



เลขที่เอกสาร: 61120095210357000

สวพ-ว-4(1)

ใบนำส่งรายงานวิจัย

เลขที่รับ(สวพ).....

วันที่รับ.....

ขอส่งรายงานวิจัย มก. ประจำปีงบประมาณ (1) 2552

(2) ลักษณะโครงการ เป็นโครงการวิจัยเดี่ยว รหัส ว-ท(ด)101.52 ชื่อโครงการ การประยุกต์ใช้โคไตโอลิโกแซคคาไรด์เป็นวัตถุดิบเสียจากธรรมชาติในผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นหมู

(3) หัวหน้าโครงการ ผศ.ทานตะวัน พิทักษ์

(4) หน่วยงาน ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร บางเขน

(5) ประเภทโครงการวิจัย โครงการวิจัย 3 สาขา โครงการวิจัยสาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

(6) รายงานที่ส่ง รายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์ (ฉบับจริง) จำนวน 8 ชุด พร้อม CD/Diskette 2 แผ่น

(7) การเผยแพร่ผลงานวิจัย ประสงค์ให้ สวพ. เผยแพร่ได้

ลงชื่อ.....

(ผศ.ทานตะวัน พิทักษ์)

หัวหน้าโครงการ

28 ม.ค. 2557

ใบรับรายงานวิจัย

เลขที่รับ(สวพ).....

วันที่รับ.....

ขอส่งรายงานวิจัย มก. ประจำปีงบประมาณ (1) 2552

(2) ลักษณะโครงการ เป็นโครงการวิจัยเดี่ยว รหัส ว-ท(ด)101.52 ชื่อโครงการ การประยุกต์ใช้โคโตโอดี โกลแซคคาไรด์เป็นวัตถุดิบเสียจากธรรมชาติในผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นหมู

(3) หัวหน้าโครงการ ผศ.ทานตะวัน พิทักษ์

(4) หน่วยงาน ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร บางเขน

(5) ประเภทโครงการวิจัย โครงการวิจัย 3 สาขา โครงการวิจัยสาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

(6) รายงานที่ส่ง รายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์ (ฉบับจริง) จำนวน 8 ชุด พร้อม CD/Diskette 2 แผ่น

(7) การเผยแพร่ผลงานวิจัย ประสงค์ให้ สวพ. เผยแพร่ได้

ลงชื่อ.....

(เจ้าหน้าที่สถาบันวิจัยและพัฒนา)

...../...../.....



รายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์
ทุนอุดหนุนวิจัย มก.ปีงบประมาณ 2552

รหัสโครงการวิจัย ว-ท(ด)101.52

การประยุกต์ใช้ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์เป็นวัตถุกันเสียจากธรรมชาติในผลิตภัณฑ์ลูกชิ้น

หมู

Application of chitooligosaccharides as natural preservative in pork meat balls

หัวหน้าโครงการ ผศ.ทานตะวัน พิทักษ์

หน่วยงานต้นสังกัด ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร บางเขน

หน่วยงานหลัก ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร บางเขน

แหล่งทุน : ทุนอุดหนุนวิจัย มก.

สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

แบบรายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์
โครงการวิจัย (Project)
โครงการวิจัยทุนอุดหนุนวิจัย มก. ปีงบประมาณ 2552

ส่วนที่ 1 ข้อมูลโครงการวิจัย

- 1.1 รหัส ว-ท(ด)101.52 ชื่อโครงการวิจัย การประยุกต์ใช้ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์เป็นวัตถุกันเสียจากธรรมชาติ ในผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นหมู
- 1.2 ลักษณะโครงการ เป็นโครงการวิจัยเดี่ยว
- 1.3 ชื่อหัวหน้าโครงการ ผศ.ทานตะวัน พิทักษ์
- 1.4 หน่วยงานต้นสังกัด ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร บางเขน
 หน่วยงานหลัก ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร บางเขน
- 1.5 ประเภทโครงการ โครงการวิจัย 3 สาขา โครงการวิจัยสาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
- 1.6 ระยะเวลาดำเนินงานวิจัยตลอดโครงการ 1 ปี ปีงบประมาณ 2552
- 1.7 สถานที่ดำเนินงานวิจัย/เก็บข้อมูล
 - ห้องปฏิบัติการภายในภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์และห้องปฏิบัติการกลางของคณะอุตสาหกรรมเกษตร
- 1.8 งบประมาณรวมตลอดโครงการ 370,000.00 บาท ประกอบด้วย
 ปีงบประมาณ 2552 ได้รับ 370,000.00 บาท
- 1.9 วัตถุประสงค์โครงการวิจัย
 1. ศึกษาชนิดของเอนไซม์ (chitosanase, α -amylase และ pectinase) สภาวะและกระบวนการผลิต (อุณหภูมิ เวลา ค่าความเป็นกรดต่างหรือค่า pH และสัดส่วนเอนไซม์ต่อสับสเตรต) ที่เหมาะสม ในการผลิตไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากไคโตซานที่เตรียมจากเปลือกกุ้ง
 2. ศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพ (สี ค่า pH และความชื้นหรือ moisture content, MC) และคุณสมบัติทางเคมี (ความสามารถในการละลายน้ำ หรือ water solubility ระดับในการดึงหมู่อะเซทิลออกจากโมเลกุล หรือ degree of deacetylation, DD และ น้ำหนักโมเลกุล) ของไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ผลิตได้
 3. ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมในการประยุกต์ใช้ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ เพื่อเป็นสารต้านเชื้อจุลินทรีย์ (antimicrobial agent) ในผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นหมู
 4. ศึกษาผลของไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ต่อคุณสมบัติทางด้านกายภาพ (สี เนื้อสัมผัส และ ความสามารถในการอุ้มน้ำหรือ water holding capacity, WHC) คุณสมบัติทางด้านเคมี (ค่า pH ปริมาณความชื้น ค่า water activity หรือค่า aw และค่าเปอร์ออกไซด์หรือ peroxide value, PV) และอายุการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียสของผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นหมู
- 1.10 เป้าหมายผลงานวิจัยตลอดโครงการ

ปีงบประมาณ	เดือนที่	ผลงานวิจัยที่คาดว่าจะได้
2552	1-6	1. 1. ศึกษาชนิดของเอนไซม์ (cellulase, beta-amylase และ pectinase) สภาวะและกระบวนการผลิต (อุณหภูมิ เวลา ค่าความเป็นกรดต่างหรือ pH และสัดส่วนเอนไซม์ต่อสับสเตรต) ที่เหมาะสม ในการผลิตโคโตโกลิโกแซคคาไรด์จากโคโตซานที่เตรียมจากเปลือกกุ้ง
		2. ศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพ (สี) และคุณสมบัติทางเคมี (ระดับดิงหมูอะเซททิลออกจากโมเลกุล หรือ degree of deacetylation, DD น้ำหนักโมเลกุลและความชื้นหรือ moisture content, MC) ของโคโตโกลิโกแซคคาไรด์ที่ผลิตได้
	7-12	3. ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมในการประยุกต์ใช้โคโตโกลิโกแซคคาไรด์ เพื่อเป็นสารต้านเชื้อจุลินทรีย์ (antimicrobial agent) ในผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นหมู
		4. ศึกษาผลของโคโตโกลิโกแซคคาไรด์ต่อคุณสมบัติทางด้านกายภาพ เนื้อสัมผัส และ ความสามารถในการอุ้มน้ำหรือ water holding capacity (WHC) คุณสมบัติทางด้านเคมี (ค่า pH และ ปริมาณความชื้น) และการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียสของผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นหมู

1.11 สรุปผลการดำเนินงานวิจัยตลอดโครงการ

- วัตถุประสงค์ (ตามแผน)

1.1. ศึกษาชนิดของเอนไซม์ (chitosanase, α -amylase และ pectinase) สภาวะและกระบวนการผลิต (อุณหภูมิ เวลา ค่าความเป็นกรดต่างหรือค่า pH และสัดส่วนเอนไซม์ต่อสับสเตรต) ที่เหมาะสม ในการผลิตโคโตโกลิโกแซคคาไรด์จากโคโตซานที่เตรียมจากเปลือกกุ้ง

2.2. ศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพ (สี ค่า pH และความชื้นหรือ moisture content, MC) คุณสมบัติทางเคมี (ความสามารถในการละลายน้ำ หรือ water solubility ระดับในการดิงหมูอะเซททิลออกจากโมเลกุล หรือ degree of deacetylation, DD และ น้ำหนักโมเลกุล) และคุณสมบัติในการออกฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ (Antimicrobial property) ของโคโตโกลิโกแซคคาไรด์ที่ผลิตได้

3.3. ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมในการประยุกต์ใช้โคโตโกลิโกแซคคาไรด์ เพื่อเป็นสารต้านเชื้อจุลินทรีย์ (antimicrobial agent) ในผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นหมู

4.4. ศึกษาผลของโคโตโกลิโกแซคคาไรด์ต่อคุณสมบัติทางด้านกายภาพ (สี เนื้อสัมผัส และ ความสามารถในการอุ้มน้ำหรือ water holding capacity, WHC) คุณสมบัติทางด้านเคมี (ค่า pH ปริมาณความชื้น ค่า water activity หรือค่า aw และค่าเพอร์ออกไซด์หรือ peroxide value, PV) ความชอบโดยรวมของผลิตภัณฑ์ และอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นหมูที่ 4 องศาเซลเซียส

- เป้าหมาย/ผลที่คาดหวัง (ตามแผน)

1. ได้ชนิดของเอนไซม์ รวมทั้งสภาวะและกระบวนการผลิต (อุณหภูมิ เวลา ค่าความเป็นกรดต่างหรือค่า

pH และสัดส่วนเอนไซม์ต่อสับสเตรต) ที่เหมาะสม ในการผลิตโคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากโคโตซานที่เตรียมจากเปลือกกุ้ง และอาจนำองค์ความรู้ที่ได้ ไปพัฒนาต่อเพื่อทำการผลิตโคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในระดับอุตสาหกรรมได้

2.ได้รับองค์ความรู้เกี่ยวกับคุณสมบัติทางกายภาพ (สี ค่า pH และความชื้นหรือ moisture content, MC) คุณสมบัติทางเคมี (ความสามารถในการละลายน้ำ หรือ water solubility ระดับในการดึงหุ้มอะเซททิลออกจากโมเลกุล หรือ degree of deacetylation, DD และ น้ำหนักโมเลกุล) และคุณสมบัติในการออกฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ (Antimicrobial property) ของโคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ผลิตได้

3.ได้รับองค์ความรู้เกี่ยวกับความเข้มข้นที่เหมาะสมในการประยุกต์ใช้โคโตโอลิโกแซคคาไรด์ เพื่อเป็นสารต้านเชื้อจุลินทรีย์ (antimicrobial agent) หรือเป็นวัตถุกันเสียจากธรรมชาติในผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นหมู

4.ได้รับองค์ความรู้เกี่ยวกับผลของโคโตโอลิโกแซคคาไรด์ต่อคุณสมบัติทางด้านกายภาพ (สี เนื้อสัมผัส และ ความสามารถในการอุ้มน้ำหรือ water holding capacity, WHC) คุณสมบัติทางด้านเคมี (ค่า pH ปริมาณความชื้น ค่า water activity หรือค่า aw และค่าเปอร์ออกไซด์หรือ peroxide value, PV) ความชอบโดยรวมของผลิตภัณฑ์ และอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นหมูที่ 4 องศาเซลเซียส เพื่อให้สามารถนำไปขยายผลเพื่อประยุกต์ใช้กับผลิตภัณฑ์อาหารชนิดอื่น หรือผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ชนิดอื่น ๆ ได้ และอาจนำไปสู่การขยายกำลังการผลิตไปสู่อุตสาหกรรมการผลิตผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ได้

- ผลการดำเนินงาน (ปฏิบัติได้จริง)

1.ได้ชนิดของเอนไซม์ รวมทั้งสภาวะและกระบวนการผลิต (อุณหภูมิ เวลา ค่าความเป็นกรดต่างหรือค่า pH และสัดส่วนเอนไซม์ต่อสับสเตรต) ที่เหมาะสม ในการผลิตโคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากโคโตซานที่เตรียมจากเปลือกกุ้ง และอาจนำองค์ความรู้ที่ได้ ไปพัฒนาต่อเพื่อทำการผลิตโคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในระดับอุตสาหกรรมได้ โดยมีการเปลี่ยนแปลงชนิดของเอนไซม์ที่ใช้จาก chitosanase เป็นเอนไซม์ cellulase เนื่องจากเอนไซม์ chitosanase มีความจำเพาะสูงมากทำให้ตัดสายพันธะโคโตซานได้ขนาดเล็กมากและไม่สามารถเก็บตัวอย่างออกจากสารละลายได้ อีกทั้งให้ร้อยละผลผลิตที่ต่ำ เอนไซม์มีราคาแพงมาก (25 มิลลิกรัม ราคาประมาณ 20000 บาท) และมีปัญหาในเรื่องการผลิตที่ไม่ผลิตเป็นประจำ ต้องรอให้มีการสั่งในปริมาณมากจึงผลิต เป็นผลให้ต้องรอสั่งซื้อเอนไซม์นานถึง 5 เดือน จึงได้ปรับเปลี่ยนเอนไซม์เป็นเอนไซม์ cellulase ที่มีราคาถูกกว่า และสามารถสั่งซื้อได้ไม่ยากร้อยละผลผลิตของโคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ผลิตได้จากสภาวะต่าง ๆ มีความแตกต่างกัน ($p < 0.05$) ค่า pH และอัตราส่วนเอนไซม์ต่อสับสเตรตที่ศึกษา ส่งผลต่อร้อยละผลผลิตที่ได้ ($p < 0.05$) เอนไซม์ที่ให้ร้อยละผลผลิตสูงที่สุดคือ เอนไซม์ pectinase รองลงมาคือ beta-amylase และ cellulase ตามลำดับ ซึ่งสภาวะที่ให้ร้อยละผลผลิตสูงสุด คือ สภาวะที่ใช้เอนไซม์ pectinase บ่มที่ pH 4.0 อัตราส่วนเอนไซม์ต่อสับสเตรต 1:1

2.จากข้อที่ 1 คัดเลือกสภาวะที่ให้ร้อยละผลผลิตสูงที่สุดของเอนไซม์แต่ละชนิดที่สภาวะต่าง ๆ นำมาวิเคราะห์ %DD ด้วยเครื่อง NMR และ น้ำหนักโมเลกุล ด้วยเครื่อง GPC จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า เอนไซม์ cellulase สามารถตัดสายพันธะโคโตซานได้สั้นที่สุด รองลงมาคือ beta-amylase และ pectinase

ตามลำดับ โดยเมื่อพิจารณาร้อยละผลผลิตและน้ำหนักโมเลกุลที่ลดลง ทำให้สามารถเลือกสภาวะที่จะนำไปผลิตโคโตโอลิโกแซคคาไรด์สำหรับการทดลองต่อไป 2 สภาวะ ที่ให้ร้อยละผลผลิตมากกว่า 95% คือ

1. สภาวะที่ใช้เอนไซม์ pectinase บ่มที่อุณหภูมิ 4.0 ที่อัตราส่วนเอนไซม์ต่อสับสเตรต 1:1 หรือตัวอย่างที่จะใช้ในรายงานต่อไปคือ P 4.0/1:1
2. สภาวะที่ใช้เอนไซม์ pectinase บ่มที่อุณหภูมิ 5.0 ที่อัตราส่วนเอนไซม์ต่อสับสเตรต 1:10 หรือตัวอย่างที่จะใช้ในรายงานต่อไปคือ P 5.0/1:10

น้ำหนักโมเลกุลของโคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ผลิตได้ที่สภาวะที่ดีที่สุดของแต่ละเอนไซม์แสดงได้ดังตารางด้านล่างนี้

Condition

Enzyme pH Enzyme:Chitosan %DD Molecular weight (Dalton)

ที่เวลาในการบ่ม 285 นาที

Pectinase	4.0	1:1	98	72,064
Pectinase	5.0	1:10	97	81,565
Beta-amylase	4.0	1:50	97	81,171
Beta-amylase	5.0	1:50	97	96,174
Cellulase	4.0	1:2	99	10,800
Cellulase	4.5	1:2	99	14,680

สำหรับค่าสี ของโคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ผลิตได้ ด้วยสภาวะที่ให้ร้อยละผลผลิตมากที่สุดของเอนไซม์แต่ละชนิด พบว่า เอนไซม์ pectinase ให้โคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีค่าความสว่าง (L*) สูงสุด และมีสีอ่อนที่สุด และมีสีเหลืองนวล ในขณะที่เอนไซม์ beta-amylase และ cellulase จะให้ตัวอย่างที่มีสีเหลืองน้ำตาล และตัวอย่างดังกล่าวจะมีน้ำหนักโมเลกุลที่ต่ำกว่า

3. ในขั้นตอนนี้ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมในการประยุกต์ใช้โคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 2 ตัวอย่างคือ P

4.0/1:1 และ P 5.0/1:10 เพื่อเป็นสารต้านเชื้อจุลินทรีย์ (antimicrobial agent) หรือเป็นวัตถุกันเสียจากธรรมชาติในผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นหมู แปรระดับความเข้มข้นเป็น 2 ระดับ คือ 0.5 และ 1.0% โดยน้ำหนัก เปรียบเทียบผลที่ได้กับตัวอย่างควบคุมที่ไม่เติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์

จากการวิจัย พบว่า การเพิ่มความเข้มข้นจาก 0.5 เป็น 1.0% โดยน้ำหนัก ส่งผลให้ความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์เพิ่มขึ้น ค่าความชื้น ไม่เปลี่ยนแปลง ค่า a^* และ b^* เปลี่ยนแปลงแต่ค่าความสว่างไม่มีการเปลี่ยนแปลง และการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ความเข้มข้นเพิ่มขึ้น ยังส่งผลให้ค่าความสามารถในการอุ้มน้ำของลูกชิ้นหมูลดต่ำลง เนื้อสัมผัสมีการเปลี่ยนแปลง แต่ไม่ส่งผลต่อความชอบโดยรวมของผู้บริโภค

4. จากผลการทดลอง แสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ระหว่างการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 21 วัน โดยไม่ได้บรรจุแบบสุญญากาศ พบว่า ลูกชิ้นหมูควบคุม มีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด วิเคราะห์ด้วยวิธี TPC เพิ่มขึ้นทุก ๆ ระยะที่ตรวจวัด และมีปริมาณมากกว่า 106 cfu/g ที่ 14 วันของการเก็บรักษา ซึ่งเกินจากมาตรฐานชุมชนแสดงให้เห็นว่า ตัวอย่างควบคุมมีอายุการเก็บรักษาน้อยกว่า 14 วัน เมื่อประยุกต์ใช้ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ลงในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นหมู พบว่า สามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้ยาวนานขึ้นเป็น 21 วัน โดยไม่จำเป็นต้องบรรจุแบบสุญญากาศ ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่เตรียมจากเอนไซม์ pectinase ที่ pH และอัตราส่วนโดยน้ำหนักแตกต่างกัน ให้ผลในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในลูกชิ้นหมูได้แตกต่างกัน แต่ทุกตัวอย่างออกฤทธิ์ยับยั้งได้ทั้งจุลินทรีย์จำพวก แบคทีเรีย ยีสต์และรา ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์บ่มที่สภาวะ pH 4.0 และอัตราส่วน 1:1 ให้ผลในการยับยั้งเชื้อได้ดีเมื่อใช้ที่ความเข้มข้น 1.0% โดยน้ำหนัก เช่นเดียวกันกับไคโตโอลิโกแซคคาไรด์บ่มที่สภาวะ pH 5.0 และอัตราส่วน 1:10 ซึ่งผลของการยับยั้งเชื้อเกิดได้ดี ทำให้ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดลดลง ในระหว่างเวลาการเก็บรักษาที่ 7 และ 14 วัน และ เพิ่มขึ้นอีกครั้งในวันที่ 21 ซึ่งจากผลการทดลองดังกล่าว แสดงให้เห็นว่า ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ทั้ง 2 ตัวอย่างให้ผลในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ และสามารถนำมาประยุกต์ใช้ผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นหมูได้ ซึ่งผลงานวิจัยนี้ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Kok และ Park ในปี 2007 ได้พบว่า อายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ set fish ball ที่ทำมาจากการขึ้นรูปซูริมิ (surimi) ด้วยความร้อนด้วยเครื่องเอ็กทรูดเดอร์ (extruder) จะยาวนานขึ้นเมื่อมีการเติมไคโตซาน พร้อมกับกรดน้ำส้มหรือ glucono delta lactone โดยการใส่ไคโตซานละลายในกรดน้ำส้มก่อนผสมลงในผลิตภัณฑ์ก่อนที่จะนำไปขึ้นรูป จะให้ผลในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้ถึง 21 วัน โดยที่ยังคงมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดและปริมาณยีสต์ น้อยกว่า 1 log CFU/g นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Georgantelis และคณะ (2007) ที่ศึกษาผลของสารสกัดจากโรสแมรี่ (rosemary extracts) ร่วมกับไคโตซาน หรือ alpha-tocopherol ในการเป็นสารต้านทานเชื้อจุลินทรีย์และผลในการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกสดที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และพบว่าทำให้สามารถยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ดังกล่าวได้ถึง 20 วัน และตัวอย่างที่เก็บได้นานที่สุด พบในผลิตภัณฑ์ที่ผสมไคโตซานร่วมกับสารสกัดโรสแมรี่

ตัวอย่างไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่เลือกมาผสมกับลูกชิ้นหมูนั้น มีน้ำหนักโมเลกุล 72,064 dalton (P4.0/1:1)

และ 81,565 dalton (P5.0/1:10) ตามลำดับ ซึ่งจากผลการยับยั้งเชื้อเห็นได้ว่าปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ของลูกชิ้นหมูผสมตัวอย่างโคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงกว่า ให้ผลในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ดีกว่า ซึ่งสอดคล้องกับการวิจัยของ Jeon Park และ Kim ในปี 2001 ที่ศึกษาความสามารถในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของโคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 3 กลุ่ม ที่มีน้ำหนักโมเลกุล 3 ระดับ คือ สูง กลาง และต่ำ ซึ่งโคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในงานวิจัยนี้ ผลิตโดยใช้เอนไซม์โคโตซานเนสตัดสายโมเลกุลของโคโตซานและแยกขนาดด้วย ultrafiltration membrane และ พบว่าความสามารถในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของโคโตโอลิโกแซคคาไรด์ขึ้นอยู่กับน้ำหนักโมเลกุล ซึ่งโคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่สามารถต้านเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีจะต้องมีน้ำหนักโมเลกุลมากกว่า 10,000 Dalton และโคโตโอลิโกแซคคาไรด์ดังกล่าวสามารถยับยั้ง

1.12 ผลการดำเนินงานวิจัยเป็นไปตามแผนหรือไม่ อย่างไร

- เปลี่ยนแปลงจากแผนดำเนินงานที่เสนอไว้

มีการเปลี่ยนแปลงชนิดของเอนไซม์ที่ใช้จาก chitosanase เป็นเอนไซม์ cellulase เนื่องจากเอนไซม์ chitosanase มีความจำเพาะสูงมากทำให้ตัดสายพันธะโคโตซานได้ขนาดเล็กมากและไม่สามารถเก็บตัวอย่างออกจากสารละลายได้ อีกทั้งให้ร้อยละผลผลิตที่ต่ำ เอนไซม์มีราคาแพงมาก (25 มิลลิกรัม ราคาประมาณ 20000 บาท) และมีปัญหาในเรื่องการผลิตที่ไม่ผลิตเป็นประจำ ต้องรอให้มีการสั่งในปริมาณมากจึงผลิต เป็นผลให้ต้องรอสั่งซื้อเอนไซม์นานถึง 5 เดือน จึงได้ปรับเปลี่ยนเอนไซม์เป็นเอนไซม์ cellulase ที่มีราคาถูกกว่า และสามารถสั่งซื้อได้ไม่ยาก

1.13 ปัญหา อุปสรรคในการดำเนินงาน และแนวทางแก้ไข

มีปัญหาและอุปสรรคด้านปัจจัยการวิจัย

- ผู้วิจัย ในช่วงแรกของการวิจัย ผู้วิจัยตั้งครุภัณฑ์ และลาคลอดเป็นระยะเวลา 3 เดือน (มกราคม 2552-มีนาคม 2552) เป็นผลให้เกิดความล่าช้าในการทำงานวิจัยในช่วงแรก

- วัสดุอุปกรณ์ เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์ระดับการดึงหมู่อะเซทิล (เครื่อง NMR) และเครื่องมือวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของโคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ผลิตได้ (เครื่อง GPC) ต้องใช้การว่าจ้างวิเคราะห์ที่สถาบันวัสดุและโลหะแห่งชาติ ซึ่งค่อนข้างเสียเวลาในการรอลำดับการวัด ซึ่งทำให้ผลการวิจัยค่อนข้างล่าช้า

แนวทางการแก้ไข

- พยายามติดต่อและวางแผนการวัดและขอใช้เครื่องมืออย่างเป็นระบบ แต่ก็ยังทำให้การวิจัยมีความล่าช้าเกิดขึ้น

1.14 สรุปผลการดำเนินงานตามวัตถุประสงค์

- บรรลุ

1.15 ผลผลิต/สิ่งที่ได้จากการวิจัย (Outputs)

- สร้างนักวิจัย/สนับสนุนนิสิตปริญญาโท (ระบุจำนวนคน)

1 คน

1.16 จุดเด่นของผลงานวิจัย / ผลผลิต / สิ่งที่ได้จากการวิจัย (outputs)

- สร้างนักวิจัยหน้าใหม่/พัฒนานักวิจัย

สร้างนักวิจัยระดับปริญญาโทจำนวน 1 คน

- ก่อให้เกิดมูลค่าเพิ่มทางเศรษฐกิจ และคุณค่าเพิ่มทางสังคมและวัฒนธรรม

ต้องมีความรู้ในการพัฒนาการผลิตโคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่สามารถออกฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ได้ดี และได้ทราบถึงคุณลักษณะที่เหมาะสมของโคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ผลิตได้ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์

1.17 การนำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์ (Outcomes)

1. การนำผลการวิจัยไปเผยแพร่/ถ่ายทอด

1.1 วารสารวิชาการระดับชาติ/วารสารวิชาการระดับนานาชาติ 1 เรื่อง

อยู่ระหว่างส่งตีพิมพ์/กำลังเขียนต้นฉบับ ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ

- ผู้แต่ง : T. Pirak and K. Aiumpathumman

- ชื่อเรื่อง : Chitooligosaccharide as natural antimicrobial agent in pork meat ball ชื่อวารสาร :

International Journal of Food Science and Technology

1.2 นำเสนอในการประชุม/สัมมนาระดับชาติและนานาชาติ

-

1.3 เผยแพร่ผลงานในรูปแบบการจัดนิทรรศการ

-

1.4 บทความ

-

1.5 จัดอบรมถ่ายทอด

-

1.6 นำเสนอทางสื่อผสม

-

1.7 ภาครัฐนำไปใช้กำหนดแผน/นโยบาย

-

1.9 อื่นๆ

-

2. เป้าหมายการนำผลลัพธ์ / ผลสำเร็จที่ได้ / หรือคาดว่าจะได้จากการวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ด้านอุตสาหกรรม

- ภายหลังเสร็จสิ้นงานวิจัย หากผลงานวิจัยมีแนวโน้มที่สามารถประยุกต์เป็นการผลิตที่มีกำลังการผลิตสูงขึ้น อาจมีการร่วมมือกับเอกชน หรือ โรงงานผลิตลูกชิ้นหมู เพื่อทดลองใช้โคโตโอลิโกแซคคาไรด์

จากโคโตซานเพื่อเป็นสารต้านเชื้อจุลินทรีย์ในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

2. นำความรู้ไปวิจัย/พัฒนาขั้นต่อไป

- สามารถนำองค์ความรู้เกี่ยวกับวิธีการผลิตโคโตโอลิโกแซคคาไรด์ด้วยเอนไซม์ชนิดที่เหมาะสม เพื่อนำไปผลิตโคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีความสามารถเป็นสารต้านเชื้อจุลินทรีย์ที่ดี และสามารถพัฒนาต่อไปโดยประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารชนิดอื่น ๆ หรือผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ชนิดอื่นได้

1.18 ผลกระทบ (Impact) ที่เกิดจากการนำผลการวิจัยไปใช้ สอดคล้องกับยุทธศาสตร์ด้านใด

- ยุทธศาสตร์การบริหารราชการแผ่นดิน (พ.ศ.2548 - 2551)

1. ยุทธศาสตร์การปรับโครงสร้างเศรษฐกิจให้สมดุลและยั่งยืน

เป้าประสงค์ การปรับโครงสร้างการผลิตเพื่อเพิ่มผลิตภาพ และคุณค่าของสินค้าและบริการบนฐานความรู้และความเป็นไทย

2. ยุทธศาสตร์การสร้างความเข้มแข็งของชุมชนและสังคมให้เป็นรากฐานที่มั่นคงของประเทศ

เป้าประสงค์ การสร้างความมั่นคงของเศรษฐกิจชุมชน

3. ยุทธศาสตร์การพัฒนาคุณภาพคนและสังคมไทยสู่สังคมแห่งภูมิปัญญาและการเรียนรู้

เป้าประสงค์ การเสริมสร้างสุขภาวะคนไทยให้มีสุขภาพแข็งแรงทั้งกายและใจ มีความสัมพันธ์ทางสังคมและอยู่ในสภาพแวดล้อมที่น่าอยู่

4. ยุทธศาสตร์การพัฒนาบนฐานความหลากหลายทางชีวภาพและการสร้างความมั่นคงของฐานทรัพยากรและสิ่งแวดล้อม

เป้าประสงค์ การรักษาฐานทรัพยากรและความสมดุลของระบบนิเวศน์

5. ยุทธศาสตร์การเสริมสร้างธรรมาภิบาลในการบริหารจัดการประเทศ มุ่งเสริมสร้างความเป็นธรรมในสังคมอย่างยั่งยืน

เป้าประสงค์ ส่งเสริมภาคธุรกิจเอกชนให้เกิดความเข้มแข็ง สุจริต และมีธรรมาภิบาล

- นโยบายและยุทธศาสตร์การวิจัยของชาติ(พ.ศ.2551 - 2553)

ยุทธศาสตร์การวิจัยที่ 1 การสร้างศักยภาพและความสามารถเพื่อการพัฒนาทางเศรษฐกิจ

กลยุทธ์การวิจัยที่ 1 การสร้างมูลค่าผลผลิตทางการเกษตรและประมง และการพัฒนาศักยภาพในการแข่งขันและการพึ่งพาตนเองของสินค้าเกษตรและประมง

แผนงานวิจัยที่ 6 การวิจัยเกี่ยวกับการผลิตอาหารปลอดภัย

1.19 การรับความคุ้มครองทรัพย์สินทางปัญญา

-

1.20 การได้รับรางวัล

-

1.21 งานที่จะทำต่อไป

- งานวิจัยเสร็จสิ้นโดยสมบูรณ์แล้ว ขณะนี้อยู่ระหว่างการเขียนผลงานเพื่อการตีพิมพ์ลงในวารสารระดับนานาชาติ และการเตรียมผลงานเพื่อการนำเสนอในงานประชุมวิชาการต่อไป

1.22 คำชี้แจงเพิ่มเติม

- งานวิจัยนี้ ได้มีการเปลี่ยนแปลงชนิดของเอนไซม์ที่ใช้จาก chitosanase เป็นเอนไซม์ cellulase เนื่องจากเอนไซม์ chitosanase มีความจำเพาะสูงมากทำให้ตัดสายพันธะโคโตซานได้ขนาดเล็กมากและไม่สามารถเก็บตัวอย่างออกจากสารละลายได้ อีกทั้งให้ร้อยละผลผลิตที่ต่ำ เอนไซม์มีราคาแพงมาก (25 มิลลิกรัม ราคาประมาณ 20000 บาท) และมีปัญหาในเรื่องการผลิตที่ไม่ผลิตเป็นประจำ ต้องรอให้มีการสั่งในปริมาณมากจึงผลิต เป็นผลให้ต้องรอสั่งซื้อเอนไซม์นานถึง 5 เดือน จึงได้ปรับเปลี่ยนเอนไซม์เป็นเอนไซม์ cellulase ที่มีราคาถูกกว่า และสามารถสั่งซื้อได้ไม่ยาก ซึ่งจากผลการวิจัยที่ได้ ทำให้ทราบว่า ไม่มีความจำเป็นที่จะต้องใช้อินไซม์ chitosanase ในการผลิตโคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ทำให้ได้รับองค์ความรู้ใหม่เกี่ยวกับสภาวะชนิดเอนไซม์ ค่าความเป็นกรดต่าง อุณหภูมิและอัตราส่วนโดยน้ำหนักของเอนไซม์ต่อโคโตซาน ที่เหมาะสมในการนำมาผลิตโคโตโอลิโกแซคคาไรด์ให้ได้ร้อยละผลผลิตสูง และมีต้นทุนการผลิตต่ำกว่าการใช้เอนไซม์ chitosanase ได้ ซึ่งถือว่าเป็นองค์ความรู้ที่สามารถนำมาประยุกต์ใช้ได้จริงในการผลิต

1.23 ได้แนบรายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์ของโครงการ (Project) ตามหัวข้อในส่วนที่ 2 มาด้วยแล้ว

ลงชื่อ.....หัวหน้าโครงการ

(ผศ.ทานตะวัน พิทักษ์)

28 ม.ค. 2557

ส่วนที่ 2

รายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์
โครงการวิจัยทุนอุดหนุนวิจัย มก. ปีงบประมาณ 2552

โครงการวิจัยรหัส ว-ท(ด)101.52

การประยุกต์ใช้ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์เป็นวัตถุกันเสียจากธรรมชาติในผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นหมู

Application of chitooligosaccharides as natural preservative in pork meat balls

(1) ทานตะวัน พิรัชช์,

(1) Tantawan Pirak,

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากเปลือกกุ้งด้วยเอนไซม์ 3 ชนิดคือ cellulase pectinase และ beta-amylase โดยไคโตซานเริ่มต้นก่อนตัดสายพันธะ มีน้ำหนักโมเลกุลไคโตซานที่เตรียมได้มีน้ำหนักโมเลกุล 74.4 kDalton และมี%DD เท่ากับ 82% ซึ่งสภาวะที่เหมาะสมสำหรับเอนไซม์ cellulase คือ 50C pH = 4.0 และ 4.5 beta-amylase คือ 50 C pH = 4.0 และ 5.0 และ pectinase คือ 50 C pH = 4.0 และ 5.0 อัตราส่วนโดยน้ำหนักที่เหมาะสมสำหรับเอนไซม์ pectinase อัตราส่วนที่เหมาะสมคือ 1:1 สำหรับเอนไซม์ beta-amylase อัตราส่วนที่เหมาะสมคือ 1:50 และสำหรับเอนไซม์ cellulase อัตราส่วนที่เหมาะสมคือ 1:2 จากการศึกษาพบว่า เอนไซม์เพคตินเนสให้ร้อยละผลผลิตสูงสุด และให้ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลมากที่สุด ซึ่งส่งผลดีต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ การเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ผลิตด้วยเอนไซม์ pectinase ลงในลูกชิ้นหมูจึงให้ผลในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ดี สามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้ยาวนานถึง 21 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยไม่จำเป็นต้องบรรจุแบบสุญญากาศ ตัวอย่างไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีที่สุด ให้ร้อยละผลผลิตสูงกว่า 95% และไม่ส่งผลกระทบต่อค่าคุณลักษณะทางคุณภาพต่าง ๆ ของผลิตภัณฑ์ลูกชิ้นหมู กล่าวคือไม่ทำให้ตัวอย่างผลิตภัณฑ์เปลี่ยนแปลงไปจากตัวอย่างควบคุม ($p > 0.05$) และผู้บริโภคนิยมให้การยอมรับคือ ตัวอย่างไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ผลิตด้วยเอนไซม์ pectinase บ่มที่ pH 5.0 และใช้อัตราส่วนโดยน้ำหนักของเอนไซม์ต่อสับสเตรตเท่ากับ 1:50 เก็บตัวอย่างที่ระยะเวลาการบ่มนาน 285 นาที

คำสำคัญ : ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ , เอนไซม์เซลลูเลส , เอนไซม์เพคตินเนส , เอนไซม์เบต้า-อะมัยเลส , ลูกชิ้นหมู

ABSTRACT

This research investigated the optimal condition for chitooligosaccharide production using cellulase, pectinase and beta-amylase. The initial chitosan possessed molecular weight at 74.4 kDalton and 82% of degree of deacetylation. The optimal condition for each enzyme was temperature at 50C and pH 4.0 and 4.5 for cellulase, and temperature at 50C

and pH 4.0 and 5.0 for pectinase and beta-amylase, respectively. Moreover, the optimal weight ratio of enzyme to chitosan was achieved as 1:2 for cellulase, 1:1 for pectinase and 1:50 for beta-amylase. The results showed that pectinase gave the highest production yield with the highest molecular weight chitooligosaccharide. The addition of chitooligosaccharide produced with pectinase into pork meatball resulted in the excellent microbial inhibition and the shelf life of product can be extended to 21 days at 4 C in non-vacuum pack. Chitooligosaccharide with the highest production yield and prominent antimicrobial activity was received from the production of pectinase (weight ratio of enzyme to chitosan at 1:50), incubated at pH 5.0 and 50C for 285 min. With this condition, the quality characteristics and sensory properties of pork meatball were not affected ($p>0.05$) and the product was accepted by consumer.

Key words : chitooligosaccharide , cellulase , pectinase , beta -mylase , pork meatball

(1)ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร บางเขน

(1)Faculty of Agro-Industry