การใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพเพื่อเร่งการย่อยสลายตอซังพืช

นางสาวกนกวรรณ เชื้อพันธุ์ นักวิชาการเกษตรชำนาญพิเศษ กองเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน

ที่มา: การ Coaching เรื่อง การใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพเพื่อเร่งการย่อยสลายตอซังพืช วันที่ 29 สิงหาคม 2566 โดย นางจันจิรา แสงสีเหลือง ผู้อำนวยการกลุ่มวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพการจัดการมลพิษทางดินและน้ำ กองเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน

ความรู้เรื่องเอนไซม์เซลลูเลส

เอนไซม์เป็นชีวโมเลกุลที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในระบบชีวภาพ สามารถเปลี่ยนแปลงซับสเตรต (substrate) ให้เป็นผลิตภัณฑ์ในสภาวะที่ไม่รุนแรง โดยที่ปริมาณเอนไซม์ไม่เปลี่ยนแปลง

1. ลักษณะของเอนไซม์เซลลูเลส เป็นเอนไซม์ผสม (multicomponent enzyme) ประกอบด้วยเอนไซม์อย่างน้อย 3 ชนิด ทำงานร่วมกัน ดังนี้

1) เอนไซม์ C_1 หรือไฮโดรเจน บอนเดส (hydrogen bondase) ทำหน้าที่ กระตุ้นหรือย่อยเซลลูโลสในสภาพธรรมชาติให้เป็นสายโพลีแซคคาไรด์สั้นๆ ทำให้พันธะไฮโดรเจนอ่อนลง และมีสภาพที่เหมาะสมสำหรับเป็นซับสเตรต (substrate) ของเอนไซม์เซลลูเลสอันดับต่อไปคือ β -1,4 - glucanase

2) เอนไซม์ Cx หรือเบตา-14-กลูคาเนส (β -1,4 - glucanase) เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อยโพลีแซคคาไรด์สายสั้นๆ จนได้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเล็กๆ จะสามารถย่อยสลายอนุพันธ์ของเซลลูโลสที่ละลายน้ำได้ ยกตัวอย่าง เช่น คาร์บอกซีเมทิลเซลลูเลส (carboxymethylcellulasc, CMC) ไฮดรอกซีเมทิลเซลลูเลส (hydroxymethylcellulase) แต่ไม่สามารถย่อยสลายซับสเตรตที่มีโครงสร้างซับซ้อนได้ เอนไซม์กลุ่มนี้แบ่งเป็น 2 ชนิด คือ

กลุ่มที่ 1 ได้แก่ เอนโด-เบตา-1,4-กลูคาเนส (Endo - β -1,4 - glucanase) เป็นเอนไซม์ที่ย่อยเซลลูโลสทั้งที่มีโครงสร้างที่มีการจัดเรียงตัวแบบไม่เป็นระเบียบ (amorphous) และแบบเป็นระเบียบ (crystalline) ซึ่งจะทำลายพันธะที่ตำแหน่ง β -1,4 - glucanase linkage บริเวณที่เป็น amorphous หรืออนุพันธ์ของเซลลูโลส เช่น คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส และเซลโลไบโอส สายสั้นๆ แบบสุ่ม ทำให้ได้กลูโคสและโอลิโกเมอร์ชนิดเซลโลไบโอสเป็นผลิตภัณฑ์หลัก

กลุ่มที่ 2 ได้แก่ เอกโซ-เบตา-กลูคาเนส (Exo -β - 1,4- glucanase) เป็นเอนไซม์ที่ย่อยสลายสารโพลิเมอร์ของ จากปลายด้านที่เป็นนอนรีดิวซ์ (non_reducing) และรีดิวซ์ (reducing end) ทีละโมเลกุลอย่างจำเพาะกับโครงสร้างในลักษณะ crystalline cellulose และมีการเปลี่ยนแปลง configuation ของสารจาก β - configuration ไปเป็น **α** – configuration ทำให้ได้ผลผลิตเป็นน้ำตาลเซลโลไบโอสและกลูโคส

3) เอนไซม์เบตา-กลูโคซิเดส (β - glucosidase) เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อยสลายผลิตภัณฑ์ที่ได้จาก Cx ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ จะย่อยโมเลกุลของเซลโลไบโอสและเซลโลเฮกโซส (cellohexose คือ กลูโคสจาก 2 - 6 ยูนิต) ได้เป็นกลูโคส สามารถย่อยสลายกรดเซลลูไบโอนิก (cellubionic acid) ให้เป็นกลูโคโนแลกโตน (gluconolactone) และกลูโคสเอนไซม์นี้มีบทบาทสำคัญในการทำงานร่วมกับเอนไซม์เอนโดและเอกโซ-เบตา-1,4-กลูคาเนสที่จะย่อยสลายเซลลูโลสให้เป็นกลูโคส

2. คุณสมบัติทั่วไปของเอนไซม์เซลลูเลส

1) เอนไซม์ Cx มีมวลโมเลกุล 42,000 เอนไซม์เอนโด-เบตา-กลูคาเนส มีมวลโมเลกุล 23,000 - 58,000 เอนไซม์เอกโซ-เบตา-กลูคาเนสมีมวลโมเลกุล 60,000 - 62,000 และเอนไซม์เบตา-กลูโคซิเดสมีมวลโมเลกุล 76,000

2) เอนไซม์เซลลูเลสที่ได้จากจุลินทรีย์จะมีอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานประมาณ 50 องศาเซลเซียส ยกเว้นจุลินทรีย์ทนความร้อนบางชนิด มีความคงทนต่อค่าความเป็นกรดเป็นด่าง(pH) ช่วงระหว่าง 4.0 - 9.0 ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับแหล่งที่มาของเอนไซม์ และความคงทนต่อสารเคมี ละลายน้ำได้แต่ถูกยับยั้งด้วยไอออนของโลหะหนัก -SH reagents, oxidizing reducing agents และโดยผลผลิตตัวเอง คือ กลูโคส

3) สามารถวัดกิจกรรมการทำงานจากการวัดหมู่รีดิวซ์ที่เกิด นิยมใช้ซับสเตรตที่ละลายน้ำได้ดี คือ ซับสเตรตสังเคราะห์ เช่น คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส

4) เชื้อราที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจะเจริญได้ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง(pH) ช่วงระหว่าง 3.5 - 8.0 และที่อุณหภูมิระหว่าง 30 - 80 องศาเซลเซียส ทั้งนี้ยังขึ้นกับปัจจัยที่เหมาะสมกับเชื้อแต่ละชนิด

5) สามารถเก็บที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส และที่ 4 องศาเซลเซียส ได้นานหลายปี หรือเก็บโดยวิธี Freeze dry หรือตกตะกอนด้วยอะซีโตนหรือเอทานอล โดยไม่สูญเสียคุณสมบัติ

3. การทำงานของเอนไซม์เซลลูเลส

การย่อยสลายเซลลูโลสด้วยเอนไซม์เป็นกระบวนการย่อยสลายที่มีความจำเพาะเจาะจงสูง ซึ่งเอนไซม์เซลลูเลสเป็นกลุ่มเซลลูเลสที่ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายพันธะ β -1,4 – glucosidic linkage ภายในโครงสร้างโมเลกุลของเซลลูโลสหน่วยเล็กที่สุด หากการย่อยสลายสมบูรณ์จะได้น้ำตาลกลูโคส

บทบาทของเชื้อราสร้างเอนไซม์เซลลูเลส

จุลินทรีย์มีความสำคัญในการย่อยเซลลูโลสมากโดยเฉพาะเชื้อรา เนื่องจากเซลลูโลสมีลักษณะโครงสร้างทางเคมีสายยาวจุลินทรีย์ไม่สามารถนำเข้าในเซลล์ได้โดยตรง ดังนั้นจุลินทรีย์ต้องสร้าง Extracellular enzyme เป็นเอนไซม์ที่สลายเซลลูโลสได้เรียกว่า เอนไซม์เซลลูเลส ออกมาย่อยสลายเซลลูโลสให้เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่ละลายน้ำได้ และสามารถผ่านเข้าไปในเซลล์ได้ และเกิดกระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพด้วยกิจกรรมของจุลินทรีย์ ดังนี้

1. เชื้อราที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลส

ราเป็นจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในระบบนิเวศถือเป็นผู้ย่อยสลายอินทรียสาร (ช่วยคืนธาตุอาหารลงสู่ดินซึ่งพืชสามารถนำไปใช้ได้ มีบทบาทสำคัญในกระบวนการทางระบบนิเวศ ราเป็นผู้ย่อยสลายที่สำคัญที่สุดของซากพืช และร้อยละ 75 ของการย่อยสลายของพื้นผิวอินทรีย์ต่างๆ ตอบสนองต่อสภาวะการขาดน้ำบริเวณรอบๆ ราก และ/หรือ การตอบสนองต่อการลดลงของความชื้นในบรรยากาศ มีความสามารถในการย่อยสลายส่วนประกอบของซากพืชที่สำคัญโดยเฉพาะอย่างยิ่งลิกนิน เซลลูโลส และกรดในดิน ซึ่งวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรประเภทลิกโนเซลลูโลส เช่น ฟางข้าว ชานอ้อย ซังข้าวโพด และกาบข้าวโพด มีองค์ประกอบเซลลูโลส 40 - 60 เปอร์เซ็นต์ เฮมิเซลลูโลส 20 - 30 เปอร์เซ็นต์ และลิกนิน 15 - 30 เปอร์เซ็นต์

2. ชนิดของราที่ขึ้นบนซากพืชในแต่ละระยะของการย่อยสลายไว้ 5 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 เป็น parasite ที่ไม่รุนแรง เช่น *Botrytis cinerea, Alternaria tenuis, Cladosporium oxysporum* ราเหล่านี้มีความสามารถในการใช้น้ำตาลและแป้งจากเนื้อเยื่อพืชยังคงมีชีวิต พบเจริญขึ้นบนส่วนของพืชที่ใกล้หลุดร่วงจากลำต้น ซึ่งอาจเพิ่มจำนวนและเจริญขยายขอบเขตได้อย่างกว้างขวางถ้า

สภาพแวดล้อมเหมาะสม อย่างไรก็ตามรากลุ่มนี้มักหยุดการเจริญเมื่อส่วนของพืชนั้นหลุดร่วงลงสู่พื้นดิน หรือเมื่อพบกับการแข่งขันจากราที่เป็น saprophyte ที่แท้จริง

กลุ่มที่ 2 เป็นราที่ดำรงชีพแบบ saprophyte มีความสามารถในการย่อยสลายองค์ประกอบของซากพืชที่มีโครงสร้างโมเลกุลไม่ซับซ้อนได้ดี แต่ยังมีขีดจำกัดในการย่อยสลายโพลิเมอร์ อาจพบเป็นกลุ่มแรกที่เจริญบนซากพืช หรือพบหลังจากรากลุ่มที่เป็น parasite ที่ไม่รุนแรงหมดไปแล้ว ตัวอย่างรากลุ่มนี้ ได้แก่ *Mucor* sp., *Absidia* sp., *Rhizopus* sp. เป็นต้น

กลุ่มที่ 3 เป็นราที่มีความสามารถในการย่อยสลาย เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของซากพืชได้ดี มักพบเจริญหลังจากราที่ดำรงชีพแบบ saprophyte ตัวอย่างรากลุ่มนี้ ได้แก่ *Chaetomium* sp., *Fusarium* sp., *Stachybotrys* sp. เป็นต้น

กลุ่มที่ 4 เป็นราที่มีความสามารถในการย่อยสลายและใช้ประโยชน์ลิกนิน และบางครั้งก็มีความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลสด้วย ซึ่งมักปรากฏเป็นกลุ่มสุดท้ายบนซากพืช รากลุ่มนี้ส่วนใหญ่อยู่ใน sub division Basidiomycotina

กลุ่มที่ 5 เป็นราที่เจริญร่วมกับราในกลุ่มที่ 3 หรือกลุ่มที่ 4 รากลุ่มนี้มักอยู่ใน class Oomycetes และใน sub division Zygomycotina รวมทั้งราหลายชนิดใน sub division โดยอาจเป็น parasite เส้นใยของราชนิดอื่น หรือมีส่วนร่วมในการสร้างเอนไซม์ย่อยสลายซากพืชร่วมกับรากลุ่มอื่น อย่างไรก็ตามกิจกรรมของรากลุ่มนี้ยากที่จะแบ่งแยกออกมาได้อย่างเด่นชัดเพราะบางครั้งก็สามารถเจริญได้โดยการใช้อาหารจากซากพืชโดยตรง