

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การใช้ประโยชน์จากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรเพื่อผลิตน้ำตาล
ไซลิทอล โดยเซลล์อิสระและเซลล์ตรึงของ
Debaryomyces hansenii TISTR 5155



เลขหมู่.....
เลขทะเบียน...61789
วัน,เดือน,ปี...21 ก.ค. 2549



โครงการพิเศษเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2547

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Utilization of Agricultural Waste for Xylitol Production by Free and Immobilized

Debaryomyces hansenii TISTR 5155



A Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement for the Degree of

Bachelor of Science

Department of Applied Biology

Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

Academic Year 2004

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงการพิเศษ เรื่อง การใช้ประโยชน์จากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรเพื่อผลิตน้ำตาลไซลิทอล
โดยเซลล์อิสระและเซลล์ครึ่งของ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155
นักศึกษา นางสาววิไลลักษณ์ สิทธิอมรพร
นายสุรพงษ์ ธรรมโสภินท์กุล
ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์
สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ
อาจารย์ที่ปรึกษา รศ. สุขใจ ชูจันทร์

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร
ลาดกระบัง อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตาม
หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

คณะกรรมการตรวจสอบ			ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ	รศ.ดร.พรณี จิตาภิชิต		
กรรมการ	ผศ.อารี ฤทธิ์บุรณ์		
กรรมการ	รศ.สุขใจ ชูจันทร์		

(รองศาสตราจารย์นวลพรรณ ณ ระนอง)

หัวหน้าภาควิชา

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงการพิเศษ เรื่อง	การใช้ประโยชน์จากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรเพื่อผลิตน้ำตาลไซลิทอล โดยเซลล์อิสระและเซลล์ตรึงของ <i>Debaryomyces hansenii</i> TISTR 5155
นักศึกษา	นางสาววิไลลักษณ์ สิทธิอมรพร นายสุรพงษ์ ธรรมโสภินท์กุล
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ. สุขใจ ชูจันทร์

บทคัดย่อ

การใช้ประโยชน์จากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร เช่น ฟางข้าว เพื่อผลิตน้ำตาลไซลิทอล โดยอาศัยกระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพด้วยเชื้อยีสต์ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ในระดับฟลาสก์เขย่าสามารถทำได้โดยใช้สารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 0.5 โมลต่อลิตร ในการย่อยสลายส่วนของเฮมิเซลลูโลสซึ่งประกอบไปด้วยน้ำตาลหลายชนิด แล้วนำมาผ่านการลดความเป็นพิษด้วยวิธีการ โอเวอร์ไลมิงและการดูดซับด้วยผงถ่านกัมมันต์ เพื่อให้ได้น้ำตาลไซโลส สำหรับเป็นสารตั้งต้นในการผลิตน้ำตาลไซลิทอล ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างให้เป็น 5.5 จากนั้น ศึกษาอัตราการเจริญของเชื้อยีสต์ในอาหารไฮโดรไลเสทที่เตรียมจากฟางข้าว โดยใช้หัวเชื้อเริ่มต้น คิดเป็นร้อยละ 8 โดยปริมาตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่ความเร็ว 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 72 ชั่วโมง พบว่า เชื้อมีอัตราการเจริญสูงสุดในชั่วโมงที่ 42 โดยมีปริมาณเซลล์คิดเป็น 6.85 กรัมต่อลิตร และเมื่อเปรียบเทียบอัตราการผลิตน้ำตาลไซลิทอลระหว่างสภาวะที่เป็นเซลล์อิสระและเซลล์ตรึงที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมแอลจินเนต โดยใช้หัวเชื้อเริ่มต้นคิดเป็นร้อยละ 8 โดยปริมาตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่ความเร็ว 250 นาที เป็นเวลา 12 ชั่วโมงแล้ว ลดความเร็วลงเหลือ 150 รอบต่อนาที จนกระทั่งครบ 90 ชั่วโมง พบว่า เชื้อยีสต์สามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้สูงสุดในชั่วโมงที่ 48 ของการผลิต โดยคิดเป็น 1.812 (ผลผลิตคิดเป็น 0.1416 กรัม น้ำตาลไซลิทอลต่อกรัม น้ำตาลไซโลส) และ 1.875 กรัมต่อลิตร (ผลผลิตคิดเป็น 0.1467 กรัม น้ำตาลไซลิทอลต่อกรัม น้ำตาลไซโลส) ตามลำดับ

Special Project Title Utilization of Agricultural Waste for Xylitol Production by Free and Immobilized *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155

Name Miss. Wilailuk Sithamornphorn
Mr. Suraphong Thammasophinkul

Department Applied Biology

Program Biotechnology

Academic Year 2004

Special Project Advisor Assoc. Prof. Sukjai Choojan

ABSTRACT

Utilization of agricultural waste ,rice straw, for xylitol production by *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 with biotechnological process in shaken flask was carried out by using 0.5 M sulphuric acid for hydrolysing hemicellulose in straw. Then, hydrolysate was detoxified by overliming and activated charcoal adsorption to obtain xylose as the substrate for xylitol production and adjusted pH to 5.5. After that, study on growth rate of yeast in hydrolysate at 30 °C and 250 rpm for 72 hours. The inoculum volume was 8 percent of the medium. The results were found that the maximum growth rate of yeast was at 42 hours and cell dry weight was 6.85 g dry wt./l . The comparison of xylitol production rate between free and immobilized ,entrapped by calcium alginate, cell incubated at 30 °C and 250 rpm for 12 hours before reduced speed at 150 rpm until 90 hours completely was shown that the highest concentrations of xylitol for both conditions were produced at 48 hours. And the concentrations of xylitol for free and immobilized yeast were 1.812 (yield 0.1416 g xylitol/g xylose) and 1.875 g/l (yield 0.1467 g xylitol/g xylose), respectively.

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษนี้ถูกจัดทำขึ้นเพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต และจะสำเร็จลงไม่ได้ หากขาดซึ่งความกรุณาจาก รศ.สุขใจ ชูจันทร์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษ ผู้ให้ความรู้และคำแนะนำที่มีประโยชน์ตลอดทั้งความช่วยเหลือในด้านต่างๆ ข้าพเจ้ารู้สึกซาบซึ้งในความกรุณาของอาจารย์เป็นอย่างสูง จึงขอกราบขอบพระคุณมา ณ ที่นี้ด้วย

ขอกราบขอบพระคุณ รศ. ดร. พรรณี จิตาพิชิต ประธานกรรมการคุมสอบโครงการพิเศษ และ ผศ. อารี ฤทธิบุรณ์ กรรมการคุมสอบโครงการพิเศษ ที่ได้สละเวลาอันมีค่าเพื่อคุมสอบโครงการพิเศษนี้ รวมทั้ง คำแนะนำต่างๆที่มีประโยชน์แก่ข้าพเจ้า เป็นผลให้โครงการพิเศษฉบับนี้มีความสมบูรณ์แบบมากขึ้น

ขอขอบคุณ คุณประสิทธิ์ แฉวบางและคุณวิทยา เขียวเงิน เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการคุณมณฑนา พงษ์ไทย เจ้าหน้าที่ห้องธุรการและเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่มีส่วนเกี่ยวข้องในโครงการพิเศษนี้ ตลอดทั้งรุ่นพี่นักศึกษาปริญญาโทและเพื่อนนักศึกษาปริญญาตรีทุกท่านที่ได้ให้ความช่วยเหลือในด้านต่างๆเป็นอย่างดีเสมอมา ทำให้ข้าพเจ้าสามารถดำเนินงานได้อย่างราบรื่นและมีประสิทธิภาพ

ขอขอบคุณ คุณปิยะมาศ สระบัว และคุณพงศธร กิมเฮง สำหรับความช่วยเหลือและคำแนะนำที่มีประโยชน์เป็นอย่างมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในส่วนของการดำเนินงาน อันเป็นผลให้โครงการพิเศษนี้สำเร็จลงได้ด้วยดี

สุดท้ายนี้ ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดาและทุกคนในครอบครัว สำหรับคำแนะนำในการทำงานที่มีคุณค่าและมีประโยชน์อย่างมาก ตลอดทั้งกำลังใจที่มอบให้ด้วยดีตลอดมา

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณที่พึงจะได้รับจากโครงการพิเศษฉบับนี้แก่ผู้มีพระคุณทุกท่าน

วิไลลักษณ์ สิทธิอมรพร

สุรพงษ์ ธรรมโสภินท์กุล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ช
สารบัญภาพ	ฅ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาของ โรงงานพิเศษ	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	2
1.4 ขั้นตอนของการวิจัยและวิธีการดำเนินงาน	2
1.5 ผลที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ	4
2.1 องค์ประกอบของวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรประเภทลิกโนเซลลูโลส	4
2.2 แกนหลักของไซเลน (The backbone of xylan)	10
2.3 ธรรมชาติของไซกิ้งในไซเลน	10
2.4 การย่อยสลายไซเลนในวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร	11
2.5 น้ำตาลไซลิทอล (xylitol)	12
2.6 คุณสมบัติของน้ำตาลไซลิทอล	12
2.7 คุณสมบัติอื่นๆ ที่น่าสนใจของน้ำตาลไซลิทอล	13
2.8 การใช้น้ำตาลไซลิทอลในผลิตภัณฑ์อาหาร	16
2.9 ตัวอย่างของการใช้น้ำตาลไซลิทอลในผลิตภัณฑ์อาหาร	16
2.10 ข้อจำกัดในการใช้ผลิตภัณฑ์น้ำตาลไซลิทอล	19
2.11 การผลิตน้ำตาลไซลิทอล	19
2.12 วิธีต่าง ๆ ที่ใช้ในการผลิตไซลิทอล	21
2.13 การผลิตด้วยวิธีการทางเทคโนโลยีชีวภาพ	23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.14 กระบวนการและเมแทบอลิซึมในการผลิตโซลิตอล โดยจุลินทรีย์	24
2.15 ปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณผลผลิตโซลิตอลโดยกระบวนการ หมักด้วยจุลินทรีย์	29
2.16 วิธีการลดความเป็นพิษที่เกิดจากการย่อยสลายวัสดุเหลือ ทิ้งทางการเกษตร	40
2.17 การลดความเป็นพิษ โดยวิธีโอเวอร์ไลมิง	40
2.18 การลดความเป็นพิษ โดยใช้ผงถ่านกัมมันต์	41
2.19 ถ่านกัมมันต์ (charcoal)	41
2.20 สันฐานวิทยาของยีสต์	46
2.21 การผลิตโซลิตอลโดยใช้การตรึงเซลล์	47
2.22 การเปรียบเทียบข้อดีและข้อเสียของการตรึงเซลล์กับวิธีอื่นๆ	48
2.23 การพิจารณาคัดเลือกสารที่เหมาะสมในการตรึงเซลล์	49
2.24 คุณสมบัติของเซลล์จุลินทรีย์ที่ถูกตรึง	49
2.25 เทคนิคการตรึงเซลล์โดยใช้วิธีการดักจับ	51
2.26 ความสัมพันธ์ระหว่างเซลล์กับสารพาหะที่ใช้ในการตรึงเซลล์	53
2.27 การนำเซลล์ตรึงไปประยุกต์ใช้งาน	54
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	55
3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง	55
3.2 เหมrlen สำหรับเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ	55
3.3 เหมrlen สำหรับการย่อยวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร	56
3.4 เหมrlen สำหรับการลดความเป็นพิษของไฮโดรไลเสท	56
3.5 เหมrlen สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลกลูโคส ตามวิธีของ Somogyi Nelson' s (1952)	56
3.6 เหมrlen สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลไซโลส ตามวิธีของ Deschatelets and Yu (1986)	56
3.7 เหมrlen สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลโซลิตอล ตามวิธีของ Alder and Gustafsson (1980)	56
3.8 วัตถุดิบ	57
3.9 เชื้อจุลินทรีย์ในการวิจัย	57

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.10 การเตรียมอาหารไฮโดรไลเสทจากฟางข้าวเพื่อเลี้ยงเชื้อ และผลิตน้ำตาลไซลิทอลของ <i>Debaryomyces hansenii</i> TISTR 5155	58
3.11 การศึกษาอัตราการเจริญของ <i>Debaryomyces hansenii</i> TISTR 5155 ในอาหารไฮโดรไลเสทจากฟางข้าว	60
3.12 การศึกษาการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของ <i>Debaryomyces</i> <i>hansenii</i> TISTR 5155 ในอาหารไฮโดรไลเสทจากฟางข้าว ในสภาวะเซลล์อิสระ	60
3.13 การศึกษาการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของ <i>Debaryomyces</i> <i>hansenii</i> TISTR 5155 ในอาหารไฮโดรไลเสทจากฟางข้าว ในสภาวะเซลล์ตรึงที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมแอลจีเนต	60
บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผล	61
4.1 ผลการศึกษาอัตราการเจริญของ ของ <i>Debaryomyces</i> <i>hansenii</i> TISTR 5155 ในอาหารไฮโดรไลเสทจากฟางข้าว	61
4.2 ผลการศึกษาการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของ <i>Debaryomyces</i> <i>hansenii</i> TISTR 5155 ในอาหารไฮโดรไลเสทจากฟางข้าว ในสภาวะเซลล์อิสระ	63
4.3 ผลการศึกษาการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของ <i>Debaryomyces</i> <i>hansenii</i> TISTR 5155 ในอาหารไฮโดรไลเสทจากฟางข้าว ในสภาวะเซลล์ตรึงที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมแอลจีเนต	67
4.4 ผลการศึกษาเพื่อเปรียบเทียบการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของ <i>Debaryomyces hansenii</i> TISTR 5155 ระหว่างสภาวะเซลล์ อิสระและเซลล์ตรึงที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมแอลจีเนต	70
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	72
เอกสารอ้างอิง	74
ภาคผนวก ก.	79
ภาคผนวก ข.	80
ภาคผนวก ค.	86

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบของวัสดุเหลือทิ้งการเกษตรบางชนิด	9
ตารางที่ 2.2 คุณสมบัติต่างๆ ของน้ำตาลไซลิทอล	13
ตารางที่ 2.3 คุณสมบัติของน้ำตาลไซลิทอลเมื่ออยู่ในรูปออสตัน	14
ตารางที่ 2.4 คุณสมบัติทางกายภาพระหว่างไซลิทอลและน้ำตาลซูโครส	15
ตารางที่ 2.5 ปริมาณน้ำตาลไซลิทอลในผักและผลไม้	21
ตารางที่ 2.6 องค์ประกอบของสารละลายน้ำตาลที่ได้จากการไฮโดรไลเซส	22
ตารางที่ 2.7 องค์ประกอบของสารละลายน้ำตาลแอลกอฮอล์ที่ได้จากกระบวนการไฮโครจีเนชัน	23
ตารางที่ 2.8 ผลของความเข้มข้นน้ำตาลไซโลสที่มีผลต่อการผลิตน้ำตาลไซลิทอล	35
ตารางที่ 2.9 ค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมของเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดที่สามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้	38
ตารางที่ 4.1 อัตราการเจริญของเชื้อ น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลไซโลสจากการศึกษาอัตราการเจริญของ <i>Debaryomyces hansenii</i> TISTR 5155 ในอาหารไฮโดรไลเซสจากฟางข้าว	61
ตารางที่ 4.2 อัตราการเจริญของเชื้อ ค่าความเป็นกรด-ด่าง น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลไซโลสและน้ำตาลไซลิทอล จากการศึกษาการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของ <i>Debaryomyces hansenii</i> TISTR 5155 ในอาหารไฮโดรไลเซสจากฟางข้าวในสถานะเซลล์อิสระ	64
ตารางที่ 4.3 ร้อยละของปริมาณน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลไซโลสที่เชื้อ <i>Debaryomyces hansenii</i> TISTR 5155 ใช้ไปในการผลิตน้ำตาลไซลิทอลและผลผลิตของน้ำตาลไซลิทอลในสถานะเซลล์อิสระ	66

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 อัตราการเจริญของเชื้อ ค่าความเป็นกรด-ด่าง น้ำหนัก
เซลล์แห้ง น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลไซโลสและน้ำตาล
ไซลิทอล จากการศึกษาการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของ
Debaryomyces hansenii TISTR 5155 ในอาหาร
ไฮโดรไลเสทจากฟางข้าวในสภาวะเซลล์ตรึงที่ถูก
ห่อหุ้มด้วยแคลเซียมแอลจิเนต

67

ตารางที่ 4.5 ร้อยละของปริมาณน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลไซโลส
ที่เชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ใช้ไปใน
การผลิตน้ำตาลไซลิทอลและผลผลิตของน้ำตาลไซลิทอล
ในสภาวะเซลล์ตรึงที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมแอลจิเนต

70

ตารางที่ ค.1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของการผลิตน้ำตาลไซลิทอล
โดยเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ระหว่าง
เซลล์อิสระและเซลล์ตรึงที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมแอลจิเนต

88

ตารางที่ ค.2 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลไซลิทอลที่เชื้อผลิตขึ้น
ในสภาวะที่เป็นเซลล์อิสระและ เซลล์ตรึงที่ถูกห่อหุ้ม
ด้วยแคลเซียมแอลจิเนตทางสถิติ

89

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 2.1 โครงสร้างของ glucuronoxylan	5
ภาพที่ 2.2 โครงสร้างของ glucomannan	5
ภาพที่ 2.3 โครงสร้างของ galactoglucomannan	6
ภาพที่ 2.4 โครงสร้างของ arabinoglucuronoxylan	7
ภาพที่ 2.5 โครงสร้างของ arabinogalactan	8
ภาพที่ 2.6 โครงสร้างของ O-acetyl-4-O-methylglucuronoxylan ในพืชล้มลุกและพืชตระกูลหญ้า	8
ภาพที่ 2.7 โครงสร้างของไซแลน	10
ภาพที่ 2.8 วิธีการต่างๆ ที่ใช้ในการผลิตน้ำตาลไซลิทอล	20
ภาพที่ 2.9 สูตรโครงสร้างของน้ำตาลไซลิทอล	24
ภาพที่ 2.10 วิธีการเกิดน้ำตาลไซลิทอลจากเมแทบอลิซึมของไซโลส	24
ภาพที่ 2.11 การสร้างและการใช้โคเอนไซม์ (coenzyme regeneration) ในยีสต์ที่หมักน้ำตาลไซโลสได้	27
ภาพที่ 2.12 เมแทบอลิซึมของน้ำตาลไซโลสในยีสต์	28
ภาพที่ 2.13 โครงสร้างของไซโตยมแอลจินต	52
ภาพที่ 4.1 อัตราการเจริญของเชื้อ น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าความเป็น กรด-ด่าง ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลไซโลสจาก การศึกษาอัตราการเจริญของ <i>Debaryomyces hansenii</i> TISTR 5155 ในอาหารไฮโดรไลเสทจากฟางข้าว	63
ภาพที่ 4.2 อัตราการเจริญของเชื้อ ค่าความเป็นกรด-ด่าง น้ำหนักเซลล์ แห้ง น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลไซโลสและน้ำตาลไซลิทอล จากการศึกษาการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของ <i>Debaryomyces</i> <i>hansenii</i> TISTR 5155 ในอาหารไฮโดรไลเสทจากฟางข้าว ในสภาวะเซลล์อิสระ	65
ภาพที่ 4.3 อัตราการเจริญของเชื้อ ค่าความเป็นกรด-ด่าง น้ำหนักเซลล์ แห้ง น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลไซโลสและน้ำตาลไซลิทอล จากการศึกษาการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของ <i>Debaryomyces</i>	

<i>hansenii</i> TISTR 5155 ในอาหารไฮโดรไลเสทจากฟางข้าว	
ในสภาวะเซลล์ตรึงที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมแอลจีเนต	69
ภาพที่ ข.1 กราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส	81
ภาพที่ ข.2 กราฟมาตรฐานของน้ำตาลไซโลส	83
ภาพที่ ข.3 กราฟมาตรฐานของน้ำตาลไซลิทอล	85



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาของโครงการพิเศษ

ไซลิทอล (xylitol) เป็นน้ำตาลแอลกอฮอล์ชนิดเพนตะวาเลนต์ของน้ำตาลไซโลสซึ่งมีจำนวนคาร์บอน 5 อะตอม โดยทั่วไปจะพบน้ำตาลไซลิทอลเป็นสารตัวกลาง (intermediate) ของเมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรตในมนุษย์และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม นอกจากนี้ยังสามารถพบได้ตามธรรมชาติในผักและผลไม้หลายชนิด คุณสมบัติที่สำคัญของน้ำตาลดังกล่าวก็คือ เป็นสารให้ความหวานที่มีความหวานเทียบเท่ากับน้ำตาลซูโครส (ให้พลังงาน 4.01 กิโลแคลอรีต่อกรัม) ไม่เป็นแหล่งอาหารของเชื้อจุลินทรีย์ เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ไม่สามารถใช้น้ำตาลแอลกอฮอล์ได้ โดยเฉพาะ *Streptococcus mutans* ที่อยู่ในช่องปาก จึงไม่ทำให้ฟันผุ สามารถรักษาความชุ่มชื้นในอาหารได้เป็นอย่างดี ช่วยยับยั้งฮอร์โมนอินซูลินในร่างกาย จึงทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดไม่สูงขึ้น และยังเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดได้ยากอีกด้วย ทั้งนี้เพราะน้ำตาลแอลกอฮอล์ไม่มีหมู่รีดิวซ์นั่นเอง ด้วยคุณสมบัติดังกล่าวมาจึงมีการเอาน้ำตาลไซลิทอลไปใช้ในระดับอุตสาหกรรม เช่น อุตสาหกรรมอาหาร นำมาใช้กับอาหารและเครื่องดื่มต่างๆ โดยใช้เป็นสารให้ความหวานแก่ผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวาน ช่วยในการคงตัวของสี กลิ่นและลักษณะของเครื่องดื่ม ในผลิตภัณฑ์ขนมอบที่ใช้เพื่อช่วยให้เนื้อขนมมีความเนียนนุ่ม ไม่แข็งกระด้างและเหม็นหืนช้าลง อุตสาหกรรมยาและเภสัชกรรม อาจนำมาใช้เป็นยาระบายอ่อนๆ หรือใช้เป็นส่วนผสมของตัวยาสำหรับผู้ป่วยที่ไม่สะดวกในการทำ ความสะอาดช่องปากได้และใช้ในอุตสาหกรรมอื่นๆ

น้ำตาลไซโลสซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการผลิตไซลิทอล นอกจากจะพบได้ทั่วไปในผักผลไม้แล้ว อาจยังพบได้ในเนื้อไม้ต่างๆ ที่มีส่วนประกอบของไซแลนด้วย เช่น แกลบ ฟางข้าว ชังข้าวโพด จุกสับปะรด ฯลฯ จะเห็นได้ว่า วัตถุดิบเหล่านี้สามารถหาได้ทั่วไปเนื่องจากเป็นวัสดุเหลือทิ้งจากการเกษตรเป็นส่วนใหญ่ การนำเอาวัสดุเหลือทิ้งเหล่านี้มาใช้ให้เกิดประโยชน์ นอกจากจะทำให้ได้น้ำตาลไซโลสในปริมาณมากแล้ว ยังช่วยลดต้นทุนในการผลิตและยังเป็นการลดปริมาณของเสียที่เกิดขึ้นจากการเกษตรอีกทางหนึ่งด้วย

การผลิตน้ำตาลไซลิทอลทางการค้าส่วนใหญ่จะใช้วิธีการทางเคมีเป็นหลัก ซึ่งทำได้โดยใช้กระบวนการไฮโดรไลซิสเพื่อเปลี่ยนวัตถุดิบเป็นน้ำตาลไซโลสแล้วนำไปทำปฏิกิริยาไฮโดรจิเนชันกับก๊าซไฮโดรเจนภายใต้สภาวะที่มีอุณหภูมิและความดันสูง โดยมีนิกเกิล (Ni) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเพื่อเปลี่ยนหมู่คาร์บอนิลของน้ำตาลให้กลายเป็นหมู่ไฮดรอกซิลของแอลกอฮอล์ ก่อนที่จะมาทำให้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บริสุทธิ์ แต่เนื่องจากวิธีการทางเคมีนั้นต้องใช้ค่าใช้จ่ายในการผลิตสูง จึงได้มีการศึกษาและพัฒนาวิธีการผลิตทางชีวภาพขึ้นเพื่อให้อีกทางเลือกหนึ่งให้แก่ผู้ผลิตในระดับอุตสาหกรรม โดยการใช้ประโยชน์จากเชื้อจุลินทรีย์ไม่ว่าจะเป็นแบคทีเรีย รา หรือยีสต์ แต่ที่นิยมใช้กันมากก็คือ ยีสต์ เนื่องจากให้ผลผลิตในปริมาณสูงสุด ยีสต์ดังกล่าวคือ *Debaryomyces hansenii* โดยทั่วไปกระบวนการผลิตทางชีวภาพก็จะคล้ายกันกับทางเคมีคือ การใช้กรดในการย่อยวัตถุดิบให้กลายเป็นน้ำตาลไซโลสเสียก่อนแล้วนำไปลดความเป็นพิษของไฮโดรไลเซสที่ได้ ก่อนจะใช้จุลินทรีย์เพื่อเปลี่ยนน้ำตาลไซโลสเป็นน้ำตาลไซลิทอลในที่สุด การใช้วิธีทางชีวภาพมีข้อดีกว่าก็คือ เชื้อจุลินทรีย์เจริญได้รวดเร็วในสภาวะที่เหมาะสมซึ่งจะทำให้มีอัตราการผลิตน้ำตาลไซลิทอลในปริมาณที่สูงขึ้นไปด้วย จึงนับว่าเป็นประโยชน์อย่างมากที่จะมีการศึกษาและนำมาประยุกต์ในภาคอุตสาหกรรมต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาอัตราการเจริญของเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ในอาหารไฮโดรไลเซสที่เตรียมจากฟางข้าว
2. เพื่อศึกษาและเปรียบเทียบอัตราการผลิตน้ำตาลไซลิทอลระหว่างสภาวะที่เป็นเซลล์อิสระและเซลล์ตรึงที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมแอลจิเนตในอาหารไฮโดรไลเซสที่เตรียมจากฟางข้าว

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

ศึกษาอัตราการเจริญและเปรียบเทียบความสามารถในการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ระหว่างสภาวะที่เป็นเซลล์อิสระและเซลล์ตรึงที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมแอลจิเนตในอาหารไฮโดรไลเซสที่เตรียมจากฟางข้าว

1.4 ขั้นตอนของการวิจัยและวิธีการดำเนินงาน

1. ศึกษาอัตราการเจริญของเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ในอาหารไฮโดรไลเซสที่เตรียมจากฟางข้าว
2. เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อไฮโดรไลเซสโดยการย่อยฟางข้าวด้วยกรดเจือจาง พร้อมทั้งวัดปริมาณน้ำตาลที่จะถูกใช้เพื่อการเจริญและเปลี่ยนไปเป็นน้ำตาลไซลิทอลของเชื้อ
3. ศึกษาการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ทั้งในสภาวะที่เป็นเซลล์อิสระและเซลล์ตรึงที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมแอลจิเนต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ระหว่างสภาวะที่เป็นเซลล์อิสระและเซลล์ตรึงที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมแอลจีเนต

1.5 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถใช้กระบวนการทางเคมีในการย่อยสลายฟางข้าวเพื่อให้ได้น้ำตาลไซโลสซึ่งเป็นสารตั้งต้นสำหรับการผลิตน้ำตาลไซลิทอล
2. สามารถใช้กระบวนการทางชีวภาพเพื่อผลิตน้ำตาลไซลิทอลโดยเชื้อยีสต์ที่อยู่ในรูปเซลล์อิสระและเซลล์ตรึงที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมแอลจีเนต
3. เพื่อเป็นแนวทางที่จะนำเอาวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรอื่นๆ มาประยุกต์ใช้ในการผลิตน้ำตาลไซลิทอลเพื่อลดต้นทุนการผลิตในระดับอุตสาหกรรม



บทที่ 2

ทฤษฎีและหลักการ

2.1 องค์ประกอบของวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรประเภทลิกโนเซลลูโลส

องค์ประกอบของวัสดุเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมการแปรรูปไม้และวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรจะประกอบด้วยส่วนประกอบหลัก 3 ส่วน ได้แก่ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนินในอัตราส่วนเฉลี่ย 4 ต่อ 3 ต่อ 3 (Branus and Branus, 1960) โดยทั้งสามส่วนจะมีปริมาณแตกต่างกันตามแต่นิคมของเนื้อเยื่อ อายุ สภาพะในการเจริญและสภาพทางสรีระวิทยาของพืช เฮมิเซลลูโลสมีมากเป็นอันดับ 2 มีลักษณะเป็นสายยาว (polymer) ในเมล็ด (Taiz and Honigman, 1976) และเป็นส่วนประกอบของโครงสร้างในผนังเซลล์ของไม้ (Eriksson, 1990)

2.1.1 เซลลูโลส

เป็นพอลิเมอร์ของโมเลกุลน้ำตาลกลูโคสเพียงชนิดเดียว (homopolysaccharide) ประมาณ 3,000-10,000 โมเลกุล ที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ β -1,4 ทำให้เซลลูโลสมีลักษณะเป็นสายยาว น้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันขึ้นอยู่กับแหล่งที่มา (วิเชียร, 2532) เซลลูโลสไม่ละลายในสารละลายต่างและกรดที่อุณหภูมิห้อง (Jackson, 1977; Marsden and Gray, 1986) แต่ละลายในสารละลายกรดที่ความเข้มข้นสูง (ร้อยละ 8) และที่อุณหภูมิสูงช่วง 120-130 องศาเซลเซียส (Tsao; et al., 1982)

2.1.2 เฮมิเซลลูโลส

เป็นพอลิเมอร์ของน้ำตาลมากกว่าหนึ่งชนิด (heteropolysaccharide) ที่จับกันด้วยพันธะ β -1,4 ไกลโคซิดิก โมเลกุลของเฮมิเซลลูโลสสั้นและมีกิ่งก้านสาขามากทำให้มีโครงสร้างจับตัวกันอย่างไม่เป็นระเบียบ องค์ประกอบหลักของเฮมิเซลลูโลส คือ ไซแลน (Kirk, 1983)

Schulze (1981) เป็นผู้ริเริ่มใช้คำว่าเฮมิเซลลูโลสสำหรับส่วนที่แยกหรือสกัดได้จากพืชด้วยต่างเจือจาง โดยการจำแนกชนิดของเฮมิเซลลูโลสขึ้นกับชนิดของน้ำตาลส่วนใหญ่ที่ปรากฏ น้ำตาลส่วนใหญ่ที่ได้จากเฮมิเซลลูโลส ได้แก่ ดีไซโลส (D-xylose) ดีแมนโนส (D-mannose) ดีกาแลคโตส (D-galactose) และแอลอะราบินโนส (L-arabinose) เนื่องจากเฮมิเซลลูโลสประกอบด้วยไซแลน (xylan) แมนแนน (mannan) กาแลคแตน (galactan) และอะราบินแนน (arabinan) เป็นหลัก

2.1.2.1 เฮมิเซลลูโลสในไม้เนื้อแข็ง

glucuronoxylan หรือ O-acetyl-4-O-methylglucurono- β -D-xylan ในไม้เนื้อแข็งมี

อยู่ประมาณร้อยละ 15-30 ของน้ำหนักแห้ง glucuronoxylan มีโครงสร้างหลักเป็น β -D-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

xylopyranose ที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ β -1,4-ไกลโคซิดิก ไซโลสส่วนใหญ่ประกอบด้วยหมู่อะซิทิล (acetyl group) ที่ตำแหน่ง C2 หรือ C3 ของน้ำตาลไซโลส ในสายของไซแลนมีหมู่อะซิทิล 7 หน่วย ต่อ 10 หน่วยของน้ำตาลไซโลสและมี 4-O-methylglucuronic acid ที่เชื่อมต่อกับน้ำตาลไซโลสด้วย พันธะ 1,2 ไกลโคซิดิก โดยมีกรดยูโรนิก 1 หน่วย ต่อ 10 หน่วยของน้ำตาลไซโลส (ภาพที่ 2.1) พันธะที่เชื่อมต่อน้ำตาลไซโลสสามารถย่อยสลายได้ด้วยกรด ส่วนพันธะที่เชื่อมระหว่าง น้ำตาลไซโลสกับหมู่อะซิทิลสามารถย่อยสลายได้ด้วยด่าง

glucomannan ในไม้เนื้อแข็งมีอยู่ประมาณร้อยละ 2-5 ซึ่ง glucomannan มี โครงสร้างเป็น β -D-glucopyranose และ β -D-mannopyranose เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ β -1,4 ไกลโคซิดิก (ภาพที่ 2.2) อัตราส่วนของกลูโคสต่อแมนโนสในสายของ glucomannan เท่ากับ 1 ต่อ 2 หรือ 1 ต่อ 1 ขึ้นกับชนิดของไม้ โดย glucomannan ถูกย่อยสลายได้ง่ายด้วยกรด



ภาพที่ 2.1 โครงสร้างของ glucuronoxylan [น้ำตาล β -D-xylopyranose(Xylp), 4-O-methyl- α -D-glucopyranosyl uronic acid (4-O-Me- α -D-Glc pA), R คือ acetyl group (CH_3CO)]

ที่มา : Sjostrom (1981)



ภาพที่ 2.2 โครงสร้างของ glucomannan [น้ำตาล β -D-glucopyranose(Glcp), β -D-mannopyranose (Manp)]

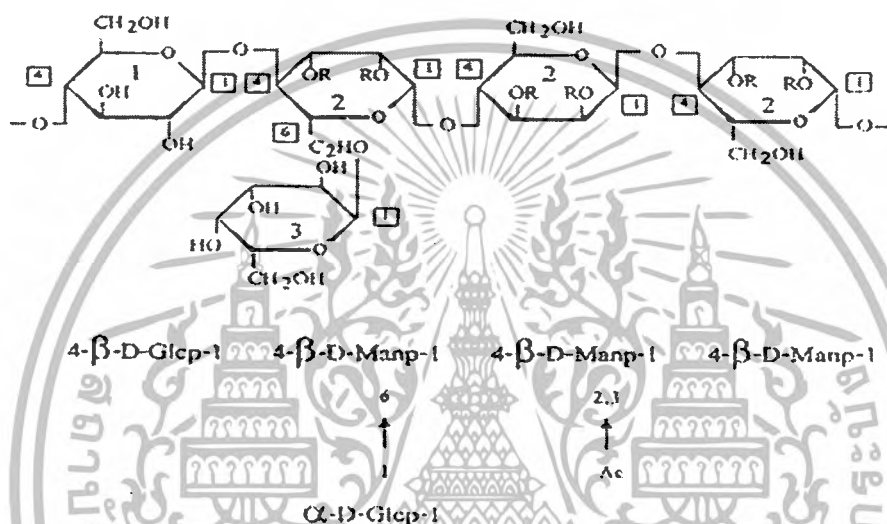
ที่มา : Sjostrom (1981)

2.1.2.2 เฮมิเซลลูโลสในไม้เนื้ออ่อน

ในไม้เนื้ออ่อนจะพบเฮมิเซลลูโลสชนิด galactoglucomannan เป็นจำนวนมาก (ประมาณร้อยละ 20) มีโซหลักเป็น β -1,4 ไกลโคซิดิกและมีโซกิ่งที่ตำแหน่ง C6 ของน้ำตาลกลูโคส หรือน้ำตาลแมนโนส โดย β -D-glucopyranose จับกับโครงสร้างหลักด้วยพันธะ 1,6 ไกลโคซิดิก

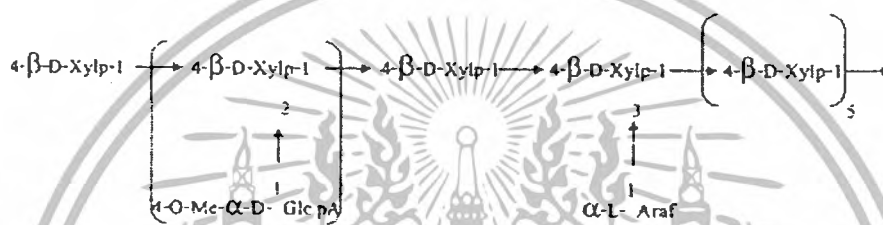
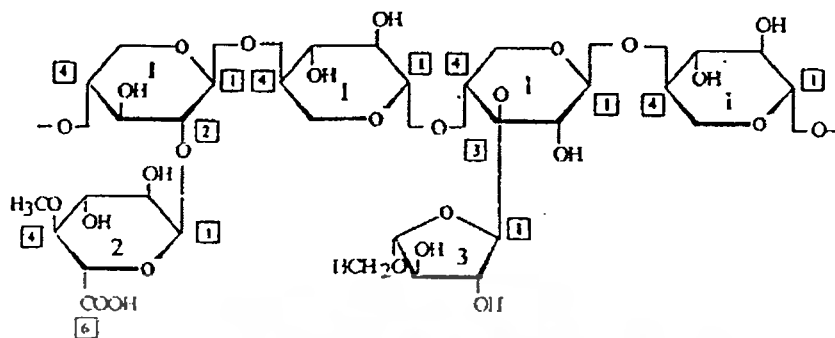
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(ภาพที่ 2.3) galactoglucomannan สามารถแยกได้เป็น 2 ส่วนขึ้นอยู่กับปริมาณของน้ำตาลกาแลคโตสที่แตกต่างกัน ส่วนที่มีน้ำตาลกาแลคโตสในปริมาณน้อยจะมีอัตราส่วนของน้ำตาลกาแลคโตสต่อน้ำตาลกลูโคสต่อน้ำตาลแมนโนสเท่ากับ 0.1 ต่อ 1 ต่อ 4 และในส่วนที่มีปริมาณน้ำตาลกาแลคโตสสูงจะมีอัตราส่วนเท่ากับ 1 ต่อ 3 ในส่วน C2 หรือ C3 ในน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลแมนโนสมีหมู่อะซิetylจับอยู่โดยเฉลี่ย 1 หมู่ ต่อ 3-4 หน่วยของน้ำตาลเฮกโซสของ galactoglucomannan



ภาพที่ 2.3 โครงสร้างของ galactoglucomannan [น้ำตาลตำแหน่งที่1, β-D-glucopyranose (Glcp); ตำแหน่งที่2, β-D-mannopyranose (Manp); ตำแหน่งที่3, α-D-galactopyranose (Galp) R คือ acetyl group (CH₃CO) หรือ H]
ที่มา : Sjostrom (1981)

arabinoglucuronoxylan เป็นเฮมิเซลลูโลสที่พบในไม้เนื้ออ่อนประมาณร้อยละ 5 ถึง 10 มีโครงสร้างหลักเป็น β-D-xylopyranose ที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ β-1,4 ไกลโคซิดิก มีสายโซ่เป็น 4-O-methyl-α-D-glucuronic acid เชื่อมที่ตำแหน่ง C2 ของน้ำตาลไซโลสและมี L-arabinofuranose เชื่อมที่ตำแหน่ง C3 ของน้ำตาลไซโลส ในสายไซเลนโดยเฉลี่ยมี 4-O-methyl-α-D-glucuronic acid ประมาณ 2 หน่วยต่อ 10 หน่วยของน้ำตาลและมี L-arabinofuranose เฉลี่ย 1.3 หน่วยต่อ 10 หน่วยของน้ำตาลไซโลส ดังภาพที่ 2.4



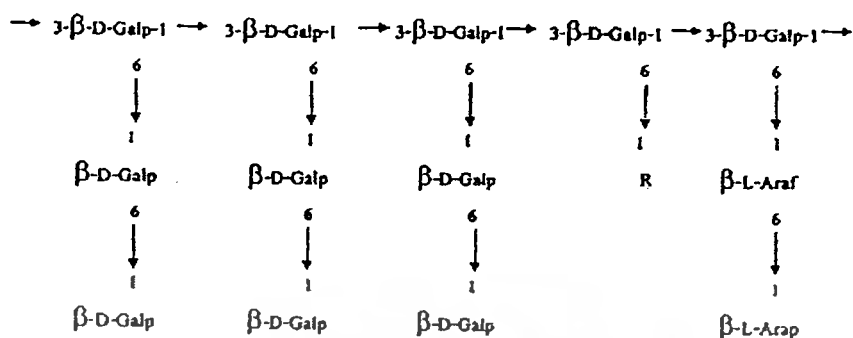
ภาพที่ 2.4 โครงสร้างของ arabinoglucuronoxylan [น้ำตาลตำแหน่งที่1, β -D-xylopyranose (Xylp); ตำแหน่งที่2, 4-O-methyl- α -D-glucuronic acid (Glc pA); ตำแหน่งที่3, α -L-arabinofuranose (Araf)]

ที่มา : Sjostrom (1981)

arabinogalactan เป็นเฮมิเซลลูโลสที่สามารถละลายน้ำได้ มีโครงสร้างหลักเป็น D-galactopyranose ที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ β -1,3 ไกลโคซิดิกและมีสายโซ่เป็น L-arabinose เชื่อมต่อกับสายของ D-galactopyranose ด้วยพันธะ β -1,6 ไกลโคซิดิกที่ตำแหน่ง C6 ดังภาพที่ 2.5

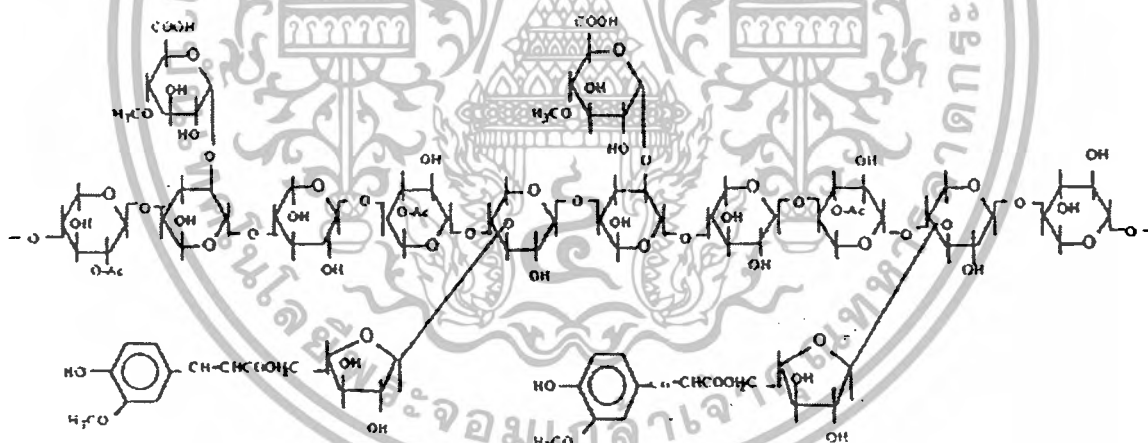
2.1.2.3 เฮมิเซลลูโลสในพืชล้มลุกและพืชตระกูลหญ้า

O-acetyl-arabino-4-O-methylglucuronoxylan เป็นพอลิเมอร์ที่พบเป็นส่วนใหญ่ในเฮมิเซลลูโลสของพืชล้มลุกและของพืชตระกูลหญ้า ความแตกต่างระหว่าง O-acetyl-arabino-4-O-methylglucuronoxylan กับ O-acetyl-4-O-methylglucurono- β -D-xylan ในไม้เนื้อแข็งคือ ในพืชตระกูลหญ้ามียุพันธ์ 1,2 ไกลโคซิดิก ที่เชื่อม 4-O-methyl- α -D-glucuronic acid น้อยกว่าในไม้เนื้อแข็ง แต่จะมีปริมาณของ L-arabinofuranosyl side chain ที่เชื่อมบริเวณ C2 หรือ C3 หรือทั้งสองตำแหน่งมากกว่าในไม้เนื้อแข็งและมีหมู่อะซิทธิลเชื่อมที่ตำแหน่ง C2 หรือ C3 ในน้ำตาลไซโลสของโครงสร้างหลัก ดังภาพที่ 2.6



ภาพที่ 2.5 โครงสร้างของ arabinogalactan [น้ำตาล β-D-galactopyranose (Galp); β-L-arabinopyranose (Arap); α-L-arabinofuranose (Araf) และ R คือ β-D-galactopyranose หรือ α-L-arabinofuranose หรือ β-D-glucopyranosyl uronic acid]

ที่มา : Sjostrom (1981)



ภาพที่ 2.6 โครงสร้างของ O-acetyl-4-O-methylglucuronoxylan ในพืชล้มลุกและพืชตระกูลหญ้า

ที่มา : Coughlan and Hazlewood (1993)

2.1.3 ลิกนิน

เป็นพอลิเมอร์ที่สังเคราะห์ขึ้นได้จากหน่วย phenylpropanoid ซึ่งได้แก่ p-coumaryl alcohol, coniferyl alcohol และ sinapyl alcohol (Sjostrom, 1981) หน่วยย่อยเหล่านี้จะจับตัวกัน

เป็นโครงสร้าง 3 มิติ โดยสร้างพันธะอีเทอร์จับกันเป็นโมเลกุลใหญ่ทำให้โมเลกุลของลิกนินมีความ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แข็งแรงทนทานต่อการย่อยสลาย (Evans, 1987) โดยทั่วไปจะพบลิกนินในชั้นลามเลลาส่วนกลาง (Norkrans, 1967; Cowling and Krik, 1976) จึงทำให้เซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสถูกห่อหุ้มเอาไว้ เป็นเหตุให้การย่อยสลายสารประกอบคาร์โบไฮเดรตเป็นไปได้ช้าและปริมาณต่ำ

ลิกนินละลายได้ดีในสารละลายด่างที่ร้อนที่มีความเข้มข้นสูง (ร้อยละ 5) ที่อุณหภูมิสูง 120-130 องศาเซลเซียส (Avgerinos and Wang, 1983) และสารละลายบางชนิด เช่น เบนซีน เอทานอลหรือเอทิลีนไกลคอลสามารถสกัดลิกนินได้ (Fiechter, 1986) ซึ่งองค์ประกอบของวัสดุ เหลือทิ้งทางการเกษตรบางชนิดแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบของวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรบางชนิด

ชนิดของวัสดุเหลือทิ้ง	องค์ประกอบ (ร้อยละของน้ำหนักแห้ง)		
	เซลลูโลส	เฮมิเซลลูโลส	ลิกนิน
ฟางข้าวสาลี	50	30	15
ฟางข้าว	35	25	17
ฟางข้าวฟ่าง	31	30	11
ฟางข้าวบาร์เลย์	44	27	7
ฟางข้าวโอ๊ต	49	25	14-22
ซังข้าวโพด	45	35	15
ตอข้าวโพด	35	25	35
กาบข้าวโพด	32	28	13
รำข้าวสาลี	36	28	20
รำข้าว	34	24	28
ชานอ้อย	33	22	14
ใบอ้อย	36	26	10
เปลือกหุ้มเมล็ดฝ้าย	59	15	13
ต้นสน	41	10	27
แกลบ	36	15	19
จี๋เลื่อย	55	14	21

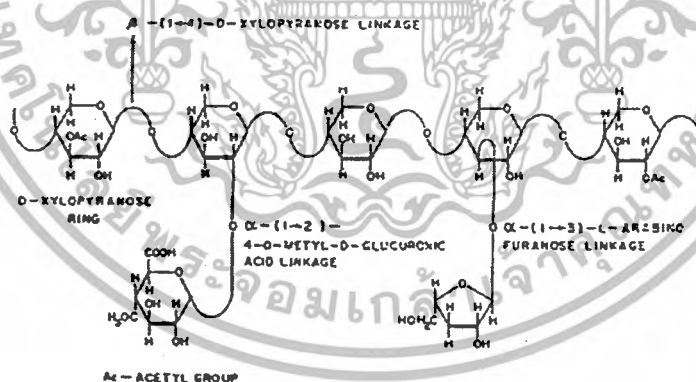
ที่มา : Barber and Benedito de barber, (1974); Jackson, (1977); Bisaria, (1991); Gupta and Madamwar, (1997); Kuhad, (1999)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สายโฮโมพอลิเมอร์ (homopolymer) ของไซเลนจะประกอบด้วยหน่วยของไซโลสเพียงอย่างเดียว (พบได้ยาก) โดยปกติไซเลนจะประกอบด้วยน้ำตาลที่แตกต่างกัน 2-4 ชนิด เมื่อเปรียบเทียบกับเฮมิเซลลูโลสแล้วจะมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่า (ประมาณ 20,000 คาลตัน) Aspinall (1959) รายงานว่าไซเลนมีส่วนของดีไซโลสร้อยละ 85-93 มีแอลอะราบินโนสอยู่จำนวนน้อยและส่วนที่เหลือเป็นสายของกรดกลูคูโรนิก (glucuronic acid) ในต้นหญ้า Esparto (ต้นหญ้าที่ใช้สำหรับทำกระดาษโดยเฉพาะพวก *Stipa tenacissima*) ไซเลนจะต่อกันเป็นสาย D-xylopyranose ด้วยพันธะ β -1,4 โดยไซเลนจากพืชและต้นหญ้าชนิดต่างๆ จะมีโครงสร้างหลักต่อกันด้วยพันธะ β -1,4 แต่จะแตกต่างกันในส่วนของโซ่กิ่ง (side chain) ที่จะเป็นกรดกลูคูโรนิก น้ำตาลแอลอะราบินโนสและ 4-O-methylester ของกรดกลูคูโรนิก

2.2 แกนหลักของไซเลน (The backbone of xylan)

สายหลักของไซเลนประกอบด้วย β -xylopyranose เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ β -1,4 (ภาพที่ 2.7) โดยจะเกิดพันธะ β -1,4 ระหว่างน้ำตาลไซโลส 2 ตัวต่อกันในไซเลนซึ่งรายงานโดย Whistler (1950); Aspinall (1959); Chanda et al. (1950) และได้มีการพิสูจน์ว่ามีพันธะ β -1,4 โกลโคซิดิก โดย Jayme and Satree (1942); Whistler (1950)



ภาพที่ 2.7 โครงสร้างของไซเลน

ที่มา : Beily (1985)

2.3 ธรรมชาติของโซ่กิ่งในไซเลน

ไซเลนของไม้เนื้ออ่อนจะมีโซ่กิ่งที่เป็นกรดมากกว่าไซเลนของไม้เนื้อแข็ง โดยปกติจะปรากฏว่ามีหมู่อะซิติก 1 หมู่ที่ไซโลสหน่วยที่ 2 ในไซเลนของเนื้อไม้เนื้อแข็ง แต่ปฏิกิริยาการเติมหมู่อะซิติกส่วนใหญ่จะเกิดขึ้นที่ตำแหน่ง O-3 แทนที่จะเป็น O-2 (Beily, 1985) หมู่อะซิติกของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไซเลนในหญ้าจะถูกดึงออกในสภาวะที่เป็นด่าง (Wilkie, 1979) ในกรณีที่เป็นไซเลนของไม้เนื้ออ่อนจะมีกรดอยู่ 1 หน่วยต่อดีไซโลส 9-12 หน่วย ในขณะที่ไซเลนของไม้เนื้อแข็งจะมีดีไซโลส 5-6 หน่วย Dutton and Smith (1956) แสดงให้เห็นถึงส่วนสำคัญของไซเลนในไม้เนื้ออ่อนซึ่งจะประกอบด้วยพันธะ β -1,4 ซึ่งเป็นพันธะที่เชื่อม β -D-xylopyranose 13 พันธะ พันธะ α -1,2 ซึ่งเป็นพันธะที่เชื่อม 4-O-methyl- α -D-glucuronic acid 3 พันธะ และพันธะ α -1,3 ซึ่งเป็นพันธะที่เชื่อม L-arabinofuranose 1 พันธะและ Dwyer (1939) พบว่ามี methylhexouronic acid อยู่ 1 หน่วยต่อดีไซโลส 11 หน่วยในสายของไซเลน Roudier (1958) สามารถแยกกรดโครนิกได้จากไซเลนของต้นสนสายพันธุ์ Maritime ซึ่งพบว่าประกอบด้วยหน่วยของ 2-O-(α -D-glucopyranosyluronic acid)-D-xylose และได้รายงานว่าร้อยละ 95 ของไซกิ่งประกอบด้วย 4-O-methyl- α -D-glucuronic acid ส่วน Goldschmid and Perlman (1963) พบว่ามีแอลอะราบินโนสหนึ่งหน่วยต่อดีไซโลส 7-11 หน่วย ในขณะที่ Aspinall and McKay (1959); Adams (1965) แสดงให้เห็นว่าไซเลนของไม้เนื้ออ่อนมีแอลอะราบินโนสในไซกิ่งหนึ่งหน่วยต่อดีไซโลส 20-40 หน่วย

2.4 การย่อยสลายไซเลนในวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร

ไซเลนมีคุณสมบัติละลายได้ดีในสารละลายด่างโดยเฉพาะที่ความเข้มข้นสูง (ร้อยละ 4.9-9.8) และอุณหภูมิสูง (70-100 องศาเซลเซียส) (Tsao; et al., 1982) จากคุณสมบัตินี้จึงนิยมสกัดไซเลนจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรด้วยสารละลายด่างที่ร้อน ไซเลนที่ละลายอยู่ในสารละลายด่างสามารถแยกออกได้ โดยทำสารละลายให้เป็นกลางหรือการตกตะกอนด้วยเอธานอล นอกจากนั้นไซเลนยังสามารถละลายได้ในสารละลายกรดอีกด้วย

Tsao et al. (1982) กล่าวว่า การย่อยสลายไซเลนมีสองวิธีคือ ทางเคมีและทางเอนไซม์ โดยให้ผลิตภัณฑ์หลักเป็นน้ำตาลไซโลส การย่อยด้วยวิธีทางเคมีสามารถใช้ได้ทั้งกรดและด่างความเข้มข้นระหว่างร้อยละ 4.0-10.0 ที่อุณหภูมิสูงทำให้สูญเสียพลังงานมาก เนื่องจากปฏิกิริยาที่รุนแรงทำให้เกิดการย่อยสลายทุกองค์ประกอบอย่างไม่จำเพาะ น้ำตาลที่ได้จะถูกทำปฏิกิริยาต่อไปให้ผลิตภัณฑ์ที่ไม่ต้องการ เช่น เฟอฟูรอล (furfural) อีกทั้งยังปฏิกิริยาที่ใช้ต้องเป็นถึงที่ทนต่อการผุกร่อน การย่อยสลายไซเลนด้วยวิธีทางเอนไซม์เป็นที่นิยมเพราะมีข้อดีกว่าวิธีทางเคมีคือ ให้ผลิตภัณฑ์ที่มีความบริสุทธิ์ ปฏิกิริยาการย่อยสลายไม่รุนแรง

วิเชียร (2532) ได้ทำการศึกษาปัจจัยและสภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยฟางข้าวที่ผ่านการแยกกลินด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 1 ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เพื่อผลิตน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลไซโลส โดยใช้เอนไซม์ที่ผลิตจาก *Aspergillus fumigatus*

Fresenius รหัส 4-45-1F และเอนไซม์ไซลันเนส (xylanase) จาก *Humicola lanuginosa* พบว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่ควรเผยแพร่หรือใช้เพื่อการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนผสมในปฏิกิริยา 10 มิลลิลิตรของฟางข้าวที่ผ่านการแยกกลีกริน ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 1 ปริมาณ 0.5 กรัม เอนไซม์จาก *A. fumigatus* Fresenius รหัส 4-45-1F ที่ประกอบด้วยเอนไซม์ Fpase carboxymethylcellulase และ β -xylosidase ความเข้มข้น 9.0 19.6 10.8 200 และ 1.5 หน่วย ตามลำดับ และ xylanase จาก *H. lanuginose* ปริมาณ 200 หน่วย สามารถย่อยสลายฟางข้าวแล้วให้น้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลไซโลส 180 และ 96.1 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ หลังจากบ่มปฏิกิริยาเป็นเวลา 24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5.0

วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรประเภทกลีกรินเซลลูโลส เมื่อได้รับการแยกและย่อยสลายจนได้เป็นน้ำตาลกลูโคสและไซโลสสามารถนำไปเป็นวัตถุดิบเพื่อการผลิตผลิตภัณฑ์ต่างๆ โดยผ่านกระบวนการเทคโนโลยีชีวภาพเช่นเดียวกับน้ำตาลกลูโคส ดังตัวอย่างเช่น นำไปผลิตเอธานอล น้ำตาลไซลิทอล (Barbosa; et al., 1988) กรดอะซิติก 2,3-บิวเทนไดออล อะซิโตน ไอโซโพรพานอลและบิวทานอล

2.5 น้ำตาลไซลิทอล (xylitol)

น้ำตาลไซลิทอลเป็นน้ำตาลแอลกอฮอล์ (sugar alcohol) ชนิดหนึ่ง ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของน้ำตาลไซโลส (xylose) โดยปกติแล้วน้ำตาลไซลิทอลเป็นสารตัวกลางในกระบวนการเมแทบอลิซึมของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Hollmann and Touster, 1957) และยังสามารถพบได้ตามธรรมชาติในผักและผลไม้หลายชนิด (Washutt; et al., 1973) ส่วนการผลิตน้ำตาลไซลิทอลเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมนั้น สามารถผลิตได้จากน้ำตาลไซโลสโดยกระบวนการไฮโดรจีเนชัน (hydrogenation) หรือการผลิตด้วยการกระบวนการหมักจากวัสดุที่มีไซโลสเป็นองค์ประกอบโดยเชื้อจุลินทรีย์ (สารโรจน์, 2537)

2.6 คุณสมบัติของน้ำตาลไซลิทอล

คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพที่สำคัญของน้ำตาลไซลิทอลรวมถึงคุณสมบัติที่สำคัญทางอาหารแสดงในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 แสดงคุณสมบัติต่างๆ ของน้ำตาลไซลิทอล

คุณสมบัติ	รายละเอียด
สูตรโมเลกุล	$C_5H_{12}O_5$
น้ำหนักโมเลกุล	152.1
ลักษณะ	ผงผลึกคริสตัล
สี	ขาว
รสชาติ	หวาน
กลิ่น	ไม่มีกลิ่น
ความหวานสัมพัทธ์	มีความหวานโดยประมาณเท่ากับน้ำตาลซูโครส แต่หวานมากกว่าน้ำตาลกลูโคส น้ำตาลไซโลส น้ำตาลซอร์บิทอล และน้ำตาลแมนนิทอล แต่มีความหวานน้อยกว่าน้ำตาลฟรุคโตส
จุดหลอมเหลว	
จุดเดือด	93.4-94.7 องศาเซลเซียส
การละลายน้ำ	216 องศาเซลเซียส
การละลายในเอธานอล	62.4 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร
การละลายในเมทานอล	102 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร
การดูดความชื้น	6.0 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร
สารปนเปื้อน	ดูดความชื้นได้มากกว่าน้ำตาลซูโครส แต่น้อยกว่าซอร์บิทอล น้ำตาลแมนนิทอล น้ำตาลซอร์บิทอล น้ำตาลกาแลคโตสและน้ำตาลอาราบิทอล

ที่มา : Emodi (1982)

2.7 คุณสมบัติอื่นๆ ที่น่าสนใจของน้ำตาลไซลิทอล

2.7.1 น้ำตาลไซลิทอลสามารถละลายน้ำได้ง่ายและมีความคงตัวสูงแม้จะถูกความร้อนหรือเก็บไว้นานๆ ก็จะไม่เกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดและการเกิดคาราเมล (caramelization) เหมือนน้ำตาลฟรุคโตสหรือเด็คซ์โทรสเมื่อให้ความร้อนสูงกว่า 150 องศาเซลเซียส เนื่องจากน้ำตาลไซลิทอลไม่มีหมู่อัลโดสหรือคีโตส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7.2 น้ำตาลไซลิทอลให้รสหวานและเย็นสดชื่น (cooling effect) คล้ายเมนทอล การละลายของน้ำตาลไซลิทอลต้องการความร้อน (endothermic dissolution) เพราะน้ำตาลไซลิทอลมีค่าความร้อนจำเพาะของการละลายเป็นลบ (negative heat of solution) เท่ากับ -34.8 แคลลอรี่ต่อกรัม ดังตารางที่ 2.3 โดยคุณสมบัติจะเกิดขึ้นเมื่อน้ำตาลไซลิทอลอยู่ในรูปผลึกเท่านั้น แต่เมื่อน้ำตาลไซลิทอลอยู่ในรูปของสารละลายหรืออยู่ในรูปอสัณฐาน (amorphous) จะไม่มีคุณสมบัติข้อนี้

ตารางที่ 2.3 คุณสมบัติของน้ำตาลไซลิทอลเมื่ออยู่ในรูปอสัณฐาน

Polyalcohol	Cooling effect (cal / g at 25°C)
Isomalt	-9.4
Lactitol	
-Monohydrate	-12.7
-Dihydrate	-13.9
Mannitol	-28.9
Sorbitol	-26.5
Xylitol	-34.8

ที่มา : Arron (1993)

2.7.3 น้ำตาลไซลิทอลมีความหวานเย็นเดียวกับน้ำตาลทั่วไป แต่มีความหวานมากกว่าน้ำตาลแมนนิทอลและน้ำตาลซอร์บิทอล 2.5 และ 2.0 เท่า ตามลำดับ ความหวานของน้ำตาลไซลิทอลเมื่อเทียบกับน้ำตาลซูโครสจะมีค่าตั้งแต่ 0.85-1.25 เท่า ขึ้นอยู่กับค่าความเป็นกรด-ด่าง ความเข้มข้นและอุณหภูมิ เป็นต้น ตัวอย่างเช่น ที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 สารละลายน้ำตาลไซลิทอลจะมีความหวานเท่ากับสารละลายน้ำตาลซูโครส เมื่อความเข้มข้นมากกว่าร้อยละ 10 สารละลายน้ำตาลไซลิทอลจะหวานมากกว่า แต่ถ้าความเข้มข้นน้อยกว่าร้อยละ 10 สารละลายน้ำตาลซูโครสจะหวานมากกว่าหรือที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 ความหวานของสารละลายน้ำตาลไซลิทอลเทียบกับสารละลายน้ำตาลซูโครสจะลดลงจาก 103 เป็น 78 เมื่อเพิ่มอุณหภูมิจาก 5 องศาเซลเซียสเป็น 50 องศาเซลเซียส เป็นต้น

2.7.4 น้ำตาลไซลิทอลให้พลังงานต่ำกว่าแต่ยังคงรสชาติเดิมเมื่อผสมกับสารให้ความหวานชนิดอื่น ความหวานและรสชาติจะคงเดิมในขณะที่แคลลอรี่ลดลงร้อยละ 50-70 ซึ่งสามารถใช้ในเครื่องดื่มได้หลายชนิดเหมาะกับผู้บริโภคที่ต้องการควบคุมน้ำหนัก (dietary purpose) โดยมีการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้สำหรับใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปรียบเทียบคุณสมบัติทางกายภาพต่างๆ ระหว่างน้ำตาลไซลิทอลและน้ำตาลซูโครสแสดงในตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 คุณสมบัติทางกายภาพระหว่างไซลิทอลและน้ำตาลซูโครส

คุณสมบัติ	น้ำตาลไซลิทอล	น้ำตาลซูโครส
จุดหลอมเหลว (°ซ)	93.5-94.5	179-186
จุดเดือด (°ซ / เจ็คร้อยหกสิบ มิลลิเมตรปรอท)	216	สลายตัว
ความหนาแน่น (15 °ซ)	1.5	1.59
พลังงาน (แคลอรีต่อกรัม)	4.06	4.06
การหมักด้วยจุลินทรีย์	ไม่ได้	ได้
การเกิดคาราเมล	ไม่เกิด	เกิด
การดูดความชื้น (ร้อยละ)		
ความชื้นร้อยละ 60	0.05	0.02
ความชื้นร้อยละ 92	90	4
ความหนืด(เซนติพอยส์)(20 °ซ)		
ความเข้มข้นร้อยละ 10	1.23	1.31
ความเข้มข้นร้อยละ 60	20.63	58.50

ที่มา : สารโรจน์ (2537)

2.7.5 น้ำตาลไซลิทอลไม่ทำให้ฟันผุเนื่องจากจุลินทรีย์ในช่องปากโดยเฉพาะ *Streptococcus mutans* ไม่สามารถใช้น้ำตาลไซลิทอลเป็นแหล่งคาร์บอนได้ ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างบนเคลือบฟันไม่ต่ำกว่า 5.7 จึงไม่ทำให้เกิดฟันผุ

2.7.6 น้ำตาลไซลิทอลสามารถใช้ในผู้ป่วยเบาหวานได้ เนื่องจากการเผาผลาญน้ำตาลไซลิทอลไม่ขึ้นกับอินซูลิน ดังนั้นจึงไม่ทำให้เกิดภาวะน้ำตาลในเลือดสูง (hyperglycemia) และน้ำตาลในเลือดต่ำ (hypoglycemia)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7.7 น้ำตาลไซลิทอลสามารถยืดอายุการเก็บผลิตภัณฑ์ต่างๆได้ เนื่องจากมีจุลินทรีย์เพียงไม่กี่ชนิดเท่านั้นที่สามารถใช้น้ำตาลไซลิทอลได้ ผลิตภัณฑ์ที่มีน้ำตาลไซลิทอลเป็นองค์ประกอบจึงเกิดการหมักโดยจุลินทรีย์ได้ยาก ทำให้มีอายุการเก็บที่นานขึ้น (long shelf-life)

2.8 การใช้น้ำตาลไซลิทอลในผลิตภัณฑ์อาหาร

มีแนวโน้มในการใช้น้ำตาลไซลิทอลในอุตสาหกรรมอาหารอย่างกว้างขวางในผลิตภัณฑ์อาหารพวกขนมอบ แยม มาร์มาเลดและผลิตภัณฑ์ขนมหวาน เป็นต้น เนื่องจากน้ำตาลไซลิทอลมีคุณสมบัติที่สามารถใช้แทนน้ำตาลธรรมชาติได้และยังมีข้อดีในแง่ที่ไม่ทำให้เกิดฟันผุ แต่การใช้น้ำตาลไซลิทอลยังมีข้อจำกัดอยู่บ้างโดยเฉพาะในเครื่องดื่มน้ำอัดลม ผู้บริโภคมีโอกาสจะได้รับน้ำตาลไซลิทอลในปริมาณสูงมากเกินไปทำให้ท้องเสียได้หรือลักษณะรูปร่างอันหลากหลายของผลึกน้ำตาลไซลิทอล น้ำตาลซูโครสมีผลึกแบบมอนอคลินิก (monoclinic) แต่น้ำตาลไซลิทอลมีผลึกแบบรอมบิก (rhombic) อาจทำให้เนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์มีลักษณะแข็งกระด้าง อย่างไรก็ตาม ข้อจำกัดเหล่านี้กล่าวได้ว่าเป็นปัญหารองเมื่อเทียบกับประโยชน์ที่ได้ โดยปกติมักจะให้คุณภาพที่ทัดเทียมกันหรือดีกว่า เช่น รสหวานเย็นสดชื่นซึ่งช่วยเพิ่มรสชาติของเปปเปอร์มินท์ (peppermint) รสมะนาวและรสต่างๆได้

2.9 ตัวอย่างของการใช้น้ำตาลไซลิทอลในผลิตภัณฑ์อาหาร มีดังนี้

2.9.1 หมากฝรั่ง (chewing gum)

โดยปกติแล้วหมากฝรั่งประกอบด้วยน้ำตาลร้อยละ 50-75 น้ำร้อยละ 3-5 และมีส่วนผสมของกลูโคสไซรัปเป็นตัวทำให้เนื้อสัมผัสนุ่ม (softener) น้ำตาลไซลิทอลสามารถใช้แทนน้ำตาลซูโครสได้ในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 ยกเว้นน้ำตาลซอร์บิทอลและน้ำตาลแมนนิทอลซึ่งมีความหวานน้อยกว่าจะต้องเติมสารให้ความหวานที่ไม่ให้พลังงาน (non-caloric sweetener) ชนิดอื่นแทนเพื่อให้ได้ความหวานเท่าเดิม แต่เนื่องจากน้ำตาลไซลิทอลมีความหนืดน้อยกว่าน้ำตาลซูโครสจึงต้องใช้อาราบิกัม (arabic gum) เป็นส่วนผสมด้วย ความแตกต่างของหมากฝรั่งชนิดที่ใช้น้ำตาลไซลิทอลกับชนิดที่ใช้น้ำตาลซูโครสคือ ชนิดที่ใช้น้ำตาลไซลิทอลจะให้ความรู้สึกเย็นเมื่อเริ่มเคี้ยวเนื่องจากอิทธิพลของความเย็น (cool effect) ซึ่งเป็นคุณสมบัติของน้ำตาลไซลิทอลและจากการศึกษาของ Makinen and Scheinin (1975) พบว่าหมากฝรั่งชนิดที่ใช้น้ำตาลไซลิทอลไม่ทำให้เกิดฟันผุซึ่งมักพบในผู้ที่เคี้ยวหมากฝรั่งชนิดที่ใช้น้ำตาลซูโครสเป็นสารให้ความหวาน

2.9.2 ช็อกโกแลต (chocolate)

สามารถใช้น้ำตาลไซลิทอลในการผลิตช็อกโกแลตแทนน้ำตาลซูโครสได้ในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 แต่จำเป็นต้องใส่สารเติมแต่ง เนื่องจากน้ำตาลไซลิทอลให้ความหนืดต่ำกว่า ปริมาณน้ำตาลไซลิทอลที่ใช้ในช็อกโกแลตมีตั้งแต่ร้อยละ 17-42 แต่ไม่พบปัญหาเกี่ยวกับเนื้อสัมผัสและรสชาติของผลิตภัณฑ์แต่อย่างใด

2.9.3 ทอฟฟี่และการาเมล (toffee and caramel)

เนื่องจากน้ำตาลไซลิทอลไม่มีคุณสมบัติในการเกิดปฏิกิริยามอลาร์ดและการเกิดการาเมลจึงจำเป็นต้องเติมน้ำตาลฟรุกโทสเพื่อคงคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์เอาไว้หรืออาจเติมกลีโคซิลแลวแทนก็ได้และเพื่อป้องกันการตกผลึกของน้ำตาลไซลิทอลซึ่งจะทำให้ผลิตภัณฑ์มีเนื้อสัมผัสแข็งกระด้าง ควรหลีกเลี่ยงการใช้มอลโตเด็คซ์ตริน (maltodextrin) และไลเคซีน (lycasein) เป็นส่วนผสม เนื่องจากพบว่าอนุพันธ์ของเปปติโดมีผลต่อการตกผลึกของน้ำตาลไซลิทอล

2.9.4 เจลาติน (gelatin desserts)

การใช้น้ำตาลไซลิทอลในผลิตภัณฑ์เจลาตินมีคุณสมบัติเช่นเดียวกับกใช้น้ำตาลซูโครสเป็นสารให้ความหวาน

2.9.5 พุดดิ้ง (pudding)

การผลิตพุดดิ้งไม่มีการเปลี่ยนแปลงสูตรแต่อย่างใดเมื่อใช้น้ำตาลไซลิทอลแทนน้ำตาลซูโครสและไม่มีผลต่อรสชาติของผลิตภัณฑ์

2.9.6 แยม เยลลี่และมาร์มาเลด (jams jellies and marmalades)

กรณีนี้สามารถใช้น้ำตาลไซลิทอลแทนน้ำตาลซูโครสได้เช่นกันในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 แต่ควรหลีกเลี่ยงการใช้น้ำตาลไซลิทอลมากกว่าร้อยละ 40 เพราะจะทำให้เกิดการตกผลึกของน้ำตาลไซลิทอลได้ในระหว่างการเก็บรักษา และไม่มีควมจำเป็นต้องเติมสารกันบูดแต่อย่างใด เนื่องจากจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ที่ทำให้เกิดความเสี่ยงของผลิตภัณฑ์ไม่สามารถใช้น้ำตาลไซลิทอลเป็นแหล่งคาร์บอนได้ แต่ควรเพิ่มเพคตินในปริมาณที่มากขึ้นเพราะน้ำตาลไซลิทอลให้ความหนืดต่ำกว่าน้ำตาลซูโครสและจำเป็นต้องเติมเกลือแคลเซียมเพื่อช่วยในการเกิดเจลของแยม นอกจากนี้ยังพบว่าแยมและมาร์มาเลดที่ใช้น้ำตาลไซลิทอลแทนจะให้รสชาติและความคงตัวของสีดีกว่าการใช้น้ำตาลซูโครสอีกด้วย

2.9.7 ลูกกวาด (hard candy of boiled sweets)

การผลิตลูกกวาดโดยการใช้น้ำตาลไซลิทอลอาจมีปัญหาอยู่บ้าง เนื่องจากการตกผลึกของน้ำตาลไซลิทอลจะเกิดขึ้นในขณะที่ทำให้เย็นและความหนืดต่ำ จึงต้องผลิตลูกกวาดโดย

การอัดลูกกวาดร้อนเข้าแม่พิมพ์แทน

2.9.8 ผลิตภัณฑ์ขนมอบ (bakery goods)

พบว่าการใช้น้ำตาลไซลิทอลในผลิตภัณฑ์ขนมอบนั้น ไม่จำเป็นต้องมีการเปลี่ยนแปลงสูตรขนมแต่อย่างใด แต่อาจต้องเติมน้ำตาลฟรุกโตสเพื่อรักษาคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์อาหารที่ต้องการการเกิดสีน้ำตาลและการเกิดคาราเมล นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์ที่ต้องการปริมาณจากการหมักยีสต์และน้ำตาลนั้น อาจไม่เหมาะสมนักสำหรับการใช้น้ำตาลไซลิทอล เพราะผลิตภัณฑ์ขนมอบที่ใช้น้ำตาลไซลิทอลนั้นจะมีปริมาณที่น้อยกว่าและมีเนื้อสัมผัสที่แน่นกว่า อย่างไรก็ตาม ผลิตภัณฑ์ขนมอบที่ใช้น้ำตาลไซลิทอล เหมาะสำหรับคนที่เป็นโรคเบาหวาน

2.9.9 ไอศกรีม (ice-cream)

การใช้น้ำตาลไซลิทอลแทนน้ำตาลซูโครส กลูโคสไซรัปหรือน้ำตาลอินเวอร์ต (invert sugar) ในผลิตภัณฑ์แช่แข็งจะทำให้คุณสมบัติการหลอมเหลวของผลิตภัณฑ์เปลี่ยนไป คือที่อุณหภูมิเดียวกัน ผลิตภัณฑ์ที่ใช้น้ำตาลไซลิทอลจะมีคุณสมบัติอ่อนกว่าจึงจำเป็นต้องมีการเติมสารที่ช่วยให้แข็ง (thickener) สำหรับไอศกรีมที่ใช้น้ำตาลไซลิทอลนั้นไม่พบว่ามีเปลี่ยนแปลงเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -24 องศาเซลเซียส นานถึง 6 เดือนและไม่พบการตกผลึกอีกด้วย

2.9.10 ซอสมะเขือเทศและนมข้นหวาน (ketchup and condensed milk)

น้ำตาลไซลิทอลสามารถปรับปรุงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ได้คือ ป้องกันการเกิดสีน้ำตาลและการเสื่อมเสียโดยจุลินทรีย์ได้เป็นอย่างดี

2.9.11 ซอสและอื่นๆ (marinade sauces and pastes)

เนื่องจากเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีองค์ประกอบของน้ำตาลต่ำ ฉะนั้นการทดแทนน้ำตาลซูโครสด้วยน้ำตาลไซลิทอลจึงไม่ประสบปัญหาแต่อย่างใด

2.9.12 โยเกิร์ต (yoghurt)

จากการศึกษาพบว่าการใช้น้ำตาลไซลิทอลร้อยละ 8 มีความเหมาะสมมากที่สุดสำหรับการผลิตโยเกิร์ต โดยที่การเติมน้ำตาลไซลิทอลหลังการบ่มจะไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างของผลิตภัณฑ์ แต่ถ้าเติมน้ำตาลไซลิทอลก่อนการบ่ม ผลิตภัณฑ์ที่ได้จะมีค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 4.4 ซึ่งสูงกว่ากรณีที่ใช้น้ำตาลซูโครสและผลิตภัณฑ์ที่ได้จะมีความหนืดน้อยกว่า อย่างไรก็ตาม จะไม่พบความแตกต่างเกี่ยวกับการยอมรับของผู้บริโภค

2.9.13 เครื่องดื่ม (refreshment)

เนื่องจากการได้รับน้ำตาลไซลิทอลในขณะเดียวกันมากเกินไปอาจทำให้ท้องเสียได้ (laxative effect) จึงต้องใช้น้ำตาลไซลิทอลผสมกับสารให้ความหวานชนิดอื่น เช่น เมื่อใช้น้ำตาลไซลิทอลร้อยละ 3.9 และไซคลาเมต (cyclamate) ร้อยละ 0.133 แทนน้ำตาลในผลิตภัณฑ์ น้ำอัดลมจะสามารถลดพลังงานที่ร่างกายจะได้รับถึงร้อยละ 60 จึงเหมาะต่อคนที่เป็นโรคเบาหวาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และคนที่ต้องการควบคุมน้ำหนัก ส่วนนมสเตอริไลซ์ยูเอชทีชนิดช็อกโกแลต เหมาะที่จะใช้น้ำตาลไซลิทอลร้อยละ 4 โดยไม่ทำให้คุณภาพทางกายภาพ เช่น ความหนืดและสี เปลี่ยนแปลงไป และยังเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค สำหรับการเก็บรักษามากกว่า 1 เดือนที่อุณหภูมิห้องก็ไม่ทำให้เกิดผลิตภัณฑ์เสื่อมคุณภาพแต่อย่างใด

2.9.14 ผลิตภัณฑ์ทางเภสัชกรรม (pharmaceutical preparation)

น้ำตาลไซลิทอลมีข้อได้เปรียบคือไม่ทำให้เกิดฟันผุ (non-cariogenicity) และไม่เกิดการหมักโดยจุลินทรีย์ จึงใช้เป็นสารให้ความหวานในการเตรียมผลิตภัณฑ์ชนิดเหลวทางเภสัชกรรม เพราะฉะนั้นการใช้ดังกล่าวสำหรับคนไข้ที่ไม่ได้ทำความสะอาดช่องปากเป็นเวลานานจึงไม่ทำให้เกิดฟันผุ

2.10 ข้อจำกัดในการใช้ผลิตภัณฑ์น้ำตาลไซลิทอล

2.10.1 การบริโภคน้ำตาลไซลิทอลเป็นจำนวนมากในคราวเดียวจะทำให้เกิดอาการท้องเสียได้ เนื่องจากน้ำตาลไซลิทอลมีคุณสมบัติเป็นยาระบายเพราะน้ำตาลไซลิทอลมีคุณสมบัติเหมือนคาร์โบไฮเดรตอื่นๆ คือ ดูดซับน้ำไว้อย่างช้าๆ ดังนั้นเมื่อเริ่มบริโภคเป็นครั้งแรกควรบริโภคในปริมาณต่ำๆ ก่อน (ราว 30 กรัมต่อวัน) และค่อยๆ จะเพิ่มปริมาณขึ้นแต่จะบริโภคได้สูงสุดราว 200-300 กรัมต่อวัน

2.10.2 การใช้น้ำตาลไซลิทอลในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อให้มีรสชาติเย็นสดชื่นนั้น จะต้องใช้น้ำตาลไซลิทอลที่อยู่ในรูปผลึกเท่านั้น ซึ่งอาจทำให้เกิดลักษณะผิวสัมผัสเปลี่ยนแปลงไปหรือไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคได้

2.10.3 น้ำตาลไซลิทอลมีราคาแพงเมื่อเทียบกับสารให้ความหวานชนิดอื่น เนื่องจากต้นทุนที่ใช้ในการผลิตสูงทำให้การใช้ไม่แพร่หลายเท่าที่ควร น้ำตาลไซลิทอลจะสามารถใช้ในผู้ป่วยโรคเบาหวานได้ แต่ในอาหารสำหรับผู้ป่วยเบาหวานกลับใช้ฟรุคโตสแทนเพราะมีราคาถูกกว่าและไม่เกิดผลข้างเคียงเช่นเดียวกับการใช้น้ำตาลไซลิทอล

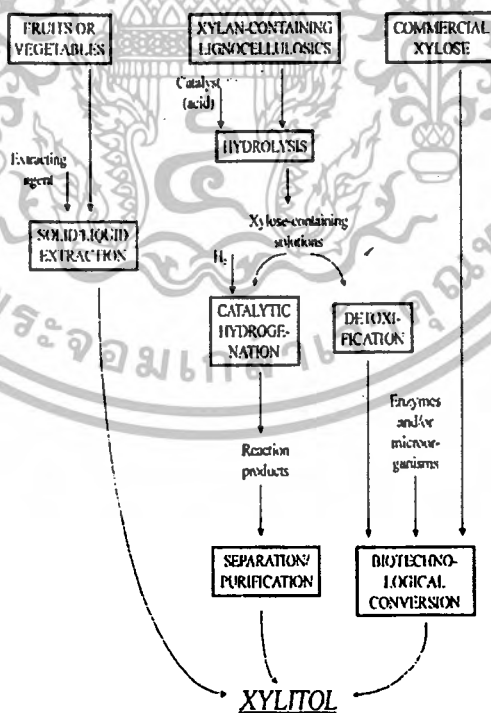
2.11 การผลิตน้ำตาลไซลิทอล

น้ำตาลไซลิทอลเริ่มมีการผลิตในระดับอุตสาหกรรมเป็นครั้งแรกในประเทศฟินแลนด์เมื่อปี พ.ศ. 2519 โดยบริษัท ฟินนิชซูการ์ จำกัด มีกำลังการผลิตมากกว่า 3,000 ตันต่อปี และต่อมาในปี พ.ศ. 2520 ได้มีการร่วมมือกันระหว่างบริษัทฟินนิชซูการ์และฮอฟมันน์ลาโรซแห่งประเทศสวีเดน เซอร์แลนด์ ก่อตั้งบริษัทร่วมกันชื่อว่า ไซโลฟิน (Xylofin Co., Ltd.) ขึ้น โดยในปี พ.ศ. 2522 มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การผลิตน้ำตาลแอลกอฮอล์ทั่วโลกปริมาณถึง 345,000 ตัน ซึ่งในจำนวนนี้เป็นน้ำตาลไซลิทอลและแมนนิทอลประมาณ 6,000 ตัน (สารโรจน์, 2537)

ปัจจุบันนี้มีการใช้น้ำตาลไซลิทอลในผลิตภัณฑ์อาหารอย่างกว้างขวาง ทั้งประเทศในแถบยุโรปและอเมริกา โดยเฉพาะในผลิตภัณฑ์ประเภทหมากฝรั่งและพบว่ามีความนิยมที่จะใช้น้ำตาลไซลิทอลมากขึ้นในอุตสาหกรรมประเภทขนมหวาน (confectionary) และขนมขบเคี้ยว (snack products) แต่การใช้น้ำตาลไซลิทอลในผลิตภัณฑ์ดังกล่าวยังมีข้อจำกัดอยู่ที่การผลิตน้ำตาลไซลิทอลมีต้นทุนการผลิตสูงจึงทำให้ราคาของน้ำตาลไซลิทอลแพงกว่าน้ำตาลทั่วไป อย่างไรก็ตาม ได้มีการค้นคว้าเพื่อลดต้นทุนการผลิตน้ำตาลไซลิทอลโดยกระบวนการหมัก (fermentation) ด้วยจุลินทรีย์โดยการนำเอาวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่มีองค์ประกอบของน้ำตาลไซโลสเป็นวัตถุดิบ ซึ่งคาดว่าจะทำให้ต้นทุนการผลิตต่ำกว่ากระบวนการทางเคมี การผลิตไซลิทอลมีหลายวิธีและสามารถใช้วัตถุดิบได้หลายชนิด เช่น ผักและผลไม้ ของเสียที่มีไซเลนเป็นองค์ประกอบ เช่น วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร เช่น ฟางข้าว ชังข้าวโพด ชานอ้อย เป็นต้น เศษเหลือจากอุตสาหกรรมไม้และกระดาษหรืออาจใช้น้ำตาลไซโลสเป็นวัตถุดิบโดยตรงก็ได้ ซึ่งแต่ละวิธีจะมีกระบวนการแตกต่างกันไปดังแสดงในภาพที่ 2.8



ภาพที่ 2.8 วิธีการต่างๆ ที่ใช้ในการผลิตน้ำตาลไซลิทอล

ที่มา : Parajo et. al. (1998)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.12 วิธีต่าง ๆ ที่ใช้ในการผลิตไซลิทอล

2.12.1 การสกัดจากผักและผลไม้

การผลิตน้ำตาลไซลิทอลสามารถผลิตได้จากแหล่งธรรมชาติ โดยการสกัดจากผักและผลไม้โดยตรง เช่น กะหล่ำปลี มะเขือยาว ผักโขม สตรอเบอร์รี่และราสเบอร์รี่ โดยปริมาณน้ำตาลไซลิทอลในผักและผลไม้ต่างๆ แสดงในตารางที่ 2.5 ซึ่งสามารถสกัดได้ในปริมาณที่ต่ำมากเมื่อเทียบกับปริมาณวัตถุดิบที่ใช้จึงไม่คุ้มค่าที่จะผลิตในเชิงพาณิชย์

ตารางที่ 2.5 ปริมาณน้ำตาลไซลิทอลในผักและผลไม้

ผักและผลไม้	ปริมาณน้ำตาลไซลิทอล (มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง)
Raspberries	268
Strawberries	362
Yellow plums	935
Endivis	258
Lettuce	131
Cauliflower	300
Eggplant	180
Yellow boletus mushroom	128

ที่มา : Emodi (1982)

2.12.2 การผลิตน้ำตาลไซลิทอลโดยกระบวนการทางเคมี

เป็นวิธีการผลิตที่ปัจจุบันใช้ในการผลิตไซลิทอลในระดับอุตสาหกรรมและใช้วัตถุดิบที่เป็นน้ำตาลไซโลส ซึ่งได้จากวัสดุที่มีไซเลนเป็นองค์ประกอบ ประกอบด้วยขั้นต่าง ๆ ดังนี้

2.12.2.1 การไฮโดรไลซิส

เป็นการสกัดน้ำตาลไซโลสจากเฮมิเซลลูโลสโดยใช้กรดซัลฟิวริกเจือจาง ซึ่งวิธีที่เป็นที่นิยม คือ อัลตราฟาสต์ไฮโดรไลซิส (ultrafast hydrolysis) โดยใช้กรดซัลฟิวริกเจือจาง ความเข้มข้นร้อยละ 0.5-1.0 อุณหภูมิ 200-210 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วินาที ซึ่งจะได้น้ำตาลไซโลสออกมา

2.12.2.2 การทำน้ำตาลไซโลสให้บริสุทธิ์

เมื่อผ่านกระบวนการไฮโดรไลซิสแล้ว จะได้น้ำตาลไซโลสอยู่ในไฮโดรไลเสท ซึ่งสามารถทำให้บริสุทธิ์ได้ 2 วิธี คือ

2.12.2.2.1 แบบแยกน้ำตาลไซโลส วิธีนี้จะกำจัดสารแขวนลอย ตะกอน สีและไอออนอื่นๆและใช้วิธีโครมาโตกราฟีเพื่อแยกเอาน้ำตาลไซโลสออกมาน้ำตาลชนิดอื่นๆ ทำให้ได้น้ำตาลไซโลสบริสุทธิ์

2.12.2.2.2 แบบไม่แยกน้ำตาลไซโลส วิธีนี้จะแยกเอาสารอื่น ๆ พวก ตะกอน ไอออนและสีออก แต่ไม่แยกเอาน้ำตาลชนิดอื่นออกไป สารละลายที่ได้น้ำตาลหลายชนิด เป็นองค์ประกอบแต่มิมีน้ำตาลไซโลสเป็นองค์ประกอบหลักดังแสดงในตารางที่ 2.6

ตารางที่ 2.6 องค์ประกอบของสารละลายน้ำตาลที่ได้จากไฮโดรไลเสท

น้ำตาล	ปริมาณ (ร้อยละ)
อะราบิโนส	6.3
ไซโลส	77.5
แมนโนส	7.8
กาแลคโตส	4.5
กลูโคส	4.5

ที่มา : Hyvoenen et. al. (1982)

2.12.2.3 การไฮโดรจีเนชัน

เป็นการเปลี่ยนน้ำตาลไซโลสให้เป็นน้ำตาลไซลิทอล ภายใต้สภาวะที่มีความดัน 50 บรรยากาศ อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 2.5 ชั่วโมง โดยใช้โลหะนิกเกิลเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในขั้นนี้ ซึ่งถ้ามีน้ำตาลอื่นปนอยู่น้ำตาลเหล่านั้นก็จะเปลี่ยนเป็นน้ำตาลแอลกอฮอล์ด้วย ดังแสดงในตารางที่ 2.7

ตารางที่ 2.7 องค์ประกอบของสารละลายน้ำตาลแอลกอฮอล์ที่ได้จากระบวนการไฮโดรจีเนชัน

น้ำตาล	ปริมาณ (ร้อยละ)
อะราบิทอล	9
ไซลิทอล	64.5
แมนนิทอล	7.5
กาแลคทิทอล	35
ซอร์บิทอล	4.5
อื่นๆ	9.5

ที่มา : Hyvoenen et. al. (1982)

2.12.2.4 การทำไซลิทอลให้บริสุทธิ์

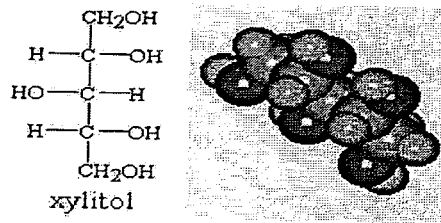
สารละลายน้ำตาลแอลกอฮอล์ที่ได้จะต้องนำมาผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์โดยนำมากรองแยกเอาโลหะ निकเกิดออก แล้วแยกเอาไซลิทอลออกมาโดยวิธีทางโครมาโตกราฟี จากนั้นทำการตกผลึกไซลิทอลจะได้ไซลิทอลที่มีความบริสุทธิ์ร้อยละ 99 สูตรโครงสร้างของน้ำตาลไซลิทอลแสดงได้ดังภาพที่ 2.9

แม้ว่าการผลิตไซลิทอลด้วยวิธีทางเคมีจะเป็นวิธีที่ใช้กันในทางอุตสาหกรรมทั่วไป แต่ต้นทุนในการผลิตก็ยังคงสูงอยู่ เนื่องจากขั้นตอนในการแยกและการทำให้บริสุทธิ์ยังทำได้ยาก ทำให้ไซลิทอลมีราคาแพงและไซลิทอลที่ได้ก็มีความบริสุทธิ์ต่ำ จึงทำให้มีการถกค้นวิจัยเพื่อทำการผลิตไซลิทอลด้วยวิธีทางเทคโนโลยีชีวภาพขึ้นมาแทนวิธีการทางเคมี

2.13 การผลิตด้วยวิธีการทางเทคโนโลยีชีวภาพ

การผลิตไซลิทอลโดยกระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพ เป็นที่สนใจเนื่องจากมีแนวโน้มที่จะสามารถนำมาทดแทนการผลิตโดยวิธีทางเคมีที่มีต้นทุนสูงได้ การผลิตไซลิทอลโดยวิธีนี้จะใช้เอนไซม์หรือจุลินทรีย์ในการผลิตไซลิทอล แต่กระบวนการผลิตโดยใช้เอนไซมนั้นค่อนข้างจะยุ่งยากและไม่เป็นที่นิยมเท่ากระบวนการผลิตโดยใช้จุลินทรีย์ จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตไซลิทอลได้หลายชนิด ตัวอย่างเช่น แบคทีเรียได้แก่ *Corynebacterium* sp. *Mycobacterium smegmatis* ราได้แก่ *Petromyces albertensis* แต่จุลินทรีย์ที่นิยมที่สุดในการผลิตไซลิทอล คือ ยีสต์ซึ่งมียีสต์อยู่หลายชนิดที่มีความสามารถในการผลิตไซลิทอล เช่น *Candida tropicalis* *C. Guilliermondii* *C. boidinii* และ *Debaryomyces hansenii* เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.9 แสดงสูตร โครงสร้างของน้ำตาลไซลิทอล

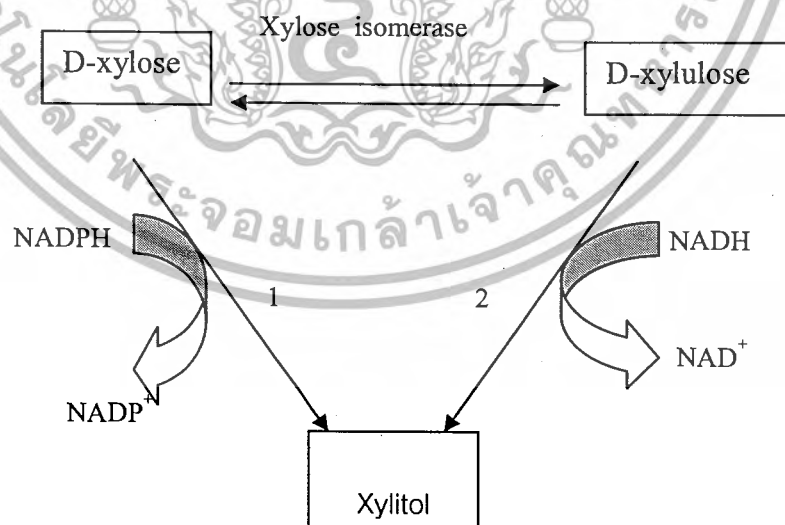
ที่มา : พาณิณและวริยา (2545)

2.14 กระบวนการและเมแทบอลิซึมในการผลิตไซลิทอลโดยจุลินทรีย์

Hofer et al. (1971) รายงานว่าการเกิดไซลิทอลจากไซโลสในจุลินทรีย์สามารถเกิดได้

2 วิธี คือ

1. ไซโลสจะเปลี่ยนไปเป็นไซลิทอลโดยตรงโดยเอนไซม์ไซโลสรีดักเทสที่มีนิโคตินาไมด์อะดีนไดนิวคลีโอไทด์ฟอสเฟตในรูปรีดิวซ์ (NADPH) เป็นโคเอนไซม์
2. ไซโลสถูกเปลี่ยนไอโซเมอร์ไปเป็นไซลูโลสก่อนด้วยเอนไซม์ไอโซเมอเรส จากนั้นก็จะถูกรีดิวซ์ไปเป็นไซลิทอลโดยเอนไซม์ไซลูโลสรีดักเทส โดยมีนิโคตินาไมด์อะดีนไดนิวคลีโอไทด์ในรูปรีดิวซ์ (NADH) เป็นโคเอนไซม์ ดังภาพที่ 2.10



1 = xylose reductase

2 = xylulose reductase

ภาพที่ 2.10 วิธีการเกิดน้ำตาลไซลิทอลจากเมแทบอลิซึมของไซโลส

เอกสารนี้เป็นเอกสารลิขสิทธิ์สงวนไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Barbosa et al. (1988) ได้ศึกษามาเมแทบอลิซึมของไซโลสในยีสต์ ดังภาพที่ 2.11 เพื่อคำนวณหาผลผลิตตามทฤษฎีของการเปลี่ยนไซโลสโดยพิจารณาจาก 4 สภาวะ

1. โคเอนไซม์ 2 ชนิดเข้าไปเกี่ยวข้องกับสองขั้นแรกของกระบวนการสลายไซโลสดังนี้คือ การรีดิวซ์ไซโลสไปเป็นไซลิตอลด้วยเอนไซม์ไซโลสรีดักเตสนั้นใช้โคเอนไซม์นิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ฟอสเฟตในรูปรีดิวซ์ ส่วนการออกซิโดไซลิตอลไปเป็นไซลูโลสด้วยเอนไซม์ไซลิตอลดีไฮโดรจีเนสนั้นใช้โคเอนไซม์นิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ (NAD^+)

2. ไซโลสทั้งหมดถูกรีดิวซ์ไปเป็นไซลิตอลโดยโคเอนไซม์นิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ฟอสเฟตในรูปรีดิวซ์นี้สังเคราะห์มาจากวัฏจักรเพนโตสและไซลิตอลถูกออกซิโดไซไปเป็นไซลูโลสโดยที่โคเอนไซม์นิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์นี้สังเคราะห์มาจากกระบวนการหายใจ

3. ยีสต์ไม่มีกลไกการเปลี่ยนแปลงไปมาระหว่างนิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ในรูปรีดิวซ์และนิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ฟอสเฟตในรูปรีดิวซ์ เนื่องจากไม่มีกระบวนการเปลี่ยนแปลงระหว่างโคเอนไซม์ทั้งสอง

4. ภายใต้สภาวะที่เซลล์ไม่มีการเจริญเติบโต ไซลิตอลจะถูกออกซิโดไซเพื่อการสังเคราะห์นิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ฟอสเฟตในรูปรีดิวซ์เท่านั้น ส่วนไซลิตอลที่เหลือจะถูกปล่อยออกมาออกเซลล์

แต่วิธีโดยทั่วไปที่เป็นวิธีในการเปลี่ยนไซโลสไปเป็นไซลิตอลก็คือ วิธีออกซิโด-รีดักชัน (oxido-reduction) ซึ่งมีการศึกษาวิธีนี้ในยีสต์หลายชนิด Furlan et al. (1994) รายงานว่ากระบวนการดังกล่าวจะเกิดขึ้นได้ ต้องอาศัยโคเอนไซม์จากกระบวนการหายใจแบบใช้ออกซิเจน

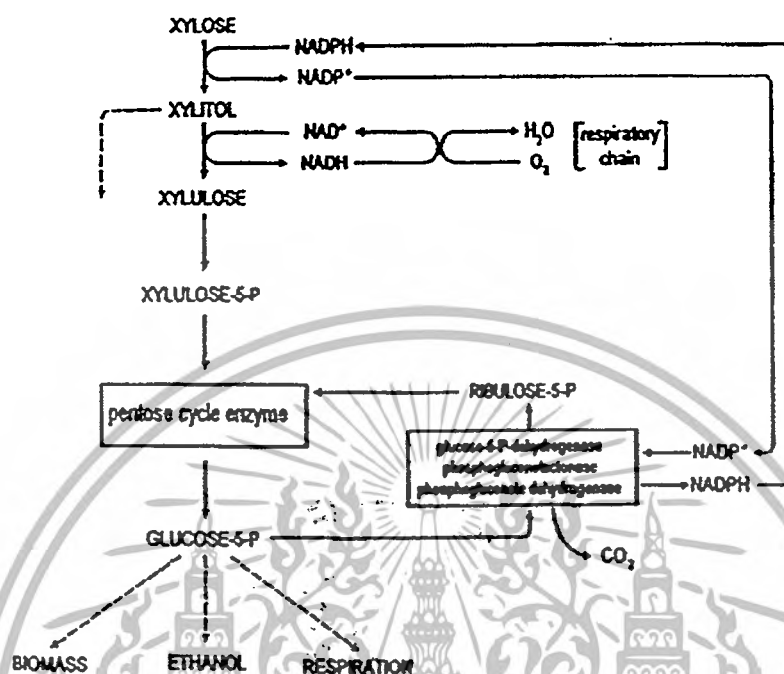
2.14.1 กระบวนการเมแทบอลิซึมของการผลิตไซลิตอลโดยยีสต์

ยีสต์จะใช้น้ำตาลไซโลสแล้วเปลี่ยนมาเป็นไซลูโลส-5-ฟอสเฟต (xylulose-5-phosphate) เพื่อเข้าสู่วิถีอื่นต่อไป โดยเมื่อน้ำตาลไซโลสเข้าสู่เซลล์ยีสต์ก็จะถูกเปลี่ยนเป็นไซลูโลสโดยปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันซึ่งการเปลี่ยนแปลงน้ำตาลไซโลสโดยวิธีนี้จะพบในจุลินทรีย์พวกยูคาริโอต (eukaryote) โดยมีเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องสองชนิดคือ เอนไซม์ไซโลสรีดักเตส (xylose reductase : XR) ซึ่งมีโคเอนไซม์นิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ฟอสเฟตในรูปรีดิวซ์ร่วมในปฏิกิริยาเพื่อรีดิวซ์ไซโลสไปเป็นไซลิตอลและเอนไซม์ไซลิตอลดีไฮโดรจีเนส (xylitol dehydrogenase) ซึ่งใช้นิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ฟอสเฟต (NADP^+) เป็นโคเอนไซม์โดยจะออกซิโดไซไซลิตอลที่เกิดขึ้นให้กลายเป็นไซลูโลสและเมื่อยีสต์เปลี่ยนไซโลสให้เป็นน้ำตาลไซลูโลสแล้ว ไซลูโลสก็จะเปลี่ยนไปเป็นไซลูโลส-5-ฟอสเฟตโดยปฏิกิริยาฟอสโฟรีเลชัน (phosphorylation) โดยเอนไซม์ไซลูโลสไคเนส (xylulose kinase) แล้วไซลูโลส-5-ฟอสเฟตก็จะเข้าสู่วิถีเพนโตส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ฟอสเฟตซึ่งจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยตัวเร่งปฏิกิริยาหลักๆ 2 ตัวคือ นิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ฟอสเฟตเชื่อมกับกลูโคส-6-ฟอสเฟตดีไฮโดรจีเนส (GPDH) และนิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ฟอสเฟตเชื่อมกับกลูโคส-6-ฟอสเฟตดีไฮโดรจีเนส สามารถอธิบายการเจริญของยีสต์ที่ใช้ไซโลสเปรียบเทียบกับ การเจริญโดยใช้กลูโคสได้และอีกทางหนึ่งเมื่อเข้าสู่วิถีเพนโตสฟอสเฟต ไซโลส-5-ฟอสเฟตก็จะเปลี่ยนไปเป็นน้ำตาลฟอสเฟตชนิดต่างๆ เช่น กลีเซอรอลดีไฮด์-3-ฟอสเฟต (G3P) และฟรุคโตส-6-ฟอสเฟต (F6P) แล้วเข้าสู่วิถีเอดแมนเมเยอร์ฮอฟ (Embden-Meyerhof-Parnas : EMP) เพื่อสร้างไพรูเวตเข้าสู่วัฏจักรเครบส์เพื่อสร้างพลังงานและเซลล์ต่อไป อีกวิธีหนึ่งไซโลส-5-ฟอสเฟตจะเปลี่ยนไปเป็นกลีเซอรอลดีไฮด์-3-ฟอสเฟตและอะซิetyl ฟอสเฟต (acetyl phosphate) โดยเอนไซม์ไซโลส-5-ฟอสเฟตฟอสโฟคีโตเลส (xylulose-5-phosphate phosphoketolase) กลีเซอรอลดีไฮด์-3-ฟอสเฟตจะเข้าสู่วิถีเอดแมนเมเยอร์ฮอฟ ส่วนอะซิetyl ฟอสเฟตจะเปลี่ยนไปเป็นอะซิetyl-CoA ซึ่งจะเปลี่ยนไปเป็นอะซิetyl-CoA แล้วเข้าสู่วัฏจักรเครบส์ต่อไปกับการเปลี่ยนเป็นเอทานอล ส่วนไพรูเวตที่ได้จะเปลี่ยนไปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น เอทานอล คาร์บอนไดออกไซด์และกรดอินทรีย์ต่างๆ เป็นต้น ยีสต์บางสายพันธุ์นั้นเมื่อใช้น้ำตาลไซโลสในสภาวะที่มีออกซิเจนจำกัด จะสามารถสะสมไซลิทอลได้ในปริมาณที่มาก เนื่องจากชนิดของโคเอนไซม์ที่ใช้ในปฏิกิริยาของเอนไซม์ไซโลสรีดักเทสคือ นิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ฟอสเฟตในรูปรีดิวซ์ แต่โคเอนไซม์ในปฏิกิริยาที่เร่งโดยเอนไซม์ไซลิทอลดีไฮโดรจีเนสเป็นนิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ ดังนั้นในสภาวะที่ออกซิเจนจำกัดจะเกิดการสะสมของนิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ในรูปรีดิวซ์ และนิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ฟอสเฟตในรูปรีดิวซ์ในปริมาณมากและยังไม่สามารถนำเอนิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ฟอสเฟตที่เกิดจากปฏิกิริยาที่เปลี่ยนไซโลสเป็นไซลิทอลมาใช้ได้ จึงทำให้เกิดการสะสมไซลิทอลขึ้น

การผลิตไซลิทอลในยีสต์โดยใช้ไซโลสเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงาน ในสภาวะที่มีออกซิเจนจำกัดหรือไม่มีการเจริญเติบโต ไซลิทอลส่วนใหญ่จะถูกปล่อยออกมานอกเซลล์ โดยมีบางส่วนถูกออกซิไดซ์ไปเพื่อสังเคราะห์นิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ฟอสเฟตในรูปรีดิวซ์เมื่อทำสมดุลคาร์บอนและโคเอนไซม์ดังสมการที่ 1-9 แล้ว จะได้ผลทางทฤษฎีของ ไซลิทอลและไซโลสที่ถูกใช้ (Barbosa; et al. 1988)

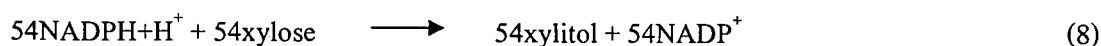
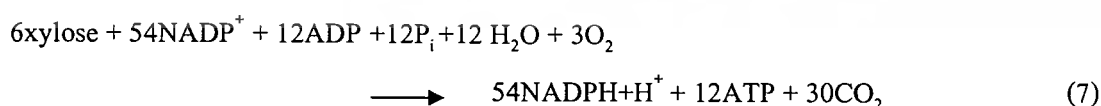


ภาพที่ 2.11 การสร้างและการใช้โคเอนไซม์ (coenzyme regeneration) ในยีสต์ที่หมักน้ำตาลไซโลสได้

ที่มา : Barbosa et al. (1988)



จากสมการที่ 1-6



จากสมการที่ 1-6

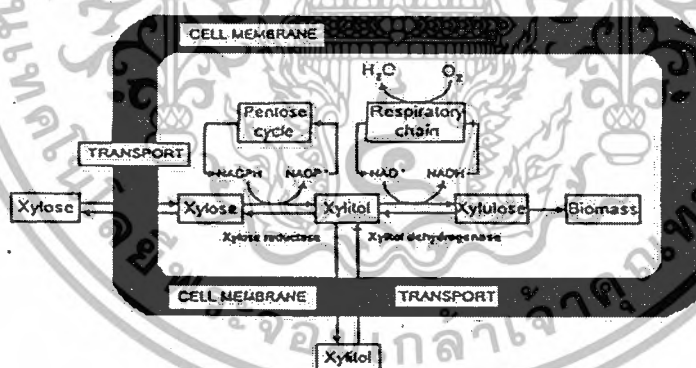


ผลผลิตของไซลิตอล = $54 : 60 = 0.905$ โมลของไซลิตอลต่อโมลของไซโลส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Horitsu et al. (1992) รายงานว่ากระบวนการผลิตน้ำตาลไซลิทอลที่มีประสิทธิภาพนั้น ในขั้นตอนแรกต้องเพาะเลี้ยงเซลล์ให้เติบโตสูงสุดโดยการให้ออกซิเจนอย่างเพียงพอและลดการให้ออกซิเจนในช่วงการผลิตน้ำตาลไซลิทอล เนื่องจากการผลิตน้ำตาลไซลิทอลจะเกิดขึ้นในสภาวะที่มีออกซิเจนจำกัด ถ้ามีการให้ออกซิเจนสูงตลอดระยะเวลาการเพาะเลี้ยงจะทำให้น้ำตาลไซลิทอลถูกเปลี่ยนไปเป็นน้ำตาลไซลูโลส ดังนั้นการให้ออกซิเจนสูงจึงเหมาะสำหรับช่วงการเจริญเติบโตเท่านั้น

Sirisansaneeayakul et al. (1992) อธิบายถึงการใช้น้ำตาลไซโลสของเซลล์ผ่านวิถีเพนโตสฟอสเฟตซึ่งไซโลสจะเข้าสู่ภายในเซลล์และถูกเปลี่ยนเป็นน้ำตาลไซลิทอลด้วยการทำงานของเอนไซม์ไซโลสรีดักเตสที่มีโคเอนไซม์นิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ฟอสเฟตในรูปรีดิวซ์ร่วมในปฏิกิริยา จากนั้นน้ำตาลไซลิทอลจะถูกเปลี่ยนเป็นน้ำตาลไซลูโลสด้วยการทำงานของเอนไซม์ไซลิทอลดีไฮโดรจีเนสที่อาศัยนิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์เป็นโคเอนไซม์ จากนั้นน้ำตาลไซลูโลสที่ได้จะถูกเติมฟอสเฟตก่อนเข้าสู่วิถีเพนโตสฟอสเฟต เพื่อที่จะนำไปสร้างเป็นมวลชีวภาพของเซลล์หรือพลังงานต่อไปดังแสดงในภาพที่ 2.12



ภาพที่ 2.12 เมแทบอลิซึมของน้ำตาลไซโลสในยีสต์

ที่มา : Sirisansaneeayakul et al. (1992)

2.14.2 กระบวนการเมแทบอลิซึมในการผลิตไซลิทอลโดยแบคทีเรีย

แบคทีเรียส่วนใหญ่สามารถสร้างเอนไซม์ไซโลสไอโซเมอเรสได้ จึงสามารถเปลี่ยนไซโลสให้เป็นไซลูโลสได้ จากนั้นไซลูโลสก็จะถูกเติมฟอสเฟตกลายเป็นไซลูโลส-5-ฟอสเฟตและเข้าสู่วิถีเพนโตสหรืออีกทางหนึ่งไซลูโลส-5-ฟอสเฟตที่ได้จะถูกเอนไซม์ไซลูโลส-5-ฟอสเฟตฟอสเอเคสาร์เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โพลีโตเลสเปลี่ยนเป็นกลีเซอรอลดีไฮด์-3-ฟอสเฟตและอะซีลฟอสเฟตขั้นนี้เป็นการสร้างตัวกลางในวิถีเอนเดนเมเยอร์ฮอฟ โดยไม่มีการสร้างนิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ฟอสเฟตในรูปรีดิวซ์เหมือนกับเมแทบอลิซึมในยีสต์

การผลิตไซลิทอลโดยวิธีการหมักนั้นได้มีการศึกษาและวิจัยเพื่อพัฒนากระบวนการผลิตในระดับอุตสาหกรรมเพื่อให้สามารถแข่งขันกับกระบวนการผลิตโดยวิธีการทางเคมีซึ่งมีต้นทุนสูงและมีสารปนเปื้อนอยู่มาก ซึ่งจะต้องผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์หลายขั้นตอน นอกจากนี้ยังเป็นการเน้นการใช้ประโยชน์จากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่ไม่มีมูลค่าหรือใช้ประโยชน์ได้อย่างไม่เต็มที่เพื่อนำมาผลิตเป็นไซลิทอลและผลิตภัณฑ์อื่นๆที่มีมูลค่าซึ่งมีการใช้กันมากในอุตสาหกรรมอาหาร

2.14.3 กระบวนการเมแทบอลิซึมในการผลิตไซลิทอลโดยเชื้อรา

เชื้อราสามารถใช้น้ำตาลไซโลสได้โดยผ่านวิถีออกซิโด-รีดักชันให้กลายเป็นน้ำตาลไซลูโลสได้ในช่วงแรก (Ojamo, 1994) และ Chiang and Knight (1960) พบน้ำตาลไซลิทอลเล็กน้อยเมื่อทำการเพาะเลี้ยงราที่มีเส้นใยในอาหารที่มีน้ำตาลไซโลสเป็นองค์ประกอบ Ueng and Gong (1982) ก็รายงานผลที่คล้ายคลึงกันเมื่อทำการหมักไฮโดรไลเสทที่ได้จากขานอ้อยด้วย *Mucor* sp.

2.15 ปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณผลผลิตไซลิทอลโดยกระบวนการหมักด้วยจุลินทรีย์

การผลิตน้ำตาลไซลิทอลจากจุลินทรีย์เป็นกระบวนการที่มีปัจจัยหลายอย่างซึ่งมีอิทธิพลต่อการผลิตเช่น สายพันธุ์ของจุลินทรีย์ที่ใช้ ชนิดของอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง ลักษณะของการเพาะเลี้ยง เป็นต้น ปัจจัยต่างๆเหล่านี้ล้วนเป็นสิ่งสำคัญที่ทำให้การผลิตน้ำตาลไซลิทอลมีประสิทธิภาพซึ่งเราสามารถแยกปัจจัยต่างๆนี้ออกเป็นสองอย่าง อย่างแรกเป็นปัจจัยที่ขึ้นอยู่กับเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้หรือสายพันธุ์ของจุลินทรีย์นั่นเอง ส่วนปัจจัยที่สองที่มีผลต่อกระบวนการผลิตน้ำตาลไซลิทอลมีดังนี้คือ อายุของหัวเชื้อ ปริมาณเชื้อเริ่มต้น ความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิ องค์ประกอบของอาหารที่ใช้ ความเข้มข้นของสารตั้งต้น ปริมาณออกซิเจนที่ละลายอยู่และน้ำตาลชนิดอื่นในฐานสารตั้งต้นร่วม

2.15.1 สายพันธุ์จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิต

จุลินทรีย์ที่นิยมใช้ในการผลิตน้ำตาลไซลิทอลคือ ยีสต์ ซึ่งมียีสต์หลายสายพันธุ์ที่สามารถผลิตไซลิทอลได้โดยมีการศึกษาถึงการผลิตน้ำตาลไซลิทอลในยีสต์สายพันธุ์ต่างๆ เพื่อหา ยีสต์ที่ผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ดีที่สุด จากการศึกษาพบว่ายีสต์ที่ผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ดีก็คือ ยีสต์ในกลุ่ม *Candida* sp. ตัวอย่างเช่น การคัดเลือกยีสต์ 10 สายพันธุ์เพื่อหา ยีสต์ที่ผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ดีที่สุดโดย Gong et al. (1981) พบว่า *C. tropicalis* นั้นเป็นยีสต์ที่ให้ผลผลิตน้ำตาลไซลิ

ทอลได้ดีที่สุดและไม่ผลิตเอธานอลเป็นผลผลิตร่วม นอกจากนี้ Gong et al. (1983) ยังได้ศึกษาความสามารถในการใช้น้ำตาลเพนโตสและการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของยีสต์ต่าง ๆ ใน *Candida* sp. *Saccharomyces* sp. และ *Schizosaccharomyces* sp. อีกด้วย Barbosa et al. (1988) ทำการคัดเลือกยีสต์ 44 สายพันธุ์ที่สามารถเปลี่ยนน้ำตาลไซโลสเป็นน้ำตาลไซลิทอลได้ พบว่าในบรรดา ยีสต์ทั้งหมด *C. tropicalis* และ *C. guilliermondii* สามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ดีที่สุด Sirisansaneeyakul et al. (1995) ได้เปรียบเทียบยีสต์สายพันธุ์ต่าง ๆ 11 สายพันธุ์ พบว่า *C. mogii* สามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์อื่น ซึ่งเป็นเหตุผลที่ยีสต์ในกลุ่ม *Candida* sp. ถูกนำมาใช้ในการศึกษาการผลิตน้ำตาลไซลิทอล เช่น Chen and Gong (1985) ได้ ปริมาณน้ำตาลไซลิทอลถึง 250 กรัมต่อลิตรเมื่อใช้น้ำตาลไซโลส 249 กรัมต่อลิตร โดยใช้ยีสต์ *Candida* sp. ที่กลายพันธุ์ ส่วน Meyriel et al. (1991) ได้ปริมาณน้ำตาลไซลิทอลสูงถึง 221 กรัมต่อลิตรจากน้ำตาลไซโลส 300 กรัมต่อลิตร

นอกจากยีสต์ในกลุ่ม *Candida* sp. แล้วยังมียีสต์อีกหลายชนิดที่ผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ Amaral-Collaco et al. (1990) ได้แยกเอายีสต์จากวัสดุพวกกลีโคเซลล์ลอสมา ทำการศึกษาหาชนิดที่สามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้และพบว่า *D. hansenii* ให้ผลผลิตสูงและมี อัตราการผลิตสูงด้วยและผลการศึกษาของ Vandeska et al. (1997) พบว่า *Debaryomyces hansenii* และ *C. boidinii* เป็นยีสต์ที่ผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ดีเช่นเดียวกัน ซึ่ง Domiguez et al. (1997) พบว่าได้ปริมาณน้ำตาลไซลิทอลถึง 106 กรัมต่อลิตรจาก *D. hansenii* นอกจากนี้ยังมี ยีสต์ที่ให้ผลผลิตน้ำตาลไซลิทอลร่วมกับเอธานอลอีกด้วย ซึ่งพบใน *C. parasitopsis* ในสภาวะที่มี อากาศเล็กน้อย *C. shehatae* และ *P. tannophilus* เป็นยีสต์ที่ให้ผลผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้สูงสุด และมีการผลิตเอธานอลร่วมด้วย

2.15.2 อายุของหัวเชื้อที่ใช้ในการผลิตน้ำตาลไซลิทอล

อายุของหัวเชื้อมีผลต่อกิจกรรมของเซลล์และปริมาณเซลล์ที่มีชีวิตก็มีผลต่ออัตรา การผลิตและปริมาณผลผลิตด้วย (Sreenath; et al., 1986; Du Preez, 1994) Sreenath et al. (1986) พบว่าเมื่อใช้ *C. shehatae* อายุ 24 ชั่วโมงเป็นหัวเชื้อจะผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ 20 กรัม ต่อลิตรเมื่อเวลาผ่านไป 22 ชั่วโมง (อัตราการผลิต 0.24 กรัมน้ำตาลไซลิทอลต่อกรัมน้ำตาล ไซโลส) ขณะที่หัวเชื้ออายุ 72 ชั่วโมงผลิตได้เพียง 9 กรัมต่อลิตรและใช้เวลานานถึง 65 ชั่วโมง (อัตราการผลิต 0.13 กรัมน้ำตาลไซลิทอลต่อกรัมน้ำตาลไซโลส) ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับการ ทดลองใน *C. guilliermondii* ที่พบว่าอายุของหัวเชื้อมีผลต่อทั้งผลผลิตและการเจริญของเชื้อเมื่อ ใช้หัวเชื้ออายุน้อยกว่า 15 ชั่วโมงและอายุมากกว่า 24 ชั่วโมง (Pfeifer; et al., 1996) นอกจากนี้

Felipe et al. (1997) ก็ได้ศึกษาเชื้อชนิดเดียวกันและพบว่าเมื่อใช้หัวเชื้ออายุ 48 ชั่วโมงจะมีอัตรา

การผลิตต่ำกว่าเมื่อใช้หัวเชื้ออายุ 24 ชั่วโมงอยู่ถึงร้อยละ 36 ดังนั้นอายุหัวเชื้อที่เหมาะสมมักจะอยู่ในช่วงต้นเพราะพบว่าจะทำให้ผลผลิตน้ำตาลไซลิทอลที่สูงกว่าและมีอัตราการผลิตสูงกว่าหัวเชื้อที่มีอายุมากแต่อายุที่เหมาะสมของเชื้อแต่ละชนิดจะแตกต่างกันไป

2.15.3 ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นที่ใช้ในการผลิตน้ำตาลไซลิทอล

Cao et al. (1994) ได้ศึกษาการหมักน้ำตาลไซโลสด้วย *Candida* sp. ที่กลายพันธุ์พบว่าการผลิตน้ำตาลไซลิทอลเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณหัวเชื้อเพิ่มขึ้นจาก 3.8 เป็น 14 กรัมต่อลิตรเช่นเดียวกับ Dominguez et al. (1997) ที่ทำการศึกษาเชื้อ *D. hansenii* เมื่อปริมาณหัวเชื้อเพิ่มขึ้นจาก 0.3 ถึง 3 กรัมต่อลิตร พบว่าการผลิตน้ำตาลไซลิทอลเพิ่มสูงขึ้น (พิจารณาจากอัตราการผลิต 0.68 ถึง 2.25 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง Vandeska et al. (1995) พบว่าเมื่อปริมาณชีวมวลเพิ่มมากขึ้น อัตราการผลิตและผลผลิตจะมีแนวโน้มที่สูงขึ้นแต่แนวโน้มของอัตราการผลิตจำเพาะเมื่ออัตราส่วนระหว่างปริมาณเซลล์เริ่มต้นต่อปริมาณสารตั้งต้นเริ่มต้น (X_0/S_0) เข้าใกล้ 1/10 นั้นจะเป็นไปในทางตรงกันข้าม ดังนั้นปริมาณหัวเชื้อจึงมีผลต่อการผลิตน้ำตาลไซลิทอลด้วย โดยพบว่าถ้ามีความเข้มข้นของหัวเชื้อมาก จำนวนเซลล์ย่อมเพิ่มมากขึ้นทำให้มีอัตราการผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้สูงและรวดเร็วขึ้น

นอกจากการศึกษาคัดเลือกชนิดของจุลินทรีย์แล้ว ยังมีการศึกษาถึงปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อการผลิตน้ำตาลไซลิทอล เช่น อัตราการให้อากาศ ความเข้มข้นของน้ำตาลไซโลสและความเป็นกรด-ด่าง เป็นต้น โดย Gong et al. (1981) รายงานว่าน้ำตาลไซโลสเปลี่ยนเป็นน้ำตาลไซลิทอลได้สูงสุดที่ความเป็นกรด-ด่าง 7.0 และเมื่อความเป็นกรด-ด่างลดลงจนอยู่ในช่วงที่เป็นกรดจะทำให้การผลิตน้ำตาลไซลิทอลลดลง จากการศึกษาของ Vandeska et al. (1995) พบว่าอัตราการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของ *C. boidinii* จะสูงสุดเมื่อหมักในสภาวะที่มีความเป็นกรด-ด่าง 7.0 แต่ผลผลิตสูงสุดอยู่ที่ความเป็นกรด-ด่าง 8.0 นอกจากนี้แล้ว Silva and Afschar (1994) ได้รายงานว่ *C. tropicalis* สามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ที่ความเป็นกรด-ด่าง 2.5 และการเพิ่มค่าความเป็นกรด-ด่างจาก 2.5 เป็น 4.0 จะทำให้อัตราการผลิตน้ำตาลไซลิทอลสูงขึ้นแต่ผลผลิตของน้ำตาลไซลิทอลกลับลดลง ดังนั้นอัตราการให้อากาศจึงมีความสำคัญต่อการเจริญและการใช้น้ำตาล สำหรับการผลิตน้ำตาลไซลิทอลนั้นการให้อากาศมากเกินไปทำให้เซลล์มีการเจริญอย่างรวดเร็วและมีปฏิกิริยาของเอนไซม์ไซลิทอลดีไฮโดรจีเนสสูง ดังนั้นน้ำตาลไซลิทอลที่ผลิตขึ้นจึงถูกออกซิไดซ์ไปเป็นน้ำตาลไซลูโลสพร้อมกับการสังเคราะห์ไนโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ในรูปรีดิวซ์ทำให้ปริมาณน้ำตาลไซลิทอลที่เกิดขึ้นลดลง (Furlan; et al., 1991) การลดอัตราการให้อากาศจะทำให้อัตราการใช้น้ำตาลไซโลสและการเจริญลดลง แต่ผลผลิตของน้ำตาลไซลิทอลสูงขึ้น (Silva and Afschar, 1994; Sirisansaneeyakul; et al., 1995; Vandeska; et al., 1995).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.15.4 ปริมาณออกซิเจนที่ละลายได้

ปริมาณออกซิเจนเป็นปัจจัยที่สำคัญมากปัจจัยหนึ่งในการเปลี่ยนน้ำตาลไซโลสไปเป็นน้ำตาลไซลิทอลโดยกระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพ ความเข้มข้นของปริมาณออกซิเจนที่ละลายอยู่มีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของสารตั้งต้นจึงมักมีการศึกษาควบคู่กันไป เพื่อให้สามารถอธิบายถึงอิทธิพลที่แท้จริงของปัจจัยทั้งสอง การให้อากาศที่เหมาะสมขึ้นกับความเข้มข้นของสารตั้งต้นและลักษณะของการหมัก การให้อากาศจะกระตุ้นการขนส่งน้ำตาลเข้าสู่เซลล์ยีสต์บางชนิด เช่น *Candida Hansenula Kluyveromyces* และ *Pichia* ซึ่งต้องการออกซิเจนเพื่อใช้ในการดูดซึมน้ำตาล การให้อากาศกับอาหารเลี้ยงเชื้อในช่วงการหมักจะทำให้เกิดการเปลี่ยนน้ำตาลไซโลสไปเป็นน้ำตาลไซลิทอลมากขึ้นเพราะน้ำตาลไซลิทอลเป็นผลผลิตที่จะเกิดควบคู่กับการเจริญของจุลินทรีย์ซึ่งมีอิทธิพลต่อการเผาผลาญของออกซิเจน (Nigam and Singh, 1995)

Furlan et al. (1991); Kim et al. (1997) ทำการศึกษาปัจจัยของอากาศใน *C. parasilopsis* ซึ่งพบว่าการให้อากาศมากเกินไปจะส่งผลให้เซลล์มีการเจริญอย่างรวดเร็ว น้ำตาลไซลิทอลที่ผลิตขึ้นจะเปลี่ยนเป็นน้ำตาลไซลูโลส ในขณะที่ปริมาณน้ำตาลไซลิทอลจะลดลง

Furlan et al. (1994) ได้ทำการทดลองพบว่าเชื้อ *C. tropicalis* สามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ 30 กรัมต่อลิตรในเวลา 117 ชั่วโมง เชื้อ *P. tannophilus* และ *C. shehatae* สามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ 12.5 กรัมต่อลิตรและ 6.0 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ผลที่ได้นี้เป็นผลมาจากสถานะที่มีการให้อากาศน้อยและสามารถสรุปได้ว่าอัตราการถ่ายเทออกซิเจนเป็นหลักสำคัญในการผลิตน้ำตาลไซลิทอล

Horitsu et al. (1992) รายงานถึงผลกระทบที่มีต่อการผลิตน้ำตาลไซลิทอลโดยในขั้นแรกควรพิจารณาถึงความเร็วในการเพิ่มปริมาณเซลล์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ อย่างไรก็ตามการผลิตไซลิทอลภายใต้สถานะที่ไม่มีอากาศและเพิ่มปริมาณออกซิเจนที่ละลายในอาหารในช่วงระหว่างการหมักจะนำไปสู่การผลิตน้ำตาลไซลูโลสโดยเกิดปฏิกิริยาไฮโดรจีเนชันของน้ำตาลไซลิทอลที่เกิดขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อด้วย การเพิ่มระดับการละลายของออกซิเจนต้องการเฉพาะขั้นตอนเริ่มต้นในการหมักเท่านั้น แต่หลังจากนั้นควรลดระดับการให้อากาศลง โดยเชื้อ *C. tropicalis* สามารถเพิ่มการสะสมน้ำตาลไซลิทอลภายใต้ปริมาณออกซิเจนที่จำกัดได้

Horitsu et al. (1992); Nollet et al. (1993); Roseio et al. (1991) พบว่า สถานะการให้อากาศที่มีผลต่ออัตราการผลิตที่ดีที่สุดขึ้นกับความเข้มข้นของสารตั้งต้นด้วย ถ้าความเข้มข้นสูง อัตราการให้อากาศควรสูงด้วย นอกจากนี้อัตราการให้อากาศยังขึ้นอยู่กับเซลล์ด้วยว่าเซลล์อยู่ในรูปเซลล์อิสระหรือเซลล์ตรึง เนื่องจากอัตราการส่งผ่านออกซิเจนที่ทำให้เกิดสถานะที่มีอากาศ

เล็กน้อย (microaerobic condition) แก่เซลล์อิสระนั้นอาจทำให้เกิดสภาวะที่ไม่มีอากาศ (anaerobic condition) ในเซลล์ตรึง เนื่องจากข้อจำกัดในการแพร่ที่เกิดจากการถ่ายเทมวล

Meyrial et al. (1991) ทำการศึกษาความสามารถในการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของ เชื้อ *C. guilliermondii* ซึ่งใช้น้ำตาลไซโลสและส่วนที่ไม่ใช่เฮมิเซลลูโลส (non-hemicellulose) ซึ่ง ทำการย่อยให้ได้น้ำตาลในสภาวะที่มีออกกาสน้อยจะได้ผลผลิตน้ำตาลไซลิทอล 0.63 กรัมต่อกรัม น้ำตาลไซโลสและได้เอธานอลปริมาณเล็กน้อยจากน้ำตาลไซโลส ส่วนน้ำตาลที่ไม่ใช่ น้ำตาลไซโลสจะถูกเปลี่ยนเป็นเอธานอลและเซลล์จุลินทรีย์ การผลิตน้ำตาลไซลิทอลโดย *D. hansenii* ต้องการสภาวะ semi-aerobic โดยเริ่มจากสภาวะที่มีอากาศเพื่อเพิ่มการสะสมนิโคตินาไมด์อะดีนีน ไดนิวคลีโอไทด์ในรูปรีดิวซ์ให้มากพอที่จะทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิโดซ์ซึ่งจะนำไปสู่การเปลี่ยน น้ำตาลไซโลสไปเป็นน้ำตาลไซลิทอล

Peschke et al. (1992) ได้ศึกษาการผลิตน้ำตาลไซลิทอลโดย *C. guilliermondii* เมื่อให้อากาศในปริมาณเท่าเดิม (อากาศอิ่มตัวร้อยละ 5) พบว่าเซลล์อิสระให้น้ำตาลไซลิทอล 27.3 กรัมต่อลิตร (อัตราการผลิตน้ำตาลไซลิทอล 0.70 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมงและผลผลิตของน้ำตาลไซลิทอลเท่ากับ 0.64 กรัมต่อกรัมน้ำตาลไซโลส) แต่เซลล์ตรึงที่ตรึงด้วยแคลเซียมแอลจีเนต (Ca-alginate) นั้นให้น้ำตาลไซลิทอลเพียง 18.4 กรัมต่อลิตร (อัตราการผลิตน้ำตาลไซลิทอล 0.43 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมงและผลผลิตของน้ำตาลไซลิทอลเท่ากับ 0.78 กรัมต่อกรัมน้ำตาลไซโลส) ซึ่งเห็น ได้ว่าการให้อากาศที่ต่ำขณะทำการเพาะเลี้ยงด้วยวิธีการตรึงเซลล์จะทำให้การผลิตน้ำตาลไซลิทอล ลดลงอย่างมาก ทั้งนี้เนื่องมาจากปริมาณออกซิเจนสามารถแทรกเข้าไปภายในของเจลได้เมื่อทำการ หมักที่อัตราการถ่ายเทออกซิเจนสูงเท่านั้น ดังนั้นเมื่อเซลล์อยู่ในรูปเซลล์ตรึงการให้อากาศเมื่อ เทียบกับเซลล์อิสระต้องสูงกว่าเพื่อให้เกิดการแพร่ของอากาศเข้าไปในเม็ดเจลได้

ปริมาณอากาศจะมีผลต่อปริมาณของเซลล์ซึ่งจะมีผลต่อเนื่องไปยังผลผลิตที่ได้ ถ้า ให้อากาศต่ำเกินไปเซลล์จะเจริญไม่ดีและตายได้ แต่ถ้าให้อากาศสูงตลอดเวลาปริมาณออกซิเจนที่ สูงจะเปลี่ยนน้ำตาลไซลิทอลเป็นน้ำตาลไซลูโลสแทนจึงอาจใช้วิธีการให้อากาศสูงในช่วงแรกเพื่อ ให้เกิดจำนวนเซลล์มากก่อนแล้วลดการให้อากาศลงเพื่อให้เกิดการผลิตน้ำตาลไซลิทอลต่อไป

Kim S.Y. et al. (1992) ได้ศึกษาถึงผลของการควบคุมปริมาณออกซิเจนโดยเชื้อ *C. parasilopsis* พบว่าการให้อากาศอย่างเต็มที่เพื่อให้เชื้อมีการเจริญเต็มที่ในช่วงระยะเวลาหนึ่ง หลังจากนั้นจะทำการลดปริมาณออกซิเจนลงทำให้มีการผลิตน้ำตาลไซลิทอลที่สูงขึ้น

Sirisansaneeyakul et al. (1992) ได้รายงานว่สภาวะที่ขาดออกซิเจนการ สังเคราะห์โคเอนไซม์นิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ในรูปรีดิวซ์ด้วยกระบวนการหายใจนั้น ไม่เพียงพอที่จะทำให้เกิดการทำงานของเอนไซม์ไซลิทอลดีไฮโดรจีเนสที่จะเปลี่ยนน้ำตาลไซลิทอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่อไปเป็นน้ำตาลไซลูโลสในวิถีเพนโตสฟอสเฟตจึงทำให้เกิดการสะสมน้ำตาลไซลิทอลมากขึ้น แล้วส่งผ่านออกนอกเซลล์เป็นผลทำให้ได้ปริมาณน้ำตาลไซลิทอลเพิ่มมากขึ้น

2.15.5 แหล่งไนโตรเจนที่ใช้ในการผลิตน้ำตาลไซลิทอล

องค์ประกอบที่มีผลต่อการผลิตน้ำตาลไซลิทอลอย่างมากคือ ไนโตรเจน โดยลักษณะและความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนมีผลต่อการผลิตน้ำตาลไซลิทอลซึ่งจะขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อยีสต์ โดยทั่วไปแหล่งไนโตรเจนที่ให้ผลผลิตไซลิทอลสูงคือ แหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอินทรีย์เพราะให้ผลผลิตน้ำตาลไซลิทอลสูงกว่าและดีกว่า เช่น การผลิตน้ำตาลไซลิทอลจาก *C. boidinii* เมื่อใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจนแทนแอมโมเนียมซัลเฟต พบว่าให้ผลผลิตสูงขึ้นกว่าเดิม (Vandeska; et al., 1995) และพบว่าเมื่อใช้ยีสต์สกัดจะให้ผลผลิตสูงสุดเมื่อเทียบกับแหล่งไนโตรเจนอื่น (Vongsuvanlert and Tani, 1989) และการศึกษาใน *C. shehatae* พบว่าถ้าใช้แหล่งไนโตรเจนเป็นสารอินทรีย์จะทำให้เชื้อใช้ไซโลสได้ดีขึ้น (Palnitkar and Lachke, 1990) นอกจากนี้ Sirisansaneeyakul et al. (1995) ซึ่งได้ทำการศึกษาใน *C. mogii* พบว่าอาหารที่เดิมยีสต์สกัดและเปปโตนลงไปจะช่วยให้การเจริญและการผลิตน้ำตาลไซลิทอลดีขึ้น แต่บางครั้งแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอินทรีย์ก็ให้ผลเป็นลบเมื่อเทียบกับการใช้แหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอนินทรีย์ เช่น *C. guilliermondii* จะมีอัตราการผลิตลดลงเมื่อใช้แหล่งไนโตรเจนเป็นสารอินทรีย์ เช่น ยูเรีย เมื่อเทียบกับการใช้แหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอนินทรีย์ เช่น แอมโมเนียมซัลเฟตหรือแอมโมเนียมคลอไรด์ แต่ปริมาณผลผลิตที่ได้ไม่แตกต่างกันมากนัก

Barbosa et al. (1988) กล่าวถึงความสำคัญของแหล่งไนโตรเจนและการให้อากาศว่ามีผลต่อการผลิตน้ำตาลไซลิทอลจากน้ำตาลไซโลสในยีสต์บางสายพันธุ์ เช่น *S. cerevisiae* วิถีเพนโตสฟอสเฟตจะควบคุมโดยแหล่งไนโตรเจนและพบว่าเกลือแอมโมเนียมจะสามารถกระตุ้นการออกซิไดซ์ในวิถีเพนโตสฟอสเฟตเพราะเอนไซม์กลูโคส-6-ฟอสเฟตดีไฮโดรจีเนสจะถูกยับยั้งโดยโคเอนไซม์นิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ในรูปรีดิวซ์ ใน *P. tannophilus* เกลือแอมโมเนียมจะลดระดับโคเอนไซม์นิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ในรูปรีดิวซ์ของเอนไซม์กลูโคส-6-ฟอสเฟตดีไฮโดรจีเนสภายในเซลล์และเพิ่มการออกซิไดซ์ในวิถีเพนโตสฟอสเฟต

Horitsu et al. (1992) ใช้ยีสต์สกัดเป็นแหล่งไนโตรเจนที่ความเข้มข้น 3 10 และ 20 กรัมต่อลิตร พบว่าได้ผลผลิตสูงสุด 1.78 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง เมื่อใช้ยีสต์สกัด 20 กรัมต่อลิตร ด้วยอัตราการไหล 400 มิลลิลิตรต่อนาที ให้อากาศที่มีออกซิเจนร้อยละ 90 และน้ำตาลไซโลส 100 กรัมต่อลิตร

ดังนั้นแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมที่สุดควรจะเป็นสารอินทรีย์แต่บางครั้งเมื่อใช้แหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอนินทรีย์จะให้ผลผลิตดีกว่าซึ่งต้องเลือกใช้แหล่งไนโตรเจนโดยขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อว่าเหมาะกับการใช้แหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอินทรีย์หรืออนินทรีย์

2.15.6 ความเข้มข้นของน้ำตาลไซโลส

ความเข้มข้นของสารตั้งต้นสูงในช่วงเริ่มต้นของการผลิตน้ำตาลไซลิทอลจะเหมาะกับจุลินทรีย์ที่เป็นออสโมฟิลิก (osmophilic) โดยทั่วไปการเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลในช่วงแรกของการหมักแบบชั่วคราวจะนำไปสู่การเพิ่มอัตราการเกิดผลิตภัณฑ์ ถ้าจุลินทรีย์สามารถทนต่อความเข้มข้นสูงของน้ำตาลและแรงดันออสโมซิสได้ (Nigam and Singh, 1995)

Sirisansaneeyakul et al. (1992) ได้รายงานว่าการใช้ *C. mogii* ที่เจริญได้ในสภาวะที่มีออกซิเจนจำกัด (ความเร็วรอบในการเขย่า 100 รอบต่อนาที) โดยให้มีความแตกต่างของความเข้มข้นของน้ำตาลไซโลส 5-35 กรัมต่อลิตร พบว่าอัตราการผลิตน้ำตาลไซลิทอลจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของน้ำตาลไซโลสเริ่มต้น

Horitsu et al. (1992) ได้เพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลไซโลสในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับ *C. tropicalis* เป็น 100-500 กรัมต่อลิตรและมีอัตราการให้อากาศสูง 400 มิลลิลิตรต่อนาที โดยใช้ให้อากาศที่มีออกซิเจนร้อยละ 90 พบว่าอัตราการผลิตน้ำตาลไซลิทอลเพิ่มขึ้นเป็น 2.44 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมงจากเดิม 1.78 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ความเข้มข้นของน้ำตาลไซโลสกับการให้อากาศมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของเซลล์ซึ่งทำให้การผลิตน้ำตาลไซลิทอลสูงขึ้นด้วย

ตารางที่ 2.8 ผลของความเข้มข้นน้ำตาลไซโลสที่มีผลต่อการผลิตน้ำตาลไซลิทอล

ปริมาณน้ำตาลไซโลส (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณชีวมวล (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลไซลิทอล (กรัมต่อลิตร)
5.3	0.46	0.00
10.1	0.29	0.17
19.3	0.18	0.44
28.9	0.16	0.50
35.3	0.12	0.70

ที่มา : Sirisansaneeyakul et al. (1992)

2.15.7 การเติมน้ำตาลชนิดอื่นลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อเป็นสารตั้งต้นร่วม

นรินทร์ (2541) พบว่าการเติมน้ำตาลกลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อมีผลต่อการเจริญของเชื้อ *C. mogii* ATCC 18364 และการเกิดน้ำตาลไซลิทอลในสภาวะที่จำกัดออกซิเจนโดยการเติมน้ำตาลกลูโคสลงไปเป็นปริมาณเล็กน้อยเพื่อไม่ให้เกิดการยับยั้งการใช้น้ำตาลไซโลส ในกรณีนี้น้ำตาลกลูโคสจะช่วยเพิ่มปริมาณโคเอนไซม์บีโคทีนาไมค้ออะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ฟอสเฟตในรูปรีดิวซ์ในเมแทบอลิซึมของยีสต์และเพิ่มการใช้น้ำตาลของเชื้อ จึงทำให้น้ำตาลไซโลสเปลี่ยนไปเป็นน้ำตาลไซลิทอลได้มากขึ้นส่งผลให้ปริมาณน้ำตาลไซลิทอลสูงขึ้นด้วย โดยปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เหมาะสมที่จะให้ผลผลิตน้ำตาลไซลิทอลสูงคือ 2.3 กรัมต่อการทดลอง (ทำการทดลองในถังปฏิกรณ์ชีวภาพขนาด 2 ลิตรและปริมาณอาหารที่ใช้หมักคือ 1.5 ลิตร) ทำให้ได้น้ำตาลไซลิทอล 0.854 กรัมต่อกรัมน้ำตาลไซโลส อัตราการผลิตเท่ากับ 0.255 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ค่าผลผลิตเพิ่มขึ้น 1.24 เท่าและอัตราการผลิตเพิ่มขึ้น 1.36 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเดียวกันซึ่งไม่มีการเติมน้ำตาลกลูโคส

Haiao et al. (1982) รายงานว่าการเติมน้ำตาลกลูโคสจะมีผลต่อการยับยั้งการใช้น้ำตาลไซโลสใน *Candida* และ *Shizosaccharomyces* โดยน้ำตาลกลูโคสจะยับยั้งการใช้น้ำตาลไซโลสในระยะเวลานานรวดเร็วและเมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสลดต่ำลง ความสามารถในการเปลี่ยนน้ำตาลไซโลสไปเป็นน้ำตาลไซลิทอลจะเพิ่มขึ้น โดยแสดงออกในลักษณะ catabolic repression ซึ่งไม่ใช่การควบคุมที่กลไกการสังเคราะห์ของยีน หลักฐานที่สนับสนุนความคิดนี้ค่อนข้างจะเป็นการอธิบายถึงการใช้น้ำตาลไซโลสเป็นส่วนใหญ่ว่าไม่แอคทีฟหรือเกิดการยับยั้งในขณะที่มีน้ำตาลกลูโคส

Meyrial et al. (1991) ได้ศึกษาความสามารถในการหมักของเชื้อ *C. guilliermondii* ในน้ำตาลต่างๆโดยไม่ใช้น้ำตาลไซโลสได้แก่ น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลแมนโนส น้ำตาลกาแลกโตสและน้ำตาลอะราบิโนสที่พบในการย่อยสลายเฮมิเซลลูโลสสามารถทำการหมักได้อย่างรวดเร็วโดยใช้ประโยชน์สำหรับการเจริญและผลิตเอทานอลเท่านั้น

Sreenath and Jeffries (1996) รายงานว่าเมื่อน้ำตาลกลูโคส เชื้อ *C. shehatae* จะใช้น้ำตาลไซโลสได้เร็วขึ้นแต่ให้ผลผลิตน้ำตาลไซลิทอลลดลงแม้ว่าอัตราการผลิตจะเพิ่มขึ้นก็ตาม

Yahashi et al. (1996) พบว่าเมื่อเติมน้ำตาลกลูโคสลงไปเป็นสารตั้งต้นร่วมนั้นมิผลดีเนื่องจากน้ำตาลไซโลสจะเปลี่ยนเป็นน้ำตาลไซลิทอลได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น เนื่องจากเซลล์จะมีการเจริญดีกว่าการใช้น้ำตาลไซโลสเพียงอย่างเดียว จึงสามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้มากขึ้น และน้ำตาลกลูโคสยังช่วยเพิ่มปริมาณบีโคทีนาไมค้ออะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ฟอสเฟตในรูปรีดิวซ์เมื่อเกิดเมแทบอลิซึมของน้ำตาลกลูโคสในวิถีเพนโตสฟอสเฟตอีกด้วย ซึ่งสอดคล้องกับผล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองของ Nollet et al. (1993); Pfeifer et al. (1996) แต่บางครั้งการเติมน้ำตาลกลูโคสอาจทำให้เกิดการยับยั้งเอนไซม์ไซโลสรีดักเตสทำให้ได้ผลผลิตไม่ดีเท่าที่ควร (Felipe; et al., 1997; Vandeska; et al., 1995)

2.15.8 ความเข้มข้นของน้ำตาลไซลิทอล

Kastner et al. (1996) พบว่ามีการยับยั้งการผลิตน้ำตาลไซลิทอลใน *C. shehetae* โดยได้น้ำตาลไซลิทอลเพียง 50 กรัมต่อลิตรเท่านั้น ทั้งนี้ น่าจะมาจากความเข้มข้นของน้ำตาลไซลิทอลภายในน้ำหมักสูงเกินไป การขนถ่ายน้ำตาลไซลิทอลออกนอกเซลล์จะเริ่มลดลงและเกิดการสะสมของน้ำตาลไซลิทอลภายในเซลล์และยับยั้งการผลิตได้ นอกจากนี้ Sirisansaneeyakul et al. (1995) ก็ได้พบการยับยั้งแบบนี้เช่นเดียวกันเมื่อทำการผลิตน้ำตาลไซลิทอลโดย *C. mogii* โดยเมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลไซลิทอลในน้ำหมักสูงถึง 100 กรัมต่อลิตร อัตราการผลิตจำเพาะและผลผลิตที่ได้จะลดลง ยกเว้นในยีสต์บางชนิด เช่น *D. hansenii* ที่สามารถใช้น้ำตาลไซลิทอลได้ในบางสภาวะ เช่น เมื่อสารตั้งต้นถูกใช้จนหมด (Nollet; et al., 1993) นอกจากนี้เชื้อ *P. tannophilus* ที่อยู่ในน้ำหมักที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลไซลิทอลสูงมากและอยู่ในสภาวะที่มีอากาศจะสามารถนำเอาน้ำตาลไซลิทอลไปใช้ได้และให้ผลผลิตออกมาเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และผลผลิตอื่น ๆ ที่ไม่สามารถระบุได้ (Xu and Taylor, 1993) นอกจากนี้ยังพบความสัมพันธ์ในการใช้น้ำตาลไซลิทอลและการผลิตไรโบฟลาวิน (riboflavin) ใน *C. guilliermondii* อีกด้วย (Leather and Gupta, 1997)

2.15.9 การเติมเมทานอล

Furlan et al. (1994) รายงานว่าการเติมเมทานอลสามารถเพิ่มการผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ถึง 39.8 กรัมต่อลิตรซึ่งคิดเป็นร้อยละ 8.5 เมื่อให้อาหารที่มีน้ำตาลไซโลสและมีการเติมด้วยเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 1.0 (โดยปริมาตร) ซึ่งทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของเมทานอลแล้วให้ผลผลิตเป็นโคเอนไซม์บีโคตินาไมด์อะซีนิโนโคนิวลิโอไทด์ฟอสเฟตในรูปรีดิวซ์ทำให้มีโคเอนไซม์ดังกล่าวในปริมาณมากพอที่จะเกิดปฏิกิริยารีดักชันของน้ำตาลไซโลสและน้ำตาลไซลูโลสทำให้เกิดเป็นน้ำตาลไซลิทอล การผลิตน้ำตาลซอร์บิทอลและน้ำตาลไรบิทอลโดยยีสต์ที่สามารถใช้เมทานอลได้ เช่น *C. boidinii* และการเติมเมทานอลในอาหารเลี้ยงเชื้อสามารถเพิ่มการผลิตน้ำตาลไซลิทอลให้มากขึ้นได้

2.15.10 ปริมาณไบโอติน (biotin)

Lee et al. (1987) รายงานว่าปริมาณเอทานอลและน้ำตาลไซลิทอลที่สะสมในน้ำหมักในการเลี้ยงแบบครั้งคราวของเชื้อ *P. tannophilus* และ *C. guilliermondii* จะขึ้นอยู่กับปริมาณของไบโอติน โดยอาหารที่มีไบโอตินสูง เชื้อ *P. tannophilus* จะสะสมเอทานอลได้มากกว่าน้ำตาลไซลิทอล ในขณะที่ *C. guilliermondii* จะสะสมน้ำตาลไซลิทอลได้มากกว่าเอทานอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.15.11 ความเป็นกรด-ด่าง

ค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมในการผลิตน้ำตาลไซลิทอลจะทำให้ยีสต์สามารถเจริญได้ดีและผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้สูงขึ้น ค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมของของยีสต์แต่ละชนิดก็จะแตกต่างกันไป ซึ่งมีตัวอย่างแสดงดังตารางที่ 2.9

ตารางที่ 2.9 ค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมของเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดที่สามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้

จุลินทรีย์	ความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสม	เอกสารอ้างอิง
<i>D. hansenii</i>	5.5	Dominguez et al. (1997)
<i>Candida</i> sp.	4.0-6.0	Cao et al. (1996)
<i>C. boidinii</i>	7.0	Vandeska et al. (1995)
<i>C. parasilopsis</i>	4.5-5.0	Vonsuvanlert and Tani (1989)
<i>C. guilliermondii</i>	6.0	Nolleau et al. (1995)
<i>C. tropicalis</i>	4.0	Yahashi et al. (1996)

ที่มา : Parajo et al. (1997)

วรสิทธิ์ (2541) ทำการศึกษาผลของค่าความเป็นกรด-ด่างต่อการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของเชื้อ *C. mogii* ATCC 18364 พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมสำหรับการเจริญและการผลิตน้ำตาลไซลิทอลจะแตกต่างกัน โดยทำการเลี้ยงสองระยะ ระยะแรกเป็นการเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณเซลล์โดยทำการเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะที่มีการให้อากาศเพียงพอ ความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมในระยะนี้คือ 4.5 ซึ่งจะช่วยให้มีอัตราการเจริญจำเพาะเท่ากับ 0.046 ต่อชั่วโมง ส่วนระยะที่สองจะเป็นระยะที่มีการจำกัดปริมาณอากาศพบว่า ความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมในระยะนี้ คือ 6.0 และทำให้ได้ผลผลิตน้ำตาลไซลิทอลเป็น 0.71 กรัมต่อกรัมน้ำตาลไซโลส ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 77.96 ของผลผลิตตามทฤษฎี

Gong et al. (1981) รายงานว่าน้ำตาลไซโลสจะเปลี่ยนไปเป็นน้ำตาลไซลิทอลได้มากที่สุดเมื่อความเป็นกรด-ด่างเป็น 8.0 และจะเกิดปฏิกิริยารีดักชันของน้ำตาลไซลิทอลเมื่อค่าความเป็นกรด-ด่างเปลี่ยนจากด่างไปเป็นกรด ปริมาณน้ำตาลไซลิทอลสูงสุดจะเกิดขึ้นในช่วงแรกที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีความเป็นกรด-ด่าง 6.0-7.0 สำหรับ *P. tannophilus* ที่ความเป็นกรด-ด่าง 6.0 สำหรับ *C. guilliermondii* และที่ความเป็นกรด-ด่าง 4.0 สำหรับ *C. tropicalis*

2.15.12 อุณหภูมิ

ยีสต์สามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ในช่วงอุณหภูมิตั้งแต่ 24-45 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่เหมาะสมในการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของเชื้อยีสต์แต่ละชนิดจะแตกต่างกันออกไป แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดจะอยู่ในช่วง 28-30 องศาเซลเซียสและเมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้น ผลผลิตที่ได้จะลดลง แต่มียีสต์บางสายพันธุ์ที่มีช่วงอุณหภูมิแตกต่างออกไปจากนี้และพบว่า *P. tannophilus* สามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้สูงที่สุดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยขึ้นกับชนิดของน้ำตาลที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและพบว่าเมื่อน้ำตาลไซโลสเป็นแหล่งคาร์บอน อุณหภูมิที่เหมาะสมก็จะเปลี่ยนไปเป็น 31 องศาเซลเซียสและมีรายงานว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิขึ้นเป็น 30-37 องศาเซลเซียส เชื้อ *P. tannophilus* จะผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ลดลง (Barbosa; et al., 1988) ส่วน *C. guilliermondii* สามารถเจริญได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสแต่ผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ความเข้มข้นสูงสุดและให้ผลผลิตสูงสุดในช่วงอุณหภูมิ 30-35 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ Cao et al. (1994); Dominguez et al. (1997) พบว่าการผลิตน้ำตาลไซลิทอลจะคงที่เมื่ออุณหภูมิเป็น 35-40 องศาเซลเซียสสำหรับ *Candida* sp. และ 28-37 องศาเซลเซียสสำหรับ *D. hansenii*

การเพาะเลี้ยงแบบครั้งคราวโดยการเติมน้ำตาลไซโลส น้ำตาลกลูโคสหรือน้ำตาลผสมของน้ำตาลไซโลสและน้ำตาลกลูโคส จะทำให้ผลผลิตและอัตราการผลิตน้ำตาลไซลิทอลสูงกว่าการเพาะเลี้ยงแบบเบ็ดเสร็จ (Vandeska; et al., 1995; Yahashi; et al., 1996) และเมื่อนำระบบนี้ไปใช้กับยีสต์ที่ได้รับการตัดแต่งพันธุกรรม (recombinant yeast) พบว่า *S. cerevisiae* ที่ได้รับการถ่ายยีน XYL1 ซึ่งเป็นยีนสำหรับการผลิตเอนไซม์ไซโลสรีดักเทส และทำการเพาะเลี้ยงแบบครั้งคราวโดยใช้เอธานอลเป็นสารตั้งต้นร่วม น้ำตาลไซโลสจะถูกเปลี่ยนไปเป็นน้ำตาลไซลิทอลได้สูงถึงร้อยละ 93 ด้วยอัตราการผลิตเฉลี่ย 1 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมงและเมื่อนำน้ำตาลกลูโคสเป็นสารตั้งต้นร่วมสามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ 0.19 กรัมต่อกรัมเซลล์ต่อชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำตาลชนิดต่างๆและเอธานอลที่ใช้เป็นสารตั้งต้นร่วมในการผลิตน้ำตาลไซลิทอล พบว่าน้ำตาลกลูโคส น้ำตาลแมนโนสและน้ำตาลฟรุคโทสนั้นสามารถยับยั้งการเปลี่ยนน้ำตาลไซโลสไปเป็นน้ำตาลไซลิทอลได้สูงกว่าน้ำตาลกาแลกโตสและเอธานอล ส่วนน้ำตาลมอลโทสไม่มีผลในการยับยั้ง นอกจากนี้ยังพบว่าภายใต้สภาวะที่มีความเข้มข้นของสารตั้งต้นร่วมจำกัดจะทำให้ได้ผลผลิตของน้ำตาลไซลิทอลสูงกว่าภายใต้สภาวะที่มีความเข้มข้นของสารตั้งต้นมากเกินพอ

2.16 วิธีการลดความเป็นพิษที่เกิดจากการย่อยสลายวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร

2.16.1 โอเวอร์ไลมิง (overliming)

สามารถตกตะกอนโลหะหนัก ลดปริมาณกรดอะซิดิก สารประกอบฟีนอลิกและเปลี่ยนเฟอฟูรอลไปเป็นกรดเฟอฟูรอล

2.16.2 ซัลฟิเคชัน (sulphication)

สามารถลดปริมาณกรดอะซิดิก เฟอฟูรอลและสารประกอบฟีนอลิก

2.16.3 การดูดซับด้วยผงถ่านกัมมันต์ (charcoal adsorption)

สามารถตกตะกอนโลหะหนัก ลดปริมาณกรดอะซิดิกและสารประกอบฟีนอลิก

2.16.4 การทำให้เป็นกลาง (neutralization)

เป็นการปรับค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลายที่มีความเป็นกรดสูงให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์

2.16.5 การสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ (extraction with organic solvent)

สารอินทรีย์ที่นิยมใช้ในการสกัดคือ ไตรคลอโรเอธิลีน (trichloethylene) เบนซีน (benzene) เอธิลอะซิเตต (ethyl acetate) ไดเอธิลอีเทอร์ (diethyl ether) และเฮกเซน (hexane)

2.17 การลดความเป็นพิษโดยวิธีโอเวอร์ไลมิง

วิธีโอเวอร์ไลมิงเป็นวิธีการลดปริมาณสารพิษที่ถูกนำมาใช้กันอย่างกว้างขวางสามารถทำได้หลายแบบเช่น การเติมแคลเซียมไฮดรอกไซด์ (Ca(OH)_2) (หรือไฮดรอกไซด์ตัวอื่น) ลงไปในอาหารสังเคราะห์เพื่อเพิ่มค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 10.0-10.5 เมื่อผสมเข้ากันแล้วจะเกิดตะกอนโดยตะกอนส่วนใหญ่จะเป็นเกลือแคลเซียมที่มีความสามารถในการละลายต่ำ สารที่ใช้ในการลดปริมาณสารพิษจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของไฮโดรไลสและจุลินทรีย์ที่ใช้ในกระบวนการหมัก

การลดปริมาณสารพิษด้วยวิธีโอเวอร์ไลมิง สามารถทำได้โดยการปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 10.0-10.5 ด้วยแคลเซียมไฮดรอกไซด์ แคลเซียมออกไซด์ (CaO) หรือโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) หลังจากนั้นตกตะกอนเกลือที่เกิดขึ้นแล้วนำไฮโดรไลสที่ได้มาทำการลดค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยกรดซัลฟิวริกเป็นให้มีค่าเป็น 4.0 จะทำให้เกิดการลดปริมาณสารพิษโดยการตกตะกอนอะซิเตต โลหะหนัก เฟอฟูรอล แทนนิน เทอปีนและสารประกอบฟีนอลิกได้

2.18 การลดความเป็นพิษโดยใช้ผงถ่านกัมมันต์

เป็นการแยกสารปนเปื้อนในสารละลายโดยสารพิษจะถูกดูดซับที่ผิวของผงถ่านกัมมันต์ ที่นิยมใช้กันโดยทั่วไปมีอยู่ 2 ชนิดคือ แบบที่เป็นเม็ด (granular charcoal) แบบที่เป็นผง (powder charcoal) โดยมักเรียกรวมกันว่า activated carbon ซึ่งทำมาจากเมล็ดของ almond walnut hulls coconut wood หรือถ่านทั่วไปโดยนำมาเผาที่อุณหภูมิสูงเพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวของคาร์บอน

2.18.1 การดูดซับโดยผงถ่านกัมมันต์ มีอยู่ 3 ลักษณะ คือ

2.18.1.1 การแลกเปลี่ยนประจุ (exchange adsorption) การดูดซับแบบนี้เป็นการดูดซับด้วยไฟฟ้าสถิตที่บริเวณพื้นที่ผิวของถ่านกัมมันต์

2.18.1.2 การดูดซับแบบเคมี (chemical adsorption) อาศัยการเกิดปฏิกิริยาทางเคมี ทำให้โมเลกุลของสารที่ถูกดูดซับไม่เกิดการเคลื่อนที่ที่ผิวของถ่านกัมมันต์

2.18.1.3 การดูดซับแบบกายภาพ (physical adsorption) การดูดซับแบบนี้เป็นการดูดซับเกิดจากแรง Van der Waals ซึ่งไม่ยึดติดแน่นเหมือนกับสองแบบแรก มักจะเหมาะกับสภาวะที่อุณหภูมิต่ำๆ

2.19 ถ่านกัมมันต์ (charcoal)

ถ่านกัมมันต์คือ วัสดุคิบที่มีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบซึ่งถูกนำมาผ่านกระบวนการก่อกัมมันต์ทำให้วัสดุนั้นมีโครงสร้างเป็นรูพรุนและมีพื้นที่ผิวภายในสูงซึ่งหากดูพื้นที่หน้าตัดของถ่านกัมมันต์จะพบว่ามันมีลักษณะคล้ายรังผึ้ง โดยถ่านกัมมันต์จะมีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบหลัก (ร้อยละ 87-90) และมีธาตุอื่นเป็นองค์ประกอบคือ ไฮโดรเจน ออกซิเจน ซัลเฟอร์และไนโตรเจน โดยจะมีปริมาณมาก-น้อยเท่าใดขึ้นกับปริมาณที่มันในวัสดุดิบและที่เกิดขึ้นอีกในขั้นตอนการผลิตซึ่งประกอบด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และขั้นตอนการกระตุ้นถ่านชาร์ (ถ่านที่ได้จากการคาร์บอนไนเซชัน)

2.19.1 การคาร์บอนไนเซชัน (carbonization)

กระบวนการคาร์บอนไนเซชันเป็นกระบวนการเผาที่เกิดขึ้นในสภาวะที่ไม่มีอากาศ เพื่อเพิ่มสัดส่วนของคาร์บอนในสารอินทรีย์ ขณะเดียวกันก็ได้ผลิตภัณฑ์อื่นที่เป็นของเหลวและก๊าซออกมาด้วย โดยโครงสร้างวงแหวนอะโรมาติกที่เหลือจะกลายเป็นโครงสร้างของถ่านชาร์ (char) ส่วนกลุ่มโครงสร้างโมเลกุลหรือหมู่อนุมูลที่มีขนาดเล็กกว่าจะกลั่นสลายตัวออกมาเป็นโครงสร้างต่างๆ ได้แก่ น้ำ แอมโมเนีย น้ำมันทาร์และก๊าซต่างๆ

ขั้นตอนการคาร์บอนไนเซชันจัดว่าเป็นขั้นตอนหนึ่งที่มีความสำคัญมากที่สุดในการผลิตผงถ่านกัมมันต์ เนื่องจากในการคาร์บอนไนเซชันจะเริ่มมีการสร้างโครงสร้างที่เป็นรูพรุน โดย

ในระหว่างการคาร์บอนไนเซชันธาตุและองค์ประกอบต่างๆ ที่ไม่ใช่คาร์บอนรวมถึงสารระเหยต่างๆ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เช่น ไฮโดรเจน ออกซิเจน ไนโตรเจนและน้ำจะถูกกำจัดออกจากโครงสร้างของวัตถุดิบในรูปของ ก๊าซและน้ำมันทาร์ จากนั้นก็จะได้ถ่านชาร์ที่มีการเรียงตัวของโครงสร้างผลึกที่ไม่เป็นระเบียบซึ่ง จะมีช่องว่างที่เป็นรูพรุนระหว่างผลึก โดยจะมีสารอินทรีย์ที่เป็นสารพวกทาร์ไปอุดช่องว่างเหล่านั้น ซึ่งส่วนประกอบของถ่านที่ได้จะมีอัตราส่วนของคาร์บอนต่อไฮโดรเจนและคาร์บอนต่อออกซิเจน เพิ่มขึ้นจากวัตถุดิบในตอนแรกด้วย วัตถุดิบแต่ละชนิดจะมีภาวะที่เหมาะสมแตกต่างกันในการ คาร์บอนไนเซชัน โดยผงถ่านกัมมันต์จากวัตถุดิบที่ต่างกันอาจใช้วิธีการกระตุ้นที่ต่างกันเพื่อที่จะได้ผง ถ่านกัมมันต์ที่มีคุณภาพดีที่สุด ซึ่งจะเหมาะกับการนำไปใช้ในระบบที่เหมาะสมต่อไป

วัตถุดิบที่นำมาผลิตเป็นผงถ่านกัมมันต์นั้นจะต้องมีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบโดย วัตถุดิบนั้นอาจเกิดขึ้นโดยธรรมชาติหรือได้จากการสังเคราะห์ขึ้นก็ได้ วัตถุดิบที่นิยมนำมาผลิตผง ถ่านกัมมันต์ในระดับอุตสาหกรรมคือ ถ่านหิน ลิกไนต์ ไม้ และกะลามะพร้าว เนื่องจากสามารถ ผลิตผงถ่านกัมมันต์ที่มีความสามารถในการดูดซับสูงและมีรูพรุนขนาดเล็ก ซึ่งวัตถุดิบที่นำมาผลิต เป็นผงถ่านกัมมันต์ควรมีสมบัติดังต่อไปนี้คือ มีปริมาณสารระเหยต่ำ มีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบ ในปริมาณสูง มีสมบัติคงที่ มีราคาถูกและหาได้ง่าย

ในปัจจุบันของเหลือทิ้งทางการเกษตรได้ถูกนำมาผลิตเป็นถ่านกัมมันต์เป็นจำนวน มาก เนื่องจากหาได้ง่ายและมีราคาถูก อย่างไรก็ตามปัญหาในการผลิตถ่านกัมมันต์จากของเหลือทิ้ง ทางทางการเกษตรคือ วัตถุดิบมีคุณสมบัติไม่คงที่แม้ว่าจะเป็นวัตถุดิบชนิดเดียวกันก็ตามทำให้ยากต่อ การควบคุมการกระจายของรูพรุนในขั้นตอนการผลิต

2.19.2 การกระตุ้น (การก่อกัมมันต์)

เป็นการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของโครงสร้างคาร์บอนเป็นผลทำให้เกิดการเพิ่ม พื้นที่ผิวที่มากขึ้น โดยเป็นการทำให้มีรูพรุนมากขึ้นหรือเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการดูดซับ สารอื่นๆ ปฏิกริยาที่เกิดขึ้นระหว่างการกระตุ้นยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด เนื่องมาจากวิธีการกระตุ้น นั้นมีมากมายหลายวิธีและประสิทธิภาพของการกระตุ้นขึ้นกับลักษณะและชนิดของวัตถุดิบรวมถึง วิธีการอื่นๆ ก่อนการกระตุ้นด้วย โดยทั่วไปแล้วมี 2 วิธีในการผลิตผงถ่านกัมมันต์คือ

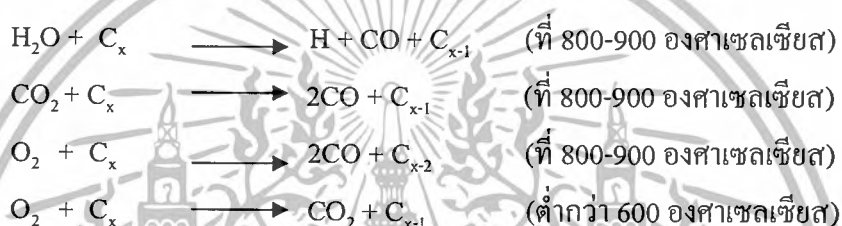
2.19.2.1 นำวัตถุดิบที่ผ่านการคาร์บอนไนเซชันแล้วมากระตุ้นโดยใช้สารกระตุ้น เช่น ซิงค์คลอไรด์ ($ZnCl_2$) แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$) และกรดฟอสฟอริก (H_3PO_4) วิธีนี้โดยทั่วไป เรียกว่า “ การกระตุ้นทางเคมี ” ซึ่งเป็นวิธีการหนึ่งที่ใช้กันมากในการผลิตผงถ่านกัมมันต์ในทาง การค้า โดยปกติแล้ววิธีการกระตุ้นแบบนี้มักใช้กับวัตถุดิบที่เป็นไม้ซึ่งอุณหภูมิที่ใช้ในการกระตุ้น อยู่ในช่วง 500-900 องศาเซลเซียส สารกระตุ้นที่ใช้กันทั่วไปในทางอุตสาหกรรมคือ ซิงค์คลอไรด์ กรดฟอสฟอริกและด่าง การกระตุ้นทางเคมีจะช่วยลดการเกิดทาร์และสารอื่นที่เกิดขึ้นใน

กระบวนการ ดังนั้นร้อยละของผลผลิตที่ได้จึงมีปริมาณค่อนข้างสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.19.2.2 นำวัตถุดิบที่ผ่านการคาร์บอนไนเซชันแล้วมาทำปฏิกิริยากับก๊าซที่ใช้ในการออกซิเดชันซึ่งอาจเป็นน้ำ คาร์บอนไดออกไซด์ ออกซิเจน วิธีนี้โดยทั่วไปเรียกว่า การกระตุ้นทางกายภาพเป็นวิธีการเพิ่มปริมาตรรูพรุนและพื้นที่ผิวโดยปฏิกิริยาก๊าซซิฟิเคชัน(gasification) ด้วยการออกซิไดซ์ในช่วงอุณหภูมิ 700-1,000 องศาเซลเซียส ก๊าซที่ใช้โดยทั่วไปคือก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ไอน้ำและอากาศโดยอาจใช้ชนิดใดชนิดหนึ่งหรือรวมกันก็ได้

ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการคาร์บอนไนเซชันยังเป็นตัวดูดซับที่ไม่ดีจึงต้องทำการกระตุ้นให้ได้ถ่านที่มีการดูดซับสูง โดยอาศัยการกระตุ้นให้ทำปฏิกิริยากับก๊าซที่เป็นตัวออกซิไดซ์ ดังตัวอย่าง



ปัจจัยที่มีผลต่อลักษณะรูพรุนในขั้นตอนของการกระตุ้น โครงสร้างของคาร์บอน คือ ถ่านชาร์ที่นำมากระตุ้น สารอินทรีย์ที่ปนเปื้อนอยู่ในเนื้อคาร์บอน ชนิดของการออกซิไดซ์ อุณหภูมิขณะเกิดปฏิกิริยา ความดันของก๊าซ เวลาในการเกิดปฏิกิริยาและขนาดของอนุภาคของถ่านชาร์

2.19.3 โครงสร้างของถ่านกัมมันต์

โดยปกติแล้วถ่านกัมมันต์โดยทั่วไปมีปริมาตรความพรุนอยู่ระหว่าง 0.5-1.5 มิลลิลิตรต่อกรัม จากลักษณะและขนาดของรูพรุนสามารถแบ่งรูพรุนได้เป็น 3 ขนาดคือ

2.19.3.1 รูพรุนขนาดใหญ่ (macro pore) รูพรุนขนาดใหญ่ที่พบในถ่านกัมมันต์มีค่าอยู่ระหว่าง 5,000-20,000 อังสตรอม ปริมาตรความพรุนมีค่าอยู่ระหว่าง 0.2-0.8 มิลลิลิตรต่อกรัม ส่วนพื้นที่ผิวจำเพาะของรูพรุนขนาดใหญ่นี้มักจะไม่น่าสนใจเนื่องจากมีค่าน้อยกว่า 2 ตารางเมตรต่อกรัม

2.19.3.2 รูพรุนขนาดกลาง (transitional pore) มีรัศมีอยู่ระหว่าง 20-1,000 อังสตรอม มีปริมาตรความพรุนอยู่ระหว่าง 0.02-0.1 มิลลิลิตรต่อกรัมและมีพื้นที่ผิวจำเพาะอย่างน้อยที่สุดร้อยละ 95 ของพื้นที่ผิวจำเพาะทั้งหมด

2.19.3.3 รูพรุนขนาดเล็ก (micro pore) มีรัศมีน้อยกว่า 20 อังสตรอม ซึ่งมีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 6-8 อังสตรอม ปริมาตรความพรุนมีค่าอยู่ระหว่าง 0.15-0.5 มิลลิลิตรต่อกรัม และมีพื้นที่ผิวจำเพาะอย่างน้อยที่สุดร้อยละ 95 ของพื้นที่ผิวจำเพาะทั้งหมด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.19.4 ถ่านกัมมันต์ในทางการค้า

ถ่านกัมมันต์ที่ใช้ในทางการค้าแบ่งออกเป็น 2 รูปคือ ถ่านกัมมันต์ชนิดผงและถ่านกัมมันต์ชนิดเม็ด ซึ่งรายละเอียดของถ่านกัมมันต์ทั้งสองชนิดมีดังนี้

2.19.4.1 ถ่านกัมมันต์ชนิดผง (powdered activated carbon)

ถ่านกัมมันต์ชนิดผงที่ใช้โดยทั่วไปผลิตจากขี้เลื่อยจากไม้ ซึ่งมีขนาดโดยเฉลี่ยของอนุภาคในช่วง 15-25 ไมโครเมตร โดยอาจมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของลักษณะทางเรขาคณิตประมาณ 0.15-0.266 โดยในการออกแบบระบบการดูดซับจะคำนึงถึงการเลือกลักษณะของหูดูดซับ ลักษณะการผสมผงถ่านกัมมันต์กับของเหลว ลักษณะการแยกของผงถ่านกัมมันต์หลังจากที่ดูดซับแล้ว วิธีในการนำกลับมาใช้ใหม่ในทางอุตสาหกรรม ผงถ่านกัมมันต์โดยส่วนใหญ่จะนำไปใช้ในการกำจัดสีในกระบวนการผลิตอาหารเช่น ใช้ในการผลิตน้ำตาล ผลิตน้ำมัน ผลิตโซเดียมกลูตาเมตและผลิตไวน์ ในภาวะปัจจุบันมีการนำผงถ่านกัมมันต์มาใช้กันมาก โดยเฉพาะในการบำบัดน้ำทั้งในการผลิตน้ำดื่มและการบำบัดน้ำเสีย

2.19.4.2 ถ่านกัมมันต์ชนิดเม็ด (granular activated carbon)

ถ่านกัมมันต์เม็ดที่ใช้กันทั่วไปนั้นมีหลายขนาดโดยขึ้นกับการนำไปประยุกต์ใช้งาน ในการดูดซับระบบที่เป็นก๊าซมักใช้ถ่านกัมมันต์รูปทรงกระบอกขนาด 4-6 มิลลิเมตร ข้อดีในการดูดซับระบบที่เป็นก๊าซนั้นคือ ระบบการนำตัวทำละลายกลับมาใช้ใหม่ การทำอากาศให้บริสุทธิ์ การทำก๊าซให้บริสุทธิ์ การกำจัดกำมะถันออกจากก๊าซและใช้ในการแยกระบบก๊าซอื่น ในระบบที่เป็นของเหลวนั้นมีการใช้ถ่านกัมมันต์เม็ดมากเช่นกัน เนื่องจากจัดการระบบได้ง่ายในเครื่องปฏิกรณ์ที่มีความดันต่ำ ทำการล้างเม็ดถ่านได้ง่ายซึ่งในสภาวะของเหลวนิยมใช้ถ่านกัมมันต์เม็ดในการกำจัดสี การผลิตน้ำตาล กำจัดสารอินทรีย์ กำจัดกลิ่นและสิ่งเจือปนในระบบการผลิตน้ำดื่ม และใช้กันอย่างมากที่สุดในการบำบัดน้ำเสีย ถ่านกัมมันต์ชนิดเม็ดมีการใช้งานมากกว่าถ่านกัมมันต์ชนิดผงเนื่องจากสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ โดยนำถ่านกัมมันต์ชนิดเม็ดที่ใช้แล้วผ่านกระบวนการทางความร้อนหรือกระบวนการนำกลับมาใช้ใหม่แบบอื่นๆ ซึ่งสามารถทำได้ง่ายกว่าถ่านกัมมันต์ชนิดผง

มีการผลิตถ่านกัมมันต์ทุกแบบทั่วโลกประมาณปีละ 300,000-400,000 ตัน มีถ่านกัมมันต์ชนิดผงประมาณร้อยละ 55 ถ่านกัมมันต์ชนิดเม็ดประมาณร้อยละ 35 โดยที่เหลือจะเป็นถ่านกัมมันต์ในรูปแบบอื่นซึ่งร้อยละ 80 ของถ่านกัมมันต์ทั้งหมดใช้กับระบบที่เป็นของเหลวและอีกร้อยละ 20 ใช้ในระบบที่เป็นก๊าซ ซึ่งประเทศที่มีการใช้กันมากที่สุดคือ ญี่ปุ่นและสหรัฐอเมริกา โดยมีอัตราการใช้ถ่านกัมมันต์เพิ่มขึ้นปีละประมาณร้อยละ 7 และพบว่าใช้กันมากในระบบใหม่ๆ ซึ่งเกี่ยวกับระบบการป้องกันมลภาวะจากสิ่งแวดล้อม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.19.5 ประโยชน์ของถ่านกัมมันต์

2.19.5.1 ประเภทใช้กับของเหลว (liquid phase carbon) อุตสาหกรรมที่นำถ่านกัมมันต์ไปใช้ในสารละลายหรือในของเหลว ได้แก่

อุตสาหกรรมน้ำตาล ใช้ถ่านกัมมันต์เพื่อฟอกสีและทำให้น้ำตาลดิบบริสุทธิ์ขึ้น

อุตสาหกรรมน้ำมันและไขมันสำหรับบริโภค นอกจากใช้ในการฟอกสีแล้วยังใช้ในการแยกเอสบูและเปอร์ออกไซด์ออกจากน้ำมันและไขมันด้วย

อุตสาหกรรมอาหาร ใช้ถ่านกัมมันต์เพื่อดูดกลิ่นและฟอกสีของผลิตภัณฑ์อาหาร ซึ่งดีกว่าการใช้สารเคมีชนิดอื่นเพราะไม่เป็นอันตรายและไม่เกิดปฏิกิริยากับผลิตภัณฑ์อาหาร

อุตสาหกรรมเครื่องดื่มแอลกอฮอล์เช่น ไวน์ วิสกี้ มักใช้ถ่านกัมมันต์เพื่อดูดกลิ่นที่ไม่ต้องการทำให้เครื่องดื่มที่ได้มีรสชาติดีขึ้น

อุตสาหกรรมเคมีและยา ถ่านกัมมันต์ใช้ในการผลิตสารเคมีและยาเช่น วิตามิน และฮอร์โมนหลายชนิด

อุตสาหกรรมการทำน้ำให้บริสุทธิ์ โดยใช้เป็นตัวดูดกลิ่นและฟอกสี

อุตสาหกรรมการแยกสารที่ต้องการเช่น การแยกทองหลังการสกัดจากแร่ด้วยวิธีไซยาไนด์ การแยกไอโอดีนออกจากน้ำเกลือที่เกิดในหลุมน้ำมัน

กระบวนการที่มีการใช้สารเร่ง (catalytic process) ถ่านกัมมันต์จะทำหน้าที่เป็นตัวพาสารเร่ง (catalyst carrier) ในปฏิกิริยาที่มีการใช้สารเร่งหลายชนิดรวมทั้งทำหน้าที่เป็นตัวกระตุ้นการทำงานของตัวเร่งให้ดีขึ้นด้วย

2.19.5.2 ประเภทที่ใช้ในการดูดก๊าซและไอ (gas phase carbon) ในอุตสาหกรรมต่อไปนี้เป็น

อุตสาหกรรมทำหน้ากากป้องกันก๊าซพิษทั้งที่ใช้กันในการทหารและที่ใช้กันทั่วไป ทั้งนี้เพราะถ่านกัมมันต์ดูดซับก๊าซพิษและไอของสารอินทรีย์ได้ การนำไอระเหยของตัวทำละลายที่ใช้แล้วกลับมาใช้ใหม่ ถ่านกัมมันต์จะดูดซับไอระเหยเหล่านั้นที่อุณหภูมิห้องและจะคายออกที่ความดันของไอระเหยต่ำๆ

อุตสาหกรรมการปรับอากาศ โดยถ่านกัมมันต์จะดูดซับก๊าซพิษต่างๆในอากาศเช่น คาร์บอนไดออกไซด์ ไฮโดรเจน ไนโตรเจนและอะซิไลีน

อุตสาหกรรมบุหรี โดยใช้ถ่านกัมมันต์เป็นกั้นกรองบุหรี

2.20 สันฐานวิทยาของยีสต์

เซลล์ยีสต์มีขนาดแตกต่างกันออกไป โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางตั้งแต่ 1-5 ไมครอน ยาวตั้งแต่ 5-30 ไมโครเมตร ส่วนใหญ่เซลล์จะเป็นรูปไข่แต่มีบางชนิดที่ยาวกว่า บางชนิดเป็นรูปทรงกลม แต่ละสายพันธุ์มีลักษณะเฉพาะ อย่างไรก็ตามขนาดและรูปร่างอาจแตกต่างกันออกไปขึ้นอยู่กับอายุและสภาพแวดล้อม

2.20.1 โครงสร้างของยีสต์

2.20.1.1 แคปซูล (capsule) เป็นโครงสร้างที่ห่อหุ้มเซลล์โดยยีสต์บางชนิดจะปล่อยสารที่มีลักษณะเป็นเมือกหรือเหนียวออกมาหุ้มเซลล์ แคปซูลมักเป็นสารพวกพอลิแซคคาไรด์รวมทั้งเฮเทอโรพอลิแซคคาไรด์ แมนแนนและสารที่คล้ายแป้ง

2.20.1.2 ผนังเซลล์ (cell wall) ผนังเซลล์จะบางเมื่ออายุเซลล์ยังน้อยแต่จะหนาขึ้นตามอายุ ความหนาของผนังเซลล์มีค่าประมาณ 1 ใน 7 ของเส้นผ่านศูนย์กลางเซลล์ ส่วนประกอบส่วนใหญ่ของผนังเซลล์ได้แก่

กลูแคน (glucan) หรือเซลลูโลสของยีสต์ต่างกับเซลลูโลสที่เป็น β -1,3 linkage หรือ β -1,6 linkage ซึ่งเซลลูโลสที่เป็น β -1,4 linkage คิดเป็นร้อยละ 30-35

แมนแนน (mannan) เป็นพอลิเมอร์ของน้ำตาลแมนโนสมีประมาณร้อยละ 30

ไขมัน (lipid) คิดเป็นร้อยละ 8.5-13.5

โปรตีน (protein) คิดเป็นร้อยละ 6-8

ไคติน (chitin) คิดเป็นร้อยละ 1-2

ที่เหลือเป็นสารอินทรีย์ เช่น เกลือฟอสเฟต

2.20.1.3 เยื่อหุ้มเซลล์ (cytoplasmic membrane) องค์ประกอบเหมือนเยื่อหุ้มเซลล์ของสิ่งมีชีวิตอื่นคือ เป็นไลโปโปรตีนและมีหน้าที่ควบคุมการผ่านเข้าออกของสาร

2.20.1.4 ไซโตพลาสซึม (cytoplasm) มีลักษณะกึ่งแข็งกึ่งเหลว ประกอบด้วยสารพอลิแซคคาไรด์ที่สะสมอยู่คือ ไกลโคเจน นอกจากนี้มี RNA และโปรตีนอยู่มาก มีไรโบโซมและออร์แกเนลล์อื่น เช่น ไมโทคอนเดรีย และมีระบบเยื่อในไซโตพลาสซึม

2.20.1.5 นิวเคลียส (nucleus) โครงสร้างทั่วไปเหมือนนิวเคลียสของเซลล์พวกยูคาริโอตทั่วไป จากการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบว่าโครงสร้างบางอย่างขาดหายไปเช่น ไม่มีการสร้างเส้นใยสปินเดิลเมื่อมีการแตกหน่อ เยื่อหุ้มนิวเคลียสยังคงอยู่ตลอดเวลาขณะมีการแบ่งเซลล์ และขณะมีการแตกหน่อนิวเคลียสจะคอดเข้าและส่วนหนึ่งจะไปยังเซลล์ที่เป็นหน่ออีกส่วนหนึ่งอยู่ที่เซลล์เดิม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.20.1.6 แวกิวโอล (vacuole) เซลล์ยีสต์อาจมีแวกิวโอลหนึ่งหรือหลายอันก็ได้ โดยเห็นชัดเจนกว่าโครงสร้างอื่นๆ

2.20.1.7 อินคลูชัน (inclusion) ยีสต์บางชนิดจะมี volutin granule ซึ่งเป็นแกรนูลของพอลิฟอสเฟต บางชนิดมีแกรนูลไขมัน คาร์โบไฮเดรตหรือโปรตีน บางชนิดสะสมไขมันถึงร้อยละ 50 ของน้ำหนักแห้ง นอกจากนี้ก็มีไกลโคเจน เอนไซม์ วิตามิน รงควัตถุซึ่งอาจเป็นสีเหลือง สีส้ม สีชมพูหรือสีน้ำตาล นอกจากนี้ยังอาจพบไซโทโครม ฮีโมโกลบินและฟลาวิน

2.20.2 การจำแนกเชื้อ *Debaryomyces hansenii*

Kingdom	Fungi
Phylum	Ascomycota
Subphylum	Saccharomycetina
Class	Saccharomycetes
Order	Saccharomycetales
Family	Saccharomycetaceae
Genus	<i>Debaryomyces</i>
Species	<i>hansenii</i>

2.21 การผลิตไซลิทอลโดยใช้การตรึงเซลล์

การผลิตไซลิทอลโดยใช้การตรึงเซลล์เป็นอีกวิธีหนึ่งที่ใช้ในการเพิ่มผลผลิตไซลิทอลซึ่งจะเป็นลักษณะของการเพิ่มความหนาแน่นของเซลล์ในถังหมัก นอกจากนี้ยังทำให้เซลล์มีความเสถียรทางพันธุกรรม (genetic stability) และยังสามารถนำเอาเซลล์ตรึงกลับมาใช้ใหม่ได้

2.21.1 การตรึงเซลล์

ความหมายและประวัติของจุลินทรีย์ที่ถูกตรึง เซลล์จุลินทรีย์ที่ถูกตรึงหมายถึงเซลล์ที่ถูกจำกัดขอบเขตหรือสถานที่ทางกายภาพให้อยู่ในบริเวณจำกัดซึ่งทำให้จุลินทรีย์ไม่สูญเสียความสามารถในการเป็นตัวเร่งและสามารถนำมาใช้ซ้ำได้หลายครั้งอย่างต่อเนื่อง โดยเซลล์ที่ถูกตรึงอาจอยู่ในรูปเซลล์ที่กำลังเจริญ เซลล์ระยะพักหรือเซลล์ที่ตายแล้ว

การใช้เซลล์จุลินทรีย์ได้มีการศึกษามานานแล้วโดย Schuetzenbach (1823) ได้ทำการผลิตน้ำตาลสลายซูแบบรวดเร็วโดยใช้ฟิล์มจุลินทรีย์ที่ติดอยู่บนเศษไม้เลื้อย หลังจากนั้นไม่มีผู้สนใจ จนกระทั่งประมาณปี ค.ศ.1971 จึงได้เริ่มมีการสนใจอย่างจริงจังอีกครั้งหนึ่ง จนสามารถนำมาใช้ในทางอุตสาหกรรมเช่น การกำจัดน้ำเสียแบบ activated sludge และ trickling filter นอกจากนี้ยังนำมาใช้ในการกำจัดแร่ธาตุที่มีคุณภาพต่ำในเหมืองแร่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในปัจจุบัน มีรายงานเกี่ยวกับการใช้จุลินทรีย์ที่ถูกตรึงในการผลิตสารต่างๆอย่างกว้างขวางและที่ประสบความสำเร็จในอุตสาหกรรมแล้วเช่น การผลิตกรดแอสปาร์ติก กรดแอลมาลิก การผลิตฟรุคโตสและการผลิต prednisolone เป็นต้น

2.22 การเปรียบเทียบข้อดีและข้อเสียของการตรึงเซลล์กับวิธีอื่นๆ

เซลล์ที่ถูกตรึงจัดเป็นตัวเร่งทางชีวเคมีชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญและมีข้อได้เปรียบหลายอย่างเมื่อเปรียบเทียบกับตัวเร่งหรือวิธีอื่นๆ คือ

2.22.1 การเปรียบเทียบทางเคมี เซลล์ที่ถูกตรึงมีข้อได้เปรียบเมื่อเทียบกับตัวเร่งทางเคมีคือ สามารถเร่งปฏิกิริยาได้ภายใต้สภาวะปกติและใช้พลังงานต่ำ ปฏิกิริยามีความจำเพาะและเกิดการเปลี่ยนแปลงในอัตราสูง ปัญหาการเกิดมลภาวะมีน้อยแต่เซลล์ที่ถูกตรึงมีข้อเสียบางประการคือต้องการสารประกอบเชิงซ้อนเช่น โคแฟกเตอร์ต่างๆ ในการเกิดปฏิกิริยาและมีความคงทนน้อยกว่าตัวเร่งทางเคมี

2.22.2 การเปรียบเทียบกับเซลล์อิสระหรือเอนไซม์อิสระ เซลล์ที่ถูกตรึงได้เปรียบกว่าเซลล์อิสระหรือเอนไซม์อิสระคือ สามารถใช้เซลล์จำนวนมากๆศึกษาในถังปฏิกิริยาขนาดเล็กได้ การผลิตควบคุมปฏิกิริยาได้ง่าย สามารถแยกผลผลิตออกมาได้สะดวกและไม่มีปัญหาในการปนเปื้อนโดยจุลินทรีย์อื่น เซลล์ที่ถูกตรึงมีความคงทนสูง สามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ ทำให้ลดต้นทุนการผลิตลงมาก แต่การใช้เซลล์ที่ถูกตรึงมีข้อเสียคือ เสียค่าใช้จ่ายในการตรึงเซลล์และอาจสูญเสียความสามารถระหว่างการตรึงเซลล์ได้

2.22.3 การเปรียบเทียบกับเอนไซม์ที่ถูกตรึง การใช้เซลล์ที่ถูกตรึงมีข้อได้เปรียบกว่าเอนไซม์ที่ถูกตรึงในกรณีที่กระบวนการผลิตนั้นต้องใช้ระบบเอนไซม์หลายชนิด โคแฟกเตอร์และสารพลังงานสูงอื่นๆ นอกจากนี้การใช้เซลล์ที่ถูกตรึงยังไม่ต้องใช้กระบวนการสกัดและทำให้เอนไซม์บริสุทธิ์เป็นผลให้เอนไซม์ยังคงมีประสิทธิภาพสูงทำให้ผลผลิตสูงขึ้นและยังเป็นการลดค่าใช้จ่ายอีกด้วย แต่การใช้จุลินทรีย์ที่ถูกตรึงมีข้อเสียคือ เซลล์ประกอบด้วยเอนไซม์หลายชนิดที่สามารถผลิตสารที่ไม่ต้องการออกมาบ้างยังผลผลิตได้และเซลล์ที่ถูกตรึงยังถูกจำกัดการซึมผ่านเข้าออกของสารตั้งต้นและผลผลิตโดยที่ใช้เซลล์ตรึง นอกจากนี้ยังอาจพบการปนเปื้อนของผลผลิตจากตัวเซลล์หรือสารที่ถูกขับออกจากเซลล์ที่ถูกตรึงในกรณีที่เซลล์เกิดการย่อยสลายตัวเอง เนื่องจากเซลล์ถูกใช้เป็นเวลานานหรือเซลล์ร่วงไหลเพราะเซลล์มีการเจริญเพิ่มจำนวน

2.23 การพิจารณาคัดเลือกสารที่เหมาะสมในการตรึงเซลล์

เนื่องจากการเตรียมเซลล์ที่ถูกตรึงมีหลายวิธี ดังนั้นคุณสมบัติของสารที่เหมาะสมในการตรึงเซลล์แต่ละวิธีจึงมีข้อแตกต่างกันไป แต่โดยทั่วไปแล้วปัจจัยที่สำคัญในการพิจารณาจะคล้ายคลึงกันคือ คุณสมบัติทางกลไก (mechanical properties) คุณสมบัติทางฟิสิกส์ ความทนทานต่อสภาพแวดล้อมทางกายภาพ สารเคมี การย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ ความชอบน้ำ (hydrophilicity) ความซึมซาบ (permeability) ราคาและการยอมรับ

สำหรับสารที่เหมาะสมในการตรึงเซลล์โดยวิธีการห่อหุ้มนั้น Takata et al. (1977) ได้สรุปไว้ดังนี้

2.23.1 คุณสมบัติในการละลาย ควรจะทำการละลายและผสมเซลล์ที่ได้ให้มีความคงตัวอยู่ในสถานะที่เป็นของเหลว

2.23.2 คุณสมบัติในการเกิดเจล สารผสมที่ได้ควรจะถูกเหนี่ยวนำให้เกิดเจลด้วยวิธีง่ายๆ ภายใต้สภาวะปกติและไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเอนไซม์หรือเซลล์ จุลินทรีย์

2.23.3 คุณสมบัติของเจล เจลที่ได้ควรจะมีความแข็งแรงและความคงตัวสูง ขนาดของรูที่อยู่ภายในเจลควรมีขนาดเล็กพอที่จะป้องกันการรั่วไหลของเซลล์ได้ แต่สารตั้งต้นและผลผลิตที่เกิดขึ้นสามารถซึมผ่านเข้าออกได้อย่างอิสระ

2.24 คุณสมบัติของเซลล์จุลินทรีย์ที่ถูกตรึง

2.24.1 ความจำเพาะต่อองค์ประกอบของอาหารที่ใช้ในการผลิต เซลล์ที่ถูกตรึงควรมีความสามารถจำเพาะเจาะจงต่อองค์ประกอบของอาหารและผลผลิต ในกรณีองค์ประกอบของสารอาหารที่ใช้เลี้ยงมีโมเลกุลสูง ความสามารถของเอนไซม์ที่ถูกตรึงมักจะต่ำลงด้วย

2.24.2 ความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมของเซลล์ที่ถูกตรึง เมื่อเปรียบเทียบความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมของเซลล์ที่ถูกตรึงกับเซลล์อิสระ พบว่าเซลล์ที่ถูกตรึงอาจมีการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่างหรือไม่เปลี่ยนแปลงเลย

2.24.3 อุณหภูมิที่เหมาะสมของเซลล์ที่ถูกตรึง เซลล์ที่ถูกตรึงมักมีความคงตัวต่อความร้อนได้ดีกว่าเซลล์อิสระ ดังนั้นอุณหภูมิที่เหมาะสมของเซลล์ที่ถูกตรึงจึงมักมีค่าสูงกว่าเซลล์อิสระ

แอลจินเนตเป็นสารสกัดที่ได้จากสาหร่ายสีน้ำตาลมีลักษณะทางเคมีเป็นพอลิเมอร์ร่วมของ ดีแมนนูโรเนต (D-mannuronate; M) และแอลกลูคูโรเนต (L-glucuronate; G) แอลจินเนตสามารถเกิดเป็นเจลได้เมื่ออยู่ในสารละลายที่มีไอออนของโลหะพอลิวาเลนต์ เช่น อะลูมิเนียมไอออน (Al^{3+}) และแคลเซียมไอออน (Ca^{2+}) การตรึงเซลล์ด้วยแอลจินเนตทำได้โดยผสมเซลล์ลงในสารละลาย

โซเดียมอัลจินเนตแล้วหยดลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์จะเกิดการก่อตัวเป็นเจลของแคลเซียม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แอลจินเตทันทึและหลังจากนั้นควรแช่เจลไว้ในแคลเซียมคลอไรด์อีกอย่างน้อย 20 นาทีเพื่อให้เกิดเจลอย่างสมบูรณ์ คุณสมบัติของเจลที่ได้จะขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณของแอลจินเตทที่ใช้ โดยแอลจินเตทที่มีจี-เรซิดิวส์ (G - residues) สูงจะทำให้เกิดเจลที่มีความแข็งแรงสูงด้วย นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับชนิดและความเข้มข้นของไอออนโลหะและปริมาณของเจลที่ใช้ด้วย

การใช้แคลเซียมแอลจินเตทมีข้อดีหลายประการคือ ทำได้ง่ายภายใต้สภาวะปกติและรวดเร็ว ดังนั้นจึงนิยมใช้ในการตรึงเซลล์ที่มีชีวิต นอกจากนี้การตรึงเซลล์ด้วยแคลเซียมแอลจินเตทยังเป็นวิธีที่ปลอดภัย เนื่องจากแอลจินเตทเป็นสารไม่มีพิษและยอมรับให้ใช้เป็นวัตถุเจือปนในอาหาร (food additive) มาเป็นเวลานานแล้วและเซลล์ที่ถูกตรึงด้วยแคลเซียมแอลจินเตทยังสามารถแบ่งเซลล์ได้ภายในเจลได้ทำให้ความสามารถในการเป็นตัวเร่งยังมีอยู่นาน แต่เซลล์บางส่วนอาจหลุดร่วออกนอกเจลได้ทำให้เกิดการปนเปื้อนในผลผลิต และในบางสภาวะการใช้แคลเซียมแอลจินเตทอาจทำให้เกิดปัญหาได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีการเกิดคีเลตติง (chelating agent) เช่น สารประกอบฟอสเฟตและอีดีทีเอ (EDTA : Ethylene diamine tetraacetic acid) ซึ่งสามารถดึงแคลเซียมไอออนออกจากเจลทำให้เจลไม่คงตัวและเกิดการละลายได้และธาตุที่มีประจุบวกบางชนิด เช่น แมกนีเซียม ไอออนและโปแตสเซียมไอออนซึ่งสามารถเข้าไปแทนที่แคลเซียมไอออนได้ทำให้เจลไม่คงตัวแล้วเกิดการละลายได้ อย่างไรก็ตามคุณสมบัติข้อนี้ของแอลจินเตทสามารถนำมาใช้ในการศึกษาการตรวจวัดการเจริญของเซลล์ภายในเจลได้ สำหรับการแก้ไขปัญหการละลายของเจลเมื่อมีสารคีเลตติงทำได้โดยการใช้สตรอนเชียมหรือแบเรียมแทนแคลเซียมเพราะจะทำให้เกิดเจลที่มีความคงตัวมากกว่าแต่จะไม่เป็นที่ยอมรับในกรณีที่ผลผลิตที่ได้เกี่ยวข้องกับการใช้ในอาหาร

ปัจจุบันแคลเซียมแอลจินเตทถูกนำมาใช้เป็นสารตัวนำในการตรึงเอนไซม์ เซลล์จุลินทรีย์ กลอโรพลาสต์ ไมโทคอนเดรียและเนื้อเยื่อพืช โดยเฉพาะอย่างยิ่งเซลล์จุลินทรีย์ที่ถูกตรึงด้วยแคลเซียมแอลจินเตตนิยมใช้ในการศึกษาประสิทธิภาพของระบบเอนไซม์หลายชนิดในเซลล์เช่น การย่อยสลายฟีนอล การผลิตแอลกอฮอล์ สารปฏิชีวนะและสเตอรอยด์ เป็นต้น

การตรึงเซลล์มีที่มาจากเทคนิคการตรึงเอนไซม์ แต่ทั้งนี้เพื่อที่จะเป็นการลดต้นทุนในส่วนของการขั้นตอนการสกัดเอนไซม์ซึ่งจะต้องใช้ค่าใช้จ่ายสูง จึงได้มีการดัดแปลงการตรึงเอนไซม์มาใช้ในการตรึงเซลล์จุลินทรีย์ ตลอดจนการตรึงเซลล์สัตว์และเซลล์พืชที่เป็นแหล่งผลิตเอนไซม์

การตรึงเซลล์นั้นเกิดขึ้นจากแนวความคิดของการสังเกตจากธรรมชาติแล้วนำมาดัดแปลง เช่น พิจารณาการทำงานของจุลินทรีย์ในดินแล้วนำมาดัดแปลงใช้ในการตรึงเซลล์จุลินทรีย์ เป็นต้น นอกจากนี้ยังได้แนวความคิดมาจากระบวนการใช้จุลินทรีย์ในอุตสาหกรรมบางชนิดที่มีเซลล์ของจุลินทรีย์จับอยู่ที่ผิวของของแข็งหรือสร้างเป็นแผ่นฟิล์มเช่น ในกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชู การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้มีการอธิบายการตรึงเซลล์เป็นครั้งแรกในปี ค.ศ. 1966 (Mosbach and Mosbach) และหลังจากนั้นเป็นต้นมา งานวิจัยทางด้านนี้ได้มีการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วและประสบผลสำเร็จจนถึงระดับอุตสาหกรรม แต่ความสำเร็จนี้ยังคงอยู่ในขอบเขตของเซลล์ที่มีปฏิริยาขั้นตอนเดียว เอนไซม์ที่พบในเซลล์ซึ่งประสบผลสำเร็จดังกล่าวได้แก่ อะมิโนเอไซเลส (amino acylase) เพนซิลลินเอไซเลส (penicillin acylase) กลูโคสไอโซเมอเรส (glucose isomerase) แอสพาร์เทส (aspartase) ฟิวมาเรส (fumarase) และแลคเทส (lactase)

ในหลายกรณี การตรึงเซลล์ด้วยการดักจับหรือการล้อมรอบจะทำให้เซลล์มีความคงทนต่อการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อมเช่น อุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่างและความเข้มข้นของไอออน ในสารละลายปฏิริยาได้ดีกว่าเซลล์อิสระ นอกจากนี้ยังพบว่าเซลล์ตรึงจะได้รับการปกป้องจากสารบางชนิดเช่น ออกซิเจน ไอออนของโลหะบางชนิดได้ดีกว่าเซลล์อิสระ แม้ว่าเซลล์ตรึงจะมีข้อได้เปรียบมากกว่าเซลล์อิสระแต่ระบบเซลล์ตรึงยังคงมีข้อบกพร่อง 3 ประการดังนี้

1. การรักษาสภาพธรรมชาติให้คงตัว ทั้งนี้เนื่องจากเซลล์ตรึงจะไม่มีอาการเจริญและโดยธรรมชาติแล้วเซลล์ที่ไม่เจริญมักจะสูญเสียความสามารถในการทำงาน ดังนั้นในทางปฏิบัติต้องให้อาหารกับเซลล์ตลอดเวลาทั้งนี้เพื่อให้เซลล์มีชีวิตอยู่ได้และมีประสิทธิภาพในการทำงาน
2. เซลล์ตรึงจะมีปัญหาเรื่องการแพร่กระจายและการขนส่งสารอาหารและสารผลิตภัณฑ์ผ่านสารพาหะที่ใช้ตรึง
3. สารอาหารและสารผลิตภัณฑ์อาจจะทำให้เกิดปฏิริยาที่ไม่ต้องการขึ้นได้

2.25 เทคนิคการตรึงเซลล์โดยใช้วิธีการดักจับ

วิธีนี้เป็นการใช้สารอินทรีย์ที่พบในธรรมชาติเช่น คอลลาเจน เจลาติน อะกาโรส แคมปาคาราจีแนน แอลจิเนต ไคโตแซน เซลลูโลสหรือสารที่ได้จากการสังเคราะห์เช่น พอลิเมอร์สองชนิดเช่น พอลิอะคริลาไมด์ พอลิเมทาคริเลทและพอลิยูริเทนซึ่งพอลิเมอร์เหล่านี้อาจจะได้จากวิธีต่างๆ ได้แก่ การเชื่อมไขว้ พอลิเมอร์ไรเซชันหรือพอลิคอนเดนเซชัน

การตรึงเซลล์โดยใช้วิธีดักจับไว้ในสารพาหะที่มีลักษณะเป็นเม็ดสามารถทำได้หลายวิธีดังนี้

1. เตรียมพอลิเมอร์ให้มีลักษณะเป็นแผ่นแล้วตัดให้มีขนาดเล็กลง วิธีนี้เป็นวิธีที่ทำได้ง่ายแต่จะได้นาขของเซลล์ตรึงที่ไม่สม่ำเสมอ ซึ่งทำให้สารละลายอาหารไหลผ่านไม่สะดวกเมื่อบรรจุเซลล์ตรึงลงในคอลัมน์
2. ใช้สารผสมของเซลล์กับพอลิเมอร์กดผ่านเข็มฉีดยาลงในสารละลายของเกลือซึ่งจะเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

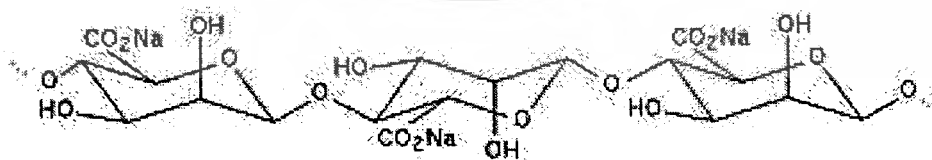
ตัวทำให้พอลิเมอร์คงรูปอยู่ได้วิธีนี้จะทำให้เม็ดของเซลล์ตรึงมีขนาดสม่ำเสมอ แต่วิธีนี้จะไม่เหมาะสำหรับการเตรียมในปริมาณมากและเหมาะที่จะใช้กับสารพาหะบางชนิดเท่านั้น สำหรับสารพาหะที่นิยมใช้กันมากได้แก่ โซเดียมแอลจิเนตและแคลปาคารจีแนน

3. เตรียมโดยใช้ระบบสองเฟส (two-phase system) เซลล์ตรึงที่เตรียมโดยวิธีนี้จะมีลักษณะกลมและปล่อยให้สารละลายอาหารไหลผ่านไปโดยสะดวก นอกจากนี้ยังสามารถเตรียมเป็นจำนวนมากได้ด้วย

ปัญหาที่สำคัญของการตรึงเซลล์ด้วยวิธีการดักจับคือ ข้อจำกัดในการแพร่กระจายของสารอาหาร โดยปกติเซลล์ตรึงจะได้รับสารอาหารน้อยกว่าเซลล์อิสระ ทั้งนี้เพราะเมื่อเซลล์ถูกจับไว้ด้วยสารพาหะจะทำให้สารอาหารซึมผ่านสารพาหะก่อนที่เซลล์จะได้รับสารอาหาร แต่ในการประยุกต์ใช้ในบางกรณี ข้อจำกัดนี้จะไม่มีความสำคัญน้อยลงเมื่อเปรียบเทียบกับประโยชน์ที่ได้รับจากเซลล์ตรึงซึ่งจะป้องกันเซลล์จากการเปลี่ยนแปลงสภาวะแวดล้อมภายนอกเซลล์ ตัวอย่างเช่น การตรึงเซลล์ด้วยพอลิเอคริลาไมด์จะทำให้ปัญหาเรื่องข้อจำกัดในการแพร่กระจายลดลงได้ เพราะเจลชนิดนี้มีรูพรุนขนาดใหญ่ นอกจากนี้ปัญหาการซึมผ่านผนังเซลล์จะลดลงโดยการทำให้เซลล์แตก (autolysis) การทำให้เซลล์แห้งหรือแช่แข็งโดยการใช้โทลูอีนหรือสารลดแรงตึงผิว (surfactant) วิธีการเหล่านี้จะทำให้เซลล์ตายแต่จะมีเอนไซม์ที่คงมีประสิทธิภาพอยู่

สำหรับพอลิเมอร์ธรรมชาติที่ใช้ในการตรึงเซลล์ด้วยการดักจับนั้นมีจำนวนมาก การทำให้พอลิเมอร์แต่ละชนิดมีลักษณะเป็นเจลนั้นมีหลายวิธี บางชนิดเป็นวิธีที่นุ่มนวลและทำให้เซลล์ที่ไม่ทนต่อสภาวะต่างๆ สามารถมีชีวิตอยู่รอดได้หลังจากทำการตรึงเซลล์แล้ว

แอลจิเนตเป็นสารพาหะที่ใช้ดักจับเซลล์ได้ง่ายและสะดวก ดังนั้นในปัจจุบันจึงเป็นวิธีหนึ่งที่น่ามาใช้กันมาก เมื่อพิจารณาจากจำนวนงานวิจัยที่ตีพิมพ์เผยแพร่จะพบว่าแอลจิเนตเป็นพอลิเมอร์ธรรมชาติที่ใช้กันมากที่สุด แอลจิเนตมีโครงสร้างดังรูป 2.13



ภาพที่ 2.13 แสดงโครงสร้างของโซเดียมแอลจิเนต

ที่มา : พาณิณและวริยา (2545)

โครงสร้างประกอบด้วยกลุ่มคาร์บอกซิลในแต่ละหน่วยย่อย (โมโนแซคคาไรด์) ที่ไปยึดจับกับไอออนของโลหะบางชนิดเช่น แคลเซียมไอออน แมกนีเซียมไอออน คอปเปอร์ไอออนหรืออะลูมิเนียมไอออน เป็นต้น ทำให้เจลที่ได้มีความเสถียรและการตรึงเซลล์โดยวิธีการดักจับในสภาพที่ไม่รุนแรงจะเป็นผลให้เซลล์ส่วนมากไม่ตาย ลักษณะรูปร่างของเจลเมื่อผ่านขั้นตอนการตรึงเซลล์แล้วจะมีลักษณะเป็นเม็ดกลม ซึ่งเตรียมได้โดยการตุ๋นสารละลายผสมของเซลล์ (ความเข้มข้นร้อยละ 1-2 โดยน้ำหนักเซลล์เปียก) กับโซเดียมแอลจิเนต (ความเข้มข้นร้อยละ 1-7 โดยน้ำหนัก) ผ่านเข็มฉีดยาแล้วรองรับหยดของสารผสมนี้ด้วยสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (ความเข้มข้น 0.05-0.5 โมลาร์) ที่เย็นแล้วปล่อยให้เม็ดเจลอยู่ในสารละลายเป็นเวลาประมาณ 2 ชั่วโมง ทั้งนี้เพื่อให้เม็ดเจลมีความแข็งแรงมากขึ้นเพราะแคลเซียมไอออนจะเข้าไปแทนที่โซเดียมไอออนของโซเดียมแอลจิเนต ความแข็งแรงของเม็ดเจลจะขึ้นอยู่กับชนิดและความเข้มข้นของโซเดียมแอลจิเนต อัตราส่วนของกรดแมนนูโรนิกและกรดกลูคูโรนิกที่ผลต่อความเสถียรของเจล โดยถ้าหากมีกรดกลูคูโรนิกจำนวนมากจะทำให้ได้เจลที่มีความเสถียรสูง

ข้อบกพร่องในการตรึงเซลล์ด้วยแอลจิเนตคือ เม็ดเจลที่ตรึงเซลล์จะละลายในสารละลายที่มีไอออนหรือโมเลกุลที่สามารถจับกับแคลเซียมไอออนได้ตัวอย่างเช่น ฟอสเฟต ซิเตรต อิติทีเอ เป็นต้น ในกรณีที่ความเข้มข้นของไอออนเหล่านี้ไม่สูงมากจะทำให้เม็ดเจลคงรูปอยู่ได้ด้วยการเพิ่มความเข้มข้นของแคลเซียมไอออนหรือใช้สารประกอบเอมีน (เช่น พอลิเอธิลีนอิมิน พอลิไพร์โรลีนอิมิน) และตามด้วยการเชื่อมไขว้โดยใช้กลูทารอลดีไฮด์ จากการตรึงเซลล์ยีสต์พบว่าเซลล์ตรึงที่ผ่านการเคลือบด้วยพอลิเอมีนและกลูทารอลดีไฮด์จะผลิตเอธานอลได้ในปริมาณเท่ากับเซลล์ตรึงที่ไม่ผ่านการใช้สารทั้งสอง แต่เม็ดเจลในกรณีแรกจะมีความเสถียรโดยที่จะสามารถอยู่ในสารละลายฟอสเฟตได้เป็นเวลานาน

2.26 ความสัมพันธ์ระหว่างเซลล์กับสารพาหะที่ใช้ในการตรึงเซลล์

1. พื้นที่ผิวของสารพาหะและความจุของเซลล์

2. ผลกระทบจากสภาวะแวดล้อมรอบๆเซลล์ตรึง สภาวะแวดล้อมรอบๆ เซลล์ตรึงจะมีผลต่อการทำงานของเซลล์ ผลกระทบนี้อาจน้อยกว่ากรณีของเอนไซม์ตรึง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีที่เซลล์ตรึงผลิตเอนไซม์ ภายในเซลล์นั้นจะได้รับผลกระทบจากสภาพแวดล้อมรอบๆเซลล์น้อยมาก

ปกติเซลล์ตรึงจะมีความเสถียรสูงขึ้นและอายุมากกว่าเซลล์อิสระ อย่างไรก็ตามจะมีตัวแปรอื่นๆ ที่ทำให้เซลล์ตรึงมีความเสถียรสูงขึ้นซึ่งได้แก่ ตัวยับยั้ง (inhibitor) ตัวทำลายอินทรีย์ ความร้อนและกรด

2.27 การนำเซลล์ตรึงไปประยุกต์ใช้งาน

1. การผลิตสารชีวโมเลกุล

จะเห็นว่าเซลล์ตรึงทำให้เกิดปฏิกิริยาต่างๆจำนวนมาก ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของสารอินทรีย์และสารตั้งต้น นอกจากนี้เทคนิคการใช้เซลล์ยีสต์ตรึงยังสามารถใช้ได้กับกระบวนการผลิตแบบต่อเนื่องในระดับอุตสาหกรรมได้ด้วย เนื่องจากกระบวนการเตรียมเซลล์ตรึงไม่จำเป็นต้องใช้อุปกรณ์พิเศษอื่นๆในการตรึงเข้ามาเพิ่มเติม โดยเม็ดยาลูปทรงกลมจะได้รับการเติมสารผสมระหว่างเซลล์ยีสต์กับโซเดียมแอลจิเนตลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์โดยใช้หัวฉีด (nozzle) ซึ่งถูกติดตั้งอยู่บริเวณส่วนบนของถังหมัก สารผสมดังกล่าวจะค่อยๆถูกปล่อยลงมายังสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ในถังหมักอย่างต่อเนื่อง หลังจากสิ้นสุดกระบวนการตรึงเซลล์แล้ว อาหารเลี้ยงเชื้อหรือสารตั้งต้นก็จะถูกป้อนเข้าสู่ถังหมักเพื่อเริ่มต้นกระบวนการหมักครั้งต่อไป

2. งานด้านวิเคราะห์

ปัจจุบันงานด้านวิเคราะห์จำนวนมากได้ให้ความสนใจในการประยุกต์ใช้เซลล์ตรึง ซึ่งมีทั้งที่ใช้ในรูปของอิเล็กโทรด (ความเป็นกรด-ด่าง ออกซิเจน แอมโมเนียและคาร์บอนไดออกไซด์) และในรูปแบบเทอร์มิสเตอร์ (thermister)

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

1. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ของ Shimadzu รุ่น UV1610
2. ตู้อบลมร้อน (hot air oven) ของ Memmert Model 600
3. เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (incubator shaker) ของ GALLEN CAMP
4. เครื่องปั่นเหวี่ยง Hermle Model Z383K
5. หม้อนึ่งอัดความดันไอน้ำ (autoclave) Harvey Model Hydroclave MC10
6. เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง SHIMADZU LIBROR EB-4000H
7. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง Mettler-toledo Model AG204
8. เครื่องอ่างน้ำอุ่น (water bath) Memmert
9. เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง Dever Instrument Model 215
10. เครื่องปั่นน้ำผลไม้
11. ตู้เย็น SANYO
12. เครื่องแก้ว (พลาสติก หลอดทดลอง กรวย ฯลฯ)
13. อุปกรณ์วัดปริมาตร (ปิเปตต์ ไมโครปิเปตต์ กระบอกตวง ฯลฯ)
14. กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 และ 4
15. ลวดเย็บเย็บ
16. ตะเกียงแอลกอฮอล์

3.2 เคมิภัณฑ์สำหรับเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

ยีสต์สกัด (yeast extract)

มอลต์สกัด (malt extract)

เปปโตเน (peptone)

ผงวุ้น (agar)

น้ำตาลกลูโคส (glucose)

น้ำตาลไซโลส (xylose)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 เคมีภัณฑ์สำหรับการย่อยวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร

กรดซัลฟิวริก (sulphuric acid)

3.4 เคมีภัณฑ์สำหรับการลดความเป็นพิษของไฮโดรไลเสท

แคลเซียมออกไซด์ (calcium oxide)

ผงถ่านกัมมันต์ (charcoal)

3.5 เคมีภัณฑ์สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลกลูโคสตามวิธีของ Somogyi Nelson ' s (1952)

คอปเปอร์ซัลเฟตเพนตะไฮเดรต (copper sulphate pentahydrate; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)

โซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (sodium hydrogen phosphate; Na_2HPO_4)

โซเดียมโปแตสเซียมทาร์เทรต (sodium potassium tartrate)

โซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide; NaOH)

โซเดียมซัลเฟตแอนไฮไดรรัส (sodium sulphate anhydrous; NaSO_4)

แอมโมเนียมโมลิบเดต (ammonium molybdate; $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)

ไดโซเดียมอาร์ซีเนต (disodium acenate; $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)

3.6 เคมีภัณฑ์สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลไซโลสตามวิธีของ Deschatelets and Yu (1986)

ไทโอยูเรีย (thiourea)

กรดแอซิติก (acetic acid)

4-โบรโมแอนิลีน (4-bromoaniline)

3.7 เคมีภัณฑ์สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลไซลิทอลตามวิธีของ Alder and Gustafsson (1980)

โซเดียมเมตาเพอริโอเดต (sodium metaperiodate; NaIO_4)

กรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid)

แอมโมเนียมแอซิเตต (ammonium acetate)

กรดแอซิติก (acetic acid)

บิวเทน-2,3-ไดออล (butane-2,3-diol)

เพนเทน-2,4-ไดโอน (pentane-2,4-dione)

3.8 วัตถุดิบ

ฟางข้าว สามารถเตรียมได้โดยนำฟางข้าวมาตัดเป็นท่อนสั้นๆยาวประมาณ 1 เซนติเมตร แล้วนำมาปั่นด้วยเครื่องปั่นน้ำผลไม้เพื่อให้มีขนาดเล็กลงจากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมงทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้องแล้วเก็บใส่ถุงปิดผนึกเพื่อเก็บไว้ใช้ศึกษาต่อไป

3.9 เชื้อจุลินทรีย์ในการวิจัย

Debaryomyces hansenii TISTR 5155 จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

3.9.1 การเก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์ในการวิจัย

ใช้ลวดเย็บเชื้อ (loop) เจ็บเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ประมาณ 1 ลูป นำมาตากลงบนอาหารแข็งเพื่อการเก็บรักษาเชื้อ (ภาคผนวก ก) แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นปิดด้วยพาราฟิล์มและนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสโดยจะต้องทำด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ

3.9.2 การเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้นสำหรับเซลล์อิสระ

ถ่ายเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ลงในฟลาस्कขนาด 500 มิลลิลิตร ที่บรรจุอาหารเพื่อการเจริญเติบโต (ภาคผนวก ก) ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ซึ่งผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ประมาณ 1-2 ลูป โดยจะต้องทำด้วยเทคนิคปลอดเชื้อแล้วนำไปเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณเซลล์ด้วยเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็ว 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร ให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วง 0.5 โดยปริมาณหัวเชื้อที่ใช้คิดเป็นร้อยละ 8 ของปริมาณอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งหมด

3.9.3 การเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้นสำหรับเซลล์ตรึงที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมแอลจีเนต

3.9.3.1 ทำการถ่ายเชื้อลงบนอาหารแข็งเพื่อการเก็บรักษาเชื้อภายใต้สภาวะที่ปลอดเชื้อแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 24 ชั่วโมง

3.9.3.2 ถ่ายเชื้อที่ได้จากข้อ 1 ลงในอาหารสำหรับการเจริญปริมาตร 200 มิลลิลิตร ที่บรรจุอยู่ในฟลาस्कขนาด 500 มิลลิลิตรแล้วนำไปเลี้ยงในเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็ว 250 รอบต่อนาที เป็นเวลานานประมาณ 6 ชั่วโมง จนกระทั่งค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์แขวนลอยมีค่าอยู่ในช่วง 0.5

3.9.3.3 ดูดเซลล์แขวนลอยลงในหลอดปั่นเหวี่ยงปริมาตรหลอดละ 8 มิลลิลิตร โดยปริมาณหัวเชื้อที่ใช้คิดเป็นร้อยละ 8 ของปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งหมด

3.9.3.4 นำเซลล์แขวนลอยที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลานาน 10 นาที แล้วเทส่วนของอาหารเลี้ยงเชื้อออก ล้างตะกอนเซลล์แขวนลอยด้วยสารละลายน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 0.85 ปริมาตร 5 มิลลิลิตรโดยล้างเซลล์ทั้งหมด 2 ครั้งแล้วจึงเทสารละลายน้ำเกลือทิ้งไป

3.9.3.5 เติมสารละลายน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 0.85 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงในหลอดปั่นเหวี่ยงที่มีตะกอนเซลล์ แล้วผสมลงในสารละลายโซเดียมแอลจินเตความเข้มข้นร้อยละ 2 ปริมาตร 20 มิลลิลิตร จากนั้นใช้แท่งแก้วคนที่มาเชื้อแล้วคนสารละลายทั้งสองให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกันนานประมาณ 10 นาที แล้วตั้งทิ้งไว้นานประมาณ 30 นาที เพื่อให้ฟองอากาศที่อาจมีอยู่ในสารละลายออกไป

3.9.3.6 เทสารละลายโซเดียมแอลจินเตที่ผสมเข้ากันดีแล้วกับสารละลายเซลล์ลงในหลอดฉีดขนาด 25 มิลลิลิตรแล้วหยดสารละลายผสมลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร ปริมาตร 75 มิลลิลิตรที่บรรจุอยู่ในพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตรด้วยอัตราเร็วคงที่เพื่อทำให้เกิดเม็ดเจลที่มีขนาดเท่ากันทุกเม็ด จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสนานอย่างน้อย 2 ชั่วโมงเพื่อให้เม็ดเจลมีความคงตัวมากขึ้น

3.9.3.7 ล้างเม็ดเจลที่ได้ด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้งปริมาตรครั้งละ 50 มิลลิลิตร เทน้ำกลั่นที่ใช้ล้างเม็ดเจลออกก็จะได้เม็ดเจลที่พร้อมจะนำไปใช้ในการผลิตน้ำตาลไซลิทอลต่อไป

3.10 การเตรียมอาหารไฮโดรไลสจากฟางข้าวเพื่อเลี้ยงและผลิตน้ำตาลไซลิทอลของเชื้อจุลินทรีย์ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155

การเตรียมอาหารไฮโดรไลสจากฟางข้าวเพื่อเลี้ยงและผลิตน้ำตาลไซลิทอลประกอบด้วยขั้นตอนที่สำคัญ 2 ขั้นตอนคือ ขั้นตอนการย่อยสลายฟางข้าวและการลดความเป็นพิษของไฮโดรไลสซึ่งมีรายละเอียด ดังนี้

3.10.1 การเตรียมไฮโดรไลสจากการย่อยสลายฟางข้าว (hydrolysis) สามารถทำได้โดย

- 1). นำฟางข้าวจากข้อ 3.8 มาแช่ในสารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 0.5 โมลต่อลิตรในอัตราส่วนฟางข้าวต่อปริมาตรสารละลายกรดเป็น 1 กรัมต่อ 10 มิลลิลิตรเป็นเวลา 1 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2). นำไปย่อยสลายที่อุณหภูมิ 126 องศาเซลเซียสเป็นเวลานาน 90 นาทีแล้วทำให้เย็นลง

3). กรองไฮโดรไลเสทที่ได้โดยเอาเฉพาะส่วนใสเท่านั้น

3.10.2 การลดความเป็นพิษของไฮโดรไลเสทซึ่งจะมี 2 ขั้นตอนคือ

3.10.2.1 การลดปริมาณสารพิษโดยวิธีโอเวอร์ไลมิง (overliming) สามารถทำได้โดย

1). นำไฮโดรไลเสทที่เตรียมได้จากฟางข้าวมาปรับค่าความเป็นกรด-ด่างจนได้เป็น 10.5 ด้วยแคลเซียมออกไซด์ (CaO) ขั้นตอนนี้จะมีการกวนอยู่ตลอดเวลาเพื่อให้แคลเซียมออกไซด์แตกตัว (โดยค่อยๆเติมแคลเซียมออกไซด์ลงไปไฮโดรไลเสททีละน้อยเนื่องจากแคลเซียมออกไซด์แตกตัวได้ค่อนข้างช้า)

2). เมื่อไฮโดรไลเสทมีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 10.5 แล้วทำการแยกตะกอนของแคลเซียมออกไซด์ออกโดยการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 15 นาทีให้เหลือเฉพาะส่วนใส

3). นำไฮโดรไลเสทที่ได้มาปรับค่าความเป็นกรด-ด่างให้ลดลงเหลือ 5.5 โดยใช้สารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 13 โมลต่อลิตร

4). นำไฮโดรไลเสทที่ผ่านการปรับค่าความเป็นกรด-ด่างแล้วมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 โดยใช้เครื่องกรองสุญญากาศ

5). นำไฮโดรไลเสทที่ได้มาทำการลดความเป็นพิษด้วยผงถ่านกัมมันต์ (activated charcoal) ต่อไป

3.10.2.2 การลดปริมาณสารพิษโดยการดูดซับด้วยผงถ่านกัมมันต์

1). เติมผงถ่านกัมมันต์ (ภาคผนวก ข.) ลงในไฮโดรไลเสทในอัตราส่วนผงถ่านกัมมันต์ต่อปริมาตรไฮโดรไลเสทเท่ากับ 1 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร

2). ทำการกวนไฮโดรไลเสทที่มีผงถ่านกัมมันต์เป็นเวลา 1 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง

3). เมื่อครบเวลา 1 ชั่วโมงแล้วตั้งทิ้งไว้เป็นเวลานานประมาณ 10-15 นาทีแล้วนำมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 โดยใช้เครื่องกรองสุญญากาศ

4). นำไฮโดรไลเสทที่ได้มาเติมสารอาหาร ประกอบด้วย

เปปโตน 4 กรัมต่อลิตร

ยีสต์สกัด 4 กรัมต่อลิตร

มอลต์สกัด 3 กรัมต่อลิตร

5). ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างให้ได้ 5.5 ซึ่งเป็นค่าที่เหมาะสมต่อการเจริญของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6). เติมหาอาหารไฮโดรไลเสทที่ได้ลงในพลาสติกขนาด 500 มิลลิลิตร ปริมาตรพลาสติก 184 มิลลิลิตรแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลานาน 15 นาที

3.11 การศึกษาอัตราการเจริญของ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ในอาหารไฮโดรไลเสทจากฟางข้าว

เลี้ยงเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ในอาหารไฮโดรไลเสทจากฟางข้าวโดยนำไฮโดรไลเสทที่ผ่านการลดความเป็นพิษด้วยวิธีโอเวอร์ไลมิงและการดูดซับด้วยผงถ่านกัมมันต์แล้วมาเติมยีสต์สกัด มอลต์สกัดและเปปโตนความเข้มข้น 4 3 และ 4 กรัมต่อไฮโดรไลเสท 1 ลิตรตามลำดับ ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างให้ได้ 5.5 แล้วแบ่งใส่พลาสติกขนาด 500 มิลลิลิตร ปริมาตรพลาสติก 184 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลานาน 15 นาที จากนั้นเติมหัวเชื้อเริ่มต้นจากข้อ 3.9.1 ลงไปโดยปริมาตรคิดเป็นร้อยละ 8 ของปริมาตรอาหารทั้งหมด แล้วนำไปเลี้ยงในเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็ว 250 รอบต่อนาที เป็นเวลานาน 72 ชั่วโมงโดยเก็บตัวอย่างน้ำหมักทุกๆ 3 ชั่วโมงจนครบ 36 ชั่วโมงแล้วเก็บต่อทุกๆ 6 ชั่วโมงจนกระทั่งครบ 72 ชั่วโมง นำตัวอย่างน้ำหมักที่เก็บได้มาวัดอัตราการเจริญของเชื้อ น้ำหนักเซลล์แห้ง ความเป็นกรด-ด่าง น้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลไซโลส

3.12 การศึกษาการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ในอาหารไฮโดรไลเสทจากฟางข้าวในสถานะเซลล์อิสระ

ทำการทดลองเช่นเดียวกันกับข้อ 3.11 แต่จะเก็บตัวอย่างทุกๆ 6 ชั่วโมงจนกระทั่งครบ 90 ชั่วโมงและลดความเร็วรอบของเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิลงให้เหลือ 150 รอบต่อนาทีเมื่อเชื้อเริ่มเจริญเข้าสู่ระยะกึ่งกลางของการเจริญสูงสุด (mid log-phase)

3.13 การศึกษาการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ในอาหารไฮโดรไลเสทจากฟางข้าวในสถานะเซลล์ตรึงที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมแอลจิเนต

ทำการทดลองเช่นเดียวกันกับข้อ 3.12 แต่จะใช้เชื้อในการผลิตซึ่งอยู่ในรูปของเซลล์ตรึงที่ถูกห่อหุ้มไว้ด้วยแคลเซียมแอลจิเนตและจะเก็บตัวอย่างทุกๆ 6 ชั่วโมงจนกระทั่งครบ 90 ชั่วโมงโดยลดความเร็วรอบของเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิลงให้เหลือ 150 รอบต่อนาทีเมื่อเชื้อเริ่มเจริญเข้าสู่ระยะกึ่งกลางของการเจริญสูงสุด

บทที่ 4

ผลการทดลองและอภิปรายผล

4.1 ผลการศึกษาอัตราการเจริญของ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ในอาหารไฮโดรไลเสทจากฟางข้าว

จากการศึกษาอัตราการเจริญของเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ในอาหารไฮโดรไลเสทจากฟางข้าว โดยนำไปเลี้ยงในเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็ว 250 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 72 ชั่วโมง โดยเก็บตัวอย่างทุกๆ 3 ชั่วโมงเป็นเวลา 36 ชั่วโมง และเก็บต่อทุกๆ 6 ชั่วโมงจนกระทั่งครบ 72 ชั่วโมง พบว่าเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 จะมีอัตราการเจริญสูงสุดในชั่วโมงที่ 42 โดยดูจากค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตรซึ่งมีค่าเป็น 10.940 เมื่อค่าความเป็นกรด-ด่างมีค่าเป็น 7.680 และมีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งคิดเป็น 6.85 กรัมต่อลิตร โดยน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลไซโลสที่ถูกใช้ไปคิดเป็นร้อยละ 50.4599 และ 83.9645 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.1 และภาพที่ 4.1

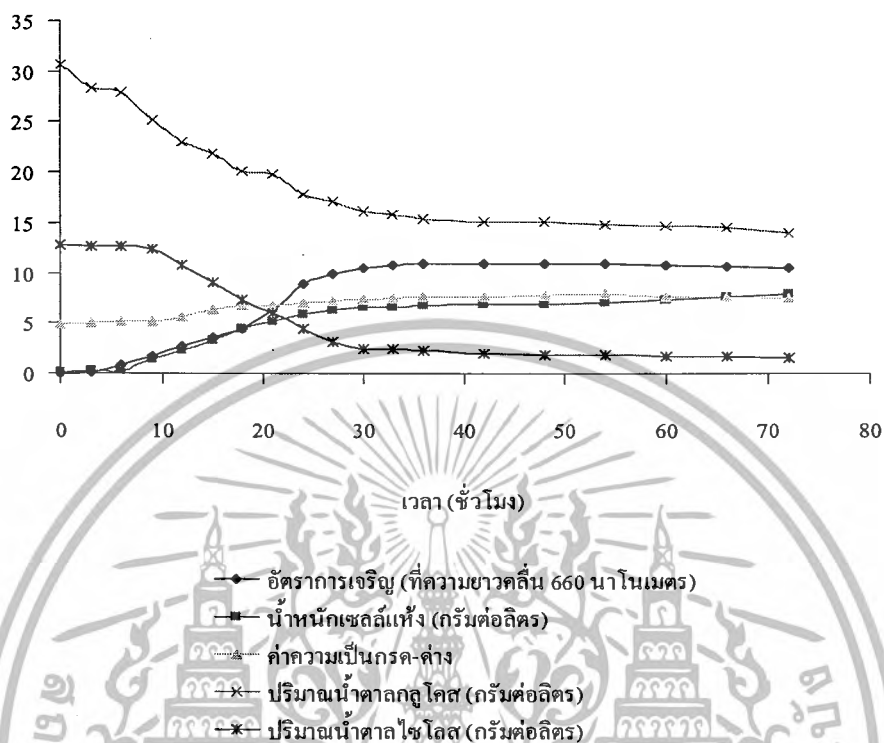
ตารางที่ 4.1 อัตราการเจริญของเชื้อ น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณน้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลไซโลส จากการศึกษารูปร่างการเจริญของ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ในอาหารไฮโดรไลเสทจากฟางข้าว

เวลา (ชั่วโมง)	อัตราการเจริญ (ที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร)	น้ำหนักเซลล์ แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ค่าความเป็น กรด-ด่าง	ปริมาณ น้ำตาลกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณ น้ำตาลไซโลส (กรัมต่อลิตร)
0	0.061	0.15	4.955	30.658	12.862
3	0.208	0.25	5.030	28.393	12.675
6	0.901	0.30	5.210	27.882	12.634
9	1.750	1.38	5.200	25.146	12.334
12	2.750	2.30	5.640	22.974	10.864
15	3.650	3.25	6.285	21.823	9.017
18	4.450	4.40	6.730	20.094	7.358
21	6.325	5.25	6.825	19.839	6.097
24	8.875	5.90	7.055	17.877	4.415

ตารางที่ 4.1 (ต่อ)

เวลา (ชั่วโมง)	อัตราการเจริญ (ที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร)	น้ำหนักเซลล์ แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ค่าความเป็น กรด-ด่าง	ปริมาณ น้ำตาลกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณ น้ำตาลไซโลส (กรัมต่อลิตร)
27	9.960	6.40	7.260	17.197	3.177
30	10.580	6.64	7.400	16.121	2.482
33	10.850	6.64	7.490	15.842	2.441
36	10.930	6.70	7.605	15.461	2.290
42	10.940	6.85	7.680	15.188	2.062
48	10.940	6.90	7.790	15.107	1.876
54	10.930	7.05	7.920	14.833	1.808
60	10.770	7.35	7.660	14.758	1.767
66	10.700	7.70	7.600	14.499	1.695
72	10.480	7.95	7.503	13.952	1.560

Amaral-Collaco et al. (1990) ได้แยกเอาอีสต์จากวัสดุพวกดิกโนเซลล์โตสมาทำการศึกษาหาอีสต์ที่สามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้และพบว่า *D. hansenii* ให้ผลผลิตสูงและมีอัตราการผลิตสูงด้วย จึงเลือกที่จะใช้เชื้อชนิดนี้ในการทดลอง โดยเซลล์จะมีอัตราการเจริญได้สูงสุด เนื่องจากมีการให้อากาศอย่างเต็มที่และต่อเนื่องซึ่งจะกระตุ้นกระบวนการหายใจของเซลล์ เซลล์จะดูดซึมน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลไซโลสเข้าสู่เซลล์แล้วเปลี่ยนเป็นสารตัวกลางอื่นๆเพื่อการเจริญได้อย่างมีประสิทธิภาพ ดังนั้นเชื้อ *D. hansenii* จึงเจริญได้สูงสุดจนกระทั่งคงที่และตายลง โดยจะสังเกตการเจริญได้จากค่าการดูดกลืนแสงที่เพิ่มสูงขึ้นจนคงที่และเริ่มลดลงในช่วงปลาย ในขณะที่เดียวกันเมื่อเชื้อมีการเจริญก็จะทำให้ปริมาณเซลล์เพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ ดังนั้นน้ำหนักเซลล์แห้งก็จะมีค่าเพิ่มขึ้นด้วย ในขณะที่ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลไซโลสจะลดลงอย่างต่อเนื่อง ทั้งนี้เนื่องมาจากเชื้อมีการนำไปใช้เพื่อการเจริญนั่นเอง



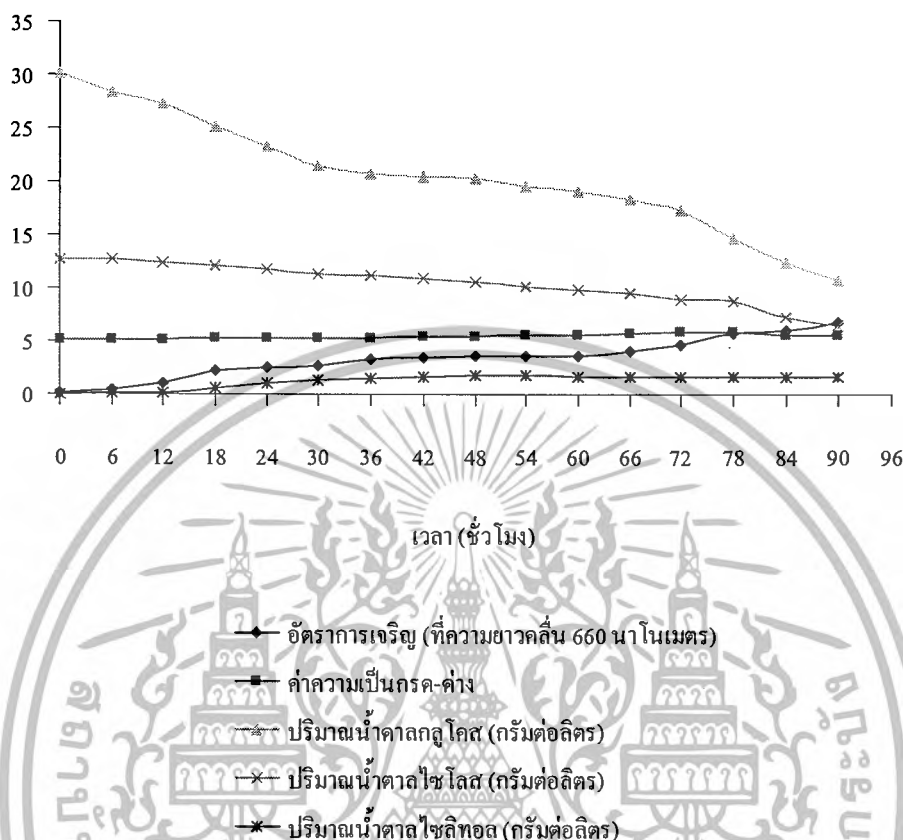
ภาพที่ 4.1 อัตราการเจริญของเชื้อ น้ำนั้กเซลล์แห้ง ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณน้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลไซโลส จากการการศึกษ้อัตราการเจริญของ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ในอาหารไฮโดรไลเสทจากฟางข้าว

4.2 ผลการศึกษาการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ในอาหารไฮโดรไลเสทจากฟางข้าวในสถานะเซลล์อิสระ

การศึกษการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ในสถานะที่เป็นเซลล์อิสระ โดยเลี้ยงในอาหารไฮโดรไลเสทจากฟางข้าวด้วยเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็ว 250 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นลดความเร็วรอบลงเหลือ 150 รอบต่อนาทีเพื่อจำกัดการให้อากาศแก่เชื้อในการผลิตน้ำตาลไซลิทอลแล้วเลี้ยงต่อไปจนกระทั่งครบ 90 ชั่วโมง ทำการเก็บตัวอย่างทุกๆ 6 ชั่วโมงเพื่อวัดอัตราการเจริญของเชื้อ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลไซลิทอล

ตารางที่ 4.2 อัตราการเจริญของเชื้อ ค่าความเป็นกรด-ด่าง น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลไซโลสและน้ำตาลไซลิทอล จากการศึกษาการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ในอาหารไฮโดรไลเสทจากฟางข้าวในสภาวะเซลล์อิสระ

เวลา (ชั่วโมง)	อัตราการเจริญ (ที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร)	ค่าความเป็น กรด-ด่าง	ปริมาณ น้ำตาลกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณ น้ำตาลไซโลส (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณ น้ำตาลไซลิทอล (กรัมต่อลิตร)
0	0.1940	5.10	30.135	12.793	0
6	0.4455	5.15	28.385	12.736	0.152
12	1.0700	5.19	27.300	12.412	0.225
18	2.2155	5.24	25.211	12.104	0.656
24	2.5500	5.25	23.337	11.763	1.127
30	2.7540	5.24	21.564	11.341	1.334
36	3.3450	5.34	20.800	11.260	1.556
42	3.4700	5.38	20.385	10.894	1.655
48	3.6100	5.43	20.359	10.562	1.812
54	3.6300	5.55	19.513	10.092	1.763
60	3.6825	5.62	19.077	9.881	1.736
66	4.0740	5.69	18.333	9.605	1.690
72	4.6900	5.96	17.283	8.0988	1.662
78	5.7700	5.86	14.629	8.761	1.660
84	6.1050	5.68	12.441	7.325	1.654
90	6.7950	5.66	10.808	6.571	1.619



ภาพที่ 4.2 อัตราการเจริญของเชื้อ ค่าความเป็นกรด-ด่าง น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลไซโลสและน้ำตาลไซลิทอล จากการศึกษการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ในอาหารไฮโดรไลเสทจากฟางข้าวในสภาวะเซลล์อิสระ

จากผลการทดลอง เมื่อมีการจำกัดการให้อากาศลงในชั่วโมงที่ 12 โดยลดความเร็วในการเข้าของเครื่องเข้าแบบควบคุมอุณหภูมิได้จาก 250 รอบต่อนาทีให้เหลือ 150 รอบต่อนาที เชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 สามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ในอัตราที่สูงขึ้น จนกระทั่งชั่วโมงที่ 48 พบว่าเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 สามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้สูงที่สุดคือ 1.812 กรัมต่อลิตร เมื่อค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5.43 คิดเป็นผลผลิตเท่ากับ 0.1416 กรัม น้ำตาลไซลิทอลต่อกรัม น้ำตาลไซโลส โดยมีการใช้น้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลไซโลสคิดเป็นร้อยละ 32.441 และ 17.439 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.2 4.3 และภาพที่ 4.2

ตารางที่ 4.3 ร้อยละของปริมาณน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลไซโลสที่เชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ใช้ไปในการผลิตน้ำตาลไซลิทอลและผลผลิตของน้ำตาลไซลิทอลในสภาวะเซลล์อิสระ

เวลา (ชั่วโมง)	น้ำตาลกลูโคส (ร้อยละ)	น้ำตาลไซโลส (ร้อยละ)	ผลผลิตน้ำตาลไซลิทอล (yield) (กรัมน้ำตาลไซลิทอลต่อกรัมน้ำตาลไซโลส)
0	0	0	0
6	5.807	0.446	0.01188
12	9.408	2.978	0.01759
18	16.340	5.386	0.05128
24	22.558	8.051	0.08810
30	28.440	11.358	0.10428
36	30.977	11.983	0.12163
42	32.354	14.844	0.12937
48	32.441	17.439	0.14164
54	35.248	21.113	0.13781
60	36.695	22.762	0.13570
66	39.164	24.920	0.13210
72	42.648	29.743	0.12991
78	51.246	31.517	0.12976
84	58.716	42.742	0.12929
90	64.135	48.636	0.12655

Kim, S.Y. et al. (1992) กล่าวว่าการผลิตน้ำตาลไซลิทอลที่มีประสิทธิภาพ ควรเริ่มจากการให้ออกซิเจนอย่างเต็มที่ในช่วงแรกเพื่อเพิ่มปริมาณเซลล์ให้สูงขึ้นเสียก่อน จากนั้นจึงจำกัดปริมาณออกซิเจนลงในช่วงการหมักเพื่อให้เซลล์มีการผลิตและสะสมน้ำตาลไซลิทอล ทั้งนี้เนื่องจากอากาศที่ให้แกเซลล์จะกระตุ้นการเจริญของเซลล์เพียงอย่างเดียว โดยไม่มีการผลิตน้ำตาลไซลิทอลเกิดขึ้น จึงจำเป็นต้องมีการเตรียมเซลล์ให้เจริญและพร้อมที่จะผลิตน้ำตาลไซลิทอลโดยการสร้างโคเอนไซม์ที่จำเป็นในการรีดิวซ์น้ำตาลไซโลสไปเป็นน้ำตาลไซลิทอลเสียก่อน จากนั้นจึงจำกัดปริมาณออกซิเจนลงเพื่อให้เกิดการผลิตและสะสมน้ำตาลไซลิทอลขึ้น จากการศึกษาอัตราการเจริญของเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารลิขสิทธิ์ของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข หากมีการนำเอกสารนี้ไปใช้ในการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การจำกัดปริมาณออกซิเจนเพื่อให้เชื้อเริ่มมีการผลิตน้ำตาลไซลิทอล หากไม่มีการจำกัดปริมาณออกซิเจนลงจะทำให้เชื้อเจริญอย่างต่อเนื่องแทนที่จะมีการผลิตและสะสมน้ำตาลไซลิทอล โดยเชื้อจะใช้น้ำตาลกลูโคสเพื่อการเจริญและใช้น้ำตาลไซโลสเพื่อการผลิตน้ำตาลไซลิทอล จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าปริมาณน้ำตาลไซลิทอลที่เชื้อผลิตขึ้นจะต่ำมาก แต่เมื่อมีการจำกัดปริมาณออกซิเจน เชื้อจะเจริญได้ช้าลงและเริ่มผลิตและสะสมน้ำตาลไซลิทอลได้มากขึ้นเรื่อยๆจนกระทั่งสูงสุดในชั่วโมงที่ 48 แล้วจึงลดต่ำลง ทั้งนี้อาจเกิดเนื่องมาจากน้ำตาลไซลิทอลถูกเปลี่ยนกลับไปเป็นน้ำตาลไซโลสได้เพราะปฏิกิริยาในการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของเชื้อสามารถย้อนกลับได้ (Sirisansaneeyakul et al, 1992)

4.3 ผลการศึกษาการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ในอาหารไฮโดรไลเสทจากฟางข้าวในสถานะเซลล์ตรึงที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมแอลจีเนต

การศึกษาการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ในสถานะเซลล์ตรึงที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมแอลจีเนต โดยเลี้ยงในอาหารไฮโดรไลเสทจากฟางข้าวด้วยเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็ว 250 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นลดความเร็วรอบลงเหลือ 150 รอบต่อนาทีเพื่อจำกัดการให้อากาศแก่เชื้อในการผลิตน้ำตาลไซลิทอล แล้วเลี้ยงต่อไปจนกระทั่งครบ 90 ชั่วโมง ทำการเก็บตัวอย่างทุกๆ 6 ชั่วโมงเพื่อวัดอัตราการเจริญของเชื้อ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลไซลิทอล

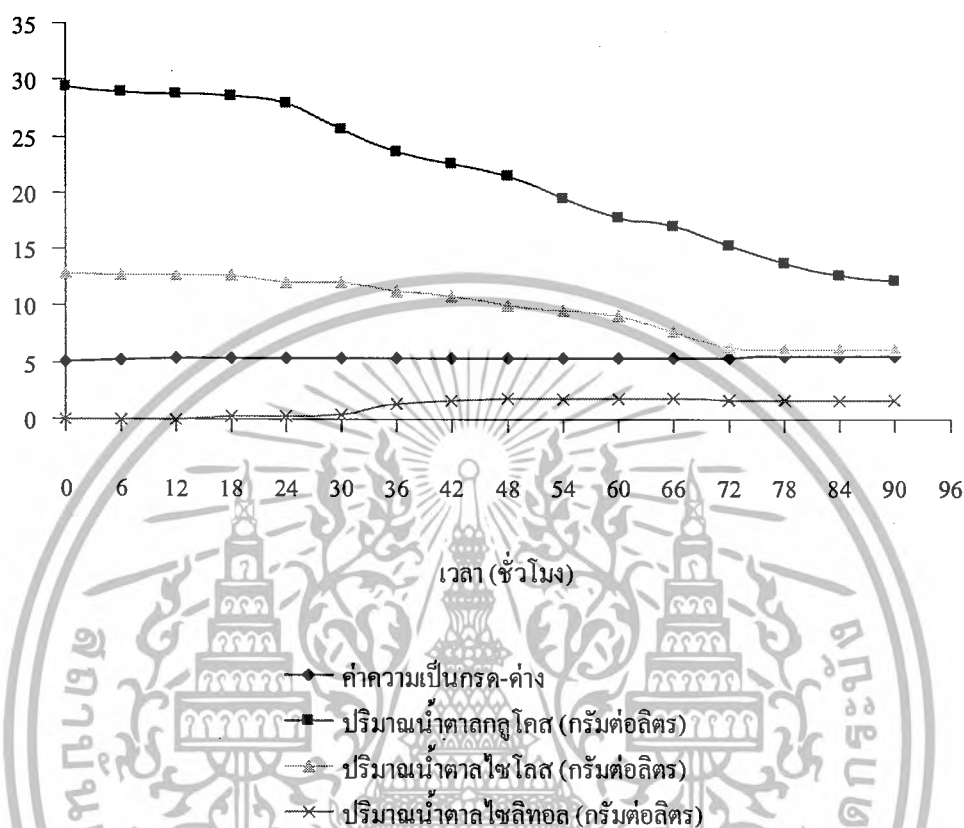
ตารางที่ 4.4 อัตราการเจริญของเชื้อ ค่าความเป็นกรด-ด่าง น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลไซโลสและน้ำตาลไซลิทอล จากการศึกษาการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ในอาหารไฮโดรไลเสทจากฟางข้าวในสถานะเซลล์ตรึงที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมแอลจีเนต

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าความเป็น กรด-ด่าง	ปริมาณน้ำตาล กลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาล ไซโลส (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาล ไซลิทอล (กรัมต่อลิตร)
0	5.12	29.487	12.777	0
6	5.19	28.897	12.752	0.019
12	5.35	28.795	12.720	0.072
18	5.40	28.654	12.639	0.272
24	5.41	28.000	12.104	0.379

ตารางที่ 4.4 (ต่อ)

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าความเป็น กรด-ด่าง	ปริมาณน้ำตาล กลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาล ไซโลส (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาล ไซลิทอล (กรัมต่อลิตร)
30	5.41	25.782	12.039	0.434
36	5.41	23.667	11.292	1.318
42	5.44	22.600	10.822	1.645
48	5.44	21.481	10.084	1.875
54	5.45	19.513	9.540	1.856
60	5.46	17.742	9.167	1.808
66	5.47	17.000	7.788	1.782
72	5.49	15.346	6.425	1.762
78	5.51	13.813	6.165	1.737
84	5.53	12.769	6.157	1.681
90	5.54	12.231	6.149	1.673

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.3 อัตราการเจริญของเชื้อ ค่าความแตกต่าง น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลซูโครสและน้ำตาลฟรุคโตส จากการศึกษการผลิตน้ำตาลฟรุคโตสของ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ในอาหารไฮโดรไลเสทจากฟางข้าวในสภาวะเซลล์ตรึงที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมแอลจีเนต

การผลิตน้ำตาลฟรุคโตสในสภาวะเซลล์ตรึงที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมแอลจีเนตก็เช่นเดียวกันกับการผลิตในสภาวะเซลล์อิสระกล่าวคือ จะต้องมีการให้อากาศอย่างเต็มที่เสียก่อนในช่วงแรกแล้วจึงลดลงในช่วงการหมัก จากข้อมูลที่ได้พบว่า เชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 สามารถผลิตน้ำตาลฟรุคโตสได้สูงขึ้นและเมื่อมีการจำกัดการให้อากาศลงในชั่วโมงที่ 12 โดยการลดความเร็วของเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ลงจาก 250 รอบต่อนาทีเป็น 150 รอบต่อนาที เชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 สามารถผลิตน้ำตาลฟรุคโตสได้ในอัตราที่สูงขึ้นจนกระทั่งชั่วโมงที่ 48 พบว่า เชื้อสามารถผลิตน้ำตาลฟรุคโตสได้ในปริมาณสูงสุดคือ 1.875 กรัมต่อลิตร เมื่อค่าความแตกต่างมีค่าเป็น 5.44 คิดเป็นผลผลิตเท่ากับ 0.1467 กรัมน้ำตาล

ไซลิทอลต่อกรัมน้ำตาลไซโลส โดยปริมาณของน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลไซโลสที่ถูกใช้ไปคิดเป็นร้อยละ 27.151 และ 21.077 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.4 4.5 และภาพที่ 4.3

ตารางที่ 4.5 ร้อยละของปริมาณน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลไซโลสที่เชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ใช้ไปในการผลิตน้ำตาลไซลิทอลและผลผลิตของน้ำตาลไซลิทอลในสภาวะเซลล์ตรึงที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมแอลจิเนต

เวลา (ชั่วโมง)	น้ำตาลกลูโคส (ร้อยละ)	น้ำตาลไซโลส (ร้อยละ)	ผลผลิตน้ำตาลไซลิทอล (yield) (กรัมน้ำตาลไซลิทอลต่อกรัมน้ำตาลไซโลส)
0	0	0	0
6	2.000	0.196	0.00149
12	2.347	0.446	0.00564
18	2.825	1.080	0.02129
24	5.043	5.267	0.02966
30	12.565	5.776	0.03397
36	19.738	11.622	0.10315
42	23.356	15.301	0.12875
48	27.151	21.077	0.14675
54	33.825	25.335	0.14526
60	39.831	28.254	0.14150
66	42.347	38.047	0.13947
72	47.957	49.714	0.13790
78	53.156	51.749	0.13595
84	56.696	51.812	0.13156
90	58.521	51.874	0.13094

4.4 ผลการศึกษาเพื่อเปรียบเทียบการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ระหว่างสภาวะเซลล์อิสระและเซลล์ตรึงที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมแอลจิเนต

จากการศึกษาถึงความสามารถในการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ระหว่างสภาวะเซลล์อิสระและเซลล์ตรึงที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมแอลจิเนต จากข้อ

เอกสารนี้ใน 4.2 และ 4.3 พบว่าเมื่อเลี้ยงเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ในอาหารไฮโดรไลเสทจากด้านการค้า ไม่ว่าจะเป็นชนิดใด ๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ฟางข้าวที่มีปริมาณน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลไซโลสใกล้เคียงกันคือ 30 และ 13 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 5.5 ภายใต้สภาวะในการผลิตที่เหมือนกันทุกประการ พบว่าเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 สามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้สูงที่สุดใน ชั่วโมงที่ 48 ทั้งสภาวะที่เป็นเซลล์อิสระและเซลล์ตรึงที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมแอลจินेट โดย ปริมาณน้ำตาลไซลิทอลเชื้อที่ผลิตได้คิดเป็น 1.812 (ผลผลิตคิดเป็น 0.1416 กรัม น้ำตาลไซลิทอลต่อ กรัม น้ำตาลไซโลส) และ 1.875 กรัมต่อลิตร (ผลผลิตคิดเป็น 0.1467 กรัม น้ำตาลไซลิทอลต่อกรัม น้ำตาลไซโลส) ตามลำดับ ทั้งนี้การที่เซลล์ตรึงถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมแอลจินะนั้น ปริมาณ ออกซิเจนที่เซลล์ได้รับจึงอาจต่ำกว่าสภาวะที่เป็นเซลล์อิสระ ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าเซลล์ตรึงจะสามารถผลิตและสะสมน้ำตาลไซลิทอลได้สูงกว่าสภาวะเซลล์อิสระ



บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาถึงการใช้ประโยชน์จากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร พบว่าสามารถนำฟางข้าวมาเตรียมเป็นวัตถุดิบสำหรับการผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ โดยอาศัยกระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพ เนื่องจากฟางข้าวมีส่วนประกอบของเฮมิเซลลูโลสเป็นจำนวนมาก เมื่อนำมาย่อยสลายด้วยสารละลายกรดที่มีความเข้มข้นเหมาะสมจะทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ส่วนใหญ่เป็นน้ำตาลไซโลส นอกจากนี้ ยังได้น้ำตาลกลูโคสออกมาอีกด้วย น้ำตาลทั้งสองชนิดนี้ เชื้อจุลินทรีย์สามารถนำมาใช้เพื่อการเจริญและการผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ เชื้อจุลินทรีย์ที่เลือกใช้ในที่นี้ก็คือ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์นี้สามารถใช้น้ำตาลไซโลสซึ่งเป็นน้ำตาล 5 คาร์บอนเป็นสารตั้งต้นในการผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ เมื่อนำเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 มาเลี้ยงในอาหารไฮโดรไลเสทที่เตรียมจากฟางข้าวซึ่งผ่านการลดความเป็นพิษด้วยวิธีโอเวอร์โลมิง และการดูดซับด้วยผงถ่านกัมมันต์ และเติมสารอาหารบางชนิดลงไปเพื่อช่วยในการเจริญของเชื้อ ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารให้มีค่าเป็น 5.5 แล้วนำมาเลี้ยงในเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็ว 250 รอบต่อนาที พบว่าเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 มีอัตราการเจริญสูงสุดในชั่วโมงที่ 42 โดยมีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตรเป็น 10.940 ค่าความเป็นกรด-ด่างมีค่าเป็น 7.680 และมีน้ำหนักรเซลล์แห้งคิดเป็น 6.85 กรัมต่อลิตร ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลไซโลสที่เชื้อใช้ไปคิดเป็นร้อยละ 50.460 และ 83.945 ตามลำดับ และเมื่อศึกษาถึงการผลิตน้ำตาลไซลิทอลพบว่า เชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 สามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้สูงสุดในชั่วโมงที่ 48 ทั้งสภาวะที่เป็นเซลล์อิสระและเซลล์ตรึงที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมแอลจีเนต โดยปริมาณน้ำตาลไซลิทอลที่ถูกผลิตขึ้นมีค่าเป็น 1.812 (ผลผลิตคิดเป็น 0.1416 กรัมน้ำตาลไซลิทอลต่อกรัมน้ำตาลไซโลส) และ 1.875 กรัมต่อลิตร (ผลผลิตคิดเป็น 0.1467 กรัมน้ำตาลไซลิทอลต่อกรัมน้ำตาลไซโลส) ตามลำดับ เมื่อนำค่าปริมาณน้ำตาลไซลิทอลที่เชื้อผลิตขึ้นจากทั้งสองสภาวะมาวิเคราะห์ทางสถิติแล้ว พบว่าปริมาณน้ำตาลไซลิทอลในสภาวะเซลล์อิสระและเซลล์ตรึงที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมแอลจีเนตมีความแตกต่างกัน ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยที่สภาวะเซลล์ตรึงสามารถผลิตได้ในปริมาณที่มากกว่า นอกจากนี้ เมื่อคำนวณปริมาณน้ำตาลไซโลสและน้ำตาลไซลิทอลที่ได้เทียบกับปริมาณฟางข้าวที่ใช้ในการเตรียมอาหารไฮโดรไลเสทพบว่า ฟางข้าว 1 กรัมจะให้น้ำตาลไซโลสประมาณ 0.1279

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรัมและเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 สามารถใช้ผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ประมาณ 0.0184 กรัม



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

- นรินทร์ เรืองพาณิชย์. 2541. ผลของกลูโคสต่อการผลิตไซลิทอลจากไซโลสภายใต้สภาวะจำกัดออกซิเจน. **เทคนิควิจัยปริญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต คณะอุตสาหกรรมเกษตร ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ**
- พาณิชย์ ออมทวีพูนทรัพย์และวริยา ทองประสพ. 2545. การผลิตน้ำตาลไซลิทอลด้วยเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 โดยวิธีการตรึงเซลล์. **โครงการพิเศษปริญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ**
- วรสิทธิ์ โทจำปา. 2541. การผลิตไซลิทอลโดยการหมักเยื่อเซลลูโลสใน Hollow fiber. **วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต คณะอุตสาหกรรมเกษตร ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ**
- สาโรจน์ ศิริคันสนียกุล. 2537. สารให้ความหวานจากฟางข้าว. **รายงานการประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 32. สาขาอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ**
- Adams, G.A., 1965. Xylan : Arabinoglucuronoxylan, Arabinoxylan and Xylan : Purification by Using a Copper Complex and Purification by Fractional Precipitation of Acetales. **Method in Carbohydrate Chemistry. vol. 5 : 170-175**
- Adler, L. and Gustafsson, L., 1980. Polyhydric Alcohol Production and Intracellular Amino Acid Pool in Relation to Halotolerance of the Yeast *Debaryomyces hansenii* . **Arch. Microbiol. vol. 124 : 123-130**
- Amaral-Collaco, M.T. et al., 1990. **Advanced of Biological Treatment of Lignocellulosic Materials. Elsevier Applied Science : London**
- Aspinall, G.O., 1959. Structural Chemistry of Hemicellulose. **Advanced Carbohydrate Biochem. vol. 14 : 429-468**
- Aspinall, G.O. and McKay, J.E., 1959. The Hemicellulose of European Larch (*Larix decidua*), The Constitution of a Xylan. **J. Chem. Soc. I : 1,059-1,066**

- Barbosa, M.F.S. et al., 1988. Screening of Yeasts for Production of Xylitol from D-Xylose and Some Factors which Effect Xylitol Yield in *Candida guilliermondii*. **J. Ind. Microbial. Biotechnol.** vol. 32 : 241-251
- Brauns, F.E. and Bruans, D.A., 1960. **The Chemistry of Lignin Covering the Literature for the Years.** New York : Academic press. 1,949-1,958
- Cao, N.J. et al., 1994. The Effect of Cell Density on the Production of Xylitol from D-Xylose by Yeast. **Appl. Biochem. Biotechnol.** 45-46
- Chen, L.F. and Gong, S.S., 1985. Fermentation of Sugarcane Bagasse Hemicellulose Hydrolysate to Xylitol by a Hydrolysate Acclimatized Yeast. **J. Food Sci.** vol. 50 : 226-228
- Dahiya, J.S., 1991. Xylitol Production by *Petromyces albertensis* Grown on Medium Containing D-Xylose. **Can. J. Microb.** vol. 37 : 14-18
- Deschatelets, L. and Yu. E.K.C., 1986. A Simple Pentose Assay for Biomass Conversion Studies. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** vol. 24 : 379-397
- Dominguez, J.M. et al., 1997. Dilute Acid Hemicellulose Hydrolysates from Corn Cobs for Xylitol Production by Yeast. **Biores. Technol.** vol. 61(1) : 85-90
- Dwyer, O., 1939. The Hemicellulose of the Wood of the English Oak IV : The Structure of Hemicellulose. **Biochem. J.** vol. 33 : 713-717
- Emodi, A., 1982. Xylose : It's Properties and Food Applications. **Food Technol.** Jan : 28-32
- Evans, C., 1987. Lignin Degradation. **Process Biochem.** vol. 22 (4) : 102-105
- Furlan, S.A. et al., 1991. Study of Xylitol Formation under Oxygen Limited Condition. **Biotechnol. Lett.** vol. 13 : 203-206
- Furlan, S.A. et al., 1994. Influence of Oxygen on Ethanol and Xylitol Production by Xylose Fermenting Yeast. **Process Biochem.** vol. 29 : 657-662
- Gong, C.S. et al., 1981. Quantitative Production of Xylitol from D-Xylose by High-Xylitol Producing Yeasts Mutant *Candida tropicalis* HXP2. **Biotechnol. Bioeng.** vol. 25 : 85-102
- Hofer, M.A. et al., 1971. Metabolism of the Obligatory Aerobic Yeast *Rhodotorula gracilis* : Introduction of an Enzyme Necessary for D-Xylose Catabolism. **Biochem. Biophys.**

- Hollmann, S. and Touster, O., 1957. L-Xylulose-Xylitol Enzyme and Other Polyoldehydrogenase of Guinea Pig Liver Mitochondria. **J. Biol. Chem.** vol. 225 : 87-102
- Horitsu, H. et al., 1992. Production of Xylitol from D-Xylose by *Candida tropicalis* : Optimization of Production rate. **Biotechnol. Bioeng.** vol. 40 : 1,085-1,091
- Hyvoenen, L. et al., 1982. Food Technological Evaluation of Xylitol. **Adv. Food. Res.** vol. 18 : 373-403
- Jeffries, T.W., 1983. Utilization of Xylose by Bacteria, Yeast and Fungi. **Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.** vol. 27 : 1-32
- Kim, S.Y. et al., 1997. Improvement of Xylitol Production by Controlling Oxygen Supply in *Candida parasilopsis*. **J. Ferment and Bioeng.** vol. 83 : 267-270
- Kirk, K., 1983. Degradation and Conversion of Lignocellulose. **The Filamentous Fungi. Fungal Technology.** New York : John Wiley and Sons Inc. 226-295
- Lee, C.W. and Chang, H.W., 1987. Kinetics of Ethanol Fermentation in Membrane Cell Recycle Fermentors. **Biotechnol. Bioeng.** vol. 29 : 1,150-1,112
- Makinen, K.K. and Scheinen, A., 1975. Turku sugar Studies VI : The Administration of the Trial and the Control of the Dietary Regimen. **Acta. Odont. Scand.** 33 Suppl. vol. 70 : 105-127
- Meyrial, V. et al., 1991. Xylitol Production from D-Xylose by *Candida guilliermondii* : Fermentation Behaviour. **Biotech. Lett.** vol. 13 : 281-286
- Nelson, N., 1952. A Photometric Adaptation of the Somogyi Method for the Determination of the Glucose. **J. Biol. Chem.** vol. 154 : 375-380
- Nigam, P. and Singh, D., 1995. Process for Fermentative Production of Xylitol a Sugar Substitute. **J. Pro. Biochem.** vol. 30 : 117-124
- Nolleau, V. et al., 1993. Xylitol Production from Xylose by Two Yeast Strains : Sugar Tolerance. **Curr. Microb.** vol. 27 : 191-197
- Ojama, H., 1994. Yeast : Xylose Metabolism and Xylitol Production. **Ph.d. Thesis.** Helsinki University of Technology . Finland
- Parajo, J.C. et al., 1997. Improved Xylitol Production with *Debaryomyces hansenii* Y-7426 from Raw and Detoxified Wood Hydrolysates. **Enzyme. Microb. Technol.** vol. 21

- Parajo, J.C. et al., 1998. Biotechnological Production of Xylitol. Part I : Interest of Xylitol and Fundamentals of Its Biosynthesis. **Biores. Technol.** vol. 65 (1) : 191-201
- Parajo, J.C. et al., 1998. Biotechnological Production of Xylitol. Part II : Operation in Culture Media Made with Commercial Sugars. **Biores. Technol.** vol. 65 (3) : 203-212
- Parajo, J.C. et al., 1998. Biotechnological Production of Xylitol. Part III : Operation in Culture Media Made from Lignocellulose Hydrolysates. **Biores. Technol.** vol. 66 (1) : 25-40
- Pfeifer, M.J. et al., 1996. Effect of Culture Conditiona on Xylitol Production by *Candida guilliermondii* FTI 20037. **Appl. Biochem. Biotechnol.** vol. 57-58 : 423-430
- Roseio, J.C. et al., 1991. The Effect of Oxygen Transfer Coefficient and Substrate Concentration on the Xylose Fermentation by *Debaryomyces hansenii*. **Arc. Microb.**, vol. 156 : 484-490
- Sirisansaneeyakul, S. et al., 1992. Microbial Production of Xylitol from Wheat Straw Hydrolysates. **DECHEMA Biotechnology Conference.** vol. 5(B) : 541-544
- Sirisansaneeyakul, S. et al., 1995. Screening of Yeasts for Production of Xylitol from D-Xylose. **J. Ferment. Bioeng.** vol. 80 : 565-570
- Sjostrom, F., 1981. **Wood Chemistry (Fundamentals and Application)**. New York : Academic Press
- Smith, M.G., 1962. Polyol Dehydrogenase. IV Crystallization of the L-Iditol Dehydrogenase of Sheep Liver. **J. Biochem.** vol. 83 : 135-144
- Sreenath, H.K. and Jeffries, T.W., 1996. Effect of Corn Steep Liquor on Fermentation of Mixed Sugars by *Candida shehatae* FPL 860402702. **Appl. Biochem. Biotechnol.** vol. 57-58 : 551-561
- Taiz, L. and Honigman, W.A., 1976. Production of Cell Wall Hydrolysing Enzymes by Barley Aleurone Layer in Response to Gibberellic Acid. **Plant Physiology.** vol. 58 : 380-386
- Tsao, G.T. et al., 1982. Production of Ethanol and Chemical from Cellulosic Material. **Process Biochem.** September/October : 34-38
- Ueng, P.P. and Gong, C.S., 1982. Ethanol Production from Pentoses and Sugarcane Bagasse Hemicellulose Hydrolysate by *Mucor* and *Fusarium* Spicies. **Enzyme Microb. Technol.** vol. 4 : 169-172

- Vandeska, E. et al., 1995. Xylitol Formation and Key Enzyme Activities in *Candida Boidinii* (Kloechers sp.) No. 2201. **J. Ferment. Bioeng.** vol. 80 : 513-516
- Whistler, R.L., 1950. Xylan. **Adv. Carbohydr. Chem.** Vol. 5 : 269-290
- Wilkie, K.C.B., 1979. The Hemicellulose of Grasses and Cereals. **Adv. Carbohydr. Chem. BioChem.** vol. 36 : 215-262
- Xu, J. and Taylor, K.B., 1993. Characteristic of Ethanol Production from Xylose and Xylitol by a Cell-Free *Pachysolen tannophilus* System. **Appl. Envir. Microb.** vol. 59 : 231-235
- Yahashi, Y et al., 1996. Production of Xylitol from D-Xylose by *Candida tropicalis* : The Effect of D-Glucose Feeding. **J. Ferment. Bioeng.** vol. 81(2) : 148-152



ภาคผนวก ก.
อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับจุลินทรีย์

อาหารเพื่อการเก็บรักษาเชื้อ

YM agar มีสูตรดังนี้

ยีสต์สกัด	3	กรัม
มอลต์สกัด	3	กรัม
เปปโตน	5	กรัม
กลูโคส	10	กรัม
วุ้น	15	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร
ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 5.5		

อาหารเพื่อการเจริญเติบโต

ยีสต์สกัด	4	กรัม
มอลต์สกัด	3	กรัม
เปปโตน	4	กรัม
กลูโคส	15	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร
ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 5.5		

ภาคผนวก ข.

สารเคมีและวิธีการวิเคราะห์

สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กลูโคส) โดยวิธี Somogyi-Nelson 's (1952)

1. สารละลายคอปเปอร์รีเอเจนต์ (copper reagent) ประกอบด้วย

A : สารละลายคอปเปอร์ซัลเฟตไฟวไฮเดรต ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) เตรียมโดยชั่งคอปเปอร์ซัลเฟตไฟวไฮเดรต 10 กรัมละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

B : สารละลายฟอสเฟตทาร์เทรต (phosphate-tartrate solution) เตรียมโดยละลายโซเดียมไฮโครเจนฟอสเฟต (Na_2HPO_4) 28 กรัม [หรือโซเดียมไฮโครเจนฟอสเฟตเททไฮเดรต ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) 70.5495 กรัม] ในน้ำกลั่น 700 มิลลิลิตร เติมโซเดียมโพแทสเซียมทาร์เทรต (เตตระไฮเดรต) [sodium potassium tartrate (tetrahydrate)] 40 กรัม ทำให้ละลายแล้วเติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 นอร์มัล ปริมาตร 100 มิลลิลิตรตามด้วยโซเดียมซัลเฟตแอนไฮดรัส [Na_2SO_4 (Anhydrous)] 120 กรัมเมื่อละลายดีแล้วปรับปริมาตรเป็น 900 มิลลิลิตรตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 2 วันถ้ามีตะกอนให้กรองเอาตะกอนทิ้งด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 4

ผสมสารละลาย A ปริมาตร 100 มิลลิลิตรและสารละลาย B ปริมาตร 900 มิลลิลิตรเข้าด้วยกัน

2. สารละลาย Nelson's Arsenomolybdate color reagent ประกอบด้วย

A : สารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดต $[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ เตรียมโดยละลายแอมโมเนียมโมลิบเดต 25 กรัมในน้ำกลั่น 450 มิลลิลิตรเติมกรดกำมะถัน (sulphuric acid) 21 มิลลิลิตรผสมให้เข้ากัน

B : สารละลายไดโซเดียมอาร์ซีเนต ($\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) เตรียมโดยละลายไดโซเดียมอาร์ซีเนต 3 กรัมในน้ำกลั่น 25 มิลลิลิตร

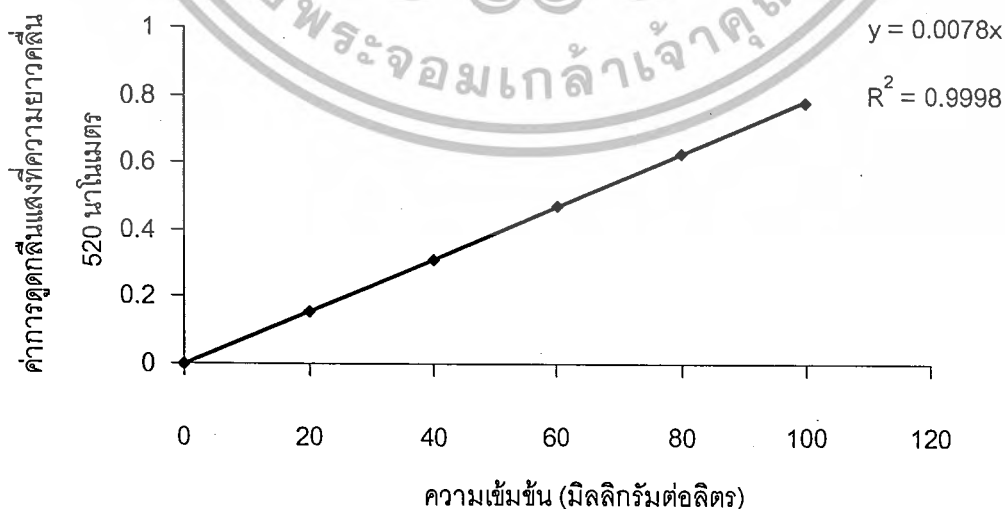
ผสมสารละลาย A และสารละลาย B เข้าด้วยกันใส่ขวดสีชาแล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมงแล้วจึงนำมาเก็บที่อุณหภูมิห้อง

วิธีการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลกลูโคส (กลูโคส) โดยวิธี Somogyi-Nelson 's method (1952)

1. เติมตัวอย่างที่ต้องการหาน้ำตาลกลูโคส 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง เติมสารละลายคอปเปอร์รีเอเจนต์ (copper reagent) 1 มิลลิลิตร ต้มในน้ำเดือดนาน 10 นาที ควรใช้ลูกแก้วปิดปากหลอดเพื่อลดการระเหยของสาร
2. ทำให้ตัวอย่างเย็นลงโดยการแช่ในอ่างน้ำเย็น แล้วเติมสารละลายอาร์เซนโมลิบดีเตอไรต์ (arsenomolybdate reagent) ลงไป 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วทิ้งไว้ประมาณ 2 นาที จะเห็นเป็นสีเขียวหรือสีน้ำเงินเขียวขึ้นกับปริมาณน้ำตาลที่มี
3. เติมน้ำกลั่น 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร
4. นำค่าที่วัดได้เทียบกับกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส โดยการคำนวณ

$$\text{ปริมาณน้ำตาลกลูโคส (มิลลิกรัมต่อลิตร)} = \frac{(\text{ค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร}) \times (\text{อัตราการใช้สาร})}{\text{ความเข้มข้นของกราฟมาตรฐาน}}$$

การทำการกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส จะใช้สารละลายน้ำตาลกลูโคสมาตรฐานความเข้มข้น 20 40 60 80 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร แทนตัวอย่าง จากนั้นทำการวิเคราะห์ตามข้อ 2.1-2.3 นำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตรที่ได้และความเข้มข้นของสารละลายกลูโคสมาตรฐานมาสร้างกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส



ภาพที่ ข.1 กราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลไซโลสโดยวิธี Deschatelets and Yu method (1986)

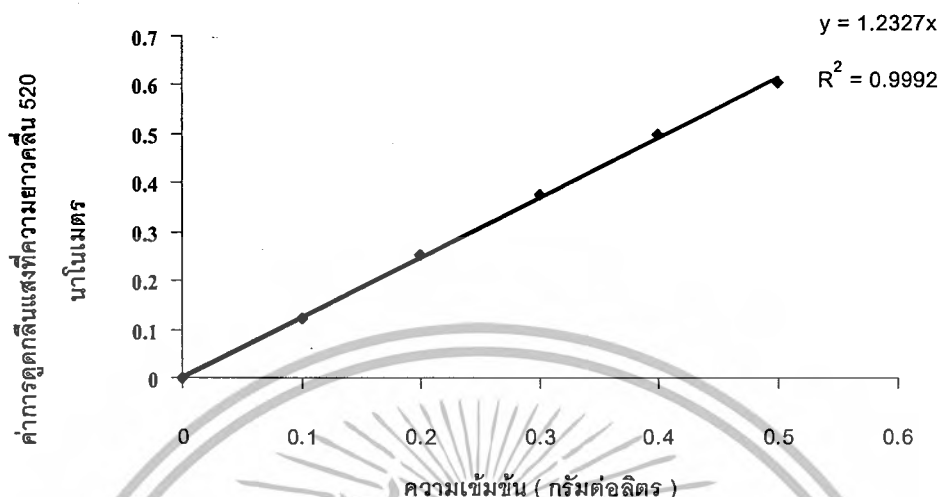
การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลไซโลสอาศัยการเกิดเฟอฟูรอลจากน้ำตาลเพนโตสในสารละลายกรดอะซิติกที่มีไทโอยูเรียอยู่แล้วเดิม 4-โบรโมแอนิไลน์เพื่อทำปฏิกิริยากับเฟอฟูรอลให้ได้เป็นสารละลายสีชมพู

1. สารละลาย 4-โบรโมแอนิไลน์รีเอเจนต์ เตรียมโดยละลายไทโอยูเรีย 4 กรัมในกรดอะซิติกเข้มข้นปริมาตร 100 มิลลิลิตรแล้วกรองแยกส่วนใส่ออกมา (กรดอะซิติกอ้อมตัวด้วยไทโอยูเรีย) จากนั้นละลาย 4-โบรโมแอนิไลน์ลงในส่วนใส่นั้น
2. สารละลายน้ำตาลไซโลสมาตรฐาน เตรียมโดยละลายน้ำตาลไซโลสหนัก 0.1 กรัมในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร (ความเข้มข้น 1.0 กรัมต่อลิตร) แล้วเจือจางให้ได้สารละลายน้ำตาลไซโลสความเข้มข้น 0.1 0.2 0.3 0.4 และ 0.5 กรัมต่อลิตร

วิธีการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลไซโลสโดยวิธี Deschatelets and Yu method (1986)

1. ปิเปตต์สารละลายตัวอย่างหรือสารละลายน้ำตาลไซโลสมาตรฐานปริมาตร 0.8 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง
2. เติมสารละลาย 4-โบรโมแอนิไลน์รีเอเจนต์ ปริมาตร 4 มิลลิลิตร ลงไปแล้วเขย่าให้เข้ากัน
3. นำไปบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 70 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที
4. ทำให้เย็นอย่างรวดเร็วแล้วบ่มต่อในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 70 นาที
5. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร
6. นำค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้ไปเทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อหาความเข้มข้นของน้ำตาลไซโลสในสารละลายตัวอย่างหรือคำนวณ

$$\text{ปริมาณน้ำตาลไซโลส (กรัมต่อลิตร)} = \frac{(\text{ค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร}) \times (\text{อัตราการเจือจาง})}{\text{ความชันของกราฟมาตรฐาน}}$$



ภาพที่ ข.2 กราฟมาตรฐานของน้ำตาลไซโลส

สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลไซลิทอลโดยวิธี Adler and Gustafsson (1980)

การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลไซลิทอลอาศัยการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำตาลไซลิทอลไปเป็นฟอร์มัลดีไฮด์ด้วยเปอร์ไอโอเดตในสารละลายกรดเป็นระยะเวลาสั้นๆ แล้วหยุดปฏิกิริยากับสารละลายบิวเทน-2,3-ไดออล (butane-2,3-diol) จากนั้นทำการวิเคราะห์ฟอร์มัลดีไฮด์ที่เกิดขึ้นโดยทำปฏิกิริยากับสารละลายเพนเทน-2,4-ไดโอน (pentane-2,4-dione) ได้สารละลายสีเหลือง

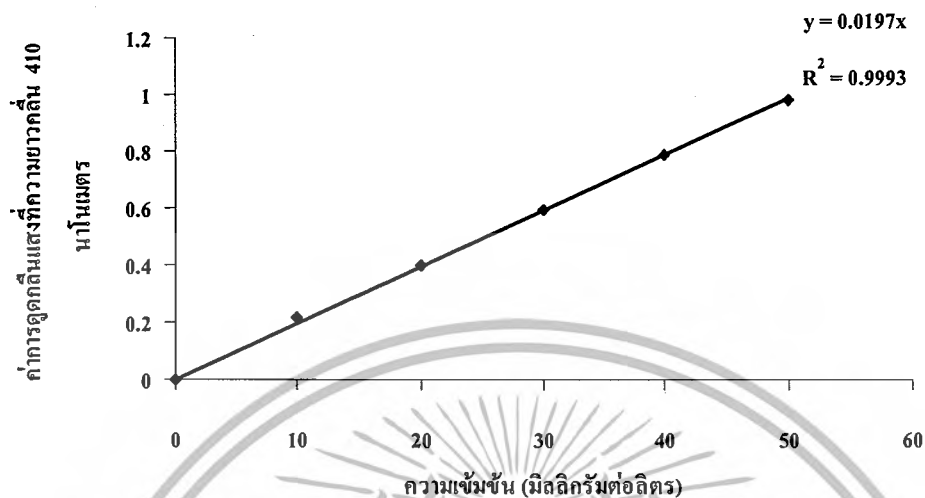
1. สารละลายเพอร์ไอโอเดตรีเอเจนต์ (periodate reagent; NaIO_4 0.015 โมลาร์ใน HCl 0.16 โมลาร์) เตรียมโดยละลายโซเดียมเมตาเพอร์ไอโอเดต (NaIO_4) 3.2084 กรัมในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร เติมนกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นลงไป 13.3 มิลลิลิตรแล้วปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร
2. บิวเทน-2,3-ไดออลความเข้มข้น 0.002 โมลาร์ เตรียมโดยบีเปตต์บิวเทน-2,3-ไดออลปริมาตร 1.8 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น
3. สารละลายเพนเทน-2,4-ไดโอน (เตรียมใช้ทันที) เตรียมโดยละลายแอมโมเนียมอะซิเตต 154.16 กรัมในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร เติมนกรดอะซิติกเข้มข้นปริมาตร 40 มิลลิลิตรแล้วเติมเพนเทน-2,4-ไดโอนปริมาตร 2 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร

4. สารละลายมาตรฐานน้ำตาลไซลิทอล เตรียมโดยละลายน้ำตาลไซลิทอล 0.1 กรัมในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร (ความเข้มข้น 1 กรัมต่อลิตร) แล้วเจือจางให้ได้สารละลายน้ำตาลไซลิทอล ความเข้มข้น 10 20 30 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

วิธีการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลไซลิทอลโดยวิธี Adler and Gustafsson method (1980)

1. ปิเปตต์สารละลายตัวอย่างหรือสารละลายน้ำตาลไซลิทอลมาตรฐาน (ความเข้มข้นน้ำตาลไซลิทอล 10-50 มิลลิกรัมต่อลิตร) ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตรใส่ในหลอดทดลอง
2. เติมเพอร์ไอเดรีเอเจนต์ลงไป 1.0 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 นาที
3. เติมสารละลายบิวเทน-2,3-ไดออกไซด์ ความเข้มข้น 0.002 โมลต่อลิตร ลงไป 1.0 มิลลิลิตรเขย่าให้เข้ากัน
4. เติมสารละลายเพนเทน-2,4-ไดโอน ลงไป 2.0 มิลลิลิตรเขย่าให้เข้ากัน
5. นำไปบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที
6. ทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้องแล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร
7. นำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตรและความเข้มข้นของน้ำตาลไซลิทอล ไปสร้างกราฟมาตรฐานน้ำตาลไซลิทอล
8. การหาปริมาณของน้ำตาลไซลิทอลในสารละลายตัวอย่าง สามารถคำนวณได้จาก

$$\text{ปริมาณน้ำตาลไซลิทอล} = \frac{(\text{ค่าการดูดกลืนแสงที่ 410 นาโนเมตร}) \times (\text{อัตราการเจือจาง})}{(\text{มิลลิกรัมต่อลิตร}) \quad \text{ความชันของกราฟมาตรฐาน}}$$



ภาพที่ ข.3 กราฟมาตรฐานของน้ำตาลไซลิทอล

การเตรียมผงถ่านกัมมันต์เพื่อใช้ในการลดปริมาณสารพิษด้วยวิธีการดูดซับ

สามารถเตรียมได้โดยนำผงถ่านกัมมันต์มาแช่ในสารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 0.4 โมลต่อลิตรเป็นเวลา 1 วัน จากนั้นจึงกรองแยกผงถ่านกัมมันต์ที่อิ่มตัวด้วยกรดออกมาล้างด้วยน้ำกลั่นแล้วนำไปอบให้แห้ง

ภาคผนวก ค.

การวิเคราะห์ทางสถิติ

Complete Randomized Design (CRD)

เป็นแบบแผนการทดลองที่มีการจัดการทดลองทั้งหมดในหน่วยทดลอง (experimental unit) โดยวิธีสุ่มให้หน่วยทดลองแต่ละหน่วยมีโอกาสได้รับสิ่งทดลองแต่ละชนิดเท่าๆกัน สำหรับ CRD ความแตกต่างระหว่างหน่วยทดลองหลายๆหน่วยที่ได้รับสิ่งทดลองเดียวกันเรียกว่า “ ความคลาดเคลื่อนของการทดลอง (experimental error) “ ดังนั้น CRD จึงเหมาะสำหรับการทดลองที่มีหน่วยการทดลองสม่ำเสมอทั้งหมด ได้แก่ งานทดลองในห้องปฏิบัติการซึ่งสามารถควบคุมสิ่งแวดล้อมให้สม่ำเสมอได้ง่าย

การวิเคราะห์ความแปรปรวน การตรวจสอบความแตกต่างระหว่างสิ่งทดลองที่ศึกษากระทำโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) โดยที่แหล่งความแปรปรวนของ CRD แบ่งเป็น 2 ชนิดคือ ความแปรปรวนของสิ่งทดลอง (treatment variation) และความคลาดเคลื่อนของการทดลอง (experimental error) แสดงเป็นรูปตารางได้ ดังนี้

Source of variation	Degree of Freedom	Sum of Squares	Mean of Squares	F Value
Treatment				
Error				
Total				

วิธีคำนวณ

ให้ t คือ จำนวนชนิดของตัวอย่างและ r คือ จำนวนซ้ำ

1. คำนวณค่า Degree of Freedom (df)

$$\text{Total df} = (t \times r) - 1$$

$$\text{Treatment df} = t - 1$$

$$\text{Error df} = \text{by subtraction} = \text{total df} - \text{treatment df}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้ซึ่งผู้เผยแพร่เอกสารนี้ให้ไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. คำนวณค่า Sum of Squares (SS) ขึ้นแรกคำนวณค่า correction faction (CF) ก่อนดังนี้

$$CF = \text{total}^2 / t \times r$$

$$\text{Total SS} = X_1^2 + X_2^2 + \dots - CF$$

$$\text{Treatment SS} = \text{total treatment } 1^2 + \text{total treatment } 2^2 + \dots - CF$$

$$\text{Error SS} = \text{total SS} - \text{treatment SS}$$

3. คำนวณค่า Mean of Squares (MS)

$$\text{Treatment MS} = \frac{\text{Treatment SS}}{\text{Treatment df}}$$

$$\text{Error MS} = \frac{\text{Error SS}}{\text{Error df}}$$

4. คำนวณค่า F value

$$F \text{ value} = \frac{\text{Treatment MS}}{\text{Error MS}}$$

5. เปิดตารางค่า F ที่ Treatment df และ Error df ที่นัยสำคัญร้อยละ 5 และร้อยละ 1
6. นำค่าที่คำนวณได้ทั้งหมดตั้งแต่ 1-5 ใส่ในตารางวิเคราะห์
7. เปรียบเทียบค่า F value ที่คำนวณได้กับค่า F ที่ได้จากรายการ

ถ้า F value น้อยกว่าค่า F จากระเบียงที่ร้อยละ 5 แสดงว่าการทดลองไม่แตกต่างกันทางสถิติ แสดงโดยเขียนสัญลักษณ์ ns เหนือบนค่า F value

ถ้า F value มากกว่าค่า F จากระเบียงที่ร้อยละ 5 แสดงว่าการทดลองมีความแตกต่างกันทางสถิติ แสดงโดยเขียนสัญลักษณ์ * เหนือบนค่า F value

ถ้า F value มากกว่าค่า F จากระเบียงที่ร้อยละ 1 แสดงว่าการทดลองมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ แสดงโดยเขียนสัญลักษณ์ ** เหนือบนค่า F value

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ

ตารางที่ ก.1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของการผลิตน้ำตาลไซลิทอลโดยเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ระหว่างเซลล์อิสระและเซลล์ตรึงที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมแอลจีเนต

Treatment	ซ้ำ			ผลรวม	ค่าเฉลี่ย
	1	2	3		
เซลล์อิสระ	1.836	1.823	1.777	5.436	1.812
เซลล์ตรึงรูป	1.856	1.894	1.876	5.626	1.875
ผลรวม				11.062	3.687

การคำนวณ

1. คำนวณค่า Degree of Freedom

$$\text{Total df} = 6 - 1 = 5$$

$$\text{Treatment df} = 1$$

$$\text{Error df} = 5 - 1 = 4$$

2. คำนวณค่า Sum of Squares ขึ้นแรกคำนวณค่า correction faction ก่อน ดังนี้

$$CF = (5.436 + 5.626)^2 / 6 = 20.395$$

$$\text{Total SS} = (3.371^2 + 3.323^2 + 3.158^2 + 3.445^2 + 3.587^2 + 3.519^2) - 20.395 = 0.008$$

$$\text{Treatment SS} = [(5.436^2 / 3) + (5.626^2 / 3)] - 20.395 = 0.006$$

$$\text{Error SS} = 0.008 - 0.006 = 0.011$$

3. คำนวณค่า Mean of Squares

$$\text{Treatment MS} = \frac{\text{Treatment SS}}{\text{Treatment df}} = 0.006 / 1 = 0.006$$

$$\text{Treatment df}$$

$$\text{Error MS} = \frac{\text{Error SS}}{\text{Error df}} = 0.002 / 4 = 0.0005$$

$$\text{Error df}$$

4. คำนวณค่า F value

$$F \text{ value} = \frac{\text{Treatment MS}}{\text{Error MS}} = 0.006 / 0.0005 = 12$$

$$\text{Error MS}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.2 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลไซลิทอลที่เชื้อผลิตขึ้นในสภาวะที่เป็นเซลล์อิสระและเซลล์ตรึงที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมแอลจินเนตทางสถิติ

แหล่งความแปรปรวน	Degree of Freedom	Sum of Squares	Mean of Squares	F Value
ลักษณะของเซลล์	1	0.006	0.006	12*
ความกลาดเคลื่อน	4	0.002	0.0005	
ผลรวม	5	0.008		



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้