

ตำราหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การผลิตไลบรารีทอลจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร โดย
เซลล์ตรึงของ *Candida tropicalis* TISTR 5045



เลขหมู่.....
เลขทะเบียน..... 61786
วัน,เดือน,ปี 21 ก.ค. 2549

11603343
.....

โครงการพิเศษเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2547

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Xylitol Production from Agricultural Wastes by
Immobilized *Candida tropicalis* TISTR 5045



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

โครงการพิเศษเรื่อง การผลิตไซลิทอลจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร โดย
 เชลล์ตรึงของ *Candida tropicalis* TISTR 5045

นักศึกษา นางสาวจิรา สืบลิ้มมา
 นางสาวอุมาพร สุทธาทอง

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ

อาจารย์ที่ปรึกษา รศ.สุขใจ ชูจันทร์

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาด
 กระบัง อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตาม
 หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

คณะกรรมการตรวจสอบ		ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ	รศ.มาลินี ตันติยาภรณ์	 รศ.รุ่งเรือง ชูจันทร์
กรรมการ	ผศ.ตินจง	
กรรมการ	รศ.สุขใจ	

.....
 (.....)
 หัวหน้าภาควิชา

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงการพิเศษเรื่อง	การผลิตไซลิทอลจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรโดย
	เซลล์ตรึงของ <i>Candida tropicalis</i> TISTR 5045
นักศึกษา	นางสาวรุจิรา สืบสิมมา
	นางสาวอุมาพร สุทธากง
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
ปีการศึกษา	2547
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ.สุโขใจ ชูจันทร์

บทคัดย่อ

วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่นำมาศึกษาเพื่อผลิตน้ำตาลไซลิทอลคือ ชังข้าวโพด โดยทำการย่อยสลายเฮมิเซลลูโลสด้วยกรดซัลฟิวริกที่มีความเข้มข้น 0.6 โมลต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 126 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 270 นาที จากนั้นนำไฮโดรไลเสทที่ได้มาลดปริมาณสารพิษด้วยวิธีโอเวอร์ไลมิง และดูดซับด้วยผงถ่านกัมมันต์ ไฮโดรไลเสทที่ได้จะประกอบด้วยน้ำตาลไซโลสซึ่งนำมาใช้เป็นสารตั้งต้นเพื่อผลิตน้ำตาลไซลิทอลด้วยกระบวนการหมักของเชื้อ *Candida tropicalis* TISTR 5045 ในรูปแบบเซลล์อิสระและรูปแบบเซลล์ตรึงที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมแอลจินेट โดยมีปริมาณไซโลสเริ่มต้นของทั้งสองรูปแบบประมาณ 10 กรัมต่อลิตรและมีสภาวะในการหมักเช่นเดียวกันทั้งสองรูปแบบ พบว่าเชื้อในรูปแบบเซลล์อิสระและในรูปแบบเซลล์ตรึงที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมแอลจินेट จะมีผลได้น้ำตาลไซลิทอลเท่ากับ 0.563 กรัม น้ำตาลไซลิทอลต่อกรัม น้ำตาลไซโลสและ 0.456 กรัม น้ำตาลไซลิทอลต่อกรัม น้ำตาลไซโลส ตามลำดับ

Special Project Title	Xylitol Production from Agricultural Wastes by Immobilized <i>Candida tropicalis</i> TISTR 5045
Name	Miss Rujira Suebsimma Miss Umaporn Sutthakong
Department	Applied Biology
Program	Biotechnology
Academic Year	2004
Special Project Advisor	Assoc.Prof.Sukjai Choojan

ABSTRACT

Agricultural waste for xylitol production in this study was corn cob. Hemicellulose in corn cob was hydrolysed by using 0.6 M of sulfuric acid at 126 °C for 270 minutes. After that, reduced toxicity in obtained hydrolysate by overliming and charcoal adsorption method. This hydrolysate consists of xylose which is a substrate for producing xylitol by fermentation. *Candida tropicalis* TISTR 5045 was used to produce xylitol by free and immobilized cell forms which xylose concentration had started about 10 g/l and both forms were fermented under the same condition. The results were that in free and immobilized cell forms could reach xylitol 0.563 g/g xylose and 0.456 g/g xylose ,respectively.

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีเนื่องจากได้รับคำแนะนำ และความช่วยเหลือจาก รศ.สุขใจ ชูจันทร์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษ ประสบการณ์ต่าง ๆ ตลอดจนคำแนะนำที่ได้จากการศึกษาโครงการพิเศษนี้จักเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อผู้วิจัยในภายภาคหน้า ขอขอบคุณในความกรุณาและกราบขอบพระคุณอาจารย์ไฉน ที่นี้ด้วย

ขอกราบขอบพระคุณ รศ.มาลินี ตันติยาภรณ์ ประธานกรรมการโครงการพิเศษและ ผศ.ลินจง สุขคำภู กรรมการโครงการพิเศษ ที่ได้ให้คำแนะนำ ตลอดจนตรวจสอบและแก้ไขโครงการพิเศษเล่มนี้ เพื่อให้มีความเรียบร้อยและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณ คุณประสิทธิ์ คุณวิทยา และคุณเอกภพ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ คุณมณฑนา และคุณนิภาพันธุ์ เจ้าหน้าที่ห้องธุรการ ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ในเรื่องต่างๆ ขอขอบคุณพี่นักศึกษาปริญญาโทและเพื่อนนักศึกษาทุกท่านที่ได้ให้ความช่วยเหลือในทุก ๆ เรื่อง

ขอขอบคุณ คุณเปี่ยมมาศ สระบัว และคุณพงศธร กิมเฮง ที่ให้ความอนุเคราะห์ คำแนะนำ และคำปรึกษา ในการทำโครงการพิเศษครั้งนี้

ความรู้ที่ได้จากการทำโครงการพิเศษฉบับนี้ ผู้วิจัยขอบอกแด่ผู้มีพระคุณทุกท่าน

นางสาวรุจิรา สืบสิมมา

นางสาวอุมาพร สุทธาคง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญรูป	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาของโครงการพิเศษ	
1.2 วัตถุประสงค์	
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	
1.4 ขั้นตอนของการวิจัยและวิธีการดำเนินงาน	
1.5 ผลที่คาดว่าจะได้รับ	
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ	4
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	49
บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผล	55
บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ	64
เอกสารอ้างอิง	66
ภาคผนวก	71

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของน้ำตาลไซลิทอล	4
2.2 ค่าความร้อนจำเพาะของการละลายของน้ำตาลชนิดต่าง ๆ	5
2.3 คุณสมบัติทางกายภาพระหว่างน้ำตาลไซลิทอลและน้ำตาลซูโครส	6
2.4 ปริมาณน้ำตาลไซลิทอลในผักและผลไม้	12
2.5 องค์ประกอบของสารละลายน้ำตาลที่ได้จากการไฮโดรไลซิส	14
2.6 องค์ประกอบของสารละลายน้ำตาลแอลกอฮอล์ที่ได้จากกระบวนการไฮโดรจีเนชัน	14
2.7 ผลของความเข้มข้นน้ำตาลไซโลสที่มีผลต่อการผลิตน้ำตาลไซลิทอล	28
2.8 ค่าพีเอชที่เหมาะสมของเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดที่สามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้	30
2.9 องค์ประกอบของวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรบางชนิด	38
4.1 อัตราการเจริญของเชื้อ น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณน้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลไซโลส จากการศึกษาอัตราการเจริญของ <i>Candida tropicalis</i> TISTR 5045 ในอาหารไฮโดรไลเสทจากชั่งข้าวโพด	55
4.2 อัตราการเจริญของเชื้อ ค่าความเป็นกรด-ด่าง น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลไซโลส และน้ำตาลไซลิทอล จากการศึกษาการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของ <i>Candida tropicalis</i> TISTR 5045 ในอาหารไฮโดรไลเสทจากชั่งข้าวโพดในสภาวะเซลล์อิสระ	58
4.3 ค่าความเป็นกรด-ด่าง น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลไซโลสและน้ำตาลไซลิทอล จากการศึกษาการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของ <i>Candida tropicalis</i> TISTR 5045 ในอาหารไฮโดรไลเสทจากชั่งข้าวโพดในสภาวะเซลล์ตรึงที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมแอลจีเนต	61
ง. การวิเคราะห์ความแปรปรวนการผลิตน้ำตาลไซลิทอล จากเซลล์อิสระและเซลล์ตรึง	80

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 วิธีการต่าง ๆ ที่ใช้ในการผลิตน้ำตาลไซลิทอล	12
2.2 วิธีการเกิดน้ำตาลไซลิทอลจากเมตาบอลิซึมของไซโลส	16
2.3 การสร้างและการใช้โคเอนไซม์ (coenzyme regeneration) ในยีสต์ที่หมักน้ำตาลไซโลสได้	19
2.4 เมตาบอลิซึมของน้ำตาลไซโลสในยีสต์	20
2.5 โครงสร้างของ glucuronoxylan	34
2.6 โครงสร้างของ glucomannan	34
2.7 โครงสร้างของ galactoglucomannans	35
2.8 โครงสร้างของ Arabinoglucuronoxylan	36
2.9 โครงสร้างของ Arabinogalactan	37
2.10 โครงสร้างของ O-acetyl-4-O-methylglucuronoxylan ในพืชล้มลุกและพืชตระกูลหญ้า	37
2.11 โครงสร้างของไซเลน	39
4.1 อัตราการเจริญของเชื้อ น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณน้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลไซโลส จากการศึกษาอัตราการเจริญของ <i>Candida tropicalis</i> TISTR 5045 ในอาหารไฮโดรไลเสทจากซังข้าวโพด	57
4.2 อัตราการเจริญของเชื้อ ค่าความเป็นกรด-ด่าง น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลไซโลสและน้ำตาลไซลิทอล จากการศึกษาการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของ <i>Candida tropicalis</i> TISTR 5045 ในอาหารไฮโดรไลเสทจากซังข้าวโพด ในสภาวะเซลล์อิสระ	59
4.3 ค่าความเป็นกรด-ด่าง น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลไซโลสและน้ำตาลไซลิทอล จากการศึกษาการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของ <i>Candida tropicalis</i> TISTR 5045 ในอาหารไฮโดรไลเสทจากซังข้าวโพดในสภาวะเซลล์ตรึง ที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมแอลจินेट	62

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาของโครงการพิเศษ

ในปัจจุบันน้ำตาลไซลิทอล (Xylitol) ถือว่ามีบทบาทสำคัญอย่างมากในด้านต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นอุตสาหกรรมอาหาร ผลิตภัณฑ์ทางด้านเภสัชกรรม การใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ เป็นต้น ในด้านอุตสาหกรรมอาหาร เช่น การผลิตหมากฝรั่ง ลูกอม ซึ่งการใช้น้ำตาลไซลิทอลนั้นจะไม่ทำให้ฟันผุ เนื่องจากน้ำตาลไซลิทอลเป็นน้ำตาลคาร์บอน 5 อะตอม (C5) ซึ่งจุลินทรีย์ไม่สามารถนำไปใช้ในกระบวนการเมแทบอลิซึมได้ จึงไม่เกิดกรดที่จะไปกัดกร่อนสารเคลือบฟัน ในด้านผลิตภัณฑ์ทางด้านเภสัชกรรม เช่น ยา เนื่องจากน้ำตาลไซลิทอลมีความคงตัวสูงไม่ทำปฏิกิริยาเคมีกับสารอื่น ในการเตรียมเป็นยา ส่วนการใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ เช่น ใช้น้ำตาลไซลิทอลเป็นสารให้ความหวานกับผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวานได้ เนื่องจากน้ำตาลไซลิทอลไม่มีผลต่อระดับน้ำตาลในเลือด แต่น้ำตาลไซลิทอลมีราคาค่อนข้างสูง เนื่องจากปัจจุบันมีการผลิตน้ำตาลไซลิทอลจากกระบวนการทางเคมี ทำให้ต้นทุนในการผลิตสูง ฉะนั้นการนำน้ำตาลไซลิทอลมาใช้ประโยชน์จึงยังไม่เป็นที่นิยมและแพร่หลายมากนัก

การนำกระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพมาใช้ในการผลิตน้ำตาลไซลิทอล จึงเป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่น่าสนใจ เนื่องจากสามารถลดต้นทุนการผลิตได้ ซึ่งการผลิตน้ำตาลไซลิทอลโดยวิธีทางชีวภาพนั้น จะผลิตจากกระบวนการย่อยสลายเฮมิเซลลูโลส (Hemicellulose) แล้วเปลี่ยนเป็นน้ำตาลไซลิทอล โดยอาศัยกระบวนการเมแทบอลิซึมของเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งเฮมิเซลลูโลสนั้นเป็นองค์ประกอบในพืชหลายชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งในวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร ซึ่งประเทศไทยของเรานั้นเป็นประเทศเกษตรกรรม จึงมีความหลากหลายของพืชชนิดต่างๆ การนำเอาวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตน้ำตาลไซลิทอลจึงน่าจะเป็นการดี เนื่องจากเป็นการนำวัสดุเหลือทิ้งที่ไร้มูลค่ามาผลิตเป็นน้ำตาลไซลิทอลที่มีมูลค่าสูงได้ โครงการนี้จึงมีบทบาทสำคัญอย่างยิ่งในกระบวนการผลิตน้ำตาลไซลิทอลทางด้านชีวภาพ เนื่องจากใช้วัตถุดิบที่หาได้ง่าย ราคาถูก ทำให้ต้นทุนการผลิตต่ำลง การนำเอาน้ำตาลไซลิทอลมาใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ ในอนาคต จึงน่าจะเป็นที่นิยมและแพร่หลายมากยิ่งขึ้น

1.2 วัตถุประสงค์

1. ศึกษาอัตราการเจริญของเชื้อ *Candida tropicalis* TISTR 5045 ในอาหารไฮโดรไลเสท

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ศึกษาเปรียบเทียบการผลิตน้ำตาลไซลิทอลระหว่างเซลล์อิสระและเซลล์ตรึงของ

Candida tropicalis TISTR 5045

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

โครงการพิเศษนี้เป็นการศึกษาอัตราการเจริญของ *Candida tropicalis* TISTR 5045 ในอาหารไฮโดรไลเสทที่ได้จากกระบวนการย่อยสลายวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร ซึ่งวัสดุที่ใช้ในโครงการพิเศษนี้คือขังข้าวโพด และทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการผลิตน้ำตาลไซลิทอลระหว่างเซลล์อิสระและเซลล์ตรึงของ *Candida tropicalis* TISTR 5045

1.4 ขั้นตอนการวิจัยและวิธีการดำเนินงาน

1. การเตรียมวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตน้ำตาลไซลิทอล

1.1 นำวัตถุดิบที่ใช้มาตัดให้เป็นชิ้นเล็กๆ

1.2 นำวัตถุดิบที่เตรียมได้จากข้อ 1.1 มาล้างแล้วใส่ในพลาสติกขนาด 2 ลิตรเติมสารละลายกรดซัลฟิวริกลงไปให้ท่วมวัตถุดิบ

1.3 นำเอาวัตถุดิบที่แช่ในสารละลายกรดนี้ ไปย่อยสลายในหม้อคลอส์ด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave)

1.4 นำไฮโดรไลเสทที่กรองด้วยกระดาษกรองวอท์แมน (Whatman)

1.5 นำไฮโดรไลเสทที่กรองแล้วมาลดสารพิษด้วยวิธีโอเวอร์ไลมิ่ง (over liming)

1.6 ลดสารพิษอีกครั้งด้วยวิธีใช้ผงถ่านกัมมันต์

2. การเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้น

3. การลงหัวเชื้อในอาหารไฮโดรไลเสท

เติมหัวเชื้อยีสต์เริ่มต้นที่ได้จากข้อ 2. ในอาหารไฮโดรไลเสทที่เตรียมไว้ นำไปเลี้ยงบนเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

4. การวิเคราะห์ผลจากการเก็บตัวอย่าง

5. ศึกษาเปรียบเทียบการผลิตน้ำตาลไซลิทอลระหว่างเซลล์อิสระกับเซลล์ตรึง

1.5 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1.ทราบถึงกระบวนการนำวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรมาใช้ประโยชน์ในการผลิตน้ำตาลไซลิทอลโดยเชื้อจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ทราบถึงความสามารถในการเจริญของเชื้อ *Candida tropicalis* TISTR 5045 ในอาหารไฮโดรไลเสท

3. ทราบถึงประสิทธิภาพในการผลิตน้ำตาลไซลิทอลระหว่างเซลล์อิสระและเซลล์ตรึงของ *Candida tropicalis* TISTR 5045



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและหลักการ

2.1 น้ำตาลไซลิทอล (Xylitol)

น้ำตาลไซลิทอลเป็นน้ำตาลแอลกอฮอล์ (sugar alcohol) ชนิดหนึ่ง ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของน้ำตาลไซโลส (Xylose) โดยปกติแล้วน้ำตาลไซลิทอลเป็นสารมัธยันต์ (intermediate) หรือสารตัวกลางในกระบวนการเมตาบอลิซึมของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Hollmann and Touster 1957) และสามารถพบได้ตามธรรมชาติในผักและผลไม้หลายชนิด (Washutt; et al. 1973) ส่วนการผลิตน้ำตาลไซลิทอลเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมนั้น สามารถผลิตได้จากน้ำตาลไซโลสโดยกระบวนการไฮโดรจิเนชัน (hydrogenation) หรือการผลิตด้วยกระบวนการหมักจากวัสดุที่มีไซโลสเป็นองค์ประกอบโดยเชื้อจุลินทรีย์ (สารโจน, 2537)

2.2 คุณสมบัติของน้ำตาลไซลิทอล

คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพที่สำคัญของน้ำตาลไซลิทอลรวมถึงคุณสมบัติที่สำคัญทางอาหารแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของน้ำตาลไซลิทอล

คุณสมบัติ	รายละเอียด
สูตรโมเลกุล	$C_5H_{12}O_5$
น้ำหนักโมเลกุล	152.1
ลักษณะ	ผงผลึกบริสุทธิ์
สี	ขาว
รสชาติ	หวาน
กลิ่น	ไม่มีกลิ่น
ความหวานสัมพัทธ์	มีความหวานโดยประมาณเท่ากับน้ำตาลซูโครส แต่หวานมากกว่าน้ำตาลกลูโคส น้ำตาลไซโลส น้ำตาลซอร์บิทอล และน้ำตาลแมนนิทอล แต่มีความหวานน้อยกว่าน้ำตาลฟรุคโตส
จุดหลอมเหลว	93.4-94.7 องศาเซลเซียส

จุดเดือด	216 องศาเซลเซียส
การละลายน้ำ	62.4 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร
การละลายในเอทานอล	102 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร
การละลายในเมทานอล	6.0 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร
การดูดความชื้น	ดูดความชื้นได้มากกว่าน้ำตาลซูโครส แต่น้อยกว่าซอร์บิทอล
สารปนเปื้อน	น้ำตาลแมนนิทอล น้ำตาลซอร์บิทอล น้ำตาลกาแลคทิทอลและน้ำตาลอาราบิทอล

ที่มา : (Emodi, 1982)

2.3 คุณสมบัติอื่นๆ ที่น่าสนใจของน้ำตาลไซลิทอล

1. น้ำตาลไซลิทอลสามารถละลายน้ำได้ง่ายและมีความคงตัวสูงแม้จะถูกร้อนหรือเก็บไว้นานๆ ก็จะไม่เกิดปฏิกิริยาที่ทำให้เกิดสีน้ำตาล (maillard browning) และการเกิดคาราเมล (caramailization) เหมือนน้ำตาลฟรุกโตสหรือเดกซ์โทรสเมื่อให้ความร้อนสูงกว่า 150 องศาเซลเซียส เนื่องจากน้ำตาลไซลิทอลไม่มีหมู่อัลโดสหรือคีโตส

2. น้ำตาลไซลิทอลให้รสหวานและเย็นสดชื่น (cooling effect) คล้ายเมนทอล เนื่องจากการละลายของน้ำตาลไซลิทอลต้องการความร้อน (endothermic dissolution) เพราะน้ำตาลไซลิทอลมีค่าความร้อนจำเพาะของการละลายเป็นลบ (negative heat of solution) เท่ากับ -34.8 แคลอรีต่อกรัม ดังตารางที่ 2.2 โดยคุณสมบัติจะเกิดขึ้นเมื่อน้ำตาลไซลิทอลอยู่ในรูปผลึกเท่านั้น แต่เมื่อน้ำตาลไซลิทอลอยู่ในรูปของสารละลายหรืออยู่ในรูปอสัณฐาน (amorphous) จะไม่มีคุณสมบัติข้อนี้

ตารางที่ 2.2 ค่าความร้อนจำเพาะของการละลายของน้ำตาลชนิดต่าง ๆ

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้拿去ใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Xylitol	-34.8
---------	-------

ที่มา : (Arron, 1993)

3. น้ำตาลไซลิทอลมีความหวานเช่นเดียวกับน้ำตาลทั่วไป แต่มีความหวานมากกว่าน้ำตาลแมนนิทอลและน้ำตาลซอร์บิทอล 2.5 และ 2.0 เท่าตามลำดับ ความหวานของน้ำตาลไซลิทอลเมื่อเทียบกับน้ำตาลซูโครสจะมีค่าตั้งแต่ 0.85-1.25 เท่า ขึ้นอยู่กับค่าพีเอช (pH) ความเข้มข้นและอุณหภูมิ เป็นต้น ตัวอย่างเช่น ที่ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ สารละลายน้ำตาลไซลิทอลจะมีความหวานเท่ากับสารละลายน้ำตาลซูโครส เมื่อความเข้มข้นมากกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ สารละลายน้ำตาลไซลิทอลจะหวานมากกว่า แต่ถ้าความเข้มข้นน้อยกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ สารละลายน้ำตาลซูโครสจะหวานมากกว่า หรือที่ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ความหวานของสารละลายน้ำตาลไซลิทอลเทียบกับสารละลายน้ำตาลซูโครสจะลดลงจาก 103 เป็น 78 เมื่อเพิ่มอุณหภูมิจาก 5 องศาเซลเซียส เป็น 50 องศาเซลเซียส เป็นต้น

4. น้ำตาลไซลิทอลให้พลังงานต่ำกว่าแต่คงรสชาติเดิมเมื่อผสมกับสารให้ความหวานชนิดอื่น ความหวานและรสชาติจะคงเดิมในขณะที่ลดแคลอรีลง 50- 70 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสามารถใช้ในเครื่องดื่มได้หลายชนิดเหมาะกับผู้บริโภคที่ต้องการควบคุมน้ำหนัก (dietary purpose) โดยมีการเปรียบเทียบคุณสมบัติทางกายภาพต่างๆ ระหว่างน้ำตาลไซลิทอลและน้ำตาลซูโครสแสดงในตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 คุณสมบัติทางกายภาพระหว่างไซลิทอลและน้ำตาลซูโครส

คุณสมบัติ	น้ำตาลไซลิทอล	น้ำตาลซูโครส
จุดหลอมเหลว (° ซ)	93.5-94.5	179-186
จุดเดือด (° ซ / 760 มิลลิเมตรปรอท)	216	สลายตัว
ความหนาแน่น(15° ซ)	1.5	1.59
พลังงาน (แคลอรีต่อกรัม)	4.06	4.06
การหมักด้วยจุลินทรีย์	ไม่ได้	ได้
การเกิดคาราเมล	ไม่เกิด	เกิด
การดูดความชื้น (%)		
ความชื้น 60 %	0.05	0.02
ความชื้น 92 %	90	4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความหนืด (cP)(20 °ซ)		
ความเข้มข้น 10 %	1.23	1.31
ความเข้มข้น 60 %	20.63	58.50

ที่มา : (สารโวจน์, 2537)

5. น้ำตาลไซลิทอลไม่ทำให้ฟันผุเนื่องจากจุลินทรีย์ในช่องปากโดยเฉพาะ *Streptococcus mutans* ไม่สามารถใช้น้ำตาลไซลิทอลเป็นแหล่งคาร์บอนได้ ทำให้ค่าพีเอชบนเคลือบฟันไม่ต่ำกว่า 5.7 จึงไม่ทำให้เกิดฟันผุ

6. น้ำตาลไซลิทอลสามารถใช้ในผู้ป่วยเบาหวานได้ เนื่องจากการเผาผลาญน้ำตาลไซลิทอลไม่ขึ้นกับอินซูลิน ดังนั้นจึงไม่ทำให้เกิดภาวะน้ำตาลในเลือดสูง (hyperglycemia) และน้ำตาลในเลือดต่ำ (hypoglycemia)

7. น้ำตาลไซลิทอลสามารถยืดอายุการเก็บผลิตภัณฑ์ต่างๆได้ เนื่องจากมีจุลินทรีย์เพียงไม่กี่ชนิดเท่านั้นที่สามารถใช้น้ำตาลไซลิทอลได้ ผลิตภัณฑ์ที่มีน้ำตาลไซลิทอลเป็นองค์ประกอบจึงเกิดการหมักโดยจุลินทรีย์ได้ยาก ทำให้มีอายุการเก็บที่นานขึ้น (long shelf-life)

2.4 การใช้น้ำตาลไซลิทอลในผลิตภัณฑ์อาหาร

มีแนวโน้มการใช้น้ำตาลไซลิทอลในอุตสาหกรรมอาหารอย่างกว้างขวางในผลิตภัณฑ์อาหารพวกขนมอบ แยม มาร์มาเลดและผลิตภัณฑ์ขนมหวาน เป็นต้น เนื่องจากน้ำตาลไซลิทอลมีคุณสมบัติที่สามารถใช้แทนน้ำตาลธรรมชาติได้ และยังมีข้อดีในแง่ที่ไม่ทำให้เกิดฟันผุ แต่การใช้น้ำตาลไซลิทอลยังมีข้อจำกัดอยู่บ้างโดยเฉพาะในเครื่องดื่มประเภทน้ำอัดลม ผู้บริโภคมีโอกาสจะได้รับน้ำตาลไซลิทอลปริมาณสูงเกินไปทำให้ท้องเสียได้ หรือลักษณะรูปร่างอันหลากหลายของผลึกน้ำตาลไซลิทอล น้ำตาลซูโครสมีผลึกแบบมอนอคลินิก (monoclinic) แต่น้ำตาลไซลิทอลมีผลึกแบบรอมบิก (rhombic) อาจทำให้เนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์มีลักษณะแข็งกระด้าง อย่างไรก็ตามข้อจำกัดเหล่านี้กล่าวได้ว่าเป็นปัญหารองเมื่อเทียบกับประโยชน์ที่ได้ โดยปกติมักจะให้คุณภาพที่ทัดเทียมกันหรือดีกว่าเช่น รสหวานเย็นสดชื่น ซึ่งช่วยเพิ่มรสชาติของเปปเปอร์มินท์ (peppermint) รสมะนาวและรสต่างๆได้

2.5 ตัวอย่างของการใช้น้ำตาลไซลิทอลในผลิตภัณฑ์อาหารมีดังนี้

1. หมากฝรั่ง (Chewing gum)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยปกติแล้วหมากฝรั่งประกอบด้วยน้ำตาล 50-75 เปอร์เซ็นต์ และน้ำ 3-5 เปอร์เซ็นต์ และมีส่วนผสมของกลูโคสไซรัปเป็นตัวทำให้เนื้อสัมผัสนุ่ม (softener) น้ำตาลไซลิทอลสามารถใช้แทนน้ำตาลซูโครสได้ในอัตราส่วน 1:1 ยกเว้นน้ำตาลซอร์บิทอลและน้ำตาลแมนนิทอลซึ่งมีความหวานน้อยกว่า จะต้องเติมสารให้ความหวานที่ไม่ให้พลังงาน (non-caloric sweetener) ชนิดอื่นแทนเพื่อให้ได้ความหวานเท่าเดิม แต่เนื่องจากน้ำตาลไซลิทอลมีความหนืดน้อยกว่าน้ำตาลซูโครสจึงต้องใช้กัมอาราบิก (gum arabic) เป็นส่วนผสมด้วย ความแตกต่างของหมากฝรั่งชนิดใช้น้ำตาลไซลิทอลกับชนิดใช้น้ำตาลซูโครสคือชนิดที่ใช้น้ำตาลไซลิทอลจะให้ความรู้สึกเย็นเมื่อเริ่มเคี้ยวเนื่องจากอิทธิพลของความเย็น (cool effect) ซึ่งเป็นคุณสมบัติของน้ำตาลไซลิทอลและจากการศึกษาของ (Makinen and Scheinin 1975) พบว่าหมากฝรั่งชนิดที่ใช้น้ำตาลไซลิทอลไม่ทำให้เกิดฟันผุซึ่งมักพบในผู้ที่เคี้ยวหมากฝรั่งชนิดที่ใช้น้ำตาลซูโครสเป็นสารให้ความหวาน

2. ช็อกโกแลต (Chocolate)

สามารถใช้น้ำตาลไซลิทอล ในการผลิตช็อกโกแลตแทนน้ำตาลซูโครสได้ในอัตราส่วน 1:1 แต่จำเป็นต้องใส่สารเติมแต่ง เนื่องจากน้ำตาลไซลิทอลให้ความหนืดต่ำกว่า ปริมาณน้ำตาลไซลิทอลที่ใช้ในช็อกโกแลตมีตั้งแต่ 17-42 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่พบปัญหาเกี่ยวกับเนื้อสัมผัสและรสชาติของผลิตภัณฑ์แต่อย่างใด

3. ท็อฟฟี่และคาราเมล (Toffees and caramels)

เนื่องจากน้ำตาลไซลิทอลไม่มีคุณสมบัติทาง Millard browning และ caramelization จึงจำเป็นต้องเติมน้ำตาลฟรุกโตสเพื่อคงคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์เอาไว้ หรืออาจเติมหรือกลั่นดังกล่าวแทนก็ได้และเพื่อป้องกันการตกผลึกของน้ำตาลไซลิทอล ซึ่งจะทำให้ผลิตภัณฑ์มีเนื้อสัมผัสแข็งกระด้างควรหลีกเลี่ยงการใช้มอลโตเด็คซ์ตริน (maltodextrin) และไลเคซีน (lycasien) เป็นส่วนผสม ซึ่งพบว่าอนุพันธ์ของเปปติงกลูโคสมีผลต่อการตกผลึกของน้ำตาลไซลิทอล

4. เจลาติน (Gelatin desserts)

การใช้น้ำตาลไซลิทอลในผลิตภัณฑ์เจลาติน มีคุณสมบัติเช่นเดียวกับใช้น้ำตาลซูโครสเป็นสารให้ความหวาน

5. พุดดิ้ง (Pudding)

การผลิตพุดดิ้งไม่มีการเปลี่ยนแปลงสูตรแต่อย่างใด เมื่อนำน้ำตาลไซลิทอลแทนน้ำตาลซูโครสและไม่มีผลต่อรสชาติของผลิตภัณฑ์

6. แยม เยลลี่และมาร์มาเลด (Jams jellies and marmalades)

กรณีนี้สามารถใช้น้ำตาลไซลิทอลแทนน้ำตาลซูโครสได้เช่นกันในอัตราส่วน 1ต่อ1 แต่ควร

หลีกเลี่ยงการใช้น้ำตาลไซลิทอลมากกว่า 40 เปอร์เซ็นต์ เพราะจะทำให้เกิดการตกผลึกของน้ำตาล เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไซลิทอลได้ในระหว่างการเก็บรักษา และไม่มีควมจำเป็นต้องเติมสารกันบูดแต่อย่างใด เนื่องจากจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ที่ทำให้เกิดความเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์ไม่สามารถใช้น้ำตาลไซลิทอลเป็นแหล่งคาร์บอนได้ แต่ควรเพิ่มเพคตินในปริมาณที่มากขึ้นเพราะน้ำตาลไซลิทอลให้ความหนืดต่ำกว่าน้ำตาลซูโครสและมีความจำเป็นต้องเติมเกลือแคลเซียมเพื่อช่วยในการเกิดเจลของแยม นอกจากนี้ยังพบว่าแยมและมาร์มาเลดที่ใช้น้ำตาลไซลิทอลแทนจะให้รสชาติที่ดีกว่าการใช้น้ำตาลซูโครส รวมทั้งความคงตัวของสีอีกด้วย

7. ลูกกวาด (Hard candy of boiled sweets)

ในการผลิตลูกกวาดโดยการใช้น้ำตาลไซลิทอลอาจมีปัญหาอยู่บ้าง เนื่องจากการตกผลึกโดยใช้น้ำตาลไซลิทอลเกิดขึ้นในขณะที่ทำให้เย็นและความหนืดต่ำ จึงต้องผลิตลูกกวาดโดยการอัดลูกกวาดร้อนเข้าแม่พิมพ์แทน

8. ผลิตภัณฑ์ขนมอบ (Bakery goods)

พบว่าการใช้น้ำตาลไซลิทอลในผลิตภัณฑ์ขนมอบนั้นไม่จำเป็นต้องมีการเปลี่ยนแปลงสูตรขนมแต่อย่างใด แต่อาจต้องเติมน้ำตาลฟรุกโตสเพื่อรักษาคูสมบัติของผลิตภัณฑ์อาหารที่ต้องการ Millard browning และ caramelization นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์ที่ต้องการปริมาณจากการหมักยีสต์และน้ำตาลนั้น อาจไม่เหมาะสมนักสำหรับการใช้น้ำตาลไซลิทอล เพราะผลิตภัณฑ์ขนมอบที่ใช้น้ำตาลไซลิทอลนั้นจะมีปริมาณที่น้อยกว่าและมีเนื้อสัมผัสที่แน่นกว่าอย่างไรก็ตาม ผลิตภัณฑ์ขนมอบที่ใช้น้ำตาลไซลิทอล เหมาะสำหรับคนที่ เป็นโรคเบาหวานมากกว่า

9. ไอศกรีม (Ice cream)

การใช้น้ำตาลไซลิทอลแทนน้ำตาลซูโครส กลูโคสไซรัป หรือน้ำตาลอินเวอร์ต (Invert sugar) ในผลิตภัณฑ์แช่แข็งจะทำให้คุณสมบัติการหลอมเหลวของผลิตภัณฑ์เปลี่ยนไปคือ ที่อุณหภูมิเดียวกันผลิตภัณฑ์ที่ใช้น้ำตาลไซลิทอลจะมีคุณสมบัติอ่อนกว่าจึงจำเป็นต้องมีการเติมสารที่ช่วยให้แข็ง (thickeners) สำหรับไอศกรีมที่ใช้น้ำตาลไซลิทอลนั้น ไม่พบว่ามีเปลี่ยนแปลงของคุณสมบัติเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -24 องศาเซลเซียส นานถึง 6 เดือนและไม่พบการตกผลึกอีกด้วย

10. ซอสมะเขือเทศและนมข้นหวาน (Ketchup and condensed milk)

การใช้น้ำตาลไซลิทอลสามารถปรับปรุงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ได้คือ ป้องกันการเกิด browning และการเสื่อมเสียโดยจุลินทรีย์ได้เป็นอย่างดี

11. ซอสและอื่นๆ (Marinade sauces an pastes)

เนื่องจากเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีองค์ประกอบของน้ำตาลต่ำ ฉะนั้นการทดแทนน้ำตาลซูโครสด้วยน้ำตาลไซลิทอลจึงไม่ประสบปัญหาแต่อย่างใด

12. โยเกิร์ต (Yoghurt)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษาพบว่าการใช้ปริมาณน้ำตาลไซลิทอล 8 เปอร์เซ็นต์ มีความเหมาะสมมากที่สุดสำหรับการผลิตโยเกิร์ต โดยที่การเติมน้ำตาลไซลิทอลหลังการบ่มจะไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของผลิตภัณฑ์ แต่ถ้าเติมน้ำตาลไซลิทอลก่อนการบ่ม ผลิตภัณฑ์ที่ได้จะมีค่าพีเอช 4.4 สูงกว่ากรณีที่ใช้น้ำตาลซูโครสและผลิตภัณฑ์ที่ได้จะมีความหนืดน้อยกว่า อย่างไรก็ตามจะไม่พบความแตกต่างเกี่ยวกับการยอมรับของผู้บริโภค

13. เครื่องดื่ม (Drinks)

เนื่องจากการได้รับน้ำตาลไซลิทอลในขณะเดียวกันมากเกินไปอาจทำให้เกิดอาการท้องเสียได้ (laxative effect) จึงต้องใช้น้ำตาลไซลิทอลผสมกับสารให้ความหวานชนิดอื่น เช่นเมื่อใช้น้ำตาลไซลิทอล 3.9 เปอร์เซ็นต์ และไซคลาเมต (cyclamate) 0.133 เปอร์เซ็นต์ แทนน้ำตาลในผลิตภัณฑ์น้ำอัดลมจะสามารถลดพลังงานที่ร่างกายจะได้รับถึง 60 เปอร์เซ็นต์ จึงเหมาะต่อคนที่เป็นโรคเบาหวานและคนที่ต้องการควบคุมน้ำหนัก ส่วนนมสเตอริไลซ์ยูเอชทีชนิดช็อกโกแลตเหมาะที่จะใช้น้ำตาลไซลิทอล 4 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่ทำให้คุณภาพทางฟิสิกส์เช่น ความหนืดและสีเปลี่ยนแปลงไปและยังเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค สำหรับการเก็บรักษามากกว่า 1 เดือนที่อุณหภูมิห้องก็ไม่ทำให้ผลิตภัณฑ์เสื่อมคุณภาพแต่อย่างใด

14. ผลิตภัณฑ์ทางเภสัชกรรม (Pharmaceutical preparation)

น้ำตาลไซลิทอลมีข้อได้เปรียบคือไม่ทำให้เกิดฟันผุ (non-cariogenicity) และไม่เกิดการหมักโดยจุลินทรีย์ จึงได้ใช้เป็นสารให้ความหวานในการเตรียมผลิตภัณฑ์ชนิดเหลวทางเภสัชกรรม เพราะฉะนั้นการใช้ดังกล่าวของคนไข้ที่ไม่ได้ทำความสะอาดช่องปากเป็นเวลานาน จึงไม่ทำให้เกิดฟันผุ

2.6 ข้อจำกัดในการใช้ผลิตภัณฑ์น้ำตาลไซลิทอล

2.6.1 การบริโภคน้ำตาลไซลิทอลเป็นจำนวนมากในคราวเดียวจะทำให้เกิดอาการท้องเสียได้ เนื่องจากน้ำตาลไซลิทอลมีคุณสมบัติเป็นยาระบาย เพราะน้ำตาลไซลิทอลมีคุณสมบัติเหมือนคาร์โบไฮเดรตอื่นๆคือ ดูดซับน้ำไว้อย่างช้าๆ ดังนั้นเมื่อเริ่มบริโภคเป็นครั้งแรกควรบริโภคในปริมาณต่ำๆก่อน (ราว 30 กรัมต่อวัน) และค่อยๆจะเพิ่มปริมาณขึ้นแต่จะบริโภคได้สูงสุดราว 200-300 กรัมต่อวัน

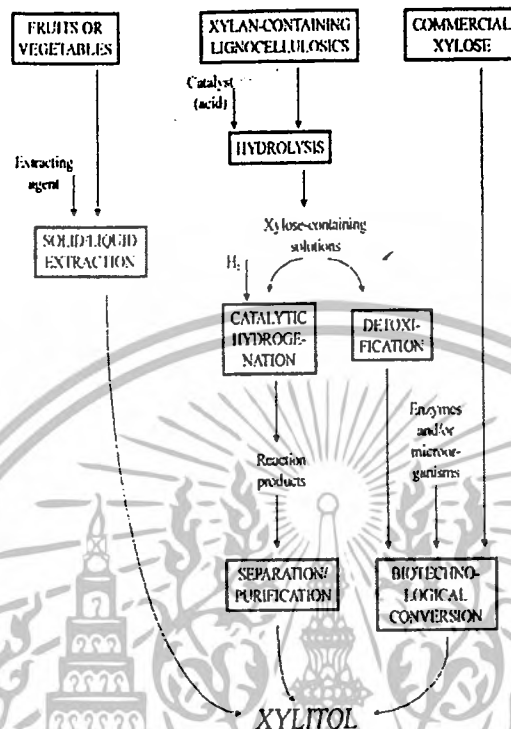
2.6.2 การใช้น้ำตาลไซลิทอลในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อให้มีรสชาติเย็นสดชื่นนั้น จะต้องใช้น้ำตาลไซลิทอลที่อยู่ในรูปผลึกเท่านั้น ซึ่งอาจทำให้เกิดลักษณะผิวสัมผัสเปลี่ยนแปลงไปหรือไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคได้

2.6.3 น้ำตาลไซลิทอลมีราคาแพงเมื่อเทียบกับสารให้ความหวานชนิดอื่น เนื่องจากต้นทุนที่ใช้ในการผลิตสูงทำให้การใช้น้ำตาลไม่แพร่หลายเท่าที่ควร แต่น้ำตาลไซลิทอลจะสามารถใช้ในผู้ป่วยโรคเบาหวานได้ แต่ในอาหารสำหรับผู้ป่วยเบาหวานกลับใช้ฟรุคโตสแทนเพราะมีราคาถูกกว่าและไม่เกิดผลข้างเคียงเช่นเดียวกับการใช้น้ำตาลไซลิทอล

2.7 การผลิตน้ำตาลไซลิทอล

น้ำตาลไซลิทอลเริ่มมีการผลิตในระดับอุตสาหกรรมเป็นครั้งแรกในประเทศฟินแลนด์ เมื่อปี พ.ศ. 2519 โดยบริษัทฟินนิชซูการ์ และบริษัทฮอฟมันน์ลาโรซ์ แห่งประเทศสวิตเซอร์แลนด์ ก่อตั้งบริษัทรวมกันชื่อว่าไซโรฟิน (Xylofin Co., Ltd.) ขึ้นโดยในปี พ.ศ. 2522 มีการผลิตน้ำตาลแอลกอฮอล์ทั่วโลกปริมาณถึง 345000 ตัน ซึ่งในจำนวนนี้เป็นน้ำตาลไซลิทอลและแมนนิทอลประมาณ 6000 ตัน (สารโจนัน, 2537)

ปัจจุบันมีการใช้น้ำตาลไซลิทอลในผลิตภัณฑ์อาหารอย่างกว้างขวาง ทั้งในทวีปยุโรปและอเมริกา โดยเฉพาะในผลิตภัณฑ์ประเภทขนมฝรั่ง และพบว่ามีแนวโน้มที่จะใช้ปริมาณน้ำตาลไซลิทอลเพิ่มมากขึ้นในอุตสาหกรรมประเภทขนมหวาน (confectionary) และขนมขบเคี้ยว (snack products) แต่การใช้ผลิตภัณฑ์น้ำตาลไซลิทอลในผลิตภัณฑ์ดังกล่าวยังมีข้อจำกัดอยู่ที่น้ำตาลไซลิทอลที่มีต้นทุนการผลิตสูง จึงทำให้น้ำตาลไซลิทอลมีราคาแพงกว่าน้ำตาลทั่วไป อย่างไรก็ตามในปัจจุบันได้มีการวิจัยค้นคว้า เพื่อลดต้นทุนการผลิตน้ำตาลไซลิทอลโดยกระบวนการหมัก ด้วยเชื้อจุลินทรีย์ โดยการนำเอาวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่มีองค์ประกอบของน้ำตาลไซโลสเป็นวัตถุดิบ ซึ่งคาดว่าจะทำให้ต้นทุนการผลิตต่ำกว่าการผลิตทางเคมี การผลิตน้ำตาลไซลิทอลมีหลายวิธีและสามารถใช้วัตถุดิบได้หลายชนิด เช่น ผักและผลไม้ ของเสียที่มีไซเลนเป็นองค์ประกอบ เช่น วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร (ฟางข้าว ชังข้าวโพด และชานอ้อย) เป็นต้น เศษเหลือจากอุตสาหกรรมกระดาษ หรืออาจใช้น้ำตาลไซโลสเป็นวัตถุดิบโดยตรงก็ได้ ซึ่งแต่ละวิธีจะมีกระบวนการผลิตแตกต่างกันไปดังแสดงในรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 วิธีการต่างๆที่ใช้ในการผลิตน้ำตาลไซลิทอล

ที่มา : (Parajo; et al. 1998)

2.8 วิธีการต่างๆที่ใช้ในการผลิตน้ำตาลไซลิทอล

2.8.1 การสกัดจากผักและผลไม้

การผลิตน้ำตาลไซลิทอลสามารถผลิตได้จากแหล่งธรรมชาติโดยการสกัดจากผักและผลไม้ เช่น กะหล่ำปลี มะเขือยาว ผักโขม สตรอเบอร์รี่ ราสเบอร์รี่ โดยปริมาณน้ำตาลไซลิทอลในผักผลไม้ต่างๆ แสดงในตารางที่ 2.4 ซึ่งสามารถสกัดได้น้ำตาลไซลิทอลในปริมาณที่ต่ำมากเมื่อเทียบกับปริมาณวัตถุดิบที่ใช้ จึงไม่คุ้มค่าที่จะผลิตในเชิงพาณิชย์

ตารางที่ 2.4 ปริมาณน้ำตาลไซลิทอลในผักและผลไม้

ผักและผลไม้	ปริมาณน้ำตาลไซลิทอล (มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง)
Raspberries	268

Strawberries	362
Yellow plums	935
Endivis	258
Lettuce	131
Cauliflower	300
Spinach	107
Eggplant	180
Yellow boletus mushroom	128

ที่มา : (Emodi, 1982)

2.8.2 การผลิตน้ำตาลไซลิทอลโดยกระบวนการทางเคมี
เป็นการผลิตน้ำตาลไซลิทอลทางอุตสาหกรรมในปัจจุบันโดยใช้วัตถุดิบที่เป็น
น้ำตาลไซโลสที่ได้จากวัสดุที่มีไซเลนเป็นองค์ประกอบ โดยมีขั้นตอนการผลิตดังนี้

2.8.2.1 การไฮโดรไลซิส

เป็นการสกัดน้ำตาลไซโลสจากเฮมิเซลลูโลส โดยการใช้กรดซัลฟูริกเจือ
จาง 0.5-1.0 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 200-210 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วินาที ซึ่งได้น้ำตาลไซโลส
ออกมา

2.8.2.2 การทำน้ำตาลไซโลสให้บริสุทธิ์

หลังจากไฮโดรไลซิสแล้ว จะกำจัดไออนและสีที่อยู่ในไฮโดรไลเซต
(hydrolysate) ซึ่งมีน้ำตาลหลายชนิดเป็นองค์ประกอบ แต่มีน้ำตาลไซโลสเป็นองค์ประกอบหลักถึง
78% ซึ่งสามารถทำให้บริสุทธิ์ได้ 2 วิธีคือ

2.8.2.2.1 แบบแยกน้ำตาลไซโลส (isolation of xylose)

ไฮโดรไลเซตที่ได้จะถูกกรองแยกสารแขวนลอยและตะกอนออก
ก่อนที่จะนำไปผ่านตัวแยกไออนเพื่อกำจัดสีและเกลือ และเพื่อให้ได้สารละลายน้ำตาลไซโลสที่
บริสุทธิ์ที่ความเข้มข้น 85-90% จึงต้องใช้วิธีโครมาโทกราฟีเป็นขั้นตอนสุดท้าย

2.8.2.2.2 แบบไม่แยกน้ำตาลไซโลส (non-isolation of xylose)

วิธีนี้จะแยกเอาสารอื่นๆ เช่น ตะกอน ไออน และสีออก แต่จะ
ไม่แยกเอาน้ำตาลชนิดอื่นๆออกไปโดยวิธีโครมาโทกราฟี สารละลายที่ได้จะมีน้ำตาลหลายชนิด
เป็นองค์ประกอบแต่น้ำตาลไซโลสเป็นองค์ประกอบหลักดังแสดงในตารางที่ 2.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.5 องค์ประกอบของสารละลายน้ำตาลที่ได้จากการไฮโดรไลซิส

น้ำตาล	ปริมาณ (เปอร์เซ็นต์)
อาราบีโนส	6.3
ไซโลส	77.5
แมนโนส	7.8
กาแลคโตส	4.5
กลูโคส	4.5

ที่มา : (Hyvoenen; et al. 1982)

2.8.3 การไฮโดรจีเนชัน

เป็นการเปลี่ยนน้ำตาลไซโลสเป็นน้ำตาลไซลิทอลที่สภาวะความดัน 50 บรรยากาศ อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2.5 ชั่วโมง โดยใช้โลหะนิกเกิลเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ซึ่งจะได้ น้ำตาลไซลิทอลประมาณ 64.5% โดยในขั้นตอนนี้ถ้ามีน้ำตาลชนิดอื่นเจือปนอยู่น้ำตาลเหล่านั้นจะ เปลี่ยนเป็นน้ำตาลแอลกอฮอล์ด้วย ดังแสดงในตารางที่ 2.6

ตารางที่ 2.6 องค์ประกอบของสารละลายน้ำตาลแอลกอฮอล์ที่ได้จากกระบวนการไฮโดรจีเนชัน

น้ำตาล	ปริมาณ (เปอร์เซ็นต์)
อาราบีทอล	9
ไซลิทอล	64.5
แมนนิทอล	7.5
กาแลคติทอล	5
ซอร์บิทอล	4.5
อื่นๆ	9.5

ที่มา : (Hyvoenen; et al. 1982)

2.8.4 การทำน้ำตาลไซลิทอลให้บริสุทธิ์

นำสารละลายน้ำตาลแอลกอฮอล์ที่ได้มาทำให้บริสุทธิ์ โดยกรองแยกเอาโลหะ นิกเกิลออก แล้วแยกน้ำตาลไซลิทอลออกมาโดยวิธีโครมาโทกราฟี จากนั้นทำการตกผลึกน้ำตาล ไซลิทอล ซึ่งจะได้ น้ำตาลที่มีความบริสุทธิ์ 99 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แม้ว่าการผลิตน้ำตาลไซลิทอลโดยวิธีการทางเคมี จะเป็นวิธีที่ใช้กันทางอุตสาหกรรมทั่วไป แต่ต้นทุนการผลิตยังสูงอยู่ เนื่องจากขั้นตอนในการแยกและทำให้บริสุทธิ์ยังทำได้ยาก ทำให้น้ำตาลไซลิทอลมีราคาแพงและปริมาณน้ำตาลไซลิทอลที่ได้ยังค่อนข้างต่ำ จึงทำให้มีการคิดค้นวิธีการผลิตด้วยกระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพขึ้นมาเพื่อทดแทนการผลิตทางเคมี

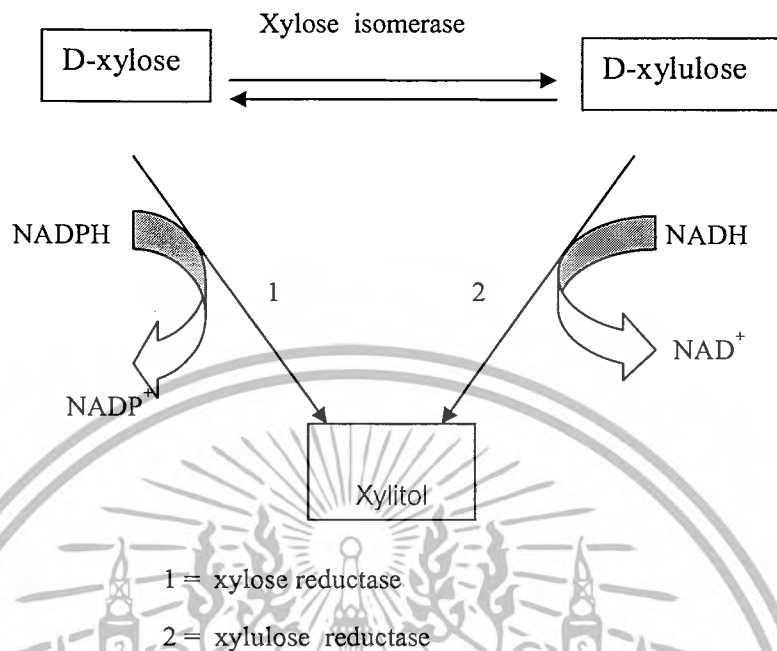
2.9 การผลิตด้วยวิธีการทางเทคโนโลยีชีวภาพ

การผลิตไซลิทอลโดยกระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพ เป็นที่สนใจเนื่องจากมีแนวโน้มที่จะสามารถนำมาทดแทนการผลิตโดยวิธีทางเคมีที่มีต้นทุนสูงได้ การผลิตไซลิทอลโดยวิธีนี้จะใช้เอนไซม์ หรือจุลินทรีย์ในการผลิตไซลิทอล แต่กระบวนการผลิตโดยใช้เอนไซม์นั้นค่อนข้างจะยุ่งยาก และไม่เป็นที่นิยมเท่ากระบวนการผลิตโดยใช้จุลินทรีย์ มีจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตไซลิทอลได้หลายชนิด ตัวอย่างเช่น แบคทีเรีย ได้แก่ *Corynebacterium* sp., *Mycobacterium smegmatis* รา ได้แก่ *Petromyces albertensis* แต่จุลินทรีย์ที่นิยมที่สุดในการผลิตไซลิทอล คือ ยีสต์ ซึ่งมียีสต์อยู่หลายชนิดที่มีความสามารถในการผลิตไซลิทอล เช่น *Candida tropicalis*, *C. Guilliermondii*, *C. boidinii* และ *Debaryomyces hansenii* เป็นต้น

2.10 กระบวนการและเมตาบอลิซึมในการผลิตไซลิทอลโดยจุลินทรีย์

Hofer; et al. (1971) รายงานว่าการเกิดไซลิทอลจากไซโลสในจุลินทรีย์สามารถเกิดได้ 2 วิธี คือ

1. ไซโลสจะเปลี่ยนไปเป็นไซลิทอลโดยตรง โดยเอนไซม์ไซโลสรีดักเตสที่มีนิโคตินาไมด์อะดีนไดนิวคลีโอไทด์รีดิวสเฟสในรูปรีดิวซ์ (NADPH) เป็นโคเอนไซม์
2. ไซโลสถูกเปลี่ยนไอโซเมอร์ไปเป็นไซลูโลสก่อน ด้วยเอนไซม์ไอโซเมอร์เลส จากนั้นก็จะถูกรีดิวซ์ไปเป็นไซลิทอลโดยเอนไซม์ไซลูโลสรีดักเตส โดยมีนิโคตินาไมด์อะดีนไดนิวคลีโอไทด์รีดิวสเฟส (NADH) เป็นโคเอนไซม์ ดังรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.2 วิธีการเกิดน้ำตาลไซลิทอลจากเมตาบอลิซึมของไซโลส
ที่มา : (Hofer; et al. 1971)

Bobsa; et al. (1988) ได้ศึกษามетаบอลิซึมของไซโลสในยีสต์ ดังภาพที่ 4 เพื่อคำนวณหาผลได้ตามทฤษฎีของการเปลี่ยนไซโลสโดยพิจารณาจาก 4 สถานะ

1. โคเอนไซม์ 2 ชนิดเข้าไปเกี่ยวข้องกับสองขั้นแรกของกระบวนการสลายไซโลสดังนี้คือ การรีดิวซ์ไซโลสไปเป็นไซลิทอลด้วยเอนไซม์ไซโลสรีดักเตสที่ใช้นิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ฟอสเฟตในรูปรีดิวซ์ (NADPH) ส่วนการออกซิไดส์ไซลิทอลไปเป็นไซลูโลส ด้วยเอนไซม์ไซลิทอลดีไฮโดรจีเนสที่ใช้นิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ (NAD^+)

2. ไซโลสทั้งหมดถูกรีดิวซ์ไปเป็นไซลิทอล โดยที่โคเอนไซม์นิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ฟอสเฟตในรูปรีดิวซ์ (NADPH) นี้สังเคราะห์มาจากวัฏจักรเพนโทส และไซลิทอลถูกออกซิไดส์ไปเป็นไซลูโลส โดยที่โคเอนไซม์นิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ (NAD^+) นี้สังเคราะห์มาจากกระบวนการหายใจ

3. ยีสต์ไม่มีกลไกการเปลี่ยนแปลงไปมาระหว่างนิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ในรูปรีดิวซ์ (NADH) และ นิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ฟอสเฟตในรูปรีดิวซ์ (NADPH) ได้เนื่องจากไม่มีกระบวนการเปลี่ยนระหว่างโคเอนไซม์ทั้งสอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ภายใต้สภาวะที่เซลล์ไม่มีการเจริญเติบโต ไซลิทอลจะถูกออกซิไดส์เพื่อการสังเคราะห์นิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ฟอสเฟตในรูปรีดิวซ์ (NADPH) เท่านั้น ส่วนไซลิทอลที่เหลือจะถูกปล่อยออกมานอกเซลล์

แต่วิธีโดยทั่วไปที่เป็นวิธีในการเปลี่ยนไซโลสไปเป็นไซลิทอล ก็คือ วิธีออกซิโด-รีดักชัน (oxido-reduction) ซึ่งมีการศึกษาวิธีนี้ในยีสต์หลายชนิด (Furian; et al. 1994) รายงานว่ากระบวนการดังกล่าวจะเกิดขึ้นได้ ต้องอาศัยโคเอนไซม์จากกระบวนการหายใจแบบใช้ออกซิเจน

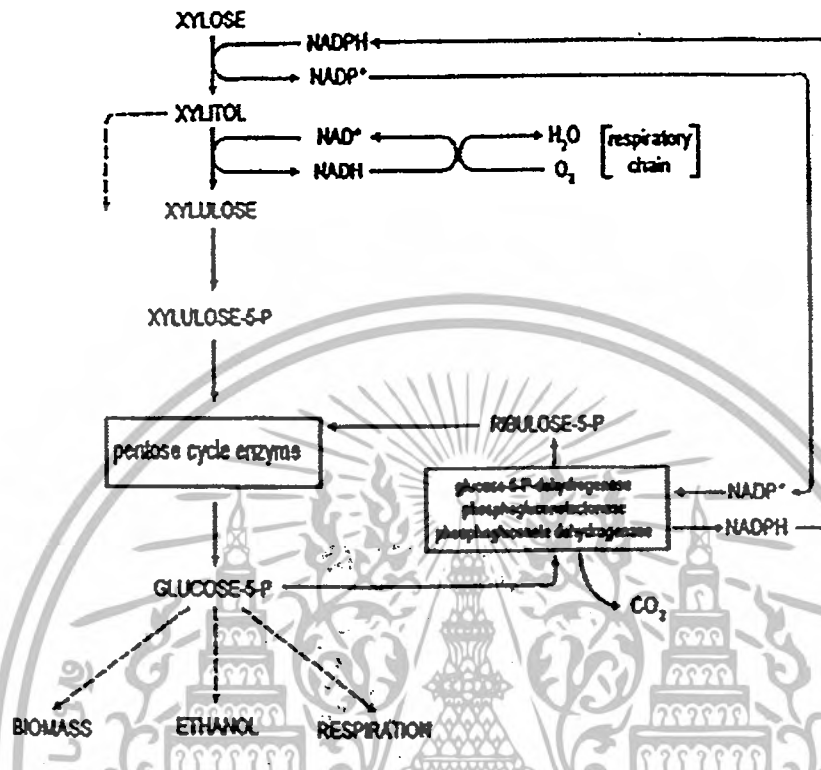
2.10.1 กระบวนการเมตาบอลิซึมของการผลิตไซลิทอลโดยยีสต์

ยีสต์จะใช้น้ำตาลไซโลสมาเป็นไซลูโลส-5-ฟอสเฟตเพื่อเข้าสู่วิธีอื่นต่อไป โดยเมื่อน้ำตาลเข้าสู่เซลล์ยีสต์จะถูกเปลี่ยนไปเป็นไซลูโลสโดยปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชัน (Oxido-reduction) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงน้ำตาลไซโลสโดยวิธีนี้ จะพบในยูคาริโอต (Eucaryote) โดยมีเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องสองชนิด คือ เอนไซม์ไซโลสรีดักเตส (xylose reductase : XR) ซึ่งมีโคเอนไซม์นิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ฟอสเฟตในรูปรีดิวซ์ NAD(P)H ร่วมในการทำปฏิกิริยารีดิวซ์ไซโลสไปเป็นไซลิทอลและเอนไซม์ไซลิทอลดีไฮโดรจีเนส (Xylitol dehydrogenase) ซึ่งใช้นิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ฟอสเฟต $[NAD(P)^+]$ เป็นโคเอนไซม์ จะออกซิไดส์ไซลิทอลที่เกิดขึ้นให้กลายเป็นไซลูโลสและเมื่อยีสต์เปลี่ยนไซโลสให้เป็นไซลูโลสแล้ว ไซลูโลสก็จะเปลี่ยนไปเป็นไซลูโลส-5-ฟอสเฟต (Xylulose-5-phosphate) โดยปฏิกิริยาฟอสโฟรีเลชัน (Phosphorylation) โดยเอนไซม์ไซลูโลสไคเนส (Xylulose kinase) แล้วไซลูโลส-5-ฟอสเฟตก็จะเข้าสู่วิถีเพนโทสฟอสเฟต ซึ่งจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยตัวเร่งปฏิกิริยาหลัก ๆ 2 ตัว คือนิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ฟอสเฟต ($NADP^+$) เชื่อมกับกลูโคส-6-ฟอสเฟตดีไฮโดรจีเนส (GPDH) และนิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ฟอสเฟต ($NADP^+$) เชื่อมกับกลูโคส-6-ฟอสเฟตดีไฮโดรจีเนส (PGDH) จะอธิบายการเจริญของยีสต์โดยใช้ไซโลส เปรียบเทียบกับการเจริญโดยใช้กลูโคส และอีกทางหนึ่งเมื่อเข้าสู่วิถีเพนโทสฟอสเฟต ไซลูโลส-5-ฟอสเฟตก็จะเปลี่ยนไปเป็นน้ำตาลฟอสเฟตชนิดต่าง ๆ เช่น กลีเซอรอลดีไฮด์-5-ฟอสเฟต (G3P) และฟรุคโตส-6-ฟอสเฟต (F6P) แล้วเข้าสู่วิถีเอดเดน เมเยอร์ฮอฟ (Embden-Meyerhof-Panas : EMP) เพื่อสร้างไพรูเวตเข้าสู่วัฏจักรเครบส์ เพื่อสร้างพลังงานและเซลล์ต่อไป อีกวิธีหนึ่งไซลูโลส-5-ฟอสเฟตจะเปลี่ยนเป็นกลีเซอรอลดีไฮด์-5-ฟอสเฟต (G3P) และอะซิetyl ฟอสเฟต (Acetyl phosphate) โดยเอนไซม์ไซลูโลส-5-ฟอสเฟตฟอสโฟคีโตเลส (Xylulose-5-phosphate phosphoketolase) กลีเซอรอลดีไฮด์-5-ฟอสเฟต จะเข้าสู่วิถีเอดเดน เมเยอร์ฮอฟ (Embden-Meyerhof-Panas : EMP) ส่วนอะซิetyl ฟอสเฟต (Acetyl phosphate) จะเปลี่ยนไปเป็นอะซิเตท ซึ่งจะเปลี่ยนแปลงได้สองทาง คือ เป็นอะ

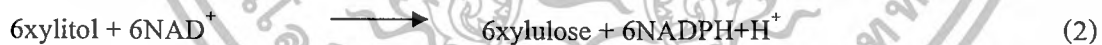
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกและเผยแพร่ และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซิทิลโคเอ (Acetal-CoA) เข้าสู่วัฏจักรเครบส์ต่อไปกับการเปลี่ยนแปลงเป็นเอทานอล ส่วนไพรูเวทที่ได้จะเปลี่ยนไปเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ เช่น เอทานอล คาร์บอนไดออกไซด์ และกรดอินทรีย์ต่าง ๆ เป็นต้น การที่ยีสต์บางสายพันธุ์นั้น เมื่อใช้น้ำตาลไซโลสในสภาวะที่มีออกซิเจนจำกัดจะสามารถสะสมไซลิทอลได้ในปริมาณที่มากนั้น เนื่องจากชนิดของโคเอนไซม์ที่ใช้ในปฏิกิริยาของเอนไซม์ไซโลสรีดักเตสคือ นิโคตินาไมด์อะดีนไดนิวคลีโอไทด์ฟอสเฟตในรูปรีดิวซ์ (NADPH) แต่โคเอนไซม์ในปฏิกิริยาที่เร่งโดยเอนไซม์ไซลิทอลดีไฮโดรจีเนสเป็นนิโคตินาไมด์อะดีนไดนิวคลีโอไทด์ (NAD⁺) ดังนั้นในสภาวะที่มีออกซิเจนจำกัด จะเกิดการสะสมของนิโคตินาไมด์อะดีนไดนิวคลีโอไทด์ฟอสเฟตในรูปรีดิวซ์ (NADPH) และนิโคตินาไมด์อะดีนไดนิวคลีโอไทด์ฟอสเฟต ในรูปรีดิวซ์ (NADPH) มากจึงเกิดขึ้นน้อย และไม่สามารถเอา NADP⁺ ที่เกิดจากปฏิกิริยาที่เปลี่ยนไซโลสเป็นไซลิทอลมาใช้ได้ จึงทำให้เกิดการสะสมไซลิทอลขึ้น

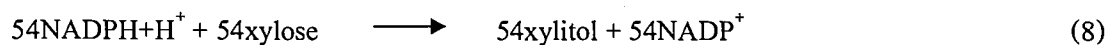
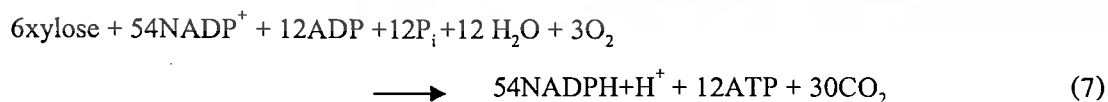
การผลิตไซลิทอลในยีสต์ โดยใช้ไซโลสเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานในสภาวะที่มีออกซิเจนจำกัด หรือไม่มีการเจริญเติบโต ไซลิทอลส่วนใหญ่จะถูกปล่อยออกมานอกเซลล์ โดยมีบางส่วนถูกออกซิไดส์ไปเพื่อสังเคราะห์นิโคตินาไมด์อะดีนไดนิวคลีโอไทด์ฟอสเฟตในรูปรีดิวซ์ (NADPH) เมื่อทำสมดุลคาร์บอน และโคเอนไซม์ดังสมการที่ 1-9 แล้ว จะได้ผลทางทฤษฎีของไซลิทอล และไซโลสที่ถูกใช้ (Barbosa; et al. 1988)



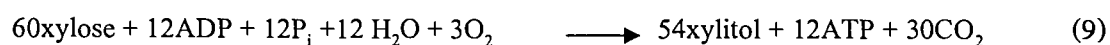
รูปที่ 2.3 การสร้างและการใช้โคเอนไซม์ (coenzyme regeneration) ในยีสต์ที่หมักน้ำตาลไซโลส
ที่มา : (Barbosa; et al. 1988)



จากสมการที่ 1-6



จากสมการที่ 1-6

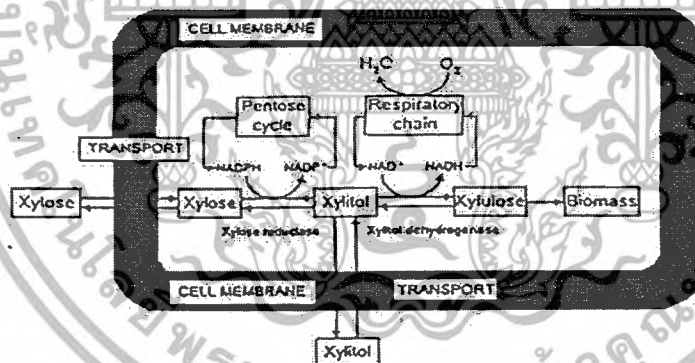


ผลได้ของไซลิตอล = $54 : 60 = 0.905$ โมลของไซลิตอลต่อโมลของไซโลส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Horitsu; et al. (1992) รายงานว่ากระบวนการผลิตน้ำตาลไซลิทอลที่มีประสิทธิภาพนั้นในขั้นตอนแรกต้องเพาะเลี้ยงเซลล์ให้เติบโตสูงสุด โดยการให้ออกซิเจนอย่างเพียงพอและลดการให้ออกซิเจนในช่วงการผลิตน้ำตาลไซลิทอล เนื่องจากการผลิตน้ำตาลไซลิทอลจะเกิดได้ดีในสภาวะที่มีออกซิเจนจำกัด ถ้ามีการให้ออกซิเจนสูงตลอดระยะเวลาการเพาะเลี้ยงจะทำให้น้ำตาลไซลิทอลถูกเปลี่ยนไปเป็นน้ำตาลไซลูโลส ดังนั้นการให้ออกซิเจนสูงจึงเหมาะสำหรับช่วงการเจริญเติบโตเท่านั้น

Sirisansaneeyakul; et al. (1992) อธิบายถึงการใช้น้ำตาลไซลูโลสของเซลล์ผ่านวิถีเพนโทสฟอสเฟต ซึ่งน้ำตาลไซลูโลสจะเข้าสู่ภายในเซลล์และถูกเปลี่ยนเป็นน้ำตาลไซลิทอลด้วยการทำงานของเอนไซม์ไซโลสรีดักเตสที่มี NADPH เป็นโคเอนไซม์ จากนั้นน้ำตาลไซลิทอลจะถูกเปลี่ยนเป็นน้ำตาลไซลูโลสด้วยการทำงานของเอนไซม์ไซลิทอลดีไฮโดรจีเนสที่อาศัย NAD^+ เป็นโคเอนไซม์ จากนั้นน้ำตาลไซลูโลสที่ได้จะถูกเติมฟอสเฟตก่อนเข้าสู่วิถีเพนโทสฟอสเฟต เพื่อที่จะนำไปสร้างเป็นมวลชีวภาพของเซลล์หรือพลังงานต่อไปดังแสดงในรูปที่ 2.4



รูปที่ 2.4 เมตาบอลิซึมของน้ำตาลไซลูโลสในยีสต์

ที่มา : (Sirisansaneeyakul; et al. 1992)

2.10.2 กระบวนการเมตาบอลิซึมในการผลิตไซลิทอลโดยแบคทีเรีย

แบคทีเรียส่วนใหญ่สามารถสร้างเอนไซม์ไซโลสไอโซเมอเรส ได้ ดังนั้นจึงสามารถเปลี่ยนไซโลสให้เป็นไซลูโลสได้ จากนั้นไซลูโลสก็จะถูกเติมฟอสเฟตกลายเป็นไซลูโลส-5-ฟอสเฟตและเข้าสู่วิถีเพนโทส หรืออีกทางหนึ่งไซลูโลส-5-ฟอสเฟตที่ได้จะถูกเอนไซม์ไซลูโลส-5-ฟอสเฟต

เอกสาร์เนเป ฟอสโฟทีโดเลส เปลี่ยนเป็นขั้นนี้เป็นการสร้างตัวกลางในวิถีแอ้มเค้นเมเยอร์ฮอฟนำไปโดยไม่มีการดำเนินการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สร้างนิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ฟอสเฟตในรูปรีดิวซ์ (NADPH) เหมือนกับเมตาบอลิซึมในยีสต์

การผลิตไซลิทอลโดยวิธีการหมักนี้ ได้มีการศึกษาและวิจัยเพื่อพัฒนากระบวนการผลิตในระดับอุตสาหกรรม เพื่อให้สามารถแข่งขันกับกระบวนการผลิตโดยวิธีการทางเคมี ซึ่งมีต้นทุนสูงและมีสารปนเปื้อนอยู่มาก ซึ่งจะต้องผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์หลายขั้นตอน นอกจากนี้ยังเป็นการเน้นการใช้ประโยชน์จากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรกรรมที่ไม่มีมูลค่า หรือใช้ประโยชน์ได้ไม่เต็มที่นำมาผลิตเป็นไซลิทอล และผลิตภัณฑ์อื่นๆ ที่มีมูลค่าซึ่งมีการใช้กันมากในอุตสาหกรรมอาหาร

2.10.3 กระบวนการเมตาบอลิซึมในการผลิตไซลิทอลโดยเชื้อรา

เชื้อราสามารถใช้น้ำตาลไซโลสได้โดยผ่านวิถีออกซิโด-รีดักชัน(oxido-reduction pathway) ให้กลายเป็นน้ำตาลไซลูลอส (Ojamo, 1994) ในช่วงแรก (Chiang and Knight 1960) พบปริมาณน้ำตาลไซลิทอลเล็กน้อย เมื่อทำการเพาะเลี้ยงราที่มีเส้นใยในอาหารที่มีน้ำตาลไซโลสเป็นองค์ประกอบ (Ueng and Gong 1982) ก็รายงานผลที่คล้ายคลึงกันเมื่อทำการหมักไฮโดรไลเสทที่ได้จากขานอ้อยด้วย *Mucor* sp.

2.11 ปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณผลผลิตไซลิทอลโดยกระบวนการหมักด้วยจุลินทรีย์

การผลิตน้ำตาลไซลิทอลจากจุลินทรีย์เป็นกระบวนการที่มีปัจจัยหลายอย่างซึ่งมีอิทธิพลต่อการผลิต เช่น สายพันธุ์ของจุลินทรีย์ที่ใช้ ชนิดของอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง ลักษณะของการเพาะเลี้ยง เป็นต้น ปัจจัยต่างๆ เหล่านี้ล้วนเป็นสิ่งสำคัญที่ทำให้การผลิตน้ำตาลไซลิทอลมีประสิทธิภาพ ซึ่งเราสามารถแยกปัจจัยต่าง ๆ นี้ออกเป็นสองอย่าง อย่างแรกเป็นปัจจัยที่ขึ้นอยู่กับจุลินทรีย์ที่ใช้หรือสายพันธุ์ของจุลินทรีย์นั่นเอง ส่วนปัจจัยที่สองที่มีผลต่อกระบวนการผลิตน้ำตาลไซลิทอลมีดังนี้คือ อายุของหัวเชื้อ ปริมาณเชื้อเริ่มต้น ความเป็นกรด่าง อุณหภูมิ องค์ประกอบของอาหารที่ใช้ ความเข้มข้นของสารตั้งต้น ปริมาณออกซิเจนที่ละลายอยู่ น้ำตาลชนิดอื่นในฐานะสารตั้งต้นร่วม

2.11.1 สายพันธุ์จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิต

จุลินทรีย์ที่นิยมใช้ในการผลิตน้ำตาลไซลิทอล คือ ยีสต์ ซึ่งมียีสต์หลายสายพันธุ์ที่สามารถผลิตไซลิทอลได้โดยมีการศึกษาถึงการผลิตน้ำตาลไซลิทอลในยีสต์สายพันธุ์ต่างๆ เพื่อหา

ยีสต์ที่ผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ดีที่สุด จากการศึกษาพบว่า ยีสต์ที่ผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ดีก็คือยีสต์
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในกลุ่ม *Candida* sp. ตัวอย่างเช่น การคัดเลือกยีสต์ 10 สายพันธุ์เพื่อหาชนิดที่ผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ดีที่สุดโดย (Gong; et al. 1981) พบว่า *C. tropicalis* นั้นเป็นยีสต์ที่ให้ผลผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ดีที่สุด และไม่ผลิตเอทานอลเป็นผลพลิตร่วม นอกจากนี้ (Gong; et al. 1983) ยังได้ศึกษาความสามารถในการใช้น้ำตาลเพนโทสและการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของยีสต์ต่าง 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) ได้เปรียบเทียบกับสายพันธุ์ต่าง ๆ 11 สายพันธุ์ พบว่า *C. mogii* สามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์อื่น ซึ่งเป็นเหตุผลที่ยีสต์ในกลุ่ม *Candida* sp. ถูกนำมาใช้ในการศึกษาการผลิตน้ำตาลไซลิทอล เช่น (Chen and Gong 1985) ได้ปริมาณน้ำตาลไซลิทอลถึง 250 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้น้ำตาลไซโลส 249 กรัมต่อลิตร โดยใช้ยีสต์ *Candida* sp. ที่กลายพันธุ์ (Meyriel; et al. 1991) ได้ปริมาณน้ำตาลไซลิทอลสูงถึง 221 กรัมต่อลิตร จากน้ำตาลไซโลส 300 กรัมต่อลิตร

นอกจากยีสต์ในกลุ่ม *Candida* sp. แล้วยังมียีสต์อีกหลายชนิดที่ผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ (Amaral-Collaco; et al. 1990) ได้แยกเอายีสต์จากวัสดุพวกกลีโคโนเชลลูโลส มาทำการศึกษาหาชนิดที่สามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้และพบว่า *D. hansenii* ให้ผลผลิตสูงและมีอัตราการผลิตสูงด้วยและผลการศึกษาของ (Vandeska; et al. 1997) พบว่า *Debaryomyces hansenii* และ *C. baidinii* เป็นยีสต์ที่ผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ดีเช่นเดียวกัน ซึ่ง (Domiguez; et al. 1997) พบว่าได้ปริมาณน้ำตาลไซลิทอลถึง 106 กรัมต่อลิตร จาก *D. hansenii* นอกจากนี้ยังมียีสต์ที่ให้ผลผลิตน้ำตาลไซลิทอลร่วมกับเอทานอลอีกด้วย ซึ่งพบใน *C. parasilopsis* ในสภาวะที่มีอากาศเล็กน้อย *C. shehatae* และ *P. tannophilus* เป็นยีสต์ที่ให้ผลผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้สูงสุดและมี การผลิตเอทานอลร่วมด้วย ซึ่งการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ

2.11.2 อายุของหัวเชื้อที่ใช้ในการผลิตน้ำตาลไซลิทอล

อายุของหัวเชื้อมีผลต่อกิจกรรมของเซลล์ และปริมาณเซลล์ที่มีชีวิตมีผลต่ออัตราการผลิตและปริมาณผลผลิตด้วย (Sreenath; et al. 1986 ; Du Preez, 1994 ; Sreenath, 1986) พบว่าเมื่อใช้ *C. shehatae* อายุ 24 ชั่วโมงเป็นหัวเชื้อจะผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ 20 กรัมต่อลิตรเมื่อเวลาผ่านไป 22 ชั่วโมง (อัตราการผลิต 0.24 กรัมน้ำตาลไซลิทอลต่อกรัมน้ำตาลไซโลส) ขณะที่หัวเชื้ออายุ 72 ชั่วโมงผลิตได้เพียง 9 กรัมต่อลิตรและใช้เวลานานถึง 65 ชั่วโมง (อัตราการผลิต 0.13 กรัมน้ำตาลไซลิทอลต่อกรัมน้ำตาลไซโลส) ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับการทดลองใน *C.*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

guilliermondii ที่พบว่าอายุของหัวเชื้อมีผลต่อทั้งผลผลิตและการเจริญเติบโตของเชื้อเมื่อใช้หัวเชื้ออายุน้อยกว่า 15 ชั่วโมงและอายุมากกว่า 24 ชั่วโมง (Pfeifer; et al. 1996) นอกจากนี้ (Felipe; et al. 1997) ก็ได้ศึกษาเชื้อชนิดเดียวกัน พบว่าเมื่อใช้หัวเชื้อที่อายุ 48 ชั่วโมง จะมีอัตราการผลิตต่ำกว่าเมื่อใช้หัวเชื้ออายุ 24 ชั่วโมง อยู่ถึง 36 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นอายุหัวเชื้อที่เหมาะสมมักจะอยู่ในช่วงต้น เพราะพบว่าจะทำให้ผลผลิตน้ำตาลไซลิทอลที่สูงกว่าและมีอัตราการผลิตสูงกว่าหัวเชื้อที่มีอายุมาก แต่อายุที่เหมาะสมของเชื้อแต่ละชนิดจะแตกต่างกัน

2.11.3 ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นที่ใช้ในการผลิตน้ำตาลไซลิทอล

Cao; et al. (n.d.) ได้ศึกษาการหมักน้ำตาลไซโลสด้วย *Candida* sp. ที่กลายพันธุ์ พบว่ามีการผลิตน้ำตาลไซลิทอลเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณหัวเชื้อเพิ่มขึ้น 3.8 เป็น 14 กรัมต่อลิตร เช่นเดียวกับ (Dominguez; et al. 1997) ทำการศึกษาเชื้อ *D. hansenii* จาก 0.3 ถึง 3 กรัมต่อลิตร พบว่าเพิ่มสูงขึ้น (พิจารณาจากอัตราการผลิต 0.68 ถึง 2.25 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง (Vandeska; et al. 1995) พบว่าเมื่อปริมาณชีวมวลเพิ่มมากขึ้น อัตราการผลิตและผลผลิตจะมีแนวโน้มที่สูงขึ้น แต่แนวโน้มของอัตราการผลิตจำเพาะ เมื่ออัตราส่วนระหว่างปริมาณเซลล์เริ่มต้นต่อปริมาณสับสเตรทเริ่มต้น (X_0/S_0) เข้าใกล้ 1/10 นั้นจะเป็นไปในทางตรงกันข้าม ดังนั้นปริมาณหัวเชื้อจึงมีผลต่อการผลิตน้ำตาลไซลิทอลด้วย โดยพบว่าถ้ามีความเข้มข้นของหัวเชื้อมาก จำนวนเซลล์ย่อยเพิ่มมากขึ้น ทำให้มีอัตราการผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้สูงและรวดเร็วขึ้น

นอกจากการศึกษาคัดเลือกชนิดของจุลินทรีย์แล้ว ยังมีการศึกษาถึงปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อการผลิตน้ำตาลไซลิทอล เช่น อัตราการให้อากาศ ความเข้มข้นของน้ำตาลไซโลส และพีเอช เป็นต้น โดย (Gong; et al. 1981) รายงานว่าน้ำตาลไซโลสเปลี่ยนเป็นน้ำตาลไซลิทอลได้สูงสุดที่พีเอช 7.0 และที่พีเอชลดลงอยู่ในช่วงที่เป็นกรดจะทำให้การผลิตน้ำตาลไซลิทอลลดลงจากการศึกษาของ (Vandeska; et al. 1995) พบว่าอัตราการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของ *C. baidinii* สูงสุดเมื่อหมักในสถานะที่มีพีเอช 7.0 แต่ผลได้สูงสุดอยู่ที่พีเอช 8.0 นอกจากนี้แล้ว (Silva and Afschar 1994) ได้รายงานว่ *C. tropicalis* สามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ที่พีเอช 2.5 และการเพิ่มค่าพีเอชจาก 2.5 เป็น 4.0 ทำให้อัตราการผลิตน้ำตาลไซลิทอลสูงขึ้นแต่ผลได้ของน้ำตาลไซลิทอลกลับลดลง ดังนั้นอัตราการให้อากาศจึงมีความสำคัญต่อการเจริญและการใช้น้ำตาล สำหรับการผลิตน้ำตาลไซลิทอลนั้น การให้อากาศมากเกินไปทำให้เซลล์มีการเจริญอย่างรวดเร็วและมีปฏิกิริยาของเอนไซม์ไซลิทอลดีไฮโดรจีเนสสูง ดังนั้นน้ำตาลไซลิทอลที่ผลิตขึ้นจึงถูกออกซิไดส์ไปเป็นน้ำตาลไซลูโลสพร้อมกับการสังเคราะห์ NADH ทำให้ปริมาณน้ำตาลไซลิทอลที่เกิดขึ้น

ลดลง (Furlan; et al. 1991) การลดอัตราการให้อากาศจะทำให้อัตราการใช้น้ำตาลไซโลสและการ
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เจริญลดลงแต่ผลได้ของน้ำตาลไซลิทอลสูงขึ้น (Silva and Afschar 1994 ; Sirisansaneeyakul; et al. 1995 ; Vandeska; et al. 1995)

2.11.4 ปริมาณออกซิเจนที่ละลายได้

ปริมาณออกซิเจน เป็นปัจจัยที่สำคัญมากปัจจัยหนึ่งในการเปลี่ยนน้ำตาลไซโลสเป็นน้ำตาลไซลิทอลโดยกระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพ ความเข้มข้นของปริมาณออกซิเจนที่ละลายอยู่มีความสัมพันธ์ค่อนข้างมากกับความเข้มข้นของสารตั้งต้น จึงมักมีการศึกษาควบคู่กันไปเพื่อให้สามารถอธิบายถึงอิทธิพลที่แท้จริงของปัจจัยทั้งสอง การให้อากาศที่เหมาะสมขึ้นกับความเข้มข้นของสารตั้งต้นและลักษณะของการหมัก ซึ่งการให้อากาศจะกระตุ้นการขนส่งน้ำตาลเข้าสู่เซลล์ในยีสต์บางชนิด เช่น *Candida Hansenula*, *Kluyveromyces* และ *Pichia* ซึ่งต้องการออกซิเจนเพื่อใช้ในการดูดซึมน้ำตาล การให้อากาศกับอาหารเลี้ยงเชื้อในช่วงการหมักจะทำให้การเปลี่ยนน้ำตาลไซโลสไปเป็นน้ำตาลไซลิทอลมากขึ้น เพราะน้ำตาลไซลิทอลเป็นผลผลิตที่จะเกิดควบคู่กับการเจริญของจุลินทรีย์ ซึ่งมีอิทธิพลต่อการเผาผลาญของออกซิเจน (Nigam and Singh 1995)

Furlan; et al. (1991) ; Kim; et al. (1997) ทำการศึกษาปัจจัยของอากาศใน *C. parasilopsis* ซึ่งพบว่าการให้อากาศมากเกินไป จะส่งผลให้เซลล์มีการเจริญอย่างรวดเร็ว น้ำตาลไซลิทอลที่ผลิตขึ้นจะเปลี่ยนเป็น NADH และน้ำตาลไซโลสและปริมาณน้ำตาลไซลิทอลลดลง

Furlan; et al. (1994) ได้ทำการทดลองพบว่าเชื้อ *C. tropicalis* สามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ 30 กรัมต่อลิตร ในเวลา 117 ชั่วโมง เชื้อ *P. tannophilus* และ *C. shehatae* สามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ 12.5 กรัมต่อลิตร และ 6.0 กรัมต่อลิตร ผลที่ได้นี้เป็นผลมาจากสภาวะที่มีการให้อากาศน้อยและสามารถสรุปได้ว่าอัตราการถ่ายเทออกซิเจนเป็นหลักสำคัญ ในการผลิตน้ำตาลไซลิทอล

Horitsu; et al. (1992) รายงานถึงผลกระทบที่มีต่อน้ำตาลไซลิทอลโดยในขั้นแรกควรพิจารณาถึงความเร็วในการเพิ่มปริมาณเซลล์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ อย่างไรก็ตาม การผลิตน้ำตาลไซลิทอลภายใต้สภาวะที่ไม่มีอากาศและเพิ่มปริมาณออกซิเจนที่ละลายในอาหาร ในช่วงระหว่างการหมัก จะนำไปสู่การผลิตน้ำตาลไซโลสโดยเกิดปฏิกิริยาไฮโดรจีเนชันของน้ำตาลไซลิทอลที่เกิดขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อด้วย การเพิ่มระดับการละลายของออกซิเจนที่มีความต้องการเฉพาะขั้นตอนเริ่มต้นในการหมักเท่านั้น แต่หลังจากนั้นควรลดระดับการให้อากาศลง โดยในเชื้อ

C. tropicalis สามารถเพิ่มการสะสมน้ำตาลไซลิทอลภายใต้ปริมาณออกซิเจนที่จำกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Horitsu; et al. (1992) ; Nolleau; et al. (1993) ; Roseio; et al. (1991) พบว่าสภาวะการให้อากาศจะมีผลต่ออัตราการผลิตที่ดีที่สุด ขึ้นกับความเข้มข้นของสารตั้งต้นด้วย ถ้าความเข้มข้นสูงอัตรา การให้อากาศควรจะสูงด้วย นอกจากนี้อัตราการให้อากาศยังขึ้นอยู่กับเซลล์ด้วยว่าเซลล์อยู่ในรูปเซลล์อิสระหรือเซลล์ตรึง เนื่องจากอัตราการส่งผ่านออกซิเจนที่ทำให้เกิดสภาวะที่มีอากาศเล็กน้อย (microaerophilic condition) แก่เซลล์อิสระนั้นอาจทำให้เกิดสภาวะที่ไม่มีอากาศ (anaerobic condition) ในเซลล์ตรึง เนื่องจากข้อจำกัดในการแพร่ที่เกิดจากการถ่ายเทมวล

Meyrial; et al. (1991) ทำการศึกษาความสามารถในการผลิตของเชื้อ *C. guilliermondii* ซึ่งใช้น้ำตาลไซโลสและ non-hemicellulose ซึ่งทำการย่อยให้ได้น้ำตาล ในสภาวะที่มีอากาศน้อยได้ผลผลิตน้ำตาลไซลิทอล 0.63 กรัมต่อกรัม ได้เอทานอลปริมาณเล็กน้อยจากน้ำตาลไซโลสส่วนน้ำตาลที่ไม่ใช่น้ำตาลไซโลสถูกเปลี่ยนเป็นเอทานอลและเซลล์จุลินทรีย์ การผลิตน้ำตาลไซลิทอลโดย *D. hansenii* ต้องการสภาวะ semi-aerobic โดยเริ่มจากสภาวะที่มีอากาศเพื่อเพิ่มการสะสม reduced-adenine-dinucleotide-coenzyme ให้มีความสมบูรณ์พร้อมจะให้เกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ไคส์ซึ่งจะนำไปสู่การเปลี่ยนน้ำตาลไซโลสเป็นน้ำตาลไซลิทอล

Peschk; et al. (1992) ได้ศึกษาการผลิตน้ำตาลไซลิทอลโดย *C. guilliermondii* เมื่อทำการให้อากาศในปริมาณเท่าเดิม (อากาศอิ่มตัว 5 เปอร์เซ็นต์) พบว่าเซลล์อิสระให้น้ำตาลไซลิทอล 27.3 กรัมต่อลิตร (อัตราการผลิตน้ำตาลไซลิทอล 0.70 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และผลได้ของน้ำตาลไซลิทอลเท่ากับ 0.64 กรัมต่อกรัมน้ำตาลไซโลส) แต่เซลล์ตรึงที่ตรึงด้วยแคลเซียมแอลจิเนต (Ca-alginate) นั้นให้น้ำตาลไซลิทอลเพียง 18.4 กรัมต่อลิตร (อัตราการผลิตน้ำตาลไซลิทอล 0.43 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมงและผลได้ของน้ำตาลไซลิทอลเท่ากับ 0.78 กรัมต่อกรัมน้ำตาลไซโลส) ซึ่งเห็นได้ว่าการให้อากาศที่ต่ำขณะทำการเพาะเลี้ยงด้วยวิธีการตรึงเซลล์ จะทำให้การผลิตน้ำตาลไซลิทอลลดลงอย่างมาก ทั้งนี้เนื่องมาจากปริมาณออกซิเจนสามารถแทรกเข้าไปภายในของเจลได้เมื่อทำการหมักที่อัตราการถ่ายเทออกซิเจนสูงเท่านั้น ดังนั้นเมื่อเซลล์อยู่ในรูปเซลล์ตรึงการให้อากาศเมื่อเทียบกับเซลล์อิสระต้องสูงกว่าเพื่อให้เกิดการแพร่ของอากาศเข้าไปในเม็ดเจลได้

ปริมาณอากาศจะมีผลต่อปริมาณของเซลล์ซึ่งจะมีผลต่อเนื่องไปยังผลผลิตที่ได้ ถ้าให้อากาศต่ำเกินไปเซลล์จะเจริญไม่ดีและตายได้ แต่ถ้าให้อากาศสูงตลอดเวลาปริมาณออกซิเจนที่สูงจะเปลี่ยนน้ำตาลไซลิทอลเป็นน้ำตาลไซลูโลสแทน จึงอาจใช้วิธีการให้อากาศสูงในช่วงแรกเพื่อให้เกิดจำนวนเซลล์มากก่อนแล้วลดการให้อากาศลงเพื่อให้เกิดการผลิตน้ำตาลไซลิทอล

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่ส่งมอบไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Sirisansaneeyakul; et al. (1992) ได้รายงานว่า สภาวะที่ขาดออกซิเจนการสังเคราะห์เอนไซม์ NADH ด้วยกระบวนการหายใจนั้นไม่เพียงพอที่จะทำให้เกิดการทำงานของเอนไซม์ไลทิทอลดีไฮโดรจีเนสที่จะเปลี่ยนน้ำตาลไซลิทอลต่อ ไปเป็นน้ำตาลไซลูโลสในวิถีเพนโทสฟอสเฟต จึงเกิดการสะสมน้ำตาลไซลิทอลมากขึ้นและส่งผ่านออกนอกเซลล์เป็นผลทำให้ได้ปริมาณน้ำตาลไซลิทอลเพิ่มมากขึ้น

2.11.5 แหล่งไนโตรเจนที่ใช้ในการผลิตน้ำตาลไซลิทอล

ถ้าไม่รวมน้ำตาลชนิดต่าง ๆ ที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอน องค์ประกอบที่มีผลต่อการผลิตน้ำตาลไซลิทอลอย่างมากคือ ไนโตรเจน โดยลักษณะและความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนมีผลต่อการผลิตน้ำตาลไซลิทอลขึ้นอยู่กับชนิดของยีสต์ โดยทั่วไปแหล่งไนโตรเจนที่ใช้ให้ผลผลิตไซลิทอลที่ดีคือแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอินทรีย์เพราะให้ผลผลิตน้ำตาลไซลิทอลสูงกว่าและดีกว่า เช่น การผลิตน้ำตาลไซลิทอลจาก *C. boidinii* เมื่อใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจนแทนแอมโมเนียมซัลเฟต พบว่าให้ผลผลิตสูงขึ้นกว่าเดิม (Vandeska; et al. 1995) และพบว่าเชื้อชนิดนี้เมื่อใช้ยีสต์สกัดจะให้ผลผลิตสูงสุดเมื่อเทียบกับแหล่งไนโตรเจนอื่น (Vongsuvanlert and Tani 1989) และการศึกษาใน *C. shehatae* พบว่าถ้าใช้แหล่งไนโตรเจนเป็นสารอินทรีย์จะทำให้เชื้อใช้ไซโลสได้ดีขึ้น (Palnitkar and Lachke 1990) นอกจากนี้ (Sirisansaneeyakul; et al. 1995) ซึ่งได้ทำการศึกษาใน *C. mogii* พบว่าอาหารที่เติมยีสต์สกัดและเปปโตนลงไปจะช่วยให้การเจริญและการผลิตน้ำตาลไซลิทอลดีขึ้น แต่บางครั้งแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอินทรีย์ก็ให้ผลเป็นลบเมื่อเทียบกับการใช้แหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอนินทรีย์ เช่น *C. guilliermondii* จะมีอัตราการผลิตลดลงเมื่อใช้แหล่งไนโตรเจนเป็นสารอินทรีย์ เช่น ยูเรีย เมื่อเทียบกับการใช้แหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอนินทรีย์ เช่น แอมโมเนียมซัลเฟตหรือแอมโมเนียคลอไรด์ แต่ปริมาณผลผลิตที่ได้ไม่แตกต่างกันมากนัก

Barbosa; et al. (1988) กล่าวถึงความสำคัญของแหล่งไนโตรเจนและการให้อากาศว่ามีผลต่อการผลิตน้ำตาลไซลิทอลจากน้ำตาลไซโลสโดยยีสต์บางสายพันธุ์ใน *S. cerevisiae* วิถีเพนโทสฟอสเฟตควบคุมโดยไนโตรเจนและเกลือแอมโมเนียมซึ่งพบว่าสามารถกระตุ้นการออกซิเดทีฟในวิถีเพนโทสฟอสเฟต เพราะเอนไซม์ D-glucose-6-phosphate dehydrogenase จะถูกยับยั้งโดย NADH ใน *P. tannophilus* เกลือแอมโมเนียมจะลดระดับ NADH ของเอนไซม์ D-glucose-6-phosphate dehydrogenase ภายในเซลล์และเพิ่มกิจกรรมการออกซิเดทีฟในวิถีเพนโทสฟอสเฟต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(Dahiya, 1991) พบว่า *C. shehatae* สามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ในปริมาณมากขึ้นอยู่กับแหล่งไนโตรเจนเพราะเป็นการเพิ่มระดับของเอนไซม์ไซลิทอลดีไฮโดรจีเนสได้ ซึ่งผลกระทบในการผลิตน้ำตาลไซลิทอลจากแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอินทรีย์ 8 ชนิด และสารอินทรีย์ 4 ชนิด พบว่าปริมาณน้ำตาลไซลิทอลสูงสุดที่ได้คือ 16.7 กรัมต่อลิตร และ 30.6 กรัมต่อลิตร โดยแอมโมเนียมอะซิเตท และยีสต์สกัดตามลำดับ

(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

ดังนั้นแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมที่สุด ควรจะเป็นสารอินทรีย์แต่บางครั้งเมื่อใช้แหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอินทรีย์ จะให้ผลผลิตดีกว่าซึ่งต้องเลือกใช้แหล่งไนโตรเจนโดยขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อว่าเหมาะสมกับการใช้แหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอินทรีย์หรืออนินทรีย์

2.11.6 ความเข้มข้นของน้ำตาลไซโลส

ความเข้มข้นของสับเตรทสูงในช่วงเริ่มต้นของการผลิตน้ำตาลไซลิทอลจะเหมาะสมกับจุลินทรีย์ที่เป็น 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) ได้เพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลไซโลสในอาหารเลี้ยงเชื้อ *C. tropicalis* เป็น 100-500 กรัมต่อลิตร และมีอัตราการให้อากาศสูง 400 มิลลิลิตรต่อนาที โดยให้อากาศที่มีออกซิเจน 90 เปอร์เซ็นต์ พบว่าอัตราการผลิตน้ำตาลไซลิทอลเพิ่มขึ้นเป็น 2.44 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง จากเดิม 1.78 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ความเข้มข้นของน้ำตาลไซโลสกับการให้อากาศมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของเซลล์ซึ่งทำให้การผลิตน้ำตาลไซลิทอลสูงตามไปด้วย

ตารางที่ 2.7 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)

(Meyrial; et al. 1991) ศึกษาความจำเพาะต่อสับสเตรทของ *C. guilliermondii* ที่ความเข้มข้นของน้ำตาลไซโลสเริ่มต้นจาก 10-300 กรัมต่อลิตร การเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลไซโลสในอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาณสูงสุดที่ได้เมื่อใช้น้ำตาลไซโลส 300 กรัมต่อลิตร ได้ผลผลิต 0.75 กรัมต่อลิตรน้ำตาลไซโลส ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 82.6 ของปริมาณทั้งหมดทางทฤษฎี ความเข้มข้นของน้ำตาลไซลิทอลต่ำเนื่องจากถูกใช้ไปในการเพิ่มจำนวนเซลล์เป็นหลัก อัตราการผลิตน้ำตาลไซลิทอลเมื่อน้ำตาลไซโลสเป็น 2.4 เท่าจะสูงกว่าปริมาณที่ได้จากน้ำตาลไซโลส 10 กรัมต่อลิตร ในทางตรงกันข้ามกับการผลิตน้ำตาลไซลิทอล การเจริญของจุลินทรีย์ที่ละเอียดจะถูกยับยั้งโดยความเข้มข้นของน้ำตาลไซโลส อัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด 0.11 ต่อชั่วโมง ได้จากความเข้มข้นของน้ำตาลไซโลส 20 และ 50 กรัมต่อลิตร

2.11.7 การเติมน้ำตาลชนิดอื่นลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อใช้เป็นสารตั้งต้นร่วม

นรินทร์ (2541) พบว่าการเติมน้ำตาลกลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อ *C. mogii* ATCC 18364 และการเกิดน้ำตาลไซลิทอลในสภาวะที่จำกัดออกซิเจนโดยการเติมน้ำตาลกลูโคสลงไปปริมาณน้อยมากเพื่อไม่ให้เกิดการยับยั้งการใช้น้ำตาลไซโลส ในกรณีนี้ น้ำตาลกลูโคสจะช่วยเพิ่มปริมาณ NADPH ในเมตาบอลิซึมของยีสต์และเพิ่มการใช้น้ำตาลของเชื้อ จึงทำให้น้ำตาลไซโลสเปลี่ยนไปเป็นน้ำตาลไซลิทอลได้มากขึ้น ส่งผลให้น้ำตาลไซลิทอลสูงขึ้นด้วย โดยปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เหมาะสมที่ให้ผลผลิตน้ำตาลไซลิทอลสูง คือ 2.3 กรัมต่อการทดลอง (ทำการทดลองในถังปฏิกรณ์ชีวภาพขนาด 2 ลิตรและปริมาณอาหารที่ใช้หมัก คือ 1.5 ลิตร) ทำให้ได้น้ำตาลไซลิทอล 0.854 กรัมต่อกรัมน้ำตาลไซโลส อัตราการผลิตเท่ากับ 0.255 กรัมต่อลิตรต่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่วโมง ค่าผลได้เพิ่มขึ้น 1.24 เท่า และอัตราการผลิตเพิ่มขึ้น 1.36 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับ การเลี้ยง เชื้อชนิดเดียวกันซึ่งไม่มีการเติมน้ำตาลกลูโคส

(Haiao; et al. 1982) รายงานว่าการเติมน้ำตาลกลูโคสจะมีผลยับยั้งการใช้น้ำตาลไซโลสใน *Candida sp.* และ *Shizosaccharomyces sp.* น้ำตาลกลูโคสจะยับยั้งการใช้น้ำตาลไซโลสใน ระยะเวลาอันรวดเร็วและเมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสดำลง ความสามารถในการเปลี่ยน น้ำตาลไซโลสไปเป็นน้ำตาลไซลิทอลจะเพิ่มขึ้น โดยแสดงออกในลักษณะ catabolic repression ซึ่ง ไม่ใช่การควบคุมที่กลไกการสังเคราะห์ของยีน หลักฐานที่สนับสนุนความคิดนี้ ก่อนข้างจะเป็นการ อธิบายถึงการใช้น้ำตาลไซโลสเป็นส่วนใหญ่ว่าไม่แอกทีฟหรือเกิดการยับยั้งในขณะที่มีน้ำตาล กลูโคส

(Meyrial; et al. 1991) ได้ศึกษาความสามารถในการหมักของเชื้อ *C. guilliermondii* ใน น้ำตาลต่างๆโดยไม่ใช้น้ำตาลไซโลส ได้แก่ น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลแมนโนส น้ำตาลกาแลกโตสและ น้ำตาลอะราบินอส ที่พบในการย่อยสลายเซลลูโลส จะสามารถทำการหมักได้อย่างรวดเร็ว โดย ใช้ประโยชน์สำหรับการเจริญและผลิตเอทานอลเท่านั้น

(Sreenath and Jeffries 1996) รายงานว่า เมื่อนำน้ำตาลกลูโคส เชื้อ *C. shehatae* จะใช้น้ำตาล ไซโลสได้เร็วขึ้นแต่ให้ผลผลิตลดลงแม้ว่าอัตราการผลิตจะเพิ่มขึ้นก็ตาม

(Yahashi; et al. 1996) พบว่า เมื่อเติมน้ำตาลกลูโคสลงไปเป็นสารตั้งต้นร่วมนั้น มีผลดี เนื่องจากน้ำตาลไซโลสจะเปลี่ยนเป็นน้ำตาลไซลิทอลได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น เนื่องจาก เซลล์จะมีการเจริญได้ดีกว่าการใช้น้ำตาลไซโลสเพียงอย่างเดียว จึงสามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ สูงขึ้น และน้ำตาลกลูโคสยังช่วยเพิ่ม NADPH เมื่อเกิดเมตาบอลิซึมของน้ำตาลกลูโคสในวิถีเพน โทสฟอสเฟตอีกด้วย ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ (Nolleau; et al. 1993 ; Pfeifer; et al. 1996) แต่บางครั้งการเติมน้ำตาลกลูโคสอาจทำให้เกิดการยับยั้งเอนไซม์ไซโลสรีดักเทส (xylose reductase) ทำให้ได้ผลผลิตไม่ดีเท่าที่ควร (Felipe; et al. 1997 ; Vandeska; et al. 1995)

2.11.8 ความเข้มข้นของน้ำตาลไซลิทอล

(Kastner; et al. 1996) พบว่า มีการยับยั้งการผลิตน้ำตาลไซลิทอลใน *C. shehatae* โดยได้ น้ำตาลไซลิทอลเพียง 50 กรัมต่อลิตรเท่านั้น ทั้งนี้จะมาจากความเข้มข้นของน้ำตาลไซลิทอล ภายในน้ำหมักสูงขึ้น การขนถ่ายน้ำตาลไซลิทอลออกนอกเซลล์จะเริ่มลดลงและเกิดการสะสมของ น้ำตาลไซลิทอลภายในเซลล์และยับยั้งการผลิตได้ นอกจากนี้ (Sirisansaneeyakul; et al. 1995) ก็ได้ พบการยับยั้งแบบนี้เช่นเดียวกันเมื่อทำการผลิตน้ำตาลไซลิทอลโดย *C. mogii* โดยเมื่อความเข้มข้น ของน้ำตาลไซลิทอลในน้ำหมักสูงขึ้นถึง 100 กรัมต่อลิตร อัตราการผลิตจำเพาะและผลผลิตที่ได้จะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลดลง ยกเว้นในยีสต์บางชนิด เช่น *D. hansenii* ที่สามารถใช้น้ำตาลไซลิทอลได้ในบางสภาวะ เช่น เมื่อสารตั้งต้นถูกใช้จนหมด (Nolleau; et al. 1993) นอกจากนี้ เชื้อ *P. tannophilus* ที่อยู่ในน้ำหมักที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลไซลิทอลสูงมากและอยู่ในสภาวะที่มีอากาศ จะสามารถนำน้ำตาลไซลิทอลไปใช้ได้และได้ผลผลิตออกมาเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และผลผลิตอื่นที่ไม่สามารถระบุได้ (Xu and Taylor 1993) นอกจากนี้ ยังพบความสัมพันธ์ในการใช้น้ำตาลไซลิทอลและการผลิตไรโบฟลาวิน (riboflavin) ใน *C. guilliermondii* อีกด้วย (Leather and Gupta 1997)

2.11.9 การเติมเมทานอล

(Furlan; et al. 1994) รายงานว่า การเติมเมทานอลสามารถเพิ่มการผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ถึง 39.8 กรัมต่อลิตร ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 8.5 เมื่อใช้อาหารที่มีน้ำตาลไซโลสและมีการเติมด้วยเมทานอลความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) ซึ่งทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของเมทานอลแล้วส่งผลให้ได้ผลผลิตเป็น NADPH ทำให้มีปริมาณมากพอที่จะเกิดปฏิกิริยารีดักชันของน้ำตาลไซโลส และน้ำตาลไซโลสทำให้เกิดเป็นน้ำตาลไซลิทอล การผลิตน้ำตาลซอร์บิทอลและน้ำตาลไรบิทอลโดยยีสต์ที่สามารถใช้เมทานอลได้ เช่น *C. boidinii* และการเติมเมทานอลในอาหารเลี้ยงเชื้อสามารถเพิ่มการผลิตน้ำตาลไซลิทอลให้มากขึ้นได้

2.11.10 ปริมาณไบโอติน (biotin)

(Lee; et al. 1987) รายงานว่า ปริมาณเอทานอลและน้ำตาลไซลิทอลที่สะสมในน้ำหมักในการเลี้ยงแบบครั้งคราวของเชื้อ *P. tannophilus* และ *C. guilliermondii* จะขึ้นอยู่กับปริมาณของไบโอติน โดยอาหารที่มีไบโอตินสูง เชื้อ *P. tannophilus* จะสะสมเอทานอลมากกว่าน้ำตาลไซลิทอล ในขณะที่ *C. guilliermondii* จะสะสมน้ำตาลไซลิทอลได้มากกว่าเอทานอล

2.11.11 พีเอช

ค่าพีเอชที่เหมาะสมในการผลิตน้ำตาลไซลิทอล จะทำให้ยีสต์สามารถเจริญได้ดีและผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้สูงขึ้น ค่าพีเอชที่เหมาะสมของของยีสต์แต่ละชนิดก็จะแตกต่างกันไป ซึ่งมีตัวอย่างแสดงดังตารางที่ 2.8

ตารางที่ 2.8 ค่าพีเอชที่เหมาะสมของเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดที่สามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้

จุลินทรีย์	พีเอชที่เหมาะสม	เอกสารอ้างอิง
<i>D. hansenii</i>		Dominguez et. al. (1997)

เอกสารนี้เป็นเอกสารสำหรับการใช้งานเพื่อ 5.5 รัชศึกษาเท่านั้น ไม่สามารถนำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<i>Candida</i> sp.	4.0-6.0	Cao et. al. (1996)
<i>C. boidinii</i>	7.0	Vandeska et. al. (1995)
		Vonsuvanlert and Tani (1989)
<i>C. parasilopsis</i>	4.5-5.0	Nolleau et. al. (1995)
<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) ทำการศึกษาผลของพีเอชต่อการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของเชื้อ *C. mogii* ATCC 18364 พบว่าพีเอชที่เหมาะสมสำหรับการเจริญและการผลิตน้ำตาลไซลิทอลจะแตกต่างกัน โดยทำการเลี้ยงสองระยะ ระยะแรกเป็นการเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณเซลล์ โดยทำการเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะที่มีการให้อากาศเพียงพอ พีเอชที่เหมาะสมในระบายนี้นี้ คือ 4.5 ซึ่งจะให้มีอัตราการเจริญจำเพาะเท่ากับ 0.046 ต่อชั่วโมง ส่วนระยะที่สองจะเป็นระยะที่มีการจำกัดปริมาณอากาศ พบว่า พีเอชที่เหมาะสมในระบายนี้นี้ คือ 6.0 และทำให้ได้ผลผลิตน้ำตาลไซลิทอลเป็น 0.71 กรัมต่อกรัมน้ำตาลไซโลส คิดเป็นร้อยละ 77.96 ของผลได้ตามทฤษฎี

(Gong; et al. 1981) รายงานว่า น้ำตาลไซโลสจะเปลี่ยนไปเป็นน้ำตาลไซลิทอลได้มากที่สุดที่พีเอช 8.0 และเกิดปฏิกิริยารีดักชันของน้ำตาลไซลิทอลเมื่อค่าพีเอชเปลี่ยนจากค่าไปเป็นกรด ปริมาณน้ำตาลไซลิทอลสูงสุดจะเกิดขึ้นในช่วงแรกที่มีพีเอช 6.0-7.0 สำหรับ *P. tannophilus* ที่พีเอช 6.0 สำหรับ *C. guilliermondii* และที่พีเอช 4.0 สำหรับ *C. tropicalis*

2.11.12 อุณหภูมิ

ยีสต์สามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ในช่วงอุณหภูมิตั้งแต่ 24-45 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่เหมาะสมในการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของเชื้อยีสต์แต่ละชนิดจะแตกต่างกันออกไป แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดจะอยู่ในช่วง 28-30 องศาเซลเซียส และเมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้น ผลผลิตที่ได้จะลดลง แต่มียีสต์บางสายพันธุ์ที่มีช่วงอุณหภูมิแตกต่างออกไปจากนี้ และพบว่า *P. tannophilus* สามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้สูงที่สุดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยขึ้นกับชนิดของน้ำตาลที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอน และพบว่าเมื่อใช้น้ำตาลไซโลสเป็นแหล่งคาร์บอน อุณหภูมิที่เหมาะสมก็จะเปลี่ยนไปเป็น 31 องศาเซลเซียส และมีรายงานว่ เมื่อเพิ่มอุณหภูมิขึ้นเป็น 30-37 องศาเซลเซียส เชื้อ *P. tannophilus* จะผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ลดลง (Barbosa; et al. 1988) ส่วน *C. guilliermondii* สามารถเจริญได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส แต่ผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ความเข้มข้นสูงสุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่ส่งมอบไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และให้ผลผลิตสูงสุดในช่วงอุณหภูมิ 30-35 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ (Cao; et al. 1994 ; Dominguez; et al. 1997) พบว่า การผลิตน้ำตาลไซลิทอลจะคงที่เมื่ออุณหภูมิเป็น 35-40 องศาเซลเซียส สำหรับ *Candida* sp. และ 28-37 องศาเซลเซียส สำหรับ *D. hansenii*

การเพาะเลี้ยงแบบครั้งคราวโดยการเติมน้ำตาลไซโลส น้ำตาลกลูโคสหรือส่วนผสมของน้ำตาลไซโลสและน้ำตาลกลูโคส จะทำให้ผลได้และอัตราการผลิตน้ำตาลไซลิทอลสูงกว่าการเพาะเลี้ยงแบบเปิดเสรี (Vandeska; et al. 1995 ; Yahashi; et al. 1996) และเมื่อนำระบบนี้ไปใช้กับยีสต์ที่ได้รับการตัดแต่งพันธุกรรม (recombinant yeast) *S. cerevisiae* ที่ได้รับการถ่ายยีน XYL1 ซึ่งเป็นยีนสำหรับการผลิตเอนไซม์ไซโลสรีดักเทส ทำการเพาะเลี้ยงแบบครั้งคราวโดยใช้เอทานอลเป็นสารตั้งต้นร่วม น้ำตาลไซโลสจะถูกเปลี่ยนไปเป็นน้ำตาลไซลิทอลได้สูงถึงร้อยละ 93 ด้วยอัตราการผลิตเฉลี่ย 1 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และเมื่อใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นสารตั้งต้นร่วม สามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ 0.19 กรัมต่อกรัมเซลล์ต่อชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำตาลชนิดต่างๆ และเอทานอลที่ใช้เป็นสารตั้งต้นร่วมในการผลิตน้ำตาลไซลิทอล พบว่า น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลแมนโนส และน้ำตาลฟรุคโทสสามารถยับยั้งการเปลี่ยนน้ำตาลไซโลสไปเป็นน้ำตาลไซลิทอลได้สูงกว่าน้ำตาลกาแลกโตสและเอทานอล ส่วนน้ำตาลมอลโทสไม่มีผลในการยับยั้ง นอกจากนี้ยังพบว่าภายใต้สภาวะที่มีความเข้มข้นของสารตั้งต้นรวมจำกัด จะทำให้ได้ผลได้ของน้ำตาลไซลิทอลสูงกว่าภายใต้สภาวะที่มีความเข้มข้นของสารตั้งต้นมากเกินไป

2.12 องค์ประกอบของวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรประเภทลิกโนเซลลูโลส

องค์ประกอบของเหลือทิ้งที่ได้จากอุตสาหกรรมแปรรูปไม้และวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรจะประกอบด้วยส่วนประกอบหลัก 3 ส่วนได้แก่เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนินในอัตราส่วนเฉลี่ย 4 ต่อ 3 ต่อ 3 (Branus and Branus 1960) โดยทั้งสามส่วนจะมีปริมาณแตกต่างกันตามแต่นชนิดของเนื้อเยื่อ อายุ สภาวะในการเจริญและสภาพทางสรีระวิทยาของพืช เฮมิเซลลูโลสมีมากเป็นอันดับ 2 มีลักษณะเป็นสายยาว (polymer) ในเมล็ด (Taiz and Honigman, 1976) และเป็นส่วนประกอบของโครงสร้างในผนังเซลล์ของไม้ (Eriksson, 1990) โครงสร้างที่เป็นโพลิเมอร์

2.12.1 เซลลูโลส

เป็นโพลิเมอร์ของโมเลกุลน้ำตาลกลูโคสชนิดเดียว (homopolysaccharide) ประมาณ 3,000-10,000 โมเลกุล ที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ β -1,4 ทำให้เซลลูโลสมีลักษณะเป็นสายยาว น้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันขึ้นอยู่กับแหล่งที่มา (วิเชียร, 2532) เซลลูโลสไม่ละลายในสารละลายค่างและกรดที่อุณหภูมิห้อง (Jackson, 1977 ; Marsden and Gray 1986) แต่ละลายใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารละลายกรดที่มีความเข้มข้นสูง (8 เปอร์เซ็นต์) และที่อุณหภูมิสูงช่วง 120-130 องศาเซลเซียส (Tsao; et al. 1982)

2.12.2 เฮมิเซลลูโลส

เป็นโพลิเมอร์ของน้ำตาลมากกว่าหนึ่งชนิด (heteropolysaccharide) ที่จับกันด้วยพันธะ β -1,4 glycosidic โมเลกุลของเฮมิเซลลูโลสสั้นและมีกิ่งก้านสาขามากทำให้มีโครงสร้างจับตัวกันอย่างไม่เป็นระเบียบ องค์ประกอบหลักของเฮมิเซลลูโลสคือ ไซแลน (Kirk, 1983)

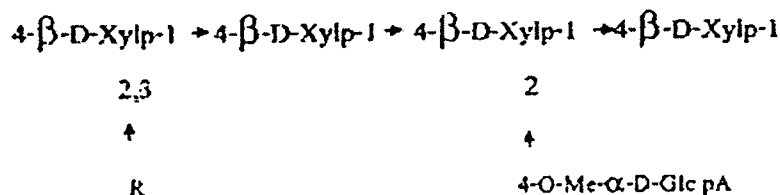
(Schulze, 1981) เป็นผู้ริเริ่มใช้คำว่าเฮมิเซลลูโลสสำหรับส่วนที่แยกหรือสกัดได้จากพืชด้วยต่างเจือจาง โดยที่การจำแนกชนิดของเฮมิเซลลูโลสขึ้นกับชนิดของน้ำตาลส่วนใหญ่ที่ปรากฏ น้ำตาลส่วนใหญ่ที่ได้จากเฮมิเซลลูโลส ได้แก่ ดีไซโลส (D-xylose) ดีแมนโนส (D-mannose) ดีกาแลคโตส (D-galactose) และแอลอะราบินโนส (L-arabinose) เนื่องจากเฮมิเซลลูโลสประกอบด้วยไซแลน (xylan) แมนแนน (mannan) กาแลคแตน (galactan) และอาราบินแนน (arabinan) เป็นหลัก ไซแลนประกอบด้วยดีไซโลสเป็นโมโนเมอร์ (monomer) หลักและสายของแอลอาราบินโนส กาแลคแตนประกอบด้วยดีกาแลคโตสและแมนแนนก็ประกอบขึ้นด้วยแมนโนส ในขณะเดียวกันอาราบินแนนก็เกิดขึ้นจากแอลอาราบินโนส

2.12.2.1 เฮมิเซลลูโลสในเนื้อไม้แข็ง

glucoronoxylan หรือ O-acetyl-4-O-methylglucorono- β -D-xylan ในเนื้อไม้แข็งมีอยู่ประมาณ 15-30 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักแห้งของไม้ glucoronoxylan มีโครงสร้างหลักเป็น β -D-xylopyranose ที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ β -1,4-glycosidic ไซโลสส่วนใหญ่ประกอบด้วยหมู่อะซิติก (acetyl group) ที่ตำแหน่ง C2 หรือ C3 ของน้ำตาลไซโลส ในสายของไซแลนมี acetyl group 7 หน่วย ต่อ 10 หน่วยของน้ำตาลไซโลส และมี 4-O-methylglucuronic acid ที่เชื่อมต่อกับน้ำตาลไซโลสด้วยพันธะ 1,2-glycosidic โดยมี uronic acid 1 หน่วย ต่อ 10 หน่วยของน้ำตาลไซโลส (รูปที่ 2.1) พันธะที่เชื่อมต่อยกหว่างน้ำตาลไซโลสสามารถย่อยสลายได้ด้วยกรด ส่วนพันธะที่เชื่อมระหว่างน้ำตาลไซโลสกับหมู่อะซิติก สามารถย่อยสลายได้ด้วยด่าง

glucomannan ในเนื้อไม้แข็งมีอยู่ประมาณ 2-5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่ง glucomannan มีโครงสร้างเป็น β -D-glucopyranose และ β -D-mannopyranose เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ β -1,4-glycosidic (รูปที่ 2.2) อัตราส่วนกลูโคสต่อแมนโนส ในสายของ glucomannan เท่ากับ 1 ต่อ 2 หรือ 1 ต่อ 1 ขึ้นกับชนิดของไม้ glucomannan ถูกย่อยสลายได้ง่ายด้วยกรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.5 โครงสร้างของ glucoronoxylan [น้ำตาล β -D-xylopyranose(Xylp), 4-O-mety- α -D-glucopyranosyl uronic acid (4-O-Me- α -D-Glc pA), R คือ acetyl group (CH_3CO)]

ที่มา : (Sjostrom, 1981)

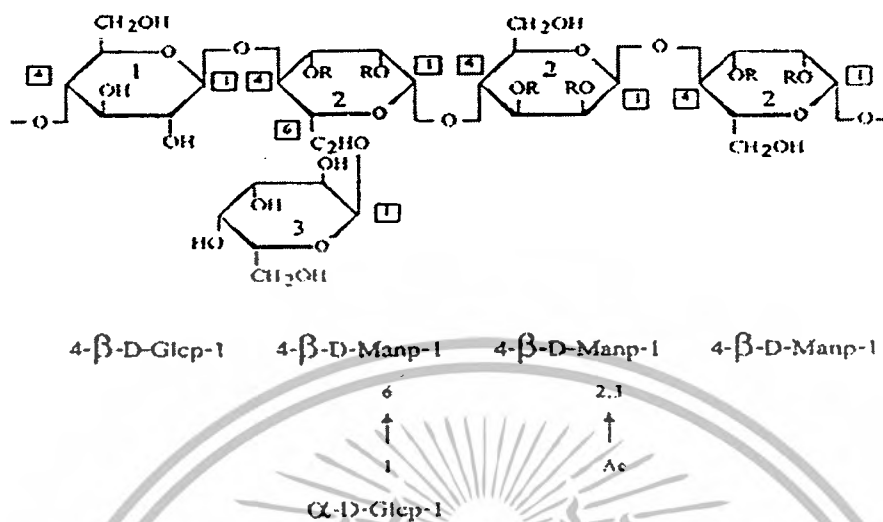


รูปที่ 2.6 โครงสร้างของ glucomannan [น้ำตาล β -D-glucopyranose(Glcp), β -D-mannopyranose (Manp)]

ที่มา : (Sjostrom, 1981)

2.12.2.2 เฮมิเซลลูโลสในไม้เนื้ออ่อน

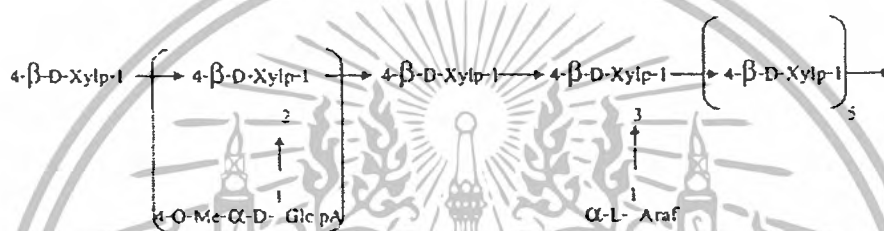
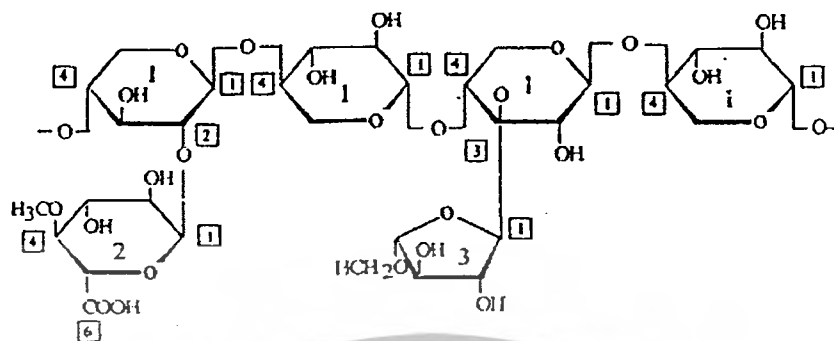
ในไม้เนื้ออ่อนจะพบเฮมิเซลลูโลสชนิด galactoglucomannans เป็นจำนวนมาก (ประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์) มีโซ่หลักเป็น β -1,4-glycosidic และมีโซ่กิ่งที่ตำแหน่ง C6 ของน้ำตาลกลูโคสหรือน้ำตาลแมนโนส โดย β -D-glucopyranose จับกับโครงสร้างหลักด้วยพันธะ 1,6-glycosidic (รูปที่ 2.3) galactoglucomannans สามารถแยกได้เป็น 2 ส่วนขึ้นอยู่กับปริมาณของน้ำตาลกาแลคโตสที่แตกต่างกัน ส่วนที่มีน้ำตาลกาแลคโตสในปริมาณน้อยจะมีอัตราส่วนของน้ำตาลกาแลคโตสต่อน้ำตาลกลูโคสต่อน้ำตาลแมนโนสเท่ากับ 0.1 ต่อ 1 ต่อ 4 และในส่วนที่มีปริมาณน้ำตาลกาแลคโตสสูงจะมีอัตราส่วนเท่ากับ 1 ต่อ 3 ในส่วน C2 หรือ C3 ในน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลแมนโนสมีหมู่อะซิติกจับอยู่โดยเฉลี่ย 1 หมู่ ต่อ 3-4 หน่วยของน้ำตาลเฮกโซสของ galactoglucomannans



รูปที่ 2.7 โครงสร้างของ galactoglucomannans [น้ำตาลตำแหน่งที่1, $\beta\text{-D-glucopyranose(Glcp)}$; ตำแหน่งที่2, $\beta\text{-D-mannopyranose (Manp)}$;ตำแหน่งที่3, $\alpha\text{-D-galactopyranose(Galp)}$ R คือ acetyl group (CH_3CO)หรือ H]

ที่มา : (Sjostrom, 1981)

Arabinoglucuronoxylan เป็นเฮมิเซลลูโลสที่พบในไม้เนื้ออ่อนประมาณ 5ถึง10 เปอร์เซ็นต์ มีโครงสร้างหลักเป็น $\beta\text{-D-xylopyranose}$ ที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ $\beta\text{-1,4-glycosidic}$ มีสายโซ่เป็น 4-O-mety- $\alpha\text{-D-glucuronic acid}$ เชื่อมที่ตำแหน่ง C2 ของน้ำตาลไซโลส และมี L-arabinofuranose เชื่อมที่ตำแหน่ง C3 ของน้ำตาลไซโลส ในสายโซ่เหล่านี้โดยเฉลี่ยมี 4-O-mety- $\alpha\text{-D-glucuronic acid}$ ประมาณ 2 หน่วยต่อ 10 หน่วยของน้ำตาลและมี L-arabinofuranose เฉลี่ย 1.3 หน่วยต่อ 10 หน่วยของน้ำตาลไซโลส ดังรูปที่ 2.8



รูปที่ 2.8 โครงสร้างของ Arabinoglucuronoxylan [น้ำตาลตำแหน่งที่1, β -D-xylopyranose(Xylp); ตำแหน่งที่2, 4-O-mety- α -D-glucuronic acid (Glc pA); ตำแหน่งที่3, α -L-arabinofuranose(Araf)

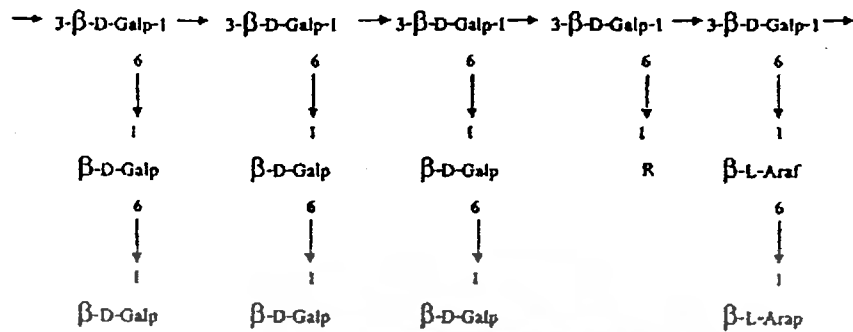
ที่มา : (Sjostrom, 1981)

Arabinogalactan เป็นเฮมิเซลลูโลสที่สามารถละลายน้ำได้ มีโครงสร้างหลักเป็น D-galactopyranose ที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ β -1,3-glycosidic และมีสายโซ่เป็น L-arabinose เชื่อมต่อกับสายของ D-galactopyranose ด้วยพันธะ β -1,6-glycosidic ที่ตำแหน่ง C6 ดังรูปที่ 2.5

2.12.2.3 เฮมิเซลลูโลสในพืชล้มลุกและพืชตระกูลหญ้า

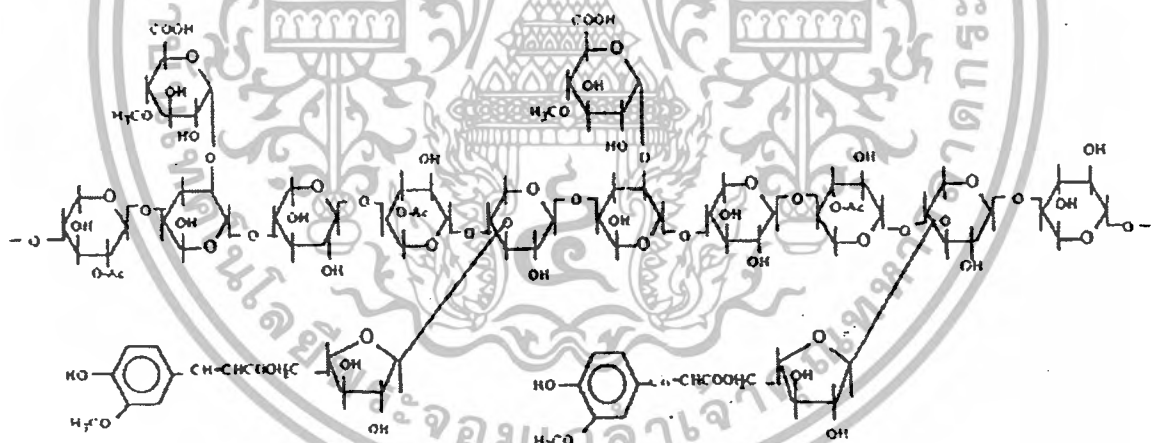
O-acetyl-arabino-4-O-methylglucuronoxylan เป็นโพลิเมอร์ที่พบเป็นส่วนใหญ่ในเฮมิเซลลูโลสของพืชล้มลุกและของพืชตระกูลหญ้า ความแตกต่างระหว่าง O-acetyl-arabino-4-O-methylglucuronoxylan กับ O-acetyl-4-O-methylglucuronoxylan ในไม้เนื้อแข็งคือ ในพืชตระกูลหญ้ามียุพันธ์ 1,2-glycosidic ที่เชื่อม 4-O-mety- α -D-glucogluconic acid น้อยกว่าในไม้เนื้อแข็ง แต่จะมีปริมาณของ L-arabinofuranosyl side chain ที่เชื่อมบริเวณ C2 หรือ C3 หรือ ทั้งสองตำแหน่งมากกว่าในไม้เนื้อแข็ง และมีหมู่อะซิติลเชื่อมที่ตำแหน่ง C2 หรือ C3 ในน้ำตาลไซโลสของโครงสร้างหลัก ดังรูปที่ 2.9

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.9 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)



รูปที่ 2.10 โครงสร้างของ O-acetyl-4-O-methylglucuronoxylan ในพืชล้มลุกและพืชตระกูลหญ้า

ที่มา: (Coughlan and Hazlewood 1993)

2.12.3 ลิกนิน

เป็นโพลิเมอร์ที่สังเคราะห์ขึ้นได้จากหน่วย phenylpropanoid ซึ่งได้แก่ p-coumaryl

alcohol, coniferyl alcohol และ sinapyl alcohol (Sjostrom, 1981) หน่วยย่อยเหล่านี้จะจับตัวกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นโครงสร้าง 3 มิติ โดยสร้างพันธะ ether จับกันเป็นโมเลกุลใหญ่ทำให้โมเลกุลของลิกนินมีความแข็งแรงทนทานต่อการย่อยสลาย (Evans, 1987) โดยทั่วไปจะพบลิกนินในชั้น middle lamella (Norkrans, 1967; Cowling and Krik 1976) จึงทำให้เซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสถูกห่อหุ้มเอาไว้เป็นเหตุให้การย่อยสลายสารประกอบคาร์โบไฮเดรตเป็นไปได้ช้าและปริมาณต่ำ

ลิกนินละลายได้ดีในสารละลายด่างที่ร้อนที่มีความเข้มข้นสูง (5 เปอร์เซนต์) ที่อุณหภูมิสูง 120-130 องศาเซลเซียส (Avgerinos and Wang 1983) และสารละลายบางชนิดเช่น benzene-ethanol, ethylene glycol สามารถสกัดลิกนินได้ (Fiechter, 1986) ซึ่งองค์ประกอบของวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรบางชนิดแสดงในตารางที่ 2.9

สายโฮโมโพลิเมอร์ (homopolymer) ของไซแลนจะประกอบด้วยหน่วยของไซโลสเพียงอย่างเดียว (พบได้ยาก) โดยปกติไซแลนจะประกอบด้วยน้ำตาลที่แตกต่างกัน 2-4 ชนิด เมื่อเปรียบเทียบกับเฮมิเซลลูโลสแล้วจะมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่า (ประมาณ 20,000 ดาลตัน) (Aspinall, 1959) รายงานว่าไซแลนมีส่วนของดีไซโลส 85-93% มีแอลอราบินอ์อยู่จำนวนน้อยและส่วนที่เหลือเป็นสายของกรดกลูคูโรนิก (glucuronic acid) ในต้นหญ้า Esparto (ต้นหญ้าที่ใช้สำหรับทำกระดาษ โดยเฉพาะพวก *Stipa tenacissima*) ไซแลนจะต่อกันเป็นสาย D-xylopyranose ด้วยพันธะ β -1,4 โดยไซแลนจากพืชและต้นหญ้าชนิดต่างๆ จะมีโครงสร้างหลักต่อกันด้วยพันธะ β -1,4 แต่จะแตกต่างกันในส่วนของโซ่กิ่ง (side chain) ที่จะเป็น D-glucuronic acid, L-arabinose และ 4-O-methylester ของ D-glucuronic acid

ตารางที่ 2.9 องค์ประกอบของวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรบางชนิด

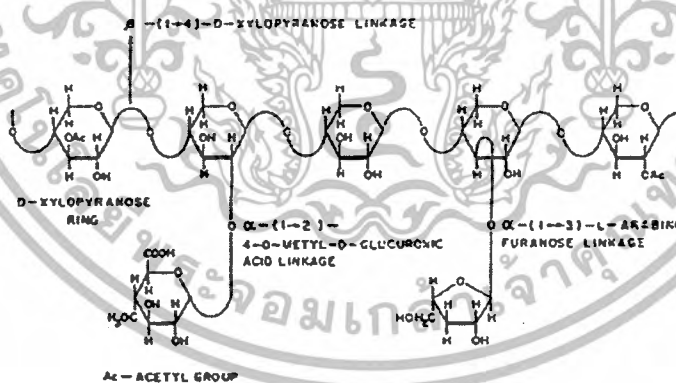
ชนิดของวัสดุเหลือทิ้ง	องค์ประกอบ(เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง)		
	เซลลูโลส	เฮมิเซลลูโลส	ลิกนิน
ฟางข้าวสาลี	50	30	15
ฟางข้าว	35	25	17
ฟางข้าวฟ่าง	31	30	11
ฟางข้าวบาร์เลย์	44	27	7
ฟางข้าวโอ๊ต	49	25	14-22
ซังข้าวโพด	45	35	15
ตอข้าวโพด	35	25	35
กาบข้าวโพด	32	28	13
รำข้าวสาลี	36	28	20

รำข้าว	34	24	28
ชานอ้อย	33	22	14
ใบอ้อย	36	26	10
เปลือกหุ้มเมล็ดฝ้าย	59	15	13
ต้นสน	41	10	27
เกล็ด	36	15	19
ขี้เลื่อย	55	14	21

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

2.13 แกนหลักของไซแลน (The backbone of xylan)

สายหลักของไซแลนประกอบด้วย β -xylopyranose เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ β -1,4 (รูปที่ 2.11) โดยจะเกิดพันธะ β -1,4 ระหว่างไซโลส 2 ตัวต่อกันในไซแลนซึ่งรายงานโดย (Whistler, 1950 ; Aspanill, 1959 ; Chanda; et al. 1950) และได้มีการพิสูจน์ว่ามีพันธะ β -1,4 glycosidic โดย (Jayme and Satree 1942 ; Whistler, 1950)



รูปที่ 2.11 โครงสร้างของไซแลน

ที่มา : (Beily, 1985)

2.14 ธรรมชาติของไซกิ้งในไซแลน

ไซแลนของไม้เนื้ออ่อนจะมีไซกิ้งที่เป็นกรดมากกว่าไซแลนของไม้เนื้อแข็ง โดยปกติจะปรากฏว่ามีหมู่อะซิติล (acetyl) 1 หมู่ ที่ไซโลสหน่วยที่ 2 ในไซแลนของเนื้อไม้เนื้อแข็ง แต่ปฏิกิริยา acetylation ส่วนใหญ่จะเกิดขึ้นที่ตำแหน่ง O-3 แทนที่จะเป็น O-2 (Beily, 1985) หมู่อะซิติลของไซ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แลนในหญ้าจะถูกดึงออกในสภาวะที่เป็นค่าง (Wilkie, 1979) ในกรณีไซแลนของไม้เนื้ออ่อนจะมีกรดอยู่ 1 หน่วยต่อดีไซโลส 9-12 หน่วย ในขณะที่ไซแลนของไม้เนื้อแข็งจะมีดีไซโลส 5-6 หน่วย (Dutton and Smith 1956) แสดงให้เห็นถึงส่วนของไซแลนในไม้เนื้ออ่อนซึ่งจะประกอบด้วยพันธะ 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 พันธะ (O'Dwyer, 1939) พบว่ามี methyl hexouronic acid อยู่ 1 หน่วยต่อดีไซโลส 11 หน่วยในสายของไซแลน (Roudier, 1958) สามารถแยกกรดยูโรนิก (uronic acid) ได้จากไซแลนของต้นสน Maritime ซึ่งพบว่าประกอบด้วยหน่วยของ 2-O-(α -D-glucopyranosyluronic acid)-D-xylose และได้รายงานไว้ว่า 95 เปอร์เซ็นต์ ของไซกิงประกอบด้วย 4-O-methyl- α -D-glucuronic acid (Goldschmid and Perlin 1963) พบว่ามีแอลอาราบินโนสหนึ่งหน่วยต่อดีไซโลส 7-11 หน่วย ในขณะที่ (Aspinall and McKay 1959 ; Adams, 1965) แสดงให้เห็นว่าไซแลนของไม้เนื้ออ่อนมีแอลอาราบินโนสในไซกิงหนึ่งหน่วยต่อดีไซโลส 20-40 หน่วย

2.15 การย่อยสลายไซแลนในวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร

ไซแลนมีคุณสมบัติละลายได้ดีในสารละลายค่างโดยเฉพาะระดับความเข้มข้นสูง (4.9-9.8 เปอร์เซ็นต์) และอุณหภูมิสูง (70-100 องศาเซลเซียส) (Tsao; et al. 1982) จากคุณสมบัตินี้จึงนิยมสกัดไซแลนจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรกรรมด้วยสารละลายค่างที่ร้อน ไซแลนที่ละลายอยู่ในสารละลายค่างสามารถแยกออกได้ โดยทำสารละลายให้เป็นกลางหรือการตกตะกอนด้วยเอธานอล นอกจากนั้นไซแลนยังสามารถละลายได้ในสารละลายกรด

(Tsao; et al. 1982) กล่าวว่า การย่อยสลายไซแลนมีสองวิธีคือทางเคมีและทางเอนไซม์ ให้ผลิตภัณฑ์หลักเป็นน้ำตาลไซโลส การย่อยด้วยวิธีทางเคมีสามารถใช้ได้ทั้งกรดและด่างความเข้มข้นระหว่าง 4.0-10.0 เปอร์เซ็นต์ที่อุณหภูมิสูงทำให้สูญเสียพลังงานมาก เนื่องจากการทำปฏิกิริยาที่รุนแรงทำให้เกิดการย่อยสลายทุกองค์ประกอบอย่างไม่จำเพาะ น้ำตาลที่ได้จะถูกทำปฏิกิริยาต่อไปให้ผลิตภัณฑ์ที่ไม่ต้องการเช่นเฟอฟูรอล (furfural) อีกทั้งยังปฏิกิริยาที่ใช้ต้องเป็นถึงที่ทนต่อการผุกร่อนการย่อยสลายไซแลนด้วยวิธีทางเอนไซม์เป็นที่นิยม เพราะมีข้อดีกว่าวิธีทางเคมีคือให้ผลิตภัณฑ์ที่มีความบริสุทธิ์ปฏิกิริยาการย่อยสลายไม่รุนแรงผลิตภัณฑ์ที่ได้จึงไม่ทำปฏิกิริยาต่อไป

(วิเชียร, 2532) ได้ทำการศึกษาปัจจัยและสภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยฟางข้าวที่ผ่านการแยกกลินด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เพื่อผลิตน้ำตาลกลูโคสและไซโลส โดยใช้เอนไซม์ที่ผลิตจาก *Aspergillus fumigatus* Fresenius รหัส

4-45-1F และเอนไซม์ไซลานเนส (xylanase) จาก *Humicola lanuginosa* พบว่าส่วนผสมในปฏิกิริยา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

10 มิลลิลิตรของฟางข้าวที่ผ่านการแยกกลินด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 0.5 กรัม เอนไซม์จาก *A. fumigatus* Fresenius รหัส 4-45-1F ที่ประกอบด้วยเอนไซม์ Fpase, carboxymethylcellulase, β -xylosidase 9.0 19.6 10.8 200 และ 1.5 หน่วย ตามลำดับ และ xylanase จาก *H. lanuginose* ปริมาณ 200 หน่วย สามารถย่อยสลายฟางข้าวให้น้ำตาลกลูโคสและไซโลส 180 และ 96.1 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ หลังจากบ่มปฏิกิริยาเป็นเวลา 24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 5.0

วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรกรรมประเภทลิกโนเซลลูโลส เมื่อได้รับการแยกและย่อยสลายจนได้เป็นน้ำตาลกลูโคสและไซโลสสามารถนำไปเป็นวัตถุดิบเพื่อการผลิตภัณฑ์ต่างๆ โดยผ่านกระบวนการเทคโนโลยีชีวภาพเช่นเดียวกับน้ำตาลกลูโคสดังตัวอย่างเช่น นำไปผลิตเอทานอล น้ำตาลไซลิทอล (Barbosa; et al. 1988) กรดอะซิติก 2,3-บิวเทนไดออกอะซิโตน ไอโซโพรพานอล และบิวทานอล

2.16 วิธีการลดความเป็นพิษที่เกิดจากการย่อยสลายวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร

2.16.1 โอเวอร์ไลมิง (overliming)

สามารถตกตะกอนโลหะหนัก ลดปริมาณกรดอะซิติก สารประกอบฟีนอลิก และเปลี่ยนเฟอฟูรอลไปเป็นกรดเฟอฟูรอล

2.16.2 ซัลฟิเคชัน (sulphication)

สามารถลดปริมาณกรดอะซิติก เฟอฟูรอล และสารประกอบฟีนอลิก

2.16.3 การดูดซับด้วยผงถ่านกัมมันต์ (charcoal absorption)

สามารถตกตะกอนโลหะหนัก ลดปริมาณกรดอะซิติกและสารประกอบฟีนอลิก

2.16.4 การทำให้เป็นกลาง (neutralization)

เป็นการปรับค่าพีเอชของสารละลายที่มีความเป็นกรดสูงให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์

2.16.5 การสกัดด้วยสารละลายอินทรีย์ (extraction with organic solvents)

สารอินทรีย์ที่นิยมใช้ในการสกัดคือ trichloethylene , benzene , ethyl acetate , diethyl ether , hexane

2.17 การลดความเป็นพิษโดยวิธีโอเวอร์ไลมิง

วิธีโอเวอร์ไลมิงเป็นวิธีการลดปริมาณสารพิษที่ถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวาง ที่สามารถทำได้

หลายแนวทาง เช่นการเติมแคลเซียมไฮดรอกไซด์ (หรือไฮดรอกไซด์ตัวอื่น) ลงไปในอาหาร เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตั้งเคราะห์เพื่อเพิ่มค่าพีเอชเป็น 10.0-10.5 เมื่อผสมเข้ากันแล้วจะเกิดตะกอนโดยตะกอนส่วนใหญ่จะเป็นเกลือแคลเซียมที่มีความสามารถในการละลายต่ำ ซึ่งสารที่ใช้ในการลดปริมาณสารพิษจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของไฮโดรไลสและจุลินทรีย์ที่ใช้ในกระบวนการหมัก

การลดปริมาณสารพิษด้วยวิธีโอเวอร์ไลมิงโดยการปรับค่าพีเอชเป็น 10.0-10.5 ด้วย $\text{Ca}(\text{OH})_2$, CaO , KOH หลังจากนั้นนำไปตกตะกอนเกลือที่เกิดขึ้นนำไฮโดรไลสที่ได้มาทำการลดค่าพีเอชด้วยกรดซัลฟูริกเป็น 4.0 จะทำให้เกิดการลดปริมาณสารพิษโดยการตกตะกอนอะซิเตท โลหะหนัก เฟอฟูรัล เทนินิน เทอปีน และสารประกอบฟีนอลิก

2.18 การลดความเป็นพิษโดยใช้ถ่านกัมมันต์

การแยกสารปนเปื้อนในสารละลาย โดยสารจะถูกดูดซับที่ผิวของถ่านกัมมันต์ ซึ่งที่นิยมใช้กันโดยทั่วไปมีอยู่ 2 ชนิดคือ แบบที่เป็นเม็ด (granular charcoal) แบบที่เป็นผง (powders charcoal) โดยมักเรียกรวมกันว่า activated carbon ซึ่งทำมาจากเมล็ดของ almond, walnut, hulls, coconut, wood หรือถ่านทั่วไป โดยนำมาเผาที่อุณหภูมิสูงเพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวของคาร์บอน

2.18.1 การดูดซับโดยผงถ่านกัมมันต์ มีอยู่ 3 ลักษณะ คือ

2.18.1.1 การแลกเปลี่ยนประจุ (exchange absorption) การดูดซับแบบนี้เป็นการดูดซับด้วยไฟฟ้าสถิตที่บริเวณพื้นที่ผิวของถ่านกัมมันต์

2.18.1.2 การดูดซับแบบเคมี (chemical absorption) อาศัยการเกิดปฏิกิริยาทางเคมี ทำให้โมเลกุลของสารที่ถูกดูดซับไม่เกิดการเคลื่อนที่ที่ผิวของถ่านกัมมันต์

2.18.1.3 การดูดซับแบบกายภาพ (physical absorption) การดูดซับแบบนี้เป็นการดูดซับเกิดจากแรง Van der Waals ซึ่งไม่ยึดติดแน่นเหมือนกับสองแบบแรก มักจะเหมาะสมกับสภาวะที่อุณหภูมิต่ำๆ

2.19 ถ่านกัมมันต์ (Charcoal)

ถ่านกัมมันต์คือ วัสดุที่มีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบ ถูกนำมาผ่านกระบวนการถ่านกัมมันต์ ซึ่งทำให้วัสดุคือนั้นมีโครงสร้างรูพรุนและมีพื้นที่ผิวภายในสูง ซึ่งหากดูพื้นที่หน้าตัดของถ่านกัมมันต์จะมีลักษณะคล้ายรังผึ้ง โดยถ่านกัมมันต์จะมีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบหลัก (87-90 เปอร์เซ็นต์) และมีธาตุอื่นเป็นองค์ประกอบ คือ ไฮโดรเจน ออกซิเจน ซัลเฟอร์และไนโตรเจนโดยจะมีปริมาณเล็กน้อยเท่าใดขึ้นกับปริมาณที่มีในวัสดุและเกิดขึ้นอีกในขั้นตอนการผลิต ซึ่งประกอบด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และขั้นตอนการกระตุ้นถ่านชาร์ (ถ่านที่ได้จากการคาร์บอนไนเซชัน)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.19.1 การคาร์บอนไนเซชัน (Carbonization)

กระบวนการคาร์บอนไนเซชัน เป็นกระบวนการเผาที่เกิดขึ้นในที่อับอากาศเพื่อเพิ่มสัดส่วนคาร์บอนในสารอินทรีย์ ขณะเดียวกันก็ได้ผลิตภัณฑ์อื่นที่เป็นของเหลวและก๊าซออกมาด้วย โดยโครงสร้างวงแหวนอะโรมาติกที่เหลือนกลายเป็นโครงสร้างของถ่านชาร์ (Char) ส่วนกลุ่มโครงสร้างโมเลกุล หรือหมู่อนุพลที่มีขนาดเล็กกว่า จะกลั่นสลายตัวออกมาเป็นโครงสร้างต่างๆ ได้แก่ น้ำ แอมโมเนีย น้ำมันทาร์และก๊าซต่างๆ

ขั้นตอนคาร์บอนไนเซชัน จัดว่าเป็นขั้นตอนหนึ่งที่มีความสำคัญมากที่สุดในการผลิตถ่านกัมมันต์ เนื่องจากในการคาร์บอนไนเซชันจะมีการเริ่มสร้างของโครงสร้างรูพรุน โดยในระหว่างการคาร์บอนไนเซชันธาตุและองค์ประกอบต่างๆ ที่ไม่ใช่คาร์บอนรวมถึงสารระเหยต่างๆ เช่น ไฮโดรเจน ออกซิเจน ไนโตรเจนและน้ำ จะถูกกำจัดออกจากโครงสร้างของวัตถุดิบในรูปของก๊าซและน้ำมันทาร์ จากนั้นก็จะได้ถ่านชาร์ที่มีการเรียงตัวของโครงสร้างผลึกที่ไม่เป็นระเบียบซึ่งจะมีช่องว่างรูพรุนระหว่างผลึก โดยจะมีสารอินทรีย์ที่เป็นทาร์ไปอุดช่องว่างเหล่านั้น ซึ่งในส่วนประกอบของถ่านชาร์ที่ได้จะมีอัตราส่วนของคาร์บอนต่อไฮโดรเจนและคาร์บอนต่อออกซิเจนเพิ่มมากขึ้นจากวัตถุดิบในตอนแรกด้วย วัตถุดิบแต่ละชนิดจะมีภาวะที่เหมาะสมแตกต่างกันในการคาร์บอนไนเซชันโดยถ่านกัมมันต์ จากวัตถุดิบที่ต่างกันอาจใช้วิธีการกระตุ้นที่ต่างกัน เพื่อที่จะได้ถ่านกัมมันต์ที่มีคุณภาพดีที่สุด ซึ่งจะเหมาะกับการนำไปใช้ในระบบที่เหมาะสมต่อไป

วัตถุดิบที่นำมาผลิตเป็นถ่านกัมมันต์นั้น จะต้องมีการคาร์บอนเป็นองค์ประกอบ โดยวัตถุดิบนั้นอาจเกิดขึ้นโดยธรรมชาติหรือได้จากการสังเคราะห์ขึ้น วัตถุดิบที่นิยมนำมาผลิตถ่านกัมมันต์ในระดับอุตสาหกรรม คือ พีท ถ่านหิน ลิกไนต์ ไม้ และกะลามะพร้าว เนื่องจากสามารถผลิตถ่านกัมมันต์ที่มีความสามารถในการดูดซับสูงและมีรูพรุนขนาดเล็ก ซึ่งวัตถุดิบที่นำมาผลิตเป็นถ่านกัมมันต์ควรจะมีสมบัติดังต่อไปนี้ มีปริมาณสารระเหยต่ำ มีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบในปริมาณสูง มีราคาถูกและหาได้ง่าย มีสมบัติคงที่

ในปัจจุบันของเหลือทิ้งทางการเกษตร ได้ถูกนำมาผลิตเป็นถ่านกัมมันต์ เป็นจำนวนมาก เนื่องจากหาได้ง่ายและมีราคาถูก อย่างไรก็ตามปัญหาในการผลิตถ่านกัมมันต์จากของเหลือทิ้งทางการเกษตรคือ วัตถุดิบมีสมบัติไม่คงที่แม้ว่าเป็นวัตถุดิบชนิดเดียวกัน ทำให้ยากในการควบคุมการกระจายขนาดของรูพรุนในขั้นตอนการผลิต

2.19.2 การกระตุ้น (การก่อกัมมันต์)

เป็นการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของโครงสร้างคาร์บอนเป็นผลทำให้เกิดการเพิ่มพื้นที่ผิวที่มากขึ้น โดยเป็นการทำให้มีรูพรุนให้มากขึ้นหรือเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการดูดซับสารอื่นๆ ปฏิกริยาที่เกิดขึ้นระหว่างการกระตุ้นยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด เนื่องมาจากวิธีการกระตุ้นนั้น มี

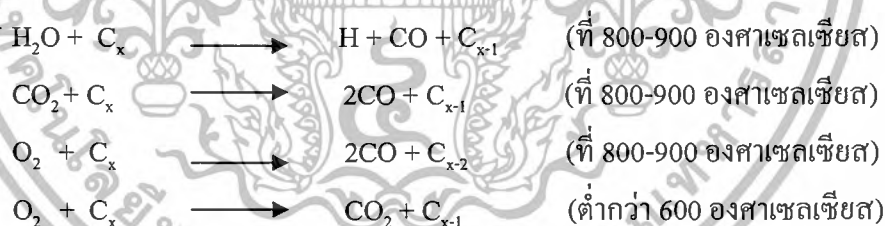
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มากมายหลายวิธี และประสิทธิภาพของการกระตุ้นขึ้นกับลักษณะและชนิดของวัตถุดิบรวมถึงวิธีการอื่นๆก่อนการกระตุ้นด้วย โดยทั่วไปแล้วมี 2 วิธีในการผลิตถ่านกัมมันต์ คือ

2.19.2.1 นำวัตถุดิบที่ผ่านการคาร์บอไนเซชันแล้วมากระตุ้นโดยใช้สารกระตุ้น เช่น ZnCl_2 , CaCl_2 , H_3PO_4 วิธีนี้โดยทั่วไปเรียกว่า “การกระตุ้นทางเคมี” ซึ่งเป็นวิธีการหนึ่งที่ใช้กันมาก ในการผลิตถ่านกัมมันต์ในทางการค้า โดยปกติแล้ววิธีการกระตุ้นแบบนี้มักใช้กับวัตถุดิบที่เป็นไม้ ซึ่งอุณหภูมิที่ใช้ในการกระตุ้นอยู่ในช่วง 500-900 องศาเซลเซียส สารกระตุ้นที่ใช้กันทั่วไปในทางอุตสาหกรรม คือ ซิงค์คลอไรด์ กรดฟอสฟอริก และด่าง การกระตุ้นทางเคมีจะช่วยลดการเกิดทาร์และสารอื่นๆที่เกิดในกระบวนการ ดังนั้นร้อยละของผลผลิตที่ได้จึงค่อนข้างมีปริมาณสูง

2.19.2.2 นำวัตถุดิบที่ผ่านการคาร์บอไนเซชันแล้วมาทำปฏิกิริยากับก๊าซที่ใช้ในการออกซิเดชัน ซึ่งอาจเป็นน้ำ คาร์บอนไดออกไซด์ ออกซิเจน วิธีนี้โดยทั่วไปเรียกว่า การกระตุ้นทางกายภาพ เป็นวิธีการเพิ่มปริมาตรรูพรุนและพื้นที่ผิว โดยปฏิกิริยาก๊าซซิฟิเคชัน (gasification) ด้วยการออกซิไดซ์ในช่วงอุณหภูมิ 700-1000 องศาเซลเซียส ก๊าซที่ใช้โดยทั่วไป คือ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ไอน้ำและอากาศ โดยอาจใช้ชนิดใดชนิดหนึ่งหรือรวมกันก็ได้

ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการคาร์บอไนซ์ยังเป็นตัวดูดซับที่ไม่ดีต้องทำการกระตุ้นให้ได้ถ่านที่มีการดูดซับสูง โดยใช้การกระตุ้นให้ทำปฏิกิริยากับก๊าซที่เป็นตัวออกซิไดส์ดังตัวอย่าง



ปัจจัยที่มีผลต่อลักษณะรูพรุนในขั้นตอนการกระตุ้นโครงสร้างของคาร์บอน หรือ ถ่านชาร์ที่นำมากระตุ้น สารอนินทรีย์ปนเปื้อนที่อยู่ในเนื้อคาร์บอน ชนิดของก๊าซออกซิไดส์ อุณหภูมิขณะเกิดปฏิกิริยา ความดันของก๊าซ เวลาในการเกิดปฏิกิริยาและขนาดของอนุภาคของถ่านชาร์

ในกระบวนการกระตุ้นคาร์บอนทำปฏิกิริยากับสารออกซิไดส์ เป็นออกไซด์ของคาร์บอนแพร่ออกจากผิวของคาร์บอน เกิดก๊าซซิฟิเคชันบางส่วนของเมสிடถ่านเป็นรูพรุนขึ้นในโครงสร้างของถ่าน ถ่านจากการคาร์บอไนเซชันประกอบด้วยรูพรุนเล็กๆ จำนวนมากเกิดจากช่องว่างระหว่างผลึกในการจัดเรียงตัวของคาร์บอนอะตอม รูพรุนนี้มักจะถูกบรรจุไว้ด้วยทาร์ที่เกิดจากการสลายตัวด้วยความร้อน และถูกขวางด้วยคาร์บอนอสัณฐาน การกระตุ้นจึงเป็นทั้งการเปิดรู

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ถูกปิดและการสร้างรูใหม่ขึ้นด้วย โครงสร้างที่เกิดขึ้นเป็นผลึกที่เล็กมาก (microcrystallites) ประกอบด้วยวงแหวนเหลี่ยมด้านเท่าของอะตอมคาร์บอนผสมกัน เส้นผ่านศูนย์กลางของชั้นคาร์บอนที่สร้างผลึกเล็กๆ มีขนาดประมาณ 150 อังสตรอม และระยะห่างระหว่างผลึกเล็กๆนี้มีค่าอยู่ระหว่าง 20-50 อังสตรอม

2.19.3 โครงสร้างของถ่านกัมมันต์

โดยปกติแล้วถ่านกัมมันต์โดยทั่วไปมีปริมาณความพรุนอยู่ระหว่าง 0.5-1.5 ml/g จากลักษณะและขนาดของรูพรุนสามารถแบ่งรูพรุนได้เป็น 3 ขนาด

2.19.3.1 รูพรุนขนาดใหญ่ (macro pores) ขนาดของรูพรุนขนาดใหญ่ที่พบในถ่านกัมมันต์มีค่าอยู่ระหว่าง 5000-20000 อังสตรอม ปริมาตรความพรุนมีค่าอยู่ระหว่าง 0.2-0.8 ml/g ส่วนพื้นที่ผิวจำเพาะของรูพรุนขนาดใหญ่นี้มักจะไม่ค่อยสนใจ สามารถตัดทิ้งได้เนื่องจากมีค่าน้อยกว่า $2 \text{ m}^2/\text{g}$

2.19.3.2 รูพรุนขนาดกลาง (transitional pores) มีรัศมีอยู่ระหว่าง 20-1000 อังสตรอม มีปริมาตรความพรุนอยู่ระหว่าง 0.02-0.1 ml/g และมีพื้นที่ผิวจำเพาะอย่างน้อยที่สุด 95 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ผิวจำเพาะทั้งหมด

2.19.3.3 รูพรุนขนาดเล็ก (micro pores) มีรัศมีน้อยกว่า 20 อังสตรอม ซึ่งมีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 6-8 อังสตรอม ปริมาตรความพรุนมีอยู่ระหว่าง 0.15-0.5 ml/g และมีพื้นที่ผิวจำเพาะอย่างน้อยที่สุด 95 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่ผิวจำเพาะทั้งหมด

2.19.4 ถ่านกัมมันต์ในทางการค้า

ถ่านกัมมันต์ที่ใช้ในทางการค้าแบ่งออกเป็น 2 รูปคือ ถ่านกัมมันต์ชนิดผง และถ่านกัมมันต์ชนิดเม็ด ซึ่งรายละเอียดของถ่านกัมมันต์ทั้งสองชนิดมีดังนี้

2.19.4.1 ถ่านกัมมันต์ชนิดผง (Powdered Activated Carbon)

ถ่านกัมมันต์ชนิดผงที่ใช้โดยทั่วไปผลิตจากพืชที่เสียที่ได้จากไม้ ซึ่งมีขนาดโดยเฉลี่ยของอนุภาคในช่วง 15-25 ไมโครเมตร โดยอาจมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของลักษณะทางเรขาคณิตประมาณ 0.15-0.266 โดยในการออกแบบระบบการดูดซับจะคำนึงถึงการเลือกลักษณะของหอดูดซับ ลักษณะการผสมเม็ดถ่านกัมมันต์ผงกับของเหลว ลักษณะการแยกของถ่านกัมมันต์ผงหลังจากที่ดูดซับแล้ว วิธีในการนำกลับมาใช้ใหม่ในทางอุตสาหกรรม ถ่านกัมมันต์ผงโดยส่วนใหญ่จะนำไปใช้ในการกำจัดสีในกระบวนการผลิตอาหารเช่นใช้ในการผลิตน้ำตาล ผลิตน้ำมัน ผลิตโซเดียมกลูตาเมต และผลิตไวน์ ในภาวะปัจจุบันมีการนำถ่านกัมมันต์ชนิดผงมาใช้กันอย่างมาก โดยเฉพาะในการบำบัดน้ำ ทั้งในการผลิตน้ำดื่มและการบำบัดน้ำเสีย

2.19.4.2 ถ่านกัมมันต์ชนิดเม็ด (Granular Activated Carbon)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ถ่านกัมมันต์เม็ดที่ใช้กันทั่วไปนั้นมีหลายขนาด โดยขึ้นกับการนำไปประยุกต์ใช้งาน ในการดูดซับระบบที่เป็นก๊าซมักใช้ถ่านกัมมันต์รูปทรงกระบอกขนาด 4-6 มิลลิเมตร ซึ่งใช้ในการดูดซับระบบที่เป็นก๊าซนั้นคือ ระบบการนำตัวทำละลายกลับมาใช้ใหม่ การทำอากาศให้บริสุทธิ์ การทำก๊าซให้บริสุทธิ์ การกำจัดกำมะถันออกจากก๊าซและใช้ในการแยกระบบก๊าซอื่น ในระบบที่เป็นของเหลวนั้นมีการใช้ถ่านกัมมันต์เม็ดมากเช่นกัน เนื่องจากจัดการระบบได้ง่ายในเครื่องปฏิกรณ์ที่มีความดันลดต่ำ ทำการล้างเม็ดถ่านได้ง่าย ซึ่งในสภาวะของเหลว นิยมใช้ถ่านกัมมันต์เม็ดในการกำจัดสี การผลิตน้ำตาล กำจัดสารอินทรีย์ กำจัดกลิ่นและสิ่งเจือปน ในระบบการผลิตน้ำดื่ม และใช้กันอย่างมากที่สุดในการบำบัดน้ำเสีย ถ่านกัมมันต์ชนิดเม็ดมีการใช้งานมากกว่าถ่านกัมมันต์ชนิดผงเนื่องจากสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ โดยนำถ่านกัมมันต์ชนิดเม็ดที่ใช้แล้วผ่านกระบวนการทางความร้อนหรือกระบวนการนำกลับมาใช้ใหม่แบบอื่นๆ ซึ่งสามารถทำได้ง่ายกว่าถ่านกัมมันต์ชนิดผง

มีการผลิตถ่านกัมมันต์ทุกแบบทั่วโลกประมาณปีละ 300000-400000 ตัน มีถ่านกัมมันต์ชนิดผงประมาณ 55 เปอร์เซ็นต์ ถ่านกัมมันต์ ชนิดเม็ดประมาณ 35 เปอร์เซ็นต์ โดยที่เหลือจะเป็นถ่านกัมมันต์ในรูปแบบอื่น ซึ่ง 80 เปอร์เซ็นต์ของถ่านกัมมันต์ทั้งหมดใช้กับระบบที่เป็นของเหลวและอีก 20 เปอร์เซ็นต์ใช้ในระบบที่เป็นก๊าซ ซึ่งประเทศที่มีการใช้กันมากที่สุด คือ ญี่ปุ่น และสหรัฐอเมริกา โดยมีอัตราการใช้ถ่านกัมมันต์เพิ่มขึ้นปีละประมาณ 7 เปอร์เซ็นต์ พบว่าใช้มากในระบบใหม่ๆซึ่งเกี่ยวกับระบบการป้องกันมลภาวะจากสิ่งแวดล้อม

2.19.5 ประโยชน์ของถ่านกัมมันต์

2.19.5.1 ประเภทใช้กับของเหลว (liquid phase carbon) อุตสาหกรรมที่นำถ่านกัมมันต์ไปใช้ในสารละลายหรือในของเหลวได้แก่

อุตสาหกรรมน้ำตาล ใช้ถ่านกัมมันต์เพื่อฟอกสีและทำให้น้ำตาลดิบบริสุทธิ์ขึ้น

อุตสาหกรรมน้ำมันและไขมันสำหรับบริโภค นอกจากใช้ในการฟอกสีแล้วยังใช้ในการแยกเอสเตอร์และเปอร์ออกไซด์ออกจากน้ำมันและไขมันด้วย

อุตสาหกรรมอาหาร ใช้ถ่านกัมมันต์เพื่อดูดกลิ่นและฟอกสีของผลิตภัณฑ์อาหาร ซึ่งดีกว่าการใช้สารเคมีชนิดอื่นเพราะไม่เป็นอันตรายและไม่เกิดปฏิกิริยากับผลิตภัณฑ์อาหาร

อุตสาหกรรมเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ เช่น ไวน์ วิสกี้ มักใช้ถ่านกัมมันต์เพื่อดูดกลิ่นที่ไม่ต้องการทำให้เครื่องดื่มที่ได้มีรสชาติดีขึ้น

อุตสาหกรรมเคมีและยา ถ่านกัมมันต์ใช้ในการผลิตสารเคมีและยา เช่น วิตามิน และฮอร์โมนหลายชนิด

อุตสาหกรรมการทำน้ำให้บริสุทธิ์ โดยใช้เป็นตัวดูดกลิ่นและฟอกสี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุตสาหกรรมการแยกสารที่ต้องการ เช่น การแยกทองหลังการสกัดจากแร่ด้วยวิธีไซยาไนด์ การแยกไอโอดีนออกจากน้ำเกลือที่เกิดในหลุมน้ำมัน

กระบวนการที่มีการใช้สารเร่ง (catalytic process) ถ่านกัมมันต์จะทำหน้าที่เป็นตัวพาสารเร่ง (catalyst carrier) ในปฏิกิริยาที่มีการใช้สารเร่งหลายชนิด รวมทั้งทำหน้าที่เป็นตัวกระตุ้นการทำงานของตัวเร่งให้ดีขึ้นด้วย

2.19.5.2 ประเภทที่ใช้ในการดูดก๊าซและไอ (gas phase carbon) ในอุตสาหกรรมต่อไปนี

อุตสาหกรรมทำน้ำกากป้องกันก๊าซพิษ ทั้งที่ใช้กันในการทหารและที่ใช้กันทั่วไป ทั้งนี้เพราะถ่านกัมมันต์ดูดซับก๊าซพิษและไอของสารอินทรีย์ได้ การนำไอระเหยของตัวทำลายที่ใช้แล้วกลับมาใช้ใหม่ ถ่านกัมมันต์จะดูดซับไอระเหยเหล่านั้นที่อุณหภูมิห้องและจะคายออกที่ความดันของไอระเหยต่ำๆ

อุตสาหกรรมปรับอากาศ โดยถ่านกัมมันต์จะดูดซับก๊าซพิษต่างๆ ในอากาศ เช่น คาร์บอนไดออกไซด์ ไนโตรเจน ไนโตรเจน และอะเซทิลีน

อุตสาหกรรมบุหรี่ โดยใช้ถ่านกัมมันต์เป็นก้นกรองบุหรี่

2.20 ลักษณะวิทยาของยีสต์

เซลล์ยีสต์มีขนาดแตกต่างกันออกไปมีเส้นผ่านศูนย์กลางตั้งแต่ 1-5 ไมครอน ยาวตั้งแต่ 5-30 ไมครอนเมตร ส่วนใหญ่เซลล์จะเป็นรูปไข่แต่มีบางชนิดที่ยาวกว่า บางชนิดเป็นรูปทรงกลม แต่หลายพันธุ์มีลักษณะเฉพาะ อย่างไรก็ตามขนาดและรูปร่างอาจแตกต่างกันออกไปขึ้นอยู่กับอายุและสภาพแวดล้อม ยีสต์ไม่มีโครงสร้างที่ใช้ในการเคลื่อนที่ดังนั้นจึงเคลื่อนที่ไม่ได้

2.20.1 โครงสร้างของยีสต์

2.20.1.1 แคปซูล (capsule) เป็นโครงสร้างที่ห่อหุ้มเซลล์โดยยีสต์บางชนิดจะปล่อยสารที่มีลักษณะเป็นเมือกหรือเหนียวออกมาหุ้มเซลล์ แคปซูลมักเป็นสารพวกโพลีแซคคาไรด์รวมทั้งเฮเทอโรโพลีแซคคาไรด์ แมนแนนและสารที่คล้ายเป็ง

2.20.1.2 ผนังเซลล์ (cell wall) ผนังเซลล์จะบางเมื่ออายุเซลล์ยังน้อยแต่จะหนาขึ้นตามอายุความหนาของผนังเซลล์ประมาณ 1 ใน 7 ของเส้นผ่านศูนย์กลางเซลล์ ส่วนประกอบส่วนใหญ่ของผนังเซลล์ได้แก่

กลูแคน (glucan) หรือเซลลูโลสของยีสต์ ต่างกับเซลลูโลสที่เป็น β -1,3 linkage หรือ β -1,6 linkage ซึ่งเซลลูโลสเป็น β -1,4 linkage มี 30-35 เปอร์เซ็นต์

แมนแนน (mannan) เป็นโพลีเมอร์ของน้ำตาลแมนโนสมี 30 เปอร์เซ็นต์ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไขมัน (lipid) มี 8.5-13.5 เปอร์เซ็นต์

โปรตีน (protein) มี 6-8 เปอร์เซ็นต์

ไคติน (chitin) มี 1-2 เปอร์เซ็นต์

ที่เหลือเป็นสารอินทรีย์ เช่น เกลือฟอสเฟต

2.20.1.3 เยื่อหุ้มเซลล์ (cytoplasmic membrane) องค์ประกอบเหมือนเยื่อหุ้มเซลล์ของสิ่งมีชีวิตอื่นคือ เป็นไลโปโปรตีนและมีหน้าที่ควบคุมการผ่านเข้าออกของสาร

2.20.1.4 ไซโตพลาสซึม (cytoplasm) มีลักษณะกึ่งแข็งกึ่งเหลว ประกอบด้วยสารโพลีแซคคาไรด์ ที่สะสมอยู่คือ ไกลโคเจน นอกจากนี้มี RNA และโปรตีนอยู่มาก มีไรโบโซมและอแกเนลอื่น เช่น ไมโทคอนเดรีย และมีระบบเยื่อในไซโตพลาสซึม

2.20.1.5 นิวเคลียส (nucleus) โครงสร้างทั่วไปเหมือนนิวเคลียสของเซลล์พวุกยูคาริโอตทั่วไป จากการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบว่าโครงสร้างบางอย่างขาดหายไป เช่น

ไม่มีการสร้าง spindle เมื่อมีการแตกหน่อ

เยื่อหุ้มนิวเคลียสยังคงอยู่ตลอดเวลาขณะมีการแบ่งเซลล์

ขณะมีการแตกหน่อ นิวเคลียสจะคอดเข้าและส่วนหนึ่งจะไปยังเซลล์ที่เป็นหน่ออีกส่วนหนึ่งอยู่ที่เซลล์เดิม

2.20.1.6 แวกคิวโอล (vacuole) เซลล์ยีสต์อาจมีแวกคิวโอลหนึ่งหรือหลายอันเห็นชัดเจนกว่าโครงสร้างอื่นๆ

2.20.1.7 อินคลูชัน (inclusion) ยีสต์บางชนิดจะมี volutin granule ซึ่งเป็นแกรนูลของโพลีฟอสเฟตบางชนิดมีแกรนูลไขมัน คาร์โบไฮเดรตหรือ โปรตีนบางชนิดสะสมไขมันถึง 50 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักแห้ง นอกจากนี้ก็มีไกลโคเจน เอนไซม์ วิตามิน รงควัตถุซึ่งอาจเป็นสีเหลือง สีส้ม สีชมพูหรือสีน้ำตาล นอกจากนี้ยังอาจพบ ไซโตโครม ซีโมโกลบีนและฟลาวิน

2.20.2 การจำแนกเชื้อ *Candida tropicalis*

Kingdom	Fungi
Phylum	Ascomycota
Subphylum	Saccharomycetina
Order	Saccharomycetales
Family	Saccharomycetaceae
Genus	<i>Candida</i>
Species	<i>tropicalis</i>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

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. หม้อนึ่งอัดความดันไฮโดรคลอ (autoclave) Harvey Model Hydroclave MC10
6. เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง SHIMADZU LIBROR EB-4000H
7. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง Metter-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 เคมีภัณฑ์สำหรับเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

- ยีสต์สกัด (yeast extract)
- มอลต์สกัด (malt extract)
- เปปโตเน (peptone)
- ผงวุ้น (agar)
- น้ำตาลกลูโคส (glucose)
- น้ำตาลไซโลส (xylose)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น. ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 เคมีภัณฑ์สำหรับการย่อยวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร

กรดซัลฟูริก (sulphuric acid)

3.4 เคมีภัณฑ์สำหรับการลดความเป็นพิษของไฮโดรไลสเสท

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)

โซเดียมซัลเฟตแอนไฮดรัส (sodium sulphate anhydrous; NaSO_4)

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

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

3.6 เคมีภัณฑ์สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลไซโลสตามวิธีของ Deschatelets and Yu (1986)

ไทโอยูเรีย (thiourea)

กรดแอซีติก (acetic acid)

4-โบรโมแอนิลีน (4-bromoaniline)

3.7 เคมีภัณฑ์สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลไซลิทอลตามวิธีของ Alder and Gustafsson (1980)

โซเดียมเมตาเพอริโอเดต (sodium metaperiodate; NaIO_4)

กรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid)

แอมโมเนียมแอซีเตต (ammonium acetate)

กรดแอซีติก (acetic acid)

บิวเทน-2,3-ไดออล (butane-2,3-diol)

เพนเทน-2,4-ไดโอน (pentane-2,4-dione)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.8 วัตถุดิบ

ซังข้าวโพด เตรียมวัตถุดิบโดยนำซังข้าวโพดมาตากแดดให้แห้ง นำมาตัดเป็นท่อนเล็ก ๆ แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทั้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง นำมาบดด้วยเครื่องปั่นน้ำผลไม้ให้ละเอียดเป็นผงแล้วเก็บใส่ถุงปิดผนึกเพื่อเก็บไว้ใช้ในการศึกษาต่อไป

3.9 เชื้อจุลินทรีย์ในการวิจัย

Candida tropicalis TISTR 5045 จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

3.9.1 การเก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์ในการวิจัย

ใช้ลวดเย็บเชื้อ (loop) เช็บเชื้อ *Candida tropicalis* TISTR 5045 ประมาณ 1 ลูป นำมาลากลงบนอาหารแข็งเพื่อการเก็บรักษาเชื้อ (ภาคผนวก ก) แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นปิดด้วยพาราฟิล์มและนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยจะต้องทำด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ และถ่ายเชื้อทุก ๆ 2 สัปดาห์

3.9.2 การเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้นสำหรับเซลล์อิสระ

ถ่ายเชื้อ *Candida tropicalis* TISTR 5045 ลงในพลาสติกขนาด 500 มิลลิลิตร ที่บรรจุอาหารเพื่อการเจริญเติบโต (ภาคผนวก ก) ซึ่งผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ประมาณ 1-2 ลูป โดยจะต้องทำด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ แล้วนำไปเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณเซลล์ด้วยเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็ว 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้น นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วง 0.5

3.9.3 การเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้นสำหรับเซลล์ตรึงที่ถูกห่อหุ้มด้วยเคลือบเซลล์

3.9.3.1 ทำการถ่ายเชื้อลงบนอาหารแข็งเพื่อการเก็บรักษาเชื้อ ภายใต้สภาวะที่ปลอดเชื้อ แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 24 ชั่วโมง

3.9.3.2 ถ่ายเชื้อที่ได้จากข้อ 1 ลงในอาหารสำหรับการเจริญปริมาณ 300 มิลลิลิตร ที่บรรจุอยู่ในพลาสติกขนาด 500 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มในเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที เป็นเวลานานประมาณ 6 ชั่วโมง จนกระทั่งค่าการดูดกลืนแสงของสารแขวนลอยของเซลล์มีค่าอยู่ในช่วง 0.5

3.9.3.3 คัดสารแขวนลอยของเซลล์ลงในหลอดปั่นเหวี่ยงปริมาณหลอดละ 10 มิลลิลิตร โดยปริมาณหัวเชื้อที่ใช้คิดเป็นร้อยละ 10 ของปริมาณอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งหมด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.9.3.4 นำสารแขวนลอยของเซลล์ไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลานาน 10 นาที แล้วเทส่วนของอาหารเลี้ยงเชื้อออก ล้างตะกอนเซลล์แขวนลอยด้วยสารละลายน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 0.85 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร โดยล้างเซลล์ทั้งหมด 2 ครั้ง แล้วจึงเทสารละลายน้ำเกลือทิ้งไป

3.9.3.5 เติมสารละลายน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 0.85 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงในหลอดปั่นเหวี่ยงที่มีตะกอนเซลล์ แล้วเทผสมลงในสารละลายโซเดียมแอลจินเนต ความเข้มข้นร้อยละ 2 ปริมาตร 20 มิลลิลิตร จากนั้นใช้แท่งแก้วคนที่ฆ่าเชื้อแล้วคนสารละลายทั้งสองให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกัน นานประมาณ 10 นาที แล้วตั้งทิ้งไว้ นานประมาณ 30 นาที เพื่อให้ฟองอากาศที่อาจมีอยู่ในสารละลายออกไป

3.9.3.6 เทสารละลายโซเดียมแอลจินเนตที่ผสมเข้ากันดีแล้วกับสารละลายเซลล์ลงในหลอดฉีดยาขนาด 25 มิลลิลิตร แล้วหยดสารละลายผสมลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 75 มิลลิลิตร ที่บรรจุอยู่ในฟลาस्कขนาด 250 มิลลิลิตร ด้วยอัตราเร็วคงที่ เพื่อทำให้เกิดเม็ดเจลที่มีขนาดเท่ากันทุกเม็ด จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นานอย่างน้อย 2 ชั่วโมง เพื่อให้เม็ดเจลมีความคงตัวมากขึ้น

3.9.3.7 ล้างเม็ดเจลที่ได้ด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง ปริมาตรครั้งละ 50 มิลลิลิตร เทน้ำกลั่นที่ใช้ล้างเม็ดเจลออก ก็จะได้เม็ดเจลที่พร้อมจะนำไปใช้ในการผลิตน้ำตาลไซลิทอลต่อไป

3.10 การเตรียมอาหารไฮโดรไลสจากซังข้าวโพดเพื่อเลี้ยงเชื้อและผลิตน้ำตาลไซลิทอลของ

Candida tropicalis TISTR 5045

การเตรียมอาหารไฮโดรไลสจากซังข้าวโพดเพื่อเลี้ยง และผลิตน้ำตาลไซลิทอล ประกอบด้วยขั้นตอนที่สำคัญ 2 ขั้นตอน คือ ขั้นตอนการย่อยสลายซังข้าวโพดและการลดความเป็นพิษของไฮโดรไลส ซึ่งมีรายละเอียด ดังนี้

3.10.1 การเตรียมไฮโดรไลสจากการย่อยสลายซังข้าวโพด (hydrolysis) สามารถทำได้โดย

- 1). นำซังข้าวโพดจากข้อ 3.8 มาแช่ในสารละลายกรดซัลฟูริก ความเข้มข้น 0.6 โมลต่อลิตร ในอัตราส่วนซังข้าวโพดต่อปริมาตรสารละลายกรด เป็น 1 กรัมต่อ 20 มิลลิลิตรเป็นเวลา 1 ชั่วโมง

- 2). นำไปย่อยสลายที่อุณหภูมิ 126 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 270 นาที แล้วทำ

ให้เย็นลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3). กรองไฮโดรไลสเสทที่ได้ โดยเอาเฉพาะส่วนใสเท่านั้น

3.10.2 การลดความเป็นพิษของไฮโดรไลสเสท ซึ่งจะมี 2 ขั้นตอน คือ

3.10.2.1 การลดปริมาณสารพิษโดยวิธีโอเวอร์ไลมิง (overliming) สามารถทำได้ โดย

1). นำไฮโดรไลสเสทที่เตรียมได้จากช่วงข้าวโพดมาปรับค่าความเป็นกรด-ด่างจนได้เป็น 10.5 ด้วยแคลเซียมออกไซด์ (CaO) ขั้นตอนนี้จะมีการกวนอยู่ตลอดเวลาเพื่อให้แคลเซียมออกไซด์แตกตัว (โดยค่อยๆเติมแคลเซียมออกไซด์ลงไปไฮโดรไลสเสททีละน้อยเนื่องจากแคลเซียมออกไซด์แตกตัวได้ค่อนข้างช้า)

2). เมื่อไฮโดรไลสเสทมีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 10.5 แล้วก็ทำการแยกตะกอนของแคลเซียมออกไซด์ออกโดยการปั่นเหวี่ยง ที่ความเร็วรอบ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที

3). จากนั้นนำไฮโดรไลสเสทที่ได้มาปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ให้ลดลงเหลือ 4.0 โดยใช้สารละลายกรดซัลฟริกความเข้มข้น 13 โมลต่อลิตร

4). นำไฮโดรไลสเสทที่ผ่านการปรับค่าความเป็นกรด-ด่างแล้วมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 โดยใช้เครื่องกรองสุญญากาศ

5). นำไฮโดรไลสเสทที่ได้มาทำการลดความเป็นพิษด้วยผงถ่านกัมมันต์ (activated charcoal) ต่อไป

3.10.2.2 การลดปริมาณสารพิษโดยการดูดซับด้วยผงถ่านกัมมันต์

1). เติมผงถ่านกัมมันต์ (ภาคผนวก ข.) ลงในไฮโดรไลสเสท ในอัตราส่วนผงถ่านกัมมันต์ต่อปริมาตรไฮโดรไลสเสทเท่ากับ 1 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร

2). ทำการกวนไฮโดรไลสเสท ที่มีผงถ่านกัมมันต์อยู่เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง

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

4). นำไฮโดรไลสเสทที่ได้มาเติมสารอาหาร ประกอบด้วย

เปปโตน	4 กรัมต่อลิตร
ยีสต์สกัด	4 กรัมต่อลิตร
มอลต์สกัด	3 กรัมต่อลิตร

5). นำอาหารไฮโดรไลสเสทที่เติมสารอาหารแล้วมาปรับค่าความเป็นกรด-

ด่างให้ได้ 4.0 ซึ่งเป็นค่าที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6). นำอาหารไฮโดรไลเสทที่ได้บรรจุใส่พลาสติกแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

3.11 การศึกษาอัตราการเจริญของ *Candida tropicalis* TISTR 5045 ในอาหารไฮโดรไลเสทจากซังข้าวโพด

เลี้ยงเชื้อ *Candida tropicalis* TISTR 5045 ในอาหารไฮโดรไลเสทจากซังข้าวโพด โดยนำไฮโดรไลเสทที่ผ่านการลดความเป็นพิษด้วยวิธีโอเวอร์ไลมิงและการดูดซับด้วยผงถ่านกัมมันต์แล้วมาเติมยีสต์สกัด มอลต์สกัดและเปปโตน ความเข้มข้น 4 3 และ 4 กรัมต่อไฮโดรไลเสท 1 ลิตร ตามลำดับ ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างให้ได้ 4 แล้วแบ่งใส่พลาสติกขนาด 500 มิลลิลิตร ปริมาตรพลาสติกละ 180 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลานาน 15 นาที จากนั้น เดิมหัวเชื้อเริ่มต้นจากข้อ 3.9.1 ลงไป โดยปริมาตรคิดเป็นร้อยละ 10 ของปริมาณอาหารทั้งหมด แล้วนำไปเลี้ยงในเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็ว 250 รอบต่อนาที เป็นเวลานาน 72 ชั่วโมง โดยเก็บตัวอย่างน้ำหมักทุกๆ 3 ชั่วโมง จบครบ 36 ชั่วโมง แล้วเก็บต่อทุกๆ 6 ชั่วโมง จนกระทั่งครบ 72 ชั่วโมง นำตัวอย่างน้ำหมักที่เก็บได้มาวัดอัตราการเจริญของเชื้อ น้ำหนักเซลล์แห้ง ความเป็นกรด-ด่าง น้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลไซโลส

3.12 การศึกษาการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของ *Candida tropicalis* TISTR 5045 ในอาหารไฮโดรไลเสทจากซังข้าวโพดในสภาวะเซลล์อิสระ

ทำการทดลองเช่นเดียวกันกับข้อ 3.11 แต่จะเก็บตัวอย่างทุกๆ 6 ชั่วโมงจนกระทั่งครบ 90 ชั่วโมง และลดความเร็วรอบของเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิลงให้เหลือ 120 รอบต่อนาทีเมื่อเชื้อเริ่มเจริญเข้าสู่ระยะกึ่งกลางของการเจริญสูงสุด

3.13 การศึกษาการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของ *Candida tropicalis* TISTR 5045 ในอาหารไฮโดรไลเสทจากซังข้าวโพดในสภาวะเซลล์ตรึงที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมแอลจินเต

ทำการทดลองเช่นเดียวกันกับข้อ 3.12 แต่จะใช้เชื้อในการผลิตซึ่งอยู่ในรูปของเซลล์ตรึงที่ถูกห่อหุ้มไว้ด้วยแคลเซียมแอลจินเต และจะเก็บตัวอย่างทุกๆ 6 ชั่วโมงจนกระทั่งครบ 90 ชั่วโมง โดยลดความเร็วรอบของเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิลงให้เหลือ 120 รอบต่อนาทีเมื่อเชื้อเริ่มเจริญเข้าสู่ระยะกึ่งกลางของการเจริญสูงสุด

บทที่ 4

ผลการทดลองและอภิปรายผล

4.1 ผลการศึกษาอัตราการเจริญของ *Candida tropicalis* TISTR 5045 ในอาหารไฮโดรไลเสทจากซังข้าวโพด

จากการศึกษาอัตราการเจริญของเชื้อ *Candida tropicalis* TISTR 5045 ในอาหารไฮโดรไลเสทจากซังข้าวโพด โดยนำไปเลี้ยงในเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็ว 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 72 ชั่วโมง โดยเก็บตัวอย่างทุกๆ 3 ชั่วโมง เป็นเวลา 36 ชั่วโมงและเก็บต่อทุกๆ 6 ชั่วโมงจนครบ 72 ชั่วโมง พบว่า เชื้อ *Candida tropicalis* TISTR 5045 จะมีอัตราการเจริญสูงสุดในชั่วโมงที่ 33 โดยดูจากค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ซึ่งมีค่าเป็น 10.043 เมื่อค่าความเป็นกรด-ด่างมีค่าเป็น 6.735 และมีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งคิดเป็น 6.20 กรัมต่อลิตร โดยน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลไซโลสที่ถูกใช้ไปคิดเป็นร้อยละ 92.954 และ 94.268 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.1 และรูปที่ 4.1

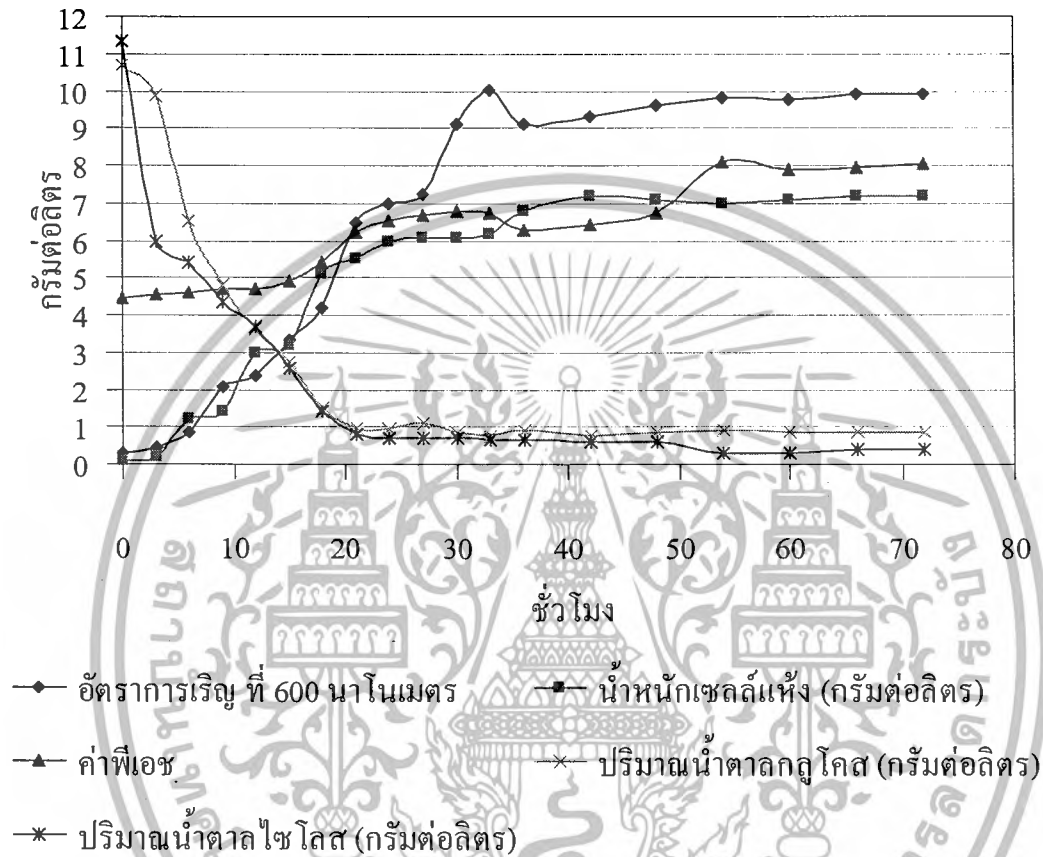
ตารางที่ 4.1 อัตราการเจริญของเชื้อ น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณน้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลไซโลส จากการศึกษาอัตราการเจริญของ *Candida tropicalis* TISTR 504 ในอาหารไฮโดรไลเสทจากซังข้าวโพด

เวลา (ชั่วโมง)	อัตราการเจริญ (ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร)	น้ำหนักเซลล์ แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ค่าความเป็น กรด-ด่าง	ปริมาณ น้ำตาลกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณ น้ำตาลไซโลส (กรัมต่อลิตร)
0	0.312	0.10	4.470	10.688	11.340
3	0.438	0.20	4.570	9.896	5.960
6	0.885	1.20	4.595	6.532	5.420
9	2.084	1.40	4.685	4.818	4.370
12	2.361	3.00	4.695	3.636	3.680
15	3.338	3.20	4.895	2.753	2.570
18	4.205	5.10	5.440	1.519	1.420

21	6.485	5.50	6.205	0.961	0.800
24	7.010	6.00	6.510	0.961	0.710
27	7.230	6.10	6.700	1.090	0.690
30	9.098	6.10	6.800	0.857	0.690
33	10.043	6.20	6.735	0.753	0.650
36	9.128	6.80	6.270	0.909	0.660
42	9.320	7.20	6.455	0.766	0.630
48	9.608	7.10	6.730	0.870	0.620
54	9.848	7.00	8.095	0.890	0.310
60	9.750	7.10	7.905	0.870	0.320
66	9.915	7.20	7.955	0.869	0.420
72	9.908	7.20	8.070	0.869	0.410

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าต่างๆ

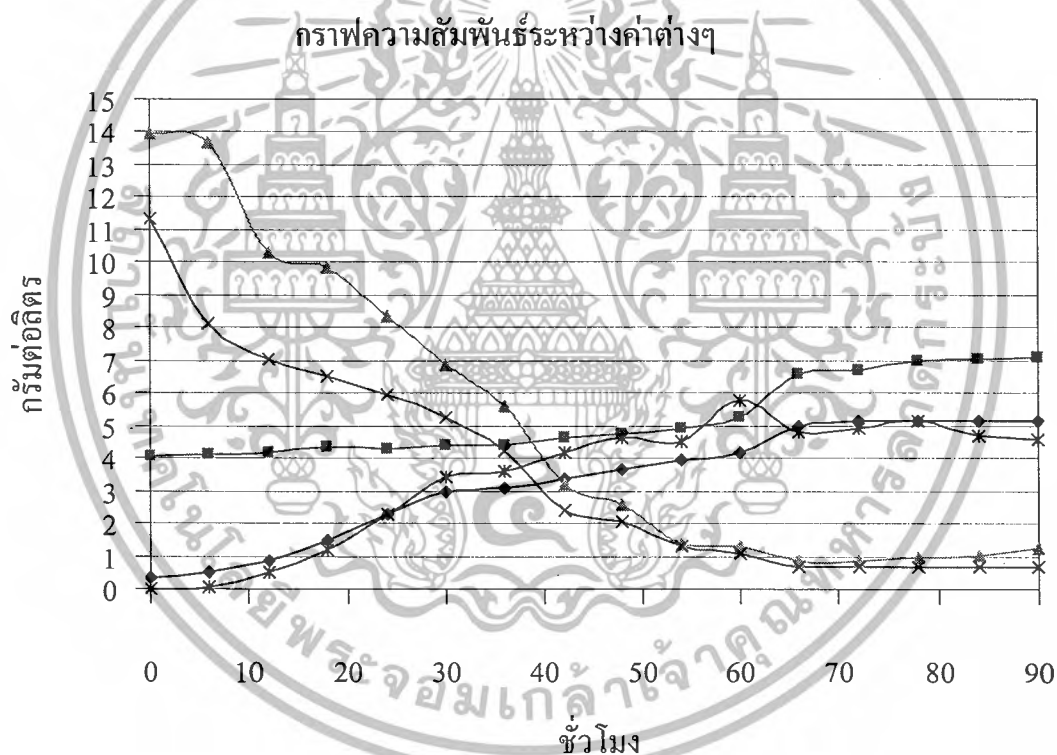


รูปที่ 4.1 อัตราการเจริญของเชื้อ น้ำหนักเซลล์แห้ง ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณน้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลไซโลส จากการศึกษ้อัตราการเจริญของ *Candida tropicalis* TISTR 5045 ในอาหารไฮโดรไลเสทจากซังข้าวโพด

จากการศึกษ้อัตราการเจริญเติบโตของเชื้อ *Candida tropicalis* TISTR 5045 พบว่าค่า น้ำหนักเซลล์แห้งจะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นเรื่อยๆ แม้ว่าภายหลังจากชั่วโมงที่ 33 แล้วค่าการดูดกลืนแสงจะมีค่าลดลงจนเกือบคงที่ก็ตาม ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากเซลล์จะมีการเจริญเติบโตอยู่ตลอดช่วง log phase เมื่อเข้าสู่ระยะ death phase เชื้อก็จะเกิด autolysis เซลล์ที่เกิดขึ้นก็ทำให้ค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง ไม่ได้ลดลง หรือสูญหายไป แต่การดูดกลืนแสงของเชื้อก็จะมีค่าลดลงตามจำนวนเชื้อที่ตายไป ทำให้ค่าการดูดกลืนแสงกับค่าน้ำหนักเซลล์แห้งไม่สอดคล้องกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

60	4.192	5.28	1.32	1.10	5.76
66	4.984	6.60	0.86	0.71	4.81
72	5.152	6.68	0.87	0.69	4.91
78	5.160	7.01	0.97	0.67	5.15
84	5.171	7.06	1.02	0.67	4.68
90	5.175	7.11	1.27	0.69	4.58



- ◆— อัตราการเจริญที่ 600 นาโนเมตร
- ค่าพีเอช
- ▲— ปริมาณน้ำตาลกลูโคส (กรัมต่อลิตร)
- ×— ปริมาณน้ำตาลไซโลส (กรัมต่อลิตร)
- *— ปริมาณน้ำตาลไซลิทอล (กรัมต่อลิตร)

รูปที่ 4.2 อัตราการเจริญของเชื้อ ค่าความเป็นกรด-ด่าง น้ำหนักเซลล์แห้ง น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลไซโลสและน้ำตาลไซลิทอล จากการศึกษากการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของ *Candida tropicalis* TISTR

5045 ในอาหารไฮโดรไลเสทจากซังข้าวโพดในสภาวะเซลล์อิสระ

เอกสารนี้เป็นเอกสารทูลงวันเวลาสำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษานี้ ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลอง เมื่อมีการจำกัดการให้อากาศลงในชั่วโมงที่ 12 โดยลดความเร็วในการเขย่าของเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิได้จาก 250 รอบต่อนาทีให้เหลือ 120 รอบต่อนาที เชื้อ *Candida tropicalis* TISTR 5045 จะสามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ในอัตราที่สูงขึ้น จนกระทั่งชั่วโมงที่ 60 พบว่า เชื้อ *Candida tropicalis* TISTR 5045 สามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้สูงที่สุดคือ 5.76 กรัมต่อลิตร เมื่อค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5.28 คิดเป็นผลได้เท่ากับ 0.563 กรัมน้ำตาลไซลิทอลต่อกรัมน้ำตาลไซโลส โดยมีการใช้น้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลไซโลสคิดเป็นร้อยละ 90.551 และ 90.296 ตามลำดับ

จากผลการทดลองที่ได้จะเห็นว่าค่าปริมาณน้ำตาลไซลิทอลที่ได้หลังจากชั่วโมงที่ 60 จะมีค่าลดลง เนื่องจากว่าในไฮโดรไลสที่มีปริมาณน้ำตาลกลูโคสและปริมาณน้ำตาลไซโลสเหลือน้อยมาก แต่เชื้อจุลินทรีย์จะต้องเจริญเติบโตจึงมีการดึงน้ำตาลไซลิทอลไปใช้ในการเจริญเติบโตแทนเนื่องจากภายในเซลล์มีเอนไซม์ที่สามารถเปลี่ยนน้ำตาลไซลิทอลกลับไปเป็นน้ำตาลไซโลส และน้ำตาลไซโลสนี้ก็เปลี่ยนไอโซเมอร์ไปเป็นน้ำตาลไซโลสที่เพื่อนำไปใช้ได้ ดังนั้นปริมาณน้ำตาลไซลิทอลที่ได้จึงมีค่าลดลง

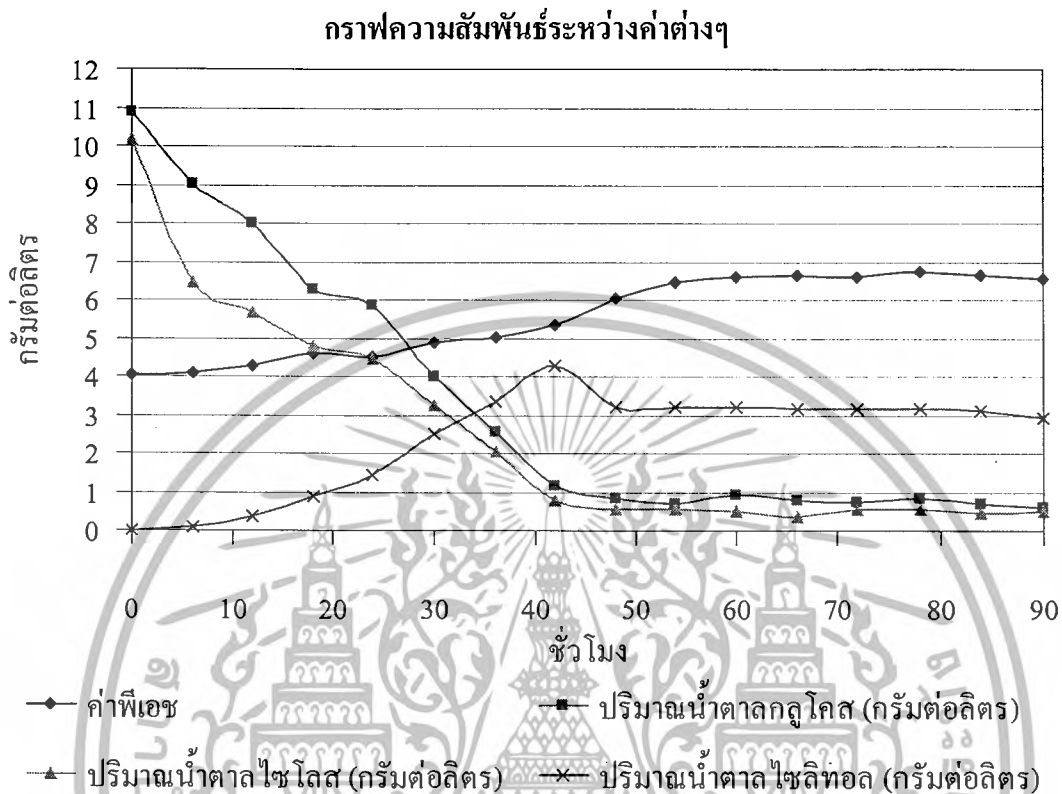
4.3 ผลการศึกษาการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของ *Candida tropicalis* TISTR 5045 ในอาหารไฮโดรไลสจากซังข้าวโพดในสถานะเซลล์ตรึงที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมแอลจิเนต

การศึกษการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของเชื้อ *Candida tropicalis* TISTR 5045 ในสถานะเซลล์ตรึงที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมแอลจิเนต โดยเลี้ยงในอาหารไฮโดรไลสจากซังข้าวโพดด้วยเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็ว 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้น ลดความเร็วรอบลงเหลือ 120 รอบต่อนาที เพื่อจำกัดการให้อากาศแก่เชื้อในการผลิตน้ำตาลไซลิทอล แล้วเลี้ยงต่อไปจนกระทั่งครบ 90 ชั่วโมง ทำการเก็บตัวอย่างทุกๆ 6 ชั่วโมงเพื่อวัดอัตราการเจริญของเชื้อ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณน้ำตาลกลูโคส ปริมาณน้ำตาลไซโลส และปริมาณน้ำตาลไซลิทอล

ตารางที่ 4.3 ค่าความเป็นกรด-ด่างน้ำตาลกลูโคส น้ำตาลไซโลสและน้ำตาลไซลิทอล จากการศึกษากาการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของ *Candida tropicalis* TISTR 5045 ในอาหารไฮโดรไลเสทจากซังข้าวโพดในสภาวะเซลล์ครั้งที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมแอลจีเนต

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าความเป็นกรด-ด่าง	ปริมาณน้ำตาลกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลไซโลส (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลไซลิทอล (กรัมต่อลิตร)
0	4.05	10.87	10.20	0
6	4.11	9.04	6.45	0.08
12	4.28	8.02	5.67	0.37
18	4.60	6.30	4.80	0.87
24	4.53	5.84	4.46	1.46
30	4.89	4.01	3.26	2.50
36	5.04	2.56	2.06	3.37
42	5.34	1.15	0.78	4.30
48	6.06	0.85	0.57	3.19
54	6.45	0.69	0.55	3.21
60	6.59	0.93	0.52	3.22
66	6.67	0.79	0.39	3.16
72	6.62	0.76	0.55	3.16
78	6.76	0.85	0.55	3.17
84	6.65	0.70	0.48	3.11
90	6.54	0.62	0.51	2.95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.3 ค่าความเป็นกรด-ด่าง น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลไซโลสและน้ำตาลไซลิทอล จากการศึกษากการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของ *Candida tropicalis* TISTR 5045 ในอาหารไฮโดรไลเสทจากซังข้าวโพดในสภาวะเซลล์ตรึงที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมแอลจีเนต

จากข้อมูลที่ได้พบว่า เชื้อ *Candida tropicalis* TISTR 5045 สามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้สูงขึ้นและเมื่อมีการจำกัดการให้อากาศลงในชั่วโมงที่ 12 โดยการลดความเร็วของเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียสลงจาก 250 รอบต่อนาทีเป็น 120 รอบต่อนาที เชื้อ *Candida tropicalis* TISTR 5045 จะสามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ในอัตราที่สูงขึ้น จนกระทั่งชั่วโมงที่ 42 พบว่า เชื้อสามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ในปริมาณสูงสุด คือ 4.30 กรัมต่อลิตร เมื่อค่าความเป็นกรด-ด่างมีค่าเป็น 5.34 คิดเป็นผลได้เท่ากับ 0.456 กรัมน้ำตาลไซลิทอลต่อกรัมน้ำตาลไซโลส โดยปริมาณของน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลไซโลสที่ถูกใช้ไป คิดเป็นร้อยละ 89.420 และ 92.353 ตามลำดับ

ในการวัดค่าปริมาณน้ำตาลต่างๆ ก็เพื่อที่จะได้ทราบว่าเชื่อมีการใช้น้ำตาลกลูโคสและไซโลสไปเท่าไรและมีการผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ปริมาณเท่าไร เพื่อบอกความสามารถของเชื้อในกระบวนการผลิตได้

4.4 ผลการศึกษาเพื่อเปรียบเทียบการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของ *Candida tropicalis* TISTR 5045 ระหว่างสภาวะเซลล์อิสระและเซลล์ตรึงที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมแอลจิเนต

จากการศึกษาถึงความสามารถในการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของเชื้อ *Candida tropicalis* TISTR 5045 ระหว่างสภาวะเซลล์อิสระและเซลล์ตรึงที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมแอลจิเนต จากข้อ 4.2 และ 4.3 พบว่า เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Candida tropicalis* TISTR 5045 ในอาหารไฮโดรไลเสทจากซังข้าวโพดที่มีปริมาณน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลไซโลสเริ่มต้นใกล้เคียงกัน คือประมาณ 10 กรัมต่อลิตร และค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 4.0 ภายใต้สภาวะการหมักที่เหมือนกันทุกประการ พบว่า เชื้อ *Candida tropicalis* TISTR 5045 สามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้สูงที่สุดในชั่วโมงที่ 60 ในสภาวะที่เป็นเซลล์อิสระ และสามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้สูงที่สุดในชั่วโมงที่ 42 ในสภาวะที่เป็นเซลล์ตรึงที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมแอลจิเนต โดยปริมาณน้ำตาลไซลิทอลที่เชื้อผลิตได้คิดเป็น 5.76 กรัมต่อลิตร (ผลได้คิดเป็น 0.563 กรัมน้ำตาลไซลิทอลต่อกรัมน้ำตาลไซโลส) และ 4.30 กรัมต่อลิตร (ผลได้คิดเป็น 0.456 กรัมน้ำตาลไซลิทอลต่อกรัมน้ำตาลไซโลส) ตามลำดับ

โดยจากการศึกษาพบว่า เชื้อในสภาวะเซลล์อิสระสามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้มากกว่าเชื้อในสภาวะเซลล์ตรึงเพียงเล็กน้อย เมื่อนำค่าปริมาณน้ำตาลไซลิทอลที่ผลิตได้ไปคำนวณค่าทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ การผลิตจึงสามารถใช้ได้ทั้งสองรูปแบบ เหตุที่เชื้อในสภาวะเซลล์อิสระสามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้มากกว่า อาจเนื่องมาจากเชื้อสัมผัสกับอาหารโดยตรงจึงใช้สับสเตรทได้เต็มที่ ในขณะที่เซลล์ที่ถูกตรึงนั้นอาหารต้องแพร่ผ่านเข้ามาภายในเม็ดเจลก่อน หากเปอร์เซ็นต์เจลที่ใช้สูงไปอาหารก็แพร่ผ่านได้น้อย การผลิตก็เกิดขึ้นได้ไม่สมบูรณ์จึงทำให้ปริมาณน้ำตาลไซลิทอลที่ได้มีค่าต่ำกว่า แต่จากผลการทดลองนี้เชื้อในสภาวะเซลล์อิสระมีผลได้น้ำตาลไซลิทอลที่สูงกว่าจึงควรเลือกใช้วิธีนี้ แต่ทั้งนี้ทั้งนั้นการเลือกใช้วิธีที่เหมาะสมก็ขึ้นกับหลายหลายปัจจัยด้วย

บทที่ 5

สรุปและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาอัตราการเจริญของเชื้อ *Candida tropicalis* TISTR 5045 ในอาหารไฮโครไลสที่ได้จากการย่อยสลายซังข้าวโพด ที่พีเอช 4.0 ที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที และที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส แล้ววัดอัตราการเจริญทุก 3 ชั่วโมง ใน 36 ชั่วโมงแรก และทุก 6 ชั่วโมง จนครบ 72 ชั่วโมง พบว่าเชื้อมีอัตราการเจริญสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 33 โดยวัดจากค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร การวัดอัตราการเจริญของเชื้อ นอกจากจะวัดจากค่าการดูดกลืนแสงแล้ว ยังสามารถวัดได้จากน้ำหนักเซลล์แห้ง ปริมาณกลูโคส และปริมาณไซโลสที่เชื้อใช้ไปเพื่อการเจริญเติบโต และผลิตไซลิทอล พบว่าน้ำหนักเซลล์แห้งจะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป และจะเริ่มมีค่าคงที่ เมื่อเข้าสู่ระยะ stationary phase ซึ่งค่าน้ำหนักเซลล์แห้งจะแปรผันกับค่าการดูดกลืนแสง กล่าวคือเมื่อเวลาผ่านไปค่าการดูดกลืนแสงก็จะมีค่าเพิ่มสูงขึ้น ส่วนปริมาณกลูโคส และปริมาณไซโลสจะมีค่าลดลงเมื่อเวลาผ่านไป ซึ่งมีค่าแปรผกผันกับค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง และค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์

จากการศึกษาการผลิตน้ำตาลไซลิทอล โดยเชื้อ *Candida tropicalis* TISTR 5045 ในอาหารไฮโครไลสที่ได้จากการย่อยสลายซังข้าวโพด พีเอช 4.0 ในรูปแบบเซลล์อิสระ ที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง และที่ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที จนครบ 90 ชั่วโมง พบว่าเชื้อสามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้สูงสุดที่ชั่วโมงที่ 60 ในปริมาณ 5.76 กรัมต่อลิตร จากปริมาณน้ำตาลไซโลสเริ่มต้น 11.34 กรัมต่อลิตร คิดเป็นร้อยละการใช้น้ำตาลไซโลส และร้อยละการผลิตน้ำตาลไซลิทอล เท่ากับ 90.296 และ 56.272 ตามลำดับ

จากการศึกษาการผลิตน้ำตาลไซลิทอล โดยเชื้อ *Candida tropicalis* TISTR 5045 ในอาหารไฮโครไลสที่ได้จากการย่อยสลายซังข้าวโพด พีเอช 4.0 ในรูปแบบเซลล์ตรึงที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมแอลจินेट ที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง และที่ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที จนครบ 90 ชั่วโมง พบว่าเชื้อสามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้สูงสุดที่ชั่วโมงที่ 42 ในปริมาณ 4.30 กรัมต่อลิตร จากปริมาณน้ำตาลไซโลสเริ่มต้น 10.20 กรัมต่อลิตร คิดเป็นร้อยละการใช้น้ำตาลไซโลสและร้อยละการผลิตน้ำตาลไซลิทอล เท่ากับ 89.420 และ 45.648 ตามลำดับ

จากการศึกษาเปรียบเทียบการผลิตน้ำตาลไซลิทอลโดยเชื้อ *Candida tropicalis* TISTR 5045 ระหว่างรูปแบบเซลล์อิสระ และรูปแบบเซลล์ตรึงที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมแอลจินेट พบว่าเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในรูปแบบเซลล์อิสระจะได้ผลได้น้ำตาลไซลิทอลเท่ากับ 0.563 กรัม น้ำตาลไซลิทอลต่อกรัม น้ำตาลไซโลส ส่วนรูปแบบเซลล์ตรึงที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมแอลจีเนต จะได้ผลได้น้ำตาลไซลิทอลเท่ากับ 0.456 กรัม น้ำตาลไซลิทอลต่อกรัม น้ำตาลไซโลส ทำให้ทราบได้ว่าการผลิตน้ำตาลไซลิทอลในรูปแบบเซลล์อิสระนั้น มีประสิทธิภาพสูงกว่าการผลิตน้ำตาลไซลิทอลในรูปแบบเซลล์ตรึงที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมแอลจีเนต

จากการศึกษาได้ใช้วิธีการหมักแบบกะ (batch) พบว่าปริมาณน้ำตาลไซลิทอลที่ผลิตได้มีค่าลดลง เนื่องจากการเปลี่ยนน้ำตาลไซลิทอลกลับไปเป็นน้ำตาลไซโลสโดยเอนไซม์ที่มีอยู่ภายในเซลล์ ในกระบวนการผลิตจริงจึงควรเลือกใช้วิธีการหมักแบบต่อเนื่อง (continuous) เนื่องจากการนำอาหารเข้าออกอยู่ตลอด ทำให้น้ำตาลไซลิทอลที่ผลิตได้ไม่ถูกเปลี่ยนกลับไปเป็นน้ำตาลชนิดอื่น และยังสามารถสร้างน้ำตาลไซลิทอลได้ตลอด จากอาหารใหม่ที่มีการนำเข้าสู่กระบวนการหมักอย่างต่อเนื่อง วิธีการนี้สามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ในปริมาณมาก การใช้เชื้อในรูปแบบเซลล์อิสระจะยุ่งยากในเรื่องการเตรียมหัวเชื้อ ใช้เชื้อปริมาณมากทำให้สิ้นเปลืองและยังเก็บเกี่ยวผลิตภัณฑ์ได้ยากอีกด้วย

ส่วนกระบวนการหมักในสถานะเซลล์ตรึงนั้น แม้ว่าปริมาณน้ำตาลไซลิทอลที่ได้จะมีค่าน้อยกว่าการหมักในสถานะเซลล์อิสระ เนื่องจากจุลินทรีย์ที่ใช้จะถูกจำกัดพื้นที่ และปริมาณอาหารที่จะเข้าไปในเม็ดเจลสามารถเข้าไปได้น้อยลง แต่การหมักในสถานะเซลล์ตรึงก็เหมาะสมที่จะนำมาใช้กับการเลี้ยงแบบต่อเนื่อง (continuous) เพราะสามารถนำเชื้อกลับมาใช้ใหม่ได้อีกจึงไม่ต้องเสียเวลาในการเตรียมหัวเชื้อและสามารถเก็บเกี่ยวผลิตภัณฑ์ได้ง่ายอีกด้วย

เอกสารอ้างอิง

- นรินทร์ เรืองพานิชย์ . 2541 . “ผลของกลูโคสต่อการผลิตไซลิทอลจากไซโลสภายใต้สภาวะจำกัดออกซิเจน” เทคนิควิจัย ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- พงษ์ธร กิมเฮง . 2547. “ สภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายเฮมิเซลลูโลสจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรเพื่อผลิตน้ำตาลไซลิทอลโดยเชื้อ *Candida tropicalis* TISTR 5045 ” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- พานิณ ออมทวีพูนทรัพย์ และ วรียา ทองประเสริฐ . 2545. การผลิตน้ำตาลไซลิทอลด้วยเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 โดยวิธีการตรึงเซลล์ . โครงการพิเศษปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.
- วิเชียร สีสุข. 2532. “การย่อยสลายวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรด้วยเอนไซม์จาก *Aspergillus fumigatus* fresenius รหัส 4-45-1F” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต คณะอุตสาหกรรมเกษตร ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- วรสิทธิ์ โทจำปา. 2541. “การผลิตไซลิทอลโดยการหมักเยื่อเซลลูล์ Hollow fiber.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต คณะอุตสาหกรรมเกษตร ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สาโรจน์ ศิริคันสนียกุล. 2537. “สารให้ความหวานจากฟางข้าว.” รายงานการประชุมวิชาการ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 32 สาขาอุตสาหกรรมเกษตร ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- สาโรจน์ ศิริคันสนียกุล. 2537. “ไซลิทอล.” วารสารจารย์พา. 11 : 18 – 21 .
- สาโรจน์ ศิริคันสนียกุล. 2537. “ไซลิทอล.” วารสารจารย์พา. 11 : 23 – 32 .
- สาโรจน์ ศิริคันสนียกุล. 2537. “ไซลิทอล.” วารสารอุตสาหกรรมเกษตร. 5(3) : 13 – 27.
- Adams, G.A. 1965. “Xylan : Arabinoglucuronoxylan, Arabinoxylan and Xylan : Purification Using a Copper Complex and Purification by Precipitation of Acetales.” **Method in Carbohydrate Chemistry**. 5 : 170 – 175.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Alder, L. and Gustafsson, L. 1980. "Polyhydric Alcohol Production and Intracellular Amino Acid Pool in Relation to Halotolerance of the Yeast *Debaryomyces hansenii*." **Arch. Microbiol.** 124 : 123 – 130.
- Arron, M.A. 1993. **Low Caloric Food Handbooks**. Georgetown University School of Medicine Washington DC. USA.
- Aspinal, G.O. 1959. "Structural Chemistry of Hemicellulose" **Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.** 14 : 429-468.
- Aspinal, G.O. 1959. "The Degradation of Xylan by Alkali." **J. Chem. Soc.** 3,667-3,674.
- Aspinal, G.O. and McKay, J.E. 1959. "The Hemicellulose of European Larch (*Larix deciduas*), The Constitution of a Xylan." **J. Chem. Soc. I.** 1,059-1,066.
- Avgerinos, G.C. and Wang, D.I.C. 1983. "Selective Solvent Delignification for Fermentation Enhancement." **Biotech. Bioeng.** 25 : 67-83.
- Biely, P. 1985. "Microbial Xylanolytic System." **Trend in Biotechnol.** 3 : 286-290.
- Bisaria, B.S. 1991. "Bioprocess of Agro-Residues to Glucose and Chemicals." 187-223. in Martin, A.M. **Bioconversion of Waste Material to Industrial Products**. London : Elsevier. Appl. Science.
- Baber, S. and C. Benedito de Barder. 1974. "Basic and Applied Research Needs for Optimizing Utilization of Rice Bran as Food and Feed." Proceedings of the Rice By-Product Utilization International Conference. **Institute of Agrochemistry and Food Technology**. Valencia. 4 : 1-99.
- Chiang, C. and Knight, S.G. 1960. "Metabolism of D-Xylose by Molds." **Nature**. 188 : 79-81.
- Cowling, E.B. and Kirk, T.K. 1976. "Properties of Cellulose and Lignocellulose Material as Substrate for Enzymatic Conversion Process." **Biotech. Bioeng. Symp.** 6 : 95-123.
- Dahiya, J.S. 1991 "Xylitol Production by *Petromyces albertensis* Grown on Medium Containing D-Xylose." **Can. J. Microb.** 37 : 14-18.
- Du Prez, J.C. 1994. "Process Parameters and Environmental Factors Affecting D-Xylose Fermentation by Yeast." **Enzyme Microb. Technol.** 16 : 944-956.
- Dutton, G.G.S. and Smith, F. 1956. "The Constitution of the Hemicellulose of Western Hemlocks (*Tsuga heterophylla*) II. Hydrolysis of the Methylated Hemicellulose." **J. Amer. Chem. Soc.** 78 : 3,477-3,748.

- Emodi, A. 1982. "Xylose : It's Properties and Food Applications." **Food Technol.** Jan : 28-32.
- Evan, C.I. and Ratledge. C. 1984. "Introduction of Xylose-5-hosphate phosphoketolase in a Variety of Yeast Grown on D-Xylose : The key of Efficient Xylose Metabolism." **Arch. Microbial.** 139 : 48-52.
- Evan, C. 1987. "Lignin Degradation." **Process Biochem.** 22(4) : 102-105.
- Fiechter, A. 1986. "Biodegradation of Lignocellulose Material. Microbial Utilization of Renewable Resources." **Biotech. Bioeng.** 28 : 283-290.
- Goldschmid, H. and Perlín, A.S. 1963. "Interbranch Sequences in the Wheat Arabino Xylan, Selective Enzymolysis Studies." **Canadian Journal of Chemistry.** 41 : 2,272-2,277.
- Hollmann, S. and Touster, O. 1975. "L-Xylose-Xylitol Enzyme and Other Polyoldehydrogenase of Guinea Pig Liver Mitochondria." **J. Biol. Chem.** 225 : 87-102.
- Jackson, M.G. 1977. "The Alkali Treatment of Straws." **Animal Feed Science and Technol.** 2(2) : 105-130.
- Jayme, G. and Satee, M. 1942. "Oxidation of Xylan with Periodic Acid I. Use of Buttered Periodic Acid." **Berichte der Deutschen Gesellschaft** 75B. 1,840-1,850.
- Kirk, K. 1983. "Degradation and Conversion of Lignocellulose." 226-295. in Smith et. al. **The Filamentous Fungi. Fungal Technology.** New York : John Wiley and Sons Inc.
- Kuhad, R.C. 1999. "Lignocellulose biotechnology : Current and future prospects." **Critical Rev. in Biotechnol.** 13 : 151-172.
- Lee. C.W. and Chang, H.W. 1987. "Kinetics of Ethanol Fermentation in Membrane Cell Recycle Fermentors." **Biotechnol. Bioeng.** 29 : 1,150-1,112.
- Leathers, T.D. and Gupta, S.C. 1997. Xylitol and Riboflavin Accumulation in Xylose-Grown Culture of *Pichia guilliermindii*." **Appl. Microbiol. Biotechnol.** 47 : 58-61.
- Makinen, K.K. and Scheinin, A. 1975. "Turku Sugar Studies VI : The Administration of the Trial and Control of the Dietary Regimen. **Acta. Odont. Scand.** 33 Suppl. 70 : 105-127.
- Marsden, W.L. and Gray P.P. 1986. "Enzymatic Hydrolysis of Cellulose in Lignocellulosic Material." **Critical Review in Biotech.** 3(3) : 135-176.
- Nigam, P. and Singh, D. 1995. "Process for Fermentative Production of Xylitol a Sugar Substitute." **J. Pro. Biochem.** 30 : 117-124.

Norkran, B. 1967. "Cellulose and Cellulosis." **Adv. Appl. Microbiol.** 9 : 91-130.

- Ojamo, H. 1994. "Yeast Xylose Metabolism and Xylitol Production." **PhD thesis**, Helsinki University of Technology. Finland.
- Palnitkar, S.S. and Lachke, A.H. 1990. "Efficient Simultaneous Saccharification and Fermentation of Agricultural Residues by *Saccharomyces cerevisiae* and *Candida shehatae*. The D-Xylose Fermenting Yeast." **Appl. Biochem. Biotechnol.** 36 : 2,151-2,158.
- Roudier, A. 1958. "Composition of Hemicelluloses." **Bulletin Association Technique de Industrie Papetiere.** 4 : 99-121.
- Schulze, E. 1891. "In Formation Regarding Chemical Composition of Plant Cell Membrane." **Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft.** 24 : 2,277-2,287.
- S. G. Baldursdóttir, B. Nyström, A.-L. Kjøniksen, J. Roots, H. H. Tønnesen, and J. Karlsen. Riboflavin-Sensitized Photochemical Changes in Aqueous Solutions of Alginate. Rheological Studies. **Biomacromolecules.** 4, 429 (2003).
- Silva, S.S and Afschar, A.S. 1994. "Microbial Production of Xylitol from D-Xylose Using *Candida tropicalis*." **Biotechnol. Lett.** 3 : 89-92.
- Sirisansaneeyakul, S. 1992. "Microbial Production of Xylitol from Wheat Straw Hydrolysates." **DECHEMA Biotechnology conference** vol. 5(B) : 541-544.
- Sirisansaneeyakul, S. 1995. "Screening of Yeasts for Production of Xylitol from D-Xylose." **J. Ferment. Bioeng.** 80 : 565-570.
- Sjostrom, F. 1981. **Wood Chemistry (Fundamentals and Application)**. New York : Academic Press.
- Smith, M.G. 1962. "Polyol Dehydrogenases. 4. Crystallization of the L-Iditol Dehydrogenase of Sheep Liver." **J. Biochem.** 83 : 135-144.
- Sreenath, H.K. and Jeffries, T.W. 1996. "Effect of Corn Sreep Liquor on Fermentation of Mixed Sugars by *Candida shehatae* FPL 860402702." **Appl. Biochem Biotechnol.** 57/58 : 551-561.
- Ueng, P.P. and Ging, C.S. 1982. "Ethanol Production from Pentoses and Sugar Cane Bagasse Hemicellulose Hydrolysate by *Mucor* and *Fusarium* Species." **Enzyme Microb. Technol.** 4 : 169-172.

- Vongsuvanlert, V. and Tani, Y. 1989. "Xylitol Production by a Methanol Yeast *Candida biodinii* (*Kloechers* sp.) No. 2201." **J. Ferment. Bioeng.** 80 : 513-516.
- Whistler, R.L. 1950. "Xylan." **Adv. Carbohydr. Chem.** 5 : 269-290.
- Wilkie, K.C.B. 1979. "The Hemicellulose of Grasses and Cereals." **Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.** 36 : 215-262.
- Xu, J. and Taylor, K.B. 1993. Characterization of Ethanol Production from Xylose and Xylitol by a Cell-Free *Pachysolen tannophilus* System." **Appl. Envir. Microb.** 59 : 231-235.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.
อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับจุลินทรีย์

อาหารเพื่อการเก็บรักษาเชื้อ

YM agar มีสูตรดังนี้

ยีสต์สกัด	3	กรัม
มอลต์สกัด	3	กรัม
เปปโตน	5	กรัม
กลูโคส	10	กรัม
วุ้น	15	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร
ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 5.5		

อาหารเพื่อการเจริญเติบโต

ยีสต์สกัด	4	กรัม
มอลต์สกัด	3	กรัม
เปปโตน	4	กรัม
กลูโคส	15	กรัม
น้ำกลั่น	1000	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 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

B : สารละลายฟอสเฟตทาร์เทรต (Phosphate-tartrate solution) เตรียมโดยละลายโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Na_2HPO_4) 28 กรัม [หรือโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตเททราไฮเดรต ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) 70.5495 กรัม] ในน้ำกลั่น 700 มิลลิลิตร เติมนโซเดียมโพแทสเซียมทาร์เทรต (เตตระไฮเดรต) [Sodium potassium tartrate (Tetrahydrate)] 40 กรัม ทำให้ละลายแล้วเติมนสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 นอร์มัล ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ตามด้วยโซเดียมซัลเฟตแอนไฮดรัส [Na_2SO_4 (Anhydrous)] 120 กรัม เมื่อละลายดีแล้วปรับปริมาตรเป็น 900 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 2 วัน ถ้ามีตะกอนให้กรองเอาตะกอนทิ้งด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 4

ผสมสารละลาย A ปริมาตร 100 มิลลิลิตร และสารละลาย B ปริมาตร 900 มิลลิลิตร เข้าด้วยกัน

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 กรัม ในน้ำกลั่น 450 มิลลิลิตร เติมนกรดกำมะถัน (Sulphuric acid) 21 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

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

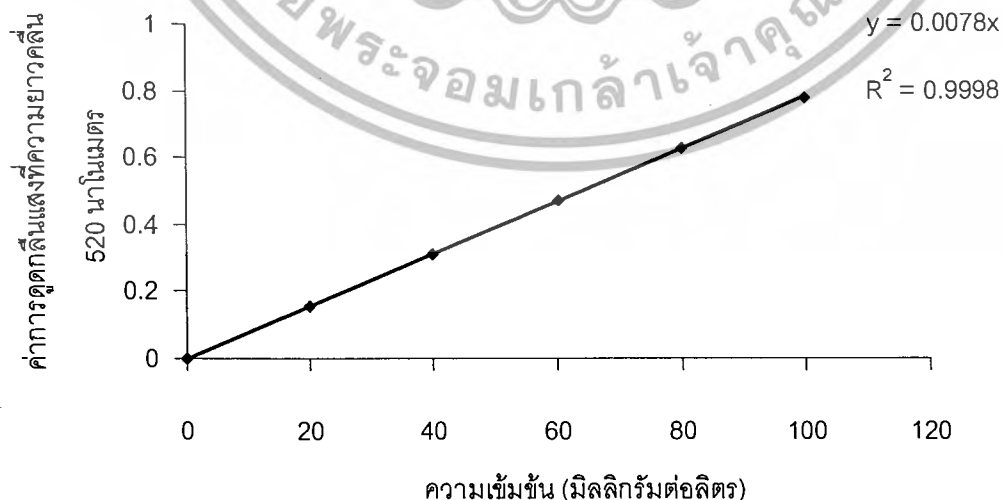
ผสมสารละลาย A และสารละลาย B เข้าด้วยกัน ใส่ขวดสีชาแล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมงแล้วจึงนำมาเก็บที่อุณหภูมิห้อง

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

1. เติมห่วงอย่างที่ต้องการหาน้ำตาลกลูโคส 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง เติมสารละลายคอปเปอร์รีเอเจนต์ (copper reagent) 1 มิลลิลิตร ต้มในน้ำเดือดนาน 10 นาที ควรใช้ลูกแก้วปิดปากหลอดเพื่อลดการระเหยของสาร
2. ทำให้เย็นโดยการแช่ในอ่างน้ำ แล้วเติมสารละลายอาร์เซนโมลิบดีดรีเอเจนต์ (Arsenomolybdate reagent) ลงไป 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วทิ้งไว้ประมาณ 2 นาที จะเห็นเป็นสีเขียวหรือสีน้ำเงินเขียวขึ้นกับปริมาณน้ำตาล
3. เติมน้ำกลั่น 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร
4. นำค่าที่วัดได้เทียบกับกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสโดยการคำนวณ

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

การทำกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส ใช้สารละลายน้ำตาลกลูโคสมาตรฐานความเข้มข้น 20 40 60 80 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตรแทนตัวอย่าง จากนั้นทำการวิเคราะห์ตามข้อ 2.1-2.3 นำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตรที่ได้และความเข้มข้นของสารละลายกลูโคสมาตรฐานมาสร้างกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส



ภาพที่ ข.1 กราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลไซโลสโดยวิธี Deschatelets and Yu method (1986)

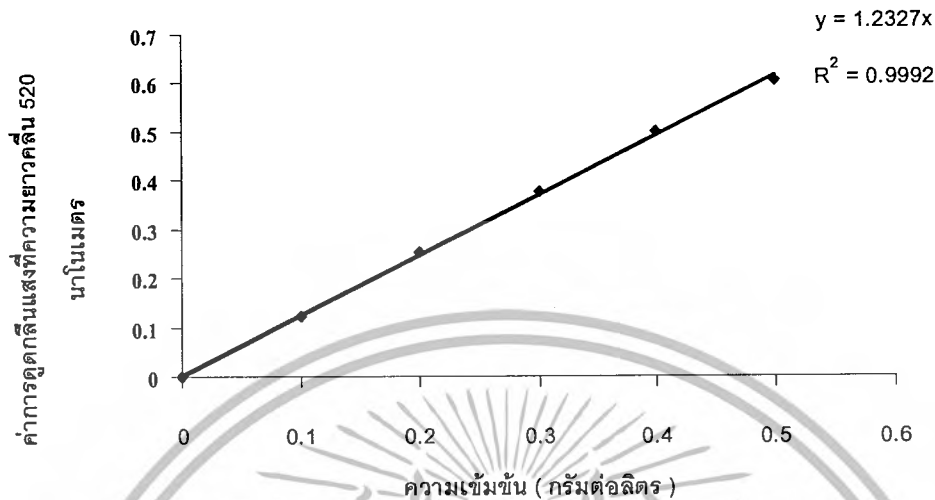
การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลไซโลสอาศัยการเกิดเฟอฟูรัล (furfural) จากน้ำตาลเพนโตสในสารละลายกรดอะซิดิกที่มีไทโอยูเรีย (thiourea) อยู่แล้วเติม 4-โบรโมแอนิลีน (4-bromoaniline) เพื่อทำปฏิกิริยากับเฟอฟูรัลได้เป็นสารละลายสีชมพู

1. สารละลาย 4-โบรโมแอนิลีนรีเอเจนต์ (4-bromoaniline reagent) เตรียมโดยละลายไทโอยูเรีย 4 กรัม ในกรดอะซิดิกเข้มข้นปริมาตร 100 มิลลิลิตร แล้วกรองแยกส่วนใสออกมา (กรดอะซิดิกเข้มข้นด้วยไทโอยูเรีย) จากนั้น ละลาย 4-โบรโมแอนิลีนลงในส่วนใสนั้น
2. สารละลายน้ำตาลไซโลสมาตรฐาน เตรียมโดยละลายน้ำตาลไซโลสหนัก 0.1 กรัม ในน้ำกลั่น 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. ปิเปตต์สารละลายตัวอย่าง หรือสารละลายน้ำตาลไซโลสมาตรฐานปริมาตร 0.8 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง
2. เติมสารละลาย 4-โบรโมแอนิลีนรีเอเจนต์ ปริมาตร 4 มิลลิลิตร ลงไปแล้วเขย่าให้เข้ากัน
3. นำไปบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที
4. ทำให้เย็นอย่างรวดเร็วแล้วบ่มต่อในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 70 นาที
5. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร
6. นำค่าการดูดกลืนแสงไปเทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อหาความเข้มข้นของน้ำตาลไซโลส ในสารละลายตัวอย่างหรือคำนวณ

$$\text{ปริมาณน้ำตาลไซโลส (กรัมต่อลิตร)} = \frac{(\text{ค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร}) \times (\text{อัตราการใช้เจือจาง})}{\text{ความเข้มข้นของกราฟมาตรฐาน}}$$



ภาพที่ ข.2 กราฟมาตรฐานของน้ำตาลไซลิทอล

สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลไซลิทอลโดยวิธี Adler and Gastafsson (1980)

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

1. สารละลายเพอร์ไอโอเดตรีเอเจนต์ (periodate reagent ; NaIO_4 0.015 โมลาร์ ใน HCl 0.16 โมลาร์) เตรียมโดยละลายโซเดียมเมตาเพอร์ไอโอเดต (NaIO_4) 3.2084 กรัม ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร เติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นลงไป 13.3 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร
2. บิวเทน-2,3-ไดออลความเข้มข้น 0.002 โมลาร์ เตรียมโดยบีเปตต์ บิวเทน-2,3-ไดออลปริมาตร 1.8 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร
3. สารละลายเพนเทน-2,4-ไดโอน (เตรียมใช้ทันที) เตรียมโดยละลายแอมโมเนียมอะซิเตต 154.16 กรัม ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร เติมกรดอะซิติกเข้มข้นปริมาตร 40 มิลลิลิตร แล้วเติมเพนเทน-2,4-ไดโอน ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร

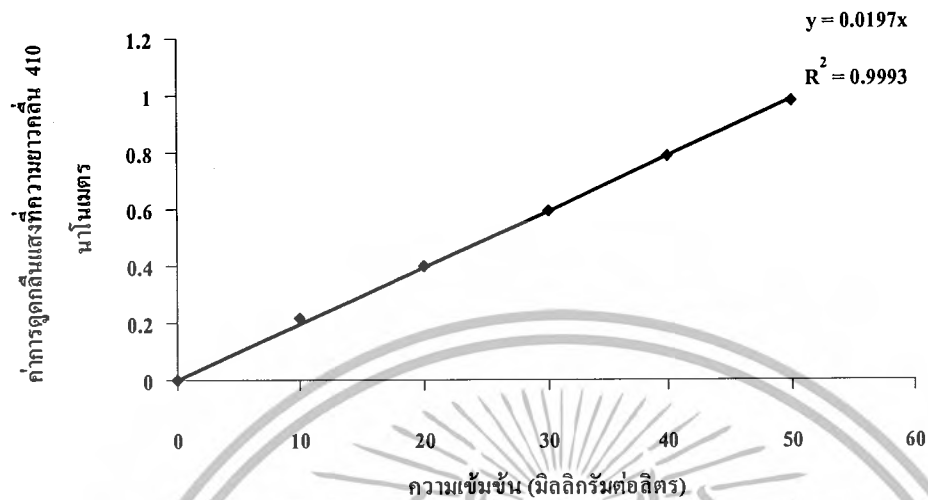
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

วิธีการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลไซลิทอลโดยวิธี Adler and Gastafsson method (1980)

1. ปิเปตต์สารละลายตัวอย่างหรือสารละลายน้ำตาลไซลิทอลมาตรฐาน (ความเข้มข้นน้ำตาลไซลิทอล 10-50 มิลลิกรัมต่อลิตร) ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง
2. เติมเพอร์ไอออกไซด์ลงไป 1.0 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 นาที
3. เติมสารละลายบิวเทน-2,3-ไดออกไซด์ ความเข้มข้น 0.002 โมลต่อลิตร ลงไป 1.0 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน
4. เติมสารละลายเพนแทน-2,4-ไดโอน ลงไป 2.0 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน
5. นำไปบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที
6. ทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้องแล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร
7. นำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตรและความเข้มข้นของน้ำตาลไซลิทอล ไปสร้างกราฟมาตรฐานน้ำตาลไซลิทอล
8. การหาปริมาณของน้ำตาลไซลิทอลในสารละลายตัวอย่าง สามารถคำนวณได้จาก

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



ภาพที่ ข.3 กราฟมาตรฐานของน้ำตาลไซลิทอล

การเตรียมผงถ่านกัมมันต์เพื่อใช้ในการลดปริมาณสารพิษด้วยวิธีการดูดซับ

สามารถเตรียมได้โดยนำผงถ่านกัมมันต์มาแช่ในสารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 0.4 โมลต่อลิตร เป็นเวลา 1 วัน จึงกรองแยกผงถ่านกัมมันต์ที่อิ่มตัวด้วยกรดออกมา ล้างด้วยน้ำกลั่น แล้วนำไปอบให้แห้ง

ภาคผนวก ค.

การวิเคราะห์ทางสถิติ

Complete Randomized Design (CRD)

เป็นแบบแผนการทดลองที่มีการจัดการทดลองทั้งหมดในหน่วยทดลอง (experimental unit) โดยวิธีสุ่ม โดยให้หน่วยทดลองแต่ละหน่วยมีโอกาสได้รับสิ่งทดลองแต่ละชนิดเท่าๆกัน สำหรับ CRD ความแตกต่างระหว่างหน่วยทดลองหลายๆหน่วยที่ได้รับสิ่งทดลองเดียวกันเรียกว่า “ ความคลาดเคลื่อนของการทดลอง (experimental error) “ ดังนั้น CRD จึงเหมาะสำหรับการทดลองที่มีหน่วยซ้ำเหมือนกันทั้งหมด ได้แก่งานทดลองในห้องปฏิบัติการ ซึ่งสามารถควบคุมสิ่งแวดล้อมให้สม่ำเสมอได้ง่าย

การวิเคราะห์ความแปรปรวน การตรวจสอบความแตกต่างระหว่างสิ่งทดลองที่ศึกษากระทำโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) โดยที่แหล่งความแปรปรวนของ CRD แบ่งเป็น 2 ชนิด คือ ความแปรปรวนของสิ่งทดลอง(treatment variation) และความคลาดเคลื่อนของการทดลอง(experimental error) แสดงเป็นรูปตารางได้ดังนี้

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

วิธีคำนวณ

ให้ t คือ จำนวนชนิดของตัวอย่าง และ r คือ จำนวนซ้ำ

1. คำนวณค่า Degree of Freedom (df)

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

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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น. ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

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

$$\text{Total SS} = X_1^2 + x_2^2 + \dots - CF$$

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

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

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. เปิดตาราง F ที่ Treatment df และ Error df ที่นัยสำคัญ 5% และ 1%

6. นำค่าที่คำนวณได้ทั้งหมดตั้งแต่ 1-5 ใส่ในตารางวิเคราะห์

7. เปรียบเทียบค่า F value ที่คำนวณได้กับค่า F ที่ได้จากราย

ถ้า F value น้อยกว่าค่า F จากรายที่ 5% แสดงว่า treatment ไม่แตกต่างกันทางสถิติ
แสดงโดยเขียนสัญลักษณ์ ns เื่องบนค่า F value

ถ้า F value มากกว่าค่า F จากรายที่ 5% แสดงว่า treatment มีความแตกต่างกันทางสถิติ
แสดงโดยเขียนสัญลักษณ์ * เื่องบนค่า F value

ถ้า F value มากกว่าค่า F จากรายที่ 1% แสดงว่า treatment มีความแตกต่างกันทางสถิติ
แสดงโดยเขียนสัญลักษณ์ ** เื่องบนค่า F value

ภาคผนวก ง.

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ

ตารางที่ ง. การวิเคราะห์ความแปรปรวนการผลิตน้ำตาลไซลิทอลจากเซลล์อิสระและเซลล์ตรึง

Source of variation	Degree of Freedom	Sum of Squares	Mean of Squares	F Value
Treatment	1	4.000	4.000	11.494
Error	2	0.695	0.348	
Total	3	4.695		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้