สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การศึกษาสภาวะต่างๆ ที่เหมาะสมต่อการผลิตน้ำตาลไซลิทอลในระดับฟลาสก์เขย่าโดยเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155

T043977

นางสาว วรรณพร เกษสมเกียรติ

นางสาว วิลาสินี เจริญพรนิพัทธ

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 43977
วัน, เดือน, ปี 18 ต.ค. 2545

.b.....
.i.....

โครงงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2544

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

The Study of Optimization Condition for Xylitol Production in the Shaked Flask by *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155

Miss Wannaporn Kessomkiat

Miss Wilasinee Jarernpornnipat

Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement for

the Degree of Bachelor of Science

Department of Appied Biology

Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

2001

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การศึกษาสภาวะต่างๆ ที่เหมาะสมต่อการผลิตน้ำตาลไซลิทอลในระดับฟลาสก์เขย่าโดยเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155

The study of Optimization Condition for Xylitol Production in the Shaked Flask by *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155

โดย นางสาว วรรณพร เกษสมเกียรติ

นางสาว วิลาสินี เจริญพรนิพัทธ

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

อาจารย์ที่ปรึกษา รศ. สุขใจ ชูจันทร์

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
อนุมัติให้นับโครงงานพิเศษฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

..... หัวหน้าภาควิชาชีววิทยาประยุกต์
(รศ. ดร. นวลพรรณ ณ ระนอง)

คณะกรรมการโครงงานพิเศษ

..... ประธานกรรมการ
(ผศ. อารี ฤทธิบูรณ์)

..... กรรมการ
(รศ. มาลินี ตันติยาภรณ์)

..... กรรมการ
(รศ. สุขใจ ชูจันทร์)

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การศึกษาสภาวะต่างๆ ที่เหมาะสมต่อการผลิตน้ำตาลไซลิทอลในระดับฟลาสก์เขย่าโดยเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155
โดย	นางสาว วรรณพร เกษสมเกียรติ
	นางสาว วิลาสินี เจริญพรนิพัทธ
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ. สุขใจ ชูจันทร์
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์
ปีการศึกษา	2544

บทคัดย่อ

การเปลี่ยนน้ำตาลไซโลสเป็นน้ำตาลไซลิทอลโดยวิธีทางชีวภาพโดยเชื้อยีสต์ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ในระดับฟลาสก์เขย่า ซึ่งมีสภาวะต่างๆ ที่เหมาะสมในการผลิตไซลิทอล คือ ใช้ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้น 8 เปอร์เซ็นต์ โดยนำมาเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พีเอชเริ่มต้น 5.5 และใช้ความเร็วรอบ 270 รอบต่อนาที ในอาหารเหลวที่ประกอบด้วยกลูโคส 15 กรัมต่อลิตร ยีสต์สกัด 3 กรัมต่อลิตร มอลต์สกัด 3 กรัมต่อลิตร และเปปโตน 4 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 10 กลูโคสจะลดลงเหลือ 7.923 กรัมต่อลิตร จากนั้นเติมน้ำตาลไซโลส 100 กรัมต่อลิตรแล้วลดความเร็วรอบเหลือ 180 รอบต่อนาที หลังจากทำการหมักนาน 24 ชั่วโมงจะได้ความเข้มข้นของน้ำตาลไซลิทอลและอัตราการผลิตน้ำตาลไซลิทอลเท่ากับ 5.29 กรัมต่อลิตร และ 0.38 กรัมต่อลิตรชั่วโมง ตามลำดับ นอกจากนี้ผลผลิตที่ได้มีค่าเท่ากับ 0.2 กรัมน้ำตาลไซลิทอลต่อกรัมน้ำ-ตาลไซโลส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project title The Study of Optimization Condition for Xylitol Production in the Shaked Flask by *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155

Name Miss Wannaporn Kessomkiat

Miss Wilasinee Jarernpornnipat

Special Project Advisor Associated Professor Sukjai Choojan

Department Appiled Biology

Acadamic Year 2544

Abstract

The bioconversion of xylose into xylitol was carried out using the yeast *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 in the shaked flask. The optimum condition for xylitol production is 8 percent of inoculum size grown at 30 C, intial pH 5.5 and 270 rpm in a liquid medium with 15 g/l of glucose, 3 g/l of yeast extract, 3 g/l of malt extract and 4 g/l of peptone. At 10 hours, glucose was decreased to 7.923 g/l then add 100 g/l of xylose into the medium and change shaking rate to 180 rpm. After 24 hours for fermentation, the xylitol concentration and the xylitol productivity were 5.29 g/l and 0.35 g/l.h respectively. In addition, product yield was 0.2 g xylitol/g xylose

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ด้วยความร่วมมือและความช่วยเหลือของบุคคลดังนี้ รศ. สุขใจ ชูจันทร์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ ผู้ซึ่งให้ความรู้และคำแนะนำต่างๆ รวมทั้งได้กรุณาตรวจทานและแก้ไขเอกสารให้ ผศ. อารี ฤทธิบูรณ์ ประธานกรรมการ และรศ. มาลินี ตันติยาภรณ์ กรรมการพิจารณาโครงงานพิเศษรวมทั้งเจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์และเจ้าหน้าที่ธุรการภาคทุกท่าน ที่คอยอำนวยความสะดวกต่างๆ

และขอขอบคุณพี่ ๆ เพื่อนๆ น้องๆ ทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือ ในการทำโครงงานพิเศษรวมถึงการจัดพิมพ์เอกสารจนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

คณะผู้จัดทำ

มีนาคม 2545

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อปัญหาพิเศษภาษาไทย	ก
บทคัดย่อปัญหาพิเศษภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญตาราง	ง
สารบัญรูป	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 ตรวจเอกสาร	3
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	24
บทที่ 4 ผลการทดลอง	30
บทที่ 5 สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ	38
เอกสารอ้างอิง	39
ภาคผนวก ก	41
ภาคผนวก ข	54
ภาคผนวก ค	56
ภาคผนวก ง	62

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 องค์ประกอบไซลิทอลในผักและผลไม้	3
ตารางที่ 2 คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพที่สำคัญของไซลิทอล	4
ตารางที่ 3 ค่าความร้อนจำเพาะของการละลายของน้ำตาลชนิดต่างๆ	5
ตารางที่ 4 การคำนวณในการผลิตไซลิทอล	37
ตารางภาคผนวกที่ 1 น้ำหนักเซลล์แห้งที่ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้น 4.0-9.0 เปอร์เซ็นต์ที่ระยะเวลาต่างๆ กัน	41
ตารางภาคผนวกที่ 2 ค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะที่ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้น 4.0-9.0 เปอร์เซ็นต์	42
ตารางภาคผนวกที่ 3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่เหมาะสม	42
ตารางภาคผนวกที่ 4 น้ำหนักเซลล์แห้งที่ปริมาณน้ำตาลกลูโคส 0.5-2.0 เปอร์เซ็นต์ที่ระยะเวลาต่างๆ กัน	43
ตารางภาคผนวกที่ 5 ค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะที่ปริมาณกลูโคส 0.5-2.0 เปอร์เซ็นต์	43
ตารางภาคผนวกที่ 6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เหมาะสม	44
ตารางภาคผนวกที่ 7 น้ำหนักเซลล์แห้งที่ปริมาณยีสต์สกัด 0.1-0.5 เปอร์เซ็นต์ที่ระยะเวลาต่างๆ กัน	44
ตารางภาคผนวกที่ 8 ค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะที่ปริมาณยีสต์สกัด 0.1-0.5 เปอร์เซ็นต์	45
ตารางภาคผนวกที่ 9 การวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณยีสต์สกัดที่เหมาะสม	45
ตารางภาคผนวกที่ 10 น้ำหนักเซลล์แห้งที่ปริมาณมอลต์สกัด 0.1-0.4 เปอร์เซ็นต์ที่ระยะเวลาต่างๆ กัน	46
ตารางภาคผนวกที่ 11 ค่าอัตราการเจริญจำเพาะที่ปริมาณมอลต์สกัด 0.1-0.4 เปอร์เซ็นต์	46
ตารางภาคผนวกที่ 12 การวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณมอลต์สกัดที่เหมาะสม	47
ตารางภาคผนวกที่ 13 น้ำหนักเซลล์แห้งที่ปริมาณเปปโตน0.3-0.7 เปอร์เซ็นต์ที่ระยะเวลาต่างๆ กัน	47
ตารางภาคผนวกที่ 14 ค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะที่ปริมาณเปปโตน 0.3-0.7 เปอร์เซ็นต์	48

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง(ต่อ)

หน้า

ตารางภาคผนวกที่ 15 การวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณเปปโตนที่เหมาะสม 48

ตารางภาคผนวกที่ 16 น้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้จากการใช้ความเร็วรอบ 180-270 รอบต่อนาที ที่ระยะเวลาต่างๆ กัน 49

ตารางภาคผนวกที่ 17 ค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะที่ความเร็วรอบ 180-270 รอบต่อนาที 49

ตารางภาคผนวกที่ 18 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความเร็วรอบที่ใช้ในการเขย่าที่เหมาะสม 50

ตารางภาคผนวกที่ 19 แสดงผลต่างค่าเฉลี่ยนของอัตราการเขย่าด้วยวิธี LSD 51

ตารางภาคผนวกที่ 20 น้ำหนักเซลล์แห้งที่เลี้ยงในอาหารเพื่อการผลิตน้ำตาลไซลิทอลที่มีปริมาณน้ำตาลไซโลส 10-20 เปอร์เซ็นต์ ในระดับฟลาสก์เขย่าที่ระยะเวลาต่างๆ กัน 52

ตารางภาคผนวกที่ 21 ปริมาณน้ำตาลไซลิทอลที่ผลิตจาก *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ที่เลี้ยงในอาหารเพื่อการผลิตที่มีปริมาณน้ำตาลไซโลส 10-20 เปอร์เซ็นต์ ในระดับฟลาสก์เขย่าที่ระยะเวลาต่างๆ กัน 53

ตารางภาคผนวกที่ 22 ปริมาณน้ำตาลไซโลสที่ลดลงในอาหารเพื่อการผลิตที่มีปริมาณน้ำตาลไซโลส 10-20 เปอร์เซ็นต์ ในระดับฟลาสก์เขย่าที่ระยะเวลาต่างๆ กัน 53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

หน้า

ภาพที่ 1 เมแทบอลิซึมของน้ำตาลไซลิทอลในร่างกายมนุษย์ 10

ภาพที่ 2 วิธีการต่างๆ ที่ใช้ในการผลิตน้ำตาลไซลิทอล 12

ภาพที่ 3 วิถีการเกิดไซลิทอลจากเมแทบอลิซึมของไซโลสในยีสต์ 15

ภาพที่ 4 เมแทบอลิซึมของน้ำตาลไซโลสโดยยีสต์ *Debaryomyces hansenii* 18

ภาพที่ 5 ลักษณะของ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า 24

ภาพที่ 6 เปรียบเทียบการเติบโตของเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ที่เลี้ยงในอาหารสูตร YM เพื่อการเจริญเติบโตโดยแปรผันปริมาณหัวเชื้อที่ 4, 5, 6, 7, 8 และ9 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งนำมาเพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าโดยใช้ความเร็วรอบ 270 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส 30

ภาพที่ 7 เปรียบเทียบการเติบโตของเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ที่เลี้ยงในอาหารสูตร YM เพื่อการเจริญเติบโตโดยแปรผันปริมาณความเข้มข้นกลูโคสที่ 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งนำมาเพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าโดยใช้ความเร็วรอบ 270 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส 31

ภาพที่ 8 เปรียบเทียบการเติบโตของเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ที่เลี้ยงในอาหารสูตร YM เพื่อการเจริญเติบโตโดยแปรผันปริมาณความเข้มข้นยีสต์สกัดที่ 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งนำมาเพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าโดยใช้ความเร็วรอบ 270 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส 32

ภาพที่ 9 เปรียบเทียบการเติบโตของเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ที่เลี้ยงในอาหารสูตร YM เพื่อการเจริญเติบโตโดยแปรผันปริมาณความเข้มข้นมอลต์สกัดที่ 0.1, 0.2, 0.3 และ 0.4 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งนำมาเพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าโดยใช้ความเร็วรอบ 270 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส 33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป(ต่อ)

หน้า

ภาพที่ 10 เปรียบเทียบการเติบโตของเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ที่เลี้ยงในอาหารสูตร YM เพื่อการเจริญเติบโตโดยแปรผันปริมาณความเข้มข้นเปปโตนที่ 0.3, 0.4, 0.5, 0.6 และ 0.7 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งนำมาเพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าโดยใช้ความเร็วรอบ 270 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส 34

ภาพที่ 11 เปรียบเทียบการเติบโตของเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ที่เลี้ยงในอาหารสูตร YM เพื่อการเจริญเติบโตบนเครื่องเขย่าโดยแปรผันความเร็วรอบที่ใช้เป็น 180, 200, 250 และ 270 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส 35

ภาพที่ 12 เปรียบเทียบปริมาณการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ที่เลี้ยงในอาหารเพื่อการผลิตน้ำตาลไซลิทอลโดยแปรผันความเข้มข้นน้ำตาลไซโลสที่ 10, 15 และ 20 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งนำมาเพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าโดยใช้ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส 36

ภาพภาคผนวกที่ 1 กราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส 57

ภาพภาคผนวกที่ 2 กราฟมาตรฐานไซลิทอล 59

ภาพภาคผนวกที่ 3 กราฟมาตรฐานไซโลส 60

ภาพภาคผนวกที่ 4 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักเซลล์แห้งกับค่าความขุ่นของเซลล์ 61

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

ไซลิทอลจัดเป็นน้ำตาลแอลกอฮอล์ ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารให้ความหวานสูงเทียบเท่าน้ำตาลซูโครส แต่ให้พลังงานต่ำจึงเหมาะกับผู้ที่ต้องการควบคุมน้ำหนักและยังสามารถนำมาใช้ในอุต-สาหกรรมต่าง ๆ ไซลิทอลได้รับอนุญาติให้ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารจึงมีแนวโน้มในการใช้มากขึ้นอาทิเช่น นำมาเป็นส่วนประกอบในยาสีฟัน หมากฝรั่งเยลลี่ ลูกกวาด ช็อคโกแลต ไอศกรีม แยมผลิตภัณฑ์ขนมต่าง ๆ นมข้นหวาน โยเกิร์ต เครื่องดื่ม ซึ่งจะไม่ทำให้ฟันผุเพราะจุลินทรีย์ในช่องปากไม่สามารถเก็บรักษาคุณภาพของอาหารได้นอกจากนี้ยังทำให้ผลิตภัณฑ์ อาหารที่ไซลิทอลเป็นส่วนประกอบสามารถเก็บรักษาคุณภาพของอาหารได้เป็นระยะเวลานาน ในทางเภสัชกรรมไซลิทอลยังเหมาะสำหรับผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวาน เพราะไซลิทอลเป็นสารที่ให้ความหวานซึ่งไม่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณน้ำตาลในเลือด รวมทั้งผู้ที่มีความบกพร่องของเอนไซม์ Glucose-6-phosphate dehydrogenase และยังมีความปลอดภัยในการนำไซลิทอลมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเพราะยังไม่มีรายงานว่าเป็นสารก่อมะเร็ง

ในปัจจุบันมีการผลิตไซลิทอลด้วยกระบวนการทางเคมีโดยใช้น้ำตาลไซโลสที่ได้จากวัตถุเหลือทิ้งทางการเกษตร เช่น ฟางข้าว ซังข้าวโพด และอื่น ๆ มาเป็นสารตั้งต้นในการเกิดปฏิกิริยา Hydrogenation ซึ่งให้ผลผลิตเป็นไซลิทอลประมาณร้อยละ 50-60 ของทั้งหมด ในการผลิตไซลิทอลโดยวิธีนี้ต้องเสียค่าใช้จ่ายในการทำให้บริสุทธิ์ค่อนข้างสูง จึงทำให้ไซลิทอลมีราคาแพง เมื่อเทียบกับสารให้ความหวานชนิดอื่น ๆ ดังนั้นการผลิตไซลิทอลโดยกระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพ จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจจากปัจจุบันมีจุลินทรีย์หลายชนิด เช่น ยีสต์ ได้แก่ *Candida sp. Hansenii sp. Debaryomyces sp.* รา ได้แก่ *Aspergillus sp. Rhizopus sp. Mucor.* แบคทีเรีย ได้แก่ *Corynebacterium sp.*

แต่ก็มีข้อเสีย คือ พบว่าผลผลิตที่ได้น้อยกว่าผลผลิตที่ได้จากกระบวนการทางเคมี จึงจะไม่คุ้มค่าที่จะผลิตในเชิงพาณิชย์ ทำให้มีการปรับปรุงกระบวนการผลิตไซลิทอลด้วยวิธีการต่าง ๆ เช่น การใช้การตรึงเซลล์ (Dominguez , 1998) เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

1. เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการผลิตไซลิทอลของ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 โดยกระบวนการหมัก
2. ศึกษาประสิทธิภาพของการผลิตไซลิทอลของ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155

ขอบเขตของปัญหาพิเศษ

เพื่อศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตและการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ในระดับฟลาสก์เขย่า

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เป็นแนวทางเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในระดับอุตสาหกรรม
2. เป็นแนวทางในการศึกษาเกี่ยวกับการผลิตน้ำตาลไซลิทอลโดยกระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ตรวจเอกสาร

ไซลิทอล

ไซลิทอลเป็นน้ำตาลแอลกอฮอล์ชนิดหนึ่งที่เป็นอนุพันธุ์ของไซโลสมีรูปร่างผลึกแบบรอมบิก (สาโรจน์, 2537) และพบได้ตามธรรมชาติในผักและผลไม้หลายชนิด (Washuttl และคณะ,1973) ส่วนการผลิตไซลิทอลเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหารนั้น สามารถผลิตได้จากไซโลสโดยกระบวนการเติมไฮโดรเจนหรือผลิตโดยกระบวนการหมักจากวัสดุเหลือทิ้งที่มีไซโลสเป็นองค์ประกอบ (สาโรจน์, 2537)

แหล่งที่พบไซโลสตามธรรมชาติ

ตามปกติไซลิทอลเป็นสารตัวกลาง (Intermediate) ในกระบวนการเมทาบอลิซึมของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Hollman และ Tonster 1957) รวมถึงการพบได้ในผักและผลไม้หลายชนิด ดังตารางต่อไปนี้

ตารางที่ 1 องค์ประกอบไซลิทอลในผักและผลไม้

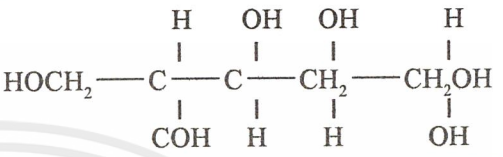
ผักและผลไม้	ปริมาณไซลิทอล(มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง)
Raspberries	268
Stawberries	362
Yellow plums	935
Endivis	258
Lettnce	131
Cauliflower	300
Carrot	87
Banamas	21
Eggplant	180
Onion	89

ที่มา : Emodi (1987)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คุณสมบัติของไซลิทอล (สาโรจน์,2537 ; Emodi,1978)

ตารางที่ 2 คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพที่สำคัญของไซลิทอล

คุณสมบัติ	รายละเอียด
สูตรโมเลกุล	$C_5H_{12}O_5$
โครงสร้าง	
น้ำหนักโมเลกุล	152.1
รูปร่าง	ผงผลึก
สี	ขาว
กลิ่น	ไม่มีกลิ่น
รสชาติ	หวาน
ความหวานสัมพัทธ์	มีความหวานเทียบเท่าซูโครส แต่หวานมากกว่าซอร์บิทอลและแมนนิทอล
จุดเดือด	216°C
จุดหลอมเหลว	93.4-94.7°C
ค่าการเบี่ยงเบนแสงจำเพาะ	ไม่มีคุณสมบัติการเบี่ยงเบนแสง
การดูดความชื้น	ในที่มีความชื้นสูงจะดูดความชื้นได้มากกว่าซูโครส แต่น้อยกว่าซอร์บิทอล
การละลายในน้ำ	64.2 กรัมต่อ100 มิลลิลิตร
การละลายในเอทานอล	1.2 กรัมต่อ100 มิลลิลิตร
การละลายในเมทานอล	6.0 กรัมต่อ100 มิลลิลิตร
สารปนเปื้อน	แมนนิทอล ซอร์บิทอล กาแลคติทอล อาราบิทอล

ที่มา : Emodi (1987)

คุณสมบัติอื่นๆ ของไซลิทอล

1. ไซลิทอลละลายน้ำได้ง่าย ได้สารละลายที่มีความคงตัวสูง แม้ว่าจะถูกความร้อนหรือเก็บไว้นานๆก็ไม่เกิดปฏิกริยาที่ทำให้เกิดสีน้ำตาล (Maillard browning) และการเกิดคาราเมล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(Caramelization) เหมือนน้ำตาลฟรุทโทสหรือเด็กซ์โทรส เมื่อใช้ความร้อนสูงกว่า 150 องศาเซลเซียส เนื่องจากไซลิทอลไม่มีหมู่อัลโดสหรือคีโตส

2. ไซลิทอลให้รสชาติดีและเย็นสดชื่น (Cooling effect) คล้ายเมนทอล เนื่องจากการละลายของไซลิทอลต้องการความร้อน (Endothermic dissolution) เพราะไซลิทอลมีค่าความร้อนจะเพาะของการละลายเป็นลบ (Negative heat of solution) เท่ากับ –34.8 แคลอรี่ต่อกรัม โดยคุณสมบัติจะเกิดขึ้นเมื่อไซลิทอลอยู่ในรูปผลึกเท่านั้น แต่เมื่อไซลิทอลอยู่ในรูปสารละลายหรืออยู่ในรูปสัณฐาน (Amorphous) จะไม่ให้คุณสมบัติข้อนี้

ตารางที่ 3 ค่าความร้อนจำเพาะของการละลายของน้ำตาลชนิดต่างๆ

Polyalcohol	Cooling effect (calต่อg at 25°C
Lsomain	-9.4
Lactitol	
- Monohydrate	-12.7
- Dihydrate	-13.9
Mannitol	-28.9
Sorbitol	-26.5
Xylitol	-34.8

ที่มา : Arron (1993)

3. ไซลิทอลมีความหวานเช่นเดียวกับน้ำตาลทั่วไป แต่มีความหวานมากกว่าแมนนิทอลและซอร์บิทอล 2.5 และ 2 เท่าตามลำดับ ความหวานของไซลิทอลเมื่อเทียบกับซูโครสจะมีตั้งแต่ 0.85-1.25 เท่า ขึ้นอยู่กับค่าพีเอช ความเข้มข้นและอุณหภูมิ เป็นต้น ตัวอย่างเช่น ไซลิทอลที่มีความเข้มข้น 10เปอร์เซ็นต์ เมื่อความเข้มข้นมากกว่า 10เปอร์เซ็นต์ สารละลายไซลิทอลจะหวานมากกว่าแต่ถ้าความเข้มข้นน้อยกว่า 10เปอร์เซ็นต์ สารละลายซูโครสจะหวานมากกว่า หรือความหวานสัมพันธ์ (Relative sweetness) ของไซลิ-ทอล เมื่อเทียบกับซูโครสจะลดลงจาก 103 เป็น 78เมื่อเพิ่มอุณหภูมิของสารละลายไซลิทอลที่มีความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ จาก 5 องศาเซลเซียส เป็น 50 องศาเซลเซียส เป็นต้น

4. ไซลิทอลให้พลังงานต่ำกว่าแต่คงรสชาติเดิมเมื่อผสมกับสารให้ความหวานชนิดอื่น แม้ว่าไซลิทอลจะให้พลังงานเท่ากับคาร์โบไฮเดรตทั่วไป (4.06 กิโลแคลอรี่ต่อกรัม) แต่เมื่อใช้ไซลิทอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ร่วมกับสารให้ความหวานชนิดอื่นๆ ความหวานและรสชาติก็คงเดิมขณะที่ลดแคลอรี่ลงได้ 50 – 70 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีการใช้ในเครื่องดื่มหลายชนิด เหมาะกับผู้บริโภคที่ต้องการควบคุมน้ำหนัก (Dietary purpose)

5. ไซลิทอลไม่ทำให้ฟันผุเนื่องจากจุลินทรีย์ในช่องปากโดยเฉพาะ *Streptococcus mutans* ไม่สามารถใช้ไซลิทอลเป็นแหล่งอาหารได้ ทำให้สภาพพีเอชบนเคลือบฟันไม่ต่ำกว่า 5.7 จึงไม่ทำให้ฟันผุ

6.ไซลิทอลสามารถใช้ในผู้ป่วยเบาหวานได้เนื่องจากการเผาผลาญไซลิทอลไม่ขึ้นกับอินซูลิน ดังนั้นจึงไม่ทำให้เกิดสภาวะน้ำตาลในเลือดสูง(Hyperglycemia)และน้ำตาลในเลือดต่ำ (Hypoglycemia)

7. ไซลิทอลช่วยยืดอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ เนื่องจากจุลินทรีย์ไม่กี่ชนิดเท่านั้นที่สามารถใช้ไซลิทอลได้ผลิตภัณฑ์ที่มีไซลิทอลเป็นองค์ประกอบจึงเกิดการหมักโดยจุลินทรีย์ได้ยากทำให้มีอายุการเก็บที่นานขึ้น (Long shelf-life)

ข้อจำกัดในการใช้ไซลิทอล

1. การบริโภคไซลิทอลเป็นปริมาณมากในคราวเดียวจะทำให้ท้องเสีย (Gastrointestinal distress and osmotic diarrhae) ได้ เนื่องจากไซลิทอลมีคุณสมบัติเป็นยาระบาย เพราะไซลิทอลมีคุณสมบัติเหมือนคาร์โบไฮเดรตอื่นๆ คือดูดซับน้ำไว้อย่างช้าๆ ดังนั้นเมื่อบริโภคเป็นครั้งแรกควรบริโภคในปริมาณต่ำก่อน (30 กรัมต่อวัน) และค่อยๆ เพิ่มปริมาณขึ้น แต่จะบริโภคได้สูงสุดราว 200-300 กรัมต่อวัน

2. การใช้ไซลิทอลในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อให้มีรสชาติเย็นสดชื่นนั้น จะต้องใช้ไซลิทอลที่อยู่ในผลึกเท่านั้นซึ่งอาจจะทำให้เกิดลักษณะผิวสัมผัสที่เปลี่ยนแปลงไปหรือไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคได้

3.ไซลิทอลมีราคมแพงเมื่อเทียบกับสารให้ความหวานชนิดอื่น เนื่องจากต้นทุนที่ใช้ในการผลิตสูง ทำให้การใช้ไซลิทอลไม่แพร่หลายเท่าที่ควร และแม้ว่าไซลิทอลจะสามารถใช้ในผู้ป่วยเบาหวานได้แต่ในอาหารสำหรับผู้ป่วยเบาหวานก็ใช้ฟรุกโทสแทนเพราะมีราคาถูก และไม่เกิดผลข้างเคียงเหมือนกับเมื่อใช้ไซลิทอล

การใช้ไซลิทอลในผลิตภัณฑ์อาหาร

มีแนวโน้มการใช้ไซลิทอลในอุตสาหกรรมอาหารอย่างกว้างขวางในผลิตภัณฑ์อาหารพวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขนมอบ แยม มาร์มาเลดและผลิตภัณฑ์ขนมหวาน เป็นต้น เนื่องจากไซลิทอลมีคุณสมบัติที่สามารถใช้ทดแทนน้ำตาลธรรมดาได้ และยังมีข้อดีในแง่ไม่ทำให้เกิดฟันผุเมื่อบริโภคเหมือนน้ำตาลทั่วไป แต่ว่าการใช้ไซลิทอลยังมีข้อจำกัดอยู่บ้าง โดยเฉพาะในเครื่องดื่มประเภทน้ำอัดลม ซึ่งผู้บริโภคมีโอกาสจะได้รับไซลิทอลปริมาณสูงเกินไปทำให้ท้องเสียได้ หรือสภาพอันหลากหลายของผลึกไซลิ-ทอล (น้ำตาลซูโครสมีผลึกแบบ Monoclinic แต่ไซลิทอลมีผลึกแบบ Rhombic) อาจทำให้เนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์มีลักษณะแข็งกระด้าง อย่างไรก็ตามข้อจำกัดเหล่านี้กล่าวได้ว่าเป็นปัญหารองเมื่อเทียบกับประโยชน์ที่จะได้รับจากการทดแทนน้ำตาลซูโครสด้วยไซลิทอลในผลิตภัณฑ์อาหารทั้งหลาย ซึ่งโดยปกติมักจะให้คุณภาพที่ทัดเทียมกันหรือดีกว่า เช่น คุณภาพที่เย็นสดชื่น ซึ่งช่วยเพิ่มรสชาติของเปปเปอร์มินท์ รสมะนาว และรสผลไม้ต่างๆ

ตัวอย่างการใช้ไซลิทอลในผลิตภัณฑ์อาหารมีดังนี้

1. หมากฝรั่ง (Chewing gum)

ปกติหมากฝรั่งจะประกอบด้วยน้ำตาล 50-70 เปอร์เซ็นต์ และน้ำ 3-5 เปอร์เซ็นต์ และมีส่วนผสมของกลูโคสไซรัปเป็นตัวทำให้เนื้อสัมผัสนุ่ม (Softenner) ไซลิทอลสามารถใช้แทนน้ำตาลซูโครสในอัตรา 1 ต่อ 1 ยกเว้นซอร์บิทอลและแมนนิทอลซึ่งความหวานน้อยกว่า จะต้องเติมสารให้ความหวานที่ไม่ให้พลังงาน (Non-caloric sweetener) ชนิดอื่นแทนเพื่อให้ได้ความหวานเท่าเดิม แต่เนื่องจากไซลิทอลมีความหนืด (Viscosity) น้อยกว่าน้ำตาลกลูโครสจึงต้องใช้กัมอาราบิค (Gum arabic) เป็นส่วนผสมด้วย (Kracher ,1975) ความแตกต่างของหมากฝรั่งชนิดใช้ไซลิทอลกับชนิดใช้น้ำตาลซูโครส คือชนิดไซลิทอลจะให้ความรู้สึกเย็นเมื่อเริ่มเคี้ยวเท่านั้นเอง เนื่องจากอิทธิพลของ Cooling effect ซึ่งเป็นคุณสมบัติของไซลิทอล และจากการศึกษาของ Schcinin และคณะ (1975) พบว่าหมากฝรั่งชนิดใช้ไซลิทอลสามารถป้องกันการเกิดฟันผุซึ่งมักพบกับผู้เคี้ยวหมากฝรั่งชนิดใช้น้ำตาลธรรมดาเป็นสารให้ความหวานได้

2. ช็อคโกแลต (Choccolate)

สามารถใช้ไซลิทอลในการผลิตช็อคโกแลตทดแทนน้ำตาลซูโครสได้ในอัตรา 1 ต่อ 1 แต่จำเป็นต้องใช้สารเติมแต่ง (Additives) (Dracher,1975) ช่วยเนื่องจากไซลิทอลให้ความหนืดต่ำกว่า ปริมาณไซลิทอลที่ใช้ในช็อคโกแลตมีตั้งแต่ 17-42 เปอร์เซ็นต์ และไม่พบปัญหาเกี่ยวกับเนื้อสัมผัสและรสชาติของผลิตภัณฑ์แต่อย่างไร

3. ท๊อฟฟี่และคาราเมล (Toffees and Carameis)

เนื่องจากไซลิทอลไม่มีคุณสมบัติทาง Maillard browning และ caramelization จึงจำเป็นต้องเติมน้ำตาลฟรุตโทสเพื่อคงคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์เอาไว้ หรืออาจเติมสีและกลิ่งดังกล่าวทดแทนก็ได้ และเพื่อป้องกันการเกิดการตกผลึกของไซลิทอลซึ่งจะทำให้ผลิตภัณฑ์มีเนื้อสัมผัสแข็ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระด้าง ควรหลีกเลี่ยงการใช้มอลโตเด็กซ์ตริน (maliodextrin) และไลเคซีน (lycasein) เป็นส่วนผสมด้วย ซึ่งพบว่าอนุพันธุ์ของแป้งดังกล่าวมีผลต่อการตกผลึกของไซลิทอลได้

4. เจลาติน (Gelatin desserts)

การใช้ผลิตภัณฑ์เจลาตินมีคุณสมบัติเช่นเดียวกับการใช้น้ำตาลซูโครสเป็นสารให้ความหวาน

5. พุดดิ้ง (Pudding)

การผลิตพุดดิ้งไม่มีการเปลี่ยนแปลงสูตรแต่อย่างไรเมื่อใช้ไซลินอลแทนน้ำตาลซูโครส และไม่มีผลต่อรสชาติผลิตภัณฑ์

6. แยม แยลลี่ และมาร์มาเลด (Jams Jellies and Marmalades)

กรณีนี้ไซลิทอลสามารถใช้ทดแทนน้ำตาลซูโครสได้เช่นกันในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 แต่ควรหลีกเลี่ยงการใช้ไซลิทอลมากกว่า 40 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจะทำให้เกิดการตกผลึกของไซลิทอลได้ในระหว่างการเก็บรักษา (Storage) และไม่มีความจำเป็นต้องเติมสารกันบูด (preservatives) แต่อย่างใด เพราะจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ที่ทำให้เกิดการเสีย (spoilage) ของผลิตภัณฑ์ไม่สามารถใช้ไซลิทอลเป็นแหล่งอาหารได้เช่นเดียวกับน้ำตาลอื่นทั่วไป แต่ควรเติมปริมาณของเพคติน (pectin) มากขึ้นเพราะไซลิทอลให้ความหนืดต่ำกว่าน้ำตาลซูโครสและมีความจำเป็นต้องเติมเกลือแคลเซี่ยมเพื่อช่วยในการเกิดเจล (gelatiniztion) ของแยม (Hyvoenen และ Toeemae, 1981) นอกจากนี้ยังพบว่าแยมและมาร์มาเลดที่ใช้ไซลิทอล จะให้รสชาติที่ดีกว่าน้ำตาลซูโครสรวมทั้งให้ความคงตัวของสีที่ดีกว่าอีกด้วย (Manz และคณะ , 1973)

7. ลูกกวาด (Hard Candy or Boiled Sweets)

ลูกกวาดจัดเป็นผลิตภัณฑ์อีกชนิดหนึ่งที่เด็กๆ ชอบและเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดฟัน-ผุ การใช้ไซลิทอลเป็นสารให้ความหวานแทนน้ำตาลจึงมีเหตุที่ควรสนับสนุน พร้อมทั้ง cooling effect ของไซลิทอลยังช่วยทำให้คุณสมบัติของผลิตภัณฑ์ดีขึ้นและรสชาติที่ยอมรับ การใช้ซอร์บิ-ทอลแทน ซึ่งมีความหวานน้อยกว่าไซลิทอลจะต้องใช้ปริมาณที่มากกว่าหรืออาจต้องเติมสารให้ความหวานชนิดอื่นทดแทนด้วย ในการผลิตลูกกวาดชนิดไซลิทอลอาจมีปัญหาอยู่บ้างเนื่องจากการตกผลึกของไซลิทอลในขณะทำให้เย็นและความหนืดที่ต่ำ จึงต้องผลิตลูกกวาดโดยการอัดลูกกวาดร้อนเข้าแม่พิมพ์ (depositing) แทน

8. ผลิตภัณฑ์ขนมอบ (Bakery Goods)

พบว่าการใช้ไซลิทอลในผลิตภัณฑ์ขนมอบนั้นไม่จำเป็นต้องมีการเปลี่ยนแปลงสูตรขนม แต่อย่างไร แต่อาจจะต้องเติมน้ำตาลฟรุกโทสเพื่อรักษาคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ การเกิด millard browning และ caramelization นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์ที่ต้องการปริมาตร จากการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของยีสต์ *Saccharomyces cerevissiae* กับน้ำตาลนั้น อาจจะไม่เหมาะสมนักสำหรับการใช้ไซลิทอล เพราะผลิตภัณฑ์ขนมอบที่ใช้ไซลิทอลนั้นจะมีปริมาตรน้อยกว่าและมีเนื้อสัมผัสที่แน่นกว่า (dense texture) อย่างไรก็ตามผลิตภัณฑ์ขนมอบที่ใช้ไซทิทอลเหมาะสมมากสำหรับคนที่เป็นโรคเบาหวาน และป้องกันฟันผุได้เป็นอย่างดี

9. ไอศกรีม (Icecreams)

การใช้ไซลิทอลแทนน้ำตาลซูโครส กลูโคสไซรัป หรือน้ำตาลอินเวอร์ต (invertsugers) ในผลิตภัณฑ์แช่แข็งจะทำให้คุณสมบัติทางการหลอมเหลว (melting properties) ของผลิตภัณฑ์เปลี่ยนไป คือ ที่อุณหภูมิเดียวกัน ผลิตภัณฑ์ที่ใช้ไซลิทอลจะมีคุณลักษณะอ่อนตัวกว่าจึงจำเป็นต้องมีการเติมสารช่วยทำให้แข็ง (Thickners) สำหรับไอศครีมที่ใช้ไซลิทอลนั้นไม่พบว่าการเปลี่ยนแปลงของคุณสมบัติเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ –24 องศาเซลเซียสนานถึง 6 เดือน และไม่พบการเกิดการตกผลึกขึ้นอีกด้วย (kracher,1975)

10. เค็ทชัปและนมข้นหวาน (ketchup and condensed milk)

การใช้ไซลิทอลจะปรับปรุงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ คือ ป้องกันการเกิด browning และการเสียโดยจุลินทรีย์ได้เป็นอย่างดี

11. ซอสและอื่นๆ (Marinadae Sauces and Pastes)

เนื่องจากเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีองค์ประกอบของน้ำตาลต่ำ ฉะนั้นการทดแทนน้ำตาลด้วยไซลิทอลจึงไม่ประสบปัญหาแต่อย่างไร

12. โยเกิร์ต (Yoghurt)

จากการศึกษาว่าปริมาณไซลิทอลที่ใช้ 8 เปอร์เซ็นต์ จะเหมาะสมที่สดสำหรับการทำโยเกิร์ต (Saiminemn และ Branen,1978 ; Hyvoenen และ Slott,1981) โดยที่การเติมไซลิทอลหลังการบ่มจะไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของผลิตภัณฑ์ แต่ถ้าเติมไซลิทอลก่อนการบ่ม ผลิตภัณฑ์ที่ได้จะมีค่าพีเอช 4.4 สูงกว่ากรณีที่ใช้น้ำตาลซูโครส ซึ่งมีค่าพีเอช 4 และผลิตภัณฑ์จะมีลักษณะหนืดน้อยกว่า อย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างเกี่ยวกับการยอมรับของผู้บริโภค (Sensory evaluation)

13. เครื่องดื่ม (Drinks)

เนื่องจากได้รับไซลิทอลในขณะเดียวกันมากเกินไปจะทำให้ท้องเสียได้ (Laxative effect) จึงต้องใช้ไซลิทอลในรูปผสมกันสารให้ความหวานตัวอื่นๆ ตัวอย่างเช่น เมื่อใช้ไซลิทอล 3.9 เปอร์เซ็นต์ และไซคลาเมท (Cyclamate) 0.133 เปอร์เซ็นต์แทนน้ำตาลในผลิตภัณฑ์น้ำอดลมจะสามารถลดพลังงานที่ร่างกายจะได้รับถึง 60 เปอร์เซ็นต์ (Hyvoenen และ Sipilae,1977) จึงนับเป็นเครื่องดื่มที่เหมาะสมต่อคนที่เป็นโรคเบาหวานและคนที่ต้องการควบคุมน้ำหนักส่วนนมสเตอริไรซ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

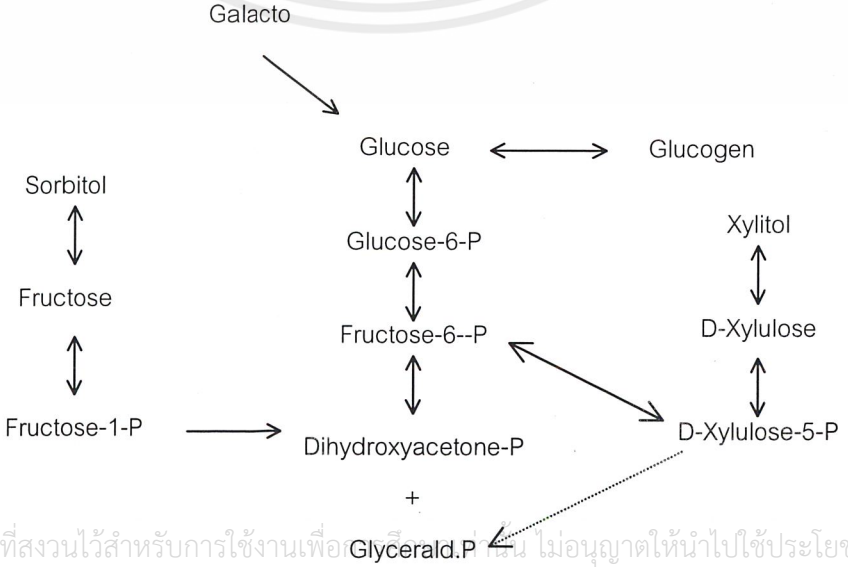
ยูเอชทีรสช็อคโกแลตเหมาะที่จะใช้ไซลิทอล 4 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่ทำให้คุณสมบัติทางกายภาพ เช่น ความหนืดและสีเปลี่ยนไปและยังเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค การเก็บรักษากว่าหนึ่งเดือนที่อุณหภูมิห้องก็ไม่ทำให้ผลิตภัณฑ์เสื่อมคุณภาพแต่อย่างไร

14. ผลิตภัณฑ์ทางเภสัชกรรม (Pharmaceutical Preparations)

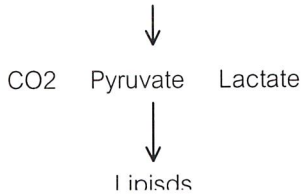
ไซลิทอลมีข้อได้เปรียบคือไม่ทำให้เกิดฟันผุ (Non-cariogenicity) และไม่เกิดการหมักด้วยจุลินทรีย์ (non-fementability) จึงมีการใช้เป็นสารให้ความหวานในการเตรียมผลิตภัณฑ์ชนิดเหลวทางเภสัชกรรม และการใช้ยาดังกล่าวของคนใช้ที่ไม่ได้ทำความสะอาดช่องปากเป็นเวลานานจึงไม่มีผลต่อการทำให้เกิดฟันผุ นอกจากนี้การใช้ไซลิทอลซึ่งไม่มีโครงสร้างของกลุ่มคาร์บอนิล (carbonyi groups) เช่น น้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหลาย จึงไม่มีผลต่อปฏิกิริยาทางเคมี ทำให้สารละลายที่เตรียมขึ้นมีความคงตัว

เมแทบอลิซึมของไซลิทอลในร่างกายมนุษย์

เมแทบอลิซึมในร่างกายของไซลิทอลเกิดขึ้นที่สองตำแหน่ง คือ การดูดซึมบริเวณลำไส้โดยกระบวนการ passive diffusion และเกิดการเผาผลาญโดยตรงที่ตับ (Smith, 1962) การดูดซึมจะเป็นไปอย่างช้าๆ ในกรณีที่ได้รับไซลิทอลในปริมาณมากเกินไป การดูดซึมที่เกิดขึ้นจะไม่สมบูรณ์ ทำให้เกิดอาการท้องร่วงได้ สำหรับปริมาณไซลิทอลที่บริโภคต่อวันที่แนะนำคือไม่เกิน 60 กรัม แต่ถ้าบริโภคติดต่อกันนาน จะสามารถบริโภคไซลิทอลได้มากขึ้นถึง 120 กรัม ต่อ วัน ส่วนการเผาผลาญไซลิทอลที่ตับนั้น ไซลิทอลจะถูกออกซิไดส์เป็น ดี-ไซลูโลส (D-xylulose) ซึ่งดีไซลูโลส (D-xylulose) จะเปลี่ยนเป็น ดี-ไซลูโลส-5-ฟอสเฟต (D-xylulose-5-phosphate) แล้วเข้าสู่วิถีเพนโทสฟอสเฟตเพื่อเปลี่ยนเป็น ฟรุกโตส-6-ฟอสเฟต (fructose-6-phosphate) แล้วกลายเป็นกลูโคสซึ่งจะถูกนำไปเปลี่ยนเป็นไกลโคเจนสะสมไว้ที่ตับต่อไป ดังภาพที่ 1



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 1 เมแทบอลิซึมของไซลิทอลในร่างกายมนุษย์

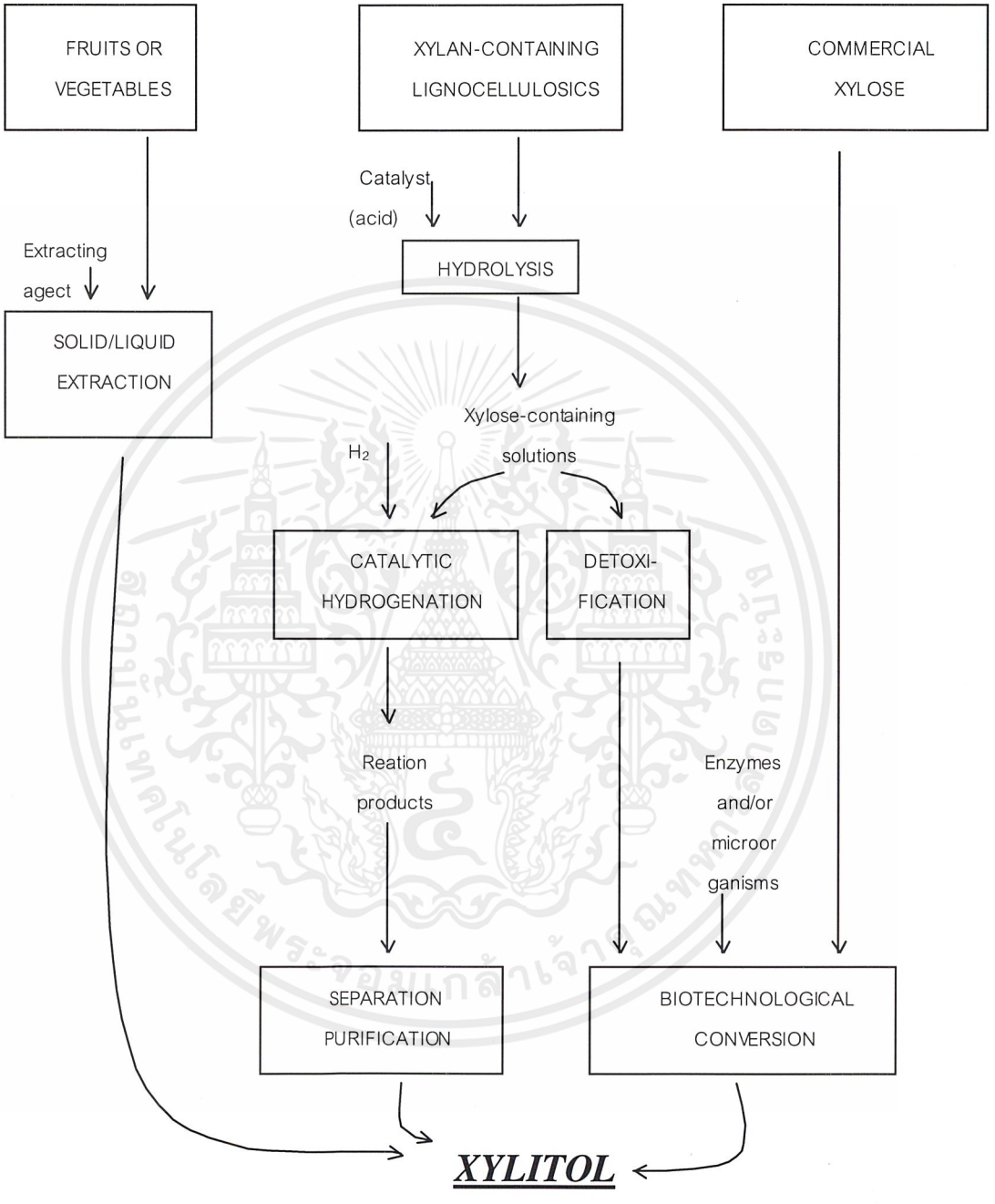
ที่มา : Emodi (1982)

และเนื่องจากการเผาผลาญไซลิทอลไม่ขึ้นกับอินซูลิน ดังนั้นจึงไม่เกิดสภาวะน้ำตาลในเลือดสูง (hyperglyemia) หรือน้ำตาลในเลือดต่ำ (Hypoglycemia) และไซลิทอลให้พลังงานเพียง 4 กิโลแคลลอรี่เท่ากับคาร์โบไฮเดรตชนิดอื่น ทำให้มีผลต่อปริมาณกลูโคสในเลือดเพียงเล็กน้อยเท่านั้น

การผลิตไซลิทอล

จากที่กล่าวมา สามารถประยุกต์ใช้ไซลิทอลเป็นสารให้ความหวานทดแทนน้ำตาลในผลิตภัณฑ์อาหารได้อย่างกว้างขวาง ปัจจุบันก็ได้มีการใช้ไซลิทอลในผลิตภัณฑ์อาหารแพร่หลายมากขึ้น โดยเฉพาะหมากฝรั่ง และพบว่ามีแนวโน้มที่จะใช้ไซลิทอลมากในอุตสาหกรรมประเภทขนมหวาน (confectionary) และขนมขบเคี้ยว (snack products) แต่การใช้ไซลิทอลในผลิตภัณฑ์ดังกล่าวยังมีข้อจำกัดอยู่ที่การผลิตไซลิทอลมีต้นทุนการผลิตสูงกว่ากระบวนการผลิตน้ำตาลเพราะต้องอาศัยการผลิตทางเคมีที่ต้องใช้ต้นทุนสูงในการผลิตและการทำให้ใช้ไซลิทอลที่ผลิตได้บริสุทธิ์ จึงทำให้ราคาของไซลิทอลแพงกว่าน้ำตาลทั่วไป อย่างไรก็ตามปัจจุบันได้มีการวิจัยค้นคว้าเพื่อลดต้นทุนการผลิตไซลิทอลโดยวิธีการหมัก โดยการนำเอาวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่มีองค์ประกอบของน้ำตาลไซโลสใช้เป็นวัตถุดิบ ซึ่งคาดว่าจะทำให้ต้นทุนการผลิตถูกว่ากระบวนการผลิตทางเคมี (hydroganation) ได้ การผลิตไซลิทอลมีหลายวิธีและ สามารถใช้วัตถุดิบได้หลายชนิด เช่น ผักและผลไม้ ของเสียที่มีไซลิแลนเป็นองค์ประกอบ เช่น วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร เช่นฟางข้าว ซังข้าว-โพด ชานอ้อย เป็นต้น เศษเหลือจากอุตสาหกรรมไม้และกระดาษ หรืออาจจะใช้น้ำตาลไซโลสเป็นวัตถุดิบโดยตรงก็ได้ ดังภาพที่ 2 ซึ่งแต่ละวิธีจะมีกรรมวิธีแตกต่างกันไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2 วิธีการต่างๆ ที่ใช้ในการผลิตไซลิทอล

ที่มา : Parajo และคณะ (1998)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการต่างๆ ที่ใช้ในการผลิตไซลิทอล

1. การสกัดจากผักและผลไม้

เนื่องจากไซลิทอลสามารถพบได้ทั่วไปตามธรรมชาติในผักและผลไม้ เช่น มะเขือยาว ผักโขม ราสเบอรี่ และสตรอว์เบอรี่ ดังตารางที่ 1

2. การผลิตด้วยวิธีทางเคมี

เป็นการผลิตที่ปัจจุบันใช้ผลิตไซลิทอลทางอุตสาหกรรมและใช้วัตถุดิบที่เป็นน้ำตาลไซโลสที่ได้จากวัสดุที่มีไซแลนเป็นองค์ประกอบ ประกอบด้วยขั้นตอนต่างๆ ดังนี้

2.1 การไฮโดรไลซิส

เป็นการสกัดน้ำตาลไซโลสจากเฮมิเซลลูโลสโดยใช้กรดซัลฟูริกเจือจาง วิธีที่เป็นที่นิยมคือ อัลตราฟาส ไฮโดรไลซิส (ultrafast hydrolysis) ที่ใช้กรดซัลฟูริกเจือจาง 0.5–1.0 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 200-210 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วินาที ซึ่งจะได้น้ำตาลไซโลสออกมา

2.2 การทำน้ำตาลไซโลสให้บริสุทธิ์

เมื่อไฮโดรไลส์แล้วจะได้น้ำตาลไซโลสอยู่ในไฮโดรไลเสท (hydrolysate) สามารถทำให้บริสุทธิ์ได้ 2 วิธี

2.2.1 แบบแยกน้ำตาลไซโลส วิธีนี้จะกำจัดสารแขวนลอย ตะกอน สีและไอออนอื่นๆ และใช้วิธีทางโครมาโทกราฟฟีเพื่อแยกเอาน้ำตาลไซโลสออกมาจากน้ำตาลชนิดอื่นๆ เพื่อให้ได้น้ำตาลไซโลสบริสุทธิ์

2.2.2 แบบไม่แยกน้ำตาลไซโลส วิธีนี้จะแยกเอาสารอื่นๆ พวกตะกอน ไอออนและสีออกแต่ไม่แยกเอาน้ำตาลชนิดอื่นออกไป สารละลายที่ได้จะมีน้ำตาลหลายชนิดเป็นองค์ประกอบ แต่มีน้ำตาลไซโลสเป็นองค์ประกอบหลัก

2.3 การไฮโดรจีเนชัน

เป็นการเปลี่ยนน้ำตาลไซโลสให้เป็นไซลิทอลที่มีสภาวะความดัน 50 บรรยากาศ อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 2.5 ชั่วโมง โดยใช้โลหะนิเกิลเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในขั้นนี้ ซึ่งถ้ามีน้ำตาลชนิดอื่นเจือปนอยู่ น้ำตาลเหล่านั้นก็จะเปลี่ยนเป็นน้ำตาลแอลกอฮอล์ด้วย

2.4 การทำไซลิทอลให้บริสุทธิ์

สารละลายน้ำตาลแอลกฮอลล์ที่ได้จะต้องทำให้บริสุทธิ์ โดยนำมากรองแยกเอาโลหะนิเกิลออก แล้วแยกเอาไซลิทอลออกมาโดยวิธีทางโครมาโทกราฟฟี จากนั้นทำการตกผลึกไซลิทอลจะได้ไซลิทอลที่มีบริสุทธิ์ 99 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แม้ว่าการผลิตไซลิทอลด้วยวิธีทางเคมีจะเป็นวิธีที่ใช้กันในทางอุตสาหกรรมทั่วไป แต่ต้นทุนในการผลิตยังสูงอยู่ เนื่องจากขั้นตอนในการแยกและทำให้บริสุทธิ์ยังทำได้ยาก ทำให้ไซลิ-ทอลมีราคาแพง และปริมาณไซลิทอลที่ได้มีความบริสุทธิ์ต่ำ จึงทำให้มีการคิดค้นวิธีการผลิตด้วยกระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพขึ้นมาเพื่อทดแทนวิธีการผลิตทางเคมี

3. การผลิตด้วยกระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพ

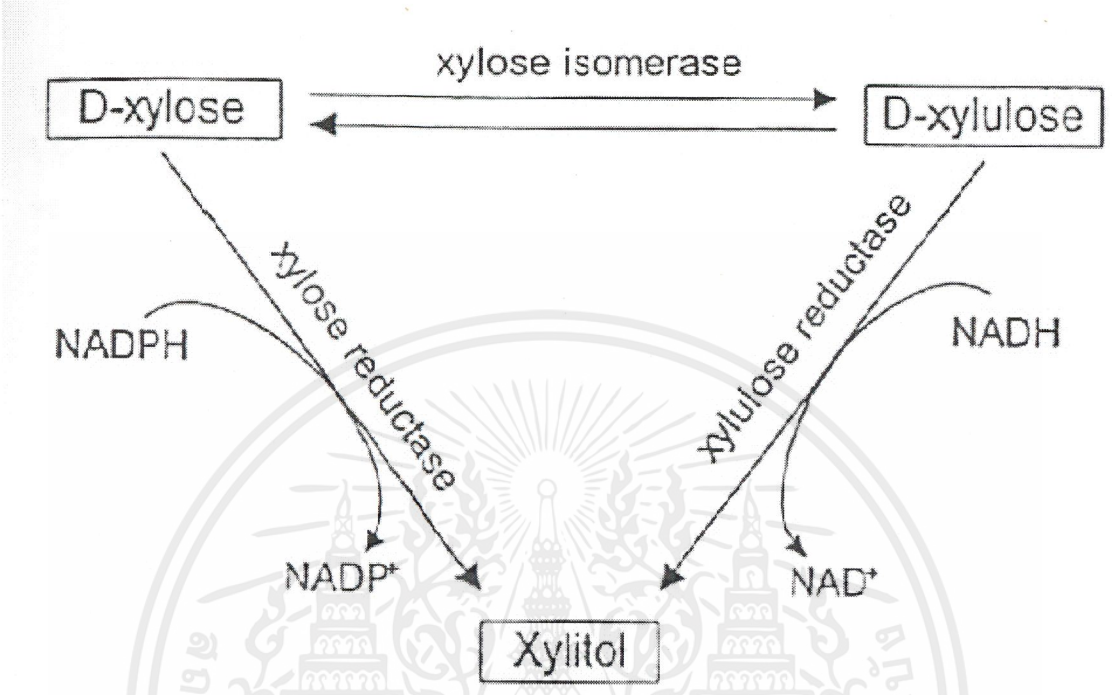
การผลิตไซลิทอลโดยใช้กระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพ เป็นที่สนใจเนื่องจากมีแนวโน้มที่จะสามารถนำมาทดแทนวิธีการผลิตทางเคมีที่ต้นทุนสูงได้ การผลิตไซลิทอลด้วยวิธีนี้จะใช้เอนไซม์หรือจุลินทรีย์ในการผลิตไซลิทอล แต่กระบวนการผลิตโดยเอนไซม์นั้นค่อนข้างยุ่ง-ยากและไม่เป็นที่นิยมเท่ากระบวนการผลิตโดยใช้จุลินทรีย์ มีจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตไซลิทอลได้หลายชนิด ตัวอย่างเช่น แบคทีเรีย เช่น *Corynebacterium sp., Mycobacterium smegmatis* รา เช่น *Petromyces albertensis* แต่จุลินทรีย์ที่นิยมที่สุดในการผลิตไซลิทอลด้วยกระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพคือ ยีสต์ ซึ่งมีหลายชนิดที่สามารถผลิตไซลิทอลได้ เช่น *Candida tropicalis*, *C. guilliermondil*, *C. boidmii* และ *Debaryomyces hansenii* เป็นต้น

กระบวนการเมแทบอลิซึมในการผลิตไซลิทอลโดยจุลินทรีย์

Hofer และคณะ (1971) รายงานว่าการเกิดไซลิทอลจากไซโลสในจุลินทรีย์เกิดได้ 2 วิธี คือ

1. ไซโลสจะเปลี่ยนแปลงไปเป็นไซลิทอลโดยตรงโดยเอนไซม์ไซโลสรีดักเทสที่มี NADPH เป็นโคเอนไซม์
2. ไซโลสถูกเปลี่ยนไอโซเมอร์ไปเป็นไซลูโลสก่อนด้วยเอนไซม์ไซโลสไอโซเมอเรส จากนั้นจึงถูกรีดิวส์ไปเป็นไซลิทอลโดยเอนไซม์ไซลูโลสรีดักเทส โดยมี NADH เป็นโคเอนไซม์ ดังภาพที่ 3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3 วิถีการเกิดไซลิทอลจากเมแทบอลิซึมของไซโลส
ที่มา : Hofer และคณะ (1971)

Babosa และคณะ (1988) ได้ศึกษาเมแทบอลิซึมของไซโลสในยีสต์ ดังภาพที่ 3 เพื่อคำนวณหาผลได้ทางทฤษฎีของการเปลี่ยนไซโลสเป็นไซลิทอลโดยพิจารณาจาก 4 สภาวะ คือ

1. มีโคเอนไซม์ 2 ชนิดเข้าไปเกี่ยวข้องกับสองขั้นตอนแรกของกระบวนการสลายไซโลส ดังนี้ คือ การรีดิวส์ไซโลสไปเป็นไซลิทอลด้วยเอนไซม์ไซโลสรีดักเทสนั้นใช้โคเอนไซม์ NADPH ส่วนการออกซิไดส์ไซลิทอลไปเป็นไซลูโลสด้วยเอนไซม์ไซลิทอลดีไฮโดรจิเนสนั้นใช้โคเอนไซม์ NAD^+

2. ไซโลสทั้งหมดถูกรีดิวส์ไปเป็นไซลิทอลโดยที่โคเอนไซม์ NADPH นี้ สังเคราะห์มาจากวัฏจักรเพนโทส และไซลิทอลทั้งหมดถูกออกซิไดส์ไปเป็นไซลูโลส โดยที่โคเอนไซม์ NAD^+ นี้สังเคราะห์มาจากกระบวนการหายใจ

3. ยีสต์ไม่มีกลไกการเปลี่ยนไปมาระหว่าง NADH และ NADPH ได้เนื่องจากไม่มีกระบวนการเปลี่ยนระหว่างโคเอนไซม์ทั้งสอง

4. ภายใต้ภาวะที่เซลล์ไม่มีการเติบโต ไซลิทอลจะถูกออกซิไดส์เพื่อการสังเคราะห์ NADPH เท่านั้น ส่วนไซลิทอลที่เหลือจะถูกปล่อยออกมานอกเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แต่วิธีโดยทั่วไปที่เป็นวิถีในการเปลี่ยนไซโลสเป็นไซลิทอล ก็คือวิถี Oxido-reduction ซึ่งมีการศึกษาวิถีนี้ในยีสต์หลายชนิด Furian และคณะ (1994) รางงานว่ากระบวนการดังกล่าวเกิดขึ้นได้ต้องอาศัยโคเอนไซม์จากกระบวนการหายใจแบบออกซิเจน

1. กระบวนการเมแทบอลิซึมของการผลิตไซลิทอลในยีสต์

ยีสต์จะใช้น้ำตาลไซโลส มาเปลี่ยนเป็นไซลูโลส-5-ฟอสเฟสเพื่อเข้าสู่วิถีอื่นต่อไป โดยเมื่อน้ำตาลเข้าสู่เซลล์ยีสต์จะถูกเปลี่ยนเป็นไซลูโลสโดยปฏิกริยาออกซิเดชั่นและรีดักชั่น (Oxido-reduction) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงน้ำตาลไซโลสโดยใช้วิธีนี้จะพบจุลินทรีย์พวกยูคาริโอท (eukaryotes) โดยมีเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องสองชนิดคือ เอนไซม์ไซโลสรีดักเทส (xylose reduction,XR) ซึ่งมีโคเอนไซม์ NAD(P)H ร่วมในการทำปฏิกริยา รีดิวส์ไซโลสเป็นไซลิทอล และเอนไซม์ ไซลิ-ทอลดีไฮโดรเนส (xylitol dehydrogenase, XDH) ซึ่งใช้ $NAD(P)^+$ เป็นโคเอนไซม์จะออกซิไดส์ไซลิ-ทอลที่เกิดขึ้นให้กลายเป็นไซลูโลส (Smiley และ Bolen,1982 ; Maiezka และคณะ,1983) และเมื่อยีสต์เปลี่ยนไซโลสให้กลายเป็นไซลูโลสแล้ว ไซลูโลสก็ถูกเปลี่ยนเป็นไซลูโลส-5-ฟอสเฟต (Xylulose – 5 – phosphate) โดยปฏิกริยาฟอสโฟเรชั่น (Phosphorylation) ของเอนไซม์ไซลูโลสไค-เนส (Xylulose kinase) แล้วไซลูโลส-5-ฟอสเฟต จะเข้าสู่วิถีเพนโทสฟอสเฟต จะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่น โดยมีตัวเร่งปฏิกิริยา 2 ตัวหลัก ๆ คือ $NADP^+$ เชื่อมกับ กลูโคส –6-ฟอสเฟตดีไฮโดรจี-เนส (GPDH) และ $NADP^+$ เชื่อมด้วยกับ 6- ฟอสโฟกลูโคเนส ดีไฮโดรจีเนส (PGDH) (ดังภาพที่ 3) จะอธิบายการเจริญของยีสต์โดยใช้ไซโลส เปรียบเทียบกับการเจริญโดยใช้กลูโคส และอีกทางหนึ่งเมื่อเข้าสู่วิถีเพนโทสฟอสเฟต ไซลูโลส-5-ฟอสเฟตก็จะเปลี่ยนเป็นน้ำตาลฟอสเฟตต่างๆ เช่น (G3P) และ ฟรุกโทส-6-ฟอสเฟต แล้วเข้าสู่วิถี เอ็มเดน เมเยอฮอฟ (Embden-Meyerhorf-Panas) (EMP) เพื่อสร้างไพรูเวทเข้าสู่วัฏจักรเครบส์เพื่อสร้างพลังงานและเซลล์ต่อไปอีกวิถีหนึ่งไซลูโลส-5-ฟอสเฟตจะเปลี่ยนเป็นกลีเซอรัลดีไฮดด์-3-ฟอสเฟต และ อะซิทิล ฟอสเฟต (acetyl phosphate) โดยเอนไซม์ไซลูโลส-5-ฟอสเฟต ฟอสโฟคีโตเลส (xylulose-5-phosphate phosphoketolase) กลีเซอรัลดีไฮด์-3-ฟอสเฟตที่ได้จะเข้าสู่วิถีเอ็มเดน เมเยอฮอฟ พานาส (Embden-Meyerhorf-Panas) ส่วนอะซิทิล-ฟอสเฟต (acetyl phosphate) จะถูกเปลี่ยนเป็นอะซิเตท ซึ่งจะเปลี่ยนแปลงได้ 2 ทาง คือเป็น อะซิทิล - โคเอ (acetyl-CoA) เข้าสู่วัฏจักรเครบส์ต่อไปกับเปลี่ยนเป็นเอธานอลดังภาพที่3 ส่วนไพรูเวทที่ได้จะถูกเปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น คาร์บอนไดออกไซด์ เอธานอลและกรดอินทรีย์ต่างๆ เป็นต้น (Francisco และคณะ ,1994) การที่ยีสต์บางสายพันธ์นั้นเมื่อใช้น้ำตาลไซโลสในสภาวะที่มีออกซิเจนจำกัดสามารถสะสมไซลิทอลได้ในปริมาณมากนั้นเนื่องจากชนิดของโคเอนไซม์ที่ใช้ในปฏิกิริยาของเอนไซม์ไซโลสรีดักเทสคือ NADPH แต่โคเอนไซม์ในปฏิกิริยาที่เร่งโดยเอนไซม์ไซลิ-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ทอลดีไฮโดรจีเนสเป็น NAD^+ ดังนั้นในสภาวะที่มีออกซิเจนจำกัด จะเกิดการสะสมของ NADH และ NADPH มากจึงเกิดขึ้นน้อย และไม่สามารถนำเอา NAD^+ จึงทำให้การเปลี่ยนไซลิทอลที่ได้เป็นไซลูโลสจึงเกิดขึ้นน้อย และไม่สามารถนำเอา $NAPD^+$ ที่เกิดจากปฏิกิริยาที่เปลี่ยนไซโลสเป็นไซลิทอลมาใช้ได้ จึงทำให้เกิดการสะสมของไซลิทอลขึ้น (โดย Francisco M. Girio และคณะ)

การผลิตไซลิทอลในยีส์โดยใช้ไซโลสเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงาน ในสภาวะที่มีการจำกัดออกซิเจนหรือไม่มีการเจริญเติบโต ไซลิทอลส่วนใหญ่จะถูกปล่อยออกมานอกเซลล์ โดยมีบางส่วนถูกออกซิไดส์ไปเพื่อสังเคราะห์ NADPH เมื่อทำสมดุลคาร์บอนและโคเอนไซม์ดังสมการที่ 1-9 แล้ว จะได้ผลได้ทางทฤษฎีของไซลิทอลของไซโลสที่ถูกใช้ (Barbosa และ คณะ, 1988)

$$6\text{xylose} + 6\,NADPH + H^+ \longrightarrow 6\text{xylitol} + 6\,NADP^+ \quad (1)$$

$$6\text{xylitol} + 6\,NAD^+ \longrightarrow 6\text{xylulose} + 6\,NADH + H^+ \quad (2)$$

$$6\,NADH + H^+ + 302 + 18ADP + 18Pi \longrightarrow 6\,NAD^+ + 18ATP + 24H_2O \quad (3)$$

$$6\text{xylulose} + 6ATP \longrightarrow 6\text{xylulose-5-phosphate} + 6ADP \quad (4)$$

$$6\text{xylulose-5-phosphate} + H_2O \longrightarrow 5\text{glucose-6-phosphale} + Pi \quad (5)$$

$$5\text{glucose-6-phosphate} + 60\,NADP^+ + 35\,H_2O \longrightarrow 60NADPH^+ + 30CO_2 + 5Pi \quad (6)$$

จากสมการที่ 1-6

$$6\text{xylose} + 54NADP^+ + 12ADP + 12Pi + 12H20 + 302 \longrightarrow 54\,NADPH + H^+ + 12ATP + 30CO_2 \quad (7)$$

$$54NADPH + H^+ + 54\text{xylose} \longrightarrow 54\text{xylitol} + 54NADP^+ \quad (8)$$

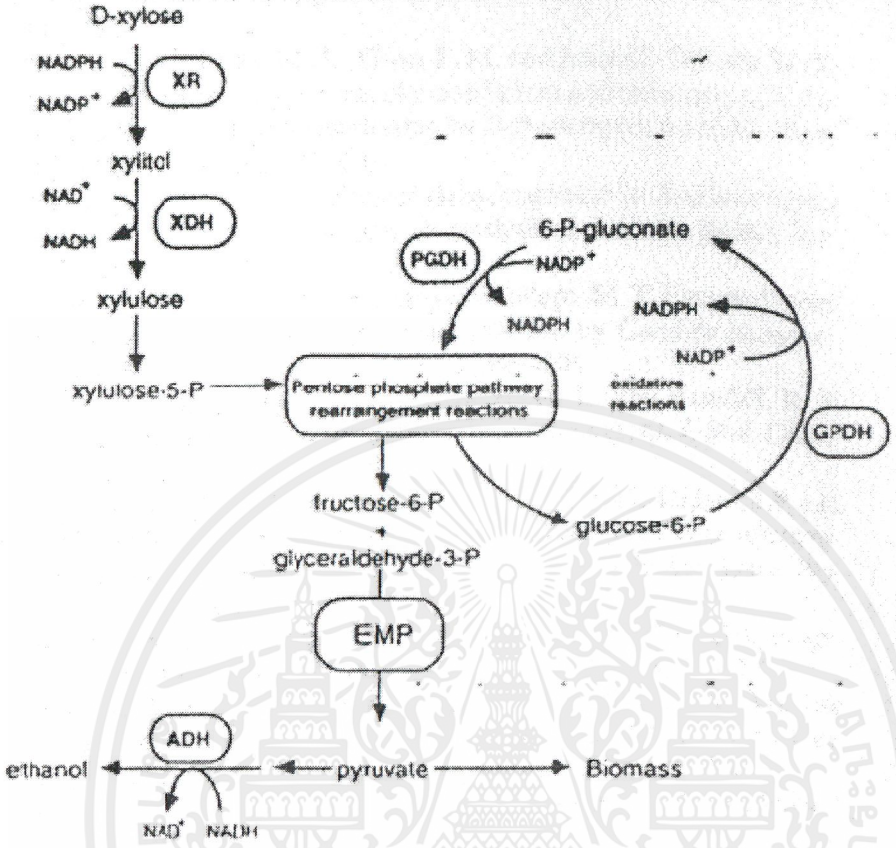
จากสมการที่ 7 และ 8

$$60\text{xylose} + 12ADP + 12Pi + 12H_2O + 3O_2 \longrightarrow 54\text{xylitol} + 12ATP + 30\,CO_2 \quad (9)$$

ผลได้ของไซลิทอล = 54ต่อ60 = 0.905 โมลของไซลิทอลต่อโมลของไซโลส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

43977



ภาพที่ 4 เมแทบอลิซึมของน้ำตาลไซโลสโดยยีสต์ *Debraryomyces hanseneii*

ที่มา : Francisco และคณะ (1994)

2. กระบวนการเมแทบอลิซึมในการผลิตไซลิทอลโดยแบคทีเรีย

แบคทีเรียส่วนมากสามารถสร้างเอนไซม์ไซโลสไอโซเมอร์เรส xylose isomerase ได้ ดังนั้นจึงสามารถเปลี่ยนไซโลสเป็นไซลูโลสได้ จากนั้นไซลูโลสก็จะถูกเติมฟอสเฟตกลายเป็นไซลูโลส-5-ฟอสฟอตและเข้าสู่วิถีเพนโทสฟอสเฟต หรืออีกทางหนึ่งไซลูโลส-5-ฟอสเฟตที่ได้อาจจะถูกเอนไซม์ไซลูโลส-5-ฟอสเฟต ฟอสเฟตโฟคีโทเทส เปลี่ยนเป็น กลีเซอรัลดีไฮด์-3-ฟอสเฟต และ acetyl phosphate โดยเอนไซม์ไซลูโลส-5-ฟอสเฟต ฟอสโฟคีโทเลส ขั้นนี้เป็นการสร้างสารตัวกลางในวิถี Embden-Meyerhorf-Panas โดดดยไม่มีการสร้าง NADPH เหมือนกับเมแทบอลิซึมของกลูโคสในยีสต์ (Evan และ Retledge, 1984) แต่แบคทีเรียบางสายพันธุ์

การผลิตไซลิทอลโดยวิธีการหมักนี้ได้มีการศึกษา และวิจัยเพื่อพัฒนากระบวนการผลิตในระดับอุตสาหกรรม เพื่อให้แข่งขันได้กับการผลิตโดยกระบวนการทางเคมี ซึ่งมีต้นทุนสูงและมีสารปนเปื้อน (Impurities) อยู่มากที่จะต้องผ่านการทำให้บริสุทธิ์หลายขั้นตอน นอกจากนี้ยังเป็นการเน้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การใช้ประโยชน์จากวัสดุเหลือทิ้ง ทั้งทางภาคเกษตรกรรมที่ไม่มีมูลค่า หรือใช้ประโยชน์ได้ไม่เต็มที่ นำมาผลิตเป็นไซลิทอล และผลิตภัณฑ์อื่นๆ ที่มีมูลค่าซึ่งมีการใช้กันมากในอุตสาหกรรมอาหาร

ปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณผลผลิตไซลิทอลโดยกระบวนการหมักด้วยจุลินทรีย์ข

1. อัตราการให้อากาศ การให้อากาศกระตุ้นการขนส่งน้ำตาลเข้าสู่เซลล์ในยีสต์บางชนิด รวมถึงเชื้ออีกหลายชนิด เช่น *Candida, Hansanula, Kluyveromyces* และ *Pichia* ซึ่งต้องการออกซิเจนเพื่อใช้ในการดูดซึมน้ำตาล การให้อากาศกับอาหารเลี้ยงในช่วงการหมักจะทำให้เพิ่มการเปลี่ยนไซโลสไปเป็นไซลิทอล เพราะการผลิตไซลิทอลเป็นผลผลิตที่เกิดควบคู่กับการเจริญของเซลล์จุลินทรีย์ที่มีความหนาแน่น ซึ่งมีอิทธิพลต่อการเผาผลาญโดยออกซิเจน จุลินทรีย์บางชนิดสามารถผลิตไซลิทอลภายใต้สภาวะที่มีอากาศเล็กน้อย

Meyril และคณะ (1991) ทำการศึกษาความสามารถในการผลิตของเชื้อ *Candida guilliermondii* ซึ่งใช้ไซโลส และ Non-hemicellulose ซึ่งทำการย่อยให้ได้น้ำตาลในสภาวะ Microaerophliilc ได้ผลิตไซลิทอล 0.63 กรัมต่อกรัม และได้เอทานอลประมาณเล็กน้อยจากการใช้ไซโลส ส่วนน้ำตาลที่ไม่ใช่ไซโลสจะถูกเปลี่ยนเป็นเอทานอล และเซลล์จุลินทรีย์ การผลิตไซลิทอลโดย *Debaryomyces hansenii* ต้องการสภาวะ Semi-aerobic โดยเริ่มจากสภาวะที่มีอากาศ เพื่อเพิ่มการสะสม Reduce-adenine-dinucleotide-coenzyme ให้มีความสมบูรณ์พร้อมที่จะทำให้เกิดปฏิกิริยารีออกซิไดส์ ซึ่งจะนำไปสู่การเปลี่ยนไซลิทอลเป็นไซลูโลส

Horitsu และคณะ (1992) รายงานถึงผลกระทบที่มีต่อการผลิตไซลิทอลในขั้นแรกควรพิจารณาถึงความเร็วในการเพิ่มปปริมาณเซลล์จุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ อย่างไรก็ตามไซลิทอลภายใต้สภาวะ Anoxic และการเพิ่มปริมาณออกซิเจนที่ละลายได้ในอาหาร ในช่วงระหว่างการหมักจะนำไปสู่การผลิตไซลูโลส โดยการไฮโดรจีเนชันของไซลิทอลที่เกิดขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อ ดังนั้นการเพิ่มระดับการละลายของออกซิเจนจะมีความต้องการเฉพาะขั้นตอนแรกในการหมักเท่านั้น แต่หลังจากนั้นควรลดระดับการให้อากาศกับจุลินทรีย์ *Candida tropicalis* เพิ่มการสะสมไซลิทอลภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนในปริมาณจำกัด

Sirisansaneeyakul และคณะ (1992) ได้รายงานว่าในสภาวะที่ขาดแคลนออกซิเจนการสังเคาระห์โคเอนไซม์ NADH ด้วยกระบวนการหายใจนั้นไม่เพียงพอทำให้ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไซลิทอลดีไฮโดรจีเนสที่จะเปลี่ยนต่อไปเป็นน้ำตาลไซลูโลสในวิถีเพนโตสฟอสเฟต หรือที่เรียกว่า Hexose monophosphate นั่นเอง จึงเกิดการสะสมไซลิทอลเพิ่มขึ้น และส่งผ่านออกนอกเซลล์ เป็นผลทำให้ได้ผลได้และผลผลิตของไซลิทอลเพิ่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Furlan และคณะ (1991) และ Kim และคณะ (1997) ทำการศึกษาปัจจัยของอาการใน *Candida parasilosis* ซึ่งพบว่าการให้อากาศมากเกินไปจะส่งผลให้เซลล์มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว ไซลิทอลที่ผลิตขึ้นจะถูกเปลี่ยนเป็น NADH และไซลูโลสทำให้ผลผลิตไซลิทอลลดลง

Furian และคณะ (1994) ได้ทำการทดลองพบว่าเชื้อ *Candida tropicalis* สามารถผลิตไซลิทอลได้ 30 กรัมต่อลิตร ในเวลา 117 ชั่วโมง เชื้อ *Pichia tannophilus* และ *Candida shehatae* สามารถผลิตไซลิทอลได้ 12.5 กรัมต่อลิตร และ 6.0 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ผลที่ได้นี้เป็นผลที่ได้มาจากสภาวะ Microaerobic และสามารถสรุปได้ว่าอัตราการถ่ายเทออกซิเจนเป็นหลักสำคัญในการผลิตไซลิทอล

2. แหล่งไนโตรเจนในการผลิตไซลิทอล

Barbosa และคณะ (1988) กล่าวถึงความสำคัญของแหล่งไนโตรเจนและการให้อากาศว่ามีผลกับปริมาณการผลิตไซลิทอลจากไซโลสโดยยีสต์บางสายพันธุ์ ใน *Saccharomyces cerevisiae* วิถีเพนโตสฟอสเฟตควบคุมโดยไนโตรเจนและเกลือแอมโมเนียมซึ่งพบว่าสามารถกระตุ้นการเกิดออกซิเดทีฟในวิถีเพนโตสฟอสเฟต เพราะเอนไซม์ D-glucose-6-phosphate dehydrogenase จะถูกยับยั้งโดย NADH ใน *Pichia tannophilus* เกลือแอมโมเนียมจะกระตุ้นการเจริญและลดระดับ NADH ของเอนไซม์ D-glucose-6-phosphate dehydrogenase ภายในเซลล์และเพิ่มกิจกรรมการออกซิเดทีฟในวิถีเพนโตสฟอสเฟต

ใน *Candida shehatae* พบว่าสามารถผลิตไซลิทอลในปริมาณมากขึ้นอยู่กับแหล่งไนโตรเจนเพราะเป็นการเพิ่มระดับของเอนไซม์ Xylitol dehydrogenase Dahiya (1991) ได้ศึกษาผลกระทบในการผลิตไซลิทอลจากแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอินทรีย์ 8 ชนิด และสารอินทรีย์ 4 ชนิด พบว่าปริมาณไซลิทอลสูงสุดที่ได้คือ 16.7 กรัมต่อลิตร และ 30.6 กรัมต่อลิตร โดยใช้แอมโมเนียอะซีเตต และยีสต์สกัด ตามลำดับ

Horitsu และคณะ (1992) ใช้ยีสต์สกัดเป็นแหล่งไนโตรเจนที่ความเข้มข้น 3 10 และ 20 กรัมต่อลิตร พบว่าได้รับการเกิดผลิตผลสูงสุด 1.78 กรัมต่อลิตรต่อชม. เมื่อใช้ยีสต์สกัด 20 กรัมต่อลิตร ด้วยอัตราการไหล 400 มิลลิลิตรต่อนาที ให้อากาศที่มีออกซิเจน 90เปอร์เซ็นต์ และให้ไซโลส 100 กรัมต่อลิตร(Orishi และคณะ (1980)) พบว่าการผลิตโพลิออลโดย *Pichia* เป็นผลมาจากอัตราส่วนของคาร์บอนและแหล่งของไนโตรเจน ปริมาณโพลิออลจะได้มากกว่าเมื่อใช้แหล่งไนโตรเจนที่มีความเข้มข้นต่ำ

Sirisansaneeyakul และคณะ (1992) ได้รายงานว่า เชื้อ *Candida mogii* ที่เจริญได้ในสภาวะที่มีออกซิเจนจำกัด (ความเร็วรอบในการเขย่า 100 รอบต่อนาที) โดยให้มีความแตกต่างของความเข้ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

-ข้นของไซโลส 5-35 กรัมต่อลิตร พบว่าอัตราการผลิตไซลิทอลจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของน้ำ-ตาลไซโลสเริ่มต้น

ไซโลส (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณชีวมวล (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณผลผลิต(กรัมต่อลิตร)
5.3	0.46	0
10.1	0.29	0.17
19.3	0.18	0.44
28.9	0.16	0.50
53.3	0.12	0.70

ที่มา : Sirsansaneeyakul (1995)

Horitsu และคณะ (1992) ได้เพิ่มความเข้มข้นของไซโลสในการเลี้ยงเชื้อ *Candida tropicalis* เป็น 100-500 กรัมต่อลิตร และมีอัตราการให้อากาศสูง 400 มิลลิลิตรต่อนาที โดยใช้อากาศที่มีออกซิเจน 90เปอร์เซ็นต์ พบว่าอัตราการผลิตไซลิทอลเพิ่มขึ้นเป็น 2.44 กรัมต่อลิตรต่อชม. จากเดิม 1.78 กรัมต่อลิตรต่อชม. ความเข้มข้นของไซโลสกับการให้อากาศมีความสัมพันธ์กับควงามเข้มข้นของเซลล์ โดยที่ความเข้มข้นของไซโลสและอัตราการให้อากาศสูง ความเข้มข้นของเซลล์จะสูงและการผลิตไซลิทอลจะสูงตามไปด้วย

Meyrial และคณะ (1991) ศึกษาความต้านทานต่อสับสเตรตของ *Candida guilliermondii* ที่ความเข้มข้นของไซโลสเริ่มต้นจาก 100-300 กรัมต่อลิตร การเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลนำไปสู่การเพิ่มผลผลิตไซลิทอล และปริมาณไซลิทอลที่เพิ่มขึ้นจากการเพิ่มไซโลสในอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาณสูงสุดที่ได้เมื่อใช้ไซโลส 300 กรัมต่อลิตรได้ผลผลิต 0.75 กรัมต่อกรัมไซโลส ซึ่งคิดเป็น 82.6 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณทั้งหมดในทฤษฎี ความเข้มข้นของไซลิทอลต่ำ เนื่องจากถูกใช้ไปในการเพิ่มมวลเซลล์เป็นหลัก อัตราการผลิตไซลิทอลเมื่อไซโลสเป็น 2.4 เท่าจะสูงกว่าปริมาณที่ได้จากไซโลส 10 กรัมต่อลิตร ในทางตรงกันข้ามกับการผลิตไซลิทอล การเจริญของจุลินทรีย์ทีละน้อยจะถูกยัลยั้งโดยความเข้มข้นของไซโลส อัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด 0.11 ต่อชั่วโมง ได้จากความเข้ม-ข้นของไซโลส 20 และ 50 กรัมต่อลิตร

4. การเติมน้ำตาลชนิดอื่นลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ

Haiao และคณะ (1982) รายงานว่ากลูโคสจะยับยั้งการใช้ไซโลสใน *Candida* และ *Shizosaccharomyces* กลูโคสจะยับยั้งการเผาผลาญไซโลสในระยะเวลาอัยรวดเร็ว และเมื่อความเข้ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

-ข้นของกลูโคสลดต่ำลง ความสามารถในการเปลี่ยนไซโลสจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ในช่วงสั้นๆ นี้จะทำให้การดูดซึมไซโลสกลับคืนมาอย่างรวดเร็ว โดยแสดงออกในลักษณะ Catabolic repression ไม่ใช่การควบคุมที่กลไกการสังเคราะห์ของยีน หลักฐานที่สนับสนุนความคิดนี้ ค่อนข้างจะเป็นการอธิบายถึงการนำไซโลสส่วนใหญ่ว่าไม่ Active หรือเกิดการยับยั้งในขณะที่มีกลูโคสในช่วงที่มีการแทนที่น้ำตาลอื่นจะมีการยับยั้งเกิดขึ้นภายในเซลล์เมื่อมีกลูโคสหรือตัวเร่งปฏิกริยา (Catabolite)

นรินทร์ (2541) การเติมกลูโคสลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อมีผลต่อการเติบโตของเชื้อ *Candida guillier mogii* ATCC 18364 และการเกิดไซลิทอลในสภาวะที่จำกัดออกซิเจน โดยทำการเติมกลูโคสลงไปในปริมาณน้อยมากเพื่อไม่ให้เกิดการยับยั้งไซโลส (Catabolic repression) ในกรณีนี้กลูโคสจะช่วยเพิ่มปริมาณ NADPH ในเมทาบอลิซึมของยีสต์และใช้ในการเจริญเติบโตแทนการใช้ไซโลส จึงทำให้ไซโลสถูกใช้ไปในการผลิตไซลิทอลมากขึ้น ส่งผลให้ผลได้ของไซลิทอลสูงขึ้นด้วยโดยปริมาณกลูโคสที่เหมาะสมที่ให้ผลผลิตไซลิทอลสูงสุดคือ 2.3 กรัมต่อการทดลอง (ทำการทดลองในถังปฏิกรณ์ชีวภาพขนาด 2 ลิตร ปริมาณที่ใช้หมักเท่ากับ 1.5 ลิตร) ทำให้ได้ไซลิทอล 0.854 กรัม ไซลิทอลต่อกรัมไซโลส อัตราการผลิตเท่ากับ 0.255 กรัมต่อลอตรต่อชม. ค่าผลได้เพิ่มขึ้น 1.24 เท่า และอัตราการผลิตเพิ่มขึ้น 1.36 เท่า เมื่อเทียบกับการเพาะเชื้อในสภาวะเดียวกันซึ่งไม่มีการเติมกลูโคส

5. การเติมเมทานอล (Methanol)

การเติมเมทานอลสามารถเพิ่มการผลิตไซลิทอลได้เป็น 39.8 กรัมต่อลิตร ไซลิทอลที่เพิ่มขึ้นนี้คิดเป็น 8.5 เปอร์เซ็นต์เมื่อใช้อาหารไซโลสที่มีการเติมด้วยเมทานอล 1 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาณต่อปริมาณ) ซึ่งจะทำให้การเกิดออกซิเดชั่นของเมทานอลให้ผลผลิตเป็น NADH ทำให้มีปริมาณเพิ่มมากขึ้นพอที่จะเกิดการรีดักชั่นของไซโลสทำให้เกิดไซลิทอล ในกรณีที่เป็นการผลิตซอร์บิทอล และไซลิทอล โดยยีสต์ที่สามารถใช้เมทานอล เช่น *Candida boidinii* และการเติมเมทานอลในอาหารเลี้ยงเชื้อจะทำให้ไซลิทอลได้มากขึ้น

6. ปริมาณไบโอติน (Biotin)

Lee และคณะ (1987) รายงานว่าปริมาณเอทานอลและไซลินอลจะสะสมในน้ำหมักในการเลี้ยงแบบชั่วคราวของเชื้อ *Pachysolen tannophilus* และ *Candida guilliermondii* จะขึ้นอยู่กับระดับของไบโอติน ในอาหารที่มีไบโอตินสูง *Pachysolen tannophilus* จะสะสมเอทานอลมากกว่าไซลิทอล ในขณะที่ *Candida guilliermondii* จะสะสมไซลิทอลมากกว่าเอทานอล

7. ความเป็นกรด-ด่าง (pH) และอุณหภูมิ

Gong และคณะ (1981) รายงานว่าปริมาณไซโลสที่จะเปลี่ยนเป็นไซลิทอลมากที่สุด จะเกิดที่พีเอช 8.0 และการเกิดปฏิกิริยารีดักชันของไซลิทอลจะเกิดขึ้นเมื่อพีเอชเปลี่ยนจากเบสเป็นกรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณไซลิทอลสูงสุดจะเกิดขึ้นในช่วงแรกที่มีพีเอช 6.0-7.0 โดย *Pachysolen tannophilus* พีเอช 6.0 โดย *Candida guilliermondii* และพีเอช 4.0 โดย *Candida tropicalls*

วรสิทธิ์ (2541) ทำการศึกษาผลของพีเอชต่อการเจริญเติบโตและการผลิตไซลิทอลของเชื้อ *Candida mogii* ATCC 18364 พบว่าพีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและผลิตไซลิทอลแตกต่างกัน โดยทำการเพาะเลี้ยงใน 2 ระยะ ระยะแรกเป็นการเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณเซลล์ จะทำการเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะที่มีการให้อากาศอย่างเพียงพอ พีเอชที่เหมาะสมในระยะนี้เท่ากับ4.5 ทำให้ได้อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเท่ากัน 0.046 ต่อชั่วโมง ระยะที่สองเป็นระยะที่ทำการผลิตภายใต้สภาวะที่จำกัดอากาศ พบว่าพีเอชที่เหมาะสมในระยะนี้เท่ากับ 6.0 ทำให้ได้ผลผลิตไซลิทอล 0.71 กรัมต่อกรัมไซโลส คิดเป็น 77.96 เปอร์เซ็นต์ ของผลได้ตามทฤษฎี

การผลิตไซลิทอลโดยใช้เซลล์ตรึง

การผลิตไซลิทอลโดยใช้เซลล์ตรึงเป็นอีกวิธีที่ใช้ในการเพิ่มผลผลิตไซลิทอล ซึ่งเป็นการเพิ่มความหนาแน่นของเซลล์ในการหมัก นอกจากนี้ยังทำให้เซลล์มีความเสถียรทางด้านพันธุกรรมและสามารถนำเซลล์ตรึงกลับมาใช้ใหม่ได้

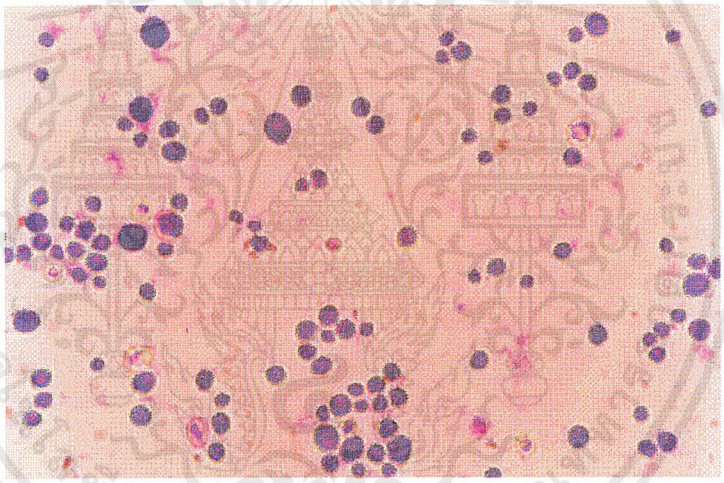
Dominguez (1998) ทำการศึกษากระบวนการผลิตไซลิทอลโดยยีสต์ *D.hensenii* NRRL Y7462 ในระดับฟาสก์เขย่า ได้ความเข้มข้นของไซลิทอลเท่ากับ 106.7 และ 37.6 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้เซลล์อิสระและเซลล์ตรึงตามลำดับ และอัตราการผลิตไซลิทอลเท่ากับ 1.48 และ 0.31 กรัมต่อลิตรชั่วโมง เมื่อใช้เซลล์อิสระและเซลล์ตรึงตามลำดับ สำหรับการเพาะเลี้ยงครั้งที่ 1 การนำเวลล์กลับมาใช้ใหม่เป็นครั้งที่ 2 ความเข้มข้นของไซลิทอลและอัตราการผลิตไซลิทอลเมื่อใช้เซลล์อิสระจะมีค่าลดลง (45.6 กรัมต่อลิตร และ 0.38 กรัมต่อลิตร ชั่วโมงตามลำดับ) ส่วนในระบบเซลล์ตรึงจะทำให้อัตราการผลิตไซลิทอลสูงขึ้นเป็น 2.08 กรัมต่อลิตร ชั่วโมง เป็นการบ่งชี้ให้เห็นว่าการใช้เซลล์ตรึงสามารถนำเซลล์กลับมาใช้ได้ใหม่โดยไม่ทำให้กิจกรรมของเซลล์ลดลง ซึ่งเป็นการแก้ปัญหาการสูญเสียกิจกรรมของเซลล์ในระบบการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่องที่มำการหมักเป็นระยะเวลานาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการ

จุลินทรีย์

Debraryomyces hanseneii TISTR 5155 ใช้ศึกษาการผลิตไซลิทอลได้รับจากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ทำการเก็บเป็น stock culture ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสใน YM agar



ภาพที่ 5 ลักษณะของ *Debraryomyces hanseneii* TISTR 5155 ถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์ขยาย 100เท่า

อุปกรณ์

เครื่องมือ

1. สเปคโทรโฟโทรมิเตอร์
2. เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (incubater shaker)
3. เครื่องชั่งสาร
4. เครื่องวัดพีเอช
5. ตู้อบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. เครื่องแก้ว
7. อ่างควบคุมอุณหภูมิ

สารเคมี

1. HCI
2. Sodiumperiodate
3. Butane-2,3-diol
4. Pentane-2,4-diol
5. Ammonium acetate
6. Acetic acid
7. ไซโลส
8. ไซลิทอล
9. กลูโคส
10. ยีสต์สกัด (yeast extract)
11. มอลต์สกัด (malt extract)
12. เปปโตน (peptone)
13. $CuSO_4 5H_2O$
14. $NaH_2PO_4 12H_2O$
15. Na_2SO_4 (amhydrous)
16. Soaium potassium tartrate (tetrahydrate)
17. Thiourea
18. p-bromoaniline
19. โซเดียมไฮดรอกไซด์
20. แอมโมเนียมโมลิบเดต (Ammonium molybdate)
21. กรดซัลฟูริก
22. ไดโซเดียมอาร์เซเนต (Disodium arsenate)
23. สารละลายกลูโคสมาตรฐาน
24. สารละลายไซลิทอลมาตรฐาน
25. สารละลายไซโลสมาตรฐาน

วิธีการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. ศึกษาหาความสามารถของเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ในการผลิตไซลิทอล

1.1 เตรียมอาหารเพื่อการเจริญเติบโตที่ประกอบด้วย กลูโคส 10 กรัมต่อลิตร ยีสต์สกัด 3 กรัมต่อลิตร มอลต์สกัด 3 กรัมต่อลิตร และเปปโตน 5 กรัมต่อลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250.0 มิลลิลิตร ฟลาสก์ละ 75.0 มิลลิลตร โดยทำ 3 ซ้ำ

1.2 นำไปเขย่าที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

1.3 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโทรมิเตอร์ ที่ 600 นาโนเมตร ให้ค่าประมาณ 0.5

1.4 เติมกล้าเชื้อที่ได้จากข้อ 1.3 ลงในอาหารเพื่อการผลิตซึ่งมี D-xylose ที่เป็นสารตั้ง-ต้นที่ใช้ผลิตไซลิทอล และนำไปเขย่าที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส หลังจากนั้น 12 ชั่วโมง ทำการตรวจสอบว่าเชื้อสามารถผลิตไซลิทอลได้โดยวิธีการหาไซลิทอลดังภาคผนวก ค

2.การเตรียมหัวเชื้อ

2.1 เตรียมอาหารเพื่อการเจริญเติบโต บรรจุฟลาสก์ขนาด 250.0 มิลลิลิตร ฟลาสก์ละ 75.0 มิลลิลิตร ฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15นาที

2.2 ถ่ายเชื้อจากหลอดทดลองลงในฟลาสก์ที่มีอาหารเพื่อการเจริญเติบโตในข้อ 1.1

2.3 นำไปเพาะเลี้ยงบนเครื่องควบคุมอุณหภูมิที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที ประมาณ 5-6 ชั่วโมง

2.4 นำไปวัดค่าความขุ่นของเซลล์โดยเครื่อง สเปกโทรโฟโทรมิเตอร์ ที่ 600 นาโน-เมตร อ่านค่าดูดกลืนแสงได้ประมาณ 0.5

3. การศึกษาปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นที่เหมาะสม

3.1 ทำการเตรียมหัวเชื้อตามข้อ 1

3.2 เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อตามข้อ 1.1

3.3 เติมหัวเชื้อเริ่มต้นที่ ได้จากการทดลองข้อ 1 ลงในฟลาสก์ในปริมาณ 4.0 5.0 6.0 7.0 8.0 และ 9.0 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งหมด นำไปเพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่มีความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างทุกๆ 2 ชั่วโมง นำไปวัดค่าความขุ่นเซลล์โดยเครื่องสเปกโทรโฟโทรมิเตอร์ที่ 600 นาโมเมตร นำไปเขียนกราฟ เพื่อวิเคราะห์หาการเจริญเติบโตจำเพาะของเชื้อ

4 . การศึกษาปริมาณกลูโคสที่เหมาะสม

4.1 ทำการเตรียมหัวเชื้อตามข้อ 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 เตรียมอาหารเพื่อการเจริญเติบโต 75.0 มิลลิลิตร ให้มีปริมาณกลูโคสเป็น 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ บรรจุฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วนาน 15 นาที

4.3 เติมหัวเชื้อที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 2

4.4 เพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างทุกๆ 2 ชั่วโมง นำไปวัดค่าความขุ่นของเซลล์โดยเครื่องสเปกโทรโฟโทรมิเตอร์ที่ 600 นาโนเมตรนำค่าที่ได้ไปเขียนกราฟเพื่อวิเคราะห์หาอัตราการเจริญจำเพาะของเชื้อเพื่อหาค่ากลูโคสที่เหมาะสม

5. การศึกษาปริมาณยีสต์สกัดที่เหมาะสม

5.1 ทำการเตรียมหัวเชื้อตามข้อ 1

5.2 เตรียมอาหารเพื่อการเจริญเติบโต 75.0 มิลลิลิตร ให้มีปริมาณกลูโคสที่เหมาะ-สมที่ได้จากข้อ 3 และแปรผันปริมาณยีสต์สกัดเป็น 0.1 0.2 0.3 0.4 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ บรรจุฟลาสก์ขนาด 250.0 มิลลิลิตร ฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

5.3 เติมหัวเชื้อที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 2

5.3 นำไปเพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่มีความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างทุกๆ 2 ชั่วโมง

5.5 นำไปวัดค่าความขุ่นของเซลล์โดยเครื่องสเปกโทรโฟโทรมิเตอร์ที่ 600 นาโน-เมตร นำค่าที่ได้ไปเขียนกราฟเพื่อวิเคราะห์หาอัตราการเจริญจำเพาะของเชื้อและหาค่าเฉลี่ยในเวลาที่เหมาะสม

6. ศึกษาหาปริมาณมอลต์สกัดที่เหมาะสม

6.1 ทำการเตรียมหัวเชื้อตามข้อ 1

6.2 เตรียมอาหารเพื่อการเจริญเติบโต 75.0 มิลลิลิตร ให้มีปริมาณกลูโคสที่เหมาะ-สมที่ได้จากข้อ 3 และปริมาณยีสต์สกัดที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 4 และแปรผันปริมาณมอลต์สกัดเป็น 0.1 0.2 0.3 และ 0.4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับบรรจุฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิกรัม ฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

6.3 เติมหัวเชื้อที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 2

6.4 นำเพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างทุก ๆ 2 ชั่วโมง

6.5 นำไปวัดค่าความขุ่นของเซลล์โดยเครื่องสเปกโทรโฟโทรมิเตอร์ ที่ 600 นาโน-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมตรนำไปเขียนกราฟวิเคราะห์หาอัตราการเจริญจำเพาะของเชื้อ และหาค่าเฉลี่ยในเวลาที่เหมาะสม

7. ศึกษาหาปริมาณเปปโตนที่เหมาะสม

7.1 ทำการเตรียมหัวเชื้อตามข้อ 1

7.2 เตรียมอาหารเพื่อการเจริญเติบโต 75.0 มิลลิลิตร ให้มีปริมาณกลูโคสที่เหมาะ-สมที่ได้จากข้อ 4 ปริมาณยีสต์สกัดที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 5 ปริมาณมอลต์สกัดที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 6และแปรผันปริมาณเปปโตนเป็น 0.3 0.4 0.5 0.6 และ 0.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับบรรจุฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิกรัม ฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

7.3 เติมหัวเชื้อที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 2

7.4 นำเพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างทุก ๆ 2 ชั่วโมง

7.5 นำไปวัดค่าความขุ่นของเซลล์โดยเครื่องสเปกโทรโฟโทรมิเตอร์ ที่ 600 นาโน-เมตรนำไปเขียนกราฟวิเคราะห์หาอัตราการเจริญจำเพาะของเชื้อ และหาค่าเฉลี่ยในเวลาที่เหมาะสม

8. ศึกษาหาความเร็วรอบที่เหมาะสม

8.1 ทำการเตรียมหัวเชื้อตามข้อ 1

8.2 เตรียมอาหารเพื่อการเจริญเติบโต 75.0 มิลลิลิตร ให้มีปริมาณกลูโคสที่เหมาะ-สมที่ได้จากข้อ 4 และปริมาณยีสต์สกัดที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 5 ปริมาณมอลต์สกัดที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 6 และปริมาณเปปโตนที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 7 บรรจุฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วนาน 15 นาที

8.3 เติมหัวเชื้อที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 2

8.4 นำไปเพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิทีความเร็วรอบเป็น 180 200 250 และ 270 รอบนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างทุกๆ 2 ชั่วโมง

8.5 นำไปวัดค่าความขุ่นเซลล์โดยเครื่องสเปกโทรโฟโทรมิเตอร์ที่ 600 นาโนเมตร นำไปเขียนกราฟเพื่อวิเคราะห์หาอัตราการเจริญจำเพาะของเชื้อ

9. ศึกษาการผลิตไซลิทอล โดยใช้น้ำตาลกลูโคส และไซโลสในระดับฟลาสก์

9.1 ทำการเตรียมหัวเชื้อในข้อ 1

9.2 เตรียมอาหารเพื่อการผลิตที่ไม่มีไซโลสโดยนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ส่วนไซโลสแยกฆ่าเชื้อที่ 110 องศาเซลเซียสนาน 20 นาที

9.3 เติมหัวเชื้อที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

9.4 นำไปเพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ความเร็วรอบที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 5 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างเป็นระยะทุกๆ 2 ชั่วโมง และนำมาวัดปริมาณน้ำตาลกลูโคสด้วยวิธี Somogyi Nelson's method (1952) ซึ่งแสดงข้อความในภาคผนวก ค

9.5 เมื่อปริมาณกลูโคสเหลือ ต่ำกว่า 10 กรัมต่อลิตร เติมไซโลสลงไปให้มีความ-เข้มข้นเป็น 10 15 และ 20 เปอร์เซ็นต์ ลดความเร็วรอบเป็น 180 รอบต่อนาที ทำการเก็บตัวอย่างทุกๆ 2 ชั่วโมง และนำไปหาปริมาณไซลิทอลโดยใช้วิธีของ Adler และ Gustafsson (1980) และหาน้ำหนักเซลล์แห้งดังแสดงในภาคผนวก ค

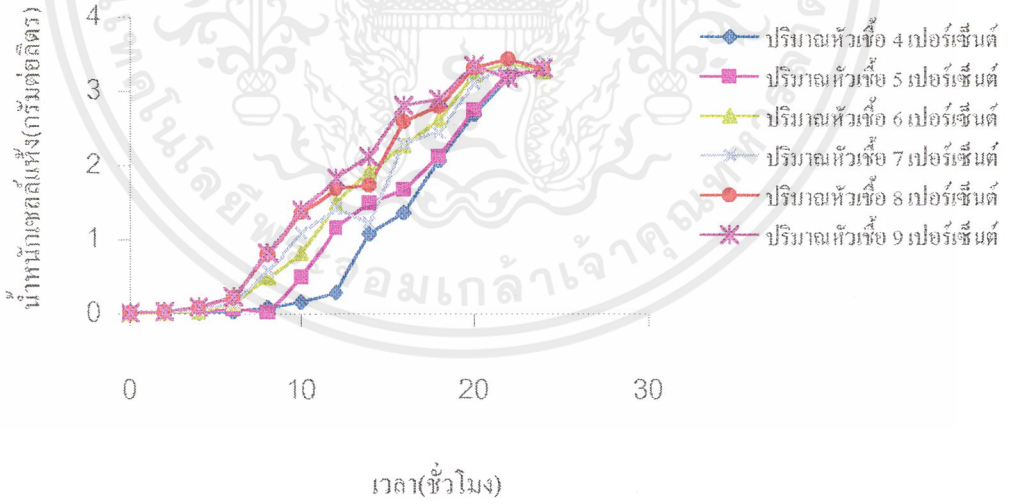
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลอง

1. ผลการศึกษาปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นที่เหมาะสม

จากการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ในอาหารสูตร YM เพื่อการเจริญเติบโตโดยแปรผันปริมาณหัวเชื้อที่ 4 5 6 7 8 และ 9 เปอร์เซ็นต์ จากการเปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ของปริมาณหัวเชื้อที่เปอร์เซ็นต์ต่างๆ ดังตารางที่ ก.2 (ภาคผนวก ก) พบว่ามีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดใกล้เคียงกันและไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ดังตารางที่ ก.3 จึงเลือกใช้ปริมาณหัวเชื้อที่ 8 เปอร์เซ็นต์ในการทดลองขั้นต่อไปเนื่องจากมีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงที่สุดซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.476 ต่อชั่วโมง

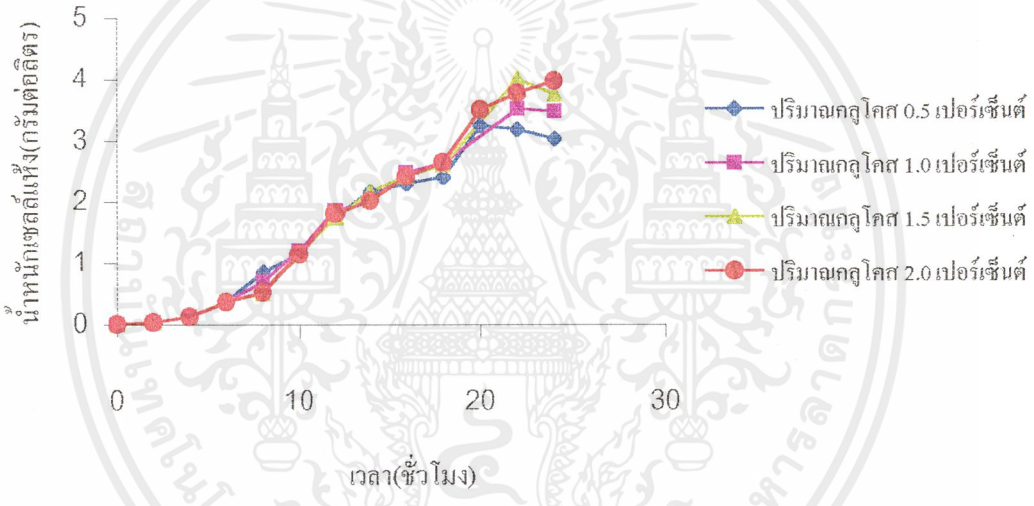


ภาพที่ 6 เปรียบเทียบการเติบโตของเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ที่เลี้ยงในอาหารสูตร YM เพื่อการเจริญเติบโตโดยแปรผันปริมาณหัวเชื้อที่ 4 5 6 7 8 และ 9 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งนำมาเพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าโดยใช้ความเร็วรอบ 270 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ผลการศึกษาปริมาณกลูโคสที่เหมาะสม

จากการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ในอาหารสูตร YM เพื่อการเจริญเติบโตที่ใช้ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้น 8 เปอร์เซ็นต์ โดยแปรผันความเข้มข้นกลูโคสที่ 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจากการเปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดที่ความเข้มข้นต่างๆ ของกลูโคส ดังตารางที่ ก.5 (ภาคผนวก ก) พบว่ามีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดใกล้เคียงกันและไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ดังตารางที่ ก.6 ดังนั้นจึงเลือกใช้ความเข้มข้นกลูโคสที่ 1.5 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากมีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงที่สุดซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.5821 ต่อชั่วโมง

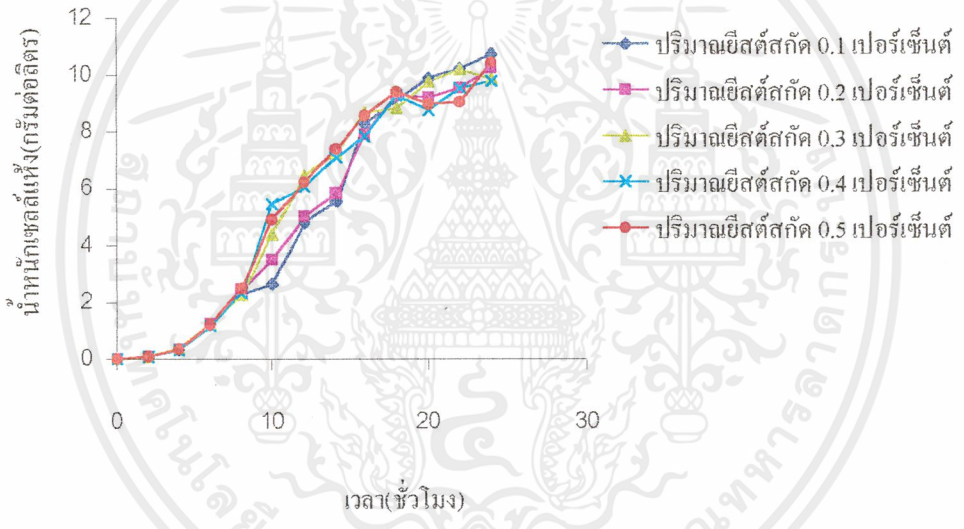


ภาพที่ 7 เปรียบเทียบการเติบโตของเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ที่เลี้ยงในอาหารสูตร YM เพื่อ การเจริญเติบโตโดยแปรผันความเข้มข้นกลูโคสที่ 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งนำมาเพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าโดยใช้ความเร็วรอบ 270 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ผลการศึกษาปริมาณยีสต์สกัดที่เหมาะสม

จากการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ในอาหารสูตร YM เพื่อการเจริญเติบโตที่ใช้ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้น 8 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณกลูโคส 15 เปอร์เซ็นต์ โดยแปรผันความเข้มข้นยีสต์สกัดที่ 0.1 0.2 0.3 0.4 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจากการเปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดที่ความเข้มข้นต่างๆ ของยีสต์สกัด ดังตารางที่ ก.8 (ภาคผนวก ก) พบว่ามีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดใกล้เคียงกันและไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ดังตารางที่ ก.9 ดังนั้นจึงเลือกใช้ความเข้มข้นยีสต์สกัดที่ 0.3 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากมีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงที่สุดซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.6623 ต่อชั่วโมง

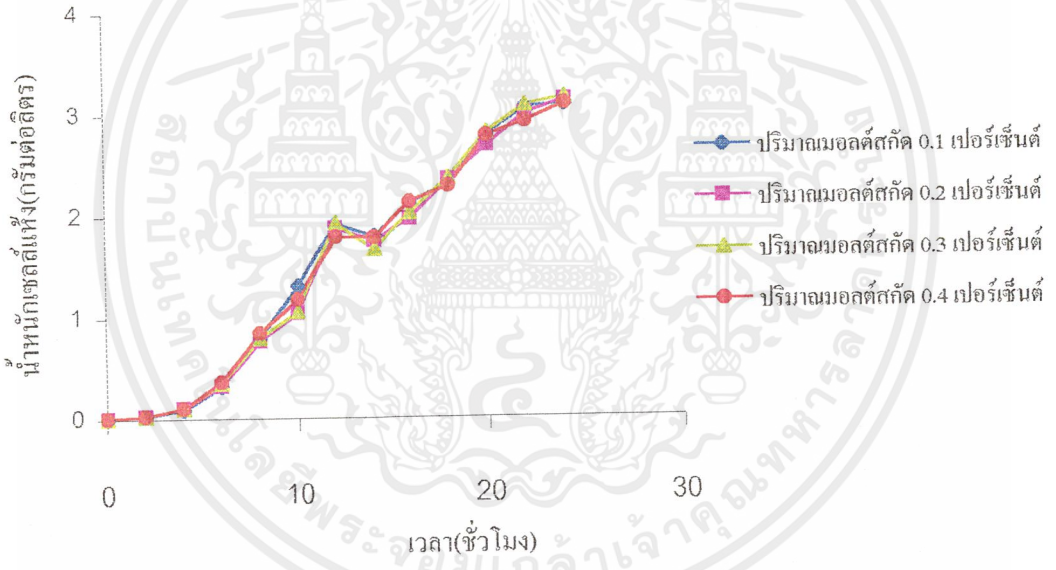


ภาพที่ 8 เปรียบเทียบการเติบโตของเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ที่เลี้ยงในอาหารสูตร YM เพื่อการเจริญเติบโตโดยแปรผันความเข้มข้นยีสต์สกัดที่ 0.1 0.2 0.3 0.4 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งนำมาเพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าโดยใช้ความเร็วรอบ 270 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ผลการศึกษาปริมาณมอลต์สกัดที่เหมาะสม

จากการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ในอาหารสูตร YM เพื่อการเจริญเติบโตที่ใช้ ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้น 8 เปอร์เซ็นต์ กลูโคส 1.5 เปอร์เซ็นต์และยีสต์สกัด 3 เปอร์เซ็นต์ โดยแปรผันความเข้มข้นมอลต์สกัดที่ 0.1 0.2 0.3 และ 0.4 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจากการเปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดที่ความเข้มข้นต่างๆ ของมอลต์สกัดดังตารางที่ ก.11 (ภาคผนวก ก) พบว่ามีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดใกล้เคียงกันและไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ดังตารางที่ ก.12 ดังนั้นจึงเลือกใช้ความเข้มข้นมอลต์สกัดที่ 0.3 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากมีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงที่สุดซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.5667 ต่อชั่วโมง

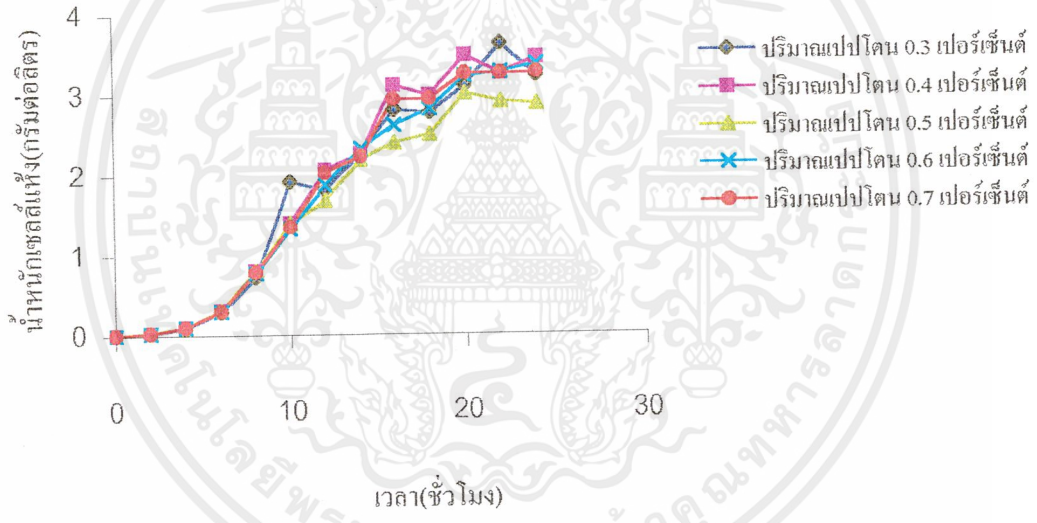


ภาพที่ 9 เปรียบเทียบการเติบโตของเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ที่เลี้ยงในอาหารสูตร YM เพื่อการเจริญเติบโตโดยแปรผันความเข้มข้นมอลต์สกัดที่ 0.1 0.2 0.3 และ 0.4 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งนำมาเพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าโดยใช้ความเร็วรอบ 270 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. ผลการศึกษาปริมาณเปปโตนที่เหมาะสม

จากการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ในอาหารสูตร YM เพื่อการเจริญเติบโตที่ใช้ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้น 8 เปอร์เซ็นต์ กลูโคส 1.5 เปอร์เซ็นต์ ยีสต์สกัด 3 เปอร์เซ็นต์ และมอลต์สกัด 3 เปอร์เซ็นต์ โดยแปรผันความเข้มข้นเปปโตนที่ 0.3 0.4 0.5 0.6 และ 0.7 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจากการเปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดที่ความเข้มข้นต่างๆ ของเปปโตน ดังตาราง ที่ ก.14 (ภาคผนวก ก) พบว่ามีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดใกล้เคียงกันและไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ดังตารางที่ ก.15 ดังนั้นจึงเลือกใช้ความเข้มข้นเปปโตนที่ 0.4 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากมีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงที่สุดซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.6158 ต่อชั่วโมง

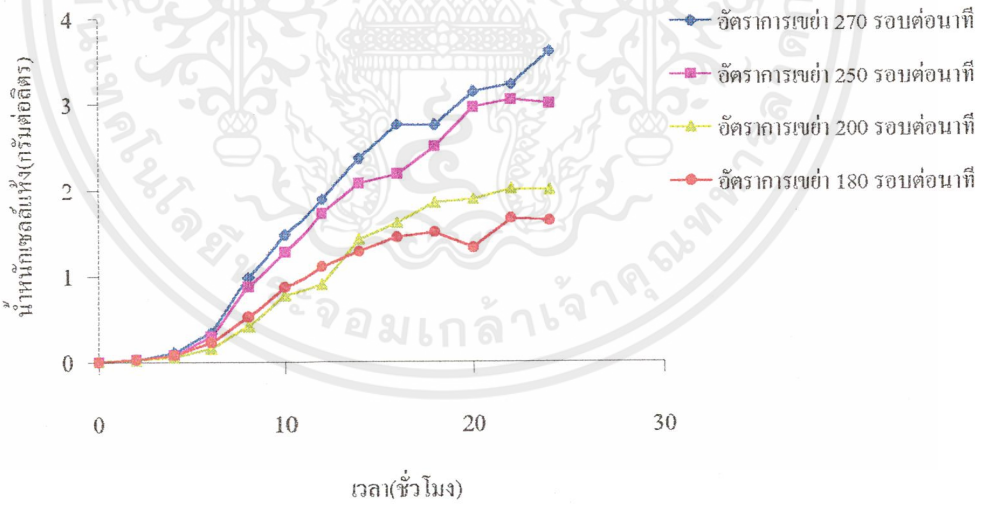


ภาพที่ 10 เปรียบเทียบการเติบโตของเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ที่เลี้ยงในอาหารสูตร YM เพื่อการเจริญเติบโตโดยแปรผันความเข้มข้นเปปโตนที่ 0.3 0.4 0.5 0.6 และ 0.7 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งนำมาเพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าโดยใช้ความเร็วรอบ 270 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. ผลการศึกษาความเร็วรอบที่เหมาะสม

จากการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ในอาหารสูตร YM เพื่อการเจริญเติบโตที่ใช้ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้น 8 เปอร์เซ็นต์ กลูโคส 1.5 เปอร์เซ็นต์ ยีสต์สกัด 3 เปอร์เซ็นต์ มอลต์สกัด 3 เปอร์เซ็นต์และเปปโตน 4 เปอร์เซ็นต์ บนเครื่องเขย่าโดยแปรผันความเร็วรอบที่ใช้เป็น 180 200 250 และ 270 รอบต่อนาที ซึ่งจากการเปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดที่ความเร็วรอบต่างๆ ดังตารางที่ ก.17 (ภาคผนวก ก) พบว่ามีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดของเชื้อแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ดังตารางที่ ก.18 จึงทำการวิเคราะห์ความแตกต่างโดยใช้วิธี LSD ดังตารางที่ ก.19 พบว่าที่ความเร็วรอบ 270 และ 250 รอบต่อนาที จะให้ค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดไม่แตกต่างกัน แต่ทั้งความเร็วรอบ 270 และ 250 รอบต่อนาที จะให้ค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดแตกต่างกับที่ความเร็วรอบ 180 และ 200 รอบต่อนาที ส่วนที่ความเร็วรอบ 180 กับ 200 รอบต่อนาที จะให้ค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดไม่แตกต่างกัน ซึ่งจากผลการทดลองเมื่อใช้ความเร็วรอบ 270 รอบต่อนาที จะมีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของเชื้อสูงที่สุดโดยมีค่าเท่ากับ 0.6226 ต่อชั่วโมง

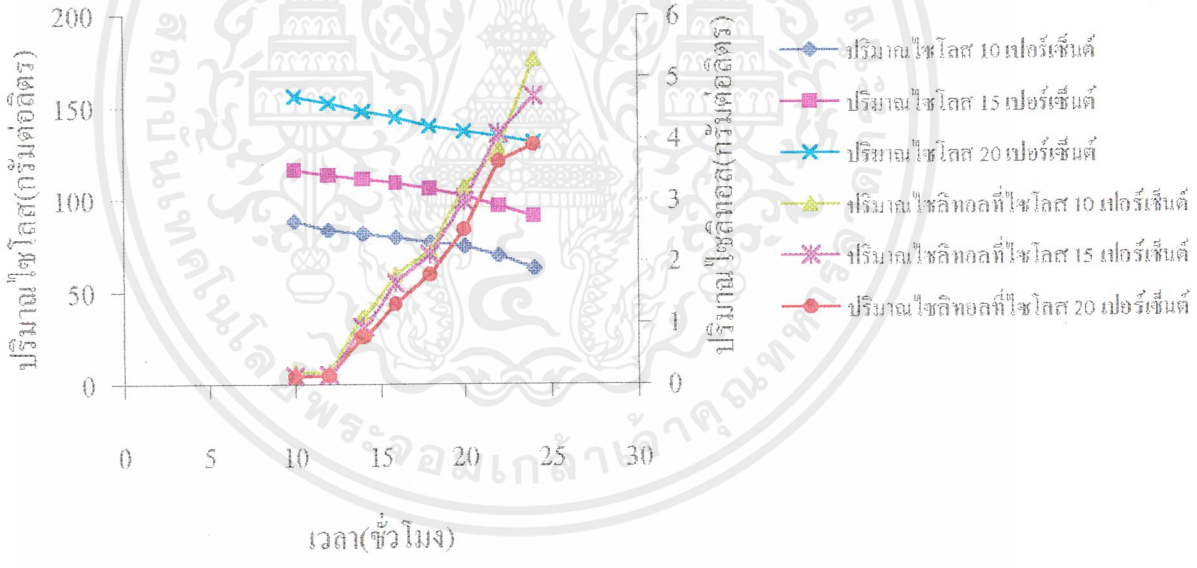


ภาพที่ 11 เปรียบเทียบการเติบโตของเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ที่เลี้ยงในอาหารสูตร YM เพื่อการเจริญเติบโตบนเครื่องเขย่าโดยแปรผันความเร็วรอบที่ใช้เป็น 180 200 250 และ 270 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. ผลการศึกษาปริมาณไซโลสที่เหมาะสมในการผลิตไซลิทอลในระดับฟลาสก์

จากการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ในอาหารสูตร YM เพื่อการผลิตที่ใช้ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้น 8 เปอร์เซ็นต์ กลูโคส 1.5 เปอร์เซ็นต์ ยีสต์สกัด 3 เปอร์เซ็นต์ มอลต์-สกัด 3 เปอร์เซ็นต์ เปปโตน 4 เปอร์เซ็นต์ และใช้ความเร็วรอบ 270 รอบต่อนาที โดยแปรผันปริมาณความเข้มข้นของไซโลสที่ 10 15 และ 20 เปอร์เซ็นต์ โดยทำการเติมไซโลสในชั่วโมงที่ 10 ของการเลี้ยงเชื้อซึ่งจะมีปริมาณกลูโคสที่เหลืออยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ 7.923 กรัมต่อลิตร พบว่าอัตราการผลิตไซลิทอลจะค่อยๆ เพิ่มสูงขึ้นและจะมีอัตราการผลิตสูงที่สุดเมื่อใช้ไซโลสที่มีความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ ไซโลสที่มีความเข้มข้น 15 และ 20 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังนั้นปริมาณไซโลสที่เหมาะสมที่ใช้ในการผลิตไซลิทอลของ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 คือ ไซโลสที่มีความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Juan Carlos Parajo และคณะ (1998) ที่ใช้ไซโลสที่มีความเข้มข้นไม่สูง



ภาพที่ 12 เปรียบเทียบปริมาณการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ที่เลี้ยงในอาหารเพื่อการผลิตโดยแปรผันความเข้มข้นน้ำตาลไซโลสที่ 10 15 และ 20 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งนำมาเพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าโดยใช้ความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 การคำนวณในการผลิตไซลิทอล

ปริมาณไซโลส (กรัมต่อลิตร)	อัตราการเจริญจำเพาะของเชื้อ	ความเข้มข้นของไซลิทอล (กรัมต่อลิตร)	อัตราการผลิตไซลิทอล (กรัมต่อลิตรชั่วโมง)	อัตราการใช้ไซโลส (กรัมต่อลิตรชั่วโมง)	ผลผลิต (กรัมไซลิทอลต่อกรัมไซโลส)
100	0.544	5.29	0.35	1.69	0.20
150	0.555	4.69	0.31	1.66	0.18
200	0.527	3.90	0.26	1.64	0.15

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาสภาวะต่างๆ ที่เหมาะสมต่อการผลิตน้ำตาลไซลิทอลในระดับฟลาสก์เขย่า โดยใช้เชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 พบว่าสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อจะใช้ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นที่ 8 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณกลูโคส 15 กรัมต่อลิตร ปริมาณยีสต์สกัด 3 กรัมต่อลิตร ปริมาณมอลต์สกัด 3 กรัมต่อลิตร และปริมาณเปปโตน 4 กรัมต่อลิตร ที่พีเอช 5.5 โดยเลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่มีความเร็วรอบ 270 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในช่วงการผลิตจะลดความเร็วรอบเหลือ 180 รอบต่อนาที และจะได้น้ำตาลไซลิทอลสูงสุดเมื่อใช้ปริมาณน้ำตาลไซ-โลส 100 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีอัตราการผลิตเท่ากับ 0.35 กรัมต่อลิตรชั่วโมง ที่ 24 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

นรินทร์ เรืองพานิช. 2541 ผลของกลูโคสต่อการผลิตไซลิทอลจากไซโลสภายใต้สภาวะจำกัดออกซิเจน เทคนิควิจัย ปัญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต คณะอุตสาหกรรมเกษตร ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์ น. 70

วรสิทธิ์ โทจำปา. 2541 การผลิตไซลิทอลโดยการหมุนเวียนเซลล์ด้วย Hollow fiber วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์คณะอุตสาหกรรมเกษตร ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ น. 86

ศิริชัย พงษ์วิชัย. 2543 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยคอมพิวเตอร์ พิมพ์ครั้งที่ 10 สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์ น. 196-222.

Arron, M. A.. 1993. Low Caloric Foods Handbooks. Georgetown University School of Medicine Washinston DC., USA.

Alexandra Nobre, Candida Lucas, and Cecilia Leao 1999. Transport and Utilization of Hexoses and Pentoses in the Halotolerant Yeast *Debaryomyces hansenii*., Applied and Environmental Microbiology.65: 3594-3598.

Berry,F,Sayadi, S, nasri, M, Barbotin, J.N., Thomas, D.1988. Effect of growing condition of recombinant E.coli in carragenan gel beads.Upon biomass production and plassmid stability.Bitecnol. Lett.10:619-624.

Cruz. Dominguez J.M. & Parajo J.C,2000. Xylital production form barley bran hydrolysates by continuous fermentation with Debaryomyces hansenii. Biotechnology letter 22 : 1895-1898.

Doming gnez, J.M. 1998. xylitol production by free snd. immobilized. *Debaryomyces hamsenii*. Bioteehnol. Lett. 20:53-56

Emodi, A. 1978. Xylose: its properties and food application. Food. Technol.,Jan: 28-32.

Francisco M. Girio, J. Carlos Roseiro, Pascolina Sa-Machado, A. Rita Duarte.Reis and M.T. Ameral-collaco, 1994. Effect of oxygen transfer rate on levels of key enzymes of xylose metabolism in *Debaryomyces hansenii*., Enzyme Microbial. Technology. 16:1074-1078.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

INETI,IBQTA -U. Microbiologia Industrial, Azinhaga dos Lameiros, 1996 characterization of xylitol Dehydrogenase from Debaryomyces hansenii.,Applied Biochemistry and Biotechnology., 56 : 76-87.

Joao M. Tavares, Luis C. Duarte, M.T. Ameral-Collaco, Francisco M. Girio, 1999. The influence of hexoses addition on the fermentation of D-xylose in *Debaryomyces hansenii.* under continous cultivation , Enzyme and Microbial., 26 :743-747.

Juan Carlos Parajo, Herminia Dominguez & Jose Manuel Dominguez,1997. Biotechnological production of xylital. Part 2: Operation in culture media made with commercial sugars, Bioresource Technology.,65: 203-212.

J.C. Parajo, H. Domingnez, and J.M. Domingnez,1997. Improned zylitol production with *Debaryomyces hansenii* Y-7426 from raw or detoxified wood hydroly sates, Enzyme and Microbial Technology 21:18-24.

Hefer ,M,A. Betz. and A. Ktyk. 1971 Metabolism of the obligatory aerobic yeast *Rhodotorular gracilis* introduction of an enzyme necessary for D- xylose catabolism. Biochem : Biophysical. Acta. 252: 1-12

Parajo J.C, H. Dominguez, 1997. Improved xylital production with *Debaryomyces hansenii.* Y-7426 form raw or detoxified wood hydrolysates, Enzyme and Microbial Technology., 21: 18-24.

Prapailong W.,National Center for Genetic Bngineering and Biotechndogy Bangkok *Debaryomyces*. Acndemic Press 1999:515-520.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

ตารางแสดงผลการทดลอง

ตารางที่ 1 น้ำหนักเซลล์แห้งที่ปริมาณหัวเชื้อ 4.0–9.0 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาต่างๆ กัน

เวลา (ชั่วโมง)	น้ำหนักเซลล์แห้งของปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้น (กรัมน้ำหนักแห้งต่อลิตร)					
	4 เปอร์เซ็นต์	5 เปอร์เซ็นต์	6 เปอร์เซ็นต์	7 เปอร์เซ็นต์	8 เปอร์เซ็นต์	9 เปอร์เซ็นต์
0	0.0077	0.0127	0.0091	0.0132	0.0140	0.0179
2	0.0143	0.0132	0.0171	0.0201	0.0344	0.0320
4	0.0190	0.0297	0.0284	0.0576	0.0884	0.0964
6	0.0333	0.0722	0.1457	0.1424	0.2226	0.2330
8	0.0884	0.0297	0.4922	0.5823	0.8114	0.8299
10	0.1675	0.4991	0.8153	1.1040	1.3750	1.4028
12	0.2906	1.1651	1.5011	1.4301	1.6862	1.8399
14	1.0872	1.5011	1.9198	1.2331	1.7435	2.1316
16	1.3681	1.6774	2.2757	2.2991	2.5996	2.8161
18	2.0757	2.1292	2.6178	2.4671	2.8122	2.9031
20	2.7048	2.7563	3.2295	3.1194	3.3235	3.3582
22	3.1951	3.2626	3.4050	3.3830	3.4507	3.1935
24	3.3152	3.2860	3.2722	3.4011	3.3086	3.3301

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 ค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะที่ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้น 4.0-9.0 เปอร์เซ็นต์

ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้น	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ
4 เปอร์เซ็นต์	0.3404
5 เปอร์เซ็นต์	0.4547
6 เปอร์เซ็นต์	0.4626
7 เปอร์เซ็นต์	0.4733
8 เปอร์เซ็นต์	0.4760
9 เปอร์เซ็นต์	0.4637

ตารางที่ 3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่เหมาะสม

ANOVA

OD

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	142.543	5	28.509	1.279	.274
Within Groups	5081.440	228	22.287		
Total	5223.982	233			

จากตาราง ANOVA ค่า Sig. ที่คำนวณได้มากกว่าค่าของ α ที่กำหนดไว้ ดังนั้นจึงยอมรับสมมติฐานหลัก (H_0) แสดงว่าค่าเฉลี่ยในแต่ละกลุ่มไม่แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 น้ำหนักเซลล์แห้งที่ปริมาณน้ำตาลกลูโคส 0.5-2.0 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาต่างๆ กัน

เวลา	น้ำหนักเซลล์แห้งที่ปริมาณน้ำตาลกลูโคส (กรัมน้ำหนักแห้งต่อลิตร)			
(ชั่วโมง)	0.5 เปอร์เซ็นต์	1 เปอร์เซ็นต์	1.5 เปอร์เซ็นต์	2 เปอร์เซ็นต์
0	0.0136	0.0125	0.0117	0.0131
2	0.0449	0.0437	0.0443	0.0448
4	0.1366	0.1316	0.1338	0.1370
6	0.3711	0.3781	0.3911	0.3785
8	0.8671	0.7092	0.5123	0.5369
10	1.1365	1.2092	1.1563	1.1585
12	1.7979	1.8712	1.7527	1.8289
14	2.1793	2.0405	2.1793	2.0405
16	2.3203	2.4977	2.4283	2.4360
18	2.4255	2.6492	2.6199	2.6640
20	3.2700	4.9381	5.5881	3.5284
22	3.2006	3.5339	4.0324	3.8038
24	3.0436	3.4935	3.7827	3.9985

ตารางที่ 5 ค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะที่ปริมาณกลูโคส 0.5-2.0 เปอร์เซ็นต์

ปริมาณน้ำตาลกลูโคส	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ
0.5 เปอร์เซ็นต์	0.5517
1.0 เปอร์เซ็นต์	0.5667
1.5 เปอร์เซ็นต์	0.5821
2.0 เปอร์เซ็นต์	0.5601

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เหมาะสม

ANOVA

OD

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Group	23.913	3	7.971	.271	.846
Within Groups	4475.804	152	29.446		
Total	4499.717	155			

จากตาราง ANOVA ค่า Sig. ที่คำนวณได้มากกว่าค่าของ α ที่กำหนดไว้ ดังนั้นจึงยอมรับสมมติฐานหลัก (H_0) แสดงว่าค่าเฉลี่ยในแต่ละกลุ่มไม่แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 7 น้ำหนักเซลล์แห้งที่ปริมาณยีสต์สกัด 0.1-0.5 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาต่างๆ กัน

เวลา (ชั่วโมง)	น้ำหนักเซลล์แห้งทีปริมาณยีสต์สกัด (กรัมน้ำหนักแห้งต่อลิตร)				
	0.1 เปอร์เซ็นต์	0.2 เปอร์เซ็นต์	0.3 เปอร์เซ็นต์	0.4 เปอร์เซ็นต์	0.5 เปอร์เซ็นต์
0	0.0342	0.0308	0.0229	0.0353	0.0300
2	0.1162	0.1105	0.1179	0.1160	0.1160
4	0.3548	0.3694	0.3873	0.3561	0.3732
6	1.2466	1.2654	1.2723	1.2081	1.2411
8	2.3054	2.4988	2.3016	2.3484	2.5236
10	2.6729	3.5284	4.4109	5.4840	4.9304
12	4.8312	5.0516	6.4745	6.1005	6.2547
14	5.5832	5.8559	7.2804	7.1378	7.4270
16	8.3205	7.9547	8.7111	7.9029	8.6119
18	5.4438	9.3457	8.8796	9.3159	9.4498
20	9.9555	9.2416	9.8217	8.8152	9.0185
22	10.2849	9.5908	10.2409	9.5963	9.1061
24	10.7918	10.3015	9.9048	9.8332	10.5108

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 8 ค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะที่ปริมาณยีสต์สกัด 0.1-0.5 เปอร์เซ็นต์

ปริมาณยีสต์สกัด	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ
0.1 เปอร์เซ็นต์	0.5954
0.2 เปอร์เซ็นต์	0.6175
0.3 เปอร์เซ็นต์	0.6623
0.4 เปอร์เซ็นต์	0.5862
0.5 เปอร์เซ็นต์	0.6167

ตารางที่ 9 การวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณยีสต์สกัดที่เหมาะสม

ANOVA

OD

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	15.308	4	3.827	.172	.952
Within Groups	4218.908	190	22.205		
Total	4234.216	194			

จากตาราง ANOVA ค่า Sig. ที่คำนวณได้มากกว่าค่าของ α ที่กำหนดไว้ ดังนั้นจึงยอมรับสมมติฐานหลัก (H_0) แสดงว่าค่าเฉลี่ยในแต่ละกลุ่มไม่แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 10 น้ำหนักเซลล์แห้งที่ปริมาณมอลต์สกัด 0.1-0.4 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาต่างๆ กัน

เวลา (ชั่วโมง)	น้ำหนักเซลล์แห้งที่ปริมาณมอลต์สกัด (กรัมน้ำหนักแห้งต่อลิตร)			
	0.1 เปอร์เซ็นต์	0.2 เปอร์เซ็นต์	0.3 เปอร์เซ็นต์	0.4 เปอร์เซ็นต์
0	0.0139	0.0101	0.0121	0.0144
2	0.0289	0.0295	0.0318	0.0312
4	0.0947	0.1049	0.1082	0.1087
6	0.3199	0.3276	0.3505	0.3678
8	0.7944	0.7701	0.7980	0.8454
10	1.3105	1.0472	1.0626	1.1811
12	1.9198	1.8822	1.9308	1.7894
14	1.7983	1.7520	1.6697	1.7867
16	2.1286	1.9679	2.0283	2.1299
18	2.3060	2.3561	2.3690	2.2918
20	2.7941	2.6854	2.8117	2.7808
22	3.0629	2.9997	3.0761	2.9233
24	3.0879	3.1275	3.1540	3.0923

ตารางที่ 11 ค่าอัตราการเจริญจำเพาะที่ปริมาณมอลต์สกัด 0.1-0.4 เปอร์เซ็นต์

ปริมาณมอลต์สกัด	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ
0.1 เปอร์เซ็นต์	0.5578
0.2 เปอร์เซ็นต์	0.5540
0.3 เปอร์เซ็นต์	0.5667
0.4 เปอร์เซ็นต์	0.5560

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 12 การวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณมอลต์สกัดที่เหมาะสม

ANOVA

OD

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.552	3	.184	.011	.998
Within Groups	2541.981	152	16.724		
Total	2542.533	155			

จากตาราง ANOVA ค่า Sig. ที่คำนวณได้มากกว่าค่าของ α ที่กำหนดไว้ ดังนั้นจึงยอมรับสมมติฐานหลัก (H_0) แสดงว่าค่าเฉลี่ยในแต่ละกลุ่มไม่แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 13 น้ำหนักเซลล์แห้งที่ปริมาณเปปโตน 0.3-0.7 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาต่างๆ กัน

เวลา (ชั่วโมง)	น้ำหนักเซลล์แห้งที่เปอร์เซ็นต์เปปโตน (กรัมน้ำหนักแห้งต่อลิตร)				
	0.3 เปอร์เซ็นต์	0.4 เปอร์เซ็นต์	0.5 เปอร์เซ็นต์	0.6 เปอร์เซ็นต์	0.7 เปอร์เซ็นต์
0	0.0108	0.0076	0.0086	0.0110	0.0030
2	0.0334	0.0342	0.0368	0.0353	0.0097
4	0.0995	0.1075	0.1016	0.1022	0.0281
6	0.2971	0.3157	0.3135	0.3057	0.0842
8	0.7242	0.8054	0.8120	0.7808	0.2151
10	1.9237	1.4014	1.4014	1.3397	0.3690
12	1.8152	2.0647	1.6890	1.8785	0.5174
14	2.2779	2.2627	2.1884	2.3302	0.6418
16	2.8104	3.1221	2.3991	2.6208	0.7219
18	2.7794	2.9953	2.5061	2.8279	0.7789
20	3.1088	3.4852	3.0188	3.2337	0.8907
22	3.6303	3.2631	2.9142	3.2814	0.9038
24	3.2282	3.4577	2.8793	3.3751	0.9296

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 14 ค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะที่ปริมาณเปปโตน 0.3-0.7 เปอร์เซ็นต์

ปริมาณเปปโตน	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ
0.3 เปอร์เซ็นต์	0.5513
0.4 เปอร์เซ็นต์	0.6158
0.5 เปอร์เซ็นต์	0.5896
0.6 เปอร์เซ็นต์	0.5517
0.7 เปอร์เซ็นต์	0.5544

ตารางที่ 15 การวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณเปปโตนที่เหมาะสม

ANOVA

OD

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	16.506	4	4.127	.187	.945
Within Groups	4193.391	190	22.070		
Total	4209.897	194			

จากตาราง ANOVA ค่า Sig. ที่คำนวณได้มากกว่าค่าของ α ที่กำหนดไว้ ดังนั้นจึงยอมรับสมมติฐานหลัก (H_0) แสดงว่าค่าเฉลี่ยในแต่ละกลุ่มไม่แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 16 น้ำหนักเซลล์ที่ได้จากการใช้ความเร็วรอบ 180-270 รอบต่อนาที ที่ระยะเวลาต่างๆ กัน

เวลา (ชั่วโมง)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมน้ำหนักแห้งต่อลิตร)			
	180 รอบ/นาที	200 รอบ/นาที	250 รอบ/นาที	270 รอบ/นาที
0	0.0082	0.0134	0.0059	0.0088
2	0.0351	0.0272	0.0325	0.0288
4	0.0808	0.0625	0.0818	0.1103
6	0.2336	0.1585	0.2986	0.3478
8	0.5299	0.4179	0.8820	0.9883
10	0.8698	0.7786	1.2845	1.4859
12	1.1076	0.9062	1.7334	1.9005
14	1.2891	1.4301	2.0779	2.3699
16	1.4551	1.6214	2.1903	2.7709
18	1.5131	1.8587	2.5125	2.7632
20	1.3339	1.8985	2.9681	3.1510
22	1.6756	2.0219	3.0574	3.2392
24	1.6490	2.0078	3.0152	3.6230

ตารางที่ 17 ค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะที่ความเร็วรอบ 180-270 รอบต่อนาที

ความเร็วรอบ (รอบต่อนาที)	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ
180	0.4604
200	0.4564
250	0.5544
270	0.6226

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 18 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความเร็วรอบที่ใช้ในการเขย่าที่เหมาะสม

ANOVA

OD

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Group	258.595	3	86.198	6.396	.000
Within Groups	2048.563	152	13.477		
Total	2307.158	155			

จากตาราง ANOVA ค่า Sig. ที่คำนวณได้น้อยกว่าค่าของ α ที่กำหนดไว้ ดังนั้นจึงปฏิเสธสมมติฐานหลัก (H_0) และยอมรับสมมติฐานรอง (H_a) แสดงว่ามีอย่างน้อย 2 กลุ่มที่มีค่าเฉลี่ยแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 19 แสดงผลต่างค่าเฉลี่ยนของอัตราการเขย่าด้วยวิธี LSD

Multiple Comparisons

Dependent Variable: OD

LSD

(I) TRT	(J) TRT	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	.73941	.83135	.375	-.90309	2.38191
	3	2.67682*	.83135	.002	1.03432	4.31932
	4	3.07395*	.83135	.000	1.43145	4.71645
2	1	-.73941	.83135	.375	-2.38191	.90309
	3	1.93741*	.83135	.021	.29491	3.57991
	4	2.33454*	.83135	.006	.69204	3.97704
3	1	-2.67682*	.83135	.002	-4.31932	-1.03432
	2	-1.93741*	.83135	.021	-3.57991	-.29491
	4	.39713	.83135	.634	-1.24537	2.03963
4	1	-3.07395*	.83135	.000	-4.71645	-1.43145
	2	-2.33454*	.83135	.006	-3.97704	-.69204
	3	-.39713	.83135	.634	-2.03963	1.24537

*. The mean difference is significant at the .05 level.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 20 น้ำหนักเซลล์แห้งที่เลี้ยงในอาหารเพื่อการผลิตน้ำตาลไซลิทอลซึ่งมีปริมาณน้ำตาลไซโลส 10-20 เปอร์เซ็นต์ ในระดับฟลาสก์เขย่าที่ระยะเวลาต่างๆ กัน

เวลา (ชั่วโมง)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมน้ำหนักแห้งต่อลิตร)		
	ไซโลส 10 เปอร์เซ็นต์	ไซโลส 15 เปอร์เซ็นต์	ไซโลส 20 เปอร์เซ็นต์
0	0.0042	0.0046	0.0029
2	0.0184	0.0189	0.0186
4	0.0481	0.0485	0.0449
6	0.1621	0.1582	0.1208
8	0.4245	0.4457	0.3696
10	0.6407	0.6192	0.5779
12	0.8116	0.9145	1.0085
14	1.0347	0.9494	0.9053
16	1.2758	1.1635	1.0665
18	1.5546	1.4136	1.3188
20	1.4764	1.3397	1.2902
22	1.9688	1.7198	1.5931
24	1.9986	1.8421	1.6515

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางงที่ 21 ปริมาณน้ำตาลไซลิทอลที่ผลิตจาก *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ที่เลี้ยงในอาหารเพื่อการผลิตที่มีปริมาณน้ำตาลไซโลส 10-20 เปอร์เซ็นต์ ในระดับฟลาสก์เขย่าที่ระยะเวลาต่างๆ กัน

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณน้ำตาลไซลิทอล (กรัมต่อลิตร)		
	ไซโลส 10 เปอร์เซ็นต์	ไซโลส 15 เปอร์เซ็นต์	ไซโลส 20 เปอร์เซ็นต์
10	0.0170	0.0112	0.0099
12	0.2042	0.1485	0.1386
14	1.0604	0.8993	0.7524
16	1.7255	1.5993	1.2667
18	2.0945	2.0453	1.7294
20	3.1120	2.8897	2.4390
22	3.7096	3.9429	3.5120
24	5.1120	4.5310	3.7691

ตารางที่ 22 ปริมาณน้ำตาลไซโลสที่ลดลงในอาหารเพื่อการผลิตที่มีปริมาณน้ำตาลไซโลส 10-20 เปอร์เซ็นต์ ในระดับฟลาสก์เขย่าที่ระยะเวลาต่างๆ กัน

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณน้ำตาลไซโลสที่ลดลง (กรัมต่อลิตร)		
	ไซโลส10 เปอร์เซ็นต์	ไซโลส15 เปอร์เซ็นต์	ไซโลส20 เปอร์เซ็นต์
10	88.411	116.147	156.181
12	83.882	113.496	152.525
14	81.586	111.302	148.229
16	79.433	109.170	144.969
18	77.240	106.367	140.271
20	75.107	102.487	137.341
22	69.725	96.962	134.619
24	63.042	91.282	131.565

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข
อาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารเก็บรักษาเชื้อ

อาหารที่ใช้ในการเก็บรักษาเชื้อ คือ YM Agar มีสูตรดังนี้

กลูโคส	10	กรัม
เปปโตน	5	กรัม
มอลต์สกัด (malt extract)	3	กรัม
ยีสต์สกัด (yeast extract)	3	กรัม
วุ้น	15	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

เตรียมอาหารทำการปรับพีเอชให้เหมาะสม นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความร้อนที่ 121 องศา-เซลเซียส นาน 15 นาที

อาหารเพื่อการเจริญเติบโต

ยีสต์สกัด (yeast extract)	4	กรัม
มอลต์สกัด (malt extract)	3	กรัม
เปปโตน (peptone)	4	กรัม
กลูโคส	15	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

พีเอช 5.5

เตรียมอาหารเหลวทำการปรับพีเอชให้เหมาะสม นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความร้อนที่ 121 องศา -เซลเซียส นาน 15 นาที

อาหารเพื่อการผลิตน้ำตาลไซลิทอล

ยีสต์สกัด (yeast extract)	4	กรัม
มอลต์สกัด (malt extract)	3	กรัม
เปปโตน (peptone)	4	กรัม
กลูโคส	15	กรัม
ไซโลส	10	กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร

พีเอช 5.5

เตรียมอาหารเหลวทำการปรับพีเอชให้เหมาะสม นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความร้อนที่ 121 องศา -เซลเซียส นาน 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค
สารเคมีและวิธีการวิเคราะห์

1. การวิเคราะห์ ปริมาณน้ำตาลกลูโคส ด้วยวิธี Somogyi Nelson's method (ดัดแปลงจาก Somogyi, 1952)

1.1 สารเคมี

1.1.1 สารละลายคอปเปอร์รีเอเจนต์ (Copper reagent) ประกอบด้วย

A : 10 เปอร์เซ็นต์ $CuSO_4.5H_2O$ 100 มิลลิลิตร เตรียมโดยชั่งคอปเปอร์ซัลเฟตไฟไฮเดรต ($CuSO_4.5H_2O$) 10 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 100 มิลลิลิตร

B : สารละลายฟอสเฟตทาเทรต (Phosohate-tartrate solution) เตรียมโดยละลายโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Na_2HPO_4) 28 กรัม (หรือโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตทเวลไฮเดรต ($Na_2HPO_4.12H_2O$) 70.5495 กรัม) ในน้ำกลั่น 700 มิลลิลิตร เติมโซเดียมโพแทสเซียมทาร์เทรต (เตตระไฮเดรต) (Sodium potassium tartrate (Tetrahydrate)) 40 กรัม ทำให้ละลาย แล้วเติม 1 N โซเดียมไฮดรอก-ไซด์ (NaOH) 100 มิลลิลิตร ตามด้วย โซเดียมซัลเฟตแอนไฮดรัส Na_2SO_4 (Anhydrous) 120 กรัม เมื่อละลายดีแล้วปรับปริมาตรเป็น 900 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 2 วัน ถ้ามีตะกอนให้กรองเอาตะกอนทิ้งด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 4 ผสมสารละลาย A (100 มิลลิลิตร) และ B (900 มิลลิลิตร) เข้าด้วยกัน

1.1.2 สารละลาย Nelson's Arsenomolybdate color reagent ประกอบด้วย

A : ละลาย แอมโมเนียมโมลิบเดต [$(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$] 25กรัม ในน้ำกลั่น 45 มิลลิลิตร เติมกรดกำมะถัน 21 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

B : ไดโซเดียมอาร์ซิเนต ($Na_2HAsO_4.7H_2O$) 3 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาณเป็น 25 มิลลิลิตร ผสมสารละลาย A และ B เข้าด้วยกัน เก็บไว้ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชม. แล้วนำมาเก็บที่อุณหภูมิห้องและควรเก็บในขวดสีชา

1.2 วิธีการ

1.2.1 เติมตัวอย่างที่ต้องการหาน้ำตาลรีดิวซ์ 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง เติมคอปเปอร์รีเอเจนต์ (Copper reagent) 1 มิลลิลิตร ต้มในน้ำเดือดนาน 15 นาที ควรใช้ลูกแก้วปิดปากหลอดแก้วเพื่อลดการระเหยของน้ำ

1.2.2 ทำให้เย็นโดยแช่ในอ่างน้ำ เติมอาร์เซโนโมลิบเดต รีเอเจนต์

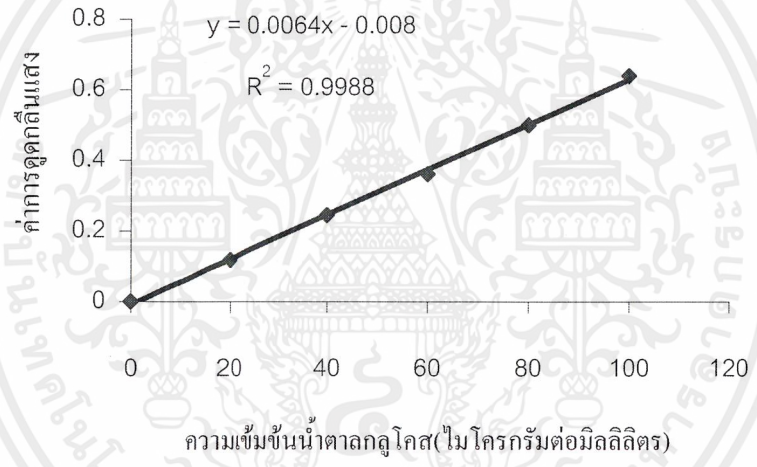
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(Arsenomlybdate reagent) 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ประมาณ 2 นาที จะเห็นเป็นสีขาว หรือสีน้ำเงินเขียวขึ้นกับปริมาณน้ำตาล

1.2.3 เติมน้ำ 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร

1.2.4 นำค่าที่วัดได้เทียบกับกราฟมาตรฐานกลูโคส

การทำกราฟมาตรฐานของน้ำตางกลูโคส ใช้สารละลายกลูโคสมาตรฐานความเข้มข้น 20 40 60 80 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรแทนตัวอย่างจากนั้นทำการวิเคราะห์ตามข้อ 2.1-2.3 นำค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตรที่ได้จากและความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานมาสร้างกราฟมาตรฐานของกลูโคส



ภาพที่ 1 กราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส

จากกราฟสามารถหาสมการมาตรฐานของกลูโคสได้ ดังนี้

$$\text{ปริมาณกลูโคส} = \frac{[(\text{ค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร}) \times (\text{ค่าความเจือจาง}) + 0.008]}{0.0064}$$

2. การวิเคราะห์ปริมาณไซลิทอล (Adler และ Gustafsson,1980)

โดยอาศัยปฏิกริยาออกซิเดชั่นของไๆซลิทอลไปเป็นฟอร์มัลดีไฮด์ด้วยเปอร์ไอโอเดตในสารละลายกรดเป็นระยะสั้นๆ แล้วหยุดปฏิกริยาด้วยบิวเทน 2,3 ไดออล (butane-2,3-diol) จากนั้นทำการวิเคราะห์ปริมาณฟอร์มัลดีไฮด์ที่เกิดขึ้นโดยทำปฏิกริยากับสารละลายเพนเทน-2,3-ไดโอน (pentane-2,4-dione) ได้สารละลายสีเหลือง

2.1 สารเคมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.1 periodate reagent ($NaLO_4$ 0.015 M ใน HCI 0.16 M) เตรียมโดยละลาย $NaIO_4$ 3.2084 กรัม ในน้ำกลั่นปริมาตร 500 มิลลิลิตร เติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นลงไป 13.3 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรสุดท้ายด้วยน้ำกั่นเป็น 1,000 มิลลิลิตร

2.1.2 บิวเทน-2,3-ไดออล (Butane-2,3-diol) 0.02 M เตรียมโดยปิเปตต์ บิวเทน-2,3-ไดออล (Butane-2,3-diol) 1.8 มิลลิลิตรปรับปริมาตรสุดท้ายด้วยน้ำกลั่นเป็น 1,000 มิลลิลิตร

2.1.3 สารละลายเพนเทน-2,4-ไดโอน (Pentane-2-4-dione solution)(เตรียมใช้ทันที) เตรียมโดยละลายแอมโมเนียมแอซีเทต 154.16 กรัม ในน้ำกลั่นปริมาตร 500 มิลลิลิตร เติมกรดแอซีติกเข้มข้นปริมาตร 40 มิลลิลิตร แล้วเติม เพนเทน-2,4-ไดโอน (pentane-2,4-dione) ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรสุดท้ายด้วยน้ำกลั่นเป็น 1,000 มิลลิลิตร

2.1.4 สารละลายไซลิทอลมาตรฐาน เตรียมโดยละลายไซลิทอล 0.1000 กรัม ในน้ำกลั่นปรับเป็น 100 มิลลิลิตร (ความเข้มข้น 1 กรัมต่อลิตร) แล้วเจือจางให้ได้สารละลายไซลิทอลความเข้มข้น 10 20 30 40 และ50 มิลลิกรัมต่อลิตร

2.2 วิธีการ

2.2.1ปิเปตสารละลายตัวอย่างหรือสารละลายไซลิทอลมาตรฐาน (ความเข้มข้นไซลิทอล 10-50 มิลลิกรัมต่อลิตร) ปริมาณ 1.0 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง

2.2.2เติม periodate reagent ลงไป 1.0 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 นาที

2.2.3 เติมสารละลาย 0.002 M บิวเทน-2,3-ไดออล ลงไป 1.0 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

2.2.4 เติมสารละลาย เพนเทน-2,4-ไดโอน ลงไป 2.0 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

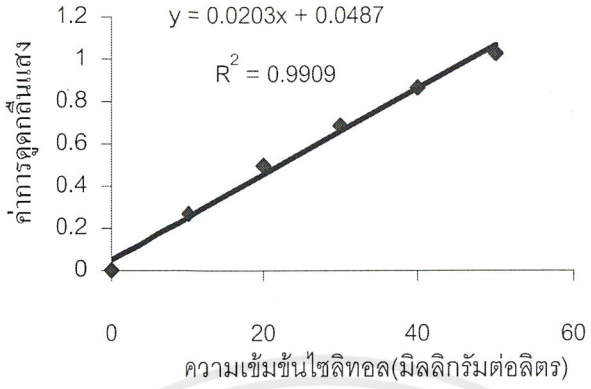
2.2.5 นำไปบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

2.2.6 ทำให้เย็นเท่าอุณหภูมิห้อง วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 410 นาโนเมตร

2.2.7 นำค่าการดูดกลืนแสงที่ 410 นาโนเมตรและความเข้มข้นของไซลิทอลไปสร้างกราฟมาตรฐานของน้ำตาลไซลิทอล

2.2.8 การหาปริมาณของไซลิทอลในสารละลายตัวอย่าง สามารถคำนวณได้จากกราฟมาตรฐานของน้ำตาลไซลิทอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2 กราฟมาตรฐานของไซลิทอล

ปริมาณไซลิทอล = $\frac{[(\text{ค่าการดูดกลืนแสงที่ 410 นาโนเมตร}) \times (\text{อัตราการเจือจาง}) - 0.0487]}{0.0203}$

3. การวิเคราะห์ปริมาณไซโลส (วรสิทธิ์, 2541)

3.1 สารเคมี

3.1.1 p-bromoaniline reagent เตรียมโดยละลาย thiourea ประมาณ 4 กรัม ในกรดแอซิติกเข้มข้นปริมาตร 100 มิลลิลิตร แล้วแยกส่วนใสออกมา กรดแอซิติกอิ่มตัวด้วย thiourea จากนั้นละลาย p- bromoaniline 2 กรัม ลงในส่วนใสนั้น

3.1.2 สารละลายไซโลสมาตรฐาน เตรียมโดยละลายไซโลส 0.100 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร (ความเข้มข้น 1.0 กรัมต่อลิตร) แล้วเจือจางให้ได้สารละลายไซโลสเข้มข้น 0.2 0.4 0.6 0.8 และ 1.0 กรัมต่อลิตร

3.2 วิธีการ

3.2.1 ปิเปตสารละลายตัวอย่าง (ความเข้มข้นประมาณ 0.2 – 1.0 กรัมต่อลิตร) หรือสารละลายไซโลสมาตรฐาน ปริมาตร 0.8 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติม p-bromoaniline reagent ลงไป 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

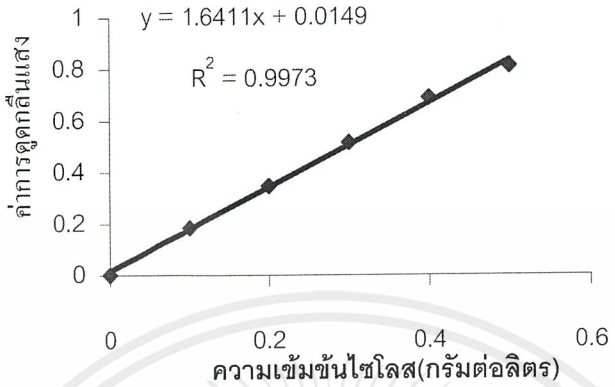
3.2.2 นำไปบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

3.2.3 ทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็ว แล้วบ่มต่อในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 70 นาที

3.2.4 วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร

3.2.5 นำค่าการดูดกลืนแสงไปเทียบกับกราฟมาตรฐาน เพื่อหาความเข้มข้นของไซโลสในสารละลายตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3 กราฟมาตรฐานของไซโลส

ความเข้มข้นของไซโลส (กรัมต่อลิตร)

$$= \frac{[(\text{ค่าการดูดกลืนแสงที่ 520นาโนเมตร}) \times (\text{อัตราการเจือจาง}) - 0.0149]}{1.6411}$$

4. วิธีการหาน้ำแห้ง (Cell Dry Weight)

4.1 เติมหัวเชื้อ *Debraryomyces hansenii* TISTR 5155 ที่มีค่าความขุ่นเซลล์เท่ากับ 0.5 โดยเติมหัวเชื้อประมาณ 4เปอร์เซ็นต์ ลงในฟลาสก์ที่บรรจุอาหารเพื่อการเจริญเติบโต 75 มิลลิลิตรในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร จำนวน 2 ฟลาสก์

4.2 เลี้ยงเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิที่มีอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จนได้ปริมาณเซลล์สูงสุด

4.3 เขียนหมายเลขที่กระดาษกรองเบอร์ 5 และนำไปอบ 105 องศาเซลเซียส 12 ชั่วโมง นำไปใส่ในโถดูดความชื้นและนำไปชั่งน้ำหนักเมื่อกระดาษกรองเย็นลงแล้ว

4.2 เมื่อได้ปริมาณเซลล์สูงสุดให้เจือจางใหม้มีค่าความขุ่นเซลล์ต่างๆ กันอยู่ในช่วง 0.1-0.8 ประมาณ 5 ค่า

4.3 ทำการต่อชุดกรอง และนำกระดาษกรองไปวางบนกรวยกรอง แล้วล้างด้วยน้ำ-กลั่นฉีดให้ทั่วกระดาษกรอง

4.6 ปิเปตสารละลายจากข้อ 5.4 ปริมาตร 5 มิลลิลิตรมาทำการกรอง แล้วล้างด้วยน้ำ-กลั่นทำ 3 ซ้ำ

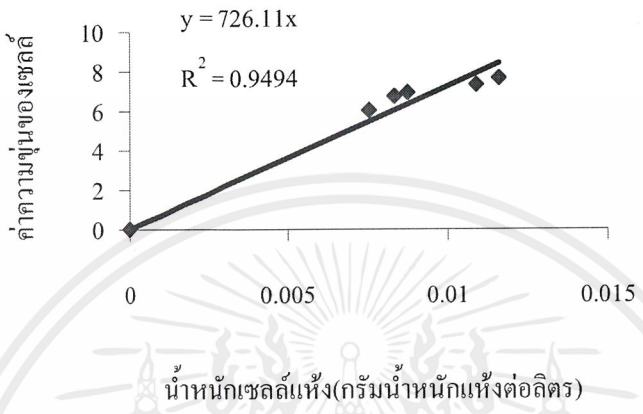
4.7 นำกระดาษกรองไปอบที่ 105 องศาเซลเซียส 12 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.8 นำไปใส่ในโถดูดความชื้น แล้วนำไปชั่งน้ำหนักเมื่อกระดาษกรองเย็นลงแล้ว

คำนวณน้ำหนักเซลล์แห้ง = น้ำหนักกระดาษหลังกรอง–น้ำหนักกระดาษก่อนกรอง

4.9 นำน้ำหนักเซลล์แห้งและเวลาไปสร้างกราฟ



ภาพที่ 4 ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักเซลล์แห้งกับค่าความฉุ่นเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง
การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกม SPSS 10.0 สำหรับวินโดวส์

- การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (Hypothesis Testing of Means for k samples by One-Way Analysis of Variance)

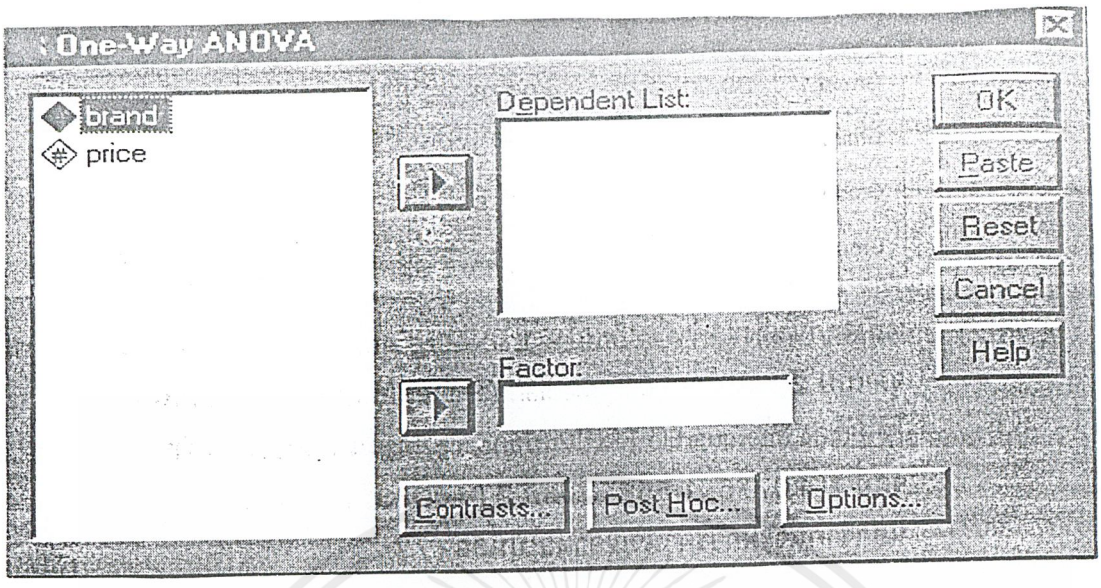
เป็นการทดสอบค่าเฉลี่ยจากข้อมูลที่ได้จากกลุ่มตัวอย่างหลายๆ กลุ่ม ที่แบ่งกลุ่มโดยหลักเกณฑ์แบบเดียวหรือปัจจัยเดียวเพื่อศึกษาเปรียบเทียบและตรวจสอบว่าคุณลักษณะใดคุณลักษณะหนึ่งของข้อมูลตั้งแต่สามกลุ่มขึ้นไปมีความแตกต่างกันหรือไม่และถ้าแตกต่างกันแตกต่างกันอย่างไร โดยพิจารณาจากค่าเฉลี่ยของคุณลักษณะนั้นๆ อาจเรียกแผนการทดลองนี้ว่าแผนแบบการทดลองสุ่มโดยสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) วิธีที่นิยมใช้ในการทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยสำหรับหลายกลุ่มตัวอย่างคือ การวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance: ANOVA) โดยตัวสถิติ F-test ซึ่งเป็นวิธีหนึ่งที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง หรือจากตัวอย่างที่เก็บได้จากการวางแผนการทดลอง (Experimental Design) เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างสองตัวแปร 2 ประเภท คือ ตัวแปรตาม (Depentdent) และตัวแปรอิสระ (Indepentdent) โดยตัวแปรอิสระจะเป็นตัวแบ่งกลุ่มข้อมูลเป็นกลุ่มๆ เพื่อทดสอบว่าในแต่ละกลุ่มที่แตกต่างกันนั้นค่าเฉลี่ยของตัวแปรตามแตกต่างกันหรือไม่

วิธีทำ - ขั้นที่1 เลือกเมนูและคำสั่งตามลำดับดังนี้

Analyze ⟶ Compare Means ⟶ One-Way ANOVA…

ซึ่งจะปรากฏไดอะล็อกบ๊อกซ์ ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



- ขั้นที่2 เลือกตัวแปร OD ไปไว้ในบ๊อกซ์ของ Depentdent List
- ขั้นที่3 เลือกตัวแปร trement ไปไว้ในบ๊อกซ์ของ Factor
- ขั้นที่4 คลิกปุ่มOK จะแสดงผลลัพธ์ในวินโดวส์ Output

โดยมีสมมติฐานที่ใช้ในการทดสอบ คือ

H_0 : ค่าเฉลี่ยในแต่ละกลุ่มไม่แตกต่างกัน ($\mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 \ldots = \mu_k$)

H_a : มีอย่างน้อย 2 กลุ่มที่มีค่าเฉลี่ยแตกต่างกัน ($\mu_i \neq \mu_j$ ($i \neq j$))

การจะยอมรับหรือปฏิเสธสมมติฐาน H_0นั้นพิจารณาจากค่า F ซึ่งจะปฏิเสธสมมติฐาน H_0 เมื่อ

- ค่า F ที่คำนวณได้จากตาราง ANOVA มีค่ามากกว่า ค่า F ที่ได้จากตารางมาตรฐาน (การเปิดตาราง F จะต้องอาศัยค่า α ที่กำหนดไว้ และค่าของ n-1 และ n-k)

หรือ - ค่าที่ Sig. โปรแกรมคำนวณได้น้อยกว่าค่าที่กำหนด α

2. การทดสอบค่าเฉลี่ยภายหลังการปฏิเสธสมมติฐานโดยใช้วิธีของ LSD

เป็นวิธีที่ทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย 2 กลุ่ม โดยการเปรียบเทียบค่าของผลต่างค่าเฉลี่ยกับค่าสถิติ LSD ที่เรียกว่า ผลต่างนัยสำคัญน้อยที่สุด (Least Significant Difference) ซึ่งวิธีนี้จะใช้ในกรณีมีจำนวนสิ่งทดลองไม่เกิน 5

ค่าสถิติ LSD คำนวณได้จากสูตรต่อไปนี้

$$LSD(\alpha) = t_{\alpha,r} * S_d \qquad \text{และ} \qquad r = n - k$$

$$\text{เมื่อ} \qquad S_d = \sqrt{MSE[1/n_i + 1/n_j]} \qquad n_i \neq n_j$$

LSD (α) แทน ค่าผลต่างนัยสำคัญที่คำนวณสำหรับการทดสอบประชากรกลุ่มที่ i และ j

MSE คือ ค่า Mean Square Error ที่ได้จากตารางวิเคราะห์ความแปรปรวน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

k คือ ค่าจำนวนกลุ่มทั้งหมดที่ใช้ทดสอบ

n คือ ค่าจำนวนข้อมูลตัวอย่างทั้งหมด

$t_{\alpha,r}$ คือ ค่าสถิติจากตารางมาตรฐาน t โดยใช้ค่าของ df = n – k

ภายใต้สมมติฐานทางสถิติ ดังนี้ H_0 : ค่าเฉลี่ยของประชากร 2 กลุ่มไม่แตกต่างกัน

H_a : ค่าเฉลี่ยของประชากร 2 กลุ่มแตกต่างกัน

โดยจะปฏิเสธสมมติฐานหลัก (H_0) เมื่อ ผลต่างของค่าเฉลี่ย 2 กลุ่ม มีค่ามากกว่าค่าของ LSD (α) ที่คำนวณจากข้อมูลตัวอย่างกลุ่มที่ i และ j

วิธีทำ - กดปุ่ม Post Hoc… ในวินโดวส์ของ One-Way ANOVA…

- จะปรากฏส่วนที่แสดงค่าสถิติสำหรับทดสอบความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้