บทคัดย่อ

ไซโลโอลิโกแซ็กคาไรด์สามารถผลิตได้จากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่มีไซแลนเป็นองค์ประกอบโดยการไฮโดรไลซีสด้วยเอนไซม์ ไซโลโอลิโกแซ็กคาไรด์จัดเป็นโอลิโกแซ็กคาไรด์ชนิดใหม่ที่มีการพัฒนาและสามารถนำไปใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ มีประโยชน์มากมายทั้งทางการแพทย์และด้านสุขภาพ การศึกษานี้มุ่งเน้นศึกษาวิธีการผลิตไซโลโอลิโกแซ็กคาไรด์จากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรจำนวน 3 ชนิด ได้แก่ ซังข้าวโพด ฟางข้าว และชานอ้อย โดยใช้เอนไซม์ไซลาเนสชนิด endo-xylanase จากเชื้อ *Streptomyces thermovulgaris* TISTR1948 กระบวนการผลิตไซโลโอลิโกแซ็กคาไรด์ประกอบด้วยการลดขนาดวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรด้วยการบดด้วยเครื่องบดแบบค้อนเหวี่ยง และร่อนผ่านตะแกรงขนาด 100 เมช จากนั้นนำไปผ่านกระบวนการแปรสภาพด้วยด่างโดยการแช่วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่ผ่านการบดละเอียดแล้วในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 10.0% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ปริมาณของแข็งเป็น 10% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ให้ความร้อนที่ 90 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง จากนั้นปรับพีเอชให้เป็น 7.0 ด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5.0% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร กรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 4 ล้างด้วยน้ำประปาจนได้สารละลายใส จากนั้นนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง นำซังข้าวโพด ฟางข้าว และชานอ้อยที่ผ่านการแปรสภาพด้วยโซเดียม-ไฮดรอกไซด์ แต่ละชนิดแช่ในสารละลายโพแทสเซียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอช 7.0 โดยให้มีปริมาณของแข็งเป็น 15.0% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เติมเอนไซม์ไซลาเนส 150 ยูนิตต่อกรัมสับสเตรต นำไปบ่มที่ 50 องศาเซลเซียส นาน 18 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะนิ่ง จากผลการทดลองพบว่า ซังข้าวโพดที่ผ่านการแปรสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์เหมาะสมที่สุดสำหรับการผลิตไซโลโอลิโกแซ็กคาไรด์โดยให้ปริมาณผลผลิตเป็น 158.20±1.01 มิลลิกรัมน้ำตาลรีดิวซ์ต่อกรัมซังข้าวโพดที่ผ่านการแปรสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ ในขณะที่ชานอ้อยและฟางข้าวที่ผ่านการแปรสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ให้ปริมาณผลผลิตเพียง 102.45±0.78 และ 83.13±2.12 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ

จากการศึกษากระบวนการแปรสภาพด้วยด่างที่เหมาะสมต่อการแปรสภาพซังข้าวโพดโดยการผันแปรความเข้มข้นของสารละลายด่างในช่วง 10.0-20.0% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และศึกษาชนิดของด่างจำนวน 2 ชนิดได้แก่ โซเดียมไฮดรอกไซด์และโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ พบว่า

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 10.0% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร มีความเหมาะสมที่สุดโดยมีปริมาณผลผลิตสูงสุดเป็น 44.18±1.52% และองค์ประกอบหลักของซังข้าวโพดที่ผ่านการแปรสภาพด้วยโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์คือ เซลลูโลส (55.65±1.12%) เฮมิเซลลูโลส (20.14±0.19%) และเถ้า (10.72±0.75%) ตามลำดับ เมื่อนำซังข้าวโพดที่ผ่านการแปรสภาพแล้วไปผลิตไซโลโอลิโกแซ็กคาไรด์โดยใช้เอนไซม์ไซลาเนสชนิด endo-xylanase จากเชื้อ *S. thermovulgaris* TISTR1948 และเก็บตัวอย่างเพื่อนำไปวิเคราะห์ชนิดของผลิตภัณฑ์ที่ได้โดยเทคนิคโครมาโตรกราฟีแบบแผ่นบาง พบว่าระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการผลิตไซโลโอลิโกแซ็กคาไรด์ซึ่งให้ปริมาณของไซโลไบโอสสูงสุดและให้ปริมาณของไซโลสต่ำสุดคือ ชั่วโมงที่ 12

จากการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตไซโลโอลิโกแซ็กคาไรด์จากซังข้าวโพดที่ผ่านการแปรสภาพด้วยโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์โดยวิธีพื้นที่ผิวตอบสนองและใช้การออกแบบการทดลองแบบส่วนประสมกลาง ศึกษา 3 ปัจจัย ได้แก่ ปริมาณเอนไซม์ไซลาเนส (ยูนิตต่อกรัมสับสเตรต) อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) และค่าพีเอช พบว่าปริมาณเอนไซม์ไซลาเนสเป็นปัจจัยเดียวที่มีผลต่อปริมาณไซโลโอลิโกแซ็กคาไรด์ในรูปของน้ำตาลรีดิวซ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% สภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตไซโลโอโกแซ็กคาไรด์ คือ ปริมาณเอนไซม์ไซลาเนส 126.20 ยูนิตต่อกรัมสับสเตรต อุณหภูมิ 51.96 องศาเซลเซียส และค่าพีเอช 6.56 ตามลำดับ ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมนี้สามารถผลิตไซโลโอลิโกแซ็กคาไรด์ในรูปของน้ำตาลรีดิวซ์ได้สูงสุดเป็น 164.56±2.57 มิลลิกรัมต่อกรัมซังข้าวโพดแปรสภาพด้วยโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ นอกจากนี้ยังพบว่าการขยายขนาดการผลิตไซโลโอลิโกแซ็กคาไรด์โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมจะต้นทุนในการผลิตเพียง 576 บาทต่อกิโลกรัมไซโลโอลิโกแซ็กคาไรด์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ABSTRACT

Xylooligosaccharides (XO) is usually produced from xylan-containing agricultural wastes by enzymatic hydrolysis. XO is a newly developed functional oligosaccharide, having many biomedical and health benefits. In this study, three different agricultural wastes, namely corn cob (CC), rice straw (RS) and sugarcane bagasse (SB) were investigated for XO production catalyzed by the endo-xylanase from *Streptomyces thermovulgaris* TISTR1948. The XO production process consisted of size reduction of agricultural wastes by using a hammer mill and 100 mesh sieve, then a 100 mesh size agricultural wastes were subjected to alkali-pretreatment by soaking each agricultural waste in 10.0% (w/v) NaOH with 10.0% (w/v) solid and heated at 90°C for 1 h, followed by adjusting pH to be 7.0 by adding 5.0% (w/v) H_2SO_4, filtered through a Whatman No.4 filter paper, washed with tap water until the clear solution was obtained and dried at 80°C for 48 h. The NaOH-pretreated CC, RS and SB were then individually mashed in 0.1 M K-P buffer pH 7.0 with 15.0% (w/v) solid then endo-xylanase (150 U/g substrate) was added. The reaction was carried out at 50°C for 18 h under static condition. The results revealed that NaOH-pretreated CC was the suitable agriculture waste for XO production with the maximum yield of 158.20±1.01 mg reducing sugar/g NaOH-pretreated CC, compared to 102.45±0.78 and 83.13±2.12 mg reducing sugar/g NaOH-pretreated SB and RS, respectively.

The suitable method for alkali-pretreatment of CC was also investigated by varying the alkali concentration from 10.0-20.0% (w/v) and 2 different types of alkali namely; NaOH and KOH were also investigated. The results showed that 10.0% KOH (w/v) was the suitable alkali, which gave the highest yield of 44.18±1.52%. The major component of KOH-pretreated CC were; cellulose (55.65±1.12%), hemicellulose (20.14±0.19%) and ash (10.72±0.75%), respectively. The KOH-pretreated CC was then applied for XO production catalyzed by endo-xylanase from *S. thermovulgaris* TISTR1948. The samples were periodically taken and analyzed by a thin layer chromatography (TLC). It was found that the suitable reaction time

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

for XO production, which gave the highest amount of xylobiose and a few amount of xylose were 12 h.

The optimization for XO production from KOH-pretreated CC was studied by the response surface methodology (RSM) via the central composite design (CCD) approaches with three variable factors of xylanase concentration (U/g substrate), temperature (°C) and the pH value. It was found that, only one variable of xylanase concentration affected on XO production ($p<0.05$). The optimal conditions for XO production to achieve the maximum XO as reducing sugar of 164.56±2.57 mg/g KOH-pretreated CC were; 126.20 U/g substrate, pH 6.56 and 51.91°C, respectively. Moreover, under these optimal conditions, the production cost of XO in the scale-up production was only 576 Baht/kg.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved