



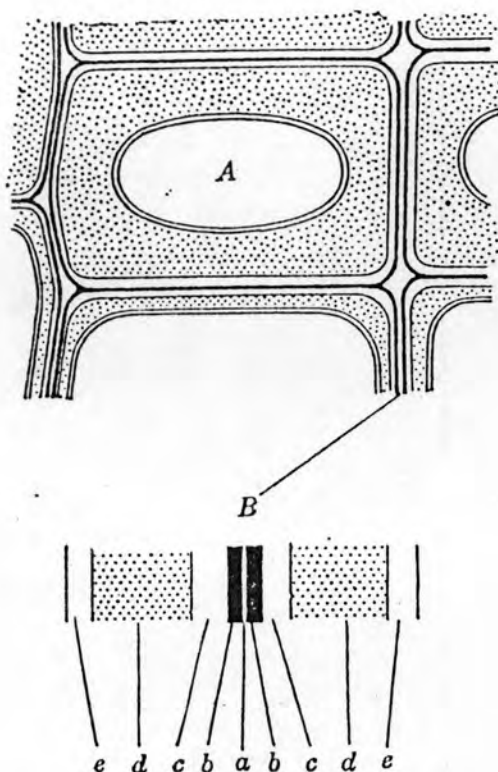
ทฤษฎีเบื้องต้น

การผลิตเอทิลแอลกอฮอล์จากต้นข้าวโพดนั้น สามารถแบ่งเป็น 2 ขั้นตอนใหญ่ คือ ขั้นตอนกระบวนการไฮโดรไลซิสสารพอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharides) ไปเป็น น้ำตาล ที่มีโครงสร้างง่าย ๆ (simple sugar) และขั้นตอนกระบวนการหมัก (fermentation) ซึ่งใช้ยีสต์เปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นเอทิลแอลกอฮอล์ ก่อนที่จะอธิบาย 2 กระบวนการข้างต้น จะ ขอกล่าวถึงสิ่งที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัยนี้พอเป็นสังเขป คือ

2.1 โครงสร้างกายวิภาคของเส้นใยเซลลูโลส และองค์ประกอบของผนังเซลล์

เซลลูโลสเป็นสารประกอบสำคัญของเซลล์ ซึ่งเป็นหน่วยเล็ก ๆ ที่ประกอบรวมกันเป็น เนื้อเยื่อพืช ส่วนประกอบภายในเซลล์ของพืช มีโปรโตพลาสซึม (protoplasm) และสาร หล่อเลี้ยงในเซลล์ (cell sap) โดยมีผนังบาง ๆ ที่ไม่มีสี ที่เรียกว่า เซลล์เมมเบรน (cell membrane) ห่อหุ้มอยู่ เซลล์เมมเบรนนี้เป็นสารประกอบพวกเซลลูโลสเช่นกัน

วิธีที่ใช้ศึกษาการจัดตัวทางกายวิภาคของเส้นใยเซลลูโลส (cellulose fiber) จะใช้กล้องจุลทรรศน์ส่องตรวจเนื้อเยื่อในภาคตัดขวาง (cross section) แสดงลักษณะเซลล์ ในรูปที่ 2-1



รูปที่ 2-1

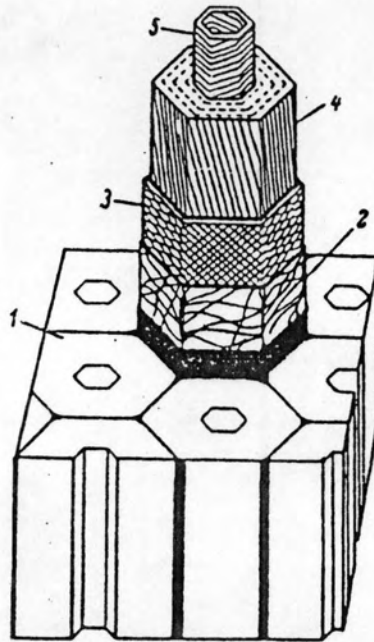
- A แสดงถึงเซลล์ที่ถูกล้อมรอบด้วยเซลล์อื่น ๆ อีก 7 เซลล์ ซึ่งแยกออกจากกัน โดยมีสารระหว่างเซลล์ (intercellular substance) ที่เรียกว่า มิติ เดลลา เมลลา (middle lamella) คั่นอยู่ (5)
- a เป็นส่วนผนังเซลล์ที่อยู่ติดกัน
- b เป็นส่วนที่ติดกับ มิติ เดลลา เมลลา ซึ่งก็คือ ผนังเซลล์ชั้นแรก (primary cell wall) เรียกว่า P
- c เป็นส่วนนอกสุดของผนังเซลล์ชั้นที่สอง (external layer of secondary cell wall) เรียกว่า  $S_1$
- d เป็นส่วนกลางของผนังเซลล์ชั้นที่สอง (middle layer of secondary cell wall) เรียกว่า  $S_2$
- e เป็นส่วนในสุดของผนังเซลล์ชั้นที่สอง (inner layer of secondary cell wall) เรียกว่า  $S_3$  ส่วนนี้จะล้อมรอบช่องว่างภายในเซลล์ที่เรียกว่า ลูเมน (Lumen)

ผนัง เซลล์ชั้นที่หนึ่งและสอง เป็นสารประกอบ เซลลูโลสเป็นส่วนมาก มี เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) และลิกนิน (lignin) ปนอยู่บ้างเล็กน้อย ส่วนสารประกอบระหว่าง เซลล์ในมิตเติลลามาเลตา จะเป็นลิกนินเป็นส่วนมาก มีเฮมิเซลลูโลสปนอยู่ด้วย

จากหลักฐานการใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (e) แสดงให้เห็นว่าผนัง เซลล์ชั้นแรก (P) และส่วนทั้งสามของผนังเซลล์ชั้นที่สอง คือ  $S_1$ ,  $S_2$ ,  $S_3$  ประกอบด้วยเซลลูโลส ที่รวมตัวกันเป็นมัด เรียกว่า ไมโครไฟบริล (microfibrils) โดยมีความยาวไม่จำกัด ดังแสดงในรูปที่ 2-1 ในผนังเซลล์ชั้นแรกนี้ ไมโครไฟบริลของเซลลูโลสจะมีรูปร่างซับซ้อนไขว้กัน อย่างไม่เป็นระเบียบคล้ายร่างแห นอกจากนี้ ผนังเซลล์ชั้นแรกยังประกอบด้วย เฮมิเซลลูโลส และลิกนินอันมีปริมาณมากกว่าเซลลูโลสอีกด้วย (P) จะแสดงลักษณะผนังเซลล์ชั้นแรกนี้ สำหรับในผนังเซลล์ชั้นที่สอง ไมโครไฟบริลของเซลลูโลส ในส่วนนอกสุด ( $S_1$ ) จะจัดตัวเป็น 2 กลุ่ม ในทิศทางตรงกันข้ามกัน ช้อนชดกันไปมาเป็นเกลียว (spirals) ดังรูป 2-2

ผนังเซลล์ส่วนกลาง ( $S_2$ ) อันเป็นส่วนที่กว้างกว่าและมีเซลลูโลสรวมกันอยู่หนาแน่น กว่าส่วนอื่น ๆ ของเซลล์ ประกอบด้วย ไมโครไฟบริลของเซลลูโลสที่มีลักษณะเป็นเกลียวคิก แต่ละไมโครไฟบริลจะเรียงตัวขนานกันไปตามแกนของไฟบริล ผนังเซลล์ส่วนในสุด ( $S_3$ ) ประกอบด้วยไมโครไฟบริลของเซลลูโลสล้อมรอบช่องว่างกลางเซลล์ การจัดตัวของไมโครไฟบริล ในชั้นนี้อาจเป็นลักษณะวนเป็นเกลียวจากด้านในออกมาด้านนอก เมื่อมองไมโครไฟบริลรวมกัน ทั้งหมดแล้วมีลักษณะเป็นชดเกลียวหรืออาจจัดตัวขนานกันก็ได้ตามแต่นชนิด (species) ของพืช

เมื่อนำผนังเซลล์ชั้นที่สองมาตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนพบว่า การกระจายตัวของไมโครไฟบริลของเซลลูโลสไม่เป็นแบบเดียวกัน เนื่องจากเซลลูโลสของผนังเซลล์ชั้นที่สองนี้ มีลักษณะการจัดเรียงตัวของไมเลกุลเป็นรูปร่างต่างกัน ดังแสดงในรูป 2-3 กล่าวคือ ส่วนที่ เซลลูโลสมีรูปร่างเป็นผลึก (crystalline cellulose) อันแสดงด้วยเส้นขีดค้ำที่อยู่ใน บริเวณกรอบสี่เหลี่ยม ไมเลกุลของเซลลูโลสที่เกาะกันเป็นลูกโซ่ที่มีระเบียบผ่านขึ้นไปในทิศทางที่ ตั้งฉากกับระนาบรูปบนแผ่นกระดาษ นอกจากนี้เซลลูโลสส่วนที่มีรูปร่างเป็นผลึกนี้ จะมีเซลลูโลส อีกชนิดที่มีการจัดตัวของไมเลกุล เป็นระเบียบน้อยกว่าล้อมรอบอยู่ ซึ่งแสดงด้วยเส้นค้ำที่อยู่นอก บริเวณกรอบสี่เหลี่ยม รูป 2-3 เรียกส่วนนี้เป็น อะมอร์ฟัส (amorphous) ซึ่งมีรูปร่างที่ไม่ แน่นอน บริเวณผนังเซลล์ที่ประกอบด้วยผลึกเซลลูโลส ซึ่งมีรูปร่าง 3 มิติ เรียกว่า ไมเซลล์ (micelles) ซึ่งมีความกว้าง 70 แองสตรอม ความหนา 30 แองสตรอม ส่วนยาวของ เซลลูโลสที่เกาะกันเป็นลูกโซ่ 500-600 แองสตรอม ส่วนยาวนี้จะตั้งฉากกับระนาบแผ่นกระดาษ

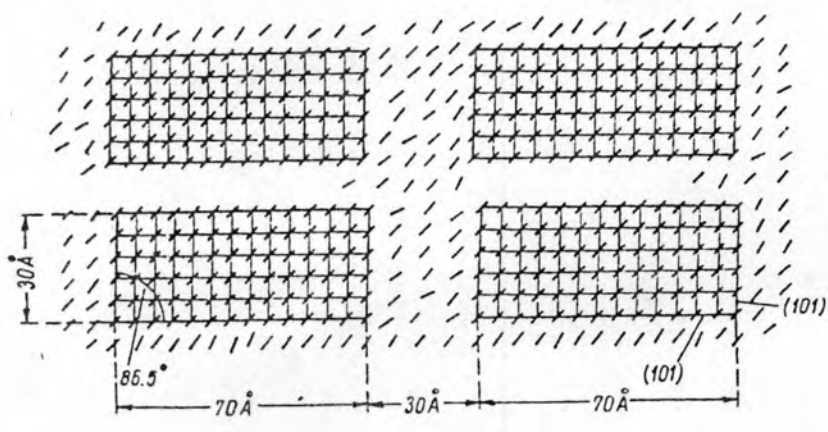


รูปที่ 2-2

แสดงองค์ประกอบต่าง ๆ ของผนังเซลล์

(6)

1. สารระหว่างเซลล์ในมิติ เดลลา เมลลา
2. ผนังเซลล์ชั้นแรก
3. ส่วนนอกสุดของผนังเซลล์ชั้นที่สอง
4. ส่วนกลางของผนังเซลล์ชั้นที่สอง
5. ส่วนในสุดของผนังเซลล์ชั้นที่สาม



รูปที่ 2-3 แสดงไมโครไฟบริลของเซลลูโลสตามภาคตัดขวางในผนังเซลล์ชั้นที่สอง ซึ่งประกอบด้วยบริเวณเซลลูโลสที่มีรูปร่างเป็นผลึก (crystalline cellulose) ดังแสดงด้วยขีดดำที่อยู่รวมกันในบริเวณสี่เหลี่ยม และบริเวณเซลลูโลสที่มีรูปร่างไม่แน่นอน (amorphous cellulose) ซึ่งล้อมรอบบริเวณแรกอยู่ ดังแสดงด้วยขีดดำที่อยู่กระจัดกันนอกบริเวณตารางสี่เหลี่ยม (4)

และลูกโซ่เซลลูโลสเท่ากับแกนมีความกว้างของมุม 86.5 องศา ขนาดผลึกเซลลูโลส 3 มิติ ที่กล่าวข้างต้นนี้เป็นขนาดของโครงสร้างผลึก 1 หน่วย (unit crystal structure) ของเซลลูโลส ไมเซลเลสจะถูกแยกจากกันโดยบริเวณที่เป็น อะมอร์ฟัส ซึ่งไม่มีรูปร่าง 3 มิติ มีแต่ไมเซลเกาะกันแน่นเป็นลูกโซ่ตามยาว

จากการถ่ายภาพรังสีเอ็กซ์ (5) พบว่าในไมเซลเลสไม่มีสารลิกนินปนอยู่ด้วยเลย ซึ่งลิกนินอาจรวมอยู่กับ เซลลูโลสในบริเวณอะมอร์ฟัสได้บ้างบางส่วน การขจัดลิกนินออกไป จะเป็นผลให้เซลลูโลสในบริเวณนี้รวมตัวกัน เปลี่ยนเป็น เซลลูโลสที่มีรูปร่างเป็นผลึกขึ้นได้ และเป็นการเพิ่มขนาดของไมเซลเลสมากขึ้น

## 2.2 การกระจายตัวขององค์ประกอบต่าง ๆ ภายในเส้นใยเซลลูโลส

ในการพิจารณาว่าเซลลูโลสจะทำปฏิกิริยากับสารเคมีที่ใช้ได้ดีหรือไม่นั้น พิจารณา ได้จากการที่สารเคมีสามารถกระจายเข้าไปในส่วนต่าง ๆ ของผนังเซลล์ และความเกี่ยวข้อง กันระหว่างสารเคมีนั้นกับโครงสร้างตามธรรมชาติในระหว่างส่วนประกอบต่าง ๆ ของเซลล์

ในฝ้าย ผนังเซลล์ส่วนที่สองของฝ้ายจะมีเซลลูโลสที่เป็นผลึกอยู่เป็นปริมาณมาก ส่วน เฮมิเซลลูโลส และสารอื่น ๆ ในปริมาณส่วนมากจะพบอยู่ที่ผนังเซลล์ชั้นแรก และเป็น ส่วนประกอบของ กูติกัล (cuticle)

อย่างไรก็ตามในไม้เนื้ออ่อนและไม้เนื้อแข็ง สารที่ไม่ใช่เซลลูโลสนี้จะเกาะใน บริเวณผนังเซลล์เกือบทุกชั้นตั้งแต่ ลูเมน (lumen) จนถึง มิติเคิลลา เมลลา สารลิกนิน ส่วนใหญ่จะเกาะรวมกันอยู่ที่ มิติเคิลลา เมลลา และมีปริมาณมากกว่าสารอื่นที่มีอยู่ในมิติเคิลลา เมลลา ในเส้นใยของต้นสนพรุส (spruce) พบว่า ที่มีติเคิลลา เมลลาประกอบด้วย ลิกนิน 71% เพนโตแซนซึ่งเป็นสารประกอบของเฮมิเซลลูโลส 14% และเซลลูโลส 4% และพบว่า 60-90% ของปริมาณลิกนินทั้งหมดอยู่ในมิติเคิลลา เมลลา และอีก 10-12% จะกระจายอยู่ ตามชั้นของผนังเซลล์ (4)

ส่วนเซลลูโลสที่รวมกันเป็นมัด ๆ เรียก ไมโครไฟบริล จะมิอยู่ในผนังเซลล์ชั้นที่สอง มากที่สุด ไม้บางชนิดไม่พบเซลลูโลสในมิติเคิลลา เมลลาเลย

สารพิเศษอื่น ๆ เช่น ยาง (resin) น้ำมันระเหย น้ำมัน กรดอินทรีย์ ฯลฯ จะเกาะอยู่ที่ ลูมิน่า (lumina) ของเซลล์ของไม้เป็นส่วนมาก

กล่าวได้ว่าภายในชั้นต่าง ๆ ของผนังเซลล์ของไม้ เฮมิเซลลูโลส ลิกนิน



สารประกอบเกลือแร่ และสารอื่น ๆ จะรวมตัวอยู่ในช่องว่างระหว่าง ไมโครไฟบริล อย่างหนาแน่น และภายในไมโครไฟบริลจะมีลิกนิน และ เฮมิเซลลูโลส อยู่ในช่องว่างระหว่างไมเลกุลของเซลลูโลสในบริเวณเซลลูโลสที่รูปร่างไม่แน่นอน

ทั้งในฝ้ายและไม้ พวกสารประกอบเกลือแร่จะกระจายอยู่ในส่วนที่สองของผนังเซลล์

## 2.3 สารประกอบเคมีของเนื้อเยื่อไม้ และ เส้นใยเซลลูโลส

### 2.3.1 สารประกอบเคมีของเนื้อเยื่อไม้

ส่วนมากจะเป็นสารพวกคาร์โบไฮเดรต ซึ่งมีอัตราส่วนของ คาร์บอน : ไฮโดรเจน : ออกซิเจน = 1 : 2 : 1 มีสูตรโดยทั่วไปเป็น  $(CH_2O)_n$  และมีหมู่  $-OH$ ,  $-CHO$ ,  $>C=O$

เป็นส่วนประกอบสำคัญ ไม้แต่ละชนิดจะมีอัตราส่วนหมู่อะตอมข้างต้นต่างกันไปบ้าง (7, 8, 9)

สารที่ประกอบเป็นเนื้อเยื่อไม้แยกชนิดได้อย่างกว้าง ๆ คือ สารเซลลูโลส อันเป็นสารประกอบที่สำคัญและมีอยู่มากในเนื้อเยื่อไม้ และสารอื่นที่ไม่ใช่เซลลูโลสซึ่งมีปะปนอยู่บ้างกับเซลลูโลสซึ่งกระจายในส่วนต่าง ๆ ของเนื้อเยื่อไม้ โดยทั่วไปพบว่าไม้แม้จะต่างชนิด (species) กันแต่ก็มีสารประกอบเหมือน ๆ กันต่างกันตรงสัดส่วนของสารประกอบนั้น ๆ สารประกอบสำคัญของไม้ ได้แก่ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน สารทั้งสามเป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ของเนื้อเยื่อไม้ และมีน้ำหนักมากถึง 90-95% ของน้ำหนักเนื้อเยื่อไม้ที่แห้ง อีก 5-10% ของน้ำหนักที่เหลือเป็นสารชนิดอื่นที่ไม่ใช่สารทั้งสามข้างต้น เช่น พวกกรด ยาง เกลือแร่ ฯลฯ ในไม้ชนิดต่าง ๆ จะมีสารประกอบพวกนี้ต่างกันไปตามชนิดและปริมาณ (4, 5)

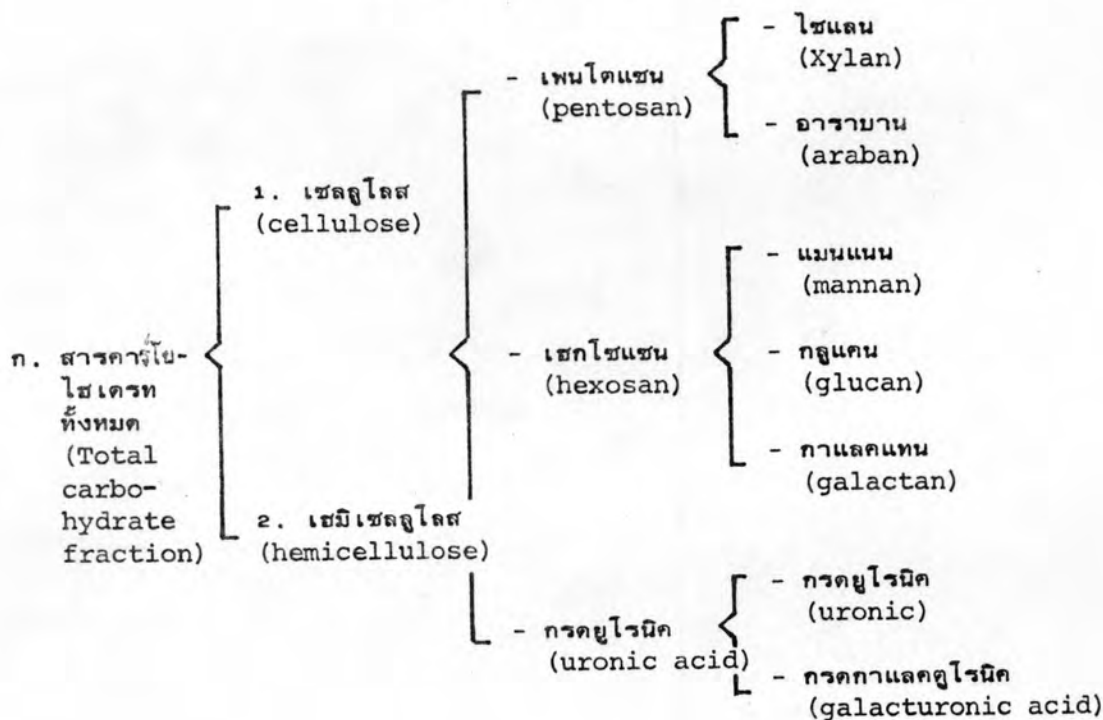
การจัดจำพวกสารประกอบเคมีของเนื้อเยื่อไม้ ดังแสดงในรูปที่ 2-4

### 2.3.2 สารประกอบเคมีในโครงสร้างเซลลูโลส

เซลล์ซึ่งเป็นส่วนที่เล็กที่สุดของเนื้อเยื่อไม้ ผนังเซลล์ของพืชต้องรับแรงดันออสโมติก (osmotic pressure) ซึ่งมีแรงแตกต่างกันระหว่างของเหลวภายนอกและในเซลล์ ผนังเซลล์ของพืช จึงต้องแข็งแรงพอที่จะสามารถทนทานต่อแรงดัน และรับน้ำหนักมาก ๆ ได้ ผนังเซลล์ของพืช มีสารประกอบเซลลูโลสเป็นส่วนใหญ่

เซลลูโลสเป็นสารประกอบคาร์โบไฮเดรตที่เป็นโพลีแซคคาไรด์ ซึ่งประกอบไปด้วยน้ำตาลกลูโคสหลาย ๆ โมเลกุลมาต่อกันเข้าด้วยกันเป็นโครงสร้างที่มีความยาวคล้ายลูกโซ่

## 1. สารประกอบหลักของผนังเซลล์



## 2. สารประกอบที่สามารถสกัดออกมาได้

- ก. น้ำมันระเหย ยางที่เป็นกรด (acid resin) กรดระเหย
- ข. น้ำมัน (fatty oils)
- ค. สารที่ประกอบเป็นเม็ดสี (pigment)
- ง. สารแทนนิน (tannides)
- จ. พวกลิพิดแซคคาไรด์ที่ละลายได้ (soluble polysaccharide) และกลูโคไซด์ (glucosides)
- ฉ. เถ้า (ash) เป็นพวกเกลือแร่
- ช. สารอินทรีย์ซึ่งเป็นสารประกอบของไนโตรเจน
- ซ. สารอินทรีย์ชนิดอื่น ๆ เช่น สารคล้ายไฟโตสเตอรอล (phytosterol-like)

รูปที่ 2-4 การจัดจำพวกสารประกอบเคมีของเนื้อไม้ (4)



ดังแสดงในรูป 2-5 กลูโคสแต่ละโมเลกุลจะจับกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก (glycosidic bond) พันธะนี้เกิดขึ้นระหว่างคาร์บอนที่หนึ่งของน้ำตาลกลูโคส และคาร์บอนที่สี่ของน้ำตาลตัวต่อไป เนื่องจากไฮดรอกซิล กรุ๊ป (-OH) ของคาร์บอนตัวที่ 1 อยู่ในตำแหน่งเบต้า ( $\beta$ ) จึงเรียกพันธะนี้ว่าเบต้า 1-4ไกลโคซิดิก หากจะพิจารณาโครงสร้างของเซลลูโลสว่าเป็นโมเลกุลของน้ำตาลโคแซคคาไรต์ (disaccharides) มาต่อกันแล้ว จะเห็นว่าน้ำตาลโคแซคคาไรต์ นั้นคือ เซลโลไบโอส (cellobiose) เขียนสูตรเคมีได้เป็น  $C_6H_{11}O_6 - [C_6H_{10}O_5]_{n-2} - C_6H_{11}O_6$  เมื่อ n คือ จำนวนโมเลกุลของหน่วยกลูโคสทั้งหมดที่ประกอบเป็นโครงสร้างลูกโซ่นี้ ประมาณกันว่า เซลลูโลสมีน้ำหนักโมเลกุลตั้งแต่ 50,000-500,000 ซึ่งเท่ากับ 300-3000 หน่วยกลูโคส โมเลกุลของเซลลูโลสเรียงขนานกันเป็นมัด ๆ เรียกว่า ไมโครไฟบริลซึ่งจับกันอยู่โดยพันธะไฮโดรเจน (hydrogen bond) และไม่ละลายน้ำ

เซลลูโลสไฟบริล (cellulose fibril) นี้เป็นส่วนประกอบสำคัญของผนังเซลล์ของพืชชั้นสูง อาจเปรียบได้กับกำแพงคอนกรีต ซึ่งมีเซลลูโลสไฟบริลเป็นเหล็กเส้น และมีสารอื่น ๆ ที่อยู่บริเวณพื้นที่ระหว่างเซลล์ หรือมีดีแลลาเมลลาเป็นคอนกรีตสารเหล่านั้นได้แก่ เฮมิเซลลูโลส เพคติน (pectin) ลิกนิน และ เอ็กซ์เทนซิน (extensin) กำแพงคอนกรีตนี้สามารถทนทานต่อน้ำหนักได้มาก (8.9)

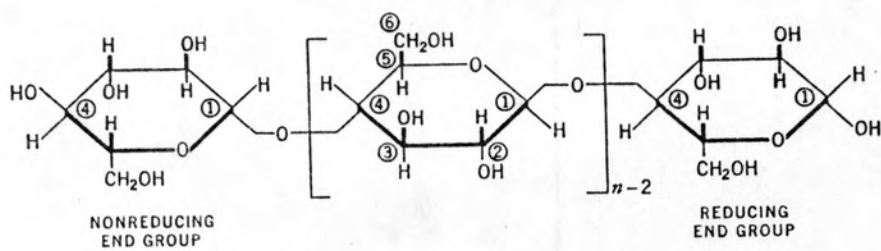
#### 2.4 สารประกอบเคมีของเฮมิเซลลูโลส

เฮมิเซลลูโลส เป็นสารโพลีแซคคาไรต์จำพวกหนึ่ง ซึ่งส่วนมากมักเป็นดี-ไซแลน ประกอบด้วยน้ำตาลไซโลส (xylose) หลาย ๆ หน่วยต่อกันเป็นพันธะ เบต้า-(1-4)ไกลโคซิดิก ดังแสดงในรูป 2-6 ก. และ 2-6-ข เฮมิเซลลูโลส ต่างจากเซลลูโลส ตรงที่เฮมิเซลลูโลส มีโพลีแซคคาไรต์หลายชนิดประกอบอยู่ (7) คือ

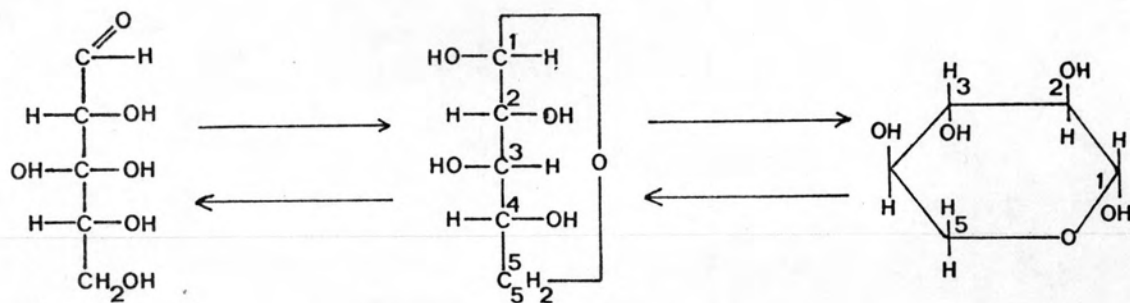
1. เพนโตแซน (pentosan) ส่วนใหญ่เป็น ไซแลน อาราบาน ซึ่งเมื่อนำไปไฮโดรไลสจะได้น้ำตาลไซโลสและอาราบินอส ไซแลนเป็นสารที่มีอยู่ในเฮมิเซลลูโลสมากกว่าสารอื่น ๆ

2. เฮกโซแซน (hexosan) ส่วนใหญ่เป็น แมนแนน และยังมีกาแลคแทน กุลแคน ซึ่งเมื่อถูกไฮโดรไลสจะได้ น้ำตาล แมนโนส กาแลคโตส และกลูโคส ตามลำดับ

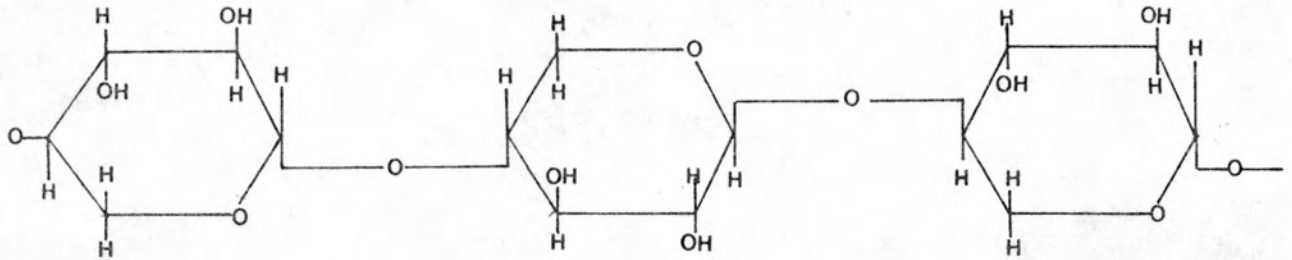
3. โพลียูโรนิน (polyuronides) ส่วนมากอยู่ในรูปสารประกอบของกรดโพลียูโรนิก



รูปที่ 2-5 สูตรโครงสร้างโมเลกุลของลูกโซ่เซลลูโลส [Haworth projection, (8,9)]



รูปที่ 2-6-ก สูตรโครงสร้างของไซโลส ซึ่งประกอบด้วยคาร์บอน 5 อะตอม (7.8)



รูป 2-6-ข.

สูตรโครงสร้างโพลีเมอร์ไซแลน ประกอบด้วยโครงสร้างหกเหลี่ยม (5, 7)  
ของน้ำตาลไซโลส ที่ต่อกันด้วยพันธะ เบต้า-ไกลโคซิดิก

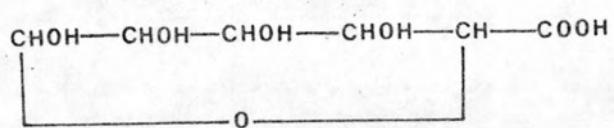
สารประกอบทั้งสามชนิดข้างต้นจะรวมกันอยู่ เป็นโพลีแซคคาไรด์ผสม เช่น หาก เป็น เฮกโซแซน ระหว่าง อาราบาน และ กาแลคแทน รวมอยู่ด้วยกันจะเรียกว่า อาราโบกาแลคแทน (arabogalactan) ชนิดและปริมาณของโพลีแซคคาไรด์ผสมนี้จะขึ้นกับชนิดของพืช (4)

เฮมิเซลลูโลส ไม่ได้ประกอบเพียงโพลีเมอร์ของ เพนโตส และ เฮกโซส เท่านั้น ในปฏิกิริยาไฮโดรไลสด้วยกรด ผลที่ได้นอกจากมี โพลีแซคคาไรด์แล้ว ยังพบ กรดยูโรนิค อยู่เล็กน้อยในปริมาณหนึ่ง กรดยูโรนิคตัวที่สำคัญ คือ เฮกซูโรนิค (hexuronic acid) ซึ่งประกอบด้วย คาร์บอน 6 อะตอม เช่น เมต้า-ดี-กลูคูโรนิค ( $\beta$ -D-glucuronic) เมต้า-ดี-แมนนูโรนิค ( $\beta$ -D-mannuronic) ในรูป 2-7 -ก. 2-7-ข และ 2-7-ค

ข้อแตกต่างของ เฮมิเซลลูโลส กับ เซลลูโลส คือ แม้ เฮมิเซลลูโลสเป็นกลุ่มของคาร์โบไฮเดรตคล้าย ๆ กับ เซลลูโลส แต่มีคุณสมบัติที่ถูกไฮโดรไลสด้วยกรดเจือจางได้ง่ายกว่าเซลลูโลส นอกจากนี้ เฮมิเซลลูโลสยังละลายในสารละลายต่าง ไฮเดียมไฮดรอกไซด์ 17-18%

อย่างไรก็ตาม เฮมิเซลลูโลสยังมีบางส่วนที่ไม่ละลายด้วยต่าง และไม่ถูกไฮโดรไลสได้ง่าย พบว่า เฮมิเซลลูโลสที่ทำปฏิกิริยาได้ยากนี้จะอยู่ในบริเวณเดียวกันกับเซลลูโลสที่ทำปฏิกิริยาได้ยากเช่นกัน บริเวณนี้เรียกว่า เซลโลแซน (cellosans) เซลโลแซนจะประกอบด้วย เฮมิเซลลูโลสที่มีโครงสร้างเป็นลูกโซ่สั้น ๆ จัดทิศทางไปตามความยาวของโครงสร้างลูกโซ่ของเซลลูโลส กล่าวได้ว่า เฉพาะเฮมิเซลลูโลสที่อยู่ในบริเวณเดียวกับอะมอฟัสเซลลูโลสเท่านั้นจึงจะทำปฏิกิริยาได้ง่าย ส่วนเซลโลแซนเกิดปฏิกิริยาได้ยาก จึงต้องใช้ภาวะที่รุนแรงกว่า (4)

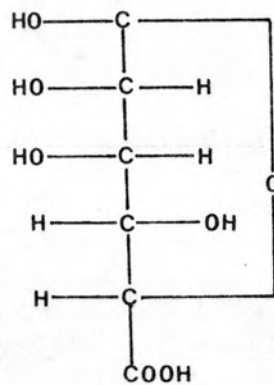
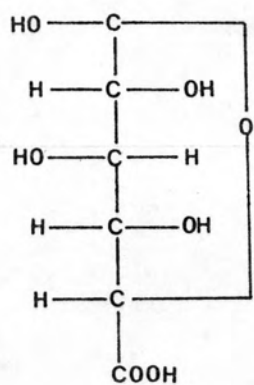
เฮมิเซลลูโลส จะมีความยาวโครงสร้างลูกโซ่สั้นกว่าของเซลลูโลสมาก ความยาวลูกโซ่นี้อาจวัดด้วยดีกรีของโพลีเมอร์ หรือ ดี.พี. (degree of polymerization, D.P.) เฮมิเซลลูโลส มีค่า ดี.พี. 100-200



รูปที่ 2-7-ก.

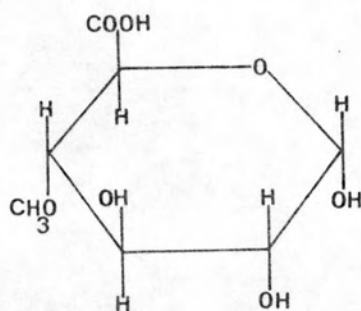
สูตรเคมีของการดิวไรบิคที่เป็นส่วนประกอบของเฮมิเซลลูโลส (4, 7)





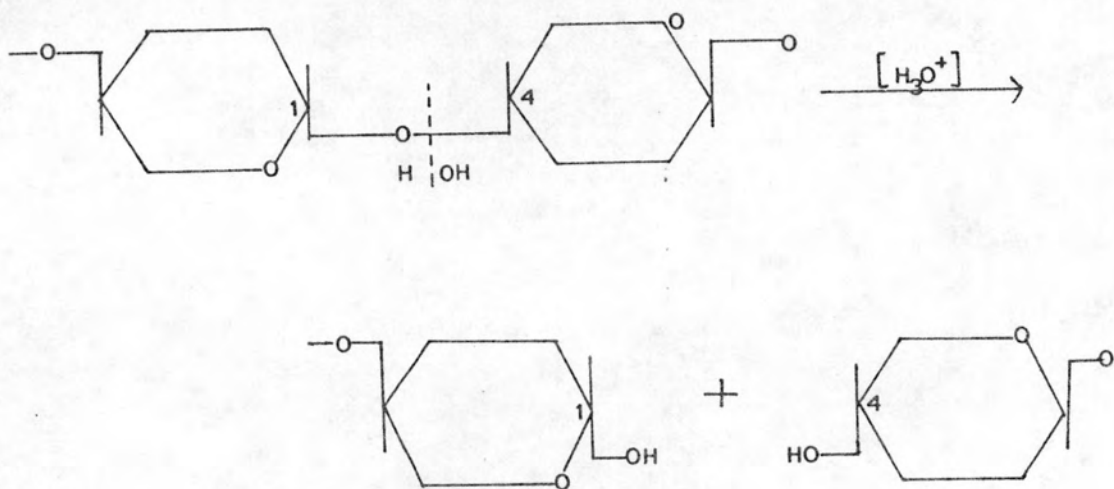
รูปที่ 2-7 ข. แสดงสูตรโครงสร้างกรดคาร์บอนิกชนิดที่ประกอบด้วยอะตอมของคาร์บอน

6 ตัว (6.9)



รูปที่ 2-7-ค. สูตรโครงสร้างหกเหลี่ยมของ 4-เมทิล-ดี-กลูโค ยูโรนิก  
 (4-Methyl-D-Glucouronic acid) ซึ่งมักพบใน  
 เซมิเซลล์ของพืชชนิดต่าง ๆ เป็นส่วนมาก (4.7)





รูป 2-8

แสดงปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสบนโครงสร้างของโพลีแซคคาไรด์ (4, 5, 7)

### 2.5.2 ทฤษฎีของปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสในเนื้อเยื่อพืช

ในขบวนการไฮโดรไลซิสของเซลลูโลสมีเหตุการณ์ที่เกิดขึ้น คือ อัตราการไฮโดรไลซิสของเซลลูโลสจะไม่คงที่ โดยการพิจารณาจากค่า ดี.พี. ในขั้นเริ่มต้นของการไฮโดรไลซิส อัตราการลดลงของ ดี.พี. เกิดอย่างรวดเร็ว และอัตราการลดลงของ ดี.พี. ค่อย ๆ ช้าลงเรื่อย ๆ ในขั้นต่อไป

ปรากฏการณ์ของไฮโดรไลซิสนี้มีทฤษฎีอธิบายได้ (4) โดยไฮโดรโครงสร้างภายในโมเลกุล (supermolecular structure) ของเซลลูโลส แบ่งเซลลูโลสตามโครงสร้างการจัดเรียงโมเลกุลของมันเป็น 2 เขต คือ บริเวณที่โมเลกุลเกาะกัน มีรูปร่างไม่แน่นอน (amorphous region) และบริเวณที่โมเลกุลเกาะกันเป็นรูปผลึก (crystalline region)

Nikerson และคณะ (4) ได้ทำการทดลองวิเคราะห์เซลลูโลสส่วนที่มีรูปร่างไม่แน่นอน และส่วนที่เป็นผลึก พบว่าเซลลูโลสส่วนที่มีรูปร่างไม่แน่นอนจะเกิดการไฮโดรไลซิสได้อย่างรวดเร็ว แม้ว่าจะใช้สภาวะอ่อน (mild condition) ซึ่งในสภาวะนี้ เซลลูโลสส่วนที่มีรูปผลึกจะไม่เกิดไฮโดรไลซิสเลย การไฮโดรไลซิสของผลึกเซลลูโลสจะเกิดขึ้นได้ต่อเมื่อใช้สภาวะที่รุนแรง (vigrous condition) เช่น ที่ความเข้มข้นของกรด และอุณหภูมิสูง จากผลการทดลองนี้กล่าวได้ว่า การไฮโดรไลซิสในเวลาเริ่มต้นจะเกิดในบริเวณที่โมเลกุลของเซลลูโลสจัดเรียงตัวมีรูปร่างไม่แน่นอนก่อน โดยโมเลกุลในบริเวณนี้เกาะกันอยู่หลวม ๆ จึงทำให้อัตราการไฮโดรไลซิสเกิดขึ้นได้เร็ว และต่อมาจะเกิดปฏิกิริยาเข้าไปในบริเวณที่โมเลกุลของเซลลูโลส จัดเรียงตัวเป็นผลึก ซึ่งเป็นบริเวณที่โมเลกุลมีการยึดเหนี่ยวกันอย่างหนาแน่นกว่าบริเวณแรก ทำให้อัตราไฮโดรไลซิสในช่วงเวลาหลังลดลงเรื่อย ๆ

ต่อมามีผู้ศึกษาโครงสร้างของเซลลูโลส (4,5,7) ในบริเวณที่มีรูปร่างเป็นผลึก โดยรังสีเอ็กซ์ พบว่าบริเวณนี้จะมีการขยายเนื้อที่มากขึ้นในขณะเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส พบว่ามาจากสาเหตุ 2 ประการ คือ

1. บริเวณโมเลกุลที่มีรูปร่างไม่แน่นอน (amorphous) ละลายในตัวทำละลาย (solvent) และรวมตัวกันเป็นผลึกขึ้นมาใหม่
2. โมเลกุลที่มีรูปร่างไม่แน่นอนบางส่วนจะกลับกลายเป็นผลึก เรียกปรากฏการณ์นี้ว่ารีคริสตัลไลเซชัน (recrystallization) คือ การที่โมเลกุลที่จัดตัวมีรูปร่างไม่แน่นอน และเกาะกันอยู่อย่างหลวม ๆ เกิดการเกาะกันแน่นขึ้น และรวมตัวกลายเป็นโมเลกุลที่มีรูปร่างผลึก ซึ่งข้อนี้มีผลต่อการขยายเนื้อที่บริเวณที่มีโมเลกุลเป็นผลึกมาก

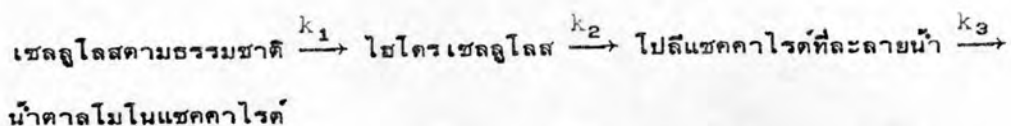
พบว่าขบวนการรีดริสตัลไลเซชันจะเกิดขึ้น แต่ในปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสที่ใช้สภาวะอ่อน (mild condition) เท่านั้น ซึ่งอัตราการคลายตัวของ พันธะไกลโคซิดิก จะเกิดอย่างช้า ๆ แต่ไม่ถึงกับแตกหักอันเป็นโอกาสให้เกิดการจัดโมเลกุลเป็นผลึกได้ ดังนั้นอัตราการไฮโดรไลซิสในเวลาร่วงหลังค่อยลดลงเรื่อย ๆ ก็เนื่องจากเกิด รีดริสตัลไลเซชันขึ้นดังกล่าวนี้ด้วย

## 2.6 กลไกของปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของโพลีแซคคาไรด์ในสารละลายกรด เจือจาง

จาก 2.5.1 ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสสารโพลีแซคคาไรด์ในพืช เกิดขึ้นที่ พันธะ 1-4 ไกลโคซิดิก ซึ่งเชื่อมระหว่างหน่วยโมโนแซคคาไรด์ นอกจากพันธะดังกล่าวนี้แล้ว ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสยังเกี่ยวข้องกับพันธะไฮโดรเจนอีกด้วย เนื่องจากโครงสร้างลูกโซ่ของ เซลลูโลสต่างก็เกาะกันอยู่ด้วยพันธะไฮโดรเจน พันธะไฮโดรเจนแม้มีแรงยึดเหนี่ยวน้อยกว่าพันธะโควาเลนต์ไกลโคซิดิก (covalent glycosidic bond) ก็ตาม แต่ก็ทำให้เซลลูโลสรวมกันได้เป็นมัดของไมโครไฟบริลอยู่ได้ ดังนั้น ในการไฮโดรไลซิสจึงต้องทำลายทั้งพันธะไฮโดรเจนและพันธะโควาเลนต์ไกลโคซิดิก (7)

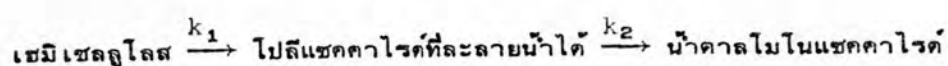
ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสไม่ได้เป็นปฏิกิริยาขั้นตอนเดียวที่โพลีแซคคาไรด์จะถูกไฮโดรไลสไป เป็นโมโนแซคคาไรด์ แต่เป็นปฏิกิริยาหลายขั้นตอนโดยที่ความยาวของโครงสร้างลูกโซ่ของ เซลลูโลสค่อย ๆ ถูกตัดออกไปเรื่อย ๆ ในแต่ละขั้นตอน

ไฮโดรไลซิสของ เซลลูโลสในกรดเจือจาง เป็นดังนี้ คือ (4,7)



ปฏิกิริยาที่ 1 เกิดด้วยอัตราเร็วมาก (4,7) แม้จะเป็นการไฮโดรไลสด้วยสภาวะอ่อนก็ตาม ปฏิกิริยาขั้นที่สองมีอัตราช้าและเป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง (first order reaction) ปฏิกิริยานี้จึงเป็นปฏิกิริยาที่ตัดสินอัตราของปฏิกิริยาทั้งหมด (rate-determining reaction) ปฏิกิริยาขั้นที่ 3 เป็นไฮโดรไลซิสของโอลิโกแซคคาไรด์ (oligosaccharide) เกิดขึ้นในอัตราเร็ว

ไฮโดรไลซิสของเฮมิเซลลูโลสก็คล้ายกับ เซลลูโลส คือ





สำหรับ เซมิ เซลลูโลสส่วนที่ถูกไฮโดรไลสได้ง่าย ปฏิกริยาขั้นที่ 1 เกิดในอัตราเร็วกว่าปฏิกริยาขั้นที่ 2 มาก ดังนั้น ปฏิกริยาขั้นที่สองจึงเป็นขั้นตัดสินอัตราของปฏิกริยาทั้งหมด

ในกลไกของปฏิกริยาไฮโดรไลซิส กรดซึ่งเป็นตัวคะตะลิสต์แตกตัวให้ไฮโดรเจนอิออน ไฮโดรเจนอิออนจะไปโปรโตไนซ์ (protonize) โมเลกุลของน้ำ ทำให้กรดเกิดไฮโดรเนียมอิออนขึ้น ไฮโดรเนียมอิออนเป็นโมเลกุลที่ไม่มั่นคง (unstable molecule) จึงเป็นจุดเริ่มต้นของการเกิดปฏิกริยากับอะตอมออกซิเจนในพันธะไกลโคซิดิกของโพลีแซคคาไรด์ ดังแสดงในรูป 2-9

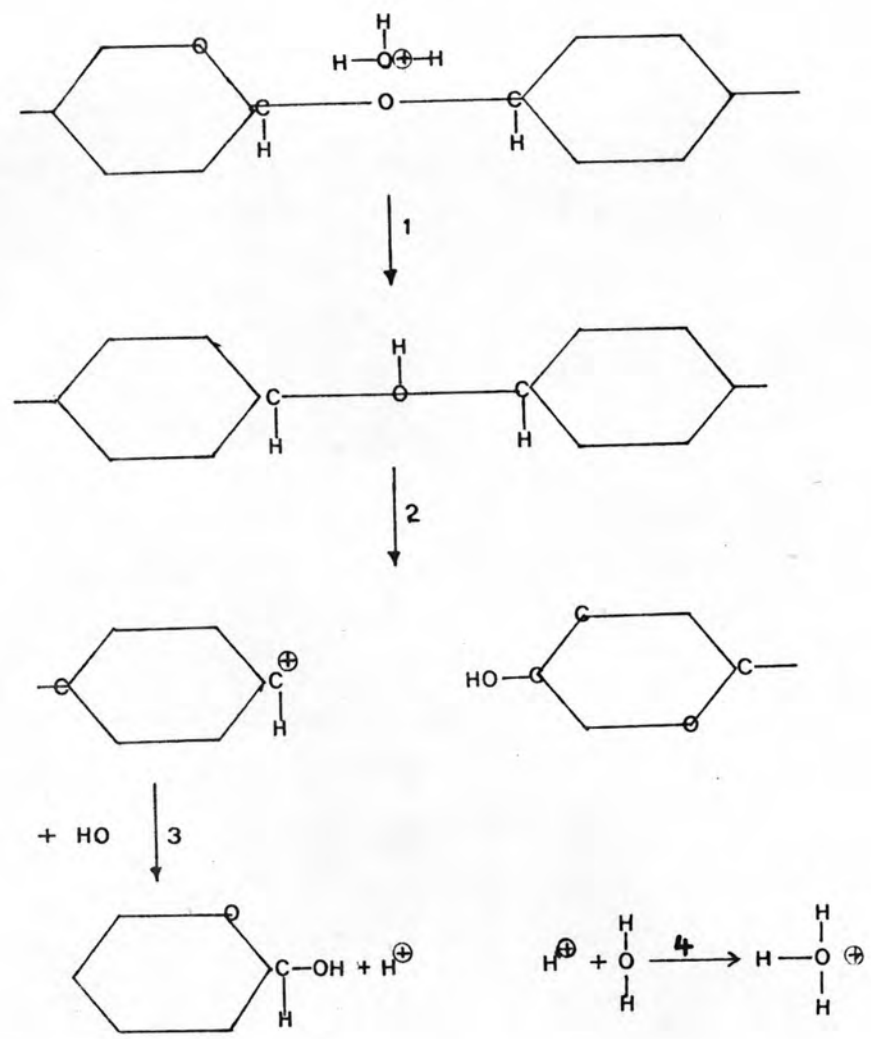
จากกลไกของปฏิกริยาจะเห็นได้ว่า หากในของเหลวมีไฮโดรเจนอิออนอยู่มาก ก็จะทำให้เกิดปฏิกริยาไฮโดรไลซิสได้เร็วขึ้น จึงนิยมใช้กรดแร่ที่แรง (strong mineral acid) ซึ่งสามารถแตกตัวให้ไฮโดรเจนอิออนได้ง่าย เป็นคะตะลิสต์ โดยอัตราของปฏิกริยาจะเพิ่มขึ้นโดยตรงกับความสามารถในการแตกตัวให้ไฮโดรเจนอิออนของคะตะลิสต์นั้น ๆ

## 2.7 ผลิตภัณฑ์จากปฏิกริยาไฮโดรไลซิสของโพลีแซคคาไรด์ในสารละลายกรด

เนื่องจากปฏิกริยาไฮโดรไลซิสมีหลายขั้นตอน แต่ละขั้นก็ได้สารที่เป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ กันไป และเนื่องจากโพลีแซคคาไรด์ในเซลลูโลสและเซมิเซลลูโลสนั้นต่างก็มีบริเวณที่ไฮโดรไลสได้ยากง่ายต่างกัน จึงทำให้ของเหลวที่ได้จากการไฮโดรไลส นอกจากจะเป็นของผสมของน้ำตาลที่เป็นโมโนแซคคาไรด์แล้ว หากปฏิกริยาไม่สมบูรณ์ก็จะมีโอลิโกแซคคาไรด์อยู่ด้วย และหากปฏิกริยาไฮโดรไลสยังคงดำเนินต่อไปมากเกินไปแล้ว น้ำตาลที่เป็นโมโนแซคคาไรด์ก็จะสลายตัวไปเป็นสารอื่น (4, 7, 13):

ไฮโดรเซลลูโลส (hydrocellulose) ในการไฮโดรไลสโพลีแซคคาไรด์ด้วยกรดเจือจางนั้น ผลผลิตที่ได้ในขั้นแรก คือ ไฮโดรเซลลูโลสเป็นของผสมของกลุ่มโพลีแซคคาไรด์ที่มีโครงสร้างเป็นลูกโซ่สั้น ๆ และผลผลิตอื่น ๆ ที่ไม่มีคุณสมบัติของโพลีเมอร์ของเซลลูโลสเหลืออยู่ เช่น โอลิโกแซคคาไรด์ เซลโลไบโอส (cellobiose) กลูโคส ซึ่ง กลูโคสสามารถละลายน้ำได้

เซลโลเดกซ์ทริน (cellodextrin) ในการไฮโดรไลสด้วยสารละลายเข้มข้นของกรดแร่ หากปล่อยให้เป็นเวลานาน จะเกิดปฏิกริยารุนแรงกับเซลลูโลส โดยเกิดการสูญเสียโมเลกุลน้ำในโครงสร้างของเซลลูโลส ทำให้คุณสมบัติในการตกตะกอนและการ



รูปที่ 2-9 แสดงกลไกของปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสในสารละลายกรด (4,10)

1. อะตอมออกซิเจนที่พันธะไกลโคซิดิกถูกโปรโตไนซ์ด้วยโปรตอนของไฮโดรเนียมไอออน
2. พันธะไกลโคซิดิกแตกออก และก่อตัวเป็นคาร์บอนเนียมไอออนและโพลีแซคคาไรด์ที่มีโครงสร้างสั้นลงจากเดิม
3. คาร์บอนเนียมไอออนทำปฏิกิริยากับน้ำ ได้โพลีแซคคาไรด์ที่มีความยาวสั้นลงจากเดิม และได้โปรตอน
4. โปรตอนจับกับโมเลกุลของน้ำ เกิดเป็นไฮโดรเนียมไอออนใหม่ขึ้น และเริ่มทำปฏิกิริยาแยกพันธะใหม่ได้อีก

ละลายน้ำของผลผลิตนั้นน้อยลงไป ผลผลิตที่เกิดขึ้นเรียกว่า เซลโลเตกซ์ตริน อย่างไรก็ตาม เซลโลเตกซ์ตรินสามารถตกตะกอนอยู่ในรูปของกรดซัลฟูริก เอสเทอร์ (sulfuric acid esters)

โอลิโกแซคคาไรด์ (oligosaccharide) เป็นโพลีแซคคาไรด์ที่ประกอบด้วย โมโนแซคคาไรด์ประมาณ 3-12 หน่วย ในของผสมที่ได้จากการไฮโดรไลสของโอลิโกแซคคาไรด์ ที่มีความยาวโครงสร้างสั้น ๆ คือ เซลโลเพนโตส (cellopentose) และเป็นโอลิโกแซคคาไรด์ ที่สามารถละลายในน้ำได้น้อย

โมโนแซคคาไรด์ (monosaccharide) ซึ่งเป็นผลผลิตขั้นสุดท้ายของปฏิกิริยา ไฮโดรไลสด้วยกรดที่พบในปริมาณมากที่สุด ได้แก่ กลูโคส รองลงมาได้แก่ ซาโลส นอกนั้น มี แมนโนส กาแลคโตส อาราบิโนส ฯลฯ

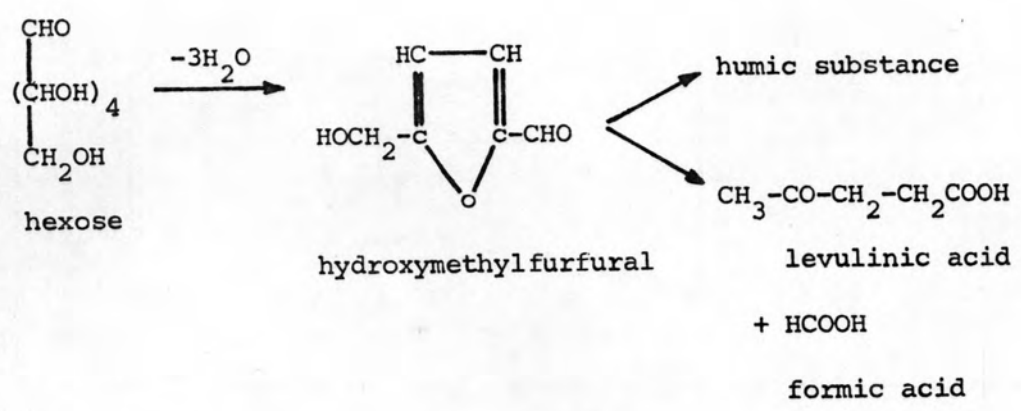
อนุพันธ์ของกรดอินทรีย์ เช่น อนุพันธ์ของกรดยูโรนิก กรดฟอร์มิก กรดอะซิติก ผลผลิตที่เกิดจากการสลายตัวของโมโนแซคคาไรด์ ได้แก่ ฟวคัล (furfural) กรดฟอร์มิก กรดลิวลินิก (levulinic acid) ดังแสดงในรูป 2-10-ก. และ ข.

## 2.8 จลนศาสตร์ของปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของสารแซคคาไรด์ในสารละลายกรด

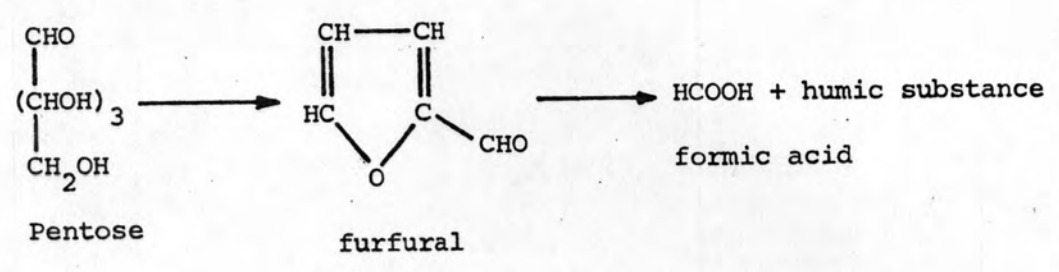
ดังได้กล่าวในบทข้างต้นว่าทั้ง เซมิเซลลูโลส และ เซลลูโลส ต่างก็มีทั้งส่วนที่ทำ ปฏิกิริยาได้ง่าย คือ ส่วนที่อยู่ในบริเวณที่ไม่เลกอลของเซลลูโลสมีรูปร่างไม่แน่นอน และส่วนที่ ทำปฏิกิริยาได้ยาก คือ ส่วนที่อยู่ในบริเวณที่ไม่เลกอลของเซลลูโลสมีรูปร่างเป็นผลึกปฏิกิริยา ไฮโดรไลซิสด้วยกรด ในบริเวณที่เกิดปฏิกิริยาอย่าง่ายนั้น มีอัตราปฏิกิริยาเร็วมาก ในการศึกษา จลนศาสตร์ของปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของสารโพลีแซคคาไรด์ด้วยกรด จึงสนใจปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น กับบริเวณโพลีแซคคาไรด์ส่วนที่เกิดปฏิกิริยาได้ยาก โดยสามารถตรวจวิเคราะห์ปริมาณสาร ที่เข้าทำปฏิกิริยา (reactant) และสารผลผลิต (product) ในแต่ละช่วงเวลาระหว่างเกิด ปฏิกิริยาได้

Saeman (12) ได้ทำการทดลองพบว่า การทำเซลลูโลสให้เป็นโมโนแซคคาไรด์ (saccharification) มีปฏิกิริยาที่เกิดต่อเนื่องกัน 2 ปฏิกิริยา คือ

1. ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของโพลีแซคคาไรด์ได้ น้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugar) ซึ่งเป็นโมโนแซคคาไรด์
2. ปฏิกิริยาการสลายตัวของน้ำตาลโมโนแซคคาไรด์ซึ่งเป็นผลผลิตของปฏิกิริยา



รูปที่ 2-10 ก. สมการแสดงปฏิกิริยาการสลายตัวของเฮกโซสในการไฮโดรไลส์  
 ด้วยสารละลายกรดได้ผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ (5.7)



รูปที่ 2-10 ข. สมการแสดงปฏิกิริยาการสลายตัวของเพนโตสในการไฮโดรไลส์  
 ด้วยสารละลายกรดได้ผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ (5.7)

นอกจากนี้เขายังพบว่า ทั้งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเซลลูโลสส่วนที่ย่อยยาก และปฏิกิริยาการสลายตัวของน้ำตาลโมโนแซคคาไรด์เป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง (first-order reaction) และอัตราเร็วของปฏิกิริยาทั้งสองใกล้เคียงกัน

ในการศึกษาทางจลนศาสตร์มักจะ เป็นการทดลองเพื่อหาค่าคงที่ของอัตราเร็ว (rate constant) และเพื่อทราบความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปร (variable) กับอัตราเร็วของปฏิกิริยา

### 2.8.1 อัตราการสลายตัวของน้ำตาลโมโนแซคคาไรด์

#### 2.8.1.1 อัตราการสลายตัว เปรียบเทียบของน้ำตาลโมโนแซคคาไรด์ชนิดต่าง ๆ

เนื่องจากน้ำตาลโมโนแซคคาไรด์ในของเหลวไฮโดรไลซิส (hydrolyzates) เป็นน้ำตาลชนิดต่าง ๆ กัน ซึ่งมีกลูโคสเป็นส่วนใหญ่ และเป็นผลผลิตที่มุ่งหมายจะนำไปใช้ประโยชน์ จึงมีการทดลองหาอัตราการสลายตัวของน้ำตาลเหล่านี้เปรียบเทียบกัน เมื่อต้องการทราบว่าน้ำตาลกลูโคสที่ต้องการนั้นมีอัตราการเปลี่ยนแปลงปริมาณอย่างไรขณะเกิดปฏิกิริยา และปฏิกิริยาควรใช้เวลาเท่าไรจึงจะมีน้ำตาลกลูโคสอยู่ในปริมาณสูงสุด (12)

ผลการทดลองดังแสดงในรูป 2-11 เป็นกราฟระหว่างค่าลอการิทึมของเปอร์เซ็นต์ของน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือของตัวอย่างน้ำตาลชนิดต่าง ๆ กับเวลา พบว่า

- ตัวอย่างน้ำตาลทุกชนิดมีกราฟเป็นเส้นตรง แสดงว่า ปฏิกิริยาการสลายตัวของน้ำตาลเป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง ซึ่งในปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง อัตราปฏิกิริยาจะขึ้นกับความเข้มข้นของสารที่เข้าทำปฏิกิริยา

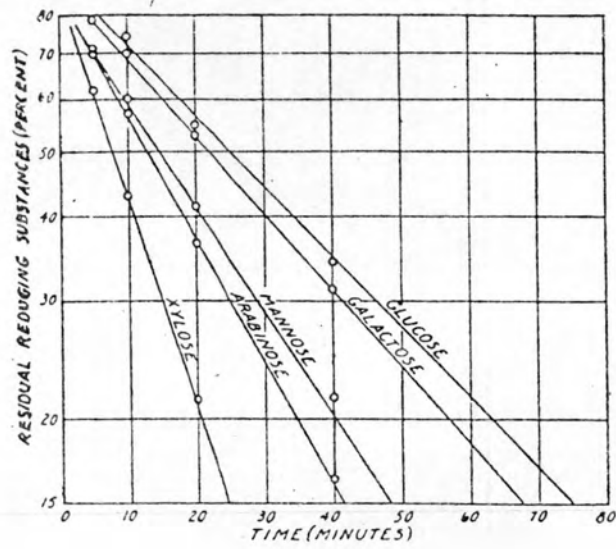
- สามารถหาค่าคงที่ของอัตราเร็วของปฏิกิริยาการสลายตัวของน้ำตาลแต่ละชนิดได้โดยหาค่าความลาดเอียง (slope) ของเส้นตรงในกราฟรูปที่ 2-11 ค่าคงที่ของอัตราเร็ว หาได้จากสมการ

$$k_i = -2.303 \times \text{ค่าความลาดเอียงของเส้นกราฟ } i$$

$$\text{เมื่อ } k = \text{ค่าคงที่ของอัตราเร็ว}$$

$$i = \text{น้ำตาลแต่ละชนิด}$$

เมื่อพิจารณาค่าคงที่ของอัตราเร็วของปฏิกิริยา และค่าเวลาสลายตัวครึ่ง (half life period) ของน้ำตาลแต่ละชนิดที่ได้จากรูป 2-11 แล้วพบว่าน้ำตาลแต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน โดยค่าคงที่ของอัตราเร็วของปฏิกิริยาของกลูโคส และค่าเวลาสลายตัวครึ่งเป็นค่าต่ำสุดกว่าน้ำตาลตัวอื่น จึงมีการสลายตัวช้ากว่าน้ำตาลอื่น ๆ



รูปที่ 2-11 การสลายตัวของน้ำตาลที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียสในสารละลายกรดซัลฟูริก 0.8% (12)





2.8.1.2 ความสัมพันธ์ของการสลายตัวของกลูโคสกับความเข้มข้นของกรด และอุณหภูมิ

เนื่องจากกลูโคสเป็นน้ำตาลโมโนแซคคาไรด์ที่มีปริมาณมากที่สุดในของเหลวไซโตพลาซึม และกลูโคสเป็นน้ำตาลที่มุ่งหมายจะนำไปใช้ประโยชน์ จึงศึกษาอิทธิพลของกรดและอุณหภูมิต่ออัตราการสลายตัวของกลูโคส ดังแสดงในรูป 2.1<sup>2</sup> (12) ซึ่งเป็นการเขียนกราฟระหว่างค่าลอการิทึมของเปอร์เซ็นต์ของน้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลือกับเวลา โดย

ก. แสดงการสลายตัวของกลูโคส เมื่อใช้กรดซัลฟูริกมีความเข้มข้น 0.4%, 0.8%, 1.6% ที่อุณหภูมิ 170 องศาเซลเซียสการสลายตัวของกลูโคส เมื่อใช้กรดซัลฟูริกมีความเข้มข้น 0.4%, 0.8%, 1.6% ที่อุณหภูมิ 170, 180, 190 องศาเซลเซียส ตามลำดับ นำค่าความลาดเอียงของกราฟมาคำนวณค่าคงที่ของอัตราเร็ว ค่าเวลาสลายตัวครึ่ง พบว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิขึ้นค่าคงที่ของอัตราเร็วจะเพิ่มขึ้นและค่าสลายตัวครึ่งจะลดลง เมื่อเพิ่มความเข้มข้นกรดก็จะเป็นเช่นเดียวกัน แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิและความเข้มข้นกรด เป็นปัจจัยที่มีผลสำคัญต่ออัตราการสลายตัวของกลูโคส (12)

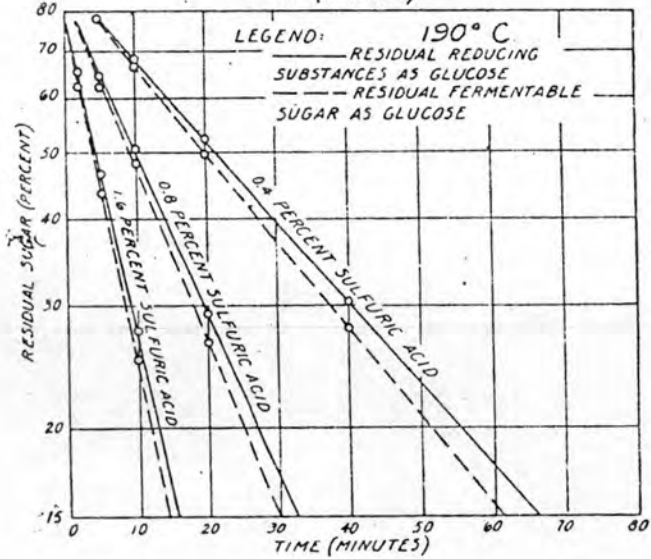
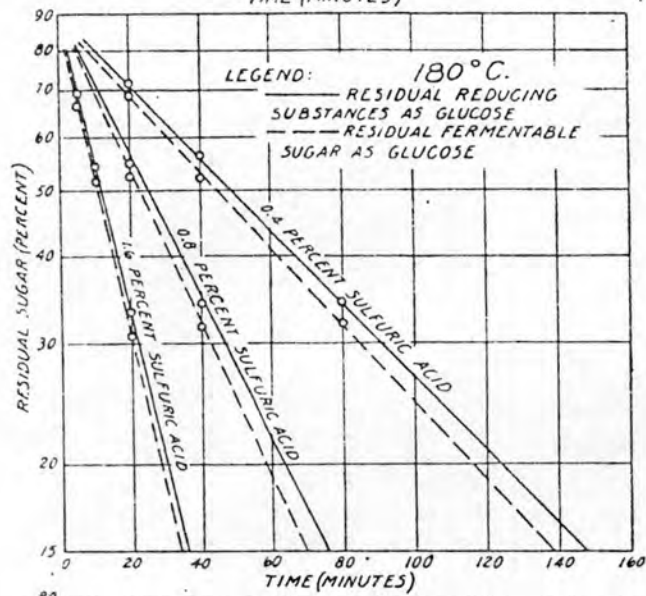
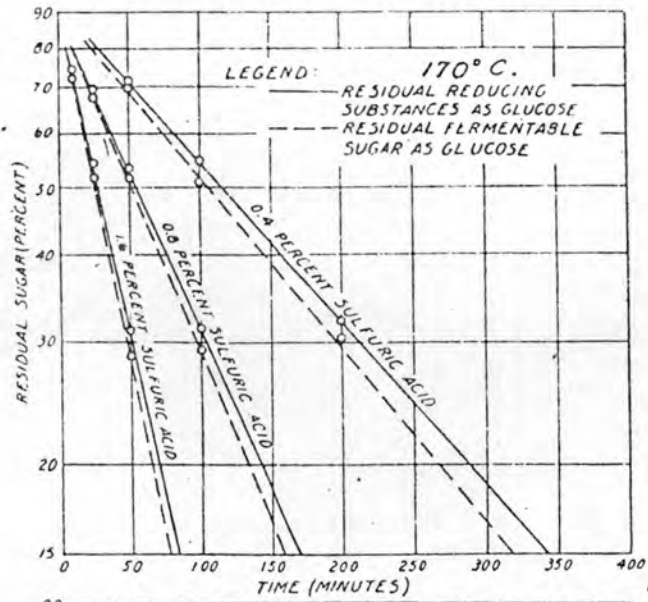
ผลของความเข้มข้นของกรดต่ออัตราการสลายตัวของกลูโคส แสดงได้โดยกราฟระหว่างค่าลอการิทึมของค่าคงที่ของอัตราเร็ว (k) กับความเข้มข้นกรดในรูป 2-13

จากรูปกราฟและค่าความลาดเอียงของเส้นกราฟ แสดงผลว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นกรด 100% อัตราการสลายตัวจะเพิ่มขึ้น 103% ในช่วงความเข้มข้นของกรด 0.8-1.6%

ผลของเวลาต่ออัตราการสลายตัวของกลูโคส แสดงโดยกราฟระหว่างค่าลอการิทึมของค่าคงที่ของอัตราเร็วต่อเศษส่วนของอุณหภูมิสัมบูรณ์ ในรูป 2-14 ได้กราฟเส้นตรง เมื่อใช้กรดที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ ปฏิบัติเป็นไปตามกฎของอาร์เรเนียส (Arrhenius's law) อันเป็นสมการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเร็วของปฏิกิริยากับอุณหภูมิสัมบูรณ์ คือ

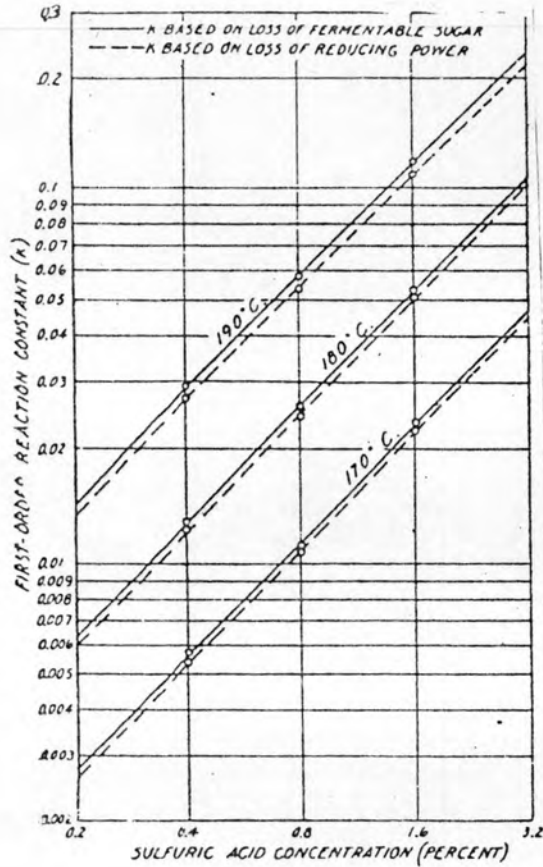
$$k = A e^{-\Delta H_a / RT}$$

เมื่อ  $k$  = ค่าคงที่ของอัตราเร็วของปฏิกิริยา ซึ่งมีค่าแปรตามอุณหภูมิสัมบูรณ์

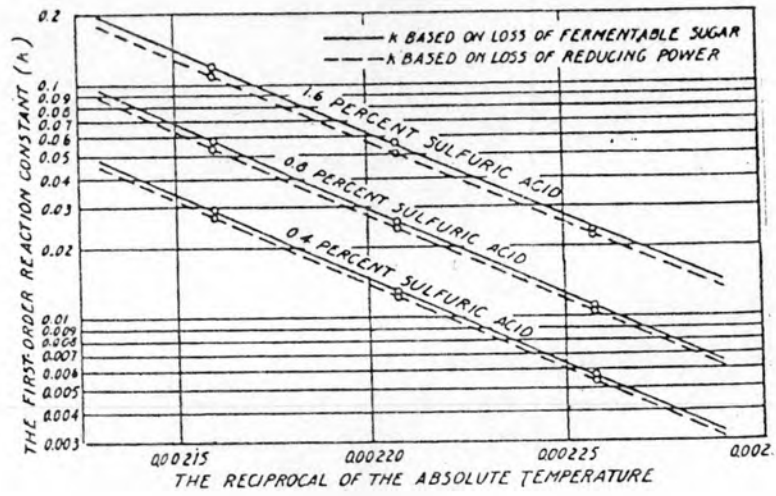


รูปที่ 2-12 การสลายตัวของกลูโคสในสารละลายกรดซัลฟูริกเจือจางที่อุณหภูมิ

170, 180 และ 190 องศาเซลเซียส (12)



รูปที่ 2-13 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าคงที่ของอัตราเร็ว ( $k$ ) กับความเข้มข้นของสารละลายกรด ในการสลายตัวของกลูโคสที่อุณหภูมิต่าง ๆ (12)



รูปที่ 2-14 แสดงความสัมพันธ์ของค่าคงที่ปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง (k) กับอุณหภูมิ  
ในการสลายตัวของกลูโคสด้วยสารละลายกรดซัลฟริกที่ความเข้มข้น  
ต่าง ๆ (12)

A = พังค์ชันของอาร์เรเนียสซึ่งไม่ขึ้นกับอุณหภูมิ

e = 2.718

R = ค่าคงที่ของก๊าซ

T = อุณหภูมิสัมบูรณ์

$\Delta H_a$  = พลังงานกระตุ้น (heat of activation)

$$\text{หรือ } \log k = \frac{-\Delta H_a}{2.303 RT} + \text{ค่าคงที่}$$

จากสมการคำนวณหาค่าความลาดเอียงของกราฟเส้นตรงได้ คือ

$$\text{ค่าความลาดเอียงของเส้น คือ } \frac{-\Delta H_a}{2.303 R}$$

ส่วนค่าความลาดเอียงที่ได้จากการทดลอง คือ  $\frac{d \log k}{d 1/T}$

(12, 13, 14, 15)

ผลการทดลองของ Saeman (12) พบว่าหากเพิ่มอุณหภูมิขึ้นจากเดิม 10 องศาเซลเซียส จะเป็นการเพิ่มอัตราการสลายตัวขึ้นอีก 125% โดยอุณหภูมิอยู่ในช่วง 170 - 190 องศาเซลเซียส

2.8.2 ความสัมพันธ์ของปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเซลลูโลสกับความเข้มข้นของกรดและอุณหภูมิ

Saeman (12) ทดลองโดยวิเคราะห์ปริมาณเซลลูโลสที่เหลือในช่วยเวลาต่าง ๆ กัน ปริมาณเซลลูโลสที่เหลือนี้วัดในรูปของ residual potential sugar โดยได้แปรค่าความเข้มข้นของกรดในช่วง 0.4%, 0.8%, 1.6%  $H_2SO_4$  ที่อุณหภูมิ 170, 180, 190 องศาเซลเซียส และช่วงเวลาเช่นเดียวกันกับที่ใช้ปฏิกิริยาการสลายตัวของกลูโคส ทั้งนี้เพื่อเปรียบเทียบกัน

(12)

จากการเขียนกราฟระหว่างค่าลอการิทึมของ เปอร์เซ็นต์ residual potential sugar กับ เวลา ได้กราฟเส้นตรงซึ่งแสดงว่าปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเซลลูโลสเป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง

เมื่อเขียนกราฟระหว่างปริมาณน้ำตาลอันเป็นผลที่ได้จากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเซลลูโลส (net reducing sugar) ที่อยู่ในสารละลายไฮโดรไลซิส (hydrolyzate) กับเวลา อาจแสดงในรูปที่ 2-15 กราฟที่ได้เป็นเส้นโค้งที่มีค่าเวลาที่เหมาะสม (optimum time) อันหนึ่งเท่านั้นที่จะได้น้ำตาลผลผลิตในปริมาณสูงสุด

ผลของความเข้มข้นกรดต่ออัตราการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเซลลูโลส จากการทดลองให้ผลเช่นเดียวกับการทดลองในปฏิกิริยาการสลายตัวของกลูโคส คือ เมื่อเขียนกราฟระหว่างค่าลอการิทึมของค่าคงที่ของอัตราเร็ว: ความเข้มข้นของกรด พบว่า หากเพิ่มความเข้มข้นกรดเป็นเท่าทวีคูณ ก็จะทำให้อัตราเร็วของปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเซลลูโลสเพิ่มขึ้นแบบเท่าทวีคูณด้วย เมื่อเขียนกราฟระหว่างค่าลอการิทึมของค่าคงที่ของอัตราเร็วกับส่วนกลับของอุณหภูมิสัมบูรณ์ จะได้กราฟเส้นตรง ซึ่งเป็นไปตามกฎของอาร์เรเนียส และได้ผลทำนองเดียวกันกับปฏิกิริยาการสลายตัวของกลูโคส คือ หากเพิ่มอุณหภูมิไปเท่าทวีคูณก็จะทำให้อัตราเร็วของปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเซลลูโลสเพิ่มขึ้นแบบเท่าทวีคูณด้วย

สมการจลนศาสตร์ (12, 13, 14, 15)

สมการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและอัตราปฏิกิริยาจากกฎของอาร์เรเนียส

$$k = A e^{-\frac{\Delta H_a}{RT}} \quad \dots (1)$$

$$\text{หรือ} \quad \log k = \frac{-\Delta H_a}{2.303 RT} + \text{ค่าคงที่} \quad \dots (2)$$

แสดงผลของอุณหภูมิต่ออัตราของปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเซลลูโลส และต่ออัตราของปฏิกิริยาการสลายตัวของกลูโคส เมื่อความเข้มข้นของกรดมีค่าคงที่

จากสมการข้างบนเห็นได้ว่าเมื่ออุณหภูมิ (T) เปลี่ยนไปเล็กน้อย ค่าคงที่ของอัตราปฏิกิริยา (k) จะเปลี่ยนไปได้มาก นั่นหมายถึง อัตราของปฏิกิริยาอ่อนเปลี่ยนไปได้มากด้วย โดยถ้าอุณหภูมิมียค่าสูงขึ้น ค่าคงที่ของอัตราปฏิกิริยาก็สูงขึ้นตาม หมายถึง ปฏิกิริยาเกิดขึ้นเร็วกว่าเดิม

สมการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและอัตราปฏิกิริยา

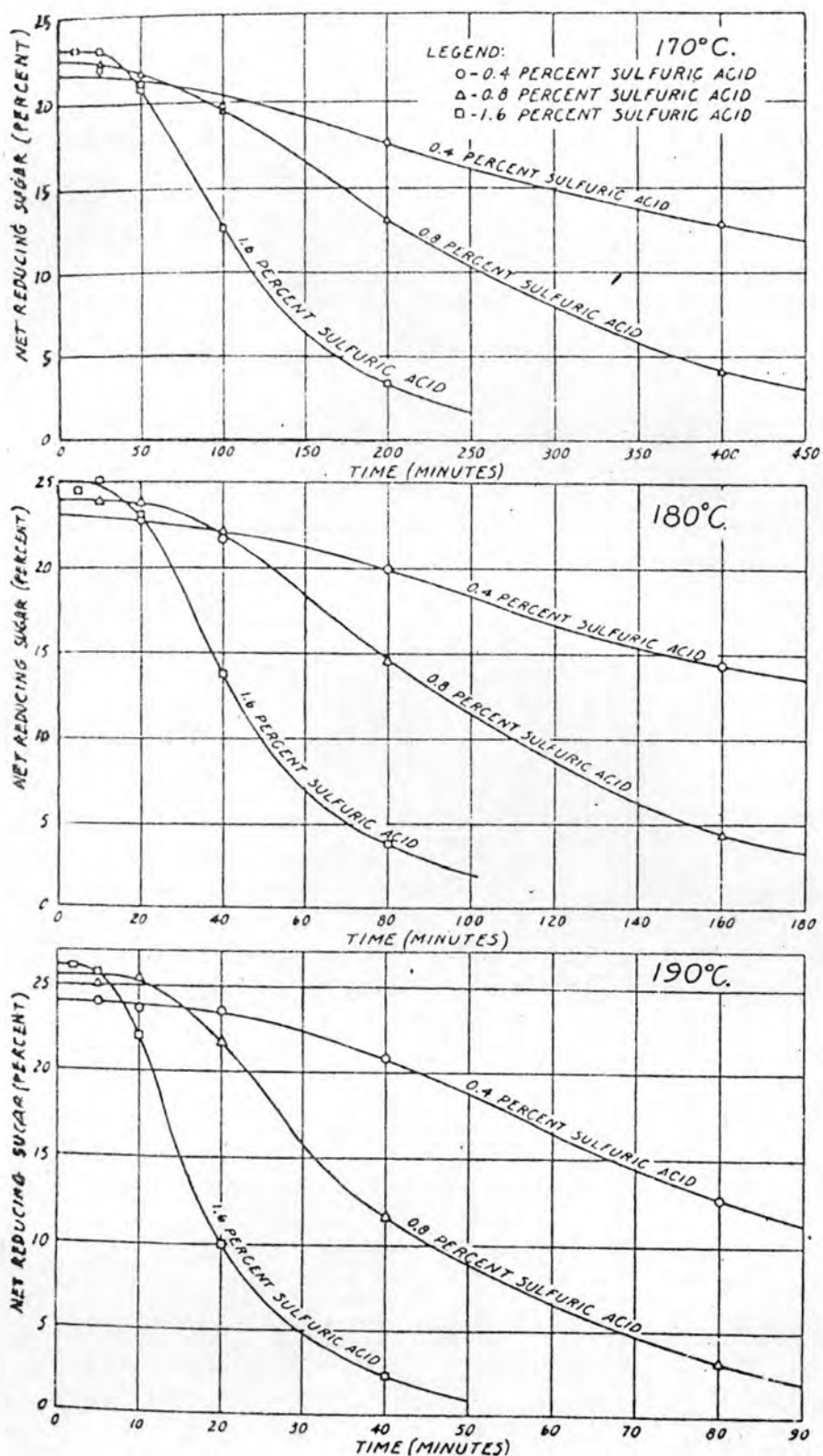
$$\text{เมื่อ} \quad A = HC_s^M \quad \dots (3)$$

A = พังค์ชันของอาร์เรเนียส

H = ค่าคงที่ของอาร์เรเนียส

C<sub>s</sub> = ความเข้มข้นของสารละลายกรด





รูปที่ 2-15 แสดงผลผลิตของน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้รับจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสไม้  
 ที่อุณหภูมิ 170, 180 และ 190 องศาเซลเซียส (12)

M = ค่าความลาดเอียงของกราฟค่าลอการิทึมของอัตรา  
 ปฏิกริยา (k) ต่อค่าลอการิทึมของความเข้มข้นของ  
 สารละลายกรด

แทนค่า A ลงในสมการของอาร์เรเนียส (1)

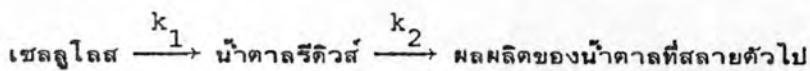
$$k = \frac{M}{HC_S} e^{-\frac{\Delta H_a}{RT}} \quad \dots (5)$$

$$\therefore \log k = \log H + M \log C_S - \frac{\Delta H_a}{2.303 RT} \quad \dots (6)$$

จากสมการ (5) สามารถแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าคงที่ของอัตราปฏิกริยา  
 (k) กับความเข้มข้น (12, 14, 15)

### 2.8.3 จลนศาสตร์ของปฏิกริยาต่อเนื่องในการย่อยสลายเซลลูโลส

การไฮโดรไลสเซลลูโลสให้เป็นพวกแซคคาไรด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่า  
 เกี่ยวข้องกับปฏิกริยาอันดับหนึ่งที่เกิดขึ้นต่อเนื่องกัน 2 ปฏิกริยาดังนี้ (12)



ความเข้มข้นของสารทั้งสามในสมการข้างบนหาได้จากสูตร

$$\begin{aligned} C_A &= \text{ความเข้มข้นของเซลลูโลสซึ่งวัดในรูปของ residual potential} \\ &\quad \text{sugar} \\ &= a e^{-k_1 t} \quad \dots (7) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} C_B &= \text{ความเข้มข้นของน้ำตาลรีดิวส์ (net reducing sugar)} \\ &= \frac{k_1}{k_2 - k_1} [e^{-k_1 t} - e^{-k_2 t}] \quad \dots (8) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} C_C &= \text{ความเข้มข้นของผลผลิตของน้ำตาลที่สลายตัวไป} \\ &= a \left[ 1 - \frac{1}{k_2 - k_1} (k_2 e^{-k_1 t} - k_1 e^{-k_2 t}) \right] \quad \dots (9) \end{aligned}$$

เมื่อ  $a$  = ความเข้มข้นของ เซลลูโลสที่ เริ่มต้น

$t$  = เวลา

$k_1$  = ค่าคงที่ของอัตราปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของ เซลลูโลส

$k_2$  = ค่าคงที่ของอัตราการสลายตัวของน้ำตาลรีดิวซ์

(12, 13, 14, 15)

ค่าความเข้มข้นของสารในทางจลนศาสตร์ มักแสดงในรูปของกรัมของกลูโคส ที่ได้จากน้ำหนัก 100 กรัมของสสารเริ่มต้น (starting material) เช่น ความเข้มข้นของ เซลลูโลสก็คือ ปริมาณกรัมของ residual potential sugar ที่เป็นกลูโคส ในน้ำหนัก 100 กรัมของสสารเริ่มต้น (12)

ความเข้มข้นของผลผลิตของน้ำตาลที่สลายตัวไปก็คือ ปริมาณกรัมกลูโคสที่ลดลง ในน้ำหนัก 100 กรัมของสสารเริ่มต้น

จากสมการ (7) (8) และ (9) ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเซลลูโลส และ ปฏิกิริยาการสลายตัวของน้ำตาลไม่ได้เป็นปฏิกิริยาที่แข่งกันเกิด เพราะ  $k_1$  และ  $k_2$  มีค่า ใกล้เคียงกัน และทั้งสองเป็นปฏิกิริยาที่เกิดต่อเนื่องกัน กล่าวคือ ในขณะที่เซลลูโลสลดลง อย่างคงที่อยู่นั้น ปริมาณของผลผลิตของน้ำตาลที่สลายตัวไปก็เพิ่มขึ้นอย่างคงที่ และปริมาณ น้ำตาลรีดิวซ์ที่ผลิตได้ ก็ค่อยเพิ่มขึ้นถึงปริมาณสูงสุดในช่วงเวลาที่เหมาะสมค่าหนึ่ง เวลาที่ น้ำตาลรีดิวซ์ที่ผลิตได้จะมีปริมาณสูงสุด หาได้จากสมการ

$$t = \frac{\ln k_2 - \ln k_1}{k_2 - k_1} \quad \dots (10)$$

ปริมาณสูงสุดของน้ำตาลรีดิวซ์ที่ผลิตได้ คือ

$$(C_B)_{\max} = a \frac{\left(\frac{k_2}{k_1}\right)^{k_1 - k_2} - k_2}{k_1 - k_2} \quad \dots (11)$$

(12, 14)

จากสมการ (7) (8) และ (9) เมื่อทราบค่า  $k_1$  และ  $k_2$  และ  $a$  แล้ว นำไปแทนค่าในสมการทั้งสามก็จะได้ปริมาณของ เซลลูโลส น้ำตาลรีดิวซ์ และผลผลิตของน้ำตาล รีดิวซ์ที่สลายไปต่อช่วงเวลาต่าง ๆ ตามลำดับ ดังแสดงผลในรูปที่ 2-16

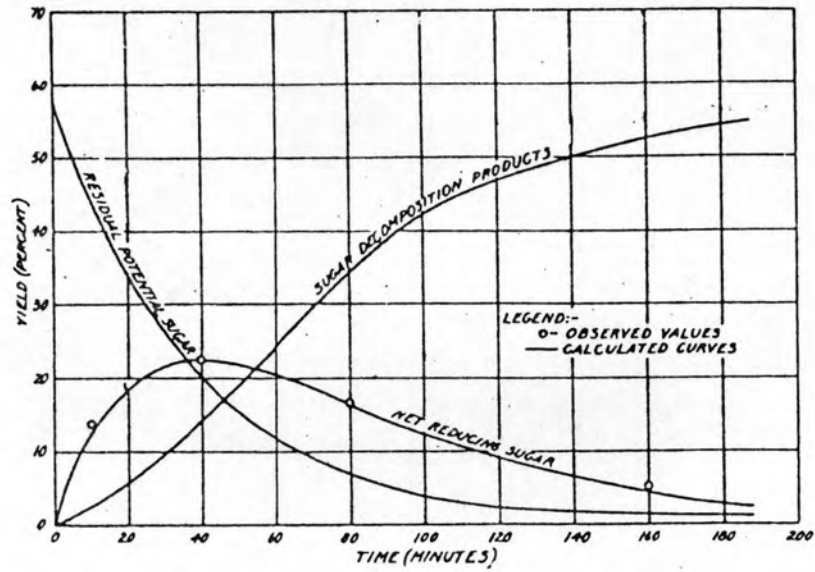
ในรูป 2-16 (16) เป็นข้อมูลจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเยื่อไม้ที่สกัด  
 เซมิเซลลูโลสออกไปแล้ว โดยใช้กรดซัลฟูริกที่มีความเข้มข้น 0.8% ทำการทดลองที่ 180  
 องศาเซลเซียส จากผลการทดลองคำนวณหาค่าคงที่ของอัตราปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส ( $k_1$ ) สำหรับ  
 การผลิตน้ำตาลรีดิวัลได้ 0.0265 นาที<sup>-1</sup> และค่าคงที่ของอัตราปฏิกิริยาการสลายตัวของน้ำตาล  
 รีดิวัล ( $k_2$ ) ได้ 0.0242 นาที<sup>-1</sup> อัตราส่วนระหว่างค่าทั้งสอง คือ  $\frac{k_1}{k_2} = 1.095$   
 ปริมาณสูงสุดของน้ำตาลรีดิวัลที่ผลิตได้ขึ้นกับอัตราส่วน  $\frac{k_1}{k_2}$  ซึ่งแสดงในรูป 2-20 อันเป็น  
 กราฟที่ได้จากค่าคำนวณจากสมการต่าง ๆ ในจลนศาสตร์ของปฏิกิริยาอันดับหนึ่งที่ต้องเนื่องกัน  
 ในกรณีของปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเซลลูโลส เส้นกราฟจะแสดงในรูปของปริมาณน้ำตาลรีดิวัล  
 ที่ได้จากการไฮโดรไลซิสเซลลูโลส (B) ซึ่งเป็นฟังก์ชันกับเวลาในการไฮโดรไลซิสที่ค่าอัตราส่วน  
 $\frac{k_1}{k_2} = k_r$  ค่าต่าง ๆ ในกรณีนี้เป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง ค่าลอการิทึมของปริมาณสารเริ่มต้น  
 เป็นสัดส่วนโดยตรงกับเวลา

จากรูป 2-17 แสดงให้เห็นว่า หากอัตราส่วน  $\frac{k_1}{k_2} = k_r$  มีค่าสูง ปริมาณ  
 น้ำตาลรีดิวัลที่ไฮโดรไลซิสได้ก็จะสูงขึ้นด้วย จากการค้นคว้าพบว่าหากจะเพิ่มค่า  $k_1$  และ  
 ลดค่า  $k_2$  ได้นั้น เซลลูโลสที่ไซต้องผ่านขั้นเตรียมการก่อนไฮโดรไลซิส (pretreatment)  
 มีผู้ทดลองนำเซลลูโลสผ่านสารละลายกรดเจือจางก่อนแล้วจึงนำไปไฮโดรไลซิส พบว่าวิธีนี้  
 สามารถเพิ่มค่า  $k_1$  ได้ในปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสแบบไม่ต่อเนื่อง (batch)

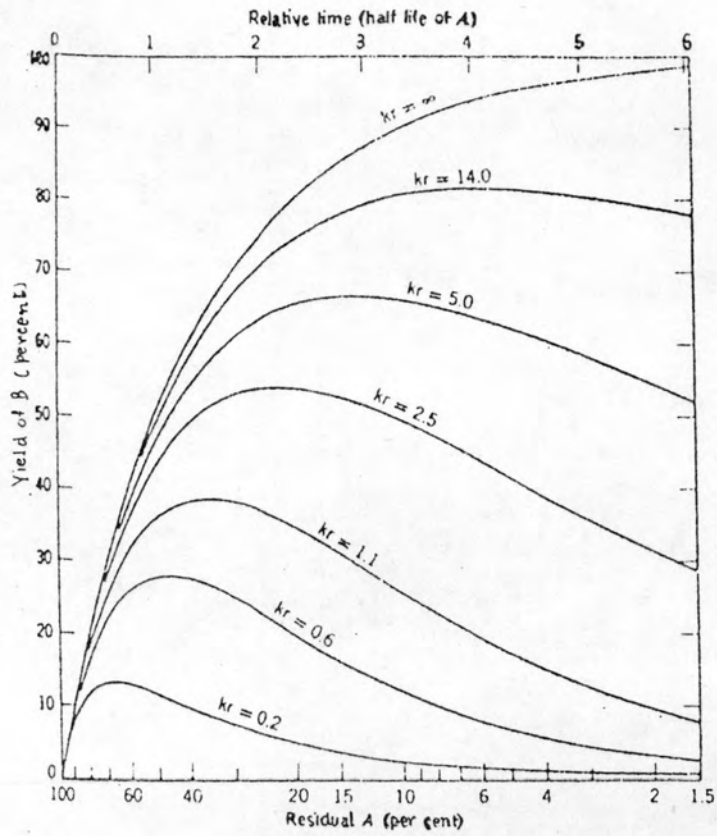
ในทางจลนศาสตร์จะพิจารณาแต่ว่าเพิ่มอุณหภูมิและความเข้มข้นกรดจะเป็นการ  
 เพิ่มอัตราของปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส จากการทดลองในรูป 2-18 ซึ่งแสดงผลของอุณหภูมิ  
 ต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวัล และในรูป 2-19 แสดงผลทั้งของอุณหภูมิ (ความดันที่สอดคล้องกับ  
 อุณหภูมิ) และความเข้มข้นกรด จากกราฟนี้แสดงได้ว่า ในการไฮโดรไลซิสหากเป็นสภาวะ  
 ที่มีอุณหภูมิสูง และใช้เวลาน้อยแล้ว (HTST) จะได้ผลผลิตของน้ำตาลรีดิวัลสูง

## 2.9 ปัจจัยสำคัญที่ใช้ในกระบวนการหมัก

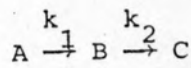
ปัจจัยต่าง ๆ ที่สำคัญในกระบวนการผลิตอัลกอฮอล์ คือ ยีสต์ อาหาร ความเป็น  
 pH อุณหภูมิ และการให้อากาศ องค์ประกอบทั้ง 5 นี้จะมีผลเกี่ยวเนื่องซึ่งกันและกัน  
 การทำให้กระบวนการหมักมีประสิทธิภาพนั้น จำเป็นต้องจัดการหมักให้เหมาะสมในแต่ละสภาพ  
 เพื่อจะให้ปริมาณอัลกอฮอล์สูงสุด และประหยัดที่สุด



รูปที่ 2-16 แสดงปริมาณเป็นเปอร์เซ็นต์ของเซลลูโลสที่เหลือ น้ำตาลที่สลายไป และน้ำตาลรีดิวซ์สุทธิที่ได้ในช่วงเวลาต่าง ๆ ของปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส ไม้ ด้วยสารละลายกรดซัลฟูริก 0.8% ที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส (16)



รูปที่ 2-17 แสดงความสัมพันธ์ของเปอร์เซ็นต์ผลผลิต B ต่อเปอร์เซ็นต์ A ที่เหลือ ในปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่ต่อเนื่องกัน (16)

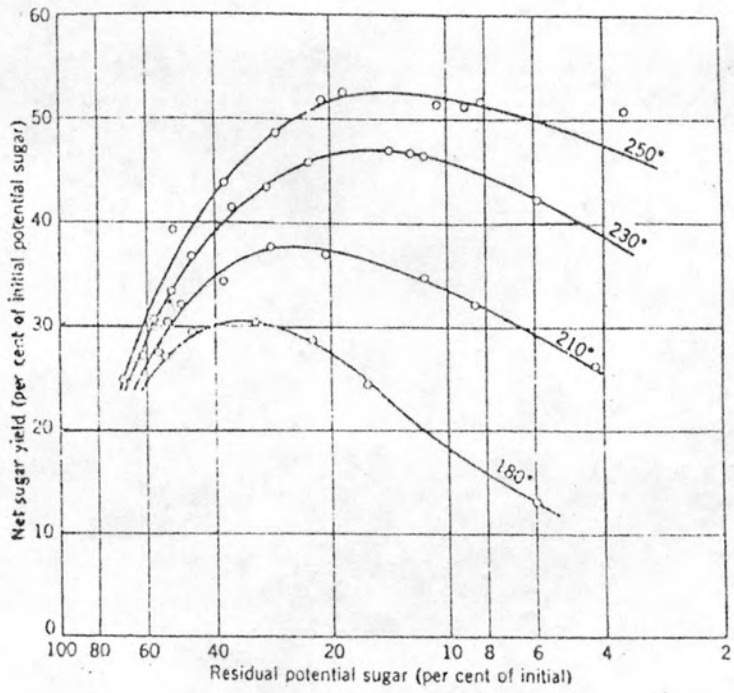


เมื่อ A เป็นปริมาณเซลล์โลสที่เหลือ

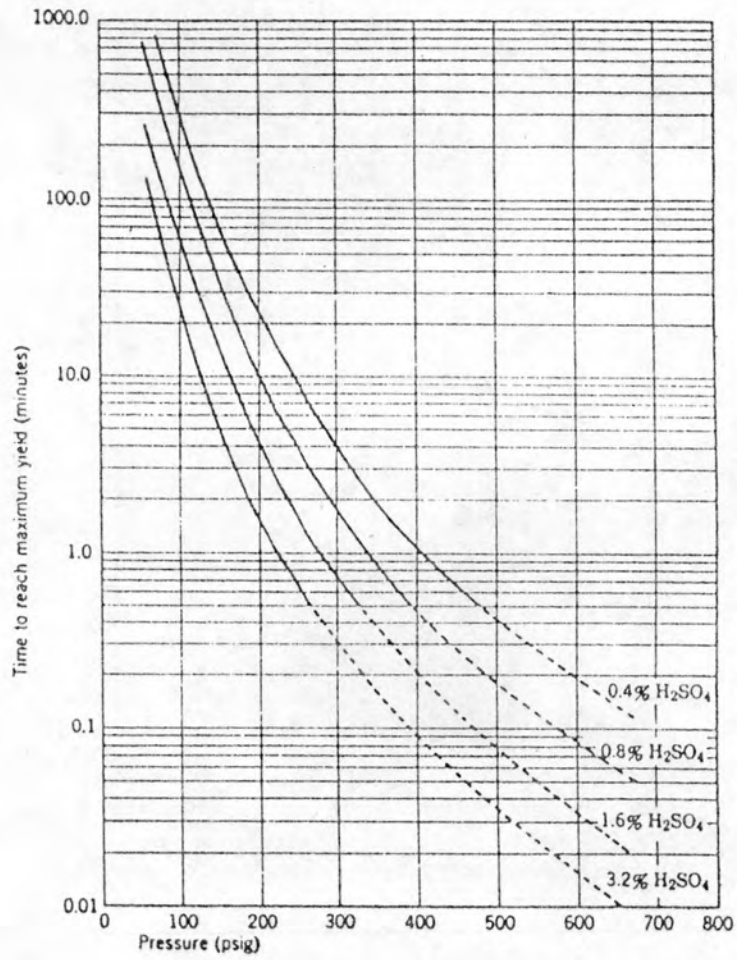
B เป็นปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้ในปฏิกิริยา

$$kr = \frac{k_1}{k_2}$$





รูปที่ 2-18 แสดงผลของอุณหภูมิต่อผลผลิตน้ำตาลในปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของไม้  
ในสารละลายกรดซัลฟูริก 0.4% (16)



รูปที่ 2-19 แสดงผลของอุณหภูมิและความเข้มข้นของสารละลายกรดในช่วงเวลาต่าง ๆ ที่จะให้ผลผลิตน้ำตาลได้สูงสุด (16)

### 2.9.1 ยีสต์

ยีสต์ เป็นจุลินทรีย์ชนิดหนึ่ง จัดอยู่ในชั้นแอสโคไมซีตัส (class Ascomycetes) ไม่มีคอแลโรฟิล มีนิวเคลียส เคลื่อนไหวไม่ได้ รูปร่างกลม หรือรูปไข่ มีขนาดใหญ่กว่าแบคทีเรีย ส่วนมากขยายพันธุ์ได้โดยการแตกหน่อ (budding) เมื่อเซลล์ยีสต์อยู่ในสภาวะที่เหมาะสมจะแตกหน่อได้ภายใน 1-2 ชั่วโมง อุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 25-40 องศาเซลเซียส อาจทนสภาพความเป็นกรดได้สูงที่มีความเป็น pH 3.5 ยีสต์เป็นพวกที่เจริญได้ทั้งในสภาพมีอากาศและไม่มีอากาศ ซึ่งเป็นกระบวนการทางชีวเคมีที่มีความสำคัญต่ออุตสาหกรรมการหมัก ทั้งนี้กระบวนการหมักนั้นยีสต์จะเจริญเติบโตในสภาวะที่มีการให้อากาศเต็มที่ และเกิดการย่อยสลายให้อัลกอฮอล์ในสภาวะที่ปราศจากอากาศ ยีสต์จำแนกได้ 39 จีนัส และ 349 สปีชี พบว่ามีเพียง 2 จีนัสที่มีบทบาทโดยตรงต่ออุตสาหกรรมการหมัก คือ Candida และ Saccharomyces ตัวอย่างเช่น Saccharomyces cerevisiae เหมาะในการใช้หมักอัลกอฮอล์ เชื้อนี้นอกจากจะเจริญเติบโตได้เร็วแล้ว ยังสามารถผลิตอัลกอฮอล์ได้มากอีกด้วย ยีสต์นี้สามารถหมักน้ำตาลให้เป็นอัลกอฮอล์ ซึ่งตามทฤษฎีจะได้ถึง 51% โดยน้ำหนัก และคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งตามทฤษฎีจะได้อีก 49% โดยน้ำหนัก Saccharomyces cerevisiae var. ellipsoideus (Burgundy strain) จะได้อัลกอฮอล์ 18.4% โดยปริมาตร แต่เมื่อใช้ Saccharomyces cerevisiae จะได้อัลกอฮอล์ 15% ในการหมักที่มีสภาพแวดล้อมเหมือนกัน

เซลล์ยีสต์มีส่วนประกอบความชื้น 39-68% คาร์โบไฮเดรตซึ่งอยู่ในรูปกลูแคน (glucan) และแมนแนน (mannan) ไนโตรเจนเฉลี่ย 7-9% ของน้ำหนักเซลล์แห้ง สารอินทรีย์ที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ ได้แก่ โปรตีน มี 64-76% ของสารไนโตรเจนทั้งหมด โดยปกติ โปรตีนจะเชื่อมต่อกับ แมนแนน กิวรีน โพรตีนิน กรดอะมิโน เป็นต้น นอกจากนั้นไขมัน วิตามิน และสารอินทรีย์ต่าง ๆ ส่วนมากได้แก่ ฟอสเฟต (17, 18, 19, 20)

### 2.9.2 อาหาร (17, 18, 19)

อาหารของยีสต์มีหลายอย่างขึ้นอยู่กับชนิดของยีสต์ ยีสต์ใช้อาหารในเมตาโบลิซึมของมัน คือ ใช้สารจำเป็นที่ได้จากอาหารในการสร้างโปรโตพลาสซึม นำพลังงานที่ได้มาใช้ในการบวนการเมตาโบลิซึมของมัน

### 2.9.2.1 แหล่งคาร์บอน

องค์ประกอบส่วนใหญ่ของ เซลของยีสต์ เป็นคาร์โบไฮเดรต กรดอะมิโน และ สารประกอบอื่น ๆ ของคาร์บอนซึ่งเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่ใช้เป็นแหล่งพลังงาน ดังนั้น คาร์บอน จึงเป็นสารอาหารหลักที่ยีสต์จะต้องได้รับอย่างเพียงพอเพื่อการดำรงชีวิตและขยายพันธุ์ ปกติ แล้วยีสต์ได้คาร์บอนสำหรับใช้ในการสร้างส่วนประกอบของ เซลจากสารประกอบอินทรีย์คาร์บอน โดยตรง คือ จะผลิต เอ็นไซม์ออกมาย่อยสารประกอบอินทรีย์ให้มีโมเลกุลเล็กลง เช่น กลูโคส แล้วจึงดูดเอากลูโคสเข้าไปใช้ในเซลล์อีกทีหนึ่ง เนื่องจากยีสต์มีผิวหน้ามาก ดังนั้นจึงสามารถ ดูดสารอาหารเข้าสู่ภายในเซลล์ได้อย่างรวดเร็ว อย่างเช่น ยีสต์ที่ใช้ในการทำเบียร์ เซล สามารถเผาผลาญน้ำตาลมอลโตส  $10^7$  โมเลกุล ให้กลายเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ และอัลกอฮอล์ ได้ภายในเวลา 1 วินาที แต่สามารถเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสได้ประมาณ  $2 \times 10^7$  โมเลกุล ภายในเวลาเพียงหนึ่งวินาทีเท่านั้น (18) แหล่งคาร์บอนที่ยีสต์สามารถย่อยและเปลี่ยนเป็น โปรตีนได้ มีหลายพวก คือ น้ำตาลที่ประกอบด้วยคาร์บอนระหว่างคาร์บอน 5 อะตอม ถึง คาร์บอน 6 อะตอม และ โปลิแซคคาไรด์ นอกจากนี้ยังมีกรดอินทรีย์ และสารประกอบอื่น ๆ น้ำตาลที่ยีสต์หมักได้มี กลูโคส กาแลคโตส มอลโตส ซูโครส แลคโตส เทรฮาโลส เมลิไทมอส และราฟฟิโนส

### 2.9.2.2 แหล่งไนโตรเจน

ยีสต์สามารถใช้ไนโตรเจนในรูปแบบง่าย ๆ สำหรับนำไปสร้างเอ็นไซม์ และ โปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของเซลล์ เช่น แอมโมเนีย เกลือแอมโมเนีย และยูเรีย เป็นต้น ซึ่งเป็นทั้งอาหารหลักและอาหารเสริมของยีสต์ แต่บ่อยครั้งพบว่ายีสต์ต้องการสารประกอบ อินทรีย์ที่มีไนโตรเจนบางอย่างเพราะมันไม่สามารถสังเคราะห์ได้เอง เช่น กรดอะมิโน บางตัว และสารพวกที่มีโครงสร้างหลักเป็นพิวรีน และไพริมิดิน ซึ่งสารพวกนี้อาจได้จาก พวกยีสต์สกัด (18,19) การเติมกรดอะมิโนลงในสารอาหารทำให้เชื้อ Saccharomyces

ทุกสปีชี้เจริญเติบโตได้ดี เนื่องจากยีสต์มีคุณสมบัติพิเศษสามารถเปลี่ยนไนโตรเจนที่มีอยู่ในสารอินทรีย์ ให้เป็นกรดอะมิโนและโปรตีนได้ โดยเฉพาะแอมโมเนียมไอออนที่ละลายอยู่ในน้ำ จะถูกยีสต์ดูดนำไปใช้ได้ดีที่สุด แหล่งไนโตรเจนที่สำคัญ ได้แก่ แอมโมเนียมซัลเฟต ซึ่งยีสต์ส่วนมากนำไปใช้ได้ (18) นอกจากนี้ยังมี แอมโมเนียมฟอสเฟต ในเดรท และยูเรีย เป็นต้น Hansenula ทุกสปีชี้สามารถใช้ในเดรทและไนโตรทได้ ส่วน S. cerevisiae ไม่สามารถใช้สารทั้งสองตัวดังกล่าวได้ อย่างไรก็ตาม ถ้ามีไนโตรทอยู่ในปริมาณที่ค่อนข้างสูงจะเป็นพิษมากที่สุด

ยูเรียก็เป็นแหล่งที่ให้ไนโตรเจนดีเท่ากับแอมโมเนียมซัลเฟต (18) คือ จะสลายตัวต่อไปอย่างรวดเร็วและเกิดขึ้นได้ทุกสภาพ (ยกเว้นสภาพที่ปราศจากอากาศ ซึ่งจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของความเป็น pH เพราะว่าจะขณะเกิดแอมโมเนีย และไนโตรเจนถูกใช้ไป จะทำให้ความเป็น pH ในสารอาหารเปลี่ยนเป็นกรดมาก) นอกจากนี้ผลพลอยได้จากโรงเบียร์ คือ บอททอมยีสต์ (bottom yeast) และ ท็อปยีสต์ (top yeast) ยังใช้เป็นแหล่งเสริมโปรตีนและกรดอะมิโนในรูปยีสต์สกัด

การดูดไนโตรเจนไปใช้ของยีสต์นั้น มีความสัมพันธ์โดยตรงกับการนำคาร์บอนไปใช้ กล่าวคือ ความต้องการไนโตรเจนและคาร์บอนของเซลล์ เพื่อนำไปสร้างเซลล์ใหม่ เป็นความต้องการที่มีสัดส่วนค่อนข้างแน่นอน เช่น อัตราส่วนของน้ำตาลต่อไนโตรเจน ควรจะเป็น 17.5:1 ของเวิร์ท (wort) ทั้งหมดที่ใช้ (เวิร์ท เป็นสารละลายที่ได้จากแมสซิง) (21)

#### 2.9.2.3 แหล่งฟอสฟอรัส

ฟอสฟอรัสเป็นธาตุที่สำคัญอย่างหนึ่งในการเจริญเติบโตของยีสต์ คือ เป็นอาหารเสริม เติบโตไปในรูปของเกลือฟอสเฟต เช่น แอมโมเนียมฟอสเฟต โพตัสเซียม-ฟอสเฟต เพื่อใช้ในการกระตุ้นให้ยีสต์บางชนิดเจริญเติบโต ทั้งนี้เพราะฟอสฟอรัสเป็นส่วนจำเป็นสำหรับการสร้างสารประกอบที่มีพลังงาน นั่นคือ ATP ตัวอย่างเช่น ท็อปยีสต์เจริญเติบโตได้เร็วมาก เมื่อมีฟอสเฟตในปริมาณเพียงพอในสารอาหาร (18, 21)

#### 2.9.2.4 แหล่งแร่ธาตุและวิตามินอื่น ๆ

แร่ธาตุของยีสต์แต่ละชนิดแตกต่างกันไป ขึ้นอยู่กับความจำเป็นที่จะนำไปสร้างสารประกอบอินทรีย์ที่จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของเซลล์ แร่ธาตุบางชนิดมิได้เป็น



องค์ประกอบของสารอินทรีย์ใด ๆ เลย แต่มีหน้าที่ช่วยเหลือหรือกระตุ้นให้ปฏิกิริยาหรือกระบวนการสำคัญต่าง ๆ ในเซลล์เป็นไปด้วยดี ปกติแล้วยีสต์ต้องการองค์ประกอบที่ช่วยในการเจริญเติบโตในปริมาณเล็กน้อยเท่านั้น เช่น กำมะถันเป็นองค์ประกอบของกรดอะมิโนซิสเทอีน (cysteine) ซิสทีน (cystine) และพวกเมทไทโอนีน (methionine) หน้าที่ของแมกเนเซียมซึ่งเดิมในรูปแบบแมกเนเซียมซัลเฟต จะช่วยกระตุ้นปฏิกิริยาต่าง ๆ และเป็นส่วนประกอบอยู่ในกรดไซโมนิวคลีอิก ดังนั้น แมกเนเซียมจึงคว่าจำเป็นมากที่จะต้องมีอยู่ในสารอาหาร นอกจากนี้ ยีสต์ยังต้องการไปดัสเซียมสำหรับการเจริญเติบโต เช่นเดียวกัน โดยเฉพาะขณะที่มีการใช้คาร์บอน (18, 19, 21)

ยีสต์แต่ละชนิดมีความต้องการวิตามินแตกต่างกัน และวิตามินบางอย่างยีสต์ไม่สามารถสังเคราะห์ได้ เช่น วิตามิน บี ไบโอติน เป็นต้น ดังนั้น หากต้องการให้ยีสต์เจริญไปได้ด้วยดี เมื่อผลิตผลิตภัณฑ์ที่ต้องการอย่างมีประสิทธิภาพแล้ว จะต้องเติมลงไป ในสารอาหาร เท่าที่จำเป็น ยีสต์ส่วนมากต้องการไบโอตินในการเจริญเติบโต และมียีสต์เพียงบางชนิดเท่านั้นที่ต้องการไรโบเฟลวิน ยีสต์บางชนิดถ้าไม่มีวิตามินที่ต้องการแล้ว ไม่สามารถจะเจริญเติบโตได้เลยแหล่งวิตามินที่สำคัญ เช่น ยีสต์สกัด

### 2.8.3 ความเป็น pH

การเปลี่ยนแปลงของความเป็น pH ของกระบวนการหมักจะมีผลต่อเมตาโบลิซึมของยีสต์ อาจทำให้การเจริญเติบโตหยุดชะงัก ซึ่งจะขึ้นกับวัตถุดิบที่ใช้เป็นสูตรสารอาหาร และสภาพแวดล้อมในการหมักโดยการใช้สารบัฟเฟอร์ที่เหมาะสม หรือเติมกรดหรือด่าง ในปริมาณพอเหมาะระหว่างกระบวนการหมัก จะช่วยในการควบคุมความเป็น pH ไว้ได้เป็นอย่างดี นอกจากนี้ ยังอาจช่วยลดปัญหาการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ ได้อีก ค่าความเป็น pH ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของยีสต์จะขึ้นอยู่กับชนิดของยีสต์ โดยทั่วไปยีสต์สามารถเจริญเติบโตได้ในสารอาหารที่มีความเป็น pH ช่วงกว้างมาก คือ 4.5 - 6.5 อย่างไรก็ตาม ยีสต์ยังสามารถเจริญได้ที่ความเป็น pH 7-8 (18, 19, 20) ยีสต์เจริญได้ดีในสารอาหารที่มีความเป็น pH 4.5-5.5 โดยเฉพาะที่ความเป็น pH 4.6 ยีสต์เจริญได้ดีที่สุด พบว่า (21) เมื่อจัดสภาพความเป็น pH ที่เหมาะสม



ในช่วง 4-4.5 ทำให้ปราศจากการปนเปื้อนจากมักเดรี ดังนั้น ในการควบคุมความเป็น  
pH ของน้ำหมักปกติแล้วจะพยายามจัดสูตรสารอาหารของน้ำหมักให้มีความ เป็นบัฟเฟอร์ ให้ได้  
ความเป็น pH ตามต้องการในระหว่างการหมัก มีค่าอยู่ในช่วงแคบ ๆ เพื่อให้การผลิตมี  
ประสิทธิภาพ

#### 2.9.4 อุณหภูมิ

อุณหภูมิมีอิทธิพลโดยตรงต่อการเจริญเติบโตของยีสต์ รวมทั้งจลนศาสตร์ของ  
กระบวนการหมักด้วย ซึ่งอัตราการเจริญเติบโตของยีสต์จะสูงขึ้นตามอุณหภูมิ จนถึงจุดหนึ่ง  
จะลดลง และในที่สุด ถ้าอุณหภูมิสูงเกินไปยีสต์จะตาย จึงจำเป็นต้องปรับสภาวะให้ได้ตาม  
ความสามารถเฉพาะแต่ละชนิดของยีสต์ พบว่า (21) การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิจะมีผลต่อ  
อัตราการใช้น้ำตาล ซึ่งปริมาณการใช้น้ำตาลจะลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ยีสต์สามารถเจริญ  
เติบโตได้ที่อุณหภูมิช่วงกว้างมาก ยีสต์เจริญได้ช้ามากที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส หรือสูง  
กว่านี้เพียงเล็กน้อย อุณหภูมิสูงสุดที่ยีสต์ส่วนใหญ่เจริญได้ คือ 40 องศาเซลเซียส อุณหภูมิ  
เหมาะสมในการขยายพันธุ์ คือ 25-35 องศาเซลเซียส ความร้อนที่อุณหภูมิ 50-60 องศา  
เซลเซียส ทำลายยีสต์ได้ภายใน 30 นาที สปอร์ของยีสต์ทนความร้อนได้ดีกว่าเซลล์ยีสต์  
แสดงให้เห็นว่า อุณหภูมิ 28.3 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับยีสต์ที่ใช้ในการ  
หมัก (17,18)

อุณหภูมิที่ดีที่สุดและยีสต์ชอบมากที่สุด คือ อุณหภูมิในช่วง 30-32 องศาเซลเซียส  
ถ้าหากอุณหภูมิสูงกว่า 37.8 องศาเซลเซียสแล้ว ยีสต์จะ เจริญเติบโตช้าลง และการเกิด  
อัลกอฮอล์จะลดน้อยลงด้วย (17,18,19)

#### 2.9.5 การให้อากาศ

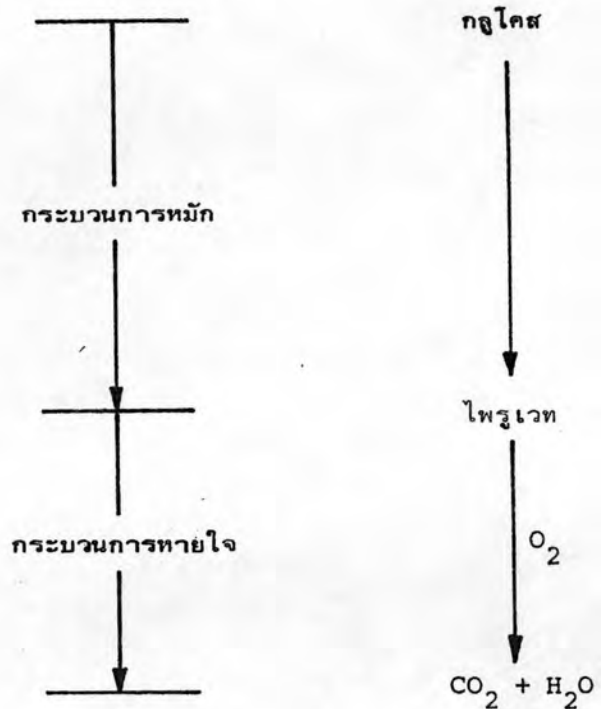
ยีสต์ต้องการออกซิเจนจากอากาศเพื่อใช้ในการหายใจ ซึ่งอยู่ในรูปของอากาศ  
ที่ป้อนเข้าไปในกระบวนการหมัก การให้อากาศในเครื่องหมักมีความจำเป็นและสำคัญสำหรับ  
การหมักแบบได้พื้นผิวของจุลินทรีย์ที่ใช้ออกซิเจน เพราะถ้าอาศัยออกซิเจนจากอากาศที่ละลาย  
ในน้ำหรือน้ำหมัก โดยธรรมชาติแล้วจะมีน้อยมาก และมีเฉพาะบริเวณที่ใกล้ ๆ กับพื้นผิวสัมผัส  
ของอากาศกับของเหลวเท่านั้น การให้อากาศจึงมีจุดประสงค์หลัก เพื่อให้ออกซิเจนมีปริมาณ



สภาพที่ไม่มีอากาศ



สภาพที่มีอากาศ



รูปที่ 2-20 เปรียบเทียบการย่อยสลายในสภาพที่ไม่มีอากาศและในสภาพที่มีการให้อากาศ โดยยีสต์

ในสภาพที่ไม่มีอากาศ น้ำตาลกลูโคสผ่านเข้าสู่ภายในเซลล์ด้วยระบบขนส่งที่ผนังเซลล์ และการหมักเกิดขึ้นในไซโตพลาสซึม กลูโคสจะเปลี่ยนไปตามวิถีไกลโคไลซิส (Glycolysis) หรือ Embden Meyer holfpathway, (EMP) ปล่อยเอทิลแอลกอฮอล์ในภาคนวม ข. เมื่ออาหารขาดแหล่งไนโตรเจนและยีสต์ไม่เจริญเติบโต ยีสต์จะเปลี่ยนกลูโคสให้เป็นเอทิลแอลกอฮอล์ และกลูโคสบางส่วนถูกเก็บสะสมไว้ภายในเซลล์ *S. cerevisiae* ในระยะพักตัว และมีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ยีสต์เปลี่ยนน้ำตาล 70% ให้กลายเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และแอลกอฮอล์ ส่วนน้ำตาลที่เหลืออีก 30% ยีสต์เก็บสะสมไว้ (8)

ผลพลอยได้จากการหมักภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสให้เป็นเอทิลแอลกอฮอล์และคาร์บอนไดออกไซด์ได้ประมาณร้อยละ 95 และยีสต์ยังสร้างสารอื่น ๆ ได้อีกด้วย เช่น กลีเซอรอล กรดซักซินิก เอทิลแอลกอฮอล์โมเลกุลใหญ่ กรดซิทริก และกรดแลคติก เป็นต้น

ส่วนในสภาพที่มีการให้อากาศ ผลที่ได้นั้นขึ้นอยู่กับวัฏจักร EMP ก็จะเข้าสู่วัฏจักรเครบส์ (Krebs cycle) จากนั้นจะถูกออกซิไดส์ โดยการผ่านอีเล็กตรอนเข้าไปในลูกโซ่การหายใจ หรือลูกโซ่การขนส่งอีเล็กตรอน รายละเอียดดูในภาคผนวก ข.

ผลพลอยได้ภายใต้สภาพที่มีออกซิเจนจะแตกต่างกันตามชนิดของยีสต์ เช่น ในการผลิตเอทิลแอลกอฮอล์ ของเชื้อ Saccharomyces cerevisiae var. ellpsoideus การให้อากาศในช่วงแรกของการทดลอง เพื่อเพิ่มปริมาณของ เซลล์ยีสต์ให้พอ สำหรับการหมักแบบไม่ให้อากาศที่จะผลิต เอทิลแอลกอฮอล์ออกมาหลังจากหยุดการให้อากาศกับเชื้อหมัก (8)