

## บทนำ

การพัฒนาอุตสาหกรรมยางพาราเพื่อเป็นส่วนหนึ่งในการขับเคลื่อนเศรษฐกิจของประเทศในภาวะวิกฤติเศรษฐกิจโลกเป็นเรื่องยากแต่ก็จำเป็นต้องทำเนื่องจากปัจจุบันยางพาราเป็นพืชเศรษฐกิจที่ทำรายได้ไม่เฉพาะเกษตรกรภาคใต้และภาคตะวันออกเท่านั้นแต่ยังเป็นพืชเศรษฐกิจกับเกษตรกรทั่วทุกภาคของประเทศโดยเฉพาะอย่างยิ่งประเทศไทยในฐานะผู้ผลิตยางพาราอันดับหนึ่งของโลกมีมูลค่าการส่งออกยางพาราผลิตภัณฑ์ยางพาราและผลิตภัณฑ์จากไม้ยางพารารวมกันทั้งสิ้นกว่า 120,000 ล้านบาท(การประชุมวิชาการยางพาราแห่งชาติ ครั้งที่ 2, 2553) การค้นคว้าวิจัยเพื่อเพิ่มศักยภาพในการแข่งขันรวมทั้งเพื่อให้ได้นวัตกรรมทั้งรูปยางดิบ ผลิตภัณฑ์จากยางพาราและการใช้ประโยชน์จากวัสดุเศษเหลือของอุตสาหกรรมยางพาราซึ่งสามารถพัฒนาขยายผลให้ผู้เกี่ยวข้องนำไปใช้ประโยชน์เพื่อให้เกิด “Value Creation สู่การพึ่งพาตนเอง” ได้จึงเป็นเรื่องจำเป็นและจะเป็นส่วนหนึ่งที่ช่วยแก้วิกฤติเศรษฐกิจที่มีผลกระทบต่ออุตสาหกรรมยางพาราและผลิตภัณฑ์ของประเทศหนึ่งเนื่องจากมีหลายหน่วยงานของภาครัฐที่มีภารกิจสนับสนุนการวิจัยยางพาราในหลายมิติและอาจจะก่อให้เกิดการทำวิจัยที่ซ้ำซ้อนใช้งบประมาณของประเทศอย่างไม่มีประสิทธิภาพดังนั้นหน่วยงานต่างๆได้แก่กรมวิชาการเกษตร (กวก.) สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (สวก.) สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) จึงได้ร่วมหารือกันเพื่อหาแนวทางจัดการงานวิจัยยางพาราให้เกิดประสิทธิภาพ

การวิจัยเกี่ยวกับยางพาราที่ผ่านมา สรุปได้ดังนี้ การวิจัยเกี่ยวกับน้ำยาง (latex) ได้แก่ ยางธรรมชาติตัดแปรสำหรับงานเคลือบผิว การเตรียมนาโนคอมโพสิตการชะลอการแข็งตัวของน้ำยางการผลิตอิฐบล็อกประสานจากน้ำยางพาราเป็นต้น การวิจัยเกี่ยวกับยางแห้ง (dry rubber) ได้แก่ ผลิตภัณฑ์ยางปะเก็นและยางรองกันกระแทกการใช้ประโยชน์จากยางครัมป์การผลิตหนังเทียมจากยางการพัฒนาแบรีงยางการผลิตยางธรรมชาติผสมยางอีพีเอ็มเป็นต้น การวิจัยเทคโนโลยีสนับสนุนอุตสาหกรรมยางแห้งและน้ำยางได้แก่ การใช้กากตะกอนน้ำเสียและกากขี้เถ้าเป็นปุ๋ยปลูกยางพารา การวิเคราะห์แมกนีเซียมในน้ำยางธรรมชาติ, เครื่องวัดปริมาณเนื้อยางแห้ง (%DRC) โดยใช้ความถี่คลื่นไมโครเวฟ, การใช้สารเคมีไม่อันตรายทดแทนสารเคมีเดิมที่ใช้ในอุตสาหกรรมยางเป็นต้น การวิจัยระบบโซ่อุปสงค์-อุปทานและการตลาด เช่น ปัจจัยที่มีผลต่อการตัดสินใจเลือกด่านส่งออกยางวิจัยและพัฒนาเพื่อสร้างคุณค่ายางธรรมชาติการวิจัยและพัฒนาเพื่อสร้างคุณค่าน้ำยางธรรมชาติและการวิจัยและพัฒนาเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตยางพาราการวิจัยที่ผ่านมายังกล่าวถึงการใช้ประโยชน์จากวัสดุเศษเหลือที่เกิดจากอุตสาหกรรมยางพาราน้อย โดยเฉพาะวัสดุเศษเหลือจากการแปรรูปไม้ยางพารา ได้แก่ ขี้เลื่อย เศษไม้ ปีกไม้ ปัจจุบันการใช้ประโยชน์ขี้เลื่อยไม้ยางพาราได้แก่ การใช้เป็น

วัสดุชีวมวลหรือเชื้อเพลิง การผลิตผงถ่านกัมมันต์ การแปรรูปไม้อัด ใช้เป็นวัสดุเพาะเห็ด (การประชุมวิชาการยางพาราแห่งชาติ ครั้งที่ 2, 2553)

โดยปกติซีลี้อยู่เป็นสิ่งที่ระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ไม่สามารถย่อย ดูดซึม และเกิดการหมักโดยจุลินทรีย์ในลำไส้ได้ เนื่องจากมีองค์ประกอบหลักเป็นลิกโนเซลลูโลส (lignocellulose) อย่างไรก็ตามร่างกายมนุษย์สามารถนำสารนี้มาใช้ประโยชน์ได้หากเปลี่ยนโครงสร้างทางเคมีองค์ประกอบและขนาดโมเลกุลให้มีขนาดเล็กลง การผลิตไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ในทางการค้าก็ใช้หลักการเดียวกันนี้แต่วัตถุดิบที่ใช้ต่างจากที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ งานวิจัยนี้มีเป้าหมายเพื่อให้ได้นวัตกรรมใหม่ของกระบวนการผลิตไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ (xyloligosaccharides) จากซีลี้อยู่ไม้ยางพาราเพื่อนำไปใช้เป็นองค์ประกอบอาหาร (food ingredient) เป็นแหล่งของกากใยอาหาร (dietary fiber) ที่มีสมบัติเป็นพรีไบโอติก (prebiotic) ที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพระบบทางเดินอาหารของผู้บริโภค

## วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาวิธีการเตรียมและการสกัดไซแนลนจากขี้เลื่อยไม้ยางพารา
2. เพื่อศึกษาวิธีการย่อยไซแนลนให้ได้ไซโลโอลิโกแซคคาไรด์
3. เพื่อศึกษาการทำให้บริสุทธิ์และทำผงแห้งของไซโลโอลิโกแซคคาไรด์

## การตรวจเอกสาร

### 1. ยางพารา

#### 1.1 พฤกษศาสตร์ของยางพารา

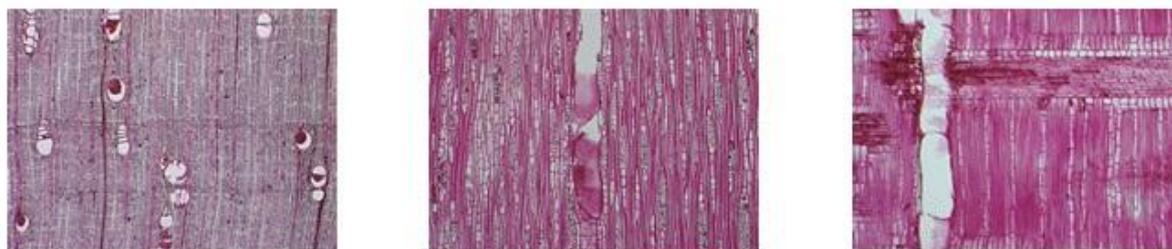
ยางพารามีชื่อเรียกทางพฤกษศาสตร์ว่า *Hevea brasiliensis* Muell Arg มีชื่อสามัญว่า Para Rubber เป็นพืชที่สามารถให้น้ำยางซึ่งสามารถนำมาใช้ผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ได้หลายชนิดส่วนใหญ่มีถิ่นกำเนิดในอเมริกากลางอเมริกาใต้และแอฟริกาเขตร้อนตระกูลที่มีความสำคัญได้แก่ตระกูล Moraceae ได้แก่สายพันธุ์ *Castilla elastica* มีถิ่นกำเนิดในประเทศเม็กซิโกและอเมริกากลาง *Ficus elastica* มีถิ่นกำเนิดในประเทศพม่าตระกูล Apocynaceae ได้แก่สายพันธุ์ *Cryptostegia grandiflora*, *Cryptostegia madagascariensis* มีถิ่นกำเนิดในอเมริกากลางและมาลากาซีตระกูล Compositae เช่น สายพันธุ์ *Parthenium argentatum* มีถิ่นกำเนิดในแถบเมซอนในประเทศบราซิลพืชที่ให้น้ำยางตระกูลสุดท้ายนับว่ามีความสำคัญมากที่สุดทั้งนี้เพราะให้น้ำยางในปริมาณที่สูงตามการบันทึกของ La Condamine ทำให้ทราบความเป็นมาของ *Hevea* ซึ่งมาจากคำว่า "heve" เป็นคำที่ใช้เรียกน้ำยางที่เก็บได้จากต้นพื้นเมืองคาดว่าอาจเป็นต้น *Castilla ulei* ต่อมา Aublet ให้ชื่อสกุลใหม่เป็น *Hevea* พืชให้น้ำยางในสกุล *Hevea* มีหลายชนิดอาศัยความแตกต่างจากลักษณะทางสัณฐานและสรีรวิทยาแบ่งออกเป็นดังนี้ *H. camporum*, *H. brasiliensis*, *H. guyanensis*, *H. benthamiana*, *H. microphylla*, *H. similis*, *H. spruceana*, *H. minor*, *H. nitida*, *H. pauciflora*, *H. discolor*, *H. rigidifolia*, *H. lutea*, *H. confuse* ทั้งหมดนี้มีถิ่นกำเนิดในอเมริกากลางแถบเมซอนเกือบทั้งหมดพืชในสกุล *Hevea brasiliensis* มีการปรับตัวที่ดีที่สุดจากการรวบรวมของ Wickham และมีคุณสมบัติบางประการได้แก่เปอร์เซ็นต์เนื้อเยื่อองค์ประกอบทางเคมีของน้ำยางความหนืดของน้ำยางและอัตราการไหลของน้ำยางที่ดีเหมาะแก่การผลิตเพื่ออุตสาหกรรมในทุกพื้นที่ปลูกมีชื่อเรียกทั่วไปว่ายางพารา (Para rubber) ตามชื่อเมือง para ซึ่งเป็นแหล่งกำเนิดในบราซิลหรือ *Hevea rubber* ตามชื่อตระกูล (d'Auzacet *al.*, 1989)

การปลูกยางในประเทศไทยไม่มีการบันทึกเป็นหลักฐานที่แน่นอน แต่คาดว่าน่าจะเริ่มมีการปลูกในช่วงประมาณปี พ.ศ. 2442-2444 ซึ่งพระยารัษฎานุประดิษฐ์ มหิศรภักดี (คอซิมบี๊ ณ ระนอง) เจ้าเมืองตรังในขณะนั้น ได้นำเมล็ดยางพารามาปลูกที่อำเภอกันตัง จังหวัดตรัง เป็นครั้งแรก ซึ่งชาวบ้านเรียกต้นยางชุดแรกนี้ว่า ต้นยางเทศาและต่อมาได้มีการขยายพันธุ์ยางมาปลูกในบริเวณจังหวัดตรังและนราธิวาส ในปี พ.ศ. 2454 ได้มีการนำพันธุ์ยางมาปลูกในจังหวัดจันทบุรีซึ่งอยู่ทางภาคตะวันออกของประเทศไทย โดยหลวงราชไมตรี (ปุม ปุณศรี) เป็นผู้นำพันธุ์ยางมาปลูก และนับจากนั้นเป็นต้นมาได้มีการขยายพันธุ์ปลูกยางพาราไปทั่วทั้ง 14 จังหวัดในภาคใต้ และ 3 จังหวัดในภาคตะวันออก นอกจากนี้ยังมีการขยายพันธุ์ยางมาปลูกในภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และ

ภาคเหนือ ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2534 เป็นต้นมา ยางพาราก็กลายเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย และมีการผลิตเป็นอันดับหนึ่งของโลก

ยางพาราประเภทยางดิบ ผลิตภัณฑ์ยาง และไม้ยางพารา สามารถทำรายได้การส่งออกเป็นอันดับสองของประเทศ ยางพาราจึงถือว่าเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย และมีการส่งออกยางธรรมชาติมาเป็นอันดับหนึ่งของโลกมาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2534 ซึ่งในปี พ.ศ. 2543 มีผลผลิตจากยางธรรมชาติประมาณ 2.4 ล้านตัน มีมูลค่าทั้งสิ้นประมาณ 124,000 ล้านบาท เดิมพื้นที่ที่มีการปลูกยางส่วนใหญ่จะอยู่ในภาคใต้และภาคตะวันออก แต่ในปัจจุบันมีการขยายการปลูกเพิ่มขึ้นไปยังภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคตะวันตก โดยเฉพาะยางพาราจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ตอนล่างในเขตจังหวัดบุรีรัมย์และจังหวัดศรีสะเกษ จัดเป็นยางพาราคุณภาพดีไม่ต่างจากแหล่งผลิตเดิมในเขตภาคใต้และภาคตะวันออก พื้นที่ที่เหมาะสมแก่การปลูกยางทั่วประเทศมีทั้งหมด 55.1 ล้านไร่ แต่พื้นที่ปลูกจริงมีประมาณ 19 ล้านไร่เกษตรกรทั่วประเทศประมาณ 1.2 ล้านคน สร้างมูลค่าทางเศรษฐกิจ 4 แสนล้านบาท (เสาวณีย์ ก่อวุฒิกุลรังษี, 2547)

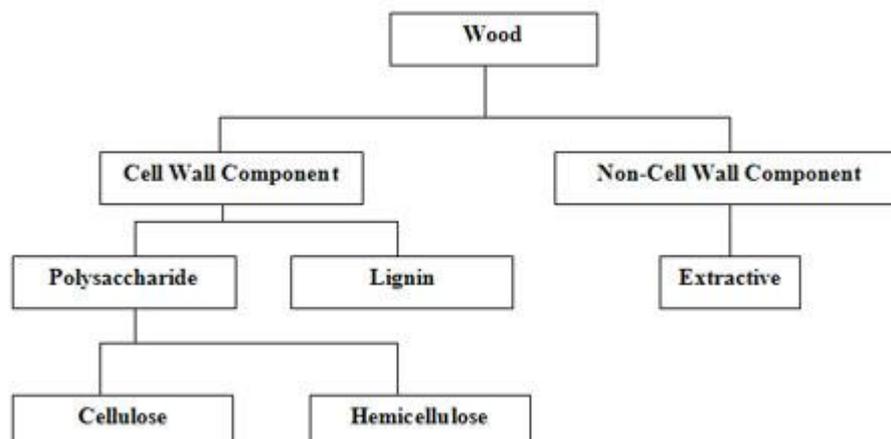
ลักษณะโครงสร้างไม้ยางพาราไม่มีวงเจริญเติบโตให้เห็นเด่นชัดทางด้านหน้าตัด แต่จะเห็นเป็นลายไม้เนื่องจากความแตกต่างระหว่างความแน่นของไฟเบอร์ และปริมาณความหนาแน่นของเยื่อ parenchyma ทางด้านข้าง pore เตี้ยและแผด 2-3 คละกัน กระจายห่างๆ อย่างสม่ำเสมอ มี Metatracheal parenchyma (concertric) ตัดกับ ray เห็นเป็นลักษณะตาข่ายทางด้านหน้าตัดไม้ยางพาราเป็นไม้ที่มีลักษณะลำต้นกลม สูงปานกลาง เปลือกสีเทาดำ มองทางด้านหน้าตัดจะเห็นท่อน้ำยาง (latex vessel) ต่อกันเป็นวงตามแนวด้านสัมผัส (tangential) เนื้อไม้มีสีขาวอมเหลืองเมื่อสด และจะมีสีขาวจางเมื่อแห้ง เนื้อหยาบปานกลาง เส้นตรงวงรอบปีไม่เห็นชัด ไม่มีแกน เรย์ (ray) มีขนาดเล็กมากและมีสีอ่อนกว่าเนื้อไม้ พอร์ (pore) เป็นแบบ radial multiple ซึ่งการเรียงตัวจะตัดกันระหว่างเรย์ กับ metatracheal parenchyma ทำให้มองดูเนื้อไม้คล้ายตาข่าย มีความหนาแน่นพื้นฐาน (basic density) 0.56-0.65 กรัม/ลบ.ซม. สำหรับที่ความชื้น 15% มีความหนาแน่นประมาณ 0.67-0.74 กรัม/ลบ.ซม. โดยมีค่าใกล้เคียงกับไม้เมเปิ้ลทั้งนี้ก็ขึ้นอยู่กับพันธุ์ของยางพาราสำหรับขนาดของเส้นใยไม้ยางพาราประมาณ 1.26 มม. โดยมีความกว้างประมาณ 0.021 มม. (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 ภาพขยายเนื้อไม้ยางพาราในด้าน cross section, tangential section และ radial section โดยใช้กล้องจุลทรรศน์

ที่มา: ปรีชา เกียรติกระจาย (2528)

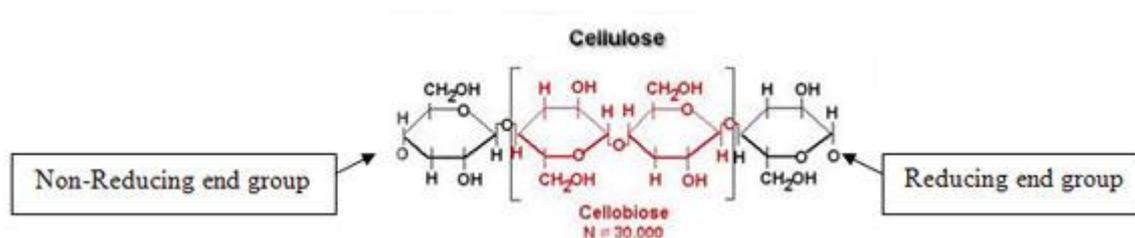
คุณสมบัติทางเคมีของไม้ยางพาราสดโดยคิดเป็นร้อยละของน้ำหนักอบแห้งประกอบด้วย สารแทรก (Extractives) 13.28% (สำหรับสารแทรกแบ่งเป็นสารที่สามารถละลายในน้ำรวม 10.36% และละลายได้ในสารละลายรวม 23.24%) เซลลูโลส (Cellulose) 50.63% (Holocellulose 78.72%,  $\alpha$ -cellulose 49.41%) เพนโตซาน (Pentosan) 17.17% ลิกนิน (Lignin) 18.06% และเถ้า (Ash) 0.86% (ภาพที่ 2) ซึ่งสารแทรกคือ สารที่ไม่ใช่องค์ประกอบของโครงสร้างของผนังเซลล์ อาจเป็นกรดหรือเป็นกลางก็ได้ มีตั้งแต่ สารไอโซพรีน เทอร์ปีน เฮตเตอโรไซคลิก กรดเรซินสารโพลี-ฟีนอลต่างๆ และอัลคาลอยด์ เป็นต้น และเป็นสารประกอบที่เป็นคุณสมบัติของพันธุ์ไม้แต่ละชนิด สารประกอบเหล่านี้ จะทำให้พืชแต่ละชนิดมีสี กลิ่น รส และความแข็งที่แตกต่าง กันออกไป สารพวกนี้มีประมาณ 5-30% โดยมวล ซึ่งรวมไปถึง สารส่วนน้อยเป็นสารประกอบที่ก่อให้เกิดเถ้า อันได้แก่ สารประกอบแคลเซียม โพแทสเซียม ฟอสเฟต และซิลิกา เป็นต้น สารพวกนี้มีประมาณ 0.1-3% โดยมวล การใช้ประโยชน์ของสารแทรกขึ้นอยู่กับคุณสมบัติทางเคมีของสารนั้น เช่น สารแทรกพวกเทอร์ปีนอาจใช้เป็นตัวทำละลาย ทำน้ำหอม ยา สบู่ กาว และใช้ในอุตสาหกรรมอื่นๆ พวกโพลีฟีนอลใช้ในการฟอกหนัง สังกะสีกาว ส่วนพวกอัลคาลอยด์ ส่วนใหญ่มีประโยชน์ทางเภสัชกรรม



ภาพที่ 2 องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อไม้ยางพารา

ที่มา: ปรีชา เกียรติกระจาย (2528)

เซลลูโลส (cellulose) เป็นองค์ประกอบที่มีมากที่สุดของเนื้อไม้ คือประมาณ 40% ทั้งในไม้ใบแคบหรือไม้ตระกูลสน (Softwood) และไม้ใบกว้าง (Hardwood) มีโครงสร้างอัดกันแน่นเป็นเส้นตรงไม่มีกิ่ง สูตรโครงสร้างทางเคมี  $(C_6H_{10}O_5)_n$  ประกอบด้วยหน่วยย่อยของ cellobiose ซึ่งส่วนปลายของทั้งสองข้าง คือ Reducing end group (C1) ส่วนที่ทำปฏิกิริยาได้ง่ายที่สุดและ Non reducing end group (C4) ส่วนที่ไม่ทำปฏิกิริยา (ดังภาพที่ 3) เซลลูโลสไม่ละลายน้ำ และตัวทำละลายอินทรีย์เช่น เบนซีน แอลกอฮอล์และอีเธอร์ เป็นต้น แต่ละลายได้ดีใน กรดเกลือและกรดกำมะถันเข้มข้น เซลลูโลสเมื่อนำไปทำปฏิกิริยาทางเคมีเปลี่ยนแปลงโครงสร้างสามารถนำมาผลิตพลาสติก น้ำตาล เจล พิล์ม เส้นใยชนิดใหม่ สารเคลือบ ระเบิด เป็นต้น

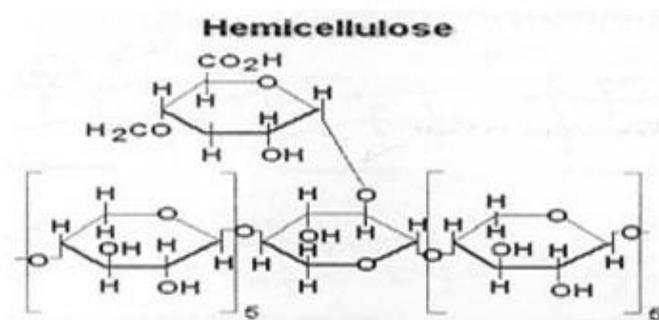


ภาพที่ 3 องค์ประกอบของเซลลูโลส

ที่มา: ปรีชา เกียรติกระจาย (2528)

เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) ในไม้ใบแคบหรือไม้ตระกูลสนซึ่งจัดเป็นไม้เนื้ออ่อนมีประมาณ 25-30% ส่วนในไม้ใบกว้างซึ่งจัดเป็นไม้เนื้อแข็งมีประมาณ 30-35% เป็นโมเลกุลขนาดเล็ก

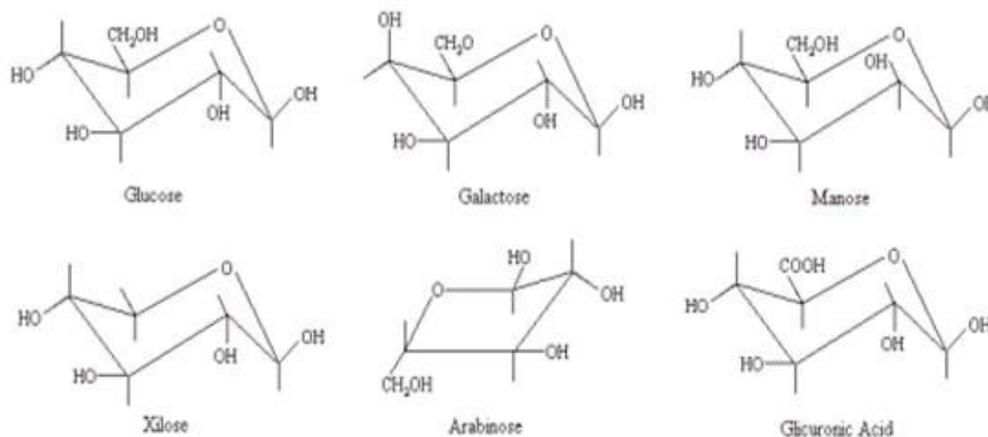
สีขาว มีโครงสร้างลักษณะเป็นกิ่งจับกันอยู่แบบหลวมๆซึ่งเฮมิเซลลูโลสจัดเป็นคาร์โบไฮเดรต (carbohydrate) ประเภทพอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharide) ในโมเลกุลของเฮมิเซลลูโลส เป็น heteropolysaccharide ที่ประกอบด้วยน้ำตาลหลายชนิด มีน้ำตาลไซโลส (xylose) เชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคไซด์ (glycosidic bond) ที่ตำแหน่ง  $\beta$  (1-4) เป็นโซ่หลัก (ภาพที่ 4) อาจมีน้ำตาลแมนโนส (mannose) กาแล็กโทส (galactose) หรือกลูโคส (glucose) มาต่อกันเป็นโซ่หลักด้วยและมีน้ำตาลชนิดอื่นมาต่อกันเป็นโซ่สาขา หรือโซ่แขนงได้แก่ น้ำตาลอะราบินโนส (arabinose) กรดกลูคูโรนิก (glucuronic acid) เฮมิเซลลูโลส จัดเป็นใยอาหาร (dietary fiber) ที่ไม่ละลายน้ำ ไม่สามารถย่อยได้ด้วยเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์และสัตว์กระเพาะเดี่ยว สามารถละลายได้ในสารละลายต่างเจือจาง สมบัติทางกายภาพที่สำคัญคือ มีความสามารถในการอุ้มน้ำและแลกเปลี่ยนไอออนประจุบวก เมื่ออยู่ในกระเพาะอาหารและลำไส้ของมนุษย์



ภาพที่ 4 สูตรโครงสร้างของเฮมิเซลลูโลส

ที่มา: ปรีชา เกียรติกระจาย (2528)

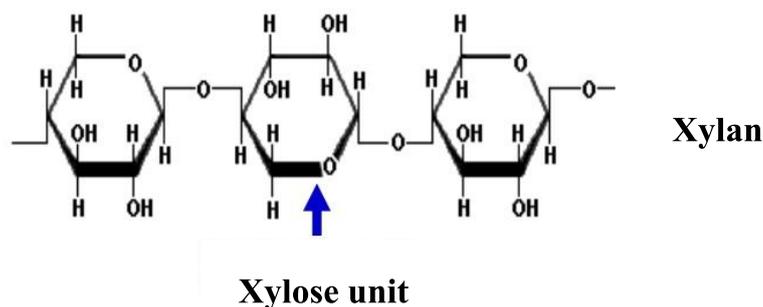
เฮมิเซลลูโลสประกอบด้วยน้ำตาล 5 ชนิด ได้แก่ น้ำตาลเฮกโซสประกอบด้วยกลูโคส, แมนโนส, กาแล็กโทสและน้ำตาลเพนโตสประกอบด้วยไซโลส และอะราบินโนส และประกอบด้วยกรดกลูคูโรนิก มีสูตรโครงสร้างดังภาพที่ 5



ภาพที่ 5 สูตรโครงสร้างของน้ำตาลที่ประกอบกันเป็นเฮมิเซลลูโลส  
ที่มา: ปรีชา เกียรติกระจาย (2528)

ประโยชน์ของเฮมิเซลลูโลสในรูปมอนอเมอร์ สามารถแยกน้ำตาลโดยวิธี hydrolysis ทำให้โมเลกุลของสารเปลี่ยนแปลงไป คุณสมบัติก็เปลี่ยนแปลงไป เรียกวิธีนี้ว่า wood saccharification และวิธี steam explosion โดยใช้ไอน้ำทำให้ปริมาณเยื่อกระดาษมากขึ้น เพิ่มความแข็งแรงและปริมาณกระดาษให้มากขึ้น เนื่องจากมีโครงสร้างเป็น Amorphous (อยู่รวมกันแบบหลวมๆ) น้ำจึงเข้าไปได้ง่าย เกิดการพองตัวของเยื่อ อุ่นน้ำได้ดี มีประโยชน์ในการตีเยื่อ คือ ทำให้ผิวของเส้นใยแตกออกเกิดการประสานตัวด้วยพันธะไฮโดรเจนทำให้เยื่อมีความแข็งแรงมากขึ้น เฮมิเซลลูโลสนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเช่น สารแต่งเติมทำให้อาหารข้น ใช้ในเครื่องสำอาง เป็นสารดูดซับ (absorbent) สารเชื่อมประสาน (adhesive) เป็นต้น

ไซแลนเป็นองค์ประกอบหลักของเฮมิเซลลูโลสซึ่งพบมากในผนังเซลล์พืช มีหน่วยย่อยเป็นน้ำตาลไซโลสที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ  $\beta$ -1,4-linkage และมีกิ่งก้านเป็นน้ำตาลและอนุพันธ์ของน้ำตาลชนิดต่างๆ เช่น น้ำตาลอะราบิโนส และกรดกลูคูโรนิก เป็นต้น (Sunna and Antranikian, 1997) ดังแสดงในภาพที่ 6 ไซแลนเป็นเฮทเทอโรพอลิแซคคาไรด์ที่พบในผนังเซลล์พืช มีโครงสร้างหลักเป็นน้ำตาลไซโลส และมีไซกิ่งเป็น acetyl group, arabinosyl group หรือ methylglucuronic acid โดยที่ไซแลนในไม้เนื้อแข็งมีโครงสร้างเป็น O-acetyl-4-O-methylgluronoxylan ส่วนในไม้เนื้ออ่อนมีโครงสร้างเป็น arabino-4-O-methylgluronoxylan ขณะที่ไซแลนในพืชตระกูลหญ้าหรือธัญพืชมีโครงสร้างที่ซับซ้อน แต่มีขนาดสั้นกว่าไซแลนในพืชจำพวกไม้เนื้อแข็งและไม้เนื้ออ่อน โดยมีโครงสร้างเป็น O-acetyl-arabino-4-O-methylgluronoxylan (Heck *et al.*, 2002)



ภาพที่ 6 องค์ประกอบของไซแลน

ที่มา: Sunna and Antranikian (1997)

## 1.2 คุณสมบัติของไม้ยางพารา

ไม้ยางพารามีเนื้อไม้สีขาวอมเหลืองเมื่อสดและเปลี่ยนเป็นสีขาวจางเมื่อแห้งลักษณะเนื้อไม้จะหยابปานกลางเสี้ยนตรงวงรอบปีไม่เห็นชัดไม่มีแก่นเนื้อไม้มีลักษณะคล้ายกับตาข่ายและมีความหนาแน่นประมาณ 0.56-0.65 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตรและสำหรับที่ความชื้น 15% จะมีความหนาแน่นประมาณ 0.67-0.74 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตรไม้ยางพาราเป็นไม้ที่มีลวดลายสวยงามลวดลายอันสวยงามนี้เกิดจากอัตราการเจริญเติบโตที่แตกต่างกันในระหว่างฤดูกาลต่างๆหน้าไม้แปรรูปที่เลื่อยตัดกับเส้นรัศมีมีลวดลายที่ปรากฏชัดกว่าหน้าไม้ที่เลื่อยขนานกับเส้นรัศมี ไม้ยางพารามีความแข็งแรงและจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับไม้สักคือมีน้ำหนักปานกลางโดยมีความหนาแน่นเฉลี่ยประมาณ 0.64 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตรแต่ไม้ยางพารามีความแข็งแรงในการรับแรงดัดและแรงกดขนานเสี้ยนต่ำกว่าไม้สักเล็กน้อยโดยมีการรับแรงดิ่งในแนวรัศมีและสัมผัสและการรับแรงกระแทกดีกว่าไม้สักอันเป็นคุณสมบัติสำคัญที่เหมาะสมในการทำเครื่องเรือนเช่นเดียวกับไม้สักนอกจากนั้นไม้ยางพารายังมีอัตราการพองตัวต่อความชื้นสัมพัทธ์อันมีลักษณะค่อยเป็นค่อยไปซึ่งเป็นลักษณะของความชื้นสมดุลที่ดีกว่าไม้สักและไม้อื่นๆและเป็นคุณสมบัติสำคัญต่อการผลิตเครื่องเรือนอันมีผลต่อการออกแบบผลิตภัณฑ์การเข้าไม้และการประสานกาวที่ดีกว่าไม้ประเภทอื่นแม้ว่าไม้ยางพาราต้องใช้เวลาในการอบให้แห้งนานกว่า (วรรณม อุ๋นจิตติชัย, 2541)

## 1.3 อุตสาหกรรมยางพาราของประเทศไทย

ยางพาราเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญต่อเศรษฐกิจไทยตั้งแต่ปี พ.ศ. 2534 เป็นต้นมาประเทศไทยเป็นผู้ผลิตยางพาราอันดับหนึ่งของโลก ในขณะเดียวกันยางพาราเป็นพืชเศรษฐกิจสำคัญและสร้างรายได้จากการส่งออกเป็นจำนวนมากและมีการขยายตัวอย่างรวดเร็ว ปัจจุบันการส่งออกยางพาราทำรายได้ให้ประเทศปีละไม่น้อยกว่า 2 แสนล้านบาทยางพารายังมีความสำคัญต่อสังคมและสิ่งแวดล้อมคือ ลดการเคลื่อนย้ายแรงงาน ครอบครัวมีความมั่นคงในอาชีพ เป็นพืชที่ปลูกแทนพื้นที่ป่า

(13 ล้านไร่) และทำให้เกิดอุตสาหกรรมต่อเนื่องจำนวนมาก เช่น อุตสาหกรรมไม้ยางพาราและ อุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์ยางพาราผลการสำรวจในปี พ.ศ. 2550 พบว่าพื้นที่ปลูกยางของไทยทั้งหมด 13 ล้านไร่ มีเนื้อที่กรี๊ดได้ 10.6 ล้านไร่ โดยพื้นที่ปลูกส่วนใหญ่อยู่ในภาคใต้คิดเป็น 84 % ภาค ตะวันออก 11 % ภาคอีสาน 5 % และภาคเหนือ 1 % มีผลผลิตน้ำยางเฉลี่ย 290 กก./ไร่/ปี ผลผลิต ยางพาราไทยปี พ.ศ. 2549 มีทั้งสิ้น 3.14 ล้านตัน ส่งออก 2.77 ล้านตัน (88 %) ใช้ในประเทศ 320,885 ตัน (10 %) ในจำนวนนี้เป็นยางแท่ง 1.19 ล้านตัน (38 %) ยางแผ่นรมควัน 1.04 ล้านตัน (33 %) และน้ำยาง 0.72 ล้านตัน (23 %) และอื่นๆ 0.19 ล้านตัน (6 %) อุตสาหกรรมยางพารายังมี แนวโน้มเติบโตขึ้นอีก ทั้งนี้เนื่องจากความต้องการของตลาดโลกเพื่อรองรับอุตสาหกรรมยานยนต์และ ชิ้นส่วนรถยนต์ โดยคาดว่าในปีพ.ศ. 2563 จะผลิตยางธรรมชาติได้ 12.4 ล้านตันขณะที่ความต้องการ ของตลาดโลกในขณะนั้นจะเป็น 13.8 ล้านตันซึ่งอาจเกิดภาวะขาดตลาดได้ ประเทศที่มีความ ต้องการใช้อย่างมากที่สุด คือ จีนและอินเดีย (หลักชัย กิตติพล, 2550)

#### 1.4 การใช้ประโยชน์จากอุตสาหกรรมไม้ยางพารา

1.4.1 ไม้ยางพารามีบทบาทสำคัญมากขึ้นเนื่องจากเฟอร์นิเจอร์และเครื่องเรือนที่ทำจากไม้ ยางพาราได้รับความนิยมจากผู้บริโภคทั้งในประเทศและต่างประเทศไม้ยางพารายังสามารถใช้ทดแทนไม้ ธรรมชาติอื่น ๆ ได้ดีและมีตลาดขยายวงกว้างจนมีผู้กล่าวว่าไม้ยางพาราเป็นไม้สักขาว (White Teak) การ ปลูกสวนยางพารานอกจากจะได้น้ำยางที่ได้คุณค่าทางเศรษฐกิจแล้วยังช่วยทำให้ระบบนิเวศน์ดีขึ้น และอนุรักษ์สิ่งแวดล้อมนอกจากนั้นไม้ยางพาราที่ได้จากการโค่นเพื่อปลูกแทนยังสามารถนำไปแปรรูป เป็นผลิตภัณฑ์ไม้หยาบชนิดซึ่งเป็นการเพิ่มแหล่งวัตถุดิบไม้ซึ่งช่วยลดการทำลายป่าและเพิ่มรายได้ให้ เกษตรกรระหว่างปีพ.ศ. 2542-2546 มีอัตราการโค่นยางปลูกแทนปีละประมาณ 200,000 ไร่ คิดเป็น ปริมาตรไม้ยางปีละไม่ต่ำกว่า 7 ล้านลูกบาศก์เมตร การส่งออกเฟอร์นิเจอร์และชิ้นส่วนไม้ยางพาราทำ รายได้ให้ประเทศประมาณ 30,000 ล้านบาทในปีพ.ศ. 2546 ไม้ยางพาราสามารถนำไปใช้ประโยชน์ ได้หลายรูปแบบตามความเหมาะสมของขนาดไม้ดังนี้

- เครื่องเรือนหรือเฟอร์นิเจอร์เป็นส่วนที่นำมาใช้ประโยชน์ที่มีมูลค่าสูงสุดในปัจจุบัน ไม้ที่จะ นำมาผลิตเครื่องเรือนได้ต้องมีขนาดใหญ่เส้นผ่าศูนย์กลางตั้งแต่ 6 นิ้วขึ้นไปและต้องไม่มีตำหนิ ประเภทเครื่องเรือนที่ผลิตมีหลายชนิดเช่นชุดโต๊ะอาหารชุดรับแขกเตียงนอนชั้นวางหนังสือชั้นวาง เครื่องเสียงบาร์เหล้าที่ใส่กระถางต้นไม้ประดับในสำนักงาน

อุตสาหกรรมไม้ยางพาราเกี่ยวข้องกับโรงงานดังต่อไปนี้ โรงงานแปรรูปไม้ โรงงาน เฟอร์นิเจอร์ โรงงานเครื่องเรือน โรงงานของเด็กเล่น โรงงานปาร์เก้ต โรงงานไม้ประสาน โรงงาน แผ่นขึ้นไม้อัด และผลิตซีลีย่อยคิดเป็น 1,294,831, 524,423, 129,244, 43,390, 1,179, 13,601,

104,657 และ 4,450 ลบ.ม./ปี ตามลำดับ รวมผลิตซีลี้อยต่อปีเท่ากับ 2,115,775 ลบ.ม. (วรรณ อุ่นจิตติชัย, 2541; จันทวรรณ คงเจริญ, 2543)

**1.4.2 วัสดุเศษเหลือ**หมายถึงวัสดุที่สามารถเปลี่ยนเป็นพลังงานได้โดยรวมถึงวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรต่างๆเช่นเศษไม้ ซีลี้อย ฟางข้าวแกลบกากอ้อยทะลายปาล์มเศษไม้มูลสัตว์ของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปผลิตผลทางการเกษตรและของเสียจากชุมชนในที่นี้จะกล่าวเฉพาะวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรเท่านั้นโดยเฉพาะซีลี้อยและเศษไม้ยางพารา จากรายงานของสถาบันวิจัยยางพาราพบว่าในแต่ละปีจะมีต้นยางพาราที่มีอายุเกิน 25 ปีซึ่งครบรอบที่จะต้องทำการตัดฟันคิดเป็นพื้นที่ยางพาราที่ถูกตัดฟัน 500,000 ไร่ต่อปีจะได้ปริมาณของไม้ยางพารา 200 ล้านตันซึ่งไม้ยางพาราที่ถูกตัดจะนำไปเข้ากระบวนการแปรรูปไม้เพื่อผลิตเฟอร์นิเจอร์ดังนั้นจะมีชีวมวลที่ได้ภายหลังกระบวนการผลิตคิดเป็นเศษไม้ 3.6 ล้านตันและซีลี้อย 8 ล้านตันต่อปี

- ฟืนในอดีตไม้ยางพารานำไปใช้ประโยชน์ในการทำฟืนสำหรับหุงต้มและฟืนสำหรับใช้ในโรงงานต่างๆเช่นโรงรมยางโรงงานปลาป่นโรงเผาอิฐโรงเผากระเบื้องและปูนขาว

- ถ่านเมื่อประมาณปี พ.ศ. 2513 ประเทศมาเลเซียขยายอุตสาหกรรมถลุงเหล็กในประเทศทำให้ถ่านไม้ยางพาราในประเทศไม่เพียงพอต้องสั่งซื้อถ่านจากประเทศเพื่อนบ้านเป็นเหตุให้อุตสาหกรรมการทำถ่านไม้ยางพาราเกิดขึ้นในประเทศไทยเป็นครั้งแรกและขยายตัวเรื่อยมาต่อมามีการนำไม้ยางพาราไปใช้ประโยชน์อย่างอื่นที่มีมูลค่าสูงกว่าเกิดขึ้นอุตสาหกรรมถ่านจึงซบเซาลง

- เสาค้ำมีการใช้ไม้ยางพาราทำเสาค้ำในอุตสาหกรรมก่อสร้างอยู่บ้างโดยเฉพาะในกรุงเทพมหานครและจังหวัดใกล้เคียงแต่ก็ไม่แพร่หลายเท่าใดนักเนื่องจากข้อจำกัดในความทนทานตามธรรมชาติต่ำ

- ลังไม้เป็นที่ยอมรับกันในธุรกิจแพปลาว่าลังไม้ยางพาราเป็นภาชนะบรรจุที่มีราคาถูกที่สุดในปัจจุบันสำหรับไม้ที่นำมาใช้ทำลังปลาเป็นไม้ที่มีตาเป็นดำหนิไม่สามารถนำไปผลิตเครื่องเรือนที่มีมูลค่าสูงกว่าได้

- ไม้อัดผลิตจากไม้ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8 นิ้วขึ้นไป

- ไม้แผ่นปาร์ติเกิ้ลและไม้แผ่นเอ็มดีเอฟหรือแผ่นใยไม้อัดความหนาแน่นปานกลางสามารถผลิตจากซีลี้อยและปีกไม้

- สิ่งประดิษฐ์อื่นๆไม้ยางพาราสามารถนำไปใช้ทำสิ่งประดิษฐ์หลายอย่างเช่นไม้จิ้มฟันไม้เสียบไอศกรีมเกี๊ยวเส้นรองเท้าครอบรูปตามแปลงต่างๆเชิงของเด็กเล่นปัจจุบันได้มีการนำไม้ยางพาราไปใช้ในการแกะสลักของที่ระลึก

- วัสดุเพาะเห็ด ซีลี้อยไม้ยางพารานิยมใช้เป็นวัสดุเพาะเห็ดเนื่องจากหาง่าย มีราคาถูก (30-50 สตางค์/กก.) และผลการวิจัยพบว่าซีลี้อยไม้ยางพาราอุดมด้วยอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดและก้อนเชื้อสามารถอยู่ทนสามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้หลายครั้ง เห็ดที่นิยมเพาะโดยใช้ซีลี้อย

ยางพาราได้แก่ เห็ดหูหนูนางฟ้า นางรมฮังการี หลินจือ เป้าฮื้อ ยานางิ และเห็ดหอม ทั้งนี้ไม่พบการรายงานว่าเห็ดที่เพาะจากเชื้อเลี้ยงมีสารพิษสะสมอยู่ เนื่องจากเชื้อเลี้ยงที่ใช้เพาะเห็ดได้จากชั้นตอนแปรรูปไม้ที่ยังไม่ผ่านการทรีตเมนต์ด้วยบอแรก์เพื่อป้องกันมอดหรือเคลือบด้วยแลคเกอร์ หรือสารเคลือบผิวไม้อื่นๆ ซึ่งเชื้อเลี้ยงที่ใช้ในการทดลองนี้ได้มาจากการแปรรูปไม้ในชั้นตอนแรกของอุตสาหกรรมเฟอเนเจอร์ที่มีความปลอดภัย ไม่มีสารเคมีปนเปื้อน

## 2. โปรไบโอติก

### 2.1 ชนิดของโปรไบโอติกและการผลิต

Gibson และ Roberfroid (1995) ได้ให้คำจำกัดความของโปรไบโอติกไว้ว่า “เป็นสารอาหารที่ไม่สามารถย่อยได้ในระบบทางเดินอาหารแต่เป็นประโยชน์ต่อมนุษย์หรือสัตว์โดยไปกระตุ้นการเจริญและหรือกิจกรรมของจุลินทรีย์บางกลุ่มหรือไปยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์บางกลุ่มในลำไส้ใหญ่ ซึ่งมีผลทำให้สุขภาพของมนุษย์หรือสัตว์นั้นๆ มีสุขภาพดี” จากคำจำกัดความข้างต้นโปรไบโอติกจะต้องทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ในกระเพาะอาหารไม่ถูกดูดซึมในลำไส้เล็กและผ่านลงไปในลำไส้ใหญ่ นอกจากนี้ยังส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในลำไส้ใหญ่ เช่น บิฟิโดแบคทีเรีย (bifidobacteria) และแลคโตบาซิลลัส (lactobacilli) (Roberfroid, 2001) ส่วน Parker (1974) ได้ให้ความหมายของคำว่า โปรไบโอติก (probiotic) ไว้ว่า “จุลินทรีย์หรือสารที่ช่วยในเรื่องความสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้” ต่อมา Fuller (1989) ได้ให้ความหมายใหม่ของโปรไบโอติกว่า “อาหารเสริมกลุ่มจุลินทรีย์มีชีวิตที่มีประโยชน์ต่อสัตว์โดยไปส่งเสริมความสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้” ส่วนคำว่า “ซินไบโอติก (synbiotic)” Gibson และ Roberfroid (1995) ได้ให้ความหมายไว้ว่า “คือส่วนผสมระหว่างโปรไบโอติกและโปรไบโอติกที่ไปส่งเสริมการอยู่รอดและเป็นอาหารของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์และสัตว์” โอลิโกแซคคาไรด์เป็นน้ำตาลที่ประกอบด้วยน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว 2 ถึง 10 หน่วย ในทางการค้าสามารถผลิตได้โดยการย่อยสารพอลิแซคคาไรด์ หรือเกิดจากน้ำตาลโมเลกุลต่ำกว่าโดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ คุณสมบัติของโอลิโกแซคคาไรด์ที่ได้นี้สามารถทดสอบได้ในห้องปฏิบัติการ (*in vitro*) เช่น การเลี้ยงแบบกะ และการเลี้ยงแบบต่อเนื่อง 3 ชั้นตอน และในมนุษย์หรือสัตว์ (*in vivo*) เช่น สัตว์ทดลอง (หนู หมู สุนัข) และการทดลองในมนุษย์ (Human clinical trials) (Rastall, 2000) โปรไบโอติกทางการค้าที่ใช้สำหรับมนุษย์ทุกชนิดจัดอยู่ในกลุ่มโอลิโกแซคคาไรด์ ยกเว้นอินนูลินที่จัดอยู่ในกลุ่มพอลิแซคคาไรด์ โปรไบโอติกทางการค้าในปัจจุบันประกอบด้วย อินนูลิน, ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์, กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์, แลคโตซูโครส, ไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์, ซอยบินโอลิโกแซคคาไรด์ และไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ (Gibson and Rastall, 2006)

โอลิโกแซคคาไรด์ที่มีคุณสมบัติเป็นสารโปรไบโอติก สามารถผลิตได้หลายวิธี ดังนี้คือ

### 2.1.1 การสกัดจากแหล่งธรรมชาติ

การสกัดจากวัตถุดิบที่มีอยู่ในธรรมชาติเป็นวิธีที่ง่ายที่สุดในการผลิตสารพรีไบโอติก ปัจจุบัน การผลิตสารพรีไบโอติกทางการค้าโดยวิธีการสกัดจากแหล่งธรรมชาติ เช่น อินนูลิน (inulin) สกัดจาก หัวชิกอริ (chicory root) หรือหัวแก่นตะวัน (artichoke) (De Leenheer, 1994) ราฟฟิโนส (raffinose) และ สตาไคโอต (stachyose) สกัดจากถั่วเหลือง (Kogaet *al.*, 1993)

อินนูลินประกอบด้วยน้ำตาลฟรุกโตสต่อกันด้วยพันธะเบต้าระหว่างคาร์บอนตำแหน่งที่ 2 และ 1 ( $\beta 2 \leftrightarrow 1$  linked fructan) จนได้เป็นสายโซ่ยาว พบในพืชบางชนิด แหล่งวัตถุดิบทางการค้า ในยุโรปคือหัวชิกอริ และอาร์ทิโชคหรือแก่นตะวัน โดยโรงงานที่ใหญ่ที่สุดอยู่ในประเทศเบลเยียมคือ บริษัทโอราฟตี (Orafti) กระบวนการที่ใช้ในการสกัดหัวชิกอริเป็นกระบวนการเดียวกันกับที่ใช้สกัด น้ำตาลจากอ้อย (sugar beet) (De Leenheer, 1994) หัวชิกอริถูกสกัดด้วยน้ำร้อนและกากขายเป็น อาหารสัตว์ โปรตีนแขวนลอยและฟอสเฟตถูกกำจัดออกโดยการแช่ในด่าง (liming) และสารประกอบ คาร์บอเนต (carbonatation) ในช่วงพีเอชเป็นด่าง การทำให้อินนูลินบริสุทธิ์ทำได้โดยใช้เทคนิค โครมาโตกราฟีชนิดแลกเปลี่ยนประจุ (anion and cation exchange chromatography) และทำการกำจัดสีโดยใช้ผงถ่านกัมมันต์ (activated carbon) ผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ได้ผ่านการฆ่าเชื้อ ทำให้ เข้มข้นในรูปน้ำเชื่อมหรือทำเป็นผงแห้ง

ซอเยปีนโอลิโกแซคคาไรด์ (soybean oligosaccharides, SOS) ได้จากการสกัดจากถั่ว เหลือง โดย SOS ถูกแยกออกจากซอเยปีนเวย์ (soybean whey) และทำให้เข้มข้นเป็น 75 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ประกอบด้วยโอลิโกแซคคาไรด์ 35 เปอร์เซ็นต์ (Crittenden and Playne, 1996) ในทางการค้า SOS สกัดได้จากซอเยปีนเวย์ ทำให้บริสุทธิ์โดยการกรองอนุภาค ระดับนาโน (nanofiltration, NF) และทำให้เข้มข้นโดยวิธีรีเวอร์สออสโมซิส (reverse osmosis) ได้ โอลิโกแซคคาไรด์ที่มีความเข้มข้นเป็น 10-22 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) (Matsubara *et al.*, 1996)

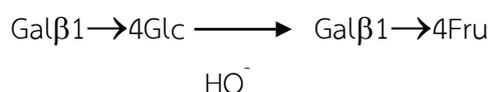
Kim และคณะ (2003) รายงานว่าสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัด SOS จากกากถั่วเหลืองที่ สกัดไขมันออกแล้ว (defatted soybean meal, DSM) พบว่าสัดส่วนในการสกัดของน้ำต่อ DSM คือ 5 ต่อ 1 ที่อุณหภูมิ 50 เซลเซียส โดยมีการกวนในขบวนการสกัดและไม่จำเป็นต้องบด DSM ก่อน ส่วนสารละลายที่ใช้ในการสกัดคือ 10 เปอร์เซ็นต์ เอทานอลในน้ำ มีการใช้อัลตราฟิลเตรชันในการทำ ให้ SOS บริสุทธิ์ พบว่าโปรตีนมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ถูกกำจัดจากสารสกัดที่ระดับอัตราส่วนความ เข้มข้นต่อปริมาตร (volume concentration ratio, VCR) เท่ากับ 3 ถึง 5 ในสารสกัดที่ VCR เท่ากับ 5 มีฟรุกโตส (fructose) ซูโครส (sucrose) ราฟฟิโนส (raffinose) และสตาไคโอต (stachyose) เท่ากับ 38.6, 51.4, 54.2 และ 52.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งที่ VCR เท่ากับ 5 โปรตีน

ถูกกำจัดออกได้มากที่สุด ในประเทศญี่ปุ่นซอຍปีนโอลิโกแซคคาไรด์ ผลิตโดยบริษัท Calpis Food Industry Co, Ltd

### 2.1.2 การใช้วิธีทางเคมี

โอลิโกแซคคาไรด์สามารถสังเคราะห์โดยวิธีทางเคมี (Garegg, 1990) แต่กระบวนการสังเคราะห์ค่อนข้างซับซ้อน เนื่องจากจำเป็นต้องมีหลายขั้นตอนนอกจากนี้ขบวนการผลิตจำเป็นต้องใช้แรงงานจำนวนมากและผลิตภัณฑ์ที่ได้มักมีกลิ่นและสีที่ไม่ต้องการและจำเป็นต้องมีขั้นตอนในการกำจัดออก นอกจากนี้ยังพบว่าขั้นตอนในการสังเคราะห์จะเพิ่มขึ้นตามขนาดโมเลกุลของโอลิโกแซคคาไรด์ที่เพิ่มขึ้น เช่น การสังเคราะห์น้ำตาลเชิงคู่ (disaccharide) ต้องใช้ 5 ถึง 7 ขั้นตอน และการสังเคราะห์น้ำตาลเชิงซ้อนสามโมเลกุล (trisaccharide) ต้องมากกว่า 10 ขั้นตอน นอกจากนี้ยังพบว่าให้ผลผลิตที่ต่ำและไม่สามารถผลิตในปริมาณมากหรือในระดับการค้าได้ ยิ่งไปกว่านั้นผลิตภัณฑ์ที่ได้มักมีคุณภาพต่ำ (Bucke, 1996; Wonget al., 1995)

แลกทูโลส (lactulose) เป็นพรีไบโอติกทางการค้าชนิดเดียวที่ผลิตโดยใช้วิธีการสังเคราะห์ทางเคมี (Timmermans, 1994) แลกทูโลสผลิตโดยใช้ปฏิกิริยาการเกิดไอโซเมอร์ในสถานะต่างของหน่วยกลูโคสที่มีอยู่ในน้ำตาลแลกโตสเพื่อให้เกิดเป็นน้ำตาลฟรุกโตส เรียกปฏิกิริยานี้ว่า Lobry de Bruyn-Alberda van Ekenstein ดังแสดงข้างล่าง



ในปฏิกิริยาอาจใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ หรือ บอเรต ซึ่งเป็นต่างในการเร่งปฏิกิริยา (Battermann, 1997) บริษัท Morinaga Industry ของประเทศญี่ปุ่นเป็นบริษัทที่ใหญ่ที่สุดที่ผลิตแลกทูโลส ขณะที่ในยุโรปบริษัท Solvay เป็นบริษัทผู้ผลิตที่สำคัญแลกทูโลสถูกนำไปใช้เป็นเภสัชภัณฑ์สำหรับช่วยในการขับถ่ายอุจจาระกรณีท้องผูก

### 2.1.3 การใช้วิธีทางเอนไซม์

การผลิตโอลิโกแซคคาไรด์โดยส่วนใหญ่มักใช้เอนไซม์ในการสังเคราะห์ทั้งในกระบวนการย่อยสลายพอลิแซคคาไรด์ หรือการสังเคราะห์โอลิโกแซคคาไรด์จากน้ำตาลโมเลกุลต่ำ

#### 2.1.3.1 การย่อยพอลิแซคคาไรด์

การย่อยพอลิแซคคาไรด์ซึ่งมีอยู่ในวัตถุดิบที่ได้จากธรรมชาติ มีศักยภาพสูงในการผลิตโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีคุณสมบัติเป็นสารพรีไบโอติก โดยการควบคุมให้มีการย่อยเพียงบางส่วนเพื่อให้ได้โอลิโกแซคคาไรด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลตามต้องการ ปัจจุบันมีสารพรีไบโอติกเพียง 2 ชนิดเท่านั้นที่ผลิตทางการค้าด้วยวิธีนี้ คือ ฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์หรือบางครั้งเรียกว่าโอลิโกฟรุกโตส (Oligofructose)

ที่ได้จากการย่อยอินนูลิน (De Leenheer, 1994) และไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ที่ได้จากการย่อยไซแลน (Playne and Crittenden, 1996)

ฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์หรือโอลิโกฟรุกโทสจากหัวชิกอริ โดยการย่อยสลายอินนูลินบางส่วนด้วยเอนไซม์อินนูลิเนส (Inulinase) ที่ได้จากเชื้อรา (De Leenheer, 1994) องค์ประกอบของฟรุกโต-โอลิโกแซคคาไรด์ที่ได้จากการย่อยอินนูลิน ที่มีค่าระดับการเกิดพอลิเมอร์ (degree of polymerization, DP) เท่ากับ 1, 2, 3, 4 และมากกว่าหรือเท่ากับ 5 ในสัดส่วน 7, 9, 45, 14 และ 25 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ บริษัท Orafit เป็นบริษัทที่ใหญ่ที่สุดในยุโรปที่ผลิตฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ได้จากการย่อยอินนูลิน

ไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ซึ่งผลิตโดยการย่อยไซแลนจากง้าวโพดด้วยวิธีทางเอนไซม์ (Koga *et al.*, 1993) และแหล่งวัตถุดิบอื่นๆ เช่น ไซแลนจากกากข้าวโอ๊ต (Oat spelt xylan) (Jaskari *et al.*, 1998) หรืออะราบินโนไซแลนจากข้าวสาลี (wheat arabinoxylan) โดยที่ไซแลนถูกย่อยได้น้ำตาลเชิงคู่ไซโลไบโอส (xylobiose) และโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีน้ำตาลมากกว่า 2 หน่วยในปริมาณเล็กน้อย นอกจากนี้ไซโลไบโอสถูกทำให้บริสุทธิ์เพิ่มขึ้นโดยใช้เทคนิคการกรองด้วยแผ่นกรอง (membrane) เพื่อกำจัดน้ำตาลไซโลสและองค์ประกอบอื่นที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง

มอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ (maltooligosaccharides) เป็นโอลิโกแซคคาไรด์ที่ไม่มีคุณสมบัติเป็นสารพรีไบโอติกแต่ถูกนำมาใช้เป็นสารเติมแต่งในอาหาร ผลิตได้จากการย่อยอะมัยโลสในแป้งชนิดละลายน้ำโดยอาศัยเอนไซม์อะมัยเลสที่สามารถสร้างน้ำตาลเชิงซ้อน 6 โมเลกุล (maltohexaose) เอนไซม์อะมัยเลสชนิดนี้ได้จากเชื้อ *Bacillus clausii* BT-21 (Duedahl-Olesen *et al.*, 2000; Wichienchot *et al.*, 2009)

โอลิโกแซคคาไรด์ที่ได้จากการย่อยเพียงบางส่วนของเด็กแตรน (dextran) (Mountzouris, 1999; Wichienchot *et al.*, 2009) และเพกติน (pectin) (Olano-Martin *et al.*, 2001) การผลิตโอลิโกแซคคาไรด์เหล่านี้ทำได้โดยการควบคุมการย่อยด้วยเอนไซม์เอนโดไกลแคนเนส (endoglycanases) ในถังปฏิกรณ์ที่ใช้แผ่นกรองร่วมกับเอนไซม์ (enzyme membrane reactors, EMR) เด็กแตรนถูกย่อยเป็นโอลิโกเด็กแตรน (oligodextran) ที่มีขนาดโมเลกุลต่างๆ โดยมีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยอยู่ในช่วงน้ำตาลเชิงซ้อน 3 หน่วย ไปจนถึง 12 กิโลดาลตัน ซึ่งได้ผ่านการพิสูจน์ว่าเป็นสารพรีไบโอติกเมื่อทดสอบในแบบจำลองลำไส้มนุษย์ (gut model systems) พบว่าการหมักโดยจุลินทรีย์ในอุจจาระมนุษย์ให้ค่าดัชนีความเป็นพรีไบโอติก (prebiotic index, PI) สูงสุดในถังหมักที่ 3 ซึ่งเป็นตัวแทนของลำไส้ใหญ่ส่วนปลายหรือ distal colon (Olano-Martin *et al.*, 2000; Wichienchot *et al.*, 2006)

### 2.1.3.2 การสังเคราะห์ด้วยเอนไซม์

การผลิตโอลิโกแซคคาไรด์โดยวิธีการสังเคราะห์ด้วยเอนไซม์เป็นวิธีที่นิยมมากที่สุดโดยเฉพาะการผลิตในระดับอุตสาหกรรมการใช้เอนไซม์ในการสังเคราะห์คาร์โบไฮเดรตที่มีโครงสร้างซับซ้อนนับว่ามีประโยชน์มากกว่าวิธีสังเคราะห์ทางเคมีเนื่องจากความหลากหลายของปฏิกิริยาทำให้สามารถทำปฏิกิริยาโดยไม่จำเป็นต้องป้องกันหมู่ไฮดรอกซีและทำได้ในสภาวะที่ไม่รุนแรง โดยปกติแล้วปฏิกิริยาสามารถเกิดได้ที่อุณหภูมิห้องและพีเอชเป็นกลาง อีกทั้งไม่จำเป็นต้องใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ สารเคมีหรือสารเร่งปฏิกิริยาที่เป็นอันตราย (Rastall and Bucke, 1992) เอนไซม์ที่ใช้ในการผลิตโอลิโกแซคคาไรด์ที่สำคัญมี 2 กลุ่มคือ เอนไซม์กลุ่มที่ใช้ย่อยสาร เช่น ไกลโคซิเดส (glycosidases E.C. 3.2) และเอนไซม์กลุ่มที่ถ่ายโอนหมู่ของสาร เช่น ไกลโคซิลทรานสเฟอเรส (glycosyltransferases E.C. 2.4) ส่วนใหญ่แล้วเอนไซม์เหล่านี้ได้มาจากพืชและจุลินทรีย์

#### 2.1.3.2.1 การสังเคราะห์ด้วยเอนไซม์ไกลโคซิลทรานสเฟอเรส

แม้ว่าการแยกเอนไซม์ไกลโคซิลทรานสเฟอเรสจะทำได้ยาก แต่ก็เคยประสบความสำเร็จในการทำบริสุทธิ์และถูกใช้ในการสังเคราะห์โอลิโกแซคคาไรด์ในระดับห้องปฏิบัติการ เอนไซม์ไกลโคซิลทรานสเฟอเรสสามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มที่ต้องการน้ำตาลนิวคลีโอไทด์ (sugar nucleotide) เป็นตัวให้ (donors) และกลุ่มที่ใช้น้ำตาลต่างๆ ไปเป็นตัวให้ เช่น น้ำตาลซูโครสถูกใช้เป็นตัวให้สำหรับปฏิกิริยาที่ใช้เอนไซม์กลุ่มไกลโคซิลทรานสเฟอเรส เช่น กาแลคโตซิลทรานสเฟอเรส (galactosyltransferases) ไซอะลิวทรานสเฟอเรส (sialyltransferases) ฟิวโคซิลทรานสเฟอเรส (fucosyltransferases) และ แมนโนซิลทรานสเฟอเรส (mannosyltransferases) เอนไซม์เหล่านี้ถูกนำไปใช้ในการผลิต โอลิโกแซคคาไรด์ (Rastall and Bucke, 1992) เอนไซม์ไกลโคซิลทรานสเฟอเรส มีความจำเพาะต่อน้ำตาลตัวรับ (acceptor) สูง และให้ผลผลิตสูงด้วย (Wong *et al.*, 1995) เอนไซม์ไกลโคซิลทรานสเฟอเรสยังเหมาะสำหรับการสังเคราะห์โอลิโกแซคคาไรด์ที่มีระดับการเกิดพอลิเมอร์สูงๆ อย่างไรก็ตามปัญหาในการใช้เอนไซม์นี้ก็คือปริมาณของเอนไซม์ และยิ่งไปกว่านั้นน้ำตาลนิวคลีโอไทด์ยังมีราคาแพง (Ichikawa *et al.*, 1992)

พรีไบโอติกบางชนิด เช่น IMO, TOS หรือ GOS, FOS และ lactosucrose ซึ่งผลิตโดยอาศัยปฏิกิริยาทางเอนไซม์ (Nakakuki, 1993) ในปฏิกิริยาใช้น้ำตาลราคาถูกเป็นทั้งตัวให้และตัวรับ ปฏิกิริยาที่ง่ายที่สุดคือการผลิต FOS และ lactosucrose ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ผลิตทางการค้าโดยบริษัท Meiji Seika ในประเทศญี่ปุ่น และในยุโรปผลิตโดยความร่วมมือระหว่างบริษัท Meiji Seika และ Eridania Belghin Say (Beghin-Meiji Industries) เอนไซม์ที่ใช้คือ ฟรุคโตซิลทรานสเฟอเรส จากเชื้อ *Aureobasidium pullulans* หรือ *Aspergillus niger* การผลิตฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากสารละลายน้ำตาลซูโครส 60 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ที่อุณหภูมิ 50 ถึง 60 องศาเซลเซียสในถังปฏิกรณ์ที่มีการตรึงเซลล์จุลินทรีย์ข้างต้น (Kono, 1993; Yun, 1996) ฟรุคโตโอลิโก-

แซคคาไรด์ที่ได้จากการใช้น้ำตาลซูโครสเป็นสารตั้งต้น พบว่ามีปลายสุดของสายโมเลกุลเป็นน้ำตาลกลูโคสที่ไม่มีคุณสมบัติเป็นสารรีดิวซ์ ผลิตภัณฑ์ที่ได้สามารถทำให้บริสุทธิ์มากขึ้นด้วยการกำจัดกลูโคสและซูโครสโดยเทคนิคโครมาโตกราฟีชนิดแลกเปลี่ยนประจุ (Kono, 1993)

TOS หรือ GOS ผลิตจากกาแลคโตสโดยการทำงานของเอนไซม์เบต้า-กาแลคโตซิเดส ( $\beta$ -galactosidase) (Crittenden, 1999) โดยที่หน่วยของกาแลคโตสย้ายจากกาแลคโตสโมเลกุลหนึ่งไปยังอีกโมเลกุลของกาแลคโตส ดังนั้นกาแลคโตสจึงเป็นทำหน้าที่เป็นตัวรับ (acceptor) ในการสร้างโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีขนาดใหญ่กว่าเมื่อใช้สารละลายกาแลคโตสเข้มข้นได้ผลิตภัณฑ์โอลิโกแซคคาไรด์ที่มีจำนวนหน่วยโมโนเมอร์อยู่ในช่วงระหว่าง 2 ถึง 6 ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดเอนไซม์ที่ใช้ ผลิตภัณฑ์ที่ได้เป็นสารผสมที่มีโครงสร้างซับซ้อน (complex mixtures) ประกอบด้วยพันธะ  $\beta 1 \rightarrow 3$  and  $\beta 1 \rightarrow 6$  บริษัทที่ผลิต TOS ในระดับการค้า ได้แก่ บริษัท Yakult Honsha และ บริษัท Snow Brand ในประเทศญี่ปุ่น และบริษัท Borculo Domo Ingredients ในยุโรป

กาแลคโตซูโครสถูกผลิตขึ้นโดยใช้กรรมวิธีคล้ายๆ กับการผลิต TOS โดยที่น้ำตาลฟรุกโตสถูกเคลื่อนย้ายจากน้ำตาลซูโครสไปยังตำแหน่งที่ 1 ของกลูโคสซึ่งอยู่ในน้ำตาลกาแลคโตส กาแลคโตซูโครสผลิตทางการค้าโดยบริษัท Hayashibara Shoji Inc และบริษัท Eusaiko Sugar refining Co ในประเทศญี่ปุ่น

มอลโตโอลิโกแซคคาไรด์สามารถผลิตได้โดยใช้วิธีที่คล้ายๆ กัน โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ไซโคลมอลโตเตกทริน ไกลโคซิลทรานสเฟอเรส (cyclomaltodextrin glycosyltransferases, CGTases) ซึ่งได้จากเชื้อ *Thermoanaerobacter sp.* และมีการใช้แป้งชนิดละลายน้ำเป็นตัวให้ (donor) ได้ผลผลิตผลิตภัณฑ์มีค่าเป็น 63 ถึง 79 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 48 ชั่วโมง ขนาดมอนอเมอร์ของน้ำตาลที่มาต่อกันของมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ขึ้นอยู่กับสัดส่วนของแป้งต่อกลูโคส โดยที่สัดส่วนเท่ากับ 1 ต่อ 2 (โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก) เหมาะต่อการผลิตมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีขนาดกลูโคสต่อกัน 2 ถึง 3 หน่วย (Olano-Martin *et al.*, 2001)

#### 2.1.3.2.2 การสังเคราะห์ด้วยเอนไซม์ไกลโคซิเดส (Glycosidases)

โดยปกติเอนไซม์ไกลโคซิเดสทำหน้าที่ย่อยสารพอลิเมอร์ชีวภาพ ดังนั้นจึงเป็นการลดขนาดของโมเลกุลเพื่อให้มีขนาดเล็กลงอยู่ในช่วงโอลิโกแซคคาไรด์ แต่เอนไซม์ไกลโคซิเดสยังมีความสามารถในการย้ายหมู่ได้อีกด้วย ทำให้เอนไซม์กลุ่มนี้สามารถสังเคราะห์พันธะระหว่างน้ำตาลแต่ละหน่วย โดยที่น้ำตาลที่ถูกทำให้เกิดพันธะระหว่างกันไม่จำเป็นต้องผ่านขั้นตอนใดๆ มาก่อน (Bucke *et al.*, 1999) เอนไซม์ไกลโคซิเดสจัดเป็นเอนไซม์ที่มีกิจกรรมต่อหน่วยน้ำตาลซึ่งต่อกันจากด้านนอกเข้าสู่ด้านในของสายโซ่ (exoglycosidases) ซึ่งมีกิจกรรมต่อพันธะระหว่างหน่วยน้ำตาล ที่ปลายด้าน non-reducing end หรือ เอนโดไกลโคซิเดส (endoglycosidases) ที่มีกิจกรรมต่อหน่วยน้ำตาลซึ่งต่อกันภายในสายโซ่ (Ichikawa *et al.*, 1992) เอนไซม์ไกลโคซิเดสโดยทั่วไปแล้วไม่จำเพาะต่อน้ำตาล

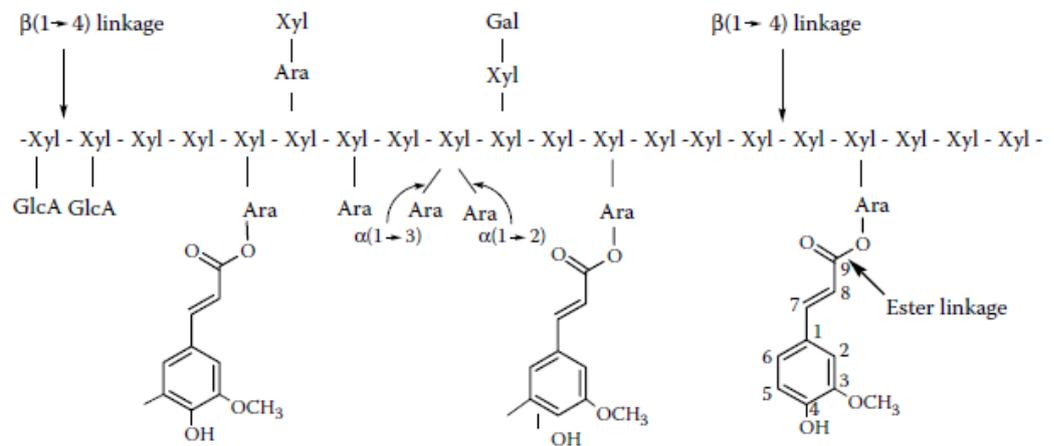
ตัวรับ ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีทั้ง hetero-oligosaccharides และ homo-oligosaccharide (Prapula *et al.*, 2000) หากต้องการเพิ่มสัดส่วนของ hetero-oligosaccharides ต่อ homo-oligosaccharides ทำได้โดยการเพิ่มเปอร์เซ็นต์ของน้ำตาลตัวรับในปฏิกิริยา แต่ผลผลิตโดยรวมของ โอลิโกแซคคาไรด์จะลดลง (Rastall and Bucke, 1992) นอกจากนี้ยังพบว่าอาจได้พันธะที่แตกต่าง กันเมื่อใช้เอนไซม์ที่มาจากแหล่งต่างกัน (Suwasono and Rastall, 1998) โดยทั่วไปเอนไซม์ไกลโค-ซิเดสถูกนำมาใช้เพื่อสังเคราะห์โอลิโกแซคคาไรด์สายสั้น ในขณะที่เอนไซม์ไกลโคซิลทรานสเฟอเรส เหมาะสมสำหรับเพื่อใช้สังเคราะห์โอลิโกแซคคาไรด์สายยาวกว่า (Rastall and Bucke, 1992)

นอกจากนี้ยังมีรายงานการใช้เอนไซม์กาแลคโตซิเดส (galactosidases) (Ajisaka *et al.*, 1988; Ajisaka and Fujimoto, 1989; Ajisaka *et al.*, 1994; Yoon and Ajisaka, 1996) เอนไซม์ กลูโคซิเดส (glucosidases) (Anindyawati *et al.*, 1995) เอนไซม์เอ็น-อะซิติลเฮกซอะมินิเดส (N-acetylhexosaminidases) (Singh *et al.*, 1995) และเอนไซม์แมนโนซิเดส (mannosidases) (Johansson *et al.*, 1989; Rastall and Bucke, 1992) เพื่อสังเคราะห์โอลิโกแซคคาไรด์

การผลิตมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ชนิดสายโซ่ตรง ให้ได้ผลผลิตสูงโดยใช้เอนไซม์  $\alpha$ -amylases จากเชื้อ *Penicillium expansum* และ *Aspergillus oryzae* ในการย่อยแป้ง โดยทั้งสองเอนไซม์เกิดปฏิกิริยาทรานสไกลโคซิเดชัน ขณะที่ความเข้มข้นของมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ได้ แปรผันตรงกับปริมาณของแป้งที่ถูกย่อย เอนไซม์  $\alpha$ -amylases จากเชื้อ *P. expansum* ทำให้ได้ มอลโตไตรออต (maltotriose) ในขณะที่เอนไซม์อัลฟาอะมัยเลสจากเชื้อ *A. oryzae* มีคุณสมบัติทำ ให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีขนาดโมเลกุลมากกว่า (Doyle *et al.*, 1999)

#### 2.1.4 การสกัด แยกและทำบริสุทธิ์อะราบินโนไซแลนและการผลิตไซโลโอลิโกแซคคาไรด์

อะราบินโนไซแลน (arabinoxylans) โครงสร้างประกอบด้วยสายโซ่หลักคือ (1→4)- $\beta$ -D-xylopyranosyl และมีสายโซ่ข้างคือ  $\alpha$ -L-arabinofuranosyl (ภาพที่ 7) มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดวัตถุดิบ วิธีการสกัดและวิธีวิเคราะห์ เช่น อะราบินโนไซแลนจากข้าวสาลีเมื่อวิเคราะห์ ด้วยเครื่อง High Performance Size Exclusion Chromatography (HPSEC) พบว่ามีน้ำหนัก โมเลกุลอยู่ในช่วง 200-700 กิโลดาลตัน (Dervilly-Pinel *et al.*, 2004) แหล่งของพอลิแซคคาไรด์ ชนิดที่ไม่ใช่แป้ง (nonstarch polysaccharides) พบทั่วไปเป็นองค์ประกอบในผนังเซลล์ของพืช ได้แก่ เนื้อไม้และธัญพืช เป็นส่วนประกอบร่วมกับเซลลูโลสเพื่อให้ความแข็งแรงของผนังเซลล์พืช อะราบินโนไซแลนประกอบด้วยน้ำตาลเพนโตสต่อกัน (pentosan) ถูกค้นพบในแป้งสาลีเป็นครั้งแรก โดย Hoffman and Gortner (1927) เป็นสิ่งสำคัญที่มีผลต่อคุณสมบัติของแป้งธัญพืช อะราบินโน-ไซแลนยังมีประโยชน์ในทางโภชนาการทั้งชนิดที่ละลายน้ำและชนิดไม่ละลายน้ำ และอาจยังมี คุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระเนื่องจากภายในโมเลกุลยังประกอบด้วยสารประกอบพอลิฟีนอล (Izydorczyk and Biliaderis, 2007)



ภาพที่ 7 โครงสร้างทางเคมีของอะราบินโนไซแลน

ที่มา: Dervilly-Pinel *et al.* (2004)

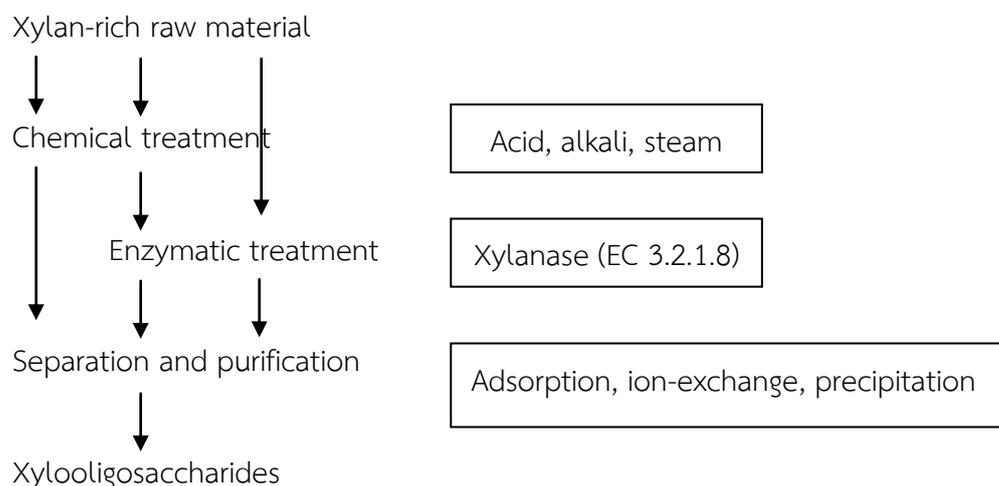
วัสดุเศษเหลือหรือผลพลอยได้ทางการเกษตรที่มีอะราบินโนไซแลน ได้แก่ ข้าวบาเล่หึ่งเมล็ด รำข้าวสาลี ข้าวไรน์หึ่งเมล็ด เปลือกข้าวโอ๊ต แกลบ ลูกเดือยหึ่งเมล็ด รำข้าวโพด และเปลือกถั่วเหลือง มีปริมาณคิดเป็น 6.1, 19.38, 7.6, 8.79, 9.0, 1.8, 29.86 และ 13.10% ตามลำดับ (Hashimoto *et al.*, 1987) ไม้ที่ใช้สกัดไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ทางการค้าคือ birch wood และ larch wood ซึ่งเป็น ไม้เนื้อแข็งและไม้เนื้ออ่อนตามลำดับ มีโครงสร้างของไม้เนื้อแข็งและเนื้ออ่อนมีองค์ประกอบคล้ายคลึงกันยกเว้น pentosan ในไม้เนื้อแข็งสูงกว่าไม้เนื้ออ่อนประมาณ 2 เท่าขณะที่องค์ประกอบอื่นใกล้เคียงกัน ในเนื้อไม้ birch มีไซแลนชนิด glucuronoxylan ประมาณ 23% ขณะที่ไม้เนื้ออ่อน เช่น larch wood เป็นไซแลนชนิด arabinogalactan มีประมาณ 10% องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อไม้ birch ประกอบด้วย holocellulose,  $\alpha$ -cellulose, pentosan, klason, lignin และ ash เป็น 78.0, 45.0, 23.0, 18.0, 17.0 และ 0.3% ตามลำดับ (Rowell *et al.*, 2005) การสกัดอะราบินโนไซแลนจากเนื้อเยื่อพืชที่นิยมทั่วไป คือ การสกัดด้วยน้ำหรือสารละลายต่างทำให้ได้อะราบินโนไซแลนที่อยู่ในผนังเซลล์พืชละลายปนอยู่ในของเหลวที่สกัด แต่อะราบินโนไซแลนส่วนที่ยึดเกาะอยู่กับองค์ประกอบที่เป็นผนังเซลล์พืชไม่สามารถละลายออกมาได้ อะราบินโนไซแลนชนิดที่ละลายน้ำได้ถูกนำมาย่อยให้มีขนาดโมเลกุลเล็กลงได้ตามต้องการโดยการใช้เอนไซม์กลุ่ม endogenous enzyme เช่น endoxylanase ทำให้ได้สารผลิตภัณฑ์ในกลุ่มไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ซึ่งมีขนาดโมเลกุลในช่วง 3-10 หน่วยน้ำตาลไซโลส นอกจากนี้ยังย่อยสารสกัดที่ได้ด้วยเอนไซม์กลุ่ม protease และ lipase เพื่อกำจัดโปรตีนและไขมันตามลำดับ กรณีวัตถุดิบเริ่มต้นมีปริมาณสารกลุ่มดังกล่าวสูง ขั้นตอนการสกัดอะราบินโนไซแลนจากแป้งข้าวสาลี ประกอบด้วย การผสมแป้งสาลีกับน้ำ เหยี่ยงแยกอะราบินโนไซแลนชนิดละลายน้ำออกจากชนิดไม่ละลายน้ำ ส่วนที่ละลายน้ำนำไปให้ความร้อน ส่วนที่ไม่ละลายน้ำนำไป

ย่อยด้วยเอนไซม์ Alcalase และ Thermamyl ผลผลิตอะราบิโนไซแลนชนิดละลายน้ำและไม่ละลายน้ำคิดเป็นร้อยละ 0.2-0.4 และ 0.5-0.7 ตามลำดับ (Faurot *et al.*, 1995) มีรายงานวิจัยการสกัดและทำบริสุทธิ์อะราบิโนไซแลนจากวัสดุเศษเหลือทางการเกษตร เช่น เนื้อไม้ รำ ชานอ้อย ชังข้าวโพด และเปลือกกล้วย ซึ่งวัสดุเศษเหลือเหล่านี้มีองค์ประกอบหลักที่ไม่ใช่เซลลูโลสทำให้สัดส่วนขององค์ประกอบหลักคือ อะราบิโนไซแลน Bataillon และคณะ (1998) ได้รวมขั้นตอนการกำจัดลิกนินด้วย 37% โซเดียมคลอไรด์และการย่อยด้วยต่าง (43% NaOH) เข้าด้วยกันเพื่อสกัดแยกอะราบิโนไซแลนจากรำข้าวสาลีที่ผ่านการกำจัดแป้ง นำมาทำให้บริสุทธิ์ด้วยการกรองระดับไมโครและทำให้เป็นผงแห้งด้วยการพ่นฝอยลมร้อน อะราบิโนไซแลนที่ได้มีผลผลิตและความบริสุทธิ์เป็นร้อยละ 13 และ 75 ตามลำดับ อย่างไรก็ตามพบว่า การสกัดแยกด้วยการใช้ตัวทำละลายอาจให้ได้ผลผลิตน้อย

การผลิตไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ อาจทำได้ 2 วิธี คือ การย่อยโดยตรงด้วยกรด/ด่าง หรือ เอนไซม์ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับวัตถุดิบเริ่มต้นว่าไซแลนที่เป็นองค์ประกอบยึดเกาะกับองค์ประกอบอื่นแข็งแรงมากน้อยเพียงใด วัตถุดิบที่ไซแลนเกาะแบบหลวมๆ สามารถใช้เอนไซม์ย่อยได้โดยตรง แต่หากเป็นวัตถุดิบที่ไซแลนเกาะแน่นอาจต้องใช้ในการย่อยด้วยกรด/ด่าง วิธีที่สองในการผลิตไซโลโอลิโกแซคคาไรด์คือการย่อยจากไซแลนที่สกัดออกมาแล้ว (Koga and Fujikawa, 1993) กรณีวัตถุดิบเป็นวัสดุเศษเหลือจากไม้ซึ่งไซแลนยึดเกาะแน่นกับองค์ประกอบอื่นจำเป็นต้องมีขั้นตอนการ pretreatment เช่น การแช่ให้พอง การย่อยด้วยกรด/ด่างและหรือการนึ่งที่อุณหภูมิสูงภายใต้ความดัน หลังจากนั้นจึงนำมาผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ เป็นต้น การเปลี่ยนอะราบิโนไซแลนให้มีขนาดโมเลกุลเล็กลงเพื่อให้ได้ไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ ที่นิยมคือการย่อยบางส่วน (partially hydrolysis) ด้วยเอนไซม์ชนิดต่างๆ เช่น  $\beta$ -glucanase, arabinofuranosidases, endoxylanase และ ferulic acid esterases เนื่องจากการย่อยด้วยเอนไซม์สามารถควบคุมระดับการย่อยได้ง่าย ผลิตภัณฑ์สุดท้ายเหมาะกับการนำไปใช้ในลักษณะอาหารซึ่งต่างจากการย่อยด้วยกรดหรือด่าง เอนไซม์ทางการค้าที่ใช้อาจมีกิจกรรมของเอนไซม์หลายชนิดรวมกัน เช่น Novozyme 188 ประกอบด้วยเอนไซม์ผสม mannanase, xylanase,  $\beta$ -mannosidase,  $\beta$ -xylosidase,  $\beta$ -arabinosidase และ  $\beta$ -galactosidase เป็นต้น กลไกการย่อยของเอนไซม์แต่ละชนิดข้างต้น ดังแสดงในภาพที่ 8 (Wyman *et al.*, 2005) ไซโลโอลิโกแซคคาไรด์มีรายงานยืนยันคุณสมบัติพรีไบโอติกในแง่การต้านการย่อยโดยเฉพาะในสภาวะกรด จึงนิยมเติมเครื่องดื่มน้ำที่เป็นกรด เช่น น้ำผลไม้ น้ำอัดลม นอกจากนี้ยังส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียกลุ่ม Bifidobacteria ซึ่งเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ที่อาศัยอยู่ในลำไส้ อีกทั้งมีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคลำไส้ Clostridium และ *Vibrio anguillarum* (Van Den Broek and Voragen, 2008)



รวมอยู่ด้วย จึงต้องนำมาแยกให้บริสุทธิ์โดยใช้วิธีการต่างๆ คือ การดูดซับ การแลกเปลี่ยนประจุ การตกตะกอน และการสกัด ซึ่งจะได้ไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ที่บริสุทธิ์สูงขึ้น



ภาพที่ 9 กลไกการผลิตไซโลโอลิโกแซคคาไรด์จากวัตถุดิบที่มีไซแลนในทางการค้า  
ที่มา: Van Laere *et al.* (2000)

## 2.2 คุณสมบัติของพรีไบโอติก

สารที่เป็นพรีไบโอติกต้องมีคุณสมบัติที่สำคัญ คือ สามารถเคลื่อนที่ผ่านไปจนถึงลำไส้ใหญ่โดยไม่ถูกย่อย และไม่ถูกดูดซึมในระบบทางเดินอาหารส่วนบน และไม่มีการเปลี่ยนแปลงระหว่างการเคลื่อนที่ไปยังลำไส้ใหญ่ สามารถใช้เป็นสารตั้งต้นในการหมักของแบคทีเรียประจำถิ่นที่มีประโยชน์ในลำไส้ใหญ่หรือโพรไบโอติก (Probiotic) ได้และต้องไม่ส่งเสริมการเจริญเติบโตต่อจุลินทรีย์ที่ก่อโรค (Gibson, 2004) นอกจากนี้พรีไบโอติกที่นำมาใช้เป็นส่วนประกอบในอาหารจะต้องทนต่อสภาวะในการแปรรูป เช่น ความร้อน ค่าพีเอช รวมถึงไม่เกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด ซึ่งเป็นลักษณะที่ไม่ต้องการในผลิตภัณฑ์บางชนิด (Wang, 2009) ปัจจุบันพรีไบโอติกมีความสำคัญอย่างมากในอุตสาหกรรมอาหาร ชนิดที่ได้มีการนำมาใช้กันอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น ฟรุคโตโอ-ลิโกแซคคาไรด์ กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ และไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ เป็นต้น (Van Den Broek and Voragen, 2008) สารเหล่านี้เมื่อถูกหมักโดยแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่จะถูกเปลี่ยนให้เป็นกรดไขมันสายสั้น (short chain fatty acid: SCFAs) (Manning and Gibson, 2004)

### 3. ประโยชน์ของพรีไบโอติกต่อสุขภาพ

พรีไบโอติกมีผลโดยตรงต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรค (pathogen inhibition) และควบคุมการทำงานที่เกี่ยวข้องกับภูมิคุ้มกันของร่างกาย (immune modulation) สำหรับผลทางอ้อม เกิดจากการส่งเสริมการเจริญหรือเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียประจำถิ่นในร่างกายโดยเฉพาะลำไส้ใหญ่ (microbiota) จากนั้นการเพิ่มจำนวนเชื้อโพรไบโอติกจึงส่งผลต่อลักษณะทางกายภาพในด้านต่างๆ แก่ร่างกาย สารเมตาบอไลต์ (metabolites) หรือกรดไขมันสายสั้น ที่แบคทีเรียในลำไส้ใหญ่สร้างขึ้นจากการหมักพรีไบโอติก เช่น กรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิก และกรดบิวทริก ถือเป็นปัจจัยหลักที่ส่งผลต่อสุขภาพ (Cumming *et al.*, 2001) โดยทำให้ลำไส้มีสภาพเป็นกรด ซึ่งเหมาะต่อการเจริญเติบโตของโพรไบโอติก และเป็นผลให้แบคทีเรียก่อโรคลดจำนวนลง ช่วยเพิ่มการดูดซึมแร่ธาตุในร่างกายต่อต้านมะเร็งและช่วยรักษาระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดให้เป็นปกติเป็นต้น (Gibson and Rastall, 2006) ทั้งนี้พรีไบโอติกได้ถูกนำไปใช้ในการเติมในผลิตภัณฑ์อาหารหลายชนิดเช่น ไอศกรีมโยเกิร์ตผลิตภัณฑ์อาหารหวานได้แก่เยลลี่พุดดิ้งเป็นต้น (Mussatto *et al.*, 2007)

พรีไบโอติกสามารถผลิตกรดไขมันสายสั้นเช่นอะซิติกโพรพิโอนิกแลคติกและบิวทริกและวิตามินบางชนิดเช่นบี 1 บี 2 และกรดโพลีเป็นต้นซึ่งผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักเหล่านี้ส่งผลให้ส่งเสริมสุขภาพของผู้บริโภค โดยกระตุ้นการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในร่างกายและยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคอีกทั้งช่วยในการเพิ่มการดูดซึมแร่ธาตุบางชนิดเช่นแคลเซียมระดับคอเลสเตอรอลและช่วยในการป้องกันการเกิดโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่พรีไบโอติกมีความสำคัญในด้านสุขภาพต่อร่างกายมนุษย์หลายด้าน เช่น บรรเทาอาการท้องผูกเนื่องจากพรีไบโอติกมีการส่งเสริมการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในลำไส้ใหญ่ ทำให้เป็นการเพิ่มมวลเซลล์มากขึ้น ลำไส้จึงมีความจุเพิ่มขึ้น ทำให้ก้อนอุจจาระมีขนาดใหญ่และมีความอ่อนตัว ทำให้เกิดการเคลื่อนไหวของอุจจาระดีขึ้นจึงสามารถลดอาการท้องผูกได้ (Venter, 2007) พรีไบโอติกยังสามารถยับยั้งการก่อมะเร็ง เนื่องจากแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่หลายชนิดสามารถสร้างสารก่อมะเร็งและสารที่ทำให้เกิดเนื้องอกได้ ซึ่งสารพรีไบโอติกสามารถยับยั้งการเกิดมะเร็งด้วยการหมักสารพรีไบโอติก ทำให้โพรไบโอติกสร้างสารเมตาบอไลต์ออกมาป้องกันเซลล์ได้ เช่น บิวทริกช่วยควบคุมกลไกการเกิด apoptosis ใน cell line มะเร็งลำไส้ใหญ่ และพรีไบโอติกยังทำให้เกิดการหมักโปรตีนและไขมันซึ่งทำให้ผลิตภัณฑ์ที่เป็นสารก่อมะเร็งลดลง เนื่องจากมีการหมักของสารคาร์โบไฮเดรตเพิ่มมากขึ้น (Manning and Gibson, 2004) รวมถึงยังมีการรายงานว่าการบริโภคอินูลินช่วยทำให้เม็ดเลือดขาวจับกับเชื้อโรคได้เพิ่มขึ้น (Venter, 2007) การทำงานของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายก็ดีขึ้นด้วย

Wichienchot และคณะ (2010) ทำการศึกษาการทนต่อการย่อยในสภาวะระบบทางเดินอาหารแบบจำลองและคุณสมบัติการส่งเสริมการเจริญของเชื้อในกลุ่มโพรไบโอติกของโอลิโกแซคคาไรด์จากเนื้อแก้วมังกรพบว่าโอลิโกแซคคาไรด์จากสารสกัดเนื้อแก้วมังกรทนต่อการย่อยภายใต้

สภาวะจำลองกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กเท่ากับร้อยละ 4.04 และ 34.88 ตามลำดับ ดังนั้นปริมาณโอลิโกแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยและสามารถผ่านไปถึงลำไส้ได้คือร้อยละ 61.08 และยังพบว่าโอลิโกแซคคาไรด์ที่ผ่านไปถึงลำไส้สามารถส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์ lactobacilli และ bifidobacteria

เกตุชูลี (2555) ศึกษาการทนต่อการย่อยของน้ำตาลอนรีติวซึ่งเป็นตัวแทนของโอลิโกแซคคาไรด์จากเนื้อขนุนในสภาวะระบบทางเดินอาหารแบบจำลองพบว่าน้ำตาลอนรีติวซึ่งจากสารสกัดเนื้อขนุนทนต่อการย่อยได้น้อยกว่าอินนูลินและมีค่าร้อยละของการย่อยภายใต้สภาวะจำลองในปากกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กเท่ากับร้อยละ 0, 10.35 และ 52.18 ตามลำดับดังนั้นปริมาณน้ำตาลอนรีติวซึ่งทนต่อการย่อยและสามารถผ่านไปถึงลำไส้ได้คือร้อยละ 34.47

### ประโยชน์ของพรีไบโอติกในด้านสุขภาพโดยสรุปดังนี้

- **บรรเทาอาการท้องผูก**พรีไบโอติกเป็นใยอาหารมีคุณสมบัติคล้ายกับยาระบายเนื่องจากการส่งเสริมการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทำให้มวลเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์เพิ่มมากขึ้นลำไส้จึงมีความจุเพิ่มขึ้น (Venter, 2007) ทำให้ก้อนอุจจาระมีขนาดใหญ่และมีความอ่อนตัวการเคลื่อนไหวของอุจจาระในลำไส้จึงเกิดได้ดีขึ้นจากการศึกษาภายใต้การควบคุมอย่างดีพบว่าการบริโภคพรีไบโอติก 1 กรัมสามารถเพิ่มมวลให้กับอุจจาระได้ 1.5 ถึง 2.0 กรัม (Gibson *et al.*, 1995 อ้างโดย Venter, 2007) พรีไบโอติกจึงสามารถป้องกันอาการท้องผูกได้

-**เพิ่มการดูดซึมแร่ธาตุ**จากการศึกษาในสัตว์ทดลองพบว่าการบริโภคสารพรีไบโอติกส่งผลให้การดูดซึมแคลเซียมสังกะสีและแมกนีเซียมที่บริเวณลำไส้ใหญ่สูงขึ้นและพบว่าการดูดซึมแคลเซียมในเด็กผู้หญิงที่มีสุขภาพดีอายุระหว่าง 11-13.9 ปีจะเพิ่มขึ้นเมื่อมีการบริโภคสารอินนูลินร่วมกับฟรุคโต-โอลิโกแซคคาไรด์ (Griffin *et al.*, 2002) จากการคาดการณ์ว่ากลไกในการเพิ่มการดูดซึมแคลเซียมเกิดจากการที่สารพรีไบโอติกถูกเปลี่ยนไปเป็นกรดแลคติกและกรดไขมันสายสั้นซึ่งทำให้ค่าพีเอชภายในลำไส้ใหญ่ลดลงแคลเซียมจึงแตกตัวและละลายได้มากขึ้นการดูดซึมจึงดีขึ้นหรืออีกนัยหนึ่งบิวทิเรตที่ถูกสร้างขึ้นไปเหนี่ยวนำให้เซลล์ลำไส้มีการแบ่งเซลล์พื้นที่ในการดูดซึมแคลเซียมจึงเพิ่มขึ้นหรืออาจเกิดจากการกระบวนการหมักสารพรีไบโอติกที่เกิดขึ้นไปกระตุ้นการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับสาร calbindin D9K ซึ่งเป็นโปรตีนที่ทำหน้าขนส่งแคลเซียมเข้าสู่เซลล์ (Cashman, 2003)

-**ยับยั้งสารก่อมะเร็ง**แบคทีเรียภายในลำไส้ใหญ่หลายชนิดสามารถสร้างสารก่อมะเร็งและสารที่ทำให้เกิดเนื้องอก (tumor) ได้โดยอาศัยเมแทบอลิซึมของสารอาหารกลไกการยับยั้งการเกิดมะเร็งโดยสารพรีไบโอติกมีอย่างน้อย 2 กลไกคือการหมักสารพรีไบโอติกทำให้แบคทีเรียพรีไบโอติกสร้างสารเมทาบอลิท์ออกมาป้องกันเซลล์ เช่น บิวทิเรตซึ่งช่วยกระตุ้นการเกิด apoptosis ใน cell lines

มะเร็งลำไส้ใหญ่ ประการที่สองการทำให้การหมักโปรตีนและไขมันซึ่งจะได้ผลิตภัณฑ์ที่เป็นสารก่อมะเร็งลดลงเนื่องจากการหมักของสารคาร์โบไฮเดรตเพิ่มมากขึ้น (Manning and Gibson, 2004)

-**กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน**จากการวิจัยพบว่าการบริโภคอินูลินช่วยให้เม็ดเลือดขาวจับกับเชื้อโรคได้เพิ่มขึ้น (Venter, 2007) นอกจากนี้การทำงานของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายดีขึ้นได้เกิดจากการสัมผัสโดยตรงระหว่างแบคทีเรียแลคติกหรือผลิตภัณฑ์ของแบคทีเรียกับเซลล์ภูมิคุ้มกันของลำไส้ใหญ่และสารพรีไบโอติกสามารถกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันได้โดยทำให้เซลล์เยื่อผิวของลำไส้มีความแข็งแรงและสามารถป้องกันการติดเชื้อที่ลำไส้ได้ดีขึ้น (Schley and Field, 2002)

-**ควบคุมเมแทบอลิซึมของไขมัน**ผลของพรีไบโอติกที่ทำให้ไขมันในเลือดลดต่ำลง (hypolipidaemic) อาจเกิดจากการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของกลูโคสหรืออินซูลินโดยสารพรีไบโอติกสามารถลดระดับความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสในเลือดและเข้าจับกับเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ไขมัน (lipogenic enzyme) โดยผ่านกระบวนการ gene transcription ได้ (Roberfroid, 2000) และพบว่าอัตราส่วนของอะซีเตทต่อโพรพิโอเนตที่สร้างขึ้นถือเป็นตัวบ่งชี้คุณสมบัติของสารพรีไบโอติกในการลดระดับไขมันในเลือด Delzenne และ Williams (2002) กล่าวว่า การหมักของสารพรีไบโอติกส่วนใหญ่จะได้กรดไขมันหลัก 3 ชนิดคืออะซีเตท โพรพิโอเนต และบิวทิริกซึ่งบิวทิริกจะถูกนำไปใช้ในการแบ่งเซลล์ของเซลล์ลำไส้ใหญ่ ส่วนอะซีเตทและโพรพิโอเนตจะถูกส่งไปยังตับผ่านเส้นเลือดดำหากการหมักมีอะซีเตทเกิดขึ้นสูงเช่นการหมักของแลคตูโลส (lactulose) อะซีเตทที่ถูกส่งไปยังตับจะถูกกระตุ้นโดยเอนไซม์ cytosolic acetyl-coenzyme A synthetase 2 แล้วเข้าสู่กระบวนการสังเคราะห์ไขมันและคลอเรสเตอรอลทำให้ร่างกายเกิดภาวะคลอเรสเตอรอลสูง ในขณะที่เดียวกันโพรพิโอเนตที่เกิดขึ้นจะทำหน้าที่ยับยั้งโปรตีนซึ่งเป็นตัวพาอะซีเตทไปยังตับทำให้การสังเคราะห์ไขมันและคลอเรสเตอรอลเกิดขึ้นน้อยลง นอกจากนี้พรีไบโอติกมีสมบัติเป็นใยอาหาร ช่วยในการหล่อลื่นไขมัน ลดการดูดซึมและขับออกมาที่อุจจาระ

#### 4. ทฤษฎีการสกัด

##### 4.1 การสกัดด้วยตัวทำละลาย (Solvent extraction)

การสกัดเป็นกระบวนการแยกที่เกี่ยวข้องกับเฟส 2 เฟสคือเฟสของตัวทำละลายที่เดิมเข้าไปเพื่อให้เกิดอีกเฟสที่แตกต่างจากเฟสเดิมขององค์ประกอบที่ต้องการแยกการแยกจะเกิดขึ้นเมื่อองค์ประกอบที่ต้องการแยกละลายออกมาในตัวทำละลายขณะที่องค์ประกอบอื่นๆที่เหลือยังคงอยู่ในเฟสเริ่มต้นโดยที่เฟส 2 เฟสดังกล่าวอาจเป็นของแข็งกับของเหลว (liquid-solid extraction) หรือของเหลวที่ไม่สามารถผสมกันได้หรือของแข็งกับแก๊สซึ่งในหัวข้อต่อไปจะกล่าวถึงรายละเอียดเกี่ยวกับการสกัดแบบของแข็งของเหลวเท่านั้นในระบบของการสกัดสามารถแบ่งชนิดของการสกัดออกเป็น 4 ระบบได้แก่การสกัดแบบกะเพียงขั้นตอนเดียวการสกัดแบบไหลผ่านชนิดหลายชั้นการสกัดแบบไหล

สวนทางกันและการสกัดแบบไหลสวนทางอย่างต่อเนื่องแต่ในที่นี้จะกล่าวถึงรายละเอียดของการสกัดแบบกะเพียงขั้นตอนนี้

#### 4.2 การสกัดแบบกะเพียงขั้นตอนนี้ (Single-stage batch extraction)

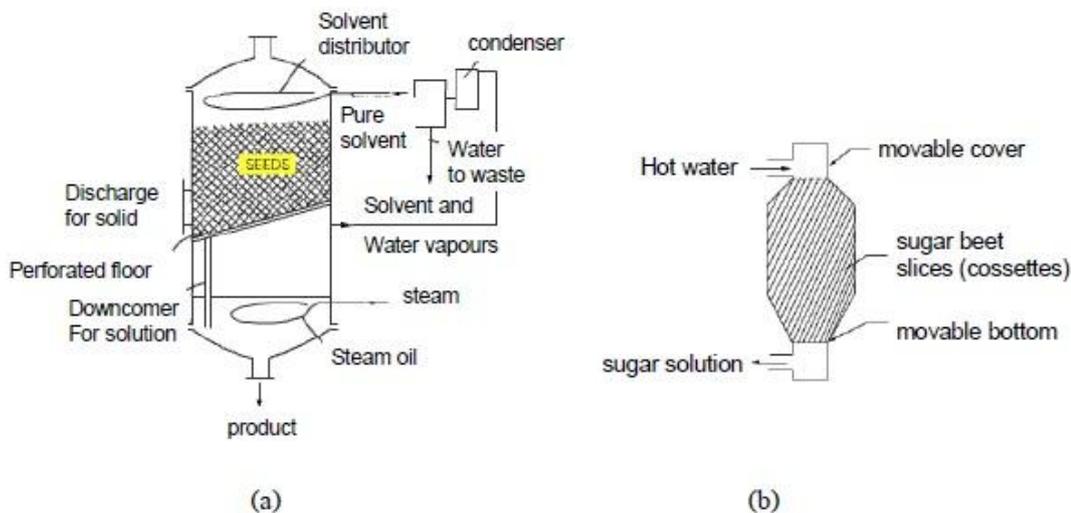
เป็นการสกัดที่อาศัยการสัมผัสกันระหว่างเฟสของของแข็งกับตัวทำละลายที่ไม่มีตัวถูกละลายอยู่จนกระทั่งถึงสมดุลของการสกัดตัวทำละลายจะถูกบีบผ่านชั้นของของแข็งแล้วหมุนเวียนกลับมาใช้ใหม่โดยในชั้นของของแข็งอาจแช่อยู่ในตัวทำละลายที่มีการกวนหรือไม่ก็ได้ (ภาพที่ 10) ซึ่งภายหลังจากสมดุลการสกัดเฟสของตัวทำละลายที่มีตัวถูกละลายอยู่จะถูกระบายออกไปจากของแข็งจากนั้นตัวทำละลายและน้ำก็จะถูกกำจัดออกไปการสกัดลักษณะนี้นิยมใช้ในการสกัดน้ำตาลจากหัวบีทใช้สกัดชาหรือกาแฟเป็นต้น

#### 4.3. หลักการทั่วไปของการสกัด

ในกระบวนการสกัดปรากฏการณ์ทางกายภาพที่เกี่ยวข้องกับการสกัดได้แก่

##### 4.3.1 การแพร่ (Diffusion)

การแพร่หมายถึงการเคลื่อนย้ายโมเลกุลของสารประกอบชนิดหนึ่งผ่านผิวรอยต่อระหว่างเฟส (interface) ในการสกัดของแข็งของเหลวตัวทำละลายจะแพร่ผ่านเข้าไปในของแข็งและละลายตัวถูกละลายออกมาในขณะเดียวกันตัวถูกละลายจะแพร่ออกมาจากของแข็งที่อิ่มตัวด้วยตัวทำละลายไปยังเฟสของตัวทำละลายซึ่งอัตราการแพร่หาได้จากระยะเวลาที่ต้องการสำหรับกระบวนการแพร่เพื่อให้ถึงจุดสมดุลซึ่งเป็นสัดส่วนกลับกับกำลังสองของระยะทางของการแพร่ตั้งนั้นในการสกัดด้วยตัวทำละลายยิ่งอนุภาคมีขนาดเล็กระยะเวลาที่ของแข็งต้องอยู่ในขั้นตอนการสกัดยิ่งสั้น (รุ่งนภาพงศ์สวัสดิ์มานิต, 2541) เนื่องจากพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างของแข็งและของเหลวเพิ่มมากขึ้นอัตราการถ่ายเทขององค์ประกอบที่ละลายได้จึงเพิ่มมากขึ้นด้วยอย่างไรก็ตามสารมีอนุภาคที่เล็กมากเกินไปก็อาจก่อให้เกิดความต้านทานหรือยับยั้งการหมุนเวียนของตัวทำละลายที่จะผ่านชั้นของของแข็งได้เช่นกัน



ภาพที่ 10 ชุดสกัดน้ำมันจากเมล็ดพืช (a), ชุดสกัดน้ำตาลจากบีทรูท (b)

ที่มา: Charm (1978) และ Geankoplis (1993) (อ้างโดยรุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต, 2541)

#### 4.3.2 ความสามารถในการละลาย (Solubility)

ความสามารถในการละลายของสารขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่างได้แก่

**4.3.2.1 อัตราส่วนระหว่างตัวทำละลายต่อของแข็ง** เนื่องจากความเข้มข้นของตัวถูกละลายสูงสุดที่เป็นไปได้ในสารสกัดสุดท้ายที่ออกจากระบบการสกัดคือความเข้มข้นอิ่มตัว ดังนั้นอัตราส่วนของตัวทำละลายต่อของแข็งจึงจำเป็นต้องสูงพอที่จะชะเอาตัวถูกละลายออกมาจากตัวอย่างได้มากที่สุด หรือในกรณีที่ทำการสกัดและมีการหมุนเวียนตัวทำละลายกลับมาใช้อีกครั้งหากความสามารถในการละลายของตัวทำละลายสูงจะช่วยลดจำนวนครั้งของการหมุนเวียนตัวทำละลายที่ต้องใช้เพื่อกำจัดตัวถูกละลายออกไปในระดับที่ต้องการ Xiaoli และคณะ (2008) พบว่าความสามารถในการสกัดโพลีไกลแซคคาไรด์จากเมล็ด chickpea เพิ่มขึ้นเมื่ออัตราส่วนระหว่างตัวอย่างกับตัวทำละลายเพิ่มขึ้นแต่เมื่ออัตราส่วนนั้นเพิ่มขึ้นมากกว่า 1 ต่อ 10 เท่าพบว่าปริมาณสารที่สกัดได้ไม่มีความแตกต่างกัน

**4.3.2.2 ชนิดของตัวทำละลาย** ในการสกัดตัวทำละลายที่ใช้ควรจะมีคุณสมบัติต่ำเพื่อให้เกิดการหมุนเวียนได้ดีซึ่งโดยทั่วไปมักใช้ตัวทำละลายที่ค่อนข้างบริสุทธิ์ในช่วงแรก เนื่องจากขณะที่กระบวนการสกัดมีการดำเนินไปอย่างต่อเนื่องความเข้มข้นของตัวถูกละลายในตัวทำละลายจะค่อยๆ เพิ่มขึ้นและเมื่อเข้าสู่สมดุลการสกัดอัตราการสกัดจะลดลงอย่างรวดเร็ว ทั้งนี้เนื่องจากความแตกต่างของความเข้มข้นลดลงและสารละลายมีความหนืดเพิ่มขึ้น การสกัดน้ำตาลจากพืชมักใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายเนื่องจากโครงสร้างของเอทานอลประกอบด้วยส่วนที่ชอบน้ำ (hydrophilic) คือส่วนที่มีขั้ว (polar) และส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) ซึ่งไม่มีขั้ว (non-polar)

การเจือจางด้วยน้ำจึงเป็นการเพิ่มความเข้มข้นให้กับสารละลายทำให้น้ำตาลโมเลกุลเล็กๆสามารถละลายออกมาได้ในขณะที่คาร์โบไฮเดรตโมเลกุลใหญ่หรือมี DP สูงจะถูกตกตะกอนออกมาเมื่อใช้เอทานอลที่ความเข้มข้นสูงขึ้น (Dobrenz *et al.*, 1993; Oku *et al.*, 1998)

#### 4.4 หลักเกณฑ์ในการคัดเลือกชนิดของตัวทำละลาย

การเลือกชนิดของตัวทำละลายที่เหมาะสมมีหลักการดังนี้คือ

4.4.1. มีเพียงสารที่เราสนใจเท่านั้นที่สามารถละลายออกมาจากตัวอย่างที่นำมาสกัด (selectivity) โดยสามารถสกัดสารออกมาได้ในปริมาณที่มากแต่ใช้ตัวทำละลายในปริมาณน้อย (capacity)

4.4.2. ภายหลังจากการสกัดเฟสของตัวทำละลายและเฟสของสารที่ถูกสกัดจะต้องแยกออกจากกันภายในถังสกัดโดยเฟสของตัวทำละลายจะต้องถูกแยกออกจากเฟสของสารสกัดได้ง่ายโดยสามารถระเหยตัวทำละลายออกได้ง่ายที่ความดันไอ (vapour pressure) ต่ำที่อุณหภูมิที่ทำการสกัดเพื่อป้องกันการสูญเสียของตัวทำละลาย

4.4.3. ตัวทำละลายควรมีความหนืด (viscosity) ต่ำซึ่งจะทำให้ความดันต่ำลงมีการถ่ายโอนมวลและการถ่ายโอนความร้อนที่ดีรวมถึงมีความคงทน (stability) ต่อปฏิกิริยาเคมีและความร้อนได้ดีการจัดการเรียงลำดับความเข้มข้นของตัวทำละลายจากน้อยไปหามากจะได้ดังนี้ ไซโคลเฮกเซน < คาร์บอนเตตระคลอไรด์ < เบนซีน < อีเทอร์ < คลอโรฟอร์ม < อะซีโตน < เอทิลอะซีเทต < เอทานอล < เมทานอล < น้ำ < กรดและเบส ตามลำดับ อย่างไรก็ตามโดยทั่วไปสารละลาย แอลกอฮอล์เช่นเอทานอลหรือเมทานอลถือเป็นตัวทำละลายที่นิยมนำมาใช้ในการสกัดเนื่องจากเป็นตัวทำละลายที่มีวัตถุประสงค์อย่างกว้างๆและสามารถละลายสารได้ในช่วงกว้าง

Wichienchot และคณะ (2010) ทำการศึกษาการสกัดสารฟรีไบโอติกจากเนื้อแก้วมังกรด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 80 พบว่าการสกัดที่ใช้สารละลายเอทานอลเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์ที่อุณหภูมิห้องให้ปริมาณโพลิไกลูคอสสูงสุดคือร้อยละ 27.40 ของน้ำหนักเปียกและมีน้ำหนักโมเลกุลของสารสกัดที่ได้คือ 275-275, 448-500 และ 787-911 ดาลตัน

Wichienchot และคณะ (2011) ทำการศึกษาแหล่งฟรีไบโอติกจากพืชไทยโดยคัดเลือกจากพืชที่เจริญเติบโตและมีการบริโภคในภาคใต้ของประเทศไทยจากพืชทั้งหมด 13 ชนิดเปรียบเทียบโดยใช้ปริมาณสารฟรีไบโอติกและใยอาหารที่ละลายได้ในน้ำ พบว่าเนื้อขนุนพันธุ์ทองประเสริฐที่สกัดด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 สามารถสกัดสารได้ปริมาณสูงสุดโดยอัตราส่วนที่เหมาะสมของตัวอย่างต่อตัวทำละลายคือ 1:2 ขนาดตัวอย่างที่เหมาะสมคือ 0.5×0.5×0.5 ลูกบาศก์เซนติเมตรอุณหภูมิในการสกัดที่เหมาะสมคืออุณหภูมิห้องโดยสารสกัดที่ได้คิดเป็นร้อยละ 15.70 ของน้ำหนักเปียกปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของสารเท่ากับ 731.11 มิลลิกรัมต่อกรัมซึ่งประกอบด้วยน้ำตาลฟรุคโตสน้ำตาลกลูโคส

และน้ำตาลซูโครสเท่ากับ 270.25, 193.50 และ 267.36 มิลลิกรัมต่อกรัมตามลำดับและมีปริมาณ โอลิโกแซคคาไรด์ที่ไม่สามารถย่อยได้ต่อปริมาณพอลิแซคคาไรด์ในตัวอย่างเท่ากับ 500.86 มิลลิกรัมต่อกรัม

## 5. เทคโนโลยีเมมเบรนและการทำบริสุทธิ์โอลิโกแซคคาไรด์

กระบวนการการกรองโดยใช้เมมเบรนถูกนำมาประยุกต์ใช้งานอย่างแพร่หลาย เช่น การบำบัดน้ำเสีย การแยกเกลือออกจากน้ำทะเล การกำจัดแบคทีเรียในน้ำดื่ม การผลิตน้ำผลไม้เข้มข้น และการทำน้ำผลไม้ให้ใส เป็นต้น ข้อดีของการกรองด้วยเมมเบรนคือ ใช้พลังงานน้อย สามารถแยกสารละลายโดยไม่ต้องใช้สารเคมีช่วย ไม่มีปฏิกิริยาเคมีมาเกี่ยวข้อง กำจัดสิ่งปนเปื้อนได้หมด

หลักการของกระบวนการเมมเบรนคือ สารละลายที่ประกอบด้วยสารโมเลกุลเล็กจะผ่านเมมเบรนโดยอาศัยแรงขับเคลื่อนเนื่องจากผลต่างความดันระหว่างเมมเบรน สารละลายที่มีตัวถูกละลายที่มีโมเลกุลใหญ่จะถูกเมมเบรนกักไว้ เรียกว่า รีเทนเทต (retentate) หรือสารละลายเข้มข้น (concentrate) ส่วนสารละลายที่ประกอบด้วยสารโมเลกุลขนาดเล็กที่ไหลผ่านเมมเบรน เรียกว่า เพอเมอเทต (permeate) ซึ่งส่วนที่นำไปใช้ประโยชน์เป็นรีเทนเทต หรือเพอเมอเทต หรือทั้งสองส่วน ความเข้มข้นของตัวถูกละลายที่ผิวเมมเบรนทางด้านสารป้อนสูงกว่าด้านเพอเมอเทตทำให้เกิดความแตกต่างของความดันออสโมติกระหว่างผิวหน้าเมมเบรนทั้งสองด้าน การกรองโดยใช้เมมเบรนมีหลายระดับ ได้แก่ ระดับไมโครฟิลเตรชัน (microfiltration) อัลตราฟิลเตรชัน (ultrafiltration) และออสโมซิสผันกลับ (reverse osmosis)

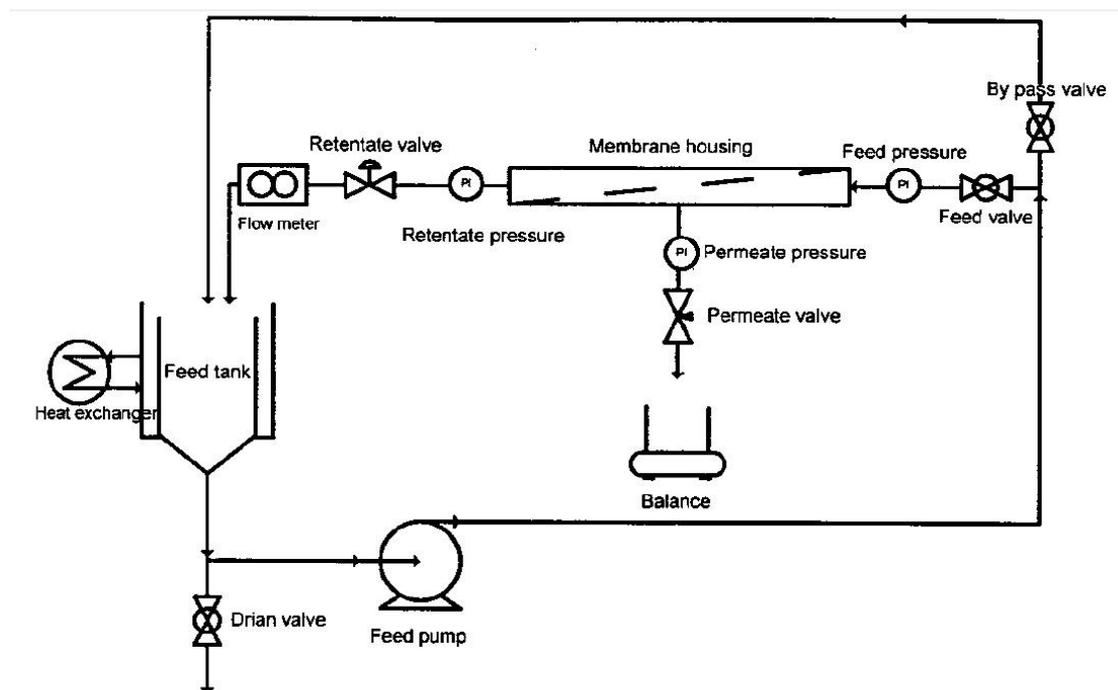
### 5.1 อัลตราฟิลเตรชัน (ultrafiltration: UF)

เป็นกระบวนการแยกสารโมเลกุลใหญ่ เช่น โปรตีน เอนไซม์ และแบคทีเรียออกจากน้ำและสารโมเลกุลเล็กอื่นๆ ความดันที่ใช้ป้อนให้แก่สารละลายผ่านเมมเบรนในช่วง 2-10 ไมโครเมตร ขนาดรูพรุน 10-500 อังสตรอม หรือเทียบเป็น molecular weight cut-off (MWCO) 500-300,000 ดาลตัน ค่า MWCO เป็นค่าที่แสดงถึงความสามารถในการแยกสารละลายของอัลตราฟิลเตรชันเมมเบรน โดยสามารถกักกันสารละลายที่มีน้ำหนักโมเลกุลตามที่กำหนดได้อย่างต่ำร้อยละ 90 (Cheryan *et al.*, 1998)

อัลตราฟิลเตรชันเหมาะสมกับการใช้ในอุตสาหกรรมหลายชนิดเช่นอุตสาหกรรมอาหาร เทคโนโลยีชีวภาพการกำจัดของเสียการแพทย์และเภสัชกรรมโดยทั่วไปเป็นกระบวนการที่ใช้แยกน้ำ และตัวถูกละลายโมเลกุลเล็กออกจากสารโมเลกุลใหญ่และสารแขวนลอยทั้งนี้เพื่อเพิ่มความเข้มข้น (concentration) หรือเพื่อแยกองค์ประกอบ (fractionation) อัลตราฟิลเตรชันเมมเบรนใช้หลักการ

คัตขนาดตัวทำละลายจะไหลผ่านรูพรุนของเมมเบรนเนื่องจากความแตกต่างของความดันระหว่างสารป้อนกับเพอมีเอทขณะเดียวกันตัวถูกละลายที่เล็กกว่ารูพรุนจะไหลไปทางด้านเพอมีเอท (ภาพที่ 11)

มีการนำอัลตราฟิลเตรชันเมมเบรนไปประยุกต์ใช้ในรูปแบบต่างๆ เช่นการทำน้ำผลไม้ใสในโรงงานผลิตน้ำผลไม้ เช่น ซึ่งดำเนินการได้ง่ายกว่าให้ผลผลิตสูงและมีความใสกว่าวิธีปกติที่มีหลายขั้นตอนได้แก่การแยกเพคตินการแยกเหวี่ยงและการกรอง ในบางโรงงานนิยมใช้อัลตราฟิลเตรชันในการบำบัดน้ำทิ้งและการผลิตน้ำสะอาดเช่นน้ำทิ้งที่มีน้ำมันที่ละลายน้ำได้ (น้ำมันอิมัลชัน) จากอุตสาหกรรมที่มีการตัดโลหะขึ้นส่วนรถยนต์น้ำทิ้งจากอุตสาหกรรมกระดาษและเยื่อกระดาษ มีการใช้อัลตราฟิลเตรชันในอุตสาหกรรมเทคโนโลยีชีวภาพ เพื่อแยกหรือเพิ่มความเข้มข้นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักเช่นการแยกสารปฏิชีวนะจากน้ำหมักการแยกและเพิ่มความเข้มข้นเอนไซม์ซึ่งใช้อัลตราฟิลเตรชันร่วมกับไมโครฟิลเตรชัน (microfiltration) โดยใช้ไมโครฟิลเตรชันแยกกากเซลล์ออกจากเอนไซม์แล้วเพิ่มความเข้มข้นสารละลายเอนไซม์ด้วยอัลตราฟิลเตรชัน



ภาพที่ 11 ส่วนประกอบและระบบกรองระดับอัลตรา  
ที่มา: วิโรจน์ ยูรวงศ์ และพรชัย ศรีไพบูลย์ (2548)

### ข้อดีของเมมเบรน

กระบวนการเมมเบรนมีข้อได้เปรียบกระบวนการอื่นๆ ดังนี้

- เป็นการแยกตามขนาดของโมเลกุลหรืออนุภาค ทำให้สามารถดำเนินการที่อุณหภูมิต่ำจึงเหมาะสมสำหรับแยกสารที่อาจจะเสื่อมสภาพเพราะความร้อนได้ เช่น แยกโปรตีนจากนม เป็นต้น
- ใช้พลังงานในการแยกค่อนข้างต่ำ เพราะสามารถแยกได้โดยไม่เปลี่ยนเฟส เช่น กระบวนการทำน้ำผลไม้เข้มข้น มีข้อได้เปรียบด้านพลังงานกว่าการต้มระเหย
- ไม่ก่อให้เกิดของเหลือทิ้ง เพราะกระบวนการเมมเบรนทำให้สามารถแยกผลิตภัณฑ์ที่ต้องการได้ สามารถใช้ประโยชน์ได้ทั้งเพอมีเอท และรีเทนเทท เช่น ในการบำบัดน้ำทิ้งบางชนิดที่ได้น้ำสะอาดกลับไปใช้ในกระบวนการและได้ผลิตภัณฑ์เข้มข้นซึ่งใช้ประโยชน์ต่อไปได้
- สามารถขยายขนาดจากระดับต้นแบบให้เป็นระดับอุตสาหกรรมได้ง่าย เนื่องจากเมมเบรนมีลักษณะเป็นชุด (modular) หรือหน่วย สามารถนำหน่วยย่อยๆ มาต่อกันเพื่อเพิ่มพื้นที่ในการแยกสารที่ต้องการได้
- สามารถดำเนินการแบบกะ (batch) หรือแบบต่อเนื่อง (continuous) และสามารถติดตั้งระบบควบคุมการทำงานแบบอัตโนมัติได้ง่าย
- มีขนาดกะทัดรัด ไม่เปลืองพื้นที่ เพราะชุดอุปกรณ์เมมเบรนมีการออกแบบให้มีศักยภาพในการกรองต่อหน่วยปริมาตรของอุปกรณ์สูง
- ไม่มีปฏิกิริยาเคมีมาเกี่ยวข้อง สามารถแยกได้โดยไม่เปลี่ยนสถานะ และไม่ต้องใช้สารเคมีช่วยในการแยก
- สามารถกำจัดสิ่งปนเปื้อนที่ไม่ต้องการได้หมด
- ใช้พลังงานน้อยกว่ากระบวนการกรองแบบเดิม และใช้เวลาในการผลิตสั้นกว่าส่งผลให้ต้นทุนการผลิตต่ำกว่าด้วย

### ข้อจำกัดของเมมเบรน

ถึงแม้ว่ากระบวนการเมมเบรนมีศักยภาพในการประยุกต์ใช้ในการแยกสารละลายต่างๆ แต่ก็ยังมีข้อจำกัดในการนำไปใช้เช่นเดียวกับกระบวนการอื่นๆ ดังนี้

- Concentration polarization (CP) หมายถึง การสะสมของโมเลกุลหรืออนุภาคของตัวถูกละลายที่ไม่สามารถผ่านเมมเบรนได้ ทำให้ความเข้มข้นบริเวณผิวหน้าเมมเบรนสูงกว่าใน bulk solution (บริเวณที่อยู่ห่างออกไป) ซึ่งจะลดความสามารถในการแยกทั้งในแง่ของฟลักซ์และการกักกัน ซึ่งการเกิด CP อย่างต่อเนื่องจะส่งผลให้เกิด fouling
- Fouling หมายถึง การสะสมหรือการอุดตันของตัวถูกละลายทั้งบนผิวหน้าเมมเบรนและภายในรูพรุน ซึ่งทำให้ฟลักซ์ลดลง และการกักกันโมเลกุลเปลี่ยนแปลงโดยการลดลงหรือเพิ่มขึ้น fouling เกิดขึ้นด้วยกลไกที่ซับซ้อนขึ้นอยู่กับคุณภาพลักษณะของเมมเบรนและสารละลาย สิ่ง

สะสมและอุดตันไม่สามารถล้างออกด้วยน้ำได้ ต้องล้างทำความสะอาดด้วยสารเคมีที่เหมาะสม การเกิด fouling มีผลกระทบต่อสมรรถนะของกระบวนการเมมเบรน

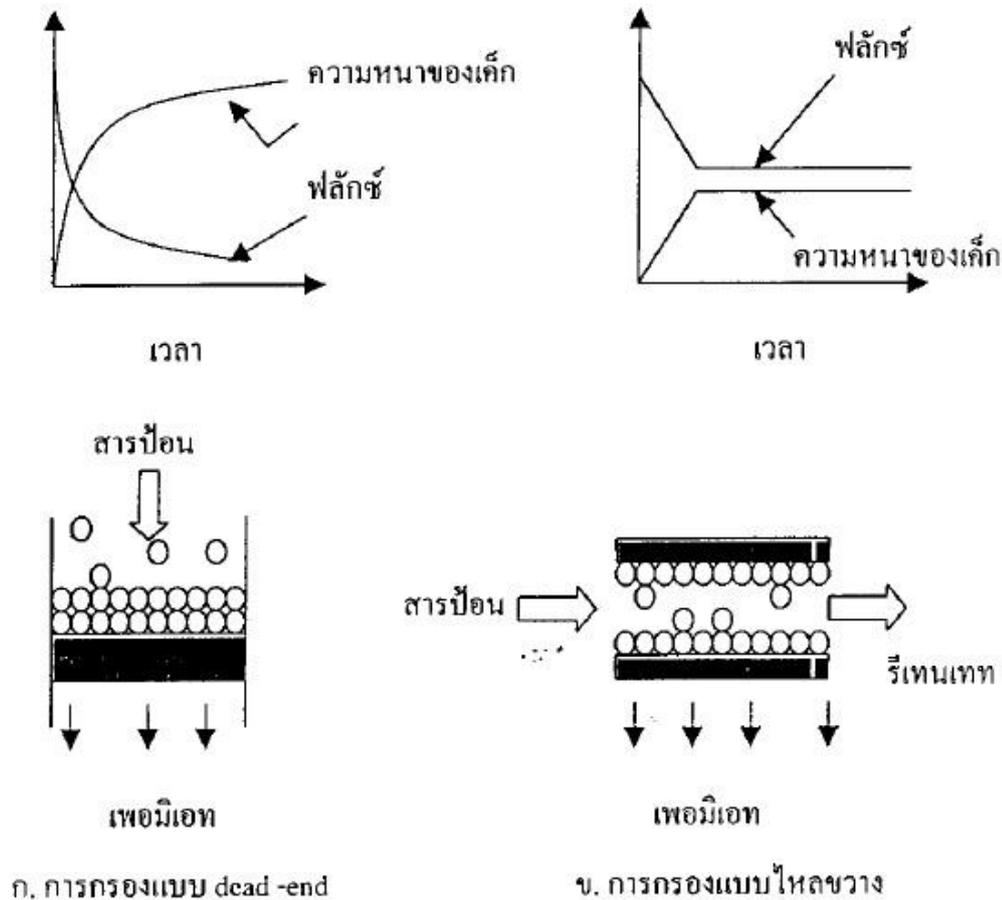
- ความคงตัวของเนื้อเมมเบรน เมมเบรนที่ใช้อยู่ส่วนใหญ่ผลิตจากพอลิเมอร์ มีความคงตัวค่อนข้างจำกัด สามารถใช้งานในช่วงความเป็นกรด ต่างที่กว้างและช่วงอุณหภูมิหนึ่งๆ ปัจจุบันมีการพัฒนาให้เมมเบรนที่ผลิตจากพอลิเมอร์สามารถทนอุณหภูมิได้สูง 60-80 องศาเซลเซียส เมมเบรนบางชนิดไม่ทนต่อคลอรีน หรือตัวทำละลายอินทรีย์ ส่วนเมมเบรนชนิดเซรามิกส์ (ceramic) มีความคงตัวต่ออุณหภูมิและสารเคมีดีมาก สามารถฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำได้ ทนต่อจุลินทรีย์ แต่ความสามารถในการแยกยังด้อยกว่าเมมเบรนที่ผลิตจากพอลิเมอร์ การพัฒนายังค่อนข้างจำกัด และราคาแพงอีกด้วย

#### ลักษณะการกรองของเมมเบรน

ลักษณะการกรองในกระบวนการเมมเบรนสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 แบบ คือ

- การกรองแบบ dead-end เป็นการป้อนสารละลายในทิศทางที่ตั้งฉากกับเมมเบรนทำให้เกิดการสะสมของอนุภาคผิวเมมเบรน ที่เรียกว่า เค้ก (cake) ดังภาพที่ 12ก การกรองแบบนี้มีข้อเสียคือ เมื่อกรองไปนานๆ จะเกิดการสะสมของเค้ก ทำให้ความต้านทานในการไหลเพิ่มขึ้น และทำให้ฟลักซ์ลดลงอย่างรวดเร็ว ทำให้ต้องหยุดการกรองเพื่อกำจัดชั้นเค้กที่เกิดขึ้น ดังนั้นการกรองแบบ dead-end จึงควรใช้เมื่อสารละลายประกอบด้วยอนุภาคขนาดเล็ก และมีความเข้มข้นต่ำ และดำเนินงานแบบกะ

- การกรองแบบไหลขวาง เป็นการป้อนสารละลายขนานกับเมมเบรนหรือตั้งฉากกับทิศทางการไหลของเพอมีเอท ซึ่งเรียกว่า cross flow หรือ tangential flow ดังภาพที่ 12ข ซึ่งใช้กันอยู่ทั่วไปในกระบวนการออสโมซิสผันกลับ อัลตราฟิลเตรชัน และไมโครฟิลเตรชัน การป้อนสารละลายแบบไหลขวางลักษณะการไหลจะมีความปั่นป่วน ซึ่งผลของแรงเฉือนทำให้สารละลายกวาดอนุภาคออกจากผิวหน้าของเมมเบรน ดังนั้นจึงเป็นการลดการเกิด concentration polarization (CP) ทำให้มีการสะสมของเค้กเพียงบางๆ เท่านั้น การลดลงของฟลักซ์ไม่มากเท่ากับ การกรองแบบ dead-end จึงเหมาะสมสำหรับสารละลายที่มีความเข้มข้นสูง ดังนั้นการประยุกต์ใช้ในปัจจุบันจึงเป็นกระบวนการอัลตราฟิลเตรชันและไมโครฟิลเตรชันแบบไหลขวางเป็นส่วนใหญ่



ภาพที่ 12 เปรียบเทียบการกรองแบบ dead-end และการกรองแบบไหลขวาง  
ที่มา: รัตนา จิรรัตนานนท์ (2541)

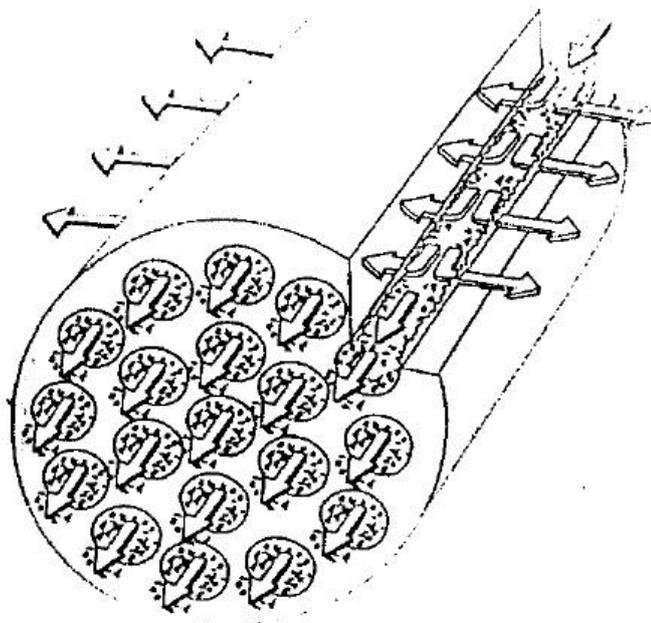
### รูปแบบของเมมเบรน

เมมเบรนที่ใช้ในระบบต่างๆ มีหลายรูปแบบ ดังนี้

- เมมเบรนแบบแผ่น (flat plate membrane) มีลักษณะเป็นแผ่นแบนๆ ขนาดเล็ก ใช้ครั้งเดียวแล้วทิ้งไป

- เมมเบรนแบบท่อ (tubular membrane) มีลักษณะเป็นท่อทรงกระบอก ส่วนใหญ่จะมีเส้นผ่าศูนย์กลางภายในประมาณ 0.3-2.5 เซนติเมตร โดยสารจะไหลผ่านภายในท่อ ผงที่อยู่ในท่อจะเป็นเยื่อของเหลวจะซึมออกมาได้ แล้วถูกเก็บไว้ที่บริเวณรอบๆ ท่อ ดังนั้นตัวท่อจะต้องแข็งแรง ข้อดีคือสามารถทำให้สารละลายเข้มข้นขึ้นโดยไม่ทำให้เมมเบรนสกปรก ทำความสะอาดง่าย

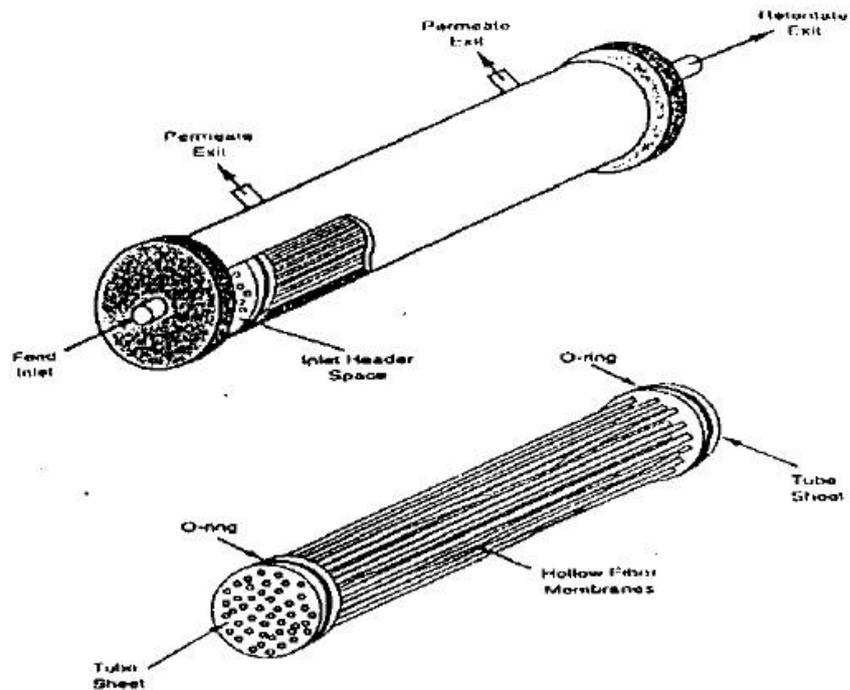
ข้อเสียคือ มีพื้นที่ส่วนที่เป็นเยื่อน้อยเกินไปเมื่อเทียบกับพื้นที่ทั้งหมด และอาจต้องเสียค่าใช้จ่ายเพิ่มขึ้นในส่วนของวัสดุที่นำมาเสริมความแข็งแรงให้เมมเบรน (ภาพที่ 13)



ภาพที่ 13 เมมเบรนแบบท่อ

ที่มา: Ho and Sirkar (1992)

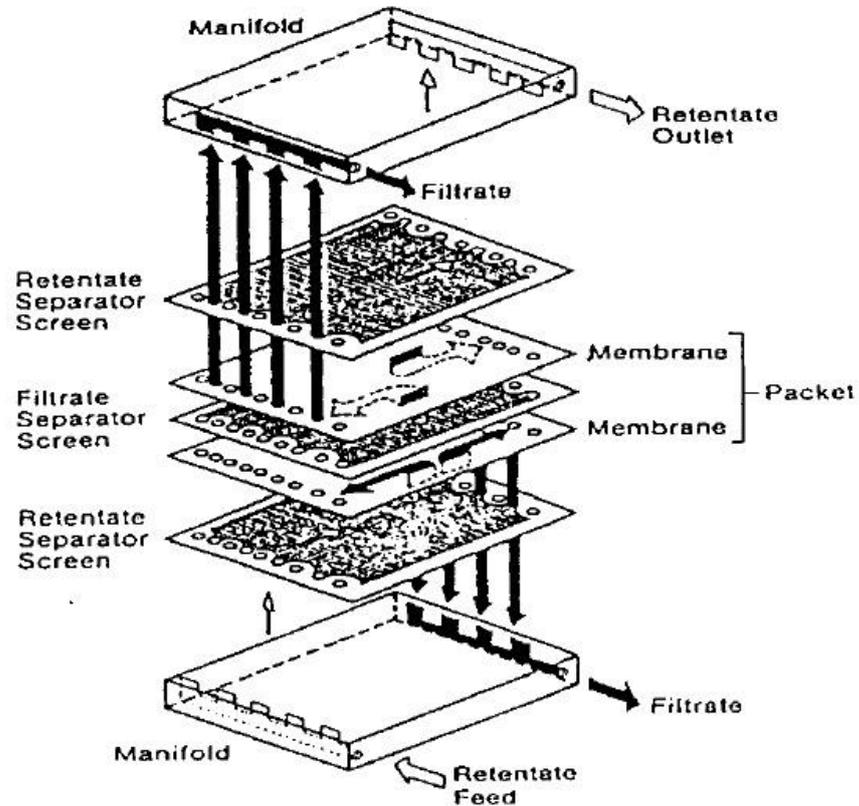
- เมมเบรนแบบเส้นใยกลาง (hollow fiber) เป็นเมมเบรนที่มีความแข็งแรงและทนต่อแรงดันได้ดีพอสมควร มีลักษณะเป็นท่อขนาดเล็ก ภายในเป็นไฟเบอร์จำนวนมากเรียงตัวขนานกันอยู่ และบรรจุอยู่ในเรซิน (resin) มีการบ่อนสารละลายเข้มข้นออกทางด้านตรงกันข้าม ในระบบไมโครฟิลเตรชันและอัลตราฟิลเตรชันนั้นสารละลายจะไหลภายใต้ความดันไปในช่องที่เจาะไว้ ส่วนที่ซึมผ่านได้จะถูกแยกออกมาข้างนอก เส้นผ่าศูนย์กลางภายในของแต่ละท่อจะมีขนาด 200-500 ไมโครเมตร ความหนาแน่นของเส้นใย 200 ไมโครเมตร ถ้าใช้เส้นใยขนาดใหญ่ขึ้น คือมีเส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 0.5-10 มิลลิเมตร จะเรียกว่าคาพิลลารี (capillary) เนื่องจากเมมเบรนชนิดนี้ไวต่อการอุดตันมาก จึงอาจต้องมีการปรับสภาพของสารละลายก่อนนำไปกรองโดยเมมเบรน ข้อดีคือสามารถทำความสะอาดได้โดยการผ่านน้ำเข้าไปช่วยขับสิ่งสกปรกต่างๆ ที่ติดอยู่บนไฟเบอร์ของเมมเบรนออกไป ข้อเสียคือ เส้นใยมักจะแตกง่าย เนื่องจากแรงเฉือนของความดันลด (pressure drop) ที่มาจากความสกปรกที่เกิดขึ้น (ภาพที่ 14)



ภาพที่ 14 เมมเบรนแบบเส้นใยกลาง

ที่มา: Zeman and Zydny (1996)

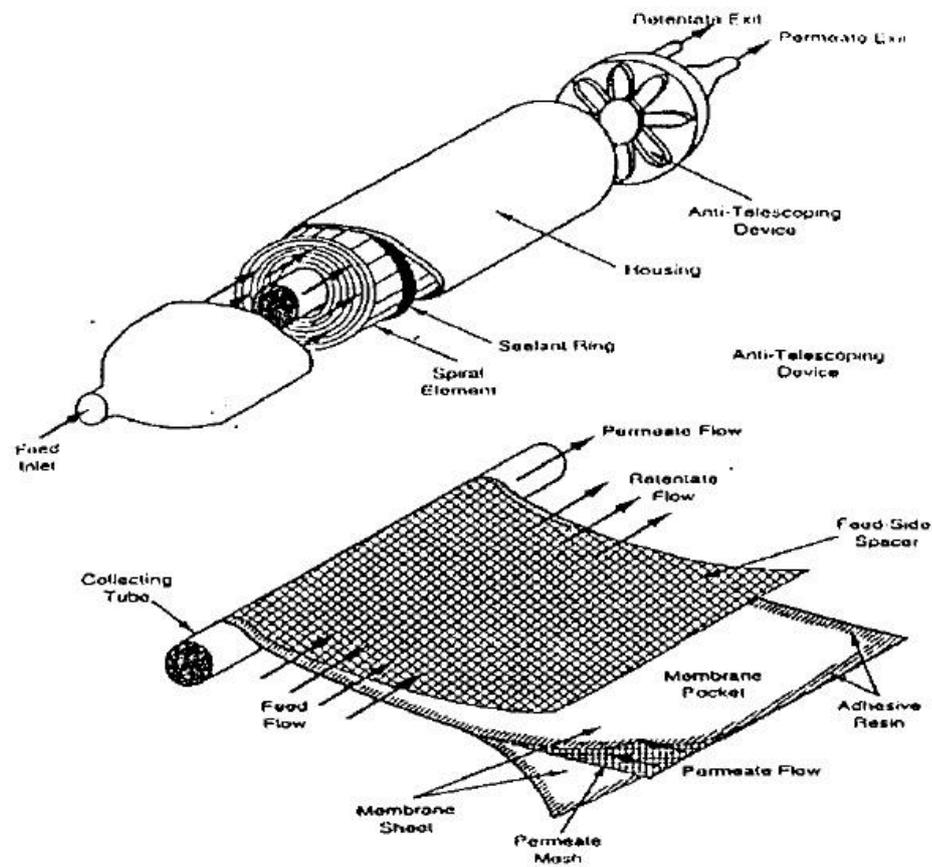
- เมมเบรนแบบแผ่นหรือแบบมีกรอบ (plate and frame module) มีลักษณะเป็นแผ่นวางอยู่ระหว่างแผ่นโครงที่ใช้เป็นช่องทางให้สารละลายไหลผ่าน ช่องนี้มีความสูงประมาณ 0.03-0.1 เซนติเมตร เมมเบรนจะประกบติดกันอยู่กับวัสดุเพิ่มความแข็งแรง เนื่องจากกระบวนการทำงานต้องใช้ความดันสูง ข้อดีคือสามารถเปลี่ยนเมมเบรนได้ง่าย ข้อเสียคือใช้แรงงานมากในการทำความสะอาดและการเคลื่อนย้าย (ภาพที่ 15)



ภาพที่ 15 เมมเบรนแบบแผ่นหรือแบบมีกรอบ

ที่มา: Zeman and Zedney (1996)

- เมมเบรนแบบท่อม้วน (spiral wound module) มีลักษณะคล้ายท่อ โดยมีเมมเบรน อยู่บริเวณรอบๆ ท่อที่ติดชิดตรงกลาง ข้อดีคือทนต่อแรงดันสูงๆ ได้ และง่ายต่อการเปลี่ยนเมมเบรน ข้อเสียคือถ้าสารละลายมีอนุภาคแขวนลอยจะเกิดการอุดตันได้ง่าย (ภาพที่ 16)



ภาพที่ 16 เมมเบรนแบบท่อม้วน

ที่มา: Zeman and Zedney (1996)

## 5.2 ทฤษฎีของกระบวนการเมมเบรน

ค่าที่แสดงสมรรถนะในกระบวนการเมมเบรนคือ ค่าฟลักซ์ โดยที่ค่าฟลักซ์จะแสดงถึงปริมาณของเพอมีเอทที่ผ่านเมมเบรนต่อหน่วยพื้นที่เวลาและสามารถเขียนให้อยู่ในรูปของแรงขับเคลื่อนและความต้านทานไหลดังนี้

$$J = \frac{TMP}{\mu R_t} \quad [1.1]$$

โดย  $J$  = ฟลักซ์ของเพอมีเอท ( $m^3/m^2 \cdot s$  หรือ  $L/m^2 \cdot h$ )

$$TMP = \frac{P_{in} + P_{out}}{2} - P_p \quad [1.2]$$

โดย TMP ของการไหลกรองแบบไหลขวางสามารถหาได้จากสมการ 1.2

$$\begin{aligned} \text{เมื่อ } P_{in} &= \text{ความดันขาเข้าหรือความดันของสารป้อน (Pa)} \\ P_{out} &= \text{ความดันขาออกหรือความดันของรีเทนเทท (Pa)} \\ P_p &= \text{ความดันด้านเพอมีเอท (Pa)} \\ \mu &= \text{ความหนืดของเพอมีเอท (Pa.s)} \\ R_t &= \text{ความต้านทานรวม (m}^{-1}\text{)} \end{aligned}$$

$$\text{โดย } R_t = R_m + R_f \quad [1.3]$$

$$R_f = R_{rf} + R_{irf} \quad [1.4]$$

$$\begin{aligned} \text{เมื่อ } R_m &= \text{ความต้านทานของเมมเบรน (m}^{-1}\text{)} \\ R_f &= \text{ความต้านทานของการเกิดฟาวลิง (m}^{-1}\text{)} \\ R_{rf} &= \text{ความต้านทานฟาวลิงแบบผันกลับได้ (reversible fouling) (m}^{-1}\text{)} \\ R_{irf} &= \text{ความต้านทานฟาวลิงแบบผันกลับไม่ได้ (irreversible fouling) (m}^{-1}\text{)} \end{aligned}$$

สำหรับค่าการกักกัน (Rejection coefficient,  $R_r$ ) หมายถึงเปอร์เซ็นต์ของตัวถูกละลายที่ถูกเมมเบรนกักกันไว้ หรือไม่สามารถผ่านเมมเบรนไปได้ ซึ่งค่าการกักกันที่หาได้สามารถเขียนเป็นสมการได้ดังนี้

$$R_{ri} = \left(1 - \frac{C_p}{C_f}\right) \times 100 \quad [1.5]$$

$$\begin{aligned} \text{เมื่อ } C_p &= \text{ความเข้มข้นของตัวถูกละลายใน permeate} \\ C_f &= \text{ความเข้มข้นของนมที่ feed เข้า} \end{aligned}$$

ความต้านทานที่เกิดขึ้นมีผลต่อเพอมีเอทฟลักซ์ของกระบวนการเมมเบรนในสภาวะปกติความต้านทาน  $R_m$  คำนวณโดยตรงจากฟลักซ์น้ำก่อนใช้งาน ค่า  $R_f$  หาได้จากฟลักซ์น้ำของเมมเบรนหลังใช้งานและ  $R_t$  คือ ความต้านทานรวม

### 5.3 พารามิเตอร์ของสภาวะดำเนินการ: ค่าการกักกัน (rejection)

ปัญหาของการกรองด้วยเมมเบรนที่มีขนาดรูพรุนเล็ก คือ สภาวะการทดลองและพารามิเตอร์ของสภาวะดำเนินการ โดยขึ้นอยู่กับความดัน ความปั่นป่วนบริเวณผิวหน้าเมมเบรน อุณหภูมิ และความเข้มข้นของตัวถูกละลาย นอกจากนี้ยังมีปัจจัยอื่นๆ เช่น ความเป็นกรด-ด่าง แรงกระทำระหว่างประจุ และรูปร่างและโครงสร้างของตัวถูกละลาย ซึ่งปัจจัยดังกล่าวส่งผลต่อค่าการกักกัน (rejection,  $f$ ) ถ้าสารละลายที่ถูกกักกันไว้ความเข้มข้นสูง จะทำให้เกิดเจล หรือเมมเบรนชั้นที่

สองเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว ทำให้ตัวถูกละลายขนาดโมเลกุลเล็กผ่านไปได้อย่าง สำหรับค่าการกักกัน (rejection,  $f$ ) องค์ประกอบหนึ่งๆ สามารถคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ ดังสมการนี้

$$f = \left[ 1 - \frac{CP}{CR} \right] 100$$

โดย CP เป็นความเข้มข้นของเพอมีเอท ส่วน CR เป็นความเข้มข้นของรีเทนเทท

#### 5.4 การทำบริสุทธิ์โอลิโกแซคคาไรด์

เทคโนโลยีเมมเบรนถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารกันอย่างแพร่หลาย ไม่ว่าจะเป็นการแยกน้ำผลไม้เพื่อให้ได้น้ำผลไม้ที่มีความใส การแยกตะกอนโปรตีนออกจากน้ำนม แยกเกลือออกจากผลิตภัณฑ์ต่างๆ และในปัจจุบันมีการนำเทคโนโลยีเมมเบรนมาใช้ในการทำบริสุทธิ์โอลิโกแซคคาไรด์ในอุตสาหกรรมมากขึ้น เนื่องจากต้นทุนในการผลิตต่ำ ไม่ต้องใช้สารเคมีมาช่วยกรอง และใช้แรงงานในการผลิตน้อยเพราะการทำงานเป็นแบบอัตโนมัติ (Rao *et al.*, 1987) การนำเทคโนโลยีเมมเบรนมาใช้ไม่ว่าจะเป็นอัลตราฟิลเตรชัน ไมโครฟิลเตรชันและนาโนฟิลเตรชัน ขึ้นอยู่กับขนาดของสารที่เราต้องการจะแยกออกจากสารละลายนั้นๆ พรูโปโอดิกชนิดไซโลโอลิโกแซคคาไรด์โดยทั่วไปสามารถแยกได้โดยใช้เมมเบรนชนิดอัลตราฟิลเตรชัน อย่างเช่น ในงานวิจัยของ Debora และคณะ (2006) ทำบริสุทธิ์ไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ที่สกัดจากเปลือกอัลมอนต์ด้วยกระบวนการอโตไฮโดรไลซิส โดยใช้เมมเบรนอัลตราฟิลเตรชันชนิด thin-film polymeric ขนาด MWCO 1 KDa และ 8 KDa พบว่าและการทำให้ไซโลโอลิโกแซคคาไรด์เข้มข้นขึ้น งานวิจัยของ Xiao และคณะ (2010) ใช้เมมเบรนนาโนฟิลเตรชันในการแยกไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีลักษณะเป็นน้ำเชื่อม (xylooligosaccharides syrup) ให้ได้โอลิโกแซคคาไรด์ชนิด arabinose, xylose และ xylobinose โดยอยู่ในส่วนของ retentate ทำให้น้ำเชื่อมมีความเข้มข้นขึ้น Gonzalez-Munoz และคณะ (2008) ใช้ถังปฏิกรณ์เอนไซม์ในการย่อยให้ได้เป็นไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ โดยต่อเข้ากับเมมเบรนอัลตราฟิลเตรชันชนิดเซรามิกขนาด MWCO 1 กิโลดาลตัน ซึ่งพบว่าจะได้ไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ในปริมาณที่สูง แต่ใช้เวลาในการทำบริสุทธิ์นานถึง 360 ชั่วโมง

#### 5.5 ระบบการกรองแบบไดอะฟิลเตรชัน (Diafiltration)

กระบวนการไดอะฟิลเตรชันเป็นการล้างหรือกำจัดตัวถูกละลายบางชนิดออกจากสารป้อนหรือเพื่อเพิ่มสัดส่วนหรือความบริสุทธิ์ให้กับสารเป้าหมาย เช่น ในกรณีที่ต้องการทำโปรตีนเข้มข้นจากนมพร่องมันเนยที่ต้องการโปรตีนที่มีความเข้มข้นสูงและมีน้ำตาลแลคโตสอยู่น้อยกระบวนการ

ไดอะฟิลเตรชันแบ่งเป็น 2 รูปแบบ คือ ไดอะฟิลเตรชันแบบไม่ต่อเนื่อง (discontinuous diafiltration, DDS) และไดอะฟิลเตรชันแบบต่อเนื่อง (continuous diafiltration, CDS) ไดอะฟิลเตรชันแบบไม่ต่อเนื่องเป็นกระบวนการที่เติมน้ำลงไปในรีเทนเทททันทีหลังจากที่ทำการกรองแบบกะจนได้ความเข้มข้นค่าหนึ่งแล้วจึงทำการกรองใหม่เพื่อทำให้สารเป้าหมายมีความเข้มข้นสูงขึ้น และบริสุทธิ์มากขึ้นขณะที่สารอื่นๆ ถูกกำจัดออกไป เช่น เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารป้อนด้วยการกรองแบบกะจนรีเทนเททมีปริมาตรเท่ากับ  $1/10$  ของสารป้อนแล้วจึงเติมน้ำให้รีเทนเททมีปริมาตรเท่ากับปริมาตรสารป้อนจากนั้นทำการเพิ่มความเข้มข้นของสารป้อนอีกครั้งทำอย่างนี้สลับกันไปจนกระทั่งมีสารที่ไม่เป็นเป้าหมายเหลืออยู่ในระบบน้อยสุด ขณะที่ไดอะฟิลเตรชันแบบต่อเนื่องในส่วนของรีเทนเททจะไหลวนกลับถึงสารป้อนขณะที่มีการเติมน้ำเข้าสู่ระบบในอัตราเดียวกันกับปริมาณของเพอมีเอทที่ออกจากระบบปริมาตรของสารป้อนที่อยู่ในระบบจะคงที่แต่มีสัดส่วนองค์ประกอบอื่นเปลี่ยนแปลงตลอดเวลา

## วิธีการทดลอง

### 1. การเตรียมตัวอย่างซีลี้อย

นำซีลี้อยไม้ยางพารามาผ่านตะแกรงร่อน (sieve) เบอร์ 20 MESH เพื่อให้มีขนาดอนุภาค เริ่มต้นใกล้เคียงกันและนำซีลี้อยไม้ยางพาราที่ผ่านตะแกรงร่อน (sieve) เบอร์ 20 MESH อบให้แห้ง ด้วยเครื่องอบลมร้อนอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 10 ชั่วโมง เพื่อให้มีความชื้นไม่เกิน 10 เปอร์เซ็นต์ เพื่อป้องกันแบคทีเรียและเชื้อรา อีกทั้งทำให้สามารถเก็บซีลี้อยไม้ยางพาราได้นานขึ้น นำซีลี้อยไม้ยางพาราที่ผ่านการร่อนและอบบรรจุในถุงพลาสติกปิดปากถุงและเก็บไว้ในตู้ที่แห้งที่อุณหภูมิห้อง

### 2. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

นำซีลี้อยไม้ยางพาราที่ผ่านตะแกรงร่อนเบอร์ 20 MESH และผ่านการอบแล้วซึ่งได้จากข้อ 1 มาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ความชื้น คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน เยื่อใย เถ้า ลิกนิน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส ตามวิธี A.O.A.C. (2000)

### 3. ศึกษาผลของอุณหภูมิที่ใช้แช่ซีลี้อยไม้ยางพารา

ชั่งซีลี้อยไม้ยางพาราที่เตรียมได้จากข้อ 1 จำนวน 6 ชุดการทดลอง ใส่ในบีกเกอร์ชุดการทดลองละ 10 กรัม เติมน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร กวนผสมให้ซีลี้อยเปียกน้ำอย่างสม่ำเสมอ นำมาศึกษาการแช่น้ำที่อุณหภูมิ 6 ระดับ คือ ที่อุณหภูมิ 30, 40, 50, 60, 70 และ 80 องศาเซลเซียส ในอ่างควบคุมอุณหภูมิแต่ละระดับ เป็นเวลา 10 ชั่วโมง โดยเก็บตัวอย่างทุกๆ 1 ชั่วโมง เพื่อศึกษาอัตราการพองตัวของซีลี้อยไม้ยางพารา โดยการทดสอบการแทนที่ของน้ำจากปริมาณน้ำที่ถูกดูดซึมเข้าไปในซีลี้อยไม้ยางพารา ดังสูตรต่อไปนี้

$$\text{อัตราการพองตัว (ร้อยละ)} = \frac{[\text{ปริมาณน้ำเริ่มต้น (มิลลิลิตร)} - \text{ปริมาณน้ำที่เหลือ (มิลลิลิตร)}] \times 100}{\text{ปริมาณน้ำเริ่มต้น (มิลลิลิตร)}}$$

คัดเลือกชั่วโมงที่สั้นที่สุดและอุณหภูมิต่ำสุดที่สามารถทำให้ซีลี้อยไม้ยางพารามีอัตราการพองตัวได้ดีที่สุด เพื่อใช้ศึกษาในขั้นถัดไป

#### 4. ขั้นตอนการแยกและสกัดไซแลนจากชีเลื่อยไม้ยางพารา

โดยศึกษาเปรียบเทียบการสกัด 2 วิธี คือ การสกัดด้วยต่างซึ่งเป็นวิธีที่นิยมใช้ในการผลิตเยื่อไม้ (pulping process) และการสกัดในสภาวะร้อนชื้นภายใต้ความดัน (hydrothermal process) ดังรายละเอียดแต่ละวิธีดังนี้

##### 4.1 การสกัดด้วยต่าง

โดยศึกษาผลของชนิดตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดมีวิธีการทดลองดังนี้ นำชีเลื่อยไม้ยางพาราที่เตรียมได้จากการแช่ที่อุณหภูมิและระยะเวลาเหมาะสมจากข้อที่ 4 (60 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง) กรองด้วยผ้าขาวบาง ทำการศึกษาชนิดตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด โดยตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดชีเลื่อยไม้ยางพาราประกอบด้วย ชุดการทดลอง ดังนี้ 1) โพลีเอทิลีนไฮดรอกไซด์ร้อยละ 24 2) โพลีเอทิลีนไฮดรอกไซด์ร้อยละ 24 ผสมกับ โซเดียมโบโรไฮไดรไรด์ร้อยละ 1

โดยช่วงผงชีเลื่อยเปียกที่ผ่านการแช่ที่อุณหภูมิที่เหมาะสมจากข้อ 3 (60 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง) จำนวน 20 กรัม เติมตัวทำละลายแต่ละชนิดปริมาตร 200 มิลลิลิตร ทำการสกัดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ เป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง โดยเก็บตัวอย่างที่เป็นส่วนของเหลวทุกๆ 1 ชั่วโมง นำสารสกัดที่ได้ในแต่ละชุดการทดลองมาวิเคราะห์ปริมาณของไซแลนทั้งหมดที่สกัดได้ของแต่ละชุดการทดลอง นำส่วนของเหลวที่สกัดได้ไปวัดค่าพีเอช วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS (Miller, 1959) วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (total sugar analysis) ด้วยวิธี Phenol sulfuric method (Fox and Robyt, 1991) ปริมาณไซแลน และไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ด้วยวิธี HPLC (Bose *et al.*, 2009) คัดเลือกตัวทำละลายที่ทำให้สารสกัดมีปริมาณไซแลนสูงสุดและใช้เวลาที่สั้นสุดในการสกัด

##### 4.2 การสกัดด้วยกรดอ่อนภายใต้ความร้อนและความดัน

ศึกษาผลของปัจจัยความเข้มข้นของกรดอะซิติก อุณหภูมิ และระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด ดังรายละเอียดต่อไปนี้

นำชีเลื่อยยางพารามาผ่านตะแกรงร่อนเบอร์ 20 MESH เพื่อให้มีขนาดอนุภาคเริ่มต้นใกล้เคียงกันแช่ในสภาวะที่เหมาะสมจากข้อ 3 แช่ในสารละลายกรดอะซิติกเจือจางในช่วงความเข้มข้นร้อยละ 0-5 ปริมาตร 500 มิลลิลิตร นำชีเลื่อยไม้ยางพาราที่ผ่านการแช่ให้พองตัวผสมกับตัวทำละลายเข้าหม้อย่อยเยื่อใย (rotary digester) ศึกษาอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดในช่วง 100-200 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0-120 นาที ทำตัวอย่างให้เย็นลงรวดเร็ว นำส่วนของเหลวที่สกัดได้ไปวัดค่าพีเอช วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugar analysis) ด้วยวิธี DNS (Miller, 1959) วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (total sugar analysis) ด้วยวิธี Phenol sulfuric method (Fox

and Robyt, 1991) ปริมาณไซแลน และไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ ด้วยเครื่อง HPLC (Bose *et al.*, 2009) เลือกตัวทำละลายที่ดีที่สุดโดยเลือกจากชั่วโมงที่สั้นที่สุดที่ให้ปริมาณไซแลนในสารสกัดสูงสุด

#### 4.2.1 ศึกษาผลของความเข้มข้นของกรดอะซิติกที่ใช้สกัด

นำซีลี้อย่างพารามาผ่านตะแกรงร่อนเบอร์ 20 MESH เพื่อให้มีขนาดอนุภาค เริ่มต้นใกล้เคียงกันแต่ในสถานะที่เหมาะสมจากข้อ 3 ที่ผ่านการแช่ให้พองตัว 50 มิลลิกรัม ผสมกับตัวทำละลายเข้าหม้อย่อยเยื่อใย (rotary digester) ศึกษาโดยใช้ตัวทำละลายกรดอะซิติกเจือจางเข้มข้นร้อยละ 0, 2.5 และ 5 ปริมาตร 500 มิลลิลิตร โดยสกัดที่อุณหภูมิ 100, 150 และ 200 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 0, 60 และ 120 นาที นำสารสกัดมาวิเคราะห์ปริมาณไซแลนด้วยเครื่อง HPLC เลือกความเข้มข้นของกรดอะซิติกต่ำที่สุดที่ให้ปริมาณไซแลนสูงสุดที่ระยะเวลาสั้นที่สุด

#### 4.2.2 ศึกษาอุณหภูมิที่ใช้สกัดซีลี้อย่างพารา

นำซีลี้อย่างพารามาผ่านตะแกรงร่อนเบอร์ 20 MESH เพื่อให้มีขนาดอนุภาค เริ่มต้นใกล้เคียงกันแต่ในสถานะที่เหมาะสมจากข้อ 3 ปริมาณ 50 มิลลิกรัม เติมสารละลายกรดอะซิติกเจือจางความเข้มข้นร้อยละ 0, 2.5 และ 5 ปริมาตร 500 มิลลิลิตร นำซีลี้อย่างพาราที่ผ่านการแช่ให้พองตัวผสมกับตัวทำละลายเข้าหม้อย่อยเยื่อใย (rotary digester) ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัด โดยศึกษาจากอุณหภูมิในช่วง 100, 150 และ 200 องศาเซลเซียส และใช้น้ำเป็นตัวควบคุมในทุกๆ อุณหภูมิ การสกัดศึกษาในหม้อย่อยเส้นใย เลือกผลการทดลองที่ใช้อุณหภูมิต่ำที่สุดที่ให้ปริมาณไซแลนมากที่สุด

#### 4.2.3 ศึกษาเวลาที่ใช้สกัดซีลี้อย่างพารา

นำซีลี้อย่างพารามาผ่านตะแกรงร่อนเบอร์ 20 MESH เพื่อให้มีขนาดอนุภาค เริ่มต้นใกล้เคียงกันแต่ในสถานะที่เหมาะสมจากข้อ 3 ปริมาณ 50 มิลลิกรัม เติมสารละลายกรดอะซิติกเจือจางความเข้มข้นร้อยละ 0, 2.5 และ 5 ปริมาตร 500 มิลลิลิตร นำซีลี้อย่างพาราที่ผ่านการแช่ให้พองตัวผสมกับตัวทำละลายเข้าหม้อย่อยเยื่อใย (rotary digester) โดยศึกษาเวลาที่ใช้ในการสกัดที่ 0, 60 และ 120 นาที เลือกผลการทดลองที่ใช้เวลาที่ให้ปริมาณไซแลนขนาดโมเลกุลเล็กที่มีปริมาณไซแลนมากที่สุดโดยวิเคราะห์สารสกัดด้วย HPLC และ GPC

จากข้อ 4.2.1, 4.2.2 และ 4.2.3 นำมาทำการวางแผนการทดลองทางสถิติ โดยใช้โปรแกรม Design Expert เวอร์ชัน 6.0 ออกแบบการทดลองเป็น Box-Behnken ได้แผนการทดลองดังตารางที่

ตารางที่ 1 แสดงชุดการทดลองที่วางแผนการทดลองโดยใช้โปรแกรม Design Expert เวอร์ชัน 6.0

ชุดการทดลองที่	ความเข้มข้นของกรดอะซิติก (เปอร์เซ็นต์)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา (นาที)
1	0	100	60
2	0	150	0
3	0	150	120
4	0	200	60
5	2.5	100	0
6	2.5	100	120
7	2.5	150	60
8	2.5	200	0
9	2.5	200	120
10	5	100	60
11	5	150	0
12	5	150	120
13	5	200	60

ทำการทดลองตามแผนการทดลองดังกล่าว และนำตัวอย่างในแต่ละชุดการทดลองมาวิเคราะห์ปริมาณไซแลนด้วยเครื่อง HPLC โดยเลือกสภาวะในการสกัด (ความเข้มข้นของกรดอะซิติก อุณหภูมิและระยะเวลาในการสกัด) ที่ให้ปริมาณไซแลนสูงสุด เปรียบเทียบปริมาณไซแลนที่สกัดได้สูงสุดจากวิธีการสกัดด้วยต่าง (4.1) และวิธีการสกัดด้วยกรดอ่อนภายใต้ความร้อนและความดัน คัดเลือกวิธีสกัดที่ได้ปริมาณไซแลนสูงสุดในการสกัดเพื่อใช้ทดลองในข้อ 5 ต่อไป

## 5. ขั้นตอนการย่อยไซแลนด้วยเอนไซม์

ขั้นตอนการย่อยไซแลนให้ได้เป็นไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ด้วยเอนไซม์ไซแลนเนสใช้โกลสกัดแก้ว ขนาด 3000 มิลลิลิตร ที่มีระบบการกวนผสมและควบคุมอุณหภูมิ

นำสารสกัดที่ได้จากข้อ 4.1 ที่สกัดด้วย 24% KOH+1% NaBH<sub>4</sub> สกัดนาน 2 ชั่วโมง ซึ่งมีปริมาณไซแลนสูงสุด มาปรับพีเอชเป็น 4.5 แล้วกรองแยกอนุภาคของแข็งออกด้วยผ้าขาวบาง และนำส่วนของเหลวเข้มข้นปริมาตร 450 มิลลิลิตรซึ่งมีองค์ประกอบหลักคือไซแลน นำมาแขวนลอยใน 450 มิลลิลิตรของสารละลาย citrate buffer ความเข้มข้น 50 mM พีเอช 4.5 นำสารละลาย सबเตรตที่ได้มาทำปฏิกิริยากับสารละลายเอนไซม์ปริมาณ 100 มิลลิลิตรที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในโดย่อย

การเตรียมสารละลายเอนไซม์เตรียมจากเอนไซม์ทางการค้า endo-1,4- $\beta$ -xylanase จากเชื้อ *Trichoderma longibrachiatum* ของบริษัท Sigma ประเทศสหรัฐอเมริกา ซึ่งมีกิจกรรมหลักของเอนไซม์ xylanase และมีกิจกรรมรองของเอนไซม์ต่อไปนี้ คือ  $\beta$ -glucanase, cellulase, pectinase, mannanase, xyloglucanase, laminase,  $\beta$ -glucosidase,  $\beta$ -xylosidase,  $\alpha$ -L-arabinofuranosidase, amylase, pretease โดยศึกษาพารามิเตอร์ดังต่อไปนี้

### 5.1 ผลของความเข้มข้นของเอนไซม์

การใช้เอนไซม์ในการย่อยไซแลนในการสกัดแบ่งออกเป็น 3 ชุดการทดลอง โดยใช้กิจกรรมของเอนไซม์ที่มีความเข้มข้นสุดท้ายในปฏิกิริยา ดังนี้

- (1) 1 U/ml
- (2) 10 U/ml
- (3) 100 U/ml

ทำการย่อยที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 0, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 ชั่วโมง หลังจากนั้นย่อยต่อไปอีก 5 วัน เก็บตัวอย่างทุกๆ 1 วัน เก็บตัวอย่างแต่ละเวลา มาวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลและโอลิโกแซคคาไรด์ที่เกิดขึ้นจากการย่อยไซแลนโดยใช้เครื่อง HPLC คัดเลือกจากผลรวมของปริมาณไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ (X2-X10) สูงที่สุดที่ใช้ระยะเวลาสั้นที่สุดเพื่อศึกษาในขั้นต่อไป

### 5.2 ผลของอุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยไซแลนด้วยเอนไซม์

เลือกความเข้มข้นเอนไซม์ที่เหมาะสมนำผลการทดลองข้อ 5.1 มาศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการย่อยไซแลน ซึ่งใช้อุณหภูมิ ดังนี้ 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลา 0, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 ชั่วโมง คัดเลือกจากผลรวมของปริมาณไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ (X2-X10) สูงสุดที่ใช้ระยะเวลาสั้นที่สุดวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลด้วยเครื่อง HPLC

## 6. การแยกไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ด้วยเมมเบรน

การแยกไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ออกด้วยเมมเบรนอัลตราชนิด hollow fiber ที่มีขนาด MWCO 10 กิโลดาลตันและ 1 กิโลดาลตัน โดยที่ไซแลนและเอนไซม์ไซแลเนสซึ่งมีขนาดโมเลกุลใหญ่กว่า 10 กิโลดาลตันไม่สามารถผ่านเมมเบรนออกมากับส่วนของเพอมีเอท นำเพอมีเอทมาผ่านเมมเบรนที่มีขนาด MWCO 1 กิโลดาลตันเพื่อแยกไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ออกจากน้ำตาลโมเลกุลคู่และโมเลกุลเดี่ยว เช่น น้ำตาลไซโลส โดยมีขั้นตอนการทดลองดังนี้

### 6.1 ศึกษาผลของแรงดันในการกรองแยกด้วยเมมเบรนชนิดอัลตราขนาด 10 กิโลดาลตัน

โดยเตรียมตัวอย่างสารสกัดที่มีปริมาณไซโลโอลิโกแซคคาไรด์สูงสุดจากสภาวะในข้อที่ 5 (ซึ่งผ่านการสกัดด้วย 24%KOH+1%NaBH<sub>4</sub> นำมาย่อยด้วยเอนไซม์ไซแลนเนสความเข้มข้น 100 U/ml อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง) ในปริมาณ 4 ลิตร เพื่อนำมาใช้ทดสอบผลของแรงดันที่ใช้กรองแยกไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ โดยใช้แรงดันที่ 1, 2 และ 3 บาร์โดยกรองแยกตัวอย่างที่อุณหภูมิห้อง ระยะเวลา 6 ชั่วโมง วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลและวัดค่าฟลักซ์ คัดเลือกจากแรงดันที่ให้ฟลักซ์สูงสุด และมีปริมาณ ไซโลโอลิโกแซคคาไรด์มากที่สุด

### 6.2 ศึกษาผลของแรงดันในการกรองแยกด้วยเมมเบรนชนิดอัลตราขนาด 1 กิโลดาลตัน

นำส่วนเพอมีเอทที่ผ่านเมมเบรนชนิดอัลตราขนาด 10 กิโลดาลตันในสภาวะที่เหมาะสม (จากข้อ 6.1) มากรองแยกเพื่อกำจัดน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวออกโดยผ่านเมมเบรนชนิดอัลตราขนาด 1 กิโลดาลตันด้วยแรงดันต่างๆ คือ 1, 2 และ 3 บาร์โดยกรองแยกตัวอย่างที่อุณหภูมิห้องระยะเวลา 6 ชั่วโมง วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาล คัดเลือกจากปริมาณไซโลโอลิโกแซคคาไรด์สูงสุดและน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวในส่วนรีเทนเททน้อยสุด

## 7. การทำแห้งไซโลโอลิโกแซคคาไรด์

นำรีเทนเททที่ได้จากการกรองด้วยเมมเบรนขนาด 1 กิโลดาลตันมาทำระเหยให้เข้มข้นด้วยเครื่อง rotary evaporator เพื่อให้มีความเข้มข้นของ total solid เมื่อวัดด้วยเครื่อง hand refractometer มีค่าไม่น้อยกว่าร้อยละ 20 นำไปทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบลมร้อนพ่นฝอย (Spray dryer) โดยกำหนดอัตราการไหลของตัวอย่างเข้าเครื่องประมาณ 1 ลิตร/ชั่วโมง อุณหภูมิลมร้อนขาเข้า (inlet temperature) เท่ากับ 190 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิลมร้อนขาออก (outlet temperature) ไม่ต่ำกว่า 70 องศาเซลเซียส นำผงไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ไปวิเคราะห์ความบริสุทธิ์ โดยทดสอบน้ำตาลองค์ประกอบและน้ำหนักโมเลกุลโดยใช้เทคนิค Size Exclusion Chromatography (SEC) และวิเคราะห์ชนิดและปริมาณน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและคู่โดยใช้ High Performance Liquid Chromatography เปรียบเทียบกับไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ทางการค้า

## 8. การวิเคราะห์ปริมาณเกลือ

1. นำตัวอย่างปริมาณ 1 กรัม เติม AgNO<sub>3</sub> ความเข้มข้น 0.1 N ปริมาตร 40 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

2. เติม HNO<sub>3</sub> เข้มข้น ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ให้ความร้อนด้วย Hot plate เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นทิ้งให้เย็น

3. นำตัวอย่างข้างต้นที่เย็นแล้วมากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1
4. ปรับปริมาตรสารตัวอย่างหลังจากกรองเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น
5. เติม Ferric alum ร้อยละ 5 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เพื่อใช้เป็นอินดิเคเตอร์
6. ทำการไตเตรทด้วย KSCN จนกลายเป็นสีชมพูอ่อน
7. คำนวณปริมาณเกลือในตัวอย่งจากสูตร

$$\text{Salt} = \frac{5.8[0.1(\text{AgNO}_3)] - 0.1[(\text{KSCN})]}{W}$$

โดยที่ W = ปริมาณตัวอย่างเริ่มต้น (กรัม)

#### 9. การวิเคราะห์ปริมาณเซลลูโลสและลิกนิน (ดัดแปลงจาก Van Soest and Wine, 1967)

1. ชั่งตัวอย่างที่บดละเอียดและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 1 มิลลิลิตร มาประมาณ 1 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ทรงสูงขนาด 600 มิลลิลิตร
2. เติมสารละลาย Acid detergent ปริมาณ 100 มิลลิลิตร และ decahydronaphthalene ปริมาณ 2 มิลลิลิตร ให้ความร้อนจนเดือดเป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นลดความร้อนลงให้เดือดเบาๆ เป็นเวลา 60 นาที
3. กรองผ่านครุชชีเบลที่ทราบน้ำหนักแน่นอนแล้ว ( $W_1$ ) โดยแรงดูดสุญญากาศเบาๆ ล้างตัวอย่างที่ติดอยู่ในบีกเกอร์ลงครุชชีเบลด้วยน้ำร้อน 3-5 ครั้ง ขณะล้างให้เชื่อก่อนเยื่อใยที่อยู่ครุชชีเบลให้กระจายออกโดยใช้แท่งแก้ว หลังจากนั้นจึงดูดด้วยเครื่องดูดสุญญากาศและล้างต่อด้วยอะซิโตน ปริมาณเล็กน้อย ประมาณ 2-3 ครั้ง แล้วใช้เครื่องดูดสุญญากาศดูดให้แห้ง
4. นำครุชชีเบลไปอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง หรืออบจนกระทั่งชั่งน้ำหนักคงที่ได้ ( $W_2$ )
5. นำครุชชีเบลวางในภาตกันชื้น เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้นร้อยละ 72 (ก่อนใช้ให้แช่เย็นที่อุณหภูมิประมาณ 15 องศาเซลเซียส) ลงในครุชชีเบลประมาณครึ่งหนึ่ง แล้วคนด้วยแท่งแก้วคน เพื่อให้เยื่อใยเปียกอย่างทั่วถึง เติมกรดเพิ่มลงไปทุกๆ 1 ชั่วโมง พร้อมคนอย่างสม่ำเสมอเป็นเวลา 3 ชั่วโมง
6. นำครุชชีเบลไปกรองเอากรดออก โดยใช้เครื่องดูดสุญญากาศ แล้วล้างด้วยน้ำร้อนจนหมดกรด
7. อบครุชชีเบลที่ได้จากข้อ 6 ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ตลอดคืน ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนัก ( $W_3$ )
8. นำครุชชีเบลไปเผาที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง หรือจนกว่าไม่มีคาร์บอน ทำให้เย็นในโถดูดความชื้นแล้วชั่งน้ำหนัก ( $W_4$ )

การคำนวณ

$$ADF = \frac{(W_2 - W_1) \times 100}{S}$$

$$L = \frac{(W_3 - W_4) \times 100}{S}$$

$$C = ADF - L$$

โดยที่	ADF	=	Acid detergent fiber (ร้อยละ)
	L	=	ปริมาณลิกนิน (ร้อยละ)
	W <sub>1</sub>	=	น้ำหนักครุซีเบลเปล่า (กรัม)
	W <sub>2</sub>	=	น้ำหนักครุซีเบลและตัวอย่างหลังผ่านสารละลาย Acid detergent (กรัม)
	W <sub>3</sub>	=	น้ำหนักครุซีเบลและตัวอย่างหลังผ่านกรดซัลฟูริก (กรัม)
	W <sub>4</sub>	=	น้ำหนักครุซีเบลและตัวอย่างหลังเผา (กรัม)
	S	=	น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น (กรัม)

หมายเหตุ การเตรียม Acid detergent solution โดยชั่ง 20 กรัมของ CTAB (cetyl trimethyl ammonium bromide) ละลายในสารละลายกรดซัลฟูริก ความเข้มข้น 1.0 นอร์มอล ปรับปริมาตร เป็น 1 ลิตร

#### 10. การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดด้วยวิธี Modified phenol sulfuric acid method (Fox and Robyte, 1991)

1. เจือจางตัวอย่างด้วยน้ำที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (0-200 เท่า) แล้วดูดตัวอย่างปริมาณ 25 ไมโครลิตร ลงใน Microplate 96 หลุม
2. เติมสารละลายฟีนอลความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 25 ไมโครลิตร เขย่าเพทเบาๆ เพื่อให้สารผสมกันประมาณ 30 วินาที
3. นำไมโครเพลทวางบนน้ำแข็ง เติม Con. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ปริมาตร 125 ไมโครลิตร เขย่าเพทเบาๆ 30 วินาที
4. ท่อเพลทด้วยฟิล์มพลาสติกจากนั้นบรรจุใส่ในถุงซิปลาสติก นำไปให้ความร้อนในอ่างน้ำร้อน อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที
5. ทำให้เย็นแล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 492 นาโนเมตร จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลที่มีในตัวอย่างโดยเทียบจากกราฟของสารละลายน้ำตาลมาตรฐาน

## 11. การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี Modified Dinitrosalicylic acid method (Miller, 1959)

1. เจือจางตัวอย่างด้วยน้ำที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (0-200 เท่า) แล้วดูดตัวอย่างปริมาณ 100 ไมโครลิตร ลงในไมโครเพลท 96 หลุม
2. เติมสารละลาย Dinitrosalicylic acid (DNS) ปริมาณ 100 ไมโครลิตร เขย่าเพลทเบาๆ เพื่อให้สารผสมกันประมาณ 30 วินาที
3. ห่อเพลทด้วยฟิล์มพลาสติกจากนั้นบรรจุใส่ในถุงซิปลาสติก นำไปให้ความร้อนในอ่างน้ำร้อน อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที
4. ทำให้เย็นแล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 575 นาโนเมตร จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลที่มีในตัวอย่างโดยเทียบจากกราฟของสารละลายน้ำตาลมาตรฐาน

## ผลการทดลองและวิจารณ์

### 1. องค์ประกอบทางเคมีของซีเลื่อยไม้ยางพารา

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของซีเลื่อยไม้ยางพารา (rubber wood sawdust) ดังแสดงในตารางที่ 2 พบว่าซีเลื่อยไม้ยางพาราประกอบด้วยเยื่อใย (crude fiber) เป็นส่วนใหญ่ร้อยละ 53.42 รองลงมาคือ คาร์โบไฮเดรต ความชื้น เถ้า โปรตีน และไขมันร้อยละ 33.61, 9.80, 1.75, 1.20 และ 0.22 ตามลำดับ

ตารางที่ 2 องค์ประกอบทางเคมีของซีเลื่อยไม้ยางพารา

องค์ประกอบทางเคมี	วิธีการทดสอบ	ปริมาณ (%)
โปรตีน	AOAC (Block digestion method)	1.20±0.06
ไขมัน	AOAC (Soxhlet Extraction Method)	0.22±0.02
ความชื้น	AOAC (Loss on Drying at 95-100°C)	9.80±0.07
เถ้า	AOAC	1.75±0.06
เยื่อใย	AOAC (Fritted Glass Crucible Method)	53.42±0.25
คาร์โบไฮเดรต	Calculation	33.61

ผลการวิเคราะห์ปริมาณลิกนิน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลสในซีเลื่อยไม้ยางพารา พบว่าองค์ประกอบส่วนใหญ่ ได้แก่ เซลลูโลส (43.11%) และเฮมิเซลลูโลส (35.13%) ส่วนปริมาณของลิกนินในซีเลื่อยไม้ยางพารานั้นคิดเป็นร้อยละ 18.76% ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ปริมาณลิกนิน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลสในซีเลื่อยไม้ยางพารา

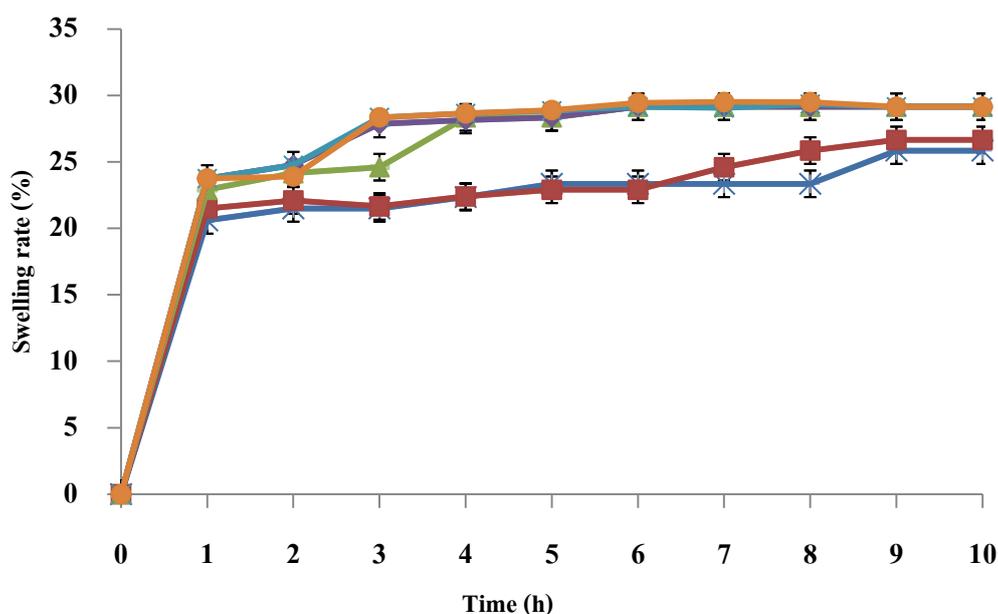
องค์ประกอบ	ปริมาณ (%)
ลิกนิน	18.76±0.08
เซลลูโลส	43.11±0.20
เฮมิเซลลูโลส	35.13±0.12

องค์ประกอบทางเคมีของไม้ยางพาราซึ่งรายงานโดย ปรีชา เกียรติกระจาย (2528) พบว่าประกอบด้วย เซลลูโลสร้อยละ 50.63 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 30.25 ลิกนินร้อยละ 18.06 และเถ้าร้อยละ 0.86 ซึ่งมีปริมาณลิกนินใกล้เคียงกัน แต่ปริมาณขององค์ประกอบอื่นแตกต่างกันบ้าง ทั้งนี้

เนื่องจากองค์ประกอบทางเคมีเหล่านี้มีความแปรปรวนตามหลายปัจจัย เช่น พันธุ์ พื้นที่สิ่งแวดล้อม อายุของไม้ เป็นต้น ไซแลนเป็นองค์ประกอบในเฮมิเซลลูโลส ดังนั้นในซีลื้อยไม้ยางพาราสามารถใช้เป็นแหล่งในการสกัดไซแลนได้ เนื่องจากมีเฮมิเซลลูโลสสูงร้อยละ 35.13

## 2. ผลของอุณหภูมิที่ใช้แช่ซีลื้อยไม้ยางพารา

ในการศึกษาการแช่ซีลื้อยไม้ยางพารา เนื่องจากในเนื้อไม้มีองค์ประกอบของไซแลนที่ยึดเกาะกันแน่นกับองค์ประกอบในเนื้อไม้ วิธีการแช่จึงเปรียบเสมือนการเตรียมวัสดุดิบเพื่อให้ง่ายในขั้นตอนการสกัดยิ่งขึ้น การแช่จากการศึกษาการพองตัวของซีลื้อยไม้ยางพารา โดยศึกษาผลของอุณหภูมิที่ใช้แช่ซีลื้อยไม้ยางพารา 6 ระดับ คือ ที่อุณหภูมิ 30, 40, 50, 60, 70 และ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 ชั่วโมง โดยการทดสอบการแทนที่ของน้ำโดยดูจากปริมาณน้ำที่ถูกดูดซึมเข้าไปในซีลื้อยไม้ยางพารา พบว่าซีลื้อยไม้ยางพาราเริ่มมีการพองตัวตั้งแต่ชั่วโมงที่ 1 และดูดซับน้ำเพิ่มขึ้นเล็กน้อย จนถึงชั่วโมงที่ 3 และเริ่มคงที่จนกระทั่งชั่วโมงสุดท้ายคือชั่วโมงที่ 10 เมื่อทำการเปรียบเทียบในแต่ละอุณหภูมิผลปรากฏว่าที่อุณหภูมิ 60, 70 และ 80 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่ทำให้เกิดการพองตัวของซีลื้อยไม้ยางพาราที่สูงที่สุด คือมีการพองตัวร้อยละ 27.85, 28.35 และ 28.35 ตามลำดับ โดยที่ระดับอุณหภูมิ 60, 70 และ 80 องศาเซลเซียสไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P>0.05$ ) (ภาพที่ 17) ดังนั้นชั่วโมงที่สั้นที่สุดและอุณหภูมิต่ำสุดที่สามารถทำให้ซีลื้อยไม้ยางพาราพองตัวได้ดีที่สุดคือที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 3 ชั่วโมง จึงเป็นสภาวะที่เลือกมาเพื่อใช้ในการทดลองขั้นตอนต่อไป



ภาพที่ 17 แสดงอัตราการพองตัวของซีลื้อยไม้ยางพารา เมื่อแช่น้ำที่อุณหภูมิต่างๆ; (X) 30°C, (■) 40°C, (▲) 50°C, (◆) 60°C, (\*) 70°C, (●) 80°C

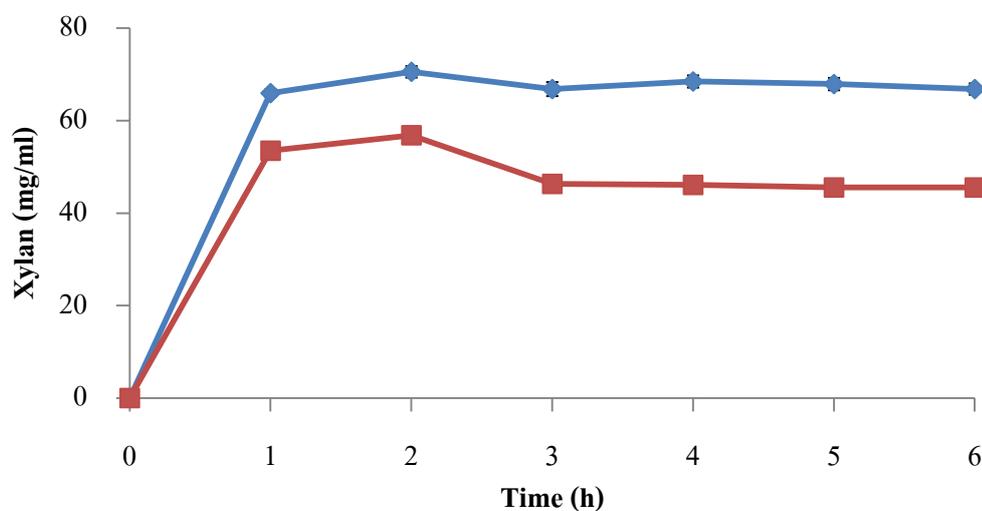
Mark และคณะ (2002) ทำการสกัดน้ำตาลชนิดต่างๆ ที่อยู่ในชานอ้อย โดยมีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างก่อนการทดลองคือ นำชานอ้อยที่เป็นวัสดุเศษเหลือมาผ่านการนึ่งด้วยไอน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 170-230 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 1-46 นาที เพื่อให้ง่ายแก่การนำไปย่อยด้วยเอนไซม์  $\beta$ -glucosidase พบว่าการใช้ไอน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 220 องศาเซลเซียส นาน 2 นาทีให้ปริมาณผลผลิตมากที่สุด Chang และคณะ (2011) ใช้ไอน้ำร้อนทำให้เส้นใยของหญ้าเนเปียเปียอยู่เพื่อให้ง่ายต่อการสกัด โดยใช้ช่วงอุณหภูมิของไอน้ำ คือ 160-210 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 2-20 นาที เพื่อนำไปย่อยด้วยเอนไซม์  $\beta$ -glucosidase จะเห็นได้ว่าการใช้น้ำร้อนในขั้นตอนก่อนการสกัดทำให้เส้นใยที่เกาะกันแน่นเกิดการคลายตัว เนื่องจากเส้นใยเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสในเนื้อไม้ซึ่งเกาะกันแน่น จึงจำเป็นต้องทำให้โครงสร้างของเนื้อไม้คลายตัวก่อนการสกัดเช่น การใช้น้ำร้อนหรือการใช้ไอน้ำร้อนที่อุณหภูมิสูงสามารถลดระยะเวลาของการพองตัวของเนื้อไม้ได้

### 3. ผลของการแยกและสกัดไซแลนจากขี้เลื่อยไม้ยางพารา

โดยศึกษาชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดขี้เลื่อยไม้ยางพารา เนื่องจากไซแลนที่ต้องการมีพันธะที่ยึดติดแน่นกับเนื้อไม้ จึงต้องแยกออกได้โดยใช้สารละลายกรดหรือด่างเพื่อไปทำลายพันธะ การศึกษานี้ทำการศึกษาตัวทำละลายต่างโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) ผสมกับโซเดียมโบโรไฮไดร (NaBH<sub>4</sub>) และกรดอะซิติก (acetic)

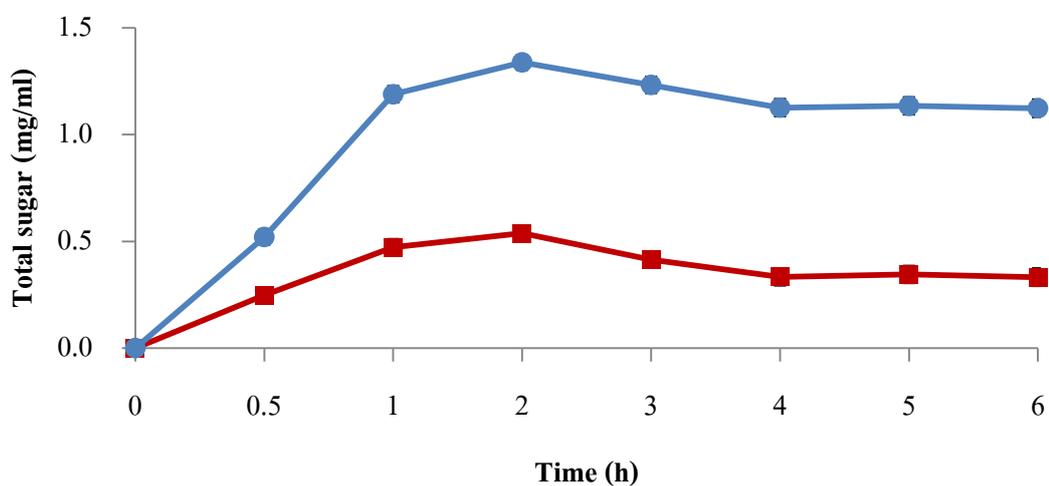
#### 3.1 ผลของชนิดตัวทำละลายต่าง

นำขี้เลื่อยไม้ยางพาราที่ผ่านการแช่ที่อุณหภูมิที่เหมาะสมข้างต้น คือ 60 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 ชั่วโมง มาทำการศึกษานิตตัวทำละลายต่างที่ใช้ในการสกัด โดยตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดขี้เลื่อยไม้ยางพารา เมื่อใช้สารละลาย KOH เพียงอย่างเดียว เปรียบเทียบกับการใช้สารละลาย KOH + 1% NaBH<sub>4</sub> พบว่าการใช้ KOH + 1% NaBH<sub>4</sub> ให้ปริมาณไซแลนที่สกัดได้สูงกว่าในทุกๆ ชั่วโมง และสภาวะการสกัดที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 2 ชั่วโมง สามารถให้ปริมาณไซแลนได้สูงที่สุด (70.54 mg/ml) จึงเลือก KOH + 1% NaBH<sub>4</sub> มาทำการสกัดไซแลนในขี้เลื่อยไม้ยางพาราต่อไป (ภาพที่ 18) เนื่องจากไซแลนเป็นองค์ประกอบในผนังเซลล์ของพืชซึ่งมีลิกนินยึดติดกันอยู่จึงจำเป็นต้องแยกไซแลนออกจากลิกนินก่อน ในขั้นตอนการสกัดด้วยวิธีนี้ เป็นการทำลายพันธะ lignin-carbohydrate linkages ซึ่งประกอบด้วยพันธะไฮโดรเจนเชื่อมต่อกันระหว่างพอลิแซคคาร์ไรต์ในองค์ประกอบของผนังเซลล์นั้นๆ ดังนั้นการสกัดด้วยวิธีดังนี้เป็นไปทำลายพันธะแบบสุ่มที่เชื่อมต่อกันอยู่เพื่อปลดปล่อยไซแลนออกมา (Aachary *et al.*, 2009) การใช้ NaBH<sub>4</sub> ซึ่งเป็นสารกัดกร่อนร่วมด้วย สามารถทำลายพันธะที่ยึดเกาะไซแลนออกมาได้ง่ายกว่าการใช้ KOH เพียงอย่างเดียว



ภาพที่ 18 ผลของชนิดสารละลายต่างต่อปริมาณไซแลนที่สกัดได้ ที่ระยะเวลาต่างๆ; (●) 24% KOH + 1% NaBH<sub>4</sub>, (■) 24% KOH

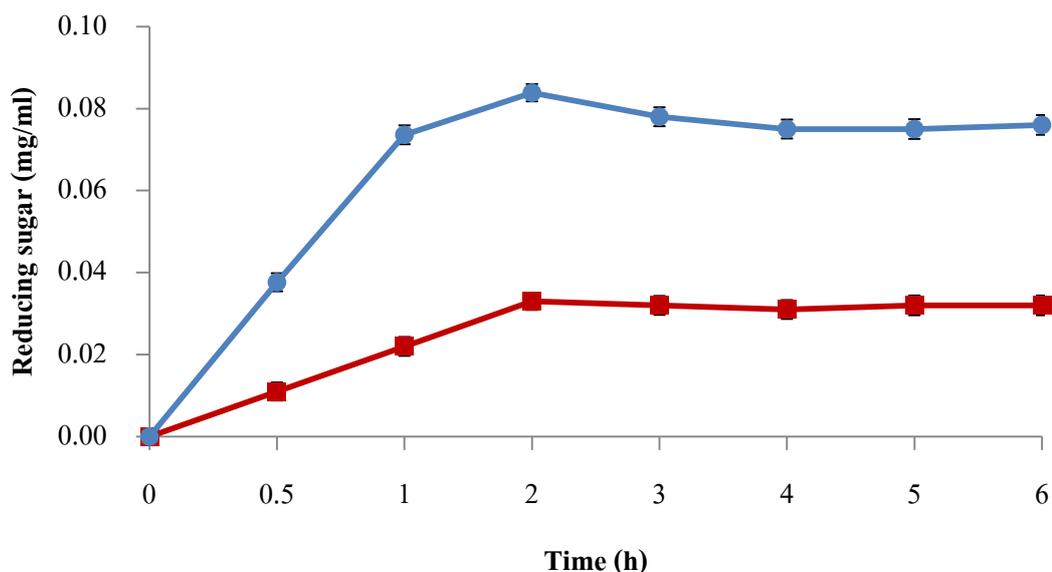
เมื่อเปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลทั้งหมดพบว่า การสกัดที่ชั่วโมงที่ 2 ให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดสูงที่สุด แต่เมื่อเปรียบเทียบชนิดตัวทำละลายพบว่า 24% KOH + 1% NaBH<sub>4</sub>สามารถให้ปริมาณน้ำตาลได้สูงถึง 1.338 mg/ml ขณะที่ตัวทำละลาย 24% KOH ให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเพียง 0.537mg/ml ดังภาพที่ 19



ภาพที่ 19 ผลของชนิดสารละลายต่างต่อปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่สกัดได้ที่ระยะเวลาต่างๆ;

(●) 24% KOH + 1% NaBH<sub>4</sub>, (■) 24% KOH

และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ก็ให้ผลในลักษณะเช่นเดียวกัน คือการสกัดที่ชั่วโมงที่ 2 ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างชนิดตัวทำละลายพบว่า 24% KOH + 1% NaBH<sub>4</sub> ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ได้สูงถึง 0.084 mg/ml ขณะที่ตัวทำละลาย 24% KOH ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพียง 0.033mg/ml ดังภาพที่ 20



ภาพที่ 20 ผลของชนิดสารละลายต่างต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ที่ระยะเวลาต่างๆ;

(●) 24% KOH + 1% NaBH<sub>4</sub>, (■) 24% KOH

ดังนั้นชนิดตัวทำละลายต่างที่สกัดไซแลนได้สูงที่สุดคือ 24%KOH+1%NaBH<sub>4</sub> สกัดที่อุณหภูมิห้อง นาน 2 ชั่วโมง

### 3.2 ผลของการสกัดด้วยกรดอ่อนภายใต้ความร้อนขึ้นและความดัน

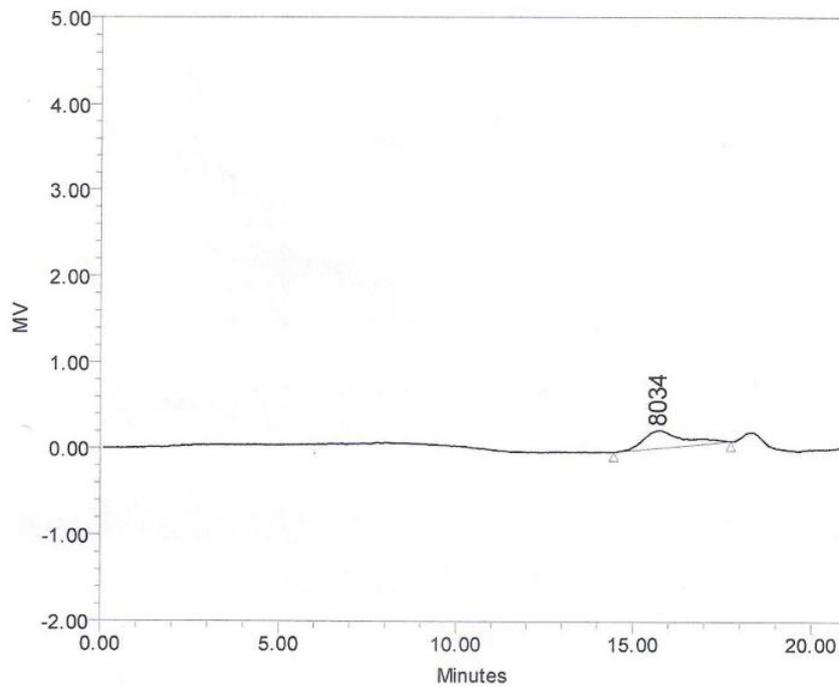
#### 3.2.1 ผลของสภาวะสกัดต่อน้ำหนักโมเลกุลและปริมาณไซแลน

ทำการสกัดไซแลนจากขี้เลื่อยไม้ยางพาราโดยใช้กรดอะซิติกที่ความเข้มข้นร้อยละ 0, 2.5 และ 5 อุณหภูมิที่ใช้คือ 100, 150 และ 200 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลา 0, 60 และ 120 นาที วางแผนการทดลองทางสถิติโดยใช้โปรแกรม Design Expert เวอร์ชัน 6 ออกแบบการทดลองเป็น Box-Behnken เพื่อเปรียบเทียบผลของทุกสภาวะที่ใช้สกัดต่อน้ำหนักโมเลกุลของไซแลนและไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ที่สกัดได้ พบว่าการสกัดด้วยกรดอะซิติกความเข้มข้นร้อยละ 0 อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 0 นาที ได้ไซแลนที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงสุด คือ 109,200 ดาลตัน สภาวะที่ใช้กรด

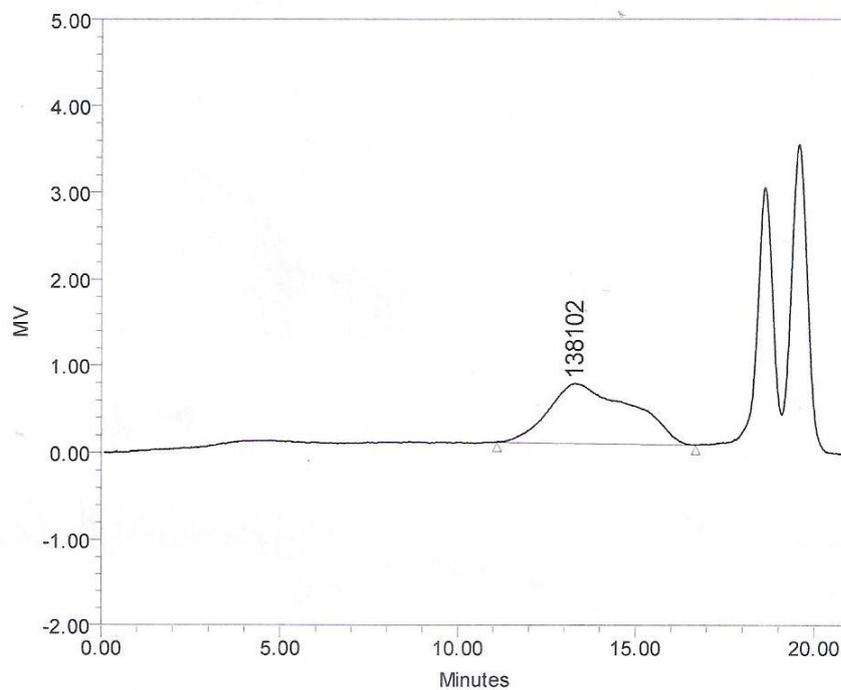
อะซิติกความเข้มข้นร้อยละ 0 อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 60 นาที ได้ไซแลนที่มีน้ำหนักโมเลกุลรองลงมา คือ 108,070 ดาลตัน และการสกัดด้วยกรดอะซิติกความเข้มข้นร้อยละ 2.5 อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 0 นาที ได้ไซแลนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำสุด คือ 74,886 ดาลตัน (ตารางที่ 4) จากการทดลองนี้พบว่ากรดอะซิติกสามารถทำให้ไซแลนที่ยึดเกาะอยู่กับองค์ประกอบอื่นๆ ในเนื้อไม้ยางพาราถูกทำลายละลายออกมาเมื่อเลือกใช้ตัวทำละลายที่มีสภาวะเป็นกรดได้ดีกว่าการใช้ความร้อนอย่างเดียว เนื่องจากในการใช้ความร้อนร่วมกับกรดจะทำให้สภาวะในการสกัดมีความรุนแรงเพิ่มขึ้น สามารถทำลายการยึดเกาะของไซแลนกับองค์ประกอบอื่นได้ ในขณะที่เดียวกันก็สามารถย่อยไซแลนให้มีขนาดโมเลกุลเล็กลง ไซแลนที่มีขนาดโมเลกุลเล็กกว่าจะละลายน้ำได้ดีกว่าเมื่อความเข้มข้นของกรดอะซิติกมีมากยิ่งทำให้ไซแลนสามารถละลายออกมาได้ดี อีกทั้งระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดยิ่งเวลามากก็ยิ่งเพิ่มปริมาณไซแลนให้มากขึ้นด้วย สภาวะในการสกัดที่รุนแรงเพิ่มขึ้นจะย่อยไซแลนได้มากกว่าทำให้ได้ขนาดโมเลกุลที่เล็กลง น้ำหนักโมเลกุลของไซแลนที่สภาวะการสกัดด้วยกรดอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 0 ที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส นาน 120 นาที (ภาพที่ 21) พบว่าไซแลนขนาดโมเลกุลต่ำถูกสกัดออกมาได้เพียงเล็กน้อย เมื่อสภาวะสกัดมีความรุนแรงขึ้นเป็นกรดอะซิติกร้อยละ 2.5 อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส สักตนาน 120 นาที (ภาพที่ 22) พบว่า สามารถสกัดไซแลนได้ปริมาณสูงขึ้นและมีขนาดโมเลกุลใหญ่ขึ้น การสกัดเมื่อใช้กรดอะซิติกสูงขึ้นไปเป็นร้อยละ 5 พบว่า ระยะเวลาและอุณหภูมิในการสกัดมีผลต่อน้ำหนักโมเลกุลของไซแลนที่สกัดได้ โดยที่ระยะเวลาแปรผันตรงต่อน้ำหนักโมเลกุลมากกว่าอุณหภูมิในการสกัดที่เพิ่มขึ้น ดังภาพที่ 23-24

ตารางที่ 4 ผลของสภาวะที่ใช้สกัดซีลีเนียมอย่างพาราด้วยกรดอ่อนภายใต้ความร้อนขึ้นและความดัน  
ต่อน้ำหนักโมเลกุลของไซแลน

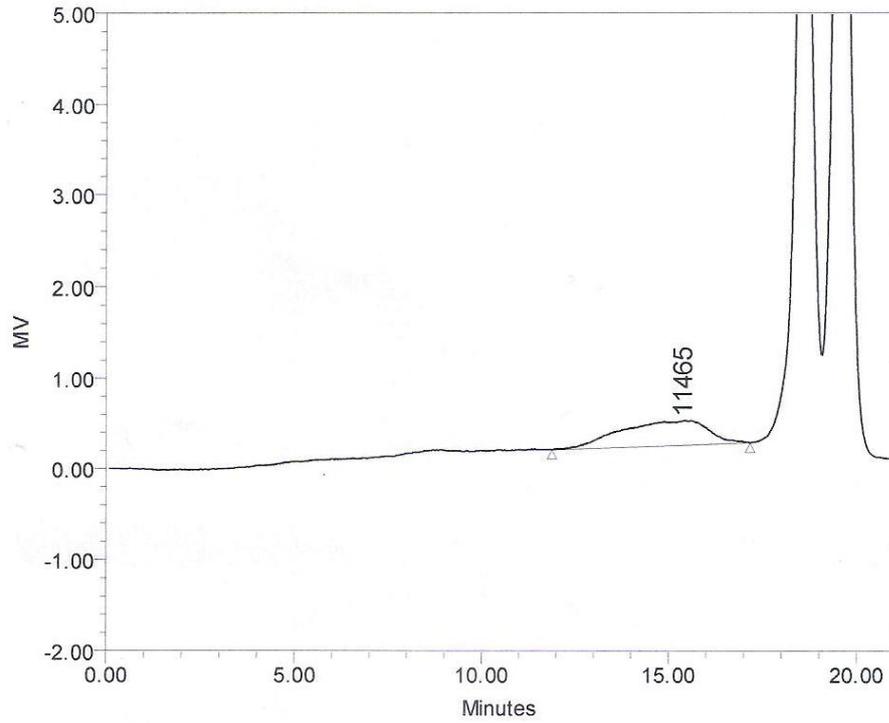
Treatment	Conc. (%)	Temp. (°C)	Time (min)	MW (daltons)	Pressure (bar)
1	0	100	60	96687	3
2	0	150	0	109200	3
3	0	150	120	107910	3
4	0	200	60	108070	3
5	2.5	100	0	74886	3
6	2.5	100	120	81678	3
7	2.5	150	60	79600	4
8	2.5	200	0	77969	4
9	2.5	200	120	85829	4
10	5	100	60	97590	4
11	5	150	0	83387	5
12	5	150	120	75821	5
13	5	200	60	98089	5



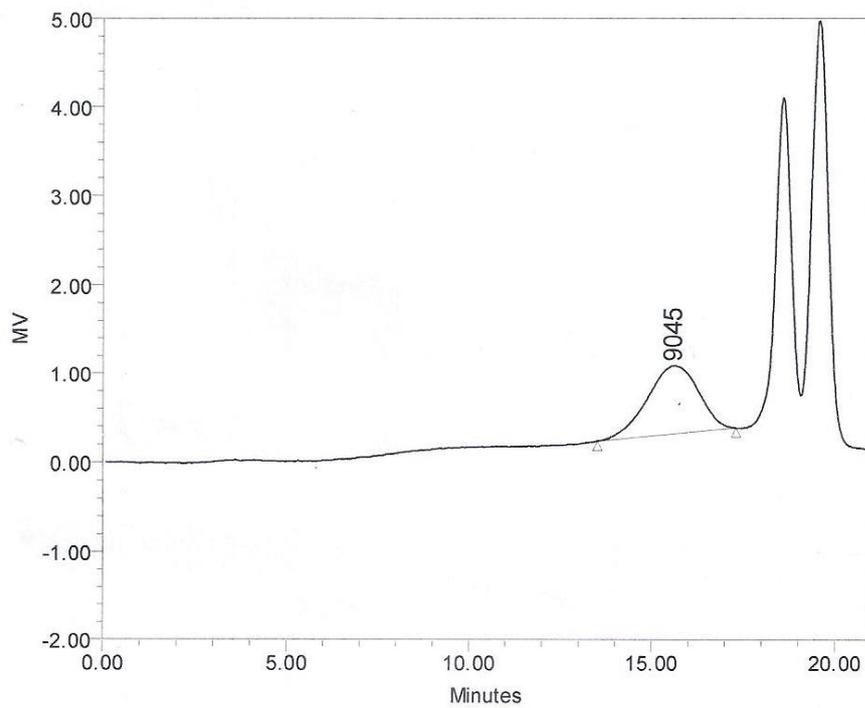
ภาพที่ 21 โครมาโตแกรมแสดงน้ำหนักโมเลกุลของไซแลนที่สกัดได้จากขี้เลื่อยไม้ยางพาราด้วยกรดอะซิติกร้อยละ 0 อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 120 นาที



ภาพที่ 22 โครมาโตแกรมแสดงน้ำหนักโมเลกุลของไซแลนที่สกัดได้จากขี้เลื่อยไม้ยางพาราด้วยกรดอะซิติกร้อยละ 2.5 อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 120 นาที



ภาพที่ 23 โครมาโตแกรมแสดงน้ำหนักโมเลกุลของไซแลนที่สกัดได้จากขี้เลื่อยไม้ยางพาราด้วยกรดอะซิติกร้อยละ 5 อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 120 นาที



ภาพที่ 24 โครมาโตแกรมแสดงน้ำหนักโมเลกุลของไซแลนที่สกัดได้จากขี้เลื่อยไม้ยางพาราด้วยกรดอะซิติกร้อยละ 5 อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 60 นาที

นำค่าที่ได้จากการผลทดลองทำการสกัดไซแลนจากขี้เลื่อยไม้ยางพาราโดยใช้กรดอะซิติกที่ความเข้มข้นร้อยละ 0, 2.5 และ 5 อุณหภูมิที่ใช้คือ 100, 150 และ 200 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลา 0, 60 และ 120 นาที โดยวางแผนการทดลองทางสถิติ โดยใช้โปรแกรม Design Expert เวอร์ชัน 6 ออกแบบการทดลองเป็น Box-Behnken ให้อยู่ในรูป RSM (response surface method) เพื่อเปรียบเทียบผลของทุกสภาวะที่ใช้สกัดต่อน้ำหนักโมเลกุลของไซแลนที่สกัดได้ภายหลังการวิเคราะห์ผลของตัวแปร (Analysis of variance, ANOVA) และสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ตามแบบจำลองสมการกำลังสอง (Full quadratic model) ได้สมการแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ดังสมการนี้

$$Y = +79600.00 + 2389.50A + 724.50B - 8372.50C + 267.00 AB - 2721.00AC - 1569.00 BC + 3260.00A^2 - 2769.50B^2 + 17249.00C^2$$

เมื่อ  $Y =$  น้ำหนักโมเลกุลของไซแลน (ดาลตัน)  
 $A =$  อุณหภูมิในการสกัด (องศาเซลเซียส)  
 $B =$  เวลาที่ใช้ในการสกัด (นาที)  
 $C =$  ความเข้มข้นของกรดอะซิติก (ร้อยละ)

จากสมการเมื่อทดลองแทนค่าของตัวแปรต่างๆ ลงในสมการด้วยตัวเลขเดียวกับที่ใช้จริงในการทดลองเพื่อทำนายน้ำหนักโมเลกุลที่ควรได้และนำมาพล็อตกราฟเพื่อเปรียบเทียบกับระหว่างค่าที่ได้จากการทำนายและค่าที่ได้จากการทดลองจริงพบว่ากราฟมีลักษณะแสดงดังภาพที่ 25 ซึ่งพบว่าปริมาณน้ำหนักโมเลกุลที่ได้จากการทำนายและที่ได้จากการทดลองจริงมีค่าใกล้เคียงกันโดยมีค่า  $R^2$  (Multiple correlation coefficient) ที่แสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างค่าทั้งสองค่าและความน่าเชื่อถือของสมการแบบจำลองที่ได้เท่ากับ 0.8432 ซึ่งเข้าใกล้ 1 แสดงว่าน้ำหนักโมเลกุลไซแลนที่ได้จากการทำนายมีค่าใกล้เคียงกับค่าจริงที่ได้จากการทดลองร้อยละ 84.3

Design-Expert® Software

MW of xylan

109200

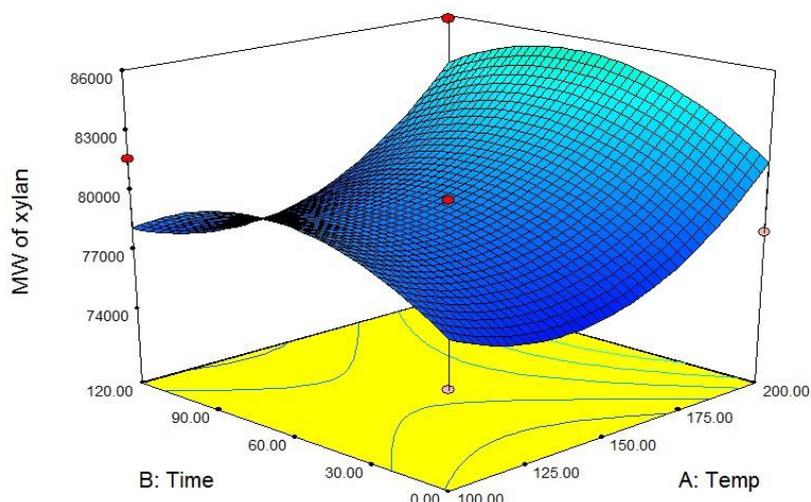
74886

X1 = A: Temp

X2 = B: Time

Actual Factor

C: Conc = 2.50



ภาพที่ 25 ผลของสภาวะที่ใช้สกัดซีเลื้อยไม้อย่างพาราด้วยกรดอ่อนภายใต้ความร้อนขึ้นและความดันต่อน้ำหนักโมเลกุลของไซแลน ด้วยโปรแกรม Design Expert แสดงในรูปแบบ RSM

เมื่อเปรียบเทียบผลของทุกสภาวะที่ใช้สกัดต่อปริมาณของไซแลนที่สกัดได้ภายหลังการวิเคราะห์ผลของตัวแปร (Analysis of variance, ANOVA) และสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ตามแบบจำลองสมการกำลังสอง (Full quadratic model) ได้สมการแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ดังสมการนี้

$$Y = +0.35+0.46A+0.091B+0.076C+0.12AB-0.015AC+0.15BC-3.750E-003A^2+0.72B^2+0.28C^2$$

เมื่อ  $Y$  = ปริมาณไซแลน (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

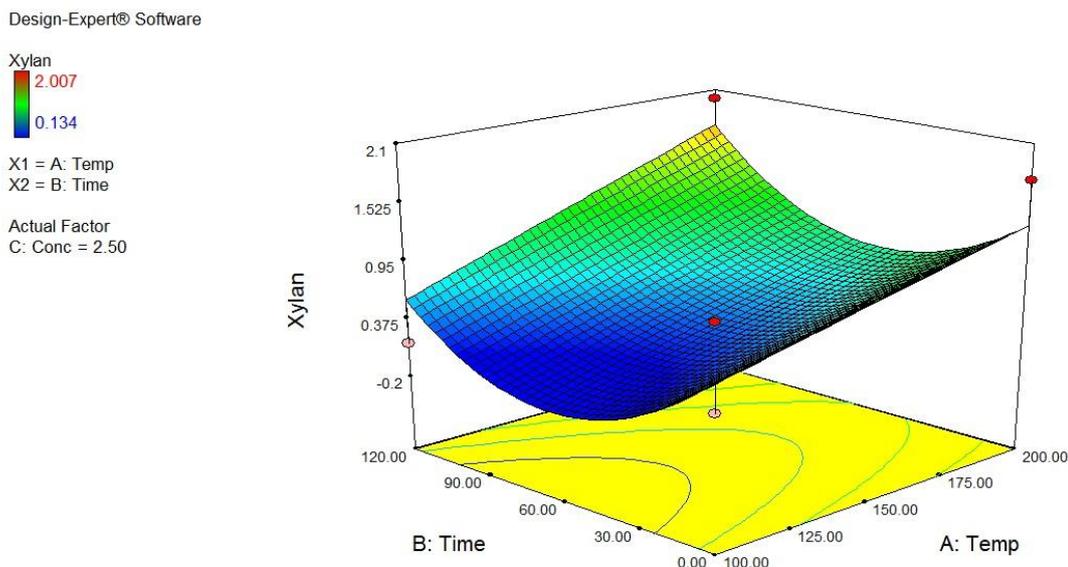
$A$  = อุณหภูมิในการสกัด (องศาเซลเซียส)

$B$  = เวลาที่ใช้ในการสกัด (นาที)

$C$  = ความเข้มข้นของกรดอะซิติก (ร้อยละ)

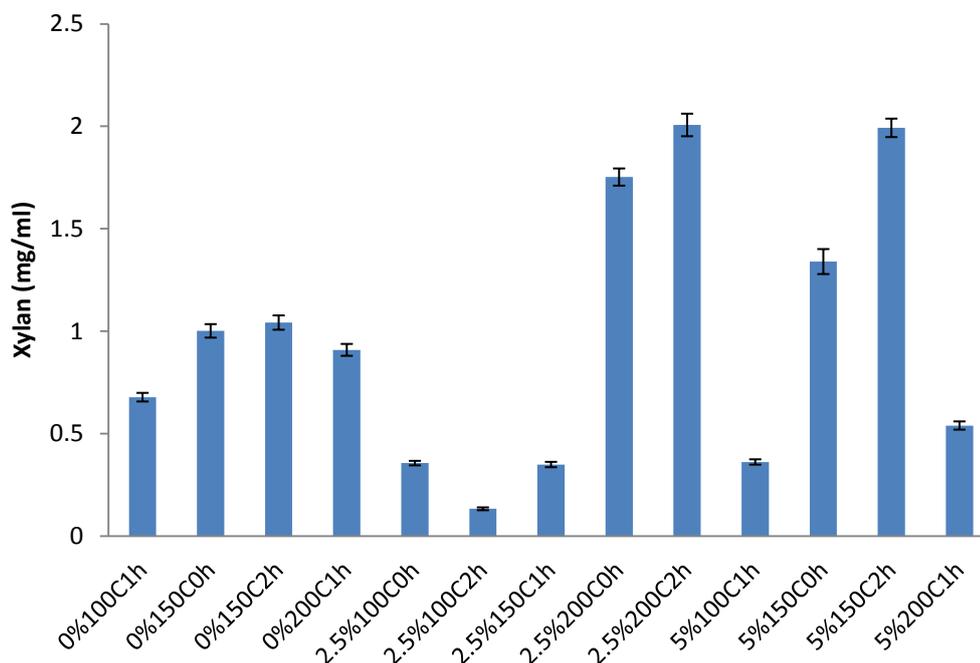
จากสมการเมื่อทดลองแทนค่าของตัวแปรต่างๆลงในสมการด้วยตัวเลขเดียวกับที่ใช้จริงในการทดลองเพื่อทำนายน้ำหนักโมเลกุลที่ควรได้และนำมาพล็อตกราฟเพื่อเปรียบเทียบกับระหว่างค่าที่ได้จากการทำนายและค่าที่ได้จากการทดลองจริงพบว่ากราฟมีลักษณะแสดงดังภาพที่ 26 ซึ่งพบว่า

ปริมาณไซแลนที่ได้จากการทำนายและที่ได้จากการทดลองจริงมีค่าใกล้เคียงกันโดยมีค่า  $R^2$  (Multiple correlation coefficient) ที่แสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างค่าทั้งสองค่าและความน่าเชื่อถือของสมการแบบจำลองที่ได้เท่ากับ 0.7436 ซึ่งเข้าใกล้ 1 แสดงว่าปริมาณไซแลนที่ได้จากการทำนายมีค่าใกล้เคียงกับค่าจริงที่ได้จากการทดลองร้อยละ 74.3



ภาพที่ 26 ผลของสภาวะที่ใช้สกัดซีเลื้อยไม่ยางพาราด้วยกรดอ่อนภายใต้ความร้อนขึ้นและความดันต่อปริมาณไซแลน (mg/ml) ด้วยโปรแกรม Design Expert แสดงในรูปแบบ RSM

เมื่อนำสารสกัดที่สกัดด้วยกรดอะซิติกตามสภาวะต่างๆ ข้างต้นนั้นมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC ผลปรากฏว่า สภาวะที่ใช้กรดอะซิติกความเข้มข้นร้อยละ 2.5 อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 120 นาที ให้ปริมาณไซแลนที่สูงที่สุดเป็น 2.007 mg/ml และพบว่าการสกัดด้วยกรดอะซิติกความเข้มข้นร้อยละ 5 อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 120 นาที ให้ปริมาณไซแลนเป็น 1.993 mg/ml ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) (ภาพที่ 27) นั่นคือความเข้มข้นของกรด อะซิติกที่เพิ่มขึ้นจาก 2.5% เป็น 5.0% สามารถลดอุณหภูมิที่ใช้สกัดลงจาก 200 องศาเซลเซียส เป็น 150 องศาเซลเซียส โดยที่ให้ปริมาณไซแลนที่สกัดได้ไม่แตกต่างกัน การเลือกสภาวะที่จะนำไปใช้ในระดับอุตสาหกรรมจึงต้องคำนึงถึงต้นทุนในการผลิตด้านพลังงานและค่ากรดที่ใช้สกัด ซึ่งการใช้กรดที่ 5% มีความคุ้มค่ากว่าเพราะสามารถลดต้นทุนการผลิตลงได้



ภาพที่ 27 ผลของสภาวะสกัดด้วยกรดอะซิติกต่อปริมาณไซแลน

### 3.2.3 ผลของสภาวะสกัดต่อน้ำหนักโมเลกุลและปริมาณไซโลโอลิโกแซคคาไรด์

เมื่อเปรียบเทียบผลของทุกสภาวะที่ใช้สกัดต่อปริมาณของไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ ที่สกัดได้ภายหลังการวิเคราะห์ผลของตัวแปร (Analysis of variance, ANOVA) และสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ตามแบบจำลองสมการกำลังสอง (Full quadratic model) ได้สมการแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ดังสมการนี้

$$Y = +21.82 - 0.83A - 1.01B + 19.54C + 2.71AB - 0.20AC - 0.17BC + 0.99A^2 + 2.10 B^2 - 3.83C^2$$

เมื่อ  $Y$  = ปริมาณไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

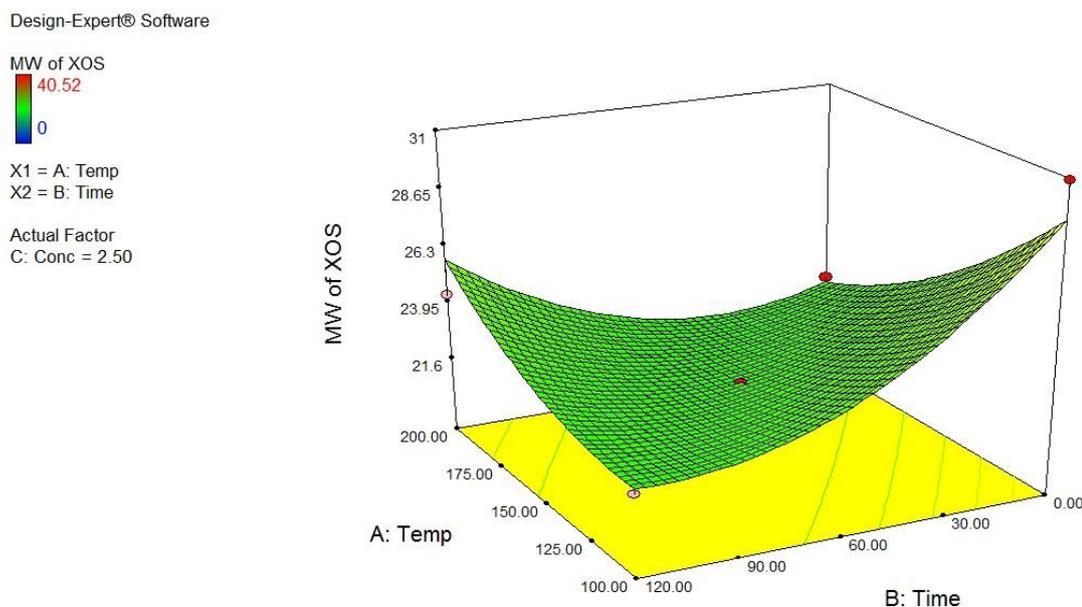
$A$  = อุณหภูมิที่ใช้สกัด (องศาเซลเซียส)

$B$  = เวลาที่ใช้ในการสกัด (นาที)

$C$  = ความเข้มข้นของกรดอะซิติก (ร้อยละ)

จากสมการเมื่อทดลองแทนค่าของตัวแปรต่างๆลงในสมการด้วยตัวเลขเดียวกับที่ใช้จริงในการทดลองเพื่อทำนายน้ำหนักโมเลกุลที่ควรได้และนำมาพล็อตกราฟเพื่อเปรียบเทียบกันระหว่างค่าที่ได้จากการทำนายและค่าที่ได้จากการทดลองจริงพบว่ากราฟมีลักษณะแสดงดังภาพที่ 28 ซึ่งพบว่าน้ำหนักโมเลกุลที่ได้จากการทำนายและที่ได้จากการทดลองจริงมีค่าใกล้เคียงกันโดยมีค่า  $R^2$

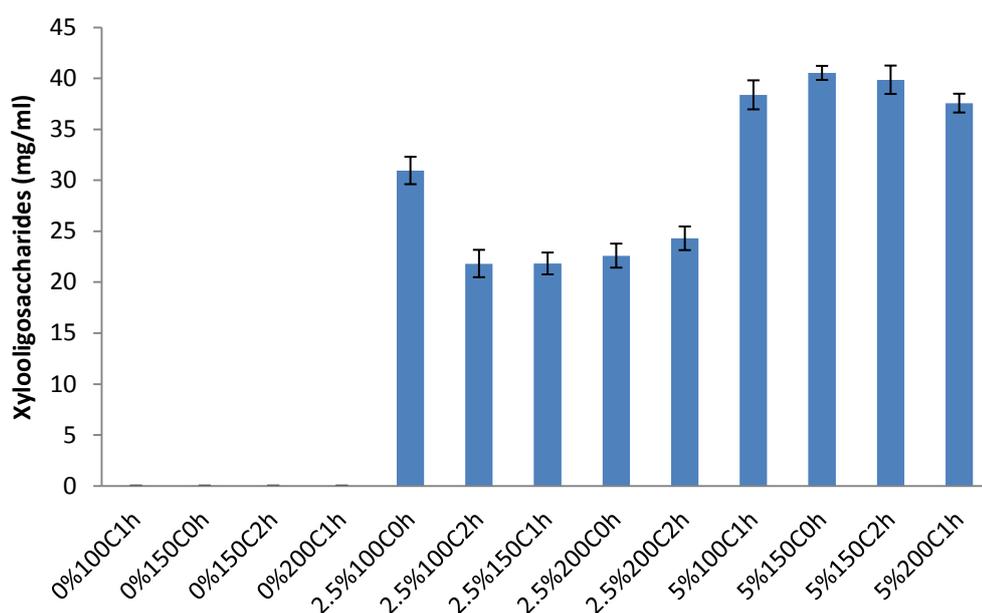
(Multiple correlation coefficient) ที่แสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างค่าทั้งสองค่าและความน่าเชื่อถือของสมการแบบจำลองที่ได้เท่ากับ 0.9964 ซึ่งเข้าใกล้ 1 แสดงว่าน้ำหนักโมเลกุลไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ที่ได้จากการทำนายมีค่าใกล้เคียงกับค่าจริงที่ได้จากการทดลองร้อยละ 99.6



ภาพที่ 28 ผลของสภาวะที่ใช้สกัดซีเลื้อยไม่ยางพาราด้วยกรดอ่อนภายใต้ความร้อนขึ้นและความดันต่อน้ำหนักโมเลกุลของไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ ด้วยโปรแกรม Design Expert แสดงในรูปแบบ RSM

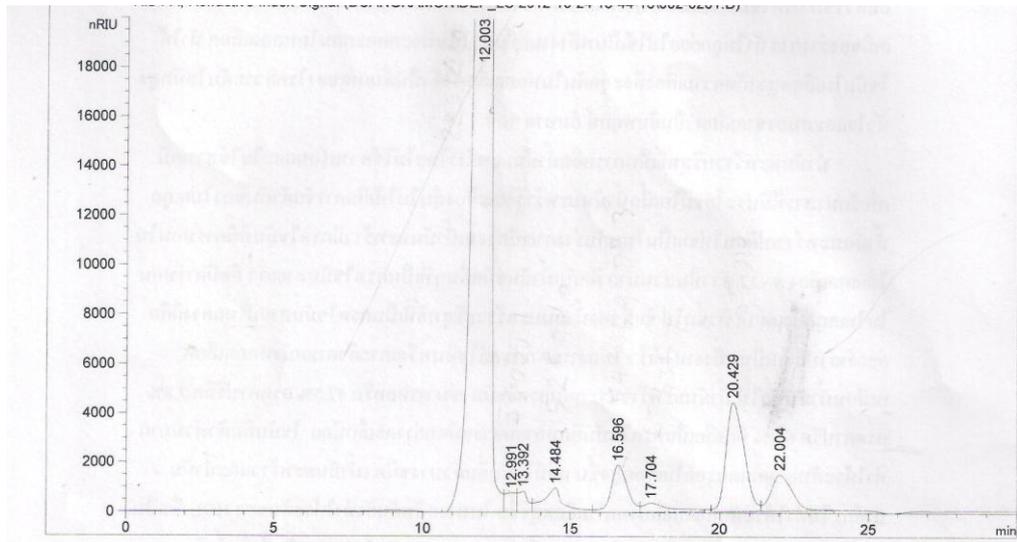
จากการสกัดด้วยสารละลายกรดนั้นเมื่อนำมาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC พบว่าสารสกัดนอกจากมีองค์ประกอบเป็นไซแลนแล้วยังประกอบด้วยไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ต่างๆ คือ ไซโลไบโอส (DP2) ไซโลไตรโอส (DP3) ไซโลเพนตาโอส (DP5) และไซโลกลูแคนโอลิโกแซคคาไรด์ (DP6, 7, 8) เมื่อนำสารสกัดที่สกัดด้วยกรดอะซิติกตามสภาวะต่างๆ ข้างต้นนั้นมาวิเคราะห์ปริมาณไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ด้วยเครื่อง HPLC พบว่า สภาวะที่ใช้สกัดด้วยกรดอะซิติกความเข้มข้นร้อยละ 5 อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 0 นาที ให้ปริมาณไซโลโอลิโกแซคคาไรด์มากที่สุด (40.522 mg/ml) แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P > 0.05$ ) กับสภาวะที่ใช้กรดอะซิติกความเข้มข้นร้อยละ 5 อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 60 นาที (38.3692 mg/ml) และสภาวะที่ใช้กรดอะซิติกความเข้มข้นร้อยละ 5 อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 120 นาที ได้ปริมาณไซโลโอลิโกแซคคาไรด์เป็น 39.850 mg/ml ส่วนการสกัดที่ใช้กรดอะซิติกความเข้มข้นร้อยละ 0 ไม่พบไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ ดังแสดงในภาพที่ 29 Akpinar (2010) กล่าวว่า การใช้กรดอะซิติกที่ความเข้มข้นสูงร่วมกับการใช้

อุณหภูมิสูงในการสกัดทำให้สามารถแยกไซแลนออกจากโครงสร้างผนังเซลล์ของพืชได้ดี และการสกัดด้วยกรดที่อุณหภูมิสูงมักได้ไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ร่วมด้วย เนื่องจากการย่อยไซแลนให้มีขนาดโมเลกุลเล็กลง โดยในช่วงแรกของการสกัดได้ DP 2 และ 3 เป็นส่วนใหญ่ เมื่อเวลาสกัดเพิ่มขึ้น พบว่าได้ DP สูงขึ้นเป็น 4, 5, 6, 7 และ 8 ตามลำดับ อย่างไรก็ตามหากเวลาในการสกัดนานมากขึ้น ทำให้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวเกิดขึ้นมา คือ น้ำตาลไซโลส ซึ่งเป็นน้ำตาลที่ไม่ต้องการมีมากขึ้นในระบบ ทั้งนี้เนื่องมาจากไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ถูกย่อยต่อเป็นไซโลสในที่สุด

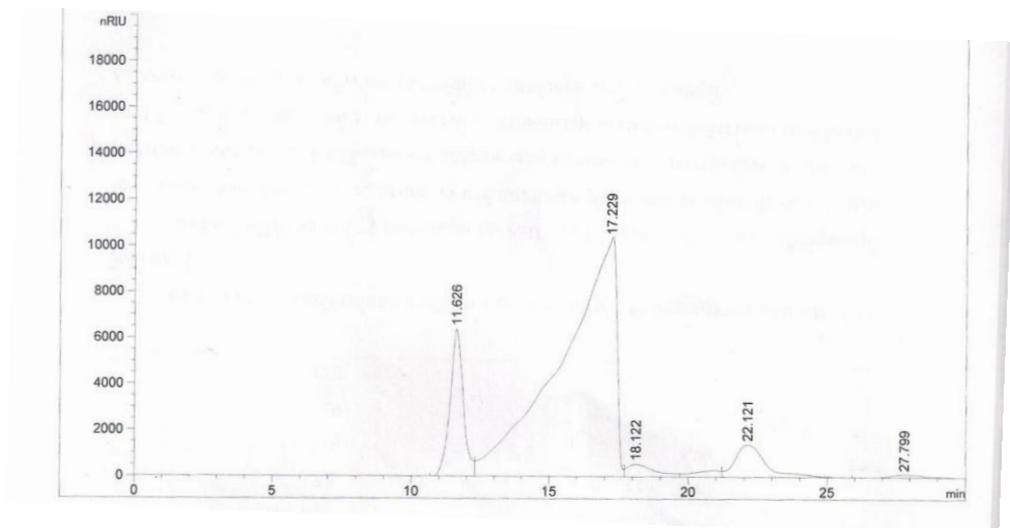


ภาพที่ 29 ผลของสภาวะสกัดด้วยกรดอะซิติกต่อปริมาณไซโลโอลิโกแซคคาไรด์

เมื่อเปรียบเทียบการสกัดไซแลนจากขี้เลื่อยไม้ยางพาราด้วยต่างและกรดภายใต้ความร้อนและความดัน พบว่าในการสกัดด้วยต่างให้ปริมาณไซแลนที่สูงกว่าการสกัดด้วยกรดภายใต้ความร้อนและความดัน อีกทั้งเมื่อทดลองนำไซแลนที่สกัดได้ด้วยต่างไปย่อยต่อด้วยเอนไซม์ ไซแลนเนสพบว่าได้อิโกลิโกแซคคาไรด์ที่มีขนาด DP แยกออกจากกันอย่างชัดเจน ซึ่งต่างจากการสกัดด้วยกรดภายใต้ความร้อนและความดัน (ภาพที่ 30 และ 31) ได้ไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ที่มี DP ไม่สามารถแยกออกจากกันอย่างชัดเจน จึงเลือกสภาวะการสกัดด้วยต่าง ที่ใช้ 24% KOH + 1% NaBH<sub>4</sub> สกัดที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 2 ชั่วโมง เพื่อใช้ในการทดลองขั้นตอนการย่อยไซแลนด้วยเอนไซม์ ไซแลนเนสต่อไป



ภาพที่ 30 โครมาโตแกรมแสดงปริมาณไซแลนและไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ที่สภาวะสกัดด้วยต่าง 24% KOH + 1% NaBH<sub>4</sub> สกัดที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 2 ชั่วโมง



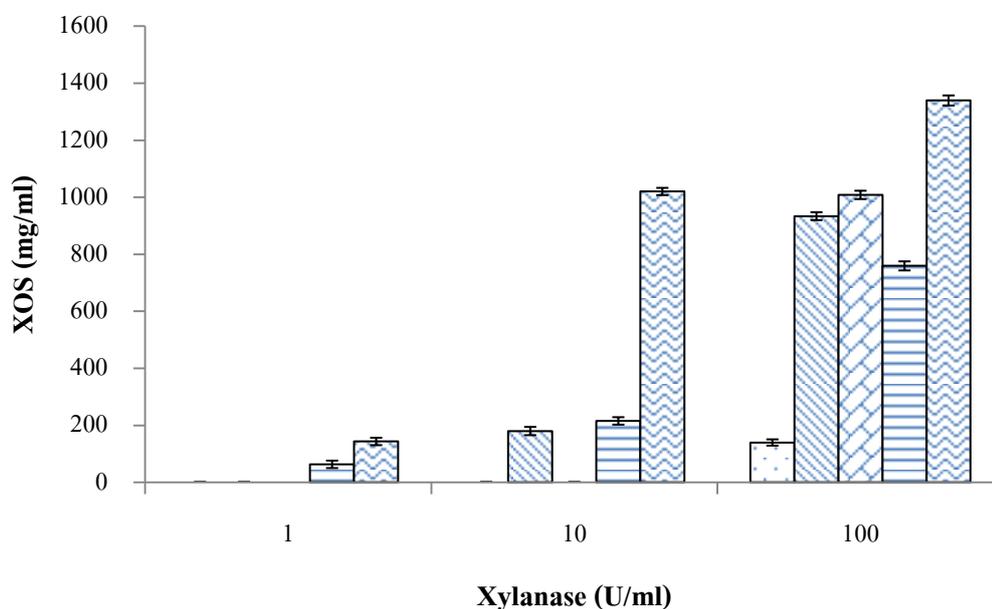
ภาพที่ 31 โครมาโตแกรมแสดงปริมาณไซแลนและไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ที่สภาวะสกัดด้วยกรด ภายใต้ความร้อนขึ้นและความดัน

#### 4. ผลของการย่อยไซแลนด้วยเอนไซม์

##### 4.1 ผลของความเข้มข้นของเอนไซม์ไซแลนเนส

การย่อยไซแลนที่ได้จากการสกัดขี้เลื่อยไม้ยางพาราด้วยต่าง 24% KOH + 1% NaBH<sub>4</sub> สกัดที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 2 ชั่วโมง เมื่อนำมาย่อยด้วยเอนไซม์ไซแลนเนสชนิด endo-1,4-β-xylanase จากเชื้อ *Trichoderma longibrachiatum* ที่ระดับกิจกรรมเอนไซม์ ที่ 1, 10 และ 100

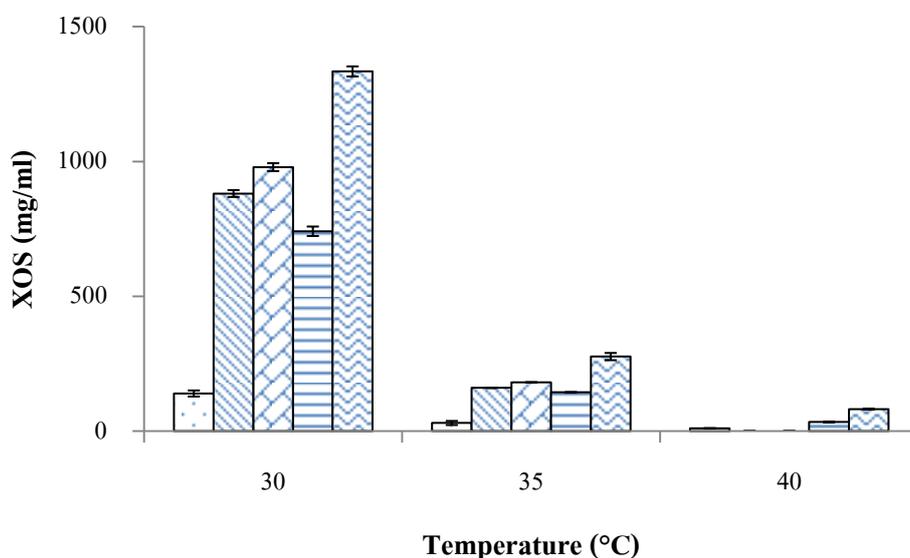
U/ml ทำปฏิกิริยาในระบบถังกวนหมุนขนาด 3 ลิตร ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 ชั่วโมง พบว่าความเข้มข้นของเอนไซม์ไซแลนเนสมีผลต่อการย่อยไซแลนให้ได้เป็นไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ไซแลนเนส 1 U/ml เกิดการย่อยได้ไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ในปริมาณน้อยมาก (62.694 mg/ml) เมื่อวิเคราะห์ชนิดของไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ด้วย HPLC พบว่าเป็น ไซโลไบโอส (xylobiose: DP2) และมีน้ำตาลไซโลส (xylose: DP1) ซึ่งเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่ไม่ต้องการป้อนอยู่ด้วย เมื่อเพิ่มปริมาณความเข้มข้นของเอนไซม์ไซแลนเนสเป็น 10 U/ml พบว่าปริมาณไซโลโอลิโกแซคคาไรด์เพิ่มมากขึ้นเป็น 394.577 mg/ml โดยชนิดของไซโลโอลิโกแซคคาไรด์คือ ไซโลไตรโอส (xylotriose: DP3) และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์ไซแลนเนสเป็น 100 U/ml พบว่าการย่อยเพิ่มมากขึ้น โดยพบทั้งไซโลกลูแคนโอลิโกแซคคาไรด์ (xyloglucan oligosaccharides: DP6, 7, 8), ไซโลเพนตาโอส (xylopentose: DP5), ไซโลไตรโอส (xylotriose: DP3), ไซโลไบโอส (xylobiose: DP2) และไซโลส (ภาพที่ 32) จึงเลือกความเข้มข้นของเอนไซม์ไซแลนเนสที่ใช้ในขั้นตอนนี้ คือ 100U/ml ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่สามารถย่อยไซแลนได้ดีที่สุด เพื่อนำไปทดลองผลของอุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยไซแลนเป็นไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ต่อไป



ภาพที่ 32 ผลของความเข้มข้นของเอนไซม์ไซแลนเนสที่ใช้ย่อยไซแลนเป็นไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ชนิดต่างๆ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 ชั่วโมง; (□) XGO, (▨) XPE, (▩) XTR, (▧) XBI, (▦) Xylose

#### 4.2 ผลของอุณหภูมิต่อการทำงานของเอนไซม์ไซแลนเนส

นำสารสกัดไซแลนจากสภาวะการสกัดด้วยต่าง 24% KOH + 1% NaBH<sub>4</sub> อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง โดยใช้เอนไซม์ไซแลนเนสความเข้มข้น 100 U/ml ย่อยที่อุณหภูมิ 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง ผลปรากฏว่า ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เอนไซม์ไซแลนเนสสามารถทำงานได้ดีที่สุด ซึ่งสามารถย่อยไซแลนเป็นไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ ชนิดต่างๆ คือ ไซโลกลูแคนโอลิโกแซคคาไรด์ (139.44 mg/ml), ไซโลเพนตาออส (881.53 mg/ml), ไซโลไตรออส (979.58 mg/ml), ไซโลไบออส (741.41 mg/ml) และไซโลส (1334.38 mg/ml) ขณะที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เอนไซม์ไซแลนเนสย่อยได้ไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ในปริมาณที่น้อยกว่า คือ ไซโลกลูแคนโอลิโกแซคคาไรด์ (30.02 mg/ml), ไซโลเพนตาออส (160.33 mg/ml), ไซโลไตรออส (180.71 mg/ml), ไซโลไบออส (143.69 mg/ml) และไซโลส (276.37 mg/ml) และพบว่าเมื่ออุณหภูมิเป็น 40 องศาเซลเซียสเอนไซม์ไซแลนเนสย่อยไซแลนได้น้อยมาก โดยมีปริมาณไซโลกลูแคนโอลิโกแซคคาไรด์ (10.210 mg/ml), ไซโลไบออส (33.454 mg/ml) และไซโลส (81.331 mg/ml) ดังภาพที่ 33 แสดงให้เห็นว่าเอนไซม์ทางการค้า endo-1,4- $\beta$ -xylanase จากเชื้อ *Trichoderma longibrachiatum* สามารถทำงานที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสได้ดีกว่าที่ 40 องศาเซลเซียส ผลจากการย่อยไซแลนให้ปริมาณของไซโลสที่มากที่สุด รองลงมาคือ ไซโลไบออส ไซโลไตรออส ไซโลเพนตาออส และไซโลกลูแคนโอลิโกแซคคาไรด์ ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับ Bian และคณะ (2013) ใช้เอนไซม์ชนิดเดียวกันนี้ย่อยไซแลนจากขานอ้อย

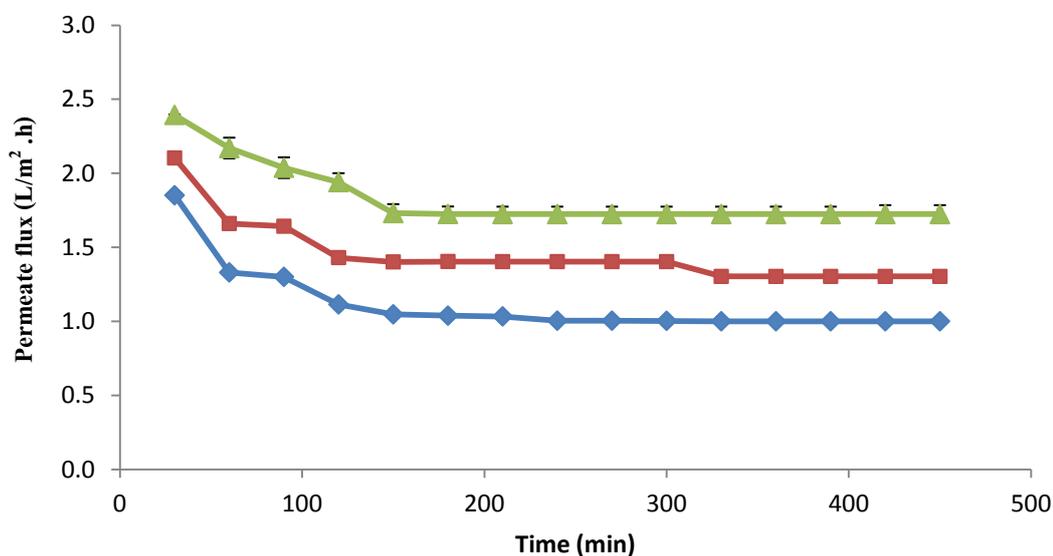


ภาพที่ 33 ผลของอุณหภูมิต่อการทำงานของไซแลนเนส (100 U/ml) เพื่อย่อยไซแลนเป็นโอลิโกแซคคาไรด์ชนิดต่างๆ เป็นเวลา 6 ชั่วโมง; (□) XGO, (▨) XPE, (▩) XTR, (▧) XBI, (■) Xylose

## 5. การทำบริสุทธิ์ไซโลโอลิโกแซคคาไรด์

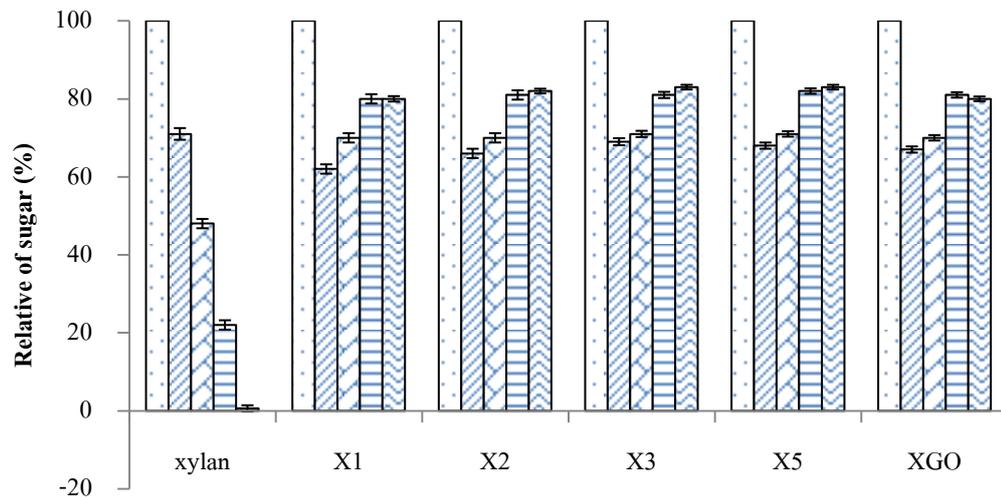
### 5.1 ผลของแรงดันในการกรองแยกด้วยเมมเบรนชนิดอัลตราขนาด 10 กิโลดาลตัน

จากการศึกษาการสกัดและการย่อยไซแลนจากซีเลื้อยไม้ยางพาราให้ได้เป็นไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ พบว่ามีไซแลนที่ไม่สามารถย่อยหมด และน้ำตาลไซโลสเหลืออยู่ ซึ่งน้ำตาลไซโลสเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่ไม่ต้องการ เนื่องจากไม่มีคุณสมบัติการเป็นพรีไบโอติก และไม่จัดอยู่ในกลุ่มของไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ ดังนั้นจึงต้องมีการกำจัดน้ำตาลไซโลสและไซแลนออกไป โดยศึกษาการแยกด้วยเมมเบรนชนิดอัลตราฟิเตรชันขนาด 10 กิโลดาลตันเพื่อทำการแยกไซแลนซึ่งมีโมเลกุลใหญ่ที่สุดออกไปก่อน จากการศึกษาใช้ความดันที่ 1, 2 และ 3 บาร์ผลการศึกษาพบว่าค่าฟลักซ์มีค่าลดลงอย่างรวดเร็วในช่วงแรกและเข้าสู่ภาวะคงที่ (ภาพที่ 34) เนื่องจากเกิดการสะสมชั้นเค้กที่บริเวณผิวหน้าเมมเบรน สาเหตุการลดลงของค่าฟลักซ์คือปรากฏการณ์ concentration polarization และการเกิดฟาวลิง (fouling) (Cheryan, 1986) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Jiffirin และคณะ (1993) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงฟลักซ์ของไวน์เมื่อกรองผ่านเมมเบรน ซึ่งพบว่าค่าฟลักซ์ลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 20 นาทีแรก แต่ฟาวลิงที่เกิดขึ้นภายในรูพรุนและผิวหน้าของเมมเบรนส่งผลให้ค่าฟลักซ์ลดลงอย่างรวดเร็ว และสอดคล้องกับการทดลองของ Chockchai (2004) ศึกษาค่าฟลักซ์ต่อการแยกกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์บนเมมเบรนชนิดอัลตราโดยใช้เอนไซม์เบต้ากาแลคโตซิเดสจากเชื้อ *Kluyveromyces lactis* พบว่า เมื่อความดันเพิ่มขึ้นค่าฟลักซ์มีค่าลดลง

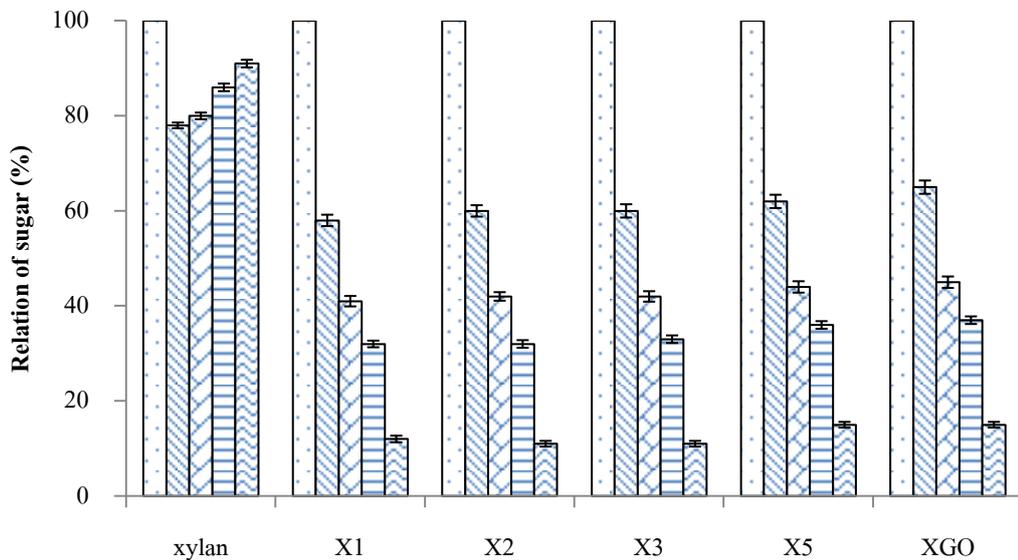


ภาพที่ 34 ผลของค่าความแตกต่างของความดันต่อค่าฟลักซ์ของการกรองแยกไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ด้วยเมมเบรนชนิดอัลตราขนาด MWCO 10KDa ที่อุณหภูมิห้อง; (◆) 1 bar, (■) 2 bar, (▲) 3 bar

จากการศึกษาการแยกไซแลนด้วยเมมเบรนชนิดอัลตราฟิลเตรชันขนาด 10KDa พบว่าเมื่อทำการแยกโดยใช้เทคนิค diafiltration ร่วมด้วยซึ่งใช้น้ำเป็นตัวเจือจาง อัตราส่วน น้ำ ตัวอย่าง เป็น 3 : 1 พบว่า ในครั้งที่ 8 ของการทำ diafiltration ส่วนของ permeate ไม่มีไซแลนเหลืออยู่เลย นั่นแสดงว่า ไซแลนทั้งหมดถูกกักไว้ในส่วนของ retentate ดังภาพที่ 35 และ 36



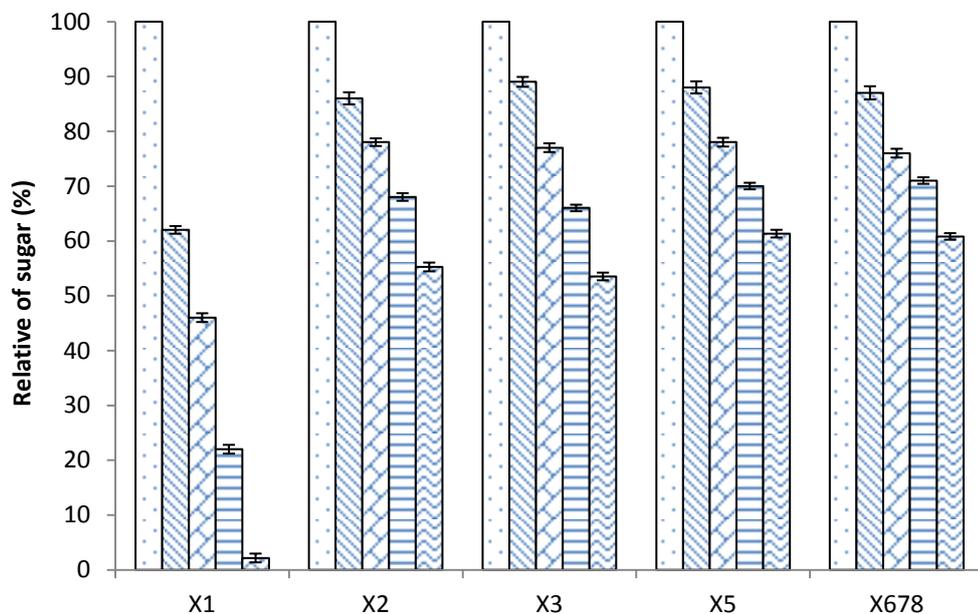
ภาพที่ 35 ปริมาณน้ำตาลชนิดต่างๆ ในส่วน permeate เมื่อกรองผ่านเมมเบรนชนิดอัลตราฟิลเตรชัน ขนาด 10KDa ที่ระดับ diafiltration ต่างๆ; ( ) เริ่มต้น, ( ) ครั้งที่ 2, ( ) ครั้งที่ 4, ( ) ครั้งที่ 6, ( ) ครั้งที่ 8



ภาพที่ 36 ปริมาณน้ำตาลชนิดต่างๆ ในส่วน retentate เมื่อกรองผ่านเมมเบรนชนิดอัลตราฟิลเตรชัน ขนาด 10KDa ที่ระดับ diafiltration ต่างๆ; ( ) เริ่มต้น, ( ) ครั้งที่ 2, ( ) ครั้งที่ 4, ( ) ครั้งที่ 6, ( ) ครั้งที่ 8

## 5.2 ศึกษาผลของการกรองแยกด้วยเมมเบรนชนิดอัลตราขนาด 1 กิโลดาลตัน

ผลการศึกษาการแยกไซโลสออกจากไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ พบว่าสามารถแยกไซโลสออกจากไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ได้แต่ไม่สมบูรณ์ และยังสูญเสียไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ตัวอื่นๆ ในกระบวนการแยกอีกด้วย สอดคล้องกับการทดลองของ Norman (2006) ที่ทำการศึกษาการแยกน้ำตาลด้วยเมมเบรนชนิดอัลตรา และพบว่าน้ำตาลทุกชนิดมีปริมาณลดลงหลังผ่านการแยกร่วมกับเทคนิค diafiltration ผลการทดลองนี้พบว่าการทำ diafiltration ครั้งที่ 8 สามารถแยกไซโลสออกได้มากถึงร้อยละ 97.83 ของปริมาณเริ่มต้น ส่วนโอลิโกแซคคาไรด์ตัวอื่นๆ มีปริมาณลดลง คือ ไซโลไบโอส ไซโลไตรโอส ไซโลเพนตาโอส และไซโลกลูแคนโอลิโกแซคคาไรด์ มีปริมาณลดลงเหลือจากเริ่มต้นเป็น 55.24, 53.51, 61.32 และ 60.81 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ภาพที่ 37)



ภาพที่ 37 ปริมาณน้ำตาลชนิดต่างๆ ในส่วน retentate เมื่อกรองผ่านเมมเบรนชนิดอัลตราฟิลเตรชันขนาด 1KDa ที่ระดับ diafiltration ต่างๆ; (◻) เริ่มต้น, (▨) ครั้งที่2, (▩) ครั้งที่4, (▪) ครั้งที่6, (▮) ครั้งที่8

### 5.3 การประเมินต้นทุนการผลิตไซโลโอลิโกแซคคาไรด์จากซีเลื่อยไม้ยางพารา

ตารางสรุปต้นทุนในการผลิตไซโลโอลิโกแซคคาไรด์จากซีเลื่อยไม้ยางพารา

วัตถุดิบ	จำนวน	ราคา (บาท)
ซีเลื่อยไม้ยางพารา	1 kg	1
โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์	24 g	5
โซเดียมโบโรไฮไดรด์	1 g	0.6
กรดไฮโดรคลอริก	10 ml	4.5
กรดซัลฟูริก	0.1 g	0.2
โซเดียมซิเตรท	1 g	3
รวม		14.3

จากวัตถุดิบซีเลื่อยไม้ยางพารา 1 กิโลกรัม เมื่อผ่านกระบวนการสกัด ย่อย และทำบริสุทธิ์แล้วจะได้ปริมาณไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ประมาณ 20 กิโลกรัม ซึ่งคิดเป็นต้นทุนในการผลิตครั้งนี้ประมาณ 14.30 บาท ดังนั้นซีเลื่อยไม้ยางพารา 1 ตัน จะได้ไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ 20 กิโลกรัม มีราคาขาย คิดเป็น 50,000 บาท โดยมีต้นทุนการผลิตประมาณ 14,300 บาท ซึ่งจะได้กำไร 35,700 บาท ทั้งนี้ยังไม่ได้คิดต้นทุนค่าแรง และเครื่องจักร

งานวิจัยในครั้งนี้สามารถนำไปต่อยอดด้วยการทดสอบคุณสมบัติการเป็นพรีไบโอติก และรวมไปถึงการทดสอบในสิ่งมีชีวิต เช่น หนู เป็นต้น

## สรุปผลการทดลอง

1. องค์ประกอบทางเคมีของซีลี้อยไม้ยางพาราพบว่ามีปริมาณเยื่อใยมากที่สุด คือ ร้อยละ 53.42 รองลงมาคือคาร์โบไฮเดรต ความชื้น เถ้า โปรตีน และไขมัน ร้อยละ 33.61, 9.80, 1.75, 1.20 และ 0.22 ตามลำดับ
2. ปริมาณ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ในซีลี้อยไม้ยางพารา คือ ร้อยละ 43.11, 35.13 และ 18.76 ตามลำดับ
3. สภาวะที่เหมาะสมในการแช่ซีลี้อยไม้ยางพาราให้พองตัว คือ อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 ชั่วโมง
4. ชนิดตัวทำละลายต่างที่เหมาะสมในการสกัดไซแลนจากซีลี้อยไม้ยางพารา คือ 24% KOH + 1% NaBH<sub>4</sub> ซึ่งให้ปริมาณไซแลนสูงสุด
5. สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดไซแลนจากซีลี้อยไม้ยางพาราด้วยกรดอ่อนภายใต้ความร้อนขึ้นและความดัน คือ กรดอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 2.5 อุณหภูมิสกัด 200 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 2 ชั่วโมง ซึ่งให้ปริมาณไซแลนสูงสุด
6. สภาวะที่เหมาะสมในการย่อยไซแลนให้ได้เป็นไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ด้วยเอนไซม์ไซแลนเนส คือ เอนไซม์ความเข้มข้น 100U/ml พีเอช 4.5 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 6 ชั่วโมง
8. ความดันที่เหมาะสมในการทำบริสุทธิ์ไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ด้วยเมมเบรนระดับอัลตรา คือ 2 bar
9. จำนวนครั้งของการทำ diafiltration เพื่อทำบริสุทธิ์ไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ด้วยเมมเบรนชนิดอัลตราขนาด 10KDa และ 1KDa คือ 8 ครั้ง ซึ่งสามารถแยกไซแลนและไซโลสออกได้ตามลำดับ
10. จากการผลิตไซโลโอลิโกแซคคาไรด์จากซีลี้อยไม้ยางพารา 1 ตัน สามารถผลิตให้ได้ไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ประมาณ 20 กิโลกรัม คิดเป็นต้นทุนในการผลิตประมาณ 14,200 บาท ซึ่งจะได้กำไรจากการขายประมาณ 35,700 บาท

## เอกสารอ้างอิง

- กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน กระทรวงพลังงาน. 2552. พลังงานชีวมวล. เอกสารประกอบการบรรยายในงานประชุมวิชาการยางพาราแห่งชาติ ครั้งที่ 1. กลุ่มพลังงานชีวมวล สำนักวิจัยค้นคว้าพลังงาน.
- ชั้นทองสุนทรภา. 2547. เทคโนโลยีการแยกด้วยเมมเบรน. พิมพ์ครั้งที่ 1. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- จันทวรรณคงเจริญ. 2543. การผลิตกรดตาลและการใช้ประโยชน์ของไม้ยางพารา. ภาควิชาการจัดการป่าไม้คณะวนศาสตร์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 17 หน้า
- บัญชา อุไรกุล, ไพบุลย์ ธรรมรัตน์วาสิก, ทิพรรัตน์ หงษ์ทรีศรี, สุพิชญา จันทะชุม, ก่องกาญจน์ กิจรุ่งโรจน์, วันทนา เจริญมงคล, สภิญญา ติวตระกูลและ อรุณพร อิฐรัตน์. 2550. รายงานการวิจัยเรื่อง “การศึกษาแหล่งของฟรีไบโอติกจากพืชไทยบางชนิด”. สถานวิจัยผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและอาหารเพื่อสุขภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่.
- วรรณม่อนจิตติชัย. 2541. อุตสาหกรรมการผลิตแผ่นปาร์ติเกิลและกรรมวิธีการผลิต. เอกสารวิชาการ
- วิโรจน์ ยูรวงศ์ และพรชัย ศรีไพบุลย์. 2548. รายงานการวิจัยเรื่อง “การออกแบบและสร้างเครื่องกรองแบบไหลขวางสำหรับการศึกษาฟลักซ์และฟาวลิงในกระบวนการไมโครฟิลเตรชันและอัลตราฟิลเตรชัน”. คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่.
- หลักชัยกิตติพล. 2550. สถานการณ์ยางพาราไทยในปัจจุบันและอนาคต. เอกสารประกอบการบรรยายในงานประชุมวิชาการยางพาราแห่งชาติ ครั้งที่ 1.
- เอกสารประกอบการประชุมวิชาการยางพาราแห่งชาติ ครั้งที่ 2. 2553. Value creation สู่การพึ่งพาตนเอง. วันที่ 6-7 พฤษภาคม 2553. โรงแรมรามาร์คเด้นส์ กรุงเทพฯ.
- A.O.A.C. 2000. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 15<sup>th</sup> ed. The Association of Official Analytical Chemists, Inc.
- Ajisaka, K. and Fujimoto, H. and Nishida, H. 1988. Enzymic synthesis of disaccharides by use of the reversed hydrolysis activity of  $\beta$ -D-galactosidases. Carbohydr. Res. 180: 35-42.
- Ajisaka, K. and Fujimoto, M. 1989. Regioselective synthesis of trisaccharides by use of a reversed hydrolysis activity of  $\alpha$ - and  $\beta$ -D-galactosidase. Carbohydr. Res. 185(1): 139-146.

- Ajisaka, K., Fujimoto, H. and Isomura, M. 1994. Regioselective transglycosylation in the synthesis of oligosaccharides: comparison of  $\beta$ -galactosidases and sialidases of various origins. *Carbohydr. Res.* 259: 103-115.
- Akpinar, O., Ak, O., Kavas, A., Bakir, U. and Yilmaz, L. 2007. Enzymatic production of xylooligosaccharides from cotton stalks. *J. Agric. Food Chem.* 55: 5544-5551.
- Akpinar, O., Erdogan, K. and Bostanci, S. 2009. Enzymatic production of xylooligosaccharide from selected agricultural wastes. *Food and Bioproducts Processing.* 87: 145-151.
- Akpinar, O., Erdogan, K. and Bostanci, S. 2009. Production of xylooligosaccharides by controlled acid hydrolysis of lignocellulosic materials. *Carbohydr. Res.* 344: 660-666.
- Akpinar, O., Erdogan, K., Bakir, U. and Yilmaz, L. 2010. Comparison of acid and enzymatic hydrolysis of tobacco stalk xylan for preparation of xylooligosaccharides. *LWT-Food Sci. Technol.* 43: 119-125.
- Alonso, J.L., Dominguez, H., Garrote, G., Parajo, J.C. and Vazquez, M.J. 2003. Xylooligosaccharides: properties and production technology. *EJEAFChe.* 2: 230-232.
- Anindyawati, T., Yamaguchi, H., Iizuki, M. and Minamiura, N. 1995. Synthesis of novel oligosaccharides from leucrose by a glucosidase. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 59(11): 2146-2148.
- Battermann, W. 1997. Lactulose powder-main technological properties and its relevance in functional food. Internal Report Solvay Deutschland GmbH (Report no. AWTLAC 12.041.97).
- Bose, S.K., Barber, V.A., Alves, E.F., Kiemle, D.J., Stipanovic, A.J. and Francis, R.C. 2009. An improved method for the hydrolysis of hardwood carbohydrates to monomers. *Carbohydr. Polymers.* 78: 396-401.
- Bucke, C. 1996. Oligosaccharides synthesis using glycosidases. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 67: 217-220.
- Bucke, C., Packwood, J., Suwasono, S. and Rastall, R.A. 1999. Synthesis of homo- and hetero-oligosaccharides from underivatized sugars using glycosidases. In

- Carbohydrate Biotechnology Protocols*. Bucke, C. (ed). pp. 213-219. Humana Press, New Jersey.
- Chalongsri, F., Arwut, P. and Adrian E.F. 2011. Separation of dextran from synthetic sugar syrups using ultrafiltration (sp009). School of Chemical Engineering, Suranaree University of Technology. Nakhon Ratchasima. pp. 1-5.
- Cheryan, M. 1986. *Ultrafiltration and Microfiltration Handbook* 2<sup>nd</sup> edition. Technomic Publish Co. Lancaster, USA.
- Crittenden, R.G. 1999. Prebiotics. In *Prebiotics: A Critical Review*. Tannock, G. (ed). pp. 141-156. Horizon Scientific Press, Wymondham.
- Crittenden, R.G. and Playne, M.J. 1996. Production, properties and applications of food-grade oligosaccharides. *Trends Food Sci & Technol*. 7: 353-361.
- Cummings, J.H., Macfarlane, G.T. and Englyst, H.N. 2001. Prebiotic digestion and fermentation. *Am. J. Clin. Nutr.* 73(Suppl.): 415S-240S.
- d'Auzac, J., Jacob, J.L. and Chrestin, H. 1989. *Physiology of Rubber Tree Latex*. CRC Press. Boca Raton, FL. 470 p.
- De Leenheer, L. and Hoebregs, H. 1994. Progress in the elucidation of the composition of chicory inulin. *Starch*. 46(5): 193-196.
- Dervilly-Pinel, G., Tran, V., and Saulnier, L. 2004. Investigation of the distribution of arabinose residues on the xylan backbone of water-soluble arabinoxylans from wheat flour. *Carbohydr. Polymer*. 55: 171-177.
- Doyle, E.M., Noone, A.M., Kelly, C.T. and Fogarty, W.M. 1999. Comparison of the action pattern of two high maltose-forming  $\alpha$ -amylases on linear maltooligosaccharides. *Enzyme Microb. & Technol.* 25: 330-335.
- Duedahl-Olesen, L., Kragh, K.M. and Zimmermann, W. 2000. Purification and characterisation of a malto-oligosaccharide-forming amylase active at high pH from *Bacillus clausii* BT-21. *Carbohydr. Res.* 329: 97-107.
- Faurot, A.-L., Saulnier, L., Berot, S., Popineau, Y., Petit, M.-D., Rouau, X. and Thibault, J.F. 1995. Large scale isolation of water-soluble and water-insoluble pentosans from wheat flour. *Lebensm. Wiss. Technol.* 28: 436-441.

- Fooks, L. and Gibson, G.R. 2002. *In vitro* investigations of the effect of probiotics and prebiotics on selected human intestinal pathogens. *FEMS Microb. Ecol.* 39: 67-75.
- Fuller, R. 1989. Probiotics in man and animals. *J. Appl. Bacteriol.* 66: 365-378.
- Garegg, P.J. 1990. Phase-transfer for selective substitutions in carbohydrates and inositols. *Abstracts of papers of the American Chemical Society.* 199: 10-15.
- Gibson, G.R. and Roberfroid, M.B. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J. Nutr.* 125: 1401-1412.
- Gibson, G.R. and Rastall, R.A. 2006. *In Prebiotics: Development & Application.* Gibson, G.R. and Rastall, R.A. (eds). Wiley & Son, Ltd., Chichester, UK. 256 p.
- Gibson, G.R. 2004. Fibre and effects on probiotic (the prebiotic concept). *Clin. Nutr. (Suppl.)* 1: 25-31.
- Hashimoto, S., Shogren, M.D. and Pomeranz, Y. 1987. Cereal pentosans: their estimation and significance. III. Pentosans in abraded grains and milling products of wheat and milled wheat products. *Cereal Chem.* 64: 30-34.
- Hoffman, W.F. and Gortner, R.A. 1927. The preparation and analysis of the various proteins of wheat flour with special reference to the globulin, albumin, and protein fractions. *Cereal Chem.* 4: 221.
- Ichikawa, Y., Lin, Y.C., Dumas, D.P., Shen, G.H., Garcia-Junceda, E., Williams, M.A., Bayer, R., Ketcham, C., Walker, L.E., Paulson, J.C. and Wong, C.H. 1992. Chemical-enzymatic synthesis and conformational analysis of sialyl Lewis X and derivatives. *J. Am. Chem. Soc.* 114: 9283-9298.
- Ito, M., Deguchi, Y., Miyamori, A., Matsumoto, K., Kikuchi, H., Kobayashi, Y., Yajima, T. and Kan, T. 1990. Effects of administration of galactooligosaccharides on the human fecal microflora, stool weight and abdominal sensation. *Microb. Ecol. Health and Disease.* 3: 285-292.
- Ito, M., Kimura, M., Deguchi, Y., Miyamori, A., Yajima, T. and Kan, T. 1993. Effects of transgalactosylated disaccharides on the human intestinal microflora and their metabolism. *J. Nutr. Sci. Vitamin.* 39: 279-288.
- Izydorczyk, M.S. and Biliaderis, C.G. 2007. Arabinoxylans: Technologically and Nutritionally Functional Plant Polysaccharides. In *Functional Food*

- Carbohydrates*. Biliaderis, C.G. and Izydorczyk, M.S. (eds). pp. 249-290. CRC Press, New York.
- Jaskari, J., Kontula, P., Siitonen, A., Jousimies-Somer, H., Mattila-Sandholm, T. and Poutanen, K. 1998. Oat  $\beta$ -glucan and xylan hydrolysates as selective substrates for *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* strains. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 49: 175-181.
- Jiffrin, M.Y., Gupta, B.B. and Chaibi, A. 1993. Effect of physical parameters on the microfiltration of wine on a flat polymeric membrane. *Chemical Engineering and Proces.* 32: 379-387.
- Johansson, E., Hedbys, L., Mosbach, K., Larsson, P.O., Gunnarsson, A. and Svensson, S. 1989. Studies on the reversed  $\alpha$ -mannosidase reaction at high concentrations of mannose. *Enzyme Microb. & Technol.* 11: 347-352.
- Kennedy, J.F. and Paliuga, G. 1994. Oligosaccharides. In *Carbohydrate Analysis: A Practical Approach*. Kennedy, J.F and Chaplin, M.F. (eds). pp. 43-72. Oxford University Press, London.
- Kim, S., Kim, W. and Hwang, I.K. 2003. Optimization for the extraction and purification of oligosaccharides from defatted soybean meal. *Internat. J. Food Sci. & Technol.* 38: 337-342.
- Koga, K. and Fujikawa, S. 1993. Xylooligosaccharides. In *Oligosaccharides: Production, Properties and Applications*. Japanese Technology Reviews Vol. 3. Nakakuki, T. (ed.). pp. 130-143. Gordon and Breach Science Publishers, Japan.
- Koga, Y., Shibuta, T. and O'Brien, R. 1993. Soybean oligosaccharides. In *Oligosaccharides: Production, Properties and Applications*. Nakakuki, T. (ed). pp 175-203. *Japanese Technol. Rev.* 3(2): 175-203.
- Kolida, S. 2003. Prebiotic applications in health and ulcerative colitis. Ph.D Thesis, Food Microbial Sciences Unit, School of Food Biosciences, The University of Reading, UK.
- Kono, T. 1993. Fructooligosaccharides. In *Oligosaccharides: Production, Properties, and Applications*. Nakakuki, T. (ed). *Japanese Technology Reviews.* 3(2): 50-78. Gordon and Breach Science Publishers, UK.

- Korakli, M., Ganzle, M.G. and Vogel, R.F. 2002. Metabolism by bifidobacteria and lactic acid bacteria of polysaccharides from wheat and rye, and exopolysaccharides produced by *Lactobacillus sanfranciscensis*. *J. Appl. Microb.* 92: 958-965.
- Matsubara, Y., Iwasaki, K., Nakajima, M., Nabetani, H. and Nakao, S. 1996. Recovery of oligosaccharides from steamed soybean wastewater in tofu processing by reverse osmosis and nanofiltration membranes. *Biosci. Biotech. Biochem.* 60(3): 421-428.
- Miller, G. L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.* 31(3): 426-428.
- Mountzouris, K. 1999. Biotechnological approaches to production of oligodextrans with potential application as functional food ingredients. PhD Thesis. School of Food Biosciences, The University of Reading, UK.
- Nakakuki, T. 1993. In *Oligosaccharides: Production, Properties, and Applications*. Japanese Technology Reviews, Section E: Biotechnology. Karube, I. and Kuroda, R. (eds). pp. 1-235. Gordon and Breach Science Publishers, UK.
- Olano-Martin, E., Mountzouris, K.C., Gibson, G.R. and Rastall, R.A. 2000. *In vitro* fermentability of dextran, oligodextran and maltodextrin by human gut bacteria. *Brit. J. Nutr.* 83: 247-255.
- Olano-Martin, E., Mountzouris, K.C., Gibson, G.R. and Rastall, R.A. 2001. Continuous production of oligosaccharides from pectin in an enzyme membrane reactor. *J. Food Sci.* 66(7): 966-971.
- Parker, R. B. 1974. Probiotics, the other half of the antibiotic story. *Ani. Nutr. Health.* 29: 4-8.
- Ranjana, D., Chiranjib, B. and Santinath, G. 2009. Effects of operating parameters and nature fouling behavior in ultrafiltration of sesame protein hydrolysate. *Desalination.* 237: 268-276.
- Rastall, R.A. and Bucke, C. 1992. Enzymatic synthesis of oligosaccharides. *Biotechnol. Gen. Eng. Rev.* 10: 253-281.

- Rastall, R.A. 2000. Emerging prebiotics. In *LFRA Ingredients Handbook: Prebiotics and Probiotics*. Gibson, G.R. and Angus, F. (eds). pp. 69-83. Leatherhead Publishing, Surrey.
- Roberfroid, M.B. 2001. Prebiotics: preferential substrates for specific germs? *Am. J. Clin. Nutr.* 73(Suppl.): 406S-409S.
- Rowell, R.M., Pettersen, R., Han, J.S., Rowell, J.S. and Tshabalala, M.A. 2005. Cell wall chemistry. In *Handbook of Wood Chemistry and Wood Composites*. Rowell, R. M. (ed). Taylor & Francis, New York.
- Singh, S., Packwood, J., Samuel, C.J., Critchley, P. and Crout, D.H.G. 1995. Glycosidase-catalysed oligosaccharide synthesis: preparation of *N*-acetylchitooligosaccharides using the  $\beta$ -*N*-acetylhexosaminidase of *Aspergillus oryzae*. *Carbohydr. Res.* 279: 293-305.
- Sjostrom, E. 1993. In *Wood Chemistry: Fundamentals and Applications*. Second edition. San Diego: Academic Press. 292 p.
- Sun, H., Yoshida, S., Park, N. and Kusakabe, I. 2002. Preparation of (1->4)- $\beta$ -D-xylooligosaccharides from an acid hydrolysate of cotton-seed xylan: suitability of cotton-seed xylan as a starting material from the preparation of (1->4)- $\beta$ -D xylooligosaccharides. *Carbohydr. Polymers.* 337: 657-661.
- Suwasono, S. and Rastall, R.A. 1998. Enzymatic synthesis of manno- and heteromanno-oligosaccharides using  $\alpha$ -mannosidases: a comparative study of linkage-specific and non-linkage-specific enzymes. *Chem. Technol. Biotechnol.* 73(1): 37-42.
- Chockchaisawasdee, S., Athanasopoulos, V.I., Niranjana, K. and Rastall, R.A., 2004. Synthesis of Galacto-oligosaccharide From Lactose Using  $\beta$ -Galactosidase From *Kluyveromyces lactis*: Studies on Batch and Continuous UF Membrane-Fitted Bioreactors. Wiley Inter Science. 434-443.
- Tanaka, R., Takayama, H., Morotomi, M., Kuroshima, T., Ueyama, S., Matsumoto, K., Kuroda, A. and Mutai, M. 1983. Effects of administration of TOS and *Bifidobacterium breve* 4006 on the human fecal flora. *Bifidobacteria Microflora.* 2: 17-24.

- Timmermans, E. 1994. Lactose: Its Manufacture and Physicochemical Properties. In *Carbohydrates as Organic Raw Materials III*. van Bekkum, H., Roper, H. and Voragen, A.G.J. (eds). pp. 93-113. VCH-Weinheim, London.
- Van Laere, K.K.J., Hartemink, R., Bosveld, M., Schols, H.A. and Voragen, A.G.J. 2000. Fermentation of plant cell wall derived polysaccharides and their corresponding oligosaccharides by intestinal bacteria. *J. Agric. Food Chem.* 48(5): 1644-1652.
- Van Soest, P.J. and Wine, R.H. 1967. Use of detergent in analysis of fibrous feeds, determination of plant cell walls constituents. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 50: 50-55.
- Wichienchot, S. 2005. Production of oligodextrans by *Gluconobacter oxydans* NCIMB 4943 and evaluation on their prebiotic properties. Thesis in Faculty of Agro-Industry (Biotechnology). Prince of Songkla University, Songkhla.
- Wichienchot, S., Jatupornpipat, M. and Rastall, R.A. 2010. Oligosaccharides of pitaya (dragon fruit) flesh and their prebiotic properties. *Food Chem.* 120(3): 850-857.
- Wong, C.H., Halcomb, R.L., Ichikawa, Y. and Kajimoto, T. 1995. Enzymes in organic synthesis: application to the problem of carbohydrate recognition. *Angew. Chem. Int. Ed.* 34: part 1: 412-432; part 2: 521-546.
- Wyman, C.E., Dale, B.E., Elander, R.T., Holtzapple, M., Ladisch, M. R. and Lee, Y.Y. 2005. Coordinated development of leading biomass pretreatment technologies. *Biores. Technol.* 96: 1959-1966.
- Yang, R., Xu, S., Wang, Z., Yang, W. 2005. Aqueous extraction of corncob xylan and production of xylooligosaccharides. *LWT-Food Sci. Technol.* 38: 677-682.
- Yoon, J.H. and Ajisaka, K. 1996. The synthesis of galactopyranosyl derivatives with  $\beta$ -galactosidases of different origins. *Carbohydr. Res.* 292: 153-163.
- Yun, J. 1996. Fructooligosaccharides-occurrence, preparation and application. *Enz. Microb. & Technol.* 19: 107-117.

### ข้อคิดเห็นและข้อเสนอแนะสำหรับการวิจัยต่อไป

การวิจัยต่อยอดจากงานวิจัยนี้ควรเน้นการเพิ่มปริมาณผลผลิต (yield) ของไซแลนและไซโลโอลิโกแซคคาไรด์และการลดขั้นตอนการผลิต เพื่อให้มีความคุ้มค่าต่อการนำไปใช้จริงในระดับอุตสาหกรรม โดยการทำวิจัยเพิ่มด้วยการสกัดในปริมาณมากใกล้เคียงกับที่จะผลิตจริงในอุตสาหกรรม เพื่อคำนวณ yield และต้นทุนที่แท้จริง การสกัดอาจใช้ความร้อนขึ้นภายใต้ความดันในหม้อสกัดขนาดใหญ่ เช่นเดียวกับที่ใช้ในการนึ่งทั้งทะลายปาล์มก่อนนำไปสกัดน้ำมันปาล์มซึ่งจะรวมขั้นตอนการ pre-treatment สกัดและย่อยไซแลนเป็นไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ในขั้นตอนเดียว ซึ่งสามารถลดต้นทุนและระยะเวลาลงได้ ทำให้มีความเป็นไปได้ในการผลิตระดับอุตสาหกรรม

## ภาคผนวก

### 1. สำเนาบทความที่ตีพิมพ์แล้ว (reprint)

ยังไม่มี

### 2. นิพนธ์ต้นฉบับที่พร้อมส่งตีพิมพ์ (manuscript)

อยู่ระหว่างการเตรียม

### 3. บทความวิจัยที่นำเสนอที่ประชุมวิชาการ (proceeding)

- 3.1 Duangkamon Lamtumluk, Santad Wichienchot and Wirote Youravong. Xylooligosaccharides production from rubber wood sawdust. Proceeding in The 4<sup>th</sup> International Conference on Natural Products for Health and Beauty (NATPRO 4). 28-30 November 2012, Chiang Mai, Thailand.

### 4. สิทธิบัตร/อนุสิทธิบัตร

4.1 กรรมวิธีการผลิตไซแลนและไซโลโอลิโกแซคคาไรด์จากวัสดุเศษเหลือจากไม้ยางพารา. สันทัด วิเชียรโชติ และ ดวงกมล ลำทุมลักษณ์. เลขที่คำขออนุสิทธิบัตร 1301006889.

### 5. การเผยแพร่ในรูปแบบอื่น

5.1 ดวงกมล ลำทุมลักษณ์ และ สันทัด วิเชียรโชติ. 2555. บทความวิจัย เรื่อง จากชี้เลี้ยงสู่ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร. ลองแล...งานวิจัยใน ม.อ. 4. หนังสือรวบรวมผลงานวิจัยของเครือข่ายวิจัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ประจำปี 2555. สำนักวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. หน้า 175-177.

5.2 ดวงกมล ลำทุมลักษณ์ และ สันทัด วิเชียรโชติ. 2557. บทความวิจัย เรื่อง สารพรีไบโอติกที่สกัดจากชี้เลี้ยงไม้ยางพารา. จากน้ำยางสู่ผลิตภัณฑ์ยาง ชุดความรู้ ม.อ. : ยางพารา เล่มที่ 2 สำนักวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. หน้า 175-178.

### 6. ข้อคิดเห็น/ข้อเสนอแนะในส่วนที่ไม่สามารถดำเนินการวิจัยได้ตามวัตถุประสงค์

ไม่มี