนั้นเมื่อนำสารอิมัลชันเชิงซ้อนนี้ไปผ่านเครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอย น้ำในสารละลายน้ำแป้งที่อยู่ชั้นนอกสุดจะระเหย ทำให้แป้งก่อตัวขึ้นเป็นผนังห่อหุ้มเอนไซม์ที่กระจายอยู่และห่อหุ้มหยดน้ำมันที่มีเอนไซม์อีกชนิดกระจายอยู่ด้วย ด้วยวิธีนี้น่าจะทำให้สามารถควบคุมลำดับการปลดปล่อยเอนไซม์ ไม่ให้เอนไซม์ชนิดอื่นๆ ถูกย่อยโดยเอนไซม์โปรติเอสก่อนที่จะได้ทำหน้าที่ของเอนไซม์เองเสียก่อน ดังนั้นเพื่อเป็นการป้องกันเอนไซม์จากการเสื่อมสภาพและสูญเสียแอคติวิตีเนื่องจากปัจจัยแวดล้อมต่างๆ ดังที่กล่าวข้างต้น จึงต้องนำเอนไซม์ไปผ่านกระบวนการกักเก็บสาร ก่อนที่จะนำไปผสมกับผงชักฟอกโดยตรง ซึ่งนอกจากจะช่วยป้องกันการเสื่อมสภาพและการสูญเสียแอคติวิตีของเอนไซม์แล้ว ยังช่วยลดโอกาสที่เอนไซม์จะย่อยสลายเอนไซม์ด้วยกันเอง

1.2 วัตถุประสงค์

1. ศึกษากระบวนการกักเก็บเอนไซม์โปรติเอสด้วยวิธีการอบแห้งแบบพ่นฝอย โดยการเตรียมสารก่อนผ่านเข้าเครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอยหรือสารสายป้อน (Feed) ในรูปแบบสารละลายและในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อน
2. เพื่อทดสอบความเสถียรของเอนไซม์โปรติเอสหลังผ่านกระบวนการกักเก็บด้วยวิธีการอบแห้งแบบพ่นฝอย

1.3 ขอบเขตงานวิจัย

ในการเตรียมผงเอนไซม์โปรติเอสด้วยวิธีการอบแห้งแบบพ่นฝอยนี้ มีปัจจัยหลายอย่างที่มีอิทธิพลต่อความเสถียรของค่าแอคติวิตีของเอนไซม์ ได้แก่ ชนิดและสัดส่วนปริมาณสารแต่ละอย่างในระบบ ทั้งสารห่อหุ้ม, สารตัวทำละลาย, น้ำมัน, สารลดแรงตึงผิว (Surfactant) รวมทั้งปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ก็มีผลต่อค่าแอคติวิตีเป็นอย่างมาก อีกทั้งยังมีอิทธิพลของขั้นตอนการอบแห้งแบบพ่นฝอย ทั้งอุณหภูมิของอากาศขาเข้าและขาออก (Air inlet and outlet temperature), ความเข้มข้นของของแข็งในสารสายป้อน (Solid content), อัตราการป้อนสาร (Feed rate), ความเร็วรอบในการหมุนของหัวฉีด ซึ่งล้วนแต่มีผลต่อความเสถียรของค่าแอคติวิตีของเอนไซม์ รวมทั้งลักษณะโครงสร้าง ขนาดของอนุภาค และความชื้นอีกด้วย โดยจะเปรียบเทียบระหว่างเอนไซม์ที่ผ่านกระบวนการกักเก็บที่ได้จากการเตรียมในรูปแบบสารประกอบเชิงซ้อน และอิมัลชันเชิงซ้อนกับเอนไซม์โปรติเอสที่ไม่ได้ผ่านกระบวนการกักเก็บ (Non-encapsulation protease) โดยมีขอบเขตของงานวิจัยดังสรุปได้ต่อไปนี้

1. ศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอย 110 – 200 องศาเซลเซียส สำหรับสารสายป้อนรูปแบบสารละลาย ร้อยละ 40 โดยน้ำหนัก โดยใช้แป้งดัดแปร (HI-CAP100 Modified starch) เป็นวัสดุห่อหุ้ม
2. ศึกษาอิทธิพลของปริมาณเอนไซม์ต่อปริมาณสารห่อหุ้ม 0.1 – 1 สัดส่วนโดยมวล สำหรับสารสายป้อนรูปแบบสารละลายร้อยละ 40 โดยน้ำหนัก โดยใช้แป้งดัดแปร (HI-CAP100 Modified starch) เป็นวัสดุห่อหุ้ม และกำหนดอุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอย 110 องศาเซลเซียส
3. ศึกษาอิทธิพลของปริมาณของแข็งในสารสายป้อนรูปแบบสารละลาย ร้อยละ 10 – 40 โดยน้ำหนัก โดยใช้แป้งดัดแปร (HI-CAP100 Modified starch) เป็นวัสดุห่อหุ้ม และกำหนดอุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอย 110 องศาเซลเซียส
4. เปรียบเทียบประสิทธิภาพของผงเอนไซม์โปรติเอส ที่ได้จากการกักเก็บในรูปแบบสารประกอบเชิงซ้อน และในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อน โดยทั้งสองวิธีจะใช้แป้งดัดแปรเป็นวัสดุห่อหุ้ม และจะใช้ พรูโรนิค (Pluronic ®L-31) ที่มีค่า HLB (Hydrophilic

Lipophilic Balance) 1 – 7 เป็นสารลดแรงตึงผิวสำหรับการเตรียมอิมัลชันเชิงซ้อน และใช้น้ำมันไตรกลีเซอร์ไรด์ที่มีความยาวสายโซ่ขนาดกลาง (MCT oil; Medium Chain Triglycerides) เป็นชั้นน้ำมัน

5. ศึกษาอิทธิพลของปริมาณน้ำมันต่อเอนไซม์ ได้แก่ 90:10, 80:20, 70:30 และ 60:40 โดยน้ำหนัก ที่มีต่อการควบคุมการปลดปล่อยเอนไซม์ ในการเตรียมอิมัลชันสำหรับการกักเก็บในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อน และกำหนดอุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอย 110 องศาเซลเซียส
6. ศึกษาอิทธิพลของขนาดของหยดน้ำมันที่มีต่อการควบคุมการปลดปล่อยเอนไซม์ในการเตรียมอิมัลชันสำหรับการกักเก็บในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อน และกำหนดอุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอย 110 องศาเซลเซียส
7. ศึกษาความเสถียรในการเก็บรักษาเอนไซม์ที่อุณหภูมิในการเก็บรักษา 4, 25 และ 45 องศาเซลเซียส โดยจัดเก็บเอนไซม์ผงทั้งรูปแบบสารประกอบเชิงซ้อนและรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนเพียงอย่างเดียวและจัดเก็บร่วมกับผงซักฟอกในอัตราส่วนเอนไซม์ต่อผงซักฟอก 1:1 โดยน้ำหนัก
8. เปรียบเทียบผลของการกักเก็บเอนไซม์ทางการค้าและเอนไซม์ที่ผลิตได้จากห้องวิจัยภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัยครั้งนี้ คือ สามารถหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตผงเอนไซม์โปรติเอสโดยการกักเก็บไว้ภายในวัสดุห่อหุ้มผ่านทางกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอย เพื่อให้ได้นำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมผงซักฟอกและสามารถพัฒนาต่อยอดได้

บทที่ 2

ทฤษฎีและเอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

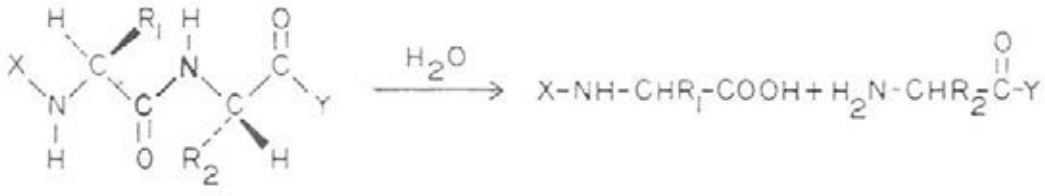
2.1 เอนไซม์โปรติเอสสำหรับอุตสาหกรรมผงซักฟอก

ชนิดเอนไซม์ : โปรติเอส

ซับสเตรท : โปรตีน

ผลิตภัณฑ์ : กรดอะมิโนอิสระและโอลิโกเปปไทด์ (Oligopeptide)

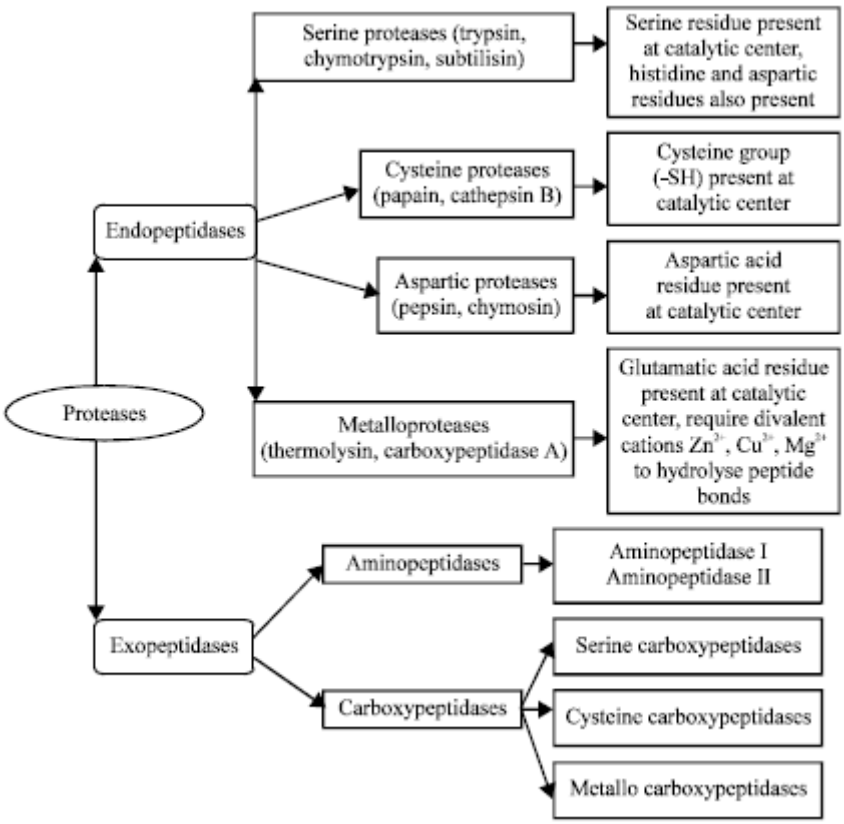
เอนไซม์โปรติเอส ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) ของโปรตีน ซึ่งเป็นโพลีเปปไทด์ (Polypeptide) หรือโพลิเมอร์ (Polymer) ของกรดอะมิโน โดยจะได้กรดอะมิโนอิสระและโอลิโกเปปไทด์หรือเปปไทด์ที่สายสั้นลงเป็นผลิตภัณฑ์ มีลักษณะของปฏิกิริยาดังรูปที่ 2.1 พันธะเปปไทด์ (-CO-NH-) ถูกสลายพันธะด้วยน้ำ (H_2O) ได้ผลิตภัณฑ์เป็นเปปไทด์สายสั้นลง



รูปที่ 2.1 แสดงกลไกการทำงานของเอนไซม์โปรติเอส

(ปราณี อ่านเปรื่อง. เอนไซม์ทางอาหาร. หน้า 149. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 2543.)

เอนไซม์โปรติเอสแบ่งออกเป็นประเภทตามกลไกการทำงานได้ 4 ประเภท คือ โปรติเอสเซรีน (Serine proteases), โปรติเอสซัลไฟดริล (Sulfhydryl proteases) หรือ โปรติเอสไทออล (Thiol proteases) หรือ โปรติเอสซีสเตอีน (Cysteine proteases), โปรติเอสกรด (Acid proteases) หรือ โปรติเอสแอสปาติค (Aspartic proteases) และ โปรติเอสมีโลหะ (Metalloproteases) โดยแสดงเป็นแผนภาพได้ดังรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.2 แสดงการจำแนกประเภทของเอนไซม์โปรติเอส

(D. Kumar และคณะ 2008)

จากประเภทของเอนไซม์โปรติเอสที่กล่าวมามีเพียงโปรติเอสเซรีนเท่านั้นที่พบว่าสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมผงซักฟอกได้ ในขณะที่โปรติเอสไทออล ยกตัวอย่างเช่น เอนไซม์ปาเปน (Papain) จะถูกออกซิไดซ์ (Oxidized) จากสารฟอกขาว (**B**leaching agents) ได้โดยง่าย ส่วนโปรติเอสที่มีโลหะ เช่น เอนไซม์เทอร์โมไลซิน (Thermolysin) ก็จะสูญสียโลหะปัจจัยเนื่องจากการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับสารปรับผ้านุ่ม (Softening agents) หรือหมู่ไฮดรอดซิล (Hydroxyl ions) (D. Kumar และคณะ 2008)

เอนไซม์ซับทิลิซิน (Subtilisin) เป็นเอนไซม์ชนิดหนึ่งที่จัดอยู่ในโปรติเอสเซรีน ถูกใช้ในอุตสาหกรรมผงซักฟอกมากที่สุด เพราะมีความเสถียรสูง มีความจำเพาะเจาะจงต่อสารตั้งต้นต่ำ และที่สำคัญคือสามารถผลิตได้ง่าย เพราะเป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นภายนอกเซลล์ (Extracellular enzyme) และใช้เวลาในการผลิตไม่มาก โดยจากการทดสอบการทำงานของเครื่องล้างจานอัตโนมัติพบว่าเอนไซม์ชนิดนี้จะไม่จับกับซับสเตรทที่ละลายและกระจายตัวอยู่ในน้ำ แต่จะจับกับซับสเตรท

หรือคราบที่เกาะอยู่บนผิวของแข็งซึ่งก็คือซับสเตรทที่ไม่ละลายน้ำนั่นเอง (Karl-Heinz Maurer 2004)

ถึงแม้เอนไซม์โปรติเอสจะมีความเสถียรและสามารถใช้งานได้ดีในสถาวะที่เป็นด่าง (pH 7 – 11) (R. Gupta และคณะ 2002) แต่อย่างไรก็ตามเอนไซม์โปรติเอสก็ยังไม่ถูกนำไปใช้งานในด้านการทำความสะอาดอย่างเต็มที่ เพราะโดยธรรมชาติของเอนไซม์โปรติเอสจะมีข้อจำกัดในเรื่องของอุณหภูมิทั้งในกระบวนการผลิตและกระบวนการเก็บรักษา อีกทั้งเอนไซม์โปรติเอสยังสามารถย่อยสลายตัวเองได้อีกด้วย ในขณะที่อุตสาหกรรมตัวเร่งปฏิกิริยา (Catalyst industry) สามารถทำให้ตัวเร่งเสถียรและใช้งานได้ในสภาวะที่รุนแรงและมีอายุการใช้งานที่ยาวนาน (Adil Anwer และ Mohammed Saleemuddin 1997) ดังนั้นในปัจจุบันจึงได้มีการพัฒนาการเอนไซม์โปรติเอสกันอย่างมาก เพื่อก้าวข้ามข้อจำกัดนี้ไป

จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่า ได้มีการศึกษาค้นคว้าและพัฒนาการผลิตเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อบาซิลลัส (Bacillus) เพื่อให้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมผงซักฟอกในท้องถิ่นได้อย่างสะดวก ยกตัวอย่างเช่นในงานวิจัยของ Rathindra Mohan Banik และ Monika Prakash (2004) ได้วิเคราะห์ผลของผงซักฟอกจากบริษัทต่างๆ ในท้องถิ่น ที่มีต่อแอคติวิตีของเอนไซม์โปรติเอส ที่ผลิตได้จากเชื้อ บาซิลลัส ซีรีอุส (Bacillus cereus) โดยผสมผงซักฟอกความเข้มข้น 7 มิลลิกรัมต่อน้ำ 1 มิลลิลิตร กับเอนไซม์โปรติเอสในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 พบว่าเอนไซม์จะมีแอคติวิตีสูงที่สุดที่สภาวะอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ในช่วง pH 10.5–11.0 ในผงซักฟอกจากทุกบริษัท โดยเอนไซม์โปรติเอสจะมีแอคติวิตีคงเหลือมากกว่าร้อยละ 70 เมื่อทดสอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ในขณะที่การทดสอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จะมีแอคติวิตีคงเหลือน้อยกว่าร้อยละ 30

ในขณะเดียวกัน Alya Sellami-Kamoun และคณะ (2006) ได้ศึกษาความเสถียรของเอนไซม์โปรติเอส ที่มีต่อผงซักฟอกในท้องถิ่น โดยสกัดเอนไซม์จากเชื้อบาซิลลัส ไลเคนิฟอร์มิส RP1 (Bacillus licheniformis RP1) ซึ่งผลิตเอนไซม์โปรติเอสขึ้นภายนอกเซลล์ (Extracellular protease) พบว่าเอนไซม์ทำงานได้ดีที่สุดในช่วงอุณหภูมิ 65 – 70 องศาเซลเซียส และ pH 10.0 – 11.0 และจะถูกยับยั้งการทำงานด้วยสาร PMSF (Phenylmethanesulfonylfluoride) นั่นแสดงว่าเอนไซม์โปรติเอสที่ผลิตได้เป็นโปรติเอส เซรีนอัลคาไลน์ (Alkaline serine protease)

ซึ่งเมื่อทดสอบความเสถียรกับผงซักฟอกในท้องถิ่นพบว่ามีแอคติวิตีคงเหลือมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ หลังจากบ่มในสารละลายผงซักฟอกเข้มข้น 7 มิลลิกรัมต่อน้ำ 1 มิลลิลิตร เป็นเวลา 60 นาที ที่อุณหภูมิ 40 – 50 องศาเซลเซียส

ในทำนองเดียวกันกับงานวิจัยของ W. Rachadech และคณะ (2009) ก็ได้ทดลองเลี้ยงเชื้อบาซิลลัส ไลเคนิฟอร์มิส 3C5 (Bacillus licheniformis 3C5) ซึ่งเป็นเชื้อตัวเดียวกับงานวิจัยของ Alya Sellami-Kamoun และคณะ (2006) แต่สายพันธุ์ต่างกัน พบว่าเอนไซม์ที่สกัดได้จะทำงานในช่วงอุณหภูมิ 45 – 70 องศาเซลเซียส และ pH 8.0 – 10.0 โดยจะทำงานได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส และ pH 10.0 และจากผลการทดสอบผลของสารยับยั้งปฏิกิริยา พบว่าสาร *PMSF* และ EDTA (Ethylene diamine tatra-acitic acid) ส่งผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โปรติเอส (Protease inhibitor) ซึ่งให้ผลในทำนองเดียวกันกับงานวิจัยของ Alya Sellami-Kamoun และคณะ (2006) แสดงว่าเชื้อบาซิลลัส ไลเคนิฟอร์มิส สามารถผลิตเอนไซม์โปรติเอสเซรีนอลคาไลน์ ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมผงซักฟอกได้ นอกจากนี้เมื่อทำการทดสอบการผลิตเอนไซม์โปรติเอสในสภาวะที่มีผงซักฟอกที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส พบว่ากระบวนการผลิตขยายเพิ่มมากขึ้น แสดงให้เห็นว่าเอนไซม์ที่สกัดได้นั้นมีความเสถียรต่ออุณหภูมิและสามารถเข้ากันได้ดีกับผงซักฟอก จึงมีความเหมาะสมในการนำไปใช้งานเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาชีวภาพสำหรับผงซักฟอก

นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยที่ได้ทดลองเติมสารเคมีอื่นๆ ซึ่งมีคุณสมบัติเพิ่มความเสถียรให้กับเอนไซม์ ทำให้เอนไซม์มีความเสถียรต่ออุณหภูมิมากขึ้น อีกทั้งสารบางอย่างอาจช่วยป้องกันการย่อยสลายตัวเอนไซม์เองได้อีกด้วย โดย Uttam Chand Banerjee และคณะ (1999) ได้ศึกษาโปรติเอสอัลคาไลน์ที่ผลิตได้จากเชื้อบาซิลลัส เบรวิส (Bacillus Brevis) เป็นเอนไซม์โปรติเอสที่ผลิตขึ้นภายนอกเซลล์เช่นกัน พบว่าเอนไซม์จะมีแอคติวิตีสูงที่สุดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และ pH 10.5 ซึ่งถือว่าสามารถนำไปประยุกต์ใช้ร่วมกับผงซักฟอกได้ นอกจากนี้ยังพบว่าเอนไซม์ที่ผลิตได้สามารถเก็บไว้ได้นานถึง 288 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในขณะที่ที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียส เอนไซม์จะค่าครึ่งชีวิตอยู่ที่ 60 และ 7 ชั่วโมงตามลำดับ และยังพบอีกว่าการเติมเกลืออะซิเตต (Acetate salts) เช่น แคลเซียมอะซิเตต (Calcium acetate) และ โซเดียมอะซิเตต (Sodium acetate) จะช่วยเพิ่มความเสถียรต่ออุณหภูมิและป้องกันการย่อยสลายตัวเองของเอนไซม์ อีกทั้งการเติมแคลเซียม 10 มิลลิโมลาร์ กับไกลซีน (Glycine) 1 โมลาร์ ร่วมกันส่งผลให้ค่าครึ่งชีวิต

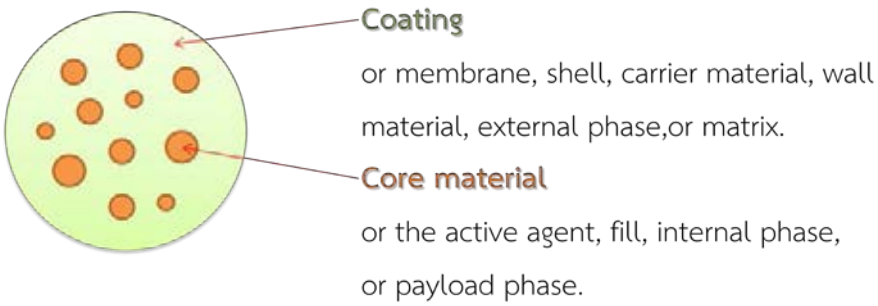
ของเอนไซม์เพิ่มขึ้น กล่าวคือ เอนไซม์จะมีแอคติวิตีคงเหลือมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์หลังจากเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 วัน นอกจากนี้ยังได้มีการทดลองทดสอบประสิทธิภาพการซักล้างของผงซักฟอกอีกด้วย โดยใช้ผ้าคอตตอน (Cotton) ชุบเลือด พบว่าผงซักฟอกที่ผสมเอนไซม์โดยเติมแคลเซียมและไกลซีนผสมลงไปด้วยจะขจัดคราบเลือดได้สมบูรณ์มากที่สุด

ในหลายๆ งานวิจัย นอกจากจะศึกษาถึงความเข้ากันได้ของเอนไซม์กับผงซักฟอกแล้ว ยังได้มีการศึกษาลงไปถึงอิทธิพลของสารลดแรงตึงผิวและสารออกสิไดซ์ที่พบว่าในผงซักฟอกอีกด้วย อย่างเช่นในงานวิจัยของ Alya Sellami-Kamoun และคณะ (2006) ที่ได้กล่าวไว้ข้างต้น นอกจากจะศึกษาความเสถียรของเอนไซม์ในผงซักฟอกแล้ว ยังได้ศึกษาถึงความเสถียรของเอนไซม์ในสารลดแรงตึงผิว ทั้งสารลดแรงตึงผิวที่ไม่มีขั้ว (non-ionic) ได้แก่ ทวีน 20 ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ และไทรตัน X-100 ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ และสารที่มีขั้ว (anionic) ได้แก่ *โซเดียม*โดเด็กซิลซัลเฟต ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีแอคติวิตีคงเหลือหลังจากบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที เท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ และมากกว่า 73 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ในทำนองเดียวกัน Anissa Haddar และคณะ (2010) ได้ศึกษาเอนไซม์โปรติเอสที่ผลิตได้จากเชื้อบาซิลลัส โมจาเวนซิส (Bacillus mojavensis A21) ซึ่งมีการใช้งานในอุตสาหกรรมผงซักฟอกและขนไก่ พบว่าสภาวะอุณหภูมิและ pH ที่เอนไซม์จะมีแอคติวิตีสูงที่สุดอยู่ในช่วง อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และ pH 8.0 – 11.0 และได้ทดสอบความเสถียรของเอนไซม์ต่อสารลดแรงตึงผิวทั้งสารที่ไม่มีขั้วและมีขั้วเช่นกัน ได้แก่ ทวีน 80 ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ไทรตัน X-100 ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ และ *โซเดียม*โดเด็กซิลซัลเฟต ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ พบว่าเอนไซม์ที่ผลิตได้มีความเสถียรต่อสารลดแรงตึงผิวดังกล่าวเป็นอย่างมาก และเมื่อทดลองนำของเอนไซม์ไปผสมกับผงซักฟอกเข้มข้น 7 มิลลิกรัมต่อน้ำ 1 มิลลิลิตร ในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 พบว่าเอนไซม์มีความเสถียรและความเข้ากันได้กับผงซักฟอกเป็นอย่างดีที่อุณหภูมิระหว่าง 30 – 50 องศาเซลเซียส โดยที่ 40 องศาเซลเซียส เอนไซม์จะยังคงแอคติวิติตั้งต้นเป็นเวลานานถึง 1 ชั่วโมง ซึ่งให้ผลการทดลองไปในทิศทางเดียวกันกับ Alya Sellami-Kamoun และคณะ (2006)

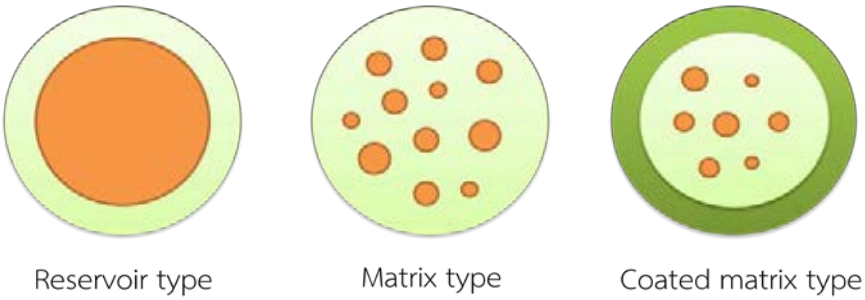
2.2 เทคโนโลยีการกักเก็บสาร

เทคโนโลยีการกักเก็บสารเป็นกระบวนการที่สารหรือส่วนผสมของสารถูกห่อหุ้มด้วยสารชนิดอื่น โดยสารที่ถูกห่อหุ้ม (Coated) หรือถูกยึดจับไว้ (Entrapped) ส่วนใหญ่จะเป็นของเหลว แต่บางครั้งอาจเป็นอนุภาคของแข็งหรือก๊าซ ซึ่งจะเรียกชื่อแตกต่างกันไปเช่น Core material หรือ Internal phase ส่วนสารที่นำมาห่อหุ้มจะเรียกว่า Wall material, Carrier, Membrane, Shell หรือ Coating



รูปที่ 2.3 แสดงโครงสร้างของไมโครแคปซูล

โดยสามารถแบ่งชนิดของไมโครแคปซูล (Microcapsul) ออกเป็น 3 ชนิดได้แก่ Single core หรือ Reservoir type (True encapsulation) เป็นรูปแบบของไมโครแคปซูลที่ได้จากการกักเก็บสารโดยใช้เทคนิคโคเอเซอร์เวชัน ไมโครแคปซูลชนิดที่ 2 เป็นรูปแบบของไมโครแคปซูลของสารให้กลิ่นให้รสส่วนใหญ่ที่ผลิตในระดับอุตสาหกรรม โดยใช้เทคนิคการอบแห้งแบบพ่นฝอย, สเปรย์ชิลลิง, สเปรย์คูลลิง และ เอ็กซ์ทรูชัน ในการกักเก็บสาร เรียกไมโครแคปซูลชนิดนี้ว่า Multi-core หรือ Matrix type หรือสารประกอบเชิงซ้อน และชนิดสุดท้ายเป็นไมโครแคปซูลแบบ Matrix type ที่มีการห่อหุ้มผิวครั้งที่สองโดยใช้ เทคนิคฟลูอิดไดซ์เบด หรือเซนติฟิวกัล (Centrifugal coating) หรือเป็นการผสมผสานรูปแบบ Reservoir type และ Matrix type เข้าด้วยกันนั่นเอง เรียกไมโครแคปซูลชนิดนี้ว่า Coated Matrix type



รูปที่ 2.4 แสดงโครงสร้างของไมโครแคปซูลชนิดต่าง ๆ

การนำเทคโนโลยีกักเก็บสารไปประยุกต์ใช้กับเอนไซม์นั้น ได้มีการศึกษาวิจัยกันมาอย่างมากมาย โดยใช้เทคนิคต่างๆ ที่ได้กล่าวไว้ข้างต้นมาสร้างเป็นไมโครแคปซูลหลากหลายรูปแบบตามวัตถุประสงค์การใช้งานและความเหมาะสม อย่างเช่นในงานวิจัยของ Anastasia Macario และคณะ (2008) ได้ทดลองกักเก็บเอนไซม์ไลเปสไว้ในไมโครแคปซูลที่มีความเป็นรูพรุนสูงผ่านกระบวนการโซลเจล (Sol-Gel method) โดยใช้ซิลิกา (Silica) เป็นสารตั้งต้น (Precursor) เพื่อเพิ่มความเสถียรให้กับเอนไซม์และเพิ่มความสามารถในการผลิต โดยเอนไซม์จะถูกยึดจับด้วยสารลดแรงตึงผิวและเกิดการรวมตัวกับซิลิกาที่ pH ปกติ และอุณหภูมิห้อง ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าโครงสร้างของรูพรุนช่วยให้เอนไซม์มีความเสถียรมากขึ้น และหมู่ไฮโดรโฟบิคของสารลดแรงตึงผิวยังช่วยให้เอนไซม์ไม่สามารถเคลื่อนที่ภายในรูพรุนได้อย่างอิสระอีกด้วย

เช่นเดียวกันกับงานวิจัยของ Anri Takimoto และคณะ (2008) ก็ได้ทดลองกักเก็บเอนไซม์เซลลูเลสไว้ภายในไมโครแคปซูลที่มีความเป็นรูพรุนโดยผ่านกระบวนการโซลเจลและใช้ซิลิกาเป็นสารตั้งต้นเช่นกัน โดยวิเคราะห์ผลของขนาดของรูพรุนที่เปลี่ยนไป เส้นผ่านศูนย์กลางตั้งแต่ 5.4 – 11 นาโนเมตร พบว่าปริมาณเอนไซม์ในไมโครแคปซูลมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อขนาดของรูพรุนเพิ่มขึ้น แต่อย่างไรก็ตาม ที่ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของรูพรุนเท่ากับ 8.9 นาโนเมตร เอนไซม์จะให้แอคติวิตีสูงที่สุด แม้ว่าจะไม่ใช่ขนาดที่ใหญ่ที่สุดก็ตาม และโดยตามปกติแล้วเอนไซม์ที่ถูกทำให้อยู่ในรูปไมโครแคปซูลแล้ว ย่อมมีแอคติวิตี้น้อยกว่าเอนไซม์อิสระ เช่นเอนไซม์เซลลูเลสที่กักเก็บไว้ภายในไมโครแคปซูลที่ทำจากซิลิกาอสัณฐาน (Amorphous silica) จะมีแอคติวิตีเพียง 20 เปอร์เซ็นต์เท่านั้นเมื่อเทียบกับเอนไซม์อิสระ แต่ในงานวิจัยนี้พบว่าเอนไซม์เซลลูเลสที่กักเก็บไว้ภายในไมโครแคปซูลที่ทำจากซิลิกาโดยได้ควบคุมขนาดของรูพรุนไว้ที่ 8.9 นาโนเมตร มีแอคติวิตีถึง 70

เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับเอนไซม์อิสระ นั่นชี้ให้เห็นถึงความสำคัญของปัจจัยด้านความสอดคล้องกันของขนาดโมเลกุลของเอนไซม์กับขนาดของรูพรุนในเนื้อซิลิกา ที่มีผลต่อแอคติวิตีของเอนไซม์

ในหลายงานวิจัยได้มีการเพิ่มความเสถียรให้กับเอนไซม์ ก่อนที่จะนำไปผ่านกระบวนการกักเก็บ โดยการเพิ่มความเสถียรให้กับเอนไซม์นั้นสามารถทำได้หลากหลายวิธี เช่น การเติมสารเพิ่มความเสถียร (Stabilization) กระบวนการตรึงเอนไซม์ (Immobilization) กระบวนการยึดจับเอนไซม์ (Entrapment) ไว้กับเนื้อเจล (Gels), บีด (Beads) หรือเส้นใย (Fiber) และกระบวนการเชื่อมขวางเอนไซม์ (Cross-linking) รวมทั้งกระบวนการกักเก็บก็ถือเป็นการเพิ่มความเสถียรให้กับเอนไซม์ด้วย (Adil Anwer และ Mohammed Saleemuddin 1997) อย่างเช่นในงานวิจัยของ Chandroth Kalyad Simi และ Tholath Emilia Abraham (2007) ได้ทดลองเชื่อมขวางผลึกเอนไซม์โปรติเอสที่สกัดได้จากเชื้อบาซิลลัส ซับทิลิส (Bacillus subtilis) โดยตกผลึกเอนไซม์ด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต (Ammonium sulphate) 65 เปอร์เซ็นต์โดยมวลต่อปริมาตร ก่อนนำไปทำปฏิกิริยาเชื่อมขวางกับสารละลายกลูตารัลดีไฮด์ (Glutaraldehyde) เข้มข้นร้อยละ 4 โดยปริมาตรในไอโซโพรพานอล (Isopropanol) เป็นเวลา 20 นาที ผลการทดลองพบว่าผลึกเอนไซม์โปรติเอสที่มีรูปทรงเป็นลูกบากศ์ขนาดประมาณ 1 – 2 ไมโครเมตร เมื่อผ่านการเชื่อมขวางแล้วจะมีความเสถียรมากขึ้นในตัวทำละลายอินทรีย์ทั้งมีขั้วละไม่มีขั้ว เช่น เฮกเซน (Hexane), โทลูอีน (Toluene), เบนซีน (Benzene) และคาร์บอนเตตระคลอไรด์ (Carbon tetrachloride) เป็นต้น นอกจากนี้การเชื่องขวางยังทำให้เอนไซม์ทนต่อความร้อนได้มากขึ้นถึง 60 องศาเซลเซียส จากนั้นจึงนำผลึกเอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านการเชื่องมขวางแล้วไปยึดจับกับบีด ที่เกิดจากการผสมสารอัลจิเนต (Alginate) 3 ส่วน กับ กัวร์กัม (Guar gum) 1 ส่วน ซึ่งสามารถทนต่อความเป็นกรดในกระเพาะอาหารได้ กระบวนการนี้จึงนิยมใช้กันมากในการผลิตยาที่ต้องการโปรตีนความเข้มสูง ซึ่งโดยทั่วไปจะถูกย่อยในกระเพาะอาหารก่อนจะไปถึงลำไส้เพื่อดูดซึม

สารที่นิยมใช้เป็นวัสดุห่อหุ้มในกระบวนการกักเก็บมี 4 ประเภทใหญ่ๆ ประเภทแรกคือยางธรรมชาติ (Natural gum) คือวัสดุพอลิเมอร์ (Polymer) ที่มีต้นกำเนิดจากของเหลวของพืชบางชนิด มีลักษณะเป็นของเหลวสีขาวคล้ายน้ำนม มีสมบัติเป็นคอลลอยด์ (Colloid) อนุภาคเล็กมีตัวกลางเป็นน้ำ เช่น กัมอาระบิก (Gum arabic) หรือ กัมอคาเซีย (Gum acacia), อัลจิเนต (Algenates), คาร์ราจิแนน (Carragenans) เป็นต้น ประเภทที่สองคือ ไข (Waxes) เป็นลิพิด

ที่มีลักษณะโครงสร้างเป็นของผสมของเอสเตอร์ ซึ่งประกอบด้วยกรดไขมัน (Fatty acid) กับแอลกอฮอล์ (Alcohol) ที่มีโซ่ยาว มีขนาดโมเลกุลใหญ่และมีน้ำหนักโมเลกุลมาก โดยมีจำนวนอะตอมของคาร์บอนในส่วนของกรดไขมันเป็นเลขคู่ตั้งแต่ 14 – 36 อะตอม และมีจำนวนอะตอมของคาร์บอนในส่วนของแอลกอฮอล์เป็นเลขคู่เช่นเดียวกันตั้งแต่ 16 – 30 อะตอม มีหลายชนิดขึ้นอยู่กับชนิดของกรดไขมันและแอลกอฮอล์ ตามปกติไขจะเป็นของแข็ง มีจุดหลอมเหลวต่ำ ไม่ละลายน้ำ ตัวอย่างไขที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ ได้แก่ ขี้ผึ้ง พบได้ที่ผิวนอกของเปลือกไม้ ผิวใบไม้ สารเคลือบปีกแมลง และขนของสัตว์ปีก, ปลาวาฬจะสะสมไขไว้ใช้เป็นพลังงานแทนไตรกลีเซอไรด์ (Triglyceride) เป็นต้น สารที่นิยมใช้เป็นวัสดุห่อหุ้มประเภทที่สามคือ โปรตีน ได้แก่ เวย์โปรตีน (Whey proteins) และ เจลาติน (Gelatin) เป็นต้น โปรตีนเป็นสารอินทรีย์ที่พบมากในสิ่งมีชีวิตทุกชนิด ประกอบด้วยกรดอะมิโนซึ่งเป็นหน่วยย่อยที่สุดของโปรตีน เรียงต่อกันด้วยพันธะเปปไทด์ จัดว่าเป็นมหโมเลกุล (Macromolecules) มีโครงสร้างซับซ้อนมีมวลโมเลกุลมาก เช่นเดียวกับคาร์โบไฮเดรต (Carbohydrate) และสารพันธุกรรม (Genetic materials) ประเภทสุดท้ายของสารที่นิยมใช้เป็นวัสดุห่อหุ้ม คือ คาร์โบไฮเดรต เป็นมหชีวโมเลกุลที่เป็นองค์ประกอบของสิ่งมีชีวิตทุกชนิด หน่วยที่เล็กที่สุดของคาร์โบไฮเดรตคือน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวหรือโมโนแซคคาร์ไรด์ (Monosaccharide) คำว่าคาร์โบไฮเดรตมีรากศัพท์มาจากคำว่า คาร์บอน(Carbon) และคำว่าไฮเดรต (Hydrate) อิ่มตัวไปด้วยน้ำ ซึ่งหมายถึงคาร์บอนที่อิ่มตัวไปด้วยน้ำ มีสูตรเคมีอย่างง่ายคือ $(C{\bullet}H_2O)_n$ ซึ่ง $n \geq 3$ ซึ่งคาร์โบไฮเดรตที่นิยมใช้เป็นสารห่อหุ้ม ได้แก่ แป้งสตาร์ช (Starch) และผลผลิตที่ได้จากแป้งสตาร์ช เช่น แป้งดัดแปร (Modified starch), มอลโตเดกซ์ตริน, เบต้า-ไซโคลเดกซ์ตริน (β–Cyclodextrin) เป็นต้น

แป้งดัดแปร หมายถึงผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำแป้ง เช่น แป้งมันสำปะหลัง แป้งข้าวโพด แป้งมันฝรั่ง และแป้งสาลี เป็นต้น มาเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางเคมีหรือทางกายภาพโดยใช้ความร้อน เอนไซม์ จุลินทรีย์ หรือสารเคมีชนิดต่างๆ ทำให้มีสมบัติเปลี่ยนไปตามที่ต้องการ เช่น ความหนืด (Viscosity) ลดลง คงตัวต่อความร้อน กรด และแรงเฉือน เพื่อให้เหมาะสมกับการนำไปใช้งาน ซึ่งคุณลักษณะของแป้งดัดแปรแต่ละประเภทจะต้องเป็นไปตามข้อกำหนดตามมาตรฐานอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์ กรรมวิธีในการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโมเลกุลภายในของเม็ดแป้งมีหลายวิธี ซึ่งแต่ละวิธีก็จะมีความแตกต่างกันตามความต้องการในการที่จะนำไปใช้งาน ปัจจุบันสามารถจำแนกออกเป็นหมวดหลัก ๆ ได้ ดังนี้

1) แป้งดัดแปลงโครงสร้างโมเลกุลภายเม็ดแป้งโดยใช้สารเคมี (Chemicals modified starches)

กลุ่มที่ 1 แป้งประเภทต่อเติม (Derivertization) แป้งกลุ่มนี้เป็นแป้งที่สารเคมีเข้าไปจับกับในโมเลกุลแป้งทั้งในรูปโมกุลเดี่ยวหรือมากกว่า ซึ่งทำให้โมเลกุลแป้งมีขนาดใหญ่ขึ้น

กลุ่มที่ 2 แป้งประเภทตัด–แตก (Converted starch) แป้งกลุ่มนี้เป็นการทำให้ขนาดของโมเลกุลแป้งเล็กลงทั้งโดยการตัดระหว่างหน่วยกลูโคส หรือทำให้หน่วยกลูโคสแตก

กลุ่มที่ 3 เกิดจากการพัฒนาร่วมกันของสองกระบวนการ (Combination Starches)

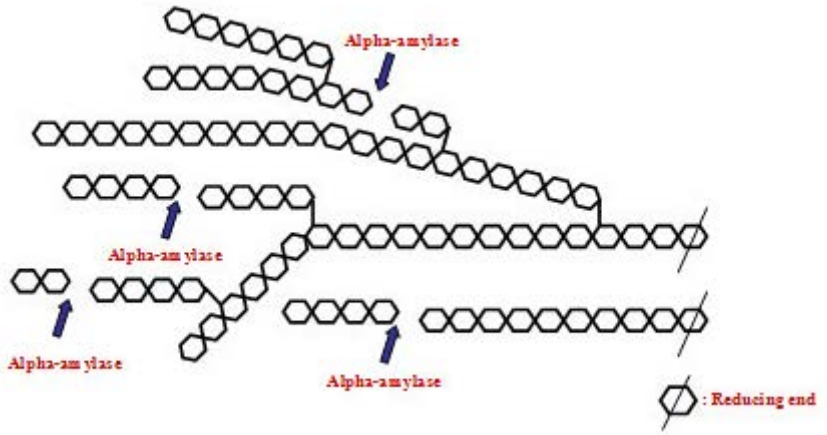
2) แป้งดัดแปลงโครงสร้างโมเลกุลภายในเม็ดแป้งโดยวิธีทางกายภาพ (Physicals modified starch)

ในการดัดแปลงโครงสร้างโมเลกุลภายในเม็ดแป้งโดยวิธีทางกายภาพนี้ เป็นการทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโดยไม่ได้ใช้สารเคมีเป็นตัวหลักที่ทำให้โครงสร้างโมเลกุลภายในเม็ดแป้งเกิดการเปลี่ยนแปลงแต่ใช้พลังงานความร้อนหรือพลังงานจลหรือทั้งสองอย่างประกอบกันซึ่งเมื่อโครงสร้างโมเลกุลภายในเม็ดแป้งได้ถูกเปลี่ยนแปลงไป คุณสมบัติของแป้งก็เปลี่ยนไปเช่นกัน

3) แป้งดัดแปลงโครงสร้างโมเลกุลภายในเม็ดแป้งและโครงสร้างภายนอกโดยวิธีทางชีวภาพ (Biological modified starch)

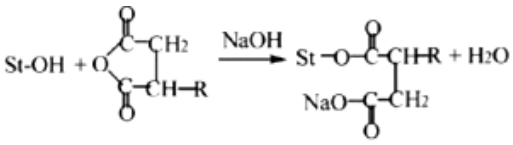
เนื่องจากเทคโนโลยีทางชีวภาพและพันธุวิศวกรรมได้มีการพัฒนาขึ้นมาก จึงทำให้เกิดการพัฒนาในเชิงอุตสาหกรรมเพื่อให้ได้แป้งที่มีคุณสมบัติที่ตรงตามความต้องการในการใช้งาน โดยใช้เทคโนโลยีทางชีวภาพเช่น High amylase starch (Hylon V, VII) และ Waxy starch (High Amylopectinie Waxy corn) เกิดจากการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนของ Amylase และ Amylopectin ในแป้งจะทำให้คุณสมบัติของแป้งเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม

มอลโตเดกซ์ตริน เป็นหนึ่งในแป้งประเภทตัด–แตก เกิดจากการย่อยสลายโมเลกุลแป้งพืชชนิดต่างๆ เช่น แป้งมันสำปะหลัง, แป้งข้าวโพด หรือ แป้งมันฝรั่ง เป็นต้น โดยใช้สารเคมีจำพวกกรดหรือเอนไซม์ ทำให้มีความหนืดลดลง และสามารถละลายได้ในน้ำเย็น มอลโตเดกซ์ตรินมีหลายประเภทแบ่งตามค่าสมมูลเดกซ์โตรส(Dextrose equivalent, DE) มอลโตเดกซ์ตรินที่มีค่าสมมูลเด็กซ์โตรสต่ำ จะมีค่าอยู่ระหว่าง 5-20 ค่าสมมูลเดกซ์โตรสยิ่งสูง จะยิ่งมีความหวานมาก เพราะโมเลกุลของแป้งถูกย่อยได้น้ำตาลกลูโคสมากกว่ามอลโตเดกซ์ตรินที่มีค่าสมมูลเดกซ์โตรสต่ำ

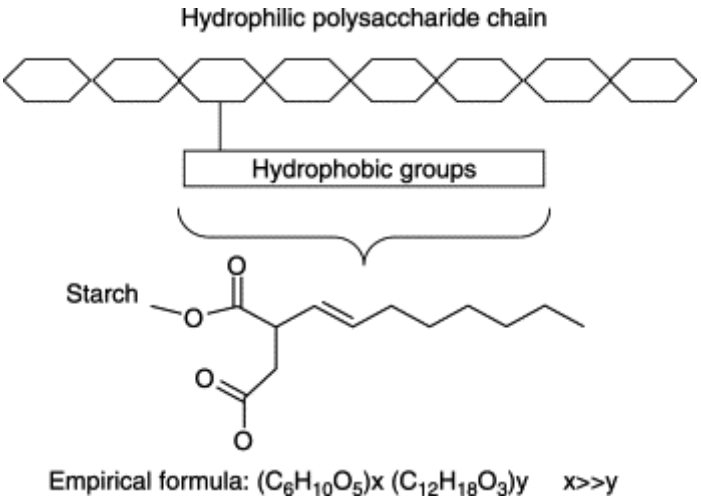


รูปที่ 2.5 แสดงการเกิดมอลโตเดกซ์ตรินด้วยเอนไซม์
โดยการเกิดปฏิกิริยาจะสุ่มตัดพันธะอัลฟา 1,4 ในโมเลกุลแป้ง
(Thai Tapioca Starch Association, TTSA, 2011 : online)

แป้งดัดแปร HI-CAP 100 เป็นแป้งดัดแปรประเภทต่อเติม โดยเกิดปฏิกริยาเอสเทอริฟิเคชัน (Esterification) เพื่อเปลี่ยนหมู่ฟังชัน (Functional group) ในโมเลกุลของแป้ง จากหมู่ ไฮดรอกซิล (-OH) ซึ่งชอบน้ำมาก (Highly hydrophillic) มาเป็นหมู่เอสเทอร์ (Ester group) ที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic) เช่น ออคเทนิลซัคซินิคแอนไฮไดร์ด (Octenyl succinic anhydride, OSA) ระดับความไม่ชอบน้ำขึ้นอยู่กับหมู่เอสเทอร์ และระดับการแทนที่ (Degree of substitution, DS) การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวทำให้แป้งจากธรรมชาติ (Native starch) ซึ่งชอบน้ำ มาเป็นแป้งที่โมเลกุลบางส่วนไม่ชอบน้ำ แต่ชอบไขมัน (Lipophillic) ทำให้มีสมบัติของการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ (Emulsifier) ช่วยให้เกิดอิมัลชัน (Emulsion) ป้องกันการแยกชั้นของน้ำและน้ำมัน จึงนิยมใช้เป็นวัสดุห่อหุ้มในการกักเก็บสารที่มีปริมาณน้ำมันค่อนข้างสูง สามารถเตรียมสารที่มีความเข้มข้นสูงได้โดยมีค่าความหนืดต่ำ ทำให้สามารถอบแห้งได้อย่างรวดเร็ว อีกทั้งลักษณะการก่อตัวของแป้งจะเกิดในรูปแบบฟิล์ม ช่วยลดการสูญเสียของสารชั้นในระหว่างกระบวนการทำแห้งและในระหว่างกระบวนการเก็บรักษาได้ นอกจากนี้ยังช่วยป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation) ได้ดีเยี่ยม จึงนิยมนำมาใช้เป็นวัสดุห่อหุ้มแทนกัมอาระบิคและเจลาตินที่มีราคาสูง



รูปที่ 2.6 แสดงปฏิกิริยาการเกิดแป้งดัดแปรโดยการเติมหมู่ออคเทนิลซัคซินิคแอนไฮไดร์ด (Ruan Hui และคณะ, 2009)



รูปที่ 2.7 แสดงโครงสร้างของแป้งดัดแปร HI-CAP 100 (Martin Kuentz และคณะ, 2006)

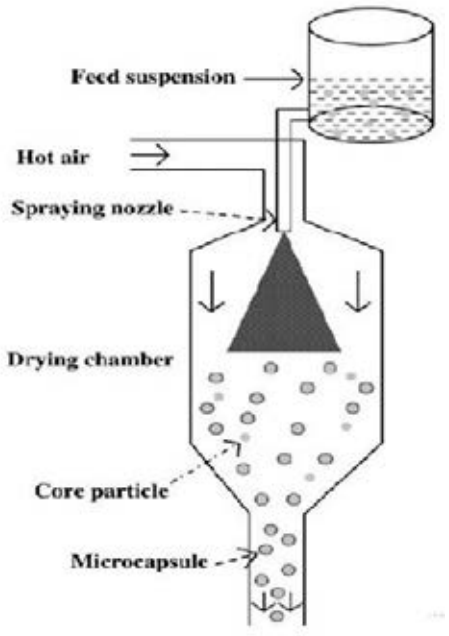
การเลือกใช้วัสดุห่อหุ้มนั้นขึ้นอยู่กับหลายๆ ปัจจัย ทั้งความเหมาะสมในการนำไปใช้งาน ความสะดวกต่อกระบวนการกักเก็บ และเหมาะสมต่อความจำเพาะเจาะจงของสารในระบบ ยกตัวอย่างเช่นในงานวิจัยของ Glaucia Aguiar Rocha และคณะ (2011) ได้ศึกษาผลของการกักเก็บไลโคพีน (Lycopene) ซึ่งเป็นสารแคโรทินอยด์ (Carotenoids) ชนิดหนึ่ง ที่มีความไวต่อการเกิดปฏิกิริยาโพลิเมอร์ไรเซชัน (Polymerization) และปฏิกิริยาออกซิเดชันในระหว่างกระบวนการกักเก็บเป็นอย่างมาก โดยใช้แป้งดัดแปรเป็นวัสดุห่อหุ้ม ผ่านทางกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอย เพื่อเพิ่มความเสถียรให้กับไลโคพีนและสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในอาหารประเภทเค้ก (Cake) ได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยได้ทดลองวิเคราะห์ผลของปริมาณไลโคพีนต่างๆ ได้แก่ ร้อยละ 5, 10, 15 โดยมวล ในสารละลายที่มีของแข็งร้อยละ 30 โดยมวล พบว่าประสิทธิภาพของกระบวนการกักเก็บด้วยเทคนิคการอบแห้งแบบพ่นฝอยนั้นสามารถกักเก็บไลโคพีนได้คิดเป็นร้อยละ 21 และ 29 เมื่อทดสอบการเสื่อมสภาพระหว่างกระบวนการเก็บรักษาพบว่าไมโครแคปซูลสามารถช่วยป้องกัน

ไลโคพีนจากปัจจัยที่ทำให้เสื่อมสภาพได้ และเมื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพในกระบวนการอบเค้ก พบว่าไมโคแคปซูลทำให้สีของเค้กมีการเปลี่ยนแปลงไปเล็กน้อยเมื่อเทียบกับไลโคพีนที่ไม่ได้ผ่านกระบวนการกักเก็บ แต่ก็ยังคงให้สีที่เป็นเนื้อเดียวกันเช่นเดียวกัน แสดงว่าไมโครแคปซูลมีการปลดปล่อยไลโคพีนออกมาเล็กน้อยขณะอบเค้ก

แป้งถือว่าเป็นวัสดุห่อหุ้มที่มีการเลือกใช้มากที่สุด เพราะสามารถหาซื้อได้ง่าย และไม่เป็นอัตรายต่อสิ่งแวดล้อม ในหลายๆ งานวิจัยเลือกใช้แป้งเป็นวัสดุห่อหุ้ม ถึงแม้ว่าจะมีอุปสรรคเรื่องความไม่เหมาะสมต่อสารในระบบก็ตาม G. Öngen และคณะ (2001) ได้ทดลองนำเทคโนโลยีกักเก็บสารมาใช้กักเก็บเอนไซม์อัลฟาอะไมเลส (α-Amylase) เพื่อควบคุมการปลดปล่อยของเอนไซม์และป้องกันการเสื่อมสภาพของเอนไซม์จากการสัมผัสกับน้ำโดยตรง โดยได้ทดลองกักเก็บเอนไซม์ไว้ภายในไมโครแคปซูลที่ทำจากแป้งมันฝรั่งที่ผ่านการเจลลาติไนซ์ (Gelatinized potato) มีการเติมกลีเซอรอล (Glycerol) ร้อยละ 20 โดยมวลของแข็ง และเลซิทิน (Lacithin) ร้อยละ 3 โดยมวลของแข็ง เพื่อช่วยเพิ่มความเสถียรให้กับเอนไซม์ ก่อนนำไปผ่านกระบวนกักเก็บด้วยเทคนิคการนวด (Kneading) พบว่าในระหว่างกระบวนการกักเก็บเอนไซม์จะสูญเสียแอคติวิตีไปกับการย่อยสลายแป้งเพียงเล็กน้อย ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของเอนไซม์ โดยมีแอคติวิตีคงเหลือ 90±5 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับเอนไซม์ที่ไม่ได้ผ่านกระบวนการกักเก็บ เอนไซม์ที่ผ่านกระบวนการกักเก็บจะไม่ทำงานเมื่อเก็บไว้ภายใต้สภาวะที่มีความชื้นต่ำ (RH ≤ 60%) และจะกลับมาทำงานอีกครั้งเมื่อน้ำเข้าถึงเอนไซม์ (90% RH) ในทำนองเดียวกันกับ Helena S. Azevedo และ Rui L. Reis (2009) ได้ศึกษาถึงผลของเอนไซม์อัลฟาอะไมเลสที่มีต่ออัตราการย่อยสลายแป้งซึ่งใช้เป็นวัสดุห่อหุ้มในกระบวนการกักเก็บเอนไซม์อัลฟาอะไมเลสเช่นกัน โดยทำการผสมเอนไซม์กับแป้งข้าวโพดและโพลีคาโปรแลคโตน (Polycaprolactone, SPCL) จากนำไปผ่านกระบวนการนวดเพื่อไล่น้ำออกเช่นเดียวกัน พบว่าในระหว่างกระบวนการกักเก็บและกระบวนการเก็บรักษา ไม่มีการย่อยสลายแป้งที่เกิดจากการทำงานของเอนไซม์เกิดขึ้น เนื่องจากไม่พบน้ำตาลในสารละลาย แต่พบว่าค่าแอคติวิตีของเอนไซม์ลดลงเหลือ 40 เปอร์เซ็นต์ หลังจากการเก็บรักษามาแล้วเป็นเวลา 28 วัน แสดงให้เห็นว่าการกักเก็บเอนไซม์อะไมเลสด้วยกระบวนการนวดช่วยป้องกันการย่อยสลายได้

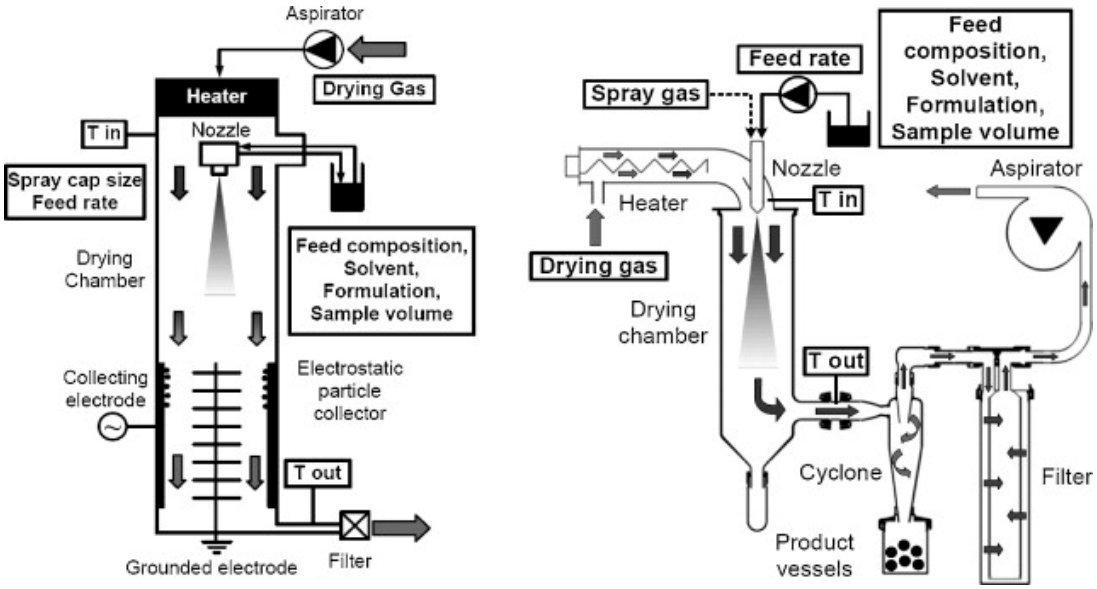
2.3 เทคนิคการอบแห้งแบบพ่นฝอย

การอบแห้งแบบพ่นฝอยเป็นเทคนิคที่ใช้เพื่อระเหยน้ำออกจากของเหลวอย่างรวดเร็วด้วยอากาศร้อน กระบวนการนี้ประกอบไปด้วยการพ่นของเหลว (Feed) ออกมาจนเป็นละอองขนาดเล็กเข้าผสมกับอากาศร้อนที่ไหลผ่านอย่างรวดเร็ว และเนื่องจากหยดของเหลวมีขนาดเล็กมากประมาณ 100 - 200 ไมโครเมตร ทำให้มีพื้นที่ผิวต่อปริมาตรมากขึ้น เป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวในการถ่ายโอนมวลและความร้อน การระเหยจึงเกิดขึ้นบนพื้นที่ผิวของหยดของเหลวอนุภาคเล็กๆ อย่างรวดเร็ว ทำให้น้ำที่อยู่ในละอองของเหลวระเหยไปทั้งหมด และได้ผลิตภัณฑ์ที่อยู่ในรูปของผงแห้ง สำหรับกระบวนการทำแห้งให้กับผลิตภัณฑ์นั้น จะเริ่มทำตั้งแต่ใส่ของเหลวลงในเครื่อง แล้วรอจนของเหลวมีความชื้นในระดับที่เหมาะสมต่อการฉีดให้ออกมาเป็นละออง จากนั้นจึงแยกผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำแห้งออกมา สำหรับตัวอย่างของเหลวที่นำมาทำแห้งนั้นสามารถใช้ได้ทั้งที่เป็น ตัวทำละลาย สารประเภทอิมัลชันหรือสารแขวนลอยก็ได้ ส่วนเครื่องมือที่ใช้สำหรับกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอยคือเครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอย (Spray dryer)



รูปที่ 2.8 แสดงการกักเก็บสารโดยใช้เทคนิคการอบแห้งแบบพ่นฝอย

(N. V. Jyothi และคณะ 2009)



รูปที่ 2.9 แสดงหลักการทำงานของเครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอย

(K. Bürki และคณะ 2011)

<u>หลักการพื้นฐานของการอบแห้งแบบพ่นฝอย</u>

เมื่อของเหลวถูกฉีดเป็นละอองและสัมผัสกับอากาศร้อนภายในห้องอบแห้ง จะทำให้น้ำในของเหลวระเหยไปอย่างรวดเร็ว จากนั้นผงแห้งจะตกลงมา แล้วถูกแยกออกจากลมร้อน โดยกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยประกอบด้วย 4 ขั้นตอนหลักๆ ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 การทำของเหลวให้มีอนุภาคขนาดเล็กๆ หรือหยดของเหลว (Atomization)

การทำของเหลวให้มีอนุภาคขนาดเล็กๆ หรือหยดของเหลวเป็นหัวใจหลักของการอบแห้งแบบพ่นฝอย เพราะจะเป็นตัวทำให้เกิดพื้นที่ผิวในการระเหยเพิ่มมากขึ้นซึ่งถ้ามีพื้นที่ผิวสูงก็จะสามารถระเหยน้ำออกจากอาหารได้รวดเร็ว และเป็นตัวทำให้เกิดอนุภาคเล็กๆ ซึ่งมีลักษณะทางกายภาพเฉพาะทั้งขนาด รูปร่างตลอดจนความหนาแน่น เมื่อของเหลวมีขนาดเล็กลงจะเพิ่มพื้นที่ผิวในการถ่ายโอนความร้อนได้มาก ทำให้เกิดการถ่ายโอนความร้อนและการถ่ายโอนมวลเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ

ขั้นตอนที่ 2 การทำให้ของเหลวกระจายตัวเป็นละออง (Atomization of feed)

กระบวนนี้เป็นการทำให้ของเหลวพ่นฝอยกระจายตัวกลายเป็นละออง โดยใช้หัวฉีด (Nozzle) แบบหมุนซึ่งถือว่าเป็นส่วนประกอบที่สำคัญที่สุดของเครื่องพ่นฝอย มี 3 ชนิดด้วยกัน คือ

ชนิดที่ 1 หัวฉีดแบบหมุน (Rotary atomizer)

อุปกรณ์พ่นฝอยชนิดนี้ของเหลวจะไหลลงบนจานหมุนใกล้กับจุดศูนย์กลาง โดยจานหมุนจะมีความ เร็วรอบประมาณ 5,000 - 10,000 รอบต่อนาที ของเหลวที่ตกลงบนจานหมุนจะถูกเหวี่ยงออกด้านข้างกระจายเป็นละอองขนาดอนุภาคเฉลี่ยประมาณ 30 – 120 ไมครอน

รูปที่ 2.10 หัวฉีดแบบหมุน

(GEA Process Engineering Inc Ltd., 2012 : online)

ชนิดที่ 2 หัวฉีดแบบแรงดัน (Pressure nozzles atomizer)

อุปกรณ์พ่นฝอยชนิดนี้ของเหลวจะไหลผ่านช่องของหัวฉีดภายใต้ความดันสูง ทำให้ของเหลวที่ออกมาจากหัวฉีดกระจายเป็นละอองฝอยได้โดยที่ไม่ต้องใช้อากาศ อนุภาคที่ได้จะมีขนาดเฉลี่ยประมาณ 120 – 250 ไมครอน โดยขนาดอนุภาคจะแปรผันตรงกับอัตราการไหลของของเหลวและความหนืด แต่จะแปรผกผันกับความดัน

รูปที่ 2.11 หัวฉีดแบบแรงดัน

(GEA Process Engineering Inc Ltd., 2012 : online)

ชนิดที่ 3 หัวฉีดแบบสองของไหล (Two-fluid nozzle atomizer ,Pneumatic nozzle atomizer)

อุปกรณ์พ่นฝอยชนิดนี้ ของเหลวและอากาศจะไหลผ่านหัวของหัวฉีด ซึ่งจะทำให้ของเหลวแตกเป็นละอองฝอยเนื่องจากการไหลผ่านของอากาศด้วยความเร็วสูงภายในหัวฉีด การปรับอัตราการไหลของอากาศจะช่วยในการกระจายเป็นละอองของของเหลววิธีนี้นิยมใช้กับของเหลวที่มีความหนืดสูง แต่อย่างไรก็ตามวิธีนี้มีค่าดำเนินการที่สูงแต่ให้ผลผลิตค่อนข้างต่ำ

รูปที่ 2.12 หัวฉีดแบบสองของไหล

(Buchi Thailand Ltd., 2012 : online)

ขั้นตอนที่ 3 การสัมผัสระหว่างละอองหยดของเหลวกับอากาศร้อน

ในขั้นตอนนี้อนุภาคของของเหลวจะสัมผัสกับอากาศร้อน เพื่อให้น้ำในของเหลวรับความร้อนจากอากาศร้อน ทำให้เกิดการระเหยน้ำออกไป การกำหนดทิศทางของการเคลื่อนที่ของอากาศร้อนเป็นสิ่งสำคัญที่ต้องคำนึงถึงมาก ถ้าทิศทางการไหลของอากาศเหมาะสม ก็จะทำให้การถ่ายโอนความร้อนเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็วทั้งนี้ก็ต้องขึ้นกับจุดประสงค์ของการอบแห้ง ลักษณะของของเหลวที่ต้องการอบแห้ง คุณภาพและลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ การสัมผัสระหว่างอนุภาคของเหลวกับอากาศร้อนแบ่งได้ 3 รูปแบบคือ

รูปแบบที่ 1 การไหลไปในทิศทางเดียวกัน (Co-current flow)

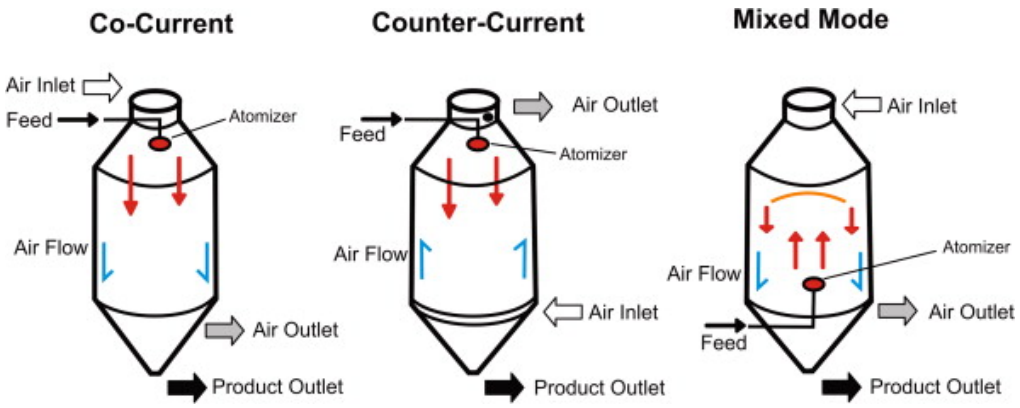
ของเหลวจะถูกพ่นออกไปในทิศทางเดียวกันกับอากาศร้อนที่ไหลเข้ามา วิธีนี้เหมาะสำหรับของเหลวที่ไม่ทนต่อความร้อน เนื่องจากมีการระเหยของน้ำเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็วในเวลาอันสั้นมาก อุณหภูมิของผลิตภัณฑ์จะต่ำกว่าอุณหภูมิของอากาศร้อนขาออก ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความหนาแน่นต่ำ

รูปแบบที่ 2 การไหลสวนทางกัน (Counter-current flow)

อาหารเหลวที่ถูกพ่นและอากาศร้อนไหลในทิศทางตรงกันข้าม เริ่มจากอนุภาคของของเหลวที่มีอุณหภูมิต่ำเมื่อได้รับความร้อนจะมีอุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นเรื่อยๆ จนกระทั่งเท่ากับอุณหภูมิของอากาศร้อน ลักษณะนี้จะมีการถ่ายโอนความร้อนอย่างมีประสิทธิภาพเหมาะกับของเหลวที่ทนต่อความร้อนสูงและต้องการความร้อนมาก

รูปแบบที่ 3 การไหลแบบผสมกัน (Mixed-flow)

ของเหลวและอากาศร้อนจะไหลไปในทางเดียวกันและสวนทางกันพร้อมๆกัน



รูปที่ 2.13 แสดงทิศทางการไหลของของเหลวและอากาศร้อน

(S.H. Peighambardoust และคณะ 2011)

ขั้นตอนที่ 4 การแยกผงแห้งออกจากอากาศร้อน

ผงแห้งจะติดออกมากับอากาศร้อนแล้วจะไหลเข้าสู่ไซโคลน ทำหน้าที่แยกผงแห้งออกจากอากาศ โดยผงแห้งจะตกลงสู่ด้านล่างของไซโคลน และอากาศจะไหลออกจากไซโคลนทางด้านบนเพื่อผ่านไปยังอุปกรณ์สำหรับกรองฝุ่น โดยส่วนใหญ่จะเลือกใช้ Scrubber หรือ Bag filter หรือ Electrostatic precipitator ขึ้นอยู่กับปริมาณการกรองและประสิทธิภาพที่ต้องการ

จากหลักการพื้นฐานของเทคนิคการอบแห้งแบบพ่นฝอยจะเห็นว่ามีตัวแปรหลายอย่างที่มีอิทธิพลต่อผลิตภัณฑ์สุดท้าย ตั้งแต่ชนิดของสารที่นำมาอบแห้ง รูปแบบการเตรียมของเหลวสายป้อน อัตราการป้อนสาร อัตราการไหลของอากาศ ตลอดจนสภาวะการทำงานของเครื่องอบแห้ง ทำให้การดำเนินการกักเก็บสารด้วยเครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอยเพื่อให้นำมาซึ่งผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพมากที่สุดจึงมีเงื่อนไขที่ต้องศึกษาแตกต่างกันไป อย่างเช่นในงานวิจัยของ R.V. Devakate และคณะ (2005) ได้ศึกษาตัวแปรต่างๆ ในกระบวนการกักเก็บไลโคพีนด้วยเทคนิคการอบแห้งแบบพ่นฝอย ได้แก่ อัตราส่วนระหว่างไลโคพีนกับวัสดุห่อหุ้ม, สัดส่วนของสารที่ใช้เป็นวัสดุห่อหุ้ม, อุณหภูมิของอากาศขาเข้า, อุณหภูมิของสารสายป้อน และความบริสุทธิ์ของไลโคพีน โดยวัสดุห่อหุ้มที่ใช้เป็นสารผสมระหว่างเจลาตินกับซูโครส (Sucrose) ปริมาณไลโคพีนที่ถูกกักเก็บได้ในไมโครแคปซูลจะเป็นข้อบ่งชี้ถึงอิทธิพลของปัจจัยดังกล่าว ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าปริมาณไลโคพีนในไมโครแคปซูลมีการเปลี่ยนแปลงโดยมีนัยสำคัญกับตัวแปรทุกตัวแปรที่ได้กล่าวไว้ข้างต้น โดยสภาวะที่ดีที่สุดที่ค้นพบคือ อัตราส่วนระหว่างเจลาตินต่อซูโครสเป็น 3 : 7 , อัตราส่วนระหว่างไลโคพีนต่อวัสดุห่อหุ้มเป็น 1 : 4 ,

อุณหภูมิของอากาศขาเข้า 190 องศาเซลเซียส, อุณหภูมิของสารสายป้อน 55 องศาเซลเซียส และความบริสุทธิ์ของไลโคพีนต้องไม่น้อยกว่า 52 เปอร์เซ็นต์ จึงจะได้ไมโครแคปซูลไลโคพีนที่มีรูปร่างเป็นทรงกลม ผิวเรียบ และมีความเสถียรมากที่สุด

ในงานวิจัยเกี่ยวกับเอนไซม์นั่นจะเน้นเรื่องของอุณหภูมิในการดำเนินการมากที่สุด เพราะเอนไซม์เป็นสารที่ไวต่อความร้อน ยิ่งเอนไซม์สัมผัสกับความร้อนมากก็จะยิ่งเสียสภาพมาก ดังนั้นในกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอย ปัจจัยด้านอุณหภูมิในการอบแห้งจึงเป็นปัจจัยสำคัญสำหรับการกักเก็บเอนไซม์ โดย R.V. Devakate และคณะ (2008) ได้ศึกษาผลของอุณหภูมิของอากาศขาเข้าของเครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอยที่มีต่อแอคติวิตีของเอนไซม์โบรมีเลน (Bromelain) ในกระบวนการกักเก็บเอนไซม์ พบว่าเมื่ออุณหภูมิของอากาศขาเข้าเพิ่มมากขึ้น ค่าแอคติวิตีของเอนไซม์โบรมีเลนก็จะยิ่งลดลง เพราะเมื่ออุณหภูมิของอากาศขาเข้าสูง ก็จะทำให้อุณหภูมิขาออกสูงขึ้นด้วย ส่งผลให้โปรตีนถูกทำลาย ดังนั้นในกระบวนการกักเก็บเอนไซม์ด้วยเทคนิคการอบแห้งแบบพ่นฝอย จึงควรดำเนินการที่สภาวะอุณหภูมิต่ำที่สุดที่สามารถดำเนินการได้ โดยจากผลการทดลองพบว่าเมื่อกำหนดให้อุณหภูมิของอากาศขาเข้ามีค่าประมาณ 110 องศาเซลเซียส เอนไซม์โบรมีเลนจะมีแอคติวิตีคงเหลือประมาณร้อยละ 50 – 70 โดยมีค่าอุณหภูมิขาออกของอากาศประมาณ 40 – 50 องศาเซลเซียส และเอนไซม์จะสูญเสียแอคติวิตีไปจนหมดเมื่ออุณหภูมิของอากาศขาเข้ามีค่าประมาณ 170 องศาเซลเซียส ซึ่งมีอุณหภูมิขาออกของอากาศประมาณ 65 – 70 องศาเซลเซียส

ในทำนองเดียวกับงานวิจัยของ สิริรัชต์ (2010) ได้ทดลองศึกษาผลกระทบของอุณหภูมิของอากาศขาเข้าในกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยต่อค่าแอคติวิตีของเอนไซม์ไฟเทส และลักษณะโครงสร้างของอนุภาคที่ได้ โดยใช้อุณหภูมิของอากาศขาเข้า 100, 120 และ 140 องศาเซลเซียส พบว่าที่อุณหภูมิของอากาศขาเข้า 100 และ 120 องศาเซลเซียส เอนไซม์ไฟเทสไม่มีการสูญเสียแอคติวิตี ในขณะที่อุณหภูมิของอากาศขาเข้า 140 องศาเซลเซียส จะเห็นการสูญเสียแอคติวิตีของเอนไซม์ชี้ให้เห็นว่าการเพิ่มอุณหภูมิของอากาศขาเข้าส่งผลต่อการสูญเสียแอคติวิตีของเอนไซม์ อีกทั้งยังแปรผกผันกับสัดส่วนของผลิตภัณฑ์ที่ได้ เนื่องจากการเพิ่มอุณหภูมิของอากาศขาเข้าส่งผลให้ความแตกต่างระหว่างอุณหภูมิของหยดละอองของสารสายป้อนกับอากาศแห้งมีค่ามาก ทำให้ความชื้นของผลิตภัณฑ์ลดลง เนื่องจากเกิดแรงขับเครื่องในการระเหยน้ำออกมาได้มากกว่า และเมื่อผงแห้งมีความชื้นน้อยลง อนุภาคที่ได้จึงติดอยู่ที่ห้องอบแห้งน้อยกว่า นอกจากนี้ยังพบว่าการเพิ่มอุณหภูมิของ

อากาศขาเข้าในกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยมีผลโดยตรงต่อลักษณะโครงสร้างภายนอกของผงแห้ง กล่าวคือ อุณหภูมิของอากาศขาเข้าที่สูงขึ้นทำให้อนุภาคของผงแห้งที่ได้มีขนาดเล็กลอง และมีลักษณะยุบตัว เว้า และย่นมากขึ้น สาเหตุเกิดจากความแตกต่างของอุณหภูมิภายในอนุภาคและภายนอกอนุภาคที่แตกต่างกันมาก ทำให้เกิดความดันที่แตกต่างกันมาก จึงทำให้ผลแห้งยุบตัวมาก

การเติมสารเพิ่มความเสถียรต่ออุณหภูมิให้กับเอนไซม์ก่อนจะนำไปกักเก็บด้วยกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอย เช่น แคลเซียมคลอไรด์, ไกลซีน, มอลโตเดกซ์ตริน เป็นต้น ก็จะช่วยเพิ่มแอคติวิตีให้กับผงเอนไซม์ได้ อย่างเช่นในงานวิจัยของ Alya Sellami-Kamoun และคณะ (2006) ที่ได้ศึกษาความเสถียรของเอนไซม์โปรติเอสที่สกัดจากเชื้อบาซิลลัส ไลเคนิฟอร์มิส RP1 ในสารลดแรงตึงผิวและผงซักฟอกในท้องถิ่นซึ่งได้กล่าวไว้ข้างต้น ได้ทดลองนำเอนไซม์โปรติเอสมาเติมมอลโตเดกซ์ตริน 1 เปอร์เซ็นต์, เติมซูโครส 1 เปอร์เซ็นต์ หรือเติมโพลีเอทิลีนไกลคอล 4000 (Polyethylene glycol, PEG 4000) 0.5 เปอร์เซ็นต์ พบว่าเอนไซม์มีแอคติวิตีคงเหลือหลังจากผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยแล้ว 100, 100 และ 95.6 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ โดยเอนไซม์ที่ไม่ได้เติมสารใดๆ จะสูญเสียแอคติวิตีไปถึง 8 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อทดลองบ่มเอนไซม์ไว้ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 70 วัน พบว่าเอนไซม์โปรติเอสที่เติมมอลโตเดกซ์ตริน 1 เปอร์เซ็นต์ให้ผลที่ดีที่สุด คือสูญเสียแอคติวิตีไปเพียง 18 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับผงเอนไซม์ที่ไม่ได้เติมสารใดๆ สูญเสียแอคติวิตีไป 31 เปอร์เซ็นต์ และเอนไซม์ที่ไม่ผ่านกระบวนการกักเก็บสูญเสียแอคติวิตีไปถึง 51 เปอร์เซ็นต์

<u>ข้อดีของกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอย</u>

1) ต้นทุนการผลิตต่ำ
2) สามารถผลิตได้ครั้งละปริมาณมาก
3) ขั้นตอนไม่ซับซ้อน
4) เครื่องมือที่ใช้สามารถหาได้ง่าย
5) สามารถกักเก็บและป้องกันสารได้เป็นอย่างดี
6) สามารถเลือกสารที่ใช้เป็นวัสดุห่อหุ้มได้หลายชนิด

กระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยนี้เป็นกระบวนการหนึ่งที่นิยมนำไปใช้ทำแห้งเซลล์แบคทีเรียที่ใช้งานในอุตสาหกรรม เพราะเป็นกระบวนการที่ไม่ซับซ้อนและต้นทุนต่ำ อีกทั้งช่วยยืดอายุการเก็บ

รักษาเซลล์ไว้ใช้งานในระยะเวลายาวนานได้ ยกตัวอย่างเช่นในงานวิจัยของ Y. Boza และคณะ (2003) ได้ศึกษากระบวนการกักเก็บเชื้อแบคทีเรียไบเจอริงเคีย (Beijerinckia sp) ซึ่งเป็นแบคทีเรียสำหรับตรึงไนโตรเจน (Nitrogen) ด้วยกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอย โดยใช้แป้งมอลโตเดกซ์ตรินเป็นวัสดุห่อหุ้ม จากผลการศึกษาพบว่าจำนวนแบคทีเรียที่เหลือในผลิตภัณฑ์จะมีมากเมื่ออุณหภูมิขาออกของอากาศต่ำ และมีปริมาณของแข็งในสารสายป้อนน้อย เพราะการเพิ่มอุณหภูมิขาออกของอากาศ หรือเพิ่มปริมาณของแข็งในสารสายป้อน ทำให้ความชื้นของผงแบคทีเรียลดลง ซึ่งส่งผลไปถึงประสิทธิภาพในการทำงานของแบคทีเรียที่ลดลงอีกด้วย

<u>ข้อด้อยของกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอย</u>

1) อาจเกิดการสูญเสียสารที่มีจุดเดือดต่ำระหว่างกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอย
2) ไม่เหมาะสำหรับสารที่มีความไวต่อความร้อน
3) สารที่ต้องการกักเก็บอาจติดบริเวณผิวของไมโครแคปซูล ทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในผลิตภัณฑ์ที่ได้

ในงานวิจัยของ R.V. Devakate และคณะ (2008) นอกจากจะศึกษาปัจจัยในกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยที่มีต่อการกักเก็บเอนไซม์โบรมีเลนแล้ว ยังได้เปรียบเทียบการทำแห้งเอนไซม์ด้วยกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยและกระบวนการทำแห้งแบบเยือกแข็ง (Freeze dry) อีกด้วย จากผลการทดลองพบว่าเอนไซม์ที่ถูกกักเก็บด้วยกระบวนการทำแห้งแบบเยือกแข็งให้แอคติวิตีคงเหลือสูงถึง 96 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่เอนไซม์ที่ถูกกักเก็บด้วยกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยในสภาวะอุณหภูมิของอากาศของออกประมาณ 40 – 50 องศาเซลเซียสมีค่าแอคติวิตีคงเหลือประมาณ 50 - 70 เปอร์เซ็นต์ สาเหตุเพราะเอนไซม์เป็นสารที่มีความไวต่อความร้อน ดังนั้นกระบวนการกักเก็บที่ต้องใช้ความร้อนสูงเช่นกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยจึงให้ค่าแอคติวิตีคงเหลือน้อยกว่ากระบวนการที่ไม่ใช่ความร้อนดังเช่นกระบวนการทำแห้งแบบเยือกแข็ง

<u>ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อโครงสร้างของไมโครแคปซูลที่ได้จากการอบแห้งแบบพ่นฝอย</u>

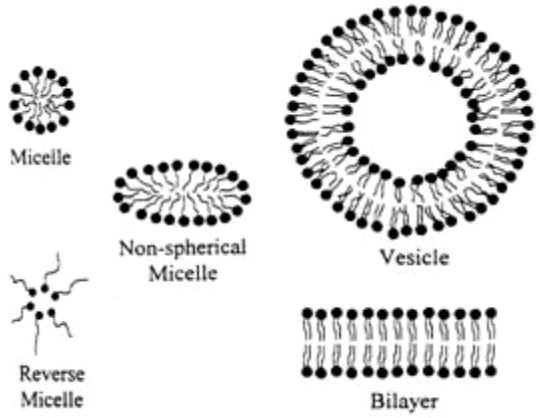
1) องค์ประกอบและคุณสมบัติของสารห่อหุ้ม
2) อัตราส่วนของสารที่ต้องการกักเก็บกับสารห่อหุ้ม
3) วิธีการพ่นฝอยและตัวแปรในกระบวนการอบแห้ง
4) การหดตัวอย่างไม่สม่ำเสมอในระหว่างขั้นตอนเริ่มต้นของการอบแห้ง
5) สภาวะในการเก็บรักษา

2.4 อิมัลชัน

อิมัลชัน เป็นคอลลอยด์ (Colloid) ประเภทหนึ่ง เกิดจากการกระจายตัวเป็นหยดเล็กๆ ของสารที่ไม่ละลายเข้ากันเป็นเนื้อเดียวสองชนิดขึ้นไป โดยอิมัลชันขนาดใหญ่ (Microemulsion) จะมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของหยดมากกว่า 0.1 ไมครอน มีลักษณะขุ่นมัว ไม่มีเสถียรภาพ จึงมีความจำเป็นต้องมีตัวกระทำอิมัลชัน (Emulsifier) แต่ถึงแม้จะมีตัวกระทำอิมัลชันก็ตาม บางครั้งก็มีการสูญเสียอิมัลชันได้เนื่องจากสาเหตุต่างๆ ส่วนอิมัลชันขนาดเล็ก (Microemulsion) จะมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของหยดประมาณ 100 - 1000 อังสตรอม เป็นอิมัลชันที่มีเสถียรภาพและมีความขุ่นมัวน้อย

อิมัลชันระหว่างน้ำและน้ำมันมี 2 ชนิด คือ อิมัลชันแบบน้ำมันในน้ำ (Oil in Water emulsion) เช่น น้ำนมและไอศกรีม เป็นต้น และอิมัลชันแบบน้ำในน้ำมัน (Water in Oil emulsion) เช่น มายองเนส เนยสด เป็นต้น ตัวกระทำอิมัลชันระหว่างน้ำและน้ำมันจะทำให้แรงตึงผิวระหว่างชั้นของน้ำและชั้นของน้ำมันลดลง ทำให้น้ำและน้ำมันสามารถรวมตัวกันได้ เนื่องจากสารดังกล่าวประกอบด้วยกลุ่มที่ชอบน้ำ (Hydrophylic group) และกลุ่มที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic group) อยู่ในโมเลกุลเดียวกัน กลุ่มที่ชอบน้ำเรียกว่าเป็นส่วนหัว จะรวมตัวกับน้ำได้ดี อาจจะประกอบด้วยไอออนประจุบวก (Cation) หรือไอออนประจุลบ (Anion) หรือไอออนขั้วคู่ (Zwitterion) หรือสารไม่มีขั้ว กลุ่มที่ไม่ชอบน้ำเรียกว่าส่วนหาง อาจมีสายโซ่ของคาร์บอน

จำนวน 1 สายโซ่หรือมากกว่า 1 โดยแต่ละสายโซ่จะมีจำนวนคาร์บอน 10 - 20 อะตอม ในการเกิดอิมัลชัน ตัวกระทำอิมัลชันจะมีการจัดเรียงตัวในรูปแบบต่าง ๆ ดังรูปที่ 2.15



รูปที่ 2.14 การจัดเรียงตัวของตัวกระทำอิมัลชันแบบต่าง ๆ

McClements และคณะ (1998)

กลไกในการทำงานของตัวกระทำอิมัลชันประกอบด้วยการทำให้เกิดการผลักกันระหว่างหยดเล็กๆ เนื่องจากประจุไฟฟ้าบนตัวกระทำอิมัลชัน ทำให้มีประจุไฟฟ้าชนิดเดียวกันที่ผิวของหยดเล็ก หรืออาจกล่าวได้ว่าตัวกระทำอิมัลชันทำให้เกิดระยะกลางของการเปลี่ยนแปลงจากของเหลวไปเป็นผลึก

การจะประเมินว่าตัวกระทำอิมัลชันนั้นเหมาะสมกับการใช้งานหรือไม่ ส่วนใหญ่จะประเมินจากค่าความสมดุลระหว่างกลุ่มชอบน้ำและกลุ่มไม่ชอบน้ำของตัวกระทำอิมัลชันเรียกว่าค่าเอชแอลบี (Hydrophil-Lipophile Balance, HLB) ซึ่งเป็นสัดส่วนร้อยละของกลุ่มชอบน้ำต่อกลุ่มไม่ชอบน้ำที่มีอยู่ในโมเลกุลของสารที่เป็นตัวกระทำอิมัลชัน โดยมีการกำหนดค่าอยู่ในช่วง 1 ถึง 20 ตัวกระทำอิมัลชันชนิดที่มีค่าต่ำจะมีค่าอยู่ระหว่าง 4 ถึง 6 ซึ่งจะใช้ได้ดีกับอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมัน ขณะที่ตัวกระทำอิมัลชันที่มีค่าสูงคือมีค่าอยู่ในช่วง 8-18 จะเหมาะกับอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ ส่วนตัวกระทำอิมัลชันที่มีค่าเอชแอลบีระหว่าง 6 ถึง 8 มักใช้เป็นสารดูดความชื้น ไม่มีการแนะนำให้ใช้เป็นตัวกระทำอิมัลชัน ส่วนตัวกระทำอิมัลชันที่มีค่าเอชแอลบี ต่ำกว่า 4 และมากกว่า 18 จะมีค่าแรงตึงผิวต่ำมาก จึงไม่นิยมใช้งาน

ตารางที่ 2.1 ค่า HLB ของตัวกระทำอิมัลชันชนิดไม่มีขั้วที่ใช้ในเชิงการค้าบางชนิด (DeMan และคณะ, 1990)

ชื่อทางการค้า	ชื่อทางเคมี (ชื่อสามัญ)	ค่าเอชแอลบี
Span 85	Sorbitan trioleate	1.8
Span 65	Sorbitan tristearate	2.1
Atmos 150	Mono หรือ Diglyceride	3.2
Atmul 500	Mono หรือ Diglyceride	3.5
Atmul 84	Glycerol monostearate	4.3
Span 80	Sorbitan monooleate	3.8
Span 60	Sorbitan monostearate	4.7
Span 40	Sorbitan monopalmitate	6.7
Span 20	Sorbitan monolaurate	8.6
Tween 61	Polyoxyethylene sorbitan monostearate	9.6
Tween 81	Polyoxyethylene sorbitan monooleate	10.0
Tween 85	Polyoxyethylene sorbitan trioleate	11.0
Arlacel 165	Glycerol monostearate	11.0
	(Acid stable, Self-emulsifying)	
Myrj 45	Polyoxyethylene monostearate	11.0
Atlas G-2127	Polyoxyethylene monotsearate	11.1
Myrj 49	Polyoxyethylene monolaurate	12.8

การเกิดอิมัลชันมักพบในกระบวนการกักเก็บสาร เนื่องจากเป็นทางออกของปัญหาการไม่ละลายเข้ากันเป็นเนื้อเดียวของสาร โดยเฉพาะการกักเก็บสารหอมระเหยซึ่งไม่ละลายในน้ำ จึงต้องมีการเตรียมสารในรูปแบบอิมัลชัน ตัวอย่างเช่นในงานวิจัยของ Apinan Soottitantawat และคณะ (2004) ได้ทดลองกักเก็บน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากเปลือกส้ม (D-liminene) ด้วยกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอย ซึ่งต้องเตรียมสารสายป้อนในรูปแบบอิมัลชัน โดยได้ศึกษาอิทธิพลของขนาดของหยด

อิมัลชัน ขนาดของผงแห้ง และชนิดของวัสดุห่อหุ้มได้แก่ กัมอาระบิค, มอลโตเดกซ์ตริน และแป้งดัดแปร ซึ่งมีผลต่อการปลดปล่อยสารของอนุภาคและความเสถียรต่อปฏิกิริยาออกซิเดชันในระหว่างการเก็บรักษา และจากผลการทดสอบพบว่าอนุภาคที่ใช้กัมอาระบิคและมอลโตเดกซ์ตรินเป็นวัสดุห่อหุ้มจะมีอัตราการปลดปล่อยสารและมีความเสถียรต่อปฏิกิริยาออกซิเดชันลดลงเมื่อขนาดของอิมัลชันและขนาดของผงแห้งเพิ่มขึ้น นอกจากนี้การเพิ่มขนาดของหยดอิมัลชันยังทำให้การกระจายตัวของหยดอิมัลชันในผงแห้งเพิ่มขึ้นอีกด้วย อย่างไรก็ตามอนุภาคที่ใช้แป้งดัดแปรเป็นวัสดุห่อหุ้มนั้นให้การกักเก็บน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกส้มได้เสถียรที่สุด

เทคนิคที่สามารถนำมาใช้ในการเตรียมอิมัลชันนั้นมีหลายเทคนิคด้วยกัน การเลือกเทคนิคมาใช้จึงต้องพิจารณาปัจจัยต่างๆ เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด เช่นในงานวิจัยของ Seid Mahdi Jafari และคณะ (2007) ได้ทดลองกักเก็บน้ำมันปลา (Fish oli) ด้วยกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอย โดยเตรียมสารสายป้อนในรูปแบบอิมัลชันที่มีขนาดเล็กระดับนาโนเมตรด้วยเทคนิคไมโครฟลูอิดไดเซชัน (Microfluidization) และเทคนิคอัลตร้าโซนิเคชัน (Ultrasonication) มอลโตเดกซ์ตรินถูกใช้เป็นวัสดุห่อหุ้มร่วมกับแป้งดัดแปรหรือเวย์โปรตีนเข้มข้นในอัตราส่วน 3 : 1 ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าเทคนิคไมโครฟลูอิดไดเซชันมีประสิทธิภาพในการเตรียมอิมัลชันน้ำมันปลาสำหรับกระบวนการกักเก็บมากที่สุด โดยมีน้ำมันที่ไม่ได้ถูกกักเก็บบนผิวของผงแห้งน้อยที่สุด และสามารถเตรียมอิมัลชันโดยมีขนาดของหยดอิมัลชันในระดับนาโนเมตร (d_{43} 210 – 280 nm)

2.5 อิมัลชันเชิงซ้อน

อิมัลชันเชิงซ้อน หรือ ดับเบิ้ลอิมัลชัน (Double emulsion) เป็นอิมัลชันที่มีวัฏภาคภายในซ้อนกันอยู่ ซึ่งเป็นของเหลวต่างชนิดกัน เรียกได้ว่าเป็นอิมัลชันของอิมัลชัน โดยจะอยู่ในรูปของน้ำในน้ำมันในน้ำ (W/O/W) หรือ น้ำมันในน้ำในน้ำมัน (O/W/O) อิมัลชันเชิงซ้อนเหล่านี้สามารถกลับกลายเป็นอิมัลชันชนิดธรรมดาได้ เช่น W/O/W ซึ่งมีน้ำเป็นวัฏภาคภายนอก แต่วัฏภาคภายในเป็น

น้ำมัน จะมีหยดเล็กๆของหยดน้ำซ้อนอยู่อีกที เมื่อกลับกลายเป็นอิมัลชันธรรมดาจะกลายเป็นชนิด O/W เป็นต้น

อิมัลชันเชิงซ้อนนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการกักเก็บสารเพื่อควบคุมการปลดปล่อยของสารชั้นในสู่สารชั้นนอก และป้องกันสารชั้นในจากปัจจัยแวดล้อมภายนอก เทคนิคนี้จึงนิยมนำไปใช้กักเก็บสารที่มีความไวต่อการเสื่อมสภาพและการสูญเสียอันเนื่องมาจากสภาพแวดล้อม ทั้งในด้านเวชศาสตร์ การแพทย์ เครื่องสำอาง โดยเฉพาะอย่างยิ่งอุตสาหกรรมอาหารที่ต้องการกักเก็บกลิ่นหรือสารอาหารที่สำคัญ อย่างเช่นในงานวิจัยของ A. Edris และ B. Bergnståhl (2001) ได้ทดลองกักเก็บน้ำมันส้ม (Orange oil) ในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนน้ำมันในน้ำในน้ำมัน ($O_1/W/O_2$) เมื่อ O_1 คือ น้ำมันส้ม, W คือน้ำ และ O_2 คือน้ำมันพืช (Vegetable oil) ผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยโดยใช้แลคโตส (Lactose) และเคซีเนต (Caseinate) เป็นวัสดุห่อหุ้ม เพื่อความคุมการปลดปล่อยของน้ำมันส้ม และป้องกันการเสื่อมสภาพจากปัจจัยแวดล้อมภายนอกต่างๆ ทั้งแสงแดด ความชื้น ออกซิเจน เป็นต้น และให้สามารถนำไปใช้งานในรูปของผงแห้งได้

ในอุตสาหกรรมยาก็ได้นำเทคนิคการกักเก็บสารในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนไปประยุกต์ใช้อย่างแพร่หลายเช่นกัน Kai Lindenstruth และ Bernd W. Muller (2004) ได้ทำการทดลองเพื่อแก้ปัญหาการซึมทะลุผ่านของยาที่อยู่ในชั้นน้ำมันออกมาสู่ชั้นน้ำด้านนอกในอิมัลชันเชิงซ้อน W/O/W ซึ่งเกิดขึ้นทั้งในระหว่างการดำเนินกระบวนการกักเก็บและในช่วงของการเก็บรักษา โดยได้วิเคราะห์ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อความหนาของชั้นน้ำมัน พบว่าความดันและอุณหภูมิที่แตกต่างกันในการเตรียมอิมัลชันมีผลต่อขนาดของอนุภาคน้ำมันซึ่งส่งผลต่อประสิทธิภาพในการกักเก็บยาด้วย

ความเสถียรของอิมัลชันเชิงซ้อนขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายปัจจัย ทั้งกระบวนการเตรียม ลักษณะของสารที่ต้องการกักเก็บ สารเคมีที่ใช้ในระบบ ชนิดของน้ำมัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งคือการเลือกใช้สารลดแรงตึงผิว T. Schmidts และคณะ (2010) ได้เสนอการทดลองหาสารลดแรงตึงผิวที่เหมาะสมกับระบบอิมัลชันเชิงซ้อน W/O/W มากที่สุด โดยขั้นแรกเลือกสารลดแรงตึงผิวจากค่าเอชแอลบีที่คำนวณได้จากน้ำมันสำหรับอิมัลชัน W/O และจากนั้นทดลองผสมอิมัลชัน W/O ที่มีความเสถียรที่สุดที่ได้จากขั้นตอนแรกกับสารลดแรงตึงผิวประเภทชอบน้ำ ปริมาณ 1 เปอร์เซ็นต์ เพื่อรักษาเสถียรภาพระหว่างผิวชั้นที่สอง

2.6 สมการอธิบายการปลดปล่อยเอนไซม์

สมการที่ใช้ในการศึกษาลักษณะของการปลดปล่อยของเอนไซม์นั้นมีหลายรูปแบบ จากผลงานวิจัยที่ผ่านมาสามารถรวบรวมและสรุปโมเดลที่ใช้ในการศึกษาลักษณะของการปลดปล่อยเอนไซม์ได้ดังนี้

ตารางที่ 2.2 แสดงโมเดลสมการที่ใช้ในการศึกษาลักษณะของการปลดปล่อยเอนไซม์ (Paulo Costa และ Jose´ Manuel Sousa Lobo, 2001)

Zero order	$Q_t = Q_0 + K_0 t$
First order	$\ln Q_t = \ln Q_0 + K_1 t$
Second order	$Q_t/Q_\infty(Q_\infty - Q_t)K_2 t$
Hixson–Crowell	$Q_0^{1/3} - Q_t^{1/3} = K_s t$
Weibull	$\log[-\ln(1 - (Q_t/Q_\infty))] = b \times \log\ t - \log\ a$
Higuchi	$Q_t = K_H\sqrt{t}$
Baker–Lonsdale	$(3/2)[1 - (-1(Q_t/Q_\infty))^{2/3}] - (Q_t/Q_\infty) = Kt$
Korsmeyer–Peppas	$Q_t/Q_\infty = K_k t^n$
Quadratic	$Q_t = 100(K_1 t^2 + K_2 t)$
Logistic	$Q_t = A/[1 + e^{-K(t-y)}]$
Gompertz	$Q_t = A\ e^{-e-K(t-y)}$
Hopfenberg	$Q_t/Q_\infty = 1 - [1 - k_0 t/C_0 a_0]^n$

โมเดลสมการของ Weibull เป็นการอธิบายการปลดปล่อยโดยใช้ฟังค์ชันเอ็กซ์โปเนนเชียล Rudra และคณะ (2008) ยอมรับว่าเป็นสมการที่ใช้ได้ดีในการศึกษากลไกการเสื่อมสภาพของเปอร์ออกซิเดสในใบ มิ้นเนื่องจากความร้อน โดยทำการทดลองให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 – 100 องศาเซลเซียส แล้วนำโมเดลสมการแต่ละสมการมาประยุกต์ใช้เพื่ออธิบายผลการทดลอง ซึ่งพบว่าโมเดลสมการของ Weibull ให้ค่า R^2 ที่ยอมรับได้มากที่สุด นอกจากนี้ โมเดลสมการของ Weibull ยังเป็นสมการที่นิยมมากในการศึกษาลักษณะการปลดปล่อย เนื่องจากใช้ได้ทั้งการปลดปล่อยแบบ Fickian transport และ non- Fickian transport โดยมีสมการดังนี้

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - \exp(-at^b)$$

เมื่อ M_t คือ ปริมาณสารที่ปลดปล่อยที่เวลา t

M_∞ คือ ปริมาณสารที่ปลดปล่อยที่เวลา ∞

t คือ เวลาในการปลดปล่อย

a,b คือ ค่าคงที่; โดยค่า a ขึ้นกับพื้นที่ผิวของเมทริกซ์ ส่วนค่า b ขึ้นกับแรงกระทำระหว่างอนุภาคและปริมาณที่โมเลกุลสารแพร่ผ่าน

นอกจากโมเดลสมการของ Weibull แล้ว โมเดลสมการของ Avrami ก็ยังเป็นโมเดลสมการที่เหมาะสมในการอธิบายการปลดปล่อยของสาร เนื่องจากมีส่วนคล้ายโมเดลสมการของ Weibull ซึ่ง Yoshii และคณะ (2005) ได้นำโมเดลสมการของ Avrami นี้มาใช้ในการอธิบายการเสื่อมสภาพของเอนไซม์เช่นกัน โดยมีสมการคือ

$$R = \exp\left[-(kt)^n\right]$$

เมื่อ R คือ ค่าร้อยละการกักเก็บของสาร

t คือ เวลาในการเก็บรักษา

k คือ ค่าคงที่อัตราการปลดปล่อย

n คือ ค่าที่บอกถึงกลไกการปลดปล่อย

โดย ถ้า n = 1 เป็นการปลดปล่อยแบบลำดับที่หนึ่ง (First order)

n < 1 เป็นการปลดปล่อยแบบแพร่ผ่านของโมเลกุล

n > 1 จะเกิดการแพร่ที่รวดเร็ว ซึ่งอาจมีกลไกการปลดปล่อยมากกว่า 1 แบบ

สำหรับค่าคงที่อัตราการปลดปล่อย (k) เป็นค่าที่บอกถึงอัตราการปลดปล่อย โดยค่า k มาก หมายถึงการปลดปล่อยที่รวดเร็ว

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

การวิจัยจะถูกแบ่งออกเป็น 2 ช่วง คือ ช่วงการเตรียมผงเอนไซม์ และช่วงการวิเคราะห์ผงเอนไซม์ โดยในช่วงของการเตรียมผงเอนไซม์ด้วยกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยนั้น จะมีการเตรียมสายป้อน 2 รูปแบบ ได้แก่ การเตรียมสารสายป้อนในรูปสารละลาย และการเตรียมสารสายป้อนในรูปอิมัลชันเชิงซ้อน ก่อนผ่านเข้าเครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอย ซึ่งจะได้เป็นผงเอนไซม์ออกมา 2 รูปแบบ หลังจากนั้นผงเอนไซม์ที่ได้จะถูกนำไปวิเคราะห์ค่าแอคติวิตีและทดสอบความเสถียรในการเก็บรักษาที่สภาวะต่างๆ โดยรายละเอียดของการวิจัยในแต่ละขั้นตอนได้แสดงไว้ดังต่อไปนี้

3.1 การเตรียมสารสายป้อนของเอนไซม์โปรติเอสในรูปแบบสารละลายและอิมัลชันเชิงซ้อน

3.1.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1) แป้งดัดแปร จากบริษัท National starch (NCS) ประเทศไทย

2) น้ำมันเอ็มซีที จากบริษัท Sigma-Aldrich ประเทศสิงคโปร์

3) พรูโรนิค แอล 31 จากบริษัท Sigma-Aldrich ประเทศสิงคโปร์

4) เอนไซม์โปรติเอส จากบริษัท Brenntag Ingradiets Ltd. ประเทศไทย

3.1.2 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

1) โฮโมจิไนเซอร์ (Homogenizer) สามารถใช้งานได้ที่ช่วงความเร็วรอบ 6500 - 24000 รอบต่อนาที ปริมาตร 1 – 2000 มิลลิลิตร ยี่ห้อ Ultra-turrax ประเทศแคนาดา

รูปที่ 3.1 เครื่องโฮโมจิไนเซอร์

(http://www.coleparmer.com/Product/Ika_T_25_ULTRA_TURRAX_Digital_Homogenizer_115_vac/EW-04739-01)

2) เครื่องปั่นกวน (Magnetic stirrer and hotplate) สามารถปั่นที่ช่วงความเร็วรอบ 0 – 1500 รอบต่อนาที ปริมาณถึง 10 ลิตร ให้ความร้อนได้ถึง 550 องศาเซลเซียส ยี่ห้อ IKA ประเทศเยอรมันนี

รูปที่ 3.2 เครื่องปั่นกวน

(http://www.medicalexpo.com/prod/ika/digital-laboratory-magnetic-stirrers-70924-445934.html)

3.1.3 วิธีการทดลอง

1) การเตรียมสารละลายเอนไซม์โปรติเอส

เตรียมสารละลายน้ำแป้ง โดยผสมแป้งกับน้ำกลั่นด้วยเครื่องปั่นกวนเป็นเวลา 1 คืน แล้วเติมเอนไซม์โปรติเอสลงในสารละลายน้ำแป้งอย่างต่อเนื่อง ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องปั่นกวนโดยมีการหล่อเย็นตลอดเวลา แบ่งสารละลายเอนไซม์โปรติเอสในน้ำแป้งบางส่วนไปวิเคราะห์ค่าแอคติวิตี และนำส่วนที่เหลือไปทำให้อยู่ในรูปของผงแห้งด้วยวิธีการอบแห้งแบบพ่นฝอย จากนั้นนำผงเอนไซม์แห้งไปวิเคราะห์ค่าแอคติวิตีที่เหลือ

2) การเตรียมอิมัลชันเชิงซ้อนของเอนไซม์โปรติเอส ($W_1/O/W_2$)

ขั้นตอนการเตรียมอิมัลชันเชิงซ้อนในรูปแบบน้ำในน้ำมันในน้ำ ที่มีความเข้มข้นของของแข็งร้อยละ 40 โดยน้ำหนัก สามารถแบ่งขั้นตอนออกเป็น 2 ส่วน ส่วนแรกเป็นการเตรียมอิมัลชันน้ำในน้ำมัน (W_1/O) และส่วนที่สองเป็นการเตรียมอิมัลชันเชิงซ้อนน้ำในน้ำมันในน้ำ ($W_1/O/W_2$)

2.1) การเตรียมอิมัลชันน้ำในน้ำมัน (W_1/O)

การเตรียมอิมัลชันน้ำในน้ำมัน จะเตรียมเฟส (Phase) น้ำมันก่อน โดยผสมน้ำมันเอ็มซีทีกับสารลดแรงตึงผิวพลูโรนิค แอล 31 ด้วยเครื่องปั่นกวนโดยมีการหล่อเย็นตลอดเวลา จากนั้นค่อยๆ เทเอนไซม์โปรติเอส ลงไปในสารผสมน้ำมันกับสารลดแรงตึงผิวอย่างต่อเนื่อง ทำการผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้โฮโมจิไนเซอร์ที่ความเร็วรอบ 15000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที และมีการหล่อเย็นตลอดเวลา

2.2) การเตรียมอิมัลชันเชิงซ้อนน้ำในน้ำมันในน้ำ ($W_1/O/W_2$)

เตรียมสารละลายน้ำแป้งดัดแปร โดยผสมแป้งกับน้ำกลั่นด้วยเครื่องปั่นกวนเป็นเวลา 1 คืน จากนั้นค่อยๆ เทอิมัลชันน้ำในน้ำมันที่เตรียมได้ในขั้นตอนที่ 2.1) ลงในสารละลายน้ำแป้งอย่างต่อเนื่อง โดยให้ปริมาณอิมัลชันน้ำในน้ำมันเป็น 1 ส่วน ใน 4 ส่วนของของแข็งในสารละลายน้ำแป้ง ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยโฮโมจิไนเซอร์ที่ความเร็วรอบ 15000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที โดยมีการหล่อเย็นตลอดเวลา แล้วจึงแบ่งอิมัลชันเชิงซ้อนน้ำในน้ำมันในน้ำบางส่วนไปวิเคราะห์ค่าแอคติวิตี และนำส่วนที่เหลือไปทำให้อยู่ในรูปของผงแห้งด้วยวิธีการอบแห้งแบบพ่นฝอย จากนั้นนำผงเอนไซม์แห้งไปวิเคราะห์ค่าแอคติวิตีที่เหลือ

3.2 การเตรียมผงเอนไซม์แห้งด้วยกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอย

3.2.1 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

เครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอยรุ่น Buchi 290 บริษัท BUCHI (Thailand) Ltd.

รูปที่ 3.3 เครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอย

(http://www.buchi.nl/FAQ.3606.0.html)

3.2.2 วิธีการทดลอง

สารสายป้อนจะถูกดูดผ่านทางสายยางเข้าสู่เครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอยด้วยปั๊ม (Pump) ในอัตราการไหล 6 มิลลิลิตรต่อนาที ผ่านหัวฉีด (Atomizer) ทำให้สารสายป้อนกระจายตัวเป็นละอองฝอยอยู่ภายในห้องอบแห้ง (Chamber) โดยในห้องอบแห้งนี้ละอองของของเหลวจะสัมผัสกับอากาศร้อนที่เข้ามาที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส ทำให้น้ำซึ่งเป็นตัวทำละลายในของเหลวจะเกิดการระเหยอย่างรวดเร็ว ทำให้เกิดเป็นผงเอนไซม์แห้งตกลงสู่ด้านล่างของห้องอบแห้ง โดยผงเอนไซม์แห้งบางส่วนที่หลุดออกไปกับอากาศจะถูกแยกด้วยไวโคลน (Cyclone) นำผงเอนไซม์แห้งที่ได้ไปวิเคราะห์ค่าแอคติวิตีและความเสถียรในการเก็บรักษาที่สภาวะต่างๆ

3.3 วิธีวิเคราะห์ค่าแอคติวิตีและการทดสอบการควบคุมการปลดปล่อยของผงเอนไซม์โปรติเอส

3.3.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1) ไทโรซีน (Tyrosine)

2) เคซีน (Casein)

3) กรดไตรคลอโรอะซิติก (Trichloroacetic acid)

4) ทริสไฮโดรคลอริก บัฟเฟอร์ (Tris-HCl buffer) pH 9.0

5) เอนไซม์โปรติเอส จากบริษัท Brenntag Ingradiets ประเทศไทย

3.3.2 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

1) เครื่องวัดการดูดกลืนแสง

ใช้เครื่อง UV-VIS Spectrometer ยี่ห้อ Thermo Scientific ประเทศสหรัฐอเมริกา วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างที่ความยาวคลื่น (OD) 280 นาโนเมตร เพื่อนำไปค่าการดูดกลืนแสงที่ได้คำนวณหาค่าแอคติวิตี

รูปที่ 3.4 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง

(http://www.bio-equip.cn/ensrc.asp?ID=1608)

2) ตู้อบ (Ovens)

ใช้ตู้อบยี่ห้อ Memmert ประเทศเยอรมันนี ให้ความร้อนแก่สารตัวอย่างที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์โปรติเอส

รูปที่ 3.5 ตู้อบ

(http://ndn.co.th/lab_equipment_memmert_products.html)

3) เครื่องเหวี่ยงตกตะกอน

ใช้เครื่องเหวี่ยงตกตะกอน (Centrifugal) ยี่ห้อ Eppendorf รุ่น 5417C ประเทศสหรัฐอเมริกา เพื่อเหวี่ยงสารตัวอย่างที่ความเร็วรอบ 10000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที สำหรับตกตะกอนสารตัวอย่าง

รูปที่ 3.6 เครื่องเหวี่ยงตกตะกอน

(http://www.galileoequipos.com/lang-en/centrifugas/89-centrifuga-eppendorf-5417c-con-rotor-.html)

3.3.3 วิธีการทดลอง

1) การวิเคราะห์ค่าแอคติวิตีของผงเอนไซม์โปรติเอส

การวิเคราะห์ค่าแอคติวิตีของเอนไซม์โปรติเอส จะใช้โปรตีนเคซีนเป็นซับสเตรทของปฏิกิริยา โดยละลายผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสในน้ำและในสารละลายผงซักฟอกเข้มข้น 7 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ได้ความเข้มข้นของของแข็ง 10 เปอร์เซ็นโดยน้ำหนัก ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน แล้วเติมลงไปในสารละลายเคซีนความเข้มข้น 1 กรัมต่อมิลลิลิตร ใน 0.1 โมลาร์ ทริสไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ pH 9.0 ในอัตราส่วนสารละลายเอนไซม์ต่อสารละลายซับสเตรท 1:9 โดยปริมาตรรวมของปฏิกิริยาจะถูก

ปรับให้เป็น 550 ไมโครลิตร ด้วย ทริสไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ pH 9.0 จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้เกิดปฏิกิริยา แล้วหยุดปฏิกิริยาด้วยกรดไตรคลอโรอะซิติกเข้มข้น 5 กรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 450 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วตกตะกอนด้วยเครื่องเหวี่ยงตกตะกอนที่ความเร็วรอบ 10000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำส่วนของเหลวใสไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร เพื่อนำค่าการดูดกลืนแสงไปประมาณปริมาณไทโรซีนจากกราฟความเข้มข้นมาตรฐานของไทโรซีน (Tyrosine standard curve) ในช่วงความเข้มข้น 0 – 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดย 1 ยูนิตแอคติวิตีของเอนไซม์โปรติเอสมีค่าเท่ากับ ไทโรซีน 1 กรัม ต่อมิลลิลิตรของสารละลายเอนไซม์ต่อเวลาในการเกิดปฏิกิริยา

2) การทดสอบการควบคุมการปลดปล่อยของผงเอนไซม์โปรติเอส

การทดสอบการปลดปล่อยของผงเอนไซม์ สามารถทดสอบได้จากการวิเคราะห์ค่าแอคติวิตีเช่นเดียวกัน แต่ทำการบันทึกค่าแอคติวิตีของเอนไซม์ทุก 5 นาที จนค่าแอคติวิตีคงที่

3.4 การทดสอบความเสถียรในสภาวะการเก็บรักษา

เก็บผงเอนไซม์ในถุงฟอยด์ โดยเก็บแยกเป็นสองประเภทคือถุงที่เก็บเฉพาะผงเอนไซม์ และถุงที่เก็บผงเอนไซม์ผสมกับผงซักฟอกมาตรฐาน แล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4, 25 และ 45 องศาเซลเซียส โดยนำออกมาวิเคราะห์ค่าแอคติวิตีทุกสัปดาห์ เป็นเวลา 5 สัปดาห์

3.5 การวิเคราะห์ลักษณะเฉพาะของผงเอนไซม์โปรติเอส

3.5.1 วิเคราะห์ลักษณะโครงสร้างของอนุภาค

ใช้เครื่องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscopy, SEM) ศึกษาโครงสร้างภายในและภายนอกของผงเอนไซม์แห้ง โดยนำผงเอนไซม์แห้งมาโรยลงบน SEM stub ที่มีเทปกาวติดอยู่ จากนั้นนำตัวอย่างที่เตรียมไปเคลือบทอง แล้วจึงนำไปวางในเครื่อง SEM ที่ตั้งระดับอัตราเร่งของอิเล็กตรอน (Electron concentration) ไว้ที่ 15 kV ในกรณีที่ต้องการศึกษาโครงสร้างภายในของผงเอนไซม์แห้ง สามารถทำได้โดย หลังจากโรยผงเอนไซม์ลงบน SEM stub ที่มีเทปกาวติดอยู่แล้ว ใช้เทปกาวอีกแผ่นหนึ่งมาแปะทับแล้วดึงออกอย่างรวดเร็ว ทำให้เกิดแรงทางกายภาพส่งผลห้อนุภาคของผงเอนไซม์แห้งบางส่วนแตกออกจากกัน ก่อนนำไปเคลือบทองแล้วนำไปวางในเครื่อง SEM

3.5.2 วิเคราะห์ขนาดอนุภาค

การวิเคราะห์ขนาดของอนุภาคจะใช้เทคนิคการกระเจิงแสง (Laser light scattering method) ด้วยเครื่อง Mastersizer สามารถวัดขนาดของอนุภาคน้ำมันที่มีเอนไซม์โปรติเอสกระจายตัวอยู่ด้านในด้วยระบบการวัดแบบน้ำ โดยน้ำมันเอ็มซีทีมีค่า Refractive index เท่ากับ 1.447 + 0.01i โดยใช้เครื่องวิเคราะห์ขนาดและการกระจายตัวของอนุภาคด้วยเทคนิคการกระเจิงแสง (Laser Diffractometer Malvern Mastersizer 2000,0.2 2000 um, Malvern Instruments Ltd, Malvern, UK)

รูปที่ 3.7 เครื่องวิเคราะห์ขนาดและการกระจายตัวของอนุภาค

(http://www.malvern.com/labEng/products/Mastersizer/ms2000e/mastersizer2000e.htm)

3.5.3 วิเคราะห์ความชื้นของอนุภาค

ใช้เครื่องวิเคราะห์ความชื้นของอนุภาค (Halogen Moisture Analyzer) วัดความชื้นของผงเอนไซม์แห้ง โดยสารตัวอย่างจะถูกให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียสอย่างต่อเนื่อง ทำให้น้ำหนักของสารตัวอย่างค่อยๆ ลดลงจนคงที่ เครื่องจะทำการคำนวณและแสดงค่าร้อยละของความชื้นในสารตัวอย่าง

รูปที่ 3.8 เครื่องวิเคราะห์ความชื้นของอนุภาค

(http://us.mt.com/us/en/home/products/Laboratory_Weighing_Solutions/Moisture_Analyzer/HR83.html)

บทที่ 4

ผลการศึกษาและการวิเคราะห์ข้อมูล

แม้ว่ากระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยจะเป็นกระบวนการที่นิยมนำมาใช้อบแห้งสารให้อยู่ในรูปของผงแห้ง เนื่องจากมีขั้นตอนที่ไม่ซับซ้อน สามารถดำเนินการได้ง่ายในขั้นตอนเดียวก็ตาม แต่ด้วยลักษณะการทำงานของเครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอย ที่มีการให้ความร้อนแก่หยดอนุภาคด้วยลมร้อน ซึ่งส่งผลกระทบต่อเอนไซม์โดยตรง ทำให้การทำงานของเอนไซม์มีประสิทธิภาพลดลง ดังนั้นปัจจัยที่จำเป็นต้องศึกษาในการอบแห้งเอนไซม์เบื้องต้นได้แก่ อุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอย อัตราส่วนของวัสดุห่อหุ้มต่อเอนไซม์ ปริมาณของแข็งในสารสายป้อน และรูปแบบการเตรียมสารสายป้อน โดยในการทดลองนี้จะควบคุมอัตราการป้อนสารในกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยที่ 6 มิลลิลิตรต่อนาที

4.1 การศึกษาอิทธิพลของการอบแห้งแบบพ่นฝอยจากการเตรียมสารสายป้อนรูปแบบสารละลาย

ปัจจัยที่ทำการศึกษาในการอบแห้งแบบพ่นฝอยของเอนไซม์ที่ได้จากการเตรียมสารสายป้อนในรูปแบบสารละลายนั้น ได้แก่ อุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอย อัตราส่วนของปริมาณเอนไซม์ต่อวัสดุห่อหุ้ม และปริมาณของแข็งในสารสายป้อน

4.1.1 อิทธิพลของอุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอยที่มีต่อค่าแอคติวิตีคงเหลือและความชื้นของผงเอนไซม์แห้ง

ในการศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอยต่อค่าแอคติวิตีคงเหลือและความชื้นของผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอส ซึ่งใช้แป้งดัดแปรเป็นวัสดุห่อหุ้ม โดยมีปริมาณของแข็งในสารสายป้อนร้อยละ 40 โดยน้ำหนัก และอัตราส่วนปริมาณเอนไซม์ต่อแป้งดัดแปร 0.5 สัดส่วนโดยน้ำหนัก ควบคุมอัตราการป้อนสารสายป้อนในการอบแห้งแบบพ่นฝอยไว้ที่ 6 มิลลิลิตรต่อนาที โดยทำการศึกษาที่อุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอย 110, 120, 130, 140,

150, 160, 170, 180, 190, 200 องศาเซลเซียส ผลของแอคติวิตีคงเหลือ ค่าอุณหภูมิของอากาศขาออก และค่าความชื้นของผงแห้ง ได้แสดงไว้ดังตารางที่ 4.1 และ 4.2

ตารางที่ 4.1 แสดงค่าของอุณหภูมิของอากาศขาออกในการอบแห้งแบบพ่นฝอยและค่าความชื้นของผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ได้จากการอบแห้งสารสายป้อนในรูปแบบสารละลายที่อุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอยค่าต่างๆ

อุณหภูมิของอากาศขาเข้า (องศาเซลเซียส)	อุณหภูมิของอากาศขาออก (องศาเซลเซียส)	ค่าความชื้น (ร้อยละโดยน้ำหนัก)
110	74	5.68
120	81	5.08
130	87	4.71
140	94	4.35
150	102	4.09
160	108	3.83
170	116	3.63
180	120	3.45
190	128	3.26
200	135	3.10

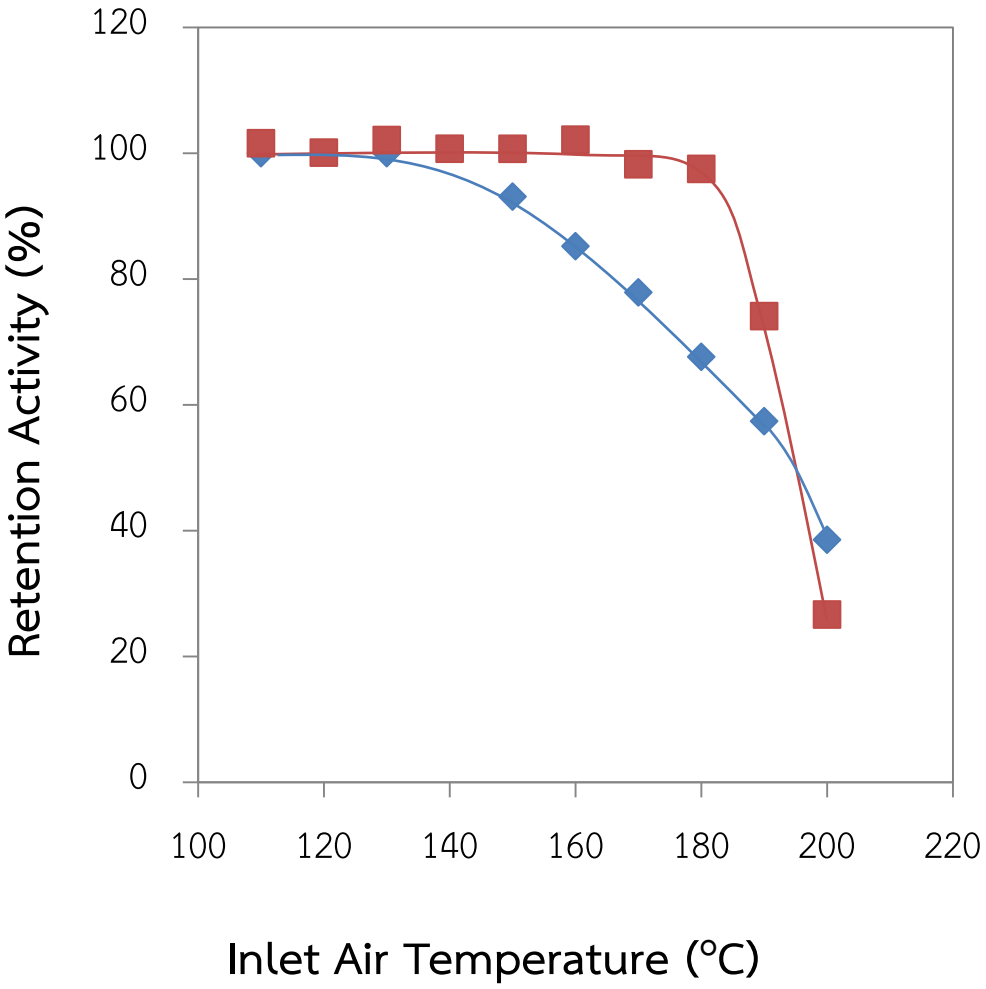
ตารางที่ 4.2 แสดงค่าแอคติวิตีคงเหลือหลังผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยของผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ได้จากการอบแห้งสารสายป้อนในรูปแบบสารละลายที่อุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอยค่าต่างๆ

อุณหภูมิของอากาศขาเข้า (องศาเซลเซียส)	ค่าแอคติวิตีคงเหลือ (ร้อยละ)	ค่าแอคติวิตีคงเหลือ (ยูนิต)	ค่าแอคติวิตีคงเหลือ (ยูนิตต่อกรัมของแข็ง)
ก่อนการอบแห้ง	100.0	285.4	2642
110	101.6	289.9	2684
120	100.1	288.3	2645
130	102.1	283.3	2698
140	100.7	287.4	2661
150	100.7	284.7	2661
160	102.1	288.8	2699
170	98.2	277.8	2596
180	97.5	280.8	2576
190	74.1	207.5	1958
200	26.7	75.4	704

จากผลการทดลองพบว่า เมื่ออุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอยเพิ่มมากขึ้นส่งผลให้ค่าความชื้นของผงเอนไซม์แห้งที่ได้ลดลง สาเหตุเนื่องมาจากการเพิ่มอุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอยทำให้ความแตกต่างของอุณหภูมิระหว่างหยดอนุภาคของสารสายป้อนและอากาศร้อนมีค่ามากขึ้น ส่งผลให้แรงขับเคลื่อนในการระเหยของน้ำมีค่ามากขึ้นด้วย ส่วนค่าแอคติวิตีของเอนไซม์นั้นในช่วงอุณหภูมิ 110 – 180 องศาเซลเซียส เอนไซม์มีแอคติวิตีคงเหลือใกล้เคียงกับแอคติวิตีก่อนการอบแห้ง ในขณะที่ผงเอนไซม์โปรติเอสแห้งที่ได้จากการอบแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิ 190 และ 200 องศาเซลเซียส มีแอคติวิตีคงเหลือแตกต่างกับแอคติวิตีก่อนการอบแห้งอย่างมีนัยสำคัญ โดยค่าแอคติวิตีที่ลดลงนี้แปรผันตรงกับอุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอยที่เพิ่มขึ้น (สิริรัชต์, 2010) และเมื่ออุณหภูมิของอากาศขาเข้าเพิ่มขึ้น อุณหภูมิของอากาศขาออกก็เพิ่มขึ้นด้วย เอนไซม์จะสัมผัสกับอากาศร้อนที่อุณหภูมิขาเข้าเพียงไม่นาน แต่ผงเอนไซม์จะถูกเก็บจากไซโคลนที่อุณหภูมิขาออกเป็นเวลานาน ดังนั้นอุณหภูมิของอากาศขาออกในกระบวนการ

อบแห้งแบบพ่นฝอยจึงเป็นสาเหตุที่ทำให้เอนไซม์สูญเสียแอคติวิตี ซึ่งเมื่อพิจารณาอุณหภูมิของอากาศขาออกในการอบแห้งแบบพ่นฝอยพบว่า ที่อุณหภูมิของอากาศขาเข้า 190 และ 200 องศาเซลเซียส มีอุณหภูมิของอากาศขาออกประมาณ 128 และ 135 องศาเซลเซียสตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าเอนไซม์โปรติเอสที่ถูกกักเก็บไว้ภายในแป้งดัดแปรนี้สามารถทนความร้อนไปมากถึง 120 องศาเซลเซียส และเริ่มสูญเสียสภาพเมื่ออุณหภูมิมากขึ้น

เมื่อเปรียบเทียบผงเอนไซม์แห้งที่ผ่านกระบวนการกักเก็บไว้ภายในแป้งดัดแปรด้วยกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยกับผงเอนไซม์แห้งที่ได้จากกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยโดยไม่ผ่านกระบวนการกักเก็บไว้ภายในวัสดุห่อหุ้มใดๆ พบว่า ผงเอนไซม์แห้งที่ผ่านกระบวนการกักเก็บรักษาแอคติวิตีไว้ได้นานกว่าผงเอนไซม์แห้งที่ไม่ได้ผ่านกระบวนการกักเก็บ ดังแสดงในรูปที่ 4.1

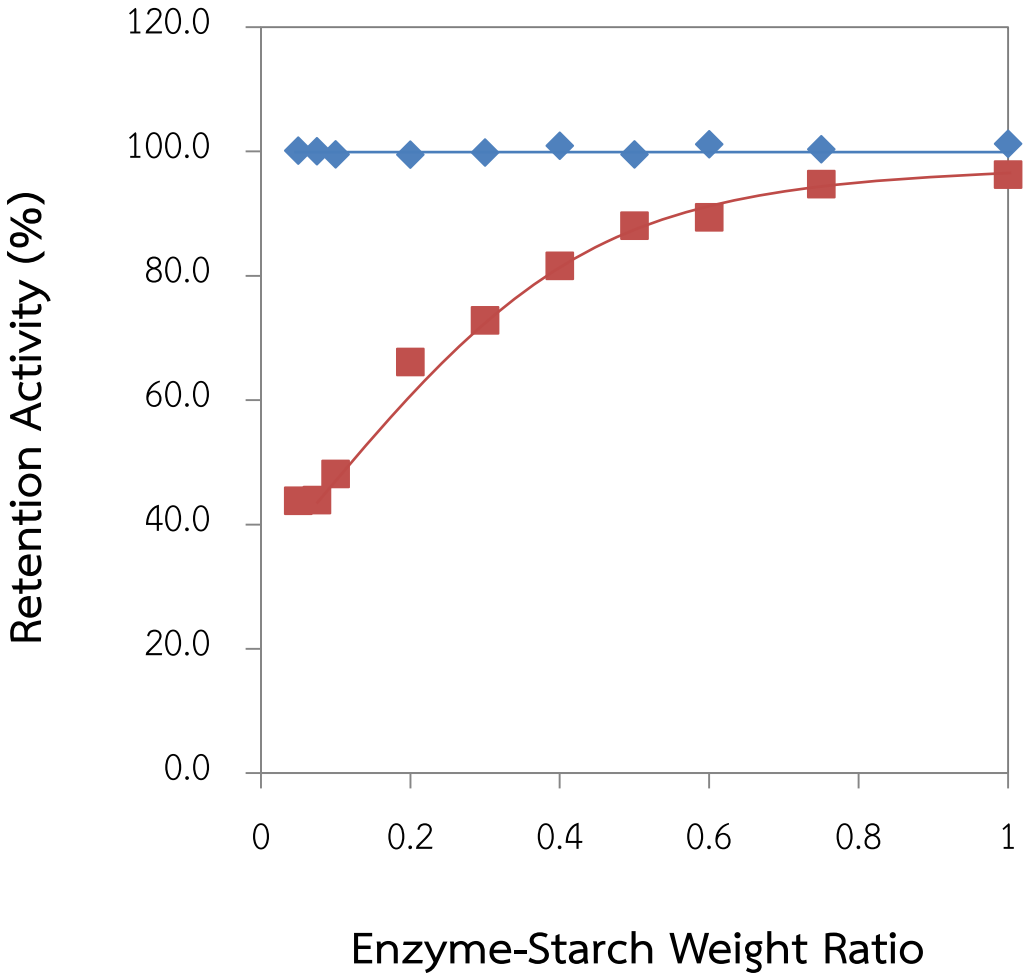


รูปที่ 4.1 แสดงร้อยละของค่าแอคติวิตีคงเหลือของผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสหลังผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิของอากาศขาเข้าในกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยค่าต่างๆ;
◆ ผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ไม่ผ่านกระบวนการกักเก็บ และ
■ ผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการกักเก็บ

จากรูปที่ 4.1 จะเห็นว่าร้อยละของค่าแอคติวิตีคงเหลือหลังผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยของผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ไม่ผ่านกระบวนการกักเก็บหลังผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยเริ่มลดลงที่อุณหภูมิของอากาศขาเข้าประมาณ 130 องศาเซลเซียส และลดลงอย่างต่อเนื่องเมื่อเพิ่มอุณหภูมิของอากาศในการอบแห้ง แสดงให้เห็นว่ากระบวนการกักเก็บเอนไซม์โดยใช้แป้งดัดแปรเป็นวัสดุห่อหุ้มสามารถป้องกันการสูญเสียแอคติวิตีของเอนไซม์ในระหว่างกระบวนการอบแห้งได้

4.1.2 อิทธิพลของอัตราส่วนของปริมาณเอนไซม์ต่อวัสดุห่อหุ้มในสารสายป้อนที่มีต่อค่าแอคติวิตีคงเหลือหลังผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยของเอนไซม์

ในการศึกษาอิทธิพลของอัตราส่วนของปริมาณเอนไซม์ต่อวัสดุห่อหุ้มในสารสายป้อนต่อค่าแอคติวิตีคงเหลือของผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอส ซึ่งใช้แป้งดัดแปรเป็นวัสดุห่อหุ้มความเข้มข้นร้อยละ 40 โดยน้ำหนัก ควบคุมอัตราการป้อนสารสายป้อนในการอบแห้งแบบพ่นฝอยไว้ที่ 6 มิลลิลิตรต่อนาที และอบแห้งที่อุณหภูมิของอากาศขาเข้า 110 และ 190 องศาเซลเซียส โดยทำการศึกษาอัตราส่วนปริมาณเอนไซม์ต่อแป้งดัดแปร 0.05, 0.075, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.75 และ 1 สัดส่วนโดยน้ำหนัก ผลของแอคติวิตีคงเหลือของผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสได้แสดงไว้ดังรูปที่ 4.2 ตารางที่ 4.3 และ 4.4



รูปที่ 4.2 แสดงร้อยละของค่าแอคติวิตีคงเหลือหลังผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยของผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่อัตราส่วนปริมาณเอนไซม์ต่อวัสดุห่อหุ้มค่าต่างๆ; ◆ ผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการอบแห้งที่อุณหภูมิ 110°C และ ■ ผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการอบแห้งที่อุณหภูมิ 190°C

ตารางที่ 4.3 แสดงค่าแอคติวิตีของผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ได้จากการอบแห้งสารสายป้อนในรูปแบบสารละลายที่อัตราส่วนปริมาณเอนไซม์ต่อแป้งดัดแปรค่าต่างๆ เมื่ออุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอย 110 องศาเซลเซียส

อัตราส่วนปริมาณเอนไซม์ต่อแป้งดัดแปร (สัดส่วนโดยน้ำหนัก)	ค่าแอคติวิตี (ยูนิต)		ค่าแอคติวิตี (ยูนิตต่อกรัมของแข็ง)	
	ก่อนการอบแห้ง	หลังการอบแห้ง	ก่อนการอบแห้ง	หลังการอบแห้ง
0.05	362.2	362.7	3593	3598
0.075	364.8	364.4	3604	3606
0.1	385.1	382.9	3789	3771
0.2	390.4	387.1	3780	3760
0.3	386.3	384.1	3683	3676
0.4	396.3	397.7	3718	3752
0.5	398.9	393.5	3685	3667
0.6	395.0	395.6	3594	3635
0.75	401.1	397.9	3568	3581
1	403.7	402.0	3465	3508

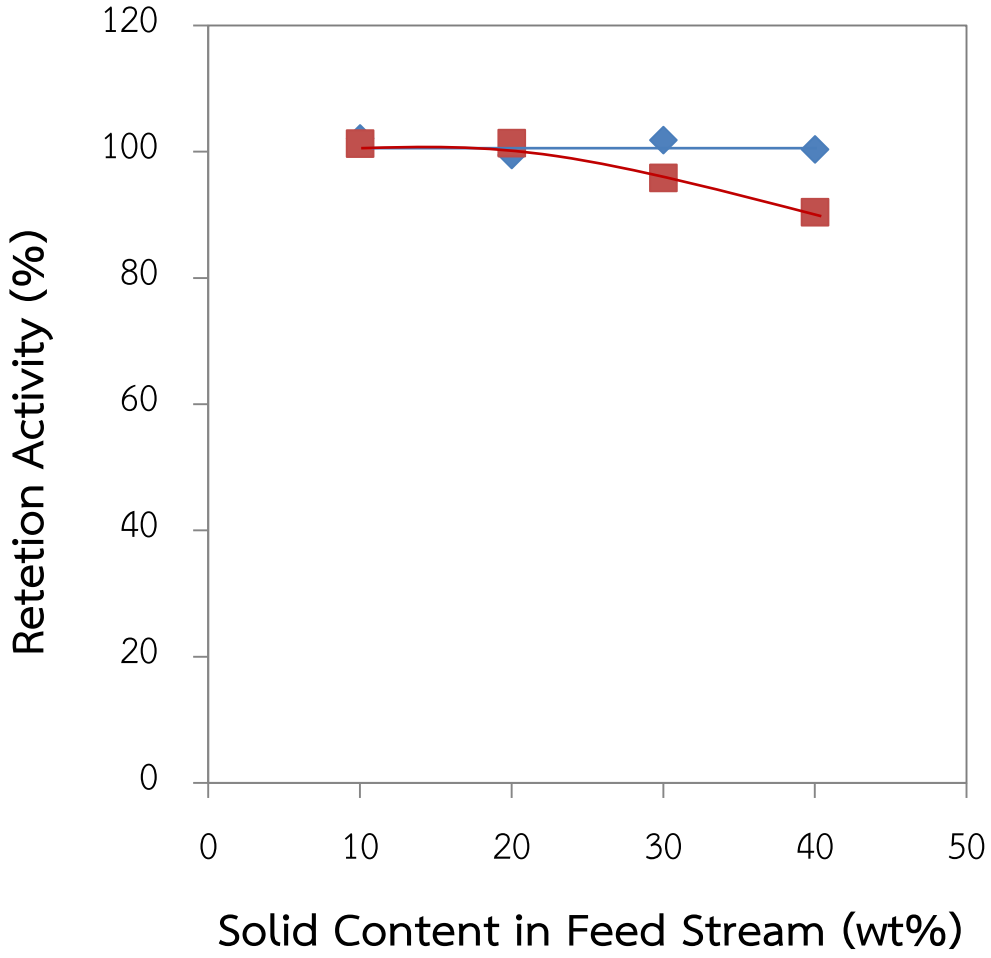
ตารางที่ 4.4 แสดงค่าแอคติวิตีของผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ได้จากการอบแห้งสารสายป้อนในรูปแบบสารละลายที่อัตราส่วนปริมาณเอนไซม์ต่อแป้งดัดแปรค่าต่างๆ เมื่ออุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอย 190 องศาเซลเซียส

อัตราส่วนปริมาณเอนไซม์ต่อแป้งดัดแปร (สัดส่วนโดยน้ำหนัก)	ค่าแอคติวิตี (ยูนิต)		ค่าแอคติวิตี (ยูนิตต่อกรัมของแข็ง)	
	ก่อนการอบแห้ง	หลังการอบแห้ง	ก่อนการอบแห้ง	หลังการอบแห้ง
0.05	225.0	98.6	2232	978
0.075	223.8	98.3	2211	971
0.1	230.4	110.9	2267	1091
0.2	231.7	153.3	2243	1484
0.3	235.7	171.7	2245	1635
0.4	237.3	193.7	2226	1817
0.5	241.4	212.7	2230	1964
0.6	244.5	218.4	2224	1989
0.75	242.8	230.0	2160	2046
1	252.8	243.4	2170	2090

จากผลการทดลองพบว่า ที่อุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอย 110 องศาเซลเซียส เอนไซม์มีแอคติวิตีคงเหลือใกล้เคียงกับแอคติวิตีก่อนการอบแห้ง แต่พบว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการอบแห้งสารสายป้อนที่มีอัตราส่วนปริมาณเอนไซม์ต่อแป้งดัดแปร 0.75 และ 1 นั้นไม่ได้ลักษณะที่เป็นผงตามต้องการ โดยผลิตภัณฑ์ที่ได้มีลักษณะหลอมรวมติดกันเป็นก้อน สาเหตุเพราะปริมาณเอนไซม์ที่มากเกินไป ทำให้แป้งไม่สามารถห่อหุ้มเอนไซม์ไว้ได้หมด เอนไซม์ที่ไม่ถูกห่อหุ้มซึ่งมีลักษณะเป็นอนุภาคเหนียวๆ จึงจับกันเป็นก้อน อีกทั้งยังเกาะติดห้องอบแห้ง ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ในปริมาณที่น้อยมากอีกด้วย เมื่อเพิ่มอุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอยเป็น 190 องศาเซลเซียส พบว่าเอนไซม์สูญเสียแอคติวิตีร้อยละ 50-60 ในช่วงความเข้มข้นของเอนไซม์ประมาณ 0.05 สัดส่วนโดยน้ำหนักเมื่อเทียบกับน้ำหนักแป้งดัดแปร แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์มากขึ้น พบว่าค่าแอคติวิตีมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง สาเหตุเพราะเอนไซม์ซึ่งเป็นสารประเภทโปรตีนเกิดการก่อตัวขึ้นบริเวณผิวของอนุภาค (B.Adhikari และคณะ, 2009) เกิดเป็นผนังห่อหุ้มเอนไซม์ด้วยกันเอง ทำให้รักษาแอคติวิตีไว้ได้มากกว่าเอนไซม์ที่มีแป้งเป็นวัสดุห่อหุ้ม (Maarten A.I.Schutyser และคณะ, 2012)

4.1.3 อิทธิพลของปริมาณของแข็งในสารสายป้อนต่อค่าแอคติวิตีคงเหลือหลังผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยของเอนไซม์

ในการศึกษาอิทธิพลของปริมาณของแข็งในสารสายป้อนต่อค่าแอคติวิตีคงเหลือหลังผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอย ซึ่งใช้แป้งดัดแปรเป็นวัสดุห่อหุ้ม โดยมีปริมาณของแข็งในสารสายป้อนร้อยละ 10, 20, 30 และ 40 โดยน้ำหนัก อัตราส่วนปริมาณเอนไซม์ต่อแป้งดัดแปร 0.5 สัดส่วนโดยน้ำหนัก ควบคุมอัตราการป้อนสารสายป้อนในการอบแห้งแบบพ่นฝอยไว้ที่ 6 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอย 110 และ 190 องศาเซลเซียส ผลของแอคติวิตีคงเหลือ ได้แสดงไว้ดังรูปที่ 4.3, ตารางที่ 4.5 และ 4.6



รูปที่ 4.3 แสดงร้อยละของค่าแอคติวิตีคงเหลือหลังผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยของผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ปริมาณของของแข็งในสารสายป้อนค่าต่างๆ;
◆ ผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการอบแห้งที่อุณหภูมิ 110°C และ
■ ผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการอบแห้งที่อุณหภูมิ 190°C

ตารางที่ 4.5 แสดงค่าแอคติวิตีของผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ได้จากการอบแห้งสารสายป้อนในรูปแบบสารละลายที่ปริมาณของแข็งในสารสายป้อนค่าต่างๆ เมื่ออุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอย 110 องศาเซลเซียส

ปริมาณของแข็งในสารสายป้อน (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	ค่าแอคติวิตี (ยูนิต)		ค่าแอคติวิตี (ยูนิตต่อกรัมของแข็ง)	
	ก่อนการอบแห้ง	หลังการอบแห้ง	ก่อนการอบแห้ง	หลังการอบแห้ง
10	280.4	277.5	2596	2593
20	280.2	276.0	2595	2580
30	273.0	277.8	2528	2573
40	277.5	273.0	2569	2552

ตารางที่ 4.6 แสดงค่าแอคติวิตีของผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ได้จากการอบแห้งสารสายป้อนในรูปแบบสารละลายที่ปริมาณของแข็งในสารสายป้อนค่าต่างๆ เมื่ออุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอย 190 องศาเซลเซียส

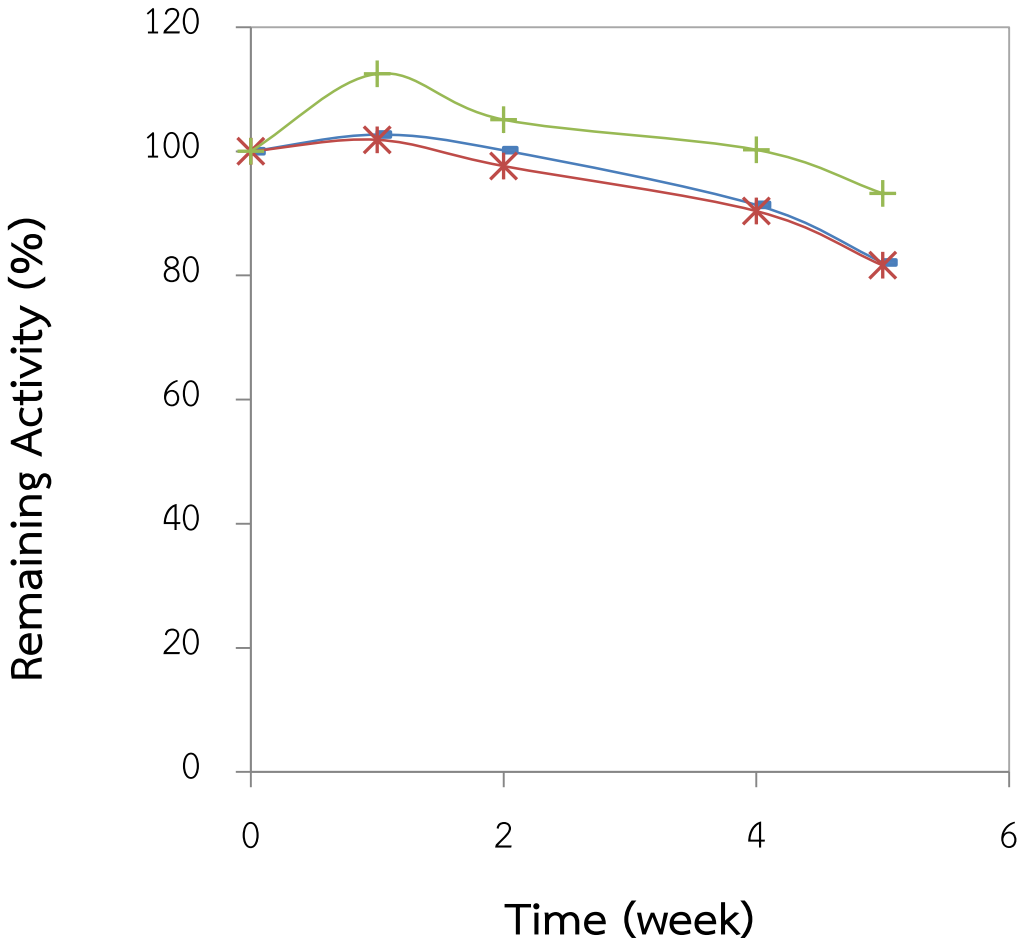
ปริมาณของแข็งในสารสายป้อน (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	ค่าแอคติวิตี (ยูนิต)		ค่าแอคติวิตี (ยูนิตต่อกรัมของแข็ง)	
	ก่อนการอบแห้ง	หลังการอบแห้ง	ก่อนการอบแห้ง	หลังการอบแห้ง
10	239.3	242.4	2243	2272
20	243.3	246.6	2280	2312
30	249.5	239.2	2339	2242
40	252.8	228.6	2369	2142

จากผลการทดลองพบว่า ผงเอนไซม์แห้งที่ได้จากการอบแห้งสารสายป้อนในรูปแบบสารละลายที่ปริมาณของแข็งในสารสายป้อนค่าต่างๆ เมื่ออุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอย 110 องศาเซลเซียส มีแอคติวิตีคงเหลือใกล้เคียงกับแอคติวิตีก่อนการอบแห้ง สาเหตุเพราะที่อุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอย 110 องศาเซลเซียส ให้ค่าอุณหภูมิของอากาศขาออกประมาณ 70 องศาเซลเซียส ซึ่งไม่ทำให้เอนไซม์สูญเสียแอคติวิตี จึงไม่เห็นแนวโน้มของค่าแอคติวิตีที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งในสารสายป้อนที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียสนี้ ในขณะที่ผงเอนไซม์แห้งที่ได้จากการอบแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิ 190 องศาเซลเซียส มีแอคติวิตีคงเหลือใกล้เคียงกับแอคติวิตีก่อนการอบแห้ง เมื่อสารละลายสารป้อนมีปริมาณของแข็งร้อยละ 10 และ 20 โดยมวล และเมื่อเพิ่มปริมาณของแข็งในสารละลายสายป้อนเป็นร้อยละ 30 และ 40 โดยมวล ผงเอนไซม์แห้งที่ได้จะมีแอคติวิตีลดลงคงเหลือร้อยละ 95 และ 90 ตามลำดับ สาเหตุเพราะเมื่อเพิ่มอุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอย จะส่งผลให้อุณหภูมิของอากาศขาออกในการอบแห้งเพิ่มขึ้นด้วย โดยอุณหภูมิของอากาศขาออกนี้เป็นผลให้ผงเอนไซม์แห้งสูญเสียแอคติวิตี จึงทำให้ผงเอนไซม์แห้งที่ได้จากการอบแห้งแบบพ่นฝอยสารละลายสารป้อนที่มีปริมาณของแข็งร้อยละ 30 และ 40 โดยมวล มีค่าแอคติวิตีลดลง โดยอุณหภูมิของอากาศขาออกในการอบแห้งมีค่าประมาณ 120 องศาเซลเซียส แต่ในกรณีผงเอนไซม์แห้งที่ได้จากการอบแห้งแบบพ่นฝอยสารละลายสารป้อนที่มีปริมาณของแข็งร้อยละ 10 และ 20 โดยมวล ไม่มีการสูญเสียแอคติวิตี เพราะปริมาณน้ำที่มากขึ้นในสารละลายทำให้อุณหภูมิของอากาศขาออกลดลง โดยอุณหภูมิของอากาศขาออกในการอบแห้งมีค่าลดลงเหลือประมาณ 110 องศาเซลเซียส จึงไม่ทำให้ผงเอนไซม์แห้งสูญเสียแอคติวิตี

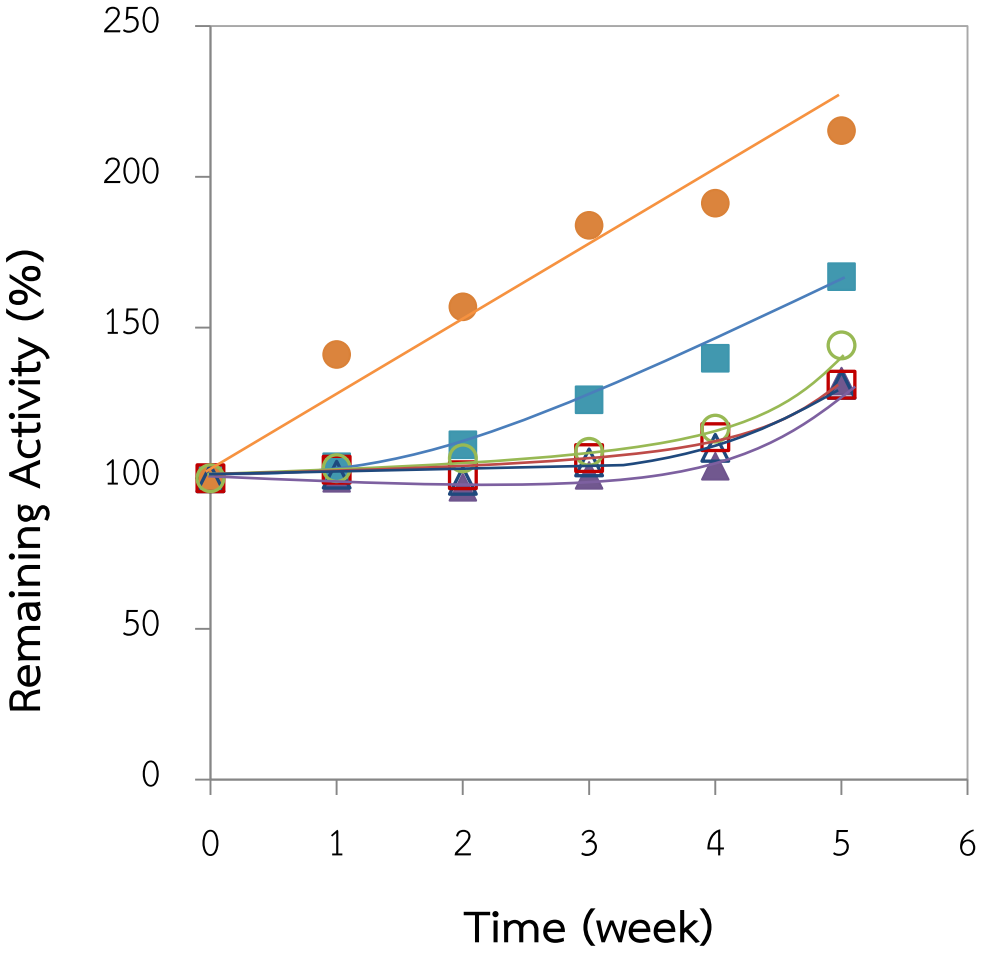
4.1.4 ผลของอุณหภูมิในการเก็บรักษาที่มีต่อแอคติวิตีของผงเอนไซม์แห้ง

ผลของอุณหภูมิในการเก็บรักษาที่มีต่อแอคติวิตีของผงเอนไซม์แห้งทำการวิเคราะห์โดยจัดเก็บผงเอนไซม์ที่ได้จากกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยสารสายป้อนรูปแบบสารละลาย ซึ่งใช้แป้งดัดแปรเป็นวัสดุห่อหุ้ม โดยมีปริมาณของแข็งในสารสายป้อนร้อยละ 40 โดยน้ำหนัก อัตราส่วนปริมาณเอนไซม์ต่อแป้งดัดแปร 0.5 สัดส่วนโดยน้ำหนัก ควบคุมอัตราการป้อนสารสายป้อนในการอบแห้งแบบพ่นฝอยไว้ที่ 6 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอย 110 องศาเซลเซียส โดยทำการจัดเก็บผงเอนไซม์แห้งนี้ใน 2 รูปแบบ คือ จัดเก็บผงเอนไซม์แห้งเพียงอย่างเดียว และจัดเก็บผงเอนไซม์แห้งร่วมกับผงซักฟอกอัตราส่วนผงเอนไซม์แห้งต่อผงซักฟอก 1:1 โดยน้ำหนัก ในสภาวะอุณหภูมิ 3 สภาวะ ได้แก่ 4 องศาเซลเซียส, 25 องศาเซลเซียส และ 45 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 5 สัปดาห์ โดยทำการทดลองเปรียบเทียบกับการจัดเก็บเอนไซม์ที่ไม่ได้

ผ่านกระบวนการกักเก็บ ผลของค่าแอคติวิตีคงเหลือได้แสดงไว้ดังรูปที่ 4.4 และ 4.5 และค่าแอคติวิตีได้แสดงไว้ในตารางที่ 4.7 และ 4.8



รูปที่ 4.4 แสดงร้อยละของค่าแอคติวิตีคงเหลือหลังผ่านการทดสอบความเสถียรในการเก็บรักษาของเอนไซม์โปรติเอสที่ไม่ผ่านกระบวนการกักเก็บในสภาวะอุณหภูมิค่าต่างๆ;
━ เอนไซม์โปรติเอสที่ถูกจัดเก็บในสภาวะอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส,
✳ เอนไซม์โปรติเอสที่ถูกจัดเก็บในสภาวะอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และ
┼ เอนไซม์โปรติเอสที่ถูกจัดเก็บในสภาวะอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส



รูปที่ 4.5 แสดงร้อยละของค่าแอคติวิตีคงเหลือหลังผ่านการทดสอบความเสถียรในการเก็บรักษาของผงเอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบสารละลาย ถูกจัดเก็บเพียงอย่างเดียวและถูกจัดเก็บร่วมกับผงซักฟอกอัตราส่วนโดยน้ำหนัก 1:1 ในสภาวะอุณหภูมิค่าต่างๆ; △ เอนไซม์โปรติเอสที่ถูกจัดเก็บเพียงอย่างเดียวในสภาวะอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส, □ เอนไซม์โปรติเอสที่ถูกจัดเก็บเพียงอย่างเดียวในสภาวะอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส, ○ เอนไซม์โปรติเอสที่ถูกจัดเก็บเพียงอย่างเดียวในสภาวะอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส, ▲ เอนไซม์โปรติเอสที่ถูกจัดเก็บร่วมกับผงซักฟอกในสภาวะอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส, ■ เอนไซม์โปรติเอสที่ถูกจัดเก็บร่วมกับผงซักฟอกในสภาวะอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และ ● เอนไซม์โปรติเอสที่ถูกจัดเก็บร่วมกับผงซักฟอกในสภาวะอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 4.7 แสดงค่ายูนิตแอคติวิตีของเอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบสารละลายที่ถูกจัดเก็บในสภาวะอุณหภูมิต่างๆ

ผงเอนไซม์โปรติเอสที่ถูกจัดเก็บเพียงอย่างเดียว

อุณหภูมิในการจัดเก็บ (องศาเซลเซียส)	ค่าแอคติวิตี (ยูนิต)					
	สัปดาห์ที่ 0	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 3	สัปดาห์ที่ 4	สัปดาห์ที่ 5
4		295.1	292.8	310.9	325.1	386.9
25	283.6	291.7	290.1	306.5	326.4	376.5
45		290.4	303.4	309.5	331.4	410.0

ผงเอนไซม์โปรติเอสที่ถูกจัดเก็บร่วมกับผงซักฟอก

อุณหภูมิในการจัดเก็บ (องศาเซลเซียส)	ค่าแอคติวิตี (ยูนิต)					
	สัปดาห์ที่ 0	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 3	สัปดาห์ที่ 4	สัปดาห์ที่ 5
4		290.2	285.2	296.8	305.7	388.8
25	283.6	297.2	322.2	365.4	405.4	483.9
45		403.8	454.9	533.2	554.5	624.3

ผงเอนไซม์โปรติเอสที่ไม่ถูกกักเก็บ

อุณหภูมิในการจัดเก็บ (องศาเซลเซียส)	ค่าแอคติวิตี (ยูนิต)					
	สัปดาห์ที่ 0	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 3	สัปดาห์ที่ 4	สัปดาห์ที่ 5
4		593.6	579.0	N/A	528.1	474.4
25	578.0	588.6	564.2	N/A	522.4	471.9
45		650.1	607.4	N/A	579.4	538.7

ตารางที่ 4.8 แสดงค่ายูนิตแอคติวิตีต่อกรัมของแข็งของเอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบสารละลายที่ถูกจัดเก็บในสภาวะอุณหภูมิต่างๆ

ผงเอนไซม์โปรติเอสที่ถูกจัดเก็บเพียงอย่างเดียว

อุณหภูมิในการจัดเก็บ (องศาเซลเซียส)	ค่าแอคติวิตี (ยูนิตต่อกรัม)					
	สัปดาห์ที่ 0	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 3	สัปดาห์ที่ 4	สัปดาห์ที่ 5
4	2651	2682	2662	2826	2956	3517
25		2726	2712	2864	3051	3518
45		2739	2863	2920	3127	3868

ผงเอนไซม์โปรติเอสที่ถูกจัดเก็บร่วมกับผงซักฟอก

อุณหภูมิในการจัดเก็บ (องศาเซลเซียส)	ค่าแอคติวิตี (ยูนิตต่อกรัม)					
	สัปดาห์ที่ 0	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 3	สัปดาห์ที่ 4	สัปดาห์ที่ 5
4	2651	2650	2604	2711	2792	3550
25		2752	2983	3384	3753	4480
45		3739	4212	4937	5134	5781

ผงเอนไซม์โปรติเอสที่ไม่ถูกกักเก็บ

อุณหภูมิในการจัดเก็บ (องศาเซลเซียส)	ค่าแอคติวิตี (ยูนิตต่อกรัม)					
	สัปดาห์ที่ 0	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 3	สัปดาห์ที่ 4	สัปดาห์ที่ 5
4	3503	3598	3509	N/A	3201	2875
25		3567	3420	N/A	3166	2860
45		3940	3681	N/A	3511	3265

ก)

ข)

ค)

รูปที่ 4.6 แสดงลักษณะของผงแห้งที่เกี่ยวข้องกับการทดสอบความเสถียรในการเก็บรักษาก่อนทำการทดสอบ; ก) ผงแป้งดัดแปร, ข) ผงซักฟอกสูตรมาตรฐาน และ ค) เอนไซม์ผงที่ผ่านกระบวนการกักเก็บด้วยการอบแห้งแบบพ่นฝอยในรูปแบบสารละลาย ที่อุณหภูมิของอากาศขาเข้า 110 องศาเซลเซียส โดยใช้แป้งดัดแปรเป็นวัสดุห่อหุ้ม มีปริมาณของแข็งในสารสายป้อนร้อยละ 40 โดยน้ำหนัก อัตราส่วนปริมาณเอนไซม์ต่อแป้งดัดแปร 0.5 สัดส่วนโดยน้ำหนัก ควบคุมอัตราการป้อนสารสายป้อนในการอบแห้งแบบพ่นฝอยไว้ที่ 6 มิลลิลิตรต่อนาที

ก)

ข)

ค)

ง)

จ)

ฉ)

รูปที่ 4.7 แสดงลักษณะของผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบสารละลาย ที่ถูกจัดเก็บเพียงอย่างเดียวในสัปดาห์ที่ 5 ณ สภาวะอุณหภูมิต่างๆ; ก) ผงแป้งดัดแปรที่ถูกจัดเก็บในสภาวะอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ข) ผงเอนไซม์ที่ถูกจัดเก็บในสภาวะอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส, ค) ผงแป้งดัดแปรที่ถูกจัดเก็บในสภาวะอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส, ง) ผงเอนไซม์ที่ถูกจัดเก็บในสภาวะอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส, จ) ผงแป้งดัดแปรที่ถูกจัดเก็บในสภาวะอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส และ ฉ) ผงเอนไซม์ที่ถูกจัดเก็บในสภาวะอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

ก)

ข)

ค)

ง)

จ)

ฉ)

รูปที่ 4.8 แสดงลักษณะของผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบสารละลายที่ถูกจัดเก็บเพียงอย่างเดียว ณ สภาวะอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ในสัปดาห์ต่างๆ; ก) ผงเอนไซม์ก่อนถูกจัดเก็บ, ข) ผงเอนไซม์ที่ถูกจัดเก็บในสัปดาห์ที่ 1, ค) ผงเอนไซม์ที่ถูกจัดเก็บในสัปดาห์ที่ 2, ง) ผงเอนไซม์ที่ถูกจัดเก็บในสัปดาห์ที่ 3, จ) ผงเอนไซม์ที่ถูกจัดเก็บในสัปดาห์ที่ 4 และ ฉ) ผงเอนไซม์ที่ถูกจัดเก็บในสัปดาห์ที่ 5

รูปที่ 4.9 แสดงลักษณะของผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบสารละลายที่ถูกจัดเก็บร่วมกับผงซักฟอกอัตราส่วน 1:1 ในสัปดาห์ที่ 5 ณ สภาวะอุณหภูมิต่างๆ; ก) ผงแป้งดัดแปรที่ถูกจัดเก็บร่วมกับผงซักฟอกในสภาวะอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ข) ผงเอนไซม์ที่ถูกจัดเก็บร่วมกับผงซักฟอกในสภาวะอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส, ค) ผงแป้งดัดแปรที่ถูกจัดเก็บร่วมกับผงซักฟอกในสภาวะอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส, ง) ผงเอนไซม์ที่ถูกจัดเก็บร่วมกับผงซักฟอกในสภาวะอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส, จ) ผงแป้งดัดแปรที่ถูกจัดเก็บร่วมกับผงซักฟอกในสภาวะอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส และ ฉ) ผงเอนไซม์ที่ถูกจัดเก็บร่วมกับผงซักฟอกในสภาวะอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

รูปที่ 4.10 แสดงลักษณะของผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบสารละลายที่ถูกจัดเก็บร่วมกับผงซักฟอกอัตราส่วน 1:1 ณ สภาวะอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ในสัปดาห์ต่างๆ; ก) สารผสมผงเอนไซม์และผงซักฟอกก่อนถูกจัดเก็บ, ข) สารผสมผงเอนไซม์และผงซักฟอกที่ถูกจัดเก็บในสัปดาห์ที่ 1, ค) สารผสมผงเอนไซม์และผงซักฟอกที่ถูกจัดเก็บในสัปดาห์ที่ 2, ง) สารผสมผงเอนไซม์และผงซักฟอกที่ถูกจัดเก็บในสัปดาห์ที่ 3, จ) สารผสมผงเอนไซม์และผงซักฟอกที่ถูกจัดเก็บในสัปดาห์ที่ 4 และ ฉ) สารผสมผงเอนไซม์และผงซักฟอกที่ถูกจัดเก็บในสัปดาห์ที่ 5

จากรูปที่ 4.4 จะเห็นว่าเอนไซม์โปรติเอสที่ไม่ผ่านกระบวนการกักเก็บ เมื่อถูกจัดเก็บไว้ในสภาวะอุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 5 สัปดาห์ จะเกิดการสูญเสียแอคติวิตีขึ้น โดยในสัปดาห์ที่ 5 เอนไซม์โปรติเอสที่ไม่ผ่านกระบวนการกักเก็บสูญเสียแอคติวิตีไปมากถึงร้อยละ 20 กล่าวคือมีค่าแอคติวิตีคงเหลือประมาณร้อยละ 80 ของแอคติวิตีเริ่มต้น ส่วนในกรณีของเอนไซม์โปรติเอสที่ไม่ผ่านกระบวนการกักเก็บ เมื่อถูกจัดเก็บไว้ในสภาวะอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส มีร้อยละของค่าแอคติวิตีสูงขึ้นใน 1 สัปดาห์แรก และค่อยๆ ลดลงในสัปดาห์ต่อมา และในสัปดาห์ที่ 5 เอนไซม์โปรติเอสที่ถูกจัดเก็บไว้ในสภาวะอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสนี้สูญเสียแอคติวิตีไปประมาณร้อยละ 10 กล่าวคือมีมีค่าแอคติวิตีคงเหลือประมาณร้อยละ 90 ของแอคติวิตีเริ่มต้น สาเหตุเกิดจากเอนไซม์ที่ถูกจัดเก็บนี้ ถูกจัดเก็บไว้ในภาชนะที่ไม่ใช่ระบบปิด จึงเกิดการระเหยของน้ำเลี้ยงเอนไซม์ ทำให้เอนไซม์มีความเข้มข้นมากขึ้น ส่งผลให้ในสัปดาห์ที่ 1 เอนไซม์ที่ไม่ผ่านกระบวนการกักเก็บ เมื่อถูกจัดเก็บไว้ในสภาวะอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส มีค่าแอคติวิตีสูงขึ้น

ในขณะที่เอนไซม์ที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบสารละลายในรูปของผงแห้ง เมื่อถูกจัดเก็บในสภาวะอุณหภูมิทั้ง 3 สภาวะ ทั้งการจัดเก็บผงเอนไซม์แห้งเพียงอย่างเดียวและการจัดเก็บผงเอนไซม์แห้งร่วมกับผงซักฟอกในอัตราส่วน 1:1 ภายในระยะเวลา 5 สัปดาห์ ไม่แสดงให้เห็นถึงการสูญเสียแอคติวิตี โดยผงเอนไซม์แห้งที่ถูกจัดเก็บเพียงอย่างเดียวในสภาวะอุณหภูมิทั้ง 3 อุณหภูมิ และผงเอนไซม์แห้งที่ถูกจัดเก็บร่วมกับผงซักฟอกในสภาวะอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ให้ผลการทดลองไปในทิศทางเดียวกัน กล่าวคือในสัปดาห์ที่ 1 ถึงสัปดาห์ที่ 4 ผงเอนไซม์แห้งยังคงมีค่าแอคติวิตีใกล้เคียงกับค่าแอคติวิตีเริ่มต้น และมีค่าร้อยละแอคติวิตีเมื่อเทียบกับค่า แอคติวิตีเริ่มต้นสูงขึ้นถึงร้อยละ 130 ในสัปดาห์ที่ 5 ในขณะเดียวกัน ผงเอนไซม์แห้งที่ถูกจัดเก็บร่วมกับผงซักฟอกในสภาวะอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ก็มีค่าแอคติวิตีสูงขึ้นในสัปดาห์ที่ 2 และสูงขึ้นเรื่อยๆ ถึงประมาณร้อยละ 160 ในสัปดาห์ที่ 5 เมื่อเทียบกับค่าแอคติวิตีเริ่มต้น ยิ่งไปกว่านั้นผงเอนไซม์แห้งที่ถูกจัดเก็บร่วมกับผงซักฟอกในสภาวะอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส มีค่าแอคติวิตีเพิ่มขึ้นตั้งแต่สัปดาห์แรก และเพิ่มสูงมากขึ้นเรื่อยๆ ถึงประมาณร้อยละ 210 ในสัปดาห์ที่ 5 เมื่อเทียบกับค่าแอคติวิตีเริ่มต้น ซึ่งเมื่อพิจารณาร่วมกับรูปภาพแสดงลักษณะของผงแห้งที่ถูกจัดเก็บในสัปดาห์ต่างๆ แล้ว จะเห็นว่าผงเอนไซม์แห้งที่ถูกจัดเก็บจะมีลักษณะและสีเปลี่ยนไป กล่าวคือ ผงเอนไซม์แห้งที่ถูกจัดเก็บเพียงอย่างเดียวเมื่อเก็บถึงสัปดาห์ที่ 5 จะพบว่าผงเอนไซม์ที่ถูกจัดเก็บในสภาวะอุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส จะรวมตัวกันเป็นก้อนเล็กน้อย และจะมีสีออกเหลืองอ่อนๆ และจะสังเกตเห็นได้ชัดเจนจากผงเอนไซม์ที่ถูกจัดเก็บในสภาวะอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ที่ผงเอนไซม์หลอมรวมตัวกันเป็นแผ่นแข็ง มีสีเหลืองชัดเจน ยิ่งไปกว่านั้น ผงเอนไซม์ที่ถูกจัดเก็บร่วมกับผงซักฟอกในอัตราส่วน 1:1 โดยน้ำหนัก ที่สภาวะอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสในสัปดาห์ที่ 5 ผงเอนไซม์จับตัวกันเป็นปึกเหนียวๆ สีน้ำตาลเข้ม ซึ่งผงเอนไซม์ที่ถูกจัดเก็บร่วมกับผงซักฟอกในอัตราส่วน 1:1 โดยน้ำหนัก ที่สภาวะอุณหภูมิ 4 และ 25

องศาเซลเซียสในสัปดาห์ที่ 5 ก็ให้ผลไปในทิศทางเดียวกันคือผงเอนไซม์จับตัวกันเป็นปึกมีสีเหลือง การที่ผงเอนไซม์มีสีและลักษณะที่เปลี่ยนไปเช่นนี้ อาจเป็นไปได้ว่ามีปฏิกิริยาบางปฏิกิริยาเกิดขึ้นในระหว่างการทดสอบความเสถียรในการเก็บรักษา จึงส่งผลให้ค่าแอคติวิตีของเอนไซม์ที่วิเคราะห์ได้มีค่าสูงขึ้น ทำให้ไม่เห็นการสูญเสียแอคติวิตีของเอนไซม์ในระหว่างการทดสอบความเสถียรในการเก็บรักษา

ปฏิกิริยาที่ทำให้ผงเอนไซม์เกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็นสีน้ำตาลนี้ อาจเกิดจากปฏิกิริยาที่เรียกว่าปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction) เป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างน้ำตาลรีดิวส์ (Reducing sugar) กับกรดอะมิโน, โปรตีน หรือสารประกอบไนโตรเจนอื่นๆ โดยมีความร้อนเร่งปฏิกิริยานั่นเอง ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาเมลลาร์ดนั่น เป็นสารประกอบหลายชนิดที่ให้สีน้ำตาลและกลิ่นรสต่างๆ ทั้งที่พึงประสงค์ และไม่พึงประสงค์ เช่น สีน้ำตาลที่เกิดขึ้นระหว่างการอบ การทอดเนื้อสัตว์ เบเกอรี (Bakery) ปฏิกิริยานี้ยังมีความสำคัญต่อการเกิดสีและกลิ่นหอมที่ได้จาก การคั่วเมล็ดกาแฟ โกโก้ การทำคาราเมลทอฟฟี่ ช็อกโกแลต น้ำปลา ซีอิ๊ว เป็นต้น (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์, ศูนย์เครือข่ายข้อมูลอาหารครบวงจร, http://www.foodnetworksolution.com)

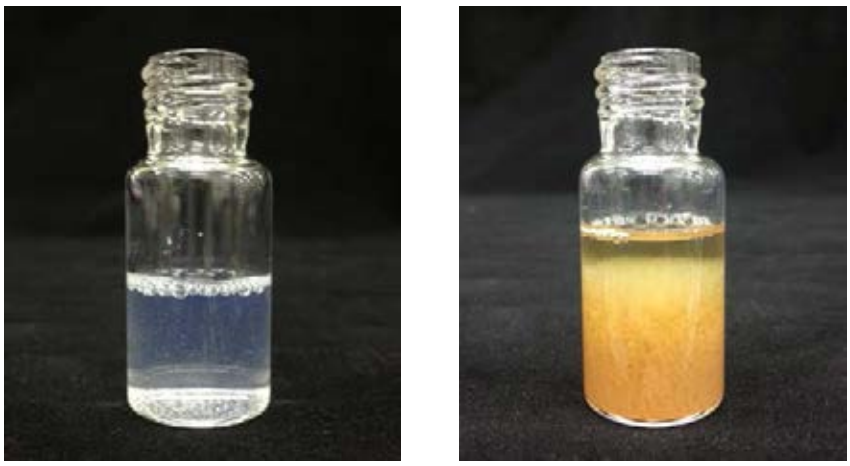
4.2 การศึกษาอิทธิพลของการอบแห้งแบบพ่นฝอยจากการเตรียมสารสายป้อนรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อน

เนื่องจากเอนไซม์โปรติเอสเป็นเอนไซม์ชนิดย่อยโปรตีน ซึ่งหากจะมีการนำไปประยุกต์ใช้อาจต้องคำนึงถึงการป้องกันการย่อยสลายตัวของเอนไซม์โปรติเอสเองด้วย และยิ่งไปกว่านั้นหากต้องมีการนำไปประยุกต์ใช้ร่วมกับเอนไซม์ชนิดอื่น ยกตัวอย่างเช่น การเติมผงเอนไซม์โปรติเอสและไลเปสลงในผงซักฟอก เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการขจัดคราบโปรตีนและไขมัน ซึ่งหากไม่มีการลำดับการทำงานของเอนไซม์ที่ดีแล้ว เอนไซม์อาจไปขัดขวางการทำงานกันเอง ส่งผลให้การทำงานของเอนไซม์ไม่เกิดประสิทธิภาพสูงสุด ดังนั้นการกักเก็บเอนไซม์ในรูปแบบสารละลายอาจไม่เพียงพอต่อการควบคุมการทำงานของเอนไซม์ จึงเกิดแนวคิดในการนำการกักเก็บสารในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อน ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมนำมาใช้กักเก็บสารเพื่อควบคุมการปลดปล่อย โดยนำมาใช้ในการกักเก็บเอนไซม์โปรติเอส สำหรับนำไปประยุกต์ใช้งานร่วมกับผงซักฟอก

ในการเตรียมสารสายป้อนรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนจะใช้แป้งดัดแปรความเข้มข้นร้อยละ 40 โดยน้ำหนักเป็นวัสดุห่อหุ้ม อัตราส่วนปริมาณแป้งต่ออิมัลชันเอนไซม์ในน้ำมัน 4 ต่อ 1 โดยน้ำหนัก และใช้น้ำมันไตรกลีเซอร์ไรด์ที่มีความยาวสายโซ่ขนาดกลางเป็นชั้นน้ำมัน วัสดุห่อหุ้มที่ใช้คือแป้ง HI-CAP100 ที่มีคุณสมบัติเป็นสารลดแรงตึงผิว มีความเหมาะสมที่จะนำมาใช้เตรียมอิมัลชันเชิงซ้อนน้ำในน้ำมันในน้ำ สำหรับสารลดแรงตึงผิวในการเตรียมอิมัลชันเอนไซม์ในน้ำมัน ได้มีการทดลองนำสารลดแรงตึงผิวที่เป็นส่วนประกอบในผงซักฟอกมาทดลองใช้เป็นสารลดแรงตึงผิวในการเตรียมอิมัลชัน เพราะหากสารลดแรงตึงผิวในผงซักฟอกนี้สามารถใช้เป็นสารลดแรงตึงผิวในการเตรียมอิมัลชันของเอนไซม์ได้ ก็จะช่วยลดค่าใช้จ่ายในการผลิตผงซักฟอกที่มีส่วนผสมของผงเอนไซม์ซึ่งถูกกักเก็บด้วยกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนได้ โดยทำการทดลองเปรียบเทียบกับพรูโรนิค แอล 31 ซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิวสำหรับการเตรียมอิมัลชันน้ำในน้ำมัน มีค่า HLB (Hydrophilic Lipophilic Balance) อยู่ในช่วง 1-7 เหมาะสมในการนำไปใช้เตรียมอิมัลชันน้ำในน้ำมัน (สิริรัชต์, 2010)

การเตรียมสารลดแรงตึงผิวที่เป็นส่วนประกอบในผงซักฟอกจากผงซักฟอก ทำได้โดยละลายผงซักฟอกในน้ำอัตราส่วน 1 ต่อ 1 ทิ้งให้ตกตะกอนแล้วนำสารละลายส่วนใสไปผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอย เพื่อเก็บสารลดแรงตึงผิวให้อยู่ในรูปของผงแห้ง สำหรับนำไปใช้งานในการเตรียมอิมัลชันเชิงซ้อน โดยปัญหาหลักที่พบเกี่ยวกับการเลือกใช้สารลดแรงตึงผิวร่วมกับเอนไซม์คือการเกิดตะกอน ตะกอนในที่นี้เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างสารลดแรงตึงผิวกับเกลือที่ใช้เป็นอาหารของเอนไซม์ที่ยังคงมีอยู่ในน้ำเลี้ยงเอนไซม์ (สิริรัชต์, 2010) การเกิดตะกอนนี้ทำให้ไม่สามารถเตรียมสารละลายอิมัลชันได้ ปัจจัยนี้จึงถูกนำมาพิจารณาเป็นอันดับแรก เพราะสามารถสังเกตได้ด้วยตาเปล่าไม่จำเป็นต้องใช้การวิเคราะห์ที่ยุ่งยากมาพิสูจน์

การทดลองเพื่อศึกษาผลของสารลดแรงตึงผิวนี้สามารถทดลองได้โดย หยดเอนไซม์ลงไปในสารละลายสารลดแรงตึงผิวที่ได้จากผงซักฟอกความเข้มข้นในน้ำร้อยละ 10 โดยมวล แล้วสังเกตการเปลี่ยนแปลง ผลการทดลองได้แสดงดังรูป 4.11



ก) ข)

รูปที่ 4.11 แสดงผลการทดสอบผลของสารลดแรงตึงผิวต่อการตกตะกอนของเอนไซม์; ก) สารละลายของสารลดแรงตึงผิวที่ใช้ในผงซักฟอกความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยมวล ก่อนหยดเอนไซม์; ข) สารละลายของสารลดแรงตึงผิวที่ใช้ในผงซักฟอกความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยมวล หลังหยดเอนไซม์

จากผลการทดลองพบว่าเมื่อหยดเอนไซม์ลงไปในสารละลายสารลดแรงตึงผิวที่มีความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยมวล จะเกิดตะกอนสีขาวขึ้น เนื่องจากเกิดปฏิกิริยาระหว่างสารลดแรงตึงผิวและเกลือในน้ำเลี้ยงเอนไซม์ จึงทำให้ไม่สามารถใช้สารลดแรงตึงผิวที่ใช้ในผงซักฟอกมาใช้เป็นสารลดแรงตึงผิวในการเตรียมอิมัลชันเชิงซ้อนได้ ดังนั้นสารลดแรงตึงผิวที่เลือกใช้ในการเตรียมอิมัลชันเอนไซม์ในน้ำมันคือ พรูโรนิค แอล 31 ในสัดส่วน 3 ต่อ 1 โดยน้ำหนักเอนไซม์ต่อสารลดแรงตึงผิว (สิริรัชต์, 2010)

นอกจากการพิจารณาเรื่องความเหมาะสมในการเลือกใช้สารลดแรงตึงผิวแล้ว การพิจารณาถึงปัจจัยในระหว่างขั้นตอนการเตรียมอิมัลชันก็เป็นขั้นตอนที่สำคัญ อย่างเช่นในขั้นตอนการเตรียมอิมัลชันเชิงซ้อน จำเป็นต้องผสมสารด้วยเครื่องโฮโมจิไนเซอร์ ซึ่งจะปั่นกวนเอนไซม์ด้วยความเร็วสูง พลังงานจากแรงดันจะทำให้เกิดแรงเฉือน (Shear) แรงกระแทกและการแตกตัวของฟองอากาศขนาดเล็ก (Cavitation) อย่างรุนแรง ซึ่งอาจส่งผลให้เอนไซม์สูญเสียแอคติวิตี ดังนั้นในเบื้องต้น จึงต้องทำการวิเคราะห์ผลของโฮโมจิไนเซอร์ที่มีต่อแอคติวิตีของเอนไซม์ โดยสภาวะที่ใช้ในการเตรียมอิมัลชันเชิงซ้อนจะใช้โฮโมจิไนเซอร์ปั่นกวนที่ความเร็วรอบ 15,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที โดยพักการปั่นกวนทุก 1 นาที นาน 1 นาที เพื่อป้องกันความร้อนที่เกิดขึ้นจากการปั่นกวน ทำการวิเคราะห์กับตัวอย่างที่ได้จากการเตรียมสารสายป้อนในรูปแบบอิมัลชันที่อัตราส่วนของปริมาณน้ำมันต่อ

เอนไซม์ค่าต่างๆ ค่าแอคติวิตีคงเหลือของเอนไซม์ก่อนและหลังผ่านการปั่นกวนด้วยความเร็วสูง แสดงไว้ในตารางที่ 4.9

ตารางที่ 4.9 แสดงค่าแอคติวิตีคงเหลือของเอนไซม์โปรติเอสที่ได้จากการเตรียมสารสายป้อนในรูปแบบอิมัลชันที่อัตราส่วนของปริมาณน้ำมันต่อเอนไซม์ค่าต่างๆ

อัตราส่วนชั้นน้ำมันต่อเอนไซม์ (โดยน้ำหนัก)	ค่าแอคติวิตีคงเหลือของวัฏภาคเอนไซม์ในน้ำมัน (ร้อยละ)	ค่าแอคติวิตีคงเหลือของวัฏภาคเอนไซม์ในน้ำมันในน้ำแป้ง (ร้อยละ)
90:10	100.9	101.3
80:20	100.1	101.5
70:30	99.6	100.1
60:40	101.2	100.1

จากตารางที่ 4.9 จะเห็นว่าร้อยละของค่าแอคติวิตีคงเหลือของเอนไซม์โปรติเอสมีค่าประมาณ 100 แสดงว่าเอนไซม์ไม่มีการสูญเสียแอคติวิตี ทั้งในวัฏภาคเอนไซม์ในน้ำมันและวัฏภาคเอนไซม์ในน้ำมันในน้ำแป้ง ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่า เอนไซม์สามารถทนต่อการปั่นกวนที่ความเร็วรอบ 15000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ได้ โดยไม่มีการสูญเสียแอคติวิตี

ปัจจัยที่ทำการศึกษาในการอบแห้งแบบพ่นฝอยของเอนไซม์ที่ได้จากการเตรียมสารสายป้อนในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนนั้น ในเบื้องต้นจะทำการศึกษาในทิศทางเดียวกันกับการอบแห้งแบบพ่นฝอยของเอนไซม์ที่ได้จากการเตรียมสารสายป้อนในรูปแบบสารละลาย นั่นคือ การศึกษาปัจจัยที่น่าจะมีผลต่อการสูญเสียแอคติวิตีของเอนไซม์ในขณะผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอย ได้แก่ อิทธิพลของอุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอย อิทธิพลของอัตราส่วนของปริมาณน้ำมันต่อเอนไซม์ในวัฏภาคน้ำในน้ำมัน และอิทธิพลของขนาดของหยดน้ำมันในวัฏภาคน้ำในน้ำมันในน้ำ

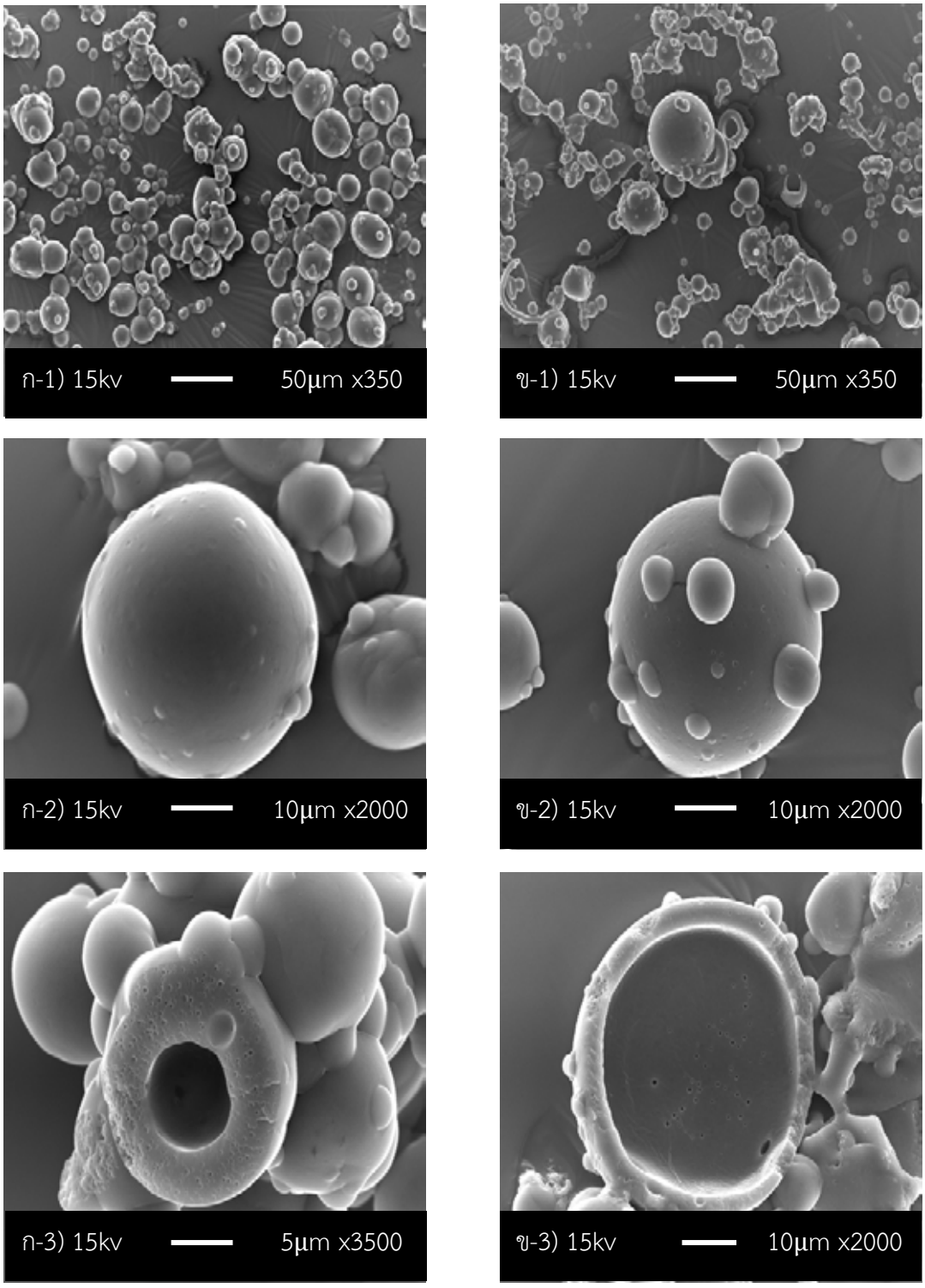
4.2.1 อิทธิพลของอุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอยต่อค่าแอคติวิตีคงเหลือของเอนไซม์

ในการศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอยต่อค่าแอคติวิตีคงเหลือของเอนไซม์โปรติเอส ซึ่งใช้แป้งดัดแปรเป็นวัสดุห่อหุ้ม โดยมีปริมาณของแข็งในสารสายป้อนร้อยละ 40 มีพรูโรนิค แอล 31 เป็นสารลดแรงตึงผิวสำหรับการเตรียมอิมัลชันเอนไซม์ในน้ำมัน โดยใช้

อัตราส่วนสารลดแรงตึงผิว 1 ส่วนในเอนไซม์ 3 ส่วนโดยน้ำหนัก และใช้น้ำมันไตรกลีเซอร์ไรด์ที่มีความยาวสายโซ่ขนาดกลางเป็นชั้นน้ำมัน อัตราส่วนของปริมาณน้ำมันต่อเอนไซม์ 90:10 โดยควบคุมอัตราการป้อนสารสายป้อนในการอบแห้งแบบพ่นฝอยไว้ที่ 6 มิลลิลิตรต่อนาที ทำการอบแห้งที่อุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอย 110 และ 190 องศาเซลเซียส ผลของแอคติวิตีคงเหลือและค่าอุณหภูมิของอากาศขาออก ได้แสดงไว้ดังตารางที่ 4.10 และลักษณะทางกายภาพของผงแห้งที่ได้แสดงดังรูปที่ 4.12

ตารางที่ 4.10 แสดงค่าแอคติวิตีคงเหลือหลังผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยของผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ได้จากการอบแห้งสารสายป้อนในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนที่อุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอย 110 และ 190 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิของอากาศขาเข้า (องศาเซลเซียส)	อุณหภูมิของอากาศขาออก (องศาเซลเซียส)	ค่าแอคติวิตีคงเหลือ (ร้อยละ)
110	70	100.0
190	122	40.0



รูปที่ 4.12 แสดงลักษณะทางกายภาพของผงเอนไซม์แห้งที่ผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อน; ก) ผงเอนไซม์แห้งที่ได้จากกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิของอากาศขาเข้า 110 องศาเซลเซียส และ ข) ผงเอนไซม์แห้งที่ได้จากกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิของอากาศขาเข้า 190 องศาเซลเซียส

จากตารางที่ 4.10 จะพบว่า ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส ร้อยละของค่าแอคติวิตีคงเหลือของผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสมีค่าเท่ากับ 100.0 แสดงว่าเอนไซม์ในสารสายป้อนที่เตรียมในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนไม่มีการสูญเสียแอคติวิตีขณะผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอย แต่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการอบแห้งไปที่ 190 องศาเซลเซียส พบว่าค่าร้อยละของค่าแอคติวิตีคงเหลือของเอนไซม์หลังผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยลดลงเหลือร้อยละ 40.0 และเมื่อสังเกตลักษณะทางกายภาพจะพบว่าที่อุณหภูมิของอากาศขาเข้า 110 องศาเซลเซียส ผงเอนไซม์มีลักษณะทางกายภาพที่สมบูรณ์คือ ได้อนุภาครูปทรงกลม มีชั้นของวัสดุห่อหุ้มที่หนา และมีอนุภาคที่ถูกห่อหุ้มกระจายตัวอยู่ทั่วชั้นวัสดุห่อหุ้ม ในขณะที่ผงเอนไซม์ที่ได้จากกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิของอากาศขาเข้า 190 องศาเซลเซียสส่วนใหญ่มีลักษณะเป็นทรงกลมที่ไม่สมบูรณ์ กล่าวคือ อนุภาคถูกทำให้แห้งก่อนที่จะขึ้นรูปเป็นทรงกลมที่สมบูรณ์ สังเกตจากรูปที่ ข-3) อนุภาคมีลักษณะยังไม่เป็นทรงกลม และมีชั้นของวัสดุห่อหุ้มบาง ซึ่งอาจเป็นอีกสาเหตุหนึ่งที่ทำให้แอคติวิตีคงเหลือของเอนไซม์หลังผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิของอากาศขาเข้า 190 องศาเซลเซียส ต่ำกว่าแอคติวิตีคงเหลือของเอนไซม์หลังผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิของอากาศขาเข้า 110 องศาเซลเซียส ซึ่งให้ผลในทำนองเดียวกันกับผงเอนไซม์แห้งรูปแบบสารประกอบเชิงซ้อนหรือผงแห้งของเอนไซม์ที่ได้จากการอบแห้งสารสายป้อนที่เตรียมในรูปแบบสารละลายนั่นเอง กล่าวคือ การเพิ่มอุณหภูมิในกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยส่งผลให้เอนไซม์สูญเสียแอคติวิตีในระหว่างกระบวนการอบแห้ง ดังนั้นจึงได้นำค่าแอคติวิตีคงเหลือของผงเอนไซม์แห้งทั้งสองรูปแบบ ได้แก่ ผงเอนไซม์แห้งรูปแบบสารประกอบเชิงซ้อน และ ผงเอนไซม์แห้งรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อน มาเปรียบเทียบกันดังแสดงในตารางที่ 4.11

ตารางที่ 4.11 แสดงค่าแอคติวิตีคงเหลือหลังผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยของผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสรูปแบบสารประกอบเชิงซ้อนและรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อน ที่อุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอย 190 องศาเซลเซียส

รูปแบบของผงเอนไซม์แห้ง	อุณหภูมิของอากาศขาออก (องศาเซลเซียส)	ค่าแอคติวิตีคงเหลือ (ร้อยละ)
สารประกอบเชิงซ้อน	128	74.1
อิมัลชันเชิงซ้อน	122	40.0

จากตารางที่ 4.11 จะสังเกตได้ว่าค่าแอคติวิตีคงเหลือของเอนไซม์โปรติเอสหลังผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยของผงเอนไซม์แห้งทั้งสองรูปแบบสูญเสียไปเหลือร้อยละ 74.1 สำหรับผงเอนไซม์แห้งรูปแบบสารประกอบเชิงซ้อน และร้อยละ 40.0 สำหรับผงเอนไซม์แห้งรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อน ซึ่งจากผลการทดลองจะเห็นว่าผงเอนไซม์แห้งรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนสูญเสียแอคติวิตีระหว่างกระบวนการอบแห้งไปมากกว่าผงเอนไซม์แห้งรูปแบบสารประกอบเชิงซ้อน นั่นเป็นเพราะว่าเอนไซม์ที่อยู่ในผงเอนไซม์แห้งรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนมีชั้นน้ำมันซึ่งมีค่าความจุความร้อนสูงหุ้มอยู่ ทำให้เอนไซม์ที่อยู่ในผงเอนไซม์แห้งรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนได้รับความร้อนเป็นช่วงระยะเวลานานกว่าเอนไซม์ที่อยู่ในผงเอนไซม์แห้งรูปแบบสารประกอบเชิงซ้อน จึงสูญเสียแอคติวิตีมากกว่า

4.2.2 อิทธิพลของอัตราส่วนของปริมาณน้ำมันต่อเอนไซม์ที่มีต่อค่าแอคติวิตีคงเหลือของเอนไซม์

ในการศึกษาอิทธิพลอัตราส่วนของปริมาณน้ำมันต่อเอนไซม์ที่มีต่อค่าแอคติวิตีคงเหลือของเอนไซม์ โปรติเอส ได้ทำการศึกษาที่อัตราส่วนของปริมาณน้ำมันต่อเอนไซม์ 90:10, 80:20, 70:30 และ 60:40 โดยน้ำหนัก โดยควบคุมอัตราการป้อนสารสายป้อนในการอบแห้งแบบพ่นฝอยไว้ที่ 6 มิลลิลิตรต่อนาที ทำการอบแห้งที่อุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอย 110 และ 190 องศาเซลเซียส ค่าแอคติวิตีคงเหลือของเอนไซม์หลังผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยได้แสดงไว้ในตารางที่ 4.12

ตารางที่ 4.12 แสดงค่าแอคติวิตีคงเหลือหลังผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยของผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ได้จากการอบแห้งสารสายป้อนในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนในอัตราส่วนของปริมาณชั้นน้ำมันต่อเอนไซม์ค่าต่างๆ ที่อุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอย 100 และ 190 องศาเซลเซียส

อัตราส่วนชั้นน้ำมันต่อเอนไซม์ (โดยน้ำหนัก)	ค่าแอคติวิตีคงเหลือ (ร้อยละ)	
	110 องศาเซลเซียส	190 องศาเซลเซียส
90:10	100.0	40.0
80:20	101.0	88.6
70:30	100.4	79.9
60:40	100.0	23.4

จากตารางที่ 4.12 พบว่าผงเอนไซม์แห้งที่ได้จากสารสายป้อนรูปแบบอิมัลชันในอัตราส่วนของปริมาณชั้นน้ำมันต่อเอนไซม์ค่าต่างๆ หลังผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอย 100 องศาเซลเซียส ไม่มีการสูญเสียแอคติวิตี โดยให้ค่าแอคติวิตีคงเหลือร้อยละประมาณ 100 ในขณะที่ผงเอนไซม์แห้งที่ได้จากสารสายป้อนรูปแบบอิมัลชันในอัตราส่วนของปริมาณชั้นน้ำมันต่อเอนไซม์ค่าต่างๆ หลังผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอย 190 องศาเซลเซียส เกิดการสูญเสียแอคติวิตีขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ โดยจะต้องพิจารณาถึงอุณหภูมิของอากาศขาออกในกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอย

ตารางที่ 4.13 แสดงค่าอุณหภูมิของอากาศขาออกในกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอย, ระยะเวลาในการคงตัวของอิมัลชันเอนไซม์ในน้ำมัน และค่าแอคติวิตีคงเหลือของผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ได้จากการอบแห้งสารสายป้อนในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนในอัตราส่วนของปริมาณชั้นน้ำมันต่อเอนไซม์ค่าต่างๆ ที่อุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอย 190 องศาเซลเซียส

อัตราส่วน น้ำมันต่อเอนไซม์ (โดยน้ำหนัก)	อุณหภูมิของ อากาศขาออก (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลาในการคงตัวของ อิมัลชันเอนไซม์ในน้ำมัน (นาที)	ค่าแอคติวิตี คงเหลือ (ร้อยละ)
90:10	122	10	40.0
80:20	121	8	88.6
70:30	124	3	79.9
60:40	127	1	23.4

จากตารางที่ 4.13 จะเห็นว่าอุณหภูมิของอากาศขาออกในกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยและระยะเวลาในการคงตัวของอิมัลชันเอนไซม์ในน้ำมันที่แตกต่างกัน ส่งผลให้ค่าแอคติวิตีคงเหลือของผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสแตกต่างกัน โดยที่อัตราส่วนของปริมาณชั้นน้ำมันต่อเอนไซม์ 60:40 เอนไซม์สูญเสียแอคติวิตีไปมากที่สุด เนื่องจากอุณหภูมิของอากาศขาออกในกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยนั้นมีค่าสูงถึง 127 องศาเซลเซียส และมีระยะเวลาในการคงตัวของอิมัลชันเอนไซม์ในน้ำมันที่สั้นมาก ทำให้เอนไซม์นอกจากจะไม่ถูกห่อหุ้มโดยน้ำมันและได้รับความร้อนโดยตรงจากกระบวนการอบแห้งแล้ว ยังได้รับความร้อนที่ถูกกักเก็บไว้โดยน้ำมันต่อเนื่องอีกช่วงระยะเวลาหนึ่ง ในขณะที่ผงเอนไซม์ที่มีอัตราส่วนของปริมาณชั้นน้ำมันต่อเอนไซม์ 90:10, 80:20 และ 70:30 ถูกอบแห้งที่

อุณหภูมิของอากาศขาออกในกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยใกล้เคียงกัน นั่นคือ 122, 122 และ 124 ตามลำดับ แต่ผงเอนไซม์ที่มีอัตราส่วนของปริมาณชั้นน้ำมันต่อเอนไซม์ 90:10 มีค่าแอคติวิตีคงเหลือน้อยกว่าผงเอนไซม์ที่มีอัตราส่วนของปริมาณชั้นน้ำมันต่อเอนไซม์ 80:20 และ 70:30 เนื่องจากเอนไซม์ถูกห่อหุ้มด้วยปริมาณน้ำมันที่มากกว่า ด้วยค่าความจุความร้อนของน้ำมันที่มีค่ามาก ทำให้เอนไซม์ได้รับความร้อนจากชั้นน้ำมันเป็นระยะเวลานาน เอนไซม์จึงสูญเสียแอคติวิตีไปมากกว่านั่นเอง ในกรณีความแตกต่างของค่าแอคติวิตีของผงเอนไซม์ที่มีอัตราส่วนของปริมาณชั้นน้ำมันต่อเอนไซม์ 80:20 และ 70:30 นี้สามารถอธิบายได้ด้วยความแตกต่างของอุณหภูมิของอากาศขาออกในกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอย กล่าวคือผงเอนไซม์ที่มีอัตราส่วนของปริมาณชั้นน้ำมันต่อเอนไซม์ 80:20 ถูกอบแห้งที่อุณหภูมิของอากาศขาออก 121 องศาเซลเซียส ซึ่งต่ำกว่าอุณหภูมิของอากาศขาออกในการอบแห้งเอนไซม์ที่มีอัตราส่วนของปริมาณชั้นน้ำมันต่อเอนไซม์ 70:30 จึงทำให้ค่าแอคติวิตีของผงเอนไซม์ที่มีอัตราส่วนของปริมาณชั้นน้ำมันต่อเอนไซม์ 80:20 มีค่ามากกว่าผงเอนไซม์ที่มีอัตราส่วนของปริมาณชั้นน้ำมันต่อเอนไซม์ 70:30 เล็กน้อย

4.2.3 อิทธิพลของขนาดของอิมัลชันน้ำมันในน้ำที่มีต่อค่าแอคติวิตีคงเหลือของเอนไซม์

ในการศึกษาอิทธิพลขนาดของอิมัลชันน้ำมันในน้ำที่มีต่อค่าแอคติวิตีคงเหลือของเอนไซม์ ได้ทำการศึกษาที่อัตราส่วนของปริมาณน้ำมันต่อเอนไซม์ 90:10 โดยน้ำหนัก โดยควบคุมอัตราการป้อนสารสายป้อนในการอบแห้งแบบพ่นฝอยไว้ที่ 6 มิลลิลิตรต่อนาที ทำการอบแห้งที่อุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอย 110 และ 190 องศาเซลเซียส ขนาดของหยดน้ำมันในอิมัลชันถูกกำหนดด้วยความเร็วรอบและระยะเวลาในการปั่นกวนของโฮโมจิไนเซอร์ ได้แก่ 15,000 รอบ เป็นเวลา 10 นาที, 13,000 รอบ เป็นเวลา 8 นาที, 10,000 รอบ เป็นเวลา 5 นาที และ 8,000 รอบ เป็นเวลา 3 นาที ในขั้นตอนการเตรียมอิมัลชันเอนไซม์ในน้ำมันในน้ำแป้ง สำหรับขั้นตอนการเตรียมอิมัลชันเอนไซม์ในน้ำมันยังคงใช้ความเร็วรอบและระยะเวลาในการปั่นกวนของโฮโมจิไนเซอร์ 15,000 รอบ เป็นเวลา 10 นาที เมื่อวัดขนาดของชั้นน้ำมันด้วยเครื่องวิเคราะห์ขนาดและการกระจายตัวของอนุภาคด้วยเทคนิคการกระเจิงแสง ได้ขนาดเฉลี่ยของหยดน้ำมันในแต่ละตัวอย่างดังแสดงในตารางที่ 4.14

ตารางที่ 4.14 แสดงขนาดของหยดน้ำมันในอิมัลชันที่ได้จากการเตรียมด้วยเครื่องโฮโมจิไนเซอร์ ความเร็วรอบและระยะเวลาในการปั่นกวนต่างๆ

ความเร็วรอบ (รอบต่อนาที) / เวลา (นาที)	ขนาดเฉลี่ยของหยดน้ำมันในอิมัลชัน (นาโนเมตร)
15,000 / 10	207
13,000 / 8	239
10,000 / 5	249
8,000 / 3	267

จากตารางที่ 4.14 จะเห็นว่า การลดความเร็วรอบในการปั่นกวน และลดระยะเวลาในการปั่นกวนของโฮโมจิไนเซอร์ ส่งผลให้ขนาดของหยดน้ำมันในอิมัลชันลดลง แต่ความแตกต่างของขนาดของหยดน้ำมันที่ได้นี้ยังไม่แตกต่างกันมาก จึงไม่ทำให้เห็นความแตกต่างของค่าแอคติวิตีคงเหลือของผงเอนไซม์ ดังแสดงในตารางที่ 4.15

ตารางที่ 4.15 แสดงค่าแอคติวิตีคงเหลือหลังผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยของผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ได้จากการอบแห้งสารสายป้อนในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนที่ขนาดของหยดน้ำมันค่าต่างๆ เมื่ออุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอย 100 และ 190 องศาเซลเซียส

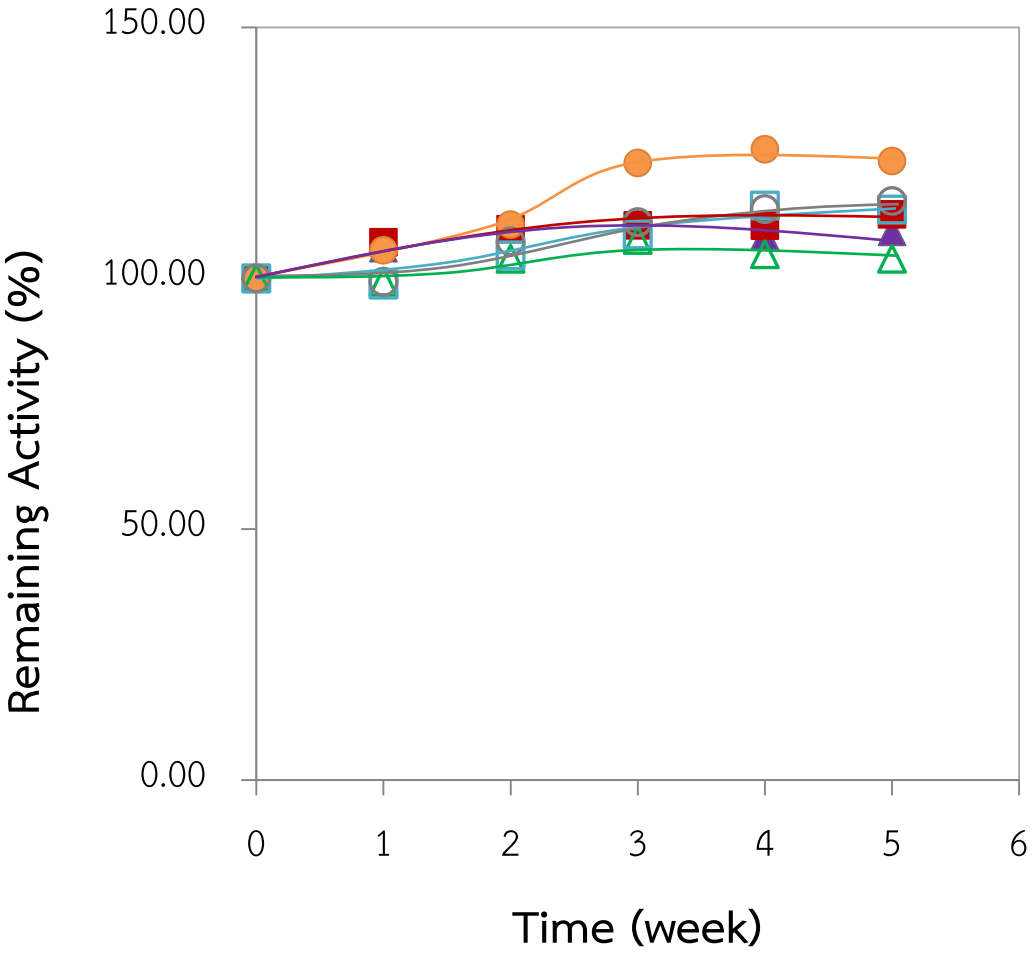
อัตราส่วนชั้นน้ำมันต่อเอนไซม์ (โดยน้ำหนัก)	ค่าแอคติวิตีคงเหลือ (ร้อยละ)	
	110 องศาเซลเซียส	190 องศาเซลเซียส
207	101.0	56.3
239	100.2	50.6
249	99.7	53.4
267	100.6	49.1

จากตารางที่ 4.15 จะเห็นว่าที่อุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอย 100 องศาเซลเซียส เอนไซม์ไม่มีการสูญเสียแอคติวิตี โดยให้ค่าแอคติวิตีคงเหลือประมาณร้อยละ 100 ในขณะที่ผงเอนไซม์ที่ถูกอบแห้งที่อุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอย 190 องศาเซลเซียส เกิดการสูญเสียแอคติวิตี เนื่องจากอุณหภูมิของอากาศขาออกในการอบแห้งที่สูงขึ้น โดย

ขนาดของหยดน้ำมันที่แตกต่างกันดังแสดงในตารางที่ 4.14 และ 4.15 นี้ ไม่ทำให้เกิดความแตกต่างของค่าแอคติวิตีคงเหลือของเอนไซม์หลังผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยอย่างมีนัยสำคัญ

4.2.4 ผลของอุณหภูมิในการเก็บรักษาที่มีต่อแอคติวิตีของผงเอนไซม์แห้ง

ผลของอุณหภูมิในการเก็บรักษาที่มีต่อแอคติวิตีของผงเอนไซม์แห้งทำการวิเคราะห์โดยจัดเก็บผงเอนไซม์ที่ได้จากกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยสารสายป้อนรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อน ซึ่งใช้แป้งดัดแปรเป็นวัสดุห่อหุ้ม โดยมีปริมาณของแข็งในสารสายป้อนร้อยละ 40 โดยน้ำหนัก อัตราส่วนปริมาณแป้งต่ออิมัลชันเอนไซม์ในน้ำมัน 4 ต่อ 1 โดยน้ำหนัก ใช้น้ำมันไตรกลีเซอร์ไรด์ที่มีความยาวสายโซ่ขนาดกลางเป็นชั้นน้ำมัน โดยมีพลูโรนิค แอล 31 เป็นสารลดแรงตึงผิวในวัฏภาคเอนไซม์ในน้ำมัน ควบคุมอัตราการป้อนสารสายป้อนในการอบแห้งแบบพ่นฝอยไว้ที่ 6 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอย 110 องศาเซลเซียส ทำการศึกษาที่อัตราส่วนของปริมาณน้ำมันต่อเอนไซม์ 90:10 โดยน้ำหนัก โดยทำการจัดเก็บผงเอนไซม์แห้งนี้ใน 2 รูปแบบ คือ จัดเก็บผงเอนไซม์แห้งเพียงอย่างเดียว และจัดเก็บผงเอนไซม์แห้งร่วมกับผงซักฟอกอัตราส่วนผงเอนไซม์แห้งต่อผงซักฟอก 1:1 โดยน้ำหนัก ในสภาวะอุณหภูมิ 3 สภาวะ ได้แก่ 4 องศาเซลเซียส, 25 องศาเซลเซียส และ 45 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 5 สัปดาห์ ผลของค่าแอคติวิตีคงเหลือได้แสดงไว้ดังรูปที่ 4.12 และค่าแอคติวิตีได้แสดงไว้ในตารางที่ 4.16 และ 4.17



รูปที่ 4.13 แสดงร้อยละของค่าแอคติวิตีคงเหลือหลังผ่านการทดสอบความเสถียรในการเก็บรักษาของผงเอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อน ที่ถูกจัดเก็บเพียงอย่างเดียวและถูกจัดเก็บร่วมกับผงซักฟอกอัตราส่วนโดยน้ำหนัก 1:1 ในสภาวะอุณหภูมิค่าต่างๆ; △ เอนไซม์โปรติเอสที่ถูกจัดเก็บเพียงอย่างเดียวในสภาวะอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส, □ เอนไซม์โปรติเอสที่ถูกจัดเก็บเพียงอย่างเดียวในสภาวะอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส, ○ เอนไซม์โปรติเอสที่ถูกจัดเก็บเพียงอย่างเดียวในสภาวะอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส, ▲ เอนไซม์โปรติเอสที่ถูกจัดเก็บร่วมกับผงซักฟอกในสภาวะอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส, ■ เอนไซม์โปรติเอสที่ถูกจัดเก็บร่วมกับผงซักฟอกในสภาวะอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และ ● เอนไซม์โปรติเอสที่ถูกจัดเก็บร่วมกับผงซักฟอกในสภาวะอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 4.16 แสดงค่ายูนิตแอคติวิตีของเอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อน ที่ถูกจัดเก็บในสภาวะอุณหภูมิต่างๆ

ผงเอนไซม์โปรติเอสที่ถูกจัดเก็บเพียงอย่างเดียว

อุณหภูมิในการจัดเก็บ (องศาเซลเซียส)	ค่าแอคติวิตี (ยูนิต)					
	สัปดาห์ที่ 0	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 3	สัปดาห์ที่ 4	สัปดาห์ที่ 5
4		176.8	184.4	185.2	180.9	182.2
25	166.8	178.8	183.1	184.4	184.3	188.1
45		176.2	184.7	205.2	209.7	205.8

ผงเอนไซม์โปรติเอสที่ถูกจัดเก็บร่วมกับผงซักฟอก

อุณหภูมิในการจัดเก็บ (องศาเซลเซียส)	ค่าแอคติวิตี (ยูนิต)					
	สัปดาห์ที่ 0	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 3	สัปดาห์ที่ 4	สัปดาห์ที่ 5
4		180.8	189.2	196.0	190.8	189.2
25	182.1	179.8	190.4	198.0	208.5	207.0
45		180.9	195.5	202.5	207.2	210.1

ตารางที่ 4.17 แสดงค่ายูนิตแอคติวิตีต่อกรัมของแข็งของเอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อน ที่ถูกจัดเก็บในสภาวะอุณหภูมิต่างๆ

ผงเอนไซม์โปรติเอสที่ถูกจัดเก็บเพียงอย่างเดียว

อุณหภูมิในการจัดเก็บ (องศาเซลเซียส)	ค่าแอคติวิตี (ยูนิตต่อกรัม)					
	สัปดาห์ที่ 0	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 3	สัปดาห์ที่ 4	สัปดาห์ที่ 5
4		1763	1838	1847	1803	1817
25	1663	1783	1826	1839	1838	1875
45		1756	1841	2045	2091	2052

ผงเอนไซม์โปรติเอสที่ถูกจัดเก็บร่วมกับผงซักฟอก

อุณหภูมิในการจัดเก็บ (องศาเซลเซียส)	ค่าแอคติวิตี (ยูนิตต่อกรัม)					
	สัปดาห์ที่ 0	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 3	สัปดาห์ที่ 4	สัปดาห์ที่ 5
4		1803	1886	1954	1903	1886
25	1816	1793	1899	1974	2079	2064
45		1803	1949	2019	2066	2095

ก)

ข)

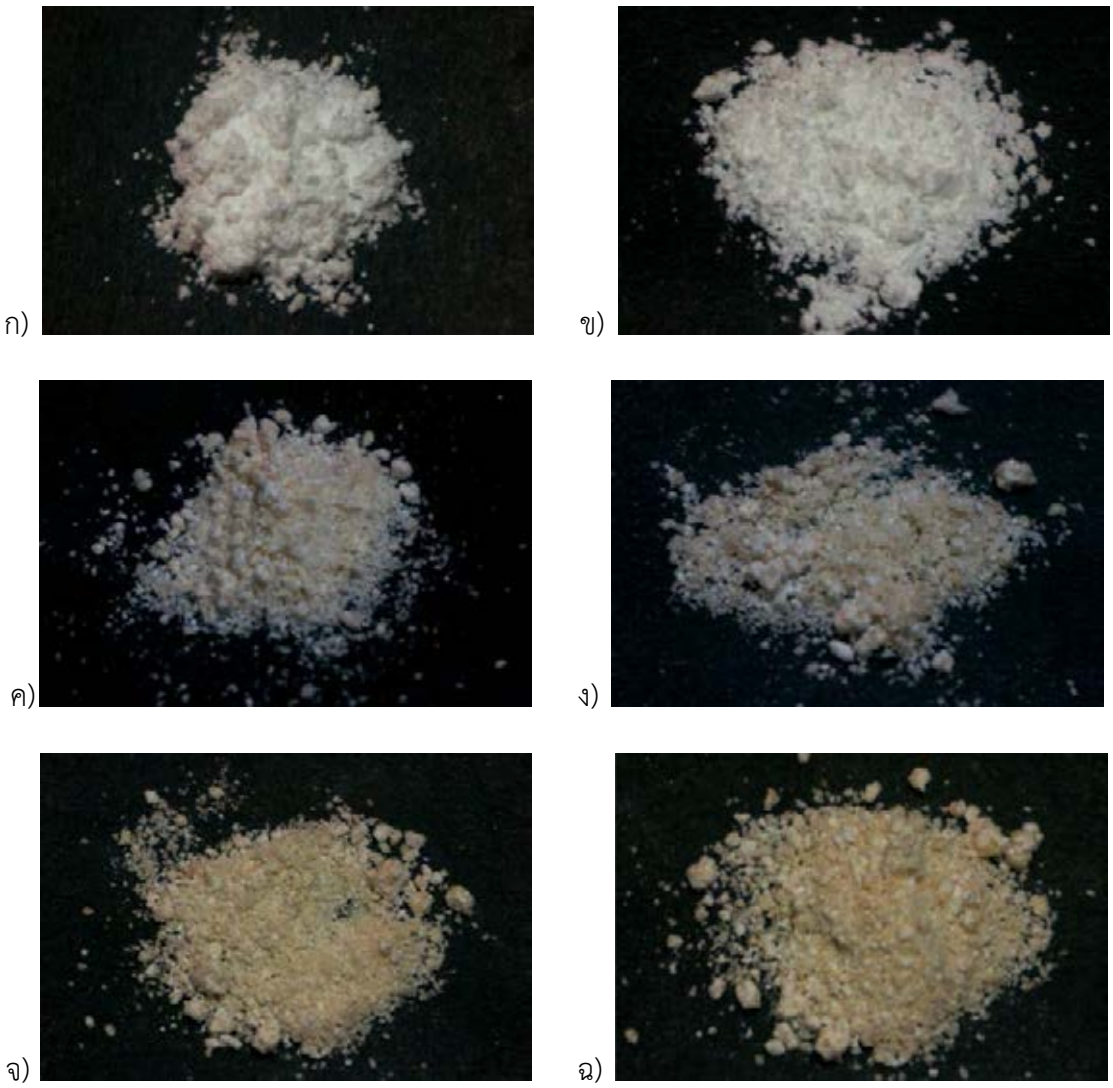
ค)

รูปที่ 4.14 แสดงลักษณะของผงแห้งที่เกี่ยวข้องกับการทดสอบความเสถียรในการเก็บรักษาก่อนทำการทดสอบ; ก) ผงแป้งดัดแปรที่ผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยในรูปแบบอิมัลชันน้ำมันในน้ำ (ไม่มีเอนไซม์) ที่อุณหภูมิของอากาศขาเข้า 110 องศาเซลเซียส มีปริมาณของแข็งในสารสายป้อนร้อยละ 40 โดยน้ำหนัก และควบคุมอัตราการป้อนสารสายป้อนในการอบแห้งแบบพ่นฝอยไว้ที่ 6 มิลลิลิตรต่อนาที, ข) ผงซักฟอกสูตรมาตรฐาน และ ค) เอนไซม์ผงที่ผ่านกระบวนการกักเก็บด้วยการอบแห้งแบบพ่นฝอยในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อน ที่อุณหภูมิของอากาศขาเข้า 110 องศาเซลเซียส โดยใช้แป้งดัดแปรเป็นวัสดุห่อหุ้ม มีปริมาณของแข็งในสารสายป้อนร้อยละ 40 โดยน้ำหนัก อัตราส่วนปริมาณเอนไซม์ต่อแป้งดัดแปร 0.5 สัดส่วนโดยน้ำหนัก ควบคุมอัตราการป้อนสารสายป้อนในการอบแห้งแบบพ่นฝอยไว้ที่ 6 มิลลิลิตรต่อนาที

รูปที่ 4.15 แสดงลักษณะของผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อน ที่ถูกจัดเก็บเพียงอย่างเดียวในสัปดาห์ที่ 5 ณ สภาวะอุณหภูมิต่างๆ; ก) ผงแป้งดัดแปรที่ผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยในรูปแบบอิมัลชันน้ำมันในน้ำ (ไม่มีเอนไซม์) ที่ถูกจัดเก็บในสภาวะอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ข) ผงเอนไซม์ที่ถูกจัดเก็บในสภาวะอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส, ค) ผงแป้งดัดแปรที่ผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยในรูปแบบอิมัลชันน้ำมันในน้ำ (ไม่มีเอนไซม์) ที่ถูกจัดเก็บในสภาวะอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส, ง) ผงเอนไซม์ที่ถูกจัดเก็บในสภาวะอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส, จ) ผงแป้งดัดแปรที่ผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยในรูปแบบอิมัลชันน้ำมันในน้ำ (ไม่มีเอนไซม์) ที่ถูกจัดเก็บในสภาวะอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส และ ฉ) ผงเอนไซม์ที่ถูกจัดเก็บในสภาวะอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

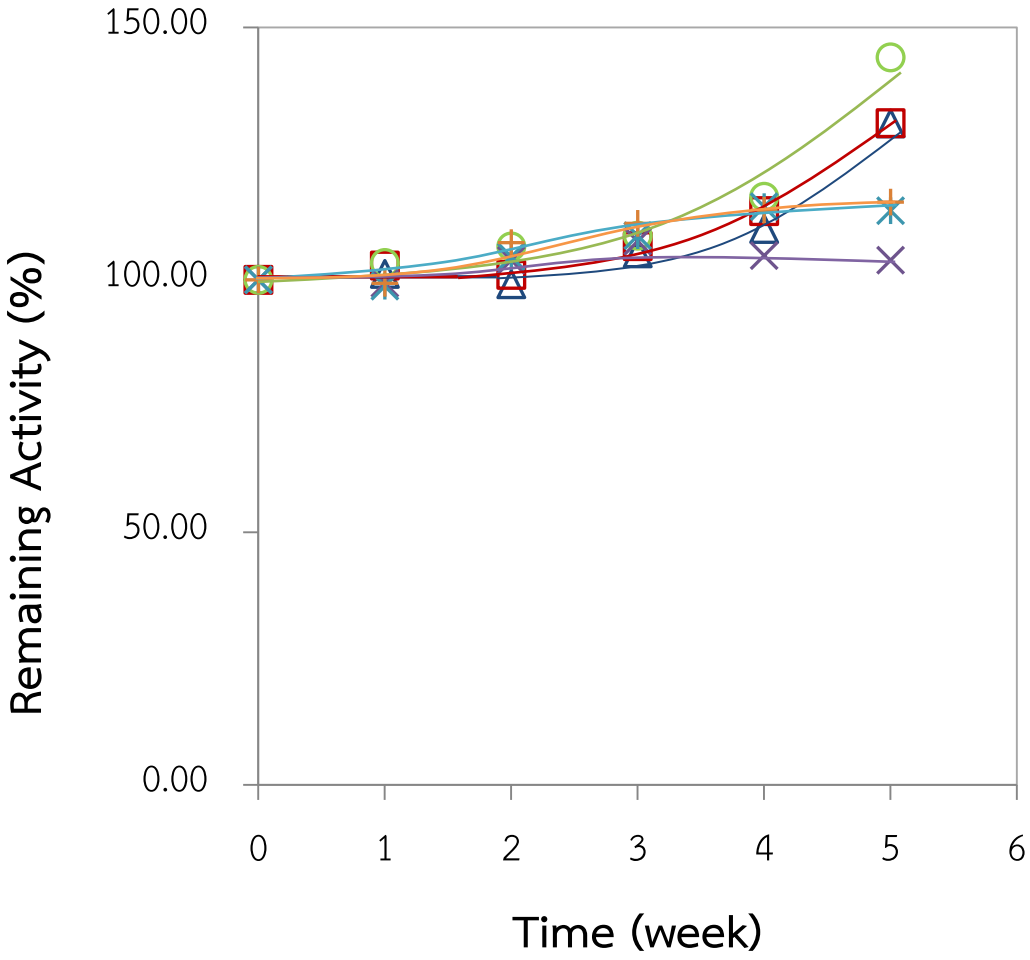
รูปที่ 4.16 แสดงลักษณะของผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนที่ถูกจัดเก็บเพียงอย่างเดียว ณ สภาวะอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ในสัปดาห์ต่างๆ; ก) ผงเอนไซม์ก่อนถูกจัดเก็บ, ข) ผงเอนไซม์ที่ถูกจัดเก็บในสัปดาห์ที่ 1, ค) ผงเอนไซม์ที่ถูกจัดเก็บในสัปดาห์ที่ 2, ง) ผงเอนไซม์ที่ถูกจัดเก็บในสัปดาห์ที่ 3, จ) ผงเอนไซม์ที่ถูกจัดเก็บในสัปดาห์ที่ 4 และ ฉ) ผงเอนไซม์ที่ถูกจัดเก็บในสัปดาห์ที่ 5

รูปที่ 4.17 แสดงลักษณะของผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อน ที่ถูกจัดเก็บเพียงร่วมกับผงซักฟอกอัตราส่วน 1:1 ในสัปดาห์ที่ 5 ณ สภาวะอุณหภูมิต่างๆ; ก) ผงแป้งดัดแปรที่ผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยในรูปแบบอิมัลชันน้ำมันในน้ำ (ไม่มีเอนไซม์) ที่ถูกจัดเก็บในสภาวะอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ข) ผงเอนไซม์ที่ถูกจัดเก็บในสภาวะอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส, ค) ผงแป้งดัดแปรที่ผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยในรูปแบบอิมัลชันน้ำมันในน้ำ (ไม่มีเอนไซม์) ที่ถูกจัดเก็บในสภาวะอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส, ง) ผงเอนไซม์ที่ถูกจัดเก็บในสภาวะอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส, จ) ผงแป้งดัดแปรที่ผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยในรูปแบบอิมัลชันน้ำมันในน้ำ (ไม่มีเอนไซม์) ที่ถูกจัดเก็บในสภาวะอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส และ ฉ) ผงเอนไซม์ที่ถูกจัดเก็บในสภาวะอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

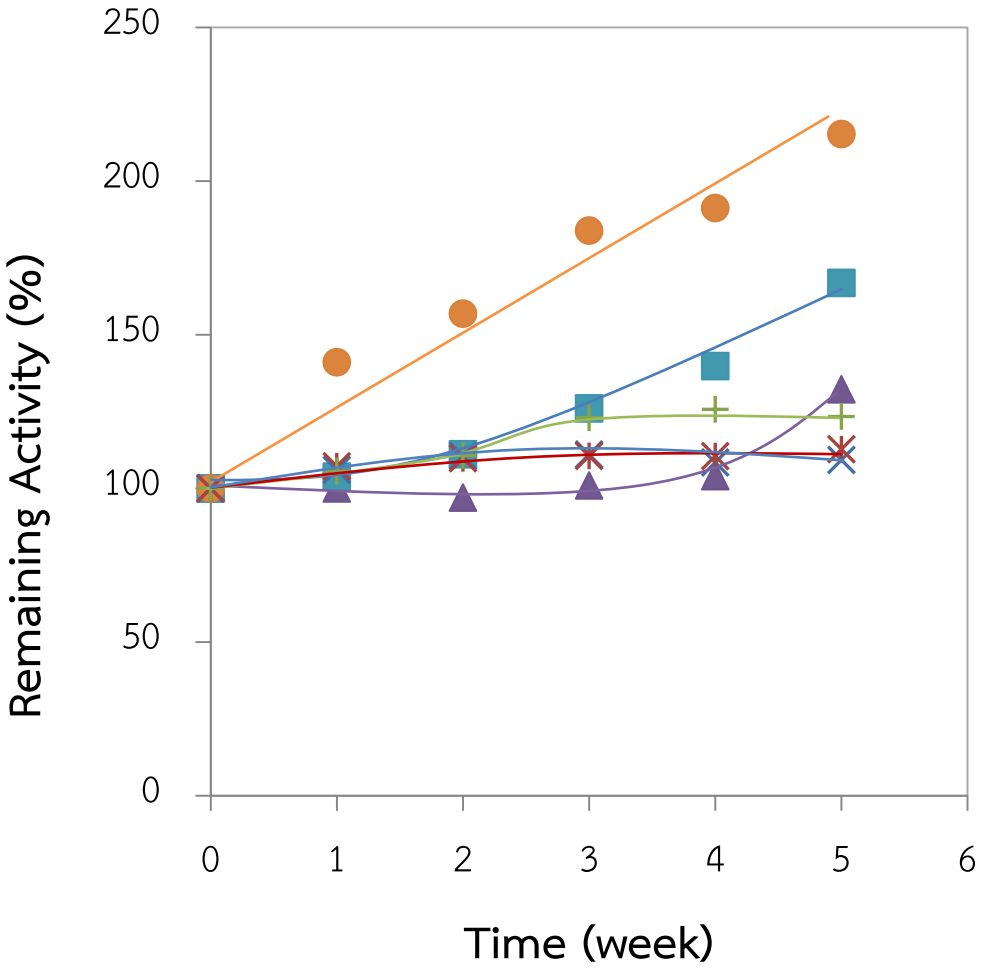


รูปที่ 4.18 แสดงลักษณะของผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบอิมัลชันที่ถูกจัดเก็บร่วมกับผงซักฟอกอัตราส่วน 1:1 ณ สภาวะอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ในสัปดาห์ต่างๆ; ก) สารผสมผงเอนไซม์และผงซักฟอกก่อนถูกจัดเก็บ, ข) สารผสมผงเอนไซม์และผงซักฟอกที่ถูกจัดเก็บในสัปดาห์ที่ 1, ค) สารผสมผงเอนไซม์และผงซักฟอกที่ถูกจัดเก็บในสัปดาห์ที่ 2, ง) สารผสมผงเอนไซม์และผงซักฟอกที่ถูกจัดเก็บในสัปดาห์ที่ 3, จ) สารผสมผงเอนไซม์และผงซักฟอกที่ถูกจัดเก็บในสัปดาห์ที่ 4 และ ฉ) สารผสมผงเอนไซม์และผงซักฟอกที่ถูกจัดเก็บในสัปดาห์ที่ 5

จากรูปที่ 4.12 จะเห็นว่าร้อยละของค่าแอคติวิตีคงเหลือของผงเอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนที่ถูกจัดเก็บเพียงอย่างเดียว ณ สภาวะอุณหภูมิทั้ง 3 สภาวะ และร้อยละของค่าแอคติวิตีคงเหลือของผงเอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนที่ถูกจัดเก็บร่วมกับผงซักฟอก ณ สภาวะอุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส มีแนวโน้มของร้อยละของค่าแอคติวิตีคงเหลือ ของผงเอนไซม์ในทิศทางเดียวกัน คือ ค่าแอคติวิตีของผงเอนไซม์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยเมื่อเทียบกับค่าแอคติวิตีเริ่มต้นจนอาจถือได้ว่าคงที่ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1 จนถึงสัปดาห์ที่ 5 ซึ่งอาจสรุปได้ว่าเอนไซม์ไม่เกิดการสูญเสียแอคติวิตีเนื่องจากเอนไซม์ถูกห่อหุ้มด้วยชั้นน้ำมันอีกชั้นหนึ่ง เสมือนชั้นน้ำมันทำหน้าทีเป็นเกราะป้องกันชั้นที่ 2 ของเอนไซม์ ในขณะที่ค่าแอคติวิตีของผงเอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนที่ถูกจัดเก็บร่วมกับผงซักฟอก ณ สภาวะอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสมีค่าเพิ่มสูงขึ้นอย่างเห็นได้ชัดเจนหลังจากสัปดาห์ที่ 2 และมีค่าคงที่จนถึงสัปดาห์ที่ 5 ซึ่งสามารถอธิบายได้ว่าที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เอนไซม์ผงสามารถรักษาเสถียรภาพไว้ได้ จึงไม่เกิดการสูญเสียแอคติวิตีในช่วงหนึ่งถึงสองสัปดาห์แรกที่ค่าร้อยละแอคติวิตีคงเหลือมีค่าคงที่ แต่หลังจากนั้นผงของเอนไซม์มีลักษณะทางกายภาพที่เปลี่ยนไปกล่าวคือเอนไซม์เริ่มจับตัวกันเป็นก้อนและมีสีเหลือง แสดงว่าเอนไซม์สูญเสียเสถียรภาพแล้วเกิดปฏิกิริยาบางอย่างกับสารในระบบทำให้ค่าแอคติวิตีที่วัดได้สูงขึ้นผิดปกติ คล้ายคลึงกับผลของการจัดเก็บผงเอนไซม์โปร ติเอสที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบสารละลาย แต่ค่าแอคติวิตีผงเอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนหลังจากที่คาดว่าเกิดปฏิกิริยาบางอย่าง ค่าแอคติวิตีของผงเอนไซม์ไม่ได้เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ อย่างต่อเนื่องดังเช่นค่าแอคติวิตีผงเอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบสารละลาย อาจเป็นเพราะเอนไซม์ส่วนที่เกิดปฏิกิริยาเป็นเอนไซม์ที่ไม่ถูกห่อหุ้มด้วยน้ำมัน ปฏิกิริยาจึงเกิดกับเอนไซม์บางส่วนเท่านั้น จึงทำให้ค่าแอคติวิตีไม่เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง รูปที่ 4.18 และ 4.19 ต่อไปนี้จะแสดงการเปรียบเทียบความเสถียรในการเก็บรักษาด้วยค่าร้อยละของค่าแอคติวิตีคงเหลือของผงเอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการกักเก็บระหว่างผงเอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบสารละลาย และผงเอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อน ทั้งการจัดเก็บผงเอนไซม์เพียงอย่างเดียว และการจัดเก็บผงเอนไซม์ร่วมกับผงซักฟอกอัตราส่วนโดยน้ำหนัก 1:1



รูปที่ 4.19 แสดงร้อยละของค่าแอคติวิตีคงเหลือหลังผ่านการทดสอบความเสถียรในการเก็บรักษาของผงเอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบสารละลายและรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อน ที่ถูกจัดเก็บเพียงอย่างเดียวในสภาวะอุณหภูมิค่าต่างๆ; △ เอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบสารละลายในสภาวะอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส, □ เอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบสารละลายในสภาวะอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส, ○ เอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบสารละลายในสภาวะอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส, ✳ เอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนในสภาวะอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส, × เอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนในสภาวะอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และ + เอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนในสภาวะอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส



รูปที่ 4.20 แสดงร้อยละของค่าแอคติวิตีคงเหลือหลังผ่านการทดสอบความเสถียรในการเก็บรักษาของผงเอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบสารละลายและรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อน ที่ถูกจัดเก็บร่วมกับผงซักฟอก ในสภาวะอุณหภูมิค่าต่างๆ; ▲ เอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบสารละลายในสภาวะอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส, ■ เอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบสารละลายในสภาวะอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส, ● เอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบสารละลายในสภาวะอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส, ✳ เอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนในสภาวะอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส, × เอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนในสภาวะอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และ + เอนไซม์โปรติเอสที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนในสภาวะอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

จากรูปที่ 4.18 และ 4.19 จะเห็นว่าค่าร้อยละของแอคติวิตีของผงเอนไซม์ที่ถูกทดสอบความเสถียรในการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 5 สัปดาห์ ของผงเอนไซม์ที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อน มีค่าเปลี่ยนแปลงไม่มากเมื่อเทียบกับค่าร้อยละของแอคติวิตีของผงเอนไซม์ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบสารละลาย แสดงว่าการมีชั้นน้ำมันห่อหุ้มเอนไซม์ไว้อกชั้นหนึ่ง ช่วยรักษาความเสถียรของแอคติวิตีของเอนไซม์ ทำให้ผงเอนไซม์ที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนช่วยรักษาความเสถียรของเอนไซม์ไว้มากกว่าผงเอนไซม์ที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบสารละลาย

ตัวแปรที่สำคัญที่ต้องการศึกษาในการเตรียมสารสายป้อนรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนนอกจากค่าแอคติวิตีคงเหลือหลังผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยแล้ว ยังศึกษาถึงการควบคุมการปลดปล่อย ซึ่งแตกต่างจากการเตรียมสารสายป้อนในรูปแบบสารละลาย

4.3 การศึกษาการควบคุมการปลดปล่อยของผงเอนไซม์ที่ได้จากการอบแห้งแบบพ่นฝอยสารสายป้อนรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อน

การเตรียมผงเอนไซม์แห้งในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อน น่าจะช่วยเพิ่มคุณสมบัติอย่างหนึ่งให้กับผงแคปซูลเอนไซม์ นั่นคือการควบคุมการปลดปล่อยของเอนไซม์ คุณสมบัตินี้เกิดจากความเป็นอิมัลชันเชิงซ้อน โดยความเสถียรของอิมัลชันจะช่วยชะลอการปลดปล่อยเอนไซม์ที่อยู่ภายใน การควบคุมการปลดปล่อยของเอนไซม์ที่ถูกห่อหุ้มนี้ สามารถศึกษาได้จากการวัดผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ในระยะเวลาการเกิดปฏิกิริยาต่างๆ กัน

4.3.1 อิทธิพลของการเตรียมสารสายป้อนในรูปแบบสารละลายและรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนต่อการควบคุมการปลดปล่อยเอนไซม์

ในการศึกษาอิทธิพลการเตรียมสารสายป้อนในรูปแบบสารละลายและรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนต่อการควบคุมการปลดปล่อยเอนไซม์ โดยเปรียบเทียบการปลดปล่อยเอนไซม์ในสภาวะที่ผงเอนไซม์แห้งถูกละลายในน้ำและสภาวะที่ผงเอนไซม์แห้งถูกละลายในสารละลายผงซักฟอกความเข้มข้น 7 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งเป็นความเข้มข้นมาตรฐานในการใช้งานผงซักฟอก ทำการเปรียบกันที่อัตราส่วนปริมาณเอนไซม์ต่อแป้งดัดแปร 0.024 โดยน้ำหนัก มีพรูโรนิค แอล 31 เป็นสารลดแรงตึงผิวสำหรับการเตรียมอิมัลชันเอนไซม์ในน้ำมัน โดยใช้อัตราส่วนสารลดแรงตึงผิว 1 ส่วนในเอนไซม์

3 ส่วนโดยน้ำหนัก และใช้น้ำมันไตรกลีเซอร์ไรด์ที่มีความยาวสายโซ่ขนาดกลางเป็นชั้นน้ำมัน อัตราส่วนของปริมาณน้ำมันต่อเอนไซม์ 90:10 โดยควบคุมอัตราการป้อนสารสายป้อนในการอบแห้งแบบพ่นฝอยไว้ที่ 6 มิลลิลิตรต่อนาที ทำการอบแห้งที่อุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอย 110 องศาเซลเซียส ผลของการควบคุมการปลดปล่อยเอนไซม์จะถูกแสดงออกมาในรูปของกราฟ ซึ่งใช้โมเดลสมการของ Avrami ในการสร้างกราฟแสดงการควบคุมการปลดปล่อยจากค่าแอคติวิตีที่วัดได้ของแต่ละช่วงเวลาการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์

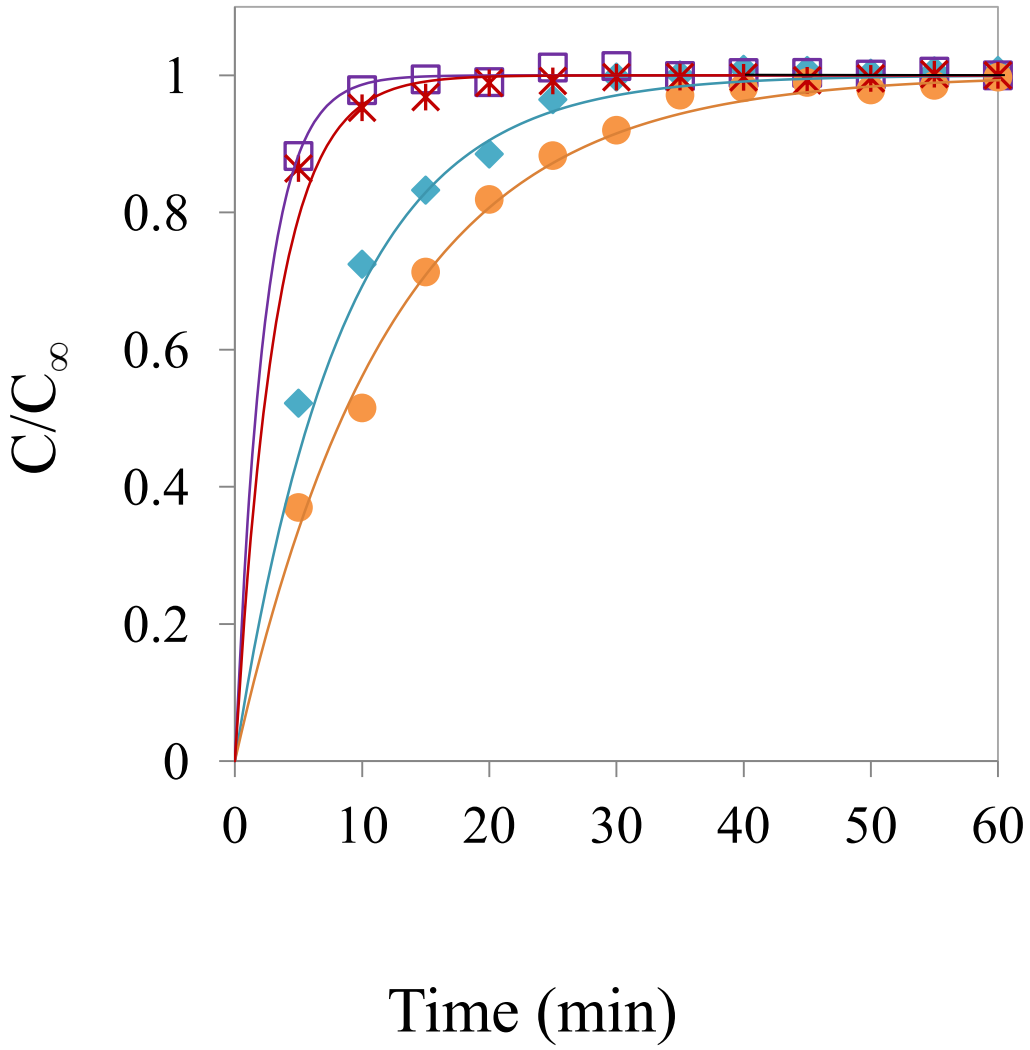
โมเดลสมการของ Avrami; $$R = \exp\left[-(kt)^n\right] \quad (ก)$$

$$\ln(-\ln R) = n\ln k + n\ln t \quad (ข)$$

เมื่อค่า R ในโมเดลคือสัดส่วนของปริมาณสารที่ปลดปล่อยออกมาที่ระยะเวลาใดๆ ต่อปริมาณสารตั้งต้น แต่ในการศึกษาการควบคุมการปลดปล่อยของเอนไซม์ในงานวิจัยนี้ ได้ศึกษาจากค่าแอคติวิตีของเอนไซม์ที่ระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยาช่วงต่างๆ ซึ่งค่าแอคติวิตีนี้ได้คำนวณมากจากความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์และซับเสรท และสามารถนำค่าความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ที่ระยะเวลาใดๆ (C_0) มาคำนวณเป็นร้อยละสัดส่วนโดยเทียบกับความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์ที่เวลาอนันต์ (C_∞) หรือ จนกว่าความเข้มข้นของสารผลิตภัณฑ์คงที่ เพื่อให้สามารถนำมาเปรียบเทียบได้สะดวกยิ่งขึ้น ดังนั้น ค่า R ในงานวิจัยนี้คือผลในทางกลับของค่า R ในโมเดลสมการ กล่าวคือ

$$R = 1 - \frac{C_0}{C_\infty}$$

เมื่อนำผลการทดลองมาแทนค่าในสมการ (ข) จะได้กราฟเส้นตรงที่มีความชันเท่ากับ n และจุดตัดแกน y เท่ากับ nlnk ทำให้สามารถจำลองกราฟแสดงการควบคุมการปลดปล่อยของเอนไซม์ได้ กราฟแสดงการควบคุมการปลดปล่อยเอนไซม์, ค่าแอคติวิตีคงเหลือของเอนไซม์ และค่าพารามิเตอร์ที่ใช้ในการจำลองกราฟ ได้แสดงไว้ดังรูปที่ 4.21, ตารางที่ 4.18 และ ตารางที่ 4.19 ตามลำดับ



รูปที่ 4.21 แสดงสัดส่วนโดยน้ำหนักของความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ที่เวลาใดๆ ต่อความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ระยะเวลาการเกิดปฏิกิริยาค่าต่างๆ; ☐ ผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ได้จากการเตรียมสารสายป้อนรูปแบบสารละลาย ทดสอบโดยการละลายผงเอนไซม์ในน้ำ, ✳ ผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ได้จากการเตรียมสารสายป้อนรูปแบบสารละลาย ทดสอบโดยการละลายผงเอนไซม์ในสารละลายผงซักฟอก, ◆ ผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ได้จากการเตรียมสารสายป้อนรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อน ทดสอบโดยการละลายผงเอนไซม์ในน้ำ, ● ผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ได้จากการเตรียมสารสายป้อนรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อน ทดสอบโดยการละลายผงเอนไซม์ในสารละลายผงซักฟอก

ตารางที่ 4.18 แสดงค่าแอคติวิตีคงเหลือหลังผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยของผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ได้จากการเตรียมสารสายป้อนในรูปแบบสารละลายและอิมัลชันเชิงซ้อนที่ถูกทดสอบการควบคุมการปลดปล่อยในสารละลายผงซักฟอกโดยเทียบกับผงเอนไซม์ที่ถูกทดสอบการควบคุมการปลดปล่อยในน้ำ ในอัตราส่วนของปริมาณน้ำมันต่อเอนไซม์ 90:10 เมื่ออุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอย 110 องศาเซลเซียส

รูปแบบการเตรียมสารสายป้อนของผงเอนไซม์	ค่าแอคติวิตีคงเหลือ (ร้อยละ)
สารละลาย	102.4
อิมัลชันเชิงซ้อน	102.8

ตารางที่ 4.19 แสดงค่าพารามิเตอร์ที่ใช้โมเดลสมการของ Avrami เพื่อจำลองกราฟแสดงการควบคุมการปลดปล่อยเอนไซม์

รูปแบบของผงเอนไซม์และการวัดแอคติวิตี	n	k	R^2
ผงเอนไซม์รูปแบบสารละลายทดสอบแอคติวิตีโดย;			
- ทดสอบในน้ำ	0.611	0.781	0.884
- ทดสอบในสารละลายผงซักฟอก	0.575	0.656	0.985
ผงเอนไซม์รูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนทดสอบแอคติวิตีโดย;			
- ทดสอบในน้ำ	0.783	0.137	0.990
- ทดสอบในสารละลายผงซักฟอก	0.987	0.083	0.985

หมายเหตุ* n = 1 เป็นการปลดปล่อยแบบลำดับที่หนึ่ง

n < 1 เป็นการปลดปล่อยแบบแพร่ผ่านของโมเลกุล

n > 1 จะเกิดการแพร่ที่รวดเร็ว ซึ่งอาจมีกลไกการปลดปล่อยมากกว่า 1 แบบ

ค่า k มาก หมายถึงการปลดปล่อยที่รวดเร็ว

พิจารณารูปที่ 4.21 จะเห็นว่าความเข้มข้นผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการทำปฏิกิริยาของผงเอนไซม์ที่ได้จากการเตรียมสารสายป้อนในรูปแบบสารละลายมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 5 นาทีแรก ต่อมาจะมีค่าความเข้มข้นคงที่เท่ากับความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์สุดท้าย ในขณะที่ความเข้มข้นผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการทำปฏิกิริยาของผงเอนไซม์ที่ได้จากการเตรียมสารสายป้อนในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องตามระยะเวลาการเกิดปฏิกิริยา แสดงให้เห็นว่าการเตรียมสารสายป้อนในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนสามารถเพิ่มคุณสมบัติการควบคุมการปลดปล่อยของผงเอนไซม์แห้งได้ และเมื่อพิจารณาควบคู่กับตารางที่ 4.19 จะเห็นว่าค่าพารามิเตอร์ n ของผงเอนไซม์ทั้งที่ได้จากการเตรียมสารสายป้อนในรูปแบบสารละลายและที่ได้จากการเตรียมสารสายป้อนในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนมีค่าน้อยว่า 1 ซึ่งแสดงถึงการปลดปล่อยแบบแพร่ผ่านโมเลกุล ในขณะที่ค่าคงที่อัตราการปลดปล่อยหรือค่าพารามิเตอร์ k ซึ่งเป็นค่าที่บ่งบอกถึงอัตราการปลดปล่อยของผงเอนไซม์ที่ได้จากการเตรียมสารสายป้อนในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนยังมีค่ามากกว่าผงเอนไซม์ที่ได้จากการเตรียมสารสายป้อนในรูปแบบสารละลายมากถึงประมาณ 7 เท่า ซึ่งบ่งชี้ให้เห็นว่าการเตรียมสารสายป้อนในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนสามารถเพิ่มคุณสมบัติการควบคุมการปลดปล่อยของผงเอนไซม์แห้งได้

เมื่อเปรียบเทียบการควบคุมการปลดปล่อยในสารละลายผงซักฟอก พบว่าผงเอนไซม์ที่ได้จากการเตรียมสารสายป้อนในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนปลดปล่อยเอนไซม์ออกมาช้ากว่าผงเอนไซม์ที่ทดสอบการควบคุมการปลดปล่อยในน้ำ สาเหตุเพราะในผงซักฟอกมีสารลดแรงตึงผิวจึงช่วยเพิ่มความเสถียรให้กับอิมัลชัน ในทางกลับกันผงเอนไซม์ที่ได้จากการเตรียมสารสายป้อนในรูปแบบสารละลายที่ทดสอบการควบคุมการปลดปล่อยในสารละลายผงซักฟอกให้แนวโน้มไม่ต่างจากผงเอนไซม์ที่ได้จากการเตรียมสารสายป้อนในรูปแบบสารละลายที่ทดสอบการควบคุมการปลดปล่อยในน้ำแต่อย่างใด และเมื่อพิจารณาค่าแอคติวิตีของผงเอนไซม์เมื่อทดสอบการควบคุมการปลดปล่อยในสารละลายผงซักฟอกพบว่ามีค่าแอคติวิตีไม่แตกต่างจากค่าแอคติวิตีของผงเอนไซม์ที่ทดสอบการควบคุมการปลดปล่อยในน้ำ แสดงว่าสารละลายผงซักฟอกเข้มข้น 7 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรไม่ส่งผลกระทบต่อแอคติวิตีของเอนไซม์

เนื่องจากค่าพารามิเตอร์ n ที่ได้จากโมเดลสมการ Avrami ของผงเอนไซม์ที่ได้จากการเตรียมสารสายป้อนในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนมีค่าเข้าใกล้ 1 จึงทดลองนำโมเดลสมการ First order มาใช้ในการจำลองกราฟ และได้นำสมการ Second order มาทดลองคำนวณเปรียบเทียบด้วยค่าพารามิเตอร์ของโมเดลสมการทั้ง 3 ได้แสดงไว้ในตารางที่ 4.20

ตารางที่ 4.20 แสดงค่าพารามิเตอร์จากโมเดลสมการของ Avrami, First order และ Second Order ในการจำลองกราฟแสดงการควบคุมการปลดปล่อยเอนไซม์

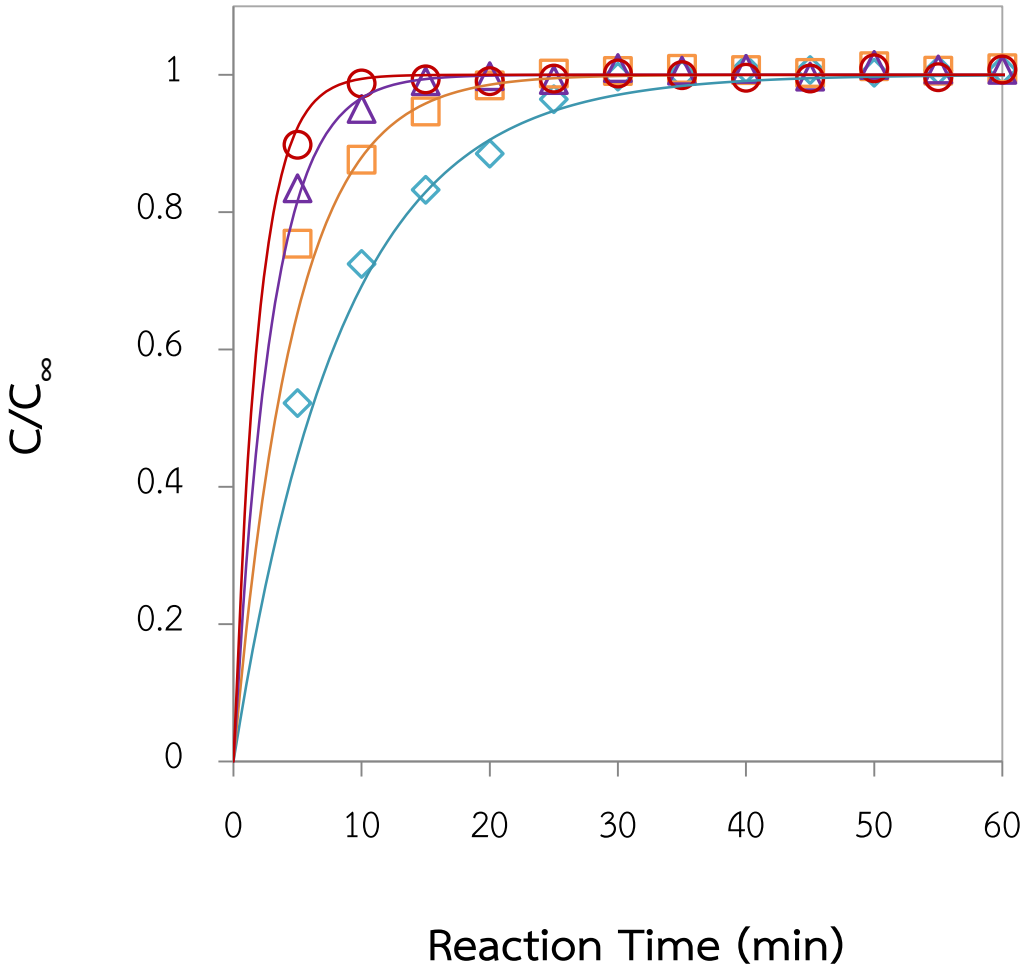
รูปแบบของผงเอนไซม์และการวัดแอคติวิตี	โมเดลสมการ Avrami			โมเดลสมการ First Order		โมเดลสมการ Second Order	
	n	k	R^2	k (t^{-1})	R^2	k'(t^{-1})	R^2
ผงเอนไซม์รูปแบบสารละลายทดสอบแอคติวิตีโดย;							
- ทดสอบในน้ำ	0.611	0.781	0.884	0.360	0.984	3.921	0.844
- ทดสอบในผงซักฟอก	0.575	0.656	0.985	0.243	0.901	1.977	0.976
ผงเอนไซม์รูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนทดสอบแอคติวิตีโดย;							
- ทดสอบในน้ำ	0.783	0.137	0.990	0.123	0.973	0.347	0.953
- ทดสอบในผงซักฟอก	0.987	0.083	0.985	0.084	0.996	0.188	0.886

จากค่าพารามิเตอร์ที่ได้จากโมเดลสมการ Avrami, First order และ Second Order จะเห็นว่าค่าพารามิเตอร์ k ซึ่งแสดงถึงอัตราการปลดปล่อยเอนไซม์ของผงเอนไซม์จากทั้ง 3 โมเดล ให้ค่า k ที่มีแนวโน้มเดียวกันคือ ผงเอนไซม์ที่ได้จากการเตรียมสารสายป้อนในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนจะมีค่าพารามิเตอร์ k มากกว่าผงเอนไซม์ที่ได้จากการเตรียมสารสายป้อนในรูปแบบสารละลาย ซึ่งย้ำให้เห็นว่าการเตรียมสารสายป้อนในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนสามารถเพิ่มคุณสมบัติการควบคุมการปลดปล่อยของผงเอนไซม์แห้งได้ และเมื่อพิจารณาค่าพารามิเตอร์ R^2 ที่ได้จากโมเดลสมดารทั้ง 3 สมการ จะสังเกตได้ว่าโมเดลสมการ First order ให้ค่า R^2 ที่เข้าใกล้ 1 มากที่สุด ดังนั้นจึงเป็นสมการที่เหมาะสมในการนำไปจำลองกราฟการควบคุมการปลดปล่อยเอนไซม์

เมื่อการเตรียมผงเอนไซม์ในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนสามารถช่วยควบคุมการปลดปล่อยของเอนไซม์ได้ ดังนั้นปัจจัยที่น่าสนใจในการศึกษาการเตรียมผงเอนไซม์ด้วยกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยของเอนไซม์ที่ได้จากการเตรียมสารสายป้อนในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนนั้น ได้แก่ อัตราส่วนของปริมาณน้ำมันต่อเอนไซม์ และขนาดของอิมัลชันน้ำมันในน้ำ

4.3.2 อิทธิพลของอัตราส่วนของปริมาณน้ำมันต่อเอนไซม์ต่อการควบคุมการปลดปล่อยเอนไซม์

ในการศึกษาอิทธิพลอัตราส่วนของปริมาณน้ำมันต่อเอนไซม์ต่อการควบคุมการปลดปล่อยเอนไซม์ ได้ทำการศึกษาที่อัตราส่วนของปริมาณน้ำมันต่อเอนไซม์ 90:10, 80:20, 70:30 และ 60:40 โดยน้ำหนัก โดยควบคุมอัตราการป้อนสารสายป้อนในการอบแห้งแบบพ่นฝอยไว้ที่ 6 มิลลิลิตรต่อนาที ทำการอบแห้งที่อุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอย 110 องศาเซลเซียส ผลของการควบคุมการปลดปล่อยเอนไซม์ และค่าพารามิเตอร์ที่ใช้ในการจำลองกราฟ ได้แสดงไว้ดังรูปที่ 4.22 และตารางที่ 4.21

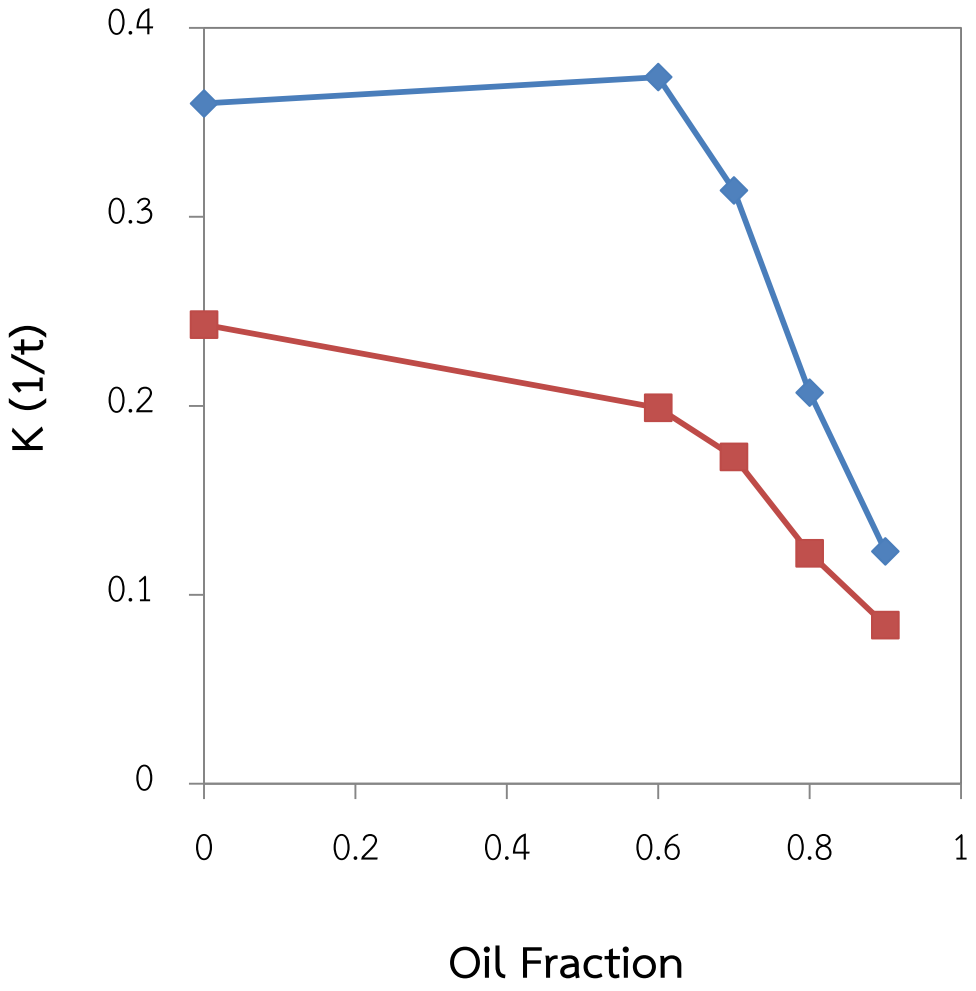


รูปที่ 4.22 แสดงสัดส่วนโดยน้ำหนักของความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ที่เวลาใดๆ ต่อความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ระยะเวลาการเกิดปฏิกิริยาค่าต่างๆ ของเอนไซม์ผงที่ได้จากกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิของอากาศขาเข้า 110 องศาเซลเซียส จากการเตรียมอิมัลชันที่มีสัดส่วนของเอนไซม์ต่อน้ำมันค่าต่างๆ; ◇ ผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ได้จากการเตรียมสารสายป้อนรูปแบบอิมัลชันอัตราส่วนชั้นน้ำมันต่อเอนไซม์ 90:10, □ผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ได้จากการเตรียมสารสายป้อนรูปแบบอิมัลชันอัตราส่วนชั้นน้ำมันต่อเอนไซม์ 80:20, △ผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ได้จากการเตรียมสารสายป้อนรูปแบบอิมัลชันอัตราส่วนชั้นน้ำมันต่อเอนไซม์ 70:30, ○ผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ได้จากการเตรียมสารสายป้อนรูปแบบอิมัลชันอัตราส่วนชั้นน้ำมันต่อเอนไซม์ 60:40

ตารางที่ 4.21 แสดงค่าพารามิเตอร์จากโมเดลสมการ First order ในการจำลองกราฟแสดงการควบคุมการปลดปล่อยเอนไซม์ของผงเอนไซม์รูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนที่ถูกเตรียมในอัตราส่วนของปริมาณน้ำมันต่อเอนไซม์ค่าต่างๆ

อัตราส่วนชั้นน้ำมันต่อเอนไซม์ (โดยน้ำหนัก)	k (t^{-1})	R^2
90:10	0.123	0.973
80:20	0.207	0.983
70:30	0.314	0.997
60:40	0.374	0.941

จากรูปที่ 4.22 จะเห็นว่าผงเอนไซม์แห้งที่ได้จากการเตรียมสารสายป้อนในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนอัตราส่วนชั้นน้ำมันต่อเอนไซม์ 90:10 มีอัตราการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ช้าที่สุด และเมื่อลดปริมาณชั้นน้ำมันลงเป็น 80:20, 70:30 และ 60:40 พบว่าอัตราการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์เร็วขึ้นตามลำดับ ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับค่าพารามิเตอร์ที่ได้จากโมเดลสมการ First order กล่าวคือ ผงเอนไซม์รูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนที่ถูกเตรียมในอัตราส่วนของปริมาณน้ำมันต่อเอนไซม์ 90:10 และ 80:20 ให้ค่า k ที่น้อยมาก แสดงว่าผงเอนไซม์ที่ถูกเตรียมด้วยอัตราส่วนของปริมาณน้ำมันต่อเอนไซม์ทั้งสองนี้เป็นการปลดปล่อยแบบแพร่ผ่านโมเลกุลอย่างช้าๆ ในขณะที่ผงเอนไซม์รูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนที่ถูกเตรียมในอัตราส่วนของปริมาณน้ำมันต่อเอนไซม์ 70:30 และ 60:40 ให้ค่า k ที่สูงขึ้นมาก แสดงว่าผงเอนไซม์ที่ถูกเตรียมด้วยอัตราส่วนของปริมาณน้ำมันต่อเอนไซม์ทั้งสองนี้เกิดการแพร่ที่รวดเร็ว หากนำค่าพารามิเตอร์ k ที่ได้จากโมเดลสมการ First order ของผงเอนไซม์ที่ได้จากการอบแห้งแบบพ่นฝอยของสารสายป้อนรูปแบบสารละลายและรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนที่ปริมาณชั้นน้ำมันต่อเอนไซม์ค่าต่างๆ มาสร้างกราฟ จะได้กราฟดังแสดงในรูปที่ 4.23



รูปที่ 4.23 แสดงผลของปริมาณชั้นน้ำมันในผงเอนไซม์ที่มีต่อแนวโน้มของค่าพารามิเตอร์ k จากโมเดลสมการ First order; ◆ ทดสอบการควบคุมการปลดล่อยของผงเอนไซม์ในน้ำ และ ■ ทดสอบการควบคุมการปลดปล่อยของผงเอนไซม์ในสารละลายผงซักฟอก

จากรูปที่ 4.23 จะเห็นว่าค่าพารามิเตอร์ k มีแนวโน้มลดลงเมื่อปริมาณชั้นน้ำมันในผงเอนไซม์มากขึ้นทั้งการทดสอบการควบคุมการปลดปล่อยของผงเอนไซม์ในน้ำและการทดสอบการควบคุมการปลดปล่อยของผงเอนไซม์ในสารละลายผงซักฟอก แสดงให้เห็นว่าความสามารถในการควบคุมการปลดปล่อยเอนไซม์แปรผันตรงกับปริมาณของชั้นน้ำมันต่อเอนไซม์ สาเหตุเพราะอิมัลชันมีชั้นน้ำมันที่หนาและมีความเสถียรของชั้นเอนไซม์ในน้ำมันมากที่สุด ดังแสดงในตารางที่ 4.22

ตารางที่ 4.22 แสดงระยะเวลาในการคงตัวของอิมัลชันเอนไซม์ในน้ำมันที่อัตราส่วนน้ำมันต่อเอนไซม์ค่าต่างๆ

อัตราส่วนชั้นน้ำมันต่อเอนไซม์ (โดยน้ำหนัก)	ระยะเวลาในการคงตัวของอิมัลชันเอนไซม์ในน้ำมัน (นาที)
90:10	15
80:20	10
70:30	5
60:40	2

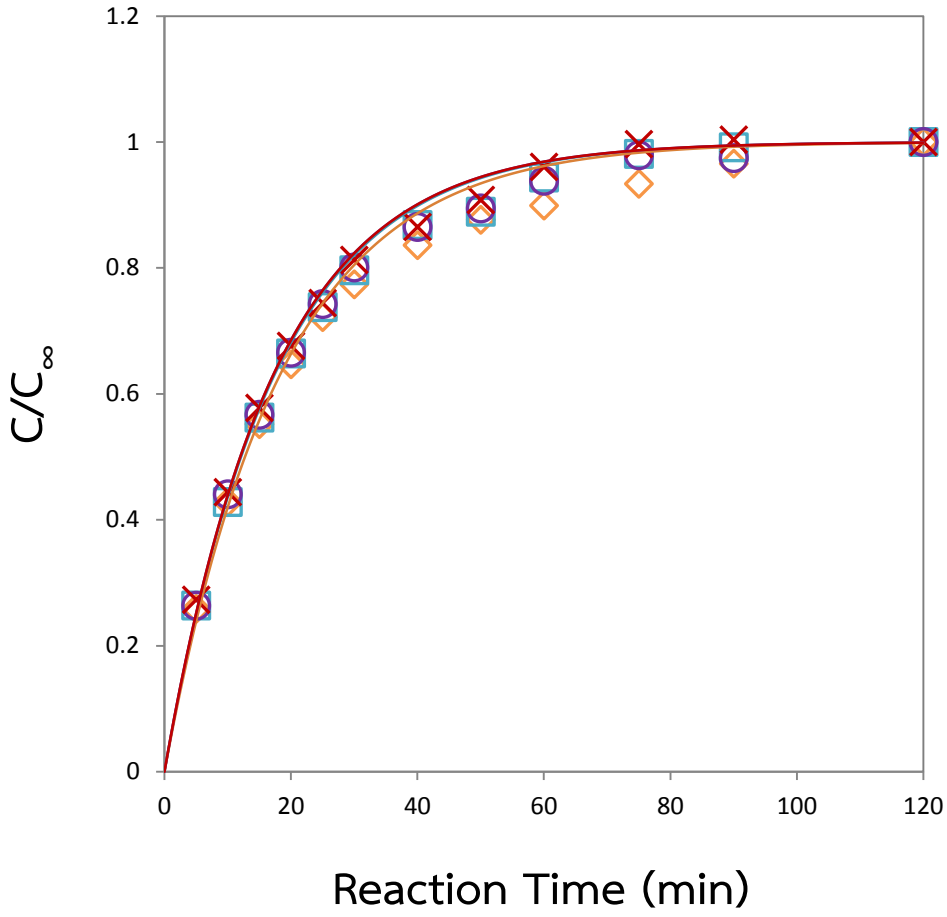
4.3.3 อิทธิพลของขนาดของอิมัลชันน้ำมันในน้ำต่อการควบคุมการปลดปล่อยเอนไซม์

ในการศึกษาอิทธิพลขนาดของอิมัลชันน้ำมันในน้ำต่อการควบคุมการปลดปล่อยเอนไซม์ ได้ทำการศึกษาที่อัตราส่วนของปริมาณน้ำมันต่อเอนไซม์ 90:10 โดยน้ำหนัก โดยควบคุมอัตราการป้อนสารสายป้อนในการอบแห้งแบบพ่นฝอยไว้ที่ 6 มิลลิลิตรต่อนาที ทำการอบแห้งที่อุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอย 110 องศาเซลเซียส ขนาดของหยดน้ำมันในอิมัลชันถูกกำหนดด้วยความเร็วรอบและระยะเวลาในการปั่นกวนของโฮโมจิไนเซอร์ ได้แก่ 15,000 รอบ เป็นเวลา 10 นาที, 13,000 รอบ เป็นเวลา 8 นาที, 10,000 รอบ เป็นเวลา 5 นาที และ 8,000 รอบ เป็นเวลา 3 นาที ในขั้นตอนการเตรียมอิมัลชันเอนไซม์ในน้ำมันในน้ำแป้ง สำหรับขั้นตอนการเตรียมอิมัลชันเอนไซม์ในน้ำมันยังคงใช้ความเร็วรอบและระยะเวลาในการปั่นกวนของโฮโมจิไนเซอร์ 15,000 รอบ เป็นเวลา 10 นาที เมื่อวัดขนาดของชั้นน้ำมันด้วยเครื่องวิเคราะห์ขนาดและการกระจายตัวของอนุภาคด้วยเทคนิคการกระเจิงแสง ได้ขนาดเฉลี่ยของหยดน้ำมันในแต่ละตัวอย่างดังแสดงในตารางที่ 4.22

ตารางที่ 4.23 แสดงขนาดของหยดน้ำมันในอิมัลชันที่ได้จากการเตรียมด้วยเครื่องโฮโมจิไนเซอร์ความเร็วรอบและระยะเวลาในการปั่นกวนต่างๆ

ความเร็วรอบ (รอบต่อนาที) / เวลา (นาที)	ขนาดเฉลี่ยของหยดน้ำมันในอิมัลชัน (นาโนเมตร)
15,000 / 10	207
13,000 / 8	239
10,000 / 5	249
8,000 / 3	267

จากตารางที่ 4.23 จะเห็นว่า การลดความเร็วรอบในการปั่นกวน และลดระยะเวลาในการปั่นกวนของโฮโมจิไนเซอร์ ส่งผลให้ขนาดของหยดน้ำมันในอิมัลชันลดลง ซึ่งการที่ขนาดของหยดน้ำมันในอิมัลชันเปลี่ยนแปลงไป น่าจะมีผลต่อการควบคุมการปลดปล่อยของเอนไซม์ ผลของการควบคุมการปลดปล่อยเอนไซม์ ได้แสดงไว้ดังรูปที่ 4.24



รูปที่ 4.24 แสดงสัดส่วนโดยน้ำหนักของความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ที่เวลาใดๆ ต่อความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ระยะเวลาการเกิดปฏิกิริยาค่าต่างๆ ของเอนไซม์ผงที่ได้จากกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยเมื่ออุณหภูมิของอากาศขาเข้า 110 องศาเซลเซียส จากการเตรียมอิมัลชันเอนไซม์ในน้ำมันที่ขนาดหยดน้ำมันแตกต่างกัน; △ ผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ได้จากการเตรียมสารสายป้อนรูปแบบอิมัลชันโดยมีขนาดของหยดน้ำมัน 207 นาโนเมตร, □ ผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ได้จากการเตรียมสารสายป้อนรูปแบบอิมัลชันโดยมีขนาดของหยดน้ำมัน 239 นาโนเมตร, ○ ผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ได้จากการเตรียมสารสายป้อนรูปแบบอิมัลชันโดยมีขนาดของหยดน้ำมัน 249 นาโนเมตร, × ผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ได้จากการเตรียมสารสายป้อนรูปแบบอิมัลชันโดยมีขนาดของหยดน้ำมัน 267 นาโนเมตร

ตารางที่ 4.24 แสดงค่าพารามิเตอร์ที่ใช้โมเดลสมการของ Avrami เพื่อจำลองกราฟแสดงการควบคุมการปลดปล่อยเอนไซม์ของผงเอนไซม์รูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนที่ถูกเตรียมให้มีขนาดของหยดน้ำมันในอิมัลชันค่าต่างๆ

ขนาดเฉลี่ยของหยดน้ำมันในอิมัลชัน (นาโนเมตร)	n	k	R^2
207	1.3178	0.0413	0.9951
239	1.3472	0.0425	0.9974
249	1.3488	0.0429	0.9953
267	1.3288	0.0435	0.9956

หมายเหตุ* n = 1 เป็นการปลดปล่อยแบบลำดับที่หนึ่ง

n < 1 เป็นการปลดปล่อยแบบแพร่ผ่านของโมเลกุล

n > 1 จะเกิดการแพร่ที่รวดเร็ว ซึ่งอาจมีกลไกการปลดปล่อยมากกว่า 1 แบบ

ค่า k มาก หมายถึงการปลดปล่อยที่รวดเร็ว

จากรูปที่ 4.24 จะเห็นว่าไม่เห็นผลของความแตกต่างของกราฟแสดงการควบคุมการปลดปล่อยที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงขนาดของหยดน้ำมันอย่างชัดเจน เนื่องจากขนาดของหยดน้ำมันมีขนาดไม่แตกต่างกันมากเพียงพอ ซึ่งเมื่อพิจารณาร่วมกับตารางที่ 4.24 ก็จะเห็นได้ชัดเจนว่าค่าพารามิเตอร์ที่ได้จากกราฟมีค่าใกล้เคียงกันมาก จึงไม่เห็นความแตกต่างของกราฟแสดงการควบคุมการปลดปล่อย

4.4 การศึกษาและเปรียบเทียบผลการกักเก็บเอนไซม์ทางการค้าและเอนไซม์ที่ผลิตได้จากห้องวิจัยคณะวิทยาศาสตร์

4.4.1 อิทธิพลของกระบวนการกักเก็บที่มีต่อเอนไซม์จากห้องวิจัยคณะวิทยาศาสตร์

นอกจากการทดลองกักเก็บเอนไซม์โปรติเอสทางการค้าแล้ว ในงานวิจัยนี้ยังได้ทดลองกักเก็บเอนไซม์โปรติเอสที่ผลิตได้มากจากห้องวิจัยคณะวิทยาศาสตร์ ภาควิชาชีวเคมี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยใช้เชื้อบาซิลลัส ไลเคนิฟอร์มิส 3C5 (Bacillus Licheniformis 3C5) ในการผลิต

เอนไซม์ ทดลองนำมากักเก็บด้วยกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยเช่นเดียวกัน กล่าวคือ ใช้แป้งดัดแปรเป็นวัสดุห่อหุ้มความเข้มข้นร้อยละ 40 โดยน้ำหนัก และอัตราส่วนปริมาณเอนไซม์ต่อแป้งดัดแปร 0.5 สัดส่วนโดยน้ำหนัก ควบคุมอัตราการป้อนสารสายป้อนในการอบแห้งแบบพ่นฝอยไว้ที่ 6 มิลลิลิตรต่อนาที ทำการอบแห้งที่อุณหภูมิของอากาศขาเข้า 110 องศาเซลเซียส ผลของแอคติวิตีคงเหลือ ได้แสดงไว้ดังตารางที่ 4.25

ตารางที่ 4.25 แสดงค่าแอคติวิตีของผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ผลิตได้มากจากห้องวิจัยคณะวิทยาศาสตร์ ก่อนและหลังผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิของอากาศขาเข้า 110 องศาเซลเซียส โดยเตรียมสารสายป้อนในรูปแบบสารละลาย

เอนไซม์	ค่าแอคติวิตีคงเหลือ (ร้อยละ)	ค่าแอคติวิตี (ยูนิต)	ค่าแอคติวิตี (ยูนิตต่อกรัมของแข็ง)
ก่อนการอบแห้ง	100.0	124.7	311.8
หลังการอบแห้ง	100.6	125.5	313.7

จากตารางที่ 4.25 พบว่าเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อบาซิลลัส ไลเคนิฟอร์มิส 3C5 ที่ผลิตได้มากจากห้องวิจัยคณะวิทยาศาสตร์ ภาควิชาชีวเคมี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ไม่มีการสูญเสียแอคติวิตีเมื่อผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิของอากาศขาเข้า 110 องศาเซลเซียส แต่ค่าแอคติวิตีของเอนไซม์ที่ได้ถือว่ามีค่าน้อยมากเมื่อเทียบกับเอนไซม์ทางการค้า ดังแสดงในตารางที่ 4.26

ตารางที่ 4.26 แสดงการเปรียบเทียบค่าแอคติวิตีคงเหลือของผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสทางการค้าและเอนไซม์โปรติเอสที่ผลิตได้มากจากห้องวิจัยคณะวิทยาศาสตร์ หลังผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิของอากาศขาเข้า 110 องศาเซลเซียส โดยเตรียมสารสายป้อนในรูปแบบสารละลาย

ผงแห้งของเอนไซม์	ค่าแอคติวิตีคงเหลือ (ร้อยละ)	ค่าแอคติวิตี (ยูนิต)	ค่าแอคติวิตี (ยูนิตต่อกรัมของแข็ง)
ทางการค้า	101.6	289.9	2684
ผลิตจากคณะวิทยาศาสตร์	100.6	125.5	313.7

จากตารางที่ 4.26 จะเห็นว่าค่ายูนิตแอคติวิตีต่อกรัมของแข็งของผงเอนไซม์โปรติเอสที่ผลิตได้มาจากห้องวิจัยคณะวิทยาศาสตร์ ภาควิชาชีวเคมี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย มีค่าน้อยกว่าผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสจากทางการค้ามากถึง 9 เท่า สาเหตุเพราะเอนไซม์โปรติเอสที่ทางคณะวิทยาศาสตร์ผลิตได้มีความเข้มข้นของเอนไซม์ในน้ำเลี้ยงค่อนข้างต่ำ ทำให้ค่าแอคติวิตีเริ่มต้นมีค่าต่ำ ส่งผลให้ผงแห้งของเอนไซม์หลังผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยมีค่าแอคติวิตีต่ำ แม้ว่าจะไม่มีการสูญเสียแอคติวิตีเลยก็ตาม ตารางที่ 4.27 แสดงการเปรียบเทียบค่าแอคติวิตีของเอนไซม์โปรติเอสดิบระหว่างเอนไซม์โปรติเอสทางการค้าและเอนไซม์โปรติเอสที่ผลิตได้มากจากห้องวิจัยคณะวิทยาศาสตร์

ตารางที่ 4.27 แสดงการเปรียบเทียบค่าแอคติวิตีของเอนไซม์โปรติเอสดิบระหว่างเอนไซม์โปรติเอสทางการค้าและเอนไซม์โปรติเอสที่ผลิตได้มากจากห้องวิจัยคณะวิทยาศาสตร์

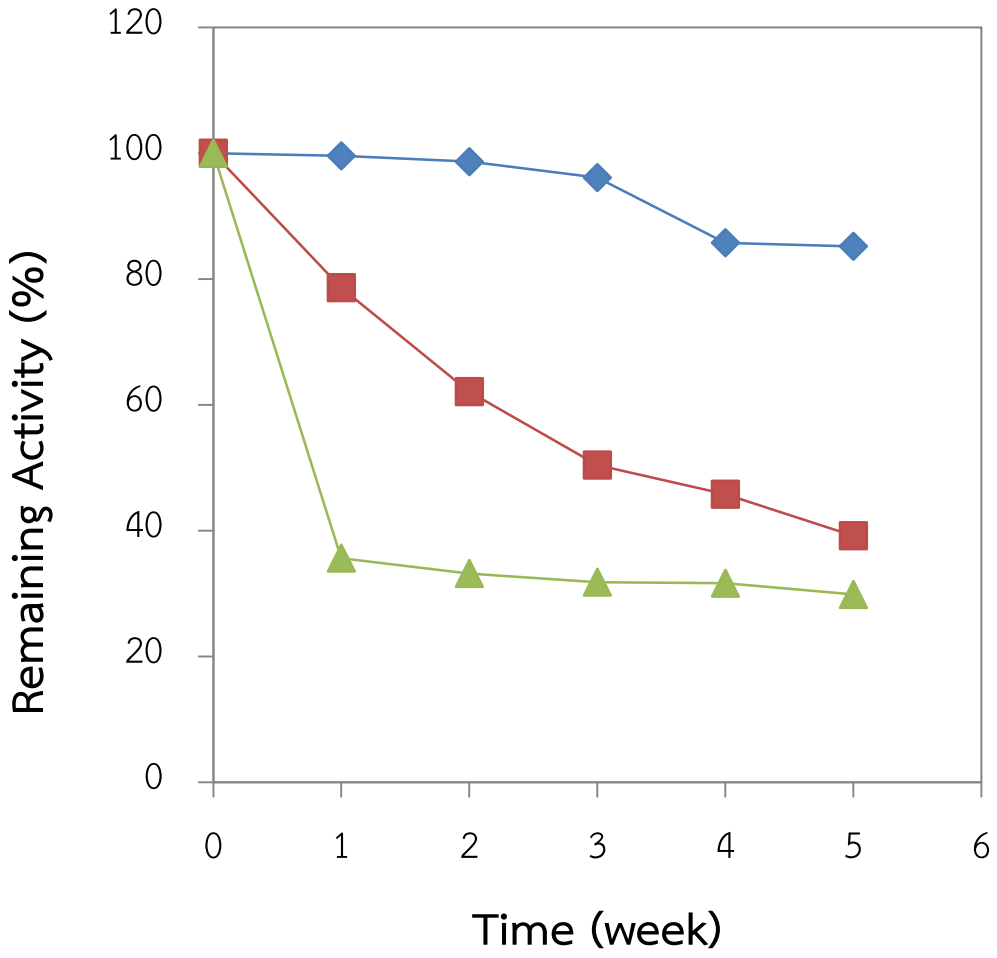
เอนไซม์ดิบ	ค่าแอคติวิตี (ยูนิต)
ทางการค้า	543.82
ผลิตจากคณะวิทยาศาสตร์	188.07

จากตารางที่ 4.27 จะเห็นว่าค่ายูนิตแอคติวิตีของเอนไซม์โปรติเอสดิบที่ผลิตได้มาจากห้องวิจัยคณะวิทยาศาสตร์ ภาควิชาชีวเคมี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยมีค่าน้อยกว่าเอนไซม์ โปรติเอสจากทางการค้าประมาณ 3 เท่า ด้วยเหตุนี้จึงส่งผลให้ไม่สามารถวัดแอคติวิตีของผงแห้งของเอนไซม์โปรติเอสที่ผลิตได้มากจากห้องวิจัยคณะวิทยาศาสตร์ในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนได้ เพราะผงเอนไซม์ในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนมีเอนไซม์เป็นส่วนประกอบในอัตราส่วนที่น้อยมากเมื่อเทียบกับปริมาณของแข็งในสารสายป้อน

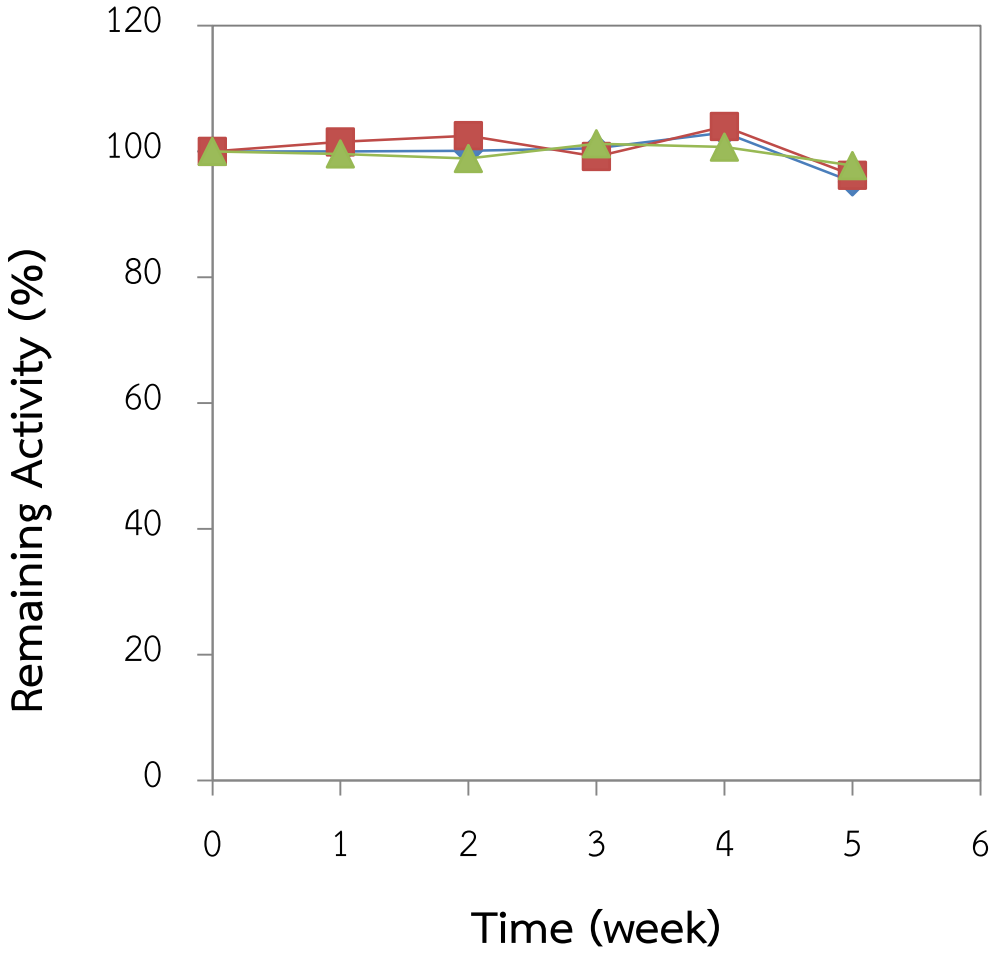
แต่อย่างไรก็ตามยังสามารถวิเคราะห์ความเสถียรในการเก็บรักษาผงแห้งเอนไซม์โปรติเอสที่ผลิตได้มาจากห้องวิจัยคณะวิทยาศาสตร์ ภาควิชาชีวเคมี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยดังแสดงในหัวข้อถัดไป

4.4.2 อิทธิพลของอุณหภูมิในการเก็บรักษาที่มีต่อเอนไซม์จากห้องวิจัยคณะวิทยาศาสตร์

อิทธิพลของอุณหภูมิในการเก็บรักษาที่มีต่อเอนไซม์ที่ผลิตได้มาจากห้องวิจัยคณะวิทยาศาสตร์ ภาควิชาชีวเคมี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ทำการวิเคราะห์โดยจัดเก็บผงเอนไซม์ที่ได้จากกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยสารสายป้อนรูปแบบสารละลาย ซึ่งใช้แป้งดัดแปรเป็นวัสดุห่อหุ้ม โดยมีปริมาณของแข็งในสารสายป้อนร้อยละ 40 โดยน้ำหนัก อัตราส่วนปริมาณเอนไซม์ต่อแป้งดัดแปร 0.5 สัดส่วนโดยน้ำหนัก ควบคุมอัตราการป้อนสารสายป้อนในการอบแห้งแบบพ่นฝอยไว้ที่ 6 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอย 110 องศาเซลเซียส โดยทำการจัดเก็บผงเอนไซม์แห้งนี้เพียงอย่างเดียว ในสภาวะอุณหภูมิ 3 สภาวะ ได้แก่ 4 องศาเซลเซียส, 25 องศาเซลเซียส และ 45 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 5 สัปดาห์ โดยทำการทดลองเปรียบเทียบกับการจัดเก็บเอนไซม์ที่ไม่ได้ผ่านกระบวนการกักเก็บ ผลของค่าแอคติวิตีคงเหลือได้แสดงไว้ดังรูปที่ 4.25 และ 4.26 และค่าแอคติวิตีได้แสดงไว้ในตารางที่ 4.28 และ 4.29



รูปที่ 4.25 แสดงร้อยละของค่าแอคติวิตีคงเหลือหลังผ่านการทดสอบความเสถียรในการเก็บรักษาของเอนไซม์โปรติเอสจากห้องวิจัยคณะวิทยาศาสตร์ที่ไม่ผ่านกระบวนการกักเก็บในสภาวะอุณหภูมิค่าต่างๆ; ◆ เอนไซม์โปรติเอสที่ถูกจัดเก็บในสภาวะอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส, ■ เอนไซม์โปรติเอสที่ถูกจัดเก็บในสภาวะอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และ ▲ เอนไซม์โปรติเอสที่ถูกจัดเก็บในสภาวะอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส,



รูปที่ 4.26 แสดงร้อยละของค่าแอคติวิตีคงเหลือหลังผ่านการทดสอบความเสถียรในการเก็บรักษาของผงเอนไซม์โปรติเอสสจากห้องวิจัยคณะวิทยาศาสตร์ที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบสารละลายถูกจัดเก็บเพียงอย่างเดียวในสภาวะอุณหภูมิค่าต่างๆ; ◆ เอนไซม์โปรติเอสที่ถูกจัดเก็บในสภาวะอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส, ■ เอนไซม์โปรติเอสที่ถูกจัดเก็บในสภาวะอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และ ▲ เอนไซม์โปรติเอสที่ถูกจัดเก็บในสภาวะอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 4.28 แสดงค่ายูนิตแอคติวิตีของเอนไซม์โปรติเอสจากห้องวิจัยคณะวิทยาศาสตร์ที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบสารละลายที่ถูกจัดเก็บในสภาวะอุณหภูมิต่างๆ

ผงเอนไซม์โปรติเอสจากห้องวิจัยคณะวิทยาศาสตร์

อุณหภูมิในการจัดเก็บ (องศาเซลเซียส)	ค่าแอคติวิตี (ยูนิต)					
	สัปดาห์ที่ 0	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 3	สัปดาห์ที่ 4	สัปดาห์ที่ 5
4		58.91	58.95	59.19	56.05	60.67
25	58.90	59.79	60.38	58.43	56.67	61.24
45		58.67	58.24	59.62	57.57	59.31

เอนไซม์โปรติเอสจากห้องวิจัยคณะวิทยาศาสตร์ที่ไม่ถูกกักเก็บ

อุณหภูมิในการจัดเก็บ (องศาเซลเซียส)	ค่าแอคติวิตี (ยูนิต)					
	สัปดาห์ที่ 0	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 3	สัปดาห์ที่ 4	สัปดาห์ที่ 5
4		219.78	217.71	212.14	189.29	188.05
25	188.07	173.53	137.05	111.29	101.04	86.48
45		78.62	73.24	70.19	69.81	65.86

ตารางที่ 4.29 แสดงค่ายูนิตแอคติวิตีต่อกรัมของแข็งของเอนไซม์โปรติเอสจากห้องวิจัยคณะวิทยาศาสตร์ที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบสารละลายที่ถูกจัดเก็บในสภาวะอุณหภูมิต่างๆ

ผงเอนไซม์โปรติเอสจากห้องวิจัยคณะวิทยาศาสตร์

อุณหภูมิในการจัดเก็บ (องศาเซลเซียส)	ค่าแอคติวิตี (ยูนิตต่อกรัม)					
	สัปดาห์ที่ 0	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 3	สัปดาห์ที่ 4	สัปดาห์ที่ 5
4		586.2	586.6	589.0	557.7	603.6
25	586.12	594.9	600.8	581.4	563.8	609.3
45		583.8	579.5	593.2	572.9	590.1

เอนไซม์โปรติเอสจากห้องวิจัยคณะวิทยาศาสตร์ที่ไม่ถูกกักเก็บ

อุณหภูมิในการจัดเก็บ (องศาเซลเซียส)	ค่าแอคติวิตี (ยูนิตต่อกรัม)					
	สัปดาห์ที่ 0	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 3	สัปดาห์ที่ 4	สัปดาห์ที่ 5
4		2843	2816	2744	2449	2433
25	2433	2245	1773	1440	1307	1119
45		1017	947	908	903	852

จากรูปที่ 4.25 จะเห็นว่าแอคติวิตีเอนไซม์โปรติเอสจากห้องวิจัยคณะวิทยาศาสตร์ ภาควิชาชีวเคมี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ไม่ได้ผ่านกระบวนการกักเก็บ มีค่าลดลงเมื่อถูกทดสอบความเสถียรในการเก็บรักษา โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่อุณหภูมิในการจัดเก็บ 45 องศาเซลเซียส เอนไซม์สูญเสียแอคติวิตีไปอย่างมากในสัปดาห์ที่หนึ่ง ประมาณร้อยละ 70 เมื่อเทียบกับแอคติวิตีเริ่มต้น และมีค่าค่อนข้างคงที่ที่ร้อยละ 30 จนถึงสัปดาห์ที่ 5 ในทำนองเดียวกันเอนไซม์ที่ถูกจัดเก็บที่อุณหภูมิในการจัดเก็บ 25 องศาเซลเซียส ก็สูญเสียแอคติวิตีเรื่อยมาตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1 จนถึงสัปดาห์สุดท้าย เอนไซม์มีแอคติวิตีคงเหลือร้อยละ 40 เมื่อเทียบกับค่าแอคติวิตีเริ่มต้น ในขณะที่เอนไซม์ที่ถูกจัดเก็บที่อุณหภูมิในการจัดเก็บ 4 องศาเซลเซียส มีค่าร้อยละของแอคติวิตีคงที่จนถึงสัปดาห์ที่ 3 นั่นหมายความว่าเอนไซม์ไม่มีการสูญเสียแอคติวิตีจนกระทั่งสัปดาห์ที่ 4 เอนไซม์เกิดการสูญเสียแอคติวิตีขึ้นประมาณร้อยละ 10 และค่าแอคติวิตีลดลงอีกเล็กน้อยในสัปดาห์ที่ 5 โดยมีค่าแอคติวิตีคงเหลือประมาณร้อน

ละ 85 แสดงว่าการกักเก็บเอนไซม์ที่อุณหภูมิสูง ส่งผลให้ค่าแอคติวิตีของเอนไซม์ลดลงตามเวลา แต่เมื่อนำเอนไซม์ไปผ่านกระบวนการกักเก็บ พบว่า เอนไซม์สมารถรักษาเสถียรภาพไว้ได้โดยไม่มีการสูญเสียแอคติวิตีในระยะเวลา 5 สัปดาห์ สังเกตจากรูปที่ 4.26 จะเห็นว่ากราฟแสดงค่าร้อยละของแอคติวิตีคงเหลือของเอนไซม์ที่ระยะเวลาในการจัดเก็บ 5 สัปดาห์ ณ อุณหภูมิในการจัดเก็บ 4, 25 และ 45 องศาเซลเซียส ค่อนข้างคงที่ แสดงว่ากระบวนการกักเก็บเอนไซม์สามารถช่วยรักษาเสถียรภาพในการเก็บรักษาเอนไซม์อุณหภูมิในการจัดเก็บ 4, 25 และ 45 องศาเซลเซียสไว้ได้เป็นระยะเวลาอย่างน้อย 5 สัปดาห์

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

แนวทางในการกักเก็บเอนไซม์โปรติเอสสำหรับนำไปประยุกต์ใช้ในผงซักฟอกเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพให้กับการขจัดคราบสกปรกประเภทโปรตีนนั้น สามารถกักเก็บได้ด้วยกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอย โดย

5.1.1 กระบวนการกักเก็บเอนไซม์โปรติเอสไว้ภายในวัสดุห่อหุ้มแป้งดัดแปร สามารถช่วยป้องกันเอนไซม์จากการสูญเสียแอคติวิตีเนื่องจากความร้อนที่เกิดการกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยได้

5.1.2 อุณหภูมิที่ใช้ในกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยมีผลต่อค่าแอคติวิตีของเอนไซม์ กล่าวคือยิ่งเพิ่มอุณหภูมิในการอบแห้งมาก ค่าแอคติวิตีของเอนไซม์หลังผ่านกระบวนการกักเก็บลดลง แต่หากยิ่งลดอุณหภูมิในการอบแห้งเอนไซม์ให้ลดลงต่ำมาก จะส่งผลให้เอนไซม์ไม่แห้งและเกาะติดห้องอบแห้งแทน ดังนั้นจึงควรเลือกใช้อุณหภูมิที่เหมาะสมในการอบแห้งเอนไซม์

5.1.3 ปริมาณเอนไซม์ต่อวัสดุห่อหุ้มในกระบวนการกักเก็บมีผลต่อค่าแอคติวิตีของเอนไซม์ เนื่องจากการมีโปรตีนจากเอนไซม์ในระบบน้อย ส่งผลให้ประสิทธิภาพในการป้องกันสารสำคัญภายในของวัสดุห่อหุ้มน้อยกว่าระบบที่มีโปรตีนจากเอนไซม์ในระบบมาก แต่อย่างไรก็ตามหากสัดส่วนของเอนไซม์มากเกินไป ผงเอนไซม์จะจับกันเป็นก้อนเกาะติดห้องอบแห้ง ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ในปริมาณที่น้อยมาก ดังนั้นจึงควรเลือกใช้ปริมาณเอนไซม์ต่อวัสดุห่อหุ้มที่เหมาะสมในกระบวนการกักเก็บเอนไซม์

5.1.4 การกักเก็บเอนไซม์ในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนด้วยกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิสูงส่งผลให้เอนไซม์สูญเสียแอคติวิตีมากกว่าการกักเก็บเอนไซม์ในรูปแบบสารละลาย เนื่องจากเอนไซม์ได้รับความร้อนต่อเนื่องจากชั้นน้ำมันซึ่งกักเก็บความร้อนจากกระบวนการอบแห้งไว้

5.15 ปริมาณน้ำมันในอิมัลชันเชิงซ้อนมีนอกจากมีผลทำให้เอนไซม์สูญเสียแอคติวิตีในระหว่างกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยแล้ว ยังมีผลต่อความเสถียรของอิมัลชัน ซึ่งปริมาณน้ำมันน้อย อิมัลชันจะมีระยะเวลาในการคงตัวต่ำ ทำให้ส่งผลกระทบต่อแอคติวิตีของเอนไซม์

5.16 ในการเก็บรักษาเอนไซม์ที่สภาวะอุณหภูมิต่างๆ สามารถป้องกันการสูญเสียแอคติวิตีของเอนไซม์ได้ด้วยกระบวนการกักเก็บในรูปแบบของเอนไซม์ผงแห้ง และการกักเก็บเอนไซม์โปรติเอสในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนยังช่วยเพิ่มความเสถียรในการเก็บรักษามากกว่าการกักเก็บเอนไซม์โปรติเอสในรูปแบบสารละลายอีกด้วย

นอกจากนี้ จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่าการกักเก็บเอนไซม์โปรติเอสในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อน สามารถช่วยควบคุมการปลดปล่อยของเอนไซม์ได้ โดย

5.1.7 ปริมาณน้ำมันที่เปลี่ยนไปมีผลต่อการควบคุมการปลดปล่อยของชั้นเอนไซม์โปรติเอสที่อยู่ภายใน กล่าวคือ ยิ่งปริมาณน้ำมันมาก การควบคุมการปลดปล่อยเอนไซม์โปรติเอสจะดีกว่าผงเอนไซม์ที่มีปริมาณน้ำมันน้อย

5.1.8 ขนาดของหยดน้ำมันมีเปลี่ยนไปเพียงเล็กน้อยไม่ส่งผลให้การควบคุมการปลดปล่อยแตกต่างกัน

5.2 ข้อเสนอแนะ

การศึกษาอิทธิพลของขนาดของหยดน้ำมันที่มีผลต่อการควบคุมการปลดปล่อย อาจจะต้องเตรียมตัวอย่างที่มีความแตกต่างของขนาดของหยดน้ำมันในอิมัลชันให้มีความแตกต่างกันมากกว่านี้ เพิ่มให้เกิดแนวโน้มที่ชัดเจนในผลการทดลอง

การพัฒนาคุณสมบัติของผงเอนไซม์ให้สามารถทนต่อสภาวะการเก็บรักษาต่างๆ โดยไม่ให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทั้งทางเคมีและทางกายภาพ เป็นสิ่งที่จำเป็นต้องศึกษาเพิ่มเติม เพื่อลดอัตราการเกิดปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลของผงเอนไซม์

ในอนาคตหากจะนำวิธีการกักเก็บในรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อนเพื่อกักเก็บเอนไซม์มากกว่า 1 ชนิด จำเป็นต้องทำการทดลองให้มากกว่านี้ ทั้งในเรื่องลำดับการปลดปล่อย, การขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ด้วยกันเอง, ระยะเวลาในการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์แต่ละชนิด เป็นต้น

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

ปราณี อ่านเปรื่อง. เอนไซม์ทางอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพมหานคร : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2543.

สิริรัชต์ กลิ่นกุหลาบหิรัญ. การกักเก็บเอนไซม์ไฟเทสด้วยวิธีการอบแห้งแบบพ่นฝอย. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต, สาขาวิศวกรรมเคมี ภาควิชาวิศวกรรมศาสตร์ คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2553.

ภาษาอังกฤษ

Adil Anwer and Mohammed Saleemuddin. Alkaline protease: a review. Bioresource Technology 64 (1998) : 175-183.

Alya, Sellami-Kamoun Anissa Haddar, Nedra El-Hadj Ali, Basma Ghorbel-Frikha, Safia Kanoun, Moncef Nasri. Stability of thermostable alkaline protease from Bacillus licheniformis RP1 in commercial solid laundry detergent formulations. Microbiological Research 163 (2008) : 299—306.

Anastasia Macario, Manuel Moliner, Avelino Corma and Girolamo Giordano. Increasing stability and productivity of lipase enzyme by encapsulation in a porous. Microporous and Mesoporous Materials 118 (2009) : 334–340.

Anissa Haddar, Alya Sellami-Kamoun, Nahed Fakhfakh-Zouari, Noomen Hmidet and Moncef Nasri. Characterization of detergent stable and feather degrading serine proteases from Bacillus mojavensis A21. Journal of Biochemical Engineering 51 (2010) : 53–63.

Anri Takimoto, Toru Shiomi, Keita Ino, Tatsuo Tsunoda, Akiko Kawai, Fujio Mizukami and Kengo Sakaguchi. Encapsulation of cellulase with mesoporous silica (SBA-15). Microporous and Mesoporous Materials 116 (2008) : 601–606.

Apinan Soottitantawat, Fanny Bigeard, Hidefumi Yoshii, Takeshi Furuta, Masaaki Ohkawara and Pekka Linko. Influence of emulsion and powder size on the stability of encapsulated d-limonene by spray drying. Innovative Food Science and Emerging Technologies 6 (2005) : 107– 114.

B. Adhikari, T. Howes, B.R. Bhandari, T.A.G. Langrish. Effect of addition of proteins on the production of amorphous sucrose powder through spray drying. Journal of Food Engineering 94 (2009) : 144–153.

Bo Shu, Wenli Yu, Yaping Zhao and Xiaoyong Liu. Study on microencapsulation of lycopene by spray-drying. Journal of Food Engineering 76 (2006) : 664–669.

Boza, Y., Barbin, D. and Scamparini, A.R.P. Effect of spray-drying on the quality of encapsulated cells of Beijerinckia sp. Process Biochemistry 39 (2004) : 1275–1284.

Bürki, K., Jeon, I., Arpagaus, C. and Betz, G. New insights into respirable protein powder preparation using a nano spray dryer. International Journal of Pharmaceutics 408 (2011) : 248–256.

Chandroth Kalyad Simi and Tholath Emilia Abraham. Encapsulation of crosslinked subtilisin microcrystals in hydrogel beads for controlled release applications. European Journal of Pharmaceutical Sciences 32 (2007) : 17–23.

Devakate, R.V., Patil, V.V., Waje, S.S. and Thorat, B.N. Purification and drying of bromelain. Separation and Purification Technology 64 (2009) : 259–264.

Edris, A. and Bergnståhl, B. Encapsulation of orange oil in a spray dried double emulsion. Food/Nahrung [Online] 2 (2001) : 133–137.

G. Öngen, G. Yilmaz, R. O. J. Jongboom and H. Feil. Encapsulation of α-amylase in a starch matrix. Carbohydrate Polymers 50 (2002) : 1-5.

G. Rudra, Shalini, U.S. Shivhare, Santanu, Basu. Thermal inactivation kinetics of peroxidase in mint leaves. Journal of Food Engineering 85 (2008) : 147–153.

Glaucia AguiarRocha, CarmenSílviaFávaro-Trindade and Carlos Raimundo Ferreira Grosso. Microencapsulation of lycopene by spray drying- Characterization, stability and application of microcapsules. Food and Bioproducts Processing 226 (2011) : 1–6.

Gupta, R., Beg, Q.K., Lorenz, P. Bacterial alkaline proteases: moleculars approaches and industrial applications. Appl Microbiol Biotechnol 59 (2002) : 15–32.

H., Yoshii, F., Buche, N., Takeuchi, C., Terrol, M., Ohgawara, T., Furuta. Effects of protein on retention of ADH enzyme activity encapsulated in trehalose matrices by spray drying. Journal of Food Engineering 87 (2008) : 34–39.

Helena, S., Azevedo and Rui, L., Reis. Encapsulation of a-amylase into starch-based biomaterials. Acta Biomaterialia 5 (2009) : 3021–3030.

Jyothi, N.V.N., Prasanna, M., Prabha, S., Seetha Ramaiah, P., Srawan, G. and Sakarkar, S.N. Microencapsulation Techniques, Factors Influencing Encapsulation Efficiency: A Review. The Internet Journal of Nanotechnology 1 (2009)

Kai Lindenstruth and Bernd W. Muller. W/O/W multiple emulsions with diclofenac sodium. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 58 (2004) : 621–627.

Karl-Heinz, Maurer. Detergent protease. Current Opinion in Biotechnology 15 (2004) : 330–334.

Kumar, D., Savitri. Tharkur, N., Verma, R. and Bhalla, T.C. Microbial Proteases and applications as laundry detergent additives. Journal of Microbiology3 12 (2008) : 661-672.

Maarten A.I. Schutyser, Jimmy Perdana and Remko M. Boom. Single droplet drying for optimal spray drying of enzymes and probiotics. Trends in Food Science & Technology 27 (2012) : 73-82.

Martin Kuentz, Peter Egloff and Dieter Rothlisberger. A technical feasibility study of surfactant-free drug suspensions using octenyl succinate-modified starches. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 63 (2006) : 37–43.

Paulo, Costa, Jose´, Manuel, Sousa, Lobo. Modeling and comparison of dissolution profiles. European Journal of Pharmaceutical Sciences 13 (2001) : 123–133.

Peighambardoust, S.H., Golshan Tafti, A. and Hesari, J. Application of spray drying for preservation of lactic acid starter cultures: a review. Trends in Food Science & Technology 22 (2011) : 215-224.

Rachadech, W. Navacharoen, A. Ruangsit, W. Pongtharangkul, T. and Vangnai, A.S. Microbiology 5 (2009) : 620–629.

Rathindra Mohan Banik and Monika, Prakash. Laundry detergent compatibility of the alkaline protease from Bacillus cereus. Microbiological Research 159 (2004) : 135-140.

Ruan Hui, Chen Qi-he, Fu Ming-liang, Xu Qiong and He Guo-qing. Preparation and properties of octenyl succinic anhydride modified potato starch. Food Chemistry 114 (2009) : 81–86.

Schmidts, T., Dobler, A.-C.Guldan, D. Paulus, N. and Runkel, F. Multiple W/O/W emulsions Using the required HLB for emulsifier evaluation. Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects 372 (2010) : 48–54.

Seid Mahdi Jafari, Elham Assadpoor, Bhesh Bhandari and Yinghe He. Nano-particle encapsulation of fish oil by spray drying. Food Research International 41 (2008) : 172–183.

Uttam Chand Banerjee, Rajesh Kumar Sani, Wamik Azmi and Raman Soni. Thermostable alkaline protease from Bacillus brevis and its characterization as a laundry detergent additive. Process Biochemistry 35 (1999) : 213–219.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

ข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงสารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์แอคติวิตี

ตารางที่ ก.1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์แอคติวิตีของเอนไซม์ผงที่ผ่านกระบวนการกักเก็บในรูปแบบสารละลาย สำหรับการศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอยค่าต่างๆ โดยมีปริมาณของแข็งในสารสายป้อนร้อยละ 40 โดยน้ำหนัก และอัตราส่วนปริมาณเอนไซม์ต่อแป้งดัดแปร 0.5 สัดส่วนโดยน้ำหนัก ควบคุมอัตราการป้อนสารสายป้อนในการอบแห้งแบบพ่นฝอยไว้ที่ 6 มิลลิลิตรต่อนาที

Repeat No.	1	2	3	4	Average
Blank (Tris HCl)	0.0713	0.0714	0.0702	0.0697	0.0707
Control 1 Substrate (No Enzyme)	0.1345	0.1335	0.1425	0.1383	0.1372
Control 2 HI-Cap (No Enzyme)	0.1543	0.1381	0.2833	0.1464	0.1805
Enzyme Feed Solution	0.7800	0.7795	0.7805	0.7793	0.7798
Enzyme Powder Solution;					
Inlet Temperature ($^{\circ}$C) :					
110	0.7832	0.8058	0.7893	0.7790	0.7893
120	0.7824	0.7873	0.7831	0.7909	0.7859
130	0.7717	0.7844	0.7728	0.7725	0.7754
140	0.7918	0.7788	0.7838	0.7818	0.7841
150	0.7818	0.7742	0.7727	0.7850	0.7784
160	0.7942	0.7919	0.7866	0.7754	0.7870
170	0.7738	0.7640	0.7645	0.7529	0.7638
180	0.7942	0.7809	0.7668	0.7391	0.7703
190	0.6364	0.6108	0.6118	0.6064	0.6164
200	0.3348	0.3341	0.3356	0.3506	0.3388

ตารางที่ ก.2 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์แอคติวิตีของเอนไซม์ดิบที่ไม่ผ่านกระบวนการกักเก็บ สำหรับการศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิของอากาศขาเข้าในการอบแห้งแบบพ่นฝอยค่าต่างๆ โดยมีปริมาณของแข็งในสารสายป้อนร้อยละ 40 โดยน้ำหนัก และอัตราส่วนปริมาณเอนไซม์ต่อแป้งดัดแปร 0.5 สัดส่วนโดยน้ำหนัก ควบคุมอัตราการป้อนสารสายป้อนในการอบแห้งแบบพ่นฝอยไว้ที่ 6 มิลลิลิตรต่อนาที

Repeat No.	1	2	3	4	Average
Blank (Tris HCl)	0.0702	0.0711	0.0682	0.0691	0.0697
Control 1 Substrate (No Enzyme)	0.1432	0.1335	0.1315	0.1324	0.1352
Crude Enzyme Feed	0.7800	0.7795	0.7805	0.7793	0.7798
Crude Enzyme Powder Solution;					
Inlet Temperature ($^{\circ}$C) :					
110	1.1001	1.1442	1.1549	1.1635	1.1407
130	1.0901	1.1432	1.1624	1.1618	1.1394
150	1.0589	1.0435	1.0685	1.0722	1.0608
160	0.9698	0.9715	0.9854	0.9570	0.9709
170	0.8700	0.8763	0.9029	0.8998	0.8873
180	0.7687	0.7651	0.7706	0.7777	0.7705
190	0.6591	0.6594	0.6501	0.6472	0.6540
200	0.4072	0.4494	0.4358	0.4639	0.4391

ตารางที่ ก.3 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์แอคติวิตีของเอนไซม์สายป้อนสำหรับการอบแห้งแบบพ่นฝอยของเอนไซม์ผง ณ อุณหภูมิของอากาศขาเข้า 110°C ที่อัตราส่วนปริมาณเอนไซม์ต่อปริมาณของแข็งในสารสายป้อนค่าต่างๆ ควบคุมอัตราการป้อนสารสายป้อนในการอบแห้งแบบพ่นฝอยไว้ที่ 6 มิลลิลิตรต่อนาที

Repeat No.	1	2	3	4	Average
Blank (Tris HCl)	0.0724	0.0783	0.0757	0.0704	0.0742
Control 1 Substrate (No Enzyme)	0.0923	0.0959	0.1047	0.1045	0.0994
Control 2 HI-Cap (No Enzyme)	0.1055	0.104	0.1049	0.1035	0.1045
Enzyme Feed Solution;					
Enzyme:HI-Cap Weight Ratio					
0.05	0.8920	0.8543	0.8474	0.8666	0.8651
0.075	0.8735	0.8745	0.872	0.862	0.8705
0.1	0.9150	0.9197	0.903	0.9154	0.9133
0.2	0.9126	0.9332	0.9269	0.9249	0.9244
0.3	0.9054	0.9200	0.9231	0.9146	0.9158
0.4	0.9367	0.9405	0.9368	0.9332	0.9368
0.5	0.9372	0.9456	0.9417	0.9440	0.9421
0.6	0.9388	0.9342	0.9292	0.9337	0.9340
0.75	0.9368	0.9498	0.9541	0.9464	0.9468
1	0.9358	0.9302	0.9698	0.9730	0.9522

ตารางที่ ก.4 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์แอคติวิตีของเอนไซม์ผงที่ผ่านกระบวนการกักเก็บด้วยการอบแห้งแบบพ่นฝอย ณ อุณหภูมิของอากาศขาเข้า 110°C ที่อัตราส่วนปริมาณเอนไซม์ต่อปริมาณของแข็งในสารสายป้อนค่าต่างๆ ควบคุมอัตราการป้อนสารสายป้อนในการอบแห้งแบบพ่นฝอยไว้ที่ 6 มิลลิลิตรต่อนาที

Repeat No.	1	2	3	4	Average
Blank (Tris HCl)	0.0724	0.0783	0.0757	0.0704	0.0742
Control 1 Substrate (No Enzyme)	0.0923	0.0959	0.1047	0.1045	0.0994
Control 2 HI-Cap (No Enzyme)	0.1055	0.104	0.1049	0.1035	0.1045
Enzyme Powder Solution; Enzyme:HI-Cap Weight Ratio					
0.05	0.867	0.8645	0.8752	0.8581	0.8662
0.075	0.8695	0.8756	0.8638	0.8704	0.8698
0.1	0.9001	0.8998	0.9219	0.9121	0.9085
0.2	0.9264	0.9106	0.9185	0.9146	0.9175
0.3	0.913	0.9073	0.9086	0.9155	0.9111
0.4	0.9386	0.9403	0.9415	0.9378	0.9396
0.5	0.9304	0.9288	0.9348	0.9294	0.9309
0.6	0.932	0.9351	0.9341	0.9401	0.9353
0.75	0.9418	0.9391	0.9405	0.9389	0.9401
1	0.9433	0.9375	0.9475	0.9665	0.9487

ตารางที่ ก.5 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์แอคติวิตีของเอนไซม์สายป้อนสำหรับการอบแห้งแบบพ่นฝอยของเอนไซม์ผง ณ อุณหภูมิของอากาศขาเข้า 190°C ที่อัตราส่วนปริมาณเอนไซม์ต่อปริมาณของแข็งในสารสายป้อนค่าต่างๆ ควบคุมอัตราการป้อนสารสายป้อนในการอบแห้งแบบพ่นฝอยไว้ที่ 6 มิลลิลิตรต่อนาที

Repeat No.	1	2	3	4	Average
Blank (Tris HCl)	0.0620	0.0661	0.0610	0.0624	0.0629
Control 1 Substrate (No Enzyme)	0.0819	0.0737	0.0831	0.0755	0.0786
Control 2 HI-Cap (No Enzyme)	0.1922	0.1943	0.1945	0.1973	0.1946
Enzyme Feed Solution;					
Enzyme:HI-Cap Weight Ratio					
0.05	0.4551	0.4680	0.4835	0.4831	0.4724
0.075	0.4645	0.4738	0.4777	0.4638	0.4700
0.1	0.4818	0.4920	0.4796	0.4819	0.4838
0.2	0.4844	0.4962	0.4833	0.4827	0.4867
0.3	0.4962	0.4916	0.4789	0.5128	0.4949
0.4	0.4939	0.4959	0.4986	0.5051	0.4984
0.5	0.5026	0.5058	0.5054	0.5138	0.5069
0.6	0.5051	0.5200	0.5139	0.5144	0.5134
0.75	0.5033	0.5148	0.5138	0.5075	0.5099
1	0.5295	0.5349	0.5250	0.5345	0.5310

ตารางที่ ก.6 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์แอคติวิตีของเอนไซม์ผงที่ผ่านกระบวนการกักเก็บด้วยการอบแห้งแบบพ่นฝอย ณ อุณหภูมิของอากาศขาเข้า 190°C ที่อัตราส่วนปริมาณเอนไซม์ต่อปริมาณของแข็งในสารสายป้อนค่าต่างๆ ควบคุมอัตราการป้อนสารสายป้อนในการอบแห้งแบบพ่นฝอยไว้ที่ 6 มิลลิลิตรต่อนาที

Repeat No.	1	2	3	4	Average
Blank (Tris HCl)	0.0620	0.0661	0.0610	0.0624	0.0629
Control 1 Substrate (No Enzyme)	0.0819	0.0737	0.0831	0.0755	0.0786
Control 2 HI-Cap (No Enzyme)	0.1922	0.1943	0.1945	0.1973	0.1946
Enzyme Powder Solution; Enzyme:HI-Cap Weight Ratio					
0.05	0.2028	0.2077	0.2092	0.2083	0.2070
0.075	0.2097	0.2058	0.2054	0.2048	0.2064
0.1	0.2337	0.2317	0.2321	0.2344	0.2330
0.2	0.3207	0.3213	0.3210	0.3244	0.3219
0.3	0.3577	0.3578	0.3669	0.3601	0.3606
0.4	0.4026	0.4066	0.4097	0.4078	0.4067
0.5	0.4399	0.4472	0.4451	0.4541	0.4466
0.6	0.4576	0.4591	0.4610	0.4561	0.4585
0.75	0.4735	0.4792	0.4899	0.4896	0.4831
1	0.4936	0.5309	0.5091	0.5113	0.5112

ตารางที่ ก.7 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์แอคติวิตีของเอนไซม์ผงที่ผ่านกระบวนการกักเก็บด้วยการอบแห้งแบบพ่นฝอย ณ อุณหภูมิของอากาศขาเข้า 110°C ที่ปริมาณของแข็งในสารสายป้อนค่าต่างๆ ควบคุมอัตราส่วนปริมาณเอนไซม์ต่อแป้งดัดแปร 0.5 สัดส่วนโดยน้ำหนัก ควบคุมอัตราการป้อนสารสายป้อนในการอบแห้งแบบพ่นฝอยไว้ที่ 6 มิลลิลิตรต่อนาที

Repeat No.	1	2	3	4	Average
Blank (Tris HCl)	0.0724	0.0703	0.0712	0.0696	0.0709
Control 1 Substrate (No Enzyme)	0.1523	0.1415	0.1331	0.1311	0.1395
Control 2 HI-Cap (No Enzyme)	0.1968	0.1925	0.1965	0.2030	0.1972
Enzyme Feed Solution;					
%Solid Content					
10%	0.7568	0.7833	0.8050	0.7986	0.7859
20%	0.7823	0.7863	0.7883	0.8073	0.7911
30%	0.7652	0.7681	0.7818	0.7666	0.7704
40%	0.7142	0.7469	0.7347	0.7393	0.7338
Enzyme Powder Solution;					
%Solid Content					
10%	0.7737	0.7805	0.8111	0.8059	0.7928
20%	0.7796	0.7795	0.7723	0.7774	0.7772
30%	0.7769	0.7860	0.7807	0.7804	0.7810
40%	0.7142	0.7444	0.7317	0.7329	0.7308

ตารางที่ ก.8 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์แอคติวิตีของเอนไซม์ผงที่ผ่านกระบวนการกักเก็บด้วยการอบแห้งแบบพ่นฝอย ณ อุณหภูมิของอากาศขาเข้า 190°C ที่ปริมาณของแข็งในสารสายป้อนค่าต่างๆ

Repeat No.	1	2	3	4	Average
Blank (Tris HCl)	0.0620	0.0661	0.0610	0.0624	0.0629
Control 1 Substrate (No Enzyme)	0.0819	0.0737	0.0831	0.0755	0.0786
Control 2 HI-Cap (No Enzyme)	0.1922	0.1943	0.1945	0.1973	0.1946
Enzyme Feed Solution;					
%Solid Content					
10%	0.5085	0.5026	0.5024	0.4964	0.5025
20%	0.4929	0.5137	0.5152	0.5220	0.5110
30%	0.5157	0.5311	0.5232	0.5260	0.5240
40%	0.5307	0.5299	0.5332	0.5294	0.5308
Enzyme Powder Solution;					
%Solid Content					
10%	0.4903	0.4992	0.5195	0.5270	0.5090
20%	0.5087	0.5030	0.5418	0.5183	0.5180
30%	0.5033	0.4965	0.5070	0.5024	0.5023
40%	0.4745	0.4791	0.4865	0.4799	0.4800

ตารางที่ ก.9 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์แอคติวิตีของเอนไซม์อิมัลชันก่อนและหลังปั่นกวนด้วยโฮโมจิไนเซอร์ ความเร็วรอบ 15,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ที่อัตราส่วนปริมาณชั้นน้ำมันต่อเอนไซม์ในสารละลายอิมัลชันค่าต่างๆ

Repeat No.		1	2	3	4	Average
Blank (Tris HCl)		0.0620	0.0623	0.0632	0.0640	0.0620
Control 1 Substrate (No Enzyme)		0.0662	0.0660	0.0677	0.0662	0.0662
W/O phase;	Oil : Enzyme	1	2	3		Average
Before;	90:10	0.5942	0.6544	0.5723		0.6070
	80:20	0.6440	0.6355	0.6217		0.6337
	70:30	0.6504	0.6658	0.6915		0.6692
	60:40	0.7088	0.7138	0.7184		0.7137
After;	90:10	0.5707	0.6108	0.6233		0.6016
	80:20	0.6431	0.6319	0.6247		0.6332
	70:30	0.6596	0.6597	0.6959		0.6717
	60:40	0.7015	0.7115	0.7031		0.7054
W/O/W phase;	Oil : Enzyme					
Before;	90:10	0.5254	0.5237	0.5407		0.5299
	80:20	0.6178	0.6067	0.6296		0.6180
	70:30	0.5935	0.5834	0.5924		0.5898
	60:40	0.5538	0.5569	0.5669		0.5592
After;	90:10	0.5091	0.5258	0.5350		0.5233
	80:20	0.6063	0.6168	0.6032		0.6088
	70:30	0.5850	0.6023	0.5808		0.5894
	60:40	0.5659	0.5535	0.5557		0.5584

ตารางที่ ก.10 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์แอคติวิตีของเอนไซม์ในสารละลายสายป้อนรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อน สำหรับทำเอนไซม์ผงที่ผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยที่ 110 องศาเซลเซียส ที่อัตราส่วนปริมาณชั้นน้ำมันต่อเอนไซม์ในสารละลายอิมัลชันค่าต่างๆ ในแต่ละช่วงเวลาการเกิดปฏิกิริยา

Repeat No.	1	2	3	Average
Reaction Time (min)		Oil : Enzyme = 100:0		
5	0.0764	0.0765	0.0739	0.0756
10	0.0743	0.0755	0.0756	0.0751
15	0.0791	0.0841	0.0757	0.0796
20	0.0757	0.0750	0.0733	0.0747
25	0.0769	0.0756	0.0710	0.0745
30	0.0915	0.0733	0.0761	0.0803
60	0.0744	0.0757	0.0766	0.0756
Reaction Time (min)		Oil : Enzyme = 90:10		
5	0.3765	0.3995	0.3979	0.3913
10	0.434	0.4376	0.4458	0.4391
15	0.4542	0.4617	0.4533	0.4564
20	0.4852	0.4686	0.4686	0.4741
25	0.4942	0.4847	0.4981	0.4923
30	0.5086	0.5045	0.5064	0.5065
60	0.5198	0.5279	0.5279	0.5252
Reaction Time (min)		Oil : Enzyme = 80:20		
5	0.4706	0.4838	0.4708	0.4751
10	0.4948	0.4971	0.515	0.5023
15	0.5562	0.5546	0.5488	0.5532
20	0.5112	0.5577	0.613	0.5606
25	0.4711	0.4856	0.5163	0.4910
30	0.5013	0.5067	0.5126	0.5069
60	0.5121	0.5506	0.5427	0.5351

Repeat No.	1	2	3	Average
Reaction Time (min)		Oil : Enzyme = 70:30		
5	0.4910	0.5124	0.5180	0.5071
10	0.5072	0.5169	0.5193	0.5145
15	0.5341	0.5318	0.5104	0.5254
20	0.519	0.5124	0.5145	0.5153
25	0.4991	0.5198	0.5196	0.5128
30	0.5106	0.5318	0.5252	0.5225
60	0.5072	0.5296	0.5424	0.5264
Reaction Time (min)		Oil : Enzyme = 60:40		
5	0.4932	0.5226	0.5101	0.5086
10	0.5188	0.5314	0.5329	0.5277
15	0.5214	0.5186	0.4964	0.5121
20	0.5150	0.5118	0.5129	0.5132
25	0.4876	0.5009	0.518	0.5022
30	0.5057	0.5142	0.5079	0.5093
60	0.5056	0.5226	0.5293	0.5192

ตารางที่ ก.11 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์แอคติวิตีของเอนไซม์ผงรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อน ที่ผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยที่ 110 องศาเซลเซียส ที่อัตราส่วนปริมาณชั้นน้ำมันต่อเอนไซม์ในสารละลายอิมัลชันค่าต่างๆ ในแต่ละช่วงเวลาการเกิดปฏิกิริยา

Repeat No.	1	2	3	Average
Reaction Time (min)		Oil : Enzyme = 100:0		
5	0.0784	0.0635	0.0879	0.0766
10	0.0743	0.0775	0.0776	0.0765
15	0.0791	0.0821	0.0657	0.0756
20	0.0897	0.0750	0.0733	0.0793
25	0.0789	0.0756	0.0710	0.0752
30	0.0785	0.0753	0.0631	0.0723
60	0.0764	0.0757	0.0766	0.0762
Reaction Time (min)		Oil : Enzyme = 90:10		
5	0.3337	0.3395	0.3371	0.3368
10	0.3996	0.3963	0.4064	0.4008
15	0.4509	0.4503	0.4444	0.4485
20	0.4736	0.4696	0.4746	0.4726
25	0.4736	0.4918	0.4985	0.4880
30	0.5027	0.5013	0.5051	0.5030
60	0.5312	0.5407	0.5459	0.5393
Reaction Time (min)		Oil : Enzyme = 80:20		
5	0.4464	0.46	0.4554	0.4539
10	0.4635	0.4798	0.4746	0.4726
15	0.5484	0.5491	0.5226	0.5400
20	0.5897	0.5613	0.5845	0.5785
25	0.4860	0.5108	0.5109	0.5026
30	0.4933	0.5052	0.4982	0.4989
60	0.5300	0.5341	0.5419	0.5353

Repeat No.	1	2	3	Average
Reaction Time (min)		Oil : Enzyme = 70:30		
5	0.4718	0.4975	0.4898	0.4864
10	0.4920	0.5040	0.5061	0.5007
15	0.5234	0.5291	0.5024	0.5183
20	0.5094	0.5157	0.5055	0.5102
25	0.4895	0.5120	0.5202	0.5072
30	0.5346	0.5603	0.5456	0.5468
60	0.7607	0.7830	0.7804	0.7747
Reaction Time (min)		Oil : Enzyme = 60:40		
5	0.4876	0.5098	0.5107	0.5027
10	0.5119	0.5246	0.5252	0.5206
15	0.5270	0.5373	0.4980	0.5208
20	0.5315	0.5234	0.5224	0.5258
25	0.5043	0.511	0.5155	0.5103
30	0.5079	0.5193	0.5245	0.5172
60	0.5262	0.5228	0.5087	0.5192

ตารางที่ ก.12 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์แอคติวิตีของเอนไซม์ในสารละลายสายป้อนรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อน สำหรับทำเอนไซม์ผงที่ผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยที่ 190 องศาเซลเซียส ที่อัตราส่วนปริมาณชั้นน้ำมันต่อเอนไซม์ในสารละลายอิมัลชันค่าต่างๆ ในแต่ละช่วงเวลาการเกิดปฏิกิริยา

Repeat No.	1	2	3	Average
Reaction Time (min)		Oil : Enzyme = 100:0		
5	0.0744	0.0756	0.0765	0.0755
10	0.0764	0.0791	0.0841	0.0799
15	0.0733	0.0739	0.0761	0.0744
20	0.0766	0.1117	0.0915	0.0933
25	0.0769	0.0757	0.0755	0.0760
30	0.0750	0.0757	0.0743	0.0750
60	0.0733	0.0757	0.0756	0.0749
Reaction Time (min)		Oil : Enzyme = 90:10		
5	0.2511	0.2628	0.2683	0.2607
10	0.3613	0.3865	0.3853	0.3777
15	0.4396	0.4683	0.4776	0.4618
20	0.5612	0.6040	0.6076	0.5909
25	0.5891	0.6276	0.6209	0.6125
30	0.6136	0.6607	0.6610	0.6451
60	0.6863	0.7283	0.7413	0.7186
Reaction Time (min)		Oil : Enzyme = 80:20		
5	0.5869	0.6012	0.6042	0.5974
10	0.6666	0.6930	0.6708	0.6768
15	0.6993	0.7147	0.7188	0.7109
20	0.7296	0.7529	0.7448	0.7424
25	0.7460	0.7647	0.7584	0.7564
30	0.7486	0.7579	0.7613	0.7559
60	0.7380	0.7641	0.7760	0.7594

Repeat No.	1	2	3	Average
Reaction Time (min)		Oil : Enzyme = 70:30		
5	0.5237	0.5386	0.5426	0.5350
10	0.6253	0.6290	0.6157	0.6233
15	0.6759	0.6846	0.6900	0.6835
20	0.7435	0.7520	0.7570	0.7508
25	0.7357	0.7524	0.7472	0.7451
30	0.7491	0.7442	0.7364	0.7432
60	0.7607	0.7830	0.7804	0.7747
Reaction Time (min)		Oil : Enzyme = 60:40		
5	0.5648	0.5821	0.5720	0.5730
10	0.6576	0.6671	0.6664	0.6637
15	0.7113	0.7084	0.7131	0.7109
20	0.7257	0.7386	0.7371	0.7338
25	0.7444	0.7678	0.7518	0.7547
30	0.7450	0.7439	0.7576	0.7488
60	0.7430	0.7712	0.7740	0.7627

ตารางที่ ก.13 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์แอคติวิตีของเอนไซม์ผงรูปแบบอิมัลชันเชิงซ้อน ที่ผ่านกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยที่ 190 องศาเซลเซียส ที่อัตราส่วนปริมาณชั้นน้ำมันต่อเอนไซม์ในสารละลายอิมัลชันค่าต่างๆ ในแต่ละช่วงเวลาการเกิดปฏิกิริยา

Repeat No.	1	2	3	Average
Reaction Time (min)		Oil : Enzyme = 100:0		
5	0.0739	0.0765	0.0733	0.0746
10	0.0841	0.0761	0.0756	0.0801
15	0.0791	0.0764	0.0744	0.0766
20	0.0757	0.1117	0.0915	0.0930
25	0.0769	0.0756	0.0757	0.0761
30	0.0755	0.0733	0.0750	0.0742
60	0.0743	0.0757	0.0766	0.0755
Reaction Time (min)		Oil : Enzyme = 90:10		
5	0.0846	0.0887	0.0888	0.0874
10	0.0921	0.0945	0.0991	0.0952
15	0.0992	0.1001	0.1037	0.1010
20	0.1153	0.1193	0.1175	0.1174
25	0.1351	0.1365	0.1377	0.1364
30	0.1622	0.1597	0.1621	0.1613
60	0.2806	0.2821	0.3003	0.2877
Reaction Time (min)		Oil : Enzyme = 80:20		
5	0.1522	0.1572	0.1582	0.1559
10	0.2156	0.2151	0.2160	0.2156
15	0.2737	0.2791	0.2784	0.2771
20	0.4038	0.4076	0.4048	0.4054
25	0.4359	0.4409	0.4430	0.4399
30	0.5102	0.5083	0.5185	0.5123
60	0.7380	0.7641	0.7760	0.7594

Repeat No.	1	2	3	Average
Reaction Time (min)		Oil : Enzyme = 70:30		
5	0.1226	0.1260	0.1256	0.1247
10	0.1827	0.1847	0.1856	0.1843
15	0.2174	0.2140	0.2209	0.2174
20	0.3282	0.3320	0.3323	0.3308
25	0.3701	0.3701	0.3769	0.3724
30	0.4211	0.4296	0.4302	0.4270
60	0.6086	0.6165	0.6041	0.6097
Reaction Time (min)		Oil : Enzyme = 60:40		
5	0.0854	0.0927	0.0874	0.0885
10	0.0898	0.0915	0.0880	0.0898
15	0.0962	0.1052	0.1000	0.1005
20	0.1045	0.1067	0.1055	0.1056
25	0.1063	0.1037	0.1091	0.1064
30	0.1085	0.1126	0.1164	0.1125
60	0.1771	0.1786	0.1764	0.1774

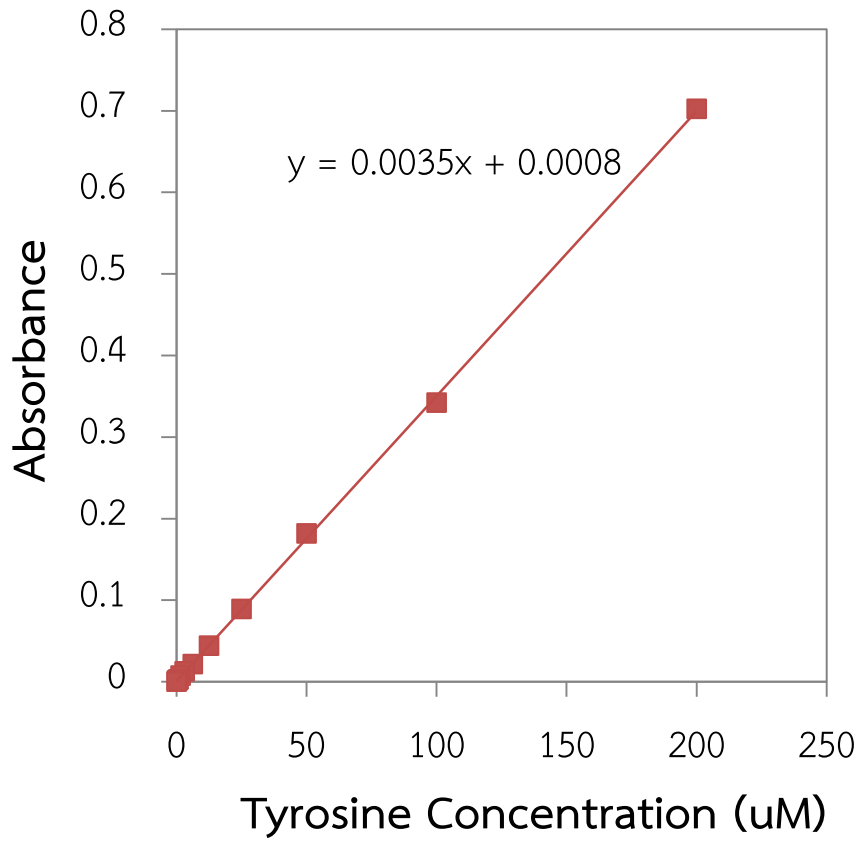
ภาคผนวก ข

ตัวอย่างการคำนวณแอคติวิตีของเอนไซม์

1. การคำนวณค่าแอคติวิตีของเอนไซม์

   1.1 วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์แอคติวิตีของเอนไซม์

   1.2 คำน่าการดูกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่ได้คือไทโรซีน (ในขั้นตอนนี้ต้องทำการทดลองหาค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่มีความเข้มข้นของไทโรซีนค่าต่างๆ (Tyrosine Standard Curve) โดยใช้ความเข้มข้นประมาณ 0.02 – 0.2 mg/ml จะได้กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของไทโรซีนดังรูปที่ ข.1



รูปที่ ข.1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของไทโรซีน

3. เมื่อได้ค่าความเข้มข้นของไทโรซีนแล้ว นำค่าที่ได้ไปคำนวณยูนิตแอคติวิตี โดยหารค่าความเข้มข้นของไทโรซีนด้วยระยะเวลาที่ทิ้งให้เอนไซม์ทำปฏิกิริยาหน่วยนาที และหารต่อด้วยปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยานี้หน่วยมิลลิลิตร ดังตัวอย่าง

<u>ตัวอย่าง</u>

ค่าการดูดกลืนแสงของเอนไซม์ผงที่ถูกกักเก็บด้วยกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยอุณหภูมิของอากาศขาเข้า 110 องศาเซลเซียส โดยมีปริมาณของแข็งในสารสายป้อนร้อยละ 40 โดยน้ำหนัก และอัตราส่วนปริมาณเอนไซม์ต่อแป้งดัดแปร 0.5 สัดส่วนโดยน้ำหนัก ควบคุมอัตราการป้อนสารสายป้อนในการอบแห้งแบบพ่นฝอยไว้ที่ 6 มิลลิลิตรต่อนาที มีค่าเท่ากับ 0.7893

จากสมการความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของไทโรซีนค่าต่างๆ

$$y = 0.0035x + 0.0008$$

เมื่อ y คือค่าการดูดกลืนแสง และ x คือค่าความเข้าข้นของไทโรซีน

แทนค่า y; $0.7893 = 0.0035x + 0.0008$

ดังนั้น $x = (0.7893 - 0.0008) / 0.0035$

$$x = 225.28\ \mu M$$

จากนั้นนำค่า x ที่ได้ไปคำนวณยูนิตแอคติวิตี โดยหารด้วยเวลาและปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ในปฏิกิริยา ซึ่งในที่นี้เวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาคือ 30 นาที และปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ในกาทำปฏิกิริยาคือ 20 μL หรือ 0.02 mL;

$$\text{Unit Activity} = 225.28 / (30 \times 0.02)$$

$$\text{Unit Activity} = 375.5\ \mu M/min.mL$$

หากต้องการทำเป็นหน่วยยูนิตต่อกรัม สามารถทำได้โดยนำค่ายูนิตแอคติวิตีไปหารด้วยปริมาณของแข็งทั้งหมดในระบบในหน่วยกรัม

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวอภิสรา ศรีสายหยุด เกิดเมื่อวันที่ 22 กันยายน พ.ศ.2531 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร เข้าศึกษาระดับชั้นมัธยมศึกษาที่โรงเรียนรัตนาธเบศร์ จังหวัดนนทบุรี สำเร็จการศึกษาวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2553 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิตที่จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยในที่ปีการศึกษา 2554

โดยได้ตีพิมพ์งานวิจัยในหัวข้อ Encapsulation of Protease for Laundry Detergent by Spry Drying ในวารสาร PETROMAT and PPC SYM 2013 Proceeding