

การย่อยสลายเฮมิเซลลูโลสจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรและอุตสาหกรรม
การแปรรูปไม้เพื่อผลิตน้ำตาลไซลิตอลโดยเชื้อ
Debaryomyces hansenii TISTR 5155

HEMICELLULOSE HYDROLYSIS FROM WASTES OF AGRICULTURAL
AND WOOD INDUSTRIES FOR XYLITOL PRODUCTION BY
Debaryomyces hansenii TISTR 5155

ปิยะมาศ สระบัว
PIYAMARD SRABUA

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
บัณฑิตวิทยาลัย
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2547

ISBN 974-9709-70-5

การย่อยสลายเฮมิเซลลูโลสจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรและอุตสาหกรรม
การแปรรูปไม้เพื่อผลิตน้ำตาลไซลิตอลโดยเชื้อ
Debaryomyces hansenii TISTR 5155

HEMICELLULOSE HYDROLYSIS FROM WASTES OF AGRICULTURAL
AND WOOD INDUSTRIES FOR XYLITOL PRODUCTION BY
Debaryomyces hansenii TISTR 5155



ปิยะมาศ สระบัว
PIYAMARD SRABUA

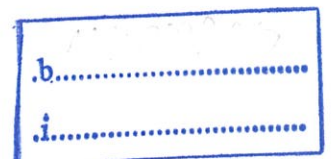
วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2547

ISBN 974-9709-70-5

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน...51661..
วัน,เดือน,ปี 26 ก.ค. 2547



**HEMICELLULOSE HYDROLYSIS FROM WASTES OF AGRICULTURAL
AND WOOD INDUSTRIES FOR XYLITOL PRODUCTION BY
Debaryomyces hansenii TISTR 5155**

PIYAMARD SRABUA

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENT FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN BIOTECHNOLOGY
SCHOOL OF GRADUATE STUDIES
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG**

2004

ISBN 974-9709-70-5

COPYRIGHT 2004

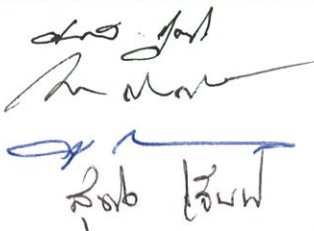
SCHOOL OF GRAUDATE STUDIES

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

บัณฑิตวิทยาลัย
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การย่อยสลายเฮมิเซลลูโลสจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรและอุตสาหกรรม
การแปรรูปไม้เพื่อผลิตน้ำตาลไซลิทอลโดยเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155
HEMICELLULOSE HYDROLYSIS FROM WASTES OF AGRICULTURAL
AND WOOD INDUSTRIES FOR XYLITOL PRODUCTIONS BY
Debaryomyces hansenii TISTR 5155

ชื่อนักศึกษา นางสาวปิยะมาศ สระบัว
รหัสประจำตัว 43065205
ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ รศ.สุขใจ ชูจันทร์

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์		ลายมือชื่อ
รศ.ดร.พรรณี	ฐิตาภิชิต	
รศ.มาลินี	ตันติยาภรณ์	
รศ.อรุณี	กนกศักดิ์ไพศาล	
รศ.สุขใจ	ชูจันทร์	

วัน/เดือน/ปี ที่สอบ 28 เมษายน 2547 เวลา 12.30-14.30 น.

สถานที่สอบ ณ อาคารจุฬารภรณ์วลัยลักษณ์ 1 ชั้น 4 ห้อง 424

บัณฑิตวิทยาลัยรับรองแล้ว

(ผศ.ดร.จรวุฒิ เจริญสุข)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่.....๒๗.....เดือน.....พฤษภาคม.....พ.ศ.....๒๕๔๗

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การย่อยสลายเฮมิเซลลูโลสจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรและอุตสาหกรรมการแปรรูปไม้เพื่อผลิตน้ำตาลไซลิทอลโดยเชื้อ <i>Debaryomyces hansenii</i> TISTR 5155
นักศึกษา	นางสาวปิยะมาศ สระบัว
รหัสประจำตัว	43065205
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
พ.ศ.	2547
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์	รศ.สุโขใจ ชูจันทร์

บทคัดย่อ

จากการศึกษาการย่อยสลายวัตถุดิบ 3 ชนิด ได้แก่ ฟางข้าว แกลบ และขี้เถ้า เพื่อคัดเลือกวัตถุดิบที่เหมาะสมในการผลิตน้ำตาลไซลิทอล พบว่าฟางข้าวสามารถให้ผลผลิตน้ำตาลไซโลสสูงที่สุด โดยมีสภาวะในการย่อยสลายที่อุณหภูมิ 126 องศาเซลเซียส นาน 90 นาที ด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 0.5 โมลต่อลิตร ที่อัตราส่วน ระหว่างฟางข้าวต่อสารละลายกรดซัลฟิวริกคือ 1 ต่อ 10 (น้ำหนักต่อปริมาตร) จากนั้นทำการศึกษารลดปริมาณสารพิษด้วยวิธีโอเวอร์ไลมิง และผงถ่านกัมมันต์ พบว่าระยะเวลาในการลดสารพิษที่เหมาะสมคือ 1 ชั่วโมง โดยใช้อัตราส่วนระหว่างผงถ่านกัมมันต์ต่อไฮโดรไลเสทเท่ากับ 1 ต่อ 100 น้ำหนักต่อปริมาตร เมื่อทำการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการผลิตน้ำตาลไซลิทอลระหว่างอาหารสังเคราะห์และไฮโดรไลเสทโดยการเลี้ยงเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 พบว่าอัตราการผลิตน้ำตาลไซลิทอลในอาหารสังเคราะห์และไฮโดรไลเสทเท่ากับ 0.2730 กรัมต่อกรัมน้ำตาลไซโลส และ 0.6667 กรัมต่อกรัมน้ำตาลไซโลสตามลำดับ

Thesis Title	Hemicellulose Hydrolysis from Wastes of Agricultural and Wood Industries for Xylitol Production by <i>Debaryomyces hansenii</i> TISTR 5155
Student	Miss Piyamard Srabua
Student ID.	43065205
Degree	Master of Science
Programme	Biotechnology
Year	2004
Thesis Advisor	Assoc.Prof. Sukjai Choojan

ABSTRACT

The study of hydrolysis for the best of materials in xylitol production by 3 raw materials (rice straws, husk and sawdust). The rice straw obtain xylose highest in the condition of 126^o C at 90 minute by 0.5 M sulfuric acid solution between rice straw and sulfuric acid solution in 1 : 10 (w/v). The studies of detoxification by overliming method and using activated charcoal resulted that 1 hour was appropriate for toxic reducing by using the ratio of charcoal and hydrolysate as 1:100 (w/v). Comparisons of synthesis medium and hydrolysate for xylitol production by *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 was 0.2730 g/g xylose and 0.6667 g/g xylose, respectively.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้เนื่องด้วยความกรุณาตลอดทั้งคำแนะนำและความช่วยเหลือที่มีประโยชน์จาก รศ. สุขใจ ชูจันทร์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ คำแนะนำต่าง ๆ รวมถึงประสบการณ์ที่ได้รับจากงานวิจัยนี้จักเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อข้าพเจ้าในภายหน้า ข้าพเจ้ารู้สึกซาบซึ้งในความกรุณาที่ได้รับจากอาจารย์เป็นอย่างสูง และขอกราบขอบพระคุณไว้ ณ. ที่นี้ด้วย

ขอกราบขอบพระคุณ รศ. ดร. พรรณี จิตาภิชิต ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ รศ. มาลินี ดันติยาภรณ์ และรศ. อรุณี คงศักดิ์ไพศาล กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ที่กรุณาสละเวลาอันมีค่าเพื่อเป็นกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์ รวมถึงคำแนะนำ ตรวจสอบ และแก้ไขเพื่อให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความเรียบร้อยสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณ คุณประสิทธิ์ และคุณวิथा เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ คุณมัทธนา และคุณนิภา พันธุ์ เจ้าหน้าที่ธุรการ ตลอดถึงพี่ ๆ เจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้องทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือในเรื่องต่าง ๆ รวมทั้งความกรุณาที่มีให้ตลอดมา และขอขอบคุณพี่ ๆ เพื่อน ๆ และน้อง ๆ นักศึกษาปริญญาโททุกท่านสำหรับความช่วยเหลือในทุกเรื่องและมีมิตรภาพที่ดีตลอดมา

ขอขอบคุณ คุณจากรุวรรณ ต้นประเสริฐ ที่ให้ความช่วยเหลือในการเตรียมวัสดุคืบ และคุณ พงศธร กิมเฮง ที่ให้ความช่วยเหลืออย่างมากทั้งด้านการทำวิทยานิพนธ์และงานเอกสารต่าง ๆ

สุดท้ายนี้ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ นายปราโมทย์ และนางยุพา สระบัว บิดา และมารดา ของข้าพเจ้าที่ให้อำนาจใจ ดูแลเอาใจใส่ ตลอดทั้งให้คำปรึกษาและช่วยเหลือตลอดมา

คุณค่าและประโยชน์อันพึงมีจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบแด่ผู้มีพระคุณทุกท่าน

ปิยะมาศ สระบัว

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	II
กิตติกรรมประกาศ.....	III
สารบัญ.....	IV
สารบัญตาราง.....	VIII
สารบัญภาพ.....	XI
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ที่มาของงานวิจัย.....	1
1.2 จุดประสงค์ของงานวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 องค์ประกอบของวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรประเภทลิกโนเซลลูโลส.....	4
2.2 แกนหลักของไซลเลน.....	10
2.3 ธรรมชาติของโซ่กิ่งในไซลเลน.....	10
2.4 การย่อยสลายไซลเลนในวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร.....	11
2.5 น้ำตาลไซโลส.....	12
2.6 น้ำตาลไซลิทอล.....	12
2.7 คุณสมบัติของน้ำตาลไซลิทอล.....	12
2.8 คุณสมบัติอื่น ๆ ที่น่าสนใจของน้ำตาลไซลิทอล.....	13
2.9 การใช้น้ำตาลไซลิทอลในผลิตภัณฑ์อาหาร.....	17
2.10 ตัวอย่างการใช้น้ำตาลไซลิทอลในผลิตภัณฑ์อาหาร.....	17
2.11 ข้อจำกัดในการใช้น้ำตาลไซลิทอล.....	20
2.12 เมแทบอลิซึมของน้ำตาลไซลิทอลในร่างกายมนุษย์.....	20
2.13 การผลิตน้ำตาลไซลิทอล.....	22
2.14 วิธีการต่าง ๆ ที่ใช้ในการผลิตน้ำตาลไซลิทอล.....	23
2.15 การผลิตด้วยกระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพ.....	26

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.16 กระบวนการเมแทบอลิซึมในการผลิตน้ำตาลไซลิทอล.....	26
2.17 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตน้ำตาลไซลิทอลด้วยกระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพ...	34
2.18 การผลิตน้ำตาลไซลิทอลโดยใช้เซลล์ตรึง.....	48
2.19 อาหารเลี้ยงเชื้อในกระบวนการหมัก.....	48
2.20 ความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อกับกระบวนการหมัก.....	49
2.21 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่เกิดจาก กระบวนการย่อยสลายวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร.....	49
2.22 วิธีการลดความเป็นพิษที่เกิดจากการย่อยสลายวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร.....	50
2.23 การลดความเป็นพิษโดยวิธีโอเวอร์ไลมิง.....	51
2.24 การลดความเป็นพิษโดยใช้ถ่านกัมมันต์.....	51
2.25 ถ่านกัมมันต์ (Charcoal).....	52
2.26 สันฐานวิทยาของยีสต์.....	57
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย.....	59
3.1 อุปกรณ์การทดลอง.....	59
3.2 เคมีภัณฑ์สำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อ.....	59
3.3 เคมีภัณฑ์สำหรับการหาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลาย วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรและอุตสาหกรรมการแปรรูปไม้.....	60
3.4 เคมีภัณฑ์สำหรับวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลไซโลส ตามวิธีของ Deschatelets และ Yu (1986).....	60
3.5 เคมีภัณฑ์สำหรับวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลไซลิทอล ตามวิธีของ Alder และ Gustafsson (1980).....	60
3.6 เคมีภัณฑ์สำหรับวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลกลูโคส ตามวิธีของ Somogyi Nelson's (1952).....	60
3.7 วัสดุคิบที่ใช้ในการทดลอง.....	61
3.8 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการวิจัย.....	61
3.9 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายเฮมิเซลลูโลส จากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร.....	62

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.10 การลดปริมาณสารพิษด้วยวิธีโอเวอร์ไลมิง.....	64
3.11 การศึกษาการลดปริมาณสารพิษโดยใช้ผงถ่านกัมมันต์.....	65
3.12 ศึกษาการเจริญของเชื้อ <i>Debaryomyces hansenii</i> TISTR 5155 ในอาหารสังเคราะห์ (YM medium).....	66
3.13 ศึกษาการเจริญของเชื้อ <i>Debaryomyces hansenii</i> TISTR 5155 ในอาหารไฮโดรไลเสท.....	66
3.14 การศึกษาเปรียบเทียบการผลิตไซลิทอลระหว่าง อาหารสังเคราะห์และไฮโดรไลเสท.....	67
บทที่ 4 ผลการทดลอง.....	68
4.1 ผลการศึกษาการหาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายวัตถุดิบ.....	68
4.2 ผลการศึกษาการลดปริมาณสารพิษด้วยวิธีโอเวอร์ไลมิง.....	83
4.3 ผลการศึกษาการลดปริมาณสารพิษโดยใช้ผงถ่านกัมมันต์.....	85
4.4 ผลการศึกษาอัตราการเจริญของเชื้อ <i>Debaryomyces hansenii</i> TISTR 5155 ในอาหารสังเคราะห์ (YM medium).....	97
4.5 ผลการศึกษาอัตราการเจริญของเชื้อ <i>Debaryomyces hansenii</i> TISTR 5155 ในอาหารไฮโดรไลเสท.....	100
4.6 ผลการศึกษาเปรียบเทียบการผลิตน้ำตาลไซลิทอลระหว่าง อาหารสังเคราะห์และอาหารไฮโดรไลเสท.....	102
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง.....	107
บรรณานุกรม.....	109
ภาคผนวก ก อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับจุลินทรีย์.....	117
ภาคผนวก ข สารเคมีและวิธีการวิเคราะห์.....	118
ภาคผนวก ค การวิเคราะห์ทางสถิติ.....	124
ภาคผนวก ง ผลการวิเคราะห์ค่าทางสถิติ.....	126

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
ประวัติผู้เขียน.....	139

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 องค์ประกอบของวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรบางชนิด.....	9
2.2 คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของน้ำตาลไซลิทอล.....	12
2.3 เปรียบเทียบความหวานของสารให้ความหวานชนิดต่าง ๆ.....	14
2.4 ค่าความร้อนจำเพาะของการละลายของน้ำตาลชนิดต่าง ๆ.....	14
2.5 คุณสมบัติในการละลายของน้ำตาลแอลกอฮอล์ในน้ำที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส.....	15
2.6 คุณสมบัติทางกายภาพระหว่างของน้ำตาลไซลิทอลและน้ำตาลซูโครส.....	16
2.7 ปริมาณน้ำตาลไซลิทอลในผักและผลไม้.....	24
2.8 องค์ประกอบของสารละลายน้ำตาลที่ได้จากการไฮโดรไลซิส.....	25
2.9 องค์ประกอบของสารละลายน้ำตาลแอลกอฮอล์ที่ได้จากกระบวนการไฮโดรจีเนชัน.....	25
2.10 กิจกรรมของเอนไซม์ไซโลสรีดักเตสและไซลิทอลดีไฮโดรจีเนส ในยีสต์ที่สามารถใช้น้ำตาลไซโลสได้.....	28
2.11 การผลิตน้ำตาลไซลิทอลโดยเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ.....	36
2.12 ผลของความเข้มข้นน้ำตาลไซโลสที่มีผลต่อการผลิตน้ำตาลไซลิทอล.....	42
2.13 การใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นสารตั้งต้นร่วมในการผลิตน้ำตาลไซลิทอล.....	44
2.14 ความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมของเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดที่สามารถ ผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้.....	46
3.1 การศึกษาเพื่อหาอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการย่อยสลายวัตถุดิบ.....	62
3.2 การศึกษาเพื่อหาความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟูริก ที่เหมาะสมในการย่อยสลายวัตถุดิบ.....	63
3.3 การศึกษาเพื่อหาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างวัตถุดิบและสารละลายกรดซัลฟูริก ที่ใช้ในการย่อยสลายวัตถุดิบ.....	64
4.1 ปริมาณน้ำตาลไซโลสที่ได้จากการศึกษาอุณหภูมิและเวลาในการย่อยสลายฟางข้าว.....	68
4.2 เปรียบเทียบอุณหภูมิที่เหมาะสมในการย่อยสลายฟางข้าว.....	69
4.3 ปริมาณน้ำตาลไซโลสที่ได้จากการศึกษาอุณหภูมิและเวลาในการย่อยสลายขี้เถ้า.....	70
4.4 เปรียบเทียบอุณหภูมิที่เหมาะสมในการย่อยสลายขี้เถ้า.....	74
4.5 ปริมาณน้ำตาลไซโลสที่ได้จากการศึกษาอุณหภูมิและเวลาในการย่อยสลายแกลบ.....	76
4.6 เปรียบเทียบอุณหภูมิที่เหมาะสมในการย่อยสลายแกลบ.....	77

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4.7 ปริมาณน้ำตาลไซโลสที่ได้จากการย่อยสลายวัตถุดิบ (ฟางข้าว จี้เลื่อย แกลบ) จากการศึกษาความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟิวริก (ช่วงกว้าง).....	78
4.8 ปริมาณน้ำตาลไซโลสที่ได้จากการย่อยสลายวัตถุดิบ (ฟางข้าว จี้เลื่อย แกลบ) จากการศึกษาความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟิวริก.....	79
4.9 ปริมาณน้ำตาลไซโลสและปริมาณน้ำตาลไซโลสต่อวัตถุดิบในการย่อยสลาย ฟางข้าวจากการศึกษาอัตราส่วนระหว่างวัตถุดิบ ต่อปริมาณสารละลายกรดซัลฟิวริก.....	84
4.10 ปริมาณน้ำตาลไซโลสและปริมาณน้ำตาลไซโลสต่อวัตถุดิบในการย่อยสลาย จี้เลื่อยจากการศึกษาอัตราส่วนระหว่างวัตถุดิบ ต่อปริมาณสารละลายกรดซัลฟิวริก.....	86
4.11 ปริมาณน้ำตาลไซโลสและปริมาณน้ำตาลไซโลสต่อวัตถุดิบในการย่อยสลาย แกลบจากการศึกษาอัตราส่วนระหว่างวัตถุดิบ ต่อปริมาณสารละลายกรดซัลฟิวริก.....	87
4.12 ปริมาณน้ำตาลไซโลส น้ำตาลรีดิวิซ์ และอัตราการเจริญจากการศึกษา การลดปริมาณสารพิษด้วยวิธีโอเวอร์ไลมิ่ง.....	88
4.13 ปริมาณน้ำตาลไซโลส น้ำตาลรีดิวิซ์ และอัตราการเจริญจากการศึกษา การลดปริมาณสารพิษด้วยผงถ่านกัมมันต์เป็นเวลา 1 ชั่วโมง.....	89
4.14 ปริมาณน้ำตาลไซโลส น้ำตาลรีดิวิซ์ และอัตราการเจริญจากการศึกษา การลดปริมาณสารพิษด้วยผงถ่านกัมมันต์เป็นเวลา 6 ชั่วโมง.....	90
4.15 ปริมาณน้ำตาลไซโลส น้ำตาลรีดิวิซ์ และอัตราการเจริญจากการศึกษา การลดปริมาณสารพิษด้วยผงถ่านกัมมันต์เป็นเวลา 12 ชั่วโมง.....	91
4.16 ปริมาณน้ำตาลไซโลส น้ำตาลรีดิวิซ์ และอัตราการเจริญจากการศึกษา การลดปริมาณสารพิษด้วยผงถ่านกัมมันต์เป็นเวลา 18 ชั่วโมง.....	93
4.17 ปริมาณน้ำตาลไซโลส น้ำตาลรีดิวิซ์ อัตราการเจริญจากการศึกษา การลดปริมาณสารพิษด้วยผงถ่านกัมมันต์เป็นเวลา 24 ชั่วโมง.....	94
4.18 เปรียบเทียบเวลาที่เหมาะสมในการลดปริมาณสารพิษด้วยผงถ่านกัมมันต์.....	95
4.19 ปริมาณน้ำตาลไซโลส น้ำตาลรีดิวิซ์ และอัตราการเจริญจากการศึกษา การลดปริมาณสารพิษ โดยใช้ผงถ่านกัมมันต์ในอัตราส่วน 1 ต่อ 25.....	96

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4.20 ปริมาณน้ำตาลไซโลส น้ำตาลรีควิวซ์ อัตราการเจริญจากการศึกษา การลดปริมาณสารพิษโดยใช้ผงถ่านกัมมันต์ในอัตราส่วน 1 ต่อ 50.....	97
4.21 ปริมาณน้ำตาลไซโลส น้ำตาลรีควิวซ์ และอัตราการเจริญจากการศึกษา การลดปริมาณสารพิษโดยใช้ผงถ่านกัมมันต์ในอัตราส่วน 1 ต่อ 100.....	99
4.22 ปริมาณน้ำตาลไซโลส น้ำตาลรีควิวซ์ และอัตราการเจริญจากการศึกษา การลดปริมาณสารพิษโดยใช้ผงถ่านกัมมันต์ในอัตราส่วน 1 ต่อ 200.....	99
4.23 เปรียบเทียบอัตราส่วนที่เหมาะสมในการลดปริมาณสารพิษด้วยผงถ่านกัมมันต์.....	101
4.24 ปริมาณน้ำตาลรีควิวซ์ น้ำหนักเซลล์แห้ง และอัตราการเจริญจากการศึกษาอัตราการเจริญ ของเชื้อ <i>Debaryomyces hansenii</i> TISTR 5155 ในอาหารสังเคราะห์.....	98
4.25 ปริมาณน้ำตาลรีควิวซ์ น้ำหนักเซลล์แห้ง และอัตราการเจริญจากการศึกษาอัตราการเจริญ ของเชื้อ <i>Debaryomyces hansenii</i> TISTR 5155 ในอาหารไฮโดรไลเสท.....	100
4.26 ปริมาณน้ำตาลไซโลส น้ำตาลรีควิวซ์ น้ำตาลไซลิทอล และอัตราการเจริญจากการศึกษา อัตราการเจริญของเชื้อ <i>Debaryomyces hansenii</i> TISTR 5155 ในอาหาร สังเคราะห์ที่มีน้ำตาลไซโลส 60 กรัมต่อลิตร.....	103
4.27 ปริมาณน้ำตาลไซโลส น้ำตาลรีควิวซ์ น้ำตาลไซลิทอล และอัตราการเจริญจากการศึกษา อัตราการเจริญของเชื้อ <i>Debaryomyces hansenii</i> TISTR 5155 ในอาหาร ไฮโดรไลเสทที่มีน้ำตาลไซโลส 60 กรัมต่อลิตร.....	105

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 โครงสร้างของ glucuronoxylan.....	5
2.2 โครงสร้างของ glucomannan.....	5
2.3 โครงสร้างของ galactoglucomannans.....	6
2.4 โครงสร้างของ arabinoglucuronoxylan.....	7
2.5 โครงสร้างของ arabinogalactan.....	7
2.6 โครงสร้างของ O-acetyl-arabino-4-O-methylglucuronoxylan ในพืชล้มลุกและพืชตระกูลหญ้า.....	8
2.7 โครงสร้างของไซแลน.....	10
2.8 ผลของน้ำตาลไซลิทอลและน้ำตาลกลูโคสต่อระดับน้ำตาลในเลือด.....	16
2.9 เมตาบอลิซึมของน้ำตาลไซลิทอลในร่างกายมนุษย์.....	21
2.10 วิธีการต่าง ๆ ที่ใช้ในการผลิตน้ำตาลไซลิทอล.....	23
2.11 วิธีการเกิดน้ำตาลไซลิทอลจากเมตาบอลิซึมของไซโลส.....	27
2.12 เมตาบอลิซึมของน้ำตาลไซโลสเพื่อสร้างไซลูลอส-5-ฟอสเฟต.....	29
2.13 เมตาบอลิซึมของไซลูลอส-5-ฟอสเฟตของยีสต์ <i>Pachysolen tannophilus</i>	30
2.14 การสร้างและใช้โคเอนไซม์ (coenzyme regeneration) ในยีสต์ที่หมักน้ำตาลไซโลสได้.....	32
2.15 เมตาบอลิซึมของน้ำตาลไซโลสในยีสต์.....	33
4.1 ปริมาณน้ำตาลไซโลสที่ได้จากการศึกษาอุณหภูมิและเวลาในการย่อยสลายฟางข้าว.....	69
4.2 ปริมาณน้ำตาลไซโลสที่ได้จากการศึกษาอุณหภูมิและเวลาในการย่อยสลายขี้เลื่อย.....	70
4.3 ปริมาณน้ำตาลไซโลสที่ได้จากการศึกษาอุณหภูมิและเวลาในการย่อยสลายแกลบ.....	72
4.4 ปริมาณน้ำตาลไซโลสที่ได้จากการย่อยสลายวัตถุดิบ (ฟางข้าว ขี้เลื่อย แกลบ) จากการศึกษาความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟิวริก (ช่วงกว้าง).....	74
4.5 ปริมาณน้ำตาลไซโลสที่ได้จากการย่อยสลายวัตถุดิบ (ฟางข้าว ขี้เลื่อย แกลบ) จากการศึกษาความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟิวริก.....	76
4.6 ปริมาณน้ำตาลไซโลสและปริมาณน้ำตาลไซโลสต่อวัตถุดิบ ในการย่อยสลายฟางข้าวจากการศึกษาอัตราส่วนระหว่างวัตถุดิบ ต่อปริมาณสารละลายกรดซัลฟิวริก.....	77

สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4.7 ปริมาณน้ำตาลไซโลสและปริมาณน้ำตาลไซโลสต่อวัตตุดิบ ในการย่อยสลายจี้่ล่อกจากการศึกษาอัตราส่วนระหว่างวัตตุดิบ ต่อปริมาณสารละลายกรดซัลฟิวริก.....	78
4.8 ปริมาณน้ำตาลไซโลสและปริมาณน้ำตาลไซโลสต่อวัตตุดิบ ในการย่อยสลายแกลบจากการศึกษาอัตราส่วนระหว่างวัตตุดิบ ต่อปริมาณสารละลายกรดซัลฟิวริก.....	79
4.9 ปริมาณน้ำตาลไซโลส น้ำตาลรีดิวิซ์ และอัตราการเจริญจากการศึกษา การลดปริมาณสารพิษด้วยวิธีโอเวอร์โลมิ่ง.....	84
4.10 ปริมาณน้ำตาลไซโลส น้ำตาลรีดิวิซ์ และอัตราการเจริญจากการศึกษา การลดปริมาณสารพิษโดยใช้ผงถ่านกัมมันต์เป็นเวลา 1 ชั่วโมง.....	86
4.11 ปริมาณน้ำตาลไซโลส น้ำตาลรีดิวิซ์ และอัตราการเจริญจากการศึกษา การลดปริมาณสารพิษโดยใช้ผงถ่านกัมมันต์เป็นเวลา 6 ชั่วโมง.....	87
4.12 ปริมาณน้ำตาลไซโลส น้ำตาลรีดิวิซ์ อัตราการเจริญจากการศึกษา การลดปริมาณสารพิษโดยใช้ผงถ่านกัมมันต์เป็นเวลา 12 ชั่วโมง.....	88
4.13 ปริมาณน้ำตาลไซโลส น้ำตาลรีดิวิซ์ และอัตราการเจริญจากการศึกษา การลดปริมาณสารพิษโดยใช้ผงถ่านกัมมันต์เป็นเวลา 18 ชั่วโมง.....	89
4.14 ปริมาณน้ำตาลไซโลส น้ำตาลรีดิวิซ์ และอัตราการเจริญจากการศึกษา การลดปริมาณสารพิษโดยใช้ผงถ่านกัมมันต์เป็นเวลา 24 ชั่วโมง.....	90
4.15 เปรียบเทียบอัตราการเจริญจากการศึกษาการลดปริมาณสารพิษโดยใช้ผงถ่านกัมมันต์ ที่ 0, 1, 6, 12, 18 และ 24 ชั่วโมง.....	91
4.16 ปริมาณน้ำตาลไซโลส น้ำตาลรีดิวิซ์ และอัตราการเจริญจากการศึกษาการลดปริมาณ สารพิษโดยใช้ผงถ่านกัมมันต์ในอัตราส่วน 1 ต่อ 25.....	93
4.17 ปริมาณน้ำตาลไซโลส น้ำตาลรีดิวิซ์ และอัตราการเจริญจากการศึกษาการลดปริมาณ สารพิษโดยใช้ผงถ่านกัมมันต์ในอัตราส่วน 1 ต่อ 50.....	94
4.18 ปริมาณน้ำตาลไซโลส น้ำตาลรีดิวิซ์ และอัตราการเจริญจากการศึกษาการลดปริมาณ สารพิษโดยใช้ผงถ่านกัมมันต์ในอัตราส่วน 1 ต่อ 100.....	95
4.19 ปริมาณน้ำตาลไซโลส น้ำตาลรีดิวิซ์ อัตราการเจริญจากการศึกษาการลดปริมาณ สารพิษโดยใช้ผงถ่านกัมมันต์ในอัตราส่วน 1 ต่อ 200.....	96

สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4.20	เปรียบเทียบอัตราการเจริญจากการศึกษาการลดปริมาณสารพิษ โดยใช้ผงถ่านกัมมันต์ ในอัตราส่วน 1 ต่อ 25, 1 ต่อ 50, 1 ต่อ 100 และ 1 ต่อ 200.....97
4.21	ค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง และอัตราการเจริญจากการศึกษาอัตราการเจริญ ของเชื้อ <i>Debaryomyces hansenii</i> TISTR 5155 ในอาหารสังเคราะห์.....99
4.22	ค่าน้ำตาลรีดิวซ์จากการศึกษาอัตราการเจริญ ของเชื้อ <i>Debaryomyces hansenii</i> TISTR 5155 ในอาหารสังเคราะห์.....99
4.23	ค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง และอัตราการเจริญจากการศึกษาอัตราการเจริญ ของเชื้อ <i>Debaryomyces hansenii</i> TISTR 5155 ในอาหารไฮโดรไลเสท.....101
4.24	ค่าน้ำตาลไซโลสและน้ำตาลรีดิวซ์จากการศึกษาอัตราการเจริญของเชื้อ <i>Debaryomyces hansenii</i> TISTR 5155 ในอาหารไฮโดรไลเสท.....102
4.25	ปริมาณน้ำตาลไซโลส น้ำตาลรีดิวซ์ น้ำตาลไซลิทอล และอัตราการเจริญ จากการศึกษาอัตราการเจริญของเชื้อ <i>Debaryomyces hansenii</i> TISTR 5155 ในอาหารสังเคราะห์ที่มีน้ำตาลไซโลส 60 กรัมต่อลิตร.....104
4.26	ปริมาณน้ำตาลไซโลส น้ำตาลรีดิวซ์ น้ำตาลไซลิทอล และอัตราการเจริญ จากการศึกษาอัตราการเจริญของเชื้อ <i>Debaryomyces hansenii</i> TISTR 5155 ในอาหารไฮโดรไลเสทที่มีน้ำตาลไซโลส 60 กรัมต่อลิตร.....106

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาของงานวิจัย

องค์ประกอบของวัสดุเหลือทิ้งที่ได้จากอุตสาหกรรมการแปรรูปไม้และการเกษตรจะประกอบด้วยส่วนหลัก 3 ส่วน ได้แก่ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินในอัตราส่วน 4 ต่อ 3 ต่อ 3 (Brauns and Branus. 1960) ในส่วนของเฮมิเซลลูโลสจะมีลักษณะเป็นสายยาว (polymer) มีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นน้ำตาลได้แก่ ไซโลส แมนโนส กาแลคโตส และอราบินอส โดยเมื่อทำการย่อยสลายเฮมิเซลลูโลส น้ำตาลที่ได้ส่วนใหญ่คือน้ำตาลไซโลสซึ่งเป็นสารเริ่มต้นในการผลิตน้ำตาลไซลิตอล

น้ำตาลไซลิตอลเป็นน้ำตาลแอลกอฮอล์ชนิดหนึ่งมีจำนวนคาร์บอน 5 อะตอมซึ่งได้จากการเปลี่ยนแปลงน้ำตาลไซโลส ปกติจะพบน้ำตาลไซลิตอลเป็นสารตัวกลาง (intermediate) ของเมแทบอลิซึมคาร์โบไฮเดรตในมนุษย์และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมและยังสามารถพบได้ในธรรมชาติในผักผลไม้หลายชนิด (Washuttl *et. al.* 1973) แต่มีในปริมาณน้อยมาก ในการศึกษาถึงคุณสมบัติของน้ำตาลไซลิตอลพบว่า เป็นน้ำตาลแอลกอฮอล์ที่มีประโยชน์มากชนิดหนึ่งเช่น คุณสมบัติเป็นสารให้ความหวานที่ไม่ทำให้เกิดฟันผุ ให้รสชาติเย็นสดชื่นคล้ายเมนทอล มีความคงตัวสูงไม่ทำปฏิกิริยาเคมีกับสารอื่นในการเตรียมเป็นยา เป็นน้ำตาลแอลกอฮอล์เพียงชนิดเดียวที่มีความหวานเทียบเท่ากับน้ำตาลซูโครส และสามารถใช้เป็นสารให้ความหวานแก่ผู้ป่วยเบาหวานเพราะไม่มีผลต่อระดับน้ำตาลในเลือด ด้วยคุณสมบัติดังกล่าวจึงมีผู้สนใจจำนวนมากแต่เนื่องจากว่าในธรรมชาติมีปริมาณน้อยมากจึงไม่คุ้มค่าในเชิงพาณิชย์หากนำมาสกัด แต่ในทางการค้าจะใช้กระบวนการทางเคมีด้วยการใช้กรดหรือด่างเจือจางย่อยวัสดุที่มีส่วนประกอบของเฮมิเซลลูโลสเพื่อให้ได้น้ำตาลไซโลสและเปลี่ยนน้ำตาลไซโลสเป็นน้ำตาลไซลิตอลด้วยการเติมไฮโดรเจนภายใต้ความดันและอุณหภูมิสูงโดยมีนิกเกิลเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาหรือใช้กระบวนการทางเคมีร่วมกับกระบวนการทางชีวภาพคือหลังจากที่ได้น้ำตาลไซโลสแล้วจะนำไปเลี้ยงด้วยจุลินทรีย์เพื่อผลิตน้ำตาลไซลิตอล

จากการที่ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมมีวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรและอุตสาหกรรมการแปรรูปไม้จำนวนมากจึงได้มีการศึกษาการผลิตน้ำตาลไซลิตอลโดยเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ซึ่งใช้กระบวนการทางเคมีโดยใช้สารละลายกรดซัลฟิวริกในการย่อยสลายวัตถุดิบเพื่อให้ได้น้ำตาลไซโลสและกระบวนการทางชีวภาพโดยใช้เชื้อดังกล่าวข้างต้นมาเลี้ยงเพื่อผลิตน้ำตาลไซลิตอล จากการศึกษาดังกล่าวจะเป็นประโยชน์ในการลดปัญหาสิ่งแวดล้อมและสามารถเพิ่มมูลค่าแก่วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรทางหนึ่งด้วย

1.2 จุดประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายวัตถุดิบ ได้แก่ อุนหนุมิ ระยะเวลา ความเข้มข้นของสารละลายกรด และอัตราส่วนระหว่างวัตถุดิบต่อสารละลายกรดเพื่อให้ได้น้ำตาลไซโลสสูงสุด

1.2.2 เปรียบเทียบและคัดเลือกวัตถุดิบ (ฟางข้าว แกลบ ชี้อ้อย) เพื่อนำมาศึกษาการผลิตน้ำตาลไซลิตอลโดยเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155

1.2.3 ศึกษาระยะเวลาในการใช้ผงถ่านกัมมันต์เพื่อลดปริมาณสารพิษของไฮโดรไลเซทก่อนนำไปใช้ในการผลิตน้ำตาลไซลิตอล

1.2.4 ศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างผงถ่านกัมมันต์และไฮโดรไลเซทเพื่อใช้ในการลดปริมาณสารพิษก่อนนำไปผลิตน้ำตาลไซลิตอล

1.2.5 ศึกษาเปรียบเทียบการผลิตน้ำตาลไซลิตอลระหว่างอาหารสังเคราะห์กับอาหารไฮโดรไลเซท

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการผลิตน้ำตาลไซลิตอลจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรและอุตสาหกรรมการแปรรูปไม้โดยเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 โดยจะทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายวัตถุดิบเพื่อให้ได้น้ำตาลไซโลสนำมาใช้เป็นวัตถุดิบเริ่มต้นในการผลิตน้ำตาลไซลิตอล พร้อมทั้งศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการลดปริมาณสารพิษของไฮโดรไลเซทด้วยผงถ่านกัมมันต์หลังจากนั้นจะนำไฮโดรไลเซทที่ได้มาเลี้ยงเชื้อเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการผลิตน้ำตาลไซลิตอลกับอาหารสังเคราะห์

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ทราบถึงกระบวนการและสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายวัตถุดิบที่ใช้ในการสกัดน้ำตาลไซโลสเพื่อนำมาใช้ในการผลิตน้ำตาลไซลิตอล

1.4.2 ทราบถึงกระบวนการและสภาวะที่เหมาะสมในการลดปริมาณสารพิษด้วยผงถ่านกัมมันต์

1.4.3 สามารถทราบถึงประสิทธิภาพของการผลิตน้ำตาลไซลิทอลในอาหารไฮโดรไลเสทเมื่อเปรียบเทียบกับอาหารสังเคราะห์

1.4.4 เป็นการศึกษาเบื้องต้นในการผลิตน้ำตาลไซลิทอลจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรและอุตสาหกรรมการแปรรูปไม้เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาการผลิตในระดับอุตสาหกรรม

บทที่ 2

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 องค์ประกอบของวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรประเภทลิกโนเซลลูโลส

องค์ประกอบของเหลือทิ้งที่ได้จากอุตสาหกรรมการแปรรูปไม้และวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรจะประกอบด้วยส่วนประกอบหลัก 3 ส่วน ได้แก่ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินในอัตราส่วนเฉลี่ย 4 ต่อ 3 ต่อ 3 (Brauns and Branus. 1960) โดยทั้งสามส่วนจะมีปริมาณแตกต่างกันตามแต่ชนิดของเนื้อเยื่อ อายุ สภาวะในการเจริญและสภาพทางสรีระวิทยาของพืช เฮมิเซลลูโลสมีมากเป็นอันดับ 2 มีลักษณะเป็นสายยาว (polymer) ในเมล็ด (Taiz and Honigman. 1976) และเป็นส่วนประกอบของโครงสร้างในผนังเซลล์ของไม้ (Eriksson. 1990) โครงสร้างที่เป็นโพลิเมอร์

2.1.1 เซลลูโลส

เป็นโพลิเมอร์ของโมเลกุลน้ำตาลกลูโคสชนิดเดียว (homopolysaccharide) ประมาณ 3,000-10,000 โมเลกุล ที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ β -1,4 ทำให้เซลลูโลสมีลักษณะเป็นสายยาว น้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันขึ้นอยู่กับแหล่งที่มา (วิเชียร. 2532) เซลลูโลสไม่ละลายในสารละลายด่างและกรดที่อุณหภูมิห้อง (Jackson. 1977 ; Marsden and Gray. 1986) แต่ละลายในสารละลายกรดที่ความเข้มข้นสูง (8 เปอร์เซ็นต์) และที่อุณหภูมิสูงในช่วง 120-130 องศาเซลเซียส (Tsao *et. al.* 1982)

2.1.2 เฮมิเซลลูโลส

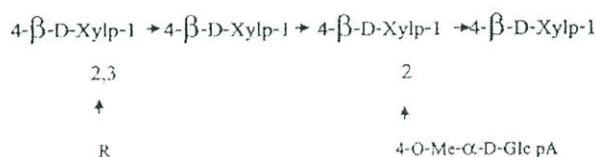
เป็นโพลิเมอร์ของน้ำตาลมากกว่าหนึ่งชนิด (heteropolysaccharide) ที่จับกันด้วยพันธะ β -1,4-glycosidic โมเลกุลของเฮมิเซลลูโลสสั้นและมีกิ่งก้านสาขามากทำให้มีโครงสร้างจับตัวกันอย่างไม่เป็นระเบียบ องค์ประกอบหลักของเฮมิเซลลูโลสคือ ไซแลน (Kirk. 1983)

Schulze. (1891) เป็นผู้เริ่มใช้คำว่าเฮมิเซลลูโลสสำหรับส่วนที่แยกหรือสกัดได้จากพืชด้วยด่างเจือจาง โดยที่การจำแนกชนิดของเฮมิเซลลูโลสขึ้นกับชนิดของน้ำตาลส่วนใหญ่ที่ปรากฏ น้ำตาลส่วนใหญ่ที่ได้จากเฮมิเซลลูโลสได้แก่ ดีไซโลส (D-xylose) ดีแมนโนส (D-mannose) ดีกาแลคโตส (D-galactose) และแอลอราบินโนส (L-arabinose) เนื่องจากเฮมิเซลลูโลสประกอบด้วยไซแลน แมนแนน (mannan) กาแลคแตน (galactan) และอราบินแนน (arabinan) เป็นหลัก ไซแลนประกอบด้วยดีไซโลสเป็นโมโนเมอร์ (monomer) หลักและสายของแอลอราบินโนส กาแลคแตนประกอบด้วยดีกาแลคโตสและแมนแนนก็ประกอบขึ้นด้วยแมนโนส ในขณะที่เดียวกันอราบินแนนก็เกิดขึ้นจากแอลอราบินโนส

2.1.2.1 เซมิเซลลูโลสในไม้เนื้อแข็ง

glucuronoxylan หรือ O-acetyl-4-O-methylglucurono- β -D-xylan ในไม้เนื้อแข็งมีอยู่ประมาณ 15-30 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักแห้งของไม้ glucuronoxylan มีโครงสร้างหลักเป็น β -D-xylopyranose ที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ β -1,4-glycosidic ไชโลสส่วนใหญ่ประกอบด้วย หมู่อะซิติล (acetyl group) ที่ตำแหน่ง C2 หรือ C3 ของน้ำตาลไชโลส ในสายของไชแลนมี acetyl group 7 หน่วย ต่อ 10 หน่วยของน้ำตาลไชโลส และมี 4-O-methyl glucuronic acid ที่เชื่อมต่อกับน้ำตาลไชโลสด้วยพันธะ 1,2-glycosidic โดยมี uronic acid 1 หน่วย ต่อ 10 หน่วยของน้ำตาลไชโลส (ภาพที่ 2.1) พันธะที่เชื่อมต่อกันระหว่างน้ำตาลไชโลสสามารถย่อยสลายได้ด้วยกรด ส่วนพันธะที่เชื่อมระหว่างน้ำตาลไชโลสกับหมู่อะซิติล สามารถย่อยสลายได้ด้วยด่าง

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



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

ที่มา : Sjostrom. (1981)

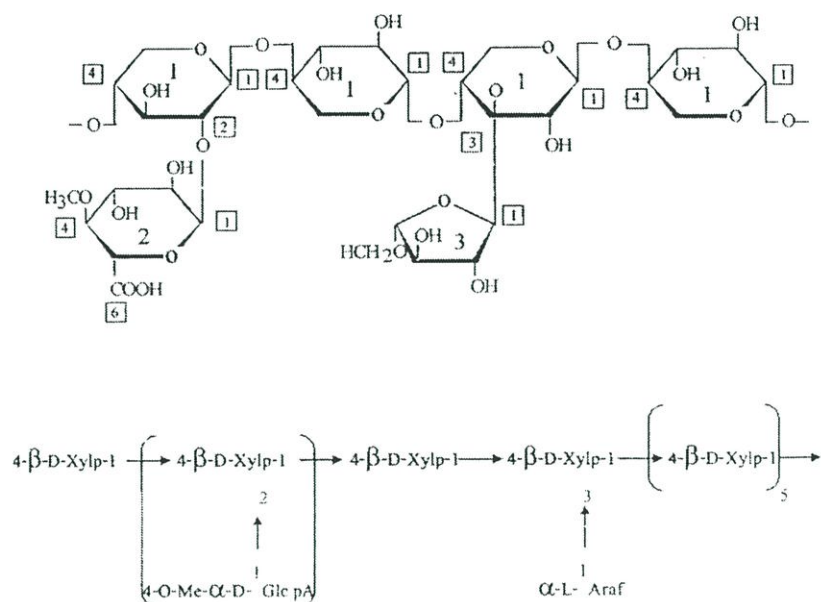


ภาพที่ 2.2 โครงสร้างของ glucomannan [น้ำตาล β -D-glucopyranose (Glcp), β -D-mannopyranose (Manp)]

ที่มา : Sjostrom. (1981)

2.1.2.2 เซมิเซลลูโลสในไม้เนื้ออ่อน

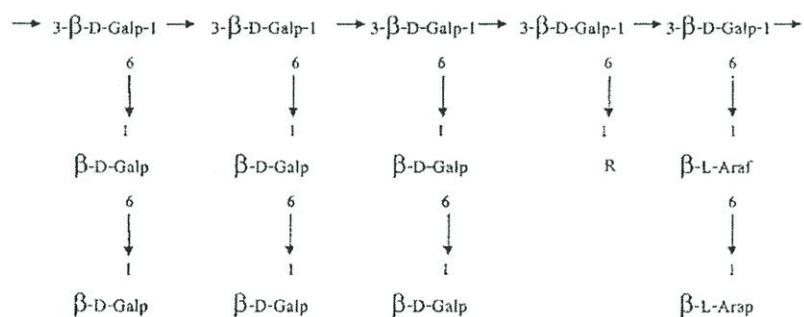
ในไม้เนื้ออ่อนจะพบเซมิเซลลูโลสชนิด galactoglucomannans เป็นจำนวนมาก (ประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์) มีโซ่หลักเป็น β -1,4-glycosidic และมีโซ่กิ่งที่ตำแหน่ง C6



ภาพที่ 2.4 โครงสร้างของ arabinoglucuronoxylan [น้ำตาลตำแหน่งที่ 1, β -D-xylopyranose (Xylp) ตำแหน่งที่ 2, 4-O-methyl- α -D-glucuronic acid (Glc pA); ตำแหน่งที่ 3, 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 ดังภาพที่ 2.5



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

ที่มา : Sjostrom. (1981)

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบของวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรบางชนิด

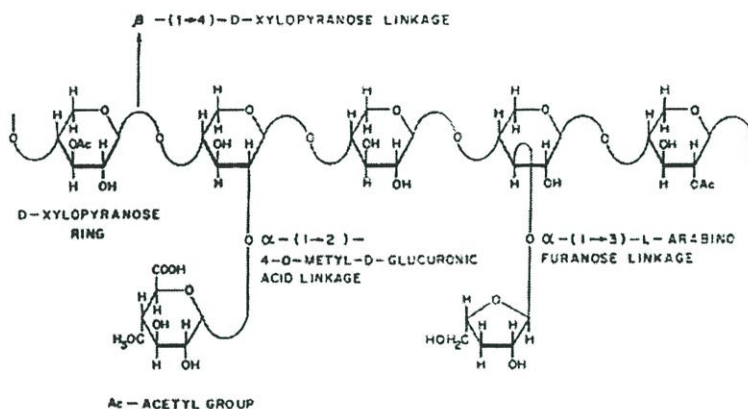
ชนิดของวัสดุเหลือทิ้ง	องค์ประกอบ (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง)		
	เซลลูโลส	เฮมิเซลลูโลส	ลิกนิน
ฟางข้าวสาลี	50	30	15
ฟางข้าว	35	25	17
ฟางข้าวฟาง	31	30	11
ฟางข้าวบาร์เลย์	44	27	7
ฟางข้าวโอ๊ต	49	25	14-22
ซังข้าวโพด	45	35	15
ตอข้าวโพด	35	25	35
กาบข้าวโพด	32	28	13
รำข้าวสาลี	36	28	20
รำข้าว	34	24	28
ชานอ้อย	33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

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

สายโฮโมโพลีเมอร์ (homopolymer) ของไซเลนจะประกอบด้วยหน่วยของไซโลสเพียงอย่างเดียว (พบได้ยาก) โดยปกติไซเลนจะประกอบด้วยน้ำตาลที่แตกต่างกัน 2-4 ชนิด เมื่อเปรียบเทียบเฮมิเซลลูโลสกับเซลลูโลสแล้วจะมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่า (ประมาณ 20,000 คาลตัน) Aspinall. (1959) รายงานว่าไซเลนมีส่วนของดีไซโลส 85-93% มีแอลอราบินโนสอยู่จำนวนน้อย และส่วนที่เหลือเป็นสายของกรดกลูคูโรนิก (glucuronic acid) ในต้นหญ้า Esparto (ต้นหญ้าที่ใช้สำหรับทำกระดาษ โดยเฉพาะพวก *Stipa tenacissima*) ไซเลนจะต่อกันเป็นสาย D-xylopyranose ด้วยพันธะ β -1,4 โดยไซเลนจากพืชและต้นหญ้าชนิดต่าง ๆ จะมีโครงสร้างหลักต่อกันด้วยพันธะ β -1,4 แต่จะแตกต่างกันในส่วนของโซ่กิ่ง (side chain) ที่จะเป็น D-glucuronic acid, L-arabinose และ 4-O-methylesters ของ D-glucuronic acid

2.2 แกนหลักของไซแลน (The backbone of xylan)

สายหลักของไซแลนประกอบด้วย β -xylopyranose เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ β -1,4 (ภาพที่ 2.7) โดยจะเกิดพันธะ β -1,4 ระหว่างไซโลส 2 ตัวต่อกันในไซแลนซึ่งรายงานโดย Whistler. (1950) ; Aspinall. (1959) ; Chanda *et. al.* (1950) และได้มีการพิสูจน์ว่ามีพันธะ β -1,4 glycosidic โดย Jayme and Satee. (1942) ; Whistler. (1950)



ภาพที่ 2.7 โครงสร้างของไซแลน

ที่มา : Beily. (1985)

2.3 ธรรมชาติของโซ่กิ่งในไซแลน

ไซแลนของไม้เนื้ออ่อนจะมีโซ่กิ่งที่เป็นกรดมากกว่าไซแลนของไม้เนื้อแข็ง โดยปกติจะปรากฏหมู่อะซิติล (acetyl) 1 หมู่ที่ไซโลสหน่วยที่ 2 ในไซแลนของไม้เนื้อแข็ง แต่ปฏิกิริยา acetylation ส่วนใหญ่จะเกิดขึ้นที่ตำแหน่ง O-3 แทนที่จะเป็น O-2 (Beily. 1985) หมู่อะซิติลของไซแลนในหญ้าจะถูกดึงออกในสภาวะที่เป็นด่าง (Wilkie. 1979) ในกรณีของไซแลนในไม้เนื้ออ่อนจะมีกรดอยู่ 1 หน่วยต่อดีไซโลส 9-12 หน่วย ในขณะที่ไซแลนของไม้เนื้อแข็งจะมีดีไซโลส 5-6 หน่วย Dutton and Smith. (1956) แสดงให้เห็นถึงส่วนที่สำคัญของไซแลนในไม้เนื้ออ่อนซึ่งประกอบด้วยพันธะ 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 อยู่หนึ่งหน่วยต่อดีไซโลส 11 หน่วยในสายของไซแลน Roudier. (1958) สามารถแยกกรดยูโรนิก (uronic acid) ได้จากไซแลนของดินสน Maritime ซึ่งพบว่าประกอบด้วยหน่วยของ 2-O-(α -D-glucopyranosyl uronic acid)-D-xylose และได้รายงานที่ 95% ของโซ่กิ่งประกอบด้วย 4-O-methyl- α -D-glucuronic acid Goldschmid and Perlin. (1963) พบว่ามีแอลอราบินโนสหนึ่งหน่วยต่อดีไซโลส 7-11 หน่วย ในขณะที่ Aspinall and McKay. (1959) ; Adams. (1965) แสดงให้เห็นว่าไซแลนของไม้เนื้ออ่อนมีแอลอราบินโนสในโซ่กิ่งหนึ่งหน่วยต่อดีไซโลส 20-40 หน่วย

2.4 การย่อยสลายไซแลนในวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร

ไซแลนมีคุณสมบัติละลายได้ดีในสารละลายต่าง โดยเฉพาะในระดับความเข้มข้นสูง (4.9-9.8 เปอร์เซ็นต์) และอุณหภูมิสูง (70-100 องศาเซลเซียส) (Tsao *et. al.*, 1982) จากคุณสมบัตินี้จึงนิยมสกัดไซแลนจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรกรรมด้วยสารละลายต่างที่ร้อน ไซแลนที่ละลายอยู่ในสารละลายต่างสามารถแยกออกโดยทำสารละลายให้เป็นกลางหรือตกตะกอนด้วยเอทานอล นอกจากนั้น ไซแลนยังสามารถละลายได้ในสารละลายกรด

Tsao *et. al.* (1982) กล่าวว่า การย่อยสลายไซแลนมีสองวิธีคือวิธีทางเคมีและเอนไซม์ ให้ผลิตภัณฑ์หลักเป็นน้ำตาลไซโลส การย่อยด้วยวิธีทางเคมีสามารถใช้ได้ทั้งกรดและด่างความเข้มข้นระหว่าง 4.0-10.0 เปอร์เซ็นต์ที่อุณหภูมิสูงทำให้ต้องสูญเสียพลังงานมาก เนื่องจากปฏิกิริยาที่รุนแรงทำให้เกิดการย่อยสลายทุกองค์ประกอบอย่างไม่จำเพาะ น้ำตาลที่ได้จะถูกทำปฏิกิริยาต่อไปให้ผลิตภัณฑ์ที่ไม่ต้องการเช่นเฟอฟูรอล (furfural) อีกทั้งถึงปฏิกิริยาที่ใช้ต้องเป็นถึงที่ทนต่อการผุกร่อน การย่อยสลายไซแลนด้วยวิธีทางเอนไซม์เป็นที่นิยมเพราะมีข้อดีกว่าวิธีทางเคมีคือให้ผลิตภัณฑ์ที่มีความบริสุทธิ์ปฏิกิริยาการย่อยสลายไม่รุนแรงผลิตภัณฑ์ที่ได้จึงไม่ทำปฏิกิริยาต่อไป

วิเชียร (2532) ได้ทำการศึกษาปัจจัยและสภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายฟางข้าวที่ผ่านการแยกกลินินด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เพื่อผลิตน้ำตาลกลูโคสและไซโลส โดยใช้เอนไซม์ที่ผลิตจาก *Aspergillus fumigatus* Fresenius รหัส 4-45-1F และเอนไซม์ไซแลนาส (xylanase) จาก *Humicola lanuginosa* พบว่าส่วนผสมในปฏิกิริยา 10 มิลลิลิตรของฟางข้าวที่ผ่านการแยกกลินินด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 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. lanuginosa* ปริมาณ 200 หน่วย สามารถย่อยสลายฟางข้าวให้น้ำตาลกลูโคสและไซโลส 180 และ 96.1 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ หลังจากบ่มปฏิกิริยาเป็นเวลา 24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 5.0

วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรกรรมประเภทกลินโนเซลลูโลส เมื่อได้รับการแยกและย่อยสลายจนได้เป็นน้ำตาลกลูโคสและไซโลสสามารถนำไปเป็นวัตถุดิบเพื่อการผลิตผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ โดยผ่านกระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพเช่นเดียวกับน้ำตาลกลูโคสตัวอย่างเช่นนำไปผลิตเอทานอล น้ำตาลไซลิทอล (Barbosa *et. al.* 1988) กรดอะซิติก 2,3-บิวเทนได-ออลอะซิโตน ไอโซโพรพานอลและบิวทานอล

2.5 น้ำตาลไซโลส

น้ำตาลไซโลส (ดี-ไซโลส) หรือ wood sugar จัดเป็นน้ำตาลประเภทอัลโดเพนโตส (aldopentose) มีสูตรเคมี $C_5H_{10}O_5$ น้ำหนักโมเลกุล 150.13 พบทั่วไปในพืชทั้งหลายโดยเฉพาะในไม้เนื้อแข็งและ cellulosic materials ปกติไม่พบในรูปอิสระแต่จะพบในรูปโพลิเมอร์ไซแลน โดยอยู่ร่วมกับเซลลูโลส รสหวาน จุดหลอมเหลว 144-145 องศาเซลเซียส สามารถสกัดได้จากขังข้าวโพด โดยวิธีการต้มด้วยกรดซัลฟิวริก 8 เปอร์เซ็นต์ (Cowling and Kirth. 1976 ; Kirk. 1983)

2.6 น้ำตาลไซลิทอล

น้ำตาลไซลิทอลเป็นน้ำตาลแอลกอฮอล์ชนิดหนึ่งมีจำนวนคาร์บอน 5 อะตอม (เพนติทอล) ที่ได้จากการเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลไซโลส ตามปกติน้ำตาลไซลิทอลเป็นสารตัวกลาง (intermediate) เมแทบอลิซึมคาร์โบไฮเดรตในมนุษย์และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมสามารถพบได้ตามธรรมชาติในผักและผลไม้หลายชนิด (Washuttl *et. al.* 1973) สำหรับการผลิตน้ำตาลไซลิทอลในระดับอุตสาหกรรมจะผลิตโดยการเร่งปฏิกิริยาการเติมไฮโดรเจน (hydrogenation) แก่น้ำตาลไซโลสที่ได้จากการย่อยสลายเฮมิเซลลูโลส (Cao *et. al.* 1994) หรือการผลิตด้วยกระบวนการหมักโดยเชื้อจุลินทรีย์ (สาโรจน์. 2537)

2.7 คุณสมบัติของน้ำตาลไซลิทอล

คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพที่สำคัญของน้ำตาลไซลิทอลรวมถึงคุณสมบัติที่สำคัญทางอาหารแสดงในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของน้ำตาลไซลิทอล

คุณสมบัติ	รายละเอียด
สูตร โมเลกุล	$C_5H_{12}O_5$
สูตร โครงสร้าง	$ \begin{array}{ccccccc} & & H & OH & H & & \\ & & & & & & \\ HOCH_2 & - & C & - & C & - & C & - & CH_2OH \\ & & & & & & \\ & & HO & H & OH & & \end{array} $
น้ำหนัก โมเลกุล	152.1
ลักษณะ	ผงผลึกคริสตัล
สี	ขาว
รสชาติ	หวาน
กลิ่น	ไม่มีกลิ่น

ตารางที่ 2.2 (ต่อ)

คุณสมบัติ	รายละเอียด
ความหวานสัมพัทธ์	มีความหวานโดยประมาณเท่ากับน้ำตาลซูโครส แต่หวานมากกว่าน้ำตาลกลูโคส น้ำตาลไซโลส น้ำตาลซอร์บิทอล และน้ำตาลแมนนิทอล แต่มีความหวานน้อยกว่าน้ำตาลฟรุกโตส
จุดหลอมเหลว	93.4-94.7 องศาเซลเซียส
จุดเดือด	216 องศาเซลเซียส
การละลายน้ำ	64.2 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร
การละลายในเอทานอล	102 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร
การละลายในเมทานอล	6.0 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร
การดูดความชื้น	ดูดความชื้นได้มากกว่าน้ำตาลซูโครส แต่น้อยกว่าซอร์บิทอล
สารปนเปื้อน	น้ำตาลแมนนิทอล น้ำตาลซอร์บิทอล น้ำตาลกาแลคทิทอล และน้ำตาลอาราบิทอล

ที่มา : Emodi. (1982)

2.8 คุณสมบัติอื่น ๆ ที่น่าสนใจของน้ำตาลไซลิทอล

2.8.1 น้ำตาลไซลิทอลนั้นเป็นน้ำตาลแอลกอฮอล์เพียงชนิดเดียวที่มีความหวานเทียบเท่ากับน้ำตาลซูโครส (ตารางที่ 2.3) ส่วนน้ำตาลแอลกอฮอล์ตัวอื่น ๆ จะมีความหวานน้อยและเมื่อมีการนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์ขนมหวานและอาหารหวานอื่น ๆ การที่มีความหวานมากจึงถูกนำมาใช้เป็นสารให้ความหวานที่มีมาตรฐานยอมรับเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 2.3 เปรียบเทียบความหวานของสารให้ความหวานชนิดต่าง ๆ

สารให้ความหวาน	ความหวานสัมพัทธ์
ฟรุคโตส	1.2
ไซลิทอล	1.0
ซูโครส	1.0
เด็กซ์โทรส	0.7
ซอร์บิทอล	0.5
แมนนิทอล	0.5
มอลโตส	0.4
แลคโตส	0.3

ที่มา : สารโจน. (2537)

2.8.2 ความเย็นสดชื่น (cooling effect) ค่าความร้อนการละลายของผลึกน้ำตาลแอลกอฮอล์และน้ำตาลซูโครสดังแสดงในตารางที่ 2.4 จะเกิดการสูญเสียความร้อนเมื่อน้ำตาลแอลกอฮอล์ละลายในน้ำซึ่งจะมากกว่าน้ำตาลซูโครส โดยผลึกของน้ำตาลไซลิทอลจะให้ความเย็นสดชื่นมากที่สุดและได้ผลเป็นที่น่าพอใจเมื่อมีการละลายของน้ำตาลไซลิทอลภายในปาก ด้วยคุณลักษณะที่น่าสนใจนี้จึงถูกนำมาใช้เป็นองค์ประกอบหลักในการทำเปปเปอร์มินท์หรือสารให้ความหวานแต่งรสในหมากฝรั่งซึ่งจะให้ความรู้สึกเช่นเดียวกับบรสมินท์และจะมีคุณสมบัติเช่นเดียวกันในผลิตภัณฑ์ที่ให้ความรู้สึกเย็นสดชื่น

ตารางที่ 2.4 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
Xylitol	-34.8

ที่มา : Arron. (1993)

2.8.3 ความสามารถในการละลายของน้ำตาลแอลกอฮอล์ (Solubility of Sugar Alcohols) ความสามารถในการละลายของน้ำตาลมีความสำคัญในผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ดังตัวอย่างเช่นเยลลี่และทอฟฟี่ ในกรณีของขนมหวานเชื่อมด้วยน้ำตาล (fondants) จะต้องควบคุมไม่ให้มีการตกผลึกเกิดขึ้น ดังตารางที่ 2.5 แสดงถึงคุณสมบัติการละลายของน้ำตาลแอลกอฮอล์ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับน้ำตาลซูโครส โดยจะเห็นว่ามีเพียงน้ำตาลซอร์บิทอลเพียงชนิดเดียวที่มีการละลายมากกว่าน้ำตาลซูโครส

ตารางที่ 2.5 คุณสมบัติในการละลายของน้ำตาลแอลกอฮอล์ในน้ำที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

Sweetener	Solubility (%w/w)
Sucrose	66
Xylitol	63
Sorbitol	75
Maltitol	62
Lactitol	55
Isomalt	28
Mannitol	18

ที่มา : Moskowitz. (1971)

2.8.4 น้ำตาลไซลิทอลละลายน้ำได้ง่ายและมีความคงตัวสูงแม้จะถูกความร้อนหรือเก็บไว้นานก็ไม่เกิดปฏิกิริยาที่ทำให้เกิดสีน้ำตาล (maillard browning) และการเกิดคาราเมล (caramelization) เหมือนน้ำตาลฟรุกโตสหรือเด็กโทรสเมื่อให้ความร้อนสูงกว่า 150 องศาเซลเซียส เนื่องจากน้ำตาลไซลิทอลไม่มีหมู่อัลโดสหรือคีโตส

2.8.5 น้ำตาลไซลิทอลมีความหวานเช่นเดียวกับน้ำตาลทั่วไปแต่มีความหวานมากกว่าน้ำตาลแมนนิทอลและซอร์บิทอล 2.5 และ 2.0 เท่าตามลำดับ ความหวานของน้ำตาลไซลิทอลเมื่อเทียบกับน้ำตาลซูโครสจะมีค่าตั้งแต่ 0.85-1.25 ขึ้นอยู่กับค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ความเข้มข้นและอุณหภูมิเป็นต้น

2.8.6 น้ำตาลไซลิทอลให้พลังงานต่ำกว่าแต่คงรสชาติเดิมเมื่อผสมกับสารให้ความหวานชนิดอื่น แม้ว่าน้ำตาลไซลิทอลจะให้พลังงานเท่ากับคาร์โบไฮเดรตทั่วไป แต่เมื่อใช้น้ำตาลไซลิทอลร่วมกับสารให้ความหวานชนิดอื่น ความหวานและรสชาติจะคงเดิมขณะที่ลดแคลอรีลง 50-70 เปอร์เซ็นต์จึงเหมาะกับผู้บริโภคที่ต้องการควบคุมน้ำหนัก โดยมีการเปรียบเทียบคุณสมบัติทางกายภาพต่าง ๆ ระหว่างน้ำตาลไซลิทอลและน้ำตาลซูโครสดังแสดงในตารางที่ 2.6

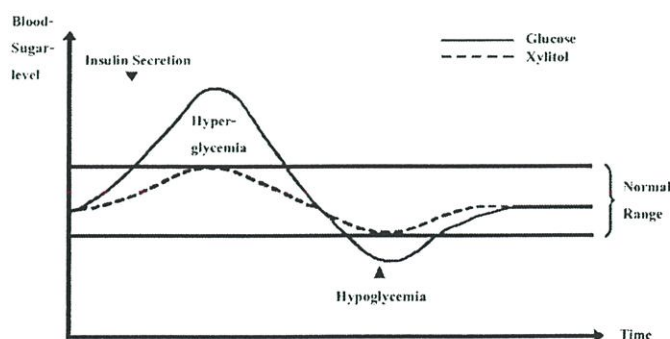
ตารางที่ 2.6 คุณสมบัติทางกายภาพระหว่างน้ำตาลไซลิทอลและน้ำตาลซูโครส

คุณสมบัติ	น้ำตาลไซลิทอล	น้ำตาลซูโครส
จุดหลอมเหลว ($^{\circ}\text{C}$)	93.5-94.5	179-186
จุดเดือด ($^{\circ}\text{C}/760$ มิลลิเมตรปรอท)	216	สลายตัว
ความหนาแน่น (15°C)	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
ความหนืด (cP)(20°C)		
ความเข้มข้น 10%	1.23	1.31
ความเข้มข้น 60%	20.63	58.50

ที่มา : สาโรจน์. (2537)

2.8.7 น้ำตาลไซลิทอลไม่ทำให้ฟันผุเนื่องจากจุลินทรีย์ในช่องปากโดยเฉพาะ *Streptococcus mutans* ไม่สามารถใช้น้ำตาลไซลิทอลเป็นแหล่งคาร์บอนจึงไม่เกิดกรดภายในช่องปากจึงทำให้ค่าพีเอชบนเคลือบฟันไม่ต่ำกว่า 5.7 จึงไม่ทำให้เกิดฟันผุ

2.8.8 น้ำตาลไซลิทอลสามารถใช้ในผู้ป่วยเบาหวานเนื่องจากการเผาผลาญน้ำตาลไซลิทอลไม่ขึ้นกับอินซูลินจึงไม่ทำให้เกิดสภาวะน้ำตาลในเลือดสูง (hyperglycemia) และน้ำตาลในเลือดต่ำ (hypoglycemia) ดังแสดงในภาพที่ 2.8



ภาพที่ 2.8 ผลของน้ำตาลไซลิทอลและน้ำตาลกลูโคสต่อระดับน้ำตาลในเลือด

ที่มา : Emodi. (1982)

2.8.9 น้ำตาลไซลิทอลสามารถยืดอายุการเก็บผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ได้เนื่องจากมีจุลินทรีย์เพียงไม่กี่ชนิดที่สามารถใช้น้ำตาลไซลิทอลได้ ผลิตภัณฑ์ที่มีน้ำตาลไซลิทอลเป็นองค์ประกอบจึงเกิดการหมักด้วยจุลินทรีย์ได้ยากจึงมีอายุการเก็บที่นานขึ้น (long shelf-life)

2.9 การใช้น้ำตาลไซลิทอลในผลิตภัณฑ์อาหาร

มีการใช้น้ำตาลไซลิทอลเป็นสารให้ความหวานหลักในขนมหวาน (หมากฝรั่ง ลูกกวาด ช็อกโกแลต) และพบเล็กน้อยในผลิตภัณฑ์อาหารสำหรับผู้ป่วยเบาหวาน ในการเตรียมเวชภัณฑ์ยา (เม็ด ยาอม เคลือบวิตามินต่างๆ น้ำเชื่อม) และในเครื่องดื่ม (ชาสีฟัน) มีการประยุกต์ใช้ใน soft drink แต่จะใช้ในปริมาณจำกัดเพราะว่าถ้ามีการรับประทานในปริมาณมากจะมีแนวโน้มทำให้เกิดของเหลวในกระเพาะอาหารเพิ่มขึ้น 3 เท่าซึ่งเป็นผลทำให้เกิดอาการท้องเสีย (laxation) อย่างไรก็ตามสำหรับผลิตภัณฑ์ที่ต้องการสีน้ำตาลหรือการเกิดคาราเมลน้ำตาลไซลิทอลไม่สามารถให้เกิดปรากฏการณ์ดังกล่าวจึงต้องมีการเติมน้ำตาลฟรุกโตสลงไปเล็กน้อยและยังพบว่าน้ำตาลไซลิทอลมีผลในการยับยั้งการเจริญและกิจกรรมการหมักของยีสต์ซึ่งน้ำตาลไซลิทอลเป็นสารให้ความหวานที่ไม่เหมาะสมสำหรับผลิตภัณฑ์ที่ประกอบด้วยยีสต์ได้แก่ การทำให้เกิดโคในขนมปัง

2.10 ตัวอย่างการใช้น้ำตาลไซลิทอลในผลิตภัณฑ์อาหาร

2.10.1 หมากฝรั่ง (Chewing gum)

โดยปกติแล้วหมากฝรั่งประกอบด้วยน้ำตาล 50-75 เปอร์เซ็นต์ และน้ำ 3-5 เปอร์เซ็นต์ โดยมีกลูโคสไซรัปเป็นส่วนผสมทำให้เนื้อสัมผัสนุ่ม น้ำตาลไซลิทอลสามารถใช้น้ำตาลซูโครสได้ในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 ยกเว้นน้ำตาลซอร์บิทอลและน้ำตาลแมนนิทอลซึ่งมีความหวานน้อยกว่าจึงต้องเติมสารให้ความหวานที่ไม่ให้พลังงาน (non-caloric sweetener) ชนิดอื่นเพื่อให้ได้ความหวานเท่าเดิม เนื่องจากน้ำตาลไซลิทอลมีความหนืดน้อยกว่าน้ำตาลซูโครสจึงต้องใช้กัมอาราบิก (gum arabic) เป็นส่วนผสมด้วย ความแตกต่างของหมากฝรั่งที่ใช้น้ำตาลไซลิทอลคือจะให้ความรู้สึกเย็นเมื่อเริ่มเคี้ยวเนื่องจากคุณสมบัติ cooling effect ของน้ำตาลไซลิทอล หมากฝรั่งชนิดที่ใช้น้ำตาลไซลิทอลจะไม่ทำให้เกิดฟันผุซึ่งมักพบในผู้ที่เคี้ยวหมากฝรั่งชนิดที่ใช้น้ำตาลซูโครสเป็นสารให้ความหวาน (Makinen and Scheinin. 1975)

2.10.2 ช็อกโกแลต (Chocolate)

สามารถใช้น้ำตาลไซลิทอลในการผลิตช็อกโกแลตแทนน้ำตาลซูโครสได้ในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 แต่จำเป็นต้องใส่สารเติมแต่ง (additives) เนื่องจากน้ำตาลไซลิทอลให้ความหนืด

ต่ำกว่า ปริมาณการใช้น้ำตาลไซลิทอลที่ใช้ในช็อกโกแลตมีตั้งแต่ 17-42 เปอร์เซ็นต์แต่ไม่พบปัญหาเกี่ยวกับเนื้อสัมผัสและรสชาติของผลิตภัณฑ์แต่อย่างใด

2.10.3 ท็อफीและคาราเมล (Toffees and caramels)

เนื่องจากน้ำตาลไซลิทอลไม่มีคุณสมบัติของการเกิดสีน้ำตาลและคาราเมลจึงจำเป็นต้องเติมน้ำตาลฟรุกโตสเพื่อคงคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์เอาไว้หรืออาจเติมสีและกลิ่นดังกล่าวแทนก็ได้และเพื่อป้องกันการตกผลึกของน้ำตาลไซลิทอลซึ่งจะทำให้ผลิตภัณฑ์มีเนื้อสัมผัสแข็งกระด้าง ควรหลีกเลี่ยงการใช้มอลโตเด็คซ์ตริน (maltodextrin) และไลเคซีน (lycasien) เป็นส่วนผสมซึ่งพบว่าอนุพันธ์ของแป้งดังกล่าวมีผลต่อการตกผลึกของน้ำตาลไซลิทอล

2.10.4 เจลาติน (Gelatin desserts)

การใช้น้ำตาลไซลิทอลในผลิตภัณฑ์เจลาตินมีคุณสมบัติเช่นเดียวกับการใช้น้ำตาลซูโครสเป็นสารให้ความหวาน

2.10.5 พุดดิ้ง (Pudding)

การผลิตพุดดิ้งไม่มีการเปลี่ยนแปลงสูตรแต่อย่างใดเมื่อใช้น้ำตาลไซลิทอลแทนน้ำตาลซูโครสและไม่มีผลต่อรสชาติของผลิตภัณฑ์

2.10.6 แยม เยลลี่ และมาร์มาเลด (James jellies and marmalades)

กรณีนี้สามารถใช้น้ำตาลไซลิทอลแทนน้ำตาลซูโครสได้เช่นกันในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 แต่ควรหลีกเลี่ยงการใช้น้ำตาลไซลิทอลมากกว่า 40 เปอร์เซ็นต์เพราะจะทำให้เกิดการตกผลึกของน้ำตาลไซลิทอลได้ในระหว่างการเก็บรักษาและไม่มีความจำเป็นต้องเติมสารกันบูดแต่อย่างใด เนื่องจากจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์ส่วนใหญ่ไม่สามารถใช้น้ำตาลไซลิทอลเป็นแหล่งคาร์บอนได้ แต่ควรเติมเพคตินในปริมาณที่มากขึ้นเพราะน้ำตาลไซลิทอลให้ความหนืดต่ำกว่าน้ำตาลซูโครสและมีความจำเป็นต้องเติมเกลือแคลเซียมเพื่อช่วยในการเกิดเจล (gelatinization) ของแยม นอกจากนี้ยังพบว่าแยมและมาร์มาเลดที่ใช้น้ำตาลไซลิทอลจะให้รสชาติที่ดีกว่าน้ำตาลซูโครสรวมทั้งการคงตัวของสีอีกด้วย (Manz *et.al.* 1973)

2.10.7 ลูกกวาด (Hard candy of boiled sweets)

ในการผลิตลูกกวาดโดยใช้น้ำตาลไซลิทอลอาจมีปัญหาอยู่บ้างเนื่องจากการตกผลึกของน้ำตาลไซลิทอลเกิดขึ้นในขณะที่ทำให้เย็นและความหนืดต่ำจึงต้องผลิตลูกกวาดโดยการอัดลูกกวาดร้อนเข้าแม่พิมพ์ (Depositing) แทน

2.10.8 ผลิตภัณฑ์ขนมอบ (Bakery foods)

พบว่าการใช้น้ำตาลไซลิทอลในผลิตภัณฑ์ขนมอบนั้นไม่จำเป็นต้องมีการเปลี่ยนแปลงสูตรขนมแต่อย่างใดแต่อาจต้องเติมน้ำตาลฟรุกโตสเพื่อรักษาคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์อาหารที่ต้องการสีน้ำตาลและคาราเมล นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์ที่ต้องการปริมาณจากการหมักของยีสต์กับน้ำตาลนั้นอาจไม่เหมาะสมสำหรับการใช้น้ำตาลไซลิทอลเพราะผลิตภัณฑ์ขนมอบที่ใช้น้ำตาลไซลิทอลนั้นจะมีปริมาณน้อยกว่าและมีเนื้อสัมผัสที่แน่นกว่าอย่างไรก็ตามผลิตภัณฑ์ขนมอบที่ใช้น้ำตาลไซลิทอลเหมาะสำหรับคนที่ เป็นโรคเบาหวานมากกว่า

2.10.9 ไอศกรีม (Ice cream)

การใช้น้ำตาลไซลิทอลแทนน้ำตาลซูโครส กลูโคสไซรัปหรือน้ำตาลอินเวอร์ต (Invert sugar) ในผลิตภัณฑ์แช่แข็งจะทำให้คุณสมบัติการหลอมเหลวของผลิตภัณฑ์เปลี่ยนไปคือที่อุณหภูมิเดียวกันผลิตภัณฑ์ที่ใช้น้ำตาลไซลิทอลจะมีคุณสมบัติอ่อนตัวกว่าจึงจำเป็นต้องมีการเติมสารช่วยให้แข็ง (thickeners) สำหรับไอศกรีมที่ใช้น้ำตาลไซลิทอลไม่พบว่ามี การเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -24 องศาเซลเซียส นานถึง 6 เดือนและยังไม่พบการตกผลึกอีกด้วย

2.10.10 ซอสมะเขือเทศและนมข้นหวาน (Ketchup and condense milk)

การใช้น้ำตาลไซลิทอลสามารถปรับปรุงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ได้คือ ป้องกันการเกิดสีน้ำตาลของผลิตภัณฑ์และการเสื่อมเสียโดยจุลินทรีย์เป็นอย่างดี

2.10.11 ซอสและอื่น ๆ (Marinade sauces and pastes)

เนื่องจากเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีองค์ประกอบน้ำตาลต่ำดังนั้นการทดแทนน้ำตาลซูโครสด้วยน้ำตาลไซลิทอลจึงไม่ประสบปัญหาแต่อย่างใด

2.10.12 โยเกิร์ต (Yoghurt)

จากการศึกษาพบว่าการใช้ปริมาณน้ำตาลไซลิทอล 8 เปอร์เซ็นต์ มีความเหมาะสมมากที่สุดสำหรับการผลิตโยเกิร์ต โดยที่การเติมน้ำตาลไซลิทอลหลังการบ่มจะไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดต่างของผลิตภัณฑ์ แต่ถ้าเติมน้ำตาลไซลิทอลก่อนการบ่มผลิตภัณฑ์ที่ได้จะมีค่าความเป็นกรดต่าง (4.4) สูงกว่ากรณีที่ใช้น้ำตาลซูโครส (4.0) และผลิตภัณฑ์จะมีความหนืดน้อยกว่าอย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างในการยอมรับของผู้บริโภค

2.10.13 เครื่องดื่ม (Drinks)

เนื่องจากการได้รับน้ำตาลไซลิทอลในขณะเดียวกันมากเกินไปอาจทำให้เกิดอาการท้องเสียได้จึงต้องใช้น้ำตาลไซลิทอลผสมกับสารให้ความหวานตัวอื่นๆเช่น เมื่อน้ำตาลไซลิทอล 3.9 เปอร์เซ็นต์ และไซคลาเมต (cyclamate) 0.133 เปอร์เซ็นต์ แทนน้ำตาลในผลิตภัณฑ์

น้ำอัครสามารถลดพลังงานที่ร่างกายจะได้รับถึง 60 เปอร์เซ็นต์ จึงเหมาะสำหรับผู้ป่วยโรคเบาหวานและผู้ที่ต้องการควบคุมน้ำหนัก สำหรับนมสเตอริไลซ์ยูเอชทีชนิดช็อกโกแลตเหมาะที่จะใช้น้ำตาลไซลิทอล 4 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่ทำให้ลักษณะทางกายภาพเช่น ความหนืด และสีเปลี่ยนแปลงไปและยังเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค สำหรับการเก็บรักษามากกว่าหนึ่งเดือนที่อุณหภูมิห้องก็ไม่พบการเสื่อมคุณภาพของผลิตภัณฑ์

2.10.14 ผลิตภัณฑ์ทางเภสัชกรรม (Pharmaceutical preparations)

น้ำตาลไซลิทอลมีข้อดีคือไม่ทำให้เกิดฟันผุ (non-cariogenicity) และไม่เกิดการหมักด้วยจุลินทรีย์ (non-fermentability) จึงได้ใช้เป็นสารให้ความหวานในการเตรียมผลิตภัณฑ์ชนิดเหลวทางเภสัชกรรม เพราะการใช้ยาดังกล่าวสำหรับผู้ป่วยที่ไม่ได้ทำความสะอาดช่องปากเป็นเวลานานจะไม่ทำให้เกิดฟันผุ

2.11 ข้อจำกัดในการใช้น้ำตาลไซลิทอล

2.11.1 การบริโภคน้ำตาลไซลิทอลเป็นจำนวนมากในคราวเดียวจะทำให้เกิดอาการท้องเสียได้เนื่องจากน้ำตาลไซลิทอลมีคุณสมบัติเป็นยาระบาย เพราะน้ำตาลไซลิทอลมีคุณสมบัติเหมือนคาร์โบไฮเดรตอื่นๆ คือดูดซับน้ำไว้อย่างช้า ๆ ดังนั้นเมื่อเริ่มบริโภคเป็นครั้งแรกควรบริโภคในปริมาณต่ำ (ประมาณ 30 กรัมต่อวัน) และค่อย ๆ เพิ่มปริมาณขึ้นแต่ละบริโภคได้สูงสุดประมาณ 200-300 กรัมต่อวัน

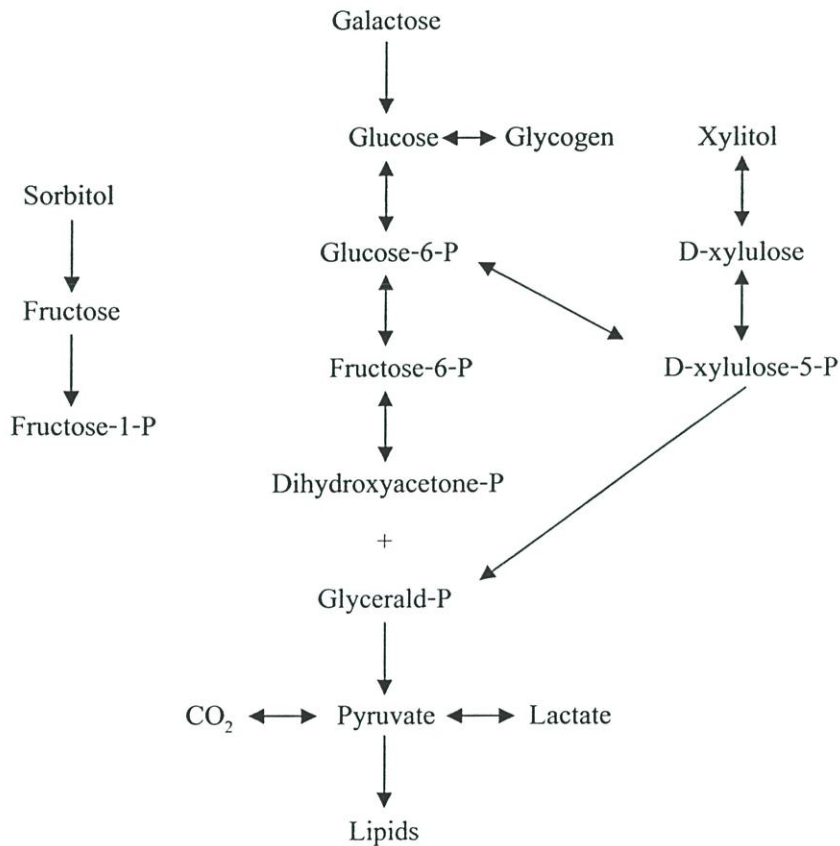
2.11.2 การใช้น้ำตาลไซลิทอลในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อให้มีรสชาติเย็นสดชื่นนั้นจะต้องใช้น้ำตาลไซลิทอลที่อยู่ในรูปผลึกเท่านั้น ซึ่งอาจทำให้ผิวสัมผัสเปลี่ยนแปลงและอาจจะไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

2.11.3 น้ำตาลไซลิทอลมีราคาแพงเมื่อเทียบกับสารให้ความหวานชนิดอื่นเนื่องจากมีต้นทุนในการผลิตสูงทำให้การใช้น้ำตาลไซลิทอลไม่แพร่หลายเท่าที่ควร แม้ว่าน้ำตาลไซลิทอลสามารถใช้สำหรับผู้ป่วยโรคเบาหวานได้แต่กลับใช้น้ำตาลฟรุกโตสแทนเพราะมีราคาถูกกว่าและไม่มีผลข้างเคียงเช่นเดียวกับน้ำตาลไซลิทอล

2.12 เมแทบอลิซึมของน้ำตาลไซลิทอลในร่างกายมนุษย์

เมแทบอลิซึมของน้ำตาลไซลิทอลในร่างกายเกิดขึ้นสองตำแหน่งคือ ดูดซึมบริเวณลำไส้ โดยกระบวนการ passive diffusion และเกิดการเผาผลาญโดยตรงที่ตับ (Smith, 1962) การดูดซึมจะเป็นไปอย่างช้า ๆ ในกรณีที่ได้รับน้ำตาลไซลิทอลในปริมาณมากเกินไปการดูดซึมที่เกิดขึ้นจะไม่

สมบูรณ์ทำให้เกิดอาการท้องเสียได้ สำหรับปริมาณของน้ำตาลไซลิทอลที่แนะนำบริโภคต่อวันคือไม่เกิน 60 กรัม แต่ถ้าบริโภคติดต่อกันเป็นเวลานานจะสามารถบริโภคน้ำตาลไซลิทอลได้มากถึง 120 กรัมต่อวัน สำหรับการเผาผลาญน้ำตาลไซลิทอลในตับนั้นน้ำตาลไซลิทอลจะถูกออกซิไดส์เป็นดี-ไซลูโลส (D-xylulose) ซึ่งจะเปลี่ยนเป็นดี-ไซลูโลส-5-ฟอสเฟต (D-xylulose-5-phosphate) แล้วเข้าสู่วิถีเพนโทสฟอสเฟตเพื่อเปลี่ยนเป็นฟรุกโตส-6-ฟอสเฟต (fructose-6-phosphate) แล้วกลายเป็นกลูโคส ซึ่งจะถูกนำไปเปลี่ยนเป็นไกลโคเจนสะสมไว้ที่ตับต่อไปดังภาพที่ 2.9



ภาพที่ 2.9 เมแทบอลิซึมของน้ำตาลไซลิทอลในร่างกายมนุษย์

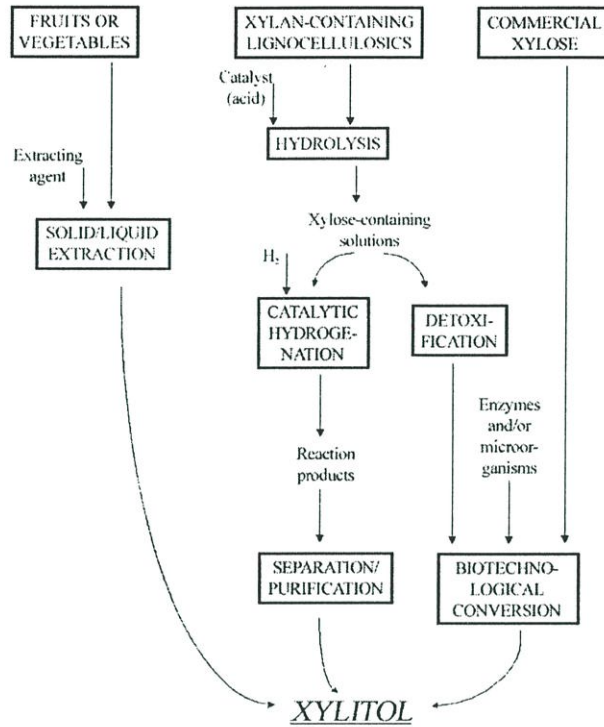
ที่มา : Emodi (1982)

เนื่องจากการเผาผลาญน้ำตาลไซลิทอลไม่ขึ้นกับอินซูลินดังนั้นจึงไม่ทำให้เกิดภาวะน้ำตาลในเลือดสูง (hyperglycemia) หรือน้ำตาลในเลือดต่ำ (hypoglycemia) นอกจากนี้น้ำตาลไซลิทอลให้พลังงานเพียง 4.06 กิโลแคลอรี เท่ากับคาร์โบไฮเดรตชนิดอื่นทำให้มีผลต่อปริมาณน้ำตาลกลูโคสในเลือดเพียงเล็กน้อยเท่านั้น

2.13 การผลิตน้ำตาลไซลิทอล

ของน้ำตาลไซลิทอลเริ่มมีการผลิตในระดับอุตสาหกรรมเป็นครั้งแรกในประเทศฟินแลนด์เมื่อปี พ.ศ. 2519 โดยบริษัทฟินนิชซูการ์ มีกำลังการผลิตมากกว่า 3,000 ตันต่อปี ต่อมาในปี พ.ศ. 2520 ได้มีการร่วมมือกันระหว่างบริษัทฟินนิชซูการ์และบริษัทฮอฟมันน์ลาโรซแห่งประเทศสวีเดน ก่อตั้งบริษัทร่วมกันชื่อว่า ซิโรฟิน (Xylofin Co., Ltd.) ขึ้น โดยในปี พ.ศ. 2522 มีการผลิตน้ำตาลแอลกอฮอล์ทั่วโลกปริมาณถึง 345,000 ตัน ซึ่งในจำนวนนี้เป็นน้ำตาลไซลิทอลและแมนนิทอลประมาณ 6,000 ตัน (สารอินทรีย์ 2537)

ปัจจุบันมีการใช้น้ำตาลไซลิทอลในผลิตภัณฑ์อาหารอย่างกว้างขวางทั้งในทวีปยุโรปและอเมริกาโดยเฉพาะในผลิตภัณฑ์ประเภทหมากฝรั่ง และพบว่ามีความนิยมที่จะใช้น้ำตาลไซลิทอลมากขึ้นในอุตสาหกรรมประเภทขนมหวาน (confectionary) และขนมขบเคี้ยว (snack products) แต่การใช้น้ำตาลไซลิทอลในผลิตภัณฑ์ดังกล่าวยังมีข้อจำกัดอยู่ที่การผลิตน้ำตาลไซลิทอลที่มีต้นทุนการผลิตสูง จึงทำให้ราคาของน้ำตาลไซลิทอลแพงกว่าน้ำตาลทั่วไป อย่างไรก็ตามปัจจุบันได้มีการวิจัยค้นคว้าเพื่อลดต้นทุนการผลิตน้ำตาลไซลิทอลโดยกระบวนการหมัก (fermentation) ด้วยเชื้อจุลินทรีย์ โดยการนำเอาวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่มีองค์ประกอบน้ำตาลไซโลสเป็นวัตถุดิบ ซึ่งคาดว่าจะทำให้ต้นทุนการผลิตต่ำกว่ากระบวนการทางเคมี การผลิตน้ำตาลไซลิทอลมีหลายวิธีและสามารถใช้วัตถุดิบได้หลายชนิด เช่น ผักและผลไม้ ของเสียที่มีไซเลนเป็นองค์ประกอบ เช่น วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร เช่น ฟางข้าว ชังข้าวโพด ชานอ้อย เป็นต้น เศษเหลือจากอุตสาหกรรมไม้และกระดาษ หรืออาจใช้น้ำตาลไซโลสเป็นวัตถุดิบโดยตรงก็ได้ ซึ่งแต่ละวิธีจะมีกระบวนการแตกต่างกันไปดังแสดงในภาพที่ 2.10



ภาพที่ 2.10 วิธีการต่างๆที่ใช้ในการผลิตน้ำตาลไซลิทอล
ที่มา : Parajo *et. al.* (1998)

2.14 วิธีการต่าง ๆ ที่ใช้ในการผลิตน้ำตาลไซลิทอล

2.14.1 การสกัดจากผักและผลไม้

การผลิตน้ำตาลไซลิทอลสามารถผลิตได้จากแหล่งธรรมชาติโดยการสกัดจากผักและผลไม้ เช่นกะหล่ำปลี มะเขือยาว ผักโขม สตรอเบอร์รี่ และราสเบอร์รี่ โดยปริมาณน้ำตาลไซลิทอลในผักและผลไม้ต่าง ๆ แสดงในตารางที่ 2.7 ซึ่งสามารถสกัดได้น้ำตาลไซลิทอลในปริมาณที่ต่ำมากเมื่อเทียบกับปริมาณวัตถุดิบที่ใช้ จึงไม่คุ้มค่าที่จะผลิตในเชิงพาณิชย์

ตารางที่ 2.7 ปริมาณน้ำตาลไซลิทอลในผักและผลไม้

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

ที่มา : Emodi. (1982)

2.14.2 การผลิตน้ำตาลไซลิทอลโดยกระบวนการทางเคมี

เป็นการผลิตน้ำตาลไซลิทอลทางอุตสาหกรรมในปัจจุบัน โดยใช้วัตถุดิบที่เป็นน้ำตาลไซโลสที่ได้จากวัสดุที่มีไซเลนเป็นองค์ประกอบ โดยมีขั้นตอนการผลิตดังนี้

2.14.2.1 การไฮโดรไลซิส

เป็นการสกัดน้ำตาลไซโลสจากเฮมิเซลลูโลสโดยใช้กรดซัลฟิวริกเจือจางหรือด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ ซึ่งที่นิยมใช้คือวิธี ultrafast hydrolysis โดยใช้กรดซัลฟิวริกเจือจาง 0.5-1.0 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 200-210 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วินาที ซึ่งจะได้น้ำตาลไซโลสออกมา

2.14.2.2 การทำน้ำตาลไซโลสให้บริสุทธิ์

หลังจากไฮโดรไลซิสแล้วจะทำการกำจัดไอออนและสีที่อยู่ในไฮโดรไลเสท (hydrolysate) ซึ่งมีน้ำตาลหลายชนิดเป็นองค์ประกอบ แต่มีน้ำตาลไซโลสเป็นองค์ประกอบหลักถึงร้อยละ 78ซึ่งสามารถทำให้บริสุทธิ์ได้ 2 วิธีคือ

2.14.2.2.1 แบบแยกน้ำตาลไซโลส (isolation of xylose)

ไฮโดรไลเสทที่ได้จะถูกกรองแยกสารแขวนลอยและตะกอนออกก่อนที่จะนำไปผ่านตัวแยกไอออนเพื่อกำจัดสีและเกลือและเพื่อให้ได้สารละลายน้ำตาลไซโลสที่บริสุทธิ์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 85-90 จึงต้องใช้วิธีโครมาโทกราฟีเป็นขั้นตอนสุดท้าย

2.14.2.2 แบบไม่แยกน้ำตาลไซโลส (non-isolation of xylose)

วิธีนี้จะแยกเอาสารอื่น ๆ เช่นตะกอน ไอออนและสีออก แต่ไม่แยกเอาน้ำตาลชนิดอื่นออกไปจากไฮโดรไลเซสโดยวิธีโครมาโทกราฟี สารละลายที่ได้มีน้ำตาลหลายชนิดเป็นองค์ประกอบแต่มิ่้น้ำตาลไซโลสเป็นองค์ประกอบหลักดังแสดงในตารางที่ 2.8

ตารางที่ 2.8 องค์ประกอบของสารละลายน้ำตาลที่ได้จากการไฮโดรไลซิส

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

ที่มา : Hyvoenen *et. al.* (1982)

2.14.3 การไฮโดรจีเนชัน

เป็นการเปลี่ยนน้ำตาลไซโลสเป็นน้ำตาลไซลิทอลที่สภาวะความดัน 50 บรรยากาศ อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2.5 ชั่วโมง โดยใช้โลหะนิกเกิลเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ซึ่งจะได้น้ำตาลไซลิทอลประมาณร้อยละ 64.5 โดยในขั้นนี้ถ้ามีน้ำตาลชนิดอื่นเจือปนอยู่น้ำตาลเหล่านั้นจะเปลี่ยนเป็นน้ำตาลแอลกอฮอล์ด้วยดังแสดงในตารางที่ 2.9

ตารางที่ 2.9 องค์ประกอบของสารละลายน้ำตาลแอลกอฮอล์ที่ได้จากกระบวนการไฮโดรจีเนชัน

น้ำตาล	ปริมาณ (เปอร์เซ็นต์)
อาราบิทอล	9
ไซลิทอล	64.5
แมนนิทอล	7.5
กาแลคติทอล	5
ซอร์บิทอล	4.5
อื่น ๆ	9.5

ที่มา : Hyvoenen *et. al.* (1982)

2.14.4 การทำน้ำตาลไซลิทอลให้บริสุทธิ์

นำสารละลายน้ำตาลแอลกอฮอล์ที่ได้มาทำให้บริสุทธิ์โดยกรองแยกเอาโลหะ निकเกิดออก แล้วแยกน้ำตาลไซลิทอลออกมาโดยวิธีโครมาโตกราฟี จากนั้นทำการตกผลึกน้ำตาลไซลิทอล ซึ่งจะได้น้ำตาลไซลิทอลที่มีความบริสุทธิ์ร้อยละ 99

แม้ว่าการผลิตน้ำตาลไซลิทอลโดยวิธีทางเคมีจะเป็นวิธีที่ใช้กันในทางอุตสาหกรรมทั่วไป แต่ต้นทุนการผลิตยังสูงอยู่ เนื่องจากขั้นตอนในการแยกและทำให้บริสุทธิ์ยังทำได้ยาก ทำให้น้ำตาลไซลิทอลมีราคาแพง และปริมาณของน้ำตาลไซลิทอลที่ได้ยังคงค่อนข้างต่ำ จึงทำให้มีการคิดค้นวิธีการผลิตด้วยกระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพขึ้นมาเพื่อทดแทนการผลิตทางเคมี

2.15 การผลิตด้วยกระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพ

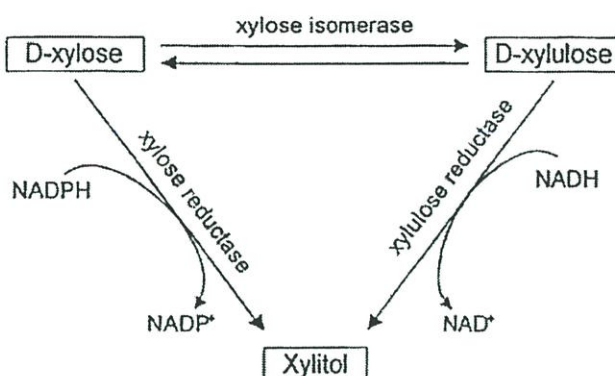
การผลิตน้ำตาลไซลิทอลโดยกระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพเริ่มเป็นที่สนใจเนื่องจากมีแนวโน้มที่จะสามารถนำมาทดแทนวิธีการผลิตทางเคมีที่ต้นทุนสูงได้ การผลิตน้ำตาลไซลิทอลด้วยกระบวนการนี้จะใช้เอนไซม์หรือจุลินทรีย์ในการผลิต ซึ่งมีจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้หลายชนิด ตัวอย่างของเชื้อแบคทีเรียเช่น *Corynebacterium* sp., *Mycobacterium smegmatis* ตัวอย่างของเชื้อรา เช่น *Petromyces albertensis* แต่จุลินทรีย์ที่นิยมในการผลิตน้ำตาลไซลิทอลด้วยกระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพคือยีสต์ ซึ่งมีหลายชนิดที่สามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ เช่น *Candida tropicalis*, *C. guilliermondii*, *C. parasilopsis*, *C. boidinii* และ *Debaryomyces hansenii* เป็นต้น

2.16 กระบวนการเมแทบอลิซึมในการผลิตน้ำตาลไซลิทอลโดยจุลินทรีย์

น้ำตาลไซโลสสามารถเปลี่ยนไอโซเมอร์เป็นน้ำตาลไซลูโลสได้ด้วยเอนไซม์ไซโลสไอโซเมอเรส (xylose isomerase) หรือถูกรีดิวซ์ไปเป็นน้ำตาลไซลิทอลโดยเอนไซม์ไซโลสรีดักเทส (xylose reductase ; XR) โดยมีโคเอนไซม์คือ NADPH หรือ NADH ซึ่งน้ำตาลไซลิทอลที่ผลิตขึ้นสามารถเปลี่ยนรูปไปเป็นน้ำตาลไซลูโลสโดยเอนไซม์ไซลิทอลดีไฮโดรจีเนส (xylitol dehydrogenase ; XDH) ในขณะที่มี NADP⁺ หรือ NAD⁺ ที่ได้จากปฏิกิริยาตอนต้น (Horitsu *et. al.* 1992 ; Nigam and Singh. 1995)

Hofer *et. al.* (1971) รายงานในลักษณะที่ใกล้เคียงกันว่าน้ำตาลไซลิทอลในจุลินทรีย์จะถูกสร้างขึ้นเป็นสารตัวกลางในกระบวนการเมตาบอลิซึมของน้ำตาลไซโลสได้ 2 วิธี วิธีแรกเป็นการเปลี่ยนน้ำตาลไซโลสเป็นน้ำตาลไซลิทอลโดยอาศัยเอนไซม์ไซโลสรีดักเทสและโคเอนไซม์ NADPH เปลี่ยนน้ำตาลไซโลสเป็นน้ำตาลไซลิทอล ส่วนวิธีที่สองน้ำตาลไซโลสจะถูกเปลี่ยนไอโซ

เมอร์ไปเป็นน้ำตาลไซลูโลสก่อนโดยเอนไซม์ไซโลสไอโซเมอเรส จากนั้นน้ำตาลไซลูโลสจะถูกรีดิวซ์ไปเป็นน้ำตาลไซลิตอลโดยเอนไซม์ไซโลสรีดักเทส และโคเอนไซม์ NADH ดังภาพที่ 2.11



ภาพที่ 2.11 วิธีการเกิดน้ำตาลไซลิตอลจากเมตาบอลิซึมของไซโลส

ที่มา : Hofer *et. al.* (1971)

วิธีโดยทั่วไปเป็นวิธีในการเปลี่ยนน้ำตาลไซโลสเป็นน้ำตาลไซลิตอลคือวิธี oxidoreduction ซึ่งมีการศึกษาวิธีนี้ในยีสต์หลายชนิด Furlan *et. al.* (1994) รายงานว่ากระบวนการดังกล่าวเกิดขึ้นได้ต้องอาศัยโคเอนไซม์จากกระบวนการหายใจแบบใช้ออกซิเจน

2.16.1 กระบวนการเมตาบอลิซึมของการผลิตน้ำตาลไซลิตอลในยีสต์

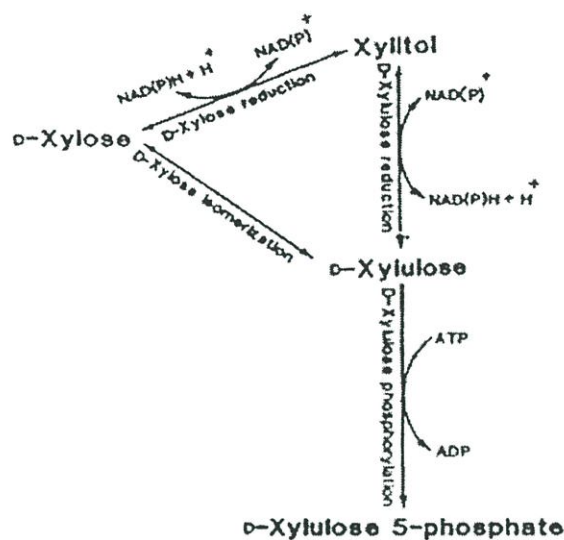
ยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลไซโลสเป็นไซลูโลส-5-ฟอสเฟต (xylulose-5-phosphate) เพื่อเข้าสู่วิถีอื่นต่อไป โดยเมื่อน้ำตาลไซโลสเข้าสู่เซลล์ยีสต์จะถูกเปลี่ยนเป็นน้ำตาลไซลูโลสโดยปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชัน ซึ่งการเปลี่ยนแปลงน้ำตาลไซโลสโดยวิธีนี้จะพบในจุลินทรีย์พวกยูคาริโอต (Eukaryotes) โดยมีเอนไซม์ที่เกี่ยวข้อง 2 ชนิด คือ เอนไซม์ไซโลสรีดักเทส ซึ่งมีโคเอนไซม์ NAD(P)H ร่วมในการทำปฏิกิริยารีดิวซ์น้ำตาลไซโลสเป็นน้ำตาลไซลิตอลและเอนไซม์ไซลิตอลดีไฮโดรจีเนสซึ่งใช้ NAD(P)⁺ เป็นโคเอนไซม์จะออกซิไดซ์น้ำตาลไซลิตอลที่เกิดขึ้นให้กลายเป็นน้ำตาลไซลูโลส (Smiley and Bolen, 1982) ส่วนในจุลินทรีย์พวกโพรคาริโอต (Prokaryotes) นั้นจะเปลี่ยนน้ำตาลไซโลสเป็นน้ำตาลไซลูโลสโดยปฏิกิริยาไอโซเมอไรเซชัน (isomerization) โดยมีเอนไซม์ไซโลสไอโซเมอเรสเข้ามาเกี่ยวข้อง สำหรับกิจกรรมของเอนไซม์ไซโลสรีดักเทสและเอนไซม์ไซโลสดีไฮโดรจีเนสในยีสต์แต่ละสายพันธุ์จะแตกต่างกันไป ดังแสดงในตารางที่ 2.10 ทำให้ยีสต์แต่ละสายพันธุ์ใช้น้ำตาลไซลิตอลได้แตกต่างกัน

ตารางที่ 2.10 กิจกรรมของเอนไซม์ไซโลสรีดักเทสและไซลิตอลดีไฮโดรจีเนสในยีสต์ที่สามารถใช้น้ำตาลไซโลสได้

Microorganism	XR activity		NADH/ NADPH ratio	XDH activity		Reference
	[$\mu\text{mol (min mg)}^{-1}$]			[$\mu\text{mol (min mg)}^{-1}$]		
	NADH	NADPH	NAD ⁺	NADP ⁺		
<i>P. lannophilus</i> (NRRL Y-2460)	44	151	0.29	114	8	Malczka <i>et al.</i> (1983)
<i>C. utilis</i> (CBS 621)*	0	75	0	280	0	Bruinenberg <i>et al.</i> (1984)
<i>Pichia stipitis</i> (CBS 5773)*	310	600	0.5	720	75	Bruinenberg <i>et al.</i> (1984)
<i>P. lannophilus</i> (CBS 4044)*	9	220	0.04	910	70	Bruinenberg <i>et al.</i> (1984)
<i>C. tenuis</i> (CBS 615)†	2	130	0.02	—	—	Bruinenberg <i>et al.</i> (1984)
<i>C. tenuis</i> (CBS 2885)†	0	100	0	—	—	Bruinenberg <i>et al.</i> (1984)
<i>C. tenuis</i> (CBS 4285)†	305	670	0.5	—	—	Bruinenberg <i>et al.</i> (1984)
<i>C. shehatae</i> (CBS 5813)†	210	480	0.4	—	—	Bruinenberg <i>et al.</i> (1984)
<i>Pichia seipholensis</i> (CBS 6857)†	365	640	0.6	—	—	Bruinenberg <i>et al.</i> (1984)
<i>C. pitulicosa</i>	—	1.73	—	—	—	Kitpreochavanich <i>et al.</i> (1984)
<i>P. lannophilus</i> (ATCC 326 91)	—	36†	—	—	36	Gómez (1987)
<i>C. shehatae</i> (ATCC 22984)‡	0.11	0.21	0.53	0.08	0.011	Girio <i>et al.</i> (1989)
<i>P. stipitis</i> (CBS 7126)¶	180-340	300-570	0.55-0.60	650-770	7-30	du Preez (1989)
<i>C. shehatae</i> (CBS 2779)¶	280-370	510-580	0.52-0.64	740-1270	25-30	du Preez (1989)
<i>C. tenuis</i> (CBS 2883)¶	120-200	220-350	0.54-0.57	80-310	7-17	du Preez (1989)
<i>D. hansenii</i> (DTIA 77)	0	60	0	—	—	Girio <i>et al.</i> (1990)
<i>C. oleophila</i> (DTIA 111)	0	40	0	—	—	Girio <i>et al.</i> (1990)
<i>C. intermedia</i> (DTIA 110)	0	140	0	—	—	Girio <i>et al.</i> (1990)
<i>P. stipitis</i> (DTIA 81)	720	3460	0.21	—	—	Girio <i>et al.</i> (1990)
<i>C. boldinii</i> (NRRL Y17213)	—	—	1.2-2.1	—	—	Vandaska <i>et al.</i> (1995)
<i>P. lannophilus</i> (DSM 70352)¶	0.03	0.23	0.13	0.060	0.135	Kruce & Schügerl (1996)
<i>C. boldinii</i> Kloeckera sp. (no. 2201)	0.288	0.055	5.23	0.272	0.096	Vongsavalerit & Tani (1989)
<i>C. guilhermondii</i> (NRC 5578)	0.08	0.62	0.129	—	—	Nolleau <i>et al.</i> (1993)
<i>C. parapikosis</i> (ATCC 28474)	0.17	0.42	0.405	—	—	Nolleau <i>et al.</i> (1993)
<i>C. guilhermondii</i> (NRC 5578)	0.08	0.62	0.129	1.130	0.011	Nolleau <i>et al.</i> (1995)
<i>C. parapikosis</i> (ATCC 28474)	0.17	0.42	0.405	0.400	0.02	Nolleau <i>et al.</i> (1995)
<i>C. mogii</i> (ATCC 18364)	0.06	0.16	0.375	0.22	—	Siriansaneeyakul <i>et al.</i> (1995)
<i>C. guilhermondii</i> (FTI-20037, NRC5578)	—	79.1	—	128.0	—	Lee <i>et al.</i> (1996)
<i>C. shehatae</i> (ATCC 22984)	0.04-0.07	0.26-0.34	0.15-0.21	0.14-0.18	—	Palnitkar & Lachke (1992)

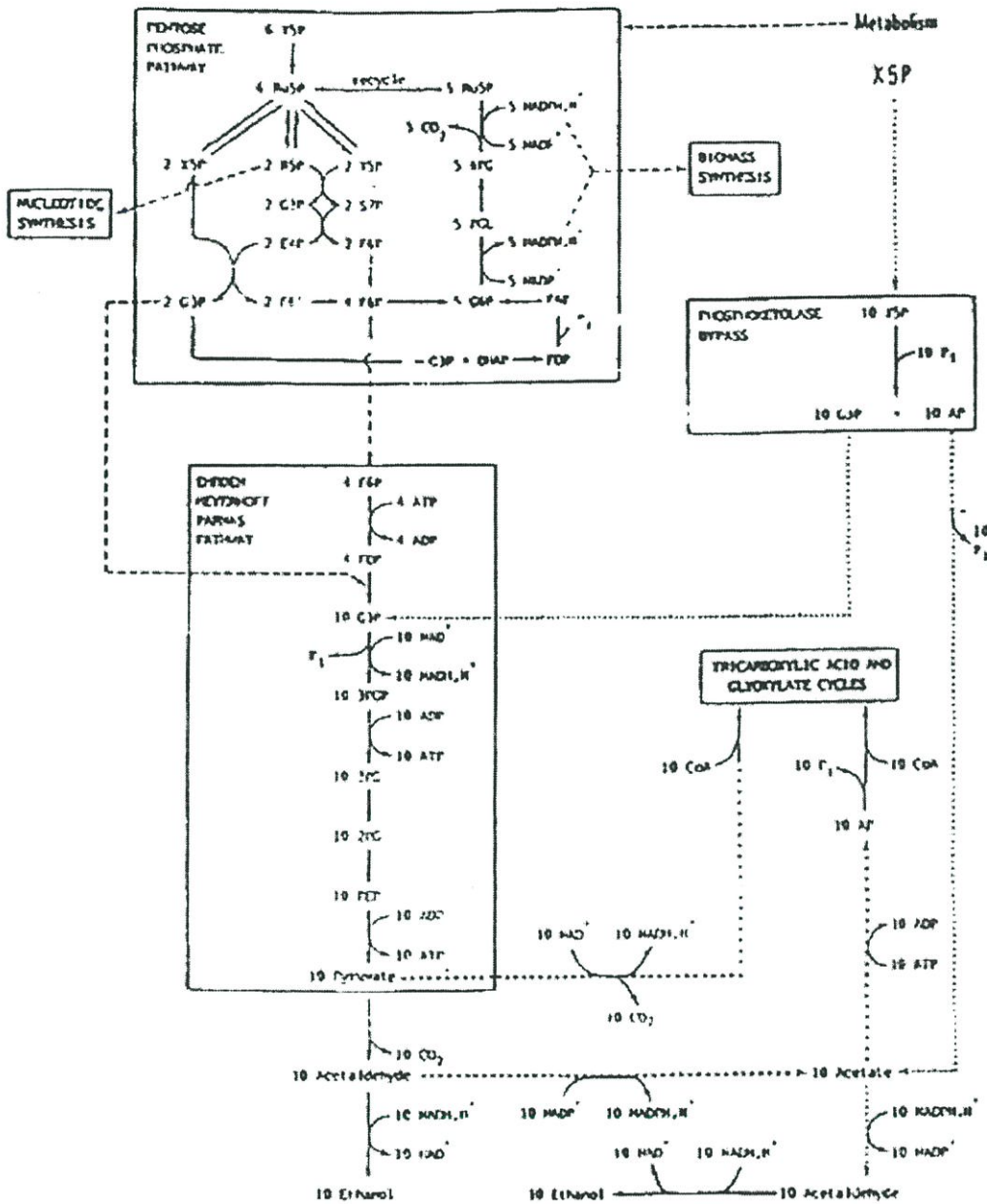
ที่มา : Parajo *et al.* (1998)

Barnett, 1976 ; Gong, 1983 รายงานว่า เมื่อยีสต์เปลี่ยนน้ำตาลไซโลสให้เป็นน้ำตาลไซลูโลสแล้วจะเปลี่ยนเป็นไซลูโลส-5-ฟอสเฟต โดยปฏิกิริยาฟอสโฟริเรชัน (phosphorylation) ของเอนไซม์ไซลูโลสไคเนส (xylulose kinase) ดังแสดงในภาพที่ 2.12



ภาพที่ 2.12 เมตาบอลิซึมของน้ำตาลไซโลสเพื่อสร้างไซลูโลส-5-ฟอสเฟต
ที่มา : Vongsuvanlert and Tani. (1989)

เมื่อไซลูโลส-5-ฟอสเฟตเข้าสู่วิถีเพนโทสฟอสเฟต (pentosephosphate pathway) จะเปลี่ยนเป็นน้ำตาลฟอสเฟตต่าง ๆ คือ glyceraldehyde-3-phosphate (G3P) และ fructose-6-phosphate (F6P) แล้วเข้าสู่วิถี Embden-Meyerhorf-Panas (EMP) เพื่อสร้างไพรูเวตเข้าสู่วัฏจักรการสร้างพลังงาน (TCA cycle) เพื่อสร้างพลังงานและเซลล์ต่อไป ดังแสดงในภาพที่ 2.13 ส่วนไพรูเวตที่ได้จะถูกเปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ เช่น คาร์บอนไดออกไซด์ เอทานอล และกรดอินทรีย์ต่าง ๆ เป็นต้น (Gong. 1983 ; Jeffries. 1983)



ภาพที่ 2.13 เมตาบอลิซึมของไซลูลอส-5-ฟอสเฟตของยีสต์ *Pachysolen tannophilus*
ที่มา : Slininger *et. al.* (1987)

ยีสต์บางสายพันธุ์เมื่อใช้น้ำตาลไซโลสในสภาวะที่มีออกซิเจนจำกัดสามารถสะสมน้ำตาลไซลิทอลได้ในปริมาณมาก เนื่องจากชนิดของโคเอนไซม์ที่ใช้ในปฏิกิริยาของเอนไซม์ไซโลสรีดักเทสและเอนไซม์ไซโลสติไฮโดรจีเนสเป็นคนละกลุ่ม โดยโคเอนไซม์ที่ใช้เร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ไซโลสรีดักเทสคือ NADPH แต่โคเอนไซม์ใช้เร่งปฏิกิริยาเอนไซม์ไซโลสติไฮโดรจีเนสคือ NADH ดังนั้นในสภาวะที่มีออกซิเจนจำกัดจะเกิดการสะสมของ NADH และ NADPH มาก จึงเกิดการเร่ง

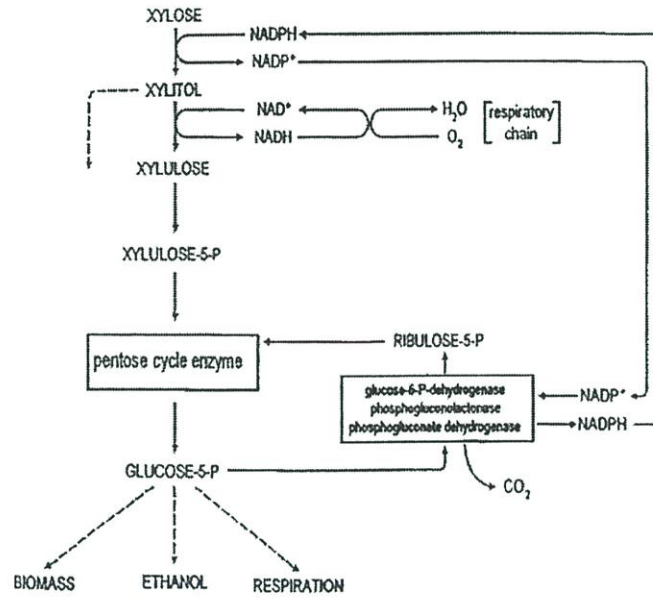
การเปลี่ยนน้ำตาลไซโลสเป็นไซลิทอลโดยอาศัยโคเอนไซม์ NADPH อย่างมาก แต่เนื่องจากเกิดการสะสมของ NADH ทำให้ขาดแคลน NAD^+ จึงทำให้การเปลี่ยนน้ำตาลไซลิทอลที่ได้เป็นน้ำตาลไซลูโลสจึงเกิดขึ้นน้อยและไม่สามารถนำเอา NADP^+ ที่เกิดจากปฏิกิริยาที่เปลี่ยนน้ำตาลไซโลสเป็นน้ำตาลไซลิทอลมาใช้ได้ จึงทำให้เกิดการสะสมของน้ำตาลไซลิทอลมากขึ้น Horitsu *et. al.* (1992) ได้ยืนยันข้อเท็จจริงนี้โดยทำการตรวจวัดกิจกรรมของเอนไซม์ไซโลสรีดักเทสและเอนไซม์ไซโลสดีไฮโดรจีเนสของยีสต์ *C. tropicalis* IFO 0618 ที่เพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีออกซิเจนต่ำ พบว่ายีสต์นี้มีเอนไซม์ NADH-linked xylose reductase และ NADP^+ -linked xylitol dehydrogenase ต่ำมากจนเกือบไม่มีเลย ดังนั้นการสร้าง NAD^+ จากเอนไซม์ NADH-linked xylose reductase จึงไม่เกิดขึ้น ทำให้เกิดสภาวะขาดแคลน NAD^+ ในการออกซิไดซ์ไปเป็นน้ำตาลไซลูโลส ดังนั้นในสภาวะที่มีออกซิเจนจำกัดจึงเกิดการสะสมของน้ำตาลไซลิทอลขึ้น

สำหรับยีสต์ที่มีกิจกรรมของเอนไซม์ไซโลสรีดักเทสที่ต้องการทั้ง NADPH และ NADH เช่นยีสต์ในกลุ่ม *Pachysolen* sp. และ *Pichia* sp. สามารถเจริญและสะสมน้ำตาลไซลิทอลได้น้อยเนื่องจากน้ำตาลไซลิทอลสามารถเปลี่ยนเป็นน้ำตาลไซลูโลสและเข้าสู่วิถีต่าง ๆ และผลิตเป็นเอทานอลได้ต่อไปในสภาพที่มีออกซิเจนจำกัด (Prior *et. al.* 1989)

การศึกษาเมตาบอลิซึมของน้ำตาลไซโลสในยีสต์เพื่อหาผลได้ทางทฤษฎีของการเปลี่ยนน้ำตาลไซโลสเป็นน้ำตาลไซลิทอลต้องพิจารณา 4 เงื่อนไขดังต่อไปนี้ (Barbosa *et. al.* 1988)

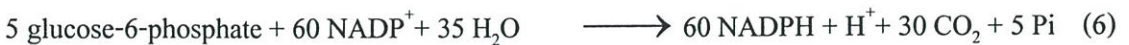
1. ในกระบวนการเมตาบอลิซึมมีโคเอนไซม์ 2 ชนิดเข้าไปเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนน้ำตาลไซโลสเป็นน้ำตาลไซลิทอล โดยเอนไซม์ไซโลสรีดักเทสมี NADPH เป็นโคเอนไซม์ และการออกซิไดส์น้ำตาลไซลิทอลเป็นน้ำตาลไซลูโลสโดยเอนไซม์ไซลิทอลดีไฮโดรจีเนสมี NAD^+ เป็นโคเอนไซม์
2. โคเอนไซม์ NADPH ที่ใช้ในการรีดิวซ์น้ำตาลไซโลสทั้งหมดเป็นน้ำตาลไซลิทอลถูกสังเคราะห์ขึ้นในวิถีเพนโทสฟอสเฟตและโคเอนไซม์ NAD^+ ที่ใช้ในกระบวนการออกซิไดส์น้ำตาลไซลิทอลเป็นน้ำตาลไซลูโลสได้จากกระบวนการหายใจ
3. ในกระบวนการเมตาบอลิซึมของยีสต์ไม่สามารถเปลี่ยน NADH เป็น NADP^+ ได้
4. ภายใต้สภาวะที่มีการจำกัดออกซิเจนหรือมีการเจริญเติบโตช้า น้ำตาลไซลิทอลจะถูกออกซิไดส์เพื่อสร้าง NADPH เท่านั้น ส่วนน้ำตาลไซลิทอลที่เหลือจะสะสมมากขึ้นและปล่อยออกมาภายนอกเซลล์

การผลิตน้ำตาลไซลิทอลในยีสต์โดยใช้น้ำตาลไซโลสเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานในสถานะที่มีการจำกัดออกซิเจนหรือไม่มีการเจริญเติบโต น้ำตาลไซลิทอลส่วนใหญ่จะถูกปล่อยออกมานอกเซลล์โดยมีบางส่วนถูกออกซิไดส์ไปเพื่อสังเคราะห์ NADPH (ภาพที่ 2.14) เมื่อทำสมดุลคาร์บอนและโคเอนไซม์ดังสมการที่ 1-9 แล้ว จะได้ผลทางทฤษฎีของน้ำตาลไซลิทอลเท่ากับ 0.905 โมลต่อโมลของน้ำตาลไซโลสที่ถูกใช้ (Barbosa *et. al.* 1988)

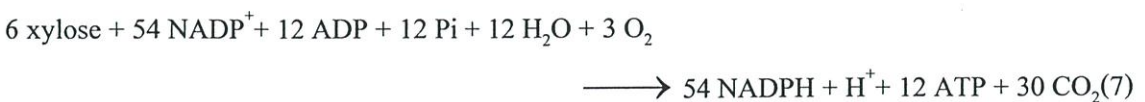


ภาพที่ 2.14 การสร้างและใช้โคเอนไซม์ (coenzyme regeneration) ในยีสต์ที่หมักน้ำตาลไซโลสได้
ที่มา : Barbosa *et. al.* (1988)

สมการแสดงการหาผลได้ของน้ำตาลไซลิทอลจากน้ำตาลไซโลสทางทฤษฎี



จากสมการที่ 1-6



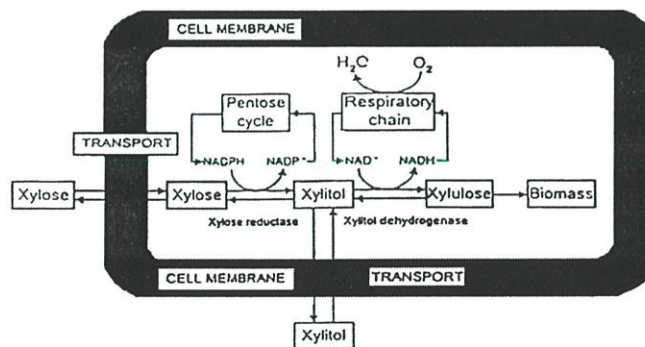
จากสมการที่ 7 และ 8



ผลได้ของน้ำตาลไซลิตอล = $54/60 = 0.905$ โมลของน้ำตาลไซลิตอลต่อโมลของน้ำตาลไซโลส

Horitsu *et. al.* (1992) รายงานว่า กระบวนการผลิตน้ำตาลไซลิตอลที่มีประสิทธิภาพนั้นในขั้นตอนแรกต้องเพาะเลี้ยงเซลล์ให้เติบโตสูงสุดโดยการให้ออกซิเจนอย่างเพียงพอและลดปริมาณการให้ออกซิเจนในช่วงการผลิตน้ำตาลไซลิตอล เนื่องจากการผลิตน้ำตาลไซลิตอลจะเกิดได้ดีในสภาวะที่มีออกซิเจนจำกัด ถ้ามีการให้ออกซิเจนสูงตลอดระยะเวลาการเพาะเลี้ยงจะทำให้น้ำตาลไซลิตอลถูกเปลี่ยนเป็นน้ำตาลไซลูโลส ดังนั้นการให้ออกซิเจนสูงจึงเหมาะสำหรับช่วงของการเจริญเติบโตเท่านั้น

Sirisansaneeyakul *et. al.* (1992) อธิบายถึงการใช้น้ำตาลไซโลสของยีสต์ผ่านวิถีเพนโทสฟอสเฟตซึ่งน้ำตาลไซโลสจะเข้าสู่ภายในเซลล์และถูกเปลี่ยนเป็นน้ำตาลไซลิตอลด้วยการทำงานของเอนไซม์ไซโลสรีดักเทสที่มี NADPH เป็นโคเอนไซม์ จากนั้นน้ำตาลไซลิตอลจะถูกเปลี่ยนเป็นน้ำตาลไซลูโลสด้วยการทำงานของเอนไซม์ไซลิตอลดีไฮโดรจีเนสที่อาศัย NAD^+ เป็นโคเอนไซม์ จากนั้นน้ำตาลไซลูโลสที่ได้จะถูกเติมฟอสเฟตก่อนเข้าสู่วิถีเพนโทสฟอสเฟต เพื่อที่จะนำไปสร้างเป็นมวลชีวภาพของเซลล์หรือพลังงานต่อไปดังแสดงในภาพที่ 2.15



ภาพที่ 2.15 เมตาบอลิซึมของน้ำตาลไซโลสในยีสต์

ที่มา : Sirisansaneeyakul *et. al.* (1992)

2.16.2 กระบวนการเมตาบอลิซึมในการผลิตน้ำตาลไซลิตอลโดยแบคทีเรีย

แบคทีเรียส่วนมากสามารถสร้างเอนไซม์ไซโลสไอโซเมอเรสได้ ดังนั้นจึงสามารถเปลี่ยนน้ำตาลไซโลสเป็นน้ำตาลไซลูโลสได้ จากนั้นน้ำตาลไซลูโลสก็จะถูกเติมฟอสเฟตกลายเป็น

ไซลูโลส-5-ฟอสเฟตแล้วเข้าสู่วิถีเพนโทสฟอสเฟต หรืออีกทางหนึ่งไซลูโลส-5-ฟอสเฟตที่ได้อาจถูกเอนไซม์ไซลูโลส-5-ฟอสเฟตฟอสโฟคีโตเลสเปลี่ยนเป็น G3P และ acetyl phosphate ซึ่งขั้นนี้เป็นการสร้างสารตัวกลางใน EMP โดยไม่มีการสร้าง NADPH เหมือนกับเมตาบอลิซึมของน้ำตาลกลูโคสในยีสต์ (Evan and Ratledge. 1984) แต่แบคทีเรียบางสายพันธุ์สามารถผลิตเอนไซม์ในกลุ่ม oxido - reductase แทนเอนไซม์ไซโลสไอโซเมอเรสได้ ทำให้สามารถรีดิวส์น้ำตาลไซโลสเป็นน้ำตาลไซลิทอลได้และออกซิโคสน้ำตาลไซลิทอลไปเป็นน้ำตาลไซลูโลสได้อีกด้วยในบางสายพันธุ์

Nigam and Singh. (1995) รายงานว่าแบคทีเรียสามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้เช่น *Corynebacterium* sp. และ *Mycobacterium smegmatis* พบว่า *M. smegmatis* สามารถเปลี่ยนน้ำตาลไซโลสเป็นน้ำตาลไซลิทอลได้ในอัตรา 70 % และได้มีการศึกษาการผลิตน้ำตาลไซลิทอลโดยใช้ น้ำตาลไซโลสที่ผลิตได้จากเอนไซม์ดีไซโลสไอโซเมอเรส (D-xylose isomerase) จากเชื้อ *Bacillus coagulans* และตรีงเซลล์ *M. smegmatis* ได้น้ำตาลไซลิทอล 4 กรัม จากน้ำตาลไซโลส 10 กรัม

2.16.3 กระบวนการเมตาบอลิซึมในการผลิตน้ำตาลไซลิทอลโดยเชื้อรา

เชื้อราสามารถใช้น้ำตาลไซโลสได้โดยผ่านวิถีออกซิโค-รีดักชัน (oxido - reduction pathway) ให้กลายเป็นน้ำตาลไซลูโลส (Ojamo. 1994) ในช่วงแรก Chiang and Knight. (1960) พบปริมาณน้ำตาลไซลิทอลเล็กน้อยเมื่อทำการเพาะเลี้ยงราที่มีเส้นใยในอาหารที่มีน้ำตาลไซโลสเป็นองค์ประกอบ Ueng and Gong. (1982) ก็รายงานผลที่คล้ายคลึงกันเมื่อทำการหมักไฮโดรไลเสทที่ได้จากขานอ้อยด้วย *Mucor* sp.

2.17 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตน้ำตาลไซลิทอลด้วยกระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพ

การผลิตน้ำตาลไซลิทอลจากจุลินทรีย์เป็นกระบวนการที่มีปัจจัยหลายอย่างซึ่งมีอิทธิพลต่อการผลิต เช่น สายพันธุ์ของจุลินทรีย์ที่ใช้ ชนิดของอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง ลักษณะของการเพาะเลี้ยง เป็นต้น ปัจจัยต่าง ๆ เหล่านี้ล้วนเป็นสิ่งสำคัญที่ทำให้การผลิตน้ำตาลไซลิทอลมีประสิทธิภาพ ซึ่งเราสามารถแยกปัจจัยต่าง ๆ นี้ออกเป็นสองอย่าง อย่างแรกเป็นปัจจัยที่ขึ้นกับจุลินทรีย์ที่ใช้หรือสายพันธุ์ของจุลินทรีย์นั่นเอง ส่วนปัจจัยที่สองที่มีผลต่อกระบวนการผลิตน้ำตาลไซลิทอลมีดังนี้คือ อายุของหัวเชื้อ ปริมาณเซลล์เริ่มต้น ความเป็นกรด่าง อุณหภูมิ ส่วนประกอบของอาหารที่ใช้ ความเข้มข้นของสารตั้งต้น ปริมาณออกซิเจนที่ละลายอยู่ใน น้ำตาลชนิดอื่นในฐานะสารตั้งต้นรวม

2.17.1 สายพันธุ์ของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตน้ำตาลไซลิทอล

จุลินทรีย์ที่นิยมใช้ในการผลิตน้ำตาลไซลิทอลคือยีสต์ ซึ่งมียีสต์หลายสายพันธุ์ที่ผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้โดยมีการศึกษาถึงการผลิตน้ำตาลไซลิทอลในยีสต์สายพันธุ์ต่าง ๆ เพื่อหาสายพันธุ์ที่ผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ดีที่สุด

จากการศึกษาพบว่า ยีสต์ที่ผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ดีก็คือยีสต์ในกลุ่ม *Candida* sp. ตัวอย่างเช่น การคัดเลือกยีสต์ 10 สายพันธุ์เพื่อหาสายพันธุ์ที่ผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ดีที่สุดโดย Gong *et. al.* (1981) พบว่า *C. tropicalis* นั้นเป็นยีสต์ที่ให้ผลผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ดีที่สุด และไม่ผลิตเอทานอลเป็นผลผลิตร่วม นอกจากนี้ Gong *et. al.* (1983) ยังได้ศึกษาความสามารถในการใช้น้ำตาลเพนโตสและการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของยีสต์ต่าง ๆ ใน *Candida* sp., *Saccharomyces* sp. และ *Schizosaccharomyces* sp. อีกด้วย Barbosa *et. al.* (1988) ทำการคัดเลือกยีสต์ 44 สายพันธุ์ที่สามารถเปลี่ยนน้ำตาลไซโลสเป็นน้ำตาลไซลิทอลได้ พบว่าในบรรดาสายพันธุ์ทั้งหมด *C. tropicalis* และ *C. guilliermondii* สามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ดีที่สุด Sirisansaneeyakul *et. al.* (1995) ได้เปรียบเทียบยีสต์สายพันธุ์ต่าง ๆ 11 สายพันธุ์ พบว่า *C. mogii* สามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ดีที่สุดเมื่อเทียบกับสายพันธุ์อื่น 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) ได้แยกเอายีสต์จากวัชคูปวกติกโนเซลลูโลสมาทำการคัดเลือกหาสายพันธุ์ที่สามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้และพบว่า *D. hansenii* ให้ผลผลิตสูงและมีอัตราการผลิตสูงด้วย และผลการศึกษาของ Vandeska *et. al.* (1995) พบว่า *Debaryomyces hansenii* และ *C. boidinii* เป็นยีสต์ที่ผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ดีเช่นเดียวกัน ซึ่ง Domiguez *et. al.* (1997) พบว่าได้ปริมาณน้ำตาลไซลิทอลถึง 106 กรัมต่อลิตร จาก *D. hansenii* นอกจากนี้ยังมียีสต์ที่ให้ผลผลิตน้ำตาลไซลิทอลร่วมกับเอทานอลอีกด้วย ซึ่งพบใน *C. parasilopsis* ในสภาวะที่มีอากาศเล็กน้อย *C. shehatae* และ *P. tannophilus* เป็นยีสต์ที่ให้ผลผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้สูงสุดและมีการผลิตเอทานอลร่วมด้วย ซึ่งการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ จะแสดงในตารางที่ 2.10

ตารางที่ 2.11 การผลิตน้ำตาลไซลิทอลโดยเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ

Microorganism	Time (h)	S ₀ (g l ⁻¹)	Q _s (g l ⁻¹ h ⁻¹)	% S cons.	P (g l ⁻¹)	Q _p (g l ⁻¹ h ⁻¹)	Y _{ps} (g g ⁻¹)	Y _{x/k} (g g ⁻¹)	μ _{max} (h ⁻¹)	Reference
<i>Candida tropicalis</i> HPX2	24	51	2.08	100	40	1.67	0.80	—	—	Gong et al. (1981)
<i>Pachysolen tannophilus</i> IIGB 0101	33-5-41	25-27	0.66-0.75	100	22.9-35.5	0.46-0.56	0.61-0.85	—	—	Debus et al. (1983)
<i>P. tannophilus</i> ATCC32691; <i>P. tannophilus</i> PT15; <i>S. cerevisiae</i> SC138; <i>Candida</i> sp.; <i>Candida</i> sp. XF217	24-72	65-100	0.90-2.71	53.8-100	32-86	0.63-2.17	0.88-0.60	—	—	Gong et al. (1983)
<i>C. pelliculosa</i> + <i>Methanobacterium</i> HU	24	8.5	0.31	88.2	7.8	0.32	1	—	—	Kitpreechavanich et al. (1984)
<i>Candida</i> sp. B-22	168	250	1.49	100	210	1.25	0.84	—	—	Chen & Gong (1985)
<i>P. tannophilus</i> RL 171	—	50	—	—	13.0	—	—	—	—	Woods & Millis (1985)
<i>C. sheatae</i> ATCC 22984	36	92	2.28	89	28	0.78	0.34	—	—	Sreenath et al. (1986)
<i>P. tannophilus</i> ATCC 32691	—	15-60	—	18.2	9.4-15	0.09	—	—	—	Thonart et al. (1987)
<i>P. tannophilus</i> NRRL 2460; <i>C. guilliermondii</i> FTI-20037	137.5-62.5	4-4.2	0.008-0.06	12.5-88.1	0.01-2.75	0.002-0.04	0.01-0.73	—	—	Lee et al. (1988)
<i>C. guilliermondii</i> FTI-20037	78	104	1.33	100	77.2	0.99	0.74	0.048	—	Barbosa et al. (1988)
<i>P. tannophilus</i> NRRL Y-2460; <i>C. sheatae</i> CSIR Y-492; <i>Pichia stipitis</i> CSIR Y-633	75-190	34-36	0.18-0.40	83.3-100	2-10	0.01-0.05	0.06-0.30	0.012-0.058	—	Ligthelm et al. (1988)
<i>C. boidinii</i> n.d.zousoo; 2201	144-120	100	0.53-0.68	77-82	35-48.5	0.24-0.40	0.45-0.59	—	—	Vongsuwanlert & Tani (1989)
<i>Schizosaccharomyces pombe</i> Y-164	44	60	1.34	98.3	7	0.16	0.12	—	—	Lastick et al. (1989)
<i>C. pelliculosa</i> + <i>Methanobacterium</i> sp. HU	33	4.5	0.14	100	2	0.06	0.43	—	—	Nishio et al. (1989)
<i>Debaryomyces hansenii</i> DTIA 77	28	90	—	—	62.6	2.24	0.70	—	—	Girio et al. (1990)
<i>C. parapsilosis</i> ATCC 28474	—	10	0.28	44.2	1.37	0.087	0.31	0.32	—	Furlan et al. (1991)
<i>D. hansenii</i> DTIA-77	48	90	1.56	81	40.3	0.84	0.54	0.13	—	Roseiro et al. (1991)
<i>C. guilliermondii</i> NRC 5578	406	300	0.74	100	221	0.54	0.75	0.02	0.01	Meyrial et al. (1991)
<i>C. sheatae</i> ATCC 22984	120	75	0.63	100	4.8	0.04	0.64	—	—	Palnitkar & Lachke (1992)
<i>C. tropicalis</i> IFO 0618	—	172	—	—	—	2.67	0.64	—	—	Horitsu et al. (1992)
<i>C. guilliermondii</i> NRC 5578	49.0-59.5	50-52	0.84-0.98	92.3-99.8	18.4-27.3	0.31-0.56	0.37-0.57	0.03	—	Peschke et al. (1992)
<i>C. guilliermondii</i> FTI 20037	—	54.4	—	—	37	—	0.73	—	—	Felipe et al. (1993)
<i>C. guilliermondii</i> NRC 5578; <i>Candida parapsilosis</i> ATCC 28474	168.7-528.6	300-100	1.78-0.19	100	207-74	1.23-0.14	0.69-0.74	—	0.035-0.034	Nolleau et al. (1993)
<i>C. tropicalis</i> DSM 7524	70-800	155-300	0.34-0.5	91.5-100	95-220	0.28-1.35	0.50-0.74	—	—	da Silva & Afschar

ตารางที่ 2.11 (ต่อ)

Microorganism	Time (h)	S ₀ (g l ⁻¹)	O _s (g l ⁻¹ h ⁻¹)	% S cons.	P (g l ⁻¹)	Q _p (g l ⁻¹ h ⁻¹)	Y _{pb} (g g ⁻¹)	Y _{x/k} (g g ⁻¹)	μ _{max} (h ⁻¹)	Reference
<i>D. hansenii</i> DTIA 77	—	50	0.26-0.33	—	—	0.033-0.372	0.38-1.43	—	0.033-0.201	Girio <i>et al.</i> (1994)
<i>Candida</i> sp B-22	100	260	2.6	100	215	2.15	0.83	—	—	Cau <i>et al.</i> (1994)
<i>C. guilliermondii</i> FTI 20037	48	43	0.66	74	23.5	0.49	0.74	—	—	Silva <i>et al.</i> (1994)
<i>P. tannophilus</i> ATCC 32691; <i>C. shehatae</i> NRRL Y17024; <i>C. parapsilosis</i> ATCC 28474	200-117	50	0.43	100	3-11	0.03-0.26	0.16-0.61	—	—	Furlan <i>et al.</i> (1994)
<i>C. mogii</i> ATCC 18364	—	53	—	—	—	—	0.70	0.12	0.003	Sirisansaneyakul <i>et al.</i> (1995)
<i>C. parapsilosis</i> ATCC 28474; <i>C. guilliermondii</i> NRC 5578	—	100-300	0.23-0.67	—	—	0.17-0.44	0.75-0.66	0.015-0.03	0.01-0.025	Nolleau <i>et al.</i> (1995)
<i>C. boidinii</i> NRRL Y-17213	245.4-331.9	130-150	0.34-0.5	74.7-92	53.1-58.9	0.16-0.24	0.47-0.48	0.07-0.11	—	Vandeska <i>et al.</i> (1995a)
<i>Candida</i> sp L-102	65.5	114	1.74	99.91	100.1	0.46	0.88	0.025	—	Lu <i>et al.</i> (1995)
<i>C. shehatae</i> ATCC 22984	120-145	50	0.05-0.4	14-96	8.5-1.4	0.01-0.07	0.18-0.21	0.03	—	Hinfray <i>et al.</i> (1995)
<i>C. guilliermondii</i> FTI-20037	—	—	0.70	—	—	0.57	0.82	—	—	Felipe <i>et al.</i> (1995)
<i>C. tropicalis</i> IFO 0618	32-42	150	3.59-4.67	100	84.5-104.5	2.01-3.26	0.56-0.70	0.15-0.26	—	Yahashi <i>et al.</i> (1996a)
<i>C. tropicalis</i> IFO 0618	36-56	170	—	—	86.2-101.6	1.81-2.71	0.50-0.69	—	—	Yahashi <i>et al.</i> (1996b)
<i>C. boidinii</i> NRRL Y-17213	129-242.5	100-130	0.5-0.68	87.7-93	58.2-59.3	0.24-0.46	0.48-0.68	—	0.013-0.020	Vandeska <i>et al.</i> (1996)
<i>C. guilliermondii</i> FTI 20037	30	40	1.25	—	21.5	0.66	0.53	0.47	—	Pfeiler <i>et al.</i> (1996)
<i>C. entomaea</i> NRRL Y-7785; <i>Pichia guilliermondii</i> NRRL Y-20175; <i>C. guilliermondii</i> FTI 20037	70-96	50-68	0.49-0.93	80.9-100	21-39.1	0.22-0.55	0.41-0.60	—	—	Saha & Bothast (1996)
<i>C. shehatae</i> ATCC 22984	95	119	1.25	99.6	22	0.23	0.19	—	—	Kastner <i>et al.</i> (1996a)
<i>C. shehatae</i> ATCC 22984	507	115	—	35.5	—	—	0.21	—	—	Kastner <i>et al.</i> (1996b)
<i>C. boidinii</i> NRRL Y-17123	—	100	—	—	—	—	0.2	—	—	Winkelhausen <i>et al.</i> (1996)
<i>C. guilliermondii</i> FTI 20037	56-74	19-21	0.28-0.34	100	4-9	0.07-0.16	0.20-0.47	—	—	Lee <i>et al.</i> (1996)
<i>P. tannophilus</i> DSM 70352	—	—	—	—	5	0.24	0.26	—	—	Kruse & Schügerl (1996)
<i>D. hansenii</i> NRRL Y-7426	8	14.7	1.72	93.7	5.8	0.67	0.39	—	—	Parajó <i>et al.</i> (1996)
<i>C. parapsilosis</i> KFCC 10875	66	300	—	—	210	3.18	0.70	0.10	—	Kim <i>et al.</i> (1997)
<i>Xanthophyllomyces dendrorhous</i> ATCC 24228	73	42	0.58	100	22	0.30	0.52	0.17	—	Parajó <i>et al.</i> (1997)
<i>D. hansenii</i> NRRL Y-7426	48	279	5.81	100	221	4.60	0.79	—	—	Dominguez <i>et al.</i> (1997)

ที่มา : Parajo *et al.* (1997)

2.17.2 อายุของหัวเชื้อที่ใช้ในการผลิตน้ำตาลไซลิทอล

อายุของหัวเชื้อมีผลต่อกิจกรรมของเซลล์ และปริมาณเซลล์ที่มีชีวิตมีผลต่ออัตราการผลิตและปริมาณผลผลิตด้วย (Sreenath *et al.* 1986 ; Du Preez. 1994) Sreenath *et al.* (1986) พบว่าเมื่อใช้ *C. shehatae* อายุ 24 ชั่วโมงเป็นหัวเชื้อจะผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ 20 กรัมต่อลิตรเมื่อ

เวลาผ่านไป 22 ชั่วโมง (อัตราการผลิต 0.24 กรัมน้ำตาลไซลิทอลต่อกรัมน้ำตาลไซโลส) ขณะที่หัวเชื้ออายุ 72 ชั่วโมงผลิตได้เพียง 9 กรัมต่อลิตร และใช้เวลานานถึง 65 ชั่วโมง (อัตราการผลิต 0.13 กรัม น้ำตาลไซลิทอลต่อกรัมน้ำตาลไซโลส) ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับการทดลองใน *C. guilliermondii* ที่พบว่าอายุของหัวเชื้อมีผลต่อทั้งผลผลิตและการเจริญเติบโตของเซลล์เมื่อใช้หัวเชื้ออายุน้อยกว่า 15 ชั่วโมง และอายุมากกว่า 24 ชั่วโมง (Pfeifer *et. al.* 1996) นอกจากนี้ Felipe *et. al.* (1997) ก็ได้ศึกษาเชื้อชนิดเดียวกัน พบว่าเมื่อใช้หัวเชื้อที่อายุ 48 ชั่วโมง จะมีอัตราการผลิตต่ำกว่าเมื่อใช้หัวเชื้ออายุ 24 ชั่วโมง อยู่ถึง 36 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นอายุหัวเชื้อที่เหมาะสมมักจะอยู่ในช่วงต้นเพราะพบว่าจะทำให้ผลผลิตน้ำตาลไซลิทอลที่สูงกว่าและมีอัตราการผลิตสูงกว่าหัวเชื้อที่มีอายุมาก แต่อายุที่เหมาะสมของเชื้อแต่ละชนิดจะแตกต่างกันไป

2.17.3 ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นที่ใช้ในการผลิตน้ำตาลไซลิทอล

Cao *et. al.* (1994) ได้ศึกษาการหมักน้ำตาลไซโลสด้วย *Candida sp.* ที่กลายพันธุ์ พบว่ามีการผลิตน้ำตาลไซลิทอลเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณหัวเชื้อเพิ่มขึ้นจาก 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 แต่แนวโน้มของอัตราการผลิตจำเพาะเมื่ออัตราส่วนระหว่างปริมาณเซลล์เริ่มต้นต่อปริมาณสับสเตรทเริ่มต้น (X_0/S_0) เข้าใกล้ 1/10 นั้นจะเป็นไปในทางตรงกันข้าม ดังนั้นปริมาณหัวเชื้อจึงมีผลต่อการผลิตน้ำตาลไซลิทอลด้วย โดยพบว่าถ้ามีความเข้มข้นของหัวเชื้อมาก จำนวนเซลล์ย้อมเพิ่มมากขึ้นทำให้มีอัตราการผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้สูงและรวดเร็วขึ้น

นอกจากการศึกษาคัดเลือกชนิดของจุลินทรีย์แล้ว ยังมีการศึกษาถึงปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อการผลิตน้ำตาลไซลิทอล เช่น อัตราการให้อากาศ ความเข้มข้นของน้ำตาลไซโลส และพีเอช เป็นต้น โดย Gong *et. al.* (1981) รายงานว่า น้ำตาลไซโลสเปลี่ยนเป็นน้ำตาลไซลิทอลได้สูงสุดที่พีเอช 7.0 และที่พีเอชลดลงอยู่ในช่วงที่เป็นกรดจะทำให้การผลิตน้ำตาลไซลิทอลลดลง จากการศึกษาของ Vandeska *et. al.* (1995) พบว่าอัตราการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของ *C. boidinii* สูงสุดเมื่อหมักในสภาวะที่มีพีเอช 7.0 แต่ผลได้สูงสุดอยู่ที่พีเอช 8.0 นอกจากนี้แล้ว Silva and Afschar. (1994) ได้รายงานว่ *C. tropicalis* สามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ที่พีเอช 2.5 และการเพิ่มค่าพีเอชจาก 2.5 เป็น 4.0 ทำให้อัตราการผลิตน้ำตาลไซลิทอลสูงขึ้นแต่ผลได้ของน้ำตาลไซลิทอลกลับลดลง ดังนั้นการให้อากาศจึงมีความสำคัญต่อการเจริญและการใช้น้ำตาล สำหรับการผลิตน้ำตาลไซลิทอลนั้นการให้อากาศมากเกินไปทำให้เซลล์มีการเจริญอย่างรวดเร็ว และมีปฏิกิริยาของเอนไซม์ไซลิทอลดีไฮโดรจีเนสสูง ดังนั้นน้ำตาลไซลิทอลที่ผลิตขึ้นจึงถูกออกซิไดส์ไปเป็นน้ำตาลไซลูโลสพร้อมกับการสังเคราะห์ NADH ทำให้ปริมาณน้ำตาลไซลิทอลที่เกิดขึ้นลดลง (Furlan *et. al.* 1991) การลดอัตรา

การให้อากาศจะทำให้อัตราการใช้น้ำตาลไซโลสและการเจริญลดลงแต่ผลได้ของน้ำตาลไซลิตอลสูงขึ้น (Silva and Afschar. 1994 ; Sirisansaneeyakul *et. al.* 1992 ; Vandaska *et. al.* 1995)

2.17.4 ปริมาณออกซิเจนที่ละลายได้

ปริมาณออกซิเจนเป็นปัจจัยที่สำคัญมากปัจจัยหนึ่งในการเปลี่ยนน้ำตาลไซโลสเป็นน้ำตาลไซลิตอลโดยกระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพ ความเข้มข้นของปริมาณออกซิเจนที่ละลายอยู่มีความสัมพันธ์ค่อนข้างมากกับความเข้มข้นของสารตั้งต้นจึงมักศึกษาควบคู่กันไป เพื่อให้สามารถอธิบายถึงอิทธิพลที่แท้จริงของปัจจัยทั้งสอง การให้อากาศที่เหมาะสมขึ้นกับความเข้มข้นของสารตั้งต้นและลักษณะของการหมัก ซึ่งการให้อากาศจะกระตุ้นการขนส่งน้ำตาลเข้าสู่เซลล์ในยีสต์บางชนิด เช่น *Candida*, *Hansenula*, *Kluyveromyces* และ *Pichia* ซึ่งต้องการออกซิเจนเพื่อใช้ในการดูดซึมน้ำตาล การให้อากาศกับอาหารเลี้ยงเชื้อในช่วงการหมักจะทำให้เพิ่มการเปลี่ยนน้ำตาลไซโลสไปเป็นน้ำตาลไซลิตอล เพราะการผลิตน้ำตาลไซลิตอลเป็นผลผลิตที่เกิดควบคู่กับการเจริญของจุลินทรีย์ซึ่งมีอิทธิพลต่อการเผาผลาญโดยออกซิเจน (Nigam and Singh. 1995)

Furlan *et. al.* (1991) ; Kim *et. al.* (1997) ทำการศึกษาปัจจัยของอากาศใน *C. parapsilosis* ซึ่งพบว่าการให้อากาศมากเกินไปจะส่งผลให้เซลล์มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว น้ำตาลไซลิตอลที่ผลิตขึ้นจะเปลี่ยนเป็น NADH และน้ำตาลไซโลสและน้ำตาลไซลิตอลลดลง

Furlan *et. al.* (1994) ได้ทำการทดลองพบว่าเชื้อ *C. tropicalis* สามารถผลิตน้ำตาลไซลิตอลได้ 30 กรัมต่อลิตร ในเวลา 117 ชั่วโมง เชื้อ *P. tannophilus* และ *C. shehatae* สามารถผลิตน้ำตาลไซลิตอลได้ 12.5 กรัมต่อลิตร และ 6.0 กรัมต่อลิตรตามลำดับ ผลที่ได้นี้เป็นผลมาจากสภาวะที่มีการให้อากาศน้อยและสามารถสรุปได้ว่าอัตราการถ่ายเทออกซิเจนเป็นหลักสำคัญในการผลิตน้ำตาลไซลิตอล

Horitsu *et. al.* (1992) รายงานถึงผลกระทบที่มีต่อน้ำตาลไซลิตอลโดยในขั้นแรกควรพิจารณาถึงความเร็วในการเพิ่มปริมาณเซลล์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ อย่างไรก็ตามการผลิตน้ำตาลไซลิตอลภายใต้สภาวะ anoxic และเพิ่มปริมาณออกซิเจนที่ละลายในอาหารในช่วงระหว่างการหมักจะนำไปสู่การผลิตน้ำตาลไซโลสโดยการไฮโดรจีเนชันของน้ำตาลไซลิตอลที่เกิดขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยการเพิ่มระดับการละลายออกซิเจนที่มีความต้องการเฉพาะขึ้นตอนเริ่มต้นในการหมักเท่านั้น แต่หลังจากนั้นควรลดระดับการให้อากาศ โดยในเชื้อ *C. tropicalis* สามารถเพิ่มการสะสมน้ำตาลไซลิตอลภายใต้ปริมาณออกซิเจนที่จำกัด

Horitsu *et. al.* (1992) ; Nolletu *et. al.* (1993) ; Roseio *et. al.* (1991) พบว่าสภาวะการให้อากาศจะมีผลต่ออัตราการผลิตที่ดีที่สุดขึ้นกับความเข้มข้นของสารตั้งต้นด้วย ถ้าความเข้มข้นสูงอัตราการให้อากาศควรจะสูงด้วย นอกจากนี้การให้อากาศยังขึ้นอยู่กับเซลล์ด้วยว่าเซลล์อยู่ในรูปเซลล์อิสระหรือเซลล์ตรึง เนื่องจากอัตราการส่งผ่านออกซิเจนที่ทำให้เกิดสภาวะที่มีอากาศเล็กน้อย

(microaerophilic condition) แก่เซลล์อิสระนั้นอาจทำให้เกิดสภาวะที่ไม่มีอากาศ (anaerobic condition) ในเซลล์ตรึง เนื่องจากข้อจำกัดในการแพร่ที่เกิดจากการถ่ายเทมวล

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

Peschke *et. al.* (1992) ได้ศึกษาการผลิตน้ำตาลไซลิทอลโดย *C. guilliermondii* เมื่อทำการให้อากาศในปริมาณเท่าเดิม (อากาศอิ่มตัวร้อยละ 5) พบว่าเซลล์อิสระให้น้ำตาลไซลิทอล 27.3 กรัมต่อลิตร (อัตราการผลิตน้ำตาลไซลิทอล 0.70 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และผลได้ของน้ำตาลไซลิทอลเท่ากับ 0.64 กรัมต่อกรัมน้ำตาลไซโลส) แต่เซลล์ตรึงที่ตรึงด้วยแคลเซียมแอลจีเนต (Ca-alginate) นั้นให้น้ำตาลไซลิทอลเพียง 18.4 กรัมต่อลิตร (อัตราการผลิตน้ำตาลไซลิทอล 0.43 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และผลได้ของน้ำตาลไซลิทอลเท่ากับ 0.78 กรัมต่อกรัมน้ำตาลไซโลส) ซึ่งเห็นได้ว่าการให้อากาศที่ต่ำขณะทำการเพาะเลี้ยงด้วยวิธีการตรึงเซลล์จะทำให้การผลิตน้ำตาลไซลิทอลลดลงอย่างมาก ทั้งนี้เนื่องมาจากปริมาณออกซิเจนสามารถแทรกเข้าไปภายในของเจลได้เมื่อทำการหมักที่อัตราการถ่ายเทออกซิเจนสูงเท่านั้น ดังนั้นเมื่อเซลล์อยู่ในรูปเซลล์ตรึงการให้อากาศเมื่อเทียบกับเซลล์อิสระต้องสูงกว่าเพื่อให้เกิดการแพร่ของอากาศเข้าไปในเม็ดเจลได้

ปริมาณอากาศจะมีผลต่อปริมาณเซลล์ซึ่งจะมีผลต่อเนื้อไปยังผลผลิตที่ได้ ถ้าให้อากาศต่ำเกินไปเซลล์จะเจริญไม่ดีและตายได้ แต่ถ้าให้อากาศสูงตลอดเวลาปริมาณออกซิเจนที่สูงมีผลทำให้น้ำตาลไซลิทอลถูกเปลี่ยนเป็นน้ำตาลไซลูโลสแทน จึงอาจจะใช้วิธีให้อากาศสูงในช่วงแรกเพื่อให้เกิดเซลล์จำนวนมากก่อนแล้วลดการให้อากาศลงเพื่อให้เกิดการผลิตน้ำตาลไซลิทอล

Kim , S.Y. *et. al.* (1997) ได้ศึกษาถึงผลของการควบคุมปริมาณออกซิเจนโดยเชื้อ *C. parapsilosis* พบว่าการให้อากาศอย่างเต็มที่เพื่อให้เชื้อมีการเจริญเติบโตเต็มที่ในช่วงระยะเวลาหนึ่ง หลังจากนั้นจะทำการลดปริมาณออกซิเจนลงทำให้มีการผลิตน้ำตาลไซลิทอลที่สูงขึ้น

Sirisansaneeyakul *et. al.* (1992) ได้รายงานไว้ว่า สภาวะที่ขาดออกซิเจนการสังเคราะห์โคเอนไซม์ NADH ด้วยกระบวนการหายใจนั้นไม่เพียงพอที่จะทำให้เกิดการทำงานของเอนไซม์ไซลิทอลดีไฮโดรจีเนสที่จะเปลี่ยนน้ำตาลไซลิทอลต่อไปเป็นน้ำตาลไซลูโลสในวิถีเพนโตสฟอสเฟต จึงเกิดการสะสมน้ำตาลไซลิทอลมากขึ้นและส่งผ่านออกนอกเซลล์เป็นผลทำให้ได้ผลผลิตน้ำตาลไซลิทอลเพิ่มมากขึ้น

2.17.5 แหล่งไนโตรเจนในการผลิตน้ำตาลไซลิทอล

ถ้าไม่รวมน้ำตาลชนิดต่าง ๆ ที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอน องค์ประกอบที่มีผลต่อการผลิตน้ำตาลไซลิทอลอย่างมากคือไนโตรเจน โดยลักษณะและความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนมีผลต่อการผลิตน้ำตาลไซลิทอลโดยขึ้นกับชนิดของยีสต์ โดยทั่วไปแหล่งไนโตรเจนที่ให้ผลผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ดีคือแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอินทรีย์เพราะให้ผลผลิตน้ำตาลไซลิทอลสูงกว่าและผลิตได้ดีกว่าเช่น การผลิตน้ำตาลไซลิทอลจาก *C. boidinii* เมื่อใช้ยูเรียเป็นแหล่งไนโตรเจนแทนแอมโมเนียมซัลเฟต พบว่าให้ผลผลิตสูงขึ้นกว่าเคม (Vandeska *et. al.* 1995) และพบว่าเชื้อชนิดนี้เมื่อใช้ยีสต์สกัด (yeast extract) จะให้ผลผลิตสูงสุดเมื่อเทียบกับแหล่งไนโตรเจนอื่น (Vongsuvanlert and Tani. 1989) และการศึกษาใน *C. shehatae* พบว่าถ้าใช้แหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอินทรีย์จะทำให้เชื้อใช้ไซโลสได้ดีขึ้น (Palnitkar and Lachke. 1990) นอกจากนี้ Sirisansaneeyakul *et. al.* (1995) ซึ่งทำการศึกษาใน *C. mogii* พบว่าอาหารที่มีการเติมยีสต์สกัดและเปปโตเนลงไปจะช่วยให้การเจริญและการผลิตน้ำตาลไซลิทอลดีขึ้น แต่บางครั้งแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอินทรีย์ก็ให้ผลลบเมื่อเทียบกับเมื่อใช้แหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอนินทรีย์ เช่น *C. guilliermondii* จะมีอัตราการผลิตลดลงเมื่อใช้แหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอินทรีย์ เช่น ยูเรีย เมื่อเทียบกับแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอนินทรีย์ เช่น แอมโมเนียมซัลเฟตหรือแอมโมเนียมคลอไรด์ แต่ปริมาณผลผลิตที่ได้ไม่แตกต่างกันมากนัก

Barbosa *et. al.* (1988) กล่าวถึงความสำคัญของแหล่งไนโตรเจนและการให้อากาศว่ามีผลกับการผลิตน้ำตาลไซลิทอลจากน้ำตาลไซโลสโดยยีสต์บางสายพันธุ์ใน *S. cerevisiae* วิถีเพนโตสฟอสเฟตควบคุมโดยไนโตรเจนและเกลือแอมโมเนียมซึ่งพบว่าสามารถกระตุ้นการเกิดออกซิเดทีฟในวิถีเพนโตสฟอสเฟต เพราะเอนไซม์ D-glucose-6-phosphate dehydrogenase จะถูกยับยั้งโดย NADH ใน *P. tannophilus* เกลือแอมโมเนียมจะลดระดับ NADH ของเอนไซม์ D-glucose-6-phosphate dehydrogenase ภายในเซลล์และเพิ่มกิจกรรมของการออกซิเดทีฟในวิถีเพนโตสฟอสเฟต

Dahiya. (1991) พบว่า *C. shehatae* สามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลในปริมาณมาก ขึ้นอยู่กับแหล่งไนโตรเจนเพราะเป็นการเพิ่มระดับของเอนไซม์ xylitol dehydrogenase ได้ซึ่งผลกระทบในการผลิตน้ำตาลไซลิทอลจากแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอนินทรีย์ 8 ชนิด และสารอินทรีย์ 4 ชนิด พบว่าปริมาณน้ำตาลไซลิทอลสูงสุดที่ได้คือ 16.7 กรัมต่อลิตร และ 30.6 กรัมต่อลิตร โดยใช้แอมโมเนียมอะซิเตต และยีสต์สกัดตามลำดับ

Horitsu *et. al.* (1992) ใช้ยีสต์สกัดเป็นแหล่งไนโตรเจนที่ความเข้มข้น 3, 10 และ 20 กรัมต่อลิตร พบว่าได้ผลผลิตสูงสุด 1.78 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง เมื่อใช้ยีสต์สกัด 20 กรัมต่อลิตรด้วยอัตราการไหล 400 มิลลิลิตรต่ออนาที ให้อากาศที่มีออกซิเจนร้อยละ 90 และน้ำตาลไซโลส 100 กรัมต่อลิตร

Onishi and Suzuki. (1980) พบว่า *Pichia* sp. ผลิตน้ำตาลแอลกอฮอล์เป็นผลมาจากอัตราส่วนของคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจน ปริมาณน้ำตาลแอลกอฮอล์จะเพิ่มขึ้นเมื่อใช้แหล่งไนโตรเจนที่มีความเข้มข้นต่ำ

Schneider *et. al.* (1981) ได้ทำการวิเคราะห์สารอาหารต่าง ๆ โดยไม่พิจารณาแหล่งคาร์บอน ในฐานะที่เป็นตัวจำกัดการเจริญเติบโต ก็พบว่ามีการลดลงของ doubling time เมื่อใช้อาหาร YNB ที่ไม่เติมกรดอะมิโน

ดังนั้นแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมที่สุดควรจะเป็นสารอินทรีย์แต่บางกรณีเมื่อใช้แหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอนินทรีย์จะให้ผลผลิตดีกว่าซึ่งต้องเลือกใช้แหล่งไนโตรเจนโดยขึ้นกับชนิดของเชื้อว่าเหมาะสมกับการใช้แหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอินทรีย์หรืออนินทรีย์

2.17.6 ความเข้มข้นของน้ำตาลไซโลส

ความเข้มข้นของสับสเตรทสูงในช่วงเริ่มต้นของการผลิตน้ำตาลไซลิตอลจะเหมาะสมกับจุลินทรีย์ที่เป็น osmophilic โดยทั่วไปการเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลในช่วงแรกของการหมักแบบชั่วคราวจะนำไปสู่การเพิ่มอัตราการเกิดผลิตภัณฑ์ ถ้าจุลินทรีย์สามารถทนต่อความเข้มข้นสูงของน้ำตาลและแรงดันออสโมซิสได้ (Nigam and Singh. 1995)

Sirisansaneeyakul *et. al.* (1992) ได้รายงานว่าเชื้อ *C. mogii* ที่เจริญได้ในสภาวะที่มีออกซิเจนจำกัด (ความเร็วรอบในการเขย่า 100 รอบต่อนาที) โดยให้ความแตกต่างของความเข้มข้นของน้ำตาลไซโลส 5-35 กรัมต่อลิตร พบว่าอัตราการผลิตน้ำตาลไซลิตอลจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของน้ำตาลไซโลสเริ่มต้น ดังแสดงในตารางที่ 2.11

ตารางที่ 2.12 ผลของความเข้มข้นน้ำตาลไซโลสที่มีผลต่อการผลิตน้ำตาลไซลิตอล

ปริมาณน้ำตาลไซโลส (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณชีวมวล (กรัมต่อกรัม)	ปริมาณน้ำตาลไซลิตอล (กรัมต่อกรัม)
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)

Horitsu *et. al.* (1992) ได้เพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลไซโลสในการเลี้ยงเชื้อ *C. tropicalis* เป็น 100-500 กรัมต่อลิตร และมีอัตราการให้อากาศสูง 400 มิลลิเมตรต่อนาที โดยใช้อากาศที่มีออกซิเจนร้อยละ 90 พบว่าอัตราการผลิตน้ำตาลไซลิตอลเพิ่มขึ้นเป็น 2.44 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง จากเดิม 1.78 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ความเข้มข้นของน้ำตาลไซโลสกับการให้อากาศมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของเซลล์ซึ่งทำให้การผลิตน้ำตาลไซลิตอลสูงตามไปด้วย

Meyrial *et. al.* (1991) ศึกษาความจำเพาะต่อสับสเตรทของ *C. guilliermondii* ที่ความเข้มข้นของน้ำตาลไซโลสเริ่มต้นจาก 10-300 กรัมต่อลิตร การเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลไซโลสนำไปสู่การเพิ่มผลผลิตและปริมาณน้ำตาลไซลิตอลที่เพิ่มขึ้นจากน้ำตาลไซโลสในอาหารเลี้ยงเชื้อ ปริมาณสูงสุดที่ได้เมื่อใช้น้ำตาลไซโลส 300 กรัมต่อลิตร ได้ผลผลิต 0.75 กรัมต่อกรัมน้ำตาลไซโลส ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 82.6 ของปริมาณทั้งหมดทางทฤษฎี ความเข้มข้นของน้ำตาลไซลิตอลต่ำเนื่องจากถูกใช้ไปในการเพิ่มจำนวนเซลล์เป็นหลัก อัตราการผลิตน้ำตาลไซลิตอลเมื่อน้ำตาลไซโลสเป็น 2.4 เท่าจะสูงกว่าปริมาณที่ได้จากน้ำตาลไซโลส 10 กรัมต่อลิตร ในทางตรงกันข้ามกับการผลิตน้ำตาลไซลิตอล การเจริญของจุลินทรีย์ที่ชะงักจะถูกยับยั้งโดยความเข้มข้นของน้ำตาลไซโลส อัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด 0.11 ต่อชั่วโมง ได้จากความเข้มข้นของน้ำตาลไซโลส 20 และ 50 กรัมต่อลิตร

2.17.7 การเติมน้ำตาลชนิดอื่นลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อใช้เป็นสารตั้งต้นร่วม

มีการศึกษาการใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นสารตั้งต้นร่วมในการผลิตน้ำตาลไซลิตอลดังแสดงในตารางที่ 2.12

ตารางที่ 2.13 การใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นสารตั้งต้นร่วมในการผลิตน้ำตาลไซลิทอล

Microorganism	Operational conditions	Xylose (g l ⁻¹)	Glucose (g l ⁻¹)	Time P (h)	Q _p (g l ⁻¹ h ⁻¹)	Y _{P/S} (g g ⁻¹)	Cells (g l ⁻¹)	Y _{X/S} (g g ⁻¹)	Reference	
<i>C. guilliermondii</i>	v/V = 1/2.5/200 rpm/30°C	54.43	0	37.01	0.73				Felipe <i>et al.</i> (1993)	
		56.78	2.60	35.39	0.77					
		60.53	6.86	25.31	0.69					
		57.27	12.32	18.14	0.66					
		60.66	21.87	12.92	0.44					
<i>C. guilliermondii</i>	Anaerobiosis (N ₂)/ pH = 6/30°C	14	0	20	1	0.05	-	-	Nolleau <i>et al.</i> (1995)	
		14	16	8	1.5	0.19	0.75	2		
		10	0	10	-	-	-	-		
		10	9	40	2.5	0.062	1	-		
		150	0*	42	84.5	2.01	0.56	23.1		
<i>C. parapsilosis</i>	Anaerobiosis pH = 6/30°C	10	0	10	-	-	-	-	Nolleau <i>et al.</i> (1995)	
		10	9	40	2.5	0.062	1	-		
		150	0*	42	84.5	2.01	0.56	23.1		
		150	5*	36	94.0	2.61	0.63	34.8		
		150	10*	42	102.2	2.43	0.68	37		
<i>C. tropicalis</i>	Column reactor with 200 ml working volume	150	0*	42	84.5	2.01	0.56	23.1	Yahashi <i>et al.</i> (1996a)	
		150	5*	36	94.0	2.61	0.63	34.8		
		150	10*	42	102.2	2.43	0.68	37		
		150	15*	42	98	2.33	0.65	38		
		150	20*	42	100	2.38	0.74	42		
<i>C. guilliermondii</i>	Batch/300 rpm/ 0.46 vvm/30°C	150	0	32	93.9	2.94	0.63	22.7	Silva <i>et al.</i> (1996)	
		150	10*	32	104.5	3.26	0.70	40.1		
		65	0	-	-	0.55	0.60	-		0.06
		65	15	-	-	0.31	0.41	-		0.06
		65	0	-	-	0.34	0.64	20.98		
<i>C. boidinii</i>	Fed-batch/0.75 vvm/ 150 rpm	1†	0	46.50	0.34	0.64	20.98		Vandeska <i>et al.</i> (1996)	
		1†	0.1†	39.41	0.33	0.57	20.20			

ที่มา : Parajo *et al.* (1997)

นรินทร์. (2541) พบว่าการเติมน้ำตาลกลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อมีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *C. mogii* ATCC 18364 และการเกิดน้ำตาลไซลิทอลในสภาวะที่จำกัดออกซิเจนโดยการเติมน้ำตาลกลูโคสลงไปปริมาณน้อยมากเพื่อไม่ให้เกิดการยับยั้งน้ำตาลไซโลส ในกรณีนี้ น้ำตาลกลูโคสจะช่วยเพิ่มปริมาณ NADPH ในเมตาบอลิซึมของยีสต์และการเจริญเติบโตแทนการใช้น้ำตาลไซโลสจึงทำให้น้ำตาลไซโลสเปลี่ยนไปเป็นน้ำตาลไซลิทอลมากขึ้น ส่งผลให้น้ำตาลไซลิทอลสูงขึ้นด้วย โดยปริมาณกลูโคสที่เหมาะสมที่ให้ผลผลิตน้ำตาลไซลิทอลสูงคือ 2.3 กรัมต่อการทดลอง (ทำการทดลองในถังปฏิกรณ์ชีวภาพขนาด 2 ลิตร ปริมาณที่ใช้หมักเท่ากับ 1.5 ลิตร) ทำให้ได้น้ำตาลไซลิทอล 0.854 กรัมต่อกรัมน้ำตาลไซโลส อัตราการผลิตเท่ากับ 0.255 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ค่าผลได้เพิ่มขึ้น 1.24 เท่า และอัตราการผลิตเพิ่มขึ้น 1.36 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับการเลี้ยงเชื้อชนิดเดียวกันซึ่งไม่มีการเติมน้ำตาลกลูโคส

Haiao *et al.* (1982) รายงานว่าการเติมน้ำตาลกลูโคสมีผลยับยั้งการใช้น้ำตาลไซโลสใน *Candida* และ *Shizosaccharomyces* กลูโคสจะยับยั้งการใช้น้ำตาลไซโลสในระยะเวลาอันรวดเร็วและเมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสลดต่ำลง ความสามารถในการเปลี่ยนน้ำตาลไซโลสจะเพิ่มขึ้น

ในช่วงสั้น ๆ นี้จะทำให้การดูดซึมน้ำตาลไซโลสกลับคืนมาอย่างรวดเร็ว ซึ่งแสดงออกโดยลักษณะ catabolic repression ไม่ใช่การควบคุมที่กลไกการสังเคราะห์ของยีน หลักฐานที่สนับสนุนความคิดนี้ค่อนข้างจะเป็นการอธิบายถึงการนำน้ำตาลไซโลสส่วนใหญ่ที่ไม่ active หรือเกิดการยับยั้งในขณะที่มีน้ำตาลกลูโคสในช่วงที่มีการแทนที่น้ำตาลอื่นจะมีการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์เมื่อมีน้ำตาลกลูโคสหรือตัวเร่งปฏิกิริยา

Meyrial *et. al.* (1991) ได้ศึกษาความสามารถในการหมักของเชื้อ *C.guilliermondii* โดยไม่ใช้น้ำตาลไซโลสได้แก่ น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลแมนโนส น้ำตาลกาแล็คโตส และน้ำตาลอะราบินอส ที่พบรวมกันในการย่อยเฮมิเซลลูโลส จะสามารถทำการหมักได้อย่างรวดเร็วใช้ประโยชน์สำหรับการเจริญและการผลิตเอทานอลเท่านั้น

Sreenath and Jeffries. (1996) รายงานว่าเมื่อมีน้ำตาลกลูโคส *C. shehatae* จะใช้น้ำตาลไซโลสได้เร็วขึ้นแต่ให้ผลผลิตลดลงแม้ว่าอัตราการผลิตจะเพิ่มขึ้นก็ตาม

Yahashi *et. al.* (1996) พบว่าเมื่อเติมน้ำตาลกลูโคสลงไปเป็นสารตั้งต้นร่วมนั้นมีผลดีเนื่องจากน้ำตาลไซโลสจะเปลี่ยนเป็นน้ำตาลไซลิทอลได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น เนื่องจากเซลล์จะมีการเจริญได้ดีกว่าใช้น้ำตาลไซโลสเพียงอย่างเดียวจึงสามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้สูงขึ้น และน้ำตาลกลูโคสยังช่วยเพิ่ม NADPH เมื่อเกิดเมตาบอลิซึมของกลูโคสในวิถีเพนโทสฟอสเฟตอีกด้วย ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Nolleau *et. al.* (1993); Pfeifer *et. al.* (1996) แต่บางครั้งการเติมน้ำตาลกลูโคสอาจทำให้เกิดการยับยั้งเอนไซม์ xylose reductase ทำให้ได้ผลผลิตไม่ดีเท่าที่ควร (Felipe *et. al.* 1997; Vandeska *et. al.* 1995)

2.17.8 ความเข้มข้นของน้ำตาลไซลิทอล

Kastner *et. al.* (1996) พบว่ามีการยับยั้งการผลิตน้ำตาลไซลิทอลใน *C. shehatae* โดยได้น้ำตาลไซลิทอลเพียง 50 กรัมต่อลิตรเท่านั้น ทั้งนี้ น่าจะมาจากความเข้มข้นของน้ำตาลไซลิทอลภายในน้ำหมักสูงขึ้น การขนถ่ายน้ำตาลไซลิทอลออกนอกเซลล์จะเริ่มลดลงเกิดการสะสมของน้ำตาลไซลิทอลภายในเซลล์และยับยั้งการผลิตได้ นอกจากนี้ Sirisansaneeyakul *et. al.* (1995) ก็ได้พบการยับยั้งแบบนี้เช่นเดียวกันเมื่อทำการผลิตน้ำตาลไซลิทอลโดย *C. mogii* โดยเมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลไซลิทอลในน้ำหมักสูงถึง 100 กรัมต่อลิตร อัตราการผลิตจำเพาะและผลผลิตที่ได้จะลดลง ยกเว้นในยีสต์บางชนิด เช่น *D. hansenii* ที่สามารถใช้น้ำตาลไซลิทอลได้ในบางสภาวะ เช่นเมื่อสารตั้งต้นถูกใช้จนหมด (Nolleau *et. al.* 1993) นอกจากนี้เชื้อ *P. tannophilus* ที่อยู่ในน้ำหมักที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลไซลิทอลสูงมากและอยู่ในสภาวะที่มีอากาศจะสามารถนำน้ำตาลไซลิทอลไปใช้ได้ และได้ผลผลิตออกมาเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และผลผลิตอื่นที่ไม่สามารถระบุได้ (Xu and Taylor. 1993) นอกจากนี้ยังพบความสัมพันธ์ในการใช้น้ำตาลไซลิทอลและการผลิตไรโบฟลาวิน (riboflavin) ใน *C. guilliermondii* อีกด้วย (Leather and Gupta. 1997)

2.17.9 การเติมเมทานอล

Furlan *et. al.* (1994) รายงานว่าการเติมเมทานอลสามารถเพิ่มการผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ถึง 39.8 กรัมต่อลิตร คิดเป็นร้อยละ 8.5 เมื่อใช้อาหารไซโลสที่มีการเติมด้วยเมทานอลร้อยละ 1 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ซึ่งทำให้เกิดออกซิเดชันของเมทานอลส่งผลให้ได้ผลผลิตเป็น NADH ทำให้มีปริมาณมากพอที่จะเกิดรีดักชันของน้ำตาลไซโลสและน้ำตาลไซลูโลสทำให้เกิดน้ำตาลไซลิทอล ในกรณีที่เป็นการผลิตน้ำตาลซอร์บิทอลและไรบิทอลโดยยีสต์สามารถใช้เมทานอลเช่น *C. boidinii* และการเติม เมทานอลในอาหารเลี้ยงเชื้อสามารถเพิ่มการผลิตน้ำตาลไซลิทอลให้มากขึ้นได้

2.17.10 ปริมาณไบโอติน (Biotin)

Lee *et. al.* (1987) รายงานว่าปริมาณเอทานอลและน้ำตาลไซลิทอลจะสะสมในน้ำหมักในการเลี้ยงแบบครั้งคราวของเชื้อ *P. tannophilus* และ *C. guilliermondii* ซึ่งจะขึ้นอยู่กับปริมาณของไบโอติน โดยในอาหารที่มีไบโอตินสูง เชื้อ *P. tannophilus* จะสะสมเอทานอลมากกว่าน้ำตาลไซลิทอล ในขณะที่ *C. guilliermondii* จะสะสมน้ำตาลไซลิทอลได้มากกว่าเอทานอล

2.17.11 พีเอช

ค่าพีเอชที่เหมาะสมที่ใช้ในการผลิตน้ำตาลไซลิทอลขึ้นกับชนิดของยีสต์ซึ่งทำให้ยีสต์เจริญได้ดีและผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้สูงขึ้น แต่พีเอชที่เหมาะสมของยีสต์แต่ละชนิดก็แตกต่างกันไป ซึ่งมีตัวอย่างแสดงในตารางที่ 2.13

ตารางที่ 2.14 ค่าพีเอชที่เหมาะสมของเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดที่สามารถผลิตน้ำตาล ไซลิทอลได้

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

ที่มา : Parajo *et. al.* (1997)

วรสิทธิ์. (2541) ทำการศึกษาผลของพีเอชต่อการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของเชื้อ *C. mogii* ATCC 18364 พบว่าพีเอชที่เหมาะสมสำหรับการผลิตน้ำตาลไซลิทอลแตกต่างกัน โดยทำการเลี้ยงสองระยะ ระยะแรกเป็นการเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณเซลล์จะทำให้การเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะที่มีการให้อากาศเพียงพอ พีเอชที่เหมาะสมในระบะนี้คือ 4.5 ทำให้ได้อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเท่ากับ 0.046 ต่อชั่วโมง ระยะที่สองเป็นระยะการจำกัดปริมาณอากาศ พบว่าพีเอชที่เหมาะสมในระบะนี้เท่ากับ 6.0 ทำให้ได้ผลผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ 0.71 กรัมต่อน้ำตาลไซโลส คิดเป็น 77.96 % ของผลได้ตามทฤษฎี

Gong *et. al.* (1981) รายงานว่าปริมาณน้ำตาลไซโลสที่เปลี่ยนเป็นน้ำตาลไซลิทอลมากที่สุดจะเกิดที่พีเอช 8.0 และเกิดปฏิกิริยารีดักชันของน้ำตาลไซลิทอลที่เกิดขึ้นเมื่อค่าพีเอชเปลี่ยนจากค่าเป็นกรด ปริมาณน้ำตาลไซลิทอลสูงสุดจะเกิดขึ้นในช่วงแรกที่มีพีเอช 6.0-7.0 โดย *P. tannophilus* ที่พีเอช 6.0 โดย *C. guilliermondii* และที่พีเอช 4.0 โดย *C. tropicalis*

2.17.12 อุณหภูมิ

ยีสต์สามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ในช่วงอุณหภูมิตั้งแต่ 24-45 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่เหมาะสมในการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของยีสต์จึงแตกต่างกันไปตามชนิดของยีสต์ แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดอยู่ในช่วง 28-30 องศาเซลเซียส และเมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นผลผลิตที่ได้ก็จะลดลง แต่มียีสต์บางสายพันธุ์ที่มีช่วงอุณหภูมิต่างไปจากนี้ และพบว่า *P. tannophilus* สามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้สูงสุดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยขึ้นกับว่าใช้น้ำตาลชนิดใดเป็นแหล่งคาร์บอน และพบว่าเมื่อใช้น้ำตาลไซโลสเป็นแหล่งคาร์บอน อุณหภูมิที่เหมาะสมก็จะเปลี่ยนเป็น 31 องศาเซลเซียส และมีรายงานว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิจาก 30-37 องศาเซลเซียส *P. tannophilus* จะผลิตน้ำตาลไซลิทอลลดลง (Barbosa *et. al.* 1988) ส่วน *C. guilliermondii* สามารถเจริญได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส แต่ผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ในความเข้มข้นที่สูงที่สุดและให้ผลผลิตสูงสุดในช่วงอุณหภูมิ 30-35 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ Cao *et. al.* (1994) ; Dominguez *et. al.* (1997) พบว่าการผลิตน้ำตาลไซลิทอลจะคงที่เมื่ออุณหภูมิเป็น 35-40 องศาเซลเซียส สำหรับ *Candida* sp. และ 28-37 องศาเซลเซียสสำหรับ *D. hansenii*

การเพาะเลี้ยงแบบครั้งคราวโดยการเติมน้ำตาลไซโลส กลูโคสหรือส่วนผสมของน้ำตาลไซโลสกับกลูโคสทำให้ผลได้และอัตราการผลิตน้ำตาลไซลิทอลสูงกว่าการเพาะเลี้ยงแบบเบ็ดเสร็จ (Vandeska *et. al.* 1995 ; Yahashi *et. al.* 1996) เมื่อนำระบบนี้ไปใช้กับรีคอมบิแนนต์ยีสต์ (recombinant yeast) *S. cerevisiae* ที่ได้รับการถ่ายยีน XYL 1 ซึ่งเป็นยีนของเอนไซม์ไซโลสรีดักเทส ทำการเพาะเลี้ยงแบบครั้งคราวโดยใช้เอทานอลเป็นสับสเตรทร่วม น้ำตาลไซโลสจะถูกเปลี่ยนไปเป็นน้ำตาลไซลิทอลได้สูงถึงร้อยละ 93 ด้วยอัตราการผลิตเฉลี่ย 1 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และเมื่อใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นสับสเตรทร่วมสามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ 0.19 กรัมต่อกรัมเซลล์ต่อชั่วโมง

เมื่อเปรียบเทียบน้ำตาลชนิดต่าง ๆ และเอทานอลที่ใช้เป็นสับสเตรทร่วมในการผลิตน้ำตาลไซลิทอล พบว่าน้ำตาลกลูโคส แมนโนส และฟรุกโตสสามารถยับยั้งการเปลี่ยนน้ำตาลไซโลสเป็นน้ำตาลไซลิทอลได้สูงกว่าน้ำตาลกาแลคโตสและเอทานอล ส่วนน้ำตาลมอลโตสไม่มีผลต่อการยับยั้ง นอกจากนี้ยังพบว่าภายใต้สภาวะที่มีความเข้มข้นของสับสเตรทร่วมจำกัดทำให้ได้ผลได้ของน้ำตาลไซลิทอลสูงกว่าภายใต้สภาวะที่ความเข้มข้นของสับสเตรทร่วมมากเกินไป

2.18 การผลิตน้ำตาลไซลิทอลโดยใช้เซลล์ตรึง

การผลิตน้ำตาลไซลิทอลโดยใช้เซลล์ตรึงเป็นอีกวิธีหนึ่งในการเพิ่มผลผลิตน้ำตาลไซลิทอล ซึ่งเป็นการเพิ่มความหนาแน่นของเซลล์ในการหมัก นอกจากนี้ยังทำให้เซลล์มีเสถียรภาพทางพันธุกรรมและสามารถนำเซลล์ตรึงกลับมาใช้ใหม่ได้

Dominguez. (1998) ทำการศึกษากระบวนการผลิตน้ำตาลไซลิทอลโดยยีสต์ *D. hansenii* NRRLY 7426 ในระดับฟาสก์เขย่าได้ความเข้มข้นของน้ำตาลไซลิทอลเท่ากับ 106.7 และ 37.6 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้กับเซลล์อิสระและเซลล์ตรึงตามลำดับ สำหรับการเพาะเลี้ยงครั้งที่ 1 การนำเซลล์กลับมาใช้ใหม่เป็นครั้งที่ 2 ความเข้มข้นของน้ำตาลไซลิทอลและอัตราการผลิตน้ำตาลไซลิทอลเมื่อใช้กับเซลล์อิสระมีค่าลดลง (45.6 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และ 0.38 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมงตามลำดับ) ส่วนระบบเซลล์ตรึงจะทำให้อัตราการผลิตน้ำตาลไซลิทอลสูงขึ้นเป็น 2.08 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง เป็นการบ่งชี้ให้เห็นว่าการใช้เซลล์ตรึงสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้และไม่ทำให้กิจกรรมของเซลล์ลดลง ซึ่งเป็นการแก้ปัญหาการสูญเสียกิจกรรมของเซลล์ในระบบการเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่องซึ่งทำการหมักเป็นระยะเวลานาน

2.19 อาหารเลี้ยงเชื้อในกระบวนการหมัก

ในกระบวนการหมักอาหารเลี้ยงเชื้อจะเป็นส่วนที่ให้จุลินทรีย์ใช้ในการเจริญเติบโต โดยอาหารเลี้ยงเชื้อจะมีสารอาหารหลักจำพวกคาร์โบไฮเดรต ซึ่งแต่ละการทดลองจะใช้อาหารต่างชนิดกัน อาทิเช่น น้ำตาลกลูโคส แมนโนส กาแลคโตส อาราบิโนส และไซโลส เป็นต้น ซึ่งเชื้อยีสต์มีอัตราการใช้สารอาหารแต่ละชนิดที่แตกต่างกัน โดยพบว่าน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนที่เชื้อจุลินทรีย์โดยส่วนมากใช้ได้ดีที่สุด (Lu *et. al.* 1995) Meyrial *et. al.* (1991) พบว่า *C. guilliermondii* ที่เจริญเติบโตในสภาวะที่มีออกซิเจนจำกัด เมื่อใช้แหล่งอาหารคาร์บอนชนิดต่าง ๆ พบว่ามีการใช้น้ำตาลกลูโคส แมนโนส และกาแลคโตส เร็วกว่าใช้น้ำตาลไซโลส 2.2 1.8 และ 1.5 เท่าตามลำดับ ซึ่งน้ำตาลเฮกโซสเหล่านี้ใช้ในการเติบโตและผลิตเอทานอลเท่านั้น โดยไม่เปลี่ยนเป็นน้ำตาลแอลกอฮอล์ ดังนั้นแหล่งคาร์บอนในอาหารเลี้ยงเชื้อจึงเป็นตัวสำคัญที่มีผลต่อการเติบโตของเซลล์และการเกิดผลิตภัณฑ์ของกระบวนการหมัก

2.20 พิเศษของอาหารเลี้ยงเชื้อกับกระบวนการหมัก

พิเศษของน้ำหมักในระหว่างกระบวนการหมักจะมีการเปลี่ยนแปลงตลอดเวลา ในกรณีที่มีการเพาะเลี้ยงใช้แอมโมเนียมเป็นแหล่งไนโตรเจน ค่าพีเอชมีแนวโน้มที่จะลดลงเพราะแอมโมเนียมเมื่ออยู่ในสารละลายจะอยู่ในรูปแอมโมเนีย (NH_4^+) เมื่อจุลินทรีย์นำเข้าสู่เซลล์จะอยู่ในรูป R-NH_3^+ ซึ่งปลดปล่อย H^+ ออกสู่น้ำหมัก ถ้าใช้ในเตรทเป็นแหล่งไนโตรเจน H^+ ในน้ำหมักจะถูกใช้เพื่อรีดิวซ์ NO_3^{2-} ไปเป็น R-NH_3^+ ทำให้ค่าพีเอชมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ถ้าจุลินทรีย์ใช้กรดอะมิโนเป็นแหล่งไนโตรเจนค่าพีเอชก็จะเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ค่าพีเอชที่เปลี่ยนแปลงอาจเกิดจากการผลิตกรดอินทรีย์ เช่น กรดแลคติก กรดอะซิติก หรือกรดไพรูวิก เป็นต้น ค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นพารามิเตอร์ที่สำคัญที่มีผลกระทบต่ออัตราการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และการเกิดผลิตภัณฑ์ของกระบวนการหมักโดยส่วนใหญ่จะเจริญในช่วงพีเอช 3.0-4.0 ซึ่งพีเอชที่จุลินทรีย์เจริญได้ดีที่สุดจะอยู่ในช่วงแคบ ๆ ดังนั้นจึงต้องมีการควบคุมพีเอชให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสมโดยการใช้ บัฟเฟอร์ หรือการใช้ระบบควบคุมพีเอช (Du Preez *et. al.* 1994)

2.21 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่เกิดจากกระบวนการย่อยสลายวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร

ในกระบวนการย่อยสลายวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรนั้นนอกจากจะได้น้ำตาลที่มีคาร์บอน 5 อะตอม และ คาร์บอน 6 อะตอม แล้วยังมีสารอื่น ๆ ที่มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์เกิดขึ้นด้วยเช่น สารในกลุ่มฟิวแรนส์ (furans) กลุ่มกรดคาร์บอกซิลิก (carboxylic acid) และกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound) สารที่สำคัญในกลุ่มฟิวแรนส์ได้แก่ เฟอฟูรอล (furfural) และ 5 ไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอล [5-hydroxymethyl furfural (HMF)] ซึ่งได้จากการสลายตัวของน้ำตาลคาร์บอน 5 อะตอม และคาร์บอน 6 อะตอม ตามลำดับ สารที่สำคัญในกลุ่มกรดคาร์บอกซิลิกได้แก่ กรดลิวูลินิก (levulinic acid) และกรดฟอร์มิก (formic acid) เกิดจากการสลายตัวของ HMF และเกิดจากการสลายตัวของหมู่เมทอกซิล (methoxyl group) ในเฮมิเซลลูโลสตามลำดับ และกรดอะซิติกเกิดจากการไฮโดรไลซิสของหมู่อะซิติกในเฮมิเซลลูโลส สารที่สำคัญในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกซึ่งเป็นสารประกอบอะโรมาติก (aromatic compound) และโพลีอะโรมาติก (polyaromatic compound) เกิดจากการสลายตัวของลิกนินได้แก่ ฟีนอล (phenol) วานิลลิน (vanillin) กรดวานิลลิก (vanillic acid) วานิลลิล แอลกอฮอล์ (vanillyl alcohol) กรด 4 ไฮดรอกซีเบนโซอิก (4-hydroxybenzoic acid) 4 ไฮดรอกซีเบนซอลดีไฮด์ (4-hydroxybenzaldehyde) กรดคูมาริก (coumaric acid) ไชริงกอลดีไฮด์ (syringaldehyde) กรดไชริงจิก (syringic acid) ซินนามอลดีไฮด์ (cinnamaldehyde) ไดไฮโดรโคนิฟิรอล แอลกอฮอล์ (dihydroconiferyl alcohol) ไฮโดรควิโนน (hydroquinone) แคทาคอล (catechol) เวราโทรว (veratrole) อะซิโตกัวอะซิโตน

(acetoguaiacetone) กรดโฮโมวานิลลิก (homovanillic acid) และสารคีโตนของฮิบเบิร์ต (Hibbert's ketones)

2.21.1 ผลของสารยับยั้งต่อการเจริญของจุลินทรีย์

2.21.1.1 สารในกลุ่มฟิวเรนอล

ยับยั้งการเจริญและการหมักของจุลินทรีย์โดยเฉพาะเฟอฟูรอลจะยับยั้งกระบวนการหายใจ และมีการเปลี่ยนเฟอฟูรอลไปเป็นเฟอฟูรอลแอลกอฮอล์ (furfural alcohol) โดยเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส (alcohol dehydrogenase) ซึ่งมีผลทำให้ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ โดยพบว่าช่วงการยับยั้งอยู่ที่ 0.35-2 กรัมต่อลิตร (Parajo *et. al.* 1997)

2.21.1.2 สารในกลุ่มกรดคาร์บอกซิลิก

สารในกลุ่มนี้โดยเฉพาะกรดอะซิติกจะละลายในชั้นไขมันของเยื่อหุ้มเซลล์และผ่านเข้าไปในไซโตพลาสซึมทำให้พีเอชภายในเซลล์ลดต่ำลง มีผลทำให้เกิดการยับยั้งการขนส่งฟอสเฟตที่เยื่อหุ้มเซลล์ซึ่งได้จากการสลายตัวของ ATP จึงทำให้ไม่มีพลังงานที่จะนำไปใช้ในการสร้างเซลล์และการเจริญเติบโต (Parajo *et. al.* 1998)

2.21.1.3 สารในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก

สารในกลุ่มนี้เกิดจากการสลายตัวของลิกนินซึ่งมีความเป็นพิษมากกว่าเฟอฟูรอลและ 5 ไฮดรอกซีเมทิลฟิวเรออล โดยความสามารถในการยับยั้งการเจริญขึ้นอยู่กับหมู่ฟังก์ชันที่วงเบนซีนเรียงลำดับจากมากไปหาน้อย คือ $-COOH$, $p-OH$, CHO , $CH=CH$

2.22 วิธีการลดความเป็นพิษที่เกิดจากการย่อยสลายวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร

2.22.1 โอเวอร์ไลมิง (overliming)

สามารถตกตะกอนโลหะหนัก ลดปริมาณกรดอะซิติก สารประกอบฟีนอลิก และเปลี่ยนเฟอฟูรอลไปเป็นกรดเฟอฟูรอล

2.22.2 ซัลฟิเคชัน (sulphication)

สามารถลดปริมาณกรดอะซิติก เฟอฟูรอล และสารประกอบฟีนอลิก

2.22.3 การดูดซับด้วยผงถ่านกัมมันต์ (charcoal absorption)

สามารถตกตะกอนโลหะหนัก ลดปริมาณกรดอะซิติกและสารประกอบฟีนอลิก

2.22.4 การทำให้เป็นกลาง (neutralization)

เป็นการปรับค่าพีเอชของสารละลายที่มีความเป็นกรดสูงให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์

2.22.5 การสกัดด้วยสารละลายอินทรีย์ (extraction with organic solvents)

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

2.23 การลดความเป็นพิษโดยวิธีโอเวอร์ไลมิง

วิธีโอเวอร์ไลมิงเป็นนวิธีการลดพิษที่ถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวางที่สามารถทำได้หลายแนวทางเช่นการเติมแคลเซียมไฮดรอกไซด์ (หรือไฮดรอกไซด์ตัวอื่น) ลงไปในอาหารสังเคราะห์เพื่อเพิ่มค่าพีเอชเป็น 10.0-10.5 เมื่อผสมเข้ากันแล้วจะเกิดการตกตะกอนโดยตะกอนส่วนใหญ่จะเป็นเกลือแคลเซียมที่มีความสามารถในการละลายต่ำ ซึ่งสารที่ใช้ในการลดพิษจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของไฮโดรไลเซตและจุลินทรีย์ที่ใช้ในกระบวนการหมัก

การลดปริมาณสารพิษด้วยวิธีโอเวอร์ไลมิงโดยการปรับค่าพีเอชเป็น 10.0-10.5 ด้วย $\text{Ca}(\text{OH})_2$, CaO หรือ KOH หลังจากนั้นนำไปตกตะกอนเกลือที่เกิดขึ้นนำไฮโดรไลเซตที่ได้มาทำการลดค่าพีเอชด้วยกรดซัลฟิวริกเป็น 6.5 จะทำให้เกิดการลดพิษโดยการตกตะกอนอะซิเตท โลหะหนัก เฟอฟูรัต แทนนิน เทอปีน และฟีนอลิก

2.24 การลดความเป็นพิษโดยใช้ถ่านกัมมันต์

การแยกสารปนเปื้อนในสารละลายโดยสารจะถูกดูดซับที่ผิวของถ่านกัมมันต์ ซึ่งที่นิยมใช้กันโดยทั่วไปมีอยู่ 2 ชนิดคือ แบบที่เป็นเม็ด (granular charcoal) แบบที่เป็นผง (powders charcoal) โดยมักเรียกรวมกันว่า activated charcoal หรือ activated carbon ซึ่งทำมาจากเมล็ดของ almond, walnut, hulls, coconut, wood หรือถ่านทั่วไป โดยนำมาเผาที่อุณหภูมิสูงเพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวของการ์บอน

2.24.1 การดูดซับโดยถ่านกัมมันต์ มีอยู่ 3 ลักษณะคือ

2.24.1.1 การแลกเปลี่ยนประจุ (exchange absorption) การดูดซับแบบนี้เป็นการดูดซับด้วยไฟฟ้าสถิตที่บริเวณพื้นผิวของถ่านกัมมันต์

2.24.1.2 การดูดซับแบบเคมี (chemical absorption) อาศัยการเกิดปฏิกิริยาทางเคมีทำให้โมเลกุลของสารที่ถูกดูดซับไม่เกิดการเคลื่อนที่ที่ผิวของถ่านกัมมันต์

2.24.1.3 การดูดซับแบบกายภาพ (physical absorption) การดูดซับแบบนี้เป็นการดูดซับเกิดจากแรง Van der Waals ซึ่งไม่ยึดติดแน่นเหมือนกับสองแบบแรก มักจะเหมาะกับสภาวะที่อุณหภูมิต่ำ ๆ

2.25 ถ่านกัมมันต์ (Charcoal)

ถ่านกัมมันต์คือวัตถุดิบที่มีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบถูกนำมาผ่านกระบวนการก่อกัมมันต์ซึ่งทำให้วัตถุดิบนั้นมีโครงสร้างรูพรุนและมีพื้นที่ผิวภายในสูง ซึ่งหากดูพื้นที่หน้าตัดของถ่านกัมมันต์จะมีลักษณะคล้ายรังผึ้ง โดยถ่านกัมมันต์จะมีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบหลักร้อยละ 87-90 และมีธาตุอื่นเป็นองค์ประกอบคือ ไฮโดรเจน ออกซิเจน ซัลเฟอร์และไนโตรเจน โดยจะมีปริมาณมากน้อยเท่าใดขึ้นกับปริมาณที่มีในวัตถุดิบและอาจเกิดขึ้นได้อีกในขั้นตอนการผลิต ซึ่งประกอบด้วย การคาร์บอไนซ์ และขั้นตอนการกระตุ้นถ่านชาร์ (ถ่านที่ได้จากการคาร์บอไนเซชัน)

2.25.1 การคาร์บอไนเซชัน (Carbonization)

กระบวนการคาร์บอไนเซชันเป็นการเผาซึ่งเกิดขึ้นในที่อับอากาศเพื่อเพิ่มสัดส่วนคาร์บอนของสารอินทรีย์ ขณะเดียวกันก็ได้ผลิตผลิตภัณฑ์ที่เป็นของเหลวและก๊าซออกมาด้วย โดยโครงสร้างวงแหวนอะโรมาติกหลักที่เหลือกลายเป็นโครงสร้างของถ่านชาร์ (char) ส่วนกลุ่มโครงสร้างโมเลกุลหรือหมู่นุมูลที่มีขนาดเล็กกว่าจะกลั่นสลายตัวออกมาเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ได้แก่ น้ำ แอมโมเนีย น้ำมันทาร์และก๊าซต่าง ๆ

ขั้นตอนการคาร์บอไนเซชันจัดว่าเป็นขั้นตอนหนึ่งที่มีความสำคัญมากที่สุดในการผลิตถ่านกัมมันต์ เนื่องจากในการคาร์บอไนเซชันจะมีการเริ่มสร้างของโครงสร้างรูพรุน โดยในระหว่างการคาร์บอไนเซชันธาตุและองค์ประกอบต่าง ๆ ที่ไม่ใช่คาร์บอนรวมถึงสารระเหยต่าง ๆ เช่น ไฮโดรเจน ออกซิเจน ไนโตรเจนและน้ำ จะถูกกำจัดออกจากโครงสร้างของวัตถุดิบในรูปของก๊าซและน้ำมันทาร์ จากนั้นก็จะได้ถ่านชาร์ซึ่งมีการจัดเรียงตัวของโครงสร้างผลึกที่ไม่เป็นระเบียบซึ่งจะมีช่องว่างรูพรุนระหว่างผลึก โดยจะมีสารอินทรีย์ที่เป็นทาร์ไปอุดช่องว่างเหล่านั้น ซึ่งใน ส่วนประกอบของถ่านชาร์ที่ได้จะมีอัตราส่วนของคาร์บอนต่อไฮโดรเจนและคาร์บอนต่อออกซิเจนเพิ่มมากขึ้นจากวัตถุดิบในตอนแรกด้วย วัตถุดิบแต่ละชนิดจะมีภาวะที่เหมาะสมแตกต่างกันในการคาร์บอไนเซชัน โดยถ่านกัมมันต์จากวัตถุดิบที่ต่างกันอาจใช้วิธีกระตุ้นที่ต่างกัน เพื่อที่จะได้ถ่านกัมมันต์ที่มีคุณภาพดีที่สุด ซึ่งจะเหมาะกับการนำไปใช้ในระบอบที่เหมาะสมต่อไป

วัตถุดิบที่นำมาผลิตเป็นถ่านกัมมันต์นั้นจะต้องมีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบ โดยวัตถุดิบนั้นอาจเกิดขึ้นโดยธรรมชาติหรือได้จากการสังเคราะห์ขึ้น วัตถุดิบที่นิยมนำมาผลิตถ่านกัมมันต์ในระดับอุตสาหกรรมคือ พีท ถ่านหิน ลิกไนต์ ไม้ และกะลามะพร้าว เนื่องจากสามารถผลิตถ่านกัมมันต์ที่มีความสามารถในการดูดซับสูงและมีรูพรุนขนาดเล็กสูง ซึ่งวัตถุดิบที่นำมาผลิตเป็นถ่านกัม

มันต์ควรมีสสมบัติคงต่อไปนี้มีปริมาณสารระเหยต่ำ มีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบในปริมาณสูง มีราคาถูกและหาได้ง่าย มีสมบัติคงที่

ในปัจจุบันของเหลือทิ้งทางการเกษตรได้ถูกนำมาผลิตเป็นถ่านกัมมันต์เป็นจำนวนมาก เนื่องจากหาได้ง่ายและมีราคาถูก อย่างไรก็ตามปัญหาในการผลิตถ่านกัมมันต์จากของเหลือทิ้งทางการเกษตรคือ วัตถุดิบมีสมบัติไม่คงที่แม้ว่าเป็นวัตถุดิบชนิดเดียวกัน ทำให้ยากในการควบคุมการกระจายขนาดของรูพรุนในขั้นตอนการผลิต

2.25.2 การกระตุ้น (การก่อกัมมันต์)

เป็นการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของโครงสร้างคาร์บอน เป็นผลทำให้เกิดการเพิ่มพื้นที่ผิวที่มากขึ้น โดยเป็นการทำให้มีรูพรุนมากขึ้นหรือเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพการดูดซับสารอื่น ๆ ปฏิกริยาที่เกิดขึ้นระหว่างการกระตุ้นยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด เนื่องจากวิธีการกระตุ้นนั้นมีมากมายหลายวิธี และประสิทธิภาพของการกระตุ้นขึ้นกับลักษณะและชนิดของวัตถุดิบรวมถึงวิธีการอื่น ๆ ก่อนการกระตุ้นด้วย โดยทั่วไปแล้วมี 2 วิธีในการผลิตถ่านกัมมันต์คือ

2.25.2.1 นำวัตถุดิบที่ผ่านการคาร์บอนในเซชันแล้วมากระตุ้น โดยใช้สารกระตุ้น เช่น $ZnCl_2$, $CaCl_2$, H_3PO_4 วิธีนี้โดยทั่วไปเรียกว่า “การกระตุ้นทางเคมี” ซึ่งเป็นวิธีการหนึ่งที่ใช้กันมากในการผลิตถ่านกัมมันต์ในทางการค้า โดยปกติแล้ววิธีการกระตุ้นแบบนี้มักใช้กับวัตถุดิบที่เป็นไม้ ซึ่งอุณหภูมิที่ใช้ในการกระตุ้นอยู่ในช่วง 500-900 องศาเซลเซียส สารกระตุ้นที่ใช้กันทั่วไปในทางอุตสาหกรรมคือ ซิงค์คลอไรด์ กรดฟอสฟอริก และด่าง การกระตุ้นทางเคมีจะช่วยลดการเกิดทาร์และสารอื่น ๆ ที่เกิดในกระบวนการ ดังนั้นร้อยละของผลิตภัณฑ์ที่ได้จึงค่อนข้างมีปริมาณสูง

2.25.2.2 นำวัตถุดิบที่ผ่านการคาร์บอนในเซชันแล้วมาทำปฏิกิริยากับก๊าซที่ใช้ในการออกซิเดชัน ซึ่งอาจเป็นไอน้ำ คาร์บอนไดออกไซด์ ออกซิเจน วิธีนี้โดยทั่วไปเรียกว่า “การกระตุ้นทางกายภาพ” เป็นวิธีการเพิ่มปริมาตรรูพรุนและพื้นที่ผิวโดยปฏิกิริยาก๊าซซิฟิเคชัน (gasification) ด้วยก๊าซออกซิไดซ์ในช่วงอุณหภูมิ 700-1000 องศาเซลเซียส ก๊าซที่ใช้โดยทั่วไปคือ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ไอน้ำและอากาศ โดยอาจใช้ชนิดใดชนิดหนึ่งหรือรวมกันก็ได้

ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการคาร์บอนในเซชันเป็นตัวดูดซับที่ไม่ดีต้องทำการกระตุ้นให้ได้ถ่านที่มี การดูดซับสูง โดยใช้การกระตุ้นให้ทำปฏิกิริยากับก๊าซที่เป็นตัวออกซิไดซ์ดังตัวอย่าง



ปัจจัยที่มีผลต่อลักษณะรูพรุนในขั้นตอนการกระตุ้นคือโครงสร้างของคาร์บอนหรือถ่านชาร์ที่นำมากระตุ้น สารอนินทรีย์ปนเปื้อนที่อยู่ในเนื้อคาร์บอน ชนิดของก๊าซออกซิไดซ์ อุณหภูมิขณะเกิดปฏิกิริยา ความดันของก๊าซ เวลาในการเกิดปฏิกิริยาและขนาดอนุภาคของถ่านชาร์

ในกระบวนการกระตุ้นคาร์บอนทำปฏิกิริยากับสารออกซิไดซ์เป็นออกไซด์ของคาร์บอน แพร่ออกจากผิวของคาร์บอน เกิดก๊าซซิไฟเคชันบางส่วนของเม็ดถ่านเป็นรูพรุนขึ้นในโครงสร้างของถ่าน ถ่านจากการคาร์บอนในเซชันประกอบด้วยรูพรุนเล็ก ๆ จำนวนมากเกิดจากช่องว่างระหว่างผลึก ในการจัดเรียงตัวของคาร์บอนอะตอม รูพรุนนี้มักจะถูกบรรจุไว้ด้วยทาร์ที่เกิดจากการสลายตัวด้วยความร้อน และถูกขวางด้วยคาร์บอนอสัณฐาน การกระตุ้นจึงเป็นทั้งการเปิดรูที่ถูกปิดและการสร้างรูใหม่ขึ้นด้วย โครงสร้างที่เกิดขึ้นเป็นผลึกที่เล็กมาก (microcrystallites) ประกอบด้วยวงแหวนหกเหลี่ยมด้านเท่าของอะตอมคาร์บอนผสมกัน เส้นผ่านศูนย์กลางของชั้นคาร์บอนที่สร้างผลึกเล็ก ๆ มีขนาดประมาณ 150 อังสตรอม และระยะห่างระหว่างผลึกเล็ก ๆ นี้มีค่าอยู่ระหว่าง 20-50 อังสตรอม

2.25.3 โครงสร้างของถ่านกัมมันต์

โดยปกติแล้วถ่านกัมมันต์โดยทั่วไปมีปริมาตรความพรุนอยู่ระหว่าง 0.5-1.5 ml/g จากลักษณะและขนาดของรูพรุนสามารถแบ่งรูพรุนได้เป็น 3 ขนาด

2.25.3.1 รูพรุนขนาดใหญ่ (macro pores) ขนาดของรูพรุนขนาดใหญ่ที่พบในถ่านกัมมันต์มีค่าอยู่ระหว่าง 5,000-20,000 อังสตรอม ปริมาตรความพรุนมีค่าอยู่ระหว่าง 0.2-0.8 ml/g ส่วนพื้นที่ผิวจำเพาะของรูพรุนขนาดใหญ่นี้มักจะไม่ค่อยสนใจ สามารถตัดทิ้งได้เนื่องจากมีค่าน้อยกว่า $2 \text{ m}^2/\text{g}$

2.25.3.2 รูพรุนขนาดกลาง (transitional pores) มีรัศมีอยู่ระหว่าง 20-1,000 อังสตรอม มีปริมาตรความพรุนอยู่ระหว่าง 0.02-0.1 ml/g มีพื้นที่ผิวจำเพาะประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ผิวจำเพาะทั้งหมด

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

2.25.4 ถ่านกัมมันต์ในทางการค้า

ถ่านกัมมันต์ที่ใช้ในทางการค้าแบ่งออกได้เป็น 2 รูปแบบคือ ถ่านกัมมันต์ชนิดผง (Powdered Activated Carbon) และ ถ่านกัมมันต์ชนิดเม็ด (Granular Activated Carbon) ซึ่งรายละเอียดของถ่านกัมมันต์ทั้งสองชนิดมีดังนี้

2.25.4.1 ถ่านกัมมันต์ชนิดผง (Powdered Activated Carbon)

ถ่านกัมมันต์ชนิดผงที่ใช้โดยทั่วไปผลิตจากซีลือที่ได้จากไม้ ซึ่งมีขนาดโดยเฉลี่ยของอนุภาคในช่วง 15-25 ไมโครเมตร โดยอาจมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของลักษณะทางเรขาคณิตประมาณ 0.15-0.266 โดยในการออกแบบระบบการดูดซับจะคำนึงถึงการเลือกลักษณะของหอคูดซับ ลักษณะการผสมเม็ดถ่านกัมมันต์ผงกับของเหลว ลักษณะการแยกของถ่านกัมมันต์ผงหลังจากที่ดูดซับแล้ว วิธีในการนำกลับมาใช้ใหม่ในทางอุตสาหกรรม ถ่านกัมมันต์ผงโดยส่วนใหญ่จะนำไปใช้ในการกำจัดสีในกระบวนการผลิตอาหารเช่น ใช้ในการผลิตน้ำตาล ผลิตน้ำมัน ผลิตโซเดียมกลูตาเมต และผลิตไวน์ ในภาวะปัจจุบันมีการนำถ่านกัมมันต์ชนิดผงมาใช้กันอย่างกว้างขวาง โดยเฉพาะในการบำบัดน้ำ ทั้งในการผลิตน้ำดื่มและการบำบัดน้ำเสีย

2.25.4.2 ถ่านกัมมันต์ชนิดเม็ด (Granular Activated Carbon)

ถ่านกัมมันต์เม็ดที่ใช้กันทั่วไปนั้นมีหลายขนาดโดยขึ้นกับการนำไปประยุกต์ใช้งาน ในการดูดซับระบบที่เป็นก๊าซมักใช้ถ่านกัมมันต์รูปทรงกระบอกขนาด 4-6 มิลลิเมตร ซึ่งการใช้ในระบบที่เป็นก๊าซนั้นคือระบบการนำตัวทำละลายกลับมาใช้ใหม่ (solvent recovery) การทำอากาศให้บริสุทธิ์ การทำก๊าซให้บริสุทธิ์ การกำจัดกำมะถันออกจากก๊าซและใช้ในการแยกระบบก๊าซอื่น ๆ ในระบบที่เป็นของเหลวนั้นมีการใช้ถ่านกัมมันต์เม็ดมากเช่นกัน เนื่องจากจัดการระบบได้ง่ายในเครื่องปฏิกรณ์มีความดันลดต่ำ ทำการล้างเม็ดถ่านได้ง่าย ซึ่งในสภาวะของเหลวนิยมใช้ถ่านกัมมันต์เม็ดในการกำจัดสี การผลิตน้ำตาล กำจัดสารอินทรีย์ กำจัดกลิ่นและสิ่งเจือปนในระบบการผลิตน้ำดื่ม และใช้กันอย่างมากที่สุดในการบำบัดน้ำเสีย ถ่านกัมมันต์ชนิดเม็ดมีการใช้งานมากกว่าถ่านกัมมันต์ชนิดผงเนื่องจากสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ โดยนำถ่านกัมมันต์ชนิดเม็ดที่ใช้แล้วผ่านกระบวนการทางความร้อนหรือกระบวนการนำกลับมาใช้ใหม่แบบอื่น ๆ ซึ่งสามารถทำได้ง่ายกว่าถ่านกัมมันต์ชนิดผง

มีการผลิตถ่านกัมมันต์ทุกแบบทั่วโลกประมาณปีละ 300,000-400,000 ตัน มีถ่านกัมมันต์ชนิดผงประมาณ 55 เปอร์เซ็นต์ ถ่านกัมมันต์ชนิดเม็ดประมาณ 35 เปอร์เซ็นต์ โดยที่เหลือจะเป็นถ่านกัมมันต์ในรูปแบบอื่น ซึ่ง 80 เปอร์เซ็นต์ของถ่านกัมมันต์ทั้งหมดใช้กับระบบที่เป็นของเหลว และอีก 20 เปอร์เซ็นต์ใช้ในระบบที่เป็นก๊าซ ซึ่งประเทศที่มีการใช้กันมากที่สุดคือ ญี่ปุ่นและสหรัฐอเมริกา โดยมีอัตราการใช้ถ่านกัมมันต์เพิ่มขึ้นปีละประมาณ 7 เปอร์เซ็นต์ พบว่าใช้มากในระบบการทำอากาศให้บริสุทธิ์ การทำตัวทำละลายให้บริสุทธิ์ และกระบวนการบำบัดน้ำมีการใช้ในระบบใหม่ ๆ ซึ่งเกี่ยวกับระบบการป้องกันมลภาวะจากสิ่งแวดล้อม

2.25.5 ประโยชน์ของถ่านกัมมันต์

2.25.5.1 ประเภทใช้กับของเหลว (Liquid phase carbon) อุตสาหกรรมที่นำถ่านกัมมันต์ไปใช้ในสารละลายหรือในของเหลวได้แก่

อุตสาหกรรมน้ำตาล ใช้ถ่านกัมมันต์เพื่อฟอกสีและทำให้น้ำตาลดิบบริสุทธิ์ขึ้น

อุตสาหกรรมน้ำมันและไขมันสำหรับบริโภค นอกจากใช้ในการฟอกสีแล้วยังใช้ในการแยกเอาสบู่และเปอร้ออกไซด์ออกจากร้ำมันและไขมันด้วย

อุตสาหกรรมอาหาร ใช้ถ่านกัมมันต์เพื่อดูดกลิ่นและฟอกสีของผลิตภัณฑ์อาหาร ซึ่งดีกว่าการใช้สารเคมีชนิดอื่นเพราะไม่เป็นอันตรายและไม่เกิดปฏิกิริยากับผลิตภัณฑ์อาหาร

อุตสาหกรรมเครื่องคั้นแอลกอฮอล์ เช่น ไวน์ วิสกี้ มักใช้ถ่านกัมมันต์เพื่อดูดกลิ่นที่ไม่ต้องการทำให้เครื่องคั้นที่ได้มีรสชาติดีขึ้น

อุตสาหกรรมเคมีและยา ถ่านกัมมันต์ใช้ในการผลิตสารเคมีและยาเช่น วิตามินและฮอร์โมนหลายชนิด

อุตสาหกรรมการทำน้ำให้บริสุทธิ์ โดยใช้เป็นตัวดูดกลิ่นและฟอกสี

อุตสาหกรรมการแยกสารที่ต้องการเช่นการแยกทองหลังการสกัดจากแร่ด้วยวิธีไซยาไนด์ การแยกไอโอดีนออกจากรน้ำเกลือที่เกิดในหลุมน้ำมัน (petroleum oil well brines)

กระบวนการที่มีการใช้สารเร่ง (Catalytic Process) ถ่านกัมมันต์จะทำหน้าที่เป็นตัวพาสารเร่ง (catalyst carrier) ในปฏิกิริยาที่มีการใช้สารเร่งหลายชนิด รวมทั้งทำหน้าที่เป็นตัวกระตุ้นการทำงานของตัวเร่งให้ดีขึ้นด้วย

2.25.5.2 ประเภทที่ใช้ในการดูดก๊าซและไอ (gas phase carbon) ในอุตสาหกรรมต่อไปนี้

อุตสาหกรรมทำหน้ากากป้องกันก๊าซพิษ ทั้งที่ใช้กันในการทหารและที่ใช้กันทั่วไป ทั้งนี้เพราะถ่านกัมมันต์ดูดซับก๊าซพิษและไอของสารอินทรีย์ได้ การนำไอระเหยของตัวทำละลายที่ใช้แล้วกลับมาใช้ใหม่ ถ่านกัมมันต์จะดูดซับไอระเหยเหล่านั้นที่อุณหภูมิห้องและจะคายออกที่ความดันของไอระเหยต่ำ ๆ

อุตสาหกรรมปรับอากาศ โดยถ่านกัมมันต์จะดูดซับก๊าซพิษต่าง ๆ ในอากาศ เช่น คาร์บอนไดออกไซด์ ไฮโดรเจน ไนโตรเจน และอะเซทิลีน

อุตสาหกรรมนุหรี โดยใช้ถ่านกัมมันต์เป็นกักรองนุหรี

2.26 ฐานวิทยาของยีสต์

เซลล์ยีสต์มีขนาดแตกต่างกันออกไปมีเส้นผ่าศูนย์กลางตั้งแต่ 1-5 ไมโครเมตร ยาวตั้งแต่ 5-30 ไมโครเมตร ส่วนใหญ่เซลล์จะเป็นรูปไข่แต่มีบางชนิดที่ยาวกว่า บางชนิดเป็นรูปทรงกลมแต่ละสายพันธุ์มีลักษณะเฉพาะ อย่างไรก็ตามขนาดและรูปร่างอาจแตกต่างกันออกไปขึ้นอยู่กับอายุและสภาพแวดล้อม ยีสต์ไม่มีโครงสร้างที่ใช้ในการเคลื่อนที่ดังนั้นจึงเคลื่อนที่ไม่ได้

2.26.1 โครงสร้างของเซลล์ยีสต์

2.26.1.1 แคปซูล (capsule) เป็นโครงสร้างที่ห่อหุ้มเซลล์โดยยีสต์บางชนิดจะปล่อยสารที่มีลักษณะเป็นเมือกหนืดหรือเหนียวออกมาหุ้มเซลล์ แคปซูลมักเป็นสารพวกโพลีแซคคาไรด์รวมทั้งเฮทเทอโรโพลีแซคคาไรด์ แมนแนนและสารที่คล้ายเปปไทด์

2.26.1.2 ผนังเซลล์ (cell wall) ผนังเซลล์จะบางเมื่ออายุเซลล์ยังน้อยแต่จะหนาขึ้นตามอายุความหนาของผนังเซลล์ประมาณ 1 ใน 7 ของเส้นผ่าศูนย์กลางเซลล์ 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

ไขมัน (lipid) มี 8.5-13.5 เปอร์เซ็นต์

โปรตีน (protein) มี 6-8 เปอร์เซ็นต์

ไคติน (chitin) มี 1-2 เปอร์เซ็นต์

ที่เหลือเป็นสารอินทรีย์ เช่น กลีโคฟอสเฟต

2.26.1.3 เยื่อหุ้มเซลล์ (cytoplasmic membrane) องค์ประกอบเหมือนเยื่อหุ้มเซลล์ของสิ่งมีชีวิตอื่นคือ เป็นไลโปโปรตีนและมีหน้าที่ควบคุมการผ่านเข้าออกของสาร

2.26.1.4 ไซโตพลาสซึม (cytoplasm) มีลักษณะกึ่งแข็งกึ่งเหลว ประกอบด้วยสารโพลีแซคคาไรด์ที่สะสมอยู่คือ ไกลโคเจน นอกจากนี้มี RNA และโปรตีนอยู่มาก มีไรโบโซมและออกแกเนลอื่น เช่น ไมโทคอนเดรียและมีระบบเยื่อในไซโตพลาสซึม

2.26.1.5 นิวเคลียส (nucleus) โครงสร้างทั่วไปเหมือนนิวเคลียสของเซลล์พวกยูคาริโอตทั่วไป จากการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบว่าโครงสร้างบางอย่างขาดหายไป เช่น

ไม่มีการสร้าง spindle เมื่อมีการแตกหน่อ
 เชื้อหุ้มนิวเคลียสยังคงอยู่ตลอดเวลาขณะมีการแบ่งเซลล์
 ขณะมีการแตกหน่อนิวเคลียสจะคอดเข้าและส่วนหนึ่งจะไปยังเซลล์ที่
 เป็นหน่ออีกส่วนหนึ่งอยู่ที่เซลล์เดิม

2.26.1.6 แวกคิวโอล (vacuole) เซลล์ยีสต์อาจมีแวกคิวโอลหนึ่งหรือหลายอัน เห็น
 ชัดเจนกว่าโครงสร้างอื่น ๆ

2.26.1.7 อินคลูชัน (inclusion) ยีสต์บางชนิดจะมี volutin granule ซึ่งเป็นแกร
 นูลของโพลีฟอสเฟต บางชนิดมีแกรนูลไขมัน คาร์โบไฮเดรตหรือ โปรตีน บางชนิดสะสมไขมันถึง
 50 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง นอกจากนี้ก็มีไกลโคเจน เอนไซม์ วิตามิน รงควัตถุซึ่งอาจเป็นสี
 เหลือง สีส้ม สีชมพูหรือสีน้ำตาล นอกจากนี้ยังอาจพบไซโตโครม ซีโมโนอินและฟลาวิน

2.26.2 การจัดจำแนกเชื้อ *Debaryomyces hansenii*

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

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์การทดลอง

เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงของ Shimadzu รุ่น UV1610
ตู้อบความร้อน (hot air oven) Memmert Model 600
ตู้เย็น SANYO
เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิได้ (incubator shaker) GALLENKAMP
เครื่องปั่นเหวี่ยง Hermle Model Z383K
หม้อนึ่งความดันไอ (autoclave) Harvey Model Hydroclave MC10
เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง SHIMADZU LIBROR EB-4000H
เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง Metter-toledo Model AG204
เครื่องอ่างน้ำอุ่น (water bath) Memmert
เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง Dever instrument Model 215
เครื่องปั่นน้ำผลไม้ National SP 1
เครื่องแก้ว (พลาสติก หลอดทดลอง กรวย ฯลฯ)
อุปกรณ์วัดปริมาตร (ปิเปต ไมโครปิเปต กระบอกตวง ฯลฯ)
กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 และ เบอร์ 4
ลวดเขี่ยเชื้อ

3.2 เคมีภัณฑ์สำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อ

Yeast extract
Malt extract
Peptone
Agar
Xylose
Glucose

3.3 เคมีภัณฑ์สำหรับการหาสถานะที่เหมาะสมในการย่อยสลายวัสดุเหลือทิ้งทาง

การเกษตร

Sulfuric acid (H_2SO_4)

3.4 เคมีภัณฑ์สำหรับวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลไซโลสตามวิธีของ Deschatelets และ Yu (1986)

Thiourea

Acetic acid

4-bromoaniline (p-bromoaniline)

3.5 เคมีภัณฑ์สำหรับวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลไซลิตอลตามวิธีของ Alder และ

Gustafsson (1980)

Sodium metaperiodate (NaIO_4)

Hydrochloric acid (HCl)

xylitol

Amonium acetate

Acetic acid

Butane-2,3-diol

Pentane-2,4-dione

3.6 เคมีภัณฑ์สำหรับวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลกลูโคสตามวิธีของ Somogyi Nelson's (1952)

Copper sulfate pentahydrate ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)

Sodium hydrogenphosphate (Na_2HPO_4) หรือ Sodium hydrogenphosphate dodecahydrate ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)

Sodium potassiumtartrate (Tetrahydrate)]

Sodium hydroxide(NaOH)

Sodium sulfate anhydrous (NaSO_4)

Amonium molybdate [$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$]

di-Sodium acenate ($\text{Na}_2\text{HASO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)

3.7 วัตถุดิบ

3.7.1 ฟางข้าว ได้รับความอนุเคราะห์จากที่นา บริเวณอำเภอบ้านนา จังหวัดนครนายก

เตรียมวัตถุดิบ โดยนำฟางข้าวมาตัดเป็นท่อนๆ ความยาวประมาณ 1.5-2 เซนติเมตร นำมาบดด้วยเครื่องบดอัตโนมัติจากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้องแล้วเก็บใส่ถุงปิดผนึกเพื่อนำไปใช้ในการศึกษาต่อไป

3.7.2 แกลบ ได้รับความอนุเคราะห์จากโรงสีข้าว อำเภอหนองแค จังหวัดสระบุรี

เตรียมวัตถุดิบ โดยนำแกลบมาอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้องแล้วเก็บใส่ถุงปิดผนึกเพื่อนำไปใช้ในการศึกษาต่อไป

3.7.3 ขี้เลื่อย ได้รับความอนุเคราะห์จากโรงเลื่อยน้ำใสใจจริง บริเวณวัดสร้อยทอง เขตบาง

ซื่อ กรุงเทพฯ

เตรียมวัตถุดิบ โดยนำขี้เลื่อยมาร่อนแยกเศษไม้ ออกด้วยตะแกรง นำมาอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้องแล้วเก็บใส่ถุงปิดผนึกเพื่อนำไปใช้ในการศึกษาต่อไป

3.8 เชื้อจุลินทรีย์ในการวิจัย

Debaryomyces hansenii TISTR 5155 จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี แห่งประเทศไทย

3.8.1 การเก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์ในการวิจัย

ใช้ลวดเขี่ยเชื้อ (loop) เขี่ยเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 1 ลูป ลาก (streak) ลงบน YM agar slant แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นปิดด้วยพาราฟิล์มและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยจะต้องทำการถ่ายเชื้อทุกๆ 2 สัปดาห์

3.8.2 การเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้น

ถ่ายเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ลงในพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร ที่บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อ YM broth นำเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ปริมาตร 75 มิลลิลิตร ประมาณ 1-2 ลูป นำไปเพิ่มปริมาณเชื้อด้วยเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็ว 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง 660 นาโนเมตร ให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วง 0.5

3.9 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายเฮมิเซลลูโลสจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรและอุตสาหกรรมการแปรรูปไม้

3.9.1 การศึกษาเพื่อหาอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการย่อยสลายวัตถุดิบ

ชั่งวัตถุดิบ (ฟางข้าว แกลบ และซีลี้อย) ที่เตรียมไว้ 5 กรัม ลงในพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร เติมสารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร ในอัตราส่วนวัตถุดิบ 1 กรัมต่อสารละลายกรด 10 มิลลิลิตร ใช้แท่งแก้วคนวัตถุดิบให้เข้ากับสารละลายกรด ปิดปากพลาสติกด้วยฟอยล์มิดด้วยหนังยางให้แน่นนำไปสู่อุณหภูมิและความร้อนปิดปากถุงให้เรียบร้อยนำเข้าหม้อนิ่งความดันไอ (autoclave) ทำการย่อยสลายวัตถุดิบเป็นเวลา 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270 และ 300 นาที โดยแปรผันอุณหภูมิในการย่อยสลายเป็น 110, 121 และ 126 องศาเซลเซียส เมื่อทำการย่อยสลายเรียบร้อยแล้วนำมาแยกกากออกโดยการกรองด้วยผ้าขาวบาง จากนั้นนำไฮโดรไลสที่ได้มากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 อีกครั้ง เก็บตัวอย่างในขวดสีชาปิดด้วยฟอยล์ ไฮโดรไลสที่ได้จะนำมาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลไซโลสเพื่อพิจารณาเลือกอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการย่อยสลายเพื่อนำไปใช้ในการศึกษาขั้นต่อไป ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยขั้นตอนในการศึกษาเพื่อหาอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการย่อยสลายวัตถุดิบดังกล่าวแสดงในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 การศึกษาเพื่อหาอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการย่อยสลายวัตถุดิบ (ฟางข้าว แกลบ ซีลี้อย)

วัตถุดิบ	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา (นาที)
ฟางข้าว แกลบ ซีลี้อย	110 121 126	30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270, 300

3.9.2 การศึกษาเพื่อหาความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟิวริกที่เหมาะสมในการย่อยสลายวัตถุดิบ

ทำการศึกษาค้นหาความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟิวริกที่เหมาะสมในการย่อยสลายวัตถุดิบโดยชั่งวัตถุดิบที่เตรียมไว้ 5 กรัม ลงในพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร เติมสารละลายกรดซัลฟิวริกที่ความเข้มข้น 0.1, 0.5, 1.5, 2.0 และ 2.5 โมลต่อลิตร ในอัตราส่วนวัตถุดิบ 1 กรัมต่อสารละลายกรดซัลฟิวริกปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใช้แท่งแก้วคนวัตถุดิบให้เข้ากับสารละลายกรดอย่างทั่วถึง ปิดปากพลาสติกด้วยฟอยล์มิดให้แน่นด้วยหนังยาง นำไปสู่อุณหภูมิและความร้อนปิดปากถุงให้เรียบร้อยแล้วนำเข้าหม้อนิ่งความดันไอทำการย่อยที่อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมที่ได้จากการทดลองในข้อ 3.9.1 เมื่อทำการย่อยสลายเรียบร้อยแล้วนำมาแยกกากออกโดยการกรองด้วยผ้าขาวบาง จากนั้นนำไฮโดรไลสที่ได้มากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 อีกครั้ง เก็บตัวอย่าง

ในขวดสีชาปิดด้วยฟอยล์ นำไฮโครไลเสทมาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลไซโลสเพื่อพิจารณาเลือกช่วงความเข้มข้นกรดที่เหมาะสมแล้วทำการแปรผันความเข้มข้นกรดในช่วงที่เหมาะสมเพื่อหาความเข้มข้นกรดที่เหมาะสมที่สุดในการย่อยสลายที่ได้ปริมาณน้ำตาลไซโลสสูงสุดเพื่อนำไปใช้ในการศึกษาขั้นตอนต่อไป ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยขั้นตอนการศึกษาเพื่อหาความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟิวริกที่เหมาะสมในการย่อยสลายวัตถุดิบดังกล่าวแสดงในตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 การศึกษาเพื่อหาความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟิวริกที่เหมาะสมในการย่อยสลายวัตถุดิบ (ฟางข้าว ขี้เลื่อย แกลบ)

วัตถุดิบ	สารละลายกรดซัลฟิวริก (โมลต่อลิตร)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา (นาที)
ฟางข้าว ขี้เลื่อย แกลบ	0.1, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5	จากการทดลอง ที่ 3.9.1	จากการทดลอง ที่ 3.9.1

3.9.3 การศึกษาเพื่อหาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างวัตถุดิบและสารละลายกรดซัลฟิวริกที่ใช้ในการย่อยสลายวัตถุดิบ

ชั่งวัตถุดิบที่เตรียมไว้ 5 กรัม ลงในพลาสติกขนาด 500 มิลลิลิตร เติมสารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้นที่เหมาะสมจากการทดลองในข้อ 3.9.2 ลงในพลาสติก โดยทำการศึกษาอัตราส่วนของวัตถุดิบและสารละลายกรดซัลฟิวริกได้แก่ 1 ต่อ 10 1 ต่อ 20 1 ต่อ 30 1 ต่อ 40 และ 1 ต่อ 50 ใช้แท่งแก้วคนวัตถุดิบให้เข้ากับสารละลายอย่างทั่วถึงปิดปากพลาสติกด้วยฟอยล์ นำใส่ถุงทนความร้อนปิดปากถุงให้เรียบร้อยนำเข้าหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ทำการย่อยสลายตามสภาวะที่ได้จากการทดลองในข้อ 3.9.2 เมื่อทำการย่อยสลายเรียบร้อยแล้วนำมาแยกกากออกโดยการกรองด้วยผ้าขาวบาง จากนั้นนำไฮโครไลเสทมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 อีกครั้ง เก็บตัวอย่างในขวดสีชาปิดด้วยฟอยล์ นำไฮโครไลเสทมาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลไซโลสเพื่อพิจารณาเลือกอัตราส่วนที่เหมาะสมในการย่อยสลาย ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยขั้นตอนการศึกษาเพื่อหาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างวัตถุดิบและสารละลายกรดซัลฟิวริกที่ใช้ในการย่อยสลายวัตถุดิบดังกล่าวแสดงในตารางที่ 3.3

ตารางที่ 3.3 การศึกษาเพื่อหาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างวัตถุดิบและสารละลายกรดซัลฟิวริกที่ใช้ในการย่อยสลายวัตถุดิบ (ฟางข้าว ขี้เลื่อย แกลบ)

วัตถุดิบ	อัตราส่วนวัตถุดิบต่อปริมาณกรดซัลฟิวริก (กรัมต่อมิลลิลิตร)	สารละลายกรดซัลฟิวริก (โมลต่อลิตร)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา (นาที)
ฟางข้าว แกลบ ขี้เลื่อย	1:10 1:20 1:30 1:40 1:50	จากการทดลองที่ 3.9.2	จากการทดลองที่ 3.9.1	จากการทดลองที่ 3.9.1

หลังจากศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายได้แก่ อุณหภูมิ ระยะเวลา ความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟิวริกและอัตราส่วนระหว่างวัตถุดิบต่อสารละลายกรดแล้ว จึงพิจารณาสภาวะในการย่อยสลายและปริมาณน้ำตาลไซโลสที่ได้ของแต่ละวัตถุดิบเพื่อคัดเลือกวัตถุดิบเพียงหนึ่งชนิดเพื่อนำมาศึกษาการผลิตน้ำตาลไซลิทอลโดยเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ต่อไป

3.10 การลดปริมาณสารพิษด้วยวิธีโอเวอร์ไลมิง

นำไฮโดรไลเซสที่ได้จากการย่อยสลายวัตถุดิบตามสภาวะที่เหมาะสมจากการทดลองในข้อ 3.9 มาทำการลดปริมาณสารพิษด้วยวิธีโอเวอร์ไลมิงตามวิธีของ Parajo *et. al.* (1997) โดยนำไฮโดรไลเซสที่ได้มาทำการปรับค่าความเป็นกรด-ด่างให้เป็น 10.5 ด้วยแคลเซียมออกไซด์ (CaO) จากนั้นนำมาตกตะกอนด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที นำส่วนใสที่ได้มาทำการลดค่าความเป็นกรด-ด่างลงเหลือ 5.5 ด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 13 โมลาร์ จากนั้นนำมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 อีกครั้ง หลังจากนั้นนำไฮโดรไลเซสที่ผ่านกระบวนการโอเวอร์ไลมิงมาเตรียมเป็นอาหาร โดยเติมยีสต์สกัด 4 กรัม มอลต์สกัด 3 กรัม และเปปโตน 4 กรัม ต่อไฮโดรไลเซส 1 ลิตร ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 5.5 ด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 13 โมลาร์ ปริมาตร 150 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที จากนั้นเติมหัวเชื้อยีสต์เริ่มต้น ร้อยละ 8 (ปริมาตรต่อปริมาตร) นำไปเลี้ยงบนเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ทำการเก็บตัวอย่างทุก 6 ชั่วโมงเป็นเวลา 72 ชั่วโมง วัดค่าอัตราการเจริญที่ค่าการดูดกลืนแสง 660 นาโนเมตร วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ตามวิธีของ Somogyi-Nelson (1944) วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลไซโลสตามวิธีของ Deschatelets and Yu (1986)

วางแผนการทดลองสุ่มแบบสมบูรณ์ (CRD) ทรีทเมนต์ละ 3 ซ้ำ นำค่าที่ได้มาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (Analysis of Variance) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของดินแดน (Duncan's New Multiple Range Test)

3.11 การศึกษาการลดปริมาณสารพิษโดยใช้ผงถ่านกัมมันต์

นำไฮโดรไลสепที่ไดจากการย่อยสลายวัตถุดิบตามสภาวะที่เหมาะสมจากการทดลองข้อ 3.9 และผ่านการลดสารพิษด้วยวิธีโอเวอร์ไลมิงจากการทดลองในข้อ 3.10 มาทำการศึกษาลดปริมาณสารพิษด้วยผงถ่านกัมมันต์โดยทำการศึกษาดังนี้

3.11.1 การศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในใช้ผงถ่านกัมมันต์

นำไฮโดรไลสепปริมาณ 200 มิลลิลิตร ใส่ลงในพลาสติกขนาด 500 มิลลิลิตร เติมผงถ่านกัมมันต์ที่ผ่านการเตรียม (ภาคผนวก ข) ในอัตราส่วนผงถ่านกัมมันต์ 1 กรัมต่อไฮโดรไลสеп 100 มิลลิลิตร นำเข้าเครื่องเขย่าความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยทำการแปรผันเวลาดังนี้คือ 1, 6, 12, 18 และ 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลาของแต่ละช่วงเวลาก็นำไฮโดรไลสепมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 นำไฮโดรไลสепที่ผ่านการกรองสารพิษด้วยผงถ่านกัมมันต์มาวัดปริมาณสารพิษที่ลดลงตามวิธีของ Sarkanen and Ludwig (1971) ต่อจากนั้นนำไฮโดรไลสепมาเตรียมอาหารโดยเติมยีสต์สกัด 4 กรัม มอลต์สกัด 3 กรัม และเปปโตน 4 กรัม ต่อไฮโดรไลสепปริมาณ 1 ลิตร ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5.5 นำไฮโดรไลสепบรรจุในพลาสติกขนาด 500 มิลลิลิตร ปริมาตร 150 มิลลิลิตร หนึ่งขวดที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที จากนั้นเติมหัวเชื้อยีสต์ร้อยละ 8 (ปริมาตรต่อปริมาตร) นำไปเลี้ยงบนเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ทำการเก็บตัวอย่างทุก 6 ชั่วโมง เป็นเวลา 72 ชั่วโมง นำมาวัดค่าอัตราการเจริญที่ค่าการดูดกลืนแสง 660 นาโนเมตร วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณน้ำตาลไซโลส

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) ทรีทเมนต์ละ 3 ซ้ำ นำค่าที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติโดยวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (Analysis of Variance) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของดินแดน (Duncan's New Multiple Range Test)

3.11.2 การศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมในการลดสารพิษของผงถ่านกัมมันต์ต่อไฮโดรไล-

สеп

นำไฮโดรไลสепปริมาณ 200 มิลลิลิตรใส่ลงในพลาสติกขนาด 500 มิลลิลิตร เติมผงถ่านกัมมันต์ที่ผ่านการเตรียม (ภาคผนวก ข) ในอัตราส่วนผงถ่านกัมมันต์ต่อไฮโดรไลสепเป็น 1 ต่อ 25 1 ต่อ 50 1 ต่อ 100 1 ต่อ 200 (กรัมต่อมิลลิลิตร) หลังจากนั้นนำเข้าเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาทีตามเวลาที่เหมาะสมจากการทดลองในข้อ 3.11.1 นำ

ไฮโดรไลเซสที่ได้มากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ไฮโดรไลเซสที่ได้จะถูกนำมาวัดปริมาณสารพิษที่ลดลงต่อจากนั้นจะนำมาเตรียมเป็นอาหาร โดยเติมยีสต์สกัด 4 กรัม มอลต์สกัด 3 กรัม และเปปโตน 4 กรัมต่อไฮโดรไลเซสปริมาตร 1 ลิตร ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 5.5 บรรจุไฮโดรไลเซสลงในพลาสติกขนาด 500 มิลลิลิตร ปริมาตร 150 มิลลิลิตร หนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที จากนั้นเติมหัวเชื้อยีสต์ร้อยละ 8 (ปริมาตรต่อปริมาตร) นำไปเลี้ยงบนเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ทำการเก็บตัวอย่างทุก 6 ชั่วโมงเป็นเวลา 72 ชั่วโมง นำมาวัดค่าอัตราการเจริญที่ค่าการดูดกลืนแสง 660 นาโนเมตร วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และปริมาณน้ำตาลไซโลส

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) ทรีทเมนต์ละ 3 ซ้ำ นำค่าที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติโดยวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (Analysis of Variance) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของคั่นแดน (Duncan's New Multiple Range Test)

3.12 ศึกษาการเจริญของเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ในอาหารสังเคราะห์ (YM)

นำเชื้อ *D. hansenii* TISTR 5155 เลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร YM (ภาคผนวก ก) ปริมาตร 150 มิลลิลิตร ใส่ลงในพลาสติกขนาด 500 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที จากนั้นเติมหัวเชื้อยีสต์เริ่มต้นร้อยละ 8 (ปริมาตรต่อปริมาตร) นำไปเลี้ยงบนเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ทำการเก็บตัวอย่างทุก 3 ชั่วโมงเป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำมาวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้ง (ภาคผนวก ข) วัดค่าอัตราการเจริญที่ค่าการดูดกลืนแสง 660 นาโนเมตร และวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) ทรีทเมนต์ละ 3 ซ้ำ นำค่าที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติโดยวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (Analysis of Variance) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของคั่นแดน (Duncan's New Multiple Range Test)

3.13 ศึกษาการเจริญของเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ในอาหารไฮโดรไลเซส

นำเชื้อ *D. hansenii* TISTR 5155 เลี้ยงในไฮโดรไลเซสที่ผ่านกระบวนการ Overliming และลดพิษด้วยผงถ่านกัมมันต์ตามเวลาและอัตราส่วนของผงถ่านกัมมันต์ต่อไฮโดรไลเซสที่เหมาะสม จากผลการทดลองข้อ 3.11.1 และ 3.11.2 จากนั้นเติมยีสต์สกัด 4 กรัม มอลต์สกัด 3 กรัม และเปปโตน 4 กรัมต่อไฮโดรไลเซสปริมาตร 1 ลิตร ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 5.5 ปริมาตร 150 มิลลิลิตร บรรจุในพลาสติกขนาด 500 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน

20 นาที จากนั้นเติมหัวเชื้อยีสต์เริ่มต้นร้อยละ 8 (ปริมาตรต่อปริมาตร) นำไปเลี้ยงบนเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ทำการเก็บตัวอย่างทุก 3 ชั่วโมงเป็นเวลา 36 ชั่วโมงหลังจากนั้นจะเก็บตัวอย่างทุก 6 ชั่วโมงจนครบ 72 ชั่วโมง นำมาวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้ง วัดค่าอัตราการเจริญที่ค่าการดูดกลืนแสง 660 นาโนเมตร วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และปริมาณน้ำตาลไซโลส

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) ทรีทเมนต์ละ 3 ซ้ำ นำค่าที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติโดยวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (Analysis of Variance) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของคั่นแกน (Duncan's New Multiple Range Test)

3.14 ศึกษาเปรียบเทียบการผลิตน้ำตาลไซลิตอลระหว่างอาหารสังเคราะห์และอาหารไฮโดรไลเสท

ทำการเตรียมอาหารสังเคราะห์สูตรเพื่อการผลิตน้ำตาลไซลิตอล (ภาคผนวก ก) และไฮโดรไลเสทที่ผ่านกระบวนการ Overliming และลดพิษด้วยผงถ่านกัมมันต์ตามเวลาและอัตราส่วนของผงถ่านกัมมันต์ต่อไฮโดรไลเสทที่เหมาะสมจากการทดลองข้อ 3.11.1 และ 3.11.2 ทำการเติมน้ำตาลไซโลสให้มีปริมาณเริ่มต้นเท่ากันหรือใกล้เคียงกับอาหารสังเคราะห์สูตรเพื่อการผลิตน้ำตาลไซลิตอลจากนั้นเติมยีสต์สกัด 4 กรัม มอลต์สกัด 3 กรัม และเปปโตน 4 กรัมต่อไฮโดรไลเสท ปริมาตร 1 ลิตรปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 5.5 ปริมาตร 150 มิลลิลิตรบรรจุในพลาสติกขนาด 500 มิลลิลิตรนำไปนิ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที จากนั้นเติมหัวเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 8 (ปริมาตรต่อปริมาตร) นำไปเลี้ยงบนเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ ทำการเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยให้ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 12 ชั่วโมงหลังจากนั้นทำการลดความเร็วรอบลงเหลือ 140 รอบต่อนาทีจนครบ 72 ชั่วโมง ทำการเก็บตัวอย่างทุก 6 ชั่วโมง นำมาวัดค่าอัตราการเจริญที่ค่าการดูดกลืนแสง 660 นาโนเมตร วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ น้ำตาลไซโลส และน้ำตาลไซลิตอล

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) ทรีทเมนต์ละ 3 ซ้ำ นำค่าที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติโดยวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (Analysis of Variance) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของคั่นแกน (Duncan's New Multiple Range Test)

บทที่ 4

ผลการวิจัยและวิจารณ์

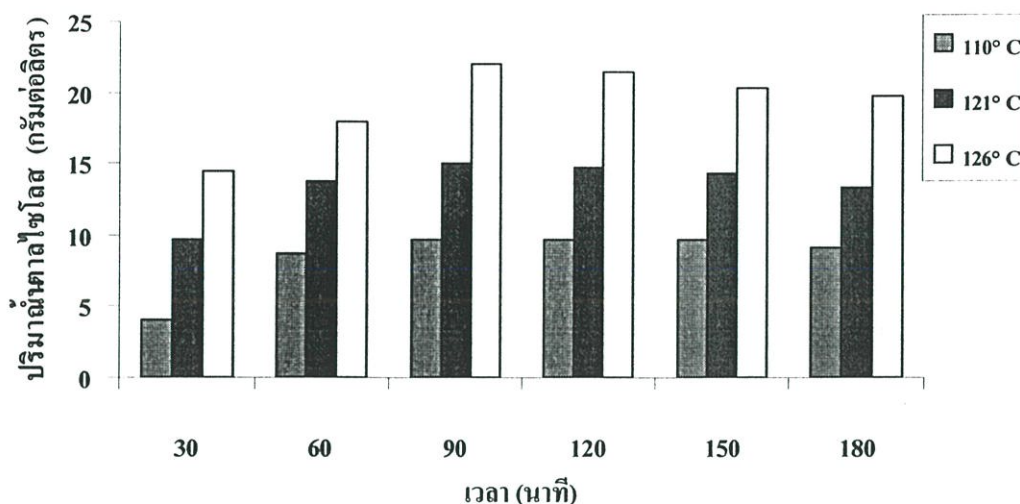
4.1 ผลการศึกษาการหาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายวัตถุดิบ

4.1.1 ผลการศึกษาอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการย่อยสลายวัตถุดิบ

จากการศึกษาการย่อยสลายวัตถุดิบคือ ฟางข้าว จี้เลื่อย และแกลบ โดยใช้สารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร ในอัตราส่วน 1 ต่อ 10 (วัตถุดิบต่อสารละลายกรดซัลฟิวริก) ด้วยหม้อนึ่งความดันไอ ซึ่งทำการย่อยสลายที่ 3 อุณหภูมิ คือ 110, 121 และ 126 องศาเซลเซียส เพื่อเปรียบเทียบหาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการย่อยสลายพร้อมกับศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการย่อยสลายวัตถุดิบควบคู่กัน โดยแต่ละอุณหภูมิจะแปรผันเวลาที่ใช้ในการย่อยสลายเป็น 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270 และ 300 นาที ซึ่งจากผลการศึกษาพบว่าฟางข้าวจะใช้ระยะเวลาในการย่อยสลายที่แต่ละอุณหภูมิเป็น 60, 90, 120, 150 และ 180 นาที พบว่าที่เวลาต่างๆ จะให้ปริมาณน้ำตาลไซโลสที่แตกต่างกันโดยเมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าที่เวลา 90 นาที ในแต่ละอุณหภูมิให้ค่าปริมาณน้ำตาลไซโลสสูงสุด โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังนั้นระยะเวลาที่เหมาะสมในการย่อยสลายฟางข้าวคือ 90 นาที (ดังตารางที่ 4.1 และภาพที่ 4.1) หลังจากนั้นนำปริมาณน้ำตาลไซโลสที่วิเคราะห์ได้ที่เวลา 90 นาที ทั้ง 3 อุณหภูมิ ได้แก่ 9.6942, 15.0229 และ 22.0733 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ มาวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อให้ได้อุณหภูมิที่เหมาะสม พบว่าที่อุณหภูมิ 126 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่ให้ปริมาณน้ำตาลไซโลสสูงสุด โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 4.1 ปริมาณน้ำตาลไซโลสที่ได้จากการศึกษาอุณหภูมิและเวลาในการย่อยสลายฟางข้าว

เวลา (นาที)	ปริมาณน้ำตาลไซโลส (กรัมต่อลิตร)		
	อุณหภูมิ 110°C	อุณหภูมิ 121°C	อุณหภูมิ 126°C
30	4.0990 ^d	9.6737 ^f	14.4901 ^f
60	8.6592 ^c	13.7727 ^d	18.0050 ^c
90	9.6942 ^a	15.0229 ^a	22.0733 ^a
120	9.6839 ^a	14.7770 ^b	21.4482 ^b
150	9.6532 ^a	14.2954 ^c	20.3927 ^c
180	9.1101 ^b	13.2911 ^c	19.8291 ^d



ภาพที่ 4.1 ปริมาณน้ำตาลไซโลสที่ได้จากการศึกษาอุณหภูมิและเวลาในการย่อยสลายฟางข้าว

จากนั้นนำค่าปริมาณน้ำตาลไซโลสสูงสุดจากการย่อยสลายฟางข้าวที่อุณหภูมิต่าง ๆ เป็นเวลา 90 นาที มาวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อคัดเลือกอุณหภูมิที่เหมาะสมในการย่อยสลาย พบว่าที่อุณหภูมิ 126 องศาเซลเซียส เหมาะสมที่สุดในการย่อยสลายฟางข้าวซึ่งให้ปริมาณน้ำตาลไซโลสถึง 22.0733 กรัมต่อลิตร โดยให้ผลการวิเคราะห์ทางสถิติที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังตารางที่ 4.2

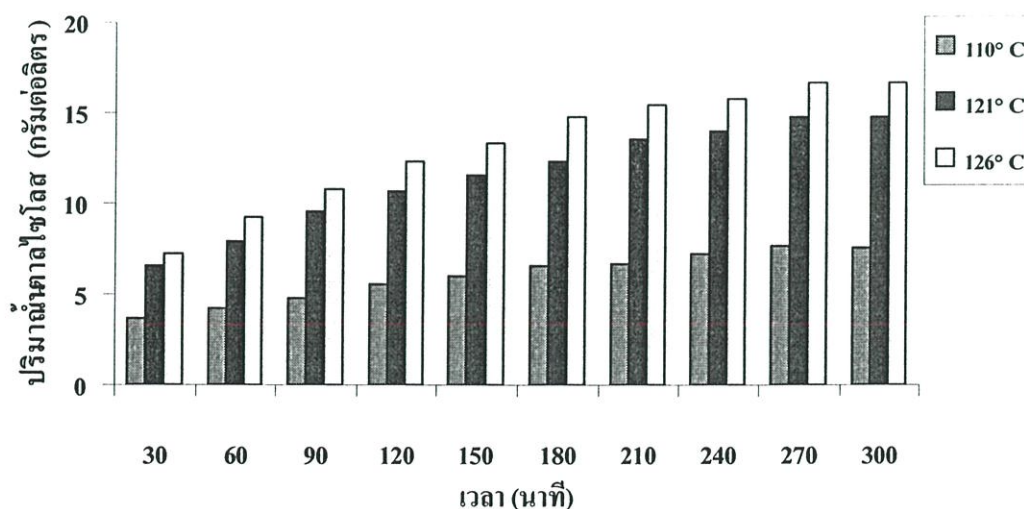
ตารางที่ 4.2 เปรียบเทียบอุณหภูมิที่เหมาะสมในการย่อยสลายฟางข้าว

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ปริมาณน้ำตาลไซโลสสูงสุด (กรัมต่อลิตร)
110	9.6942 ^c
121	15.0229 ^b
126	22.0733 ^a

จากผลการศึกษการย่อยสลายชี้เลี้ยงที่เวลา 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270 และ 300 นาที ที่อุณหภูมิ 110, 121 และ 126 องศาเซลเซียส พบว่าที่ระยะเวลาในการย่อยสลาย 270 และ 300 นาที ให้ปริมาณน้ำตาลไซโลสสูงสุดใกล้เคียงกันโดยเมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ดังตารางที่ 4.3 และภาพที่ 4.2) จึงเลือกระยะเวลาในการย่อยสลายชี้เลี้ยงที่อุณหภูมิต่าง ๆ นาน 270 นาที โดยให้ค่าปริมาณน้ำตาลไซโลส 7.6242, 14.7975 และ 16.7035 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

ตารางที่ 4.3 ปริมาณน้ำตาลไซโลสที่ได้จากการศึกษาอุณหภูมิและเวลาในการย่อยสลายชี้เลี้ยง

เวลา (นาที)	ปริมาณน้ำตาลไซโลส (กรัมต่อลิตร)		
	อุณหภูมิ 110°C	อุณหภูมิ 121°C	อุณหภูมิ 126°C
30	3.6174 ⁱ	6.5786 ^d	7.2553 ^c
60	4.2220 ^h	7.8496 ^{cd}	9.2638 ^c
90	4.7344 ^b	9.5712 ^{bc}	10.8009 ^d
120	5.5644 ^f	10.6575 ^b	12.2971 ^c
150	6.0153 ^c	11.5183 ^b	13.3833 ^c
180	6.5072 ^d	12.3381 ^a	14.7770 ^b
210	6.6404 ^c	13.5268 ^a	15.4328 ^{ab}
240	7.2040 ^b	13.9982 ^a	15.7403 ^{ab}
270	7.6242 ^a	14.7975 ^a	16.7035 ^a
300	7.5320 ^a	14.7770 ^a	16.6625 ^a



ภาพที่ 4.2 ปริมาณน้ำตาลไซโลสที่ได้จากการศึกษาอุณหภูมิและเวลาในการย่อยสลายชี้เลี้ยง

จากนั้นนำค่าปริมาณน้ำตาลไซโลสสูงสุดจากการย่อยสลายชี้เลี้ยงที่อุณหภูมิต่าง ๆ เป็นเวลา 270 นาที มาวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อคัดเลือกอุณหภูมิที่เหมาะสมในการย่อยสลาย พบว่าที่อุณหภูมิ 126 องศาเซลเซียส เหมาะสมที่สุดในการย่อยสลายชี้เลี้ยง ซึ่งให้ปริมาณน้ำตาลไซโลส 8.3518 กรัมต่อลิตร โดยให้ผลการวิเคราะห์ทางสถิติที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังตารางที่ 4.4

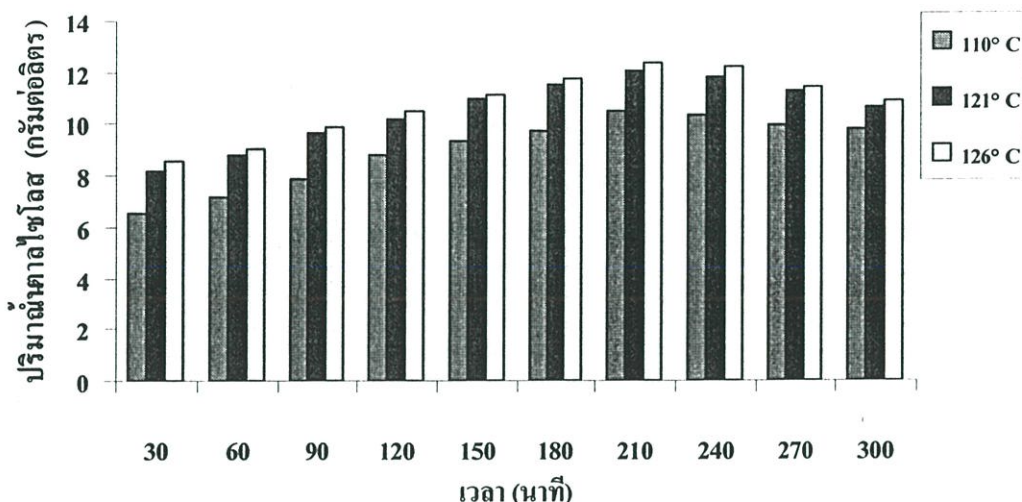
ตารางที่ 4.4 เปรียบเทียบอุณหภูมิที่เหมาะสมในการย่อยสลายชี้เลี้ยง

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ปริมาณน้ำตาลไซโลสสูงสุด (กรัมต่อลิตร)
110	7.3987 ^c
121	7.6242 ^b
126	8.3518 ^a

จากผลการศึกษาการย่อยสลายเกลบที่เวลา 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270 และ 300 นาที ที่อุณหภูมิ 110, 121 และ 126 องศาเซลเซียส พบว่าที่ระยะเวลาในการย่อยสลาย 210 นาที ให้ปริมาณน้ำตาลไซโลสสูงสุด โดยเมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ดังตารางที่ 4.5 และภาพที่ 4.3) จึงเลือกระยะเวลาในการย่อยสลายเกลบที่อุณหภูมิต่าง ๆ นาน 210 นาที โดยให้ค่าปริมาณน้ำตาลไซโลส 10.4730 , 12.0511 และ 12.3791 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

ตารางที่ 4.5 ปริมาณน้ำตาลไซโลสที่ได้จากการศึกษาอุณหภูมิและเวลาในการย่อยสลายเกลบ

เวลา (นาที)	ปริมาณน้ำตาลไซโลส (กรัมต่อลิตร)		
	อุณหภูมิ 110°C	อุณหภูมิ 121°C	อุณหภูมิ 126°C
30	6.5482 ⁱ	8.1878 ⁱ	8.5669 ^h
60	7.1733 ^h	8.7924 ⁱ	9.0179 ^g
90	7.8599 ^g	9.6430 ^h	9.8786 ^f
120	8.8129 ^f	10.1861 ^g	10.4730 ^c
150	9.3150 ^e	10.9342 ^c	11.1493 ^d
180	9.6942 ^d	11.5285 ^c	11.7232 ^b
210	10.4730 ^a	12.0511 ^a	12.3791 ^a
240	10.3398 ^b	11.8462 ^b	12.2253 ^a
270	9.9914 ^c	11.2416 ^d	11.4260 ^c
300	9.7864 ^d	10.6370 ^f	10.8932 ^d



ภาพที่ 4.3 ปริมาณน้ำตาลไซโลสที่ได้จากการศึกษาอุณหภูมิและเวลาในการย่อยสลายแกลบ

จากนั้นนำค่าปริมาณน้ำตาลไซโลสสูงสุดจากการย่อยสลายแกลบที่อุณหภูมิต่าง ๆ เป็นเวลา 210 นาที มาวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อคัดเลือกอุณหภูมิที่เหมาะสมในการย่อยสลาย พบว่าที่อุณหภูมิ 126 องศาเซลเซียส เหมาะสมที่สุดในการย่อยสลายแกลบ ซึ่งให้ปริมาณน้ำตาลไซโลส 12.3791 กรัมต่อลิตร โดยให้ผลการวิเคราะห์ทางสถิติที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 เปรียบเทียบอุณหภูมิที่เหมาะสมในการย่อยสลายแกลบ

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ปริมาณน้ำตาลไซโลสสูงสุด (กรัมต่อลิตร)
110	10.4730 ^c
121	12.0511 ^b
126	12.3791 ^a

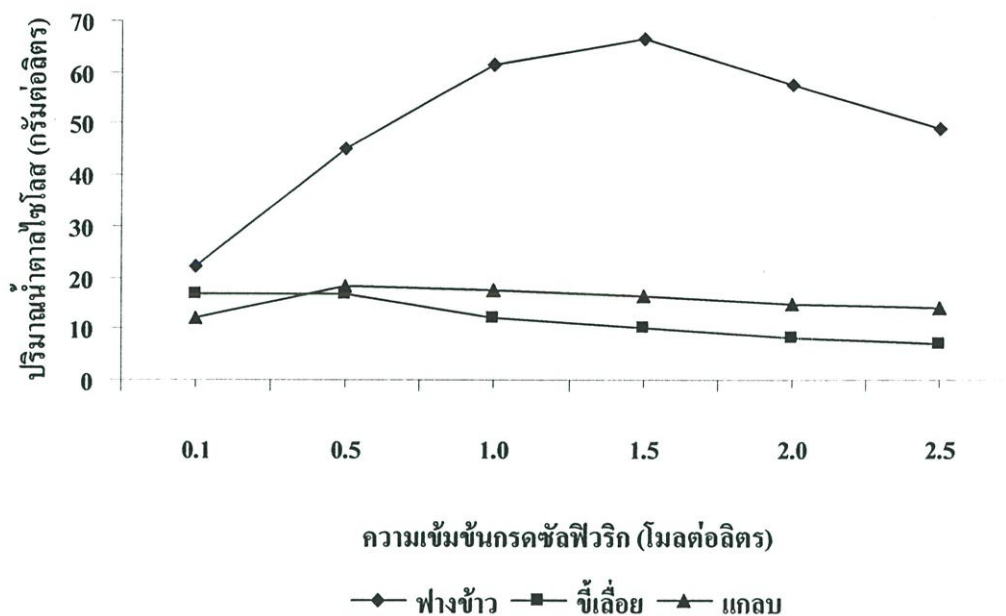
จากผลการศึกษาอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการย่อยสลายวัตถุดิบด้วยอุณหภูมิ 110, 121 และ 126 องศาเซลเซียส ที่เวลาต่าง ๆ ด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร ด้วยอัตราส่วน 1 ต่อ 10 พบว่าสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการย่อยสลายฟางข้าวคือที่อุณหภูมิ 126 องศาเซลเซียส นาน 90 นาที ซึ่งได้มีสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายที่อุณหภูมิ 126 องศาเซลเซียส นาน 270 นาที และแกลบมีสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายที่อุณหภูมิ 126 องศาเซลเซียส นาน 210 นาที โดยจากผลการศึกษาดังกล่าวจะถูกนำไปใช้ในการศึกษาขั้นต่อไป

4.1.2 ผลศึกษาความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟิวริกที่เหมาะสมในการย่อยสลาย วัตถุดิบ

การศึกษากการย่อยสลายวัตถุดิบด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้นต่าง ๆ เพื่อหาความเข้มข้นของสารละลายกรดที่เหมาะสมในการย่อยสลายวัตถุดิบ โดยในขั้นแรกจะศึกษาโดยใช้ความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟิวริกในช่วงกว้างที่ 0.1, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 และ 2.5 โมลต่อลิตร เพื่อให้ได้ช่วงความเข้มข้นกรดที่เหมาะสมในการย่อยสลายของแต่ละวัตถุดิบ สำหรับขั้นที่สองจะนำช่วงความเข้มข้นกรดที่เหมาะสมในการย่อยสลายของแต่ละวัตถุดิบมาแปรผันให้มีความละเอียดมากขึ้น เพื่อให้ได้ความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟิวริกที่เหมาะสมที่สุด โดยใช้สภาวะการย่อยสลายจากผลการศึกษาในข้อ 4.1.1 จากผลการศึกษช่วงความเข้มข้นกรดดังตารางที่ 4.7 และภาพที่ 4.4 พบว่าช่วงความเข้มข้นกรดที่เหมาะสมในการย่อยสลายฟางข้าวอยู่ในช่วง 1.0 ถึง 2.0 โมลต่อลิตร โดยให้ค่าปริมาณน้ำตาลไซโลสอยู่ในช่วง 57 ถึง 66 กรัมต่อลิตร สำหรับขี้เลื่อยจะอยู่ในช่วง 0.1 ถึง 0.5 โมลต่อลิตร โดยให้ค่าปริมาณน้ำตาลไซโลสอยู่ระหว่าง 16 ถึง 17 กรัมต่อลิตร และแกลบจะมีช่วงความเข้มข้นกรดที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 0.5 ถึง 1.0 โมลต่อลิตร โดยให้ค่าปริมาณน้ำตาลไซโลสอยู่ระหว่าง 17 ถึง 18 กรัมต่อลิตร

ตารางที่ 4.7 ปริมาณน้ำตาลไซโลสที่ได้จากการย่อยสลายวัตถุดิบ (ฟางข้าว ขี้เลื่อย แกลบ) จากการศึกษาความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟิวริก (ช่วงกว้าง)

ความเข้มข้นกรดซัลฟิวริก (โมลต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลไซโลส (กรัมต่อลิตร)		
	ฟางข้าว	ขี้เลื่อย	แกลบ
0.1	22.0118	16.8880	12.1946
0.5	44.9254	16.7650	18.3022
1.0	61.2805	12.2151	17.6258
1.5	66.4453	10.1650	16.4371
2.0	57.5094	8.2800	14.8385
2.5	49.1884	7.0503	13.8342



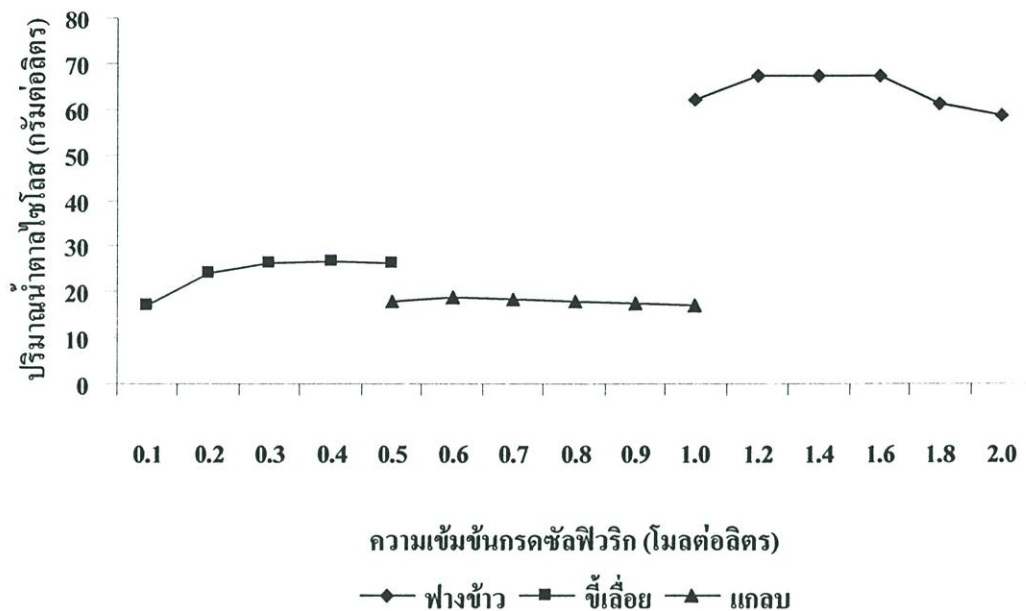
ภาพที่ 4.4 ปริมาณน้ำตาลไซโลสที่ได้จากการย่อยสลายวัตถุดิบ (ฟางข้าว ขี้เลื่อย แกลบ) จากการศึกษาความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟูริก (ช่วงกว้าง)

เมื่อได้ช่วงความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟูริกที่เหมาะสมในการย่อยสลายแต่ละวัตถุดิบ เป็นที่เรียบร้อยแล้วจะนำช่วงความเข้มข้นกรดดังกล่าวมาแปรผันให้มีความละเอียดเพิ่มขึ้นเพื่อให้ได้ความเข้มข้นกรดที่เหมาะสมที่สุดในการย่อยสลาย จากผลการศึกษาฟางข้าวที่ความเข้มข้นกรด 1.0, 1.2, 1.4, 1.6, 1.8 และ 2.0 โมลต่อลิตร พบว่าที่ความเข้มข้นกรด 1.2, 1.4 และ 1.6 ให้ปริมาณน้ำตาลไซโลสสูงสุดเป็น 67.5110, 67.4291 และ 67.2651 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยเมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 จึงเลือกสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 1.2 โมลต่อลิตร มาใช้ในการย่อยสลายฟางข้าว ขี้เลื่อยจะศึกษาที่ความเข้มข้นกรด 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 โมลต่อลิตร พบว่าที่ความเข้มข้นกรด 0.3, 0.4 และ 0.5 โมลต่อลิตร ให้ปริมาณน้ำตาลไซโลสสูงสุดเป็น 26.2338, 26.5207 และ 26.0493 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าที่ความเข้มข้นกรด 0.4 โมลต่อลิตร จะให้ปริมาณน้ำตาลไซโลสสูงสุดซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 จึงเลือกสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.4 โมลต่อลิตร มาใช้ในการย่อยสลายขี้เลื่อย สำหรับแกลบจะทำการศึกษาความเข้มข้นกรดได้แก่ 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9 และ 1.0 โมลต่อลิตร พบว่าที่ความเข้มข้นกรด 0.5, 0.6 และ 0.7 โมลต่อลิตร ให้ปริมาณน้ำตาลไซโลสสูงสุดเป็น 18.0665, 18.5891 และ 18.3227 กรัมต่อลิตร เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าที่ความเข้มข้นกรด 0.6 โมลต่อลิตร จะให้ปริมาณน้ำตาลไซโลสสูงสุดโดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่

ระดับความเข้มข้นร้อยละ 95 จึงเลือกสารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 0.6 โมลต่อลิตร มาใช้ในการย่อยสลายแกลบ ซึ่งปริมาณน้ำตาลไซโลสที่ได้จากการย่อยสลายวัตถุดิบที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารละลายกรดซัลฟิวริกแสดงในตารางที่ 4.8 และภาพที่ 4.5

ตารางที่ 4.8 ปริมาณน้ำตาลไซโลสที่ได้จากการย่อยสลายวัตถุดิบ (ฟางข้าว จี้เลื่อย แกลบ) จากการศึกษาความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟิวริก

ความเข้มข้นกรดซัลฟิวริก (โมลต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลไซโลส (กรัมต่อลิตร)		
	ฟางข้าว	จี้เลื่อย	แกลบ
0.1		17.0520 ^d	
0.2		24.1023 ^c	
0.3		26.2335 ^b	
0.4		26.5207 ^a	
0.5		26.0493 ^b	18.0665 ^c
0.6			18.5891 ^a
0.7			18.3227 ^b
0.8			17.9435 ^d
0.9			17.6361 ^e
1.0	61.8954 ^b		17.1725 ^f
1.2	67.5110 ^a		
1.4	67.4291 ^a		
1.6	67.2651 ^a		
1.8	61.2395 ^c		
2.0	58.4112 ^d		



ภาพที่ 4.5 ปริมาณน้ำตาลไซโลสที่ได้จากการย่อยสลายวัตถุดิบ (ฟางข้าว ขี้เลื่อย แกลบ) จากการศึกษาความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟิวริก

จากผลการศึกษาความเข้มข้นของสารละลายกรดซัลฟิวริกที่เหมาะสมในการย่อยสลายวัตถุดิบตามสภาวะในการย่อยสลายที่เหมาะสมจากผลการศึกษาในข้อ 4.1.1 โดยใช้อัตราส่วนวัตถุดิบต่อสารละลายกรดซัลฟิวริกเป็น 1 ต่อ 10 พบว่าความเข้มข้นกรดที่เหมาะสมในการย่อยสลายฟางข้าว ขี้เลื่อย และแกลบ คือ 1.2, 0.3 และ 0.6 โมลต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งจากผลการศึกษาดังกล่าวจะถูกนำไปใช้ในการศึกษาขั้นตอนต่อไป

Dominguez *et. al.* (1997) ศึกษาการย่อยซังข้าวโพดด้วยกรดไฮโดรคลอริกเจือจางที่ความเข้มข้นร้อยละ 1, 0, 2.0, 3.0, 4.0 และ 5.0 ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 120 นาที พบว่าที่ความเข้มข้นร้อยละ 2.0 ให้ปริมาณน้ำตาลไซโลสสูงสุดเท่ากับ 75.5 กรัมต่อลิตร และตั้งแต่ความเข้มข้นกรดร้อยละ 3.0 ขึ้นไปจะให้ปริมาณน้ำตาลไซโลสเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น

4.1.3 ผลการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างวัตถุดิบต่อสารละลายกรดซัลฟิวริก

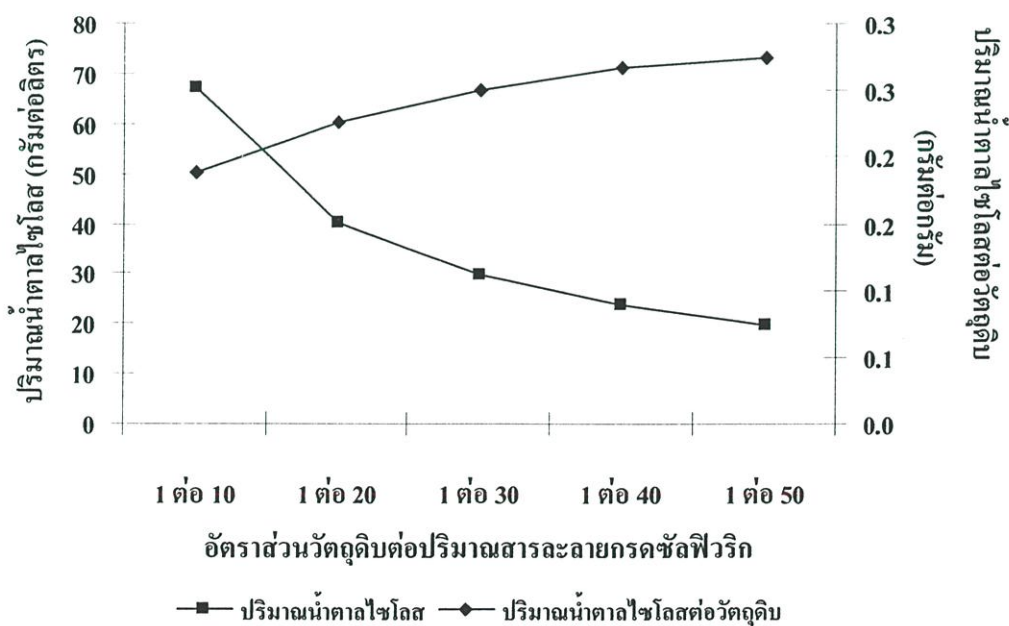
การศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างวัตถุดิบต่อสารละลายกรดซัลฟิวริกในการย่อยสลายเพื่อให้ได้ประสิทธิภาพในการย่อยสลายสูงสุด โดยศึกษาอัตราส่วนในการย่อยสลายเป็น 1 ต่อ 10 1 ต่อ 20 1 ต่อ 30 1 ต่อ 40 และ 1 ต่อ 50 โดยใช้สภาวะในการย่อยสลายและความเข้มข้นกรดที่เหมาะสมของแต่ละวัตถุดิบ จากผลการศึกษาข้อ 4.1.1 และ 4.1.2

จากผลการศึกษาฟางข้าวพบว่าที่อัตราส่วนระหว่างวัตถุดิบต่อสารละลายกรดเพิ่มมากขึ้น ปริมาณน้ำตาลไซโลสที่ได้จะมีปริมาณลดลง แต่เมื่อเปรียบเทียบผลได้ของปริมาณน้ำตาลไซโลส

ต่อปริมาณน้ำตาลวัตถุดิบที่ใช้ (yield) พบว่าจะแปรผกผันกับปริมาณน้ำตาลที่ได้ โดยจะเพิ่มขึ้นตามอัตราส่วนที่มากขึ้น (การคำนวณจากภาคผนวก ข) แต่จากผลการศึกษาที่ได้จะเลือกใช้ที่อัตราส่วน 1 ต่อ 20 เนื่องจากว่าให้ผลได้ของน้ำตาลไซโลสไม่ต่ำจนเกินไปและให้ปริมาณน้ำตาลไซโลสที่เหมาะสมในการนำไปใช้เป็นแหล่งวัตถุดิบเริ่มต้นในการผลิตน้ำตาลไซลิตอล โดยให้ปริมาณน้ำตาลไซโลส 40.3345 กรัมต่อลิตร คิดเป็นผลได้เท่ากับ 0.2258 กรัมต่อกรัมวัตถุดิบ ซึ่งแสดงผลดังตารางที่ 4.9 และภาพที่ 4.6

ตารางที่ 4.9 ปริมาณน้ำตาลไซโลสและปริมาณน้ำตาลไซโลสต่อวัตถุดิบในการย่อยสลายฟางข้าวจากการศึกษาอัตราส่วนระหว่างวัตถุดิบต่อปริมาณสารละลายกรดซัลฟิวริก

อัตราส่วนวัตถุดิบต่อปริมาณสารละลายกรดซัลฟิวริก (น้ำหนักต่อปริมาตร)	ปริมาณน้ำตาลไซโลส (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลไซโลสต่อวัตถุดิบ (กรัมต่อกรัม)
1 ต่อ 10	67.2651	0.1682
1 ต่อ 20	40.3345	0.2017
1 ต่อ 30	29.8000	0.2235
1 ต่อ 40	23.8154	0.2381
1 ต่อ 50	19.5524	0.2444

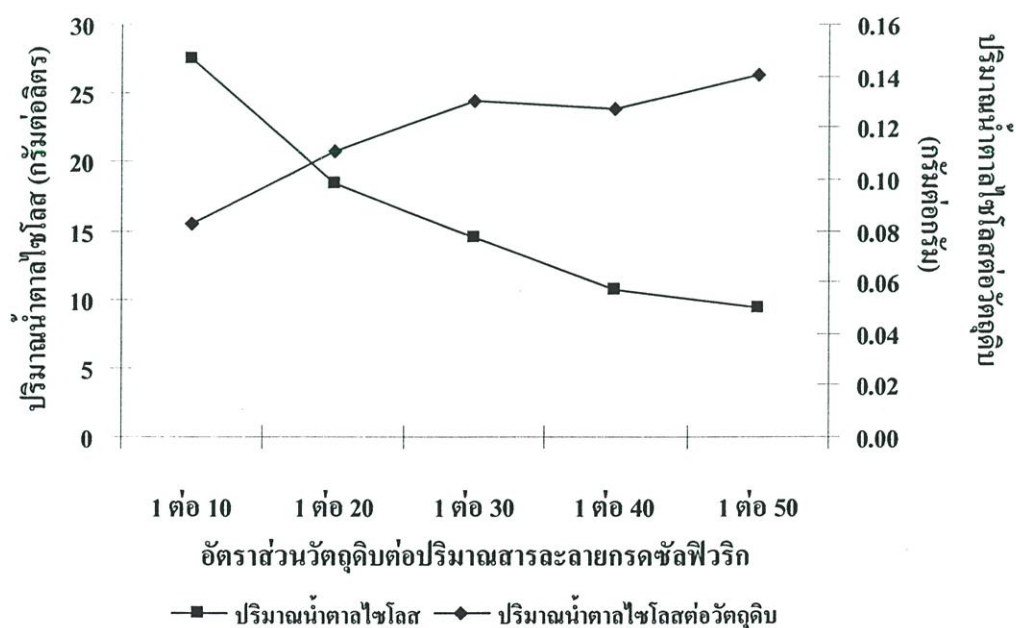


ภาพที่ 4.6 ปริมาณน้ำตาลไซโลสและปริมาณน้ำตาลไซโลสต่อวัตถุดิบในการย่อยสลายฟางข้าวจากการศึกษาอัตราส่วนระหว่างวัตถุดิบต่อปริมาณสารละลายกรดซัลฟิวริก

สำหรับผลการศึกษาที่เกี่ยวพันว่าที่อัตราส่วนระหว่างวัตถุดิบและสารละลายกรดที่มากขึ้น ก็จะทำให้ปริมาณน้ำตาลไซโลสลดลง แต่เมื่อกำหนดถึงผลได้ของน้ำตาลไซโลสเปรียบเทียบกับ ปริมาณวัตถุดิบที่ใช้ (กรัมต่อกรัม) พบว่าที่อัตราส่วนที่เพิ่มขึ้นกลับให้ผลได้ที่เพิ่มขึ้นตามไปด้วย โดยจากผลการศึกษาจะคัดเลือกที่อัตราส่วน 1 ต่อ 20 (วัตถุดิบต่อสารละลายกรดซัลฟิวริก) ซึ่งให้ ปริมาณน้ำตาลไซโลส 18.4866 กรัมต่อลิตร คิดเป็นผลได้เท่ากับ 0.1109 กรัมต่อกรัมวัตถุดิบ ซึ่ง แสดงผลดังตารางที่ 4.10 และภาพที่ 4.7

ตารางที่ 4.10 ปริมาณน้ำตาลไซโลสและปริมาณน้ำตาลไซโลสต่อวัตถุดิบในการย่อยสลายชี้เลี้ยง จากการศึกษาอัตราส่วนระหว่างวัตถุดิบต่อปริมาณสารละลายกรดซัลฟิวริก

อัตราส่วนวัตถุดิบต่อปริมาณ สารละลายกรดซัลฟิวริก (น้ำหนักต่อปริมาตร)	ปริมาณน้ำตาลไซโลส (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลไซโลสต่อวัตถุดิบ (กรัมต่อกรัม)
1 ต่อ 10	27.4635	0.0384
1 ต่อ 20	18.4866	0.0517
1 ต่อ 30	14.5105	0.0609
1 ต่อ 40	10.6165	0.0594
1 ต่อ 50	9.3458	0.0654

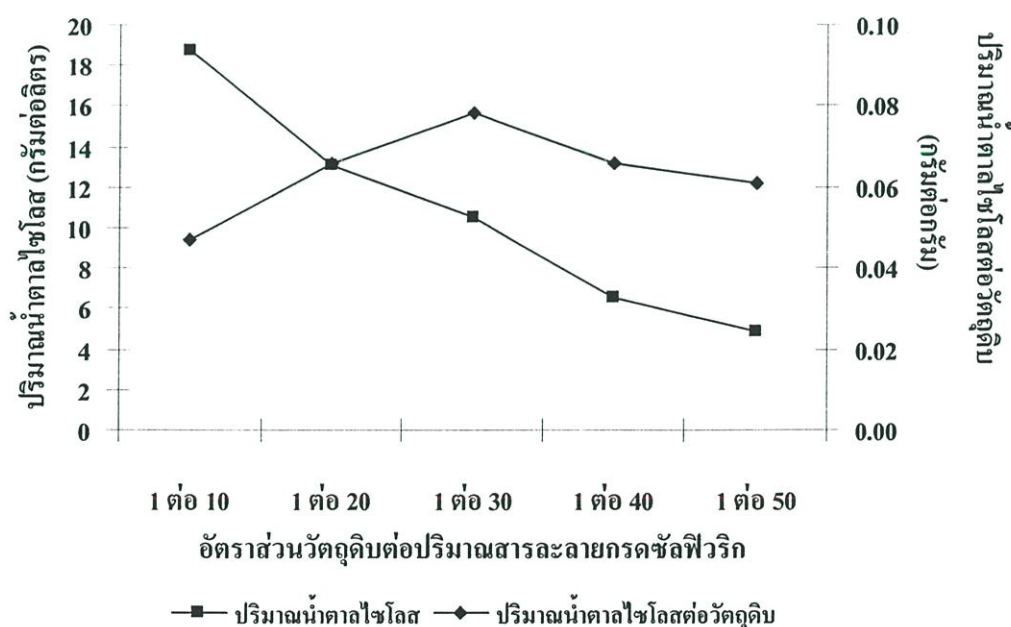


ภาพที่ 4.7 ปริมาณน้ำตาลไซโลสและปริมาณน้ำตาลไซโลสต่อวัตถุดิบในการย่อยสลายชี้เลี้ยงจากการศึกษาอัตราส่วนระหว่างวัตถุดิบต่อปริมาณสารละลายกรดซัลฟิวริก

ผลการศึกษากลบพบว่าที่อัตราส่วนระหว่างวัตถุดิบและสารละลายกรดที่มากขึ้นก็จะให้ปริมาณน้ำตาลไซโลสลดลง แต่เมื่อคำนวณผลได้ของน้ำตาลไซโลสเปรียบเทียบกับปริมาณวัตถุดิบที่ใช้ (กรัมต่อกรัม) พบว่าที่อัตราส่วน 1 ต่อ 30 ให้ค่าผลได้น้ำตาลไซโลสสูงที่สุด โดยให้ปริมาณน้ำตาลไซโลส 10.4525 กรัมต่อลิตร คิดเป็นผลได้เท่ากับ 0.0470 กรัมต่อกรัมวัตถุดิบ ซึ่งแสดงผลในตารางที่ 4.11 และภาพที่ 4.8

ตารางที่ 4.11 ปริมาณน้ำตาลไซโลสและปริมาณน้ำตาลไซโลสต่อวัตถุดิบในการย่อยสลายแอลกอฮอล์จากการศึกษาอัตราส่วนระหว่างวัตถุดิบต่อปริมาณสารละลายกรดซัลฟิวริก

อัตราส่วนวัตถุดิบต่อปริมาณสารละลายกรดซัลฟิวริก (น้ำหนักต่อปริมาตร)	ปริมาณน้ำตาลไซโลส (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลไซโลสต่อวัตถุดิบ (กรัมต่อกรัม)
1 ต่อ 10	18.7531	0.0281
1 ต่อ 20	13.1169	0.0393
1 ต่อ 30	10.4525	0.0470
1 ต่อ 40	6.5584	0.0393
1 ต่อ 50	4.8881	0.0367



ภาพที่ 4.8 ปริมาณน้ำตาลไซโลสและปริมาณน้ำตาลไซโลสต่อวัตถุดิบในการย่อยสลายแอลกอฮอล์จากการศึกษาอัตราส่วนระหว่างวัตถุดิบต่อปริมาณสารละลายกรดซัลฟิวริก

จากผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายวัตถุดิบพบว่าฟางข้าวมีสภาวะที่เหมาะสมคือ ย่อยสลายที่อุณหภูมิ 126 องศาเซลเซียส นาน 90 นาที ด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 1.2 โมลต่อลิตร ที่อัตราส่วนวัตถุดิบต่อสารละลายกรด 1 ต่อ 20 โดยให้ปริมาณน้ำตาลไซโลส 40.3345 กรัมต่อลิตร สำหรับขี้เลื่อยจะมีสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายคือที่อุณหภูมิ 126 องศาเซลเซียส นาน 270 นาที ด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 0.3 โมลต่อลิตร ที่อัตราส่วนวัตถุดิบต่อสารละลายกรดเป็น 1 ต่อ 20 โดยให้ปริมาณน้ำตาลไซโลส 18.4866 กรัมต่อลิตร ส่วนแกลบจะมีสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายคือ ที่อุณหภูมิ 126 องศาเซลเซียส นาน 210 นาที ด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 0.6 โมลต่อลิตร ที่อัตราส่วนวัตถุดิบต่อสารละลายกรดเป็น 1 ต่อ 30 โดยให้ปริมาณน้ำตาลไซโลส 10.4525 กรัมต่อลิตร

ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายฟางข้าว ขี้เลื่อย และแกลบ เพื่อให้ได้น้ำตาลไซโลส ซึ่งจะคัดเลือกวัตถุดิบเพียงชนิดเดียวเป็นวัตถุดิบเริ่มต้นในการผลิตน้ำตาลไซลิตอลโดยเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 จากผลการศึกษาดังกล่าวจะคัดเลือกฟางข้าวเป็นวัตถุดิบเริ่มต้นในการศึกษาการผลิตน้ำตาลไซลิตอลจากวัตถุดิบเหลือทิ้งทางการเกษตรและอุตสาหกรรมการแปรรูปไม้ เนื่องจากใช้เวลาในการย่อยสลายน้อยกว่าที่อุณหภูมิเดียวกันคือ 90 นาที และได้ปริมาณน้ำตาลไซโลสสูงกว่าขี้เลื่อยและแกลบถึง 2.1818 และ 3.8588 เท่า ตามลำดับ

Parajo *et. al.* (1997) ศึกษาการผลิตน้ำตาลไซลิตอลด้วยเชื้อ *Debaryomyces hansenii* NRRL Y-4426 ในไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยสลายไม้ยูคาลิปตัส ที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส นาน 60 นาที ด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้นร้อยละ 3.0 ที่อัตราส่วนวัตถุดิบต่อสารละลายกรด 8 กรัมต่อกรัม ได้ปริมาณน้ำตาลไซโลส 18 กรัม

Rodrigues *et. al.* (1999) ศึกษาการผลิตน้ำตาลไซลิตอลด้วย *Candida guilliermondii* FTI 20037 ในไฮโดรไลเสทจากการย่อยสลายขานอ้อยโดยได้น้ำตาลไซโลส 18.5 กรัม

Nigam (2001) ศึกษาการผลิตเอทานอลด้วย *Pichia stipitis* ในไฮโดรไลเสทจากฟางข้าวสาทิ จะได้อัตราผลิตน้ำตาลไซโลสประมาณ 13 กรัม

ก่อนที่จะศึกษาการลดปริมาณสารพิษด้วยวิธีโอเวอร์ไลมิง ได้ทำการศึกษาค่างที่จะนำมาใช้ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างทั้งหมด 5 ชนิดคือ โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) โซเดียมคาร์บอเนต (NaCO₃) แคลเซียมออกไซด์ (CaO) แคลเซียมไฮดรอกไซด์ (CaOH) และแคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO₃) ซึ่งค่างแต่ละชนิดมีข้อดีและข้อเสียที่แตกต่างกันดังนี้

NaOH

ข้อดี เป็นด่างแก่ทำปฏิกิริยาได้รวดเร็ว ละลายได้ดี และปรับค่าความเป็นกรด-ด่างได้รวดเร็ว

ข้อเสีย ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นมีความรุนแรงและเกิดความร้อนสูง สูญเสียปริมาณน้ำตาลไซโลสมากเนื่องจากปฏิกิริยาที่รุนแรง และมีผลต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เนื่องจากประจุโซเดียม (Na^+) เป็นพิษต่อเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์

 NaCO_3

ข้อดี เป็นด่างอ่อนละลายได้ดีแต่ช้ากว่า NaOH ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นไม่รุนแรง ปริมาณน้ำตาลไซโลสสูญเสียในปฏิกิริยาน้อย

ข้อเสีย ค่าความเป็นกรดด่างเปลี่ยนอย่างช้า ๆ และต้องใช้ปริมาณมาก มีผลต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เนื่องจากประจุโซเดียม (Na^+) เป็นพิษต่อเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์

CaO

ข้อดี เป็นด่างอ่อนปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นไม่รุนแรง ปริมาณน้ำตาลไซโลสสูญเสียเล็กน้อย แยกตะกอนออกจากไฮโดรไลเสทได้ง่ายด้วยการปั่นเหวี่ยง ไม่มีผลต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ใช้ระยะเวลาในการปรับค่าความเป็นกรด-ด่างน้อยเมื่อเทียบกับด่างในตระกูลแคลเซียมด้วยกัน แต่ช้ากว่าสองชนิดแรก

ข้อเสีย เกิดตะกอนแคลเซียมทำให้สูญเสียไฮโดรไลเสทไปบางส่วน

CaOH

ข้อดี เป็นด่างอ่อนปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นไม่รุนแรง ปริมาณน้ำตาลไซโลสสูญเสียเล็กน้อย แยกตะกอนออกจากไฮโดรไลเสทได้ง่ายด้วยการปั่นเหวี่ยง ไม่มีผลต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ใช้ระยะเวลาในการปรับค่าความเป็นกรด-ด่างน้อยเมื่อเทียบกับด่างในตระกูลแคลเซียมด้วยกัน แต่ช้ากว่าสองชนิดแรก

ข้อเสีย เกิดตะกอนแคลเซียมทำให้สูญเสียไฮโดรไลเสทไปบางส่วน ไฮโดรไลเสทที่มีความหนืดมากกว่า CaO

 CaCO_3

ข้อดี เป็นด่างอ่อนปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นไม่รุนแรง ปริมาณน้ำตาลไซโลสสูญเสียเล็กน้อย แยกตะกอนออกจากไฮโดรไลเสทได้ง่ายด้วยการปั่นเหวี่ยง ไม่มีผลต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ใช้

ระยะเวลาในการปรับค่าความเป็นกรด-ด่างน้อยเมื่อเทียบกับค่าในตระกูลแคลเซียมด้วยกัน แต่ช้ากว่าสองชนิดแรก

ข้อเสีย ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างได้ช้ามาก ใช้ระยะเวลานาน เกิดตะกอนแคลเซียมทำให้สูญเสียไฮโดรไลเซทไปบางส่วน ไฮโดรไลเซทมีความหนืดมากกว่า CaO

ด้วยคุณสมบัติดังกล่าวข้างต้นจึงเลือกแคลเซียมออกไซด์มาใช้ในการศึกษาการลดปริมาณสารพิษด้วยวิธีโอเวอร์โดสต่อไป

เบื้องต้นได้ทำการทดลองโดยนำไฮโดรไลเซทที่ได้จากฟางข้าวที่สภาวะที่เหมาะสมมาปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 10.5 ด้วยแคลเซียมออกไซด์และปรับค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงเหลือ 5.5 ด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 13 โมลต่อลิตร เมื่อทำไฮโดรไลเซทที่ผ่านกระบวนการดังกล่าวพบว่าปริมาณน้ำตาลไซโลสสูญเสียไปค่อนข้างมากเนื่องจากใช้ความเข้มข้นกรดในการย่อยสลายสูง จึงต้องใช้ปริมาณแคลเซียมออกไซด์ค่อนข้างมากและใช้ระยะเวลานาน ด้วยปัจจัยดังกล่าวน่าจะเป็นสาเหตุให้ปริมาณน้ำตาลไซโลสสูญเสียไปจากงานวิจัยของ ได้ทำการย่อยสลายฟางข้าวโดยใช้ความเข้มข้นกรดซัลฟิวริก 0.1 โมลต่อลิตร จึงได้ทำการย่อยสลายฟางข้าวที่สารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 0.1 และ 0.5 โมลต่อลิตร แล้วนำไฮโดรไลเซทที่ได้มาผ่านกระบวนการดังกล่าวข้างต้น พบว่าที่ความเข้มข้นกรด 0.1 โมลต่อลิตร ปริมาณน้ำตาลไซโลสสูญเสียไปน้อยกว่าความเข้มข้น 0.5 โมลต่อลิตร แต่เนื่องจากว่าปริมาณน้ำตาลไซโลสที่ความเข้มข้นกรด 0.1 โมลต่อลิตร นั้นน้อยกว่า 0.5 โมลต่อลิตร เกือบเท่าตัว ดังนั้นจึงตัดสินใจเลือกการย่อยสลายฟางข้าวที่ความเข้มข้นกรด 0.5 โมลต่อลิตร และเพิ่มอัตราส่วนในการย่อยสลายจากที่คัดเลือกจาก 1 ต่อ 20 เป็น 1 ต่อ 10 เพื่อให้มีปริมาณน้ำตาลไซโลสเริ่มต้นสูงขึ้น เพราะฉะนั้นการย่อยสลายฟางข้าวจะทำให้สภาวะที่อุณหภูมิ 126 องศาเซลเซียส นาน 90 นาที ที่ความเข้มข้นกรด 0.5 โมลต่อลิตร โดยใช้อัตราส่วนระหว่างวัตถุดิบต่อสารละลายกรดเป็น 1 ต่อ 10

4.2 ผลการศึกษาการลดปริมาณสารพิษด้วยวิธีโอเวอร์ไลมิง

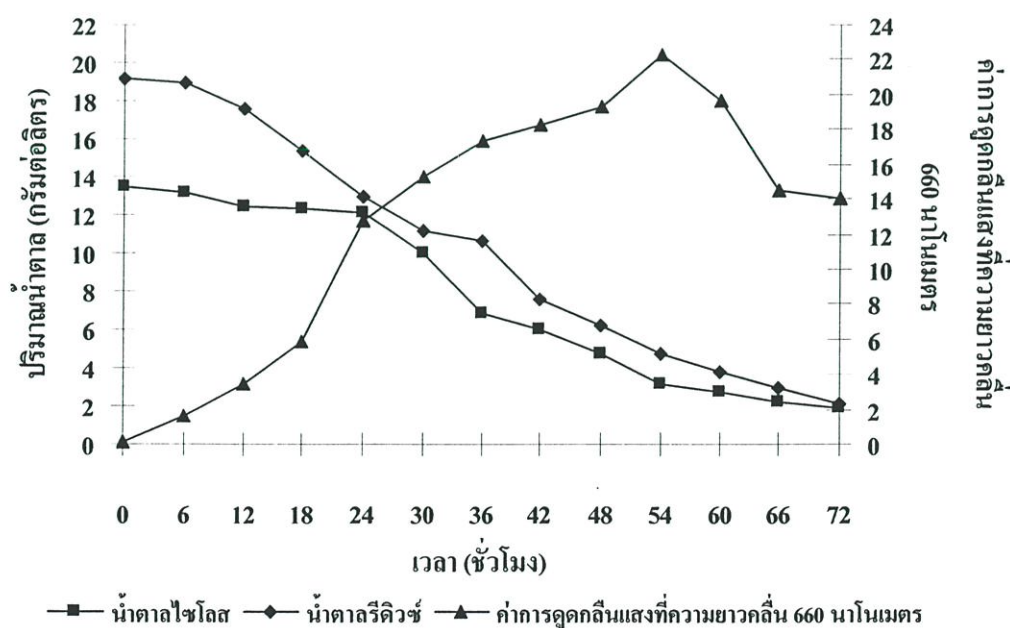
จากผลการศึกษาการลดปริมาณสารพิษด้วยวิธีโอเวอร์ไลมิงโดยการปรับค่าความเป็นกรด-ด่างของไฮโดรไลเสทเป็น 10.5 ด้วยแคลเซียมออกไซด์จากนั้นทำการตกตะกอนแคลเซียมด้วยการปั่นเหวี่ยง นำไฮโดรไลเสทที่ได้มาลดค่าความเป็นกรด-ด่างลงเหลือ 5.5 ด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 13 โมลต่อลิตร จากนั้นนำไฮโดรไลเสทที่ผ่านกระบวนการดังกล่าวมาเตรียมเป็นอาหารเพื่อเลี้ยงเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 บนเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิได้ ในสถานะที่มีอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างทุก 6 ชั่วโมง เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เพื่อวัดอัตราการเจริญของเชื้อ โดยจะมีค่าอัตราการเจริญสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 54 คูได้จากค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร ซึ่งมีค่าอัตราการเจริญเป็น 22.250 ดังตารางที่ 4.12 และภาพที่ 4.9

Ladisch and Svarczkopf (1991) พบว่าการย่อยสลายเฮมิเซลลูโลสด้วยกรดหรือเอนไซม์ นอกจากจะให้สารประกอบของน้ำตาลคาร์บอน 5 และ 6 อะตอม แล้วยังมีสารประกอบที่สำคัญจำนวนหนึ่งของกรดยูโรนิก อะซิเตต เฟอฟูรอลและสารประกอบอะโรมาติกอื่น ๆ ด้วย

Weigert *et. al.* (1988) พบว่าเฟอฟูรอลจะยับยั้งการเจริญและกระบวนการหมักของเซลล์ยีสต์โดยเอนไซม์ alcoholdehydrogenase จะสามารถตอบสนองต่อการลดลงของเฟอฟูรอล (มีผลในการยับยั้งอัตราการหายใจ) ไปเป็นเฟอฟูรอลแอลกอฮอล์ที่มีผลต่อการเจริญ

ตารางที่ 4.12 ปริมาณน้ำตาลไซโลส น้ำตาลรีดิวซ์ และอัตราการเจริญจากการศึกษาการลดปริมาณสารพิษด้วยวิธีโอเวอร์ไลมิง

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณน้ำตาลไซโลส (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	อัตราการเจริญ (ที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร)
0	13.4220	19.1684	0.115
6	13.1948	18.8996	1.600
12	12.4733	17.5699	3.450
18	12.3483	15.3763	5.843
24	12.0886	12.9534	12.746
30	10.0242	11.1183	15.260
36	6.8208	10.6021	17.353
42	5.9907	7.5878	18.301
48	4.6852	6.2330	19.333
54	3.1378	4.6846	22.250
60	2.6910	3.7706	19.633
66	2.1930	2.9462	14.450
72	1.8835	2.0860	14.002



ภาพที่ 4.9 ปริมาณน้ำตาลไซโลส น้ำตาลรีดิวซ์ และอัตราการเจริญจากการศึกษาการลดปริมาณสารพิษด้วยวิธีโอเวอร์ไลมิง

4.3 ผลการศึกษาการลดปริมาณสารพิษด้วยผงถ่านกัมมันต์

4.3.1 ผลการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการลดปริมาณสารพิษด้วยผงถ่านกัมมันต์

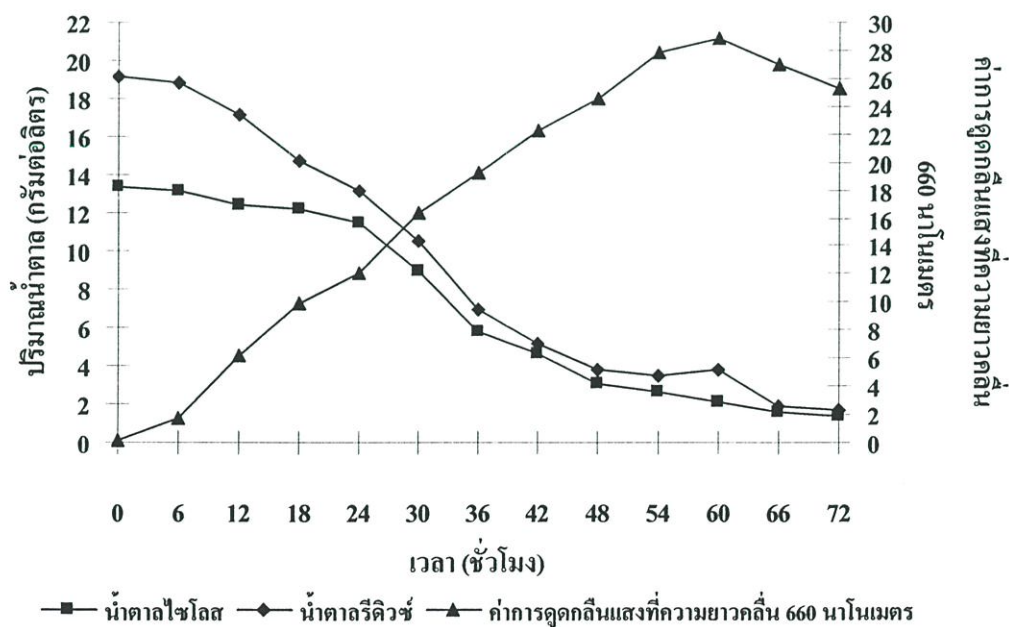
จากผลการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมโดยใช้ผงถ่านกัมมันต์ในการลดปริมาณสารพิษด้วยอัตราส่วนของผงถ่านกัมมันต์ต่อไฮโดรไลเซตเป็น 1 ต่อ 100 โดยแปรผันระยะเวลาในการลดปริมาณสารพิษเป็น 0, 1, 6, 12, 18 และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ พบว่าเมื่อนำไฮโดรไลเซตที่ผ่านกระบวนการโอเวอร์ไลมิ่งที่ได้จากข้อ 4.2 มาทำการลดปริมาณสารพิษด้วยผงถ่านกัมมันต์ตามระยะเวลาดังกล่าว มาเตรียมเป็นอาหารและเปรียบเทียบอัตราการเจริญของเชื้อ *D. hansenii* TISTR 5155 โดยเลี้ยงบนเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิได้ในสภาวะที่มีอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างทุก 6 ชั่วโมง เป็นเวลา 72 ชั่วโมง พบว่าจะมีอัตราการเจริญสูงสุดในชั่วโมงที่ 60 (ในอาหารไฮโดรไลเซตที่ไม่มีการลดสารพิษด้วยผงถ่านกัมมันต์จะมีอัตราการเจริญสูงสุดในชั่วโมงที่ 54) โดยดูได้จากค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร โดยเรียงจากรยะเวลาเวลาน้อยไปมากเป็นดังนี้ 22.25, 28.8167 (ตารางที่ 4.13 และภาพที่ 4.10) 28.1667 (ตารางที่ 4.14 และภาพที่ 4.11) 28.1167 (ตารางที่ 4.15 และภาพที่ 4.12) 27.3167 (ตารางที่ 4.16 และภาพที่ 4.13) และ 27.5167 (ตารางที่ 4.17 และภาพที่ 4.14) ตามลำดับ นำมาเปรียบเทียบอัตราการเจริญสูงสุดในอาหารไฮโดรไลเซตที่ระยะเวลาต่าง ๆ ในการลดปริมาณสารพิษ (ภาพที่ 4.15) และเมื่อทำการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าที่ระยะเวลาในการลดปริมาณสารพิษ 1, 6, 12, 18 และ 24 ชั่วโมงให้อัตราการเจริญสูงสุดของเชื้อ *D. hansenii* TISTR 5155 ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ดังตารางที่ 4.18) จึงเลือกระยะเวลาในการลดปริมาณสารพิษที่ 1 ชั่วโมง

Dominguez *et. al.* (1996) พบว่าเชื้อยีสต์ที่เลี้ยงในไฮโดรไลเซตที่ได้จากการย่อยสลายชานอ้อยที่ผ่านการทำให้เป็นกลางและดูดซับด้วยผงถ่านกัมมันต์ จะใช้น้ำตาลไซโลสและผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ดีกว่าในไฮโดรไลเซตที่ผ่านการทำให้เป็นกลางเพียงอย่างเดียว

Tran and Chambers (1986) รายงานว่าการดูดซับด้วยผงถ่านกัมมันต์จะลดความเข้มข้นได้ทั้งกรดอะซิติกและสารประกอบฟีนอลิกที่ได้จากการย่อยสลายไม้ด้วยสารละลายกรด

ตารางที่ 4.13 ปริมาณน้ำตาลไซโลส น้ำตาลรีดิวซ์ และอัตราการเจริญจากการศึกษาการลดปริมาณสารพิษโดยใช้ผงถ่านกัมมันต์เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

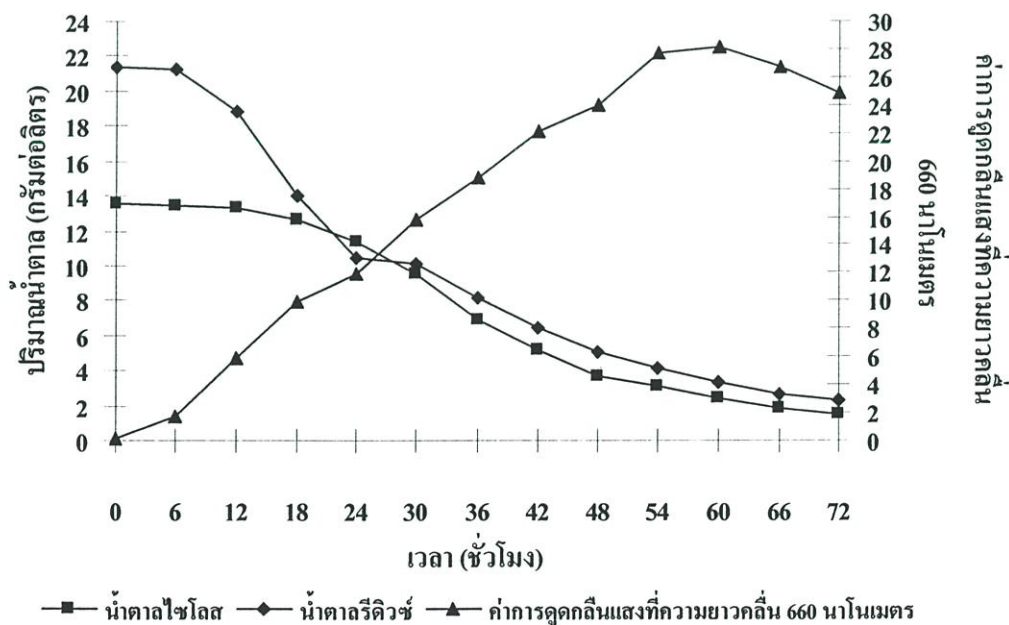
เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณน้ำตาลไซโลส (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	อัตราการเจริญ (ที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร)
0	13.3587	19.1720	0.087
6	13.1661	18.7921	1.680
12	12.418	17.1290	6.103
18	12.1762	14.7527	9.920
24	11.4322	13.2007	12.100
30	8.9687	10.5197	16.426
36	5.8309	7.0003	19.216
42	4.6073	5.1433	22.300
48	3.0107	3.8315	24.533
54	2.6275	3.4265	27.816
60	2.1570	3.7527	28.816
66	1.5761	1.8530	26.983
72	1.3404	1.7204	25.300



ภาพที่ 4.10 ปริมาณน้ำตาลไซโลส น้ำตาลรีดิวซ์ และอัตราการเจริญจากการศึกษาการลดปริมาณสารพิษโดยใช้ผงถ่านกัมมันต์เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

ตารางที่ 4.14 ปริมาณน้ำตาลไซโลส น้ำตาลรีดิวิซ์ และอัตราการเจริญจากการศึกษาการลดปริมาณสารพิษโดยใช้ผงถ่านกัมมันต์เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

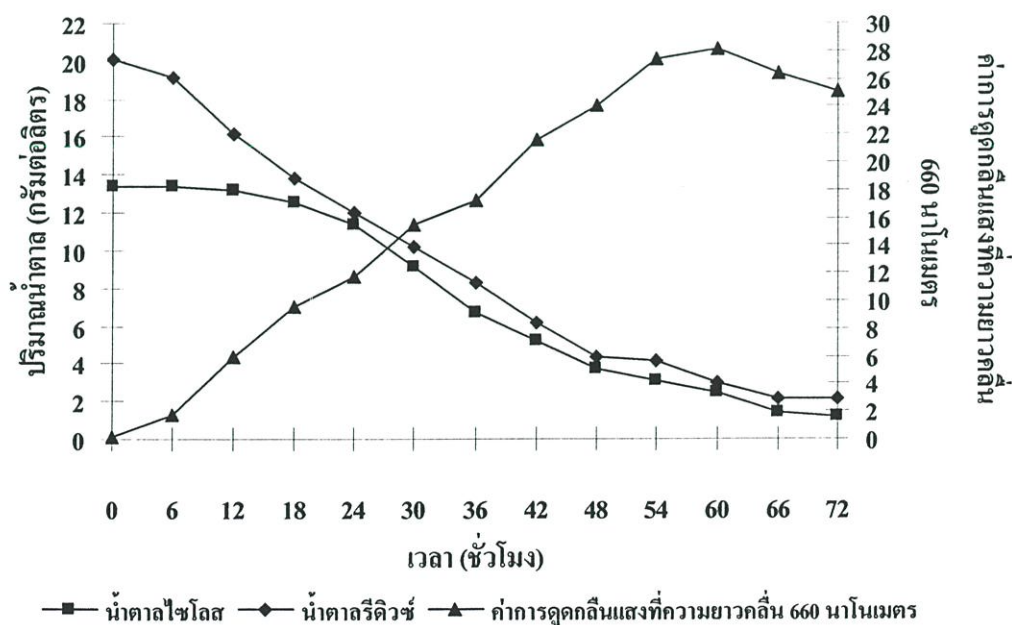
เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณน้ำตาลไซโลส (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวิซ์ (กรัมต่อลิตร)	อัตราการเจริญ (ที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร)
0	13.5063	21.3835	0.107
6	13.4079	21.2115	1.758
12	13.2788	18.8000	5.906
18	12.5922	14.0036	9.833
24	11.342	10.4874	11.953
30	9.4831	10.0681	15.766
36	6.8946	8.1792	18.783
42	5.2099	6.4767	22.100
48	3.7137	5.0681	23.933
54	3.0947	4.1505	27.716
60	2.4614	3.2903	28.166
66	1.8671	2.6487	26.650
72	1.4961	2.2688	24.850



ภาพที่ 4.11 ปริมาณน้ำตาลไซโลส น้ำตาลรีดิวิซ์ และอัตราการเจริญจากการศึกษาการลดปริมาณสารพิษ โดยใช้ผงถ่านกัมมันต์เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

ตารางที่ 4.15 ปริมาณน้ำตาลไซโลส น้ำตาลรีดิวิซ์ และอัตราการเจริญจากการศึกษาการลดปริมาณสารพิษโดยใช้ผงถ่านกัมมันต์เป็นเวลา 12 ชั่วโมง

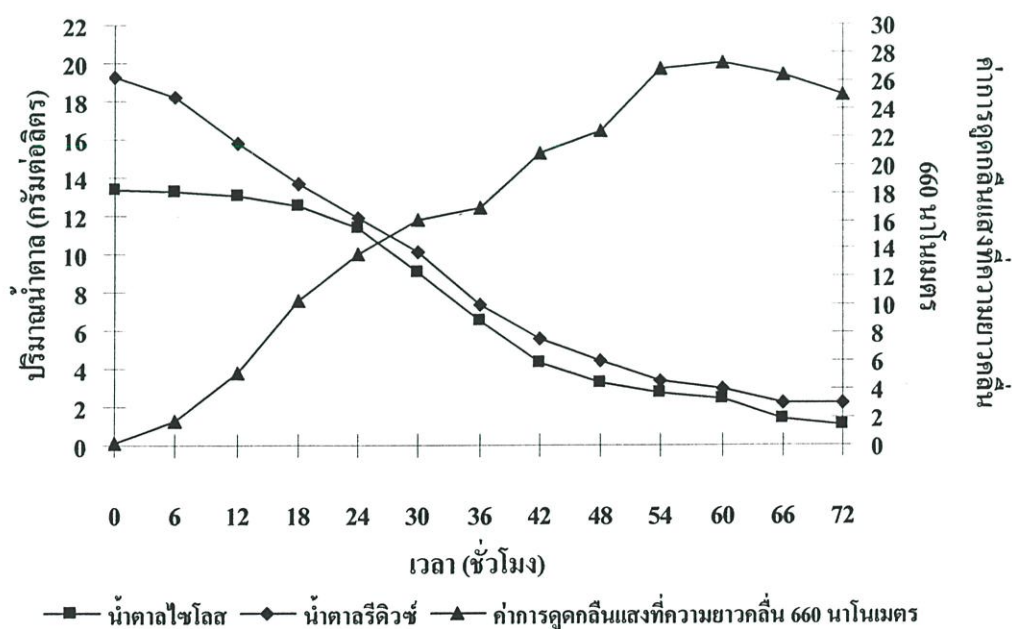
เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณน้ำตาลไซโลส (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวิซ์ (กรัมต่อลิตร)	อัตราการเจริญ (ที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร)
0	13.3956	20.0752	0.105
6	13.3567	19.1290	1.743
12	13.2091	16.1398	5.910
18	12.5922	13.8423	9.573
24	11.3461	11.9964	11.673
30	9.1552	10.2473	15.546
36	6.7183	8.2545	17.216
42	5.2365	6.1433	21.600
48	3.6891	4.3692	24.083
54	3.0476	4.1111	27.366
60	2.4287	2.9856	28.116
66	1.4039	2.1398	26.400
72	1.1744	2.0932	25.050



ภาพที่ 4.12 ปริมาณน้ำตาลไซโลส น้ำตาลรีดิวิซ์ และอัตราการเจริญจากการศึกษาการลดปริมาณสารพิษโดยใช้ผงถ่านกัมมันต์เป็นเวลา 12 ชั่วโมง

ตารางที่ 4.16 ปริมาณน้ำตาลไซโลส น้ำตาลรีดิวิซ์ และอัตราการเจริญจากการศึกษาการลดปริมาณสารพิษโดยใช้ผงถ่านกัมมันต์เป็นเวลา 18 ชั่วโมง

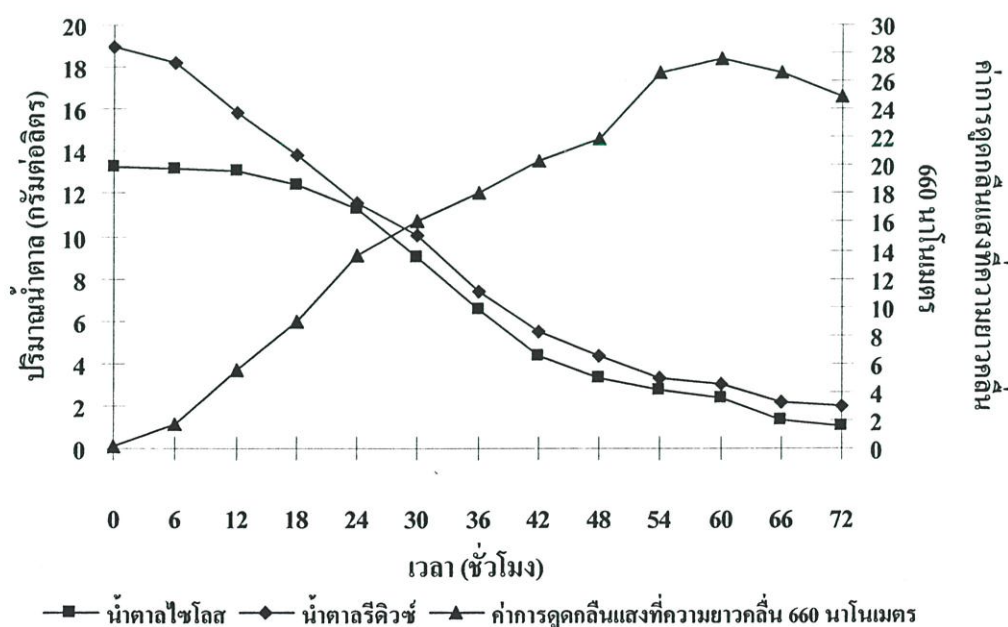
เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณน้ำตาลไซโลส (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวิซ์ (กรัมต่อลิตร)	อัตราการเจริญ (ที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร)
0	13.3505	19.2258	0.105
6	13.2563	18.2437	1.665
12	13.1025	15.8315	5.100
18	12.5738	13.7312	10.300
24	11.3686	11.9068	13.626
30	9.0363	10.1505	16.080
36	6.5707	7.3477	16.950
42	4.3224	5.5484	20.833
48	3.2894	4.3763	22.366
54	2.7586	3.3907	26.866
60	2.3835	2.9032	27.316
66	1.3424	2.2043	26.433
72	1.0985	2.1649	24.916



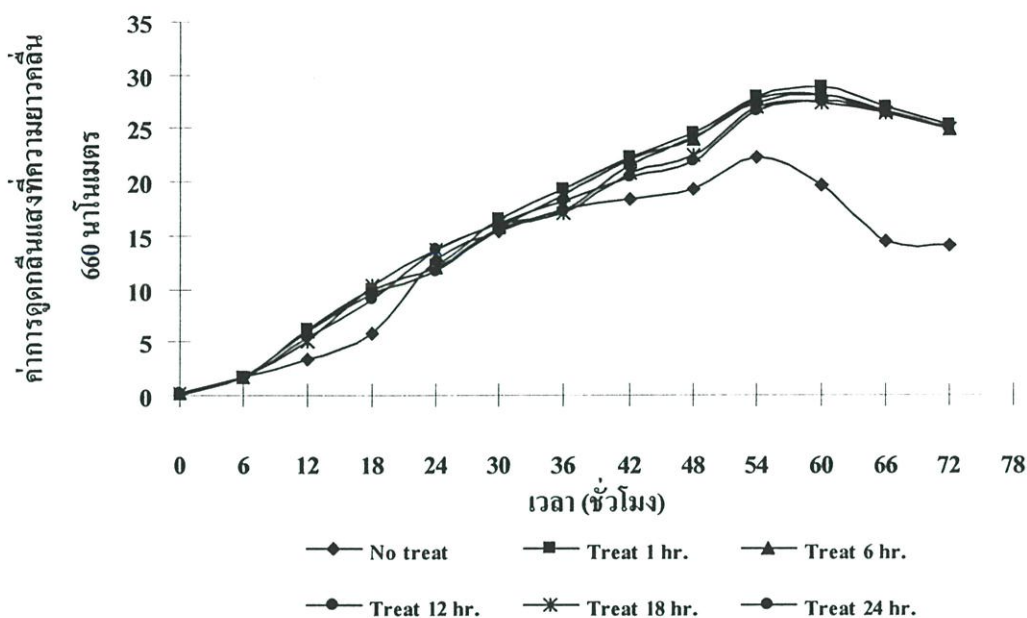
ภาพที่ 4.13 ปริมาณน้ำตาลไซโลส น้ำตาลรีดิวิซ์ และอัตราการเจริญจากการศึกษาการลดปริมาณสารพิษ โดยใช้ผงถ่านกัมมันต์เป็นเวลา 18 ชั่วโมง

ตารางที่ 4.17 ปริมาณน้ำตาลไซโลส น้ำตาลรีดิวิซ์ และอัตราการเจริญจากการศึกษาการลดปริมาณสารพิษโดยใช้ผงถ่านกัมมันต์เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณน้ำตาลไซโลส (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวิซ์ (กรัมต่อลิตร)	อัตราการเจริญ (ที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร)
0	13.2829	18.9677	0.107
6	13.1968	18.2150	1.660
12	13.0820	15.8100	5.500
18	12.4549	13.8459	8.901
24	11.3236	11.5699	13.653
30	8.9604	10.0896	16.093
36	6.5482	7.3476	18.100
42	4.3224	5.4731	20.350
48	3.2710	4.3261	21.833
54	2.7525	3.2939	26.516
60	2.3754	3.0071	27.516
66	1.3240	2.1864	26.516
72	1.0145	1.9892	24.917



ภาพที่ 4.14 ปริมาณน้ำตาลไซโลส น้ำตาลรีดิวิซ์ และอัตราการเจริญจากการศึกษาการลดปริมาณสารพิษโดยใช้ผงถ่านกัมมันต์เป็นเวลา 24 ชั่วโมง



ภาพที่ 4.15 เปรียบเทียบอัตราการเจริญจากการศึกษาการลดปริมาณสารพิษโดยใช้ผงถ่านกัมมันต์ที่ 0, 1, 6, 12, 18 และ 24 ชั่วโมง

ตารางที่ 4.18 เปรียบเทียบเวลาที่เหมาะสมในการลดปริมาณสารพิษด้วยผงถ่านกัมมันต์

เวลาในการลดปริมาณสารพิษ (ชั่วโมง)	อัตราการเจริญสูงสุด (ที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร)
0	22.2500 ^d
1	28.8167 ^a
6	28.1667 ^b
12	28.1167 ^b
18	27.5500 ^c
24	27.5167 ^c

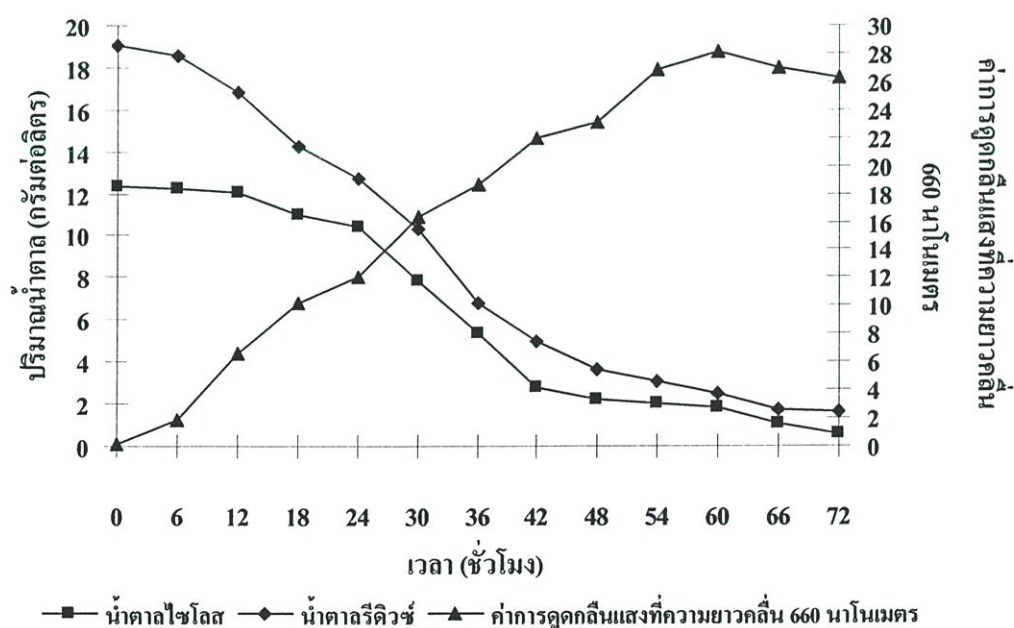
4.3.2 ผลการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมในการลดปริมาณสารพิษด้วยผงถ่านกัมมันต์

จากผลการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างผงถ่านกัมมันต์และไฮโดรไลเสทที่อัตราส่วนต่าง ๆ ได้แก่ 1 ต่อ 25 1 ต่อ 50 1 ต่อ 100 และ 1 ต่อ 200 โดยใช้ระยะเวลาในการลดปริมาณสารพิษเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ผลจากการศึกษาในข้อ 4.3.1 ซึ่งเมื่อนำไฮโดรไลเสทที่ผ่านการลดปริมาณสารพิษด้วยผงถ่านกัมมันต์ที่อัตราส่วนต่าง ๆ สิ่งสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจนคือสีของไฮโดรไลเสทจะมีความแตกต่างกัน โดยที่ไฮโดรไลเสทที่มีอัตราส่วนระหว่างผงถ่านกัมมันต์ต่อไฮโดรไลเสทน้อยจะใสกว่าอัตราส่วนที่มาก หลังจากนั้นนำมาเตรียมเป็นอาหารเพื่อดูอัตราการ

เจริญของเชื้อ *D. hansinii* TISTR 5155 โดยเลี้ยงบนเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิได้ในสภาวะที่มีอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างทุก 6 ชั่วโมง เป็นเวลา 72 ชั่วโมง พบว่าจะมีอัตราการเจริญสูงสุดในชั่วโมงที่ 60 โดยดูได้จากค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร โดยมีค่าอัตราการเจริญเป็น 28.1667 (ตารางที่ 4.19 และภาพที่ 4.16) 27.9000 (ตารางที่ 4.20 และภาพที่ 4.17) 28.3500 (ตารางที่ 4.21 และภาพที่ 4.18) และ 25.8000 (ตารางที่ 4.22 และภาพที่ 4.19) โดยเรียงลำดับจากค่าอัตราส่วนน้อยไปหามาก นำมาเปรียบเทียบอัตราการเจริญสูงสุดในอาหารไฮโดรไลเสทที่อัตราส่วนต่าง ๆ ในการลดปริมาณสารพิษ (ภาพที่ 4.20) เมื่อนำค่าอัตราการเจริญสูงสุดมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าที่อัตราส่วน 1 ต่อ 100 1 ต่อ 50 และ 1 ต่อ 25 ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แต่ที่อัตราส่วน 1 ต่อ 200 มีค่าทางสถิติที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ดังตารางที่ 4.23 ดังนั้นจากข้อมูลทางสถิติที่ได้จึงเลือกอัตราส่วนที่ 1 ต่อ 100 (ผงถ่านกัมมันต์ต่อไฮโดรไลเสท) เป็นอัตราส่วนที่เหมาะสมในการลดปริมาณสารพิษ

ตารางที่ 4.19 ปริมาณน้ำตาลไซโลส น้ำตาลรีควิซ์ และอัตราการเจริญจากการศึกษาการลดปริมาณสารพิษโดยใช้ผงถ่านกัมมันต์ในอัตราส่วน 1 ต่อ 25

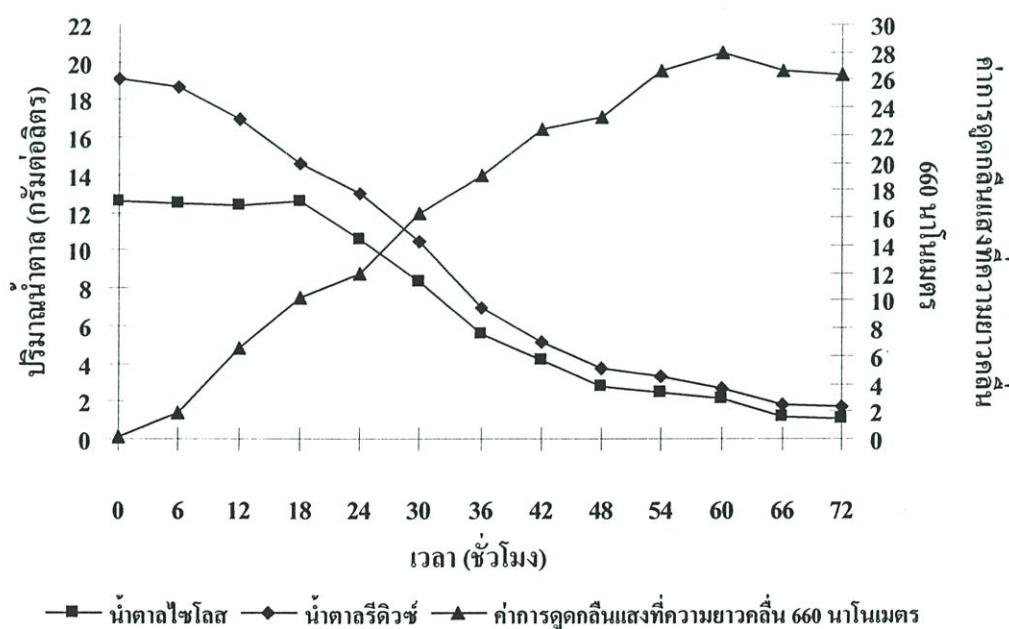
เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณน้ำตาลไซโลส (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีควิซ์ (กรัมต่อลิตร)	อัตราการเจริญ (ที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร)
0	12.3565	19.0322	0.109
6	12.2315	18.5842	1.926
12	12.0839	16.853	6.606
18	11.0325	14.3046	10.213
24	10.4033	12.7061	12.093
30	7.8230	10.3297	16.420
36	5.3431	6.7742	18.683
42	2.7790	4.9283	21.900
48	2.1704	3.6523	23.133
54	2.0044	3.0896	26.866
60	1.7933	2.5269	28.167
66	1.0329	1.7025	27.050
72	0.5697	1.5878	26.300



ภาพที่ 4.16 ปริมาณน้ำตาลไซโลส น้ำตาลรีควิซ์ และอัตราการเจริญจากการศึกษาการลดปริมาณสารพิษโดยใช้ผงถ่านกัมมันต์ในอัตราส่วน 1 ต่อ 25

ตารางที่ 4.20 ปริมาณน้ำตาลไซโลส น้ำตาลรีดิวิซ์ และอัตราการเจริญจากการศึกษาการลดปริมาณสารพิษโดยใช้ผงถ่านกัมมันต์ในอัตราส่วน 1 ต่อ 50

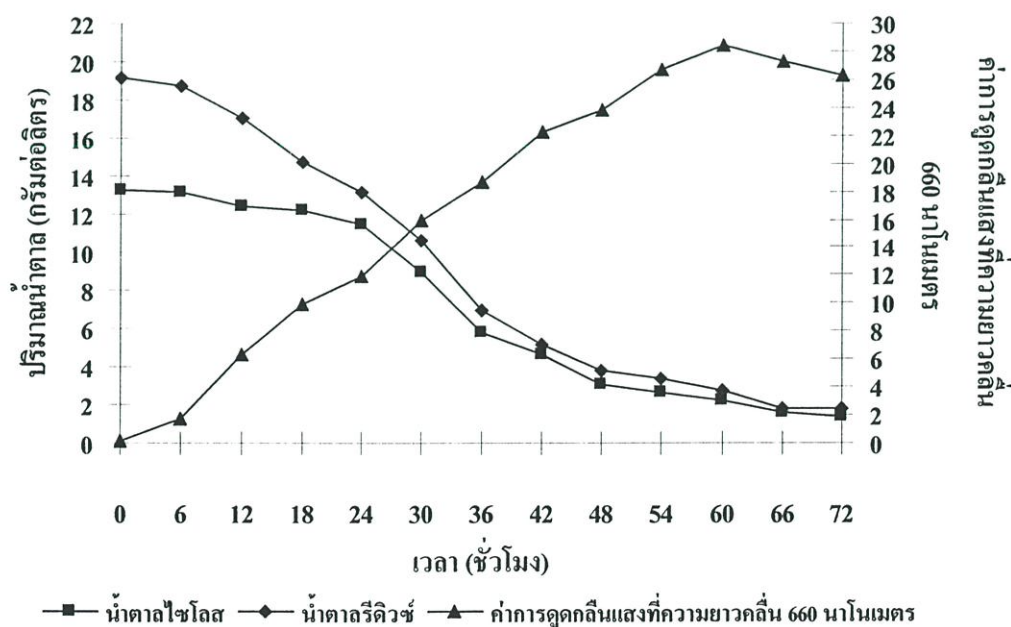
เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณน้ำตาลไซโลส (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวิซ์ (กรัมต่อลิตร)	อัตราการเจริญ (ที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร)
0	12.5574	19.0717	0.116
6	12.4959	18.7168	1.863
12	12.375	16.9570	6.483
18	12.6245	14.6129	10.206
24	10.5734	13.0002	11.933
30	8.2964	10.5089	16.273
36	5.5111	6.9068	19.133
42	4.1748	5.0824	22.450
48	2.7873	3.7706	23.367
54	2.4778	3.3046	26.700
60	2.0925	2.6846	27.900
66	1.1785	1.7813	26.683
72	1.0698	1.7276	26.302



ภาพที่ 4.17 ปริมาณน้ำตาลไซโลส น้ำตาลรีดิวิซ์ และอัตราการเจริญจากการศึกษาการลดปริมาณสารพิษโดยใช้ผงถ่านกัมมันต์ในอัตราส่วน 1 ต่อ 50

ตารางที่ 4.21 ปริมาณน้ำตาลไซโลส น้ำตาลรีควิซ์ และอัตราการเจริญจากการศึกษาการลดปริมาณสารพิษโดยใช้ผงถ่านกัมมันต์ในอัตราส่วน 1 ต่อ 100

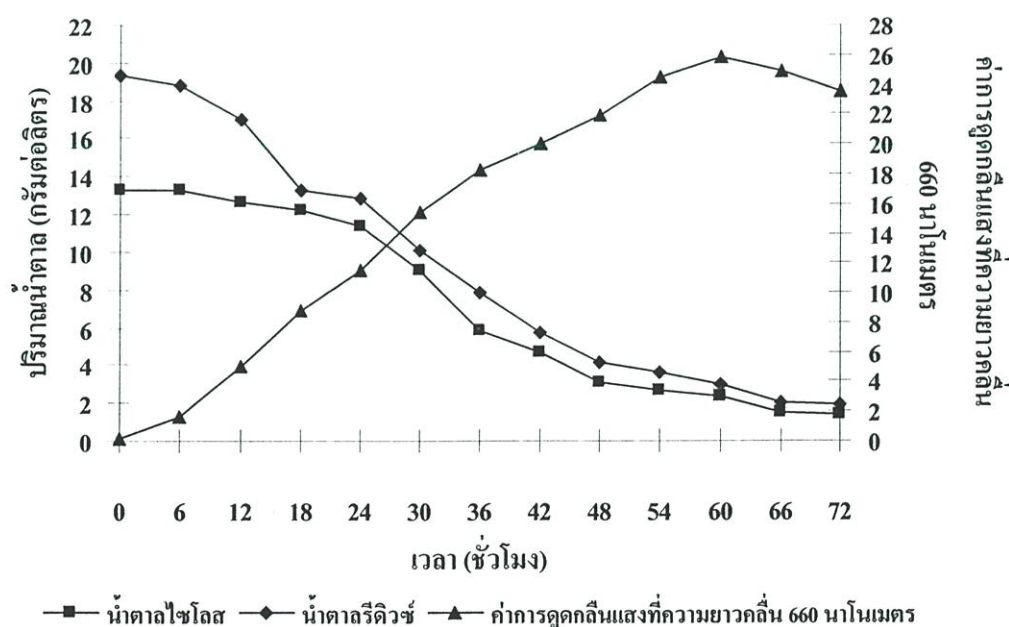
เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณน้ำตาลไซโลส (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีควิซ์ (กรัมต่อลิตร)	อัตราการเจริญ (ที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร)
0	13.2644	19.1935	0.114
6	13.1476	18.7778	1.713
12	12.4118	17.086	6.276
18	12.1639	14.7097	9.927
24	11.424	13.2007	11.893
30	8.9072	10.6270	15.973
36	5.8267	6.9713	18.683
42	4.6380	5.1864	22.300
48	3.0128	3.8315	23.767
54	2.6479	3.3727	26.666
60	2.2135	2.7849	28.350
66	1.5597	1.8279	27.250
72	1.3527	1.7742	26.216



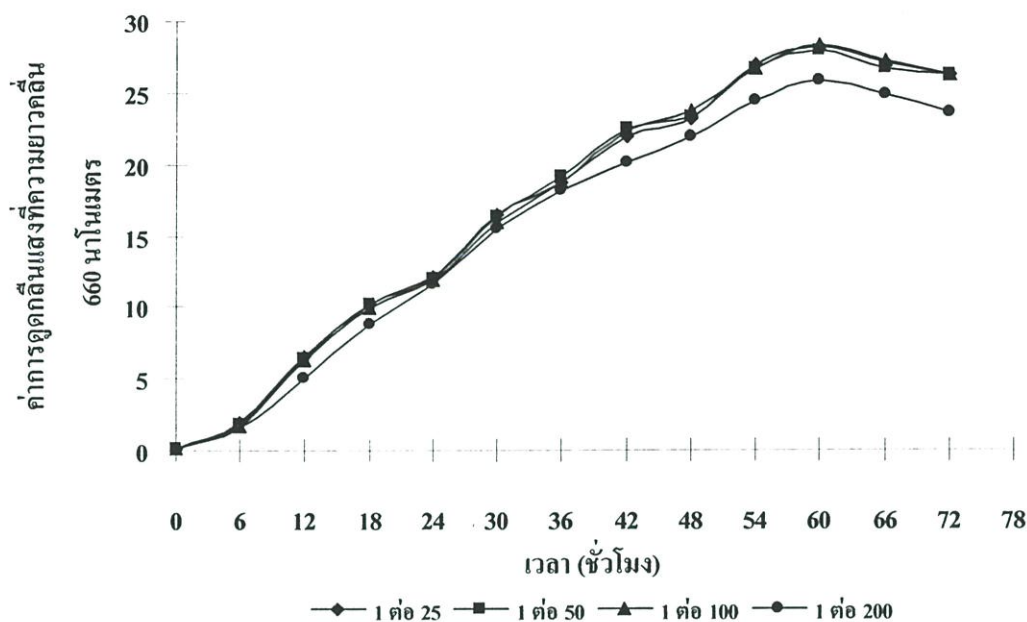
ภาพที่ 4.18 ปริมาณน้ำตาลไซโลส น้ำตาลรีควิซ์ และอัตราการเจริญจากการศึกษาการลดปริมาณสารพิษโดยใช้ผงถ่านกัมมันต์ในอัตราส่วน 1 ต่อ 100

ตารางที่ 4.22 ปริมาณน้ำตาลไซโลส น้ำตาลรีควิซ์ และอัตราการเจริญจากการศึกษาการลดปริมาณสารพิษโดยใช้ผงถ่านกัมมันต์ในอัตราส่วน 1 ต่อ 200

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณน้ำตาลไซโลส (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีควิซ์ (กรัมต่อลิตร)	อัตราการเจริญ (ที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร)
0	13.3136	19.2903	0.116
6	13.2439	18.7885	1.600
12	12.5943	17.0001	5.053
18	12.1864	13.2554	8.746
24	11.4076	12.8530	11.560
30	9.0711	10.1039	15.487
36	5.8698	7.8602	18.200
42	4.6421	5.7491	20.067
48	3.1173	4.1505	21.883
54	2.6582	3.6165	24.433
60	2.2913	2.9713	25.800
66	1.4613	2.0107	24.883
72	1.4121	1.9641	23.566



ภาพที่ 4.19 ปริมาณน้ำตาลไซโลส น้ำตาลรีควิซ์ และอัตราการเจริญจากการศึกษาการลดปริมาณสารพิษโดยใช้ผงถ่านกัมมันต์ในอัตราส่วน 1 ต่อ 200



ภาพที่ 4.20 เปรียบเทียบอัตราการเจริญจากการศึกษาการลดปริมาณสารพิษ โดยใช้ผงถ่านกัมมันต์ ในอัตราส่วน 1 ต่อ 25, 1 ต่อ 50, 1 ต่อ 100 และ 1 ต่อ 200

ตารางที่ 4.23 เปรียบเทียบอัตราส่วนที่เหมาะสมในการลดปริมาณสารพิษด้วยผงถ่านกัมมันต์

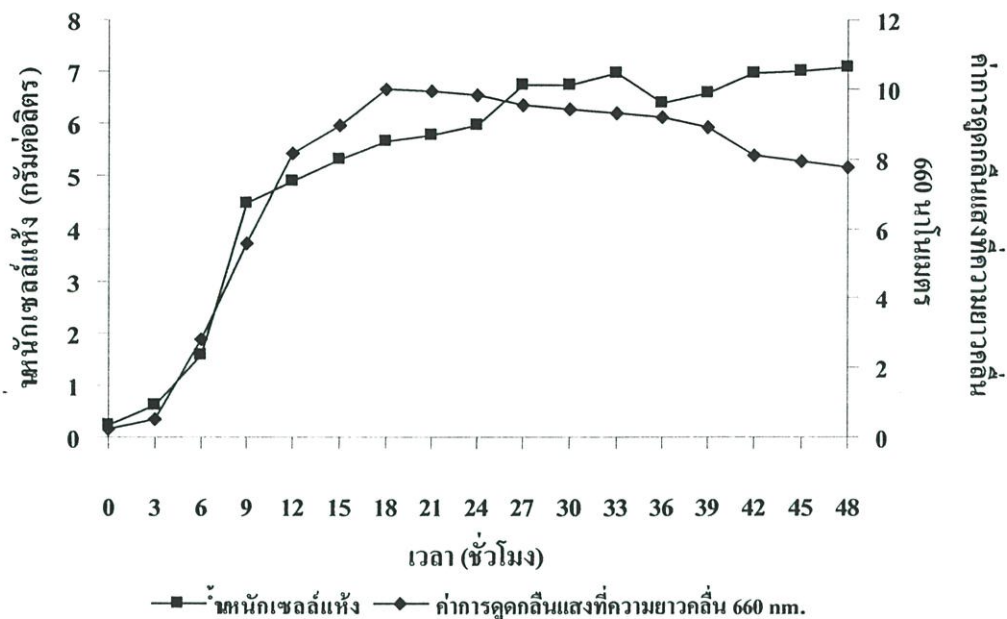
อัตราส่วน ผงถ่านกัมมันต์ต่อไฮโดรไลเสท (กรัมต่อมิลลิลิตร)	อัตราการเจริญสูงสุด (ที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร)
1 ต่อ 25	28.1667 ^{ab}
1 ต่อ 50	27.9000 ^b
1 ต่อ 100	28.3500 ^a
1 ต่อ 200	25.8000 ^c

4.4 ผลการศึกษาอัตราการเจริญของเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ในอาหารสังเคราะห์ (YM medium)

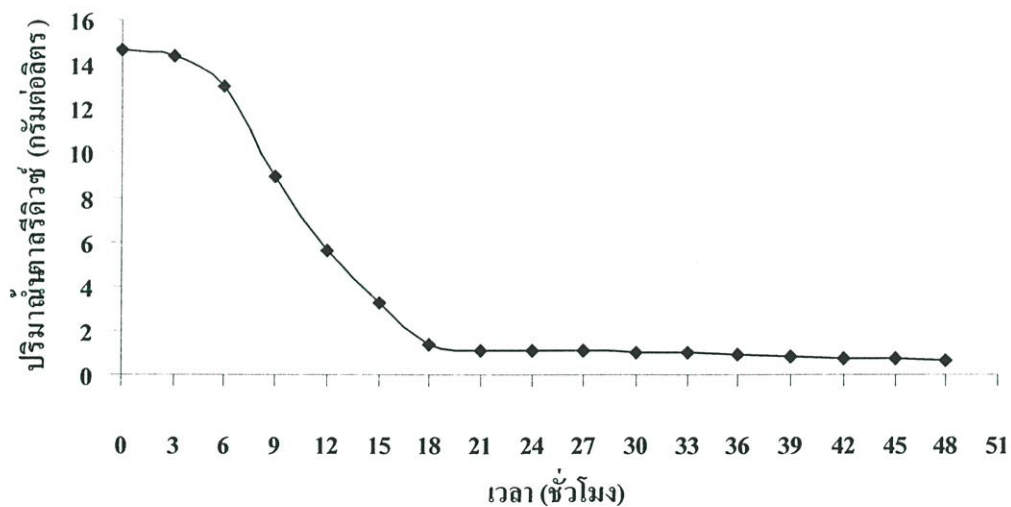
ผลของการศึกษาอัตราการเจริญของเชื้อ *D. hansenii* TISTR 5155 ในอาหารสังเคราะห์ (สูตรอาหารคังภาคผนวก ก.) โดยนำไปเลี้ยงบนเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิได้ในสภาวะที่มีอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างทุก 3 ชั่วโมง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าจะมีอัตราการเจริญสูงสุดในชั่วโมงที่ 18 โดยดูได้จากค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร เป็น 9.98 และค่าน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 5.6667 กรัมต่อลิตร ดังแสดงในตารางที่ 4.24 ภาพที่ 4.21 และ 4.22

ตารางที่ 4.24 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ น้ำหนักเซลล์แห้ง และอัตราการเจริญจากการศึกษาอัตราการเจริญของเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ในอาหารสังเคราะห์

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	อัตราการเจริญ (ที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร)
0	14.6731	0.2334	0.204
3	14.4086	0.6002	0.521
6	13.043	1.5667	2.791
9	8.9569	4.4667	5.566
12	5.6161	4.9012	8.167
15	3.2365	5.3330	8.933
18	1.3183	5.6667	9.980
21	1.0570	5.7667	9.940
24	1.0537	5.9667	9.840
27	1.0462	6.7333	9.527
30	1.0200	6.7333	9.413
33	0.9785	6.9667	9.300
36	0.9064	6.4003	9.167
39	0.7957	6.5667	8.893
42	0.7419	6.9667	8.101
45	0.6989	7.0015	7.940
48	0.6774	7.0667	7.740



ภาพที่ 4.21 ค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง และอัตราการเจริญจากการศึกษาอัตราการเจริญของเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ในอาหารสังเคราะห์



ภาพที่ 4.22 ค่าน้ำตาลรีดิวซ์จากการศึกษาอัตราการเจริญของเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ในอาหารสังเคราะห์

4.5 ผลการศึกษาอัตราการเจริญของเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ในอาหารไฮโดรไลเสท

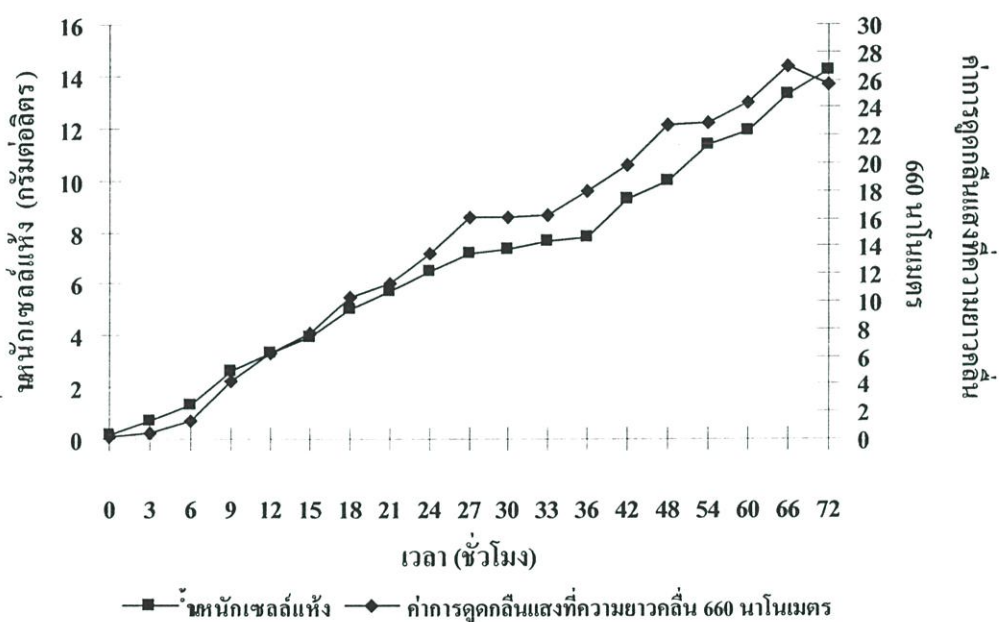
ผลของการศึกษาอัตราการเจริญของเชื้อ *D. hansenii* TISTR 5155 โดยนำไฮโดรไลเสทที่ผ่านกระบวนการโอเวอร์ไลมิงและการลดปริมาณสารพิษด้วยผงถ่านกัมมันต์ที่ระยะเวลาและอัตราส่วนที่เหมาะสมจากการทดลองที่ 4.3.1 และ 4.3.2 มาเตรียมเป็นอาหารเพื่อเลี้ยงเชื้อ *D. hansenii* TISTR 5155 บนเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิได้ในสภาวะที่มีอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างทุก 3 ชั่วโมง เป็นเวลา 36 ชั่วโมง และเก็บตัวอย่างทุก 6 ชั่วโมง จนครบ 72 ชั่วโมง พบว่าจะมีอัตราการเจริญสูงสุดในชั่วโมงที่ 66 โดยคู่ได้จากค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร เป็น 26.933 และค่าน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 13.3 กรัมต่อลิตร ดังแสดงในตารางที่ 4.25 ภาพที่ 4.23 และ 4.24

ตารางที่ 4.25 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ น้ำหนักเซลล์แห้ง และอัตราการเจริญจากการศึกษาอัตราการเจริญของเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ในอาหารไฮโดรไลเสท

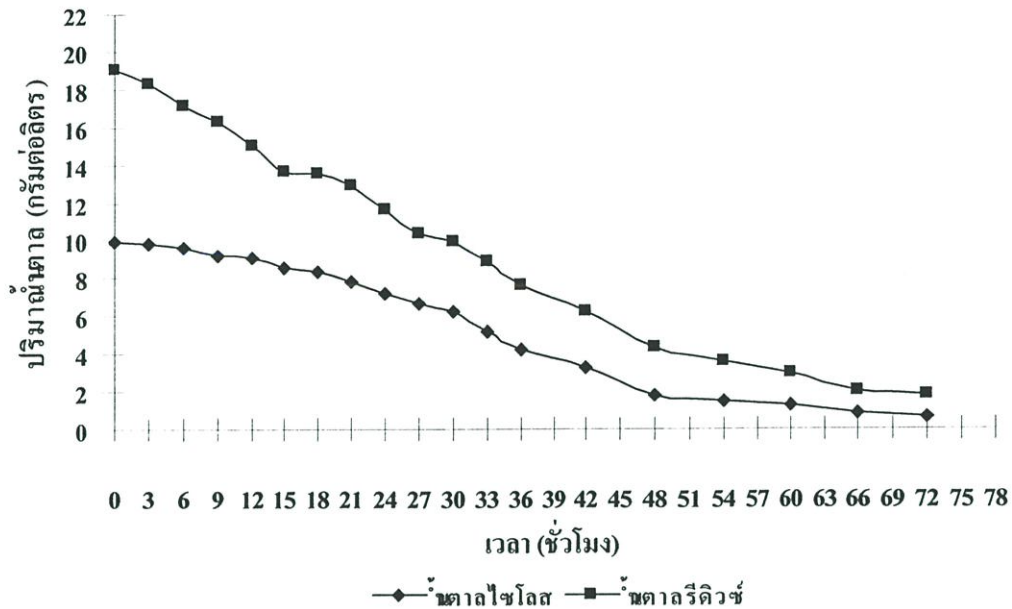
เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณน้ำตาลไฮโดรไลส (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	อัตราการเจริญ (ที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร)
0	9.9627	19.0824	0.1333	0.204
3	9.7967	18.3405	0.7005	0.470
6	9.6102	17.1541	1.3333	1.340
9	9.2474	16.2903	2.6334	4.171
12	9.1142	15.0322	3.3333	6.277
15	8.5690	13.5985	3.9667	7.666
18	8.3210	13.4874	5.0005	10.280
21	7.8414	12.9104	5.7334	11.320
24	7.1466	11.5842	6.4667	13.517
27	6.6343	10.3604	7.1667	16.116
30	6.1916	9.9606	7.3334	16.150
33	5.1402	8.8566	7.6333	16.300
36	4.1892	7.5914	7.8012	17.916
42	3.2505	6.1935	9.2667	19.867
48	1.8036	4.3584	9.9333	22.717

ตารางที่ 4.25 (ต่อ)

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณน้ำตาล ไซโลส (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาล รีดิวซ์ (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักรีดิวซ์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	อัตราการเจริญ (ที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร)
54	1.5125	3.6165	11.3333	22.850
60	1.2543	2.9247	11.9333	24.300
66	0.8239	2.0430	13.3003	26.933
72	0.6374	1.7598	14.2013	25.716



ภาพที่ 4.23 ค่าน้ำหนักรีดิวซ์แห้ง และอัตราการเจริญจากการศึกษาอัตราการเจริญของเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ในอาหารไฮโดรไลเสท



ภาพที่ 4.24 ค่าน้ำตาลไซโลสและน้ำตาลรีควิซ์จากการศึกษาอัตราการเจริญของเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ในอาหารไฮโครไลเสท

4.6 ผลการศึกษาเปรียบเทียบการผลิตน้ำตาลไซลิทอลระหว่างอาหารสังเคราะห์และอาหารไฮโครไลเสท

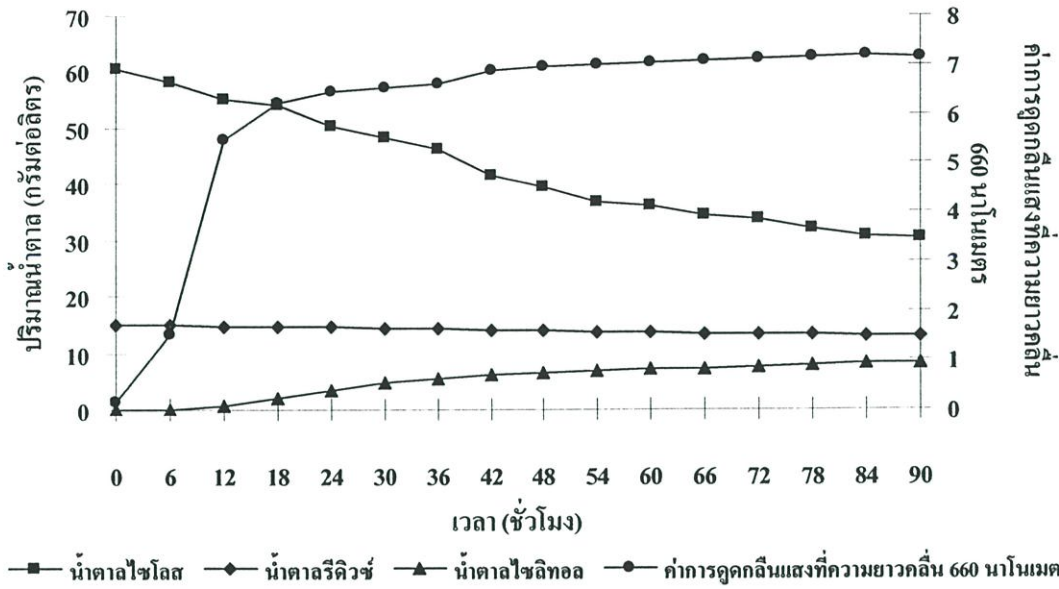
จากการศึกษาเปรียบเทียบอัตราการเจริญและการผลิตน้ำตาลไซลิทอลโดยเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ระหว่างอาหารสังเคราะห์และอาหารไฮโครไลเสท ซึ่งมีปริมาณน้ำตาลไซโลสเริ่มต้นใกล้เคียงกันคือ 60 กรัมต่อลิตร โดยเลี้ยงบนเครื่องเขย่าควบคุม อุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ความเร็ว 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นลดความเร็วลง เหลือ 140 รอบต่อนาที เพื่อจำกัดการให้ออกซิเจน เก็บตัวอย่างทุก 6 ชั่วโมง เป็นเวลา 90 ชั่วโมง พบว่าในอาหารสังเคราะห์สามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ 8.1641 กรัมต่อลิตร โดยใช้ น้ำตาลไซโลสไป 29.9072 กรัมต่อลิตร คิดเป็นผลได้เท่ากับ 0.2730 กรัม น้ำตาลไซลิทอลต่อกรัม น้ำตาลไซโลส ดังตารางที่ 4.26 และภาพที่ 4.25

Kazunori *et. al.* (2000) ได้ศึกษาการนำระบบ fuzzy control เข้ามาช่วยควบคุมปริมาณออกซิเจนเพื่อผลิตน้ำตาลไซลิทอลโดยเชื้อ *Candida magnoliae* ซึ่งขั้นแรกได้ศึกษาการผลิตน้ำตาลไซลิทอลดังกล่าวใน 3 สภาวะคือ สภาวะที่มีอากาศเต็มที่ สภาวะที่ไม่มีอากาศ และสภาวะ microaerobic พบว่าใน 2 สภาวะแรกไม่มีการส่งเสริมการผลิตน้ำตาลไซลิทอล แต่ในสภาวะที่มีการจำกัดอากาศ จะส่งเสริมให้มีการผลิตน้ำตาลไซลิทอลมาก โดยในแต่ละสภาวะจะมีการผลิตน้ำตาลไซลิทอลเท่ากับ 10, 8 และ 56 กรัมต่อลิตร

Hahn-Hagerdal *et. al.* (1994) รายงานว่าภายใต้สภาวะการขาดออกซิเจน น้ำตาลไซลิทอล จะถูกขับออกมาจำนวนมากเพราะ NADH ที่ทำหน้าที่เป็น โคเอนไซม์ไม่สามารถเปลี่ยนเป็น NAD⁺ ได้สมบูรณ์ซึ่งตรงข้ามกับภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน เนื่องจากจะผลิตมวลเซลล์เป็นหลัก

ตารางที่ 4.26 ปริมาณน้ำตาลไซโลส น้ำตาลรีดิวิซ์ น้ำตาลไซลิทอล และอัตราการเจริญจากการศึกษาอัตราการเจริญของเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ในอาหารสังเคราะห์ที่มีน้ำตาลไซโลส 60 กรัมต่อลิตร

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณน้ำตาล ไซโลส (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาล รีดิวิซ์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาล ไซลิทอล (กรัมต่อลิตร)	อัตราการเจริญ (ที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร)
0	60.4402	14.9821	0.0020	0.139
6	58.0833	14.8566	0.1043	1.510
12	55.1935	14.7455	0.7188	5.480
18	54.1892	14.6487	1.9966	6.210
24	50.2336	14.4982	3.4530	6.430
30	48.4096	14.3261	4.6461	6.520
36	46.3805	14.1326	5.4923	6.600
42	41.5437	13.8817	6.0530	6.880
48	39.4532	13.7670	6.342	6.950
54	36.8503	13.6308	6.9641	6.986
60	35.9075	13.4910	7.1880	7.043
66	34.4728	13.4086	7.2342	7.070
72	33.5301	13.3154	7.5538	7.116
78	31.9724	13.1684	7.7640	7.150
84	30.5378	12.9391	8.1333	7.166
90	30.3533	12.8387	8.1641	7.156

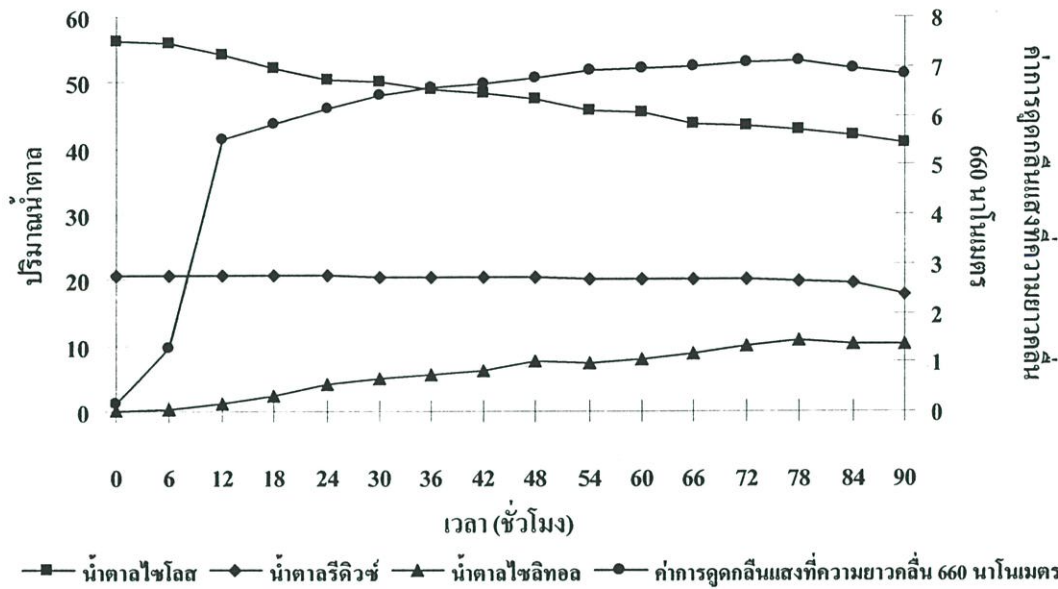


ภาพที่ 4.25 ปริมาณน้ำตาลไซโลส น้ำตาลรีควิวซ์ น้ำตาลไซลิทอล และอัตราการเจริญจากการศึกษาอัตราการเจริญของเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ในอาหารสังเคราะห์ที่มีน้ำตาลไซโลส 60 กรัมต่อลิตร

ผลการศึกษากการผลิตน้ำตาลไซลิทอลในอาหารไฮโครไลสเมือเลี้ยงเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 เป็นเวลา 90 ชั่วโมง พบว่าเมื่อสิ้นสุดการศึกษาสามารถให้ผลผลิตน้ำตาลไซลิทอลเท่ากับ 10.2872 กรัมต่อลิตร โดยใช้ปริมาณน้ำตาลไซโลสทั้งสิ้น 15.4329 กรัมต่อลิตร คิดเป็นผลได้เท่ากับ 0.6667 กรัมน้ำตาลไซลิทอลต่อกรัมน้ำตาลไซโลส ดังตารางที่ 4.27 และภาพที่ 4.26

ตารางที่ 4.27 ปริมาณน้ำตาลไซโลส น้ำตาลรีดิวิซ์ น้ำตาลไซลิทอล และอัตราการเจริญจากการศึกษาอัตราการเจริญของเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ในอาหารไฮโครไลสที่มีน้ำตาลไซโลส 60 กรัมต่อลิตร

เวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณน้ำตาล ไซโลส (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาล รีดิวิซ์ (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาล ไซลิทอล (กรัมต่อลิตร)	อัตราการเจริญ (ที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร)
0	56.2592	20.5694	0.0008	0.152
6	55.8903	20.5591	0.3932	1.280
12	54.1072	20.5484	1.1898	5.496
18	52.0782	20.5412	2.3197	5.826
24	50.4796	20.5341	4.1609	6.140
30	50.2336	20.5161	4.9316	6.400
36	49.0654	20.4408	5.3915	6.550
42	48.3891	20.4193	6.2393	6.640
48	47.5898	20.3978	7.4838	6.760
54	45.6222	20.1935	7.3607	6.910
60	45.4377	20.1720	7.7744	6.950
66	43.7162	20.1075	8.7060	7.000
72	43.4087	19.9892	9.8205	7.070
78	42.8554	19.8172	10.7001	7.100
84	41.9946	19.5699	10.1624	6.940
90	40.8263	17.8161	10.2872	6.827



ภาพที่ 4.26 ปริมาณน้ำตาลไซโลส น้ำตาลรีดิซ น้ำตาลไซลิทอล และอัตราการเจริญจากการศึกษาอัตราการเจริญของเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ในอาหารไฮโดรไลเสทที่มีน้ำตาลไซโลส 60 กรัมต่อลิตร

จากผลการศึกษาถึงความสามารถในการผลิตน้ำตาลไซลิทอลของเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ในอาหารสังเคราะห์และอาหารไฮโดรไลเสทที่มีปริมาณน้ำตาลไซโลสเริ่มต้นใกล้เคียงกันคือ 60 กรัมต่อลิตร เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับผลได้ของน้ำตาลไซลิทอล พบว่าในอาหารไฮโดรไลเสทให้ผลได้น้ำตาลไซลิทอล 0.6667 กรัมต่อกรัมน้ำตาลไซโลส สำหรับในอาหารสังเคราะห์จะให้ผลได้น้ำตาลไซลิทอล 0.2730 กรัมต่อกรัมน้ำตาลไซโลส อาจเกิดจากในอาหารไฮโดรไลเสทจะมีองค์ประกอบของน้ำตาลหลายชนิดเป็นแหล่งคาร์บอน ซึ่งต่างจากอาหารสังเคราะห์ที่มีเพียงน้ำตาลไซโลสและกลูโคส อาจเป็นเหตุให้เชื้อมีการใช้น้ำตาลตัวอื่นในการรักษาเซลล์ ซึ่งสอดคล้องกับการวิจัยของ Kull and Inglett (1980) พบว่าในไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยสลายลิกโนเซลลูโลสจะมีสารประกอบหลักคือ น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลไซโลส และยังมีน้ำตาลอะราบิโนส น้ำตาลแมนโนสและน้ำตาลแลคโตสเป็นองค์ประกอบด้วย

Ladisich and Svarczkopf (1991) รายงานถึงการย่อยเฮมิเซลลูโลสด้วยกรดหรือเอนไซม์จะให้สารประกอบของน้ำตาลหลายชนิดซึ่งประกอบด้วยน้ำตาลคาร์บอน 5 อะตอม ได้แก่ น้ำตาลไซโลสและอะราบิโนส และคาร์บอน 6 อะตอม ได้แก่ น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลแมนโนส และน้ำตาลกาแลคโตส

Girio *et al.* (1999) ศึกษาการผลิตน้ำตาลแอลกอฮอล์ระหว่างใช้สับเสตรชนิดเดียวและสับเสตรผสม พบว่าในอาหารที่มีน้ำตาลอะราบิโนสเพียงชนิดเดียวสามารถผลิตน้ำตาลได้สองชนิดคือ น้ำตาลอะราบิทอลและน้ำตาลไซลิทอล แต่จะผลิตน้ำตาลอะราบิทอลมากกว่า

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย

จากผลการศึกษการย่อยสลายเฮมิเซลลูโลสจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรและอุตสาหกรรมการแปรรูปไม้เพื่อผลิตน้ำตาลไซลิทอลโดยเชื้อ *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155 ซึ่งทำการศึกษาวัตถุดิบ 3 ชนิด ได้แก่ ฟางข้าว ขี้เลื่อย และแกลบ โดยจากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายวัตถุดิบ พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายฟางข้าวคือที่อุณหภูมิ 126 องศาเซลเซียส นาน 90 นาที โดยใช้สารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 1.2 โมลต่อลิตร ที่อัตราส่วนระหว่างวัตถุดิบและสารละลายกรด 1 ต่อ 20 ได้น้ำตาลไซโลส 40.3345 กรัมต่อลิตร ขี้เลื่อยจะมีสภาวะในการย่อยสลายที่อุณหภูมิ 126 องศาเซลเซียส นาน 270 นาที ที่สารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 0.3 โมลต่อลิตร ที่อัตราส่วน 1 ต่อ 20 ได้น้ำตาลไซโลส 18.4866 กรัมต่อลิตร และแกลบจะมีสภาวะในการย่อยสลายที่อุณหภูมิ 126 องศาเซลเซียส นาน 180 นาที ที่สารละลายกรดซัลฟิวริกที่ความเข้มข้น 0.6 โมลต่อลิตร โดยได้น้ำตาลไซโลส 10.4525 กรัมต่อลิตร ที่อัตราส่วน 1 ต่อ 30 หลังจากนั้นได้ทำการคัดเลือกฟางข้าวมาเป็นวัตถุดิบเริ่มต้นในการผลิตน้ำตาลไซลิทอล เนื่องจากใช้เวลาในการย่อยสลายน้อยกว่าที่อุณหภูมิเดียวกันคือ 90 นาที และได้ปริมาณน้ำตาลไซโลสสูงกว่าขี้เลื่อยและแกลบถึง 2.1818 และ 3.8588 เท่า ตามลำดับ

เมื่อคัดเลือกฟางข้าวเป็นวัตถุดิบเริ่มต้นในการผลิตน้ำตาลไซลิทอลมาศึกษาการลดปริมาณสารพิษด้วยกระบวนการโอเวอร์ไลมิงและผงถ่านกัมมันต์ โดยศึกษาจากอัตราการเจริญของเชื้อ *D. hansenii* TISTR 5155 พบว่าไฮโดรไลเซตที่ผ่านกระบวนการโอเวอร์ไลมิงจะมีการเจริญสูงสุดในชั่วโมงที่ 54 และจากการศึกษาการลดพิษด้วยผงถ่านกัมมันต์ พบว่าใช้ระยะเวลาการลดปริมาณสารพิษ 1 ชั่วโมง ในอัตราส่วนของผงถ่านกัมมันต์ต่อไฮโดรไลเซตเป็น 1 ต่อ 100 โดยมีอัตราการเจริญสูงสุดในชั่วโมงที่ 60 โดยมีอัตราการเจริญสูงสุดเท่ากับ 28.3500 และเมื่อทำการศึกษการเจริญของเชื้อ *D. hansenii* TISTR 5155 ในอาหารสังเคราะห์ และอาหารไฮโดรไลเซต พบว่าในอาหารสังเคราะห์จะมีอัตราการเจริญสูงสุดในชั่วโมงที่ 18 โดยมีค่าการเจริญเท่ากับ 9.980 สำหรับในไฮโดรไลเซตจะมีอัตราการเจริญสูงสุดในชั่วโมงที่ 66 โดยมีค่าการเจริญเท่ากับ 26.933 และเมื่อศึกษาเปรียบเทียบอัตราการเจริญ และการผลิตน้ำตาลไซลิทอลระหว่างอาหารสังเคราะห์กับอาหารไฮโดรไลเซต พบว่าในอาหารสังเคราะห์สามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ 8.1641 กรัมต่อลิตร โดยใช้ น้ำตาลไซโลสไป 29.9072 กรัมต่อลิตร คิดเป็นผลได้เท่ากับ 0.2730 กรัมต่อกรัม น้ำตาลไซโลส แต่ในอาหารไฮโดรไลเซตสามารถให้ผลผลิตน้ำตาลไซลิทอลเท่ากับ 10.2872 กรัมต่อลิตร โดยใช้ ปริมาณน้ำตาลไซโลสทั้งสิ้น 15.4329 กรัมต่อลิตร คิดเป็นผลได้เท่ากับ 0.6667 กรัมต่อกรัม น้ำตาล

ไซโลส ซึ่งจากการศึกษาในขั้นสุดท้ายพบว่าในอาหารไฮโดรไลเสทนั้นมีประสิทธิภาพในการผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้สูงกว่าในอาหารสังเคราะห์

ข้อเสนอแนะ

ถ้าดูจากค่าใช้จ่ายในการผลิตน้ำตาลไซลิทอล 1 กรัม ที่ได้จากการศึกษาด้วยกระบวนการทางชีวภาพพบว่ายังไม่คุ้มค่าในเชิงพาณิชย์เนื่องจากใช้ระยะเวลาในการผลิตและต้องใช้เครื่องมือเข้ามาควบคุมปริมาณการให้ออกซิเจนเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพสำหรับการผลิตน้ำตาลไซลิทอลโดยจุลินทรีย์ แต่จากผลการศึกษาก็นำไปสู่แนวคิดในการพัฒนากระบวนการผลิตได้หลายประการเช่น 1. ศึกษาการผลิตในกระบวนการหมักที่สามารถควบคุมอัตราการให้ออกซิเจนได้ดี 2. ใช้ระบบการหมักแบบต่อเนื่องเพื่อให้มีการผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้ตลอดเวลา 3. ใช้จุลินทรีย์แบบตรึงเซลล์ (โดยเลือกจุลินทรีย์ที่สามารถทนความเข้มข้นของน้ำตาลไซโลสสูง) เพื่อให้สามารถนำเซลล์กลับมาใช้ใหม่ได้ นอกจากนี้หากมีการศึกษาพัฒนาที่มากขึ้นกระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพอาจทำให้ต้นทุนการผลิตน้ำตาลไซลิทอลลดลงตลอดทั้งช่วยแก้ปัญหาขยะที่เกิดจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรรวมถึงลดการใช้โลหะหนักในการผลิตน้ำตาลไซลิทอลด้วยกระบวนการทางเคมีอีกด้วย

บรรณานุกรม

- นรินทร์ เรื่องพานิชย์. 2541. “ผลของกลูโคสต่อการผลิตไซลิตอลจากไซโลสภายใต้สภาวะจำกัดออกซิเจน.” เทคนิควิจัย ปรียญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต คณะอุตสาหกรรมเกษตร ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- วิเชียร สีสุข. 2532. “การย่อยสลายวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรด้วยเอนไซม์จาก *Aspergillus fumigatus* fresenius รหัส 4-45-1F.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต คณะอุตสาหกรรมเกษตร ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- วรสิทธิ์ โทงำปา. 2541. “การผลิตไซลิตอลโดยการหมุนเวียนเซลล์ Hollow fiber.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต คณะอุตสาหกรรมเกษตร ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สาโรจน์ ศิริสันสนียกุล. 2537. “สารให้ความหวานจากฟางข้าว.” รายงานการประชุมวิชาการ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 32 สาขาอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- สาโรจน์ ศิริสันสนียกุล. 2537. “ไซลิตอล.” วารสารจารย์พา. 11 : 18-21.
- สาโรจน์ ศิริสันสนียกุล. 2537. “ไซลิตอล.” วารสารจารย์พา. 12 : 28-32.
- สาโรจน์ ศิริสันสนียกุล. 2537. “ไซลิตอล.” วารสารอุตสาหกรรมเกษตร. 5(3) : 13-27.
- Adams, G.A. 1965. “Xylan : Arabinoglucuronoxylan, Arabinoxylan and Xylan : Purification Using a Copper Complex and Purification by Fractional Precipitation of Acetales.” **Method in Carbohydrate Chemistry.** 5 : 170-175.
- Adler, L. and Gustafsson, L. 1980. “Polyhydric Alcohol Production and Intracellular Amino Acid Pool in Relation to Halotolerance of the Yeast *Debaryomeces hansenii*.” **Arch. Microbiol.** 124 : 123-130.
- Amaral-Collaco, M.T. et. al. 1990. “**Advances of Biological Treatment of Lignocellulosic Materials.**” Elsevier Applied Science. London.
- Angell, S. and Morris, F.W. 1936. “Hemicellulose V. Additional Notes on the Hemicelluloses of Maize Cobs.” **J. Biochem.** 30 : 2,155-2,165.
- Arron, M.A. 1993. **Low Caloric Food Handbooks.** Georgetown University School of Medicine Washinston DC. USA.
- Aspinall, G.O. 1959. “Structural Chemistry of Hemicellulose.” **Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.** 14 : 429-468.

- Aspinall, G.O. et. al. 1969. "The Degradation of Xylan by Alkali." **J. Chem. Soc.** 3,667-3,674.
- Aspinall, G.O. and McKay, J.E. 1959. "The Hemicellulose of European Larch (*Larix decidua*), The Constitution of a Xylan." **J. Chem. Soc. I.** 1,059-1,066.
- Avgerinos, G.C. and Wang, D.I.C. 1983. "Selective Solvent Delignification for Fermentation Enhancement." **Biotech. Bioeng.** 25 : 67-83.
- Barbosa, M.F.S. et. al. 1988. "Screening of Yeasts For Production of Xylitol from D-Xylose and Some Factors which Effect Xylitol Yield in *Candida guilliermondii*." **J. Ind. Microbial. Biotechnol.** 3 : 241-251.
- Barnett, J.A. 1976. "The Utilization of Sugars by Yeast." **Adv. Carbohydrate. Chem. Biochem.** 32 : 125-234.
- Biely, P. 1985. "Microbial Xylanolytic System." **Trends 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.
- Barber, 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.
- Brauns, F.E. and Brauns. D.A. 1960. "**The Chemistry of Lignin Covering the Literature for the Years.**" 1949-1958. New York : Academic Press.
- Cao, N.J. et. al. 1994. "The Effect of Cell Density on the Production of Xylitol from D-Xylose by Yeast." **Appl. Biochem. Biotechnol.** 45-46 : 515-9.
- Chanda, S.K. et. al. 1950. "The Constitution of Xylan from Esparto Grass (*Stipa tenacissimes*)." **J. Chem. Soc.** 1,289-1,297.
- Chen, L.F. and Gong, S.S. 1985. "Fermentation of Sugarcane Bagasse Hemicellulose Hydrolysate to Xylitol by a Hydrolysate Acclimatized Yeast." **J. Food Sci.** 50 : 226-228.
- Chiang, C. and Knight, S.G. 1960. "Metabolism of D-Xylose by Molds." **Nature.** 188 :79-81.
- Coughlan, P.M. and Hazlewood, P.M. 1993. " β -1,4-D-Xylan-Degradating Enzyme Systems : Biochemistry, Molecular Biology and Application." **Biotechnol. and Appl Biochem.** 17 : 259-289.

- Cowling, E.B. and Kirk, T.K. 1976. "Properties of Cellulose and Lignocellulose Materials 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.
- Deschatelets, L. and Yu, E.K.C. 1986. "A Simple Pentose Assay for Biomass Conversion Studies." **Appl. Microbiol. Biotechnol.** 24 : 379-397.
- Dominguez, J.M. et. al. 1996. "Pretreatment of Sugar Cane Bagasse Hemicellulose Hydrolysate for Xylitol Production by Yeasts." **Appl. Biochem. Biotechnol.** 57/58 : 49-56.
- Dominguez, J.M. et. al. 1997. "Dilute Acid Hemicellulose Hydrolysates from Corn Cobs for Xylitol Production by Yeast." **Biores. Technol.** 61(1) : 85-90.
- Dominguez, J.M. 1998. "Xylitol Production by Free and Immobilized *Debaryomyces hansenii*." **Biotechnol. Lett.** 20 : 53-56.
- Du Preez, J.C. 1994. "Process Parameters and Environmental Factors Affecting D-Xylose Fermentation by Yeasts," **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.
- Dwyer, O. 1939. "The Hemicellulose of the Wood of the English Oak IV. The Structure of Hemicellulose A." **Biochem. J.** 33 : 713-717.
- Emodi, A. 1982. "Xylose : It's Properties and Food Applications." **Food Technol.** Jan : 28-32.
- Eriksson. K.E.L. 1990. "Biotechnology in the Plup and Paper Industry" **Wood Science and Technology.** 24 : 79-101.
- Evan, C.T. and Ratledge, C. 1984. "Induction of Xylulose-5-phosphate phosphoketolase in a Variety of Yeast Grown on D-Xylose : The key of Efficient Xylose Matabolism." **Arch. Microbial.** 139 : 48-52.
- Evans, C. 1987. "Lignin Degradation." **Process Biochem.** 22 (4) : 102-105.
- Felipe, M.G.A. et. al. 1997. "Environmental Parameters Affecting Xylitol Production from Sugar Cane Bagasse Hemicellulosic Hydrolysate by *Candida guilliermondii*." **J. Ind. Microb. Biotechnol.** 18 : 251-254.
- Fiechter, A. 1986. "Biodegradation of Lignocellulose Material. Microbial Utilization of Renewable Resources." **Biotech. Bioeng.** 28 : 283-290.

- Furlan, S.A. et. al. 1991. "Study of Xylitol Formation under Oxygen Limited Condition." **Biotechnol. Lett.** 13 : 203-206.
- Furlan, S.A. et. al. 1994. "Influence of Oxygen on Ethanol and Xylitol Production by Xylose Fermenting Yeasts." **Process Biochem.** 29 : 657-662.
- Girio, F.M. et. al. 1999. "Polyols Production During Single and Mixed Substrate Fermentation in *Debaryomyces hansenii*." **Biores. Technol.** 71 : 245-251.
- Goldschmid, H. and Perlin, A.S. 1963. "Interbranch Sequences in the Wheat Arabino Xylan, Selective Enzymolysis Studies." **Canadian Journal of Chemistry.** 41 : 2,272-2,277.
- Gong, C.S. et. al. 1981. "Quantitative Production of Xylitol from D-Xylose by High-Xylitol Producing Yeasts Mutant *Candida tropicalis* HXP2." **Biotechnol. Bioeng.** 25 : 85-102.
- Gong, C.S. et. al. 1983. "D-Xylose Metabolism by Mutant Strains of *Candida sp.*" **Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.** 27 : 33-55.
- Gupta, A. and Madamwar, D. 1997. "Solid State Fermentation of Lignocellulosic Waste for Cellulose and β -Glucosidase Production By Cocultivation of *Aspergillus ellipticus* and *Aspergillus fumigatus*." **Biotech. Progress.** 13 (2) : 166-169.
- Hagglund, E. et. al. 1956. "Dimethylsulphoxide, A Solvent for Hemicellulose." **Acta. Chem. Scan. B.** 10 : 1,160-1,164.
- Hamilton, J.K. et. al. 1958. "The Behaviour of Wood Hemicellulose, During Pulping I, Examination of the Xylose Containing Hemicellulose Associated with Hard Wood and Soft Wood Pulps. Part II the Structure of the 4-O-Methylglucuronoxylan, Arabinoxylan and Xylan of Southern Pine Pulps." **Tappi.** 41 : 803-816.
- Hofer, M.A. et. al. 1971. "Metabolism of the Obligatory Aerobic Yeast *Rhodotorula gracilis* : Introduction of an Enzyme Necessary for D-Xylose Catabolism." **Biochem. Biophys. Acta.** 252 : 1-12.
- Hollmann, S. and Touster, O. 1957. "L-Xylulose-Xylitol Enzyme and Other Polyoldehydrogenase of Guinea Pig Liver Mitochondria." **J. Biol. Chem.** 225 : 87-102.
- Horitsu, H. et. al. 1992. "Production of Xylitol from D-Xylose by *Candida tropicalis* : Optimization of Production Rate." **Biotechnol. Bioeng.** 40 : 1,085-1,091.
- Hyvoenen, L. et. al. 1982. "Food Technological Evaluation of Xylitol." **Adv. Food Res.** 18 : 373-403.

- Jackson, M.G. 1977. "The Alkali Treatment of Straws." **Animal Feed Science and Technol.** 2 (2) : 105-130.
- Jayme, G. and Satree, M. 1942. "Oxidation of Xylan with Periodic Acid I. Use of Buttered Periodic Acid." **Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft** 75B. 1,840-1,850.
- Jeffries, T.W. 1983. "Utilization of Xylose by Bacteria, Yeasts and Fungi." **Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.** 27 : 1-32.
- Kastner, J.R. et. al. 1996. "Effect of Xylitol on the Metabolism and Viability of *Candida shehatae*." **Biotechnol. Lett.** 18 : 31-34.
- Kazunori, N. et. al. 2000. "Production of Highly Concentrated Xylitol by *Candida magnoliae* Under a Microaerobic Condition Maintained by Simple Fuzzy Control." **J. of Biosci. And Bioeng.** 89 (4) : 372-376.
- Kim, S.Y. et. al. 1997. "Improvement of Xylitol Production by Controlling Oxygen Supply in *Candida parapsilosis*." **J. Ferment and Bioeng.** 83 : 267-270.
- Kirk, K. 1983. "Degradation and Conversion of Lignocellulose." 226-295. in Smith, J.E. 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.
- Ladisch, M.R. and Svarczkopf, J.A. 1991. "Ethanol Production and the Cost of Fermentable Sugars for Bionass." **Biores. Technol.** 36 : 83-95.
- 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 Cultures of *Pichia guilliermondii*." **Appl. Microbiol. Biotechnol.** 47 : 58-61.
- Lu, J. et. al. 1995. "Effect of Nitrogen Sources on Xylitol Production from D-Xylose by *Candida sp.* L-102." **Biotechnol. Lett.** 17 : 167-170.
- Makinen, K.K. and Scheinin, A. 1975. "Turku Sugar Studies VI : The Administration of the Trial and the Control of the Dietary Regimen." **Acta. Odont. Scand.** 33 Suppl. 70 : 105-127.
- Manz, U. et. al. 1973. "Xylitol : Its Properties and Use as a Sugar Substitute in Foods." **Food Symposium on Sugar and Sugar Replacements.** London.

- Marsden, W.L. and Gray, P.P. 1986. "Enzymatic Hydrolysis of Cellulose in Lignocellulosic Material." **Critical Review in Biotech.** 3 (3) : 235-276.
- Meyrial, V. et. al. 1991. "Xylitol Production from D-Xylose by *Candida guilliermondii* : Fermentation Behaviour." **Biotech. Lett.** 13 : 281-286.
- Nelson, N. 1952. "A Photometric Adaptation of the Somogyi Method for the Determination of Glucose." **J. Biol. Chem.** 154 : 375-380.
- Nigam, J.N. 2001. "Ethanol Production form Wheat Straw Hemicellulose Hydrolysate by *Pichia stipitis*." **J. Biotechnol.** 87 : 17-27.
- Nigam, P. and Singh, D. 1995. "Process for Fermentative Production of Xylitol a Sugar Substitute." **J. Pro. Biochem.** 30 : 117-124.
- Nolleau, V. et. al. 1993. "Xylitol Production from Xylose by Two Yeast Strains : Sugar Tolerance." **Curr. Microb.** 27 : 191-197.
- Norkrans, B. 1967. "Cellulose and Cellulolysis." **Adv. Appl. Microbiol.** 9 : 91-130.
- Ojamo, H. 1994. "Yeast Xylose Metabolism and Xylitol Production." PhD thesis, Helsinki University of Technology. Finland.
- Onishi, H. and Suzuki, T. 1980. "Mechanism of Fermentation Convension from Polyalcohol Fermentation to Ethanol by *Pichia miso*." **Agr. Biol. Chem.** 44 : 1,829-1,834.
- 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.** 26 : 2 ,151-2,158.
- Parajo, J.C. et. al. 1997. "Improved Xylitol Production with *Debaryomyces hansenii* Y-7426 from Raw or Detoxified Wood Hydrolysates." **Enzyme Microb. Technol.** 21(1) : 18-24.
- Parajo, J.C. et. al. 1998. "Biotechnological Production of Xylitol. Part 1 : Interest of Xylitol and Fundamentals of Its Biosynthesis." **Biores. Technol.** 65(3) : 191-201.
- Parajo, J.C. et. al. 1998. "Biotechnological Production of Xylitol. Part 2 : Operation in Culture Media Made with Commercial Sugars." **Biores. Technol.** 65(3) : 203-212.
- Parajo, J.C. et. al. 1998. "Biotechnological Production of Xylitol. Part 3 : Operation in Culture Media Made from Lignocellulose Hydrolysates." **Biores. Technol.** 66(1) : 25-40.

- Pfeifer, M.J. et. al. 1996. "Effect of Culture Conditions on Xylitol Production by *Candida guilliermondii* FTI 20037." **Appl. Biochem. Biotechnol.** 57-58 : 423-430.
- Prior, B.A. et. al. 1989. "Fermentation of D-Xylose by the Yeast *Candida shehatae* and *Pichia stipitis*." **Process Biochem.** 24 : 2-32.
- Rodrigues, D.C.G.A. et. al. 1999. "Fed-batch Culture of *Candida guilliermondii* FTI 20037 for Xylitol Production from Sugar Cane Bagasse Hydrolysate" **The Socie. for Appl. Micro.** 29 : 359-363.
- Roseio, J.C. et. al. 1991. "The Effect of Oxygen Transfer Coefficient and Substrate Concentration on the Xylose Fermentation by *Debaryomeces hansenii*." **Arc. Microb.** 156 : 484-490.
- Roudier, A. 1958. "Composition of Hemicelluloses." **Bulletin Association Technique de Industrie Papetiere.** 4 : 99-121.
- Schneider, H. et. al. 1981. "Conversion of n-Xylose into Ethanol by the Yeast *Pachysolen tannophilus*." **Biotechnol. Lett.** 3 : 89-92.
- Schulze, E. 1891. "In Formation Regarding Chemical Composition of Plant Cell Membrane." **Berichte der Deutschen Chemischem Gesellschaft.** 24 : 2,277-2,287.
- Silva, S.S. and Afschar, A.S. 1994. "Microbial Production of Xylitol from D-Xylose Using *Candida tropicalis*." **Bioproc. Eng.** 11 : 129-134.
- Sirisansaneeyakul, S. et. al. 1992. "Microbial Production of Xylitol from Wheat Straw Hydrolysates." **DECHEMA Biotechnology conference** vol. 5(B) : 541-544.
- Sirisansaneeyakul, S. et. al. 1995. "Screening of Yeasts for Production of Xylitol from D-Xylose." **J. Ferment. Bioeng.** 80 : 565-570.
- Sjostrom, F. 1981. **Wood Chemistry (Fundamentals and Application).** New York : Academic Press.
- Slininger, P.J. et. al. 1987. "*Pachysolen tannophilus* : Properties and Process Consideration for Ethanol Production from D-xylose." **Enzyme Microb. Technol.** 9 : 5-15.
- Smiley, K.L. and Bolen, P.L. 1982. "Demonstration of D-Xylose Reductase and D-Xylitol Dehydrogenase in *Pachysolen tannophilus*." **Biotechnol. Lett.** 4 : 607 - 610.
- 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 Steep Liquor on Fermentation of Mixed Sugars by *Candida shehatae* FPL 860402702." **Appl. Biochem Biotechnol.** 57/58 : 551-561.
- Sreenath, H.K. et. al. 1986. "Ethanol Production from D-Xylose Fermentations with *Candia shehatae* : Process Variables." **Appl. Microb. Biotechnol.** 24 : 294-299.
- Taiz, L. and Honigman, W.A. 1976. "Production of Cell Wall Hydrolysing Enzymes by Barley Aleurone Layer in Response to Gibberllic Acid" **Plant Physiology.** 58 : 380-386.
- Tran, A.N. and Chambers, R.P. 1986. "Ethanol Fermentation of Red Oak Acid Prehydrolysate by the Yeast *Pichia stipitis* CBS 5776." **Enz. Microb. Technol.** 8 : 439-444.
- Tsao, G.T. et. al. 1982. "Production of Ethanol and Chemical from Cellulosic Material." **Process Biochem.** September/October : 34-38.
- Ueng, P.P. and Gong, C.S. 1982. "Ethanol Production from Pentoses and Sugar Cane Bagasse Hemicellulose Hydrolysate by *Mucor* and *Fusarium* Species." **Enzyme Microb. Technol.** 4 : 169-172.
- Vandeska, E. et. al. 1995. "Xylitol Formation and Key Enzyme Activities in *Candida boidinii* under Different Oxygen Transfer Rates." **J. Ferment. Bioeng.** 80 :513-516.
- Vongsuvanlert, V. and Tani, Y. 1989. "Xylitol Production by a Methanol Yeast *Candida boidinii* (*Kloechers* sp.) No. 2201." **J. Ferment. Bioeng.** 67 : 35-39.
- Washuttl, J. et. al. 1973. "A Qualitativa and Quantitative Study of Sugar-alcohol in Several Foods." **J. Food Sci.** 38 : 1,262-1,263.
- Weigest, B. et. al. 1988. "Xylose Fermentation by Yeasts." **Biotech Lett.** 10 : 895-900.
- 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.
- Yahashi, Y. et. al. 1996. "Production of Xylitol from D-Xylose by *Candida tropicalis* : The Effect of D-Glucose Feeding." **J. Ferment. Bioeng.** 81(2) : 148-152.

ภาคผนวก ก.

อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับจุลินทรีย์

อาหารเพื่อการเก็บรักษาเชื้อ

YM agar มีสูตรดังนี้

ยีสต์สกัด	3	กรัม
มอลต์สกัด	3	กรัม
เปปโตน	5	กรัม
กลูโคส	10	กรัม
วุ้น	15	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 5.5

อาหารเพื่อการเจริญเติบโต

ยีสต์สกัด	4	กรัม
กลูโคส	15	กรัม
มอลต์สกัด	3	กรัม
เปปโตน	4	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 5.5

อาหารเพื่อการผลิตน้ำตาลไซลิทอล

ยีสต์สกัด	4	กรัม
กลูโคส	15	กรัม
ไซโลส	60	กรัม
มอลต์สกัด	3	กรัม
เปปโตน	4	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 5.5

ภาคผนวก ข.

สารเคมีและวิธีการวิเคราะห์

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

1. สารละลายคอปเปอร์รีเอเจนต์ (Copper reagent) ประกอบด้วย

A : สารละลาย 10% คอปเปอร์ซัลเฟตไฟไฮเดรต ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) เตรียมโดยชั่งคอปเปอร์ซัลเฟตไฟไฮเดรต 10 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 100 มิลลิลิตร

B : สารละลายฟอสเฟตทาร์เทรต (Phosphate-tartrate solution) เตรียมโดยละลายโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Na_2HPO_4) 28 กรัม [หรือโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตทเวตไฮเดรต ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) 70.5495 กรัม] ในน้ำกลั่น 700 มิลลิลิตร เติมโซเดียมโพแทสเซียมทาร์เทรต (เตตระไฮเดรต) [Sodium potassium tartrate (Tetrahydrate)] 40 กรัม ทำให้ละลายแล้วเติม 1N NaOH 100 มิลลิลิตร ตามด้วย โซเดียมซัลเฟตแอนไฮไดรต [Na_2SO_4 (Anhydrous)] 120 กรัม เมื่อละลายดีแล้วปรับปริมาตรเป็น 900 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 2 วัน ถ้ามีตะกอนให้กรองเอาตะกอนทิ้งด้วยกระดาษกรอง Whatman No. 4

ผสมสารละลาย A (100 มิลลิลิตร) และ B (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 45 มิลลิลิตร เติมกรดกำมะถัน (Sulfuric 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 และ B เข้าด้วยกัน ใส่ในขวดสีชาแล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วนำมาเก็บที่อุณหภูมิห้อง

วิธีการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (กลูโคส) โดยวิธี Somogyi Nelson's method

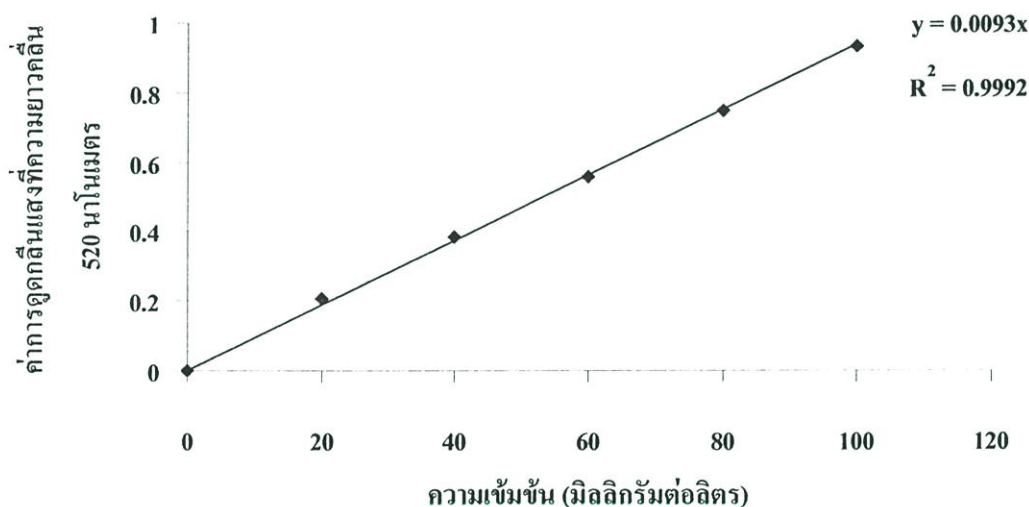
1. เติมตัวอย่างที่ต้องการหาน้ำตาลรีดิวซ์ 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง เติมสารละลายคอปเปอร์รีเอเจนต์ 1 มิลลิลิตร ต้มในน้ำเดือดนาน 5 นาที ควรใช้ลูกแก้วปิดปากหลอดเพื่อลดการระเหยของสาร

2. ทำให้เย็นโดยแช่ในอ่างน้ำ เติมสารละลายอาร์เซนโมลิบเดตรีเอเจนต์ (Arsenomolybdate reagent) ลงไป 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วทิ้งไว้ประมาณ 2 นาที จะเห็นเป็นสีเขียว หรือสีน้ำเงิน เขียวขึ้นกับปริมาณน้ำตาล

3. เติมน้ำ 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร
4. นำค่าที่วัดได้เทียบกับกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสโดยคำนวณได้จาก

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

การทำกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส ใช้สารละลายน้ำตาลกลูโคสมาตรฐานความเข้มข้น 20, 40, 60, 80 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตรแทนตัวอย่าง จากนั้นทำการวิเคราะห์ตามข้อ 2.1-2.3 นำค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร ที่ได้และความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานมาสร้างกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส



ภาพที่ ข.1 กราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส

สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลไซลิทอล (Adler and Gustafsson. 1980)

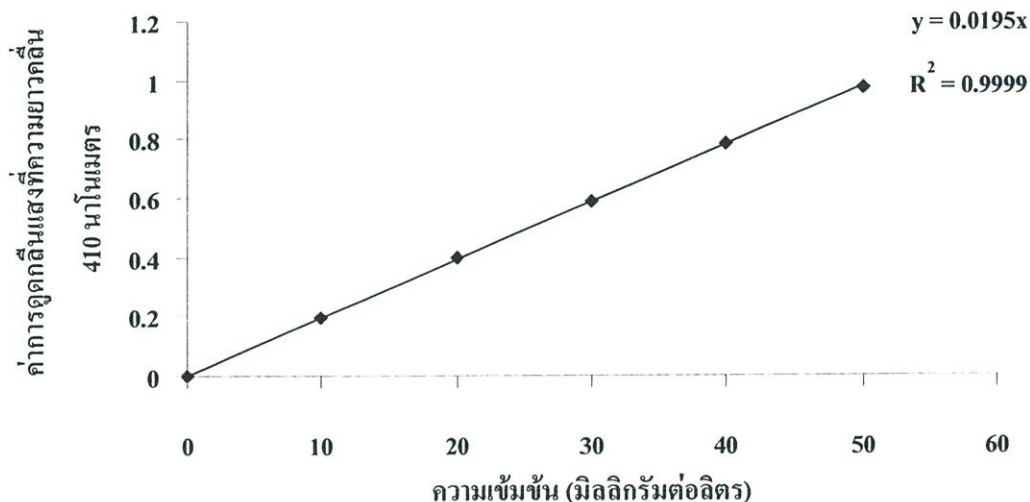
การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลไซลิทอลอาศัยปฏิกิริยาการออกซิเดชันของน้ำตาลไซลิทอลไปเป็นฟอร์มัลดีไฮด์ด้วยเปอร์ไอโอเดตในสารละลายกรดเป็นระยะเวลาสั้น ๆ แล้วหยุดปฏิกิริยาด้วยบิวเทน-2,3-ไดออล (butane-2,3-diol) จากนั้นทำการวิเคราะห์ปริมาณฟอร์มัลดีไฮด์ที่เกิดขึ้น โดยทำปฏิกิริยากับสารละลายเพนเทน-2,4-ไดโอน (pentane-2,4-dione) ได้สารละลายสีเหลือง

1. สารละลายเพอร์ไอโอดีเอเจนต์ (periodate reagent ; NaIO_4 0.015 M ใน HCl 0.16 M) เตรียมโดยละลายโซเดียมเมตาเพอร์ไอโอดี (NaIO_4) 3.0284 กรัม ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร เติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นลงไป 13.3 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร
2. บิวเทน-2,3-ไดออก 0.02 M เตรียมโดยปิเปตต์ บิวเทน-2,3-ไดออก 1.8 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร
3. สารละลายเพนเทน-2,4-ไดโอน (เตรียมใช้ทันที) เตรียมโดยละลายแอมโมเนียมอะซิเตต 154.16 กรัม ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร เติมกรดอะซิติกเข้มข้นปริมาตร 40 มิลลิลิตร แล้วเติม เพนเทน-2,4-ไดโอน ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร
4. สารละลายมาตรฐานน้ำตาลไซลิทอล เตรียมโดยละลายน้ำตาลไซลิทอล 0.1000 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร (ความเข้มข้น 1 กรัมต่อลิตร) แล้วเจือจางให้ได้สารละลายน้ำตาลไซลิทอลความเข้มข้น 10 20 30 40 และ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

วิธีการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลไซลิทอลตามวิธีของ Adler and Gustafsson method

1. ปิเปตสารละลายตัวอย่างหรือสารละลายน้ำตาลไซลิทอลมาตรฐาน (ความเข้มข้นน้ำตาลไซลิทอล 10-50 มิลลิกรัมต่อลิตร) ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง
2. เติมเพอร์ไอโอดีเอเจนต์ลงไป 1.0 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 นาที
3. เติมสารละลายบิวเทน-2,3-ไดออก ความเข้มข้น 0.02 โมลต่อลิตร ลงไป 1.0 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน
4. เติมสารละลายเพนเทน-2,4-ไดโอน ลงไป 2.0 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน
5. นำไปบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที
6. ทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 410 นาโนเมตร
7. นำค่าการดูดกลืนแสงที่ 410 นาโนเมตร และความเข้มข้นของน้ำตาลไซลิทอลไปสร้างกราฟมาตรฐานน้ำตาลไซลิทอล
8. การหาปริมาณของน้ำตาลไซลิทอลในสารละลายตัวอย่าง สามารถคำนวณได้จาก

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



ภาพที่ ข.2 กราฟมาตรฐานของน้ำตาลไซลิทอล

สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลไซโลส (Deschatelets and Yu. 1986)

การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลไซโลสอาศัยการเกิดเฟอฟูรัล (furfural) จากน้ำตาลเพนโตส ในสารละลายกรดอะซิดิกที่มีไทโอยูเรีย (thiourea) อยู่ แล้วเติม 4-โบรโมแอนิไลน์ (4-bromoaniline) เพื่อทำปฏิกิริยากับเฟอฟูรัลได้เป็นสารละลายสีชมพู

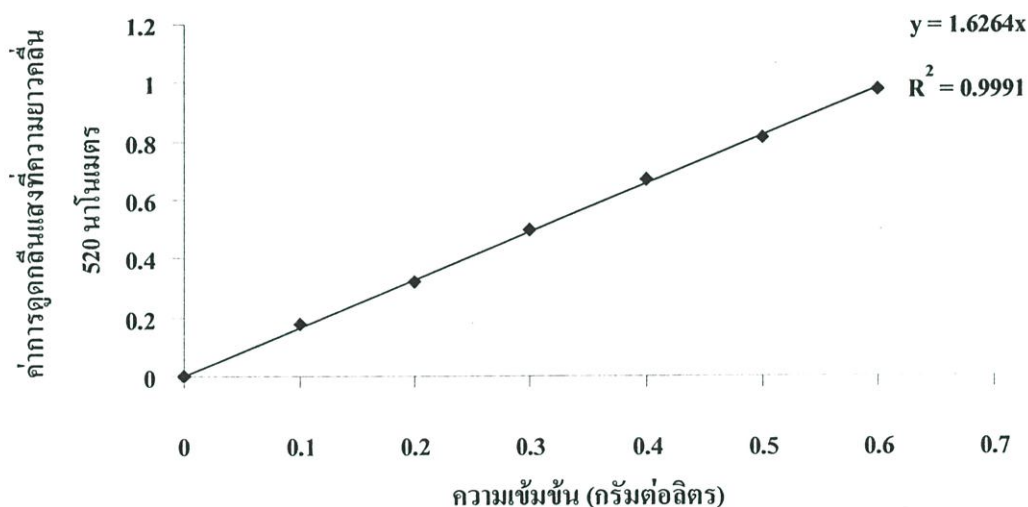
1. สารละลาย 4 โบรโมแอนิไลน์รีเอเจนต์ (4-bromoaniline reagent) เตรียมโดยละลาย thiourea ประมาณ 4 กรัม ในกรดอะซิดิกเข้มข้นปริมาตร 100 มิลลิลิตร แล้วแยกส่วนใส่ออกมา (กรดอะซิดิก อิ่มตัวด้วยไทโอยูเรีย) จากนั้นละลาย 4 โบรโมแอนิไลน์ลงในส่วนใส่นั้น
2. สารละลายน้ำตาลไซโลสมาตรฐาน เตรียมโดยละลายน้ำตาลไซโลส 0.1 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร (ความเข้มข้น 1.0 กรัมต่อลิตร) แล้วเจือจางให้ได้สารละลายน้ำตาลไซโลสเข้มข้น 0.2 0.4 0.6 0.8 และ 1.0 กรัมต่อลิตร

วิธีการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลไซโลสตามวิธีของ Deschatelets and Yu method

1. ปิเปิดสารละลายตัวอย่าง หรือสารละลายน้ำตาลไซโลสมาตรฐานปริมาตร 0.8 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง
2. เติมสารละลาย 4 โบรโมแอนิไลน์รีเอเจนต์ ปริมาตร 4 มิลลิลิตร ลงไปแล้วเขย่าให้เข้ากัน

3. นำไปบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที
4. ทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็วแล้วบ่มต่อในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 70 นาที
5. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร
6. นำค่าการดูดกลืนแสงไปเทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อหาความเข้มข้นของน้ำตาลไซโลสในสารละลายตัวอย่างหรือคำนวณได้จาก

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



ภาพที่ ข.3 กราฟมาตรฐานของน้ำตาลไซโลส

วิธีการหาน้ำหนักเซลล์แห้ง (Cell dry weight)

1. เติมห้วเชื้อ *Candida tropicalis* TISTR 5045 ที่มีความขุ่นเซลล์เท่ากับ 0.5 โดยเติมห้วเชื้อประมาณ 4 เปอร์เซ็นต์ ลงในพลาสติกที่บรรจุอาหารเพื่อการเจริญเติบโต 75 มิลลิลิตร ในพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร จำนวน 2 พลาสติก
2. เติงบนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส จนได้ปริมาณเซลล์สูงสุด (ชั่วโมงที่ 12)
3. เขียนหมายเลขที่กระดาศกรองเบอร์ 5 และนำไปอบที่ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมงนำไปใส่ในโถดูดความชื้นและนำไปชั่งน้ำหนักเมื่อกระดาศกรองเย็นลงแล้ว

4. เมื่อได้ปริมาณเซลล์สูงสุดให้เจือจางให้มีความขุ่นเซลล์ต่าง ๆ กันอยู่ในช่วง 0.1-0.8 ประมาณ 5 ค่า
5. ปิเปตสารละลายจากข้อ 4 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร มาทำการกรองแล้วล้างด้วยน้ำกลั่น ทำการทดลอง 3 ซ้ำ
6. นำกระดาษกรองไปอบที่ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง นำไปใส่ในโถดูดความชื้น และนำไปชั่งน้ำหนักเมื่อกระดาษกรองเย็นลงแล้ว
7. คำนวณน้ำหนักเซลล์แห้ง = น้ำหนักกระดาษก่อนกรอง - น้ำหนักกระดาษหลังกรอง
8. นำน้ำหนักเซลล์แห้งและค่าอัตราการเจริญเซลล์ไปสร้างกราฟ

วิธีเตรียมผงถ่านกัมมันต์

นำผงถ่านกัมมันต์แช่ในกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.4 โมลต่อลิตร จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นและทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง

ตัวอย่างการคำนวณปริมาณน้ำตาลไซโลสต่อวัตตูลิบ (กรัมต่อกรัม)

ที่อัตราส่วน 1 ต่อ 10 (ฟางข้าว 5 กรัม ในสารละลายกรด 50 มิลลิลิตร)

ในสารละลาย 1000 มิลลิลิตร จะมีปริมาณน้ำตาลไซโลส	67.2651		กรัม
ถ้าในสารละลาย 50 มิลลิลิตร จะมีปริมาณน้ำตาลไซโลส	67.2651×50	= 3.363255	กรัม
	<u>1000</u>		
∴ ในฟางข้าว 5 กรัม ก็จะมีปริมาณน้ำตาลไซโลส	3.363255		กรัม
ถ้าในฟางข้าว 1 กรัม ก็จะมีปริมาณน้ำตาลไซโลส	3.363255	= 0.672651	กรัม
	<u>5</u>		
ในฟางข้าว 100 กรัม จะมีส่วนประกอบของเฮมิเซลลูโลส		28	กรัม
น้ำตาลไซโลสเป็นส่วนประกอบของเฮมิเซลลูโลส			
∴ ฟางข้าว 100 กรัม ที่มีส่วนประกอบของเฮมิเซลลูโลส 28 กรัม จะมีน้ำตาลไซโลส		$= 0.672651 \times 28$ กรัม	
		<u>100</u>	
∴ ที่อัตราส่วน 1 ต่อ 10 จะมีผลได้ของน้ำตาลไซโลสต่อฟางข้าว		= 0.1883	กรัมต่อกรัม

ภาคผนวก ค.
การวิเคราะห์ทางสถิติ

Complete Randomized Design (CRD)

เป็นแบบแผนการทดลองที่มีการจัดสิ่งทดลองทั้งหมดในหน่วยทดลอง (experimental unit) โดยวิธีสุ่ม โดยให้หน่วยทดลองแต่ละหน่วยมีโอกาสได้รับสิ่งทดลองแต่ละชนิดเท่า ๆ กัน สำหรับ CRD ความแตกต่างระหว่างหน่วยทดลองหลาย ๆ หน่วยที่ได้รับสิ่งทดลองเดียวกันเรียกว่า “ความคลาดเคลื่อนของการทดลอง (experimental error)” ดังนั้น CRD จึงเหมาะสำหรับงานทดลองที่มีหน่วยสมำเสมอทั้งหมด ได้แก่งานทดลองในห้องปฏิบัติการ ซึ่งสามารถควบคุมสิ่งแวดล้อมให้สมำเสมอได้ง่าย

การวิเคราะห์ความแปรปรวน การตรวจดูความแตกต่างระหว่างสิ่งทดลองที่ศึกษากระทำโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (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 คือจำนวนชนิดของตัวอย่างและ r คือจำนวนซ้ำ

1. คำนวณค่า Degree of Freedom (df)

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

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

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

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

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

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

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

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

3. คำนวณค่า Mean of Squares (MS)

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

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

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

$$\text{Error df}$$

4. คำนวณค่า F value

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

$$\text{Error MS}$$

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 จากตารางที่ 5% แสดงว่า treatment ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แสดงโดยเขียนสัญลักษณ์ ns เชื่อมบนค่า F value

ถ้า F value มากกว่าค่า F จากตารางที่ 5% แสดงว่า treatment มีความแตกต่างกันทางสถิติ แสดงโดยเขียนสัญลักษณ์ * เชื่อมบนค่า F value

ถ้า F value มากกว่าค่า F จากตารางที่ 1% แสดงว่า treatment มีความแตกต่างกันมากทางสถิติ แสดงโดยเขียนสัญลักษณ์ ** เชื่อมบนค่า F value

ภาคผนวก ง.

ผลการวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

ตารางที่ ง.1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณน้ำตาลไซโลสของเวลาในการย่อยสลายฟางข้าว
ที่อุณหภูมิตั้งที่ 110 องศาเซลเซียส

แหล่งความแปรผัน	df	SS	MS	F
อุณหภูมิ	5	71.767	14.353	281.818*
ความคลาดเคลื่อน	12	0.611	0.051	
ผลรวม	17	72.378		

ตารางที่ ง.2 ค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำตาลไซโลสของเวลาในการย่อยสลายฟางข้าวที่อุณหภูมิตั้งที่ 110 องศา
เซลเซียส

เวลา (นาที)	ปริมาณน้ำตาลไซโลส (กรัมต่อลิตร)
	อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส
30	4.0990 ^d
60	8.6592 ^c
90	9.6942 ^a
120	9.6839 ^a
150	9.6532 ^a
180	9.1101 ^b

ตารางที่ ง.3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณน้ำตาลไซโลสของเวลาในการย่อยสลายฟางข้าว
ที่อุณหภูมิตั้งที่ 121 องศาเซลเซียส

แหล่งความแปรผัน	df	SS	MS	F
อุณหภูมิ	5	55.701	11.140	1309.669*
ความคลาดเคลื่อน	12	0.102	0.009	
ผลรวม	17	55.803		

ตารางที่ ง.4 ค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำตาลไซโลสของเวลาในการย่อยสลายฟางข้าวที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส

เวลา (นาที)	ปริมาณน้ำตาลไซโลส (กรัมต่อลิตร)
	อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส
30	9.6737 ^f
60	13.7727 ^d
90	15.0229 ^a
120	14.7770 ^b
150	14.2954 ^c
180	13.2911 ^c

ตารางที่ ง.5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณน้ำตาลไซโลสของเวลาในการย่อยสลายฟางข้าวที่อุณหภูมิ 126 องศาเซลเซียส

แหล่งความแปรผัน	df	SS	MS	F
อุณหภูมิ	5	115.680	23.136	3313.024 [*]
ความคลาดเคลื่อน	12	0.084	0.007	
ผลรวม	17	115.764		

ตารางที่ ง.6 ค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำตาลไซโลสของเวลาในการย่อยสลายฟางข้าวที่อุณหภูมิ 126 องศาเซลเซียส

เวลา (นาที)	ปริมาณน้ำตาลไซโลส (กรัมต่อลิตร)
	อุณหภูมิ 126 องศาเซลเซียส
30	14.4901 ^f
60	18.0050 ^c
90	22.0733 ^a
120	21.4482 ^b
150	20.3927 ^c
180	19.8291 ^d

ตารางที่ ง.7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณน้ำตาลไซโลสของเวลาในการย่อยสลายฟางข้าว
ที่อุณหภูมิ 110, 121 และ 126 องศาเซลเซียส

แหล่งความแปรผัน	df	SS	MS	F
อุณหภูมิ	2	231.344	115.672	10905.980*
ความคลาดเคลื่อน	6	0.064	0.011	
ผลรวม	8	231.408		

ตารางที่ ง.8 ค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำตาลไซโลสของเวลาในการย่อยสลายฟางข้าวที่อุณหภูมิ 110, 121
และ 126 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ปริมาณน้ำตาลไซโลส (กรัมต่อลิตร)
110	9.6942 ^c
121	15.0229 ^b
126	22.0733 ^a

ตารางที่ ง.9 การวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณน้ำตาลไซโลสของเวลาในการย่อยสลายขี้เลื่อยที่
อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส

แหล่งความแปรผัน	df	SS	MS	F
อุณหภูมิ	9	54.140	6.012	859.548*
ความคลาดเคลื่อน	20	0.140	0.007	
ผลรวม	29	54.244		

ตารางที่ ง.10 ค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำตาลไซโลสของเวลาในการย่อยสลายซีเลื้อยที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส

เวลา (นาที)	ปริมาณน้ำตาลไซโลส (กรัมต่อลิตร)
	อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส
30	3.6174 ⁱ
60	4.2220 ^h
90	4.7344 ^g
120	5.5644 ^f
150	6.0153 ^c
180	6.5072 ^d
210	6.6404 ^c
240	7.2040 ^b
270	7.6242 ^a
300	7.5320 ^a

ตารางที่ ง.11 การวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณน้ำตาลไซโลสของเวลาในการย่อยสลายซีเลื้อยที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส

แหล่งความแปรผัน	df	SS	MS	F
อุณหภูมิ	9	61.172	6.797	21.038*
ความคลาดเคลื่อน	20	6.461	0.323	
ผลรวม	29	67.633		

ตารางที่ ง.12 ค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำตาลไซโลสของเวลาในการย่อยสลายขี้เลื่อยที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส

เวลา (นาที)	ปริมาณน้ำตาลไซโลส (กรัมต่อลิตร)
	อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส
30	6.5786 ^d
60	7.8496 ^{cd}
90	9.5712 ^{bc}
120	10.6575 ^b
150	11.5183 ^b
180	12.3381 ^a
210	13.5268 ^a
240	13.9982 ^a
270	14.7975 ^a
300	14.7770 ^a

ตารางที่ ง.13 การวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณน้ำตาลไซโลสของเวลาในการย่อยสลายขี้เลื่อยที่อุณหภูมิ 126 องศาเซลเซียส

แหล่งความแปรผัน	df	SS	MS	F
อุณหภูมิ	9	61.412	6.824	53.401 [*]
ความคลาดเคลื่อน	20	2.556	0.128	
ผลรวม	29	63.967		

ตารางที่ ง.14 ค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำตาลไซโลสของเวลาในการย่อยสลายชี้เลี้ยงที่อุณหภูมิ 126 องศาเซลเซียส

เวลา (นาที)	ปริมาณน้ำตาลไซโลส (กรัมต่อลิตร)
	อุณหภูมิ 126 องศาเซลเซียส
30	7.2553 ^c
60	9.2638 ^c
90	10.8009 ^d
120	12.2971 ^c
150	13.3833 ^c
180	14.7770 ^b
210	15.4328 ^{ab}
240	15.7403 ^{ab}
270	16.7035 ^a
300	16.6625 ^a

ตารางที่ ง.15 การวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณน้ำตาลไซโลสของเวลาในการย่อยสลายชี้เลี้ยงที่อุณหภูมิ 110, 121 และ 126 องศาเซลเซียส

แหล่งความแปรผัน	df	SS	MS	F
อุณหภูมิ	2	1.488	0.744	109.031 [*]
ความคลาดเคลื่อน	6	0.041	0.007	
ผลรวม	8	1.529		

ตารางที่ ง.16 ค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำตาลไซโลสของเวลาในการย่อยสลายชี้เลี้ยงที่อุณหภูมิ 110, 121 และ 126 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ปริมาณน้ำตาลไซโลส (กรัมต่อลิตร)
110	7.3987 ^c
121	7.6242 ^b
126	8.3518 ^a

ตารางที่ ง.17 การวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณน้ำตาลไซโลสของเวลาในการย่อยสลายแกลบที่
อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส

แหล่งความแปรผัน	df	SS	MS	F
อุณหภูมิ	9	50.491	5.610	1035.333*
ความคลาดเคลื่อน	20	0.108	0.005	
ผลรวม	29	50.600		

ตารางที่ ง.18 ค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำตาลไซโลสของเวลาในการย่อยสลายแกลบที่อุณหภูมิ 110 องศา
เซลเซียส

เวลา (นาที)	ปริมาณน้ำตาลไซโลส (กรัมต่อลิตร)
	อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส
30	6.5482 ⁱ
60	7.1733 ^h
90	7.8599 ^b
120	8.8129 ^f
150	9.3150 ^c
180	9.6942 ^d
210	10.473 ^a
240	10.3398 ^b
270	9.9914 ^c
300	9.7864 ^d

ตารางที่ ง.19 การวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณน้ำตาลไซโลสของเวลาในการย่อยสลายแกลบที่
อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส

แหล่งความแปรผัน	df	SS	MS	F
อุณหภูมิ	9	45.385	5.043	1212.634*
ความคลาดเคลื่อน	20	0.083	0.004	
ผลรวม	29	45.468		

ตารางที่ ง.20 ค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำตาลไซโลสของเวลาในการย่อยสลายเกลบที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส

เวลา (นาที)	ปริมาณน้ำตาลไซโลส (กรัมต่อลิตร)
	อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส
30	8.1878 ^j
60	8.7924 ⁱ
90	9.6430 ^h
120	10.1861 ^b
150	10.9342 ^c
180	11.5285 ^c
210	12.0511 ^a
240	11.8462 ^b
270	11.2416 ^d
300	10.6370 ^f

ตารางที่ ง.21 การวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณน้ำตาลไซโลสของเวลาในการย่อยสลายเกลบที่อุณหภูมิ 126 องศาเซลเซียส

แหล่งความแปรผัน	df	SS	MS	F
อุณหภูมิ	9	45.177	5.020	389.575*
ความคลาดเคลื่อน	20	0.258	0.013	
ผลรวม	29	45.435		

ตารางที่ ง.22 ค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำตาลไซโลสของเวลาในการย่อยสลายแกลบที่อุณหภูมิ 126 องศาเซลเซียส

เวลา (นาที)	ปริมาณน้ำตาลไซโลส (กรัมต่อลิตร)
	อุณหภูมิ 126 องศาเซลเซียส
30	8.5669 ^h
60	9.0179 ^b
90	9.8786 ^f
120	10.4730 ^c
150	11.1493 ^d
180	11.7232 ^b
210	12.3791 ^a
240	12.2253 ^a
270	11.4260 ^c
300	10.8932 ^d

ตารางที่ ง.23 การวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณน้ำตาลไซโลสของเวลาในการย่อยสลายแกลบที่อุณหภูมิ 110, 121 และ 126 องศาเซลเซียส

แหล่งความแปรผัน	df	SS	MS	F
อุณหภูมิ	2	6.231	3.116	631.234 [*]
ความคลาดเคลื่อน	6	0.030	0.005	
ผลรวม	8	6.261		

ตารางที่ ง.24 ค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำตาลไซโลสของเวลาในการย่อยสลายแกลบที่อุณหภูมิ 110, 121 และ 126 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ปริมาณน้ำตาลไซโลส (กรัมต่อลิตร)
110	10.4730 ^c
121	12.0511 ^b
126	12.3791 ^a

ตารางที่ ง.25 การวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณน้ำตาลไซโลสของความเข้มข้นสารละลายกรดซัลฟิวริกในการย่อยสลายฟางข้าวที่อุณหภูมิ 126 องศาเซลเซียส

แหล่งความแปรผัน	df	SS	MS	F
ความเข้มข้นกรด	5	234.063	46.813	605.678*
ความคลาดเคลื่อน	12	0.927	0.077	
ผลรวม	17	234.990		

ตารางที่ ง.26 ค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำตาลไซโลสของความเข้มข้นสารละลายกรดซัลฟิวริกในการย่อยสลายฟางข้าวที่อุณหภูมิ 126 องศาเซลเซียส

ความเข้มข้นกรดซัลฟิวริก (โมลต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลไซโลสที่อุณหภูมิ 126 องศาเซลเซียส
1.0	61.8954 ^b
1.2	67.5110 ^a
1.4	67.4291 ^a
1.6	67.2651 ^a
1.8	61.2395 ^c
2.0	58.4112 ^d

ตารางที่ ง.27 การวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณน้ำตาลไซโลสของความเข้มข้นสารละลายกรดซัลฟิวริกในการย่อยสลายขี้เลื่อยที่อุณหภูมิ 126 องศาเซลเซียส

แหล่งความแปรผัน	df	SS	MS	F
ความเข้มข้นกรด	4	191.487	47.872	2713.486*
ความคลาดเคลื่อน	10	0.176	0.018	
ผลรวม	14	191.664		

ตารางที่ ง.28 ค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำตาลไซโลสของความเข้มข้นสารละลายกรดซัลฟิวริกในการย่อย
สลายชี้เลี้ยงที่อุณหภูมิ 126 องศาเซลเซียส

ความเข้มข้นกรดซัลฟิวริก (โมลต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลไซโลสที่อุณหภูมิ 126 องศาเซลเซียส
0.1	17.0520 ^d
0.2	24.1023 ^c
0.3	26.2338 ^b
0.4	26.5207 ^a
0.5	26.0493 ^b

ตารางที่ ง.29 การวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณน้ำตาลไซโลสของความเข้มข้นสารละลายกรด
ซัลฟิวริกในการย่อยสลายเกลบที่อุณหภูมิ 126 องศาเซลเซียส

แหล่งความแปรผัน	df	SS	MS	F
ความเข้มข้นกรด	5	4.286	0.857	229.952 [*]
ความคลาดเคลื่อน	12	0.045	0.004	
ผลรวม	17	4.331		

ตารางที่ ง.30 ค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำตาลไซโลสของความเข้มข้นสารละลายกรดซัลฟิวริกในการย่อย
สลายเกลบที่อุณหภูมิ 126 องศาเซลเซียส

ความเข้มข้นกรดซัลฟิวริก (โมลต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลไซโลสที่อุณหภูมิ 126 องศาเซลเซียส
0.5	18.0665 ^c
0.6	18.5891 ^a
0.7	18.3227 ^b
0.8	17.9435 ^d
0.9	17.6361 ^c
1.0	17.1725 ^f

ตารางที่ ง.31 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของอัตราการเจริญสูงสุดในการลดปริมาณสารพิษด้วย
ผงถ่านกัมมันต์ในการย่อยสลายฟางข้าวที่เวลา 0, 1, 6, 12, 18 และ 24 ชั่วโมง

แหล่งความแปรผัน	df	SS	MS	F
อัตราการเจริญสูงสุด	5	87.034	17.407	251.160 [*]
ความคลาดเคลื่อน	12	0.832	0.069	
ผลรวม	17	87.866		

ตารางที่ ง.32 ค่าเฉลี่ยอัตราการเจริญสูงสุดในการลดปริมาณสารพิษด้วยผงถ่านกัมมันต์ในการย่อย
สลายฟางข้าวที่เวลา 0, 1, 6, 12, 18 และ 24 ชั่วโมง

เวลาในการลดปริมาณสารพิษ (ชั่วโมง)	อัตราการเจริญสูงสุด (ที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร)
0	22.2500 ^d
1	28.8167 ^a
6	28.1667 ^b
12	28.1167 ^b
18	27.5500 ^c
24	27.5167 ^c

ตารางที่ ง.33 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของอัตราการเจริญสูงสุดในการลดปริมาณสารพิษด้วย
ผงถ่านกัมมันต์ในการย่อยสลายฟางข้าวที่อัตราส่วนผงถ่านกัมมันต์ต่อไฮโดรไลเซต

แหล่งความแปรผัน	df	SS	MS	F
อัตราการเจริญสูงสุด	3	12.616	4.205	115.343 [*]
ความคลาดเคลื่อน	8	.292	0.036	
ผลรวม	11	12.907		

ตารางที่ ง.34 ค่าเฉลี่ยอัตราการเจริญสูงสุดในการลดปริมาณสารพิษด้วยผงถ่านกัมมันต์ในการย่อยสลายฟางข้าวที่อัตราส่วนผงถ่านกัมมันต์ต่อไฮโดรไลเสท

อัตราส่วน ผงถ่านกัมมันต์ต่อไฮโดรไลเสท (กรัมต่อมิลลิลิตร)	อัตราการเจริญสูงสุด (ที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร)
1 ต่อ 25	28.1667 ^{ab}
1 ต่อ 50	27.9000 ^b
1 ต่อ 100	28.3500 ^a
1 ต่อ 200	25.8000 ^c

ประวัติผู้เขียน

นางสาวปิยะมาศ สระบัว เกิดเมื่อวันที่ 16 กรกฎาคม พ.ศ. 2520 ในปี พ.ศ. 2542 สำเร็จ การศึกษาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยรังสิต จังหวัดปทุมธานี จากนั้นเข้าศึกษาต่อหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง