สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การผลิตไซลิทอลจากไซโลส โดยเชื้อยีสต์ *Candida guilliermondii* TISTR 5206 (NCYC 145)

นางสาว ชาลินี คงสวัสดิ์
นางสาว วิบูลย์ศรี เรืองทวีสิน
นาย สุวิชา บุญเลี้ยง

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2538

ปพ.
ช526ก
เลขหมู่ 2538
เลขทะเบียน 25414
วัน, เดือน, ปี 9 ก.ค. 2539

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Production of Xylitol from D-xylose by *Candida guilliermondii* TISTR 5206 (NCYC 145)

Miss Chalinee Kongsawat

Miss Wiboonsri Ruangtweesin

Mrs. Suvicha Boonleang

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

1995

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การผลิตไซลิทอลจากไซโลส โดยเชื้อยีสต์ *Candida guilliermondii* TISTR 5206 (NCYC 145)
โดย	1. นางสาว ชาลินี คงสวัสดิ์
	2. นางสาว วิบูลย์ศรี เรืองทวีสิน
	3. นาย สุวิชา บุญเลี้ยง
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์ เหมือนหมาย อภินทนาพงศ์

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

---------- หัวหน้าภาควิชา
(ดร. อุ่นเรือน ศิริวานิชกุล)

คณะกรรมการโครงงานพิเศษ

---------- ประธานกรรมการ
(รส.ดร. ดุษณี ธนะบริพัฒน์)

---------- กรรมการ
(อาจารย์ อารี กังแฮ)

---------- กรรมการ
(อาจารย์ เหมือนหมาย อภินทนาพงศ์)

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การผลิตจากไซโลสโดยเชื้อยีสต์ *Candida guilliiermondii* TISTR 5206 (NCYC 145)	
โดย	1. นางสาว ชาลินี	คงสวัสดิ์
	2. นางสาว วิบูลย์ศรี	เรืองทวีสิน
	3. นาย สุวิชา	บุญเลี้ยง
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์ เหมือนหมาย	อภินทนาพงศ์
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์	
ปีการศึกษา	2538	

ไซลิทอล (xylitol) เป็นน้ำตาลแอลกอฮอล์ตัวหนึ่ง สังเคราะห์โดยกระบวนการทางเคมีที่เรียกว่า ไฮโดรจีเนชั่น (hydrogenation) จากน้ำตาลไซโลส หรือกระบวนการหมักจากเชื้อจุลินทรีย์บางชนิด โดยใช้ไซโลสเป็นสารตั้งต้น ในอุตสาหกรรรรมได้มีการใช้ไซลิทอลกันอย่างแพร่หลายมากขึ้น แต่การใช้ไซลิทอลในผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมีข้อจำกัดอยู่ที่การผลิตไซลิทอลมีต้นทุนสูง โครงงานพิเศษนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษา ความสามารถในการผลิตไซลิทอลจากไซโลสโดย *Candida guilliiermondii* TISTR 5206 (NCYC 145) จากสภาวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ในสภาวะการให้อากาศความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง พีเอช 6.5-7.0 ในอาหาร YM (yeast malt extract) ที่มีอัตราส่วนกลูโคสต่อไซโลสต่าง ๆ พบว่าอัตราส่วนกลูโคสต่อไซโลส 5:15 กรัมต่อลิตร และเติมเชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลผลิตไซลิทอลสูงสุด โดยผลิตไซลิทอลได้ 1.699 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 62 ของการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title	Production of xylitol from D-xylose by *Candida guilliermondii* TISTR 5206 (NCYC 145)
Name	Miss Chalinee Kongsawat
	Miss Wiboonsri Ruangtweesin
	Mr. Suvicha Boonleang
Special Project Advisor	Mrs. Muanmai Apintanapong .
Department	Applied Biology
Academic Year	1995

Xylitol is polyol that can synthesize from xylose by hydrogenation or fermentation of some microorganisms. Nowadays, xylitol is widely used in industry but the price is still too expensive to use as raw material in food industry . Therefore, the application of microorganism in xylitol production from low cost raw material is found to be more attractive than chemical processing.

This special project was conducted to evaluate the possibility in xylitol production from xylose by *Candida guilliermondii* TISTR 5206 (NCYC 145). Medium used in fermentation contained with glucose and xylose in different ratio. The experiment was done in differente sugar ratio medium to determine and compare biomass and xylitol productions between 5 and 10% v/v of inoculum. All results showed that inoculum volume and sugar concentration directly affected biomass growth, substrate consumption and product formation. Maximum xylitol production (1.669 g/l) was achieved in 62 hours for medium contained with 5:15 g/l of glucose and xylose at 10% v/v of inoculum.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษฉบับนี้ ได้จัดทำขึ้นตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต คณะผู้จัดทำขอขอบพระคุณ อาจารย์เหมือนหมาย อภินทนาพงศ์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ และอาจารย์มงคล เพ็ญสายใจ ที่ให้ความรู้ข้อเสนอแนะ รวมทั้งได้กรุณาตรวจทานแก้ไขทางด้านภาษาและคำแนะนำต่าง ๆ รศ.ดุษฎี ธนะบริพัฒน์ ประธานกรรมการ และอาจารย์อารี กังแฮ กรรมการพิจารณาโครงงานพิเศษ รวมทั้งเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่กรุณาให้ยืมอุปกรณ์และสารเคมีต่าง ๆ สำหรับทำการทดลอง.

สุดท้ายขอขอบคุณ คุณสุนันท์ แห่งศูนย์เครื่องมือจุฬา นายเกรียงศักดิ์ เลิศประภามงคล นางสาว มาริษา สำราญ และน้อง ๆ คณะวิศวกรรมศาสตร์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ด้านเอกสาร คอยช่วยเหลือในการจัดทำโครงงานพิเศษนี้

คณะผู้จัดทำ

มีนาคม 2539

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญตาราง	ง
สารบัญรูป	จ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 ตรวจเอกสาร	4
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการ	26
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิธีการ	31
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	41
เอกสารอ้างอิง	43
ภาคผนวก ก อาหารเลี้ยงเชื้อ	44
ภาคผนวก ข โพลิออล์ (polyol)	46

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 2.1	องค์ประกอบไซลิทอลในผักและผลไม้	5
ตารางที่ 2.2	คุณสมบัติทางฟิสิกส์และเคมีที่สำคัญของไซลิทอล	6
ตารางที่ 2.3	องค์ประกอบของวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรกรรม	12
ตารางที่ 2.4	องค์ประกอบของสารละลายน้ำตาลที่ได้จากการไฮโดรไลซิส	13
ตารางที่ 2.5	องค์ประกอบของสารละลายแอลกอฮอล์ที่ได้จากการไฮโดรจีเนชั่น	16
ตารางที่ 2.6	กระบวนการเมตาบอลิซึมของน้ำตาลไซโลสโดยยีสต์	19
ตารางที่ 4.1	แสดงการผลิตชีวมวล ไซลิทอลและการใช้ไซโลสในอาหารที่มีอัตราส่วนกลูโคสต่อไซโลสต่าง ๆ กัน โดยมีปริมาณเชื้อเริ่มต้น 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร)	41
ตารางที่ ข1	คุณสมบัติต่าง ๆ ทางกายภาพและทาง organoleptic ของน้ำตาลแอลกอฮอล์	49
ตารางที่ ข2	คุณสมบัติของน้ำตาลชนิดต่าง ๆ	49
ตารางที่ ข3	คุณสมบัติต่าง ๆ ของน้ำตาลและแอลกอฮอล์ของน้ำตาลชนิดต่าง ๆ	50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

		หน้า
รูปที่ 2.1	ผลึกน้ำตาลไซลิทอล	4
รูปที่ 2.2	ผลึกน้ำตาลซูโครส	5
รูปที่ 2.3	การผลึกไซลิทอลจากน้ำตาลไซโลสโดยกระบวนการทางเคมี	12
รูปที่ 2.4	กรรมวิธีการผลิตไซลิทอลและไซโลส	14
รูปที่ 2.5	การผลิตไซลิทอลบริสุทธิ์จากเนื้อไม้ 100 กรัม	15
รูปที่ 3.1	เชื้อ *Candida guilliiermondii* TISTR 5206 (NCYC 145) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40x	26
รูปที่ 3.2	เชื้อ *Candida guilliermondii* TISTR 5206 (NCYC 145) ที่อยู่ใน slant	27
รูปที่ 4.1	กราฟแสดงปริมาณไซลิทอลที่ได้จากการผลิตโดยใช้อาหารที่มีอัตราส่วนของกลูโคสและไซโลสต่าง ๆ เมื่อใช้ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์	32
รูปที่ 4.2	กราฟแสดงปริมาณชีวมวล ไซโลส และ ไซลิทอล ในอาหารกลูโคสต่อไซโลส 0:20 เชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์	33
รูปที่ 4.3	กราฟแสดงปริมาณชีวมวล ไซโลส และ ไซลิทอล ในอาหารกลูโคสต่อไซโลส 5:15 เชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์	34
รูปที่ 4.4	กราฟแสดงปริมาณชีวมวล ไซโลส และ ไซลิทอล ในอาหารกลูโคสต่อไซโลส 10:10 เชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์	35
รูปที่ 4.5	กราฟแสดงปริมาณชีวมวล ไซโลส และ ไซลิทอล ในอาหารกลูโคสต่อไซโลส 20:0 เชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์	36
รูปที่ 4.6	กราฟแสดงปริมาณไซลิทอลที่ได้จากการผลิตโดยใช้อาหารที่มีอัตราส่วนของกลูโคสและไซโลสต่าง ๆ เมื่อใช้ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 5 เปอร์เซ็นต์	37
รูปที่ 4.7	กราฟแสดงปริมาณชีวมวล ไซโลส และ ไซลิทอล ในอาหารกลูโคสต่อไซโลส 0:20 เชื้อเริ่มต้น 5 เปอร์เซ็นต์	38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

		หน้า
รูปที่ 4.8	กราฟแสดงปริมาณชีวมวล ไซโลส และ ไซลิทอล ในอาหารกลูโคสต่อไซโลส 5:15 เชื้อเริ่มต้น 5 เปอร์เซ็นต์	39
รูปที่ 4.9	กราฟแสดงปริมาณชีวมวล ไซโลส และ ไซลิทอล ในอาหารกลูโคสต่อไซโลส 10:10 เชื้อเริ่มต้น 5 เปอร์เซ็นต์	40
รูปที่ ก1	อาหารเลี้ยงเชื้อ	46
รูปที่ ข1	สูตรโครงสร้างของสารโพลิออล์ (polyol) ชนิดต่าง ๆ	47
รูปที่ ข2	แผนผังการผลิตสารให้ความหวานพวกคาร์โบไฮเดรต	48

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

ไซลิทอล (xylitol) เป็นสารให้ความหวานที่มีความหวานเหมือนกับน้ำตาลทั่วไป จัดเป็นน้ำตาลแอลกอฮอล์ (sugar alcohol) ตัวหนึ่งที่พบตามธรรมชาติในผักและผลไม้ อาทิ กะหล่ำปลี มะเขือยาว สตรอเบอรี่ เป็นต้น น้ำตาลชนิดนี้ไม่มีกลิ่น ให้ความหวานใกล้เคียงกับน้ำตาลทราย และให้ความรู้สึกเย็นลิ้นนิด ๆ เวลารับประทาน

ในอุตสาหกรรมอาหาร พบว่ามีแนวโน้มการใช้ไซลิทอลได้อย่างกว้างขวางในผลิตภัณฑ์ขนมอบ แยมและมาร์มาแลด และผลิตภัณฑ์ขนมหวาน เป็นต้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งในหมากฝรั่ง เนื่องจากข้อดีของไซลิทอลคือเป็นน้ำตาลที่จุลินทรีย์น้อยชนิดที่สามารถใช้เป็นแหล่งอาหารได้ และเป็นน้ำตาลที่จุลินทรีย์ในช่องปากคนใช้ไม่ได้ จึงไม่มีปัญหาเรื่องฟันผุเหมือนการรับประทานน้ำตาลทั่ว ๆ ไป และไม่เสื่อมเสียง่าย สามารถเก็บรักษาได้นาน ไซลิทอลมีคุณสมบัติเฉพาะหลายประการที่เหมาะสมสามารถใช้ทดแทนน้ำตาลได้ แต่การใช้ไซลิทอลมีข้อจำกัดอยู่บ้าง โดยเฉพาะในเครื่องดื่มประเภทน้ำอัดลม ซึ่งผู้บริโภคมีโอกาสจะได้รับไซลิทอลมากเกินไปจะทำให้ท้องเสียได้ นอกจากนี้ ไซลิทอลไม่เกิดปฏิกริยา Maillard Browning อาจไม่เหมาะสมกับผลิตภัณฑ์ที่ต้องการคุณสมบัติคาราเมล ส่วนในทางการแพทย์มีการใช้ไซลิทอลเป็นอาหารทางสายของผู้ป่วยและเป็นอาหารของผู้ป่วยโรคเบาหวาน

สำหรับไซลิทอลที่นำมาใช้ในปัจจุบันโดยมากจะผลิตโดยกระบวนการทางเคมี ที่เรียกว่า ไฮโดรจีเนชั่น (hydrogenation) จากน้ำตาลไซโลส (xylose) ซึ่งวิธีนี้มีข้อเสียในเรื่องของต้นทุนและกระบวนการผลิตที่อาจทำให้มีสารปนเปื้อนออกมาด้วย จึงมีผู้คิดค้นหาวิธีอื่น ๆ ในการผลิตไซลิทอล ซึ่งค้นพบว่าวิธีการหมัก (fermentation) โดยเชื้อจุลินทรีย์จากน้ำตาลไซโลส หรือจากวัสดุเหลือทิ้งที่มีน้ำตาลไซโลสเป็นส่วนประกอบ เช่น ฟางข้าว ซังข้าวโพด เป็นต้น เป็นวิธีหนึ่งที่นำมาใช้

จากเหตุผลดังกล่าวจึงได้มีการทดลองผลิตไซลิทอลโดยการหมักด้วยเชื้อยีสต์สายพันธุ์ *Candida guilliermondii* จากน้ำตาลไซโลส โดยในอาหารประกอบด้วยกลูโคสต่อไซโลส ในอัตราส่วน 0:20 , 5:15 , 10:10 และ 20:0 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยเปรียบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เทียบที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น ระหว่าง 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ เพื่อศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไซลิทอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์

1.เพื่อศึกษาการหมักน้ำตาลไซโลส เพื่อผลิตไซลิทอลโดยเชื้อจุลินทรีย์

2.เพื่อศึกษาความสามารถในการผลิตไซลิทอลของเชื้อยีสต์ *Candida guilliermondii* TISTR 5206 (NCYC 145) โดยการหมักจากน้ำตาลไซโลส และกลูโคส

3.เพื่อศึกษาสภาวะบางอย่าง ได้แก่ สารอาหาร และปริมาณเชื้อเริ่มต้น ที่เหมาะสมในการผลิตไซลิทอลโดยเชื้อยีสต์ *Candida guilliermondii*

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.เป็นแนวทางในการศึกษาการผลิตไซลิทอลในการหมักโดยเชื้อจุลินทรีย์จากไซโลส

2.เป็นแนวทางในการนำไปสู่การนำน้ำตาลไซโลสที่ได้จากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรมาใช้ประโยชน์ในการผลิตไซลิทอลเพื่อลดต้นทุนในการผลิต

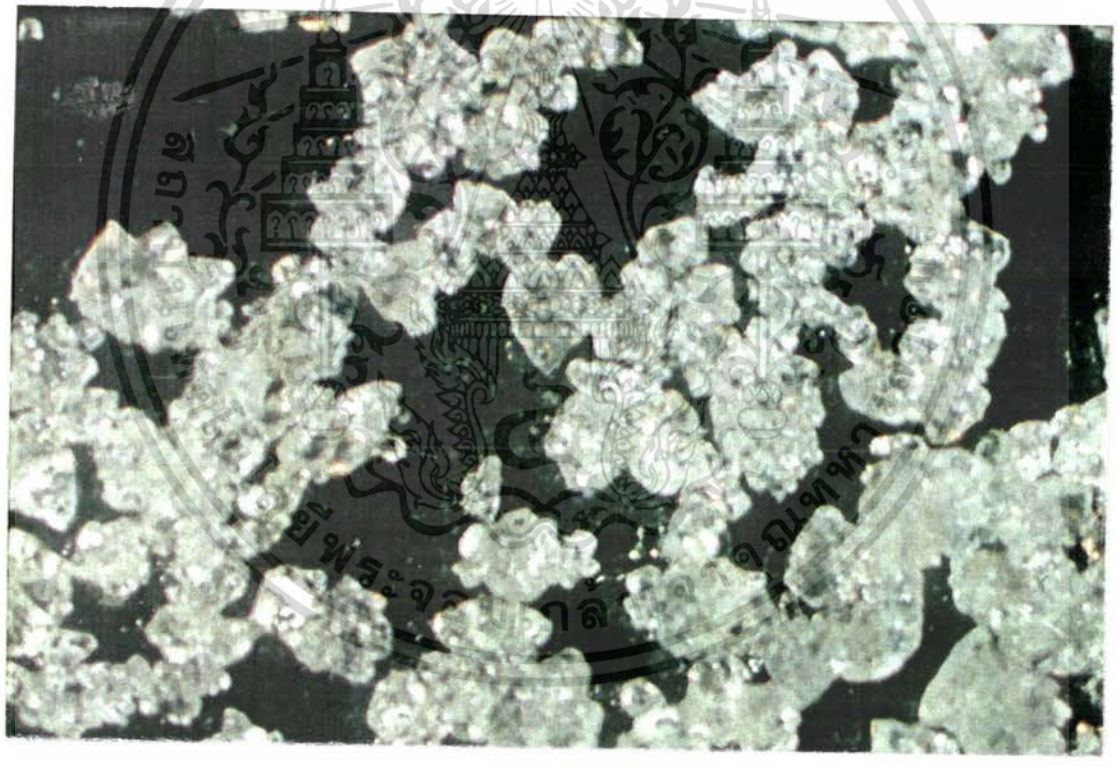
3.ได้สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไซลิทอลโดยเชื้อยีสต์ *Candida guilliermondii* TISTR 5206 (NCYC 145)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

ไซลิทอล (xylitol) จัดเป็นน้ำตาลแอลกอฮอล์ (sugar alcohol) หรือ โพลิออล์ (polyol) (ภาคผนวก ข) ตัวหนึ่งที่พบตามธรรมชาติในผักและผลไม้ (ตารางที่ 2.1) และสามารถสังเคราะห์ได้โดยกระบวนการทางเคมีที่เรียกว่าไฮโดรจีเนชั่น (hydrogenation) จากน้ำตาลไซโลส (xylose) หรือสามารถผลิตได้จากกระบวนการหมัก(fermentation)โดยจุลินทรีย์จากวัสดุเหลือทิ้งที่มีไซโลสเป็นองค์ประกอบ



รูปที่ 2.1 ผลึกน้ำตาลไซลิทอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.2 ผลึกน้ำตาลซูโครส (น้ำตาลทราย)

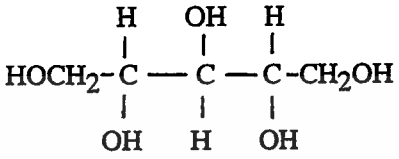
ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบไซลิทอลในผักและผลไม้

ผักและผลไม้	ปริมาณไซลิทอล (มก./100 กรัม น.น.แห้ง)
Raspberries	268
Strawberries	362
Yellow plums	935
Endives	258
Lettuce	131
Cauliflower	300
Spinach	107
Eggplant	180
Yellow boletus mushroom	128

ที่มา : Emodi (1987)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 คุณสมบัติทางฟิสิกส์และทางเคมีที่สำคัญของไซลิทอล (Emodi, 1987)

สูตรโครงสร้าง	$C_5H_{12}O_5$
โครงสร้าง	
น้ำหนักโมเลกุล	152.1
รูปร่าง	ผงผลึก
สี	สีขาว
รสชาติ	รสหวาน
กลิ่น	ไม่มีกลิ่น
ความหวานสัมพัทธ์	ไซลิทอล (85-120) มีความหวานโดยประมาณเท่ากับน้ำตาลซูโครส (100) แต่หวานมากกว่ากลูโคส (70), ไซโลส (67), ซอบิทอล (50) และแมนนิทอล (40) แต่มีความหวานน้อยกว่าฟรุคโตส (150)
จุดหลอมเหลว	93.4 - 94.7 องศาเซลเซียล
จุดเดือด	216 องศาเซลเซียล
การละลายในน้ำ	64.2 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร
การละลายในเอธานอล	1.2 กรัมต่อ 100 มิลลิตร
การละลายในเมธานอล	6.0 กรัมต่อ 100 มิลลิตร
การดูดความชื้น	ในที่ที่มีความชื้นสูง จะดูดความชื้นได้มากกว่าน้ำตาลซูโครส แต่ดูดความชื้นได้ น้อยกว่าซอร์บิทอล
สารปนเปื้อน	แมนนิทอล, ซอร์บิทอล, กาแลคทินอล, อาราบิทอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 สรุปถึงคุณสมบัติทางเคมีและฟิสิกส์ที่สำคัญของไซลิทอล ส่วนคุณสมบัติอื่น ๆ ที่น่าสนใจ มีดังนี้

1. ไซลิทอลละลายได้ง่ายในน้ำ ได้สารละลายที่มีความคงตัวสูง แม้จะถูกความร้อน หรือเก็บทิ้งไว้นาน และไม่เกิดปฏิกริยา maillard browning และ caramelization อย่างน้ำตาลฟรุคโตสและเด็กซโตรส เมื่อใช้ความร้อนสูงกว่า 150 องศาเซลเซียสซึ่งเป็นข้อเสียในการใช้ไซลิทอล ในผลิตภัณฑ์ที่ต้องการคุณสมบัติดังกล่าว และเนื่องจากมีจุลินทรีย์ไม่มากนักที่สามารถใช้ไซลิทอลได้ จึงทำให้ผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนประกอบของไซลิทอลเก็บรักษาไว้ได้นานไม่เสียง่าย

2. ไซลิทอลให้รสชาติดีและเย็นสดชื่น (cooling effect) คล้ายกับเมนทอลเนื่องจากการละลายของไซลิทอลต้องการความร้อน (endothermic dissolution) คือมีค่าความร้อนจำเพาะในการละลายเป็นลบ (-34.8 แคลอรี่ต่อกรัม)ซึ่งคุณสมบัติดังกล่าวดีกว่าซอร์บิทอล (-26.5 แคลอรี่ต่อกรัม)

3. ไซลิทอลมีความหวานเช่นเดียวกับน้ำตาลทั่วไป แต่มีความหวานมากกว่าแมนนิทอลและซอร์บิทอล 2.5 และ 2 เท่าตามลำดับ เมื่อเทียบกับน้ำตาลซูโครสจะมีความหวานตั้งแต่ 0.85 ถึง 1.25 เท่า ซึ่งขึ้นอยู่กับค่าพีเอช ความเข้มข้น และอุณหภูมิ เป็นต้น ตัวอย่างเช่น ไซลิทอล ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ หากความเข้มข้นมากซูโครสจะหวานกว่าหรือความหวานสัมพัทธ์ (relative sweetness) ของไซลิทอลเมื่อเทียบกับซูโครสจะลดจาก 103 เป็น 78 เมื่อเพิ่มอุณหภูมิของสารละลายไซลิทอล 5 เปอร์เซ็นต์ จาก 5 องศาเซลเซียส ถึง 50 องศาเซลเซียส เป็นต้น

4. พลังงาน (caloric value) ต่ำกว่า พลังงานที่ได้จากไซลิทอล 1 กรัม เท่ากับ 4.06 กิโลแคลอรี่ ซึ่งเหมือนกับพลังงานที่ได้จากอาหารคาร์โบไฮเดรททั่ว ๆ ไป แต่การใช้ไซลิทอลผสมกับน้ำตาลหรือสารให้ความหวานชนิดอื่น สามารถลดแคลอรี่ได้ 50-70 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งได้มีการใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มประเภท ชา กาแฟ น้ำผลไม้และน้ำอัดลม จึงเหมาะสมกับผู้บริโภคที่ต้องการควบคุมน้ำหนัก (dietary purpose) เป็นอย่างดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. ไซลิทอลป้องกันฟันผุ (non-cariogenicity) เนื่องจากจุลินทรีย์ในช่องปาก เช่น *Streptococci* ไม่สามารถใช้ไซลิทอลเป็นแหล่งอาหาร ทำให้สภาพพีเอชบนเคลือบฟันไม่ต่ำกว่า 5.7 คือไม่มีการผลิตกรดเกิดขึ้นอย่างกรณีใช้น้ำตาลกูลโคส เป็นต้น จึงลดการเกิดฟันผุได้

การใช้ไซลิทอลมีข้อจำกัด เนื่องจากการบริโภคเป็นจำนวนมาก ๆ ในเวลาเดียวกันจะทำให้เกิดอาการท้องเสีย (osmotic diarrhea) ได้ เพราะไซลิทอลมีคุณสมบัติเป็นยาระบาย (laxative properties) จากการศึกษาในคนอเมริกันพบว่า ปริมาณไซลิทอลสูงสุดที่ผู้บริโภคยังไม่เกิดอาการข้างเคียงของระบบทางเดินอาหาร (gastrointestinal side effect) คือ 20-30 กรัมในอาหารต่อครั้ง หรือประมาณ 60 กรัมต่อวัน (Culbert et al., 1986) แต่สภาพการปรับตัวต่อการบริโภคไซลิทอลปริมาณมาก ๆ เกิดขึ้นได้เนื่องจากอัตราการดูดซึมไซลิทอลจากผนังลำไส้เพิ่มขึ้น โดยการบริโภคปริมาณน้อย ๆ แต่หลาย ๆ ครั้งแทน ซึ่งสามารถเพิ่มปริมาณการบริโภคจาก 30 กรัมต่อวัน ถึง 120 กรัมต่อวันได้ (Amador & Eisenstein., 1971)

โดยทั่วไปการใช้ไซลิทอลในทางการแพทย์สามารถจำแนกได้ 2 อย่าง คือ เป็นอาหารทางสายของผู้ป่วย (parenteral nutrition) และเป็นอาหารของผู้ป่วยโรคเบาหวาน (diet of diabetics) ในกรณีแรกไซลิทอลมีข้อดีคือ ไม่ทำปฏิกริยากับกรดอะมิโนทำให้การเตรียมอาหารเหลว (infusion solution) ง่ายกว่าการเตรียมโดยน้ำตาลกลูโคส และการใช้ไซลิทอลในร่างกายไม่ขึ้นกับสารอินซูลิน (insulin) จึงทำให้ปัญหาการใช้น้ำตาลกลูโคสของผู้ป่วยหมดไป สำหรับการใช้ไซลิทอลในกรณีหลังนั้น ไซลิทอลเป็นสารให้ความหวานที่ไม่มีผลต่อปริมาณน้ำตาลในเลือดซึ่งเป็นผลดีต่อผู้ป่วยโรคเบาหวานและยังลดปัญหาการเกิดฟันผุอีกด้วย ทำให้มีผลดีต่อผู้ป่วยที่จำเป็นต้องบริโภคเป็นเวลานาน นอกจากนี้ยังพบว่า ไซลิทอลไม่มีคุณสมบัติผ่าเหล่า (mutagenicity) โดยการทดลองในห้องปฏิบัติการ อย่างน้อยก็ทำให้มั่นใจได้ว่าไซลิทอลจะไม่ก่อให้เกิดโรคมะเร็งได้โดยตรง (Batzinger et al., 1977)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การใช้ไซลิทอลในผลิตภัณฑ์อาหาร

ในอุตสาหกรรมอาหารพบว่า มีแนวโน้มการใช้ไซลิทอลได้อย่างกว้างขวางในผลิตภัณฑ์ขนมอบ แยมและมาร์มาเลด และผลิตภัณฑ์ขนมหวาน เป็นต้น เนื่องจากไซลิทอลมีคุณสมบัติเฉพาะหลายประการที่เหมาะสมสามารถใช้ทดแทนการใช้น้ำตาลได้ และยังมีข้อดีของการใช้ไซลิทอลคือ การแก้ปัญหาฟันผุ (tooth decay) อันเกิดจากการบริโภคผลิตภัณฑ์ทั้งหลายที่มีน้ำตาลเป็นสารให้ความหวาน ทว่าการใช้ไซลิทอลก็มีข้อจำกัดอยู่บ้าง โดยเฉพาะในเครื่องดื่มประเภทน้ำอัดลม (soft drinks) ซึ่งผู้บริโภคคงมีโอกาสจะได้รับปริมาณไซลิทอลมากเกินไปจะทำให้ท้องเสียได้หรือสภาพอันหลากหลายของผลิตไซลิทอล เช่น น้ำตาลซูโครสมีผลึกแบบ monoclinic แต่ไซลิทอล มีผลึกแบบ rhombic อาจทำให้เนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์มีลักษณะแข็งกระด้าง อย่างไรก็ตามข้อจำกัดเหล่านี้กล่าวได้ว่าเป็นปัญหารองเมื่อเทียบกับประโยชน์ที่จะได้รับจากการทดแทนน้ำตาลซูโครสด้วยไซลิทอลในผลิตภัณฑ์อาหารทั้งหลาย ซึ่งโดยปกติมักจะให้คุณภาพที่ทัดเทียมกัน หรือดีกว่า อาทิ คุณภาพที่เย็นสดชื่น (cooling effect) ไซลิทอลยังช่วยเพิ่มคุณค่าทางรสชาติจำพวกเปเปอร์มินต์ รสมะนาว และรสผลไม้ทั้งหลาย

ตัวอย่างการใช้ไซลิทอลในผลิตภัณฑ์อาหารมีดังนี้

1. หมากฝรั่ง (Chewing gum)
2. ช็อคโกแล็ต (Chocolate)
3. ท๊อฟฟี่และคาราเมล
4. เจลาติน
5. พุดดิ้ง
6. แยม เยลลี่ และมาร์มาเลด
7. ลูกกวาด
8. ผลิตภัณฑ์ขนมอบ
9. ไอศกรีม
10. ซอสมะเขือเทศและนมข้นหวาน
11. ซอสและอื่น ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

12. โยเกิร์ต

13. เครื่องดื่ม

14. ผลิตภัณฑ์ทางเภสัชกรรม

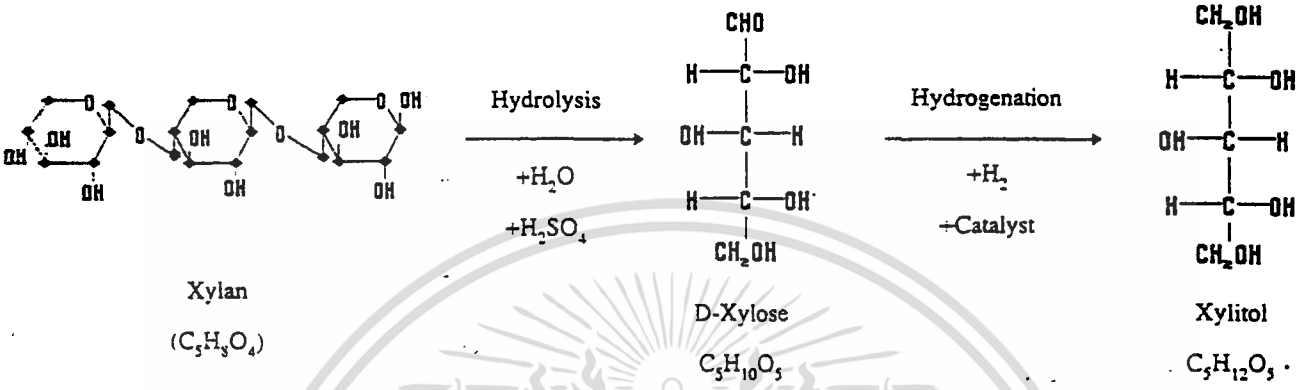
จะเห็นได้ว่าสามารถประยุกต์ไซลิทอลเป็นสารให้ความหวานทดแทนน้ำตาลได้อย่างกว้างขวาง

ปัจจุบันก็ได้มีการใช้ไซลิทอลในผลิตภัณฑ์อาหารแพร่หลายมากขึ้นทั้งในทวีปยุโรปและอเมริกา โดยเฉพาะในหมากฝรั่งและพบว่า มีแนวโน้มที่จะใช้ไซลิทอลมากในอุตสาหกรรมประเภทขนมหวาน (confectionary) และขนมขบเคี้ยว (snack product) แต่การใช้ไซลิทอลในผลิตภัณฑ์ดังกล่าวยังมีข้อจำกัดอยู่ที่การผลิตไซลิทอลมีต้นทุนการผลิตสูงกว่ากระบวนการผลิตน้ำตาล จึงทำให้ราคาของไซลิทอลแพงกว่าน้ำตาลทั่วไป อย่างไรก็ตาม ปัจจุบันได้มีการวิจัยค้นคว้าเพื่อลดต้นทุนในการผลิตไซลิทอลโดยวิธีการหมัก (fermentation) โดยการนำเอาวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่มีองค์ประกอบของน้ำตาลไซโลสใช้เป็นวัตถุดิบ ซึ่งคาดว่าจะทำให้ต้นทุนการผลิตถูกกว่ากระบวนการผลิตทางเคมี (hydrogenation) ได้

การผลิตไซลิทอลในระดับอุตสาหกรรม

เนื่องจากการสกัดไซลิทอลจากแหล่งธรรมชาติที่มีปริมาณต่ำ ย่อมไม่คุ้มในแง่เชิงพาณิชยการผลิตในอุตสาหกรรมได้ใช้กระบวนการไฮโดรจีเนชั่น(hydrogenation) โดยใช้น้ำตาลไซโลส เป็นสารตั้งต้น (Hyvoenen & Koivistoinen, 1982) ดังแสดงในรูปที่ 2.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.3 การผลิตไซลิทอลจากน้ำตาลไซโลสโดยกระบวนการทางเคมี

ซึ่งมีแหล่งวัตถุดิบมากมายที่สามารถใช้เป็นแหล่งของน้ำตาลไซโลสได้ อาทิเช่น วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร เศษเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมไม้ และน้ำทิ้งจากโรงงานทำเยื่อกระดาษ (xylan containing sulfite waste) เป็นต้น ตารางที่ 2.3 ได้สรุปองค์ประกอบของวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรกรรมที่สำคัญที่สามารถนำมาเป็นแหล่งวัตถุดิบในการผลิตไซโลสได้ ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.3 องค์ประกอบของวัสดุเหลือทิ้งทางเกษตรกรรม

วัสดุเหลือทิ้ง	ส่วนประกอบ (% น้ำหนักแห้ง)				
	กลูโคส	ไซโลส	อาราบิโนส	ลิกนิน	เถ้า
ฟางข้าว	39	13.9	4.3	9.9	12.4
ฟางข้าวบาร์เลย์	37.5	15.0	3.96	13.8	10.8
ซังข้าวโพด	37	13.9	3.0	15.1	4.3
ฟางข้าวสาลี	34.7	18.0	2.2	14.5	9.6
เนื้อไม้	กลูโคส	แพนโตแซน (pentosans)		ลิกนิน	
ไม้เนื้อแข็ง	60	23		28	
ไม้เนื้ออ่อน	53	7		23	

ที่มา : Magge and Kosaric (1985)
(คัดลอกจาก ดร.สาโรจน์ ศิริศันสนียกุล, 1994)

รายละเอียดของแต่ละขั้นตอนในการผลิตโดยกระบวนการทางเคมี สรุปโดย ดร.สาโรจน์ ศิริศันสนียกุล (1994) มีดังนี้

1. การไฮโดรไลซิส (hydrolysis) เป็นขั้นตอนการสกัดน้ำตาลไซโลสจากส่วนของเฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) โดยการใช้กรดซัลฟุริกเจือจาง หรือโดยการใช้ด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ รายละเอียดของการไฮโดรไลซิสทางเคมีได้มีการรายงานไว้มากมาย แต่กระบวนการที่น่าสนใจคือการใช้กรดเจือจาง 0.5 -1.0 % ที่อุณหภูมิสูง200-210องศาเซลเซียส เวลาสั้นมากประมาณ 3 วินาที เพื่อสกัดไซโลสจากเฮมิเซลลูโลส เรียกกระบวนการดังกล่าวว่า "Ultrafast Hydrolysis" นอกจากนี้ยังมีความเป็นไปได้ที่จะสกัดไซโลสได้โดยวิธีทางเอนไซม์ แต่ผลผลิตที่ได้ (Yield) ยังคงต่ำเมื่อเทียบกับกระบวนการทางเคมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การทำน้ำตาลไซโลสให้บริสุทธิ์ (xylose purification) หลังจากการไฮโดรไลซิสแล้ว น้ำตาลไซโลสที่มีอยู่ในไฮโดรไลเสท (hydrolysate) จะถูกนำไปทำให้บริสุทธิ์ด้วยขั้นตอน 2 แบบ (Hyvoenen & Koivistqinen, 1982)

2.1 แบบแยกน้ำตาลไซโลส (isolation of xylose) ไฮโดรไลเสทที่ได้จะถูกกรองแยกสารแขวนลอยและตะกอนออกมา ก่อนที่จะถูกนำไปผ่านตัวแยกอิออน (ion exchange) เพื่อกำจัดสีและเกลือ และเพื่อให้ได้สารละลายไซโลสบริสุทธิ์ที่ความเข้มข้น 85-90 เปอร์เซ็นต์ จะต้องใช้วิธีทางโครมาโทกราฟฟี (chromatographic fractionation) เป็นขั้นตอนสุดท้าย

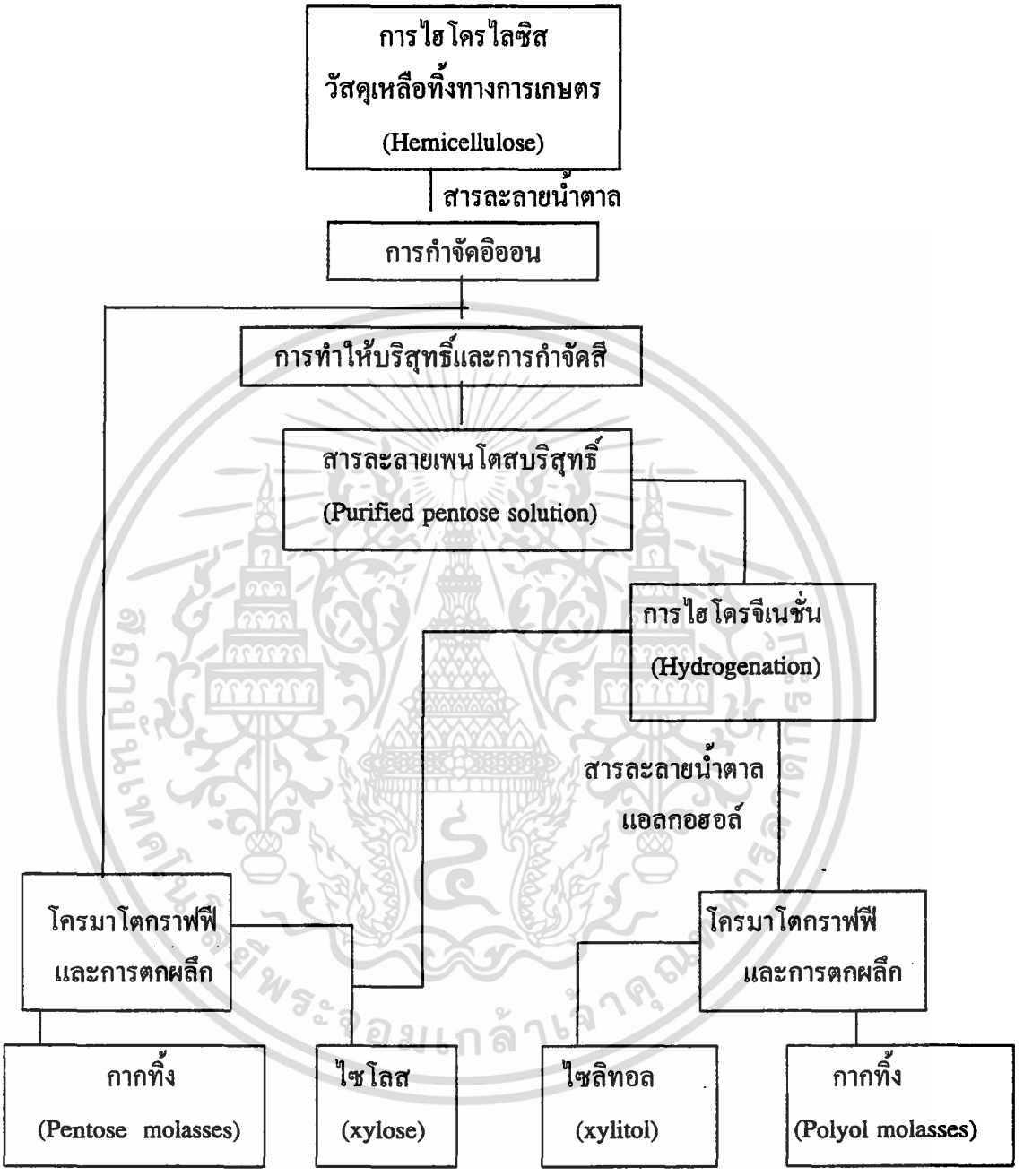
2.2 แบบไม่แยกน้ำตาลไซโลส (non-isolation of xylose) กรณีนี้ไฮโดรไลเสทจะถูกกำจัดอิออนและสีเท่านั้นโดยไม่มีการแยกเอาน้ำตาลชนิดอื่นออกไปด้วยวิธีทางโครมาโทกราฟฟี สารละลายน้ำตาลที่ได้จะประกอบด้วยน้ำตาลชนิดต่าง ๆ โดยมีน้ำตาลไซโลสเป็นองค์ประกอบหลัก (ตารางที่ 2.4)

ตารางที่ 2.4 องค์ประกอบของสารละลายน้ำตาลที่ได้จากการไฮโดรไลซิส

น้ำตาล	%
อาราบิโนส	6.3
ไซโลส	77.5
แมนโนส	7.8
การแลคโทส	4.5
กลูโคส	4.5

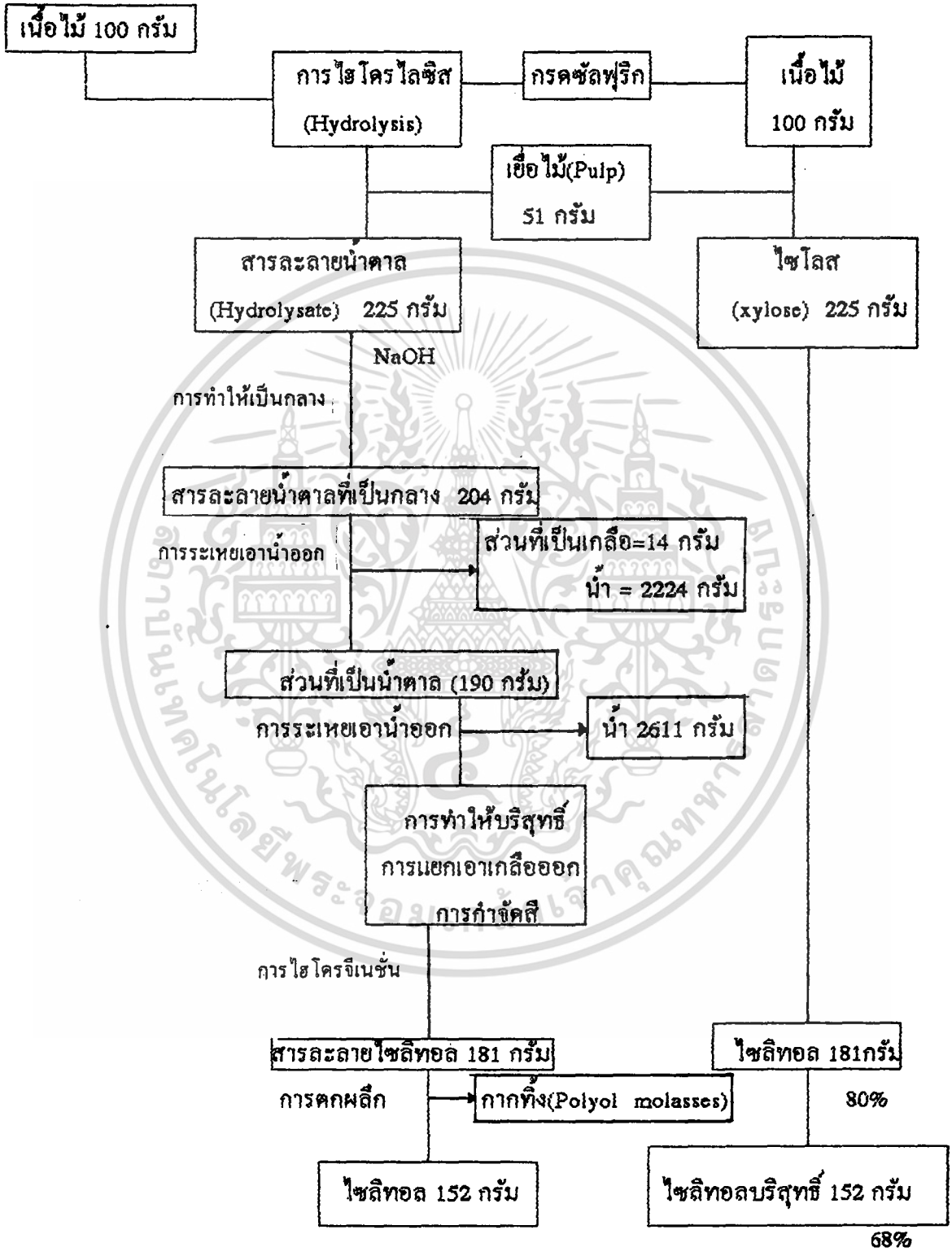
3. การไฮโดรจีเนชั่น (hydrogenation) เป็นขั้นตอนการเปลี่ยนน้ำตาลไซโลสไปเป็นไซลิทอลภายใต้สภาวะความดัน 50 บรรยากาศและอุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2.5 ชั่วโมง โดยมีโลหะนิเกิล (raney nickel) เป็นตัวเร่งปฏิกริยา (catalyst) น้ำตาลทุกตัวจะถูกปฏิกริยาเติมไฮโดนเจนได้เป็นน้ำตาลแอลกอฮอล์ (sugar alcohol) ดังแสดงเอาไว้ในตารางที่ 2.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.4 กรรมวิธีการผลิตไซลิทอลและไซโลส (Melaja & Haemaelaeine,1977)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.5 การผลิตไซลิทอลบริสุทธิ์จากเนื้อไม้ 100 กรัม (Melaja & Haemaelaeinen, 1977)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.5 องค์ประกอบของสารละลายน้ำตาลแอลกอฮอล์ที่ได้จากการไฮโดรจีเนชั่น

น้ำตาลแอลกอฮอล์	%
อาราบิทอล	9
ไซลิทอล	64.5
แมนนิทอล	7.5
กาแลคติทอล	5
ซอร์บิทอล	4.5
อื่น ๆ	9.5

4. การทำไซลิทอลให้บริสุทธิ์ (xylitol purification) หลังจากขั้นตอนไฮโดรจีเนชั่นแล้ว โลหะนิเกิลจะแยกออกไปได้ด้วยการกรอง สารละลายน้ำตาลแอลกอฮอล์ที่ได้จะถูกนำไปแยกให้ได้เฉพาะไซลิทอลโดยวิธีทางโครมาโทกราฟฟี (โดยใช้ polystyrene sulfonate ทำการ crosslink กับ 3-4 เปอร์เซ็นต์ divinyl benzene และทำการแยกสารละลายดังกล่าวที่อุณหภูมิ 51 องศาเซลเซียส) ก่อนที่สารละลายไซลิทอลจะถูกนำไปผ่านขั้นตอนการตกผลึก (crystallization) เพื่อให้ได้ไซลิทอลบริสุทธิ์ (99เปอร์เซ็นต์) ผลผลิตของไซลิทอลเมื่อเทียบกับน้ำตาลไซโลสเริ่มต้นเท่ากับ 68เปอร์เซ็นต์ การผลิตไซลิทอลโดยกระบวนการทางเคมีมีราคาแพง เนื่องจากขั้นตอนการแยกและทำให้บริสุทธิ์ทำได้ยาก ดังนั้นการนำจุลินทรีย์มาใช้ในการผลิตจึงเป็นแนวทางที่น่าสนใจในการผลิตไซลิทอล Nigma และ Singh (1995) ได้รวบรวมกระบวนการผลิตไซลิทอลโดยการใช้จุลินทรีย์ไว้ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การผลิตไซลิทอลโดยวิธีทางเทคโนโลยีชีวภาพ

จากการรวบรวมโดย Nigam และ Singh (1995) สามารถสรุปวิธีการผลิตไซลิทอลโดยวิธีทางเทคโนโลยีชีวภาพ ได้ดังนี้

1. กระบวนการผลิตโดยการเลี้ยงเซลล์จุลินทรีย์

1.1 กระบวนการหมักโดยใช้เชื้อยีสต์ Onishi และ Suzuki (1966) รายงานว่ามีเชื้อ *Candida spp.* เช่น *Candida pelliculosa* , *C. boidinii* , *C. guilliermondii* , *C. tropicalis* และ *Pachysolen tannophilus*

Gong และคณะ (1981) รายงานว่ามิวแตนท์ของ *Candida tropicalis* สามารถผลิตไซลิทอลได้ปริมาณมากจากไซโลส (D-xylose) และไซลูโลส (D-xylulose) และ พบว่ายีสต์บางสายพันธุ์ เช่น *Candida spp* . และ *Pachysolen tannophilus* สามารถผลิตไซลิทอลจากไซโลสได้มากกว่า 15 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำตาลเริ่มต้นของการหมัก

Gong และคณะ (1983) ได้ทดสอบความสามารถในการผลิตไซลิทอล จากไซโลสของเชื้อ *Candida* 20 สายพันธุ์จาก 11 สปีชีส์ เชื้อ *Saccharomyces* 21 สายพันธุ์จาก8สปีชีส์ และ *Shizosaccharomyces pombe* อีก 8 สายพันธุ์ พบว่าทุกสายพันธุ์สามารถผลิตไซลิทอลได้ในอัตราปานกลาง คือ 10 -15 % น้ำหนักต่อปริมาณ *Saccharomyces spp* . ใช้ไซลิทอลได้ไม่ดี แต่สามารถให้ผลผลิตไซลิทอลได้ในปริมาณใกล้เคียงกัน ส่วน *Sc. pombe*

Barbosa และคณะ (1988) ได้ทำการคัดเลือกยีสต์ 44 สายพันธุ์ ที่สามารถเปลี่ยนไซโลสเป็นไซลิทอลได้ พบว่า *Candida guilliermondii* และ *Candida tropicalis* เป็นสายพันธุ์ที่ผลิตไซลิทอลได้ดีที่สุด โดยการใช้ความเข้มข้นสูงของเซลล์ในปริมาณที่สูง และ ทำการเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ ภายใต้สภาวะให้อากาศ จะสามารถผลิตไซลิทอลได้ 77.0 กรัมต่อลิตร จากไซโลส 104 กรัมต่อลิตร สำหรับกลไกการผลิตไซลิทอลนั้น Prior และคณะ (1989) พบว่าไซลิทอลจะถูกขับออกนอกเซลล์เสมือนเป็นผลผลิตพลอยได้ (by-product) ที่ได้จากกระบวนการเมตาบอลิซึมระหว่างการหมักแอลกอฮอล์ ส่วน Barbasa และคณะ (1988) พบว่าไซลิทอลเป็นผลผลิตหลักที่ได้จากการหมักไซโลสโดยตรง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

25414

1.2 กระบวนการหมักโดยใช้เชื้อแบคทีเรีย

ไซลิทอลสามารถผลิตได้โดยใช้แบคทีเรีย เช่น *Enterobacter liquaefaciens* , Corynebacterium sp . และ *Mycobacterium smegmatis* พบว่า *M. smegmatis* สามารถเปลี่ยนไซโลสเป็นไซลิทอลในอัตรา 70 เปอร์เซ็นต์ การศึกษาการผลิตไซลิทอลและใช้ไซโลสที่ได้มาจากใช้เอนไซม์ D-xylose isomerase จากเชื้อ *Bacillus coagulans* และตรึงเซลล์ *M. smegmatis* ได้ไซลิทอล 4 กรัม จากไซโลส 10 กรัม

1.3 กระบวนการหมักโดยใช้เชื้อรา

การเปลี่ยนไซโลสไปเป็นไซลิทอล ในกระบวนการหมักสามารถทำได้ โดยใช้เชื้อราชนิดต่าง ๆ เช่น *Petromyces albertensis*

1.4 กระบวนการหมักโดยใช้เชื้อผสม

Nishio และคณะ (1989) ศึกษาการผลิตไซลิทอลโดยการตรึงเซลล์ของ *Candida pelliculosa* และ *Methanobacterium spp* . ในสภาวะที่เป็น steady-state ใน Column reactor ที่บรรจุด้วยเซลล์ที่ถูกตรึง (Co-immobilized cell) สามารถผลิตไซลิทอลได้อย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 2 สัปดาห์

2. กระบวนการผลิตโดยใช้เอนไซม์

Kitpreechvaich และคณะ(1984) รายงานการผลิตไซลิทอลจากไซโลสโดยใช้เอนไซม์ ที่ได้จากปฏิกริยา D-xylose reduction ของ *Candida pelliculosa* ควบคู่กับเอนไซม์ในระบบ oxido-reductase ของจุลินทรีย์พวก Methanogen ที่สามารถทำให้เกิดการหมุนเวียน NADP(H) ได้ ไซโลสจะถูกเปลี่ยนเป็นไซลิทอลได้ 90 % โดยใช้อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และ pH 7.5 หลังจากบ่ม 24 ชั่วโมง และจากการคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์ ซึ่งประกอบด้วย *Candida pelliculosa* , *Candida pelliculosa var acetaetherius* , *Candida utilis* , *Debaryomyces platypoidus AM 93* และ *Pichia nakazawae* เพื่อใช้ศึกษาความสามารถของเอนไซม์ xylose reductase และพบว่า *Candida pelliculosa* มีความสามารถของเอนไซม์สูงสุด 1.73 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระบวนการเมตาบอลิซึมในการผลิตไซลิทอลจากไซโลส

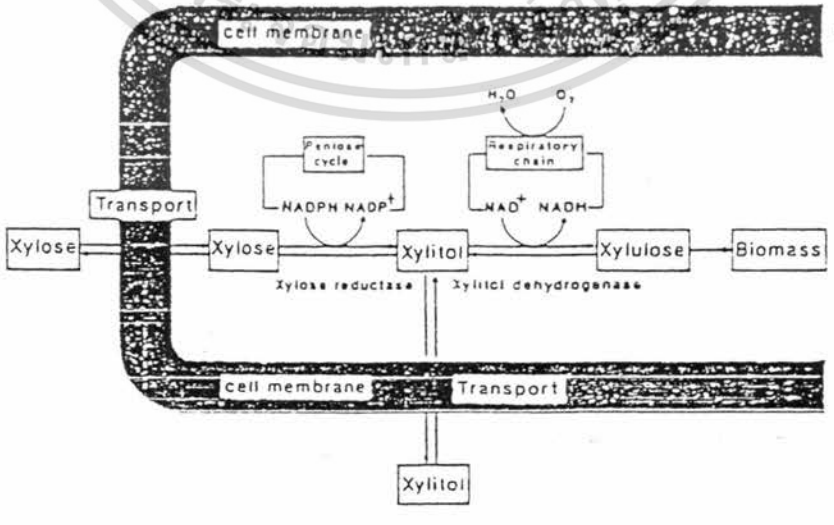
Nigam และ Singh (1995) สรุปรวบรวมเกี่ยวกับกระบวนการเมตาบอลิซึมในการผลิตไซลิทอลจากไซโลส ไว้ดังนี้

ไซโลสสามารถเปลี่ยนไอโซเมอร์ไปเป็นไซลูโลสโดยเอนไซม์ xylose isomerase หรือถูกรีดิวซ์ไปเป็นไซลิทอลโดยเอนไซม์ xylose reductase ในขณะที่มี NADPH หรือ NADH ซึ่งไซลิทอลที่ผลิตขึ้นสามารถเปลี่ยนไปเป็นไซลูโลส โดยเอนไซม์xylitol dehydrogenase ในขณะที่มี $NADP^+$ หรือ NAD^+ ที่ได้จากปฏิกริยาในตอนต้น

Hofer และคณะ (1971) รายงานว่าในจุลินทรีย์ไซลิทอลจะถูกสร้างขึ้นเป็น metabolic intermediate จากไซโลสใน 2 ทางไซโลสเป็นทางตรงในการผลิตไซลิทอล โดยเอนไซม์ NADPH-dependent aldehyde reductase หรือ ไซโลสถูกเปลี่ยนไอโซเมอร์ไปเป็นไซลูโลสในขั้นแรก โดยเอนไซม์ D-xylose isomerase และจะถูกรีดิวซ์กลับไปเป็นไซลิทอลโดย NADH-dependent xylitol dehydrogenase

วิถี Oxido-reduction ของไซลิทอล ซึ่งเป็น intermediate ถูกรายงานว่า เป็นวิถีทั่วไปสำหรับการเปลี่ยนไซโลสไปเป็นไซลิทอล ซึ่งมีการศึกษาวิถีนี้จากยีสต์ เช่น *Candida utilis, Rhodotorula , Candida pulcherima* และ *Pichia quercuu*

ในการผลิตทางชีวภาพโดยการใช้เชื้อราผลิตไซลิทอลจากไซโลส เชื้อตัวแรกที่ใช้คือ *Petromyces albertensis* ซึ่งรายงานว่าวิถีนี้มีความเป็นไปได้



รูปที่ 2.6 กระบวนการเมตาบอลิซึมของน้ำตาลไซโลสโดยยีสต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในขบวนการเมตาบอลิซึมของยีสต์ ไซโลสจะถูกรีดิวซ์โดยตรงไปเป็นไซลิทอล โดยใช้ NADH ถึงแม้ว่า NADPH จะเป็นตัว reductant สำหรับปฏิกริยารีดักชั่นของไซโลสไปเป็นไซลิทอลโดยเอนไซม์ Aldoreductase ใน *Rhodotorula gracilis* ในกรณีอื่นที่เป็นไปได้คือ ไซโลสจะถูกเปลี่ยนเป็นไซลูโลสก่อน และถูกรีดิวซ์เป็นไซลิทอล โดยใช้ NADH โดยศึกษาจากเชื้อ *Pichia stipitis* ในปฏิกริยารีดักชั่น NADPH จะมีความ active เป็นตัว reductant แต่พบว่าจะน้อยกว่า NADH ในยีสต์ เช่น *Pachysolen tannophilus* เอนไซม์ xylose reductase จะ active เมื่อทำงานร่วมกับ NADPH หรือ NADH เป็น co-factor ไซลูโลสที่สะสมในน้ำหมักจะถูก phosphorylate โดยเอนไซม์ D-xylulokinase และสิ้นสุดด้วยวิถี Pentose-phosphate และได้ผลผลิตพลอยได้เป็นเอธานอล ซึ่งเป็นการหมักโดยใช้ยีสต์ สภาวะที่มีผลกระทบต่อการผลิตไซลิทอลด้วยกระบวนการทางชีวภาพ

การผลิตไซลิทอลในเชิงอุตสาหกรรม การเพิ่มผลผลิตเป็นสิ่งสำคัญมาก และผลผลิตที่จะได้รับจะขึ้นอยู่กับสภาวะที่ใช้ในการผลิต

1. อัตราการให้อากาศ

การให้อากาศกระตุ้นการขนส่งน้ำตาลเข้าสู่เซลล์ในยีสต์บางชนิด และรวมถึงจุลินทรีย์อีกหลายชนิด เช่น *Candida* , *Hanensula* , *Klyveromyces* และ *Pichia* ซึ่งต้องการออกซิเจน เพื่อใช้ในการดูดซึมน้ำตาล การให้อากาศกับอาหารเลี้ยงในช่วงการหมักจะทำให้เพิ่มการเปลี่ยนไซโลสไปเป็นไซลิทอล เพราะการผลิตไซลิทอลเป็นผลผลิตที่เกิดควบคู่ไปกับการเจริญของเซลล์จุลชีพ ที่มีความหนาแน่น ซึ่งจะมีอิทธิพลกับการเผาผลาญโดยออกซิเจน จุลินทรีย์บางชนิดสามารถผลิตไซลิทอลภายใต้สภาวะที่มีอากาศเล็กน้อย (microaerophillic) Meyril และคณะ (1991) ทำการศึกษาความสามารถในการผลิตของเชื้อ *Candida guilliermondii* ที่จะผลิตไซลิทอลจากไซโลส และ non-hemicellulose ซึ่งทำการย่อยให้ได้น้ำตาล ในสภาวะ microaerophillic ได้ผลผลิตไซลิทอล 0.63 กรัมต่อกรัม และได้เอธานอลปริมาณเล็กน้อย จากการใช้ไซโลส ส่วนน้ำตาลที่ไม่ใช้ไซโลสจะถูกเปลี่ยนเป็นเอธานอล และเซลล์จุลชีพ การผลิตไซลิทอลโดย *Debaromyces hansenii* ต้องการสภาวะ Semi-aerobic โดยเริ่มจากสภาวะที่มีอากาศ (aerobic) เพื่อเพิ่มการสะสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

reduced-adenine-dinucleotide-coenzyme ให้มีความสมบูรณ์พร้อมที่จะทำให้เกิดปฏิกริยารีออกซิไดซ์ ซึ่งจะนำไปสู่การเปลี่ยนไซลิทอลไปเป็นไซลูโลส

Horitsu และคณะ (1992) รายงานว่าผลกระทบที่มีต่อการผลิตไซลิทอลในขั้นตอนแรก ควรพิจารณาถึงความเร็วในการเพิ่มปริมาณเซลล์จุลินทรีย์เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ อย่างไรก็ตามไซลิทอลภายใต้สภาวะ anoxic และการเพิ่มปริมาณออกซิเจนที่ละลายได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ในช่วงระหว่างการหมักจะนำไปสู่การผลิตไซลูโลส โดยการไฮโดรจีเนชั่นของไซลิทอล ที่เกิดขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อ ดังนั้นการเพิ่มระดับการละลายของออกซิเจน จะมีความต้องการเฉพาะขั้นตอนเริ่มต้นในการหมักเท่านั้นแต่หลังจากนั้นควรลดระดับการให้อากาศกับจุลินทรีย์ *Candida tropicalis* เพิ่มการสะสมไซลิทอลภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนในปริมาณจำกัด เพราะ Horisu และคณะ (1992) พบว่า ความเข้มข้นต่ำของออกซิเจนที่ละลายได้จะมีความสัมพันธ์กับระดับ NADPH และ NADH ในเซลล์ซึ่งจะนำไปสู่การรีดักชั่นของไซโลสและเพิ่มการสะสมไซลิทอลในอาหารเลี้ยงเชื้อ

2. แหล่งไนโตรเจนที่ใช้ในการผลิตไซลิทอล

Barbosa และคณะ (1988) บอกถึงความสำคัญของแหล่งไนโตรเจนและการให้อากาศว่า มีผลกับปริมาณการผลิตไซลิทอลจากไซโลสโดยยีสต์บางสายพันธุ์ ใน *Saccharomyces cerevisiae* วิถี Pentose-phosphate ควบคุมโดยไนโตรเจนและเกลือแอมโมเนียม ซึ่งพบว่าสามารถกระตุ้นการเกิดออกซิเดทีฟในวิถี Pentose-phosphate เพราะเอนไซม์ D-glucose-6-phosphate dehydrogenase จะถูกยับยั้งโดย NADPH ใน *Pichia tannophilus* เกลือแอมโมเนียมจะกระตุ้นการเจริญและลดระดับ NADPH ของเอนไซม์ D-glucose-6-phosphate dehydrogenase ภายในเซลล์และเพิ่ม activity ของการออกซิเดทีฟ ในวิถี Pentose phosphate

ใน *Candida shehatae* พบว่าสามารถผลิตไซลิทอลเพิ่มมากขึ้นอยู่กับแหล่งไนโตรเจน เพราะเป็นการเพิ่มระดับของเอนไซม์ xylitol dehydrogenase Dahiya (1991) ได้ศึกษาผลกระทบในการผลิตไซลิทอลจากแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอนินทรีย์ 8 ชนิด และสารอินทรีย์ 4 ชนิด และพบว่าปริมาณไซลิทอลสูงสุดที่ได้คือ 16.7 กรัมต่อลิตร และ 30.6 กรัมต่อลิตร โดยใช้แอมโมเนียมอะซิเตท และยีสต์สกัด (yeast extract) ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Horitsu และคณะ (1992) ใช้ยีสต์สกัดเป็นแหล่งไนโตรเจนที่ความเข้มข้น 3 , 10 และ 20 กรัมต่อลิตร พบว่าได้รับอัตราการเกิดผลิตผลสูงสุด (1.78 กรัมต่อลิตร) ด้วย 20 กรัมต่อลิตรของยีสต์สกัดด้วยอัตราการไหล 400 มิลลิลิตรต่อนาที ให้อากาศ 90 เปอร์เซ็นต์ของก๊าซออกซิเจนและใช้ไซโลส 100 กรัมต่อลิตร Onishi และคณะ (1980) พบว่าการผลิตโพลิออล์ โดย Pichia เป็นผลมาจากอัตราส่วนของแหล่งคาร์บอนกับแหล่งไนโตรเจน ปริมาณโพลิออล์จะได้มากกว่าเมื่อใช้แหล่งไนโตรเจนที่มีความเข้มข้นต่ำ

3. ความเข้มข้นของไซโลส

ความเข้มข้นของสับสเตรท (substrate) สูงในช่วงเริ่มต้นของการผลิตไซลิทอล จะเหมาะสมกับจุลินทรีย์ที่เป็น osmophilic โดยทั่วไปการหมักแบบกะ การเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลในช่วงแรกของการหมักจะนำไปสู่การเพิ่มอัตราการเกิดผลิตภัณฑ์ ถ้าจุลินทรีย์สามารถทนต่อความเข้มข้นสูงของน้ำตาลและแรงดันออสโมติกได้ Horisu และคณะ (1992) ได้เพิ่มความเข้มข้นของไซโลสในการเลี้ยงเชื้อ *Candida tropicalis* เป็น 100 - 150 กรัมต่อลิตร และมีอัตราการให้อากาศสูง (400 มิลลิลิตรต่อนาที) โดยใช้อากาศที่มีออกซิเจน 90 เปอร์เซ็นต์ พบว่าอัตราการผลิตไซลิทอลเพิ่มขึ้นเป็น 2.44 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง จากเดิม 1.78 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ความเข้มข้นของไซโลสกับอัตราการให้อากาศมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของเซลล์ โดยที่ความเข้มข้นของไซโลสและอัตราการให้อากาศสูง ความเข้มข้นของเซลล์จะสูงและการผลิตไซลิทอลจะสูงตามไปด้วย

Meyrial และคณะ (1991) ศึกษาความต้านทานต่อสับสเตรทของ *Candida guilliermondii* ที่ความเข้มข้นของไซโลสเริ่มต้นจาก 10 - 300 กรัมต่อลิตร การเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลนำไปสู่การเพิ่มการผลิตไซลิทอล และปริมาณไซลิทอลที่เพิ่มขึ้นจากการเพิ่มไซโลสในอาหารเลี้ยงเชื้อ ปริมาณสูงสุดที่ได้เมื่อใช้ไซโลส 300 กรัมต่อลิตร ได้ผลผลิต 0.75 กรัมต่อกรัมไซโลส ซึ่งคิดเป็น 82.6 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณทั้งหมดในทางทฤษฎี ความเข้มข้นของไซลิทอลต่ำเนื่องจาก ถูกใช้ไปในการเพิ่มมวลเซลล์เป็นหลัก อัตราการผลิตไซลิทอลเมื่อเพิ่มไซโลสเป็น 2.4 เท่าจะสูงกว่าปริมาณที่ได้จากไซโลส 10 กรัมต่อลิตร ในทางตรงกันข้ามกับการผลิตไซลิทอล การเจริญของจุลินทรีย์ที่ละน้อยจะถูกยั้บยั้ง โดยความเข้มข้นของไซโลส อัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (0.11 ต่อชั่วโมง) ได้จากความเข้ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้นของไซโลส 20 และ 50 กรัมต่อลิตร ข้อเปรียบเทียบกระบวนการผลิตไซลิทอล การเจริญของจุลินทรีย์จะมีความไวสูงต่อการเพิ่มความเข้มข้นของไซโลสในช่วงต้นของการผลิต ซึ่งเป็นการศึกษาโดยใช้เชื้อ *Candida sp* .B22 ที่เป็นสายพันธุ์ที่ผลิตไซลิทอลได้สูง ระหว่างการผลิตไซลิทอลโดย *Petromyces albertensis* ปริมาณสูงสุดเท่ากับ 36.8 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้ไซโลส 100 กรัมต่อลิตร และเพิ่มเป็น 150 กรัมต่อลิตร ซึ่งอาจเป็นผลมาจากความเหมาะสมของแรงดันออสโมติกที่เกิดกับเซลล์หรือการ Repression โดยสับสเตรทของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับ เมตาบอลิซึมของไซโลส (Dahiya, 1991)

4. การเติมน้ำตาลชนิดอื่นลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ

Hsiao และคณะ (1982) รายงานว่ากลูโคสจะยับยั้งการใช้ไซโลสใน *Candida* และ *Schizosaccharomyces* กลูโคสจะยับยั้งการเผาผลาญไซโลสในระยะเวลาอันรวดเร็ว และเมื่อความเข้มข้นของกลูโคสลดต่ำลง ความสามารถในการเปลี่ยนไซโลสจะเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ในช่วงสั้น ๆ นี้จะทำให้การดูดซึมไซโลสกลับคืนมาอย่างรวดเร็ว โดยแสดงออกในลักษณะ catabolic repression ไม่ใช่การควบคุมที่กลไกการสังเคราะห์ของยีน หลักฐานที่สนับสนุนความคิดนี้ ค่อนข้างจะเป็นการอธิบายถึงการนำไซโลสส่วนใหญ่เข้าสู่เซลล์ว่าไม่ active หรือเกิดการยับยั้งขึ้นในขณะที่มีกลูโคส ในช่วงที่มีการแทนที่น้ำตาลอื่นจะมีการยับยั้งเกิดขึ้นภายในเซลล์ เมื่อมีกลูโคสหรือตัวเร่งปฏิกริยา (catabolite)

Meyrial และคณะ (1991) ใช้เชื้อ *Candida guilliermondii* ในการหมักน้ำตาลที่ไม่ใช่น้ำตาลไซโลส เช่น กลูโคส แมนโนส กาแล็คโตส และอาราบิโนส ที่พบทั่วไปในการย่อยเฮมิเซลลูโลส พบว่าน้ำตาลชนิดอื่นที่ใช้ในการหมักจะทำให้เกิดการเจริญเติบโตและเกิดเอธานอล โพลิออลที่เกิดขึ้นชนิดไม่สามารถตรวจสอบได้ *Candida guilliermondii* เป็นเชื้อที่มีประสิทธิภาพสูง ในการผลิตไซลิทอลจากอาหารที่มีไซโลสสูง โดยใช้ปฏิกริยารีดักชั่น นอกจากนี้ยังสามารถใช้ของผสมที่ได้จากการย่อยเฮมิเซลลูโลสด้วยกรดก็ได้

5. การเติมเมธานอล (Methanol)

การเติมเมธานอล สามารถเพิ่มการผลิตไซลิทอลได้เป็น 39.8 กรัมต่อลิตร ไซลิทอลที่เพิ่มขึ้นนี้ คิดเป็น 8.5 เปอร์เซ็นต์ เมื่อใช้อาหารไซโลสที่มีการเติมด้วยเมธานอล 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) ซึ่งจะทำให้เกิดการออกซิเดชั่นของเมธานอลให้ผลผลิตเป็น NADH ทำให้มีปริมาณเพิ่มขึ้นมากพอที่จะเกิดการรีดักชั่นของไซโลสและไซลูโลสทำให้เกิดไซลิทอล ในกรณีที่เป็นการผลิตซอร์บิทอลและไอดิทอลโดยยีสต์ที่สามารถใช้เมธานอล เช่น *Candida boidinii* และการเติมเมธานอลในอาหารเลี้ยงเชื้อจะทำให้ผลิตไซลิทอลได้เพิ่มมากขึ้น

6. ปริมาณไบโอติน (Biotin)

Lee และคณะ (1988) รายงานว่าปริมาณเอธานอลและไซลิทอลจะสะสมในน้ำหมักในการเลี้ยงแบบกะของ เชื้อ *Pachysolen tannophylus* และ *Candida guilliermondii* จะขึ้นอยู่กับระดับของไบโอติน ในอาหารที่มีไบโอตินสูง *Pachysolen tannophylus* จะสะสมเอธานอล มากกว่าไซลิทอล ในขณะที่ *Candida guilliermondii* จะสะสมไซลิทอลมากกว่าเอธานอล

7. ความเป็นกรด-ด่าง (pH) และ อุณหภูมิ

Gong และคณะ (1981) รายงานว่าปริมาณไซโลสูงสุดที่จะเปลี่ยนเป็นไซลิทอลจะเกิดที่พีเอช 8.0 และการเกิดปฏิกิริยารีดักชั่นของไซลิทอลจะเกิดขึ้น เมื่อ พีเอชเปลี่ยนจากเบสไปเป็นกรด ปริมาณไซลิทอลสูงสุดจะเกิดขึ้นในช่วงแรกที่มพีเอช 6.0 - 7.0 โดย *Pachysolen tannophylus* พีเอช 6.0 โดย *Candida guilliermondii* และที่พีเอช 7.0 โดย *Candida tropicalis*

อุณหภูมิที่เหมาะสมในการผลิตไซลิทอลโดยเชื้อยีสต์ *Candida* และ *Saccharomyces* มีรายงานว่าเป็น 30 องศาเซลเซียส อัตราการผลิตเฉพาะไซลิทอลสูงจากการผลิตเอธานอลที่อุณหภูมิสูงในการเลี้ยงแบบต่อเนื่องของเชื้อ *Candida shehatae*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณผลผลิตไซลิทอลจากการใช้กระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพ (Nigam & Singh, 1995)

Horitsu และคณะ (1992) รายงานว่า อัตราการผลิตไซลิทอลของเชื้อ *Candida tropicalis* เป็น 2.67 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ซึ่งคิดเป็น 1.5 เท่าของการผลิตเท่าที่ผ่านมา ผลผลิตสูงสุดคิดเป็น 64 เปอร์เซ็นต์ แต่หากเปรียบเทียบข้อมูลของ Barbosa และคณะ (1988) กับ Gong และคณะ (1981) จะเห็นได้ว่า Gong และคณะได้อัตราการผลิต 1.67 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ส่วน Barbosa และคณะ ได้อัตราส่วนการผลิต 1.04 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ซึ่งนับว่าน้อยมาก

Meyrial และคณะ (1991) รายงานว่า ความเข้มข้นเริ่มต้นของไซโลสเป็น 20 กรัมต่อลิตร เป็นตัวแปรทางจลนศาสตร์ของการผลิตไซลิทอลโดย *Candida guilliermondii* NRC 5578 เทียบกับปริมาณที่ได้จากเชื้อ *Candida tropicalis* 1004 ที่เลี้ยงในอาหารไซโลส 30 กรัมต่อลิตรจะให้ผลผลิต 0.57 กรัมต่อไซโลส 1 กรัม ซึ่งเชื้อ *Candida guilliermondii* เป็นตัวที่ให้ผลผลิตสูงสุด โดยใช้ความเข้มข้นของไซลิทอลเริ่มต้น 300 กรัมต่อลิตร และได้ความเข้มข้นของไซลิทอลเป็น 221 กรัมต่อลิตร ซึ่งคิดเป็นผลผลิต 0.75 กรัมต่อไซโลส 1 กรัม (82.6 เปอร์เซ็นต์ ของทางทฤษฎี) และค่าเฉลี่ยอัตราการเกิดผลิตภัณฑ์จำเพาะเป็น 0.19 กรัมต่อไซโลส 1 กรัมต่อชั่วโมง และคิดเป็นผลผลิต 84.5 เปอร์เซ็นต์ ทางทฤษฎี ในการทดลองโดยใช้เชื้อ *Candida tropicalis HPX2* และ *Candida boidinii* ให้ผลผลิตสูงสุดเป็น 144 กรัมต่อลิตร และ 39 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

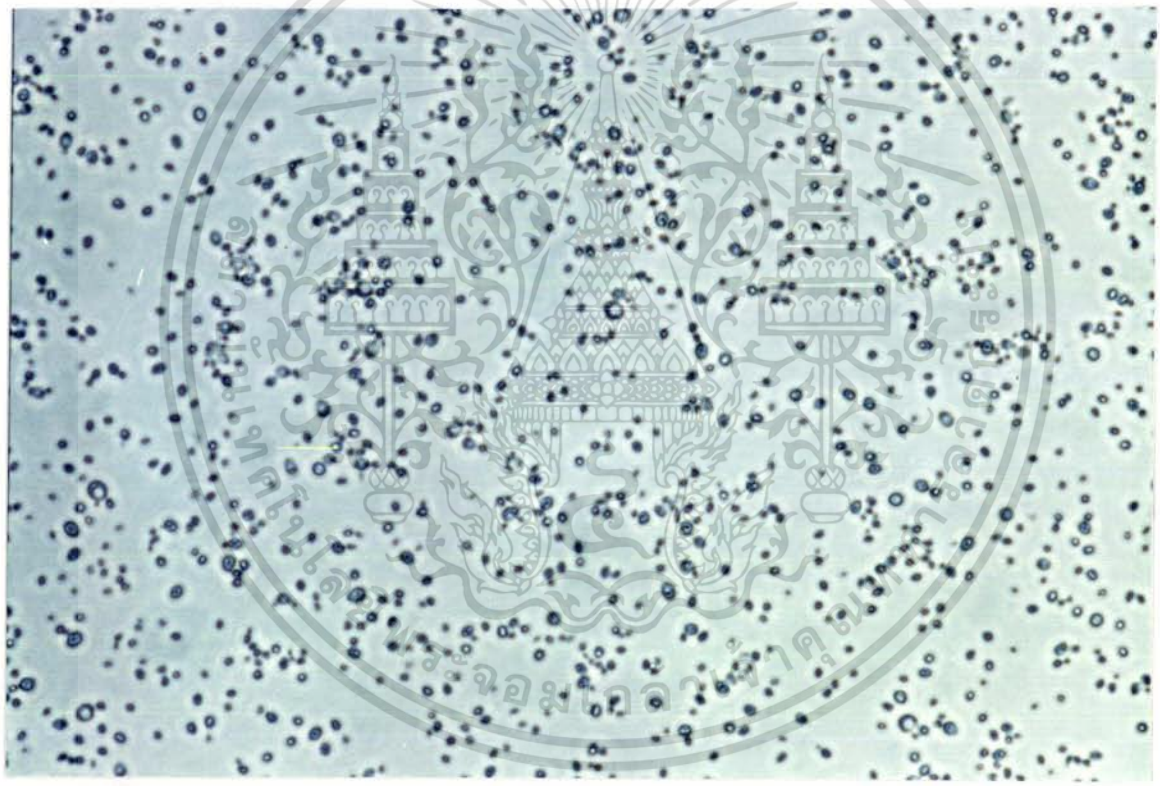
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการ

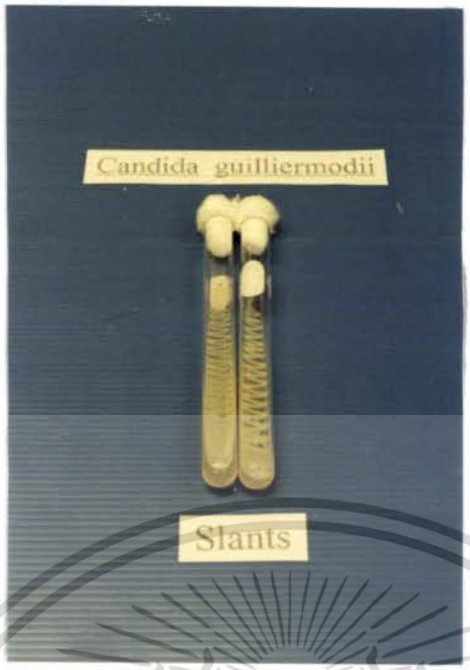
3.1 เชื้อจุลินทรีย์

ใช้เชื้อยีสต์ *Candida guilliermondii* TISTR 5206(NCYC 145) จากสภาวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย



รูปที่ 3.1 เชื้อ *Candida guilliermondii* TISTR(NCYC 145) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40x

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.2 รูปเชื้อ *Candida guilliermondii* TISTR(NCYC 145) ที่อยู่ใน slant

3.2 อุปกรณ์และวิธีการ

3.2.1 อุปกรณ์

(1) ฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร

(2) บีกเกอร์ขนาด 100 , 200 500 และ 1000 มิลลิลิตร

(3) ปิเปตขนาด 1 , 5 ,10 และ 20 มิลลิลิตร

(4) แท่งแก้วคน

(5) หลอดทดลอง

(6) ไซริง

(7) เครื่องเขย่า (shaker)

(8) เครื่อง high perfomase liquid chromatography (HPLC)

(9) ตู้อบลมร้อน (hot air oven)

(10) ตู้ปลอดเชื้อ (laminar air flow)

(11) เครื่อง spectrophotometer

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.2 สารเคมี

(1) กลูโคส

(2) ไซโลส

(3) เปปโตน

(4) สารสกัดจากยีสต์

(5) สารสกัดจากมอลล์

(6) ผงวุ้น

(7) อะซิโตไนไตรล์ (acetonitrile)

3.3 วิธีการทดลอง

3.3.1 การเตรียมกล้าเชื้อเริ่มต้น

(1) ถ่ายเชื้อยีสต์ *Candida guilliermondii* TISTR 5206 (NCYC 145) จากหลอดทดลองลงในอาหารเหลว YM ปริมาณ 50 มิลลิตร ลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร

(2) นำไปเขย่าบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

(3) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (OD) โดยเครื่อง spectophotometer

3.3.2 เปรียบเทียบอัตราส่วนน้ำตาลที่เชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์

(1) เตรียมอาหารเหลว YM อัตราส่วนน้ำตาลกลูโคสต่อไซโลสเป็น 0:20 , 5:15 , 10:10 และ 20:0 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ปริมาตร 180 มิลลิลิตร ลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร

(2) นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

(3) เติมเชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งหมด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(4) นำไปเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาทีที่อุณหภูมิห้องเก็บผลเป็นระยะ ๆ ทุก 6 ชั่วโมง นำไปวิเคราะห์หาน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณ ไซลิทอล ไซโลส และกลูโคส โดยเครื่อง HPLC

3.3.3 เปรียบเทียบอัตราส่วนน้ำตาลที่เชื้อเริ่มต้น 5 เปอร์เซ็นต์

(1) เตรียมอาหาร YM อัตราส่วนน้ำตาลกลูโคสต่อไซโลสเป็น 0:20 , 5:15 , 10:10 และ 20:0 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ปริมาณ 190 มิลลิลิตร ลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร

(2) นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

(3) เติมเชื้อเริ่มต้น 5 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งหมด

(4) นำไปเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เก็บผลทุก 6 ชั่วโมง นำไปหาน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณไซลิทอล ไซโลส และกลูโคส โดยเครื่อง HPLC

3.4 การวิเคราะห์ผล

3.4.1 การวิเคราะห์หาน้ำหนักเซลล์แห้ง

(1) ใช้แท่งแก้วคน คนเซลล์ที่ติดอยู่ตามฟลาสก์และเขย่าให้เข้ากัน ใช้ปิเปต 10 มิลลิลิตร ดูดอาหารใส่ในหลอดเครื่องหมุนเหวี่ยงชนิดฝาเกลียว นำไปหมุนเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 4000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

(2) เทของเหลวส่วนใส (supernatant) ทิ้งไป ล้างตะกอนเซลล์ยีสต์ด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปเข้าเครื่องหมุนเหวี่ยง ความเร็วรอบ 4000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทำซ้ำอีกครั้ง

(3) เติมน้ำกลั่นปริมาตร 2 มิลลิลิตร ลงในตะกอนเซลล์ยีสต์ที่ผ่านการล้างแล้ว เขย่าเทใส่กระทงฟลอย์ที่อบแห้งและชั่งน้ำหนักแล้ว นำเข้าตู้อบความร้อนอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง นำไปชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.2 การวิเคราะห์ปริมาณไซลิทอล ไซโลส และกลูโคส

นำสารละลายที่ได้จากการทดลองทุก ๆ 6 ชั่วโมงมาประมาณ 9 มิลลิลิตร กรองสารละลายด้วยชุดกรองละเอียด (ไซริ่ง) เก็บใส่ในหลอดทดลองขนาดเล็ก จากนั้นนำไปวิเคราะห์โดยเครื่อง high performance liquid chromatography (HPLC)

คอลัมภ์ : Phenomenex Spherisorb-NH_2

mobile phase : 88 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร) อะซิไนไตรล์ (acetonitrile) ในน้ำ

อัตราการไหล : 1.6 มิลลิลิตรต่อนาที

detector : RID ของ LDC , range 0.05

ปริมาตรที่ฉีด : ครั้งละ 20 ไมโครลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

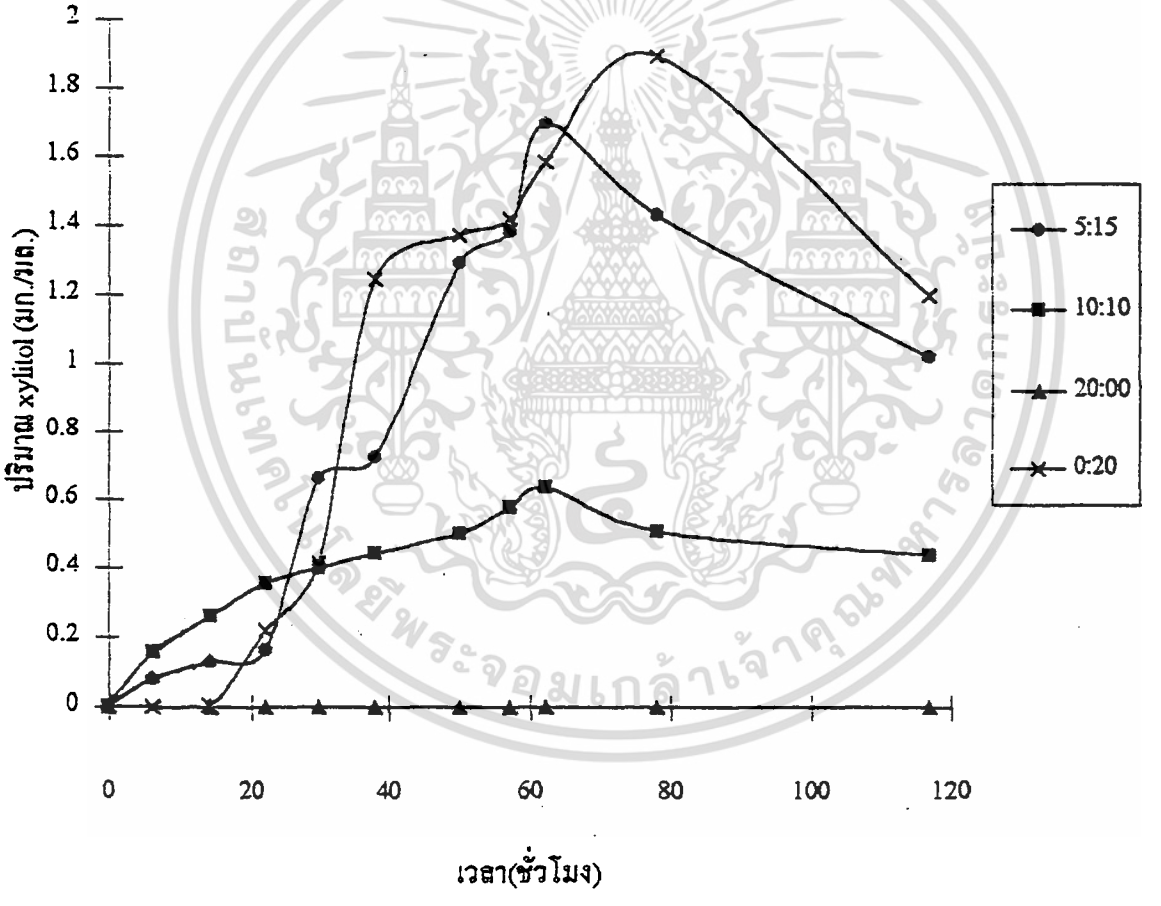
สภาวะที่ใช้ในการทดลองการผลิตไซลิทอล ด้วยกระบวนการหมักโดยเชื้อยีสต์ *Candida guilliermondii* TISTR (NCYC 145) ใช้อาหารสูตร YM ที่มีอัตราส่วนความเข้มข้นไซโลสต่อกลูโคสที่ระดับต่าง ๆ กัน โดยให้ความเร็วรอบในการเขย่าเป็น 150 รอบต่อนาทีเป็นการให้อากาศ และปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 6.5-7.0

4.1 ผลของการใช้ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์

ผลการทดลองการผลิตไซลิทอลจากสูตรอาหารที่มีกลูโคสต่อไซโลส 0:20 , 5:15 , 10 :10 และ 20:0 กรัมต่อลิตร โดยใช้เชื้อเริ่มต้นประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ แสดงไว้ในรูปที่ 4.1 จากผลการทดลองได้สูงสุดในชั่วโมงที่ 78 อัตราส่วน 5:15 สามารถผลิตได้สูงสุดในชั่วโมงที่ 62 อัตราส่วน 10:10 สามารถผลิตได้สูงสุดในชั่วโมงที่ 62 เช่นกัน แต่มีปริมาณต่ำกว่าผลผลิตที่ได้จากอัตราส่วน 5:15 ส่วนอัตราส่วน 20:0 ไม่สามารถผลิตไซลิทอลได้

จากผลการทดลองโดยใช้อัตราส่วนของน้ำตาลแตกต่างกัน พบว่า อัตราส่วน 5:15 สามารถผลิตได้สูงสุดโดยใช้เวลาน้อยกว่าอัตราส่วน 0:20 ซึ่งให้ผลผลิตมากกว่า จากรายงานของ Nigam และคณะ (1995) กล่าวว่า การมีกลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อจะทำให้เชื้อใช้น้ำตาลกลูโคสในการเจริญเติบโตและสร้างชีวมวลทั้งยังกระตุ้นให้มีการเปลี่ยนไซโลสเป็นไซลิทอลได้รวดเร็วขึ้น แต่หากมีปริมาณสูงมากเกินไป จะทำให้อัตราการผลิตไซลิทอลลดลง เนื่องจากปริมาณกลูโคสที่มีความเข้มข้นสูงจะไปยับยั้งการดูดซึมไซโลสเข้าสู่เซลล์ยีสต์ ซึ่งจากการทดลองใช้อัตราส่วน 10:10 พบว่าปริมาณไซลิทอลที่ผลิตได้น้อยกว่าในอัตราส่วน 0:20 และ 5:15 ส่วนในอัตราส่วน 20:0 ไม่สามารถผลิตไซลิทอลได้ จากรายงานของ Dahiya (1991) กล่าวว่า กลไกที่มีความเป็นไปได้ที่จะนำไปสู่การผลิตไซลิทอลคือการใช้ไซโลสหรือไซลูโลสเป็นสารตั้งต้น ดังนั้นการผลิตไซลิทอล จึงต้องใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีส่วนประกอบของน้ำตาลไซโลสหรือไซลูโลส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



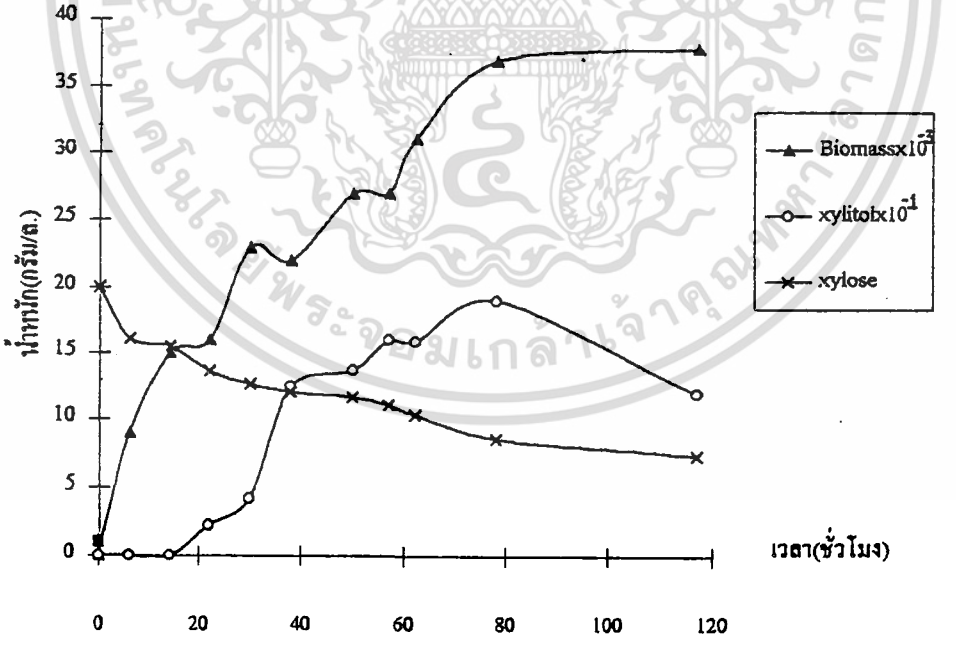
รูปที่ 4.1กราฟแสดงปริมาณไซลิทอลที่ได้จากการผลิตโดยใช้อาหารที่มีอัตราส่วนของกลูโคส และ ไซโลสต่าง ๆ เมื่อใช้ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.1 การหมักโดยใช้อาหารที่มีอัตราส่วนกลูโคสต่อไซโลส 0:20 กรัมต่อลิตร

ผลการทดลองโดยการหมักในอาหารไซโลส 20 กรัมต่อลิตร โดยเชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์ ในช่วงเริ่มต้นของการหมักยีสต์จะใช้น้ำตาลเพื่อเพิ่มชีวมวล ทำให้ความเข้มข้นของน้ำตาลค่อย ๆ ลดลง ในขณะที่ชีวมวลและการผลิตไซลิทอลค่อย ๆ เพิ่มขึ้นโดยแปรตามกัน แสดงดังรูปที่ 4.2 เมื่อชีวมวลเพิ่มขึ้นสูงสุดจนเกือบคงที่ในชั่วโมงที่ 78 กราฟความเข้มข้นของไซลิทอล เพิ่มขึ้นสูงสุดเป็น 1.896 กรัมต่อลิตร และกราฟความเข้มข้นของไซโลสลดลงเหลือ 7.34 กรัมต่อลิตร

การใช้น้ำตาลไซโลสโดยยีสต์เป็นไปตามการรายงานของ Meyrial และคณะ (1995) *Candida guilliermondii* สามารถเปลี่ยนไซโลสเป็นไซลิทอล โดยในขั้นตอนแรกของการหมักยีสต์ จะใช้ไซโลสเพื่อเพิ่มปริมาณชีวมวลให้มากขึ้นแต่ปริมาณผลผลิตค่อนข้างต่ำ (Roberto et al., 1994) ดร.สาโรจน์ (2536) ได้กล่าวว่ายีสต์จะนำไซโลสเข้าสู่เซลล์และเปลี่ยนเป็นไซลิทอล จากนั้นเปลี่ยนเป็นไซลูโลสในสภาวะที่ออกซิเจนและนำไซโลสเข้าสู่วิถีเพนโตสฟอสเฟต เพื่อเผาผลาญให้ได้พลังงานและสารตัวกลางในการสังเคราะห์สารที่จำเป็นในการเจริญ



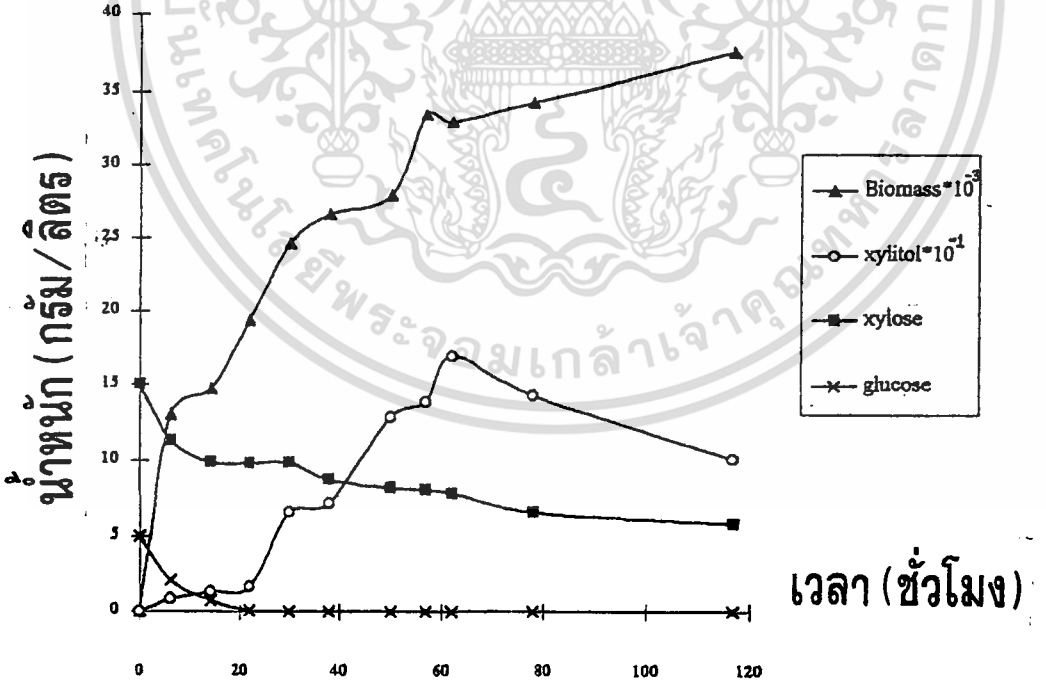
รูปที่ 4.2 กราฟแสดงปริมาณชีวมวล ไซโลส และไซลิทอล ในอาหารกลูโคสต่อไซโลส 0:20 กรัมต่อลิตร โดยใช้ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.2 การหมักโดยใช้อาหารที่มีอัตราส่วนกลูโคสต่อไซโลส 5:15 กรัมต่อลิตร

ผลการทดลองการหมักโดยใช้อาหารอัตราส่วนกลูโคสต่อไซโลส 5:15 กรัมต่อลิตร ในอาหรเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิตไซลิทอล โดยใช้เชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์ แสดงดังรูปที่ 4.3 ในช่วงเริ่มต้นของการหมักยีสต์จะใช้กลูโคสและไซโลสอย่างรวดเร็วเพื่อเพิ่มชีวมวล กลูโคสจะถูกใช้หมดในชั่วโมงที่ 22 ของการหมัก ซึ่งยีสต์จะใช้ไซโลสช้าลง การเกิดชีวมวลจะเพิ่มมากขึ้นพร้อมกับการผลิตไซลิทอลในชั่วโมงที่ 62 การผลิตไซลิทอลสูงสุดเป็น 1.699 กรัมต่อลิตร เมื่อสิ้นสุดการหมักความเข้มข้นของไซโลสลดลงเหลือ 5.88 กรัมต่อลิตร

การใช้กลูโคสและไซโลสเป็นไปตามผลการทดลองของ Roberto และคณะ (1994) โดยยีสต์จะใส้กลูโคสในการเจริญเติบโตและเพิ่มชีวมวลอย่างรวดเร็วในช่วงต้นของการหมักแต่จะใช้ไซโลสได้ช้ากว่า แต่เมื่อกลูโคสหมดไปยีสต์จะเปลี่ยนมาใช้ไซโลสและผลิตไซลิทอลมากขึ้น โดยความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสที่ค่อย ๆ ลดลง สามารถกระตุ้นให้ยีสต์สามารถใช้ไซโลสผลิตเป็นไซลิทอลได้มากขึ้น(Nigam et al.,1995)



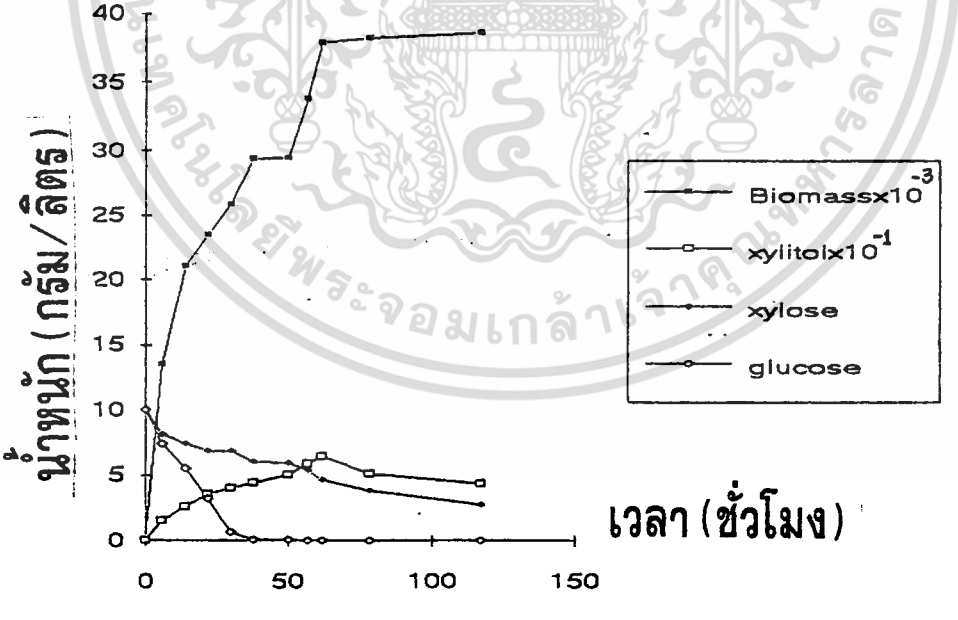
รูปที่ 4.3 กราฟแสดงปริมาณชีวมวล กลูโคส ไซโลสและไซลิทอล ในอาหารกลูโคสต่อไซโลส 5:15 กรัมต่อลิตร โดยใช้เชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.3 การหมักโดยใช้อาหารที่มีอัตราส่วนกลูโคสต่อไซโลส 10:10 กรัมต่อลิตร

ผลการทดลองหมักโดยใช้อาหารอัตราส่วนกลูโคสต่อไซโลส 10:10 กรัมต่อลิตร โดยใช้เชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์ แสดงดังรูปที่ 4.4 ในช่วงเริ่มต้นของการหมัก ยีสต์จะใช้กลูโคสอย่างรวดเร็วเพื่อเพิ่มชีวมวล และถูกใช้หมดไปในชั่วโมงที่ 30 ของการหมัก ยีสต์จะใช้ไซโลสได้อย่างรวดเร็ว เนื่องจากปริมาณเชื้อมีมาก การเกิดชีวมวลจะเพิ่มขึ้นพร้อม ๆ กับการผลิตไซลิทอลเป็นสัดส่วนโดยตรง ปริมาณไซลิทอลที่ผลิตได้คือ 0.638 กรัมต่อลิตร เมื่อสิ้นสุดการหมักความเข้มข้นของไซโลสลดลงเหลือ 2.78 กรัมต่อลิตร

การใช้กลูโคสและไซโลสโดยยีสต์เป็นไปตามการทดลองของ Roberto และคณะ(1994)โดยยีสต์จะใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณเซลล์ ส่วนใหญ่ปริมาณกลูโคสที่มีมากเกินไป ทำให้มีผลในการยับยั้งการใช้ไซโลสของยีสต์ (Nigam et al.,1995) เมื่อมีการเติมกลูโคสมากเกินพบในน้ำหมักและทำให้ปริมาณชีวมวลเพิ่มสูงขึ้น เมื่อกลูโคสเริ่มหมดไปยีสต์จึงจะมีการผลิตไซลิทอลแต่มีปริมาณน้อย เนื่องจากเซลล์ส่วนใหญ่เริ่มเข้าสู่ระยะ stationary ทำให้อัตราการผลิตต่ำ



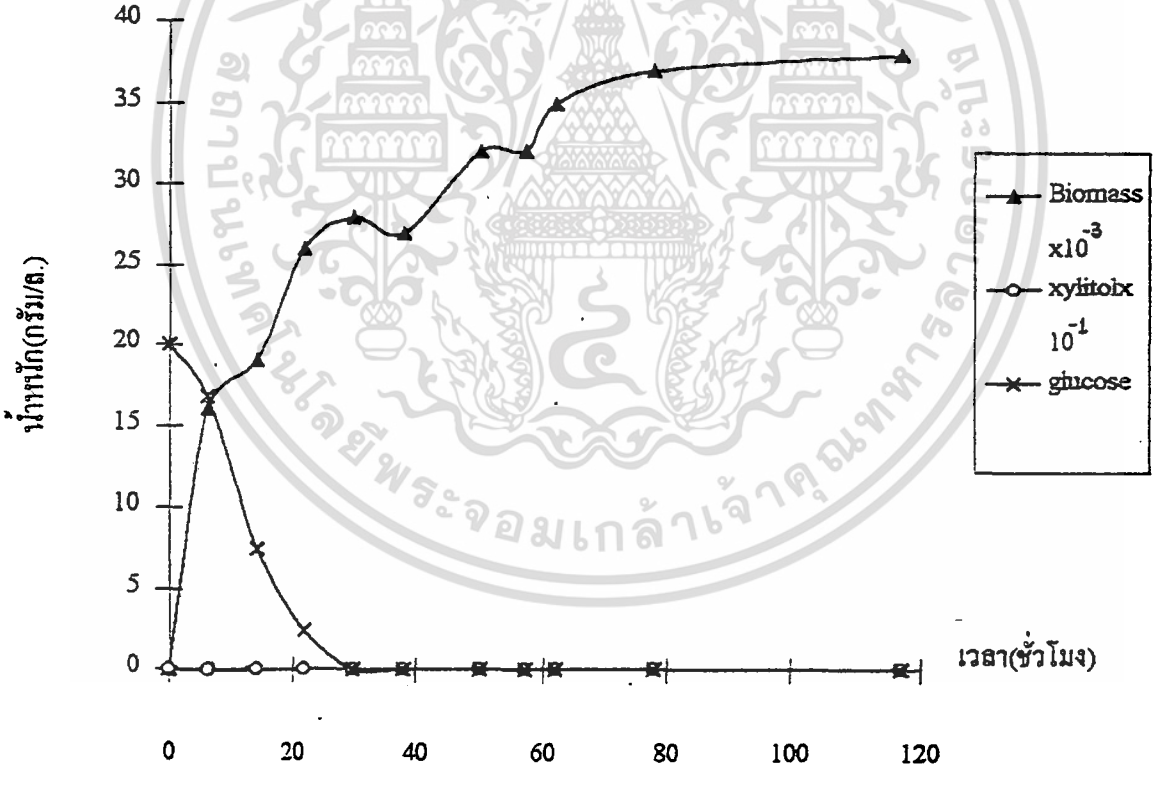
รูปที่ 4.4 กราฟแสดงปริมาณชีวมวล กลูโคส ไซโลสและไซลิทอล ในอาหารกลูโคสต่อไซโลส 10:10 กรัมต่อลิตร โดยใช้ปริมารเชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.4 การหมักโดยใช้อาหารที่มีอัตรส่วนกลูโคสต่อไซโลส 20:0 กรัมต่อลิตร

ผลการทดลองการหมักโดยใช้อาหาร 20 กรัมต่อลิตร โดยใช้เชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์ แสดงดับรูปที่ 4.5 ยีสต์สามารถใช้กลูโคสได้ดี โดยกราฟความเข้มข้นของกลูโคสลดลงอย่างรวดเร็ว ชีวมวลเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ในขณะที่ไม่สามารถตรวจพบว่ามีการผลิตไซลิทอล

จากการทดลองของ Dahiya (1991) อธิบายว่า การผลิตไซลิทอลมีความเป็นไปได้ 2 วิธี คือ การเกิดปฏิกิริยารีดักชั่นของไซโลส หรือการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรจิเนชั่นของไซโลส แต่หากใช้ไซลูโลสเป็นสารตั้งต้นมีแนวโน้มว่า จะเกิดชีวมวลได้โดยไม่ผ่านสารตัวกลางคือไซลิทอล ดังนั้นหากใช้กลูโคสแล้วจะมีผลให้เกิดชีวมวลมากกว่าการผลิตไซลิทอล



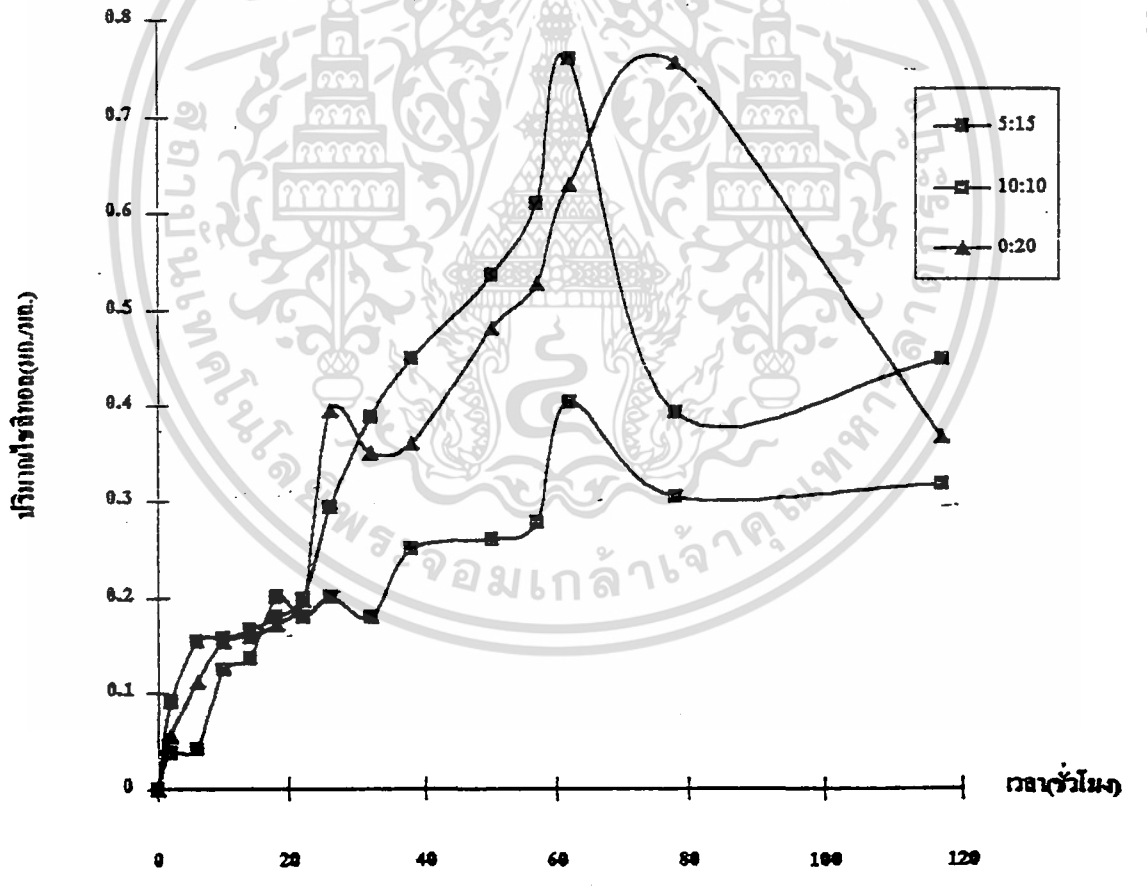
รูปที่ 4.5กราฟแสดงปริมาณชีวมวล กลูโคสและไซลิทอลในอาหารกลูโคสต่อไซโลส 20:0 กรัมต่อลิตร โดยใช้ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลของการใช้ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 5 เปอร์เซ็นต์

ผลการทดลองผลิตไซลิทอล จากสูตรอาหารที่มีอัตราส่วนของความเข้มข้นกลูโคสต่อไซโลสที่ 0:20, 5:15 และ 10:10 กรัมต่อลิตร โดยใช้เชื้อเริ่มต้น 5 เปอร์เซ็นต์ ดังรูปที่ 4.6 โดยการผลิตไซลิทอลจะเพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ ในช่วงเริ่มต้นของการหมัก ที่อัตราส่วน 0:20 สามารถผลิตได้สูงสุดในชั่วโมงที่ 72 อัตราส่วน 5:15 สามารถผลิตได้สูงสุดในชั่วโมงที่ 62 และอัตราส่วน 10:10 สามารถผลิตได้สูงสุดในชั่วโมงที่ 62 เช่นกัน แต่มีปริมาณต่ำกว่าผลผลิตที่ได้จากอัตราส่วน 5:15

จากผลการทดลองใช้อัตราส่วนแตกต่างกัน พบว่า อัตราส่วน 5:15 สามารถให้ผลผลิตในปริมาณสูงใกล้เคียงกับอัตราส่วน 0:20 แต่ใช้เวลาน้อยกว่า เช่นเดียวกับการใช้ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์ แต่ปริมาณไซลิทอลที่ผลิตได้จะต่ำกว่า



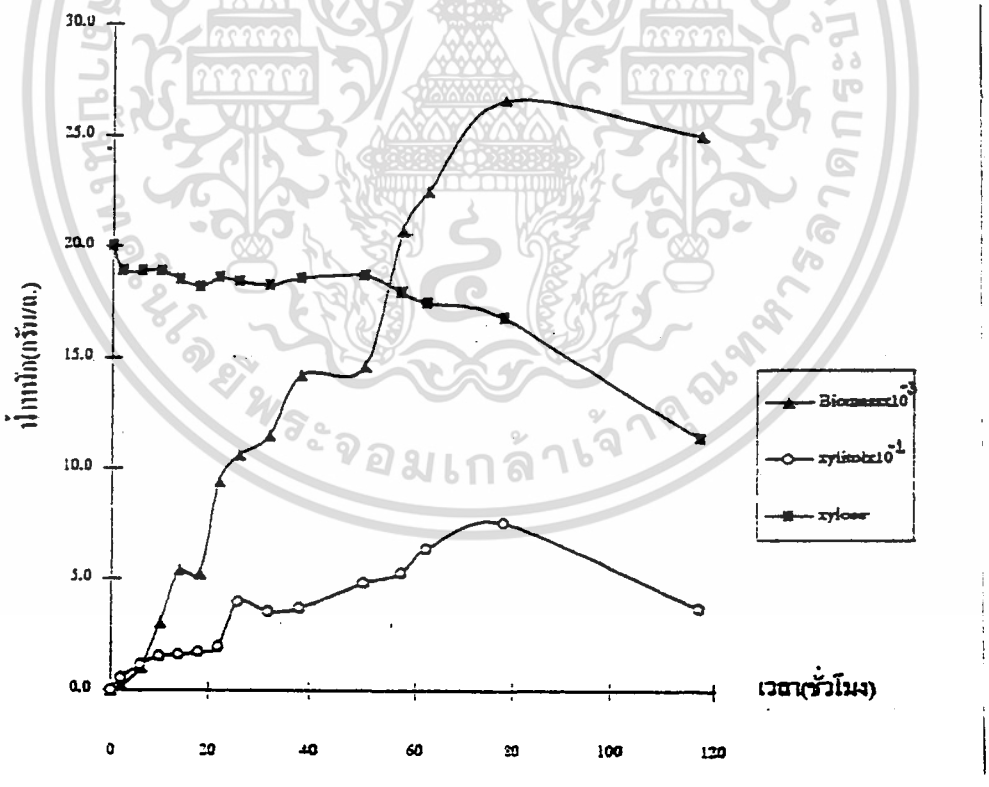
รูปที่ 4.6 กราฟแสดงปริมาณไซลิทอลที่ได้จากการผลิตโดยใช้อาหารที่มีอัตราส่วนของกลูโคสและ ไซโลสต่าง ๆ เมื่อใช้ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 5 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.1 การหมักโดยใช้อาหารที่มีอัตราส่วนกลูโคสต่อไซโลส 0:20 กรัมต่อลิตร

ผลการทดลองหมักในอาหารไซโลสปริมาณ 20 กรัมต่อลิตร โดยใช้เชื้อเริ่มต้น 5 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้มเช่นเดียวกับในสภาวะการใช้ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในรูปที่ 4.7 โดยชีวมวลเพิ่มขึ้นสูงสุดเป็น 0.75 กรัมต่อลิตร และกราฟความเข้มข้นของไซโลสลดลงเหลือ 16.8 กรัมต่อลิตร

ในขั้นตอนแรกของการหมักยีสต์จะใช้ไซโลสอย่างช้า ๆ เพื่อเพิ่มปริมาณชีวมวลให้มากขึ้นแต่พบว่าอัตราการเจริญและอัตราการใช้ไซโลสไม่สูงนักเป็นผลเนื่องมาจากอัตราการให้อากาศค่อนข้างต่ำและปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ต่ำเพียง 5 เปอร์เซ็นต์ จากรายงาน Nigam และคณะ (1995) กล่าวว่า การให้อากาศสูงจะกระตุ้นการใช้น้ำตาลและการเจริญของยีสต์ โดยยีสต์มีความต้องการออกซิเจนในการเผาผลาญน้ำตาล แต่เมื่อมีออกซิเจนละลายในน้ำหมักมากเกินไปจะทำให้อัตราการเปลี่ยนไซลิทอลไปเป็นไซลูโลสเพิ่มมากขึ้น



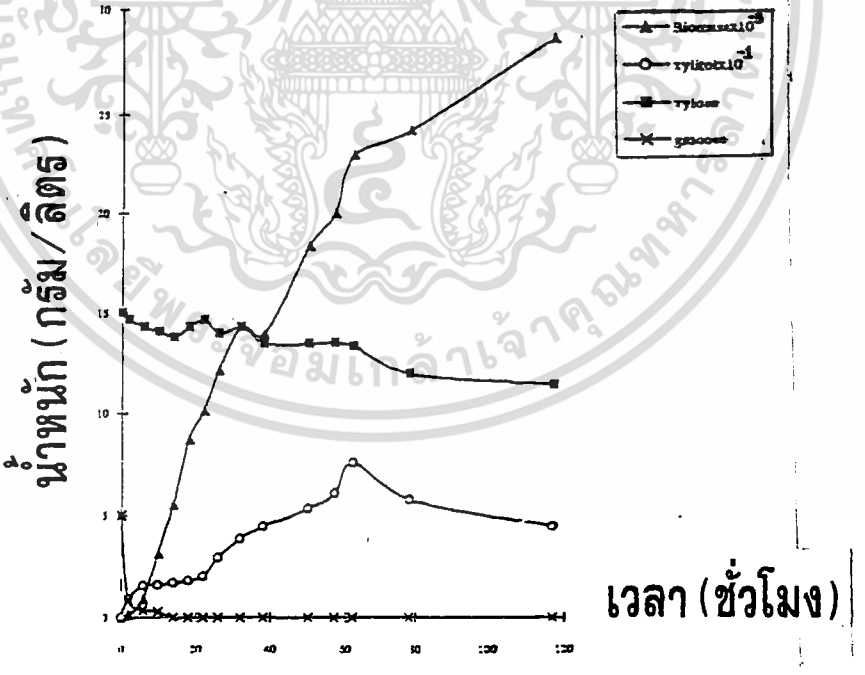
รูปที่ 4.7 กราฟแสดงปริมาณชีวมวล ไซโลส และไซลิทอล ในอาหารกลูโคสต่อไซโลส 0:20 กรัมต่อลิตร โดยใช้เชื้อเริ่มต้น 5 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2 การหมักโดยใช้อาหารที่มีอัตราส่วนกลูโคสต่อไซโลส 5:15 กรัมต่อลิตร

ผลการทดลองหมักโดยใช้อัตราส่วนกลูโคสต่อไซโลส 5:15 กรัมต่อลิตร โดยใช้เชื้อเริ่มต้น 5 เปอร์เซ็นต์ แสดงดังรูปที่ 4.8 ในช่วงแรกของการหมัก ยีสต์จะใช้กลูโคสอย่างรวดเร็วเพื่อผลิตชีวมวล และถูกใช้หมดไปในชั่วโมงที่ 14 ของการหมัก ยีสต์จะใช้ไซโลสอย่างช้า ๆ และเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว หลังจากการหมักไป 6 ชั่วโมง การเกิดชีวมวลเพิ่มมากขึ้นพร้อมกับการผลิตไซลิทอลโดยแปรตามกัน ในชั่วโมงที่ 62 การผลิตไซลิทอลสูงสุดเป็น 0.759 กรัมต่อลิตร เมื่อสิ้นสุดการหมักกราฟความเข้มข้นของไซโลสลดลงเหลือ 11.43 กรัมต่อลิตร

ยีสต์จะใช้กลูโคสในการเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณชีวมวลอย่างรวดเร็วในช่วงต้นของการหมัก ไซโลสจะถูกใช้อย่างช้า ๆ แต่จะถูกกระตุ้นให้ใช้ได้มากขึ้น เนื่องจากปริมาณกลูโคสในน้ำหมักลดลง ซึ่งเป็นไปตามรายงานของ Nigam และคณะ (1995) ทำให้ยีสต์เพิ่มอัตราการใช้ไซโลสได้เร็วขึ้นและผลิตไซลิทอลได้สูงสุดในชั่วโมงที่ 62 แต่พบว่าอัตราการใช้ไซโลสนั้นยังไม่สูงนัก เนื่องจากการใช้กลูโคสในช่วงต้นมีผลยับยั้งการใช้ไซโลสของยีสต์ในช่วงเริ่มต้นการหมักด้วยเช่นกัน (Hsiao et al.,1982)



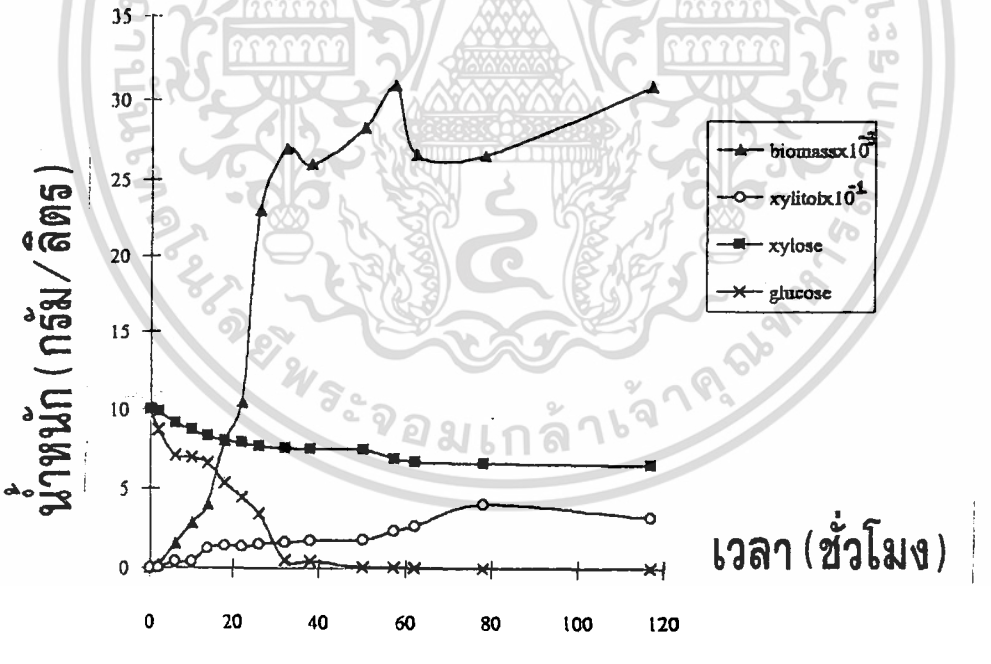
รูปที่ 4.8 กราฟแสดงปริมาณชีวมวล กลูโคส ไซโลสและไซลิทอล ในอาหารกลูโคสต่อไซโลส 5:15 กรัมต่อลิตร โดยใช้ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 5 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.3 การหมักโดยใช้อาหารที่มีอัตราส่วนกลูโคสต่อไซโลส 10:10 กรัมต่อลิตร

ผลการทดลองหมักโดยใช้อาหารอัตราส่วนกลูโคสต่อไซโลส 10:10 กรัมต่อลิตร โดยเชื้อเริ่มต้น 5 เปอร์เซ็นต์ แสดงดังกราฟที่ 4.9 ในช่วงแรกของการหมักยีสต์จะใช้กลูโคสอย่างรวดเร็ว เพื่อเพิ่มปริมาณชีวมวล และถูกใช้หมดในชั่วโมงที่ 78 ของการหมัก ยีสต์จะใช้ไซโลสอย่างช้า ๆ เนื่องจากปริมาณกลูโคสในอาหารมีปริมาณมาก การเกิดชีวมวลจะเพิ่มมากขึ้นเป็นส่วนกลับกับการลดลงของกลูโคสที่ลดลงอย่างรวดเร็ว การผลิตไซลิทอลเกิดขึ้นแปรผันตามการเกิดชีวมวลของยีสต์ โดยมีค่าสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 78 เป็น 0.403 กรัมต่อลิตร เมื่อสิ้นสุดการหมักความเข้มข้นของไซโลสลดลงเหลือ 6.52 กรัมต่อลิตร

แนวโน้มการผลิตชีวมวลและไซลิทอลจะมีรูปแบบเดียวกับเมื่อใช้ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์ แต่ปริมาณ ชีวมวล และไซลิทอลจะต่ำกว่า เนื่องจากปริมาณเซลล์เริ่มต้นที่น้อยกว่า



รูปที่ 4.9 กราฟแสดงปริมาณชีวมวล กลูโคส ไซโลส และไซลิทอล ในอาหารกลูโคสต่อไซโลส 10:10 กรัมต่อลิตร โดยใช้ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 5 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดลองข้างต้น สามารถสรุปผล การผลิตปริมาณชี วมวลและไซลิทอล และการใช้ไซโลสได้ดังตารางที่ 4.1 ดังนี้

ตารางที่ 4.1 แสดงผลการผลิตชีวมวลและไซลิทอล และการใช้ไซโลสในอาหารที่มีอัตราส่วน กลูโคสต่อไซโลสต่าง ๆ กัน ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร)

ปริมาณเชื้อเริ่มต้น (เปอร์เซ็นต์)	อัตราส่วนอาหาร กลูโคส:ไซโลส (กรัม/ลิตร)	ชั่วโมงที่	ปริมาณชีวมวล (กรัม/ลิตร)	ปริมาณไซโลส (กรัม/ลิตร)	ปริมาณไซลิทอล (กรัม/ลิตร)
10	0:20	78	37	8.56	18.96
	5:15	62	32.9	7.89	16.99
	10:10	62	37.9	4.64	6.38
	20:0	117	38.0	0	0
5	0:20	78	22.6	16.8	7.55
	5:15	62	23	13.33	7.59
	10:10	78	26.6	6.63	4.03

จากตารางที่ 4.1 จะเห็นได้ว่า ทั้งปริมาณเชื้อเริ่มต้น และอัตราส่วนกลูโคสและไซโลสในอาหารมีผลโดยตรงต่อการผลิตชีวมวลและปริมาณไซลิทอล โดยความเข้มข้นของเซลล์ที่ใช้ในเชื้อเริ่มต้น หากมีปริมาณมากจะให้ผลในการผลิตไซลิทอลได้เพิ่มขึ้น อีกทั้งการใช้ไซโลสก็ใช้ได้ดีกว่า และเมื่อพิจารณาอัตราส่วนของอาหารที่แตกต่างกันในเชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์พบว่า การให้อัตราส่วนกลูโคสต่อไซโลสที่แตกต่างกันมีผลต่อการผลิตไซลิทอล โดยอัตราส่วนอาหารที่มีปริมาณไซโลสมากจะผลิตไซลิทอลได้มากกว่าอัตราส่วนอาหารที่มีปริมาณไซโลสน้อย แต่จะเห็นได้ว่ากลูโคสจะมีผลต่อการผลิตชีวมวลและการเจริญเติบโตของเซลล์ โดยการเติมกลูโคสลงในอาหารเลี้ยงเชื้อจะช่วยให้เชื้อเจริญเติบโตได้เร็วขึ้นและมีอัตราการผลิตไซลิทอลได้เร็วขึ้น เพราะฉะนั้นจะเห็นได้ว่าปริมาณของอัตราส่วน กลูโคส ไซโลสที่เหมาะสมจะทำให้เกิดการผลิตไซลิทอลได้ประสิทธิภาพสูงสุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

บทสรุป

จากผลการทดลองใช้ความเข้มข้นของกลูโคสต่อไซโลสที่ระดับต่าง ๆ เลี้ยงเชื้อ *Canida guilliermondiii* TISTR 5206(NCYC 145) เพื่อผลิตไซลิทอล โดยใช้เชื้อเริ่มต้นที่ 10 เปอร์เซ็นต์และ 5 เปอร์เซ็นต์ ควบคุมการให้อากาศด้วยเครื่องเขย่าความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที โดยใช้อาหารปริมาณ 200 มิลลิลิตร ใส่ฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิห้อง และควบคุมความเป็นกรดด่าง เป็น 6.5-7.0 พบว่าอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างกลูโคสต่อไซโลสจะส่งให้มีการผลิตไซลิทอลได้ประสิทธิภาพ โดยเมื่อใช้อัตราส่วนอาหารกลูโคส 5 กรัม/ลิตร ต่อไซโลส 15 กรัมต่อลิตรจะทำให้ลดระยะเวลาการผลิตและมีปริมาณไซลิทอลเป็นที่น่าพอใจ นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณของเชื้อเริ่มต้นจะมีผลต่อการผลิตไซลิทอล เมื่อเปรียบเทียบการใช้เชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์ และ 5 เปอร์เซ็นต์ ปรากฏว่า เชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์จะผลิตไซลิทอลได้สูงกว่า เพราะฉะนั้นจะเห็นได้ว่าปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่มากขึ้น จะให้ผลในการผลิตไซลิทอลได้เพิ่มขึ้น สรุปผลการทดลองจะเห็นว่าที่ปริมาณอาหารเลี้ยงเชื้อกลูโคสต่อไซโลส 5:15 กรัมต่อลิตร และใช้เชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์ จะให้ผลผลิตสูงสุด 1.699 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 62

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กล้าณรงค์ ศรีรอด ผศ.ดร., สารให้ความหวาน,16(1995)43-45: 17(1995)43-44: 18(1995)45-47:19(1995)44-46: 20(1995)45-47: 21(1995)48-50.

วิเชียร ลีลาวัชรมาศ รศ.ดร.,การค้นคว้าและวิจัยสารให้ความหวานในอาหารสุขภาพเฉพาะโรค ,20(1995)17-30.

สาโรจน์ ศิริศันสนียกุล ดร., สารให้ความหวานจากฟางข้าว,รายงานการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 32 สาขาอุตสาหกรรมเกษตร ,(1994) 39-52.

Alexander. M.A,Chapman, T.W.,Xylose metabolism by Candida shehatae in continuos culture ,28(1988)478-486.

Barbosa .M.F.S., de Medeiros ,M.B., de mancilha,L,M., Schneider, H& Lee,H., Screening of yeasts for production of xylitol from D-xylose and some factors which affect xylitol yield in *Candida guillermondii .J. Indust.Mircobiol*,3 (1955)241-51.

Batzinger,R.P. Ou S-Y and Bueding E.,Saccharine and other sweetner ,.Mutagenic properties., 198 (1977) , 944-946.

Culbert , S.J. Wang , Y.M. , Frische , H.a. Carr , D.lantin , E and van Eys., Oral xylitol in american adults. *Nutrition Res.*, 198 (1977) ., 913-922.

Dahiya , J.S. ., Xylito-l production by *Petromyces albergensis* grown on medium containing D-xylose. Can. *J. Microbial.* ,37 (1991)., 14-18.

Emodi , A., Xylitol. its properties and food applications.*Food Technol.*,32 (1978) 20-32.

Gong , C.s., Chen , L.F. and Tsao, G.T. Quantitative production of xylitol from D-xylose by a high xylitol productng yeast mutant *Candida tropicalis* Hpx 2. *Biotechnol.Lett.*3 , (1981)., 130-135.

Gong, C.S., Claypool, T.A., Mc Cracken, L.D., Maun, C.M., Ueng, P.P. and Tsao, G.T., Coversion of pentoses by , *Biotech. Bioeng.*, 25 (1983) 85-102.

Hofer , M., Betz, A. & Kotyk ,A., Metabolism of the oblitory aerobic yeast *Rhodotorula gracilis* :induction of an enzyme necessary for D-xylose catobolism. *Biochem. Biophys.-Acta*, 252 (1971)., 1-12.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Horitsu. H., Yahasi. Y., Takamizawa.K., Kawaii, L , Suzudi. T.&Watanabe. N., Production of xylitol from D-xylose by *Candida tropicalis* : optimization of production rate. *Biotech.Bioeng.*,40 (1992)1085-1091.

Hsiao , H.Y., Chiang, C.I., Ueng , P.P. & Tsao , G.T, Sequential utilization of mixed monosaccharide by yeast.. *Appl.Environ.Microbial.*, 43 (1982) 840-845.

Hyvoenen.L., Koivistqinen. P.&Voiirol,F.,Food technological evalution of xylitol. *Adv.Food Res.*, 28(1983)373-403.

Kitpreechsvanich. V., Hayashi, M., Nishio, N.&Nagai.s., Conversion of D-xylose into xylitol by xylose reductase from *Candida pelliculosa* coupled with oxidoreductase system of methanogen strain HU. *Biotechnol.Lett.*,6(1984)651-656.

Lee,H.,Atkin,A.L.,Barbosa, M.F.S., Dorshied, D.R. & Schneider, H.,Effect of biotin limitation on the conversion of xylose to ethanol and xylitol by *Pachysolen tannophilus* and *Candida guilliermondii. Enzy.Micro.Technol.*10(1988) 81-84.

Melaja, A. and Haemaelaeinen. L(1997) , Process for making xylitol us patent 4,008,285.

Nigam.P. and Singh D., Process for fermentative production of xylitol-a sugar substitute , *J..Process Biochem.*30 , 2 (1995) 117-124.

Nishio , N., Sugarwa, K., Hayase , N. & Nagai , S., Conversion of D-xylose into xylitol by immobilized cells of *Candida pelliculosa* and *Methanobacterium sp.* HU. J. *Ferment. Bioeng.*,67 (1989) 356-360.

Onishi.H. & Suzuki. Y., The production of xylitol L-arabinitol and ribitol by yeast . *Agric.Biol.Chem.*,30(1996) 1139-1144.

Prior, B.A., Kilian, S.G. & Du Preeze , J.C., Fermentation of D-xylose by the yeast *Candida shehatae* and *Pichia stipitis. Proc.Biochem.*, 24 (1989) 21-32.

Roberto , I.C., Mancilha,I.M.,de Souza, C.A., Felipe, M.G.A., Sato,S. & de Castro, H.F., Evaluation of rice straw hemicellulose hydrolyzate in the production of xylitol by *Candida guilliermonii. J.Biotechnol.Lett.*,16(1994)1211-1216.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Yeast Malt Extract Agar (YM Agar)

กลูโคส (glucose)	10	กรัม
เปปโตน (peptone)	5	กรัม
สารสกัดจากยีสต์ (yeast extract)	3	กรัม
สารสกัดจากมอลล์ (malt extract)	3	กรัม
ผงวุ้น (agar)	15	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร
พีเอช 6.5-7.0		

2. Yeast Malt Extract Broth (YM Broth)

กลูโคส (glucose)	10	กรัม
เปปโตน (peptone)	5	กรัม
สารสกัดจากยีสต์ (yeast extract)	3	กรัม
สารสกัดจากมอลล์ (malt extract)	3	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร
พีเอช 6.5-7.0		

3. Yeast Malt Extract Broth

ปริมาณสารอาหาร (กรัม)	0:20	5:15	10:10	20:0
กลูโคส	0	5	10	20
ไซโลส	20	15	10	0
เปปโตน	5	5	5	5
สารสกัดจากยีสต์	3	3	3	3
สารสกัดจากมอลล์	3	3	3	3
น้ำกลั่น (มิลลิลิตร)	1000	1000	1000	1000
พีเอช 6.5-7.0				

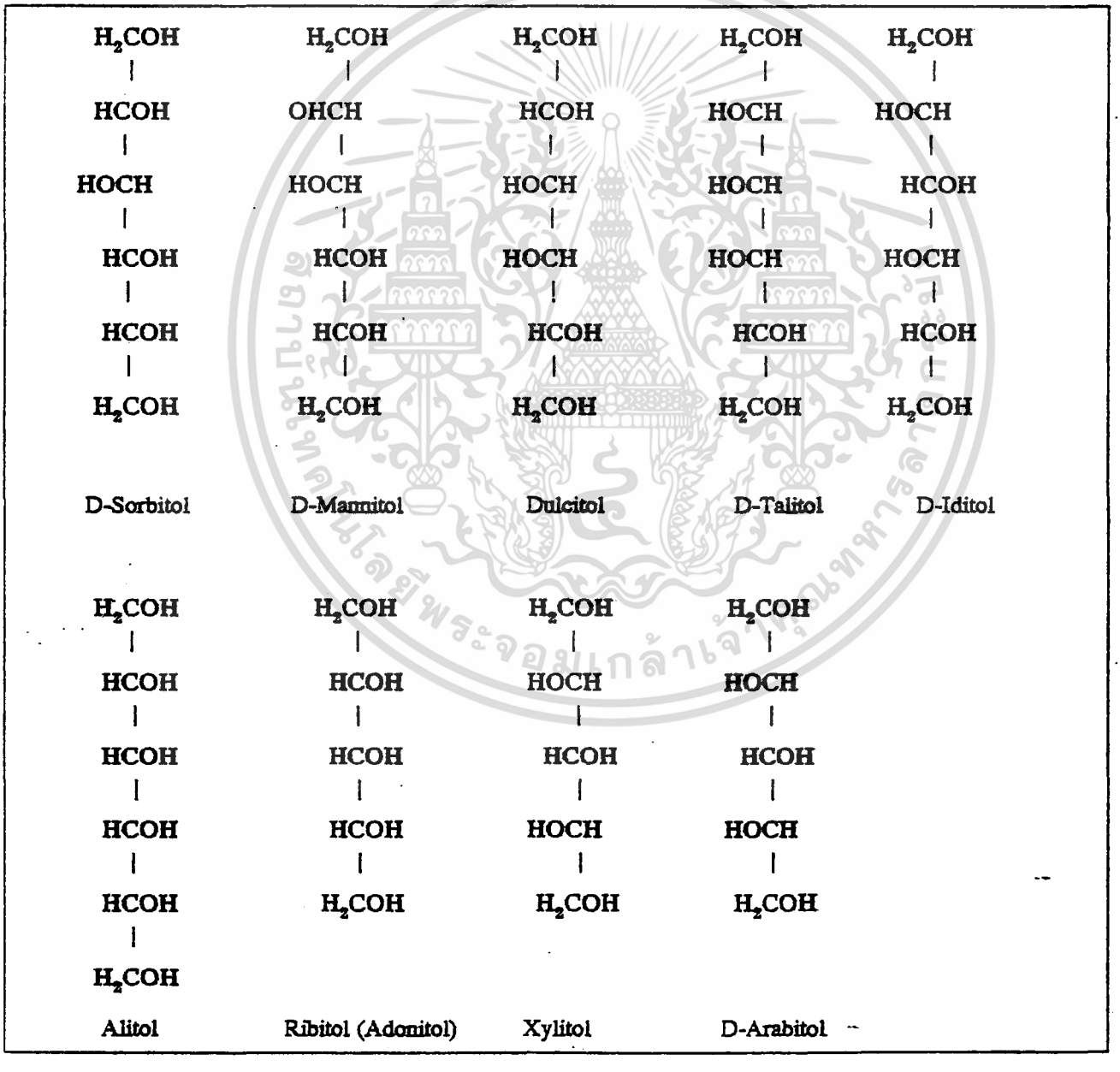
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ ก1 อาหารเลี้ยงเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

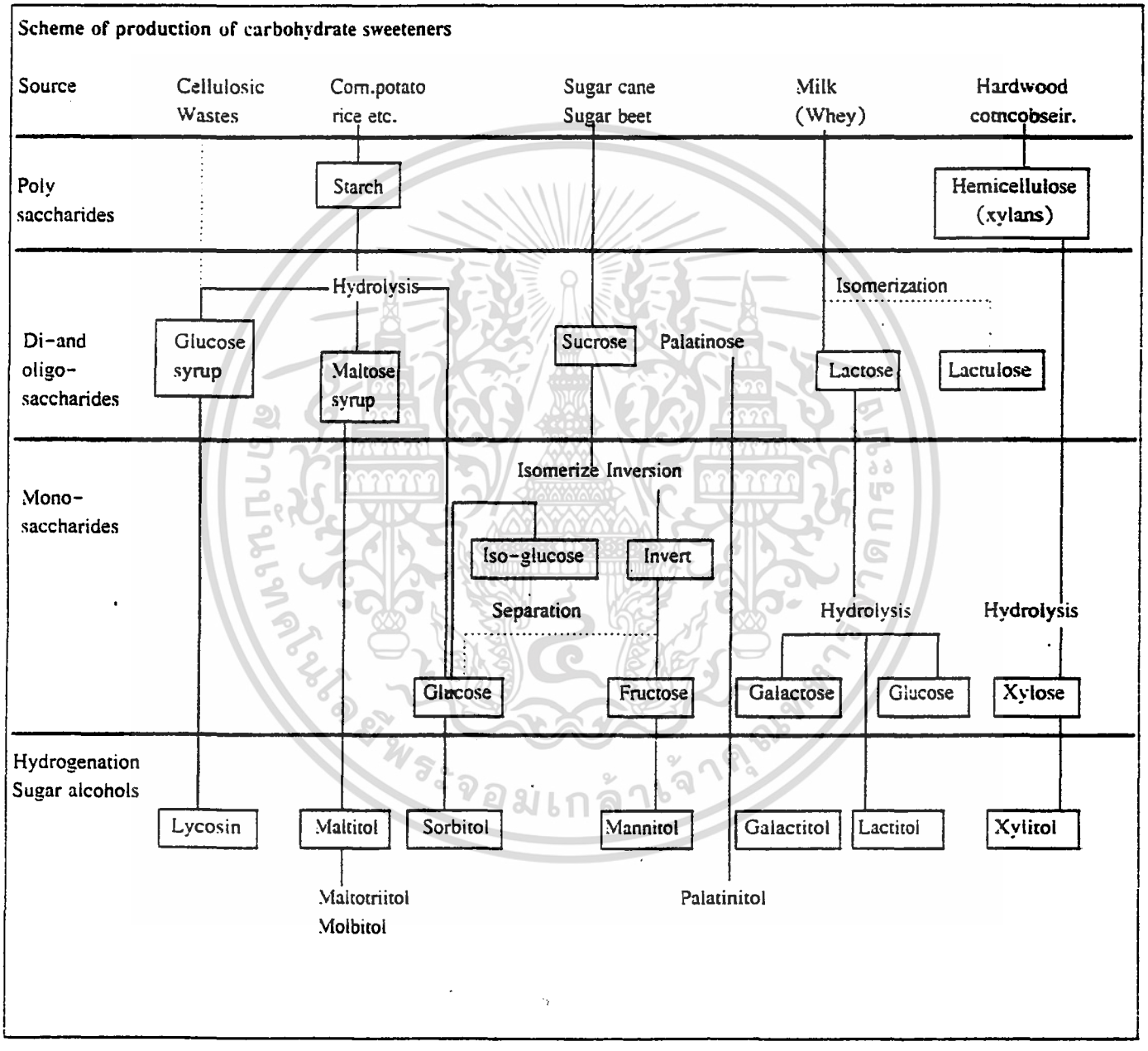
ภาคผนวก ข

Polyols



รูปที่ข2 สูตรโครงสร้างของสาร Polyol ชนิดต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ข3 แผนผังการผลิตสารให้ความหวานพวกคาร์โบไฮเดรต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข1 คุณสมบัติต่าง ๆ ทางกายภาพและทาง organoleptical ของ sugaralcohol

ตารางที่ 10 คุณสมบัติต่าง ๆ ทางกายภาพและทาง organoleptical ของ sugaralcohol

Sugaralcohol	Melting point (°C)	$[\alpha]_D^{25}$	ความหวาน*	Solubility 25°C(g/100 g)
D-Sorbitol				
Stabile form	96.4-97.2	2.0	0.48	235
instabile form	90.4-91.8			
D-Mannitol	166-167	-4.0	0.45	22
L-Iditol	73.5	-3.5	หาค่าไม่ได้	ละลายได้น้อยมาก
Dulcitol	188.5	ไม่เบี่ยงเบน	0.41	~3
Xylitol	93-95	ไม่เบี่ยงเบน	-1	64

*เมื่อเทียบให้น้ำตาลซูโครสมีความหวานเท่ากับ 1

ตารางที่ ข2 คุณสมบัติของน้ำตาลชนิดต่าง ๆ

ชนิด	การจับตัว	สารประกอบ	จุดหลอมเหลว (°C)	$[\alpha]_D^{20}$	Solubility ในน้ำที่ 20 °C (g/100g.)	ความหวาน
L-sorbose	-	-	159-165	-42.7-43.4	44	0.9
Maltitol	α-1,4	D-Glucose	?	+90		0.75
Maltotritol	α-1,4	D-Sorbose	?	+95		0.75
	α-1,6					
Lactitol	α-1,4	D-Galactose	165(ehtanol)	+14		0.5
		D-Sorbose	ประมาณ 72			
Isomaltitol	α-1,6	D-Glucose	168	+90.5	58	0.45
		D-Sorbose				
Glucopyranosido -1,6-mannitol	α-1,6	D-Glucose	173.5	+90.5	18	0.45
		D-Mannose				

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข3 คุณสมบัติต่าง ๆ ของน้ำตาลและแอลกอฮอลของน้ำตาลชนิดต่าง ๆ

คุณสมบัติ	Sorbitol	Fructose	Mannitol	Xylitol	Maltitol	Sorbose	Glucose syrup	Lactitol
การละลายในน้ำ (g/100ml) ที่ 20°C	C220	375	15.6 18°C	64 g/25°C	ละลายได้ง่าย	-	ไม่จำกัด	-
การละลายจนอิ่มตัวที่ 20 °C	70%	30%	20%	31%	-	45%	ไม่จำกัด	-
จุดหลอมเหลว	93-97	102-104	165-169	93-94.5	-	159-165	-	-
ความแข็งของผลึก	ปานกลาง	ปานกลาง	มาก	-	-	-	-	-
การทนความร้อน	ทนได้ดี	ทนได้ต่ำ (น้อย)	ทนได้ดี	ทนได้ดี	ทนได้ดี	ทนได้น้อย (น้อยกว่า)	ทนได้ดี	ทนได้ดี
ความหวานที่ 5% 20 °C	55-60	110	50	86-115	85	90	75	ต่ำ
20%	77	-	-	104	-	-	-	-
พลังงาน/g KJ	17.1	17.1	8.6	17.0	8.6	17.1	17.1	ไม่มีบันทึก
Kcal	4.10	4.10	2.06(?)	4.06	2.06	4.10	4.10	-
ปริมาณที่ใช้บริโภค(g) ผู้ใหญ่	30-60	50-80	10-20	30-50	ไม่ได้บันทึก	30	ไม่ได้บันทึก	ไม่ได้บันทึก
เด็ก	20		3	9-15				

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้