



ການຄັດເລືອກຢີສທີ່ສາມາດໃຊ້ໄຊໂລສເພື່ອການໝັກເຫຼົ້າ
ເອຕາໂນລ

**Selection of Xylose Utilizing Yeast for Ethanol
Fermentation**

ໂດຍ: ນາງ ອິລະໄທ ສຸລິຍາ

ວິທະຍານິພົນລະດັບປະລິນຍາໂທ

ຫຼັກສູດປະລິນຍາໂທວິທະຍາສາດ ສາຂາ ຊີວະວິທະຍາ

ມະຫາວິທະຍາໄລແຫ່ງຊາດ

2018

ການຄັດເລືອກຢີສທີ່ສາມາດໃຊ້ໄຊໂລສເພື່ອການໜັກເຫຼົ້າ

ເອຕາໂນລ

**Selection of Xylose Utilizing Yeast For Ethanol
Fermentation**

ວິທະຍານິພົນປະລິນຍາໂທວິທະຍາສາດ ສາຂາ ຊີວະວິທະຍາ

ຊື່ ແລະ ນາມສະກຸນ ນັກສຶກສາ: ນາງ ອິລະໄທ ສຸລິຍາ

ຊື່ ແລະ ນາມສະກຸນ ອາຈານທີ່ປຶກສາ: ຮສ. ມະນີຈັນ ໄຊຍະວົງ

ສົກສຶກສາ 2017-2018

ວິທະຍານິພົນນີ້ຮັບຮອງໂດຍ:


1. ອາຈານທີ່ປຶກສາ:


ຮສ. ມະນີຈັນ ໄຊຍະວົງ

ວັນທີ: ..24.. ກັນຍາ.. 2018.....


ລາຍເຊັນ:.....


2. ຄະນະກຳມະການປ້ອງກັນວິທະຍານິພົນ:

ຮສ. ບຸນທົບ ພະໄຊສົມບັດ (ປະທານ) 

ຮສ. ປອ. ນຽນ ສີວິງໄຊ (ຮອງປະທານ) 

ຮສ. ປອ. ສົມຈັນ ບຸນພັນມີ (ກຳມະການ) 

ຮສ. ປອ. ວິຈິດ ລຳໄຊ (ກຳມະການ) 

ປອ. ເພັງ ແພງສິນທຳ (ກຳມະການ) 

3. ຄະນະບໍດີຄະນະວິທະຍາສາດທຳມະຊາດ:

ວັນທີ: ..27.. ກັນຍາ.. 2018..

ລາຍເຊັນ:  

ຮສ ປອ ບຸນຜັນ ຕົ້ນແພງ

ຄຳຈາລຶກບຸນຄຸນ

ຂໍຂອບໃຈ ແລະ ສະແດງຄວາມຮູ້ບຸນຄຸນເປັນຢ່າງສູງມາຍັງ ຮສ. ມະນີຈັນ ໄຊຍະວົງ ອາຈານທີ່ປຶກສາວິທະຍານິພົນເປັນຢ່າງສູງ ທີ່ໄດ້ໃຫ້ຄຳປຶກສາ, ຄຳແນະນຳ, ແກ້ໄຂຂໍ້ຜິດພາດ ແລະ ໃຫ້ການຊ່ວຍເຫຼືອເປັນຢ່າງດີໃນບົດວິທະຍານິພົນຂອງຂ້າພະເຈົ້າ ຕັ້ງແຕ່ເລີ່ມຕົ້ນຕະຫຼອດຈົນວິທະຍານິພົນບົດນີ້ສຳເລັດສົມບູນ.

ຂໍຂອບໃຈ ແລະ ຮູ້ບຸນຄຸນເປັນຢ່າງສູງມາຍັງ ປທ. ຈັນລົມ ແກ້ວອຸດອນ ທີ່ເປັນຜູ້ຊ່ວຍອາຈານທີ່ປຶກສາ ທີ່ຊ່ວຍໃຫ້ຄຳປຶກສາ, ຄຳແນະນຳ ແລະ ແກ້ໄຂຈຸດບົກຜ່ອງວິທະຍານິພົນ ຈົນບົດວິທະຍານິພົນຂອງຂ້າພະເຈົ້າສຳເລັດໄປດ້ວຍດີ.

ຂໍຂອບໃຈ ແລະ ຮູ້ບຸນຄຸນມາຍັງ ປອ. ເພັງ ແພງສິນທຳ ທີ່ເປັນຜູ້ກວດແກ້ ແລະ ໄດ້ເສຍສະຫຼະເວລາອັນມີຄຸນຄ່າໃນການອ່ານ ແລະ ດັດແກ້ບົດວິທະຍານິພົນຂອງຂ້າພະເຈົ້າຈົນສຳເລັດສົມບູນ.

ຂໍສະແດງຄວາມຂອບໃຈມາຍັງບັນດາປະທານ, ຮອງປະທານ, ຄະນະກຳມະການທຸກໆທ່ານທີ່ໃຫ້ຄຳແນະນຳ ແລະ ຄຳຄິດຄຳເຫັນເພື່ອເຮັດໃຫ້ບົດວິທະຍານິພົນຂອງພວກຂ້າພະເຈົ້າສົມບູນຍິ່ງຂຶ້ນ.

ຂໍຂອບໃຈ ແລະ ຮູ້ບຸນຄຸນເປັນຢ່າງສູງມາຍັງ ທ່ານ ອາຈານ Mamoru YAMADA ທີ່ມະຫາວິທະຍາໄລ ຢາມາກຸຊິ ປະເທດຍີ່ປຸ່ນ ທີ່ໄດ້ເອື້ອອຳນວຍຄວາມສະດວກໃນການທົດລອງ ເພື່ອເຮັດໃຫ້ບົດວິທະຍານິພົນຂອງຂ້າພະເຈົ້າສຳເລັດຜົນໄປດ້ວຍດີ.

ຂໍຂອບໃຈເປັນຢ່າງສູງມາຍັງຫົວໜ້າພາກວິຊາ ແລະ ອາຈານທຸກທ່ານ ໃນພາກວິຊາ ຊີວະວິທະຍາ ຄະນະວິທະຍາສາດທຳມະຊາດ ມະຫາວິທະຍາໄລແຫ່ງຊາດ ທີ່ໄດ້ສິດສອນໃຫ້ຄວາມຮູ້, ຄຳແນະນຳ, ປະສົບການທີ່ດີ ແລະ ອຳນວຍຄວາມສະດວກຕະຫຼອດໄລຍະການສຶກສາ.

ຂໍສະແດງຄວາມຂອບໃຈ ແລະ ຮູ້ບຸນຄຸນເປັນຢ່າງສູງມາຍັງ ພໍ່, ແມ່, ຍາດຕີພີ່ນ້ອງ ທີ່ໃຫ້ກຳລັງໃຈ, ສະໜັບສະໜູນທຶນຮອນໃນການສຶກສາຮ່ຳຮຽນມາຕະຫຼອດ ຈົນມາເຖິງການຂຽນບົດວິທະຍານິພົນຄັ້ງນີ້ໄດ້ສຳເລັດໄປດ້ວຍດີ.

ສຸດທ້າຍນີ້ ຂ້າພະເຈົ້າຂໍສະແດງຄວາມຂອບໃຈມາຍັງໝູ່ເພື່ອນທຸກຄົນທີ່ໃຫ້ຄວາມຊ່ວຍເຫຼືອ ແລະ ເປັນກຳລັງໃຈໃຫ້ຈົນໄດ້ຮັບຜົນສຳເລັດໃນຂັ້ນສຸດທ້າຍແຕ່ຕົນຈົນຈົບ.

ຂໍຂອບໃຈ

ບົດຄັດຫຍໍ້

ການສຶກສາກ່ຽວກັບການຄັດເລືອກເຊື້ອຢີສທີ່ສາມາດໝັກໄຊໂລສໃຫ້ເປັນເຫຼົ້າເອຕາໂນລ ເຊິ່ງໄດ້ນຳໃຊ້ສິ່ງເສດເຫຼືອທາງການກະເສດ ລວມທັງໝົດ 56 ຕົວຢ່າງ. ໃນຂະບວນການທົດລອງໄດ້ດຳເນີນໂດຍນຳໃຊ້ເຕັກນິກການເພີ່ມເຊື້ອໃນອາຫານແຫຼວ YPX ທີ່ອຸນຫະພູມ 37°C. ຈາກການຄັດແຍກ ໄດ້ເຊື້ອບໍລິສຸດທັງໝົດ 60 ໄອໂຊເລດ ແລະ ໃນຈຳນວນນີ້ໄດ້ຄັດເລືອກເອົາ 35 ໄອໂຊເລດ ມາທົດສອບຄວາມສາມາດຈະເລີນເຕີບໂຕຢູ່ໃນອາຫານແຂງ YPD, YPS, YPX ແລະ YNB ທີ່ອຸນຫະພູມ 37°C, 40°C, 42°C ແລະ 45°C, ສຶກສາລັກສະນະລັກສັນຖານຂອງເຊື້ອຢີສ, ທົດສອບຄຸນລັກສະນະຕ່າງໆຂອງຢີສທີ່ຖືກຄັດເລືອກທີ່ອຸນຫະພູມ 37°C ແລະ ການຈັດຈຳແນກຊະນິດຂອງເຊື້ອຢີສທີ່ຖືກຄັດເລືອກ. ຈາກຜົນທີ່ໄດ້ຮັບສະແດງໃຫ້ເຫັນວ່າເຊື້ອຢີສສາມາດຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ດີທີ່ອຸນຫະພູມຕ່າງໆໃນອາຫານ YPD ມີ 8 ໄອໂຊເລດ, ອາຫານ YPS ມີ 6 ໄອໂຊເລດ, ສ່ວນໃນອາຫານ YPX ແລະ ອາຫານ YNB ມີພຽງອາຫານລະ 2 ໄອໂຊເລດເທົ່ານັ້ນທີ່ຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ດີ. ຜົນການສຶກສາລັກສະນະທາງສັນຖານວິທະຍາຂອງຢີສ ຈຸລັງຂອງຢີສມີລັກສະນະເປັນຮູບໄຂ່-ຍາວ, ມົນກົມ, ບາງຈຸລັງມີການແຕກໜີ້ ແລະ ແຍກເປັນຈຸລັງດຽວ, ການທົດສອບຊີວະເຄມີບາງຢ່າງພົບວ່າ ຢີສທັງ 23 ໄອໂຊເລດ ມີເອັນໄຊມ Catalase. ຈາກການຄັດເລືອກຢີສເພື່ອການໝັກເຫຼົ້າເອຕາໂນລໂດຍໃຊ້ນ້ຳຕານໄຊໂລສ 2% ເປັນແຫຼ່ງຄາບອນ ພົບວ່າມີ 3 ໄອໂຊເລດ ໄດ້ແກ່: OX17, OX22 ແລະ OX30 ທີ່ສາມາດໝັກໄດ້ດີກວ່າ *Kluyveromyces marxianu* BUNL-21 ທີ່ເປັນໂຕປຽບທຽບ. ນອກຈາກນັ້ນ ເຊື້ອຢີສ OX17 ສາມາດທົນຕໍ່ທາດລະລາຍທີ່ເປັນພິດໄດ້ດີກວ່າໄອໂຊເລດອື່ນໆ ແລະ ໄອໂຊເລດທີ 25 ສາມາດຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ໄວ ແລະ ມີລັກສະນະທີ່ແຕກຕ່າງກວ່າໄອໂຊເລດອື່ນໆ. ຈາກການວິເຄາະ D1/D2 ໂດເມນຂອງຍີນ ສາມາດຈັດຈຳແນກໄດ້ທັງໝົດ 5 ໄອໂຊເລດ ເຊິ່ງເປັນ *Candida tropicalis* ຈຳນວນ 3 ໄອໂຊເລດ ແລະ 2 ໄອໂຊເລດເປັນ *Blastobotrys adeninivorans*.

ຄຳສຳຄັນ: ເຊື້ອຢີສ, ອຸນຫະພູມ, ລິກໂນແຊລລູໂລສ, ນ້ຳຕານໄຊໂລສ, ເຫຼົ້າເອຕາໂນລ.

Abstract

Studies on selection of xylose utilizing yeast for ethanol fermentation were used the waste of agriculture in total 56 samples. In the experiments were conducted by an enrichment technique in YPX broth at 37°C. A total of 60 yeast strains were obtained. Of these, 35 yeast strains were selected for growing on YPD, YPS, YPX and YNB plates agar at 37°C, 40°C, 42°C and 45°C, also cell morphology, characteristics at 37 °C and identification of selected strains were studied. The results showed, only 8 strains were grown well on YPD medium at any temperatures, 6 strains on YPS and 2 strains on YPX and YNB plates agar. Under the microscope, the cell shape of yeasts exhibited elongate, round and budding. All of the selected strains contained catalase positive. Ethanol fermentation from xylose 2% only OX17, OX22 and OX30 showed slightly higher than the others and *Kluyveromyces marxianus* BUNL-21. In addition, OX17 was strong resistant on chemical toxic reagent and OX25 was growth fast and different characteristic from the others strains. Yeast identification were carried out by nucleotide sequencing of the D1/D2 domain of the large subunit rRNA gene, revealing that the isolated strains can be categorized into *Blastobotrys adenivorans* 3 strains and *Candida tropicalis* 2 strains.

Keyword: yeast, temperatures, lignocellulose, xylose, ethanol

ສາລະບານ

ຄຳຈາລຶກບຸນຄຸນ.....	I
ບົດຄັດຫຍໍ້.....	II
Abstract.....	III
ສາລະບານ.....	IV
ສາລະບານຕາຕະລາງ	VII
ສາລະບານຮູບ.....	VIII
ຄຳສັບຫຍໍ້.....	IX
ພາກທີ 1 ບົດນຳ	1
1.1 ຖະແຫລງບັນຫາ ແລະ ປະຫວັດຄວາມເປັນມາ.....	1
1.2 ເຫດຜົນ ແລະ ຄວາມສຳຄັນຂອງບັນຫາ.....	2
1.3 ຈຸດປະສົງ.....	2
1.4 ຜົນປະໂຫຍດຂອງການສຶກສາ	3
ພາກທີ 2 ທົບທວນເອກະສານ ແລະ ຂອບເຂດແນວຄວາມຄິດ	4
2.1 ທົບທວນເອກະສານ ແລະ ທິດສະດີທີ່ກ່ຽວຂ້ອງ	4
2.1.1 ຄວາມສຳຄັນຂອງເຫຼົ້າເອຕາໂນລ	4
2.1.2 ເອຕາໂນລ (Ethanol)	5
2.1.3 ຂະບວນການຜະລິດເຫຼົ້າເອຕາໂນລ	7
2.1.4 ປັດໄຈທີ່ມີອິດທິພົນຕໍ່ການໝັກເຫຼົ້າເອຕາໂນລຂອງຢີສ໌.....	8
2.1.5 ຢີສ໌ສຳລັບການຜະລິດເຫຼົ້າເອຕາໂນລ ແລະ ການຄັດເລືອກ.....	9
2.1.6 ລັກສະນະທົ່ວໄປຂອງຢີສ໌ທີ່ໝັກເຫຼົ້າເອຕາໂນລ.....	11
2.1.7 Xylose ແລະ ການນຳໃຊ້ປະໂຫຍດ	13
2.1.8 ການແລກປ່ຽນທາດຂອງ Xylose ໂດຍຢີສ໌	14
2.2 ທົບທວນບົດຄົ້ນຄວ້າວິທະຍາສາດທີ່ກ່ຽວຂ້ອງ	16
2.3 ຂອບເຂດແນວຄວາມຄິດ.....	20

2.4	ນິຍາມຄຳສັບໃນທາງປະຕິບັດ.....	21
	ພາກທີ 3 ວິທີການສຶກສາ.....	22
3.1	ການອອກແບບການສຶກສາ.....	22
3.1.1	ການກຳນົດເນື້ອໃນ.....	22
3.1.2	ການຄັດເລືອກພື້ນທີ່.....	22
3.1.3	ໄລຍະເວລາການສຶກສາ.....	22
3.2	ປະຊາກອນການສຶກສາ.....	22
3.2.1	ການຄັດເລືອກປະຊາກອນ.....	22
3.2.2	ວິທີສຸ່ມຕົວຢ່າງຂອງປະຊາກອນ.....	24
3.3	ຂໍ້ມູນການສຶກສາ.....	24
3.3.1	ບັນດາຂໍ້ມູນການສຶກສາ.....	24
3.3.2	ວິທີເກັບກຳຂໍ້ມູນ.....	27
3.3.3	ເຄື່ອງມືທີ່ນຳໃຊ້ເກັບກຳຂໍ້ມູນ.....	29
3.4	ການວິເຄາະຂໍ້ມູນ ແລະ ການອະທິບາຍຜົນ.....	29
	ພາກທີ 4 ຜົນການສຶກສາ ແລະ ການສົນທະນາ.....	30
4.1	ຜົນການສຶກສາ.....	30
4.1.1	ຜົນຂອງການຄັດເລືອກຢືດທີ່ສາມາດໝັກໄຊໂລສໃຫ້ເປັນເຫຼົ້າເອຕາໂນລຈາກສິ່ງເສດ ເຫຼືອປະເພດ Lignocelluloses.....	30
4.1.2	ສຶກສາລັກສະນະທາງສັນຖານວິທະຍາຂອງຢືດ ແລະ ການທົດສອບຊີວະເຄມີ.....	32
4.1.3	ຜົນການຄັດເລືອກຢືດທີ່ສາມາດໃຊ້ Xylose ໃຫ້ເປັນເຫຼົ້າເອຕາໂນລ.....	38
4.2	ການສົນທະນາ.....	49
	ພາກທີ 5 ສະຫຼຸບ, ຂໍ້ຈຳກັດ ແລະ ຂໍ້ແນະນຳໃນການສຶກສາ.....	50
5.1	ສະຫຼຸບຜົນໃນການສຶກສາ.....	50
5.2	ຂໍ້ຈຳກັດໃນການສຶກສາ.....	51
5.3	ຂໍ້ແນະນຳໃນການສຶກສາ.....	51

ເອກະສານອ້າງອີງ.....	52
ເອກະສານແນບທ້າຍ	56

ສາລະບານຕາຕະລາງ

ຕາຕະລາງທີ 3.1	ການກຳນົດລັກສະນະຂອງຕົວຢ່າງ	23
ຕາຕະລາງທີ 4.1	ຈຳນວນໄອໂຊເລດທັງໝົດທີ່ແຍກໄດ້	32
ຕາຕະລາງທີ 4.2	ລັກສະນະທາງສັນຖານວິທະຍາຂອງແຕ່ລະໄອໂຊເລດ	33
ຕາຕະລາງທີ 4.3	ລັກສະນະການຈະເລີນເຕີບໂຕຂອງຢີສ໌ໃນອາຫານແຂງ	36
ຕາຕະລາງທີ 4.4	ການຈະເລີນເຕີບໂຕຂອງເຊື້ອຢີສ໌ໃນອາຫານແຫຼວມີລັກສະນະແຕກຕ່າງກັນ	39
ຕາຕະລາງທີ 4.5	ການຈະເລີນເຕີບໂຕຂອງຢີສ໌ໃນໄລຍະເວລາຕ່າງໆ ທີ່ອຸນຫະພູມ 37°C	41
ຕາຕະລາງທີ 4.6	ປະລິມານຂອງເຫຼົ້າເອຕາໂນລໃນໄລຍະເວລາຕ່າງໆ	42
ຕາຕະລາງທີ 4.7	ປະລິມານຂອງ Xylitol ໃນໄລຍະເວລາຕ່າງໆ	43
ຕາຕະລາງທີ 4.8	ການຈະເລີນເຕີບໂຕຂອງຢີສ໌ດ້ວຍວິທີເຈືອຈາງຈຸລັງ	45
ຕາຕະລາງທີ 4.9	ຜົນການຈັດຈຳແນກ	48

ສາລະບານຮູບ

ຮູບທີ 2.1 ຄາດຄະເນການນໍາໃຊ້ເຫຼົ້າເອຕາໂນລເປັນເຊື້ອໄຟຢູ່ໃນໂລກ ແຕ່ປີ 2000-2020	5
ຮູບທີ 2.2 ໂຄງສ້າງຂອງເອຕາໂນລ.....	5
ຮູບທີ 2.3 ລັກສະນະທາງສັນຖານວິທະຍາຂອງເຊື້ອຢີສ໌	11
ຮູບທີ 2.4 ແຫຼ່ງທີ່ມາຂອງ Xylose	13
ຮູບທີ 2.5 ການນໍາໃຊ້ໄຊໂລສໂດຍຢີສ໌.....	15
ຮູບທີ 3.1 ແຜນວາດຂັ້ນຕອນການປະຕິບັດໃນຫ້ອງທົດລອງ	28
ຮູບທີ 4.1 ລັກສະນະທາງສັນຖານວິທະຍາຂອງເຊື້ອຢີສ໌	30
ຮູບທີ 4.2 ລັກສະນະການຈະເລີນເຕີບໂຕຂອງຢີສ໌ໃນອາຫານແຂງ YPX.....	31
ຮູບທີ 4.3 ການຍ້ອມສີແກຣມຂອງເຊື້ອຢີສ໌	32
ຮູບທີ 4.4 ລັກສະນະທາງສັນຖານວິທະຍາຂອງຢີສ໌.....	34
ຮູບທີ 4.5 ການທົດສອບການຈະເລີນເຕີບໂຕໃນອາຫານແຂງທີ່ອຸນຫະພູມຕ່າງໆ	34
ຮູບທີ 4.6 ລັກສະນະການຈະເລີນເຕີບໂຕຂອງເຊື້ອຢີສ໌ທີ່ອຸນຫະພູມ 37°C ໃນອາຫານຊະນິດຕ່າງໆ .	37
ຮູບທີ 4.7 ລັກສະນະການຈະເລີນເຕີບໂຕຂອງເຊື້ອຢີສ໌ທີ່ອຸນຫະພູມ 40°C ໃນອາຫານຊະນິດຕ່າງໆ .	37
ຮູບທີ 4.8 ລັກສະນະການຈະເລີນເຕີບໂຕຂອງເຊື້ອຢີສ໌ທີ່ອຸນຫະພູມ 42°C ໃນອາຫານຊະນິດຕ່າງໆ ..	38
ຮູບທີ 4.9 ລັກສະນະການຈະເລີນເຕີບໂຕຂອງເຊື້ອຢີສ໌ທີ່ອຸນຫະພູມ 45°C ໃນອາຫານຊະນິດຕ່າງໆ ..	38
ຮູບທີ 4.10 ລັກສະນະການຈະເລີນເຕີບໂຕໃນອາຫານແຫຼວ YPX 2% ຈຸລັງຈົມຢູ່ກົ້ນຫຼອດ.....	40
ຮູບທີ 4.11 ລັກສະນະການຈະເລີນເຕີບໂຕໃນອາຫານແຫຼວ YPX 2% ຈຸລັງຈົມຢູ່ກົ້ນຫຼອດຫຼາຍ ແລະ ລອຍຂຶ້ນມາເທິງຜິວໜ້າອາຫານຫຼາຍ.....	40
ຮູບທີ 4.12 ລັກສະນະການຈະເລີນເຕີບໂຕໃນອາຫານແຫຼວ YPX 2% ຈຸລັງຈົມຢູ່ກົ້ນຫຼອດຫຼາຍ ແລະ ລອຍຂຶ້ນມາເທິງຜິວໜ້າອາຫານໜ້ອຍ.....	40
ຮູບທີ 4.13 ລັກສະນະການຈະເລີນເຕີບໂຕຂອງທົວເຊື້ອ.....	41
ຮູບທີ 4.14 ລັກສະນະການຈະເລີນເຕີບໂຕຂອງເຊື້ອຢີສ໌ໃນອາຫານແຂງ YPX.....	44
ຮູບທີ 4.15 ລັກສະນະການຈະເລີນເຕີບໂຕຂອງເຊື້ອຢີສ໌ໃນອາຫານແຫຼວ YPX.....	44
ຮູບທີ 4.16 ການທົດສອບຄວາມທົນທານຕໍ່ທາດລະລາຍບາງຢ່າງທີ່ເປັນພິດບາງຢ່າງ.....	46

ຄຳສັບຫຍໍ້

BUNL 21 = Biotechnology Unit National University of Laos (Number Isolate 21)

DNA = Deoxyribonucleic Acid

FNS = Faculty of Natural Sciences

GC = Gas Chromatography

HPLC = High Performance Liquid Chromatography

K. marxianus = *Kluyveromyces marxianus*

nm = nanometer

NUOL = National University of Lao

OD = Optimal Density

PH = Potential of Hydrogen ion

RNA = Ribonucleic Acid

rpm = round per minute

TM = Tube mixer vortex

Yamguchi = Yamguchi University of Japan

YNB = Yeast Nitrogen Base

YPD = Yeast extract Peptone Dextrose

YPS = Yeast extract Peptone Sucrose

YPX = Yeast extract Peptone Xylose

ພາກທີ 1

ບົດນຳ

1.1 ຖະແຫລງບັນຫາ ແລະ ປະຫວັດຄວາມເປັນມາ

ປັດຈຸບັນຄວາມຕ້ອງການພະລັງງານເຊື້ອໄຟເພີ່ມຂຶ້ນເພື່ອການອຸດສາຫະກຳ ແລະ ການຄົມມະນາຄົມຂົນສົ່ງ ໃນຂະນະທີ່ມີວິກິດການພະລັງງານເຊື້ອໄຟທີ່ໄດ້ຈາກທຳມະຊາດ (Fossil) ໃກ້ຈະໝົດໄປ ແລະ ມີລາຄາສູງ ເຊິ່ງເປັນສາເຫດເຮັດໃຫ້ປະເທດຕ່າງໆໃນໂລກ ເລີ່ມຕົ້ນຕົວໃນການຊອກຫາພະລັງງານທົດແທນທີ່ສາມາດຜະລິດໄດ້ເອງພາຍໃນປະເທດ. ໃນປັດຈຸບັນໄດ້ມີການນຳໃຊ້ກາກນໍ້າຕານ ແລະ ມັນຕົ້ນ ເຂົ້າໃນການຜະລິດເຫຼົ້າເອຕາໂນລເພື່ອເປັນເຊື້ອໄຟ ໂດຍນຳໄປປະສົມກັບນໍ້າມັນແອັດຊັງຢູ່ໃນຮູບແບບຂອງກຳສປະສົມເອຕາໂນລເອີ້ນວ່າ: ແກັສໂຊອໍລ (Gasohol) ເຊິ່ງສົ່ງຜົນເຮັດໃຫ້ອຸດສາຫະກຳການຜະລິດເອຕາໂນລຂະຫຍາຍຕົວ ແລະ ຄວາມຕ້ອງການໃຊ້ເອຕາໂນລກໍສູງຂຶ້ນເລື້ອຍໆ. ສະນັ້ນ, ຈຶ່ງເຮັດໃຫ້ເກີດຄວາມວິຕົກກັງວົນວ່າ ພືດ ແລະ ອາຫານ ອາດຈະຖືກນຳໄປໃຊ້ຜະລິດເປັນເອຕາໂນລຈົນເຮັດໃຫ້ເກີດຄວາມຂາດແຄນ. ການຊອກຫາວັດຖຸດິບຊະນິດໃໝ່ໆ ເຊິ່ງວັດຖຸດິບທີ່ກຳລັງໄດ້ຮັບຄວາມສົນໃຈກໍຄື: ວັດຖຸດິບທີ່ເສດເຫຼືອຈາກການກະເສດ ເຊັ່ນ: ກາກອ້ອຍ, ເພືອງ ແລະ ແກນສາລີ. ເນື່ອງຈາກວ່າວັດຖຸດິບເຫຼົ່ານີ້ມີລາຄາທີ່ຖືກ ແລະ ມີປະລິມານຫຼາຍ. ວັດສະດຸເຫຼົ່ານີ້ຫາກສາມາດນຳມາໃຊ້ເປັນວັດຖຸດິບໃນການຜະລິດເອຕາໂນລໄດ້ ຈະຊ່ວຍເຮັດໃຫ້ຕົ້ນທຶນທີ່ໃຊ້ໃນການຜະລິດເອຕາໂນລມີລາຄາຕໍ່າ ແລະ ຫຼຸດຜ່ອນວັດຖຸດິບອື່ນໆ (ພືດ ແລະ ອາຫານ) ພ້ອມທັງເປັນການກຳຈັດສິ່ງເສດເຫຼືອຈາກການກະເສດອີກດ້ວຍ (Mishra and Singh, 1993)..

ສິ່ງເສດເຫຼືອຈາກການກະເສດເປັນແຫຼ່ງຂອງ Lignocelluloses ທີ່ປະກອບດ້ວຍ Lignin, Cellulose ແລະ Hemicelluloses ສິ່ງເສດເຫຼືອດັ່ງກ່າວນີ້. ເມື່ອຍ່ອຍສະຫຼາຍດ້ວຍເອນໄຊມ ຫຼື ອາຊິດ ຈະໄດ້ນໍ້າຕານ Glucose ແລະ ນໍ້າຕານ Xylose ເປັນອົງປະກອບຫຼັກ. ໂດຍທົ່ວໄປແລ້ວໃນອຸດສາຫະກຳການຜະລິດເອຕາໂນລແມ່ນນິຍົມນຳໃຊ້ຢີສ *Saccharomyces cerevisiae* ສຳລັບການໝັກ Glucose ໃຫ້ເປັນເອຕາໂນລ ແຕ່ຢີສຊະນິດນີ້ບໍ່ສາມາດໃຊ້ ແລະ ໝັກ Xylose ໃຫ້ເປັນເອຕາໂນລໄດ້.

ສ່ວນຢີສທີ່ສາມາດໝັກເຫຼົ້າເອຕາໂນລຈາກ Xylose ໄດ້ ແມ່ນຍັງມີໜ້ອຍ ເຊິ່ງຊະນິດທີ່ຮູ້ຈັກກັນດີໄດ້ແກ່: ຢີສຈຳພວກ *Candida shehatae*, *Scheffersomyces (Pichia) stipitis* ແລະ *Pachysolen tannophilus* ແຕ່ຍັງໃຫ້ຜົນຜະລິດຂ້ອນຂ້າງຕໍ່າ. ດັ່ງນັ້ນ, ຈຶ່ງເຮັດໃຫ້ມີການວິໄຈເພື່ອພັດທະນາຢີສ *Saccharomyces cerevisiae* ໃຫ້ສາມາດໝັກ Xylose ໄດ້. ໃນຂະນະທີ່ມີການຫາຢີສສາຍພັນໃໝ່ທີ່ສາມາດໝັກເອຕາໂນລຈາກ Xylose ໄດ້ດີກວ່າສາຍພັນທີ່ມີການລາຍງານໄວ້ ເຊິ່ງມັນກໍເປັນອີກ

ແນວທາງໜຶ່ງທີ່ຈະໄດ້ພົບຢືນຢັນສາຍພັນໃໝ່ ທີ່ເໝາະສົມກັບການຜະລິດເອຕາໂນລຈາກວັດຖຸດິບປະເພດນີ້.

1.2 ເຫດຜົນ ແລະ ຄວາມສໍາຄັນຂອງບັນຫາ

ເອຕາໂນລເປັນເຫຼົ່າຊະນິດໜຶ່ງທີ່ໄດ້ມາຈາກການນໍາເອົາພືດມາໝັກໂດຍເຊື້ອຢີສ ເພື່ອປ່ຽນທາດແບັງໃຫ້ເປັນນໍ້າຕານ Glucose ຫຼັງຈາກນັ້ນຈຶ່ງປ່ຽນນໍ້າຕານ Glucose ໄປເປັນເຫຼົ່າເອຕາໂນລ ແລ້ວຈຶ່ງນໍາມາກັ່ນໃຫ້ມີຄວາມບໍລິສຸດ 90 %. ການນໍາໃຊ້ເຫຼົ່າເອຕາໂນລມາປະສົມກັບນໍ້າມັນກາຊວນໃນຮູບແບບນີ້ເອີ້ນວ່າ: “ແກັສໂຊຣໍລ” ເຊິ່ງໄດ້ຮັບຄວາມນິຍົມນັບມື້ນັບຫຼາຍ ແລະ ພັດທະນາເພີ່ມຂຶ້ນ ເນື່ອງຈາກວ່າ: ເປັນພະລັງງານເຊື້ອໄຟທີ່ສະອາດ, ຊ່ວຍຮັກສາສິ່ງແວດລ້ອມ, ເປັນເຊື້ອໄຟທີ່ປອດສານພິດ, ເມື່ອນໍາມາໃຊ້ເປັນເຊື້ອໄຟໃນຍານພາຫະນະຈະເຜົາໄໝ້ໄດ້ສົມບູນກວ່າເຊື້ອໄຟທົ່ວໄປ ແລະ ເຮັດໃຫ້ເຄື່ອງຈັກສະອາດ. ໃນອານາຄົດຍັງຈະໄດ້ຜັນຂະຫຍາຍເຫຼົ່າເອຕາໂນລເປັນເຊື້ອໄຟໃຊ້ສໍາລັບເຮືອບິນອີກດ້ວຍ (Najafpour and Lim, 2002). ສິ່ງສໍາຄັນໃນການນໍາໃຊ້ເຫຼົ່າເອຕາໂນລແມ່ນເພື່ອຫຼຸດຜ່ອນການນໍາໃຊ້ນໍ້າມັນເຊື້ອໄຟຈາກທໍາມະຊາດ, ສ້າງຄວາມໝັ້ນຄົງທາງດ້ານພະລັງງານ ແລະ ການພັດທະນາເສດຖະກິດຂອງປະເທດຢ່າງຍືນຍົງ.

ສ່ວນຫຼາຍວັດຖຸດິບທີ່ນິຍົມນໍາມາຜະລິດເປັນເຫຼົ່າເອຕາໂນລມີຢູ່ 2 ປະເພດ ຄື: ພວກທີ່ມີນໍ້າຕານໄດ້ແກ່: ອ້ອຍ, ກາກນໍ້າຕານ, ນໍ້າຕານ ແລະ ພວກທີ່ມີທາດແບັງໄດ້ແກ່: ມັນຕົ້ນ. ແຕ່ວັດຖຸດິບເຫຼົ່ານີ້ກໍຍັງມີປະລິມານຈໍາກັດ ແລະ ມີລາຄາທີ່ສູງ. ດັ່ງນັ້ນ, ເພິ່ນຈຶ່ງຫັນປ່ຽນມາໃຊ້ວັດຖຸດິບທີ່ເປັນສິ່ງເສດເຫຼືອຈາກການກະເສດທີ່ມີປະລິມານຫຼາຍ, ມີລາຄາທີ່ຕໍ່າ ແລະ ຍັງເປັນການຫຼຸດຜ່ອນບັນຫາສິ່ງເສດເຫຼືອ ຫຼື ນໍາເອົາສິ່ງເສດເຫຼືອມາໃຊ້ໃຫ້ເກີດປະໂຫຍດ. ວັດສະດຸເຫຼົ່ານີ້ໄດ້ແກ່: ເພືອງ, ກາກອ້ອຍ, ແກນສາລີ, ເປືອກໄມ້ເປັນຕົ້ນ ແລະ ອື່ນໆອີກ. ດັ່ງນັ້ນ, ຈຶ່ງມີການຫາຢືນຢັນສາຍພັນໃໝ່ທີ່ສາມາດນໍາໃຊ້ໄຊໂລສໄດ້ໃນຂະບວນການຜະລິດເຫຼົ່າເອຕາໂນລໃຫ້ມີປະສິດທິພາບ ແລະ ທົນຄວາມຮ້ອນສູງ. ໃນປັດຈຸບັນນີ້ໄດ້ມີການສຶກສາຄວາມຫຼາກຫຼາຍຂອງຢີສທີ່ສາມາດໃຊ້ Xylose ຕ່າງໆໃນທໍາມະຊາດ ແລະ ໄດ້ຈັດຈໍາແນກເພື່ອລະບຸຊະນິດ. ນອກຈາກນັ້ນ ກໍຍັງໄດ້ຄັດເລືອກສາຍພັນຢີສທີ່ສາມາດໝັກເອຕາໂນລຈາກ Xylose ໄດ້ເພື່ອເປັນຂໍ້ມູນພື້ນຖານ ແລະ ຮວບຮວມສາຍພັນໄວ້ເພື່ອໃຊ້ປະໂຫຍດໃນອານາຄົດຕໍ່ໄປ.

1.3 ຈຸດປະສົງ

- 1) ຄັດເລືອກຢີສທີ່ສາມາດໝັກໄຊໂລສໃຫ້ເປັນເຫຼົ່າເອຕາໂນລຈາກສິ່ງເສດເຫຼືອປະເພດ Lignocelluloses.
- 2) ສຶກສາລັກສະນະທາງສັນຖານວິທະຍາ ແລະ ທົດສອບຄຸນລັກສະນະທາງຊີວະເຄມີບາງຢ່າງ.
- 3) ທົດສອບຄວາມສາມາດໃນການໝັກເຫຼົ່າເອຕາໂນລ ແລະ ຈັດຈໍາແນກຊະນິດຂອງຢີສທີ່ໃຊ້ໄຊໂລສ.

1.4 ຜົນປະໂຫຍດຂອງການສຶກສາ

- 1) ເຊື້ອຢີສທີ່ໄດ້ຄັດເລືອກຢີສທີ່ສາມາດພັກ Xylose ໃຫ້ເປັນເຫຼົ້າເອຕາໂນລໄດ້ດີຈາກສິ່ງເສດເຫຼືອປະເພດ Lignocelluloses ແລະ ໃຫ້ປະສິດທິພາບສູງ.
- 2) ເປັນການນຳໃຊ້ສິ່ງເສດເຫຼືອໃຫ້ເກີດປະໂຫຍດ ແລະ ຫຼຸດຜ່ອນປະລິມານສິ່ງເສດເຫຼືອ.
- 3) ເຊື້ອຢີສທີ່ໄດ້ຈາກການຄັດເລືອກ ສາມາດນຳໃຊ້ເຂົ້າໃນຂະບວນການຜະລິດເຫຼົ້າເອຕາໂນລທີ່ເປັນພະລັງງານທົດແທນທາງເຊື້ອໄຟ ເປັນພະລັງງານທີ່ສະອາດ ແລະ ໃຊ້ຕົ້ນທຶນໃນການຜະລິດຕໍ່າ.
- 4) ນອກຈາກນີ້ຈະໄດ້ເຊື້ອຢີສທີ່ສາມາດຜະລິດເຫຼົ້າເອຕາໂນລໄດ້ດີແລ້ວ ຍັງສາມາດຜະລິດ Xylitol ອອກມານຳອີກດ້ວຍ.

ພາກທີ 2

ທົບທວນເອກະສານ ແລະ ຂອບເຂດແນວຄວາມຄິດ

2.1 ທົບທວນເອກະສານ ແລະ ທິດສະດີທີ່ກ່ຽວຂ້ອງ

2.1.1 ຄວາມສໍາຄັນຂອງເຫຼົ້າເອຕາໂນລ

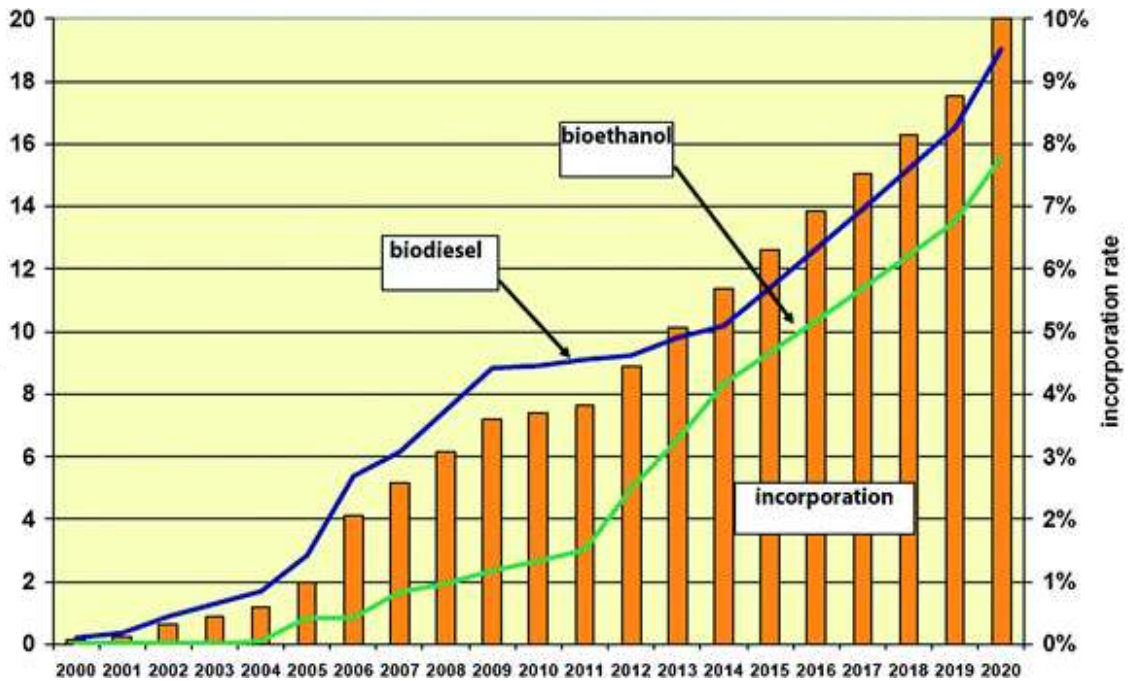
ເອຕາໂນລ ສາມາດນໍາໄປໃຊ້ປະໂຫຍດໄດ້ຫຼາຍຢ່າງ ເຊັ່ນ: ເຄື່ອງດື່ມທີ່ມີສ່ວນປະສົມຂອງເຫຼົ້າ, ໃຊ້ໃນທາງການແພດ, ໃຊ້ເປັນທາດຕັ້ງຕົ້ນໃນການຜະລິດທາດເຄມີ ແລະ ຍັງສາມາດໃຊ້ເຂົ້າໃນອຸດສາຫະກຳຜະລິດເປັນພະລັງງານທົດແທນ ເຊິ່ງເປັນການຫຼຸດພາວະໂລກຮ້ອນ ແລະ ຫຼຸດການນໍາເງິນຕາອອກນອກປະເທດ. ການນໍາເຫຼົ້າເອຕາໂນລມາຜະລິດເປັນພະລັງງານທົດແທນກໍເປັນການສ້າງເສດຖະກິດໃຫ້ກັບປະເທດ ແລະ ຍັງຫຼຸດຜ່ອນບັນຫາສິ່ງແວດລ້ອມອີກດ້ວຍ. ນອກຈາກນີ້ກໍຍັງນໍາໃຊ້ເຂົ້າໃນອຸດສາຫະກຳຕ່າງໆ ເຊັ່ນ: ໃຊ້ເຂົ້າໃນການຜະລິດສີ, ນໍ້າມັນເຄືອບເງົາ, ເຄື່ອງສໍາອາງ ແລະ ພູາສ໌ຕິກອື່ນໆ.

ການນໍາໃຊ້ເຫຼົ້າເອຕາໂນລມາເປັນເຊື້ອໄຟ ຢູ່ຕ່າງປະເທດແມ່ນມີການຈັດຈຳໜ່າຍນໍ້າມັນແກັສໂຊຮໍລ (Gasohol) ມາຫຼາຍກວ່າ 25 ປີແລ້ວ. ປັດຈຸບັນນີ້ໃນທົ່ວໂລກ ມີ 35 ປະເທດທີ່ໄດ້ທົດລອງ ແລະ ນໍາເອົານໍ້າມັນແກັສໂຊຮໍລອອກຈຳໜ່າຍ ເພື່ອໃຊ້ເປັນພະລັງງານທົດແທນນໍ້າມັນທີ່ກັ່ນຈາກນໍ້າມັນດິບ. ສໍາລັບປະເທດທີ່ມີການນໍາໃຊ້ເອຕາໂນລເປັນເຊື້ອໄຟມີການນໍາໃຊ້ຢ່າງແຜ່ຫຼາຍໄດ້ແກ່: ປະເທດບຣາຊິລ ເຊິ່ງມີການນໍາໃຊ້ເອຕາໂນລຢູ່ໃນຮູບແບບປະສົມກັບນໍ້າມັນແອັດຊັງ ສະເລ່ຍ 13.000 ລ້ານລິດຕໍ່ປີ, ສະຫະລັດອາເມລິກາມີການນໍາໃຊ້ສະເລ່ຍ 4.700 ລ້ານລິດຕໍ່ປີ. ຕໍ່ມາປະເທດຝຣັ່ງເສດມີການນໍາໃຊ້ສະເລ່ຍ 120 ລ້ານລິດຕໍ່ປີ ເຊິ່ງມີແນວໂນ້ມການຫັນມານໍາໃຊ້ເອຕາໂນລເປັນເຊື້ອໄຟ ຢູ່ທົ່ວໂລກຄົງມີການຈະເລີນເຕີບໂຕຢ່າງຕໍ່ເນື່ອງ (ສຸກັນຍາ ພ້ອມດ້ວຍຄະນະ, 2548).

ສໍາລັບການນໍາໃຊ້ເອຕາໂນລມາເປັນເຊື້ອໄຟ ໄດ້ເລີ່ມຕັ້ງແຕ່ມີການພັດທະນາການນໍາໃຊ້ຍານພາຫານ ເຊັ່ນ: ປີ ຄ.ສ 1880 ສະຫະລັດອາເມລິກາ ໄດ້ເລີ່ມມີການນໍາໃຊ້ເອຕາໂນລ ມາເປັນເຊື້ອໄຟ. ມາຮອດປີ ຄ.ສ 1970 ໄດ້ເກີດວິກິດການນໍ້າມັນມີລາຄາທີ່ສູງຂຶ້ນ ຈຶ່ງລົງຜົນເຮັດໃຫ້ມີການຜະລິດ ແລະ ນໍາໃຊ້ເອຕາໂນລມາເປັນພະລັງງານທົດແທນ. ປະເທດບຣາຊິລ ຖືວ່າເປັນປະເທດໜຶ່ງທີ່ເປັນຜູ້ນໍາໜ້າທາງດ້ານແກັສໂຊຮໍລ ແລະ ໄດ້ສົ່ງເສີມການນໍາໃຊ້ຢ່າງຈິງຈັງເພື່ອໃຫ້ເປັນເສດຖະກິດ ເຊິ່ງໄດ້ພະຍາຍາມຫຼຸດຜ່ອນການນໍາເຂົ້ານໍ້າມັນດິບຈາກຕ່າງປະເທດ.

ມາໃນປີ ຄ.ສ 1975 ນໍ້າມັນດິບມີລາຄາເລີ່ມສູງຂຶ້ນ ເພື່ອສົ່ງເສີມການຜະລິດເອຕາໂນລ ຈຶ່ງໄດ້ນໍາເອົາເອຕາໂນລມາປະສົມກັບນໍ້າມັນແອັດຊັງ ເຊິ່ງເຮັດໃຫ້ອຸດສາຫະກຳການຜະລິດເອຕາໂນລມີການຂະຫຍາຍຕົວເພີ່ມຂຶ້ນຫຼາຍຈົນມາຮອດປັດຈຸບັນ (ທະນູ, 2527). ເນື່ອງຈາກວ່າການນໍາໃຊ້ເຫຼົ້າເອ

ຕາໂນລເປັນເຊື້ອໄຟໄດ້ມີການຂະຫຍາຍຕົວຂຶ້ນເລື້ອຍໆ ເລີ່ມແຕ່ປີ 2000 ເປັນຕົ້ນມາຈົນເຖິງປີ 2020 ດັ່ງສະແດງດັ່ງຮູບລຸ່ມນີ້:

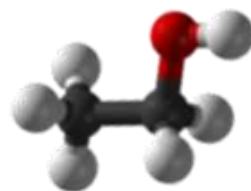
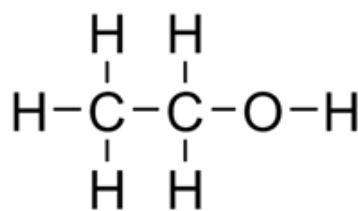


ຮູບທີ 2.1 ຄາດຄະເນການນຳໃຊ້ເຫຼົ້າເອຕາໂນລເປັນເຊື້ອໄຟຢູ່ໃນໂລກ ແຕ່ປີ 2000-2020

(ແຫຼ່ງທີ່ມາ: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2010>)

2.1.2 ເອຕາໂນລ (Ethanol)

ເອຕາໂນລ (Ethanol) ຫຼື ເອທິລແອລກໍຮອລ (Ethyl alcohol) ເປັນທາດປະສົມອົງຄະທາດ ໃນກຸ່ມແອລກໍຮອລຊະນິດໜຶ່ງທີ່ປະກອບດ້ວຍຄາບອນ, ໂຮໂດຣເຈນ ແລະ ອັອກຊີເຈນ ເຊິ່ງມີຈຸໂຮໂດຣ ຊີລ (Hydroxyl, OH⁻) ເປັນຈຸກຳນົດລັກສະນະ (Functional group) ມີສູດໂມເລກູນແມ່ນ: C₂H₅OH ເປັນໂມເລກູນມີຂົ້ວ (Polar covalent molecule) ສາມາດເກີດພັນທະໂຮໂດຣເຈນ (Hydrogen bond) ກັບນ້ຳໄດ້ ແລະ ລະລາຍນ້ຳໄດ້ດີ. ເອຕາໂນລເປັນຂອງແຫຼວໃສ, ບໍ່ມີສີ, ຕິດໄຟງ່າຍ (ມີຄວາມໄວໄຟ), ມີຄ່າອອກເທນສູງ (ເອຕາໂນລບໍລິສຸດ 99.8% ມີຄ່າອອກເທນສູງເຖິງ 113), ມີມວນສານໂມເລກູນ 46.07 g/mol, ມີຄວາມໜາແໜ້ນ 0.789 g/Cm³, ມີຈຸດເປ້ອຍ -114.1°C ແລະ ຈຸດພົດ 78.37°C.



ຮູບທີ 2.2 ໂຄງສ້າງຂອງເອຕາໂນລ

(ແຫຼ່ງທີ່ມາ <https://www.tpa.or.th>)

ກ. ເອຕາໂນລມີຄຸນປະໂຫຍດຕໍ່ກັບການນໍາໃຊ້

ເອຕາໂນລມີຄຸນປະໂຫຍດຕໍ່ກັບການນໍາໃຊ້ ໂດຍການນໍາເອົາເອຕາໂນລທີ່ມີຄວາມບໍລິສຸດ ຕັ້ງແຕ່ 95% ນໍາໄປປະສົມກັບນໍ້າມັນ ເຊິ່ງສາມາດໃຊ້ເປັນເຊື້ອໄຟໄດ້ໃນ 3 ຮູບແບບ ຄື:

- ຮູບແບບທີ 1: ເອຕາໂນລ 95% ໃຊ້ເປັນເຊື້ອໄຟໂດຍກົງແທນນໍ້າມັນກາຊວນ ແລະ ນໍ້າມັນແອັດຊັງ.

- ຮູບແບບທີ 2: ເອຕາໂນລ 99.5% ໂດຍປະລິມານປະສົມໃນນໍ້າມັນແອັດຊັງ ເຊິ່ງເອີ້ນວ່າ: Gasohol. ໂດຍທົ່ວໄປໃຊ້ປະສົມກັບນໍ້າມັນແອັດຊັງ ໃນອັດຕາສ່ວນ 10% ໃຊ້ໃນລັກສະນະຂອງທາດ ເຕີມແຕ່ງ ເພື່ອປັບປຸງຄ່າອັອກເທນຂອງນໍ້າມັນແອັດຊັງ ສາມາດນໍາມາໃຊ້ງານກັບເຄື່ອງຈັກທົ່ວໄປ ໂດຍບໍ່ຕ້ອງດັດແປງເຄື່ອງຈັກ.

- ຮູບແບບທີ 3: ເປັນທາດເຄມີເພີ່ມອັອກເທນໃນນໍ້າມັນໂດຍການປຸງຮູບເອຕາໂນລ ມາ ເປັນທາດ Ethyl Tertiary Butyl Ether (ETBE) ສາມາດໃຊ້ທົດແທນທາດ MTBE ເຊິ່ງ MTBE ເປັນ ທາດເຕີມແຕ່ງໃນນໍ້າມັນກາຊວນ ມີຫຼາຍປະເທດປະກາດຫ້າມໃຊ້ ເນື່ອງຈາກກໍ່ໃຫ້ເກີດມົນລະພິດໃນ ອາກາດສູງກວ່າທາດເຕີມແຕ່ງອື່ນໆ.

ໃນໂຮງງານອຸດສາຫະກຳຫຼາຍແຫ່ງກໍ່ໄດ້ມີການປະຍຸກໃຊ້ເຫຼົ້າເອຕາໂນລໃນການຜະລິດ ເຊັ່ນ: ການຜະລິດເຄື່ອງດື່ມ, ກຸ່ມອຸດສາຫະກຳຜະລິດເຄື່ອງສຳອາງ, ຢາ ແລະ ສີ. ການນໍາໃຊ້ເຫຼົ້າເອ ຕາໂນລໃນພາກອຸດສາຫະກຳກໍ່ມີການຂະຫຍາຍຕົວສູງ. ເນື່ອງຈາກແນວໂນ້ນຂອງໂລກມີການເພິ່ງພາ ຂະບວນການຜະລິດທີ່ໃຊ້ທາດອົງຄະທາດຫຼາຍຂຶ້ນ (ພິສະໄໝ ພ້ອມດ້ວຍຄະນະ, 2553).

ປັດຈຸບັນການຊື້ຂາຍເຫຼົ້າເອຕາໂນລ ໃນຕະຫຼາດໂລກມີປະລິມານເພີ່ມຂຶ້ນ ເຊັ່ນ: 3.500 - 4.000 ລ້ານລິດ ແລະ ໃນອານາຄົດປະລິມານການຄ້າຂາຍໃນຕະຫຼາດໂລກຈະມີການຂະຫຍາຍຕົວສູງ ຂຶ້ນກວ່າເກົ່າ. ເນື່ອງຈາກວ່າມີຫຼາຍປະເທດ ໄດ້ມີນະໂຍບາຍສະໜັບສະໜູນໃຫ້ມີການນໍາໃຊ້ເຫຼົ້າເອຕາ ໂນລໃນຮູບແບບຂອງເຊື້ອໄຟ ເພາະເປັນການຫຼຸດຜ່ອນມົນລະພິດຕໍ່ສິ່ງແວດລ້ອມ ແລະ ຫຼຸດຜ່ອນການ ໃຊ້ນໍ້າມັນຈາກຊັບພະຍາກອນທຳມະຊາດ (ວະສັນ, 2546).

ຂ. ຂໍ້ດີຂອງເອຕາໂນລໃນການໃຊ້ແທນນໍ້າມັນ

- ເອຕາໂນລເປັນເຊື້ອໄຟທີ່ສະອາດກວ່ານໍ້າມັນກາຊວນ.
- ເອຕາໂນລເປັນເຊື້ອໄຟຊະນິດໃໝ່ທີ່ຜະລິດຈາກພືດ.
- ເອຕາໂນລສາມາດຕອບສະໜອງເຊື້ອໄຟໄດ້ໃນລາຄາທີ່ຕໍ່າກວ່າ.
- ເອຕາໂນລທີ່ຜະລິດຈາກພືດມີຜົນກະທົບຕໍ່ສະພາບແວດລ້ອມໜ້ອຍ.
- Gasohol ສາມາດໃຊ້ກັບເຄື່ອງຈັກທີ່ໃຊ້ນໍ້າມັນກາຊວນທັງໝົດ ໂດຍບໍ່ຕ້ອງປຸງແປງ.

- ມີອັກຊີເຈນ (O₂) ສູງ ສາມາດຫຼຸດຜ່ອນລະດັບຂອງ Carbon Monoxide (CO) ຫຼາຍກວ່າທາດ Oxygenate ແລະ ອື່ນໆ.

- ຫຼຸດຜ່ອນການແຜ່ກະຈາຍຂອງ Hydrocarbon ເຊິ່ງເປັນທາດຕົ້ນຕໍທີ່ທຳລາຍຊັ້ນໂອໂຊນ ແລະ ສາມາດຫຼຸດຜ່ອນປະລິມານການແຜ່ກະຈາຍຂອງ Carbon dioxide (CO₂).

2.1.3 ຂະບວນການຜະລິດເຫຼົ້າເອຕາໂນລ

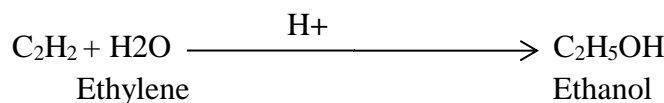
ກ. ການຜະລິດເຫຼົ້າເອຕາໂນລແບບດັ້ງເດີມ

ເປັນວິທີທີ່ຍັງນິຍົມໃຊ້ໃນການຜະລິດເຫຼົ້າເອຕາໂນລໃນປັດຈຸບັນ ເນື່ອງຈາກວ່າມີຕົ້ນທຶນຕໍ່າ, ຂະບວນການຂອງການຜະລິດບໍ່ຫຍຸ້ງຍາກສັບຊ້ອນ ແລະ ສາມາດຫາວັດຖຸດິບໃນການຜະລິດໄດ້ງ່າຍ. ວັດຖຸດິບທີ່ນິຍົມນຳມາໃຊ້ໄດ້ແກ່: ມັນຕົ້ນ, ອ້ອຍ, ສາລີ ແລະ ກາກນ້ຳຕານເປັນຕົ້ນ.

ຂະບວນການຜະລິດເຫຼົ້າເອຕາໂນລມີ 2 ວິທີຄື: ຂະບວນການສັງເຄາະທາດເຄມີ ແລະ ຂະບວນການໝັກພວກຄາໂບໄຮເດຣດ.

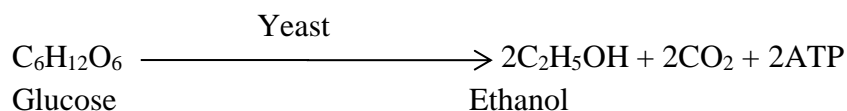
ຂ. ການຜະລິດເຫຼົ້າເອຕາໂນລທາງເຄມີ

ເປັນການນຳເອົາເອຕິລິນ (Ethylene) ມາເຂົ້າຮ່ວມປະຕິກິລິຍາກັບນ້ຳໂດຍມີ H₂SO₄ ເປັນຕົວເລັ່ງປະຕິກິລິຍາດັ່ງສະແດງສົມຜົນລຸ່ມນີ້:



ຄ. ການໝັກເຫຼົ້າເອຕາໂນລດ້ວຍຢີສ໌

ເປັນຂະບວນການໝັກໂດຍຢີສ໌ທີ່ໝັກຈາກວັດຖຸດິບຈຳພວກແບ້ງ, ນ້ຳຕານ ແລະ ແຊລລູໂລສ໌ ໃຫ້ເປັນນ້ຳຕານໂມເລກຸກດ່ຽວ ແລະ ປຸງເປັນນ້ຳຕານໂມເລກຸກດ່ຽວເປັນເອຕາໂນລທີ່ມີຄວາມເຂັ້ມຊັ້ນ 10–15% ພາຍໃຕ້ເງື່ອນໄຂທີ່ບໍ່ມີອາກາດ ແລະ ຜ່ານຂະບວນການກັ່ນເພື່ອໃຫ້ໄດ້ເອຕາໂນລບໍລິສຸດ. ຂະບວນການໝັກເຫຼົ້າໂດຍຢີສ໌ສະແດງດັ່ງນີ້:



2.1.4 ປັດໄຈທີ່ມີອິດທິພົນຕໍ່ການໝັກເຫຼົ້າເອຕາໂນລຂອງຢີສ໌

ປັດໄຈທີ່ມີອິດທິພົນຕໍ່ການໝັກເຫຼົ້າເອຕາໂນລ ຄື: ຄວາມເຂັ້ມຂຸ້ນຂອງເອຕາໂນລ, ຄວາມເຂັ້ມຂຸ້ນຂອງທາດຕັ້ງຕົ້ນ (Substrate), ທາດອາຫານ ແລະ ສະພາບແວດລ້ອມຫຼາຍຢ່າງ ເຊັ່ນ: ອຸນຫະພູມ, ຄ່າຄວາມເປັນກົດ-ດັ່ງ, O₂ ແລະ CO₂ ແລະ ປັດໄຈທີ່ມີອິດທິພົນຕໍ່ການໝັກເຫຼົ້າເອຕາໂນລ ຫຼາຍທີ່ສຸດຄື: ຄວາມເຂັ້ມຂຸ້ນຂອງທາດຕັ້ງຕົ້ນ ແລະ ອຸນຫະພູມ (Kosaric *et al.*, 1983; Reed, 1983).

ກ. ທາດອາຫານ (Nutrient) ແລະ ໂຄເຟກເຕີຣ໌ (Cofactor)

ຢີສ໌ຕ້ອງການທາດອາຫານໃນການຈະເລີນເຕີບໂຕ ແລະ ການໝັກເຫຼົ້າເອຕາໂນລ. ສໍາລັບຄວາມຕ້ອງການທາດອາຫານທີ່ຕ້ອງການເພື່ອການຈະເລີນເຕີບໂຕ ແລະ ທີ່ເປັນອົງປະກອບຫຼັກຂອງຈຸລັງ ຄື: C, O, N ແລະ H. ນອກຈາກນີ້ຢີສ໌ຍັງຕ້ອງການພວກຟອສຟໍຣັສ, ຊັລເຟິສ໌, ໂພແທສຊຽມ ແລະ ແມັກນີຊຽມ ເພື່ອສັງເຄາະທາດທີ່ເປັນອົງປະກອບສໍາຮອງ ແລະ ຕ້ອງການແມງກາມິສ, ໂຄບອລທ໌, ທອງ, ເຫຼັກ ແລະ ທາດອົງຄະທາດບາງຊະນິດ ເຊັ່ນ: ອາຊິດນິວເລຼອິກ ແລະ ວິຕາມິນ ໃນປະລິມານທີ່ໜ້ອຍ.

ສໍາລັບວັດຖຸດິບທີ່ນໍາໃຊ້ໃນການຜະລິດເຫຼົ້າເອຕາໂນລໃນລະດັບອຸດສາຫະກຳ ສ່ວນໃຫຍ່ ມັກຈະມີທາດອາຫານຕ່າງໆທີ່ຈໍາເປັນຕໍ່ການຈະເລີນເຕີບໂຕຂອງຢີສ໌, ແຕ່ວັດຖຸດິບບາງຊະນິດອາດຈະຕ້ອງຕື່ມທາດອາຫານບາງຢ່າງລົງໄປ ເຊັ່ນ: ໄນໂຕເຈນ. ໂດຍທົ່ວໄປຢີສ໌ໃຊ້ແອມໂມເນຍໄອອອນໄດ້ແຕ່ບາງຊະນິດຕ້ອງການອາມິໂນອາຊິດທີ່ຈໍາເປັນ. ແຫຼ່ງໄນໂຕເຈນທີ່ໃຊ້ໃນອຸດສາຫະກຳສ່ວນໃຫຍ່ ຄື: ແອມໂມເນຍຊັລເຟດ ສ່ວນຟອສຟໍຣັສ ແມ່ນໃສ່ໃນຮູບແບບຂອງໄອອອນເພາະວ່າມີຄວາມສໍາຄັນຕໍ່ການໝັກ. ສໍາລັບຊັລເຟິນໃນຈຸລັງຂອງຢີສ໌ຈະມີຢູ່ປະມານ 0.4% ຂອງນໍ້າໜັກແຫ້ງໂດຍເມໂທໂອນິນເປັນແຫຼ່ງຊັລເຟິທີ່ຢີສ໌ຕ້ອງການ ແຕ່ເມໂທໂອນິນມີລາຄາແພງບໍ່ເໝາະທີ່ຈະນໍາໃຊ້ໃນອຸດສາຫະກຳ. ສ່ວນຊັລເຟດທີ່ຢູ່ໃນຮູບແບບຂອງທາດອົງຄະທາດ ສາມາດນໍາໄປໃຊ້ໄດ້ຄືກັນ ເຊິ່ງຈະຖືກນໍາໄປລິດິວສ໌ເປັນເມໂທໂອນິນພາຍໃນຈຸລັງ. ໂດຍປົກກະຕິໃນອຸດສາຫະກຳຈະໃຊ້ແອມໂມເນຍຊັນ ເຟດ, ຄວາມຕ້ອງການທາດອາຫານຂອງຢີສ໌ອີງໃສ່ສະພາບແວດລ້ອມ ເຊັ່ນ: ໃນສະພາບແວດລ້ອມທີ່ບໍ່ມີອັອກຊີເຈນ ທີ່ຈໍາເປັນຕ້ອງໃສ່ເອີຣ໌ກໍສເຕີຣອລ ແລະ ອາຊິດໄຂມັນບໍ່ອີ່ມຕົວ (Kosaric *et al.*, 1983; Reed, 1983).

ຂ. ສະພາບແວດລ້ອມ

ຄ່າຄວາມເປັນກົດ-ດັ່ງ: ເປັນປັດໄຈທີ່ມີຄວາມສໍາຄັນຢ່າງໜຶ່ງໃນການໝັກເຫຼົ້າເອຕາໂນລ ໂດຍສະເພາະໃນລະດັບອຸດສາຫະກຳ ເພາະວ່າມັນມີຜົນຕໍ່ອັດຕາການໝັກ, ການສ້າງຜົນຜະລິດຈົນຮອດການຄວບຄຸມການປົນເປື້ອນຂອງເຊື້ອຈຸລະຊີບ ເຊິ່ງມີຜົນຕໍ່ການຈະເລີນເຕີບໂຕຂອງເຊື້ອຢີສ໌ທີ່ກໍາລັງໝັກ. ສໍາລັບຄ່າ pH ທີ່ເໝາະສົມແມ່ນ 5.5 ແຕ່ຖ້າອາຫານນັ້ນມີຄວາມສາມາດໃນການເປັນບັຟເຟີສູງ

pH ທີ່ໃຊ້ຄວນຢູ່ໃນຊ່ວງ 4.5-4.7 ໃນການໝັກເອຕາໂນລເມື່ອໃຊ້ການນໍ້າຕານເປັນວັດຖຸດິບຈະນໍາໃຊ້ຄ່າ pH ຢູ່ໃນຊ່ວງ 4-5, ແຕ່ເມື່ອໃຊ້ພວກພືດ ຫຼື ສິ່ງເສດເຫຼືອ ຄ່າ pH ຄວນຢູ່ລະຫວ່າງ 4.8-5 ຈຶ່ງເໝາະສົມ.

ອັອກຊີເຈນ: ມີບົດບາດໃນຂະບວນການໝັກເຫຼົ້າເອຕາໂນລ ເຊິ່ງໜ້າທີ່ຫຼັກຂອງອັອກຊີເຈນ ແມ່ນເປັນຕົວຮັບອີເລັກຕຣົງຂັ້ນສຸດທ້າຍໃນວົງຈອນຂອງການຫາຍໃຈ. ນອກຈາກນີ້ອັອກຊີເຈນຍັງເຮັດໜ້າທີ່ເປັນປັດໄຈໃນການຈະເລີນເຕີບໂຕຂອງຢີສ (Growth Factor) ໂດຍກ່ຽວຂ້ອງກັບຂະບວນການສັງເຄາະອາຊິດໄຂມັນບໍ່ອີ່ມຕົວ ເຊັ່ນ: ອາຊິດໂອລີອິກ ແລະ ອາຊິດລີໂນລີອິກ ແລະ ເອີຣ໌ກອສເຕີຣ໌ລ.

ຄາບອນໄດອັອກໄຊດ໌: ມີຜົນໃນການຍັບຢັ້ງການຈະເລີນເຕີບໂຕຂອງຢີສທັງໃນສະພາບແວດລ້ອມທີ່ມີອັອກຊີເຈນ ແລະ ບໍ່ມີອັອກຊີເຈນ. ໃນຂະບວນການໝັກ ຖ້າຫາກຄວາມດັນພາຍໃນສູງກວ່າຄວາມດັນພາຍນອກ ຄາບອນໄດອັອກໄຊດ໌ຈະຍັບຢັ້ງການຈະເລີນເຕີບໂຕຂອງຢີສ ແລະ ເກີດພາວະການໝັກຮຸນແຮງຂຶ້ນ.

2.1.5 ຢີສສໍາລັບການຜະລິດເຫຼົ້າເອຕາໂນລ ແລະ ການຄັດເລືອກ

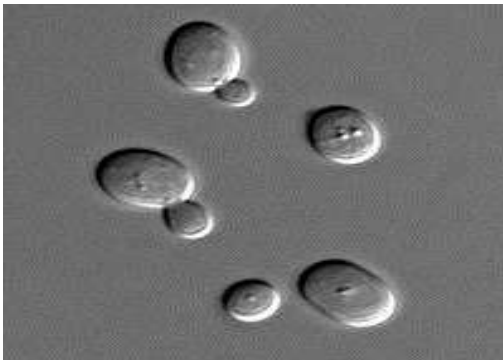
ສໍາລັບການຄັດເລືອກເຊື້ອຈຸລະຊີບ ທີ່ມີປະສິດທິພາບດີທີ່ໃຊ້ເຂົ້າໃນການຜະລິດເຫຼົ້າເອຕາໂນລລະດັບອຸດສາຫະກຳ ຈະຕ້ອງເປັນເຊື້ອທີ່ຜ່ານການຄັດແຍກມາເປັນເຊື້ອບໍລິສຸດແລ້ວ ຫຼື ເຊື້ອປະສົມ (Mixed Culture). ເຊື້ອທີ່ຈະນໍາເຂົ້າໃຊ້ໃນລະດັບອຸດສາຫະກຳຂະບວນການຜະລິດເຫຼົ້າເອຕາໂນລຈະຕ້ອງເປັນເຊື້ອທີ່ມີຄວາມເໝາະສົມທາງເສດຖະກິດ. ດັ່ງນັ້ນ, ໃນການຄັດແຍກເຊື້ອເພື່ອຈະນໍາໄປໃຊ້ໃນອຸດສາຫະກຳ ຈະຕ້ອງໄດ້ມີການພິຈາລະນາຈາກຫຼາຍໆດ້ານ ເຊັ່ນ: ຄວາມສາມາດໃນການຜະລິດຂອງເຊື້ອຈຸລະຊີບ ແລະ ຂະບວນການທີ່ຈະໃຊ້ເຂົ້າໃນການຜະລິດ ເຊິ່ງເຊື້ອຈຸລະຊີບທີ່ນິຍົມໃຊ້ໃນການຜະລິດເຫຼົ້າເອຕາໂນລລະດັບອຸດສາຫະກຳມີຫຼາຍຊະນິດ ເຊັ່ນ: *Saccharomyces cerevisiae*, *S. uvarum* (*carlsbergensis*), *Schizosaccharomyces pombe* ແລະ *Kluyveromyces fragilis*. ສໍາລັບເຊື້ອ *S. cerevisiae* ເປັນຢີສທີ່ທົນຕໍ່ສະພາບແວດລ້ອມຕ່າງໆທີ່ໄດ້ກ່າວວ່າ *S. uvarum* ແລະ ຢີສຊະນິດອື່ນໆ. ດັ່ງນັ້ນ, ໃນປັດຈຸບັນການຜະລິດເຫຼົ້າເອຕາໂນລສ່ວນໃຫຍ່ຈຶ່ງໃຊ້ຢີສ *S. cerevisiae*. ນອກຈາກນັ້ນ ໃນປັດຈຸບັນ ຍັງມີການພັດທະນາການຜະລິດເຫຼົ້າເອຕາໂນລໂດຍນໍາໃຊ້ແບັກທີເຣຍ ສະກຸນ *Zymomonas* ຄື: *Z. mobilis* ແລະ ສະກຸນ *Clostridium* ຄື: *Cl. Thermocellum* ເຊິ່ງເປັນແບັກທີເຣຍທີ່ບໍ່ຕ້ອງການອອກຊີເຈນ ແລະ ກໍສາມາດໝັກແຊລລູໂລສໄດ້ ແລະ ຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ດີໃນອຸນຫະພູມທີ່ສູງກວ່າ 50°C. ເຖິງຢ່າງໃດກໍຕາມແບັກທີເຣຍທັງສອງສະກຸນດັ່ງກ່າວມີຄວາມທົນຕໍ່ເອຕາໂນລຕໍ່ກວ່າຢີສ.

ລັກສະນະຂອງເຊື້ອຍີສທີ່ດີສໍາລັບການໝັກເຫຼົ້າເອຕາໂນລມີຫຼາຍລັກສະນະ (Kosaric *et al.*, 1983; Stewart *et al.*, 1983; Panchal and Tavares, 1990; Walker, 1998) ດັ່ງນີ້:

- 1) ໃຫ້ຜົນຜະລິດເອຕາໂນລ (ethanol yield) ທີ່ສູງ
- 2) ມີອັດຕາການໝັກເອຕາໂນລ (rate of ethanol fermentation) ທີ່ສູງ
- 3) ມີຄວາມທົນຕໍ່ເອຕາໂນລ (ethanol tolerance)
- 4) ມີຄວາມທົນຕໍ່ອຸນຫະພູມສູງ (thermotolerance)
- 5) ມີຄວາມທົນຕໍ່ແຮງດັນອອສໂມຊີສ (osmotolerance)
- 6) ມີຄວາມສາມາດໃນການຈັບກຸ່ມຕົກຕະກອນ (flocculation) ເຊິ່ງຂຶ້ນຢູ່ກັບຂະບວນການວ່າຕ້ອງການລັກສະນະຈັບກຸ່ມຕົກຕະກອນນີ້ ຫຼື ບໍ່
- 7) ທົນ pH ຕໍ່າ ຫຼື ທົນອາຊິດ (acid tolerance)
- 8) ບໍ່ມີການປ່ຽນແປງງ່າຍທາງດ້ານພັນທຸກຳ
- 9) ທົນທານຕໍ່ສະພາວະຕ່າງໆຂອງການໝັກ
- 10) ໃຊ້ກັບທາດຕັ້ງຕົ້ນໄດ້ຫຼາຍຊະນິດ
- 11) ສ້າງເມແທບໍ່ໄລຕ່ອື່ນໃນລະດັບຕໍ່າ ເຊັ່ນ: ອາຊິດ, ກູເຊຣອລ
- 12) ມີປະລິມານເຫຼົ້າສູງ (higher alcohol)
- 13) ເອສເທີ ແລະ ແອລດີໄຮດ
- 14) ບໍ່ມີການກົດດັນ (repression) ການໃຊ້ນໍ້າຕານອື່ນເມື່ອຢູ່ໃນຂະບວນການໝັກທີ່ມີ Glucose
- 15) ມີກິດຈະກຳຂອງເອນໄຊມ່ຍ່ອຍແບ້ງ ຫຼື ຍ່ອຍແຊລລູໂລສ ເມື່ອຕ້ອງການໝັກ ໂດຍການໃຊ້ແບ້ງ ຫຼື ໃຊ້ແຊລລູໂລສເປັນທາດຕັ້ງຕົ້ນ (Substrate)
- 16) ມີອັດຕາການຈະເລີນເຕີບໂຕສູງແຕ່ໃຫ້ຜົນຜະລິດຈຸລັງຕໍ່າ ເພື່ອໃຫ້ມີການຈະເລີນເຕີບໂຕເພີ່ມຈຳນວນເຊື້ອຢ່າງວ່ອງໄວສໍາລັບການຜະລິດເຫຼົ້າເອຕາໂນລ
- 17) ເປັນຈຸລັງທີ່ມີອາຍຸຢູ່ໄດ້ຍາວນານ
- 18) ທົນຕໍ່ສານພິດ ແລະ ສານຍັບຍັ້ງການຈະເລີນເຕີບໂຕ
- 19) ທົນຕໍ່ການປົນເປື້ອນຂອງແບັກທີເຣຍ
- 20) ມີລັກສະນະເປັນຄິລເລີ (killer) ຄື: ມີປະສິດທິພາບໃນການຂ້າ, ມີການເພີ່ມຈຳນວນງ່າຍ ແລະ ໃຫ້ຄວາມຮ້ອນລະຫວ່າງການໝັກໜ້ອຍ (ສາວິຕຣີ ລິ້ມທອງ, 2549).

2.1.6 ລັກສະນະທົ່ວໄປຂອງຢີສທີ່ພັກເຫຼົ້າເອຕາໂນລ

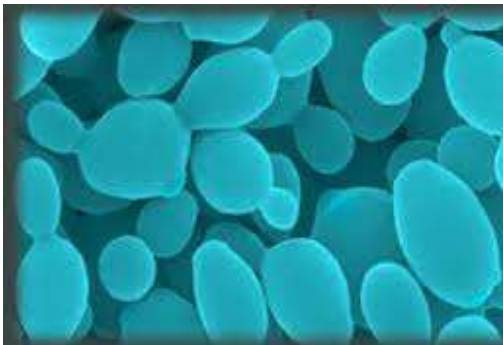
ຢີສຈັດຢູ່ໃນອານາຈັກ Fungi ທີ່ສາມາດດຳລົງຊີວິດແບບຈຸລັງດຽວ, ມີຮູບຮ່າງຫຼາຍແບບ ເຊັ່ນ: ຮູບກົມ, ຮູບໄຂ່, ຮູບໄຂ່ຍາວ, ຮູບວົງຮີ, ຮູບສາມຫຼ່ຽມ, ແລະ ຮູບອື່ນໆ. ຢີສມີຂະໜາດປະມານ 5-10 μm , ຢີສບາງຊະນິດມີການສ້າງເສັ້ນໄຍທຽມ (Pseudomycelium), ບາງຊະນິດສ້າງເສັ້ນໄຍແທ້ (True mycelium), ສ່ວນຫຼາຍຢີສມີການສືບພັນແບບບໍ່ອາໄສເພດ ໂດຍວິທີການແຕກໜ່ໍ່ (Budding) ຫຼື ການແບ່ງເຄິ່ງ (Fission). ເມື່ອສຶກສາການສືບພັນແບບອາໄສເພດ ສາມາດຈັດຈຳແນກເຊື້ອຢີສອອກ ເປັນ 2 ກຸ່ມໃຫຍ່ຄື: ແອສໂຄໄມຊິຕັສຢີສ ເຊິ່ງມີການສືບພັນແບບອາໄສເພດໂດຍການສ້າງ Ascospore ແລະ ແບບແປສີຕີໂອໄມຊິຕັສຢີສ ເຊິ່ງມີການສືບພັນແບບອາໄສເພດໂດຍການສ້າງ Basidiospore (Kurtzman and Fell, 1998). ລັກສະນະຂອງຢີສສະແດງດັ່ງຮູບທີ 2.3.



ກ. *Saccharomyces cerevisiae*



ຂ. *Pichia stipitis*



ຄ. *Pichia hansenula*



ງ. *Candida yeast*

ຮູບທີ 2.3 ລັກສະນະທາງສັນຖານວິທະຍາຂອງເຊື້ອຢີສ

ແຫຼ່ງທີ່ມາ: ກ. https://S_cerevisiae_microscopy.jpg

ຄ. <https://pichia.com>

ຂ. <https://genome.jgi.doe.gov/pichia>

ງ. <https://Candida.com>

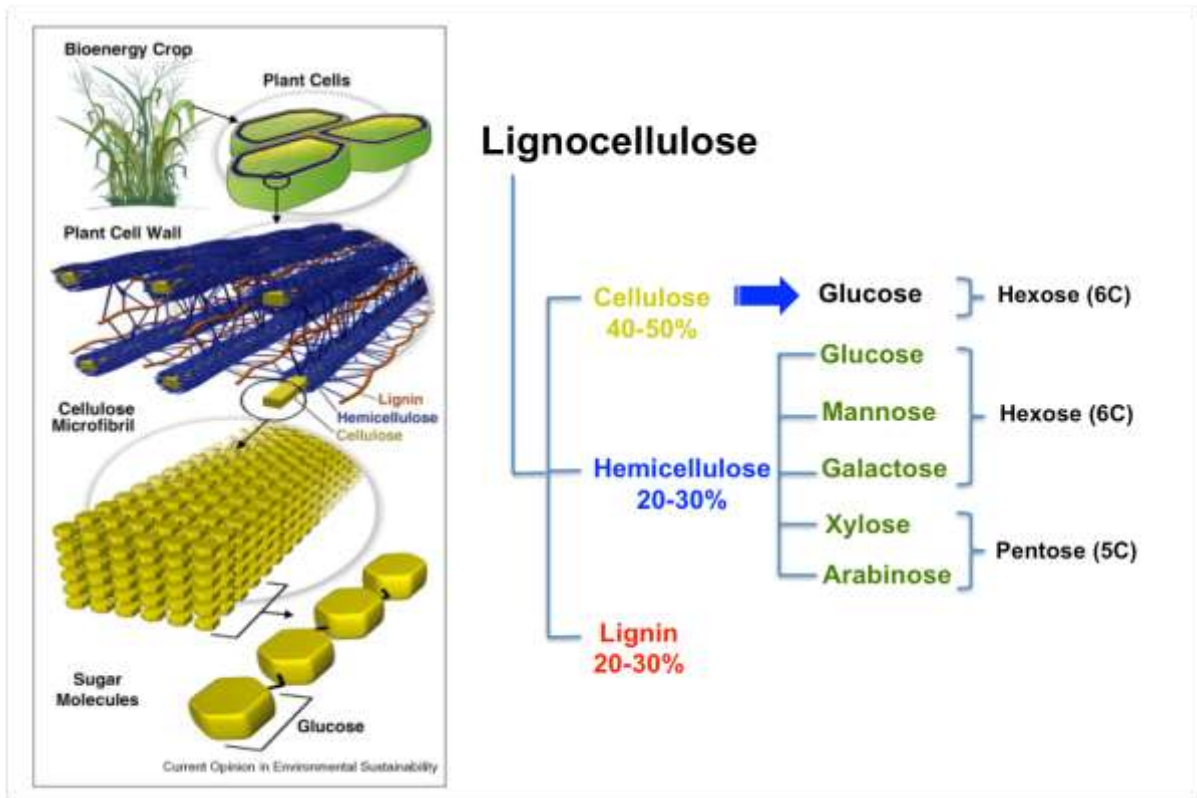
ຢີສສ່ວນຫຼາຍແມ່ນໃຊ້ທາດອົງຄະທາດເປັນແຫຼ່ງພະລັງງານ ແລະ ເປັນແຫຼ່ງຄາບອນໃນ ການແລກປ່ຽນທາດ (Metabolism) ເພື່ອສ້າງການແລກປ່ຽນທາດຂັ້ນໜຶ່ງ (Primary metabolites) ທີ່ ຈຳເປັນຕໍ່ຮ່າງກາຍ ແລະ ການແລກປ່ຽນທາດຂັ້ນສອງ (Secondary metabolites) ທີ່ບໍ່ຈຳເປັນຕໍ່ການ

ຈະເລີນເຕີບໂຕ, ບໍ່ສາມາດສັງເກດແສງ ແລະ ບໍ່ສາມາດດຶງໄນໂຕຣເຈນ. ຍີສ໌ພົບໄດ້ທົ່ວໄປໃນທຳມະ ຊາດ ເຊັ່ນ: ດິນ, ນ້ຳ, ພືດ, ສັດ, ເຫັດ ແລະ ໃນສິ່ງທີ່ມະນຸດສ້າງຂຶ້ນ ເຊັ່ນ: ເຄື່ອງດື່ມທີ່ມີເຫຼົ້າ, ອາຫານ ພັກ ແລະ ອາຫານທີ່ມີຄວາມເຂັ້ມຂຸ້ນຂອງນ້ຳຕານ ຫຼື ເກືອສູງ (ສາວິຕຣີ, 2549). ໂດຍຍີສ໌ແຕ່ລະ ຊະນິດ ຫຼື ແຕ່ລະກຸ່ມມີແຫຼ່ງທີ່ຢູ່ອາໄສທີ່ແນ່ນອນ (Habitat) ເຊິ່ງຂຶ້ນຢູ່ກັບລັກສະນະສະລິລະວິທະຍາ ຂອງຍີສ໌ໄດ້ແກ່: ຄວາມສາມາດໃນການໃຊ້ສານປະກອບບາງຊະນິດ ແລະ ຄວາມສາມາດໃນການ ຈະເລີນເຕີບໂຕໃນສະພາບແວດລ້ອມນັ້ນໆ (Lachance and Starmer, 1998). ໃນການສ້າງຜະລິດຕະ ພັນທາງຊີວະພາບເພື່ອການບໍລິໂພກແມ່ນນິຍົມໃຊ້ຍີສ໌ ເນື່ອງຈາກວ່າຜະລິດຕະພັນທີ່ຜະລິດຈາກຍີສ໌ ຫຼາຍສາຍພັນໄດ້ຮັບການຮັບຮອງຈາກອົງການອາຫານ ແລະ ຢາ ຂອງປະເທດສະຫະລັດອາເມຣິກາ ວ່າເປັນ: “GRAS” (Generally Recognized As Safe) ເຊັ່ນ: *Saccharomyces cerevisiae* ໃຊ້ເປັນຍີສ໌ ທີ່ໃຊ້ຜະລິດເຂົ້າໜົມປັງ ແລະ ເຄື່ອງດື່ມທີ່ມີທາດເຫຼົ້າ, *Candida utilis* ໃຊ້ໃນການຜະລິດຍີສ໌ອາຫານ ຄົນ ແລະ ຜະລິດຍີສ໌ອາຫານສັດ, *Candida guilliermondii* ແລະ *Candida lipolytica* ໃຊ້ຜະລິດອາ ຊິດແລັກຕິກ, *Kluyveromyces lactis* ແລະ *Candida pseudotropicalis* ໃຊ້ໃນການຜະລິດເອັນໄຊມ Lactase ເພື່ອຍ່ອຍສະຫຼາຍນ້ຳຕານ Lactose ໃນນົມໃຫ້ກາຍເປັນ Glucose ແລະ Galactose ຕາມລຳດັບ (U.S Food and Drug Administration, 2001). ນອກຈາກນີ້ກໍຍັງມີຜະລິດຕະພັນອີກຫຼາຍຊະນິດທີ່ ຜະລິດໂດຍໃຊ້ຍີສ໌ ແລະ ສາມາດນຳໄປຜະລິດໃນລະດັບອຸດສະຫາກຳຕໍ່ໄປໄດ້ອີກ ເຊັ່ນ: ສານທີ່ໃຫ້ ຄວາມຫວານເປັນຕົ້ນແມ່ນອະຣາບິທອລ (Arabitol), ອີຣິທຣິທອລ (Erythritol) ແລະ ໄຊລິທອລ (Xylitol). ນອກຈາກນີ້ກໍຍັງມີສານໃຫ້ສີ ເຊັ່ນວ່າ: ແອສຕ້າແຊນທິນ ແລະ ແອລຟາຄາໂຣທິນອຍ໌, ໂພ ລີແຊັກຄາໂຣດ໌, ພວກຟອສໂຟແມນແນນ ແລະ ພູລູແລນ, ອາຊິດອາມິໂນແອລ-ພິນິລອະລານິນ ແລະ ສານໃຫ້ກິ່ນ (ສາວິຕຣີ, 2549; Demain et al., 1998).

ປັດຈຸບັນໄດ້ມີການວິໄຈ ເພື່ອນຳຍີສ໌ໄປໃຊ້ປະໂຫຍດໃນດ້ານຕ່າງໆ ໂດຍເລີ່ມຕົ້ນການສຶກ ສາຈາກພື້ນຖານກ່ຽວກັບການຄົ້ນຫາສາຍພັນຂອງຍີສ໌ ເຊິ່ງປັດຈຸບັນພົບຍີສ໌ຫຼາຍກວ່າ 2500 ສາຍພັນ (150 ຊະນິດ 50 ສະກຸນ). ໃນຈຳນວນນີ້ຄາດວ່າຈະເປັນຍີສ໌ທີ່ມີການຄົ້ນພົບໃໝ່ເປັນຄັ້ງທຳອິດຂອງໂລກ ຫຼາຍກວ່າ 100 ຊະນິດ ເຊິ່ງການຄົ້ນຫາຍີສ໌ຊະນິດໃໝ່ນີ້ຈະນຳໄປສູ່ການຄົ້ນຫາຄວາມສາມາດຂອງ ຍີສ໌ໃນຮູບແບບຕ່າງໆ ເພື່ອນຳມາໃຊ້ປະໂຫຍດນອກຈາກທີ່ນຳໄປເປັນອາຫານ, ເຄື່ອງດື່ມ ເຊັ່ນ: ຍີສ໌ທີ່ ສາມາດຜະລິດເຫຼົ້າຈາກແຊລລູໂລສ, ຍີສ໌ທີ່ມີຄວາມສາມາດໃນການຜະລິດໂອເມກ້າ 3 ເຊິ່ງເປັນອາຊິດ ໄຂມັນບໍ່ອີ່ມຕົວ, ຊ່ວຍບຳລຸງສຸຂະພາບ ແລະ ຫຼຸດຄວາມດັນເລືອດ, ຍີສ໌ໃນຂະບວນການຜະລິດທີ່ເປັນ ສານຕ້ານອະນຸມູນອິດສະຫຼະ, ການເສີມສ້າງສຸຂະພາບ ແລະ ຄວາມງາມເປັນຕົ້ນ. ຄວາມກ້າວໜ້າທາງ ດ້ານເທັກໂນໂລຢີສະໄໝໃໝ່ ເຮັດໃຫ້ຍີສ໌ສິ່ງທີ່ມີຊີວິດຂະໜາດນ້ອຍຖືກນຳມາໃຊ້ຢ່າງຕໍ່ເນື່ອງ.

2.1.7 Xylose ແລະ ການນຳໃຊ້ປະໂຫຍດ

Xylose ($C_5H_{10}O_5$) ເປັນນ້ຳຕານອັລໂດເຟັນໂຕສ (Aldose-Pentose), ມີນ້ຳໜັກໂມເລກູນ 150.13, ມີລິດຫວານ, ມີຈຸດຫຼອມແຫຼວ $144-145^\circ C$, ເປັນນ້ຳຕານທີ່ມີປະໂຫຍດຫຼາຍເປັນອັນດັບ 2 ຮອງຈາກນ້ຳຕານ Glucose. Xylose ພົບໄດ້ທົ່ວໄປໃນພືດ ເຊິ່ງລວມທັງໄມ້ເນື້ອອ່ອນ ແລະ ໄມ້ເນື້ອແຂງ. ນອກຈາກນັ້ນ ກໍຍັງພົບຫຼາຍທີ່ສຸດໃນວັດສະດຸທີ່ເສດເຫຼືອຈາກການກະເສດ ເຊັ່ນ: ເພືອງ, ກາກອ້ອຍ ແລະ ແກນສາລີ ເຊິ່ງເປັນວັດສະດຸປະເພດ lignocelluloses ໂດຍ Xylose ຈະຢູ່ໃນຮູບແບບຂອງໂພລີເມີໄຊແລນຮ່ວມກັບໂພລີເມີອື່ນໆ ເຊັ່ນ: ກລູແຄນ, ແມນແນນ, ອະຣາບິແນນ ແລະ ກາແລກແຕນ. ໃນສ່ວນຂອງ hemicelluloses ເຊິ່ງເປັນອົງປະກອບຊັ້ນໃນຂອງ middle lamella ຂອງພືດ, ໄມ້ເນື້ອແຂງຈະມີ hemicelluloses ເປັນອົງປະກອບປະມານ 26% ແລະ ປະມານ 22% ຈະຢູ່ໃນໄມ້ເນື້ອອ່ອນ, ສ່ວນວັດສະດຸທີ່ເສດເຫຼືອຈາກການກະເສດແມ່ນຈະມີ hemicelluloses ປະມານ 30% ໂດຍໄຊແລນຈະມີຫຼາຍໃນໄມ້ເນື້ອແຂງ (Mishra and Singh, 1993). ໄຊແລນປະກອບດ້ວຍ D-Xylose ປະມານ 85-90% ແລະ ສານອື່ນໆອີກເລັກໜ້ອຍ ເຊັ່ນ: ອະຣາບິໂນສ໌ ແລະ ອາຊິດກລູໂຄນິກ (Lachke, 2002). ແຫຼ່ງທີ່ມາຂອງ Xylose ສະແດງໃນຮູບທີ 2.4.



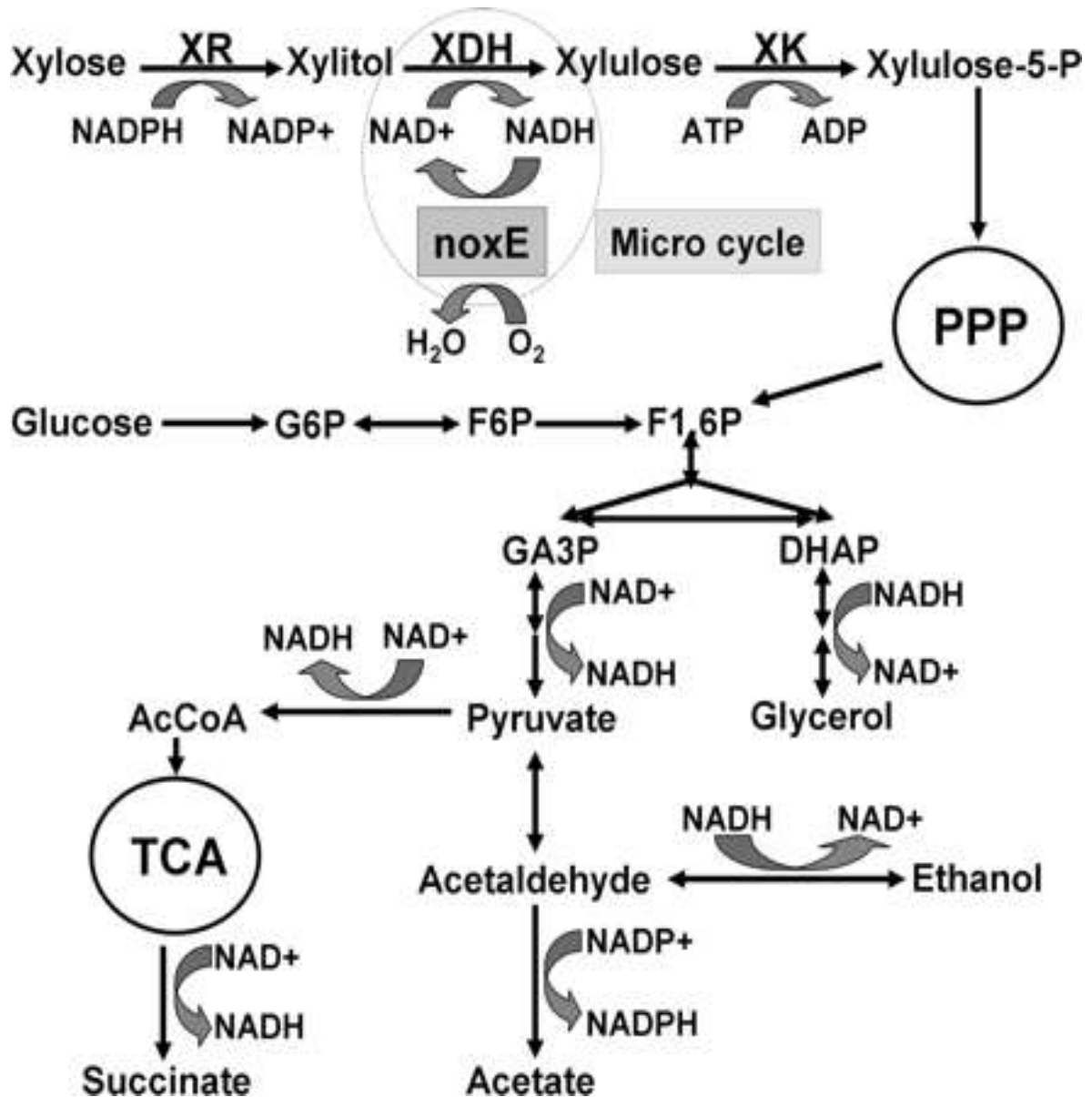
ຮູບທີ 2.4 ແຫຼ່ງທີ່ມາຂອງ Xylose

(ແຫຼ່ງທີ່ມາ: www.C&EN – American Chemical Society)

ປັດຈຸບັນນີ້ໄດ້ມີການເອົາວັດສະດຸປະເພດ lignocelluloses ມານຳໃຊ້ໃຫ້ເປັນປະໂຫຍດ ເຊັ່ນ: ໃຊ້ເຂົ້າໃນການປູກເທັດ, ໃຊ້ເປັນອາຫານສັດ, ໃຊ້ໃນອຸດສະຫາກຳການຜະລິດເຈ້ຍ ແລະ ໃຊ້ເປັນ ທາດຕັ້ງຕົ້ນຂອງຈຸລະຊີບ ໄດ້ແກ່: ແບັກທີເຣຍ, ຣາ ແລະ ຍີສ໌. ໂດຍການຍ່ອຍດ້ວຍອາຊິດ ຫຼື ເອັນ ໄຊມໃຫ້ເປັນນໍ້າຕານ Glucose ແລະ ນໍ້າຕານ Xylose. ສຳລັບຜະລິດຕະພັນທີ່ມີມູນຄ່າທາງດ້ານ ເສດຖະກິດ ເຊັ່ນ: Xylitol (Carvalho *et al.*, 2002), ເອຕາໂນລ (Hahn-Hagerdal *et al.*, 2006) ແລະ Acetic acid (Doran-Peterson *et al.*, 2008) ເນື່ອງຈາກມີປະລິມານຫຼາຍ ແລະ ມີລາຄາທີ່ຖືກ.

2.1.8 ການແລກປ່ຽນທາດຂອງ Xylose ໂດຍຍີສ໌

ຍີສ໌ສ່ວນຫຼາຍສາມາດນຳເອົາ Xylose ເຂົ້າສູ່ຈຸລັງໂດຍອາໄສເອັນໄຊມ Xylose reductase ປ່ຽນ Xylose ໃຫ້ເປັນ Xylitol ເຊິ່ງມີ NADPH ເປັນຕົວໃຫ້ອີເລັກຕຣອນ ແລະ ຍັງເຮັດໃຫ້ ເກີດປະຕິກິລິຍາ Oxidation ແລ້ວປ່ຽນ Xylitol ເປັນ Xylose ໂດຍເອັນໄຊມ Xylitol dehydrogenase ໂດຍມີ NAD ເປັນຕົວຮັບອີເລັກຕຣອນ ເຊິ່ງແຕກຕ່າງຈາກແບັກທີເຣຍທີ່ສາມາດປ່ຽນແປງຮູບແບບ Xylose ໃຫ້ເປັນ Xylulose ໃນຂັ້ນຕອນດຽວໂດຍເອັນໄຊມ Xylose isomerase. ຫຼັງຈາກນັ້ນມີການຕື່ມຈຸ Phosphate ໃຫ້ Xylulose ໂດຍເອັນໄຊມ Xylulose kinase ໄດ້ເປັນ Xylose-5-P ເຊິ່ງເຂົ້າສູ່ວົງຈອນ Pentose Phosphate ໄດ້ເປັນ Glyceraldehyde-3-Phosphate ເຊິ່ງເປັນທາດຕົວກາງ (Intermediate) ທີ່ ສາມາດເຂົ້າໄປຕາມສາຍ Embden Meyerhof pathway ໄດ້ Pyruvate ເປັນຜະລິດຕະພັນສຸດທ້າຍ. ຈາກນັ້ນ Pyruvate ຈຶ່ງປ່ຽນຮູບເປັນ Acetyl CoA ແລະ ເຂົ້າສູ່ວົງຈອນ TCA (Tricarboxylic Acid) ສຳລັບການຈະເລີນເຕີບໂຕຕໍ່ໄປ ຫຼື ເກີດການໝັກເປັນເອຕາໂນລ. ໂດຍອາໄສເອັນໄຊມ Pyruvate decarboxylase ແລະ Alcohol dehydrogenase ປ່ຽນຮູບເປັນ Acetyldehyde ແລະ Ethyl alcohol ຕາມລຳດັບ (Mishra and Singh, 1993). ການປ່ຽນ Xylose ເປັນເອຕາໂນລໂດຍຍີສ໌ສະແດງໃນຮູບທີ 2.5.



ຮູບທີ 2.5 ການນຳໃຊ້ໄຊໂລສໂດຍຢີສ

(ແຫຼ່ງທີ່ມາ: www.Sciencedirect.com)

ໂດຍປົກກະຕິແລ້ວ *Saccharomyces cerevisiae* ເປັນຢີສທີ່ນິຍົມໃຊ້ໃນອຸດສາຫະກຳການ ຜະລິດເອຕາໂນລ ເນື່ອງຈາກສາມາດຜະລິດ ແລະ ທົນຕໍ່ເອຕາໂນລໃນຄວາມເຂັ້ມຊັ້ນສູງ ແຕ່ບໍ່ສາມາດ ໃຊ້ Xylose ໄດ້. ໃນການຈະເລີນເຕີບໂຕ ແລະ ຜະລິດເອຕາໂນລເນື່ອງຈາກຂາດ Xylose reductase ແລະ Xylitol dehydrogenase ເຊິ່ງເອ້ນໄຊມ໌ສຳຄັນໃນການໃຊ້ Xylose ຂອງຢີສ. ຕໍ່ມາຈຶ່ງມີງານ ວິໄຈຈຳນວນຫຼວງຫຼາຍ ທີ່ໄດ້ສຶກສາກ່ຽວກັບການດັດແປງກຳມະພັນຂອງຢີສ *S. cerevisiae* ໂດຍເພີ່ມ gene ທີ່ກ່ຽວຂ້ອງກັບການສະແດງອອກຂອງເອ້ນໄຊມ໌ດັ່ງກ່າວ ຄື: XYL1 ແລະ XYL2 ຕາມລຳດັບ ຈາກຢີສທີ່ສາມາດເຕີບໂຕ ແລະ ໝັກເອຕາໂນລຈາກ Xylose ເຊັ່ນ: *Scheffersomyces (Pichia) stipites*

CBS 5773 ເຂົ້າໄປເພື່ອໃຫ້ *S. cerevisiae* ສາມາດໃຊ້ Xylose ແລະ Glucose ເປັນແຫຼ່ງຄາບອນ. ສໍາລັບການຜະລິດເອຕາໂນລ ແລະ ມີການພັດທະນາກໍາມະພັນຂອງຢີສ ເພື່ອໃຫ້ສາມາດຜະລິດເອຕາໂນລ ຈາກນໍ້າຕານ Xylose ໃຫ້ມີຄວາມເຂັ້ມຊັນສູງຂຶ້ນ (Aristos *et al.*, 2000; Matsushika *et al.*, 2008).

2.2 ທົບທວນບົດຄົ້ນຄວ້າວິທະຍາສາດທີ່ກ່ຽວຂ້ອງ

ຈຸລະຊີບທີ່ສາມາດໃຊ້ Xylose ເປັນແຫຼ່ງຄາບອນພົບທັງໃນແບັກທີເຣຍ, ຮາ ແລະ ຢີສ. ໃນປີ 2000 Barnett *et al.*, ໄດ້ຮວບຮວມ ແລະ ອະທິບາຍລັກສະນະຂອງຢີສທັງໝົດ 678 ຊະນິດ ໃນປຶ້ມ *Yeasts: Characteristics and Identification* ພົບວ່າມີຢີສທີ່ສາມາດຈະເລີນເຕີບໂຕໂດຍໃຊ້ Xylose ເປັນແຫຼ່ງຄາບອນໄດ້ຢ່າງດີ ຄື: ໃຫ້ຜົນການນໍາເອົາ Xylose ເຂົ້າສູ່ຈຸລັງເປັນບວກ (Positive) ຈໍານວນ 350 ຊະນິດ. ໃນນັ້ນມີ 28 ຊະນິດ ທີ່ສາມາດຈະເລີນເຕີບໂຕຫຼັງຈາກ 7 ວັນ, ໃນ 154 ຊະນິດທີ່ມີບາງສາຍພັນມີການໃຊ້ Xylose ເປັນບວກ ແລະ ມີບາງສາຍພັນເປັນລົບ ແຕ່ຄວາມສາມາດໃນການໝັກນໍ້າຕານ Xylose ທີ່ກວດສອບໂດຍໃຊ້ Durham fermentation tube ແລະ ກວດສອບການສ້າງແກັສຕາມວິທີຂອງ Yarrow (1998) ມີພຽງ *Pichia segobiensis* ທີ່ໃຫ້ຜົນການໝັກ Xylose ເປັນບວກ, ສ່ວນ *Brettanomyces naardenensis*, *Candida tenuis* ແລະ *Pachysolen tannophilus* ສາມາດໝັກນໍ້າຕານ Xylose ໄດ້ຫຼັງຈາກ 7 ວັນ, ໃນຂະນະທີ່ *Candida intermedia*, *Candida lyxosophila*, *Candida shehatae* ແລະ *Scheffersomyces (Pichia) stipitis* ເຊິ່ງມີບາງສາຍພັນສາມາດໝັກ Xylose ໄດ້ ແຕ່ບາງສາຍພັນໝັກ Xylose ບໍ່ໄດ້. ນອກຈາກນີ້ຍັງມີລາຍງານວ່າ ເມທິລໂລໂທຣຟິກຢີສ *Hansenula polymorpha* (Ryaboya *et al.*, 2003) ແລະ *Enteroamus dimorphus* ເຊິ່ງເປັນຢີສທີ່ມີລັກສະນະຄ້າຍຮາ (Yeast-like fungus) ທີ່ແຍກໄດ້ຈາກລໍາໄສ້ຂອງດັວງ (*Odontotaensis disjunctus*) ແລະ ມີຄວາມໃກ້ຄຽງກັບ *Scheffersomyces (Pichia) stipitis* ສາມາດໝັກເອຕາໂນລຈາກນໍ້າຕານ Xylose ໄດ້ (Suh *et al.*, 2004). ຕໍ່ມາໃນປີ 2001 Ryohei UENO *et al.*, ໄດ້ສຶກສາການໝັກເຫຼົ້າເອຕາໂນລຂອງຢີສທີ່ທົນຄວາມຮ້ອນທີ່ຄັດແຍກມາຈາກທໍລະບາຍນໍ້າຮ້ອນໄດ້ທັງໝົດ 8 ສາຍພັນ. ຈາກການສຶກສາພົບວ່າມີພຽງແຕ່ 3 ສາຍພັນ ຄື: RND 13, 14 ແລະ 15 ທີ່ຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ດີໃນອາຫານແຫຼວ ທີ່ອຸນຫະພູມຕັ້ງແຕ່ 42-45°C. ຈາກການໝັກເຫຼົ້າເອຕາໂນລທີ່ອຸນຫະພູມ 40°C ໃນຊ່ວງເວລາ 24 ຊົ່ວໂມງ ພົບວ່າ RND 13 ຜະລິດເອຕາໂນລໄດ້ຫຼາຍກວ່າໝູ່ ເຊິ່ງມີຄ່າເທົ່າກັບ 7,2% ແລະ ໄດ້ຫຼາຍກວ່າຢີສທີ່ໃຊ້ຜະລິດເຄື່ອງດື່ມທີ່ອຸນຫະພູມ 25°C ໃນຊ່ວງເວລາ 120 ຊົ່ວໂມງ. ເມື່ອຈັດຈໍາແນກຜ່ານທາງອະນຸກົມວິຖານແລ້ວພົບວ່າ RND 13, 14 ແລະ 17 ເປັນຢີສຊະນິດ *Laspora delbrueckii Dekkera sp.*, ແລະ *Candida albicans* ຕາມລໍາດັບ. ໃນຊ່ວງປີ 2007 Savitree *et al.*, ໄດ້ສຶກສາການຜະລິດເຊື້ອໄຟເອຕາໂນລ ທີ່ອຸນຫະພູມສູງຈາກນໍ້າອ້ອຍໂດຍນໍາໃຊ້ *Kluyveromyces marxianus*, DMKU 3-1042 ທີ່ແຍກໄດ້ໃໝ່ໂດຍເຕັກນິກການເພີ່ມເຊື້ອໃນອາຫານທີ່ມີນໍ້າອ້ອຍເປັນອາຫານ ແລະ ມີເຫຼົ້າເອຕາໂນລ 4% ທີ່

ອຸນຫະພູມ 35°C, ພົບວ່າຢີສ໌ສາຍພັນນີ້ຜະລິດເຫຼົ້າເອຕາໂນລທີ່ມີຄວາມເຂັ້ມຊັ້ນສູງທີ່ອຸນຫະພູມ 40°C ແລະ 45°C. ການຜະລິດເອຕາໂນລຈາກນໍ້າອ້ອຍໂດຍການສັ່ນທີ່ອຸນຫະພູມ 37°C ໄດ້ເອຕາໂນລ 8,7% ແລະ ອຸນຫະພູມ 40°C ໄດ້ເຫຼົ້າເອຕາໂນລ 6,7% ຕາມລໍາດັບ. ຕໍ່ມາໃນປີ 2008 Araque Edgardo *et al.*, ກໍໄດ້ຄັດເລືອກເອົາສາຍພັນຂອງ *Saccharomyces cereviase* ທີ່ສາມາດໝັກນໍ້າຕານທີ່ໄດ້ຈາກການຍ່ອຍຂອງ lingo-cellulosic ທີ່ອຸນຫະພູມສູງກວ່າ 35°C ພ້ອມທັງໄດ້ຜົນຜະລິດເຫຼົ້າເອຕາໂນລສູງ ເຊິ່ງມີທັງໝົດ 11 ສາຍພັນ ທີ່ສາມາດໝັກນໍ້າຕານໂຄສໄດ້ ທີ່ອຸນຫະພູມ 35°C ແລະ 45°C ແລະ ທຸກໆສາຍພັນແມ່ນຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ດີໃນອາຫານແຂງທີ່ອຸນຫະພູມ 35°C ແລະ 40°C ແລະ ມີພຽງ 2 ສາຍພັນເທົ່ານັ້ນທີ່ຈະເລີນເຕີບໂຕທີ່ອຸນຫະພູມ 42°C ແລະ ບໍ່ມີສາຍພັນໃດຈະເລີນເຕີບໂຕທີ່ອຸນຫະພູມ 45°C. ຈາກນັ້ນໄດ້ນໍາໄປໝັກເຫຼົ້າໃນອາຫານແຫຼວທີ່ອຸນຫະພູມ 35°C, 40°C ແລະ 42°C ປາກົດວ່າຜົນຂອງການປ່ຽນນໍ້າຕານເປັນເຫຼົ້າເອຕາໂນລຢູ່ລະຫວ່າງ 5%-8%. ມາໃນປີ 2008 ນີ້ Rao *et al.*, ກໍໄດ້ລາຍງານຜົນການຄັດແຍກ ແລະ ຈັດຈໍາແນກຢີສ໌ທີ່ສາມາດໝັກນໍ້າຕານ Xylose ໃຫ້ເປັນເອຕາໂນລຈາກໝາກໄມ້ ແລະ ເປືອກໄມ້ໃນປະເທດອິນເດຍ. ໂດຍແຍກໄດ້ 374 ໄອໂຊເລດ ແລະ ເມື່ອທົດສອບການໝັກໃນອາຫານ Xylose ພົບວ່າມີພຽງ 27 ໄອໂຊເລດທີ່ສາມາດໝັກນໍ້າຕານ Xylose ໃຫ້ເປັນເອຕາໂນລໄດ້ ໂດຍສາມາດຜະລິດເອຕາໂນລຢູ່ໃນຊ່ວງ 0.12-0.38 g ຕໍ່ xylose 1 g. ເມື່ອນໍາມາຈັດຈໍາແນກດ້ານອະນຸກົມວິຖານໃນລະດັບໂມເລກຸນພົບວ່າເປັນຢີສ໌ໃນຊະນິດ: *Candida albicans*, *C. maltose*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. viswanathii*, *Clavispora lusitaniae*, *Cryptococcus saitoi*, *Debaryomyces hansenii*, *Kluyveromyces marxianus*, *Metschnikowia chrysoperlae*, *Pichia barkeri*, *P. galeiformis*, *P. guilliermondii*, *P. kudriazevii*, *P. membranaefaciens*, *P. Mexicana*, *P. veronae*, *Rhodotorula minuta*, *R. mucilaginosa* ແລະ *R. pallid*.

ປະເທດໄທ ໃນປີ 2552 ມະລິວັນ ແລະ ອໍລະວັນ, ໄດ້ສຶກສາການຄັດເລືອກຢີສ໌ທີ່ສາມາດໝັກນໍ້າຕານ Xylose ໄດ້ໂດຍການແຍກຢີສ໌ຈາກໝາກໄມ້ຕ່າງໆ, ຜັກດອງ ແລະ ອາຫານທີ່ມີເຫຼົ້າຈໍານວນ 26 ຕົວຢ່າງ ໂດຍໃຊ້ອາຫານ Yeast Extract Peptone Xylose (YEPX) ທີ່ມີນໍ້າຕານ Xylose 2% ໄດ້ເຊື້ອຢີສ໌ທີ່ສາມາດໃຊ້ນໍ້າຕານ Xylose ເປັນແຫຼ່ງຄາບອນເພື່ອການຈະເລີນເຕີບໂຕ 68 ໄອໂຊເລດ. ເມື່ອບົ່ມທີ່ອຸນຫະພູມ 37°C ແລ້ວນໍາເຊື້ອຢີສ໌ທັງ 68 ໄອໂຊເລດ ມາທົດສອບການຈະເລີນເຕີບໂຕທີ່ອຸນຫະພູມ 30, 37 ແລະ 40°C ພົບວ່າມີເຊື້ອຢີສ໌ 12 ໄອໂຊເລດໄດ້ແກ່: ເຊື້ອຢີສ໌ລະຫັດ ML002, ML007, ML010, ML013, ML015, ML018, ML019, ML020, ML021, ML028 ແລະ ML041 ມີແນວໂນ້ມຈະເລີນໄດ້ດີທີ່ອຸນຫະພູມ 40°C. ຈາກນັ້ນນໍາຢີສ໌ລະຫັດ ML007, ML013 ແລະ ML019 ທີ່ຄັດເລືອກມາທົດສອບຄວາມສາມາດໃນການຜະລິດເອຕາໂນລຈາກນໍ້າຕານ Xylose ທີ່ອຸນຫະພູມ 30°C ໂດຍການສັ່ນ 100 ຮອບ/ນາທີ ພົບວ່າສາມາດຜະລິດເອຕາໂນລ ໄດ້ 12.45, 6.89 ແລະ 8.49 g/l ຕາມລໍາດັບ. ເມື່ອນໍາເອົາຢີສ໌ລະຫັດ ML007, ML013 ແລະ ML019 ມາສຶກສາພົບລັກສະນະທາງສັນຖານ

ວິທະຍາ ແລະ ຄຸນສົມບັດທາງຊີວະ-ເຄມີ ເບື້ອງຕົ້ນພົບວ່າມີຄວາມຄ້າຍຄືກັນກັບຢີສ໌ສະກູນ *Pichia*. ໃນປີ 2553 ສຸກັນຍາ ນິຕິຍົນ, ໄດ້ສຶກສາຄວາມຫຼາກຫຼາຍຂອງຢີສ໌ທີ່ໃຊ້ Xylose ແລະ ການຄັດເລືອກຫາຢີສ໌ທີ່ໝັກເອຕາໂນລຈາກ Xylose ໂດຍການແຍກຢີສ໌ຈາກຕົວຢ່າງດິນ, ສ່ວນປະກອບຂອງພືດ, ວັດສະດຸເສດເຫຼືອຈາກການກະເສດ ແລະ ຕົວຢ່າງອື່ນໆຈຳນວນ 79 ຕົວຢ່າງ ໂດຍໃຊ້ເຕັກນິກການເພີ່ມຈຳນວນໃນອາຫານທີ່ມີ Xylose ເປັນແຫຼ່ງຄາບອນໄດ້ 133 ໄອໂຊເລດ. ເມື່ອຈັດຈຳແນກໂດຍການນຳໃຊ້ຫຼັກອະນຸກົມວິຖານລະດັບໂມເລກຸນດ້ວຍການປຽບທຽບລຳດັບ Nucleotide ໃນໂດເມນ D1/D2 ຂອງ LSU rRNA gene ແລະ ວິເຄາະຄວາມສຳພັນທາງດ້ານວິວັດທະນາການພົບວ່າມີເຊື້ອຢີສ໌ທີ່ສາມາດໝັກເອຕາໂນລຈາກ Xylose ໄດ້ພຽງ 8 ໄອໂຊເລດໃນ 3 ຊະນິດ ຄື: *Candida blankii*, *Candida saraburiensis* sp. nov. ແລະ *Zygoascus hellenicus* ເຊິ່ງຜະລິດເອຕາໂນລໄດ້ 0.98-1.78 g/l. ເມື່ອລ້ຽງໃນອາຫານ 4% D-Xylose-YP broth ໃນ Flask ແລະ ບົ່ມແບບສັ່ນ ທີ່ອຸນຫະພູມ 30°C ເປັນເວລາ 96 ຊົ່ວໂມງ.

ຫຼັງຈາກນັ້ນປີ 2010 Sunan Nuanpenget *et al.*, ໄດ້ສຶກສາການຄັດເລືອກ ແລະ ຈັດຈຳແນກຢີສ໌ທີ່ທົນຄວາມຮ້ອນເພື່ອການໝັກເອຕາໂນລຈາກນ້ຳເຂົ້າຝ້າງຈຳນວນ 62 ໄອໂຊເລດໂດຍທົດສອບຄວາມສາມາດໃນການໝັກເອຕາໂນລຈາກນ້ຳເຂົ້າຝ້າງ ທີ່ອຸນຫະພູມແຕກຕ່າງກັນ (30°C- 50°C) ຜົນປາກົດວ່າມີ 9 ໄອໂຊເລດ ຈາກຢີສ໌ຈຳນວນດັ່ງກ່າວຈະເລີນເຕີບໂຕ ແລະ ໝັກເຫຼົ້າເອຕາໂນລໄດ້ດີທີ່ອຸນຫະພູມສູງ. ມີ 6 ໄອໂຊເລດຄື: DMKKU Y- 102, DMKKU Y – 103, DMKKU Y – 104, DMKKU Y – 105, DMKKU Y – 106 ແລະ DMKKU Y – 107 ຈະເລີນເຕີບໂຕ ແລະ ໝັກເຫຼົ້າໃນອຸນຫະພູມສູງເຖິງ 47°C ແລະ ມີ 6 ໄອໂຊເລດຈາກຈຳນວນດັ່ງກ່າວໄດ້ຈັດຈຳແນກທາງອະນຸກົມວິຖານໂດຍໃຊ້ D1/D2 ໂດເມນຂອງ 26s rDNA ເປັນ *Kluyveromyces marxianus*.

ໃນປີ 2011 Kanlayani *et al.*, ໄດ້ຄັດເລືອກຢີສ໌ທີ່ທົນຄວາມຮ້ອນຈາກດິນ ແລະ ພືດ ທີ່ເກັບມາຈາກສວນປູກ Jerusalem artichoke ໂດຍນຳໃຊ້ເຕັກນິກການເພີ່ມເຊື້ອ ແລ້ວສາມາດແຍກໄດ້ທັງໝົດ 50 ໄອໂຊເລດ. ໃນນັ້ນມີພຽງ 6 ໄອໂຊເລດເທົ່ານັ້ນທີ່ສາມາດນຳໃຊ້ Inulin ເປັນແຫຼ່ງຄາບອນ ແລະ ແຫຼ່ງພະລັງງານເພື່ອການຈະເລີນເຕີບໂຕ. ຄວາມສາມາດທົນຕໍ່ອຸນຫະພູມສູງຂອງ 6 ໄອໂຊເລດດັ່ງກ່າວ ໄດ້ນຳມາທົດສອບທີ່ອຸນຫະພູມແຕ່ 30°C–50°C ພົບວ່າທັງ 6 ໄອໂຊເລດ ສາມາດຈະເລີນເຕີບໂຕທີ່ອຸນຫະພູມສູງເຖິງ 46°C. ການໝັກພາຍໃຕ້ເງື່ອນໄຂທີ່ຢຸດນຶ່ງ ແລະ ການສັ່ນ ຜົນປາກົດວ່າທັງ 6 ໄອໂຊເລດຜະລິດເຫຼົ້າເອຕາໂນລທີ່ມີຄວາມເຂັ້ມຂຸ້ນສູງສຸດເທົ່າ 60.86g/l ຫຼື 8.8% ຈາກສາຍພັນ DBKKU Y – 102 ພາຍໃຕ້ເງື່ອນໄຂການສັ່ນທີ່ອຸນຫະພູມ 40°C. ຢີສ໌ 6 ໄອໂຊເລດ ໄດ້ນຳມາຈັດຈຳແນກທາງອະນຸກົມວິຖານແລ້ວພົບວ່າເປັນ *Kluyveromyces marxianus* ທັງໝົດ. ມາຮອດປີ 2012 Dung Ngo Thi Phuong *et al.*, ໄດ້ຄັດເລືອກຢີສ໌ທີ່ມີປະໂຫຍດແກ່ການໝັກເຫຼົ້າເອຕາໂນລທີ່ອຸນຫະພູມສູງ. ຈາກການທົດລອງພົບວ່າມີ 5 ໄອໂຊເລດຄື: BM2, BM3, HX1, C₂ ແລະ V₂ ສາມາດໝັກເຫຼົ້າໄດ້

ດີຫຼາຍທີ່ອຸນຫະພູມ 40°C ແລະ ໃນຈຳນວນດັ່ງກ່າວມີ BM2, BM3, HX1 ແລະ C₂ ມີຄວາມສາມາດ ໝັກເຫຼົ້າທີ່ອຸນຫະພູມສູງ ແລະ ຜະລິດເຫຼົ້າເອຕາໂນລໄດ້ເຖິງ 15%)w/v(. ຫຼັງຈາກການໝັກ 5 ມື້ ທີ່ ອຸນຫະພູມສູງ ປາກົດວ່າໄດ້ຜົນການໝັກຂອງຢີສ໌ສູງສຸດເຖິງ 7.6% ຈາກນ້ຳແປ້ງເຂົ້າໜຽວ ເຊິ່ງມີຄວາມ ເປັນໄປໃນການນຳໃຊ້ຢີສ໌ເຫຼົ້ານີ້ໃນການຜະລິດເຫຼົ້າເອຕາໂນລທີ່ອຸນຫະພູມສູງ. ຍັງພົບວ່າຢີສ໌ 4 ໄອໂຊ ເລດທີ່ເປັນເປົ້າໝາຍມີຄຸນລັກສະນະຄ້າຍຄື HX1: *Candida tropicalis*, BM3 : *Torulaspora globosa*, C2 ແລະ BM2 : *Pichia kudriavzevii*.

ຢູ່ປະເທດລາວ ໃນປີ 2013 ກົງສະໄໝ ໄຊຍະວົງສາ ພ້ອມດ້ວຍຄະນະ, ໄດ້ແຍກ ແລະ ຈັດຈຳແນກເຊື້ອຢີສ໌ທີ່ໃຊ້ໄຊໂລສເພື່ອການໝັກເຫຼົ້າເອຕາໂນລຈາກ 15 ຕົວຢ່າງ. ຢີສ໌ທີ່ຈະເລີນເຕີບໂຕ ຈາກ 15 ຕົວຢ່າງນັ້ນສາມາດແຍກເຊື້ອບໍລິສຸດໄດ້ທັງໝົດ 19 ໄອໂຊເລດ. ທັງ 19 ໄອໂຊເລດ ສາມາດ ຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ດີໃນອາຫານແຂງ YPD ທີ່ອຸນຫະພູມ 35°C ແລະ 37°C ສ່ວນທີ່ອຸນຫະພູມ 40°C ມີ ພຽງ 1 ໄອໂຊເລດເທົ່ານັ້ນທີ່ຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ດີ. ສຳລັບໃນອາຫານ YPX ມີ 19 ໄອໂຊເລດ ທີ່ສາມາດ ຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ດີທີ່ອຸນຫະພູມ 35°C ແລະ ມີພຽງແຕ່ 14 ໄອໂຊເລດເທົ່ານັ້ນທີ່ສາມາດຈະເລີນເຕີບ ໂຕໄດ້ດີທີ່ອຸນຫະພູມ 37°C ສ່ວນອຸນຫະພູມ 40°C ມີພຽງແຕ່ 1 ໄອໂຊເລດ. ການຈະເລີນເຕີບໂຕຂອງ ຢີສ໌ໃນອາຫານ YNB ທີ່ອຸນຫະພູມ 35°C , 37°C ແລະ 40°C ທັງ 19 ໄອໂຊເລດບໍ່ສາມາດຈະເລີນ ເຕີບໂຕໄດ້ດີ. ໃນການໝັກເຫຼົ້າເອຕາໂນລມີພຽງ 4 ໄອໂຊເລດເທົ່ານັ້ນ ຄື: ໄອໂຊເລດທີ 11,13, 15 ແລະ 19 ເຊິ່ງໃນນີ້ໄອໂຊເລດທີ່ສາມາດໝັກເອຕາໂນລໄດ້ຫຼາຍກວ່າໄອໂຊເລດອື່ນໆໄດ້ແກ່: ໄອໂຊເລດ 19 ເຊິ່ງເທົ່າກັບ 0.143% ໃນໄລຍະເວລາ 96 ຊົ່ວໂມງ. ໃນຂະນະທີ່ *Pichia stipis* ສາມາດໝັກເຫຼົ້າເອຕາ ໂນລໄດ້ 0.829%. ຈາກການວິເຄາະ D1/D2 ໂດເມນຂອງຢີນ Large subunit RNA ສາມາດຈັດຈຳ ແນກໄດ້ທັງໝົດ 6 ໄອໂຊເລດ ເຊິ່ງເປັນ *Candida tropicalis* ຈຳນວນ 5 ໄອໂຊເລດ ແລະ 1 ໄອໂຊ ເລດເປັນ *Kluyveromyces marxinus* ແລະ ມາໃນປີ 2014 ພອນປະສິດ ໂສຕິທຳ, 2014, ໄດ້ແຍກ ແລະ ຈັດຈຳແນກເຊື້ອຢີສ໌ທີ່ທົນຄວາມຮ້ອນເພື່ອການໝັກເຫຼົ້າເອຕາໂນລຈາກ 91 ຕົວຢ່າງ, ສາມາດແຍກເປັນ ເຊື້ອບໍລິສຸດໄດ້ທັງໝົດ 73 ໄອໂຊເລດ ແລະ ມີ 32 ໄອໂຊເລດ ທີ່ໄດ້ຄັດເລືອກມາທົດສອບການຈະເລີນ ເຕີບໂຕ ແລະ ການໝັກເຫຼົ້າເອຕາໂນລ ທີ່ອຸນຫະພູມ 40°C ແລະ 45°C. ທັງ 32 ໄອໂຊເລດຈະເລີນ ເຕີບໂຕໄດ້ດີໃນອາຫານ YPD ທີ່ອຸນຫະພູມ 37°C ແລະ 40°C. ສ່ວນອຸນຫະພູມ 45°C ແລະ 48°C ມີ ພຽງ 9 ແລະ 7 ໄອໂຊເລດຕາມລຳດັບ. ສຳລັບໃນອາຫານ YPX ມີ 11 ໄອໂຊເລດ ທີ່ສາມາດຈະເລີນ ເຕີບໂຕໄດ້ດີ ທີ່ອຸນຫະພູມ 37°C ແລະ 40°C, ສ່ວນອຸນຫະພູມ 45°C ແລະ 48°C ມີ 8 ໄອໂຊເລດ ແລະ 3 ໄອໂຊເລດຕາມລຳດັບ. ໃນນັ້ນໄອໂຊເລດທີ 17 ສາມາດໝັກເຫຼົ້າເອຕາໂນລໄດ້ດີກວ່າໄອໂຊເລດອື່ນໆ ທີ່ອຸນຫະພູມ 40°C ແລະ 45°C ຈາກນ້ຳຕານຄູໂຄສ, ຊູໂຄຣສ໌ ແລະ ນ້ຳອ້ອຍເຂັ້ມຂຸ້ນ 16 % ແລະ ມີ ພຽງໄອໂຊເລດທີ 21 ເທົ່ານັ້ນທີ່ສາມາດໝັກການນ້ຳຕານໃຫ້ເປັນເຫຼົ້າເອຕາໂນລໄດ້. ຈາກການວິເຄາະ

D1 / D2 ໂດເມນຂອງຍີນ Large subunit rRNA ສາມາດຈັດຈຳແນກໄດ້ທັງໝົດ 19 ໄອໂຊເລດ ແລະ ມີ 6 ຊະນິດ ເຊິ່ງໄດ້ແກ່: *Pichia kudriazevii* ຈຳນວນ 11 ໄອໂຊເລດ, *Kluyveromyces marxianus* ຈຳນວນ 5 ໄອໂຊເລດ, *Pichia ehodensis*, *Pichia fabianii*, *Candida tropicalis* ແລະ *Meyerozyma guilliermondii* ຊະນິດລະ 1 ໄອໂຊເລດ. ມາໃນປີ 2015 ໄມ່ ທຳມະນີ ພ້ອມດ້ວຍຄະນະ, ການແຍກ ແລະ ການຄັດເລືອກເຊື້ອຍີສ໌ທີ່ທົນຄວາມຮ້ອນເພື່ອການໝັກເຫຼົ້າເອຕາໂນລໄດ້ນຳໃຊ້ຕົວຢ່າງທັງໝົດ 92 ຕົວຢ່າງ ຈາກການຄັດແຍກໄດ້ເຊື້ອທັງໝົດ 67 ໄອໂຊເລດ ແລະ 32 ໄອໂຊເລດຖືກຄັດເລືອກໄປທົດສອບຄວາມສາມາດຈະເລີນເຕີບໂຕ ເຊິ່ງຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ດີໃນອາຫານ YPD ທີ່ອຸນຫະພູມ 37°C ແລະ ອຸນຫະພູມ 40°C, ສ່ວນທີ່ອຸນຫະພູມ 45°C ພົບວ່າມີພຽງ 6 ໄອໂຊເລດ ສຳລັບໃນອາຫານ YPX ມີ 24 ໄອໂຊເລດ ທີ່ສາມາດຈະເລີນເຕີບໂຕທີ່ອຸນຫະພູມ 37°C ແລະ ອຸນຫະພູມ 40°C ສ່ວນອຸນຫະພູມ 45°C ມີພຽງແຕ່ 6 ໄອໂຊເລດ ແລະ ໃນອາຫານ YPS ມີ 27 ໄອໂຊເລດທີ່ສາມາດຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ທີ່ອຸນຫະພູມ 37°C ແລະ ອຸນຫະພູມ 40°C, ສ່ວນອຸນຫະພູມ 45°C ມີ 9 ໄອໂຊເລດ. ຈາກການຄັດເລືອກເພື່ອການໝັກເຫຼົ້າເອຕາໂນລໂດຍໃຊ້ນໍ້າຕານຊູໂຄສ໌ 2% ເປັນແຫຼ່ງຄາບອນ ພົບວ່າ ມີ 3 ໄອໂຊເລດ ໄດ້ແກ່: ໄອໂຊເລດທີ 2, 7 ແລະ 17 ມີປະສິດທິພາບສູງ. ການໝັກເຫຼົ້າເອຕາໂນລທີ່ອຸນຫະພູມ 40°C ຈາກຄູໂຄສ໌ ແລະ ຊູໂຄສ໌ ເຂັ້ມຊັ້ນ 16%, 20% ແລະ 25% ໄດ້ແກ່: ໄອໂຊເລດທີ 2 ສາມາດໝັກເຫຼົ້າໄດ້ດີກວ່າ ໄອໂຊເລດອື່ນໆ.

2.3 ຂອບເຂດແນວຄວາມຄິດ

ຕົວຢ່າງທີ່ນຳມາສຶກສາໃນຄັ້ງນີ້ ນຳມາຈາກສ່ວນທີ່ເປັນສິ່ງເສດເຫຼືອທາງການກະເສດ ປະເພດ Lignocelluloses.

ໄດ້ກຳນົດເອົາເຊື້ອຈຸລະຊີບ ຄື: ເຊື້ອຍີສ໌ທີ່ສາມາດນຳໃຊ້ໄຊໂລສໄດ້ ເປັນຕົວຊີ້ວັດວ່າຕົວຢ່າງທີ່ນຳມາແຍກ ແລະ ຄັດເລືອກ ແມ່ນມີເຊື້ອຍີສ໌ທີ່ສາມາດນຳໃຊ້ໄຊໂລສໄດ້ໃນຂະບວນການໝັກ.

ນຳເອົາຕົວຢ່າງມາແຍກເຊື້ອ ໂດຍໃຊ້ອາຫານ YPX ເປັນໂຕຊີ້ວັດຄວາມສາມາດໃນການນຳໃຊ້ໄຊໂລສ. ເມື່ອໄດ້ເຊື້ອບໍລິສຸດແລ້ວນຳມາທົດສອບຄວາມສາມາດໃນການຈະເລີນເຕີບໂຕໃນລະດັບອຸນຫະພູມທີ່ແຕກຕ່າງກັນ. ທົດສອບຢູ່ໃນອາຫານ YPD, YPS, YPX ແລະ YNB ທີ່ອຸນຫະພູມ 37°C, 40°C, 42°C ແລະ 45°C. ແລ້ວນຳມາປຽບທຽບວ່າຕົວຢ່າງໃດທີ່ສາມາດຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ດີກວ່າໝູ່ ແລະ ໃຫ້ປະສິດທິພາບສູງ.

ນອກຈາກນັ້ນໄດ້ມີການໝັກ ແລະ ວິເຄາະປະລິມານເຫຼົ້າ, ທົດສອບຄວາມທົນທານຕໍ່ທາດລະລາຍບາງຢ່າງທີ່ເປັນພິດ ແລະ ຈັດຈຳແນກໂດຍການສະກັດ DNA ຂອງເຊື້ອຍີສ໌.

2.4 ນິຍາມຄຳສັບໃນທາງປະຕິບັດ

ກ. ນິຍາມຄຳສັບຕາມທິດສະດີ

ຢີສ໌ (Yeast) ແມ່ນນອນຢູ່ໃນອານາຈັກ Fungi ທີ່ສາມາດດຳລົງຊີວິດແບບຈຸລັງດຽວ, ມີຮູບຮ່າງຫຼາຍແບບ ເຊິ່ງຢີສ໌ມີປະໂຫຍດຢ່າງຫຼວງຫຼາຍໃນອຸດສາຫະກຳການໝັກ.

ໄຊໂລສ (Xylose) ມີສູດໂຄງສ້າງ $C_5H_{10}O_5$ ເປັນນ້ຳຕານອັລໂດເປັນໂຕສ໌ (Aldo-Pentose), ເປັນນ້ຳຕານທີ່ມີປະໂຫຍດຫຼາຍເປັນອັນດັບ 2 ຮອງຈາກນ້ຳຕານ Glucose.

ເອຕາໂນລ (Ethanol) ເປັນເຫຼົ້າຊະນິດໜຶ່ງທີ່ໄດ້ມາຈາກການນຳເອົາພືດມາໝັກໂດຍຢີສ໌ ເພື່ອປ່ຽນທາດແບ້ງໃຫ້ເປັນນ້ຳຕານ ຫຼັງຈາກນັ້ນຈຶ່ງປ່ຽນນ້ຳຕານໄປເປັນເຫຼົ້າເອຕາໂນລ ແລ້ວຈຶ່ງນຳເຫຼົ້າເອຕາໂນລມາກັ່ນໃຫ້ມີຄວາມບໍລິສຸດ 90%.

ໂຄໂລນີ (Colony) ໝາຍເຖິງເຊື້ອຈຸລະຊີບ ທີ່ຈະເລີນເຕີບໂຕຢູ່ເທິງອາຫານລ້ຽງເຊື້ອ (nutrient agar) ສາມາດຈະເລີນເຕີບໂຕ ແລະ ແບ່ງຕົວຈາກຈຸລັງດຽວເປັນຫຼາຍໆຈຸລັງ ເຊິ່ງມີຂະໜາດນ້ອຍຈົນເຖິງຂະໜາດໃຫຍ່.

ໄອໂຊເລດ (Isolate) ໝາຍເຖິງ Colony ດຽວ ທີ່ແຍກຕົວອອກມາຈາກທີ່ມັນປະປົນຢູ່ກັບເຊື້ອຈຸລະຊີບອື່ນໆ ເຊິ່ງ Colony ດຽວໆ ທີ່ຖືກຄັດເລືອກໃຫ້ເປັນເຊື້ອບໍລິສຸດແລ້ວ ແລະ Colony ນັ້ນ ສາມາດແຍກອອກເປັນຫຼາຍໆ Colony ເພິ່ນເອີ້ນວ່າ: ໄອໂຊເລດ.

ຂ. ນິຍາມຄຳສັບໃນທາງປະຕິບັດ

YPX Broth ໝາຍເຖິງອາຫານແຫຼວ ທີ່ປະກອບດ້ວຍ Yeast extract, Peptone, Xylose ແລະ ນ້ຳ. ເຊິ່ງອາຫານ YPX Broth ແມ່ນນຳໃຊ້ເຂົ້າໃນຂະບວນການເພີ່ມເຊື້ອ ແລະ ພື້ນເຊື້ອ.

YPX Agar ໝາຍເຖິງອາຫານແຂງ ທີ່ປະກອບດ້ວຍ Yeast extract, Peptone, Xylose, Agar ແລະ ນ້ຳ. ເຊິ່ງອາຫານແມ່ນນຳໃຊ້ເຂົ້າໃນຂະບວນການຄັດແຍກເຊື້ອ ແລະ ທິດສອບການຈະເລີນເຕີບໂຕ.

ສ່ວນອາຫານແຂງ YPD Agar, YPS Agar ແລະ YNB Agar ແມ່ນໃຊ້ໃນການທິດສອບເບິ່ງການຈະເລີນເຕີບໂຕຂອງເຊື້ອຕໍ່ທາດອາຫານ ໃນອຸນຫະພູມທີ່ແຕກຕ່າງກັນ.

ສຳລັບການທິດສອບຄວາມທົນທານຕໍ່ກັບທາດລະລາຍບາງຢ່າງທີ່ເປັນພິດ ນຳໃຊ້ອາຫານແຂງ YPD ທີ່ມີ Glucose 35% ແລະ ອາຫານແຂງ YPX ທີ່ມີ Ethanol 8%, 5mM H_2O_2 , 10mM Furfural ປະສົມຢູ່.

ພາກທີ 3

ວິທີການສຶກສາ

3.1 ການອອກແບບການສຶກສາ

3.1.1 ການກຳນົດເນື້ອໃນ

ການສຶກສາຄັ້ງນີ້ ດຳເນີນການທົດລອງຢູ່ໃນຮູບແບບຂອງການທົດລອງ ເຊິ່ງດຳເນີນການ ຄັດແຍກເຊື້ອ ໂດຍໃຊ້ວິທີການເພີ່ມເຊື້ອຢູ່ໃນອາຫານແຫຼວ YPX ທີ່ມີນ້ຳຕານ Xylose 2% ເປັນແຫຼ່ງ ຄາຣ໌ບອນ.

3.1.2 ການຄັດເລືອກພື້ນທີ່

ສະຖານທີ່ເກັບຕົວຢ່າງ ແມ່ນເກັບມາຈາກບາງພື້ນທີ່ຢູ່ໃນເມືອງສັງທອງ, ເມືອງໄຊທານີ ແລະ ເມືອງນາຊາຍທອງ ນະຄອນຫຼວງວຽງຈັນ.

ການທົດລອງ ແມ່ນຈະໄດ້ດຳເນີນການຢູ່ທີ່ຫ້ອງທົດລອງຈຸລະຊີບວິທະຍາ, ພາກວິຊາຊີວະ ວິທະຍາ, ຄະນະວິທະຍາສາດທຳມະຊາດ, ມະຫາວິທະຍາໄລແຫ່ງຊາດລາວ ແລະ ຫ້ອງທົດລອງຊີວະ ເຄມີ ຄະນະກະເສດ ມະຫາວິທະຍາໄລ Yamaguchi ປະເທດຍີ່ປຸ່ນ

3.1.3 ໄລຍະເວລາການສຶກສາ

ການສຶກສາຄັ້ງນີ້ ລົງເກັບຕົວຢ່າງໃນເດືອນພຶດສະພາ ຫຼັງຈາກເກັບຕົວຢ່າງແລ້ວ ທຸກຄັ້ງ ກຳນົດທົດລອງທັນທີ ແລະ ການດຳເນີນການທົດລອງ ເລີ່ມແຕ່ເດືອນພຶດສະພາ ປີ 2017 ຫາ ເດືອນ ຕຸລາ ປີ 2017.

3.2 ປະຊາກອນການສຶກສາ

3.2.1 ການຄັດເລືອກປະຊາກອນ

ຕົວຢ່າງທີ່ນຳໃຊ້ໃນການສຶກສາຄັ້ງນີ້ ໄດ້ແກ່: ສິ່ງເສດເຫຼືອຈາກການກະເສດປະເພດ Lignocelluloses ທີ່ປະກອບມີພວກ Lignin, Cellulose ແລະ Hemicelluloses (ຂີ້ເລື້ອຍ, ຫຍ້າ, ແກນສາລີ, ອ້ອຍ, ເພືອງ, ດິນ, ເປືອກໄມ້, ໃບໄມ້, ດອກໄມ້, ໝາກໄມ້) ເຊິ່ງມີທັງໝົດ 56 ຕົວຢ່າງ.

ນຳເອົາຕົວຢ່າງມາແຍກເຊື້ອ ໂດຍໃຊ້ອາຫານ YPX ເປັນໂຕຊີ້ວັດຄວາມສາມາດໃນການ ນຳໃຊ້ໄຊໂລສ. ເມື່ອໄດ້ເຊື້ອບໍລິສຸດແລ້ວນຳມາທົດສອບຄວາມສາມາດໃນການຈະເລີນເຕີບໂຕໃນ ລະດັບອຸນຫະພູມທີ່ແຕກຕ່າງກັນ. ທົດສອບໃນອາຫານ YPD, YPS, YPX ແລະ YNB ທີ່ອຸນຫະພູມ 37°C, 40°C, 42 °C ແລະ 45 °C.

ຕາຕະລາງ 3.1 ການກຳນົດລັກສະນະຂອງຕົວຢ່າງ

ລຳດັບ	ລະຫັດໄອໂຊເລດ	ແຫຼ່ງທີ່ມາຂອງໄອໂຊເລດ	ສະຖານທີ່
1	OX 1 ແລະ OX 2	ດອກເຂັ້ມນ້ອຍ	ມ. ໄຊທານີ
2	OX 3 ແລະ OX 4	ດອກນາງກ້ວກ	ມ. ໄຊທານີ
3	OX 5	ກະຣົດ	ມ. ສັງທອງ
4	OX 6	ຖົ່ວດິນ	ມ. ສັງທອງ
5	OX 7	ລະມຸດ	ມ. ສັງທອງ
6	OX 8	ເປືອກກະຣົດ	ມ. ສັງທອງ
7	OX 9	ລະມຸດ	ມ. ສັງທອງ
8	OX 10	ໝາກໄຟ	ມ. ສັງທອງ
9	OX 11 ແລະ OX 12	ໝາກເຂືອຄົ້ນ	ມ. ສັງທອງ
10	OX 13 ແລະ OX 14	ໝາກແອັບເປີນ	ມ. ສັງທອງ
11	OX 15 ແລະ OX 16	ເປືອກໝາກເງາະ	ມ. ສັງທອງ
12	OX 17	ເປືອກໝາກນອຍ	ມ. ສັງທອງ
13	OX 18	ໃບໄມ້ໃຜ່	ມ. ນາຊາຍທອງ
14	OX 19	ໃບສາລີ	ມ. ໄຊທານີ
15	OX 20	ໃບໝາກຫຸ່ງ	ມ. ໄຊທານີ
16	OX 21	ເປືອກກ້ວຍ	ມ. ໄຊທານີ
17	OX 22	ກາກໝາກພ້າວ (ກາບນອກ)	ມ. ໄຊທານີ
18	OX 23	ຫຍ້າ	ມ. ນາຊາຍທອງ
19	OX 24	ເພືອງແຫ້ງ	ມ. ໄຊທານີ
20	OX 25	ຫຍ້ານວນນ້ອຍ (ເນົາ)	ມ. ໄຊທານີ
21	OX 26 ແລະ OX 27	ກາກອ້ອຍ	ມ. ໄຊທານີ
22	OX 28	ຂີ້ເລື້ອຍ	ມ. ໄຊທານີ
23	OX 29 ແລະ OX 30	ຂີ້ແບ້ງ (ເປັນຝຸ່ນ)	ມ. ໄຊທານີ
24	OX 31	ດິນປູກມັນຕົ້ນ	ມ. ໄຊທານີ
25	OX 32	ລຳຕົ້ນກ້ວຍ (ເນົາ)	ມ. ໄຊທານີ
26	OX 33	ແກບ	ມ. ໄຊທານີ
27	OX 34	ເປືອກໝາກນັດ	ມ. ໄຊທານີ
28	OX 35	ເພືອງ (ປຽກ)	ມ. ໄຊທານີ

3.2.2 ວິທີສຸ່ມຕົວຢ່າງຂອງປະຊາກອນ

ການສຸ່ມຕົວຢ່າງປະຊາກອນແມ່ນ ເກັບຕົວຢ່າງມາຈາກຕະຫຼາດ, ສວນໝາກໄມ້, ໂຮງງານ, ໂຮງເລື່ອຍ, ພື້ນທີ່ທົ່ງນາ ຢູ່ 3 ຕົວເມືອງ. ຕົວຢ່າງແຕ່ລະຊະນິດແມ່ນເກັບຄືກັນ ເຊິ່ງແຕ່ລະຕົວຢ່າງເກັບເອົາປະມານ 100-200 ກຣາມ. ຕົວຢ່າງແຕ່ລະຊະນິດແມ່ນແຍກອອກຈາກກັນ ໂດຍບໍ່ໃຫ້ປະປົນກັນ ໂດຍໃຊ້ຖົງຊິບທີ່ປາສະຈາກເຊື້ອເພື່ອປ້ອງກັນການປົນເປື້ອນຈາກພາຍນອກ ແລະ ຕົວຢ່າງເກັບໄວ້ໃນສະພາບທີ່ເໝາະສົມເພື່ອບໍ່ເຮັດໃຫ້ຈຸລະຊີບທີ່ມີຢູ່ໃນຕົວຢ່າງເພີ່ມຈຳນວນ ຫຼື ຫຼຸດລົງ ຈົນກວ່າຈະໄດ້ນຳມາວິເຄາະ ຫຼັງຈາກໄດ້ຕົວຢ່າງມາແລ້ວກໍນຳມາເຮັດການສຶກສາທັນທີ.

3.3 ຂໍ້ມູນການສຶກສາ

3.3.1 ບັນດາຂໍ້ມູນການສຶກສາ

ກ. ວິທີການເພີ່ມເຊື້ອ

ນຳເອົາຕົວຢ່າງ ປະມານ 1 g ມາບົດໃຫ້ລະອຽດ ແລ້ວເອົາລົງໃສ່ໃນຂວດແກ້ວທີ່ບັນຈຸອາຫານແຫຼວ YPX ປະມານ 20 ml ແລ້ວປິດດ້ວຍ Aluminum foil ແລ້ວນຳໄປສັ່ນ (shake) ທີ່ຄວາມໄວ 160 rpm ແລະ ອຸນຫະພູມ 37°C ປະມານ 24-72 ຊົ່ວໂມງ ຫຼື ຈົນກວ່າຈະມີເຊື້ອຈະເລີນເຕີບໂຕຂຶ້ນມາເທິງຜິວໜ້າຕົວຢ່າງ.

ຂ. ການແຍກເຊື້ອບໍລິສຸດ

1) ການກຽມອາຫານແຂງ YPX

ອາຫານແຂງ YPX ປະກອບດ້ວຍ Yeast extract 2%, Peptone 1%, Xylose 2%, Agar 1.5% ແລະ ນ້ຳ 100 ml. ນຳເອົາສ່ວນປະສົມເຫຼົ່ານີ້ລົງໃສ່ໃນຂວດແກ້ວຮູບຈວຍ (Erlenmeyer flask) ແລ້ວນຳໄປຂ້າເຊື້ອດ້ວຍໝໍ້ໜຶ່ງຄວາມດັນ (Autoclave) 115 ປອນ, ອຸນຫະພູມ 121 °C ເປັນເວລາ 15 – 20 ນາທີ. ເມື່ອອາຫານອຸ່ນປະມານ 50°C - 60°C ນຳມາເທໃສ່ໃນຈານອາຫານລ້ຽງເຊື້ອແລ້ວປະໄວ້ຈົນອາຫານແຂງ ແລະ ເກັບໄວ້ເພື່ອການທົດລອງ.

2) ການແຍກເຊື້ອບໍລິສຸດ

ນຳເອົາຢີສທີ່ຈະເລີນເຕີບໂຕໃນອາຫານໄປແຍກໃຫ້ເປັນເຊື້ອບໍລິສຸດ ໂດຍໃຊ້ເຂັມເຂ່ຍເຊື້ອ (loop) ແຕະເອົາບໍລິເວນຜິວໜ້າຂອງຕົວຢ່າງໄປເຂ່ຍ (streak) ລົງໃສ່ໃນອາຫານລ້ຽງເຊື້ອ YPX ແລ້ວຈຶ່ງນຳໄປບົມໄວ້ທີ່ອຸນຫະພູມ 37°C ປະມານ 48 ຊົ່ວໂມງ ແລ້ວນັບຈຳນວນໂຄໂລນີ (Colony) ດຸ່ງວງທີ່ເກີດຂຶ້ນ ແລ້ວນຳເອົາໂຄໂລນີທີ່ມີລັກສະນະແຕກຕ່າງກັນມາແຍກເຊື້ອໃຫ້ບໍລິສຸດໃນອາຫານ YPX ຕື່ມອີກເທື່ອໜຶ່ງແລ້ວນຳໄປບົມທີ່ອຸນຫະພູມ 37°C ປະມານ 48 ຊົ່ວໂມງ ແລ້ວເກັບໄວ້ເພື່ອສຶກສາໃນຂັ້ນຕອນຕໍ່ໄປ.

ຄ. ສຶກສາລັກສະນະທາງສັນຖານວິທະຍາຂອງຢີສ໌ ແລະ ການທົດສອບຊີວະເຄມີບາງຢ່າງ

ນຳເອົາເຊື້ອບໍລິສຸດມາກວດສອບທາງດ້ານຊີວະເຄມີເບື້ອງຕົ້ນ ໂດຍການກວດສອບຫາເອັນໄຊມ໌ຄະຕາເລສ໌ ແລະ ນຳມາຍ້ອມສີແກຣມ (Gram stain) ຈາກນັ້ນນຳມາສັງເກດຜ່ານກ້ອງຈຸລະທັດ ເພື່ອສັງເກດຮູບຮ່າງລັກສະນະພາຍນອກ ແລະ ການຕິດສີ.

ງ. ການທົດສອບການຈະເລີນເຕີບໂຕໃນອາຫານແຂງ ທີ່ອຸນຫະພູມຕ່າງໆ

ນຳເອົາເຊື້ອທີ່ຜ່ານການແຍກໃຫ້ບໍລິສຸດແລ້ວນຳມາທົດສອບສັງເກດເບິ່ງການຈະເລີນເຕີບໂຕຢູ່ໃນອາຫານແຂງ YPD, YPS, YPX ແລະ YNB ທີ່ອຸນຫະພູມ 37°C, 40°C, 42 °C ແລະ 45 °C. ເປັນເວລາ 24-48 ຊົ່ວໂມງ ແລ້ວບັນທຶກຈຳນວນໄອໂຊເລດທີ່ສາມາດຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ທີ່ອຸນຫະພູມດັ່ງກ່າວ.

ຈ. ການພື້ນເຊື້ອໃນອາຫານແຂງ ແລະ ການເພີ່ມເຊື້ອໃນອາຫານແຫຼວ

ນຳເອົາເຊື້ອທີ່ເກັບໄວ້ມາເຂ່ຍລົງໃນອາຫານແຂງ YPX ແລ້ວນຳໄປບົ່ມທີ່ອຸນຫະພູມ 30°C ເປັນເວລາ 18-24 ຊົ່ວໂມງ. ຈາກນັ້ນໃຊ້ເຂັມເຂ່ຍເຊື້ອຂູດເອົາເຊື້ອທີ່ຈະເລີນເຕີບໂຕໃນອາຫານແຂງ ຂູດເອົາໃຫ້ເຕັມບ້ວງເຂັມລົງໃສ່ໃນອາຫານແຫຼວ YPX ຈຳນວນ 30 ml ແລ້ວນຳໄປສັ່ນ (shake) ທີ່ຄວາມໄວ 150 rpm ແລະ ອຸນຫະພູມ 30°C ເປັນເວລາ 18-24 ຊົ່ວໂມງ. ຫຼັງຈາກນັ້ນນຳເອົາຫົວເຊື້ອ (ອາຫານແຫຼວ) ໄປວັດແທກຄ່າ (Optimum density, OD) ເພື່ອຄິດໄລ່ຫາບໍລິມາດຂອງຫົວເຊື້ອທີ່ຈະໃຊ້ໃນການໝັກໂດຍຄິດໄລ່ຕາມສູດດັ່ງນີ້:

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

C_1V_1 = ຄວາມເຂັ້ມຂຸ້ນເລີ່ມຕົ້ນຂອງຫົວເຊື້ອ ແລະ ບໍລິມາດທີ່ຕ້ອງການໃຊ້.

C_2V_2 = ຄວາມເຂັ້ມຂຸ້ນ ແລະ ບໍລິມາດທີ່ຕ້ອງການໝັກ.

ສ. ການໝັກ ແລະ ວິເຄາະປະລິມານເຫຼົ້າເອຕາໂນລ

ນຳເອົາອາຫານແຫຼວ YPX 30 ml ທີ່ໃສ່ຫົວເຊື້ອແລ້ວນັ້ນໄປສັ່ນ (shake) ທີ່ຄວາມໄວ 100 rpm ທີ່ຕັ້ງຄວບຄຸມອຸນຫະພູມ 37°C ແລ້ວເກັບຕົວຢ່າງໃນໄລຍະເວລາ 24, 48, 72 ແລະ 96 ຊົ່ວໂມງ. ຫຼັງຈາກນັ້ນນຳຕົວຢ່າງແຕ່ລະໄລຍະເວລາໄປວັດແທກຄ່າ OD (Optimum density) ດ້ວຍເຄື່ອງ Spectrophotometer ທີ່ຄວາມຍາວຄື້ນ 660 nm ແລະ ວິເຄາະເປີເຊັນຂອງເຫຼົ້າເອຕາໂນລດ້ວຍເຄື່ອງ Gas chromatography.

ຂັ້ນຕອນການວິເຄາະປະລິມານເຫຼົ້າເອຕາໂນລດ້ວຍເຄື່ອງ Gas Chromatography

ນໍາຫຼອດທົດລອງ (Vial) ສໍາລັບໃຊ້ກັບເຄື່ອງ GC ແລ້ວຕື່ມນໍ້າກັນທີ່ຜ່ານການຂ້າເຊື້ອຈໍານວນ 800 µl ແລ້ວດູດເອົາຕົວຢ່າງທີ່ເກັບແຕ່ລະຊົ່ວໂມງທີ່ເກັບນັ້ນລົງໃສ່ຈໍານວນ 100 µl ແລ້ວປະສົມເຂົ້າກັນໃຫ້ດີ. ຈາກນັ້ນນໍາໄປໃສ່ຖ້ານວາງຫຼອດໃນເຄື່ອງ GC ແລ້ວເຄື່ອງຈະດູດເຂົ້າໄປໃນຄໍລໍາຂອງເຄື່ອງໂດຍອັດຕາໂນມັດ ເຊິ່ງບໍລິມາດຕົວຢ່າງທີ່ໃຊ້ແມ່ນ 10 µl, ໃຊ້ແກັສໄນໂຕຣເຈນເປັນຕົວພາ ແລະ ແກັສໄຮໂດຣເຈນເປັນຕົວເຜົາໃຫ້ເປັນອາຍ. ຫຼັງຈາກນັ້ນເຄື່ອງພິມຈະອ່ານຜົນອອກມາເປັນພິກ (Peak) ແລະ ພື້ນທີ່ຂອງພິກແລ້ວຈຶ່ງມາຄິດໄລ່ເປີເຊັນຂອງເຫຼົ້າເອຕາໂນລຕາມເສັ້ນສະແດງມາດຕະຖານ. ການວິເຄາະເອຕາໂນລໃນຕົວຢ່າງແຕ່ລະຄັ້ງ ແມ່ນຈະຕ້ອງໄດ້ສືບຄວາມເຂັ້ມຂຸ້ນມາດຕະຖານຂອງເຫຼົ້າເອຕາໂນລທຸກຄັ້ງ.

ຂ. ການວິເຄາະປະລິມານ Xylitol ໃນລະຫວ່າງການໝັກ

ຫຼັງຈາກເອົາເຊື້ອຢີສ໌ລົງໝັກໃນອາຫານແຫຼວ YPX (Xylose 4%) ຈໍານວນ 30 ml ແລ້ວນໍາໄປສັ່ນດ້ວຍຄວາມໄວ 100 rpm ທີ່ອຸນຫະພູມ 37°C, ເກັບຕົວຢ່າງເປັນໄລຍະຄື 24, 48, 72 ແລະ 96 ຊົ່ວໂມງ ມາວິເຄາະປະລິມານ Xylitol ດ້ວຍເຄື່ອງ High Performance Liquid Chromatography (HPLC).

ຍ. ການທົດສອບຄວາມທົນທານຕໍ່ທາດລະລາຍບາງຢ່າງທີ່ເປັນພິດ

ຫຼັງຈາກຄິດໄລ່ຄ່າ OD ແລ້ວໄດ້ປະລິມານຄວາມເຂັ້ມຂຸ້ນຂອງເຊື້ອຢີສ໌ຕາມທີ່ຕ້ອງການ ຈາກນັ້ນນໍາເອົາມາເຈືອຈາງເປັນ 5 ລະດັບ ແລ້ວນໍາໄປຢອດລົງໃນຈານອາຫານແຂງ YPD ທີ່ມີ Glucose 10%, 35%, ອາຫານແຂງ YPX ທີ່ມີ Ethanol 8%, 5mM H₂O₂, 10mM Furfural ປະສົມຢູ່ ແລ້ວນໍາໄປບົ່ມທີ່ອຸນຫະພູມ 37°C ເປັນເວລາ 24-48 ຊົ່ວໂມງ ແລ້ວບັນທຶກຜົນການຈະເລີນເຕີບໂຕຂອງເຊື້ອຢີສ໌.

ດ. ຂັ້ນຕອນໃນການຈັດຈໍາແນກໂດຍການສະກັດ DNA

ລ້ຽງເຊື້ອໃນອາຫານແຂງ YPX ເປັນເວລາ 18-24 ຊົ່ວໂມງ, ໃສ່ນໍ້າກັນທີ່ຂ້າເຊື້ອລົງໃນຫຼອດເອັບເຟັນດໍອບ (ependoft) ຈໍານວນ 50 µl, ໃຊ້ເຂັມເຂ່ຍເຊື້ອຂູດເອົາເຊື້ອຈາກອາຫານແຂງ YPX ໃຫ້ເຕັມເຂັມເຂ່ຍເຊື້ອລົງໃນຫຼອດເອັບເຟັນດໍອບ ແລ້ວປະສົມໃຫ້ເຂົ້າກັນ ແລ້ວປະຕິບັດຕາມວິທີຂອງ Kurtzman and Robnett, 1998.

3.3.2 ວິທີເກັບກຳຂໍ້ມູນ

ກ. ວິທີເກັບກຳຂໍ້ມູນພາກສະໜາມ

ກຳນົດເປົ້າໝາຍຕົວຢ່າງ ຕົວຢ່າງທີ່ນຳມາສຶກສາ ມີ 4 ປະເພດຄື: ໃບໄມ້ 7 ຕົວຢ່າງ, ດອກໄມ້ 8 ຕົວຢ່າງ, ໝາກໄມ້ 12 ຕົວຢ່າງ ແລະ ສິ່ງເສດເຫຼືອທາງການກະເສດ 29 ຕົວຢ່າງ.

ຕົວຢ່າງທີ່ເກັບໄປສຶກສາ ແມ່ນຈະເກັບຮັກສາໄວ້ຢູ່ໃນຖົງຊິບ (ປ້ອງກັນການບິນເປື້ອນເຊື້ອຈຸລະຊິບ). ລະບຸລາຍລະອຽດຂອງຕົວຢ່າງຄື: ບອກປະເພດຂອງຕົວຢ່າງ, ບອກລະຫັດຂອງຕົວຢ່າງ, ສະຖານທີ່ເກັບຕົວຢ່າງ, ວັນເດືອນປີທີ່ເກັບຕົວຢ່າງ, ສະພາບຂອງຕົວຢ່າງ.

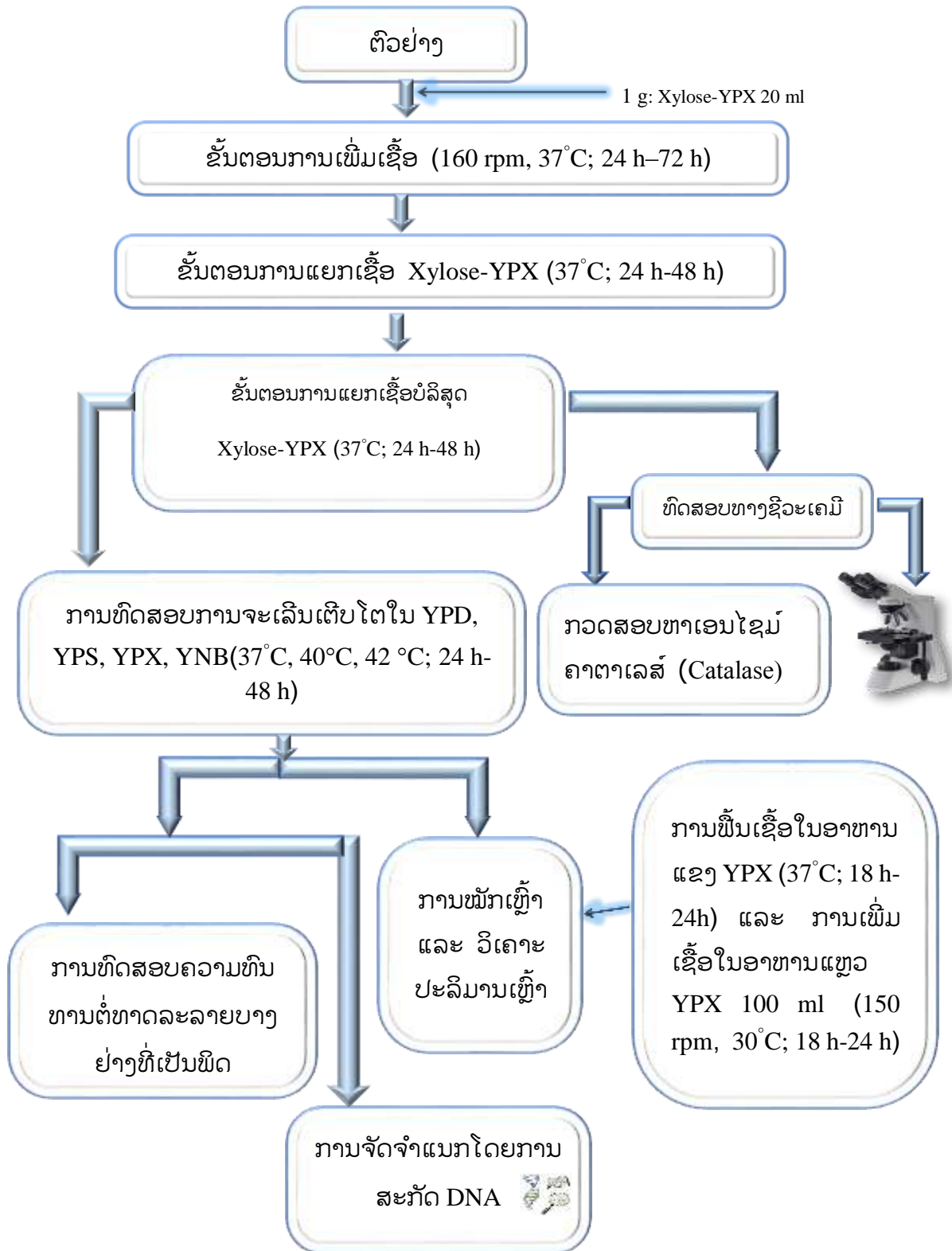
ຕົວຢ່າງ: ປະເພດສິ່ງເສດເຫຼືອທາງການກະເສດ (ກາກໝາກພ້າວ)

- ໄອໂຊເລດທີ 22
- ລະຫັດຕົວຢ່າງ Ln-01 (Ln ລະຫັດປະເພດຂອງສິ່ງເສດເຫຼືອ ແລະ 01 ນ້ຳເບີຂອງຕົວຢ່າງ)
- ຄັດແຍກຈາກກາກໝາກພ້າວ ເອົາພາກສ່ວນກາບນອກ
- ສະຖານທີ່ເກັບ: ເມືອງໄຊທານີ ນະຄອນຫຼວງວຽງຈັນ
- ເກັບຕົວຢ່າງ: 23.04.2017
- ສະພາບຕົວຢ່າງ: ກາກໝາກພ້າວ (ແຫ້ງ)

ຕົວຢ່າງ: ປະເພດສິ່ງເສດເຫຼືອທາງການກະເສດ (ເພືອງ)

- ໄອໂຊເລດທີ 35
- ລະຫັດຕົວຢ່າງ Ln-28 (Ln ລະຫັດປະເພດຂອງສິ່ງເສດເຫຼືອ ແລະ 28 ນ້ຳເບີຂອງຕົວຢ່າງ)
- ຄັດແຍກຈາກເພືອງ
- ສະຖານທີ່ເກັບ: ເມືອງໄຊທານີ ນະຄອນຫຼວງວຽງຈັນ
- ເກັບຕົວຢ່າງ: 23.04.2017
- ສະພາບຕົວຢ່າງ: ເພືອງ (ປຽກ)

ຂ. ວິທີປະຕິບັດໃນຫ້ອງທົດລອງ



ຮູບທີ 3.1 ແຜນວາດຂັ້ນຕອນການປະຕິບັດໃນຫ້ອງທົດລອງ

3.3.3 ເຄື່ອງມືທີ່ນຳໃຊ້ເກັບກຳຂໍ້ມູນ

ກ. ອຸປະກອນ

ອຸປະກອນທີ່ໃຊ້ເຂົ້າໃນການທົດລອງຄັ້ງນີ້ ປະກອບມີດັ່ງນີ້: ພັ້ນໜຶ່ງຂ້າເຊື້ອດ້ວຍຄວາມດັນ (Autoclave), ຕູ້ເຂ່ຍເຊື້ອ (Lamina air flow), Shacker incubater (laboratory companion Is-971 R), ຕູ້ອົບ (Precicion scientific. P5), Gas Chromatography (G-C 2010 plus. SHIMAD 24), ກ້ອງຈຸລະທັດ (Compound Microscop), Vortex (Scientific industrial chromatograph), ຕູ້ປົ່ມເຊື້ອ (TAITEC), Spectrophotometer (SHIMADZU), Centrifuge (Hettich EBA 3s ແລະ 8s) ແລະ ອຸປະກອນອື່ນໆທີ່ຈຳເປັນ.

ຂ. ອາຫານລ້ຽງເຊື້ອ

ອາຫານລ້ຽງເຊື້ອທີ່ໃຊ້ເຂົ້າໃນການທົດລອງຄັ້ງນີ້ປະກອບມີ: Yeast extract, Peptone, Yeast Nitrogen Base (YNB), Yeast extract Peptone D-Glucose (YPD), Yeast extract Peptone Sucrose (YPS) ແລະ Yeast extract Peptone Xylose (YPX).

ຄ. ທາດເຄມີ

ທາດເຄມີທີ່ນຳໃຊ້ເຂົ້າໃນການທົດລອງຄັ້ງນີ້ປະກອບມີດັ່ງນີ້: ທາດປະສົມເຄມີອົງຄະທາດ ເຊັ່ນ: ນ້ຳຕານ Xylose, Glucose, Sucrose, ເຫຼົ້າ Ethanal (70%, 90% ແລະ 95%), ແລະ ທາດເຄມີ ອະນົງຄະທາດ ເຊັ່ນ: H₂O₂, ຊຸດຍ້ອມສີແກງມ (Cristal violate, Iodine, Acetone alcohol, Safranin O, ນ້ຳກັນ), Oil-immersin objective ແລະ ຊຸດທາດເຄມີໃນການສະກັດ DNA.

3.4 ການວິເຄາະຂໍ້ມູນ ແລະ ການອະທິບາຍຜົນ

ການສຶກສາຄົ້ນຄວ້າໃນຄັ້ງນີ້ ຜົນທີ່ໄດ້ຢູ່ໃນຮູບແບບຄັດເລືອກເອົາເຊື້ອທີ່ມີລັກສະນະທາງສັນຖານ ວິທະຍາທີ່ແຕກຕ່າງກັນມາສຶກສາ ເບິ່ງຄວາມສາມາດໃນການຈະເລີນເຕີບໂຕ ແລະ ຄວາມສາມາດໃນ ການຜະລິດເຫຼົ້າ. ນອກນັ້ນໄດ້ນຳເອົາໄອໂຊເລດທີ່ເຮົາຄັດແຍກໄດ້ມາປຸງບູທຽບກັບເຊື້ອ *K. marxianus* BUNL-21 ທີ່ເປັນໂຕມາດຕະຖານ ຈະໄດ້ປຸງບູທຽບເບິ່ງຄວາມສາມາດໃນການຜະລິດເຫຼົ້າ. ໃນການວິ ໄຈຫາປະລິມານການຈະເລີນເຕີບໂຕ ແລະ ປະລິມານເຫຼົ້າ ແມ່ນນຳໃຊ້ສູດຄິດໄລ່ ແລະ ນຳໃຊ້ໂປຣ ແກມ SPSS Version 20.1 ແລະ Excel Version 2016 ໃນການວິເຄາະຂໍ້ມູນ.

ພາກທີ 4

ຜົນການສຶກສາ ແລະ ການສົນທະນາ

4.1 ຜົນການສຶກສາ

4.1.1 ຜົນຂອງການຄັດເລືອກຢີສທີ່ສາມາດໝັກໄຊໂລສໃຫ້ເປັນເຫຼົ້າເອຕາໂນລຈາກສິ່ງເສດເຫຼືອປະເພດ Lignocelluloses

ກ. ຜົນຂອງການເພີ່ມເຊື້ອ

ຫຼັງຈາກເພີ່ມເຊື້ອໃນອາຫານແຫຼວ YPX ດ້ວຍການບົ່ມທີ່ອຸນຫະພູມ 37°C ເປັນເວລາ 24-48 ຊົ່ວໂມງ, ເຮົາສັງເກດເຫັນວ່າມີເຊື້ອຢີສເກີດຂຶ້ນຢູ່ເທິງໜ້າອາຫານ ເຊິ່ງມີລັກສະນະເປັນຝ້າສີຂາວນວນກະຈາຍຢູ່ເທິງຜິວໜ້າຂອງຕົວຢ່າງ, ບາງຕົວຢ່າງມີລັກສະນະເປັນຝຸ່ນຜົງກະຈາຍຢູ່ໜ້າຂອງຕົວຢ່າງ, ບາງຕົວຢ່າງມີຝອດຢູ່ຕາມໜ້າຂອງຕົວຢ່າງ ແລະ ໃນບາງຕົວຢ່າງກໍບໍ່ມີການຈະເລີນເຕີບໂຕຂອງເຊື້ອເລີຍ ແລະ ສ່ວນທີ່ເປັນນໍ້າຈະຊັນ. ລັກສະນະການຈະເລີນເຕີບໂຕຂອງເຊື້ອຢີສໃນຕົວຢ່າງດັ່ງສະແດງໃນຮູບທີ 4.1.



ກ. ຫຍ້ານວນນ້ອຍ



ຂ. ໝາກນອຍ



ຄ. ໃບສາລີ



ງ. ກາກໝາກພ້າວ

ຮູບທີ 4.1 ລັກສະນະທາງສັນຖານວິທະຍາຂອງເຊື້ອຢີສ

ຂ. ຜົນຂອງການແຍກເຊື້ອບໍລິສຸດ

ຫຼັງຈາກພົບການຈະເລີນເຕີບໂຕຂອງເຊື້ອຢີສ໌ໃນຂັ້ນຕອນການພິມເຊື້ອໄດ້ນຳເອົາເຊື້ອຢີສ໌ມາແຍກໃຫ້ບໍລິສຸດໂດຍໃຊ້ເຂັມເຂ່ຍເຊື້ອແຕະເອົາຕົວຢ່າງເຊື້ອຢີສ໌ມາເຂ່ຍລົງໃນອາຫານລ້ຽງເຊື້ອ YPX Agar ແລ້ວນຳໄປພິມໄວ້ທີ່ອຸນຫະພູມ 37°C ເປັນເວລາ 24-48 ຊົ່ວໂມງ. ຈະສັງເກດເຫັນວ່າເຊື້ອເກີດຂຶ້ນເປັນໂຄໂລນີດຽວ, ເປັນກຸ່ມໂຄໂລນີ, ມີລັກສະນະເປັນສີຂາວນວນ, ສີຂາວດ້ານ, ສີນ້ຳຕານອ່ອນ, ມີຮູບຮ່າງມົນກົມ ແລະ ຮູບໄຂ່ ດັ່ງສະແດງໃນຮູບທີ 4.2.



ກ. ຮູບໄຂ່, ຂາວດ້ານ



ຂ. ຮູບໄຂ່, ຂາວນວນ



ຄ. ຮູບມົນກົມ, ຂາວດ້ານ



ງ. ຮູບມົນກົມ, ຂາວນວນ

ຮູບທີ 4.2 ລັກສະນະການຈະເລີນເຕີບໂຕຂອງຢີສ໌ໃນອາຫານແຂງ YPX

ຫຼັງຈາກໄດ້ນັບຈຳນວນໂຄໂລນີທັງໝົດທີ່ເກີດຂຶ້ນເທິງຈານອາຫານ YPX Agar ແລະ ໄດ້ຄັດເລືອກເອົາໂຄໂລນີດຽວໆມາແຍກໃຫ້ເປັນເຊື້ອບໍລິສຸດ ເຊິ່ງເອີ້ນວ່າ “ໄອໂຊເລດ” (Isolate) ແລະ ສາມາດແຍກໄດ້ທັງໝົດ 60 ໄອໂຊເລດຈາກຕົວຢ່າງທັງໝົດ 4 ປະເພດມີ 56 ຊະນິດ ດັ່ງສະແດງໃນຕາຕະລາງທີ 4.2.

ຕາຕະລາງທີ 4.1 ຈຳນວນໄອໂຊເລດທັງໝົດທີ່ແຍກໄດ້

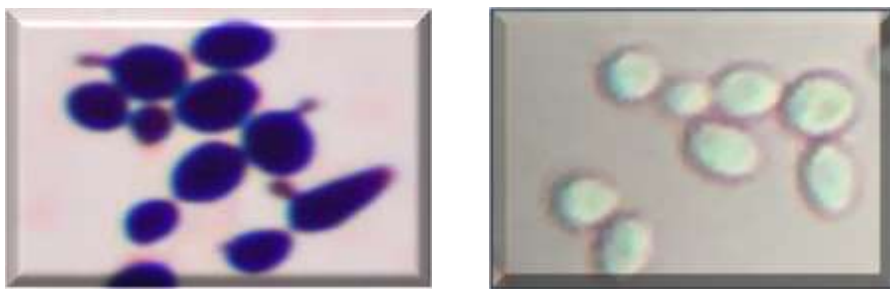
ລຳດັບ	ປະເພດຕົວຢ່າງ	ຈຳນວນຕົວຢ່າງ	ຈຳນວນໄອໂຊເລດ
1	ໃບໄມ້	7	7
2	ດອກໄມ້	8	8
3	ໝາກໄມ້	12	14
4	ສິ່ງເສດເຫຼືອ	29	31
ລວມທັງໝົດ		56	60

ຫຼັງຈາກນັ້ນໄດ້ເກັບຮັກສາເຊື້ອບໍລິສຸດທີ່ເປັນໂຄໂລນີດຽວນີ້ໄວ້ ເພື່ອສຶກສາຄຸນລັກສະນະຕ່າງໆຕໍ່ໄປ.

4.1.2 ສຶກສາລັກສະນະທາງສັນຖານວິທະຍາຂອງຢີສ໌ ແລະ ການທົດສອບຊີວະເຄມີ

ກ. ສຶກສາລັກສະນະທາງສັນຖານວິທະຍາ

ການສຶກສາລັກສະນະທາງສັນຖານວິທະຍາຂອງຢີສ໌ດ້ວຍການຍ້ອມສີແກຣມໂດຍນຳເອົາໄອໂຊເລດທີ່ຖືກຍ້ອມແກຣມມາແລ້ວ ນຳໄປສັງເກດດ້ວຍກ້ອງຈຸລະທັດທີ່ມີກຳລັງຂະຫຍາຍ 100 x. ສັງເກດເຫັນຈຸລັງຂອງຢີສ໌ຕິດສີຟ້າ ເຊິ່ງເປັນແກຣມບວກ (Gram positive) ດັ່ງສະແດງໃນຮູບທີ 4.3.



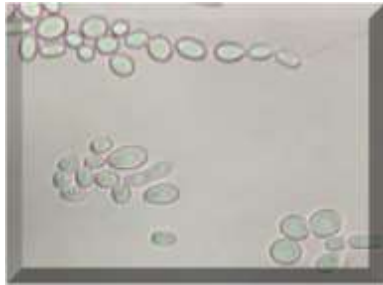
ຮູບທີ 4.3 ການຍ້ອມສີແກຣມຂອງເຊື້ອຢີສ໌

ຈາກນັ້ນໄດ້ນຳເອົາທັງ 35 ໄອໂຊເລດມາສັງເກດເບິ່ງຮູບຮ່າງທາງສັນຖານວິທະຍາດ້ວຍກ້ອງຈຸລະທັດທີ່ມີກຳລັງຂະຫຍາຍ 100 x ສັງເກດເຫັນເຊື້ອຢີສ໌ມີຮູບຮ່າງແຕກຕ່າງກັນດັ່ງຕາຕະລາງຕໍ່ໄປນີ້:

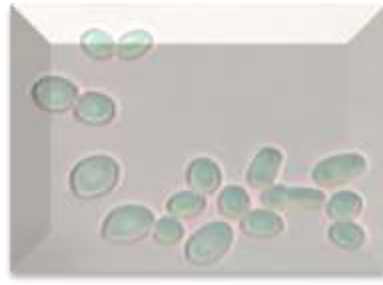
ຕາຕະລາງທີ 4.2 ລັກສະນະທາງສັນຖານວິທະຍາຂອງແຕ່ລະໄອໂຊເລດ

ລຳດັບ	ລະຫັດໄອໂຊເລດ	ຮູບຮ່າງ ແລະ ສີຂອງໂຄໂລນີ	ຮູບຮ່າງຈຸລັງຢີສ໌
1	OX 1 ແລະ OX 2	ມົນກົມ, ສີຂາວດ້ານ	ມົນກົມ
2	OX 3 ແລະ OX 4	ມົນກົມ, ຂາວດ້ານ	ຮູບໄຂ່
3	OX 5	ກົມ, ຂາວດ້ານ	ມົນກົມ
4	OX 6	ມົນກົມ, ຂາວດ້ານ	ຮູບໄຂ່
5	OX 7	ມົນກົມ, ຂາວດ້ານ	ຮູບໄຂ່
6	OX 8	ມົນກົມ, ຂາວດ້ານ	ມົນກົມ
7	OX 9	ມົນກົມ, ຂາວດ້ານ	ກົມຍາວ
8	OX 10	ກົມ, ຂາວນວນ	ກົມ
9	OX 11 ແລະ OX 12	ຮູບໄຂ່, ຂາວດ້ານ	ຮູບໄຂ່
10	OX 13 ແລະ OX 14	ຮູບໄຂ່, ຂາວດ້ານ	ຮູບໄຂ່
11	OX 15 ແລະ OX 16	ຮູບໄຂ່, ຂາວດ້ານ	ຮູບໄຂ່
12	OX 17	ຮູບກົມ, ຂາວດ້ານ	ມົນກົມ
13	OX 18	ຮູບໄຂ່, ຂາວນວນ	ມົນກົມ
14	OX 19	ຮູບໄຂ່, ຂາວນວນ	ກົມ
15	OX 20	ມົນກົມ, ຂາວດ້ານ	ມົນກົມ
16	OX 21	ຮູບໄຂ່, ຂາວດ້ານ	ຮູບໄຂ່
17	OX 22	ຮູບໄຂ່, ຂາວນວນ	ຮູບໄຂ່ຍາວ
18	OX 23	ຮູບໄຂ່, ຂາວດ້ານ	ຮູບໄຂ່
19	OX 24	ມົນກົມ, ຂາວດ້ານ	ກົມຍາວ
20	OX 25	ມົນ, ຂາວນວນເຍື້ມໆ	ມົນ
21	OX 26 ແລະ OX 27	ຮູບໄຂ່, ຂາວດ້ານ	ຮູບໄຂ່ຍາວ
22	OX 28	ຮູບໄຂ່, ຂາວນວນ	ຮູບໄຂ່
23	OX 29 ແລະ OX 30	ຮູບໄຂ່, ຂາວນວນ	ຮູບໄຂ່
24	OX 31	ຮູບໄຂ່, ຂາວນວນ	ຮູບໄຂ່
25	OX 32	ຮູບໄຂ່, ຂາວນວນ	ຮູບໄຂ່
26	OX 33	ມົນກົມ, ຂາວນວນ	ມົນກົມ
27	OX 34	ຮູບໄຂ່, ຂາວດ້ານ	ຮູບໄຂ່
28	OX 35	ມົນກົມ, ຂາວນວນ	ມົນກົມ

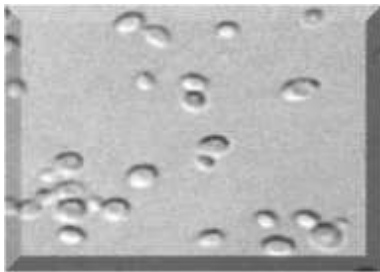
ຈາກຕາຕະລາງຂ້າງເທິງ ເຊື້ອຢີສມີຮູບຮ່າງແຕກຕ່າງກັນຄື: ຮູບມົນກົມ, ຮູບໄຂ່ ແລະ ຮູບທ່ອນສັ້ນ, ບາງຈຸລັງມີການແຕກໜໍ່ ແລະ ມີການແບ່ງຕົວ ເຊິ່ງສັງເກດເຫັນຈຸລັງຂອງຢີສຈະຈັບກັນເປັນກຸ່ມ ແລະ ແຍກກັນເປັນຈຸລັງດຸ່ງວງ ດັ່ງສະແດງໃນຮູບທີ 4.4.



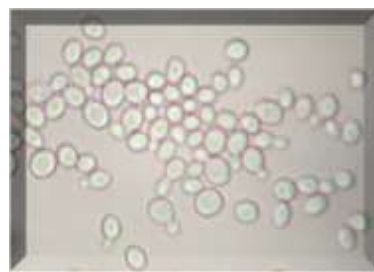
ກ. ຮູບໄຂ່ຍາວ



ຂ. ຮູບຮີ



ຄ. ຮູບໄຂ່



ງ. ຮູບມົນກົມ

ຮູບທີ 4.4 ລັກສະນະທາງສັນຖານວິທະຍາຂອງຢີສ

ຂ. ຜົນການທົດສອບຊີວະເຄມີ

ການທົດສອບທາງຊີວະເຄມີ ໂດຍການທົດສອບຫາເອັນໄຊມຄາຕາເລສ (Catalase) ດ້ວຍການຢອດ H_2O_2 ໃສ່ຈຸລັງຂອງຢີສ ພົບວ່າຢີສທຸກໂອໂຊເລດມີເອັນໄຊມຄາຕາເລສ (Catalase Positive) ເຊິ່ງເຮັດໃຫ້ຈຸລັງຢີສທີ່ສຳຜັດກັບ H_2O_2 ເກີດເປັນຝອດຂຶ້ນ ເຊິ່ງປະຕິກິລິຍານີ້ແມ່ນການປ່ຽນແປງ H_2O_2 ໃຫ້ເປັນ H_2O ແລະ O_2 ເຮັດໃຫ້ຄວາມເປັນພິດຂອງ H_2O_2 ຕໍ່ຈຸລັງຂອງຢີສຫຼຸດລົງ. ລັກສະນະການເກີດປະຕິກິລິຍາລະຫວ່າງຈຸລັງຢີສ ແລະ H_2O_2 ສະແດງດັ່ງຮູບລຸ່ມນີ້.



ຮູບທີ 4.5 ການທົດສອບການຈະເລີນເຕີບໂຕໃນອາຫານແຂງທີ່ອຸນຫະພູມຕ່າງໆ

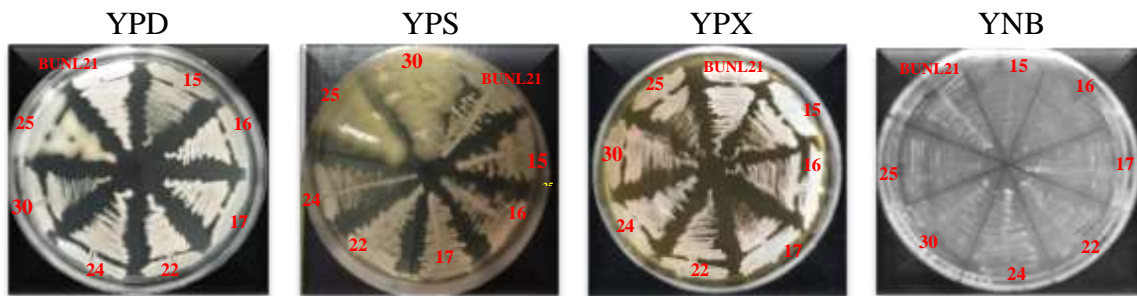
ຈາກຈຳນວນ 60 ໄອໂຊເລດທີ່ແຍກໄດ້ໃນຕາຕະລາງທີ 1 ໄດ້ຄັດເລືອກເອົາ 35 ໄອໂຊເລດ ມາທົດສອບ ການຈະເລີນເຕີບໂຕຢູ່ໃນທາດອາຫານແຂງ YPD, YPS, YPX ແລະ YNB ທີ່ອຸນຫະພູມ 37°C, 40°C, 42°C ແລະ 45°C ເປັນເວລາ 24-48 ຊົ່ວໂມງ. ພົບວ່າເຊື້ອຍີສ໌ສາມາດຈະເລີນເຕີບໂຕໃນແຕ່ລະທາດ ອາຫານໄດ້ແຕກຕ່າງກັນດັ່ງສະແດງໃນຕາຕະລາງທີ 4.3.

ຕາຕະລາງທີ 4.3 ລັກສະນະການຈະເລີນເຕີບໂຕຂອງຢີສ໌ໃນອາຫານແຂງ

ລຳດັບ Isolation	ອຸນຫະພູມ 37°C				ອຸນຫະພູມ 40°C				ອຸນຫະພູມ 42°C				ອຸນຫະພູມ 45°C			
	YPD	YPS	YPX	YNB	YPD	YPS	YPX	YNB	YPD	YPS	YPX	YNB	YPD	YPS	YPX	YNB
OX 1	++	+++	++	+	-	-	+	++	-	-	-	-	-	-	-	-
OX 3	+	+++	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
OX 4	++	+++	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
OX 5	+++	+++	++	++	++	+++	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-
OX 8	+++	+++	++	++	+	++	++	++	-	++	-	-	-	+++	-	-
OX 9	+	+++	+++	+++	-	+	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-
OX 10	++	++	+++	-	+++	+++	+++	-	++	-	-	-	+	-	-	-
OX 12	+	+++	++	+++	-	+++	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
OX 13	+++	++	+++	+++	-	+	+++	++	-	-	-	-	-	-	-	-
OX 15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	-
OX 16	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++	++	+++	+++	+	+	+++
OX 17	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	++	+++	++	++	++	+++	+	-	-
OX 19	++	+++	++	+++	+	+++	-	+	+++	-	-	-	+++	-	-	-
OX 22	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+
OX 24	+++	+++	+++	+	++	+++	++	-	+	+++	-	-	-	+++	-	-
OX 25	+++	+++	+++	+	+++	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
OX 27	+++	+++	+++	++	+	+++	-	+	+++	-	-	-	+++	-	-	-
OX 29	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	++	+++
OX 30	+++	+++	+++	++	++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++	++	+++	+++	++
OX 31	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+	-	++	+++	++	-	-	+++	+
OX 32	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	-	+++	-	-	-	+	-	-
OX 34	+++	+++	+	-	+++	+++	-	-	-	++	-	-	-	+	-	-
BUNL21	++	+++	+++	++	+++	+++	+++	++	+++	+++	++	++	+++	+++	+	+

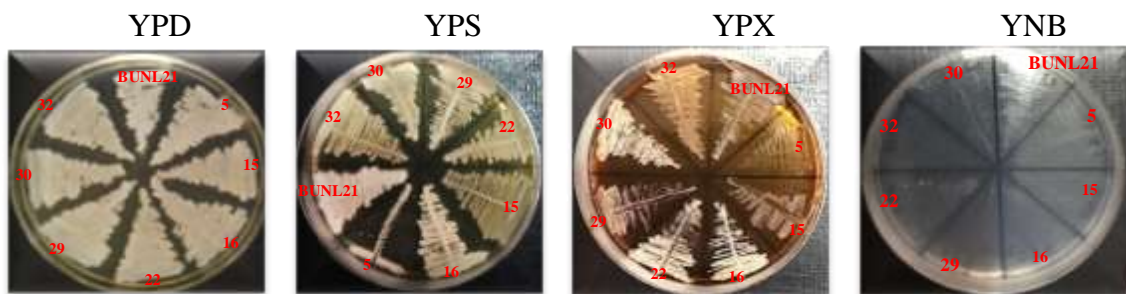
ໝາຍເຫດ: +++ ຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ດີ; ++ ຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ປານກາງ; + ຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ໜ້ອຍ; - ບໍ່ຈະເລີນເຕີບໂຕ ແລະ ສັນຍາລັກສີຂຽວ ໝາຍເຖິງເຊື້ອທີ່ຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ດີກວ່າໝູ່

ຈາກຕາຕະລາງທີ 3 ພົບວ່າເຊື້ອຢີສຈຳນວນຫຼາຍສາມາດຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ດີໃນອາຫານ YPD, YPS, YPX ແລະ YNB ທີ່ອຸນຫະພູມ 37°C ເຊິ່ງມີ OX15, OX16, OX22 ແລະ OX29 ນອກຈາກນັ້ນຍັງພົບ OX17, OX25, OX30 ແລະ *K. marxianus* BUNL-21 ທີ່ສາມາດຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ປານກາງ, ບາງໄອໂຊເລດຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ໜ້ອຍ ແລະ ບາງໄອໂຊເລດບໍ່ສາມາດຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ເລີຍ ໃນອາຫານດັ່ງກ່າວຕາມລຳດັບ ດັ່ງສະແດງໃນຮູບລຸ່ມນີ້:



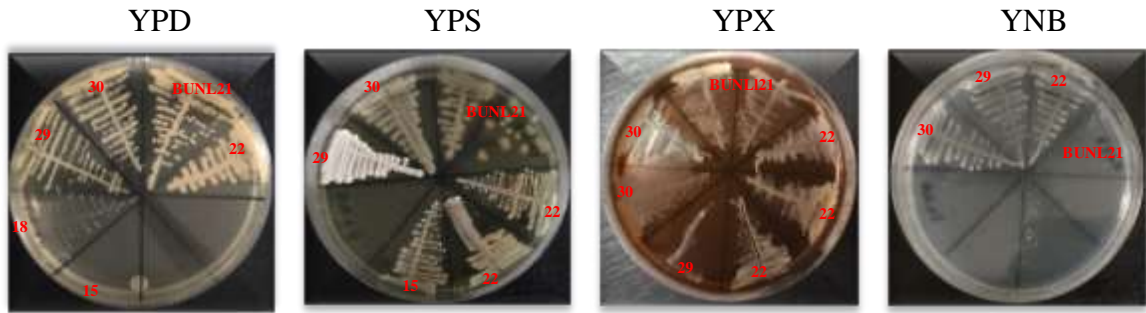
ຮູບທີ 4.6 ລັກສະນະການຈະເລີນເຕີບໂຕຂອງເຊື້ອຢີສທີ່ອຸນຫະພູມ 37°C ໃນອາຫານຊະນິດຕ່າງໆ

ຕໍ່ມາອຸນຫະພູມ 40°C ເຊິ່ງມີ OX22, OX29, OX30 ແລະ OX32 ນອກຈາກນັ້ນຍັງພົບ OX5, OX15, OX16 ແລະ BUNL21 ທີ່ສາມາດຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ປານກາງ, ບາງໄອໂຊເລດຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ໜ້ອຍ ແລະ ບາງໄອໂຊເລດບໍ່ສາມາດຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ເລີຍ ໃນອາຫານດັ່ງກ່າວຕາມລຳດັບ ດັ່ງສະແດງໃນຮູບລຸ່ມນີ້:



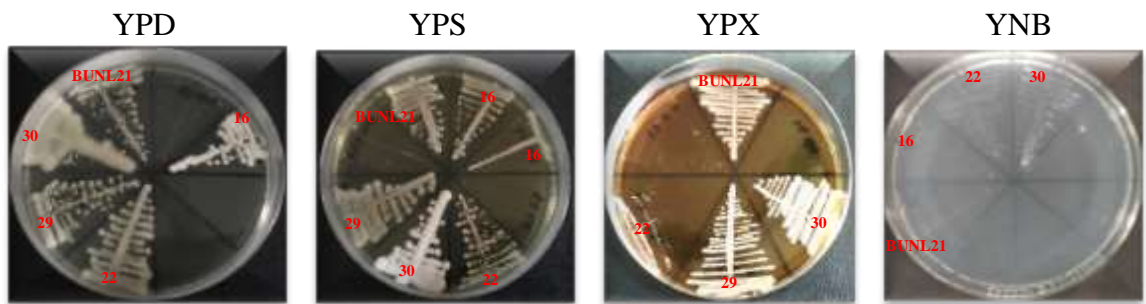
ຮູບທີ 4.7 ລັກສະນະການຈະເລີນເຕີບໂຕຂອງເຊື້ອຢີສທີ່ອຸນຫະພູມ 40°C ໃນອາຫານຊະນິດຕ່າງໆ

ສ່ວນອຸນຫະພູມ 42°C ເຊິ່ງມີໄອໂຊເລດ OX15 ແລະ OX22 ນອກຈາກນັ້ນຍັງພົບ OX 8, OX29, OX30 ແລະ BUNL21 ທີ່ສາມາດຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ປານກາງ ແລະ ມີ 7 ໄອໂຊເລດທີ່ບໍ່ສາມາດຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ເລີຍ ໃນອາຫານດັ່ງກ່າວຕາມລຳດັບ ດັ່ງສະແດງໃນຮູບລຸ່ມນີ້:



ຮູບທີ 4.8 ລັກສະນະການຈະເລີນເຕີບໂຕຂອງເຊື້ອຢີສທີ່ອຸນຫະພູມ 42°C ໃນອາຫານຊະນິດຕ່າງໆ

ໃນອຸນຫະພູມ 45°C ມີ 4 ໄອໂຊເລດເທົ່ານັ້ນ ທີ່ສາມາດຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ດີ ເຊັ່ນ: OX16, OX22, OX29, OX30 ແລະ BUNL21 ເຊິ່ງມີໜ້ອຍກວ່າທັງ 3 ອຸນຫະພູມທີ່ກ່າວມາຂ້າງເທິງ ແລະ ມີບາງໄອໂຊເລດທີ່ບໍ່ສາມາດຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ເລີຍ ໃນອາຫານດັ່ງກ່າວ ດັ່ງສະແດງໃນຮູບລຸ່ມນີ້:



ຮູບທີ 4.9 ລັກສະນະການຈະເລີນເຕີບໂຕຂອງເຊື້ອຢີສທີ່ອຸນຫະພູມ 45°C ໃນອາຫານຊະນິດຕ່າງໆ

ສະນັ້ນ, ຈາກຕາຕະລາງທີ 2 ເຮົາຈຶ່ງສາມາດສະຫຼຸບໄດ້ວ່າ: ທາດອາຫານ ແລະ ອຸນຫະພູມ ກໍເປັນປັດໃຈທີ່ສໍາຄັນຕໍ່ກັບການຈະເລີນເຕີບໂຕຂອງຢີສ. ນອກຈາກນີ້, ສໍາລັບແຫຼ່ງຄາບອນ ກໍເປັນປັດໃຈທີ່ມີຜົນຕໍ່ການຈະເລີນເຕີບໂຕ ເຊັ່ນ: ແຫຼ່ງຄາບອນທີ່ມີ 6 ອາໂຕມຄາບອນ ຢີສຈະສາມາດຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ຫຼາຍກວ່າແຫຼ່ງຄາບອນ 5 ອາໂຕມຄາບອນ ເຊິ່ງວ່າຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ໜ້ອຍກວ່າ.

4.1.3 ຜົນການຄັດເລືອກຢີສທີ່ສາມາດໃຊ້ Xylose ໃຫ້ເປັນເຫຼົ້າເອຕາໂນລ

ກ. ຜົນຂອງການຟື້ນເຊື້ອໃນອາຫານແຂງ ແລະ ການເພີ່ມເຊື້ອໃນອາຫານແຫຼວ

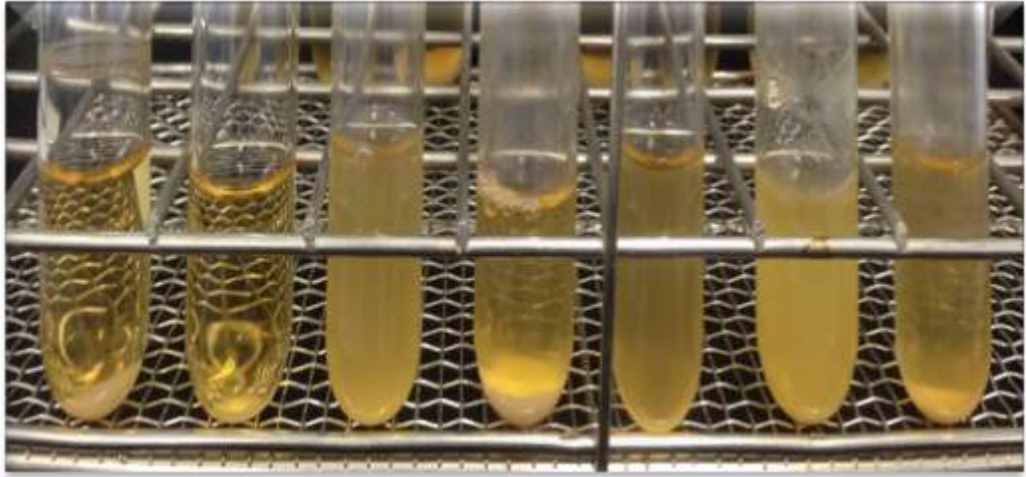
ຫຼັງຈາກທີ່ໄດ້ນໍາເຊື້ອຢີສທັງໝົດ 35 ໄອໂຊເລດ ມາທົດສອບຄວາມສາມາດໃນການໝັກເຫຼົ້າເອຕາໂນລໂດຍໃຊ້ນໍ້າຕານໄຊໂລສ 2%, ແປັບໂຕນ 2% ແລະ Yeast extract 1% ເປັນແຫຼ່ງຄາບອນ ໂດຍໃຊ້ເວລາໃນການໝັກ 48 ຊົ່ວໂມງ ທີ່ອຸນຫະພູມ 37°C ແລະ ໝັກໃນສະພາວະການສັ່ນ (Shake) ທີ່ຄວາມໄວ 160 rpm ແລ້ວພົບວ່າມີ 23 ໄອໂຊເລດ ທີ່ສາມາດໃຊ້ໄຊໂລສໄດ້ໃນຂະບວນການໝັກເຫຼົ້າເອຕາໂນລໄດ້. ການຈະເລີນເຕີບໂຕຂອງເຊື້ອຢີສໃນອາຫານແຫຼວມີລັກສະນະແຕກຕ່າງກັນ ເຊິ່ງແບ່ງອອກເປັນ 3 ກຸ່ມ ດັ່ງຕາຕະລາງລຸ່ມນີ້:

ຕາຕະລາງທີ 4.4 ການຈະເລີນເຕີບໂຕຂອງເຊື້ອຢີສ໌ໃນອາຫານແຫຼວມີລັກສະນະແຕກຕ່າງກັນ

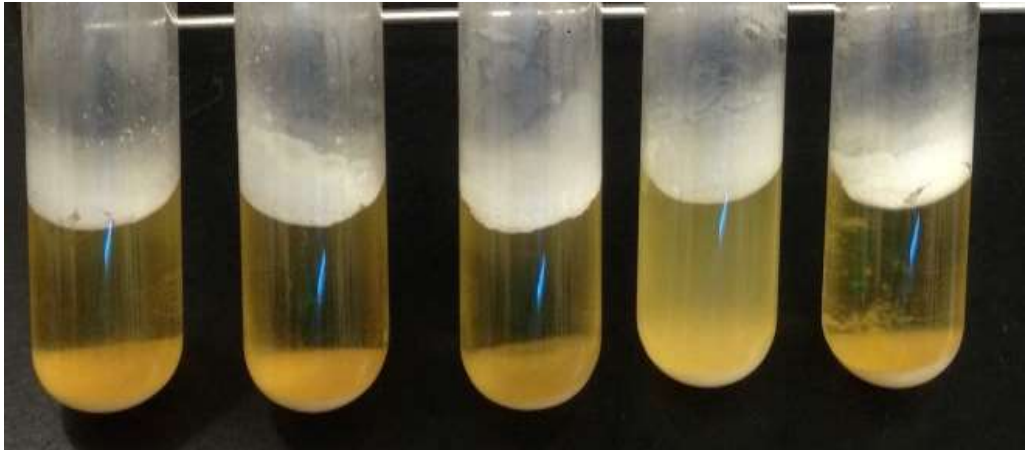
ໄອໂຊເລດ	ຈຸລັງຈົມຢູ່ກິ່ນຫຼອດ	ຈຸລັງຈົມຢູ່ກິ່ນຫຼອດຫຼາຍ ແລະ ລອຍຂຶ້ນມາເທິງຜິວໜ້າອາຫານຫຼາຍ	ຈຸລັງຈົມຢູ່ກິ່ນຫຼອດຫຼາຍ ແລະ ລອຍຂຶ້ນມາເທິງຜິວໜ້າອາຫານໜ້ອຍ
OX1		✓	
OX2		✓	
OX3		✓	
OX4		✓	
OX5		✓	
OX6		✓	
OX7		✓	
OX8		✓	
OX9		✓	
OX10			✓
OX11			✓
OX12		✓	
OX13		✓	
OX15			✓
OX16	✓		
OX17			✓
OX18		✓	
OX19		✓	
OX20		✓	
OX21		✓	
OX22			✓
OX23		✓	
OX24			✓
OX25	✓		
OX26		✓	
OX27		✓	
OX28	✓		
OX29	✓		
OX30			✓
OX31	✓		
OX32			✓
OX33			✓
OX34		✓	
OX35	✓		

ໝາຍເຫດ: ✓ ໝາຍເຖິງລັກສະນະການຈະເລີນເຕີບໂຕໃນອາຫານແຫຼວ YPX 2%

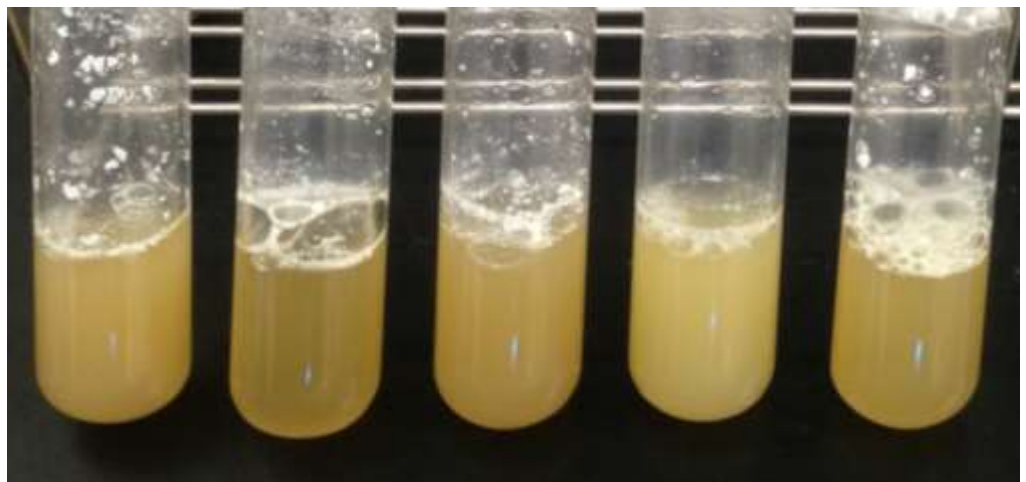
✓ ໝາຍເຖິງໄອໂຊເລດທີ່ສາມາດໃຊ້ໄຊໂລສໃນຂະບວນການໝັກເຫຼົ້າເອຕາໂນລໄດ້



ຮູບທີ 4.10 ລັກສະນະການຈະເລີນເຕີບໂຕໃນອາຫານແຫຼວ YPX 2% ຈຸລັງຈົມຢູ່ກິ້ນຫຼອດ

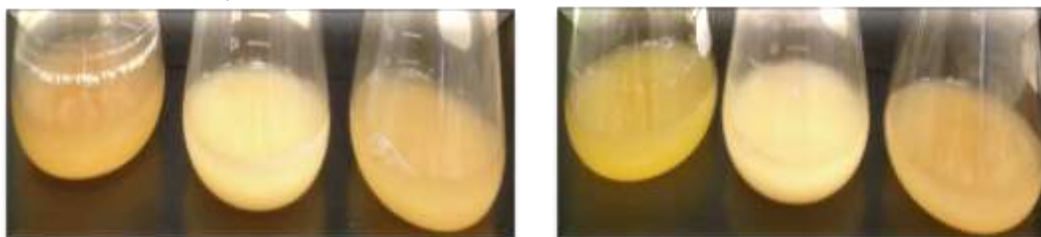


ຮູບທີ 4.11 ລັກສະນະການຈະເລີນເຕີບໂຕໃນອາຫານແຫຼວ YPX 2% ຈຸລັງຈົມຢູ່ກິ້ນຫຼອດຫຼາຍ ແລະ ລອຍຂຶ້ນມາເທິງຜິວໜ້າອາຫານຫຼາຍ



ຮູບທີ 4.12 ລັກສະນະການຈະເລີນເຕີບໂຕໃນອາຫານແຫຼວ YPX 2% ຈຸລັງຈົມຢູ່ກິ້ນຫຼອດຫຼາຍ ແລະ ລອຍຂຶ້ນມາເທິງຜິວໜ້າອາຫານໜ້ອຍ

ດັ່ງນັ້ນ, ຈຶ່ງໄດ້ນຳເອົາ 35 ໄອໂຊເລດນີ້ໄປສຶກສາການໝັກເຫຼົ້າເອຕາໂນລທີ່ອຸນຫະພູມ 37°C ເຊິ່ງການກຽມທົວເຊື້ອເພື່ອໃຊ້ໃນການໝັກເຫຼົ້າເອຕາໂນລທີ່ອຸນຫະພູມ 37°C ແມ່ນໃຊ້ເຂັມເຂ່ຍເຊື້ອຊຸດເອົາຈຸລັງຢີສທີ່ຈະເລີນເຕີບໂຕໃນອາຫານແຂງ YPX ໃຫ້ເຕັມບ້ວງເຂັມແລ້ວເອົາລົງໃສ່ອາຫານແຫຼວທີ່ກຽມໄວ້. ນຳໄປສັ່ນໃນເຄື່ອງສັ່ນທີ່ຄວາມຄຸມອຸນຫະພູມ 37°C ເປັນເວລາ 18-24 ຊົ່ວໂມງ. ທົວເຊື້ອທີ່ສາມາດນຳໃຊ້ໄດ້ນັ້ນມີການຈະເລີນເຕີບໂຕຂອງເຊື້ອຢີສ ເຮັດໃຫ້ອາຫານໃນຂວດມີລັກສະນະແຕກຕ່າງກັນດັ່ງສະແດງໃນຮູບຕໍ່ໄປນີ້.



ຮູບທີ 4.13 ລັກສະນະການຈະເລີນເຕີບໂຕຂອງທົວເຊື້ອ

ຂ. ການຈະເລີນເຕີບໂຕຂອງເຊື້ອຢີສໃນລະຫວ່າງການໝັກເອຕາໂນລ

ເຊື້ອຢີສທີ່ຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ດີໃນອາຫານ YPX ໄດ້ນຳມາທົດສອບການໝັກເຫຼົ້າເອຕາໂນລ ລວມມີທັງໝົດ 6 ໄອໂຊເລດ ຄື: OX15, OX16, OX17, OX22, OX25 ແລະ OX 30. ໃນການໝັກເຫຼົ້າຄັ້ງນີ້ ແມ່ນໄດ້ນຳໃຊ້ເຊື້ອ *K. marxianus* BUNL-21 ເປັນຕົວປຽບທຽບ ໂດຍວັດແທກຄວາມໜາແໜ້ນ ຫຼື ຄວາມເຂັ້ມຂຸ້ນຂອງຈຸລັງຢີສໃນອາຫານແຫຼວດ້ວຍເຄື່ອງ Spectrophotometer ທີ່ຄວາມຍາວຄື້ນ 660 nm ໃນທຸກໆ 24 ຊົ່ວໂມງ. ຈາກຜົນການທົດລອງພົບວ່າແຕ່ລະໄອໂຊເລດຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ດີພໍສົມຄວນໃນອາຫານທີ່ມີ Xylose 4% ເປັນແຫຼ່ງຄາບອນ ດັ່ງສະແດງໃນຕາຕະລາງທີ 4.5.

ຕາຕະລາງທີ 4.5 ການຈະເລີນເຕີບໂຕຂອງຢີສໃນໄລຍະເວລາຕ່າງໆ ທີ່ອຸນຫະພູມ 37°C

ສັນຍາລັກ	ຄ່າ OD / ໄລຍະເວລາ			
	24 h	48 h	72 h	96 h
OX15	7.06±0.02	9.12±0.56	15.31±4.30	8.12±4.63
OX16	6.26±0.28	10.09±1.85	12.95±4.31	7.19±0.55
OX17	7.57±1.88	10.62±1.01	12.52±0.61	7.30±0.60
OX22	17.84±2.12	25.88±0.28	37.52±1.36	15.78±2.44
OX25	7.23±0.55	5.73±0.55	5.00±1.55	5.53±3.87
OX30	16.80±1.64	25.39±1.73	36.29±1.32	20.59±1.12
BUNL21	9.69±0.29	14.84±2.54	18.89±1.03	10.52±2.31

ໝາຍເຫດ: ± ໝາຍເຖິງຄ່າຜັນປ່ຽນມາດຖານ (Standard Deviation), ສັນຍາລັກສີເຫຼືອງ ໝາຍເຖິງການຈະເລີນເຕີບໂຕຂອງຢີສຫຼາຍ, ສັນຍາລັກສີຂຽວ ໝາຍເຖິງ ການຈະເລີນເຕີບໂຕຂອງຢີສປານກາງ

ຈາກຕາຕະລາງທີ 4.5 ພົບວ່າເຊື້ອຢີສ໌ທັງ 3 ໄອໂຊເລດ ຄື: OX15, OX16 ແລະ OX17 ສາມາດຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ດີປານກາງ ເມື່ອທຽບກັບໄອໂຊເລດອື່ນໆໃນຊ່ວງເວລາຂອງການໝັກ ເຊິ່ງມີຄ່າ OD ເທົ່າກັບ 15.31, 12.95 ແລະ 12.52 ຕາມລຳດັບ. ສ່ວນໄອໂຊເລດ OX22 ສາມາດຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ດີທີ່ສຸດໃນຊ່ວງເວລາ 72 ຊົ່ວໂມງ ເຊິ່ງມີຄ່າ OD ສູງສຸດເທົ່າ 37.52 ຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ດີກວ່າຢີສ໌ BUNL-21 ທີ່ໃຊ້ເປັນໂຕປຽບທຽບ (Control) ເຊິ່ງມີຄ່າ OD ເທົ່າກັບ 18.89 ໃນໄລຍະເວລາ 72 ຊົ່ວໂມງ. ນອກຈາກນັ້ນຍັງພົບໄອໂຊເລດ OX30 ສາມາດຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ໃກ້ຄຽງກັບໄອໂຊເລດທີ່ OX22 ເຊິ່ງມີຄ່າ OD ເທົ່າກັບ 36.29 ແລະ ໃນຊ່ວງເວລາ 96 ຊົ່ວໂມງເຫັນວ່າໂຕປຽບທຽບ ແລະ OX15, OX16, OX17, OX22, OX30 ແລະ BUNL21 ການຈະເລີນເຕີບໂຕແມ່ນເລີ່ມຫຼຸດລົງ. ສ່ວນ OX 25 ແມ່ນມີການຈະເລີນເຕີບໂຕເພີ່ມຂຶ້ນ ມີຄ່າ OD ເທົ່າກັບ 5.53 ແຕ່ເມື່ອນຳມາປຽບທຽບກັບທຸກໆໄອໂຊເລດເຫັນວ່າຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ໜ້ອຍກວ່າໝູ່.

ຄ. ຜົນການໝັກ ແລະ ວິເຄາະປະລິມານເຫຼົ້າເອຕາໂນລ

ຈາກການທົດສອບຄວາມສາມາດໃນການໝັກເຫຼົ້າເອຕາໂນລທັງ 6 ໄອໂຊເລດ ດ້ວຍເຄື່ອງ Gas chromatography ພົບວ່າທັງ 6 ໄອໂຊເລດ ທີ່ສາມາດໝັກເຫຼົ້າເອຕາໂນລຈາກ Xylose 4% ໃຫ້ຜົນສະແດງດັ່ງຕາຕະລາງລຸ່ມນີ້:

ຕາຕະລາງທີ 4.6 ປະລິມານຂອງເຫຼົ້າເອຕາໂນລໃນໄລຍະເວລາຕ່າງໆ

ສັນຍາລັກ	ປະລິມານເຫຼົ້າເອຕາໂນລ (%) / ໄລຍະເວລາ			
	24 h	48 h	72 h	96 h
OX15	1.19±1.22	1.66±0.19	1.74±0.07	1.49±0.25
OX16	1.50±0.41	1.90±0.57	1.73±0.16	1.04±0.02
OX17	1.34±0.66	1.85±0.64	1.90±0.48	1.21±0.46
OX22	0.97±0.00	1.73±0.20	1.76±0.38	1.38±0.33
OX25	1.67±0.17	1.63±0.16	1.60±0.18	1.41±0.42
OX30	0.98±0.05	1.73±0.01	1.92±0.19	1.27±0.61
BUNL21	0.67±0.28	1.13±0.01	1.43±0.44	1.23±0.40

ໝາຍເຫດ: ± ໝາຍເຖິງຄ່າຜັນປ່ຽນມາດຖານ (Standard Deviation), ສັນຍາລັກສີເຫຼືອງ ໝາຍເຖິງປະລິມານເຫຼົ້າເອຕາໂນລຫຼາຍ, ສັນຍາລັກສີຂຽວ ໝາຍເຖິງ ປະລິມານເຫຼົ້າເອຕາໂນລປານກາງ

ຈາກຕາຕະລາງທີ 4.6 ພົບວ່າ ແຕ່ລະໄອໂຊເລດສາມາດໝັກເຫຼົ້າໄດ້ ເຊິ່ງມີຄ່າໜ້ອຍຫຼາຍແຕກຕ່າງກັນ ແລະ ເມື່ອນຳມາປຽບທຽບປະລິມານເຫຼົ້າເອຕາໂນລ ກັບຕົວປຽບທຽບ ພົບວ່າໄອໂຊເລດທີ່ 30 ມີຄ່າສູງສຸດເທົ່າກັບ 1.92% (w/v) ແລະ ໄອໂຊເລດທີ່ 17 ມີຄ່າເທົ່າກັບ 1.90% (w/v) ເຊິ່ງຫຼາຍກວ່າຕົວປຽບທຽບ BUNL-21 ມີຄ່າເທົ່າກັບ 1.43% (w/v). ນອກຈາກນັ້ນຍັງພົບ OX15, OX16,

OX22 ແລະ OX25 ສາມາດຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ດີກວ່າໂຕປຽບທຽບ ໃນຊ່ວງເວລາ 72 ຊົ່ວໂມງ. ຫຼັງຈາກນັ້ນໃນຊ່ວງໄລຍະເວລາ 96 ຊົ່ວໂມງ ພົບວ່າປະລິມານເຫຼົ້າເອຕາໂນລໃນແຕ່ລະໄອໂຊເລດໄດ້ຫຼຸດລົງ ສາເຫດອາດມາຈາກເຊື້ອຢີສສາມາດໃຊ້ເຫຼົ້າເອຕາໂນລເປັນແຫຼ່ງຄາບອນເພື່ອການມີຊີວິດຢູ່ລອດ.

ຜົນການວິເຄາະປະລິມານ Xylitol ໃນລະຫວ່າງການໝັກ

ຈາກການວິເຄາະຫາປະລິມານ Xylitol ດ້ວຍເຄື່ອງ HPLC ພົບວ່າ ເຊື້ອຢີສທັງ 6 ໄອໂຊເລດ ນອກຈາກສາມາດໝັກນໍ້າຕານ Xylose ໃຫ້ເປັນເຫຼົ້າເອຕາໂນລແລ້ວ ຍັງມີການຜະລິດ Xylitol ອອກມານໍາອີກດ້ວຍ ເຊິ່ງສະແດງດັ່ງຕາຕະລາງທີ 4.6.

ຕາຕະລາງທີ 4.7 ປະລິມານຂອງ Xylitol ໃນໄລຍະເວລາຕ່າງໆ

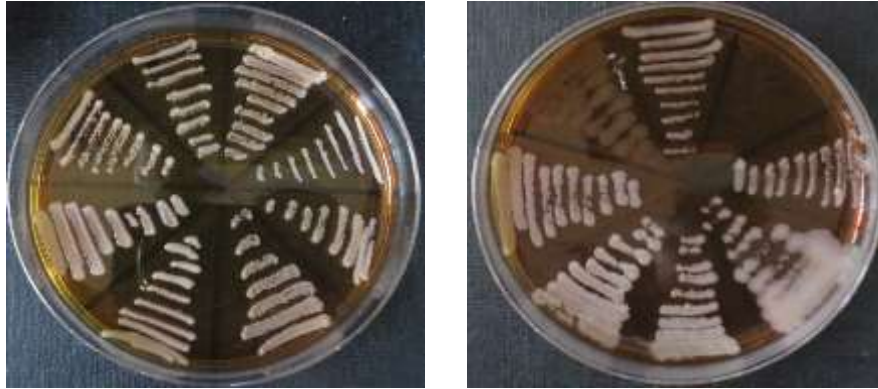
ສັນຍາລັກ	ຄວາມເຂັ້ມຂຸ້ນຂອງ Xylitol (%) / ໄລຍະເວລາ			
	24 h	48 h	72 h	96 h
OX16	0.313	0.546	0.590	0.535
OX17	0.301	0.533	0.636	0.540
OX22	0.178	0.229	0.230	0.218
OX24	0.006	0.063	0.127	0.169
OX25	0	0.002	0.003	0.004
OX30	0.171	0.023	0.236	0.221
BUNL21	0.155	0.316	0.382	0.337

ໝາຍເຫດ: ສັນຍາລັກສີເຫຼືອງ ໝາຍເຖິງ ສາມາດຜະລິດໄດ້ຫຼາຍ, ສັນຍາລັກສີຂຽວ ໝາຍເຖິງ ສາມາດຜະລິດໄດ້ປານກາງ

ຈາກຕາຕະລາງທີ 4.7 ພົບວ່າ ເຊື້ອຢີສທັງ 6 ໄອໂຊເລດສາມາດໝັກເຫຼົ້າໄດ້ແລ້ວຍັງສາມາດຜະລິດ Xylitol ອອກມານໍາອີກດ້ວຍ ເຊິ່ງມີຄວາມເຂັ້ມຂຸ້ນໜ້ອຍຫຼາຍແຕກຕ່າງກັນ ແລະ ເມື່ອນໍາມາປຽບທຽບປະລິມານຄວາມເຂັ້ມຂຸ້ນຂອງ Xylitol ກັບຕົວປຽບທຽບ ພົບວ່າ OX17 ມີຄ່າສູງສຸດເທົ່າກັບ 0.636% (w/v) ແລະ OX16 ມີຄ່າເທົ່າກັບ 0.590% (w/v) ເຊິ່ງຫຼາຍກວ່າຕົວປຽບທຽບ BUNL-21 ມີຄ່າເທົ່າກັບ 0.382% (w/v). ນອກຈາກນັ້ນຍັງພົບໄອໂຊເລດ OX22, OX24, OX30 ແລະ OX25 ສາມາດຜະລິດ Xylitol ໄດ້ໜ້ອຍກວ່າໂຕປຽບທຽບ ໃນຊ່ວງເວລາ 72 ຊົ່ວໂມງ. ຫຼັງຈາກນັ້ນໃນຊ່ວງໄລຍະເວລາ 96 ຊົ່ວໂມງ ພົບວ່າປະລິມານຄວາມເຂັ້ມຂຸ້ນຂອງ Xylitol ເລີ່ມຫຼຸດລົງ ມີ OX16, OX17, OX22, OX24, OX30 ແລະ ໂຕປຽບທຽບ BUNL-21 ແຕ່ OX25 ພົບວ່າປະລິມານຄວາມເຂັ້ມຂຸ້ນເພີ່ມຂຶ້ນ.

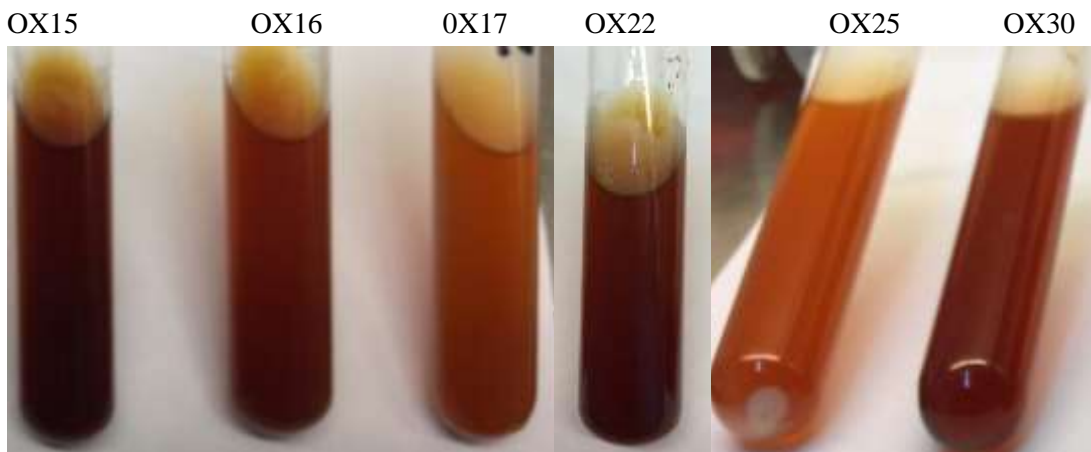
ງ. ຜົນການທົດສອບຄວາມທົນທານຕໍ່ທາດລະລາຍບາງຢ່າງທີ່ເປັນພິດ

ຫຼັງຈາກການຂົດເຊື້ອທີ່ອຸນຫະພູມ 37°C, 40°C, 42°C ແລະ 45°C ເປັນເວລາ 18-24 ຊົ່ວໂມງ, ເຮົາສັງເກດເຫັນເຊື້ອຢີສ ເກີດຂຶ້ນເທິງຜິວໜ້າອາຫານ. ລັກສະນະຂອງການຈະເລີນເຕີບໂຕຂອງຢີສແມ່ນເກີດຂຶ້ນເປັນແຖວຕາມຮອຍຂົດ ດັ່ງສະແດງໃນຮູບລຸ່ມນີ້:



ຮູບທີ 4.14 ລັກສະນະການຈະເລີນເຕີບໂຕຂອງເຊື້ອຢີສໃນອາຫານແຂງ YPX

ຫຼັງຈາກເອົາເຊື້ອທີ່ພື້ນໃນອາຫານແຂງ ມາລ້ຽງໃນອາຫານແຫຼວ YPX ຕໍ່ ແລ້ວນໍາໄປສັ່ນດ້ວຍຄວາມໄວ 160 rpm ເປັນເວລາ 18-24 ຊົ່ວໂມງ. ເຫັນວ່າເຊື້ອມີການຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ດີ, ມີລັກສະນະຊັ້ນ ເຊິ່ງການຈະເລີນເຕີບໂຕຂອງເຊື້ອຢີສໃນແຕ່ລະຫຼອດແມ່ນແຕກຕ່າງກັນ ສະແດງໃນຮູບດັ່ງນີ້:



ຮູບທີ 4.15 ລັກສະນະການຈະເລີນເຕີບໂຕຂອງເຊື້ອຢີສໃນອາຫານແຫຼວ YPX

ຫຼັງຈາກຄິດໄລ່ຄ່າ OD ແລ້ວ ດູດເອົາເຊື້ອຢີສຢູ່ໃນອາຫານແຫຼວ YPX ມາເຈືອຈາງໃນນໍ້າ ສັ່ນໃຫ້ເຊື້ອຢີສກະຈາຍ ແລ້ວນໍາໄປຢອດລົງໃນຈານອາຫານແຂງ YPD ທີ່ມີ Glucose 35%, ອາຫານແຂງ YPX ທີ່ມີ Ethanol 8%, 5mM H₂O₂, 10mM Furfural ປະສົມຢູ່ ເຊິ່ງເຊື້ອຈະມີຄວາມເຂັ້ມຊັ້ນສູງ ຫາ

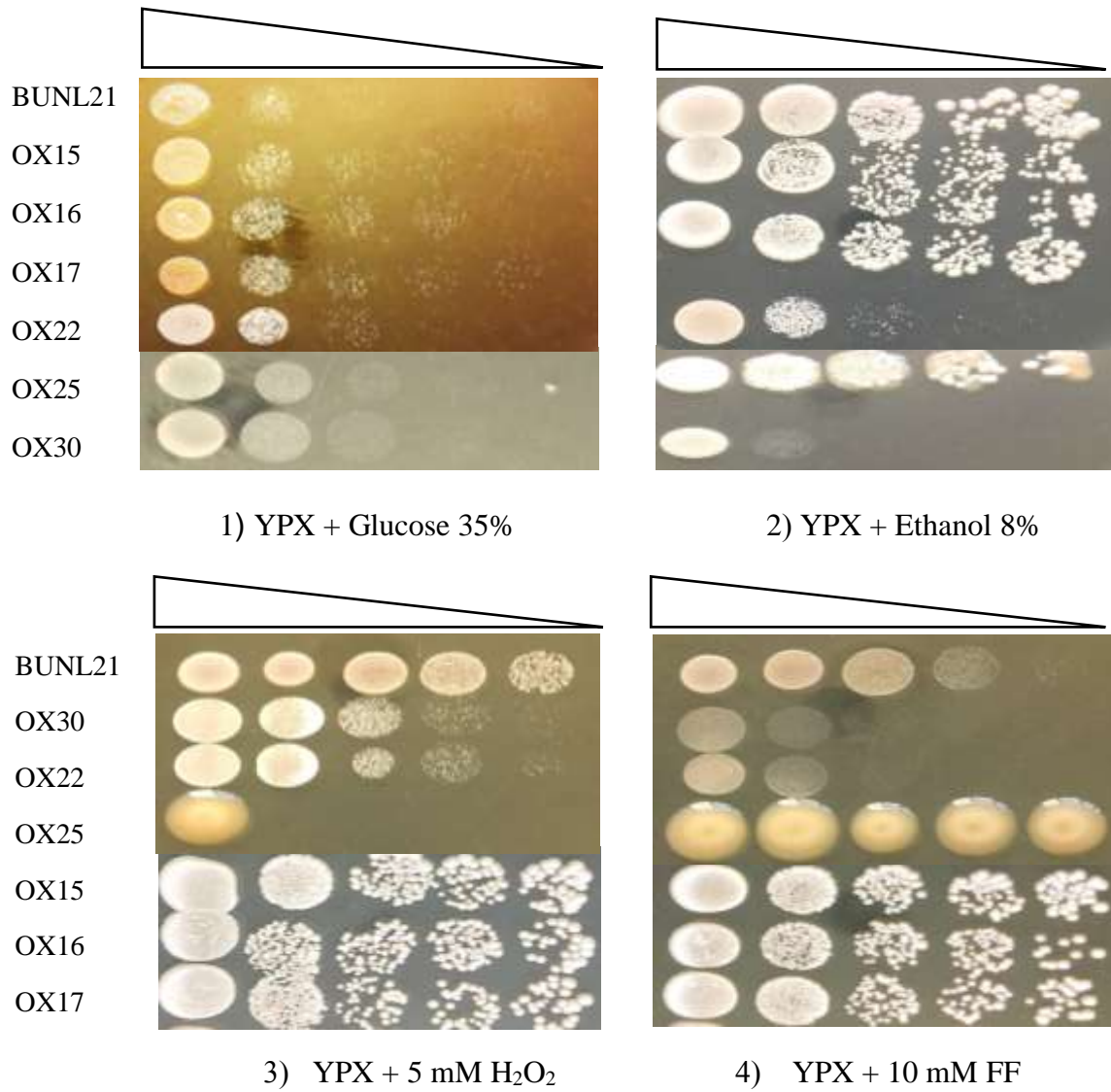
ຕໍ່າ (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} ແລະ 10^{-5}), ຜົນການຈະເລີນເຕີບໂຕຂອງເຊື້ອຢີສ໌ສະແດງດັ່ງຕາຕະລາງຕໍ່ໄປນີ້:

ຕາຕະລາງທີ 4.8 ການຈະເລີນເຕີບໂຕຂອງຢີສ໌ດ້ວຍວິທີເຈືອຈາງຈຸລັງ

ສັນຍາລັກ	ຄວາມເຂັ້ມຂຸ້ນຂອງທາດລະລາຍ			
	Glucose 35%	Ethanol 8%	5mM H ₂ O ₂	10mM Furfural
OX16	+1	+3	+3	+3
OX17	+2	+3	+3	+3
OX22	+2	+3	+3	+3
OX24	+2	+2	+2	+2
OX25	+3	+3	+1	+3
OX30	+3	+1	+2	+2
BUNL21	+2	+3	+3	+2

ໝາຍເຫດ: +3 ໝາຍເຖິງເຊື້ອຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ດີ, +2 ໝາຍເຖິງເຊື້ອຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ປານກາງ, +1 ໝາຍເຖິງເຊື້ອຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ໜ້ອຍ ແລະ 0 ໝາຍເຖິງເຊື້ອບໍ່ສາມາດຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້.

ຈາກຕາຕະລາງທີ 4.8 ເຫັນວ່າເຊື້ອຢີສ໌ສາມາດຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ໃນອາຫານແຂງທີ່ມີ Glucose 35%, Ethanol 8%, 5mM H₂O₂ ແລະ 10mM Furfural ແຕ່ເຊື້ອຢີສ໌ຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ດີທີ່ສຸດໃນອາຫານແຂງທີ່ມີ Ethanol 8%, 5mM H₂O₂ ແລະ 10mM Furfural ສ່ວນອາຫານແຂງທີ່ມີ Glucose 35% ຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ປານກາງ. ລັກສະນະການຈະເລີນເຕີບໂຕຂອງເຊື້ອຢີສ໌ ສະແດງດັ່ງຮູບລຸ່ມນີ້:



ຮູບທີ 4.16 ການທົດສອບຄວາມທົນທານຕໍ່ທາດລະລາຍບາງຢ່າງທີ່ເປັນພິດບາງຢ່າງ

1) ການທົດສອບຄວາມທົນທານຕໍ່ທາດລະລາຍ Glucose 35%

ຜົນການທົດສອບຄວາມທົນໃນອາຫານ YPX ທີ່ມີນໍ້າຕານ Glucose ເຂັ້ມຂຸ້ນ 35% ພົບວ່າ ເຊື້ອຍີສ໌ທັງ 6 ໄອໂຊເລດ ແລະ BUNL21 ທີ່ເປັນໂຕປຽບທຽບ ແມ່ນສາມາດຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ໜ້ອຍ ເຊິ່ງການຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ ຈະຫຼຸດລົງຕາມລະດັບເຈືອຈາງ.

2) ການທົດສອບຄວາມທົນທານຕໍ່ທາດລະລາຍ Ethanol 8%

ຜົນການທົດສອບຄວາມທົນໃນອາຫານ YPX ທີ່ມີ Ethanol ເຂັ້ມຂຸ້ນ 8% ພົບວ່າມີເຊື້ອຍີສ໌ 4 ໄອໂຊເລດຄື: OX15, OX16, OX17, OX25 ແລະ BUNL21 ທີ່ເປັນໂຕປຽບທຽບ ແມ່ນສາມາດຈະ ເລີນເຕີບໂຕໄດ້ດີ ແລະ ທົນຕໍ່ທາດລະລາຍທີ່ມີຄວາມເຂັ້ມຂຸ້ນສູງ ຢູ່ໃນລະດັບເຈືອຈາງ 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} ແລະ 10^{-5} ໄດ້ດີ. ສ່ວນ OX22 ແລະ OX30 ຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ດີຢູ່ໃນລະດັບເຈືອຈາງ 10^{-1} ແລະ 10^{-2} ເທົ່ານັ້ນ.

3) ການທົດສອບຄວາມທົນທານຕໍ່ທາດລະລາຍ 5 mM H₂O₂

ຜົນການທົດສອບຄວາມທົນໃນອາຫານ YPX ທີ່ມີ H₂O₂ ເຂັ້ມຂຸ້ນ 5% ພົບວ່າມີເຊື້ອຍີສ໌ 3 ໄອໂຊເລດຄື: OX15, OX16, OX17 ແລະ BUNL21 ທີ່ເປັນໂຕປຽບທຽບ ແມ່ນສາມາດຈະເລີນເຕີບ ໂຕໄດ້ດີ ແລະ ທົນຕໍ່ທາດລະລາຍທີ່ມີຄວາມເຂັ້ມຂຸ້ນສູງ ຢູ່ໃນລະດັບເຈືອຈາງ 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} ແລະ 10^{-5} ໄດ້ດີ. ສ່ວນ OX22 ແລະ OX30 ຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ດີປານກາງ. ສ່ວນ OX25 ສາມາດ ຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ໃນລະດັບເຈືອຈາງທີ່ 10^{-1} ເທົ່ານັ້ນ.

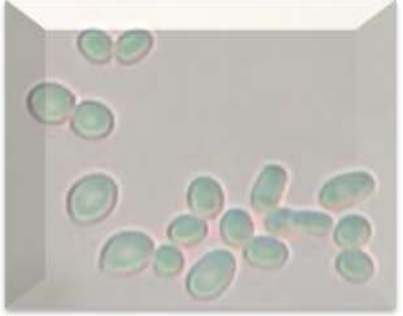
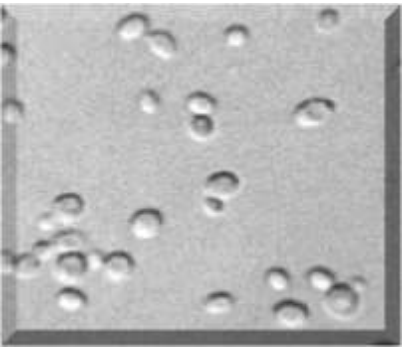
4) ການທົດສອບຄວາມທົນທານຕໍ່ທາດລະລາຍ 10 mM FF

ຜົນການທົດສອບຄວາມທົນໃນອາຫານ YPX ທີ່ມີ 10 mM FF ພົບວ່າມີເຊື້ອຍີສ໌ 4 ໄອໂຊ ເລດຄື: OX15, OX16, OX17 ແລະ OX25 ແມ່ນສາມາດຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ດີ ແລະ ທົນຕໍ່ທາດລະລາຍ ທີ່ມີຄວາມເຂັ້ມຂຸ້ນສູງຢູ່ໃນທຸກລະດັບເຈືອຈາງທີ່ 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} ແລະ 10^{-5} ໄດ້ດີ. BUNL21 ທີ່ເປັນ ໂຕປຽບທຽບ ສາມາດຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ໃນລະດັບເຈືອຈາງທີ່ 10^{-1} ຫາ 10^{-3} ເທົ່ານັ້ນ ສ່ວນ OX22 ແລະ OX30 ສາມາດຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ປານກາງ.

ຈ. ຜົນການຈັດຈຳແນກໂດຍການສະກັດ DNA

ຈາກການວິເຄາະທາງ DNA ນຳເອົາ 6 ໄອໂຊເລດມາລ້ຽງໃນອາຫານແຫຼວທີ່ມີ Xylose 4% ເປັນແຫຼ່ງຄາບອນເຫັນວ່າຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ດີ ເມື່ອນຳໄປສະກັດ DNA ແລະ ເຮັດໃຫ້ບໍລິສຸດແລ້ວໄດ້ ນຳໄປຈັດຈຳແນກ ເຊິ່ງມີ 3 ໄອໂຊເລດຄື: OX15, OX16, OX17 ເປັນ *Candida tropicalis* ແລະ 2 ໄອໂຊເລດຄື: OX22 ແລະ OX30 ເປັນ *Blastobotrys adenivorans*. ສ່ວນ OX25 ໃນຂັ້ນຕອນການຈັດຈຳແນກແມ່ນບໍ່ປະສົບຜົນສຳເລັດເນື່ອງຈາກວ່າ Peak ບໍ່ສາມາດແຍກໄດ້.

ຕາຕະລາງທີ 4.9 ຜົນການຈັດຈຳແນກ

ວັດຖຸດິບ	ໄອໂຊເລດ	ການຈັດຈຳແນກຊະນິດຂອງເຊື້ອຢີສ໌	% ຄວາມຄ້າຍຄື	ລັກສະນະທາງສັນຖານ
ເປືອກໝາກເງາະ	OX15	<i>Candida tropicalis</i> SY5-3 clone SY5-3D	98%	
	OX16	<i>Candida tropicalis</i> XJURML	98%	
ເປືອກໝາກນອຍ	OX17	<i>Candida tropicalis</i> SY5-3 clone SY5-3D	98%	
ກາກໝາກພ້າວ (ກາບນອກ)	OX22	<i>Blastobotrys adenivorans</i> CBS:8335	99%	
ຂີ້ແປ້ງ (ເປັນຝຸ່ນ)	OX30	<i>Blastobotrys adenivorans</i> CBS:7370	99%	

4.2 ການສືບທະນາ

ໃນການສືບທະນາຄັ້ງນີ້ ຕົວຢ່າງທີ່ໄດ້ນຳມາສືບທະນາປະກອບມີ ສິ່ງເສດເຫຼືອທາງການກະເສດ, ໝາກໄມ້, ດອກໄມ້. ເມື່ອນຳມາຄັດເລືອກເຊື້ອຢີສທີ່ເອົາຄັດເລືອກໄດ້ສ່ວນຫຼາຍ ແມ່ນໄດ້ຈາກຕົວຢ່າງທີ່ເປັນສິ່ງເສດເຫຼືອທາງການກະເສດເຊັ່ນ: ຫຍ້າ, ກາກໝາກພ້າວ, ຂີ້ເບັງ ເປັນຕົ້ນ. ຢີສທີ່ຈະເລີນເຕີບໂຕໃນຕົວຢ່າງໃນຂັ້ນຕອນເພີ່ມເຊື້ອມີລັກສະນະເດັ່ນເປັນຝ້າສີຂາວນວນ, ມີລັກສະນະເປັນຝຸ່ນຜົງກະຈາຍຢູ່, ມີຜອດຢູ່ໜ້າຕົວຢ່າງ ແລະ ມີກິ່ນເຫຼົ້າແຮງ ເຊິ່ງຕົວຢ່າງທີ່ນຳມາສືບທະນາເຫັນວ່າຈະເລີນເຕີບໂຕໄວໃນຊ່ວງໄລຍະເວລາ 18-24 ຊົ່ວໂມງ. ໃນຂະບວນການທົດສອບຢູ່ໃນທາດອາຫານທັງ 4 ປາກົດວ່າເຊື້ອຢີສທຸກໄອໂຊເລດສາມາດຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ດີ ແລະ ມີເຊື້ອຢີສຢູ່ 4 ໄອໂຊເລດ (16, 22, 29 ແລະ 30) ທີ່ສາມາດຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ໃນທຸກອາຫານ ແລ້ວຍັງສາມາດທົນຄວາມຮ້ອນສູງເຖິງ 45%. ໃນຂະບວນການໝັກ ແລະ ວິເຄາະປະລິມານເຫຼົ້າໂດຍການວັດແທກການຈະເລີນເຕີບໂຕຂອງຢີສໃນໄລຍະເວລາຕ່າງໆ ທີ່ອຸນຫະພູມ 37°C ຜົນການຈະເລີນເຕີບໂຕເຫັນ OX22 ແລະ OX30 ສາມາດຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ດີກວ່າ BUNL21 ເຊິ່ງເປັນຕົວປຽບທຽບ ໃນໄລຍະເວລາ 72 ຊົ່ວໂມງ. ນອກນັ້ນໃນຂະບວນການໝັກ ແລະ ວິເຄາະປະລິມານເຫຼົ້າ ພົບວ່າ OX17 ແລະ OX30 ສາມາດໝັກເຫຼົ້າໄດ້ດີກວ່າ BUNL21 ເຊິ່ງເປັນຕົວປຽບທຽບ ໃນໄລຍະເວລາ 72 ຊົ່ວໂມງ. ນອກຈາກຈະສາມາດໝັກເຫຼົ້າເອຕາໂນລໄດ້ແລ້ວ ເຊື້ອຢີສທັງ 6 ໄອໂຊເລດກໍຍັງສາມາດຜະລິດນ້ຳຕານ Xylitol ອອກມານຳອີກດ້ວຍ.

ພາກທີ 5

ສະຫຼຸບ, ຂໍ້ຈຳກັດ ແລະ ຂໍ້ແນະນຳໃນການສຶກສາ

5.1 ສະຫຼຸບຜົນໃນການສຶກສາ

ຜ່ານການທົດລອງການແຍກ ແລະ ການຈັດຈຳແນກເຊື້ອຍີສທີ່ໃຊ້ໄຊໂລສເພື່ອການໝັກເຫຼົ້າເອຕາໂນລຈາກ 56 ຕົວຢ່າງ ສາມາດສະຫຼຸບໄດ້ດັ່ງນີ້:

ຍີສທີ່ຈະເລີນເຕີບໂຕໃນຕົວຢ່າງໃນຂັ້ນຕອນເພີ່ມເຊື້ອມີລັກສະນະເປັນຝ້າສີຂາວນວນ, ມີລັກສະນະເປັນຝຸ່ນຜົງກະຈາຍຢູ່, ບາງຕົວຢ່າງມີຝອດ ແລະ ໃນບາງຕົວຢ່າງກໍບໍ່ມີການຈະເລີນເຕີບໂຕຂອງເຊື້ອເລີຍ. ຫຼັງຈາກນັ້ນນຳມາແຍກເປັນເຊື້ອບໍລິສຸດໄດ້ທັງໝົດ 60 ໄອໂຊເລດຈາກຕົວຢ່າງທັງໝົດ 4 ປະເພດມີ 56 ຊະນິດ ແລະ ໄດ້ຄັດເລືອກເອົາເຊື້ອຍີສທີ່ຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ດີ ຈຳນວນ 35 ໄອໂຊເລດມາສຶກສາຕໍ່ ເຊິ່ງເຊື້ອຍີສສາມາດຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ດີ ທີ່ອຸນຫະພູມ 37°C, 40°C, 42°C ແລະ 45°C ໃນອາຫານ YPD ມີ 8 ໄອໂຊເລດ, ອາຫານ YPS ມີ 6 ໄອໂຊເລດ, ສ່ວນອາຫານ YPX ແລະ ອາຫານ YNB ມີພຽງ 2 ໄອໂຊເລດເທົ່ານັ້ນທີ່ຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ດີ. ສ່ວນເຊື້ອຍີສທີ່ສາມາດຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ດີກວ່າໝູ່ທັງ 4 ອາຫານຄື: YPD, YPS, YPX ແລະ YNB ແລະ 4 ລຳດັບອຸນຫະພູມຄື: 37°C, 40°C, 42°C ແລະ 45°C ມີທັງໝົດ 4 ໄອໂຊເລດຄື: OX16, OX22, OX29 ແລະ OX30. ເມື່ອນຳມາທົດສອບລັກສະນະທາງສັນຖານວິທະຍາຂອງຍີສ ແລະ ການທົດສອບຊີວະເຄມີບາງຢ່າງພົບວ່າ ຍີສທັງ 35 ໄອໂຊເລດ ມີເອັນໄຊມ Catalase. ຈາກການສຶກສາລັກສະນະທາງສັນຖານວິທະຍາຂອງຍີສ ພົບວ່າເຊື້ອຍີສມີຮູບຮ່າງມົນ, ມົນກົມ, ຮູບໄຂ່, ຮູບໄຂ່ຍາວ, ຮູບຮີ, ມີການແຕກໜິ້, ແບ່ງເຄິ່ງຈຸລັງ, ຈັບກັນເປັນກຸ່ມ, ແຍກກັນເປັນຈຸລັງດຽວ ແລະ ເປັນແກຣມບວກ.

ຍີສທັງ 6 ໄອໂຊເລດສາມາດຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ດີໃນອາຫານແຫຼວທີ່ມີ Xylose 4% ທີ່ອຸນຫະພູມ 37°C ເຊິ່ງ OX22 ສາມາດຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ດີທີ່ສຸດໃນຊ່ວງເວລາ 72 ຊົ່ວໂມງ ເຊິ່ງມີຄ່າ OD ສູງສຸດເທົ່າ 37.52 ຈະເລີນເຕີບໂຕໄດ້ດີກວ່າຍີສ BUNL-21 ທີ່ໃຊ້ເປັນໂຕປຸງບູທຽບ (Control) ແລະ ເຊື້ອຍີສທີ່ມີຄວາມສາມາດໃນການໝັກເຫຼົ້າເອຕາໂນລໄດ້ດີຄື: ໄອໂຊເລດທີ 30 ມີຄ່າສູງສຸດເທົ່າກັບ 1.92% (w/v) ແລະ ໄອໂຊເລດທີ 17 ມີຄ່າເທົ່າກັບ 1.90% (w/v) ເຊິ່ງຫຼາຍກວ່າຕົວປຸງບູທຽບ BUNL-21 ມີຄ່າເທົ່າກັບ 1.43% (w/v). ນອກຈາກເຊື້ອຍີສທັງ 6 ໄອໂຊເລດມີຄວາມສາມາດໃນການໝັກເຫຼົ້າແລ້ວຍັງສາມາດຜະລິດນ້ຳຕານ Xylitol ອອກມານຳອີກດ້ວຍ ເມື່ອນຳມາປຸງບູທຽບປະລິມານຄວາມເຂັ້ມຂຸ້ນຂອງ Xylitol ກັບຕົວປຸງບູທຽບ ພົບວ່າໄອໂຊເລດທີ OX17 ມີຄ່າສູງສຸດເທົ່າກັບ 0.636% (w/v) ແລະ ໄອໂຊເລດທີ 16 ມີຄ່າເທົ່າກັບ 0.590% (w/v) ເຊິ່ງຫຼາຍກວ່າຕົວປຸງບູທຽບ BUNL-21 ມີຄ່າເທົ່າກັບ 0.382% (w/v). ການ

ວິເຄາະ D1/D2 ໂດເມນຂອງຍີນ Large subunit rRNA ສາມາດຈັດຈຳແນກໄດ້ທັງໝົດ 5 ໄອໂຊເລດ ເຊິ່ງມີ 3 ໄອໂຊເລດ ເປັນ *Candida tropicalis* ແລະ 2 ໄອໂຊເລດແມ່ນເປັນ *Blastobotrys adenivorans*.

5.2 ຂໍ້ຈຳກັດໃນການສຶກສາ

ການສຶກສາຄັ້ງນີ້ມີຂໍ້ຈຳກັດຫຼາຍດ້ານ ເຊັ່ນ: ການທົດລອງໃນຫ້ອງທົດລອງມີອຸປະກອນ ແລະ ສານເຄມີບາງຢ່າງບໍ່ພຽງພໍສຳລັບການສຶກສາ, ສະຖານທີ່ຫ້ອງທົດລອງຍັງບໍ່ໄດ້ມາດຕະຖານ ແລະ ອື່ນໆ.

5.3 ຂໍ້ແນະນຳໃນການສຶກສາ

ຈາກການທົດລອງການຄັດເລືອກຢີສ໌ທີ່ສາມາດໝັກໄຊໂລສໃຫ້ເປັນເຫຼົ້າເອຕາໂນລ ໃນນາມຜູ້ສຶກສາມີຂໍ້ແນະນຳ ທີ່ອາດຈະເປັນປະໂຫຍດຕໍ່ຜູ້ທີ່ສົນໃຈຢາກສຶກສາໃນຄັ້ງຕໍ່ໄປດັ່ງລຸ່ມນີ້:

- ສືບຕໍ່ຄັດແຍກເຊື້ອຢີສ໌ຈາກວັດຖຸດິບທີ່ມີຄວາມຫຼາກຫຼາຍຕົວຢ່າງທີ່ແຕກຕ່າງກັນ ເຊັ່ນ: ວັດຖຸດິບທີ່ເປັນສິ່ງເສດເຫຼືອທາງການກະເສດ ໄດ້ແກ່ Lignin, Cellulose ແລະ Hemicelluloses, ນໍ້າເສຍຈາກໂຮງງານອຸດສາຫະກຳເຄື່ອງດື່ມ, ສິ່ງເສດເຫຼືອຈາກໂຮງງານອຸດສາຫະກຳປຸງແຕ່ງໄມ້, ສິ່ງເສດເຫຼືອຈາກໂຮງງານຜະລິດເຈ້ຍ ເປັນຕົ້ນ.

- ສືບຕໍ່ຄົ້ນຄ້ວາຫາເຊື້ອຢີສ໌ທີ່ສາມາດໝັກເອຕາໂນລຈາກ Xylose ໄດ້ດີຕໍ່ໄປ.

ເອກະສານອ້າງອີງ

ກົງສະໄໝ ໄຊຍະວົງສາ, ສຸລິຕາ ສອນທອງຄຳ ແລະ ນາຕາລີ້ ຈັນດາ. (2013). *ການແຍກ ແລະ ຈັດຈຳແນກເຊື້ອຢີສທີ່ໃຊ້ໄຊໂລສ ເພື່ອການໝັກເຫຼົ້າເອຕາໂນລ*. ປະລິນຍາຕີວິທະຍາສາດ ຄະນະວິທະຍາສາດທຳມະຊາດ ມະຫາວິທະຍາໄລແຫ່ງຊາດ.

ສາວິຕຣີ ລິ້ມທອງ. (2549). *ຢີສ ຄວາມຫຼາກຫຼາຍ ແລະ ເທັກໂນໂລຢີຊີວະພາບ*. (ພິມຄັ້ງທີ 2) ມະຫາວິທະຍາໄລກະເສດສາດ ປະເທດໄທ.

ສຸກັນຍາ ນິຕິຍົນ. (2553). *ຄວາມຫຼາກຫຼາຍຂອງຢີສທີ່ໃຊ້ໄຊໂລສ ແລະ ການຄັດເລືອກຢີສທີ່ໝັກເອຕາໂນລຈາກໄຊໂລສ*. ວິທະຍານິພົນປະລິນຍາໂທ ມະຫາວິທະຍາໄລກະເສດສາດ ປະເທດໄທ.

ສຸດາຣັດ ແຊໂຈ. (2555). *ການແຍກ ແລະ ຄັດເລືອກຢີສທີ່ມີຄວາມສາມາດຍ່ອຍສະຫຼາຍແບັງເພື່ອ ຜະລິດເຫຼົ້າເອຕາໂນລ*. ປະເທດໄທ: ໂຄງການຈັດຕັ້ງສາຍວິຊາ ຈຸລະຊີບວິທະຍາ ຄະນະວິທະຍາສາດ ມະຫາວິທະຍາໄລກະເສດສາດ.

ຕິ່ງຄຳ ມິດຕະພອນ, ເພັດພະຈັນ ນໍລະສິງ ແລະ ໄພມະນີ ໄຊຍະສິງ. (2012). *ການສຶກສາການຍ່ອຍສະຫຼາຍມັນຕົ້ນເພື່ອການຜະລິດເຫຼົ້າເອຕາໂນລ*. ຄະນະວິທະຍາສາດທຳມະຊາດ ມະຫາວິທະຍາໄລແຫ່ງຊາດລາວ.

ທະນູ ວິຊິສັນ. (2527). *ໃຊ້ແກັສໂຊຣໍໃນລົດຍົນ: ການເພີ່ມຜົນຜະລິດ ແລະ ຫຼຸດຕົ້ນທຶນໃນການໝັກເຫຼົ້າເອຕາໂນລ*. ມະຫາວິທະຍາໄລກະເສດສາດ ປະເທດໄທ.

ພອນປະສິດ ໂສຕິທຳ. (2014). *ການແຍກ ແລະ ການຈັດຈຳແນກຢີສທີ່ທົນຄວາມຮ້ອນ ເພື່ອການໝັກເຫຼົ້າເອຕາໂນລ*. ປະລິນຍາຕີວິທະຍາສາດ ຄະນະວິທະຍາສາດທຳມະຊາດ ມະຫາວິທະຍາໄລແຫ່ງຊາດລາວ.

ພານິດາ ສຸວັນຍະພັນ, ຊິມພູນຸດ ວິຣຸນານິນ, ສຸພາງ ຈຸລາລັກສະນານຸກູນ ແລະ ວະລາວຸດ ຈຸລາລັກສະນານຸກູນ. (2554). *ການຄັດແຍກຢີສທີ່ທົນຮ້ອນທີ່ສາມາດໃຊ້ໄຊໂລສເພື່ອການຜະລິດເອຕາໂນລ*. ຫຼັກສູດເທັກໂນໂລຢີຊີວະພາບ ຄະນະວິທະຍາສາດ ມະຫາວິທະຍາໄລຈຸລາລົງກອນ ປະເທດໄທ.

ມະນີພອນ ຜຸດຜ່ອງ, ຮຽມ ຊີໂລ ແລະ ຄຳຫຼ້າ ສີສຸວົງ. (2018). *ຄຸນລັກສະນະຂອງຢີສໝັກເຫຼົ້າເອຕາໂນລທີ່ອຸ່ນຫະພູມສູງ*. ປະລິນຍາຕີວິທະຍາສາດ ຄະນະວິທະຍາສາດທຳມະຊາດ ມະຫາວິທະຍາໄລແຫ່ງຊາດລາວ.

- ມະລິວັນ ແລະ ອໍລະວັນ. (2552). *ການຄັດເລືອກຢີສ໌ທີ່ສາມາດໜັກນໍາຕາມໄຊໂລສໄດ້*. ມະຫາວິທະຍາໄລກະເສດສາດ ປະເທດໄທ.
- ວະລາວຸດ ຈຸລາລັກສະນານຸກູນ ແລະ ຊົມພູນຸດ ວິຣຸນານິນ. *ແຊລລູໂລສິກເພື່ອການຍ່ອຍສະຫຼາຍແຊລລູໂລສ: ປີທີ 3 ການນໍາໄປໃຊ້ປະໂຫຍດທາງການກະເສດ*. ພາກວິຊາພືກສາສາດ ຄະນະວິທະຍາສາດ ມະຫາວິທະຍາໄລຈຸລາລົງກອນ ປະເທດໄທ.
- ໜູຂາວ ວົງວິໄລສັກ, ມິ່ງຂວັນ ຈັນມິ່ງ ແລະ ວັນນະວົງ ສະຫວັນນາລີ. (2018). *ການແຍກ ແລະ ຈັດຈໍາແນກເຊື້ອຢີສ໌ທີ່ໃຊ້ໄຊໂລສເພື່ອການໜັກເຫຼົ້າເອຕາໂນລ*. ປະລິນຍາຕີວິທະຍາສາດ ຄະນະວິທະຍາສາດທໍາມະຊາດ ມະຫາວິທະຍາໄລແຫ່ງຊາດລາວ.
- ໄມ່ ທໍາມະນີ, ພອນສະຫວັນ ມີລາວົງ ແລະ ບົວຈັນ ສີຍະແກ້ວ. (2015). *ການແຍກ ແລະ ຄັດເລືອກຢີສ໌ທີ່ທົນຄວາມຮ້ອນເພື່ອການໜັກເຫຼົ້າເອຕາໂນລ*. ປະລິນຍາຕີວິທະຍາສາດ ຄະນະວິທະຍາສາດທໍາມະຊາດ ມະຫາວິທະຍາໄລແຫ່ງຊາດລາວ.
- Ahmed, Z., Banu, H., Izumori, F., & Izumori, K. (2001). A simple Method for D-xylose Extraction from Jute Stick and Rice Husk. *Journal of Biological Sciences 1* (11) :1001-1004.
- Arsitos, A., & Penttila, M. (2000). Metabolic engineering application to renewable resource utilization. *Curr Opin Biotech 11* (2): 187-198.
- Barnett, J., Payne, R., & Yarrow, D. (2000). *Yeast: Characteristics and Identifcation*, 3rd edition. *Cambridge University Press, Cambridge*.
- Carvalho, W., Silva, S. S., Vitolo, M., Maria, G., Felipe A., & Manciha, I.M. (2002). Improvement in Xylitol Production from Sugarcane Bagasse Hyfrolysate Achieved by the Use of Repeated-Batch Immobilized Cell System. *57 : Z Naturforsch C Biosci*.
- Carvalho, W., Silva, S.S., Vitolo, M., Maria, G., Felipe, A., & Manciha I.M. (2002). Improvement in Xylitol Production from Sugarcane Bagasse Hyfrolysate Achieved by the Use of Repeated-Batch Immobilized Cell System. *Z Naturforsch C Biosci 57* (1-2): 109-112.
- Doran-Peter, J., Cook D. M., & Bandom, S. K. (2008). Microbial conversion of sugars from plant biomass to lactic acid or ethanol. *Plant J. 54*: 582-592.
- Food, U. S., & Administration, Drug. (2001). *Partial List of Microorganism and Microbial-Derived Ingrdients That Are Used in Foods*. *U. S. Food and Drug Administration*.

- Available Source:* <http://www.fda.gov/food/foodingredientspackaginglabeling/ucm78956.htm>, (October 7, 2009).
- Hahn-Hagerdal, B., Galbe, M., Gorwa-Grauslund, M.F., Liden G., & Zacchi, G. (2006). Bioethanol: the fuel of tomorrow from the residues of today. *Trend Biotechnol.* 24 (12): 549-556.
- Jeevan, R., Nelson, & Edith Rena, A. (2011). Optimization studies on acid hydrolysis of corn cob hemicellulosic hydrolysate for microbial of xylitol. *J. Micro Biotech. Res.*, 1 (4), 114-23.
- Kurtzman, C.P., & Robnett C.J. (1998). Identification and phylogeny of ascomycetous yeast from analysis of nuclear large subunit (26S) ribosomal DNA partial sequence. *Antonie van Leewenhoek.* 73: 331-371.
- Lachance, M.A., & Starmer, W.T. (1998). Ecology and yeast, pp. 22-30. In Kurtzman C.P and Fell, J.W., eds. The yeast, A taxonomic study, 4th edition. *Elsevier Science, Amsterdam.*
- Lachke, A. (2002). Biofuel from D-Xylose: the second most abundant sugar. *Resonance.* 7(5): 50-58.
- Matsushika, A., Watanabe, S., Kodaki, T., Makino K., & Sawayama, S. (2008). Bioethanol production from xylose by recombinant *Saccharomyces cerevisiae* expressing xylose reductase, NADP⁺ - dependent xylitol dehydrogenase, and xylulokinase. *J Biosci Bioeng.* 105: 296-299.
- Mishra, P., & Singh, A. (1993). Microbial Pentose Utilization. *Adv Appl Microbial.* 39: 91-152.
- Paiva, J.E., Maldonade, I.R., & Scamparini, A.R. (2009). Xylose Production from Sugarcane Bagasse by Surface Response Methodology. *Revista Brasileirade Engenharia A gricola e Ambiental*, 13 (1): 75-80.
- Rao, R.S. Bhadra B., & Shivaji, S. (2008). Isolation and characterization of ethanol-producing yeast from fruit and tree bark. *Lett Appl Microbiol.* 47(1): 19-24.
- Ryaboya, O.B., Chmil, O.M., & Sibirny, A.A. (2003). Xylose and cellobiose fermentation to ethanol by the thermo tolerant methylotrophic yeast *Hansenula polymorpha*. *FEMS Yeast Res.* 4: 157-164.
- Somogyi, M. (1952). Notes on sugar determination. *Journal of Biological Chemistry*, 195: 19-23.

- Sornprajak, S., Keeratipibul, S., & Sirisansaneeyakul, S. (1995). Production of xylose from Ricestraw, Proceedingot the 33rd. *Kasetsart University Annual Conference*, 323-330.
- Suh, S.O., White, M.M., Nguyen, N.H., & Blackwell, M. (2004). The status and characterization of *Enteroramus dimorphus*: A Xylose-fermenting yeast attached to the gut of beetles. *Mycologia*. 96 (4): 756-760.

ເອກະສານແນບທ້າຍ

ເອກະສານແນບທ້າຍ 1

1. ສູດອາຫານແຂງ

1) 2% D-Glucose yeast extract peptone (YPD) agar

1. Glucose	2%
2. Yeast extract	2%
3. Peptone	1%
4. Agar	1.5%
5. Water	100 ml

ນຳໄປຂ້າເຊື້ອທີ່ 121°C ເປັນເວລາ 15 ນາທີ.

2) 2% D-Xylose yeast extract peptone (YPX) agar

1. Xylose	2%
2. Yeast extract	2%
3. Peptone	1%
4. Agar	1.5%
5. Water	100 ml

ນຳໄປຂ້າເຊື້ອທີ່ 121°C ເປັນເວລາ 15 ນາທີ.

3) 2% D-Xylose yeast nitrogen base (YNB) agar

1. Xylose	2%
2. Yeast nitrogen base (Difco)	0.67%
3. Agar	1.5%
4. Water	100 ml

ປັບ PH = 5.5 ດ້ວຍ HCl ເຂັ້ມຊັ້ນ 1N, ນຳໄປຂ້າເຊື້ອທີ່ 121°C ເປັນເວລາ 15 ນາທີ.

4) 2% D-Sucrose yeast extract peptone (YPS) agar

1. Sucrose	2%
2. Yeast extract	2%
3. Peptone	1%
4. Agar	1.5%
5. Water	100 ml

ນຳໄປຂ້າເຊື້ອທີ່ 121°C ເປັນເວລາ 15 ນາທີ.

2. ສູດອາຫານແຫຼວ (YPX)

1. Xylose	4%
2. Yeast extract	2%
3. Peptone	1%
4. H ₂ O	100 ml

ປັບ PH = 5.5 ດ້ວຍ HCl ເຂັ້ມຊັ້ນ 1N, ນຳໄປຂ້າເຊື້ອທີ່ 121°C ເປັນເວລາ 15 ນາທີ.

3. ຂັ້ນຕອນໃນການກຽມ Premix (ການສະກັດ DNA)

- RO Sterile 17.25 μ l
- 10x buffer 3 μ l
- MgCl₂ (25mM) 2.4 μ l
- 2.5mM dNTP 2.4 μ l
- Primer NL1 (10 pmol) 0.9 μ l
- Primer NL4 (10 pmol) 0.9 μ l
- Taq pol 0.75 μ l
- DNA template 3 μ l

ລວມທັງໝົດ: 30 μ l

4. ຈຳນວນໄອໂຊເລດ ແລະ ຊື່ຂອງຕົວຢ່າງທີ່ຄັດເລືອກຈາກເຊື້ອບໍລິສຸດ 6 ໄອໂຊເລດ

ໄອໂຊເລດ OX 15 = ເປືອກໝາກເງາະ

ໄອໂຊເລດ OX 16 = ເປືອກໝາກເງາະ

ໄອໂຊເລດ OX 17 = ເປືອກໝາກນອຍ

ໄອໂຊເລດ OX 22 = ກາກໝາກພ້າວ (ກາບນອກ)

ໄອໂຊເລດ OX 25 = ຫຍ້ານວນນ້ອຍ

ໄອໂຊເລດ OX30 = ຂີ້ແປ້ງ (ເປັນຝຸ່ນ)

5. ສູດ ແລະ ຕົວຢ່າງການຄິດໄລ່ຫາບໍລິມາດຂອງຫົວເຊື້ອທີ່ໃຊ້ໃນການໝັກ

$$\text{ສູດ: } C_1V_1 = C_2V_2$$

C_1V_1 = ຄວາມເຂັ້ມຂຸ້ນເລີ່ມຕົ້ນຂອງຫົວເຊື້ອ ແລະ ບໍລິມາດທີ່ຕ້ອງການໃຊ້

C_2V_2 = ຄວາມເຂັ້ມຂຸ້ນ ແລະ ບໍລິມາດທີ່ຕ້ອງການໝັກ

$$C_2 = 0.5$$

$$V_2 = 100\text{ml}$$

$$C_1 \times 100$$

$$V_1 = \dots\dots?$$

ຕົວຢ່າງການຄິດໄລ່ (ຄ່າ OD ຂອງຫົວເຊື້ອເທົ່າ 0.20)

$$V_1 = \frac{0.5 \times 100}{0.20 \times 100} = 2.5 \text{ ml}$$

$$V_1 = 2.5 \text{ ml}$$

(ສຳລັບໄອໂຊເລດອື່ນໆແມ່ນຄິດໄລ່ແບບດຽວກັນ)

6. ການກວດສອບເອັນໄຊມ Catalase test

ເມື່ອໄດ້ Colony ທີ່ບໍລິສຸດແລ້ວນຳມາກວດສອບເອັນໄຊມ ໂດຍໃຊ້ເຂັ້ມເຂ່ຍເຊື້ອແຕະເອົາ Colony ດຽວໆໃດໜຶ່ງຂອງເຊື້ອມາເຂ່ຍລົງໃນແຜ່ນສະໄລດ໌ ແລ້ວຢອດ H_2O_2 ລົງໃສ່ບໍລິເວນທີ່ມີເຊື້ອເທິງແຜ່ນສະໄລດ໌, ຖ້າມີຜອດເກີດຂຶ້ນສະແດງວ່າຢີສເຫຼົ່ານັ້ນມີການສ້າງເອັນໄຊມ Catalase, ຖ້າບໍ່ມີຜອດເກີດຂຶ້ນສະແດງວ່າຢີສເຫຼົ່ານັ້ນບໍ່ມີການສ້າງເອັນໄຊມ Catalase .

7. ການຍ້ອມສີແກຣມ

ເມື່ອຮູ້ວ່າຢີສທີ່ຕ້ອງການສຶກສານັ້ນມີການສ້າງເອັນໄຊມ Catalase ຫຼື ບໍ່ມີ. ຈາກນັ້ນນຳມາຍ້ອມແກຣມ ເພື່ອສັງເກດລັກສະນະທາງສັນຖານວິທະຍາຂອງເຊື້ອຢີສໂດຍນຳໄປສ່ອງຜ່ານກ້ອງຈຸລະທັດທີ່ກຳລັງຂະຫຍາຍ 100 ເທົ່າ.

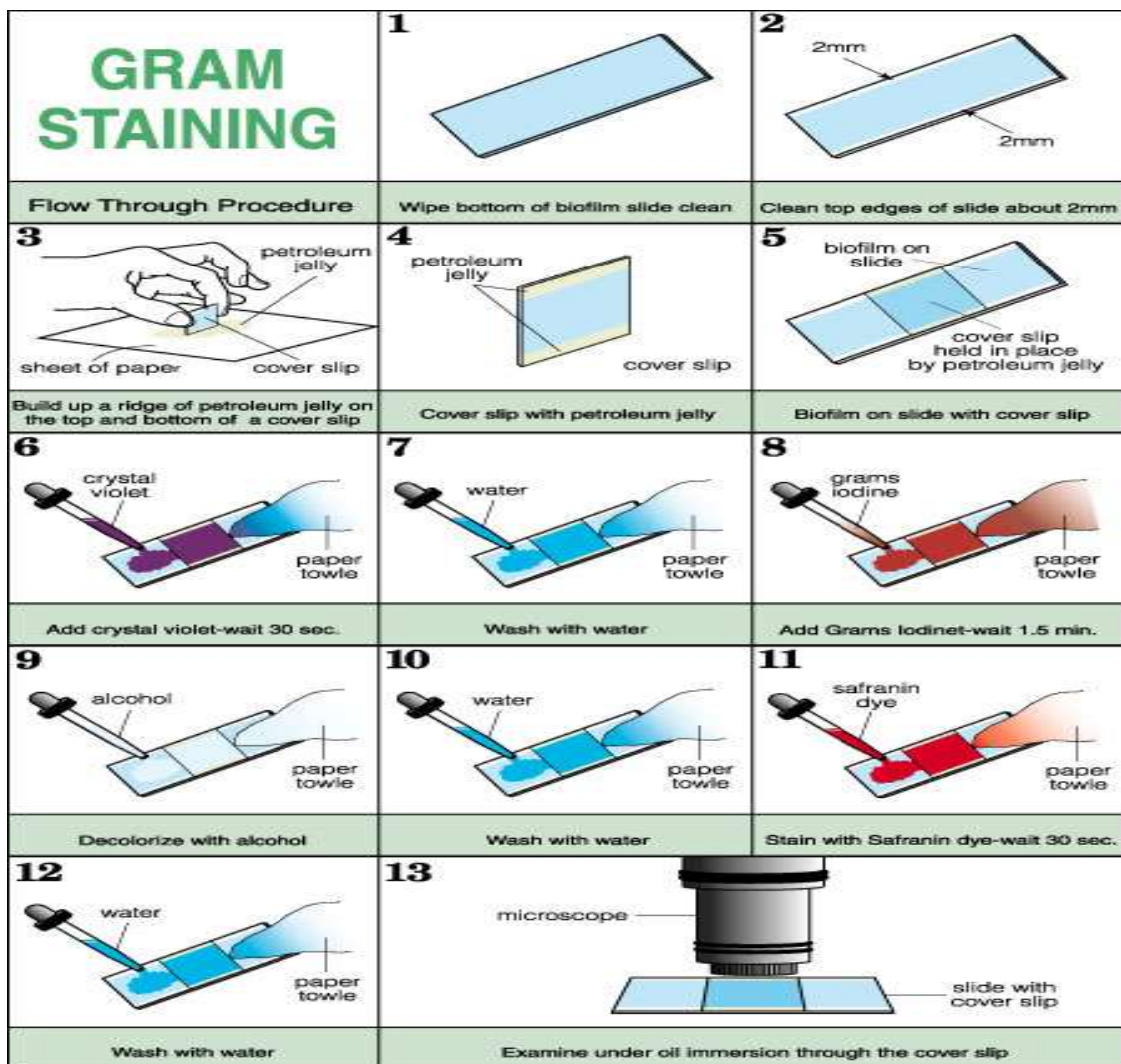
ການຍ້ອມສີແກຣມເປັນວິທີການເບື້ອງຕົ້ນ ໃນການຈຳແນກຢີສອອກເປັນ 2 ກຸ່ມ ໄດ້ແກ່: ແກຣມບວກ ແລະ ແກຣມລົບ. ການຍ້ອມແບບນີ້ຈັດເປັນການຍ້ອມແບບ Differential staining ໝາຍເຖິງການໃຊ້ສີຍ້ອມຕັ້ງແຕ່ 2 ຊະນິດຂຶ້ນໄປ. ສີຍ້ອມທຳອິດເອີ້ນວ່າ: Primary stain ເຊິ່ງໄດ້ແກ່: ສີ Crystal violet. ສ່ວນສີທີ່ 2 ເອີ້ນວ່າ: counter stain ຫຼື Secondary stain ສີທີ່ໃຊ້ ຄື: Safranin O. ຢີສທີ່ຍ້ອມຕິດສີທຳອິດແມ່ນແກຣມບວກ, ສ່ວນຢີສທີ່ຍ້ອມຕິດສີທີ່ 2 ແມ່ນແກຣມລົບ. ລະຫວ່າງການ

ຍ້ອມສີທຳອິດກັບສີທີ 2 ຈະມີການໃສ່ທາດລະລາຍໄອໂອດີນ ເຊິ່ງເຮັດໜ້າທີ່ເປັນ Mordant ຊ່ວຍໃຫ້ Crystal violet ຈັບກັບຢີສ໌ແກຣມບວກໄດ້ແໜ້ນບໍ່ຫຼຸດເມື່ອລ້າງອອກດ້ວຍທາດລະລາຍເອຕາໂນລ.

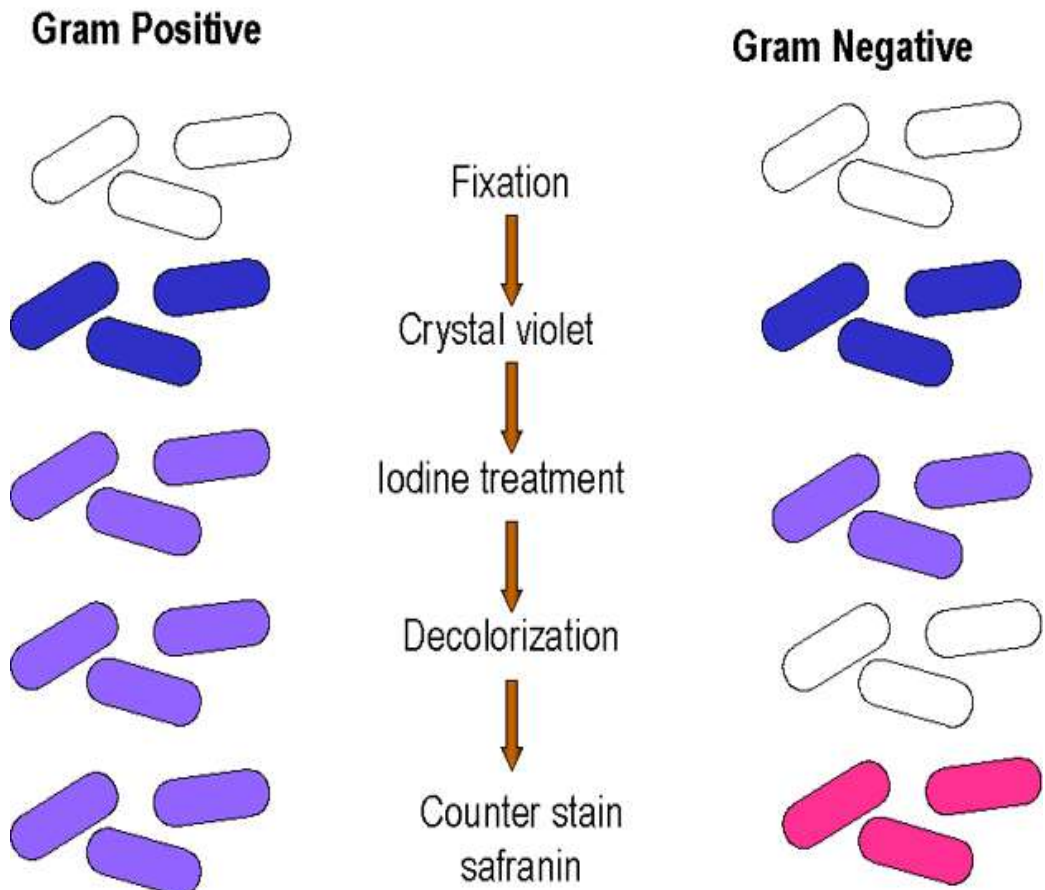
ການທີ່ຈຸລັງຢີສ໌ຈະຕິດສີແບບໃດນັ້ນ ເນື່ອງຈາກສ່ວນປະກອບທາງດ້ານເຄມີ ແລະ ໂຄງສ້າງຂອງຂອບຫຸ້ມຈຸລັງຢີສ໌ທີ່ຕ່າງກັນ. ພວກແກຣມລົບຈະມີປະລິມານໄຂມັນທີ່ຂອບຈຸລັງສູງ. ເຮັດໃຫ້ເມື່ອຊະລ້າງສີດ້ວຍທາດລະລາຍເອຕາໂນລ. ໄຂມັນຈະຖືກລ້າງອອກ ແລະ ທາດປະກອບສັບຊ້ອນ Crystal violet iodine ຈະຫຼຸດອອກຈາກຈຸລັງໄດ້ງ່າຍເພາະຂອບຈຸລັງຈະເກີດມີຮູຫຼາຍຂຶ້ນ. ຢ່າງໃດກໍຕາມການຕິດສີຂອງຢີສ໌ໂດຍສະເພາະຢ່າງຍິ່ງ Crystal violet ມີຜົນຈາກປັດໄຈພາຍນອກຫຼາຍປະການ ເຊັ່ນ: ປະລິມານຄວາມຮ້ອນທີ່ໃຊ້ລະຫວ່າງການຂາງ (Smear), ການໃຊ້ປະລິມານເຊື້ອຫຼາຍເກີນໄປເທິງ Smear, ໄລຍະເວລາທີ່ໃຊ້ໃນການຍ້ອມແຕ່ລະຂັ້ນຕອນ (ໂດຍສະເພາະຢ່າງຍິ່ງການໃຊ້ທາດລະລາຍໄອໂອດີນ ແລະ ການລ້າງສີດ້ວຍທາດລະລາຍເອຕາໂນລ), ອາຍຸຂອງຈຸລັງຢີສ໌ (ປົກກະຕິຄວນມີອາຍຸບໍ່ເກີນ 24 ຊົ່ວໂມງ). ດັ່ງນັ້ນ, ໃນການຍ້ອມສີແບບນີ້ ບໍ່ຄວນໃຫ້ປັດໄຈພາຍນອກມີອິດທິພົນຕໍ່ຜົນຂອງການຍ້ອມ. ການຈຳແນກຢີສ໌ອອກເປັນ 2 ກຸ່ມ ແມ່ນມີປະໂຫຍດຢ່າງຫຼາຍໃນການຄົ້ນຄວ້າວິໄຈທາງຈຸລະຊີບວິທະຍາເຊິ່ງມີວິທີປະຕິບັດດັ່ງນີ້:

▪ ວິທີການຍ້ອມສີແກຣມ

- 1) ຢອດນໍ້າ 1 ຢອດ ໃສ່ແຜ່ນສະໄລດ໌ແລ້ວເຂ່ຍເຊື້ອ (Smear) ລົງໃສ່ເພື່ອໃຫ້ເຊື້ອດັ່ງກ່າວ ກະຈາຍອອກ ແລ້ວເຮັດໃຫ້ເຊື້ອຈັບຕິດກັບແຜ່ນສະໄລດ໌ດ້ວຍການນໍາເອົາໄປຂາງ ແປວໄຟອ່ອນໆ (Fixation).
- 2) ຢອດທາດລະລາຍຂອງ Grystal violet ໃສ່ແຜ່ນສະໄລດ໌ Smear ເຊື້ອໄວ້ແລ້ວ, ປະໄວ້ 30 ວິນາທີ ແລ້ວລ້າງອອກດ້ວຍນໍ້າກັນ.
- 3) ຢອດ Gram's iodine ໃສ່, ປະໄວ້ 30 ວິນາທີ ແລ້ວລ້າງອອກດ້ວຍນໍ້າກັນ.
- 4) ຢອດ Acetone alcohol ໃສ່, ປະໄວ້ 1 ນາທີ ແລ້ວລ້າງອອກດ້ວຍນໍ້າກັນ.
- 5) ຢອດ Safranin O ໃສ່, ປະໄວ້ 30 ວິນາທີ ແລ້ວລ້າງອອກດ້ວຍນໍ້າກັນ.
- 6) ປະໄວ້ໃຫ້ແຜ່ນສະໄລດ໌ແຫ້ງ ແລ້ວນໍາມາສ່ອງກ້ອງຈຸລະທັດເພື່ອສັງເກດເບິ່ງລັກສະນະທາງ ສັນຖານວິທະຍາຂອງເຊື້ອຢີສ ເຊິ່ງມີຂັ້ນຕອນ ແລະ ວິທີການຍ້ອມສີແກຣມ ດັ່ງຮູບລຸ່ມນີ້:



ຮູບທີ 1: ຂັ້ນຕອນ ແລະ ວິທີການຍ້ອມສີແກຣມ



ຮູບທີ 2: ລັກສະນະການຕິດສີ

8. ການກຽມຕົວຢ່າງເພື່ອວິເຄາະປະລິມານເຫຼົ້າເອຕາໂນລດ້ວຍເຄື່ອງ Gas Chromatography

ນໍາຫຼອດທົດລອງ (Vial) ສໍາລັບໃຊ້ກັບເຄື່ອງ GC ແລ້ວຕື່ມນໍ້າກິ່ນທີ່ຜ່ານການຂ້າເຊື້ອຈໍານວນ 900 µl ແລ້ວດູດເອົາຕົວຢ່າງທີ່ເກັບແຕ່ລະຊົ່ວໂມງທີ່ເກັບນັ້ນລົງໃສ່ຈໍານວນ 100 µl ແລ້ວປະສົມເຂົ້າກັນໃຫ້ດີ. ຈາກນັ້ນນໍາໄປໃສ່ຖ້ານວາງຫຼອດໃນເຄື່ອງ GC ແລ້ວເຄື່ອງຈະດູດເຂົ້າໄປໃນຄໍລໍາຂອງເຄື່ອງໂດຍອັດຕະໂນມັດ ເຊິ່ງບໍລິມາດຕົວຢ່າງທີ່ໃຊ້ແມ່ນ 10 µl, ໃຊ້ແກັສໄນໂຕຣເຈນເປັນຕົວພາ ແລະ ແກັສໄຮໂດຣເຈນເປັນຕົວເຜົາໃຫ້ເປັນອາຍ. ຫຼັງຈາກນັ້ນເຄື່ອງພິມຈະອ່ານຜົນອອກມາເປັນພິກ (Peak) ແລະ ພື້ນທີ່ຂອງພິກແລ້ວຈຶ່ງມາຄິດໄລ່ເປີເຊັນຂອງເຫຼົ້າເອຕາໂນລຕາມເສັ້ນສະແດງມາດຕະຖານ. ການວິເຄາະເອຕາໂນລໃນຕົວຢ່າງແຕ່ລະຄັ້ງຕ້ອງສືບຄວາມເຂັ້ມຂຸ້ນມາດຕະຖານຂອງເຫຼົ້າເອຕາໂນລທຸກຄັ້ງ.

9. ຂັ້ນຕອນໃນການຈັດຈຳແນກໂດຍການສະກັດ DNA

ລ້ຽງເຊື້ອໃນອາຫານແຂງ YPX ເປັນເວລາ 24-48 ຊົ່ວໂມງ, ໃສ່ນໍ້າກັນທີ່ຂ້າເຊື້ອແລ້ວ ລົງໃນ Ependoft ຈຳນວນ 50 μ l, ໃຊ້ເຂັມເຂ່ຍເຊື້ອຊຸດເອົາເຊື້ອຈາກອາຫານແຂງ YPX ໃຫ້ເຕັມບັ້ວງ ແລ້ວເອົາລົງໃສ່ໃນຫຼອດ Ependoft ແລ້ວປະສົມໃຫ້ເຂົ້າກັນ ເຊິ່ງປະຕິບັດດັ່ງລຸ່ມນີ້:

- ເອົາຈຸລັງຈາກອາຫານລ້ຽງເຊື້ອ 3 ml ນຳໄປປັ່ນດ້ວຍຄວາມໄວ 5.000 rpm ອຸນຫະພູມ 4°C ເປັນເວລາ 5 ນາທີ.
- ນຳໄປປັ່ນຊ້ຳຄືນອີກ 2 ຄັ້ງ (ແຕ່ລະຄັ້ງປັ່ນຈຸເຊື້ອ 1.5 ml).
- ປັ່ນໃຊ້ໃນສານລະລາຍ sorbitol 0.5 ml (ເບິ່ງປະຕິກິລິຍາ).
- ໃສ່ 1 μ l ຂອງ Zymolase 25 mg/ml ລົງໃສ່ໃນ sorbitol buffer, ເຊິ່ງ Zymolase ຈະທຳລາຍແພຈຸລັງແພໜັງປົກຂອງຢີສ໌.
- ນຳໄປປັ່ນທີ່ອຸນຫະພູມ 37°C ເປັນເວລາ 30 ນາທີ ໃນອ່າງນໍ້າອຸ່ນ (waterbath).
- ເກັບຈຸລັງ ແລະ ຂອງແຫຼວ (ສ່ວນໃສ) ມາລະລາຍໃນ 0.5 ml ຂອງ resuspension buffer ຂອງຢີສ໌.
- ໃສ່ 50 μ l ຂອງ SDS 10% ປະສົມໃຫ້ເຂົ້າກັນຢ່າງໄວ, ເຊິ່ງ SDS ຈະໄປລະລາຍຂອບຫຸ້ມຈຸລັງ.
- ນຳໄປປັ່ນທີ່ອຸນຫະພູມ 65°C ເປັນເວລາ 30 ນາທີ ໃນອ່າງນໍ້າອຸ່ນ.
- ໃສ່ 200 μ l ຂອງ CH₃COOH ເຂັ້ມຊັ້ນ 5 M ແລ້ວນຳໄປສັ່ນ (Vortex).
- ນຳໄປວາງໄວ້ເທິງນໍ້າກ້ອນເປັນເວລາ 45 ນາທີ ຫາ 1 ຊົ່ວໂມງ.
- ນຳໄປປັ່ນດ້ວຍຄວາມໄວ 14.000 rpm ອຸນຫະພູມ 4°C ເປັນເວລາ 5 ນາທີ.
- ນຳເອົາສ່ວນໃສລົງໃສ່ໃນຂວດໃໝ່ (ໃນອຸນຫະພູມຫ້ອງ).
- ຕົ້ມ Phenol chloroform ໃນບໍລິມາດເທົ່າໆກັນ, ສັ່ນຄ່ອຍໆໃຫ້ເຂົ້າກັນເປັນເວລາ 1 ນາທີ.
- ນຳໄປປັ່ນດ້ວຍຄວາມໄວ 14.000 rpm ອຸນຫະພູມ 4°C ເປັນເວລາ 5 ນາທີ.
- ນຳເອົາສ່ວນເທິງຂອງຕົວຢ່າງດັ່ງກ່າວໃສ່ໃນຂວດໃໝ່.
- ໃສ່ isopropanol ໃນບໍລິມາດເທົ່າໆກັນ, ປະສົມໃຫ້ເຂົ້າກັນ.
- ນຳໄປປັ່ນທີ່ອຸນຫະພູມຫ້ອງເປັນເວລາ 5 ນາທີ (ບໍ່ໃຫ້ກາຍ 5 ນາທີ).
- ນຳໄປປັ່ນດ້ວຍຄວາມໄວ 14.000 rpm ອຸນຫະພູມ 4°C ເປັນເວລາ 5 ນາທີ.
- ນຳເອົາສ່ວນທີ່ຕົກຕະກອນ DNA ທີ່ຢູ່ກິນຫຼອດ ແລ້ວເອົາສ່ວນເທິງຖິ້ມ ໂດຍໃຊ້ pipette.
- ເຮັດໃຫ້ແຫ້ງໃນຕູ້ອົບ ທີ່ອຸນຫະພູມ 55°C ເປັນເວລາ 5-10 ນາທີ.
- ເອົາຕະກອນຈຸລັງດັ່ງກ່າວມາລະລາຍໃນ 150 μ l ຂອງ TE ໂດຍໃຫ້ pH=7.4

- ໃສ່ 3 μ l ຂອງເອັນໄຊມ RNAse 10 mg/ml.
- ນຳໄປປົ້ມທີ່ອຸນຫະພູມ 37°C ເປັນເວລາ 30 ນາທີ.
- ເຮັດໃຫ້ DNA ບໍລິສຸດ, ໃສ່ Phenol chloroform ໃນບໍລິມາດເທົ່າໆກັນ ສັ່ນຄ່ອຍໆໃຫ້ເຂົ້າກັນ ເປັນເວລາ 10 ນາທີ.
- ນຳໄປປັ່ນດ້ວຍຄວາມໄວ 14.000 rpm ອຸນຫະພູມ 4°C ເປັນເວລາ 5 ນາທີ.
- ນຳເອົາສ່ວນໃສດ້ານເທິງໃສ່ໃນຫຼອດໃໝ່.
- ໃສ່ 303 μ l ຂອງ Na-acetate (CH_3COONa) ເຂັ້ມຊັ້ນ 3 M ເຊິ່ງມີ pH=7.0 ປະສົມໃຫ້ ເຂົ້າກັນ.
- ໃສ່ 200 μ l ຂອງ isopropanol ແລ້ວປະສົມໃຫ້ເຂົ້າກັນ.
- ນຳໄປປັ່ນດ້ວຍຄວາມໄວ 14.000 rpm ອຸນຫະພູມ 4°C ເປັນເວລາ 5 ນາທີ.
- ເອົາສ່ວນທີ່ຕົກຕະກອນ DNA ທີ່ຢູ່ກົ້ນຫຼອດ, ແລ້ວນຳເອົາສ່ວນເທິງຖິ້ມໂດຍໃຊ້ pipette ດູດຖິ້ມໃຫ້ໝົດ.
- ເຮັດໃຫ້ແຫ້ງໃນຕູ້ອົບທີ່ອຸນຫະພູມ 55°C ເປັນເວລາ 5-10 ນາທີ.
- ລະລາຍ DNA ໃນ 30-50 ຂອງ TE ໂດຍໃຫ້ pH=7.4 (ຂຶ້ນກັບປະລິມານຂອງ DNA ຫຼັງ ການຕາກ)
- ຫຼັງຈາກນັ້ນນຳໄປກວດສອບຫາປະລິມານ DNA ດ້ວຍເຄື່ອງ Electrophoresis.

ເອກະສານແນບທ້າຍ 2



ລໍາຕົ້ນກ້ວຍທີ່ຕັດເຄືອອອກແລ້ວ
(ສິ່ງເສດເຫຼືອ)



ເພືອງເນົ່າ
(ສິ່ງເສດເຫຼືອ)



ລໍາເຫງົ້າມັນຕົ້ນທີ່ຖິ້ມແລ້ວ
(ສິ່ງເສດເຫຼືອ)



ຂີ້ເລື້ອຍ



ດອກເສດຖີ



ດອກດາວເຮືອງ



ໃບໝາກຫຸ່ງ



ໃບຕອງແຫ້ງ (ສິ່ງເສດເຫຼືອ)



ໝາກເຂືອຄົ້ນ



ໃບມັນຕົ້ນ



ຜັກຫົມ



ຕົ້ນມ່ວງໂດກ (ສິ່ງເສດເຫຼືອ)



ໝາກດອກເຜິ້ງ



ດອກເຂັມນ້ອຍ



ດອກນາງກ້ວກ



ດິນສວນກ້ວຍ



ດິນສວນມັນຕົ້ນ



ເສດໄມ້ໄຜ່ (ສິ່ງເສດເຫຼືອ)



ຂີ້ແປ້ງ (ເປັນຝຸ່ນ)



ເປືອກໄມ້ດູ່



ໝາກເງາະ



ຫຍ້ານວນນ້ອຍ
(ສິ່ງເສດເຫຼືອ)



ໃບໄມ້ໄຜ່
(ສິ່ງເສດເຫຼືອ)



ອ້ອຍ
(ສິ່ງເສດເຫຼືອ)

ຮູບທີ 3: ຮູບພາບ ຕົວຢ່າງທີ່ນຳມາສຶກສາ (ບາງຕົວຢ່າງເທົ່ານັ້ນ)

ເອກະສານແບບທ້າຍ 3

1. ຜົນການບົ່ມເຊື້ອໃນອາຫານແຫຼວ YPX



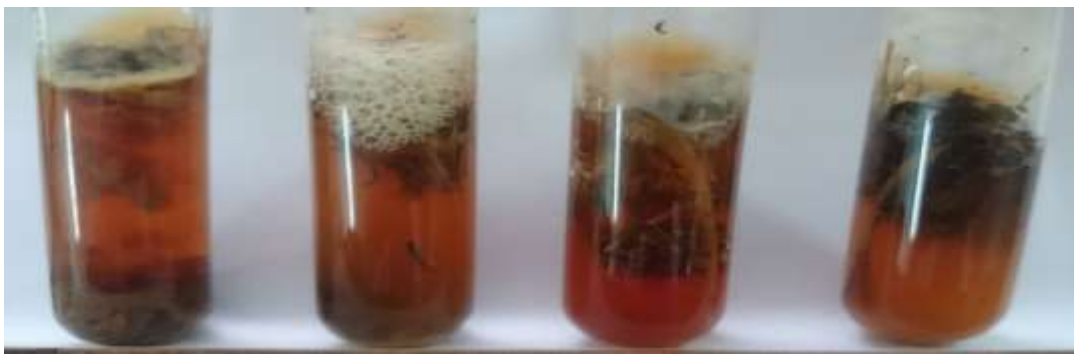
ຫຍ້າ (ສິ່ງເສດເຫຼືອ)



ແກບ (ສິ່ງເສດເຫຼືອ)



ກາກໝາກພ້າວ (ສິ່ງເສດເຫຼືອ)



ເປືອກກ້ວຍ
(ສິ່ງເສດເຫຼືອ)

ຫຍ້າ
(ສິ່ງເສດເຫຼືອ)

ໃບຕອງແຫ້ງ
(ສິ່ງເສດເຫຼືອ)

ລຳຕົ້ນກ້ວຍເນົາ
(ສິ່ງເສດເຫຼືອ)



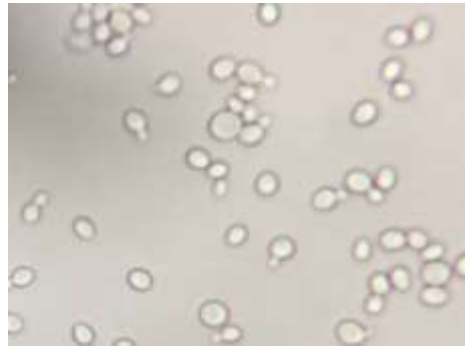
ກະໂປະ ໝາກຖົ່ວດິນ ໝາກແອັບ ເປືອກໝາກ ໝາກໄຟ ໝາກນອຍ ໝາກເລັ່ນ
ໝາກພ້າວ ເປັນ ມ່ວງ
(ສິ່ງເສດເຫຼືອ)

ຮູບທີ 4: ລັກສະນະປາກົດຂຶ້ນມາໃຫ້ເຫັນຂອງເຊື້ອຢີສໆຕົວຢ່າງໃນອາຫານແຫຼວ YPX

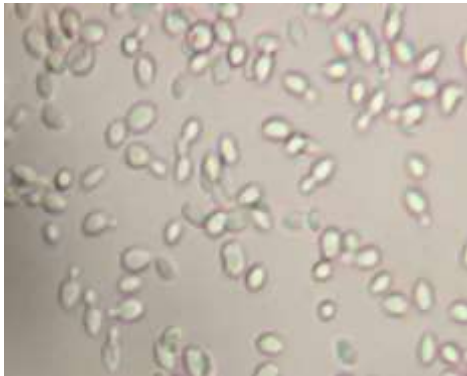
2. ລັກສະນະທາງສັນຖານວິທະຍາຂອງເຊື້ອຢີສ



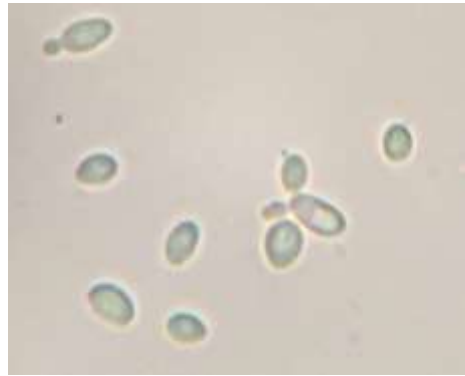
ກ. ຮູບມົນກົມ



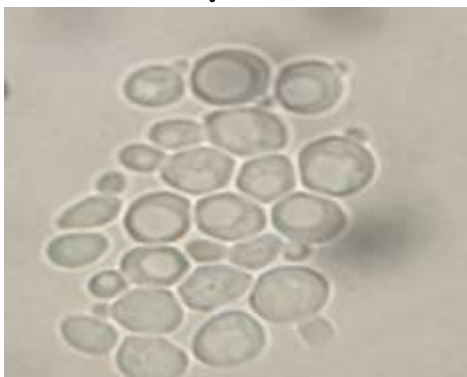
ຂ. ຮູບມົນ



ຄ. ຮູບໄຂ່ຍາວ



ງ. ຮູບໄຂ່



ຈ. ການແບ່ງຕົວ



ສ. ການແຕກໜໍ່, ສ້າງເສັ້ນໄຍທຽມ

ຮູບທີ 5: ລັກສະນະທາງສັນຖານວິທະຍາຂອງເຊື້ອຢີສ

3. ອາຫານແຂງທີ່ໃຊ້ໃນການແຍກ ແລະ ຄັດເລືອກເຊັ່ນຢີສ



ອາຫານລ້ຽງເຊັ່ນ YPD



ອາຫານລ້ຽງເຊັ່ນ YPS



ອາຫານລ້ຽງເຊັ່ນ YPX



ອາຫານລ້ຽງເຊັ່ນ YNB

ຮູບທີ 6: ອາຫານແຂງທີ່ໃຊ້ໃນການແຍກ ແລະ ຄັດເລືອກເຊັ່ນຢີສ

ເອກະສານແນບທ້າຍ 4

ລະຫັດຂອງເຊື້ອຢີສ ແລະ ການຈັດລຽງ Nucleotide

OX15: *Candida tropicalis* SY5-3 clone SY5-3D (98%)

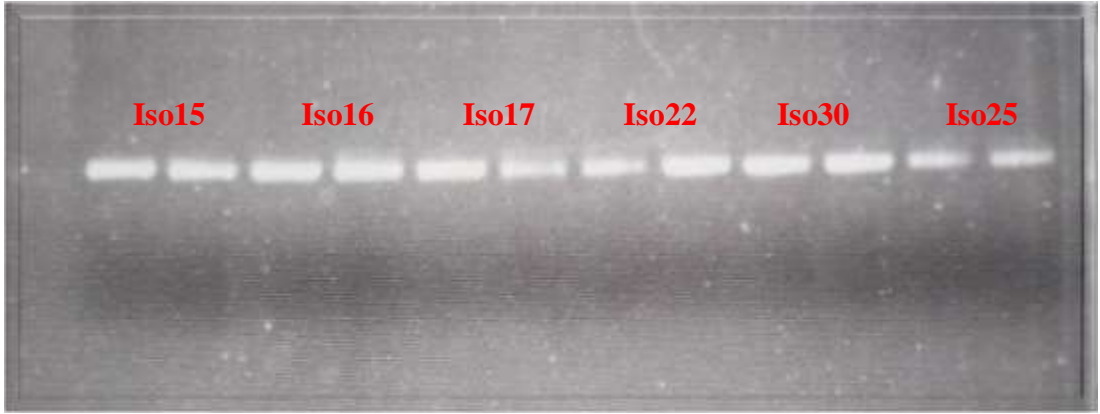
TAACCTAGACGGGATTGCCTTAGTAGCGGCGAGTGAAGCGTGCAAAAGCTCAAA
TTTCAAATCTGGCTCTTTCAGAGTCCGAGTTGTAATTTGAAGAAGGTATCTTTGGG
TCTGGCTCTTGTCTATGTTTCTTGGAAACAGAACGTCACAGAGGGTGAGAATCCCG
TGCGATGAGATGATCCAGGCCTATGTAAAGTTCCTTCGAAGAGTCGAGTTGTTTG
GGAATGCAGCTCTAAGTGGGTGGTAAATTCCATCTAAAGCTAAATATTGGCGAGA
GACCGATAGCGAACAAAGTACAGTGATGGAAAGATGAAAAGAACTTTGAAAAGAG
AGTGAAAAAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAAGGGCTTGAGATCAGACTTGGT
ATTTTGTATGTTACTTCTTCGGGGGTGGCCTCTACAGTTTATCGGGCCAGCATCAG
TATTGGGCGGTAGGAGAATTGCGTTGGAATGTGGCACGGCTTCGGTTGTGTGTAA
TAGCCTTCGTCGATACTGCCAGCCTAGACTGAGGACTGCGGTTTATACCTAGGAT
GTGCGGCATAATGATCTTAAGTCGCCCCTGTCTGGAAACACGCCCAA

OX16: *Candida tropicalis* XJURML (98%)

ATAACTTAGCGGGATTGCCTTAGTAGCGGCGAGTGAAGCGTGCAAAAGCTCAAA
TTTCAAATCTGGCTCTTTCAGAGTCCGAGTTGTAATTTGAAGAAGGTATCTTTGGG
TCTGGCTCTTGTCTATGTTTCTTGGAAACAGAACGTCACAGAGGGTGAGAATCCCG
TGCGATGAGATGATCCAGGCCTATGTAAAGTTCCTTCGAAGAGTCGAGTTGTTTG
GGAATGCAGCTCTAAGTGGGTGGTAAATTCCATCTAAAGCTAAATATTGGCGAGA
GACCGATAGCGAACAAAGTACAGTGATGGAAAGATGAAAAGAACTTTGAAAAGAG
AGTGAAAAAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAAGGGCTTGAGATCAGACTTGGT
ATTTTGTATGTTACTTCTTCGGGGGTGGCCTCTACAGTTTATCGGGCCAGCATCAG
TATTGGGCGGTAGGAGAATTGCGTTGGAATGTGGCACGGCTTCGGTTGTGTGTAA
TAGCCTTCGTCGATACTGCCAGCCTAGGACTGAGGACTGCGGTTTATACCTAGG
ATGTGCGGCATAATGATCTTAAGTCCCCCTTCTTTGGAAACACGGGAAAA

OX17: *Candida tropicalis* SY5-3 clone SY5-3D (98%)

GGATAACCTAACACGGGGATTGCCTTAGTAGCGGCGAGTGAAGCGTGCAAAAGC
TCAAATGTCTGAAATCTGGCTCTTTCAGAGTCCGAGTTGTAATTTGAAGAAGGTA
TCTTTGGGTCTGGCTCTTGTCTATGTTTCTTGGAAACAGAACGTCACAGAGGGTGAG
AATCCCGTGCGATGAGATGATCCAGGCCTATGTAAAGTTCCTTCGAAGAGTCGAG
TTGTTTGGGAATGCAGCTCTAAGTGGGTGGTAAATTCCATCTAAAGCTAAATATT
GGCGAGAGACCGATAGCGAACAAAGTACAGTGATGGAAAGATGAAAAGAACTTTG
AAAAGAGAGTGAAAAAGTACGTGTAATTGTTGAAAGGGAAGGGCTTGAGATCA
CGACTTGGTATTTTGTATGTTACTTCTTCGGGGGTGGCCTCTACAGTTTATCGGGC
CATCATCAGATTGGGGCGGTAGGAGAATTACGTCTGGAATGTGGCACGGCTTTCG
GTTGTGTGTAATATGCCAAACGGTCGATATCTGCCAGTCCTCAGGAACCTTGAGG
GCACTCGTCGGGGTGTATTACTCCCTCAGCCGGAATGGGTGTCTGGTCCGAG



ໝາຍເຫດ: Iso ໝາຍເຖິງ ໄອໂຊເລດ

(15, 16, 17, 22, 25 ແລະ 30) ໝາຍເຖິງ ລະຫັດຂອງຕົວຢ່າງ

ຮູບທີ 7: ແຖບ DNA ຂອງໄອໂຊເລດທີ່ຜ່ານການເຮັດໃຫ້ບໍລິສຸດແລ້ວ

ເອກະສານແນບທ້າຍ 5

1. ອຸປະກອນທີ່ໃຊ້ໃນການທົດລອງ



Centrifuge (Spectrofuge 16M)



ເຄື່ອງປະສົມ (Tube mixer, Vortex; TM-2000, Ecan)



ຊິງຊັ່ງລະອຽດ
(OHAUS 2100 g x 0.01 g)



ເຄື່ອງ Spectrophotometer
(UV mini-1240)



ເຄື່ອງພິມຕໍ່ກັບ GC: chromatopac
(C-R8A, SHIMADZU)



ກ້ອງຈຸລະທັດ (Compound
Microscop)



ເຄື່ອງ Gas Chromatograph
(GC-2014, SHIMADZU)



ຕູ້ເຂ່ຍເຊື້ອ (Lamina air flow)



ພິ້ໝັ້ງຂ້າເຊື້ອດ້ວຍຄວາມດັນ
(Autoclave)



Microwave
Samsung MG23F301EAS/SL 23L



ຊິງຊັ່ງລະອງດ



ຕູ້ເກັບຮັກສາເຊື້ອ



ພັ້ໜັ່ງຂ້າເຊື້ອດ້ວຍຄວາມດັນ
(Autoclave)



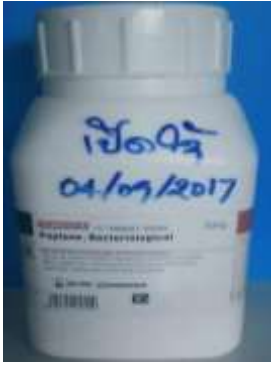
ຕູ້ບົ່ມເຊື້ອ



ຕູ້ບົ່ມເຊື້ອ
Incubator

ຮູບທີ 8. ບາງອຸປະກອນທີ່ໃຊ້ໃນການທົດລອງ

2. ທາດເຄມີທີ່ໃຊ້ໃນການທົດລອງ



Peptone



Yeast extract



Sucrose



YNB



Xylose



Agar



Ethanol



H₂O₂

ຮູບທີ 9. ບາງທາດເຄມີທີ່ໃຊ້ໃນການທົດລອງ

ປະຫວັດຫຍໍ້ຂອງຜູ້ສຶກສາ



ຊື່: ນາງ ອໍລະໄທ
Name: Ms Orathai
ນາມສະກຸນ: ສຸລິຍາ
Surname: SULIYA
ວ.ດ.ປ ເກີດ: 24.01.1994
ບ້ານເກີດ: ບ້ານໜອງໜ້ວ, ເມືອງສີໂຄດຕະບອງ, ນະຄອນຫຼວງວຽງຈັນ.
ບ້ານຢູ່ປັດຈຸບັນ: ບ້ານດອນຕົ້ວ, ເມືອງໄຊທານີ, ນະຄອນຫຼວງວຽງຈັນ
ເບີໂທ: +8562099944219
Email: orathai.suliyaa@yahoo.com
orathai.suliyaa@gmail.com

ປະຫວັດການສຶກສາ

2016-2018 ເປັນນັກສຶກສາປະລິນຍາໂທ ຢູ່ທີ່ ມະຫາວິທະຍາໄລແຫ່ງຊາດ, ພາກວິຊາ ຊີວະວິທະຍາ ຄະນະວິທະຍາສາດທຳມະຊາດ.

2011-2015 ຮຽນປະລິນຍາຕີ ຢູ່ທີ່ ມະຫາວິທະຍາໄລແຫ່ງຊາດ, ພາກວິຊາຊີວະວິທະຍາ, ຄະນະວິທະຍາສາດທຳມະຊາດ.

2008-2011 ຮຽນຢູ່ທີ່ໂຮງຮຽນມັດທະຍົມສຶກສາສົມບູນດອນໜູນ, ເມືອງໄຊທານີ, ນະຄອນຫຼວງວຽງຈັນ.

2007-2008 ຮຽນຢູ່ທີ່ໂຮງຮຽນມັດທະຍົມຕອນປາຍທົ່ງບົ່ງ, ເມືອງສີໂຄດຕະບອງ, ນະຄອນຫຼວງວຽງຈັນ.

1999-2007 ຮຽນຢູ່ທີ່ໂຮງຮຽນມັດທະຍົມຕອນຕົ້ນແສງວິໄລ, ເມືອງສີໂຄດຕະບອງ, ນະຄອນຫຼວງວຽງຈັນ.

ວັນເດືອນປີເຂົ້າອົງການຈັດຕັ້ງ

ວັນເດືອນປີເຂົ້າຊາວໜຸ່ມ: 25.05.2007
ວັນເດືອນປີເຂົ້າແມ່ຍິງ: 22.04.2008
ວັນເດືອນປີເຂົ້າກຳມະບານ: 22.07.2014