



รายงานฉบับสมบูรณ์

โครงการย่อยที่ 3

การศึกษากระบวนการผลิตไฮโดรไลโอลิโกแซคคาไรด์จากขานอ้อย

โดย

รศ.ดร.มังกร โจน์ประภากร

มีนาคม 2563

สัญญาเลขที่ RDG61T0068

รายงานฉบับสมบูรณ์

โครงการย่อยที่ 3

การศึกษากระบวนการผลิตไฮโดรไลโกแซคคาไรด์จากขานอ้อย

โดย

รศ.ดร.มังกร วิจารณ์ประภากร

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

มีนาคม 2563

บทสรุปผู้บริหาร

ชานอ้อยเป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมการผลิตน้ำตาลที่มีปริมาณสูงกว่า 30 ล้านตัน/ปี โดยจัดเป็นวัสดุลิกโนเซลลูโลสซึ่งประกอบด้วยเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน แต่เฮมิเซลลูโลสซึ่งมีองค์ประกอบหลักเป็นไซแลนยังไม่ได้ถูกใช้ประโยชน์ ดังนั้นโครงการวิจัยเรื่อง “การศึกษากระบวนการผลิตไซโลโอลิโกแซคคาไรด์จากชานอ้อย” จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อสร้างมูลค่าเพิ่มแก่ชานอ้อย โดยศึกษากระบวนการผลิตไซโลโอลิโกแซคคาไรด์จากการย่อยไซแลนภายในชานอ้อยด้วยเอนไซม์ไซแลเนสหยาบซึ่งผลิตจาก *Thermobifida fusca* PA 1-1 เพื่อเปลี่ยนไซแลนเป็นไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ (Xylo-oligosaccharide, XOS) ซึ่งสามารถใช้ประโยชน์ด้านต่างๆ เช่น สารต้านอนุมูลอิสระ ส่วนผสมสำหรับการผลิตยา สารให้ความหวาน และพรีไบโอติกซึ่งเป็นประโยชน์ต่อสุขภาพของมนุษย์และสัตว์ ฯลฯ

การศึกษาการสกัดไซแลนจากชานอ้อยเพื่อผลิต XOS พบว่าไม่สมควรสกัดไซแลนจากชานอ้อยเนื่องจากสูญเสียไซแลนมากและเกิดค่าใช้จ่ายสูง และสามารถผลิต XOS ด้วยการย่อยชานอ้อยซึ่งผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลาย 1% NaOH โดยตรงด้วยเอนไซม์ไซแลเนสหยาบได้ปริมาณ XOS สูงกว่าการย่อยจากไซแลนซึ่งผ่านการสกัดทางเคมี

การศึกษาการย่อยด้วยเอนไซม์ไซแลเนสหยาบจาก *T. fusca* PA 1-1 อัตราส่วนค่ากิจกรรมเอนไซม์ไซแลเนส 50, 100, 200, 500 และ 2,000 U/g ชานอ้อย พบว่าอัตราส่วนค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไซแลเนสหยาบ 2,000 U/g ชานอ้อย ย่อยนาน 24 ชั่วโมง ให้ปริมาณ XOS สูงสุด (3.977 ± 0.01 mg/g ชานอ้อย) และผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของ XOS ซึ่งย่อยจากชานอ้อยโดยเทคนิค TLC พบแถบของ Xylose (X1), Xylobiose (X2) และ Xylotriose (X3) แต่ไม่พบแถบของ Xylotetraose (X4) และ Xylopentaose (X5) และเมื่อเพิ่มชานอ้อยและเอนไซม์ไซแลเนสหยาบที่อัตราส่วนดังนี้ ชานอ้อย 2 g : 2000 U, 3 g : 3000 U, 2 g : 4000 U, 3 g : 6000 U, 4 g : 8000 U และ 5 g : 10000 U พบแถบของ X1, X2, X3, X4 และ X5

การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลอนรีดิวิซ์ (XOS) ภายหลังเพิ่มชานอ้อยและเอนไซม์ไซแลเนสหยาบ พบว่าอัตราส่วนที่ให้ปริมาณน้ำตาลอนรีดิวิซ์ (XOS) สูงสุด คือ ชานอ้อย 5 g : เอนไซม์ไซแลเนสหยาบ 10000 U ย่อยนาน 24 ชั่วโมง โดยมีปริมาณน้ำตาลอนรีดิวิซ์ (XOS) เท่ากับ 4.856 ± 0.02 mg/g ชานอ้อยและการวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณ XOS ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ไซแลเนสหยาบจากแต่ละวิธีของการผลิต XOS โดยเทคนิค HPLC พบว่าวิธีการที่ให้ปริมาณ XOS ทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ Xylobiose (X2),

Xylotriose (X3) และ Xylotetraose (X4) สูงสุด คือ การย่อยชานอ้อยผ่านการปรับสภาพแล้วด้วย เอนไซม์ไซลานเนสหยาบในอัตราส่วนค่ากิจกรรมเอนไซม์ไซลานเนสหยาบ 2000 ยูนิตต่อกรัมชานอ้อย ซึ่งมี ข้อดีหลายประการ คือ ประหยัดเวลา ให้ปริมาณผลได้สูงกว่า และไม่ก่อให้เกิดสารพิษจากสารเคมีที่ใช้

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสร้างมูลค่าเพิ่มแก่ชานอ้อย โดยการศึกษากระบวนการผลิตไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ (Xyloligosaccharide, XOS) จากการย่อยไซแลนในชานอ้อยด้วยเอนไซม์ไซลาเนสหยาบ ซึ่งเป็นผลผลิตที่ได้จากจุลินทรีย์ *Thermobifida fusca* PA1-1 ผลการศึกษาการสกัดไซแลนจากชานอ้อย พบว่าการสกัดไซแลนจากชานอ้อย เกิดการสูญเสียปริมาณไซแลนในระหว่างกระบวนการสกัด ซึ่งในการผลิตไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ด้วยการย่อยชานอ้อยซึ่งผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรด์ ความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยตรง ด้วยเอนไซม์ไซลาเนสหยาบ ให้ปริมาณไซโลโอลิโกแซคคาไรด์สูงกว่าการย่อยไซแลนซึ่งได้จากการสกัดทางเคมี ผลการศึกษาการย่อยของเอนไซม์ไซลาเนสหยาบที่อัตราส่วนค่ากิจกรรมเอนไซม์ไซลาเนส 50, 100, 200, 500, 1000 และ 2000 ยูนิตต่อกรัมชานอ้อย พบว่าการย่อยในอัตราส่วนการใช้เอนไซม์ไซลาเนส 2000 ยูนิตต่อกรัมชานอ้อย เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ให้ปริมาณไซโลโอลิโกแซคคาไรด์สูงสุด (3.977 ± 0.01 มิลลิกรัมต่อกรัมชานอ้อย) ในส่วนผลการวิเคราะห์องค์ประกอบภายในผลิตภัณฑ์ไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีแผ่นบาง พบแถบของน้ำตาลไซโลส (DP=1), ไซโลไบโอส (DP=2), และไซโลไตรโอส (DP=3) แต่ไม่พบแถบของไซโลเตตระโอส (DP=4) และไซโลเพนตะโอส (DP=5) แต่เมื่อเพิ่มปริมาณชานอ้อยและเอนไซม์ไซลาเนสหยาบที่อัตราส่วนชานอ้อย 2 กรัมต่อ 2000 ยูนิต, 3 กรัมต่อ 3000 ยูนิต, 2 กรัมต่อ 4000 ยูนิต, 3 กรัมต่อ 6000 ยูนิต, 4 กรัมต่อ 8000 ยูนิต และ 5 กรัมต่อ 10000 ยูนิต พบแถบของโอลิโกเมอร์ของไซโลสตั้งแต่ 2 ถึง 5 โมเลกุล (DP=2-5) การวิเคราะห์ปริมาณไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ภายหลังการเพิ่มชานอ้อยและเอนไซม์ไซลาเนสหยาบ พบว่าอัตราส่วนที่ให้ปริมาณไซโลโอลิโกแซคคาไรด์สูงสุด คือการใช้ชานอ้อย 5 กรัมต่อเอนไซม์ไซลาเนสหยาบ 10000 ยูนิต ที่ 24 ชั่วโมง โดยมีปริมาณเท่ากับ 4.856 ± 0.02 มิลลิกรัมต่อกรัมชานอ้อย และจากการวิเคราะห์ปริมาณไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ไซลาเนสหยาบจากแต่ละวิธีการเตรียมไซแลน โดยเทคนิคโครมาโตกราฟีสมรรถนะสูง พบว่าการย่อยชานอ้อยที่ผ่านการปรับสภาพด้วยเอนไซม์ไซลาเนสหยาบโดยตรงในอัตราส่วนการใช้เอนไซม์ไซลาเนสหยาบ 2000 ยูนิตต่อกรัมชานอ้อย เป็นวิธีที่ให้ปริมาณไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ซึ่งประกอบด้วยไซโลไบโอส (DP=2), ไซโลไตรโอส (DP=3) และไซโลเตตระโอส (DP=4) สูงที่สุด โดยไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ทั้ง 3 ชนิดมีประโยชน์ในการส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์ที่ดีในทางเดินอาหารของมนุษย์

Abstract

The research aimed to create value for sugarcane bagasse. Xylooligosaccharide (XOS) production process using hydrolysis of xylan in sugarcane bagasse (SB) by crude xylanase from *Thermobifida fusca* PA1-1 was studied. The result of xylan extraction from sugarcane bagasse showed that plenty of xylan was lost during the extraction process. The XOS production from direct hydrolysis of 1% (w/v) NaOH pretreated sugarcane bagasse by crude xylanase revealed the amount of XOS higher than hydrolysis from chemically extracted xylan. The result of hydrolysis using crude xylanase at a ratio of 50, 100, 200, 500, 1000 and 2000 U/g SB showed that hydrolysis at the ratio of 2000 U/g SB for 24 h gave the highest amount of XOS (3.977 ± 0.01 mg/g SB). The result of XOS component analysis by Thin-layer Chromatography (TLC) found bands of xylose (DP=1), xylobiose (DP=2) and xylotriose (DP=3) but could not find bands of xylootetraose (DP=4) and xylopentaose (DP=5). And increasing of the amount of SB and crude xylanase at a ratio of 2 g: 2000 U, 3 g: 3000 U, 2 g: 4000 U, 3 g: 6000U, 4 g: 8000 U and 5 g: 10000 U showed bands of oligomers of xylose (DP=2-5). Analysis of the amount of XOS after increasing of SB and crude xylanase showed that the highest amount of XOS of XOS of 4.856 ± 0.02 mg/g SB is obtained from the ratio of 5 g: 10000 U at 24 h of hydrolysis. An analysis of the amount of XOS from hydrolysis of several XOS production processes by High-performance liquid chromatography (HPLC) showed that hydrolysis of pretreated SB by crude xylanase at ratio 2000 U/g SB give that highest amount of XOS consist of DP=2-4, that enhance growth of beneficial microorganisms in the digestive system.

สารบัญ

	หน้า
บทสรุปผู้บริหาร	
บทคัดย่อ (ไทย-อังกฤษ)	
สารบัญ	ก
สารบัญตาราง	ข
สารบัญภาพ	ค
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ที่มาและความสำคัญของโครงการ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	2
1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทบทวนเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย	21
บทที่ 4 ผลการศึกษาและอภิปรายผล	27
บทที่ 5 สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ	53
บรรณานุกรม	55

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้าที่
ตารางที่ 1	องค์ประกอบทางเคมีของสารพีไปโอติก	12
ตารางที่ 2	ปริมาณน้ำตาลนอนรีติวซ์ของผลิตภัณฑ์จากการย่อยชานอ้อยด้วยเอนไซม์ ไซลาเนสหยาบ อัตราส่วน 50, 100, 200, 500, 1000 และ 2000 ยูนิตต่อ กรัมชานอ้อย	40
ตารางที่ 3	ปริมาณน้ำตาลนอนรีติวซ์ของผลิตภัณฑ์จากการย่อยชานอ้อยด้วยเอนไซม์ ไซลาเนสหยาบอัตราส่วน 2 กรัม : 2000 ยูนิต, 3 กรัม : 3000 ยูนิต, 2 กรัม : 4000 ยูนิต, 3 กรัม : 6000 ยูนิต, 4 กรัม : 8000 ยูนิต และ 5 กรัม : 10000 ยูนิต	41
ตารางที่ 4	ปริมาณน้ำตาลนอนรีติวซ์ของผลิตภัณฑ์จากการย่อยไซแลนผ่านการสกัด โดยวิธีทางเคมีต่างๆด้วยเอนไซม์ไซลาเนสหยาบ อัตราส่วน ชานอ้อย 1 กรัม : 2000 ยูนิต	42
ตารางที่ 5	ค่าผลได้ของผลิตภัณฑ์จากการย่อยชานอ้อยด้วยเอนไซม์ไซลาเนสหยาบ อัตราส่วน 50, 100, 200, 500, 1000 และ 2000 ยูนิตต่อกรัมของชาน อ้อย	43
ตารางที่ 6	ปริมาณไซโลไบโอส (X2) ในผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการย่อยชานอ้อย และไซ แลนจากการสกัดโดยวิธีทางเคมี ด้วยเอนไซม์ไซลาเนสหยาบ	45
ตารางที่ 7	ปริมาณไซโลไตรโอส (X3) ในผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการย่อยชานอ้อย และไซ แลนจากการสกัดโดยวิธีทางเคมี ด้วยเอนไซม์ไซลาเนสหยาบ	47
ตารางที่ 8	ปริมาณไซโลเตตระโอส (X4) ในผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการย่อยชานอ้อย และ ไซแลนจากการสกัดโดยวิธีทางเคมี ด้วยเอนไซม์ไซลาเนสหยาบ	49
ตารางที่ 9	ต้นทุนการผลิตเอนไซม์ไซลาเนสหยาบ	51
ตารางที่ 10	ต้นทุนการปรับสภาพชานอ้อย	52
ตารางที่ 11	ต้นทุนการผลิตไซโลโอลิโกแซคคาไรด์	52

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้าที่
ภาพที่ 1	ตำแหน่งที่เอนไซม์เข้าย่อยพันธะในโครงสร้างไซแลน เอนไซม์ที่ย่อยโครงสร้างหลักของไซแลนแบบสุ่มและเอนไซม์ที่ย่อยโซ่ด้านข้างของไซแลน(A) เอนไซม์ที่ย่อยที่ตำแหน่งปลายโมเลกุลของโครงสร้างหลักของไซแลน (B)	9
ภาพที่ 2	โครงสร้างของอินูลิน	13
ภาพที่ 3	โครงสร้างของฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์	15
ภาพที่ 4	โครงสร้างของไซโลโอลิโกแซคคาไรด์	16
ภาพที่ 5	โครงสร้างของกาแลกโตโอลิโกแซคคาไรด์	17
ภาพที่ 6	ประโยชน์ของสารพรีไบโอติก	18
ภาพที่ 7	ชานอ้อยจากโรงงานน้ำตาล	27
ภาพที่ 8	ชานอ้อยภายหลังบดด้วย Hammer mill	27
ภาพที่ 9	ชานอ้อยภายหลังการพริทเทอมนต์เพื่อกำจัดลิกนิน	28
ภาพที่ 10	ไซแลนซึ่งสกัดแยกได้จากชานอ้อย	28
ภาพที่ 11	องค์ประกอบของส่วนใสจากการย่อยชานอ้อยด้วยเอนไซม์ไซลาเนสหยาบ อัตราส่วน 50ยูนิตต่อกรัมชานอ้อยที่เวลา 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 และ 24 ชั่วโมง ด้วยเทคนิค TLCเปรียบเทียบกับสารละลายน้ำตาลมาตรฐานไซโลส (X1) ไซโลไบโอส (X2) ไซโลไตรโอส (X3)และไซโลเตตระโอส (X4)	30
ภาพที่ 12	องค์ประกอบของส่วนใสจากการย่อยชานอ้อยด้วยเอนไซม์ไซลาเนสหยาบ อัตราส่วน 100ยูนิตต่อกรัมชานอ้อยที่เวลา 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 และ 24 ชั่วโมง ด้วยเทคนิค TLCเปรียบเทียบกับสารละลายน้ำตาลมาตรฐานไซโลส (X1) ไซโลไบโอส (X2) ไซโลไตรโอส (X3) และไซโลเตตระโอส (X4)	30
ภาพที่ 13	องค์ประกอบของส่วนใสจากการย่อยชานอ้อยด้วยเอนไซม์ไซลาเนสหยาบ อัตราส่วน 200ยูนิตต่อกรัมชานอ้อยที่เวลา 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 และ 24 ชั่วโมง ด้วยเทคนิค TLC เปรียบเทียบกับสารละลายน้ำตาลมาตรฐานไซโลส (X1) ไซโลไบโอส (X2) ไซโลไตรโอส (X3) และไซโลเตตระโอส (X4)	31
ภาพที่ 14	องค์ประกอบของส่วนใสจากการย่อยชานอ้อยด้วยเอนไซม์ไซลาเนสหยาบ อัตราส่วน 500 ยูนิตต่อกรัมชานอ้อยที่เวลา 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 และ 24 ชั่วโมง ด้วยเทคนิค TLC เปรียบเทียบกับสารละลายน้ำตาลมาตรฐาน	31

	อัตราส่วน 4 กรัม : 8000 ยูนิต ที่เวลา 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 และ 24 ชั่วโมง ด้วยเทคนิค TLC เปรียบเทียบกับสารละลายน้ำตาลมาตรฐาน ไซโลส (X1) ไซโลไบโอส (X2) ไซโลไตรโอส (X3) ไซโลเตตระโอส (X4) และไซโลเพนตะโอส (X5)	
ภาพที่ 22	องค์ประกอบของส่วนใสจากการย่อยขานอ้อยด้วยเอนไซม์ไซลานเนสหยาบ อัตราส่วน 5 กรัม : 10000 ยูนิต ที่เวลา 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 และ 24 ชั่วโมง ด้วยเทคนิค TLC เปรียบเทียบกับสารละลายน้ำตาลมาตรฐาน ไซโลส (X1) ไซโลไบโอส (X2) ไซโลไตรโอส (X3) ไซโลเตตระโอส (X4) และไซโลเพนตะโอส (X5)	35
ภาพที่ 23	องค์ประกอบของส่วนใสจากการย่อยไซแลนซึ่งผ่านการสกัดด้วยการใช้ต่าง ด้วยเอนไซม์ไซลานเนส หยาบอัตราส่วน 1 : 2000 ยูนิตต่อกรัมขานอ้อย ที่ เวลา 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 และ 24 ชั่วโมง ด้วยเทคนิค TLC เปรียบเทียบกับสารละลายน้ำตาลมาตรฐานไซโลส (X1) ไซโลไบโอส (X2) ไซโลไตรโอส (X3) และไซโลเตตระโอส (X4)	36
ภาพที่ 24	องค์ประกอบของส่วนใสจากการย่อยไซแลนซึ่งผ่านการสกัดด้วยไซเดียมไฮ โปคลอไรด์ด้วยเอนไซม์ไซลานเนสหยาบอัตราส่วน 1 : 2000 ยูนิตต่อกรัม ขานอ้อย ที่เวลา 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 และ 24 ชั่วโมง ด้วยเทคนิค TLC เปรียบเทียบกับสารละลายน้ำตาลมาตรฐานไซโลส (X1) ไซโลไบโอส (X2) ไซโลไตรโอส (X3) และไซโลเตตระโอส (X4)	37
ภาพที่ 25	องค์ประกอบของส่วนใสจากการย่อยไซแลนซึ่งผ่านการสกัดด้วยวิธี Alkali extraction ด้วยเอนไซม์ ไซลานเนสหยาบอัตราส่วน 1 : 2000 ยูนิตต่อกรัม ขานอ้อย ที่เวลา 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 และ 24 ชั่วโมง ด้วยเทคนิค TLC เปรียบเทียบกับสารละลายน้ำตาลมาตรฐานไซโลส (X1) ไซโลไบโอส (X2) ไซโลไตรโอส (X3) และไซโลเตตระโอส (X4)	37
ภาพที่ 26	องค์ประกอบของส่วนใสการย่อยไซแลนซึ่งผ่านการสกัดด้วยวิธี Autohydrolysis แล้วด้วยเอนไซม์ ไซลานเนสหยาบอัตราส่วน 1 : 2000 ยู นิตต่อกรัมขานอ้อย ที่เวลา 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 และ 24 ชั่วโมง ด้วยเทคนิค TLC เปรียบเทียบกับสารละลายน้ำตาลมาตรฐานไซโลส (X1) ไซโลไบโอส (X2) ไซโลไตรโอส (X3) และไซโลเตตระโอส (X4)	38
ภาพที่ 27	ปริมาณน้ำตาลอนรีดิคซ์ของผลิตภัณฑ์จากการย่อยขานอ้อยด้วยเอนไซม์ ไซลานเนสหยาบ อัตราส่วน 50, 100, 200, 500, 1000 และ 2000 ยูนิตต่อ	40

	กรัมชานอ้อย	
ภาพที่ 28	ปริมาณน้ำตาลอนรีดิคซ์ของผลิตภัณฑ์จากการย่อยชานอ้อยด้วยเอนไซม์ ไซลเนสหยาบ อัตราส่วน 2 กรัม : 2000 ยูนิต, 3 กรัม : 3000 ยูนิต, 2 กรัม : 4000 ยูนิต, 3 กรัม : 6000 ยูนิต, 4 กรัม : 8000 ยูนิต และ 5 กรัม : 10000 ยูนิต	41
ภาพที่ 29	ปริมาณน้ำตาลอนรีดิคซ์ของผลิตภัณฑ์จากการย่อยไซแลนผ่านการสกัด โดยวิธีทางเคมีต่างๆ ด้วยเอนไซม์ไซลเนสหยาบ อัตราส่วน ชานอ้อย 1 กรัม : 2000 ยูนิต	42
ภาพที่ 30	ปริมาณไซโลไบโอส (X2) ในผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการย่อยชานอ้อย และไซ แลนจากการสกัดโดยวิธีทางเคมี ด้วยเอนไซม์ไซลเนสหยาบ	46
ภาพที่ 31	ปริมาณไซโลไตรโอส (X3) ในผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการย่อยชานอ้อย และไซ แลนจากการสกัดโดยวิธีทางเคมี ด้วยเอนไซม์ไซลเนสหยาบ	48
ภาพที่ 32	ปริมาณไซโลเตตระโอส (X4) ในผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการย่อยชานอ้อย และ ไซแลนจากการสกัดโดยวิธีทางเคมี ด้วยเอนไซม์ไซลเนสหยาบ	50

บทที่ 1 บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของโครงการ

อ้อยเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย โดยในปีการผลิต 2559/60 มีพื้นที่เพาะปลูกอ้อยทั่วประเทศในเขตพื้นที่สำรวจรวม 47 จังหวัด จำนวน 10,988,489 ไร่ แบ่งเป็นพื้นที่อ้อยส่งโรงงาน 9,864,668 ไร่ และพื้นที่ปลูกอ้อยทำพันธุ์ 1,123,821 ไร่ โดยมีพื้นที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากรัฐบาลผลักดันนโยบายบริหารพื้นที่เกษตรกรรมของพืช (Zoning) โดยเปลี่ยนพื้นที่ปลูกข้าวที่อยู่ในพื้นที่ไม่เหมาะสมไปสู่การปลูกอ้อยโรงงาน มัน-สำปะหลัง ปาล์มน้ำมัน และข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ เนื่องจากอ้อยสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ทุกส่วนเพื่อสร้างมูลค่าเพิ่มให้แก่อุตสาหกรรมที่ต่อเนื่องได้ นอกจากจะผลิตเป็นน้ำตาลทรายแล้ว ยังนำผลพลอยได้จากการผลิตไปเป็นวัตถุดิบผลิตเอทานอลเพื่อใช้เป็นพลังงานทดแทน และยังสามารถนำกากอ้อยไปเป็นเชื้อเพลิงผลิตกระแสไฟฟ้าหรือนำไปผลิตเป็นเยื่อกระดาษได้อีกด้วย (สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย, 2560) การปลูกอ้อยมีวัตถุประสงค์หลักเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมการผลิตน้ำตาลทราย ซึ่งประเทศไทยส่งออกน้ำตาลเป็นอันดับต้นๆ ของโลก ในปี พ.ศ.2557/58 สามารถผลิตน้ำตาลทรายได้ 7,797,077 ตัน จากโรงงานน้ำตาลทรายทั่วประเทศ 51 โรงงาน (สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย, 2558) การผลิตน้ำตาลทรายจากอ้อยก่อให้เกิดวัตถุดิบเหลือทิ้งทางการเกษตร ได้แก่ กากตะกอน (filter cakes) กากน้ำตาล (molasses) และชานอ้อย (bagasses) ในปริมาณมาก

ชานอ้อย คือ ส่วนของลำต้นอ้อยที่หีบเอาน้ำอ้อยออกแล้ว คิดเป็นปริมาณ 27.0-29.0% ของอ้อยที่เข้าหีบ (มิตรผล, 2554) ดังนั้นจากการผลิตน้ำตาลทรายจึงเหลือชานอ้อยจากการหีบในปริมาณหลายล้านตัน ต่อปี ในปัจจุบันได้มีการนำชานอ้อยไปใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ ได้แก่ ใช้เป็นเชื้อเพลิงสำหรับผลิตไอน้ำและกระแสไฟฟ้าภายในโรงงานผลิตน้ำตาลทราย ใช้ผลิตวัสดุก่อสร้าง ใช้ผลิตกระดาษ ใช้ทำปุ๋ยหมัก และใช้เป็นวัตถุดิบดินเพื่อรักษาความชื้นของดินและป้องกันวัชพืช (นิรนาม, ม.ป.ป.) ซึ่งการใช้ประโยชน์เหล่านี้มีมูลค่าต่ำ ทั้งยังคงเหลือชานอ้อยที่ไม่ได้ใช้ประโยชน์อีกเป็นจำนวนมาก จึงสมควรหาแนวทางการใช้ประโยชน์จากชานอ้อยในด้านอื่นๆ ที่ก่อให้เกิดมูลค่าเพิ่มขึ้นจากวัตถุดิบเหลือทิ้งทางการเกษตรที่มีมูลค่าต่ำนี้ ดังเช่น การสกัดแยกไซแลนซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของเฮมิเซลลูโลส (Hemicellulose) ในชานอ้อยออกมา แล้วจึงใช้เอนไซม์ไซแลเนส (Xylanase) ย่อยไซแลน (Xylan) ที่สกัดแยกได้นี้ให้เปลี่ยนเป็นไซลโอลิโกแซคคาไรด์ (Xylooligosaccharide, XOS) ที่มีมูลค่าเพิ่มสูงขึ้นเนื่องจากมีฤทธิ์ทางชีวภาพ สามารถประยุกต์ใช้เพื่อการอุปโภคและบริโภคได้ (Bian *et al*, 2013)

โดยเฉพาะอย่างยิ่งใช้เป็นส่วนผสมที่สำคัญในอุตสาหกรรมยาและเวชภัณฑ์ โดยนำไปใช้เป็นสารผสมสำหรับสารนำส่งยา (drug delivery) สารมีฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์ (antimicrobial agents) และสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants) เป็นต้น นอกจากนี้ยังสามารถใช้เป็นสารให้ความหวาน (Sweetener) และพรีไบโอติก (Prebiotics) สำหรับส่งเสริมการมีสุขภาพที่ดีของร่างกายของมนุษย์และสัตว์ ฯลฯ ได้อีกด้วย

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

- 1) เพื่อสร้างมูลค่าเพิ่มแก่ขานอ้อยโดยการผลิตไซโลโอลิโกแซคคาไรด์จากขานอ้อยด้วยวิธีการทางเทคโนโลยีชีวภาพ
- 2) เพื่อศึกษากระบวนการสำหรับผลิตไซโลโอลิโกแซคคาไรด์จากขานอ้อยด้วยวิธีการทางเทคโนโลยีชีวภาพ
- 3) เพื่อศึกษาสมบัติของไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ซึ่งผลิตได้จากไซแลนจากขานอ้อย

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

โครงการวิจัย “การศึกษาระบวนการผลิตไซโลโอลิโกแซคคาไรด์จากขานอ้อย” นี้จะเริ่มต้นจากการศึกษาหากระบวนการสกัดแยกไซแลน (Xylan) จากขานอ้อยด้วยวิธีการต่างๆ เพื่อจะเลือกใช้วิธีการซึ่งมีประสิทธิภาพในการสกัดแยกไซแลนจากขานอ้อย ง่ายและสะดวกต่อการทำให้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายบริสุทธิ์ และมีต้นทุนของการสกัดแยกต่ำ แล้วจึงศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการย่อยไซแลนด้วยเอนไซม์ไซแลนาส (Xylanase) ซึ่งผลิตจากจุลินทรีย์ภายในประเทศไทย เพื่อเปลี่ยนไซแลนเป็นไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ (Xylo-oligosaccharide, XOS) ซึ่งสามารถจะใช้ประโยชน์ด้านต่างๆ เช่น สารต้านอนุมูลอิสระ ส่วนผสมสำหรับการผลิตยา สารให้ความหวานและพรีไบโอติก ฯลฯ และจะศึกษาสมบัติและขนาดของไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ซึ่งผลิตได้

1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

- 1) สร้างมูลค่าเพิ่มให้แก่ขานอ้อยของโรงงานน้ำตาลทราย ซึ่งจะช่วยสร้างรายได้เพิ่มจำนวนมากให้แก่โรงงานน้ำตาล
- 2) สร้างองค์ความรู้เกี่ยวกับกระบวนการผลิตและการทำบริสุทธิ์ของไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ ซึ่งสามารถใช้ประโยชน์ด้านต่างๆ ได้ เช่น สารต้านอนุมูลอิสระ ส่วนผสมสำหรับการผลิตยา สารให้

ความหวานและฟรีโบโอติกการสร้างมูลค่าเพิ่มให้แก่ خانอ้อยของโรงงานน้ำตาลทราย ซึ่งจะช่วยสร้างรายได้เพิ่มให้แก่โรงงานน้ำตาลทราย

- 3) ส่งเสริมการมีสุขภาพที่ดีของมนุษย์และสัตว์อันเนื่องจากการใช้ประโยชน์ไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ในรูปของสารต้านอนุมูลอิสระ ส่วนผสมสำหรับการผลิตยา สารให้ความหวานและฟรีโบโอติก
- 4) พัฒนานักวิจัยรุ่นใหม่ซึ่งมีความรู้ ความชำนาญ และทักษะ ด้านการทำวิจัย จำนวน 1 คน
- 5) ผลงานวิจัยตีพิมพ์/นำเสนอในการประชุมวิชาการระดับนานาชาติ 1 เรื่อง

บทที่ 2 ทบทวนเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

อ้อยและขานอ้อย

อ้อยเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย เนื้อที่ปลูกอ้อยทั่วประเทศในปี พ.ศ.2559/60 มีทั้งหมด 10,988,489 ไร่ (สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย, 2560) การปลูกอ้อยมีวัตถุประสงค์หลักเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมการผลิตน้ำตาลทราย ซึ่งประเทศไทยส่งออกน้ำตาลเป็นอันดับต้นๆ ของโลก ในปี พ.ศ. 2557/58 สามารถผลิตน้ำตาลทรายได้ 7,797,077 ตัน จากโรงงานน้ำตาลทรายทั่วประเทศ 51 โรง (สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย, 2558) การผลิตน้ำตาลทรายจากอ้อยก่อให้เกิดวัตถุดิบเหลือทิ้งทางการเกษตร ได้แก่ กากตะกอน (filter cakes) กากน้ำตาล (molasses) และขานอ้อย (bagasses) ในปริมาณมาก

ขานอ้อย คือ ส่วนของลำต้นอ้อยที่หีบเอาน้ำอ้อยออกแล้ว คิดเป็นปริมาณ 27.0-29.0% ของอ้อยที่เข้าหีบ (มิตรผล, 2554) ดังนั้นจากการผลิตน้ำตาลทรายจึงเหลือขานอ้อยจากการหีบในปริมาณหลายล้านตันต่อปี ใน ปัจจุบันได้มีการนำขานอ้อยไปใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ ได้แก่ ใช้เป็นเชื้อเพลิงสำหรับผลิตไอน้ำและกระแสไฟฟ้าภายในโรงงานผลิตน้ำตาลทราย ใช้ผลิตวัสดุก่อสร้าง ใช้ผลิตกระดาษ ใช้ทำปุ๋ยหมัก และใช้เป็นวัตถุดิบเพื่อรักษาความชื้นของดินและป้องกันวัชพืช (นิรนาม, ม.ป.ป.) ซึ่งการใช้ประโยชน์เหล่านี้มีมูลค่าต่ำ ทั้งยังคงเหลือขานอ้อยที่ไม่ได้ใช้ประโยชน์อีกเป็นจำนวนมาก จึงสมควรหาแนวทางการใช้ประโยชน์จากขานอ้อยในด้านอื่นๆ ที่ก่อให้เกิดมูลค่าเพิ่มขึ้นจากวัตถุดิบเหลือทิ้งทางการเกษตรที่มีมูลค่าต่ำ

ขานอ้อยประกอบด้วยเซลลูโลสประมาณ 50% และเฮมิเซลลูโลสและลิกนินอีกชนิดละประมาณ 25% องค์ประกอบทางเคมีของขานอ้อยจะประกอบด้วย α -cellulose ประมาณ 50% pentosan ประมาณ 30% และเถ้าประมาณ 2.4% เนื่องจากขานอ้อยมีเถ้าเป็นองค์ประกอบต่ำ ดังนั้นขานอ้อยจึงมีข้อได้เปรียบมากมายสำหรับการใช้งานในกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางชีวภาพ (bioconversion process) โดยการเลี้ยงจุลินทรีย์เมื่อเปรียบเทียบกับวัสดุทางการเกษตรชนิดอื่นๆ เช่น ฟางข้าว และฟางข้าวสาลี ซึ่งมีปริมาณเถ้า 17.5% และ 11.0% ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบกับวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรอื่นๆ แล้ว สามารถจะพิจารณาได้ว่าขานอ้อยเป็นแหล่งสะสมพลังงานแสงอาทิตย์ที่มีอยู่มากมายเนื่องจากมีอัตราผลผลิตที่สูง (ประมาณ 80 t/ha) เมื่อเทียบกับ 1, 2 และ 20 t/ha สำหรับข้าวสาลี หน่อชนิดอื่นๆ และต้นไม้ ตามลำดับ) และมีปริมาณการปลูกขึ้นใหม่ในแต่ละปีสูงมาก (Pandey *et*

al, 2000) ดังนั้นขานอ้อยจึงเป็นแหล่งวัตถุดิบปริมาณมหาศาลสำหรับใช้เป็นส่วนผสมสำหรับกระบวนการเปลี่ยนให้เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าสูงขึ้นได้ เช่น การผลิตไบโอเอทานอล การผลิตเอนไซม์ ฯลฯ

อย่างไรก็ตาม การผลิตเอทานอลจากขานอ้อยจำเป็นจะต้องนำขานอ้อยไปผ่านกระบวนการย่อยสลาย (Hydrolysis) ซึ่งจะต้องใช้เอนไซม์เซลลูเลสในปริมาณสูงมากสำหรับกระบวนการย่อยสลายขานอ้อยให้เปลี่ยนเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวหรือกระบวนการ Saccharification โดยในปัจจุบันนี้กระบวนการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสยังมีค่าใช้จ่ายค่อนข้างสูงและไม่คุ้มค่าทางเศรษฐกิจ (Pandey *et al*, 2000)

ส่วนของ hemicelluloses ของขานอ้อยจะไม่ถูกใช้ในการผลิตไอน้ำและกระแสไฟฟ้า ดังนั้นถ้ามันถูกย่อยสลายเพียงบางส่วนหรือทั้งหมดก็สามารถจะเป็นสับสเตรทที่ดีสำหรับการเลี้ยงจุลินทรีย์ได้ hemicellulosic hydrolysate จะประกอบด้วยองค์ประกอบหลักดังต่อไปนี้คือ xylose, glucose, mannose, arabinose, galactose และน้ำตาลชนิดอื่นๆ ในปริมาณเล็กน้อย องค์ประกอบของ pentosan ใน hemicelluloses จะประกอบด้วยน้ำตาล D-xylose เป็นหลัก และมี arabinose ในปริมาณเล็กน้อย (Pandey *et al*, 2000)

Bagasse hemicellulolytic hydrolysate จะถูกใช้งานสำหรับการผลิตเอนไซม์ โปรตีนเซลล์เดี่ยว (Single Cell Protein) เอทานอล น้ำตาลไซลิทอล ฯลฯ (Chin *et al*, 1991; Meyer *et al*, 1992; Roberto *et al*, 1991a, b; Katzen and Fowler, 1994; Purchase, 1995; Felipe *et al*, 1997a, b; Pessoa *et al*, 1996, 1997; Dominguez *et al*, 1996; Sene *et al*, 1998) และยังมีการศึกษาเกี่ยวกับการผลิตเอทานอลจากไฮโดรไลเสทของขานอ้อย (bagasse hydrolysate) กันอย่างกว้างขวาง

การกำจัด Hemicellulose และ Lignin ด้วยน้ำร้อน

Saksit Imman, Navadol Laosiripojana และ Verawat Champreda (2017) รายงานเกี่ยวกับผลของการใช้น้ำร้อนต่อการกำจัด Hemicellulose และ Lignin จากซึ่งข้าวโพดที่สภาวะต่างๆ ว่าการพรีทรีทเมนต์ด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 160 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ส่งเสริมการละลายของ Hemicellulose ลงในเฟลของเหลวได้ในระดับสูงสุด ส่งผลให้ได้ผลผลิตของน้ำตาลเพนโตสสูงสุดที่ 58.8% ในของเหลว และมากกว่า 60% ของ Lignin ถูกกำจัดออกจากของแข็ง และสามารถเก็บรวบรวม 73.1% ของน้ำตาลกลูโคสจากชีวมวลซึ่งผ่านการพรีทรีทเมนต์ด้วยการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ 10 FPU/g Celluclast และเมื่อรวมกับน้ำตาลในเฟลของเหลวและการย่อยสลายของแข็งแล้วพบว่าสภาวะนี้ทำให้

สามารถเก็บรวบรวมน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลเพนโทสได้สูงสุดที่ 81.9% และ 71.2% ตามลำดับ ผลของการส่องกราดด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนทำให้ทราบว่าการแตกหักเสียหายของชีวมวลช่วยเพิ่มการเข้าถึง cellulose microfiber ของเอนไซม์ ซึ่งแสดงด้วยค่า Crystallinity index ที่เพิ่มสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับชีวมวลเดิมซึ่งแสดงด้วย x-ray diffraction ที่พบการเพิ่มขึ้นอย่างมากของพื้นที่ผิวด้วยการวัดค่า BET

การสกัดไซแลน

การสกัดไซแลนจากวัตถุดิบสามารถทำได้หลายวิธี อย่างไรก็ตามการใช้สารละลายต่างจะมีข้อดีคือ จะช่วยกำจัดลิกนินที่มีในวัตถุดิบออกไปได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Carvalho *et al*, 2016; Yoon *et al*, 2006) อีกทั้งทำให้วัตถุดิบพองตัวจึงเพิ่มพื้นที่ภายในให้สารเคมีเข้าทำปฏิกิริยาได้ง่าย ทั้งนี้สารละลายต่างทำให้เกิดการแตกหักของพอลิเมอร์ที่เป็นโครงสร้างของพืช ได้แก่ เซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส จึงส่งผลต่อการหลุดออกของลิกนิน ดังนั้นไซแลนจึงถูกปลดปล่อยออกมาอยู่ในสารละลายเพิ่มขึ้นได้ (Punnapayak and Prasongsuk, 2015)

Yanwisetpakdee *et al.* (2016) รายงานว่าใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1.25 โมลาร์ สกัดไซแลนจากต้นรูปยาสูบภายใต้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง สามารถสกัดไซแลนได้ 92 มิลลิกรัมต่อกรัมต้นรูปยาสูบ หรือเท่ากับ 24.45 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของเฮมิเซลลูโลสที่มีอยู่ในต้นรูปยาสูบ (Ruangmee and Sangwichien, 2013) และมีรายงานว่า การสกัดไซแลนจากซังข้าวโพดโดยใช้กรดร่วมกับความร้อนสามารถผลิตไซแลนได้ 178 มิลลิกรัมต่อกรัมซังข้าวโพด (Chapla *et al*, 2012) แม้การสกัดด้วยกรดร่วมกับความร้อนจะให้ปริมาณไซแลนมากกว่า แต่วิธีการนี้มีหลายขั้นตอนซึ่งใช้ระยะเวลานาน และต้องการอุปกรณ์หลายอย่าง ได้แก่ เครื่องไมโครเวฟที่ควบคุมความยาวคลื่น และหม้อนึ่งความดัน เป็นต้น ดังนั้นการสกัดด้วยด่างซึ่งไม่ยุ่งยากและใช้ระยะเวลาสั้นกว่าจึงเหมาะสมกว่าในเชิงเศรษฐกิจ

อนุพันธ์น้ำตาลไซโลโอลิโกแซคคาไรด์

ซานอ้อยเป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรซึ่งมีเฮมิเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบประมาณร้อยละ 44.5 (Luciana *et al*, 2006) โดยเฮมิเซลลูโลสมีไซแลนเป็นองค์ประกอบหลัก ดังนั้นเมื่อย่อยไซแลนที่เป็นองค์ประกอบในซานอ้อยจะได้ผลิตภัณฑ์เป็นอนุพันธ์น้ำตาลไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีมูลค่า ในแต่ละปีซานอ้อยจากกระบวนการผลิตน้ำตาลในประเทศไทยมีเหลือในปริมาณสูงมาก ดังนั้นซานอ้อยจึงมีศักยภาพสูงในการใช้ผลิตน้ำตาลไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ (Xylo-oligosaccharide, XOS)

อนุพันธ์น้ำตาลไซโลโอลิโกแซคคาไรด์จะประกอบด้วยหน่วยย่อยคือ น้ำตาลไซโลส (xylose) ประมาณ 2 ถึง 7 โมเลกุล โดยอาจจะมีหมู่แทนที่คือ D-glucuronic acid หรือ L-arabinose (Yuan *et al*, 2004) อนุพันธ์ของน้ำตาลไซโลโอลิโกแซคคาไรด์มีคุณสมบัติที่มีประโยชน์ เช่น คุณสมบัติในการต่อต้านแบคทีเรียแกรมบวกและ *Helicobacter pylori* ต่อต้านการแพ้ ลดการเกิดคราบแบคทีเรียบน

ผิวฟัน (plaque) (Moure *et al*, 2006) คุณสมบัติเป็นพรีไบโอติก (prebiotic) โดยสามารถกระตุ้นการเจริญของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ (probiotics) ซึ่งอาศัยอยู่ในลำไส้ของมนุษย์และสัตว์ เช่น *Lactobacilli* และ *Bifidobacteria* เป็นต้น (Mussatto and Mancilha, 2007; Jaskari *et al*, 1998) ดังนั้นจึงนิยมนำอนุพันธ์ของน้ำตาลไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ไปประยุกต์ใช้เป็นส่วนประกอบของอาหาร รวมถึงการนำไปใช้เป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์ในอุตสาหกรรมทางเภสัชกรรมและเครื่องสำอาง

การผลิตอนุพันธ์ของน้ำตาลไซโลโอลิโกแซคคาไรด์สามารถผลิตได้ด้วยจุลินทรีย์และวิธีการทางเอนไซม์ ซึ่งมีข้อดีคือ ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีความบริสุทธิ์มากกว่าการผลิตด้วยวิธีการทางเคมี เนื่องจากไซลาโนโลติกเอนไซม์มีความไวและความจำเพาะต่อไซแลนมากกว่าวิธีการอื่นๆ (Tan *et al*, 2008)

การผลิต Xylo-oligosaccharide (XOS) ด้วยวิธีการทางชีวภาพโดยใช้เอนไซม์ได้รับความนิยมสูงเนื่องจากมีข้อดีหลายประการ ได้แก่ ปฏิกริยาที่เกิดขึ้นมีความจำเพาะทำให้เกิดผลิตภัณฑ์ข้างเคียงที่ไม่เป็นที่ต้องการต่ำ ไม่ก่อให้เกิดสารพิษตกค้างจึงเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม วิธีการผลิตไม่ยุ่งยาก และยังเก็บเกี่ยวผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นได้ง่ายอีกด้วย (Liu *et al*, 2015) เมื่อคำนึงถึงปัจจัยทางเศรษฐกิจในการผลิต XOS การใช้ crude enzyme ที่ผลิตจากจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ภายในประเทศไทยจัดเป็นทางเลือกที่น่าสนใจในทางปฏิบัติมากกว่าการใช้เอนไซม์ทางการค้าที่มีความบริสุทธิ์สูงแต่มีราคาแพง

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด Xylo-oligosaccharide (XOS)

สารต้านอนุมูลอิสระกำลังได้รับความนิยมอย่างมากในปัจจุบัน เนื่องจากส่งผลต่อสุขภาพของมนุษย์โดยมีการนำไปประยุกต์ใช้เพื่อผลิตเป็นยาแก้แสบ ยาต้านทานการแข็งตัวของหลอดเลือดและหัวใจ รวมถึงมีสมบัติในการต้านมะเร็งได้อีกด้วย (Veenashir and Muralikrishna, 2011)

มีรายงานว่าเมื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ XOS ที่ผลิตได้จากต้นอ้อ (*Arundo donax* L.) เมื่อใช้ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมแสดงการยับยั้ง 45 เปอร์เซ็นต์ แต่ XOS ที่ผ่านการทำบริสุทธิ์ไม่แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอย่างมีนัยสำคัญ (Lama *et al*, 2014) ในขณะที่ XOS ที่ผลิตจากต้นธูปฤาษีแสดงการยับยั้งสูงกว่า ซึ่งการตรวจสอบด้วยวิธี DPPH มีความไวต่อสารอนุมูลอิสระแม้ใช้ในปริมาณน้อย อีกทั้งยังให้ผลทดสอบในระยะเวลานานจึงเป็นที่นิยมสำหรับการตรวจสอบสารต้านอนุมูลอิสระชนิดใหม่ๆ (Kulisica *et al*, 2004) และมีรายงานว่า XOS ที่ผลิตจากข้าวสาลีมีค่าอนุมูลอิสระเปอร์ออกซิลสูงกว่าที่พบในซังข้าวโพด โดยค่าที่ได้เท่ากับ 2300.5 ± 190.5 และ 400.6 ± 170.9 ไมโครโมลโทรลออกซ์ต่อลิตร

สำหรับข้าวสาลีและข้าวโพดตามลำดับ (Mandelli *et al*, 2014) ซึ่งอนุพันธ์ที่เกิดจากโครงสร้างดังกล่าว เช่น กรดเพรูลิกและกรดยูโรนิก แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในระดับสูงด้วยเหตุนี้ เพื่อให้ได้ XOS ที่ยังคงสัดส่วนของกรดยูโรนิกในองค์ประกอบและสามารถแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ รวมถึงกำจัดสารอื่นๆ ที่ไม่ใช่แซคคาไรด์ที่ต้องการออกไป จึงเลือกใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ทำให้ได้ XOS ที่มีความบริสุทธิ์สูงขึ้นและมีปริมาณยูโรนิกสูง แม้ปริมาณการนำกลับคืนสารจะต่ำกว่าการใช้สารละลายอื่นๆ (Bian *et al*, 2013; Veenashri and Muralikrishna, 2011; Kallel *et al*, 2014)

เอนไซม์ย่อยสลายไซแลน (Xylan-degrading enzymes)

เอนไซม์ย่อยสลายไซแลน (Xylan-degrading enzymes) เป็นเอนไซม์ที่สามารถนำไปใช้ในอุตสาหกรรมหลายชนิด (Wong and Saddler, 1992) เช่น การใช้เพื่อฟอกขาวในกระบวนการผลิตเยื่อกระดาษ การลดความหนืดของอาหารสัตว์ และการย่อยสลายไซแลนให้เป็นน้ำตาล Xylo-oligosaccharides และ Xylose เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร และเป็นวัตถุดิบในกระบวนการหมัก เป็นต้น

เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยโครงสร้างหลักของไซแลน ได้แก่ เอนโดเบต้าไซลานเนส (endo- β -xylanase) และเบต้าไซโลซิเดส (β -xylosidase) และเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อยไซด้านข้าง ได้แก่ แอลฟาไกลูคูโรนิเดส (α -glucuronidase) อะซิทิลไซแลนเอสเทอเรส (acetyl xylan esterase) แอลฟาอะราบินอฟูราโนซิเดส (α -arabinofuranosidase) และฟีนอลิกแอซิดเอสเทอเรส (phenolic acid esterase) โดยเอนไซม์ทั้งสองกลุ่มทำงานร่วมกันในการเปลี่ยนไซแลนให้เป็นน้ำตาลไซโลส (Sunna and Antranikian, 1997) (ภาพที่ 1)

เอนไซม์ย่อยโครงสร้างหลักของไซแลน

เอนไซม์ที่ย่อยไซแลนจัดอยู่ในกลุ่ม Glycosyl hydrolase โดยย่อยไซแลนที่ตำแหน่งพันธะบีตา 1,4 ไกลโคซิดิกของไซโลไพราโนไซด์ของอะราบินโนไซแลน อะราบินโน 4-O-เมทิลกลูคูโรโนไซแลน และกลูคูโรโนไซแลน เอนไซม์ที่ย่อยโมเลกุลหลักไซแลนแบ่งออกเป็น 2 ชนิดคือ

- 1) Endo β -1, 4-xylan xylohydrolase หรือ β -xylanase (EC 3.2.1.8)

ทำหน้าที่ย่อยพันธะเบต้า 1,4-ไซโลซิดิกของโครงสร้างหลักไซแลนแบบสุ่ม (ภาพที่ 1) ให้ได้เป็นน้ำตาลโมเลกุล Xylo-oligosaccharide ที่มีขนาดต่างกัน

2) Exo β -1,4-xylan xylohydrolase หรือ β -xylosidase (EC 3.2.1.37)

ทำหน้าที่ย่อยโมเลกุลของ Xylo-oligosaccharides ซึ่งเกิดจากการย่อยไซแลนด้วย เอนไซม์ไซลาเนสโดยเอนไซม์จะย่อยโมเลกุล Xylo-oligosaccharides ของน้ำตาล ไซโลสจากปลาย non-reducing ที่ละโมเลกุลได้ผลิตภัณฑ์เป็นน้ำตาลไซโลส (ภาพที่ 1)

เอนไซม์ย่อยกิ่งก้านของไซแลน

ทำหน้าที่ย่อยโซ่ด้านข้างของโมเลกุลไซแลน ทำให้การย่อยโมเลกุลไซแลนสมบูรณ์

1) เอนไซม์ α -Arabinofuranosidase

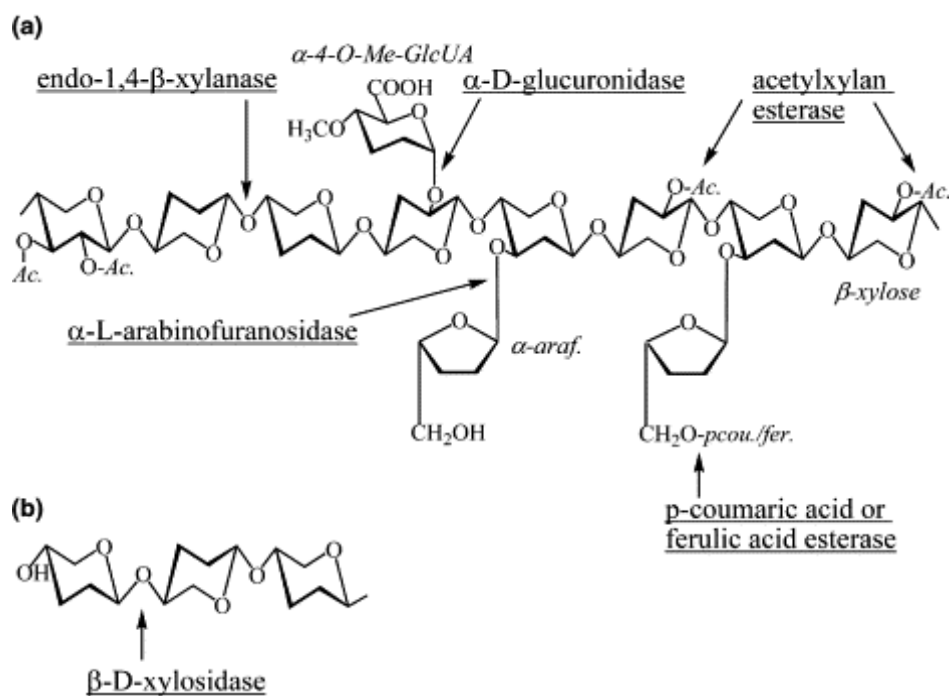
เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อย 1,3- α -arabinofuranoxylan ตรงตำแหน่งที่เชื่อมต่อระหว่างโมเลกุลของไซโลสและอะราบินอส

2) เอนไซม์ α -Glucuronidase

เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อย 1,2- α -glucuronoxylan และ 4-O-methyl-D-glucuronic acid ตรงตำแหน่งที่เชื่อมต่อระหว่างโมเลกุลของไซโลสและกรดกลูคูโรนิก โดยกิจกรรมของแอลฟากลูคูโรนิดเอสตรวจพบในเชื้อราและแบคทีเรีย

3) เอนไซม์ Acetyl esterase หรือ acetyl xylan esterase

เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อย 1, 2-acetyl group ตรงตำแหน่งที่เชื่อมต่อระหว่างโมเลกุลของไซโลสและหมู่อะซิทิล



ภาพที่ 1 ตำแหน่งที่เอนไซม์เข้าย่อยพันธะในโครงสร้างไซแลน เอนไซม์ที่ย่อยโครงสร้างหลักของไซแลนแบบสุ่มและเอนไซม์ที่ย่อยโซ่ด้านข้างของไซแลน(A) เอนไซม์ที่ย่อยที่ตำแหน่งปลายโมเลกุลของโครงสร้างหลักของไซแลน (B)

ที่มา : Collins *et al.* (2005)

พรีไบโอติกส์ (Prebiotics)

การรับประทานจุลินทรีย์พรีไบโอติก ไม่ได้ยืนยันว่าจุลินทรีย์เหล่านั้นจะสามารถเจริญในลำไส้ได้ โดยเฉพาะในลำไส้ใหญ่ เนื่องจากอาหารบางประเภทส่วนใหญ่จะถูกย่อยและดูดซึมบริเวณกระเพาะอาหารและลำไส้เล็ก ส่วนบริเวณลำไส้ใหญ่จะมีการดูดซึมน้ำและแร่ธาตุเท่านั้น ดังนั้นจุลินทรีย์ที่ดีในบริเวณลำไส้ใหญ่จึงขาดอาหาร และไม่สามารถเจริญเติบโตได้ จึงได้มีการคิดค้นอาหารสำหรับจุลินทรีย์ที่ดีเหล่านั้นเป็นใยอาหารที่ร่างกายไม่สามารถย่อยได้ในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็ก จึงสามารถส่งผ่านเพื่อเป็นอาหารแก่จุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในลำไส้ใหญ่ได้ ซึ่งอาหารของจุลินทรีย์ที่ดี เรียกว่า พรีไบโอติก (prebiotic)

พรีไบโอติก คือ เส้นใยอาหารที่ไม่สามารถย่อยได้ในกระเพาะอาหาร สามารถถูกดูดซึมในทางเดินอาหารส่วนบน ส่งผลในการส่งเสริมสุขภาพของผู้ที่รับประทาน โดยมีผลในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในร่างกายและผลิตสารยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค (Fooks *et al.*, 1999) ดังนั้นสารอาหารที่จัดเป็นพรีไบโอติกจะต้องเป็นสารที่ไม่ย่อยหรือดูดซึมในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็ก และมีบทบาทในการกระตุ้นและส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่ม *Bifidobacterium* และ *Lactobacillus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียกลุ่มที่มีประโยชน์ต่อร่างกายได้และสามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคพวก *Clostridium*, *Proteolytic bacteria* และ *Escherichia coli* (*E. coli*) ในลำไส้ โดยสารอาหารดังกล่าวจะถูกใช้เป็นสารตั้งต้นในการหมักโดยแบคทีเรียดีในลำไส้ใหญ่ได้แก่ resistance starch (RS), Non-starch polysaccharide (NSP) ทั้งนี้รวมไปถึงสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ที่ได้จากพืช เช่น แป้งดิน เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และไซลเลน นอกจากนี้ยังมีกลุ่มของโอลิโกแซคคาไรด์ เช่น แลคโตส ฟรุคโตสโอลิโกแซคคาไรด์ สาร mucin glycoprotein ซึ่งผลิตโดย goblet cell ใน ลำไส้ใหญ่สามารถใช้เป็นสารตั้งต้นในการหมัก โดยแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ใช้ได้เช่นกัน สารอาหารกลุ่มนี้ประกอบด้วยน้ำตาลโมโนแซคคาไรด์ที่เชื่อมกันโดยพันธะไกลโคซิดิก (glycosidic linkage) โดยพรีไบโอติกแต่ละชนิดสามารถสร้างเอนไซม์ที่แตกต่างกันซึ่งเอนไซม์ดังกล่าวมีความสามารถในการตัดพันธะของโมโนแซคคาไรด์ที่แตกต่างกัน เช่น ความสามารถของ *Bifidobacterium* ที่สร้างเอนไซม์ β -fructofuranosidase เพื่อย่อย fructo-oligosaccharide เป็นต้น ในขณะที่พรีไบโอติกซึ่งมีขนาดใหญ่และน้ำหนักโมเลกุลสูงจะสามารถถูกนำไปใช้โดยแบคทีเรียได้น้อยลงหรืออาจกล่าวได้ว่าพรีไบโอติกที่ดีควรมีขนาดเล็กแต่ในขณะเดียวกันควรมี Degree of polymerization มากกว่า 1 (Manning and Gibson, 2004)

สารพรีไบโอติกดังกล่าวสามารถพบได้ในผักและผลไม้หรืออาจจะได้จากการสังเคราะห์โดยการย่อยสารในกลุ่มโพลีแซคคาไรด์หรือการสังเคราะห์โดยใช้เอนไซม์ ซึ่งชนิดและโครงสร้างของพรีไบโอติกที่มีการใช้ในปัจจุบันได้แสดงไว้ในตารางที่ 1 สารพรีไบโอติกสามารถพบได้ในพืชผักต่าง ๆ เช่น พืชตระกูลหอม กระเทียม หน่อไม้ฝรั่ง ถั่ว และในธัญพืชต่าง ๆ สารพรีไบโอติกมักเป็นสารอาหารกลุ่มคาร์โบไฮเดรต เช่น Oligosaccharides, resistant starch, หรือไม่ใช่กลุ่มคาร์โบไฮเดรต (Non-starch polysaccharide, NSP) เช่น ไคโตแซน และเส้นใยอาหาร ทั้งนี้รวมไปถึงสารที่ได้จากพืช เช่น แป้งดิน เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และไซลเลนซึ่งไม่ถูกย่อย และถูกดูดซึมโดยร่างกายของมนุษย์ และเหลือเป็นสารอาหารให้กับจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในลำไส้ใหญ่ใช้ในการเจริญเติบโต และส่งเสริมสุขภาพของมนุษย์ให้ดีขึ้น (ตารางที่ 1) เช่น ผลิตวิตามิน (บี1, บี2) เพิ่มการดูดซึมแร่ธาตุ (แคลเซียม, แมกนีเซียม) ลด

การติดเชื้อในทางเดินอาหาร ลดการดูดซึมคอเลสเตอรอลในเลือด ป้องกันการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่ ช่วยลดอาการท้องผูก ท้องเสีย และผลิตกรดไขมันสายสั้น (short chain fatty acid) เช่น อะซิเตท บิวไทเรท และโพรพิโอเนท (Gibson *et al.*, 1994; Chonan *et al.*, 1995) ซึ่งกรดไขมันเหล่านี้จะถูกนำไปใช้โดยเซลล์ต่าง ๆ ภายในร่างกาย และมีผลในการป้องกันการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่ โดยบิวไทเรทมีผลไปกระตุ้นการเกิด apoptosis ในเซลล์ลำไส้ใหญ่จึงช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดโรคมะเร็งในลำไส้ใหญ่ (Hughes and Rowland, 2001) และนอกจากนี้ mucine glycoprotein ซึ่งผลิตโดย goblet cell ในลำไส้ใหญ่ และโคโคแซนโอลิโกแซคคาไรด์ (COS) แบคทีเรียโปรไบโอติกสามารถใช้เป็นสารตั้งต้นในการหมักได้เช่นกัน โดยจากการศึกษาพบว่า COS ช่วยกระตุ้นการเจริญของ *Bifidobacterium bifidum* KCTC 3440, *Bifidobacterium infantis* KCTC 3249 และ *Lactobacillus* sp. ได้ (Lee *et al.*, 2002)

งานวิจัยเกี่ยวกับการใช้ไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ (XOS) และฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (FOS) เพื่อเป็นอาหารเสริมโดยทำการทดลองในหนูทดลอง พบว่า โอลิโกแซคคาไรด์ทั้งสองชนิดมีผลต่อการเจริญของแบคทีเรีย *bifidobacteria* ที่เป็นแบคทีเรียดี มีหน้าที่รักษาสสมดุลทางเดินอาหารของมนุษย์ โดยมีผลกระตุ้นการเจริญของแบคทีเรียดังกล่าว นอกจากนี้ยังพบว่า ไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ (XOS) ส่งผลดีต่อการเจริญของแบคทีเรีย *bifidobacteria* มากกว่าฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (FOS) (Hsu *et al.*, 2004)

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีของสารพรีไบโอติก

Oligosaccharide	Chemical composition
Fructo-oligosaccharides (Raftilose P95)	95% oligosaccharides β , (2-1) fructan; 60% glucose, fructose _(a) , 40% fructose _(a) dp 2-8, average 4-5
Inulin	>99% oligosaccharides β , (2-1) fructan; average dp 10-12
Oligosaccharide	Chemical composition
Pyrodextrins	Complex mixture of glucose-containing oligosaccharides
Transgalactosylated oligosaccharides (Oligomate 55)	55% Mainly 6' galactosyllactose, dp of oligosaccharide fraction 2-5 (primarily dp 3)
Galacto-oligosaccharides	85% Oligogalactose, small amounts of glucose, galactose, and lactose
Soy- oligosaccharides	Stachyose (fructose, galactose, galactose, glucose) and raffinose (fructose, galactose, glucose), dp 3-4
Xylo-oligosaccharides	β , (1-4) linked xylose; 70% pure, dp of oligosaccharide fraction 2-4
Isomalto-oligosaccharides	Mixture of α , (1-6) linked glucose oligomers (isomaltose, panose, isomaltotriose)
Lactulose	Galactose and fructose-containing disaccharide
Pectic-oligosaccharide	75% D-galacturonic acid, (1 $\rightarrow$ 4) -linked -D-galacturonic acid

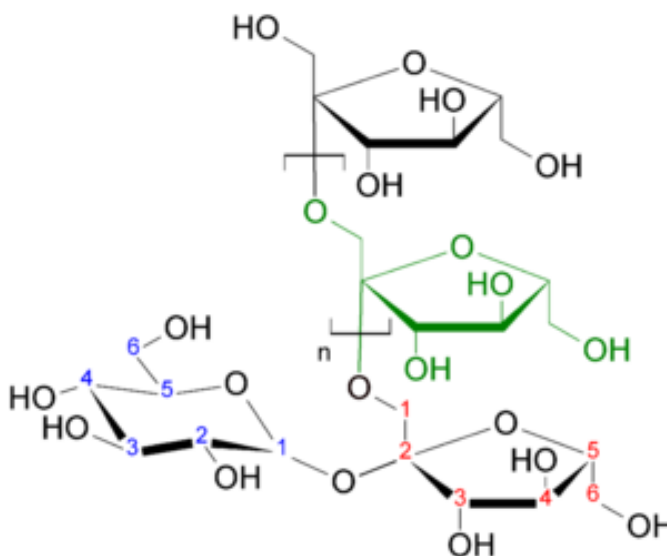
DP= degree of polymerization

ที่มา: George *et al* (1999)

ชนิดของพรีไบโอติกส์

1. อินูลิน (inulin)

อินูลิน (inulin) คือ คาร์โบไฮเดรต (Li et al.) ประเภทพอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharide) จัดเป็นเส้นใยอาหาร (dietary fiber) ประเภทที่ละลายได้ในน้ำ (soluble fiber) ซึ่งร่างกายไม่สามารถย่อยได้ในระบบทางเดินอาหารและไม่ให้พลังงาน แต่ถูกย่อยได้ด้วยแบคทีเรียที่อยู่ในลำไส้ใหญ่ มีสมบัติเป็นพรีไบโอติกซึ่งมีประโยชน์ต่อสุขภาพ โมเลกุลของอินูลินเป็นเฮเทอโรพอลิแซ็กคาไรด์ (heteropolysaccharide) กล่าวคือ มีโมเลกุลของน้ำตาลมากกว่า 1 ชนิดมาเชื่อมต่อกัน โดยเป็นพอลิเมอร์ของน้ำตาลฟรุกโทส (fructose) 10-60 โมเลกุล จึงอาจเรียกว่า ฟรุกแทน (fructans) แต่มีโมเลกุลที่ปลายสุดด้านหนึ่งเป็นน้ำตาลกลูโคส



ภาพที่ 2 โครงสร้างของอินูลิน

ที่มา : <http://www.vencure.com>

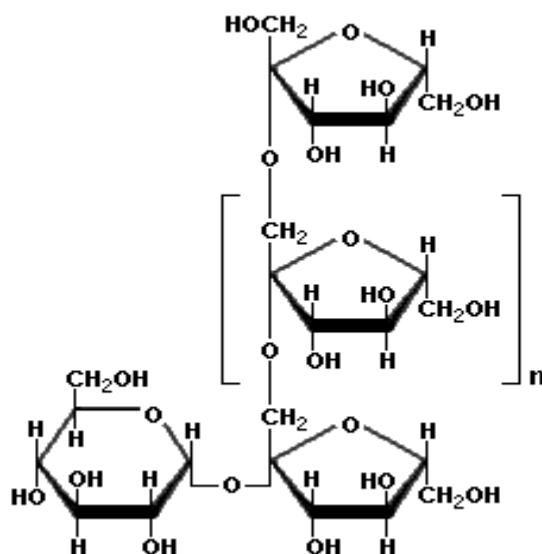
อินูลินเป็นเส้นใยอาหารที่พืชเก็บสะสมไว้เป็นอาหาร พบในพืช ผัก และผลไม้หลายชนิด เหมือนการสะสมสตาร์ช (starch) พบได้ในหัวกระเทียม หอมหัวใหญ่ หน่อไม้ฝรั่ง (asparagus) ถั่วลิสง ดอกอาร์ติโชค (artichoke) แถ่นตะวัน และหัวชิคอรี่ (chicory) เป็นต้น

2. แป้งต้านทาน (resistance starch)

แป้งต้านทาน หมายถึงแป้งและผลิตภัณฑ์ของแป้งที่ไม่สามารถถูกย่อยสลายได้ด้วยเอนไซม์และจุลินทรีย์ในลำไส้เล็กของมนุษย์ แต่ถูกหมักโดยจุลินทรีย์ที่อยู่ในลำไส้ใหญ่ ซึ่งสามารถแบ่งออกเป็น 4 ชนิด ตามลักษณะและแหล่งที่มา ได้แก่ 1) แป้งทนย่อยต่อเอนไซม์ชนิดที่ 1 (RS1) เป็นแป้งที่ลักษณะทางกายภาพขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ เนื่องจากเม็ดแป้งถูกห่ออยู่ในร่างแหของโปรตีน หรือถูกตรึงอยู่ในภายในเซลล์หุ้มเมล็ดพืช ทำให้เอนไซม์ไม่สามารถเข้าไปทำปฏิกิริยาได้ ซึ่ง RS ประเภทนี้สามารถเกิดขึ้นได้เองตามธรรมชาติแต่เป็นส่วนน้อย ส่วนใหญ่พบในเมล็ดส่วนของพืช เม็ดของผล (Seed) และถั่ว (Legume) เป็นต้น 2) แป้งทนย่อยต่อเอนไซม์ชนิดที่ 2 (RS2) เป็น RS ที่อยู่ในรูปของเม็ดแป้งดิบ พบได้ในแป้งสตาร์ชมันฝรั่ง และกล้วยดิบ 3) แป้งทนย่อยต่อเอนไซม์ชนิดที่ 3 (RS3) เป็นแป้งสตาร์ชที่เกิดจากการรีไทร์เกรเดชั่นของโมเลกุลอะมิโลส ซึ่งมักพบได้ในอาหารที่ผ่านการหุงสุกโดยการให้ความร้อนจนเกิดการเจลาติไนซ์และปล่อยให้เย็นตัวลง ทำให้โมเลกุลของอะมิโลสที่กระจัดกระจายออกมาเกิดการจัดเรียงตัวใหม่ เกิดเป็นโครงสร้างที่แข็งแรงและทนต่อการถูกย่อยด้วยเอนไซม์ได้ เช่น พาสต้า อาหารเข้าธัญชาติสำเร็จรูป ขนมปังที่ผ่านการเก็บไว้ระยะเวลาหนึ่ง เป็นต้น 4) แป้งทนย่อยต่อเอนไซม์ชนิดที่ 4 (RS4) เป็น RS ซึ่งเกิดจากการดัดแปรแป้งโดยใช้สารเคมี เช่น อะซีติลเลตสตาร์ช (Acetylated starch) แป้งดัดแปรครอสลิง (Cross-linked starch) และไฮดรอกซีโพรพิลสตาร์ช (Hydroxypropyl starch) เป็นต้น

3. ฟรุคโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ (FOS)

ฟรุคโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ (fructo-oligosaccharide) หรือ โอลิโกฟรุคโทส (oligofructose) เป็นโอลิโกแซ็กคาไรด์ (oligosaccharide) ซึ่งใช้เป็นสารให้ความหวาน (sweetener) ทดแทนน้ำตาล (sugar substitute) มีรสชาติเหมือนกับน้ำตาล ใช้เป็นสารให้ความหวานที่ให้พลังงานต่ำกว่าน้ำตาลทราย (relative sweetness 30-50% เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำตาล sucrose) โมเลกุลของ oligofructose ซึ่งเกิดจากน้ำตาลฟรุคโทส น้อยกว่า 10 โมเลกุล โดยที่โมเลกุลที่ปลายสุดด้านหนึ่งเป็นน้ำตาลกลูโคส โครงสร้างโมเลกุลของ oligofructose เหมือนกับ อินูลิน (inulin) ซึ่งเป็น polysaccharide แต่ inulin เป็นพอลิเมอร์ที่มีสายยาวมากกว่า ไม่มีรสหวาน และละลายในน้ำได้น้อย ขณะที่ oligofructose มีขนาดโมเลกุลเล็กกว่ามาก



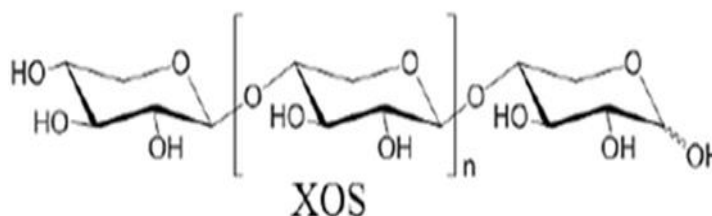
ภาพที่ 3 โครงสร้างของฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์

ที่มา : <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1213/fructo-oligosaccharide-Oligofructose>

4. ไคโลโอลิโกแซ็กคาไรด์ (Xylo-oligosaccharides)

Xylo-oligosaccharides เป็น คาร์โบไฮเดรต ประเภท oligosaccharide ประกอบด้วยโมเลกุลของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (monosaccharide) คือน้ำตาลไซโลส (xylose) เป็นน้ำตาลแอลโดส (aldose) ประเภทน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (monosaccharide) ที่มีคาร์บอนในโมเลกุล 5 อะตอม มาต่อกันด้วยพันธะไกลโคไซด์ (glycosidic linkage) (ภาพที่ 3) ซึ่งร่างกายไม่สามารถย่อยได้ มีรสหวานปานกลาง มีความเสถียรต่อการเปลี่ยนแปลงค่า pH ในช่วงกว้าง หนร้อน และทนต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ ปกติพบในผัก ผลไม้ เช่น หน่อไม้ น้ำผึ้ง และน้ำนม มีการนำ Xylo-oligosaccharides มาใช้เป็นสารให้ความหวาน (sweetener) ของอาหารเพื่อสุขภาพ (functional food) มากขึ้น เพราะดีต่อผลด้านสุขภาพ คือ เป็นโพรไบโอติก (probiotic) เนื่องจากไม่สามารถย่อยได้ในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ แต่แบคทีเรียกลุ่มพรีไบโอติก (prebiotic) ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้ใหญ่ เช่น *Bifidobacterium* สามารถ

นำไปใช้ในการเจริญ และยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค (pathogen) และยังผลิตสารที่มีประโยชน์กับร่างกาย

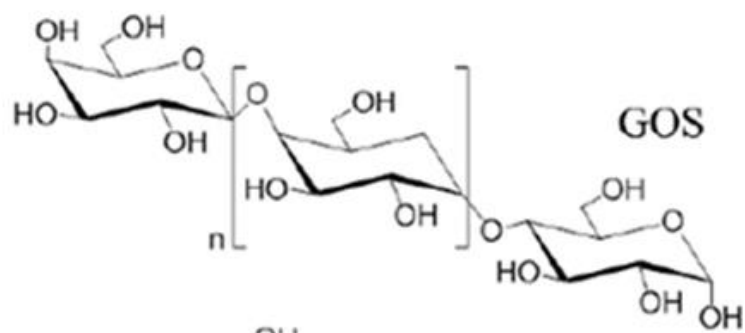


ภาพที่ 4 โครงสร้างของไซโลโอลิโกแซ็กคาไรด์

ที่มา : <http://www.vencure.com>

5. กาแลкто-โอลิโกแซ็กคาไรด์ (Galacto-oligosachharide)

Galacto-oligosachharide (Hylla et al.) เป็นสายใยของน้ำตาลที่มีความยาวตั้งแต่ 2-5 หน่วย โดยมีน้ำตาลหน่วยย่อย 2 ชนิดหลักคือ galactose และ glucose เชื่อมต่อกันอยู่ด้วยพันธะ glycosidic (ภาพที่ 3) พบในน้ำนมของมนุษย์ น้ำนมวัว โยเกิร์ต และสังเคราะห์มาจากแลคโตส โดยเอนไซม์ เบต้ากาแลคโตซิเดส (β -galactosidase) กาแลкто-โอลิโกแซ็กคาไรด์ เป็นโอลิโกแซ็กคาไรด์ที่ร่างกายไม่สามารถย่อยได้ (non-digestible oligosaccharide) จึงสามารถผ่านไปถึงลำไส้ใหญ่ได้โดยที่ยังไม่ถูกย่อยและดูดซึม จึงหลงเหลืออยู่และถูกนำไปใช้โดยจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในลำไส้ใหญ่ ผลผลิตหลักที่ได้จากการหมักคือ เกิดเป็นกรดไขมันสายสั้น (short chain fatty acid) กาแลктоโอลิโกแซ็กคาไรด์มีผลไปกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่ม Bifidobacteria และ Lactobacilli ทั้งในการศึกษาแบบ *in vitro* และ *in vivo*

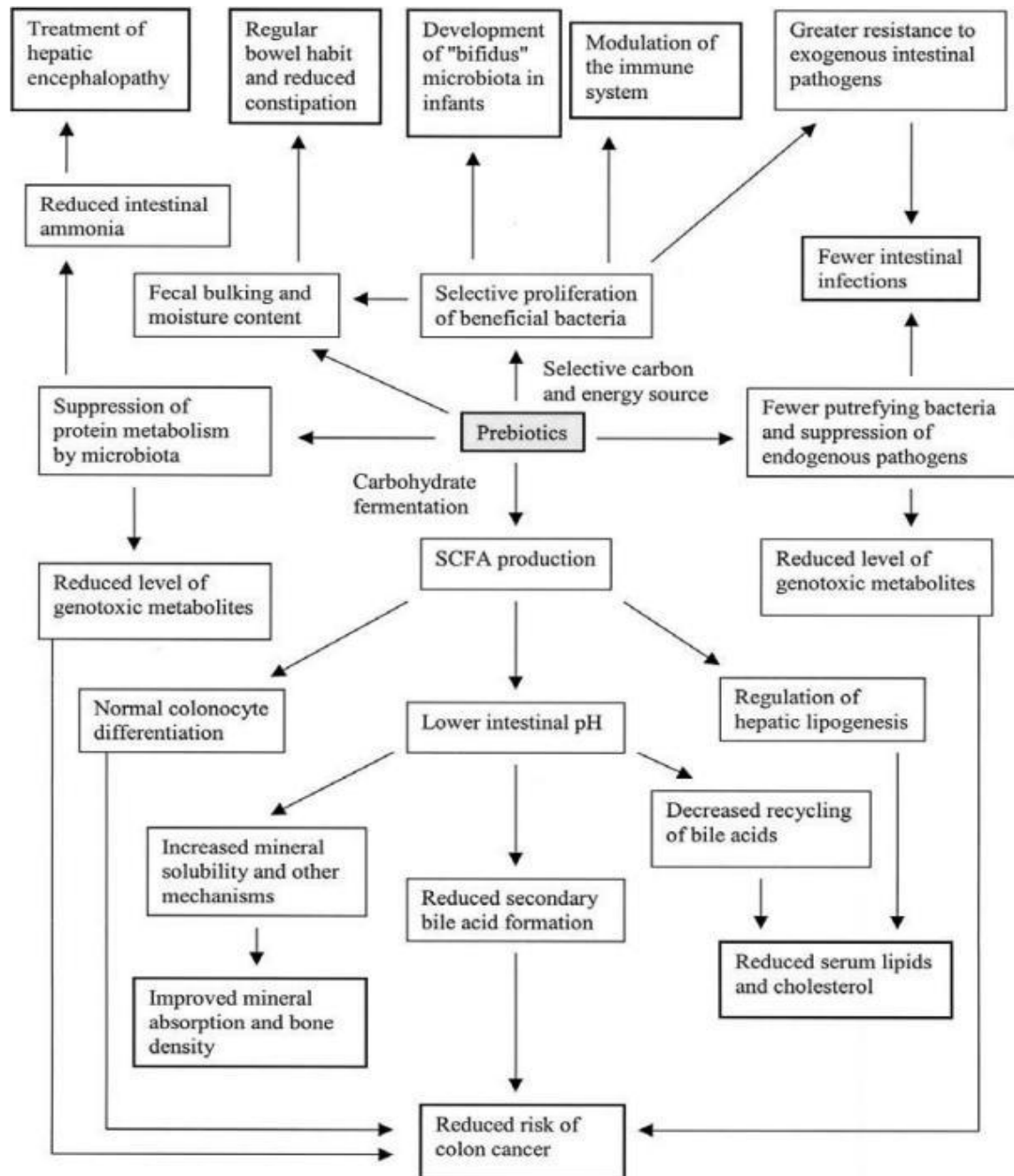


ภาพที่ 5 โครงสร้างของกาแล็กโตโอลิโกแซคคาไรด์

ที่มา : <http://www.vencure.com>

ประโยชน์ของพรีไบโอติก

ประโยชน์ของพรีไบโอติกนั้นนอกจากจะเป็นสารอาหารให้แก่จุลินทรีย์กลุ่มโพรไบโอติกในร่างกายแล้วยังส่งผลโดยตรงต่อสุขภาพของผู้บริโภค ดังภาพที่ 6



ภาพที่ 6 ประโยชน์ของสารพรีไบโอติก

ที่มา : Neeser และ German (2004)

1. การป้องกันการเกิดมะเร็งในลำไส้ใหญ่

มีโรคหลายโรคที่เกิดขึ้นในทางเดินอาหาร โดยเฉพาะที่ลำไส้ใหญ่ซึ่งมีโอกาสเกิดมะเร็งมากกว่าในลำไส้เล็กถึง 100 เท่า (Morotomi *et al.*, 1990) แต่มีการพิสูจน์แล้วว่าสารอาหารที่เรียกว่า “พรีไบโอติก” มีบทบาทในการป้องกันมะเร็งได้ (Hylla *et al.*, 1998) โดยมีกลไกในการป้องกัน คือ เปลี่ยนกระบวนการเมแทบอลิซึมของจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่ให้ลดการเกิดสารที่ส่งผลเสียต่อร่างกาย เช่น การเกิดเมแทบอลิซึมของไขมัน และโปรตีนจะทำให้เกิดสารก่อมะเร็งขึ้นโดยอาจจะเปลี่ยนเมแทบอลิซึมของแบคทีเรีย Clostridia จาก Proteolysis ไปเป็น Saccharolysis นอกจากนี้พรีไบโอติกยังส่งเสริมให้แบคทีเรียแลคติกผลิตสารที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียที่ผลิตสารก่อมะเร็งได้ (Reddy, 1998)

2. การยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค

มีหลักฐานที่ยืนยันแล้วว่าพรีไบโอติกเป็นตัวที่เพิ่มความสามารถของแบคทีเรียกล่ม *Lactobacillus* และ *Bifidobacterium* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ต้านทานแบคทีเรียก่อโรคในทางเดินอาหารได้ โดยแบคทีเรียกล่มพรีไบโอติกที่มีอยู่ในลำไส้ใหญ่เมื่อเกิดกระบวนการเมแทบอลิซึม โดยใช้สารอาหารที่เหลือจากการดูดซึมของทางเดินอาหารส่วนบนจะทำให้เกิดสารประกอบที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคโดยการสร้างกรดซึ่งส่งผลให้ระดับพีเอชในทางเดินอาหารลดลง ทำให้เกิดสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค (Fuller, 1993)

3. เพิ่มการดูดซึมของแคลเซียม

สารพรีไบโอติกสามารถเพิ่มการดูดซึมของสารอาหารบางชนิด โดยเฉพาะเพิ่มการดูดซึมแคลเซียม ซึ่งกระบวนการหมักของพรีไบโอติกทำให้เกิดกรดไขมันสายสั้นๆ ซึ่งส่งผลต่อค่าพีเอชภายในลำไส้ใหญ่และเกิดการหมักของสาร phytate สารในกลุ่ม phytate นี้เป็นองค์ประกอบในพืช มีความเสถียรสูงและเกิดเป็นสารประกอบไม่ละลายน้ำ เมื่อไปจับแคลเซียมทำให้ร่างกายไม่สามารถดูดซึมแคลเซียมได้ และจากกระบวนการหมักของสาร phytate โดยแบคทีเรียในลำไส้ทำให้แคลเซียมถูกมาเป็นอิสระและ มีการดูดซึมเข้าร่างกายได้มากขึ้น

4. ลดระดับคอเลสเตอรอล

พบว่ากระบวนการหมักสารที่มีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติกภายในลำไส้ใหญ่มีผลให้สามารถไปลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือดได้ (Tuohy *et al.*, 2003) พบว่า *L. acidophilus* เป็นจุลินทรีย์ประจำถิ่นในลำไส้ ซึ่งช่วยย่อยสลายคอเลสเตอรอล และยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอลผ่านลำไส้โดยลดการดูดซึมคอเลสเตอรอล สารในกลุ่มแพคติน และ β -glucan ที่มีใยอาหารสูงจะสามารถลดการดูดซึมของคอเลสเตอรอลได้ โดยลักษณะเหนียวหนืดของใยอาหารจะไปเคลือบผนังลำไส้ ทำให้ความสามารถในการดูดซึมคอเลสเตอรอลภายในลำไส้ลดลง

5. ช่วยลดความดันโลหิต

การศึกษาผลของพรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในผู้ป่วยที่มีระดับไขมันในเลือดโดยให้ผู้ป่วยบริโภคพรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ เป็นระยะเวลา 5 สัปดาห์ พบว่าความดันโลหิตลดลงโดยเฉลี่ย 6 มิลลิเมตรปรอท และยังพบว่าความดันโลหิตแปรผกผันกับจำนวนของ *Bifidobacteria* ในลำไส้อีกด้วย (Tomomatsu, 1994)

6. ช่วยเพิ่มวิตามินบางชนิด

การหมักสารพรีไบโอติกโดยจุลินทรีย์กลุ่ม *Bifidobacteria* พบว่าสามารถผลิตวิตามิน B1, B2, B6, B12, nicotinic acid และ folic acid เพิ่มขึ้น (Conway, 2001)

7. ช่วยลดอาการท้องผูก

กรดไขมันซึ่งผลิตโดย *Bifidobacteria* ช่วยกระตุ้นการบีบตัวของลำไส้และเพิ่มความชื้นของอุจจาระ ทำให้อุจจาระนิ่มขึ้นขับถ่ายได้ง่าย ซึ่งสารพรีไบโอติกสามารถเสริมการผลิตกรดไขมันสายสั้นในจุลินทรีย์พรีไบโอติกได้ (Tomomatsu, 1994)

บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย

วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 การเตรียม และการปรับสภาพขานอ้อย

ล้างทำความสะอาดขานอ้อยที่ได้รับจากโรงงานน้ำตาลด้วยน้ำประปา นำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บดขานอ้อยที่ทำความสะอาดแล้วด้วยเครื่องบดแบบค้อนเหวี่ยง (Hammer mill) ปรับสภาพในขวดรูปชมพู่ขนาด 1000 มิลลิลิตร โดยใช้ขานอ้อยและสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1% ในอัตราส่วน 1:20 ปรับสภาพในเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ล้างขานอ้อยด้วยน้ำกลั่นผ่านผ้าขาวบาง จนค่าพีเอชเป็นกลาง อบแห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำขานอ้อยที่ผ่านการปรับสภาพแล้วไปบดด้วยเครื่องปั่นเก็บขานอ้อยที่ปรับสภาพที่อุณหภูมิห้อง และเก็บรักษาในภาชนะที่ปิดมิดชิดเพื่อนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

3.2 การเตรียมไซแลนโดยวิธีทางเคมี

3.2.1 การสกัดไซแลนโดยใช้ต่าง

โดยดัดแปลงจาก Zilliox and Debeire (1998) โดยการนำขานอ้อยบดที่ทำการปรับสภาพแล้ว แช่น้ำกลั่นที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 6 ชั่วโมง จากนั้นนำออกมาผึ่ง นำขานอ้อย 8% (w/v) มาทำปฏิกิริยากับสารละลายที่ประกอบด้วย 24% (m/v) KOH และ 1% (m/v) NaBH₂ ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นนำไปกรองผ้าขาวบาง และ Whatman No.1 เพื่อเก็บส่วนของเหลว

3.2.2 การสกัดไซแลนด้วย Sodium hypochlorite treatment

โดยดัดแปลงวิธีจาก Yang, Xu, Wang, and Yang (2005) ทำการล้างขานอ้อยที่ผ่านการปรับสภาพ 100 กรัม ด้วย 1% Sodium hypochlorite ในสภาวะ 25 องศาเซลเซียส เวลา 1 ชั่วโมง เพื่อกำจัดลิกนินและสารสี จากนั้นทำการล้างขานอ้อยด้วยน้ำกลั่น กรอกขานอ้อยด้วยผ้าขาวบางและทำการล้างด้วย 15% NaOH ในสภาวะ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อสกัดสารละลายไซแลน เมื่อครบ 24 ชั่วโมง ทำการกรองส่วนของเหลว ทำการปรับพีเอชให้เป็น

กลางด้วย 3 M H_2SO_4 จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 8500 g 30 นาที จากนั้นเก็บส่วนใสที่ 4 องศาเซลเซียส

3.2.3 การสกัดไขมันด้วย Alkali extraction

โดยดัดแปลงวิธีจาก Sun, Yoshida, Park, and Kusakabe (2002) นำขานอ้อยที่ผ่านการปรับสภาพ 5 g มาทำปฏิกิริยากับ 1.25 โมลาร์ NaOH 80 มิลลิลิตร เป็นเวลา 10 ถึง 15 นาที จากนั้นนำไปปั่นในสภาวะให้อากาศ 150 รอบต่อนาที 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 8500 g 20 นาที เพื่อเก็บส่วนใสนำมาปรับให้ได้ พีเอช 5 ด้วย con. HCl

3.2.4 การสกัดไขมันด้วย Autohydrolysis

โดยดัดแปลงวิธีจาก Yoon, Woodams, and Hang (2006) ทำการล้างขานอ้อยที่ด้วยน้ำกลั่น อัตราส่วน 1:8 (w/v) นำไปให้ความร้อนที่ 121 องศาเซลเซียส 15 lbs เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นทำการกรองเก็บส่วนใส และปรับพีเอชเท่ากับ 5

3.3 การผลิตเอนไซม์ไลลาเนสด้วยแบคทีเรีย *Thermobifida fusca* PA 1-1

3.3.1 การเตรียมกล้าเชื้อ

เตรียมกล้าเชื้อโดยนำเชื้อ *Thermobifida fusca* PA 1-1 ที่เก็บในกลีเซอรอล 40% ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ถ่ายลงในอาหารเหลว L-medium ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส พร้อมเขย่าที่ 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 36 ชั่วโมง จากนั้นนำเชื้อ *T. fusca* PA 1-1 มาซัดลงในจานอาหารแข็ง L-medium เพื่อแยกโคโลนีเดี่ยว คัดเลือกโคโลนีเดี่ยวที่เจริญบนอาหารแข็ง L-medium เพื่อเป็นกล้าเชื้อสำหรับการผลิตเอนไซม์ไลลาเนสต่อไป

3.3.2 การผลิตเอนไซม์ไลลาเนส

นำโคโลนีเดี่ยวเชื้อ *Thermobifida fusca* PA1-1 ถ่ายลงในอาหารเหลว L-medium ปริมาตร 5 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส พร้อมเขย่าที่ 250 รอบต่อนาที นาน 36 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายลงอาหารเหลว Minimal salts-yeast extract ผสมขานอ้อยซึ่งผ่านการพรีทรีทเมนต์ 1% ค่าพีเอช 10.0 ปริมาตร 45 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ

50 องศาเซลเซียส พร้อมเขย่าที่ 250 รอบต่อนาที นาน 4 วัน ทำการแยกส่วนใสและตะกอนออกด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที เก็บส่วนใสที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อใช้วัดค่ากิจกรรมเอนไซม์ไซลาเนสในลำดับต่อไป

3.3.3 การวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ไซลาเนส

นำสารละลายเอนไซม์มาเจือจางด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ พีเอช 7 เพื่อให้ได้ความเข้มข้นที่เหมาะสม เติมสารละลายเอนไซม์ที่เจือจางแล้วปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลองที่มีสารละลายซับสเตรทไซแลนเข้มข้น 1% () ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมสารละลายให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสาร บ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ปลดปล่อยออกโดยวิธี ดัดแปลงของ Miller (1959) ด้วยการเติมสารละลาย dinitrosalicylic acid (DNS) ปริมาตร 200 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปต้มในน้ำเดือดนาน 5 นาที ทำให้เย็นลงโดยแช่ในน้ำเย็น 5 นาที เติมน้ำกลั่นปริมาตร 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นนำสารละลายที่ได้วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร นำค่าที่ได้ไปหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยเทียบจากกราฟมาตรฐานไซโลส ทำชุดควบคุมโดยเติมสารละลายซับสเตรทไซแลนเข้มข้น 1% ปริมาตร 100 ไมโครลิตร บ่มสารละลายในอ่างควบคุมอุณหภูมิ ที่ 50 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที จากนั้นเติมสารละลาย DNS และสารละลายเอนไซม์ไซแลนเข้มข้น 1% ปริมาตร 200 และ 100 ไมโครลิตร ตามลำดับลงในหลอดทดลอง เขย่าให้เข้ากัน ต้มในน้ำเดือดนาน 5 นาที ทำให้เย็นลงโดยแช่ในน้ำเย็น 5 นาที เติมน้ำกลั่นปริมาตร 2 มิลลิลิตร และคำนวณค่ากิจกรรมเอนไซม์ดังสมการที่ 1

$$\text{ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ (unit/mL)} = \frac{(\text{OD}_{\text{enzyme}} - \text{OD}_{\text{substrate}}) * 1000 * 10 * \text{Dilution}}{\text{Slope} * \text{MW} * \text{Time}}$$

โดยที่ $\text{OD}_{\text{enzyme}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างเอนไซม์

$\text{OD}_{\text{substrate}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายซับสเตรท

Dilution คือ ค่าการเจือจางสารละลายเอนไซม์ (เท่า)

Slope คือ ความชันของสารละลายมาตรฐานน้ำตาลไซโลส

MW คือ น้ำหนักโมเลกุลของน้ำตาลไซโลส

Time คือ เวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา (นาที่)

โดยกำหนดให้ 1 หน่วยเอนไซม์เท่ากับปริมาณเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายสับสเตรทจนกระทั่งเกิดน้ำตาลรีดิวส์ซึ่งปริมาณ 1 ไมโครโมล ภายในเวลา 1 นาที ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม

3.4 การผลิตไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ (XOS) โดยการย่อยด้วยเอนไซม์ไซลาเนสหยาบ

ผลิตไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ จากไซแลนส่วนของแข็ง คือ ชานอ้อยที่ปรับสภาพปริมาตร 1 กรัม ด้วยเอนไซม์ไซลาเนสหยาบที่ผลิตได้จาก *Thermobifida fusca* PA 1-1 ปริมาณ 50 100 200 500 และ 2000 ยูนิต ใน 50 มิลลิโมลาร์ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 6 บ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ตรวจหาปริมาณ XOS โดยการเก็บส่วนใสที่ 0 3 6 9 12 15 18 และ 24 ชั่วโมง เพื่อวิเคราะห์อัตราส่วนที่เหมาะสมในการผลิต XOS โดยการตรวจหาปริมาณ XOS และปริมาณน้ำตาลนอนรีดิวส์ต่อไป

3.5 การวิเคราะห์องค์ประกอบ XOS ในส่วนใสจากการย่อยด้วยเทคนิค Thin Layer Chromatography (TLC)

การวิเคราะห์องค์ประกอบโดยใช้เทคนิค TLC จากวิธีการดัดแปลงจาก Ghosh, Verma, Tingirikari, Shukla, and Goyal (2015) หยดตัวอย่างสารละลายที่ได้จากการย่อยสับสเตรทลงบนแผ่น TLC ครั้งละ 2 ไมโครลิตร เป่าให้แห้ง จนครบ 15 ไมโครลิตร นำแผ่น TLC แขนงในวัฏภาคเคลื่อนที่บิวทานอล เอทานอล น้ำ ในอัตราส่วน 5:3:2 ที่เตรียมไว้ไม่เกิน 1 ชั่วโมง จนกระทั่งวัฏภาคเคลื่อนที่ถึงขีด solvent front ที่กำหนดให้ห่างจากขอบด้านบนของแผ่น TLC 1 เซนติเมตร นำแผ่น TLC ออกมาเป่าให้แห้ง จากนั้นนำไปแช่ในวัฏภาคเคลื่อนที่ซ้ำอีกครั้ง จากนั้นนำแผ่น TLC ออกมาพรมด้วย 5% H_2SO_4 ใน สารละลายเอทานอลให้ทั่วแผ่น อบที่ $150^{\circ}C$ เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นทำการเปรียบเทียบกับน้ำตาลมาตรฐานไซโลส (Xylose) ไซโลไบโอส (Xylobiose) ไซโลไตรโอส (Xylotriose) ไซโลเตตระโอส (Xylotetraose) และไซโลเพนตะโอส (Xylopentaoase) โดยใช้สารละลายมาตรฐานบนแผ่น TLC ปริมาณ 4 ถึง 5 ไมโครลิตร จากนั้นเทียบผลที่เกิดขึ้น

3.6 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Total sugar)

3.6.1 การเตรียมเส้นกราฟน้ำตาลไซโลสมาตรฐาน

ละลายน้ำตาลไซโลสในน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำไปเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้น 0, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 และ 0.10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำน้ำตาลไซโลสที่มีความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองผสมกับสารละลายฟีนอลความเข้มข้น 5% (w/v) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้นปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันใน หลอดทดลองอย่างรวดเร็ว รอให้เย็น ณ อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 490 นาโนเมตร จากนั้นสร้างกราฟสารละลายน้ำตาลไซโลสมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นน้ำตาลไซโลส

3.6.2 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Total sugar)

ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดวิเคราะห์โดยวิธี Phenol-Sulfuric method ตามวิธีการของ Dubois และคณะ (1956) โดยนำตัวอย่างปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายฟีนอลที่มีความเข้มข้น 5% (w/v) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร จากนั้นเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันอย่างรวดเร็ว ตั้งทิ้งไว้นาน 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร ทำการหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดโดยเทียบกับกราฟมาตรฐานน้ำตาลไซโลส

3.7 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugar)

3.7.1 การเตรียมเส้นกราฟน้ำตาลไซโลสมาตรฐาน

ละลายน้ำตาลไซโลสในน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำไปเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้น 0 0.2 0.4 0.8 1.2 1.6 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำน้ำตาลไซโลสที่มีความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย Dinitrosalicylic acid ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปต้มในน้ำเดือด เป็นเวลา 5 นาที นำไปแช่ในน้ำแข็งเป็นเวลา 5 นาที เติมน้ำกลั่นปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันก่อนนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร จากนั้นสร้างกราฟมาตรฐานน้ำตาลไซโลสมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นน้ำตาลไซโลส

3.7.2 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugar)

วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธีดัดแปลงของ Miller (1959) โดยเติมสารละลาย Dinitrosalicylic acid ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ลงในส่วนใสของตัวอย่าง ปริมาตร 200

ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปต้มในน้ำเดือด เป็นเวลา 5 นาที นำไปแช่ในน้ำแข็งเป็นเวลา 5 นาที เติมน้ำกลั่นปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันก่อนนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานน้ำตาลไซโลส

3.7.3 การหาปริมาณน้ำตาลไม่ถูกรีดิวซ์ (Non-reducing sugar)

คำนวณปริมาณน้ำตาลไม่ถูกรีดิวซ์ซึ่งได้แก่ น้ำตาลโอลิโกแซคคาไรด์ และน้ำตาลโพลีแซคคาไรด์ที่เป็นกลุ่มของพรีไบโอติกโดยนำปริมาณน้ำตาลทั้งหมดหักออกด้วยปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ดังสมการ

$$\text{Non reducing sugars} = \text{Total sugars} - \text{Reducing sugar}$$

3.8 การวิเคราะห์ปริมาณไซโลโอลิโกแซคคาไรด์โดยเทคนิค High-performance liquid chromatography (HPLC)

การวิเคราะห์ปริมาณไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ โดยดำเนินการตามวิธีดัดแปลงจาก Choi, Park, Park, Wang, and Mun (2016) ด้วยเครื่อง HPLC ของบริษัท Shimadzu รุ่น UFLC คอลัมน์ Shodex sugar KS-801 ขนาดความยาว 300 มิลลิเมตร เส้นผ่าศูนย์กลาง 8.0 มิลลิเมตร ปริมาตรของตัวอย่างที่วิเคราะห์ 20 ไมโครลิตร โดยใช้น้ำบริสุทธิ์ เป็นเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) ที่อัตราเร็ว 0.6 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส สำหรับการวิเคราะห์ไซโลไบโอส (X2) ไซโลไตรโอส (X3) และไซโลเตตระโอส (X4) โดยวิเคราะห์ปริมาณจากพื้นที่ใต้กราฟ (peak) ซึ่งคำนวณโดยโปรแกรม LC solution (Shimadzu, Japan)

ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐาน และสารละลายตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ทำการกรองด้วย nylon filter ขนาด 0.45 ไมโครลิตร โดยเตรียมสารละลายมาตรฐาน ไซโลไบโอส (X2) ไซโลไตรโอส (X3) และไซโลเตตระโอส (X4) ที่ความเข้มข้น 2 4 6 8 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

3.9 การสรุปผลการวิจัย และจัดทำรายงาน

ภายหลังเสร็จสิ้นการวิจัยแล้วจะรวบรวมผลการวิจัยทั้งหมด เพื่อจะรวบรวมจัดทำรายงานผลการวิจัยต่อไป

สถานที่ทำการวิจัย : ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

บทที่ 4 ผลการศึกษาและอภิปรายผล

4.1 ผลการศึกษาหากระบวนการสกัดแยกไซเลนออกจากชานอ้อย

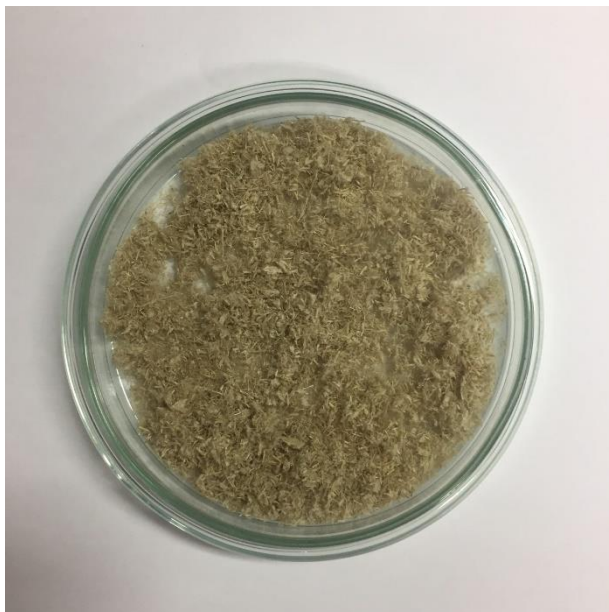
ในช่วง 2 เดือนแรกของการวิจัย คณะวิจัยดำเนินการศึกษากระบวนการเตรียมชานอ้อย การปรับสภาพเพื่อกำจัดลิกนิน (ภาพที่ 9) และการสกัดสารแทรกออกไปเพื่อแยกเฉพาะไซเลนจากชานอ้อย และสามารถสกัดแยกไซเลนเพื่อผลิตไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ (Xylooligosaccharide, XOS) ได้แล้วดังแสดงในภาพที่ 10 ซึ่งแสดงอยู่ด้านล่าง



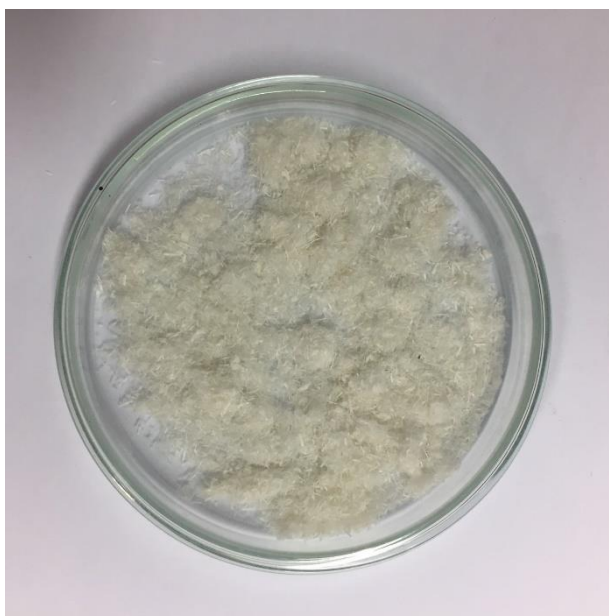
ภาพที่ 7 ชานอ้อยจากโรงงานน้ำตาล



ภาพที่ 8 ชานอ้อยภายหลังบดด้วย Hammer mill



ภาพที่ 9 ชานอ้อยภายหลังการพรีทรีทเมนต์เพื่อกำจัดลิกนิน



ภาพที่ 10 ไชแลนซึ่งสกัดแยกได้จากชานอ้อย

อย่างไรก็ตาม ภายหลังจากศึกษาการย่อยไซแลนซึ่งสกัดแยกได้จากขานอ้อยดังในภาพที่ 10 ด้วยเอนไซม์ไซแลเนสหยาบ (น้ำหมักซึ่งมีเอนไซม์ไซแลเนสที่ยังไม่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ไปเหวี่ยงแยกเซลล์และของแข็งอื่นๆ ออกแล้ว) จาก *T. fusca* PA 1-1 แล้ว พบว่า ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ (XOS) แสดงให้เห็นว่ามีปริมาณของไซโลโอลิโกแซคคาไรด์น้อยมาก คณะวิจัยจึงทดลองนำขานอ้อยซึ่งผ่านเพียงการปรับสภาพด้วยสารละลาย 1% NaOH มาทดลองย่อยด้วยเอนไซม์ไซแลเนสหยาบ พบว่าได้ปริมาณไซโลโอลิโกแซคคาไรด์สูงกว่า ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงสรุปว่าไม่จำเป็นต้องทำการสกัดแยก ไซแลนให้บริสุทธิ์ก่อนการย่อยด้วยเอนไซม์ไซแลเนส เนื่องจากเหตุผล 2 ประการ คือ

1. ทำให้เกิดการสูญเสียไซแลนไปในระหว่างการสกัดแยก
2. ประหยัดค่าใช้จ่ายของการสกัดแยกไซแลนให้บริสุทธิ์

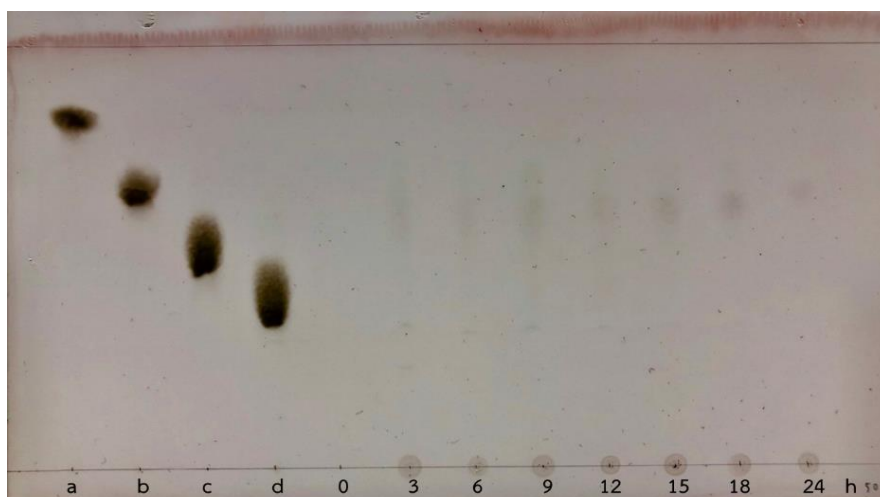
ดังนั้นในขั้นตอนต่อไปของการวิจัยจะใช้ขานอ้อยซึ่งผ่านล้างทำความสะอาด การบดลดขนาด และการปรับสภาพขานอ้อยด้วยสารละลาย 1% NaOH เท่านั้น

4.2 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ซึ่งได้รับจากการย่อยขานอ้อยด้วยเอนไซม์ไซแลเนสหยาบด้วยเทคนิค Thin Layer Chromatography (TLC)

การย่อยขานอ้อยผ่านการปรับสภาพด้วยเอนไซม์ไซแลเนสหยาบ จาก *Thermobifida fusca* PA 1-1 โดยทำการเก็บส่วนใสที่เวลา 3, 6, 9, 12, 15, 18 และ 24 ชั่วโมง ของตัวอย่างในอัตราส่วน 50, 100, 200, 500, 1000 และ 2000 ยูนิตต่อกรัมขานอ้อย และตัวอย่างจากการเพิ่มปริมาณขานอ้อยและเอนไซม์ไซแลเนสหยาบในอัตราส่วน 2 กรัม : 2000 ยูนิต, 3 กรัม : 3000 ยูนิต, 2 กรัม : 4000 ยูนิต, 3 กรัม : 6000 ยูนิต, 4 กรัม : 8000 ยูนิต และ 5 กรัม : 10000 ยูนิต โดยนำส่วนใสมาวิเคราะห์องค์ประกอบด้วยวิธี TLC โดยการเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานไซโลส (X1) ไซโลไบโอส (X2) ไซโลไตรโอส (X3), ไซโลเตตระโอส (X4) และไซโลเพนตะโอส (X5)

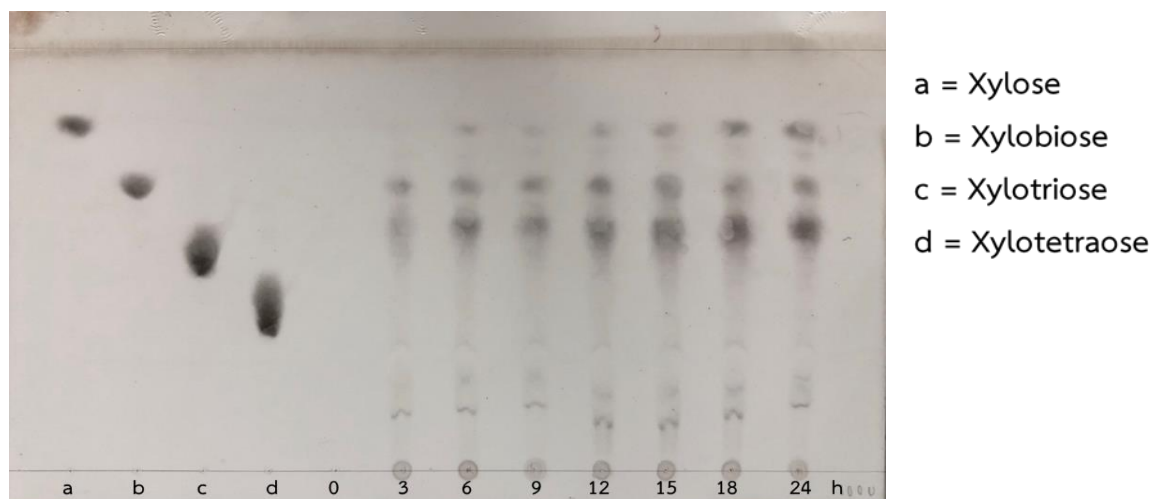
จากผลการวิเคราะห์ พบว่าการใช้เอนไซม์ไซแลเนสหยาบ อัตราส่วน 50 ยูนิตต่อกรัมขานอ้อย (ภาพที่ 11) พบเพียงแถบของไซโลไตรโอส (X3) เพียงองค์ประกอบเดียว ซึ่งแตกต่างจากอัตราส่วนอื่นๆ โดยอัตราส่วน 100 (ภาพที่ 12), 200 (ภาพที่ 13) และ 500 ยูนิตต่อกรัมขานอ้อย (ภาพที่ 14) พบองค์ประกอบของไซโลส (X1) ไซโลไบโอส (X2) และไซโลไตรโอส (X3) ขณะที่อัตราส่วน 1 กรัม : 1000 ยูนิต (ภาพที่ 15), 2 กรัม : 2000 ยูนิต (ภาพที่ 16), 3 กรัม : 3000 ยูนิต (ภาพที่ 17), 1 กรัม : 2000

ยูนิต (ภาพที่ 18), 3 กรัม : 6,000 ยูนิต (ภาพที่ 20), 4 กรัม : 8000 ยูนิต (ภาพที่ 21) และ 5 กรัม : 10000 ยูนิต (ภาพที่ 22) พบองค์ประกอบของไซโลไบโอส (X2) ไซโลไตรโอส (X3) และไซโลเตตระโอส (X4) และอัตราส่วน 2 กรัม : 4000 ยูนิต (ภาพที่ 19) พบองค์ประกอบของไซโลไบโอส (X2) ไซโลไตรโอส (X3), ไซโลเตตระโอส (X4) และไซโลเพนตะโอส (X5) จากผลการวิเคราะห์ทั้งหมดพบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณขานอ้อยผ่านการปรับสภาพและปริมาณเอนไซม์ไซลานเนสหยาบเพื่อย่อยขานอ้อยแล้วแถบของไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ในแต่ละองค์ประกอบจะเข้มข้นและมองเห็นได้ชัดเจนขึ้น และเมื่อเวลาของการย่อยขานอ้อยนานมากขึ้นจะพบว่าแถบของแต่ละองค์ประกอบจะมีสีเข้มขึ้นตามระยะเวลาที่ทำการย่อย นอกจากนี้มีรายงานวิจัยของ Jae-Hwan C. (2016) รายงานว่าไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ที่แสดงคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติก (Prebiotic) สำหรับ *Bifidobacterium* คือ ไซโลไบโอส (X2)

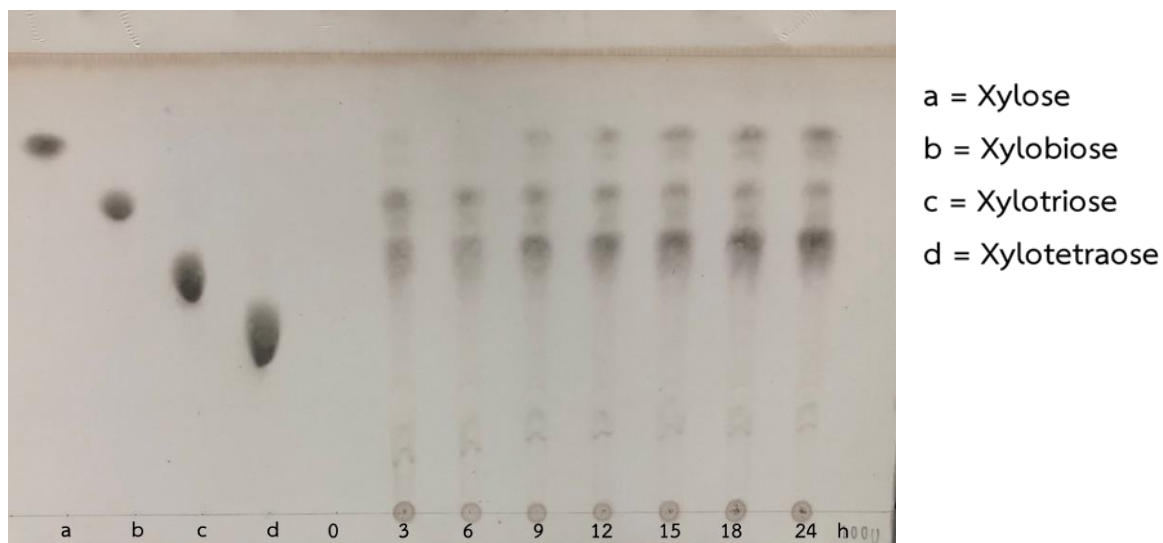


- a = Xylose
- b = Xylobiose
- c = Xylotriose
- d = Xylotetraose

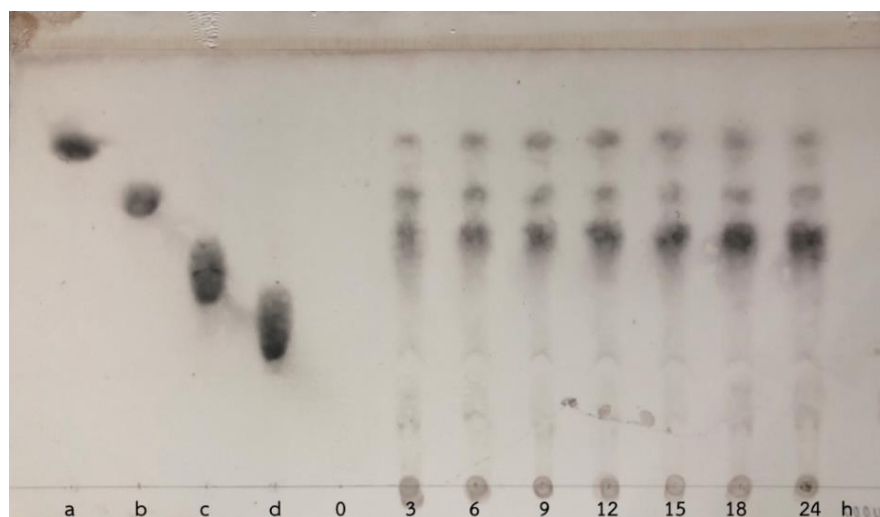
ภาพที่ 11 องค์ประกอบของส่วนใสจากการย่อยขานอ้อยด้วยเอนไซม์ไซลานเนสหยาบอัตราส่วน 50 ยูนิตต่อกรัมขานอ้อยที่เวลา 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 และ 24 ชั่วโมง ด้วยเทคนิค TLC เปรียบเทียบกับสารละลายน้ำตาลมาตรฐานไซโลส (X1) ไซโลไบโอส (X2) ไซโลไตรโอส (X3) และไซโลเตตระโอส (X4)



ภาพที่ 12 องค์ประกอบของส่วนใสจากการย่อยขานอ้อยด้วยเอนไซม์ไซลานเนสหยาบอัตราส่วน 100 ยูนิต ต่อกรัมขานอ้อยที่เวลา 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 และ 24 ชั่วโมง ด้วยเทคนิค TLC เปรียบเทียบกับ สารละลายน้ำตาลมาตรฐานไซโลส (X1) ไซโลไบโอส (X2) ไซโลไตรโอส (X3) และไซโลเตตระโอส (X4)

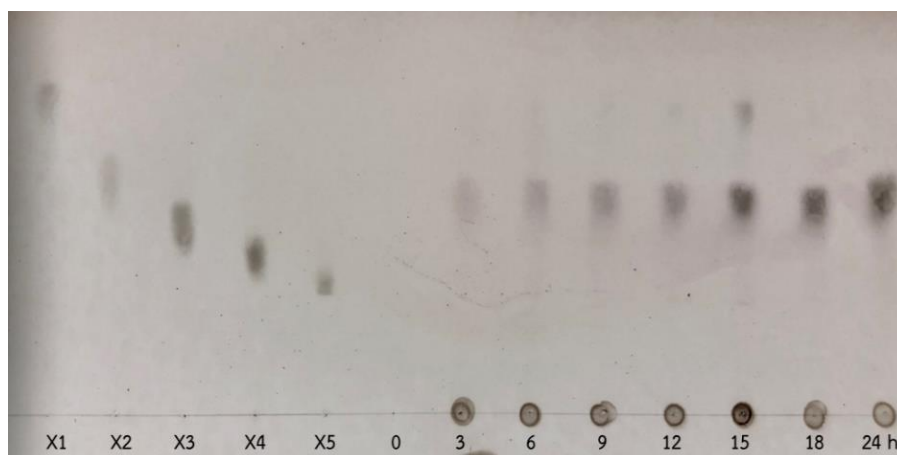


ภาพที่ 13 องค์ประกอบของส่วนใสจากการย่อยขานอ้อยด้วยเอนไซม์ไซลานเนสหยาบอัตราส่วน 200 ยูนิต ต่อกรัมขานอ้อยที่เวลา 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 และ 24 ชั่วโมง ด้วยเทคนิค TLC เปรียบเทียบกับ สารละลายน้ำตาลมาตรฐานไซโลส (X1) ไซโลไบโอส (X2) ไซโลไตรโอส (X3) และไซโลเตตระโอส (X4)



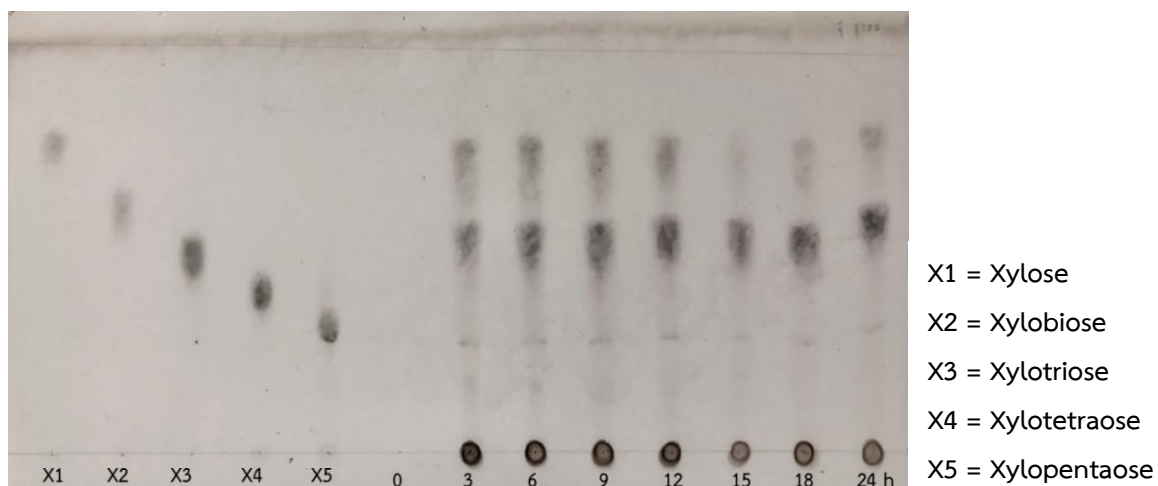
- a = Xylose
- b = Xylobiose
- c = Xylotriose
- d = Xylotetraose

ภาพที่ 14 องค์ประกอบของส่วนใสจากการย่อยขานอ้อยด้วยเอนไซม์ไซลานเนสหยาบอัตราส่วน 500 หน่วย ต่อกรัมขานอ้อยที่เวลา 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 และ 24 ชั่วโมง ด้วยเทคนิค TLC เปรียบเทียบกับ สารละลายน้ำตาลมาตรฐานไซโลส (X1) ไซโลไบโอส (X2) ไซโลไตรโอส (X3) และไซโลเตตระโอส (X4)

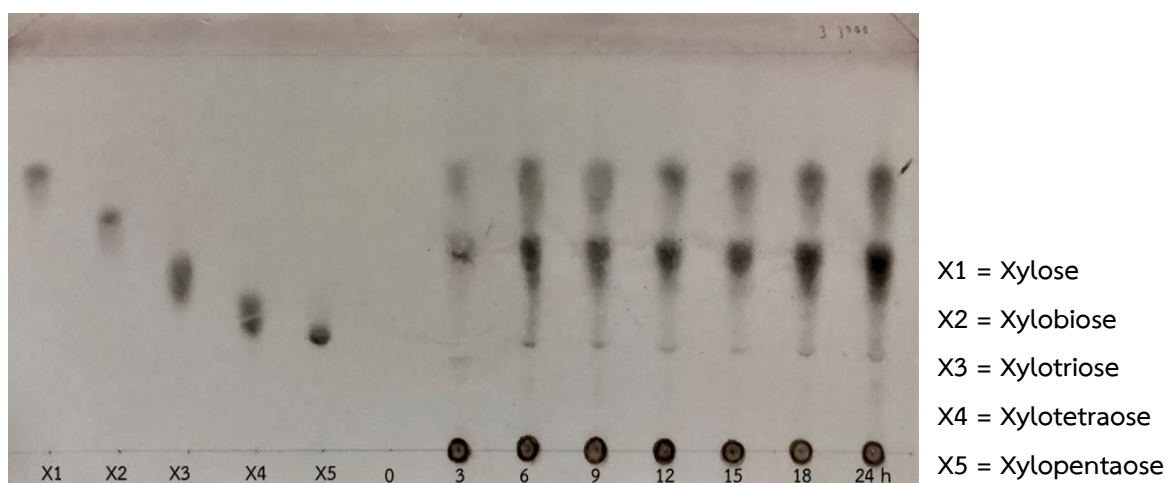


- X1 = Xylose
- X2 = Xylobiose
- X3 = Xylotriose
- X4 = Xylotetraose
- X5 = Xylopentaoose

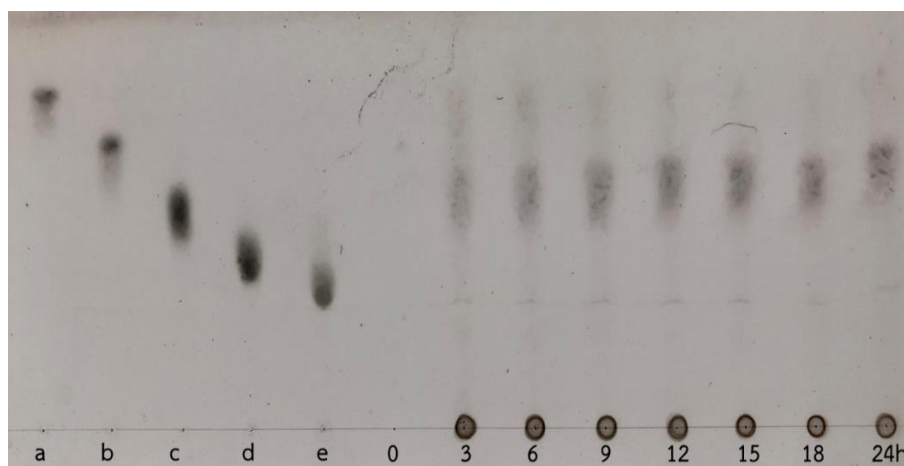
ภาพที่ 15 องค์ประกอบของส่วนใสจากการย่อยขานอ้อยด้วยเอนไซม์ไซลานเนสหยาบอัตราส่วน 1 กรัม : 1000 หน่วย ที่เวลา 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 และ 24 ชั่วโมง ด้วยเทคนิค TLC เปรียบเทียบกับสารละลาย น้ำตาลมาตรฐานไซโลส (X1) ไซโลไบโอส (X2) ไซโลไตรโอส (X3) ไซโลเตตระโอส (X4) และไซโลเพนตะ-โอส (X5)



ภาพที่ 16 องค์ประกอบของส่วนใสจากการย่อยขานอ้อยด้วยเอนไซม์ไซลานเนสหยาบอัตราส่วน 2 กรัม : 2000 ยูนิต ที่เวลา 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 และ 24 ชั่วโมง ด้วยเทคนิค TLC เปรียบเทียบกับสารละลายน้ำตาลมาตรฐานไซโลส (X1) ไซโลไบโอส (X2) ไซโลไตรโอส (X3) ไซโลเตตระโอส (X4) และไซโลเพนตะโอส (X5)

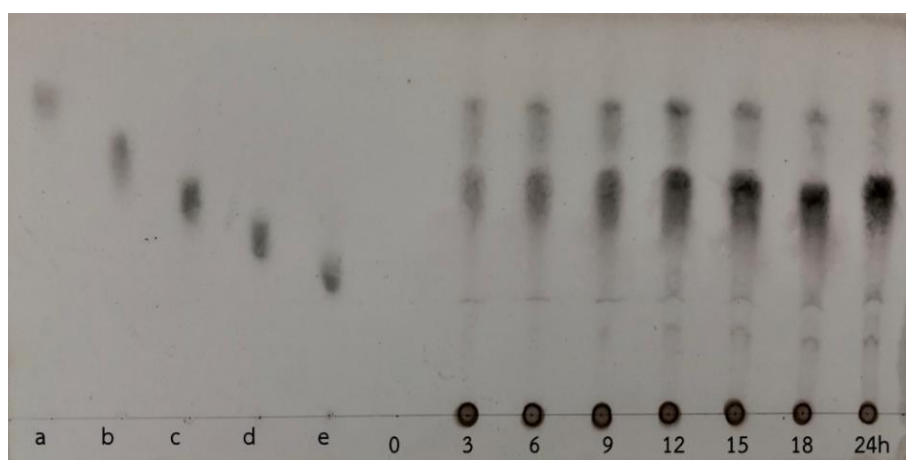


ภาพที่ 17 องค์ประกอบของส่วนใสจากการย่อยขานอ้อยด้วยเอนไซม์ไซลานเนสหยาบอัตราส่วน 3 กรัม : 3000 ยูนิต ที่เวลา 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 และ 24 ชั่วโมง ด้วยเทคนิค TLC เปรียบเทียบกับสารละลายน้ำตาลมาตรฐานไซโลส (X1) ไซโลไบโอส (X2) ไซโลไตรโอส (X3) ไซโลเตตระโอส (X4) และไซโลเพนตะโอส (X5)



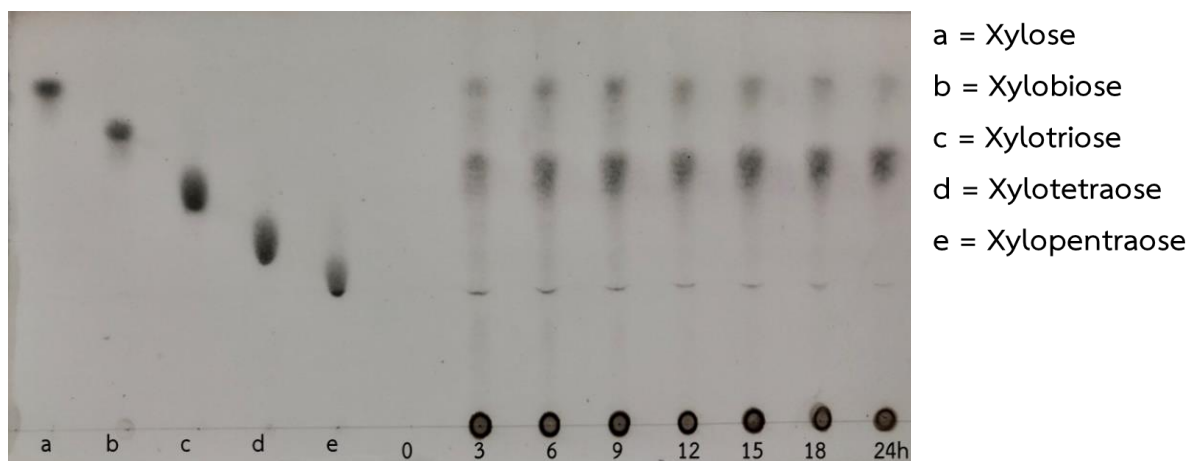
a = Xylose
b = Xylobiose
c = Xylotriose
d = Xylotetraose
e = Xylopentaose

ภาพที่ 18 องค์ประกอบของส่วนใสจากการย่อยขานอ้อยด้วยเอนไซม์ไซลานเนสหยาบอัตราส่วน 1 กรัม : 2000 ยูนิต ที่เวลา 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 และ 24 ชั่วโมง ด้วยเทคนิค TLC เปรียบเทียบกับสารละลายน้ำตาลมาตรฐานไซโลส (X1) ไซโลไบโอส (X2) ไซโลไตรโอส (X3) ไซโลเตตระโอส (X4) และไซโลเพนตะโอส (X5)

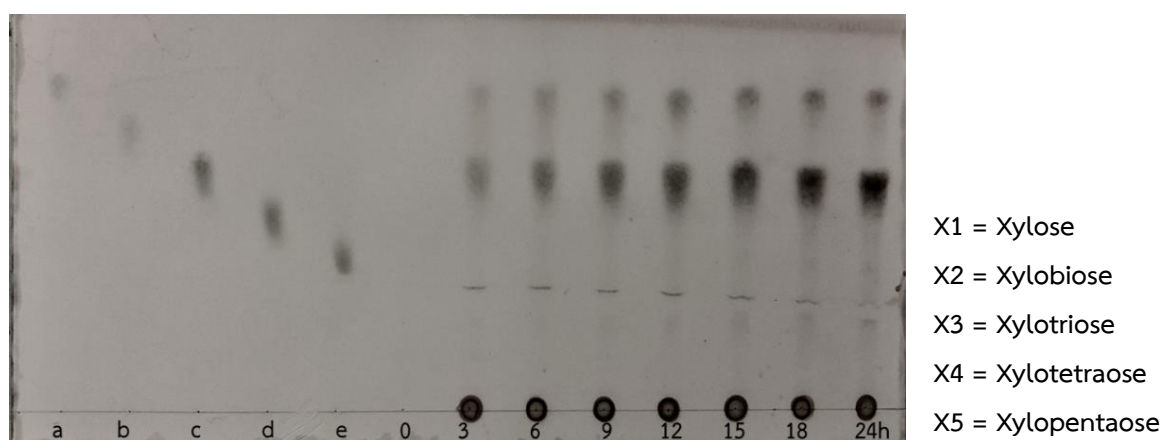


X1 = Xylose
X2 = Xylobiose
X3 = Xylotriose
X4 = Xylotetraose
X5 = Xylopentaose

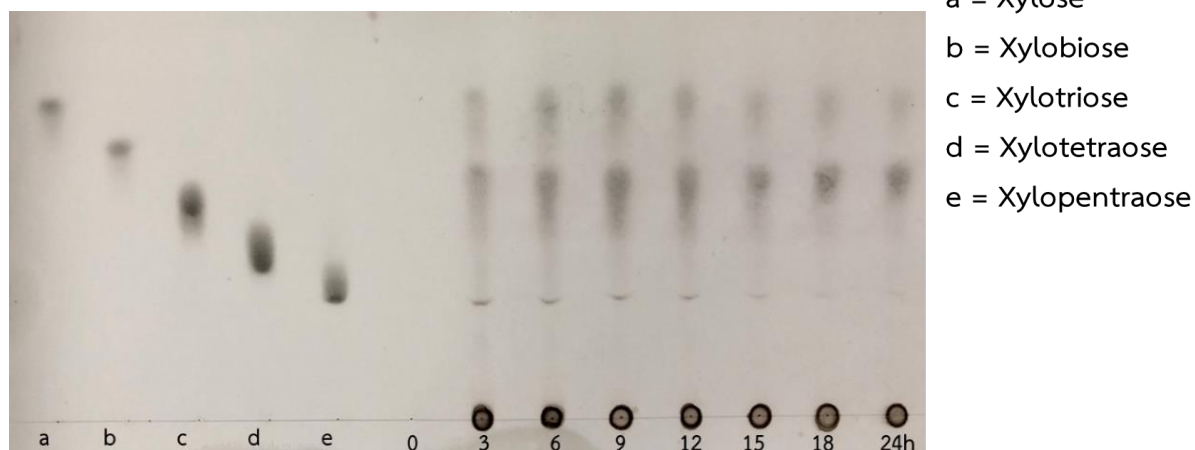
ภาพที่ 19 องค์ประกอบของส่วนใสจากการย่อยขานอ้อยด้วยเอนไซม์ไซลานเนสหยาบอัตราส่วน 2 กรัม : 4000 ยูนิต ที่เวลา 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 และ 24 ชั่วโมง ด้วยเทคนิค TLC เปรียบเทียบกับสารละลายน้ำตาลมาตรฐานไซโลส (X1) ไซโลไบโอส (X2) ไซโลไตรโอส (X3) ไซโลเตตระโอส (X4) และไซโลเพนตะโอส (X5)



ภาพที่ 20 องค์ประกอบของส่วนใสจากการย่อยขาน้อยด้วยเอนไซม์ไซลาลเนสหยาบอัตราส่วน 3 กรัม : 6000 ยูนิต ที่เวลา 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 และ 24 ชั่วโมง ด้วยเทคนิค TLC เปรียบเทียบกับสารละลายน้ำตาลมาตรฐานไซโลส (X1) ไซโลไบโอส (X2) ไซโลไตรโอส (X3) ไซโลเตตระโอส (X4) และไซโลเพนตะโอส (X5)



ภาพที่ 21 องค์ประกอบของส่วนใสจากการย่อยขาน้อยด้วยเอนไซม์ไซลาลเนสหยาบอัตราส่วน 4 กรัม : 8000 ยูนิต ที่เวลา 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 และ 24 ชั่วโมง ด้วยเทคนิค TLC เปรียบเทียบกับสารละลายน้ำตาลมาตรฐานไซโลส (X1) ไซโลไบโอส (X2) ไซโลไตรโอส (X3) ไซโลเตตระโอส (X4) และไซโลเพนตะโอส (X5)

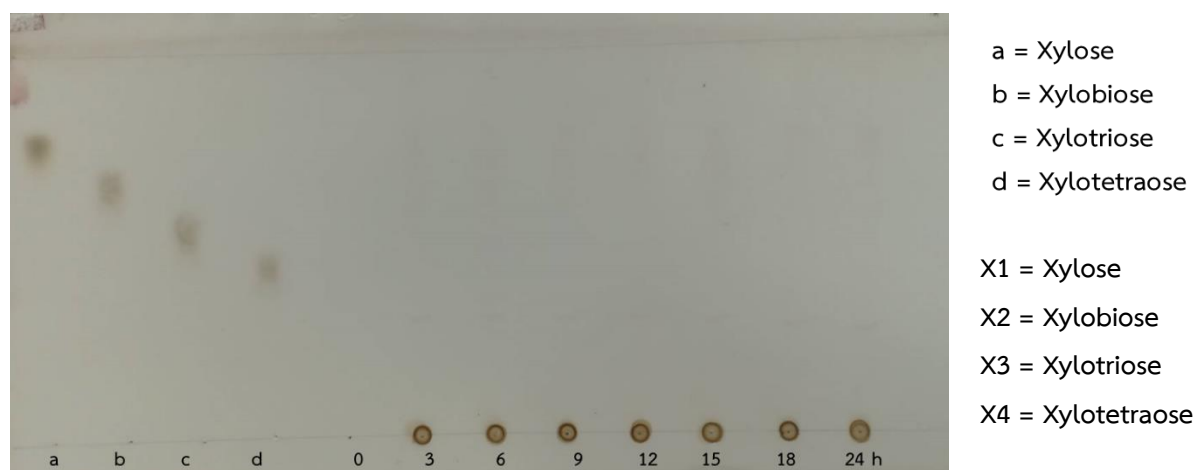


ภาพที่ 22 องค์ประกอบของส่วนใสจากการย่อยขานอ้อยด้วยเอนไซม์ไซลาเนสหยาบอัตราส่วน 5 กรัม : 10000 ยูนิต ที่เวลา 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 และ 24 ชั่วโมง ด้วยเทคนิค TLC เปรียบเทียบกับ สารละลายน้ำตาลมาตรฐานไซโลส (X1) ไซโลไบโอส (X2) ไซโลไตรโอส (X3) ไซโลเตตระโอส (X4) และ ไซโลเพนตะโอส (X5)

4.3 ผลการศึกษาการผลิตไซโลโอลิโกแซคคาไรด์จากไซแลนผ่านการสกัดโดยวิธีการทางเคมีต่างๆ ด้วยเอนไซม์ไซลานเนสหยาบ

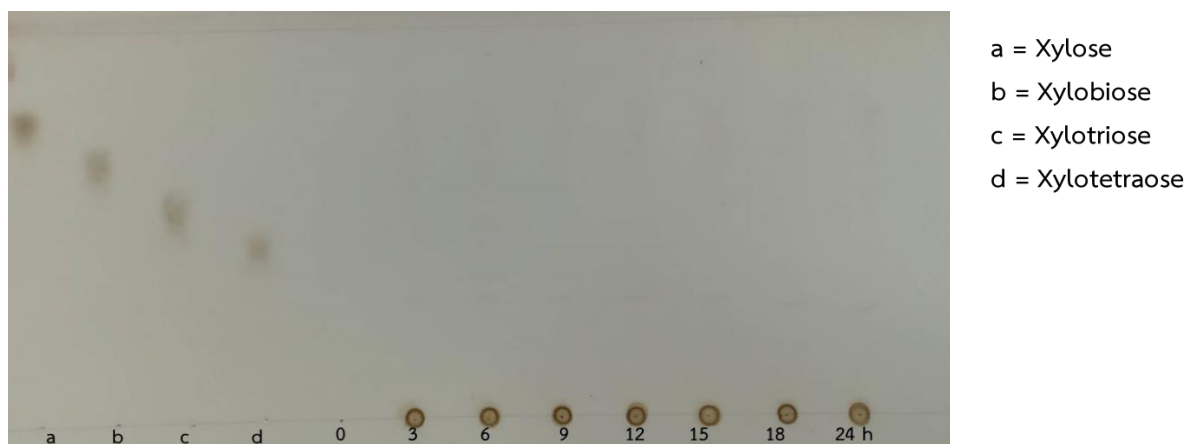
การผลิตไซโลโอลิโกแซคคาไรด์จากไซแลนซึ่งผ่านการสกัดโดยวิธีทางเคมีแล้วด้วยเอนไซม์ไซลานเนส หยาบจาก *T. fusca* PA 1-1 โดยทำการเก็บส่วนใสที่เวลา 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 และ 24 ชั่วโมงของตัวอย่าง ในอัตราส่วนค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไซลานเนส 2,000 หน่วยต่อมิลลิลิตรของไซแลน โดยเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานไซโลส (X1) ไซโลไบโอส (X2) ไซโลไตรโอส (X3) ไซโลเตตระโอส (X4) ผลจากการสังเกตขนาดและความชัดเจนของแถบ (Band) ของตัวอย่างจากไซแลนผ่านการสกัดด้วยวิธีการทางเคมีต่างๆ เปรียบเทียบกับแถบของสารละลายมาตรฐาน พบว่าไซแลนซึ่งผ่านการสกัดโดยวิธีการใช้ต่าง และวิธีโซเดียมไฮโปคลอไรด์ มีปริมาณไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ในปริมาณต่ำมาก เนื่องจากสังเกตพบแถบสีที่ค่อนข้างจางเมื่อเทียบกับสารละลายมาตรฐาน ดังแสดงในภาพที่ 23 และภาพที่ 24

สำหรับตัวอย่างไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ซึ่งย่อยจากไซแลนผ่านการสกัดโดยวิธี Alkali extraction ด้วยเอนไซม์ไซลานเนสหยาบ พบองค์ประกอบของไซโลส (X1) และไซโลไบโอส (X2) ดังแสดงในภาพที่ 25 และไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ซึ่งย่อยจากไซแลนผ่านการสกัดโดยวิธี Autohydrolysis พบองค์ประกอบของไซโลส (X1) ไซโลไบโอส (X2) และไซโลไตรโอส (X3) ดังแสดงในภาพที่ 26

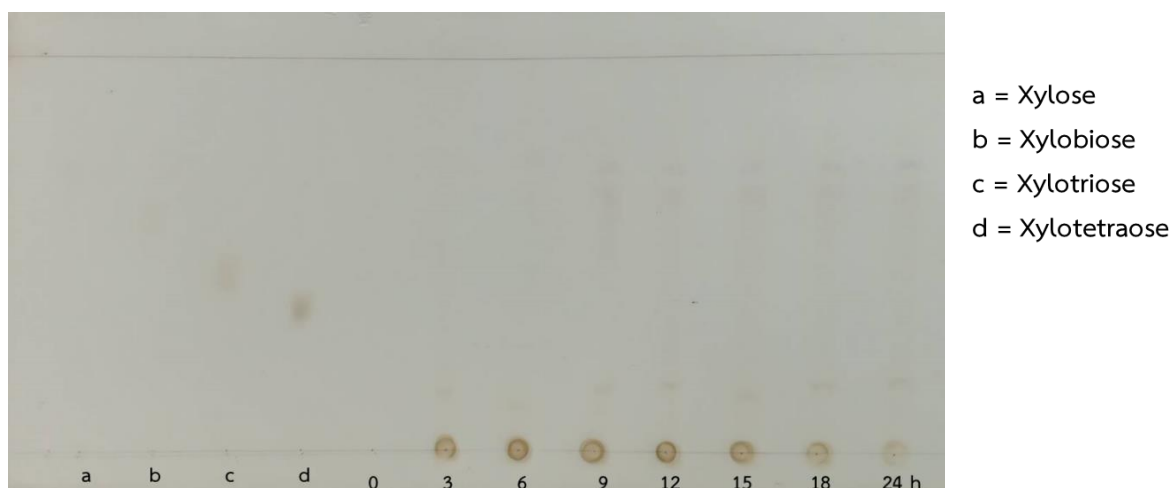


ภาพที่ 23 องค์ประกอบของส่วนใสจากการย่อยไซแลนซึ่งผ่านการสกัดด้วยการใช้ต่างด้วยเอนไซม์ไซลานเนสหยาบอัตราส่วน 1 : 2000 หน่วยต่อกรัมขานอ้อย ที่เวลา 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 และ 24 ชั่วโมง

ด้วยเทคนิค TLC เปรียบเทียบกับสารละลายน้ำตาลมาตรฐานไซโลส (X1) ไซโลไบโอส (X2) ไซโลไตรโอส (X3) และไซโลเตตระโอส (X4)

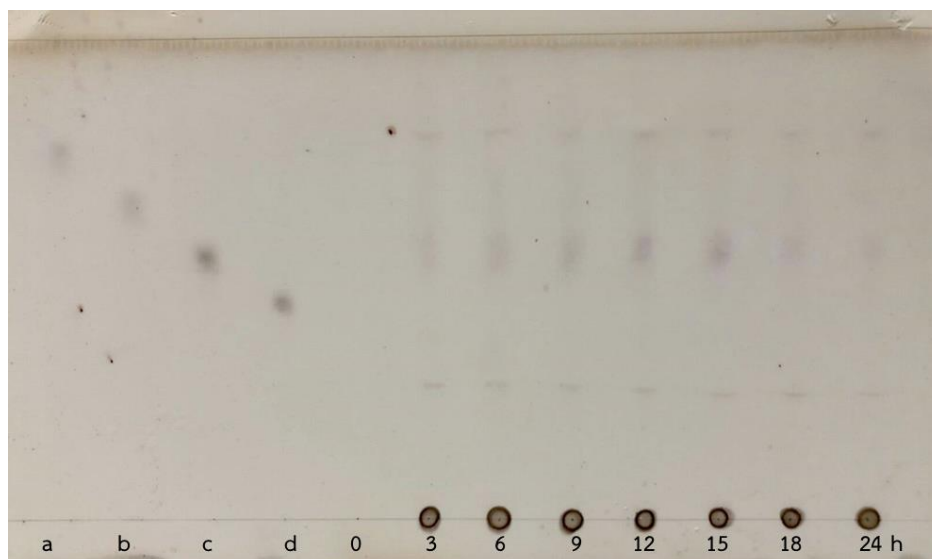


ภาพที่ 24 องค์ประกอบของส่วนใสจากการย่อยไซแลนซึ่งผ่านการสกัดด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรต์ด้วย เอนไซม์ไซลานเนสหยาบอัตราส่วน 1 : 2000 ยูนิตต่อกรัมขานอ้อย ที่เวลา 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 และ 24 ชั่วโมง ด้วยเทคนิค TLC เปรียบเทียบกับสารละลายน้ำตาลมาตรฐานไซโลส (X1) ไซโลไบโอส (X2) ไซโลไตรโอส (X3) และไซโลเตตระโอส (X4)



ภาพที่ 25 องค์ประกอบของส่วนใสจากการย่อยไซแลนซึ่งผ่านการสกัดด้วยวิธี Alkali extraction ด้วย เอนไซม์ ไซลานเนสหยาบอัตราส่วน 1 : 2000 ยูนิตต่อกรัมขานอ้อย ที่เวลา 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 และ

24 ชั่วโมง ด้วยเทคนิค TLC เปรียบเทียบกับสารละลายน้ำตาลมาตรฐานไซโลส (X1) ไซโลไบโอส (X2) ไซโลไตรโอส (X3) และไซโลเตตระโอส (X4)



a = Xylose
b = Xylobiose
c = Xylotriose
d = Xylotetraose

ภาพที่ 26 องค์ประกอบของส่วนใยการย่อยไซแลนซึ่งผ่านการสกัดด้วยวิธี Autohydrolysis แล้วด้วย เอนไซม์ ไซลานเนสหยาบอัตราส่วน 1 : 2000 ยูนิตต่อกรัมขานอ้อย ที่เวลา 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 และ 24 ชั่วโมง ด้วยเทคนิค TLC เปรียบเทียบกับสารละลายน้ำตาลมาตรฐานไซโลส (X1) ไซโลไบโอส (X2) ไซโลไตรโอส (X3) และไซโลเตตระโอส (X4)

4.4 ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลอนรีดิวิซ์ที่เกิดขึ้นโดยวิธีการวัดปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและ ปริมาณน้ำตาลรีดิวิซ์

การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลอนรีดิวิซ์โดยทางอ้อมจากผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ด้วยวิธีฟีนอล-ซัลฟูริก และผลการวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวิซ์ด้วยวิธี dinitrosalicylic acid (DNS) ของ ผลิตภัณฑ์จากการย่อยขานอ้อยด้วยเอนไซม์ไซลานเนสหยาบ พบว่าปริมาณน้ำตาลอนรีดิวิซ์สูงสุดของ ตัวอย่างจากการย่อยด้วยอัตราส่วนค่ากิจกรรมเอนไซม์ไซลานเนสหยาบ 50, 100, 200, 500, 1000 และ 2000 ยูนิตต่อกรัมขานอ้อย เท่ากับ 3.165 ± 0.05 (ชั่วโมงที่ 24), 3.213 ± 0.02 (ชั่วโมงที่ 24), 2.639 ± 0.02 (ชั่วโมงที่ 9), 3.309 ± 0.01 (ชั่วโมงที่ 24), 3.455 ± 0.02 (ชั่วโมงที่ 12) และ 3.977 ± 0.01 (ชั่วโมงที่ 24) มิลลิกรัมต่อกรัมขานอ้อย ตามลำดับ และเมื่อเพิ่มปริมาณขานอ้อยต่อค่ากิจกรรมเอนไซม์

ไซลาเนสหยาบเป็นอัตราส่วน 2 กรัม : 2000 ยูนิต, 3 กรัม : 3000 ยูนิต, 2 กรัม : 4000 ยูนิต, 3 กรัม : 6000 ยูนิต, 4 กรัม : 8000 ยูนิต และ 5 กรัม : 10000 ยูนิต พบว่าได้ปริมาณน้ำตาลนอนรีติวซ์ เท่ากับ 3.990 ± 0.09 (ชั่วโมงที่ 18), 3.792 ± 0.01 (ชั่วโมงที่ 15), 3.475 ± 0.17 (ชั่วโมงที่ 9), 5.330 ± 0.02 (ชั่วโมงที่ 15), 4.053 ± 0.03 (ชั่วโมงที่ 15) และ 4.856 ± 0.02 (ชั่วโมงที่ 24) มิลลิกรัมต่อกรัมขานอ้อย ตามลำดับ ดังแสดงผลในตารางที่ 2

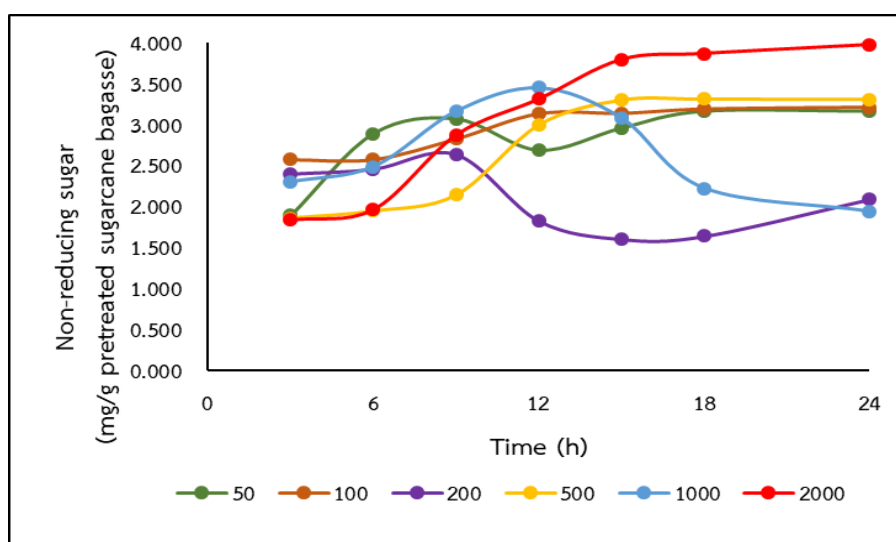
ดังนั้นจากผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลนอนรีติวซ์ของการย่อยขานอ้อย 1 กรัมด้วยเอนไซม์ไซลาเนสหยาบในอัตราส่วนดังกล่าวข้างต้น สรุปได้ว่าอัตราส่วนที่ให้ปริมาณน้ำตาลนอนรีติวซ์สูงสุด คือ อัตราส่วนค่ากิจกรรมเอนไซม์ไซลาเนสหยาบ 2000 ยูนิตต่อกรัมขานอ้อย ที่เวลาการย่อย 24 ชั่วโมง (3.977 ± 0.01 มิลลิกรัมต่อกรัมขานอ้อย) และเมื่อเพิ่มปริมาณขานอ้อยและปริมาณเอนไซม์หยาบพบว่า อัตราส่วนที่ให้ปริมาณน้ำตาลนอนรีติวซ์สูงสุด คือ อัตราส่วนปริมาณขานอ้อยต่อค่ากิจกรรมเอนไซม์ไซลาเนสหยาบ 5 กรัม : 10000 ยูนิต ที่เวลาการย่อย 24 ชั่วโมง โดยมีปริมาณน้ำตาลนอนรีติวซ์เท่ากับ 4.856 ± 0.02 มิลลิกรัมต่อกรัมขานอ้อย ดังแสดงผลในตารางที่ 3

สำหรับการใช้ไซแลนซึ่งผ่านการสกัดโดยวิธีทางเคมีแล้วย่อยด้วยเอนไซม์ไซลาเนสหยาบ อัตราส่วน 2000 ยูนิตต่อไซแลนซึ่งสกัดจากขานอ้อย 5 กรัม เมื่อวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลนอนรีติวซ์ พบว่าวิธีการสกัดโดยใช้โซเดียมไฮโปคลอไรต์มีปริมาณน้ำตาลนอนรีติวซ์ต่ำสุด ตามด้วยวิธี Autohydrolysis และวิธีการใช้ต่าง ส่วนวิธี Alkali extraction ให้ปริมาณน้ำตาลนอนรีติวซ์สูงกว่าวิธีอื่น และมีปริมาณน้ำตาลนอนรีติวซ์สูงสุดเท่ากับ 1.625 ± 0.01 มิลลิกรัมต่อกรัมขานอ้อย ที่เวลา 9 ชั่วโมงของการย่อย ดังแสดงผลในตารางที่ 4

ดังนั้นเมื่อเปรียบเทียบกับการผลิตไซโลโอลิโกแซคคาไรด์จากขานอ้อยผ่านการปรับสภาพแล้ว สรุปได้ว่าปริมาณน้ำตาลนอนรีติวซ์ซึ่งได้รับจากการย่อยไซแลนผ่านการสกัดโดยวิธีทางเคมีด้วยเอนไซม์ไซลาเนสหยาบให้ปริมาณน้ำตาลนอนรีติวซ์ (ไซโลโอลิโกแซคคาไรด์) ต่ำกว่าการย่อยขานอ้อยผ่านการปรับสภาพโดยตรงด้วยเอนไซม์ไซลาเนสหยาบในอัตราส่วนเดียวกัน

ตารางที่ 2 ปริมาณน้ำตาลนอนรีดิวิซ์ของผลิตภัณฑ์จากการย่อยชานอ้อยด้วยเอนไซม์ไซลาลเนสหยาบ อัตราส่วน 50, 100, 200, 500, 1000 และ 2000 ยูนิตต่อกรัมชานอ้อย

เวลา	ปริมาณน้ำตาลนอนรีดิวิซ์ (มิลลิกรัมต่อกรัมชานอ้อย)					
การย่อย (ชั่วโมง)	1:50 ยูนิตต่อ กรัมชานอ้อย	1:100 ยูนิตต่อ กรัมชานอ้อย	1:200 ยูนิตต่อ กรัมชานอ้อย	1:500 ยูนิตต่อ กรัมชานอ้อย	1:1000 ยูนิตต่อ กรัมชานอ้อย	1:2000 ยูนิตต่อ กรัมชานอ้อย
0	0.000 ± 0.00	0.000 ± 0.00	0.000 ± 0.00	0.000 ± 0.00	0.000 ± 0.00	0.000 ± 0.00
3	1.893 ± 0.13	2.575 ± 0.04	2.402 ± 0.04	1.862 ± 0.01	2.302 ± 0.01	1.837 ± 0.00
6	2.892 ± 0.00	2.576 ± 0.02	2.460 ± 0.02	1.947 ± 0.03	2.490 ± 0.01	1.966 ± 0.05
9	3.071 ± 0.03	2.827 ± 0.01	2.639 ± 0.02	2.145 ± 0.05	3.171 ± 0.01	2.874 ± 0.01
12	2.690 ± 0.02	3.133 ± 0.00	1.829 ± 0.02	2.998 ± 0.02	3.455 ± 0.02	3.314 ± 0.02
15	2.959 ± 0.05	3.139 ± 0.00	1.606 ± 0.02	3.301 ± 0.01	3.084 ± 0.01	3.796 ± 0.01
18	3.165 ± 0.02	3.190 ± 0.01	1.643 ± 0.01	3.313 ± 0.01	2.224 ± 0.01	3.869 ± 0.00
24	3.165 ± 0.05	3.213 ± 0.02	2.091 ± 0.11	3.309 ± 0.01	1.941 ± 0.01	3.977 ± 0.01

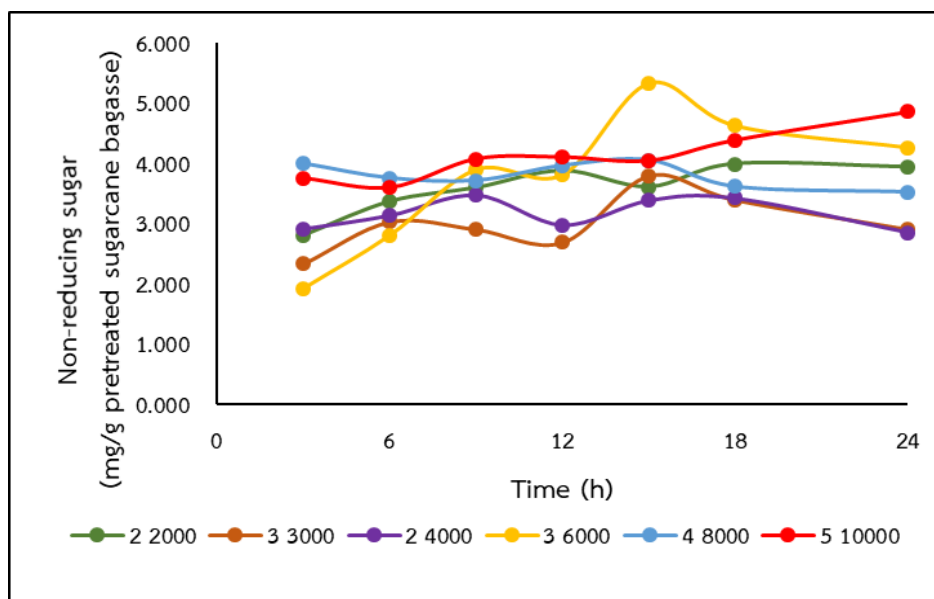


ภาพที่ 27 ปริมาณน้ำตาลนอนรีดิวิซ์ของผลิตภัณฑ์จากการย่อยชานอ้อยด้วยเอนไซม์ไซลาลเนสหยาบ อัตราส่วน 50, 100, 200, 500, 1000 และ 2000 ยูนิตต่อกรัมชานอ้อย

ตารางที่ 3 ปริมาณน้ำตาลอนรีติวซ์ของผลิตภัณฑ์จากการย่อยชานอ้อยด้วยเอนไซม์ไซลาลเนสหยาบ

อัตราส่วน 2 กรัม : 2000 ยูนิต, 3 กรัม : 3000 ยูนิต, 2 กรัม : 4000 ยูนิต, 3 กรัม : 6000 ยูนิต, 4 กรัม : 8000 ยูนิต และ 5 กรัม : 10000 ยูนิต

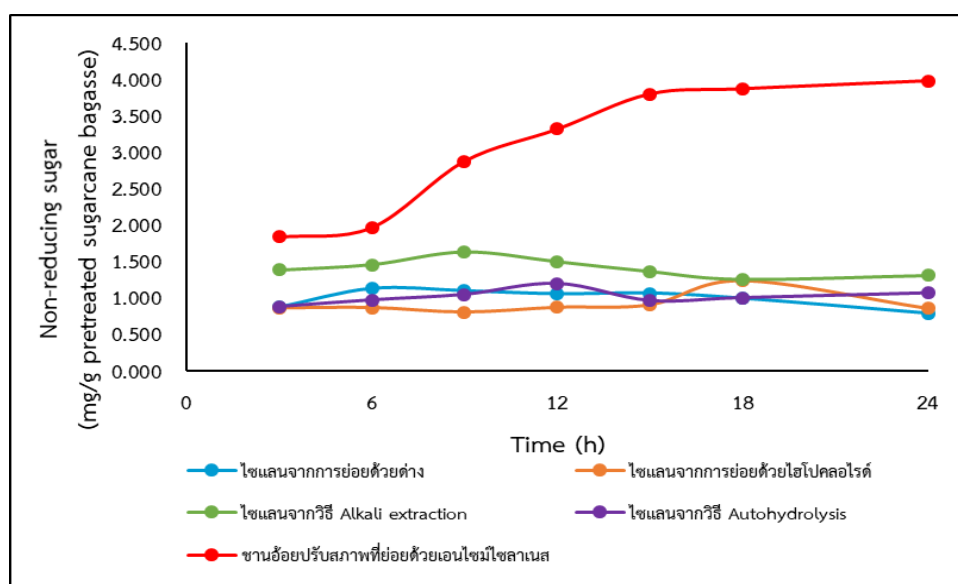
เวลา	ปริมาณน้ำตาลอนรีติวซ์ (มิลลิกรัมต่อกรัมชานอ้อย)					
การย่อย (ชั่วโมง)	2 กรัม: 2000 ยู นิต	3 กรัม: 3000 ยู นิต	2 กรัม: 4000 ยู นิต	3 กรัม: 6000 ยู นิต	4 กรัม: 8000 ยูนิต	5 กรัม: 10000 ยูนิต
0	0.000 ± 0.00	0.000 ± 0.00	0.000 ± 0.00	0.000 ± 0.00	0.000 ± 0.00	0.000 ± 0.00
3	2.801 ± 0.03	2.334 ± 0.00	2.902 ± 0.04	1.923 ± 0.02	3.997 ± 0.00	3.750 ± 0.01
6	3.364 ± 0.02	3.029 ± 0.06	3.132 ± 0.18	2.807 ± 0.02	3.756 ± 0.01	3.594 ± 0.00
9	3.593 ± 0.02	3.903 ± 0.02	3.475 ± 0.17	3.897 ± 0.01	3.715 ± 0.01	4.074 ± 0.03
12	3.874 ± 0.02	2.688 ± 0.03	2.966 ± 0.01	3.811 ± 0.02	3.964 ± 0.01	4.102 ± 0.00
15	3.607 ± 0.03	3.792 ± 0.01	3.386 ± 0.01	5.330 ± 0.02	4.053 ± 0.03	4.044 ± 0.02
18	3.990 ± 0.09	3.393 ± 0.04	3.423 ± 0.03	4.624 ± 0.02	3.613 ± 0.01	4.386 ± 0.04
24	3.937 ± 0.06	2.904 ± 0.03	2.843 ± 0.02	4.261 ± 0.03	3.522 ± 0.01	4.856 ± 0.02



ภาพที่ 28 ปริมาณน้ำตาลอนรีดิซของผลิตภัณฑ์จากการย่อยชานอ้อยด้วยเอนไซม์ไซลาลเนสหยาบ อัตราส่วน 2 กรัม : 2000 ยูนิต, 3 กรัม : 3000 ยูนิต, 2 กรัม : 4000 ยูนิต, 3 กรัม : 6000 ยูนิต, 4 กรัม : 8000 ยูนิต และ 5 กรัม : 10000 ยูนิต

ตารางที่ 4 ปริมาณน้ำตาลอนรีดิวซ์ของผลิตภัณฑ์จากการย่อยไซเลนผ่านการสกัดโดยวิธีทางเคมีต่างๆ ด้วยเอนไซม์ไซลานเนสหยาบ อัตราส่วน ชานอ้อย 1 กรัม : 2000 ยูนิต

เวลา	ปริมาณน้ำตาลอนรีดิวซ์ (มิลลิกรัมต่อกรัมชานอ้อย)			
การย่อย	วิธีการใช้ต่าง	วิธีการใช้โซเดียม	วิธี	วิธี
(ชั่วโมง)		ไฮโปคลอไรท์	Alkali extraction	Autohydrolysis
0	0.000 ± 0.00	0.000 ± 0.00	0.000 ± 0.00	0.000 ± 0.00
3	0.867 ± 0.03	0.861 ± 0.01	1.383 ± 0.04	0.878 ± 0.05
6	1.126 ± 0.02	0.867 ± 0.01	1.455 ± 0.02	0.970 ± 0.01
9	1.095 ± 0.03	0.805 ± 0.02	1.625 ± 0.01	1.046 ± 0.01
12	1.053 ± 0.01	0.871 ± 0.00	1.495 ± 0.01	1.197 ± 0.01
15	1.063 ± 0.09	0.904 ± 0.00	1.364 ± 0.05	0.962 ± 0.03
18	0.992 ± 0.01	1.238 ± 0.01	1.259 ± 0.04	1.001 ± 0.02
24	0.787 ± 0.01	0.854 ± 0.03	1.310 ± 0.02	1.066 ± 0.01



ภาพที่ 29 ปริมาณน้ำตาลอนรีดิวซ์ของผลิตภัณฑ์จากการย่อยไซเลนผ่านการสกัดโดยวิธีทางเคมีต่างๆ ด้วยเอนไซม์ไซลานเนสหยาบ อัตราส่วน ชานอ้อย 1 กรัม : 2000 ยูนิต

ตารางที่ 5 ค่าผลได้ของผลิตภัณฑ์จากการย่อยชานอ้อยด้วยเอนไซม์ไซลาลเนสหยาบ อัตราส่วน 50, 100, 200, 500, 1000 และ 2000 ยูนิตต่อกรัมของชานอ้อย

เวลา การย่อย (ชั่วโมง)	ผลได้ (ร้อยละ)					
	50 ยูนิตต่อ กรัมชานอ้อย	100 ยูนิตต่อ กรัมชานอ้อย	200 ยูนิตต่อ กรัมชานอ้อย	500 ยูนิตต่อ กรัมชานอ้อย	1000 ยูนิตต่อ กรัมชานอ้อย	2000 ยูนิตต่อ กรัมชานอ้อย
0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
3	0.189	0.257	0.240	0.186	0.230	0.184
6	0.289	0.258	0.246	0.195	0.249	0.197
9	0.307	0.283	0.264	0.214	0.317	0.287
12	0.269	0.313	0.183	0.300	0.346	0.331
15	0.296	0.314	0.161	0.330	0.308	0.380
18	0.316	0.319	0.164	0.331	0.222	0.387
24	0.317	0.321	0.209	0.331	0.194	0.398

การวิเคราะห์ปริมาณไซโลโอลิโกแซคคาร์ไรด์โดยเทคนิค High-performance liquid chromatography (HPLC)

การวิเคราะห์ชนิดของผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการย่อยชานอ้อยผ่านการปรับสภาพและไซแลนจากชานอ้อยซึ่งผ่านการสกัดโดยวิธีทางเคมีด้วยเอนไซม์ไซลาลเนสหยาบจาก *T. fusca* PA1-1 เปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานไซโลไบโอส (X2) ไซโลไตรโอส (X3) และไซโลเตตระโอส (X4) ตรวจพบองค์ประกอบของสารละลายไซโลโอลิโกแซคคาร์ไรด์ทั้ง 3 ชนิดดังกล่าว ซึ่งผลการทดลองที่ได้รับนี้สอดคล้องกับผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากการย่อยชานอ้อยผ่านการปรับสภาพด้วยเอนไซม์ไซลาลเนสหยาบโดยเทคนิค TLC ที่ตรวจพบว่ามียังองค์ประกอบของไซโลไบโอส (X2) ไซโลไตรโอส (X3) และไซโลเตตระโอส (X4) ล่วงก่อนหน้านี

ผลจากการวิเคราะห์พบว่า ในทุกเวลาของการย่อยชานอ้อยผ่านการปรับสภาพและไซแลนจากชานอ้อยซึ่งผ่านการสกัดโดยวิธีทางเคมีด้วยเอนไซม์ไซลาเนสหายาบจาก *T. fusca* PA1-1 มีปริมาณองค์ประกอบของไซโลเตตระโอส (X4) สูงสุด ตามด้วยไซโลไตรโอส (X3) และไซโลไบโอส (X2) ตามลำดับ โดยพบว่าการใช้ชานอ้อยผ่านการปรับสภาพเป็นวัตถุดิบในการผลิตไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ให้ปริมาณไซโลเตตระโอส (X4) และไซโลไตรโอส (X3) สูงสุด ตามลำดับ โดยที่ 24 ชั่วโมงของการย่อย พบปริมาณไซโลเตตระโอส (X4) เท่ากับ 197.61 มิลลิกรัมต่อกรัมชานอ้อย หรือคิดเป็นร้อยละ 19.76 ของชานอ้อย 1 กรัม ดังแสดงในตารางที่ 8 และ พบปริมาณไซโลไตรโอส (X3) เท่ากับ 23.285 มิลลิกรัมต่อกรัมชานอ้อย หรือคิดเป็นร้อยละ 2.33 ของชานอ้อย 1 กรัม ที่ 9 ชั่วโมงของการย่อยเพื่อผลิตไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ ดังแสดงในตารางที่ 7 นอกจากนี้พบว่าวิธีการผลิตไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ดังกล่าวนี้ให้ปริมาณไซโลไบโอส (X2) เท่ากับ 18.574 มิลลิกรัมต่อกรัมชานอ้อย หรือคิดเป็นร้อยละ 1.86 ของชานอ้อย 1 กรัม ที่เวลา 24 ชั่วโมงของการย่อยเพื่อผลิตไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ และพบว่ามีความสูงเป็นอันดับสองจากการย่อยโดยใช้ไซแลนจากวิธีการสกัดด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ 18 ชั่วโมง ให้ปริมาณไซโลไบโอส (X2) สูงสุด เท่ากับ 18.832 มิลลิกรัมต่อกรัมชานอ้อย หรือคิดเป็นร้อยละ 1.88 ของชานอ้อย 1 กรัม ดังแสดงในตารางที่ 6

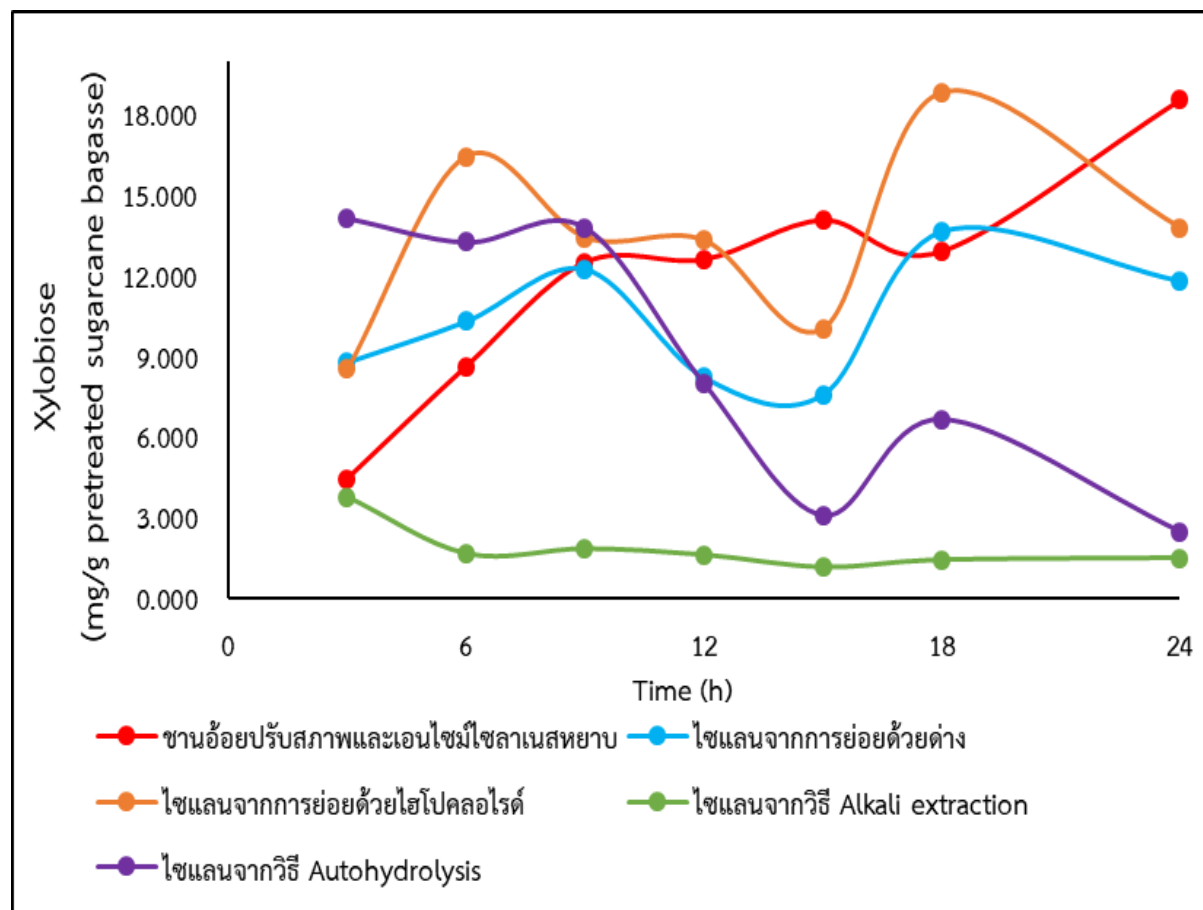
จากการเปรียบเทียบผลที่ได้รับจากแต่ละวิธีของการผลิตไซโลโอลิโกแซคคาไรด์จากชานอ้อยได้แก่

- การย่อยชานอ้อยผ่านการปรับสภาพด้วยเอนไซม์ไซลาเนสหายาบ
- การย่อยไซแลนซึ่งสกัดจากชานอ้อยด้วยวิธีการใช้ต่างโดยเอนไซม์ไซลาเนสหายาบ
- การย่อยไซแลนซึ่งสกัดจากชานอ้อยด้วยวิธีการใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์โดยเอนไซม์ไซลาเนสหายาบ
- การย่อยไซแลนซึ่งสกัดจากชานอ้อยด้วยวิธี Alkali extraction โดยเอนไซม์ไซลาเนสหายาบ
- การย่อยไซแลนซึ่งสกัดจากชานอ้อยด้วยวิธี Autohydrolysis โดยเอนไซม์ไซลาเนสหายาบ

พบว่าวิธีการที่ให้ปริมาณไซโลโอลิโกแซคคาไรด์รวม 3 ชนิด ได้แก่ ไซโลไบโอส (X2) ไซโลไตรโอส (X3) และไซโลเตตระโอส (X4) สูงสุด (18.574, 23.285 และ 197.613 มิลลิกรัมต่อกรัมชานอ้อยตามลำดับ) ดังแสดงผลในตารางที่ 6-8 คือ การย่อยชานอ้อยผ่านการปรับสภาพแล้วด้วยเอนไซม์ไซลาเนสหายาบในอัตราส่วนค่ากิจกรรมเอนไซม์ไซลาเนส 2000 ยูนิตต่อกรัมชานอ้อย ซึ่งมีข้อดีหลายประการ คือ ประหยัดเวลา ให้ปริมาณผลได้สูง และไม่ก่อให้เกิดสารพิษจากสารเคมีที่ใช้เกินความจำเป็น

ตารางที่ 6 ปริมาณไซโลไบโอส (X2) ในผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการย่อยชานอ้อย และไซแลนจากการสกัดโดยวิธีทางเคมี ด้วยเอนไซม์ไซลาเนสหยาบ

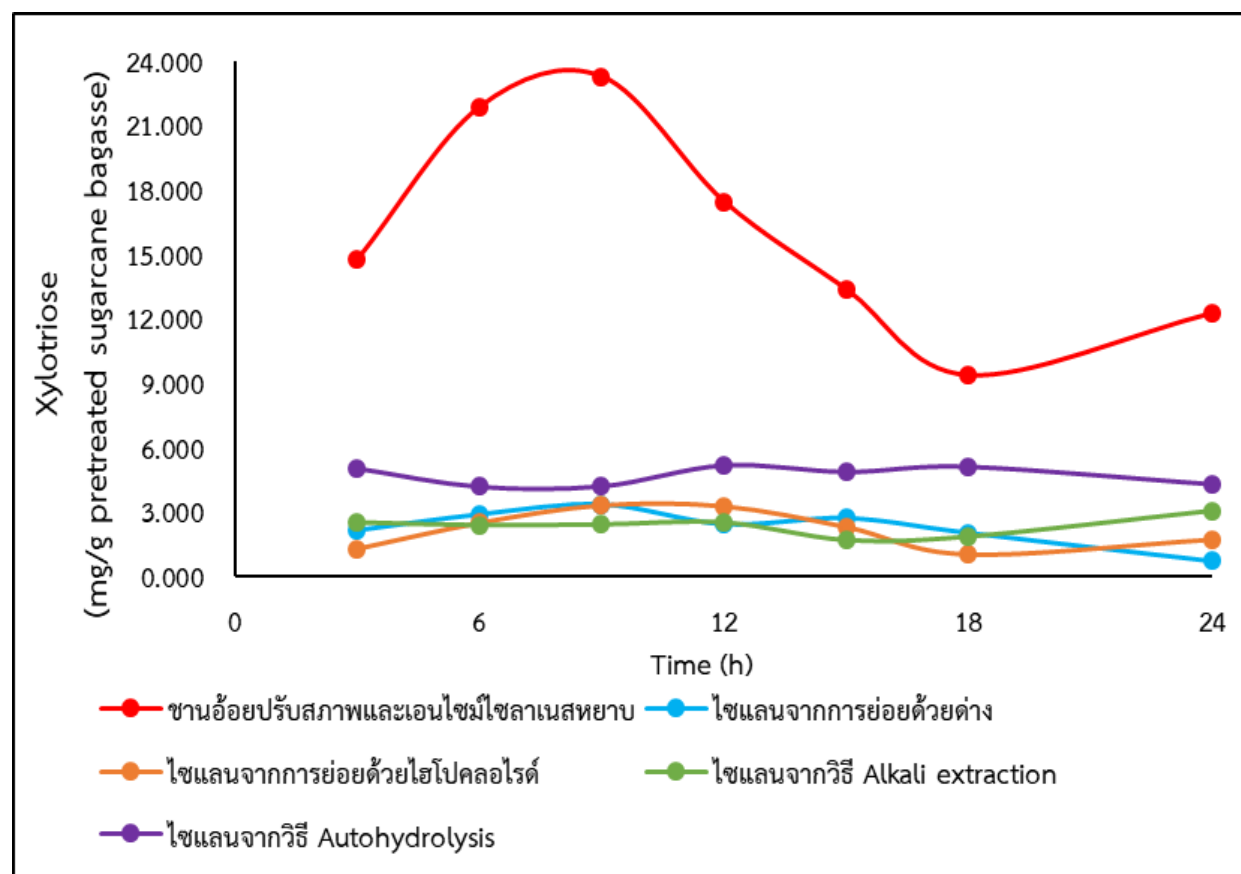
เวลาในการ ย่อย (ชั่วโมง)	ชานอ้อย		ไซแลนจาก วิธีการใช้ต่าง		ไซแลนจากวิธีการใช้ ไซเดียมไฮโปคลอไรท์		ไซแลนจากวิธี Alkali extraction		ไซแลนจากวิธี Autohydrolysis	
	(mg/g)	(%)	(mg/g)	(%)	(mg/g)	(%)	(mg/g)	(%)	(mg/g)	(%)
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	4.449	3.12	8.805	7.09	8.536	5.97	3.792	4.93	2.835	4.16
6	8.646	4.91	10.335	8.98	16.464	12.75	1.675	2.08	3.655	4.52
9	12.527	6.79	12.276	10.73	13.443	10.53	1.855	2.14	2.764	3.31
12	12.630	7.50	8.249	7.36	13.341	10.19	1.627	2.24	1.602	2.08
15	14.094	8.18	7.611	6.27	10.064	5.68	1.168	1.72	0.621	0.93
18	12.936	8.12	13.685	10.64	18.832	9.98	1.440	1.93	1.338	1.83
24	18.574	8.13	11.839	10.80	13.817	7.60	1.515	2.12	0.501	0.74



ภาพที่ 30 ปริมาณไซโลไบโอส (X2) ในผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการย่อยขาน้อย และไซแลนจากการสกัดโดยวิธีทางเคมี ด้วยเอนไซม์ไซลาเนสหลาย

ตารางที่ 7 ปริมาณไซโลไตรโอส (X3) ในผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการย่อยชานอ้อย และไซแลนจากการสกัดโดยวิธีทางเคมี ด้วยเอนไซม์ไซลาเนสหยาบ

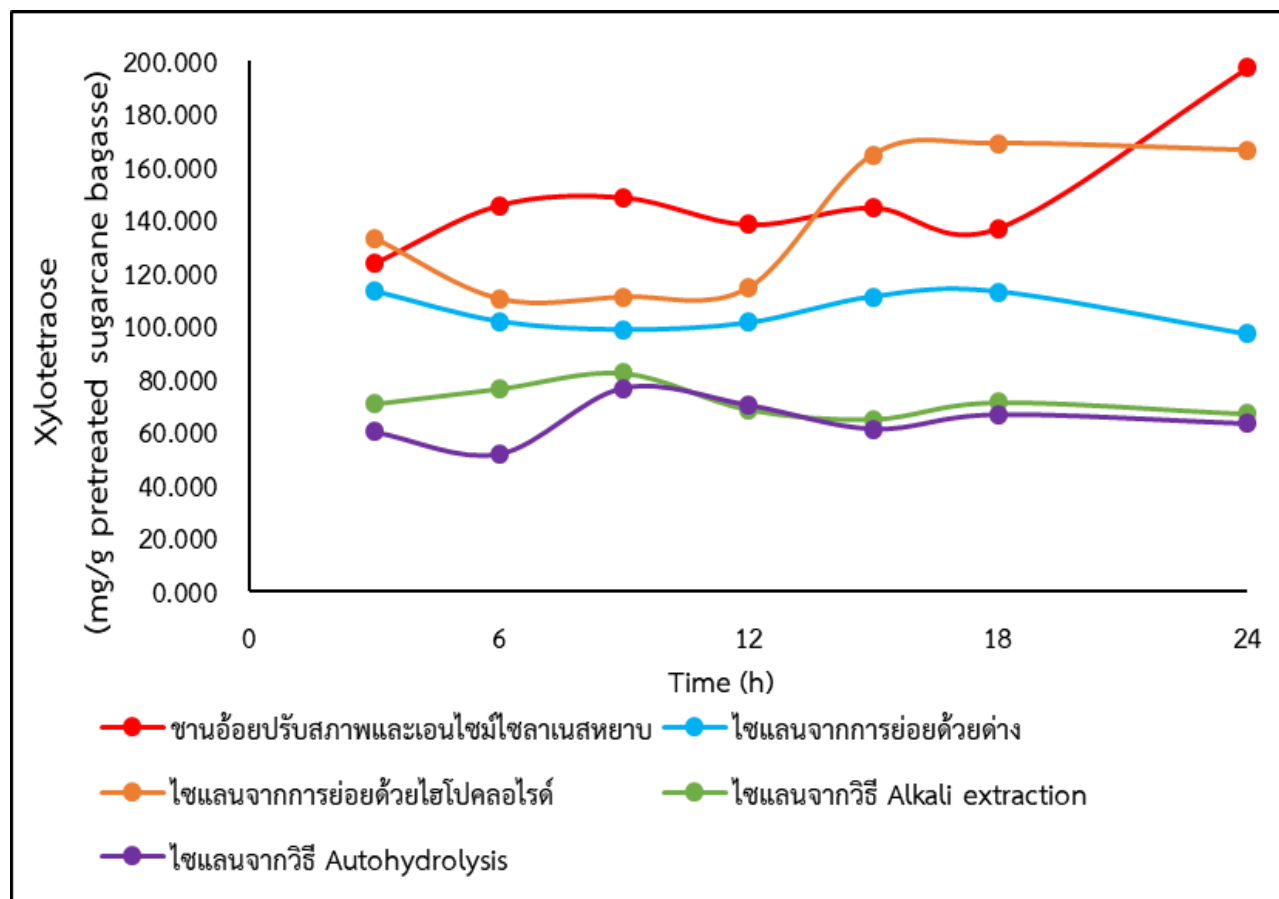
เวลาในการ ย่อย (ชั่วโมง)	ชานอ้อย		ไซแลนจาก วิธีการใช้ต่าง		ไซแลนจากวิธีการใช้ ไซเดียมไฮโปคลอไรท์		ไซแลนจากวิธี Alkali extraction		ไซแลนจากวิธี Autohydrolysis	
	(mg/g)	(%)	(mg/g)	(%)	(mg/g)	(%)	(mg/g)	(%)	(mg/g)	(%)
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	14.765	10.34	2.152	1.73	1.302	0.91	2.513	3.26	5.062	7.43
6	21.874	12.42	2.891	2.51	2.519	1.95	2.382	2.96	4.209	7.16
9	23.285	12.63	3.351	2.93	3.341	2.62	2.419	2.79	4.231	5.07
12	17.469	10.37	2.435	2.17	3.294	2.52	2.509	3.45	5.208	6.76
15	13.389	7.77	2.716	2.24	2.325	1.31	1.701	2.51	4.905	7.34
18	9.379	5.89	2.031	1.58	1.039	0.55	1.859	2.49	5.143	7.03
24	12.280	5.38	0.722	0.66	1.741	0.96	3.052	4.27	4.328	6.36



ภาพที่ 31 ปริมาณไซโลไตรโอส (X3) ในผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการย่อยชานอ้อย และไซเลนจากการสกัดโดยวิธีทางเคมี ด้วยเอนไซม์เซลลูลาเนสหลาย

ตารางที่ 8 ปริมาณไซโลเตตระโอส (X4) ในผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการย่อยชานอ้อย และไซแลนจากการสกัดโดยวิธีทางเคมี ด้วยเอนไซม์ไซลานเนสหยาบ

เวลาในการย่อย (ชั่วโมง)	ชานอ้อย		ไซแลนจาก วิธีการใช้ต่าง		ไซแลนจากวิธีการใช้ ไซเดียมไฮโปคลอไรท์		ไซแลนจากวิธี Alkali extraction		ไซแลนจากวิธี Autohydrolysis	
	(mg/g)	(%)	(mg/g)	(%)	(mg/g)	(%)	(mg/g)	(%)	(mg/g)	(%)
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	123.515	86.54	113.191	91.17	133.122	93.12	70.691	91.81	60.191	88.40
6	145.585	82.67	101.905	88.51	110.190	85.30	76.400	94.96	51.944	88.33
9	148.613	80.58	98.799	86.34	110.896	86.85	82.317	95.06	76.513	91.62
12	138.314	82.13	101.371	90.47	114.337	87.30	68.559	94.31	70.172	91.15
15	144.765	84.04	111.099	91.49	164.659	93.00	64.961	95.77	61.280	91.73
18	136.972	85.99	112.906	87.78	168.834	89.47	71.286	95.58	66.656	91.14
24	197.613	86.50	97.074	88.54	166.307	91.45	66.947	93.61	63.262	92.91



ภาพที่ 32 ปริมาณไซโลเตตระโอส (X4) ในผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการย่อยขานอ้อย และไซแลนจากการสกัดโดยวิธีทางเคมี ด้วยเอนไซม์ไซลานเนสหยาบ

4.2 การประเมินความเป็นไปได้ทางเศรษฐกิจเพื่อศึกษาต้นทุนการผลิตเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์ทางการค้า

การประเมินต้นทุนการผลิตในระดับการทดลอง เพื่อประเมินความเป็นไปได้ทางเศรษฐกิจและเชิงอุตสาหกรรม จากผลการทดลองพบว่าการผลิตไซโลโอลิโกแซคคาไรด์จากขานอ้อยด้วยการย่อยโดยเอนไซม์ไซลานเนสหยาบซึ่งคณะวิจัยผลิตเองโดยจุลินทรีย์ *T. fusca* PA1-1 ในอัตราส่วนขานอ้อย 1 กรัม ต่อเอนไซม์ไซลานเนสหยาบ 2000 ยูนิต ที่สภาวะ 60 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ได้ปริมาณไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ (ไซโลไบโอส ไซโลไตรโอส และไซโลเตตระโอส) รวมเท่ากับ 228.48 มิลลิกรัมต่อกรัม ขานอ้อยผ่านการปรับสภาพ

จากตารางที่ 9 แสดงต้นทุนการผลิตเอนไซม์ไซลานเนสหยาบจากจุลินทรีย์ *T. fusca* PA 1-1 จำนวน 500,000 ยูนิต โดยคำนวณต้นทุนได้เท่ากับ 388.37 บาทต่อเอนไซม์ไซลานเนสหยาบ 500,000 ยูนิต ดังนั้นเอนไซม์ไซลานเนสหยาบ 1 ยูนิต มีต้นทุนการผลิตเท่ากับ 0.00077 บาท

ตารางที่ 9 ต้นทุนการผลิตเอนไซม์ไซลานเนสหยาบ

รายการ	ปริมาณ	ราคาต่อหน่วย (บาท)	ปริมาณที่ใช้ ต่อการผลิต	ต้นทุนการผลิต (บาท)
อาหารเลี้ยงเชื้อ	500 กรัม	3,000	1.25 กรัม	7.50
อาหารผลิตเอนไซม์	500 กรัม	600	1.55 กรัม	2.54
น้ำกลั่น	20 ลิตร	300	5.05 ลิตร	75.75
ต้นทุนค่าไฟฟ้า	1 ยูนิต	3.46	87.45 ยูนิต	302.58
รวม				388.37

เมื่อกำหนดต้นทุนการปรับสภาพขานอ้อยแล้วดังแสดงในตารางที่ 10 พบว่าการปรับสภาพขานอ้อย 1 กิโลกรัมด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1% มีต้นทุนเท่ากับ 108.81 บาท และเมื่อกำหนดต้นทุนการผลิตไซโลโอลิโกแซคคาไรด์โดยการใช้อัตราส่วนที่ดีที่สุดคือ เอนไซม์ไซลานเนสหยาบ 10,000

ยูนิต ต่อ 5 กรัมชานอ้อย พบว่าการใช้เอนไซม์ไซลาเนสหยาบ 10,000 ยูนิต มีต้นทุนการผลิตเท่ากับ 7.70 บาท และการใช้ชานอ้อยผ่านการปรับสภาพแล้ว 5 กรัม มีต้นทุนการผลิตเท่ากับ 0.54 บาท (ตารางที่ 11) โดยมีต้นทุนการผลิตรวมเท่ากับ 53.59 บาทต่อการผลิตไซโลโอลิโกแซคคาไรด์

เนื่องจากชานอ้อยผ่านการปรับสภาพแล้ว 1 กรัม สามารถผลิตไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ (ไซโลไบโอส ไซโลไตรโอส และไซโลเตตระโอส) ได้เท่ากับ 228.48 มิลลิกรัม โดยมีต้นทุนการผลิตรวมเท่ากับ 10.72 บาท ดังนั้นการผลิตไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ 1 กรัม จะมีต้นทุนการผลิตเท่ากับ 46.91 บาท เมื่อผลิตในระดับการทดลอง

ตารางที่ 10 ต้นทุนการปรับสภาพชานอ้อย

รายการ	ปริมาณ	ราคาต่อหน่วย (บาท)	ปริมาณที่ใช้ ต่อการผลิต	ต้นทุนการผลิต (บาท)
ชานอ้อย	1 กิโลกรัม	0.55	200 กรัม	0.11
โซเดียมไฮดรอกไซด์	1 กิโลกรัม	55	50 กรัม	2.75
น้ำกลั่น	20 ลิตร	300	7 ลิตร	105
ต้นทุนค่าไฟฟ้า	1 ยูนิต	3.46	0.28 ยูนิต	0.95
รวม				108.81

ตารางที่ 11 ต้นทุนการผลิตไซโลโอลิโกแซคคาไรด์

รายการ	ปริมาณ	ราคาต่อหน่วย (บาท)	ปริมาณที่ใช้ ต่อการผลิต	ต้นทุนการผลิต (บาท)
ชานอ้อยปรับสภาพ	1 กิโลกรัม	0.11	5 กรัม	2.72
เอนไซม์ไซลาเนสหยาบ	1 ยูนิต	0.000519	10,000 ยูนิต	5.20
ต้นทุนค่าไฟฟ้า	1 ยูนิต	3.46	13.20 ยูนิต	45.67
รวม				53.59

สำหรับราคาจำหน่ายของไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ทางการค้าที่สามารถบริโภคได้ในตลาดจะอยู่ในช่วงประมาณ 4.24-7.18 บาทต่อกรัมไซโลโอลิโกแซคคาไรด์

บทที่ 5 สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ

สรุปผลการศึกษา

คณะวิจัยได้ศึกษากระบวนการสกัดไซแลนจากขานอ้อยเพื่อทำการผลิตไซโลโอลิโกแซคคาไรด์จากขานอ้อย และพบว่าไม่สมควรสกัดไซแลนจากขานอ้อยให้บริสุทธิ์ เนื่องจากระหว่างขั้นตอนการสกัดแยกไซแลนให้บริสุทธิ์จะเกิดการสูญเสียไซแลนปริมาณมากและยังเกิดค่าใช้จ่ายเพิ่มขึ้นเกินความจำเป็น และคณะวิจัยสามารถผลิตไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ (XOS) ได้ด้วยการย่อยขานอ้อยซึ่งผ่านการปรับสภาพแล้วด้วยสารละลาย 1% NaOH (เพื่อกำจัดแกล็กนินออก) โดยตรงด้วยเอนไซม์ไซแลเนสหยาบได้ในปริมาณสูงกว่าจากการย่อยจากไซแลนซึ่งผ่านการสกัดด้วยวิธีการต่างๆ ทางเคมี

ผลการศึกษาการใช้เอนไซม์ไซแลเนสหยาบซึ่งผลิตได้จาก *T. fusca* PA 1-1 ที่อัตราส่วนค่ากิจกรรมเอนไซม์ไซแลเนสต่างๆ ได้แก่ 50, 100, 200, 500 และ 2,000 หน่วยต่อกรัมขานอ้อย สรุปว่าการย่อยขานอ้อยด้วยเอนไซม์ไซแลเนสหยาบที่อัตราส่วนค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไซแลเนสหยาบ 2,000 หน่วยต่อกรัมขานอ้อย นาน 24 ชั่วโมง ให้ปริมาณไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ (วัดค่าในรูปของน้ำตาลอนรีดิวิซ์) สูงสุด เท่ากับ 3.977 ± 0.01 มิลลิกรัมต่อกรัมขานอ้อย และผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ซึ่งย่อยได้จากขานอ้อยโดยใช้เทคนิค Thin Layer Chromatography (TLC) แสดงให้เห็นแถบ (Band) ของไซโลส (xylose) ไซโลไบโอส (xylobiose) และไซโลไตรโอส (xylotriose) แต่สังเกตไม่พบแถบของไซโลเตตระโอส (xylotetraose) และไซโลเพนตาโอส (xylopentaose)

ภายหลังจากคณะวิจัยทดลองปรับเปลี่ยนปริมาณขานอ้อยและปริมาณเอนไซม์ไซแลเนสหยาบ โดยศึกษาที่อัตราส่วนต่างๆ ดังนี้ ขานอ้อย 2 กรัม : 2000 หน่วย, 3 กรัม : 3000 หน่วย, 2 กรัม : 4000 หน่วย, 3 กรัม : 6000 หน่วย, 4 กรัม : 8000 หน่วย และ 5 กรัม : 10000 หน่วย สังเกตพบแถบสี (Band) ของไซโลส (xylose) ไซโลไบโอส (xylobiose) และไซโลไตรโอส (xylotriose) ได้อย่างชัดเจน และสามารถสังเกตพบแถบสีของไซโลเตตระโอส (xylotetraose) และไซโลเพนตาโอส (xylopentaose) ด้วย

ส่วนผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลอนรีดิวิซ์ (ไซโลโอลิโกแซคคาไรด์) ภายหลังจากทดลองเพิ่มปริมาณขานอ้อยและปริมาณเอนไซม์หยาบ พบว่าอัตราส่วนที่ให้ปริมาณน้ำตาลอนรีดิวิซ์สูงสุด คือ อัตราส่วนปริมาณขานอ้อย 5 กรัม : ค่ากิจกรรมเอนไซม์ไซแลเนสหยาบ 10000 หน่วย ที่เวลาการย่อย 24

ข้าวโม่ง โดยมีปริมาณน้ำตาลนอนรีดิวิซ์ (ไซโลโอลิโกแซคคาไรด์) เท่ากับ 4.856 ± 0.02 มิลลิกรัมต่อกรัม
 ชานอ้อย

ผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ที่ได้รับจากการย่อยด้วยเอนไซม์
 ไซลานเนสหายจากแต่ละวิธีของการผลิตไซโลโอลิโกแซคคาไรด์โดยเทคนิค High-performance liquid
 chromatography (HPLC) พบว่าวิธีการที่ให้ปริมาณไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ทั้ง 3 ชนิด ซึ่งได้แก่ ไซโลไบ-
 โอส (xylobiose, X2) ไซโลไตรโอส (xylotriose, X3) และไซโลเตตระโอส (xylotetraose, X4) สูงสุด
 คือ การย่อยชานอ้อยผ่านการปรับสภาพแล้วด้วยเอนไซม์ไซลานเนสหายในอัตราส่วนค่ากิจกรรมเอนไซม์
 ไซลานเนสหาย 2000 ยูนิตต่อกรัมชานอ้อย ซึ่งมีข้อดีหลายประการ คือ ประหยัดเวลา ให้ปริมาณผลได้สูง
 กว่า และไม่ก่อให้เกิดสารพิษจากสารเคมีที่ใช้

การคำนวณต้นทุนการผลิตระดับการทดลองของไซโลโอลิโกแซคคาไรด์จากการผลิตโดยการย่อย
 ชานอ้อยผ่านการปรับสภาพด้วยเอนไซม์ไซลานเนสหายจากจุลินทรีย์ *T. fusca* PA 1-1 พบว่ามีต้นทุน
 เท่ากับ 46.91 บาทต่อกรัมไซโลโอลิโกแซคคาไรด์

ข้อเสนอแนะ

สมควรศึกษาการใช้ประโยชน์ไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ซึ่งผลิตได้จากการย่อยชานอ้อยด้วยเอนไซม์
 ไซลานเนส เพื่อมุ่งสร้างมูลค่าจากการใช้ประโยชน์ชานอ้อยต่อไป

บรรณานุกรม

- เครือมิตรผล. 2554. **ร่างหนังสือชี้ชวน: การประกอบธุรกิจของแต่ละสายผลิตภัณฑ์. ส่วนที่ 1-4, หน้า 48**
- จักรกฤษณ์ เตชะอภัยคุณ, กนก รัตน์ะกนกชัย และคิน เลย์ คู. 2546. Cellulase-free xylanase จาก Alkaliphilic Thermotolerant *Bacillus halodurans* สายพันธุ์ C-1 ต่อการย่อยวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรและเยื่อกระดาษกราฟท์ต่างๆ. วารสารวิจัยและพัฒนา มจร. 26(2): 201-217.
- เบญจวรรณ ยนต์เศษภักดิ์, ดร.สีหนาท ประสงค์สุข และ ดร.หรรษา ปุณณะพยัคฆ์. 2559. การผลิตไซโลโอลิโกแซ็กคาไรด์ (XOS) และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ จากรูปถาชี (*Typha angustifolia* L.) ด้วย ไซแลนเนสที่ผลิตโดย *Aureobasidium*. วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยขอนแก่น. (บศ.). 16(1): 51-63.
- มิตรผล. (2554). องค์ประกอบของอ้อย.
- รัชพล พะวงศ์รัตน์. 2558. กระบวนการปรับสภาพเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรประเภทลิกโนเซลลูโลส. Veridian E-Journal, Science and Technology Silpakorn University สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 2(1): 2408–1248.
- นิรนาม. ม.ป.ป. สารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน เล่ม 16 แหล่งที่มา :
<http://kanchanapisek.or.th/kp6/sub/book/book.php?book=5&chap=3&page=t5-3-infodetail18.html>, 26 พฤษภาคม 2557
- สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย. 2560. รายงานพื้นที่ปลูกอ้อย ปีการผลิต 2559/2560. 128 หน้า
- Choi, J.-H., Park, H., Park, C., Wang, N.-H. L., & Mun, S. (2016). Highly efficient recovery of xylobiose from xylooligosaccharides using a simulated moving bed method. *Journal of Chromatography A*, 1465, 143-154.
- Conway, P. L. (2001). Prebiotics and human health: the state-of-the-art and future perspectives. *Näringsforskning*, 45(1), 13-21.
- Ghosh, A., Verma, A. K., Tingirikari, J. R., Shukla, R., & Goyal, A. (2015). Recovery and purification of oligosaccharides from copra meal by recombinant endo- β -

- mannanase and deciphering molecular mechanism involved and its role as potent therapeutic agent. *Molecular biotechnology*, 57(2), 111-127.
- Hsu, C.-K., Liao, J.-W., Chung, Y.-C., Hsieh, C.-P., & Chan, Y.-C. J. T. J. o. n. (2004). Xylooligosaccharides and fructooligosaccharides affect the intestinal microbiota and precancerous colonic lesion development in rats. 134(6), 1523-1528.
- Hylla, S., Gostner, A., Dusel, G., Anger, H., Bartram, H.-P., Christl, S. U., . . . Scheppach, W. (1998). Effects of resistant starch on the colon in healthy volunteers: possible implications for cancer prevention. *The American journal of clinical nutrition*, 67(1), 136-142.
- Li, X., Li, E., Zhu, Y., Teng, C., Sun, B., Song, H., & Yang, R. J. C. r. (2012). A typical endoxylanase from *Streptomyces rameus* L2001 and its unique characteristics in xylooligosaccharide production. 359, 30-36.
- Miller, G. L. (1959). Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Analytical chemistry*, 31(3), 426-428.
- Sun, H.-J., Yoshida, S., Park, N.-H., & Kusakabe, I. (2002). Preparation of (1→4)-β-D-xylooligosaccharides from an acid hydrolysate of cotton-seed xylan: suitability of cotton-seed xylan as a starting material for the preparation of (1→4)-β-D-xylooligosaccharides. *Carbohydrate Research*, 337(7), 657-661.
- Tomomatsu, H. (1994). Health effects of oligosaccharides. *Food Technol.*, 48, 61-65.
- Yang, R., Xu, S., Wang, Z., & Yang, W. (2005). Aqueous extraction of corncob xylan and production of xylooligosaccharides. *LWT-Food Science and Technology*, 38(6), 677-682.
- Yoon, K. Y., Woodams, E. E., & Hang, Y. D. (2006). Enzymatic production of pentoses from the hemicellulose fraction of corn residues. *LWT-Food Science and Technology*, 39(4), 388-392.
- Zilliox, C., & Debeire, P. (1998). Hydrolysis of wheat straw by a thermostable endoxylanase: adsorption and kinetic studies. *Enzyme and Microbial technology*, 22(1), 58-63.

ภาคผนวก

ตารางผนวก 1 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากผลิตภัณฑ์จากการย่อยชานอ้อย

เวลา (ชั่วโมง)	50 Units per g of bagasse							
	Total sugar				Reducing sugar			
	Rep1	Rep2	Ave $\pm$ sd	ปริมาณ น้ำตาล	Rep1	Rep2	Ave $\pm$ sd	ปริมาณ น้ำตาล
				(mg/ml)				(mg/ml)
0	0.000	0.000	0.000 $\pm$ 0.00	0.000	0.000	0.000	0.000 $\pm$ 0.00	0.000
3	0.339	0.635	0.487 $\pm$ 0.21	2.550	0.332	0.272	0.302 $\pm$ 0.04	0.658
6	0.720	0.728	0.724 $\pm$ 0.01	3.793	0.415	0.413	0.414 $\pm$ 0.00	0.901
9	0.814	0.739	0.777 $\pm$ 0.05	4.068	0.462	0.455	0.459 $\pm$ 0.00	0.997
12	0.733	0.712	0.723 $\pm$ 0.01	3.785	0.491	0.516	0.504 $\pm$ 0.02	1.095
15	0.718	0.858	0.788 $\pm$ 0.10	4.128	0.532	0.543	0.538 $\pm$ 0.01	1.169
18	0.860	0.816	0.838 $\pm$ 0.03	4.390	0.557	0.570	0.564 $\pm$ 0.01	1.225
24	0.866	0.845	0.856 $\pm$ 0.01	4.482	0.639	0.572	0.606 $\pm$ 0.05	1.317

เวลา (ชั่วโมง)	100 Units per g of bagasse							
	Total sugar				Reducing sugar			
	Rep1	Rep2	Ave $\pm$ sd	ปริมาณ น้ำตาล	Rep1	Rep2	Ave $\pm$ sd	ปริมาณ น้ำตาล
				(mg/ml)				(mg/ml)
0	0.000	0.000	0.000 $\pm$ 0.00	0.000	0.000	0.000	0.000 $\pm$ 0.00	0.000
3	0.888	0.734	0.811 $\pm$ 0.11	4.249	0.239	0.169	0.204 $\pm$ 0.05	0.888
6	1.154	1.089	1.122 $\pm$ 0.05	5.876	0.396	0.399	0.398 $\pm$ 0.00	1.728
9	0.938	1.018	0.978 $\pm$ 0.06	5.124	0.351	0.344	0.348 $\pm$ 0.00	1.511
12	1.018	1.097	1.058 $\pm$ 0.06	5.541	0.385	0.385	0.385 $\pm$ 0.00	1.674
15	1.075	1.196	1.136 $\pm$ 0.09	5.950	0.434	0.442	0.438 $\pm$ 0.01	1.904
18	1.355	1.033	1.194 $\pm$ 0.23	6.256	0.516	0.533	0.525 $\pm$ 0.01	2.280
24	1.374	1.463	1.419 $\pm$ 0.06	7.433	0.554	0.580	0.567 $\pm$ 0.02	2.464

เวลา (ชั่วโมง)	200 Units per g of bagasse							
	Total sugar				Reducing sugar			
	Rep1	Rep2	Ave $\pm$ sd	ปริมาณ น้ำตาล	Rep1	Rep2	Ave $\pm$ sd	ปริมาณ น้ำตาล
				(mg/ml)				(mg/ml)
0	0.000	0.000	0.000 $\pm$ 0.00	0.000	0.000	0.000	0.000 $\pm$ 0.00	0.000
3	0.837	0.883	0.835 $\pm$ 0.00	4.375	0.090	0.096	0.093 $\pm$ 0.00	1.012
6	0.811	0.836	0.824 $\pm$ 0.02	4.314	0.097	0.111	0.104 $\pm$ 0.01	1.131
9	0.816	0.851	0.834 $\pm$ 0.02	4.367	0.145	0.173	0.159 $\pm$ 0.02	1.728
12	0.733	0.772	0.753 $\pm$ 0.03	3.942	0.182	0.207	0.195 $\pm$ 0.02	2.114
15	0.782	0.748	0.765 $\pm$ 0.02	4.008	0.214	0.228	0.221 $\pm$ 0.01	2.401
18	0.783	0.792	0.788 $\pm$ 0.01	4.126	0.219	0.238	0.229 $\pm$ 0.01	2.483
24	1.085	0.837	0.961 $\pm$ 0.18	5.035	0.243	0.299	0.271 $\pm$ 0.04	2.944

เวลา (ชั่วโมง)	500 Units per g of bagasse							
	Total sugar				Reducing sugar			
	Rep1	Rep2	Ave $\pm$ sd	ปริมาณ น้ำตาล	Rep1	Rep2	Ave $\pm$ sd	ปริมาณ น้ำตาล
				(mg/ml)				(mg/ml)
0	0.000	0.000	0.000 $\pm$ 0.00	0.000	0.000	0.000	0.000 $\pm$ 0.00	0.000
3	0.243	0.227	0.235 $\pm$ 0.01	2.461	0.057	0.053	0.055 $\pm$ 0.00	0.599
6	0.322	0.303	0.313 $\pm$ 0.01	3.274	0.152	0.092	0.122 $\pm$ 0.04	1.326
9	0.502	0.372	0.437 $\pm$ 0.09	4.579	0.093	0.102	0.098 $\pm$ 0.01	1.060
12	0.431	0.409	0.420 $\pm$ 0.02	4.401	0.117	0.141	0.129 $\pm$ 0.02	1.402
15	0.461	0.443	0.452 $\pm$ 0.01	4.736	0.133	0.131	0.132 $\pm$ 0.00	1.435
18	0.458	0.442	0.450 $\pm$ 0.01	4.715	0.127	0.131	0.129 $\pm$ 0.00	1.402
24	0.466	0.457	0.462 $\pm$ 0.01	4.836	0.137	0.144	0.141 $\pm$ 0.00	1.527

เวลา (ชั่วโมง)	1000 Units per g of bagasse							
	Total sugar				Reducing sugar			
	Rep1	Rep2	Ave $\pm$ sd	ปริมาณ น้ำตาล	Rep1	Rep2	Ave $\pm$ sd	ปริมาณ น้ำตาล
				(mg/ml)				(mg/ml)
0	0.000	0.000	0.000 $\pm$ 0.00	0.000	0.000	0.000	0.000 $\pm$ 0.00	0.000
3	0.282	0.273	0.278 $\pm$ 0.01	2.907	0.052	0.059	0.056 $\pm$ 0.00	0.604
6	0.363	0.351	0.357 $\pm$ 0.01	3.740	0.127	0.103	0.115 $\pm$ 0.02	1.250
9	0.479	0.455	0.467 $\pm$ 0.02	4.893	0.156	0.161	0.159 $\pm$ 0.00	1.723
12	0.556	0.513	0.535 $\pm$ 0.03	5.601	0.192	0.203	0.198 $\pm$ 0.01	2.146
15	0.519	0.500	0.510 $\pm$ 0.01	5.339	0.202	0.213	0.208 $\pm$ 0.01	2.255
18	0.434	0.452	0.443 $\pm$ 0.01	4.642	0.227	0.218	0.223 $\pm$ 0.01	2.418
24	0.410	0.393	0.402 $\pm$ 0.01	4.207	0.211	0.206	0.209 $\pm$ 0.00	2.266

เวลา (ชั่วโมง)	2:2000 Units per g of bagasse							
	Total sugar				Reducing sugar			
	Rep1	Rep2	Ave $\pm$ sd	ปริมาณ น้ำตาล	Rep1	Rep2	Ave $\pm$ sd	ปริมาณ น้ำตาล
				(mg/ml)				(mg/ml)
0	0.000	0.000	0.000 $\pm$ 0.00	0.000	0.000	0.000	0.000 $\pm$ 0.00	0.000
3	0.584	0.646	0.615 $\pm$ 0.04	6.445	0.372	0.402	0.387 $\pm$ 0.02	0.842
6	0.756	0.708	0.732 $\pm$ 0.03	7.672	0.436	0.432	0.434 $\pm$ 0.00	0.944
9	0.829	0.775	0.802 $\pm$ 0.04	8.406	0.562	0.559	0.561 $\pm$ 0.00	1.219
12	0.892	0.861	0.877 $\pm$ 0.02	9.187	0.646	0.677	0.662 $\pm$ 0.02	1.438
15	0.802	0.871	0.837 $\pm$ 0.05	8.767	0.727	0.702	0.715 $\pm$ 0.02	1.553
18	0.800	1.048	0.924 $\pm$ 0.18	9.685	0.783	0.785	0.784 $\pm$ 0.00	1.704
24	0.882	1.016	0.949 $\pm$ 0.09	9.947	0.822	0.783	0.803 $\pm$ 0.03	1.744

เวลา (ชั่วโมง)	3:3000 Units per g of bagasse							
	Total sugar				Reducing sugar			
	Rep1	Rep2	Ave $\pm$ sd	ปริมาณ น้ำตาล	Rep1	Rep2	Ave $\pm$ sd	ปริมาณ น้ำตาล
				(mg/ml)				(mg/ml)
0	0.000	0.000	0.000 $\pm$ 0.00	0.000	0.000	0.000	0.000 $\pm$ 0.00	0.000
3	0.445	0.445	0.445 $\pm$ 0.00	9.328	0.105	0.109	0.107 $\pm$ 0.00	2.325
6	0.643	0.568	0.606 $\pm$ 0.05	12.693	0.213	0.119	0.166 $\pm$ 0.07	3.607
9	0.603	0.601	0.602 $\pm$ 0.00	12.620	0.147	0.213	0.180 $\pm$ 0.05	3.911
12	0.720	0.644	0.682 $\pm$ 0.05	14.297	0.292	0.282	0.287 $\pm$ 0.01	6.267
15	0.826	0.857	0.842 $\pm$ 0.02	17.642	0.288	0.289	0.289 $\pm$ 0.00	6.267
18	0.799	0.742	0.771 $\pm$ 0.04	16.153	0.247	0.303	0.275 $\pm$ 0.04	5.974
24	0.730	0.786	0.758 $\pm$ 0.04	15.891	0.340	0.321	0.331 $\pm$ 0.01	7.179

(ชั่วโมง)	Total sugar				Reducing sugar			
	Rep1	Rep2	Ave $\pm$ sd	ปริมาณ น้ำตาล	Rep1	Rep2	Ave $\pm$ sd	ปริมาณ น้ำตาล
				(mg/ml)				(mg/ml)
0	0.000	0.000	0.000 $\pm$ 0.00	0.000	0.000	0.000	0.000 $\pm$ 0.00	0.000
3	0.756	0.841	0.799 $\pm$ 0.06	4.183	0.604	0.574	0.589 $\pm$ 0.02	1.281
6	0.799	0.905	0.852 $\pm$ 0.07	4.464	0.417	0.808	0.613 $\pm$ 0.28	1.332
9	0.954	0.944	0.949 $\pm$ 0.01	4.972	0.453	0.924	0.689 $\pm$ 0.33	1.497
12	0.984	0.973	0.979 $\pm$ 0.01	5.127	1.001	0.987	0.994 $\pm$ 0.01	2.160
15	1.038	1.010	1.024 $\pm$ 0.02	5.365	0.910	0.911	0.911 $\pm$ 0.00	1.979
18	0.952	1.044	0.998 $\pm$ 0.07	5.229	0.832	0.830	0.831 $\pm$ 0.00	1.806
24	0.838	0.900	0.869 $\pm$ 0.04	4.553	0.786	0.787	0.787 $\pm$ 0.00	1.710

เวลา (ชั่วโมง)	2000 Units per g of bagasse							
	Total sugar				Reducing sugar			
	Rep1	Rep2	Ave $\pm$ sd	ปริมาณ น้ำตาล (mg/ml)	Rep1	Rep2	Ave $\pm$ sd	ปริมาณน้ำตาล (mg/ml)
0	0.000	0.000	0.000 $\pm$ 0.00	0.000	0.000	0.000	0.000 $\pm$ 0.00	0.000
3	0.470	0.455	0.463 $\pm$ 0.01	2.422	0.321	0.327	0.324 $\pm$ 0.00	0.705
6	0.471	0.433	0.452 $\pm$ 0.03	2.367	0.438	0.362	0.400 $\pm$ 0.05	0.870
9	0.560	0.453	0.507 $\pm$ 0.08	2.653	0.485	0.516	0.501 $\pm$ 0.02	1.089
12	0.602	0.548	0.575 $\pm$ 0.04	3.012	0.468	0.459	0.464 $\pm$ 0.01	1.008
15	0.511	0.632	0.572 $\pm$ 0.09	2.993	0.444	0.432	0.438 $\pm$ 0.01	0.953
18	0.472	0.584	0.528 $\pm$ 0.08	2.765	0.437	0.447	0.442 $\pm$ 0.01	0.962
24	0.390	0.363	0.377 $\pm$ 0.02	1.971	0.407	0.431	0.419 $\pm$ 0.02	0.912

เวลา (ชั่วโมง)	3:6000 Units per g of bagasse							
	Total sugar				Reducing sugar			
	Rep1	Rep2	Ave $\pm$ sd	ปริมาณ น้ำตาล (mg/ml)	Rep1	Rep2	Ave $\pm$ sd	ปริมาณ น้ำตาล (mg/ml)
0	0.000	0.000	0.000 $\pm$ 0.00	0.000	0.000	0.000	0.000 $\pm$ 0.00	0.000
3	0.638	0.581	0.610 $\pm$ 0.04	6.387	0.205	0.206	0.206 $\pm$ 0.00	4.464
6	0.658	0.684	0.671 $\pm$ 0.02	7.032	0.203	0.186	0.195 $\pm$ 0.01	4.225
9	0.776	0.774	0.775 $\pm$ 0.00	8.122	0.203	0.186	0.195 $\pm$ 0.01	4.225
12	0.743	0.805	0.774 $\pm$ 0.04	8.112	0.196	0.200	0.198 $\pm$ 0.00	4.301
15	0.935	0.880	0.908 $\pm$ 0.04	9.512	0.195	0.190	0.193 $\pm$ 0.00	4.182
18	0.813	0.855	0.834 $\pm$ 0.03	8.741	0.194	0.185	0.190 $\pm$ 0.01	4.117
24	0.768	0.841	0.805 $\pm$ 0.05	8.432	0.196	0.188	0.192 $\pm$ 0.01	4.171

เวลา (ชั่วโมง)	4:8000 Units per g of bagasse							
	Total sugar				Reducing sugar			
	Rep1	Rep2	Ave $\pm$ sd	ปริมาณ น้ำตาล	Rep1	Rep2	Ave $\pm$ sd	ปริมาณ น้ำตาล
				(mg/ml)				(mg/ml)
0	0.000	0.000	0.000 $\pm$ 0.00	0.000	0.000	0.000	0.000 $\pm$ 0.00	0.000
3	0.312	0.313	0.313 $\pm$ 0.00	6.550	0.117	0.118	0.118 $\pm$ 0.00	2.553
6	0.361	0.357	0.359 $\pm$ 0.00	7.525	0.182	0.165	0.174 $\pm$ 0.01	3.769
9	0.377	0.391	0.384 $\pm$ 0.01	8.049	0.198	0.201	0.200 $\pm$ 0.00	4.334
12	0.419	0.410	0.415 $\pm$ 0.01	8.689	0.208	0.227	0.218 $\pm$ 0.01	4.725
15	0.444	0.379	0.412 $\pm$ 0.05	8.626	0.223	0.198	0.211 $\pm$ 0.02	4.573
18	0.394	0.385	0.390 $\pm$ 0.01	8.164	0.206	0.213	0.210 $\pm$ 0.00	4.551
24	0.384	0.350	0.367 $\pm$ 0.02	7.693	0.189	0.195	0.192 $\pm$ 0.00	4.171

เวลา (ชั่วโมง)	5:10000 Units per g of bagasse							
	Total sugar				Reducing sugar			
	Rep1	Rep2	Ave $\pm$ sd	ปริมาณ น้ำตาล	Rep1	Rep2	Ave $\pm$ sd	ปริมาณ น้ำตาล
				(mg/ml)				(mg/ml)
0	0.000	0.000	0.000 $\pm$ 0.00	0.000	0.000	0.000	0.000 $\pm$ 0.00	0.000
3	0.664	0.687	0.676 $\pm$ 0.02	14.161	0.135	0.133	0.134 $\pm$ 0.00	2.912
6	0.706	0.704	0.705 $\pm$ 0.00	14.780	0.184	0.184	0.184 $\pm$ 0.00	3.997
9	0.842	0.784	0.813 $\pm$ 0.04	17.044	0.235	0.209	0.222 $\pm$ 0.02	4.823
12	0.807	0.799	0.803 $\pm$ 0.01	16.834	0.211	0.206	0.209 $\pm$ 0.00	4.529
15	0.823	0.781	0.802 $\pm$ 0.03	16.813	0.218	0.213	0.216 $\pm$ 0.00	4.681
18	0.917	0.817	0.867 $\pm$ 0.07	18.176	0.229	0.233	0.231 $\pm$ 0.00	5.018
24	0.963	0.921	0.942 $\pm$ 0.03	19.749	0.239	0.238	0.239 $\pm$ 0.00	5.181

ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากผลิตภัณฑ์จากการย่อยไฮโอลิโกแซคคาไรด์ โดยผลิต
ไซแลนจากวิธีทางเคมี

ตารางผนวก 2 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากผลิตภัณฑ์จากการย่อยไซแลน โดย
ผลิต ไซแลนจากวิธีใช้ต่าง

เวลา (ชั่วโมง)	1:2000 Units per g of bagasse							
	Total sugar				Reducing sugar			
	Rep1	Rep2	Ave $\pm$ sd	ปริมาณ น้ำตาล (mg/ml)	Rep1	Rep2	Ave $\pm$ sd	ปริมาณ น้ำตาล (mg/ml)
0	0.000	0.000	0.000 $\pm$ 0.00	0.000	0.000	0.000	0.000 $\pm$ 0.00	0.000
3	0.242	0.214	0.228 $\pm$ 0.02	1.193	0.182	0.116	0.149 $\pm$ 0.05	0.325
6	0.280	0.270	0.275 $\pm$ 0.01	1.439	0.167	0.120	0.144 $\pm$ 0.03	0.313
9	0.285	0.250	0.268 $\pm$ 0.02	1.400	0.113	0.166	0.140 $\pm$ 0.04	0.305
12	0.251	0.240	0.246 $\pm$ 0.01	1.284	0.120	0.092	0.106 $\pm$ 0.02	0.232
15	0.249	0.311	0.280 $\pm$ 0.04	1.465	0.282	0.087	0.185 $\pm$ 0.14	0.402
18	0.240	0.225	0.233 $\pm$ 0.1	1.216	0.106	0.099	0.103 $\pm$ 0.00	0.224
24	0.170	0.198	0.184 $\pm$ 0.02	0.962	0.074	0.086	0.080 $\pm$ 0.01	0.175

ตารางผนวก 3 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากผลิตภัณฑ์จากการย่อยไซแลน โดย
ผลิต ไซแลนจากวิธีการใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์

เวลา (ชั่วโมง)	1:2000 Units per g of bagasse							
	Total sugar				Reducing sugar			
	Rep1	Rep2	Ave $\pm$ sd	ปริมาณ น้ำตาล (mg/ml)	Rep1	Rep2	Ave $\pm$ sd	ปริมาณ น้ำตาล (mg/ml)
0	0.000	0.000	0.000 $\pm$ 0.00	0.000	0.000	0.000	0.000 $\pm$ 0.00	0.000
3	0.227	0.213	0.220 $\pm$ 0.01	1.151	0.133	0.132	0.133 $\pm$ 0.00	0.289
6	0.222	0.216	0.219 $\pm$ 0.00	1.146	0.120	0.135	0.128 $\pm$ 0.01	0.279
9	0.221	0.216	0.219 $\pm$ 0.00	1.143	0.176	0.134	0.155 $\pm$ 0.03	0.338
12	0.215	0.224	0.220 $\pm$ 0.01	1.148	0.126	0.128	0.127 $\pm$ 0.00	0.278
15	0.224	0.219	0.222 $\pm$ 0.00	1.159	0.116	0.117	0.117 $\pm$ 0.00	0.255
18	0.270	0.293	0.282 $\pm$ 0.02	1.473	0.106	0.109	0.108 $\pm$ 0.00	0.235
24	0.217	0.257	0.237 $\pm$ 0.03	1.240	0.940	0.160	0.550 $\pm$ 0.55	1.196

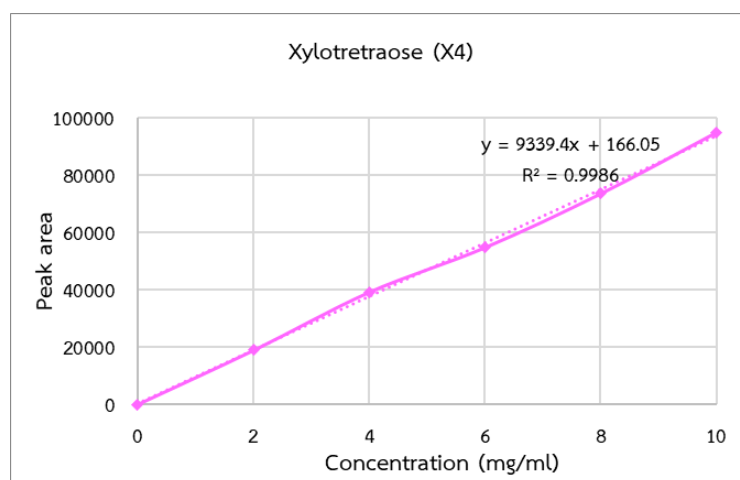
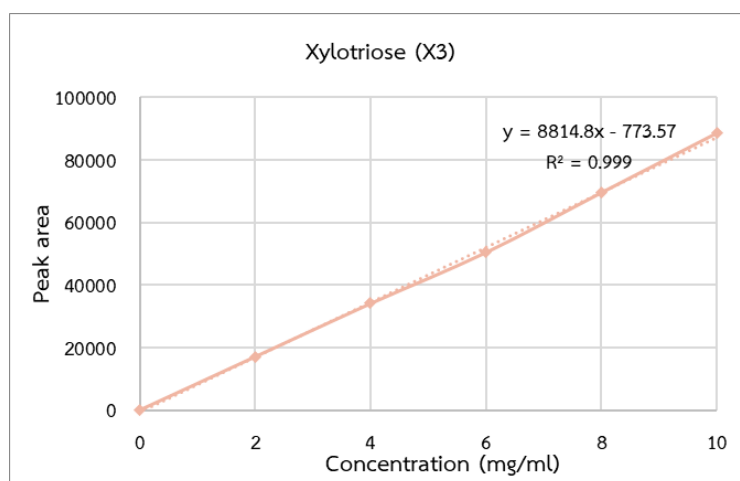
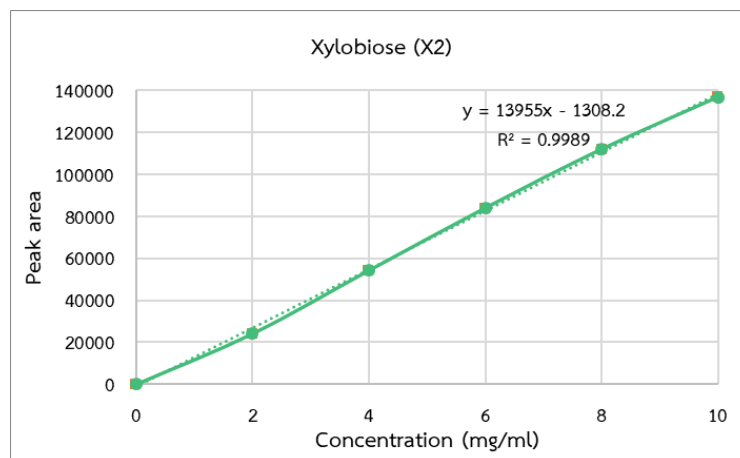
ตารางผนวก 4 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากผลิตภัณฑ์จากการย่อยไซแลน โดยผลิต ไซแลนจากวิธี Alkali extraction

เวลา (ชั่วโมง)	1:2000 Units per g of bagasse							
	Total sugar				Reducing sugar			
	Rep1	Rep2	Ave $\pm$ sd	ปริมาณ น้ำตาล (mg/ml)	Rep1	Rep2	Ave $\pm$ sd	ปริมาณ น้ำตาล (mg/ml)
0	0.000	0.000	0.000 $\pm$ 0.00	0.000	0.000	0.000	0.000 $\pm$ 0.00	0.000
3	0.207	0.322	0.265 $\pm$ 0.08	1.384	0.111	0.115	0.113 $\pm$ 0.00	0.001
6	0.297	0.260	0.279 $\pm$ 0.03	1.457	0.140	0.146	0.143 $\pm$ 0.00	0.002
9	0.314	0.309	0.312 $\pm$ 0.00	1.630	0.154	0.138	0.146 $\pm$ 0.01	0.006
12	0.277	0.296	0.287 $\pm$ 0.01	1.499	0.160	0.172	0.166 $\pm$ 0.01	0.004
15	0.225	0.305	0.265 $\pm$ 0.06	1.387	0.177	0.113	0.145 $\pm$ 0.05	0.023
18	0.273	0.214	0.244 $\pm$ 0.04	1.274	0.155	0.114	0.135 $\pm$ 0.03	0.014
24	0.253	0.255	0.254 $\pm$ 0.00	1.329	0.148	0.094	0.121 $\pm$ 0.04	0.019

ตารางผนวก 5 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากผลิตภัณฑ์จากการย่อยไซแลน โดยผลิต ไซแลนจากวิธี Autohydrolysis

เวลา (ชั่วโมง)	1:2000 Units per g of bagasse							
	Total sugar				Reducing sugar			
	Rep1	Rep2	Ave $\pm$ sd	ปริมาณ น้ำตาล (mg/ml)	Rep1	Rep2	Ave $\pm$ sd	ปริมาณ น้ำตาล (mg/ml)
0	0.000	0.000	0.000 $\pm$ 0.00	0.000	0.000	0.000	0.000 $\pm$ 0.00	0.000
3	0.287	0.200	0.244 $\pm$ 0.06	1.274	0.203	0.160	0.182 $\pm$ 0.03	0.396
6	0.261	0.255	0.258 $\pm$ 0.00	1.350	0.184	0.164	0.174 $\pm$ 0.01	0.380
9	0.268	0.254	0.261 $\pm$ 0.01	1.366	0.140	0.153	0.147 $\pm$ 0.01	0.320
12	0.308	0.306	0.307 $\pm$ 0.00	1.607	0.207	0.169	0.188 $\pm$ 0.03	0.410
15	0.240	0.287	0.264 $\pm$ 0.03	1.379	0.204	0.178	0.191 $\pm$ 0.02	0.417
18	0.254	0.276	0.265 $\pm$ 0.02	1.387	0.164	0.190	0.177 $\pm$ 0.02	0.386
24	0.260	0.271	0.266 $\pm$ 0.01	1.389	0.137	0.159	0.148 $\pm$ 0.02	0.323

แผนภาพสารละลายมาตรฐานไซโลไบโอส ไซโลไตรโอสและไซโลเตตระโอส



ตารางผนวก 6 ความเข้มข้นของไซโลไบโอส ไซโลไตรโอส และไซโลเตตระโอส (มิลลิกรัมต่อกรัมขานอ้อย) ภายในไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ที่เกิดขึ้นจากการย่อยขานอ้อย

เวลา (ชั่วโมง)	ไซโลไบโอส (X2)		ไซโลไตรโอส (X3)		ไซโลเตตระโอส (X4)	
	Area	ความเข้มข้น (mg/g)	Area	ความเข้มข้น (mg/g)	Area	ความเข้มข้น (mg/g)
0	-	0.000	-	0.000	-	0.000
3	309134	22.246	649971	73.824	5767928	617.573
6	601998	43.232	963293	109.369	6798554	727.926
9	872783	62.636	1025480	116.424	6939942	743.064
12	879940	63.149	769148	87.344	6459029	691.572
15	982132	70.472	589334	66.945	6760263	723.826
18	901290	64.679	412577	46.893	6396333	684.858
24	1294673	92.869	540474	61.402	9228099	988.065

ตารางผนวก 7 ความเข้มข้นของไซโลไบโอส ไซโลไตรโอส และไซโลเตตระโอส (มิลลิกรัมต่อกรัมขานอ้อย) ภายในไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ที่เกิดขึ้นจากการย่อยไซเลนจากการสกัดด้วยวิธีการใช้ต่าง

เวลา (ชั่วโมง)	ไซโลไบโอส (X2)		ไซโลไตรโอส (X3)		ไซโลเตตระโอส (X4)	
	Area	ความเข้มข้น (mg/g)	Area	ความเข้มข้น (mg/g)	Area	ความเข้มข้น (mg/g)
0	-	0.000	-	0.000	-	0.000
3	613044	44.024	94085	10.761	5285829	565.953
6	719805	51.674	126662	14.457	4758826	509.525
9	855270	61.381	146898	16.753	4613766	493.993
12	574262	41.245	106552	12.176	4733867	506.853
15	529765	38.056	118942	13.581	5188152	555.495
18	953576	68.426	88756	10.157	5272550	564.531
24	824761	59.195	31028	3.608	4533250	485.372

ตารางผนวก 8 ความเข้มข้นของไซโลไบโอส ไซโลไตรโอส และไซโลเตตระโอส (มิลลิกรัมต่อกรัมขานอ้อย) ภายในไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ที่เกิดขึ้นจากการย่อยไซเลนจากการสกัดด้วยวิธีการใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์

เวลา (ชั่วโมง)	ไซโลไบโอส (X2)		ไซโลไตรโอส (X3)		ไซโลเตตระโอส (X4)	
	Area	ความเข้มข้น (mg/g)	Area	ความเข้มข้น (mg/g)	Area	ความเข้มข้น (mg/g)
0	-	0.000	-	0.000	-	0.000
3	594268	42.678	56624	6.511	6216557	665.609
6	1147474	82.320	100228	12.593	5145717	550.951
9	936647	67.213	146488	16.706	5178699	554.482
12	929549	66.704	144418	16.471	5339377	571.687
15	700909	50.320	101695	11.625	7689264	823.297
18	1312728	94.162	45001	5.193	7884216	844.171
24	962783	69.086	75940	8.703	7766198	831.534

ตารางผนวก 9 ความเข้มข้นของไซโลไบโอส ไซโลไตรโอส และไซโลเตตระโอส (มิลลิกรัมต่อกรัมขานอ้อย) ภายในไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ที่เกิดขึ้นจากการย่อยไซเลนจากการสกัดด้วยวิธี Alkali extraction

เวลา (ชั่วโมง)	ไซโลไบโอส (X2)		ไซโลไตรโอส (X3)		ไซโลเตตระโอส (X4)	
	Area	ความเข้มข้น (mg/g)	Area	ความเข้มข้น (mg/g)	Area	ความเข้มข้น (mg/g)
0	-	0.000	-	0.000	-	0.000
3	263311	18.962	109963	12.563	3301245	353.457
6	115570	8.375	104211	11.910	3567814	382.000
9	128113	9.274	105834	12.094	3844106	411.583
12	112224	8.136	109795	12.544	3201663	342.795
15	80174	5.839	74187	8.504	3033667	324.807
18	99168	7.200	81163	9.295	3329024	356.432
24	104428	7.577	133719	15.258	3126393	334.735

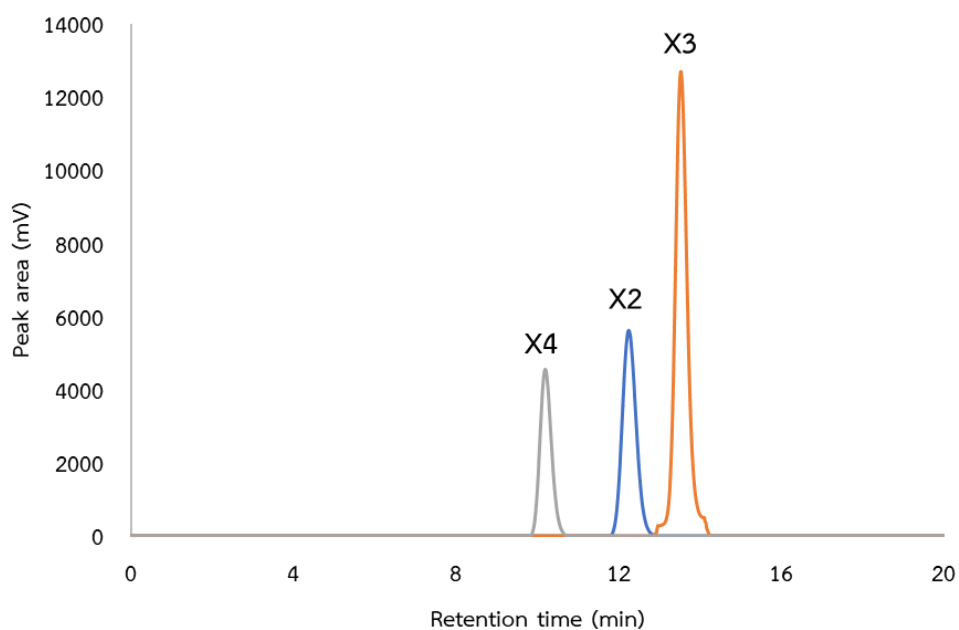
ตารางผนวก 10 ความเข้มข้นของไซโลไบโอส ไซโลไตรโอส และไซโลเตตระโอส (มิลลิกรัมต่อกรัม
ขานอ้อย) ภายในไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ที่เกิดขึ้นจากการย่อยไซเลนจากการสกัดด้วยวิธี

Autohydrolysis

เวลา (ชั่วโมง)	ไซโลไบโอส (X2)		ไซโลไตรโอส (X3)		ไซโลเตตระโอส (X4)	
	Area	ความเข้มข้น (mg/g)	Area	ความเข้มข้น (mg/g)	Area	ความเข้มข้น (mg/g)
0	-	0.000	-	0.000	-	0.000
3	196530	14.177	178619	20.351	2810923	300.957
6	183973	13.277	184734	21.045	2425815	259.722
9	191553	13.820	185693	21.154	3573116	382.567
12	110476	8.010	228747	26.038	3277009	350.862
15	42016	3.105	215400	24.524	2861774	306.402
18	92032	6.689	225893	25.714	3112799	333.280
24	33641	2.504	189966	21.639	2954293	316.308

ภาพโครมาโตแกรมของตัวอย่างไซโลโอลิโกแซคคาร์ไรต์ โดยเทคนิค High-performance liquid chromatography (HPLC)

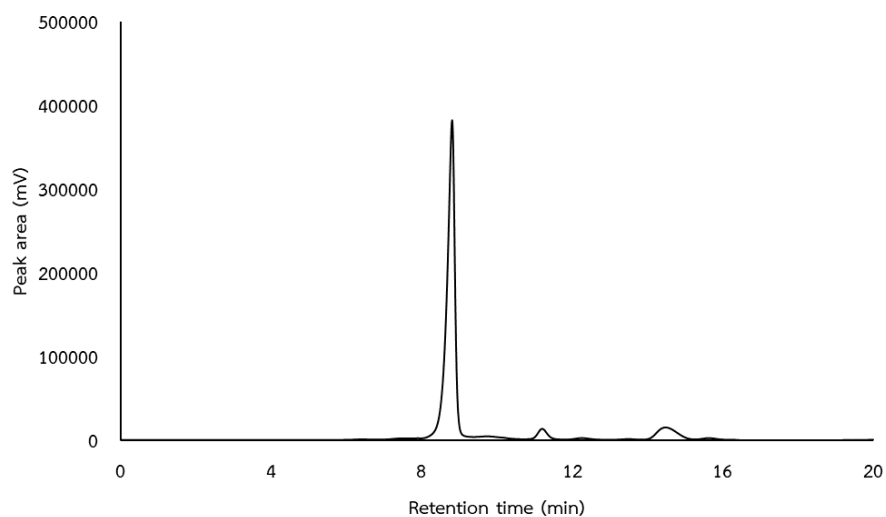
สารมาตรฐาน Xylobiose (X2)/ Xylotriose (X3)/ Xylotetraose (X4) ; 10 mg/mL



Peak	Retention time (min)	Area	Height
X4	10.188	94861	4627
X2	12.242	136704	5650
X3	13.524	249273	12405

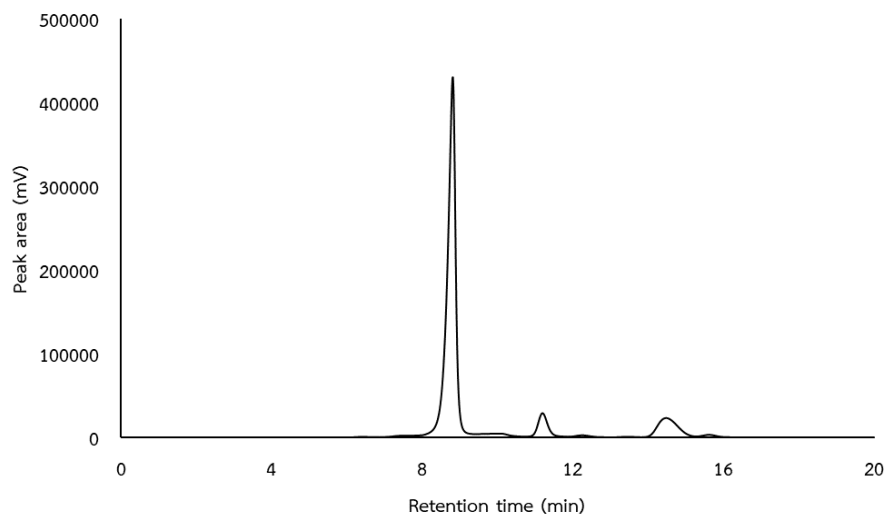
1) ตัวอย่างไซโลโพลิโกแซคคาไรด์จากการใช้ชานอ้อย

ชั่วโมงที่ 3 ;



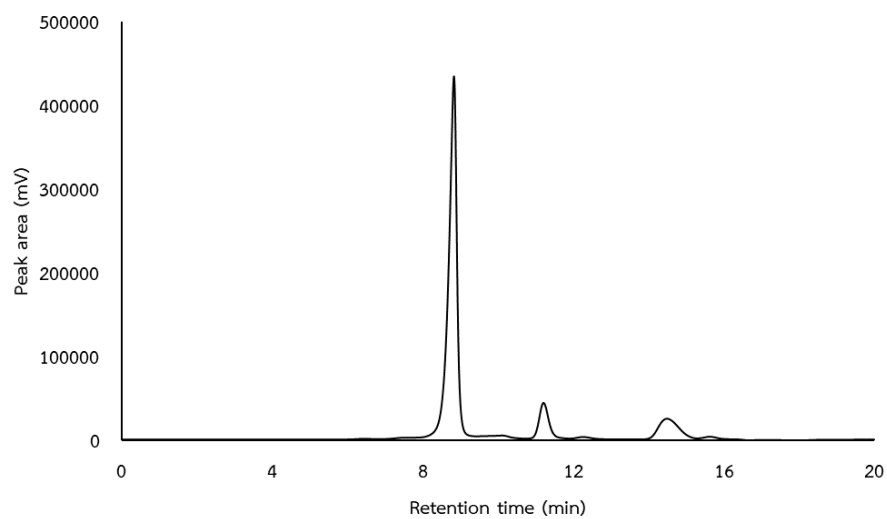
Peak	Retention time (min)	Area	Height
X4	8.802	5767928	382130
X2	11.196	309134	13898
X3	14.476	649971	15888
Total		6727033	411916

ชั่วโมงที่ 6 ;



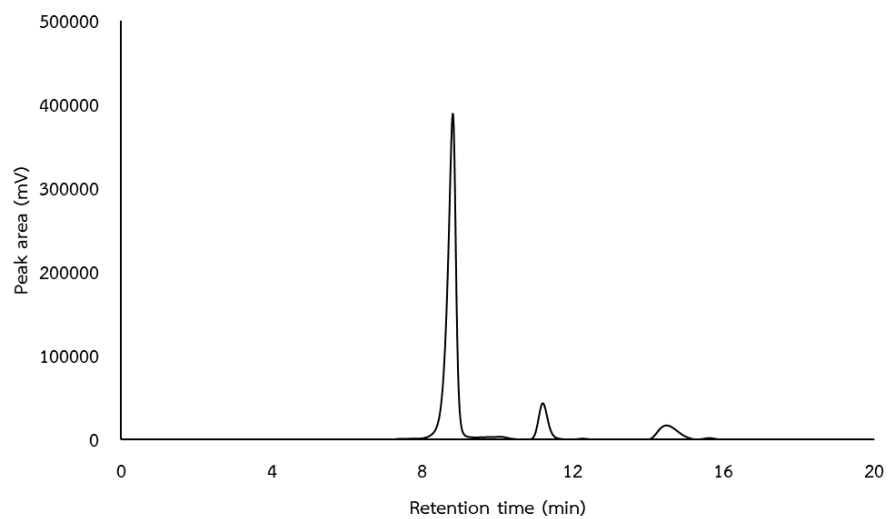
Peak	Retention time (min)	Area	Height
X4	8.808	6798554	430793
X2	11.191	601998	29554
X3	14.473	963293	24111
Total		8363845	484458

ชั่วโมงที่ 9 ;



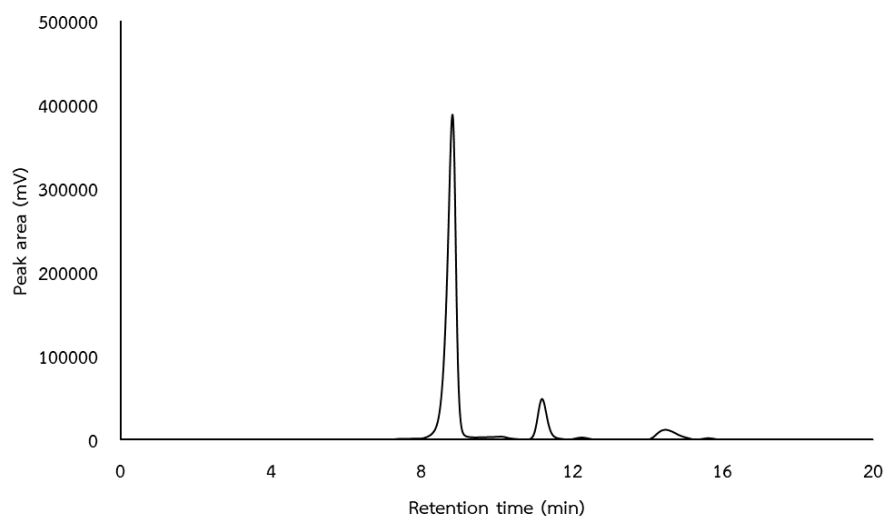
Peak	Retention time (min)	Area	Height
X4	8.825	6939942	434028
X2	11.207	872783	44242
X3	14.489	1025480	25651
Total		8838205	503921

ชั่วโมงที่ 12 ;



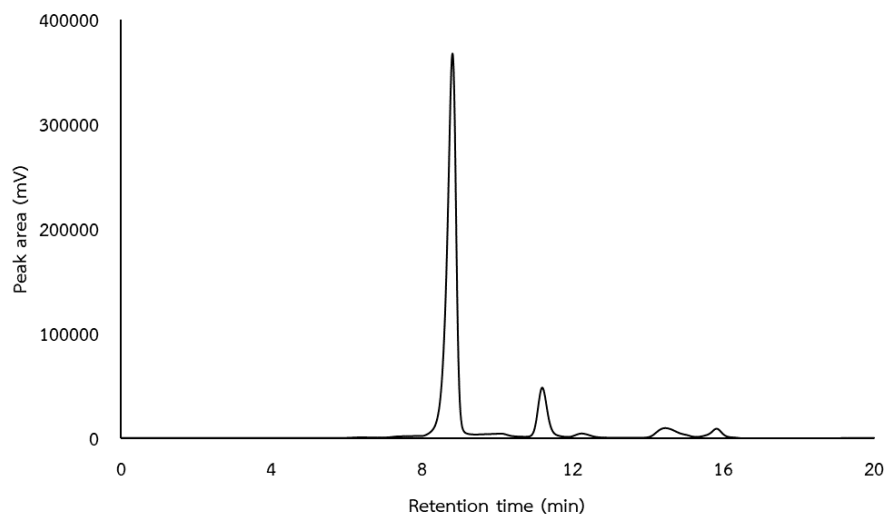
Peak	Retention time (min)	Area	Height
X4	8.808	6459029	390056
X2	11.198	879940	44959
X3	14.480	769148	18706
Total		8108117	453721

ชั่วโมงที่ 15 ;



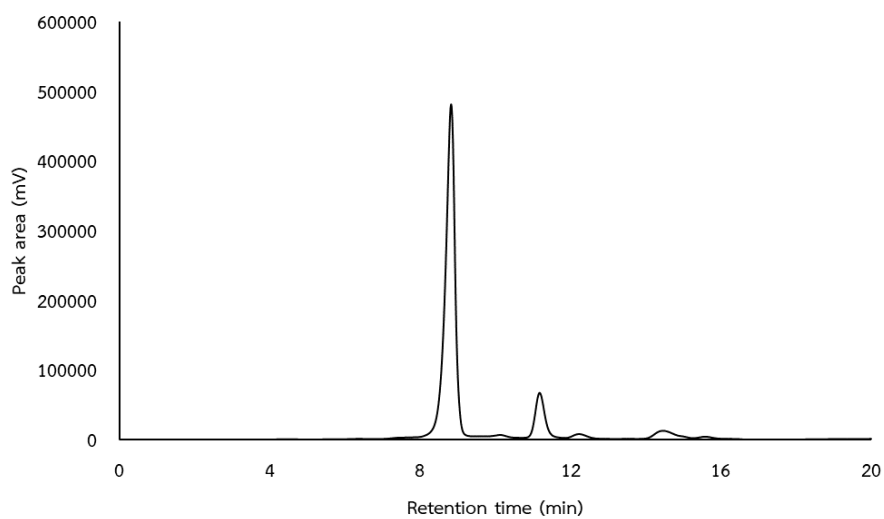
Peak	Retention time (min)	Area	Height
X4	8.811	6760263	389982
X2	11.193	982132	50129
X3	14.472	589334	13514
Total		8331729	453625

ชั่วโมงที่ 18 ;



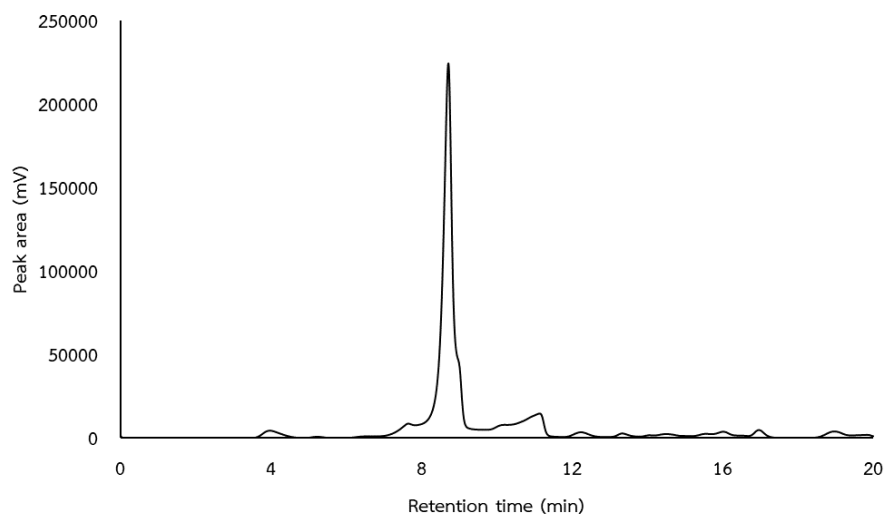
Peak	Retention time (min)	Area	Height
X4	8.802	6396333	367391
X2	11.185	901290	48025
X3	14.451	412577	9661
Total		7710200	425077

ชั่วโมงที่ 24 ;



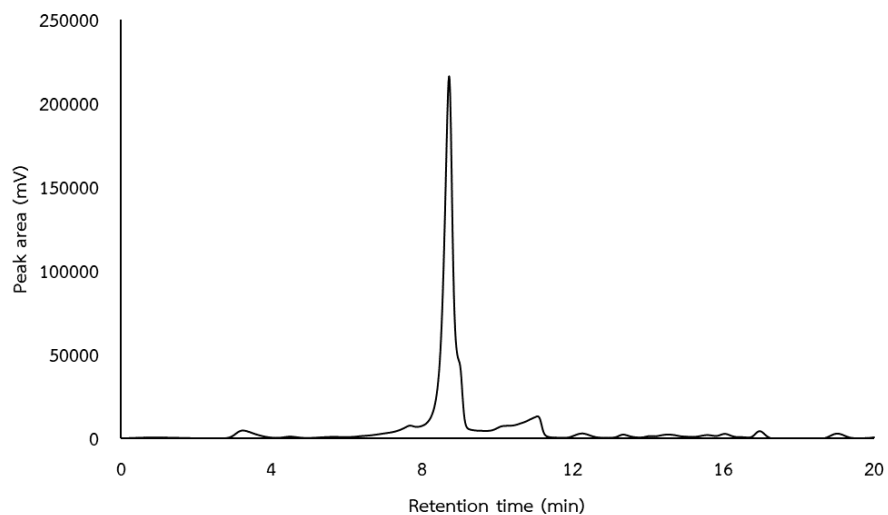
Peak	Retention time (min)	Area	Height
X4	8.816	9228099	480828
X2	11.171	1294673	66965
X3	14.455	540474	12615
Total		11063246	560408

ชั่วโมงที่ 6 ;



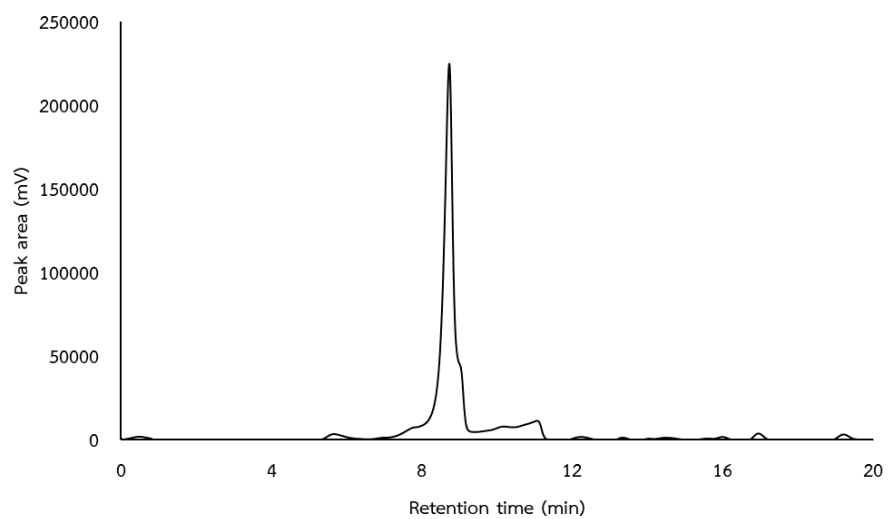
Peak	Retention time (min)	Area	Height
X4	8.704	4758826	225062
X2	11.129	719805	15066
X3	14.489	126662	2762
Total		5605293	242890

ชั่วโมงที่ 9 ;



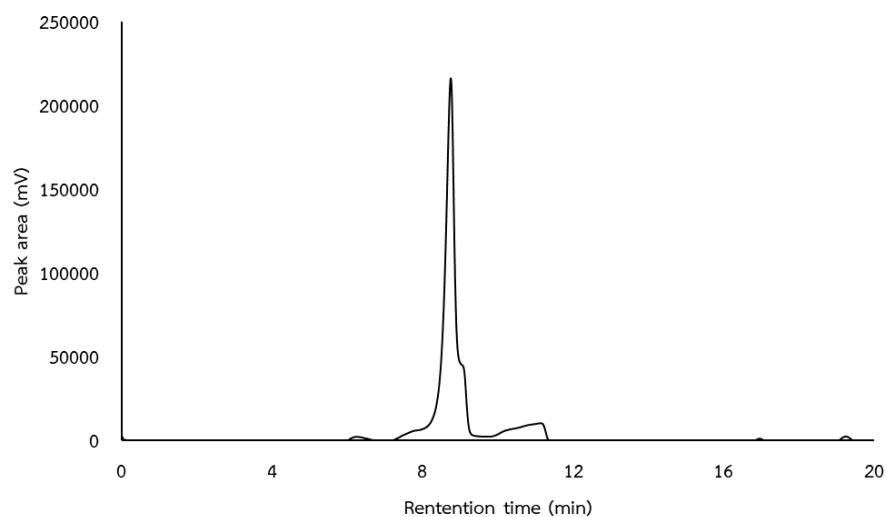
Peak	Retention time (min)	Area	Height
X4	8.712	4613766	216801
X2	11.062	855270	13759
X3	14.522	146898	3092
Total		5615934	233652

ชั่วโมงที่ 15 ;



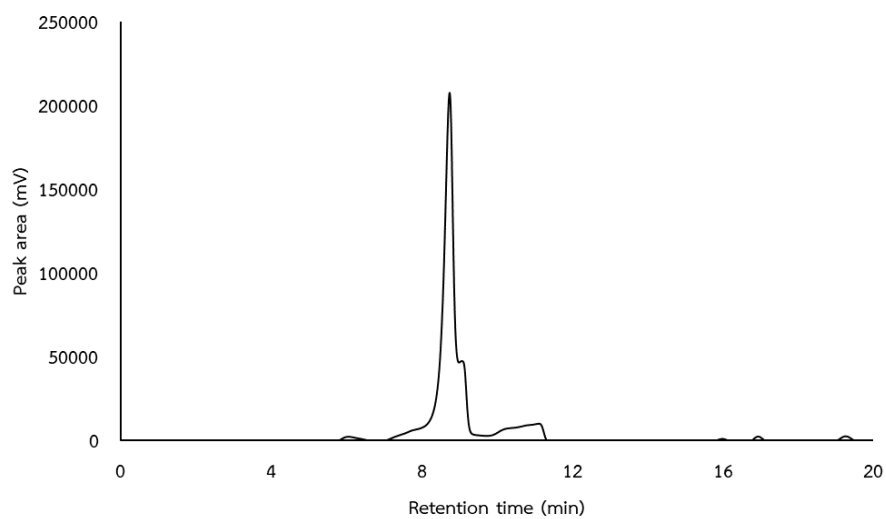
Peak	Retention time (min)	Area	Height
X4	8.727	5188152	226324
X2	11.067	529765	12642
X3	14.489	118942	2518
Total		5836859	241484

ชั่วโมงที่ 18 ;



Peak	Retention time (min)	Area	Height
X4	8.740	5272550	218797
X2	11.134	953576	13110
X3	14.452	88756	1849
Total		6314882	233756

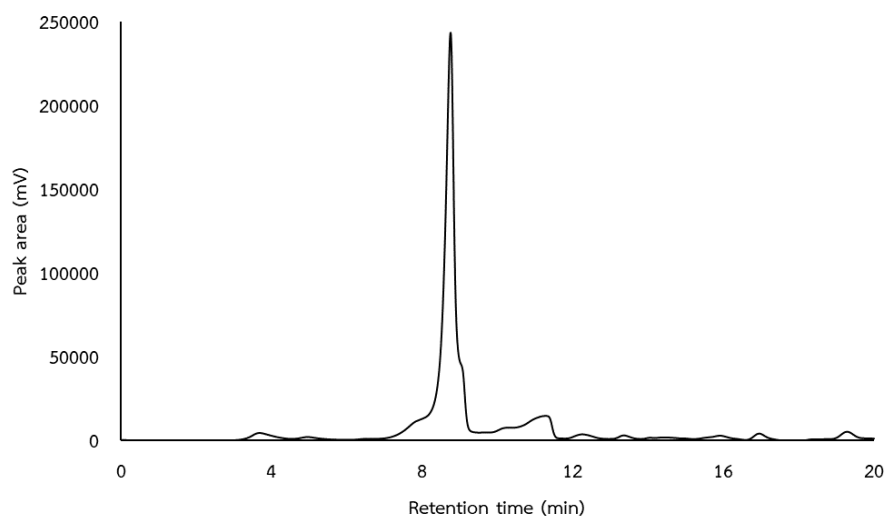
ชั่วโมงที่ 24 ;



Peak	Retention time (min)	Area	Height
X4	8.736	4533250	209063
X2	11.109	824761	11612
X3	14.011	31028	1220
Total		5389039	221895

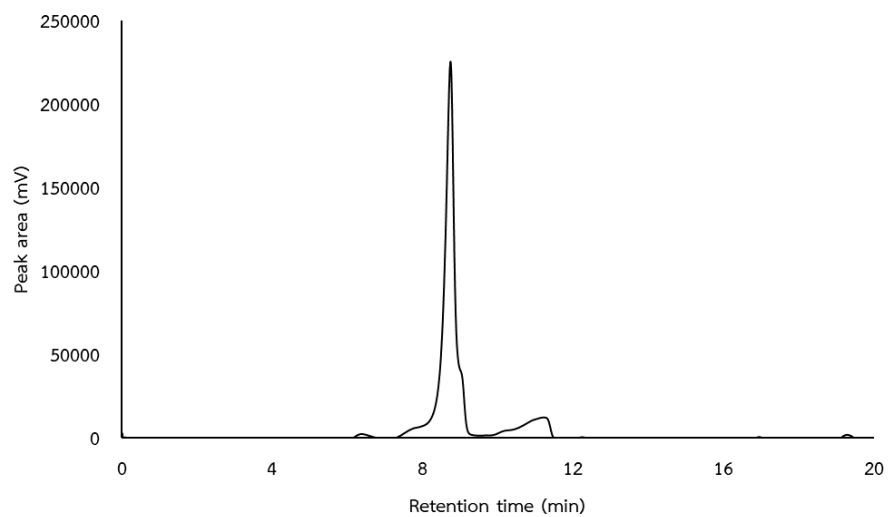
2) ตัวอย่างไซโลโพลิโกแซคคาไรด์จากการสกัดไซเลนด้วยวิธี Sodium hypochlorite treatment

ชั่วโมงที่ 3 ;



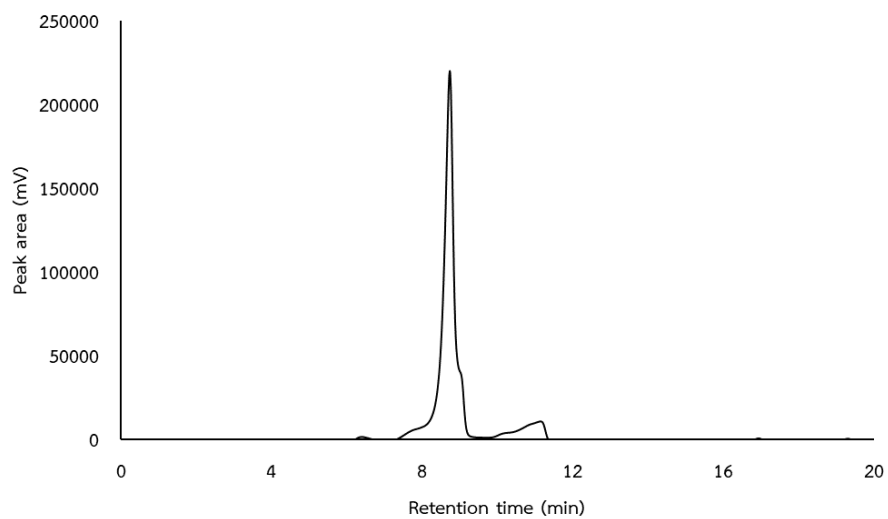
Peak	Retention time (min)	Area	Height
X4	8.750	6216557	243687
X2	11.283	594268	12801
X3	14.410	56624	1230
Total		6867449	257718

ชั่วโมงที่ 6 ;



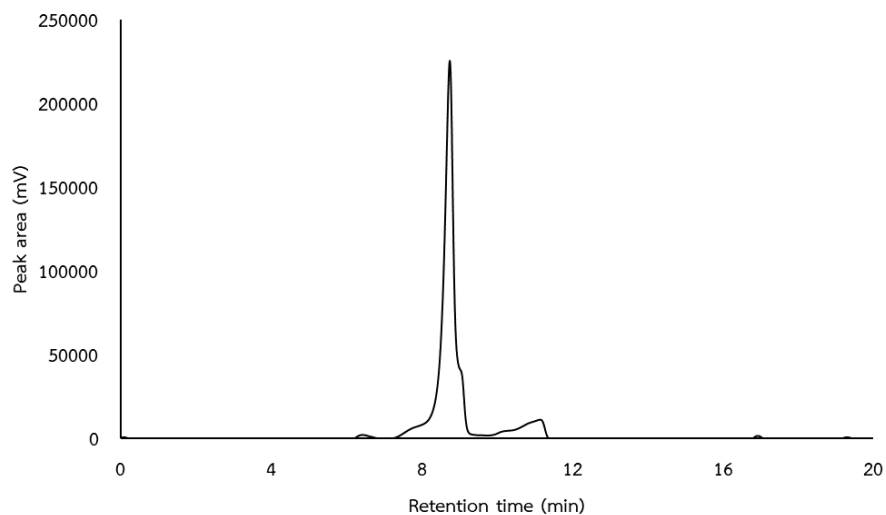
Peak	Retention time (min)	Area	Height
X4	8.736	5145717	228445
X2	11.218	1147474	15635
X3	14.417	110228	2189
Total		6403419	246269

ชั่วโมงที่ 9 ;



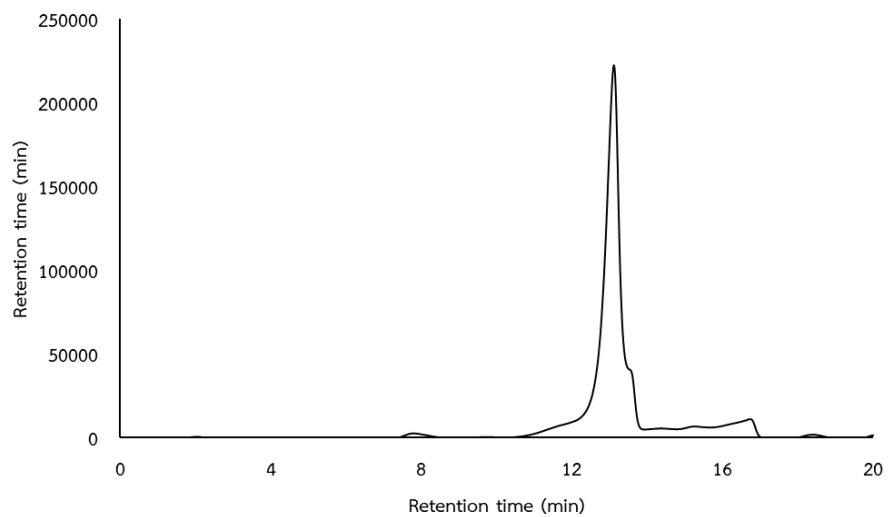
Peak	Retention time (min)	Area	Height
X4	8.731	5178699	223316
X2	11.141	936647	14436
X3	14.478	146488	2740
Total		6261834	240492

ชั่วโมงที่ 12 ;



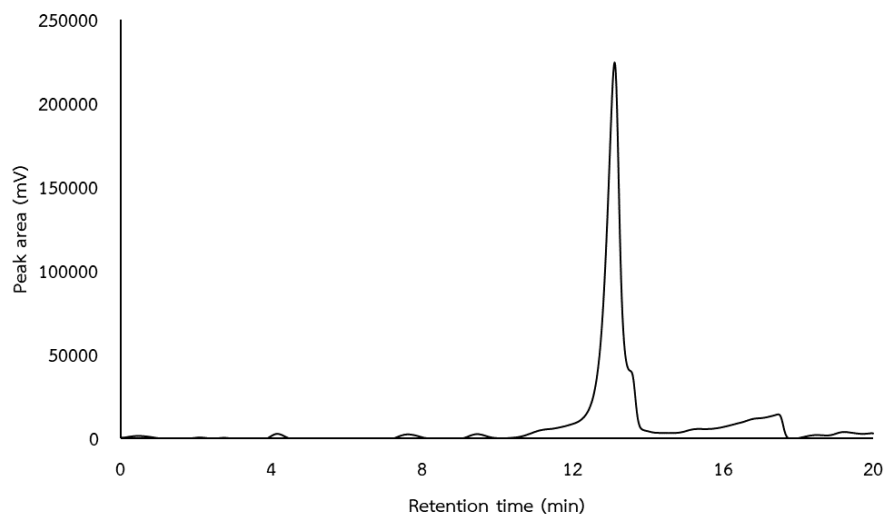
Peak	Retention time (min)	Area	Height
X4	8.741	5339377	228754
X2	11.143	929549	14317
X3	14.469	144418	2729
Total		6413344	245800

ชั่วโมงที่ 15 ;



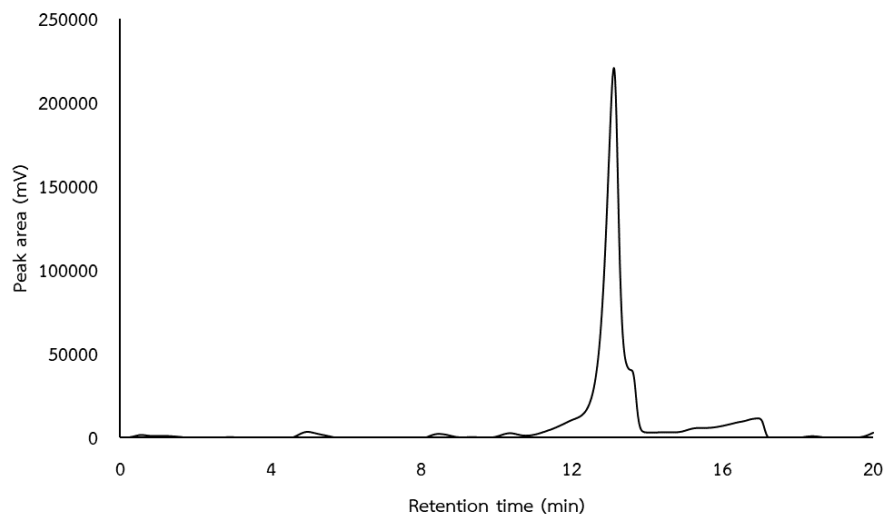
Peak	Retention time (min)	Area	Height
X4	13.112	7689264	223587
X2	16.732	700909	11943
X3	18.391	101695	2532
Total		8491868	238062

ชั่วโมงที่ 18 ;



Peak	Retention time (min)	Area	Height
X4	13.122	7884216	225593
X2	17.470	1312728	14747
X3	18.513	45001	1288
Total		9241945	241628

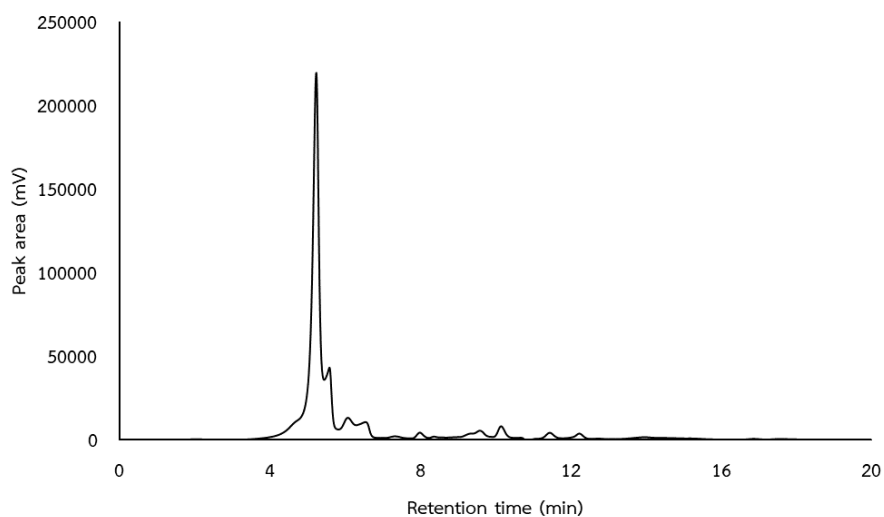
ชั่วโมงที่ 24 ;



Peak	Retention time (min)	Area	Height
X4	13.111	7766198	221981
X2	16.944	962783	12660
X3	18.381	75940	1813
Total		8804921	236454

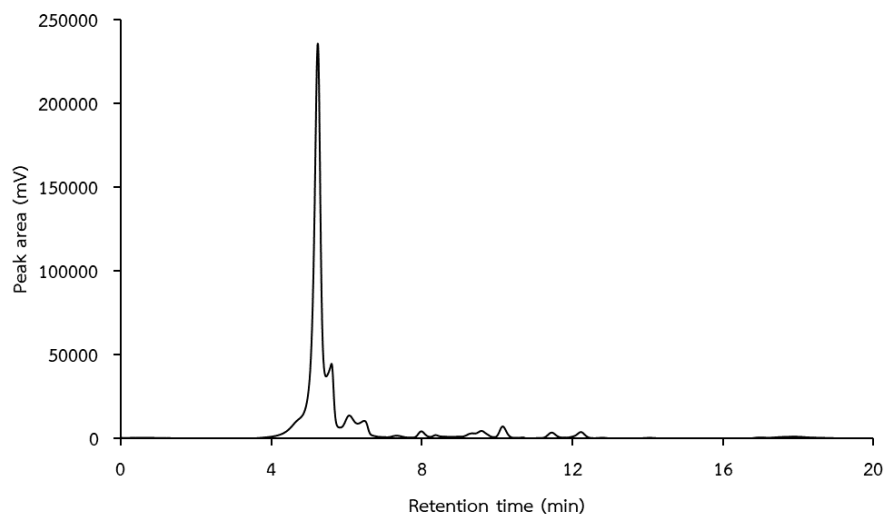
3) ตัวอย่างไซโลลิโกแซคคาไรด์จากการสกัดไซเลนด้วยวิธี Alkali extraction

ชั่วโมงที่ 3 ;



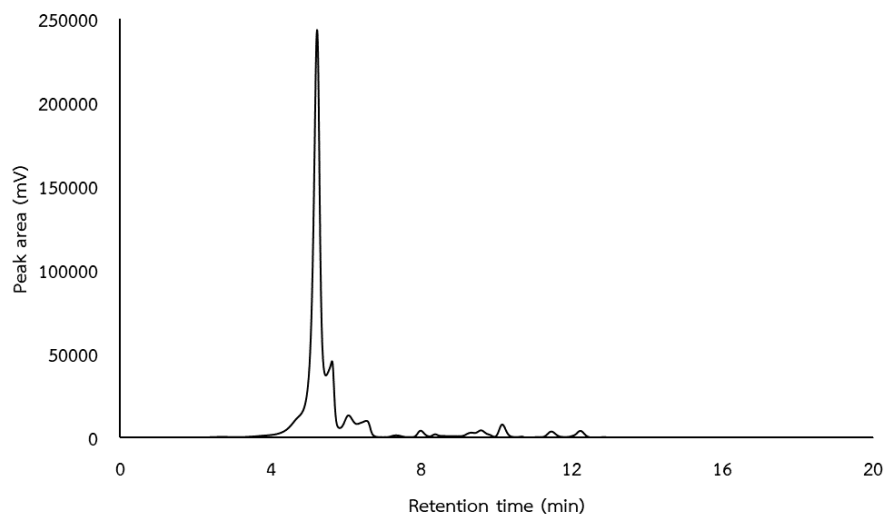
Peak	Retention time (min)	Area	Height
X4	5.227	3301245	219421
X2	9.581	263311	6251
X3	12.229	109963	4416
Total		3674519	230088

ชั่วโมงที่ 6 ;



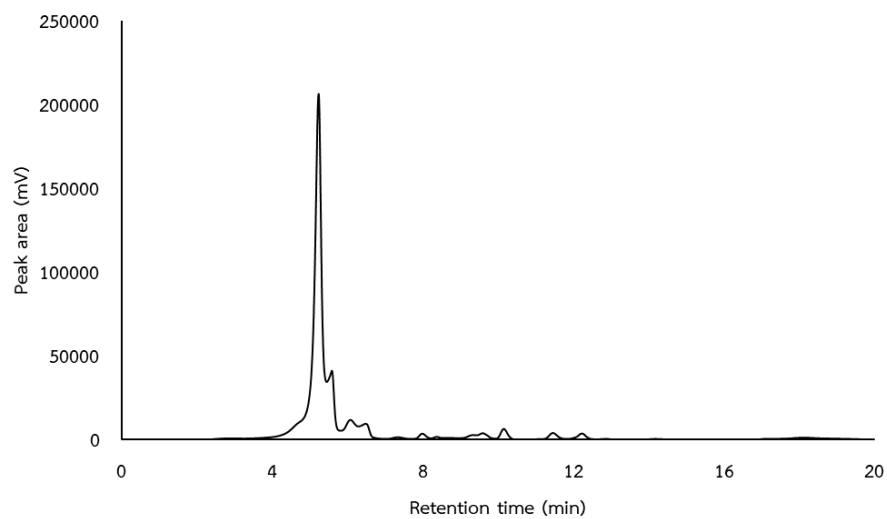
Peak	Retention time (min)	Area	Height
X4	5.232	3567814	236014
X2	9.583	115570	5395
X3	12.225	104211	4491
Total		3787595	245900

ชั่วโมงที่ 9 ;



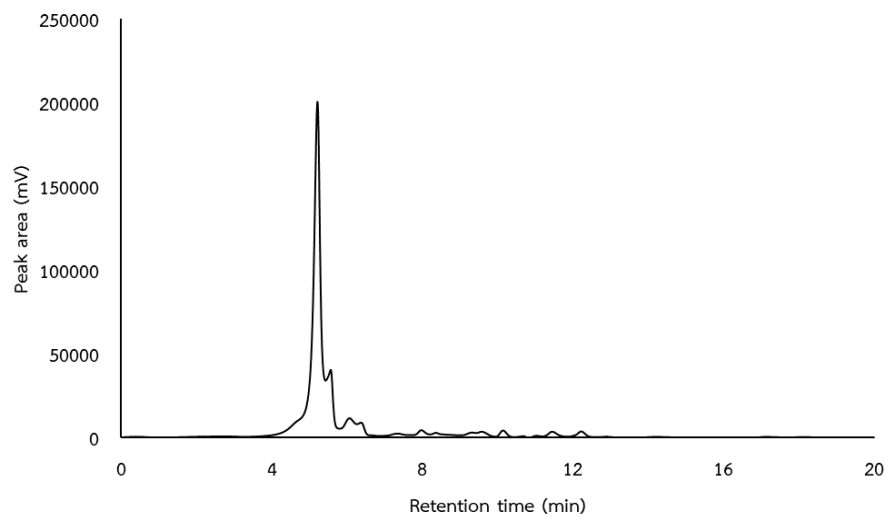
Peak	Retention time (min)	Area	Height
X4	5.231	3844106	244129
X2	9.583	128113	5746
X3	12.221	105834	4872
Total		4078053	254747

ชั่วโมงที่ 12 ;



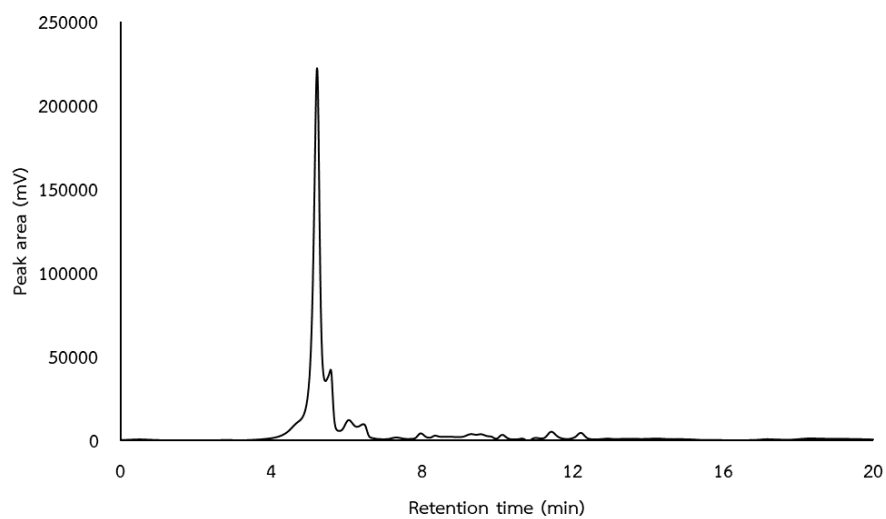
Peak	Retention time (min)	Area	Height
X4	5.226	3201663	207229
X2	9.587	112224	5168
X3	12.226	109795	4612
Total		3423682	217009

ชั่วโมงที่ 15 ;



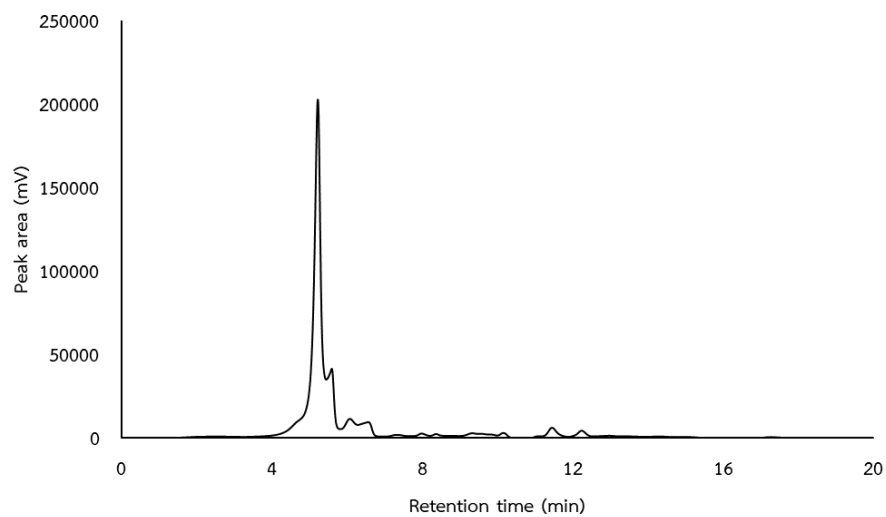
Peak	Retention time (min)	Area	Height
X4	5.214	3033667	200765
X2	9.576	80174	3903
X3	12.220	74187	3836
Total		3188028	208504

ชั่วโมงที่ 18 ;



Peak	Retention time (min)	Area	Height
X4	5.212	3329024	222246
X2	9.565	99168	4136
X3	12.221	81163	4373
Total		3509355	230755

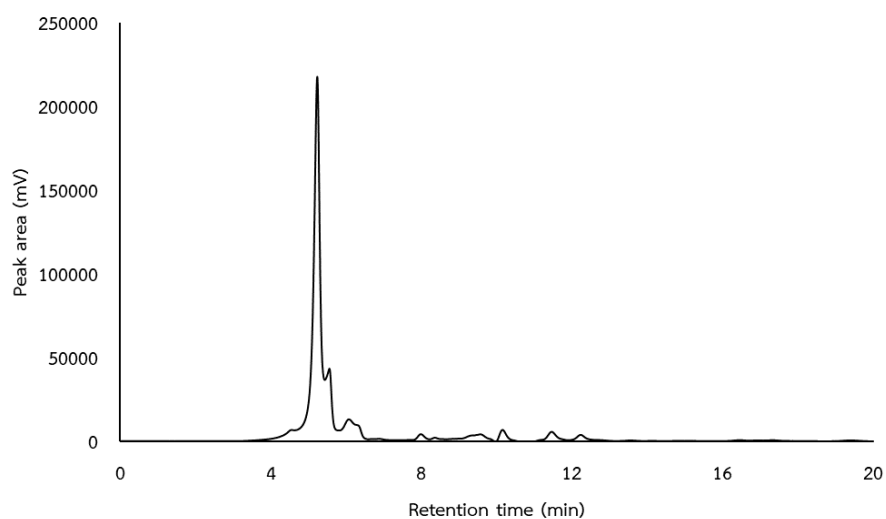
ชั่วโมงที่ 24 ;



Peak	Retention time (min)	Area	Height
X4	5.216	3126393	203449
X2	9.565	104428	3850
X3	12.238	133719	5505
Total		3364540	212804

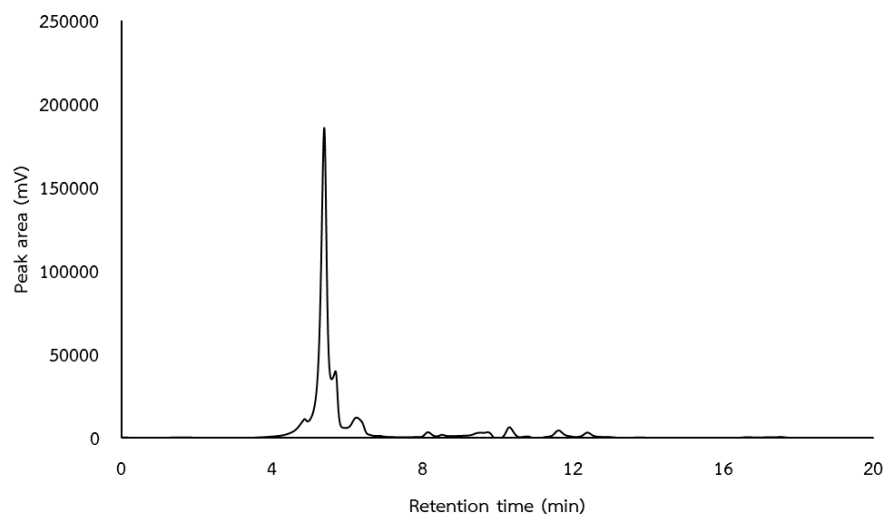
4) ตัวอย่างไซโลโพลิโกแซคาไรด์จากการสกัดไซแลนด้วยวิธี Autohydrolysis

ชั่วโมงที่ 3 ;



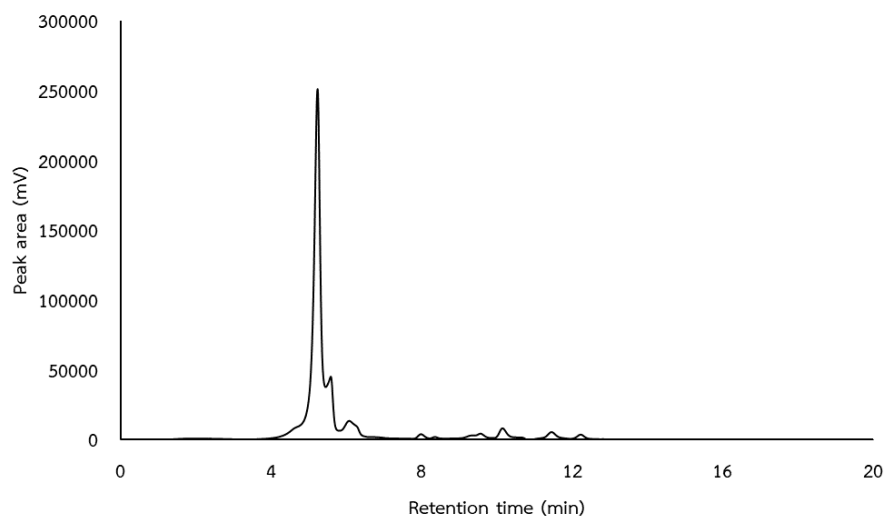
Peak	Retention time (min)	Area	Height
X4	5.235	2810923	218121
X2	9.569	196530	4453
X3	12.229	178619	5186
Total		3186072	227760

ชั่วโมงที่ 6 ;



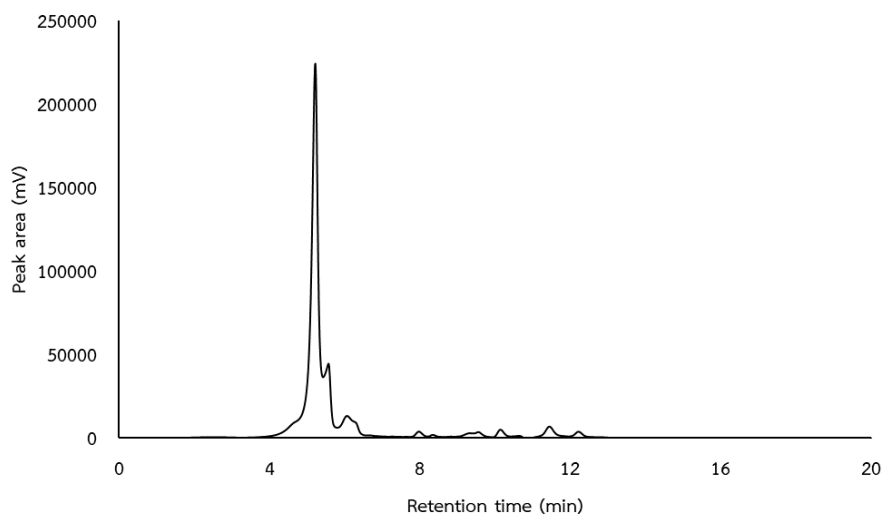
Peak	Retention time (min)	Area	Height
X4	5.386	2425815	186205
X2	9.579	183973	5065
X3	11.621	184734	5983
Total		2794522	197253

ชั่วโมงที่ 9 ;



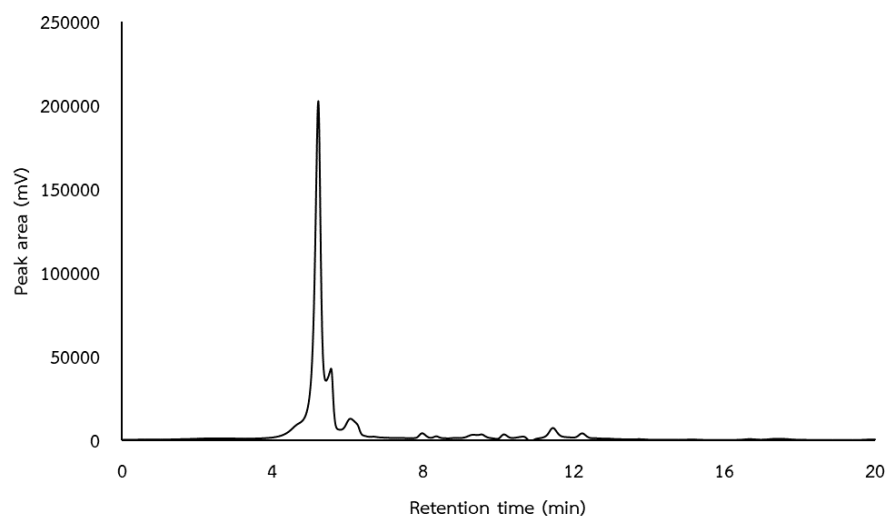
Peak	Retention time (min)	Area	Height
X4	5.225	3573116	251645
X2	10.144	191553	9190
X3	11.446	185693	6470
Total		3950362	267305

ชั่วโมงที่ 12 ;



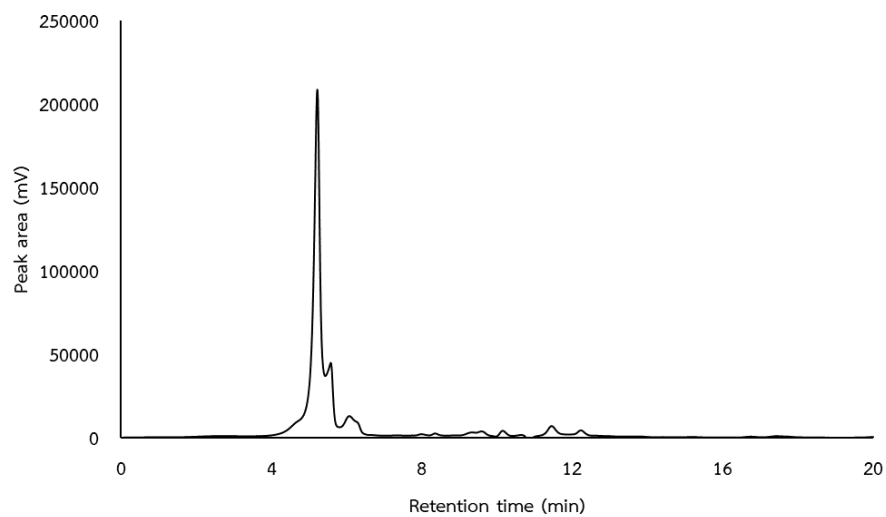
Peak	Retention time (min)	Area	Height
X4	5.218	3277009	224929
X2	10.142	110476	6373
X3	11.443	228747	8222
Total		3616232	239524

ชั่วโมงที่ 15 ;



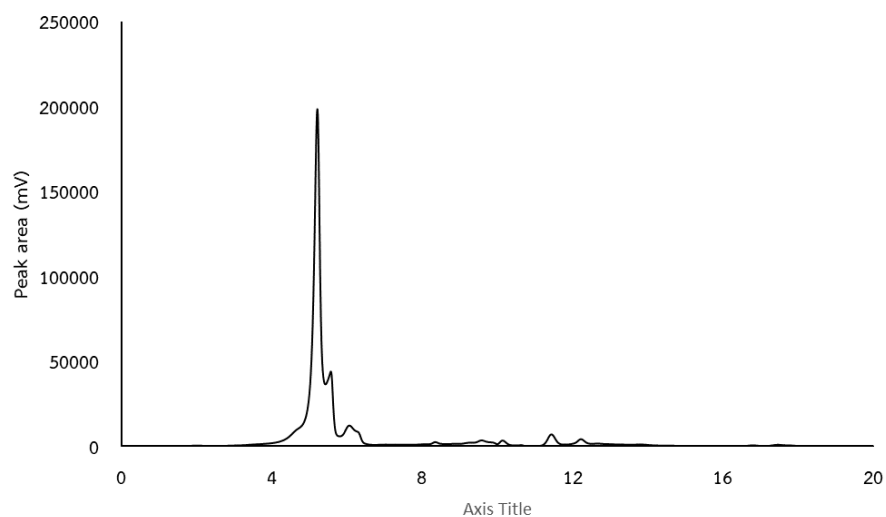
Peak	Retention time (min)	Area	Height
X4	5.211	2861774	201561
X2	10.144	42016	2979
X3	11.442	215400	7830
Total		3119190	212370

ชั่วโมงที่ 18 ;



Peak	Retention time (min)	Area	Height
X4	5.220	3112799	209435
X2	10.149	92032	5229
X3	11.449	225893	7984
Total		3430724	222648

ชั่วโมงที่ 24 ;



Peak	Retention time (min)	Area	Height
X4	5.203	2954293	198097
X2	10.134	33641	2812
X3	11.432	189966	8284
Total		3177900	209193