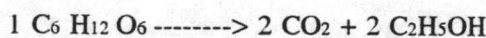


บทที่ 1

บทนำ

Hemicellulose เป็นหนึ่งขององค์ประกอบหลัก ที่มีอยู่ในผนังเซลล์ของพืช โดยมีประมาณถึง 40 %ของ ชีวมวลพืช (Plant biomass) ที่ได้จากวัสดุการเกษตรและไม้เนื้อแข็ง (Freitas et al., 1977 and Goldstein, 1981) ซึ่งเมื่อนำมาย่อยสลายแล้วจะได้ของผสมคาร์โบไฮเดรต มีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นน้ำตาลกลูโคสกับไซโลสในอัตราส่วนประมาณ 2:1 (ตารางที่ 1) จุลินทรีย์ส่วนใหญ่สามารถใช้น้ำตาลกลูโคสเพื่อการเจริญเติบโตและสร้างผลผลิต (products) ต่าง ๆ ซึ่งก็มีการผลิตสารเคมีจากการย่อยสลายชีวมวลพืช เป็นน้ำตาลเชิงอุตสาหกรรมโดยจุลินทรีย์เหล่านี้มาช้านาน ที่รู้จักดีที่สุดก็คือ อุตสาหกรรมการหมัก เหล้า เบียร์ โดยใช้ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* แต่ยีสต์ตัวนี้มีความสามารถผลิตเอทานอล ได้จากกลูโคส เท่านั้น (Schneider et al., 1981) คั้งนั้นสิ่งที่นักวิทยาศาสตร์ เริ่มให้ความสนใจก็คือการผลิตสารเคมี โดยใช้จุลินทรีย์ที่มีความสามารถ ในการใช้น้ำตาลไซโลส (D-xylose) ซึ่งนับว่ามีปริมาณมหาศาลรองจากกลูโคสดังกล่าวข้างต้น แม้ว่าแบคทีเรียและราหลายชนิด สามารถที่จะเปลี่ยนน้ำตาลไซโลสไปเป็นสารต่าง ๆ ได้ อย่างไรก็ตาม ปริมาณสารที่ได้เหล่านี้ โดยเฉพาะเอทานอลนั้นค่อนข้างต่ำ จากความพยายามแยกสายพันธุ์ของยีสต์ที่หมักไซโลสออกมากกว่าครึ่งจากยีสต์ 434 สายพันธุ์ (Barnett et al., 1979) ส่วนใหญ่สามารถหมักน้ำตาลไซโลส ในสภาวะ aerobic conditions แล้วได้ผลผลิตเป็น ไซลิตอล ออกมามากกว่าเอทานอล

ตามปกติยีสต์โดยทั่วไปสามารถที่จะเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคส 1 โมเลกุลไปเป็น 2 โมเลกุลของคาร์บอนไดออกไซด์กับ 2 โมเลกุลของเอทานอล โดยมีด้วยจำนวนอะตอม 6 คาร์บอน 16 ไฮโดรเจน และ 6 ออกซิเจน เท่ากันทั้ง 2 ข้าง สมการดังนี้

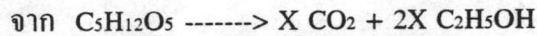


แต่น้ำตาลไซโลส มีสูตรโมเลกุลเป็น $\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_5$ จะไม่สามารถเปลี่ยนแปลงไปตามสมการนี้ได้ (Kurtzman, 1982) Slininger กล่าวถึงยีสต์ที่จะเปลี่ยนน้ำตาลไซโลสไปเป็นเอทานอลว่า โมเลกุลของไซโลส จะต้องถูกเปลี่ยนเป็น 1.6666 โมเลกุลของ CO_2 กับ เอทานอล อธิบายดังสมการข้างล่างนี้

NEUTRAL CARBOHYDRATE OF AGRICULTURAL RESIDUE AND WOOD

MATERIAL	PERCENT (% , W/V)		
	GLUCOSE	XYLOSE	OTHERS
AGRICULTURAL RESIDUES			
CORN			
Leaves	58	35	7
Stalks	61	32	7
Husks	54	36	10
Cobs	54	40	6
Fibers	67	29	4
SUGARCANE BAGASSE	60	32	8
SUN FLOWER STALKS	70	26	4
WHEAT STRAW	60	32	8
HARD WOOD			
Alder (<i>A. incana</i>)	67	27	6
Ash (<i>F. excelsior</i>)	60	32	8
Beech (<i>F. silvatica</i>)	65	28	7
Birch (<i>B. verrucosa</i>)	58.5	39	2.5
Elm (<i>U. scraba</i>)	67.5	27	5.5
Linden (<i>T. cordata</i>)	58.5	34.5	7
Maple (<i>A. platanoides</i>)	60.5	32.5	7
Oak (<i>O. excelsior</i>)	68.5	26	5.5
Poplar (<i>P. tremular</i>)	64.5	30	5.5
Willow (<i>S. alba</i>)	67.5	26	6.5
SOFTWOOD			
Larch (<i>L. sibirica</i>)	63	9	28
Spruce (<i>P. excelsa</i>)	65.5	9	25.5
White Pine (<i>P. silvestris</i>)	65	13	21.5

ตารางที่ 1 องค์ประกอบของน้ำตาลในเนื้อไม้และวัสดุการเกษตรบางชนิด (Gong and Tsao, 1983)

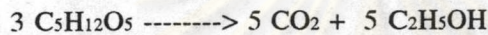


เปรียบเทียบสมการกับปริมาณคาร์บอน ;

$$5C = XC + 2XC = 3XC$$

$$\text{เพราะฉะนั้น } X = 5/3 = 1.6666$$

หรืออาจกล่าวอีกอย่างว่ายีสต์นั้นจะต้องสามารถเปลี่ยนน้ำตาลไซโลส ทุก ๆ 3 โมเลกุล ไปเป็น 5 โมเลกุล ของ คาร์บอนไดออกไซด์ กับ เอทานอล ดังนี้



จากการค้นคว้าวิจัยของ Schneider ในปี 1980 ก็ค้นพบยีสต์ตัวสำคัญ คือ *Pachysolen tannophilus* ซึ่งเป็นยีสต์หมักไซโลส (xylose-fermenting yeast) ที่สามารถเปลี่ยนน้ำตาลไซโลส เป็นเอทานอล ได้ในปริมาณสูงและรวดเร็ว จนทำให้นักวิทยาศาสตร์มุ่งความสนใจเกี่ยวกับยีสต์ตัวนี้กันมากขึ้นในปัจจุบัน อย่างไรก็ตาม ปริมาณเอทานอลที่ได้นี้เมื่อเทียบกับ ปริมาณเอทานอลที่ได้จากการหมักน้ำตาลกลูโคสโดยใช้ยีสต์ *S. cerevisiae* ยังห่างไกลกันอยู่มาก เนื่องจากปัญหาการสร้าง by-products บางอย่าง อาทิ ไซลิตอล และ กรดอะซิติก นักวิทยาศาสตร์เชื่อว่า น่าจะมีวิธีการปรับปรุงสายพันธุ์ ของยีสต์สายพันธุ์นี้ เพื่อที่จะหามิวแทนต์ ที่สามารถให้ผลผลิตเอทานอลจากการเปลี่ยนน้ำตาลไซโลสได้ เท่าหรือใกล้เคียงกับปริมาณเอทานอล ที่ได้จากการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคส โดยใช้ยีสต์หมักน้ำตาลกลูโคส (glucose fermenting yeasts) สำหรับวิทยานิพนธ์นี้ เป็นการสร้างมิวแทนต์จาก *P. tannophilus* สายพันธุ์ NRRL Y-2460 ที่ใช้เป็นสายพันธุ์ wild type โดยการชักนำด้วยแสงอัลตราไวโอเล็ต เก็บรวบรวมลักษณะทางฟี-โนไทป์ของมิวแทนต์ซึ่งพิจารณาจากความสามารถ ในการเจริญบนอาหารคัดเลือก (Selective media) ที่ใช้เป็นตำหนิ (marker) รวมทั้งลักษณะและขนาดของโคโลนี คัดเลือกเชื้อที่มีความ สามารถในการหมักน้ำตาลไซโลส เปรียบเทียบกับ wild type แล้วนำไปทำการหมักในสภาวะจำกัดอากาศเพื่อที่อาจจะได้สายพันธุ์ที่มีความสามารถในการผลิต เอทานอลได้สูงกว่าสายพันธุ์ wild type เดิม อันจะนำไปใช้เป็นประโยชน์ต่อการหมักน้ำตาลไซโลสในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อหาสายพันธุ์ของยีสต์ *Pachysolen tannophilus* ที่มีลักษณะเปลี่ยนแปลงไปจากสายพันธุ์เดิม โดยการฉายแสงอัลตราไวโอเล็ต
2. เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์มิวแทนต์ที่มีความสามารถ ในการหมักน้ำตาลไซโลส ไปเป็นเอทานอล เปรียบเทียบกับสายพันธุ์เดิม

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

เป็นการสร้างมิวแทนต์ ที่อาจได้สายพันธุ์ใหม่ที่มีความสามารถในการใช้น้ำตาลไซโลส เปลี่ยนไปจากสายพันธุ์เดิมซึ่ง ถ้าสูงขึ้นก็จะเป็นประโยชน์ต่ออุตสาหกรรมการหมักน้ำตาลไซโลส เป็นเอทานอลต่อไป

ขอบเขตของการศึกษา

งานวิจัยนี้ จะทำการศึกษาวิธีการสร้างมิวแทนต์ของยีสต์ *P. tannophilus* โดยการใช้แสงอัลตราไวโอเล็ต แล้วทำการคัดเลือก โดยอาศัยคุณสมบัติของความต้านทานยาปฏิชีวนะ และความสามารถในการสังเคราะห์กรดอะมิโนที่จำเป็น เป็นตำหนิ ศึกษาการเจริญเติบโต ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์ และการผลิตเอทานอลจากน้ำตาลไซโลสในสภาวะจำกัดอากาศ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย