

การใช้ประโยชน์จากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรและอุตสาหกรรม
แปรรูปไม้เพื่อผลิตน้ำตาลไซลิตอลโดยกระบวนการทางชีวภาพ

The Utilization of Agricultural and Wood Industries Wastes for
Xylitol Production by Biological Process

บทคัดย่อ

การศึกษาการย่อยสลายเฮมิเซลลูโลสจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรและอุตสาหกรรมแปรรูปไม้เพื่อผลิตน้ำตาลไซลิตอล ได้ทำการศึกษาสภาวะเหมาะสมที่ใช้ในการย่อยสลายวัตถุดิบ 5 ชนิด ได้แก่ ฟางข้าว แกลบ ชานอ้อย ชังข้าวโพด และขี้เลื่อย โดยใช้สารละลายกรดซัลฟิวริกเจือจางย่อยสลายวัตถุดิบภายใต้สภาวะที่มีอุณหภูมิสูง พบว่าฟางข้าวให้ปริมาณน้ำตาลไซโลสสูงสุดที่อุณหภูมิ 126 องศาเซลเซียสเวลา 90 นาทีด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 1.2 โมลาร์ ที่อัตราส่วนระหว่างฟางข้าวต่อสารละลายกรดซัลฟิวริกคือ 1 ต่อ 10 (น้ำหนักต่อปริมาตร) จากนั้นทำการศึกษารลดปริมาณสารพิษด้วยวิธีโอเวอร์ไลมิงและการใช้ผงถ่านกัมมันต์ พบว่าอัตราส่วนระหว่างผงถ่าน กัมมันต์ต่อไฮโดรไลเสทเท่ากับ 1 ต่อ 25 (น้ำหนักต่อปริมาตร) เวลา 1 ชั่วโมงสามารถลดสารพิษได้มากที่สุด การศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการผลิตน้ำตาลไซลิตอลระหว่างอาหารสังเคราะห์และไฮโดรไลเสทโดยการเลี้ยงเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 พบว่าผลผลิตน้ำตาลไซลิตอล (Y_{ps}) โดยอาหารสังเคราะห์และไฮโดรไลเสทเท่ากับ 0.27 และ 0.67 กรัม น้ำตาลไซลิตอลต่อกรัม น้ำตาลไซโลสตามลำดับ
คำสำคัญ : น้ำตาลไซลิตอล กระบวนการทางชีวภาพ

Abstract

The studies on hemicellulose hydrolysis from agricultural and wood industries for xylitol production five rawmaterials (rice straw husk cane bagasse corn cob and sawdust) were performed by using dilute sulfuric acid solution under the condition of high temperature. The result was that rice straw gave highest xylose at 126°C 90 min by using 1.2 M of sulfuric acid. The ratio of rice straw and sulfuric acid was 1 : 10 (w/v). The studies of detoxification by overliming method and using activated charcoal resulted that one hour was appropriate for toxic reducing by using the ratio of charcoal and hydrolysate as 1 : 25 (w/v). Comparison of synthesis medium and hydrolysate for xylitol yield (Y_{ps}) by *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 were 0.27 and 0.67 g-xylitol/g-xylose respectively.

Keywords : xylitol biological process

RCH
OP
702
x99
ค 1437
78088

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....
วันเดือนปี 20 ก.พ. 2551

b. 11814822
i.

1. บทนำ

ไซลิทอลเป็นน้ำตาลแอลกอฮอล์ประกอบด้วยคาร์บอน 5 อะตอม มีความหวานใกล้เคียงกับน้ำตาลซูโครส พบตามธรรมชาติในปริมาณเพียงเล็กน้อยโดยพบในผักและผลไม้ นอกจากนี้ยังเป็นสารตัวกลาง ในกระบวนการเมแทบอลิซึมของกลูโคสในร่างกายมนุษย์ [11] มีความต้องการน้ำตาลไซลิทอล ในปริมาณที่เหมาะสมสำหรับผู้ที่เป็นโรคเบาหวาน เนื่องจากการเผาผลาญน้ำตาลไซลิทอลไม่ขึ้นกับอินซูลินจึงไม่ทำให้เกิดสภาวะน้ำตาลในเลือดสูง (hyperglycemia) หรือน้ำตาลในเลือดต่ำ (hypoglycemia) และน้ำตาลไซลิทอลไม่ทำให้ฟันผุเพราะจุลินทรีย์ในช่องปากไม่สามารถนำน้ำตาลไซลิทอลไปใช้ได้ ดังนั้นปัจจุบันน้ำตาลไซลิทอลจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่มีการใช้กันอย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรมอาหาร โดยใช้เป็นส่วนผสมของผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ เช่น หมากฝรั่ง ลูกอม แยม เครื่องดื่ม เบเกอรี่ และขนมหวาน [1]

การสกัดน้ำตาลไซลิทอลจากธรรมชาติสามารถสกัดได้ แต่มีปริมาณน้อยไม่เพียงพอต่อการใช้ในระดับอุตสาหกรรมและไม่คุ้มค่าในเชิงพาณิชย์ ดังนั้นจึงมีการผลิตน้ำตาลไซลิทอลด้วยวิธีทางเคมีโดยการใช้วิธีน้ำตาลไซโลส ซึ่งในการผลิตจะเสียค่าใช้จ่ายสูงในขั้นตอนของการทำให้บริสุทธิ์ ฉะนั้นจึงมีความสนใจการผลิตน้ำตาลไซลิทอลด้วยกระบวนการทางชีวภาพ โดยการนำจุลินทรีย์ในการเปลี่ยนน้ำตาลไซโลสให้เป็นน้ำตาลไซลิทอล จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตน้ำตาลไซลิทอลมีทั้งแบคทีเรีย ราและยีสต์ แต่ที่มีการศึกษากันมากที่สุด คือ ยีสต์ ซึ่งพบว่ายีสต์สามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ในปริมาณสูง เช่นยีสต์ในจีนัส *Candida* sp. และจีนัส *Debaryomyces* sp. [7]

การนำวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรและอุตสาหกรรมแปรรูปไม้มาเพิ่มมูลค่าเป็นวิธีที่น่าสนใจมากในปัจจุบัน เนื่องจากการลดต้นทุนในการผลิต เพราะมีราคาถูกหรือไม่มีมูลค่า เช่น ฟางข้าว แกลบ ชานอ้อย ชังข้าวโพด เศษไม้ และขี้เลื่อย เป็นต้น ซึ่งวัสดุเหล่านี้มีองค์ประกอบที่สำคัญ คือ เซลลูโลส (cellulose) เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) และลิกนิน (lignin) ในอัตราส่วน 4 ต่อ 3 ต่อ 3 [2] สำหรับเฮมิเซลลูโลสถูกย่อยสลาย โดยใช้กรดเจือจางภายใต้สภาวะที่ไม่รุนแรง จะได้น้ำตาลหลายชนิด (mixed sugar) เช่น น้ำตาลกลูโคส ไซโลส และอะราบิโนส น้ำตาลที่พบมากที่สุดคือ ไซโลส ซึ่งสามารถนำมาใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตน้ำตาลไซลิทอล [10] แต่ไฮโดรไลสเสท (hydrolysate) ที่ได้มานั้นจะมีผลพลอยได้จากกระบวนการย่อยสลาย คือ เฟอเฟอรอล (furfural) 5-ไฮดรอกซีเมทิลเฟอเฟอรอล (5-hydroxymethyl furfural กรดอะซิติก (acetic acid) กรดฟอร์มิก (formic acid) กรดลิวูลินิก (levulinic acid) และสารประกอบฟีนอล (phenolic compound) [15] สารเหล่านี้มีผลในการยับยั้งกระบวนการเมแทบอลิซึมของเชื้อจุลินทรีย์ ทำให้ประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตน้ำตาลไซลิทอลมีความสามารถผลิตลดลง ซึ่งวิธีการลดปริมาณสารเหล่านี้ ได้แก่ การโอเวอร์ไทเทรชัน (overtitration) โอเวอร์ไลมิง (overliming) การแลกเปลี่ยนประจุ (ion-exchange) และการใช้ถ่านกัมมันต์ดูดซับ (activated charcoal) [9]

สำหรับประเทศไทยซึ่งเป็นประเทศเกษตรกรรมมีวัตถุดิบเหลือทิ้งทางการเกษตรและอุตสาหกรรมแปรรูปไม้ปริมาณมากเหมาะแก่การนำมาศึกษาการย่อยสลายให้ได้น้ำตาลไซโลส เพื่อใช้เป็นขั้วสเตรตในการผลิตน้ำตาลไซลิตอด โดยเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5068 และ เพื่อให้การผลิตน้ำตาลไซลิตอดมีประสิทธิภาพมากขึ้น จึงทำการลดสารพิษในไฮโดรไลสด้วยวิธี โอเวอรีมิง และการใช้ถ่านกัมมันต์เป็นตัวดูดซับสารพิษ ซึ่งการศึกษาดังกล่าวจะเป็นประโยชน์ ในการลดปัญหาสิ่งแวดล้อมและสามารถเพิ่มมูลค่าแก่วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรและอุตสาหกรรม แปรรูปไม้ทางหนึ่งด้วย

2. วิธีดำเนินการ

2.1 การเตรียมวัตถุดิบ

2.1.1 ฟางข้าว ได้รับความอนุเคราะห์จากที่นา บริเวณอำเภอบ้านนา จังหวัดนครนายก

เตรียมวัตถุดิบโดยนำฟางข้าวมาตัดเป็นท่อนๆ ความยาวประมาณ 1.5 – 2 เซนติเมตรบด ด้วยเครื่องบดอัดโนมิตี อบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เวลา 12 ชั่วโมงทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วเก็บใส่ถุงปิดผนึกเพื่อนำไปใช้ในการศึกษาต่อไป

2.1.2 แกลบ ได้รับความอนุเคราะห์จากโรงสีข้าว อำเภอหนองแค จังหวัดสระบุรี

เตรียมวัตถุดิบโดยนำแกลบมาอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เวลา 12 ชั่วโมงทิ้งให้เย็น ที่อุณหภูมิห้องแล้วเก็บใส่ถุงปิดผนึกเพื่อนำไปใช้ในการศึกษาต่อไป

2.1.3 ชานอ้อย ได้รับความอนุเคราะห์จากร้านชานอ้อยสด บริเวณตลาดบางกะปิ เขตบางกะปิ กรุงเทพฯ

เตรียมวัตถุดิบโดยนำชานอ้อยมาตัดให้เป็นท่อนเล็กๆ อบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เวลา 48 ชั่วโมง บดด้วยเครื่องบดอัดโนมิตี อบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสอีกครั้งเป็นเวลา 6 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้องแล้วเก็บใส่ถุงเพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป

2.1.4 ชังข้าวโพด ได้รับความอนุเคราะห์จากร้านขนมหวาน บริเวณตลาดบางกะปิ เขตบางกะปิ กรุงเทพฯ

เตรียมวัตถุดิบโดยนำชังข้าวโพดมาตากแดดให้แห้ง นำมาตัดเป็นท่อนเล็กๆ บดด้วย เครื่องบดอัดโนมิตี อบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เวลา 48 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้องแล้ว เก็บใส่ถุงเพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป

2.1.5 ขี้เลื่อย ได้รับความอนุเคราะห์จากโรงเลื่อยน้ำใสใจจริง บริเวณวัดสร้อยทอง เขตบางซื่อ กรุงเทพฯ

เตรียมวัตถุดิบโดยนำขี้เลื่อยมาร่อนแยกเศษไม้ออกด้วยตะแกรง อบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เวลา 48 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้องแล้วเก็บใส่ถุงปิดผนึกเพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป

2.2 การเตรียมหัวเชื้อจุลินทรีย์

Debaryomyces hansenii TISTR 5155 ได้รับความอนุเคราะห์จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

2.2.1 การเตรียมหัวเชื้อสำหรับผลิตน้ำตาลไซลิทอล

ถ่ายเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ประมาณ 1-2 ลูก ลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตรที่บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อ YM broth ปริมาตร 75 มิลลิลิตรที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลา 15 นาที เพิ่มปริมาณเชื้อด้วยเครื่องเขย่าควบคุม อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เวลา 24 ชั่วโมง วัตถุประสงค์การคัดเลือกแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร ให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วง 0.5 เพื่อใช้เป็นเชื้อเริ่มต้นในการทดลองขั้นต่อไป

2.3 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายเอมิเซลลูโลสจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรและอุตสาหกรรมแปรรูปไม้

2.3.1 การศึกษาอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการย่อยสลายวัตถุดิบ

ชั่งวัตถุดิบที่เตรียมไว้จากข้อ 2.1 ปริมาณ 5 กรัมลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมสารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ในอัตราส่วนวัตถุดิบ 1 กรัมต่อสารละลายกรด 10 มิลลิลิตร นำเข้าหม้อนึ่งความดันไอลดลงวัตถุดิบเป็นเวลา 30 60 90 120 150 180 210 240 270 และ 300 นาที โดยแปรผันอุณหภูมิในการย่อยสลายเป็น 110, 121 และ 126 องศาเซลเซียส แล้วแยกกากออกโดยการกรองเก็บตัวอย่างในขวดสีชาปิดด้วยฟอยล์ ไฮโดรไลสที่ได้นำนามาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลไซโลสตามวิธีของ Deschatelets and Yu [4] เพื่อพิจารณาเลือกอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการย่อยสลายเพื่อนำไปใช้ในการศึกษาขั้นต่อไป

2.3.2 การศึกษาความเข้มข้นสารละลายกรดซัลฟิวริกที่เหมาะสมในการย่อยสลายวัตถุดิบ

ชั่งวัตถุดิบที่เตรียมไว้จากข้อ 2.1 ปริมาณ 5 กรัมลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมสารละลายกรดซัลฟิวริกที่ความเข้มข้นในช่วง 0.1 ถึง 2.0 โมลาร์ ในอัตราส่วนวัตถุดิบ 1 กรัมต่อสารละลายกรดซัลฟิวริก 10 มิลลิลิตร ย่อยที่อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมที่ได้จากการทดลองในข้อ

2.3.1 แยกกากออกโดยการกรอง เก็บตัวอย่างในขวดสีชาปิดด้วยฟอยล์นำไฮโดรไลสมาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลไซโลสสูงสุดเพื่อนำไปใช้ในการศึกษาขั้นต่อไป

2.3.3 การศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างวัตถุดิบและสารละลายกรดซัลฟิวริกที่ใช้ในการย่อยวัตถุดิบ

ชั่งวัตถุดิบที่เตรียมไว้จากข้อ 2.1 ปริมาณ 5 กรัมลงในฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร เติมสารละลายกรดซัลฟิวริก ความเข้มข้นที่เหมาะสมจากการทดลองในข้อ 2.3.2 ลงในฟลาสก์ ศึกษาอัตราส่วนของวัตถุดิบและสารละลายกรดซัลฟิวริก ได้แก่ 1 ต่อ 10 1 ต่อ 20 1 ต่อ 30 1 ต่อ 40 และ 1 ต่อ 50 ย่อยสลายตามสภาวะที่ได้จากข้อ 2.3.1 แยกกากออกโดยการกรองเก็บตัวอย่างในขวดสีชา

ปิดด้วยฟอยล์ นำไฮโดรไลสธมาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาล ไชโลสสูงสุด เพื่อพิจารณาเลือก อัตราส่วนที่เหมาะสมในการย่อยสลายวัตถุดิบ

2.4 การศึกษาการลดปริมาณสารพิษในไฮโดรไลสธด้วยวิธีโอเวอร์ไลมิง

นำไฮโดรไลสธที่ได้จากการทดลองในข้อ 2.3 ทำการลดปริมาณสารพิษด้วยวิธีโอเวอร์ไลมิง ตามวิธีของ Parajo *et al.* [12] แล้วนำมาเตรียมเป็นอาหาร โดยเคมียีสต์สกัด 4 กรัม มอลต์สกัด 3 กรัม และเปปโตน 4 กรัม ต่อไฮโดรไลสธ 1 ลิตร ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง เป็น 5.5 ด้วยสารละลายกรด ซัลฟิวริก เข้มข้น 13 โมลาร์ปริมาตร 150 มิลลิลิตรในฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสนาน 20 นาที เติมหั่วเชื้อยีสต์เริ่มต้นที่ได้จากข้อ 2.2.1 ปริมาตรร้อยละ 8 (ปริมาตรต่อปริมาตร) [10, 12] เชื้อยีสต์ในเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิที่มีความเร็วรอบ 200 รอบต่อ นาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างทุกๆ 6 ชั่วโมงเป็นเวลา 72 ชั่วโมง วัดการเจริญที่ค่าการ ดูดกลืนแสง 660 นาโนเมตร วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ตามวิธีของ Somogyi-Nelson [5] และ วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาล ไชโลส

2.5 การศึกษาการลดปริมาณสารพิษโดยใช้ผงถ่านกัมมันต์ตามวิธีของ Sarkanen and Ludwig [14]

2.5.1 การศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการใช้ผงถ่านกัมมันต์

นำไฮโดรไลสธที่ได้จากการทดลองในข้อ 2.4 ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ใส่ลงในฟลาสก์ ขนาด 500 มิลลิลิตร เติมผงถ่านกัมมันต์ในอัตราส่วนผงถ่านกัมมันต์ 1 กรัม ต่อไฮโดรไลสธ 100 มิลลิลิตร นำเข้าเครื่องเขย่าความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสโดยการแปร ผันเวลา ดังนี้ 1 6 12 18 และ 24 ชั่วโมง นำไฮโดรไลสธมาเตรียมอาหารด้วยการทดลองในข้อ 2.4 วัดการเจริญที่ค่าการดูดกลืนแสง 660 นาโนเมตรวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และปริมาณน้ำตาล ไชโลส

2.5.2 การศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมในการลดสารพิษของผงถ่านกัมมันต์ต่อไฮโดรไลสธ

นำไฮโดรไลสธจากการทดลอง ในข้อ 2.5.1 ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ใส่ลงในฟลาสก์ ขนาด 500 มิลลิลิตร เติมผงถ่านกัมมันต์ในอัตราส่วนผงถ่านกัมมันต์ต่อไฮโดรไลสธเป็น 1 ต่อ 25 1 ต่อ 50 1 ต่อ 100 และ 1 ต่อ 200 (กรัมต่อมิลลิลิตร) นำเข้าเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่มีความเร็ว รอบ 200 รอบต่อนาทีตามเวลาที่เหมาะสมจากการทดลองในข้อ 2.5.1 จากนั้นนำไฮโดรไลสธมา เตรียมเป็นอาหารด้วยการทดลองในข้อ 2.4 วัดการเจริญที่ค่าการดูดกลืนแสง 660 นาโนเมตร วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และปริมาณน้ำตาล ไชโลส

2.6 การศึกษาเปรียบเทียบการผลิตน้ำตาล ไชลิตอลระหว่างอาหารสังเคราะห์และอาหารไฮโดรไลสธ

เตรียมอาหารสังเคราะห์สูตรเพื่อการผลิตน้ำตาล ไชลิตอล (ยีสต์สกัด 4 กรัม กลูโคส 15 กรัม ไชโลส 60 กรัม มอลต์สกัด 3 กรัม เปปโตน 4 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร ปรับค่าความเป็นกรด- ด่าง เป็น 5.5)และอาหารไฮโดรไลสธด้วยการทดลองในข้อ 2.5.2 วัดการเจริญที่ค่าดูดกลืนแสง 660

นาโนเมตร วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ น้ำตาลไซโลสและน้ำตาลไซลิตอลตามวิธีของ Adler and Gustafsson [3]

3. ผลการทดลองและอภิปรายผล

3.1 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายเฮมิเซลลูโลสจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร และอุตสาหกรรมการแปรรูปไม้

3.1.1 ผลการศึกษาเพื่อหาอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการย่อยสลายวัตถุดิบ

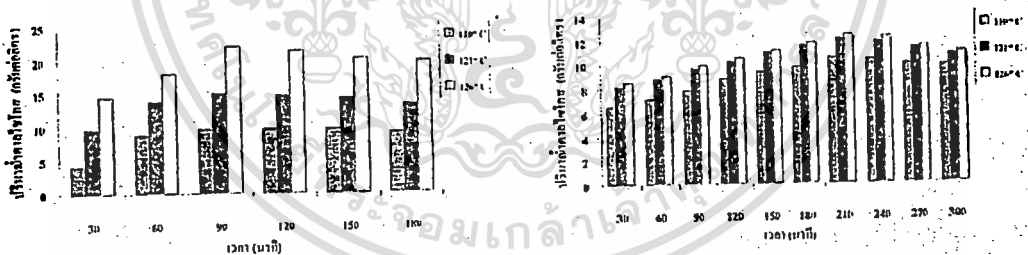
ผลการย่อยสลายฟางข้าวพบว่าอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการย่อยสลายฟางข้าวให้ปริมาณน้ำตาลไซโลสสูงสุด (22.07 กรัมต่อลิตร) คือ 126 องศาเซลเซียส 90 นาที ดังภาพที่ 3.1

ผลการย่อยสลายแกลบพบว่าอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการย่อยสลายแกลบให้ปริมาณน้ำตาลไซโลสสูงสุด (12.38 กรัมต่อลิตร) คือ 126 องศาเซลเซียส 210 นาที ดังภาพที่ 3.2

ผลการย่อยสลายชานอ้อย พบว่าอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการย่อยสลายชานอ้อยให้ปริมาณน้ำตาลไซโลสสูงสุด (41.03 กรัมต่อลิตร) คือ 121 องศาเซลเซียส 270 นาที ดังภาพที่ 3.3

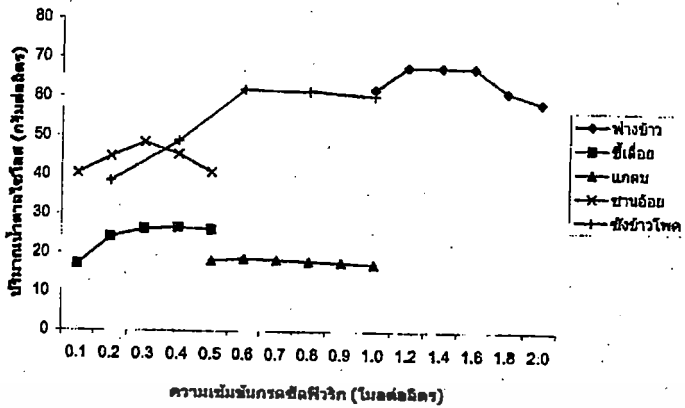
ผลการย่อยสลายขังข้าวโพด พบว่าอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการย่อยสลายขังข้าวโพดให้ปริมาณน้ำตาลไซโลสสูงสุด (38.14 กรัมต่อลิตร) คือ 126 องศาเซลเซียส เวลา 300 นาที ดังภาพที่ 3.4

ผลการย่อยสลายขี้เลื่อยพบว่าอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการย่อยสลายขี้เลื่อยให้ปริมาณน้ำตาลไซโลสสูงสุด (16.70 กรัมต่อลิตร) คือ 126 องศาเซลเซียสเวลา 270 นาที ดังภาพที่ 3.5



ภาพที่ 3.1 ปริมาณน้ำตาลไซโลสที่ได้จากการศึกษาอุณหภูมิ และเวลาในการย่อยสลายฟางข้าว

ภาพที่ 3.2 ปริมาณน้ำตาลไซโลสที่ได้จากการศึกษาอุณหภูมิ และเวลาในการย่อยสลายแกลบ



ภาพที่ 3.6 ปริมาณน้ำตาลไซโลสที่ได้จากการย่อยสลายวัตถุดิบ (ฟางข้าว, ชีแผ่น, แกลบ, ชานอ้อย และชิงข้าวโพด) จากการศึกษาค่าความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟิวริก

3.1.3 ผลการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างวัตถุดิบและสารละลายกรดซัลฟิวริกที่ใช้ในการย่อยสลายวัตถุดิบ

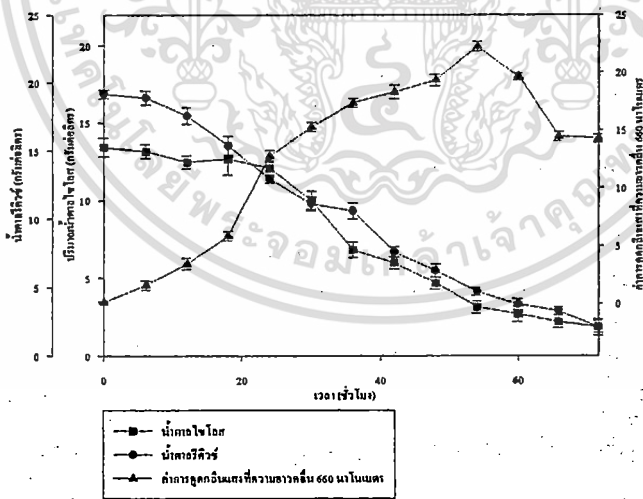
พบว่าอัตราส่วนระหว่างวัตถุดิบและกรดซัลฟิวริกที่ 1 ต่อ 10 ในการย่อยสลายฟางข้าว ให้ปริมาณน้ำตาลไซโลสสูงที่สุด คือ 67.27 กรัมต่อลิตรดังแสดงในตารางที่ 3.1 จากการทดลองพบว่าที่ความเข้มข้นเท่ากันของกรดซัลฟิวริก วัตถุดิบทั้ง 5 ชนิดจะให้ปริมาณน้ำตาลไซโลสสูงที่สุดที่สภาวะอุณหภูมิและเวลาต่างกัน โดยอัตราส่วนวัตถุดิบต่อปริมาณสารละลายกรดซัลฟิวริกที่ 1 ต่อ 10 ในวัตถุดิบทั้ง 5 ชนิดจะให้ปริมาณน้ำตาลไซโลสสูงที่สุดโดยที่ฟางข้าวให้ปริมาณน้ำตาลไซโลสสูงที่สุด ปริมาณสารละลายกรดซัลฟิวริกที่ 1 ต่อ 50 จะให้ปริมาณน้ำตาลไซโลสต่ำสุด ซึ่งการใช้ปริมาณสารละลายกรดซัลฟิวริกมากขึ้นจะมีผลทำให้เกิดการย่อยสลายวัตถุดิบมากขึ้นทำให้มีผลผลิตเป็นสารชนิดอื่นๆ ปริมาณน้ำตาลไซโลสจึงลดลง [12, 13] ซึ่ง Parajo *et al* [13] ศึกษาการย่อยสลายไม้ยูคาลิปตัสที่ 130 องศาเซลเซียสนาน 60 นาที โดยใช้สารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้นร้อยละ 3 ที่อัตราส่วนวัตถุดิบต่อสารละลายกรด 8 กรัมต่อกรัม ได้ปริมาณน้ำตาลไซโลส 18 กรัม ดังนั้น จึงจำเป็นต้องหาสภาวะที่เหมาะสมต่างๆ รวมทั้งอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างวัตถุดิบกับสารละลายกรดซัลฟิวริกเพื่อการศึกษาต่อไป

ตารางที่ 3.1 ปริมาณน้ำตาลไซโลสในการย่อยสลายฟางข้าว แกลบ ชานอ้อย ชังข้าวโพค และ
 ขี้เลื่อย จากการศึกษาอัตราส่วนระหว่างวัตถุดิบต่อปริมาณสารละลายกรดซัลฟิวริก

อัตราส่วนวัตถุดิบต่อปริมาณ สารละลายกรดซัลฟิวริก (น้ำหนักต่อปริมาตร)	ปริมาณน้ำตาลไซโลส (กรัมต่อลิตร)				
	ฟางข้าว	แกลบ	ชานอ้อย	ชังข้าวโพค	ขี้เลื่อย
1 ต่อ 10	67.27	18.75	47.67	62.55	27.46
1 ต่อ 20	40.33	13.12	34.23	49.27	18.49
1 ต่อ 30	29.80	10.45	22.22	37.71	14.51
1 ต่อ 40	23.82	6.56	18.01	30.21	10.62
1 ต่อ 50	19.55	4.89	13.57	26.11	9.35

3.2 ผลการศึกษาการลดปริมาณสารพิษในไฮโดรไลสด้วยวิธีโอเวอร์ไลมิง

เมื่อนำไฮโดรไลสที่ได้จากการทดลองในข้อ 3.1.3 มาทำการลดปริมาณสารพิษในไฮโดรไลสด้วยวิธีโอเวอร์ไลมิง แล้วนำมาเลี้ยงเชื้อยีสต์ที่ใช้ในการผลิตน้ำตาลไซลิตอกเพื่อศึกษาการเจริญของเชื้อ พบว่าการเจริญของเชื้อมีการเจริญสูงสุด ชั่วโมงที่ 54 มีการใช้น้ำตาลไซโลสและน้ำตาลรีดิวซ์โดยปริมาณน้ำตาลไซโลสลดลงประมาณร้อยละ 76 และน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงร้อยละ 75 ดังภาพที่ 3.7



ภาพที่ 3.7 ปริมาณน้ำตาลไซโลส น้ำตาลรีดิวซ์ และการเจริญของเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 จากการศึกษาการลดปริมาณสารพิษด้วยวิธี โอเวอร์ไลมิง

3.3 ผลการศึกษาการลดปริมาณสารพิษโดยใช้ผงถ่านกัมมันต์

ผลการศึกษาระยะเวลาและอัตราส่วนที่เหมาะสมในการลดปริมาณสารพิษของผงถ่านกัมมันต์ต่อไฮโครไลสเทส พบว่าระยะเวลาในการลดปริมาณสารพิษของผงถ่านกัมมันต์ที่ดีที่สุด คือ 1 ชั่วโมงทำให้การเจริญของเชื้อเจริญได้สูงสุดในชั่วโมงที่ 60 โดยเมื่อเปรียบเทียบกับเวลา 0 6 12 18 และ 24 ชั่วโมง พบว่าที่เวลา 1 ชั่วโมงจะมีการใช้น้ำตาลไซโลสมากที่สุดและมีการเจริญของเชื้อสูงที่สุด ดังตารางที่ 3.2 ซึ่ง Dominguez *et al* [5] ได้ทดลองเลี้ยงเชื้อยีสต์ในไฮโครไลสเทสที่ได้จากการย่อยสลายชานอ้อยที่ผ่านกระบวนการโอเวอร์ไลมิงและการดูดซับด้วยผงถ่านกัมมันต์พบว่าเชื้อใช้น้ำตาลไซโลสและผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ดีกว่าในไฮโครไลสเทสที่ผ่านการทำโอเวอร์ไลมิงอย่างเดียว Tran and Chambers [16] รายงานว่าการดูดซับด้วยผงถ่านกัมมันต์จะลดความเข้มข้นของกรดอะซิติกและสารประกอบพิโนลิก ซึ่งเป็นสารพิษในไฮโครไลสเทสได้

ผลศึกษาอัตราส่วนของผงถ่านกัมมันต์ต่อไฮโครไลสเทสที่เหมาะสมในการลดปริมาณสารพิษ คือ ที่ 1 ต่อ 25 ทำให้การเจริญของเชื้อเจริญได้สูงสุดในชั่วโมงที่ 60 ของการทดลอง โดยทุกอัตราส่วนผงถ่านกัมมันต์ต่อไฮโครไลสเทส (1 ต่อ 50 1 ต่อ 100 และ 1 ต่อ 200) จะให้ผลเช่นเดียวกัน แต่ที่อัตราส่วน 1 ต่อ 25 เชื้อจะมีการใช้น้ำตาลรีคิวซ์และน้ำตาลไซโลสมากที่สุดทำให้มีการเจริญสูงสุด ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Musatto และ Roberto [10] ทำการทดลองลดสารพิษในไฮโครไลสเทสจากฟางข้าว โดยวิธีโอเวอร์ไลมิงร่วมกับการเติมผงถ่านกัมมันต์ในอัตราส่วนต่อไฮโครไลสเทส 1 ต่อ 120 1 ต่อ 40 1 ต่อ 24 และ 1 ต่อ 10 กรัมต่อกรัม พบว่าสามารถลดสารพิษเท่ากับ 15 17 27 และ 32 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนการทดลองของ Parajo *et al* [13] ทำการเติมผงถ่านกัมมันต์ในไฮโครไลสเทสอัตราส่วน 1 ต่อ 10 กรัมต่อกรัม สามารถลดสารพิษได้ดีที่สุด เปรียบเทียบอัตราส่วนที่เหมาะสมในการลดปริมาณสารพิษด้วยผงถ่านกัมมันต์ ดังแสดงในตารางที่ 3.3

ตารางที่ 3.2 เปรียบเทียบเวลาที่เหมาะสมในการลดปริมาณสารพิษด้วยผงถ่านกัมมันต์

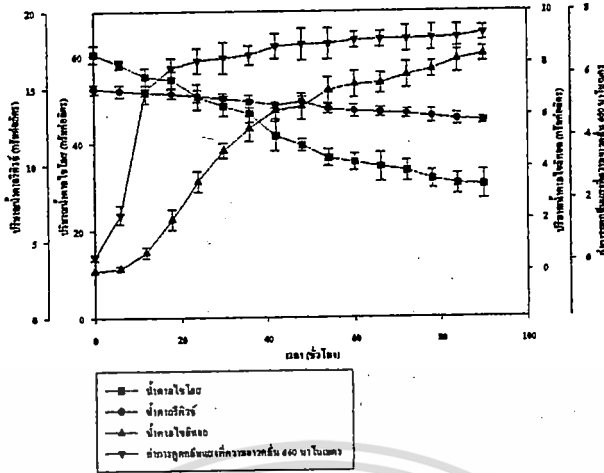
เวลาในการลดปริมาณสารพิษ (ชั่วโมง)	ปริมาณน้ำตาลรีคิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลไซโลส (กรัมต่อลิตร)	การเจริญสูงสุดที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร (ชั่วโมงที่ 60)
0	3.77	3.14	22.25
1	3.75	2.16	28.82
6	3.29	2.46	28.17
12	2.98	2.42	28.12
18	2.90	2.38	27.32
24	3.00	2.38	27.52

ตารางที่ 3.3 เปรียบเทียบอัตราส่วนที่เหมาะสมในการลดปริมาณสารพิษด้วยผงถ่านกัมมันต์

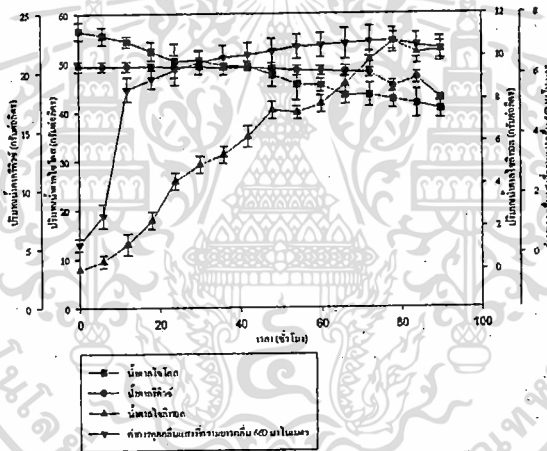
อัตราส่วนผงถ่านกัมมันต์ต่อไฮโดรไลเซต (กรัมต่อมิลลิกรัม)	ปริมาณน้ำตาลรีเวิร์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลไซโลส (กรัมต่อลิตร)	การเจริญสูงสุดที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร (ชั่วโมงที่ 60)
1 ต่อ 25	1.79	2.53	28.17
1 ต่อ 50	2.09	2.68	27.90
1 ต่อ 100	2.21	2.78	27.28
1 ต่อ 200	2.29	2.97	25.80

3.4 ผลการศึกษาเปรียบเทียบการผลิตน้ำตาลไซลิตอลระหว่างอาหารสังเคราะห์และอาหารไฮโดรไลเซต

ผลการศึกษาความสามารถในการผลิตน้ำตาลไซลิตอลของเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ในอาหารสังเคราะห์ พบว่าสามารถผลิตน้ำตาลไซลิตอลได้ 8.16 กรัมต่อลิตร ชั่วโมงที่ 90 คิดเป็นผลผลิต ($Y_{p/s}$) เท่ากับ 0.27 กรัมน้ำตาลไซลิตอลต่อกรัมน้ำตาลไซโลส ดังภาพที่ 3.8 ขณะที่ในอาหารไฮโดรไลเซตพบว่าสามารถผลิตน้ำตาลไซลิตอลได้ 10.29 กรัมต่อลิตร ชั่วโมงที่ 90 คิดเป็นผลผลิต ($Y_{p/s}$) เท่ากับ 0.67 กรัมน้ำตาลไซลิตอลต่อกรัมน้ำตาลไซโลส ดังภาพที่ 3.9 ผลผลิตน้ำตาลไซลิตอลที่ได้จากอาหารไฮโดรไลเซตสูงกว่าผลผลิตที่ได้จากอาหารสังเคราะห์อาจเกิดจากในอาหารไฮโดรไลเซตมีองค์ประกอบของน้ำตาลหลายชนิดเป็นแหล่งคาร์บอน ซึ่งต่างจากอาหารสังเคราะห์ที่มีเพียงน้ำตาลไซโลสและกลูโคสเท่านั้น ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Canilha, I. et al. [3] พบว่าไฮโดรไลเซตที่ได้จากการย่อยสลายลิกโนเซลลูโลสจะมีสารประกอบหลักคือไซโลส กลูโคส อะราบีโนส แมนโนส และแลคโตส เป็นองค์ประกอบ นอกจากนี้ Ladisch and Svarezdopf [8] รายงานถึงการย่อยสลายของเฮมิเซลลูโลสด้วยกรด หรือเอนไซม์จะให้สารประกอบของน้ำตาลหลายชนิด ซึ่งประกอบด้วยน้ำตาลคาร์บอน 5 อะตอม ได้แก่ ไซโลส อะราบีโนส และน้ำตาลคาร์บอน 6 อะตอม ได้แก่ กลูโคส แมนโนส และกาแลคโตส



ภาพที่ 3.8 ปริมาณน้ำตาลซูโครส น้ำตาลรีดิซ น้ำตาลไซลิทอล และการเจริญของเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ในอาหารสังเคราะห์ที่มีน้ำตาลซูโครส 60 กรัมต่อลิตร



ภาพที่ 3.9 ปริมาณน้ำตาลซูโครส น้ำตาลรีดิซ น้ำตาลไซลิทอล และการเจริญของเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ในอาหารไฮโดรไลเสทที่มีน้ำตาลซูโครส 60 กรัมต่อลิตร

4. สรุปผลการวิจัย

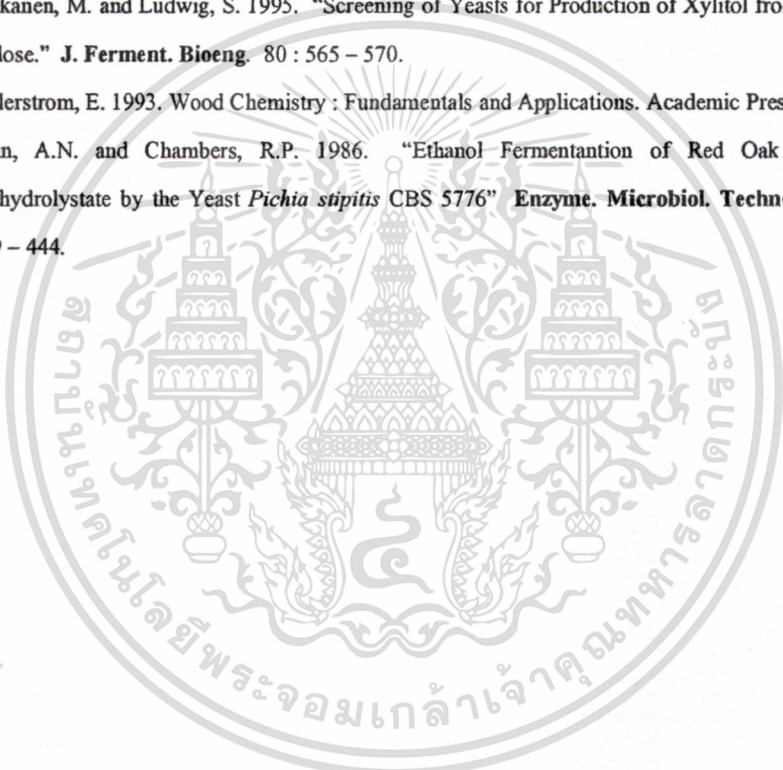
การศึกษาการย่อยสลายเอมิเซลลูโลสจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรและอุตสาหกรรมการแปรรูปไม้ 5 ชนิด ได้แก่ ฟางข้าว แกลบ ชานอ้อย ชังข้าวโพด และขี้เถ้า เพื่อผลิตน้ำตาลไซลิทอล โดยเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 พบว่าฟางข้าวเป็นวัตถุดิบที่ให้ปริมาณน้ำตาลซูโครสสูงที่สุดมีสภาวะที่เหมาะสมคือ อุณหภูมิ 126 องศาเซลเซียส 90 นาที โดยใช้สารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 1.2 โมลาร์ ที่อัตราส่วนระหว่างวัตถุดิบและสารละลายกรด 1 ต่อ 10 ได้ น้ำตาลซูโครส 67.27 กรัมต่อลิตร การศึกษาการลดปริมาณสารพิษของฟางข้าวด้วยกระบวนการโอเวอร์ไลมิงและ

ผงถ่านกัมมันต์ พบว่าใช้ระยะเวลาการลดปริมาณสารพิษ 1 ชั่วโมง ในอัตราส่วนของผงถ่านกัมมันต์ ต่อไฮโดรไลสเทส 1 ต่อ 25 โดยมีการเจริญของเชื้อสูงสุดเท่ากับ 28.17 ชั่วโมงที่ 60 เมื่อศึกษาเปรียบเทียบการเจริญของเชื้อและการผลิตน้ำตาลไซลิทอลระหว่างอาหารสังเคราะห์กับอาหารไฮโดรไลสเทส พบว่าในอาหารสังเคราะห์ผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ 8.16 กรัมต่อลิตร คิดเป็นผลผลิตเท่ากับ 0.27 กรัมน้ำตาลไซลิทอลต่อกรัมน้ำตาลไซโลส แต่ในอาหารไฮโดรไลสเทส พบว่าเชื้อสามารถผลิตไซลิทอลได้ 10.29 กรัมต่อลิตร คิดเป็นผลผลิตเท่ากับ 0.67 กรัมน้ำตาลไซลิทอลต่อกรัมน้ำตาลไซโลส ดังนั้นอาหารไฮโดรไลสเทสจึงมีประสิทธิภาพในการผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้สูงกว่าในอาหารสังเคราะห์

5. เอกสารอ้างอิง

- [1] Biswas, S. and N. Vahishtha. 2005. Xylitol : Technology & Business Opportunities. "(Online). Available : <http://www.tifac.org.in/news/view6.htm>.
- [2] Canettieri, EV., A. Silva and MG. Filipe. 2001. Application of factorial design to the study of xylitol. Production from eucalyptus hemicellulosic hydrolysate. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 91 (2) : 159-168.
- [3] Canilha, L., J.B.A., Silva, M.G.A., Felipe and W., Carvalho. 2003. Batch xylitol production from wheat straw hemicellulosic hydrolysate using *Candida guilliermondii* in a stirred tank reactor. *Biotech. Lett.* 25 : 1811-1814.
- [4] Deschatelets, L. and Yu, E.K.C. 1986. "A Simple Pentose Assay for Biomass Conversion Studies." *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 24 : 379 – 397.
- [5] Dominguez, J.M. et al. 1996. "Pretreatment of Sugar Cane Bagasse Hemicellulose Hydrolysate for Xylitol Production by Yeasts" *Appl. Biochem. Biotechnol.* 57/58 : 49 – 56.
- [6] Dominguez, J.M. et al. 1997. "Dilute Acid Hemicellulose Hydrolysates from Corn Cobs for Xylitol Production by Yeast." *Biores. Technol.* 61(1) : 85 – 90.
- [7] Girio, F.M. et al. 1999. "Polyols Production During Single and Mixed Substrate Fermentation in *Debaryomyces hansenii* *Biores. Technol.* 71 : 245 – 251.
- [8] Ladisch, M.R. and Svarczkopf, J.A. 1991. "Ethanol Production and the cost of Fermentable Sugars for Biomass." *Biores. Technol.* 36 : 83 – 95.
- [9] Miyafuji, H., H., Damer, M., Neurciter, C., Thomasser, J., Bvochoro, O., Szolar and R., Braun. 2003. Detoxification of wood hydrolysates with wood charcoal for increasing the Fermentability of Hydrolysates. *Enzyme. Microbiol. Technol.* 32 : 396-400.

- [10] Mussatto, S.I. and I.C., Roberto. 2001. Hydrolyzate detoxification with activated charcoal for xylitol. Production by *Canadida guilliermondii*. **Biotech. Lett.** 23 : 1681-11684.
- [11] Olinger, P.M., and T., Pepper. 2001. **Alternative sweeteners**. Marcel dekker. New York.
- [12] Parajo, J.C., H., Dominguez and J.M., Dominguez. 1996. Production of xylitol from concentrated wood hydrolysates by *Debaryomyces hansenii* : effect of the initial cell concentration. **Biotech. Lett.** 18(5) : 593-598.
- [13] Parajo, J.C., H., Dominguez and J.M., Dominguez. 1997. Improved xylitol production with *Debaryomyces hansenii* Y-7426 from Raw of Detoxified Wood Hydrolysates. **Enzyme Microbiol Technol.** 21(1) : 18 – 24.
- [14] Sarkanen, M. and Ludwig, S. 1995. "Screening of Yeasts for Production of Xylitol from D – Xylose." **J. Ferment. Bioeng.** 80 : 565 – 570.
- [15] Soderstrom, E. 1993. **Wood Chemistry : Fundamentals and Applications**. Academic Press.
- [16] Tran, A.N. and Chambers, R.P. 1986. "Ethanol Fermentantion of Red Oak Acid Prehydrolystate by the Yeast *Pichia stipitis* CBS 5776" **Enzyme. Microbiol. Technol.** 8 : 439 – 444.



๓๐๑๕

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้