

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ในการสนับสนุนทุนอุดหนุนการวิจัยมุ่งเป้า ตอบสนองความต้องการในการพัฒนาประเทศประจำปีงบประมาณ 2557 ภายใต้กรอบการวิจัยเรื่อง เทคโนโลยีอุตสาหกรรมเพื่อวิสาหกิจชุมชนขนาดกลางและขนาดย่อม (การวิจัยเพื่อเพิ่มมูลค่าสินค้าเกษตร และ ผลิตภัณฑ์เกษตร) คณะผู้ตรวจสอบทางวิชาการ ในการพิจารณาตรวจสอบและให้ข้อเสนอแนะต่างๆ รวมทั้ง เจ้าหน้าที่ของสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติทุกท่าน ในการให้ข้อมูลและอำนวยความสะดวกต่างๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อการดำเนินการวิจัย

งานวิจัยนี้ไม่สามารถสำเร็จได้ ถ้าขาดทีมงานในการร่วมวิจัยครั้งนี้ประกอบด้วยอาจารย์ เจ้าหน้าที่ และนิสิตของภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จึงใคร่ขอขอบคุณมา ณ โอกาสนี้

ผศ. ดร. สุทธิพันธุ์ แก้วสมพงษ์

หัวหน้าโครงการวิจัย

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการวิจัย การเตรียมพรีไบโอติกจากกากมะพร้าวโดยกระบวนการทางเอนไซม์และการทดสอบคุณภาพ
ผลิตภัณฑ์

Prebiotic Preparation from Copra Meal by Enzymatic Process and Quality
Testing

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยประจำปี 2557 จำนวน 1,780,000 บาท

ระยะเวลาการทำวิจัย 1 ปี เริ่มทำวิจัยเมื่อ กรกฎาคม 2557

รายนามหัวหน้าโครงการ และผู้ร่วมโครงการ พร้อมทั้งหน่วยงานที่สังกัดและหมายเลขโทรศัพท์

หัวหน้าโครงการ

ผศ. ดร. สุทธิพันธุ์ แก้วสมพงษ์

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กรุงเทพ 10900 โทรศัพท์ 02-562-5075 โทรสาร 02-579-4096

ผู้ร่วมงานวิจัย

รศ. ดร. สุนัย นิธิสินประเสริฐ

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กรุงเทพ 10900 โทรศัพท์ 02-562-5075 โทรสาร 02-579-4096

บทคัดย่อ

การทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมผลิตภัณฑ์สารเสริมชีวภาพจากกากเนื้อมะพร้าว ด้วยเอนไซม์แมนนาเนสจากเชื้อ *Bacillus circulans* NT 6.7 คือปริมาณเอนไซม์แมนนาเนส 20 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ปริมาณกากเนื้อมะพร้าว 2.5 เปอร์เซ็นต์ในปริมาตรรวม 20 มิลลิลิตร โดยบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 210 นาที ให้ผลิตภัณฑ์ที่มีแมนโนโอลิโกแซคคาร์ไรด์ขนาด 5-6 หน่วยน้ำตาลแมนโนสเป็นองค์ประกอบ นำผลิตภัณฑ์ไปทดสอบการส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกพบว่าสามารถส่งเสริมการเจริญ *Lactobacillus reuteri* KUB-AC5, *Lactobacillus cirspatus* JCM5810, *Pediococcus pentosaceus* JCM 5885, และ *Enterococcus faecalis* JCM 5803 ได้ 35.28, 18.64, 31.16 และ 4.65 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ อีกทั้งยังสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค *Escherichia coli* E010, *Staphylococcus aureus* TISTR 029, *Salmonella enteritidis* S003 และ *Shigella dysenteriae* DMST 1511 ได้ 39.47, 47.39, 57.23 และ 37.07 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เมื่อนำไปทดสอบความทนต่อกรด และเอนไซม์ในสภาวะจำลองของกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กพบว่ามีความต้านทานการย่อย 98.11 และ 82.25 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และเมื่อนำไปทดสอบในระบบลำไส้ใหญ่จำลองพบว่าผลิตภัณฑ์สารเสริมชีวภาพจากกากเนื้อมะพร้าวต้นแบบที่เตรียมได้จากวิธีการดังกล่าวมีคุณสมบัติความเป็นพรีไบโอติกเทียบได้กับพรีไบโอติกทางการค้า (แมนโนโอลิโกแซคคาร์ไรด์จากผนังเซลล์ยีสต์ และฟรุคโตโอลิโกแซคคาร์ไรด์)

คำสำคัญ แมนแนน มะพร้าว โพรไบโอติกพรีไบโอติก

Abstract

The optimal condition for copra meal hydrolysis by *Bacillus circulans* NT 6.7 mannanase was 20 U/ml mannanase, 2.5 % defatted copra meal in 20 ml reaction at 50°C, 210 min. The hydrolysate product composed of manno-oligosaccharides; 5-6 mannose units. The product could promote the growth of *Lactobacillus reuteri* KUB-AC5, *Lactobacillus cirspatus* JCM 5810, *Pediococcus pentosaceus* JCM 5885 and *Enterococcus faecalis* JCM 5803 at 35.28, 18.64, 31.16 and 4.65%, respectively. It inhibited the growth of *Escherichia coli* E010, *Staphylococcus aureus* TISTR 029, *Salmonella enteritidis* S003 and *Shigella dysenteriae* DMST 1511 at 39.47, 47.39, 57.23 and 37.07%, respectively. The digestive resistance in stomach and intestine (*in vitro*) were 98.11 and 82.25%, respectively. In gut model, the effect of copra-meal hydrolysate on microbial growth and short chain fatty acid production were comparable with commercial manno-oligosaccharides; manno-oligosaccharides from yeast cell wall and fructo-oligosaccharides.

Keyword Mannan, Coconut, Probiotic, Prebiotic

สารบัญ

	หน้าที่
1. หลักการเหตุผลและระบุสาเหตุที่ต้องดำเนินการวิจัย	1
2. วัตถุประสงค์	1
3. ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	2
4. ระเบียบวิธีวิจัย	19
5. ผลการวิจัยและการวิเคราะห์ผลการวิจัย	24
6. สรุปผลการวิจัย	36
7. ข้อเสนอแนะ	36
8. เอกสารอ้างอิง	37
9. ประวัติคณะผู้วิจัย	50

สารบัญภาพ

	หน้าที่
ภาพที่ 1 โครงสร้างกาแลคโตแมนแนนใน Locust bean gum และ Guar gum	3
ภาพที่ 2 โครงสร้างของกาแลคโตแมนแนนในกากมะพร้าว	2
ภาพที่ 3 กลไกการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์เบต้า-แมนนาเนส	6
ภาพที่ 4 Mannanase production in 5 litre fermenter using defatted copra meal as carbon source	25
ภาพที่ 5 The sugar composition of Copra meal-MOS. (a) Type of sugar in Copra meal –Mos analyzed by (Column Aminex-HPX-87P, BioRad), (b) Oligosaccharide analyzed by (Column Aminex-HPX-42C, BioRad).	30
ภาพที่ 6 The Copra meal-MOS and Yeast-MOS digestibility HPLC profiles under gastric juice hydrolysis and human α -amylase hydrolysis; (a) Copra meal-MOS digestibility under gastric juice at 0 and 4 h, (b) Copra meal-MOS digestibility under human α -amylase at 0 and 6 h, (c) Yeast-MOS digestibility under gastric juice at 0 and 4 h, (b) Yeast-MOS digestibility under human α -amylase at 0 and 6 h.	32

สารบัญตาราง

	หน้าที่
ตารางที่ 1 แบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์เบต้า-แมนนาเนส	8
ตารางที่ 2 เชื้อราที่สามารถผลิตเอนไซม์เบต้า-แมนนาเนส	9
ตารางที่ 3 16S ribosomal RNA oligonucleotide probes used in this study	23
ตารางที่ 4 Proximate of copra meal and defatted copra meal	24
ตารางที่ 5 แสดงการออกแบบการทดลองแบบ central composite design โดยใช้ Response surface methodology	26
ตารางที่ 6 แสดงปริมาณโอลิโกแซคคาไรด์, Reducing sugar และ Total carbohydrate ที่ได้จากการย่อยกากมะพร้าวที่สภาวะต่างๆตามการออกแบบการทดลองแบบ central composite design โดยใช้ Response surface methodology	27
ตารางที่ 7 แสดงสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยกากมะพร้าวที่ได้จากการทำนายโดย Response surface methodology	28
ตารางที่ 8 แสดงปริมาณโอลิโกแซคคาไรด์ที่ได้จากการย่อยกากมะพร้าวที่สภาวะที่เหมาะสมโดยใช้ Response surface methodology ในการทำนาย	28
ตารางที่ 9 แสดงปริมาณ reducing sugar ที่ได้จากการย่อยกากมะพร้าวที่สภาวะที่เหมาะสมโดยใช้ Response surface methodology ในการทำนาย	28
ตารางที่ 10 แสดงปริมาณ Reducing sugar, Total CHO และโอลิโกแซคคาไรด์ที่ได้จากการย่อยกากมะพร้าวที่สภาวะที่เหมาะสมโดยใช้ Response surface methodology ในการทำนาย	29
ตารางที่ 11 ผลการขยายขนาดการย่อยกากมะพร้าวด้วยเอนไซม์แมนนาเนสโดยเพิ่มปริมาตรของการย่อยรวมขึ้นเป็น 10 เท่า	29
ตารางที่ 12 แสดงเปอร์เซ็นต์ของการส่งเสริมการเจริญของเชื้อกลุ่มแบคทีเรียกรดแลคติกทั้ง 4 สายพันธุ์ ที่ใช้สำหรับการทดสอบคุณสมบัติความเป็นพรีไบโอติกของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยกากมะพร้าวที่สภาวะที่เหมาะสมโดยใช้ Response surface methodology ในการทำนาย	31
ตารางที่ 13 แสดงเปอร์เซ็นต์ของการยับยั้งการเจริญของเชื้อกลุ่ม	31

แบบที่เรียกชื่อทั้ง 4 สายพันธุ์ ที่ใช้สำหรับการทดสอบคุณสมบัติ
ความเป็นพรีไบโอติกของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยกากมะพร้าวที่
สถานะที่เหมาะสมโดยใช้ Response surface methodology ใน
การทำนาย

ตารางที่ 14 The Copra meal-MOS hydrolysate before and after <i>in vitro</i> gastric and small intestine digestion	31
ตารางที่ 15 Changes in bacterial population (log 10 cells/ml) in batch cultures with difference substrate	33
ตารางที่ 16 Concentrations of short chain fatty acid produced during fermentation of each carbohydrate source at 0, 10, 24, and 34 h.	35