สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การผลิตไซลิทอลจากน้ำตาลไซโลส(D-Xylose) โดยเชื้อยีสต์ *Candida guilliermondii* NCYC 145 และ *Candida tropicalis* ATCC 9968 : ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตไซลิทอล

นายธีระศักดิ์ เก้าเอี้ยน
นางสาวนันทกา สังวรชาติ
นางสาวปรีญา ทราจาระวัตร

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2539

ปว.
อ677ก
2539
เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....28145
วัน, เดือน, ปี17 ก.ค. 2540

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Production of Xylitol from D-xylose by *Candida guilliermondii* NCYC 145 and *Candida tropicalis* ATCC 9968 : Optimum Condition for Xylitol Production

Mr. Teerasak Khao-Eian
Miss. Nuntaka Sangworachat
Miss. Preeya Trajarawat

A Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement
for the Degree of Bachelor of Science
Department of Applied Biology
Faculty of Science
King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang
1996

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การผลิตไซลิทอลจากน้ำตาลไซโลส (D-Xylose) โดยเชื้อยีสต์ *Candida guilliermondii* NCYC 145 และ *Candida tropicalis* ATCC 9968 : ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตไซลิทอล

โดย 1. นายธีระศักดิ์ เก้าเอี้ยน

2. นางสาวนันทกา สังวรชาติ

3. นางสาวบรีญา ทราจาระวัตร

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

อาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์ เหมือนหมาย อภินทนาพงศ์

อาจารย์ มงคล เพ็ญสายใจ

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

_____ หัวหน้าภาควิชาชีววิทยาประยุกต์

(ผศ. ดร. พรรณี ฐิตาภิชิต)

คณะกรรมการสอบโครงงานพิเศษ

_____ ประธานกรรมการ

(รศ. ดร. ดุษณี ธนะบริพัฒน์)

_____ กรรมการ

(ผศ. นวลพรรณ ณ ระนอง)

_____ กรรมการ

(อาจารย์ มงคล เพ็ญสายใจ)

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การผลิตไซลิทอลจากน้ำตาลไซโลส(D-Xylose) โดยเชื้อยีสต์ *Candiida guilliermondii* NCYC 145 และ *Candida tropicalis* ATCC 9968 : ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตไซลิทอล

โดย 1. นายธีระศักดิ์ เก้าเอี้ยน
2. นางสาวนันทกา สังวรชาติ
3. นางสาวปรีญา ทราจาระวัตร

อาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์ มงคล เพ็ญสายใจ
อาจารย์ เหมือนหมาย อภินทนาพงศ์

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

ปีการศึกษา 2539

บทคัดย่อ

ไซลิทอล (xylitol) เป็นน้ำตาลแอลกอฮอล์ตัวหนึ่ง สังเคราะห์โดยกระบวนการทางเคมีที่เรียกว่า ไฮโดรจีเนชัน (hydrogenation) จากน้ำตาลไซโลส หรือกระบวนการหมักจากเชื้อจุลินทรีย์บางชนิด โดยใช้ไซโลสเป็นสารตั้งต้น ในอุตสาหกรรมได้มีการใช้น้ำตาลไซลิทอลกันอย่างกว้างขวางมากขึ้น แต่การใช้ไซลิทอลมีข้อจำกัดอยู่ที่การผลิตซึ่งมีต้นทุนสูง โครงงานพิเศษนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาความสามารถในการผลิตน้ำตาลไซลิทอลจากเชื้อ *Candida tropicalis* ATCC 9968 โดยเปรียบเทียบกับเชื้อ *Candida guilliermondii* NCYC 145 พบว่าเชื้อ *C. tropicalis* และเชื้อ *C. guilliermondii* สามารถผลิตไซลิทอลได้ 4.11 กรัมต่อลิตร และ 1.37 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในชั่วโมงที่ 72 ของการหมัก ที่สภาวะการเลี้ยงเชื้อโดยใช้สูตรอาหาร YM (yeast malt extract) ที่มีน้ำตาลกลูโคสต่อไซโลสในอัตราส่วน 5 : 15 กรัมต่อลิตร ที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ปริมาตรอาหาร 200 มิลลิลิตร ใส่ฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ควบคุมความเป็นกรดด่างที่ 5.5 ที่อุณหภูมิห้อง

จากการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของการผลิตไซลิทอลของเชื้อ *C. tropicalis* พบว่าเมื่อใช้อาหารสูตร YM ที่มีน้ำตาลกลูโคสต่อไซโลสในอัตราส่วน 5 : 15 กรัมต่อลิตร ปริมาณยีสต์สกัด 5 กรัมต่อลิตร ควบคุมความเป็นกรดด่างที่ 5.5 ปริมาตรอาหาร 175 มิลลิลิตร ใส่ฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง โดยใช้เชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสามารถให้ผลผลิตไซลิทอลได้สูงถึง 8.32 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 48 ของการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title Production of Xylitol from D-xylose by *Candida guilliermondii* NCYC 145 and *Candida tropicalis* ATCC 9968 : Optimum Condition for Xylitol Production

Name Mr. Teerasak Khao-Eian
Miss. Nuntaka Sangworachat
Miss. Preeya Trajarawat

Special Project Advisor Mr. Mongkol Phensaijai
Miss. Muanmai Apintanapong

Department Applied Biology

Academic Year 1996

Abstract

Xylitol, sugar alcohol, can either be synthesize from xylose by hydrogenation or by microbial fermentation. It has been widely used in food industry as raw material. However, there is one limitation in which the cost of xylitol is expensive. Production of xylitol by fermentation using effective microorganisms could reduce the cost. Thus, this project has been conducted to compare the efficiency in xylitol production from xylose by two strains of yeast, that is, *Candida guilliermondii* NCYC 145 and *Candida tropicalis* ATCC 9968. 200 ml of YM medium containing glucose and xylose with the ratio of 5:15 g/l at pH 5.5, 150 rpm and initial inoculum size of 10% was used. The result showed that *C. tropicalis* and *C. guilliermondii* produced 4.11 and 1.37 g/l of xylitol, respectively after 72 h of incubation. Optimum condition for maximum xylitol production by *C. tropicalis* was 175 ml of YM medium containing glucose : xylose at 5:15 g/l, yeast extract 5 g/l at pH 5.5 and 150 rpm and the initial inoculum size was 10%. Maximum xylitol production of 8.32 g/l was obtained after 48 h of incubation.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษฉบับนี้ ได้จัดทำขึ้นตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต คณะผู้จัดทำขอขอบพระคุณ อาจารย์ มงคล เพ็ญสายใจ และอาจารย์เหมือนหมาย อภินทนาพงศ์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ ที่ให้ความรู้ข้อเสนอแนะ รวมทั้งได้กรุณาตรวจทานแก้ไขทางด้านภาษาและคำแนะนำต่าง ๆ รศ.ดุษณี ธนะบริพัฒน์ ประธานกรรมการ สอบโครงงานพิเศษ รวมทั้งเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่กรุณาให้ยืมอุปกรณ์ และสารเคมีต่าง ๆ สำหรับทำการทดลอง

สุดท้ายขอขอบคุณ คุณสุนันท์ ศูนย์เครื่องมือจุฬาฯ นางสาว ชาลินี คงสวัสดิ์ นางสาว วิบูลย์ศรี เรืองทวีสิน นายสุวิชา บุญเลี้ยง และคุณสิทธิชัย เลิศสุทธิวงศ์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ด้านเอกสาร คอยช่วยเหลือในการจัดทำโครงงานพิเศษนี้

คณะผู้จัดทำ

มีนาคม 2540

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญตาราง	ง
สารบัญรูป	จ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 ตรวจเอกสาร	4
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการ	29
บทที่ 4 ผลการทดลอง	36
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและวิจารณ์	46
เอกสารอ้างอิง	47
ภาคผนวก ก อาหารเลี้ยงเชื้อ	51
ภาคผนวก ข โพลิออล์ (polyol)	58
ภาคผนวก ค กราฟมาตรฐานของน้ำตาล	61

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 2.1	องค์ประกอบไซลิทอลในผักและผลไม้	4
ตารางที่ 2.2	คุณสมบัติทางฟิสิกส์และทางเคมีที่สำคัญของไซลิทอล	5
ตารางที่ 2.3	แสดงค่าความเย็นสดชื่นของน้ำตาลแอลกอฮอล์ชนิดต่างๆ	6
ตารางที่ 2.4	องค์ประกอบของสารละลายน้ำตาลที่ได้จากการไฮโดรไลซิส	13
ตารางที่ 2.5	องค์ประกอบของสารละลายน้ำตาลแอลกอฮอล์ที่ได้จากการไฮโดรจีเนชัน	14
ตารางที่ 2.6	การคัดเลือกยีสต์สำหรับผลิตไซลิทอล	18
ตารางที่ 2.7	ผลของความเข้มข้นน้ำตาลไซโลสที่มีต่อการผลิตไซลิทอล	25
ตารางที่ ข1	คุณสมบัติต่างๆทางกายภาพและทาง organoleptic ของน้ำตาลแอลกอฮอล์	59
ตารางที่ ข2	คุณสมบัติของน้ำตาลชนิดต่างๆ	59
ตารางที่ ข3	คุณสมบัติต่างๆของน้ำตาลและแอลกอฮอล์ของน้ำตาลชนิดต่างๆ	60

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

		หน้า
รูปที่ 2.1	การผลิตไซลิทอลจากน้ำตาลไซโลสโดยกระบวนการทางเคมี	12
รูปที่ 2.2	กรรมวิธีการผลิตไซลิทอลและไซโลส	15
รูปที่ 2.3	กระบวนการเมตาบอลิซึมของน้ำตาลไซโลสโดยยีสต์	22
รูปที่ 3.1	เชื้อ *Candida guilliermondii* NCYC 145 ที่อยู่ใน slant	29
รูปที่ 3.2	เชื้อ *Candida tropicalis* ATCC 9968 ที่อยู่ใน slant	30
รูปที่ 4.1	กราฟแสดงปริมาณไซลิทอลที่ได้จากการผลิตโดยใช้เชื้อเปรียบเทียบระหว่างเชื้อ *Candida guilliermondii* และ *Candida tropicalis*	37
รูปที่ 4.2	กราฟแสดงปริมาณไซลิทอลที่ได้จากการผลิตโดยใช้ปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่าง ๆ กัน	39
รูปที่ 4.3	กราฟแสดงปริมาณไซลิทอลที่ได้จากการผลิตโดยใช้ปริมาณยีสต์สกัดต่าง ๆ กัน	41
รูปที่ 4.4	กราฟแสดงปริมาณไซลิทอลที่ได้จากการผลิตโดยใช้พีเอชเริ่มต้นต่าง ๆ กัน	43
รูปที่ 4.5	กราฟแสดงปริมาณไซลิทอลที่ได้จากการผลิตโดยใช้ความเร็วรอบในการเขย่าต่าง ๆ กัน	45
รูปที่ ก1	เปรียบเทียบความสามารถในการผลิตไซลิทอลของเชื้อ *Candida guilliermondii* และ *Candida tropicalis* ในชั่วโมงที่ 0	52
รูปที่ ก2	เปรียบเทียบความสามารถในการผลิตไซลิทอลของเชื้อ *Candida guilliermondii* และ *Candida tropicalis* ในชั่วโมงที่ 72	52
รูปที่ ก3	เปรียบเทียบความสามารถในการผลิตไซลิทอล เมื่อใช้ปริมาตรอาหารต่างๆกัน ในชั่วโมงที่ 0	53
รูปที่ ก4	เปรียบเทียบความสามารถในการผลิตไซลิทอล เมื่อใช้ปริมาตรอาหารต่างๆกัน ในชั่วโมงที่ 48	53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ ก5	เปรียบเทียบความสามารถในการผลิตไซลิทอล เมื่อใช้ปริมาณยีสต์สกัดต่างๆกัน ในชั่วโมงที่ 0	54
รูปที่ ก6	เปรียบเทียบความสามารถในการผลิตไซลิทอล เมื่อใช้ปริมาณยีสต์สกัดต่างๆกัน ในชั่วโมงที่ 48	54
รูปที่ ก7	เปรียบเทียบความสามารถในการผลิตไซลิทอล เมื่อใช้พีเอชเริ่มต้นต่างๆกัน ในชั่วโมงที่ 0	55
รูปที่ ก8	เปรียบเทียบความสามารถในการผลิตไซลิทอล เมื่อใช้พีเอชเริ่มต้นต่างๆกัน ในชั่วโมงที่ 48	55
รูปที่ ก9	เปรียบเทียบความสามารถในการผลิตไซลิทอล เมื่อใช้ความเร็วรอบในการเขย่าต่างๆกัน ในชั่วโมงที่ 0	56
รูปที่ ก10	เปรียบเทียบความสามารถในการผลิตไซลิทอล เมื่อใช้ความเร็วรอบในการเขย่าต่างๆกัน ในชั่วโมงที่ 48	56
รูปที่ ก11	เปรียบเทียบความสามารถในการผลิตไซลิทอล เมื่อใช้ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 12 ชั่วโมง แล้วจึงปรับความเร็วรอบเป็น 150 รอบต่อนาที ชั่วโมงที่ 48	57
รูปที่ ข1	สูตรโครงสร้างของสาร polyol ชนิดต่างๆ	57
รูปที่ ค1	กราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส	61
รูปที่ ค2	กราฟมาตรฐานของน้ำตาลไซโลส	62
รูปที่ ค3	กราฟมาตรฐานของน้ำตาลไซลิทอล	63

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

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

ปัจจุบันพบว่ามีแนวโน้มการใช้ไซลิทอลได้อย่างกว้างขวางในผลิตภัณฑ์ขนมอบ แยม และมาร์มาแลด และผลิตภัณฑ์ขนมหวาน เป็นต้น เนื่องจากข้อดีของไซลิทอล คือ เป็นน้ำตาลที่จุลินทรีย์ไม่สามารถนำมาใช้เป็นแหล่งอาหารได้ และเป็นน้ำตาลที่จุลินทรีย์ในช่องปากคนใช้ไม่ได้ จึงไม่มีปัญหาเรื่องฟันผุเหมือนการรับประทานน้ำตาลทั่ว ๆ ไป และไม่เสื่อมเสียง่าย สามารถเก็บรักษาได้นาน ไซลิทอลมีคุณสมบัติเฉพาะหลายประการที่เหมาะสมซึ่งสามารถใช้ทดแทนน้ำตาลได้ แต่การใช้ไซลิทอลมีข้อจำกัดอยู่บ้าง กล่าวคือถ้าได้รับในปริมาณที่มากเกินไปจะทำให้ท้องเสียได้ นอกจากนี้ไซลิทอลยังไม่เกิดปฏิกิริยา maillard browning ซึ่งอาจจะไม่เหมาะสมกับผลิตภัณฑ์ที่ต้องการคุณสมบัติคาราเมล ส่วนในทางการแพทย์ได้มีการใช้ไซลิทอลเป็นอาหารทางสายยางของผู้ป่วย และเป็นอาหารของผู้ป่วยโรคเบาหวาน เนื่องจากการใช้ไซลิทอลในร่างกายไม่ขึ้นอยู่กับสารอินซูลิน (insulin)

วัสดุเหลือทิ้งจากไม้ หรือการเกษตรกรรม ซึ่งเป็นแหล่งที่สามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ เป็นแหล่งที่มีความสำคัญที่จะได้มาซึ่งผลผลิตทางเคมีอินทรีย์ และทางเทคโนโลยีชีวภาพในอนาคต ส่วนประกอบของกากที่สำคัญที่เป็นที่รู้จัก 3 ส่วน คือ เซลลูโลส, เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ระหว่างส่วนประกอบทั้ง 3 ชนิดนี้ ความสำคัญของชิ้นส่วนเฮมิเซลลูโลส จะถูกพิจารณาอย่างเห็นได้ชัดว่าเป็นวัสดุที่มีราคาถูก เพื่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางชีวภาพให้เป็นประโยชน์กับผลิตภัณฑ์หลายๆ ชนิด น้ำตาลเพนโตสเป็นดีไซโลส ที่สำคัญตัวหนึ่ง ซึ่งได้มาจากเฮมิเซลลูโลส แบคทีเรีย และยีสต์สามาถใช้คาร์โบไฮเดรตได้โดยกระบวนการเปลี่ยนแปลงที่แตกต่างกัน เป็นที่น่าสนใจว่าผลิตภัณฑ์ของเอทานอลจากดีไซโลส เป็นที่โต้แย้งกันมาเมื่อ 10 ปีที่แล้ว โดยนักวิทยาศาสตร์หลายกลุ่ม อย่างไรก็ตาม เนื่องจากความยุ่งยากในการใช้จุลินทรีย์ และกระบวนการที่มีราคาสูง, การเปลี่ยนแปลงทางชีววิทยาของดีไซโลสไปเป็นเอทานอลจึงไม่เป็นที่น่าสนใจมากนัก เมื่อเร็วๆนี้ผลิตภัณฑ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไซลิทอลจากดีไซโลส ได้มีการกล่าวถึงว่าเป็นการใช้ประโยชน์อีกทางหนึ่งจากเฮมิเซลลูโลส ได้มีรายงานว่ายีสต์ *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis* และ *Candida guilliermondii* สามารถผลิตไซลิทอลจากดีไซโลสได้

ในการผลิตไซลิทอลในปัจจุบันจะใช้วิธีทางเคมีเป็นส่วนใหญ่ ที่เรียกว่า ไฮโดรจีเนชัน (hydrogenation) จากน้ำตาลไซโลส (xylose) ซึ่งวิธีนี้มีข้อเสียในเรื่องต้นทุนการผลิตและกระบวนการผลิตที่อาจทำให้มีสารปนเปื้อนออกมาด้วย จึงมีผู้คิดค้นหาวิธีอื่น ๆ ในการผลิตไซลิทอล ซึ่งก็พบว่าวิธีการหมัก (fermentation) โดยเชื้อจุลินทรีย์จากน้ำตาลไซโลส หรือจากวัสดุเหลือทิ้งที่มีน้ำตาลไซโลสเป็นองค์ประกอบ เช่น ฟางข้าว ซังข้าวโพด เป็นต้น

จากเหตุผลดังกล่าวโครงงานพิเศษนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะทดลองผลิตไซลิทอลโดยการหมักแบบ shake flask fermentation ด้วยเชื้อยีสต์สายพันธุ์ *Candida guilliermondii* NCYC 145 และ *Candida tropicalis* ATCC 9968 จากน้ำตาลไซโลส โดยเปรียบเทียบความสามารถในการผลิตไซลิทอลของเชื้อทั้งสองชนิด ณ สภาวะที่อาหารประกอบด้วยกลูโคสต่อไซโลส ในอัตราส่วน 5:15 อุณหภูมิห้อง ความเร็วในการให้อากาศ 150 รอบต่อนาที มีปริมาณเชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์ เมื่อได้เชื้อที่มีความสามารถในการผลิตไซลิทอลได้ดีที่สุดแล้วก็นำมาหาสภาวะที่เหมาะสมอันได้แก่ อัตราการให้อากาศ ปริมาณสารอาหารไนโตรเจน (yeast extract) ปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อ และ พีเอช เป็นต้น เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไซลิทอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาการหมักน้ำตาลไซโลส เพื่อผลิตน้ำตาลไซลิทอลโดยเชื้อจุลินทรีย์

2. เพื่อศึกษาความสามารถในการผลิตไซลิทอลของเชื้อยีสต์ โดยเปรียบเทียบอัตราการผลิตไซลิทอลของเชื้อ *Candida guilliermondii* NCYC 145 และ *Candida tropicalis* ATCC 9968

3. เพื่อศึกษาหาสภาวะบางอย่าง ได้แก่ อัตราการให้อากาศ ปริมาณสารอาหารไนโตรเจน (yeast extract) ปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อ และ พีเอช ที่เหมาะสมต่อการผลิตไซลิทอลของเชื้อยีสต์

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เป็นแนวทางในการศึกษาการผลิตไซลิทอลในการหมักโดยเชื้อจุลินทรีย์ จากน้ำตาลดีไซโลส (D-xylose)

2. เป็นแนวทางในการนำไปสู่การปรับปรุงพันธุ์ยีสต์ เพื่อให้มีความสามารถในการผลิตไซลิทอลเพิ่มขึ้น

3. เป็นแนวทางในการนำไปสู่การนำน้ำตาลไซโลสที่ได้ จากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรมาใช้ประโยชน์ในการผลิตไซลิทอลเพื่อลดต้นทุนในการผลิต

4. ได้สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไซลิทอล ในระดับ shake flask fermentation

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ตรวจเอกสาร

ไซลิทอล (xylitol, $C_5H_{12}O_5$) หรือไซไลท์ (xylite) หรือ โพลิออล (polyol) จัดเป็นน้ำตาลแอลกอฮอล์ (sugar alcohol) ตัวหนึ่งที่พบตามธรรมชาติในผักและผลไม้ (ตารางที่ 2.1) และสามารถสังเคราะห์ได้โดยกระบวนการทางเคมี ที่เรียกว่า ไฮโดรจีเนชัน (hydrogenation) จากน้ำตาลไซโลส (xylose) หรือสามารถผลิตได้จากกระบวนการหมัก (fermentation) จากวัสดุเหลือทิ้งที่มีไซโลสเป็นองค์ประกอบ

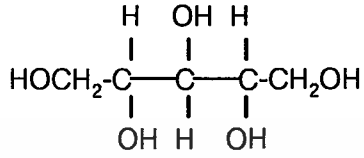
ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบไซลิทอลในผักและผลไม้

ผักและผลไม้	ปริมาณไซลิทอล (มก./100 กรัม น.น.แห้ง)
Raspberries	268
Strawberries	362
Yellow plums	935
Endives	258
Lettuce	131
Cauliflower	300
Spinach	107
Eggplant	180
Yellow boletus mushroom	128
Bananas	21
Carrots	87
Onion	89

ที่มา : Emodi (1978)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 คุณสมบัติทางฟิสิกส์และทางเคมีที่สำคัญของไซลิทอล

สูตรโมเลกุล	$C_5H_{12}O_5$
โครงสร้าง	
น้ำหนักโมเลกุล	152.1
รูปร่าง	ผงคริสตัล
สี	สีขาว
รสชาติ	รสหวาน
กลิ่น	ไม่มีกลิ่น
ความหวานสัมพัทธ์ (Relative sweetness)	ไซลิทอล (85-120) มีความหวานโดยประมาณเท่ากับน้ำตาลซูโครส (100) แต่หวานมากกว่ากลูโคส (70), ไซโลส (67), ซอบิทอล (50) และแมนนิทอล (40) แต่มีความหวานน้อยกว่าฟรักโทส (150)
จุดหลอมเหลว	93.4 - 94.7 องศาเซลเซียส
จุดเดือด	216 องศาเซลเซียส
การละลายในน้ำ	64.2 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร
การละลายในเอทานอล	102 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร
การละลายในเมทานอล	6.0 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร
การดูดความชื้น	ในที่ที่มีความชื้นสูง จะดูดความชื้นได้มากกว่าน้ำตาลซูโครส แต่ดูดความชื้นได้น้อยกว่าซอร์บิทอล
สารปนเปื้อน	แมนนิทอล, ซอร์บิทอล, กาแลคทิทอล, อาราบิทอล

ที่มา : Emodi (1978)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 สรุปถึงคุณสมบัติทางฟิสิกส์และทางเคมีที่สำคัญของไซลิทอล ส่วนคุณสมบัติอื่นๆที่น่าสนใจมีดังนี้

(1) การละลายน้ำและความคงตัวของไซลิทอล แม้จะถูกความร้อนหรือเก็บทิ้งไว้นานและไม่เกิดปฏิกิริยา maillard browning และ caramelization อย่างน้ำตาลฟรักโทส และเด็กซ์โทรส เมื่อใช้ความร้อนสูงกว่า 150 องศาเซลเซียส จะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง ซึ่งเป็นข้อเสียในการใช้ไซลิทอลในผลิตภัณฑ์ที่ต้องการคุณสมบัติดังกล่าว และเนื่องจากมีจุลินทรีย์ไม่มากนักที่สามารถใช้ไซลิทอลได้ จึงทำให้ผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนประกอบของไซลิทอลเก็บรักษาไว้ได้นานไม่เสียง่าย โดยสามารถละลายได้สูงสุด 65 กรัมต่อน้ำ 100 กรัมที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (Arron, 1993)

(2) **ไซลิทอลให้รสชาติดีและเย็นสดชื่น** (cooling effect) คล้ายกับเมนทอล เนื่องจากการละลายของไซลิทอลต้องการความร้อน (endothermic dissolution) คือ มีค่าความร้อนจำเพาะในการละลายเป็นลบ (-34.8 แคลอรีต่อกรัม) ซึ่งคุณสมบัติดังกล่าวดีกว่าซอร์บิทอล (-26.5 แคลอรีต่อกรัม) ดังตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 แสดงค่าความเย็นสดชื่นของน้ำตาลแอลกอฮอล์ชนิดต่าง ๆ

Polyalcohol	Cooling effect (kcal/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)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(3) ไซลิทอลมีความหวานเช่นเดียวกับน้ำตาลทั่วไป แต่มีความหวานกว่าแมนนิทอลและซอร์บิทอล 2.5 และ 2 เท่า ตามลำดับ เมื่อเทียบกับน้ำตาลซูโครสจะมีค่าความหวานตั้งแต่ 0.85 ถึง 1.25 เท่า ซึ่งขึ้นอยู่กับค่าพีเอช ความเข้มข้น และอุณหภูมิ เป็นต้น ตัวอย่างเช่น ไซลิทอลความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ จะมีความหวานเท่ากับน้ำตาลซูโครส 10 เปอร์เซ็นต์ หากความเข้มข้นมาก ซูโครสจะหวานกว่า หรือความสัมพัทธ์ (relative sweetness) ของไซลิทอล เมื่อเทียบกับซูโครสจะลดจาก 103 เป็น 78 เมื่อเพิ่มอุณหภูมิของสารละลายไซลิทอล 5 เปอร์เซ็นต์ จาก 5 องศาเซลเซียสถึง 50 องศาเซลเซียส เป็นต้น

(4) **พลังงาน**(caloric value) **ต่ำกว่า** พลังงานที่ได้จากไซลิทอล 1 กรัม เท่ากับ 4.06 กิโล-แคลอรี ซึ่งเหมือนกับพลังงานที่ได้จากอาหารคาร์โบไฮเดรททั่ว ๆ ไป แต่การใช้ไซลิทอลผสมกับน้ำตาล หรือสารให้ความหวานชนิดอื่นสามารถคงความหวานและรสชาติของผลิตภัณฑ์เช่นเดิม แต่สามารถลดแคลอรีได้ 50-70 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งได้มีการใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มประเภทชา กาแฟ น้ำผลไม้ และน้ำอัดลม จึงเหมาะสมกับผู้บริโภคที่ต้องการคุมน้ำหนัก (dietary purpose) เป็นอย่างดี

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

การใช้ไซลิทอลอาจมีข้อจำกัด เนื่องจากการบริโภคเป็นจำนวนมากๆในเวลาเดียวกันจะทำให้เกิดอาการท้องเสีย (osmotic diarrhea) ได้ เพราะไซลิทอลมีคุณสมบัติเป็นยาระบาย (laxative properties) จากการศึกษาในคนอเมริกันพบว่า ปริมาณไซลิทอลสูงสุดที่ผู้บริโภคยังไม่เกิดอาการข้างเคียงของระบบทางเดินอาหาร (gastrointestinal side effects) คือ 20-30 กรัมในอาหารต่อครั้ง หรือประมาณ 60 กรัมต่อวัน (Culbert และคณะ, 1986) แต่สภาพการปรับตัวต่อการบริโภคไซลิทอลปริมาณมาก ๆ เกิดขึ้นได้ เนื่องจากอัตราการดูดซึมไซลิทอลจากผนังลำไส้เพิ่มขึ้น โดยการบริโภคปริมาณน้อย ๆ แต่หลาย ๆ ครั้งแทน ซึ่งสามารถเพิ่มปริมาณการบริโภคจาก 30 กรัมต่อวัน ถึง 120 กรัมต่อวันได้ (Amador และ Eisenstein, 1971)

โดยทั่วไปการใช้ไซลิทอลในทางการแพทย์สามารถจำแนกได้ 2 อย่าง คือ เป็นอาหารทางสายของผู้ป่วย (parenteral nutrition) และเป็นอาหารของผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวาน (diet of diabetics) เนื่องจากไซลิทอลไม่ทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโน ทำให้การเตรียมอาหารเหลว (Infusion solution) สำหรับใช้ทางสายยางง่ายกว่าการเตรียมโดยใช้น้ำตาลกลูโคส และการใช้ไซลิทอลในร่างกายไม่ขึ้นกับสารอินซูลิน ทำให้ไม่มีปัญหาการใช้น้ำตาลกลูโคสของผู้ป่วย อีกทั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไซลิทอลยังเป็นสารให้ความหวานที่ไม่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณในเลือด ซึ่งเป็นผลดีต่อผู้ป่วยโรคเบาหวาน และยังลดปัญหาการเกิดฟันผุได้อีกด้วย ทำให้มีผลดีต่อผู้ป่วยที่จำเป็นต้องบริโภคยาเป็นเวลานาน นอกจากนี้พบว่า ไซลิทอลไม่มีคุณสมบัติทางการผ่าเหล่า (mutagenicity) โดยการทดลองในห้องปฏิบัติการ อย่างน้อยก็ทำให้มั่นใจได้ว่า ไซลิทอลจะไม่ก่อให้เกิดโรคมะเร็งได้โดยตรง (Batzinger และคณะ 1977)

2.1 การใช้ไซลิทอลในผลิตภัณฑ์อาหาร

ในอุตสาหกรรมอาหารพบว่า มีแนวโน้มการใช้ไซลิทอลได้อย่างกว้างขวางในผลิตภัณฑ์ขนมอบ แยม และมาร์มาเลด และผลิตภัณฑ์ขนมหวาน เป็นต้น เนื่องจากไซลิทอลมีคุณสมบัติเฉพาะหลายประการที่เหมาะสมสามารถใช้ทดแทนการใช้น้ำตาลได้ และยังมีข้อดีของการใช้ไซลิทอล การแก้ปัญหาฟันผุ อันเกิดจากการบริโภคผลิตภัณฑ์ทั้งหลายที่มีน้ำตาลเป็นสารให้ความหวาน ทว่าการใช้ไซลิทอลก็มีข้อจำกัดอยู่บ้าง โดยเฉพาะในเครื่องดื่มประเภทน้ำอัดลม ซึ่งผู้บริโภคคงมีโอกาศจะได้รับปริมาณไซลิทอลมากเกินไปจะทำให้ท้องเสียได้ หรือสภาพอันหลากหลายของผลึกไซลิทอล (น้ำตาลซูโครสมีผลึกแบบ monoclinic แต่ไซลิทอลมีผลึกแบบ rhombic) อาจทำให้เนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์มีลักษณะแข็งกระด้าง อย่างไรก็ตามข้อจำกัดเหล่านี้กล่าวได้ว่าเป็นปัญหารองเมื่อเทียบกับประโยชน์ที่จะได้รับจากการทดแทนน้ำตาลซูโครสด้วยไซลิทอล ในผลิตภัณฑ์อาหารทั้งหลาย ซึ่งโดยปกติมักจะให้คุณภาพที่ทัดเทียมกัน หรือดีกว่า อาทิ คุณภาพที่เย็นสดชื่น ไซลิทอลยังช่วยเพิ่มคุณค่าทางรสชาติจำพวกรสเปปเปอร์มินต์ รสมะนาว และรสผลไม้ทั้งหลาย

ตัวอย่างการใช้ไซลิทอลในผลิตภัณฑ์อาหารมีดังนี้

(1) **หมากฝรั่ง** (chewing gum) ปกติหมากฝรั่งจะประกอบด้วยน้ำตาล 50-75 เปอร์เซ็นต์ และน้ำ 3-5 เปอร์เซ็นต์ และมีส่วนผสมของกลูโคสไซรัปเป็นตัวทำให้เนื้อสัมผัสนุ่ม (softenner)ไซลิทอลสามารถใช้แทนน้ำตาลซูโครสได้ในอัตรา1:1 ยกเว้นซอร์บิทอลและแมนนิทอล ซึ่งมีความหวานน้อยกว่า จะต้องเติมสารให้ความหวานที่ไม่ให้พลังงาน (non-caloric sweetener) ชนิดอื่นแทนเพื่อให้ได้ความหวานเท่าเดิม แต่เนื่องจากไซลิทอลมีความหนืด (viscosity) น้อยกว่าน้ำตาลซูโครส จึงต้องใช้กัมอาราบิค (gum arabic) เป็นส่วนผสมด้วย (Kracher, 1975) ความแตกต่างของหมากฝรั่งชนิดใช้ไซลิทอลกับชนิดใช้น้ำตาลซูโครสคือ ชนิดใช้ไซลิทอลจะให้ความรู้สึกเย็นเมื่อเริ่มเคี้ยวเท่านั้นเอง เนื่องจากอิทธิพลของความเย็นสดชื่น ซึ่งเป็นคุณสมบัติของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไซลิทอล และจากการศึกษาของ Scheinin และคณะ (1975) พบว่าหมากฝรั่งชนิดใช้ไซลิทอลสามารถป้องกันการเกิดฟันผุได้ ซึ่งมักพบกับผู้เคี้ยวหมากฝรั่งชนิดใช้น้ำตาลเป็นสารให้ความหวาน

(2) **ช็อคโกแล็ต** (chocolate) สามารถใช้ไซลิทอลในการผลิตช็อคโกแล็ตทดแทนน้ำตาลซูโครสได้ในอัตรา 1:1 แต่จำเป็นต้องใช้สารเติมแต่ง (additives) (Kracher, 1975) ช่วยเนื่องจากไซลิทอลให้ความหนืดต่ำกว่า ปริมาณไซลิทอลที่ใช้ในช็อคโกแล็ตมีตั้งแต่ 17-42 เปอร์เซ็นต์ และไม่พบปัญหาเกี่ยวกับเนื้อสัมผัสและรสชาติของผลิตภัณฑ์แต่อย่างไร

(3) **ท๊อฟฟี่และคาราเมล** (toffees and caramels) เนื่องจากไซลิทอลไม่มีคุณสมบัติทาง maillard browning และ caramelization จึงจำเป็นต้องเติมน้ำตาลฟรักโทสเพื่อคงคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์เอาไว้ หรืออาจเติมสีและกลิ่นดังกล่าวทดแทนก็ได้ และเพื่อป้องกันการเกิดการตกผลึกของไซลิทอล ซึ่งจะทำให้ผลิตภัณฑ์มีเนื้อสัมผัสแข็งกระด้าง ควรหลีกเลี่ยงการใช้มอลโตเด็กซ์ตริน (maltodextrin) และไลเคซีน (lycasin) เป็นส่วนผสมด้วย ซึ่งพบว่าอนุพันธ์ของแป้งดังกล่าวมีผลต่อการตกผลึกของไซลิทอลได้

(4) **เจลาติน** (gelatin desserts) การใช้ไซลิทอลในผลิตภัณฑ์เจลาตินมีคุณสมบัติเช่นเดียวกับใช้น้ำตาลซูโครสเป็นสารให้ความหวาน

(5) **พุดดิ้ง** (pudding) การผลิตพุดดิ้งไม่มีการเปลี่ยนแปลงสูตรแต่อย่างไรเมื่อใช้ไซลิทอลแทนน้ำตาลซูโครส และไม่มีผลต่อรสชาติผลิตภัณฑ์

(6) **แยม เยลลี่ และมาร์มาเลด** (jams, jellies and marmalades) กรณีนี้ไซลิทอลสามารถใช้ทดแทนน้ำตาลซูโครสได้เช่นกันในอัตราส่วน 1:1 แต่ควรหลีกเลี่ยงการใช้ไซลิทอลมากกว่า 40 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจะทำให้เกิดการตกผลึกของไซลิทอลได้ในระหว่างการเก็บรักษา (storage) และไม่มีความจำเป็นต้องเติมสารกันบูด (preservatives) แต่อย่างไร เพราะจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสีย (spoilage) ของผลิตภัณฑ์ไม่สามารถใช้ไซลิทอลเป็นแหล่งอาหารได้เช่นน้ำตาลอื่นทั่วไป แต่ควรเติมปริมาณของเพคติน (pectin) มากขึ้น เพราะไซลิทอลให้ความหนืดต่ำกว่าน้ำตาลซูโครส และมีความจำเป็นต้องเติมเกลือแคลเซียมเพื่อช่วยในการเกิดเจล (gelatinization) ของแยม (Hyvoenen และคณะ , 1982) นอกจากนี้ยังพบว่า แยมและมาร์มาเลดที่ใช้ไซลิทอลจะให้รสชาติที่ดีกว่าน้ำตาลซูโครส รวมทั้งความคงตัวของสีอีกด้วย (Manz และคณะ, 1973)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(7) **ลูกกวาด** (hard candy or boiled sweets) ลูกกวาดจัดเป็นผลิตภัณฑ์อีกชนิดหนึ่งที่เด็ก ๆ ชอบ และเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดฟันผุ การใช้ไซลิทอลเป็นสารให้ความหวานแทนน้ำตาลจึงมีเหตุที่ควรสนับสนุน พร้อมทั้งความเย็นสดชื่น ของไซลิทอลยังช่วยทำให้คุณสมบัติของผลิตภัณฑ์ดีขึ้นและรสชาติที่ยอมรับ การใช้ซอร์บิทอลแทนซึ่งมีความหวานน้อยกว่าไซลิทอลจะต้องใช้ปริมาณที่มากกว่า หรืออาจต้องเติมสารให้ความหวานชนิดอื่นทดแทนด้วย ในการผลิตลูกกวาดชนิด ไซลิทอลอาจมีปัญหาอยู่บ้าง เนื่องจากการตกผลึกของไซลิทอลในขณะทำให้เย็นและความหนืดที่ต่ำ จะต้องผลิตลูกกวาดโดยการอัดลูกกวาดร้อนเข้าแม่พิมพ์ (depositing) แทน

(8) **ผลิตภัณฑ์ขนมอบ** (bakery goods) พบว่าการใช้ไซลิทอลในผลิตภัณฑ์ขนมอบนั้นไม่จำเป็นต้องมีการเปลี่ยนแปลงสูตรขนมแต่อย่างไร แต่อาจจะต้องเติมน้ำตาลฟรักโทสเพื่อรักษาคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ maillard browning และ caramelization นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์ที่ต้องการวอลลูม (volumes) จากการหมักของยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* กับน้ำตาลนั้น อาจจะไม่เหมาะสมนักสำหรับการใช้ไซลิทอล เพราะผลิตภัณฑ์ขนมที่ได้จะมีวอลลูมน้อยกว่า และมีเนื้อสัมผัสที่แน่นกว่า (dense texture) อย่างไรก็ตามผลิตภัณฑ์ขนมอบที่ใช้ไซลิทอลนั้นจะเหมาะสมมากสำหรับคนที่เป็นโรคเบาหวาน และป้องกันฟันผุได้เป็นอย่างดี

(9) **ไอศกรีม** (ice creams) การใช้ไซลิทอลแทนน้ำตาลซูโครส กลูโคสไซรัป หรือน้ำตาลอินเวอร์ต (invert sugars) ในผลิตภัณฑ์แช่แข็ง จะทำให้คุณสมบัติหลอมเหลว ของผลิตภัณฑ์เปลี่ยนไป คือ ณ อุณหภูมิเดียวกัน ผลิตภัณฑ์ที่ใช้ไซลิทอลจะมีคุณลักษณะอ่อนตัวกว่า จึงจำเป็นต้องมีการเติมสารช่วยทำให้แข็ง (thickeners) สำหรับไอศกรีมที่ใช้ไซลิทอลนั้นไม่พบว่าการเปลี่ยนแปลงของคุณสมบัติเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -24 องศาเซลเซียส นานถึง 6 เดือน และไม่พบการเกิดการตกผลึกขึ้นอีกด้วย (Kracher, 1975)

(10) **เค็ทชัปและนมข้นหวาน** (ketchup and condensed milk) การใช้ไซลิทอลจะปรับปรุงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ คือป้องกันการเกิด browning และการเสื่อมเสียโดยจุลินทรีย์ได้เป็นอย่างดี

(11) **ซอสและอื่นๆ** (marinades, sauces and pastes) เนื่องจากเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีองค์ประกอบของน้ำตาลต่ำ ฉะนั้นการทดแทนน้ำตาลด้วยไซลิทอลจึงไม่ประสบปัญหาแต่อย่างไร

(12) **โยเกิร์ต** (yoghurt) จากการศึกษาว่าปริมาณไซลิทอลที่ใช้ 8 เปอร์เซ็นต์ จะเหมาะสมที่สุดสำหรับการทำโยเกิร์ต (Hyvoenen และคณะ, 1982) โดยที่การเติมไซลิทอลหลังการบ่มจะไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของผลิตภัณฑ์ แต่ถ้าเติมไซลิทอลก่อนการบ่มผลิตภัณฑ์ที่ได้จะมีค่าพีเอช (4.4) สูงกว่ากรณีที่ใช้น้ำตาลซูโครส (4.0) และผลิตภัณฑ์จะมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะหนืดน้อยกว่า อย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างเกี่ยวกับการยอมรับของผู้บริโภค (sensory evaluation)

(13) เครื่องดื่ม (drinks) เนื่องจากการได้รับไซลิทอลในขณะเดียวกันมากเกินไปจะทำให้ท้องเสียได้ (laxative effect) จึงต้องใช้ไซลิทอลในรูปผสมกับสารให้ความหวานตัวอื่น ตัวอย่าง เช่น เมื่อใช้ไซลิทอล 3.9 เปอร์เซ็นต์ และไซคลาเมท (cyclamate) 0.133 เปอร์เซ็นต์ แทนน้ำตาลในผลิต-ภัณฑ์น้ำอัดลม จะสามารถลดพลังงานที่ร่างกายจะได้รับถึง 60 เปอร์เซ็นต์ (Hyvoenen และคณะ, 1982) จึงนับเป็นเครื่องดื่มที่เหมาะต่อคนที่เป็นโรคเบาหวานและคนที่ต้องการควบคุมน้ำหนัก ส่วนนมสเตอริไรซ์ยูเอชทีชนิดช็อคโกแล็ต เหมาะที่จะใช้ไซลิทอล 4 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่ทำให้คุณภาพทางฟิสิกส์ เช่น ความหนืดและสีเปลี่ยนไป และยังเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค สำหรับการเก็บรักษากว่าหนึ่งเดือนที่อุณหภูมิห้องพบว่าผลิตภัณฑ์ไม่เสื่อมคุณภาพลง

(14) ผลิตภัณฑ์ทางเภสัชกรรม (pharmaceutical preparations) ไซลิทอลมีข้อได้เปรียบคือ ไม่ทำให้เกิดฟันผุ (non-cariogenicity) และไม่เสื่อมด้วยจุลินทรีย์ (non-fermentability) จึงได้ใช้เป็นสารให้ความหวานในการเตรียมผลิตภัณฑ์ชนิดเหลวทางเภสัชกรรม ฉะนั้นการใช้ยาดังกล่าวของคนไข้ที่ไม่ได้ทำความสะอาดช่องปากเป็นเวลานาน จึงไม่มีผลต่อการทำให้เกิดฟันผุ นอกจากนี้การใช้ไซลิทอลซึ่งไม่มีโครงสร้างของกลุ่มคาร์บอนิล เช่นน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหลาย จึงไม่มีผลต่อปฏิกิริยาทางเคมี ทำให้สารละลายที่เตรียมขึ้นมีความคงตัว

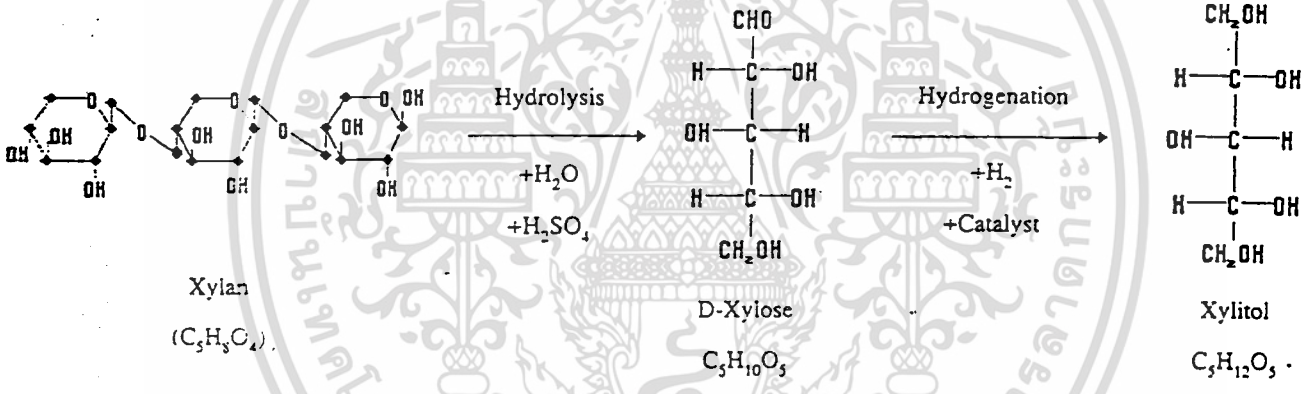
จะเห็นได้ว่า สามารถประยุกต์ใช้ไซลิทอลเป็นสารให้ความหวานทดแทนน้ำตาลในผลิต-ภัณฑ์อาหารได้อย่างกว้างขวาง ปัจจุบันก็ได้มีการใช้ไซลิทอลในผลิตภัณฑ์อาหารแพร่หลายมากขึ้นทั้งในทวีปยุโรป และอเมริกา โดยเฉพาะหมากฝรั่ง และพบว่ามีแนวโน้มที่จะใช้ไซลิทอลมากในอุตสาหกรรมประเภทขนมหวาน (confectionary) และขนมขบเคี้ยว (snack products) แต่การใช้ไซลิทอลในผลิตภัณฑ์ดังกล่าวยังมีข้อจำกัดอยู่ที่การผลิตไซลิทอลมีต้นทุนการผลิตสูงกว่ากระบวนการผลิตน้ำตาล จึงทำให้ราคาของไซลิทอลแพงกว่าน้ำตาลทั่วไป อย่างไรก็ตาม ปัจจุบันได้มีการวิจัยค้นคว้า เพื่อลดต้นทุนการผลิตไซลิทอลโดยวิธีการหมัก โดยการนำเอาวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่มีองค์ประกอบของน้ำตาลไซโลสใช้เป็นวัตถุดิบ ซึ่งคาดว่าจะทำให้ต้นทุนการผลิตถูกกว่ากระบวนการผลิตทางเคมี (hydrogenation) ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 การผลิตไซลิทอลในระดับอุตสาหกรรม

ไซลิทอลมีประวัติการผลิตในระดับอุตสาหกรรม เริ่มเป็นครั้งแรกที่ประเทศฟินแลนด์ เมื่อปี พ.ศ. 2519 โดยบริษัทฟินนิชชูการ์ ซึ่งกำลังการผลิตมากกว่า 3,000 ตันต่อปี ต่อมาในปี พ.ศ. 2520 ได้มีการร่วมมือกันระหว่างบริษัทฟินนิชชูการ์ และบริษัทเอฟฮอฟมันน์ลาโรชแห่งประเทศสวิสเซอร์แลนด์ ตั้งบริษัทร่วมกันเรียกว่า ไซโรฟิน (Xylofin Co.,Ltd.) ขึ้นมา กำลังผลิตในปี พ.ศ. 2522 ของน้ำตาลแอลกอฮอล์ทั่วโลกเท่ากับ 345,000 ตัน ซึ่งเป็นส่วนของไซลิทอลและแมนิทอลถึง 6,000 ตัน (สาโรจน์ ,2538)

เนื่องจากการสกัดไซลิทอลจากแหล่งธรรมชาติที่มีปริมาณต่ำทำให้ไม่คุ้มในเชิงพาณิชย์ การผลิตในอุตสาหกรรมได้ใช้กระบวนการไฮโดรจีเนชัน (hydrogenation) โดยใช้น้ำตาลไซโลสเป็นสารตั้งต้น (Hyvoenen และคณะ, 1982) ดังแสดงเอาไว้ในรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 การผลิตไซลิทอลจากน้ำตาลไซโลสโดยกระบวนการทางเคมี

ซึ่งมีแหล่งวัตถุดิบมากมายที่สามารถใช้เป็นแหล่งของน้ำตาลไซโลสได้ อาทิเช่น วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร เศษเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมไม้ และน้ำทิ้งจากโรงงานทำเยื่อกระดาษ (xylan containing sulfite waste) เป็นต้น ซึ่งประกอบด้วยขั้นตอนดังต่อไปนี้

2.2.1. การไฮโดรไลซิส (hydrolysis) เป็นขั้นตอนการสกัดน้ำตาลไซโลสจากส่วนของเฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) โดยการใช้กรดซัลฟิวริกเจือจาง หรือโดยการใช้ด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ รายละเอียดของการไฮโดรไลซิสทางเคมีได้มีการรายงานไว้มากมาย แต่กระบวนการที่น่าสนใจคือการใช้กรดเจือจาง 0.5-1.0 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิสูง 200-210 องศาเซลเซียส เวลาสั้นมากประมาณ 3 วินาที เพื่อสกัดไซโลสจากเฮมิเซลลูโลส เรียกกระบวนการดังกล่าวว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

"Ultrafast Hydrolysis" นอกจากนี้ยังมีความเป็นไปได้ที่จะสกัดไซโลสได้โดยวิธีทางเอนไซม์ แต่ผลผลิตที่ได้ (yield) ยังคงต่ำเมื่อเทียบกับกระบวนการทางเคมี

2.2.2. **การทำน้ำตาลไซโลสให้บริสุทธิ์** (xylose purification) หลังจากการไฮโดรไลซิสแล้ว น้ำตาลไซโลสที่มีอยู่ในไฮโดรไลเสท (hydrolysate) จะถูกนำไปทำให้บริสุทธิ์ด้วยขั้นตอน 2 แบบ (Hyvoenen และคณะ, 1982)

(1) **แบบแยกน้ำตาลไซโลส** (isolation of xylose) ไฮโดรไลเสทที่ได้จะถูกกรองแยกสารแขวนลอยและตะกอนออกมา ก่อนที่จะถูกนำไปผ่านตัวแยกไอออน (ion exchange) เพื่อกำจัดสีและเกลือ และเพื่อให้ได้สารละลายไซโลสบริสุทธิ์ที่ความเข้มข้น 85-90 เปอร์เซ็นต์ จะต้องใช้วิธีทางโครมาโทกราฟี (chromatographic fractionation) เป็นขั้นตอนสุดท้าย

(2) **แบบไม่แยกน้ำตาลไซโลส** (non-isolation of xylose) กรณีนี้ไฮโดรไลเสทจะถูกกำจัดไอออนและสีเท่านั้น โดยไม่มีการแยกเอาน้ำตาลชนิดอื่นออกไปด้วยวิธีทางโครมาโทกราฟี สารละลายน้ำตาลที่ได้จะประกอบด้วยน้ำตาลชนิดต่างๆ โดยมีน้ำตาลไซโลสเป็นองค์ประกอบหลัก (ตารางที่ 2.4)

ตารางที่ 2.4 องค์ประกอบของสารละลายน้ำตาลที่ได้จากการไฮโดรไลซิส

น้ำตาล	เปอร์เซ็นต์
อาราบิโนส	6.3
ไซโลส	77.5
แมนโนส	7.8
กาแล็กโทส	4.5
กลูโคส	4.5

ที่มา : Hyvoenen และคณะ (1982)

2.2.3. **การไฮโดรจีเนชัน** (hydrogenation) เป็นขั้นตอนการเปลี่ยนน้ำตาลไซโลสไปเป็นไซลิทอลภายใต้สภาวะความดัน 50 บรรยากาศ และอุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2.5 ชั่วโมง โดยมีโลหะนิเกิล (raney nickel) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (catalyst) น้ำตาลทุกตัวจะถูกปฏิกิริยาเติมไฮโดรเจนได้เป็นน้ำตาลแอลกอฮอล์ (sugar alcohol) ดังแสดงไว้ในตารางที่ 2.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

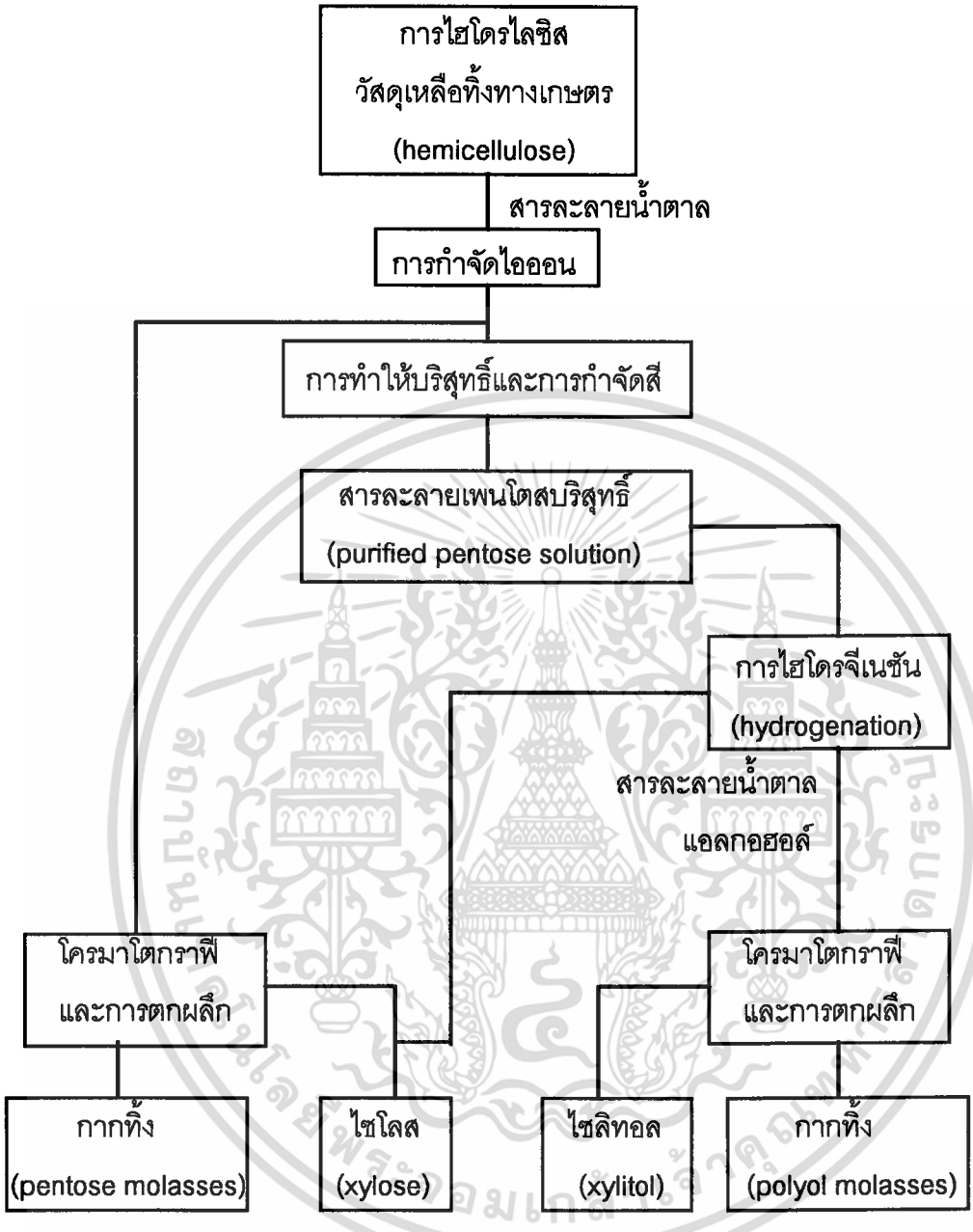
ตารางที่ 2.5 องค์ประกอบของสารละลายน้ำตาลแอลกอฮอล์ที่ได้จากการไฮโดรจีเนชัน

น้ำตาลแอลกอฮอล์	เปอร์เซ็นต์
อาราบิทอล	9
ไซลิทอล	64.5
แมนนิทอล	7.5
กาแลคติทอล	5
ซอร์บิทอล	4.5
อื่นๆ	9.5

ที่มา : Hyvoenen และคณะ (1982)

2.2.4. **การทำไซลิทอลให้บริสุทธิ์** (xylitol purification) หลังจากขั้นตอนไฮโดรจีเนชันแล้ว โลหะนิเกิลจะแยกออกไปได้ด้วยการกรอง สารละลายน้ำตาลแอลกอฮอล์ที่ได้จะถูกนำไปแยกให้ได้เฉพาะไซลิทอลโดยวิธีทางโครมาโทกราฟี (โดยใช้ polystyrene sulfonate ทำการ crosslink กับ 3-4 เปอร์เซ็นต์ divinyl benzene และทำการแยกสารละลายดังกล่าวที่อุณหภูมิ 51 องศาเซลเซียส)ก่อนที่สารละลายไซลิทอลจะถูกนำไปผ่านขั้นตอนการตกผลึก (crystallization) เพื่อให้ได้ไซลิทอลบริสุทธิ์ (99 เปอร์เซ็นต์) ผลผลิตของไซลิทอลเมื่อเทียบกับน้ำตาลไซโลสเริ่มต้นเท่ากับ 68 เปอร์เซ็นต์ การผลิตไซลิทอลโดยกระบวนการทางเคมีมีราคาแพง เนื่องจากขั้นตอนการแยกและทำให้บริสุทธิ์ทำได้ยาก ดังนั้นการนำจุลินทรีย์มาใช้ในการผลิตจึงเป็นแนวทางที่น่าสนใจในการผลิตไซลิทอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่2.2 กรรมวิธีการผลิตไซลิทอลและไซโลส (Melaja และ Haemaelaeine, 1977)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 การผลิตไซลิทอลโดยวิธีทางเทคโนโลยีชีวภาพ

จากการรวบรวมโดย Nigam และ Singh (1995) สามารถสรุปวิธีการผลิตไซลิทอลโดยวิธีทางเทคโนโลยีชีวภาพ ได้ดังนี้

2.3.1. กระบวนการผลิตโดยการเลี้ยงเซลล์จุลินทรีย์

2.3.1.1 กระบวนการผลิตโดยการหมักโดยใช้เชื้อยีสต์

ได้มีการรายงานการผลิตไซลิทอลโดยเชื้อยีสต์เป็นครั้งแรกโดยกลุ่มนักวิทยาศาสตร์ชาวญี่ปุ่นเมื่อราวสามทศวรรษที่ผ่านมา (Onishi และ Suzuki, 1966) โดยค้นพบว่าเชื้อยีสต์ *Candida polymorpha* ภายใต้สภาวะที่มีอากาศสามารถเปลี่ยนน้ำตาลไซโลส ไปเป็นไซลิทอล โดยมีผลได้ (yield) ของไซลิทอลประมาณ 30-40 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำตาลที่ถูกใช้ไป

Gong และคณะ (1981) ได้รายงานว่าเชื้อผ่าเหล่า *Candida tropicalis* HPX2 มีความสามารถสูงในการเปลี่ยนน้ำตาลไซโลสไปเป็นไซลิทอลได้มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ และพบว่ายีสต์บางสายพันธุ์ เช่น *Candida* spp. และ *Pachysolen tannophilus* สามารถผลิตไซลิทอลจากไซโลส ได้มากกว่า 15 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำตาลเริ่มต้นของการหมัก

Gong และคณะ (1983) ได้ทดสอบความสามารถในการผลิตไซลิทอล จากไซโลสของเชื้อ *Candida* 20 สายพันธุ์จาก 11 สปีชีส์ เชื้อ *Saccharomyces* 21 สายพันธุ์ จาก 8 สปีชีส์ และ *Shizosaccaromyces pombe* อีก 8 สายพันธุ์ สามารถผลิตไซลิทอลได้ในอัตราปานกลาง คือ 10-15 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักต่อปริมาณ *Saccharomyces* spp. ใช้ผลิตไซลิทอลได้ไม่ดี แต่สามารถให้ผลผลิตได้ในปริมาณใกล้เคียงกัน ส่วน *Sc. pombe*

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

Roseiro และคณะ (1991) ได้รายงานว่า เชื้อ *C. guilliermondii* สามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้สูงสุด 0.74 กรัมต่อกรัมน้ำตาลไซโลส และเชื้อ *Debaryomyces hansenii* ผลิตได้ 0.53 กรัมต่อน้ำตาลไซโลส และได้มีรายงานว่า *C. parapsilosis* สามารถผลิตได้สูงถึง 0.74 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ต่อน้ำตาลไซโลส โดยผลิตในอัตราเร็ว 0.14 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และผลิตได้สูงสุด 1.23 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และผลิตได้ 0.5 กรัมต่อกรัมน้ำตาลไซโลส (Nollean และคณะ ,1993)

Vongsuvanlert และคณะ (1989) ได้รายงานว่า เชื้อ *C. boidinii* สามารถผลิตไซลิทอลได้ 0.44 ไซลิทอลต่อกรัมไซโลส หรือความสามารถในการผลิตเป็น 0.25 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง เมื่อใช้ไซโลส 100 กรัม เป็นอาหารเริ่มต้น

Eleonora Vandeska และคณะ (1996) ได้รายงานว่า เชื้อ *C. boidinii* NRRL Y-17213 ในการผลิตไซลิทอลแบบ การหมักแบบครั้งคราว (fed-batch fermentation) โดยใช้ไซโลสเป็นอาหารเริ่มต้น (50, 100 กรัมต่อลิตร) เมื่อมีการให้อากาศอย่างเพียงพอ จะผลิตไซลิทอลได้ 0.57-0.68 กรัมต่อกรัม ในอัตราเร็ว 0.32-0.46 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง เมื่อเทียบกับการหมักแบบชั่วคราว

เมื่อเร็วๆนี้ก็ได้มีการค้นพบว่า *Candida parapsilosis* (Furlan และคณะ 1991) และ *Candida guilliermondii* (Meyrial และคณะ 1991) สามารถผลิตไซลิทอลได้จากน้ำตาลไซโลส โดยมีความเข้มข้นของออกซิเจนเป็นปัจจัยสำคัญต่อการหมัก โดยเชื้อยีสต์ *Candida guilliermondii* สามารถให้ผลได้ของไซลิทอลเท่ากับ 63 เปอร์เซ็นต์ และมีผลผลิต 0.19 กรัมไซลิทอลต่อกรัมต่อเซลล์ต่อชั่วโมง

นอกจากนี้ยังได้มีการจดลิขสิทธิ์ในการผลิตไซลิทอล โดยวิธีการหมัก โดยใช้เชื้อยีสต์ *Candida guilliermondii* VTT-C-71006 ซึ่งพบว่าภายใต้สภาวะที่ขาดแคลนออกซิเจน เชื้อดังกล่าวจะให้ผลได้ของไซลิทอลที่สูง และเมื่อใช้เทคนิคของการหมักแบบครั้งคราว (fed-batch) ก็สามารถเพิ่มผลได้ของไซลิทอลได้สูงถึง 78 เปอร์เซ็นต์ และมีผลผลิตเท่ากับ 1.4 กรัมไซลิทอลต่อลิตรน้ำหมักต่อชั่วโมง

อย่างไรก็ตามจากการศึกษา Sirisansaneeyakul และคณะ (1992) ชี้ให้เห็นว่าเชื้อยีสต์ *Candida mogii* ATCC 18364 สามารถเพิ่มผลได้ของไซลิทอลเมื่อความเข้มข้นของออกซิเจนในน้ำหมักลดลง หรือความเข้มข้นของไซโลสเพิ่มขึ้น และสามารถอธิบายปรากฏการณ์ดังกล่าวของการผลิตไซลิทอล โดยอาศัยรูปจำลองของคณิตศาสตร์ ได้ทั้งเทคนิคการหมักแบบชั่วคราว (batch) แบบครั้งคราว (fed-batch) สำหรับเหตุผลที่ออกซิเจนเป็นปัจจัยสำคัญต่อการผลิตไซลิทอลก็ คือ ในสภาวะที่ขาดแคลนออกซิเจน การสังเคราะห์ (regeneration) โคเอนไซม์ NADH ด้วยกระบวนการหายใจนั้นไม่เพียงพอ ทำให้ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไซลิทอลดีไฮโดรจีเนส ที่จะเปลี่ยนไซลิทอลต่อไปเป็นน้ำตาลไซลูโลส ในวิถีเพนโตส-ฟอสเฟต หรือที่เรียกว่า Hexose Monophosphate (HMP) นั่นเอง จึงเกิดการสะสมเพิ่มขึ้นของไซลิทอล และถูกส่งผ่านออกสู่นอกเซลล์เป็นผลทำให้ผลได้และผลผลิตของไซลิทอลเพิ่มขึ้นได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

28145

Sirisansaneeyakul และคณะ (1995) ได้รายงานว่าเชื้อยีสต์จาก American Type Culture Collection (Rockville, MD, USA) ที่สามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอล

ตารางที่ 2.6 การคัดเลือกยีสต์สำหรับผลิตไซลิทอล

Microorganism	Biomass yield ($Y_{X/S}$) (g/g)	Xylitol yield ($Y_{P/S}$) (g/g)
C. mogii ATCC 18364	0.08	0.62
C. tropicalis ATCC 7349	0.23	0.40
C. parapsilosis ATCC 34078	0.10	0.40
Candida kefir Hadmad 21a	0.20	0.29
Kluyveromyces marxianus Hamad 21b	0.13	0.26
Candida utilis ATCC 22023	0.19	0.18
Hansenula polymorpha Hamad 35a	0.27	0.15
C. tropicalis ATCC 20240	0.47	0.11
P. stipitis ATCC 7124	0.20	0.0
Saccharomyces diastaticus IFGB 1110	0.19	0.0
Saccharomyces cerevisiae ATCC 28338	0.07	0.0

ที่มา : Sirisansaneeyakul (1995)

และพบว่า จากเชื้อยีสต์ที่ได้ทดสอบ เชื้อยีสต์สายพันธุ์ *Candida* จะมีความสามารถในการผลิตไซลิทอลจากดีไซโลสได้มากกว่ายีสต์ชนิดอื่น และพบว่า เชื้อ *C. mogii* ATCC 18364 เป็นสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตมากที่สุด ($Y_{P/S}$ = 0.70)

ขั้นตอนการผลิตไซลิทอลจากฟางข้าวสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ช่วง คือ ช่วงการสกัดน้ำตาลไซโลสออกจากฟางข้าว ช่วงการเปลี่ยนไซโลสให้เป็นไซลิทอล โดยใช้เชื้อยีสต์ และช่วงการสกัดเอาไซลิทอลออกมา ในช่วงแรกนั้นเริ่มด้วยการนำเอาฟางข้าวมาบดให้ละเอียด แล้วทำการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สกัดน้ำตาลไซโลสออกจากฟางข้าวโดยใช้กรดซัลฟิวริกเจือจาง 0.5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส จากนั้นจึงแยกเอากากหยาบออกโดยใช้โรตารีฟิลเตอร์ (rotary filter) และแยกกากละเอียดออกโดยใช้ฟิลเตอร์เพลท (filter plate) อีกครั้ง ต่อมาจะเป็นการกำจัดกรดที่ใช้ในการสกัดไซโลสออกจากฟางข้าว โดยใช้วิธีอิเลคโตรไดอะไลซีส (electrodialysis) เมื่อได้น้ำเชื่อมที่เป็นน้ำตาลไซโลสแล้วจึงนำน้ำเชื่อมมาทำให้เข้มข้นขึ้น โดยแยกเอาน้ำออกบางส่วนด้วยวิธีรีเวอร์สออสโมซีส (reverse osmosis) น้ำเชื่อมเข้มข้นที่ได้ในช่วงแรกนี้จะนำไปใช้เป็นสารตั้งต้น สำหรับการหมักในช่วงการเปลี่ยนไซโลสให้เป็นไซลิทอลโดยใช้เชื้อยีสต์ต่อไป

ช่วงต่อมาจะเป็นการฆ่าเชื้อที่อาจปนเปื้อนมาในน้ำเชื่อม จากนั้นจึงนำน้ำเชื่อมไปเติมในถังหมัก เติมสารอาหารบางอย่างที่จำเป็นสำหรับการหมักลงไป และเติมเชื้อยีสต์สายพันธุ์ *Candida mogii* ATCC 18364 ซึ่งเป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถเปลี่ยนไซโลสไปเป็นไซลิทอลได้ดีในสภาวะที่ออกซิเจนถูกจำกัดลงไปเมื่อทำการหมัก หลังจากการหมักโดยใช้เชื้อยีสต์จะได้สารให้ความหวานไซลิทอลเกิดขึ้น เมื่อถึงเวลาที่มีไซลิทอลปริมาณมากพอแล้วก็จะทำการแยกเอาเชื้อยีสต์ออกจากน้ำหมัก น้ำหมักซึ่งมีไซลิทอลอยู่จะถูกนำไประเหยเอาน้ำออกเพื่อให้น้ำเชื่อมเข้มข้นขึ้น ต่อจากนั้นก็ทำการแยกเอาไซลิทอลออกโดยใช้เรซิน และทำการตกผลึกให้ได้ออกมาเป็นน้ำตาลไซลิทอลในช่วงสุดท้าย

2.3.1.2 กระบวนการหมักโดยใช้เชื้อแบคทีเรีย

ไซลิทอลสามารถผลิตได้โดยใช้แบคทีเรีย เช่น *Corynebacterium* sp. และ *Mycobacterium smegmatis* พบว่า *M. smegmatis* สามารถเปลี่ยน ไซโลสเป็นไซลิทอลในอัตรา 70 เปอร์เซ็นต์ การศึกษาการผลิตไซลิทอล และใช้ไซโลสที่ได้มาจากใช้เอนไซม์ดีไซโลส-ไอโซเมอร์เลส(D-xylose isomerase)จากเชื้อ *Bacillus coagulans* และตรึงเซลล์ *M. smegmatis* ได้ไซลิทอล 4 กรัม จากไซโลส 10 กรัม

2.3.1.3 กระบวนการหมักโดยใช้เชื้อรา

การเปลี่ยนไซโลสไปเป็นไซลิทอล ในกระบวนการหมักสามารถทำได้ โดยใช้เชื้อราชนิดต่างๆ เช่น *Petromyces albertensis*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.1.4 กระบวนการหมักโดยใช้เชื้อผสม

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

การผลิตไซลิทอลโดยวิธีการหมักนี้ได้มีการศึกษา และวิจัยเพื่อพัฒนากระบวนการผลิตในระดับอุตสาหกรรม เพื่อให้แข่งขันได้กับการผลิตโดยกระบวนการทางเคมี ซึ่งมีต้นทุนสูง และมีสารปนเปื้อน (impurities) อยู่มากที่จะต้องผ่านการทำให้บริสุทธิ์หลายขั้นตอน นอกจากนี้ยังเป็นการเน้นถึงการใช้ประโยชน์จากวัสดุเหลือทิ้งทั้งทางภาคเกษตรกรรมและภาคอุตสาหกรรมที่ไม่มีมูลค่า หรือที่ใช้ประโยชน์ไม่เต็มที่ นำมาผลิตเป็นไซลิทอลและผลิตภัณฑ์อื่นๆที่มีมูลค่าสูงซึ่งมีการใช้กันมากในอุตสาหกรรมอาหาร

2.3.2. กระบวนการผลิตโดยใช้เอนไซม์

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 กระบวนการเมแทบอลิซึมในการผลิตไซลิทอลจากไซโลส

Nigam และ Singh (1995) สรุปรวบรวมเกี่ยวกับกระบวนการเมตาบอลิซึมในการผลิตไซลิทอลจากไซโลส ไว้ดังนี้

ไซโลสสามารถเปลี่ยนไอโซเมอร์ไปเป็นไซลูโลสโดยเอนไซม์ไซโลสไอโซเมอร์เลส (xylose isomerase) หรือถูกรีดิวซ์ไปเป็นไซลิทอลโดยเอนไซม์ไซโลสรีดักเทส (xylose reductase) ในขณะที่มี NADPH หรือ NADH ซึ่งไซลิทอลที่ผลิตขึ้นสามารถเปลี่ยนเป็นไซลูโลส โดยเอนไซม์ไซลิทอล ดี-ไฮโดรจีเนส (xylitol dehydrogenase) ในขณะที่มี $NADP^+$ หรือ NAD^+ ที่ได้จากปฏิกิริยาในตอนต้น

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

วิถี oxido-reduction ของไซลิทอล ซึ่งเป็น intermediate ถูกรายงานว่า เป็นวิถีทั่วไปสำหรับการเปลี่ยนไซโลสไปเป็นไซลิทอล ซึ่งมีการศึกษาวิถีนี้จากยีสต์ *Candida utilis*, *Rhodotorula*, *Candida pulcherima* และ *Pichia quercuu* Furlan และคณะ (1994) ได้รายงานว่า กระบวนการดังกล่าวจะเกิดขึ้นได้จะต้องอาศัยโคแฟกเตอร์จากการหายใจแบบใช้ออกซิเจน

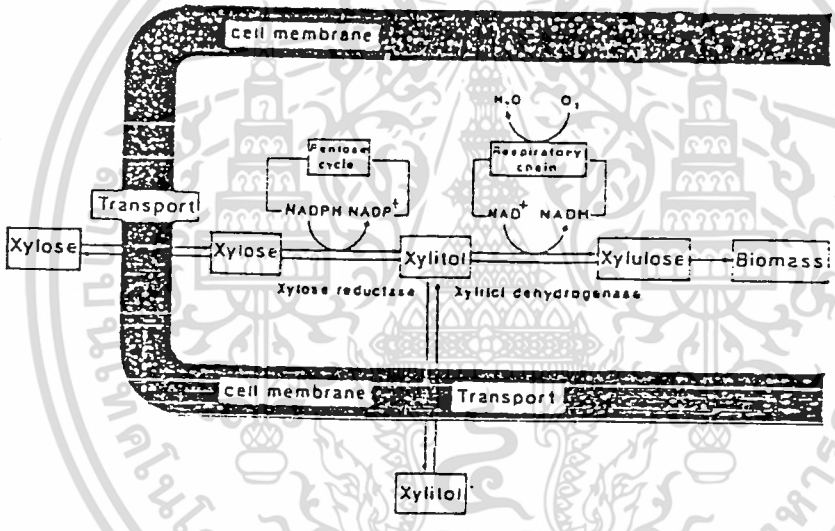
ในการผลิตทางชีวภาพโดยการใช้เชื้อราผลิตไซลิทอลจากไซโลส เชื้อตัวแรกที่ใช้ คือ *Petromyces albertensis* ซึ่งรายงานว่าวิถีนี้มีความเป็นไปได้

ในกระบวนการเมตาบอลิซึมของยีสต์ ไซโลสจะถูกรีดิวซ์โดยตรงไปเป็นไซลิทอลโดยใช้ NADH ถึงแม้ว่า NADPH จะเป็นตัว reductant สำหรับปฏิกิริยารีดักชันของไซโลสไปเป็นไซลิทอลโดยเอนไซม์ Akloreductase ใน *Rhodotorula gracilis* ในกรณีอื่นที่เป็นไปได้คือ ไซโลสจะถูกเปลี่ยนเป็นไซลูโลสก่อน และถูกรีดิวซ์เป็นไซลิทอล โดยใช้ NADH โดยศึกษาจากเชื้อ *Pichia stipitis* ในปฏิกิริยารีดักชัน NADPH จะมีความ active เป็นตัว reductant แต่พบว่าจะน้อยกว่า NADH ในยีสต์ เช่น *Pachysolen tannophilus* เอนไซม์ xylose reductase จะ active เมื่อทำงานร่วมกับ NADPH หรือ NADH เป็นโคแฟกเตอร์ ไซลูโลสที่สะสมในน้ำหมักจะถูก phosphorylate โดยเอนไซม์ D-xylulokinase และสิ้นสุดด้วยวิถีเพนโตสฟอสเฟต และได้ผลผลิตพลอยได้เป็นเอทานอล ซึ่งเป็นการหมักโดยใช้ยีสต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระบวนการเมตาบอลิซึมของน้ำตาลไซโลสโดยยีสต์ พบว่า ยีสต์ใช้น้ำตาลไซโลสโดยผ่านวิถีแพนโตสฟอสเฟต ซึ่งน้ำตาลไซโลสถูกผ่านเข้าสู่เซลล์ และถูกเปลี่ยนไปเป็นไซลิทอลด้วยการทำงานของเอนไซม์ไซโลสรีดักเทสที่ใช้โคเอนไซม์ NADPH ต่อจากนั้นไซลิทอลจะถูกเปลี่ยนต่อไปเป็นน้ำตาลไซลูโลสด้วยการทำงานของเอนไซม์ไซลิทอลดีไฮโดรจีเนสที่ใช้โคเอนไซม์ NAD^+ ซึ่งจะถูกฟอสฟอรีเลสก่อนที่จะเข้าวัฏจักรเพนโตส เพื่อที่จะสังเคราะห์เป็นชีวมวลของเซลล์และพลังงานต่อไป ดังที่ได้แสดงกระบวนการดังกล่าวเอาไว้ในรูปที่ 2.3 (Sirisansaneeyakul และ คณะ, 1992)

นอกจากนี้ความเข้มข้นของน้ำตาลไซโลสที่เพิ่มขึ้น ยังมีผลทำให้อัตราการส่งผ่านน้ำตาลไซโลสเข้าสู่เซลล์สูงขึ้น ซึ่งมีผลทำให้อัตราการผลิตของไซลิทอลสูงขึ้นเช่นเดียวกัน รวมทั้งผลได้ของไซลิทอลอีกด้วย ดังรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 กระบวนการเมตาบอลิซึมของน้ำตาลไซโลสโดยยีสต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การผลิตไซลิทอลในเชิงอุตสาหกรรม การเพิ่มผลผลิตเป็นสิ่งสำคัญมาก และผลผลิตที่จะได้รับจะขึ้นอยู่กับสภาวะที่ใช้ในการผลิต

(1) อัตราการให้อากาศ

การให้อากาศกระตุ้นการขนส่งน้ำตาลเข้าสู่เซลล์ในยีสต์บางชนิด และรวมถึงจุลินทรีย์อีกหลายชนิด เช่น *Candida, Hansenula, Kluyveromyces* และ *Pichia* ซึ่งต้องการออกซิเจน เพื่อใช้ในการดูดซึมน้ำตาล การให้อากาศกับอาหารเลี้ยงในช่วงการหมักจะทำให้เพิ่มการเปลี่ยนไซโลสไปเป็นไซลิทอล เพราะการผลิตไซลิทอลเป็นผลผลิตที่เกิดควบคู่ไปกับการเจริญของเซลล์จุลินทรีย์ ที่มีความหนาแน่น ซึ่งจะมีอิทธิพลกับการเผาผลาญโดยออกซิเจน จุลินทรีย์บางชนิดสามารถผลิตไซลิทอลภายใต้สภาวะที่มีอากาศเล็กน้อย (microaerophillic) Meyril และคณะ (1991) ทำการศึกษาความสามารถในการผลิตของเชื้อ *Candida guilliermondii* ที่จะผลิตไซลิทอลจากไซโลส และ non-hemicellulose ซึ่งทำการย่อยให้ได้น้ำตาล ในสภาวะ microaerophillic ได้ผลผลิตไซลิทอล 0.63 กรัมต่อกรัม และได้เอทานอลปริมาณเล็กน้อย จากการใช้ไซโลส ส่วนน้ำตาลที่ไม่ใช้ไซโลสจะถูกเปลี่ยนเป็นเอทานอล และเซลล์จุลินทรีย์ การผลิตไซลิทอลโดย *Debaromyces hansenii* ต้องการสภาวะ semi-aerobic โดยเริ่มจากสภาวะที่มีอากาศ (aerobic) เพื่อเพิ่มการสะสม reduced-adenine-dinucleotide-coenzyme ให้มีความสมบูรณ์พร้อมที่จะทำให้เกิดปฏิกิริยารีดอกซิไดซ์ ซึ่งจะนำไปสู่การเปลี่ยนไซลิทอลไปเป็นไซลูโลส

Horitsu และคณะ (1992) รายงานว่าผลกระทบที่มีต่อการผลิตไซลิทอลในขั้นตอนแรกควรพิจารณาถึงความเร็วในการเพิ่มปริมาณเซลล์จุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ อย่างไรก็ตามไซลิทอลภายใต้สภาวะ anoxic และการเพิ่มปริมาณออกซิเจนที่ละลายได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ในช่วงระหว่างการหมักจะนำไปสู่การผลิตไซลูโลส โดยการไฮโดรจีเนชันของไซลิทอล ที่เกิดขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อ ดังนั้นการเพิ่มระดับการละลายของออกซิเจน จะมีความต้องการเฉพาะขั้นตอนเริ่มต้นในการหมักเท่านั้นแต่หลังจากนั้นควรลดระดับการให้อากาศกับจุลินทรีย์ *Candida tropicalis* เพิ่มการสะสม ไซลิทอลภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนในปริมาณจำกัด เพราะ Horitsu และคณะ (1992) พบว่า ความเข้มข้นต่ำของออกซิเจนที่ละลายได้จะมีความสัมพันธ์กับระดับ NADPH และ NADH ในเซลล์ซึ่งจะนำไปสู่การรีดักชันของไซโลสและเพิ่มการสะสมไซลิทอลในอาหารเลี้ยงเชื้อ Sirisansaneeyakul และคณะ (1992) ได้รายงานว่าในสถาวะที่ขาดแคลนออกซิเจน การสังเคราะห์โคเอนไซม์ NADH ด้วยกระบวนการหายใจนั้นไม่เพียงพอ ทำให้ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไซลิทอลดีไฮโดรจีเนส ที่จะเปลี่ยนไซลิทอลต่อไปเป็นน้ำตาลไซลูโลส ในวิถี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพนโตสฟอสเฟต หรือที่เรียกว่า hexose monophosphate นั่นเอง จึงเกิดการสะสมเพิ่มขึ้นของไซลิทอล และถูกส่งผ่านออกนอกเซลล์ เป็นผลทำให้ผลได้ และผลผลิตของไซลิทอลเพิ่มขึ้น

Furlan และคณะ (1994) ได้ทำการทดลองพบว่า เชื้อ *Candida tropicalis* สามารถผลิตไซลิทอลได้ 30 กรัมต่อลิตร ในเวลา 117 ชั่วโมง เชื้อ *Pichia tannophilus* และ *Candida shehatae* สามารถผลิตไซลิทอลได้ 12.5 กรัมต่อลิตร และ 6.0 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ผลที่ได้นี้เป็นผลมาจากสภาวะ microaerobic และสามารถสรุปได้ว่าอัตราการถ่ายเทออกซิเจนเป็นหลักสำคัญในการผลิตไซลิทอล

(2) แหล่งไนโตรเจนที่ใช้ในการผลิตไซลิทอล

Barbosa และคณะ (1988) บอกถึงความสำคัญของแหล่งไนโตรเจนและการให้อากาศว่ามีผลกับปริมาณการผลิตไซลิทอลจากไซโลสโดยยีสต์บางสายพันธุ์ ใน *Saccharomyces cerevisiae* วิถีเพนโตสฟอสเฟต ควบคุมโดยไนโตรเจนและเกลือแอมโมเนียม ซึ่งพบว่าสามารถกระตุ้นการเกิดออกซิเดทีฟในวิถีเพนโตสฟอสเฟต เพราะเอนไซม์ D-glucose-6-phosphate dehydrogenase จะถูกยับยั้งโดย NADPH ใน *Pichia tannophilus* เกลือแอมโมเนียมจะกระตุ้นการเจริญและลดระดับ NADPH ของเอนไซม์ D-glucose-6-phosphate dehydrogenase ภายในเซลล์และเพิ่ม activity ของการออกซิเดทีฟ ในวิถีเพนโตสฟอสเฟต

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

Horitsu และคณะ (1992) ใช้ยีสต์สกัดเป็นแหล่งไนโตรเจนที่ความเข้มข้น 3, 10, และ 20 กรัมต่อลิตร พบว่าได้รับอัตราการเกิดผลิตผลสูงสุด (1.78 กรัมต่อลิตร) ด้วย 20 กรัมต่อลิตร ของยีสต์สกัด ด้วยอัตราการไหล 400 มิลลิลิตรต่อนาที ให้อากาศ 90 เปอร์เซ็นต์ของก๊าซออกซิเจน และใช้ไซโลส 100 กรัมต่อลิตร Onishi และคณะ (1980) พบว่าการผลิตโพลิออล โดย *Pichia* เป็นผลมาจากอัตราส่วนของแหล่งคาร์บอนกับแหล่งไนโตรเจน ปริมาณโพลิออลจะได้มากกว่าเมื่อใช้แหล่งไนโตรเจนที่มีความเข้มข้นต่ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(3) ความเข้มข้นของไซโลส

ความเข้มข้นของสับสเตรท (substrate) สูงในช่วงเริ่มต้นของการผลิตไซลิทอล จะเหมาะสมกับจุลินทรีย์ที่เป็น osmophilic โดยทั่วไปการหมักแบบชั่วคราว การเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลในช่วงแรกของการหมักจะนำไปสู่การเพิ่มอัตราการเกิดผลิตภัณฑ์ ถ้าจุลินทรีย์สามารถทนต่อความเข้มข้นสูงของน้ำตาลและแรงดันออสโมซิสได้ Sirisansaneeyakul และคณะ (1992) ได้รายงานว่า เชื้อ *C. mogii* ที่เจริญภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนจำกัด (ความเร็วรอบในการเขย่า 100 รอบต่อนาที) โดยให้มีความแตกต่างของความเข้มข้นไซโลส 5-35 กรัมต่อลิตร พบว่าอัตราการผลิตไซลิทอล จะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของน้ำตาลไซโลสเริ่มต้น ดังตารางที่ 2.7

ตารางที่ 2.7 ผลของความเข้มข้นน้ำตาลไซโลสที่มีต่อการผลิตไซลิทอล

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

ที่มา : Sirisansaneeyakul (1995)

ซึ่งลักษณะแบบนี้จะขึ้นกับการผลิตไซลิทอลของเชื้อ *C. tropicalis* จาก ไซโลส ของ Horitsu และคณะ (1992) ได้เพิ่มความเข้มข้นของไซโลสในการเลี้ยงเชื้อ *C. tropicalis* เป็น 100-150 กรัมต่อลิตร และมีอัตราการให้อากาศสูง (400 มิลลิลิตรต่อนาที) โดยใช้อากาศที่มีออกซิเจน 90 เปอร์เซ็นต์ พบว่าอัตราการผลิตไซลิทอลเพิ่มขึ้นเป็น 2.44 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง จากเดิม 1.78 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ความเข้มข้นของไซโลสกับอัตราการให้อากาศมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของเซลล์ โดยที่ความเข้มข้นของไซโลสและอัตราการให้อากาศสูง ความเข้มข้นของเซลล์จะสูงและการผลิตไซลิทอลจะสูงตามไปด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Meyrial และคณะ (1991) ศึกษาความต้านทานต่อสับสเตรทของ *Candida guilliermondii* ที่ความเข้มข้นของไซโลสเริ่มต้นจาก 10-300 กรัมต่อลิตร การเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลนำไปสู่การเพิ่มการผลิตไซลิทอล และปริมาณไซลิทอลที่เพิ่มขึ้นจากการเพิ่มไซโลสในอาหารเลี้ยงเชื้อ ปริมาณสูงสุดที่ได้เมื่อใช้ไซโลส 300 กรัมต่อลิตร ได้ผลผลิต 0.75 กรัมต่อกรัมไซโลส ซึ่งคิดเป็น 82.6 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณทั้งหมดในทางทฤษฎี ความเข้มข้นของไซลิทอลต่ำเนื่องจาก ถูกใช้ไปในการเพิ่มมวลเซลล์เป็นหลัก อัตราการผลิตไซลิทอลเมื่อเพิ่มไซโลสเป็น 2.4 เท่าจะสูงกว่าปริมาณที่ได้จากไซโลส 10 กรัมต่อลิตร ในทางตรงกันข้ามกับการผลิตไซลิทอล การเจริญของจุลินทรีย์ที่ละน้อยจะถูกยับยั้ง โดยความเข้มข้นของไซโลส อัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (0.11 ต่อชั่วโมง) ได้จากความเข้มข้นของไซโลส 20 และ 50 กรัมต่อลิตร ข้อเปรียบเทียบกระบวนการผลิตไซลิทอล การเจริญของจุลินทรีย์จะมีความไวสูงต่อการเพิ่มความเข้มข้นของไซโลสในช่วงต้นของการผลิต ซึ่งเป็นการศึกษาโดยใช้เชื้อ *Candida* sp. B 22 ที่เป็นสายพันธุ์ที่ผลิตไซลิทอลได้สูง ระหว่างการผลิตไซลิทอลโดย *Petromyces albertensis* ปริมาณสูงสุดเท่ากับ 36.8 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้ไซโลส 100 กรัมต่อลิตร และเพิ่มเป็น 150 กรัมต่อลิตร ซึ่งอาจเป็นผลมาจากความเหมาะสมของแรงดันออสโมซิสที่เกิดกับเซลล์หรือการ repression โดยสับสเตรทของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับเมตาบอลิซึมของไซโลส (Dahiya, 1991)

(4) การเติมน้ำตาลชนิดอื่นลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ

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

Meyrial และคณะ (1991) ใช้เชื้อ *Candida guilliermondii* ในการหมักน้ำตาลที่ไม่ใช่น้ำตาลไซโลส เช่น กลูโคส แมนโนส กาแล็กโทส และอาราบิโนส ที่พบทั่วไปในการย่อยเฮมิเซลลูโลส พบว่าน้ำตาลชนิดอื่นที่ใช้ในการหมักจะทำให้เกิดการเจริญเติบโต และเกิดเอทานอล โพลิออลที่เกิดขึ้นชนิดไม่สามารถตรวจสอบได้ *Candida guilliermondii* เป็นเชื้อที่มีประสิทธิภาพสูง ใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การผลิต ไซลิทอลจากอาหารที่มีไซโลสสูง โดยใช้ปฏิกิริยารีดักชัน นอกจากนี้ยังสามารถใช้ของผสมที่ได้จากการย่อยเฮมิเซลลูโลสด้วยกรดก็ได้

(5) การเติมเมทานอล (Methanol)

การเติมเมทานอลสามารถเพิ่มการผลิตไซลิทอลได้เป็น 39.8 กรัมต่อลิตร ไซลิทอลที่เพิ่มขึ้นนี้ คิดเป็น 8.5 เปอร์เซ็นต์ เมื่อใช้อาหารไซโลสที่มีการเติมด้วยเมทานอล 1 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร) ซึ่งจะทำให้เกิดการออกซิเดชันของเมทานอลให้ผลผลิตเป็น NADH ทำให้มีปริมาณเพิ่มขึ้นมากพอที่เกิดการรีดักชันของไซโลสและไซลูโลสทำให้เกิดไซลิทอล ในกรณีที่เป็นการผลิตซอร์บิทอล และไอดิทอล โดยยีสต์ที่สามารถใช้เมทานอล เช่น *Candida boidinii* และการเติม เมทานอลในอาหารเลี้ยงเชื้อจะทำให้ผลิตไซลิทอลได้เพิ่มมากขึ้น

(6) ปริมาณไบโอติน (Biotin)

Lee และคณะ (1988) รายงานว่าปริมาณเอทานอลและไซลิทอลจะสะสมในน้ำหมักในการเลี้ยงแบบชั่วคราวของ เชื้อ *Pachysolen tannophylus* และ *Candida guilliermondii* จะขึ้นอยู่กับระดับของไบโอติน ในอาหารที่มีไบโอตินสูง *Pachysolen tannophylus* จะสะสมเอทานอลมากกว่า ไซลิทอล ในขณะที่ *Candida guilliermondii* จะสะสมไซลิทอลมากกว่าเอทานอล

(7) ความเป็นกรด-ด่าง (pH) และอุณหภูมิ

Gong และคณะ (1981) รายงานว่าปริมาณไซโลสสูงสุดที่จะเปลี่ยนเป็นไซลิทอล จะเกิดที่พีเอช 8.0 และการเกิดปฏิกิริยารีดักชันของไซลิทอลจะเกิดขึ้น เมื่อพีเอชเปลี่ยนจากเบสไปเป็นกรด ปริมาณไซลิทอลสูงสุดจะเกิดขึ้นในช่วงแรกที่มีพีเอช 6.0-7.0 โดย *Pachysolen tannophylus* พีเอช 6.0 โดย *Candida guilliermondii* และที่พีเอช 4.0 โดย *Candida tropicalis*

อุณหภูมิที่เหมาะสมในการผลิตไซลิทอลโดยเชื้อยีสต์ *Candida* และ *Saccharomyces* มีรายงานว่าเป็น 30 องศาเซลเซียส อัตราการผลิตเฉพาะไซลิทอลสูง จากการผลิตเอทานอลที่อุณหภูมิสูงในการเลี้ยงแบบต่อเนื่องของเชื้อ *Candida shehatae*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 ปริมาณผลผลิตไซลิทอลจากการใช้กระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพ (Nigam Singh, 1995)

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

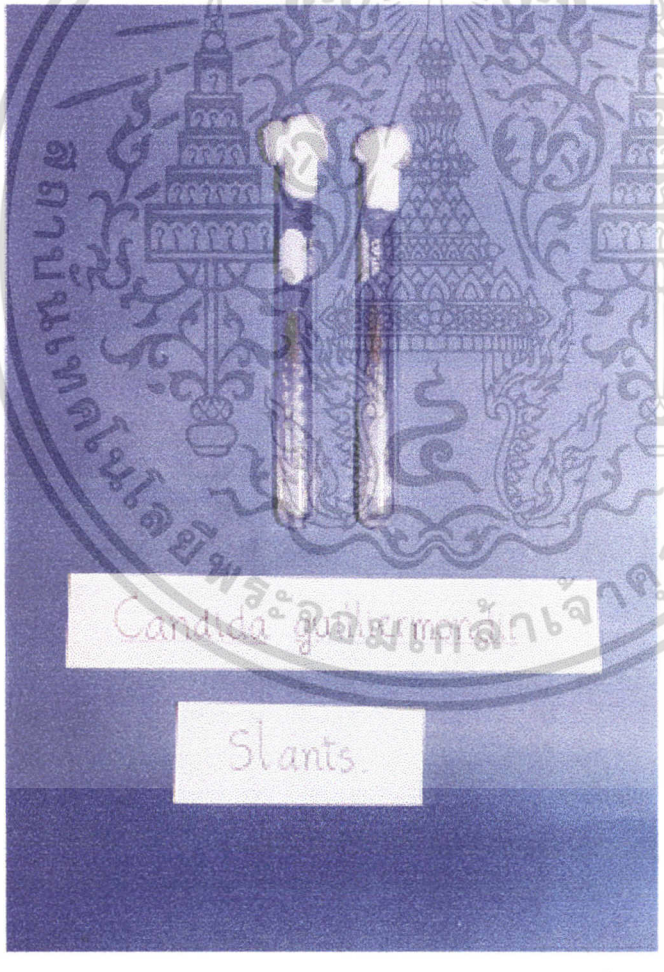
Meyrial และคณะ (1991) รายงานว่า ความเข้มข้นเริ่มต้นของไซโลสเป็น 20 กรัมต่อลิตร เป็นตัวแปรทางจลนศาสตร์ของการผลิตไซลิทอลโดย *Candida guilliermondii* NRC 5578 เทียบกับปริมาณที่ได้จากเชื้อ *Candida tropicalis* 1004 ที่เลี้ยงในอาหารไซโลส 30 กรัมต่อลิตร จะให้ผลผลิต 0.57 กรัมต่อไซโลส 1 กรัม ซึ่งเชื้อ *Candida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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการ

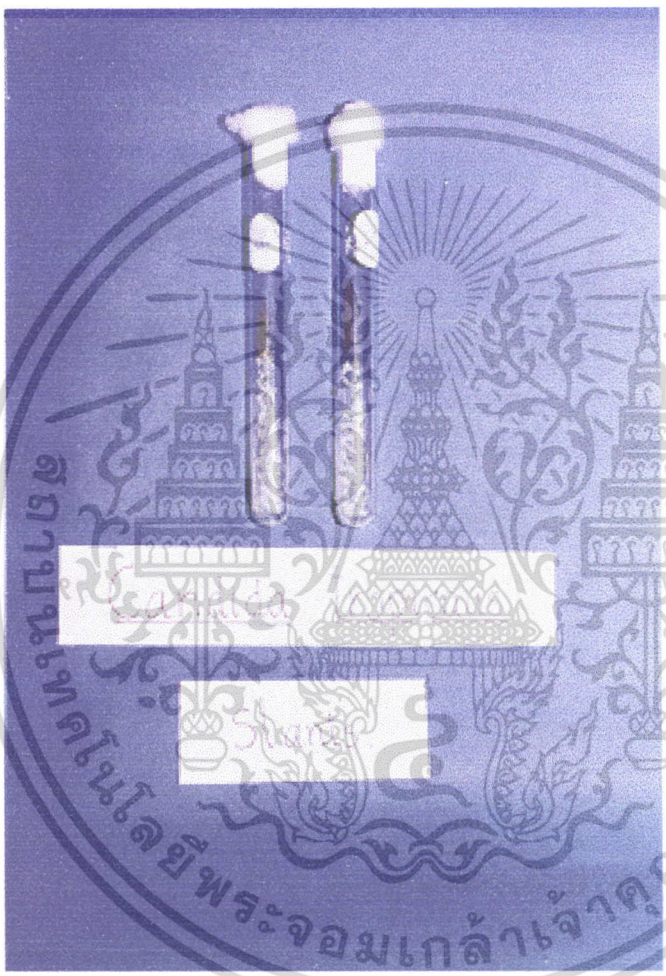
3.1 เชื้อจุลินทรีย์

ใช้เชื้อยีสต์ *Candida guilliermondii* NCYC 145 และ *Candida tropicalis* ATCC 9968 จากสภาวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (รูปที่ 3.1 และ 3.2)



รูปที่ 3.1 รูปเชื้อ *Candida guilliermondii* NCYC 145 ที่อยู่ใน slant

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.2 รูปเชื้อ *Candida tropicalis* ATCC 9968 **ที่อยู่ใน** slant

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 อุปกรณ์และวิธีการ

3.2.1 อุปกรณ์

(1) ฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร

(2) ชุดกรองละเอียด (ไซริ่ง)

(3) เครื่องเขย่า (shaker)

(4) เครื่อง High performance liquid chromatography (HPLC)

(5) ตู้อบลมร้อน (hot air oven)

(6) ตู้เขี่ยเชื้อ (laminar air flow)

(7) เครื่อง spectrophotometer

3.2.2 สารเคมี

(1) กลูโคส

(2) ไซโลส

(3) เปปโตน

(4) สารสกัดจากยีสต์

(5) สารสกัดจากมอลล์

(6) ผงวุ้น

(7) อะซิโตไนไตรล์ (acetonitrile)

3.3 วิธีการทดลอง

3.3.1 เปรียบเทียบความสามารถในการผลิตไซลิทอลของเชื้อยีสต์ *Candida guilliermondii* NCYC 145 และ *Candida tropicalis* ATCC 9968

วิธีการทดลอง

3.3.1.1. การเตรียมกล้าเชื้อเริ่มต้น

(1) เชื้อยีสต์ *Candida guilliermondii* NCYC 145

ก. ถ่ายเชื้อ *Candida guilliermondii* NCYC 145 จากหลอดทดลองลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีอาหาร YM broth ปริมาณ 50 มิลลิลิตร

ข. นำไปเขย่าบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ค. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (OD) โดยเครื่อง spectophotometer(OD =600 nm)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(2) เชื้อยีสต์ *Candida tropicalis* ATCC 9968

ก. ถ่ายเชื้อ *Candida tropicalis* ATCC 9968 จากหลอดทดลองลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีอาหาร YM broth ปริมาณ 50 มิลลิลิตร

ข. นำไปเขย่าบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ค. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (OD) โดยเครื่อง spectophotometer(OD =600 nm)

3.3.1.2. เปรียบเทียบการผลิตไซลิทอลของเชื้อทั้งสองชนิด ดังนี้

(1) เตรียมอาหารเหลว YM อัตราส่วนน้ำตาลกลูโคสต่อไซโลสเป็น 5:15 กรัมต่อลิตร ปริมาตร 180 มิลลิลิตร ลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร พีเอชเริ่มต้น 5.5

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

(3) เติมเชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งหมด

(4) นำไปเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาทีที่อุณหภูมิห้อง เก็บผลเป็นระยะ ๆ ทุก 12 ชั่วโมง นำไปวิเคราะห์หาน้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณไซลิทอล ไซโลส และกลูโคส โดยเครื่อง HPLC

3.3.2 ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตไซลิทอลของเชื้อที่ผลิตได้ดีที่สุดในข้อ 3.3.1 โดยสภาวะที่จะทำการศึกษามีดังนี้

3.3.2.1. ปริมาตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ

3.3.2.2. ปริมาณของสารอาหารไนโตรเจน (yeast extract)

3.3.2.3. พีเอชเริ่มต้น

3.3.2.4. ความเร็วรอบในการเขย่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.2.1. ปริมาตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ

วิธีการทดลอง

(1) การเตรียมกล้าเชื้อเริ่มต้น

(2) เปรียบเทียบการผลิตไซลิทอล ณ ปริมาตรของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ต่างกัน ดังนี้

ก. เตรียมอาหารเหลว YM โดยให้อัตราส่วนของน้ำตาลกลูโคสต่อไซโลสเป็น 5:15 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ปริมาตร 135 ,157.5 และ 180 มิลลิลิตร ลงในฟลาสก์ 250 มิลลิลิตร พีเอชเริ่มต้น 5.5

ข. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

ค. เติมเชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งหมด

ง. นำไปเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เก็บผลเป็นระยะ ๆ ทุก 24 ชั่วโมง นำไปวิเคราะห์หาน้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณไซลิทอล ไซโลส และกลูโคส โดยเครื่อง HPLC

3.3.2.2. ปริมาณของสารอาหารไนโตรเจน (yeast extract)

วิธีการทดลอง

(1) การเตรียมกล้าเชื้อเริ่มต้น

(2) เปรียบเทียบการผลิตไซลิทอล ณ ปริมาณสารอาหารไนโตรเจน (yeast extract) ดังนี้

ก. เตรียมอาหารเหลว YM โดยให้ปริมาตรของอาหารที่ผลิตไซลิทอลได้ดีที่สุด (จากข้อ 3.2.2.1) โดยที่มีปริมาณของ yeast extract เป็น 3 , 10 และ 20 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ลงในฟลาสก์ 250 มิลลิลิตร พีเอชเริ่มต้น 5.5

ข. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

ค. เติมเชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งหมด

ง. นำไปเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เก็บผลเป็นระยะ ๆ ทุก 24 ชั่วโมง นำไปวิเคราะห์หาน้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณไซลิทอล ไซโลส และกลูโคส โดยเครื่อง HPLC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.2.3. พีเอชเริ่มต้น

วิธีการทดลอง

(1) การเตรียมกล้าเชื้อเริ่มต้น

(2) เปรียบเทียบการผลิตไซลิทอล ณ พีเอชเริ่มต้นของอาหาร ดังนี้

ก. เตรียมอาหารเหลว YM โดยให้ปริมาตรอาหารที่ผลิตไซลิทอลได้ดีที่สุด (จากข้อ 3.3.2.1) โดยที่มีปริมาณของ yeast extract ที่สามารถผลิตไซลิทอลได้ดีที่สุด (จากข้อ 3.3.2.2) ลงในฟลาสก์ 250 มิลลิลิตร พีเอชเริ่มต้นที่ 5.5 , 6.5 และ 7.5 ตามลำดับ

ข. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

ค. เติมเชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งหมด

ง. นำไปเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เก็บผลเป็นระยะ ๆ ทุก 24 ชั่วโมง นำไปวิเคราะห์หาน้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณไซลิทอล ไซโลส และกลูโคส โดยเครื่อง HPLC

3.3.2.4. ความเร็วรอบในการเขย่า

วิธีการทดลอง

(1) การเตรียมกล้าเชื้อเริ่มต้น

(2) เปรียบเทียบการผลิตไซลิทอล ณ ความเร็วรอบที่ต่างกัน ดังนี้

ก. เตรียมอาหารเหลว YM โดยให้ปริมาตรอาหารที่ผลิตไซลิทอลได้ดีที่สุด (จากข้อ 3.3.2.1) โดยที่มีปริมาณของ yeast extract ที่สามารถผลิตไซลิทอลได้ดีที่สุด (จากข้อ 3.3.2.2) ลงในฟลาสก์ 250 มิลลิลิตร พีเอช เริ่มต้นที่สามารถผลิตไซลิทอลได้ดีที่สุด (จากข้อ 3.3.2.3)

ข. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

ค. เติมเชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งหมด

ง. นำไปเขย่าที่ความเร็วรอบ 100 , 150 และ 200 รอบต่อนาทีตามลำดับ ที่อุณหภูมิห้อง เก็บผลเป็นระยะ ๆ ทุก 24 ชั่วโมง นำไปวิเคราะห์หาน้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณไซลิทอล ไซโลส และกลูโคส โดยเครื่อง HPLC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 การวิเคราะห์ผล

3.4.1 การวิเคราะห์หาน้ำหนักเซลล์แห้ง

(1) ใช้แท่งแก้วคน คนเซลล์ที่ติดอยู่ตามฟลาสก์ และเขย่าให้เข้ากัน ใช้ปิเปตต์ 10 มิลลิลิตร ดูดอาหารใส่ในหลอดเครื่องหมุนเหวี่ยงชนิดฝาเกลียว นำไปหมุนเหวี่ยงด้วยความเร็ว รอบ 4000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

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

(3) เติมน้ำกลั่นปริมาตร 2 มิลลิลิตร ลงในตะกอนเซลล์ยีสต์ที่ผ่านการล้างแล้ว เขย่าเทใส่กระทงฟลอย์ที่อบแห้งและชั่งน้ำหนักแล้ว นำเข้าตู้อบความร้อน อบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน นำไปชั่งด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

3.4.2 การวิเคราะห์ปริมาณไซลิทอล ไซโลส และกลูโคส

นำสารละลายที่ได้จากการทดลองทุก ๆ 24 ชั่วโมงมาประมาณ 5 มิลลิลิตร กรองสารละลายด้วยชุดกรองละเอียด (ไซริ่ง) เก็บใส่ในหลอดทดลองขนาดเล็ก จากนั้นนำไปวิเคราะห์โดยเครื่อง High performance liquid chromatography (HPLC)

คอลัมน์ : Phenomenex Spherisorb-NH_2

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

อัตราการไหล : 1.6 มิลลิลิตรต่อนาที

detector : RID ของ LDC , range 0.05

ปริมาตรที่ฉีด : ครั้งละ 20 ไมโครลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

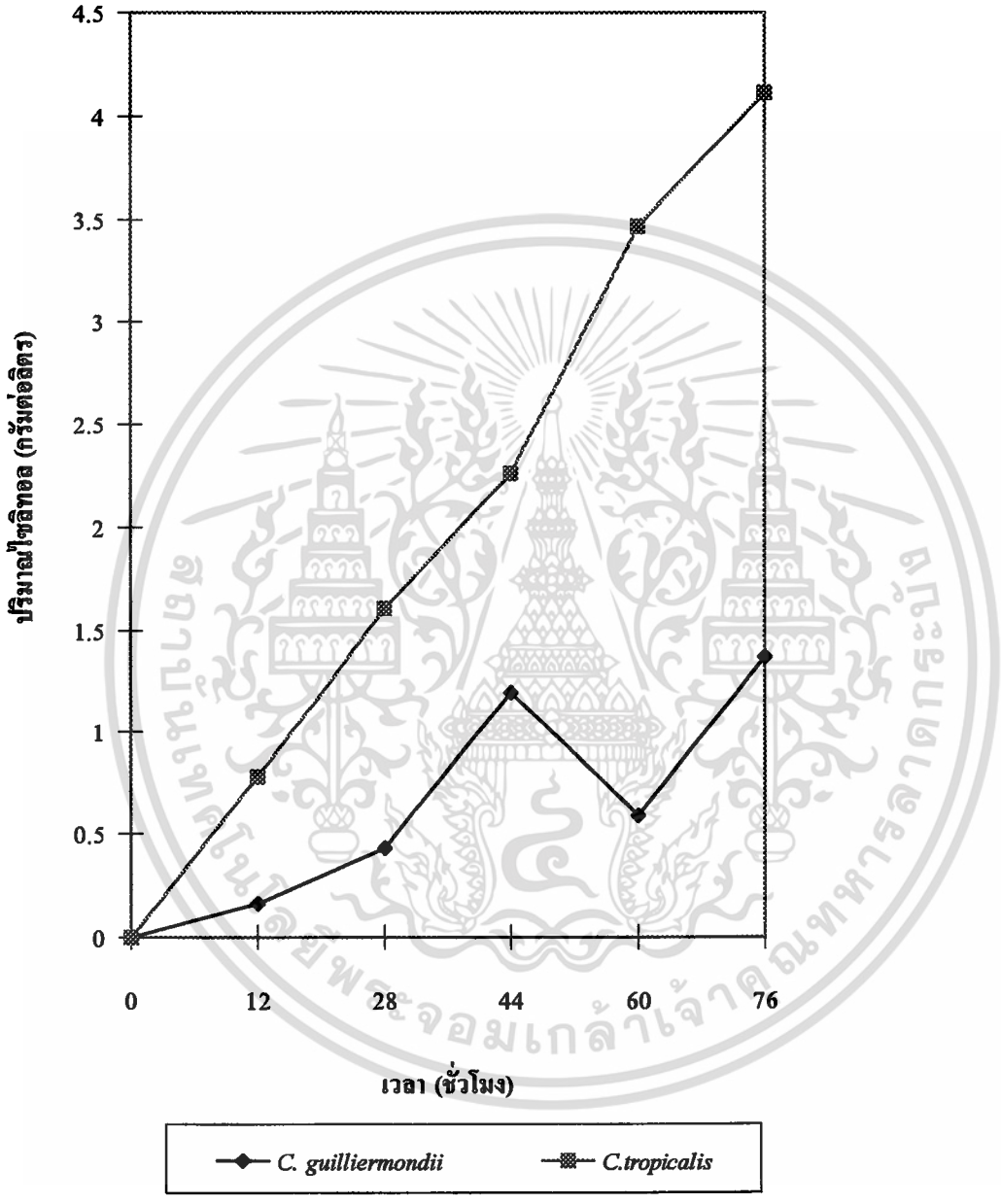
บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 ผลของการเปรียบเทียบความสามารถในการผลิตไซลิทอลของเชื้อยีสต์ *Candida guilliermondii* NCYC 145 และ *Candida tropicalis* ATCC 9968

ผลการทดลองการผลิตไซลิทอลจากสูตรอาหาร YM ที่มีน้ำตาลกลูโคสต่อไซโลสในอัตราส่วน 5 : 15 กรัมต่อลิตร ที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ปริมาตรอาหาร 200 มิลลิลิตร พีเอชเริ่มต้น 5.5 ณ อุณหภูมิห้อง โดยใช้เชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในรูปที่ 4.1 จากผลการทดลองพบว่า เชื้อ *C. tropicalis* สามารถให้ผลผลิตสูงสุดถึง 4.11 กรัมต่อลิตร ในขณะที่เชื้อ *C. guilliermondii* สามารถให้ผลผลิตได้เพียง 1.37 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 76 ของการหมัก

จากการรายงานของ Horitsu และคณะ (1992) พบว่า อัตราการผลิตไซลิทอลของเชื้อ *C. tropicalis* เป็น 2.67 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง คิดเป็นผลผลิตสูงสุด 64 กรัมต่อกรัม ซึ่งถ้าเปรียบเทียบกับ Meyril และคณะ (1991) ที่ทำการศึกษาความสามารถในการผลิตไซลิทอลของเชื้อ *C. guilliermondii* ซึ่งได้ผลผลิตเพียง 0.63 กรัมต่อกรัมและจากการทดลองพบว่าเชื้อ *C.tropicalis* มีการผลิตไซลิทอลสูงกว่าเชื้อ *C. guilliermondii* ทั้งนี้อาจจะเนื่องจากเชื้อ *C. tropicalis* มีการกระจายตัวในอาหารเลี้ยงเชื้อมากกว่าเชื้อ *C. guilliermondii* ทำให้มีการแลกเปลี่ยนสารอาหารได้ดีกว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.1 กราฟแสดงปริมาณไซลิทอลที่ได้จากการผลิตโดยใช้เชื้อเปรียบเทียบระหว่างเชื้อ *Candida guilliermondii* NCYC 145 และ *Candida tropicalis* ATCC 9968

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

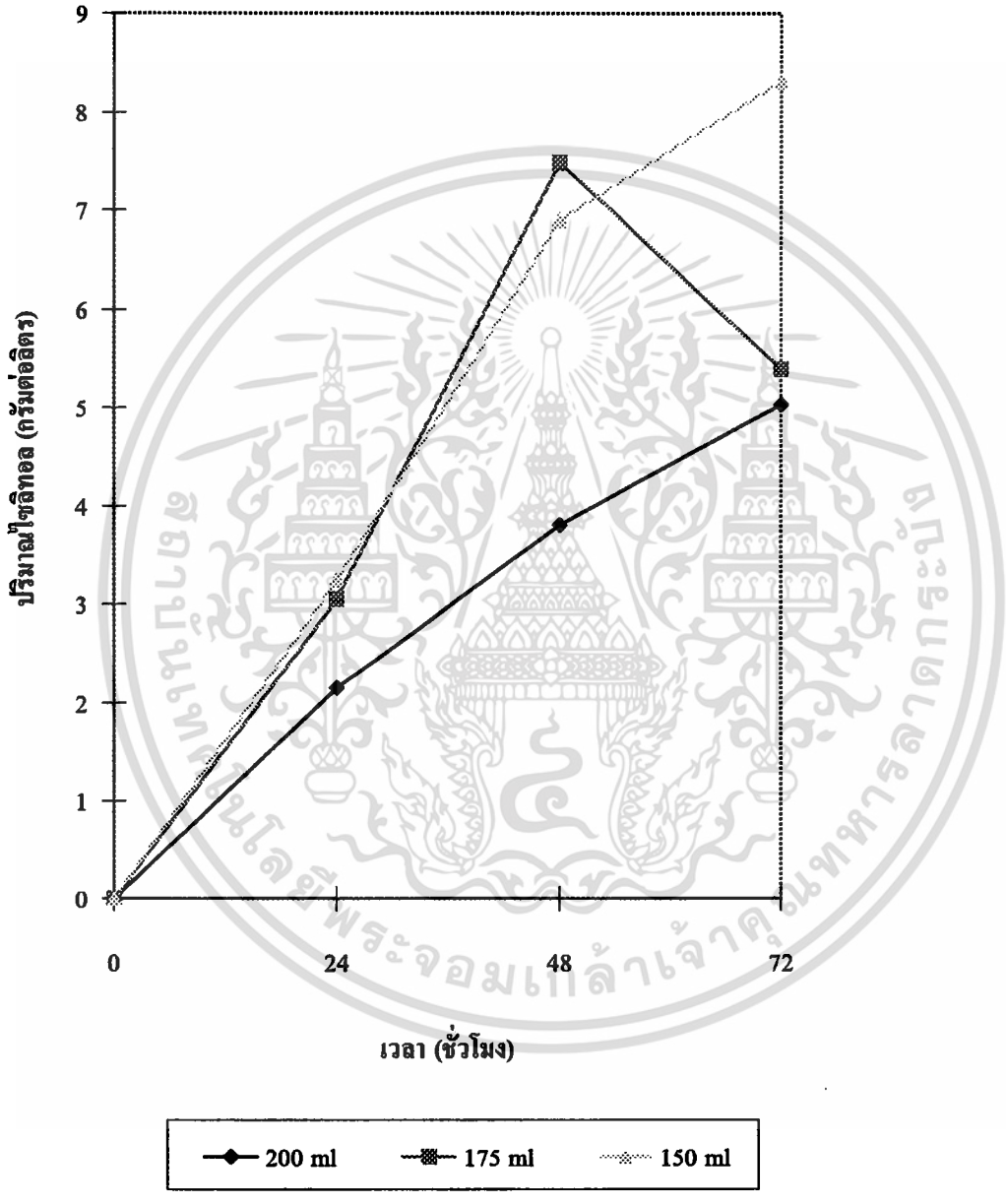
4.2 ผลของการเปรียบเทียบปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

ผลการทดลองการหมักในอาหาร YM ที่มีอัตราส่วนน้ำตาลกลูโคสต่อไซโลสเป็น 5 : 15 กรัมต่อลิตร ที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที พีเอชเริ่มต้น 5.5 โดยใช้เชื้อ *C. tropicalis* เริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์ โดยทำการเปรียบเทียบปริมาตรอาหารดังนี้ ปริมาตรอาหาร 200 มิลลิลิตร 175 มิลลิลิตร และ 150 มิลลิลิตร แสดงผลดังรูปที่ 4.2

จากการทดลองพบว่า ปริมาตรอาหาร 200 มิลลิลิตร จะมีปริมาณไซลิทอลเพิ่มขึ้นและสูงที่สุดที่ชั่วโมงที่ 72 ของการหมัก ได้ผลผลิตเพียง 3.03 กรัมต่อลิตร ในขณะที่ปริมาตรอาหาร 175 มิลลิลิตรสามารถให้ผลผลิตได้สูงสุดถึง 7.48 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 48 ของการหมัก ซึ่งมีความใกล้เคียงกับผลของปริมาตรอาหาร 150 มิลลิลิตรที่ได้ผลผลิตเพียง 8.31 กรัมต่อลิตร ที่ชั่วโมง 72 ของการหมัก

จากการรายงานของ Horisu และคณะ (1992) พบว่าการเลี้ยงเชื้อ *C. tropicalis* จะมีการเพิ่มการสะสมไซลิทอลภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนในปริมาณจำกัด ซึ่งความเข้มข้นต่ำของออกซิเจนที่ละลายได้จะมีความสัมพันธ์กับระดับ NADPH และ NADH ในเซลล์ ซึ่งจะนำไปสู่การรีดักชันของไซโลส และเพิ่มการสะสมไซลิทอลในอาหารเลี้ยงเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 กราฟแสดงปริมาณไซลิทอลที่ได้จากการผลิตโดยใช้ปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่าง ๆ กัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

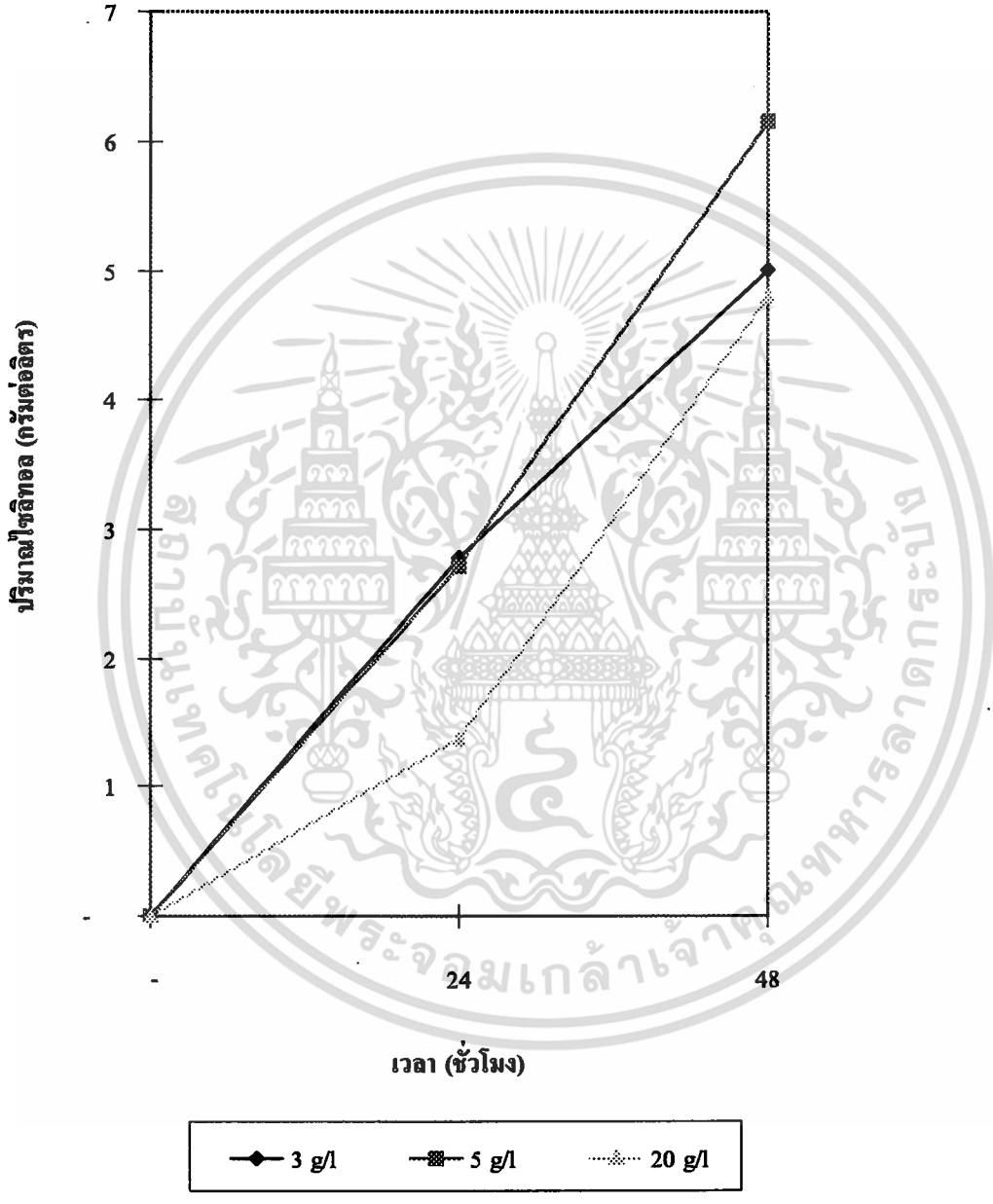
4.3 ผลของการเปรียบเทียบปริมาณยีสต์สกัด (yeast extract)

ผลการทดลองของการหมักในอาหาร YM ที่มีอัตราส่วนน้ำตาลกลูโคสต่อไซโลส เป็น 5 : 15 กรัมต่อลิตร ที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที พีเอชเริ่มต้น 5.5 ปริมาตรอาหารที่ใช้ 175 มิลลิลิตร โดยทำการเปรียบเทียบปริมาณยีสต์สกัด ดังนี้คือ ปริมาณยีสต์สกัด 3 กรัมต่อลิตร 5 กรัมต่อลิตร และ 20 กรัมต่อลิตร

จากการทดลองพบว่าที่ความเข้มข้นของยีสต์สกัด 3 กรัมต่อลิตร จะสามารถให้ผลผลิตไซลิทอลได้เพียง 5.01 กรัมต่อลิตรซึ่งน้อยว่าความเข้มข้นของยีสต์สกัด 5 กรัมต่อลิตรที่ให้ผลผลิตสูงถึง 6.16 กรัมต่อลิตร แต่ในขณะที่ปริมาณยีสต์สกัด 20 กรัมต่อลิตรจะให้ผลผลิตได้เพียง 4.81 กรัมต่อลิตร ในเวลา 48 ชั่วโมง ดังรูปที่ 4.3

ซึ่งการทดลองนี้เป็นไปตามรายงานของ Onishi และคณะ (1980) ซึ่งพบว่าการผลิตโพลิออล จะเป็นผลมาจากอัตราส่วนของแหล่งคาร์บอนกับแหล่งไนโตรเจน โดยที่ปริมาณโพลิออลจะได้มากกว่าเมื่อให้แหล่งไนโตรเจนที่มีความเข้มข้นต่ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.3 กราฟแสดงปริมาณไซลิทอลที่ได้จากการผลิตโดยใช้ปริมาณยีสต์สกัดต่าง ๆ กัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

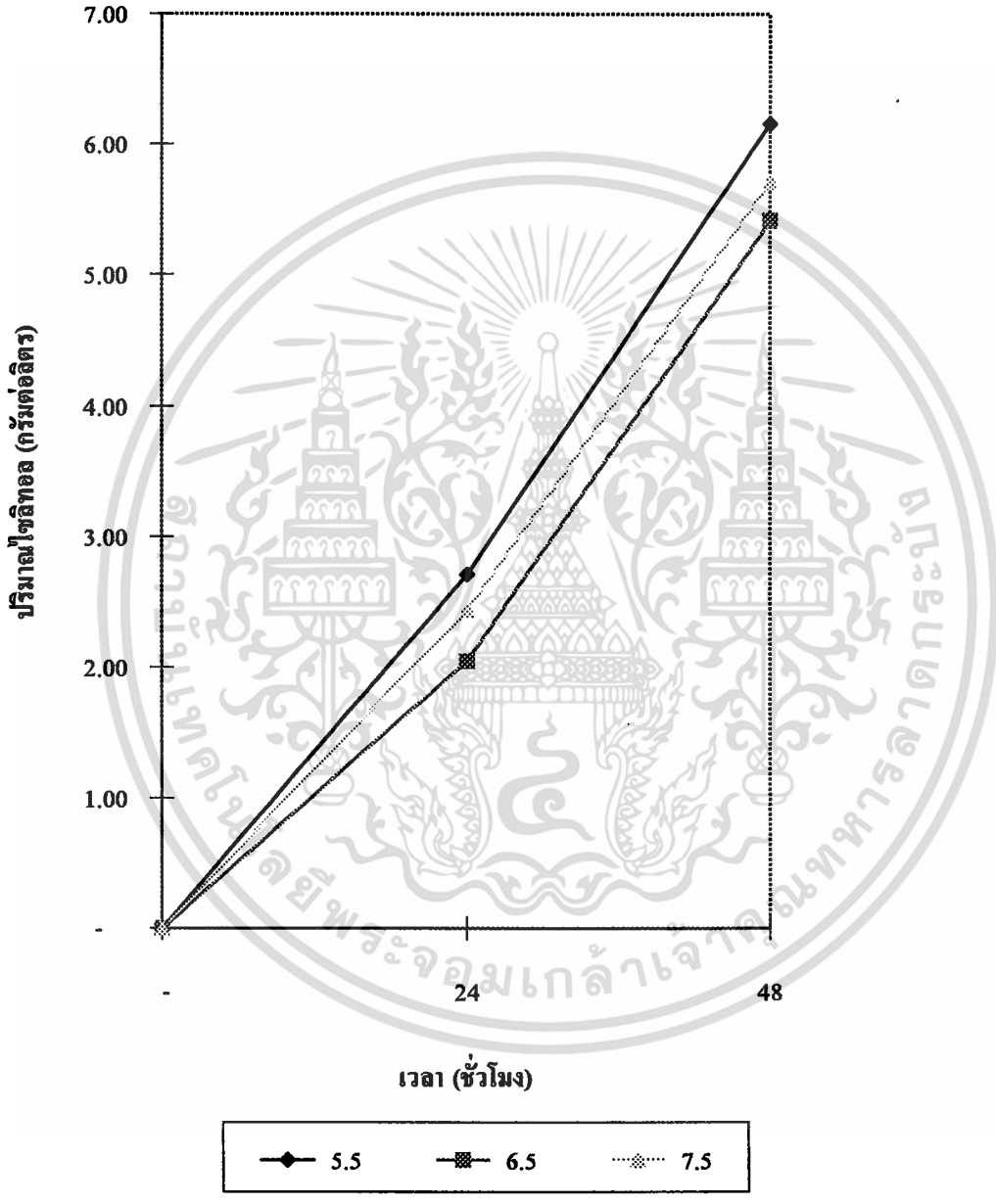
4.4 ผลของการเปรียบพีเอชเริ่มต้น

ผลการทดลองของการหมักในอาหารที่มีอัตราส่วนน้ำตาลกลูโคสต่อไซโลสเป็น 5 : 15 กรัมต่อลิตร ที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ปริมาตรอาหารที่ใช้เป็น 175 มิลลิลิตร ปริมาณยีสต์สกัด 5 กรัมต่อลิตร ทำการทดลองที่พีเอชเริ่มต้น 5.5 6.5 และ 7.5

จากการทดลองพบว่าในชั่วโมงที่ 48 ของการหมักได้ปริมาณน้ำตาลไซลิทอลที่พีเอช 5.5 6.5 และ 7.5 ดังนี้คือ 6.16 กรัมต่อลิตร 5.42 กรัมต่อลิตร และ 5.71 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ดังรูปที่ 4.4

Gong และคณะ (1981) รายงานว่าปริมาณไซโลสจะเปลี่ยนเป็นไซลิทอลจะเกิดที่พีเอช 8.0 และ การเกิดปฏิกิริยารีดักชันของไซลิทอลจะเกิดขึ้นเมื่อพีเอชเปลี่ยนจากเบสไปเป็นกรด ปริมาณไซลิทอลสูงสุดจะเกิดขึ้นในช่วงแรกที่มีพีเอช 4.0 ของเชื้อ *C. tropicalis*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.4 กราฟแสดงปริมาณไซลิทอลที่ได้จากการผลิตโดยใช้พีเอชเริ่มต้นต่าง ๆ กัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5 ผลของการเปรียบเทียบความเร็วรอบในการเขย่า

ผลการทดลองของการหมักในอาหารที่มีอัตราส่วนน้ำตาลกลูโคสต่อไซโลสเป็น 5 : 15 กรัมต่อลิตร ที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ปริมาตรอาหารที่ใช้เป็น 175 มิลลิลิตร ปริมาณยีสต์สกัด 5 กรัมต่อลิตร พีเอชเริ่มต้น 5.5 ทำการทดลองที่ความเร็วรอบในการเขย่าต่าง ๆ ดังนี้ ความเร็ว 200 รอบต่อนาที 150 รอบต่อนาที และ 100 รอบต่อนาที

จากการทดลองพบว่าที่ความเร็วรอบในการเขย่า 200 รอบต่อนาทีได้ผลผลิตเพียง 4.25 กรัมต่อลิตร ในขณะที่ใช้ความเร็วรอบในการเขย่า 150 รอบต่อนาที จะได้ผลผลิตสูงที่สุดถึง 8.32 กรัมต่อลิตร แต่ที่ความเร็วรอบในการเขย่า 100 รอบต่อนาทีได้ผลผลิตเพียง 2.612 กรัมต่อลิตร ดังรูปที่ 4.5

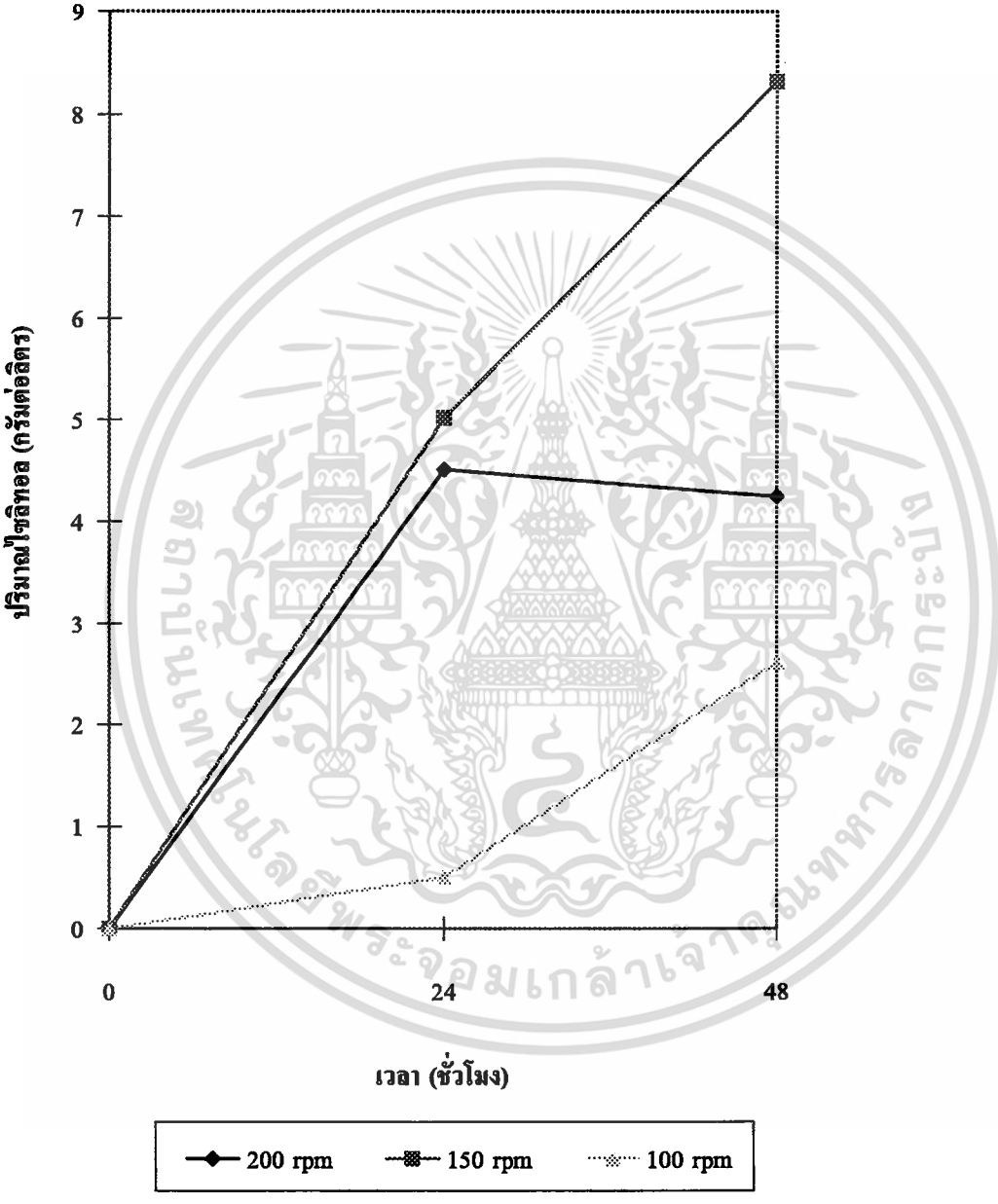
ในทำนองเดียวกันได้ทำการทดลองโดยการเพิ่มความเร็วรอบในการเขย่าเป็น 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 12 ชั่วโมงแล้วจึงค่อยปรับความเร็วเป็น 150 รอบต่อนาทีพบว่า ปริมาณผลผลิตที่ได้จะไม่มีความแตกต่างกัน คือได้ปริมาณไซลิทอลเพียง 8.39 กรัมต่อลิตร

จากการรายงานของ Horitsu และคณะ (1992) พบว่าผลกระทบที่มีต่อการผลิตไซลิทอลในขั้นตอนแรก ควรพิจารณาถึงความเร็วในการเพิ่มปริมาณเซลล์จุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ อย่างไรก็ตามไซลิทอลภายใต้สภาวะ anoxic และการเพิ่มปริมาณออกซิเจนที่ละลายได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ในช่วงระหว่างการหมักจะนำไปสู่การผลิตไซลูโลส โดยการไฮโดรจีเนชันของไซลิทอลที่เกิดขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อ ดังนั้นการเพิ่มระดับการละลายของออกซิเจน จะมีความต้องการเฉพาะขั้นตอนเริ่มต้นในการหมักเท่านั้นแต่หลังจากนั้นควรลดระดับการให้อากาศกับจุลินทรีย์

Nigam และคณะ (1995) กล่าวว่า การให้อากาศสูงจะกระตุ้นการใช้น้ำตาลและการเจริญของยีสต์ โดยยีสต์มีความต้องการออกซิเจนในการเผาผลาญน้ำตาล แต่เมื่อมีออกซิเจนละลายในน้ำหมักมากเกินไปจะทำให้อัตราการเปลี่ยนเป็นไซลิทอลไปเป็นไซลูโลสเพิ่มมากขึ้น

ยีสต์จะใช้กลูโคสในการเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณ ส่วนไซโลสจะถูกใช้อย่างช้า ๆ แต่จะถูกกระตุ้นให้ใช้ได้มากขึ้น เนื่องจากปริมาณกลูโคสในน้ำหมักลดลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.5 กราฟแสดงปริมาณไซลิทอลที่ได้จากการผลิตโดยใช้ความเร็วรอบในการเขย่าต่าง ๆ กัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

จากการทดลองพบว่าเชื้อ *Candida tropicalis* ATCC 9968 สามารถผลิตน้ำตาลไซลิทอลได้มากกว่าเชื้อ *Candida guilliermondii* NCYC 145 ในปริมาณ 4.11 กรัมต่อลิตร และ 1.37 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในชั่วโมงที่ 72 ของการหมัก ที่สภาวะการเลี้ยงเชื้อโดยใช้สูตรอาหาร YM ที่มี น้ำตาลกลูโคสต่อไซโลสในอัตราส่วน 5 : 15 กรัมต่อลิตร ที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ปริมาตรอาหาร 200 มิลลิลิตรใส่ฟลาสก์ขนาด 250 ความคุมความเป็นกรดด่างเป็น 5.5 ที่อุณหภูมิห้อง

จากการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของการผลิตไซลิทอลของเชื้อ *Candida tropicalis* ATCC 9968 พบว่า เมื่อใช้อาหารสูตร YM (yeast malt extract) ที่มีน้ำตาลกลูโคสต่อไซโลสในอัตราส่วน 5 : 15 กรัมต่อลิตร ปริมาณยีสต์สกัด 5 กรัมต่อลิตร ความคุมความเป็นกรดด่างเป็น 5.5 ปริมาตรอาหาร 175 มิลลิลิตรใส่ฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง โดยใช้เชื้อ *Candida tropicalis* ATCC 9968 เริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสามารถให้ผลผลิตไซลิทอลได้สูงถึง 8.32 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 48 ของการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

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

Amador, F. and Eisenstein, A. 1971. The effect of oral xylitol administration in human subjects (Unpublished observations). Quoted in "Sugar in Nutration," ed. H.L. Sipple and K.W. McNutt, p. 599 **Academic Press**, New York.

Arron, M. Altschul. 1993. **Low Caloric Foods Handbooks.**, Georgetown University School of Medicine Washinston D.C. , United states of America

Barbosa. M.F.S., de Medeiros, M.B., de mancilha, L.M., Schneider, H&Lee, H., Screening of yeasts for production of xylitol from D-xylose and some factors wich affect xylitol yield in *Candida guillermondii*. **J. Indust. Microbiol**, 3 (1988) 241-251.

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

Culbert, S.J. Wang, Y.M., Frische, H.a. Carr, D. lantin, E and van Eyes., Oral xylitol in american adults. **Nutrition Res.**, 198 (1986) 913-922.

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

Eleonora Vandeska, S.Amartey, Slobodanka Kuzmanova & T.W. Jeffries Fed-Batch Culture for Xylitol Production by *Candida boidinii*. **Pro. Biochem.**, 31 (1996) 265-270.

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

Furlan, S.A. Bouillonnd, P., Strehaiano, P., and Piba, J.P. : Study of xylitol formation from xylose under oxygen limiting condition. **Biotechnol, Lett.**, 13, 203-206 (1991)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Gong, C.s., Chen, L.F. and Tsao, G.T. Quantitative prosuction of xylitol from D-xylose by a high xylitol producing yeast mutant *Candida tropicalis* Hpx2. **Biotechnol. Lett.** 3, (1981)., 130-135.

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

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

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

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

Hyvoenen. L., Koivistqinen. P. & Voiirol, F., Food technological evalution of xylitol. **Adv. Food** *Res.*, 28 (1982) 373-403.

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

Kracher, F. 1975. Xylitol: Importance, action, application. Kakao and Zucker, 3&4: 27.

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

Manz, U., Vanninen, E., and Voirol, F. 1973. Xylitol: **Its properties and use as a sugar substitute in foods.** Presented at Food R. A. symp on Sugar and Sugar Replacements, London,Oct, 10.

Melaja, A. and Haemaelaeinen. L (1977), **Process for making xylitol us patent** 4,008,285.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Meyrial, V., Delgenes, J.P., Molctta, R., and Navarro, J.M. : Xylitol production from D-xylose by *Candida guilliermondii* : fermentation behaveior. **Biotechnol. Lett.**, 13, 281-286 (1991)

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

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

Nollean, V., Preziosi-Belloy, L., Delgenes, J.P. & Navarro, J.M., Xylitol production from xylose by two yeast strains : sugar tolurance. **Curr. Microbiol.**, 27 (1993) 191-7.

Onishi. H. & Suzuki. Y., The production of xylitol L-aarabinitol and ribitol by yeast. **Agric. Biol. Chem.**, 30 (1966) 1139-1144.

Onishi, H., suzuki, T. & Onchi, T., Mechanism of fermentation conversion from polyalcohol fermentation to ethanol by *Pichia miso.* **Agric. Biol. Chem.**, 44 (1980) 1829-34.

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

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

Roseio, J.C., Peito, M.A., Girio, F.M. & Amaral-Collaeo, M.T., The effects of oxygen transfer coefficient and substrate concentration on the xylose fermentation by *Debrayomyces hansenii.* **Arch. Microbiol.**, 156 (1991) 484-90.

Sarote Sirisansaneeyakul, Michael Staniszewski and Manfred Rizzi., Screening of Yeasts for Production of Xylitol from D-xylose. **J. Ferment. Bioeng.**, 6 (1995) 565-570.

S.A. Furlan, P. Bouilloud & H.F. de Castro., Influence of Oxygen on Ethanol and Xylitol Production by Xylose Fermenting Yeast. **Process Biochemistry.**, 29 (1994) 657-662.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Schinin, A. and Mackinen, K.K. 1975. Turku Sugar Studies I-XII. **Acta Odontologica Scandinavica** 33, Supplementum 70.

Sirisansaneeyakul, S., Rizzi, M., and Revss, M.,: Microbial production of xylitol from wheat straw hydrolysates, p. 541-544. *In* **DECHEMA Biotechnology Conferences** 5. VCH Venlogsgemeinschaft, Weinheim (1992).

Vongsuvanlert, V. & Tani, Y., Xylitol production by methanol yeast, *Candida boidinii* (Kloeckera sp.) No. 2201. **J. Ferment. Bioeng.**, 67 (1989) 35-9.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
อาหารเลี้ยงเชื้อ

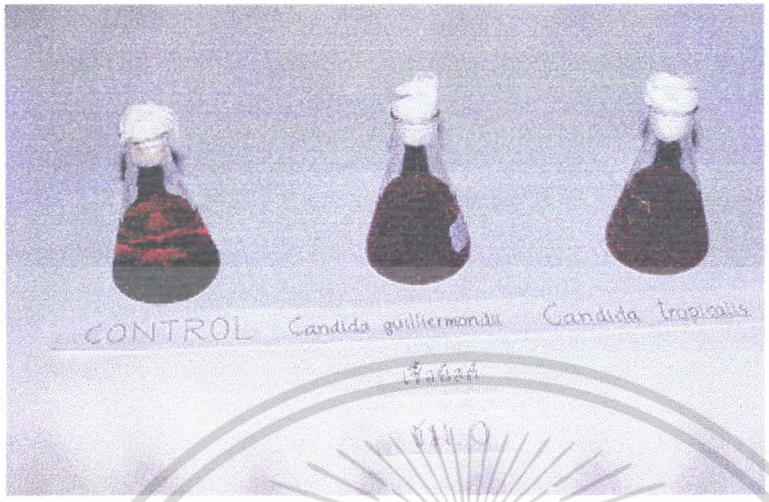
1. Yeast Malt Extract Agar (YM Agar)

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

2. Yeast Malt Extract Broth (YM Broth)

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

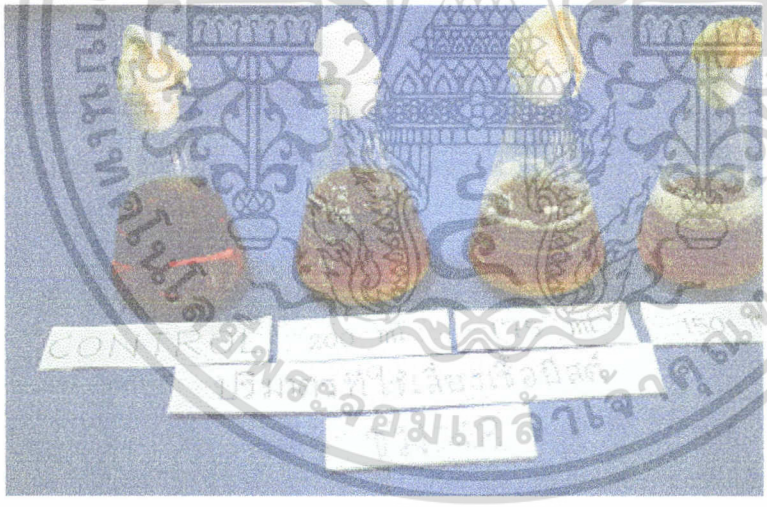


รูปที่ ก1 เปรียบเทียบความสามารถในการผลิตไซลิทอลของเชื้อ*Candida guilliermondii* และ *Candida tropicalis* ในชั่วโมงที่ 0

รูปที่ ก2 เปรียบเทียบความสามารถในการผลิตไซลิทอลของเชื้อ*Candida guilliermondii* และ *Candida tropicalis* ในชั่วโมงที่ 72

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ ก3 เปรียบเทียบความสามารถในการผลิตไซลิทอล เมื่อใช้ปริมาตรอาหารต่างๆกัน ในชั่วโมงที่ 0



รูปที่ ก4 เปรียบเทียบความสามารถในการผลิตไซลิทอล เมื่อใช้ปริมาตรอาหารต่างๆกัน ในชั่วโมงที่ 48

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ ก5 เปรียบเทียบความสามารถในการผลิตไซลิทอล เมื่อใช้ปริมาณยีสต์สกัดต่างๆกัน ในชั่วโมงที่ 0

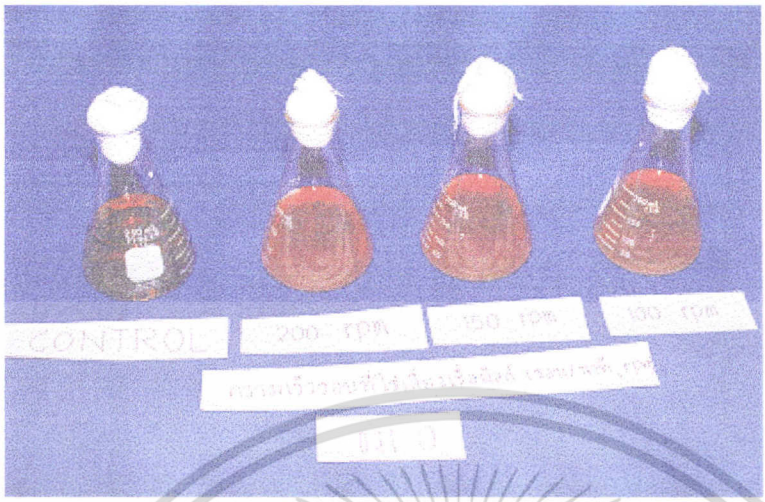
รูปที่ ก6 เปรียบเทียบความสามารถในการผลิตไซลิทอล เมื่อใช้ปริมาณยีสต์สกัดต่างๆกัน ในชั่วโมงที่ 48

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

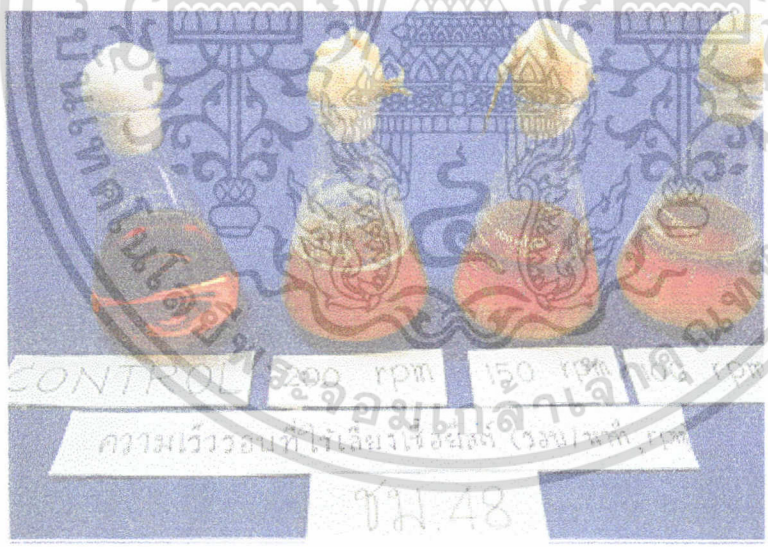
รูปที่ ก7 เปรียบเทียบความสามารถในการผลิตไซลิทอล เมื่อใช้พีเอชเริ่มต้นต่าง ๆ กัน ในชั่วโมงที่ 0

รูปที่ ก8 เปรียบเทียบความสามารถในการผลิตไซลิทอล เมื่อใช้พีเอชเริ่มต้นต่างๆกัน ในชั่วโมงที่ 48

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

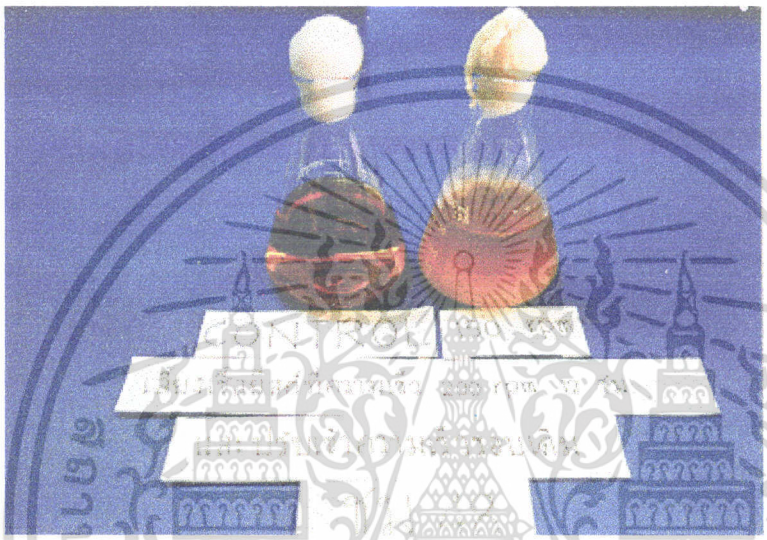


รูปที่ ก9 เปรียบเทียบความสามารถในการผลิตไซลิทอล เมื่อใช้ความเร็วรอบในการเขย่าต่างๆ กันในชั่วโมงที่ 0



รูปที่ ก10 เปรียบเทียบความสามารถในการผลิตไซลิทอล เมื่อใช้ความเร็วรอบในการเขย่าต่างๆ กันในชั่วโมงที่ 48

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

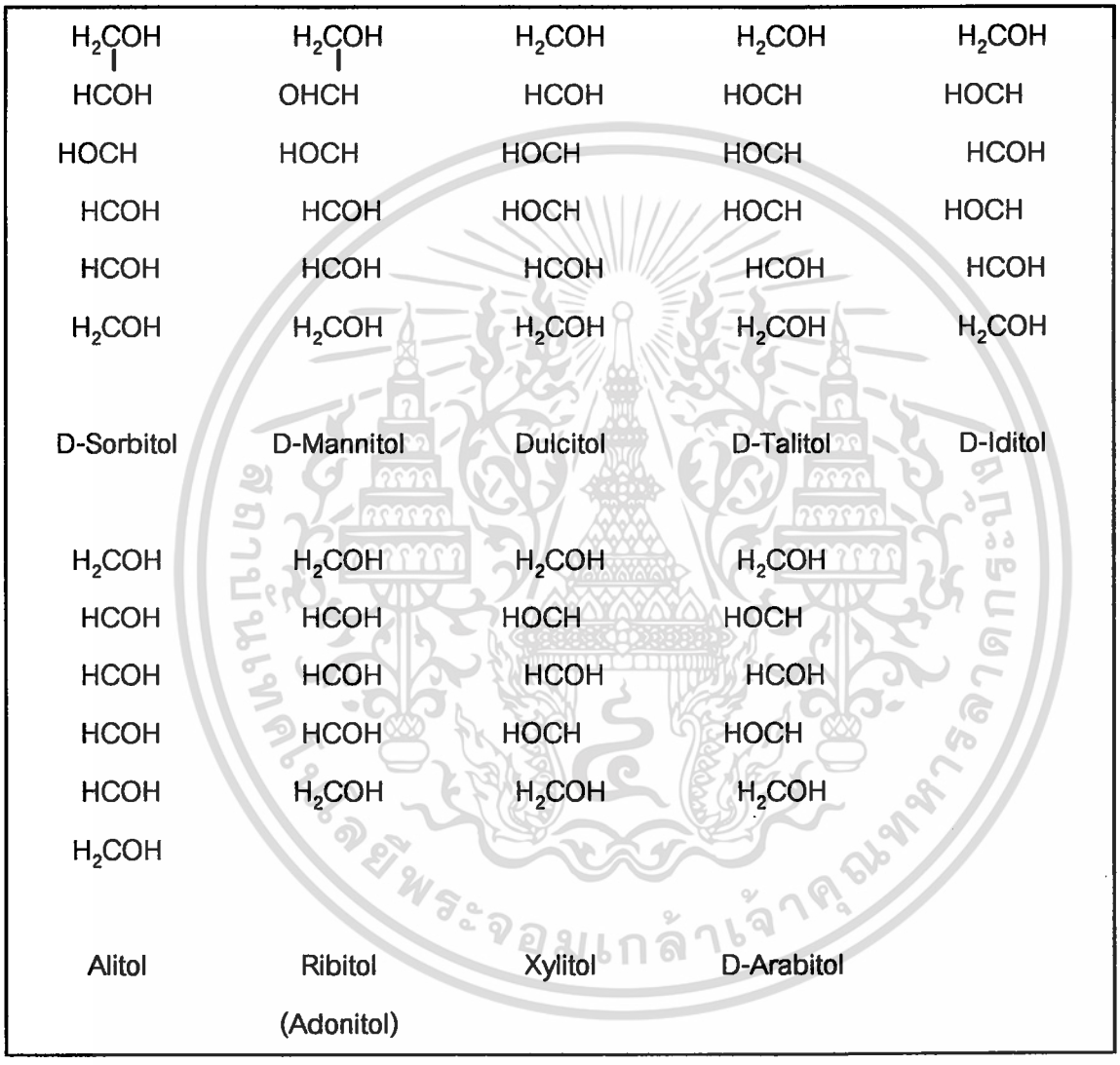


รูปที่ ก11 เปรียบเทียบความสามารถในการผลิตไซลิทอล เมื่อใช้ความเร็วรอบในการเขย่า 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 12 ชั่วโมง แล้วจึงปรับความเร็วเป็น 150 รอบต่อนาที ชั่วโมงที่ 48

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

Polyols



รูปที่ ข1 สูตรโครงสร้างของสารโพลิออลชนิดต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข1 คุณสมบัติต่างๆทางกายภาพและทาง organoleptical ของ sugaralcohol

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

*เมื่อเทียบให้น้ำตาลซูโครสมีความหวานเท่ากับ 1

ตารางที่ ข2 คุณสมบัติของน้ำตาลชนิดต่างๆ

ชนิด	การจับตัว	สารประกอบ	จุดหลอมเหลว (°C)	$[\alpha]_D^{25}$	Solubility ในน้ำที่ 20 °C (g/100 g)	ความหวาน
L-Sorbose	-	-	159-165	–42.7-43.4	44	0.9
Maltitol	α-1,4	D-Glucose	?	+90		0.75
Maltotritol	α-1,4	D-Sorbose	?	+95		0.75
	α-1,6					
Lactitol	α-1,4	D-Galactose	165 (ethanol)	+14		0.5
		D-Sorbose	ประมาณ 72			
Isomaltitol	α-1,6	D-Glucose	168	+90.5	58	0.45
		D-Sorbose				
Glucopyranosido-1,6-mannitol	α-1,6	D-Glucose	173.5	+90.5	18	0.45
		D-Mannosr				

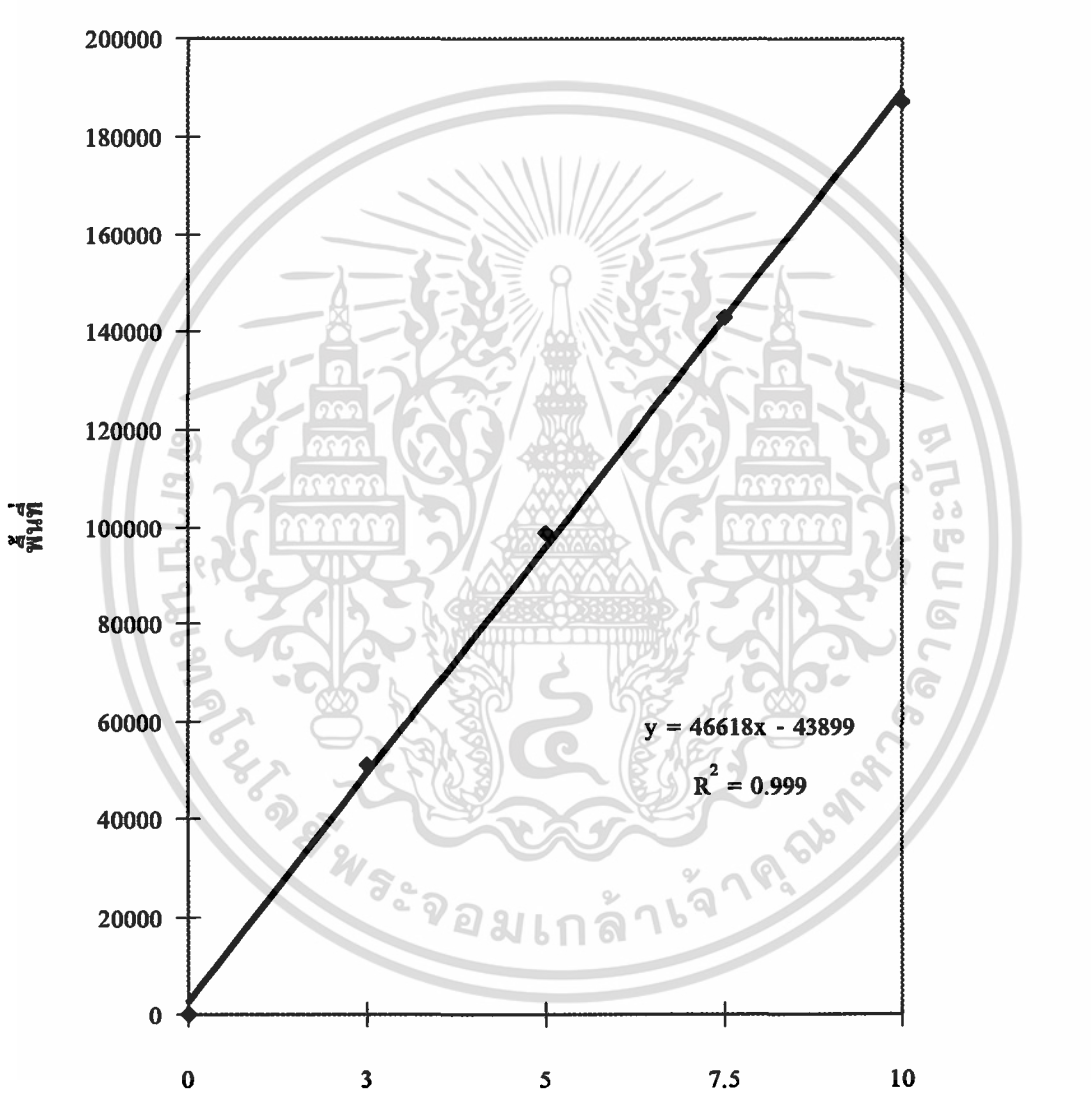
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข3 คุณสมบัติต่างๆของน้ำตาลและแอลกอฮอล์ของน้ำตาลชนิดต่างๆ

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

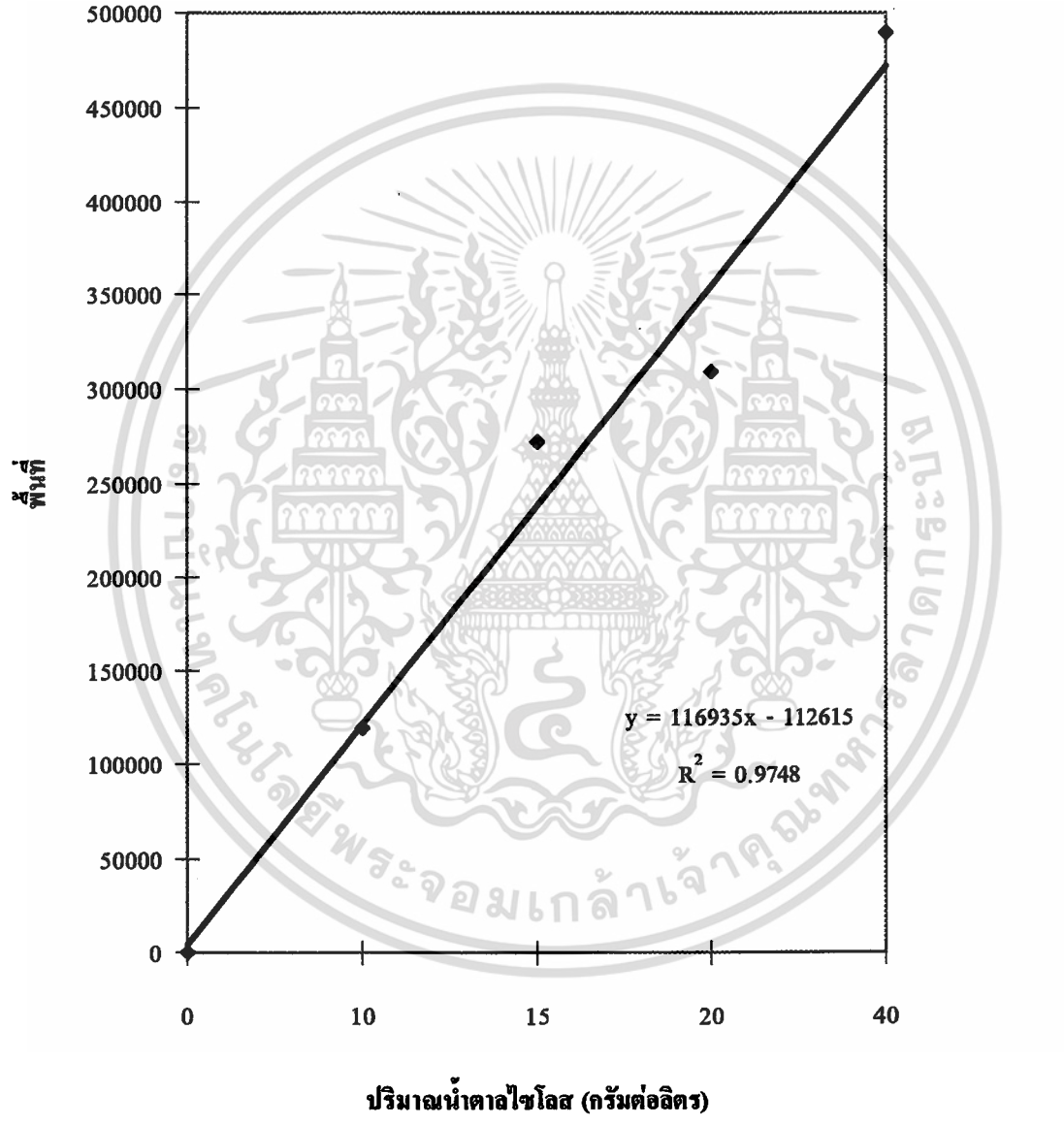
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค
กราฟมาตรฐานของน้ำตาล



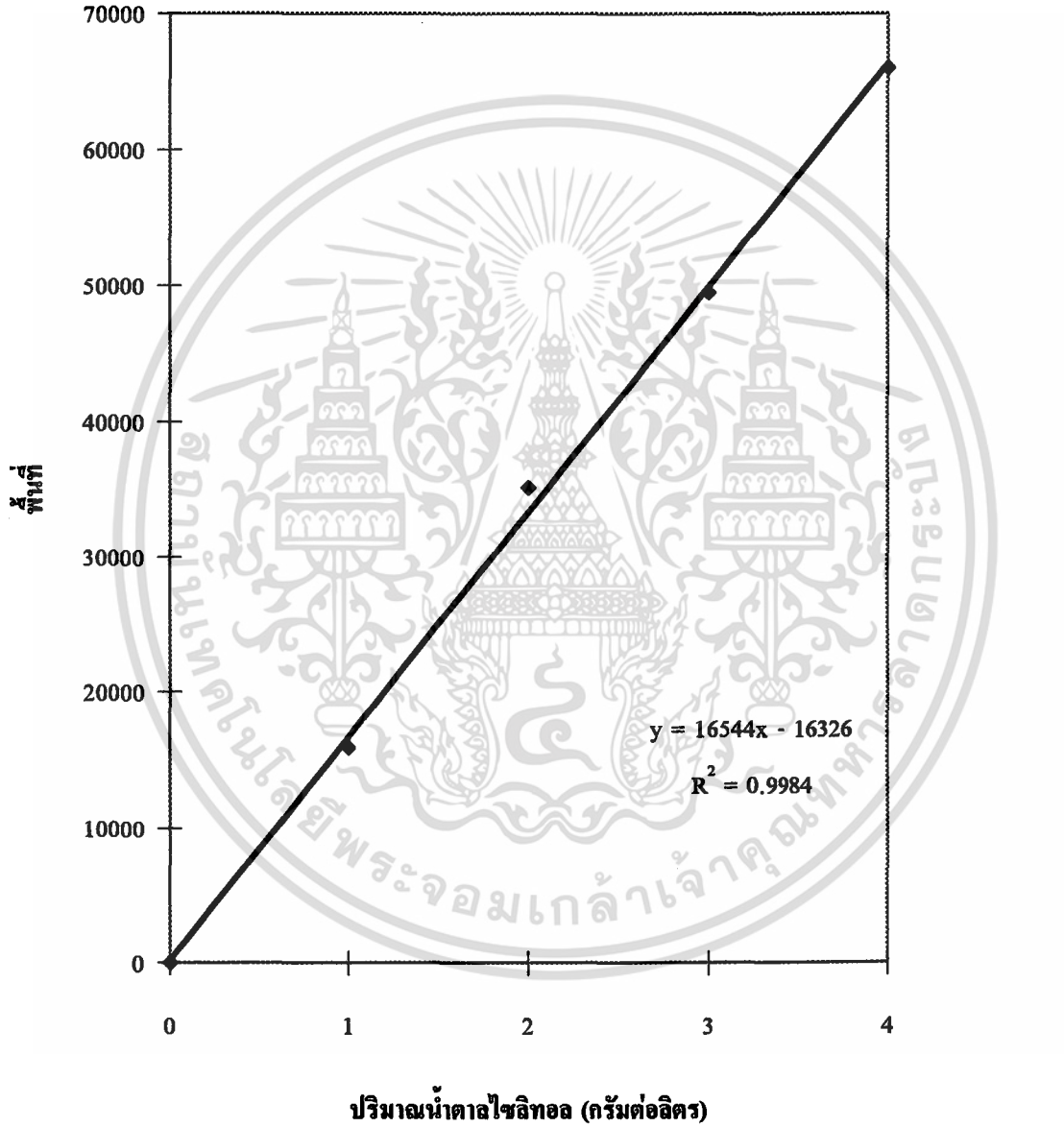
รูปที่ ค1 แสดงกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ค2 แสดงกราฟมาตรฐานของน้ำตาลไซโลส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ค3 แสดงกราฟมาตรฐานของน้ำตาลไซลิทอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้